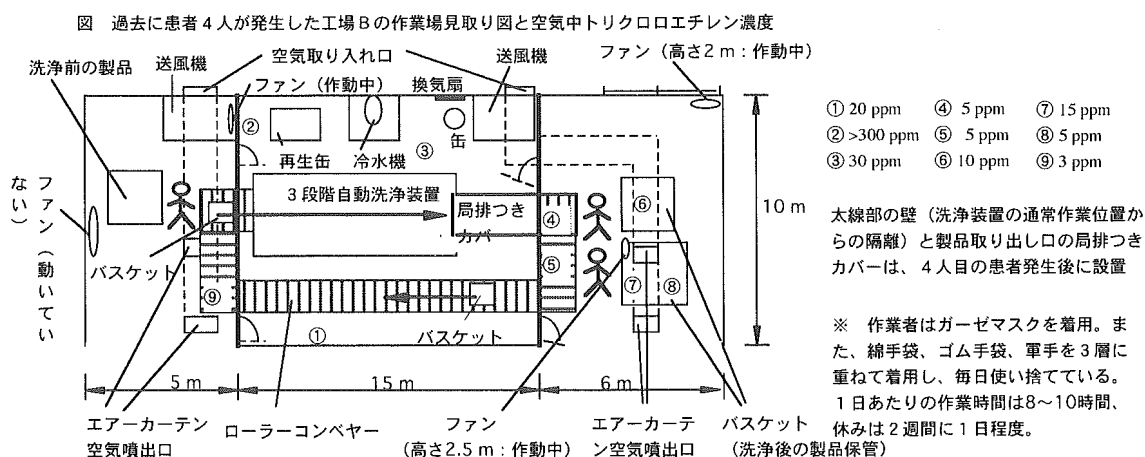


し口の改良と洗浄機の完全別室化を行った。調査時、トリクロロエチレン濃度は取り出し口で 5 ppm、洗浄機周囲で 20~300 ppm 超であった。工場 C ではプレス成型の離型剤としてトリクロロエチレンを使用し、11 月に剥脱性皮膚炎患者が発生した。調査時、15~18 名の作業者の呼吸域のトリクロロエチレン濃度は 8~30 ppm であった。工場 D では、ブース内でプリント基板をブラシ洗浄する作業者が 4 月に剥奪性皮膚炎を発症した。調査時、トリクロロエチレン濃度は 2.5~45 ppm であった。工場 C、D ともに作業者は防毒マスク、手袋を未着用で、溶剤への皮膚接触もみられた。

作業中の自覚症状は、粘膜刺激症状に加え、より高濃度曝露の症状と考えられる眠気や頭の浮遊感のみられる例があった。尿中代謝物は、患者では作業後採尿まで最大 8 日間経過していたが、半減期がトリクロロエタノールに比べ長く蓄積性の高いトリクロロ酢酸の高値が目立った。また、患者と同一工程従事者では、20 人中 16 人で本学会が作業週の後半の 25ppm 相当値として定める生物学的許容値 50mg/l を超え、うち 9 人が 2 倍以上の値を示した。代謝物にしめるトリクロロ酢酸の割合は、曝露後時間が経過した患者尿で高く、同一工程従事者では概ね 50%前後だったが個人差が大きく認められた。



D. 考察

12 月のトリクロロエチレン濃度は、一部で高い場所があるものの、概ね 10~40 ppm 程度であった。防毒マスクは未着用だった。研究開始当初は、空中トリクロロエチレン濃度が低く曝露量が少ない者にも発生し、曝露と発症との量反応関係が乏しいと考えていたが、代謝物量から見ると発症者を含む作業者群は日本産業衛生学会が定める生物学的許容値以上の曝露を受けていることが強く示唆された。また、患者、同一工程従事者ともトリ

クロロ酢酸排泄の多い者が目立ち、これが、個体の代謝能または曝露形態の特徴を反映したもののなのか、今後検討する必要がある。

3. 研究発表

1) 論文発表

Michihiro Kamijima, Kiyoshi Sakai, Eiji Shibata, Tetsuya Yamada, Seiichiro Itohara, Hiroyuki Ohno, Ritsuko Hayakawa, Mariko Sugiura, Ken-ichi Yamaki, and Yasuhiro Takeuchi. 2-Ethyl-1-hexanol in indoor air as a possible cause of sick building symptoms. J Occup health 2002 ; 44 : 186-191

久永直見、城内博、兪小忠、小川康恭、毛利一平、上島通浩、市原学、柴田英治、竹内康浩。
トリクロロエチレンおよびテトラクロロエチレンに曝露された労働者に発生する急性肝炎を伴うスチーブンス・ジョンソン症候群。産業衛生学雑誌 44 ; 33-49 : 2002

2) 学会発表

上島通浩、酒井 潔、柴田英治、山田哲也、糸原誠一郎、大野浩之、王 海蘭、市原 学、竹内康浩。2-エチル-1-ヘキサノールによると考えられたシックビルディング症候群。第72回日本衛生学会 2002年3月26-29日、津。(日衛誌 2002; 57 : 290)

柴田英治、上島通浩、酒井 潔、大野浩之、山田哲也、糸原誠一郎、竹内康浩、那須民江。
室内環境中の2-エチル-1-ヘキサノール。平成14年度室内環境学会総会 2002年12月19-20日、東京都。(室内環境学会誌 2002; 5 (2) 142-143)

酒井 潔、上島通浩、柴田英治、大野浩之、糸原誠一郎、竹内康浩、那須民江。2-エチル-1-ヘキサノールによる室内空気汚染 第1報 室内濃度と発生源の推定。第73回日本衛生学会 2003年3月26-29日、大分。(日衛誌 2003; 58 : 185)

柴田英治、上島通浩、酒井 潔、大野浩之、市原 学、山田哲也、糸原誠一郎、竹内康浩、那須民江。2-エチル-1-ヘキサノールによる室内空気汚染 第2報 換気による濃度変化。第73回日本衛生学会 2003年3月26-29日、大分。(日衛誌 2003; 58 : 186)

