

## 騒音影響の発現機序に関する基礎的研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/8903">http://hdl.handle.net/2297/8903</a>

## 騒音影響の発現機序に関する基礎的研究

金沢大学医学部公衆衛生学教室 (主任: 岡田 晃教授)

岡 本 學

(昭和56年3月11日受付)

**Key words** noise, dopamine  $\beta$ -hydroxylase, cyclic AMP, norepinephrine, 6-hydroxydopamine

人間を取りまく生活環境は、近年都市化の発達に伴ない大きな変遷をとげている。環境因子には物理的、化学的、生物学および社会的因子があるが、その中でも、物理的環境因子は産業および交通による影響で、人間に対してさまざまな病的症状を誘起し、公害としても社会的意義が大きい。特に、騒音という物理的環境因子が注目されており、昭和55年度の公害苦情の種類別件数をもみても、最も高率なのは騒音および振動で、40.7%を占め、これに次ぐのが悪臭の25.6%となっているのが現状である<sup>1)</sup>。

生体は、これら物理的刺激に対して、種々な反応を示し、その反応は刺激の種類、強度および生体の状態によって、それぞれ異なって応答する。刺激に対する防御反応は、非特異的で恒常性維持反応と考えられ、騒音刺激に対しても、従来より循環器系、呼吸器系、消化器系のほかに内分泌系、とくに脳下垂体副腎皮質系機能の関与に関する研究が数多く報告されている<sup>2)</sup>。

騒音に対する影響も、聴覚に及ぼす影響、生理的機能に及ぼす影響、パフォーマンス、作業能率および日常生活に及ぼす影響など、さまざまな側面から活発に研究が展開されているが<sup>3)</sup>、これらの影響は騒音の大きさに関係があり、極度に大きな音によって鼓膜が損傷され、130dB(A)程度では耳痛が起り、また、都市騒音の如き低いレベルのものはannoyanceや睡眠妨害などによって問題となる。このうち、産業職場における騒音性難聴は職業病として特記されており、都市における騒音問題は公害の一つとして現在、騒音規制法によって工場騒音、建設騒音および自動車騒音などを対象として対策が展開されている。

騒音の生理的機能に及ぼす影響についても、聴覚器以外のさまざまな系について追究されているが、音響刺激を拘束あるいは固定などと共に neurotropic stimuli とよんで、寒冷やヒスタミンなどの、いわゆる systemic または metabolic stimuli と区別した Fortier が、音響刺激による副腎の組織化学的検査を行った最初の研究者といわれており、副腎アスコルビン酸が消失することを明らかにしており、前述したように、このような下垂体副腎系に関する研究が、すでに数多く発表されている。

一方、騒音によって末梢血管が収縮し、血圧が上昇し、脈搏数も増加し、血糖が上昇することが知られているが、血中 Epinephrine の増加などから、自律神経系の応答を観察した研究もある<sup>3)</sup>。また、斎藤<sup>4)</sup>は、交感神経緊張状態の唾液分泌曲線は分泌初発より高く、下降急激なる「急峻型」を示すことから、騒音暴露によってこの唾液分泌曲線が、交感神経緊張状態を示すことを明らかにしている。騒音が自律神経系に影響を及ぼすことについて、よく記述はされているが、このような症候的な観察からの推論によるもので、これに関する系統的な研究はほとんどない。したがって、騒音の生理的影響に関して、その影響が生体内のどのような情報伝達系を介して発現するかについても、よく知られていないといっても過言ではない。

そこで、本研究では、近年交感神経系機能の指標として注目されている Dopamine- $\beta$ -hydroxylase (以下 DBH と略記) の血清中および副腎中の動態、また血漿中 cyclic AMP (Adenosine 3', 5' - monophosphate; 以下 cAMP と略記) の動態を観察することに

Study on The Mechanism Concerning Appearance of Noise Effect. Gaku Okamoto, Department of Public Health (Director: Prof. A. Okada), School of Medicine, Kanazawa University.

よって、騒音刺激と生体の量反応関係を知り、また末梢において、化学的に交感神経節後線維の終末部を選択的に破壊する<sup>5)</sup>とされている 6-hydroxydopamine(以下 6-OHDA と略記)の投与によって、騒音による影響発現の機序をさぐり、さらに全脳および脳部位別に Norepinephrine(以下 NE と略記)を測定して中枢神経系への影響および影響発現部位を追究した。その結果、興味ある知見を得たのでここに報告する。

### 対象および方法

実験動物は、Wistar 系の雄性成熟ラット体重  $242 \pm 3.0$  g (mean  $\pm$  S. D.) を用い、事前に動物飼育室にて実験対象ラットの日内リズム調節のため、人工室内照明により 8:00 より 20:00 までの 12 時間を明るくし、残りの 12 時間を暗くなるように設定し、約 2 週間の調節期間をおいた。室内温度は  $23 \pm 2$  °C と一定に保ち、ラットにはオリエンタル MF 固形飼料および水を自由に摂取させた。飼育期間中順調な体重増加を示さなかったものは、実験対象より除外した。なお、すべての実験は、9:00 より 13:00 までの間に行なった。

#### 1. 騒音暴露条件

騒音暴露実験に用いた音は、K 市市街地における交通騒音をテープレコーダーにて収録し、連続再生したものを使用した。その交通騒音の周波数特性は、図 1 に示す通りであった。騒音の暴露方法は、対象ラットを個別のケージに入れ、10 cm の範囲内より左右のスピーカーを設置し、音量調節つまみにより各騒音レベルに調節して、騒音に暴露させた。実験では、暴露時間を 240 分間と一定に保ち 60dB (A)、80dB (A)、100dB (A) の騒音を暴露させ、血清および副腎中 DBH 活性、

血漿中 cAMP 値、全脳および脳部位別の NE 含量に与える影響をみた。対照群としては、実験室内の飼育ケージの中のラットを用いたが、室内環境の騒音測定の結果では、40dB (A) 程度であった。なお、騒音測定には、リオン製 NA-13 型精密騒音計を用いた。

