

ドライクリーニング用有機溶剤
テトラクロロエチレンの鼻粘膜に
及ぼす影響に関する病理組織学的研究

青木 彰彦

①

ドライクリーニング用有機溶剤
テトラクロロエチレンの鼻粘膜に
及ぼす影響に関する病理組織学的研究

青木 彰彦

緒言

テトラクロロエチレン（一般名パークロロエチレン $\text{CCl}_2=\text{CCl}_2$ ）は従来から金属材料の脱脂溶剤¹⁾、半導体素子の洗浄やドライクリーニングにおける衣類の洗浄剤などとして広く使用されている有機溶剤である²⁾。わが国では近年、その廃液の地下水への混入による環境汚染が社会問題となり、人体の健康を害する恐れのある化学物質として法規制の対象に新たに加わった。最近筆者は、長期間ドライクリーニング用テトラクロロエチレンガスを吸入して発症したと考えられる高度の嗅裂炎を呈した嗅覚障害症例を経験したので報告した³⁾。

テトラクロロエチレンに関する臨床的な検討では、肝臓障害・腎臓障害・発癌性の可能性を示唆する報告がある⁴⁾。またテトラクロロエチレンに対する動物を用いた吸入曝露実験では、マウスに200ppm, 400ppm, 1600ppmの各濃度で曝露した結果、肝臓に脂肪浸潤を認め、肝臓毒性がありうるという報告⁵⁾や、妊娠マウスに300ppmのテトラクロロエチレンを曝露した実験で、胎児に対する毒性や発癌性は認められないという報告⁶⁾がある。しかし、テトラクロロエチレンの鼻粘膜に対する影響を検討した報告は無い。そこで筆者は上述の嗅覚障害症例の経験を契機として、テトラクロロエチレンの鼻粘膜に及ぼす影響を検討するために、マウスを用いてテトラクロロエチレンガスの吸入曝露実験を行ったところ、嗅部鼻粘膜（嗅粘膜）および呼吸部鼻粘膜の変性と再生などについて、病理組織学的に興味ある知見を得たので報告し、あわせて本物質の人間におよぼす効果について考察を加える次第である。

対象および方法

実験対象動物：5週齢のddY マウス雄(SPF)を埼玉県クリーン実験動物センターから購入した。すべてのマウスはプラスチック製の透明なケージに入れて1週間飼育した。50ppm 曝露実験群12匹と、300ppm 曝露実験群76匹、および対照群18匹とに分けた。50ppm 曝露群は12匹全部を金属網でできた曝露用ケージに入れた。一方300ppm 曝露群は19匹ずつ曝露用ケージに入れて、曝露チャンバー内に横に並べて置いた。曝露実験中に水および餌に付着したテトラクロロエチレンがマウス体内に経口的に吸収されることを防ぐために、曝露中は水と餌は与えなかった。毎日の曝露が終了すると曝露チャンバー内のケージからプラスチック製ケージにマウスを移しかえて飼育室に運び、そこで飼育した。

曝露方法 (図1)：テトラクロロエチレンガスの発生のために、ドライクリーニング用テトラクロロエチレン(純度99.9%)溶液(安定剤としてオルフィンビー 0.4%、アイオノール 0.1%、エピクロロヒドリン 0.1%を含む)を使用した。500mlのドライクリーニング用テトラクロロエチレン溶液を入れたガス洗滌びん(500ml 柴田製)を27℃の恒温槽の中に入れた。図1左の小型ビルトイン型エアポンプ(吸排両用型)からガス洗滌びんに送気することによって、高濃度のテトラクロロエチレンガス(大気圧下で飽和蒸気圧)を発生させた⁷⁾。このガスを連結管を通して、チャンバー内に流入する送気ダクトに導入した。チャンバー内のテトラクロロエチレン濃度は、エアポンプの圧および送気ポンプの圧の両者を適宜加減させることによって、50ppm および300ppmになるように調整した。湿度は50%から55%に、温度は24℃から26℃に各々調整した。

曝露容器は図1の中央に示すような容積600lのガラス・ステンレス製の曝露チャンバーを用いた。換気は1時間に6回行った。

曝露は毎日午前10時から開始して6時間で連続5日間施行した。チャンバー内のガス濃度は、テトラクロロエチレン用北川式検知管によって実験中随時測定した。

排気はツルミコール4GS-S型活性炭15kgにテトラクロロエチレンガスを吸着させた。排気中のテトラクロロエチレンガス濃度が、産業現場で用いられている許容濃度⁸⁾の50ppm以下であることを確認して屋外に排気した。

対照群は曝露群と同様曝露チャンバーに入れ、テトラクロロエチレンガスが検出されない状態の室内の空気を同時間吸入させた。

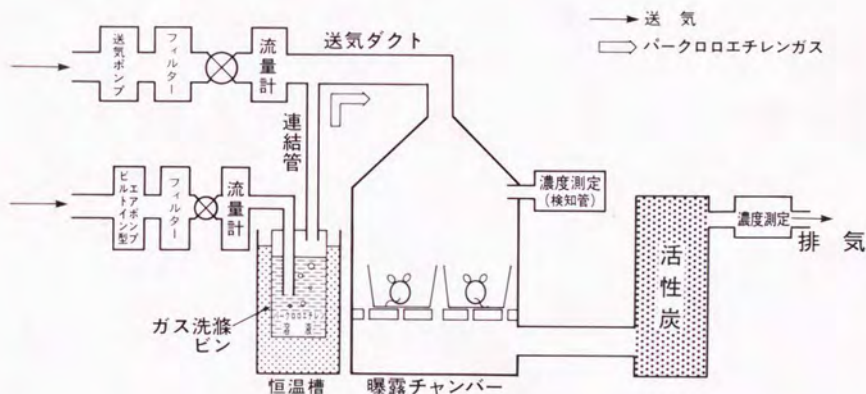


図1 パークロロエチレンガスの発生と曝露方法

病理組織学的観察：連続5日間の曝露実験終了後、50ppm 曝露群は1日・2日・4日・1週後にそれぞれ、マウスにペントバルビタールナトリウム溶液 20mg/kg (ネンプタール[®]) を腹腔内投与して麻酔後、腹部大動脈を切断して放血し各々3匹ずつ屠殺した。300ppm 曝露群については、曝露実験終了後1日・2日・4日・1週・2週・3週・1か月・2か月・3か月後に50ppm 曝露群と同様にし屠殺した。1日後・2日後・4日後・1週後は各々9匹ずつ、2週後・3週後・1か月後・2か月後・3か月後は各々8匹ずつ屠殺した。すべてのマウスは標本作製のため、頭部を採取し下顎を除去後、皮膚・筋肉などの軟部組織を除去して鼻部の骨面を露出した。そして10%緩衝ホルマリン液に入れて5日間固定した後、5%トリクロロ酢酸溶液で脱灰して5%硫酸ナトリウム溶液で中和した。マウスの鼻部を、顎骨鼻介と鼻骨鼻介が現れる面、鼻尖から嗅室までの間のほぼ中央部の面、嗅室の面という3つの前額断面が出るように切り出した²⁾。切り出した組織をアルコール系列で脱水後パラフィンで包埋した。3μmの厚さの切片を作製し、ヘマトキシリン—エオジン染色(以下 HE染色と略す)および periodic acid Schiff 染色(以下 PAS染色と略す)をして、それらを病理組織学的に検討した。

対照群については、実験終了後1日・2日・4日・1週・2週・3週・1か月・2か月・3か月後に屠殺し標本作製して、HE染色とPAS染色とで病理組織学的に観察した。

結果

マウスの行動状況

50ppm および300ppmの各曝露群では、鼻入口部皮膚のただれ、あるいは鼻汁の分泌や咳こみのような上気道の刺激症状は全例で認められなかった。脱毛あるいは毛の逆立ちなどもなかった。屠殺するまでに死亡したものは無かった。対照群は全例に異常所見は認めず、死亡したのものも無かった。

病理組織学的所見

I. 嗅粘膜

i 対照群のマウス

曝露後1日後と4日後の群において鼻腔内には細胞成分の乏しい少量の分泌物を認めるマウスが少数あった。嗅粘膜については異常所見は認められなかった。すなわちHE染色では支持細胞、嗅細胞、基底細胞で構成された多列円柱上皮である嗅粘膜上皮細胞層と、粘膜固有層が認められた。粘膜上皮には線毛は無く、代わって微細な毛状突起物が鼻腔内に突出していた。粘膜固有層にはボーマン腺と嗅神経束がみられた(図2a)。