上島通浩、柴田英治、酒井 潔、大野浩之、石原伸哉、安藤かおり、池田優子、山田哲也、市原 学、那須民江. 2-エチル-1-ヘキサノールによる室内空気汚染 第3報 季節による濃度変化と自覚症状. 第73回日本衛生学会 2003年3月26-29日、大分. (日衛誌 2003; 58:186)

4. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

該当無し

X. 室内有害化学物質の代謝と毒性

名古屋大学大学院医学研究科環境労働衛生学	那須	民江
千葉大学大学院医学研究部公衆衛生学	羽田	明
信州大学大学院医学研究科移植免疫感染症学	高本	雅哉

室内有害化学物質の代謝と毒性

分担研究者 那須民江 (名古屋大学大学院医学研究科環境労働衛生学)
協力研究者 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)

はじめに

ホルムアルデヒドは合板の糊の防腐剤として使われ、一般生活環境に広く分布している化学物質である。発がん性（鼻腔扁平上皮がん）、肝毒性等の職業病として重要視されていたが、最近はこの室内汚染によるシックハウス症候群あるいは化学物質過敏症として、一般生活環境での問題が注目されるようになった。これらの最近の話題は、従来は安全とされた濃度で症状が出ているということである。即ち人によって感受性が異なり、低濃度のホルムアルデヒドにも過敏に反応する者がいることが想定される。

日本人のアルデヒド脱水素酵素 2 (ALDH2) には多型が見られ（活性型ホモ接合体、ALDH2*1/*1 型；活性・不活性ヘテロ接合体、ALDH2*1/*2 型；不活性ホモ接合体、ALDH2*2/*2 型）がある。ホルムアルデヒドもこの代謝酵素で代謝される。即ち、シックハウス症候群あるいは化学物質過敏症にホルムアルデヒドが関与している場合、この遺伝子多型が感受性の差異に関与している可能性がある。

申請者らは抱水クロラールで ALDH の活性を低下させた（人工的に ALDH2 の不活性型にした）ラットに 0.1% のホルムアルデヒドを 10 ヶ月投与した。するとホルムアルデヒドの肝障害と精巢の Leydig 細胞の過形成が抑制された。これはホルムアルデヒドの毒性に ALDH2 の遺伝子多型が関与していることを示唆するものである。

一方、フタル酸エステル類はプラスチック可塑剤として汎用されている物質である。室内有害化学物質の一つとして、厚生労働省より室内指針値が提案されている物質でもある。この化学物質は PPAR α のリガンドとなり、発がん等の様々な影響を与える。これまで多くの毒性影響が PPAR α との関わりにおいて検討されてきたが、代謝との関わりにおいて検討されていない。代謝はその物質の内部曝露量を支配することから、毒性を考える上で必須である。

本年度は、以下の 3 点を目的として実験計画をたてた。1) ALDH2 ノックアウトマウスを作成する（担当羽田）。予備実験として、ホルムアルデヒド、ビスフェノール A、フタル酸エステル類の免疫毒性実験（担当高本）、フタル酸エステル類の代謝の検討（担当那須）を行う。次いで、作成した ALDH2 ノックアウトマウス動物を用いて、ALDH2 のホルムアルデヒドの毒性発現への関与を検討し、ALDH2 遺伝子型のシックハウス症候群や化学物質過敏症への関与を考察する。

フタル酸ジ-2-エチルヘキシル (DEHP) の代謝の種差とリスク評価への応用

要旨

フタル酸ジ-2-エチルヘキシル(DEHP)の代謝の種差を検討する為に、ラット、マウス、マーモセットの肝、肺、腎、および小腸の lipase、UDP-glucuronyltransferase (UDPGT)、CYP4A、アルコール脱水素酵素(ADH)、アルデヒド脱水素酵素(ALDH)の活性あるいは酵素量を測定した。

- 1) Lipase 活性に種差(22~148 倍)が見られた。Lipase 活性はどの動物においても肝臓や小腸において最も高かった。肝、小腸、腎の lipase 活性はマウスにおいて最も高く、次いでラット、マーモセットの順であった。肺の活性は最も小さく、種差も小さかった。
 - 2) MEHP の UDPGT 活性はマウス、ラット、マーモセットの順で高く、その差は 2 倍であった。しかし、リパーゼの活性の種差に比べるとかなり小さかった。
 - 3) CYP4A はラット肝で発現していた。しかしマウスとマーモセット肝における発現は同じ条件下では観察されなかった。
 - 4) ADH 活性はどの種においても肝の活性が最も高かった。ADH 活性にも種差が認められ、lipase や UDPGT と異なり活性はマーモセット肝において最も高く、1.6~3.9 倍であった。
 - 5) ADH 同様に ALDH 活性はどの動物種においても肝の活性が最も高かった。種間の比較をした場合、ALDH の活性はラットあるいはマーモセットにおいて高かった(2~14 倍)。
- 以上の結果は DEHP の代謝には種差があり、特に lipase 活性の種差が大きいことを示す。

はじめに

Di(2-ethylhexyl)phthalate(DEHP、CAS-No.117-81-7)は *o*-フタル酸のジエステル化合物(分子量=390.56)で、ポリビニルクロライド(PVC)製品の可塑性や弾力性を増強するために、10~60%(w/w)程度使用されている。可塑剤としての優れた性能や高い経済性、原料の供給体制が整っていることから、全可塑剤生産の約6割を占めている。

