

測定波形

フーリエ解析

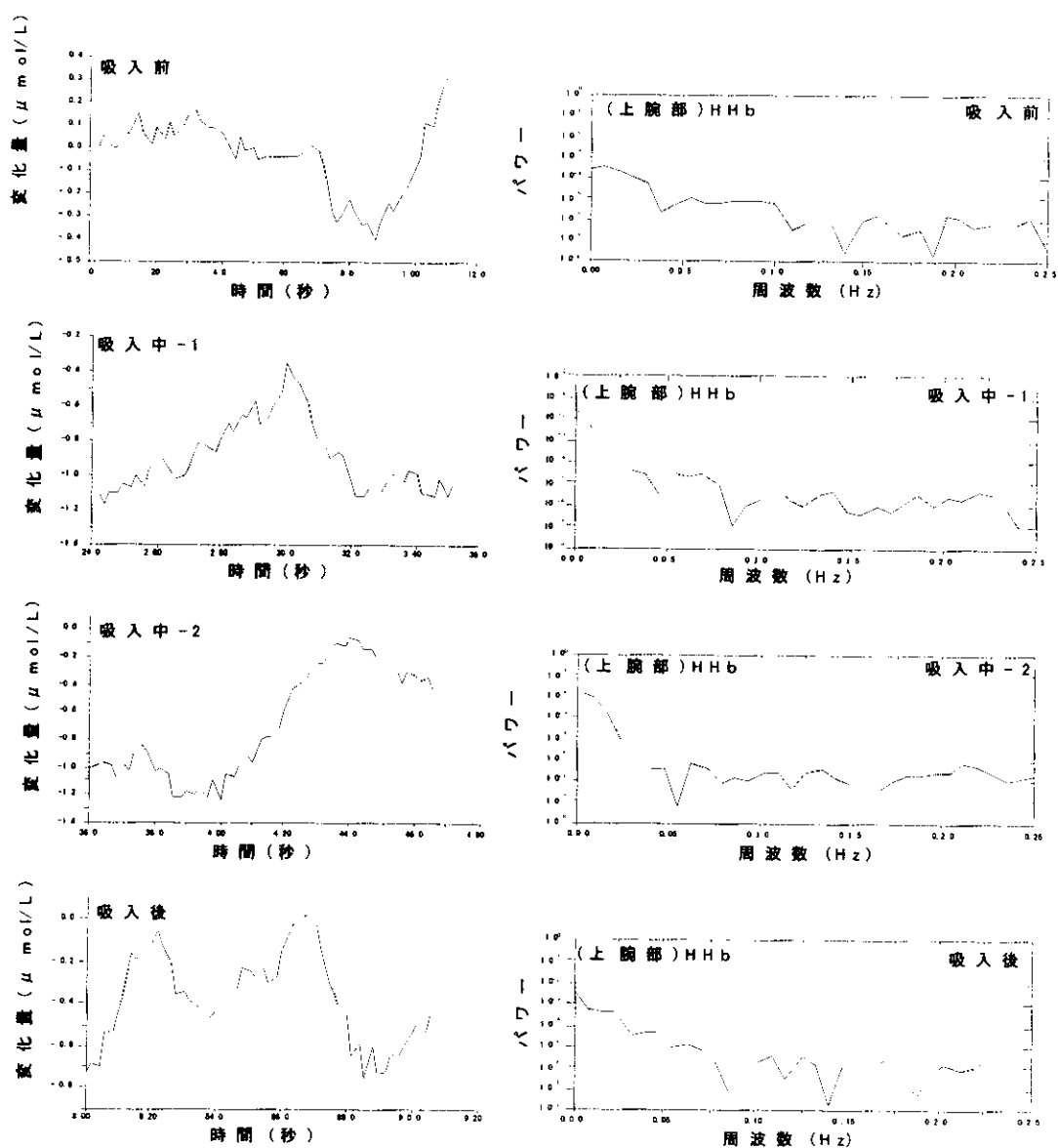
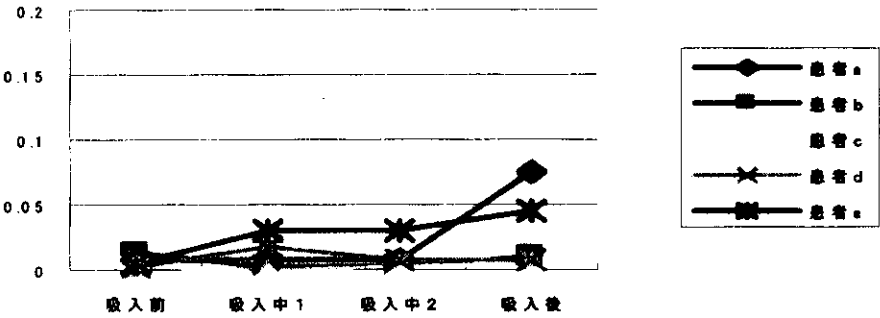


図 20 患者 a のフーリエ解析④上腕部・還元ヘモグロビン

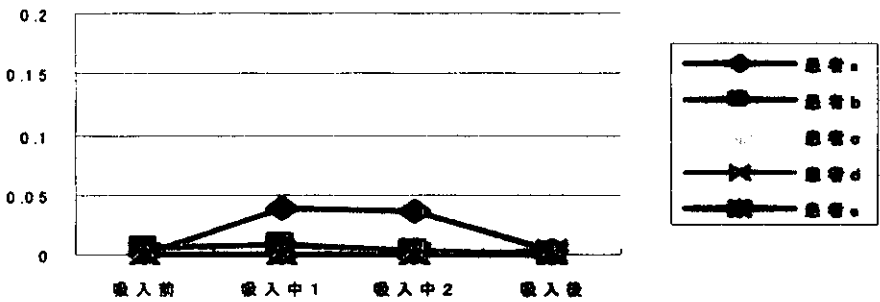
図 17～図 20 はそれぞれホルムアルデヒド負荷患者 a 対して、NIRO-300 でのヘモグロビン変動測定の波形を、頭部・酸化ヘモグロビン、頭部・還元ヘモグロビン、上腕部・酸化ヘモグロビン、上腕部・還元ヘモグロビンに分けてそれぞれフーリエ解析したものを示している。上から吸入前、吸入中-1、吸入中-2、吸入後の順である。吸入中は計測時間が吸入前、吸入後と比べて長いため、吸入中-1、吸入中-2 に分け、

解析をした。左側が NIRO-300 でのヘモグロビン変動測定波形で、右側がフーリエ解析した波形である。図 17～図 20 においてフーリエ解析波形はどれも特定の周波数成分を含む傾向は認められなかった。よって、次に吸入前、吸入中・1、吸入中・2、吸入後での 5 名それぞれの Total Power を示す。

