

× 100



× 1500

写真2: 家兔毛様動脈組織

直径: 100 μ m程度の微小血管であるが内皮、内弾性板、平滑筋細胞とも規則正しく配列

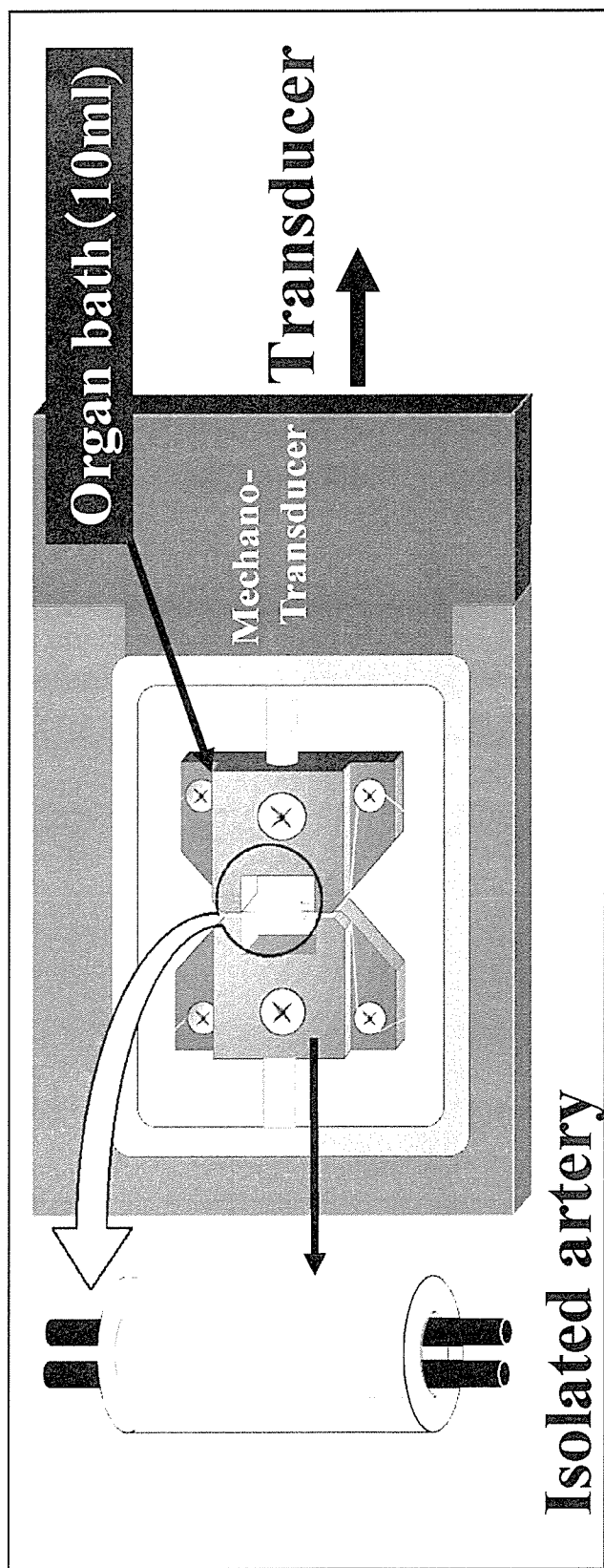


图3：毛様動脈条片懸垂方法

Carbachol control

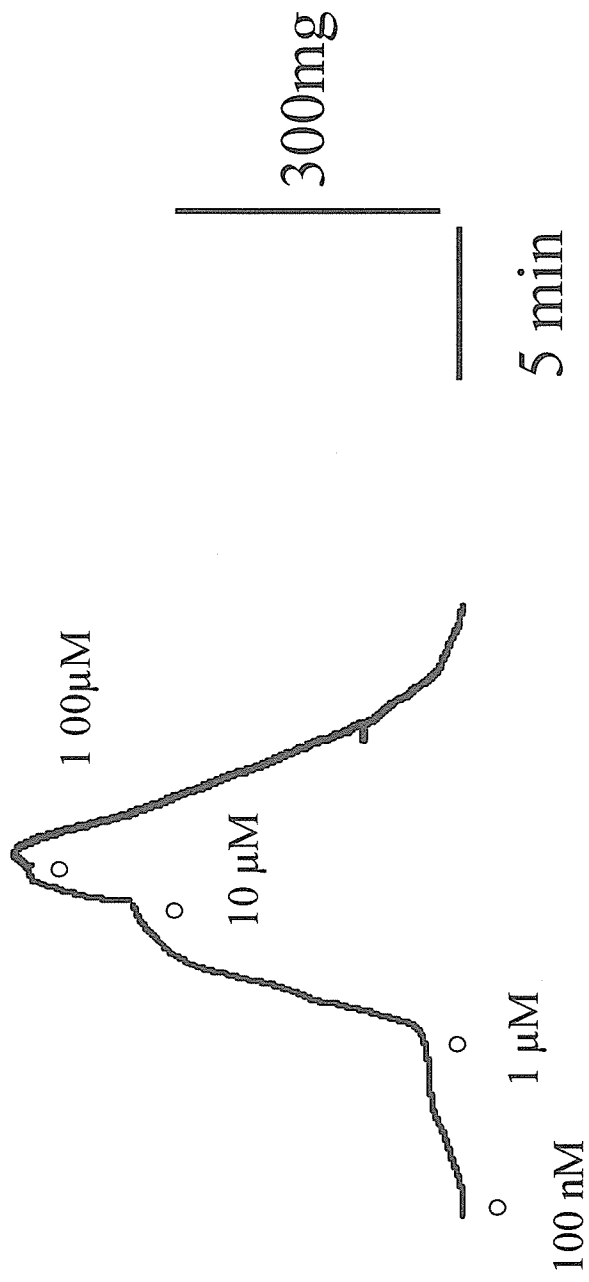
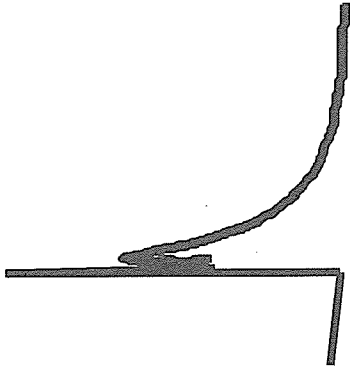


図4: 瞳孔括約筋におけるCarbacholの収縮



Control



tetrodotoxin 1 μ M

300 mg

5 min.

