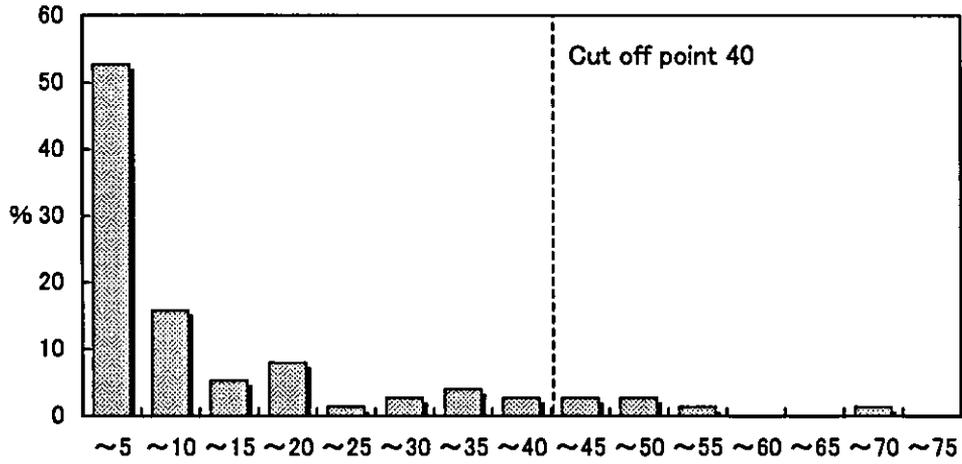
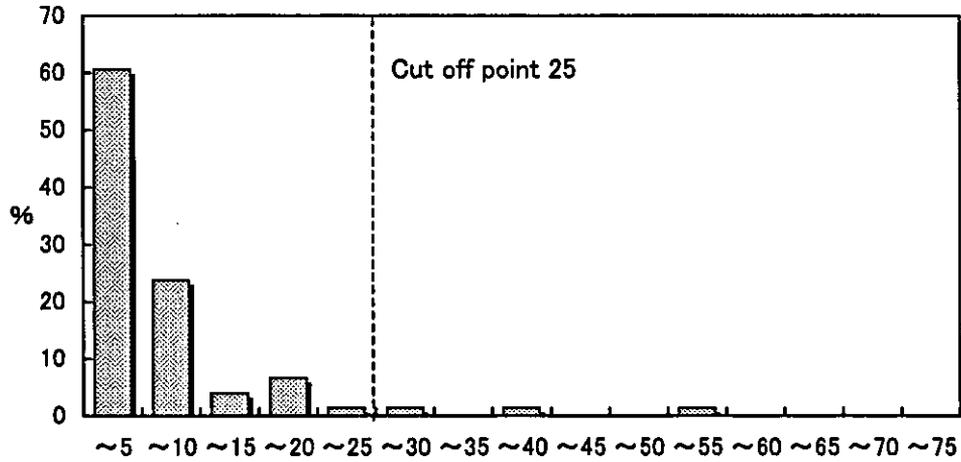


図51 VOCs個人曝露濃度と尿中の代謝物質濃度比較

Q1「化学物質曝露による反応」についてのスコアの分布



Q2「その他の化学物質曝露による反応」についてのスコアの分布



Q3「症状」についてのスコアの分布

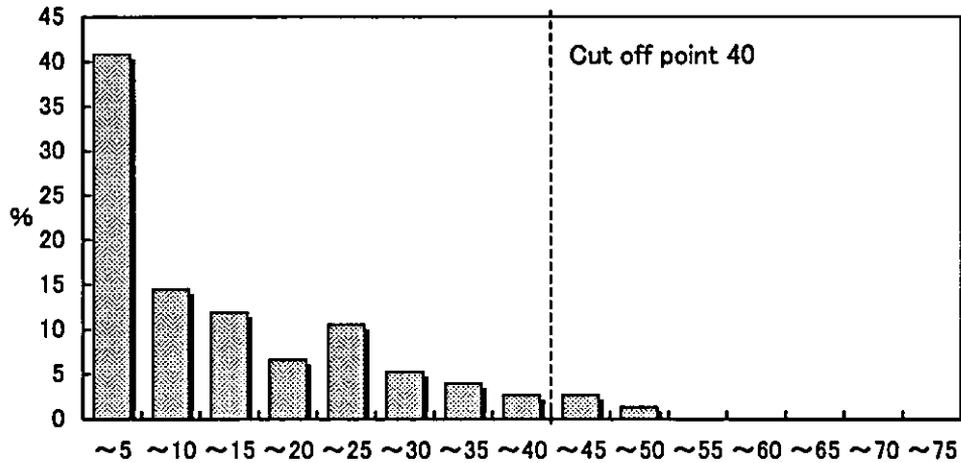


図52 3項目のスコア分布

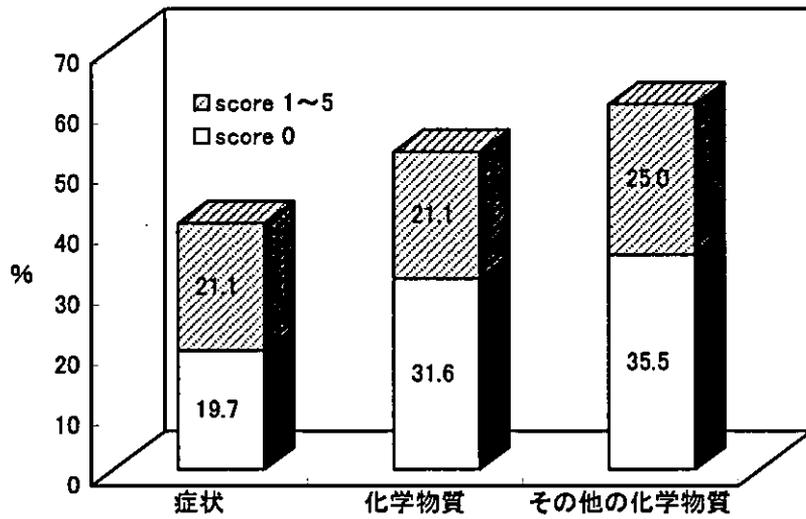


図53 3項目のスコアが0~5の人の割合

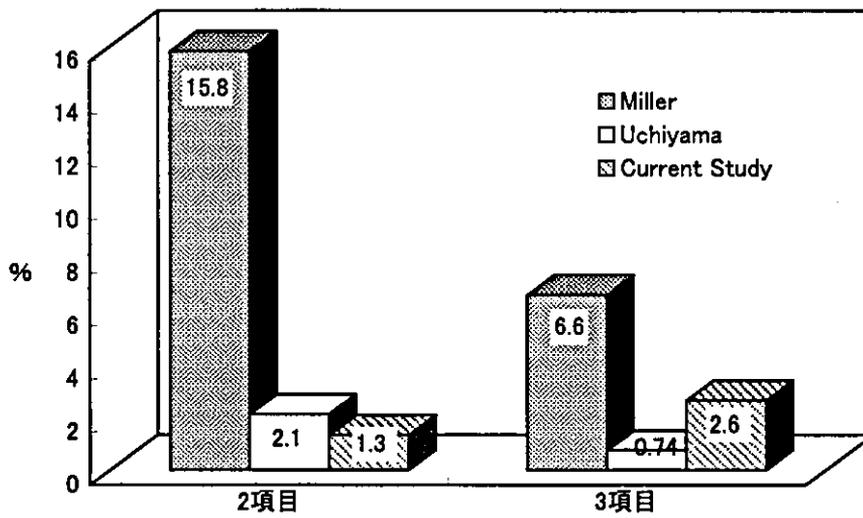


図54 カットオフ値を超えた人の割合の他の調査機関との比較

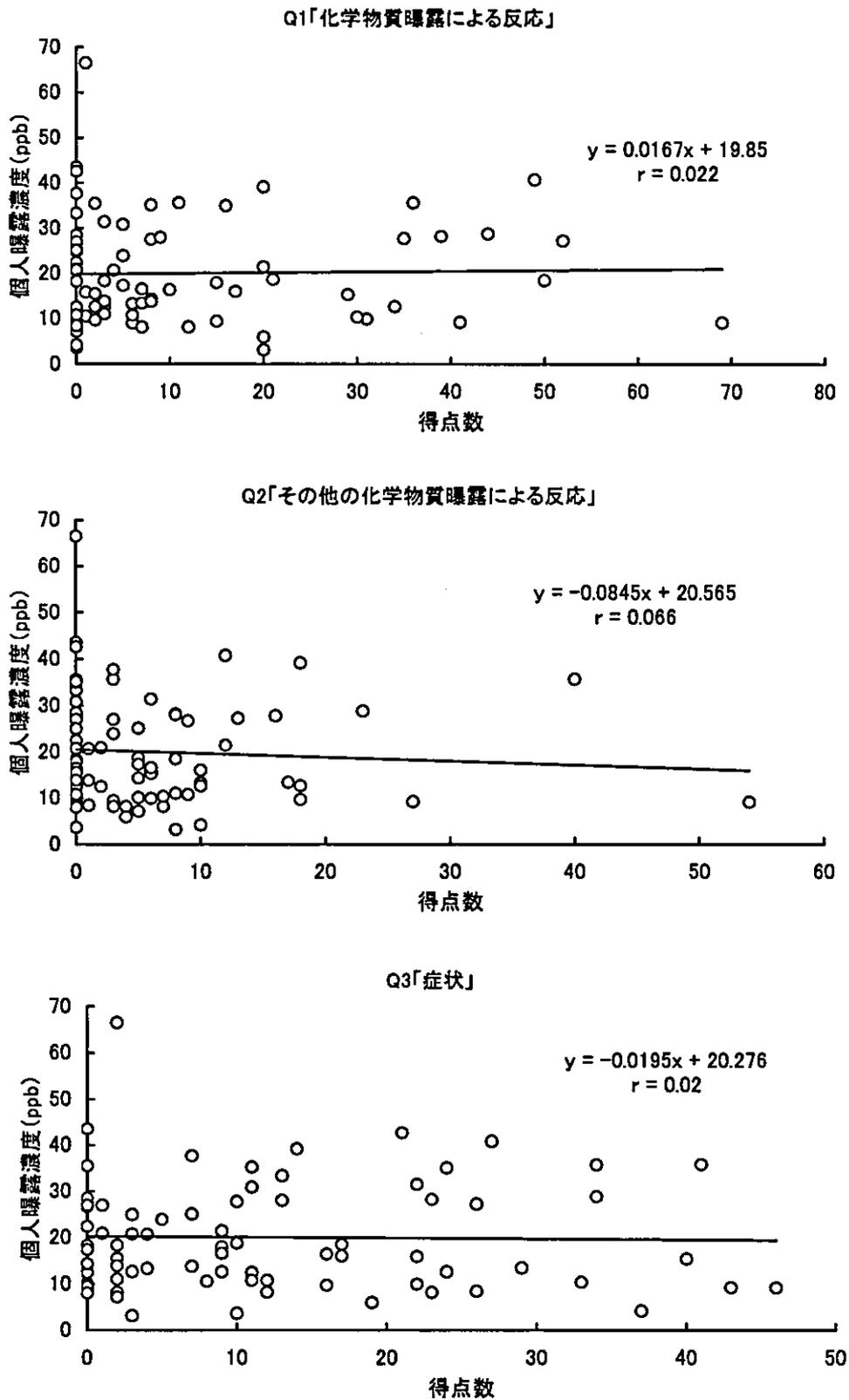


図55 各項目における得点数とホルムアルデヒド個人曝露濃度との関係

## 室内汚染微量化学物質の生体モニタリングに関する研究

### —新築校舎における有害大気汚染物質の曝露に関する研究—

主任研究者 内山巖雄 京都大学大学院工学研究科 教授  
研究協力者 村山留美子 京都大学大学院工学研究科 助手  
山口貴史 群馬県衛生環境研究所 独立研究員  
野村直史 京都大学大学院工学研究科 博士課程

