

平成 14 年度厚生労働科学研究費補助金  
健康科学総合研究事業

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

総括・分担研究報告書  
主任研究者 石川 哲

平成 15 年 3 月

平成14年度厚生労働科学研究費補助金  
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

(順不同、敬省略)

主任研究者

石川 哲 北里研究所病院臨床環境医学センター長

分担研究者

相澤好治 北里大学医学部衛生学公衆衛生学 教授

秋山一男 国立相模原病院臨床研究センター 部長

荒記俊一 独立行政法人産業医学総合研究所 理事長

糸山泰人 東北大学大学院医学系研究科神経科学講座神経内科学 教授

岩月啓氏 岡山大学大学院医歯学総合研究科皮膚粘膜結合織学 教授

木村 穰 東海大学医学部分子生命科学2 遺伝情報部門 教授

久保木富房 東京大学大学院医学系研究科ストレス防御・心身医学 教授

竹内康浩 名古屋大学名誉教授・

放射線医学総合研究所緊急被ばく医療センター長

那須民江 名古屋大学大学院医学研究科環境労働衛生学 教授

西間三馨 国立療養所南福岡病院 院長

馬島 徹 日本大学医学部内科学講座内科一 講師

吉田晃敏 旭川医科大学眼科学講座 教授

研究協力者

宮田幹夫 北里研究所病院臨床環境医学センター部長

坂部 貢 北里研究所病院臨床環境医学センター部長

柳澤幸雄 東京大学大学院新領域創成科学研究科環境学 教授

吉野 博 東北大学大学院工学研究科 都市・建築学専攻 教授

角田和彦 財)宮城厚生協会 坂総合病院 小児科医長

北條祥子 尚絅学院大学生活創造学科 教授

内山巖雄 京都大学大学院工学研究科 教授

村山留美子 京都大学大学院工学研究科

天野健太郎 東北大学大学院工学研究科 都市・建築学専攻

飯田 望 東北大学大学院工学研究科 都市・建築学専攻

高田 美紀	東北大学大学院工学研究科	都市・建築学専攻
松本 麻里	東北大学大学院工学研究科	都市・建築学専攻
片桐 寿美	東北大学工学部建築学科	
土本 寛二	北里研究所病院	院長
鈴木 幸男	北里研究所病院	呼吸器科
竹下 啓	北里研究所病院	呼吸器科
松延 毅	北里研究所病院	耳鼻咽喉科
岡田 千春	国立療養所南岡山病院	アレルギー科
木村 五郎	国立療養所南岡山病院	アレルギー科
位田 忍	大阪府立母子保健総合医療センター	消化器・内分泌科
佐藤 敏彦	北里大学医学部	衛生学公衆衛生学
遠乗 秀樹	北里大学医学部	衛生学公衆衛生学
尾島 正幸	北里大学医学部	衛生学公衆衛生学
井口 芳明	北里大学医学部	耳鼻咽喉科学
長谷川 眞紀	国立相模原病院	臨床研究センター
大友 守	国立相模原病院	臨床研究センター
東 憲孝	国立相模原病院	臨床研究センター
三田 晴久	国立相模原病院	臨床研究センター
森 晶夫	国立相模原病院	臨床研究センター
水城 まさみ	国立療養所盛岡病院	臨床研究部
大田 健	帝京大学	内科
山下 直美	帝京大学	内科
中野 純一	帝京大学	内科
田下 浩之	帝京大学	内科
石田 博文	帝京大学	内科
中島 幹夫	帝京大学	内科
金子 富志人	帝京大学	内科
小川 康恭	独立行政法人産業医学総合研究所	
平田 衛	独立行政法人産業医学総合研究所	
毛利 一平	独立行政法人産業医学総合研究所	
柴田 英治	名古屋大学医学部	保健学科検査技術科学専攻
圓藤 陽子	関西医科大学	公衆衛生

