

罹患率

パニック障害の有病率は約1%で、日本では1990年代に男女とも同程度の割合で発症していたものが、最近では女性患者の比率が増加し、現在では男女比がほぼ1:2と欧米と同等になってきている。発症年齢は、欧米・日本ともに男性が20歳代、女性が20~30歳代となっている[19]。

予期不安と広場恐怖

パニック発作は生命の危険と死の恐怖を強く刻印し、時と場所を選ばず突然起こることが多いため、ひとたびパニック発作を経験すると、また発作が起こるのではないかという漠然とした不安感を持ちつづける。これを予期不安と呼ぶ。

また、パニック発作が起こることを恐れ、助けが求められない状況（会議、車の運転、美容院、歯科治療など）や、すぐに避難することができない場所（エレベーター、飛行機や電車といった公共の交通機関など）を避ける状況に陥った状態を広場恐怖と呼ぶ。

表4. パニック障害の症状

- ・心臓がどきどきする
- ・汗をかく
- ・身体や手足の震え
- ・呼吸が早くなる、息苦しい
- ・息が詰まる
- ・胸の痛みまたは不快感
- ・吐き気、腹部のいやな感じ
- ・めまい、頭が軽くなる、ふらつき
- ・非現実感、自分が自分でない感じ
- ・常軌を逸する、狂うという恐怖
- ・死ぬのではないかという恐怖
- ・しびれ、うずき感
- ・寒気あるいは、ほてり

うつ病の併発

パニック発作が消失する前後、またはパニック発作に先立ち、強い抑うつ気分を主症状とするうつ状態、あるいはうつ病が現れることもある。パニック障害患者の約半数は、うつ状態やうつ病を示す。

病因

パニック障害の原因については、ストレスによるとする学説、親子関係に注目した環境因学説、遺伝学説などさまざまである。また、パニック発作を誘発するとされる物質として、炭酸ガスや乳酸ソーダ、カフェインなどが誘発実験で確認されている。

治療

三環系抗うつ薬やベンゾジアゼピン系抗不安薬による薬物療法が主流である。またこれらの薬物療法に加えて、認知療法や行動療法も、発作の頻度が減る、あるいは症状が軽くなるなどの効果が認められている。

慢性疲労症候群 (Chronic Fatigue Syndrome ;CFS)

概略

慢性疲労症候群 (CFS) は、原因不明の激しい全身倦怠感と共に微熱、リンパ節腫脹、筋肉痛、関節痛、思考力・集中力の低下、抑うつ症状、睡眠異常などの症状が続くため、生活が著しく損なわれる病態である。

1984年に米ネバダ州において、上記のような症状を訴える患者の集団発生がみられたことがきっかけとなってこの病態の解明が始まり、1988年には米国防疫センターによって診断基準が定められた。日本では1990年にこの診断基準を満たす第1症例が報告され、翌年に厚生省研究班によって慢性疲労症候群の診断基準が示された。

罹患率

1998年、厚生省疲労調査研究班が15～65歳の男女4,000名を対象に疲労の疫学調査を行ったところ、慢性疲労症候群の診断基準(表5)を満たす人は国民の約0.3%であった[21]。また女性に多く、20～50歳で好発するとされている。

病因

慢性疲労症候群の原因として、ウイルスや細菌などの慢性感染症と日常生活における慢性ストレスの二つが考えられている。この両者が神経・免疫・内分泌系システムを狂わせ、脳の神経系に疲労を感じさせるものとされる[22]。

慢性疲労症候群では、発症時にしばしば急性感冒様症状が認められることや、集団発生の報告があることから感染症の関与が疑われてきた。代表的なウイルスとしては、EBウイルス、単純ヘルペスウイルス、ヒトヘルペスウイルス6、エンテロウイルス、ボルナ病ウイルス感染症などがあげられる[21]。

感染症の関与が明らかでない症例では、免疫異常(NK活性の低下、サイトカイン上昇、自己抗体産出など)、内分泌・代謝異常(血清アシルカルチニン低下、副腎脂質ホルモンの異常など)、脳代謝異常(局所脳血流量の低下など)があげられる。

表5. 慢性疲労症候群の診断基準(要約)

基準項目
[大基準] 1. 6ヶ月以上にわたる持続性あるいは再発性の激しい疲労感 2. 病歴、身体所見、検査所見によって他の疾患が除外される
[小基準] 1. 微熱 2. 咽頭痛 3. 首あるいは腋のリンパ節の腫れ 4. 筋力低下 5. 筋肉の痛みまたは不快感 6. 運動後24時間以上続く全身倦怠感 7. 頭痛 8. 関節痛 9. 神経精神症状 10. 睡眠障害(過眠、不眠) 11. 症状の急激な出現(主な症状が数時間から数日で出現する)
診断：大基準2項目＋小基準8項目

精神医学的所見

慢性疲労症候群の患者は精神的ストレスを抱えていることが多い。精神医学的にみると、患者は3つの群に分けられるという。すなわち、精神医学的に異常のない群（Ⅰ群）と、慢性疲労症候群に罹患したことにより2次的に精神症状を示す群（Ⅱ群）、そして1次的な精神疾患と考えられる群（Ⅲ群）である。Ⅲ群の患者は、内科的治療による予後が極めて悪いといわれている。したがってその際には精神科的なカウンセリングとともに抗精神薬による治療が第1選択として行われる [22]。

治療

病因が明らかでない現在、慢性疲労症候群の治療に関して特定の治療法は見つかっていない。現在のところ、主としてビタミンの投与と免疫力を高める漢方薬が中心である。また精神症状が強い症例には抗不安薬が併用され、筋肉痛や関節痛の強い症例には消炎鎮痛剤も併用されている [22]。

線維筋痛症 (fibromyalgia)

概要

線維筋痛症とは、身体の様々な部位の疼痛を主訴とし、不眠や疲労感、生理不順などの身体症状や、不安感やゆううつ感などの精神的症状、あるいは全身のこわばり感、関節痛、自覚的な関節の腫れなどのリウマチ症状を呈する病態である。

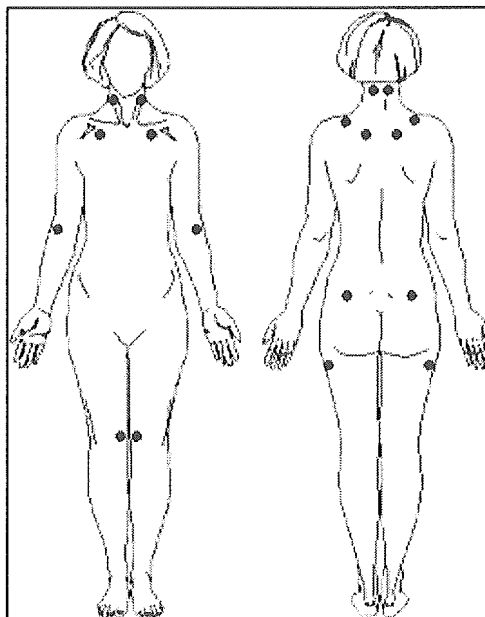
診断は1990年にアメリカリウマチ学会（ACR）の診断基準による。この基準では広範囲な疼痛が3ヶ月以上持続し、図1に示す18ヶ所の特有な圧痛点うち11ヶ所以上に指圧による疼痛を認めることが必要である。