#### 研究要旨

新築校舎の化学物質汚染の状況を検討するために、京都市内の大学が新しいキャンパスに新築した校舎を対象に、移転前後の館内の化学物質濃度及び、学生が主に生活する研究室の室内化学物質濃度を検討すると共に、移転する講座の協力を受け、研究室で活動する人にVOCのパッシブサンプラーをつけてもらい、新築校舎における個人曝露濃度、尿中化学物質濃度の関連を検討した。

その結果、シックスクール等に配慮した建材を使用した新築校舎においては、築後6ヶ月間、換気等を行った段階で、アルデヒド類、VOCsともに、高濃度の汚染は認められなかった。また、移転後はさらに室内濃度は低下し、個人曝露濃度測定においても移転後の高濃度曝露は認められなかった。

ただし、尿中化学物質濃度については、研究室滞在中や滞在後にスチレンが高濃度で検出される例があり、パッシブサンプラー等では検知できないスパイク曝露を受けている可能性も考えられた。今後はこのような曝露についても注意を払い、検討を行っていく必要があるものと思われた。

#### A. 研究目的

室内環境が従来の開放型のものから閉鎖型の家屋に移行し、さらに、様々な化学物質を用いて作られる建材や日用品の使用、調理・暖房器具の使用が増えているのに伴い、室内の化学汚染物質の増大と、その汚染物質による人への健康影響についての関心が高まっている。また、近年では特に、いわゆる「シックスクール問題」と呼ばれる、幼稚園や保育所、学校施設などの室内汚染が問題となっている。

これまで、新築家屋については、使用された建材等から出る化学物質によりその家屋に住む人が健康被害を受けた「シックハウス症候群」と言われる症状が大きな問題となっていた。これに対し、「シックスクール問題」とは、保育所や幼稚園、学校施設において、新築やリフォーム、ワックスがけなどのメンテナンスに使用された化学物質により、そこに通う幼児や学童、生徒などが健康影響を受けることを指す。保育施設や学校では、これまで主にシックハウス症候群などの対象となってきた成人とは代謝等が異なる幼児や学童が多く通う場所であり、化学物質の汚染は大きな問題になると思われる。

そこで、これまで検討を行ってきた手法を改良し、

キャンパス移転を行う大学の新築校舎を対象として、新築校舎の汚染の状況や、移転による個人の化学物質曝露濃度の変化の検討を行うと共に、生体試料中のVOCs濃度等を測定して曝露アセスメントを行うことを目的とした。

#### B. 研究

##### B.1. 研究方法

###### B.1.1. 対象新築校舎について

京都市内にあるK大学工学部の新築校舎を対象とした。

K大学では近年、一部学科の新キャンパスへの移転計画を進めている。2004年の3月には新たな校舎が完成し、9月には同校舎への一部の専攻の移転が実施された。表1は、同専攻の移転スケジュールの概要である。

移転作業は、建物の完成から約半年後に実施された。この間、大学の施設・環境部の事務員などが休日を除く、ほぼ毎日新築校舎の換気を行っていた。換気は窓を開放することによる自然換気で、開放した窓は廊下および共通教室、事務室であり、各研究室や教授室等の部屋の屋外に面した窓については開放されていなかった。ただし、各部屋の廊下に面した扉上部の

天窓は 30cm 程常時開放した状態であった。

また、新校舎の建築に使われた建材は、シックハウス(シックスクール) 症候群防止の観点から、ホルムアルデヒドを使用しないものや、使用されていても JIS・JAS の F☆☆☆☆等級のものが大部分であった。使用されていた各製品の MSDS によれば、接着剤においては酢酸エチル、n-ヘキサン、アセトン、メチルシクロヘキサンを多く含むものが見受けられたが、ホルムアルデヒドについては含まれていても不純物としてごくわずかに含まれている程度と考えられた。建物の内壁はほぼ「コンクリート打ち放し」であるが、研究室等の一

部の内壁で使用された壁紙についても F☆☆☆☆のものであった。

### B.1.2. 搬入された什器類について

新校舎への什器類の搬入は、建物完成後間もない3月10～15日に行われた。什器類に使用している材料についても全体的には F☆☆☆☆等級のものが多かった。接着剤や塗料については、酢酸エチル、酢酸ブチル、n-ヘキサンなどを多く含むものは見受けられるが、F☆☆☆☆等級のものが大部分であった。ただし、一部の什器類では F☆☆☆☆等級の木質系素材が使用されており、主に学生の居室となる研究室に搬入された什器類についてはそうしたものが多かった。研究室は、多くの学生にとって建物内でもっとも滞在時間が長くなる空間と考えられる。表2に研究室内に搬入された什器に使用された素材を示した。

大学として一括して購入された什器類については、特にホルムアルデヒド、トルエン、キシレンなどの物質をなるべく含まないようなものを選択するように配慮されていた。

表1 移転スケジュールの概要

日付	事柄
3月8日	新校舎竣工
3月8～9日	新築時の室内空気中化学物質の濃度測定 (ホルムアルデヒド、トルエン、キシレン)
3月10～15日	什器類の搬入
9月6～17日	建築学専攻の移転作業実施 (9講座 学生数 216人)

表2 研究室内に搬入された什器類に使用された材料

	合板	単板積層材	MDF	パーティクルボード	接着剤	塗料	希釈シンナー	備考
平机	F☆☆☆	-	-	F☆☆☆	F☆☆☆☆	-	-	-
ワゴン	-	-	F☆☆☆	F☆☆☆	F☆☆☆☆	-	-	-
ミーティングテーブル	F☆☆☆	-	-	F☆☆☆	F☆☆☆☆	-	-	-
書庫(ラテラル3段)	-	-	-	F☆☆☆	F☆☆☆☆	キシレン(4.6%含有) ホルムアルデヒド(0.1-1%含有)	トルエン(25%含有)	塗料、シンナーは工場で焼付塗装工程を通過
書庫(両開き)	-	-	-	F☆☆☆	F☆☆☆☆	キシレン(4.6%含有) ホルムアルデヒド(0.1-1%含有)	トルエン(25%含有)	塗料、シンナーは工場で焼付塗装工程を通過
ミーティングチェア	-	F☆☆☆	-	-	<クッション張り用> トルエン(25-35%含有) キシレン(5%以下含有)	粉体塗料(ホルムアルデヒド、トルエン、キシレンは含まれず)	-	-

### B.1.3. 新築校舎内空気中の化学物質濃度測定

#### B.1.3.1. 測定対象場所

新築校舎内の空気汚染状況の把握や、移転や時間の経過に伴う、校舎内空気中の化学物質濃度の変化などを把握するため、建築学専攻の移転直前の8月から移転3ヵ月後の12月にかけて、5回にわたってホルムアルデヒドやVOCsなどの化学物質濃度の測定を実施した。

測定対象場所としては、対象となる専攻に属する一研究室の協力を得て、新築校舎2階にある同研究室が使用する部屋（新研究室Aとする）と新研究室A内の什器類中、新築校舎内の数点、移転元となる旧校舎においてA研究室が使用していた部屋（旧研究室Aとする）及び旧研究室と同敷地内にある他研究室（研究室Yとする）で実施した。各測定の測定時期と測定点を表3に示す。

新研究室Aにおける測定では、8月は3点、以後は2点の測定点を設けた。また机引き出しは、平机の下にあるワゴンの引き出し、書庫は新研究室A内に取り付けられたものである。また、廊下は新研究室A前の廊下（2階）、ホールは1階のエントランスホールを意味している。

#### B.1.3.2. 測定対象物質

測定対象物質は、厚生労働省で室内濃度の指針値が発表されているホルムアルデヒドやアセトアルデヒド、身の回りにおいて高濃度で検出される可能性の高いVOCs32物質（表4）である。また、初回の測定で、2-エチル-1-ヘキサノール（2E1H）の濃度が高いことが考えられたために、以後、2E1Hの濃度も推定した。

#### B.1.3.3. 測定方法と測定条件

サンプリングが少ない人員ですむことや、同時に複数の点が測定できること、竣工時の測定との比較の点を考慮し、パッシブ法による測定を実施した。

試料捕集の高さは、床上130cmとした。什器類中での測定では、壁面から5～10cm離れた位置にパッシブサンプラーを取り付けた。

測定条件は、実際に使用されていたことや空間の都合上密閉が不可能であることが多く、通常の使用状況下での測定がほとんどであるが、新研究室Aにおいては、移転前の8月と9月の測定、移転後の12月の測定で密閉サンプリングを行った。9月と12月の測定では、30分換気後に5時間以上室内を密閉したのちにサンプリングを実施した。取り付け時間はいずれも約24時間で、正午から翌日の正午までの時間でサンプリ

表3 各測定時期と測定点

測定回	時期	新キャンパス							旧キャンパス	
		新研究室A	廊下	ホール	外階段	新研究室A内 什器類	机引出	書庫	本棚	旧研究室A
移転前（8月）	8月11～12日	○	-	-	-	-	○	-	-	○
移転前（9月）	9月2～3日	○	○	○	○	○	-	○	○	-
移転後（9月）	9月27～28日	○	○	○	○	-	-	-	-	-
移転後（11月）	11月8～9日	○	○	○	○	-	-	-	-	-
移転後（12月）	12月30～31日	○	-	-	-	○	○	○	-	○

