

表2-3 ENV.AREA

症例	プラセボ負荷			40ppbホルムアルデヒド負荷			異常あり
	前開眼	前閉眼	Romberg率	前開眼	前閉眼	Romberg率	
1	1.68	2.33	1.39	2.00	3.76	1.88	●
2	10.90	26.07	2.39	11.21	16.65	1.49	●
3	2.93	5.32	1.82	2.46	6.47	2.63	●
4	4.96	9.24	1.86	2.36	6.71	2.84	●
5	2.78	5.97	2.15	2.39	4.93	2.06	●
6	2.21	2.47	1.12	2.33	2.37	1.02	●
7	3.19	4.77	1.50	2.25	2.53	1.12	●
8	4.12	4.06	0.99	3.59	8.05	2.24	●
9	4.23	7.31	1.73	4.47	7.84	1.75	●
10	4.75	7.36	1.55	7.27	7.95	1.09	●
11	1.99	6.41	3.22	1.82	5.86	3.22	●
12	2.02	8.24	4.08	2.64	5.51	2.09	●
13	13.79	26.78	1.94	5.89	9.63	1.63	●
mean	4.58	8.95	1.98	3.90	6.79	1.93	
SD	3.66	8.02	0.85	2.75	3.68	0.68	
				後開眼	後閉眼	Romberg率	
				2.45	2.18	0.89	
				6.74	31.13	4.62	
				5.18	5.61	1.08	
				2.95	6.10	2.07	
				8.65	11.31	1.31	
				3.26	3.36	1.03	
				2.10	2.68	1.28	
				6.94	10.97	1.58	
				5.15	9.15	1.78	
				3.80	5.51	1.45	
				3.10	8.19	2.64	
				1.94	5.72	2.95	
				8.54	24.14	2.83	
				4.68	9.70	1.96	
				2.38	8.58	1.06	

網かけは異常値 ●は異常あり

表2-4 REC.AREA

症例	ブラセボ負荷			40ppbホルムアルデヒド負荷								
	前開眼	前閉眼	Romberg率	後開眼	後閉眼	Romberg率	前開眼	前閉眼	Romberg率	後開眼	後閉眼	Romberg率
1	4.00	4.17	1.04	3.39	10.26	3.03	6.02	8.11	1.35	47.49	51.19	1.08
2	26.28	54.82	2.09	17.76	55.32	3.11	24.15	37.05	1.53	16.76	55.35	3.30
3	6.32	11.29	1.79	8.08	30.25	3.74	6.05	14.56	2.41	10.68	12.88	1.21
4	11.62	22.27	1.92	6.97	12.98	1.86	5.98	15.52	2.60	4.61	17.21	3.73
5	7.09	14.55	2.05	14.88	36.52	2.45	6.44	9.05	1.41	19.09	22.01	1.15
6	5.51	5.19	0.94	7.81	7.58	0.97	5.96	4.45	0.75	7.41	6.21	0.84
7	6.29	10.29	1.64	7.81	7.91	1.01	7.18	5.64	0.79	4.44	5.34	1.20
8	7.83	9.54	1.22	8.71	12.92	1.48	7.90	22.36	2.83	16.91	22.99	1.36
9	9.72	13.28	1.37	7.95	13.02	1.64	9.22	18.68	2.03	9.24	17.78	1.92
10	10.11	19.48	1.93	12.75	13.50	1.06	16.21	20.55	1.27	11.40	13.11	1.15
11	3.76	12.67	3.37	6.99	14.70	2.10	4.85	13.98	2.88	6.96	18.44	2.65
12	3.61	20.04	5.55	4.77	10.03	2.10	5.97	12.94	2.17	4.72	15.47	3.28
13	32.38	70.40	2.17	28.00	77.34	2.76	16.66	32.71	1.96	16.10	54.25	3.37
mean			2.08			2.76			1.84			2.02
SD			1.21			0.72			0.72			1.08

表2-5 RMS.AREA

症例	プラセボ負荷				40ppbホルムアルデヒド負荷								
	前開眼	前閉眼	Romberg率	後閉眼	後開眼	後閉眼	Romberg率	前開眼	前閉眼	Romberg率	後開眼	後閉眼	Romberg率
1	0.91	1.67	1.84	0.91	3.14	3.45	1.28	1.91	1.49	1.32	1.16	0.88	
2	5.06	11.5	2.26	3.66	12.6	3.43	5.22	8.24	1.58	3.07	13.8	4.51	
3	1.32	2.6	1.97	1.86	7.06	3.80	1.81	4	2.21	3.66	2.77	0.76	
4	3.33	3.66	1.10	1.67	2.89	1.73	1.13	2.77	2.45	1.62	2.89	1.78	
5	1.24	2.26	1.82	2.65	5.89	2.22	1.24	2.43	1.96	3.46	5.38	1.55	
6	1.36	1.67	1.23	1.76	2.43	1.38	1.05	1.2	1.14	1.86	1.53	0.82	
7	2.77	2.43	0.88	2.43	2	0.82	1.49	1.16	0.78	1.32	1.28	0.97	
8	2.32	2	0.86	5.72	4.15	0.73	2.43	3.73	1.53	8.75	6.33	0.72	
9	2.54	3.33	1.31	2.32	3.33	1.44	3.46	3.46	1.00	2.48	4.59	1.85	
10	2.77	5.89	2.13	2.65	4.82	1.82	3.73	4.08	1.09	3.07	3.07	1.00	
11	0.98	3.07	3.13	1.09	2.32	2.13	1.16	2.43	2.09	1.58	3.39	2.15	
12	0.98	3.79	3.87	1.16	2.11	1.82	2	3.01	1.51	1.2	3.33	2.78	
13	7.35	15.1	2.05	7.54	14.4	1.91	2.77	3.86	1.39	3.73	12.8	3.43	
mean			1.8801			2.05			1.56				1.78
SD			1			0.97			0.50				1.17

表2-6 MX

症例	プラセボ負荷				40ppbホルムアルデヒド負荷							
	前開眼	前閉眼	Romberg率	後開眼	後閉眼	Romberg率	前開眼	前閉眼	Romberg率	後開眼	後閉眼	Romberg率
1	-0.75	-1.2	-0.45	-0.63	-1	-0.37	-1.2	-1.02	0.18	-0.31	-0.88	-0.57
2	1.15	-0.79	-1.94	0.2	-0.07	-0.27	-0.16	-0.26	-0.1	-0.63	0.22	0.85
3	-0.04	-0.25	-0.21	-0.43	-0.53	-0.1	-0.4	-0.46	-0.06	-0.52	-0.85	-0.33
4	-0.49	-0.92	-0.43	-0.85	-0.54	0.31	-0.61	-0.23	0.38	-0.47	-0.47	0
5	-0.2	0.89	1.09	-0.05	1.57	1.62	1.08	1.18	0.1	0.12	1.48	1.36
6	0.91	0.36	-0.55	0.5	-0.2	-0.7	0.06	-0.31	-0.37	0.28	-0.01	-0.29
7	-0.08	0.07	0.15	0.08	0.3	0.22	-0.03	0.42	0.45	0.09	0.76	0.67
8	-0.16	-0.17	-0.01	-0.13	-0.13	0	0.15	-0.22	-0.37	-0.06	-0.03	0.03
9	0.11	0.24	0.13	-0.24	-0.49	-0.25	0.27	-0.2	-0.47	0.01	-0.45	-0.46
10	-0.57	-0.62	-0.05	0.94	-0.56	-1.5	-1.79	-0.12	1.67	-0.36	-0.31	0.05
11	0.07	0.48	0.41	0	0.66	0.66	0.38	1.2	0.82	-0.17	0	0.17
12	-0.86	-1.43	-0.57	-1.16	-0.79	0.37	-1.26	-1.13	0.13	-0.85	-1.58	-0.73
13	-0.61	-0.61	0	-0.97	-0.07	0.9	-0.71	-0.98	-0.27	-0.77	-0.7	0.07
mean			-0.1869			0.0685			0.1608			0.0631
SD			0.6932			0.7699			0.5854			0.5964

