

OD570-OD650

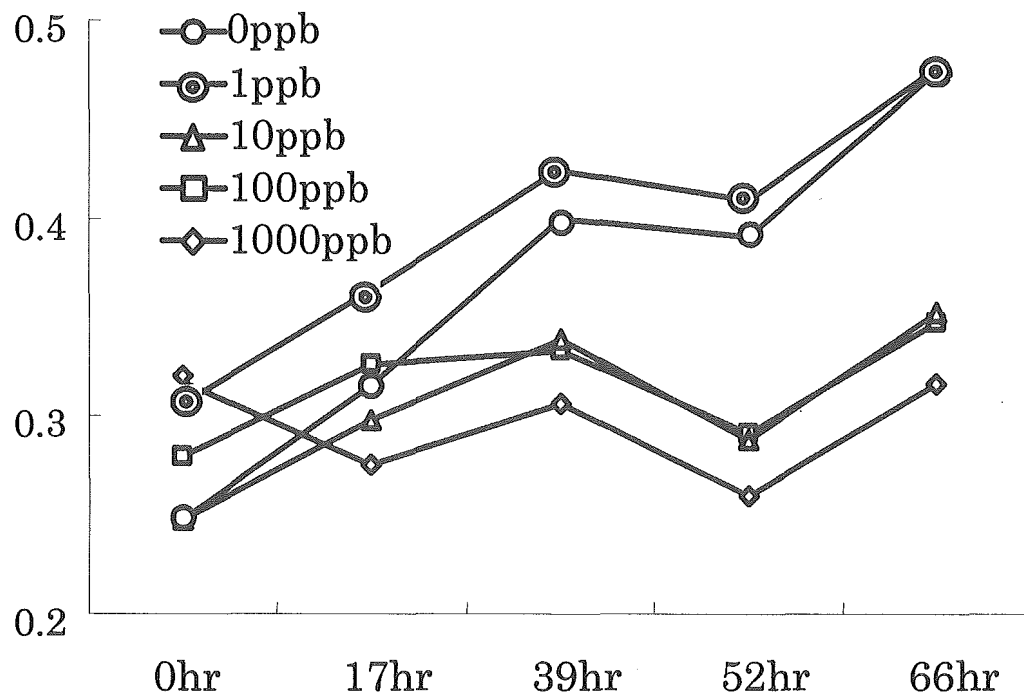


図2 アルマーブルー色素法によるホルムアルデヒドの細胞に及ぼす影響評価

C. 研究結果と D. 考察

1. ホルムアルデヒドの細胞増殖能に及ぼす影響

図1に示すように視算法では、1000ppb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。アルマーブルー色素はミトコンドリアで代謝され、色調の変化を起こす物質で、ホルムアルデヒドの

細胞毒性を検出するのにより敏感である可能性が考えられる。いずれにしても1ppb以下では細胞に直接的影響を与える可能性は少ないと思われた。

この結果は Lovschall *et al* [4] とほぼ同様の結果であった。このように比較的 low 濃度でもホルムアルデヒドの影響が細胞レベルで見られる事はホルムアルデヒドの毒性を考える上で非常に重要と思われる。

2. ホルムアルデヒドの T 細胞への影響評価

CD4 と CD8 は代表的な T 細胞マーカーであり、さらに CD25 と CD69 は T 細胞が活性化した場合一時的に出現する細胞表面マーカーである。図 3 ～ 図 6 から、ホルムアルデヒド濃度 1 ppb と 0.1 ppb において、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。これらの結果は、ホルムアルデヒドが T 細胞に何らかの影響を与えている可能性があることを示しているものと思われた。

今回は予備実験であり、今後検討を重ね、再現性があるかどうか、他の strain のマウスではどうなるかなど検討する課題は多い。

ホルムアルデヒドは非常に不安定な

物質であり、血液中の濃度測定は非常に困難である。従って培養中にホルムアルデヒドを加える実験系がどの程度生体内の現象を表しているのかについては今後検討が必要である。さらに、サイトカインの分泌がホルムアルデヒド慢性曝露によってどう影響されるかなどについても検討しなければならない。

今後さらなる検討は必要だが、この予備実験よって、ppb レベルの低濃度でもホルムアルデヒドが T 細胞に何らかの影響を与えている可能性が予測された。次年度はこの実験系を中心に、前述した点に加えマウスの腹腔内に少量のホルムアルデヒド（量は未定）をあらかじめ投与し、刺激（感作）した後で、再度ホルムアルデヒドの細胞実験も行う予定である。

