

発症しにくい人がいることもまた事実である。これは今日では、疾患感受性遺伝子の遺伝子型の違いによるものであると理解する事ができる。

本研究ではシックハウス症候群の感受性の違いについて、その候補遺伝子の一つと目されるパラオキシナーゼ遺伝子 (*PONI* 遺伝子) の遺伝子多型との関連について明らかにすることを目的とし、患者血液から調製した DNA を用いて、塩基配列の多型性を解析した。

シックハウス症候群は近年問題となってきた疾患のひとつであることから、厚生行政としてもその物質の特定、基準値の設定、診断法の確立等、多くの早急に解決しなければならない問題が多々あり、社会からも要請される場所である。そのために、一方では、非常に基礎的なことではあるが、なぜこのような疾患が生じるのかを科学的根拠をもってアプローチし、その疾患の原因と対策、治療法を確立していかなければならない。本研究はその任務を背負ったものと理解している。

PONI 遺伝子産物はシックハウス症候群の原因物質として特定されている有機リン系のクロルピリフォスの代謝酵素の一つであり、アシルスルファターゼに分類される。

B. 研究方法

- 1) 北里研究所・北里研究所病院の協力により、研究協力依頼に同意を得たシックハウス症候群の患者および健常者の血液を得た。昨年度報告書で 2002.3.4 現在、患者 46 名と記載しているが、今年度これまでに収集した血液は患者 116 名、健常者 164 名であり、うち今回東北地方から得た試料は患者 24 名、健常者 11 名分である。
- 2) 血液 3-10ml につき 100ul を QIAGEN カートリッジ (QIAGEN 社) を用いた簡便法により、調製した。この段階でコード化をはかり、特定の個人情報とは簡単に連結できないように配慮した。個人情報管理は東海大学医学部個人情報管理部で管理されている。
- 3) 12 箇所遺伝子多型が報告されている *PONI* 遺伝子について、昨年度同様イントロン部あるいは 3'-UTR 領域を除き、プロモーター部やコーディング領域の 7 ケ所を選定し、それらの場所についてそれぞれの DNA プライマーを設定した。
- 4) PCR 法にて DNA を増幅し、増幅部位の塩基配列を DNA シークエンサーを用いて決定し、各個人

の遺伝子型を特定した。

- 5) 一方、*PONI* 遺伝子付近のマイクロサテライトマーカーについては、5箇所を選び、それぞれの部分を PCR で増幅し、4) と同様に、各個人の遺伝子型を判定した。
- 6) 上で得られた結果については、患者群と健常者の比較から相関解析を統計学的に行った。 χ^2 検定後 P 値を求め、遺伝子型と本疾患との関連を検討した。また、Hardy-Weinberg 平衡についても常法に従い検討した。

(倫理面への配慮)

DNA の解析の試料はヒトの血液であるため、3省庁の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」にのっとり、昨年度と同じく北里研究所・北里研究所病院および東海大学医学部の倫理委員会で承認されたインフォームドコンセントの書式で、各試料提供者より同意を得た。また小児の場合は親の同意も同時に得ている。作成したインフォームドコンセントに基づいて採血を行い、試料提供者からの血液材料を得た。

個人情報管理は東海大学医学部個人情報管理責任者のもとで行われ、通常はコード番号で研究が行われているので、特定の個人情報とすぐに連結することはできない。また、残

りの血液および DNA は他の遺伝子解析に同意が得られたものについて、東海大学医学部遺伝子バンク部で保管されている。

C. 研究結果

昨年度に続いて、遺伝子解析をさらに進めたが、研究方法にも書いたように、研究試料の点では、本年度は東北地方の試料も新たに加わっている。以下の成果を得た。

なお、相関解析においては、家族関係のある試料は代表者を選ぶことが、統計学的には適切な方法であり、図表によって数値が異なる場合もあることを考慮戴きたい。

1) マイクロサテライトマーカーによる *PONI* 遺伝子領域の解析。

遺伝子解析の最終結果は一塩基多型になるだろうが、対象にしている遺伝子領域が疾患に関連しているかどうかの検証は前提として重要である。

PONI 遺伝子周辺のマイクロサテライトマーカーについて、データベース内の既知のものと同様、われわれが独自に設定したものを含めて 5 箇所を選定し、PCR 増幅とそれに続く塩基配列決定により、アレル頻度と遺伝子型の頻度を求め、検定を行った (図 1)。

その結果、表 1 に示すように、検定の方法によっては一部相関を示す

座位もあったが、特に患者群に有意な相関を示す座位は認められなかった。今後さらなる試料の集積と患者群の環境要因の特定が重要と考える。

2) シックハウス症候群患者における *PONI* 遺伝子多型解析。

昨年度確立した PCR 産物の塩基配列決定に基づく遺伝子型判定系にしたがって、シックハウス症候群患者 116 名の血液 DNA に対する *PONI* 遺伝子多型解析を行った。この中には有機リンの空中散布が行われている群馬県のものと同様に坂総合病院を通じて収集された宮城県の患者のものがあるが、表 2 には新たに得られた宮城県の試料 25 例の遺伝子型の分布を示す。まだ、例数も少なく家族例もあるので判断は難しいが、特に群馬県のサンプルとの違いはなさそうである。また健常者試料については、それぞれの地域から取得に努めているが、現在のところはそのほとんど (153 試料分) は群馬のものである。