表2-7 MY

症例	プラセボ負荷				40ppbホルムアルデヒド負荷								
	前開眼	前閉眼	Romberg率	後開眼	後開眼	後閉眼	Romberg率	前開眼	前閉眼	Romberg率	後開眼	後閉眼	Romberg率
1	-5.47	-6.64	-1.17	-6.55	-5.52	1.03	1.03	-6.12	-5.19	0.93	-6.87	-5.01	1.86
2	-1.5	-1.29	0.21	0.05	-0.03	-0.08	-0.08	-0.63	-0.73	-0.1	-0.46	-0.91	-0.45
3	-3.28	-2.43	0.85	-3.12	-2.61	0.51	0.51	-3.17	-2.96	0.21	-1.92	-1.75	0.17
4	0.22	0.8	0.58	1	0.93	-0.07	-0.07	0.46	-0.29	-0.75	-0.04	0.16	0.2
5	-4.54	-6.04	-1.50	-4.06	-6.54	-2.48	-2.48	-3.83	-3.88	-0.05	-6.17	-6.62	-0.45
6	-4.63	-5.02	-0.39	-3.65	-4.06	-0.41	-0.41	-3.33	-4.02	-0.69	-3.41	-2.32	1.09
7	0.01	-0.31	-0.32	0.06	0.33	0.27	0.27	0.53	-0.43	-0.96	0.15	-0.79	-0.94
8	-1.46	-0.55	0.91	-2.02	-1.56	0.46	0.46	-2.89	-2.14	0.75	-2.3	-2.15	0.15
9	-2.62	-3.11	-0.49	-2.64	-2.76	-0.12	-0.12	-2.68	-2.8	-0.12	-2.14	-2.83	-0.69
10	-4.21	-4.57	-0.36	-4.59	-3.9	0.69	0.69	-3.4	-4.1	-0.7	-6.07	-4.56	1.51
11	-0.68	0.95	1.63	-0.78	0.86	1.64	1.64	0.42	0.75	0.33	-0.05	-1	-0.95
12	-2.57	-3.92	-1.35	-2.82	-2.56	0.26	0.26	-2.12	-3.09	-0.97	-3.15	-3.79	-0.64
13	-6.44	-3.23	3.21	-4.04	-3.21	0.83	0.83	-4.87	-4.65	0.22	-4.54	-3.52	1.02
mean			0.14			0.19	0.19			-0.1462			0.14
SD			1.31			0.97	0.97			0.6304			0.95

表2-8 L/E.Area

症例	プラセボ負荷				40ppbホルムアルデヒド負荷							
	前開眼	後開眼	Romberg率	Romberg率	前開眼	後開眼	Romberg率	Romberg率				
1	28.2	21.6	0.76	24.8	14.3	0.58	23.5	19.0	0.81	19.4	23.5	1.21
2	13.6	8.1	0.59	17.4	7.7	0.44	11.1	11.3	1.02	17.2	6.4	0.37
3	22.2	19.7	0.89	27.0	11.1	0.41	20.2	16.9	0.84	13.1	18.3	1.40
4	20.4	17.1	0.84	29.0	21.4	0.74	31.2	20.7	0.66	26.2	22.5	0.86
5	25.7	14.0	0.55	20.2	11.0	0.54	24.8	20.5	0.83	11.1	12.2	1.10
6	19.3	21.5	1.12	17.0	16.3	0.96	21.5	26.7	1.24	16.4	18.6	1.13
7	16.8	18.7	1.11	13.7	21.1	1.55	24.4	29.8	1.22	21.8	26.8	1.23
8	20.1	23.8	1.18	15.2	12.2	0.80	21.4	13.1	0.61	11.0	12.0	1.09
9	18.1	16.0	0.88	17.8	16.6	0.93	14.8	15.5	1.05	15.1	15.1	1.00
10	12.9	13.3	1.03	14.3	12.6	0.88	10.7	12.7	1.19	16.3	14.8	0.91
11	32.7	19.8	0.61	30.5	24.2	0.79	32.2	23.1	0.72	25.8	18.2	0.70
12	28.7	10.2	0.36	26.7	16.0	0.60	23.3	13.5	0.58	27.5	12.1	0.44
13	8.3	5.6	0.68	6.3	6.2	0.99	11.8	13.2	1.12	8.0	6.2	0.77
mean			0.81			0.78			0.91			0.94
SD			0.25			0.29951			0.24			0.31

表3 シックハウス症候群フィードスタディ重心動揺検査

症例	年齢	性別	開眼						閉眼						Romberg率		異常あり		
			LNG	LNG/T	Env.Ar	Rec.Are	Rms.Ar	MX MY	LNG	LNG/T	Env.Ar	Rec.Are	Rms.Ar	MX MY	Env.Ar	LNG			
1	37	f	45	0.74	1.4	4.01	1.13	-3	-4	57	0.94	0.81	1.88	0.88	-3	-4	0.67	1.3	
2	37	f	68	1.13	3.75	7.86	2.89	-0	-5	129	2.15	8.15	18	3.46	-0	-4	2.17	1.9	●
3	7	f	153	2.54	6.11	12.8	3.07	0	-7	244	4.06	8.33	19.2	3.52	2	-8	1.36	1.5	●
4	13	f	89	1.48	5.87	14.9	3.01	1	-3	173	2.89	12.6	35.2	5.38	0	-4	2.14	1.9	●
5	8	f	89	1.48	9	22.8	5.06	-1	4	131	2.18	14.9	42.3	7.15	-1	-5	1.66	1.5	●
6	12	f	84	1.39	3.53	8.89	1.45	-0	2	112	1.85	3.88	9.68	1.81	-1	-0	1.1	1.3	
7	12	f	92	1.52	2.83	6.07	1.58	-2	0	175	2.92	3.37	8.65	2.16	-2	-1	1.19	1.9	●
8	69	f	76	1.25	1.33	3.62	1.28	-5	-5	98	1.63	2.09	5.08	1.45	-5	-5	1.57	1.3	
9	37	m	51	0.84	1.33	2.68	1.67	-4	-4	94	1.56	2.52	5.21	1.67	-4	-2	1.89	1.8	●
10	13	m	62	1.03	1.26	3.87	0.88	-4	-3	134	2.22	4.26	10.9	2.26	-4	-2	3.38	2.2	●
11	37	f	45	0.74	1.21	5.75	1.4	-4	-8	62	1.03	4.24	11.7	5.89	-5	-4	3.5	1.4	●
12	14	f	78	1.29	2.13	5.72	1.45	-5	-6	105	1.74	5.76	13	3.86	-4	-7	2.7	1.6	●
13	15	f	67	1.11	2.93	7.95	2.95	-5	-2	80	1.32	2.44	7.49	2.32	-4	-8	0.83	1.2	
14	34	f	57	0.94	1.89	5.51	2.21	-5	-4	91	1.51	3.92	11.1	2.95	-4	-5	2.07	1.6	
15	8	m	160	2.66	7.4	16.4	3.59	-1	8	164	2.73	9.83	22.5	4.44	-0	-12	1.33	1	●
16	14	m	58	0.97	1.52	5.99	1.16	-4	-8	87	1.45	3.12	8.75	3.52	-4	-8	2.05	1.5	