他覚的所見が乏しく、筋電図や筋生検所見はいずれも正常である [23]。

罹患率

欧米では一般人口の2～5%に認めるといわれている。75%以上が女性であり、発症年齢は20～60歳で、40～50歳代が最も多い。日本での有病率は不明であるが、他覚的所見が乏しいことから心身症などとされていることが考えられる [24]。

図1. 線維筋痛症における指圧点[26]



病因

線維筋痛症の病因、病理については諸説あり、いまだ結論は出ていない。筋痛に注目した説として、筋肉のエネルギー代謝異常 [25]、筋組織の虚血 [24] などがあげられている。精神医学・心理学的研究による説として、脳の疼痛を制御する部位の血流の低下による疼痛閾値の低下 [24]、セロトニンの相対的欠乏 [23]、中枢神経システムにおける痛覚認知障害、家庭内暴力や性的虐待の結果 [25]などがあげられている。その他の説として、視床下部-下垂体-副腎系の異常、不眠および筋肉の微小損傷の不適切な修復による神経化学的異常 [23] などがあげられている。

治療

薬物療法としては三環系抗うつ薬が主体であり、非ステロイド系抗炎症薬や副腎皮質ステロイド薬は一般に無効である。非薬物療法としては、エアロビクス、認知療法、ヨガ、鍼灸などが行われている。

有効性の観点から三環系抗うつ薬の投与とエアロビクスによる軽度の有酸素運動が特によく行われている [24]。

文献

- 1) Cynthia Wilson :A Brief Overview of MCS.[Online at, <http://ciin.org/what.htm>]
- 2) 原耕平：肺炎，株式会社新興医学出版社，pp172，1990
- 3) American Academy of allergy, Asthma, and Immunology Board of Directors: Position statement (1999): Idiopathic environmental intolerances. J Allergy Clin Immunol 103:36-40
- 4) Cullen MR(1987): The worker with multiple chemical sensitivities: an overview. Occup Med 2(4): 655-661
- 5) Report of Multiple Chemical Sensitivities (MCS) Workshop: International Programme on Chemical Safety (IPCS)/German Workshop on Multiple Chemical Sensitivities: Berlin, Germany, 21-23 February 1996(1997). Int Arch Occup Environ Health 69:224-226
- 6) Editorials (1999): Multiple Chemical Sensitivity: A 1999 Consensus. Arch of Environ Health 54(3): 147-149
- 7) Buchwald D, Garrity D (1994): Comparison of Patients With Chronic Fatigue Syndrome, Fibromyalgia, and Multiple Chemical Sensitivities. Arch Intern Med 154:2049-2053
- 8) Staudenmayer H, Selner JC, Buhr MP(1993): Double-Blind Provocation Chamber Challenges in 20 Patients Presenting with "Multiple Chemical Sensitivity". Reg Toxicol Pharmacol 18:44-53

- 9) 荒記俊一(1999) : 米国調査報告 (MCS の疾病概念の検討を中心として) . 平成 10 年度環境庁委託教務結果報告 : 本態性多種化学物質過敏状態の調査研究書, 財団法人日本公衆衛生協会
- 10) Bell IR, Schwartzs GE, Baldwin CM, Hardin EE, Klimas NG, Kline JP, Patarca R, and Zhi-Ying Song(1997): Individual Differences in Neural Sensitization and the Role of Context in Illness from Low-level Environmental Chemical Exposures. *Environ Health Perspect* 105(Suppl 2): 457-466
- 11) 西岡 清(1999) : 化学物質過敏症 - はじめに - . *アレルギー・免疫* 6(7):964-968
- 12) 石川 哲(1999) : 化学物質過敏症. *医学のあゆみ* 188(8):785-788
- 13) Miller CS(1997): Toxicant-induced Loss of Tolerance- An Emerging Theory of Disease ? . *Environ Health Perspect* 105(Suppl 2): 445-453
- 14) Salvaggio JE(1996): Understanding Clinical Immunological Testing in Alleged Chemically Induced Environmental Illness. *Reg Toxicol Pharmacol* 24:S16-S27
- 15) Brodsky CM(1983): 'Allergic to everything' : A medical subculture. *Psychosomatics* 24(8): 731-742
- 16) 相澤好治(2000) : 化学物質過敏症 (本態性環境不寛容状態) について - 労働衛生とのかかわり -. 中央労働災害防止協会委託研究報告書 化学物質過敏症予防のための労働衛生管理技法に関する研究 : 3-16
- 17) Leznoff A(1997):Provocative challenges in patients with multiple chemical sensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 99(4): 438-442
- 18) 池田耕一(2001) : 家庭内の化学物質と健康影響. *日本胸部臨床* 60(8) : 681
- 19) 久保千春(2001) : パニック障害. *日本臨床* 59(8) : 448-452
- 20) The Environmental Health Policy Committee(EHPC); The Interagency Workgroup on Multiple Chemical Sensitivity(1998) :A Report on Multiple Chemical Sensitivity(MCS).
[Online at, <http://web.health.gov/environment/mcs/frwrd.htm>]
- 21) 倉恒弘彦(2002) : 慢性疲労症候群. *医学のあゆみ* 200(13) : 1257-1258
- 22) 倉恒弘彦(2001) : 慢性疲労症候群の病因と治療. *疲労の科学—眠らない現代社会への警鐘* 講談社, 東京 : p111-118
- 23) 吉田俊治(2000) : 線維筋痛症候群. *日本臨床別冊 免疫症候群 上巻* : 413-416
- 24) 松本美富士(1999) : 線維筋痛症候群. *日本臨床* 57(2) : 364-369
- 25) 浦田幸朋, 天保英明, 中川市三郎(2002) : 線維筋痛症候群. *治療* 84(6), 1747-1754
- 26) National Fibromyalgia Association
[Online at , <http://fmaware.org/fminfo/brochure.htm>]
- 27) 田中正敏(2001) : シックハウス症候群について. *室内化学汚染物質汚染—シックハウスの実態と対応* 松香堂, 京都市 : p7-17
- 28) 川上正澄, 山内良澄(1969) : 図説生理学 南江堂, 東京 : p224-225