他の疾患の場合にも地域差を意識して我々は研究を進めて来たが、いまのところ、日本人の集団で特に地域差のすることはない (未発表)。したがって、以後は一括した扱いとした。なお上のマイクロサテライトマーカーの解析においては群馬の試料分を含めていない時点のものである。

表 3 に示すように、日本人の場合

L55M (表 3 の Position では 55 と表示) の部位では圧倒的に L (Leucin genotype では T/T) のホモ型が多く、欧米では L、M (Met) のハプロタイプがほぼ同数であるのに対し、極めて特徴的であった。したがって、この解析には人種的な差を十分考慮する必要があると考えられ、昨年度の予備的な結果を結論とすることができた。

一方、患者群と健常者のグループとの比較では、この部位に 0.0182 という有意な相関が得られた。これは家族例の場合にランダムに選んだ別のセットで比較した場合にも若干の差はあるが、 $P=0.05$ 以下の値が得られ、一応統計学的には有意な差が検出された。したがって、一応この部位で塩基が A であることが疾患の感受性を高めると結論できる。現在、この結論をさらに統計学的に検証している。

3) Hardy-Weinberg の検定。

上記の 2 つの解析において、また一方で重要となるのが、試料を解析した集団が Hardy-Weinberg の法則にのっとった十分解析に足る集団かどうかという点である。昨年度まではまだサンプル数も少なくこの種の検定はしていなかったが、今回かなり十分量の試料が集積されたので検定した。表 4、表 5 に示すように、ほとんどの場所において、まず問題ない

との結果が得られた。表 3 の L55M の場所でもほとんど問題なかったが、-909 の場所においては若干低い数値も出ているので今後検討したい。

4) ハプロタイプ推定。

通常、ランダムに選ばれた集団では血縁関係がないことから、特定の個人のハプロタイプを決定することはできない。出来たとしても非常に特殊例であるか、非常な労力を伴う。今回は結構家族例も多かったことから、ハプロタイプ推定ができないかどうかについて検討した。

図 2 に示すように、合計 7 箇所の SNPs について結局 6 家系のハプロタイプ推定が可能となった。

今後、これらの家族例についても十分な追跡を行うことにしており、これらのデータの集積はおそらくかなりの重要な知見を与えてくれるものと期待している。

D. 考察

昨年度、健常者の遺伝子多型を患者の地域、年齢、性別等と一致させて慎重に検討する必要性を論じたが本年度の研究の進展からは、欧米のデータと比較する際には充分考慮する必要があるが、日本の国内においては少なくとも *PONI* 遺伝子の多型に関しては地域性は見られなさそうであった。この傾向は我々が調べる他の遺伝子についても同様な結論

であり、国内外のデータの比較については引き続き慎重である必要性が再認識される。

今回は、一塩基多型(SNPs)に加え、マイクロサテライト多型についても調べたわけであるが、どちらも調べている集団は Hardy-Weinberg の法則はほぼ満たしており、相関解析にたれる集団を調べていることになった。残念ながら、マイクロサテライトマーカーの相関解析結果はこの遺伝子あるいはこの遺伝子の付近が疾患感受性領域であることを直接証明するにいたらなかったが、SNPs についてはアミノ酸置換に関わる部位 (L55M) において有意な相関が検出された。*In vitro* の実験においてはこの位置のアミノ酸がメチオニンの場合に活性が低いと言われており、疾患感受性に関する一応の整合性はある。

しかしながら、*in vivo* での結果は有機リンの種類や条件で異なる結果が得られる例もあり、また欧米人のように、この部位と-108 の連鎖が日本人ではみられないことから、今後のより詳細な解析が待たれる。

一方、家族例では図 2 のようにハプロタイプの推定も可能になる場合があり、今後、家族発症例についての遺伝子解析が一つの突破口を与えるものと期待している。

E. このような候補遺伝子からの解析に加え、ゲノムワイドに疾患感受性領域を特定していくことは是非必要であると考えます。

1. 昨年度確立した方法でシックハウス症候群患者 116 名をおよび健常者 164 名の *PONI* 遺伝子 7 箇所についての多型解析を行った (昨年度は患者群 46 名)。その結果、*PONI* 遺伝子産物の酵素活性に影響を与えると思われる箇所で、健常人との遺伝子多型パターンとの間に頻度差が検出された。
2. 昨年度に続き、欧米人とは異なった、日本人に特有の遺伝子多型が試料数が増加した現在でも検出される。一方、日本の 2 ケ所から得られるサンプルの解析からは、国内での地域差は見い出されていない。したがって、今後は人種の差を重要視していくべきであろう。
3. マイクロサテライトを用いた相関解析から、*PONI* 遺伝子周辺に感受性遺伝子があるとは、現在のところ断定できていない。
4. また今回の対象となった試料が Hardy-Weinberg の法則にのっっているかどうかを検討した結果、良好な結果を得た。これは今回の解析試料は、統計解析の前提を十分満たしている試料群であることを意味している。

F. 健康危険情報
特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Suemizu, H., Radosavljevic, M., Kimura, M, Sadahiro, S., Yoshimura, S., Bahram, S. and Inoko, H.
A Basolateral Sorting Motif in the MICA Cytoplasmic Tail.
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99(5), 2971-2976 (2002)
2. Kikuchi, N., Nakamura, S., Ohtsuka, M., Kimura, M. and Sato, M.
Possible Mechanism of Gene Transfer into Early to Mid-gestational Mouse Fetuses by Tail Vein Injection.
Gene Therapy. 9, 1529-1541 (2002)
3. Nomura, E., Sato, M., Suemizu, H., Watanabe, T., Kimura, T., Yabuki, K., Goto, K., Ito, N., Mizuki, N., Ohno, S. and Kimura M.
Hyperkeratosis and leukocytosis in transgenic mice carrying *MHC class I-related gene B(MICB)*.
Tissue Antigen 61, 1-8 (2003)