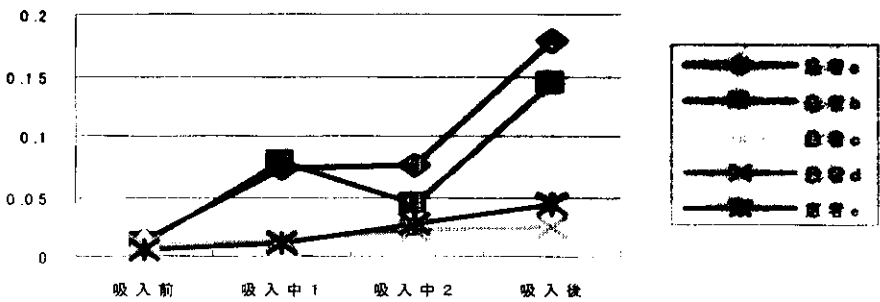
(b) 患者全体での総合評価



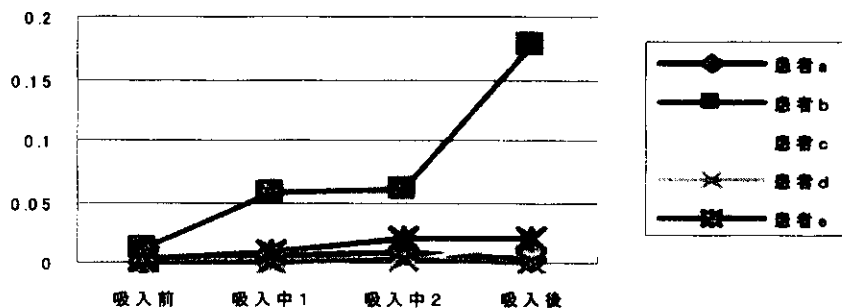
① 頭部・酸化ヘモグロビン



② 頭部・還元ヘモグロビン



③ 上腕部・酸化ヘモグロビン

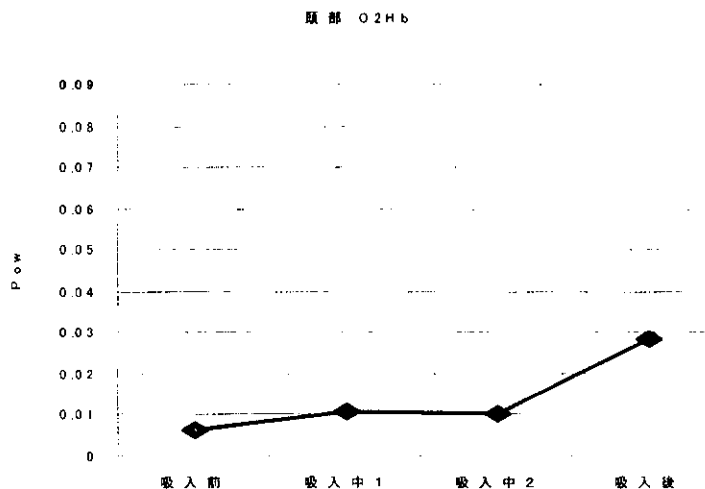


④ 上腕部・還元ヘモグロビン

図 21 ホルムアルデヒド負荷 5 名の Total Power の比較

図 21 は吸入前・吸入中-1・吸入中-2・吸入後それぞれの 0.25Hz 以下の周波数のパワー（power）を単純加算（Total）したものである。