一方PAS染色では嗅粘膜上皮細胞層の細胞は染色されず、基底膜および粘膜固有層のボーマン腺はPAS染色陽性であった(図2b)。

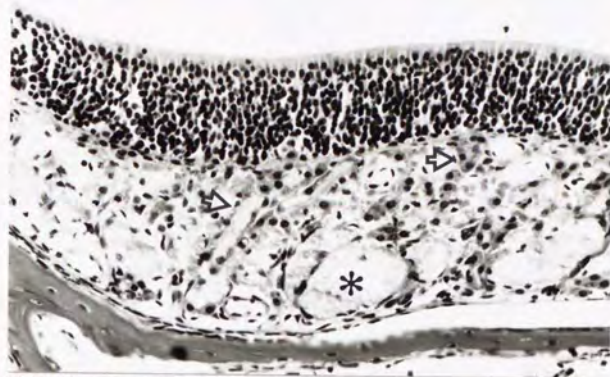


図 2 a 対照群マウスの嗅粘膜 (H E) ×80

支持細胞，嗅細胞，基底細胞から構成された多列円柱上皮である嗅粘膜上皮細胞層と粘膜固有層から構成される。粘膜固有層には，ボーマン腺 (↑) と嗅神経束 (*) がみられた。

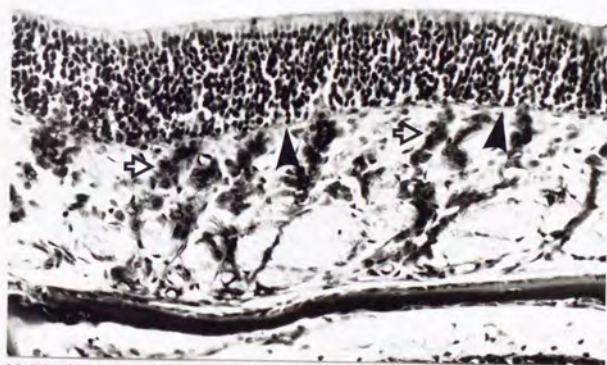


図 2 b 対照群マウスの嗅粘膜 (P A S) ×80

嗅粘膜上皮細胞層は P A S 染色で染色されなかった。基底膜 (▲) と粘膜固有層のボーマン腺は (↑) 陽性に染色された。

ii 50ppm 曝露群

曝露4日後の群のマウスで鼻腔内に少量の分泌物があった。他の曝露1日後から1週後の各日数の群においては、鼻腔内には分泌物はなかった。嗅粘膜にはすべてのマウスで異常所見は認められなかった(図3)。

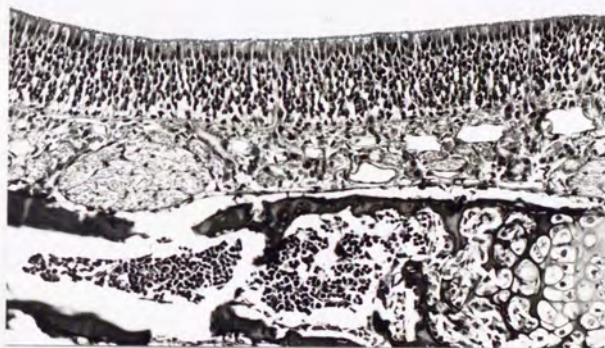


図3 曝露1日後 (HE) ×50 鼻中隔

対照群と同様、嗅粘膜には異常所見を認めなかった。

iii 300ppm 曝露群

曝露1日後

鼻腔内に脱落上皮と好中球からなる分泌物を認めた(図4a)。嗅粘膜の病変は広範に認められ連続性であった(図4a)。

上皮の変性は著明で，支持細胞と嗅細胞が変性して脱落し，基底部の細胞層が一層のみ残っている部位と，二から三層の細胞層が残っている部位とが混在していた．PAS染色では一部の基底膜は不鮮明になっていたが，ほとんどの部位の基底膜は保存されていた．しかし組織欠損は上皮の剥離を伴ったびらんに残っていた（図4b）．

ボーマン腺の拡張は著しかった．粘膜固有層に炎症細胞の浸潤があった．

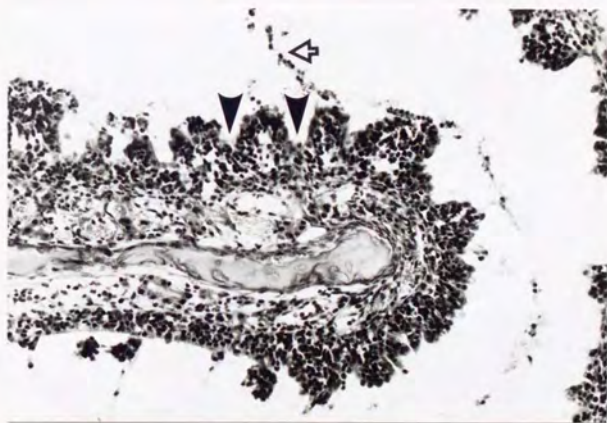


図4 a 曝露1日後（HE）×66 第Ⅱ内鼻介

鼻腔内に脱落上皮と好中球からなる分泌物があった（ \blacktriangleleft ）

．嗅粘膜の病変は広範で連続性であった（ \blacktriangle ）．



図 4 b 曝露 1 日後 (PAS) ×66 第 II 内鼻介
基底膜 (▲) は保存されている部位が多く，上皮はびらんに留まっていた。

曝露 2 日後

鼻腔内には主として脱落上皮を含む分泌物を認めた。

嗅粘膜の病変は多くのマウスで 1 日後と同様，連続的で広範であったが，びらんに留まっていた。HE 染色で上皮の変性が高度な部位でも，基底膜は曝露 1 日後と同様であった。

ボーマン腺の拡張は 1 日後と同様であった。炎症細胞の浸潤が散在性に認められた。

曝露 4 日後

鼻腔内には脱落上皮と好中球とが混在した分泌物を認めた。

嗅粘膜上皮の変性は、曝露 1 日後および 2 日後の所見と同じ程度であった。一部の粘膜上皮の表面を、扁平で濃縮した核を持った変性した細胞が被っていたが、その下層では核小体のはっきりした明澄な核を有する再生上皮細胞と考えられる細胞集団が認められた (図 5 a)。

このような部位では P A S 染色で基底膜が認められた (図 5 b)

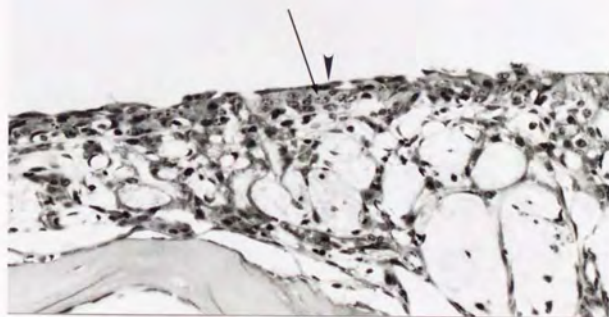


図 5 a 曝露 4 日後 (H E) $\times 100$ 天蓋部

粘膜上皮の表面を扁平な濃縮した核を持った変性細胞が被い (▲)，その下層には核小体のはっきりした明澄な核を有する再生上皮細胞を認めた (↑)。

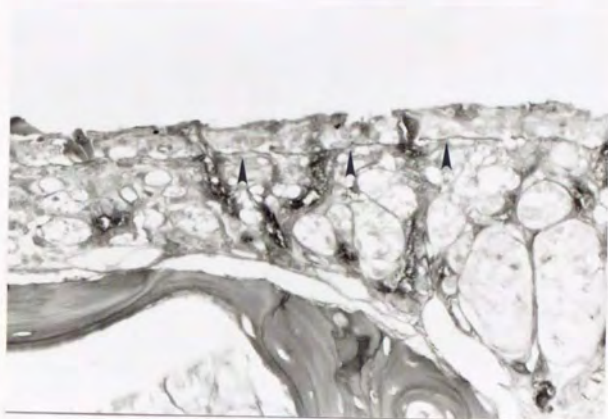


図 5 b 曝露 4 日後 (P A S) × 100 天蓋部
基底膜は保存されていた (▲)。

一方、P A S 染色で基底膜が不明瞭である上皮の部分でも、同様の再生上皮細胞と考えられる細胞集団が認められた (図 6 a, b)

