

図3 症例1 7歳男児 起立試験

室内揮発性有機化合物高値、パラジクロロベンゼン濃度高値、赤血球コリンエステラーゼ低下例  
この例では、前頭部の所見が明らかで、後頭部では軽い変化がみられた。

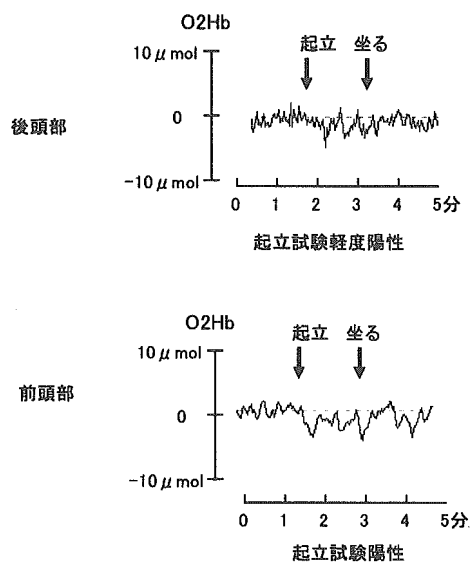


図4 症例3 8歳男児 起立試験

有機リン（ジクロロボス）曝露後赤血球コリンエステラーゼ低下例、後頭部で O2Hb 低下が著明。

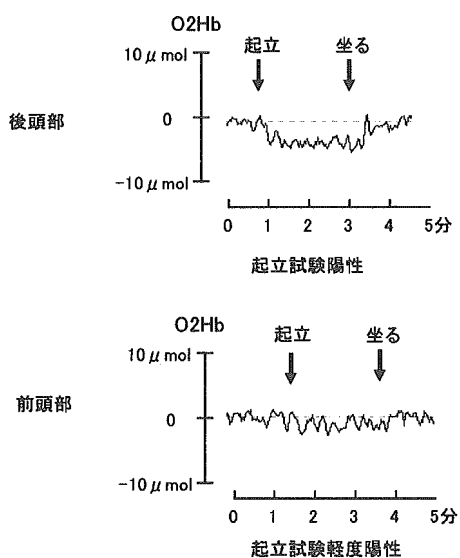


図5 症例5 18歳男性の起立試験、ガス吸入試験

ホルムアルデヒド吸入負荷陽性、2-エチル-1-ヘキサノール吸入負荷陽性、起立試験は吸入負荷後も陽性だが、悪化はみられなかった。

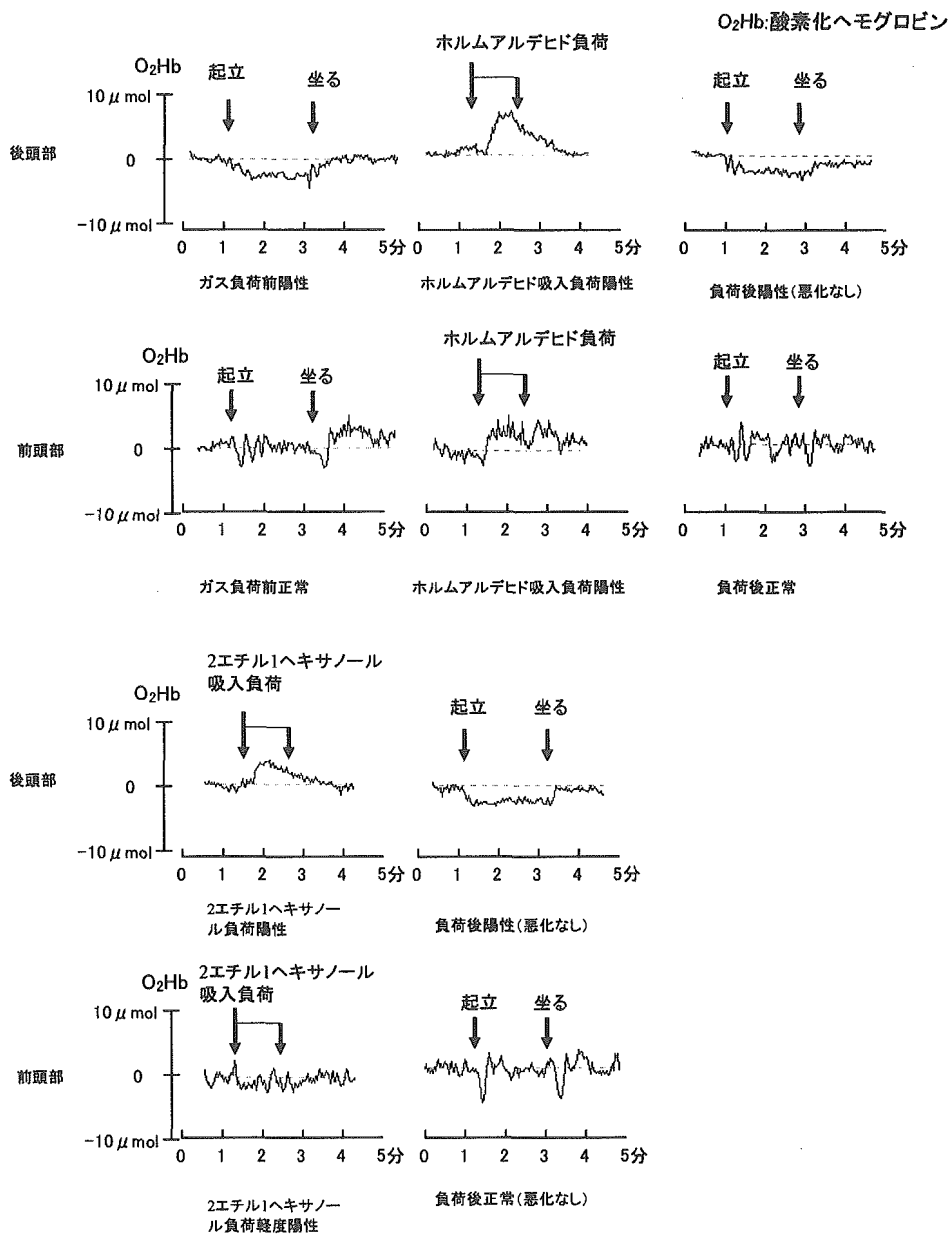
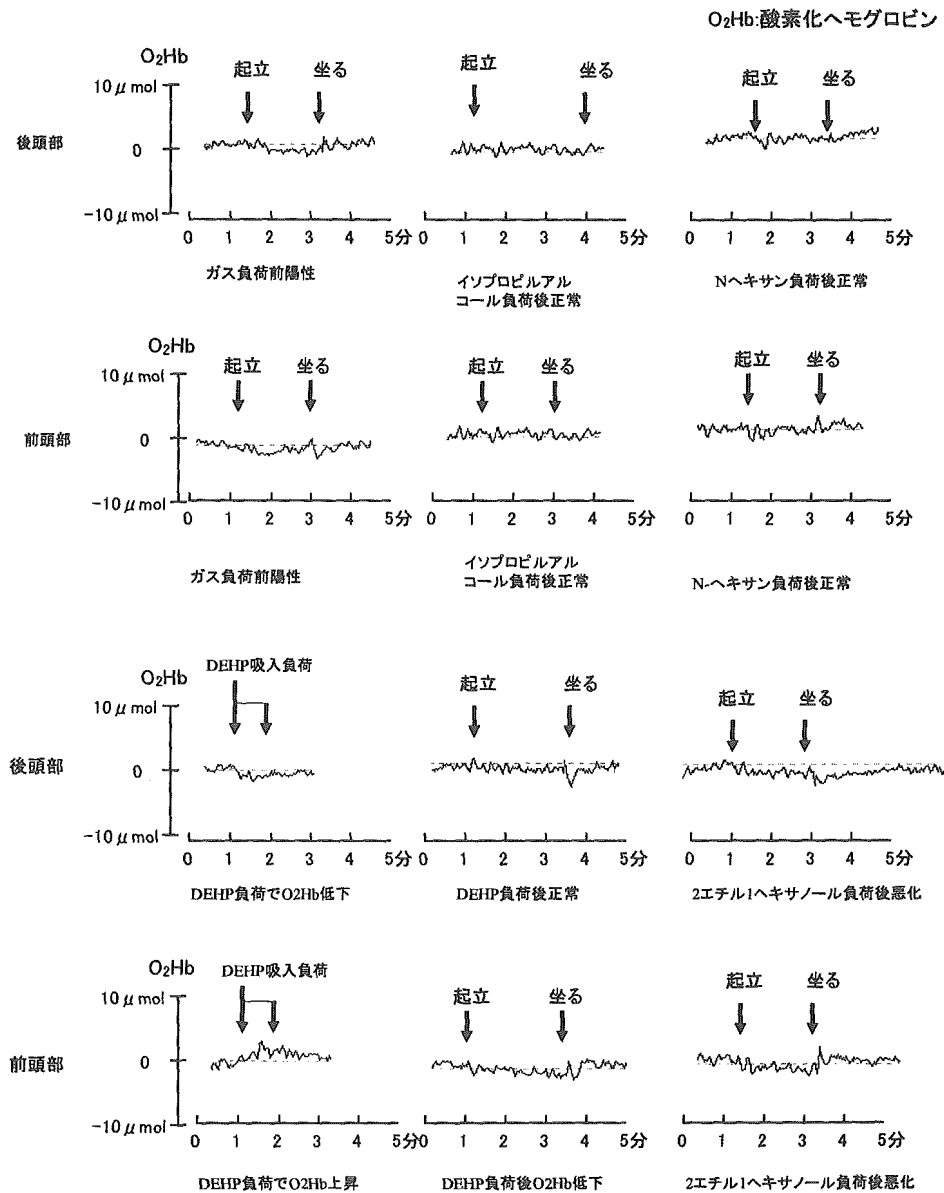


