

2004-01260B

厚生労働科学研究費補助金
化学物質リスク研究事業

室内汚染微量化学物質の生体モニタリングと
健康影響との関連に関する研究

平成 14 - 平成 16 年度総合研究報告書

主任研究者 内山 巖雄

平成 17 年 (2005 年) 3 月

目 次

I. 総合総括研究報告書

- 室内汚染微量化学物質の生体モニタリングと健康影響との関連に関する研究 ----- 1
内山巖雄

II. 総合分担研究報告書

- 家庭内の化学物質の種類と濃度の推定と健康評価に関する検討 ----- 23
嵐谷奎一 他

- 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 ----- 59
内山巖雄 他

- 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 ----- 91
川本俊弘 他

- III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 249

室内汚染微量化学物質の生体モニタリングと健康影響との関連に関する研究

主任研究者 内山巖雄 京都大学大学院工学研究科 教授

研究要旨

最近、室内汚染微量化学物質の問題がなっているが、これまで個人曝露評価が十分でなく、症状との関連も明らかではなかった。そこで本研究では、各分担研究者の特徴を生かし、化学物質の室内濃度、個人曝露濃度、尿中の濃度と症状との関連、*Aldh2* ノックアウトマウスを用いた個人差の解明等を目的とした。

平成 14 年度

化学物質の室内発生源の一例としてドライクリーニング済み衣服からの VOCs を測定した結果、パラフィン系炭化水素、芳香族炭化水素類が認められた。また代表的な VOCs の室内濃度、個人曝露濃度の季節変化を測定したところ、冬季の暖房器具の使用による変動が大きかった。

東京都郊外 3 地区の新築マンション入住民 18 世帯の 10 ~ 60 歳代の 34 名(男性 12 名、女性 22 名)の協力を得て VOCs の個人曝露量及び尿中濃度を測定した。尿中ベンゼン濃度は喫煙者が非喫煙者に比して有意に高値を示した。p-ジクロロベンゼンは 3 世帯が室内濃度指針値を超えており、尿中の p-ジクロロベンゼン濃度は個人曝露濃度と良く相関し、室内濃度指針値を超える部屋で生活している人は有意に高い値を示した。

その他のトルエン、キシレン等については、調査したマンションがこれらの物質の使用を制限していたこと、24 時間換気システムがついていた事などから特に高い値は示されなかった。

分担研究者らが開発した *Aldh2* ノックアウトマウス(*Aldh2*^{-/-} マウス)は *Aldh2*^{+/+} と比べ、自由摂取ではエタノール摂取量が有意に少なく、エタノール強制投与では血中アセトアルデヒド濃度が有意に高値となった。アセトアルデヒド腹腔内投与で、*Aldh2*^{-/-} マウスの LD₅₀ は *Aldh2*^{+/+} マウスに比べ有意に低く、アセトアルデヒド感受性が高いことが示唆された。

平成 15 年度

家庭内で発生する化学物質の一例として、内装材、クリーニング済み衣類から発生する化学物質を測定し、カーペットから、ノナン、デカン、ウンデカンの炭化水素類が主要成分として検出した。また、対象とした 3 種類の内装材すべてからホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、プロピオンアルデヒドを検出した。クリーニング済み衣類(ワイシャツ、セーター)からはノナン、デカン、ウンデカンと p-ジクロロベンゼンを検出し、ノナンと p-ジクロロベンゼンが比較的多量に含有されていることを明らかにした。また、一般環境下で生活する人において曝露濃度が高かった p-ジクロロベンゼンについては、尿中濃度と非常に良く相関していることから、スポット尿により曝露評価が可能であることが示唆された。さらに、尿中ベンゼン、トルエン、エチルベンゼン、キシレンの濃度が喫煙者が非喫煙者に比して高く、喫煙が VOCs の曝露に大きな要因になっていることを明らかにした。

動物実験から、アセトアルデヒドの吸入によりアルデヒド脱水素酵素 2 欠損マウスでは DNA の酸化損傷が増加している可能性が示された。このことから、ALDH2 不活性のヒトでもアセトアルデヒド曝露により DNA の酸化損傷が増加している可能性が疑われた。これらにより、シックハウス症候群や化学物質過敏症の予防や診断、対策に役立つことが示唆されたのみでなく、*Aldh2*^{-/-} マウスを用いた実験結果と組み合わせることにより、個体差の科学的解明につながることも示唆された。

京都市内のシックスクール問題等に配慮した建材を使用した新築大学校舎においては、築後 6 ヶ月間、換気等を行った段階で、アルデヒド類、VOCs とともに、高濃度の汚染は認められなかった。また、使用開始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が考えられた。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。

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*^{-/-})、対照として野生

型マウス (*Aldh2*^{+/+}) 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、両者でその発現が異なっていた。

またアセトアルデヒド吸入曝露により *Aldh2*^{+/+} に比べ *Aldh2*^{-/-} では酸化的 DNA 損傷が増加する可能性が示された。さらに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*^{-/-} で発症することが示され、個体差の科学的解明につながることも示唆された。

平成 16 年度

戸建て住宅、ワンルーム型マンションでの化学物質室内濃度の季節変動をみたが、冬季の NO₂ 濃度が高い他は、いずれの VOC、アセトアルデヒド類ともに、指針値を上回る高い濃度は認められなかった。労働者、主婦など 76 人のアルデヒド類個人曝露濃度と健康意識調査のスコアとは関連がなかった。

京都市内のシックスクール問題等に配慮した建材を使用した新築大学校舎においては、築後 6 ヶ月間、換気等を行った段階で、アルデヒド類、VOCs とともに、高濃度の汚染は認められなかった。また、使用開始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が考えられた。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。

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*^{-/-})、対照として野生型マウス (*Aldh2*^{+/+}) 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、両者でその発現が異なっていた。

またアセトアルデヒド吸入曝露により *Aldh2*^{+/+} に比べ *Aldh2*^{-/-} では酸化的 DNA 損傷が増加する可能性が示された。さらに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*^{-/-} で発症することが示され、個体差の科学的解明につながることも示唆された。

分担研究者

嵐谷奎一・産業医科大学産業保健学部・教授
川本俊弘・産業医科大学医学部・教授
樺田尚樹・産業医科大学産業保健学部・助教授
小山倫浩・産業医科大学医学部・助教授
一瀬豊日・産業医科大学医学部・助手
村山留美子・京都大学大学院工学研究科・助手

A. 研究目的

住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家庭用品の使用、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。しかし、それらの化学物質について、実際にそこに住む人がどの程度曝露されているか、という曝露評価は現在ほとんど研究がなされていないのが現状である。室内汚染化学物質については、シックハウス症候群や化学物質過敏症といった症状との関連も報告されており、これらの物質について健康影響評価を行い、有効な対策を立てるためには個人曝露の評価が急

務であると思われる。そこで、本研究は我々が開発した手法により、ベンゼン、トルエン、ホルムアルデヒド等の生体試料中(尿中、赤血球付加体)の濃度(内山、村山、嵐谷)と室内環境中濃度(嵐谷)を測定して、より正確な暴露アセスメントを行うと共に、対象者の症状と体内濃度との関連を検討する。また、分担研究者(川本)が開発した *Aldh2* ノックアウトマウスを用いてアセトアルデヒドを例とした感受性の違いや、有害性の検討を行い、いわゆる個体差を科学的に解明することを目的とし、以下の結果を得た。

B. 研究方法

1) 衣類等からの化学物質発生量測定 (分担研究者・嵐谷奎一、樺田尚樹)

現在、クリーニング店で最もよく使われている石油系ドライクリーニング剤をジクロロメタンで希釈し、約 1 μl をガスクロマトグラフ質量分析計(日本電子製オートマス GC/MS)に注入し、含有成分の同定を行った。

次いでドライクリーニングを行った白衣を、デシケータ中に室温(19°C)で 24 時間放置し、気化した VOCs を捕集した。活性炭に捕集した VOCs 成分を 1ml の

二硫化炭素で脱着し、ガスクロマトグラフからドライクリーニング済み衣類から発生する VOCs を同定した。

さらにドライクリーニング作業場内3箇所での NO₂ フィルターバッジ (東洋濾紙製)、アルデヒド・ケトン用パッシブガスチューブ (柴田科学製)、VOCs 用パッシブガスチューブ (柴田科学製)、をそれぞれ 24 時間放置し、化学物質を吸着捕集しそれぞれ測定した。また同様に個人曝露濃度を測定した。

2) 一般家庭を対象とした代表的化学物質の測定 (分担研究者・嵐谷奎一、櫻田尚樹)

