

研究目的と実施内容

[研究の背景と目的]

近年、居住環境が原因と考えられる「シックハウス症候群」や「多種化学物質過敏状態」（いわゆる化学物質過敏症）の増加が報告され、いずれも室内に存在している比較的低濃度の化学物質の影響が関与して健康を害していると考えられている。それらの症状の中で、アレルギー性疾患の症状も高いことが報告されている。われわれの環境中にはダニ、カビ、花粉などの生物因子、電磁波や紫外線などの物理因子も化学因子とともに存在しているため、その真の原因については不明な点が多く特定できていないが、化学因子のなかでは室内で濃度の高い揮発性有機化合物が何らかの関連をもっているといわれている。ところで、先進国の共通の悩みであるアレルギー疾患の増加と環境中の化学物質との因果関係を示唆する科学的知見も多く見られ、大気中のディーゼル排気粒子のような粒子状物質の中に増悪をうながす物質の存在することが明らかとなっている。しかしながら、化学物質を曝露されるすべての人々がアレルギー症状を示すわけではなく、アレルギー素因をもっている人か、あるいはすでになんらかの炎症の症状を示している一部の人々が影響を受けやすいことから、遺伝的因子と環境因子との相互の関連が症状悪化に重要と考えられている。

われわれの体には、外界からの刺激に対して常に体内の状態を健康な状態に保つために恒常性の維持機構が備わっており、神経—免疫—内分泌間の連携が重要な役割を担っている。中でも、記憶機能は、神経系と免疫系に備わっている生命維持に必須の機能であり、神経系における記憶機能の中樞は大脳皮質と海馬であり、5感からはいった情報の統合と蓄積に重要な役割を果たしている。一方、免疫系における記憶機能はリンパ球により維持されており、一度侵入した抗原情報が記憶され、2度目以降の侵入には迅速に、かつ大規模に反撃できる体制をととのえる働きをしている。神経系と免疫系は、記憶という機能以外にも、産生する情報伝達分子において共通の分子がそれぞれの機能を制御していることが、近年明らかとなっている。リンパ球が、神経成長因子の受容体を発現するとともに、神経成長因子を産生・分泌することが報告されている。逆に、脳内での神経細胞であるグリア細胞がリンパ球によって産生される免疫情報伝達物質として働くサイトカインを分泌して、脳内での炎症に関与していることも明らかとなっている。

したがって、化学物質による情報伝達因子産生や記憶機能のかく乱は、恒常性機構の維持にも大きく影響することが考えられる。しかしながら、これまでなされてきた神経—免疫—内分泌系への化学物質による曝露の影響評価では、環境中の濃度よりはるかに高い濃度域での毒性が研究されている。化学物質の曝露による体内への蓄積あるいは代謝産物が、化学物質の毒性の発現をとうして健康影響を誘導すると考えられてきた。だが、最近の居住環境による健康影響を評価するときに室内濃度レベルで報告されている揮発性の化学物質による健康不良の誘導は、これまで明らかになっている毒性発現の機構では説明できない反応がおきている可能性がある。低濃度域での揮発性化学物質の曝露

による神経—免疫軸を中心とした機能への影響については、国際的にも報告が非常に少ない。そこで、われわれは、低濃度域における化学物質の影響は、におい情報、刺激情報として認識され、体内で情報として蓄積されていく過程、あるいはその情報の蓄積が神経系、免疫系で何らかの影響を誘導し、遺伝素因と関連して恒常性の維持機構の破綻、あるいはかく乱として現れることを仮定した。

記憶機能への影響についての研究は、神経、免疫に共通で生命維持機能としての役割の解明だけでなく、現実の問題となっている認知症や化学物質過敏症での集中力、記憶力の低下の解明に繋がる。また、アレルギー反応の増悪において重要な記憶産物であるIgE抗体の産生は抗体クラススイッチの機構のかく乱がかかわっている可能性があり、それら機構にかかわる情報伝達分子への影響解明は鋭敏な指標の探索になりえると考えられた。

