

令和3年度

正常マウスへの
硫酸水素アンモニウムばく露実験

健康安全研究センター

薬事環境科学部 生体影響研究科

令和3年度の研究計画

目的

正常マウスに対する急性・亜急性の吸入毒性を調べる。
ぜん息増悪の検討試験で用いる濃度領域の選定に役立てる。

■ エアロゾルの性質確認

- ・ 鼻部ばく露チャンバーにおけるエアロゾル濃度と粒子径を調べる。

■ 急性ばく露実験

- ・ 単回、3時間ばく露による急性毒性を確認する。

■ 28日間吸入ばく露実験（亜急性吸入毒性試験）

- ・ 3時間/日で28日間ばく露し、反復ばく露の影響を調べる。
- ・ 対照群、低濃度群、中濃度群、高濃度群
- ・ 病理組織学的解析・気管支肺胞洗浄液（BALF）解析等
- ・ 事前に、14日間の予備実験を実施

■ 呼吸機能への即時影響

- ・ 硫酸塩の、ヒトの吸入試験（Utell *et al.* 1983）やモルモットのぜん息モデル実験において、ばく露直後に影響が観察されているが（吉田ら 1979）、マウスの情報は無い。
- ・ 呼吸機能解析装置にて、マウスへの即時影響を調べる。