#### 2. 6-OHDA の投与実験

6-hydroxydopamine hydrobromide (Ardrich 社製) 100 mg/kg を、ラットの腹腔内へ注射により投与し、24 時間後に断頭して測定に供した。なお、対照群へは、0.5% アスコルビン酸含有の生理的食塩水を、同量投与した。また、この薬剤の騒音暴露に及ぼす影響をみるため、実験終了 20 時間前に 6-OHDA を前投与した後、100dB (A) の騒音を 240 分間暴露し、実験終了後ただちに断頭し測定に供した。

#### 3. 測定方法

##### 1) 血清および副腎中 DBH 活性測定法

実験終了直後、ギロチンにて断頭し、血液をヘパリン添加ビーカーにて採取し、3000rpm、20 分間遠心して、血清を分離した。一方、副腎は、断頭と同時に開腹し、左右副腎を摘出、秤量後、測定まで  $-80$  °C のディープフリーザーにて凍結保存した。

DBH 活性測定は、血清 0.1 ml および副腎をホモジナイズした上澄 0.1 ml を用い、Goldstein ら<sup>6)</sup>、Weinshilboum ら<sup>7)</sup>、Molinoff ら<sup>8)</sup> の enzyme radio assay を改良した Goldstein 変法<sup>9)</sup>にて測定した。この方法では、チラミンを基質として用い、DBH 反応により生じたオクトパミンに、ウシ副腎髄質より精製した phenylethanolamine-N-methyl transferase (PNMT)<sup>11)</sup>を用い、S-adenosyl 1-methionine-<sup>14</sup>C-methyl; specific activity 60 mCi/mmol からメチル基転移を行ない、生じた<sup>14</sup>C-シネフリンをトルエン・イソアミルアルコールにて抽出後、液体シンチレーションカウンターにて測定した。副腎組織のホモジナイズにはテフロン homogenizer, OMEGA Electric type SM-3 (Takashima) を使用し、測定には Aloka Liquid Scintillation Spectrometry を使用した。

##### 2) 血漿中 cAMP 測定法

cAMP 測定は、YAMASA cAMP Assay Kit を用い、radio immunoassay<sup>12)13)</sup>により行った。採取した血液に EDTA・4Na を加え、遠心分離後、サクシニル化した後、血漿 0.1 ml を用いて、<sup>125</sup>I-succinyl-cAMP tyrosine-methyl ester により反応を進め、gumma counter にて測定した。

##### 3) 全脳および脳部位別 NE 含量測定法

断頭後、すみやかに脳を頭蓋より取り出し、細碎し

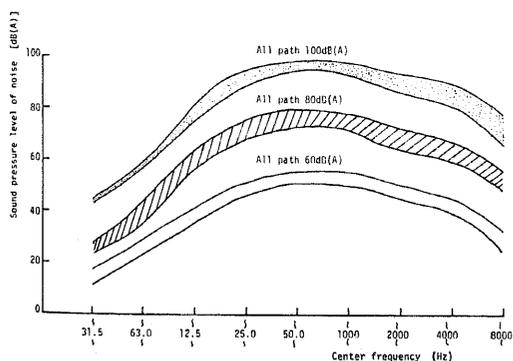


Fig. 1. Frequency analysis of traffic noise used in noise exposure experiment.

たドライアイス中で凍結し、秤量後、また、脳の部位別検索では、摘出した脳をアイスプレート上で、Growinski ら<sup>14)</sup>の方法に準じて、小脳、延髄・橋、視床下部、線状体、中脳、皮質、海馬の7部位に分割し、秤量後測定まで $-80^{\circ}\text{C}$ のディープフリーザーにて凍結保存した。全脳および部位別分割脳のNEは、Amberlite CG-50columnにより分離精製後、tri-hydroxyindol 法<sup>15)</sup>にて測定した。脳組織のホモジナイズには、副腎のホモジナイズと同様な homogenizer を用い、蛍光分光光度計は Farrand MK-1 を使用した。

## 成 績

### 1. 血清および副腎中 DBH 活性

騒音暴露時間を240分間と一定に保ち、騒音レベルを60dB(A)、80dB(A)、100dB(A)と変化させ暴露した場合の血清および副腎中DBH活性の変動を図2に示した。対照群と騒音暴露群とを比較すると、血清中DBH活性は、60dB(A)および80dB(A)暴露群で危険率1%以下、又100dB(A)暴露群で危険率5%以下で有意な増加を認め、平均値で比較しても、60dB(A)で28%、80dB(A)で26%、100dB(A)で36%

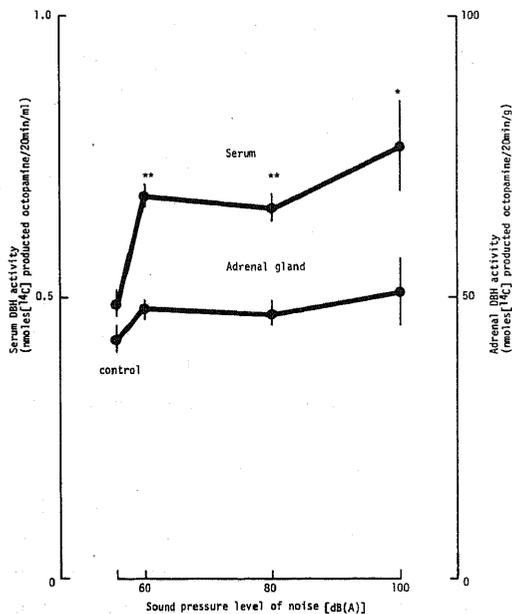


Fig. 2. Effect of sound pressure level of noise on serum and adrenal DBH activity. Noise exposure time was constant with 240 min. Each group represents a mean  $\pm$  S.E.M. of 4 rats. \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$  (t-test).

