

ウス症候群の発症の危険因子につながるかどうかは明らかではなかった。

F.健康危険情報

結論を出すためには継続的調査が必要である。

G.研究発表

1.論文発表

なし

2.学会発表

第 55 回日本アレルギー学会総会（平成 17 年 10 月，盛岡）ホルムアルデヒド曝露が鼻粘膜過敏性に及ぼす影響について：久満美奈子，茶菌英明，堀口茂俊，岡本美孝，森千里，松野義晴.

H.知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費助成金 分担研究報告書
「シックハウス症候群の疾患概念に関する臨床的・基礎的研究」

ホルムアルデヒドの皮膚(病変)への影響について

分担研究者 池澤善郎 横浜市立大学大学院医学研究科環境免疫病態皮膚科学教授
協力者 高橋一夫 横浜市立大学大学院医学研究科環境免疫病態皮膚科学準教授
協力者 山川有子 横浜市立大学市民総合医療センター皮膚科準教授
協力者 吉岡直也 横浜市立大学大学院医学研究科環境免疫病態皮膚科学大学院生
協力者 内田敬久 横浜市立大学大学院医学研究科環境免疫病態皮膚科学大学院生
協力者 大砂博之 ひろクリニック院長、横浜市立大学非常勤講師

研究要旨

シックハウス症候群 (SHS) を含めた化学物質過敏症 (CS) にアレルギー疾患の合併が多いことが報告されているが、今回その逆のアトピー性皮膚炎 (AD) 患者中にSHSの合併がどの程度存在するかを調べたところ、約5%程度であることを見いだされた。その多くの患者がホルムアルデヒド等の暴露でAD皮疹の悪化を経験し、同時に頭痛、微熱、全身倦怠感といった体調不良を訴えていた。すなわち、FA暴露が皮疹の増悪因子であることが示されたとともに、AD診療の際、体調不良を訴えている場合、SHSの合併を考慮すべき重要性が判明した。また、SHS合併のADではNK活性の低下する傾向がみられたことから、自然免疫の低下を介したTh1/Th2バランスの失調を招き、結果としてアレルギー機序の増加、重症化につながっている可能性があるように思われた。

A. 研究目的

私たちは化学物質に大きな恩恵を受けてきた。しかし、生物の適応能力をはるかに上回るスピードで身のまわりに化学物質が蔓延し、その結果として様々な影響が出はじめていると考えられる。昨今のアレルギー疾患の急増・重症化にとってこれら化学物質が環境因子として大変重要ではないかとの作業仮説を立て、アレルギー疾患特にアトピー性皮膚炎と化学物質との関連を検討してきた。この様にグローバルな視点を持ちつつ、一つ一つの化学物質や個々の病態に目を向けることが重要ではないかと思われるが、昨年まではアトピー性皮膚炎 (AD) モデルマウスや接触過敏反応 (DTH) に対するホルムアルデヒド (FA)

の増悪因子としての重要性について検討した。今回は、臨床医の立場から、アンケート調査をもとにAD患者におけるシックハウス症候群 (SHS) の有病率を検討し、さらに診断における留意点を考察し、また臨床検査データ上に特徴がないか検討した。

B. 材料と方法

アレルギー性皮膚疾患 (主にアトピー性皮膚炎) に対するアンケート調査

対象：横浜市立大学付属病院皮膚科外来および横浜市立大学付属市民総合医療センター皮膚科外来に通院しているアレルギー関連疾患患者約400名からアンケート調査や問診等でSHSを含めた化

学物質過敏症（CS）が合併しているかもしれないと考えられた患者（新築・改築後の家や職場で粘膜の刺激感や皮疹の悪化を経験したなど）を抽出し、臨床愁訴、検査所見に特徴がないか検討した。

検討検査項目：血算、一般生化学、IgE、特異的IgE抗体、NK活性、

C. 研究結果

1. アンケート調査

アレルギー関連疾患患者400名においてSHSを含めたCSを疑える症例の割合は21名で5%程度であった。内訳はAD17名、アスピリン不耐症3名、蕁麻疹1例であった。これら21名の愁訴としては皮膚疾患を有する患者を対象としたため、皮疹の悪化を訴えた人が85%であったが、続いて眼・鼻粘膜症状を訴える傾向が強く、頭痛・倦怠感・微熱といった体調不良の訴えが比較的多く認められた。また、以前よりおおいに敏感、最近におおいに敏感になったを含めると70%の人がおおいに敏感と訴えた。（図1）

2. 臨床検査結果

アンケート調査により抽出した21名の臨床検査成績をAD患者全体のそれと比較検討した。その結果、有意な差は見出せなかった。しかし、同時に施行したNK細胞活性を測定した5例においてその活性が低下している傾向がみられた。すなわち

22.2±7.9（SHSの合併があったAD5例）

27.2±12.2（コントロールとしてAD130例）であった。（図2）

3. 症例検討（比較的典型的なSHS合併AD）

【症例1】20歳代、男性。6歳時からAD。以後、out-growなく屈側部中心に慢性に経過。18歳で横浜に転居。平成12年11月に会社の寮（新築）生活が始まったあたりからADの症状悪化（特に

頭や腕）を認めた。このころ咽頭痛（違和感）、全身倦怠感を自覚したが、頭痛や目の刺激感はなかった。12月にはそう痒が強く不眠となり、新築寮生活をやめ、築10年の寮に移り一時症状は改善した。平成13年6月頃より全身倦怠感増強、会社も休みがちとなった。10月から新しい事務所（改築）に移り再びADが増悪した。12月になり全身倦怠感が更に増強、微熱も自覚するようになった。その後一進一退を繰り返し、平成14年6月に当科外来受診。ADおよびCS疑いと診断された。一時、皮膚症状の悪化が強くなり、環境改善・加療目的で当科入院した。病棟でのワックスがけ後に頭痛出現。退院後、事務所で仕事すると頭痛、倦怠感、皮疹の悪化認め、会社の上司と相談し、別の事務所勤務に配置換えしてもらったところ、頭痛、倦怠感、微熱など徐々に消失し、現在では皮疹の悪化や倦怠感もなく生活できるようになっている。（図3）

【症例2】20歳代、女性。5歳頃からADがあったが、24歳の春頃から皮疹は寛解し、通院の必要はない状態になっていた。26歳時、新築マンションを購入。購入前の下見の段階で眼がチカチカすることと強い異臭に気づいていた。転居後2ヵ月頃より全身の痒みと眼と顔の腫脹が出現。近医にて内服、外用の治療を受けたが皮疹は悪化と軽快を繰り返し、慢性化したため、マンション購入の1年後（27歳時）に当科紹介受診となった。初診時、顔面全体に浮腫性紅斑と掻破痕を、またほぼ全身に紅斑、苔癬化を認め、紅皮症状態であり、好酸球13%、LDH898IU/l、IgE4000、IgERASTは多項目に陽性であった。治療および経過：ADと診断し、新築マンションの自宅から古い一戸建ての実家に移って、ステロイド外用剤と抗アレルギー薬の内服治療を開始したところ、皮疹は明らかに軽快に向かい、顔面の紅斑もほぼ消失した。しかし、実家から自宅マンションへ戻ったところ再び症状