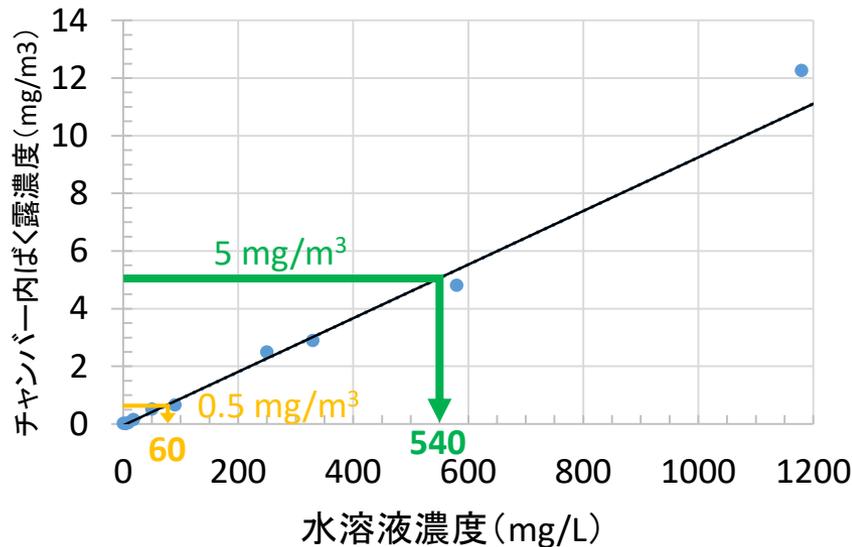
(1) エアロゾルの性質確認

■ チャンバー内ばく露濃度と水溶液濃度の関係

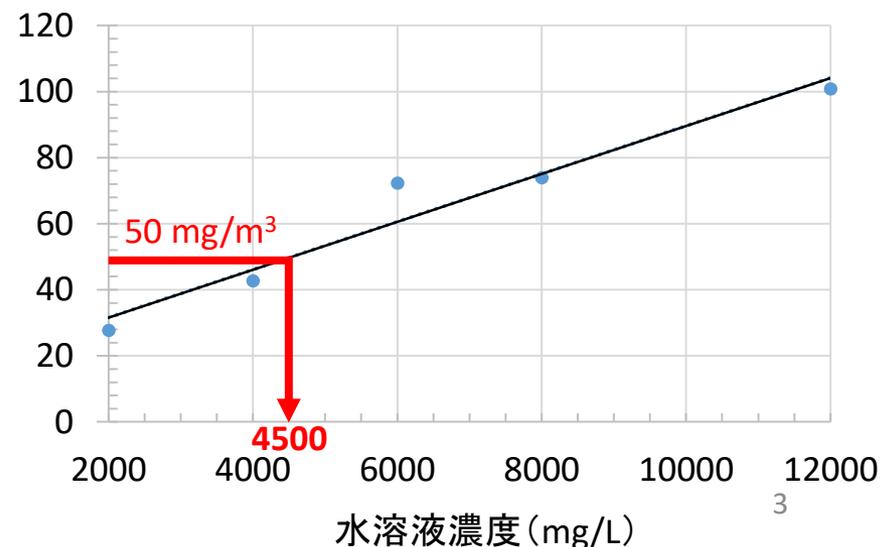
測定方法



低濃度域



高濃度域



■ 硫酸水素アンモニウムの粒子径分布

測定方法

捕集用のチャンバーからエアロゾルをELPIへ吸引

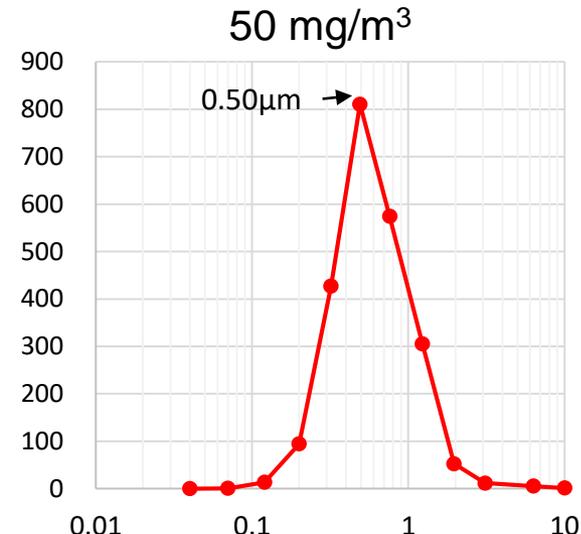
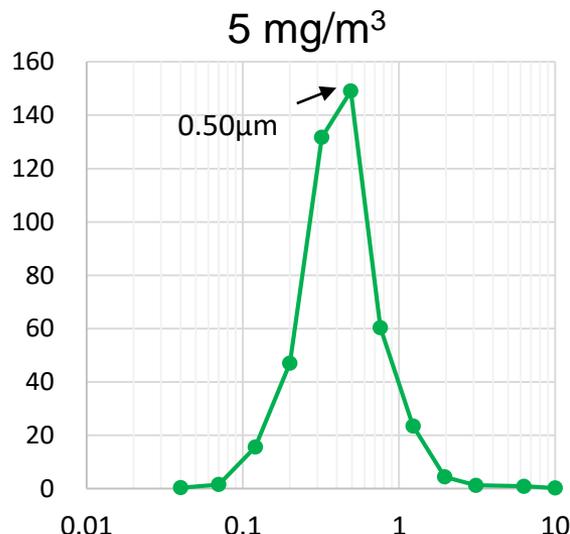
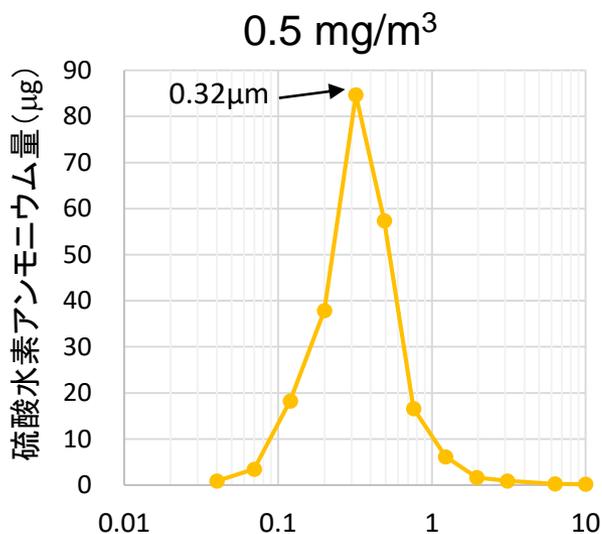


ELPI

- ・ 10L/分で30分または90分採取
- ・ ガラス繊維フィルターに捕捉
- ・ 12ステージ
(0.028 μm ~ 10 μm)

⇒イオンクロマトラグフィー

平均粒子径



粒子径 (μm)