網かけは年令別正常値に対しての異常値を示した例 ●は異常あり

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
（分担）研究報告書

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－

研究協力者 鈴木幸男 北里研究所病院呼吸器科部長
竹下 啓 北里研究所病院呼吸器科医長
松延 毅 北里研究所病院耳鼻科医長
土本寛二 北里研究所病院院長

研究要旨

シックハウス症候群とは、住宅建材から室内へ発生する揮発性化学物質やダニアレルゲンなどによって生じる一種の酸化ストレスと考えられるが、その細胞内シグナル伝達経路はいまだ明らかではない。本研究では、培養ヒト肺動脈血管内皮細胞（HPAEC）およびヒト肺胞マクロファージ（HAM）を用いて、高濃度酸素環境における細胞内シグナル伝達機序について、アダプター蛋白質である TNF receptor-associated factors（TRAFs）および病原体認識分子である Toll-like receptors（TLRs）の発現を中心に検討した。HPAECにおいて、TRAF2 および TRAF6 の発現は、高濃度酸素曝露により対照に比して各々平均 5.1 倍および 3.0 倍増強した。一方、HAM において、TRAF6 および TLR2 の発現は、各々平均 2.2 倍および 2.0 倍増強したが、TRAF2 および TLR4 の発現には有意な変化を認めなかった。以上より、高濃度酸素環境における酸化ストレスは、HPAEC および HAM において TLR-TRAF を介する経路が存在することが示唆された。

A. 研究目的

シックハウス症候群は、住宅の新築や改装工事後に、住宅建材から室内に発生する揮発性化学物質やダニアレルゲンが原因となり、体調不良または健康障害を引き起こすと考えられている。主な症状として、頭痛、咽頭痛、眼痛、鼻炎、嘔吐、呼吸器障害、めまい、皮膚炎などがあるが病気としてのメカニズムや治療法が解明されておらず、医療分野でも対応が整備されていないのが現状である。

これまで我々は、血管内皮細胞において、高濃度酸素刺激により細胞内の抑制性蛋白

I κ B- α がリン酸化された後に分解され、次いで転写因子 nuclear factor-kappa B(NF- κ B)が活性化されることを示した。しかし、血管内皮細胞において、高濃度酸素がいかなるシグナル伝達経路を介してNF- κ B 活性化に至るかは、未だ不明である。

近年、NF- κ B 活性化の制御蛋白質として、TNF receptor-associated factors (TRAFs) が注目されている。特に TRAF2, 5, 6 は、細胞膜上の受容体と NF- κ B 活性化を誘導するキナーゼとを結ぶアダプター蛋白質であることが判明してきた。TRAF は免疫・炎症を含むサイトカインシグナルの伝達において中心的な役割をはたす蛋白質の1つである。

一方、肺胞マクロファージなどの貪食細胞では、病原体認識分子として Toll-like receptor (TLR) ファミリーの存在が明らかになってきた。マクロファージは細菌を認識、貪食し、TNF- α 、IL-1、IL-6、IFN- γ などの炎症性サイトカインを産生することにより獲得免疫に細菌の侵入を伝える。これまでマクロファージは細菌特有の分子構造、たとえばグラム陰性菌細胞膜成分の lipopolysaccharide(LPS)や細菌細胞壁の主要成分である peptidoglycan などに対するパターン認識レセプターを持ち、これにより細菌を認識すると考えられてきた。近年、マクロファージ上の細菌菌体成分に対するパターン認識受容体として TLR ファミリーが注目されている。しかし高濃度酸素などの環境因子がマクロファージ上の TLR 発現に及ぼす影響は不明である。そこで本研究では、培養ヒト肺動脈血管内皮細胞およびヒト肺胞マクロファージを用いて、高濃度酸素環境が TRAF2、TRAF6、TLR2 および TLR4 の発現におよぼす影響について検討した。

B. 研究方法

正常ヒト肺動脈血管内皮細胞 (HPAEC、クラボウ、大阪) を 10% 仔牛胎児血清 (FCS) 添加培養液 (endothelial cell growth medium、クラボウ) を用いて継代培養した後、100mm 培養皿 (Corning, New York, NY) で、単層に培養してコンフルエントとした。実験には継代数 8 代から 12 代の細胞を用いた。また、ヒト肺胞マクロファージ (HAM) は、同意の得られた被験者から気管支肺胞洗浄液を回収し、回収液中の肺胞マクロファージを分離して培養した。

その後、可変型培養器 (APM-36, ASTEC, 福岡) を用いて、各培養細胞を 21% 酸素、5% 二酸化炭素、1 気圧または 90% 酸素、5% 二酸化炭素、1 気圧に 4 時間曝露した。

HPAEC および HAM の TRAF および TLR 発現は Western blot 法により検討した。対照群および高濃度酸素曝露群の各種細胞を Dulbecco リン酸緩衝液 (DPBS) で洗浄したのち、蛋白分解酵素阻害剤 (protease inhibitor cocktail, P-8340, Sigma) 添加 RIPA 緩衝液 (4 $^{\circ}$ C) に反応させて細胞溶解液を得た。得られた検体を回収し、15,000 回転、4 $^{\circ}$ C で 20 分間遠心後、上清を回収し、溶解液中の蛋白濃度を BCA 法 (Pierce, Rockford, IL) にて測定した。等量の蛋白量の各検体を 10% SDS-polyacrylamide gel (Realgel plate, バイオクラフト、東

京) 上で電気泳動した (SDS-PAGE)。これを polyvinylidene difluoride (PVDF) メンブレン (Immobilon-P, Millipore, Bedford, MA) に転写した後、抗 TRAF2 抗体 (H-10) または抗 TRAF6 抗体 (D-10)、抗 TLR2 抗体 (N-17) または抗 TLR4 抗体 (C-18, Santa Cruz, CA) と反応させた。次いで HRP 標識抗 goat IgG 抗体 (Santa Cruz) と反応させ、ECL キット (RPN2106, Amersham Pharmacia Biotech, Buckinghamshire, England) を用いて化学発光させ、高感度フィルム (Hyperfilm ECL, Amersham Pharmacia Biotech) に感光させた。ゲル電気泳動画像の各バンドの量比は NIH image (v1.62, National Institute of Health, Bethesda, MD) を用いて定量評価した。

