

自動車排出ナノ粒子のマウス経気曝露による
嗅覚系ニューロンを介在した金属ナノ粒子曝露経路の検索
**Possibility of Central Nerve System Injury to Exposed Ultrafine Particle
through an Olfactory Neuron Pathway**

松井康人^a、坂井伸光^a、塩田憲司^a、高岡昌輝^a、藤巻秀和^b、内山巖雄^a

Yasuto Matsui^a, Nobumitsu Sakai^a, Kenji Shiota^a, Masaki Takaoka^a,

Hidekazu Fujimaki^b, Iwao Uchiyama^a

^a京都大学大学院工学研究科、^b独立行政法人国立環境研究所

^aGraduate School of Engineering Kyoto University, ^bNational Institute for the Environmental Studies

ディーゼル排気ナノ粒子 (DEUFP: Diesel Exhaust Ultra Fine Particles) を曝露したマウスを用い、嗅覚系ニューロンを介在した曝露経路を解明することを目的とした。微小領域分析が可能な放射光蛍光 X 線分析 (SR-XRF) を用い、嗅神経に分布する粒子由来の金属元素をマッピングした。測定対象金属は、曝露フィルターのスペクトルから、Ca, Cu, Fe, Ni, Zn とした。1 (H) × 1 (V) μm² のビームを試料に照射した結果、嗅上皮では Ni, Fe, Zn が高い値を示した。また、嗅神経が多い組織でこれらが確認された。嗅球でも同じ金属種で高い値を示した。特に、糸球体層よりも皮質側で高い値を示したことから、一次ニューロンにより嗅球まで金属が輸送されている可能性を示唆した。その他に、Ca, Cu では組織局在性は観察できなかったものの、曝露群で有意に高い値を示した。

When we are exposed to the ultra fine particles (UFPs), these are translocated to the central nerve system through the olfactory nerve. The UFPs invasion of the postsynaptic cell is of particular interest because the second neuron projects to the central nucleus of the amygdala and the piriform cortex. Here we show that the adhesion of metals to UFPs increase in the mitral cells as well as the neurons in the olfactory epithelium. We used mice that was exposed to the diesel exhaust and measured by synchrotron radiation. In the olfactory epithelium, the high levels of nickel observed in lamina propria mucosae compared with the control group. Unlike the olfactory bulb of the control group, the high levels of ferrous were observed in the mitral cell. It is shown that these particles are transported to the mitral cell beyond the synapse at the glomerular cell layer of the olfactory bulb.

背景と研究目的

本研究では、DEUFP 曝露をおこなったマウスを用い、嗅覚系ニューロンを介在した大脳

辺縁系への曝露経路を形態的に解明することを目的とする。金属ナノ粒子の嗅覚系ニューロンへの局在を定量的に観察することで、こ

れまで報告されたことのない嗅覚を介した曝露経路を解明する。近年の計測機器の発展に伴い、粒径が 2.5 μm 以下の粒子 (PM2.5) に、粒径が 100 nm 以下の超微小粒子 (ナノ粒子) が多く含まれることが分かってきた¹⁾。著者らは、このナノ粒子が、肺を介した曝露以外の経で人体に侵入し、中枢神経系に影響を及ぼしていると考え。これを解明すべく、微小領域分析が可能な放射光蛍光 X 線分析 (SR-XRF) を用い、嗅神経に分布する粒子由来の金属元素をマッピングする。

実験

実験は高輝度光科学研究センターの高輝度放射光施設 SPring-8 のビームライン BL37XU に設置した新しい「走査型電子顕微鏡-電子線励起 X 線分析およびシンクロトロン放射光励起蛍光 X 線分析」装置²⁾ を利用した。この装置は、ハッチ外で光学顕微鏡により微小領域を決定し、これにリンクするように放射光を照射できる。シンクロトロン放射光の発光点から約 55 m 後方にあるハッチに、真空封止型アンジュレータによる高輝度の X 線を Si(111) 分光結晶で単色化した後、10 μm のベリリウム箔による窓 (20 mm ϕ) を通過し、高調波除去用の水平偏向の 2 枚の K-B ミラーを経て、試料に放射光を照射させた。ビームサイズは 1 (H) $\times$ 1 (V) μm^2 である。アクリル板に穴 (10 mm ϕ) をあけた基板に、ポリプロピレン膜を張り、膜上の試料にこれを照射した (Fig 1)。

曝露実験は、独立行政法人国立環境研究所にておこなった。実際に自動車のエンジンを稼働させ、ナノ粒子を曝露した。曝露濃度は、0.1mg/m³ であり、4 週間曝露をおこなった。

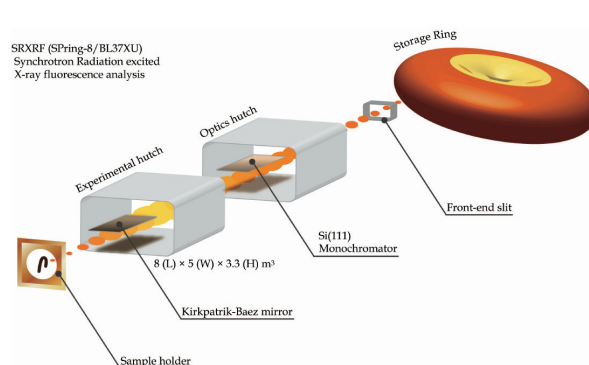


Fig. 1 Devices of the synchrotron radiation excited X-ray fluorescence analysis in the SPring-8/BL37XU