頭部・還元ヘモグロビンを除いては Total Power が経時的に増加していく傾向が認められた。しかしながら、目立った変動は認められなかった。次に 5 名のそれぞれの Total Power を平均したものを示す。



①

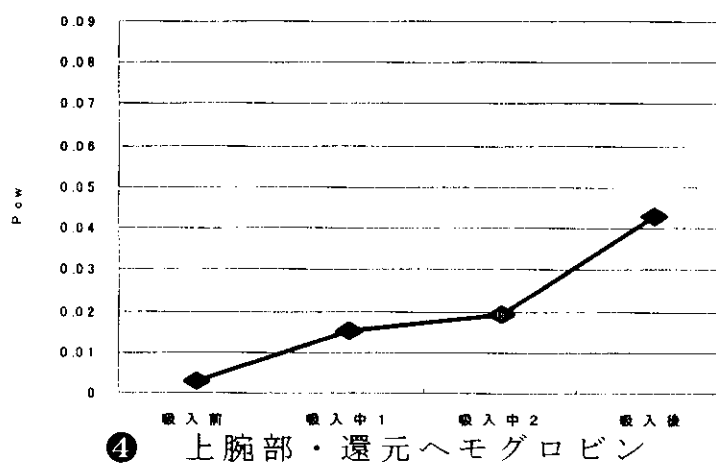
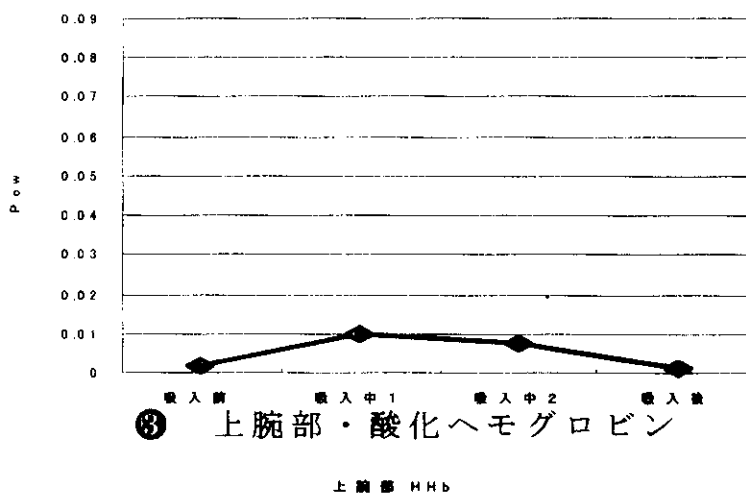
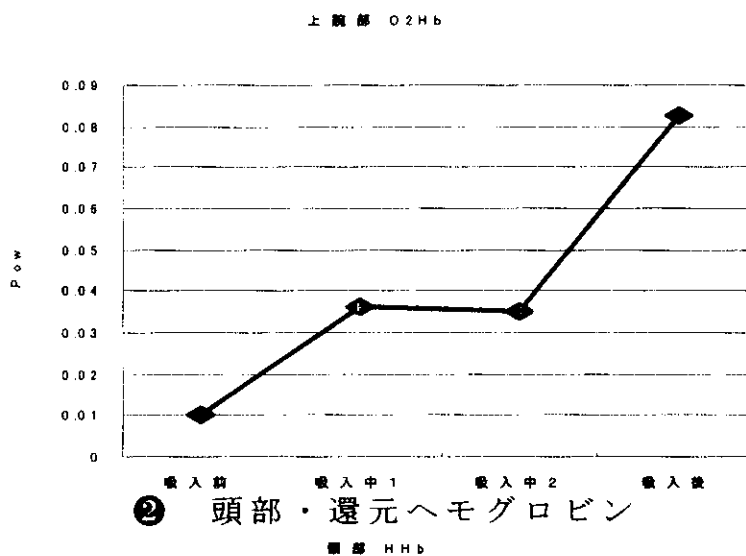
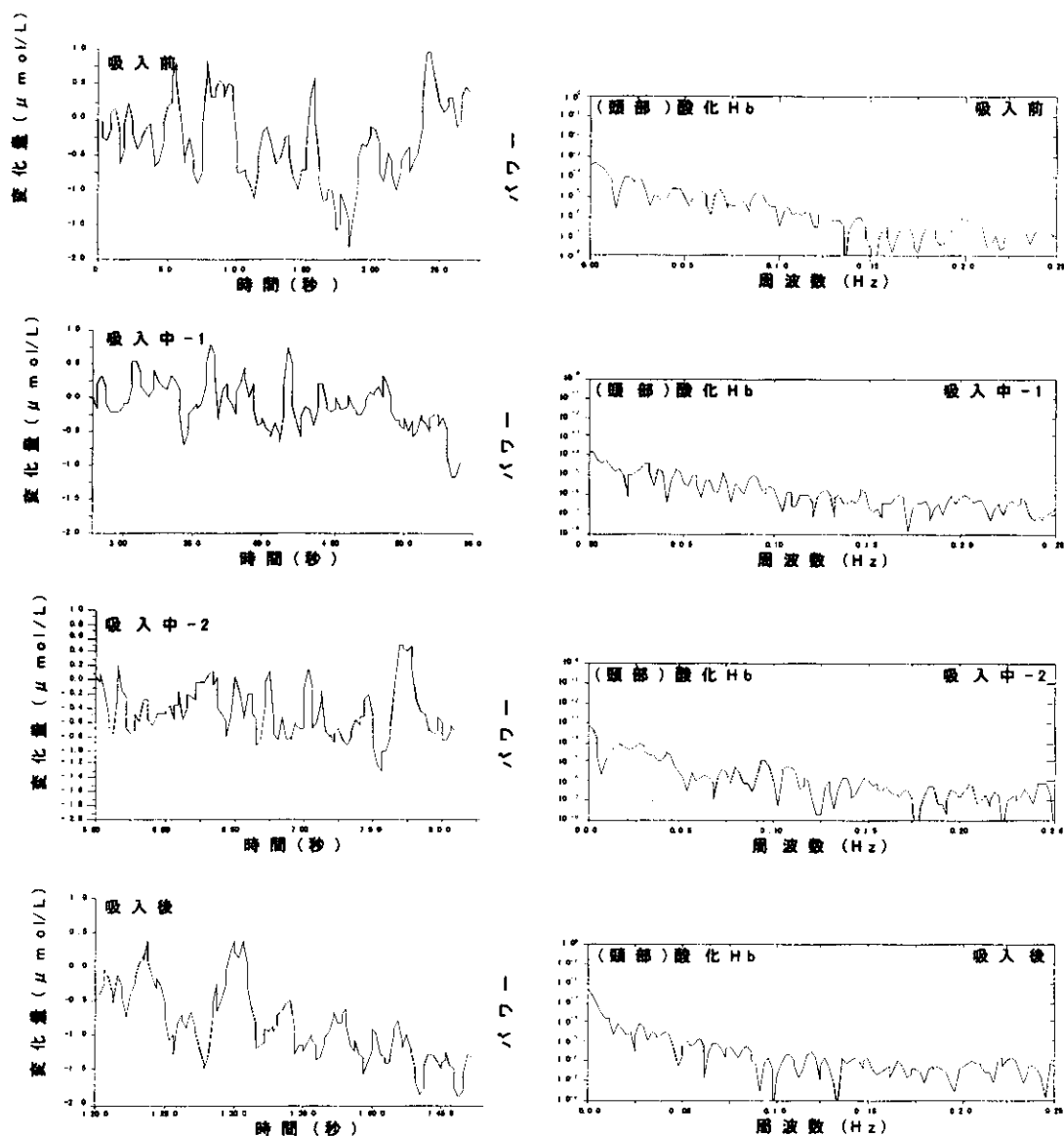