[添付資料]

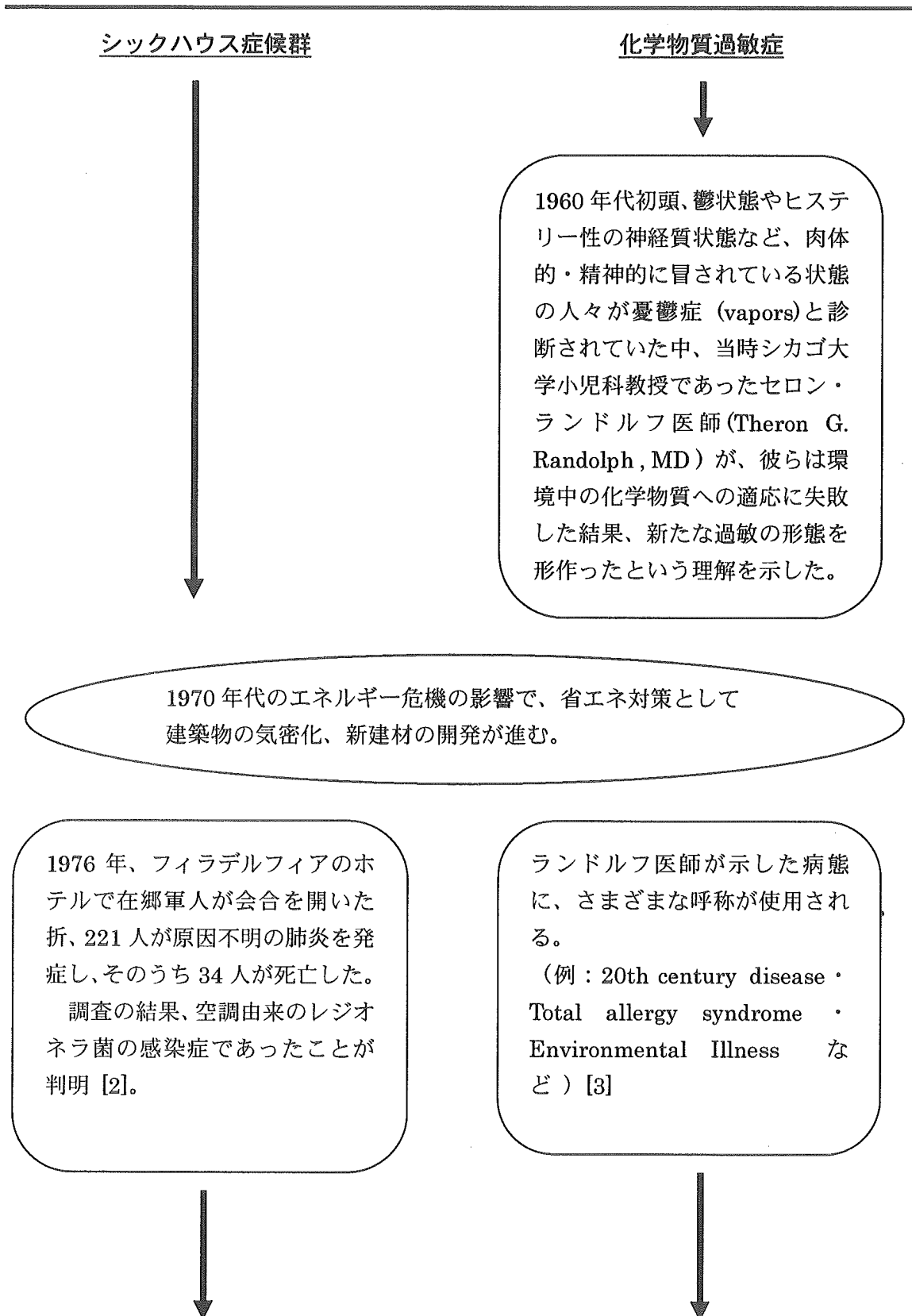
a. 化学物質の室内濃度指針値

化学物質	毒性指標	室内濃度指針値	
		$\mu\text{g}/\text{m}^3$	ppm
ホルムアルデヒド	ヒト吸入曝露における鼻咽頭粘膜への刺激	100	0.08
トルエン	ヒト吸入曝露における神経行動機能及び生殖発生への影響	260	0.07
キシレン	妊娠ラット吸入曝露における出生児の中樞神経系発達への影響	870	0.20
パラジクロロベンゼン	ビーグル犬経口曝露における肝臓及び腎臓への影響	240	0.04
エチルベンゼン	マウス及びラット吸入曝露における肝臓等への影響	3,800	0.88
スチレン	ラット吸入曝露における脳や肝臓への影響	220	0.05
クロルピリホス	母ラット経口曝露における新生児の神経発達への影響及び新生児脳への形態学的影響	1	0.00007
		小児 0.1	小児 0.000007
フタル酸ジ-n-ブチル	母ラット経口曝露における新生児の生殖器の構造異常等への影響	220	0.02
テトラデカン	C ₈ -C ₁₆ 混合物のラット経口曝露における肝臓への影響	330	0.04
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	ラット経口曝露における精巣への病理組織学的影響	120	0.0076
ダイアジノン	ラット吸入曝露における血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性への影響	0.29	0.00002
アセトアルデヒド	ラットに対する経気道曝露による鼻腔嗅覚上皮への影響	48	0.03
フェノルカルブ	ラットに対する経口混餌反復投与毒性におけるコリンエステラーゼ活性阻害等への影響	33	0.0038
総揮発性有機化合物量(TVOC)	国内の室内 VOC 実態調査の結果から、合理的に達成可能な限り低い範囲で決定	暫定目標値 400	—

出典) 厚生労働省医薬局審査管理課化学物質安全対策室：室内空気汚染問題に関する検討会中間報告—第8回～第9回のまとめ, February 8, 2002

[Online at : <http://www.mhlw.go.jp/houdou/2002/02/h0208-3.html>]

b. シックハウス症候群 (Sick House Syndrome) と
化学物質過敏症 (Multiple Chemical Sensitivity : MCS)の変遷フローチャート



シックハウス症候群

1976年の在郷軍人事件以来、室内環境への関心が高まり、1982年にWHO（世界保健機構）の室内空気汚染についての会議で、シックビルディング(Sick Building)の用語が使われた。そして、“ひとつのビル内で多くの人々が異常を訴える現象”を「シックビルディング症候群(Sick Building Syndrome)」と呼ぶようになった。

日本において「引越し病」「新築病」と呼ばれていた体の変調は、シックビルディング症候群の概念に取り込まれ、1996年頃から和製英語であるシックハウス症候群(Sick House Syndrome)と呼ばれるようになった。