上皮がびらんした部位の嗅神経束は疎であった。ボーマン腺と粘膜固有層への炎症細胞の浸潤は、曝露 4 日後と同程度であった。

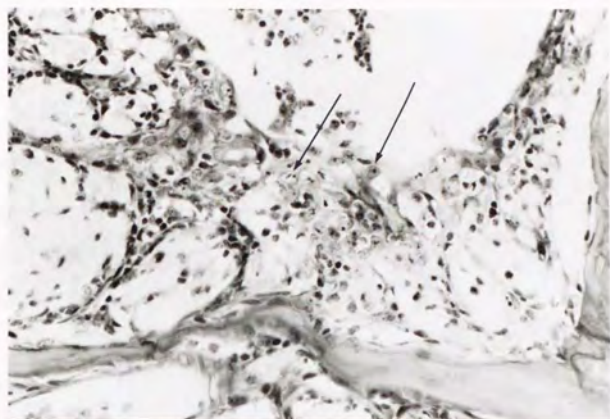


図 6 a 曝露 4 日後 (H E) × 100 第 I 内鼻介

核小体のはっきりした明澄な核を有する再生上皮細胞を認めた (↑) .

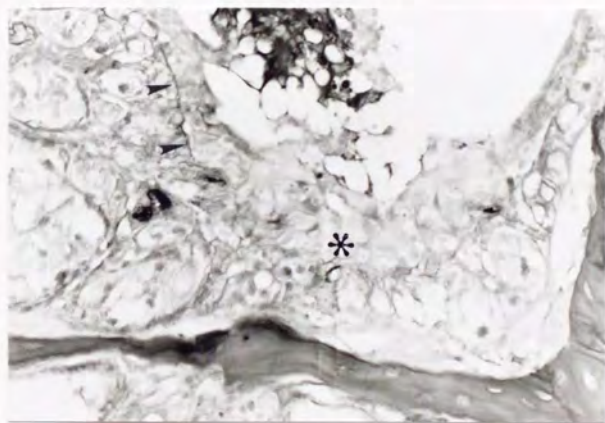


図 6 b 曝露 4 日後 (P A S) × 100 第 I 内鼻介

基底膜が一部明瞭な部位もあったが (A) , 上皮の障害が高度であった部位では一部の基底膜が不明瞭になっていた (*).

曝露 1 週後

鼻腔内の分泌物は曝露 4 日後と同様であった。

嗅粘膜の上皮は曝露 4 日後の所見と同様、びらん部位、扁平な核の細胞が表面を被った部位および明瞭な核小体を持った明瞭な核の再生上皮細胞などの所見を認めた。基底膜は曝露 4 日後と同様であった。

嗅神経束の萎縮とボーマン腺の拡張および粘膜固有層の炎症細胞の浸潤は、4 日後と同程度であった。

曝露 2 週後

鼻腔内には、脱落上皮を多量に含む分泌物を認めた。

すべてのマウスの嗅粘膜にびらんが認められたが、明瞭な核小体を有する明瞭な核の再生上皮細胞は認められなかった。

本来の嗅粘膜上皮の形態である多列円柱上皮に修復されている上皮を認めた (図 7)。このような上皮の一部で、細胞配列の乱れがあった (図 8)。

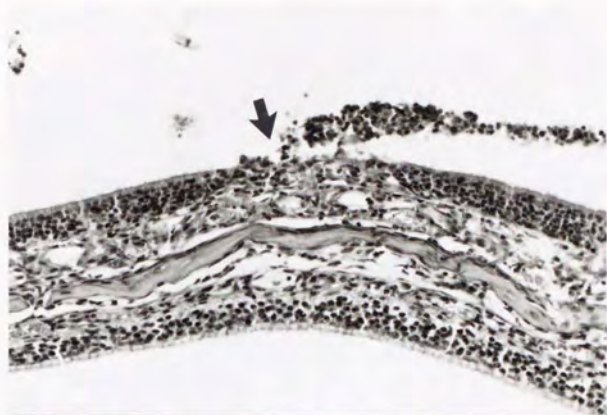


図 7 曝露 2 週間後 (H E) × 80 第 IV 内鼻介
嗅粘膜のごく一部の上皮にびらんがあったが (↑), 他の
部位の上皮は正常にみえた.

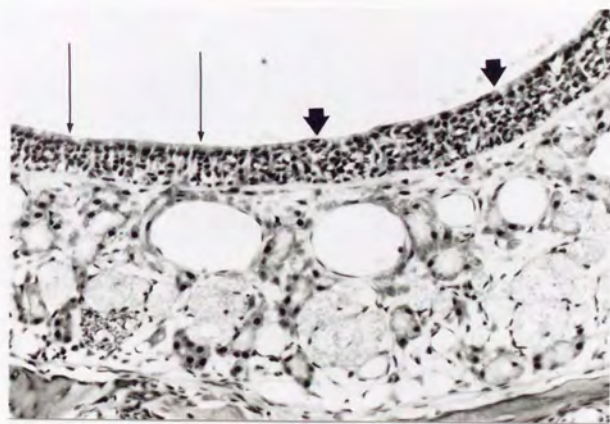


図 8 曝露 2 週間後 (H E) × 80 鼻中隔
不整な核を有する細胞が多く (↑), また上皮細胞層の配
列が乱れていた (↑), しかし多列円柱上皮であった.

また、少数のマウスにおいて、本来は嗅粘膜上皮である部位が多列線毛上皮で被われていた。このような部位でも、PAS染色で基底膜が認められた（図9 a, b 図10）。

上皮のびらんや線毛上皮で被われた部位の粘膜固有層では、曝露1週間と同様であったが、これら以外の粘膜固有層は正常所見であった。

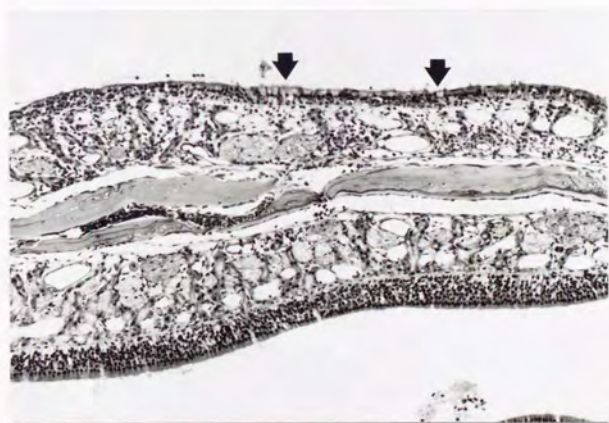


図9 a 曝露2週間後（H E）×40 鼻中隔

本来は嗅粘膜である部位の上皮が、線毛上皮細胞で被われていた（↑）。



図9 b 曝露2週間後 (HE) ×100 鼻中隔

図9 aの (▲) 部分の強拡大. 上皮細胞表面に線毛がみられた (↑).



図10 曝露2週間後 (HE) ×100 鼻中隔

図9 bのPAS染色では基底膜は保存されていた (▲).

曝露 3 週後

鼻腔内の分泌物には脱落上皮と好中球およびリンパ球を認めた。

嗅粘膜の病変は2週後の所見と同様であった。嗅粘膜上皮が線毛上皮化した部位のPAS染色では、基底膜は連続性に染色されており、さらに上皮細胞の中にPAS陽性の細胞質を有する杯細胞様細胞が混在していた(図11a, b)。



図11a 曝露3週間後(PAS)×40 鼻中隔

本来の嗅粘膜の部位の上皮が、曝露2週後と同様に線毛上皮細胞で被われていた(▲)。上皮細胞の中にPAS陽性の細胞質を有する杯細胞様の細胞(↑)が混在していた。



図11 b 曝露3週間後 (PAS) ×100 鼻中隔

図11 a の強拡大. 基底膜は連続性に染色されていた (▲)
 . 上皮細胞中にPAS陽性の杯細胞に似た細胞が混在して
 いた (↑).

本来の嗅粘膜上皮の形態に戻っている上皮の部位でも、細胞間の
 間隙が広く上皮細胞層が疎にみえる部位 (図12) があつた. これら
 の部位でもPAS染色で基底膜は保存されていた.

粘膜固有層は、曝露2週後と同様であつた.

