

が増加した。RNA と DNA 含量に対する影響では、胸腺では 2 系統の対照群で DNA 含量はほぼ同じ値であったが、RNA 含量は 2 倍を超える違いがあり、Long-Evans 系ラットにおいて RNA 含量が高い値を示した。この傾向は胸腺においても同様であった。亜酸化窒素曝露により、Sprague-Dawley 系ラットで、胸腺および骨髄での DNA 含量が有意に低下した。RNA/DNA 比は対照群に対して胸腺で 53 %、骨髄で 65 %の増加を示した。一方 Long-Evans 系ラットでは、胸腺、骨髄ともに DNA 含量が有意に低下し、また胸腺においては RNA 含量が著しく有意な上昇を示し、対照群の 2 倍程度となった。これによって、胸腺における RNA/DNA 比は対照群では 0.351 であったが、投与により 1.129 となり 222%の増加が認められた。両系統の DNA 含量の類似は、湿組織重量あたりの細胞数が類似していることを示唆している。一方で、Long-Evans 系ラットの臓器内 RNA 含量の高値は、代謝活性がより高いことを示唆する。亜酸化窒素投与による影響は、一貫して DNA 含量の減少であり、これは細胞数および有核細胞の減少、ならびに分裂活性の低下、すなわち新細胞形成速度低下を示唆している。

#### B.ラットにおける造血器系への影響（雑系アルビノラット）

対照群 32 匹、投与群 25 匹のラットを用いて、対照群には空気を、投与群には 80 %亜酸化窒素と 20 %酸素混合気体を、チャンバーに入れたラットに曝露した (52)。曝露期間は 2、4、6 日間とした。試験終了時に心臓採血により血液試料を採取し、ヘマトクリット値および白血球数を測定して、また白血球塗抹標本を作成した。大腿骨は、ホルマリン固定、脱灰を行った後に切片を作成し、骨髄観察用の試料として染色した。

対照群では死亡例はみられなかったが、投与群において、5 日目に生存していた動物の半数が 6 日目には死亡した。また投与群は“酩酊状態” (intoxicated) を呈し、対照群に比べて睡眠時間が長く、摂餌量および摂水量も少なく、出血を伴わない下痢症状が投与 5 日以降に全ての動物で観察された。投与 6 日後の白血球数は、対照群で 15,500、投与群で 1,300 となり投与により有意に低下し、この有意な低下は 4 日目にもみられ、投与 4 および 6 日後において、2 群間で有意な差がみられた (表 18)。白血球中の多形核球とリンパ球の割合を検討したところ、対照群では総細胞数の 73 または 74 %がリンパ球であったが、投与群では 2 日目で白血球数は減少し、リンパ球数は 67.4 %でほぼ対照群と同じであった。投与 4 日目にはリンパ球数は 91 %に上昇し、投与 6 日目にはリンパ球のみとなった (図 16)。

表 18 対照群および投与群間の白血球数比較データ (頻度)

	2 日後		4 日後		6 日後	
	中央値以上	中央値以下	中央値以上	中央値以下	中央値以上	中央値以下
対照群	3/11	8/11	0/8	8/8	0/14	14/14
投与群	9/13	4/13	7/7	* 0/7	4/4	* 0/4

\* : 4 日および 6 日後は、対照群と投与群間で有意差あり ( $p < 0.005$ )

