

VI. 平成 10 年度環境科学研究科プロジェクト報告

1. 環境化学物質の中樞神経系への影響：培養細胞を用いた毒性評価

(代表) 下條信弘 (社会医学系)

国府田悦男 (応用生物化学系)

島田秋彦 (応用生物化学系)

はじめに

一昨年 (平成 9 年 2 月)、大気汚染に係わる環境基準にベンゼン、トリクロロエチレン、およびテトラクロロエチレンの 3 つの有機溶剤が追加された。この背景には、これらの工業的に広く使用されている有機塩素系溶剤を含む一部の化学物質について、すでに「排水基準」や「水質汚濁に係わる環境基準」が設定されていたものの、これら化合物の「揮発性が高い」という共通した化学的性質から大気中への放出、それに伴う環境汚染が危惧された経緯がある。生体影響という観点からは、その脂溶性に富んだ化学的性質から、環境中から曝露された際に容易に中樞神経系へ移行することが推測され、これまでの発がん性や肝障害に加え、中樞神経系への影響を考慮する必要性が生じてきた。しかし、これら化合物の詳細な中樞神経毒性についての研究は不足している。そこで本研究では、有機塩素系溶剤を中心に、中樞神経系由来培養細胞を用いて細胞毒性評価を行った。

成果概要

1. 有機塩素系溶剤の中樞神経毒性

対象とした有機塩素溶剤は、公共用水域・地下水に対して「人の健康の保護に関する環境基準」が設定されている有機塩素化合物を中心に 7 種 (クロロホルム、四塩化炭素、1,2-ジクロロエタン、1,1-ジクロロエチレン、1,1,1-トリクロロエタン、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレン) を選定した。これらの化合物をラットのグリア細胞由来培養細胞 C6 に曝露したところ、クロロホルムでは 5 mM で曝露直後に細胞表面の小胞化や膨張を呈し、8 時間後には太く短くなった細胞が観察された。しかし他の化合物では 0.05~5 mM の曝露濃度の範囲で 8 時間曝露した際には顕著な形態変化は観察されなかった。一方、細胞ミトコンドリアの機能試験によると、クロロホルム (5 mM)、トリクロロエチレン (0.1~0.5 mM)、およびテトラクロロエチレン (0.1~0.5 mM) 曝露時に有意な機能低下が観察された (Fig. 1)。

上記の 7 種の有機塩素系溶剤のうち四塩化炭素、1,1,1-トリクロロエタン、トリクロロエチレン、ならびにテトラクロロエチレンについては、これまでに実験動物あるいは作業現場で曝露を受けた労働者において神経毒性や神経障害に起因する記憶障害や四肢振せん等の症状を生じることが報告されている。今回のグリア細胞を用いた細胞毒性試験によると、これらの化合物に加え、クロロホルムについても中樞神経毒性を引き起こす可能性があることが考えられた。しかしながら、クロロホルム、トリクロロエチレン、およびテトラクロロエチレンの C6 グリア細胞への作用は、重篤な中樞神経毒性を示す化合物として知られるメチル水銀と比較すると 25 倍以上弱いものであった。