表4 測定対象物質

脂肪族系	芳香族系	有機塩素系	有機塩素系	有機塩素系	有機塩素系
ヘキサン	トルエン	クロロホルム	クロロホルム	有機塩素系	p-ジクロロベンゼン
2,4-ジメチルペンタン	エチルベンゼン	1,2-ジクロロエタン	1,2-ジクロロエタン	エステル類	酢酸エチル
ヘプタン	m,p-キシレン	1,1,1-トリクロロエタン	1,1,1-トリクロロエタン	ケトン類	酢酸ブチル
オクタン	o-キシレン	四塩化炭素	四塩化炭素	アルコール類	メチルエチルケトン
ノナン	スチレン	1,2-ジクロロプロパン	1,2-ジクロロプロパン	テルペン類	メチルイソブチルケトン
デカン	1,3,5-トリメチルベンゼン	トリクロロエチレン	トリクロロエチレン		1-ブタノール
ウンデカン	1,2,4-トリメチルベンゼン	テトラクロロエチレン	テトラクロロエチレン		α-ピネン
芳香族系	1,2,3-トリメチルベンゼン	クロロジプロモメタン	クロロジプロモメタン		リモネン

ングを行った。

今回の測定では、パッシブサンプラーに捕集された化学物質を溶媒で抽出し、クロマトグラフィーにより分析・定量した。使用したパッシブサンプラーや分析方法等の概要を表5に示した。

#### B.1.4. 個人曝露量評価

##### B.1.4.1. 測定対象者

A研究室の学生4名を対象に測定を実施した。測定は、新築校舎内の空气中化学物質濃度の測定とあわせて行い、A研究室が移転する2週間前の9月2～3日、移転2週間後の9月27～28日、移転約2ヵ月後の11月8～9日に実施した(なお、尿中化学物質濃度測定については、移転前と移転後2週間のデータを本研究の考察対象とした)。測定実施日ごとに、対象者にはそれぞれ問診表と行動記録表を記入してもらい、喫煙の状況や住居の変化の有無や、個人曝露濃度測定中の大まかな行動について把握した。4名のうち、移転前後で住居の変更があったものはなかった。測定対象者の住居、喫煙等の状況について表6に示す。

##### B.1.4.2. 個人曝露濃度サンプル採取

パッシブサンプラー(SUPELCO社製 VOC-SD)を専用のクリップに取り付け、対象者の襟元につけてもらい約24時間普段と同様に生活してもらった。測定対象物質はB.1.3.2.項に示したものと同様である。サンプラーはサンプリング終了後に回収し、測定に供した。

##### B.1.4.3. 尿サンプル採取

対象者に、事前に、洗浄済み10mlバイアルビンと採尿用紙コップを渡し、個人曝露量測定を行った同日の朝・昼・夜及び翌朝の4回の採尿を行ってもらった。採取した尿はバイアルビンのふたがきちんと閉まっていることを確認した後に、最終のサンプルの採取及び送付まで冷蔵庫か保冷剤を入れた発砲スチロール製の保冷箱に入れて保存した。採取終了後、すみやかに京都大学へ送付した。

サンプルは測定終了まで4℃で保存した。

##### B.1.4.4. 尿中化学物質濃度測定

測定対象物質はクロロホルム、ベンゼン、トルエン、エチルベンゼン、m,p-キシレン、o-キシレン、スチレン、p-ジクロロベンゼン、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレンとした。

尿は採取・保存用バイアルビンからシリンジを用いて2mlを採取し、測定用バイアルに移し、内部標準物質(フルオロベンゼン GLサイエンス社製)を加え20℃で90分静置した後に、ダイナミックヘッドスペース/GC/MS法で測定した。ヘッドスペース導入装置にはパージ&トラップシステム(VOC-100、DKKエンジニアリング製)を用い、パージガスにはHeを用いた。ガスクロマトグラフ質量分析計にはGCMS-QP2010(島津製作所製)、カラムにはキャピラリーカラム(SUPELCO Equity-1 30m×0.25mm)を用いた。

測定対象とした9物質のうち、トリクロロエチレン、

表5 分析方法

VOCs		アルデヒド類	
パッシブサンプラー	VOC-SD (SUPELCO製)	パッシブサンプラー	DSD-DNPH (SUPELCO製)
抽出溶媒	二硫化炭素 (1mL)	抽出溶媒	アセトニトリル (5mL)
装置	GC (HP5800) ,MS (HP5972)	装置	HPLC
カラム	DB-1 0.25mm × 60m × 1mm	カラム	Discovery PR Amide C16 4.6 × 250mm,5mm
カラム温度	40℃ (5min) → 10℃ /min → 300℃ (3min)	移動相	A:H <sub>2</sub> O/CH <sub>3</sub> CN=60/40(v/v) B:H <sub>2</sub> O/CH <sub>3</sub> CN=40/60(v/v)
注入口温度	250℃	グラディエント	100%A(8min),A → B(22min),100%B(15min)
試料注入	スプリットレス	流速	1.5mL/min
キャリアガス	ヘリウム	カラム温度	40℃
カラムヘッド圧	14.5psi	注入量	20mL
イオン源温度	220℃	検出法	吸光度 (360nm)
検出法	SIM		

表 6 測定対象者の住居、喫煙等の状況

	#1	#2	#3	#4
性別	男	男	男	男
年代	20代	20代	20代	20代
喫煙	×	×	21～30本	10～20本
築年数	5年以上	5年以上	5年以上	5年以上
リフォーム	5年以上前	×	×	2～3年以内

表 7 竣工時の新キャンパス内化学物質濃度 ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )

	ホルムアルデヒド	トルエン	キシレン
3階 ゼミ室	8.6	90.4	17.4
3階 外部階段	3.7	18.8	< 4.3
2階 教授室	11.0	256.0	26.0
1階 研究室	6.1	165.7	34.7
B1階 ゼミ室	4.9	41.4	4.3
B1階 中庭	3.7	26.4	4.3
B1階 光環境実験	4.9	64.0	4.3
定量下限値	2.5	3.8	4.3
厚生労働省指針値	100.0	260.0	870.0

テトラクロロエチレンは殆どのサンプルでピークが検出されず、またスチレンも定量下限値以下であったため考察の対象から外すこととした。

## B.2. 結果及び考察

### B.2.1. 新旧研究室内の化学物質濃度

新研究室を含む新校舎において竣工時に業者に委託して行われた化学物質測定(ホルムアルデヒド、トルエン、キシレンのみ)の結果及び、我々が行った新旧研究室における測定の結果を表7及び8に示す。

移転前の新研究室Aにおいて、ホルムアルデヒド濃度が厚生労働省の指針値をわずかに上回っていた。竣工時の測定では1階研究室のホルムアルデヒド濃度は $6.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であったこと、建物内の研究室はいずれもほぼ同じ内装であることから、竣工後に搬入された什器類の影響により、ホルムアルデヒド濃度が上昇したことが考えられた。新研究室Aに搬入された什器類は表2に示すものであり、什器に使用された塗料や希釈シンナーには、ホルムアルデヒド・トルエン・キシレンが含まれていた。しかし、竣工時の1階研究室の測定値に比べて、トルエン・キシレンでは大きな濃度上昇はなかった。従って、塗料や希釈シンナー中の各物質は工場での焼付け工程時に多くが揮発したことが考えられ、室内のホルムアルデヒド濃度の上昇には、主に什器類に用いられていた木質材料からのホルムアルデヒドの放散が関係したと考えられる。

測定条件の違いも考慮に入れる必要があるが、移転前の新研究室Aの測定では、ホルムアルデヒドのほかにも、アセトアルデヒド、デカン類、ベンゼンを除く芳香族類、ケトン類、1-ブタノール、 $\alpha$ -ピネンなどが、旧研究室の概ね2倍～10倍程度高い濃度で検出された。しかし、ホ

ルムアルデヒドを含む、いずれの物質も移転後の測定では旧研究室と同程度の濃度となっており、特に9月の移転前後で大きく濃度が減少していることから、移転後の換気による濃度低減効果があったものと考えられる。また、12月には再び密閉状態での測定を行っているが、各物質の濃度は旧研究室とほぼ同程度であった。従って、こうした物質の多くは、竣工時から移転時までにはほとんどが放散し、移転後の換気により速やかに室外に排出されたことが考えられる。ベンゼンについては、旧研究室Aでの濃度が高くなっているが、これは研究室内での喫煙が影響したと考えられた。キャンパスの建物内は原則禁煙となっており、9月の旧研究室Aを除いては、研究室内での喫煙はなかった。

建築の際に使用された接着剤にも多く含まれていた酢酸エチルや酢酸ブチルについても、移転前の測定で濃度が高く、移転後の測定では大きく濃度が低減していた。しかし、移転後も旧研究室内の濃度に比べるとやや高い傾向が見られる。

2E1Hの濃度については、トルエンとのピーク面積の比から求めた推定濃度である。旧研究室ではほぼ検出されないが、新研究室では検出され、特に移転前の測定では高濃度であることが推定された。9月の移転前後で一気に低減したが、12月の測定においても $70 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 程度の濃度であることが推定された。

今回測定したVOCs32物質の各濃度に、2E1Hの推定濃度を加えたものをTVOCとして算出した。新研究室AのTVOCについて、移転前の測定では指針値を大きく上回る結果となったが、移転後は2E1Hの推定濃度を加えても指針値を下回った。移転後のTVOCも旧研究室に比較して2倍程度の値を示しているが、これには2E1Hの濃度が大きく影響している。

今回、測定対象とした物質から判断する限りにおいては、新研究室Aは旧研究室に比べ、著しい汚染の傾向にあるとは考えられなかった。

表 8 研究室内の化学物質濃度 ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )