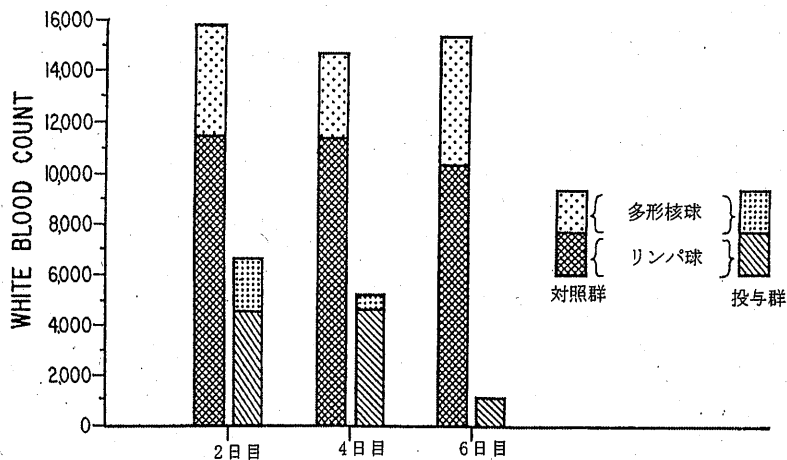


図 16 対照群および投与群の白血球数の中央値

80%亜酸化窒素、20%酸素曝露によって、リンパ球が減少し6日目に全ての顆粒球が消失した。

大腿骨骨髓の病理組織学的検査において、対照群の正常組織では、骨髓細胞は集族して、わずかに脂肪が観察された。投与群においては、進行性の形成不全が観察され、空胞の増加と、形成不全に伴う髄質の赤血球の増加、有糸分裂像の消失が観察された。さらに重度に変性した髄質では、出血および広範なフィブリン塊が観察された。また、投与期間が長くなるのに伴って、巨核球が見かけ上増加した。しかしながらこれは、他の細胞が消失して巨核球が残ったことに起因すると考えられた。塗抹標本からは血小板数は正常値に近いようであった。しかしながら瀕死の動物では多数の凝集塊があり、均一に分布していなかった。巨核球の他に重度の形成不全の骨髓において残っていた細胞は、形質細胞、幹細胞およびさまざまな変性過程にあるその他の成熟細胞であった。6日間投与群の骨髓所見で、細胞質内に小体が観察され、一連の染色方法から、これらは細菌であることが示された。死因は特定されなかったが、好中球減少により、菌血症が重要な役割を果たしている可能性が高いと考えられた。

### C. ラットおよび骨髓性白血病患者の白血球数に対する影響

Eastwoodらはアルピノラットにおいて、亜酸化窒素による白血球数の減少効果を確認し、その後、亜酸化窒素を用いた治療法を2人の患者に施した(53)。

始めに32匹の対照群と25匹の投与群を一定の温度、湿度、空気組成に調節したチャンバーに入れた。

対照群は通常の空気に、投与群は80%亜酸化窒素、20%酸素の混合気体下においたところ、わずかに摂餌量および摂水量の減少がみられた。対照群は白血球数約13,000で正常範囲内であった。6日間の亜酸化窒素曝露下では1,130まで急激に減少した。亜酸化窒素曝露下の動物における急性骨髓形成不全は細胞有糸分裂や再生の停止を導いた。

次に初診時に白血球数60,000であった3歳女兒と白血球数181,000の13歳男児の骨髓性白血病患者2例の報告がある。治療の間、女兒の白血球数は170,000に上昇したが、その

後の亜酸化窒素治療で、72 時間以内に 21,500 に減少した (図 17)。亜酸化窒素治療を中止した数日後、白血球数は減少したままであったが、患者は脳内出血を引き起こして死亡した。男児は白血球の減少に成功し、入退院を繰り返していたが、数ヶ月後血尿と高熱を引き起こして死亡した。

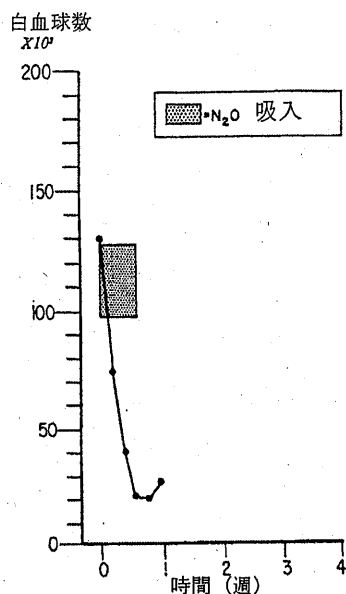


図 17 骨髄性白血病患者の亜酸化窒素吸入による白血球数変化  
吸入前3週間の平均白血球数は135,000で、30-40%のN<sub>2</sub>O、  
20-30%のO<sub>2</sub>、30-50%のN<sub>2</sub>から成るガスを吸入させた。