図 22 ホルムアルデヒド負荷 5 名の Total Power

図 22 では 5 名の 0.25Hz 以下の Total Power を平均したものである。図 21 と同様に頭部・還元ヘモグロビンを除いては、0.25Hz 以下の Total Power が経時的に増加傾向にあることがわかった。

トルエンの負荷

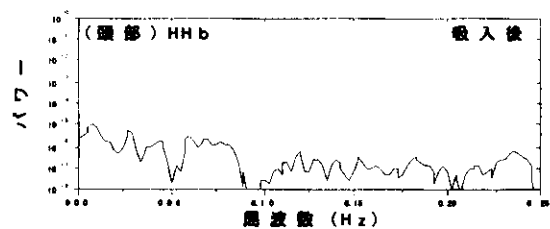
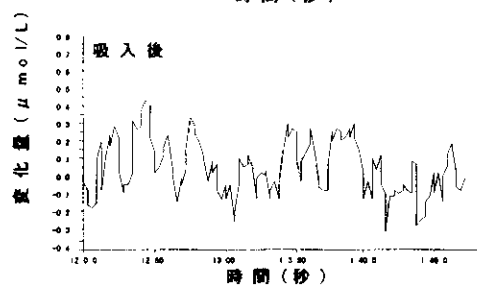
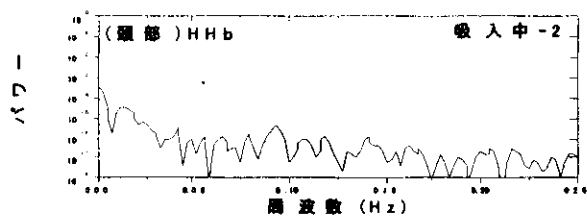
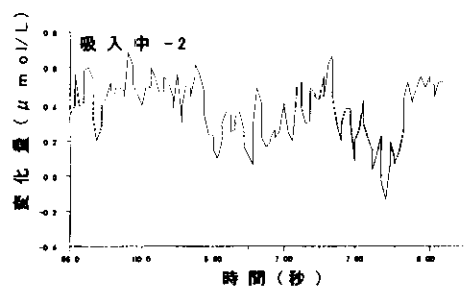
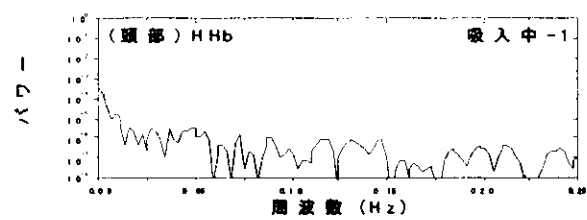
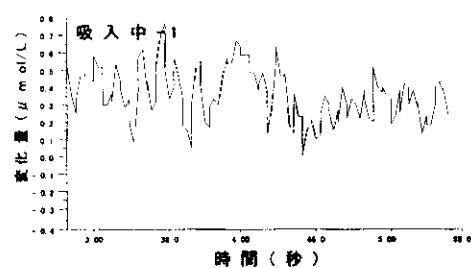
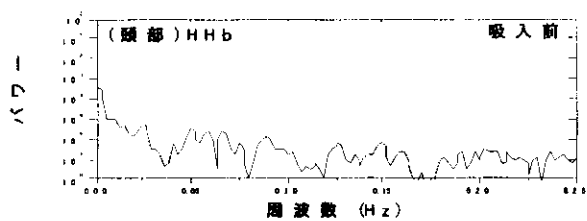
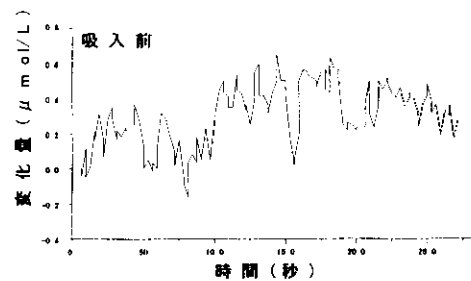
(a) 測定波形のフーリエ解析