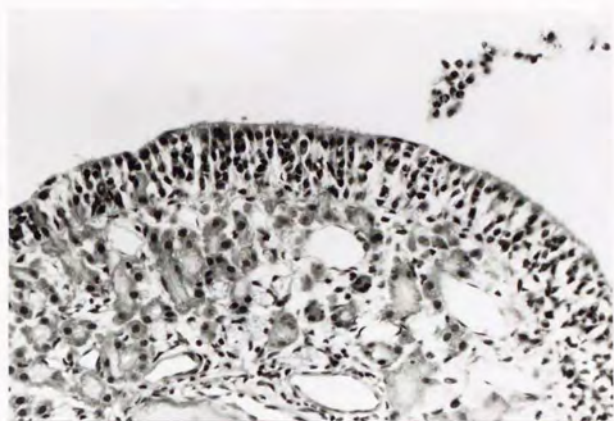


図12 曝露3週間後 (HE) $\times 100$ 第Ⅱ内鼻介
上皮細胞の細胞間の間隙が広く配列も乱れ、上皮細胞層が疎にみえた。

曝露1か月後

鼻腔内には、脱落上皮と一部好中球から成る分泌物がみられた。嗅粘膜の修復は進み、少数ではあるがびらんの存在しないマウスがあった。びらんがあるマウスでも、その病変は散在性に存在していた。ほぼ正常の嗅粘膜上皮の部位でも、上皮細胞の間隙が広く上皮細胞層が疎にみえる部位が混在していた。曝露3週間と同様、嗅粘膜部位が線毛上皮で被われた部位があった。このような上皮は本来の呼吸部鼻粘膜の上皮と連続しており、両者の区別をつけるのが困難であった。基底膜はすべて保存されていた。

粘膜固有層は、曝露3週間と同様であった。

曝露 2 か月後

鼻腔では，分泌物の貯留を認めなかった。

嗅粘膜の修復は曝露 1 か月後よりさらに進み，すべてのマウスにおいてびらんは存在していなかった。嗅粘膜の上皮が線毛上皮で被われた部位を有するマウスと，このような上皮を有さないマウスとがあった。後者のようなマウスの上皮ではその細胞配列は多列非線毛円柱上皮であったが，曝露 1 か月後と同様に上皮細胞層の細胞間隙が広く，疎にみえる部位も混在していた。基底膜はすべて保存されていた。

線毛上皮で被われた部位の嗅神経束は萎縮し，ボーマン腺は拡張していた。変性した上皮以外の部位の嗅神経束とボーマン腺は正常であった。

曝露 3 か月後

曝露 2 か月と同様，鼻腔では分泌物の貯留を認めず，上皮では線毛上皮で被われた部位を有するマウスと，このような上皮を有さないマウスとがあった。

上皮に変性所見のない部位の粘膜固有層では，嗅神経束およびボーマン腺は正常であった。一方，上皮が線毛上皮で被われた部位の粘膜固有層では嗅神経束は萎縮し，ボーマン腺は消失したものが多かった。また，一部のボーマン腺の腺細胞が線毛上皮に化生した所見を認めた（図 13 a, b）。

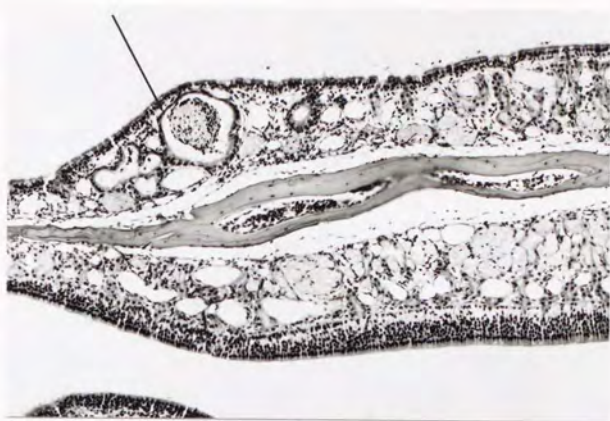


図13 a 曝露 3 か月後 (H E) × 33 鼻中隔
一部のボーマン腺が線毛上皮に化生していた (↑)。

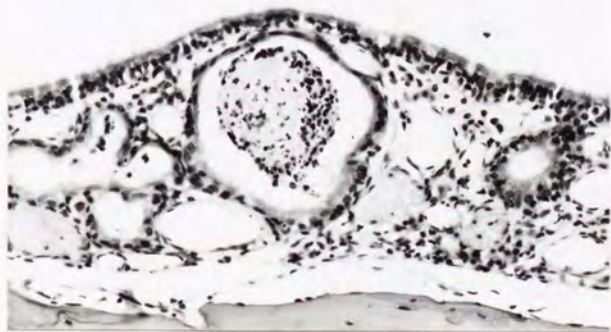


図13 b 曝露 3 か月後 (H E) × 80 鼻中隔
図13 a の (↑) 部分の強拡大。

II. 呼吸部鼻粘膜

i 対照群

曝露1日後から3か月後のいずれの時期でも，呼吸部粘膜に異常所見はなかった．すなわちHE染色では呼吸部鼻粘膜は多列線毛上皮であり，鼻腔面には多数の線毛を認めた．基底膜を隔てて粘膜固有層があり，鼻腺を認めたがボーマン腺は無く，また腺構造も両方で明らかに異なっていた（図14a）．

