NOISE-STIMULATION EFFECTS ON PREGNANT RATS AND ITS FETUSES

By

KENZO OKUDA

*From the Department of Oto-rhino-laryngology, Osaka City University
Medical School (Director: Prof. K. Yamamoto)*

This experiment was performed in order to study the effect of noise given to pregnant rats and its fetuses.

White noise of 100 phone was given pregnant rats for 6 hours daily from the 1st day to the 10th day of pregnancy (A), from the 11th day to the 20th day (B), and from the 1st day to the 20th day (C).

As stress index to pregnant rats, blood eosinophils were calculated before and after noise-stimulation.

The fetuses were examined macroscopically and microscopically on the 21th day.

The results obtained were as follows:

- 1) In A group, the weight of fetuses were decreased and the mortality of fetuses were increased.
- 2) In B group, the effects of noise-stimulation were scarcely observed.
- 3) In C group, blood eosinophils were remarkably decreased, and growth inhibiting of fetuses and high mortality of fetuses were observed.
- 4) In all groups, malformation of fetuses were not observed, but there is no denying the tetragenic activity for high mortality of fetuses in C group.

騒音刺激の妊娠母獣とその胎仔に 及ぼす影響について

大阪市立大学医学部耳鼻咽喉科学教室（主任：山本馨教授）

奥 田 兼 三
おく だ けん ざう

緒 言

近代文化の発達と共に、日常私達が騒音に接する機会は非常に多くなつた。そしてこの騒音は今日では、大きな社会問題の1つとなり、種々の立場から興味深い研究課題として取り上げられている。即ち医学的な分野では、精神面において、騒音は Emotional stimuli といわれているように、情緒面に影響を及ぼし、聴取者に不快感、焦燥感等を起さしめることは周知の如くであり、肉体面においては、胃運動の抑制、血糖の増加、リンパ球の増加、好酸球の減少などの病的状態を惹起することが明らかにされている。しかし今なお未解決の点が多い現状である。

私達の教室においても、騒音の人体に及ぼす影響につ

いて、諸種の面から研究を進めているが、今回私は騒音が妊娠母獣に加はることによつて、その母獣に対するストレス影響を、循環好酸球数を指標として検索し、さらにその胎仔にはどのような影響を及ぼすかについて、摘出胎仔を肉眼的に観察すると共に、その聴器について組織学的に検索を行つたので、得られた知見を報告する。

実験方法

① 実験動物

実験動物としては、雌性ダイコクネズミ（雑系）体重150～200gのものをを用い、これに健康な雄性ダイコクネズミを交配して翌朝腔内に精子を認めた場合を、妊娠第1日とした。飼料は1日につき、玄米約30g、魚粉0.5g及び野菜少量である。

② 実験方法

i) 区 分

A群……妊娠第1日より第10日目まで騒音を聴取させる群

B群……妊娠第11日より第20日目まで騒音を聴取させる群

C群……妊娠第1日より第20日目まで騒音を聴取させる群

以上の各群に毎日6時間ずつ（午後1時より午後7時まで）100phonの白色騒音を聴取させた。対照群には、騒音を聴取させなかった。

ii) 実験装置

図1に示す如く、Audio O.S.C. Amplifier、スピーカー、及び音響被曝箱を使用し、これを防音室におき、音響被曝箱中の妊娠母獣に対しては、音響曝露量が不均等にならぬように、騒音指示計にて確認した。

iii) 検 査

A) 循環好酸球数

母獣に及ぼすストレス指標として、循環好酸球数を測定した。即ち妊娠母獣の眼静脈叢より採血した血液を、白血球用メランジユールの0.5の目盛まで吸引し、次いでHinkelman氏液を11まで吸引して、よく混和し

て染色し、計算した。なお計算盤としては、Fuchs-Rosenthal 型のもの3枚を用い、その平均値を算出し、この数を6.25倍した。この値を1mm³中の好酸球数とする。

測定は各群共に、予定日数の騒音刺激開始直前及び終了直後の2回に行つた。

なお好酸球数は、季節の変動が大であるといわれているため、本実験はダイコクネズミの交配し易い3月下旬より、5月上旬の間に行つた。

B) 肉眼的観察

異常仔産出に際して、母獣はしばしばこれを食べるといわれているので、分娩予定前日即ち胎生21日目に妊娠母獣を開腹、胎仔を取り出すと共に、胎盤について胎仔吸収の有無を調べ、取り出した胎仔について10倍拡大鏡を使用して、眼、口蓋、四肢などの異常有無を観察し、ついで生存胎仔の体重を測定、さらに開腹して、各臓器の異常有無を調べた。

C) 組織学的観察

上記の観察後、胎仔は断頭、10%ホルマリン固定、脱水後、法に従いツエロイジン包埋を行つて、20μの連続切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン重染色を行つた。