測定波形

フーリエ解析

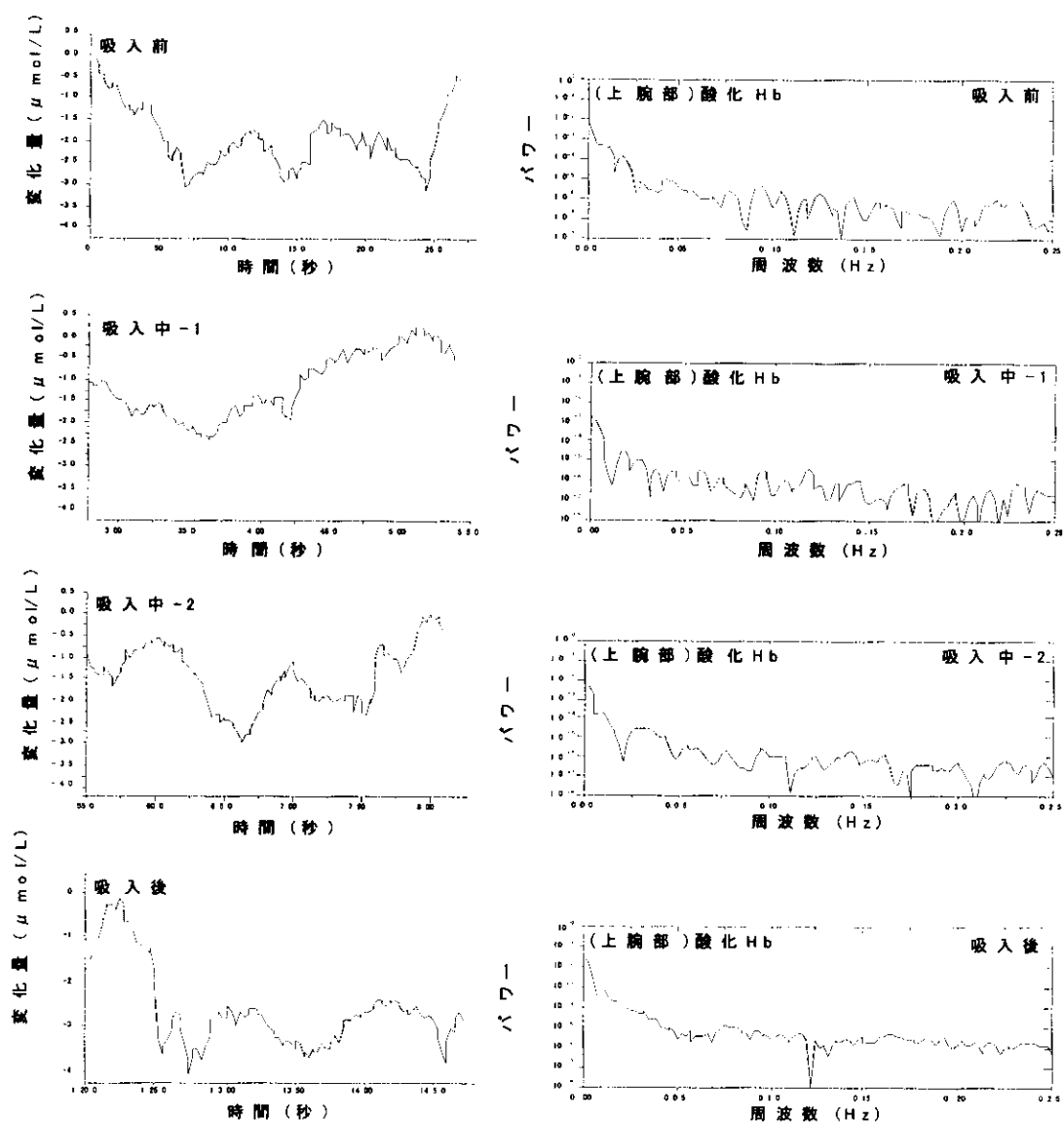
図 23 患者 f のフーリエ解析 ① 頭部・酸化ヘモグロビン



測定波形

フーリエ解析

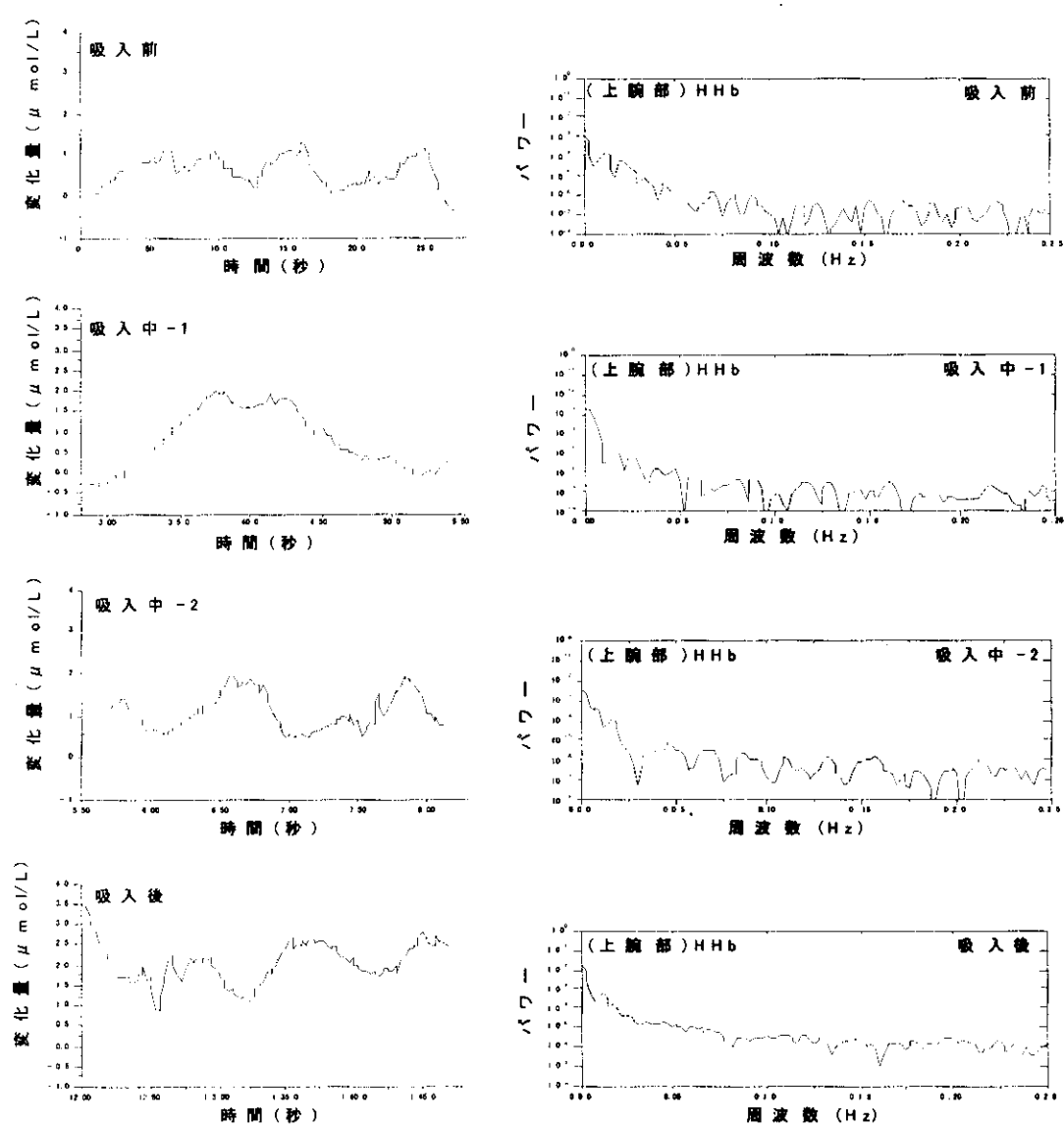
図 24 患者 f のフーリエ解析 ② 頸部・還元ヘモグロビン



測定波形

フーリエ解析

図 25 患者 f のフーリエ解析③上腕部・酸化ヘモグロビン



測定波形

フーリエ解析

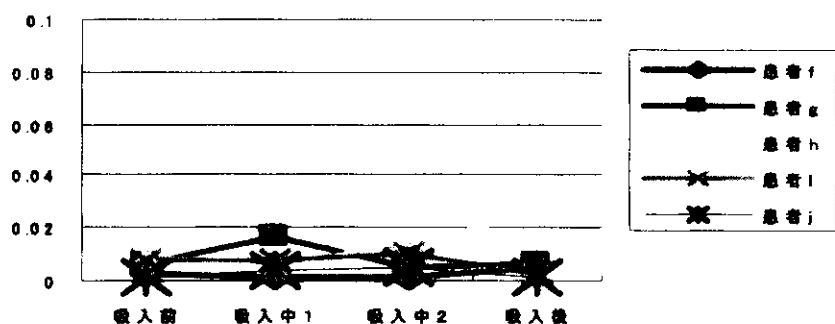
図 26 患者 f のフーリエ解析④上腕部・還元ヘモグロビン

図 23～図 27 はそれぞれトルエン負荷患者 f に対して、NIRO-300 でのヘモグロビン変動測定波形を、頭部・酸

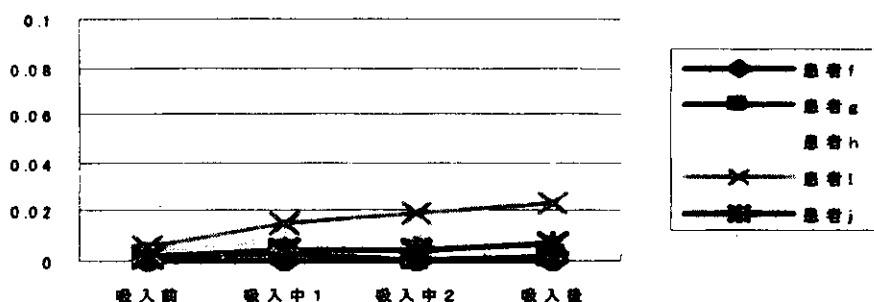
化ヘモグロビン、頭部・還元ヘモグロビン、上腕部・酸化ヘモグロビン、上腕部・還元ヘモグロビンにわけてそれぞれフーリエ解析したものを示している。上から吸入前、吸入中・1、吸入中・2、吸入後の順である。吸入中は計測時間が吸入前、吸入後と比べて長いために、吸入中・1、吸入中・2に分け解析した。左側が NIRO-300 でのヘモグロビン変動測定波形で、右側がフーリエ解析した波形である。

図 23～図 27 においてフーリエ解析波形はどれも特定の周波数成分を含む傾向は認められなかった。よって次に吸入前、吸入中・1、吸入中・2、吸入後での 5 名それぞれの Total Power を示す。

