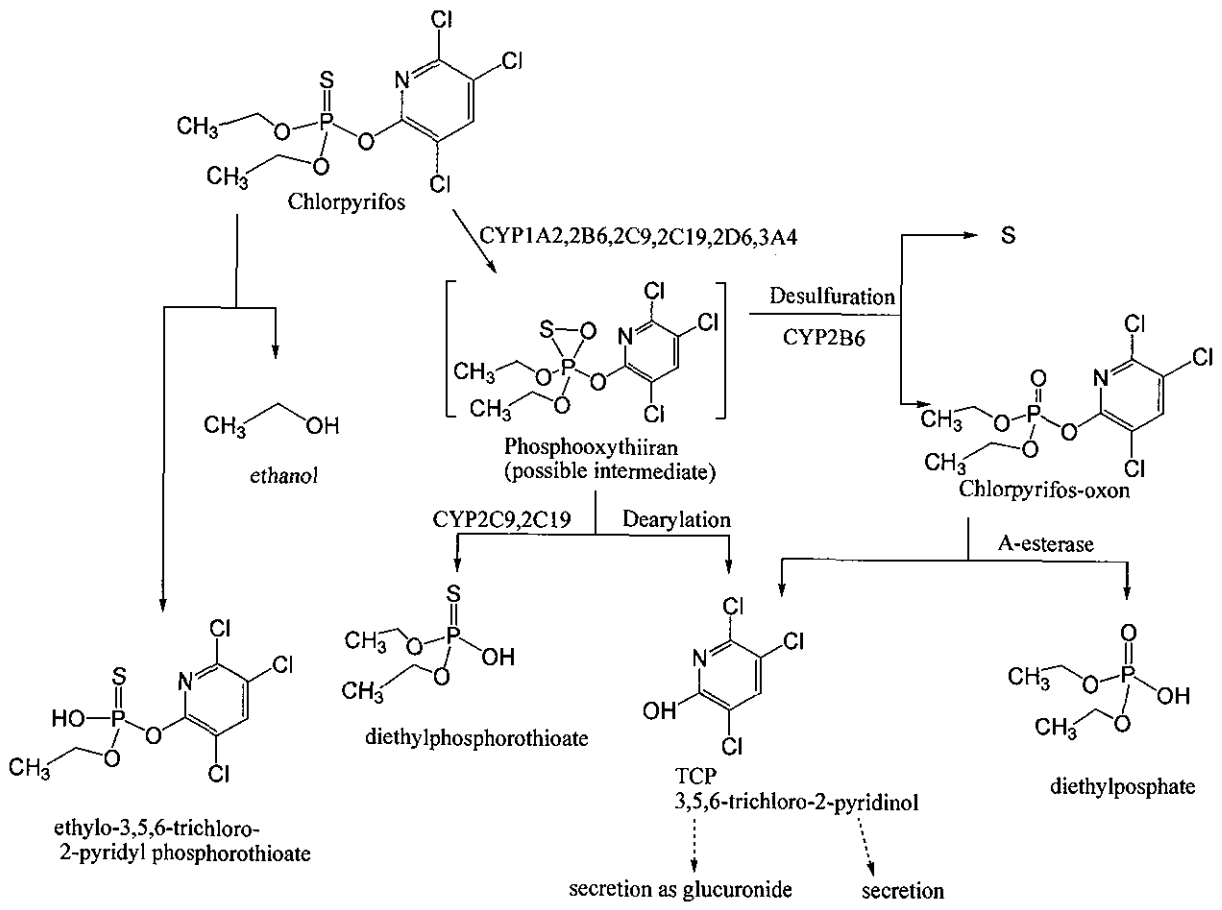


[参考文献]

- 1) NTP (National Toxicology Program). H & S: chlorpyrifos. National Institute of Environmental Health Sciences. Health & Safety Reports. Research Triangle Park, North Carolina, U.S.: National Institutes of Health, (2001); http://ntp-server.niehs.nih.gov/htdocs/CHEM_H&S/NTP_Chem2/Radian2921-88-2.html
東京都消費者安全課. 家庭内で使用される化学物質の安全性等に関する調査. 暮らしの安全情報.(2002); 42: 49-59.
- 2) JMPR (Joint meeting of the Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group). CHLORPYRIFOS. Canadian Centre for Occupational Health and Safety. Pesticide residues in food -1999. Canada: CCOHS, (1999); <http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v99pr03.htm>.
- 3) 東京都消費者安全課. 家庭内で使用される化学物質の安全性等に関する調査. 暮らしの安全情報.(2002); 42: 49-59
- 4) 厚生労働省監視安全課. 中国産冷凍ほうれんそう. 厚生労働省. 輸入食品監視業務ホームページ. 東京: 厚生労働省, (2002); <http://www.mhlw.go.jp/topics/yunyu/1-7/index.html>
- 5) 日本経済新聞社. シックハウス対策、2化学物質を規制へ・国交省. 日本経済新聞 12月19日. (2002); 22
- 6) Sunaga M, Yoshida M, Hara I. Metabolism and urinary excretion of chlorpyrifos in rats. Japanese Journal of Hygiene. (1989); 43: 1124-9
- 7) McCollister SB, Kociba RJ, Humiston CG, McCollister DD. Studies on the acute and long-term oral toxicity of chlorpyrifos (0,0-diethyl-0(3,5,6-trichloro-2-pyridyl) phosphorothioate). Food & Cosmetics Toxicology. (1974); 12: 45-61
- 8) El-Sebae AH, Ahmed NS, Soliman SA. Effect of pre-exposure on acute toxicity of organophosphorus insecticides to white mice. Journal of Environmental Science & Health - Part B: Pesticides, Food Contaminants & Agricultural Wastes. (1978); 13: 11-24
- 9) Sultatos LG, Costa LG, Murphy SD. Factors involved in the differential acute toxicity of the insecticides chlorpyrifos and methyl chlorpyrifos in mice. Toxicology & Applied Pharmacology. (1982); 65: 144-52
- 10) Mikhail TH, Aggour N, Awadallah R, Boulos MN, El-Dessoukey EA, Karima AI. Acute toxicity of organophosphorus and organochlorine insecticides in laboratory animals. Zeitschrift fur Ernährungswissenschaft. (1979); 18: 258-68
- 11) Yao M, Kudo T, Kudo M, Sakai T, Matsuki A, Oyama T, Okitsu K, Fukuda S. A case of acute intoxication with chlorpyrifos. Japanese Journal of Anesthesiology. (1984); 33: 204-11
- 12) Gollapudi BB, Mendrala AL, Linscombe VA. Evaluation of the genetic toxicity of the organophosphate insecticide chlorpyrifos. Mutation Research. (1995); 342: 25-36
- 13) Amer SM, Fahmy MA. Cytogenetic effects of pesticides. I. Induction of micronuclei in