対照群は、ガス成分のみの曝露をおこなった。供試したマウスは各群 2 匹である。組織は、マウスを安楽死させた、頭部を切断し、ホルマリン (4%PFA) で固定した後に摘出した。嗅上皮は、鼻骨を剥離させ、嗅神経の最も多いとされている部位 (zone1) を摘出した。嗅球は、前頭骨を剥離させ、嗅球全体を摘出した。これらをアガロースゲルで固め、ビブラトームで 100 μm の薄片とした。

結果・考察

Ca, Cu, Fe, Ni, Zn の 5 元素を測定対象元素とした。マウスの組織におけるイメージングをおこなった。対照群と比較したところ、Ni で顕著に高い値を示した。特に、基底板 (BM) より背側で高い値を示しており、神経束 (NB) に Ni が局在していることが考えられる。また、対照群では、嗅上皮 (Olf Ep) に濃度が分布していることが分かる。これに対し、曝露群では、Olf Ep より少し背側の嗅神経細胞層 (ONL) での局在が確認でき、嗅神経を介し、金属が侵入したことの裏付けとなる。基底細胞 (BC) では、スポット的に高い値を示す結果が得られ、粒子付着性の金属元素である可能性がある (Fig 2)。嗅球の分

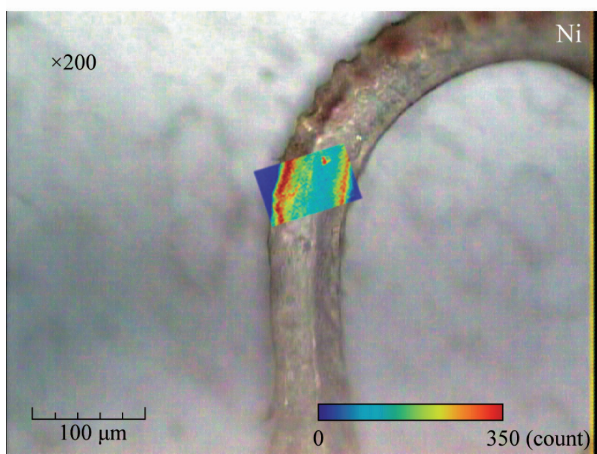
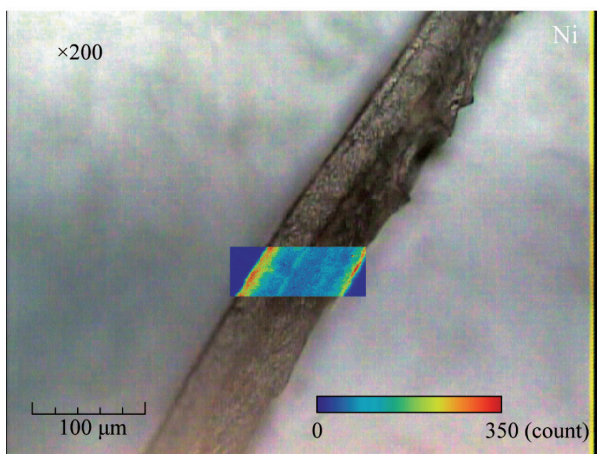


Fig. 2 Elemental mapping of nickel at the olfactory epithelia. Upper; control group, Lower; exposure group

析では、Fe が顕著に高い値を示した。一次ニューロンの投射先である糸球体層 (Gl) においてやや高い値を示し、嗅球表面の ONL では顕著に高い値が確認できた。外叢状層 (EPI) では二次ニューロン状に分布する像が得られた。Ni においては、ONL で高値を示した。Olf Ep 嗅繊毛で捉えられたディーゼル排気ナノ粒子が、嗅細胞を通過して NB に集まり、軸索を通過して嗅球の糸球体へ移行した可能性がある。ここまでの経路は、一つの細胞であり、軸索流に乗って物質が移動したと考えられる。Gl から二次ニューロンとして、軸索が中枢神経に投射されており、投射先の扁桃体、梨状葉に高値に Fe や Ni が観察された場合は、

中枢神経系への影響が懸念される。Ca, Cu, Zn は嗅上皮の分析と同様に、対照群と比較してやや高い値を示した。

参考文献

- 1) Abdul-Khalek, I. S., Kittelson, D. B. and Brear, F.: Diesel Trap Performance, Particle Size Measurement and Trends, SEA Paper No.982599 (1998)
- 2) Toyoda, M., K. Kaibuchi, M. Nagasono, Y. Terada, T. Tanabe, S. Hayakawa and J. Kawai, Spectrochim. Acta B59, 1311. (2004)

論文発表状況・特許状況

- [1] 松井康人他, 第 28 回大気環境学会年会 (口頭発表)

キーワード

蛍光 X 線分析, マッピング, ディーゼル排出ナノ粒子