PAS染色では，上皮細胞に混在する杯細胞が陽性に染色された．鼻腺も良好に染色された．基底膜も嗅粘膜部位におけると同様，陽性に染色された（図14b）．

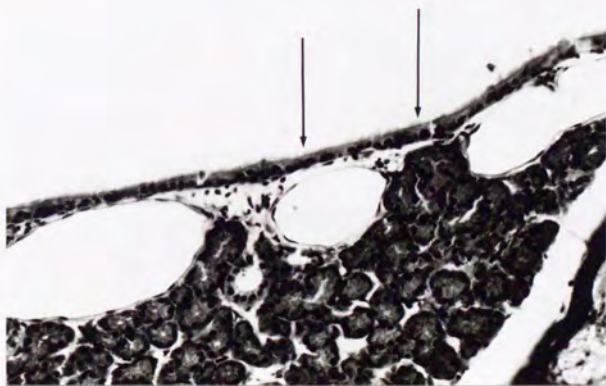


図14 a 対照群マウスの呼吸部鼻粘膜（HE）×80

多列線毛上皮であり，鼻腔面には線毛を認めた（↑）．粘膜固有層にはボーマン腺は無く，鼻腺を認めた．



図14 b 対照群マウスの呼吸部鼻粘膜 (PAS) ×80
上皮細胞に混在する杯細胞が陽性に染色された (↑)。
基底膜 (▲) および鼻腺も良好に染色された。

ii 50ppm 曝露群

曝露1日後から1週間までのすべてのマウスは対照群と同様の所見であり、上皮に異常所見を認めなかった (図15)。



図15 曝露1日後 (H E) ×50 鼻中隔
呼吸部鼻粘膜に異常所見はなかった。

iii 300ppm曝露群

曝露1日後

上皮には明らかな病変を認めなかった。

粘膜固有層に炎症細胞の浸潤を散在性に認めた (図16 a) 。 P A S 染色では杯細胞と基底膜は対照群のそれらと同様の所見であった (図16 b) 。

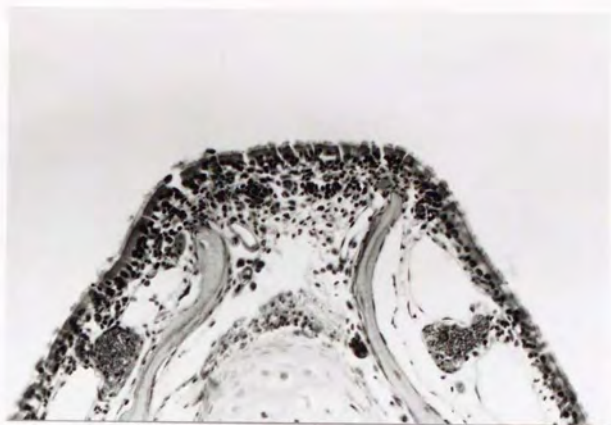


図16a 曝露1日後 (H E) ×80 鼻中隔
呼吸部鼻粘膜の上皮細胞には変化はないが、粘膜固有層に炎症細胞の浸潤があった。

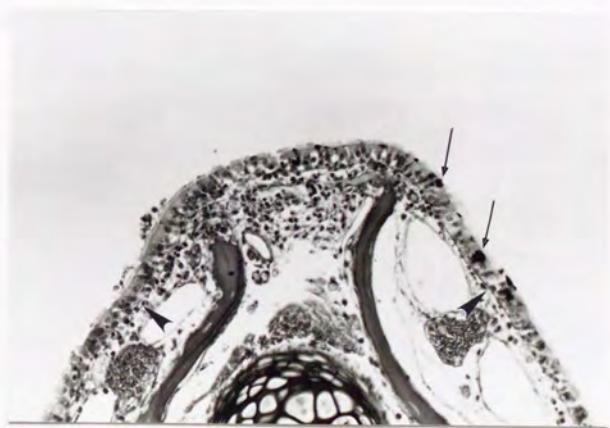


図16b 曝露1日後 (P A S) ×80 鼻中隔
上皮細胞の中にP A S陽性の杯細胞が混在していた (↑)
。基底膜は保たれていた (▲)。

曝露 2 日後

上皮および粘膜固有層には病変を認めなかった。

曝露 4 日後

散在性に上皮細胞の変性・濃縮を認めたが、びらんは認めなかった。また一部に上皮の再生像を認めた。

粘膜固有層では炎症細胞の浸潤を認めた。

曝露 1 週後

上皮および粘膜固有層は、曝露 4 日後の所見と同様であった。

曝露 2 週後

上皮および粘膜固有層は、曝露 1 週後の所見と同様であった。

曝露 3 週後

曝露 2 週後の所見と同様の上皮の変性があり、さらに一部の上皮細胞は脱落していた (図17)。粘膜固有層では炎症細胞の浸潤を認めた。

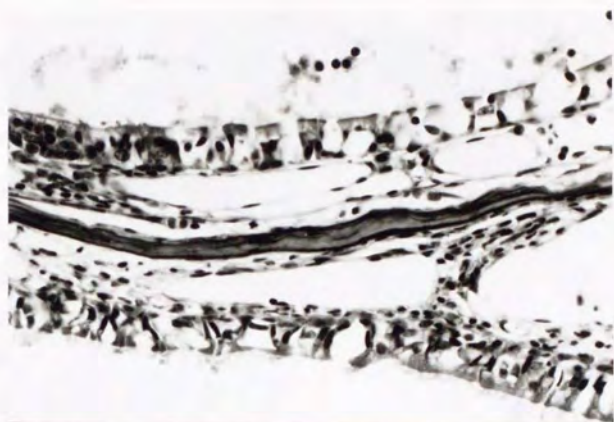


図17 曝露3週間後 (HE) ×120 鼻中隔
呼吸部鼻粘膜上皮細胞に変性があり、一部分は脱落していた。

曝露1か月後

上皮には病変はなかった。

粘膜固有層は曝露3週間後と同様であった。

曝露2か月後

曝露1か月後の所見と同様、上皮には病変はなく、粘膜固有層に炎症細胞の浸潤があった。

曝露3か月後

上皮および粘膜固有層には病変を認めなかった。

考按

現在使用されている有機溶剤には多くの種類があり、これら有機溶剤による障害について耳鼻咽喉科領域でも、平衡感覚の障害^{(10)~(15)}、耳鳴⁽¹⁰⁾⁽¹⁵⁾、難聴⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾などが報告されているが、まれに嗅覚障害⁽¹¹⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁶⁾や味覚障害^{(14)~(16)}の発症例の報告がある。しかしテトラクロロエチレンによる耳鼻咽喉科領域の障害に関しては、筆者の経験した嗅覚障害の報告³⁾があるだけである。

各種有害物質の動物に対する曝露実験の検討から、同じ鼻粘膜でも有害物質の種類によっては障害を惹起する部位に差異があることが認められている。嗅粘膜のみ障害を起し呼吸部鼻粘膜にはほとんど障害を及ぼさないものとして、プロピレングリコールモノメチルアセテート⁽¹⁷⁾、メチルプロマイド⁽¹⁸⁾、3—トリフルオロメチルピリジン⁽¹⁹⁾などが報告されている。一方嗅粘膜と呼吸部鼻粘膜の両者に障害を惹起するものとして、二酸化窒素⁽²⁰⁾、クロリン⁽²¹⁾、3—メチルフラン⁽²²⁾、ジメチルアミン⁽²³⁾、メチルイソチアネート⁽²⁴⁾などが報告されている。嗅粘膜の障害は軽度で主として呼吸部鼻粘膜に障害を及ぼすものは、亜硫酸ガスがある⁽²⁵⁾。このようにさまざまな有害物質によって鼻粘膜に惹起される障害部位が異なるのは、水に良く溶ける有害物質ほど鼻内でよく吸収され、しかもそれによる障害は鼻入口部に近い部位に限られることが多く、一方水に難溶性の有害物質は鼻粘膜よりも肺の方を障害することが多いのが原因の1つとされている⁽²⁶⁾。しかし揮発性の物質では、水に対する溶解度の相違は粘膜障害性に対して関連が少ない⁽²⁷⁾とされており、水に難溶性でも揮発性であるテトラクロロエチレンは、鼻粘膜に直接作用して、障害を惹起させることが考えられる。また、鼻内の気流動態によ

って嗅粘膜と呼吸部鼻粘膜へのガスの曝露量に違いが生じれば、この両者の粘膜の障害の程度に影響がでることが考えられる。一般に、鼻内気流に伴って侵入した有害ガスに曝露され易い部位に病変が高度となり、嗅粘膜では腹側より背側が気流の分布が大であるために、背側の嗅粘膜に障害が大きい傾向がある²⁶⁾。

今回の曝露実験ではテトラクロロエチレンを完全にガス化して1日6時間で5日間連続曝露しているのので、嗅粘膜のみならず呼吸部鼻粘膜にも充分量のテトラクロロエチレンが曝露されていることが考えられる。したがって今回の実験では、鼻内気流の動態によって嗅粘膜と呼吸部鼻粘膜とで曝露量が異なるとは考えにくく、テトラクロロエチレンは嗅粘膜と呼吸部鼻粘膜の両者に同じように作用して、障害を同程度惹起させうるはずである。しかしながら今回の実験結果から、50ppmでは呼吸部鼻粘膜と嗅粘膜の両者に病変は生じなかったが、300ppmでは呼吸部鼻粘膜に比べて嗅粘膜の障害が著しいことが判明した。さらに背側の嗅粘膜と腹側の嗅粘膜とでは障害の程度に差がなく、鼻入口側と嗅室側とでも同様であった。また今回使用したテトラクロロエチレン溶液はドライクリーニング用であり、安定剤としてオルフィンビー、アイオノール、エピクロルヒドリンがごく少量ずつ添加されているが、これらの化学物質に関する毒性学的な報告はいくつかあるが、今のところ嗅粘膜に対する障害の記載はない²⁸⁾⁻³⁰⁾。今後これらの物質の嗅粘膜に対する影響を詳細に調べる必要があるものの、テトラクロロエチレンは、ある程度の濃度以上になると主として嗅粘膜に障害をおよぼす可能性を有することが考えられる。

嗅粘膜の再生に関する病理組織学的検討については、嗅神経の切

断³¹⁾⁻³⁶⁾，薬剤の点鼻⁷⁾³⁷⁾⁻⁴¹⁾，有毒ガスの吸入³⁶⁾⁴²⁾などの手段を用いて，実験的にさまざまな動物の嗅粘膜に障害を与えて研究が行われている。

嗅神経の切断実験では，マウス³¹⁾³⁶⁾，鳩³²⁾，ラット³³⁾，モルモット³⁴⁾，蛙³⁵⁾などが用いられている。これらの実験では対象となった動物は異なっているが，いずれも嗅細胞が早期から変性し，やがて基底細胞の分化によって嗅細胞が再生して嗅粘膜の修復がなされる³¹⁾⁻³⁵⁾。このような実験での嗅粘膜上皮の線毛上皮への化生については，切断による影響にさらに何らかの影響が加わって嗅粘膜の基底細胞か近接する呼吸部鼻粘膜の基底細胞，あるいはボーマン腺の導管細胞のいずれかが母細胞となって，線毛上皮に分化するという報告³⁶⁾と，嗅粘膜の基底細胞だけが母細胞となってその本来有する多能性により線毛上皮細胞に分化するという報告³⁵⁾とがある。