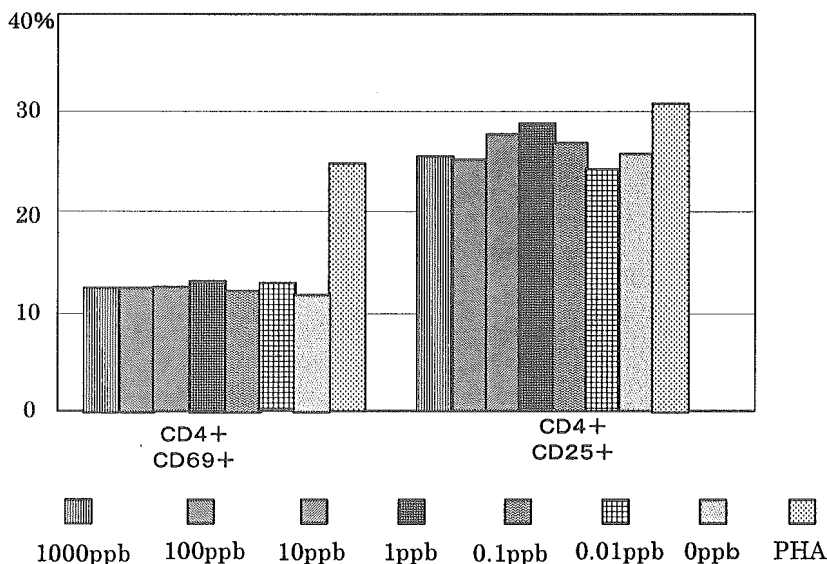


図3 CD4 陽性 T 細胞の CD 6 9 と CD 2 5 の発現

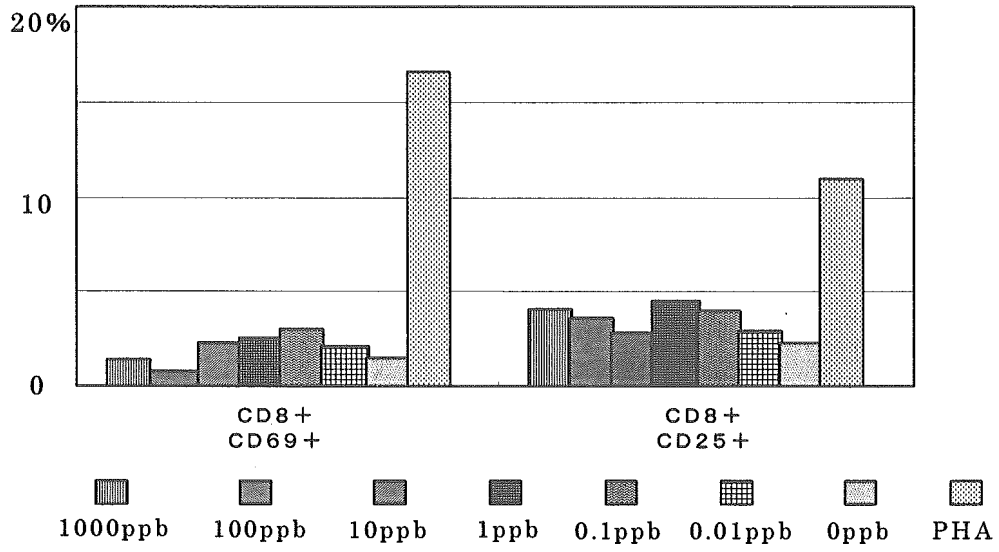


図4 CD8陽性T細胞のCD69とCD25の発現

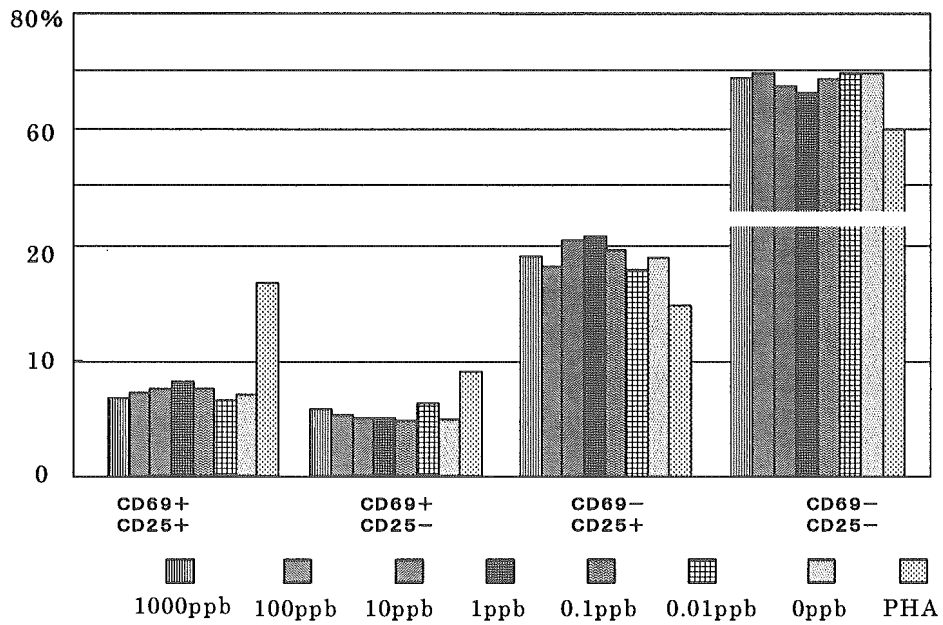


図5 CD4陽性T細胞のCD69とCD25の関係

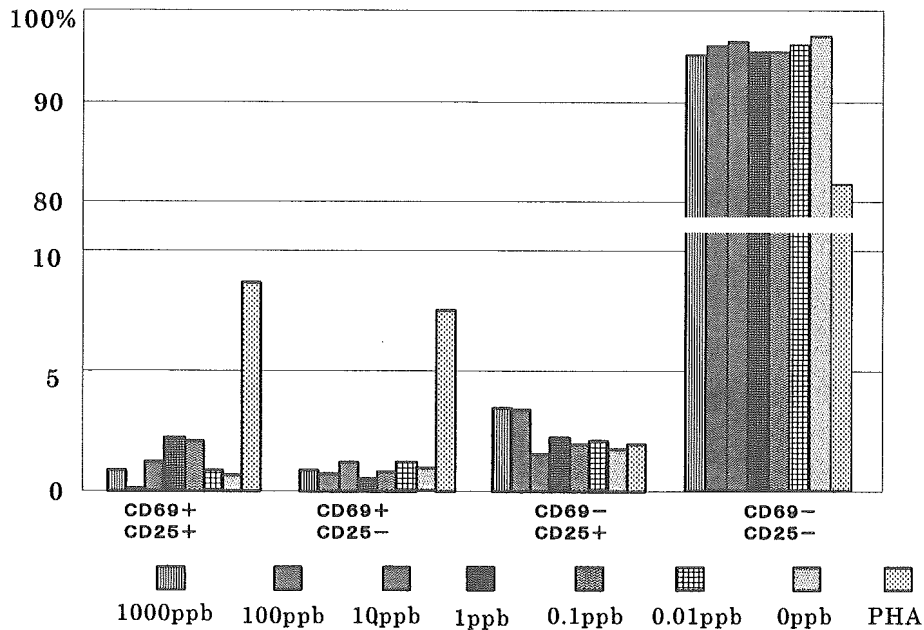


図6 CD8陽性T細胞のCD69とCD25の関係

E. 結論

培養細胞を用いた実験系で低濃度ホルムアルデヒドの曝露予備実験を行った。その結果、細胞障害を引き起こさない濃度レベル(1ppbと0.1ppb)でさえもT細胞に何らかの影響を与える可能性が考えられた。

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

参考文献

- 1) Fujimaki, H., Imai, T., and Befus, D. Mast cell response to formaldehyde. 2. Induction of stress-like proteins. *Int Arch Allergy Immunol*, *98*:332-8, 1992.

1992.

- 2) Fujimaki, H., Kawagoe, A., Bissonnette, E., and Befus, D. Mast cell response to formaldehyde. 1. Modulation of mediator release. *Int Arch Allergy Immunol*, *98*:324-31, 1992.
- 3) Saneyoshi, K., Nohara, O., Imai, T., Shiraishi, F., Moriyama, H., and Fujimaki, H. IL-4 and IL-6 production of bone marrow-derived mast cells is enhanced by treatment with environmental pollutants. *Int Arch Allergy Immunol*, *114*:237-45, 1997.
- 4) Lovschall, H., Eiskjaer, M., and Arenholt-Bindslev, D. Formaldehyde cytotoxicity in three human cell types assessed in three different assays. *Toxicol In Vitro*, *16*:63-9, 2002.