	新キャンパス					旧キャンパス			室内濃度 指針値	検出 下限値	定量 下限値
	新研究室 A					旧研究室 A	研究室 Y				
	移転前 8月	移転前 9月	移転後 9月	移転後 11月	移転後 12月	移転前 9月	移転前 8月	移転後 12月			
ホルムアルデヒド	105.3	106.0	15.1	10.7	6.4	7.8	17.8	5.7	100	0.33	1.09
アセトアルデヒド	19.3	38.4	7.4	5.7	5.4	10.7	5.4	2.7	48	0.49	1.64
ヘキサン	3.0	6.3	1.9	3.6	3.5	3.3	6.1	3.7	—	0.13	0.45
2,4-ジメチルペンタン	1.1	1.4	ND	ND	0.6	ND	ND	0.6	—	0.12	0.41
ヘプタン	3.0	7.0	1.9	2.3	0.3	2.0	2.1	0.9	—	0.27	0.92
オクタン	1.6	2.1	1.0	1.5	0.7	1.0	1.0	ND	—	0.25	0.82
ノナン	8.6	9.1	1.3	1.7	0.9	1.4	1.2	0.3	—	0.22	0.73
デカン	18.4	24.1	3.7	5.5	ND	ND	ND	ND	—	3.63	12.11
ウンデカン	31.3	43.2	2.6	3.6	2.8	2.5	2.3	ND	—	2.25	7.50
ベンゼン	0.8	1.9	0.7	0.9	0.8	3.8	1.5	1.6	—	0.46	1.53
トルエン	60.7	86.1	12.2	12.5	11.0	16.4	9.2	7.8	260	0.17	0.55
エチルベンゼン	11.2	16.9	1.8	2.3	3.1	2.8	2.4	3.7	3800	0.59	1.98
キシレン <sup>1)</sup>	41.0	54.5	5.1	6.3	8.3	8.7	6.9	17.6	870	0.55	1.84
スチレン	14.8	8.4	ND	0.9	ND	ND	ND	ND	220	0.62	2.06
1,3,5-トリメチルベンゼン	2.2	2.2	ND	0.8	0.4	0.4	0.3	0.4	—	0.26	0.86
1,2,4-トリメチルベンゼン	7.4	7.7	0.9	1.3	1.6	1.6	1.2	1.5	—	0.27	0.89
1,2,3-トリメチルベンゼン	3.5	3.0	0.5	1.2	0.5	0.7	0.6	ND	—	0.29	0.96
クロロホルム	1.0	3.9	0.9	0.8	ND	1.2	1.5	0.8	—	0.28	0.93
1,2-ジクロロエタン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	—	0.11	0.37
1,1,1-トリクロロエタン	ND	ND	1.0	1.0	ND	ND	1.2	ND	—	0.10	0.32
四塩化炭素	1.0	1.1	1.0	ND	ND	1.1	1.1	ND	—	0.24	0.79
1,2-ジクロロプロパン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	—	0.10	0.35
トリクロロエチレン	ND	0.7	0.5	1.7	1.5	0.7	0.5	1.5	—	0.07	0.24
テトラクロロエチレン	ND	1.2	1.0	1.0	0.8	1.1	0.7	1.0	—	0.16	0.54
クロロジブロモメタン	ND	ND	ND	ND	1.0	ND	ND	ND	—	0.16	0.52
p-ジクロロベンゼン	1.2	1.4	1.1	2.3	0.5	3.2	4.4	4.1	240	0.33	1.10
酢酸エチル	16.6	27.4	5.2	3.8	6.4	2.5	2.3	1.9	—	0.79	2.62
酢酸ブチル	41.8	44.1	3.5	2.2	0.7	1.7	2.2	ND	—	0.43	1.45
メチルエチルケトン	25.3	37.2	6.3	7.5	5.2	4.9	3.7	5.0	—	0.32	1.08
メチルイソブチルケトン	4.5	5.5	1.0	2.4	0.2	1.2	1.1	ND	—	0.14	0.47
1-ブタノール	26.3	29.7	1.6	2.6	0.4	ND	4.7	ND	—	0.29	0.95
$\alpha$ -ピネン	17.8	22.1	1.2	1.4	2.1	1.1	0.9	1.1	—	0.23	0.77
リモネン	2.6	3.2	0.7	2.7	8.1	2.8	2.4	2.3	—	0.18	0.60
2E1H 推定濃度	402.5	495.8	64.8	22.9	67.8	ND	5.0	ND	—	0.17	0.55
TVOC	749.2	947.2	123.5	96.5	128.9	66.3	66.5	55.9	400		
平均室温 (°C)	—	30.5	26.1	26.6	20.2	23.7	—	—			
測定条件	一部開	密閉	通常	通常	密閉	通常	通常	通常			
空調	なし	なし	冷房	暖房	なし	冷房	冷房	暖房			
換気扇	×	×	○	○	×	○	×	×			

### B.2.2. 新研究室における什器類内の化学物質濃度

什器類からの化学物質の発散の程度を把握するため、新研究室 A に搬入された什器類の中にパッシブサンプラーを設置した。パッシブサンプラーを設置した什器は、平机下のワゴンの引き出し内 (机引出)、書庫、本棚であり、机引出と書庫については密閉した状態で測定を行ったが、本棚には扉がなく、開放した状態での測定となった。結果を表 9 に示す。

机引出と書庫については、移転前のホルムアルデヒド濃度が、同日に測定した新研究室 A 内のホルムアルデヒド濃度よりも明らかに高かった。このことから、これらの什器がホルムアルデヒドの発散源となっていることが考えられた。他にも、机引出しではアセトアルデ

ヒド、書庫では 2E1H が新研究室内の濃度よりも高かった。

移転後 12 月の測定では、書庫については、ほとんどすべての物質の濃度が、新研究室内と同程度の値を示し、化学物質の発散が低下している様子が伺えた。ただし、酢酸エチルの濃度は室内の濃度の 3 倍程度あり、接着剤等に用いられたものが以前残っている可能性も考えられた。机引出についてもほとんどの物質で濃度が低下した。しかし、室内の濃度の 3 倍程度の高い濃度を示している物質も多く、特に酢酸エチルや酢酸ブチルはそれぞれ室内濃度の 12 倍、26 倍と高い濃度になっていた。しかし、什器の材料から発生したとは考えにくいベンゼンの濃度が移転前より高くなってい

表9 什器類内の化学物質濃度 ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )

	机引出		書庫		本棚		新研究室 A		
	移転前	移転後	移転前	移転後	移転前	移転後	移転前	移転前	移転後
	9月	12月	8月	12月	9月	12月	8月	9月	12月
ホルムアルデヒド	159.9	11.6	472.8	8.5	108.7	6.7	105.3	106.0	6.4
アセトアルデヒド	49.7	4.0	16.2	6.1	40.1	3.0	19.3	38.4	5.4
ヘキサン	7.0	9.6	3.3	2.9	6.2	2.5	3.0	6.3	3.5
2,4-ジメチルペンタン	2.6	1.0	1.6	0.6	1.4	0.6	1.1	1.4	0.6
ヘプタン	5.2	ND	3.0	ND	5.6	0.6	3.0	7.0	0.3
オクタン	2.7	2.5	1.9	0.4	2.4	0.3	1.6	2.1	0.7
ノナン	9.6	2.3	6.9	0.5	7.4	0.5	8.6	9.1	0.9
デカン	25.5	41.6	14.4	5.8	21.3	4.0	18.4	24.1	ND
ウンデカン	41.9	ND	17.2	ND	20.3	3.7	31.3	43.2	2.8
ベンゼン	2.0	10.5	0.9	1.0	1.8	1.2	0.8	1.9	0.8
トルエン	80.5	32.0	47.4	9.4	74.1	9.4	60.7	86.1	11.0
エチルベンゼン	15.9	7.7	9.4	2.3	15.6	2.4	11.2	16.9	3.1
キシレン	49.4	22.5	33.8	6.7	48.9	6.8	41.0	54.5	8.3
スチレン	8.6	ND	12.9	ND	4.5	ND	14.8	8.4	ND
1,3,5-トリメチルベンゼン	2.1	1.2	2.0	0.3	1.9	0.4	2.2	2.2	0.4
1,2,4-トリメチルベンゼン	7.1	5.1	6.9	1.4	6.6	1.5	7.4	7.7	1.6
1,2,3-トリメチルベンゼン	2.9	1.4	3.3	0.4	2.7	0.4	3.5	3.0	0.5
クロロホルム	3.9	1.4	1.1	ND	3.7	ND	1.0	3.9	ND
1,2-ジクロロエタン	ND	ND	ND						
1,1,1-トリクロロエタン	ND	ND	ND						
四塩化炭素	1.1	ND	1.0	ND	1.1	0.4	1.0	1.1	ND
1,2-ジクロロプロパン	ND	ND	ND						
トリクロロエチレン	0.6	1.5	ND	1.5	0.6	1.5	ND	0.7	1.5
テトラクロロエチレン	1.1	0.9	ND	0.8	1.1	0.8	ND	1.2	0.8
クロロジプロモメタン	ND	1.0	ND	1.0	ND	1.1	ND	ND	1.0
p-ジクロロベンゼン	1.4	3.5	1.2	0.4	1.2	0.4	1.2	1.4	0.5
酢酸エチル	30.0	73.2	15.4	20.2	26.6	17.4	16.6	27.4	6.4
酢酸ブチル	44.6	23.4	38.0	0.5	38.0	0.8	41.8	44.1	0.7
メチルエチルケトン	34.6	8.2	20.4	5.2	31.3	5.6	25.3	37.2	5.2
メチルイソブチルケトン	4.9	0.3	3.5	0.2	5.0	0.3	4.5	5.5	0.2
1-ブタノール	34.5	0.7	34.7	ND	27.1	ND	26.3	29.7	0.4
$\alpha$ -ピネン	24.6	6.6	14.7	1.9	19.4	1.9	17.8	22.1	2.1
リモネン	4.3	17.4	3.1	6.9	2.8	6.9	2.6	3.2	8.1
2E1H 推定濃度	503.7	124.4	614.1	57.8	439.3	54.8	402.5	495.8	67.8
TVOC	952.2	399.9	912.0	127.9	817.9	126.0	749.2	947.2	128.9
平均室温 ( $^{\circ}\text{C}$ )	30.5	20.2	—	20.2	30.5	20.2	—	30.5	20.2
什器の扉	閉	閉	閉	閉	なし	なし	—	—	—

るなど、一部の物質では使用による汚染があった可能性も考えられた。

本棚は扉もなく、開放された状態での測定だったこともあり、いずれの測定でも各物質とも室内の濃度とほぼ同じ値を示したが、移転後の測定ではデカンと酢酸エチルの濃度が室内の濃度に比べると高い結果となった。

### B.2.3. 新築校舎内でのその他の測定

新築校舎では新研究室 A の以外に、新研究室 A 前の廊下、1階エントランスホール、外階段での測定を実施した。結果を表 10 に示す。

廊下とホールでは、廊下の濃度が全体的に高いが、いずれの測定点においても移転前後で濃度が大きく低減した。移転前の新研究室 A と廊下の濃度を比較すると、廊下のホルムアルデヒドやデカン類、

2E1H の濃度が低く、そのほかの物質でも廊下の方がやや低い濃度を示すものが多かった。竣工から移転までの間、廊下の窓はほぼ毎日開放されて換気が行われていたことや、新研究室内の什器類のような発生源が廊下になかったことにより、このような違いが出たものと考えられる。外階段は、ほぼ外気に近い状態であると考えられるが、移転前 9 月の測定結果はその後の 2 回の測定値よりもやや高い結果となっている。

### B.2.4. 個人曝露濃度の測定結果

個人曝露濃度の測定結果を表 11 に示す。

今回の測定対象者、測定対象物質においては、全体的に移転前後での個人曝露濃度の変化は顕著ではなかった。表 11 には、移転前に A 研究室の学

表 10 新キャンパス内のその他の測定点における化学物質濃度 ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )

