

住宅はそれぞれ、4.3%、9.7%、5.9%であったので指針値を超過する住宅は相変わらず多い。

ノナナールはC₈-C₁₂混合物のラット経口暴露における毒性学的影響¹⁵⁾が指摘され、厚生労働省は41 µg/m³の暫定指針値を策定している。この暫定指針値を超過した住宅は無かった。過去4年間の調査でこの暫定指針値を超過した住宅は515戸中1戸のみである。

ホルムアルデヒドの子供部屋および居間における濃度分布をFig. 3に示す。単峰で右に歪んだ分布を示したが、子供部屋の方がやや高濃度側に偏った分布を示した。一般に子供部屋は居間に比べ空間が狭く、閉鎖されることが多いため高濃度側に偏ったと思われる。

(5) ホルムアルデヒドのモニタリング期間と季節変動

夏(7月)と冬(2月)における24時間測定値と1週間連続測定値の比較をFig. 4に示す。夏の測定では日変動が非常に大きく17~170 µg/m³の濃度範囲を示した。一方、冬の測定では日変動が小さく29~41 µg/m³の濃度範囲であった。地表近くの大気化学的現象では、変動要因として経済活動、気象等の影響を

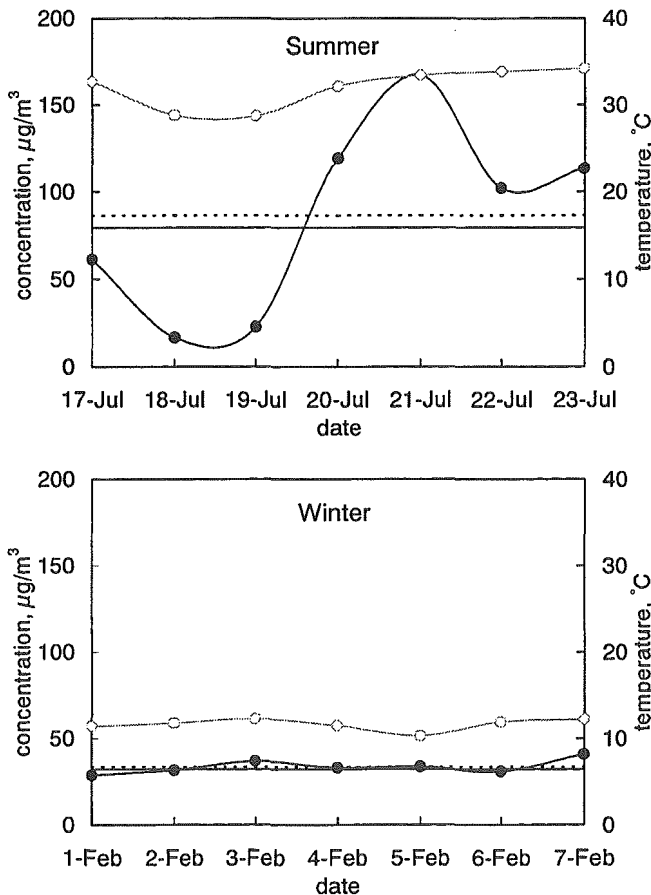


Fig. 4. Concentration variations depending on the day of the week for key formaldehyde measured at living room. Closed circles and horizontal solid bars indicate data obtained using sampling periods of one day or one week, respectively. A broken line indicates the mean value of a week calculated from 24-hour sampling data. Light-colored open circles indicate the temperature.

大きく受けるため、大気濃度の経時変動が大きくなることが予測される。Uchiyama ら⁸⁾は都市大気中のVOC濃度の日変動が非常に大きいことを明らかにし、社会活動が平均化される1週間、1ヶ月の連続モニタリングを提唱している。室内に存在する化学物質濃度も同様に、気温(室温)、生活活動、社会活動、外気などの影響を強く受けることが考えられる。Fig. 5に1戸の住宅で1週間連続測定を1年間にわたり継続して行った結果を示す。この住宅の場合1年間の平均値、最大値、最小値はそれぞれ54、94、26 µg/m³であった。

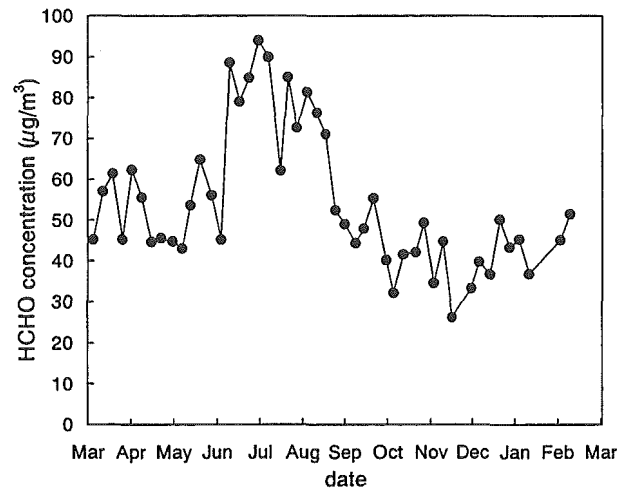


Fig. 5 Weekly variations of formaldehyde concentration and temperature at living room in the apartment house from 24 March 2002 to 5 March 2003.

今回の調査を含め、過去4年間の調査は全て10月から翌3月の冬季を中心とした季節に行われた。ホルムアルデヒドは建材や施工材から放散することが報告されているので、室内濃度は気温(室温)に大きく影響を受けることが推測される。正確な平均化された室内濃度を測定するためには、季節を考慮したより長期間のモニタリングが必要である。

参考文献

- 1) 花井義道, 陳永紅, 中西順子, 建材による室内空気汚染, 横浜国大環境研紀要 1996, 22, 1-10.
- 2) Kiec, Swierczynska, M.; Krecisz, B.; Krysiak, B.; Kuchowicz, E.; Rydzynski, K. Occupational allergy to aldehydes in health care workers. Clinical observations. Experiments. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health* 1998, 11, 349-358.
- 3) Kerns, W. D.; Pavkov, K. L.; Donofrio, D. J.; Gralla, E. J.; Swenberg, J. A., Carcinogenicity of formaldehyde in rats and mice after long-term

- inhalation exposure, *Cancer Research*, **1983**, *43*, 4382-4392.
- 4) M. Te-Hsui, et al: Review of the Genotoxicity of Formaldehyde, *Muta. Res.*, **1988**, *196*, 37.
 - 5) 井上明生, ホルムアルデヒド気中濃度のガイドライン対策 木材工業 **1997**, *52*, No.1, 9-14.
 - 6) 内山茂久; 長谷川修司; 田辺新一 新築集合住宅における揮発性有機化合物の挙動と発生源の推定 日本建築学会計画系論文集 **2001**, *547*, 75-80.
 - 7) Uchiyama S.; Hasegawa S. Investigation of a long-term sampling period for monitoring volatile organic Compounds in ambient air. *Environmental Science and Technology* **2000** *34* (21) 4656-4661.
 - 8) Uchiyama, S.; Hasegawa, S., A reactive and sensitive diffusion sampler for the determination of aldehydes and ketones in ambient air, *Atmospheric Environment*, **1999**, *33*, (13), 1999-2005.
 - 9) 内山茂久; 金子敏郎; 田辺新一; 長谷川修司, 分子拡散型サンプラー-DSD-DNPHによる大気中カルボニル化合物の測定, 千葉市環境保健研究所年報, **1999**, *6*, 106-113.
 - 10) Uchiyama, S.; Ando, M.; Aoyagi, S. Isomerization of aldehyde-2,4-dinitrophenylhydrazone derivatives and validation of high-performance liquid chromatographic analysis *Journal of Chromatography A*, **2003**, *996*, 1-2, 95-102.
 - 11) Formaldehyde. Geneva, World Health Organization, Environmental Health Criteria, **1989**, No.89.
 - 12) World Health Organization, Air quality guidelines for Europe; second edition, WHO regional publications. European series: **2000**, No.91.
 - 13) IPCS Environmental Health Criteria 167, ACRTALDEHYDE, World Health Organization, Geneva, **1996**.
 - 14) Appelman, L.M. et al. Effect of variable versus fixed exposure levels on the toxicity of acetaldehyde in rats *L. Appl. Toxicology*, **1986**, *6*, 331-336.
 - 14) IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol. 71, Part Two, IARC Lyon, **1999**.
 - 15) United States Environmental Protection Agency. Notice of Filing Pesticide Petitions to Establish Tolerances for Certain Pesticide Chemicals in or on Food. *Federal Register*. December 20, **2000**, *65*, (245), 79834-79839.