#### D. ヒトに対する麻酔学的、薬理学的影響

亜酸化窒素の全身的な影響を調べるため Bloch は調査対象となる全身麻酔下の低体温導入中の患者を観察した (54)。

亜酸化窒素、酸素、ハロタン、メトキシフルランやエーテルが麻酔薬として使用された。これらの麻酔は、冷却時 (マットレスタイプの表面冷却装置上) ではなく麻酔が切れる時、約 5 分以内に血圧と心拍数が急激に上昇する。麻酔薬の混合比率や濃度を変えて、通常および冷却法の施された状態で観察され、心拍数や血圧の変化は他の麻酔薬と関係なく亜酸化窒素のみに起因することが示された。しかしながら、酸素とハロタン、メトキシフルランまたはエーテルとの混合麻酔薬から亜酸化窒素を除外すると、心拍数、血圧低下を軽減するが、麻酔深度の減少を伴う。

Eisele らは、40%亜酸化窒素の健常人における心血管系、カテコールアミンへの影響を検討した試験を実施した (55)。

フェーズ I : 10 名の健常被験者に 40%亜酸化窒素と 60%酸素の混合気体、および 40%窒素と 60%酸素の混合気体を 30 から 45 分間、1 日の同一時刻に吸入させた。2 種類の混合気体は 1 日に両方を投与し、投与中のパラメータを各々経時的に測定した。窒素混合

気体を投与した時と比べると、心拍数では、30分間投与の時に優位に低値を示し、20、40分間投与時では有意差はみられなかった。超低周波バリストカルジオグラム（BCG、心機能の評価指標）では、10、20、40分間投与時に有意に減少した。吸入投与後に採取した尿中のカテコールアミン（エピネフリン、ノルエピネフリン）濃度では、有意ではないが、亜酸化窒素吸入後の方が、窒素吸入後よりも高値を示した。

フェーズⅡ：6名の健常被験者に、フェーズⅠと同条件でさらに試験を行い、心拍数、BCGに加え、血漿中カテコールアミン、総末梢抵抗（TPR）、前腕血流（FBF）、中心静脈圧（CVP）についても検討を行った。フェーズⅠと同様に、心拍数およびBCGの有意な低下が認められたが、フェーズⅠとは異なり、BCGの40分間値のみ有意差はなく、対照値（窒素吸入時）への回復傾向がみられた。平均動脈圧はほとんど変化せず、総末梢抵抗を算出した時、30、40分後で有意な増加となった。平均前腕血流（FBF）は投与時に急激に低下し、10、20分で優位となった。中心静脈圧（CVP）は、投与開始直後からわずかだが一貫した上昇を示して投与終了まで上昇は持続し、血圧は正常に維持されていた。血漿カテコールアミンは、エピネフリンでは平均値ではほとんど変化しなかった。一方ノルエピネフリンでは全被験者で増加したが、バラツキが大きく少数の試験だったため有意な変化ではなかった。ほとんどの被験者は、亜酸化窒素曝露中に「落ちて行くような」（going under）感覚の繰り返しを経験し、全ての人に聴覚過敏と痛覚消失があったが、不安や興奮は見られなかった。

### ⑨ 乱用に関する報告

亜酸化窒素ガスの乱用については、1990年代初頭米国国内において歯科医やその助手が使用しているガスを暴露することにより常習化するなどから、死亡事故に発展する事例が報告され始めた。亜酸化窒素を用いた乱用報告が、1992年にWagnerによってされている(56)。以下の表に5例の報告をまとめた。