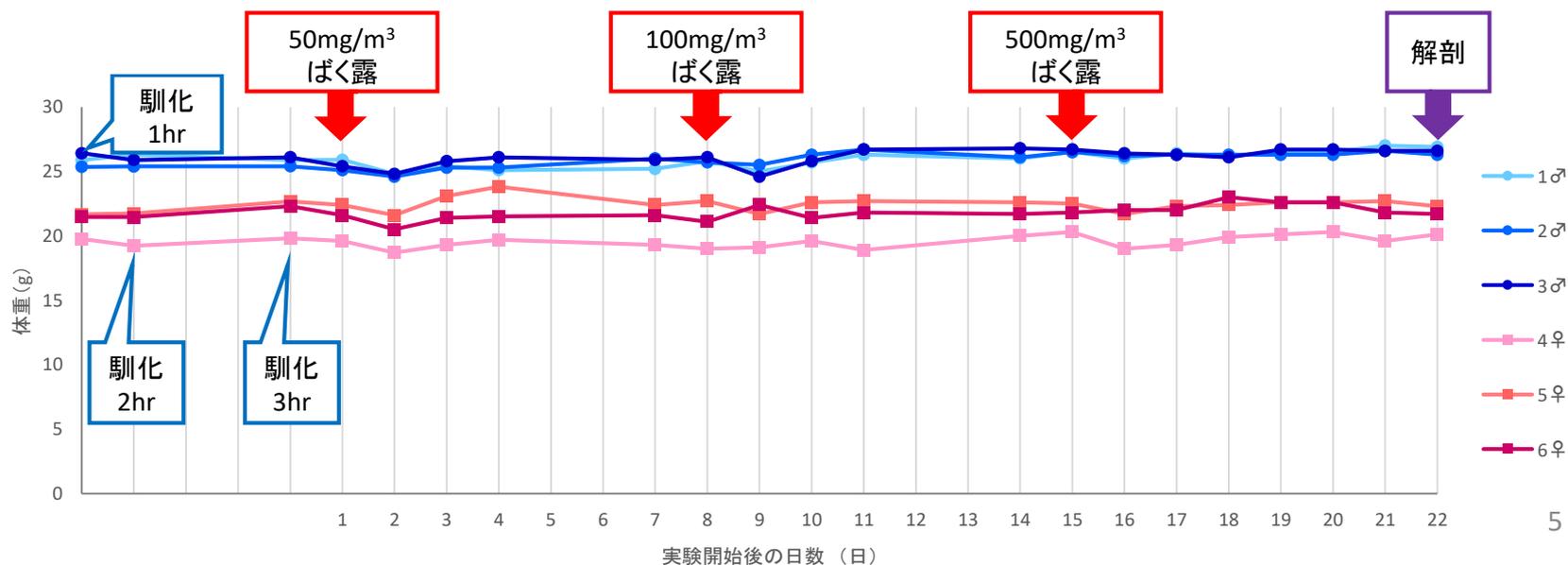
(2) 急性ばく露実験

■ 実験概要

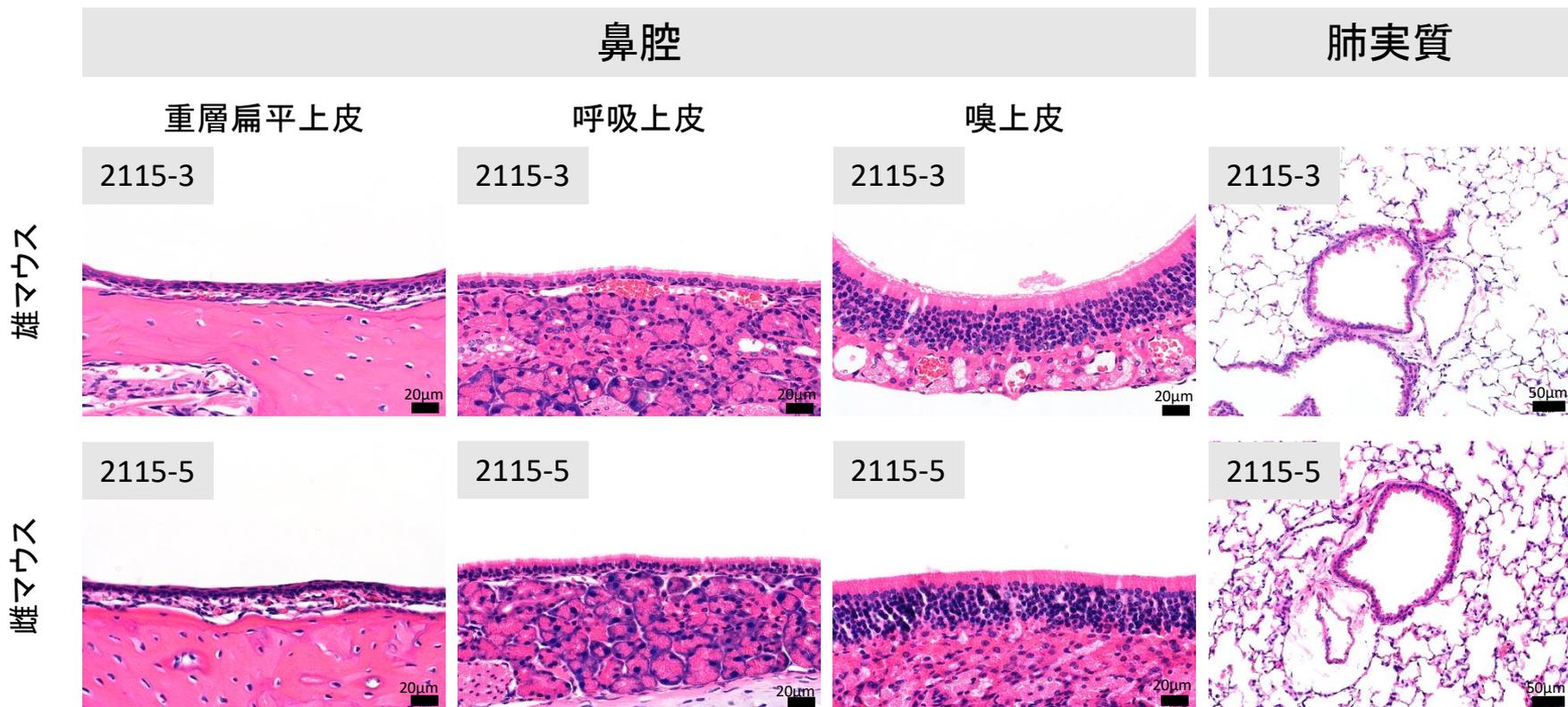
ばく露物質	硫酸水素アンモニウム99.9% (富士フィルム和光純薬:014485-100、CAS:7803-63-6)
動物	BALB/cマウス 8週齢 雄3匹・雌3匹
ばく露条件	吸入鼻部ばく露、3時間/日、1週間の休息期間をにおいて同じ動物にばく露
ばく露濃度	50、100、500 mg/m ³
剖検・解析	最終ばく露1週間後に剖検、ばく露中の観察・BALF解析・病理組織