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

環境中微量化学物質の人への健康影響に関する疫学的研究

分担研究者 加藤 貴彦 宮崎医科大学 公衆衛生学 教授
中尾 裕之 宮崎医科大学 公衆衛生学 助手
平野靖史郎 独立行政法人国立環境研究所 環境研究領域 室長

研究要旨 化学物質に対し高い感受性を示す“化学物質高感受性集団”(Chemical Hyper susceptible Population: 以下CHPと略)の実態把握と、人の健康影響との関連を検証する分子疫学研究をデザインするための基礎的検討を行った。まず、化学物質の曝露評価とその症状を把握するための調査票を作成した。さらに分子疫学研究の対象となる事業所社員(835名)から包括的解析の同意を得たゲノムDNAを収集し、遺伝子を含めた情報バンクを構築した。

使用されている化学物質であるトルエン、キシレンの代謝には個人差が存在する。これらの個人差がCHP症状の個体差の一つと考えられるためトルエン、キシレンの代謝マップを作成した。日本人におけるCHPの実態調査は少なく、遺伝要因を含めた調査は存在しない。今回、遺伝子解析を含めた調査可能な職域フィールドを構築し、解析に必要な基礎的検討を行った。

A. 研究目的

身近に存在する化学物質の種類増加やオフィス・住宅の建材の変化・気密性の増加などによって、種々な症状を訴える人が増加している。化学物質の曝露が、人の健康影響と関連するか否かを疫学的に検討することを目的とする。平成14年度は、疫学研究を実施するために、化学物質の人への曝露評価に関する基礎的な検討と調査対象集団を設定する。また、人の健康影響に関するエビデンスの検討を包括的に行う。

B. 研究方法

1. 化学物質の人への曝露評価に関する基礎検討

Millerらが作成した「Quick Environmental Exposure AND Sensitivity Inventory (QEESI)」は、カレンらによって提唱されたMultiple Chemical Sensitivity (MCS) のスクリーニングのための調査票として開発されたものである [1]。CHPの特徴に関する調査項目は、Millerらが作成した調査票を石川らが日本人向けに翻訳したものを参考に作成した。

(倫理面への配慮)

調査票を使用するにあたっては、調査に関し同意を得ること、その解析は集団で行い、個人情報保持されることを表明する。

2. 調査対象となる職域のDNAバンクの構築
CHPの発症に関し、遺伝要因を含めて解析するために、調査対象となる事業所社員のゲノムDNAを収集する。

(倫理面への配慮)

調査協力を得た血液サンプル提供者に対しては、口頭・文書で研究の説明を行い、研究参加の同意を得た。

3. CHPの原因とされる化学物質であるホルムアルデヒド、トルエン、スチレンが及ぼす人への健康影響に関するエビデンスの検討

ホルムアルデヒド、トルエン、スチレンの代謝酵素マップを作成、それら酵素の遺伝子多型を検索した。

(倫理面への配慮)

文献レビューのため、倫理的な問題はない。

C. 研究結果

1. 化学物質の人への曝露評価に関する基礎検討

Millerらによって開発された調査票は「Chemical Exposures」、「Other Exposures」、「Symptoms」、「Masking Index」、「Impact of Sensitivity」の5項目、各10問から成っている。今回我々は、「Impact of Sensitivity」を除き、一部日本人対象者に合わせ質問項目を追加し、かつ職域で利用しやすい形式にした。ただし、Millerらの結果や他の調査結果と比較するため、調査票の骨格は保持した。(添付資料参照)

2. 調査対象となる職域のDNAバンクの構築

平成15年3月までに、某企業の社員からの同意の得られたゲノムDNA 835例の収集を終えた。

3. CHPの原因とされる化学物質であるホルムアルデヒド、トルエン、スチレンの代謝マップの作成

(1) ホルムアルデヒド代謝

ホルムアルデヒドは、水溶性であるため鼻腔粘膜に作用することが知られており、IARCのランク2Aに属する発癌物質である。図1に示したように、代謝にはグルタチオン(GSH)が関与し、グルタチオン依存性ホルムアルデヒドデヒドロゲナーゼが主たる役割を担っているものと考えられる。また、ノックアウトマウスを用いた実験において、アルデヒドデヒドロゲナーゼ3欠損マウスはホルムアルデヒドに対し感受性が高いことが明らかとなっている。

(2) トルエン、キシレン代謝

トルエンとキシレンの代謝について文献的調査を行い、図2と3にマップとして示した。トルエンやキシレンはベンゼンの代謝とは本質的に異なる。それは、ベンゼンの代謝は芳香環が直接酸化を受け、エポキサイドを経てフェノール、カテコールやヒドロキノン、ならびに開環生成物であるムコンアルデヒドを生成するのに対し、トルエンやキシレンにおいては、主として側鎖のメチル基が酸化されるため、反応性の高いエポキサイドを代謝の過程で生成しにくい。ただし、トルエンやキシレンも、ごく僅かではあるが芳香環が直接酸化を受けクレゾール等を生成することが知られているので、ベンゼンと同様に反応性の高い物質が生成していると考えられる。これらの化合物の第1相反応は、主としてシトクロームP450の一種であるCYP2E1が担っているものと考えられるが、CYP2E1には一塩基多型が存在することが知られており、これら有機溶剤に対する遺伝的感受性要因との関連を明らかにする必要がある。また、CYP2B1もこれら化合物の代謝に少なからず関与しているという報告もある。