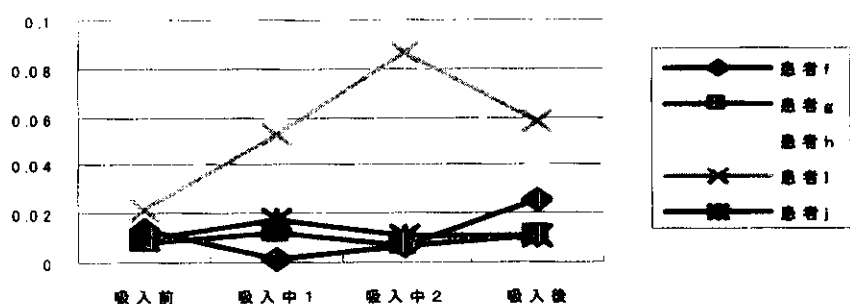
(b) 患者全体での総合評価



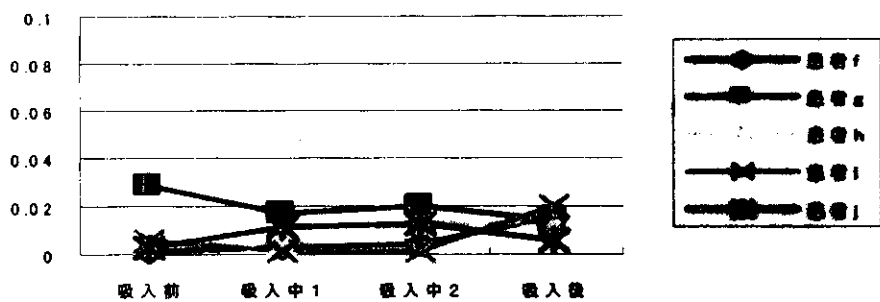
① 頭部・酸化ヘモグロビン



② 頭部・還元ヘモグロビン



③ 上腕部・酸化ヘモグロビン



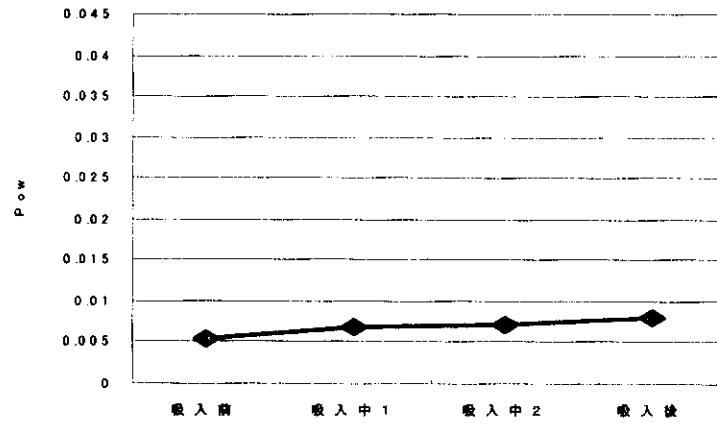
④ 上腕部・還元ヘモグロビン

図 27 トルエン負荷 5 名の Total Power の比較

図 27 は吸入前・吸入中・1・吸入中・2・吸入後それぞれの 0.25Hz 以下の周波数のパワーを Total したものである。

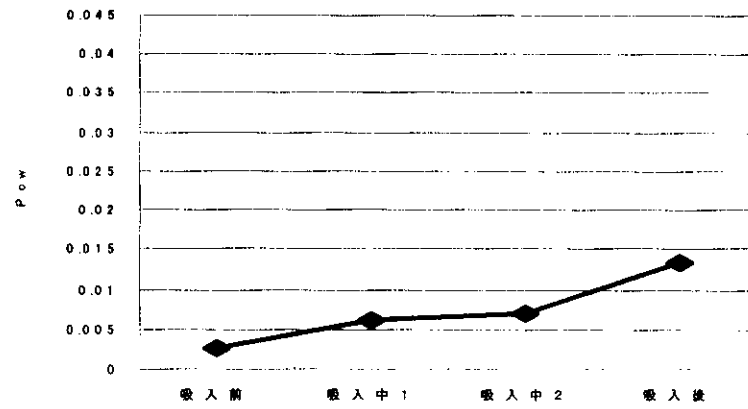
頭部・酸化ヘモグロビンに関しては、Total Power の目立った増減は認められなかった。頭部・還元ヘモグロビンの Total Power は経時的に多少増加していく傾向が認められた。上腕部・酸化ヘモグロビンでは、バラツキがみられたものの、全体的に Total Power が増加傾向にあった。患者 h と患者 I は吸入中・2 までは増加していき、吸入後には減少していく傾向が認められた。上腕部・還元ヘモグロビンでもバラツキが認められた。次に 5 名のそれぞれの Total Power を平均したものを示す。

頭部 O₂Hb



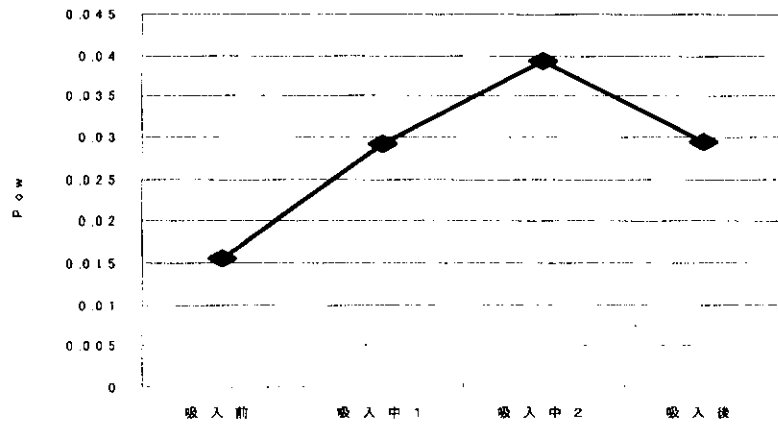
① 頭部・酸化ヘモグロビン

頭部 HHb

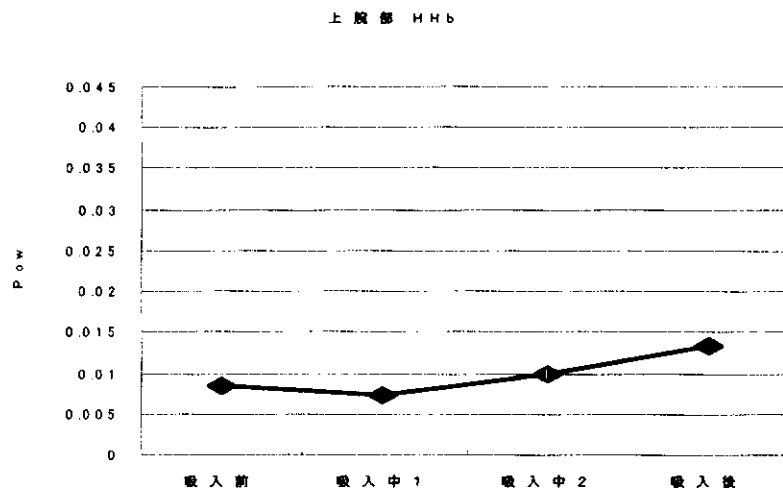


② 頭部・還元ヘモグロビン

上腕部 O₂Hb



③ 上腕部・酸化ヘモグロビン



④ 上腕部・還元ヘモグロビン

図 28 トルエン負荷 5 名の Total Power

図 28 では 5 名の 0.25Hz 以下の Total Power を平均したものである。図 27 と同様に全体的に 0.25Hz 以下の Total Power が経時的に増加傾向にあることが認められた。しかし、上腕部・酸化ヘモグロビンに関しては吸入中-2—吸入後にかけて減少傾向が認められた。

D. 考 察

平成 12 年度は、シックハウス症候群患者の脳血流の変動について検討し、本症候群患者では、微量化学物質負荷時に健常者では認められない脳血流の変動が認められることを見出した。しかしながら、詳細な分析は未だなされていない。そこで本年度の研究では、近赤外線酸素モニタリング装置・NIRO-300 を用いて、化学物質負荷時の脳血流の変動（酸化ヘモグロビン濃度の変動として）を詳細に分析し、シックハウス症候群患者に対する脳血流量の評価の有用性を検討したものである。

本症患者では、体内に取り込まれた化学物質により知覚神経末端が健常者に比して過剰に刺激され、神経末端に存在す

るタキキニン（動物の組織に広く存在するポリペプチド群の1つ・P物質とも呼ばれる）が放出され、周辺の知覚神経を刺激・興奮させる。また同時にタキキニンが周辺の肥満細胞を刺激し、ヒスタミンを遊離させる。その結果、末梢血管の拡張が惹起され、その影響が脳血流量の変動へと及んだと理解できる。しかし健常者では、自律神経の調節機構が正常に保たれているため、脳血流量は頸動脈小体の作用で一定に保たれるように調節されており、末梢血流量の影響を受けにくい。しかし本症患者の場合は自律神経機能障害が認められるため、脳血流を一定に保つことができないと推察される。

今回の結果では、ホルムアルデヒド負荷5名全体を見ると、頭部では酸化ヘモグロビン濃度は化学物質吸入時から次第に減少しているが、これは脳血流が減少したものと解釈できる。還元ヘモグロビン濃度は少し減少傾向にあったが、これは脳の代謝性変化がホルムアルデヒドの負荷により少なからず生じたためであろう。上腕部では、脳のような血流調節機構が発達していないため、化学物質負荷の影響が頭部よりも大きく、酸化ヘモグロビン濃度は著しく増加しており、血流に著しい増加があったと思われる。これは頭部での酸素消費に重大な変化があり上腕部で血流増加が起こったと考えられる。

トルエン負荷5名全体を見ると、頭部では酸化ヘモグロビン濃度は化学物質吸入時から次第に減少しており、血流の減少が確認できた。還元ヘモグロビン濃度の減少はホルムアルデヒドの時と比べると大きかったが、これは血流だけでなく、代謝性変化も生じることがトルエン負荷の場合推測される。トルエンはホルムアルデヒドと比べると中毒性が強いため、ホルムアルデヒドを若干上回る代謝変化が起こるものと考えられる。上腕部では、酸化ヘモグロビン濃度の増減が著しく、血流の増減が著しく生じたものと考えられる。