が急速に悪化,再度実家に戻り数日で軽快した。自宅マンションに居住中はそう痒感が強く皮疹は悪化,実家に戻ると数日で軽快する,ということを反復していた。そこでSHSを疑い,実家と自宅マンションでホルマリン濃度を測定した。その結果,実家ではほとんど検出されなかったホルマリンが,自宅マンションの台所と下駄箱でそれぞれ0.6ppm,0.8ppm検出された。なお,患者血清中のホルマリンのIgERASTは0であり,またホルマリンのパッチテストでも陰性であった(図4)。

D. 考察

昨年度までの成果をまとめると2つあげられる。一つにはFA吸入曝露がAD発症モデルであるDS-Nhマウスの皮疹を重症化させることが判明したことであり,2つ目にはC57BL/6マウスにTNCBで作ったDTH反応がFA塗布曝露によって増強され,それがFAによる樹状細胞の活性化を介したものであることが示唆されたことである。このことはADがFA曝露により悪化・増悪するという臨床的観察を実験的に支持したものと考えられる。

本年度は臨床的な立場からアンケート調査結果を解析した。これまでSHSの患者ではアレルギー疾患の合併が高率にみられると報告されてきた(ばらつきが大きい)が30-70%と報告されている)。しかし,アレルギー疾患患者からSHSの合併がどの程度あるのかとの報告はほとんどない。今回の調査から,主にAD患者では5%程度にSHSの合併がみられる事が判明した。この数値は予想より少ないものであったが,SHSとは言えないがFA等のおいのするところで皮疹が悪化した経験をもった患者はもう少し多いように思われた。

SHSを合併したAD患者の愁訴は,皮疹の悪化が85%と最も多かった。これは皮膚科外来での調査だから当然といえなくもないが,FA曝露によりADが悪化するという臨床的な事実を反映してい

と思われる。皮疹以外の症状としては眼・鼻粘膜の刺激症状と微熱,全身倦怠感,頭痛といった身体の不調を呈するものであった。このことと,ADの中の5%はSHSを合併する事を考慮すれば,AD診療で不定愁訴的な訴えをする患者に対してはSHS合併を念頭に置いて診療する必要性を示していると考えられる。

SHS合併のAD患者にあつてはNK活性が低下している傾向が示唆された。昨今,自然免疫とアレルギー疾患の係わりが注目されているが,NK活性の低下はIFN- γ の産生低下等を通じて細胞性免疫すなわちTh1反応の相対的低下をもたらしたTh1/Th2バランスの不均衡を介しアレルギー疾患の増加,重症化につながっている様に考えられると思われる。

SHSを扱う本研究班では話題の中心がFA等であるが,一方でCSという疾患概念も存在し,両者を比較すると,明確に線が引けない症例も多い(FA曝露の時だけ症状を呈するのがSHSであるとすれば違いは大きい)。つまりはじめはSHSではじまって,やがて様々な化学物質に反応してしまつていわゆるCSに移行してしまう例もみられる。FAをはじめとした化学物質による健康被害を生じている患者の存在は明白で,FAに限らずさらにより広く環境化学物質と生体との係わりを検討する学問領域に発展することも必要なかもしれない。そのことは,昨今話題になっている地球温暖化の様な環境問題への考察と根本的にはつながっているものと思われる。是非ともグローバルな視点でFA問題を追及していきたいと考えている。

E. 研究発表

論文発表

Yoshioka N, Nakazawa M, Takahashi K, Hirasawa T, Minami M, Ikezawa Z: The effect of Formaldehyde

exposure on mouse models of atopic dermatitis.
(投稿準備中)

高橋一夫、山川有子、池澤善郎：アトピー性皮膚炎
におけるシックハウス症候群の関与について。
Enviromental Dermatology (依頼原稿、準備中)

F. 知的所有権の出願・登録状況
なし

図1. 20歳代、男、アトピー性皮膚炎

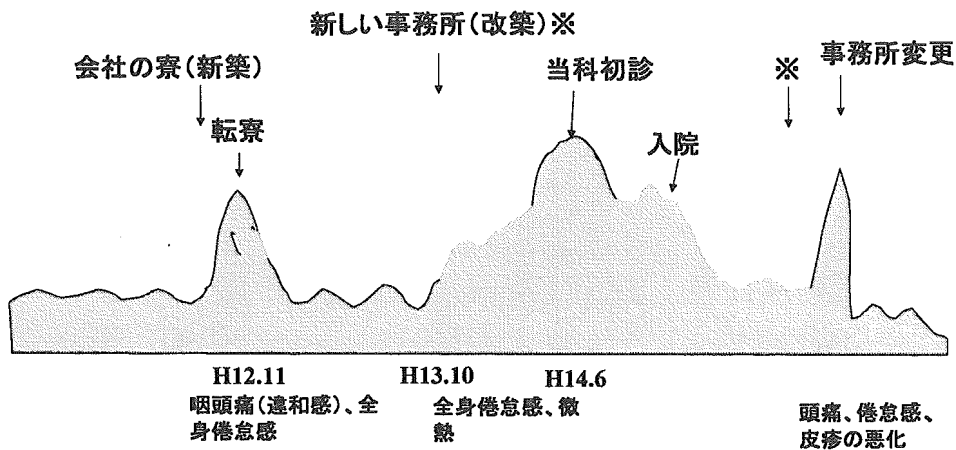


図2、愁訴の結果

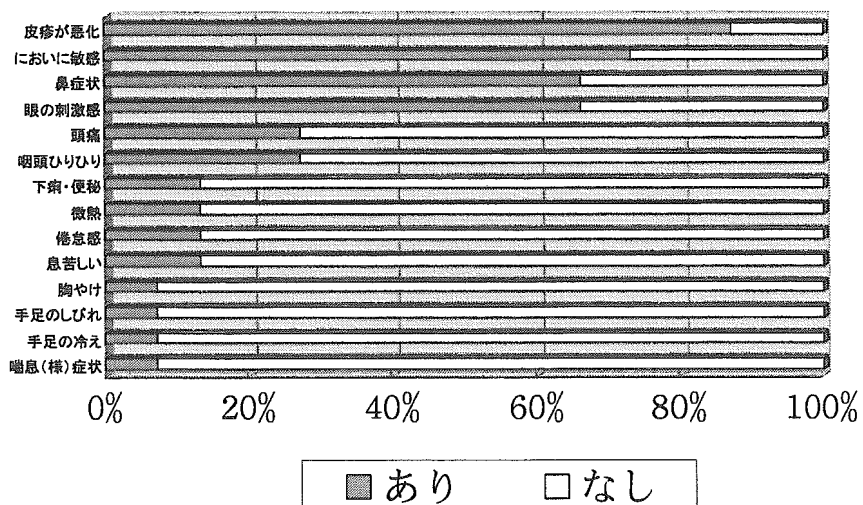


図3、20歳代、女、アトピー性皮膚炎)