VOCs は、拡散チューブに粒状活性炭を充填したパッシブガスチューブ (柴田科学製) を用いて行った。NO₂ の捕集には、フィルターバッジ NO₂ サンプラーを用いて行った。アルデヒド類の測定にはパッシブガスチューブ (柴田科学製) を用いた。

3) HCHO の生物学的モニタリング (HCHO - Hb 測定) (分担研究者・嵐谷奎一、櫻田尚樹)

血液はインフォームドコンセントを得た学生よりヘパリン加採血し、遠心分離をすることによって血漿と赤血球層を分離させた。赤血球層は生理食塩水で三回洗浄後、蒸留水を加えて溶血し、さらに四塩化炭素を加えて高速遠心分離 (15,000rpm, 4°C, 10min) し、debris の除去を行った。上層をエッペンドルフチューブに分注し (= A 液)、測定試料とし、測定までに -80°C にして凍結保存した。測定時には、さらに A 液を蒸留水で 4 倍希釈して A' 液を作り、よく混合した後、以下の処理をして測定した。反応溶液は酢酸アンモニウム (Wako 製、特級) 12.5g、dimedone (Wako 製、特級) 0.15g、酢酸 (Wako 製、特級) 0.2ml を蒸留水で 50ml にメスアップし、40°C の温浴で溶かしたものをを用いた。反応は試料液 (= A' 液) と dimedone 溶液をそれぞれ 0.2ml ずつ混合し、沸騰水で 10 分加温した後、氷で 5 分冷やして反応を停止させた。その後酢酸を 4 μl 加えた後、よく混合し HPLC で分離・定量した。反応後の時間によるピーク減衰があるため、溶液を混合し反応させた後から、HPLC での注入までは約 25 分間と常に同じ時間で行った。測定値はヘモグロビン濃度補正を行って求めた。

4) 内装材・クリーニング済み衣類からの化学物質発生量の測定 (分担研究者・嵐谷奎一、櫻田尚樹)

種類が異なる内装材 3 種 (建材 (ヒノキ白木調)、建材 (マンション用防音木質床材)、カーペット) とク

リーニング済み衣類 2 種 (ワイシャツ (綿 100%)、セーター (アルパカ綿 100%)) をデシケータ (容積約 14l) 中に放置し、気化した VOCs とアルデヒド類を吸引捕集した。すなわちデシケータの一方の口に実験室備え付けの空気を一定流量で送気し、他方の口には前者に活性炭チューブ、後者にアルデヒド類捕集用パッシブガスチューブを直列につなぎ、それにミニポンプ (柴田科学製、MP-I300) をセットし、流速 0.5l/min で 100 分間吸引捕集した。内装材・衣類より発生した VOCs は活性炭に捕集後、褐色の試験管に活性炭の粒子を移し、二硫化炭素 1ml を入れ、2 時間以上放置し、VOCs を溶出した。この二硫化炭素試料液 1 μl をガスクロマトグラフ質量分析装置 (島津製作所製 GC/MS QP5050) に注入し、含有成分の同定を行った。

内装材・衣類より発生したアルデヒド類は DNPH 含浸シリカゲルチューブに捕集後、アセトニトリル 3ml で溶出し、試料液とした。この試料液中のアルデヒド類は、吸光分光器付き高速液体クロマトグラフ (島津製作所製) で分離・定量した。

5) 夏・冬期、集合住宅の代表的化学物質濃度 (VOCs、NO₂、アルデヒド類) 測定 (分担研究者・嵐谷奎一、櫻田尚樹)

2003 年秋期 (9 月)、2004 年冬期 (1 月)、北九州市八幡西区を中心に 17 の一般家庭で、室外、室内 (寝室、台所、居間)、及び個人 (学生、主婦) の VOCs、NO₂、アルデヒド類の濃度を計測した。

VOCs の捕集には、拡散チューブに粒状活性炭を充填したパッシブガスチューブ (柴田科学製) を用いて行った。VOCs を捕集後、パッシブガスチューブから活性炭だけを小型試験管に取り出し、2ml の二硫化炭素を加え振とうした。その後、暗室で約 2 時間放置し抽出を行った。二硫化炭素相をバイアルビンに移し冷蔵庫にて保存した。抽出液中の VOCs はガスクロマトグラフィー / 質量分析法で定性・定量を行った。

NO₂ の捕集は、フィルターバッジ NO₂ サンプラーを用いて行った。NO₂ 捕集後、吸収濾紙をバッジケースから取り出し、ふた付試験管に入れた。発色液を 10ml (24 時間曝露の場合) 加え、時々試験管を軽く振とうさせ、約 40 分間放置した。発色完了後、分光光度計 (島津白記分光光度計 UV-2200A) を用い、波長 545 nm の吸光度を測定して定量した。ブランク値には、未曝露のフィルターを上記と同様の操作によっ

て得られた値を用いた。

アルデヒド類の捕集はパッシブガスチューブ(柴田科学製)を用いて行った。捕集後アセトニトリル 3ml で抽出した後、高速液体クロマトグラフ(HPLC)にて分離・定量した。

6) 幼稚園児の居住空間の化学物質濃度(VOCs、NO₂、アルデヒド類)測定
(分担研究者・嵐谷奎一、櫻田尚樹)

測定に理解を得た 幼稚園児の居る 20 家庭を対象として、子供部屋、居間、室外空気中の化学物質濃度を先述の 2) 項と同様の方法で計測した。また、家族について生活習慣、健康意識についても調査を実施した。健康意識調査については、Miller、内山の方法を参照して作成した。

7) 一戸建て及びワンルーム型集合住宅の化学物質濃度測定(分担研究者・嵐谷奎一、櫻田尚樹)

夏期(7~9月)及び冬期(1~2月)に一戸建家庭(14戸)とワンルーム型集合住宅(10室)で、室内(台所、居間)、室外及び個人(学生、主婦)のVOCs、NO₂、アルデヒド類の濃度を測定した。VOCsの捕集には拡散チューブに粒状活性炭を充填したパッシブガスサンプラー(柴田科学製)を用いて24時間捕集した。VOCsを捕集後、パッシブガスチューブから活性炭だけを小型試験管に取り出し、2mlの二硫化炭素を加え振とうした。その後、暗室で約2時間放置し抽出を行った。二硫化炭素相をバイアルビンに移し冷蔵庫にて保存した。抽出液中のVOCsはガスクロマトグラフィー/質量分析法で定性・定量を行った。

NO₂の捕集には、フィルターパッチNO₂サンプラーを用いて行った。NO₂捕集後、吸収濾紙をパッチケースから取り出し、ふた付試験管に入れた。発色液を10ml(24時間曝露の場合)加え、時々試験管を軽く振とうさせ、約40分間放置した。発色完了後、分光光度計(島津白記分光光度計UV-2200A)を用い、波長545nmの吸光度を測定して定量した。プランク値には、未曝露のフィルターを上記と同様の操作によって得られた値を用いた。

アルデヒド類の捕集にはパッシブガスチューブ(アルデヒド・ケトン類用、柴田科学製)を用いた。サンプリングは測定目的箇所に24時間放置後、分析まで冷蔵庫にて保存した。これをアセトニトリル3mlで抽出した後、高速液体クロマトグラフ(HPLC)にて分離・

定量した。

8) 揮発性有機化合物の生物学的モニタリング
(分担研究者・嵐谷奎一、櫻田尚樹)

調査について理解を得た女性のボランティア9人の胸元にVOCsパッシブガスチューブを装着し、1日ごと取替えながら、4日間連続してVOCsを捕集し、GC/MSにより測定した。なお、個人の行動調査も実施した。同時に4日間毎朝採尿し、尿中のVOCs代謝物質を測定した。VOCsはトルエン、キシレン、エチルベンゼンで、その尿中代謝物質はそれぞれ馬尿酸、メチル馬尿酸、マンデル酸である。VOCsの捕集・測定は1)と同様である。尿中の馬尿酸、メチル馬尿酸、マンデル酸の測定は高速液体クロマトグラフにて分離・定量した。なお、VOCs代謝物質の濃度はクレアチニンにて補正をした値を用いた。

9) 健康意識調査と化学物質の室内及び個人曝露濃度との関連(分担研究者・嵐谷奎一、櫻田尚樹)

労働者、学生・主婦を76人を対象者として、Millerらや、内山の方法を参照にして作成したアンケート調査を実施した。なお、同様にアルデヒド類の居間と個人曝露濃度を計測した。アルデヒド類の捕集、化学分析は、1)と同様である。

10) 室内汚染微量化学物質の尿中濃度の測定
(分担研究者・内山巖雄、村山留美子)