図5：瞳孔括約筋におけるフィールド刺激の収縮とテトロドトキシンの抑制

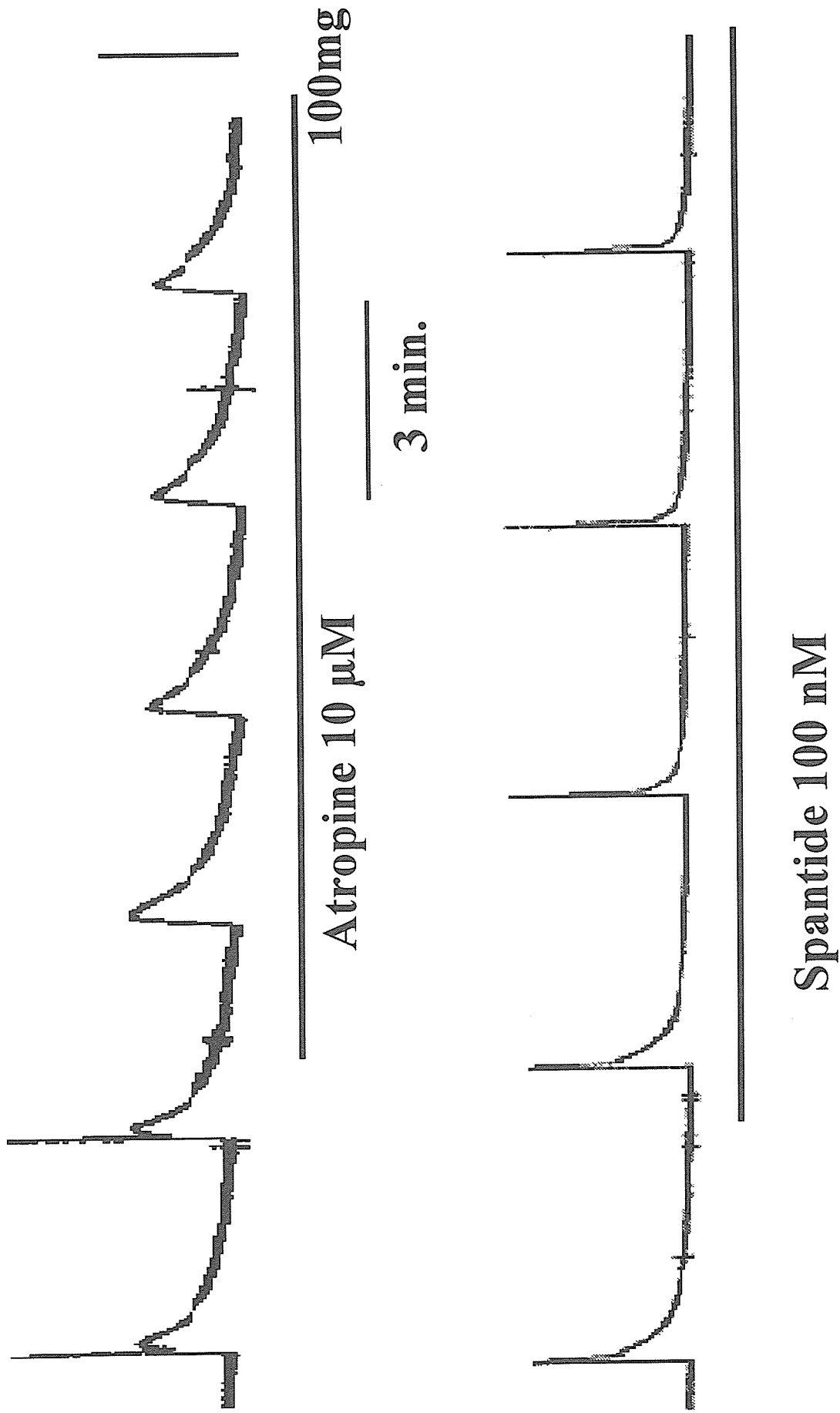