河合俊夫	中災防大阪総合センター
竹内靖人	中災防大阪総合センター
高橋祥子	岡山大学大学院医歯学総合研究科皮膚粘膜結合織学講座
藤井一恭	岡山大学大学院医歯学総合研究科皮膚粘膜結合織学講座
川島 眞	東京女子医科大学皮膚科学教室
竹原和彦	金沢大学医学部皮膚科学講座
古賀哲也	九州大学大学院医学研究院皮膚科学
陳其潔	九州大学大学院医学研究院皮膚科学
古江増隆	九州大学大学院医学研究院皮膚科学
藤原一男	東北大学大学院医学系研究科神経科学講座神経内科学
武田 篤	東北大学大学院医学系研究科神経科学講座神経内科学
金森洋子	東北大学大学院医学系研究科神経科学講座神経内科学
斎藤尚宏	東北大学大学院医学系研究科システム生理学
猪子英俊	東海大学医学部分子生命科学2 遺伝情報部門
青山美子	青山内科小児科医院
熊野宏昭	東京大学大学院医学系研究科ストレス防御・心身医学
辻内優子	東京大学大学院医学系研究科ストレス防御・心身医学
齋藤麻里子	東京大学大学院医学系研究科ストレス防御・心身医学
小久保奈緒美	東京大学大学院教育学研究科身体教育学
青柳直子	東京大学大学院教育学研究科身体教育学
大橋恭子	東京大学大学院教育学研究科身体教育学
山本義春	東京大学大学院教育学研究科身体教育学
上島通浩	名古屋大学大学院医学系研究科社会生命科学環境労働衛生学
王海蘭	名古屋大学大学院医学系研究科社会生命科学環境労働衛生学
山田哲也	名古屋大学大学院医学系研究科社会生命科学環境労働衛生学
糸原誠一朗	名古屋大学大学院医学系研究科社会生命科学環境労働衛生学
市原 学	名古屋大学大学院医学系研究科社会生命科学環境労働衛生学
柴田英治	名古屋大学医学部保健学科検査技術科学専攻
大野浩之	名古屋市衛生研究所
酒井 潔	名古屋市衛生研究所
羽田 明	千葉大学大学院医学研究部公衆衛生学
高本雅哉	信州大学大学院医学研究科移植免疫感染症学

庄司俊輔	国立療養所南福岡病院副院長
下田照文	国立療養所南福岡病院臨床研究部
小田嶋博	国立療養所南福岡病院小児科
横田欣児	国立療養所南福岡病院心療内科
野上裕子	国立療養所南福岡病院内科
寺尾浩	国立療養所南福岡病院皮膚科
宗信夫	宗耳鼻咽喉科
須貝高	福岡大学工学部建築学科
石田卓	福岡大学工学部建築学科
松井裕康	大島眼科病院
堀江孝至	日本大学医学部内科学講座内科一
服部知洋	日本大学医学部内科学講座内科一
伊藤玲子	日本大学医学部内科学講座内科一
福田理子	日本大学医学部内科学講座内科一
山口賢二	日本大学医学部内科学講座内科一
木邨英里	日本大学医学部内科学講座内科一
野村奈津子	日本大学医学部内科学講座内科一
長岡泰司	旭川医科大学眼科学講座
佐藤栄一	旭川医科大学眼科学講座

# 目 次

総括研究報告書 .....	1
---------------	---

微量化学物質による生体反応の病態・因果関係解明（臨床・基礎）、症例集積、  
診療ネットワークの作成と研究総括

## 分担研究報告書

### I. 微量化学物質による生体反応の病態・因果関係の解明

1. シックハウス症候群患者に対する薬物治療の検討 .....	5
2. 低用量フタル酸エステル類の免疫機能に対する影響 .....	23
3. 化学物質過敏症患者のバイオマーカー 一般診療とチャレンジ検査のバイオマーカー の検出とシックハウス症候群への応用 .....	31
4. 高濃度酸素環境における細胞内シグナル伝達機序に関する研究 .....	56
—血管内皮細胞および肺胞マクロファージを中心に—	
5. 音響外傷モルモットにおける NF kappa B の発現の変化についての研究 .....	61
6. シックハウスにおける室内空気汚染と健康被害の実態調査 .....	64
—シックハウスにおける室内環境の追跡調査—	
7. シックハウス症候群の診断と経過観察—クリーンルームではない一般検査室で実施 した近赤外線脳内酸素モニターによるガス吸入負荷試験(ポリ袋を使った簡易吸入法) と起立試験の有用性の研究 .....	86
8. 宮城県内の一般人を対象とした QEESI を用いたアンケート調査 .....	128
9. 公衆衛生学的立場から見た化学物質過敏症—追跡分析— .....	139
10. 原因化学物質の同定と定量及びリフォーム時の曝露に関するケーススタディー .....	147
11. シックハウス症候群あるいは化学物質過敏症を疑われた症例に対するクリーンルー ムにおけるチャレンジテスト .....	163
12. 小児の胃食道逆流症（GERD）における化学物質過敏症 MCS の関与の検討 .....	169