- mouse bone marrow by the insecticide Dursban. *Mutation Research*. (1982); 101: 247-55
- 14) Amer SM, Aly FA. Cytogenetic effects of pesticides. IV. Cytogenetic effects of the insecticides Gardona and Dursban. *Mutation Research*. (1992); 279: 165-70
 - 15) Yano BL, Young JT, Mattsson JL. Lack of carcinogenicity of chlorpyrifos insecticide in a high-dose, 2-year dietary toxicity study in Fischer 344 rats. *Toxicological Sciences*. (2000); 53: 135-44.
 - 16) Nolan RJ, Rick DL, Freshour NL, Saunders JH. Chlorpyrifos: pharmacokinetics in human volunteers. *Toxicology & Applied Pharmacology*. (1984); 73: 8-15.
 - 17) Tang J, Cao Y, Rose RL, Brimfield AA, Dai D, Goldstein JA, Hodgson E. Metabolism of chlorpyrifos by human cytochrome P450 isoforms and human, mouse, and rat liver microsomes. *Drug Metab Dispos*. 2001; 29: 1201-4.
 - 18) Chambers JE, Chambers HW. Oxidative desulfuration of chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl, and leptophos by rat brain and liver. *J Biochem Toxicol*. 1989; 4: 201-3.
 - 19) Costa LG, McDonald BE, Murphy SD, Omenn GS, Richter RJ, Motulsky AG, Furlong CE. Serum paraoxonase and its influence on paraoxon and chlorpyrifos-oxon toxicity in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1990; 103: 66-76.
 - 20) Chevalier D, Cauffiez C, Allorge D, Lo-Guidice JM, Lhermitte M, Lafitte JJ, Broly F. Five novel natural allelic variants-951A>C, 1042G>A (D348N), 1156A>T (I386F), 1217G>A (C406Y) and 1291C>T (C431Y)-of the human CYP1A2 gene in a French Caucasian population. *Hum Mutat*. 2001; 17: 355-6.
 - 21) Chida M, Yokoi T, Fukui T, Kinoshita M, Yokota J, Kamataki T. Detection of three genetic polymorphisms in the 5'-flanking region and intron 1 of human CYP1A2 in the Japanese population. *Jpn J Cancer Res*. 1999; 90: 899-902.
 - 22) Nakajima M, Yokoi T, Mizutani M, Kinoshita M, Funayama M, Kamataki T. Genetic polymorphism in the 5'-flanking region of human CYP1A2 gene: effect on the CYP1A2 inducibility in humans. *J Biochem (Tokyo)*. 1999; 125: 803-8.
 - 23) Sachse C, Brockmoller J, Bauer S, Roots I. Functional significance of a C->A polymorphism in intron 1 of the cytochrome P450 CYP1A2 gene tested with caffeine. *Br J Clin Pharmacol*. 1999; 47: 445-9.
 - 24) Jacob RM, Johnstone EC, Neville MJ, Walton RT. Identification of CYP2B6 sequence variants by use of multiplex PCR with allele-specific genotyping. *Clin Chem*. 2004; 50: 1372-7.
 - 25) Stubbins MJ, Harries LW, Smith G, Tarbit MH, Wolf CR. Genetic analysis of the human cytochrome P450 CYP2C9 locus. *Pharmacogenetics*. 1996; 6: 429-39.
 - 26) Gill HJ, Tjia JF, Kitteringham NR, Pirmohamed M, Back DJ, Park BK. The effect of genetic polymorphisms in CYP2C9 on sulphamethoxazole N-hydroxylation. *Pharmacogenetics*. 1999; 9: 43-53.

- 27) Ozawa S, Soyama A, Saeki M, Fukushima-Uesaka H, Itoda M, Koyano S, Sai K, Ohno Y, Saito Y, Sawada J. Ethnic differences in genetic polymorphisms of CYP2D6, CYP2C19, CYP3As and MDR1/ABCB1. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2004; 19: 83-95.
- 28) Eichelbaum M, Gross AS. The genetic polymorphism of debrisoquine/sparteine metabolism--clinical aspects. *Pharmacol Ther.* 1990; 46: 377-94.
- 29) Ayesh R, Idle JR, Ritchie JC, Crothers MJ, Hetzel MR. Metabolic oxidation phenotypes as markers for susceptibility to lung cancer. *Nature.* 1984; 312: 169-70.
- 30) Yokota H, Tamura S, Furuya H, Kimura S, Watanabe M, Kanazawa I, Kondo I, Gonzalez FJ. Evidence for a new variant CYP2D6 allele CYP2D6J in a Japanese population associated with lower in vivo rates of sparteine metabolism. *Pharmacogenetics.* 1993; 3: 256-63.
- 31) Davies HG, Richter RJ, Keifer M, Broomfield CA, Sowalla J, Furlong CE. The effect of the human serum paraoxonase polymorphism is reversed with diazoxon, soman and sarin. *Nat Genet.* 1996; 14: 334-6.
- 32) Yamasaki Y, Sakamoto K, Watada H, Kajimoto Y, Hori M. The Arg192 isoform of paraoxonase with low sarin-hydrolyzing activity is dominant in the Japanese. *Hum Genet.* 1997; 101: 67-8.

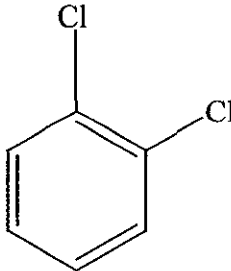
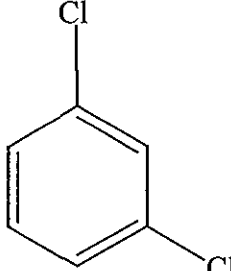
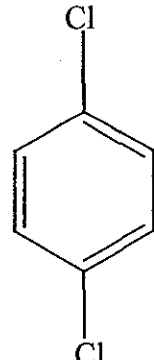


CPS の代謝経路

ジクロロベンゼン Dichlorobenzene

物理化学的特性

ジクロロベンゼンにはオルトジクロロベンゼン、メタジクロロベンゼン、パラジクロロベンゼンの3種類の異性体がある。

	オルトジクロロベンゼン	メタジクロロベンゼン	パラジクロロベンゼン
別 称	1,2-ジクロロベンゼン オルトジクロロベンゾール	1,3-ジクロロベンゼン メタジクロロベンゾール	1,4-ジクロロベンゼン パラジクロロベンゾール
CAS 番号	95-50-1	541-73-1	106-46-7
構造式			
化学式	C ₆ H ₄ Cl ₂	C ₆ H ₄ Cl ₂	C ₆ H ₄ Cl ₂
分子量	147.01	147.01	147.01
沸 点	180~183℃	173℃	174℃
融 点	-17.5℃	-24.76℃	53.5℃
比 重	1.3048	1.2884	1.4581
水への溶解性	溶けない	溶けない	溶けない
蒸気圧	197 Pa (25℃)	269 Pa (25℃)	90 Pa (25℃)
相対蒸気密度 (空気=1)	5.07	5.07	5.07
屈折率	1.5518 (22℃)	1.5459 (20℃)	1.5285 (60℃)
引火点	69℃(密閉式)	64℃(密閉式)	65.6℃(密閉式)
発火温度	647.4℃		413.0℃