実験を 4 回施行し、得られた結果を平均±標準偏差で表した。群間の比較には分散分析と Scheffé 検定を行い、危険率 5% 未満を有意とした (StatView II, Abacus Concepts, Berkeley, CA)。

C. 研究結果

高濃度酸素が TRAF2 および TRAF6 の発現に及ぼす影響を Western blot 法により検討した。HPAEC において、TRAF2 および TRAF6 の発現は高濃度酸素曝露により各々平均 5.1 倍および 3.0 倍増強した ($p < 0.05$)。一方、HAM において、TRAF6 および TLR2 の発現は各々平均 2.2 倍および 2.0 倍増強した ($p < 0.05$) が、TRAF2 および TLR4 の発現には有意な変化を認めなかった。

D. 考察

シックハウス症候群は、室内空気中の微量な化学物質への曝露による酸化ストレスに対する生体反応と考えられ、眼・鼻・咽喉の粘膜刺激症状 (痛み、乾き、嚔声)、皮膚刺激症状 (痛み、発赤、痒み)、非特異的過敏反応 (鼻汁、流涙、喘息様症状)、神経系症状 (頭痛、精神疲労、記憶減退、注意力・集中力の低下、めまい、嘔気)、臭覚および味覚異常など、生体の様々な臓器において炎症性反応を生じる。これらの症状が現れる機序には、化学物質の知覚神経刺激による神経原性炎症、酸化作用による接触局所における皮膚・粘膜の損傷、中枢神経中毒作用などが複合的に働いて、多彩な症状を呈すると推測されている。そこでシックハウス症候群の原因を、免疫学的機序の点から解明するための基礎的研究として、環境因子の一つである酸素の血管内皮への影響を検討してきた。

我々は高濃度酸素曝露がヒト血管内皮細胞において転写因子 NF- κ B を活性化して接着分子 ICAM-1 発現を増強し、白血球の集積を促進して細胞機能障害をもたらすことを明らかにした。しかし、高濃度酸素が、いかなる細胞内シグナル伝達経路を介して NF- κ B を活性化させるかは不明である。他方、NF- κ B 活性化の制御因子の一つとして、TRAF の重要性が明らかになりつつある。そこで本研究では血管内皮細胞として HPAEC、貪食細胞

として HAM を用いて、高濃度酸素曝露が TRAF および TLR 発現に及ぼす影響について検討した。

高濃度酸素曝露により HPAEC において、TRAF2 および TRAF6 ともに発現が増強した。すなわち、高濃度酸素は TRAF2 と TRAF6 の両方の経路を介して、NF- κ B を活性化することが示唆された。なお、TRAF2 (平均 505%) の方が TRAF6 (平均 302%) に比較して増加率は大きいことより、TRAF2 がより優位な経路ではないかと考えた。

1994 年、TRAF1 と TRAF2 が TNF 受容体 II 型のシグナル伝達因子として同定された。その後、TRAF3 から TRAF6 までが報告されている。特に TRAF2, 5, 6 は細胞膜受容体と転写因子 NF- κ B 活性化を誘導するキナーゼ (NF- κ B-inducing kinase; NIK) とを仲介するアダプター蛋白質である。さらに、TRAF6 は TNF 受容体ファミリーにとどまらず、Toll / IL-1 受容体ファミリーのシグナルを伝達することも明らかになってきた。

一方、HAM において、TRAF6 および TLR2 の発現は各々平均 2.2 倍および 2.0 倍増強した ($p < 0.05$) が、TRAF2 および TLR4 の発現には有意な変化を認めなかった。

TLR2 および TLR4 ノックアウトマウスの実験より、グラム陽性菌の認識には TLR2 が、グラム陰性菌の認識には TLR4 が関与していると考えられている。これらは細胞内の TRAF6 を介して NF- κ B を活性化するものと推測されている。

E. 結論

高濃度酸素環境における酸化ストレスは、HPAEC および HAM において TLR-TRAF 系経路を介して I κ B- α をリン酸化して分解し、NF- κ B を活性化することが示された。即ち、この TLR - TRAF - NF- κ B を介するシグナル伝達経路を阻害することにより、酸化ストレスによる生体への影響を抑制しうる可能性が示唆された。今後さらに、シックハウス症候群の病態における TRAF の機能解明が待たれる。

F. 研究発表

学会報告

鈴木幸男、竹下 啓、西尾和三、石井 誠、宮尾直樹、工藤裕康、佐藤長人、猶木克彦、青木琢也、山口佳寿博。

酸化ストレスが TRAF2 および TRAF6 の発現に及ぼす影響。

第 4 2 回 日本呼吸器学会総会。宮城県仙台市。平成 14 年 4 月 4~6 日。

Y. Suzuki, K. Takeshia, K. Nishio, O. Takeuchi, K. Toda, H. Kudo, N. Miyao, M. Ishii, N. Sato, K. Naoki, T. Aoki, K. Yamaguchi.

Regulation of NF- κ B activation and TRAF expressions by hyperoxia in human pulmonary

endothelial cells.

American Thoracic Society 2002 International Conference. Atlanta, Georgia. 2002/5/17-22.

鈴木幸男、竹下 啓、竹内 修、戸田京子、山田恵美子、鈴木達夫、土本寛二。

高濃度酸素環境が血管内皮細胞および肺胞マクロファージに与える影響－細胞内シグナル伝達機序を中心に－

第11回 日本臨床環境医学会総会。札幌。2002年7月5－6日。

鈴木幸男、竹下啓、竹内修、戸田京子、土本寛二。

高濃度酸素曝露による血管内皮 ICAM-1 発現の機序。

第13回 日本病態生理学会。千葉。2003年1月25～26日。

鈴木幸男、竹下 啓、西尾和三、宮尾直樹、石井 誠、工藤裕康、平岡理佳、青木琢也、佐藤長人、山口佳寿博。

高濃度酸素曝露が肺胞マクロファージに及ぼす影響-細胞内シグナル伝達経路およびサイトカインを中心に-

第43回 日本呼吸器学会総会。福岡。2003/3/13～15

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」

(分担) 研究報告書

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

研究協力者 松延 毅 1、鈴木幸男 2、土本寛二 3

- 1 北里研究所病院耳鼻咽喉科医長
- 2 北里研究所病院呼吸器科部長
- 3 北里研究所病院院長

【研究要旨】

レドックス感受性遺伝子転写制御因子の一つである NF kappa B は、酸化ストレスによる遺伝子発現制御に幅広く関わっていることが報告されている。急性感音難聴のモデルとして急性音響外傷モデルモットを用いて、NF kappa B の蝸牛内における発現を強大音非負荷モデルモットと比較した。NF kappa B の発現はウエスタンブロットと免疫組織化学的手法を用いて行った。強大音負荷を行ったモデルモットにおいては、蝸牛感覚上皮内の外有毛細胞において明らかな NF kappa B 発現の上昇がみとめられた。