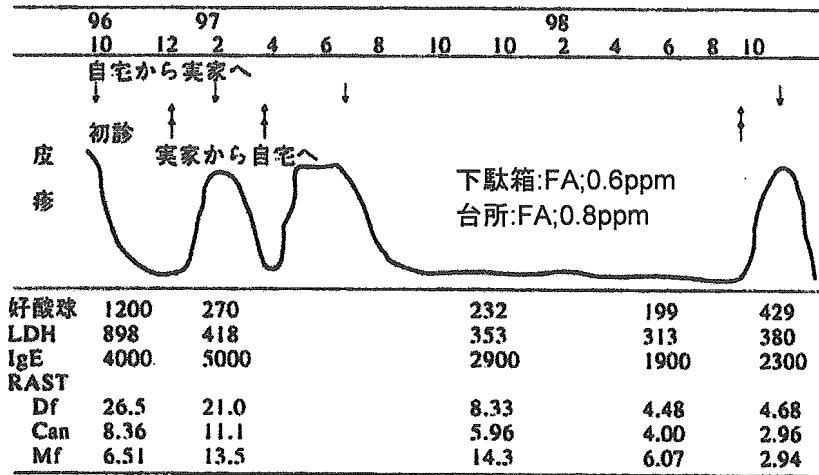
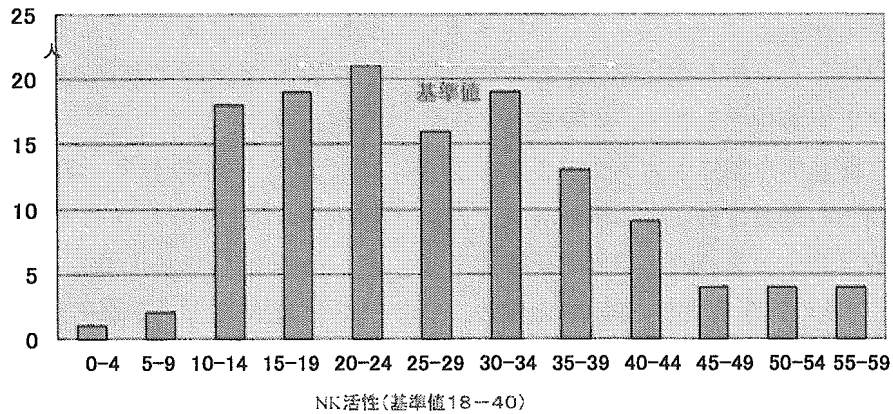


図4、アトピー性皮膚炎患者130人のNK活性分布



平成17年度厚生労働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

シックハウス症候群の疾患概念に関する臨床的・基礎医学的研究

シックハウス症候群患者への高脂血症治療薬コレステラミン投与による
血清中揮発性有機化合物濃度とシックハウス症状の変化について

主任研究者 鳥居新平 愛知学泉大学
研究協力者 近藤文雄 愛知県衛生研究所

研究要旨 シックハウス症候群患者に高脂血症治療薬コレステラミンを投与し、投与前後の患者の血清総コレステロール値及び血清中の揮発性有機化合物（VOC）濃度の変化と、シックハウス症状の変化を比較した。その結果、一部の患者については血清総コレステロール値及び血清中 VOC 濃度の減少と症状の改善が認められた。しかし、服用のコンプライアンスが悪かったことなどの問題点もいくつかあり、今後より詳細な検討が必要と考えられた。

1. 研究目的

高脂血症治療薬として用いられるコレステラミンは、腸管内で胆汁酸と結合してその糞中排泄量を増大させることにより、外因性のコレステロールの吸収を阻害する。また、排泄量の増大による胆汁酸の減少を補償するために、肝においてコレステロールから胆汁酸への異化が亢進する。これらの作用により、血中コレステロール値を減少させると考えられている。

最近、Shoemaker と House により、コレステラミンの投与がシックビル症候群症状の改善に有効であることが報告された¹⁾。本研究では、シックハウス症候群患者にコレステラミンを投与し、投与前後の患者血清中の揮発性有機化合物（VOC）濃度やシックハウス症状を比較することにより、上述の報告の検証を試みた。なお、血液中の VOC の微量分析法として、ヘッドスペース・ガスクロマトグラフィー/質量分析 (head space-gas chromatography / mass spectrometry; HS-GC/MS) 法と標準添加法を組み合わせた方法を用いた。

2. 研究方法

(1) 対象

平成17年9月から12月までに総合上飯田第一病院を受診したシックハウス症候群患者6名（H17A1～H17A6）を対象とした。

(2) 投薬及び測定内容

当該患者に1ヶ月間コレステラミンを服用してもらい、血清総コレステロール値、血清中 VOC 濃度及び症状の変化を調べた。また、当該患者の VOC に対する経気道の曝露濃度及び患者宅室内の VOC 濃度を併せて測定した。

なお、1名の患者（H17A1）については服用後の測定を行うことができなかったため、解析から除外した。

(3) 血清中 VOC 濃度測定

測定法はヘッドスペース・ガスクロマトグラフィー/質量分析 (head space-gas chromatography/mass spectrometry; HS-GC/MS) 法、定量法は標準添加法を用い、測定項目はトルエン、キシレン、パラジクロロベンゼン、ヘキサナール、ペンタナール

ル等 35 物質とした。

分析操作は、ヘッドスペースバイアルに血清を 0.5 mL 加えた後、希釈水 10 mL を加え、テフロン張りのシリコンゴムセプタム及びアルミシールで密封した。このバイアルをヘッドスペースオートサンプラーにセットし、HS-GC/MS により測定を実施した。標準添加時は、ヘッドスペースバイアルに血清を 0.5 mL 加えた後、希釈水 10 mL を加え、さらに標準液 1 μ L を加えた後、同様に操作を行った。なお、標準液の添加濃度は、ヘキサナールが 50 ppm、ヘプタナール、ペンタナール、イソペンタナール、ブタナールが 10 ppm、他の VOC が 1 ppm とした。