DEHPは体内に吸収されると、まずリパーゼにより加水分解され、モノエステル体(mono(2-ethylhexyl)phthalate、MEHP)と2-エチルヘキシルアルコール(2-EH)になる。MEHPの一部はUDP-glucuronyl transferase (UDPGT)によりグルクロン酸抱合され尿中又は糞中に排泄する。残りの部分はCYP4Aにより ω あるいは $\omega-1$ 酸化され、さらにアルコール脱水素酵素(ADH)、アルデヒド脱水素酵素(ALDH)の触媒作用によりジカルボン酸となり、 β 酸化系にはいっていく。一方、2-EHはADHおよびALDHの作用によりカルボン酸(主として2-エチルヘキサン酸、2-EHA)となり、MEHPと同様に β 酸化系に入っていく¹⁾。

Peroxisome proliferators-activated receptor (PPAR)は核内ステロイドホルモン受容体の一種で、生体のエネルギー代謝や細胞内脂質の恒常性の維持、ミトコンドリアの機能維持、等役割は多岐にわたる。DEHPのモノおよびジカルボン酸代謝物はこのPPARのサブタイプの一つであるPPAR α に配位し、その標的遺伝子産物の発現に様々な影響を及ぼすことが想定される。すなわち、DEHPの毒性は親物質より代謝物に依存している。従ってDEHPの毒性発現機構を明らかにする為には、まずそのキネティクスを明らかにする必要がある。

過去に行われた研究においてDEHPの代謝の種差が検討されているが²⁾⁵⁾、lipase活性の種差が検討されているのみである。この論文ではマウス、ラット、マーモセットの肝、小腸、腎、肺におけるDEHPの5種の代謝酵素(lipase、UDPGT、CYP4A、ADH、ALDH)の活性又は発現量を測定し、種差と臓器による差異を明らかにした。

研究方法

1) 実験動物

実験動物は全て信州大学中央実験動物施設の動物実験に関するガイドラインに従って行った。チャールズリバー社から購入したマウス (CD-1) とラット (SD) は 10 週齢の雄を用いた。マーマセットの臓器は三菱化学安全科学研究所の倉田氏より供与された。雄のマーマセットは 18 ヶ月齢に解剖した。解剖は CO₂ 麻酔下で行い、肝、腎、肺、小腸を摘出し、使用まで -85°C 下で保存した。

2) リパーゼ活性の測定

それぞれ組織に 3 倍容量の緩衝液 (0.25M sucrose を含んだ 10mM phosphate buffer pH7.4) を加えてホモジネイトした。肝臓に関しては所定の方法でマイクロソーム分画を調整し、この分画における lipase 活性も測定した。それ以外の臓器(小腸、肺、腎臓)についてはマイクロソーム分画が必要量得られなかったため、ホモジネイトを酵素源として使用した。buffer、100 μ g タンパク量 of the マイクロソーム (Ms) 又は homogenate、5 μ l の 100mM DEHP ethanol solution (final 1mM) を加え final を 0.5ml とした。この反応混合液を 37°C で 10 分 incubation した。Incubation 終了後 1N HCl を 120 μ l 加え反応を止めた。その後酢酸エチル 1mL を 2 回加え振とうし、酢酸エチル層を採取して遠心濃縮した。この条件下での MEHP の抽出率は 68~93% とバラツキがあった為内部標準で補正を行った。抽出された MEHP は Wahl らの方法⁶⁾に従い測定した。このバイアル瓶にジーエルサイエンス社製 N-Methyl-N-(tert-butyl dimethylsilyl) trifluoroacetamide (MTBSTFA) を 20 μ l 加え、室温に放置(60分)して MEHP のシリル化誘導体を作成した。DEHP の代謝物 MEHP を GC/MS で測定した。内部標準としては和光純薬工業株式会社製 100 μ M trans-Cinamic acid を 50 μ l 用いた。この条件下で Lipase 活性値は酵素量 100 μ g まで、incubation time は 60 分まで比例することを確認した。MEHP のシリル化誘導体の検出限界はであった。ガラス器具は全て 200°C、2 時間以上加熱後用いた。

3) UDPGT 活性の測定

所定の方法でマイクロソーム分画を調整し、酵素源として使用した。MEHP の UDPGT 活性は Sjoberg らの方法⁷⁾に従い、HPLC を用いて行った。

4) CYP4A

肝のホモジネイトを用いて所定の方法で電気泳動用 Sample を調整した。その 20 μ g 蛋白量を 10% ポリアクリルアミドゲルに添加し、電気泳動した。その後 Western blot を行い、一次抗体に抗ウサギ CYP4A 抗体を用いて CYP4A の発現の種差を見た。

5) ADH と ALDH の測定

ADH 活性は cytosol 分画を、ADH 活性はミトコンドリアとポストミトコンドリアの分画を用いて Wang らの方法⁸⁾に従い測定した。MEHP のアルコールおよびアセトアルデヒド代謝物の標準品が入手できなかった為、構造が類似している 2-POET と同じ理由で

3-Phenylpropionaldehyde を ALDH の基質として用いた。

6) 蛋白の測定

サンプルの蛋白測定は Protein Assay(Bio-Rad 社)キットを用いて測定した。

6) 統計

Tukey-Kramer の HDS 検定を使って多重比較を行った。

結果

1) Lipase 活性

Fig.1 に示すように肺以外のどの臓器で比較しても lipase 活性はマウスにおいて最も高く、マーモセットにおいて最も低かった。臓器別にみると lipase 活性はマウスでは小腸において最も高かったが(マーモセットの 148 倍)、ラットとマーモセットにおいては肝が最も高かった。腎における lipase 活性はどの動物種においても小腸又は肝と肺の間であった。肺の lipase 活性はどの動物種においても最も低く、マウスとマーモセットの間に活性の差は認められなかった。

2) UDP-glucuronyl transferase

MEHP のグルクロン酸抱合活性は肝ミクロソームに検出された。

活性の大きさはマウス、ラットが高くマーモセットは低く、マウスを 100%とするとラットが約 77%、マーモセットが約 38%であった(Fig.2)。

3) CYP4A

CYP4A はラットの肝に発現していたが、マウス、マーモセットでは同じ分析条件下では見られなかった。

4) ADH

Table1 に示すように、2-EH を基質とした場合、どの臓器においてもマーモセットが最も高かった。2-POET を基質とした場合は、小腸ではラットが最も高く、肝臓においてはマーモセット以外の動物種では検出できなかった。どの基質を用いた場合でも、臓器別に見ると肝臓の活性が最も高かった。