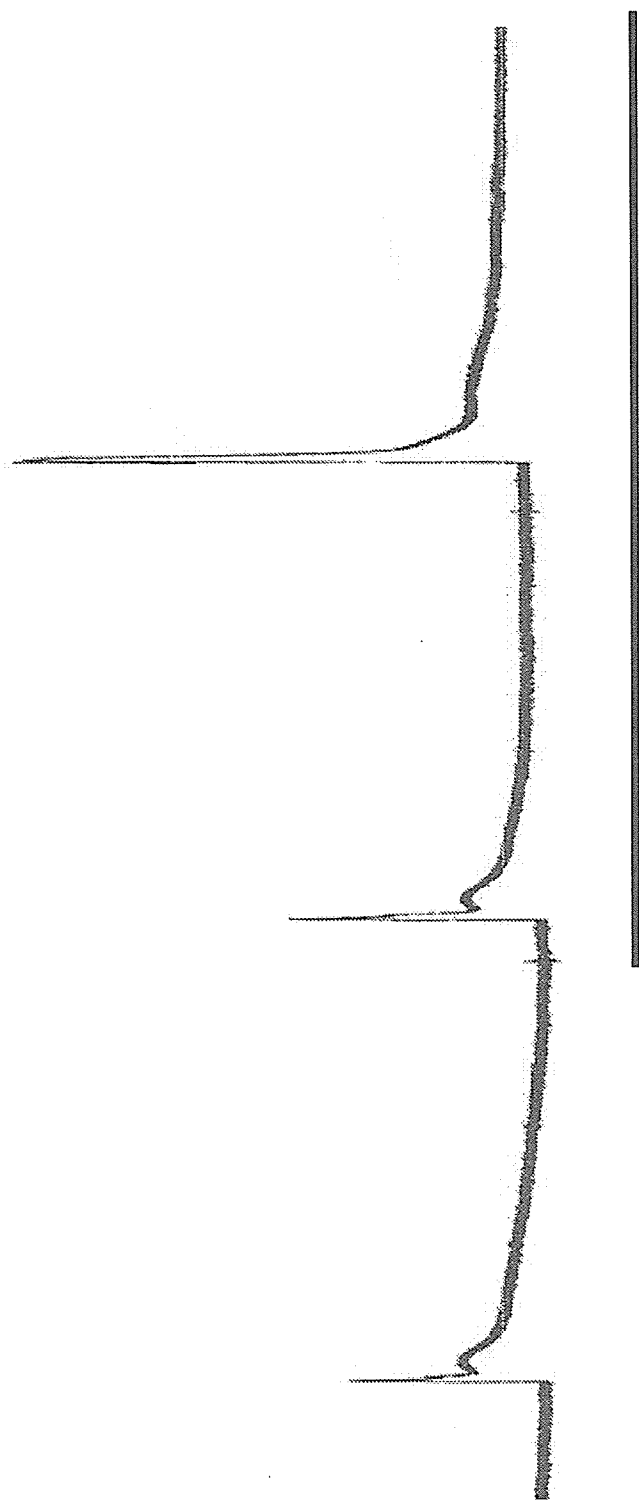
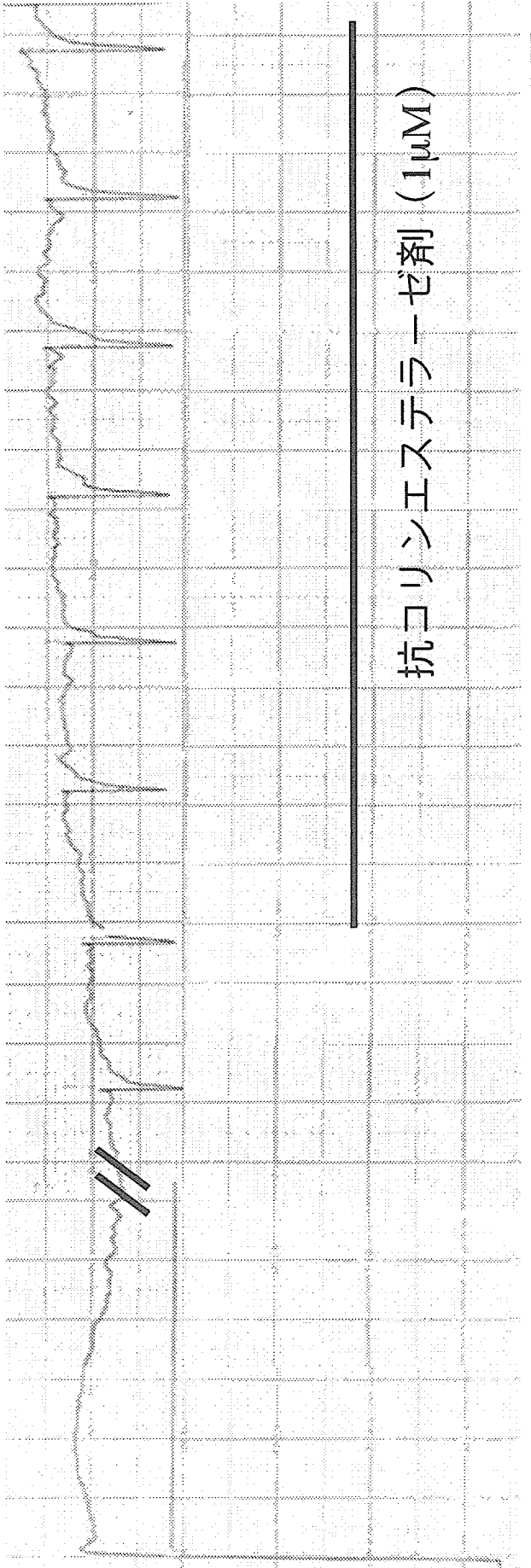