なお連続切片作成の際には、蝸牛軸を縦断せしめるために、上記材料を含む部分を立方体とし、上面及び下面は硬口蓋をできるだけ水平にして連続切片とした。

実験成績

1) 循環好酸球数について

妊娠母獣に対するストレス指標として、循環好酸球数を測定した結果は表1の如くであり、騒音刺激前後の減少率を対照のそれと比較してみると、実験A、B群は

表1 循環好酸球数

群	騒音刺激期間	実験母獣数	実 験		平均減少率
			前	後	
A	妊第1日～第10日目	12	265	191	28.0%
	対 照	10	272	219	19.5%
B	妊第11日～第20日目	8	254	192	24.4%
	対 照	10	248	212	14.5%
C	妊第1日～第20日目	14	272	154	43.4%
	対 照	10	268	227	15.3%

共に約10%の差を示し、実験C群ではほぼ3倍に近い減少率が見られた。

2) 胎仔について

開腹時に殆んど吸収されている胚及び生存していない胎仔は一括して死産とした。

表2に示す如く、対照例では開腹時に全例において、妊娠継続をみているが、実験A群では死産率は24.3%を示し、生存胎仔体重は対照のそれと比べて0.5gの減少をみた。実験B群では、死産率は僅か6.7%であり、実験C群では、A群の倍以上である59.3%の死産率を示し、生存胎仔の平均体重も2.7gで対照の4.3gに比して、非常な減少がみられた。

A, B, C 群共に異常仔の産出はみられなかった。

表 2

群	騒 刺 戟 期 間	実 験 母 獣 数	死 産 数	生 存 胎 仔 数	生 存 胎 仔 平 均 体 重	死 産 率
A	妊 第1日～ 第10日目	12	28	87	3.8g	24.3%
B	妊 第11日～ 第20日目	8	5	70	4.2g	6.7%
C	妊 第1日～ 第20日目	14	70	48	2.7g	59.3%
対照		10	0	112	4.3g	0%

3) 組織学的所見について

外耳、中耳では対照、実験共に外耳道内腔から中耳腔形成域に至るまで、未だ胎生結合織をもつて充たされており、耳小骨も軟骨組織より形成されていて、三耳小骨を区別できる程度である(図2)。しかし実験C群では、その發育遅延の程度が目立っている(図3)。

対照群の内耳は、蝸牛では下部回転においては、既に鼓室階、前庭階を区別でき、コルチ器原基の形成を認める。しかしその細胞分化は未だ不十分である。螺旋靱帯、血管条形成域は共に間葉組織の性質が強く、螺旋神経節は認められる(図4)。

前庭部においては、平衡斑がみられ、丘状に内リンパ腔に向つて隆起し、そこに平衡砂を認める(図5)。

実験A, B 群共に上記の所見と殆んど変らない。

実験C群では、蝸牛においては前庭階、鼓室階の区別は未だなされず、蝸牛軸は幼弱結合織で充たされており、コルチ器原基は、2～3層の重畳した円柱細胞をみるのみで、螺旋靱帯、血管条形成域共に未だ間葉組織の

図 2

対照群における耳小骨原基 (H.E 染色×100)

図 3

実験C群における耳小骨原基 (H.E 染色×100)

図 4

対照群における蝸牛殻管 (H.E 染色×100)

図 5

対照群における平衡斑及び平衡砂 (H.E 染色×100)

図 6

実験C群における蝸牛殻管 (H.E 染色×100)

図 7

実験C群における平衡斑 (H.E 染色×100)

性質が強い。塊状をなした螺旋神経節をみとめうる (図6)。

平衡斑では、感覚上皮は背が低く、平衡砂は認められない (図7)。

総括及び考按

本研究は、騒音刺激が妊娠ダイコクネズミ及びその胎仔に対して、どのような影響を及ぼすかを、明らかにせんがために、前者に対しては、循環好酸球数を指標として、後者に対しては、肉眼的及び組織学的検索によって、対照母獣及び胎仔と比較、検討を行ったものである。

1. 循環好酸球数について

ヒト及び動物に音響刺激が加えられた場合、種々の反応が出現する。即ち聴器以外に現われる反応として内海 (1949) は、蛙に音響刺激を加えた場合、刺激中は呼吸が緩徐、不規則になると述べ、真銅 (1954) は種々の音響刺激をモルモットに聴取させ、横隔膜電位と呼吸圧を記録してその変化を述べ、McCann (1948) は、持続的騒音刺激によつて起る血圧上昇には、副腎皮質が関与していると思はれると報告している。中辻 (1958) は音響刺激によつて、一過性のアドレナリン分泌亢進をみとめ、沼田 (1958) も一過性の血漿 Chemo-corticoids の増加をみている。鈴木 (1959) は強力な可聴純音の生体に及ぼす影響について検索し、可聴純音がストレスラーとして働き、白血球の増加、リンパ球減少、好酸球減少をみとめたと述べている。