III. 化学物質過敏症の発症要因化学物質の検索に関する研究

i) 室内空気中有機リン系殺虫剤の寄与度の評価に関する研究

北里研究所病院 臨床環境衛医学センター 石川 哲

ii) 微量濃度の 2-エチル-1-ヘキサノールによる健康被害

北里研究所病院 臨床環境衛医学センター 石川 哲

iii) 室内環境化学物質に対する応答性を規定する遺伝的要因に関する研究

国立医薬品食品衛生研究所 環境衛生化学部 神野 透人

Ⅰ) 室内空気中有機リン系殺虫剤の寄与度の評価に関する研究

分担研究者 石川 哲 北里研究所病院臨床環境医学センター長
協力研究者 柳沢 幸雄 東京大学大学院新領域創成科学研究科

研究要旨 有機リン系殺虫剤は化学物質化敏症の原因とされる物質であり、また昨今、米国の研究者らにより遅発性神経系障害や多動障害を起こすことが確認され、生体影響評価の重要性が高まっている。本調査では、有機リン系農薬の散布が行われる一農業地域に住む乳幼児を対象とし、農薬散布期に、乳幼児の主な生活空間の大気中有機リン系農薬の実測調査を行い、汚染に起因する要因の解析を行った。その結果、家庭・保育施設ともに、室外空気だけでなく室内空気も汚染されており、農薬散布時間帯の窓の開放が室内濃度を高める要因となったことが示された。また、測定と同時に行った対象者の1日の生活行動調査の結果、家庭の室内で過ごす時間は1日の7割を占めるという結果が得られ、このことは、家庭室内が化学物質曝露に大きく寄与する事を改めて実証する結果となった。

A. 研究目的

有機リン系殺虫剤は化学物質化敏症の原因となる疑いがある。また昨今では遅発性神経系障害や多動障害を起こすことが米国の研究者らにより確認され、生体影響評価の重要性が高まっている。わが国において農業用途としての有機リン系殺虫剤の需要は高く、農耕地と住宅が混在する地域において有機リン系の農薬が散布されることも多く、このような地域では近隣住民、とくに高感受性群である子供の健康影響が懸念される。したがって本研究では、農業地域における農薬散布期に、乳幼児の生活空間が有機リン系農薬にどの程度汚染され、彼らの生活行動が農薬曝露にどのように関わるのか、また汚染を高める要因には何があるのかを明らかにする事を目的とする。

B. 研究方法

1. 調査対象地域および対象者

本調査では有機リン系農薬が使用される一農業地域を選定した。この地域の面積の約半分は農耕地で占められ、毎年そのうちおよそ

4割の土地に有機リン系殺虫剤を主成分とする薬剤の一斉地上散布が行われるほか個人農家による薬剤散布が行われている。2003年3月から6月にかけて、対象地域に在住する乳幼児を対象とし、被験者募集を行った。対象地域で行われる12ヶ月児検診に来診した乳児の母親に対して検診後、調査に関する説明を行い、協力依頼を行った。また、対象地域の保育施設4施設において、調査についての説明会を行い、幼児の母親に対して調査内容の説明をおよび協力依頼を行い、被験者の募集を行った。またその他、対象地域在住の小中学生1名の家庭に協力依頼を行った。さらに保育施設に対しても、同様に施設内の測定に対する協力依頼を行った。その結果、最終的に乳幼児の在住する35軒の家庭と、4保育施設から協力を得た。

2. 目的物質捕集法および前処理方法

2003年7月および8月の一斉農薬散布直後、対象者の家庭の室内と室外、保育施設の教室と運動場の各一点にて測定を行った。サンプラーにはガラス管吸着剤充填型サンプラー

一Chromosorb102™ (SKC 社製, スチレンジビニルポリマー50/100mg 充填) を用い、大気捕集用ポンプ (AirCheck2000 SKC 社製) に接続し、流速 2L/min にて 24 時間大気を捕集した。なお、試料捕集後はサンプラーおよびフィルターカセットの両端をキャップで堅く閉じ、ジッパー付ポリ袋に入れて外気を遮断し、保冷容器に実験室へ持ち帰った。サンプラーはアセトン 2mL を用いて 40 分間超音波抽出を行った。抽出液に無水酢酸を 10 μ l 添加し、よく振った後、上澄み約 1mL を 2ml バイアルに入れて検体とした。なお、捕集剤は、捕集部と破過部とに分けて分析を行い、両者の総捕集量に対する捕集部における捕集量が 5% を超えた場合は破過が起きているものと判断した。本測定法による目的物質の捕集および前処理操作による目的物質の回収率は既に報告したとおりである (河原純子・柳沢幸雄 超吸着剤充填管捕集/超音波抽出法による大気中有機リン系殺虫剤の簡易測定法分析化学(2003)) また、捕集後の石英フィルターも同様な処理を行い、分析を行った。

3.分析機器および分析条件

試料の分析には GC-FPD(HP-GC6890)を用いた。設定条件はカラム: HP-1 (Crosslinked Methyl Siloxane, 0.32mm i.d. \times 30m length, Agilent 社製)、試料注入量 3 μ L、注入口温度: 200 $^{\circ}$ C、カラム温度条件: 初期温度 60 $^{\circ}$ C(2 分間保持)—8 $^{\circ}$ C/min にて 250 $^{\circ}$ Cまで昇温—250 $^{\circ}$ C(3min hold)、検出器温度 240 $^{\circ}$ Cとした。

4.対象者の生活環境に関する調査

本調査では、被験者の住まいに関する情報や自宅敷地内および近隣における殺虫剤使用履歴の有無、および測定期間中の被験者の生活行動に関する自記式質問票を配布し、両親に回答を依頼した。自記式生活行動記録票は、被験者が測定期間中、家庭における室内と室外、保育施設、およびそれ以外の場所における室内と室外、のいずれかで過ごしたかを 30

分毎に記録するようになっており、被験者個人の経気曝露量の推算に用いる事とした。

(倫理面への配慮)

調査結果については、いかなる報告においても、調査対象者、家庭、保育施設および調査対象地域の特定が出来るような情報は一切表記しないこととした。

C.研究結果

1.家庭室外および室内の空気汚染

7 月の殺虫剤散布期には当該地域において一斉散布された農薬の主成分がほぼ全測定点で検出され、その他ジクロロボスやフェニトロチオンが検出された。また、7 軒の室内からはクロルピリホスが検出された (Table1)。さらに 8 月の散布期はフェニトロチオンの他にジクロロボスがほぼ全測定点で検出されたほか、ダイアジノン、マラチオンが検出された。また、散布された農薬はいずれの保育施設の室内外からも検出されていた。

ジクロロボスは 7 月と 8 月の 2 期にわたってほぼ全家屋で検出されていた。トリクロロホンは加水分解によりジクロロボスに変化することが分かっているが、7 月期の室外空気から検出されたトリクロロホンの濃度とジクロロボス濃度の解析の結果、両者に有意な相関が見られ、トリクロロホンの散布によりジクロロボスが生成していることが示された。

2.対象乳幼児の生活空間調査結果

生活行動記録調査の結果、調査期間の対象乳幼児は、おもに家庭室内と保育施設において過ごしており、1 日に対する滞在時間の割合はそれぞれおよそ 70%、20%であった。

3.室内空気の汚染についての解析

7 月期と 8 月期において散布された農薬について、室外と室内の空気中農薬濃度の相関分析を行ったところ、トリクロロホン、フェニトロチオンいずれも室内と室外濃度との間に相関が見られた。

Table 1 Summary Statistics for Air Samples (ng/m³)