5) ALDH

Table2 に示すように、2-Ethylhexanal を基質とした場合はラットやマーモセットが高く、マウスの活性は低かった。3-Phenylpropionaldehyde を基質とした場合の活性はマーモセットが最も高くラット、マウスの順であった。臓器別に見ると肝臓が比較的高いが、マーモセットの小腸で非常に高い活性が認められたことが注目される。

考察

今回検討した DEHP の主な酵素活性に種差が見られた。種差が最も大きかったのは lipase で、活性が一番高いマウスと一番低いマーモセットの間には最大で 150 倍の差が認められた。UDPGT の活性もマウスが最も高く、マーモセットとの間に倍の差が認められた。興味深いのは ADH、ALDH の活性で、これらの活性はマーモセットが最も高かった。しかしこの種差は lipase の種差に比べると小さく、2~14 倍であった。

これらの結果より、DEHP 代謝種差の一番の原因は DEHP 代謝の最初の過程である lipase 活性の違いであると考えられる。この lipase の活性の種差により、毒性発現に深く関わる MEHP の内部曝露濃度に種差が生じる。DEHP の様々な毒性発現は核内受容体の PPAR α に依存している場合⁹⁾が多く、この誘導性が問題視されている。PPAR α の誘導は DEHP ではなく、MEHP 等の代謝物によるが、この転写活性化にも大きな種差^{10)・13)}が見られる。この種差の一因として PPAR α 発現の種差が論じられているが今回の結果から lipase をはじめとする DEHP の代謝酵素の種差も DEHP による PPAR α 誘導に関連し、PPAR α を介した毒性の種差に影響してくるのではないかと考えられる。

臓器別に比較すると、lipase 活性が高いのはどの動物種においても小腸と肝であった。マウスの小腸の lipase 活性は特に高く、ラットの 10 倍以上の活性が認められた。マウスにおいて経口的に摂取した DEHP は、MEHP に速やかに加水分解され、体内に吸収されていくと考えられた。ラットの場合、餌の DEHP の濃度が 0.43% を越えると未分解の DEHP の肝中濃度上昇するが、マウスではこのような現象は観察されないと報告²⁾は今回の我々の結果から説明できる。またマーモセットの消化管からの DEHP 吸収量がラットよりも少ないとの報告³⁾や、経口曝露においてマーモセットやサルでは生殖毒性が得られなかったという報告^{13)・14)}は今回の lipase 活性の結果から一部裏づけされた。

肺の lipase 活性はどの種でもかなり低く、マーモセットの肺では活性が検出されなかった。この結果は経気道曝露の場合 DEHP から MEHP への分解はたった 1% であるという報告¹⁵⁾と一致している。すなわち、経気道的に曝露された DEHP は肺では分解され難いため肺から MEHP の形で吸収される割合は低いのであろう。経口的に投与された DEHP はラットにおいて生殖毒性を示すが、1 日 6 時間を週 5 日 4 週間 0~1.0mg/L の DEHP 吸入曝露させた場合 fertility への影響は得られなかったという報告¹⁶⁾はここに原因があるのではないだろうか。経気道的な曝露は、経口摂取に比べて、ラットとマウスの種差も小さいのではないかと考えられる。

MEHP が尿中に排泄される過程で働く UDPGT 活性はマウス、ラットが高く、マーモセットは前者二種に比べ低かった。しかし以前の報告によると、ラットでは UDPGT 代謝物は検出されず^{3)・5)}、マウスでは 60-65%^{2)・4)}、霊長類では 80%^{2)・3)}、ヒトでは 65-80%^{2)・3)・17)}といずれも高く今回の結果と矛盾する。今後検討を要す。

MEHP の ω 、 ω -1 酸化を触媒するのは肝および腎に局在する CYP4A である。抗 CYP4A の免疫性に種差が存在しないと仮定した場合、CYP4A の発現量はラットが最も高く、マウス、

マーモセットはほぼ同じであった。従って、ラットではマウスやマーモセットに比べて ω 、 ω -1酸化が起りやすいと考えられる。

ADH と ALDH は DEHP の加水分解により生成した MEHP の CYP4A による代謝後の代謝と 2-EH の両代謝経路の反応に関わっている¹⁾。注目すべき点は、前述のとおり lipase、UDPGT、CYP4A とともに小動物の活性が高かったが、ADH の活性は脂肪族のアルコール(2-EH)が基質の場合も、芳香族アルコール(2-POEH)が基質の場合もマーモセットが最も高かった。特に、後者の場合、ラットやマウスでは活性は検出されなかった。ALDH の活性は、マーモセット、ラットにおいて高値を示した。特に基質が 3-Phenylpropionaldehyde の場合は、ADH 活性同様、霊長類であるマーモセットが最も高かった。ヒトが霊長類に近い場合、これらの活性はヒトの方がマウス、ラットよりも高いかもしれない。

また肺の ADH、ALDH 活性は小腸、肝臓に比べて低値であることから、やはり経気道的に曝露された DEHP がジカルボン酸にまで代謝される可能性は低い。

以上をまとめると、DEHP の代謝には明らかに種差が存在し、外部からの曝露量と、実際の内部曝露量の比が異なっていることが考えられる。PPAR α のリガンドとなる MEHP やジカルボン酸の濃度は小動物の方が高いことが予想される。従ってヒトの代謝がどの種に近いものであるかをよく検討した上でリスク評価を行っていかなくてはならないだろう。また臓器間にも明らかに差異があり、曝露経路により代謝活性が異なることも考慮が必要である。実際、マウスとマーモセットの DRHP 曝露後の肝の MEHP 濃度を比較すると、マーモセットの肝 MEHP 濃度がマウスと等しくなるのに、10 倍の DEHP 投与量が必要ということになる (Fig. 3)。