### II. シックハウス症候群における嗅覚検査の意義に関する研究及び客観的評価法の確立

1. シックハウス症候群における嗅覚特性 .....	183
----------------------------	-----

III. シックハウス症候群の病態におけるアレルギーの関与及び微量化学物質の呼吸器系・免疫系への影響について .....	201
1. SHS 患者におけるアレルギー免疫学的検討	
2. 微量化学物質の呼吸器系・免疫系への影響について	
IV. 労働環境におけるシックハウス症候群の実態と労働衛生学的対策に関する研究 .....	215
V. 環境化学物質による神経免疫学的病態の解明及び神経伝達系の変調に関する研究	
1. シックハウス症候群と嗅覚過敏：fMRI を用いた検討 .....	253
VI. 室内環境の化学的要因による皮膚過敏症—不定愁訴を含めて—に関する研究	
1. アトピー性皮膚炎患者における居住環境によるシックハウス症候群の症状の検討 .....	263
2. ホルムアルデヒド曝露経験者における自覚症状と皮膚試験結果 .....	268
3. 化学物質のアトピー性皮膚炎患者由来表皮細胞株のサイトカイン産生に及ぼす影響 .....	279
4. 室内環境中のホルムアルデヒドガスがアレルギー性皮膚炎へ与える影響について .....	281
VII. シックハウス症候群に関与する遺伝的要因に関する研究 .....	285
VIII. シックハウス症候群とストレス性要因との関わりの解明	
1. Ecological Momentary Assessment(EMA)による日常生活中での検討 .....	299
IX. シックハウス症候群への有機溶剤の関与に関する研究 .....	325
X. 室内有害化学物質の代謝と毒性 .....	351
XI. アレルギー性喘息と化学物質の因果関係、とくに環境因子について .....	365
XII. フォルムアルデヒドの気道に及ぼす影響に関する研究 .....	373
—基礎的および臨床的検討—	
[1] フォルムアルデヒドの動物実験における気道収縮・気道過敏性への影響	
[2] 解剖実習に伴うフォルムアルデヒド吸入による呼吸機能・気道過敏性への影響	
—第2報— Cromolyn Sodium の効果	

XIII. シックハウス症候群の眼血流動態に関する研究 .....	387
XIV. 研究会議議事録	
第1回研究会議・プログラム (07.15.2002) .....	401
第2回研究会議議事録・プログラム (01.17.2003) .....	404
第3回研究会議議事録・プログラム (03.20.2003) .....	411
XV. シックハウス防止対策研究会議事録(東北大学).....	421
XVI. シックハウス症候群/化学物質過敏症の診断基準に関する討議 .....	431

平成 14 年度厚生労働科学研究費補助金

健康科学総合研究事業

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

総括研究報告書

主任研究者 石川 哲

平成14年度厚生労働科学研究費補助金（健康科学総合研究事業）

「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」

（総括）研究報告書

主任研究者 北里研究所病院臨床環境医学センター長 石川 哲

厚生労働科学研究班「シックハウス症候群(SHS)の病態解明、診断治療法に関する研究」は平成12年より3年間行なわれ終了した。この成果の一部は平成15年1月に4日間に亘り、東京で日本政府ならびに米国 National Institute of Environmental Health & Sciences の援助のもと、シックビル・ハウス症候群関係の世界的学者及び政府関係者約20名、日本側約150人が一堂に会し"International Congress of Indoor Air Quality on Health Hazards"のテーマで国際会議が開催された。医学面からは平成12-14年度のシックハウス症候群に関する本研究班の成果を班員各自が報告した。来日学者全員から日本のシックハウス症候群研究班の研究内容が極めて高いレベルで行われていると評価された。とくにクリーンルームが国の援助で建設され、患者診断に活発に使用されている、SHS患者に対して積極的に対処している国の姿勢、個々の研究班員の研究レベルの高さを賞賛するとの応答が NIEHS Shonwalder 局長及び欧州の参加者とくにデンマーク大学の Fanger、Moelhave 教授（シックビルディング症候群の先駆的研究者）からあった。