図6 症例2 34歳女性の起立試験、ガス吸入試験

DEHP 吸入負荷で陽性、起立試験は、吸入負荷前は陽性であったが、イソプロピルアルコール吸入後、N-ヘキサン吸入後は正常化し（マスキングと思われる）、DEHP、2-エチル-1-ヘキサノール吸入後起立試験が悪化し陽性化した。



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）  
「微量化学物質によるシックハウス症候群の病態解明、診断、治療対策に関する研究」  
分担研究報告書

研究テーマ： 室内化学物質が知能・認知能力、行動に及ぼす影響の  
評価方法に関する研究-微量化学物質によるシックハウス症候群が疑われる児童・生徒  
の心身の発達に関する調査研究（平成 17 年度報告）

分担研究者 上山真知子 山形大学地域教育文化部長

協力研究者 角田和彦 かくたこども&アレルギークリニック院長

栗山進一 東北大学医学部公衆衛生学講師

渡辺瑞香子 宮城厚生協会坂総合病院小児科医長

吉野博 東北大学大学院工学研究科都市建築学専攻教授

石川哲 北里研究所病院臨床環境医学センター

#### 研究要旨

目的：化学物質が神経発達に及ぼす影響を評価するため、新築家屋転居後、または改築後にシックハウス症候群を生じた児童・生徒の知能発達を調査研究した。方法：自宅室内化学物質濃度を測定したシックハウス症候群 27 例（男 14 例、女 13 例、WISC-III 実施時平均年齢：男 11 歳 6 ヶ月 ± 3 歳 9 ヶ月、女 11 歳 9 ヶ月 ± 3 歳 2 ヶ月）において、ウエクスラー式児童用知能検査第 3 版（WISC-III）を実施した。結果：全体平均では知能（FIQ）、言語性 IQ（VIQ）、動作性 IQ（PIQ）は全例正常範囲であったが、VIQ に比べて PIQ が統計学的な有意差をもって低下していた（ $p < 0.01$ ）。対象者を、経過不良群（A 群）と経過良好群（B 群）に分けて検討したところ、A 群は B 群に対して全体的に IQ、VIQ、PIQ すべてにわたり知能が低くなる傾向にあった（ $P < 0.01$ ）。また、経過不良群では、VIQ と PIQ の差がみられ（ $P < 0.01$ ）、学習障害と類似した傾向を示している可能性が示唆された。一方、経過良好群は、IQ のレベルはいずれも 100 を超えており、VIQ と PIQ に差はみられなかった。さらに、経過不良群では、半数で不登校などの学校への不応答がみられた。結論：小児のシックハウス症候群では、経過が不良な場合、長期的には WISC-III 知能検査による動作性 IQ の低下傾向がみられ、学校での適応にも影響する可能性が示唆された。検診の結果から、視覚器症状に伴う視知覚能力の低下が考えられ、こうした能力の低下は、発達途上にある子どもにとっては、深刻な影響をもたらす可能性が示唆された。今後、症例を増やし、さらに経過観察を続けながら、生活全般への指導や支援のあり方（室内空気質の改善、発達支援、コンサルテーションなど）を模索していく必要がある。