2. 学会発表

日本臨床環境医学会総会ワークショップ
2002年7月 札幌

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
特になし

図2 PON1遺伝子各部位からのハプロタイプ推定

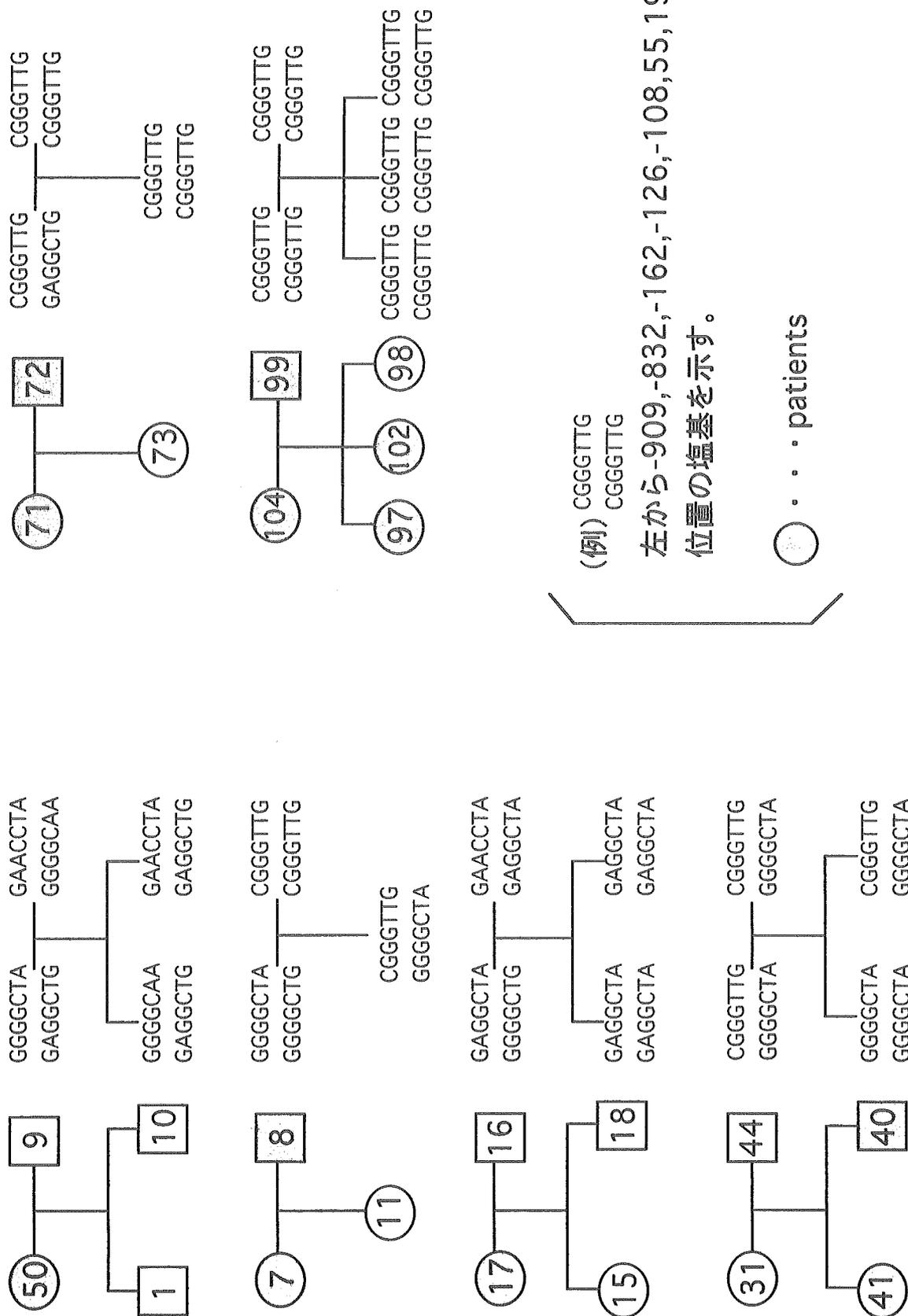


表 1 Association analysis using microsatellite markers around *PON1* gene region

Position	T1	p	T2	p	T3	p	T4	p
206A	11.04094	0.441	6.895657	0.142	2.705842	0.1	6.186699	0.434
206B	4.835599	0.681	3.531713	0.473	3.01344	0.08	3.82059	0.476
206E	6.088895	0.529	0.035721	0.982	0.4892	0.48	4.395142	0.423
391	2.223193	0.695	0.719251	0.444	0.719251	0.54	1.022023	0.771
142	10.40679	0.167	1.851284	0.396	0.54637	0.46	9.583985	0.052

表 2

Position	Genotype	Patients (n=25)		
		Counts		Frequency
-909	G/G	4	21	0.16
	G/C	11	14	0.44
	C/C	10	15	0.40
-832	A/A	1	24	0.04
	A/G	7	18	0.28
	G/G	17	8	0.68
-162	A/A	0	25	0.00
	A/G	3	22	0.12
	G/G	22	3	0.88
-126	C/C	0	25	0.00
	C/G	2	23	0.08
	G/G	23	2	0.92
-108	C/C	4	21	0.16
	C/T	15	10	0.60
	T/T	6	19	0.24
55	T/T	23	2	0.92
	T/A	0	25	0.00
	A/A	2	23	0.08
192	A/A	0	25	0.00
	A/G	10	15	0.40
	G/G	15	10	0.60