東京都郊外a市、b区、c市の新築マンション3戸の入居者のうち同意を得た上、尿中濃度測定の希望のあった18世帯の10~60歳代の34名(男性12名、女性22名)を対象とした。対象マンションは同一会社が建築したものであり、低ホルムアルデヒド仕様、壁紙の接着剤はトルエンフリー、24時間換気システムを備えていた。住んでからの体調の変化などを聞くアンケートを行った上、VOC等の室内環境及び個人曝露濃度と尿中濃度を測定した。調査は2003年1月18日~3月4日の期間に行った。

VOCパッシブサンプラー(SUPELCO社製VOC-SD)を1世帯につき居間と対象者の希望のあった1室の2箇所に24時間置き、室内濃度を測定した。また同様のパッシブサンプラーにストラップをつけて、対象者に首から提げ、24時間普段と同様に生活してもらい個人曝露濃度を測定した。

さらに事前に、洗浄済み10mlバイアルビンと採尿用紙コップを渡し、個人曝露濃度測定を行った同日の

朝・昼・夜及び翌朝の原則4回の採尿後バイアルビンに密閉し、保冷箱に入れて保存した。全採取終了後京都大学へ送付した。

送付されたサンプルは測定終了まで4℃で保存した。室内環境濃度評価、個人曝露濃度評価の対象物質は、ベンゼン、トルエン、キシレン、p-ジクロロベンゼンの4種とした。定量下限値はいずれも0.02 μg/m³であった。

なお、室内環境及び個人曝露濃度の測定値については、東京都健康局より資料提供を受けた。

尿中のVOC測定対象物質はクロロホルム、ベンゼン、トルエン、m,p-キシレン、o-キシレン、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を抜取り、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エンジニアリング社製)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(Ultra Alloy UA-502)を用いた。測定対象とした8物質の内、クロロホルム、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレンはほとんどのサンプルでピークが検出されなかったので残る4物質について定量した。

ベンゼン、トルエン、m-キシレン+p-キシレン、o-キシレン、p-ジクロロベンゼンの各定量下限値は、それぞれ、24.3ng/l、49.0ng/l、33.4ng/l、28.4ng/l、45.3 ng/lであった。

測定値が定量下限値未満の場合は、定量下限値の1/2を測定値とした。

11) 一般家庭に住む人の尿中VOC濃度の測定 (分担研究者・内山巖雄, 村山留美子)

職業的な曝露を受けていない人の一般的な濃度を確定するために、京都市中心部にある保健所に勤める成人22名を対象として検討を行った。対象者には測定対象日の朝、昼、夜(就寝前)、翌朝の4回採尿してもらい、同時に対象日の朝から翌朝まで、パッシブサンプラーを装着し、普段と同じように生活してもらった。また、測定対象日には行動記録票にその時の居場

所や移動の時間、移動手段などとともに、大まかな行動を記録してもらった。さらに、喫煙や受動喫煙の有無、防虫剤の使用の有無、換気の頻度などを尋ねるアンケートを行った。調査は平成15年6月に実施した。

個人曝露量についてはパッシブサンプラー(SUPELCO社製 VOC-SD)を用いた。同サンプラー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。測定終了後に回収し、測定に供した。

また、尿中VOCsの測定については対象者に、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。

個人曝露濃度についてはGC/MS法で、尿中VOCs濃度についてはダイナミックヘッドスペース/GC/MS法で測定を行った。

12) シックハウス症候群又は化学物質過敏症様症状を持つ人のVOCs曝露量と尿中VOCs濃度の測定 (分担研究者・内山巖雄, 村山留美子)

負荷試験用のクリーンルームやVOC類を排除した診療施設をもち、シックハウス症候群や化学物質過敏症(CS)への対応を行っている、神奈川県内の国立相模原病院臨床環境医学センターに依頼し、同病院を受診したシックハウス症候群やいわゆるCS様の症状を有する人を対象とした(従って、対象者は、同調査段階では、シックハウス症候群あるいは、いわゆるCSとは確定されていない)。対象者には測定対象日の朝、昼、夜(就寝前)、翌朝の4回採尿してもらい、同時に対象日の朝から翌朝まで、パッシブサンプラーによるサンプリングを行いながら、普段と同じように生活してもらった。測定対象日には行動記録票にその時の居場所や移動の時間、移動手段、大まかな行動を記録してもらおうと共に、症状があったときはその状態を記入してもらった。さらに、喫煙や受動喫煙の有無、防虫剤の使用の有無、換気の頻度などを尋ねるアンケートを行った。

13) 新築校舎における化学物質の曝露に関する研究

(分担研究者・内山巖雄・村山留美子)

京都市K大学では一部学科の新キャンパスへの移転計画を進めており、2004年の3月には新校舎が完成し、9月には一部の専攻の移転が実施された。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、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。

測定場所は新築校舎2階の新研究室Aと新研究室A内の什器類の内部、新築校舎内の代表的地点、旧校舎の旧研究室A、旧校舎敷地内にある研究室Yで実施した。新研究室Aにおける測定は、8月は3点、以後は2点で行った。

測定対象物質は、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、その他VOCs32物質である。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示唆されたために、以後、2E1Hの濃度測定を追加した。

測定は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。什器類の中での測定では、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。測定は通常の使用状況で行ったが、新研究室Aにおいては、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ングを行った。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。

A研究室の学生4名を対象に個人曝露測定を実施した。測定は、築校舎内の空気中化学物質濃度の測定とあわせて行い、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。測定対象物質は室内測定物質と同様である。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。

また、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。サンプルは測定終了まで4℃で保存した。尿中の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。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。

14) *Aldh2* ノックアウトマウスを用いた個体差の科学的解明に関する研究

(分担研究者・川本俊弘, 小山倫浩, 一瀬豊日)

川本らが開発した*Aldh2* ノックアウトマウス(以後*Aldh2* ^{-/-}マウス)とコントロールマウス(C57BL/6Ncrj、以後*Aldh2* ^{+/+}マウス)を用いて、血液生化学的検査、各臓器の組織学的検査、CYPsの免疫組織科学検査、ウエスタン・プロット法による肝のCyp蛋白質発現量を検討した。また*Aldh2* ^{-/-}マウスにおけるアセトアルデヒド動態を検討し、腹腔内投与によるLD₅₀量を求めた。LD₅₀検査は(株)パナファーム・ラボラトリーズ安全性研究所に委託した。

15) *Aldh2* ノックアウトマウスを用いた個体差の科学的解明に関する研究—毒性発現の差の検討—

(分担研究者・川本俊弘, 小山倫浩, 一瀬豊日)

川本らが開発した*Aldh2* ノックアウトマウスを用いてアセトアルデヒドの毒性発現の差を検討し、ヒトにおけるALDH2多型による感受性の違いを科学的に解明することを試みた。具体的には、*Aldh2* ノックアウトマウス(以降*Aldh2* ^{-/-}と表記)およびコントロールマウス(C57BL/6Jcrj、以降*Aldh2* ^{+/+}と表記)におけるアセトアルデヒド腹腔内投与後の消失速度の比較、急性吸入曝露による血中アセトアルデヒド濃度測定と行動毒性学的検討、低濃度(125ppmおよび500ppm)2週間吸入曝露による病理組織変化と酸化ストレス指標測定を行った。*Aldh2* ノックアウトマウス(以後*Aldh2* ^{-/-}マウス)とコントロールマウス(C57BL/6Ncrj、以後*Aldh2* ^{+/+}マウス)を用いて、血液生化学的検査、各臓器の組織学的検査、CYPsの免疫組織科学検査、ウエスタン・プロット法による肝のCyp蛋白質発現量を検討した。また*Aldh2* ^{-/-}マウスにおけるアセトアルデヒド動態を検討し、腹腔内投与によるLD₅₀量を求

めた。LD₅₀ 検査は(株)パナファーム・ラボラトリーズ 安全性研究所に委託した。

16) アルデヒド脱水素酵素2欠損マウスを用いた個体差の科学的解明に関する研究—遺伝子発現、酸化ストレス、発がんに関する検討—

(分担研究者・川本俊弘, 小山倫浩, 一瀬豊日)

アルデヒド脱水素酵素2欠損マウス (*Aldh2*^{-/-} 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川いた。

15週齢雄の *Aldh2*^{-/-} および *Aldh2*^{+/+} を同じ曝露チャンパーに入れ、アセトアルデヒド濃度をそれぞれ0 (N=10), 125ppm(N=7), 500ppm(N=10) とし、2週間の吸入曝露実験を行った。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、アセトアルデヒド検知管(ガステック)とDNPH吸収管(Waters)の値との補正を行った。