## A. 本研究の目的

2000年以來我々は、シックハウス症候群疑いの児童・生徒の心身の発達に関する調査研究を行い、以下の点を明らかにしてきた。

- 1、新築・リフォームに伴って室内で使用された化学物質が小児のアレルギー性疾患の病態を悪化させる<sup>1)、2)、3)</sup>、
- 2、室内の化学物質は知覚神経を刺激して脳内血流を変化させ、それらの変化は神経ペプチドやセロトニンに關係する可能性がある<sup>4)、5)、6)、7)、8)</sup>。

室内に存在する化学物質は神経系の興奮性を変化させる作用を有しており、小児の神経発達に影響を与える可能性がある。したがって、シックハウス症候群疑いの子どもを対象にして、心身の発達の状態を詳細に検討することが課題となった。

従来、神経系に対する及ぼす化学物質の影響については、成人の労働環境との関連で調査が行われている。それによると、視覚器症候群にとどまらず<sup>9)</sup>、精神症状の出現も報告している<sup>10)、11)</sup>。

子どもに対する化学物質による影響を検討した研究も、神経系および発達全般への影響を示す結果を得ている<sup>12)、13)</sup>。しかしこうした先行研究は、スクリーニング的な調査を主体としており、精度の高い知能検査等による評価を行った調査ではない。発達に対する影響を知るためには、精度の高い検査法を用いた調査を行うことが必要である。日本においても微量化学物質の曝露が問題になっており、こうした曝露が小児の神経発達にどのような影響を及ぼしているのか、早急に調査する必要がある。

我々は、2003年以來、個々の対象者に対し環境調査、医師による検診、臨

床心理士による発達調査を行ってきた。発達に関しては、知能検査を用いた調査と学校での生活中心とした聞き取り調査を行ってきた。本報告では、上記の調査結果をまとめ、微量化学物質の曝露が、子どもの神経系の発達に及ぼす影響について検討し考察することを目的とする。

## B. 研究方法

### B-1. 対象者 (表1)

2000年以來、本研究が調査してきた児童・生徒、27名を検討の対象とした。27名は、新築家屋に転居後、または、改築後にシックハウス症候群を生じたと判断されている。

シックハウス症候群の診断基準は①発病前に、繰り返し化学物質に曝露された、または、短期間に大量の化学物質に曝露された経験がある(新築家屋・改築後家屋への転居、新しい家具の購入後、仕事や趣味での化学物質使用など)、②その場を離れる、または、原因化学物質の曝露がなければ症状は一定改善される、③その場に行く、または、原因化学物質を曝露されると症状は再燃する、④いったん発病すると、他の場所や他の化学物質でも症状が誘発される、⑤症状は全身の臓器に広がり、多種の症状に進展していく、⑥症状は慢性的に経過する、以上の5項目を中心に表2の事項によって行なった。

対象者は、主治医の診察に加え、検診において、①眼球運動検査水平、②滑動性眼球運動垂直の検査を受け、眼科医による総合判定を受けた。

### B-2. 室内化学物質測定方法 (図1)

自宅の室内化学物質測定は2000年から2005年にかけて施行した。室内空気

中の化学物質サンプリングは、部屋の中央約1.2mの高さで行なった。アルデヒド類については、2000-2002年ではサンプラーにDNPHカートリッジ（Waters社製、Sep-Pak XPoSure Aldehyde Sampler）を用いて100ml/minの通気量で24時間アクティブサンプリング、2003年以後はサンプラーにDNPHカートリッジ（Waters社製、Sep-pak DNPH-Silica cartridge）を用いて24時間パッシブサンプリングし、アセトニトリルで抽出後、高速液体クロマトグラフにより定性・定量分析を行った。VOCは粒状活性炭チューブ（柴田化学機械工業株式会社製、Charcoal Tube Jumbo）にポンプを用いて、2000-2002年では300ml/min、2003年以降では500ml/minの通気量で24時間アクティブサンプリングし、二硫化炭素溶媒に抽出後、ガスクロマトグラフにより定性・定量分析を行った。測定した約40種類のVOC濃度の総和を総揮発性有機化合物（以下TVOC）とした<sup>8)</sup>。

測定は各家屋2-3室で行い、最高値をその家庭の代表値として統計解析に使用した。複数回測定している場合は、WISC-III検査実施に一番近い時期に測定したデータを使用した。化学物質測定からWISC-III検査実施までは、最短で6ヶ月、最長で2年6ヶ月を経ている。

### B-3. 頭部CT、脳波検査の実施

異常所見を有する症例は検討対象から除外した。

### B-4. 知能評価

知能評価は、ウエクスラー式児童用知能検査第3版 Wechsler Intelligence Scale for Children-Third

Edition(WISC-III)（日本文化科学社製 日本版 WISC-III知能検査）を使用した。WISC-IIIは5歳0ヶ月～16歳11ヶ月の児童・生徒を対象とした知能検査で、言語性IQ(Verbal Intelligence Quotient: VIQ)、動作性IQ(Performance Intelligence Quotient: PIQ)、全検査IQ(Full Scale Intelligence Quotient: FIQ)から成り立っている。点数は標準化されており、その年齢の各IQの平均は100、標準偏差は15になるように作られている。所要時間は、60分～70分である。知的発達の状態を評価点プロフィールで表示することで「個人内差」という観点から分析的に診断し、発達の遅れや偏りのある子どもの指導に有効な資料を提供することができる。

動作性検査は次の下位検査を行い、動作性IQ(PIQ)を求める。1-絵画完成、3-符号、5-絵画配列、7-積木模様、9-組合せ、11-記号探し、13-迷路。言語性検査は2-知識、4-類似、6-算数、8-単語、10-理解、12-数唱の項目を実施し言語性IQ(VIQ)を求める。下位検査を組み合わせる4領域の発達レベル（言語理解：知識・類似・単語・理解、知覚統合：絵画完成・絵画配列・積木模様・組合せ、注意記憶：算数・数唱、処理速度：符号・記号探し）を評価することができる。

検査は、シニアレベルの臨床心理士が行った。臨床心理士は、事前に被験者についての情報は知らされていなかった。また、検査中の様子を評価するため、被験者および保護者の了承を得た上で、テスト中の状態をVTRに記録した。

2003年9月、WISC-IIIを実施する発達相談室内の空气中化学物質を測定し、各化学物質とも低値であることを確認

した(表3)。また、かくたこども&アレルギークリニック検査室も室内濃度は厚生労働省指針値より低値であることを確認した。

#### B-5. 生育歴の調査

各被験児が知能テストを受けている間に、保護者の記入による形式で胎生期からの生育歴の調査を行った。項目は、以下の通りである。

①胎生期、周産期の経過、②乳児期の発達(定額、寝返り、始歩、夜泣きの有無、乳児健診での指導の有無など)、③乳児期の発達(3歳児健診での指導の有無、社会性の発達、熱性けいれんの有無などの既往について)、④学童期の発達(学習傾向、社会性、日常生活の様子など)、⑤中学生以上(学習傾向、日常生活の様子など)。

