



Title	ラットの活動性に及ぼす有機溶剤トルエン腹腔内投与の影響
Author(s)	和田, 博美
Citation	北海道大学医療技術短期大学部紀要, 3, 31-37
Issue Date	1990-10
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/37517
Type	departmental bulletin paper
File Information	3_31-38.pdf



ラットの活動性に及ぼす有機溶剤トルエン 腹腔内投与の影響

和田 博美

Effects of intraperitoneal toluene administrations on general activity in the rat

Hiromi Wada

Abstract

Fifteen male Wistar rats were injected with 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, and 1400mg/kg toluene (ip), and their general activities were counted through 6hours.

Olive oil (0.25ml) was administrated as a control injection. Toluene administrations of 200mg/kg and 400mg/kg had hardly affected on general activities compairing with olive oil injections. Toluene administrations of 600mg/kg and 800mg/kg increased general activities through 2~3hours after the injections.

However, 1000, 1200, and 1400mg/kg toluene administrations caused ataxia, and general activities were alternately increased or decreased through 2~3hours after injections. Moreover, these rats did not eat given foods after experiments for 1~2days.

These results suggest that intraperitoneal administrations of toluene has no effects on general activities at the dose of 200mg/kg and 400mg/kg, but had excitatory effects on general activities at the dose of 600mg/kg and 800mg/kg. Toluene administrations greater than 1000mg/kg caused ataxia and diminished rats' appetite.

要 旨

雄の Wistar 系アルビノラット 15 匹に、有機溶剤トルエンを 200, 400, 600, 800, 1000, 1200 及び 1400 mg/kg 腹腔内投与し、6 時間にわたって活動性に及ぼす影響を分析した。コントロールとして、オリーブオイル 0.25 ml 投与条件を設けた。その結果、200 mg/kg 及び 400 mg/kg トルエン投与では、コントロール条件と

同様の活動量を示し、トルエンの影響は認められなかった。600 mg/kg 及び 800 mg/kg トルエン投与では、投与後 2 ~ 3 時間にわたって活動量の増大を示した。また 1000 mg/kg, 1200 mg/kg 及び 1400 mg/kg トルエン投与では、投与直後から運動機能失調が観察され、このために活動量の増大と減少が投与後 2 ~ 3 時間にわたって交互に出現した。さらに 1200 mg/kg 及び 1400 mg/kg のトルエンを投与されたラット

では、投与後1～2日間にかけて摂食行動が見られなかった。

このことから、トルエン腹腔内投与による活動性への影響は、400 mg/kg 以下の投与量では出現せず、600 mg/kg～800 mg/kg 投与では過活動性が生じることが明らかになった。この興奮作用はトルエン投与後2～3時間持続した。またトルエン 1000 mg/kg 以上の投与量では、投与直後から2～3時間にわたって運動失調が出現し、食欲減少も生じることがわかった。

はじめに

我々の身のまわりには様々な化学物質が存在しているが、この中には生体に対して有害な作用を及ぼすものが少なくない。これらの有害物質の毒性は、生理学、生化学、及び組織学的検査等によって分析されているものの、いまだ不明な点が多い。最近、原子力発電所からの放射能漏れやゴルフ場の農薬散布による河川の汚染が報道され、環境問題に対する社会の関心が高まりつつあり、有害物質の毒性や健康への影響を的確に分析する毒性評価法の確立が強く望まれている。

このような状況の中で、近年、注目されだした毒性評価法の一つに行動毒性学 (behavioral toxicology) があげられる。行動毒性学は、心理学において研究されてきたオペラント条件付けや古典的条件付けといった学習性の行動を主な指標とし、有害物質の毒性—特に中枢神経系への毒性—を行動分析法によって解明しようと試みる研究分野である。学習性の行動は中枢神経系の統合的な機能を反映しており、行動の異常を通して中枢の高次精神機能 (学習や記憶等) に対する有害物質の毒性を的確に分析することができる。

行動毒性学的な研究が行われている代表的な有害物質の一つとして、有機溶剤のトルエンをあげることができる。トルエンは塗装、印刷、化学工業等で広く用いられるとともに、青少年

の間に乱用されているシンナーの主要成分を構成する化学物質である。トルエンの有害作用は主として中枢神経系に及び、臨床報告によれば、トルエン常用者に意識障害、集中力・抽象力の貧困化、記憶障害が認められ (日本産業衛生学会有機溶剤中毒研究会, 1984, 1985, 1986, 1987, 1988, 1989), トルエンが中枢神経系の高次精神機能に障害を引き起こすことが明らかにされている。