このような好酸球数の変化は、特に Thorn が副腎皮質機能判定の一方法として、A.C.T.H. 注射後における好酸球数の測定を提唱してから、検査方法の簡便さのため、広く実験、臨床に用いられるようになった。

Recant et al (1950) によると、正常ラットの好酸球数は、個体差が著しく $356 \sim 3090/\text{mm}^3$ であり、平均 $1101/\text{mm}^3$ という。又 Dumm et al (1954) の報告では生後 30～35 日の Long-Evans 系のラットでは平均 $347/\text{mm}^3$ ($39 \sim 1191/\text{mm}^3$) である。申 (1960) は $128 \pm 24.6\text{g}$ の雄ラットを使用して $246 \pm 152/\text{mm}^3$ ($84 \sim 800/\text{mm}^3$) であつた。私の成績では約 $270/\text{mm}^3$ であつた。

以上の如く正常ラットの好酸球数は、個体差が非常に大であり、かつ季節的並びに日内変動を示すものとされている。さらに本実験の如く、妊娠という内的ストレスまでが加はつており、表1に示す如く、それによる変動も幾分認められる。しかしより大きな好酸球数の変動から考へて、騒音自体が母獣に対して大なるストレスラー

として作用したことは明らかである。特に実験 C 群において、その減少率が顕著であるのは、当然のことと考えられる。

2. 胎仔について

騒音が私達の身体に対しても、情緒の上においても、悪影響を及ぼすことについては、既に幾多の報告がなされている。しかしヒトあるいは動物における胎児に及ぼす影響については、未だあまり知られていない。

Sieve (1949) は種々の情緒的な障害が、栄養障害の原因として、重要であると強調しており、これが妊娠母体に加わった場合、当然その胎児にも栄養障害、さらには成長抑制を起すことが考えられる。

本実験成績を検討してみると、B 群では、その平均体重は 4.2g で対照の 4.3g とほぼ等しい値を示すのに対し、A 群ではその平均体重は 3.8g であり、0.4g の減少を認めた。又死産率は A 群の 24.3% に対し、B 群は 6.7% にすぎなかった。しかし C 群の平均体重は 2.7g であり、対照のそれと比較して 1.5g の差を認めた。死産率は 59.3% であり、A 群のほぼ 2.5 倍の値を示している。

これらの事実から、妊娠母獣に騒音刺激の加わった場合、器官分化の未だ完成していない妊娠前半期においては、軽度ながら发育抑制を認め、妊娠後半期では、殆んど影響なく、妊娠全期間中即ち第 1 日目から 20 日目までを通じて騒音刺激の加わった群では、大なる发育遅延のあることを知った。

前記の如く、本実験における母獣の好酸球数の変動から考えて、騒音がストレスとして作用したことは明らかである。Sobin (1952) は、妊娠ラットに太鼓の音を聴取させて、その胎仔の心臓に奇型を生じさせたという。横堀 (1959) は妊娠マウスを用いて騒音刺激を加えた結果、その胎仔には 90phon 以上では成長抑制作用が、100phon 以上では催畸型作用があったと述べ、設楽 (1963) は、騒音の催畸型作用には、副腎の皮質が関与していると報告している。このように騒音によるストレスが、胎仔奇型を起せしめることが、少数の人々によって述べられている。一方林 (1961) は、種々の催畸型作用が胎生期に作用して、一定の影響を及ぼしたとしても、その極限においては、不妊もしくは胎生初期における胚の吸収として現はれると報告していることなどから、本実験における如き、異常な胎生環境においては、異常仔の摘出を認められなかったとはいえ、実験 C 群における如き、非常に死産率の高かったことから推測し

て、騒音刺激のダイコクネズミ胎仔に対する催畸型作用を否定することはできないと思はれる。

3. 組織学的所見について

肉眼的には、実験群と対照を比較して、実験群は各群共に体重面において、发育の遅れていることは前記の如くであるが、さらに胎仔聴器の发育程度はどのようなかを、組織学的に検討してみた。

対照及び実験 A、B 群の組織学的所見は殆んど差異を認めなかつたため、対照と実験 C 群との所見を比較してみると、外耳中耳腔形成域においては、両群共に未だまったく胎生結合織において閉ざされ、そこに耳小骨原基の形成を認めるが、実験 C 群においては、その原基形成は対照群のほぼ 1/2 程度の发育しか認めない。蝸牛においては、対照では回転下部の胎生結合織は吸収され、そこに前庭階、鼓室階の形成を認めるが、実験 C 群では、未だ両者の区別ができず、卵円形をした蝸牛殻管を認めるのみである。コルチ器原基においては、対照では高い円柱状細胞層及び低い柱状細胞層に区別できる幾分分化した像を呈するも、実験 C 群では 2~3 層の重疊した細胞層を認めるのみである。前庭域においては、対照では内リンパ腔内に丘状に隆起した平衡斑を認め、そこに平衡砂をみるも、実験 C 群では、感覚上皮の背は低く、平衡砂はみられない。