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。

1) 遺伝子発現の網羅的解析

0,500ppm 曝露群の *Aldh2*^{-/-} および *Aldh2*^{+/+} を各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 InteliGene II MouseCHIP を使用し、非曝露群および 500ppm 曝露群における *Aldh2*^{+/+} および *Aldh2*^{-/-} の遺伝子発現の差の網羅的解析を実施した。

2) 酸化ストレスの検討

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。

17) アルデヒド脱水素酵素2欠損マウスを用いた扁平上皮の発癌に関連した実験

(分担研究者・川本俊弘, 小山倫浩, 一瀬豊日)

(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*^{+/+} と *Aldh2*^{-/-} の比較—

10週齢雄の *Aldh2*^{+/+} および *Aldh2*^{-/-} 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。

(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*^{+/+} と *Aldh2*^{-/-} の比較—

Aldh2^{+/+} および *Aldh2*^{-/-} にアセトアルデヒドを100mg/kg体重(LD₅₀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。

また、投与4ヶ月後と5ヶ月後の2回、腫瘍組織生検を行い、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。

(倫理面への配慮)

上記の調査および動物実験は、いずれも産業医科大学、および東京都の倫理規定に従って行った。特に生体試料の提供については、十分なインフォームドコンセントを行い、尿の提供は測定希望者に限って行い、測定者には個人名等の個人を同定できる情報は与えないなど、倫理面への配慮は十分注意して行った。

C. 研究結果

1) 衣類等からの化学物質発生量測定 (分担・嵐谷)

石油系ドライクリーニング剤中の主要な化学物質としてノナン、デカン、ウンデカンを認めた。またドライクリーニング済み衣類からもノナン、デカン、ウンデカンを認めた。一方ドライクリーニング作業場、受付箇所、及び応接間の3ヶ所の測定ではウンデカン、1,2,4-トリメ

チルベンゼン、m/p-キシレンが比較的高値であり、作業従事者5人の個人曝露濃度を測定した結果、全員からベンゼン、m/p-キシレン、1,2,4-トリクロロベンゼン、p-ジクロロベンゼン、ウンデカンを検出した。

2) 一般家庭を対象とした化学物質の測定 (分担・嵐谷)

夏期のVOCsは20種類を検出し、p-ジクロロベンゼン、ウンデカンが比較的高値であった。冬期VOCsは22種類を検出した。オクタン、トルエン、1,2,4-トリメチルベンゼンが比較的高値であった。個人曝露濃度はトルエン、ノナン、デカン、p-ジクロロベンゼン、ウンデカンが4～7ppbと比較的高く、ベンゼンは約2ppbであった。夏期に比べ冬期のVOCs濃度が高い傾向であった。冬期NO₂濃度は台所>居間>個人>寝室>屋外で明らかに差が認められたが、夏期はほぼ同じ値であった。冬季の屋外濃度は約15ppbであったが、屋内は3倍から4倍の高値を示した。冬期のアルデヒド類濃度を測定した。冬期のアルデヒド類を測定した結果、HCHO以外にアセトアルデヒド、プロピルアルデヒド、イソブチルアルデヒドを検出した。HCHO濃度は室内は10～20ppbでWHOの基準(80ppb)以下であった。アルデヒド濃度はいずれの箇所ともプロピルアルデヒド>ホルムアルデヒド>アセトアルデヒド>イソブチルアルデヒドで屋内ではいずれの箇所も、同程度であった。

3) ホルムアルデヒド-Hb付加体の測定法の確立 (分担・嵐谷)

1,3-シクロヘキサジオン試薬を用いてのHCHO-Hb測定では感度が高く、また得られたクロマトグラムは単一ピークであったが、HCHOピークの安定性と試薬blankが高くなる難点があった。本研究に用いたDimedone試薬ではアルデヒド類がそれぞれ単一ピークで得られ、blankも比較的小さかった。赤血球を用いて得られたHCHO-Dimedone誘導体のクロマトグラムのベースは低く、単一ピークとして得られた。HCHO標準物質の保持時間と、血液試料を用いて得られたHCHOの保持時間のピークとが一致した。従って、試薬を用事調整する必要はあるが、blankも比較的小さいDimedone試薬を用いることによって、曝露指標としてのHCHO-Hb付加体の測定が可能であると考えられた。

4) 内装材・クリーニング済み衣類からの化学物質発生量の測定 (分担・嵐谷)

カーペットから、ノナン、デカン、ウンデカンの炭化水素類が主要成分として検出した他は内装材からはVOCsをほとんど検出しなかった。アルデヒド類は3種類検出し、ホルムアルデヒドは比較的多量であった。クリーニング済み衣類(ワイシャツ、セーター)からは、炭化水素類などが含まれ、p-ジクロロベンゼンの発生量は多く、減衰は比較的緩やかであった。ホルムアルデヒド、アセトアルデヒドが比較的多く、減衰は緩やかであった。春期クリーニング作業場の環境測定により、冬期に比べると多くのVOCs濃度は高く、特にp-ジクロロベンゼン及び、アルデヒド類も高値であった。

5) 夏・冬期、集合住宅の代表的化学物質濃度 (VOCs、NO₂、アルデヒド類) 測定 (分担・嵐谷)

秋期は、クロロホルム、ベンゼン、トルエンが他のVOCsに比べ比較的高い値があったがすべてのVOCsは7ppb以下の濃度レベルであった。室外のVOCs濃度は室内、個人曝露濃度のそれに比べて低い傾向であった。VOCsの個人曝露濃度は、主婦の個人曝露濃度が学生に比べて低値で、室内濃度レベルと同程度であった。学生の個人曝露濃度の高値は、職域での有機溶剤曝露の影響を受けていると考えられる。

冬期は、秋期と比べて、オクタン、ノナン、デカン、ウンデカンのアルカン類が比較的高値であり、クロロホルム、ベンゼンは比較的低値で、トルエン、キシレンは両季節で同レベルであった。また室外濃度に比べて、いずれのVOCsとも室内濃度、個人曝露濃度とも高い値であった。VOCsの室外濃度は室内、個人曝露濃度に比べ低い値であった。

6) 幼稚園児の居住空間の化学物質濃度 (VOCs、NO₂、アルデヒド類) 測定 (分担・嵐谷)

測定に理解を得た幼稚園児の居る20家庭を対象として、子供部屋、居間、室外空気中の化学物質濃度を計測した結果、子供部屋で、ノナン、デカン、ウンデカンが比較的高値で、アルデヒド類濃度は居間と同程度で40ppb以下であった。また、築年2年未満の子供部屋のVOCs濃度は居間に比べすべて高値であった。

7) 一戸建て及びワンルーム型集合住宅の化学物質濃度測定 (分担・嵐谷)

一戸建ての夏期は、VOCsの中で、トルエン、p-ジクロロベンゼンが比較的高い値があったが、すべてのVOCsは3ppb以下の濃度レベルであった。

室外のVOCs濃度は室内、個人曝露濃度のそれに比べ低い傾向であった。

冬期は22種のVOCsを検出したが、VOCs濃度はいずれも3ppb以下であった。室外のVOCs濃度は室内濃度、個人曝露濃度に比べいずれも低値であった。以上からVOCs個人曝露に及ぼす影響因子としては、主に室内で発生するVOCsであることが示唆された。ホルムアルデヒドは夏期>冬期であり、個人曝露濃度は室内濃度と相関が認められた。

ワンルーム型集合住宅では、VOCs濃度、アルデヒド類ともに高い値は認められなかったが、VOCs、ホルムアルデヒドともに室内濃度と個人曝露濃度との相関が認められた。

8) 揮発性有機化合物の生物学的モニタリング (分担・嵐谷)

尿試料から得られた液体クロマトグラムで比較的高濃度は脂肪族炭化水素のオクタン(0.15~21.3ppb)、ノナン(0.1~28.6ppb)、デカン(0.21~16.4ppb)であった。VOCs個人曝露濃度と尿中の代謝物質濃度をみるとトルエン個人曝露濃度と尿中の馬尿酸濃度、*o*-キシレン個人曝露濃度と尿中*o*-メチル馬尿酸濃度、*m/p*-キシレン個人曝露濃度と尿中*m/p*-メチル馬尿酸濃度、エチルベンゼン個人曝露濃度と尿中マンデル酸濃度との間にはいずれも有意な相関は得られなかった。

9) 健康意識調査と化学物質の室内及び個人曝露濃度との関連(分担・嵐谷)

カットオフ値によるスクリーニングはMillerらが用いた① Chemical Exposure 化学物質曝露による反応、② Other Exposure その他の化学物質曝露による反応、③ Symptoms (症状) の3項目で、各項目の合計スコアについてそれぞれ① ≥ 40 、② ≥ 25 、③ ≥ 40 をHigh Cutoff Point (カットオフ値と示す)に設定した。このカットオフ値を満たしたヒトを化学物質に対して高い感受性の群としてスクリーニングし得るとした。