【研究目的】

生体には酸化ストレスに対する種々の適応反応がみられるが、こうした適応反応は酸素センサーが酸素濃度を感知し、何らかの形で転写因子にその情報を伝達し、一群の遺伝子発現を誘導することが基礎となっている。最近になり、低酸素による遺伝子の誘導的転写に必要なエレメントがさまざまな遺伝子で同定され、NF kappa B が、多くの細胞および組織で働くことが明らかになってきている。この NF kappa B はレドックス感受性遺伝子転写制御因子の一つであり、酸化ストレスによる遺伝子発現制御に幅広く関わっていることが報告されている。通常、酸素濃度下で NF kappa B は細胞質に存在し、プロテアソームによって分解され、低濃度で維持されているが、低酸素状態になるとタンパク質は安定し濃度が高まり、核へと移行する。一方、近年において強大音暴露による急性感音性難聴、いわゆる急性音響外傷のメカニズムとしてフリーラジカルの関与が示唆されているが、強大音暴露による急性の聴覚障害、すなわち急性音響外傷は内耳虚血を引き起こすことが示されている。すなわち虚血により蝸牛局所にフリーラジカルの急激な産生が起こるのである。しかしながら、フリーラジカルなどの酸化的ストレスが聴覚路に及ぼす影響、及びそれらが聴覚路の組織を細胞傷害や細胞死に至らしめる過程、分子メカニズム等、詳細は殆ど不明である。今回、我々はモデルモットの音響外傷モデルを用いて、蝸牛の音響外傷成立のメカニズムにおける NF kappa B の関与を検討したので報告する。

【研究方法】

動物はプライエル反射正常の有色モデルモット(200-250 g)を使用し、防音室内で 105 dB オクターブバンドノイズ(4 kHz 中心)を 2 時間および 5 時間曝露した。なお、我々の予備実験ではこの条件での 5 時間曝露で、約 7 日で回復する一過性聴力障害(TTS)をきたすことを確認した。強大音曝露後、ネンブタールにて麻酔後直ちに断頭し、蝸牛中耳骨胞を摘出、顕微鏡下にハンクス緩衝液中にて蝸牛感覚上皮を分離した。蝸牛感覚上皮には感覚細胞としての内・外有毛細胞、およびその他のコル

子器を構成する支持細胞が含まれている。次に試料をホモジナイズし、SDS 処理し、ポリアクリルアミド電気泳動後、PVDF 膜に転写した。一次抗体としてマウス抗 NF kappa B 抗体、および二次抗体として HRP 標識抗ウサギ IgG 抗体を使用した。免疫反応後、化学発光を施し X-ray フィルムに感光した。また、強大音 4 時間曝露後の蝸牛感覚上皮については免疫染色も併せて行った。中耳骨胞を取り出し、パラフォルムアルデヒドにて局所灌流固定し、さらに一晩パラフォルムアルデヒド中にて固定した。洗浄後、蝸牛を 96 穴マイクロタイタープレートに移し、上記と同様の抗体およびビオチン標識 IgG を二次抗体として ABC 法を行った。最後に顕微鏡下で蝸牛感覚上皮を摘出しスライドグラス上に封入した。

【倫理面への配慮】

実験は十分な麻酔下で行い、断頭時も全身麻酔下で苦痛を与えずに行った。

【研究結果】

ウェスタンブロットではコントロールに比べて強大音曝露 2 時間後に蝸牛感覚上皮と血管条を含む蝸牛外側壁において NF kappa B の発現の上昇傾向が認められ、曝露 4 時間後には明らかな発現の増加が認められた。免疫組織化学においては強大音曝露後の蝸牛感覚上皮においては、三列の外有毛細胞において NF kappa B の強い染色が認められた。これは、強大音曝露により蝸牛内において酸化ストレスが加わり、外有毛細胞がターゲットとなっている可能性が示唆された。音響外傷により、初期には外有毛細胞に主な変性が認められることより、音響外傷の分子メカニズムへのレドックス感受性転写因子の関与が考えられる。

【考察】

音響外傷モデルは急性感音難聴モデルの一つとして知られているが、その機序としては次のことが考えられる。第一に強大音曝露により内耳血流の低下が惹起され、内耳虚血が引き起こされること、第二に強大音曝露により内耳組織内のフリーラジカルの産生増加が認められることが実験的に報告されている。したがって強大における内耳障害はフリーラジカル産生増加による組織障害と密接な関係があることが明らかになってきている。細胞が低酸素環境にさらされると nuclear transcription factor や HIF-1 の発現が増加し、DNA への結合が起こる。HIF-1 は、低酸素環境に応答して発現が増加し、またその他の転写制御因子である AP-1 や NF-kappaB、Ref-1 などの活性を増加させて、酸化ストレスに応答する種々の遺伝子発現を制御していると考えられている。内耳障害におけるレドックス制御機構を解明することは急性感音難聴のメカニズムの解明および治療につながるものと考えられる。実際に臨床的な環境医学的問題としては、強大音暴露環境下における騒音性難聴、および音響外傷の例があげられる。これらは感音性難聴をきたし、治療開始が遅れると難治性となる。本研究のような細胞のレドックス制御の解明はこれらの治療戦略においてきわめて重要であると考えられる。

【参考文献】

- 1) Curren C., Franza B.R.Jr.: Fos and Jun, the AP-1 connection. Cell 55:395-397, 1988.
- 2) Ohlemiller K.K., Dungan L.L.: In vivo measurement of cochlear reactive oxygen species (ROS) in mice; effect of noise exposure and cochlear ischemia. Assoc. Res. Otolaryngol. Abstr. 21:518, 1998.
- 3) Yamane H., Nakai Y., Takayama M., Iguchi H., Nakagawa T., Kojima A.: Appearance of free radicals in the guinea pig inner ear after noise-induced acoustic trauma. Arch. Otorhinolaryngol. 252:504-508, 1995.
- 4) Yamasoba T., Schacht J., Shoji F., Miller J.F.: Attenuation of cochlear damage from noise

trauma by an iron chelator, a free radical scavenger and glial cell line-derived neurotrophic factor in vivo. Brain Res. 815:317-325, 1999.

5) Yoneda Y., Ogita K., Inoue K., Mitani A., Zhang L., Masuda S., Higashihara M., Kataoka K.: Rapid potentiation of DNA binding activities of particular transcription factor with leucine-zipper motifs in discrete brain structures of the gerbil with transient forebrain ischemia. Brain Res. 667:54-66, 1994

<論文発表>

Shizuki K, Ogawa K, Matsunobu T, Kanzaki J, Ogita K: Expression of c-Fos after noise-induced temporary threshold shift in the guinea pig cochlea. Neurosci Let 320: 73-76, 2002.