%の増加を示したが、騒音暴露群間では、有意な差は認められなかった。一方、副腎中DBH活性では、60dB(A)で12%、80dB(A)で9%、100dB(A)で17%の増加を示したが、対照群との間に、有意な差異はなかった。対照群におけるDBH活性は、血清中で $0.49 \pm 0.02$  n moles [<sup>14</sup>C] produced octopamine/20min/ml (mean  $\pm$  S.E.)、副腎中で $42.6 \pm 2.26$  n moles [<sup>14</sup>C] produced octopamine/20min/g (mean  $\pm$  S.E.)であった。副腎重量は $19 \pm 3$  mg (mean  $\pm$  S.D.)であり、DBH活性は、副腎重量1gあたりに換算して示した。対照群と騒音暴露群との間の統計学的検討には、student's t-testを用いた。

### 2. 血漿中 cAMP 値

血清および副腎中DBH活性の実験と同様な騒音暴露条件で、つまり騒音暴露時間を240分間と一定に保ち、騒音レベルを60dB(A)、80dB(A)、100dB(A)

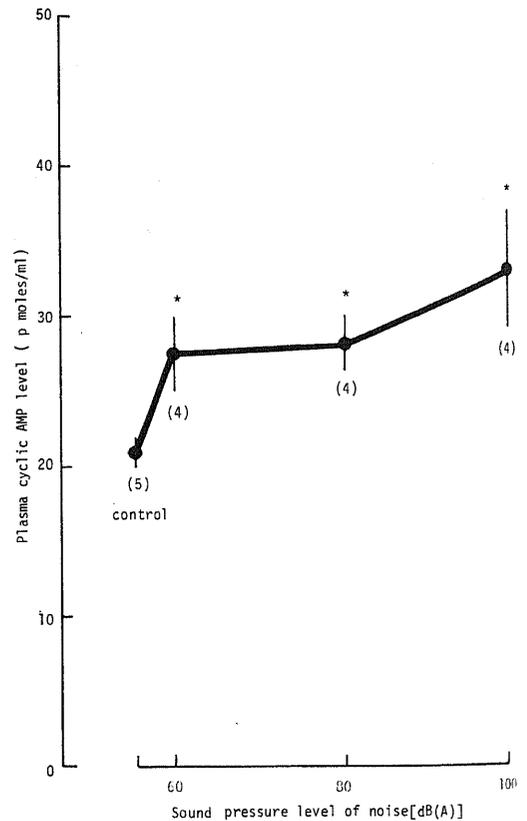


Fig. 3. Effect of sound pressure level of noise on plasma cyclic AMP level. Noise exposure time was constant with 240 min. Each group represents a mean  $\pm$  S.E.M. Figures in parentheses indicate the number of rats. \* $p < 0.05$  (t-test).

と変化させて暴露した場合の血漿中 cAMP 値の変動を図3に示した。対照群と騒音暴露群とを比較すると、各レベルの騒音暴露群ともに危険率5%以下で有意な増加が認められた。平均値と比較しても、60dB (A) で23%, 80dB (A) で25%, 100dB (A) で36%の増加を示しており、騒音レベルの上昇とともに、cAMP 値も上昇を示した。しかし、騒音暴露群の間では、有意な差は認められなかった。対照群における血漿中 cAMP 値は、 $21.2 \pm 1.15$  pmoles/ml (mean  $\pm$  S. E.)であった。

### 3. 6-OHDA 投与による影響

100 mg/kg, 6-OHDA をラット腹腔内へ投与することによる24時間後の血清および副腎中 DBH 活性への影響を図4に示した。生水を投与した対照群と6-OHDA 投与群を比較すると、血清および副腎中 DBH 活性は両者ともに危険率1%以下で有意な減少が認められた。平均値と比較すると、血清で17%, 副腎で36%の減少であった。

次に、6-OHDA 前投与した20時間後に240分間にわたる100dB (A) の騒音を暴露したときの、血清および副腎中 DBH 活性への影響を図5に示した。図に示した通り、対照群と6-OHDA 前投与100dB (A) 騒音暴露群とを比較すると、血清中 DBH 活性では危険率1%以下で有意な減少が認められた。一方、副腎中

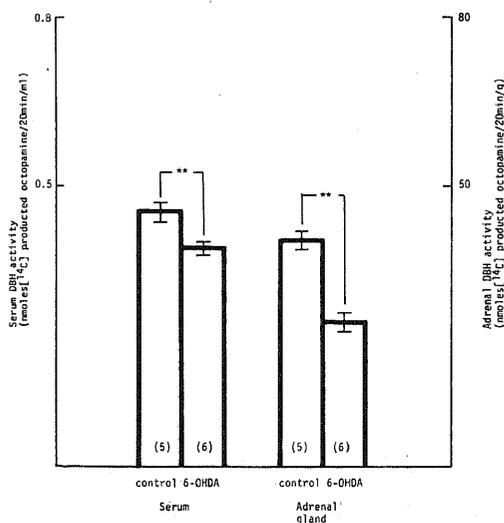


Fig. 4. Effect of administration of 6-OHDA on serum and adrenal DBH activity. 100 mg/Kg 6-OHDA was injected to rats intraperitoneally. Each group represents a mean  $\pm$  S.E.M. Figures in parentheses indicate the number of rats. \*\* $p < 0.01$  (t-test).