■ **観察**: ばく露中・休息期間において、ばく露に起因する症状は認められなかった。

■ 体重推移



■ 病理組織学的解析



急性ばく露による影響は認められなかった。

(3) 14日間ばく露実験

■ 目的：28日間ばく露の予備実験として実施、特に、高濃度の設定に関する検討

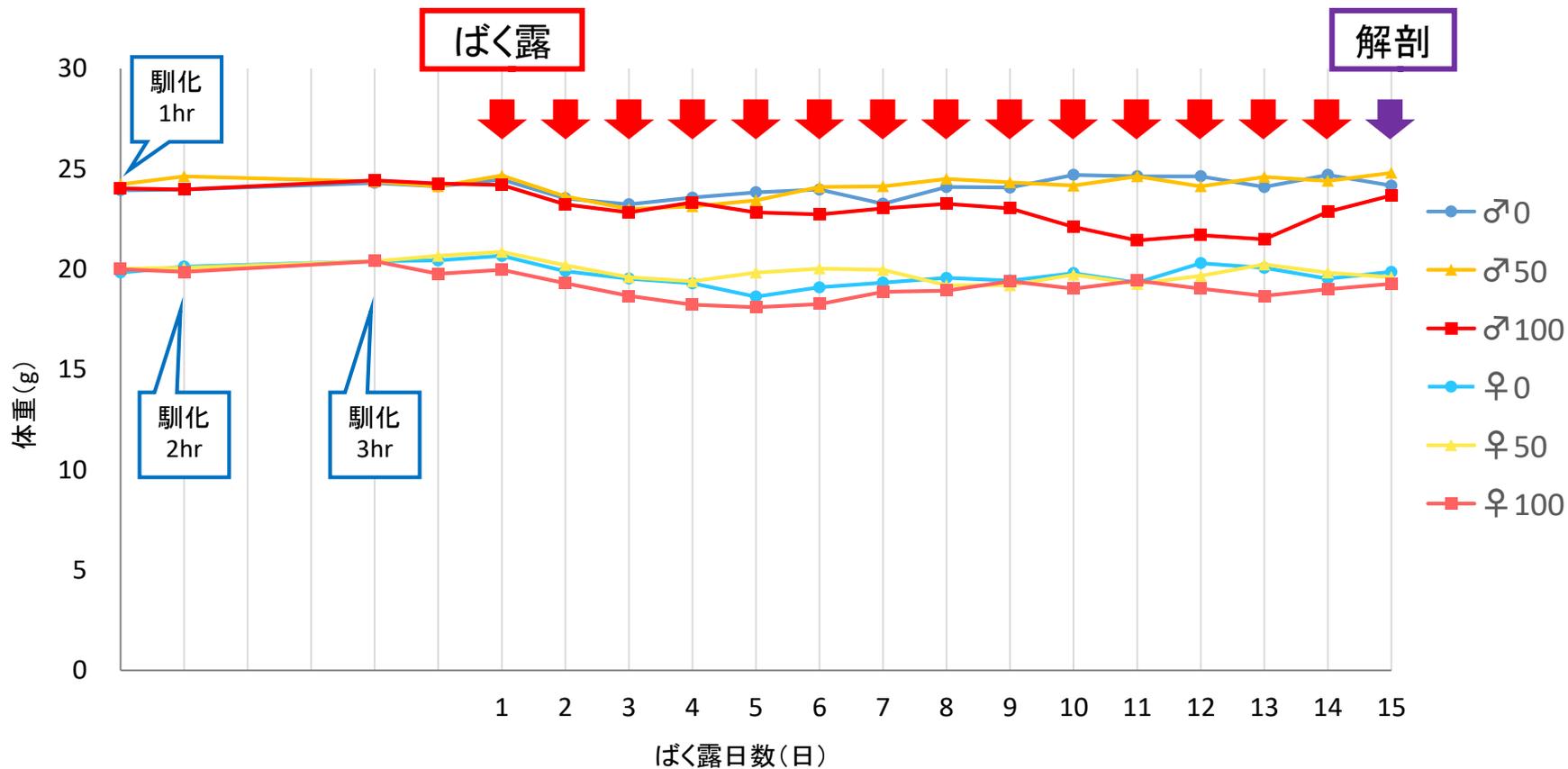
■ 実験概要

ばく露物質	硫酸水素アンモニウム99.9% (富士フイルム和光純薬:014485-100、CAS:7803-63-6)
動物	BALB/cマウス 8週齢 雄9匹・雌9匹
ばく露条件	吸入鼻部ばく露、3時間/日、14日間の連続ばく露
剖検・解析	最終ばく露の次の日に剖検、BALF解析・病理組織