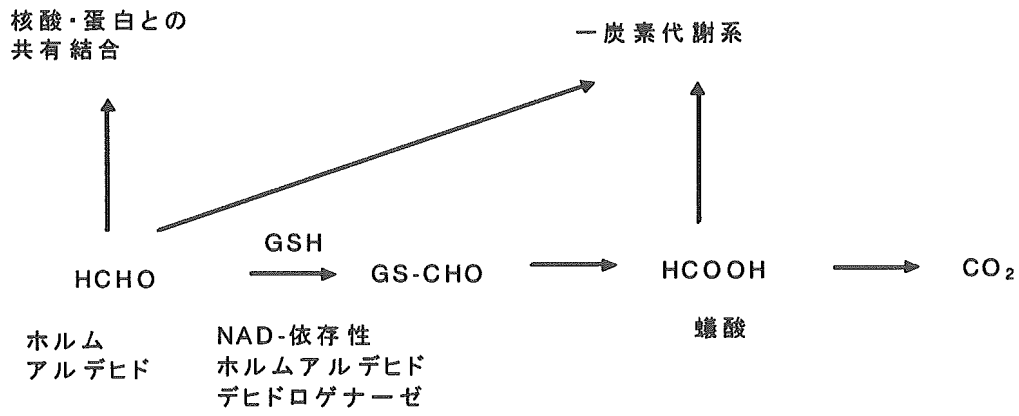


図1: ほ乳類におけるホルムアルデヒドの代謝

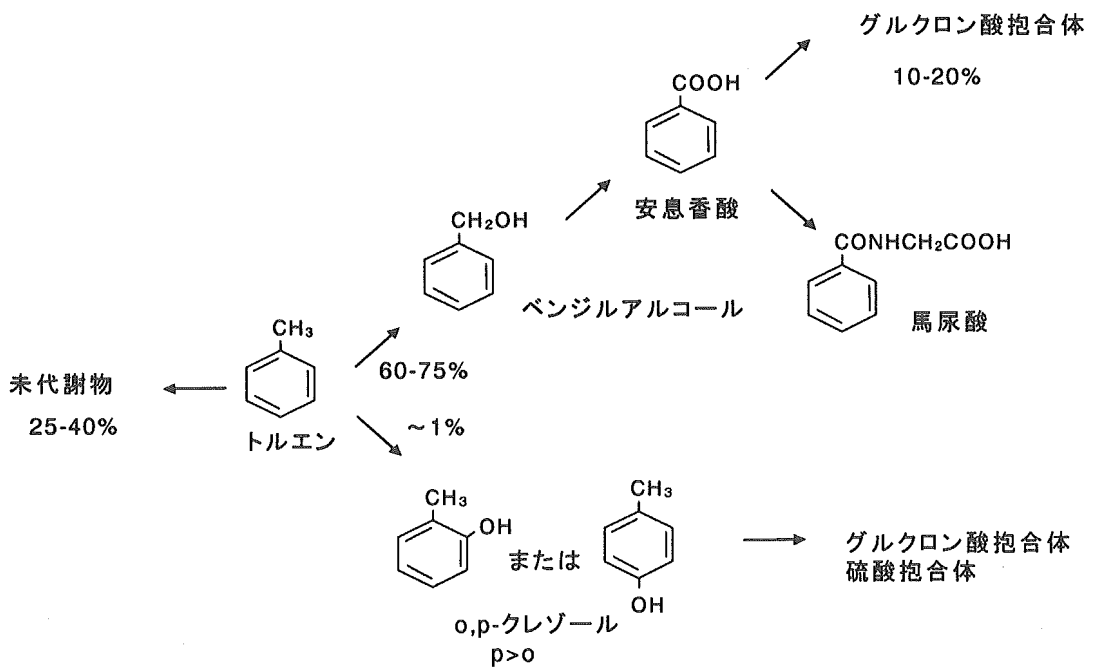


図2: ほ乳類におけるトルエンの代謝

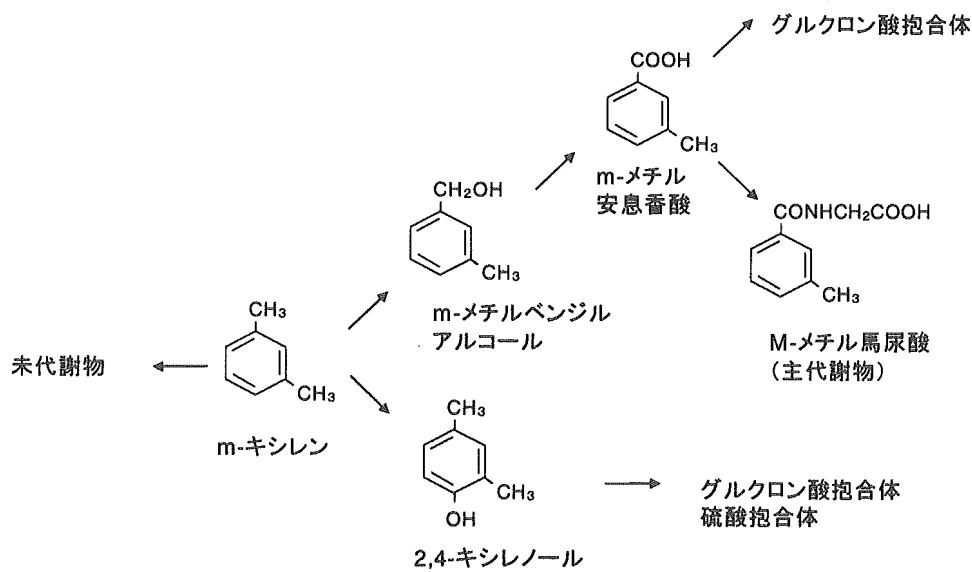


図3:ほ乳類におけるキシレンの代謝

D. 考察

1987年、エール大学のカレンらは、彼自身の臨床経験と臨床環境医学の知見をもとに、「中毒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 [2]。カレンらによって定義されたMCSの発症の特徴をまとめると、原因はすべての化学物質であり、背景として①個体差が大きい、②中年(40歳代)の女性(男女比1:4)に多い。③化学物質中毒の既往、アレルギー疾患の合併が多いといわれる。また、症状としては自覚症状が主体であり、他覚症状に乏しく、多様な自律神経症状、精神神経系の異常が認められる。Millerらはカ

レンらが提唱したMCSのスクリーニングを目的としてQuick Environmental Exposure AND Sensitivity Inventory (QEESI)を開発した。この調査票による実態調査によればアメリカでは、MCSが非常に疑わしい人の割合は7.1%であったと報告されている。また、Meggs (1996年)らはノースカロライナ州で無作為による“化学物質に対する不快感”に関する電話調査(71%調査同意)を行ったところ、毎日不快感があると答えた人の割合は4.1%と報告している [3]。

これまでに日本で実施された調査としては、2000年に内山らが全国の20歳以上の男女4000人(有効回答数2851(71.3%))を対象にMillerらの調査票を石川らが翻訳した質問票による

