

学 位 論 文 題 名

Acute effects of styrene inhalation  
on the neuroendocrinological system of rats  
and the different effects in male and female rats.

(スチレンをラットに吸入曝露することによって生じる  
神経内分泌系への急性影響および雌雄のラットにおける影響の違い)

学位論文内容の要旨

有機溶剤の用途は広く、我々の生活には欠かせない物質であり、様々な場所で使われている。有機溶剤の1つにスチレンがあり、これは主として産業現場で、FRP (繊維強化プラスチック)、合成ゴム、パッケージなどの原料に使われている。これまでに、産業衛生的観点から、スチレンを取り扱う作業者を対象として疫学調査が行われ、その結果、スチレンの吸入曝露によって内分泌系への影響 (主にプロラクチン分泌亢進) が生じることが報告されてきた。動物実験においても、ドーパミンが減少する等の神経系への影響が報告されている。しかしながら、疫学研究の結果をはっきり裏付ける実験論文は少ない。また、スチレンに関する疫学研究では対象となるのは男性労働者が中心で、女性労働者にはあまり焦点が当てられない。動物実験においても同様である。しかし、各種代謝酵素の発現には雌雄差があるために、その影響にも雌雄差が生じることが十分に考えられる。そこで、本研究では、雌雄のラットにスチレンを吸入曝露させることによって生じる神経内分泌系への影響を検討し、さらに、その影響が雌雄でどのように異なるかを明らかにすることを目的とした。

本研究では雌雄の Wistar 系ラット (曝露開始時 8 週齢) を実験対象とし、曝露群 8 匹、対照群 8 匹に割り当てた。スチレン (0 ppm, 150 ppm) を 2 週間 (8h/day, 5days/week) 曝露した。曝露終了後、直ちに解剖し、血液と脳を採取した。また、曝露期間中、雌ラットは性周期のチェックを行った。採取した血液サンプルを用いて、血中のホルモン濃度 (プロラクチン、成長ホルモン、甲状腺刺激ホルモン) およびスチレン濃度を測定した。脳のサンプルは前頭葉、線条体、海馬、視床下部の 4 部位に分け、各部位における神経伝達物質 (dopamine, その代謝物である 3,4-dihydroxyphenylacetic acid, homovanillic acid, 5-hydroxytryptamine, その代謝物である 5-hydroxyindoleacetic acid) を測定した。

曝露終了時の雌ラット (曝露群) の血中スチレンの濃度 ( $43.4 \pm 14.7$  ng/ml) が、雄ラット (曝露群) の血中スチレン濃度 ( $21.4 \pm 10.1$  ng/ml) より有意に高かった。また、血中ホルモン濃度の変化としては、雌ラットでのみ、プロラクチンの分泌亢進が観察され

た。脳内神経伝達物質の変化は、どの部位においても観察されなかった。

本研究の結果を要約すると、150 ppm のスチレンを2週間、雌雄ラットに曝露すると、雌ラットの血中スチレン濃度が雄ラットよりも高く、雌ラットでのみプロラクチンの分泌も亢進した。このことから、雌ラットはスチレンを代謝する能力が雄に比べて低く、その結果、スチレン曝露の影響を受けやすいことが示唆された。実際、岸らによる雌雄のラット肝ミクロソームを使ってスチレン代謝物の生成を測定した実験では、雄の方がスチレンの代謝物を多く生成していたことが報告され、このことから、雌の方が、雄より代謝能力が低いことが示唆される。しかしながら、本研究では脳内神経伝達物質の変化は観察されず、プロラクチン分泌が亢進するメカニズムはわからなかった。

本研究は雌ラットの方が雄ラットに比べ、スチレン代謝能力が低いために、その影響を受けやすいことを示唆した初めての報告である。ヒトとラットでは発現しているスチレン代謝酵素が異なるために、一概に、女性労働者に外挿できる結果ではないが、ヒトのスチレン代謝能力にも性差がある可能性がある。スチレン曝露はプロラクチンの分泌亢進などの内分泌系に影響を及ぼす他に、稀発月経の誘発、色覚や聴覚の異常なども報告されており、女性の代謝能力が低いとすれば、これらの影響が生じやすいことは十分に考えられる。それゆえ、今後はスチレンを取り扱う女性労働者を対象とした研究を行い、詳細に検討する必要がある。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 寺 沢 浩 一  
副 査 教 授 吉 岡 充 弘  
副 査 教 授 岸 玲 子

学 位 論 文 題 名

## Acute effects of styrene inhalation on the neuroendocrinological system of rats and the different effects in male and female rats.