DBH 活性では、6-OHDA 投与群は、対照群に比べて減少傾向を示したものの、6-OHDA 前投与100dB (A) 騒音暴露群と対照群との間に差は認められなかった。さらに、6-OHDA 投与群と6-OHDA 前投与100dB (A) 騒音暴露群とは、血清および副腎中 DBH 活性ともに差は認められなかったが、血清中では同値を示し、副腎中では9%の変化を示した。

### 4. 全脳および脳部位別の NE 含量

同様に騒音暴露時間を240分間と一定に保ち、騒音レベルを60dB (A), 80dB (A), 100dB (A) と変化させた場合の騒音暴露条件での全脳における NE 含量の変動を図6に示した。対照群と騒音暴露群を比較すると、100dB (A) において減少傾向が認められたが、その他の暴露群では差はみられなかった。騒音暴露群の間では、60dB (A) 暴露群と100dB (A) 暴露群とを比べると、100dB (A) 暴露群では危険率5%以下で有意な減少が認められた。対照群における全脳 NE 含量は  $485 \pm 74$  ng/g (mean  $\pm$  S. E.)であった。また、ラット全脳重量は  $2.42 \pm 0.12$  g (mean  $\pm$  S. D.)であり、NE 含量は脳重量1gあたりに換算して示した。

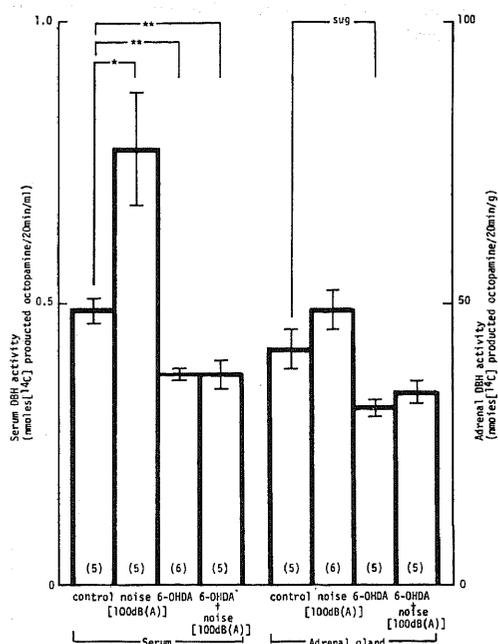


Fig. 5. Effect of administration of 6-OHDA (100 mg/Kg, i.p.) and 100dB (A) noise exposure on serum and adrenal DBH activity. Each group represents a mean  $\pm$  S.E.M. Figures in parentheses indicate the number of rats. \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; sug  $p < 0.10$  (t-test).

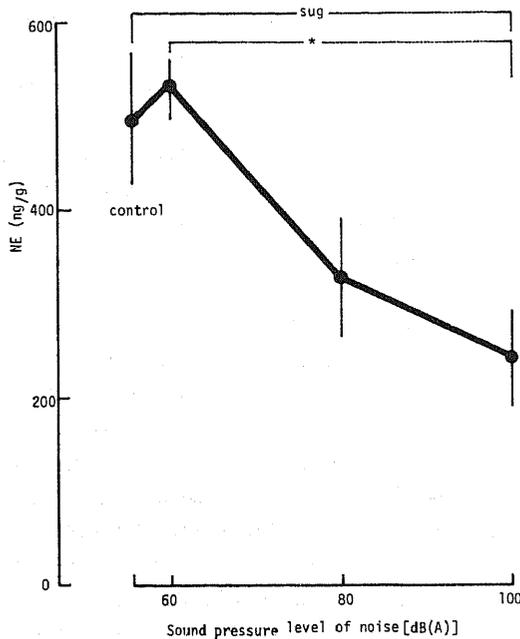


Fig. 6. Effect of sound pressure level of noise on brain NE level. Noise exposure time was constant with 240 min. Each group represents a mean  $\pm$  S.E.M. of 4 rats. \* $p < 0.05$ ; sug  $p < 0.10$  (t-test).

次に、全脳レベルでNE含量の減少傾向をみせた100dB (A) 暴露群に対して、さらに脳を小脳、延髄・橋、視床下部、線状体、中脳、皮質および海馬の7部位に分割して、部位別におけるNE含量を測定したのが図7である。図に示されている通り、対照群と騒音暴露群を比較すると、視床下部で減少傾向が認められ、中脳では危険率5%以下で有意な減少がみられた。しかし、その他の部位では対照群との間に有意な差はなかった。また、脳の部位別の重量は、小脳で  $358 \pm 20$  mg、延髄・橋で  $265 \pm 21$  mg、視床下部で  $72 \pm 11$  mg、線状体で  $243 \pm 22$  mg、中脳で  $253 \pm 38$  mg、皮質で  $934 \pm 50$  mg、海馬で  $202 \pm 17$  mg (mean  $\pm$  S. D.)であった。

### 考 察

騒音などの物理的刺激のみならず、いわゆるストレスが生体に負荷されると、自律神経系も他の生体機能と関連して、一連の非特異的な反応を生ずる。生体の示す自律神経系の機能状態を客観的にとらえるために、いろいろな自律神経機能検査法<sup>6)17)</sup>が示され、基礎的および臨床的にも応用されているが、いずれも充分にその目的を達しているとはいえない現状ともいえよう。

騒音刺激に対する自律神経系への影響をみた研究に

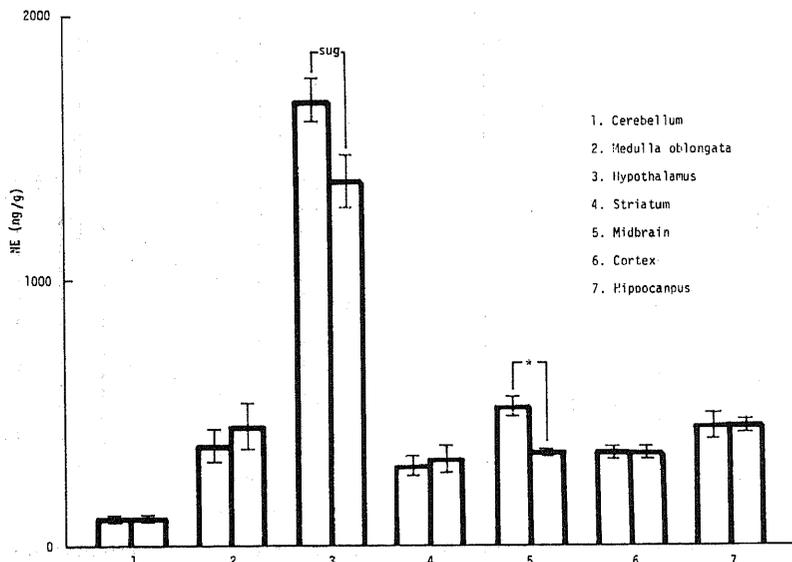


Fig. 7. Effect of sound pressure level of noise on NE levels in brain regions. Noise exposure time was constant with 240 min. For each region the left bars indicate control and the right bars indicate noise exposed rats. Each group represents a mean  $\pm$  S.E.M. of 4 rats. \* $p < 0.05$ ; sug  $p < 0.10$  (t-test).