以上の調査、及び検査内容は、患者本人、または家族に説明し、十分に理解・納得し、承諾書にサインした後に実施された。

#### B-6. 分析対象者の選定(表4)

上記の調査及び検査は、主治医によって参加を勧められ、かつ、承諾書への署名を得た27名の対象者すべてに実施した。しかし、知能評価の結果の分析にあたり、他の疾患の可能性の排除、知能評価者へ対象者情報の排除を保つために、以下に該当する場合には、分析対象から除外した。

- ①IQ80以下(知的障害の可能性の排除) 2名
- ②胎生期の異常所見(切迫早産の加療など) 2名
- ③脳波異常の所見 3名

④重度のアトピー性疾患の存在 2名

⑤初回の検査時の年齢がWISC-Ⅲの対象外であった 1名

計10名を除外し、17名の初回のデータを本研究の分析対象者とした。

上記の手続きにより、・シックハウス症候群以外の要因に知能検査の結果が影響されない、・検査のブライント性を保つ、ことが可能になり、シックハウス症候群に特徴的な知的発達を捉えることが可能になると考えた。

対象者の内訳は、男11名、女6名で、平均年齢は11歳9ヶ月(±45.4ヶ月)であった。

### C. 研究結果

#### C-1. WISC-Ⅲの分析結果

1) 全体傾向(表5)

17名の平均IQは97.8(SD:11.23)、平均VIQは105.5(SD:11.23)、平均PIQは92.3(SD:13.76)であり、VIQとPIQには有意差が認められた(P値:0.011)。

2004年度の報告書にも示したように<sup>3)</sup>、対象児の知能発達は、生育歴、発達遅滞が認められないIQのレベルにあっても、PIQは有意に低いという結果だった。

2) 経過別の比較(表6、表7)

こうした傾向はすべての対象者に共通するものかどうかを確かめるために、対象者を群分けして比較することにした。

前述したように、知能テスト調査の対象者は全員、2003年から5年にかけて、主治医と眼科医あるいはどちらか一方による検診を受けており、また、室内の化学物質濃度の調査を受けている。この条件に基づき、眼科医(診断

1) か主治医 (診断 2) のどちらかが経過不良と診断した場合 (A 群) と、経過が良好であった場合 (B 群) とを比較した。診断方法は以下の通りである。

診断 1: 検診において、①眼球運動検査水平、②滑動性眼球運動垂直の検査を受け、眼科医による総合判定の結果。

診断 2: 主治医による診断。表 2 参照。

すべての対象者は、シックハウス症候群が疑われた後、主治医によって、生活環境や食生活の詳細な問診、諸検査が実施、シックハウス症候群と診断され、環境、食生活面での指導を受けている<sup>6)</sup>。B 群の対象者は、病態の改善がみられた群と考えられる。群分けした対象者個々の結果を、表 4 にまとめた。この分類に基づいて、再び、以下の点について検討した。

- ①A 群と B 群の IQ の比較 (表 6)
- ②A 群と B 群の VIQ の比較 (表 6)
- ③A 群と B 群の PIQ の比較 (表 6)
- ④A 群の VIQ と PIQ の比較 (表 7)
- ⑤B 群の VIQ と PIQ の比較 (表 7)

その結果、異常ありと診断された A 群は、B 群に対し、FIQ (P 値: 0.0003)、VIQ (P 値: 0.019)、PIQ (P 値: 0.0023) の値がすべて有意に低かった。

また、A 群の PIQ は VIQ に対して有意に低かったが (P 値: 0.003)、B 群では VIQ と PIQ に差はなかった (P 値: 0.132)。

A 群、B 群ともに、FIQ は正常範囲にあるものの、A 群の FIQ は B 群に比して低く、この傾向は特に PIQ において著しかった。

A 群の VIQ はほぼ標準的な値を示したが、PIQ は、平均の下位にあたるレベルぎりぎりのところに位置する低さであり、VIQ と PIQ の差は、学習障害とみなされるレベルであった。

B 群の IQ、VIQ、PIQ はいずれも 100

を超えており、PIQ と VIQ の差もなかった。

PIQ 項目うち、どこに落ち込みがあるかを検討したのが、図 2 である。動作性知能の各項目を平均し、グラフに示した。この結果、A 群では特に、迷路課題の得点が低かった。6 番の記号探しと 7 番の迷路は予備問題であり、動作性知能の算定には加えられない。B 群が迷路項目で標準の 10 ポイントを得ていることを考えると、A 群と B 群の PIQ には、さらに差があることが予想される。

## C-2. 生育歴と日常生活

分析対象となった 17 例には、乳児期からの発達に所見は認められなかった。生活状況も年齢相応で、就寝、起床時間共に極端な逸脱はなかった。

## C-3. 学習傾向 (表 4)

表 4 に苦手な科目を示した。A 群、B 群ともに、個別の教科ではなく、漢字の書き取り、中学生以上では英語のスペリングに苦手意識を持っていた。

## C-4. 学校での適応 (表 4)

表 4 に示したように、A 群の対象者のうち、半数は不登校状態で、学校での生活に適応していないという結果だった。

## C-5. 環境の状態 (表 4)

表 4 に TVOC の結果を示した。A 群で基準値以下が 1 例、B 群で基準値以上が 2 例あったが、平均すると A 群の値は  $1003.098 \mu\text{g}/\text{m}^3$  と厚生労働省の TVOC 目標値 ( $400 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) を大幅に超え、B 群の平均値  $324.0278 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (基準値以下) に対して 3 倍の測定値を示した。



#### D. 考察

2000年度以来の調査で、我々は、シックハウス症候群と診断された児童・生徒の知能検査の結果は、動作性IQ (PIQ) が低くなる傾向にあることを示してきた。平均するとこうした傾向があるが、対象者によっては、言語性IQ (VIQ) と動作性IQ (PIQ) に差が認められないケースもあった。

今回の報告で、我々は、医師による検診の結果、経過不良と診断された群と経過良好群との比較を試みた。その結果、経過不良群においてのみ、動作性IQ (PIQ) に学習障害ともいえるほどの落ち込みがみられ、良好群に比べて知能全般が低いという結果だった。知能検査実施の時期が医師の診断結果に先行していた症例もある。しかし、知能検査実施時点で先行してすべての対象者は、主治医の診察を受けていた。知能検査に先行して実施された環境測定によると、経過不良群のTVOCは良好群に比べると高く、環境の改善が進んでいない状態を示しており、医師の診断と相応する結果だった。環境の改善と知能の関係については、今後、測定、検診結果と随時対応させながら、各症例について経年的に経過観察する必要がある。