結論

DEHP の代謝に明らかな種差が見られる。特に DEHP が MEHP に加水分解する過程で働く lipase 活性の種差が大きい。外部曝露量を基準に考えてきた今までのリスク評価方法ではなく、内部曝露量で毒性評価をするべきであると考えられる。つまり、ヒトの DEHP の代謝がマーモセットに類似している場合、ラットやマウスのデータからのリスク評価に注意が必要である。また主たる曝露経路を特定した上でリスク評価を行うべきである。

参考文献

- 1) Albro PW and Lavenhar SR. Metabolism of di(2-ethylhexyl)phthalate. *Drug Metab Rev.*21, 13-34
- 2) Albro PW, Corbett JT, Schroeder JL, Jordan S and Matthews HB. Pharmacokinetics interactions with macromolecules and species differences in metabolism of DEHP. *Environ Health Perspect* 45,19-25,1982
- 3) Rhodes C, Orton TC, Pratt IS, Batten PL, Jackson SJ and Elcombe CR. Comparative pharmacokinetics and subacute toxicity of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) in rats and marmosets: extrapolation of effects in rodents to man. *Environ Health Perspect* 65.299-307,1986
- 4) Albro PW. Absorption, metabolism, and excretion of di(2-ethylhexyl)phthalate by rats and mice. *Environ Health Perspect.*65, 293-298, 1986.
- 5) Albro PW, Tondeur I, Marbury D, Jordan S, Schroeder J and Corbett JT. Polar metabolites of di-(2-ethylhexyl) phthalate in the rat. *Biochem Biophys Acta* 18, 288-292, 1983
- 6) Hans Günther Wahl, Qunfa Hong, Dolores Stübe, Martin E. Maier, Hans-Ulrich Häring, Hartmut M. Liebich. Simultaneous analysis of the di(2-ethylhexyl)phthalate metabolites 2-ethylhexanoic acid, 2-ethyl-3-hydroxyanoic acid and 2-ethyl-3-oxohexanoic acid in urine by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of chromatography B*, 758(2001)213-219
- 7) Sjoberg P, Egestad B, Klasson-Wehler E, Gustafsson J. Some enzyme characteristics and inhibition by bilirubin. *Biochem Pharmacol.*41,1493-1496,1991
- 8) Rui-Sheng Wang, Tamie Nakajima, Takeshi Honma. Trichloroethylene inhibits aldehyde dehydrogenase only for aliphatic aldehydes of short chains in rats. *Toxicology* 132,9-18,1999
- 9) Ward JM, Peters JM, Perella CM, Gpnzalez FJ. Receptor and nonreceptor +mediated organ-specific toxicity of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in peroxisome proliferator-activated receptor α -null mice. *Toxicol Pathol* 26, 240-246,1998
- 10) Susan C. Hasmall, Neil H James, Neil Macdonald, Anthony R. Soames, Ruth A. Robert. Species differences in response to diethylhexylphthalate: suppression of apoptosis, induction of DNA synthesis and peroxisome proliferator activated receptor alpha-mediated gene expression. *Arch Toxicol*74, 85-91, 2000
- 11) Ronald L. Melnick, Is Peroxisome Proliferation an Obligatory Precursor Step in the Carcinogenicity of Di(2-ethylhexyl)phthalate(DEHP)?, *Environmental Health Perspectives* 109(5),437-442, 2001

- 12) Calvin C. Willhite, Weight-of-evidence versus strength-of-evidence in toxicologic hazard identification: Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP). *Toxicology* 160, 219-226, 2001
- 13) Kurata Y, Kidachi F, Yokoyama M, Toyota N, Tsuchitani M, Katoh M. Subchronic toxicity of di(2-ethylhexyl)phthalate in common marmosets: Lack of hepatic peroxisome proliferation, testicular atrophy, or pancreatic acinar cell hyperplasia. *Toxicol Sci* 42,49-56,1998
- 14) Pugh G, Isenberg JS, Kamendulis LM, Ackley DC, Clare LJ, Brown R, Lington AW, Smith JH, Klaunig JE. Effects of di-isooctyl phthalate, di-2-ethylhexyl phthalate, and clofibrate, in cynomolgus monkeys. *Toxicol Sci* 56,181-188,2000
- 15) Pollack GM, Li RCK, Ermer JC and Shen DD. Effects of route of administration and repetitive dosing on the disposition kinetics of di(2-ethylhexyl) phthalate and its mono-de-esterified metabolite in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 79,246-256,1985
- 16) Klimisch HJ, Gamer AO, Hellwig J, Kauffmann W, Jackh R. Di(2-ethylhexyl)phthalate: A shortterm repeated inhalation toxicity study including fertility assessment. *Food Chem Toxicol* 30,915-919,1992
- 17) Schmid Pand Schlatter C. Excretion and metabolism of di(2-ethylhexyl)phthalate in man. *Xenobiotica*. 15, 251-256, 1985