以上の結果より、脳血流量は頸動脈小体の作用で一定に保たれているのにも関わらず、本症患者では、自律神経系の異常によりごく微量の化学物質負荷でも脳血流が一定に保つことが出来ないことがわかった。また上腕部では頭部と比してより著しい血流変動が生じることがわかった。これは前述したように、上腕部には脳のような血流調節機構の発達が認められないためと考えられる。

E. 結 論

今回の本症患者における NIRO-300 を用いたヘモグロビン変動の評価で、極微量の化学物質の負荷で脳血流の変動が認められることがわかった。今回の結果は、NIRO-300 での血流量の検査が、本症患者の客観的な医学所見（気のせいであるのか、物質に反応しているか）を得るための客観的診断法の 1 つとして極めて有用であることが分かった。

フーリエ解析の結果に関しては、0.25Hz 以下の Total Power が経時的に増加していく傾向が見られた。これは 0.25Hz 以下の振動成分の振幅が増加したものと考えられる。しかし頭部・上腕部において特定の周波数を含むという特徴は認められなかった。血流の増加に関与していると思われる心拍は 1Hz 前後であるが、今回はサンプルタイムが 2sec と遅く 1Hz の成分を十分に再現できなかった可能性がある。1Hz の成分を十分に再現するためには、今後、サンプルタイムをさらに早くすることで、心拍出に関連した周波数成分が認められる可能性があると思われる。次年度（平成 14 年度）は、心拍計やドップラー血流計などを用いて心拍・血流を直接測定し、それらのデータを総合的に比較検討し、より精度の高い客観的診断法として確立させる必要があると考える。

厚生科学研究補助金(生活安全総合研究事業)
分担研究報告書

低用量フタル酸類の免疫系に対する影響

主任研究員 石川 哲 (社)北里研究所・北里研究所病院・
臨床環境医学センター

研究協力者 宮田 幹夫、坂部 貢 (社)北里研究所・北里研究所病院・
臨床環境医学センター

研究要旨

フタル酸類は、厚生労働省の室内濃度ガイドライン値が設定されている有害化学物質の一つであるが、生殖器系に対する低用量作用以外、詳細な検討はなされていない。そこで平成13年度の研究では、フタル酸類のヒト免疫担当細胞(末梢Tリンパ球)に対する影響について調べた。その結果、1)フタル酸類は、マイトゲンで刺激したヒトTリンパ球におけるプロテインキナーゼ調節因子(14-3-3 protein kinase modulator; 以下14-3-3)の発現を濃度依存的に抑制すること、2)さらに、マイトゲンによる細胞情報伝達カスケードの遂行に、極めて重要な作用を持つCキナーゼ(protein kinase C; 以下PKC)の活性も強く抑制することがわかった。以上のことから、フタル酸類は、ヒトの免疫応答に対して強い攪乱作用を有することが判明し、例えば室内空気汚染に伴うアレルギー症状の悪化・再発等に深く関わっている可能性を示唆するものである。

A. 研究目的

フタル酸類は、厚生労働省の室内濃度ガイドライン値が設定されている有害化学物質の一つとして、シックハウス症候群・好酸球増多症の発症に深く関わる可能性のあることが、これまで指摘されている。

また、環境省の内分泌攪乱作用の疑いのある物質としてもリストアップされている要注意化学物質である(表-1)。しかしながら、この物質の生体に対する影響、特に低用量作用については、一部生殖器系に対する影響について報告があるものの、殆ど知られていないのが現状である。そこで平成13年度は、免疫系に対する作用、特に免疫応答の指令塔として重要な役割を有するTリンパ球に対する作用について検討し、シックハウス症候群の発症・経過におけるフタル酸類の重要性についての知見を深めることを目的とした。

表－1:生活環境中に存在するフタル酸類

- ・フタル酸ジ-ジ-2-エチルヘキシル:環境省
- ・フタル酸ブチルベンジル:環境省
- ・フタル酸ジ-n-ブチル:環境省・厚生労働省
- ・フタル酸ジシクロヘキシル:環境省
- ・フタル酸ジエチルヘキシル:環境省・厚生労働省
- ・フタル酸ジ-n-ペンチル:環境省
- ・フタル酸-ジ-n-プロピル:環境省

- ・厚生労働省: ガイドライン値設定物質
- ・環境省: 内分泌攪乱作用が疑われる物質リスト

B. 研究方法

対象:

本研究の目的を十分に理解し、同意の得られた健康な男子医学生12名を対象とした(平均年齢22.4才)。また、対象とした学生は、これまでに免疫学的なプロファイルの異常を指摘されたことはない。今回男子学生を対象とした理由は、フタル酸類が、女性ホルモン様作用を有することが報告されており、女性では、内因性女性ホルモンの月経周期間変動を考慮する必要があったためである。

方法:

採取した末梢血から、CD3ポジティブセレクションカラム(カートリッジ式)を用いてTリンパ球分画を得た。分画したTリンパ球は、10%AB血清加RPMI1640のみにて24時間培養後、インターロイキン2(IL-2)を添加し刺激した(非添加コントロール群)もの、各種濃度に調整したフタル酸ジエチルヘキシル(11~7, -logM)、フタル酸ジブチル(8~4, -logM)、スチレンダイマー(8~4, -logM)およびエストラジオール(11~7, -logM;陽性コントロール群)をそれぞれ添加した。その後72時間培養し、バッファーにて細胞を洗浄後、フリーザーミル(液体窒素破碎)を用いて細胞を破碎し、常法通りに14-3-3の免疫ブロッキング、PKC活性の測定に用いた。なおPKC活性については、細胞抽出物のC1ペプチドリン酸化能をもって評価した。

C. 研究結果

(a)14-3-3蛋白質キナーゼ調節因子の発現(表－2・図－1)

陽性コントロールとしてのエストラジオールは、 10^{-11} Mでは、非添加コントロール群と比べTリンパ球の14-3-3発現に有意な影響を与えなかったが、 10^{-7} Mより高い濃度では、濃度依存的に発現を抑制した。フタル酸エステル類添加群では、フタル酸ジエチルヘキシルが、 10^{-7} Mより高い濃度で、エストロゲンとほぼ同様の抑制作用が認められた。フタル酸ジブチルに関しては、 10^{-7} Mと、かなり高濃度でなければ抑制作用が認められず、その抑制作用は、エストラジオール、フタル酸ジエチルヘキシルと比して弱かった。またスチレンダイマーに関しては、フタル酸ジブチルと同程度の抑制作用を有することがわかった。

表－2: 各種化学物質の最小有効濃度と抑制率(%)

化学物質名	最小有効濃度	抑制率(%)
エストラジオール	10 (-logM)	64±9
フタル酸ジエチルヘキシル	7 (-logM)	32±4
フタル酸ジブチル	4 (-logM)	28±4
スチレンダイマー	4 (-logM)	87±17

・抑制率は、非添加コントロール群抑制率を「0%」として表現した

(b)ヒト末梢リンパ球のCキナーゼ活性に対する影響(図－2)