日常生活をみると、経過不良群は、学校での適応も悪く、不登校傾向の症例が半数を占める結果だった。

今回の分析では、胎生期の問題や、脳波異常などの神経学的な問題で、発達に影響する要因を持つ症例を除外している。乳児期からのエピソードを見る限り、B群のPIQレベルの発達の問題に影響したと考えられる要因は、シックハウス症候群が最も有力であった。B群では全体のIQと言語性IQは標準範

囲内で遅滞を示す値ではなかったが、動作性IQは年齢の子どもの認知能力に比べると、80%のレベルであることがわかった。全体のIQが正常範囲にあるものの、動作性IQに関わる領域の学習では平均よりも能力が落ちている可能性が考えられる。シックハウス症候群の子どもたちは、不得手な学習を問われたとき、漢字の書き取りやスペリングを挙げたが、視覚弁別、視覚記憶、模写といった視覚器に関わる認知能力に化学物質の曝露の影響が現れている可能性がある。これは、成人で調査した<sup>8)</sup>視覚器症候群での結果にも呼応するものである。

本研究では、子どもの場合、化学物質の曝露が視覚器症候群様の状態をもたらし、その結果、視覚認知の発達に影響を及ぼしている可能性があることを明らかにした。視覚認知の発達への影響は、漢字やスペリングなどの学習領域での問題に波及する。全体的な知的能力では年齢相応であるにもかかわらず、ある特定の領域で期待される学習成果を達成することができない可能性が生じる。いわば、学習障害のような状態になるわけだが、書字での不具合は学習全般の遅れに影響する可能性があり、達成感の不全と低い自己評価となる。発達途上の子どもたちにとっては深刻な問題につながる可能性があり、経過不良群の不登校傾向の要因になっていた可能性も考えられる。このように、子どもの場合、化学物質の曝露は体調全般に影響するだけでなく、視覚器症状が、知的・精神的発達全般に影響する危険性がある。

一方、今回、経過良好と診断された子どもたちも、漢字やスペリングに苦手意識を持っていた。しかし、不登校

にいたることはなく、それぞれ学習生活場面での適応も良好だった。このように、シックハウス症候群と診断されても、主治医の指導のもとに、化学物質の濃度を低値に保ち、食生活に留意し、化学物質の取り込みのリスクを抑えた場合には、発達での経過も良好になることが示唆された。

医師による診察、環境測定、心理検査、日常生活や学習状況の聞き取り、という手続きを組み合わせることで、シックハウス症候群の予後の見通しを得ることができると考えられる。

## F. まとめ

我々の研究は、発達途上の子どもたちの化学物質の曝露は、視覚器症状に留まらず、発達全般に影響する可能性のあることを示した。

シックハウス症候群の子どもたちで、経過が不良な場合には、遅滞というほどではないにしても、知的発達に偏りが生じ、本来の能力に見合った学習結果を達成できない危険性があることを示した。

しかし、居住環境や生活状態の改善などによって経過が良好な場合には、発達の経過も良好であることが示唆された。今後、医師による検診、環境改善の進行と発達の関係について、各事例について経過観察を続け、検討することが課題となる。

さらに、発達検査、知能検査を含めた心理学的な対応を行いながら、本来の能力の発達を促すためのコンサルテーションを行うことが必要となろう。発達への支援を視野に入れた対応について検討することは、今後の課題である。

## 参考文献

- 1) 角田和彦、その他：新築・リフォームに伴って室内で使用された化学物質が小児のアレルギー性疾患の病態に及ぼす影響. 平成 12 年度～14 年度厚生労働科学研究費補助金健康科学総合研究事業-シックハウス症候群の病態解明、診断治療法に関する研究-総括・分担研究報告書（主任研究者石川哲）：119-141、2003
- 2) 角田和彦、その他：室内化学物質が知能・認知能力、行動に及ぼす影響の心身の発達に関する調査研究（平成 16 年度中間発表）. 平成 16 年度厚生労働科学研究費補助金健康科学総合研究事業-シックハウス症候群の病態解明、診断治療法に関する研究-総括・分担研究報告書（主任研究者石川哲）：101-120、2004
- 3) 角田和彦、その他：室内化学物質が知能・認知能力、行動に及ぼす影響の心身の発達に関する調査研究（平成 16 年度中間発表）. 平成 16 年度厚生労働科学研究費補助金健康科学総合研究事業-シックハウス症候群の病態解明、診断治療法に関する研究-総括・分担研究報告書（主任研究者石川哲）：105-128、2005
- 4) 角田和彦、吉野博、天野健太郎、松本麻里、北條祥子、石川哲：新築・リフォームに伴って室内で使用された化学物質が小児のアレルギー疾患の病態に及ぼす影響. 臨床環境医学 13 : 36-34、2004
- 5) 角田和彦：シックハウス症候群とシックスクール症候群：小児科の見地から. アレルギー・免疫 10 巻 : 1595-1604. 2003
- 6) 角田和彦、吉野博、天野健太郎、松本麻里、北條祥子、石川哲：子供のシックハウス症候群. 臨床環境医学 13 : 85-92、2004
- 7) 角田和彦、他：近赤外線脳内酸素モニターによるシックハウス症候群の診断. 臨床環境医学 12 : 15-26、2003
- 8) 角田和彦、その他：シックハウス症候群の診断と経過観察-クリーンルームでない一般検査室で実施した近赤外線脳内酸素モニターによるガス吸入負荷試験（ポリ袋を使った簡易吸入法）と起立試験の有用性の研究. 平成 12 年度～14 年度厚生労働科学研究費補助金健康科学総合研究事業-シックハウス症候群の病態解明、診断治療法に関する研究-総括・分担研究報告書（主任研究者石川哲）：142-183、2003
- 9) Dementi B.:Ocular : Effects of orgnophoshates; a historical perspective of Saku disease. [ Review] Journal of Applied Toxicology.14(2):119-29, 1994
- 1 0) Dick RB. Steenland K. Krlg EF. Hines CJ.: Evaluation of acute sensory-motor effects and test sensitivity using termiticide workers exposed to chlorpyrifos. Neurotoxicology & Teratology. 23(4):381-93,2001 Jul-Aug
- 1 1) Canto-Perira LHM. Lago M. Costa MF. Rodrigues AR. Saito CA. Silveria LCL. Ventura DF.:Visual : Impairment on dentists related to occupational mercy exposure. Environmental Toxicology and