ついても、Lehmann<sup>18)</sup>は末梢血管の収縮を、また Jansen<sup>19)</sup>も末梢血管抵抗の増加を述べ、大浦<sup>20)</sup>石橋<sup>20)</sup>木村<sup>21)</sup>も、騒音による交感神経緊張状態を報告している。つまり交感神経の活動が高まっている状態として、瞳孔散大、心搏促進、血圧上昇、末梢血管の収縮、汗の分泌および血糖の上昇など一連の反応がみられる。その中でも、喜多野<sup>22)</sup>は血中 Epinephrine の増加による交感神経の緊張を示している。しかしながら、これらの研究結果をみても、主として症候的な観察に基ずいたものであって、神経遮断などによる系統的な研究はほとんどない。

騒音刺激に対する応答を、神経伝達物質で観察することがあり、これらの物質を検出することができれば、自律神経機能を系統的に把握することができるのであるが、現在のところ血中および組織中の生体内カテコールアミンなどの伝達物質を測定するのに、なお多くの困難があり<sup>23)</sup>、これらの伝達物質の代りに、血清および副腎中 DBH 活性や血漿中 cAMP を測定することによって、自律神経とくに交感神経機能に与える影響をさぐることにした。

DBH はカテコールアミン生成酵素の 1 つであり、ドーパミンの側鎖の  $\beta$ -炭素を水酸化して NE を生成する 1 原子酸素添加酵素であり<sup>24)</sup>、生体では主として交感神経節後線維の終末部にあるカテコールアミン含有粒状小胞<sup>25)</sup>や副腎髄質のクローム親和性顆粒<sup>25)26)</sup>に多く存在し、その他脳<sup>27)</sup>、脾臓、肝臓、心臓<sup>28)</sup>、腸、唾液腺、血管壁<sup>28)29)</sup>の組織中にも存在する。また DBH は、細胞体のゴルジ装置で生成され、神経細胞では軸索内を神経細管に沿って、軸索流により末梢に運ばれ<sup>30)</sup>神経終末に至り、varicositas といわれる神経のふくらみに貯蔵される。一部は可溶性として残りは膜結合状態で存在する。アセチルコリン<sup>31)</sup>や神経刺激<sup>26)</sup>により exocytosis (eruptocrine secretion) 機構に従い、主に遊離型 DBH がカテコールアミン、ATP<sub>32)</sub>、随伴蛋白として知られるクロモグラニンなどと共に血中に放出される<sup>26)31)33)~38)</sup>。放出された DBH はカテコールアミンと異なり、神経組織による再摂取はみられないので、カテコールアミン定量よりも交感神経活動を反映しているものと考えられている<sup>35)</sup>。また、副腎摘出前後で血中 DBH に差がないことから、主として交感神経線維に由来するものとされている<sup>39)40)</sup>。その中でも、特に注目されるのは weinshilboum<sup>35)</sup>が、副腎あるいは交感神経を刺激することによってカテコールアミンと DBH に量反応関係があったと報告しており、また Gewirtz<sup>39)</sup>は、副腎および交感神経の還流実験において、アセチルコリン投与または電気刺激を

行い同様の結果を示している。

本研究においても、騒音刺激と血清中 DBH 活性との量反応関係を追究することを試みたのであるが、騒音暴露によって、すでに 60dB (A) という低い騒音レベルで有意に増加することが観察された。ただし 60dB (A)、80dB (A)、100dB (A) という種々な騒音レベルの暴露群間では、100dB (A) で 36% と最も著明な増加をみたものの、暴露群間相互の差は有意ではなかった。一方、副腎中 DBH 活性では、同じく騒音暴露により増加の傾向がみられたが、その変化は有意ではなかった。いずれにしても、血清中 DBH 活性の応答から、騒音による影響が交感神経を介して発現するであろうことが推定できる。

cAMP の末梢神経系における役割は、まだ明確ではないが、最近、神経伝達機構における second messenger としての役割が注目されており、交感神経性アミンの各組織に対する作用も cAMP を介することが知られている<sup>41)</sup>。また、神経細胞から放出されたカテコールアミンが、 $\beta$ -受容体に結合して、adenylate cyclase が活性化され、神経終末に cAMP が蓄積され増加するものと考えられている<sup>42)~44)</sup>。血漿中 cAMP 値は、ストレス時やカテコールアミンその他のホルモンによって増加することが報告されている一方、長期間にわたる中等度の運動負荷も、1 時間の激しい運動も cAMP 値にさほど明らかに影響を与えないという報告もみられる。本研究における騒音刺激による血漿中 cAMP 値は刺激レベルの上昇に伴ない、有意な増加を示し、このような cAMP 値の増加は、交感神経性アミンの作用に基ずくものと理解することができよう。

さらに騒音による影響発現の機序を明らかにするために、化学的交感神経遮断剤<sup>45)46)</sup>である 6-OHDA を投与して、騒音に暴露した際の反応が、これによってどのような影響および効果をもたらされるかを検討した。6-OHDA は、ドーパミンのカテコール核の 6 の位置に OH 基がついたもので、中枢では NE および DA neuron の終末部を、また末梢では交感神経節後線維の終末部を選択的に破壊するといわれ、中枢および末梢のカテコールアミンを著明に減少させ、その効果も持続的である。したがって、DBH 活性も顕著に低下する<sup>47)</sup>ことが知られている。なお、6-OHDA 投与による生体アミンの減少効果については投与部位、容量、作用時間などによって幾分異なりをみせるが、その応答は一様に減少することで一致をみている。