調査を行っている [4]。その報告によれば、実際に化学物質過敏症と診断された人は全体の0.8%であった。また、Millerらの設定したカットオフ値を満たし、化学物質に対して高感受性を持つと考えられる人は全体で0.74%（米国：6.6%）で米国における頻度の10分の1であった。また、北条らは、女子大生、母親、その他の集団に同様の調査を行い、それぞれ1.7%、3.7、2.8%と報告しており、内山らの結果と比べ2倍から4.6倍高い結果を報告している [5]。これらの結果から、カットオフ値の問題、質問票の日本人への適正性の問題はあるが、日本人が米人と比較し化学物質高感受性を有する人の頻度が低いことが推測される。その原因としては、遺伝的に化学物質に対する代謝系の人種差の存在等が考えられる。

以上のように日本においては、化学物質に対し高感受性集団（CHP）の頻度に関する疫学調査の報告は少なく、特に遺伝子解析を含めた分子疫学研究は皆無である。我々はアメリカで用いられているMillerらの調査票を石川らが翻訳したものを基に質問票を作成し、某企業の社員を対象に実施計画をたてた。調査票には、日常生活に加え、就労作業由来の化学物質曝露の評価が行えるように作成した。調査対象集団として専属産業医が存在する労働現場を選んだ。理由としては、曝露量に関する情報が得やすく、かつ遺伝子解析を含めた分子疫学解析を実施するための情報収集とフォローが容易なためである。次年度は曝露情報を含め、曝露化学物質の代謝酵素の遺伝的個体差を解析し、CHPに関する遺伝・環境要因の相互作用に関する解析を実施する予定である。

E. 結論

CHPの実態調査のための調査票、特に有機溶剤曝露作業者を対象とした調査票を作成した。

CHPの人の健康影響に関する文献的検討を

包括的に行った結果、疫学研究、特に日本人を対象とした疫学研究は極めて少なく、分子疫学研究の報告はない。CHPの病態解明と高感受性集団の存在を検討するために、職域対象集団を設定し、さらに対象の収集を継続している。