この方法によって、この調査での解析結果、これら3つの基準を満たしているヒトは2.6%、2つの基準を満たしているヒトは1.3%であった。これは日本の他の報告より高いが、これは対象者の数の少ないことに大きく起因しているものと考えられる。なお76人の3項目それぞれのスコア値とアルデヒド類の個人曝露濃度とは全く関係しなかった。

10) 室内汚染微量化学物質の尿中濃度の測定 (分担・内山)

①尿中VOCのクロマトグラム

GC/MSのSIM法で測定したクロマトグラムは一般的に見られるクロマトグラムと、個人によっては稀に非常に多くのピークが現れるサンプルがあったが、今回はSIM法のみでの測定であるために、*m/z*を指定した物質以外は同定できなかった。

②室内環境濃度(分担・内山)

ベンゼン、トルエン、キシレン、*p*-ジクロロベンゼンの各室内濃度の平均値(Mean \pm SD)はそれぞれ、 $2.31 \pm 1.28 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.93 ~ 7.48 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)、 $18.3 \pm 8.9 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (7.19 ~ 58.9 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)、 $7.56 \pm 4.70 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (2.96 ~ 29.5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)、 $125.7 \pm 268.0 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.77 ~ 1043.7 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)であった。*p*-ジクロロベンゼンについては3世帯で測定対象となった6室すべてで環境指針値を超えていた。なお、室内環境濃度については、現在より詳細な解析を行っている。

③ 個人曝露濃度及び尿中VOC濃度(分担・内山)

尿は対象者が1日に2~4サンプルを採取しており、尿中濃度の地域、性、年齢別や喫煙による差や個人曝露濃度のとの関連の検討には、個人毎に採取したサンプルの各物質の濃度の平均値を算出し、代表値として検討に用いた。

ベンゼン:個人曝露濃度は1.29~6.12 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (Mean \pm SD: $2.32 \pm 0.98 \mu\text{g}/\text{m}^3$)であり、各対象者あたりの尿中ベンゼンの平均値は12.2~138.5ng/lであった。ベンゼンの個人曝露濃度と尿中濃度の平均値の間には明らかな相関は認められなかった。喫煙者は34名中4名のみであったが、尿中濃度は非喫煙者 $38.6 \pm 19.0\text{ng}/\text{l}$ 、喫煙者 $107.8 \pm 30.2\text{ng}/\text{l}$ と喫煙者の方が有意に高い値を示し($p < 0.001$)、喫煙がベンゼン曝露の大きな要因となる可能性が示唆された。以下の解析では非喫煙者($n=30$)のみのデータを対象とした。3地区(それぞれ $n=9$, $n=6$, $n=15$)別に尿中ベンゼン濃度平均値についてANOVAで検討したところ、*c*市の対象者が有意に低くなった。主に住宅地に囲まれた*a*市、*b*区に対し、*c*市にあるマンションは付近に非常に広い面積を持つ緑地公園があることから、屋外濃度が影響している可能性もある。

性・年齢別においては、平均値に差は認められなかつ

た。非喫煙者の尿中ベンゼン濃度はトルエン ($r=0.54$ $p<0.01$)、m,p-キシレン ($r=0.39$ $p<0.05$) との間にそれぞれ有意な相関が認められた。

トルエン：対象者の個人曝露濃度の分布は $9.0 \sim 40.4 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ($18.8 \pm 6.8 \mu\text{g}/\text{m}^3$) であった。また対象者ごとの尿中濃度の平均値の分布は $69.0 \sim 294.0\text{ng}/\text{l}$ ($147.2 \pm 49.3\text{ng}/\text{l}$) であった。3地区 (a市、b区、c市それぞれ $n=9$, $n=7$, $n=18$) の比較ではc市の対象者が有意に低かった ($p<0.001$)。

m,p-キシレン及びo-キシレン：m-,p-,o-キシレンを合わせたキシレンの個人曝露濃度は $3.8 \sim 19.4 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ($7.8 \pm 3.6 \mu\text{g}/\text{m}^3$) であった。また対象者ごとのm,p-キシレン、o-キシレンの尿中濃度の平均値の分布はそれぞれ、 $16.7 \sim 42.8\text{ng}/\text{l}$ ($18.7 \pm 6.8\text{ng}/\text{l}$)、 $14.2 \sim 33.2\text{ng}/\text{l}$ ($15.7 \pm 4.8\text{ng}/\text{l}$) であった。尿中キシレン濃度については定量下限値未満であったサンプルが非常に多く、個人曝露濃度とも関連は認められなかった。

p-ジクロロベンゼン：個人曝露濃度の分布は $0.88 \sim 1149.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ($87.8 \pm 240.6 \mu\text{g}/\text{m}^3$) であった。対象者ごとの尿中濃度の平均値の分布は $22.7 \sim 1509.2\text{ng}/\text{l}$ ($171.1 \pm 347.6\text{ng}/\text{l}$) であった。個人曝露濃度と尿中濃度との間には有意な正の相関が認められた ($r=0.84$, $p<0.01$)。p-ジクロロベンゼンが室内環境指針値を超えた世帯は3世帯で、同世帯の対象者4名の個人曝露濃度も同様に室内環境指針値を超える曝露を受けており、尿中濃度も非常に高い値を示した。

性・年齢別、立地場所別においては平均値に有意差は認められなかった。他のVOCの尿中濃度との間には関連は認められなかった。

11) 一般家庭に住む人の尿中VOC濃度の測定 (分担・内山)

職業的な曝露を受けていない人の一般的な濃度を確定するために、京都市内在住の成人22名を対象に、尿の提供を受け、同時にVOCのパッシブサンプラーをつけてもらい、VOCsの個人曝露量を推定し、屋内濃度、個人曝露濃度、尿中濃度の関連を検討した。尿中ベンゼン、トルエン、エチルベンゼン、m,p,o-キシレンの濃度は喫煙者が非喫煙者に比して有意に高値を示し、喫煙がVOCs曝露の大きな要因になる可能性が示唆された。p-ジクロロベンゼンについては、尿中濃度と個人曝露濃度と良く相関した。その他のVOC

については、昨年度の結果と同様の低い値を示した。

12) シックハウス症候群又は化学物質過敏症様症状を持つ人のVOCs曝露量と尿中VOCs濃度の測定 (分担・内山)

有症者の尿中VOCs濃度は、トルエンを除いて京都市内在住者の平均値よりも低く、化学物質に関して曝露を小さくするような生活をしていることが伺われた。一方、症状が出る夜から朝にかけて尿中VOCs濃度が高くなる被験者や、同様に症状が出る昼に尿中濃度が高くなる被験者など、尿中のVOCs濃度と症状の出現が重なっている被験者もあり、今後さらに例数を増やして検討を行っていく必要があると考えられた。

13) 新築校舎における化学物質の曝露に関する研究 (分担・内山)

(1) 新旧研究室内の化学物質濃度の比較

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) では、いずれも基準を満たしていた。移転前の新研究室Aにおいて、ホルムアルデヒド濃度が指針値をわずかに上回っていた。新研究室Aに搬入された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。移転前の新研究室では、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、 α -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り、特に9月の移転前後で大きく濃度が減少していた。また、12月の密閉状態での測定でも各物質の濃度は旧研究室とほぼ同程度であった。

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が、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た。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、移転後では2E1Hの推定濃度を加えても指針値を下回った。

(2) 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可能性を把握するため、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。

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。また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たが、酢酸エチルの濃度は依然として室内の濃度の3倍程度あった。机引出についてもほとんどの物質で濃度が低下したが、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。

(3) 新築校舎内でのその他の測定

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

(4) 個人曝露濃度の測定結果

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。ただし、ベンゼンについては喫煙可能であった旧研究室内よりも新研究室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かった。

個人曝露濃度とその時に滞在していた研究室空気内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。

(5) 尿中化学物質濃度の測定結果

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みると、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。また、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。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、研究室内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。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、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た。

14) *Aldh2* ノックアウトマウスを用いた個体差の科学的解明に関する研究(分担・川本)

Aldh2 ノックアウトマウス(以後 *Aldh2* $-/-$ マウスと記述)は、*Aldh2* 蛋白の発現を認めず、コントロールマウス(C57BL/6Ncrj、以後 *Aldh2* $+/+$ マウスと記述)と比べ肝臓でのチトクロムP450 2b1(*Cyp2b1*)、および *Cyp2e1* 蛋白発現量が多かった。血液生化学検査値に有意な差は認めなかった。また、全身臓器における組織学的・免疫組織化学的検討で差は認めなかった。