PKC活性に対する影響については、ほぼ14-3-3に対する影響と同様の結果が得られた。即ち、陽性コントロールとしてのエストラジオールは、強いPKC抑制作用を有し、フタル酸ジエチルヘキシル>フタル酸ジブチルの順で抑制作用を有した。

D. 考察と結論

平成13年度は、未だ不明の点の多いフタル酸類の生体影響について、低用量免疫毒性学的見地から検討を加えた。フタル酸類がこれまでの報告の通り、ホルモン様作用を有することを、今回の実験であらためて確認出来た。その作用は内因性エストラジオールと比して1/1,000～1/10,000あるいはそれ以上というレベルであったが、フタル酸類は、我々の生活環境中のあらゆるものから発生する可能性があり、今回の結果はリスク評価という意味で、極めて重要な知見を与えてくれたと考える。しかしながら、同じフタル酸エステル類でも、フタル酸ジエチルヘキシルとフタル酸ジブチルの間ではかなりの作用の違いが認められ、フタル酸類のガイドライン値設定の難しさを物語った。平成14年度は今回の研究をさらに発展させる予定ではあるが、免疫系に留まらず、神経系機能に対する影響についても重点的に検討したいと考えている。

図一 1

ヒト末梢リンパ球のマイトゲン反応性に対する影響

Expression of Pan-14-3-3 protein kinase modulator

11 10 9 8 7 (-logM)

エストラジオール

8 7 6 5 4

フタル酸ジエチルヘキシル

フタル酸ジブチル

ステレンダイマー

図一 2

ヒト末梢リンパ球のCキナーゼ活性に及ぼす影響

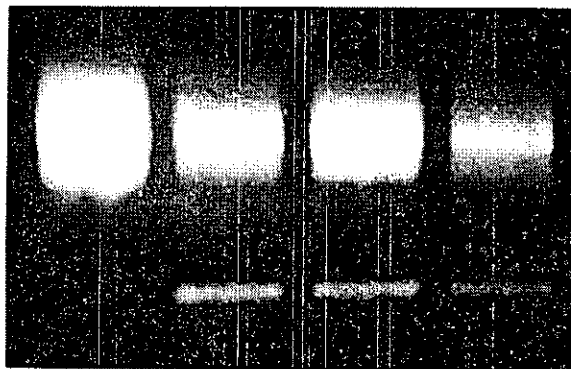
IL-2 単独 IL-2 + エストラジオール IL-2 + フタル酸 ジエチルヘキシル IL-2 + フタル酸 ジブチル

anode

Phosphorylated C1 peptide

Unphosphorylated C1 peptide

cathode



分担研究報告書

シックハウス症候群患者の内分泌・免疫学的側面(予備的調査)

分担研究者 石川 哲 (社)北里研究所・北里研究所病院・臨床環境医学センター
研究協力者 坂部 貢、宮田幹夫 (社)北里研究所・北里研究所病院・
臨床環境医学センター

研究要旨

これまでに、シックハウス症候群に特徴的なホルモン分泌異常、通常の免疫機能検査の範囲での共通所見を示す報告は極めて少ない。そこで、北里研究所病院・臨床環境医学センターに受診しているシックハウス症候群患者の内分泌機能・免疫機能についてプロファイリングを行った。その結果、慢性疲労感、易疲労性を主訴とする例では、その約30%に遊離トリヨードサイロニン(T3)の低下、即ち低T3症候群が認められた。また性成熟期(18歳～45歳)の女性患者においては、月経周期異常、月経前緊張症も高い頻度(62%)で認められた。また、免疫プロファイリングでは、総リンパ球の減少(53%)、CD8リンパ球の減少(59%)等が認められ、過半数を超える症例で何らかの免疫学的指標の異常が認められた。

A. 緒言

シックハウス症候群の診断には、多彩な自覚症状と居住環境中に存在する有害化学物質を一つの線で結びつけるために、詳細な問診が重要であり、時間をかけて十分に行う必要がある。しかしながら、本症か否かの判断が詳細な問診からある程度可能であるとはいえ、精神疾患を否定するためにも、客観的な検査所見を得ることが重要である。すで

に本症が中枢神経系・自律神経系の機能異常を主体とした症候群であることを前提として、神経系機能検査、特に神経眼科学的所見の有用性については報告されているが(1-3)、神経機能検査以外の本症に特徴的な所見については、未だ詳細な検討がなされていない。周知の通り、生体の恒常性維持は、「神経系-内分泌系-免疫系」の機能軸が円滑に遂行することにより成り立っている。よって、この機能軸の言わば「司令塔」である「神経系」の機能異常が存在すれば、当然そ

れに連携・機能相関している「内分泌系」、
「免疫系」の機能が攪乱されることは容易に
想像できることである。事実、神経系の機能と
ホルモン分泌・免疫応答の相関について興
味ある事実が知られている(4-6)。そこで
本年度は、本症の内分泌系(特に甲状腺機
能プロファイル)と免疫系(特にTリンパ球系
プロファイル)の機能について焦点を絞り、北
里研究所病院・臨床環境医学センター受診
の患者を対象として検討した。

B. 研究方法

1. 1. 調査対象

対象は、平成12年9月～平成13年12月
に臨床環境医学センターを受診し、シックハ
ウス症候群と診断された患者の中から、年齢
18歳以上60歳未満・継続して受診中の96
名を抽出した(男性38名:平均年齢 36.2 ± 7.84 、女性58名:平均年齢 45.3 ± 5.96)。

1. 2. 内分泌プロファイル

対象とした患者群(器質的甲状腺疾患の
既往のない者)の中から、慢性疲労感・易疲
労性を主訴とし、QEESI*問診票上、他の症
状のスコアと比してこれらのスコアの high
患者37名(男性13名、女性24名)につい
て、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、遊離トリ

ヨードサイロニン(fT3)、遊離サイロキシン(f
T4)の測定を行った。また、測定検査は、
北里研究所病院・検査部が行った。

なお、TSH、fT3、fT4の評価は、甲状腺
機能異常の初期スクリーニングの指標として、
臨床上一般化されているものである。

*QEESI: Quick Environmental Exposure
and Sensitivity Inventory; Ashford, A. and
Miller, CS.: Chemical Exposures: Low Level
and High Stakes (2nd Edition), John Wiley &
Sons, Inc., 1998.

1. 3. 免疫プロファイル

平成13年4月～平成13年12月に受診し
た中から、免疫プロファイリングに影響を及ぼ
す可能性のあるアトピー性疾患(アトピー性
皮膚炎、気管支喘息等)の明らかな合併の
認められない患者、あるいはアトピー性疾患
の既往を有するが、少なくとも過去6ヵ月以
内に症状が出現していない患者あわせて76名
(男性27名、女性49名)について、リンパ球
百分率、総リンパ球数、CD4リンパ球(CD
4)数、CD8リンパ球(CD8)数、CD4/CD
8比を評価した。リンパ球サブセットの評価は、
北里研究所病院・検査部が行った。

C. 結 果

1. 1. 内分泌プロファイル(表-1)

評価対象とした患者群(37名)の甲状腺