薬剤の点鼻実験では硫酸亜鉛溶液を用いて，マウス⁷⁾³⁷⁾³⁹⁾⁴¹⁾，兎³⁸⁾，モルモット⁴⁰⁾に行っている。これらの実験で嗅粘膜の再生に関する所見では，嗅粘膜だけに分化，再生するという報告³⁷⁾⁴⁰⁾⁴¹⁾と，嗅粘膜の上皮部位に一部線毛上皮が認められるという報告⁷⁾³⁸⁾がある。これらの実験のうち，再生した上皮が嗅粘膜上皮である場合の母細胞に関しては，Hardingら³⁷⁾は，嗅粘膜上皮の構成細胞である嗅細胞，支持細胞，基底細胞のすべてが脱落するにもかかわらず嗅粘膜上皮は再生してくるため母細胞の起源は不明であると述べている。また飯泉ら⁴⁰⁾は，嗅細胞の分化，再生のための貯蔵細胞である「胚芽細胞」が母細胞となるとしており，Matulionisら⁴¹⁾は，上皮の障害の免れた正常な部分の上皮からの細胞が移行，伸展してきて母細胞の役割を担うと述べている。一方，嗅粘膜上皮部位が線毛上

皮で被われる機序に関して、Mulvaneyら³⁴⁾は、ボーマン腺の腺細胞あるいは導管細胞が母細胞になると述べており、上出³⁾は、嗅細胞の障害が軽微な場合は本来の嗅粘膜の上皮に修復されるが、完全に剝離脱落した場合は近傍の呼吸部鼻粘膜から線毛上皮が伸展してきて、露出した粘膜固有層を被覆すると述べている。

マウスに対するホルマリンガスの影響をみた実験³⁶⁾では、嗅粘膜の再生に関して嗅粘膜上皮に再生する部位と線毛上皮化生する部位とがあると報告されている。モルモットに対して二酸化窒素ガスを曝露した実験⁴²⁾では、嗅粘膜の障害が軽度であると嗅粘膜上皮は修復されると報告されている。

以上の嗅粘膜の再生に関する種々の実験の結果をまとめると、嗅粘膜の再生上皮が嗅粘膜上皮に分化する場合の母細胞は、嗅粘膜上皮の基底細胞か胚芽細胞になるか、あるいは母細胞は不明であるが障害から免れた周辺の上皮細胞が関与すると考えられる。一方、本来の嗅粘膜上皮部位が線毛上皮に被われる機序は、近傍の呼吸部鼻粘膜から線毛上皮が伸展してくる場合と嗅粘膜上皮が線毛上皮に化生する場合とがある。嗅粘膜上皮が線毛上皮に化生する場合の母細胞には、嗅粘膜の基底細胞、近接の呼吸部鼻粘膜の基底細胞、ボーマン腺の導管細胞の三者になるか、嗅粘膜の基底細胞か、あるいはボーマン腺の腺細胞ないしは導管細胞になると考えられる。

今回筆者の行った曝露実験での嗅粘膜の病理組織学的所見では、300ppm曝露群については曝露1日後から嗅粘膜上皮に著明な病変が認められた。基底膜の一部が不鮮明になっていた部位はあったが、組織障害はびらんにとどまっていた。このような所見は曝露1か月後まで認められた。曝露4日後には、粘膜上皮の表面に扁平で濃縮し

た核を持った変性細胞が認められたと同時に、明瞭な核小体を持った明瞭な核を有する細胞を認めた。後者の細胞は再生上皮に一致する特徴を有しており、したがってこれが嗅粘膜上皮の障害に対する修復過程の第一段階と考えられた。このように上皮組織の修復のための細胞が曝露後かなり早い時期から認められたことから、障害から免れた細胞がこの再生上皮細胞の起源になっていることが考えられる。今回の実験の全経過を通じて基底膜はほとんどの部位で保存されていたが、このような部位では基底膜に接して存在する基底細胞も脱落せずに保存されていたことが考えられる。したがって残った嗅粘膜上皮の基底細胞が分化して、再生上皮の細胞になった可能性があると考えられる。しかし図6 a, bで示したように、障害が高度で基底膜が不鮮明になった部位でも再生上皮細胞の認められた部位があるため、基底細胞だけが分化して再生上皮細胞になるとは断定できない。粘膜固有層にはボーマン腺も残存しており、この腺細胞が分化した可能性もあり、今回の実験結果からだけでは再生上皮細胞の詳細な起源は不明である。

扁平な細胞と明瞭な核の細胞は、曝露1週後までは認められたが、曝露2週後では消失していた。代わって曝露2週後からは不整な核を有する上皮細胞が多数みられた。さらに本来は多列非線毛円柱上皮である嗅粘膜上皮の一部が、多列線毛上皮で被われていた。曝露3週後からは、嗅粘膜上皮は、上皮細胞の配列が疎にみえる部位の混在した多列非線毛円柱上皮の部位と、線毛上皮で被われた上皮の部位とに分かれた。PAS染色でこの両者の上皮の基底膜は保たれていた。同様の所見は曝露3か月後までみられた。線毛上皮の部位では、PAS陽性の細胞が混在しており杯細胞と考えられたが、

呼吸部鼻粘膜とよく似た所見であった。核の明澄な再生上皮細胞が消失した時期に、代わって線毛細胞が出現したことから考えて、この両者の細胞の間に何らかの関係があることが推測される。再生上皮細胞が本来の嗅粘膜上皮細胞だけに分化するのか、あるいは線毛上皮細胞にだけ分化するのか、あるいはこの両者に分化するのか、という点については、今回の実験結果からだけでは不明である。また、なぜ嗅粘膜上皮が部位によって多列非線毛円柱上皮に修復されたり、多列線毛上皮になるのか、という点についても不明である。マウスに対してホルマリンガスを用いた実験では、支持細胞が残存した部位は嗅粘膜上皮に再生するが、支持細胞が変性脱落した部位では嗅粘膜上皮に再生できずに、近接した呼吸部鼻粘膜の基底細胞と遺残した嗅粘膜の基底細胞およびボーマン腺の導管細胞の三者が分化、再生して線毛上皮に化生する⁴⁶⁾と報告されており、支持細胞の残存の有無が再生の様式を規定する因子になる可能性がある。これらの点については、今後さらに検討を要すると考える。

ボーマン腺については、曝露1日後から曝露2か月後まで変性した嗅上皮の部位と線毛上皮で被われた部位では従来の報告⁴³⁾と同様に腺組織の拡張所見を認めた。曝露3か月後の群で、嗅上皮が線毛上皮で被われた部位の多くのボーマン腺は萎縮したり消失したが、一部の腺組織は線毛上皮化生していた。これは3か月後の群だけにみられた所見であり、上皮の変化に伴う2次的な変化と考えた。

線毛上皮で被われた部位が将来嗅粘膜上皮に再び分化するか否かという点について考えてみる。マウスではautoradiographyあるいは免疫組織化学的技法によって、約30日間で嗅粘膜上皮は常にturn over していることが知られている⁴⁴⁾⁴⁵⁾。今回の曝露実験の3か月

間の観察結果では、線毛上皮になった嗅粘膜上皮は、PAS陽性を示す杯細胞と考えられる細胞の混在する呼吸部鼻粘膜に似た上皮のままであった。このような上皮でも基底膜は保存されている。したがって基底細胞も残っていると考えられるので、嗅上皮に再生する可能性はある。しかし粘膜固有層の嗅神経束は萎縮し、ボーマン腺も一部で線毛上皮化生した所見はあるが、多くは萎縮しており、本来の嗅粘膜固有層としての構造が失われている。嗅粘膜上皮細胞のみならず粘膜固有層の諸組織についても再生するには、かなりの時間が必要であることが考えられるので、さらに長期間の観察が必要であると考えられる。

生理学的な嗅覚の障害については、マウスでは嗅覚を用いた採食行為は正常な嗅粘膜が全体の1%以上存在すれば可能であると報告されている³⁷⁾。鼻腔内に分泌物が貯留し嗅粘膜も高度の病変を示す時期での採食行為は困難である可能性が考えられる。しかし鼻腔の分泌物がなくなり嗅粘膜の再生が認められる時期では、嗅粘膜上皮に線毛上皮化した部位が存在している個体でも1%以上の嗅粘膜上皮部位が認められたため、生理学的には採食行為が不可能になるほどの高度の嗅覚障害をきたしてはいないと考えられる。