	廊下			ホール			外階段		
	移転前	移転後	移転後	移転前	移転後	移転後	移転前	移転後	移転後
	9月	9月	11月	9月	9月	11月	9月	9月	11月
ホルムアルデヒド	43.5	7.1	8.5	19.0	13.9	8.7	3.7	2.3	6.1
アセトアルデヒド	16.4	4.3	5.2	10.7	7.6	5.8	1.1	ND	3.2
ヘキサン	5.3	3.0	5.2	4.7	3.8	2.0	4.0	1.3	3.4
2,4-ジメチルペンタン	1.0	ND	0.6	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ヘプタン	6.1	1.8	2.5	3.0	2.0	2.2	2.4	1.7	2.3
オクタン	1.7	0.8	1.9	1.6	0.8	1.5	1.0	0.9	1.5
ノナン	8.4	1.5	2.0	3.9	1.6	2.0	2.1	1.0	1.8
デカン	17.7	4.1	3.8	10.4	ND	4.0	ND	ND	ND
ウンデカン	24.1	4.8	3.9	11.1	4.8	3.8	2.9	ND	3.2
ベンゼン	2.4	1.5	0.7	1.7	ND	ND	2.4	0.7	1.0
トルエン	84.0	15.5	7.9	73.3	19.4	8.3	28.2	8.7	11.2
エチルベンゼン	14.7	2.2	1.8	12.0	3.3	2.3	6.4	1.1	2.4
キシレン	38.5	5.9	5.1	31.0	9.8	6.3	12.5	2.9	6.1
スチレン	5.1	ND	1.8	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,3,5-トリメチルベンゼン	2.0	0.4	0.8	1.5	0.4	0.8	0.4	ND	0.8
1,2,4-トリメチルベンゼン	7.2	1.7	1.3	5.3	1.5	1.4	1.7	0.5	1.4
1,2,3-トリメチルベンゼン	2.7	0.8	1.2	2.0	0.8	1.2	0.7	0.4	1.2
クロロホルム	3.7	1.1	1.8	3.0	0.7	2.6	0.9	0.9	2.5
1,2-ジクロロエタン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,1,1-トリクロロエタン	1.1	1.0	1.0	ND	ND	1.0	1.1	1.0	1.0
四塩化炭素	1.1	1.0	0.3	1.1	1.0	0.3	1.2	1.0	ND
1,2-ジクロロプロパン	0.9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
トリクロロエチレン	0.9	0.5	1.6	0.9	0.4	1.6	1.2	0.5	1.7
テトラクロロエチレン	1.9	1.0	1.0	2.1	0.9	0.9	2.2	0.8	1.1
クロロジブロモメタン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
p-ジクロロベンゼン	1.9	1.1	1.9	2.0	1.0	1.9	2.4	1.0	2.3
酢酸エチル	25.8	4.4	1.3	13.4	5.8	ND	10.2	4.7	2.5
酢酸ブチル	40.4	3.9	3.4	6.1	2.4	1.9	4.1	1.5	1.9
メチルエチルケトン	31.4	7.0	4.6	17.9	7.4	6.8	14.6	4.6	8.3
メチルイソブチルケトン	4.8	1.1	2.4	3.6	0.9	2.3	1.9	1.0	2.4
1-ブタノール	14.5	1.6	2.4	5.4	1.3	2.2	ND	1.8	2.3
$\alpha$ -ピネン	18.6	2.0	1.7	2.4	1.5	1.5	0.8	0.9	1.2
リモネン	3.1	ND	2.3	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2EIH 推定濃度	188.3	29.1	20.8	55.6	13.1	1.9	3.3	1.1	1.7
TVOC	559.3	98.7	87.2	275.0	84.6	60.7	108.4	40.0	65.0
平均気温 (°C)	-	25.3	20.7	-	-	-	22.3	22.6	16.5

生が使用していた旧研究室 A と移転後に使用している新研究室 A の空気中濃度の測定結果もあわせて示したが、移転前後でこれらの研究室の空気中濃度に大きな変化はなく、研究室を移転したことによる個人曝露濃度への影響も大きくなかったと考えられる。ただし、ベンゼンについては喫煙可能であった旧研究室 A 内よりも新研究室 A 内の濃度が低くなっており、個人曝露濃度についても移転後に濃度が下がっているものが多い。

個人曝露濃度とその時に滞在していた研究室内空気の化学物質濃度の差を取ると、個人曝露濃度が研究室内の化学物質濃度よりも高いものも多く、研究室以外の環境での曝露がより影響を及ぼしていることも考えられた。移転後では車や電車の利用時間が長くなるなど、移転前後で通学方法が大きく変化しているため、

通学時の化学物質曝露の状況が異なっている可能性がある。

日常生活の中では、様々な局面で化学物質に曝露される可能性があり、校舎等の建物内の化学物質濃度がどの程度、個人の曝露状況に影響を与えるかは十分に吟味する必要がある問題である。パッシブ法では、信頼性のある値を得るには、ある程度のサンプリング時間の確保が必須である。その点では、短時間でも信頼性のある値を得ることができるアクティブ法を用いた方が、生活のどの局面での曝露が問題になるのか推定するには役立つであろう。しかしながら、測定対象者への負担やサンプリングの煩雑さも考えると、必ずしも利用しやすい方法とはいえない。特に本研究のように、大学施設などの非常に大がかりな移動の際には移転の当事者である被験者に協力を得ることが難し

表 11 個人曝露濃度の測定結果 ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )

	個人曝露												研究室 A		
	#1			#2			#3			#4			旧	新	新
	移転前	移転後	移転後	移転前	移転後	移転後	移転前	移転後	移転後	移転前	移転後	移転後	移転前	移転後	移転後
	9月	9月	11月	9月	9月	11月	9月	9月	11月	9月	9月	11月	9月	9月	11月
ホルムアルデヒド	15.9	21.0	9.8	19.0	15.7	10.7	36.2	21.0	17.2	20.4	18.0	—	7.8	15.1	10.7
アセトアルデヒド	9.1	22.8	5.3	5.8	8.0	5.8	28.5	9.4	8.6	23.6	8.2	—	10.7	7.4	5.7
ヘキサン	10.2	6.6	2.0	5.2	1.8	3.3	9.4	3.7	3.3	14.2	3.2	3.8	3.3	1.9	3.6
2,4-ジメチルペンタン	0.0	0.7	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.7	0.7	0.0	0.6	0.6	0.0	0.0	0.0
ヘプタン	2.0	4.0	1.9	2.5	1.9	2.4	2.9	2.3	2.8	2.3	2.2	2.9	2.0	1.9	2.3
オクタン	1.2	1.4	1.2	1.4	0.9	1.6	2.9	1.1	1.9	1.7	0.9	2.5	1.0	1.0	1.5
ノナン	0.0	1.6	1.3	1.7	1.1	1.9	2.3	2.1	2.4	1.7	1.2	2.4	1.4	1.3	1.7
デカン	0.0	8.0	0.0	8.4	0.0	4.1	0.0	5.7	7.8	3.7	0.0	7.8	0.0	3.7	5.5
ウンデカン	0.0	3.8	2.9	16.6	0.0	4.0	3.0	4.3	4.9	3.4	2.4	6.6	2.5	2.6	3.6
ベンゼン	2.0	4.0	1.1	1.6	0.6	0.9	4.9	3.4	1.6	7.1	2.4	4.1	3.8	0.7	0.9
トルエン	13.8	23.0	8.9	8.4	8.3	8.4	16.1	14.3	15.6	19.0	15.3	17.2	16.4	12.2	12.5
エチルベンゼン	3.7	3.2	1.7	1.5	0.9	2.0	2.7	2.0	3.9	3.2	1.6	4.2	2.8	1.8	2.3
キシレン	10.5	19.0	5.1	4.5	4.3	6.2	10.2	9.6	11.0	11.9	7.5	13.6	8.7	5.1	6.3
スチレン	0.0	0.9	1.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.1	0.0	0.0	0.9
1,3,5-トリメチルベンゼン	0.5	1.1	0.6	0.3	0.4	0.9	0.6	0.8	1.3	0.7	0.7	1.3	0.4	0.0	0.8
1,2,4-トリメチルベンゼン	2.2	4.3	1.1	1.3	1.3	1.4	2.4	3.2	2.6	2.6	2.4	3.3	1.6	0.9	1.3
1,2,3-トリメチルベンゼン	0.7	1.1	1.0	0.5	0.6	1.3	1.0	1.0	1.7	1.0	0.8	1.6	0.7	0.5	1.2
クロロホルム	1.2	1.0	3.1	1.8	1.0	4.3	1.6	1.3	4.0	1.4	0.9	4.2	1.2	0.9	0.8
1,2-ジクロロエタン	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1,1,1-トリクロロエタン	1.0	0.9	0.8	0.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.2	1.0	1.0	0.9	0.0	1.0	1.0
四塩化炭素	1.0	0.8	0.4	1.0	0.8	0.0	1.2	1.0	0.3	1.2	0.9	0.3	1.1	1.0	0.0
1,2-ジクロロプロパン	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
トリクロロエチレン	0.6	0.4	1.4	0.0	0.0	1.7	0.0	0.5	1.9	0.5	0.0	1.6	0.7	0.5	1.7
テトラクロロエチレン	0.7	0.8	0.9	0.9	0.7	1.2	0.0	0.9	0.9	0.7	0.6	1.1	1.1	1.0	1.0
クロロジプロモメタン	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0
p-ジクロロベンゼン	7.3	5.2	1.8	2.2	1.5	1.9	22.2	3.2	6.7	4.8	4.0	8.1	3.2	1.1	2.3
酢酸エチル	1.9	4.2	1.6	3.9	5.2	4.0	2.1	2.3	1.9	4.2	1.0	5.9	2.5	5.2	3.8
酢酸ブチル	3.3	7.0	1.6	2.5	2.1	2.3	5.3	2.0	2.8	3.2	2.1	3.1	1.7	3.5	2.2
メチルエチルケトン	5.4	6.8	6.7	2.7	3.1	5.7	4.9	5.0	7.2	8.0	2.9	5.0	4.9	6.3	7.5
メチルイソブチルケトン	1.1	1.0	2.0	1.2	1.0	2.6	1.7	0.9	2.8	1.0	0.9	2.3	1.2	1.0	2.4
1-ブタノール	3.3	3.2	2.1	1.9	0.0	2.6	3.6	1.6	2.7	2.3	1.3	2.0	0.0	1.6	2.6
$\alpha$ -ピネン	2.4	1.2	1.0	0.8	0.9	1.3	6.2	2.4	2.6	1.4	1.1	4.4	1.1	1.2	1.4
リモネン	4.3	3.2	2.1	0.0	1.6	4.1	10.8	3.8	4.2	4.5	2.2	16.3	2.8	0.7	2.7
2E1H 推定濃度	2.9	24.7	15.2	6.6	11.4	5.4	3.0	22.8	40.5	2.5	9.5	20.6	0.0	64.8	22.9
TVOC	83.2	143.1	71.6	79.5	51.3	76.6	121.8	103.0	141.4	109.1	69.8	150.8	66.3	123.5	96.6