Compound	Home								Child daycare center							
	Indoor				Outdoor				Indoor				Outdoor			
	detected	Med	Min	Max	detected	Med	Min	Max	detected	Med	Min	Max	detected	Med	Min	Max
July																
Trichlorfon	21/32	7.6	N.D. ^a	32.1	26/28	25.8	N.D.	227	3/3	10.6	4.1	27.7	3/3	34.5	17.8	40.1
Dichlorvos	30/32	10.6	N.D.	31.5	26/28	14.2	N.D.	52.0	3/3	9.2	8.3	18.1	3/3	9.4	8.2	36.6
Fenitrothion	9/32	N.D.	N.D.	12.1	5/28	N.D.	N.D.	31.7	1/3	N.D.	N.D.	6.6	1/3	N.D.	N.D.	15.2
Chlorpyrifos	7/32	N.D.	N.D.	12.8	1/28	N.D.	N.D.	48.0	0/3	N.D.	N.D.	N.D.	0/3	N.D.	N.D.	N.D.
Diazinon	0/32	N.D.	N.D.	N.D.	0/28	N.D.	N.D.	N.D.	0/3	N.D.	N.D.	N.D.	0/3	N.D.	N.D.	N.D.
Malathion	1/32	N.D.	N.D.	6.1	1/28	N.D.	N.D.	12.9	0/3	N.D.	N.D.	N.D.	1/3	N.D.	N.D.	11.5
Fenthion	1/32	N.D.	N.D.	Tr.	0/28	N.D.	N.D.	N.D.	0/3	N.D.	N.D.	N.D.	0/3	N.D.	N.D.	N.D.
August																
Trichlorfon	7/24	N.D.	N.D.	72.9	13/24	7.0	3.3	39.3	1/4	7.0	N.D.	39.3	3/4	6.0	3.7	10.0
Dichlorvos	22/24	7.8	N.D.	16.0	23/24	8.0	5.1	11.9	4/4	8.0	5.1	11.9	4/4	7.1	5.9	7.3
Fenitrothion	22/24	16.2	N.D.	68.5	23/24	46.9	N.D.	527	4/4	46.9	N.D.	527	4/4	129	71.9	218
Chlorpyrifos	5/24	N.D.	N.D.	46.8	0/24	N.D.	N.D.	N.D.	1/4	N.D.	N.D.	Tr.	0/4	N.D.	N.D.	N.D.
Diazinon	6/24	N.D.	N.D.	10.8	9/24	N.D.	N.D.	6.9	1/4	N.D.	N.D.	6.9	0/4	N.D.	N.D.	N.D.
Malathion	7/24	N.D.	N.D.	N.D. ^c	9/24	N.D.	N.D.	11.2	0/4	N.D.	N.D.	11.2	0/4	N.D.	N.D.	N.D.
Fenthion	1/24	N.D.	N.D.	Tr.	0/24	N.D.	N.D.	N.D.	0/4	N.D.	N.D.	N.D.	0/4	N.D.	N.D.	N.D.

a) Not detected. b) Detected with the level below the lower quantitation limit. c) Detected breakthrough

測定期間中の対象家庭の生活環境に関する調査の結果、7月では回答があった26軒中18軒が、8月では23軒中16軒が、農薬が散布される時間帯（午前5時から午前11時の間）に窓を開放しており、窓開放時間をもとに農薬散布時間帯に窓の開放を行った家庭群と開放を行わなかった家庭群の室外対室内濃度比（I/O比）の比較を行った結果、8月期の測定データにおいて統計学的有意差が見られ（有意確率5%未満）、窓の開放を行っていた群の方がI/O比が高いという結果が得られた。

調査では、7月の調査対象家庭32軒中7軒、8月の調査対象家庭24件中5軒の室内空気からクロルピリホスが検出された。生活環境に関する調査の結果、これら検出家庭のうち4軒が家屋のシロアリ防除あるいは駆除の履歴が確認され、その処理から測定までの経過年数は5年から8年であった。

4. 各家庭における殺虫剤の使用

7月期および8月期の調査対象家庭のうち、庭等の家の外で殺虫剤を使用したと答えた家庭は、7月期においては回答数27軒のうち14軒であり、そのうち有機リン系殺虫剤を使用していた家庭は6軒であった。また、8月期においては回答数23軒のうち11軒であり、そのうち6軒が有機リン系殺虫剤を使用していた。一方、室内における殺虫剤の使用は、

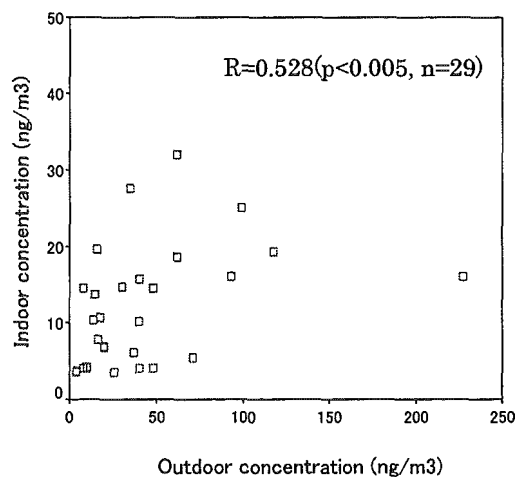


Fig. 1. 7月期の室外トリクロロホン濃度と室内トリクロロホン濃度の相関

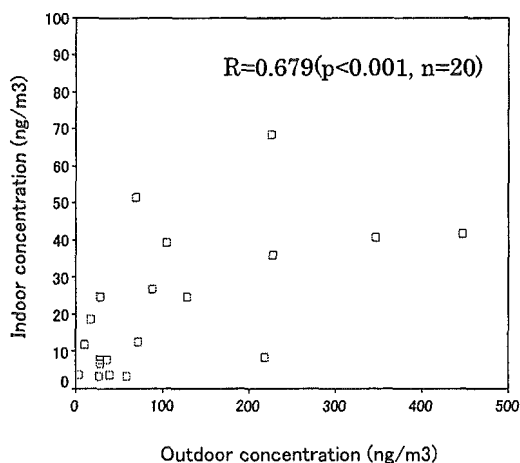


Fig. 2. 8月期の室外フェニトロチオン濃度と室内フェニトロチオン濃度の相関

8月期の1軒を除き、いずれの家庭においても見られなかった。

D. 考察

農薬散布期における大気汚染物質

調査の結果農薬散布後はほぼ全ての家庭の室内外空気から散布農薬が検出されたほか、ジクロロボスが7月と8月の2期にわたってほぼ全家屋で検出された。

また、散布農薬による空気汚染は室外だけでなく室内空気も同様に起こっており、今回の対象者の生活行動調査結果からも対象者の室内滞在時間は一日の7割を占めていることから、室内環境は農薬曝露を考慮する上で重要な空間となることが示された。よって室内における曝露を低減することは、1日の曝露量の低減策の一つであるといえるであろう。今回の調査対象となった家庭は、その半数以上が農薬散布時間帯に窓の開放を行っており、窓の開放時間と室外対室内濃度比の解析の結果から、農薬散布時間帯の窓の開放は室内の農薬汚染を高める要因となる事が分かった。このことから農薬散布時間帯あるいはそれ以後の窓の開放を控える事は室内空気の農薬汚染の低減、すなわち農薬曝露低減に効果があることが示されたといえる。そのほか、今回の調査では、有機リン系農薬を使用していた家庭がみられ、空気汚染との関連は明らかではなかったが、使用時および使用後の曝露防止の為の適切な指導が必要であるといえる。

7月期の農薬散布後に検出されたジクロロボスは散布されたトリクロロホンから生成したと考えられた。ジクロロボスはトリクロロホンよりも毒性が高いが、このように散布された物質が環境中で変成することによりもとの物質よりも高い毒性を有する物質が発生することは既存の研究からも明らかであり、二次性生物のモニタリングも必要であるといえる。

E. 結論

農薬散布が行われる地域住む乳幼児を対象とし、その主な生活空間である家庭および保育施設の大気の農薬による汚染について調査

研究を行った。その結果、農薬散布後は室外だけでなく、乳幼児にとって重要な曝露源となる室内も汚染が及ぶことが明らかになった。また室内空気中の農薬汚染には各家庭の窓の開放時間が寄与していた。室内空気からクロルピリホスが検出された家庭があり、家屋の防蟻処理が原因であると考えられた。

F. 健康危機情報

いずれの物質とも、国内で設定されている指針値を越えるものはなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表

(発表氏名巻号・頁・発行年等も記入)

- 1) 堀越玲子・河原純子・山口貴史・熊谷一清・吉永淳・飯尾昭彦・柳沢幸雄 居住空間における乳幼児の化学物質曝露量調査(第1報)平成15年度室内環境学会総会 講演集 pp.182-183 (2003)
- 2) 河原純子・堀越玲子・山口貴史・熊谷一清・吉永淳・飯尾昭彦・柳沢幸雄居住空間における乳幼児の化学物質曝露量調査(第2報)平成15年度室内環境学会総会 講演集 pp.184-185 (2003)
- 3) Junko KAWAHARA, Ryoko HORIKOSHI, Takashi YAMAGUCHI, Kazukiyo KUMAGAI, Yukio YANAGISAWA Young children's exposure to organophosphorus pesticide in an agricultural area in Japan. 3rd International Conference on Children's Health and Environment (31 March to 2 April 2004, London発表予定)

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他
とくになし

ii) 微量濃度の2-エチル-1-ヘキサノールによる健康被害

分担研究者 石川哲 北里研究所病院臨床環境医学センター長
協力研究者 角田和彦 坂総合病院小児科医長
吉野博 東北大学大学院工学研究科都市建築学専攻教授

研究要旨

緒言：2-エチル-1-ヘキサノールは、建築材として使用された塩化ビニール製の床剤などに可塑剤として含まれるフタル酸ジエチルヘキシル DEHP が、湿ったコンクリートに接触することによってアルカリ分解されてできるといわれている。したがって、湿度が高いコンクリートを使った床構造と DEHP を含んだ塩化ビニール製の床材との組み合わせで発生する可能性があり、さまざまな生活環境中に汚染が広がっていると考えられる。