1997年、厚生労働省は「快適で健康的な住宅に関する検討会議」において、ホルムアルデヒドの室内濃度指針値を0.08ppmと策定した。2002年2月8日現在ホルムアルデヒドを含め13物質の室内濃度指針が策定されている(添付資料 a)

化学物質過敏症

1987年、エール大学のカレン(Cullen)が、中毒の発現閾値以下の微量かつ多種類の化学物質により、複数臓器に臨床症状が誘発される病態不明の過敏状態を Multiple Chemical Sensitivity (MCS: 多種化学物質過敏症)と概念化した [4]。

1996年に、世界保健機構 (WHO)、国連環境計画 (UNEP)、国際労働機関 (ILO) などによる合同の国際化学物質安全性計画 (IPCS, International Programme on Chemical Safety) がベルリンで開催され、Multiple Chemical Sensitivity を Idiopathic Environmental Intolerances (IEI: 本態性環境不寛容状態)と呼ぶことを提唱した。[5]

1998年、アメリカのミラー(Miller C.)らにより、世界共通に化学物質過敏症者のスクリーニングテストを行うための質問用紙である QEESI (Quick Environment Exposure Sensitivity Inventory) が考案された。

シックハウス症候群



2002年6月、大阪府の市立保育所におけるシックハウス問題で、アルバイトをしていた女性保育士4人に対し、労働災害が認定された。

化学物質過敏症

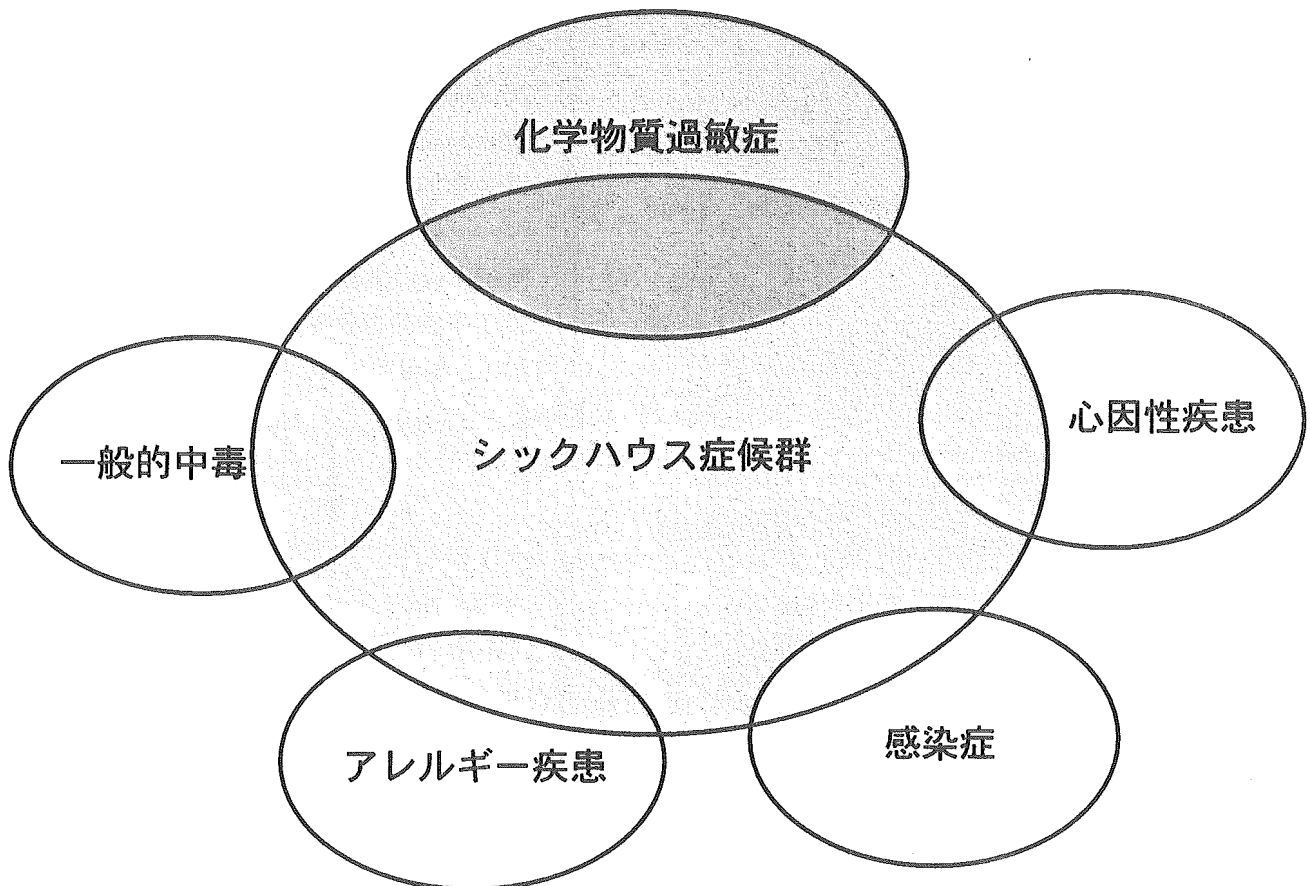


1999年、米国立衛生研究所(NIH, National Institutes of Health)主催のアトランタ会議において、MCSを定義するための6項目が示され(表1)、臨床環境医の間での合意事項として決議された。

c. シックハウス症候群と化学物質過敏症および関連疾患の相関図



→ 化学物質高感受性集団(CHP)



d. 化学物質曝露者における免疫学的異常を想定した研究

報告者(年, 報告誌)	対象者群	人数	評価対象	結果
Terr AI. (Arch.Intern.Med, 1986)	化学物質曝露由来の体調不良患者 群	50名	総リンパ球数, Tヘルパー, Tサプレッサー細胞, T, B, Null細胞, IgE, IgA, IgM, IgG	免疫異常を証明する値は得られなかった ・50名を、症状なし、一症状、多症状の3群に分けて検討 ・検査指標によってデータがある
Dykewicz MS. (J.Allergy.Clin.Immunol, 1991)	職業的ホルムアルデヒド曝露者群 喫煙者群 コントロール群	34名 11名 10名	IgE-F-HAS, IgG-F-HSA (HSA: ヒト血清アルブミン, F:ホルムアルデヒド)	3人にIgE-F-HAS, 5人にIgG-F-HAS が観察されたが、ホルムアルデヒドとの関係は確かめられなかった
Simon GE. (Ann.Intern.Med,1993)	化学物質過敏症患者群 骨筋系傷害患者 (コントロール)群	41名 34名	自己抗体6種 (抗平滑筋, 壁細胞, 刷毛縁, ミトコンドリア, 核, その他), 総リンパ球数, B,T細胞, IL1, IL2, CD4, CD8, TA1+細胞	過敏症患者群のIL1値が有意に低かった(p=0.003)が、実験室での測定手続きに起因し得る考えられる