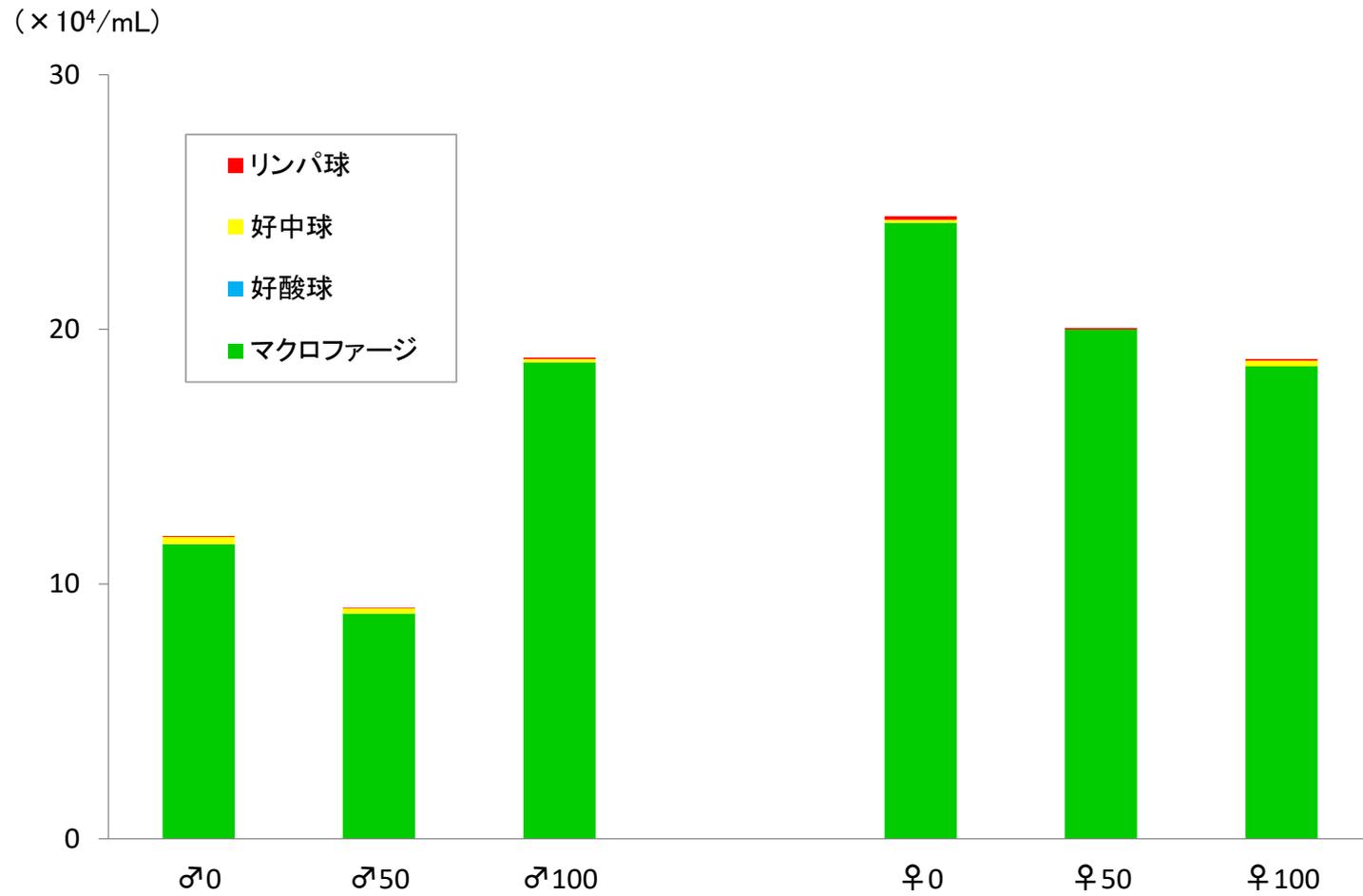
■ 群構成

群名	性	ばく露濃度	動物数
♂0	雄	0 mg/m ³	3
♂50		50 mg/m ³	3
♂100		100 mg/m ³	3
♀0	雌	0 mg/m ³	3
♀50		50 mg/m ³	3
♀100		100 mg/m ³	3