目的：2-エチル-1-ヘキサノールによる健康障害を、近赤外線酸素モニターを利用したガス吸入負荷試験・起立試験によって研究した。

結果：化学物質過敏症症状を有する症例 1（50 歳男性）は、仕事場に存在する濃度 $36.3 \mu\text{g}/\text{m}^3$ の 2-エチル-1-ヘキサノールによって症状が引き起こされた。2-エチル-1-ヘキサノール吸入負荷試験は陽性であったが、吸入負荷試験によって起立試験は正常化し、マスクング作用を生じたと考えられた。化学物質過敏症の家族歴があるが本人の症状はまだ起きていない症例 2（11 歳女兒）は、2-エチル-1-ヘキサノール吸入負荷試験が陽性であり、吸入によって起立試験所見が悪化した。化学物質に対する過敏性を有していると考えられ、発症予防のためには化学物質汚染が少ない生活環境が必要と思われた。

結論：2-エチル-1-ヘキサノールは、シックハウス症候群や化学物質過敏症の原因となる可能性を指摘した。2-エチル-1-ヘキサノールは環境中に汚染が拡大している可能性があり、対策が必要と考えられた。

A. 研究目的

現在、さまざまな化学物質が生活環境中にあふれ、生体に影響を及ぼしている。化学物質に過敏性を有する人々は、極微量の曝露であっても多臓器にわたる多種の症状を呈する。室内の化学物質には指針値や目標値が設定されつつあるが、指針値が設定されていない化学物質はまだ多種ある。今回の研究は、指針値が設定されていない化学物質の中で、1990 年代からヨーロッパやアメリカにおいて、気道粘膜症状を引き起こし、気管支喘息を悪化

させる要因として認識されている 2-エチル-1-ヘキサノールの人体影響を研究した。2-エチル-1-ヘキサノールは建築材として使用された塩化ビニール製の床剤などに可塑剤として含まれるフタル酸ジエチルヘキシル DEHP の代謝産物であり、生活環境中に汚染が広がっていると考えられている。

B. 研究方法

2-エチル-1-ヘキサノールの人体影響を調べるため、この化学物質によって影響を受け

ている、または、受ける可能性が高いと考えられた2名の被験者に近赤外線酸素モニター（浜松ホトニクス社製 NIRO300）を使って、2-エチル-1-ヘキサノール揮発ガスの吸入負荷試験、および、起立試験¹⁾を実施し脳内酸素状態を測定した。

吸入負荷試験および起立試験は、事前に患者本人、および家族に試験方法・試験内容を説明し、十分に理解し納得してもらった後に、医師によって実施された。

2-エチル-1-ヘキサノール（98%）は和光純薬株式会社より入手し使用した。

近赤外線酸素モニター（Near infrared spectroscopy）は（図1）、組織に近赤外線を照射し反射してきた近赤外線の減衰を測定することで、脳組織内の酸素化ヘモグロビン（以下 O₂Hb）濃度の変化を計測することにより組織内酸素状態の変化を、経時的に観察することができる²⁾。近赤外線酸素モニターは浜松ホトニクス社製 NIRO-300 を使用した。室内温度はエアコンで 22℃～26℃程度に維持した。プローブを右前頭と右上腕に装着し、椅子に坐って測定を開始した。約 10 分間の安静後、波形が安定したところで起立試験、ガス吸入負荷試験を開始した（図2）³⁾。

- 1) ガス吸入負荷前の起立試験：起立・座位の体位変化による O₂Hb 濃度の変化を観察した。起立後数分間の状態を観察した後、座位に戻し変化を観察した。
- 2) ガス吸入負荷試験：ブランク（ガス体なしのポリ袋と脱脂綿のみの吸入）、トルエン、2-エチル-1-ヘキサノールガスを吸入し O₂Hb 濃度の変化を観察した。吸入直前に、20cm×30cmのポリ袋に脱脂綿を1枚入れ、99.5%トルエン、98%2-エチル-1-ヘキサノール溶液、各化学物質溶液1滴をポリ袋内の脱脂綿にスポイトで滴下し、ポリ袋の口を閉じて振り、揮発させた。直径8cmの紙製のリングを使って約8cmの広さに開口させて左手に持ち、鼻に近づけて少し匂いがしたところで止め、我慢できる程度の位置で約1分間保持してもらおうことで、吸入

濃度を自己調節してもらった（図3）。

ガステック社検知管で測定した各ガスのポリ袋直上10cmでのおおよその濃度は、トルエン 12ppm（日本産業衛生学会許容濃度 50ppm）であり、実際の吸入濃度はこの濃度以下と思われた。また、ガステック社検知管で測定したガス吸入負荷前の検査室内のトルエンなど化学物質濃度は検出限界以下であった。ただし、2-エチル-1-ヘキサノールは検知管がないため、まだ濃度が測定できていない（今後測定予定）。

ガス吸入時は、体位を変化させないように、また、意識して無理に匂いがかがないように、袋を鼻に近づけ過ぎないように注意した。吸入中、吸入後の脳内酸素状態の変化、誘発された症状を記録した。ガス吸入負荷時、被験者は各ガスの吸入順序を知らされていない。最初にガス揮発がないブランクを使って吸入の動作をおこない、測定値に変化がないことを確認後、ガス吸入負荷を実施開始した。各ガスは1分ほど吸入した。ポリ袋は吸入負荷直後に再度密封し、室内への各化学物質の揮発を最小限に抑えるようにした。

- 3) ガス吸入負荷後の起立試験：ガス吸入負荷後に再度起立試験を実施し、O₂Hb 濃度の変化を観察した。

上記、1)、2)、3)を吸入ガスごとに繰り返した。

各ガス吸入負荷試験によって、正常者では O₂Hb 濃度の変化はみられず（図4）、シックハウス症候群・化学物質過敏症では、O₂Hb 濃度が低下または上昇し、症状が誘発される。起立試験では、正常者は起立直後または座位直後に一過性に O₂Hb 濃度が低下するが、十数秒で以前の状態にもどり、O₂Hb 濃度は一定に維持される（図5）。シックハウス症候群・化学物質過敏症では起立後 O₂Hb 濃度は低下したままで、もとのレベルにもどらず、座位になることで前状態に回復する（図6）。起立によって低下した O₂Hb 濃度が、座位で回復し前レベルを超えて上昇、その後低下し前状態に戻

る過程で頭痛などの症状が誘発される。シックハウス症候群・化学物質過敏症では、ガス吸入負荷前に比較して、ガス吸入負荷後の起立試験の O₂Hb 濃度の低下が大きくなった。O₂Hb 濃度の変動は、同時に総ヘモグロビン濃度も同様の変動をしている事から、脳組織内の血流変化を反映しているものと考えられた。

症例 1 では、症状が現れる仕事場で 2-エチル-1-ヘキサノール、揮発性有機化合物 (以下 VOC)、アルデヒド類を測定した。症例 2 では自宅の VOC、アルデヒド類を測定した。

室内空気中の化学物質測定は、部屋の中央約 1.2m の高さで測定した⁴⁾。アルデヒド類については、症例 1 ではサンプラーに DNPH カートリッジ (Waters 社製、Sep-Pak XPoSure Aldehyde Sampler) を用いて 100ml/min の通気量で 24 時間アクティブサンプリング、症例 2 ではサンプラーに 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 は粒状活性炭チューブ (柴田化学機械工業株式会社製、Charcoal Tube Jumbo) にポンプを用いて、症例 1 では 300ml/min、症例 2 では 500ml/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 (図 7)。症例 2 では測定した約 40 種類の VOC 濃度の総和を総揮発性有機化合物 (以下) TVOC とした。

C. 研究結果

症例 1 : 50 歳男性

主訴 : 改築した職場での頭痛、倦怠感、筋肉痛、胸痛、腹痛、下痢

家族歴 : 10 年前に新築家屋転居後に、娘や息子が気管支喘息、アトピー性皮膚炎などのアレルギー疾患の悪化を起こし、シックハウス症候群と診断された。

既往歴 : 小児期にじんましんを起こした。18 歳でアレルギー性鼻炎、30 歳でスギ花粉

症に罹患。41 歳時、自宅を新築し転居後、頭痛、イライラ感、倦怠感などが現れ、極微量の化学物質にも反応するようになったが、家屋の改修や高性能の空気清浄機などを使うことで症状は軽減した。

現病歴 : 2003 年 8 月、改築した新しい職場に移動した。9 月になると、職場の事務室やその外の廊下に行くと特有の臭いを感じ、頭痛、倦怠感、筋肉痛、胸痛、腹痛、下痢などが起こるようになった。事務室の床は塩化ビニール製 (フタル酸ジエチルヘキシル DEHP20% 含有) の床材をコンクリートの床の上に直接敷き詰めており (図 8)、2-エチル-1-ヘキサノールの汚染が考えられた。