本研究では、神経—免疫—内分泌系の機能のなかで情報の蓄積される記憶機構に焦点をあて、比較的低濃度の揮発性有機化合物に着目し、

- 1) 嗅覚系を介した脳・神経系における情報伝達の過程、および海馬を中心とした記憶にかかわる領域での解析、
- 2) 呼吸器系を介した免疫系リンパ性器官への情報伝達、最終的な記憶産物としての抗体産生までの情報伝達経路における解析、
- 3) 化学物質曝露後の脳内動態と環境中揮発性化学物質濃度の実態把握を加味して神経—免疫系における記憶機能のかく乱作用を考察し、その健康リスク評価に役立つ指標の探索、及び手法の開発を目的とした。

[研究の構成]

本特別研究では、居住環境における濃度が高いことが報告され「シックハウス症候群」などとの関連が指摘されているホルムアルデヒドとトルエンを主に用いて、揮発性有機化合物の脳・神経—免疫軸を中心とした情報の流れを解明し、その影響を明らかにするために、以下の3課題をもうけて研究を構成した。

サブ1 脳・神経系における化学物質の影響解析

化学物質の曝露による情報の取得、伝達、記憶としての蓄積について、嗅覚と海馬における反応について解析する。とくに、海馬を選択した理由は、海馬は記憶や学習の中核であり、記憶に関与する神経細胞のシナプスの可塑性が有機溶剤曝露により影響を受けるとの報告がみられるからである。この海馬における神経細胞の生理的機能変化、グルタミン酸作動性興奮性ニューロンの量的・質的变化、および情報ネットワークとしての嗅球、扁桃体など脳の他の領域での変化を明らかにする。

サブ2 免疫系における化学物質の影響解析

異物としての抗原情報の伝達、情報の蓄積産物としての抗体産生について化学物質の曝

露による影響を解析する。

具体的には、免疫系における化学物質に対する特異的記憶機能はリンパ球が重要な機能を担っているのでリンパ球を中心として検索する。化学物質の曝露後にリンパ球の増殖反応、Bリンパ球、Tリンパ球亜集団の変動、サイトカイン産生能、特異抗体の産生の有無、および抗原物質の投与に対する情報伝達系の増強反応を検索する。また、脳神経—免疫相互間での作用機構の変動を解析するため、化学物質を曝露したマウスの大脳辺縁系や免疫臓器でのサイトカイン・ケモカイン類や神経成長因子、神経ペプチドなどの動態を検索する。さらに、リンパ球欠損動物への化学物質の曝露による神経伝達物質の遺伝子発現を検索する。

サブ3 体内動態の測定および曝露評価と評価手法の開発

揮発性化学物質の曝露による吸収、体内動態、蓄積に関する新たな情報を得るための手法の開発と検証を行う。

体内動態評価研究では動物実験と平行して、まず、神経系などに影響を与える化学物質の動態に関する文献調査および過敏症患者の居住環境等の基礎調査を行い、被検化学物質の絞込みを行う。また、投与された化学物質がどのように脳神経系、免疫系に作用するのか明らかにするために、血液中や脳内での動態について曝露動物を用いて高感度化学分析法により解析する。

研究予算

(単位：千円)

	H15	H16	H17
サブテーマ1	10,000	11,000	9,500
サブテーマ2	7,500	7,500	8,500
サブテーマ3	2,500	1,500	2,000
合計	20,000	20,000	20,000

総額 60,000 千円

研究成果の概要

本特別研究により以下のことが明らかとなった。

サブ1 脳・神経系における化学物質の影響解析

海馬におけるシナプスの可塑性、神経細胞生存などに重要な役割を果たしているNMDA受容体サブユニット（NR2AとNR2B）の機能は動物の学習行動や記憶機能に密接に関連している。低濃度ホルムアルデヒド曝露をすると、海馬におけるNMDA受容体サブユニットの遺伝子発現が有意に増加することを明らかにした。さらに、アレルギーモデルマウスにホルムアルデヒド曝露を行った結果でも、NR2A mRNAの発現増強に働くことが明らかとなった。（図3）一方、NMDA受容体遺伝子の発現の制御にかかわるドーパミン受容体であるD1とD2遺伝子の発現は、曝露により有意に増加することを明らかにした。したがって、曝露により海馬におけるNR2A、D1とD2 mRNAの発現に変化がみられたことは、低濃度、長期のホルムアルデヒド曝露が海馬において記憶・学習機能に重要な役割を果たしているNMDA受容体を介する記憶形成機構に変調を生じたことを示唆する。