表 3

Genotype Frequency	Patients (n=85)		Control (n=132)		Confidence Interval		Fisher's Exact Bonferroni			
	Counts	Frequency	Counts	Frequency	CL_1	CL_2	P-value	correction		
-909	G/G	18	0.21	37	0.28	0.69	0.36	1.28	0.2688	1.0000
	G/C	33	0.39	49	0.37	1.07	1.84	0.60	0.8861	1.0000
	C/C	34	0.40	46	0.35	1.25	2.29	0.74	0.473	1.0000
-832	A/A	8	0.09	9	0.07	1.42	3.76	0.52	0.606	1.0000
	A/G	27	0.32	47	0.36	0.84	0.46	1.47	0.6601	1.0000
	G/G	50	0.59	76	0.58	1.05	1.88	0.62	0.8886	1.0000
-162	A/A	0	0.00	1	0.01	0.00	-	-	0.9999	1.0000
	A/G	15	0.18	25	0.19	0.92	0.44	1.83	0.8593	1.0000
	G/G	70	0.82	106	0.80	1.14	2.36	0.58	0.1044	0.6264
-126	C/C	0	0.00	1	0.01	0.00	-	-	0.9999	1.0000
	C/G	15	0.18	25	0.19	0.92	0.44	1.83	0.8593	1.0000
	G/G	70	0.82	106	0.80	1.14	2.36	0.58	0.8592	1.0000
-108	C/C	16	0.19	37	0.28	0.60	0.30	1.13	0.1461	0.8766
	C/T	38	0.45	53	0.40	1.21	2.04	0.68	0.5734	1.0000
	T/T	31	0.36	42	0.32	1.23	2.30	0.73	0.5563	1.0000
55	T/T	75	0.88	109	0.83	1.58	3.57	0.73	0.3335	1.0000
	T/A	7	0.08	23	0.17	0.43	0.17	1.00	0.696	1.0000
	A/A	3	0.04	0	0.00	0.00	-	-	0.588	1.0000
192	A/A	6	0.07	7	0.05	1.36	4.10	0.43	0.7706	1.0000
	A/G	37	0.44	66	0.50	0.77	0.43	1.29	0.404	1.0000
	G/G	42	0.49	59	0.45	1.21	2.16	0.72	0.5773	1.0000

表 4

Hardy-Weinberg Probability Test 1

LOCUS	P-val	S.E	W&C	R&H	Matr
Control					
-----	-----	-----	-----	-----	-----
Microsat142	0.5901	0.0136	+0.033	-0.001	-
Microsat206A	0.1558	0.0125	-0.042	+0.020	-
Microsat206B	0.6762	0.0202	-0.059	-0.008	-
Microsat206E	0.5707	0.0167	-0.060	-0.010	-
Microsat391	0.5257	0.0174	+0.062	+0.007	-
Patients					
-----	-----	-----	-----	-----	-----
Microsat142	0.0138	0.0045	+0.211	+0.080	-
Microsat206A	0.3143	0.0250	+0.020	+0.006	-
Microsat206B	0.5883	0.0158	-0.039	-0.054	-
Microsat206E	0.3567	0.0225	+0.065	+0.004	-
Microsat391	0.8952	0.0026	+0.038	+0.011	-

表 5

Hardy-Weinberg Probability Test 2

LOCUS	P-val	S.E	W&C	R&H	Matr

--					
Locus909	0.0096	0.0009	+0.327	+0.330	-
Locus832	0.1640	0.0030	+0.173	+0.174	-
Locus162	0.5617	0.0024	+0.038	+0.038	-
Locus126	1	0.0000	-0.102	-0.103	-
Locus108	0.0924	0.0029	+0.214	+0.216	-
Locus55	0.2916	0.0023	+0.146	+0.148	-
Locus192	0.5840	0.0034	+0.085	+0.086	-
LOCUS	P-val	S.E	W&C	R&H	Matr

--					
Locus909	0.0048	0.0009	+0.218	+0.219	-
Locus832	0.8343	0.0019	+0.020	+0.020	-
Locus162	1	0.0000	-0.027	-0.027	-
Locus126	1	0.0000	-0.027	-0.027	-
Locus108	0.1316	0.0047	+0.122	+0.123	-
Locus55	0.3176	0.0030	+0.064	+0.064	-
Locus192	0.0238	0.0017	-0.172	-0.173	-

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. 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： Ecological Momentary Assessment(EMA)による 日常生活中での検討

東京大学大学院医学系研究科ストレス防御・心身医学

久保木富房

齊藤麻里子

熊野 宏昭

東京大学大学院教育学研究科身体教育学

小久保奈緒美

青柳 直子

大橋 恭子

山本 義春

「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」

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 :

Ecological Momentary Assessment(EMA)による日常生活中での検討

分担研究者 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

研究協力者 齊藤麻里子 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

小久保奈緒美 青柳直子 大橋恭子 山本義春

東京大学大学院教育学研究科身体教育学

研究要旨

【目的】 Multiple Chemical Sensitivity (以下 MCS) 患者に対して、診察室で症状の間診を行うと、身体症状の自覚はしている一方で、精神症状の自覚は乏しいことが多い。しかし、化学物質の負荷のある現実生活中での症状については問診時と異なっている可能性がある。本研究では、化学物質の負荷のある日常生活での患者の状態を、小型コンピュータなどを携帯することにより症状の経時的変化を評価する Ecological Momentary Assessment (EMA)の手法を用いて把握し、現実により近い MCS の病態を明らかにすることを目的とする。