筆者の経験したドライクリーニング用テトラクロロエチレンによると考えられる嗅覚障害症例では、画像診断で呼吸部鼻粘膜である副鼻腔には病変はなく、一方嗅粘膜である嗅裂部には高度の陰影があった³⁾。また視診でも浮腫性に嗅裂部は閉塞しており、嗅裂炎の存在が考えられた³⁾。人間とマウスあるいはラットとでは、テトラクロロエチレンの代謝力の差があること⁴⁶⁾、人間は鼻腔と口腔とで呼吸するがマウスやラットは鼻腔でしか呼吸できないこと⁴⁷⁾、解剖

学的な鼻内構造の相違があることなどさまざまな要素から、動物実験の結果を人間にそのまま適用して考えることはできない。しかしながら今回のマウスを用いた動物実験の結果では、ドライクリーニング用テトラクロロエチレンが300ppmでは嗅粘膜に選択的に高度の病変を惹起せしめ、さらに多列線毛上皮に嗅粘膜がおきかわることがあるということが判明した。50ppmでは異常がみられなかったことから、ドライクリーニング用テトラクロロエチレンの嗅粘膜に影響をおよぼす濃度の閾値は、50ppmから300ppmの間にあると考えられる。上述のようにこの値を直ちに人間に適用できるものではないが、曝露形態が異なるもの人間での同様な自験例もあり、許容濃度以上の曝露で人間でも嗅粘膜に高度の病変が出現する可能性があるので、十分な注意と深い観察が必要であろう。

結語

1. テトラクロロエチレンは洗淨剤として広く使用されており、環境汚染物質として問題となっている。本論文では、この物質の鼻粘膜への影響を検討する目的で、マウスを用いて50ppm および300ppm濃度のドライクリーニング用テトラクロロエチレンを1日6時間で連続5日間曝露した後、鼻粘膜について病理組織学的変化を検討した。
2. 50ppm では鼻粘膜に病変はみられなかったが、300ppmでは呼吸部鼻粘膜に比べて嗅粘膜の障害が早期から出現し、かつ長期間高度の組織障害が残った。水に難溶性でも揮発性であるテトラクロロエチレンは、鼻粘膜に直接作用しうる。本実験の条件下ではガス化したテトラクロロエチレンが充分量鼻腔内全域におよんでいたと考えられる。したがってテトラクロロエチレンは鼻粘膜に対しては、ある程度の濃度以上で主として嗅粘膜に作用して組織障害をひきおこす可能性があると考えられる。
3. 今回の300ppmのテトラクロロエチレンの曝露実験では、曝露2週間後から本来は嗅粘膜上皮である部位が、正常の多列非線毛円柱上皮に修復された部位ばかりではなく、線毛上皮細胞におきかわった部位も認められた。このような変化は曝露3か月後まで認められた。この線毛上皮細胞の起源と、そのような変化を惹起させる因子について若干の考察を加えたが、その詳細についてはさらに検討が必要である。

4. ドライクリーニングに従事しテトラクロロエチレンを長期間吸入していたために発症したと考えられる嗅覚障害の自験症例もあり、本物質の人間に及ぼす影響に関しては、今後注意深い観察が必要であると考えられる。

参考文献

- 1) Coler HR, Rossmiller HR: Tetrachlorethylene exposure in a small industry. Arch Indust Hyg 8 : 227-233, 1953.
- 2) Rowe VK, Mc Collister DD, Spencer HC, Adams EM, Irish DD: Vapor toxicity of tetrachloroethylene for laboratory animals and human subjects. Arch Ind Hyg Occup Med 5 : 566-579, 1952.
- 3) 青木彰彦, 洲崎春海, 周明仁: 有機溶剤パークロロエチレンによる嗅覚障害. 耳鼻臨82 : 935-939, 1989.
- 4) Lauwerys R, Herbrand J, Buchet JP, Bernard A, Gaussin J: Health surveillance of workers exposed to tetrachloroethylene in dry-cleaning shops. Int Arch Occup Environ Health 52 : 69-77, 1983.
- 5) Kylin B, Reichard H, Sumegi I, Yllner S: Hepatotoxicity of inhaled trichloroethylene, tetrachloroethylene and chloroform single exposure. Acta Pharmacol Toxicol 20 : 16-26, 1963.
- 6) Schwetz BA, Leong BKJ, Gehring PJ: The effect of maternally inhaled trichloroethylene, perchloroethylene, methyl chloroform and methylene chloride on embryonal and fetal development in mice and rats. Toxicol Appl Pharmacol 32 : 84-96, 1975.
- 7) 田中勇武, 保利一, 古賀実, 秋山高: 多孔質球を用いた有機溶剤ガス発生装置の試作. 作業環境2 : 53-58, 1981.
- 8) 日本産業衛生学会編: 許容濃度等の勧告-1987年版. 産業医学

29:397-403,1987.

- 9) 上出文博：マウス鼻粘膜嗅部の掂がりと微構造ならびに $ZnSO_4$ 溶液点鼻によるその変性と再生について. 十全医会誌89 :1-23,1980.
- 10) 坂下桂之助, 小川清, 高根宏展：各種産業中毒患者(14例)の聴・平衡機能障害について. *Audiology Japan* 14 : 492-503, 1971.
- 11) 石田光, 田平武, 後藤幾生：有機溶剤による神経症状. 医学のあゆみ87 : 627-632,1973.
- 12) 梅田悦生, 坂田英治, 大都京子：中毒とめまい・平衡障害—有機溶剤. 日耳鼻80: 831,1977.
- 13) 笹征史, 五十嵐正至, 松岡出, 宮崎宰臣, 宮崎淳臣他：慢性トルエン中毒症の前庭反応. *Equilibrium Res* 36 : 133-134, 1977.
- 14) 野見山一生, 野見山宏子：トリクロロエチレンの健康影響に関する研究(量・反応関係に関する文献学的研究). 労働省昭和52年度災害科学に関する委託研究報告書: 1-42,1978.
- 15) 水野正浩, 切替一郎：有機溶剤使用者にみられた聴平衡覚障害について. 耳鼻臨78 : 1557-1568,1985.
- 16) 安藤守昭：有機溶剤による精神神経学的障害. 災害医学20 : 449-455,1977.
- 17) Miller RR, Hermann EA, Young JT, Calhoun LL, Kastl PE:
Propylene glycol monomethylether acetate (PGMEA)
metabolism, disposition, and short-term vapor inhalation
toxicity studies. *Toxicol Appl Pharmacol* 75: 521-530,