本研究でも、6-OHDA を投与すると、血清中 DBH 活性は有意に減少し、これまでの報告を裏づけるものであった。そこで、騒音暴露によってどのような応答

を示すかを見てみると、その反応量は6-OHDAを投与した場合とほとんど同じで、6-OHDAの投与なしで騒音暴露時にみられた著明な血清中DBH活性の上昇は認められなかった。すなわち、騒音暴露によって著明な上昇を示した血清中DBH活性は、6-OHDAの化学的交感神経遮断によって6-OHDAのみを投与した場合と同じ反応を示しており、6-OHDAの投与により騒音の影響が発現していないことから、騒音による影響は確かに交感神経を介して発現するものと理解できよう。

次に、交感神経に基づき末梢性の変化とともに、脳における中枢性の応答も観察したが、脳内カテコールアミンのうち代表的なNEについて検討した。騒音刺激は、NE neuronの活動を促し、その刺激が十分強大なものであれば、脳内NEの合成は追いつかず一過性に脳内NEの減少としてとらえられることが考えられるが、著者の成績でも全脳NE含量が減少傾向を示し、このようなことがうかがわれた。

Ritterら<sup>48)</sup>は、月齢の異なるラットを用い、foot shockおよび寒冷暴露という刺激を負荷して、視床下部と間脳に分けてNE含量を測定し報告しているが、そのなかで、彼は両刺激においてもNEが減少し、その減少度は年長ラットで大きく、また回復も遅いこと、さらに刺激直後から刺激前値までの回復時間を検討し、視床下部におけるfoot shock 1時間負荷直後のNE減少の程度は、寒冷暴露6時間後のNE減少度とほぼ同程度で、この場合寒冷暴露がfoot shockに比べ、刺激としてはるかに強大であること、また、刺激によるNE減少に視床下部が敏感であることを反映していると報告している。視床下部は、身体機能とくに循環器、消化器などの内臓の働きを調節する自律神経系の存在する部位であり、また下垂体を介して内分泌系の働きを支配する中枢でもある<sup>49)</sup>。それぞれの役割において、脳内神経伝達物質といわれる生体モノアミンが複雑に作用し合い、NEもその一役を荷っていると考えられる。本研究でも、脳部位別検索で、視床下部で騒音刺激によりNE含量が減少する傾向が認められたが、その程度は刺激の種類や強度により異なるものと考えられる。一方、中脳においてもNE含量が有意に減少した。これは、中脳には種々の反射中枢があり、生命に直接関係の深い中枢である脳幹を構成しており、さらに四丘体のうちの下丘は、下丘腕-内側膝状体につづき、聴覚伝導路としての重要な解剖学的位置関係にある<sup>50)</sup>。このような部位である中脳に、騒音刺激の際にNE含量の有意な減少を認めたことは甚だ興味深い。

なお、騒音レベルについて、本研究では100dB(A)の騒音に対して有意なNE含量の減少を認めたが、80dB(A)以上の持続的な騒音で聴力消失を、また小山<sup>51)</sup>は70dB(A)以上にて脳波に変化のあったことを報告している。さらに血清および副腎中コルチコステロンの変動より60-70dB(A)の付近にストレスとして働く許容限界があるという報告<sup>52)</sup>もみられた。著者の成績では、末梢性の反応と考えられる血清中DBH活性に関しては、60dB(A)ですでに有意な変化を認めたのに対して中枢神経系に関しては、脳内NE含量では100dB(A)ではじめて有意な変化を認めることができた。つまり、生理学的な許容限界は、観察項目や用いる指標によって種々であることが想定される。

## 結 論

騒音刺激による影響発現の機序および量反応関係を知ることを目的として、ラットを用いて、実験的に種々なレベルの騒音を暴露し血清および副腎中DBH活性ならびに血漿中cAMP値の動態を観察して、騒音レベルとの関連性を検討し、また6-OHDAを投与して騒音暴露時の応答を吟味することによって、その作用機序を追究し、さらに全脳および脳部位別のNE含量を測定して、中枢神経系機能への影響および影響の発現部位を検索した結果、以下の成績が得られた。

1. 騒音レベルを60dB(A)、80dB(A)、100dB(A)と変化させた場合の血清中DBH活性は、60、80dB(A)群( $p < 0.01$ )および100dB(A)群( $p < 0.05$ )で有意な上昇が認められ、平均値比較においても、60dB(A)で28%、80dB(A)で26%、100dB(A)で36%の増加を示した。しかし、暴露群間では有意な差はみられなかった。一方、副腎中DBH活性では、対照群との平均値比較では、60dB(A)で12%、80dB(A)で9%、100dB(A)で17%の増加を示したが、その差は有意ではなかった。

2. 同じような種々な騒音レベルに暴露した場合の血漿中cAMPでは、各レベルの騒音暴露群は対照群に比べ有意な増加( $p < 0.05$ )を示した。

3. 化学的交感神経遮断の作用で知られる6-OHDA(100 mg/kg, i. p.)投与により、血清および副腎中DBH活性はともに有意に減少( $p < 0.01$ )した。

4. 6-OHDA前投与後の100dB(A)の騒音暴露による結果では、血清中DBH活性は有意な減少( $p < 0.01$ )を示した6-OHDA投与群とほとんど同じ値であって、両群間に差は認められなかった。すなわち、騒音暴露時の上昇反応はみられず、主として、末梢では交感神経節後線維の終末部を選択的に破壊するとされ

る 6-OHDA の効果がみられ、騒音刺激による影響はこの系を介して発現するであろうことが示唆された。

5. 同様に種々な騒音レベルに暴露した場合の全脳 NE 含量は、100dB (A) 群において減少傾向を示したが、60dB (A) ならびに 80dB (A) 群では有意な変化は認められなかった。騒音レベル間、つまり 60dB (A) と 100dB (A) を比較すると、100dB (A) では 60dB (A) に比べて有意に減少 ( $p < 0.05$ ) していた。

6. 脳部位別 NE 含量は、視床下部で減少傾向が認められ、中脳では有意な減少 ( $p < 0.05$ ) が認められた。この部位別 NE 含量の動態より、中枢神経系においては、視床下部および聴覚伝導路を含む中脳が特に顕著な応答を示すが如く観察された。