【方法】 MCS 患者 16 名と健常者 12 名に対し、EMA の手法を用いて、化学物質の負荷のある日常生活の中で、症状の記録、心拍変動・体動の記録、Passive Sampling 法と Active Sampling 法による化学物質暴露量の測定を 1 週間連続で行った。

【結果】 MCS 患者の平常時と症状自覚時の身体症状・精神症状・認知機能・自律神経機能の経時的変化を記録することが可能となった。13 名の患者で Active Sampling 法で化学物質の関与が示唆された。症状自覚時には身体症状だけでなく抑うつ気分の自覚が有意に高かった。特に化学物質の関与が示唆された患者では抑うつ気分、身体症状の変化に相関が認められた。心拍変動については睡眠時は健常者群と有意差を認めなかったが、覚醒時には有意に LF/HF が低く、交感神経系の機能不全が示唆された。患者群では体動が持続しない、すなわちすぐに休んでしまう傾向が認められた。

【結論】 MCS 患者の症状自覚時には化学物質の負荷のない問診時と異なり抑うつ気分の自覚が著しかった。また、Active Sampling 法によって化学物質の反応が示唆された患者では症状自覚時に身体症状、抑うつ気分の双方が同時に高くなっていた。さらに、日常生活中心拍変動については交感神経系の機能不全が認められ、体動についてはすぐに休んでしまう傾向が認められた。EMA の手法を用いることによって、化学物質の負荷のある日常生活の状況では負荷のない状況では認められなかった身体・心理・行動的反応が認められることが明らかとなった。

A. 研究目的

1987年にCullenが提唱したMultiple chemical sensitivity (MCS; 多種化学物質過敏症)は多彩な症状を呈する。本邦では石川らにより診断基準が作成され、主症状として、1.持続あるいは反復する頭痛 2.筋肉痛あるいは筋肉の不快感 3.持続する倦怠感、強度の疲労感 4.関節痛 5.アレルギー性皮膚疾患、副症状として、1.咽頭痛 2.微熱 3.腹痛、下痢または便秘 4.羞明、目のかすみ、ぼけ、一過性の暗点出現 5.集中力、思考力の低下、記憶力の低下、物忘れ、健忘 6.感覚異常、臭覚・味覚異常、olfactory hallucination (臭気による幻覚) 7.精神症状：時に興奮状態、うつ状態、精神的な不安定、不眠 8.皮膚：アトピー、蕁麻疹、湿疹、皮膚炎症、アフター、かゆみ 9.月経過多、生理時疼痛、異常など、が挙げられている[1]。また、Millerにより化学物質過敏症の質問紙も作成され[2]、日本語版による評価も行われている[1]。

これらの症状のモニタリングは診察室、クリーンルーム、微量化学物質の暴露下などで行われているが、実生活の中で症状が出現した際に系統的な記録を行った報告はない。通常、診察室やクリーンルーム内で症状の聞き取りを行う際には、その時点で実際に症状が出現していることはそれほど多くなく、症状出現時のことを回想して答えてもらっていることの方が多いと思われる。また、自律神経機能などに対する検査を行う場合でも、症状が出現している時とそうでない時とでは当然差異があると思われる。そこで、微量化学物質の暴露下で、出現する症状の内容や自律神

経機能などの生理検査が行われているが、この場合はマスクングという現象が問題になる。マスクングとは、シックハウス症候群において日常的に複数の化学物質に暴露されている場合、新たに低濃度の化学物質の暴露を受けても反応が出にくくなるという現象のことであり[3]、そのために実生活の場面とクリーンルーム内での微量化学物質暴露下では症状の出方が異なっている可能性がある。(図1)

以上より、患者が日常生活の中で具体的にどのように苦しんでいるのか、またその際の心身の状態はどうかを明らかにするためには、実際に日常生活の中で記録する必要があるということになる。こういった発想は、実際に近年、慢性関節リウマチ、喫煙の問題、飲酒の問題、摂食障害などを扱う領域で、Ecological Momentary Assessment (以下EMA) という手法として具体化されてきている[4]。EMAは、1994年Stoneらにより、日常生活場面における症状の経時的变化を評価できるよう考案されたものであり[5]、質問紙または小型コンピュータを携帯することにより、症状が出現した際などにその場で質問に答えてもらう手法である。しかし、現在までにEMAの手法を用いてMCSを評価した研究の報告はない。

一方、生活場面における個人の化学物質暴露量と症状発症に関する化学物質については、Active sampling法とPassive Sampling法を組み合わせることによって特定できるようになってきている[6]。化学物質を特定するこのような方法とEMAの手法を組み合わせた研究の報告もない。

そこで、本研究では化学物質の負荷のある実生活の中で EMA の手法を用いて、化学物質暴露量を測定し、心拍変動・体動記録を 1 週間連続で記録すると同時に、症状出現時を含めて毎日 4 回程度生活活動内容、症状の強さ、感情状態、認知機能の評価を行うことにより、シックハウス症候群の生態学的な特徴を明らかにする。

B. 研究方法

〔対象〕(表 1)