分析条件は次の通りである。

HS 条件

加熱：85°C、10 分

振とう：10 分

サンプルループ：1 mL

トランスファーライン：160°C

GC/MS 条件

カラム：VOCOL

(0.25 mm i.d. x 60 m, 1.5 μ m)

温度：40°C で 5 分間保持し、250°C まで
毎分 10°C で昇温。その後 5 分間保持。

キャリアガス：ヘリウム、1 mL/分

(4) VOC に対する経気道的曝露濃度及び室内の VOC 濃度測定

測定法は固相吸着/溶媒抽出-GC/MS 法及び DNPH 誘導化固相吸着/溶媒抽出-高速液体クロマトグラフ法、定量法は安定同位体内部標準法及び絶対検量線法、測定項目はトルエン、キシレン、パラジクロロベンゼン、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド等 37 物質とした。

3. 研究結果

(1) HS-GC/MS 法による血清中 VOC の微量分析法

図 1 及び図 2 には、VOC の標準品を HS-GC/MS 法で分析して得られたマスクロマトグラムを示した。トルエン、キシレン、パラジクロロベンゼン、ヘキサナール、ペンタナール等 35 物質のピークが良好に分離、検出された。なお、後述するように、ヘキサナール、ペンタナール等のアルデヒド類は、他の VOC と比べて血清中濃度が高く、同時に測定することができなかった。そこで、ヘキサナール、ペンタナール等のアルデヒド類 6 物質 (図 1) と、それ以外の VOC (図 2) に分けて測定を行った。

(2) 症状の変化

シックハウス症候群患者へのコレステラミンの投与による症状の変化を表 1 に示した。5 名中 2 名 (H17A4、H17A6) に症状の改善が認められたが、残る 3 名については変化が認められなかった。

(3) 血清総コレステロール値及び血清中 VOC 濃度

血清総コレステロール値及び血清中 VOC 濃度を表 2 に示した。症状の改善が認められた 2 名の患者について、投与前と投与後の血清総コレステロール値を比較した場合、1 名 (H17A4) については、わずかに減少 (約 6%) し、他の 1 名 (H17A6) については、約 23% 減少していた。症状に変化が認められなかった 3 名については、投与前後でほとんど変化が認められなかった。

測定対象 VOC35 物質の中で、すべての検体から検出された 8 物質の濃度と、35 物質の濃度合計値を表 2 に示した。高い値を示したのは、食物由来の脂質が代謝されて生成すると考えられるヘキサナール (検出濃度範囲 13~81 ppb) とペンタナール (同 3~16 ppb) であった。一方、経気道的曝露が考えられるトルエン、キシレン、パラジクロロベンゼン等の血清中濃度は、1 名の患者でコレステラミン投与前のトルエン濃

度が 8.7 ppb、パラジクロロベンゼン濃度が 3.5 ppb とやや高い値を示した他は、全体的に低いレベルであった。

コレステラミン服用前後の血清中 VOC 濃度の変化を、35 物質の濃度合計値で比べた場合、1 名の患者 (H17A2) が服用前と比べて服用後が 1.5 倍に増加していた他は、4 名の患者すべてで服用後の値が 1/4.1~1/1.6 に減少していた。

(4) VOC に対する経気道的曝露濃度及び VOC の室内濃度

VOC に対する経気道的曝露濃度及び VOC の室内濃度を表 2 に示した。表中には、室内空気中から高頻度に検出されるホルムアルデヒド、トルエン等 6 物質と、測定対象 37 物質の濃度合計値を示した。いずれの物質の濃度も特に高い値を示すことはなく、患者の血中 VOC 濃度の変化に大きく影響を及ぼすものではないと考えられた。

4. 考察

我々はすでに、血清中 VOC の微量分析法として、HS-GC/MS 法と安定同位体内部標準法を組み合わせた方法を確立し、その方法を用いてシックハウス症候群患者及び健康成人の血清中 VOC 濃度を測定している²⁾。しかし、安定同位体は一般に高価であることに加えて、入手できない場合には測定ができないため、測定可能な物質が限定されてしまうなどの短所を有している。そこで本研究では、安定同位体内部標準法に代わり、それぞれの試料に標準物質を添加して作成した検量線を用いて定量を行なう標準添加法を用いた。

シックハウス症候群患者の血清中 VOC 濃度は、ヘキサナール、ペンタナールを除き概ね低いレベルであった。職業的曝露を受けていない人の血中 VOC 濃度に関しては、すでにいくつかの報告がなされている³⁾。

本研究と同様に、検出濃度範囲は ppt から数 ppb と低く、スチレンとエチルベンゼンが最も低く (中央値で約 100 ppt)、パラジクロロベンゼンが最も高い値 (中央値で 1.9 ppb) であった。しかし、本研究で高い値で検出されたヘキサナール、ペンタナール等のカルボニル化合物に関する報告はなく、比較はできなかった。

一方、採血時に併せて、患者の VOC に対する経気道的曝露濃度及び患者宅の室内 VOC 濃度を測定した。その結果、いずれの物質の濃度も特に高い値を示すことはなく、患者の血中 VOC 濃度の変化に大きく影響を及ぼすものではないと考えられた。

コレステラミンは、一度に 9 g を約 100 mL の水とともに服用する必要がある、飲みにくいという欠点を有している。また、腹部膨満、便秘など不快な副症状がみられるので、服用のコンプライアンスも極めて悪かった。そのためか、投薬により症状の改善が認められた患者は、5 名中 2 名のみであった。この 2 名については、服用前と比べて服用後が血清総コレステロール値及び血清中 VOC 濃度の合計値ともに減少していた。

コレステラミンは、その分子構造中に 4 級アンモニウム基を有し、胆汁酸のカルボキシル基と結合する。同様に、脂肪酸のカルボキシル基とも結合すると考えられる。血清中から主として検出されたペンタナール及びヘキサナールは、体内に摂取された脂質 (脂肪酸) の代謝物と考えられる。1 名の患者 (H17A2) を除き、コレステラミン服用後の血中ヘキサナール及びペンタナールの濃度が減少しており、その要因の一つとして胆汁酸と同様の機序で脂肪酸の排泄が促進されたことが考えられた。

今回、服用のコンプライアンスが極めて悪かったこと、検討を行った期間が 1~2 か月と短いこと、プラセボを用いたコント

ロール研究ではないこと、さらには、環境中の化学物質の変動の影響も多少受けていることも考えられるなど、効果判定が難しい面がある。最近、効果は若干弱いものの、陰イオン交換樹脂を用い同じ原理でコレステロール値を下げる薬剤も開発されたので、二重盲検法等で確認する必要があると考えられた。