厚生科学研究費補助金（健康科学総合研究事業）
分担研究報告書

化学物質高感受性集団のスクリーニングのための動物モデルの検討

分担研究者 櫻田 尚樹 産業医科大学・産業保健学部 助教授
 笛田由紀子 産業医科大学・産業保健学部 助手
 嵐谷 奎一 産業医科大学・産業保健学部 教授

研究要旨

近年、多種化学物質過敏症（以下 MCS）やシックビルディング症候群・シックハウス症候群など、身の回りの化学物質による多種の異常症状を訴える病態が問題となっている。しかしながら、これらの症候群は、病態が明確でないだけでなく、定義もオーバーラップする部分があるなど不明な部分が多く残されている。本研究では、化学物質の高感受性集団のスクリーニングを目的とした動物モデルを作成し、これら症候群の病態解明の一助とすることを目的とする。特に、現在 MCS をめぐり原因物質のひとつとして最も問題視されているホルムアルデヒドについて、低濃度・経気道・長期曝露系を確立し、複合的に病態を解明することをめざした。本年度は、ホルムアルデヒドを 2000ppb (2ppm)の濃度で、一日 16 時間、週 5 日間、12 週間にわたる、経気道曝露系を確立し、体重変化、臓器重量変化、くしゃみ、免疫担当細胞分画の比較、曝露後の脾細胞の増殖刺激に対する反応などを比較した。その結果、くしゃみを除いて有意な変化は認めなかった。

A. 研究目的

近年、多種化学物質過敏症（以下 MCS）やシックビルディング症候群・シックハウス症候群など、身の回りの化学物質による多種の異常症状を訴える病態が問題となっている。しかしながら、これらの症候群は、病態が明確でないだけでなく、

定義もオーバーラップする部分があるなど不明な部分が多く残されている。本研究では、化学物質の高感受性集団のスクリーニングを目的とした動物モデルを作成し、これら症候群の病態解明の一助とする。

B. 研究方法

1. 曝露系の開発:対象と方法

ホルムアルデヒドは、パラホルムアルデヒドからの昇華によるホルムアルデヒドガス発生装置を作成し、これを動物曝露チャンバーに誘導し、室内空気希釈し設定濃度を曝露する系を作成した(図1)。今年度は曝露濃度として 2000ppb (2ppm) 単独を設定し、これに対する対照群として室内空気だけのコントロール群を設けた。曝露時間は夕方 17 時から翌朝 9 時までの夜間帯 16 時間曝露とし、週 5 日間、12 週間の継続曝露を実施した(図2)。なお、一部のマウスは、曝露後 2 週間、新鮮空気のみによる回復期間を設けた。

曝露期間中のチャンバー内濃度は、空气中のホルムアルデヒド濃度の標準的な評価法である

2,4-dinitrophenylhydrazine(DNPH) を含浸したシリカゲルカラム (Waters Sep-Pak DNPH Cartridge) に気中ホルムアルデヒドを捕集し、アセトニトリルで溶出後、高速液体クロマトグラフィーにて分離・定量を行う化学分析法によって実施した(図3)。

12 週間曝露期間中の 2000ppb 群の平均濃度は 1928 ± 43 ppb であった。また、一日 16 時間曝露中の濃度変化も、連続モニタリングを実施したが、曝露開始 30 分程度で目標濃度に達し、安定した濃度を維持し、曝露中止後は速やかにバックグラウンドレベルに低下することが確認された(図4)。

以上のように、ホルムアルデヒドガスの曝露系は、精度高く確立することがで

きた。なお、ホルムアルデヒドの吸入曝露は、産業医科大学・産業保健学部において行った。

動物は、BALB/c 雄性マウスを使用し、10 週齢より曝露開始した。動物実験の実施にあたっては、産業医科大学・動物実験および飼育倫理委員会に申請し許可を得たうえで実施した。

2. 細胞分画

12 週間曝露終了後、ネブタールにて麻酔下に解剖を行った。脾臓より脾細胞単細胞浮遊液を作成し、免疫担当細胞の分画について、CD3, CD4, CD8 に対する蛍光標識モノクローナル抗体を用いた 3 カラー法、および抗 CD19 蛍光標識モノクローナル抗体を用いて、フローサイトメーター (EpicsXL-MCL System II, ベックマン・コールター株式会社) にて解析した。

3. 細胞増殖試験

上記で作成した、脾細胞単細胞浮遊液を 10% 牛胎児血清を含む RPMI1640 培地中で、 2×10^6 /ml 濃度で 96 穴マイクロプレートを用いて培養した。培養にあたっては、T 細胞マイトジェンである Concanavalin A (Con A) $1 \mu\text{g/culture}$ 、B 細胞マイトジェンである Lipopolysaccharide (LPS) $5 \mu\text{g/culture}$ を添加して実施した。細胞増殖の指標は、WST-1 試薬による比色により判定した。

C. 研究結果と D. 考察

1. 曝露中体重変化

12 週間曝露期間中のマウスの体重変化は 2000ppb 群、コントロール群ともに順

調な体重増加を認め、両群に相違は認めなかった（図5）。また外見上の大きな変化も認めなかった。

2. くしゃみ症状

以前に別系統マウスで行った実験で、ホルムアルデヒドの長期低濃度経気道曝露により濃度依存的なくしゃみの増加が観察されたので、本実験でも12週間曝露終了時点でくしゃみの回数を測定した。各マウスを、目視で15分間、くしゃみ回数を観察した。その結果、コントロール群は、ほとんどすべてが15分当たり0～1回であったのに対し、2000ppb群では、一部のマウスでかなり多くのくしゃみを観察し、Mann-Whitney's U testで有意な増加を認めた（図6）。

3. 曝露終了後の解剖時臓器重量

12週間曝露終了時点で解剖した際に、胸腺、両側肺、肝臓、脾臓、精巣の臓器重量を測定し、単位体重当りの相対重量で比較した（表1）。その結果、コントロール群と2000ppb曝露群のあいだに、上記臓器重量に差は認めなかった。一方、12週間曝露後2週間の回復期間を置いた群において肝臓重量のみ他群より高値を示したが、この理由は不明である。

4. 免疫学的検索

脾細胞中の免疫担当細胞分画について比較検討した結果を表2に示す。T細胞系、B細胞いずれにおいても、曝露による有意な変化は認めなかった。さらに、T細胞マイトジェンであるConA、あるいはB細胞マイトジェンであるLPSによる増殖刺激に対する反応も、コントロール群および曝露群間で相違を認めなかった（図7）。各種サイトカイン・ケモカイン