爆発限界	2.2～9.2%(空气中)	2.2～9.2%(空气中)	2.2～9.2%(空气中)
log Pow (オクタノール/水分配係数)	3.38	3.48	3.38

換算係数 1ppm=6.01mg/m³(25℃),101.3 k Pa

1mg/m³=0.16ppm (25℃),101.3 k Pa

用途

クロロベンゼンはベンゼンを鉄粉、塩化第二鉄、ヨウ素、塩化アルミニウムなどの触媒の存在で塩素化して得られる。同時に生成するジクロロベンゼンとは分留によって分けられる。オルトジクロロベンゼンは有機溶剤およびグリースの洗浄剤、殺虫剤、消毒剤、伝導熱媒体（150～260℃）などに、メタジクロロベンゼンは有機溶媒、農薬・染料・顔料・医薬品などの中間体などに、パラジクロロベンゼンは染料中間物、殺虫剤、有機合成、調剤、防臭剤、農薬などに用いられる。

ヒトへの暴露経路

オルトジクロロベンゼンは自動車と船舶の脱脂剤／脱炭素剤として、また業務用塗料剥離剤、業務用脱臭剤にも使用され、少量が医薬品中に使用されている。そのため、製造および末端使用の際に職業暴露が起こることがあり、吸入が主な暴露経路とされている。パラジクロロベンゼンの場合、製造・合成中間体としての使用、防虫剤・トイレの消臭剤・芳香剤の配合時の作業員の暴露量は 5.6 mg/kg bw/日と 33.2 mg/kg bw/日（主に 7ppm と 50ppm への吸入暴露）までと推定され、パラジクロロベンゼンを含有する製品に暴露した消費者の暴露量は 0.69mg/kg bw/日（0.545ppm への吸入暴露）までと推定される。

ヒトへの暴露基準値

一般大気：日本環境基準（大気汚染に関する環境基準）	含まれず
水質：日本環境基準（人の健康の保護に関する環境基準）	含まれず
水道法（検査事項）	含まれず
（監視項目としての指針値）	300 μg/l 以下

労働環境基準

許容濃度	日本産業衛生学会	50ppm (300mg/m ³)
ACGIH 時間荷重平均値		50～75ppm (300～450mg/m ³)
短時間暴露限度		110ppm (675mg/m ³)
室内濃度指針値	25℃（厚生労働省）	240 μg/m ³ (0.04ppm)

毒性

オルトジクロロベンゼンは毒性が強く、健常皮膚からも吸収される。急性中毒は高濃度暴露では、中枢神経抑制作用を示し、中毒性肝炎および腎炎の発生に注意を要する。皮膚接触時は刺激が強く、原液 15 分以下接触でも痛みを生じる。蒸気は粘膜刺激作用があり、眼、鼻、咽頭へ作用するが、局所刺激は通常一時的であり、1 週間以内に消失する。経口摂取時は、吐気、嘔吐、下痢などの症状を呈し、中毒性肝炎や腎炎も起こす。

メタジクロロベンゼンは皮膚吸収性があり、血液中のヘモグロビンと結びつきメトヘモグロビンを形成する。蒸気は粘膜および皮膚刺激性がある。

パラジクロロベンゼンは急性中毒の場合中枢神経系の抑制作用があり、頭痛、めまい、アルコール中毒様の興奮、全身倦怠などを起こす。気中濃度 15~30ppm では臭気を感じる。80~160ppm では大部分の人が眼、鼻に痛みを感じる。160ppm 以上では耐えられない状態となる。皮膚接触による刺激は軽度であるが、経口摂取時には、嘔気、嘔吐、下痢、腹痛などの症状を示す。

経皮吸収 +

感作 -

変異原性 (微生物) サルモネラ菌 TA1535、TA1538、TA98、TA100 に対して変異原性は認められなかった。

オルト体およびパラ体は Ames 試験で S9-Mix 添加の有無に関わらず陰性。パラ体は染色体異常、小核試験ともに陰性、しかし姉妹染色分体交換試験は陽性。

がん原性 IARC 2B: ヒトに対して発がん性があるかもしれない物質

日本産業衛生学会第 2 群 B: ヒトに対しておそらく発がん性があると考えられる物質であって、その証拠が比較的十分でない物質

ACGIH A3: 動物に対してのみ発がん性が確認された物質

NTP グループ b: 合理的に発がん性があることが懸念される物質

生殖細胞毒性 -

催奇形性 母体に毒性を生じない条件下では催奇形性を示さない。

環境への影響

本物質は主に大気区画に分配されると推測され、その主な除去機構はヒドロキシルラジカルとの反応による (半減期 < 50 日)。土壌区画または水区画への放出の場合の主な除去機構は周囲の大気への揮発である。生分解試験により、本物質に微生物を順化させた場合には、有気的条件下で生分解することが示された。本物質は水生生物種の脂肪組織で生物濃縮される可能性が高く、脂肪含量にもとづく BCF (生物濃縮係数) は魚類で 8710、カニで 28840 に達する。しかしながら、いったん暴露が停止すれば、暴露生物の浄化作用は迅速であるため、毒性はわずかであると考えてよい。

代謝

オルトジクロロベンゼンをウサギに経口投与した実験によると、主な代謝産物は 3,4-ジクロロフ

ェノールであり、投与翌日にグルクロン酸および硫酸結合して尿中に排泄される。その他、2,3-ジクロロフェノール、4,5-ジクロロカテコール、3,4-ジクロロフェニルメルカプツール酸などが産出され、メルカプツール酸形成が毒性発揮に大いに関与するといわれる。¹⁴C で標識したオルトジクロロベンゼンはSD 及びF344 ラットの肝臓によってグルクロン酸抱合体、硫酸抱合体、グルタチオン/システイン抱合体に代謝される。オルトジクロロベンゼンはラット及びヒトの CYP2E1、CYP1A2 によって代謝されることが報告されている。

メタジクロロベンゼンをウサギに経口投与した実験によると、主な代謝産物は 2,4-ジクロロフェノールであり、グルクロン酸およびエーテル硫酸を抱合して 24%以上が尿中に排泄される。排泄のピークは投与の翌日である。その他の代謝産物として、2,4-ジクロロフェニルメルカプツール酸、3,5-ジクロロフェノール、3,5-ジクロロカテコールなどが認められている。