■ 体重推移

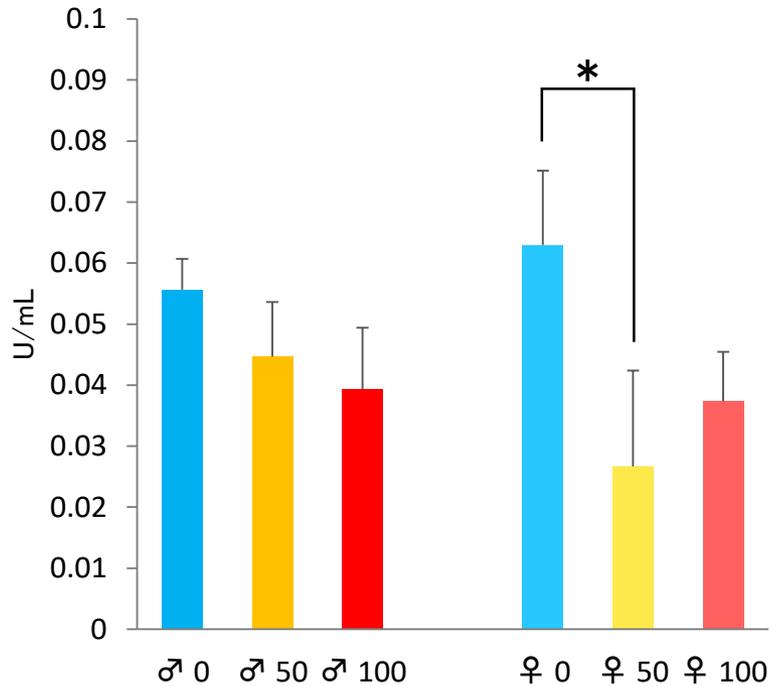


■ BALF中の白血球数

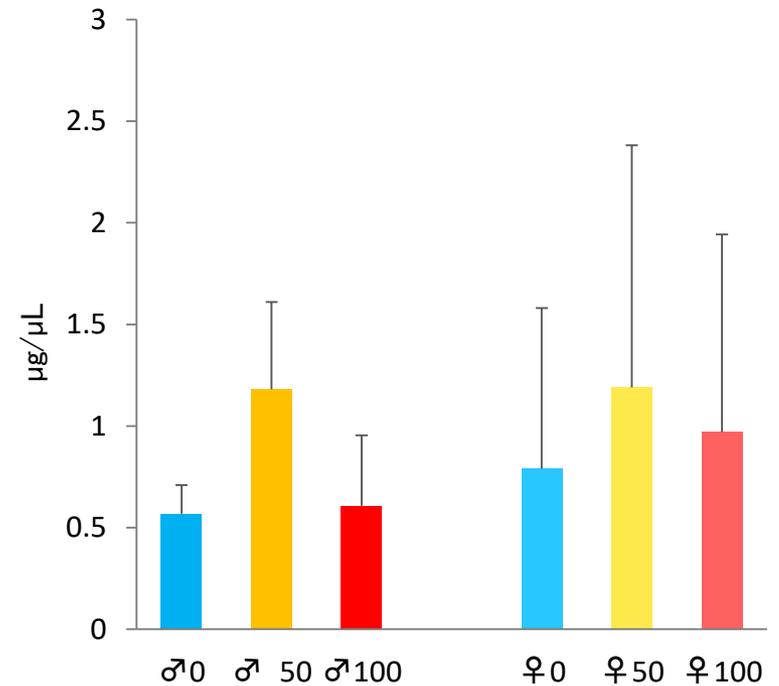


■ BALF上清中の生化学的解析

LDH活性

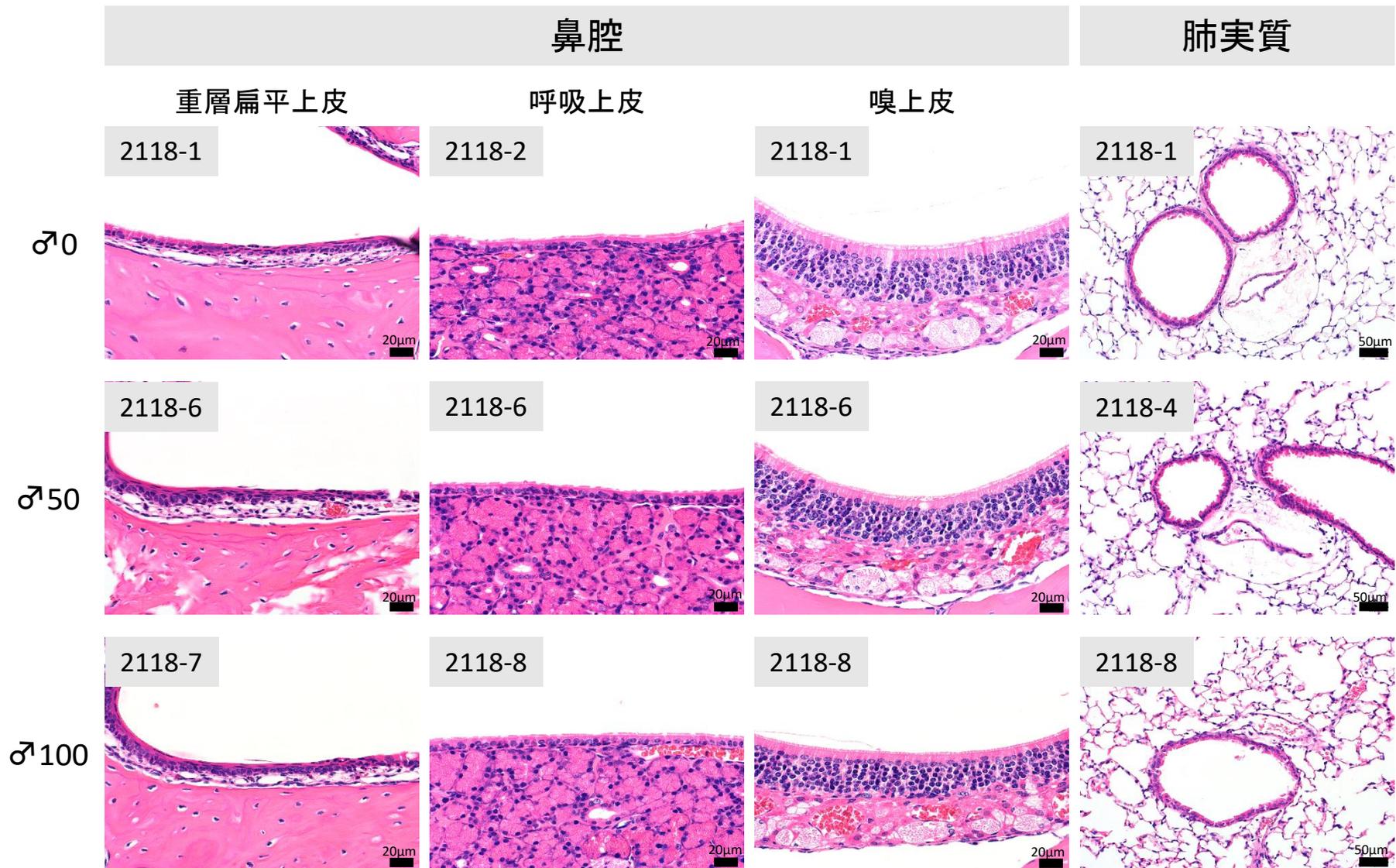


総タンパク質