く、今回も検討に十分な被験者数を確保することが出来なかった。化学物質の影響を検討するためには多くの測定対象者が必要であり、このような場合に、いかに必要なサンプリングを行いつつ被験者の負担を軽くし、多くの協力を得るかが大きな課題となった。

### B.2.5. 尿中化学物質濃度の測定結果

図 1 に移転前と移転約 2 週間後の被験者の尿中化学物質濃度の平均値の変化を示した。

被験者は #1～2 が非喫煙者、#3～4 が喫煙

者であった。喫煙者、非喫煙者とも、ベンゼンは移転前と比較すると移転後が低い傾向が見られた。我々はこれまでに、新築のマンション等ではベンゼンの汚染はほとんどないこと、むしろベンゼンについては喫煙の影響が大きく、喫煙により尿中のベンゼン濃度が高くなることを確認している。本研究においては室内空気濃度測定の際でも示したように、旧研究室では室内で喫煙されていたが、新研究室では禁煙が徹底されたため、ベンゼン濃度が低くなったことが影響しているものと考えられる。また、

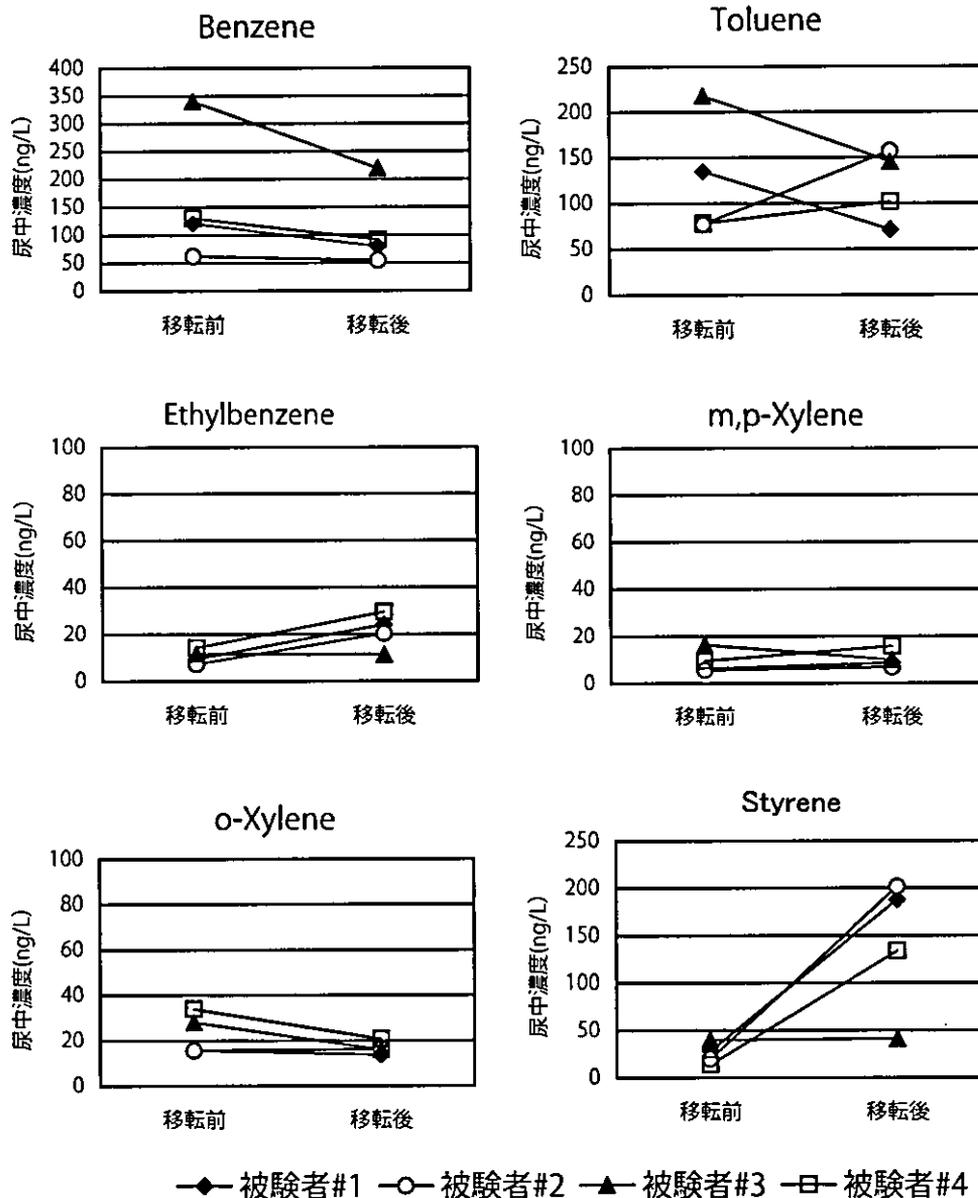


図1 移転前後の平均尿中化学物質濃度の変化

今回の測定では、4名中3名で、移転後にスチレンの平均尿中濃度が非常に高くなった。我々のこれまでの研究では、これほど高濃度の尿中スチレンを検出した経験はない。尿中化学物質濃度については、先に示したように、朝、昼、夜、翌朝4回の測定を行っている。そこで、各被験者の移転前後の1日の尿中化学物質の推移を図2に示した。移転後にスチレンが高濃度を示した被験者#1、#2、#4のうち、#1、#2では研究室内に滞在しているときに、#4では、研究室に滞在中は高くなかったが、帰宅後の1回目の測定で高濃度を示していた。我々は1日4回の尿中化学物質測定により日内変動を観察することで、

防虫剤として使用されるp-ジクロロベンゼンが、防虫剤使用者の自宅で、被験者の在宅時にのみ尿中に非常に高濃度を示す例をこれまでに示し、尿中化学物質濃度が、比較的短期間の高濃度曝露も反映することを明らかにしてきた。本研究におけるスチレン濃度の変動も研究室滞在に関連する傾向があったが、本研究では、室内環境濃度、個人曝露濃度とも移転後2週間目にはスチレンは検出されていない。什器内の濃度については、尿中濃度を検討した移転後2週間目は、引越後の混乱もあり見送られたため濃度は不明である。また、今回は被験者が4名と非常に少なく、考察の対象とするのは困難であった。

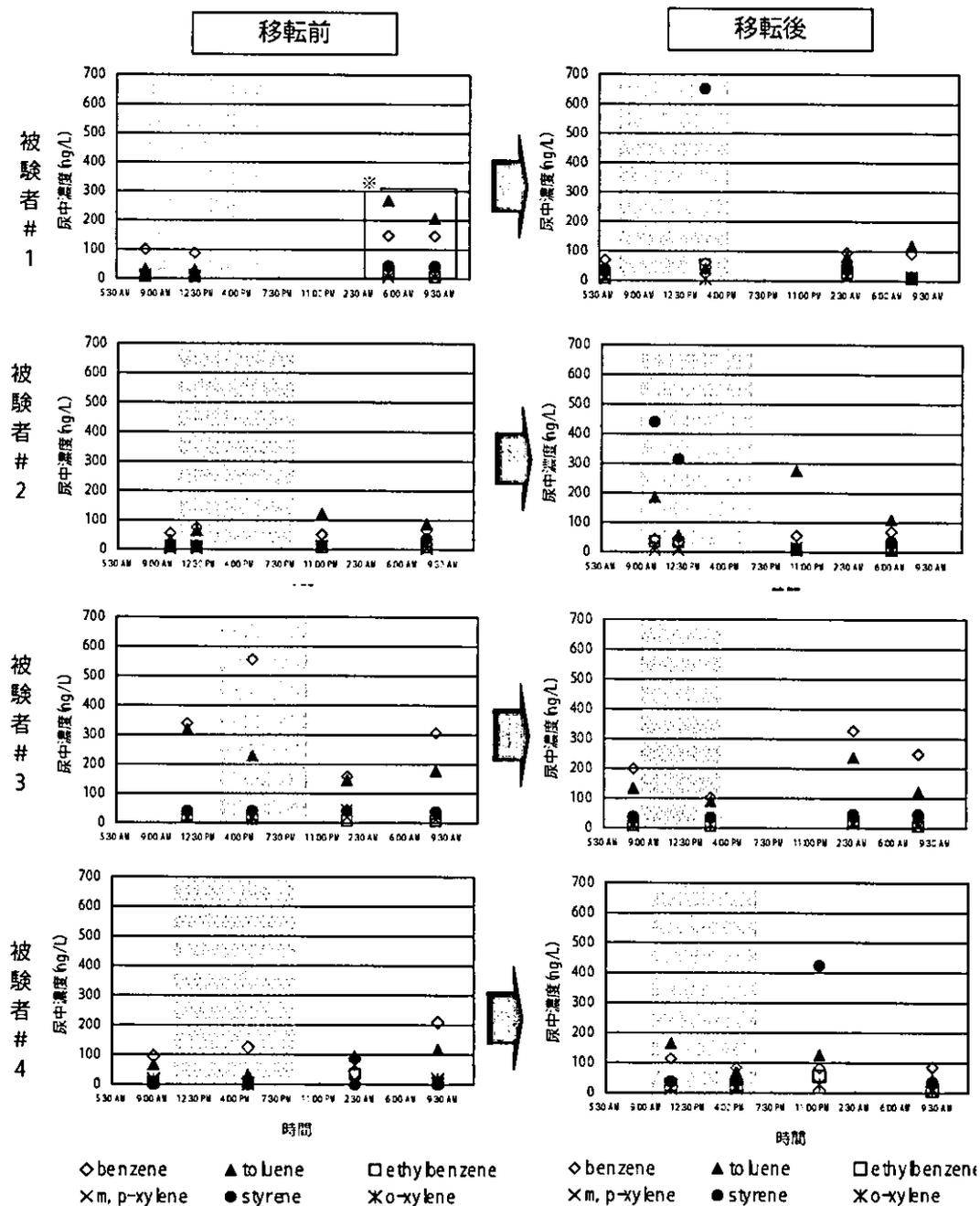


図2 移転前後の尿中化学物質濃度の日内変動

しかし、什器内では、移転前では室内指針値を下回る濃度ではあるがスチレンが検出されており、ある程度気温が高かった9月においては、引出の開閉等により、什器から放出され、溜まっていたスチレンに対して、長時間のサンプリング時間を要するパッシブサンプラーでは検知されない高濃度スパイク曝露を受けている可能性も考えられる。今後は、一般家