1. 患者群: 北里研究所病院臨床環境センターのアレルギー科化学物質過敏症外来を受診し、シックハウス症候群と診断された患者 19 名に測定を導入したが、3 人は途中で記録を中止したため、16 名を患者群とした。このうち 1 名は機材の異常のため、心拍変動とガスサンプリングのデータのみ解析した。

2. コントロール群: 新改築 3 年以内の健常者 12 名をコントロール群とした。

3. 倫理面への配慮

本研究の実施に際しては、北里研究所病院倫理委員会の承認を得、参加者本人からはインフォームドコンセントを得た。すなわち、本研究の参加に先立ち、研究担当医師が研究参加への同意を説明文付きの同意書を用いて得た。説明項目は、以下のものであった。

- 1) 検査の目的。
- 2) 検査の内容。
- 3) 安全性及び考えられる不都合。
- 4) 参加の同意や中途での中止は本人の自由であり、それによって何ら不利益は受けないこと。ただし、器材は中断した場合

にも返却してもらうこと。

- 5) 本検査は研究段階のものであるため、検査に係る費用は研究者が負担すること。
- 6) 名前や個人が特定できる情報は、本研究結果の報告の際にも公表しないこと。
- 7) 結果は本人に知らせ、治療にも役立つこと。

〔装置〕(図 2)

- 1) ラピュータ (セイコー): 腕時計型、活動内容、症状、気分、認知機能評価装置。当初、ウレタン製のベルトがついていたが、純正の布のベルト (ナイロン) に変更した。このベルトの匂いに 1 名の患者が反応し、測定は中断となった。
- 2) AMX-720 (日本光電): ホルター心電図型、心拍変動 (心電図)・体動 (アクチグラフ) 記録装置。一週間連続で電極を装着するが、シックハウス症候群の患者はアレルギー性皮膚炎を合併していることが多いため、2 種類の電極シールを用意した。ビトロード D (日本光電) は一週間連続で装着できるタイプの電極シールで、貼ったままで入浴もできる。テープを剥がすという物理刺激と角質の除去される回数を減らすことで、かぶれにくくなっている。ビトロード F (日本光電) はゲルタイプの電極シールでこれは毎日交換する必要があるが、接着剤を使用していないので、角質を除去せず、かぶれにくい。この場合、上からテープをはる必要があるが、テープも優肌絆 (日東電工) というゲルタイプの接着剤を使用している角質の除去が少ないものを使用した。本研究

ではビトロード D で痒みを訴えた患者はいたが、ビトロード F に交換後は痒みを訴えることなく 1 週間測定を継続することができた。電極、テープともに匂いはないわけではないが、電極とテープの匂いのために測定を中断せざるを得なかった患者はいなかった。

- 3) 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH)カートリッジ (XPoSure, Waters Ltd., USA) 2 つ、Charcoal Tubes (standard type[8015-054], 柴田科学, Japan), Passive Gas Tubes(8015-066, 柴田科学, Japan)と携帯用ポンプ AirCheck2000 (SKC Ltd., USA.): 携帯ポンプでは化学物質の個人曝露量をアクティブ法とパッシブ方を組み合わせで測定できる。携帯ポンプのバッグは綿、ベルトの部分はナイロン製である。アクティブ法とパッシブ法のどちらも、カルボニル類(formaldehyde, acetaldehyde, acetone, propionaldehyde)の測定については DNPH カートリッジを用いた。VOC 類 (butanol, benzene, methyl iso butyl ketone, toluene, octane, tetrachloroethylene, buthyl acetate, ethylbenzene, m/p-xylene, styrene, nonane, α -pinene, 1,3,5-trimethylbenzene, 1,2,4-trimethylbenzene, decane, p-dichlorobenzene, 1,2,3-trimethylbenzene, limonene, undecane, nonanal, dodecane, tridecane, tetra-decane, pentadecane, hexadecane) についてはアクティブ法では Charcoal Tubes を用い、パッシブ法では Passive Gas Tubes を用いた。

[評価項目]

- 1) ラピュータで、場所、活動内容、身体症状、精神症状、認知機能を評価する。

場所と活動内容については図 4 のように選択肢から選ぶ。活動内容については、シックハウス症候群で症状が出現する場面となりやすい「印刷物に触る」「人が入って来た」「押入れなどを開ける」などの項目も選択肢に含まれている。

身体症状・精神症状については visual analog scale で入力する (図 5)。評価項目は身体症状については石川らの診断基準 [1]と EESI の日本語版[2]をもとにラピュータの画面に収まる短い言葉で表した。

精神症状については Depression and Anxiety Mood Scale (以下 DAMS) [7]の 9 項目をそのままの形で使用した。

認知機能は Continuous Performance Task (CPT) で評価した (図 6)。CPT はラピュータの画面上に 0 から 9 までの数字が 1 秒おきに出現し、直前に出現した数字と同じか異なるかを回答するテストである。正答率と反応時間で認知機能の評価を行う。

- 2) AMX-720 で、心拍変動及び体動を評価する。
- 3) 携帯ポンプで一週間の化学物質総曝露量と症状出現時の化学物質曝露量を評価する。何らかの化学物質に反応し、症状が出現したときには携帯ポンプのスイッチを入れ、化学物質から離れて症状が落ち着きはじめたら、スイッチを切ってもらう。アクティブ法とパッシブ法で測定さ

れた物質を比較することによって、患者がどのような化学物質に反応しているのかがわかる。

〔方法〕(図3)

・患者群：

機材の装着に先立ち、精神疾患の合併の有無を評価するため、精神疾患簡易構造面接法(M.I.N.I.; Mini International Neuropsychiatric Interview) [8]を行った。

