

2H0900

# 室内環境汚染物質によるラット肥満細胞系 RBL-2H3 細胞の脱顆粒に及ぼす影響

○大山謙一, 鈴木孝人 (東京都立衛生研究所)

1. 目的 最近, 室内汚染化学物質による化学物質過敏症が問題となっているが, 室内汚染化学物質が I 型の即時型アレルギーの抗原・抗体反応による肥満細胞脱顆粒現象を促進している可能性がある。そこで, 第 41 回<sup>1)</sup>及び 42 回<sup>2)</sup>本学会年会で報告した肥満細胞系 RBL-2H3 細胞を用いた脱顆粒試験を実施し, エチルベンゼン, キシレン, 酢酸ブチル, トルエン, ブタノール, ホルムアルデヒド及びメチルイソブチルケトンの脱顆粒促進作用について検討した。

2. 実験材料と方法 10%FBS 添加 EME 培地で前培養した RBL-2H3 細胞を 96 well マイクロプレートに  $4 \times 10^4$  個播種し, 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>, 飽和水蒸気下で 20 時間培養し, 細胞をプレート底面に接着させた。培地を捨てた後に 1 µg/ml anti-DNP IgE 2%FBSMEM 溶液を 0.1 ml 加えて 2 時間培養し IgE を細胞に結合させた。Buffer 溶液で結合しなかった IgE を洗浄し, Buffer 溶液で希釈した各種濃度の被験化学物質を添加して 1 時間暴露した。その後 Buffer 溶液で希釈した 0.1 mg/ml DNP-BSA を添加し 1 時間培養して抗原・抗体反応を起こさせ, 上清中に遊離した β-hexosaminidase 活性を測定した。また, 細胞毒性の指標として上清中の LDH を採用し, LDH 細胞毒性キット (和光純薬) を用いて測定し, LDH 遊離率は説明書に従って算出した。

3. 結果 β-hexosaminidase 活性は, Schwartz<sup>3)</sup>らの方法で測定し, β-hexosaminidase 遊離率を次式より算出した。遊離率 (%) = {(各濃度の被験物質による遊離

量) - (IgE 非添加の溶媒コントロールでの遊離量)} ÷ {(0.02% Tween 20 で細胞破壊したときの遊離量) - (IgE 非添加の溶媒コントロールでの遊離量)} × 100。

β-hexosaminidase 遊離率の有意な上昇が 100 ppm の酢酸ブチル ( $p < 0.05$ ), 100 ppm トルエン ( $p < 0.01$ ) 及び 0.1, 1 ppm メチルイソブチルケトン ( $p < 0.05$ ) で認められた。また, 100 ppm エチルベンゼン, 100 ppm ブタノール及び 0.037, 0.37, 3.7 ppm ホルムアルデヒドで β-hexosaminidase 遊離率の上昇傾向が見られたが, 0.1, 1, 10, 100 ppm キシレンでは認められなかった。なお, これらの濃度での各物質による LDH 遊離は認められなかった。

4. 考察 今回の結果から, 室内環境汚染物質であるトルエンが抗原・抗体反応時の脱顆粒を顕著に促進し, また酢酸ブチル, メチルイソブチルケトン, エチルベンゼン及びホルムアルデヒドも脱顆粒促進作用を持ち, 化学物質過敏症の一因となっていることが示唆された。

## 文献

1. 大山謙一, 鈴木孝人: RBL-2H3 細胞におけるディーゼル排気粉じんによる脱顆粒誘発. 第 41 回大気環境学会年会, 浦和, p262, 2000.
2. 大山謙一, 鈴木孝人: 多環芳香族炭化水素によるラット肥満細胞系 RBL-2H3 細胞の脱顆粒に及ぼす影響. 第 42 回大気環境学会年会, 北九州, p313, 2001.
3. Schwartz LB, Austen KF and Wasserman SI: Immunologic release of β-hexosaminidase and β-glucuronidase from purified rat serosal mast cells. J Immunol., 123(4), 1445-50, 1979.