5. まとめ

シックハウス症候群患者への高脂血症治療薬コレステラミン投与による、血清中VOC濃度とシックハウス症状の変化について検討を加えた。その結果、一部の患者については、血清総コレステロール値及び血清中VOC濃度の減少と症状の改善が認められた。しかし、服用のコンプライアンスが悪かったことなどの問題点もいくつかあり、今後より詳細な検討が必要と考えられた。

参考文献

- 1) Shoemaker RC, House DE. A time-series study of sick building syndrome: chronic, biotoxin-associated illness from exposure to water-damaged buildings. *Neurotoxicology and Teratology* 2005; 27: 29-46.
- 2) Kondo F, Ikai Y, Goto T, Ito Y, Oka H, Nakazawa H, Odajima Y, Kamijima M, Shibata E, Miyazaki Y. Serum levels of volatile organic compounds in patients with sick building syndrome symptoms. *Indoor Air*, submitted.
- 3) Ashley DL, Bonin MA, Cardinali FL, McCraw JM, Wooten JV. Measurement of volatile organic compounds in human blood. *Environ Health Perspect* 1996; 104(Suppl): 871-877.

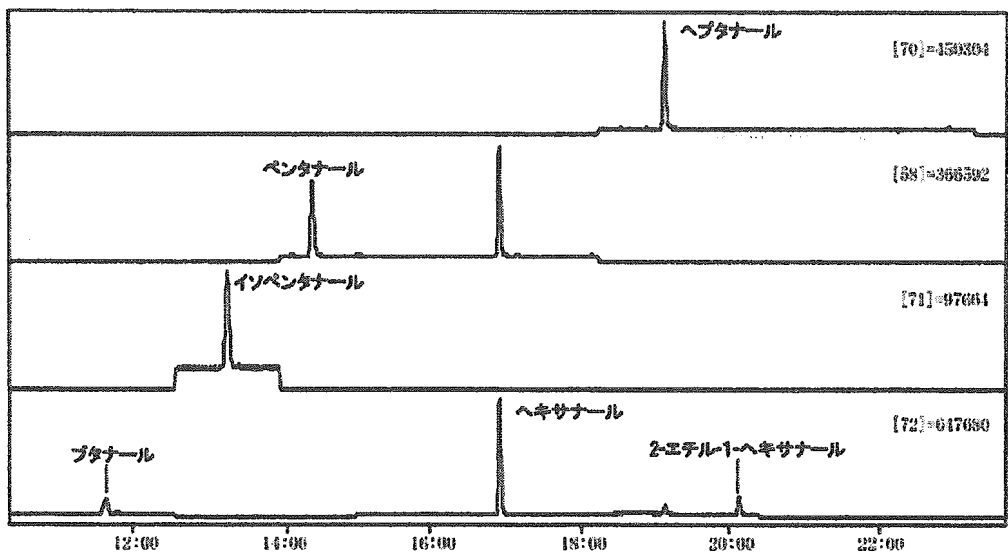


図1 アルデヒド類標準品のHS-GC/MS分析結果

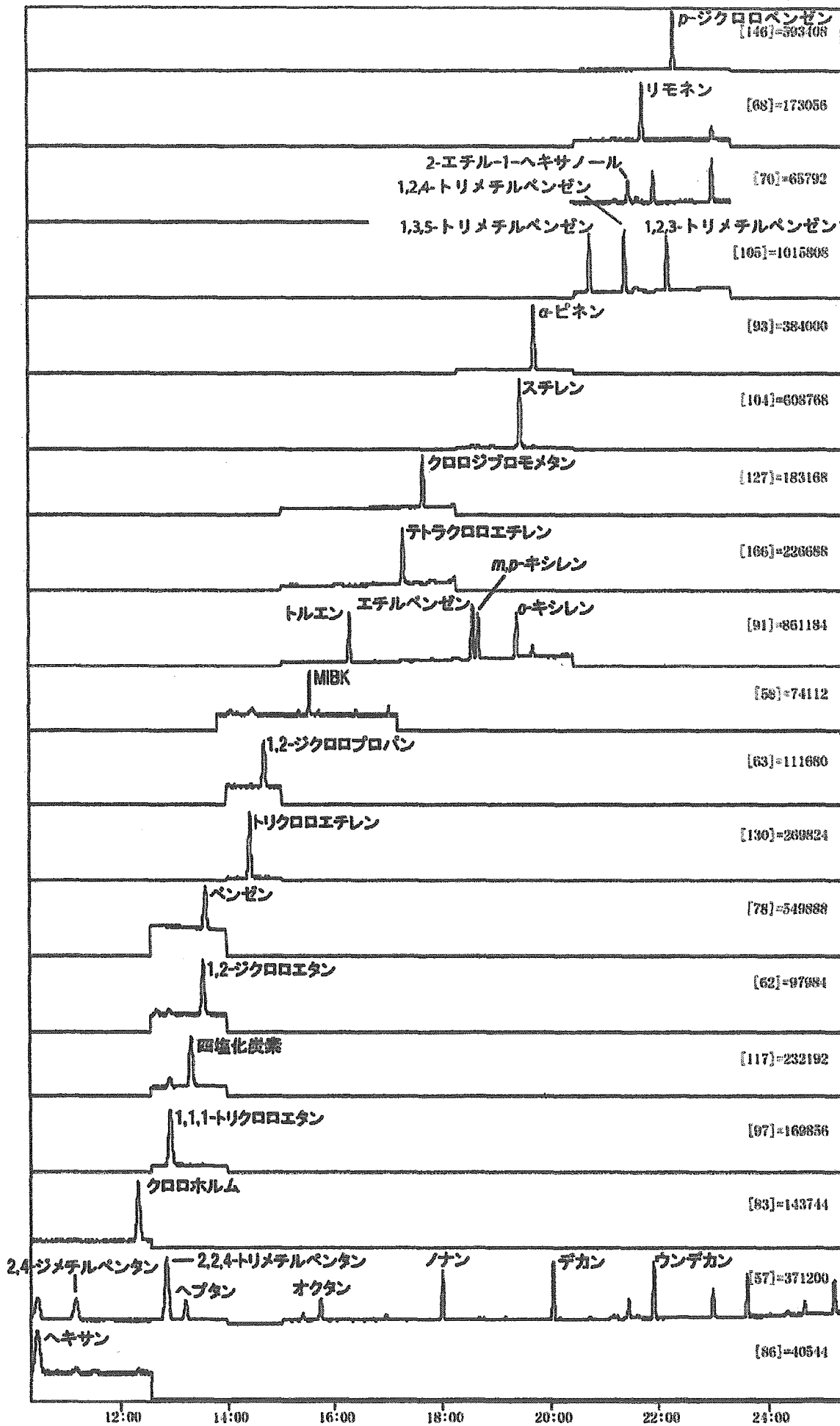


図2 アルデヒド類以外のIVOC標準品のHS-GC/MS分析結果

表1 投薬によるシックハウス症状の変化

患者	症 状
H17A2	変わらない
H17A3	変わらない
H17A4	軽快 (これまで気になっていた臭いがあまり気にならなくなった。 近所の改築の際の塗料の臭いなど)
H17A5	変わらない
H17A6	軽快 (集力低下が改善、臭いがあまり気にならなくなった)