パラジクロロベンゼンは経口および吸入ではよく吸収されるが、皮膚からの侵入はほとんど問題にならない。ヒトの場合、吸入暴露によって主に血液、脂肪組織、母乳中への分布が確認されている。また、雄ラットに 200mg/kg 1 回投与した実験では、ほとんどが脂肪組織に分布し、他に腎臓および肝臓にわずかな量、血液、肺、心臓及び脳中にごく微量検出され、さらに脂肪組織以外の全組織では 48 時間以内に消失するのに対し、脂肪組織では、120 時間後まで分布することが確認されている。代謝はヒト、および動物ともにグルクロン酸あるいは硫酸抱合され、2,5-ジクロロフェノールで、グルクロン酸およびエーテル硫酸抱合されて投与後 2 日間で排泄される。その他、2,5-ジクロロキノールなどを生じるが、メルカプツール酸は生成されない。

代謝の種差について

経口投与実験では、ラットのオスに体重 1 kg 当たり 150~300mg のパラジクロロベンゼンを投与すると腎臓の尿細管細胞腺がんが、マウスのオスとメスに体重 1 kg 当たり 300~600mg のパラジクロロベンゼンを投与すると、肝細胞がんや腺腫が認められた。

旧労働省が日本バイオアッセイ研究センターに委託したパラジクロロベンゼンの吸入発がん性試験で、マウスで肝細胞がんの発生が認められ、労働者保護の指導がなされたが、旧厚生省の検討会は、発がん性はマウスに特異なもので、ヒトのリスク評価に反映させるのは困難だとし、ヒトに対する発がん性はないものとした。このことから、動物種による差があると考えられる。

[参考文献]

産業中毒便覧 (増補版) 第2版.1981

Environmental Health Criteria 128.ヘキサクロロベンゼン以外のクロロベンゼン類.1997
Screening Information Data Set for High Volume Chemicals OECD Initial
Assessment.SIDS 初期評価プロファイル.1,2-ジクロロベンゼン、1,4-ジクロロベンゼン

1999年度化学物質環境調査/評価 (大気系)

化学物質等安全データシート.2003

－厚生労働省報 第7回シックハウス問題に関する検討会の中間報告より－.室内濃度指針値

厚生科学研究費補助金（健康科学総合研究事業）

分担研究報告書

化学物質高感受性集団のスクリーニングのための動物モデルの検討

分担研究者	関 直彦	千葉大学・医学部・機能ゲノム学	助教授
	笛田由紀子	産業医科大学・産業保健学部	助手
	樺田 尚樹	産業医科大学・産業保健学部	助教授
	嵐谷 奎一	産業医科大学・産業保健学部	教授

研究要旨 近年、化学物質過敏症（以下 MCS）やシックビルディング症候群・シックハウス症候群など、身の回りの化学物質による多種の異常症状を訴える病態が問題となっている。初年度は MCS の原因物質のひとつとして最も問題視されているホルムアルデヒドの微量吸入暴露系を確立した。次年度はその系で暴露されたマウスを用いて中枢神経への影響を電気生理学的に検討した。本年度はこれまでに報告されている症状から大脳辺縁系の関与を考え、海馬 DNA チップを用いて関連チャンネル・受容体や酵素系など検討した。しかし、我々の実験条件では遺伝子発現に関して暴露の影響は見られなかった。

A. はじめに

我々は初年度に低濃度ホルムアルデヒド経気道慢性暴露を安定して行う技術を確立した。次年度その系で暴露されたマウスを用いて中枢神経への影響を検討した。MCS と診断された患者の中枢神経系関連の症状として、疲労感・頭痛・不安・憂鬱・集中できない・物覚えが悪くなった・いらいら感・めまい等報告されている (Miller CS, Toxicol Ind Health 10, 253-276 (1994); Miller CS, Arch Environ Health 50, 119-129 (1995))。これらの症状から、MCS の発症機序として大脳辺縁系の関与を考えられる。そこで、本年度は海馬 DNA チップを用いて、海馬の遺伝子発現への影響を検討することにした。

B. 実験方法

1. 経気道暴露

ホルムアルデヒドは、パラホルムアルデヒドからの昇華によるホルムアルデヒドガス発生装置を作成し、これを動物暴露チャンバーに誘導し、室内空気希釈し設定濃度を暴露する系を作成した (図 1)。暴露濃度として 2000ppb (2ppm) を設定し、これに対する対照群として室内空気だけのコントロール群を設けた。暴露時間は夕方 17時から翌朝 9時までの夜間帯 16時間暴露とし、週 5日間、12週間の反復暴露を実施した (図 2)。

暴露期間中のチャンバー内濃度は、空気中のホルムアルデヒド濃度の標準的な評価法である、2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) を含浸したシリカゲルカラム (Waters Sep-Pak DNPH Cartridge) に気中ホルムアルデヒドを

捕集し、アセトニトリルで溶出後、高速液体クロマトグラフィーにて分離・定量を行う化学分析法によって実施した。以上のように、初年度確立したホルムアルデヒドガスの暴露系を用いた。なお、ホルムアルデヒドの吸入暴露は、産業医科大学産業保健学部において行った。

2. 動物

BALB/c 雄性マウスを使用し、10 週齢より暴露

開始した。また、動物実験の実施にあたっては、産業医科大学・動物実験および飼育倫理委員会に申請し許可を得たうえで実施した。実験動物倫理規定を考慮してマウス数を最小限にし、暴露群 5 匹、対照群 5 匹、および 12 週間の暴露後 12 日間暴露停止し対照群と同様の環境においた群 5 匹を用いた。