デンマークと日本との SHS に対する研究は毎年日本（東大）と欧州（デンマーク工科大学）で行われている。日本からは石川、坂部、田辺、村上、加藤らが出席し11月第1週にデンマーク工科大学で J.Sundell, O.Fanger, C.Weschler および、研究者達と学術発表及び討議が行われた。石川は、日本の Low-dosage Exposure Sensitivity Syndrome(LESS)について報告し討議した。欧州の人達は基本的に石川が提案したこれらの病名に全く異論はなかった。その他の課題は学校を中心とする小児の精神心理学的異常の問題の討議が行われ、温度、湿度、微細粉塵、カビの問題と有害化学物質の政府レベルでのコントロールが重要な未来的課題であるとの発表があった。VDT 業務と室内空気、その清浄化が如何に産業能率に影響するかの研究もあり、石川均の日本での研究も紹介された。既に日本で行われている他覚的患者診断法について NIRO 研究が石川、田辺らにより紹介され興味を示した。平成15年1月来日時に北里研究所病院臨床環境医学センターで NIRO の実習を兼ねて勉強会を行

うことで一致した。その実習は実際におこなわれた。(平成15年1月8日)

シックハウス症候群患者よりさらに低用量の化学物質曝露により発症する化学物質過敏症の病態生理学的研究はまだ遅れている。我々は基礎・臨床両面で低用量の化学物質曝露による生体反応データが余りない。これは世界の研究を含めても未だ十分ではない。そのため指針値決定の場でも、急性、亜急性の実験データを中心にある係数を乗じその価を決定せざるを得ない。従って指針値がすべての過敏症患者に当てはまるかの問いについて十分な解答はできない。本症診断には主に中枢神経機能に異常があるが、それを画像的に描写する診断法の開発が最も重要である。糸山、武田らは嗅覚刺激による脳内反応を fMRI 技術を用いて検討出来るシステムを今回構築し”バニラとトルエン”を刺激物質として患者及び正常者に負荷し、その反応を functional MRI 法で検討を行った。バニラでは両群間に神経系に顕著な差を認めなかったがトルエンでは患者群のみが主にテント下の中枢神経系で広範な異常反応を認めた。反応部位は左右対象に小脳、中脳、視床下部、側頭葉、頭頂葉、皮質下まで及んだ。以上の結果は SHS において特定の化学物質に対する異常な反応性の亢進を明らかに示しており、これまで仮説とされた neural sensitisation, neural plasticity の過程を直接画像として捉える事が出来た価値ある研究である。米国では 2001 年にカリフォルニア大学の Heuser 教授らにより F-18- deoxy-glucose 静注によるポジトロン CT 研究で 7 名の患者と 50 名のコントロールと比較すると患者 7 名全員で明らかに変化が大脳辺縁系視床下部その他に認められていることを報告した(Annals New York Acad Sci vol 933,2001)。今後の研究で更に障害部位の詳細が確認されると思われる。

嗅神経や一部の視覚を含む知覚・運動系入力は辺縁系を構成する海馬や扁桃核、大脳基底核などに端を発し自律、免疫、内分泌の中枢に feed back しこの伝達物質は主にアセチルコリンが主導である。それらの系に異常があると眼球追従運動、瞳孔反応、視覚空間周波数などに影響を示す。これ等のパラメーターの詳細な分析から SHS のサブクリニカルの異常を検出する事が出来る。Near Infrared Oxygen Monitoring(NIRO)による、赤血球の酸化還元ヘモグロビン測定を利用した脳血流のフォルムアルデヒド、トルエン負荷による患者と正常者との functional MRI による差の研究は武田らの実験結果の変化と共に考えると SHS の中枢での病態がかなり見えてきたと思われる。