<学会発表>

第 11 回日本耳科学会

26th Midwinter Research Meeting, Association for Research in Otolaryngology, St. Peters Beach, FL, 2002

<知的所有権の取得状況>

(特許取得)

なし

(実用新案登録)

なし

(その他)

なし

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

分担研究者 吉野 博（東北大学大学院工学研究科 都市・建築学専攻 教授）
研究協力者 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（同上）
高田 美紀（同上）
松本 麻里（同上）
片桐 寿美（東北大学工学部建築学科）
角田 和彦（宮城厚生協会 坂総合病院小児科）
北條 祥子（尚絅女学院短期大学人間関係科）

研究要旨

宮城地区のシックハウス症候群およびシックスクール症候群が疑われる症例を対象として、居住環境ならびに、健康状態に関する実態調査を実施した。本年度は、特に過去2年間の調査に参加した住宅を中心に追跡調査を行い、住環境および症状の変化を自覚・他覚所見で追究した。その結果、化学物質の濃度については、カルボニル化合物は年数の経過に伴う濃度の変化が少なかった一方で、トルエン等の多くのVOCについては、経年による減衰傾向を認めた。重症例を除けば、住環境の改善（化学物質濃度の低減）、治療（投薬や食事療法）により、多くの事例で病状の改善が見られた。非改善例では、頭痛、筋肉・関節痛、認識障害、情緒障害、神経障害といった症状が持続するケースが認められた。

A. 研究目的

いわゆる「シックハウス」問題が顕在化してから約10年が経過する。この間に、室内化学物質汚染の実態把握、測定法、予測法、防止対策の手法の開発などに関する多くの調査研究が実施されてきた¹⁾。しかしながら、シックハウスと称される住宅における汚染の実態や居住者の健康状態に関する資料は、決して多くないのが現状である。

そこで、本研究では、医師の診察等により、シックハウス症候群と疑われる居住者が存在する住宅を対象として、室内空気中の化学物質（カルボニル化合物、揮発性有機化合物（以下、VOC）、有機リンおよびその他の化学物質）の濃度や換気性状（気密性能、外気導入量等）の測定調査、住環境および居住者の健康状態に関するアンケート調査、ならびにシックハウス症候群・化学物質過敏症を専門としている医師による臨床検査を実施した。

本稿では、追跡調査を実施し、住環境および症状の変化を自覚・他覚所見で追究した事例について報告する。

B. 研究方法

1. シックハウスと疑われる住宅における化学物質汚染の実態調査

1. 1. 調査対象

調査対象住宅は、宮城県内のシックハウスが疑われる住宅で、いずれの住宅にも、医師の診察等より、化学物質の影響で健康被害が生じたと疑われる者、化学物質過敏症の疑いがある者が居住している。

1. 2. 調査方法

(1) 住環境に関するアンケート調査

住環境の実態に関する情報を得るために、アンケート調査を実施し、各家庭の代表者に回答していただいた。また、住居の構造や平面、使用建材等の建物の概要について調査した。

(2) 室内環境の測定方法

室内環境の測定項目は①化学物質の気中濃度（カルボ

ニル化合物（ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド等）、VOC（トルエン、キシレン、p-ジクロロベンゼン等）、有機リンおよびその他の化合物（クロルピリフォス、ダイアジノン等）、②住宅の換気性状（気密性能、換気量）、③温湿度である。

化学物質の気中濃度の測定方法について以下に示す。カルボニル化合物とVOCは、住宅毎に室内2～3箇所（居間、寝室、その他1室）と住宅周辺外気の計3～4箇所で測定した。有機リンおよびその他の化合物については住宅毎に室内1箇所（和室）、床下1箇所の計2箇所で測定した。試料空気のサンプリングは居住状態で実施したが、危険側の状況を再現するために窓等の外部開口部は一日を通して、長時間にわたり閉鎖することを条件とした。なお、カルボニル化合物とVOCのサンプリング位置は、床上1.2mとし、有機リンおよびその他の化合物は床上5cmとした。カルボニル化合物はDNPHカートリッジ（Waters社製、Sep-pak DNPH-Silica Cartridge）を用いて24時間パッシブサンプリングし、アセトニトリル溶媒で抽出後、高速液体クロマトグラフにより定性・定量分析を行った。VOCは粒状活性炭（柴田化学機械工業株式会社製、Charcoal Tube Jumbo）にポンプを用い、300ml/minの通気量で24時間アクティブサンプリングし、二硫化炭素溶媒に抽出後、ガスクロマトグラフにより定性・定量分析を行った。有機リンおよびその他の化合物はスチレンジビニルベンゼン共重合体充填カートリッジ（Waters社製、PS-Air Cartridge）を用いて500ml/minの通気量で24時間アクティブサンプリングし、アセトン溶媒に抽出後、ガスクロマトグラフにより定性・定量分析を行った。なお、カルボニル化合物の分析は国立公衆衛生院建築衛生学部、VOCの分析は東北文化学園大学環境計画学部、有機リンおよびその他の化合物の分析は宮城県公害衛生検査センターに依頼した。

住宅の気密性能測定に関しては、気密測定器（コーナー札幌社製、KNS-400）を用いて、減圧法により測定した。居室の窓の開口部に送風機を設置して排気を行い、その際に生ずる室内外差圧と風量を測定した。測定中、外部開口部はすべて旋錠をし、台所やトイレ等の局所ファン、および機械換気システムは運転を中止した。この結果を用いて、室内外差圧が1mmAq時の単位床面積あたりの隙間相当開口面積 $\alpha A'$ を算出し、気密性能を評価

した。

住宅の換気量測定に関しては、一定濃度法によって各室の外気導入量を測定した。測定にはマルチガスモニターとサンプラードーザー（B&K社製、1302、1303）を使用した。測定の際には、注入したSF₆トレーサーガスが、可能な限り均等に分布するように攪拌用ファンを用いた。さらに、広い部屋ではSF₆の注入チューブの分岐を行って、室内のSF₆濃度を5ppmとなるように発生量を制御した。この他、機械換気システムを設置している住宅では、風量測定器（コーナー札幌社製、Swema Flow65）を用いて、システム給排気口の風量を測定した。

調査期間中の室内および室外の温度・湿度は小型温度湿度データロガー（ティアンドディ社製、おんどとりRH）を用い測定した。

1. 3. 調査時期

調査期間は2000年～2002年で、住宅の実測は夏期を中心に実施した。

2. シックハウスと疑われる住宅の居住者の健康状態に関するアンケート調査及び臨床検査

2. 1. 調査対象

シックハウスと疑われる住宅の居住者の健康状態に関して、アンケート調査、ならびにシックハウス症候群・化学物質過敏症を専門としている医師による臨床検査を実施した。アンケート調査は室内環境の調査を実施した住宅の全居住者を対象とし、臨床検査はその居住者の中から希望者を募り、症状等によって選考を行って実施した。なお、臨床検査の参加者は調査内容を十分に説明された後、参加の意志を確認し、申し込み書に署名後、検査に参加した。

2. 2. 調査内容

2. 2. 1. QEESI 問診票による調査

居住者の健康状態、ならびに化学物質に対する過敏性等に関する情報を得るために、QEESI（Quick Environmental Exposure and Sensitivity Inventory）問診票を用いたアンケート調査を実施した。これはテキサス大学のMillerらが考案し²⁾、アメリカのマサチューセッツ工

科大学、テキサス大、アリゾナ大学医学部等で使用されている質問票を北里研究所病院環境医学センター・センター長・石川哲先生が日本人向けに改訂を加えたものである³⁾。質問項目は全5項目で、各項目に10個の質問がある。「マスキング」を除く4つの質問項目に関しては、それぞれの質問に対して0~10点(0点:まったく反応なし、5点:中等度の反応、10点:動けなくなるほどの症状)で自己評価し、その合計点数を算出する。「マスキング」では、「はい」もしくは「いいえ」で回答する形となっている。