図1 吸入暴露装置の概略図

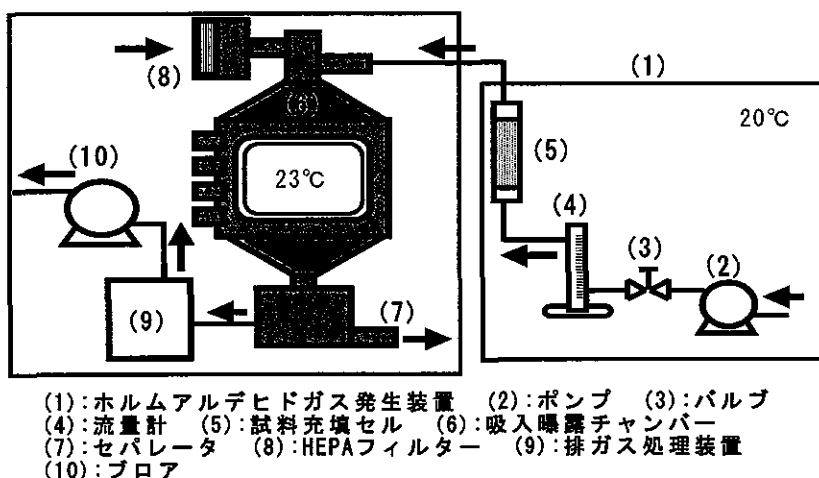
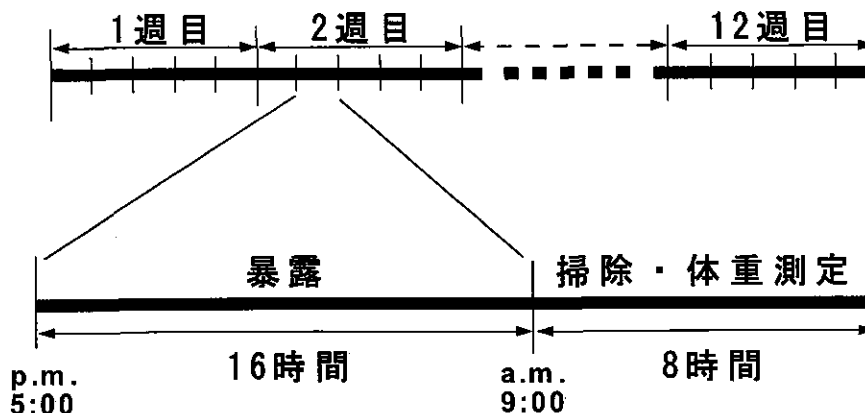


図2 タイムスケジュール



3. 実験方法

ホルムアルデヒド暴露群および暴露後 12 日回復群の海馬より RNA を抽出し、マウス cDNA マイクロアレイを用いて遺伝子発現解析を行った。解析に使用したマウスアレイは、マウス脳由来 2700 クローン、海馬由来 3200 クローンを搭載したアレイである。対照群マウスの海馬から得られた RNA を解析のリファレンスとした。暴露群-対照群、12 日目回復群-対照群についてそれぞれ 2 回行った。

マイクロアレイ解析は 2 色蛍光法（蛍光色素 Cy3 および Cy5、アマシャムバイオサイエンス社）を用いて行った。暴露群 (Cy3) -対照群 (Cy5)、12 日目回復群 (Cy3) -対照群 (Cy5) で解析した後、色素を入れ替えて、暴露群 (Cy5) -対照群 (Cy3)、12 日目回復群 (Cy5) -対照群 (Cy3) で解析した。マイクロアレイの検出には ScanArray4000 (PerkinElmer, Inc)、解析ソフトウェアは QuantArray (PerkinElmer, Inc) を用いた。我々のアレイ解析においてはリファレンスに対して、2 倍以上のシグナル値を有効と判断した。

C. 実験結果と D. 考察

対照群に対して、2 倍以上変動した遺伝子を検索したが、2 回の実験共に 2 倍以上変動した遺伝子は検索できなかった。再度 1.5 倍以上を有意として再度解析を進めたが、2 回実験で共に 1.5 倍以上変動した遺伝子は検出できなかった。

使用したマイクロアレイの検出精度や搭載した遺伝子の数は議論になるが、劇的に発現変動する遺伝子はかなり少ないと思われる。最終的な結論には他のアレイを用いた解析またはマイクロアレイとは異なった実験系での解析が必要である。

E. まとめ

我々が確立したホルムアルデヒド暴露系を用いて、BALB/c 雄性マウスに対するホルムアルデヒド 2000ppb、12 週間暴露を実施した。DNA チップを用いて、海馬遺伝子発現への暴露の影響を検討したが、我々の条件下では差は認められなかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

該当せず

厚生科学研究費補助金(健康科学総合研究事業)

分担研究報告書

環境中微量化学物質の人への健康影響に関する分子疫学的研究

分担研究者	加藤 貴彦	宮崎大学	医学部	衛生・公衆衛生学	教授
	黒田 嘉紀	宮崎大学	医学部	衛生・公衆衛生学講座	講師
	中尾 裕之	宮崎大学	医学部	衛生・公衆衛生学	助手
研究協力者	中原 愛	宮崎大学	医学部	衛生・公衆衛生学	

研究要旨 昨年度、化学物質に対し高い感受性を示す“化学物質高感受性集団”(Chemical Hyper susceptible Population: 以下CHPと略)の実態把握を目的として、宮崎県内の2つの企業社員(総計2201名:A社1310名、B社891名)を対象としてQuick Environmental Exposure AND Sensitivity Inventory (QEESI)による質問表調査を行った。本年度は同意の得られた調査対象者からゲノムDNAを抽出し、個体の感受性要因の同定を目的としてホルムアルデヒド、アセトアルデヒドの代謝に関与するアセトアルデヒド脱水素酵素(aldehyde dehydrogenase, ALDH) 2、グルタチオン S-トランスフェラーゼ(glutathione S-transferase, GST) M1、GSTT1の遺伝子多型を分析した。遺伝子解析を実施した対象数は、総計1028名、A社449名(男性348名、女性101名)、B社579名(男性576名、女性3名)であった。質問表による調査は、質問表による調査結果を、“症状”、“化学物質暴露”の2つの質問項目はハイスコア群(≥ 40)、ミドルスコア群($1 \leq$, < 40)、ロースコア(0)群の3群、“その他の化学物質暴露”に関しては、質問項目をハイスコア群(≥ 25)、ミドルスコア群($1 \leq$, < 25)、ロースコア(0)群の3群に分け、ALDH2、GSTM1、GSTT1の遺伝子多型の頻度を比較検討した。その結果3種類の遺伝子多型頻度のいずれについても、3種類の質問項目のハイスコア群、ミドルスコア群、ロースコア群の間に有意な差は認められなかった。

A. 研究目的

身近に存在する化学物質の種類増加やオフィス・住宅の建材の変化・気密性の増加などによって種々な症状を訴える人が増加している。本分担研究では、化学物質の暴露と人の健康影響との関連性を疫学的に検索する。

平成16年度は、15年度に実施した Quick

Environmental Exposure AND Sensitivity Inventory (QEESI) 調査対象者よりゲノムDNAを抽出し、アセトアルデヒド脱水素酵素(aldehyde dehydrogenase, ALDH) 2、グルタチオン S-トランスフェラーゼ(glutathione S-transferase, GST) M1、GSTT1の遺伝子多型に関し、分子疫学的な解析を行った。

B. 研究方法

1. 調査対象者および調査期間

QEESIによる質問票による調査は九州内2つの企業、IC基盤を主な生産品とするA社1310名(男936名、女374名)、紙パルプ製品を生産品とするB社891名(男778名、女113名)を対象とした。調査は平成15年8月から10月に行った。そのなかで、遺伝子解析に関する同意が得ることができ、解析可能なゲノムDNAが得られた対象数は、総計1028名、A社449名(男性348名、女性101名)、B社579(男性576名、女性3名)であった。