さらに、低濃度ホルムアルデヒド曝露による嗅細胞からの情報伝達系である嗅球、扁桃体でのGABAニューロンの活性化、ドーパミンニューロン系への作用を明らかにした。また、海馬からの情報交換の場でもありストレス応答領域である視床下部において、そのホルモン情報伝達にもかく乱が起こることを明らかにした。海馬から扁桃体、視床下部への情報伝達回路の動きを探るために、高周波で海馬破壊処理したマウスに曝露してその影響を解析したところ、扁桃体、視床下部での記憶関連遺伝子の更なる変動が認められた。

化学物質の特異性を調べるため行った低濃度のトルエンの長期曝露では、マウス海馬においてNMDA受容体サブユニットNR2Bの遺伝子発現増強を介して細胞内情報伝達網のアップレギュレーションを引き起こすことを明らかにした。

サブ2 免疫系における化学物質の影響解析

低濃度ホルムアルデヒド曝露では、免疫記憶の情報伝達経路、少なくともリンパ球の増殖、分化、抗体産生の増強などを積極的に促進し、Th1/Th2バランスをかく乱する作用は認めなかった。ただし、肺胞洗浄液中のIL-1 β の低下、血漿中のCCL2産生の低下、脾臓細胞からのCCL2産生の亢進などが曝露により認められた。低濃度トルエンの12週間曝露では、血漿中の総IgE抗体価の有意な上昇がみられ、肺胞洗浄液中のIFN- γ 産生の抑制も認めた。（図4）免疫系を抗原刺激により活性化した後での低濃度長期のホルムアルデヒド、あるいはトルエンの曝露は、抗原刺激の付加による神経成長因子の産生で組織特異的

な影響を認め、神経—免疫ネットワークのかく乱作用を誘導していることが明らかとなった。さらに、新たな曝露系として低濃度のトルエン鼻部曝露を行い、免疫メモリーの産物であるTh2タイプ優位の抗体産生を増強することを明らかにした。

サブ3 体内動態の測定および曝露評価と評価手法の開発

揮発性化学物質の体内動態に関して、トルエンをマウスに鼻部曝露すると、曝露前後で有意な差が認められ、曝露濃度の増加に応じて海馬近傍からSPMEに吸着されたトルエン量は増大していることが確認された。(図5) SPMEを用いて脳内での揮発性物質を簡便に、短時間で検知する手法を開発できた。また、生存している個体の脳内でのグルタミン酸やGABAなどの神経伝達物質の変動の検知にも成功した。*in vivo* マイクロダイアリシス法は、先のSPMEと組み合わせると生きたままリアルタイムの神経伝達物質の動きと化学物質の体内の濃度とを測定でき、化学物質の濃度と神経伝達の情報との関連を解析する上で新たな手法として展開できる。

これらの結果は、嗅覚からの化学物質曝露による刺激情報が、神経伝達物質を介した情報伝達系を修飾して扁桃体、海馬、視床下部などの大脳辺縁系に影響を及ぼし、また、海馬からの視床下部への情報伝達が修飾され、記憶情報回路にかく乱作用を生じていることを示唆している。

以上の成果から、低濃度におけるホルムアルデヒド、あるいはトルエン曝露は曝露期間の長期化により嗅覚からの情報伝達回路を介して海馬における記憶に関する機能分子の活性化を生じ、ストレス反応系としての視床下部、下垂体でのホルモン分泌系のかく乱を生じ、動物の学習・行動にもなんらかの変化をもたらされている可能性が考えられる。本研究成果は、過去の一般毒性に比較して、低用量曝露により引き起こされる神経、免疫・アレルギーを中心とする高次機能への影響を評価し、高次機能に関わる化学物質リスク評価に寄与にする。また、環境化学物質が高次機能へ与える影響を適切に評価し、化学物質の健康に及ぼすリスクを低減する施策に貢献する科学的知見が提供できる。さらに、次世代、小児、高齢者、有病者、健康影響を受けやすい高感受性集団を対象とした今後の研究への糸口を提供できる。