2003 年 9 月、仕事場の室内化学物質濃度を測定したところ、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、トルエン、キシレン、エチルベンゼン、スチレン、1,4-ジクロロベンゼン、テトラドカン、ノナノールは濃度が低く、室内濃度の指針値がある物質はすべてそれ以下であった。2-エチル-1-ヘキサノールは症状が誘発される事務室で 36.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、事務室の外では 24 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ と高値であった (図 9)。

2003 年 4 月、無症状時に実施した起立試験は正常であった。しかし、症状発現後の 2003 年 10 月、ガス吸入負荷前の起立試験では、起立時に O₂Hb 濃度が低下し陽性であった。2-エチル-1-ヘキサノール吸入負荷試験では、ガス吸入中に爽快感が出現し、O₂Hb 濃度が上昇した。2-エチル-1-ヘキサノール吸入負荷試験直後の起立試験では変化がみられなかったが、30 分後には起立時の O₂Hb 濃度低下が改善し正常化した (図 10)。

症例 2 : 11 歳女兒

主訴 : 顔および頭部の湿疹、新築校舎の中学校に入学するか否かの相談

家族歴 : 兄は新築中学校入学時に体育館のトルエン (0.32ppm) でシックスクール症候

群を発病し、古い校舎の中学校に転校して改善した。父方祖父は心筋梗塞を起こしたことがある。

既往歴：以前からときどき頭痛があり、臭いに敏感であった。2000年4月から8月かけて自宅を改築した。2002年9月、自宅の化学物質濃度測定では、寝室のトルエン濃度が $270.8\mu\text{g}/\text{m}^3$ と高値であった。和室のパラジクロロベンゼンも $229.4\mu\text{g}/\text{m}^3$ と高値であった（図11）。

現病歴：2003年7月30日、小学校4年生ごろから、顔や頭に湿疹があり、当院アレルギー外来を受診した。

理学所見：頭部、顔面に脂漏性湿疹あり、扁桃腺肥大あり。

検査所見：2003年7月30日、総IgE: $4.42\text{IU}/\text{ml}$ 、抗原特異IgEは測定項目すべて陰性。IgAが $87\text{mg}/\text{dl}$ と低値であった。

2003年8月14日 抗原特異的リンパ球刺激試験において刺激指数は、牛乳387%、卵793%、小麦311%とすべて陽性であり、食事療法を開始した。同年9月以後、アトピー性皮膚炎は改善した。

2005年に中学入学をひかえており、新築校舎の中学校に入学すべきか、兄と同じ古い校舎の学校に行くべきかを判断するため、2003年12月、ガス吸入負荷試験を実施した。現在はシックハウス症候群・化学物質過敏症の症状は現れていない。

結果は（図12）、1）ガス吸入負荷試験前の起立試験で O_2Hb 濃度が低下した。2）トルエン吸入負荷試験は陰性であった。3）トルエン吸入負荷試験後の起立試験は変化なし。4）2-エチル-1-ヘキサノール吸入負荷試験で O_2Hb 濃度が上昇した。5）2-エチル-1-ヘキサノール吸入負荷試験後の起立試験で O_2Hb 濃度低下が悪化した。試験終了後から1時間ほど拍動性の頭痛があったが、その後に改善した。以上より、ガス吸入負荷前に起立試験陽性（起立性調節障害あり）。2-エチル-1-ヘキサノール吸入負荷で起立試験所見の悪化がみられ、化

学物質によって影響を受けやすい状態が存在すると考えられた。したがって、現在は症状がないが、化学物質に曝露されることによってシックハウス症候群や化学物質過敏症を誘発する可能性があり、化学物質汚染が少ない中学校への入学が望ましいと思われた。

D.考察

2-エチル-1-ヘキサノールはヨーロッパやアメリカにおいて1990年初期から、室内空気汚染化学物質として検出され、粘膜を刺激し、気管支喘息を悪化させる化学物質として認識されている。2-エチル-1-ヘキサノールは、建築材として使用された塩化ビニール製の床剤などに可塑剤として含まれるフタル酸ジエチルヘキシル DEHP が、湿ったコンクリートに接触することによってアルカリ分解されてできるといわれている。したがって、湿度が高いコンクリートを使った床構造と DEHP を含んだ塩化ビニール製の床材との組み合わせで発生する可能性があり、さまざまな生活環境において汚染が広がっていると考えられる。

上島らの症例報告では⁵⁾、シックハウス症候群を起こした症例の環境中の2-エチル-1-ヘキサノールの室内濃度は $469\mu\text{g}/\text{m}^3$ と高濃度であるが、過去のシックビルディングの報告では、最低2-最大 $32\mu\text{g}/\text{m}^3$ の濃度で気管支喘息症状が多くなり⁶⁾、平均 $9.8\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、最高 $17\mu\text{g}/\text{m}^3$ で鼻症状の悪化がみられている⁷⁾。今回の症例（症例1）では、 $36.3\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。

症例1は、吸入負荷及び起立試験で2-エチル-1-ヘキサノール吸入によって起立試験が正常化した。職場では2-エチル-1-ヘキサノールのみ濃度が高いこと、ガス吸入負荷での2-エチル-1-ヘキサノール臭と、職場での化学物質臭が酷似しているため、おそらくは2-エチル-1-ヘキサノールによって症状が誘発されているものと考えられた。2-エチル-1-ヘキサノール吸入負荷によって生じた起立試験所見の正常化は、化学物質過敏症例

で経験するマスキングや、治療のために一定濃度の化学物質の負荷をすることより症状を改善させる中和療法と同様の病態が起きたと考えられた。化学物質刺激により、脳内血管は拡張し症状が誘発されると考えられるが¹⁾、この状態は内因性のセロトニンによる血管収縮作用によって改善される。化学物質刺激が過度に持続的に生じている場合は、内因性のセロトニンが枯渇し、軽度の化学物質刺激で血管は容易に拡張し激しい症状が起こるようになると思われる(図12)。症例1の場合は、病態が初期の段階にあり(セロトニンの枯渇が起きていない状態)、2-エチル-1-ヘキサノール吸入による刺激で内因性セロトニン増加の誘導が起こり、起立試験所見が正常化したと考えられた。

症例2は、現在はシックハウス症候群の症状はないが、家族に発病者が存在し、2-エチル-1-ヘキサノール吸入によって起立試験所見は悪化した。今後、化学物質刺激によってシックハウス症候群・化学物質過敏症に進展していく可能性が考えられた。この症例のような例は、多数存在する可能性がある。近赤外線酸素モニターを使ったガス吸入負荷試験及び起立試験は、このような未発病の潜在的なシックハウス症候群・化学物質過敏症を診断し、化学物質を避けた健全な生活を志向するように指導するためには有用と思われた。

E. 結論

塩化ビニール製の建材から揮発する DEHP の代謝産物である 2-エチル-1-ヘキサノールは、シックハウス症候群や化学物質過敏症の原因となる可能性を指摘した。2-エチル-1-ヘキサノールは環境中に汚染が拡大している可能性があり、対策が必要と考えられた。

F. 参考文献

1) Kakuta K, Yoshino H, Amano K, Hojo S, Takeda A, Ishikawa S: A chemical gas short time inhalation examination and an orthostatic stress test before and after

gas inhalation using near infrared spectroscopy in order to diagnosis of sickhouse syndrome. Japanese Journal of Clinical Ecology 12:15-26, 2003

角田和彦、吉野博、天野健太郎、北條祥子、武田篤、石川哲：近赤外線脳内酸素モニターによるシックハウス症候群の診断—ポリ袋を用いた化学物質の短時間吸入負荷試験とガス吸入負荷前後の起立試験—臨床環境医学 12:15-26, 2003

2) Kobayashi Y et al: Tissue Oxygenation Monitor with New Features Using NIR Spatially Resolved Spectroscopy, Therapeutic Reserch 21:1528-1531, 2000
小林幸雄、高崎住男、他：近赤外光による組織酸素モニター装置. Therapeutic Research 20:1528-1532, 2000

3) Krakow K, Ries S et al: Simultaneous Assessment of Brain Tissue Oxygenation and Cerebral Perfusion during Orthostatic Stress, Eur Neurol 43:39-46, 2000

4) Iida N, Yoshino H, Amano K, Kakuta K, Hojo S, Ishikawa S: Field survey about residential environment and health condition in sick houses. Japanese Journal of Clinical Ecology 11:77-87, 2002

飯田望、吉野博、天野健太郎、角田和彦、北條祥子、石川哲：シックハウスにおける居住環境の実態と健康に関する調査研究. 臨床環境医学 11:77-87, 2002

5) Kamijima M, Sakai K, Shibata E, et al: 2-Ethyl-1-hexanol in indoor air as a possible cause of sick building symptoms. J Occup Health 2002; 44: 186-191.