Pharmacology. 19(3):517-22, 2005

May

- 1 2 ) GuletteEA. MezaMM. Aquilar  
MG. Soto AD. Garcia IE.:An  
anthropological approach to the  
evaluation of preschool children  
exposed to pesticide in Mexico.  
Environmental Health  
Persoective.106(6):347-53,1998
- 1 3 ) Landrigan PJ. Claudio L.  
Markowitz SB. Brenner BL. Wetmur  
JG. Matte TD. Gore AC, Godboid JH.  
Wolf MS.: Pesticides and inner city  
children; exposures ,risk, and  
prevention.: Environmental Health  
Perspectives.107 Suppl 3:431-7,1999

表1 対象者内訳

	人数	平均年齢	±
男	14	11歳6ヶ月	3歳9ヶ月
女	13	11歳9ヶ月	3歳2ヶ月

表2 シックハウス症候群・化学物質過敏症診断基準 (かくたこども&アレルギークリニック)

<p>1) 以下の状態であり、かつ、他の慢性疾患が除外されていること</p> <p>①発病前に、繰り返し化学物質に曝露された、または、短期間に大量の化学物質に曝露された経験がある (新築家屋・改築後家屋への転居、新しい家具の購入後、仕事や趣味での化学物質使用など)</p> <p>②その場を離れる、または、原因化学物質の曝露がなければ症状は一定改善される</p> <p>③その場に行く、または、原因化学物質を曝露されると症状は再燃する</p> <p>④いったん発病すると、他の場所や他の化学物質でも症状が誘発される</p> <p>⑤症状は全身の臓器に広がり、多種の症状に進展していく</p> <p>⑥症状は慢性的に経過する</p> <p>2) 症状(以下のようなものを中心にあらゆる症状が起こる)</p> <p>①末梢神経・中枢神経系の症状:頭痛、吐き気、立ちくらみ、視力低下、精神的な不安定、不眠、全身疲労感など</p> <p>②アレルギー性疾患の悪化、または、発病:気管支喘息、アトピー性皮膚炎、じんましん、アレルギー性鼻炎、アレルギー性結膜炎など</p> <p>③粘膜刺激症状:目のちかちか、目の痛み、鼻水、鼻閉、鼻粘膜の痛み、喉の痛み、咳、痰など</p> <p>3) 上記に加えて、以下で所見があれば確定</p> <p>①症状出現場所では、環境中化学物質測定で化学物質濃度が高値である (シックハウス症候群・シックスクール症候群)</p> <p>②近赤外線脳内酸素モニターNIRO300による化学物質吸入負荷試験で陽性 (化学物質吸入負荷試験、起立試験)</p> <p>4) 以下で所見があれば疑いが濃厚</p> <p>①QEESI問診票で化学物質過敏症の疑いが持たれる</p> <p>②滑動性眼球運動、瞳孔反応に異常がある</p> <p>③赤血球コリンエステラーゼが低値(1.7単位未満)など</p> <p>5) 以上の状態が</p> <p>①新築家屋・改築後家屋に関連して起きた場合はシックハウス症候群・シックスクール症候群とする</p> <p>②極微量の化学物質(指針値以下の微量)でも症状が誘発され、末梢神経・中枢神経系の症状を伴う場合は化学物質過敏症とする</p>
---

図 1

2000-2002 年度 測定方法

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

2003 年度～ 測定方法

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

表 3 WISC-IIIを実施する発達相談室の室内化学物質濃度は低値であった。

測定箇所	発達相談室	診療室	待合室	スタッフルーム	外気	室内濃度指針値(両単位の換算は、25°の場合による)	
測定時平均温度	24.5	23.2	24.8	26.1	19.3		
測定時平均湿度	58.8	60.3	57.6	53.1	82.1		
濃度							
2-エチルヘキサンール	1.3	12.8	24	36.3	0.2未満		
トルエン	1.3	8.5	9.3	17	1.3	260 μg/m <sup>3</sup> (0.07ppm)	
キシレン	0.7	8.4	4.8	9.9	0.8未満	870 μg/m <sup>3</sup> (0.20ppm)	
エチルベンゼン	0.6	3.4	2.8	9.5	0.4	3800 μg/m <sup>3</sup> (0.88ppm)	
ステレン	0.2未満	0.2未満	0.2未満	0.2未満	0.2未満	220 μg/m <sup>3</sup> (0.05ppm)	
1,4-ジクロロベンゼン	0.3	0.9	1.6	1.2	3	240 μg/m <sup>3</sup> (0.04ppm)	
テトラドカン	1.1	22.6	20.5	29.1	0.3未満	330 μg/m <sup>3</sup> (0.04ppm)	
ノナナール	1.4	5	4	7.7	3.8	41 μg/m <sup>3</sup> (7.0ppb) (情報量が乏しいことから暫定)	
ホルムアルデヒド	9.4	19.1	31.7	45.9	2.7	100 μg/m <sup>3</sup>	
	ppm	0.008	0.015	0.026	0.037	0.002	0.08ppm
アセトアルデヒド	0.0	14.2	15.7	25.7	1.5	48 μg/m <sup>3</sup>	
	ppm	0.000	0.009	0.010	0.016	0.001	0.03ppm

□ スナイ換気扇 機動中
□ 換気扇停止中
□ 換気扇停止中
□ 換気扇停止中

表 4 分析対象者のプロフィール

	入居年 齢(歳)	診断1	診断2	TVOC( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	FIQ	VIQ	PIQ	不得意 科目	その他
<b>A 群</b>									
性別(年齢)									
1 M(5:10)	0	P	P	1863.1	83	101	66		
2 M(16:5)	13	NP?	P	1005.0	92	103	82	化学	不登校
3 M(6:5)	2	P	P	186.3	95	110	79	漢字	
4 M( 9:7)	6	P	P	1271.7	89	95	85	漢字	不登校
5 M(16:1)	8	P	P	799.0	90	91	93	漢字	不登校
6 F(7:3)	0	P	P	622.5	95	104	86	音楽	
7 F( 11:7)	8	NP	P	1005.0	90	95	87	算数	
8 F( 14:4)	14	—	P	1271.7	80	81	83		不登校
<b>B 群</b>									
性別年齢									
1 M(9:11)	0	NP?	NP	164.1	108	109	104	漢字	
2 M(16:6)	10	NP?	NP	164.1	115	119	108	特になし	
3 M( 9:3)	3	NP	NP	347.5	112	123	97	算数	
4 M(15:8)	8	NP	NP	1257.4	95	92	103	漢字スペル	
5M(13:11)	7	NP	NP	129.0	111	114	106	漢字	
6 M(11:1)	5	NP	NP	165.0	109	106	110	漢字	
7 F( 7:4)	5	NP	NP	588.0	86	103	71		
8 F( 14:4)	3	NP?	NP	164.1	110	109	110	スペル	
9 F(15:7)	4	NP	NP	387.1	104	106	100	体育	