乱用時の状況	投与法	結果
事例1:19歳レストラン従業員、薬物乱用の経歴有り	頭部をビニール袋で覆い、ベルトで首のところで締め、その中でホイップクリームチャージャーを使用し、窒息死しているのを発見	窒息死、血清中アルコールは陰性、尿中カンナビノイド陽性、血中及び気管支で亜酸化窒素検出
事例2:29歳男性	頭部を袋で覆い、ガス吸入。ホイップクリーム用の亜酸化窒素チャージャー使用	窒息死、検死の結果赤い死斑が顔面や首などにみられ、点状の帽状腱膜下出欠もみられ、窒息死症状を呈していた。亜酸化窒素や他の薬物等の毒性による死ではなかった。
事例3:54歳歯科医師	職場で頭部をビニールバッグで包み、亜酸化窒素タンクにつないだホースをその袋の中に入れ、ガスを吸入	肺組織のうっ血、浮腫、心肥大などがあり、亜酸化窒素の測定はしていないが、エタノールやその他薬物は検出されなかった。
事例4:20歳男子大学生	風船に、自動車レース用の亜酸化窒素タンクからガスを入れ、自動車運転中に吸入	亜酸化窒素を吸引した結果、運転していた自動車がセンターラインを越え、自動車事故をおこした。そのため、頭部と腹部に鈍い力による重度の外傷を被った。血中にアルコール、尿中に薬物は検出されなかったが、血中に亜酸化窒素が検出された(14.6 mg/dL)。
事例5:18歳男子大学生	顔面を麻酔用マスクで覆い、これを地方病院から盗んだ麻酔用の亜酸化窒素タンクにつなぎ、吸入	心肺救急蘇生を施したが死亡。検死では肺浮腫、心臓の点状出血、全身性の内臓うっ血。血中亜酸化窒素含量は12.3 mg/dL。

この5例のうち事例1についてシミュレーション実験を行った。ヒトにプラスチック袋を頭部にかぶせ、ベルトで被験者の首周りをゆるくしめた。装填器具を用いて袋に刺して、亜酸化窒素カートリッジからガスを約3秒間放出した。このカートリッジ中には、分析値で亜酸化窒素7.787g、標準的溫度と圧力下では8Lの亜酸化窒素が含まれている。ガス封入後、袋中の酸素濃度および亜酸化窒素濃度を測定したところ、図18のような結果となった。

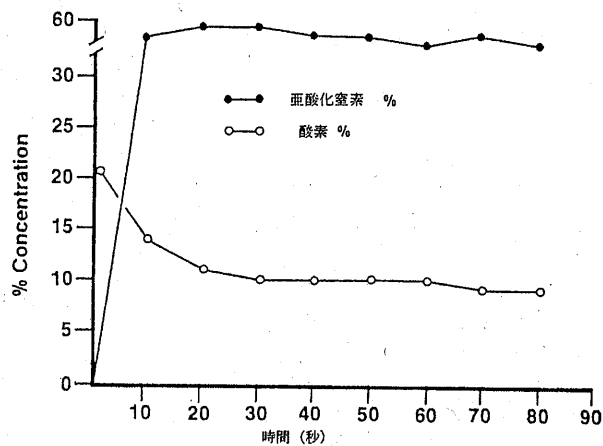


図18 事例1の条件下における実験室でのシミュレーション

実験開始直後では、酸素濃度は21%であったが、10秒後には13%であり、1分後には10%に低下した。この間、亜酸化窒素濃度は59%でほぼ一定であった。このように、閉鎖系における亜酸化窒素の乱用では、酸素濃度が速やかに低下して、低酸素、窒息による危険が生じる。

このように亜酸化窒素乱用による死亡の危険性は何れも亜酸化窒素の毒性ではなく、亜酸化窒素吸入による二次的な要因を問題視したものであり、ビニール袋をかぶって吸入して起きる窒息が大半である。しかしながら、これらの事例はいずれも亜酸化窒素ガスボンベおよびホイップクリーム用チャージャーを用いており、市販ホイップクリーム缶を用いた乱用の事例はない。

従って、本要請ではホイップクリームのエアゾール缶入り加工食品に用途を限定していることから、エアゾール缶が乱用に使用される可能性は極めて低いと考えられる。