これらの所見を葛川 (1960) 及び著者 (1963) の報告と比較した時、実験 C 群におけるそれは、ほぼ胎生 18~19 日目の所見に一致するものであり、又特に異常所見は認められなかつた。

結 語

妊娠したダイコクネズミに、毎日 6 時間ずつ 100phon の白色騒音を聴取せしめると共に、妊娠母獣の循環好酸球数を調べ、かつ妊娠第 21 日目に母獣を開腹して胎仔を摘出し、肉眼的及び胎仔聴器を組織学的に検索した。

1) 妊娠第 1 日目から 10 日目まで騒音刺激を加えた群、及び妊娠第 11 日目から 20 日目まで騒音刺激を加えた群では、両群を対照と比較した時、循環好酸球数の減少率からみて、母獣に及ぼす影響は大差なく、胎仔における肉眼的、組織学的所見は A 群において、軽度ながら发育遅延を認めた。即ち妊娠前半期に騒音刺激の加わった方が、发育抑制され易く、後半期に騒音刺激の加わったものでは、殆んど影響のない傾向にあることを知った。

2) 妊娠第 1 日目から 20 日目まで騒音刺激の加えた群では、強度の好酸球数の減少を認めると共に、胎仔においては強度の发育遅延を認めた。これを諸家の報告と

比較検討してみると、ほぼ胎生 18～19 日目の胎仔所見に一致するものである。

3) 異常胎仔の娩出は認められなかつたが、しかし実験 C 群における如く、強度の胎仔吸収が認められることから、騒音刺激の胎仔に対する催畸型作用を否定することはできない。

参考文献

- 1) *Dumm, M.E. et al.*: A Critical Analysis of the Eosino-phile Response in Rats to ACTH and Cortisone *Endocrinology* 54, 71, 1954.
- 2) 林一郎: 奇形の原因論, 医学のあゆみ, 37, 64, 113, 1961.
- 3) 葛川繁: V.A 大量投与による内耳奇形の胎生学的研究, 阪市大医誌, 9, 1469, 1960.
- 4) *McCann, S.M. et al.*: Adrenalectomy and Blood Pressure of Rats subjected to Auditory Stimulation *Am. J. Physiol.* 155, 128, 1948.
- 5) 中辻清重: 音響刺激の副腎髄質ホルモン分泌に及ぼす影響, 日耳鼻, 61, 1221, 1958.
- 6) 沼田信行: 音響刺激の副腎皮質ホルモン分泌に及ぼす影響, 日耳鼻, 61, 1199, 1958.
- 7) 奥田兼三: 胎仔聴器における組織化学的研究, 日耳鼻, 66, 1335, 1963.
- 8) *Recant, L. et al.*: Studies on the Effect of Epinephrine on the PutuitaryAdrenocortical System *J.Clin. Endocri.* 10, 187, 1950.
- 9) *Siebe, B.F.*: Vitamins and Hormones V: Emotional and Trauma. *Am. J. Digest. Dis.* 16, 14, 1949.
- 10) 真鍋宏他: 強力な可聴純音の生体に及ぼす影響, 日耳鼻, 57, 259, 1954.
- 11) *Sobin, S.S. et al.*: Experimental production of Congenital cardiac lesions in the rat. *Am. J. Physiol.* 171, 769, 1952.
- 12) 鈴木裕子他: 強力な可聴純音の生体に及ぼす影響について, 耳鼻臨, 52, 116, 1959.
- 13) 申基洛: ラットの循環好酸球数に及ぼす 2, 3 処置の影響, 阪市大医誌, 9, 5105, 1960.
- 14) 設楽敏明: 騒音による奇形発現作用の機構に関する実験的研究, 日耳鼻, 66, 533, 1963.
- 15) 内海貞夫他: 音響刺激の蛙の呼吸に及ぼす影響について, 耳鼻臨, 42, 33, 1949.
- 16) 横堀国器: 騒音刺激による先天性畸形発現に関する実験的研究, 日耳鼻, 62, 2397, 1959.
- 17) 横山俊彦: 騒音性難聴に関する研究, 日耳鼻, 66, 675, 1963.

稿を終えるに臨み、終始御指導、御校閲を頂いた恩師山本馨教授に深謝致します

本論文の要旨は、第 5 回耳鼻咽喉科臨床会総会において発表した。

(原稿到着＝昭和 38. 12. 27 日)