トルエンは室温で容易に気化し、ガス体となって体内に吸入摂取され中毒を引き起こす。このため、これまで行われてきたトルエンに関する行動毒性学的研究では、トルエンの投与方法として主に吸入曝露法が用いられてきた。しかしながら、吸入曝露のためには密閉容器内で一定濃度のトルエンガスを連続的に発生させなければならず、技術的にも装置のコストの面でも難点があり、研究上の障害となっている。

そこで今回、手軽な投与方法でありながらこれまでほとんど用いられることのなかった腹腔内投与方法を用い、行動毒性研究上の基礎的指標のひとつである活動性に及ぼすトルエンの影響について検討した。

方 法

被 験 体 被験体には実験的にナイーブな雄の Wistar 系アルビノラット 15 匹を用いた。購入時の週令は 6 週令であった。購入後、ラットは個別ケージに移され、実験期間を通して 12 時間毎の明暗周期 (明期 20:00～8:00; 暗期 8:00～20:00) の条件下で飼育された。実験は全て暗期の一定時間に行った。

トルエンは脂肪親和性を有し、体内の脂肪組織に吸収されやすいため (Carlson と Lindqvist, 1977; Pyykø ら, 1977), ラットの皮下脂肪量を一定にする目的で体重が 250 ± 10 g となるよう摂食量を制限した。なお水は自由に摂取させた。

実験装置 活動性を測定するためにシャトル

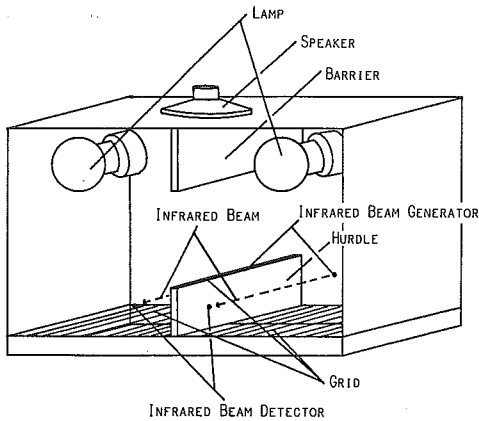


図1 シャトル箱

箱を用いた(図1)。この装置はアクリル板製で高さ33cm、幅20cm、長さ53cmからなり、中央部にある床から8cmのハードルと天井からのびた10cmのバリアーによって2等分されていた。床は直径5mmのステンレス製グリッドからなり、グリッドとグリッドの間隔は2cmであった。20Wのランプが2等分された各コンパートメントの天井に取り付けられていたが、本実験では使用しなかった。シャトル箱の中央部天井外側には直径8cmのスピーカーが取り付けられ、実験中、外部雑音を遮断するためホワイトノイズ(80dB)を流した。2つのコンパートメントには、ハードルから8cm、床から5cmのところには赤外線発生装置と検出装置が取り付けられており、ラットが赤外線を遮断した回数をカウントすることによって活動量を測定できるようにした。なおこの装置の詳細と有用性については既に報告されている(Wadaら, 1986)。

シャトル箱は外部雑音や光を遮断するため防音箱に入れ、パーソナルコンピュータ(NEC 9801 RA)によってコントロールされた。

手続 ラットを購入後、明暗周期への順応のために2週間おき、続いて実験装置と腹腔内注射への順応訓練を行った。この訓練ではラットを1時間シャトル箱に入れ、オリーブオイルを腹腔内へ投与した後に再びシャトル箱に

もどし、2時間おいた。この訓練は各ラットとも3回行い、全体で1週間を要した。

順応訓練後、トルエンの活動性に及ぼす影響を検討した。シャトル箱で1時間活動量を測定した後、ラットは200, 400, 600, 800, 1000, 1200及び1400mg/kgのいずれかの量のトルエンを腹腔内に投与された。内臓の炎症を防ぐため、トルエンは等量のオリーブオイルで希釈して投与した。コントロール条件としてオリーブオイルを0.25ml腹腔内投与した。トルエン投与後ラットは再びシャトル箱にもどされ、6時間にわたって活動量の変化を測定した。なお被験体は複数のトルエン投与量条件に用いられ、トルエン投与と次の投与との間には少なくとも1週間以上の間隔をおいた。