類の変動については、現在解析準備中である。

E. 結論

低濃度ホルムアルデヒドガスを長期間にわたって、非常に安定して曝露する実験系は確立された。これを用いてBALB/c雄性マウスに対するホルムアルデヒド2000ppb、12週間曝露を実施した。その結果、一部のマウスでくしゃみの増加を認めたが、その他は、体重増加、免疫担当細胞比率、曝露後の*in vitro*での増殖刺激に対する反応等でも有意な変化を認めなかった。加えて、ホルムアルデヒド長期低濃度経気道曝露による中枢神経系への影響を評価するために、大脳辺縁系のなかでも高次の情報処理に重要な役割を果たす海馬機能について、脳スライスを用いて直接評価する手法を確立して検討することにした。本年度は、実験系の確立が確認できたので、次年度以降に個体数を多くして検討する予定である。

さらに、海馬用DNAチップを用いた各種遺伝子発現の検討などを通して比較検討していく予定である。

F. 健康危険情報

なし

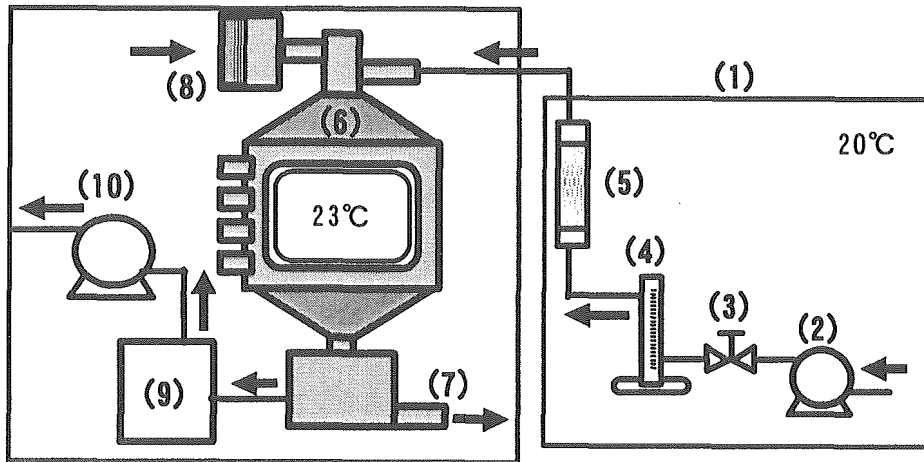
G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

該当せず

図1 吸入曝露装置の概略図



- (1):ホルムアルデヒドガス発生装置 (2):ポンプ (3):バルブ
 (4):流量計 (5):試料充填セル (6):吸入曝露チャンバー
 (7):セパレータ (8):HEPAフィルター (9):排ガス処理装置
 (10):プロア

図2 タイムスケジュール

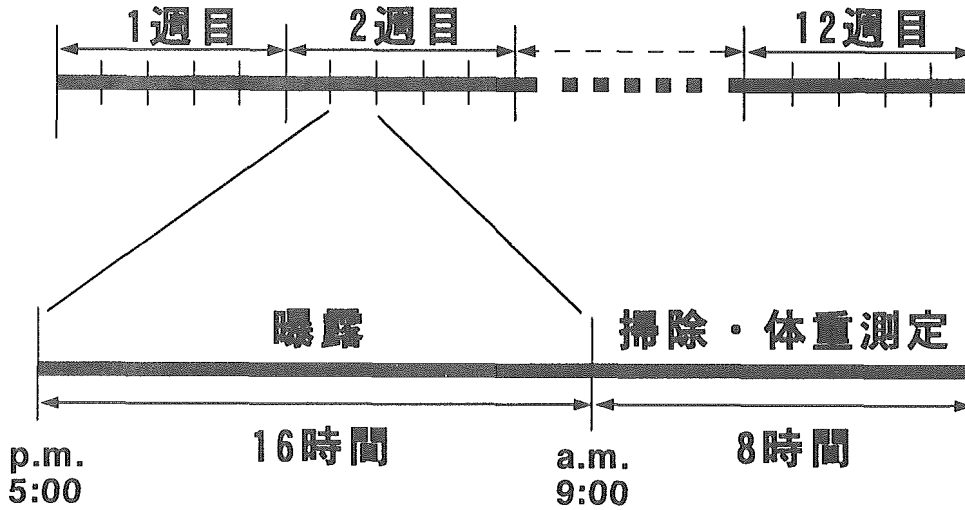


図3 HPLCによるチャンバー内濃度測定

サンプリング：Waters Sep-Pak DNPH Cartridge

2,4-Dinitrophenyl hydrazine Hydrochloride (DNPH)含浸

HPLC条件：Wakosil-(II)5C18

測定波長360nm,

移動相：0.2M酢酸／アセトニトリル
=35/65

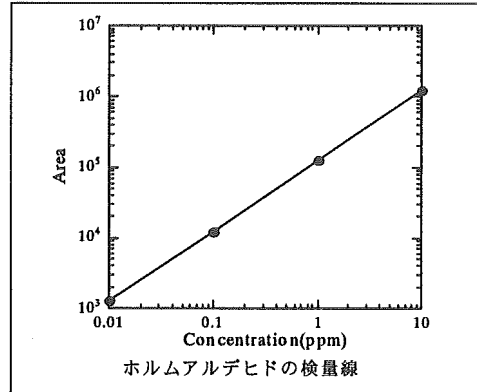
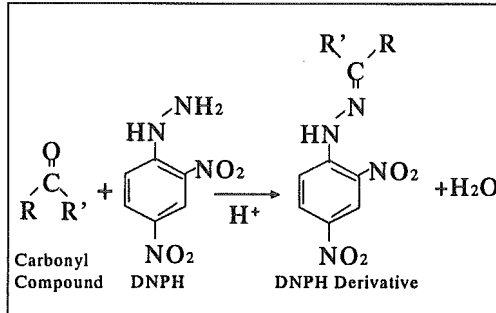
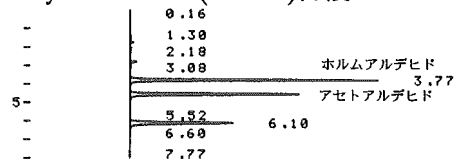


図4 チャンバー内濃度日内変化

Formaldemeter 400 + PPM Base Unit (PPM Technology Ltd, Wales, UK, 輸入元 JMS ink)