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

参考文献

- 1) Miller CS: The compelling Anomaly of Chemical Intolerance. The role of Neural Plasticity in Chemical Intolerance. The New York Academy of Sciences, p1-23, 2001.
- 2) Cullen MR: The worker with multiple chemical sensitivities: an overview. Occup Med 2(4): 655-661, 1987.
- 3) Meggs WJ, Cunn KA, Bloch RM, Goodman PE, Davidoff AL: Prevalence and nature of allergy and chemical sensitivity in a general population, Arch. Environ. Health, 51(4), 275-282, 1996.
- 4) 内山巖夫, 村山留美子, 平成11年度厚生科学研究費補助金報告書—公衆衛生学的立場から見た化学物質過敏症, 1-5, 2000.
- 5) 北條祥子, 日本におけるQEESIを使った疫学的研究, 平成11年度厚生科学研究費補助金報告書—シックハウス症候群の病態解明、診断治療法に関する研究, 134-152, 2002.

化学物質への過敏反応に関する調査票

- ・これからお答えいただく質問は、化学物質で過敏反応を示す方々の環境要因を調査、整理することを目的におこなわれるものです。
- ・この調査票の結果は、化学物質に苦しむ患者さんの診断・治療に役立つのみでなく、国際比較にも使われ、治療法の進歩に役立ちます。ぜひ、空欄を残すことなく、お答えください。
- ・なお、各個人の秘密は厳守されます。

よろしく願いいたします。

調査票

職業

- | | | | | | | | |
|----------------------------|--------------------------------|----------|----------|-----------------|----------------|---------|----------------|
| 1
農林漁業
〔家族従業
を含む〕 | 2
商工・サービス業
〔家族従業を
含む〕 | 3
事務職 | 4
労務職 | 5
自由業
管理職 | 6
無職の主
婦 | 7
学生 | 8
その他
無職 |
|----------------------------|--------------------------------|----------|----------|-----------------|----------------|---------|----------------|

性別

- | | |
|--------|--------|
| 1
男 | 2
女 |
|--------|--------|

年齢

--	--

歳

氏名

Q1. ここ1年間についてお聞きします。あなたは、(A)~(J)にあげたものに反応して、頭痛、胃の不調、呼吸が苦しくなる、体がふらふらする、ものが考えられなくなるなどの症状を感じたことがありますか。それぞれについて、その程度を0~10の数字でお答えください。

全く何とも ない	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	動けなくなったり 寝込むほどの症状
						中程度の症状						

回答例:

	0
--	---

(A) 車の排気ガス -----

--	--

(G) 香水、芳香剤、清涼剤 -----

--	--

(B) タバコの煙 -----

--	--

(H) コールタール、アスファルト -----

--	--

(C) 殺虫剤・除草剤 -----

--	--

(I) マニキュア・マニキュアの
除光液・整髪剤・オーデオロン -----

--	--

(D) ガソリン -----

--	--

(J) 新しいじゅうたんや新しい
カーテンなどの新しい家具、

(E) ペンキ・シンナー -----

--	--

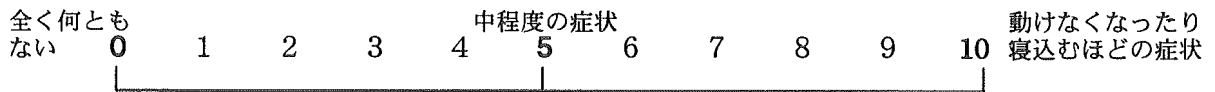
または新車とその内装など -----

--	--

(F) 洗剤類（消毒剤・漂白剤・
風呂用洗剤・床用洗剤） ---

--	--

Q2. あなたは、この1年くらいの間に、次にあげた(A)～(J)のようなことを経験されたことがありますか。それぞれについて、その程度を0～10の数字でお答えください。



回答例:

	0
--	---

- (A)水道のカルキ臭などで体調が悪くなる(シャワー、お風呂、お湯の使用時など) -----

--	--
- (B)特定の食品を食べると体調が悪くなる -----

--	--
- (C)ある食品が異常なほど食べなくなったり、または食べてしまったりする。
あるいはその食品がないと体調不良になる -----

--	--
- (D)食後、一定時間体調が悪い -----

--	--
- (E)コーヒー、紅茶、日本茶、コーラ、チョコレートなどを食べると体調が悪くなる ---

--	--
- (F)コーヒー、紅茶、日本茶、コーラ、チョコレートなどを食べないと体調が悪くなる ----

--	--
- (G)ハンバーガー、カップラーメンなどを食べると体調が悪くなる -----

--	--
- (H)ハンバーガー、カップラーメンなどを食べないと体調が悪くなる -----

--	--
- (I)少量のビールやワインのような少量のアルコールでも体調が悪くなる -----

--	--
- (J)皮膚に触れる布製品、金属の装飾品、化粧品などで体調が悪くなる -----

--	--
- (K)医薬品、インプラント(人口品の体への埋め込み)、入れ歯、避妊器具などで
体調が悪くなる -----

--	--
- (L)樹木、草、花粉、家の塵(ちり)、カビ、動物のあか、虫さされ、特定の食物などで
ぜん息、鼻炎、じんましん、湿しんのようなアレルギー反応が起きる -----