6) Norback D, Wieslander G, Nordstrom K, Walinder R.: Asthma symptoms in relation to measured building dampness in upper concrete floor construction, and 2-ethyl-1-hexanol in indoor air. Int J Tuberc Lung Dis. 4(11):1016-25, 2000

7) Walinder R, Norback D, Wessen B, Venge P.: Nasal lavage biomarkers: effects of water damage and microbial growth in an office building. Arch Environ Health. 56(1):30-6, 2001

G.健康危機情報

なし

H.研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

I.知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

- 1.特許取得 なし
- 2.実用新案登録 なし
- 3.その他

図 1：近赤外線酸素モニター（NIRO300）測定原理

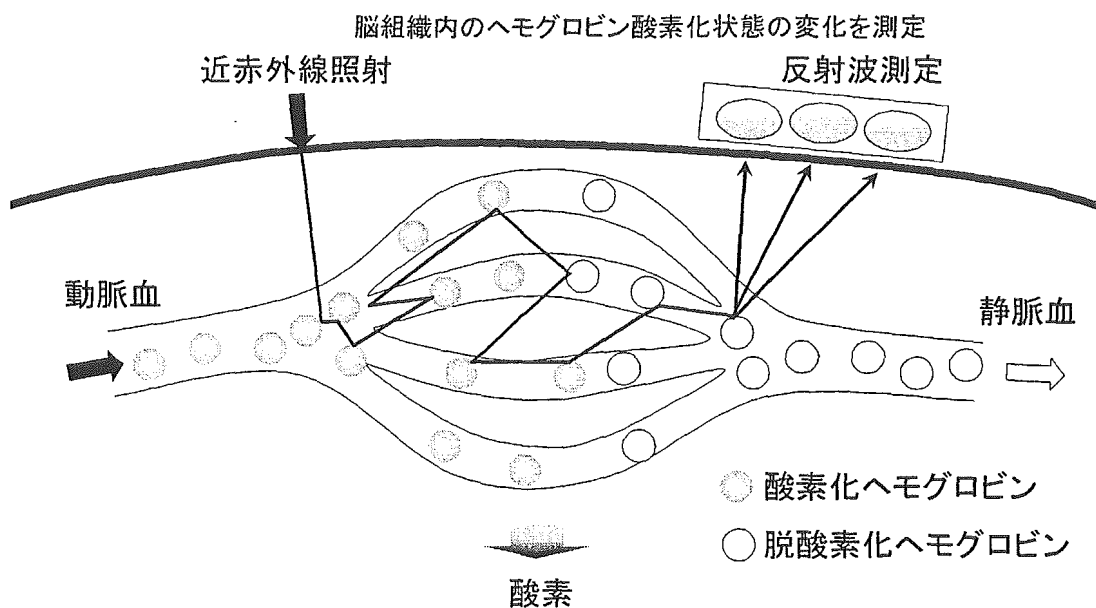


図 2：近赤外線脳内酸素モニター測定方法 プローブ装着・起立試験・ガスの調整・吸入負荷

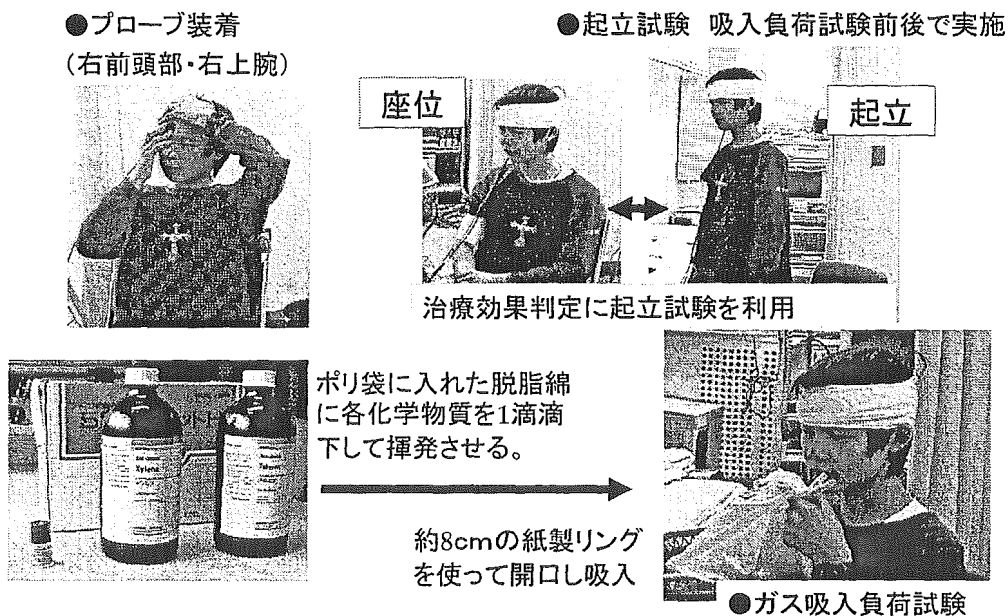


図 3 : ガス吸入負荷・起立試験方法

吸入化学物質は、トルエン（1滴）、2-エチル-1-ヘキサノール（1滴）を使用した。

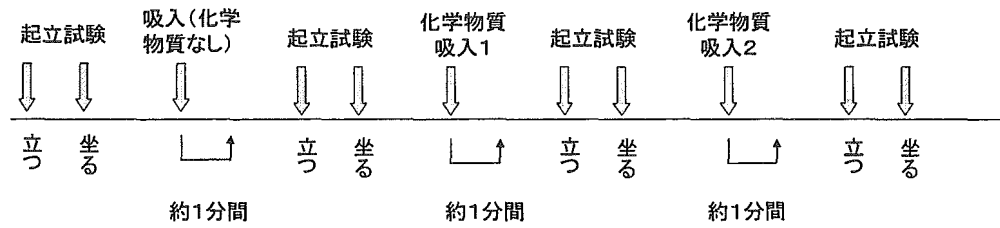
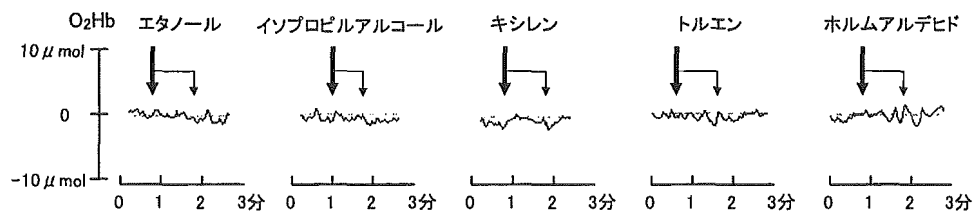


図 4 : ガス吸入負荷による O₂Hb（酸素化ヘモグロビン）の変化（正常例）



負荷判定: O₂Hbが基線より1 μmol未満の変化を正常

1 μmol以上の変動を軽度陽性

2 μmol以上の変動を陽性

図 5 : 起立試験（正常例）

O₂Hb は起立・座位で一時的に低下するが、自己調節されて、起立前の値に戻る。

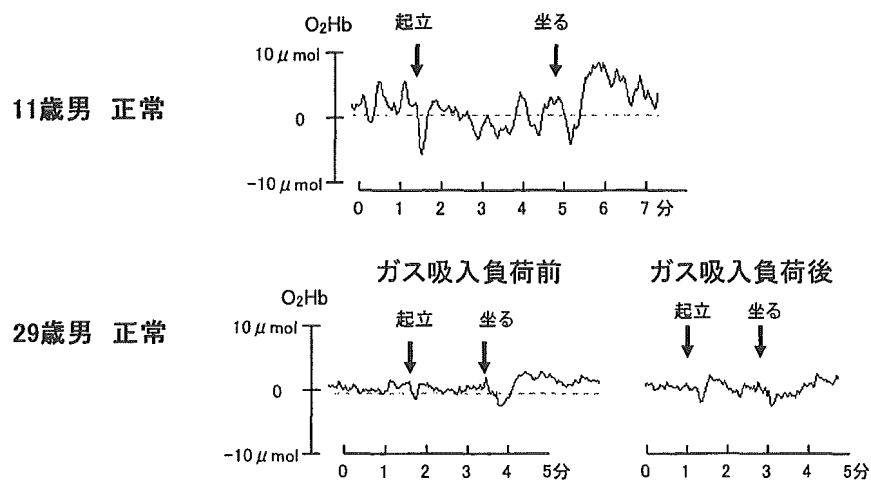
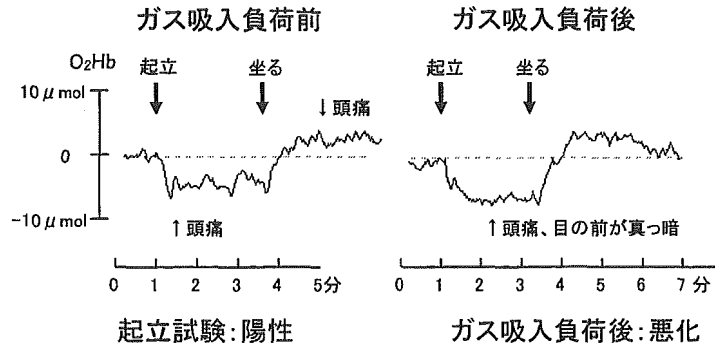