庭とは異なり、これまで規制の対象となつてこなかったオフィス家具などからの化学物質の曝露についても検討を行っていく必要があるものと思われる。

### C. 結論

新築校舎移転に伴う、室内空気汚染及び個人曝露量の検討を行った結果、シックスクール等に配慮

した建材等を使用し、築後6ヶ月間、換気等を行った段階では、アルデヒド類、VOCsともに、高濃度の汚染は認められなかった。

ただし、尿中化学物質濃度については、研究室滞在中や滞在後にスチレンが高濃度で検出される例があり、パッシブサンプラー等では検知できないスパイク曝露を受けている可能性も考えられた。今後はこのような曝露についても注意を払い、検討を行っていく必要があるものと思われた。

#### D. 健康危険情報

特になし

#### E. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

#### 謝 辞

本研究の実施に際し多大なご協力を頂いた、古坂助教授と研究室の皆様にご心より御礼申し上げます。

厚生労働科学研究費補助金 (化学物質リスク研究事業)

分担研究報告書

*Aldh2* ノックアウトマウスを用いた個体差の解明に関する研究

分担研究者 川本俊弘 産業医科大学医学部 教授  
分担研究者 小山倫浩 産業医科大学医学部 助教授  
分担研究者 一瀬豊日 産業医科大学医学部 助手

研究要旨

アセトアルデヒドは、アルデヒド脱水素酵素 2 (ALDH2) により代謝・解毒されるが、日本人の ALDH2 の活性を持たない (ALDH2 不活性型) ものが約半数おり、この ALDH2 不活性型のヒトでは、アセトアルデヒドに対しても感受性が高く、低濃度のアセトアルデヒド曝露により症状を呈すると考えられる。そこで、ALDH2 遺伝子多型により生じる個人差を科学的に解明するために、本研究では ALDH2 不活性型のヒトのモデル動物としてアルデヒド脱水素酵素 2 欠損マウス (*Aldh2* ノックアウトマウス、以降 *Aldh2*<sup>-/-</sup>)、対照として野生型マウス (C57BL/6Jcrj, 以降 *Aldh2*<sup>+/+</sup>) を用いて、アセトアルデヒドに対する感受性の相違の検討を試みてきた。平成 16 年度はアセトアルデヒド曝露による感受性の相違に関連する遺伝子の同定、およびアセトアルデヒド曝露による酸化ストレスの検討のため、平成 15 年度のアセトアルデヒド吸入曝露試験で得た試料を用いて①と②の研究を行った。さらに、体内アセトアルデヒド曝露が高いと考えられる常習飲酒歴のある ALDH2 不活性のヒトは口腔、咽頭や食道などの扁平上皮癌に罹患しやすいことが疫学的に明らかにされているため、③扁平上皮癌に関する研究を行った。

①アセトアルデヒド吸入曝露による遺伝子発現の網羅的解析

アセトアルデヒド吸入曝露を行った *Aldh2*<sup>+/+</sup> と *Aldh2*<sup>-/-</sup> の肝における mRNA 発現をマイクロアレイ法により検討した。アセトアルデヒド吸入曝露により、特定の金属結合蛋白や障害蛋白認識・除去にかかわる蛋白遺伝子の発現が変動しており、このうち *Aldh2*<sup>+/+</sup> と *Aldh2*<sup>-/-</sup> 間で明らかに遺伝子発現の差を認める遺伝子を同定した。

②アセトアルデヒド吸入曝露による酸化ストレスの検討

アセトアルデヒド吸入曝露前後の尿中 8-ヒドロキシグアニンおよび血漿中マロンジアルデヒド濃度を測定した。アセトアルデヒド吸入曝露により *Aldh2*<sup>+/+</sup> に比べ *Aldh2*<sup>-/-</sup> では酸化的 DNA 損傷が増加する可能性が示された。

③扁平上皮癌に関連した研究

*Aldh2*<sup>+/+</sup> と *Aldh2*<sup>-/-</sup> に約 1 年間エタノールおよびアセトアルデヒドを皮下投与し、扁平上皮の変性や癌の発症を認めた。アセトアルデヒド皮下投与により、表皮の扁平上皮癌が *Aldh2*<sup>-/-</sup> で発症することが示された。

遺伝要因による化学物質感受性の個人差は、今後、健康影響評価において重要な課題になると考えられる。*Aldh2*<sup>-/-</sup> を用いた研究は、疫学的検討が不可能であったアセトアルデヒド感受性の機序の解明や、アセトアルデヒド曝露障害モデル研究として有用であることが示された。さらに、アセトアルデヒド曝露により大きく発現が変動する遺伝子の同定は健康影響のバイオマーカーの開発の一助になると考えられる。また、*Aldh2*<sup>-/-</sup> を用いたアセトアルデヒド曝露障害モデル研究は健康障害の予防や治療法のアプローチの手段として有用であると考えられる。

研究協力者

長野嘉介 日本バイオアッセイ研究センター 病理検査部部长	小川真規 産業医科大学大学院医学研究科 大学院生
長縄竜一 独立行政法人産業技術総合研究所 企画主幹	木長 健 産業医科大学大学院医学研究科 大学院生
松野康二 産業医科大学学生体情報研究センター 助教授	山口哲右 産業医科大学大学院医学研究科 大学院生
鈴木理恵 産業医科大学産業保健研修コース 専門修練医	

## A. 研究目的

アセトアルデヒドは、アルデヒド脱水素酵素 2 (ALDH2) により代謝・解毒されるが、日本人の ALDH2 の活性を持たない (ALDH2 不活性型) ものが約半数おり、この ALDH2 不活性型のヒトでは、アセトアルデヒドに対しても感受性が高く、低濃度のアセトアルデヒド曝露により症状を呈すると考えられる。そこで、ALDH2 遺伝子多型により生じる個人差を科学的に解明するために、本研究では ALDH2 不活性型のヒトのモデル動物としてアルデヒド脱水素酵素 2 欠損マウス (*Aldh2* ノックアウトマウス、以降 *Aldh2*<sup>-/-</sup>)、対照として野生型マウス (C57BL/6Jcrj, 以降 *Aldh2*<sup>+/+</sup>) を用いて、アセトアルデヒドに対する感受性の相違の検討を試みてきた。平成 16 年度はアセトアルデヒド曝露による感受性の相違に関連する遺伝子の同定、およびアセトアルデヒド曝露による酸化ストレスの検討ため、平成 15 年度のアセトアルデヒド吸入曝露試験で得た試料を用いて①アセトアルデヒド吸入曝露による遺伝子発現の網羅的解析、②アセトアルデヒド吸入曝露による酸化ストレスの検討を行った。さらに、体内アセトアルデヒド曝露が高いと考えられる常習飲酒歴のある ALDH2 不活性のヒトは口腔、咽頭や食道などの扁平上皮癌に罹患しやすいことが疫学的に明らかにされているため、③扁平上皮癌に関連した研究を行った。

## B. 研究方法

### 1) 実験動物

*Aldh2*<sup>-/-</sup> マウスは、産業医科大学医学部衛生学教室が九州大学生体防御医学研究所と共同開発したマウスを、C57BL/6Jcrj マウスに 10 世代以上戻し交配したものを用いた。

### 2) アセトアルデヒド 2 週間吸入曝露

*Aldh2*<sup>-/-</sup> および *Aldh2*<sup>+/+</sup> を同じ曝露チャンバーに入れ、吸入曝露実験を行った。マウスは両群ともに 15 週齢の雄を使用した。また、清浄空気のみを通した別のチャンバーに、*Aldh2*<sup>+/+</sup> および *Aldh2*<sup>-/-</sup> をそれぞれ 10 匹ずつ入れ、同時に実験を行った (非曝露群)。曝露アセトアルデヒド濃度は産業技術総合研究所より供与された水晶振動子アセトアルデヒドセンサーを用いて 1.5 秒に 1 回の間隔で連続的にモニターした。また、アセトアルデヒド 検知管 (ガステック) と DNPH 吸収管 (Waters) を用いてそれぞれ 24 時間間隔でアセト

アルデヒド濃度を測定することで水晶振動子アセトアルデヒドセンサーによるアセトアルデヒド濃度の測定値を補正した。以上により、アセトアルデヒドで曝露しない非曝露群 (Control: 平均曝露濃度 0ppm) とアセトアルデヒド 2 週間曝露したマウスによるアセトアルデヒド 125ppm 曝露群 (平均曝露濃度 126.3ppm)、アセトアルデヒド 500ppm 曝露群 (平均曝露濃度 510.5ppm) の 3 群を構成した。アセトアルデヒド 125ppm 曝露群は *Aldh2*<sup>+/+</sup>・*Aldh2*<sup>-/-</sup> をそれぞれ 7 匹ずつ、アセトアルデヒド 500ppm 曝露群では *Aldh2*<sup>+/+</sup>・*Aldh2*<sup>-/-</sup> をそれぞれ 10 匹ずつ用いた。曝露期間は 2 週間連続 1 日 23 時間とした。曝露終了後直ちに臓器、尿、血液等の標本を採取し -80℃ に凍結保存し、発現遺伝子の網羅的解析および酸化ストレスの検出に用いた。

### 2-1) アセトアルデヒド吸入曝露による遺伝子発現の網羅的解析

500ppm 曝露群および非曝露群の 15 週齢の *Aldh2*<sup>-/-</sup> および *Aldh2*<sup>+/+</sup> を各 10 匹のうち各 1 例の採取肝の total RNA を抽出した。RNA の品質を Agilent RNA analyzer にて確認した後に、網羅的発現遺伝子の解析を TakaRa IntelliGene II Mouse CHIP を使用し、非曝露群および 500ppm 曝露群における *Aldh2*<sup>+/+</sup> および *Aldh2*<sup>-/-</sup> の遺伝子発現の差の網羅的解析を実施した。

### 2-2) アセトアルデヒド吸入曝露による酸化ストレスの検討

#### 2-2-1) 尿中 8-ヒドロキシグアニン (8-OHdG) 測定

曝露前、曝露 6 日目、曝露 12 日目の同一時刻に各個体からスポット採尿を行い、8-OHdG ELISA キット (日本老化制御研究所) を用いて尿中 8-OHdG 濃度を測定した。なお尿濃度補正のためクレアチニン補正を行った。

#### 2-2-2) 血漿中 MDA 濃度測定

2 週間の吸入曝露終了後直ちに、心臓からヘパリンコートシリンジで採血した。採血後直ちに遠心分離し血漿を採取した。過酸化脂質比色定量キット (Oxis) にて血漿中の MDA 濃度を測定した。