--	--

Q3. あなたは、この1年くらいの間に、次にあげた(A)～(J)のような症状を経験されたことがありますか。それぞれについて、その程度を0～10の数字でお答えください。

全く何とも
ない 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 中程度の症状 動けなくなったり
寝込むほどの症状

回答例:

	0
--	---

- (A) 筋肉、関節の痛み、けいれん、こわばり、力が抜ける

--	--
- (B) 眼の刺激、やける感じ、しみる感じ。息切れ、咳のような気管や呼吸症状。たん、
鼻汁がのどの奥の方に流れる感じ。風邪にかかりやすい

--	--
- (C) どうき、脈のみだれ、胸の不安感などの心臓や胸の症状

--	--
- (D) 腹痛、胃けいれん、膨満感、吐き気、下痢、便秘のような消化器症状

--	--
- (E) 集中力、記憶力、決断力の低下、無気力などを含む思考力の低下

--	--
- (F) 緊張しすぎる、上がりやすい、刺激されやすい、うつ、泣きたくなったり激情的
になったりする。以前興味があったものに興味が持てないなどの気分の変調

--	--
- (G) めまい、立ちくらみなど平衡感覚の不調、手足の動きがぎこちない、手足のしびれ、
手足のチクチク感、目のピントが合わない

--	--
- (H) 頭痛、頭の圧迫感、一杯に詰まった感じなどの頭部症状

--	--
- (I) 発疹、じんま疹、アトピー、皮膚の乾燥感

--	--
- (J) トイレが近い、排尿困難、尿失禁、外陰部のかゆみまたは痛みなどの泌尿器・生殖器症状
(女性の場合：生理時の不快感、苦痛などの症状)

--	--

Q4. あなたは医療機関で次のような診断をされたことがありますか。あてはまるものすべてに丸を付けてください

- 1 化学物質過敏症
- 2 シックハウス症候群
- 3 気管・呼吸器、皮膚、目、鼻、のど等のアレルギー性疾患
- 4 どれもなし

Q5. お宅では、最近10年以内に、次のようなことがありましたか。あてはまるものすべてに丸を付けてください。

- 1 家の新築、またはリフォーム (外壁工事、ペンキの塗り替えなども含む)
- 2 新しい家具、カーペット、カーテンなどの購入
- 3 新車の購入
- 4 引越経験 (1～2回)
- 5 引越経験 (3～4回)
- 6 引越経験 (5回以上)
- 7 どれもなし

Q6. あなたの生活習慣についておたずねします。次の(A)~(J)の質問を読んで、「はい」または「いいえ」のどちらかに丸を付けてお答えください

- | | |
|---|----------|
| (A)週に1回以上タバコを吸いますか | はい ・ いいえ |
| (B)アルコール飲料（ビール、焼酎、日本酒など）を週1回以上飲みますか | はい ・ いいえ |
| (C)カフェインの入った飲み物（コーヒー、紅茶など）を週1回以上飲みますか | はい ・ いいえ |
| (D)香水、ヘアスプレー、香料入りの化粧品を週1回以上使用しますか | はい ・ いいえ |
| (E)過去数年内に殺虫剤、防カビ剤処理を家や職場で使用しましたか | はい ・ いいえ |
| (F)最近の仕事や趣味の中で、化学物質や煙、刺激臭にさらされることが週1回以上ありましたか | はい ・ いいえ |
| (G)あなたの周りに、タバコを吸う家族や同居人はいますか | はい ・ いいえ |
| (H)ガラストーブや石油ストーブを家庭で使用していますか | はい ・ いいえ |
| (I)洗濯するとき、繊維を柔らかくする製品（柔軟剤）をよく使いますか | はい ・ いいえ |
| (J)ステロイド剤、鎮痛剤、抗うつ剤、精神安定剤、睡眠剤などをよく使いますか | はい ・ いいえ |

Q7. 職場で、最近5年以内に次のようなことがありましたか。あてはまるものすべてに丸を付けてください。

- 1 事務所（職場）の移転またはリフォーム（外装工事、ペンキ塗り替えなども含む）
- 2 新しいロッカー、家具、カーペット、カーテンなどの設置、装着
- 3 新たな薬品の使用
- 4 新しいトラック、社用車などの使用
- 5 どれも無い

質問はこれで終わりです
ご協力ありがとうございました