結 果

トルエン腹腔内投与による活動量の変化を10分間隔で測定し、その結果を図示した(図2～8)。

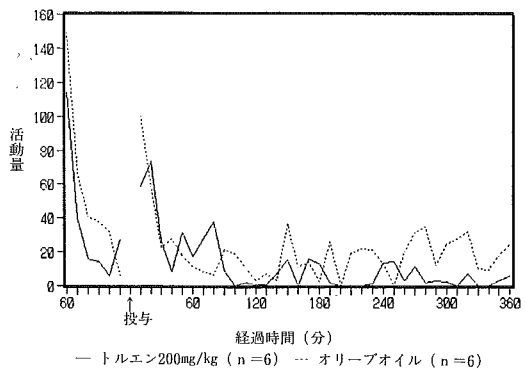


図2 活動性に及ぼすトルエン200mg/kg腹腔内投与の影響

オリーブオイル0.25ml投与 コントロールとしてオリーブオイルを投与した条件では、投与前60分において高い活動量を示したが急激に減少し、投与直前では10前後の値を示した(図2)。オリーブオイル投与直後、再び活動量は増大したが以後急激に減少し、その後は0～40の間で増減を繰り返しながら経過した。

トルエン 200 mg/kg 投与 トルエン投与前 60 分間における活動量の変化は、オリーブオイル条件とほぼ同様の推移を示した(図 2)。トルエン 200 mg/kg 投与直後、活動量は増大し、以後 120 分間にわたって徐々に減少した。その後の活動量は、0～20 の間で増減を繰り返しながら経過した。

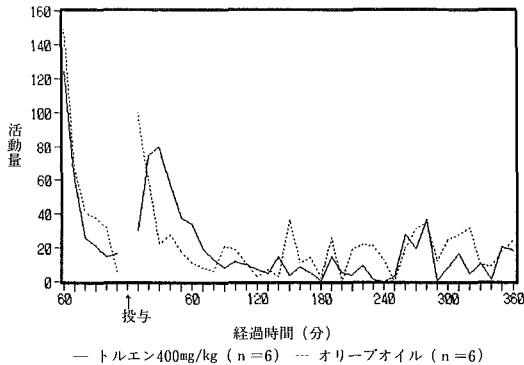


図 3 活動性に及ぼすトルエン 400 mg/kg 腹腔内投与の影響

トルエン 400 mg/kg 投与 投与前 60 分間における活動量は、オリーブオイル条件と同様の变化を示した(図 3)。トルエン 400 mg/kg 投与直後に活動量が増大し、以後 120 分間にわたって徐々に減少した。その後の活動量は 0～20 の間で推移した。

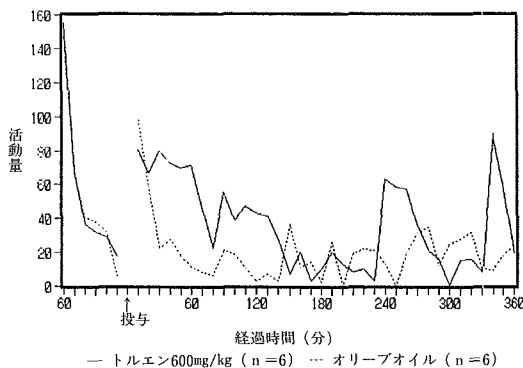


図 4 活動性に及ぼすトルエン 600 mg/kg 腹腔内投与の影響

トルエン 600 mg/kg 投与 トルエン投与前における活動量の変化は、オリーブオイル条件

と同様の推移を示した(図 4)。トルエン 600 mg/kg 投与後、活動量は増大し、180 分間にわたって徐々に減少した。投与後 240 分以降、再び活動量の増大が認められた。

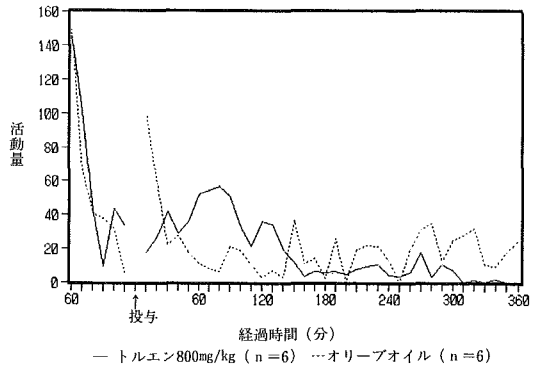


図 5 活動性に及ぼすトルエン 800 mg/kg 腹腔内投与の影響

トルエン 800 mg/kg 投与 トルエン投与前における活動量は、オリーブオイル条件と同様の变化を示した(図 5)。トルエン 800 mg/kg 投与後、活動量は徐々に増加し、投与 60～90 分後にピークに達した。その後、活動量は減少し 0～10 の間で推移した。