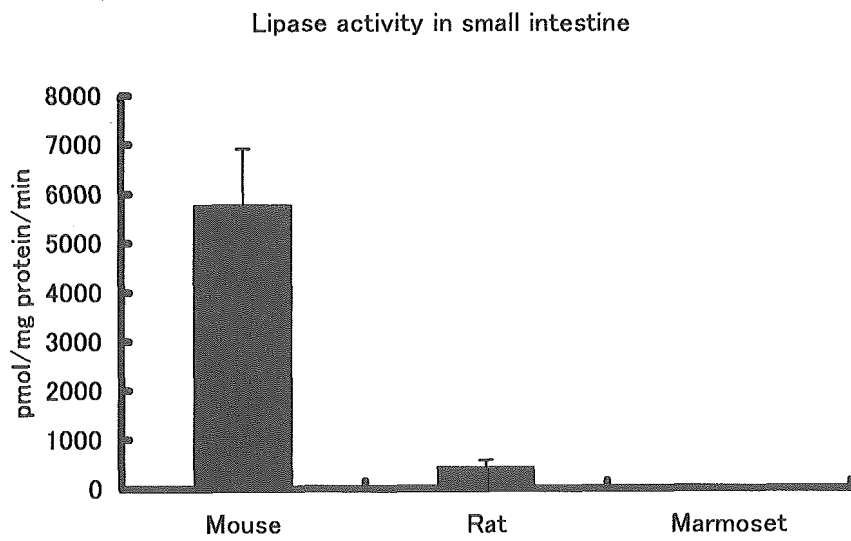
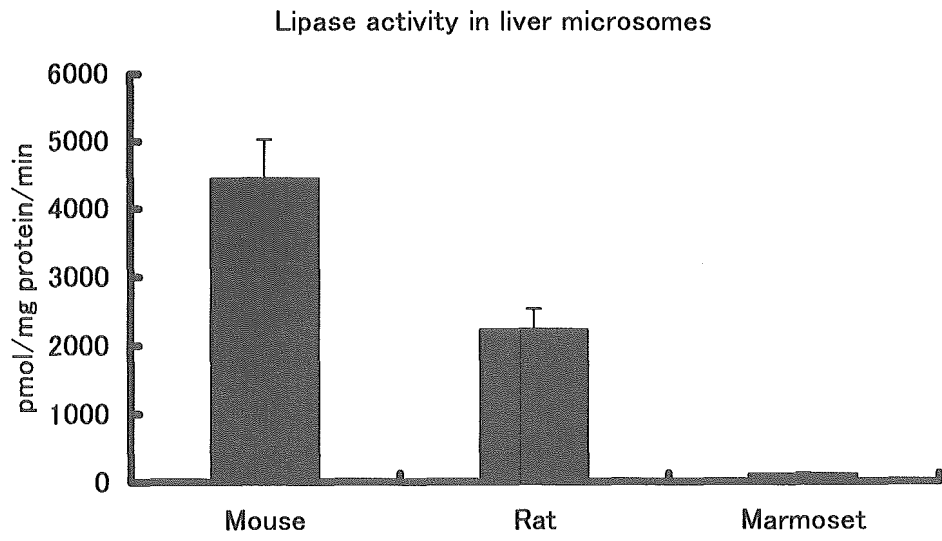


Fig.1 リパーゼ活性

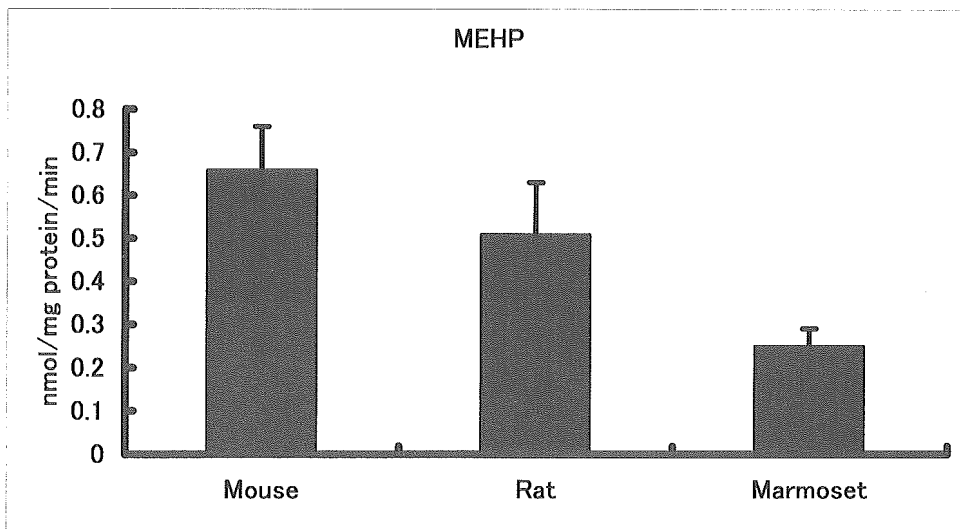


Fig.2 MEHP のグルクロン酸抱合活性

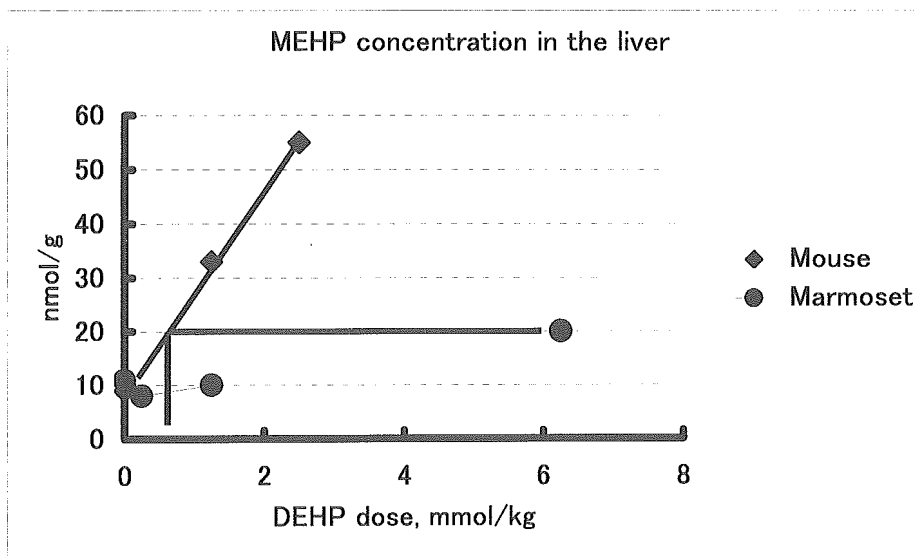


Fig.3 DEHP 曝露後の肝 MEHP 濃度の比較

Table 1 Species differences in regard to ADH activities (nmol/mg protein/min) for 2-ethylhexanol and 2-phenoxyethanol