1週間のうちに機材を装着するのが困難となるような行事が特にないことを確認したあと、機材の装着を依頼した。これは旅行に行くなど、日常と違う環境で測定すると、暴露する化学物質や症状の出方に違いがあると思われることと、正装をする場合などは機材を装着するのがふさわしくないためである。

入浴時以外は常にラピュータと AMX-720 とポンプバッグを携帯するよう依頼した。

ラピュータでは午前午後1回アラーム音が鳴った時と症状出現時に、すべての項目に回答してもらった。AMX-720 で心拍と体動を記録するとともに、アクティブ法とパッシブ法によって1週間の総暴露量と症状出現時の暴露量を測定した。

・コントロール群：

患者群と同様に M.I.N.I.を行った後、AMX-720、ラピュータ、パッシブ法のサンプラーを装着し、1週間の心拍と体動の記録と1週間の総暴露量の測定を行うとともに、ラピュータのすべての項目に1日4～5回答してもらった。

C. 研究結果

1. M.I.N.I.の現在および過去の診断(表2)

患者群の A-1 においてパニック障害、A-8 で社会不安障害、A-9 で大うつ病、A-12 で大うつ病と強迫性障害、A-13 でパニック障害の既往が認められた。パニック障害とは突発的な不安発作を繰り返す病態である。A-6～9 と A-11, A-14～17 の9名はパニック障害の診断基準のうち、パニック発作の基準は満たしているが、化学物質の関与による発作であるためパニック障害の診断はつかない。

2. 微量ガスサンプリング(表3)

患者群では A-1,3,4 以外の13名で、パッシブ法よりもアクティブ法で高い濃度を示す物質が認められた。これらの患者のうち、A-15 以外の12名ではカルボニル類でも VOC 類でも反応している可能性があることが示された。

特に A-3 と4では症状が慢性化しており、1週間の測定中に症状が悪化する機会が少なかったためアクティブサンプリングをする機会がなかった。しかし、パッシブサンプリング法による1週間を通しての化学物質の暴露量は少なく、化学物質全般に対して回避していることがうかがわれた。

3. 患者群における症状・認知機能の変化(表4)

患者群で症状がない状況でアラームがなったときと症状が出たときの各指標の得点の違いについて t 検定を行った。A3,4 では1週間の間にほとんど症状を自覚する場面がなかったため評価できていない。10名の患者で身体症状が有意に変化しているだけでなく、8名の患者で抑うつ症状も有意に変化していた。

CPT 正答率は3名で有意に変化していた。CPTの反応時間が変化した患者はいなかった。

4. 各患者の測定指標間の相関 (表 5)

化学物質の関与が認められていた12名の患者のうち10名で身体症状と抑うつ気分の得点に高い相関を認めたが、化学物質の関与が直接示唆されなかった3名では有意な相関を認めた者はいなかった ($p=0.022$ 、フィッシャーの直接確率検定)。その一方で、身体症状と不安の得点には相関を認めた患者は11人中3人と3名中0名で、抑うつ気分と不安の得点に相関を認めたものは11名中8名と3名中0名であったが、有意な相関を認めた人数の割合に有意差は認められなかった。

5. 各健常者の測定指標間の相関 (表 6)

半数の健常者で身体症状と抑うつ気分の得点に相関を認めた。抑うつ気分と不安の得点に相関を認めた健常者も半数であった。

6. 心拍変動(表 7)

患者16名と比較的ノイズの少なかった健常者6名について1週間のうち1日目の睡眠時と、2日目の覚醒時の心拍変動についてスペクトル解析を行った。

Mann-Whitney 検定で検討したところ、睡眠時では健常者とのちがいは認められなかったが、覚醒時では交感神経系の優位性の指標である LF/HF は患者群で有意に低くなっていることが示された。また、アクティブ法で化学物質の関与が示された患者と健常者を比較したところ、さらに有意に覚醒時の LF/HF が低下していた。以上と副交感神経系の指標である HF に有意差が認められないことより、交感神経系の機能不全が示唆された。

7. 体動 (図 7)

体動については Detrended fluctuations analysis[9]で解析した。この方法では単位時間あたりの体動をその前後の体動の値との自己相関を計算することによって、活動が持続しているかどうかを見ることができる。横軸の α が相関を表しているが、パラメーターの都合上、0.5 が全く相関がなく、それより大きければ正の相関が高い。つまり、横軸の α が大きいほうが活動が持続しており、小さい方が動作が長続きしないということがわかる。

Constant routine (CR) は今回募集した健常者とは別の健常者7名に1週間最小限の活動をさせたときの体動で、regular daily routine (RDR) は健常者5名に普通に生活してもらったときの体動である。今回解析できた MCS 患者5名はちょうど CR と RDR の間にあり、活動が持続していない、つまりすぐに休んでしまうという傾向が認められた。

D. 考察

1. 精神疾患の合併について

本研究では10人にパニック発作が認められ、その内1人の患者でパニック障害の診断がつき、さらに別の1人の患者でパニック障害の既往があった。

パニック発作は強い恐怖または不快を感じる発作で

- (1) 動悸、心悸亢進、または心拍数の増加。
- (2) 発汗。
- (3) 身震いまたは震え。
- (4) 息切れ感または息苦しさ。
- (5) 窒息感。

- (6) 胸痛または胸部不快感。
- (7) 嘔気または腹部の不快感。
- (8) めまい感、ふらつく感じ、頭が軽くなる感じ、または気が遠くなる感じ。
- (9) 現実感消失、または離人症状（自分自身から離れている感じ）。
- (10) コントロールを失うことに対する、または気が狂うことに対する恐怖。
- (11) 死ぬことに対する恐怖。
- (12) 異常感覚（感覚麻痺またはうずき感）。
- (13) 冷感または熱感。