2. 調査内容および研究方法

QEESIは、Millerらが、カレンらによって提唱されたMultiple Chemical Sensitivity (MCS)のスクリーニングのための調査票として開発したものである[1]。CHPの特徴に関する調査項目は、石川らが日本人向けに翻訳し、さらに内山らが改良を加えたものを参考に作成した。

Millerらが開発したオリジナルのQEESIは、“Chemical Exposure (化学物質暴露による反応)”、“Other exposure (その他の化学物質暴露による反応)”、“Symptoms (症状)”、“Masking Index (症状の偽装)”、“Impact of Sensitivities (日常生活の障害の程度)”の5項目、各10問から成っている。我々の研究対象が患者ではなく一般集団のため、これらの全5項目のうち、1999年、Millerらが、カットオフ値を設定することで化学物質に感受性の高い人や対照群となる人を設定できるとした“Chemical Exposure (化学物質暴露による反応)”、“Other exposure (その他の化学物質暴露による反応)”、“Symptoms (症状)”の3項目について調査を行った。調査結果は3項目の10問それぞれについて0

から10段階で回答を依頼し、各項目の合計を0から100のスコアとして算出した。

解析した遺伝子は、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、トルエンの代謝に関与し、かつ機能との関連性が明らかな遺伝子として、ALDH2、GSTM1、GSTT1について遺伝子多型分析を行った。統計解析にはロジスティック回帰分析を行った。解析にはSPSS II for Windows software (version 11.0J, SPSS JAPAN, Tokyo, Japan)を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究に関しては、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従うことを表明記述した書類を宮崎医科大学倫理委員会に申請し、平成13年9月6日(受付番号30)、平成15年4月9日(受付番号82)に承認されている。そして記述内容に基づき、すべての研究協力者から、遺伝子解析に関する文書による研究協力の同意を得ている。調査票を使用するにあたっては、調査に関し同意を得ること、その解析は集団で行い個人情報保持されることを表明している。

C. 研究結果

1. 化学物質過敏症に関連する調査結果(図1)

(1-1) 症状

全く症状の無いと回答した人(スコア0)は32.3%、1~40のスコアを示す人は61.2%、40以上のスコアを示す人は6.5%であった。

(1-2) 化学物質暴露による反応

全く症状の無いと回答した人(スコア0)は40.3%、1~40のスコアを示す人は57.6%、40以上のスコアを示す人は2.1%であった。

(1-3) その他の化学物質暴露による反応
全く症状の無いと回答した人 (スコア0) は15.5%、1~25のスコアを示す人は77.8%、25以上のスコアを示す人は6.7%であった。

2. 遺伝子多型の分析結果

(2-1) 症状

スコアの分布は図2、3、4に示している。ALDH2、GSTM1、GSTT1の遺伝子型の頻度は、全く症状の無いと回答した群(スコア0)、1~40のスコアを示す群、40以上のスコアを示す群のいずれの群においても、統計学な有意差は認められなかった。

(2-2) 化学物質暴露による反応

スコアの分布は図5、6、7に示している。ALDH2、GSTM1、GSTT1の遺伝子型の頻度は、全く症状の無いと回答した群(スコア0)、1~40のスコアを示す群、40以上のスコア群のいずれの群においても、統計学な有意差は認められなかった。

(2-3) その他の化学物質暴露による反応

スコアの分布は図8、9、10に示している。ALDH2、GSTM1、GSTT1の遺伝子型の頻度は、全く症状の無いと回答した群(スコア0)、1~25のスコアを示す群、25以上のスコア群のいずれの群においても、統計学な有意差は認められなかった。

D. 考察

室内空気中化学物質による健康障害に関し、1) 中毒 2) 免疫学的機序 3) 心因的機序そして病態が明らかにされていない4) MCS (Multiple Chemical Sensitivity) の4つの病態機序が推定されている。そして原因化学物質として、ホルムアルデヒド、トルエン、キシレンのような物質や有機リン系の殺虫剤が発症

に關与していると考えられている。本研究では、これら化学物質に対する高感受性要因の一つとして、遺伝子型多型に焦点を合わせて研究を実施した。解析対象とした遺伝子は、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、トルエン、キシレンの代謝に關与すると推測されるALDH2と化学物質の感受性に關与することが報告されているGSTM1、GSTT1の遺伝子多型である。

ALDH2は、アルコールの中間代謝産物であるアセトアルデヒドを代謝する酵素である。日本人には、アルコールに対して感受性の高い人の存在が知られ、この原因としてアセトアルデヒドの代謝に關与するALDH1、ALDH2のなかで、低いKm値(ミカエル定数)を有するALDH2が重要な役割を果たしていることが報告されている[2]。これまでの研究によって、エクソン12、487残基目アミノ酸のGluからLysへの置換(ALDH2*2)が、その酵素活性低下の原因であることが明らかにされている[3]。この遺伝子型のホモ保有者(ALDH2*2 / ALDH2*2)は顔面紅潮、悪酔いをおこしやすいため、ほとんど飲酒ができないことが知られている。Kawamotoらによれば、ALDH2の遺伝子多型によって、トルエン代謝に差が生じることが報告されており[4]、ALDH2の代謝能力とトルエンの毒性が關連する可能性が示唆される。

ホルムアルデヒド代謝の第一段階に關与すると推定されているGSTは、生体外化学物質、薬剤の抱合、解毒に關与する代表的な代謝酵素である。GSTには多数(μ 、 θ 、 π 、 α クラス等)の分子種があることが知られ、現在までに多数の遺伝子多型の存在が明らかとなっている。しかし、どのGST分子種がホルムアルデヒドの代謝に關与しているのかは明確ではない。これらのなかで μ クラスのGSTM1と θ ク

ラスの GSTT1 には遺伝子欠損型である GSTM1 null タイプと GSTT1 null タイプの存在が知られ、代謝能が欠損している。

今回の分析結果で ALDH2、GSTM1、GSTT1 の遺伝子多型と関連性は認められなかった。すなわち、ハイスコアを示す群において、3つの遺伝子の化学物質高感受性と考えられている ALDH2*2 のホモタイプ、GSTM1 null タイプ、GSTT1 null タイプ保有者が多いとはいえない結果であった。