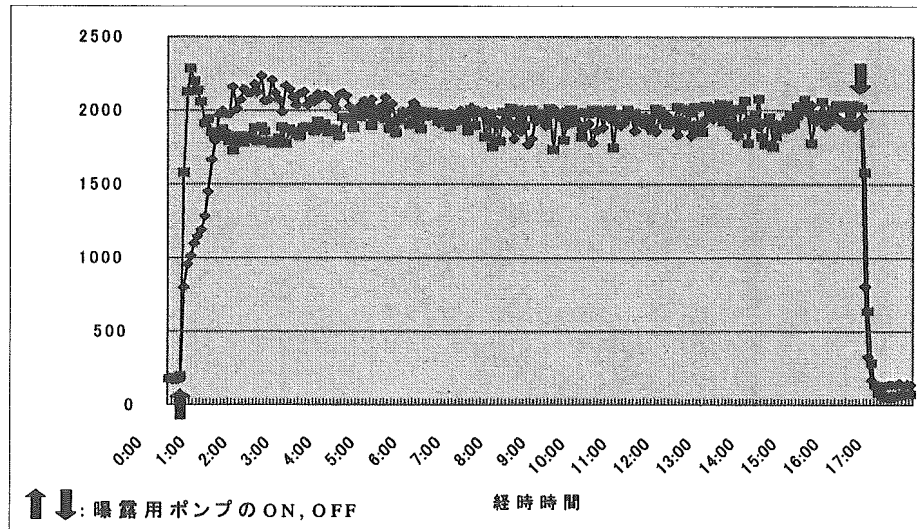


図5 体重変化

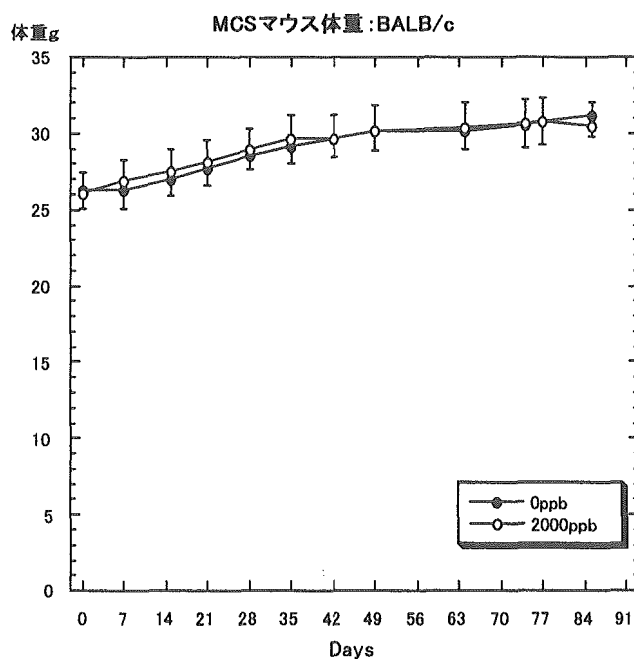


図6 3ヶ月曝露終了時のくしゃみ回数

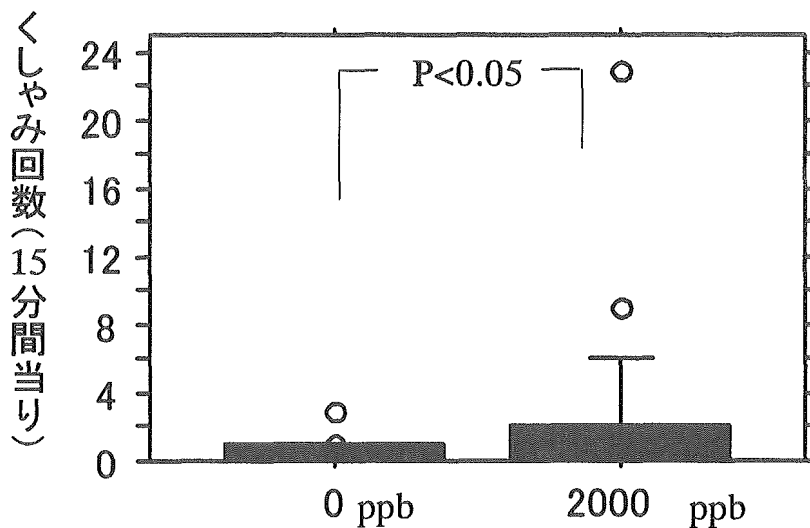


表1 解剖時の臓器重量比較

	Control		2000ppb 群		2000ppb+2週間リカバリー群		ANOVA 検定結果
	平均値 ±	標準偏差	平均値 ±	標準偏差	平均値 ±	標準偏差	
個体数	5		5		5		
解剖時体重 (g)	31.1 ± 2.2		29.4 ± 1.8		30.9 ± 1.5		
胸腺重量 (mg)	32.4 ± 3.8		34.4 ± 5.9		34.2 ± 4.5		
脾臓重量 (mg)	118.2 ± 17.0		114.8 ± 6.5		115.4 ± 10.1		
肝臓重量 (mg)	1426.2 ± 171.4		1411.4 ± 132.9		1708.8 ± 121.7*		P<0.05
両肺重量 (mg)	177.2 ± 9.5		170.4 ± 8.3		177.2 ± 15.7		
右精巣重量 (mg)	88.8 ± 2.8		84.0 ± 11.1		86.0 ± 7.6		
左精巣重量 (mg)	85.8 ± 7.2		84.2 ± 12.6		86.8 ± 2.8		
相対重量 (mg/g body weight)							
胸腺	1.05 ± 0.13		1.18 ± 0.23		1.10 ± 0.11		
脾臓	3.79 ± 0.39		3.92 ± 0.26		3.73 ± 0.28		
肝臓	45.79 ± 3.09		48.04 ± 2.75		55.23 ± 1.54**		P<0.001
両肺	5.72 ± 0.49		5.81 ± 0.31		5.73 ± 0.36		
右精巣	2.87 ± 0.17		2.85 ± 0.24		2.78 ± 0.21		
左精巣	2.78 ± 0.37		2.86 ± 0.34		2.81 ± 0.17		

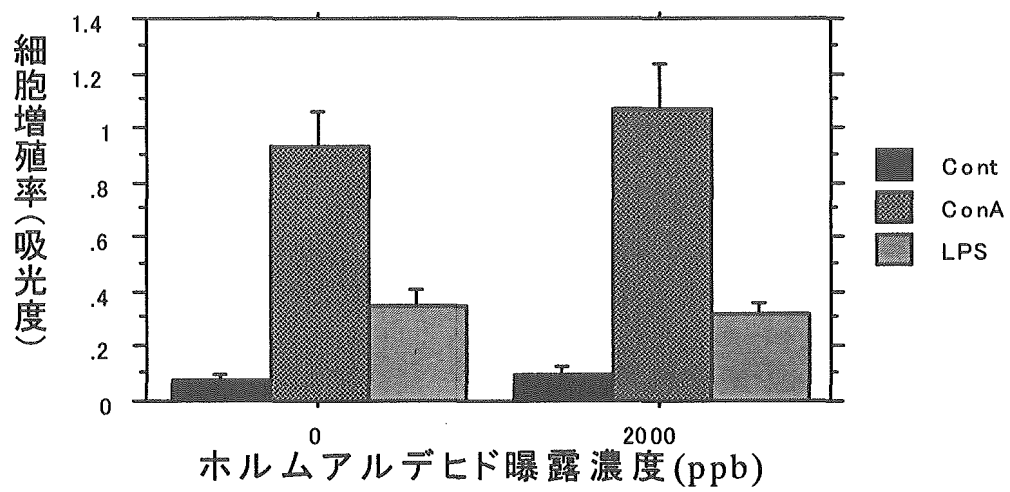
Differences between group means were analyzed using ANOVA with post hoc test (Scheffe).