のうち4項目以上が突然に発現し、10分以内にピークに達するというものである。

パニック障害はこのパニック発作が予期しない状況で繰り返し起こり、そのためまた発作が起きるのではないかという不安が1ヶ月以上続き、物質や身体疾患によるものではないということが診断基準となっている。

パニック発作が起きると発作が起きても助けの求められないような場所や発作が起きると恥をかく可能性がある状況を恐れ、避けるようになる場合があり、これは広場恐怖と呼ばれている。

シックハウス症候群では化学物質の暴露の直後にパニック発作を起こす者があり、化学物質に暴露しそうな状況を避ける行動と、パニック障害で広場恐怖が生じたときの場所や状況を避ける行動は類似している。

シックハウス症候群とパニック障害は似た病態を示すのではないかという仮説から、パニック障害を誘発するとされる乳酸ナトリウムの点滴や高濃度二酸化炭素の吸入をシックハウス症候群の患者に行い、健常者群よりも

高率にパニック発作が誘発されたとの報告がある[10][11]。

本研究でパニック発作が認められた10例のうち9例では、いずれも化学物質の関与がある状況での発作であったため、パニック障害の基準は満たさなかった。また、化学物質の暴露を受けそうな状況を避ける行動は広場恐怖と類似していた。仮に、これらの患者が化学物質の関与がある状況だと感じている場所が、実際には化学物質の関与がなかったとすると、この9例はパニック障害の診断基準も広場恐怖の基準も満たすこととなる。

しかし、微量ガスサンプリングの結果から、この9例ではカルボニル類にもVOC類にも反応している可能性があることがわかり、やはり、パニック障害ではなくシックハウス症候群であるということを支持する結果となった。

2名で大うつ病の合併を認めた。このうち1人(A-12)は強迫性障害も合併しており、1週間の測定を続けることができず、中断している。この患者は現在、心療内科でも治療を行っている。さらに、1名が社会不安障害を合併していた。社会不安障害はその人自身が不合理であるとわかっていながらも、よく知らない人の前で注目を浴びるかもしれないような状況を恐れ、回避し、社会活動などが障害される疾患である。

辻内ら[12]によればシックハウス症候群において身体表現性障害の合併が63%におよんでいるが、今回用いた構造化面接では身体表現性障害の項目がないため評価できなかった。

2. 身体症状・精神症状の変化

アラーム時と症状自覚時との身体症状・抑うつ気分の差が有意であった10名はすべてアクティブ法で化学物質の関与が示唆された患者であった。一方、アクティブ法で化学物質の関与が示唆されなかった3名ではアラーム時と症状自覚時との身体症状・抑うつ気分の差はあるとはいえなかった。さらに、身体症状・精神症状の変化に相関が認められたのもアクティブ法で化学物質の関与が示唆された10名であった。

シックハウス症候群では精神疾患の合併が多いにもかかわらず、症状がないときのクリーンルームでの問診では不安・抑うつなどの精神症状の自覚に乏しい傾向にある[12]。

本研究では化学物質の関与が示唆された患者では症状自覚時に身体症状だけでなく、抑うつ気分の得点も有意に高くなっていることから、クリーンルームなどで症状を自覚していない状況で症状が悪化したときのことを想起することは困難であるが、実際の症状自覚時の抑うつ気分の程度は高いということがわかった。

3. 認知機能検査

シックハウス症候群やMCSにおける認知機能検査の先行研究では反応速度を評価するSimple Visual Reaction Time、注意力を評価するDigit Symbol、短期記憶を測定するCalifornia Verbal Learning Test(CVLT)などで健常者群との間で有意差を認めている[13][14][15][16][17]。

しかし、これらの認知機能検査はコンピュータの画面で操作することが難しいため、コンピュータの画面でできる認知機能検査として

CPTを採用した。CPTは反応速度、短期記憶の両方を評価できる。

本研究では症状自覚時には3名で正答率が下がっていたが、反応時間については変化しているとはいえなかった。

4. 心拍変動について

本研究では睡眠時では健常者とのちがいはほとんどなかったが、覚醒時では交感神経系の優位性の指標であるLF/HFが患者群で有意に低くなっていることが示され、アクティブ法で化学物質の関与が示された患者ではその傾向がさらに顕著であった。これらの結果から交感神経系の機能不全が示唆された。シックハウス症候群の類似疾患として注目されている慢性疲労症候群の中で起立性低血圧を来す群でも同様の結果が得られており[18]、今後MCSの病態と起立性低血圧との関連を検討することが望まれる。

5. 体動

本研究では患者群で体動が持続しない、つまり、すぐに休んでしまうという傾向が認められた。この結果も慢性疲労症候群で得られた結果と同様であり、両者の類似性を示唆する結果となった[19]。

6. シックハウス症候群においてEMAで評価することの意義と問題点

本研究では被験者には一週間連続で機材を持ち歩いて測定してもらうため、化学物質の暴露の仕方が異なると予想されるような旅行や機材を装着したまま出席するのは困難な結婚式などの日常的でない行事がない1週間を選んで測定をしてもらっている。このような注意をはらっても、感冒のため測定できなく