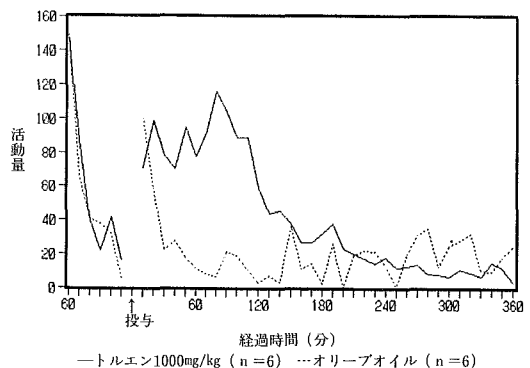


図 6 活動性に及ぼすトルエン 1000 mg/kg 腹腔内投与の影響

トルエン 1000 mg/kg 投与 トルエン投与前における活動量は、オリーブオイル投与条件と同様の推移を示した(図 6)。トルエン 1000 mg/kg 投与直後、活動量は増大し 120 分間にわたって高値を示した。その後、活動量は減少傾

向を示しながら推移した。

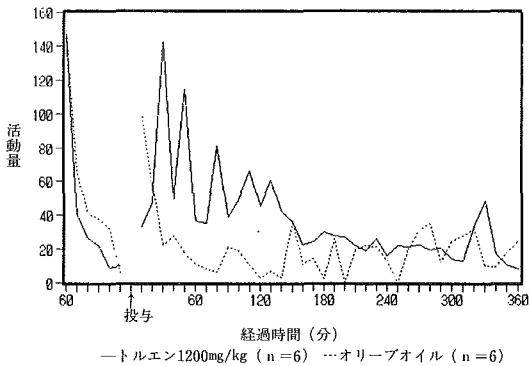


図7 活動性に及ぼすトルエン 1200 mg/kg 腹腔内投与の影響

トルエン 1200 mg/kg 投与 トルエン投与前における活動量は、オリーブオイル投与条件と同様の傾向を示した(図7)。トルエン 1200 mg/kg 投与後、活動量は高値と低値の変動の大きな増減を180分間にわたって繰り返し示し、それ以降20~40の値で推移した。

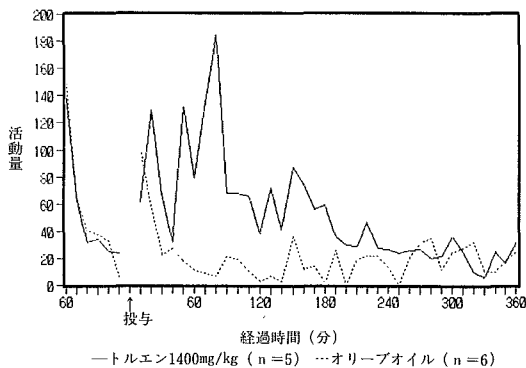


図8 活動性に及ぼすトルエン 1400 mg/kg 腹腔内投与の影響

トルエン 1400 mg/kg 投与 トルエン投与前における活動量は、オリーブオイル投与条件と同様の变化を示した(図8)。トルエン 1400 mg/kg 投与後、活動量は180分間にわたって変動の大きな増大・減少を繰り返し示し、トルエン 1200 mg/kg 投与条件と同様の傾向が認められた。

考 察

有機溶剤トルエンは、塗装、印刷などの産業現場で広範に用いられるとともに、化学工業の原材料として欠くことのできない化学物質である。しかしトルエンは中枢神経作用を中心とする有害作用を有しており、常時トルエンを扱うこれらの産業現場で働く労働者や、いわゆるシンナー遊びとして知られるトルエン乱用者に、意識障害、記憶力低下、注意・集中困難、不眠症などの中枢神経系障害に起因する疾病が報告されている。

トルエンの中枢神経毒性に関する研究は、生理学、生化学、組織学及び臨床病理学と幅広く学際的に行われてきた。なかでも心理学において発展した行動分析法を用いた行動毒性学は、学習、記憶及び注意といった中枢の高次精神機能に対する影響を検討できるため、最近、注目されるようになった研究分野である。これまでの研究成果によれば、臨床報告と一致した中枢神経障害—依存性(Weissら, 1979), 歩行障害(Wadaら, 1989), 記憶障害(Evansら, 1985), 注意の障害(TaylorとEvans, 1985)及び不眠症(Aritoら, 1985)等—が明らかにされており、毒性評価法としての行動分析の信頼性が認められつつある(和田, 1990)。