クリーンルーム内での負荷試験はあくまで患者に対する急性負荷である。患

者の訴えは慢性の訴えであり有害物質の急性負荷による判定がそれだけで、診断上、完璧であるか否かは現在でも疑問に思う点が多々ある。その意味で、画像診断、機能的計測による non-invasive 診断法の開発、遺伝子組み換えなどによる実験動物作成と微量曝露の影響に関する研究など今後まだ残された問題が山積している。今回我々の研究班が示した数々の新研究から、今後全く新しい分野への発展も考えられる。低用量慢性曝露過敏反応の患者診断には、さらに特別な負荷試験法の開発が必要かもしれない。

今回の班員の研究はこの研究を更にどのように発展すれば良いかの疑問を解決してくれる糸口を開いてくれたと考える。心から御礼申し上げる。

I. 微量化学物質による生体反応の病態・  
因果関係解明(臨床・基礎)、症例集積、  
診療ネットワークの作成と研究総括

1. シックハウス症候群患者に対する薬物治療の検討

北里研究所病院臨床環境医学センター 石川 哲  
坂部 貢  
宮田 幹夫

2. 低用量フタル酸エステル類の免疫機能に対する影響

北里研究所病院臨床環境医学センター 石川 哲  
坂部 貢  
宮田 幹夫

3. 化学物質過敏症患者のバイオマーカー

一般診療とチャレンジ検査のバイオマーカーの検出と  
シックハウス症候群への応用

北里研究所病院臨床環境医学センター 石川 哲  
宮田 幹夫  
坂部 貢

北里大学医療衛生学部リハビリテーション 藤山由紀子  
学科視覚機能療法学

4. 高濃度酸素環境における細胞内シグナル伝達機序に  
関する研究

—血管内皮細胞および肺胞マクロファージを中心に—

北里研究所病院呼吸器科 鈴木 幸男  
北里研究所病院呼吸器科 竹下 啓  
北里研究所病院耳鼻咽喉科 松延 毅  
北里研究所病院 土本 寛二

5. 音響外傷モルモットにおける NF kappa B の発現の変化  
についての研究

北里研究所病院耳鼻咽喉科 松延 毅

北里研究所病院呼吸器科 鈴木 幸男  
北里研究所病院 土本 寛二

6. シックハウスにおける室内空気汚染と健康被害の  
実態調査 シックハウスにおける室内環境の追跡調査

東北大学大学院工学研究科都市建築学 吉野 博  
天野健太郎  
飯田 望  
高田 美紀  
松本 麻里  
片桐 寿美  
財) 宮城厚生協会坂総合病院小児科 角田 和彦  
尚綱学院大学生生活創造学科 北條 祥子

7. シックハウス症候群の診断と経過観察—クリーンルーム  
ではない一般検査室で実施した近赤外線脳内酸素モニター  
によるガス吸入負荷試験（ポリ袋を使った簡易吸入  
法）と起立試験の有用性の研究

財) 宮城厚生協会坂総合病院小児科 角田 和彦  
東北大学大学院工学研究科都市建築学 吉野 博  
天野健太郎  
飯田 望  
高田 美紀  
松本 麻里  
片桐 寿美  
尚綱学院大学生生活創造学科 北條 祥子  
東北大学大学院医学系研究科神経科学 武田 篤  
北里研究所病院臨床環境医学センター 石川 哲

8. 宮城県内の一般人を対象とした QEESI を用いた  
アンケート調査

尚綱学院大学生生活創造学科	北條 祥子
東北大学大学院工学研究科都市建築学 財) 宮城厚生協会坂総合病院小児科	吉野 博 角田 和彦
東北大学大学院工学研究科都市建築学	天野健太郎
東北大学大学院医学系研究科神経科学	武田 篤

9. 公衆衛生学的立場から見た化学物質過敏症—追跡分析—  
京都大学大学院工学研究科  
京都大学大学院工学研究科

内山 巖雄  
村山留美子

10. 原因化学物質の同定と定量及びリフォーム時の  
曝露に関するケーススタディー

東京大学大学院新領域創成科学研究科	柳沢 幸雄
-------------------	-------

11. シックハウス症候群あるいは化学物質過敏症を疑われた  
症例に対するクリーンルームにおけるチャレンジテスト  
国立療養所南岡山病院アレルギー科

岡田 千春  
木村 五郎

12. 小児の胃食道逆流症 (GERD) における化学物質過敏症MCS  
の関与の検討

大阪府立母子保健総合医療センター 消化器・内分泌科	位田 忍 吉村 文一 川井 正信
小児外科	川原 央好
北海道大学小児科	窪田 満
大阪市立環境科学研究所大気環境課	古市 裕子 神浦 俊一 宮崎 竹二