図6：シックスクール症候群症例（13歳男）

症例2の兄の起立試験所見

シックスクール症候群症例(13歳男) 症状:頭痛 体育館トルエン濃度 0.32ppm



起立試験判定基準:

起立時O₂Hbが基線に戻る:1 μmol未満:正常

基線に戻らず:1-2 μmol未満:軽度陽性

2 μmol以上:陽性

図7：室内化学物質測定方法

症例1 測定法

	アルデヒド類	揮発性有機化合物 (VOC)
捕集方法	DNPHカートリッジ (Waters社製) 使用 24時間アクティブサンプリング (通気量: 100ml/min)	粒状活性炭チューブ (柴田化学社製) 使用 24時間アクティブサンプリング (通気量: 300ml/min)
分析方法	アセトニトリル (4ml) を溶媒として抽出 高速液体クロマトグラフ (HPLC) に導入	二硫化炭素 (2ml) を溶媒として抽出 ガスクロマトグラフに導入
分析条件	国立保健医療科学院建築衛生部にて分析 分析機器: HPLC (HEWLETT PACKARD)	東スリーエス (株) 研究開発分析室にて分析 分析機器: GC/MS (島津製作所 (株) QP-5050型)

症例2 測定法

	アルデヒド類	揮発性有機化合物 (VOC)
捕集方法	DNPHカートリッジ (Waters社製) 使用 24時間パッシブサンプリング	粒状活性炭チューブ (柴田化学社製) 使用 24時間アクティブサンプリング (通気量: 500ml/min)
分析方法	アセトニトリル (4ml) を溶媒として抽出 高速液体クロマトグラフ (HPLC) に導入	二硫化炭素 (2ml) を溶媒として抽出 ガスクロマトグラフに導入
分析条件	国立公衆衛生院建築衛生学部にて分析 分析機器: HPLC (高速液体クロマトグラフ) 検出器: DAD (Diode Array Detector) カラム: Eclipse XDBカラム (ポアサイズ80, 5 μm×250mm) 移動相: 水:アセトニトリル=35:65 移動相の流速: 1.0ml/min カラム温度: 35°C 検出波長: 365nm (Ref. 600nm) 輸送圧力: 78~81bar	東北化学工業大学環境計画工学科にて分析 分析機器: GC (ガスクロマトグラフ) 検出器: FID, FID感度10 (水素炎イオン化検出器) カラム: CP-Sil8cb (100m×530 μm×5.0 μm) 移動相: 窒素 移動相の流速: 18ml/min カラム温度: 40°C-320°C DET: 280°C インジェクション: 280°C

図 8：症例 1：事務室の塩化ビニール製床材の組成と化学物質測定風景

塩化ビニール製床材 原材料名	組成（重量%）	
	表層	下層
塩化ビニール樹脂	70	20
可塑剤(DOP、別名 DEHP)	26	20
充填剤(炭酸カルシウム)	—	46
帯電防止剤	2	2
顔料、その他	2	2

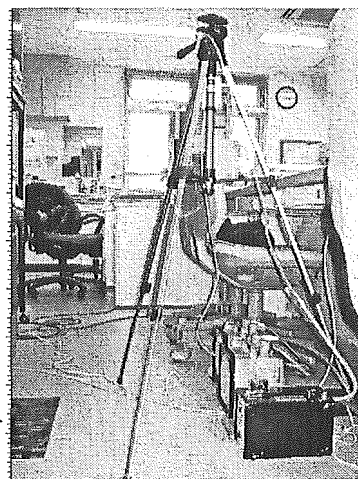


図 9：症例 1 職場の化学物質測定結果

測定箇所		事務室	事務室の外	外気	室内濃度指針値(両単位の換算は、25°の場合による)
測定時平均温度	℃	26.1	24.8	19.3	
測定時平均湿度	%RH	53.1	57.6	82.1	
濃度					
2-エチル-1-ヘキサノール	μg/m ³	36.3	24	0.2未満	
トルエン	μg/m ³	17	9.3	1.3	260 μg/m ³ (0.07ppm)
キシレン	μg/m ³	9.9	4.8	0.8未満	870 μg/m ³ (0.20ppm)
エチルベンゼン	μg/m ³	9.5	2.8	0.4	3800 μg/m ³ (0.88ppm)
スチレン	μg/m ³	0.2未満	0.2未満	0.2未満	220 μg/m ³ (0.05ppm)
1,4-ジクロロベンゼン	μg/m ³	1.2	1.6	3	240 μg/m ³ (0.04ppm)
テトラドカン	μg/m ³	29.1	20.5	0.3未満	330 μg/m ³ (0.04ppm)
ノナナール	μg/m ³	7.7	4	3.8	41 μg/m ³ (7.0ppb)(情報量が乏しいことから暫定値)
ホルムアルデヒド	μg/m ³	45.9	31.7	2.7	100 μg/m ³
	ppm	0.037	0.026	0.002	0.08ppm
アセトアルデヒド	μg/m ³	25.7	15.7	1.5	48 μg/m ³
	ppm	0.016	0.010	0.001	0.03ppm

図 10：症例 1：50 歳男性 ガス吸入負荷試験・起立試験

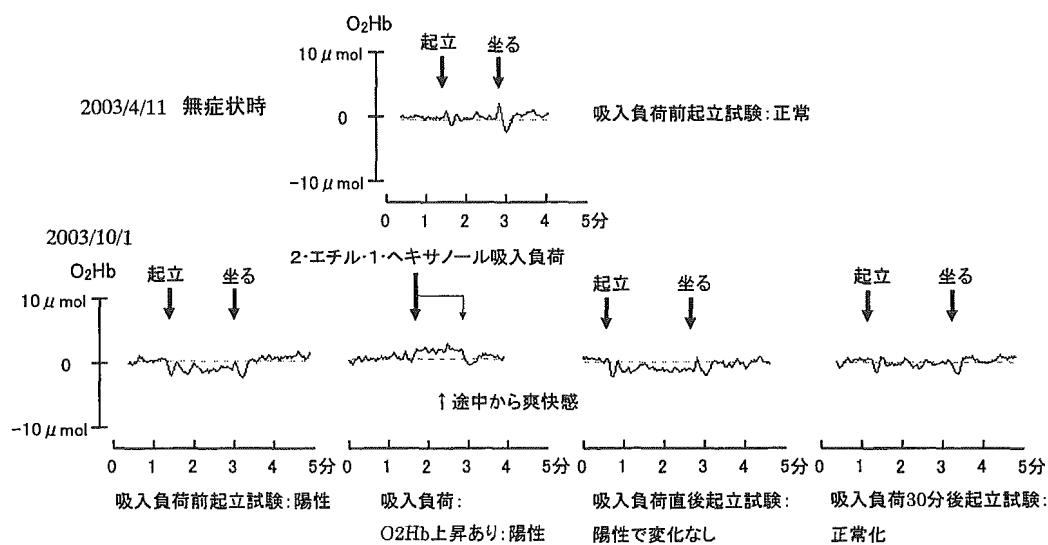


図 11：症例 2：11 歳 女児 自宅の化学物質測定結果

測定箇所		外気	1F居間	2F寝室	1F和室	室内濃度指針値(両単位の換算は、25°の場合による)
測定時平均温度	°C	16.8	21.5	24.5	22.2	
測定時平均湿度	%RH	71.0	56.7	52.7	54.4	
濃度						
2-エチルヘキサノール	μg/m ³	-	-	-	-	
トルエン	μg/m ³	27.6	54.1	270.8	58.9	260 μg/m ³ (0.07ppm)
m, p-キシレン	μg/m ³	0.0	8.9	9.2	10.5	870 μg/m ³ (0.20ppm)
o-キシレン	μg/m ³	0.0	3.6	6.6	2.5	870 μg/m ³ (0.20ppm)
エチルベンゼン	μg/m ³	0.0	10.2	9.6	12.0	3800 μg/m ³ (0.88ppm)
p-ジクロロベンゼン	μg/m ³	0.0	130.8	153.4	229.4	220 μg/m ³ (0.05ppm)
テトラドカン	μg/m ³	0.0	3.7	43.5	7.9	330 μg/m ³ (0.04ppm)
TVOC	μg/m ³	80.0	493.4	1005.1	640.0	400 μg/m ³ 以下
ホルムアルデヒド	μg/m ³	95.9	175.6	160.6	142.8	100 μg/m ³
	ppm	0.08	0.14	0.13	0.12	0.08ppm
アセトアルデヒド	μg/m ³	46.8	333.6	360.8	148.4	48 μg/m ³
	ppm	0.03	0.18	0.20	0.08	0.03ppm