*:P<0.05, **:P<0.01 vs Control

表2 脾細胞中リンパ球分画

	Control		2000ppb 群		t-検定
	平均値 ±	標準偏差	平均値 ±	標準偏差	
個体数	6		6		
CD3+(%)	30.9 ± 3.8		30.4 ± 3.0		NS
CD3 陽性細胞中					
CD4+8-(%)	62.7 ± 4.1		59.4 ± 3.4		NS
CD4-8+(%)	26.8 ± 3.3		27.3 ± 3.5		NS
CD4/CD8	2.4 ± 0.4		2.2 ± 0.4		NS
CD19+(%)	49.4 ± 2.4		47.2 ± 3.6		NS

図7 細胞増殖試験(WST-1 assay)



厚生科学研究費補助金(健康科学総合研究事業)
分担研究報告書

細胞レベルでのホルムアルデヒドの影響評価
(予備実験)

分担研究者 加藤貴彦 宮崎医科大学 公衆衛生学教授
研究協力者 黒田嘉紀 宮崎医科大学 公衆衛生学助手

研究要旨

MCS等の病態を引き起こす代表的な化学物質であるホルムアルデヒドの微量曝露の影響を細胞レベルで検討することを目的に予備実験を行った。

1. ホルムアルデヒドの細胞増殖能に及ぼす影響：視算法では、1000ppb(1ppm)以下でホルムアルデヒドの影響はほとんど見られなかったが、アルマーブルー色素法では10ppbまで影響が見られた。これらの結果から1ppb以下では細胞に直接的障害を与える可能性は少ないと思われた。

2. ホルムアルデヒドのT細胞への影響評価：細胞に障害を与えない濃度である1ppbと0.1ppbにおいて、細胞活性化マーカーのCD25とCD69陽性細胞の比率が増加し、さらにCD25、CD69の両者とも陽性の細胞が増加していた。

A. 研究目的

ホルムアルデヒド高濃度曝露あるいは多量摂取の影響については、ほぼ評価は確立しているが、低濃度の影響については明確になっていない。そこで我々は、低濃度のホルムアルデヒドの影響を評価するために、細胞レベルでの実験を行うための予備実験を行った。

B. 研究方法

1. ホルムアルデヒドの細胞増殖能に及ぼす影響

我々はホルムアルデヒドの細胞増殖能に及ぼす影響を見るために、生細胞を実際に数える方法とアルマーブルー

色素を使用した方法で検討した。

① 視算法によるホルムアルデヒドの細胞増殖に及ぼす影響評価

<対象>

S P 2 / O 培養細胞 (mouse myeloma cells)

<方法>

培養細胞を 3.7×10^5 個/mlに調節し、ホルムアルデヒドをあらかじめ決めた濃度(20000, 10000, 5000, 1000, 100, 0ppb)になるようにホルムアルデヒドを加え、24時間と48時間後に生細胞をトリパンブルーで染色し視算法で測定した(3度測定しその

平均を算出した)。

②アルマーブルー法によるホルムアルデヒドの細胞増殖に及ぼす影響評価

<対象>

SP2/O培養細胞

<方法>

培養細胞を 5.0×10^4 個/ml に調節し、ホルムアルデヒドをあらかじめ決めた濃度 (1000, 100, 10, 1, 0ppb) になるように加え、さらにアルマーブルー色素を添加し、66 時間培養し、吸光度を測定した。

2. ホルムアルデヒドの T 細胞への影響

ホルムアルデヒドがサイトカインの分泌を刺激するという過去の報告[1-3]がある。そこで我々はホルムアルデヒドの

T細胞に及ぼす影響についてフローサイトメトリーを使用して予備実験を行った。

<対象>

BALB/c J マウスの脾細胞

<方法>

マウスより無菌的操作にて脾臓を摘出し、単細胞に分離し、ホルムアルデヒドをあらかじめ決めた濃度 (1000, 100, 10, 1, 0.1, 0.01, 0ppb) になるように添加し、6 時間培養した。培養後細胞表面マーカーを染色し、フローサイトメリーで評価した。陽性コントロールとして PHA を添加し、培養した細胞を使用した。

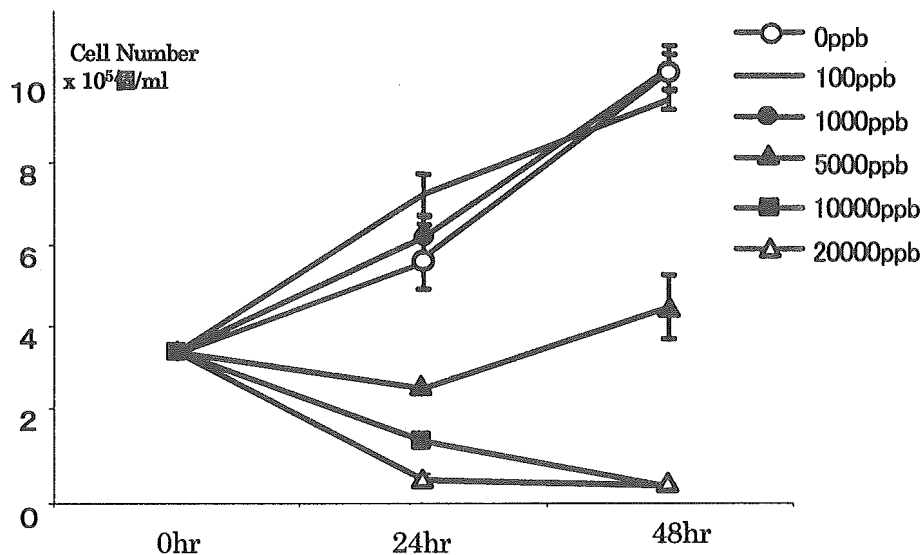


図1 視算法によるホルムアルデヒドの細胞増殖に及ぼす影響評価