平成14年度 厚生労働科学研究費補助金 健康科学総合研究事業  
(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) 報告書

シックハウス症候群患者に対する薬物治療の検討

石川 哲、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

シックハウス症候群の治療を行うに際し、本症治療に用いるビタミン類、還元型グルタチオン、ミネラル類等の配合変化、またミネラル類の主成分である亜鉛製剤やセレン製剤は市販化されていないため、特殊院内製剤として「硫酸亜鉛注射液」および「亜セレン酸注射液」を調製する必要がある。しかし、院内製剤は、情報に乏しく、予期せぬ副作用などが起こるリスクも伴う。院内製剤という点から可能な限り有効性および安全性に関するデータを保持する必要があると考えられ、これら院内製剤の製剤学的情報と臨床使用評価という2点から情報の収集ならびに評価し検討した(特に配合変化の少ない最適な処方条件を見出すことを目的とした)。

その結果、上記薬剤に関する投与安全性に関する情報が得られ、さらに患者の症状改善に関する有効性が確かめられた。

A-1. 研究目的 1.

S H S の治療は、一般的に以下の手順で進められる。1) 原因物質からの隔離、もしくは接する時間の短縮、2) 身体状況の改善と体内からの有害化学物質排出である。1) の原因物質からの隔離、接する時間の改善は、原因となる居住空間の建築

工学的対策(十分な換気、発生源の除去)に依存しているが、2) の身体状況の改善・有害化学物質の排出に関しては、輸液療法が主として施行される。そこで本治療を行うに際し、例えば治療に用いる単独の亜鉛製剤やセレン製剤は市販化されていないため特殊院内製剤として「硫酸亜鉛注射液」および「亜セレン酸

注射液」を調製する必要がある。しかし、院内製剤は、情報に乏しく、予期せぬ副作用などが起こるリスクも伴う。院内製剤という点から限界はあるものの、可能な限り有効性および安全性に関してのデータを保持する必要性があると考えられ

これら院内製剤の製剤学的情報と臨床使用評価という 2 点から情報の収集ならびに評価を行った。まず、本研究で取り扱う輸液療法を説明する。各輸液成分の詳細な処方目的について下記 *Table.1* に記した。

**Table.1**

**輸液療法に使用される各成分の処方目的**

成分	目的
ビタミン C (VC)	本症における酸化ストレス状況を改善する為に、それらを原因とした活性酸素等の抑制のため抗酸化ビタミンであるアスコルビン酸(VC)を投与する。
ビタミン B 群	本症では欠乏あるいは欠乏傾向を認めるケースが多く、さらに筋肉痛等の症状を訴えるケースが多いため処方。
GSH	還元型グルタチオン(GSH)により有害化学物質の代謝(グルタチオン抱合)を促進する。
Zn	粘膜障害等の臨床症状が多いこと、さらには Zn のキレート作用による有害化学物質の排出の促進を目的とする。
Se	本症では欠乏傾向を呈する例が多く、欠乏状態ではグルタチオンペルオキシターゼの活性が低下するために補給する。
Mg	平滑筋を弛緩作用による、局所酸素の透過性の改善、本症に伴う慢性頭痛を緩和することを目的とする。

本治療における薬剤の配合変化

治療に用いている院内製剤「亜セレン酸注射液」および「硫酸亜鉛注射液」の配合変化等の製剤情報は、日常業務で繁用される注射剤の配合変化等

に関する資料にはほとんど記載されておらず、混合後の各薬剤の安定性を判断することはできない。本治療の処方におけるビタミンの配合変化を HPLC-UV 検出法を用い測定を行い、配合変化の