2004年 Eyssen らが [5]、MCS の症例・対照研究を実施し、代謝酵素の遺伝子多型との関連性を報告した。対象は女性白人(症例 203人、対照 162人)であり、症例はトロント大学健康調査によって MCS に関する過去6つの論文によって提示された症状とリンクした171症候と85暴露情報、そして9つの特徴に関する質問票にもとづき定義されている。分析対象とした遺伝子は、降圧剤デブリソキン等の代謝酵素である、Cytochrome P4502D6 (CYP2D6)、アリルアミン代謝酵素 N-acetyltransferase (NAT) 1、NAT2、有機リン系農薬の代謝酵素 Paraoxonase (PON) 1、そして Methylene-tetrahydrofolate reductase (MTHFR) である。その結果、CYP2D6 と NAT 2 の頻度に有意差が認められ、CYP2D6 のホモ活性型はホモ非活性型と比較し、オッズ比 3.36、NAT 2 迅速型は遅延型と比較し、オッズ比 4.14 と統計学的に有意なリスクの上昇が観察された。また、PON1 (L55M) と PON1(Q192R) に関しては、それぞれヘテロ型の軽度のリスク上昇(オッズ比 2.05、1.57)が認められた。一方、NAT1、MTHFR の遺伝子型頻度に有意差は認められなかった。

今後、我々もトルエン、キシレンの代謝に関与する Cytochrome P450 等の第1相酵素と有

機リン系農薬の代謝酵素 PON 1 の遺伝子多型に関する分子疫学的解析をすすめる必要がある。また、化学物質に対する訴えは、中年女性に多いことが報告されており、性別にわけた解析も行っていきたい。

E. 結論

化学物質に対し高い感受性を示す“化学物質高感受性集団”(Chemical Hyper susceptible Population: 以下CHPと略)の個体感受性要因の同定を目的としてホルムアルデヒド、アセトアルデヒドの代謝に関与すALDH2、GSTM1、GSTT1の遺伝子多型とQEESIのスコアとの関連性について検討した。しかし、統計学的な関連性は認められなかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表：なし

著書：室内空気質と健康影響～解説シックハウス症候群、室内空気質健康影響研究会編、2004.

2. 学会発表

第14回日本臨床環境医学会総会で発表予定

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

該当せず

参考文献

- 1) Miller C: The compelling Anomaly of Chemical Intolerance. The role of Neural Plasticity in Chemical Intolerance. The New York Academy of Sciences, p1-23, 2001.
- 2) Harada S, et al. Aldehyde dehydrogenase

polymorphism and alcohol metabolism in alcoholics. Alcohol 1985; 2: 391-392.

- 3) Takeshita T, et al. Characterization of the three genotypes of low Km aldehyde dehydrogenase in a Japanese population. Hum Genet 1994; 94: 217-223.
- 4) Kawamoto T, Matsuno K, Kodama Y, Murata K, Matsuda S. ALDH2 polymorphism and biological monitoring of toluene. Arch Environ Health. 1994; 49: 332-6.
- 5) McKeown-Eyssen G, Baines C, Cole DE, Riley N, Tyndale RF, Marshall L, Jazmaji V. Case-control study of genotypes in multiple chemical sensitivity: CYP2D6, NAT1, NAT2, PON1, PON2 and MTHFR. Int J Epidemiol. 2004; 33: 971-8.

Fig1 Percentage of each group meeting risk criteria (TOTAL)