ところで、トルエンは室温で容易に気化し、このトルエンガスを体内に吸入摂取することによって中毒を引き起こす。このためこれまでの行動毒性研究では、いずれも吸入曝露法が用いられてきた。しかし吸入曝露のためには密閉容器の中で一定濃度のトルエンガスを連続して発生させなければならず、装置が大がかりなものになり、技術的にもコストの面でも難点があった。さらにこの方法では、体内に吸収されたトルエン量のある濃度のトルエンガスにある時間曝露したという操作的な定義でしか表すことができず、実際に吸収されたトルエン量を明らかにすることはできない。

これに対し、腹腔内注射法は最も手軽な投与法のひとつであり、しかも体内に摂取された実際のトルエン量を明確に示すことができる。にもかかわらず、これまで2～3の例を除いて(Arito ら, 1985; Glowa, 1987; Miyagawa ら, 1984)ほとんど用いられておらず、まして系統的な研究報告は全くなされてこなかった。

そこで今回、トルエンの腹腔内投与法を用い、今後の行動毒性研究の基礎データとするため、行動分析上最も代表的な指標である活動性に及ぼす影響について検討した。

トルエン 200 mg/kg 及び 400 mg/kg 投与条件では、ラットは投与直後に一過性の活動量の増大を示した。しかしこの増大傾向はコントロール条件としてのオリーブオイル投与によっても生じており、このことからトルエンの中樞作用によって活動性が高まったものではなく、注射による腹部への物理的刺激、加えてトルエンによる腹腔内への刺激が主な原因となって活動量が増大したものと推察される。

これらの活動量の増大はトルエン投与後1時間程度で消失し、それ以降はオリーブオイル条件と同様の経過を示していることから、200 mg/kg 及び 400 mg/kg トルエン投与では、ラットの活動性に及ぼす影響はほとんど認められないと考えられる。従って、これらのトルエン投与量によって生じたラットの行動異常にあつては、少なくとも活動性への影響は除外して考えることができるものと思われる。

トルエン 600 mg/kg 及び 800 mg/kg 投与では、オリーブオイル条件と比較して活動量が増大した。この増大はトルエン投与後2～3時間にわたって持続しており、注射による腹部への刺激のみではなく、トルエンの興奮作用によってラットに過活動性が引き起こされたものと考えられる。またトルエン 600 mg/kg 投与後4時間を経過した頃から再び活動量の増大が認められたが、この傾向はオリーブオイル条件、トルエン 400 mg/kg 投与及び 1200 mg/kg 投与の

場合にも観察された。実験日以外ではラットは定時に給餌を受けており、この時刻はトルエン投与5～6時間後に相当する。このことから、給餌を前にして生じる活動性の高まりが実験中にも出現し、これが影響を及ぼした可能性が考えられる。

トルエン 1000 mg/kg, 1200 mg/kg 及び 1400 mg/kg 投与では、投与直後からラットは高い活動量を示した。この活動量の増大は2～3時間にわたって観察されたが、その間、高い活動量と低い活動量が交互に出現し、振幅の大きな変動が特徴的に認められた。この傾向はトルエン 1200 mg/kg 投与及び 1400 mg/kg 投与で特に顕著に出現した。行動観察の結果、ラットは体のふらつき、四肢の麻痺、歩行障害、けいれん等を示し、なかには全身麻痺を示す個体も認められた。これらの運動失調が振幅の大きな活動量の変動となって反映されたのではないかと推察される。従って 1000 mg/kg を越える投与量では、トルエンはラットの活動性に対してむしろ抑制的に作用し、運動機能に障害を及ぼすと考えられる。また運動失調は投与後10～20分で出現することから、腹腔内投与の場合でも吸入曝露同様、速やかにトルエンが体内に吸収され、中枢神経毒性を発現するものと思われる。

なお運動失調の観察されたラットでは、トルエン投与後2～3時間経過すると活動性の回復が見られたが、1200 mg/kg 投与及び 1400 mg/kg 投与条件では、ラットはその日の給餌を受けつけず食べ残す個体も見られ、たとえ活動性のレベルで回復しても、投与後1～2日間は毒性の影響が持続するものと思われる。