表2 血清総コレステロール値及び血清中VOC濃度

物 質	H17A2		H17A3		H17A4		H17A5		H17A6	
	前	後	前	後	前	後	前	後	前	後
コレステロール値 (mg/dl)	188	185	209	202	269	254	191	192	224	172
ヘキサナール	13	19	49	29	81	19	29	19	29	14
ペンタナール	4	5	15	8	16	4	8	5	7	3
ウンデカン	1.1	1.1	1.9	0.9	1.1	1.1	0.9	0.6	1.6	1.0
ヘキサン	1.1	1.0	2.4	0.6	0.8	0.7	0.7	0.7	0.9	0.5
VOC (ppb)										
トルエン	0.3	0.7	0.9	0.3	1.3	0.3	0.4	0.4	8.7	0.8
パラジクロロベンゼン	0.4	0.5	1.1	0.6	0.2	0.2	0.3	0.3	3.5	1.8
キシレン	0.4	0.4	0.9	0.5	0.4	0.4	0.9	0.4	2.2	0.6
デカン	0.5	0.5	0.7	0.4	0.5	0.6	0.4	0.4	0.8	0.4
合計値*	21	31	80	46	110	27	48	30	72	23

*測定対象VOC 35物質の濃度合計値

表3 VOCに対する経気道的曝露濃度、VOCの室内濃度及び温湿度

物 質	H17A2		H17A3		H17A4		H17A5		H17A6	
	前	後	前	後	前	後	前	後	前	後
経気道的曝露濃度 単位: $\mu\text{g}/\text{m}^3$										
ホルムアルデヒド	14	25	34	11	8.2	5.6	9.5	4.8	35	12
アセトアルデヒド	2.9	10	7.8	13	8.1	4.5	6.9	2.8	15	3.9
ヘキサナール	ND	2.5	2.9	2.7	12	8.7	9.8	5.7	3.7	ND
トルエン	ND	7.6	11	16	7.5	11	30	11	26	7.7
キシレン	ND	ND	8.6	ND	4.3	4.4	13	4.4	22	8.8
パラジクロロベンゼン	ND	6.1	6.0	ND	ND	ND	6.0	ND	12	18
合計値*	54	120	160	79	150	98	180	110	280	120
室内濃度 単位: $\mu\text{g}/\text{m}^3$										
ホルムアルデヒド	18	33	22	19	13	13	14	4.0	32	7.6
アセトアルデヒド	4.2	10	6.9	17	8.7	6.6	6.3	2.3	8.4	2.8
ヘキサナール	ND	4.6	ND	3.3	8.2	3.6	9.6	2.8	3.2	ND
トルエン	7.4	15	11	16	7.5	11	未実施	7.7	38	7.7
キシレン	8.6	ND	8.6	ND	4.3	4.4	未実施	4.4	22	4.4
パラジクロロベンゼン	5.9	ND	6.0	ND	ND	ND	未実施	ND	18	6.2
合計値*	140	150	140	105	140	100	—	74	300	81
温湿度										
温度 (°C)	28.7	22.6	25.7	13.3	25.8	20.7	24.9	18.2	25.6	17.8
湿度 (%)	59.0	55.6	64.5	48.8	75.2	54.7	68.8	37.5	59.5	42.3

*測定対象VOC 37物質の濃度合計値

厚生労働科学研究補助金（がん予防等健康科学総合研究事業）
分担研究報告書

シックハウス症候群の疾患概念に関する臨床的・基礎医学的研究

—免疫学的機序と神経生理学的機序の関わりについての基礎的研究—

分担研究者 永井 博式（岐阜薬科大学 臨床薬理学研究室 教授）

研究要旨 昨年度は、ホルムアルデヒド(FA)のマウス皮膚症状への影響を検討した結果、FA (2・10%) の反復塗布により耳介腫脹が生じることを報告した。周知のように、FA は代表的な揮発性有機化合物(VOCs)であるが、その他のVOCs の影響は不明である。そこで、本研究では代表的な VOCs であるトルエンならびにキシレンを用いて、FA と同様にマウス耳介皮膚組織に及ぼす影響を検討した。また、昨年度の検討において、5 回目の FA 塗布 24 時間後の耳介組織において mRNA の発現増強が観察されたカプサイシン受容体である VR・1 および神経栄養因子の BDNF ならびに NT-3 の意義を検討する目的で、VR・1 受容体拮抗薬の capsazepine および NGF 低親和性受容体 p75 遺伝子欠損マウスを用いて検討した。すなわち、マウスの耳介の表裏に 5、10、50 ならびに 100% のトルエンあるいはキシレン（溶媒：アセトン）を週 1 回、計 5 回反復塗布し反応を惹起した。トルエン塗布群では、2 回目の塗布 1 時間後から 50 および 100% の濃度において有意な皮膚腫脹が観察され、その程度は塗布回数に従って増強された。また、キシレン塗布群においても 50 および 100% の濃度でトルエンよりやや強い耳介腫脹が観察された。しかし、これらの VOCs による皮膚反応はいずれも FA に比し非常に弱く、皮膚反応惹起においても非常に高濃度の曝露が必要であることが明らかとなった。一方、FA(5%)による耳介腫脹に及ぼす VR・1 受容体拮抗薬の capsazepine の影響を検討したところ抑制傾向が観察された。また、NGF 低親和性受容体 p75 遺伝子欠損マウスを用いた検討では、野生型マウスに比し耳介腫脹の有意な低下が観察された。以上の成績より、FA はトルエンあるいはキシレンに比し、皮膚反応の惹起により重要な VOC であることが明らかとなった。また、神経栄養因子などを介した神経原性炎症が FA 誘発皮膚反応に関与していることが示唆された。

研究協力者

稲垣直樹（岐阜薬科大学薬理学教室・教授）

田中宏幸（岐阜薬科大学薬理学教室・講師）

A. 研究目的

シックハウス症候群は、室内のアルデヒド類やその他の揮発性有機化合物に曝露されることにより、多臓器にわたって臨床症状が発現されると考えられている機序不明の病態である。症状も多彩であり、アレルギー様症状、自律神経症状、皮膚症状などが出現することが示されている。病因に関しては、病原微生物、アレルゲンおよび揮発性有機化合物(VOCs)などが考えられているが、このうち室内の VOCs が重要