図 12 : 症例 2 : 11 歳 女児 ガス吸入負荷試験・起立試験

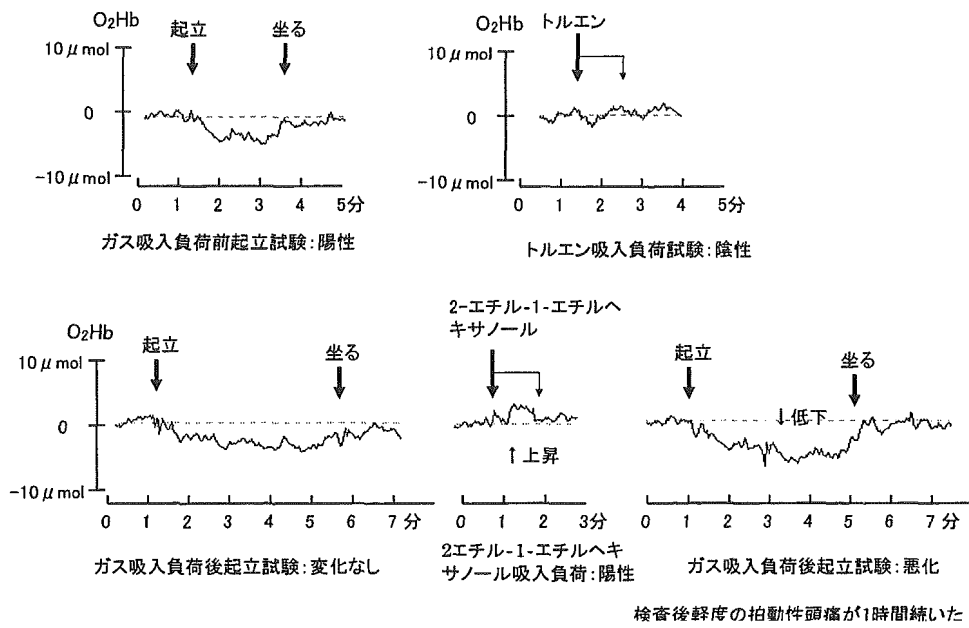
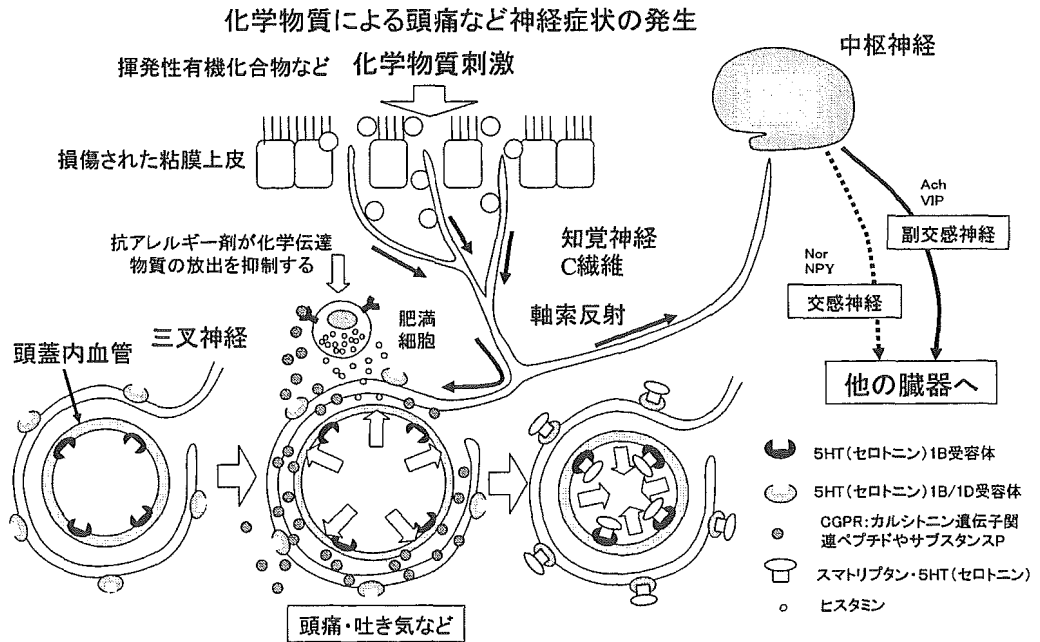


図 13 : 化学物質による頭痛など神経症状の発生

神経刺激によって神経から神経ペプチドが放出され、血管拡張、血管透過性亢進、肥満細胞から化学伝達物質放出を引き起こし、三叉神経支配の血管周囲に浮腫や炎症が起こる。セロトニンが枯渇すると血管拡張が抑制できなくなり、拍動性頭痛となる



iii) 室内環境化学物質に対する応答性を規定する遺伝的要因に関する研究

分担研究者 神野 透人 国立医薬品食品衛生研究所 環境衛生化学部 第一室長
 研究協力者 埴岡 伸光 岡山大学薬学部 衛生代謝解析学研究室 助教授
 香川 聡子 国立医薬品食品衛生研究所 環境衛生化学部

研究要旨 室内環境化学物質に対する応答性を規定する遺伝的な要因を明らかにする目的で Cytochrome P450 (CYP)の一分子種であるCYP2B6の一塩基多型が酵素機能に及ぼす影響を検討し、Lys262Argのアミノ酸置換によってVmaxおよびVmax/Kmが増加すること、すなわち酵素機能が亢進することが明らかになった。また、Real-time PCRを用いてCYP2B6およびCAR遺伝子発現量の個体差について検討を行った結果それぞれ最大で3.7倍、3.4倍の個体差が認められた。

A. 研究目的

シックハウスシンドロームや化学物質過敏症等、室内環境化学物質の曝露に起因すると考えられる疾病には比較的大きな個体差が認められる。このような室内環境化学物質に対する「感受性」に影響を及ぼす遺伝的要因を明らかにすることは重要な課題であると考えられる。

本研究では、化学物質の代謝・解毒に重要な役割を果たしているCytochrome P450にの一分子種であるCYP2B6に着目し、表1に示した一塩基多型 (Single Nucleotide Polymorphism; SNP)が酵素機能に及ぼす影響を検討した。また、SNPによる機能変化とともに酵素発現量の個体差を明らかにするために、ヒト肝臓中のCYP2B6およびCYP2B6遺伝子上流のPhenobarbital Responsible Enhancer Module

(PBREM)を介して転写を制御することが知られている核内レセプター CAR (Constitutive Androstane Receptor)のmRNA発現量を測定した。

B. 研究方法

ヒト正常肝臓mRNA (BioChain Institute)から SuperScript First-strand Synthesis System (Invitrogen)を用いてcDNAを合成した。得られたcDNAを鋳型として、2種類のPrimer (5'-CACCATGGAAGCTCAGCGTCCTCCT-3' および 5'-TCAGCGGGGCA GGAAGCG-3')を用いてPCRで野生型CYP2B6 cDNAを増幅した。得られたAmpliconをpENTR/D-TOPOベクターにクローニングし、Sequenceを確認した後に、QuikChange Multi Site-directed Mutagenesis Kit (Stratagene)で変異を導

表1 日本人のCYP2B6アレル頻度

Allele ^a	Protein	Nucleic acid changes	Amino acid substitution(s)	Allele Frequencies in a Japanese Population ^b
CYP2B6*1 ^c	CYP2B6.1	None	None	0.685
CYP2B6*2	CYP2B6.2	64C>T	Arg22Cys	0.047
CYP2B6*3	CYP2B6.3	777C>A	Ser259Arg	0
CYP2B6*4	CYP2B6.4	785A>G	Lys262Arg	0.093
CYP2B6*5	CYP2B6.5	1459C>T	Arg487Cys	0.011
CYP2B6*6	CYP2B6.6	516G>T; 785A>G	Gln172His; Lys262Arg	0.164
CYP2B6*7	CYP2B6.7	516G>T; 785A>G; 1459C>T	Gln172His; Lys262Arg; Arg487Cys	0

^a Lang et al. (2001) Pharmacogenetics 11: 399-415.

^b Hiratsuka et al. (2002) Eur J Clin Pharmacol 58: 417-421.

^c Wild-type