Aldh2 $-/-$ マウスは *Aldh2* $+/+$ と比べ、自由摂取のエタノール摂取量が有意に少なく、エタノール強制投与では血中アセトアルデヒド濃度が有意に高値となった。

アセトアルデヒド腹腔内投与で、*Aldh2* $-/-$ マウスのLD₅₀は雄567mg/kg、雌587mg/kg、*Aldh2* $+/+$ マウスのLD₅₀は雄602mg/kg、雌598mg/kgであった。*Aldh2* $-/-$ マウスは *Aldh2* $+/+$ マウスに比べ、アセトアルデヒド感受性が高い可能性が示唆された。

15) *Aldh2* ノックアウトマウスを用いた個体差の科学的解明に関する研究—毒性発現の差の検討—(分担・川本)

アセトアルデヒドを腹腔内投与、高濃度急性吸入曝露および低濃度 2 週間吸入曝露を行い、① *Aldh2*^{+/+} と比べ血中アセトアルデヒド消失速度が遅かった ② 高濃度急性吸入曝露において *Aldh2*^{-/-} は *Aldh2*^{+/+} と比べ、強い毒性症状を呈した。また、血中アセトアルデヒド濃度も有意に高かった ③ 125ppm および 500ppm アセトアルデヒド 2 週間吸入曝露において、*Aldh2*^{-/-} は *Aldh2*^{+/+} と比べ、鼻腔、皮膚、肝臓により強い病理変化像を示した。とくに *Aldh2*^{-/-} に特徴的な点は鼻腔上皮内出血、鼻腔内出血、喉頭・咽頭・気管の呼吸上皮や背部表皮に変性病変が多く観察された点である。また、血中アセトアルデヒド濃度も高かった、などの結果を得た。

吸入曝露実験では、*Aldh2*^{+/+} と比べ *Aldh2*^{-/-} の方が血中アセトアルデヒド濃度が高く、毒性発現も大きかった。*Aldh2*^{-/-} の血中濃度を *Aldh2*^{+/+} と同程度まで下げるには、曝露量(濃度)を 1/6 ~ 1/10 とすることが、血中アセトアルデヒド消失速度から推算された。

16) アルデヒド脱水素酵素 2 欠損マウスを用いた個体差の科学的解明に関する研究—遺伝子発現、酸化ストレス、発がんに関する検討—(分担・川本)

(1) 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、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、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) 酸化ストレスの検討

①尿中 8-ヒドロキシグアニン(8-OHdG)測定

Aldh2^{+/+} 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。*Aldh2*^{-/-} 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血漿中 MDA 濃度測定

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が、両群に差はなかった。

17) アルデヒド脱水素酵素 2 欠損マウスを用いた扁平上皮の発癌に関連した実験(分担・川本)

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・*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。アセトアルデヒドに曝露の有無に関わらず *Aldh2*^{+/+} に比べ *Aldh2*^{-/-} 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。

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^{-/-}・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。

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) 家庭内で発生する化学物質の一例として石油系ドライクリーニング剤でドライクリーニング済みの衣服から発生する化学物質を測定したが、ノナン、デカン、ウンデカンの炭化水素類が検出され、その他の有害化学物質は特に検出されなかった。しかし、クリーニング作業場内や作業者の個人曝露濃度では、異なる VOC が検出され、以前使用されていたパークレン系の溶剤、またその他の因子からの汚染の影響を強く受けていることが示唆された。

一般家庭を対象に夏期、冬期の VOCs と NO₂ 濃度を計測した結果は VOCs は冬期が夏期に比べ高い値

を示したものの、特に高い値を示したものはなかった。またホルムアルデヒドを含む4種のアルデヒド類の濃度はイソブチルアルデヒドを除いていずれも屋外より、屋内の濃度が高かったが、ホルムアルデヒドは基準値を超えるものはなかった。これは調査した家庭が新築や、最近リフォームをした家庭ではなかったためと考えられた。NO₂濃度については、冬期の室内と個人曝露濃度とも高値を示し、機密性の高い室内で石油系暖房器具を使用する場合高濃度のNO₂に比較的長期の曝露を受けることが示唆された。

2) 家庭内で発生する化学物質の一例として、内装材、クリーニング済み衣類からの化学物質発生量の測定発生する化学物質を測定した。VOCsについては、3種類の内装材(防音木質材、ヒノキ白木調、カーペット)のうち、カーペットから、ノナン、デカン、ウンデカンの炭化水素類が主要成分として検出した。また、カーペットに含有する炭化水素類は比較的少なく、発生量の減衰は緩やかであった。これはカーペットの内部に炭化水素が含有されているためと考えられる。3種類の内装材すべてからホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、プロピオンアルデヒドを検出した。ホルムアルデヒド、アセトアルデヒドが比較的多く含有され、発生量は放置4日目より減衰が明らかになり、内部に含有されているアルデヒド類が放出するのに時間がかかるものと考えられる。

クリーニング済み衣類(ワイシャツ、セーター)からはノナン、デカン、ウンデカンとp-ジクロロベンゼンを検出し、ノナンとp-ジクロロベンゼンが比較的多量に含有されていた。また、いずれの衣類からも3種のアルデヒドを検出し、アセトアルデヒドの発生量は極めて多く、ワイシャツではその減衰は比較的すみやかであるが、セーターについては緩やかに減少した。これは衣類の材質とその織方に起因するものと考えられる。

3) 一般家庭を対象にした個人曝露濃度の計測結果では、冬期は秋期に比べ、アルカン類とトルエンは高値、逆にクロロホルム、ベンゼンは低値、トルエン、キシレンは同程度であった。主婦の個人曝露濃度は居間のVOCs濃度と同レベルであり、両季節で両者は有意な相関があったが、ベンゼンは相関がなかった。ベンゼンを除く多くのVOCsの発生は、内装材、暖房由来と考えられ、これが共通して個人曝露に大きく影響していると考えられる。ベンゼンについては、その発生由

来が大きく異なるものと想定される。NO₂濃度はこれまでの測定結果と同様に秋期は低く、冬期は高く、特に室内が石油系暖房を使用することにより高い濃度レベルとなった。ホルムアルデヒド、アセトアルデヒドは同季節とも室外濃度は5ppb以下と極めて低値であったが、個人曝露、室内濃度は室外の2~5倍高い値であった。なお、ホルムアルデヒド間で比較的高い相関があり、発生源が類似しているものと考えられる。

子供部屋における調査では、比較的高濃度であったのは、VOCsの中でノナン、デカン、ウンデカンで、15ppb以下であった。それ以外NO₂、及びアルデヒドで特別に高い値の化学物質はなかった。築年代と化学物質濃度との関連では、多くのVOCs濃度は築年代が長くなると共に減少するが、クロロホルムはほとんど減少せず、また、築年2年未満ではVOCsの多くは子供部屋が居間より高い値であった。アルデヒド類も同様であったがNO₂は築年代と共に明らかに減少してきていた。

4) 戸建て、集合住宅、個人曝露濃度及び生体試料中のVOCs濃度の評価では①一戸建ての一般家庭およびワンルーム型集合住宅を昨年に引き続き、また新築校舎およびその研究室の室内濃度測定を計時的におこない、同時に個人曝露濃度の測定、②VOCs曝露評価としての尿中化学物質の生物学的モニタリング、③ヒトの健康意識度と化学物質曝露濃度との関連等について実施した。

一戸建てでは夏と冬期のVOCs個人曝露濃度は室外を除いて室内のVOCs濃度とよい相関があることが明らかになり、VOCs個人曝露は室内の影響を強く反映しているものと考えられる。ホルムアルデヒド、アセトアルデヒドの室内、個人曝露濃度とも室外に比べ高値であり、ホルムアルデヒドは居間、個人曝露濃度とも約40ppbとアセトアルデヒドのそれに比べ4倍、室外のそれに比べ約8倍の高値であった。なお室外のそれは10ppb以下と低値であった。アルデヒド類の発生源は室内の壁材、床材、敷物、戸棚等と考えられ、特にホルムアルデヒドの発生は物理的要因、室内温度に大きく起因するものと考えられる。

ワンルーム型集合住宅では、夏・冬期のベンゼンを含む多くのVOCs個人曝露濃度は居間のVOCsと比較的良好な相関が得られた。

VOCsの代表的なトルエン、キシレン、エチルベンゼ

ンの個人曝露濃度と尿中のそれぞれの代謝物質濃度との関係を検討した。個人曝露濃度差は50～100倍あったが、これらのVOCs個人曝露濃度とその代謝物質との間には有意な相関は見出せなかった。これは労働環境と比べ、極めて低い濃度レベルであるため、代謝物質の濃度に反映することが難しいのではないかと考えられ、尿中の代謝物質での曝露評価には限界があり、より高度の技術は要するが、尿中未代謝物質の測定が有用であることを示唆している。