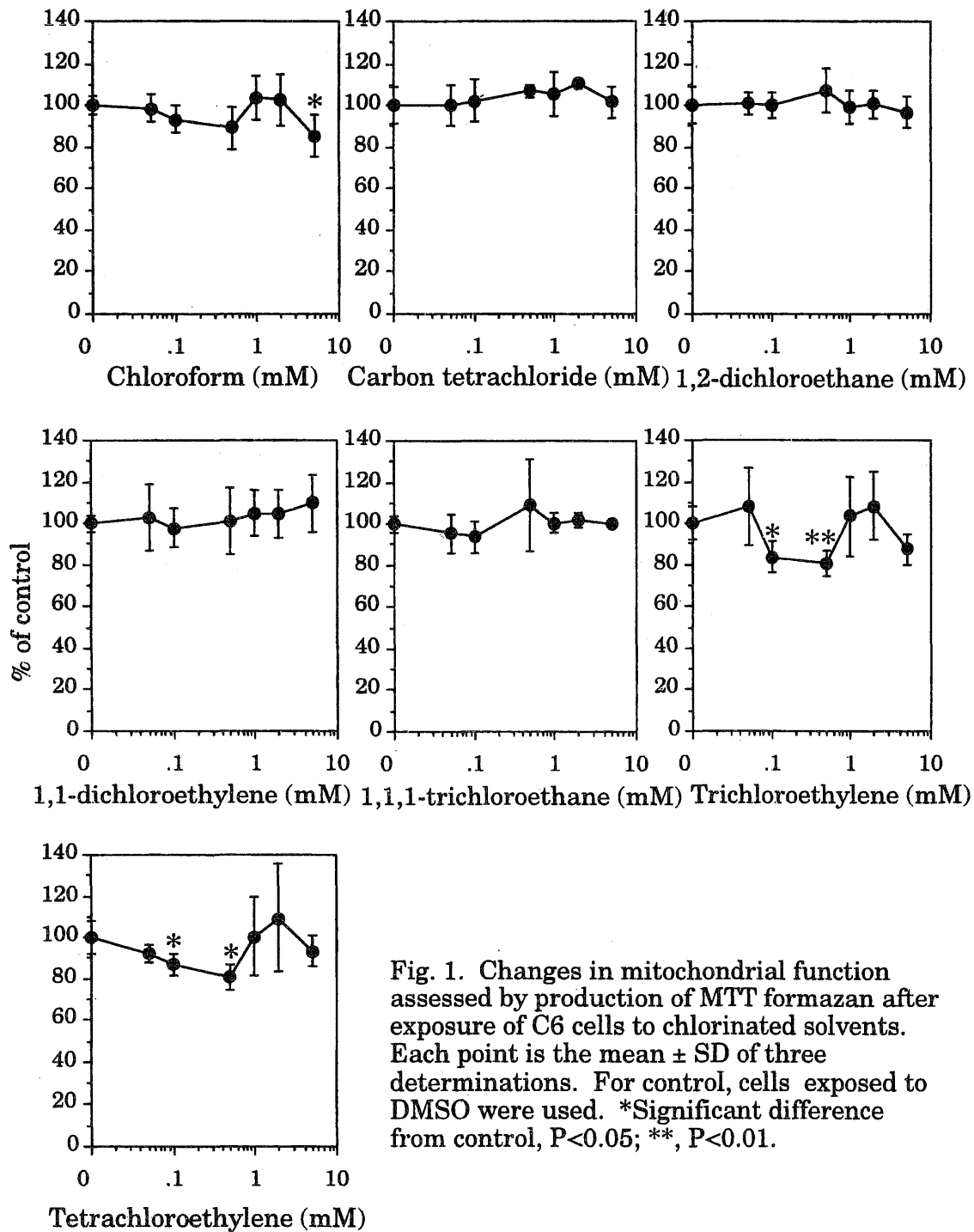


Fig. 1. Changes in mitochondrial function assessed by production of MTT formazan after exposure of C6 cells to chlorinated solvents. Each point is the mean \pm SD of three determinations. For control, cells exposed to DMSO were used. *Significant difference from control, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

2. ニトロ化合物の中樞神経毒性

ニトロ化合物は爆薬をはじめ、染料、医薬品、農薬、殺菌剤、ゴム老化防止剤、ガソリン添加剤、および化学合成中間体などとして産業界で種類・生産量共に大量に用いられている。本研究では、爆薬の原料として用いられている 2,4,6-トリニトロトルエン (TNT) を選び、その生体内主代謝物である 4-アミノ-2,6-ジニトロトルエンおよび 4-ヒドロキシアミノ-2,6-ジニトロトルエンとともに細胞毒性試験を行った。TNT を C6 グリア細胞に 0.5 mM 曝露すると、3 時間後には太く短くなった細胞が観察された。これに対し ADNT や HADNT のでは 0.1