2. 2. 2. 臨床検査

一般に、シックハウス症候群・化学物質過敏症患者は、化学物質の曝露を受けることによって自律神経機能や視覚分野の神経系に障害を呈し、また、脳の機構に異常をきたす例が多い。そこで、化学物質曝露による健康面への影響を把握するために、シックハウス症候群・化学物質過敏症専門の医師による診察と各種臨床検査を実施した。以下に、主な臨床検査内容を概説する。

- ①専門医による診察:石川哲先生による診察(眼球運動、膝外腱反射等の神経反射等)を実施した。
- ②眼科一般検査:眼科一般検査(視力、眼圧等)にて眼科的基礎疾患の有無を検査した。
- ③滑動性眼球追従運動の検査:眼球電位図(EOG:Electro Oculo Graphy)により、水平および垂直方向の眼球運動を検査し、視覚分野における神経系の異常を判定した。
- ④瞳孔反応の検査:赤外線電子瞳孔計(浜松ホトニクス社製、イリスコーダ C2514)を使用し、瞳孔反応を検査した。15分間の暗順応後に左右1または2回測定し、良好な状態で記録できた結果から得られた値を平均した。年齢によって、正常値が異なるため、得られたデータは年代ごとの正常平均値からの偏差($\frac{\text{測定値}-\text{平均値}}{\text{標準偏差}}$)を計算した。正常値として北里大学眼科で1992年5月7日~11月26日間に女性556名、男1076名から計測された年齢ごとの平均値と標準偏差を利用した。また、内海らの分類⁴⁾に従い、交感神経優位、副交感神経優位、に分類した。
- ⑤脳内血流状態の測定:近赤外線組織酸素モニター(NIRS: Near Infrared Spectroscopy)⁵⁾(浜松ホトニクス社製、NIRO-300)を使用して脳内の血流量を測定した(北里研究所病院臨床環境医学センター・坂部貢先生)。安静

時の基線のゆらぎ(基線から $\pm 1\mu\text{mol}$ 未満の変動を正常=0、 $\pm 1\mu\text{mol}$ 以上の変動を軽度異常=1、 $\pm 2\mu\text{mol}$ 以上の変動を異常=2)、頭位変換時の基線の変動(基線より $1\mu\text{mol}$ 未満の変化を正常=0、 $1\mu\text{mol}$ 以上の変動を軽度異常=1、 $2\mu\text{mol}$ 以上の変動を異常=2)、起立試験時の基線の変動(起立時に O_2Hb が基線に戻る、もしくは $1\mu\text{mol}$ 未満:正常=0、 O_2Hb が基線に戻らず、 $1\sim 2\mu\text{mol}$ 未満の変化:軽度異常=1、 $2\mu\text{mol}$ 以上の変化:異常=2)から点数化、合計した(正常=0、軽度異常=1~3、異常=4~6)。

⑥頭痛に関する問診:シックハウス症候群では、頭痛やめまいといった神経学的症候を示す症例が多いことが特徴であるため、頭痛を感じる位置や痛みの程度等はシックハウス症候群か否かを判定する際に重要な要素となる。そこで、シックハウス症候群に特徴的な頭痛やめまい等の神経症候を抽出するために、問診票(東北大学医学部神経内科糸山ら作成)を用いた調査を行った。参加者に対して、過去および転居後の症状に関して、その性質や頻度、継続時間等を質問した。

⑦その他の検査:心電図、重心計、アレルギー検査等

C. 研究結果

1. シックハウスの調査事例の提示

以下に、2000年~2002年の間に追跡調査を実施し、経過を観察できた事例9軒について報告する⁶⁾。

事例1:住宅MH(表1、図1参照)

①住宅概要:1998年3月に竣工した木造戸建住宅(枠組み壁工法)。換気設備として全室24時間機械換気システム(セントラル排気システム)を採用。C値(単位床面積あたりの相当隙間面積)は $2.8\text{cm}^2/\text{m}^2$ 。壁紙にはノンホルマリン系の接着剤を使用。床材には当時のF₁規格の合板を使用。

②実測調査時期:2000年7月、2001年8月、2002年8月

③主発症者:40歳代女性

④既病歴:花粉症・ブタクサアレルギー。

⑤家族歴:息子(長男)に喘息、アレルギー性鼻炎。

⑥症例の経過:1998年3月に竣工直後の新築住宅に転居。

入居直後より、様々な体調不良症状（眼精疲労、肩こり、倦怠感等）を訴える。症状は2001年頃まで持続したが、現在は改善。同居家族では長男が季節的な喘息を発症していたが、1999年9月に呼吸できなくなるほどの大きな発作を起こし、研究協力医療機関に入院。2000年9月にも発作を起こし、吸入加療を行っている。その後、気管支拡張剤の服用で喘息様症状は治まったが、鼻水・鼻血がよく出る症状が一時期持続した。換気の励行と食事療法に努め、2001年以降はそれらの症状はほぼ改善。

⑦実測結果：転居2年4ヶ月後（2000年7月）の調査時にはノンホルマリン系の接着剤等を使用していたにもかかわらず、ホルムアルデヒド濃度が1F居間0.12ppm、2F和室0.14ppmで厚生労働省の指針値0.08ppmをやや上回った。個々のVOCでは1F和室のトルエン濃度が248.0 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ と指針値260 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ は下回ったがやや高めを示し、p-ジクロロベンゼン濃度は725.0 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ と指針値240 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ を上回った。TVOC値は1F居間881.8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、1F寝室3635.6 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ と厚生労働省の暫定目標値400 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ を大きく上回り、新築当初は更に高濃度であった可能性がある。調査後に換気の励行と和室における衣類用防虫剤の使用制限を指示した。それ以降の調査では、VOCは徐々に減衰し、2002年8月の調査時にはTVOC値で暫定目標値400 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 付近まで下がっている事が確認された。ただし、カルボニル化合物については低減は認められていない。有機リン系化合物は床下でクロルピリフォスが濃度0.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ で検出。換気量の測定結果（2001年8月）では、機械換気設備のみでは換気回数0.3回/hと十分ではないため、窓明けによる換気の併用が重要と思われた。

⑧検診結果：2000年8月に臨床検査に参加。眼球運動検査で滑動性追従運動（水平方向）に階段状の動きがみられ、上方視が困難であった。また、四肢の反射亢進が認められ、NIRSによる頭位変換試験で軽度の異常所見がみられた。長男は検診不参加。

⑨総括：調査時には症状が落ち着いていたが、発症の経緯から、新築時の高濃度の化学物質への曝露が体調不良に影響を及ぼした可能性があり、シックハウス症候群が疑われた。長男の喘息様症状は転居以前からのものであるが、転居後に著しく悪化したため、化学物質への曝露が症状に関与した可能性がある。両名とも調査を迫るに従い快方に向かい、2002年時の調査ではほぼ治癒してい

る。

事例2：住宅KK（表2、図2参照）

①住宅概要：1993年に竣工した木造戸建住宅（木造枠組壁工法）。換気設備として全室24時間機械換気システム（セントラル給排気システム）を採用。C値は1.5 cm^2/m^2 。1997年、2001年9月にシックハウス対策のために改修工事を実施。