### 3) 扁平上皮の発癌に関連した実験

#### 3-1) アセトアルデヒド皮下投与による表皮内 *Aldh2*・*Cyp2e1* 発現の変動 - *Aldh2*<sup>+/+</sup> と *Aldh2*<sup>-/-</sup> の比較 -

10 週齢雄の *Aldh2*<sup>+/+</sup> および *Aldh2*<sup>-/-</sup> を用い、生理食塩水と 0.5% アセトアルデヒド 0.9mL/匹/日を 2 週間・4 週間皮下投与し (各群 n=3)、表皮の病理学的変化を検討し、*Aldh2*、*Cyp2e1* の発現を免疫組織化学染色法 (IHC)、ウェスタンブロット法 (WB) にて検出した。

### 3-2) アセトアルデヒド・エタノール皮下投与による発癌に関するパイロット研究 - *Aldh2*<sup>+/+</sup> と *Aldh2*<sup>-/-</sup> の比較 -

*Aldh2*<sup>+/+</sup> および *Aldh2*<sup>-/-</sup> にアセトアルデヒドを 100mg/kg 体重 (LD<sub>50</sub> の 1/5 量に相当) あるいはエタノール 1g/kg 体重 (アセトアルデヒド投与量の 10 倍で、ヒトでは日本酒 600mL 程度に相当) を皮下に約 1 年間投与し (5 日間連続投与後 2 日間の投与休止を繰り返す投与方法)、皮膚病変を検討した。

### 3-3) 腫瘍発症マウスの扁平上皮癌確認に関する研究 - スキッドマウスへの腫瘍組織移植実験 -

方法 3-2) でアセトアルデヒド投与したマウスに投与 4 ヶ月後と 5 ヶ月後の 2 回、腫瘍組織生検を行った。生検組織をスキッドマウス (複合免疫不全マウス) の背部表皮下に移植して、病理学的・分子生物学的検討を施行し、腫瘍細胞の cell line 化を試みた。

## C. 研究結果

### 1) アセトアルデヒド吸入曝露による遺伝子発現の網羅的解析

両マウスの非曝露群解析および 500ppm 曝露群解析を Scatter Plot 表示し、各遺伝子を非曝露から 500ppm 曝露へのベクトルとして表現することで、「*Aldh2* 遺伝子型の影響を受けないアセトアルデヒド曝露による遺伝子発現の変動」と、「*Aldh2* 遺伝子型により影響を受けるアセトアルデヒド曝露による遺伝子発現の変動」を分類できる。

「*Aldh2* 遺伝子型の影響を受けないアセトアルデヒド曝露による遺伝子発現の変動」として、DNA segment, Chr 12, ERATO Doi 482, expressed (NM 134046), Reversion induced LIM gene (NM 019417), Exostoses (multiple)-like 1 (NM 019578), Solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y<sup>+</sup> system), member 5 (NM 011404), SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily e, member 1 (NM 020618), Calcium channel, voltage-

dependent, alpha2/delta subunit 1 (NM 009784), Ubiquitin specific protease 14 (NM 021522) など、脂質代謝、第 2 相薬物代謝にかかわる遺伝子およびホルモン・ミネラル結合蛋白の遺伝子に差が見出された。

「*Aldh2* 遺伝子型により影響を受けるアセトアルデヒド曝露による遺伝子発現の変動」として、Metallothionein 1 (NM 013602), Betaine-homocysteine methyltransferase (NM 016668), Ubiquitin specific protease 2 (NM 016808), Melanoma antigen, 80 kDa (NM 008581), RIKEN cDNA 4933433D23 gene (NM 026232), Adenylate kinase 4 (NM 009647), Neuregulin 4 (NM 032002), Dopachrome tautomerase (NM 010024), X-linked lymphocyte-regulated 3b (NM 011727), Cytokine inducible SH2-containing protein (NM 009895) など金属結合蛋白の遺伝子や障害蛋白認識・除去にかかわる蛋白の遺伝子に差が見出された。

### 2) アセトアルデヒド吸入曝露による酸化ストレスの検討

#### 2-1) 尿中 8-ヒドロキシグアニン (8-OHdG) 測定

*Aldh2*<sup>+/+</sup> の尿中 8-OHdG は、125ppm 曝露群に明らかな変化は認めなかったが、500ppm 曝露群では曝露 6 日目、12 日目ともに非曝露群に比べ有意な上昇を示した (資料 2)。*Aldh2*<sup>-/-</sup> ではアセトアルデヒドの吸入曝露により曝露 12 日目で曝露前に比べ、約 1.6 倍高値傾向を示した。一方、500ppm 吸入曝露では、曝露前に比べ、6 日目、12 日目とも有意に高値を示した。

#### 2-2) 血漿中 MDA 濃度測定

非曝露群、125ppm 曝露群、および 500ppm 曝露群の比較で血漿中 MDA 濃度は有意な変化は認めなかったが、曝露濃度の上昇に伴い血漿中 MDA 濃度が上昇の傾向を認めた。各群の *Aldh2*<sup>+/+</sup> および *Aldh2*<sup>-/-</sup> 間の比較において有意差は認められなかった。

### 3) 扁平上皮の発癌に関連した実験

#### 3-1) アセトアルデヒド皮下投与による表皮内 *Aldh2*・*Cyp2e1* 発現の変動 - *Aldh2*<sup>+/+</sup> と *Aldh2*<sup>-/-</sup> の比較 -

*Aldh2*・*Cyp2e1* ともに表皮に発現し、表皮局所においてアセトアルデヒド代謝に関与している可能性が示

された。*Aldh2*<sup>+/+</sup>においてアセトアルデヒドに曝露されることによって表皮局所の*Aldh2*・*Cyp2e1*ともに発現が誘導される可能性が示された。アセトアルデヒドに曝露の有無に関わらず*Aldh2*<sup>+/+</sup>に比べ*Aldh2*<sup>-/-</sup>において表皮局所の*Cyp2e1*発現は高値である可能性が示された。

### 3-2) アセトアルデヒド・エタノール皮下投与による発癌に関するパイロット研究 - *Aldh2*<sup>+/+</sup>と*Aldh2*<sup>-/-</sup>の比較 -

エタノール投与群・アセトアルデヒド投与群ともに*Aldh2*<sup>+/+</sup>に比べ*Aldh2*<sup>-/-</sup>で体重減少傾向を認めた。*Aldh2*<sup>-/-</sup>・エタノール投与群で皮膚表面を進展する腫瘍発症を20% (1/5)に認めた。腫瘍は構造異型と細胞異型を有し、腫瘍細胞はp53発現異常とp53遺伝子点突然変異を認めた。

### 3-3) 腫瘍発症マウスの扁平上皮癌確認に関する研究 - スキッドマウスへの腫瘍組織移植実験 -

スキッドマウス内で増殖した腫瘍細胞は移植した腫瘍細胞と同様に構造異型と細胞異型を有していた。スキッドマウス内で増殖した腫瘍細胞はp53発現異常を有し、移植した腫瘍細胞と同じp53遺伝子点突然変異を認めた。本研究では腫瘍細胞のcell line化はできなかったが、腫瘍細胞は培養液中で2ヶ月以上増殖を続けた。

## D. 考察

### 1) アセトアルデヒド吸入曝露による遺伝子発現の網羅的解析

アセトアルデヒド曝露の結果、ALDH2活性によらず共通して生じる遺伝子発現変化を、脂質代謝、第2相薬物代謝にかかわる遺伝子およびホルモン・ミネラル結合蛋白の遺伝子の一部に認めた。

アセトアルデヒド曝露の結果、ALDH2活性の有無により遺伝子発現に相違を生じる遺伝子として、金属結合蛋白の遺伝子および障害蛋白認識・除去にかかわる蛋白の遺伝子の一部が認められた。これらの遺伝子はアセトアルデヒド以外の化学物質曝露における毒性発現の機序に関与しているため、アセトアルデヒド曝露の感受性の相違を生じる機序に関与している可能性がある。また、昨年度の実験結果より500ppm曝露における血中アセトアルデヒド濃度の差は5倍以下であった。これに対して一部の遺伝子の発現量は5から

10倍以上の差を示しており、血中アセトアルデヒド濃度の測定よりも鋭敏な健康影響のバイオマーカーとして使用できる可能性がある。

*Aldh2*<sup>+/+</sup>と*Aldh2*<sup>-/-</sup>の遺伝的背景の差は、遺伝子改変マウス作成の手順により、129系統由来の染色体が*Aldh2*遺伝子の存在する第5番染色体では相同組み換えによる入れ替えしか生じないために一番多く存在し、X染色体では完全にC57BL/6系統由来の染色体に組み変わっているため遺伝的背景の差がないと考えられる。今回使用したマウスでは第5番染色体の*Aldh2*遺伝子近傍数百個程度の遺伝子の領域が129系統由来である確率が非常に高い。染色体別に解析を行った結果、アセトアルデヒド曝露により*Aldh2*<sup>+/+</sup>と*Aldh2*<sup>-/-</sup>間で発現量が異なる遺伝子は、第5番染色体に集中していなかった。また、*Aldh2*遺伝子近傍に転写調節に影響を与え、かつ129系統とC57BL/6系統で遺伝子多型が報告されている遺伝子はない。遺伝的背景の差の影響は完全には否定できないが、今回*Aldh2*<sup>+/+</sup>と*Aldh2*<sup>-/-</sup>で遺伝子発現量が異なっていた原因の主因はALDH2活性の有無による影響と考えられる。

### 2) アセトアルデヒド吸入曝露による酸化ストレスの検討

*Aldh2*<sup>-/-</sup>はアセトアルデヒドの代謝速度が*Aldh2*<sup>+/+</sup>と比べ小さいため、血中アセトアルデヒド濃度が高値を示す。そのためアセトアルデヒドの吸入曝露の結果、*Aldh2*<sup>+/+</sup>に比べ酸化的DNA損傷が増加する傾向にあると考えられる。

### 3) 扁平上皮の発癌に関連した実験

扁平上皮においてアセトアルデヒド代謝酵素である*Aldh2*・*Cyp2e1*が発現しており、アセトアルデヒド曝露により表皮扁平上皮内の*Aldh2*・*Cyp2e1*発現は誘導されることが示された。また、アセトアルデヒド皮下投与により扁平上皮癌がALDH2不活性型の*Aldh2*<sup>-/-</sup>に発症することが病理学・分子生物学的に示された。本研究結果はALDH2不活性型のヒトにおける扁平上皮癌発症に発癌メカニズムを解明する一助となることが考えられる。

## E. 結論

①アセトアルデヒド吸入曝露により、特定の金属結合蛋白や障害蛋白認識・除去にかかわる蛋白遺伝