以上のことから、トルエンの腹腔内投与によるラットの活動性への影響は、投与直後から2～3時間にわたって顕著に出現することが明らかになった。またこの経過時間帯はラットの血中トルエン量が最大値を示す時期でもあり(Nakagaki ら, 1983)、脳内トルエン量も同様

に最大値を示していることが予想される。

投与直後では、注射による腹部への刺激によって活動性の増大が生じる可能性があるため、トルエンの行動影響を分析する上では、注射そのものによる影響を受けにくくかつトルエンの中枢作用が顕著に出現する投与後1～3時間の間が最も適切であると思われる。さらに1000 mg/kgを超過する量のトルエン投与では、ラットに運動失調や食欲減少が観察され、行動分析結果を解釈する際にはこの点を考慮する必要があるだろう。

本研究によりトルエン腹腔内投与による行動影響に関して、どのくらいの投与量で影響が出現し、それはまた投与何時間後に現れ、何時間持続するのかといった基礎的データが得られた。これをもとに、活動性の分析のみでなく学習性の行動に対する影響についても検討を加え、それによって学習、記憶、注意といったより高次な精神機能に対するトルエンの毒性を明らかにしていくことが今後の課題であると考えている。

文 献

- Arito, H., Tsuruta, H., Nakagaki, K. and Tanaka, S. : Partial insomnia, hyperactivity and hyperdipsia induced by repeated administration of toluene in rats : their relation to brain monoamine metabolism. *Toxicol.* 37 : 99–110, 1985.
- Carlsson, A. and Lindqvist, T. : Exposure of animals and man to toluene. *Scand. J. Work Environ. Health.* 3 : 135–143, 1977.
- Evans, H. L., Bushnell, P. J., Pontecorvo, M. J. and Taylor, J. D. : Animal models of environmentally induced memory impairment. *Ann. NY Acad. Sci.* 444 : 513–514, 1985.
- Glowa, J. R. : Comparisons of some behavioral effects of d-amphetamine and toluene. *Neurotoxicol.* 8 : 237–248, 1987.
- Miyagawa, M., Honma, T., Sato, M. and Hasegawa, H. : Conditioned taste aversion induced by toluene administration in rats. *Neurobehav. Toxicol. Teratol.* 6 : 33–37, 1984.
- Nakagaki, K., Arito, H. and Tsuruta, H. : Changes in sleep-waking rhythms of rats following a single injection of toluene. *Ind. Health.* 21 : 165–174, 1983.
- 日本産業衛生学会有機溶剤中毒研究会 : 有機溶剤中毒症例集—第1集— 1984.
- 日本産業衛生学会有機溶剤中毒研究会 : 有機溶剤中毒症例集—第2集— 1985.
- 日本産業衛生学会有機溶剤中毒研究会 : 有機溶剤中毒症例集—第3集— 1986.
- 日本産業衛生学会有機溶剤中毒研究会 : 有機溶剤中毒症例集—第4集— 1987.
- 日本産業衛生学会有機溶剤中毒研究会 : 有機溶剤中毒症例集—第5集— 1988.
- 日本産業衛生学会有機溶剤中毒研究会 : 有機溶剤中毒症例集—第6集— 1989.
- Pyykkö, K., Tähti, H. and Vapaatalo, H. : Toluene concentrations in various tissues of rats after inhalation and oral administration. *Arch. Toxicol.* 38 : 169–176, 1977.
- Taylor, J. D. and Evans, H. L. : Effects of toluene inhalation on behavior and expired carbon dioxide in macaque monkeys. *Toxicol. appl. Pharmacol.* 80 : 487–495, 1985.
- Wada, H., Hosokawa, T. and Saito, K. : Application of a computer-controlled infrared beam device to behavioral research. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 24 : 1789–1792, 1986.
- Wada, H., Hosokawa, T. and Saito, K. : Single toluene exposure and changes of response latency in shock avoidance performance. *Neurotoxicol. Teratol.* 11 : 265–272, 1989.
- 和田博美 : 行動分析法による毒性評価へのアプローチ —有機溶剤トルエンの毒性評価—日本心理学会第54回大会自主シンポジウム「学際領域としての行動薬理学(その2)—心理学が得るもの、与えるもの—」東京, 1990.
- Weiss, B., Wood, R. W. and Macys, D. A. : Behavioral toxicology of carbon disulfide and toluene. *Environ. Health. Perspect.* 30 : 39–45, 1979.