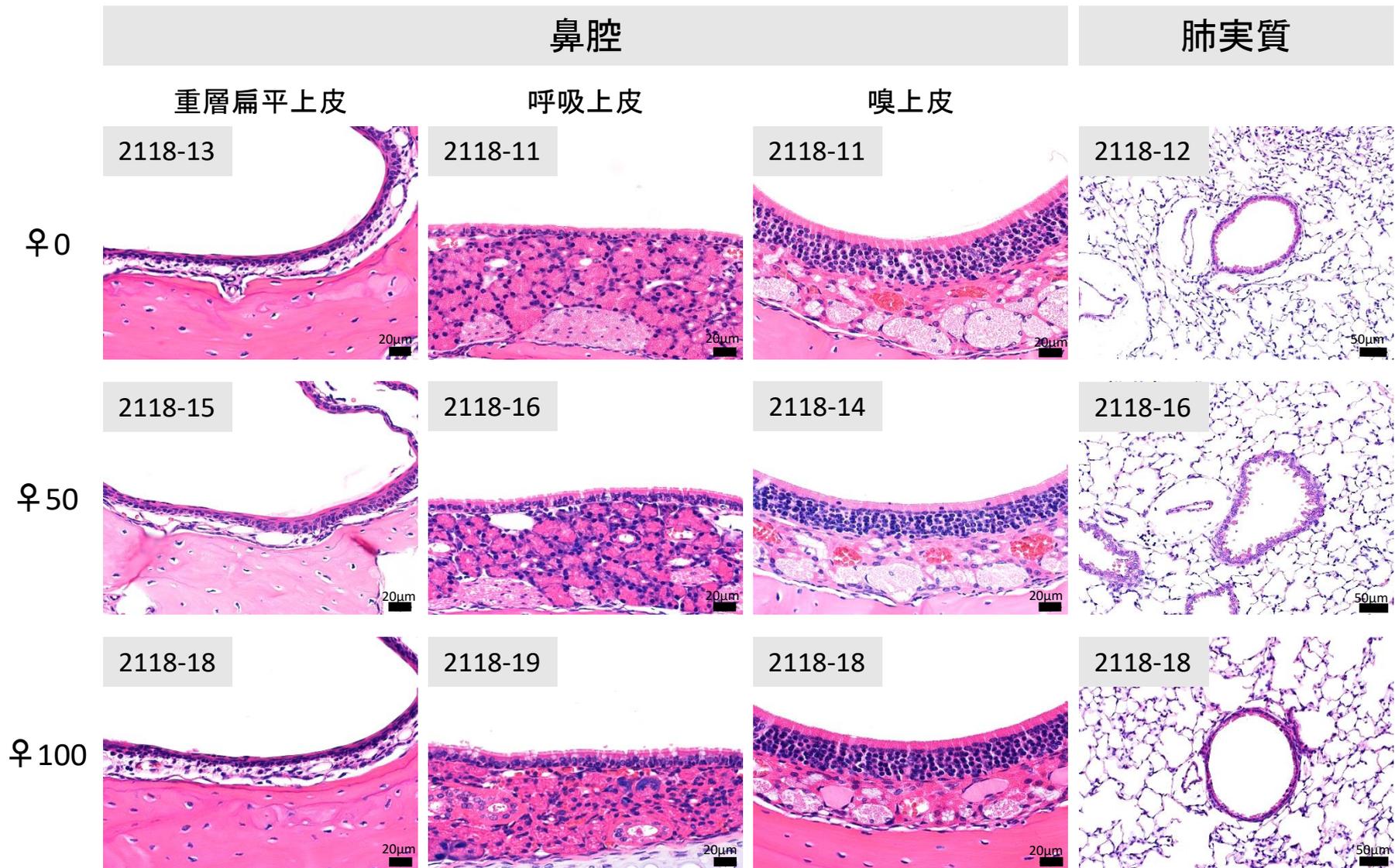


♂100群の一時的な体重減少を除き、
ばく露の影響を疑う結果は得られなかった。

■ 病理組織学的解析 雄マウス

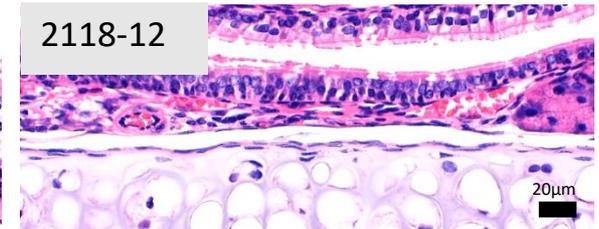
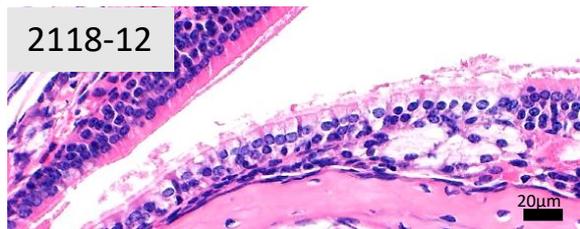
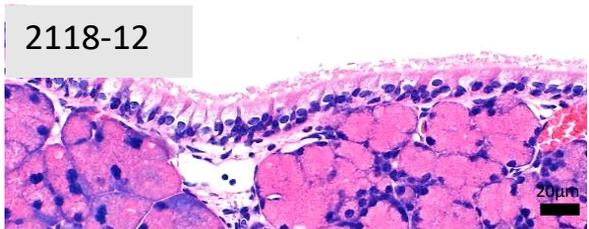


