

今後の研究計画

培養細胞への 硫酸水素アンモニウムばく露実験

東京都健康安全研究センター
環境衛生研究科

1年目及び2年目のばく露実験 スケジュール A549細胞

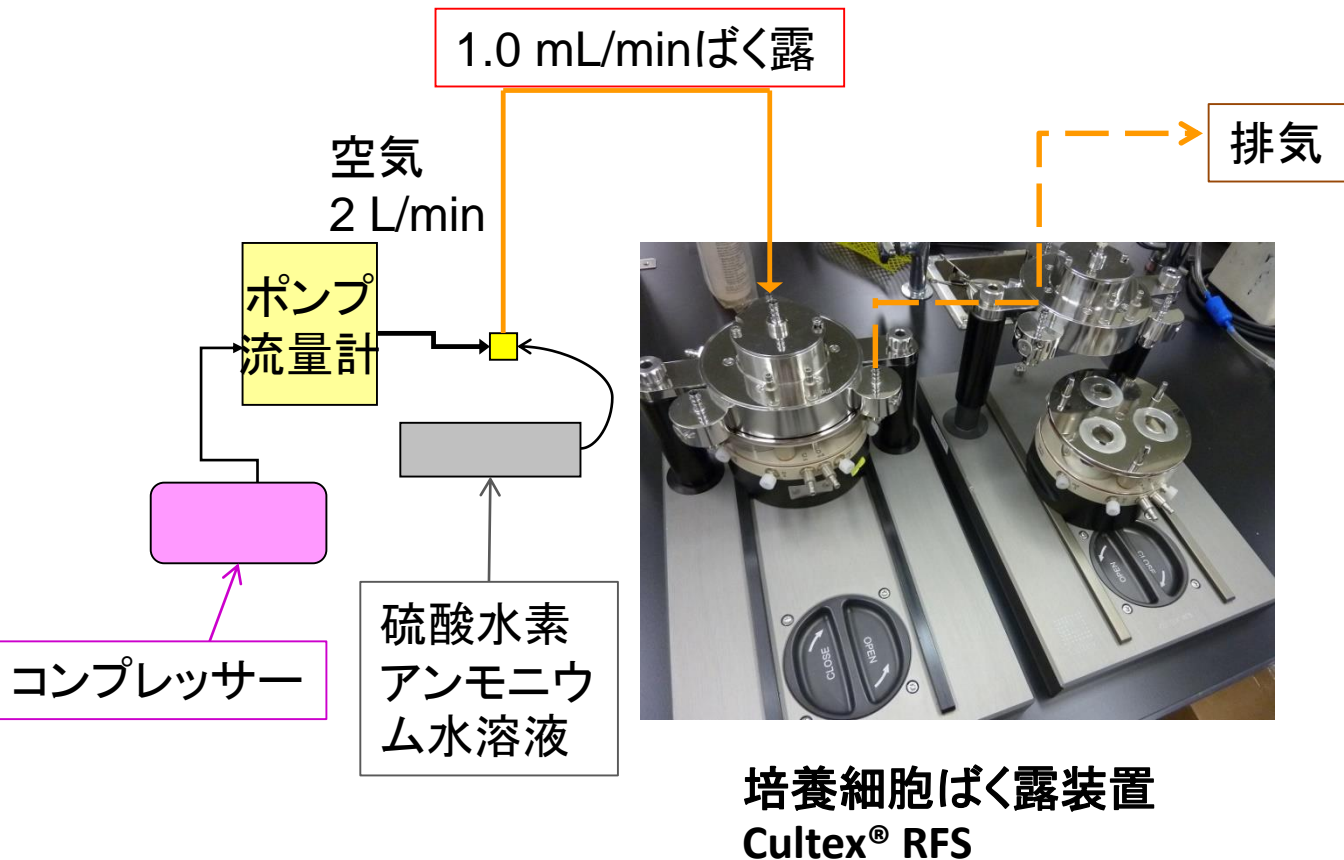
		1年目	2年目
1	気相ばく露条件の検討	気相化の濃度設定等、 安定性の検討	-
2	ばく露実験	液相ばく露	気相ばく露
3	感受性を高めた細胞の液相 ばく露実験	予備実験	本実験
4	酸化ストレスを誘導する因子 (細胞内ROS*)の測定	予備実験	本実験

*ROS: 活性酸素種
(Reactive Oxygen Species)

1 気相ばく露条件の検討

硫酸水素アンモニウムの気相濃度設定等、安定したばく露条件を構築する

気相ばく露装置模式図



気相ばく露濃度 (1、10、100 mg/m³) を安定的に発生できる条件 (硫酸水素アンモニウム水溶液濃度等) を調べる。

またばく露濃度の安定性についても調べる。

2 A549細胞への硫酸水素アンモニウム液相ばく露実験

実験条件	
ばく露方法	液相ばく露
培養細胞	ヒト肺上皮由来A549細胞
ばく露濃度	細胞増殖能力:0.001、0.01、0.1、1、10 mg/mL、超純水 その他の項目:細胞増殖能力の結果から濃度を決定
ばく露時間	24時間(HO-1は3時間)

測定項目	
細胞傷害作用	細胞増殖能力、乳酸脱水素酵素 (LDH)
炎症因子	IL-8
酸化ストレスマーカー	HO-1、還元型グルタチオン(GSH)

3 感受性を高めたA549細胞への液相ばく露(予備実験)

感受性を高めた(炎症状態)A549細胞を作製し、その細胞へ硫酸水素アンモニウムを液相ばく露して炎症因子(IL-8、IL-6、他)等の変化を調べ、炎症等が増悪するか調べる

1年目計画

感受性が高まる至適条件(ばく露濃度、時間等)等の検討

検討項目

- 炎症状態を示す炎症因子の探索
- 感受性が高まるIL-1 β 濃度や反応時間等の検討

測定項目

- 炎症因子、細胞増殖能力、細胞傷害性 等

IL-1 β のばく露濃度や時間を変化させ、A549細胞による炎症因子の増強の程度を調べ、感受性が高まる条件を検討する。

4 酸化ストレスを誘導する因子(細胞内ROS)の測定(予備実験)

A549細胞に硫酸水素アンモニウムを液相ばく露し、細胞内ROSの発生を測定(HO-1、GSHの結果を補完)

1年目計画

実験方法等の検討及び陽性対照物質の探索

検討項目

- 短時間(3時間以内)及び長時間(24時間まで)ばく露に適した方法、測定条件等の検討
- 短時間及び長時間ばく露に適した陽性対照物質の探索

検出対象ROS

- 過酸化水素、ヒドロキシラジカル等

ROS測定に適した方法、測定条件等を検討する。A549細胞でROSが発生しやすい物質、陽性対照物質を探索する。