健康意識調査はMillerらの方法を改良したものをを用いて、スコアを集計し、評価した。3つの基準のカットオフ値を超えたのは2.6%、2つの基準のカットオフ値を超えたのは1.3%であったが、スコア値とアルデヒド類の個人曝露濃度とは有意な相関がなかった。化学物質による症状のスコアの差がいつの時点での化学物質の曝露影響を受けたものなのか、その影響評価を現時点での化学物質濃度を用いることの妥当性の検証が必要ではないかと考えられる。

5) 我々はこれまでにベンゼン等のVOCsの尿中濃度の測定手法を確立し、一般の人の尿においても対応できるよう改良を行ってきた。しかし、環境中ベンゼンの濃度が近年急速に低下していることを考慮してさらに低濃度の測定を可能にするために検討を加え、これまで定量下限値が50.0ng/lであったのに対して、本研究においては24.3ng/lまで測定が可能になった。

先に述べたように対象となった3戸のマンションはすべて同一の会社が手がけたものであり、低ホルムアルデヒド仕様、壁紙の接着剤はトルエンフリーのものをを用いており、24時間換気システム等を備えたマンションであり、最近の大手建設会社の新築マンションはこの様な仕様が多くなっていることは、近年の対策の効果と言える。実際、トルエン、キシレンが室内環境指針値を超えた対象家庭はなかった。

一方、p-ジクロロベンゼンについては、3世帯6室で室内環境指針値を超えており、室内環境指針を超えていた室内で生活している人の暴露濃度は $668.5 \pm 323.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ で、指針値以下であった室内で生活している人が $7.66 \pm 11.6 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であったのに比較すると非常に高値になっていた。尿中のp-ジクロロベンゼン濃度については個人の曝露濃度と良く相関し、室内環境指針値を超える部屋で生活している人は平均で $1071.8 \pm 295.2\text{ng}/\text{l}$ で、そうでない人の $52.0 \pm$

41.1ng/lと比較して非常に高かった。さらに尿の全サンプルにおいて指針値を超えない部屋で生活している人よりも明らかな高値を示していることから、今回使用したような1回のスポット尿の測定で、より簡便にp-ジクロロベンゼンの曝露状況の把握が可能であることが示唆された。

さらに、室内の汚染の原因としては喫煙があげられる。我々の先行研究では、喫煙の有無によって尿中ベンゼン濃度が喫煙者で有意に高いことを明らかにしているが、今回も同様の結果を得ており、喫煙がベンゼン曝露に対して大きな要因になる可能性があるものと思われた。しかし今回は個人曝露濃度については有意差はなく、個人曝露濃度と尿中濃度との間には明らかな相関は認められなかった。これは個人曝露濃度サンプル位置が異なっていたためとも考えられるが、代謝の個人差により必ずしも曝露濃度とは相関しない可能性もある。そのような結果を反映していた場合には、曝露量と尿中濃度の関連によりハイリスク群などの同定等も可能になることが考えられる。

6) 一般環境下で生活する人の尿中VOCs量を測定したところ、対象としたクロロホルム、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、p-ジクロロベンゼンのうち、最も平均値が高かったのは、p-ジクロロベンゼンで、次いでベンゼン、クロロホルムが高くなった。ベンゼンについては、喫煙者で尿中ベンゼン濃度が有意に高く、曝露濃度も、喫煙者がやや高くなっていた。先に述べたように、ベンゼンは他のVOCsとは発生由来が大きく異なる可能性があるが、喫煙もその一因である可能性がある。また、喫煙者では、本調査において考察の対象とした上記の7物質のうち、喫煙とは関連が少ないと思われるクロロホルム、p-ジクロロベンゼンでは差は認められなかったが、前述のベンゼンの他、たばこ煙に含まれると考えられるエチルベンゼン、m,p-キシレン、o-キシレンについても、喫煙者が非喫煙者に比して尿中濃度が高いという結果が得られた。喫煙がVOCs曝露において、大きな要因となるものと思われた。

また、p-ジクロロベンゼンについては曝露濃度と尿中濃度との間には強い正の相関が認められた。今回は対象者に事前に防虫剤の使用の有無について尋ね、その使用状況との関連についても検討した。その結果、室内環境指針値を超える曝露を受けていた人は1名

を除いて「防虫剤を使用している」と回答しているが、逆に、「防虫剤を使用している」と回答した人の6割は環境指針値を大きく下回る曝露しか受けていなかった。防虫剤についてのアンケート項目においては、答えやすさの観点から「防虫剤」を特にp-ジクロロベンゼンに限定していないため、防虫剤を使用していると回答したにもかかわらずp-ジクロロベンゼン曝露濃度が低かった対象者については、ピレスロイド系など、p-ジクロロベンゼン以外のものを使用している可能性もある。しかし、使用していると回答した対象者の差が、p-ジクロロベンゼンの使用法によっても生じる可能性もあるため、今後、使用している防虫剤の種類についても調査を行う必要がある。

さらに、これらの技術、及び研究成果をもとに、国立相模原病院臨床環境医学センターと協力し、同病院を受診するシックハウス症候群やいわゆる化学物質過敏症様の症状を有する人を対象に、個人曝露濃度および尿中VOCsの検討を行った。曝露濃度、尿中VOCs濃度は、被験者の平均値は一般環境下の無症状者よりも低い者が多く、有症者が化学物質に関して曝露を小さくするような生活をしていることが伺われた。一方、症状と曝露状況との関連において、症状が出る夜から朝にかけて尿中VOCs濃度が高くなる被験者や、同様に症状が出る昼に尿中濃度が高くなる被験者など、尿中のVOCs濃度と症状の出現が重なっている被験者もあり、今後さらに検討を行っていく必要がある。

7) 新築校舎の研究室内の測定では移転前の新研究室Aにおいて、ホルムアルデヒド濃度が指針値をわずかに上回っていた。竣工時の測定では別の研究室の濃度は低かった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。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が、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。

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。

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が、竣工から移転までに約6か月があったこと、換気が効果があることが確認された。

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が、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。

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。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、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、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。

尿中の化学物質濃度の測定では、被験者は2名が非喫煙者、2名が喫煙者であった。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。我々はこれまでにベンゼンについては喫煙の影響が大きいことを確認しており、本研究においては旧研究室では室内で喫煙していたが、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、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。移転後にスチレンが高濃度を示した被験者3名のうち、2名は研究室内に滞在しているときの尿で、他の1名は研究室退室後の最初の尿で高濃度を示していた。我々は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が、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。今回は被験者が4名と非常に少ないが、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、溜まっていたスチレンが什器から放出され、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た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。

8) 化学物質の健康影響評価において、ヒトの個体差は、いままでヒト集団を用いた疫学的検討でのみ明らかにされていた。今回の *Aldh2*^{-/-} マウスの開発により、動物実験からの外挿でヒトの化学物質感受性の個体差を科学的根拠の基に検出・評価できる可能性が高まった。

マウスにおいて *Aldh2* 酵素の欠損により *Cyp2e1* および *Cyp2b1* 蛋白発現量が変化していた。ヒトにおける ALDH2 多型は、ALDH2 の基質となる環境化学物質に対する感受性相違の原因となるのみならず、ALDH2 不活性が CYP2E1 の発現量に変化を与え、CYP2E1 の基質となる環境化学物質に対する感受性に2次的に影響を与える可能性がある。今後の検討が必要だと考える。

9) 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、日本人の約半数はこの ALDH2 の活性が失われており、不活性型のヒトにおいては、低濃度のアセトアルデヒドでも毒性が

高く、ハイリスクグループが存在することがわかってきた。そこで、本研究は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、以下 *Aldh2*^{-/-} と表記する) およびコントロールマウス (*Aldh2*^{+/+}) を用いて、アセトアルデヒドに対する感受性の相違を検討した。

アセトアルデヒド血中半減期は1分以内と短く、かつ血中アセトアルデヒド濃度が高濃度域では両マウスの血中アセトアルデヒド濃度に差を認めない。これが急性曝露において致死性などに差を生じない原因となっていると考えられる。この現象は、アセトアルデヒド動態が拡散相にあるため、あるいは高濃度域では ALDH2 以外の *K_m* が高い ALDH 酵素が主たる酵素として働くことができ ALDH2 が血中濃度低下に占める割合が低いための2つの可能性が考えられる。高濃度では差が認められない一方、低投与量および血中アセトアルデヒド低濃度領域では、両マウスの血中アセトアルデヒド消失速度は明らかに異なる。このためため、繰り返しおよび慢性曝露時の血中アセトアルデヒド濃度に大きな差を生じる可能性がある。