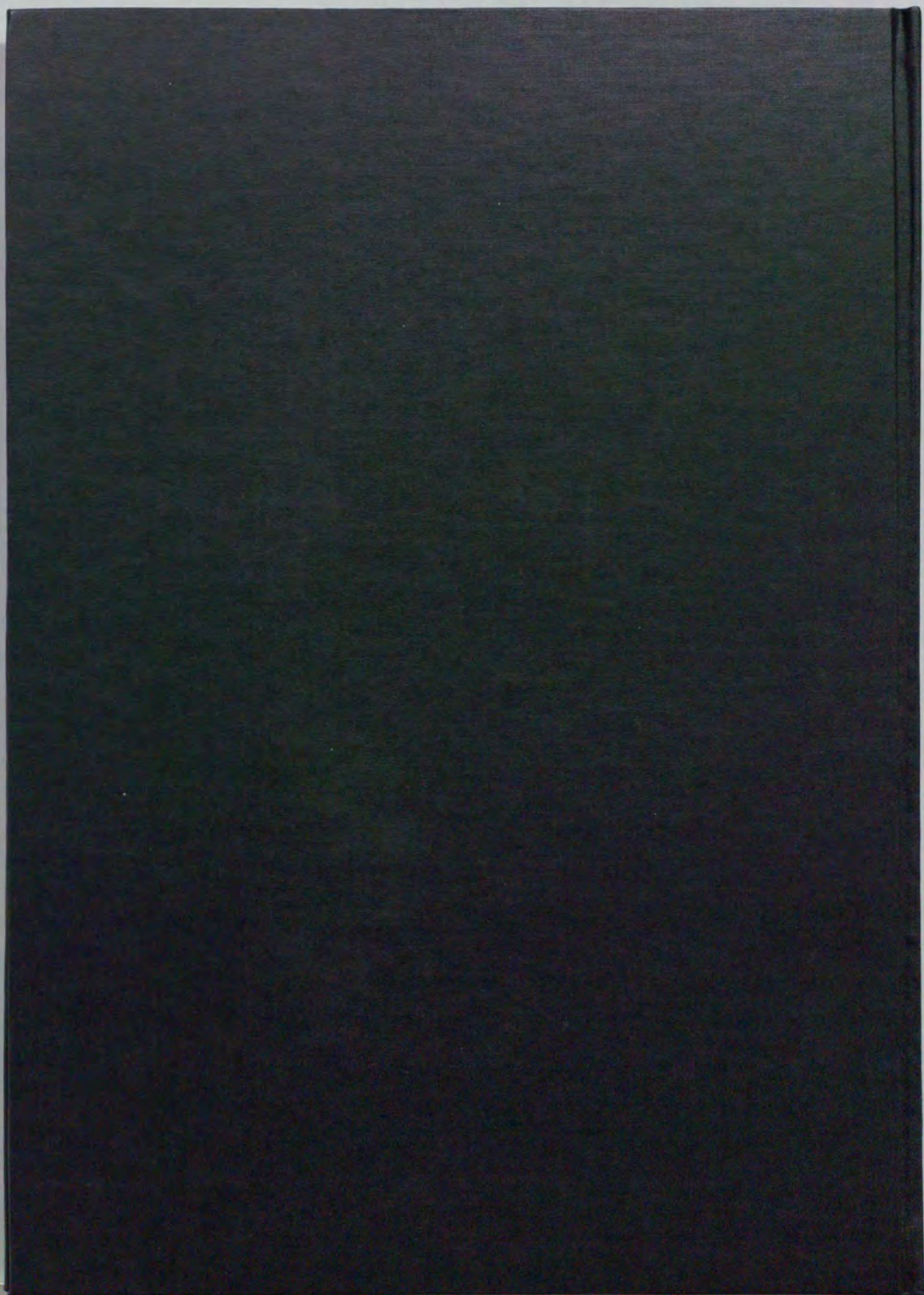
1984.

- 18) Hurtt ME, Thomas DA, Working PK, Monticello TM, Morgan KT: Degeneration and regeneration of the olfactory epithelium following inhalation exposure to methyl bromide: pathology, cell kinetics, and olfactory function. *Toxicol Appl Pharmacol* 94 : 311-328, 1988.
- 19) Gaskell BA, Hext PM, Pigott GH, Hodge MCH, Tinston DJ: Olfactory and hepatic change following inhalation of 3-trifluoromethyl pyridine in rats. *Toxicol* 150 : 57-68, 1988
- 20) 堀内博人: 二酸化窒素のハムスター, ラットおよびマウスに対する影響—鼻粘膜病変を中心にして. 耳展 補 3 : 147-167, 1980.
- 21) Jiang XZ, Buckley LA, Morgan KT: Pathology of toxic responses to the RD50 concentration of chlorine gas in the nasal passages of rats and mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 71 : 225-236, 1983.
- 22) Morse CC, Boyd MR, Witschi H: The effect of 3-methylfuran inhalation exposure on the rat nasal cavity. *Toxicol* 30 : 195-204, 1984.
- 23) Buckley LA, Morgan KT, Swenberg JA, James RA, Hamm TE, Barrow CS: The toxicity of dimethylamine in F-344 rats and B6C3F1 mice following a 1-year inhalation exposure. *Fundam Appl Toxicol* 5 : 341-352, 1985.
- 24) Boorman GA, Brown R, Gupta BN, Uraih LC, Bucher JR: Pathologic changes following acute methyl isocyanate inhala-

- tion and recovery in B6C3F1 mice .Toxicol Appl Pharmacol 87 : 446-456,1987.
- 25) 飯泉修, 森豊 : 亜硫酸ガス (SO₂) 曝露無菌飼育モルモットの鼻副鼻腔の病理組織学的研究. 日耳鼻74 : 34-38,1971.
 - 26) Buckley LA, Jiang XZ, James RA, Morgan KT, Barrow CS: Respiratory tract lesions induced by sensory irritants at the RD50 concentration. Toxicol Appl Pharmacol 74 : 417-429,1984.
 - 27) Cameron GR, Gaddum JH, Short RHD: The absorption of war gases by the nose. J Pathol 58 : 449-455,1946.
 - 28) Keil W, Muschaweck R, Rademacher E: Die sedative und hypnotische Wirkung des 1-Äthinyl-cyclohexyl-allophanat-(1). Arzneimittel Forschung 4 : 477-479,1954.
 - 29) Meyer OA: Effects of dietary protein and butylated hydroxytoluene on the kidneys of rats. Lab Anim23 :175-179,1989.
 - 30) Dabney BJ: Cytogenetic findings on employees with potential exposure to epichlorohydrin. Prog Clin Biol Res207 :59-73,1986.
 - 31) Harding J, Graziadei PPC, Graziadei GAM, Margolis FL: Denervation in the primary olfactory pathway of mice. IV Biochemical and morphological evidence for neuronal replacement following nerve section. Brain Res 132 : 11-28,1977.
 - 32) Graziadei PPC, Okano M: Neuronal degeneration and regen-

- eration in the olfactory epithelium of pigeon following transection of the first cranial nerve. *Acta Anat* 104: 220-236, 1979.
- 33) Graziadei GAM, Graziadei PPC: Neurogenesis and neuron regeneration in the olfactory system of mammals. II. Degeneration and reconstitution of the olfactory sensory neurons after axotomy. *J Neurocytol* 8 : 197-213, 1979.
- 34) 山岸益夫 : 嗅上皮再生過程の免疫組織化学的研究. *日耳鼻* 91 : 730-738, 1988.
- 35) Graziadei PPC : Cell dynamics in the olfactory mucosa. *Tissue & Cell* 5 : 113-131, 1973.
- 36) 菊屋義則 : マウス嗅上皮の変性と再生—走査電顕的観察. *耳鼻臨* 77 : 1659-1680, 1984.
- 37) Harding JW, Getchell TV, Margolis FL: Denervation of the primary olfactory pathway in mice - V. Long-term effect of intranasal ZnSO₄ irrigation on behavior, biochemistry and morphology. *Brain Res* 140 : 271-285, 1978.
- 38) Mulvaney BD, Heist HE: Regeneration of rabbit olfactory epithelium. *Am J Anat* 131 : 241-252, 1971.
- 39) Matulionis DH : Light and electron microscopic study of the degeneration and early regeneration of olfactory epithelium in the mouse. *Am J Anat* 145 : 79-100, 1976.
- 40) 飯泉修, 神田敬, 北村武, 金子敏郎 : 嗅粘膜の再生について. *日耳鼻* 80 : 1147-1148, 1977.
- 41) Matulionis DH, Breipohl W, Bhatnagar KP: Degeneration and

- regeneration of olfactory epithelium in the mouse - A scanning electron microscopic study. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl* 89 :3-12,1982.
- 42) 山岸益夫, 小西和朗, 五十嵐淑晴, 中野雄一: NO₂ ガス曝露によるモルモット嗅上皮の微細構造の変化. *日耳鼻*85 : 11-18, 1982.
- 43) 副島昇: 実験鼻炎に於ける嗅神部の病理組織学的変化に就て. *大日耳鼻*48 :1241-1269,1942.
- 44) Graziadei PPC, Graziadei GAM: Neurogenesis and neuron regeneration in the olfactory system of mammals. I. Morphological aspects of differentiation and structural organization of the olfactory sensory neuron. *J Neurocytol* 8 : 1-18,1979.
- 45) 木村恭之, 上出文博, 古川悦, 三輪高喜, 作本真, 梅田良三: 抗BrdU抗体を用いたマウス嗅上皮のターンオーバーに関する検討. *日耳鼻*93 :165-170,1990.
- 46) Schumann AM, Quast JF, Watanabe PG: The pharmacokinetics and macromolecular interactions of perchloroethylene in mice and rats as related to oncogenicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 55 :207-219,1980.
- 47) Barrow CS, Kociba RJ, Rampy LW, Keyes DG, Albee RR: An inhalation toxicity study of chlorine in Fischer344 rats following 30 days of exposure. *Toxicol Appl Pharmacol* 49 : 77-88,1979.



inches
1 2 3 4 5 6 7 8
cm
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19

Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM, Kodak



Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM, Kodak

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19