■ 病理組織学的解析 雌マウス

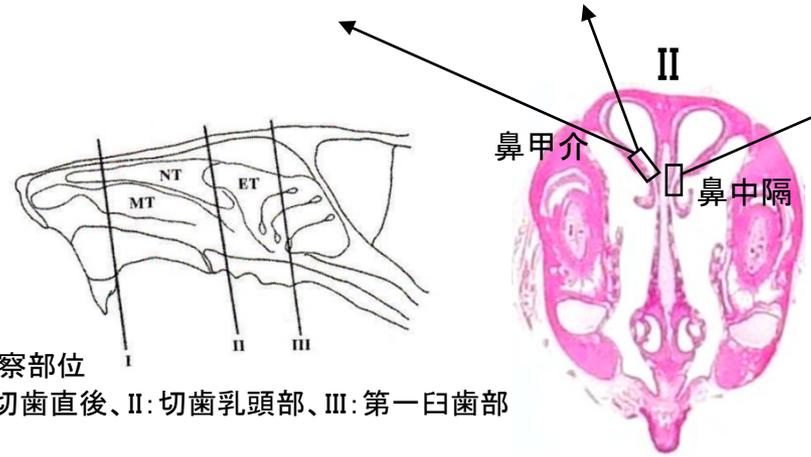
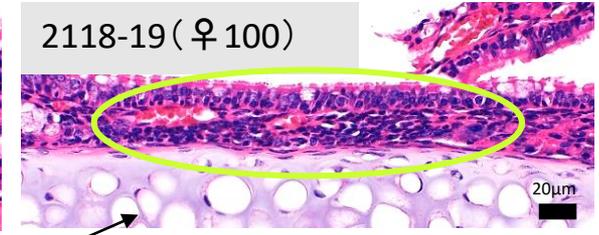
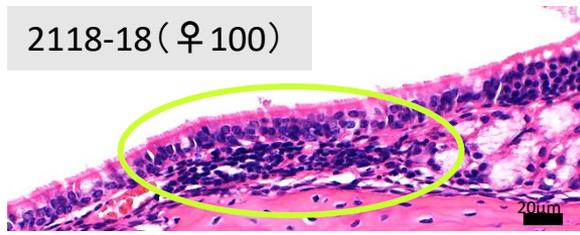
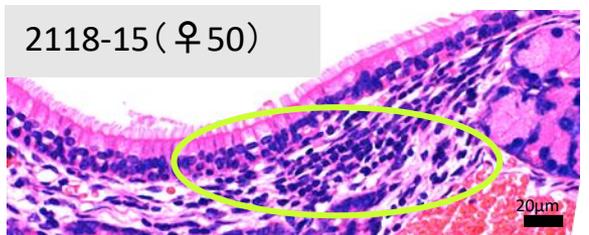


■ 鼻腔の粘膜下の白血球浸潤

対照群



ばく露群



観察部位
I: 切歯直後、II: 切歯乳頭部、III: 第一臼歯部

雌マウスで3例、呼吸上皮粘膜下にやや目立つリンパ球の浸潤像が認められた。
上皮細胞には変化が見られなかった。

まとめ・考察

- 最大500mg/m³という高濃度域のばく露でも、体重減少、急性症状及び呼吸器への器質的な影響は見られなかった。
- 14日間ばく露実験においては、鼻腔の粘膜下にわずかな炎症細胞の浸潤を認めたが、上皮の障害は見られず、反復ばく露による影響もやはり微弱であったと考えられる。
- 過去の硫酸アンモニウムの3か月間ばく露でもわずかに鼻腔粘膜下に細胞浸潤を認めたものの、顕著な影響は見られていない。

⇒硫酸水素アンモニウムは、酸性度が高いにも関わらず、毒性は極めて弱いことが示唆された。

⇒より長期間の反復ばく露影響と、即時的な影響について、引き続き調査する。

今後の予定

■ 28日間吸入ばく露実験

ばく露条件 鼻部吸入ばく露、週7日間、3時間/日

動物 BALB/cマウス 雌雄6匹ずつ

解析

BALFの分析 白血球数・LDH活性・総タンパク質

病理組織学的解析

分子生物学解析 炎症・酸化ストレス関連遺伝子等

群構成

群名	ばく露濃度 (mg/m ³)	水溶液濃度 (mg/L)
対照	0	0
低濃度	0.5	60
中濃度	5	540
高濃度	50	4500

■ 呼吸機能への即時影響

ばく露条件 気管挿管による肺内ばく露、30秒程度

動物 BALB/cマウス 雌6匹程度

濃度・群構成等 急性ばく露実験と同程度を検討中

解析 気道抵抗、エラスタンス、コンプライアンス等