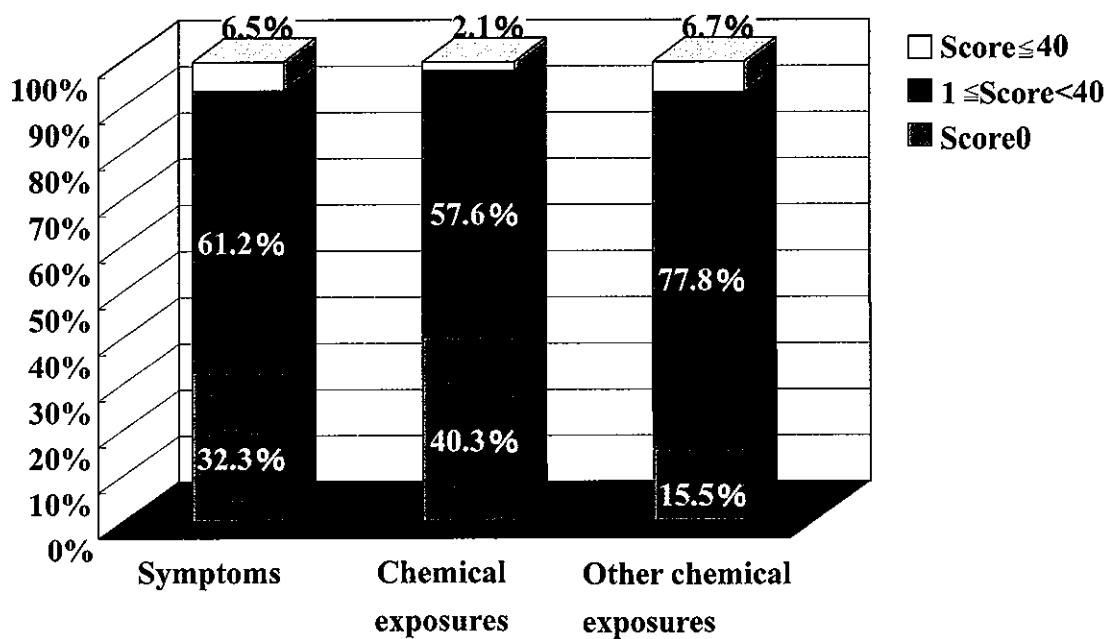


Fig 2 The relationship between the chemical exposures and the *GSTM1*

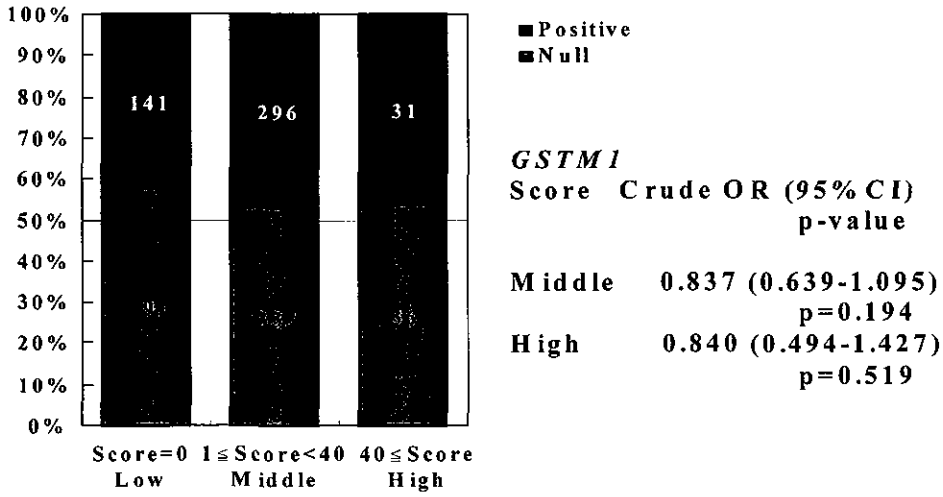


Fig 3 The relationship between the chemical exposures and the *GSTT1*

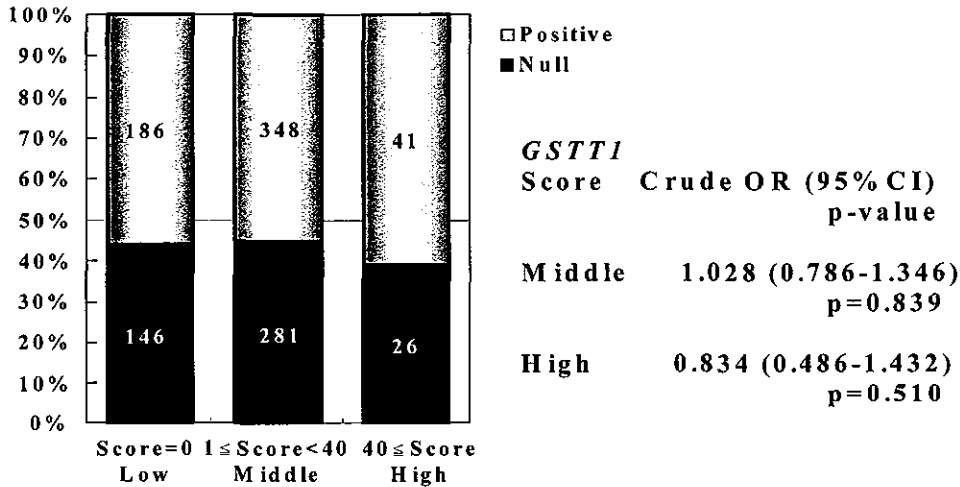


Fig 4 The relationship between the chemical exposures and the *ALDH2*

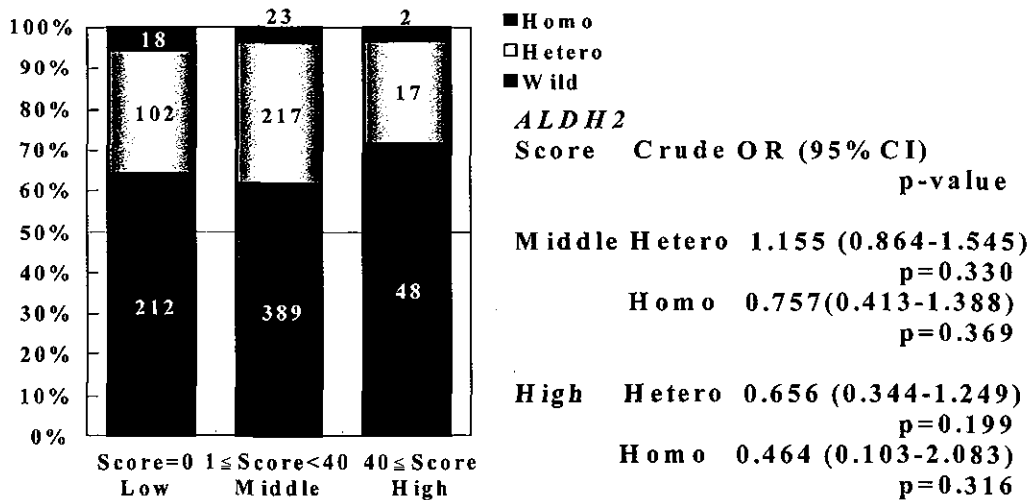


Fig 5 The relationship between the other chemical exposures and the *GSTM1*

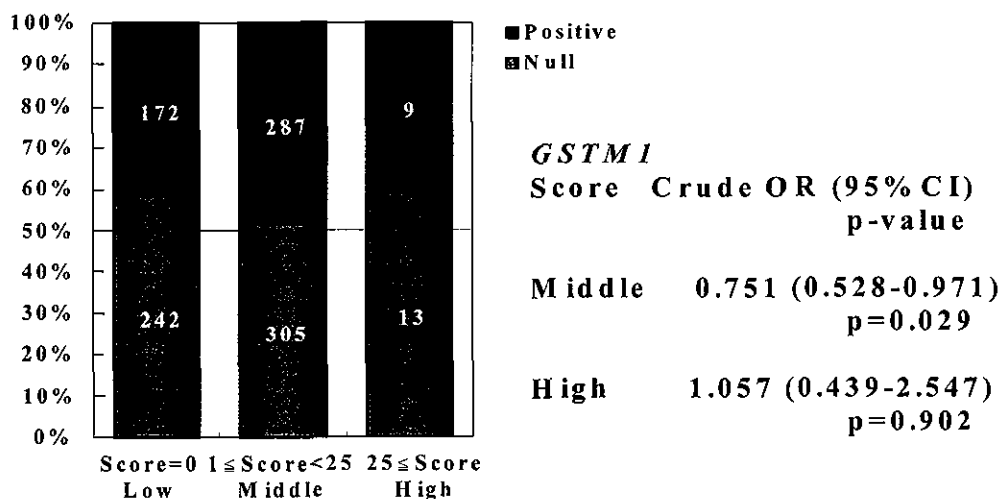


Fig 6 The relationship between the other chemical exposures and the *GSTT1*

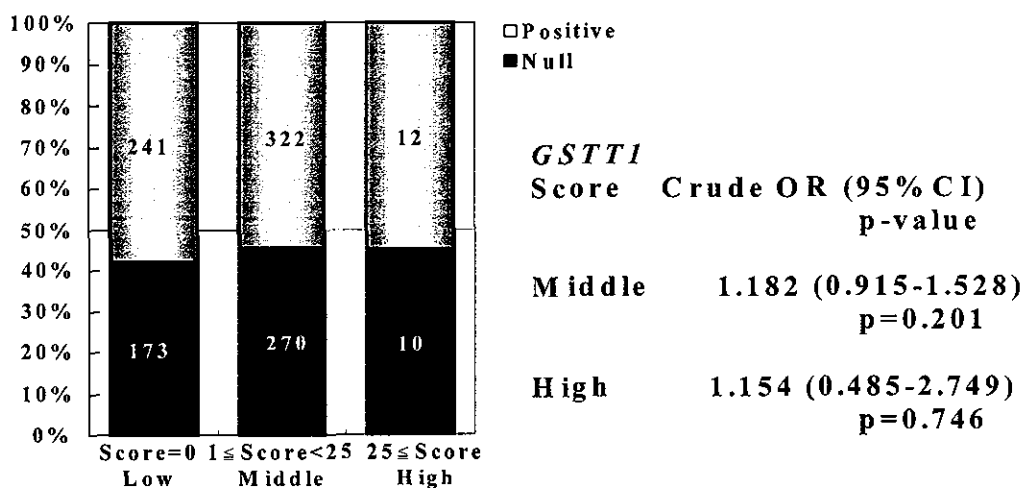


Fig 7 The relationship between the other chemical exposures and the *ALDH2*