とされている。特に、ホルムアルデヒド(FA)は、建材、塗料、衣料品、紙など広範に使用されており、日常的に接触・曝露される機会が多いと考えられる。しかし、接触による皮膚症状の程度・閾値ならびに機序に関しては不明である。

昨年度は、シックハウス症候群の免疫学的機序と神経生理学的機序の関わりについて検討するため、マウスの両耳介に FA を反復塗布した際の皮膚反応を観察した。その結果、FA (2・10%) 塗布群では、塗布濃度に依存した耳介腫脹の増大が観察された。特に、1 および 2 回目の塗布 1 時間後では、一過性の著しい腫脹が観察された。これに対し、3 回目の塗布以降では、このような即時型の顕著な腫脹に加え、塗布回数に従って 1 およ

び 24 時間後をピークとする 2 相性の皮膚反応が観察された。さらに、本皮膚反応の機序を解明する目的で、耳介ならびに所属リンパ節である頸部リンパ節における各種機能分子の mRNA 発現を RT-PCR により検討した。その結果、耳介では Th2 優位な反応が生じており、加えて BDNF、NT-3 ならびに VR-1 などの発現亢進が認められることから、神経原性炎症が本皮膚反応に関与している可能性が推察された。しかし、本反応で認められた様々な表現形が、他の多くの VOCs で共通に観察されるか否か、また、実際に発現亢進の認められた上述の機能分子の FA 誘発皮膚反応における意義については不明である。

そこで、本年度は FA 以外の代表的な VOCs としてトルエンおよびキシレンを用いて、同様のプロトコールにて皮膚組織に対する影響を観察した。また、FA(5%)反復塗布モデルを用いて、VR-1 の受容体拮抗薬である capsazepine の影響を検討した。さらに、神経成長因子の役割を検討する目的で、NGF 低親和性受容体 p75 遺伝子欠損マウスを用いて BDNF および NT-3 の影響を検討した。

B. 方法

1. VOCs 塗布暴露

実験は、当教室のマウス DNFB 皮膚炎モデルのプロトコールに従って行った。すなわち、雌性 BALB/c マウスの両耳介の表裏に 1、2、5 および 10%の FA または 5、10、50 および 100%のトルエンあるいはキシレンを週 1 回、計 5 回反復塗布し反応を惹起した。溶媒は、いずれの場合もアセトンを用いた。各 VOCs 塗布前後の種々の時間に、炎症反応の評価として耳介の厚みを測定した。また、各 VOCs 塗布 24 時間後に、血清を採取し、総 IgE 抗体量を ELISA にて測定した。

2. 受容体拮抗薬ならびに遺伝子欠損マウスを用いた検討

いずれの場合も、5%FA の反復塗布による耳介腫脹反応に対する影響を観察した。すなわち、VR-1 の競合的受容体拮抗薬である capsazepine は、FA 塗布 30 分前に皮下投与した。また、耳介組織において発現亢進の認められた BDNF および NT-3 の意義を、NGF 低親和性受容体 p75 欠損マウスを用いて検討した。

なお、本実験における実験の取り扱いならび

に実験方法に関しては、本学バイオセーフティー委員会の承認を受け、その規約を遵守した。

C. 結果

1) トルエンならびにキシレン塗布の影響

5、10、50 ならびに 100%のトルエンならびにキシレンをマウスの両耳介の表裏に塗布し、その影響を比較検討した。その結果、トルエンは 2 回目の塗布後 1 時間をピークとする即時性の腫脹が濃度依存的に観察され、この腫脹反応は塗布回数に依存して増大した。また、キシレンについても初回塗布 1 時間後から即時性の腫脹が濃度依存的に観察されたが、2 回目の塗布以降は腫脹の程度に差は認められなかった。

一方、これら 3 種の VOCs により皮膚反応に対する強度を比較すると FA >> キシレン > トルエンの順となり、FA が最も低濃度から皮膚腫脹反応を誘発可能であり、さらに腫脹の程度も顕著であった。

2) VR-1 受容体拮抗薬ならびに NGF 低親和性受容体 p75 遺伝子の影響

対照マウスでは 5%FA 反復塗布により 2 回目の塗布 1 時間後から即時性の腫脹が観察され、この腫脹反応は塗布回数に依存して増大した。これに対し、VR-1 競合的拮抗薬である capsazepine は用量依存的に FA 塗布後に観察される耳介腫脹を抑制する傾向を示したが、統計学的に有意な差は認められなかった。

一方、NGF 低親和性受容体 p75 遺伝子欠損マウスでは、野生型マウスと同様に、FA の反復塗布により塗布 1 時間後をピークとする皮膚反応が観察されたが、2 回目の塗布後から野生型マウスに比し低下が観察され、4 ないし 5 回目の塗布後では野生型マウスの約 30-40%程度の腫脹が観察されるに過ぎなかった。

D. 考察

本研究では、代表的な VOCs としてトルエンおよびキシレンを用いて、FA により生じた皮膚反応の特異性を検討すると共に、FA による皮膚反応における VR-1 ならびに神経成長因子の意義を受容体拮抗薬ならびに遺伝子欠損マウスを用いて検討した。その結果、キシレンおよびトルエン共に 50%ならびに 100%という高濃度ではあるものの皮膚腫脹反応を惹起しうることが明らかとなった。しかしながら、FA とキシレンおよびトルエンとを比較すると、FA に比しキシレンおよ

びトルエンは皮膚反応惹起により高濃度の曝露を必要とすること、また、腫脹の程度も非常に弱いことなどから、VOCsに対する皮膚組織の反応性に大きな差があることが明らかとなった。以上の成績は、比較的low濃度のFA反復塗布によって観察された種々の表現形は、FAに特異性の高い反応であることを示唆しており、シックハウス症候群におけるFA曝露の意義を再認識させるものとして重要な知見であると思われる。今後、皮膚におけるFA特異的な反応の機序を解析するため、皮膚組織を用いたDNAアレイ解析などを行い、キシレンおよびトルエンと比較検討することにより、さらに詳細な差違を明らかにすることができると思われる。