(スチレンをラットに吸入曝露することによって生じる  
神経内分泌系への急性影響および雌雄のラットにおける影響の違い)

有機溶剤の用途は広く、我々の生活には欠かせない物質であり、様々な場所で使われている。有機溶剤の1つにスチレンがあり、これは主として産業現場で、FRP（繊維強化プラスチック）、合成ゴム、パッケージなどの原料に使われている。これまでに、産業衛生的観点から、スチレンを取り扱う作業者を対象として疫学調査が行われ、その結果、スチレンの吸入曝露によって内分泌系への影響（主にプロラクチン分泌亢進）が生じることが報告されてきた。動物実験においても、ドーパミンが減少する等の神経系への影響が報告されている。しかしながら、疫学研究の結果をはっきり裏付ける実験論文は少ない。また、スチレンに関する疫学研究では対象となるのは男性労働者が中心で、女性労働者にはあまり焦点が当てられない。動物実験においても同様である。しかし、各種代謝酵素の発現には雌雄差があるために、その影響にも雌雄差が生じることが十分に考えられる。そこで、本研究では、雌雄のラットにスチレンを吸入曝露させることによって生じる神経内分泌系への影響を検討し、さらに、その影響が雌雄でどのように異なるかを明らかにすることを目的とした。

本研究では雌雄の Wistar 系ラット（曝露開始時 8 週齢）を実験対象とし、曝露群 8 匹、対照群 8 匹に割り当てた。スチレン（0 ppm, 150 ppm）を 2 週間（8h/day, 5days/week）曝露した。曝露終了後、直ちに解剖し、血液と脳を採取した。また、曝露期間中、雌ラットは性周期のチェックを行った。採取した血液サンプルを用いて、血中のホルモン濃度（プロラクチン、成長ホルモン、甲状腺刺激ホルモン）およびスチレン濃度を測定した。脳のサンプルは前頭葉、線条体、海馬、視床下部の 4 部位に分け、各部位における神経伝達物質（dopamine, その代謝物である 3,4-dihydroxyphenylacetic acid, homovanillic acid, 5-hydroxytryptamine, その代謝物である 5-hydroxyindoleacetic acid）を測定した。

曝露終了時の雌ラット（曝露群）の血中スチレンの濃度（ $43.4 \pm 14.7$  ng/ml）が、雄ラット（曝露群）の血中スチレン濃度（ $21.4 \pm 10.1$  ng/ml）より有意に高かった。また、血中ホルモン濃度の変化としては、雌ラットでのみ、プロラクチンの分泌亢進が観察された。脳内神経伝達物質の変化は、どの部位においても観察されなかった。

本研究の結果を要約すると、150 ppm のスチレンを2週間、雌雄ラットに曝露すると、雌ラットの血中スチレン濃度が雄ラットよりも高く、雌ラットでのみプロラクチンの分泌も亢進した。このことから、雌ラットはスチレンを代謝する能力が雄に比べて低く、その結果、スチレン曝露の影響を受けやすいことが示唆された。実際、岸らによる雌雄のラット肝ミクロソームを使ってスチレン代謝物の生成を測定した実験では、雄の方がスチレンの代謝物を多く生成していたことが報告され、このことから、雌の方が、雄より代謝能力が低いことが示唆される。しかしながら、本研究では脳内神経伝達物質の変化は観察されず、プロラクチン分泌が亢進するメカニズムはわからなかった。

本研究は雌ラットの方が雄ラットに比べ、スチレン代謝能力が低いために、その影響を受けやすいことを示唆した初めての報告である。ヒトとラットでは発現しているスチレン代謝酵素が異なるために、一概に、女性労働者に外挿できる結果ではないが、ヒトのスチレン代謝能力にも性差がある可能性がある。スチレン曝露はプロラクチンの分泌亢進などの内分泌系に影響を及ぼす他に、稀発月経の誘発、色覚や聴覚の異常なども報告されており、女性の代謝能力が低いとすれば、これらの影響が生じやすいことは十分に考えられる。それゆえ、今後はスチレンを取り扱う女性労働者を対象とした研究を行い、詳細に検討する必要がある。

審査において、まず、副査の吉岡教授から「スチレンの代謝経路」、「スチレンオキサイドの毒性」「毒性の濃度依存特性」「曝露方法による影響の違い」に関する質問があった。また、「今後はプロラクチン代謝への影響について検討をすべきである」というコメントがあった。次に、副査の岸教授から「スチレン以外の有機溶剤による影響の雌雄差」と「スチレン曝露による神経伝達物質への影響を検討している他の研究」に関する質問があった。最後に、主査の寺沢教授から「曝露期間を12日にした理由」と「屠殺方法を断頭とした理由」について説明を求められた。いずれの質問に対しても、学位申請者は自分自身の研究結果や先行研究を引用して、おおむね妥当な回答をした。

この論文はスチレン曝露による影響の雌雄差を初めて明らかにしたことで評価され、今後、スチレンを用いる作業現場での予防医学的価値の高い研究として期待される。

審査員一同はこれらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や単位取得なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認定した。