少ない最適な処方条件を見出すことを目的とし、検討を行った。さらに 2 種の院内製剤が配合変化の関与する可能性についても併せて検討を行った。

## B-1. 研究材料および方法 1.

### 試料薬品

生理食塩液 開栓型<光製薬>、フィシザルツ®<扶桑薬品工業>、ビタメジン®静注用(リン酸チアミンジスルフィド:VB1 107.13mg/V、塩酸ピリドキシン:VB6 100mg/V、シアノコバラミン:VB12 1mg/V)<三共>、フラッド®注-10(フラビンアデニンジヌクレオチドナトリウム:VB2 10.560mg/A)<大鵬薬品工業>、ビタミン C 注「フソー」アスコルビン酸:VC 2g/A<扶桑薬品工業>、タチオン®注射用(還元型グルタチオン:GSH 200mg/A<山之内製薬>、コンクライト®-Mg(MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 2.47g/A)<菱山製薬>、亜セレン酸注射液(Seとして5μg/A)<特殊院内製剤>、硫酸亜鉛注射液(Znとして30mg/Aもしくは5mg/A)<特殊院内製剤>

### 使用機器

高速液体クロマトグラフ:送液ユニット;LC-10ADVP、UV-VIS 検出器SPD-10AVP、クロマトパック;C-R8A<

以上島津製作所>、固相抽出用ODS カラム;Discovery C18, 15cm×4.6mm ID,5μm particle<シグマ アルドリッチ ジャパン>、精密化学天秤<Sartorius>、化学天秤<メトラートレド>、pH メーター<新電元>

### 試薬

リン酸チアミンジスルフィド<三共より提供>、フラビンアデニンジヌクレオチド<ICN Biomedicals Inc>、塩酸ピリドキシン<和光純薬工業>、シアノコバラミン<関東化学>、アスコルビン酸<和光純薬工業>、(還元型)グルタチオン<MERCK>、リン酸二水素カリウム、リン酸一水素二カリウム、メタノール<以上関東化学>、1-ヘプタンスルホン酸ナトリウム<和光純薬工業>

### 操作手順

#### 標準液の調製

1.精密化学天秤で各成分の原末を計り取り、メスフラスコにてメスアップし、下記の濃度の原液を調製した。(用時調製)  
2. 1.で調製した原液をそれぞれ 10 倍(標準液 I)、20 倍(標準液 II)、40 倍(標準液 III)、100 倍(標準液 IV)に希釈し、**Table.2** の濃度の標準液を調製した。<VB12 は 100 倍、200 倍、400 倍、1000 倍>

**Table.2 標準溶液の希釈濃度**

	標準溶液原液
	秤量 (mg) /メスフラスコ (mL)
VB1	10.00/50
VB2	2.00/100
VB6	10.00/50
VB12	2.00/100 (100 倍)
VC	20.00/50
GSH	20.00/50

	標準溶液原液	標準液 I	標準液 II	標準液 III	標準液 IV
VB1	200	20	10	5	2
VB2	20	2	1	0.5	0.2
VB6	200	20	10	5	2
VB12	2	0.2	0.1	0.05	0.02
VC	400	40	20	10	4
GSH	400	40	20	10	4

(単位:  $\mu\text{g/mL}$ )

移動層の調製

① 20 m M リン酸緩衝液: MeOH (pH3) (97:3, v/v)リン酸二水素カリウム 6.8g 及び 1-ヘプタンスルホン酸ナトリウム 2.2gを水 1000mL に溶かす。その液にリン酸を加えて pH を 3.0 に調整した後、メンブランフィルターを用いてろ過する。ろ液 970mL をとり、メタノール 30mL を加える。

② 50mM リン酸緩衝液: MeOH (pH7) (80:20, v/v)リン酸一水素二カリウム 8.7g を水 1000mL に溶かす。その液にリン酸を加えて pH を 7.0 に調整した後、メンブランフィルターを用いてろ過

する。ろ液 800mL をとり、メタノール 200 mL を加える。

サンプルの調製

**Table.3** に示す処方、混合順序で薬剤を調製した後、メスピペットで 5mL を量り取り、50mL のメスフラスコでメスアップし、10 倍希釈したものをサンプルとした。VC は他の成分に比べ含量が多いため、マイクロピペットにて 200  $\mu\text{L}$  量り取り、100mL のメスフラスコでメスアップし、500 倍希釈したものをサンプルとした。それぞれのサンプルをマイクロシリンジで 10  $\mu\text{L}$  採取し、HPLC に注入した。