	Mouse	Rat	Marmoset
<i>2-EH (10μM)</i>			
Liver	32.7 \pm 4.4	26.3 \pm 6.2	43.3 \pm 6.2 ^{b, c}
Small intestine	3.55 \pm 2.37	10.72 \pm 1.36 ^a	13.78 \pm 7.26 ^c
Kidney	0.43 \pm 0.85	0.65 \pm 0.38	ND
Lung	2.21 \pm 2.48	3.47 \pm 1.47	4.72 \pm 0.29
<i>2-POET (10μM)</i>			
Liver	ND	ND	11.25 \pm 2.5
Small intestine	1.80 \pm 1.97	5.69 \pm 2.47	1.72 \pm 2.55
Kidney	ND	ND	ND
Lung	ND	ND	ND

Values represent the mean \pm standard deviations for each group.

^aSignificant difference between mice and rats ($p < 0.05$)

^bSignificant difference between rats and marmosets ($p < 0.05$)

^cSignificant difference between mice and marmosets ($p < 0.05$)

Table 2 Species differences in regard to ALDH activities (nmol/mg protein/min) for 3-phenylpropionaldehyde and 2-ethylhexanal

	Mouse	Rat	Marmoset
<i>2-Ethylhexanal (10μM)</i>			
Post-mitochondrial fraction			
Liver	7.7 \pm 2.9	14.0 \pm 2.4 ^a	12.9 \pm 2.7
Mitochondrial fraction			
Liver	5.4 \pm 1.9	32.8 \pm 10.8 ^a	14.4 \pm 7.6 ^b
Small intestine	2.56 \pm 1.38	6.68 \pm 2.77	7.86 \pm 4.89
Kidney	ND	4.74 \pm 0.81	22.11 \pm 1.71 ^{b,c}
Lung	2.68 \pm 0.93	5.14 \pm 1.60 ^a	4.64 \pm 0.72
<i>3-Phenyl propionaldehyde (10μM)</i>			
Post-mitochondrial fraction			
Liver	9.9 \pm 1.8	15.9 \pm 2.4 ^a	25.8 \pm 0.6 ^{b,c}
Mitochondrial fraction			
Liver	6.1 \pm 1.3	21.0 \pm 5.2 ^a	27.3 \pm 4.5 ^c
Small intestine	2.77 \pm 2.40	9.95 \pm 0.98 ^a	38.65 \pm 5.10 ^{b,c}
Kidney	ND	3.79 \pm 0.92	39.30 \pm 1.98 ^b
Lung	2.62 \pm 1.24	4.07 \pm 1.93	8.15 \pm 2.70 ^{b,c}

Values represent the mean \pm standard deviations for each group.

^aSignificant difference between mice and rats ($p < 0.05$)

^bSignificant difference between rats and marmosets ($p < 0.05$)

^cSignificant difference between mice and marmosets ($p < 0.05$)

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

国立療養所南福岡病院

西間 三馨

庄司 俊輔

下田 照文

小田嶋 博

横田 欣児

野上 裕子

寺尾 浩

宗 信夫

武田 正義

須貝 高

石田 卓

高木 直美

松井 裕康

宗耳鼻咽喉科

武田設計

福岡大学工学部建築学科

株) サードステージ

大島眼科病院

厚生労働科学研究費補助金 健康科学総合研究事業

(平成 14 年度分担研究報告書)

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

(分担) 研究者 西間三馨 国立療養所南福岡病院長

研究要旨

初年度、2 年度に引き続き、MCS (multiple chemical sensitivity syndrome) 患者のエントリーを進め 42 例となった。その、①アレルギー学的、②呼吸器学的、③眼科的、④皮膚科的、⑤耳鼻科的検討と、⑥室内環境調査を順次、行って検討した。

①では有意なものは検出されていない。②はカプサイシン吸入誘発試験の診断有用性が示された。③はアコモドメーターによる検査では MCSI 14 眼の検査で調整刺激による反応が遅く縮瞳も悪かった。④は HCHO のパッチテスト 2 例は正常であった。⑤は MCS に特異的所見が見つけられなかった。⑥は 2002.3~12 月に健常者 4 家庭、MCS 10 家庭で測定が終了した。

その他、MCS 患者と外来アレルギー患者 (成人ならびに小児の喘息が主) との臨床症状、家屋環境等の比較、MCS に関する情報収集、建築材料と工法の検討を行った。これらでも MCS 患者とアレルギー患者では相似点は見出せなかった。

研究者

分担研究者: 西間三馨 (国立療養所南福岡病院 院長)

研究協力者: 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 臨床研究部長)、小田嶋博 (国立療養所南福岡病院 小児科医長)、横田欣児 (国立療養所南福岡病院 心療内科医長)、野上裕子 (国立療養所南福岡病院 内科医員)、寺尾 浩 (国立療養所南福岡病院 皮膚科科長)、宗 信夫 (宗耳鼻咽喉科 院長)、武田正義 (武田設計 代表)、須貝 高 (福岡大学工学部建築学科 教授)、石田 卓 (福岡大学工学部建築学科 助手)、高木直美 ((株) サードステージ 編集長)、松井裕康 (大島眼科病院 外来医長)

A. 研究目的

シックハウス症候群 (SHS) や化学物質過敏症 (multiple chemical sensitivity, MCS) とアレルギー疾患との関係は明らかではない。一方、小児の気管支喘息 (BA) はその 90% 以上が、アトピー型、アレルギー型であるので小児の BA における MCS の頻度、環境因子、formaldehyde (HCHO) 等の揮発性有機物質 (volatile organic compounds, VOCs) との相関をみることにより、MCS とアレルギー性喘息の関係に一定の見解が得られる可能性がある。これらのことを主に小児を対象に検討する。