7. 量反応関係では、末梢性の反応と考えられる血清中 DBH 活性では 60dB (A) ですでに有意な変化を認めたのに対して脳内 NE 含量では 100dB (A) ではじめて有意な変化を認めた。

稿を終えるに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師岡田晃教授に深く感謝の意を表します。あわせて御助言・御協力を頂いた当教室の有泉誠先生に厚く御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) 環境庁編：昭和 55 年度版環境白書，11 頁，環境庁，1980。
- 2) 岡田晃・中村円生：騒音、振動・衝撃の影響と対策，第 1 版，243 - 247 頁，東京，人間と技術社，1970。
- 3) 大浦次郎：騒音の生体に及ぼす影響に関する実験的研究。日公衛誌，8，227 - 238 (1961)。
- 4) 齊藤貞男：騒音の生体に及ぼす影響に就いて。第 1 編 - 第 III 編，日生理誌，19，1069 - 1099 (1957)。
- 5) 福田健夫：脳内アミン減少ラットの精神障害モデルとしての検討。日医師会誌，76，963 - 970 (1976)。
- 6) Goldstein, M., Freedman, L. S. & Bonney, M. : Assay for DBH activity in tissues and serum. *Experientia*, 27, 632 - 633 (1971)。
- 7) Weinshilboum, R. and Axelrod, J. : Serum DBH activity. *Cir. Res.*, 28, 307 - 315 (1971)。
- 8) Molinoff, P. B., Weinshilboum, R. & Axelrod, J. : A sensitive enzymatic assay for DBH. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 178, 425 - 431 (1971)。
- 9) 田中孝夫・古川哲二：Dopamine- $\beta$ -hydroxylase (DBH) について。麻酔，24，847 - 852 (1975)。
- 10) 田中孝夫・古川哲二・大内武・田中正三：血清 Dopamine- $\beta$ -hydroxylase に関する薬理的検討。臨床生理，6，266 - 270 (1976)。
- 11) Axelrod, J. : Purification and properties of phenylethanolamine-N-methyltransferase. *J. Biol. Chem.*, 237, 1657 - 1660 (1962)。
- 12) Steiner, A. L., Pagliara, A. S., Chase, L. R. & Kipnis, D. M. : Radioimmunoassay for cyclic nucleotides. II. Adenosine 3', 5'-monophosphate and guanosine 3', 5'-monophosphate in mammalian tissues and body fluid. *J. Biol. Chem.*, 247, 1114 - 1120 (1972)。
- 13) Steiner, A. L., Parker, C. W. & Kipnis, D. M. : Radioimmunoassay for cyclic nucleotides. I. Preparation of antibodies and idinated cyclic nucleotides. *J. Biol. Chem.*, 247, 1106 - 1113 (1972)。
- 14) Glowinski, J. and Iversen, L. L. : Regional studies of catecholamines in the rat brain-I. *J. Neurochem.*, 13, 655 - 669 (1966)。
- 15) Karasawa, T., Fukuda, K., Yoshida, K. & Shimizu, M. : A double column procedure for simultaneous estimation of norepinephrine, normetanephrine, dopamine, 3 - methoxytyramine and 5 - hydroxytryptamine in brain tissues. *Jap. J. Pharmacol.*, 25, 727 - 736 (1975)。
- 16) 金井泉・金井正光：臨床検査法提要，東京，金原出版，1968。
- 17) 沖中重雄・中尾喜久・古川政己：自律神経と臨床，58 頁 - 73 頁，東京，杏林書院，1964。
- 18) Lehmann, G. : Die Einwirkungen des Larms auf den Menschen, West deutscher Verlag, Opladen, 1961。
- 19) Jansen, G. und Roy, P. Y. : Der Einfluss des Bandbreite eines Gerausches auf die starke vegetative Reaktionen. *Int. 2. angew. Physiol. einschl. Arbeitsphysiol.*, 19, 587 - 599 (1962)。
- 20) 石橋奎之輔：騒音の自律神経系に及ぼす影響。福岡医学誌，47，1406 - 1417 (1956)。
- 21) 木村政長・宮下勉・伊藤秀三郎・渡部一雄・北村宗信・田中誠末・木村義浩：爆発の生体に及ぼす影響に就いて。歯科学報，57 付録，43 - 53 (1957)。
- 22) 喜多野邦夫：強力な可聴鈍音の家兎血糖に及ぼす影響。耳鼻と臨床，4，261 - 270 (1958)。
- 23) Geffin, L. : Serum DBH as an index of sympathetic function. *Life Sci.*, 14, 1953 - 1604 (1974)。
- 24) Freedman, L. S. and Kaufman, S. : 3, 4 - dihydroxyphenylethylamine- $\beta$ -hydroxylase.