Aldh2^{-/-} の血中アセトアルデヒド濃度を、*Aldh2*^{+/+} と同程度に下げるには、繰り返し曝露コンパートメントモデルを基に計算する曝露濃度を6-10分の1とすればよいと推算された。

アセトアルデヒドの吸入により *Aldh2*^{-/-} では DNA の酸化損傷が増加している可能性が示された。このことから、ALDH2 不活性のヒトでもアセトアルデヒド曝露により DNA の酸化損傷が増加している可能性が疑われた。

10) 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、また 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得られた血中アセトアルデヒド濃度の差よりも一部の遺伝子の発現量の差は大きく、より鋭敏なバイオマーカーとして使用できる可能性がある。

Aldh2^{+/+} と *Aldh2*^{-/-} 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*^{+/+} と *Aldh2*^{-/-} 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*^{+/+} と *Aldh2*^{-/-} 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。

Aldh2^{-/-} はアセトアルデヒドの代謝速度が *Aldh2*^{+/+} 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*^{+/+} 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。

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*^{-/-} 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. 3年間のまとめ

1. 北九州近郊の戸建て、ワンルーム集合住宅では、NO₂ を除いてほぼ全ての VOCs、アルデヒド類の濃度は夏期、冬期で健康上特に問題があるとは考えられない濃度であった。
2. 家庭内で発生する化学物質の一例として、内装材、クリーニング済み衣類からの化学物質発生量の測定発生する化学物質を測定し、カーペットから、ノナン、デカン、ウンデカンの炭化水素類が主要成分として検出した。また、3 種類の内装材すべてからホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、プロピオンアルデヒドを検出した。クリーニング済み衣類（ワイ

シャツ、セーター）からはノナン、デカン、ウンデカンと p-ジクロロベンゼンを検出し、ノナンと p-ジクロロベンゼンが比較的多量に含有されていることを明らかにした。

3. 新しく作成した健康度意識調査のスコアの得点とホルムアルデヒド類個人曝露濃度とは相関がなかった。
4. 最近新築された大手の建設会社のマンションは低ホルムアルデヒド化、24 時間強制換気システム仕様が普及してきており、対策の一定の効果が認められている。今回の調査では、防虫剤としての p-ジクロロベンゼン、喫煙者のベンゼン、冬期暖房使用による窒素酸化物等の室内汚染が明らかとなった。
5. 一般環境下で生活する人の曝露濃度が高かった p-ジクロロベンゼンについては、尿中濃度と非常に良く相関していることから、スポット尿により曝露評価が可能であることが示唆された。さらに、尿中ベンゼン、トルエン、エチルベンゼン、キシレンの濃度が喫煙者が非喫煙者に比して高く、喫煙が VOCs の曝露に大きな要因になっていることを明らかにした。
6. 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。
7. 動物実験から、アセトアルデヒドの吸入によりアルデヒド脱水素酵素 2 欠損マウスでは DNA の酸化損傷が増加している可能性が示された。このことから、ALDH2 不活性のヒトでもアセトアルデヒド曝露により DNA の酸化損傷が増加している可能性が疑われた。
8. 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*^{+/+} と

Aldh2^{-/-} 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。またアセトアルデヒド吸入曝露により *Aldh2*^{+/+} に比べ *Aldh2*^{-/-} では酸化 DNA 損傷が増加する可能性が示された。

9. 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*^{-/-} で発症することが示された。
10. 以上を総合すると、建築基準法の改正、厚生労働省の室内濃度指針値の設定により、一定の効果が得られており、室内汚染化学物質の濃度は減少傾向にある。ただし、暖房器具による二酸化窒素、喫煙によるベンゼン、防虫剤使用による p-ジクロロベンゼン等は注意が必要である。また、尿中の VOCs 濃度の測定法は確立し、ベンゼン、p-ジクロロベンゼン等の高値を示す者、及びスパイク曝露によると思われるスチレン濃度の高値を示す者などが同定され、定量限界を下げることによって、一般環境中に生活する人の尿中微量化学物質濃度を測定できるようになったが、尿中濃度と症状の有無との関連を十分検討するにはいたらなかった。シックハウス症候群や化学物質過敏症の診断基準が明確になった上での今後のさらなる検討が必要である。
11. アルデヒド脱水素酵素2欠損マウスを用いた実験では、アルデヒド曝露による血中濃度、DNA の酸化的損傷、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の変動等が観察され、化学物質に対する個体差の科学的説明の一端が示されたが、さらに低濃度の曝露でも同様のことがおこるか否かの検討が必要である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Oyama T, Isse T, Kagawa N, Kinaga T, Kim Y-D, Morita M, Sugio K, Weiner H, Yasumoto K, Kawamoto T: Tissue distribution of aldehyde dehydrogenase 2 and effects of the *aldh2* gene-disruption on the expression of enzymes involved in alcohol metabolism. *Front Biosci* 10: 951-960 (2005)
 - 2) Oyama T, Kagawa N, Kunugita N, Kitagawa K, Ogawa M, Yamaguchi T, Suzuki R, Kinaga T, Yashima Y, Ozaki S, Isse T, Kim Y-D, Kim H, Kawamoto T: Expression of cytochrome P450 in tumor tissues and its association with cancer development. *Front Biosci* 9: 1967-1976 (2004)
 - 3) Kim Y-D, Todoroki H, Oyama T, Isse T, Matsumoto A, Yamaguchi T, Kim H, Uchiyama I, Kawamoto T: Identification of cytochrome P450 isoforms involved in 1-hydroxylation of pyrene. *Environ Res* 94: 262-266 (2004)
 - 4) 藤巻秀和・嵐谷壺一: 化学物質過敏症の病因と病態: アレルギー科, 16 (2) 158-162 (2003)
 - 5) 川本俊弘, 北川恭子ら: アルデヒド脱水素酵素 2(Aldh2) ノックアウトマウスのアルコール医学研究への応用 *日本アルコール精神医学雑誌* 8: 10(1), 3-10 (2003)
 - 6) Kawamoto, T., Isse, T., et al.: Effect of genetic polymorphism of Drug metabolizing enzymes on smoking and drinking *J UOEH* 5: 25(Suppl), 97-106 (2003)
- ### 2. 学会発表
- 1) 小山倫浩、一瀬豊日、村上朋絵、小川真規、山口哲右、奈良井理恵、木長 健、八嶋康典、尾崎真一、樺田尚樹、川本俊弘: 気管支上皮・肺癌における芳香族炭化水素レセプター・チトクローム P4501A1 の発現 第 78 回 日本産業衛生学会総会 東京 4/20-4/23 (2005)
 - 2) 尾崎真一、河野慶三、小山倫浩、村上朋絵、鈴木理恵、八嶋康典、一瀬豊日、川本俊弘: 禁煙サポートとチトクローム P450(CYP)2A6 遺伝子多型 第 78 回 日本産業衛生学会総会 東京 4/20-4/23 (2005)
 - 3) 一瀬豊日、北川恭子、小山倫浩、樺田尚樹、松野康二、小川真規、木長健、奈良井理恵、村上朋絵、山口哲右、川本俊弘: アルデヒド脱水素酵素 (Aldh)2 ノックアウトマウス肝のアセトアルデヒド曝露による発現遺伝子の変化 第 78 回 日本産業衛生学会総会 東京 4/20-4/23 (2005)
 - 4) 山口哲右、小山倫浩、一瀬豊日、小川真規、木長 健、奈良井理恵、村上朋絵、川本俊弘: マウス肝におけるアルデヒド脱水素酵素 (ALDH) の特徴 第 78 回 日本産業衛生学会総会 東京 4/20-4/23 (2005)
 - 5) 木長 健、小山倫浩、一瀬豊日、小川真規、山口哲右、奈良井理恵、北川恭子、川本俊弘: Aldh2 ノックアウトマウスにおけるアセトアルデヒド 500ppm 全身曝露後の肝臓内 ALDH2、CYP2E1 の発現 第 75 回 日本衛生学会総会 新潟 3/27-3/30 (2005)
 - 6) 小川真規、小山倫浩、一瀬豊日、木長健、山口哲右、奈良井理恵、村上朋絵、川本俊弘: 化学物質のヘモグロビン付加体形成についての現状 第 75 回 日本衛生学会総会 新潟 3/27-3/30 (2005)
 - 7) 市場正良、松本明子、堀田美加子、近藤敏弘、花岡知之、小山倫浩、川本俊弘、友国勝磨: アルコールによる多