また、外来に受診する MCS 患者の臨床的所見、

検査所見ならびに VOCs 等の環境因子についても調査し、住環境に関わる多分野の専門家で検討し、MCS の病態解明に努めることを目的とする。

B. 研究方法

MCS の研究ならびに診断・治療ができるためのチームを医学分野 (呼吸器科、小児科、アレルギー科、心療内科、耳鼻咽喉科、皮膚科、眼科)、建築分野 (建築工学、設計)、情報収集分野等の専門家により構成し、各々の分野で MCS の検討を行う。具体的には、①アレルギー疾患の疫学調査における居住関係の質問項目の追加による MCS との相関関係の検討と、BA 患者における HCHO specific IgE の測定、②外来受診の小児気管支喘息患者の環境因子と症状を調査し、MCS 患者と比較する、③外来受診の MCS 患者のエントリー、④MCS 症例の居住環境を VOCs を中心に検討、⑤最近の住宅における現状分析と MCS に配慮した環境作りの検討を建築の面からする。

(倫理面への配慮)

疫学調査においてはプライバシー保護の観点から個人特定ができないように統計処理をする。MCS 患者の室内外環境調査については十分なインフォームド・コンセントのとりつけと個人情報保護を行う。

C. 研究結果

I. 初年度研究結果（要旨）

化学物質過敏症とアレルギー性気管支喘息との関係を調べる目的で、気管支喘息及び喘鳴症状を呈する211名の小学児童の血清IgEとダニ、スギ、HCHOの3種のspecific IgEをRAST法で測定した。IgE値、他抗原のRAST scoreに関係なく全ての患者のHCHO specific IgEは0であった。また、外来受診の14名のMCS患者中、アレルギー疾患合併者は1人のみで、10例の測定されたHCHO specific IgEはすべてscoreは0であった。その臨床症状は多彩であった。

その他、心理社会的、アレルギー学的、皮膚科的な面からの論文検討、及び建築の面からの実態分析を行った。

II. 2年度研究結果（要旨）

初年度に引き続き、MCS（multiple chemical sensitivity syndrome）患者のエントリーを進め31例となった。その、①アレルギー学的、②呼吸器学的、③眼科的、④皮膚科的、⑤耳鼻科的検討と、⑥室内環境調査を順次、行っている。

現在、①では有意なものは検出されていない。②はカプサイシン吸入誘発試験の基礎検討が終わった。③はアコモドメーターによる検査が開始された。④はHCHOのパッチテストが開始された。⑤は具体的方針が見つけられない。⑥は健常者7家庭、MCS4家庭で測定が終了した。引き続き行う予定である。その他、MCS患者と外来アレルギー患者（喘息が主）との臨床症状、家屋環境等の比較、MCSに関する情報収集、建築材料と工法の検討を行った。分析の途中経過でもMCS患者とアレルギー患者では異なる点がいくつかみられた。

III. 最終年度（平成14年度）研究結果

1. 気管支喘息ならびに喘鳴を呈する小学児童におけるHCHO specific IgE値

外来のアレルギー性気管支喘息患者で測定中であるが、平成15年3月までに1年間26例ではHCHO specific IgE陽性者は全くいない。

2. 外来の小児気管支喘息患者におけるMCS様症状の把握

対象：2002年9月から2003年2月末までの6ヵ月間に、新患として国立療養所南福岡病院に受診した0～17歳の喘息患者569名。

年齢は乳児（0～1歳）：210例、幼児（2～5歳）：177例、学童以上（6～17歳）：172例で平均4.0±3.8

歳である。

ペット飼育でみると、飼育あり：244例（43.6%）、飼育なし：315例（56.4%）で飼育ありの244例では、犬：157例、猫：64例、その他：48例であった（重複あり）。その他の中ではハムスターが29例と多かった。

室内換気設備では、家屋内に換気扇が1台以下の家庭が208（36.6%）であった。また換気習慣は、週に1～2回以下しか窓の開閉をしない家庭は42（7.4%）と少なかった。

家具の合板の使用度は、多い：218（70.1%）、少ない：78（25.1%）、なし：15（4.8%）であった（記載311例中）。白蟻駆除剤の使用の有無では、3年以内にあり：25（8.6%）、4年以上前にあり：33（11.4%）、使用なし：232（80.0%）であった（記載290例中）。

室内汚染度の程度を建築年数、換気設備、換気習慣、合板家具、鼻、眼、喉の症状、室内喫煙本数、ビニールクロスの使用、白蟻駆除剤の有無で、それぞれ1～5点のスコア（合計0～50点）でみると、図1に示すように、10点以下：33（7.6%）、11～15点：107（24.5%）、16～20点：181（41.4%）、21～25点：93（21.3%）、26点以上：23（5.3%）であった（記載437例中）。比較にMCS患者のを付けているが明らかな違いがあり、MCS患者の汚染度は高く喘息患者の室内汚染度は20点以下が73.4%と多かった。

MCS関連の身体症状を116項目、116点で調査したものをみると図2のように1～5点：147（63.9%）、6～10点：52（22.6%）、11～15点：19（8.3%）、16点以上：12（5.2%）であった（記載230例中）。MCS患者に比して明らかに症状は軽微で、10点以下が86.5%を占めた。

3. MCS症例のエントリーとそのアレルギー学的背景

現在42例がエントリーされている。うち1例は平成4年の例で、気管支喘息との同異が議論された過去の1例で、他は1999年10月以後の症例である。内訳は男13例、女29例、2～84歳（平均42±20歳）となっている。中高年者がほとんどで、20歳未満は3名しかいない。喘息の合併は3例であった。HCHO specific IgEは測定22例ではすべてscore 0であった。総IgEが300 IU/mL以上を示したのは37例中8例（21.6%）であった。すなわち、アレルギー