- Physical Properties, copper content and role of copper in the catalytic activity. *J. Biol. Chem.*, **240**, 4763-4773 (1965).
- 25) **Kirshner, N.** : Pathway of noradrenaline formation from DOPA. *J. Biol. Chem.*, **226**, 821-825 (1957).
- 26) **Gewirtz, G. P. and Kopin, I. J.** : Release of DBH with norepinephrine during cat splenic nerve stimulation. *Nature*, **227**, 406-407 (1970).
- 27) **Udenfriend, S. and Creveling, C. R.** : Localization of Dopamine- $\beta$ -hydroxylase in brain. *J. Neurochem.*, **4**, 350-352 (1959).
- 28) **Potter, L. T. and Axelrod, J.** : Properties of norepinephrine storage particles of the rat heart. *J. Pharmacol.* **142**, 299-305 (1963).
- 29) **Pisano, J. J., Creveling, C. R. & Udenfriend, S.** : Enzymic conversion of p-thramine to p-hydroxyphenylethanolamine (norsynephrine). *Biochem. Biophys. Acta.*, **43**, 566-568 (1960).
- 30) 永津郁子: 軸索流. *神経進歩*, **18**, 52-65 (1974).
- 31) **Viveros, O. H., Arqueros, L. & Kirshner, N.** : Release of catecholamines and dopamine- $\beta$ -oxidase from adrenal medulla. *Life Sci.*, **7**, 609-618 (1968).
- 32) **Douglas, W. W. and Poisner, A. M.** : Evidence that the secreting adrenal chromaffin cell releases catecholamines directly from ATP-RICH granules. *J. Physiol.*, **183**, 236-248 (1966).
- 33) **Axelrod, J.** : Dopamine- $\beta$ -hydroxylase. Regulation of its synthesis and release from nerve terminals. *Pharmacol. Rev.*, **24**, 233-243 (1972).
- 34) 永津俊治: 血清 DBH について - 血清酵素の活性と不活性型 -, *生化学*, **56**, 53-66 (1973).
- 35) **Weinshilboum, R. M., Thoa, N. B., Johnson, D. G., Kopin, I. J. & Axelrod, J.** : Proportional release of norepinephrine and dopamine- $\beta$ -hydroxylase from sympathetic nerves. *Science*, **174**, 1349-1351 (1971).
- 36) **DePotter, W. P., DeSchaepdryver, A. F., Moerman, E. J. & Smith, A. D.** : Evidence for the release of vesicle proteins together with noradrenaline upon stimulation of the splenic nerve. *J. Physiol.*, **204**, 102-104 (1969).
- 37) **Geffin, L. B., Levett, B. G. & Rush, R. A.** : Immunological localization of chromogranins in sheep sympathetic neurons and their release by nerve impulses. *J. Physiol.*, **204**, 58-59 (1969).
- 38) 岡源郎: カテコールアミンの分泌とその調節. *診療*, **22**, 25-33 (1969).
- 39) **Weinshilboum, R. M., Kventnansky, J., Axelrod, J. & Kopin, I. J.** : Elevation of serum Dopamine- $\beta$ -hydroxylase Activity with Forced Immobilization. *Nature New Biol.*, **230**, 287-288 (1971).
- 40) 八島理: 人血清 DBH 活性に関する実験的並びに臨床的研究. *日内分泌誌*, **49**, 48-59 (1973).
- 41) **Sutherland, E. W. & Robinson, G. A.** : Metabolic effect of catecholamine; The role of cyclic 3', 5'-AMP in response to catecholamine and other hormones. *Pharmacol. Rev.*, **18**, 145-161 (1966).
- 42) **Goldstein, M., Anagnoste, B., Freedman, L. S., Roffman, R. P., Ebstein, R. P., Park, D. H., Fuxe, K. & Hokfelt, T.** : Frontiers in Catecholamine Research, p69, In E. Usdin & S. Synder (ed), Pergamon Press, Oxford, 1973.
- 43) **Harris, J. E., Morgenroth III, V. H., Roth, R. H. & Baldessarini, R. J.** : Regulation of catecholamine synthesis in the rat brain in vitro by cyclic AMP. *Nature*, **252**, 156-158 (1974).
- 44) **Taneda, M., Izumi, F. & Oka, K.** : Effect of dibutyl adenosine 3', 5'-monophosphate on catecholamine synthesis in rat brain cortical-slices and isolated vasa deferentia. *Jap. J. Pharmacol.*, **24**, 934-936 (1974).
- 45) **Malmfors, T. & Sachs, C.** : Degeneration of adrenergic nerves produced by 6-hydroxy-dopamine. *Eur. J. Pharmacol.*, **3**, 89-92 (1968).
- 46) **Thoenen, H. & Tranzer, J. P.** : Chemical sympathectomy by selective destruction of adrenergic nerve endings with 6-OHDA. *Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmacol.*, **261/271-288** (1968).
- 47) **Weinshilboum, R. & Axelrod, J.** : Serum Dopamine- $\beta$ -hydroxylase. Decrease after chemical sympathectomy. *Science*, **173**, 931-934

(1971).

48) Ritter, S. & Palzer, N. L. : Magnitude of stress-induced brain norepinephrine depletion varies with age. *Brain Res.*, **152**, 170 - 175 (1978).

49) Ganong, W. F. (松田幸次郎・市岡正道・八木欽治共訳): 医科生理学展望, p152 - 168, 東京, 丸善, 1972.

50) 小島徳造: 中枢神経系の解剖, 第5版, p97 - 109, 1972.

51) 小山義裕: 音響刺激と自律中枢. *日耳鼻会報*, **67**, 1545 - 1578 (1964).

52) 有園初夫・岩本美江子・津名陽子: 騒音に対する視床下部下垂体副腎系の反応. *愛知医大医会誌*, **4**, 1 - 5 (1976).

**Study on the Mechanism Concerning Appearance of Noise Effect** Gaku Okamoto, Department of Public Health (Director: Prof. A. Okada), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 — J. Jusen Med. Soc., **90**, 316—326 (1981)

**Key words:** noise, dopamine- $\beta$ -hydroxylase, cyclic AMP, norepinephrine, 6-hydroxydopamine

#### Abstract

This study was undertaken to investigate the dose-response relationship between biological effect and noise exposure and to consider the mechanism of appearance of noise effects. Rats were exposed to noise at intensities of 60dB (A), 80dB (A) and 100dB (A) and examined for the change of activities of Dopamine- $\beta$ -hydroxylase in serum and adrenal glands as well as for plasma cyclic AMP levels. To consider the mechanism of appearance of noise effects, some rats had 6-hydroxydopamine administered before noise exposure. Moreover to investigate the effects of noise on the central nervous system, norepinephrine levels were measured in rat whole brain or regional brains. The following results were obtained;

1. Concerning dose-response relationship, significant change was observed at 60dB (A) in serum DBH and at 100dB (A) in brain NE.
2. Serum DBH activity was significantly elevated by noise exposure but this effect was not observed by pre-administration of 6-OHDA, it is suggested that the effect due to noise exposure appears through the sympathetic nervous system.
3. Brain NE decreased significantly in Mid-brain and showed a tendency of decrease in Hypothalamus by noise exposure.