註 M:男児 F:女児

診断結果 NP:経過良好 P:経過不良

診断1:眼科医による総合診断

①眼球運動検査水平、②滑動性眼球運動垂直の検査後、眼科医による総合判定の結果

診断2:主治医による総合診断(表2参照)

表5 IQ、VIQ、PIQの全体平均)と(VIQ、PIQの比較)

	全体平均	SD	P 値
FIQ	97.88	10.9	
VIQ	103.55	9.97	0.01
PIQ	92.29	13.76	

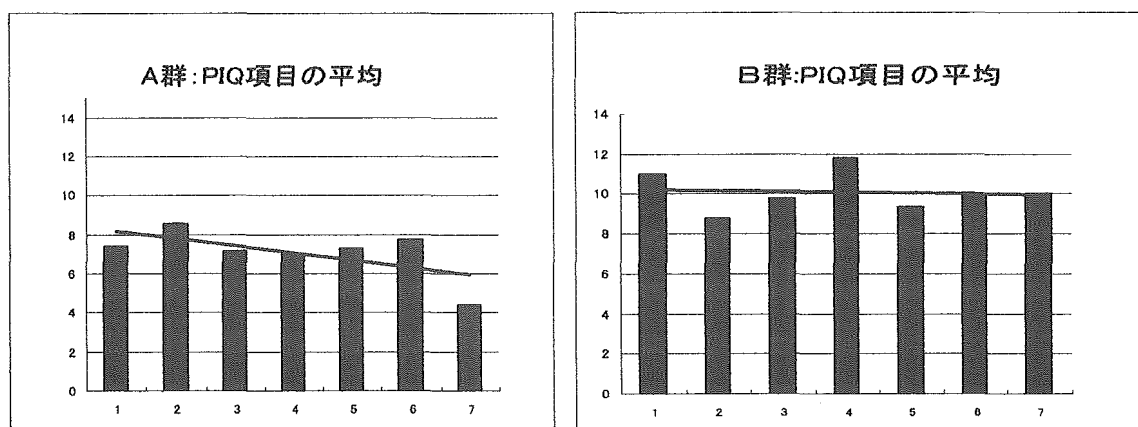
表6 群間の比較：A群とB群のIQ、VIQ、PIQの比較

	A 群(SD)	B 群(SD)	P 値
FIQ	89.2(5.14)	105.5(8.79)	0.0003
VIQ	97.5(8.79)	109(8.79)	0.0199
PIQ	82.6(11.8)	101(11.8)	0.0023

表7 群内の比較：A群、B群それぞれのVIQとPIQの比較

	VIQ	PIQ	P 値
A 群	97.5(9.0)	82.6(7.8)	0.003
B 群	109(11.9)	101(12.8)	0.132

図2 A群、B群のPIQ項目平均の傾向



註 横軸：PIQの項目(1 絵画完成 2 符合 3 絵画配列 4 積木模様 5 記号探し 6 迷路)  
縦軸：PIQ項目の得点



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）  
「微量化学物質によるシックハウス症候群の病態解明、診断、治療対策に関する研究」  
分担研究報告書

シックハウス症候群に関する遺伝要因に関する研究

分担研究者	東海大学医学部基礎医学系	木村 穰
研究協力者	東海大学医学部基礎医学系	松坂 恭成
研究協力者	東海大学医学部基礎医学系	猪子 英俊
研究協力者	東海大学医学部教育支援センター	津田 道雄
研究協力者	東海大学医学部基礎医学系	大久保朋一
研究協力者	北里研究所病院臨床環境医学センター	石川 哲
研究協力者	北里大学薬学部	坂部 貢
研究協力者	青山内科小児科病院	青山 美子
研究協力者	かくたこども&アレルギークリニック	角田 和彦

研究要旨

シックハウス症候群の遺伝要因を追求するために、本年度は昨年度に引き続き NTE 遺伝子を疾患感受性候補遺伝子とし遺伝学的相関解析を行った。53 遺伝子座について、シックハウス症候群患者集団および健常者集団を用いて有意差検定を行った結果、エクソン 2 において統計学的有意差を示す対立遺伝子や遺伝子型が見出された。さらに、この遺伝子座の上流に存在する 2 つの遺伝的多型部位を含む領域においてハプロタイプ解析を行った結果、対立遺伝子頻度および遺伝子型頻度において相関の得られた対立遺伝子を含むハプロタイプ TCC には、その頻度が健常者集団に比べてシックハウス症候群集団において統計学的に有意に増加していた ( $P=0.000005$ )。さらに、リンパ球における NTE 酵素活性を測定した結果、健常者集団に比べてシックハウス症候群集団における NTE 酵素活性が有意に増加していた ( $P=0.0005$ )。

A. 研究目的

シックハウス症候群は、ホルムアルデヒドや有機リン系の殺虫剤等の様々な揮発性有機化合物がその発症に関与していることは疑いが無いが、この疾患の

りやすさ（感受性）に個人差があることも事実である。このような疾患感受性は、現在では遺伝子型の違いによって説明することができる。

一般にヒト疾患は遺伝要因と環境要因の組み合わせによって規定されると考えられるが、現在までに進められてきたヒト疾患の遺伝要因の解析は、連鎖解析（Linkage analysis）による単純なメンデル遺伝を示す単一遺伝性疾患に限定されていた。しかしながら、複数の遺伝的要因が関与する複合性遺伝疾患あるいは、人類集団中において高頻度で見出される通常疾患の感受性遺伝子についても、高密度な遺伝的多型マーカーを用いた遺伝的相関解析（Association study）を行うことによって、その疾患感受性遺伝子を同定できる可能性が示された。

シックハウス症候群についても、種々の揮発性化合物に対する症状が調べられており、複数の遺伝的効果が複雑に作用している複合性遺伝疾患であると考えられる。このような疾患については、高度に多型性を示す遺伝的マーカーをヒトゲノム上に高密度に配置し、これらの遺伝マーカーを用いた相関解析によってその遺伝要因を明らかにすることができる可能性がある。

遺伝的相関解析には、全ゲノム領域を対象として位置的情報のみを手がかりに遺伝的要因を明らかにする方法と、現在までにその遺伝子の機能が解明されており疾患との関連性を考慮して候補遺伝子を選