mM の曝露で突然死の様相を呈した細胞が認められた。これら化合物を 8 時間曝露し、細胞ミトコンドリア機能への影響を比較すると、HADNT が最も強く TNT や ADNT の 1/10 の曝露濃度 (0.05 mM) で機能低下を引き起こすことが明らかとなった (Fig. 2)。ミトコンドリア機能を対照群 (溶媒として用いた DMSO のみの曝露) の 50% に低下させる曝露濃度を Fig. 2 より算出すると、HADNT が最も低く 0.066 mM であり、次い TNT が 0.177 mM、ADNT が 0.295 mM であった。これらの値を基にグリア細胞への作用をメチル水銀の場合 (0.009 mM) と比較すると 7 倍以上弱い、前出の有機塩素系溶剤に比べると強いものであった。

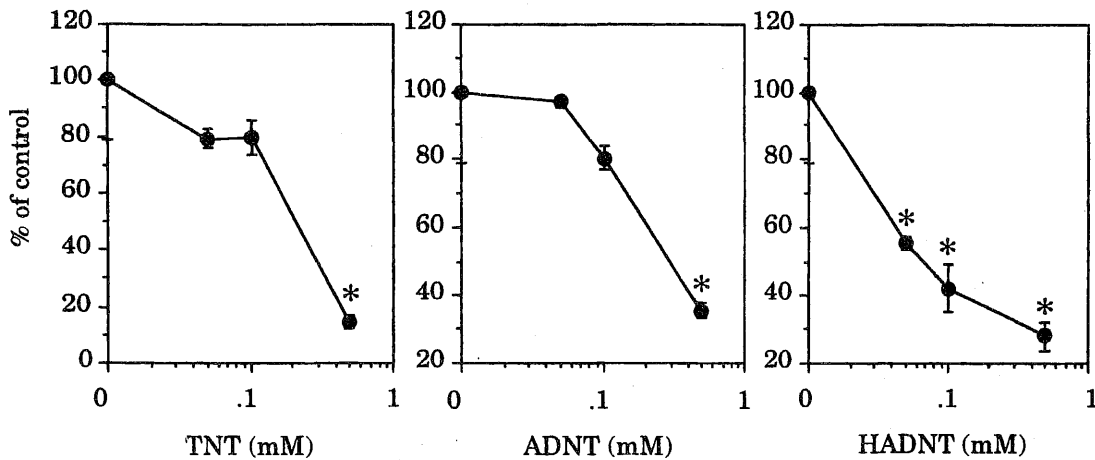


Fig. 2. Changes in mitochondrial function assessed by production of MTT formazan after exposure of C6 cells to TNT and its metabolites.

Each point is the mean \pm SD of three determinations. For control, cells exposed to DMSO were used. *Significant difference from control, $P < 0.01$.

まとめ

一般化学物質の安全性に関する規制 (例えば労働安全衛生法) は発がん性のみが義務づけられ、中枢神経系への安全性試験に重点は置かれていない。しかしながら、今回の実験結果によると広く使用されている産業化学物質の中には環境規制・基準が設定されている化学物質よりも強い中枢神経毒性を示すケースや母化合物よりも生体内代謝物の方が毒性が強まる場合があることが予測される。中枢神経系は内分泌系制御に重要な役割を担っているため、中枢神経系への毒性影響を明らかにすることは、対象とする化学物質に対する、最近問題視化されている外因性内分泌攪乱物質 (環境ホルモン) 様作用に関する貴重な情報を提供することにもつながる。このような社会的背景からも、さらに詳細な中枢神経毒性に関する研究が必要であり、これらを基盤とした、よりの確な安全対策や環境基準の設定が望まれる。

なお、これらの研究を行うにあたり、武田志乃君 (医学研究科・研究生)、廖 中強君 (環境科学研究科・大学院生)、桐谷聖子君 (医学研究科・大学院生)、李松君 (医学研究科・大学院生) の協力を得た。