昨年度は、本モデルで観察された皮膚反応の機序をさらに解明するため、耳介ならびに頸部リンパ節における各種機能分子のmRNA発現を検討した。すなわち、Th1/Th2バランス、各種神経成長因子、神経ペプチド受容体の発現をそれぞれ検討した。その結果、耳介ではTh2優位な反応が生じていること、また、BDNF・NT-3およびVR-1などの神経原性炎症が関与している可能性が推察された。そこで、本年度は、これら発現が亢進していた機能分子について機能解析を試みた。その結果、VR-1の競合的受容体拮抗薬は本耳介反応に対し抑制傾向を示すに過ぎなかったが、NGF低親和性受容体p75遺伝子欠損マウスを用いた検討では、野生型マウスに比し耳介腫脹の有意な低下が観察された。周知のように、神経栄養因子のうちNGF、BDNFならびにNT-3は、それぞれ高親和性受容体であるTrk A, Trk BならびにTrk Cと結合し、特異的な反応を細胞内へ伝達することが知られている。一方、上述の3種類の神経栄養因子は、高親和性受容体とは別に低親和性受容体であるp75にも結合することが知られている。高親和性受容体欠損マウスの多くは遺伝子欠損により生後まもなく死亡することが知られており、個々の意義を遺伝子欠損マウスにより解析することは困難である。また、それぞれの受容体に対する選択的な拮抗薬も入手できないことから、本研究では低親和性受容体の遺伝子欠損マウスを用いて検討した。今後、皮膚局所におけるBDNFあるいはNT-3の産生細胞などを明らかにすることにより、FA特異的に生ずる神経原性炎症の機序を明らかにす

ることができると思われる。

E. 結論

マウス耳介へのトルエン塗布では、50および100%の濃度において2回目の塗布1時間後から有意な耳介腫脹が観察され、その程度は塗布回数に従って増強された。また、キシレン塗布群においても50および100%の濃度でトルエンよりやや強い耳介腫脹が観察された。しかし、これらのVOCsによる皮膚反応はいずれもFA塗布による腫脹に比し非常に弱く、皮膚反応惹起においても非常に高濃度の曝露が必要であることが明らかとなった。一方、FAによる耳介腫脹に及ぼすVR-1受容体拮抗薬capsazepineの影響を検討したところ抑制傾向が観察された。また、NGF低親和性受容体p75遺伝子欠損マウスを用いた検討では、野生型マウスに比し耳介腫脹の有意な低下が観察された。以上の成績より、FAはトルエンあるいはキシレンに比し、皮膚反応の惹起において、より重要なVOCsであることが明らかとなった。また、VR-1ならびに神経栄養因子などを介した神経原性炎症が本皮膚反応に関与していることが示唆された。

F. 健康危惧情報

特になし。

G. 研究発表

①学会発表

1) 田中宏幸、稲垣直樹、永井博式: ホルムアルデヒド反復塗布によるマウス皮膚炎モデルの解析 第17回日本アレルギー学会春季臨床大会シンポジウム7 シックハウス症候群の現状と展望 2005. 6. 2-4. 岡山

2) 齋藤朝香、柴田友徳、田中宏幸、稲垣直樹、永井博式: ホルムアルデヒド反復塗布によるマウスモデルの解析 第55回日本アレルギー学会総会 一般演題515 2005. 10. 20-22. 盛岡

②総説

田中宏幸、稲垣直樹、永井博式: シックハウス症候群の動物モデルの作成—神経・免疫学的機序から— アレルギーの臨床 25: 75-79: 2005.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

揮発性有機化合物がラット皮膚の神経原性血管透過性に及ぼす影響

—動物モデルを用いた検討—

分担研究者 坂本龍雄（名古屋大学大学院医学系研究科小児科学）

研究協力者 二村昌樹（名古屋大学大学院医学系研究科小児科学）

森井志歩（名古屋大学大学院医学系研究科小児科学）

白崎英明（札幌医科大学医学部耳鼻咽喉科学教室）

研究要旨

ラットの腹部皮膚にホルマリンやキシレンを塗布すると、皮膚知覚神経 C 線維終末部からタキキニン遊離し、急性の皮膚反応を惹起する。さらに、キシレン塗布による急性反応終息後には神経原性皮膚血漿漏出が亢進することが明らかとなった（平成 16 年度報告書）。このようなラットモデルに対し、知覚神経の過剰分布や過敏反応を抑制することによる止痒機序が報告されているタクロリムス軟膏を用いて、ホルマリン皮内注射による急性の皮膚血漿漏出反応（カプサイシンと同様、C 線維から遊離したタキキニンにより血漿漏出を引き起こす）に対してタクロリムスが及ぼす影響について検討したが、タクロリムス軟膏塗布は、キシレン塗布による神経原性の皮膚血漿漏出反応亢進を抑制した。また、タクロリムス軟膏塗布はキシレン塗布による急性の皮膚血漿漏出を抑制したが、対照として用いたカプサイシン塗布による皮膚反応では抑制効果がみられなかった。これらの結果は、タクロリムス軟膏には、皮膚に分布する知覚神経の過形成や過剰反応を制御することによって神経原性の皮膚反応を抑制する可能性を示唆するものである。また、キシレン塗布後の急性期の皮膚血漿漏出の抑制には、C 線維からのタキキニン遊離抑制以外の機序が介在すると考えられる。

A. 研究背景・目的

皮膚の刺激感や搔痒感がシックハウス症候群の代表的な症状であることから、室内環境中の揮発性有機化合物がこれらの皮膚症状を引き起こす可能性が予想される。昨年度のわれわれの研究結果より、ホルマリン、キシレン塗布はカプサイシン塗布と同様、皮膚知覚神経 C 線維終末部からタキキニンを遊離し、急性の皮膚反応（血漿漏出など）を惹起することが明らかとなった。また、キシレン塗布による急性反応消失から 12 日経過後、ホルマリンの皮内投与による皮膚血漿漏出が有意に増強されたが、ホルマリンは C 線維を特異的に刺激し、遊離したタキキニンにより血漿漏出を引き起こすことから、これは神経原性皮膚血漿漏出亢進の増強メカニズムを解析するためのラットモデルといえる (Fig 1)。

一方、アトピー性皮膚炎における慢性病変部位では健常部に比べて知覚神経の分

布が密になっているという報告がある。アトピー性皮膚炎の治療薬としてのタクロリムス軟膏は炎症性サイトカインの発現を阻害することによる抗炎症効果を有するが、同時にこうした皮膚知覚神経の過剰分布、過敏反応を抑制することによる止痒機序があることも報告されている。そこで今回、キシレン塗布による神経原性皮膚血漿漏出亢進の増強ラットモデルを用いて、タクロリムス軟膏の効果を検討した。さらに、キシレンによる急性の皮膚血漿漏出反応に対してタクロリムス外用が及ぼす影響についても検討した。

B. 研究方法

実験 1. キシレン塗布後にみられる神経原性皮膚血管透過性亢進の増強に対するタクロリムス外用の抑制効果の検討

5 週齢の Wistar 雄性ラットの腹部皮膚