定する、すなわち機能的情報を手がかりに遺伝的要因を明らかにする方法があるが、本研究では後者の方法によってシックハウス症候群の遺伝的要因に関する情報を蓄積することを目指した。

シックハウス症候群の候補遺伝子として、*NTE* (Nueropathy target esterase) 遺伝子を選定した。ヒトにおいて、有機リンや化学物質の暴露によって生ずる神経性の疾患が湾岸戦争での兵士や慢性的に化学物質に暴露されたヒトにおいて報告されているが、これは有機リンが *NTE* と反応することによって引き起こされると考えられている（文献1）。*Nte* 遺伝子欠損マウスは、ホモ型欠損マウスにおいては胎児期に死亡してしまう。一方、*Nte*+/-マウスでは野生型マウスに比べて多動であることが報告された。また、野生型マウスに *Nte* の阻害物質である EOPF (ethyl octylphosphonofluoridate) を少量加えた場合もまた同様に、多動性が著しく高くなることも報告された。このようなことから、*Nte* 活性の阻害が遺伝的にも化学的にも神経毒性的効果に影響を与えていることが明らかにされた（文献2）。

そこで、シックハウス症候群患者集団および健常者集団において、*NTE* 遺伝子領域に存在する遺伝的多型の対立遺伝子頻度および遺伝子型頻度を解析することによって、*NTE* 遺伝子とシックハウス症候群との関連を明らかにすることを目的とした。

本疾患は、その原因因子として環境要因の特定およびその基準値の設定を明確にしなければならないという問題があるが、本疾患の感受性の違いを明らかにすることは、本疾患の発症および病態を解明し、治療法を開発するための手がかりとなると思われる。したがって、本疾患に関連性が高いと予想される遺伝子を科学的根拠に基づいて選定し、その遺伝子と本疾患との関連を詳細に解析することは、本疾患の病因および発症における重要な事実を蓄積することができると思われる。

本年度は昨年度に引き続き、*NTE* 遺伝子領域を遺伝的多型の連鎖不平衡によって網羅的に解析するためにさらに高密度な遺伝マーカーの設定を行い、シックハウス症候群集団および健常者集団を用いた関連解析によって各遺伝的多型マーカーの対立遺伝子頻度について有意差検定を行い、疾患との関連性を解析した。さらに、それぞれの遺伝的多型間の連鎖不平衡値の算出により、ハプロタイプの推定を行い、シックハウス症候群集団および健常者集団におけるハプロタイプ頻度についての有意差検定を行った。また、ヒトリンパ球における *NTE* タンパク質の酵素活性の測定系を確立し、シックハウス症候群集団および健常者集団における *NTE* タンパク質の酵素活性についての有意差検定を行った。

## B. 研究方法

### 1) DNA の抽出

北里研究所・北里研究所病院の協力により、インフォームドコンセントの得られたボランティアより末梢血の採取を行った。採血管はヘパリンがその後の酵素反応に影響を与えるためクエン酸主体のものを使用し、10ml を採血した。このうち 0.4ml を用いて、カートリッジ（キアゲン社）による DNA の抽出を行った。得られたゲノム DNA をアガロースゲル電気泳動によりゲノム DNA の定性的判定を行った。さらに、吸光度を測定して DNA 濃度を算出した。各試料はコード化をはかり、特定の個人情報とは簡単に連結できないように配慮した。個人情報管理は東海大学医学部個人情報管理部で管理されている。

### 2) DNA 配列情報および一塩基置換 (SNP) の検索

*NTE* 遺伝子のゲノム領域内において SNPs の検出を行うために、この遺伝子領域を含むゲノム DNA の配列情報が必要となる。ヒトゲノム配列は、GenBankDNA database (<http://www.ebi.ac.uk/embl/>, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=Nucleotide>) より入手した。得られたゲノム配列について、*NTE* 遺伝子のエクソン、イントロン、プロモーター領域を明らかにした。SNP のなかには、調節領域に

存在する rSNP(regulatory SNP)やコーディング領域に存在する cSNP(coding SNP), イントロン領域に存在する iSNP(intron SNP), 遺伝子間の介在領域に存在する gSNP(genomic SNP)がある。これらのうち、直接的に表現型に影響を与える SNPs は、rSNP、cSNP、iSNP であり、予めこれらの情報を整理しておくことは、疾患感受性遺伝子のマッピングするうえで大変重要である。

現在までにヒトゲノム上で見い出された SNP についてはデータベースに登録されており、NTE 遺伝子領域に存在する SNP についてもこのデータベースを検索することによって SNP の位置を明らかにした (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>)。

### 3) プライマーの設計

PCR プライマーの設計は、PCR に適した条件を考慮するソフトウェアである「Primer Express」を用いて、SNP を挟み込むようにフォワードプライマーとリバースプライマーの 2 種類のプライマーを各 SNP ごとに設計した。このソフトウェアは PCR の適した条件の必要事項である Tm 値、GC 含量、プライマー配列の 2 次構造等を考慮してプライマー配列を選定できるが、反復領域やゲノム上に類似した配列がある場合あるいはプライマー配列内に多型がある場合には PCR 増幅が阻害されるため、できる限り配列情報の検索を行っておくことが重要であり、この点にも

留意した (表 1 参照)。

### 4) PCR 増幅

ゲノム DNA 10ng を鋳型としてサーマルサイクラー 9700 (ABI 社) を用いて PCR 反応を行い、SNP を含むゲノム領域の増幅を行った。増幅断片を 2.0%アガロースゲル電気泳動等によって確認した。このとき、予想されるサイズの DNA 断片が検出されなかったり、非特異的 DNA 断片が検出された場合は、PCR 増幅サイクルのうち、アニリング温度あるいは伸長反応の時間を検討することによって特異的な DNA 増幅の検出を確認した。SNP 検出は、最終段階の塩基配列の決定において偽陽性あるいは偽陰性が検出される場合があるため、PCR 増幅条件を十分に検討した。

### 5) 塩基配列の決定

増幅 DNA 断片を Exonuclease I および Shrimp Alkaline Phosphatase によって精製後、PCR 増幅に用いたプライマーを用いてサイクルシーケンシングを行う。反応後、シーケンシング産物を精製して ABI3100 シーケンサーによって塩基配列の決定を行った。明確な波形データが得られない場合は、入れ子 (nested) プライマーを用いて再度サイクルシーケンシングを行った。

### 6) ハプロタイプ解析

連鎖不平衡値の算出およびハプロタイプの推定は、Haploview (<http://www.broad.mit.edu/mpg/hap>