②実測調査時期：2000年8月、2001年9月、2002年10月

③主発症者：40歳代男性

④既往歴：19歳頃から花粉症（キク科植物アレルギー）、アレルギー性結膜炎、アレルギー性鼻炎。

⑤家族歴：妻と子供5名にアトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、アレルギー性結膜炎等。

⑥症例の経過：1993年に竣工し7月に転居（入居までに2週間）。接着剤や畳の防虫剤、白蟻駆除剤等から発生する化学物質により健康被害が引き起こされる事を知っていたため、対策を業者に依頼していたが、その他の建材についてまでは考慮しなかった。入居後から、2F寝室や書斎で頭痛、苛立ち、目の痛み等の症状に悩まされるようになり、子供らにもアトピー性皮膚炎やアレルギー性鼻炎の悪化、喘息発作の発現、花粉症の発症、視力減退等の諸症状がみられるようになったため、原因として空気汚染を疑うようになった。平成9年に自身でガス検知管による測定を実施したところ、ホルムアルデヒドが高濃度で検出された。以後、様々なシックハウス対策を敢行している。平成9年に、2F子供部屋の内装壁紙の貼替、家の床材内装合板を無垢材へ張替という改修工事を行い、汚染発生源と疑われる家具の廃棄もしくは化学物質の放散を抑える塗料の塗布を実施した。さらに2001年9月に居室壁面に多孔質セラミックスタイルを設置した。症状の経過をみると気管粘膜系の症状は良化してきているが、頭痛や神経症状は持続している。

⑦実測結果：平成9年に居住者指針で実施したガス検知管による測定でホルムアルデヒド濃度を測定したところ、0.5ppmという高濃度であったという。転居7年後（2000年8月）の調査では、築年数がある程度経過し、シックハウス対策の改修も実施していたにもかかわらず、ホルムアルデヒド濃度が1F居間で0.14ppm、2F子供部屋で0.20ppmと厚生労働省の指針値0.08ppmを上回っていた。

アセトアルデヒド濃度についても 0.13~0.18ppm と指針値の 4 倍以上の高値で検出された。VOC は個々の物質では指針値以下であったが、検出物質数が多く、TVOC 値では、厚生労働省による暫定目標値 $400 \mu\text{g}/\text{m}^3$ を上回った。その後の 1 年毎に追跡調査を実施した結果、TVOC 値は暫定目標値前後にまで下がったが、カルボニル化合物については改善が認められなかった。2001 年 9 月に換気量測定を実施したところ、換気扇の風量設定を「強」にしているにも関わらず、住宅全体での換気回数が 0.2 回/h (1F 0.27 回/h、2F 0.15 回/h) と非常に小さく、換気設備が所期の性能をほとんど満たしていなかったことが判明した。よって居住者は、新築時より、換気不足でかなり高濃度な環境に継続して曝露してしまった可能性がある。

⑧検診結果：2000 年 8 月に臨床検査に参加。眼球運動検査で眼振性追従がみられ、NIRS による頭位変換試験・起立試験で軽度の異常所見がみられた。その他の検査項目は正常であった。次女が 2002 年 7 月に NIRS によるガス負荷試験を行ったところホルムアルデヒド吸入後の起立試験で O_2Hb の低下がみられた。

⑨総括：以上より、ホルムアルデヒド・VOC によるシックハウス症候群と診断した。家族とも神経症状の持続が認められるため、今後も環境への配慮が必要である。

事例 3：住宅 MR (表 3、図 3 参照)

①住宅概要：2001 年 2 月に竣工した高気密な木造戸建住宅 (木質パネル工法) で完成直後に入居。C 値は $1.0\text{cm}^2/\text{m}^2$ 以下。換気設備は 24 時間機械換気システム (セントラル排気システム) を採用。業者からシックハウス対策の説明を受けており、ノンホルマリン系の接着剤や内装に無垢材が使用されているが、木製の窓枠、デッキ庭の枕木等には、防腐・防カビ・防虫の各種薬剤が塗られている。2002 年夏に枕木のおいが気になるため、これを減らす工事を実施している。

①実測調査時期：2001 年 7 月、2002 年 9 月

③主発症者：10 歳未満女性

④既往歴：食物アレルギー (卵・牛乳)

⑤家族歴：母親に花粉症、偏頭痛、妹に食物アレルギー (牛乳) あり。

⑥症例の経過：転居直後より、皮膚の乾燥感、発疹、喉の不調や気管支炎、鼻水、発熱等の症状が発現した。喉

の腫れの症状は持続している。また、なおいに対して過敏に反応を示すようになった。同居家族では、妹が入居 3 日目に嘔吐し、調査協力医療機関で治療を受けている。その後、転居 1 ヶ月の間に全身への発疹、気管支炎が発症し、転居 3 ヶ月後から 1 ヶ月間、鼻水・発熱が続いた。また、母親が入居後しばらくしてから頭痛が発症し、症状が少しずつ重くなってきていると訴えている。現在は、花粉の飛散時期を除き、機械換気設備を運転した上で、窓開け換気を励行している。

⑦実測結果：築 5 ヶ月の新築時 (2001 年 7 月) の化学物質の気中濃度をみるとホルムアルデヒド濃度は、全測定室で 0.12~0.14ppm と厚生労働省の指針値 0.08ppm をやや上回った。アセトアルデヒド濃度は 0.29~0.37ppm と指針値 0.03ppm の約 10 倍の高値であった。個々の VOC では指針値を超える物質はなかったが、 α -ピネンが $400 \mu\text{g}/\text{m}^3$ を超える値を示し、TVOC 値は $2000 \mu\text{g}/\text{m}^3 \sim 3000 \mu\text{g}/\text{m}^3$ で暫定目標値 $400 \mu\text{g}/\text{m}^3$ の 5 倍以上と高かった。換気量の測定結果では 0.6 回/h と設計換気回数である 0.5 回/h を上回っていたが、新築時の化学物質の発生量が多い時期には、健康維持のための換気量としては不足していると考えられる。さらに約 1 年経過後 (2002 年 9 月) の調査では、換気量測定結果 (平成 13 年 0.6 回/h、平成 14 年 0.5 回/h) を考慮すると、ホルムアルデヒド・アセトアルデヒドの発生量としては、ほとんど変化していないものと思われた。VOC は減衰傾向を示したが、依然、暫定目標値の 3 倍を超える値であった。

⑧検診結果：赤血球コリンエステラーゼが 1.5 単位 (正常値 1.8~2.2 単位：Routh 法) と低値。2002 年 7 月の臨床検査に参加。眼球運動検査で階段状運動がみられたが、その他の検査項目は正常であった。2003 年 3 月に再検査を実施したところ、眼球運動は正常に改善したが、NIRS による起立試験で O_2Hb の低下がみられた。同時に母親も検査に参加したところ、暗順応時の瞳孔縮瞳傾向、眼球運動検査でかなりの階段波形の混在、四肢の反射亢進がみられ、有機リン曝露の影響が疑われた。

⑨総括：年齢が低いため、判定は保留としたが、新築住居への入居で発症しているため、環境への配慮が必要。母親の所見と合わせると、VOC 以外に、有機リン系の化合物に曝露している可能性が疑われた。有機リン系の化合物は室内では検出されなかったが、庭で使用している