図6：瞳孔括約筋におけるフェールド刺激による収縮とAtropine, Spantideの抑制



抗コリンエステラーゼ剤 (1 μ M)

図7：瞳孔括約筋におけるフィールド刺激による収縮と坑コリンエステラーゼ剤の増強作用



ヒスタミン (10 μ M)

図8：家兔毛様動脈におけるフィールド刺激による弛緩に対する抗コリンエステラーゼ剤の弛緩増強作用

平成 18 年度厚生労働科学研究費補助金（地域健康危機管理研究事業）
分担研究報告書

シックハウス症候群における嗅覚異常の客観的評価：
脳磁図を用いた新しい嗅覚検査法の可能性

分担研究者 糸山 泰人（東北大学大学院医学系研究科神経科学講座
神経内科学分野教授）

研究協力者 武田 篤（同講師）
神 一敬（同助手）

研究要旨

我々はこれまでシックハウス症候群の病態解明のために機能的 MRI (functional MRI: fMRI) を用いた嗅覚異常の客観的評価を試み、トルエン暴露と脳内血流変化の関連を可視化することに成功した。しかし、fMRI には脳神経細胞の電気活動そのものを観察している訳ではないという問題点がある。脳磁図は脳神経細胞の電気活動を記録できる上、時間および空間分解能の両者を兼ね備えており各種臨床応用が進んでいる。シックハウス症候群の嗅覚異常の評価に脳磁図を用いることで、fMRI で得られた知見の信頼度を高めることが出来ると考えられる。我々は脳磁図の臨床応用の一例として、てんかんを発症した海綿状血管腫患者における病変と発作焦点との位置関係の検討を行ったので報告する。てんかんを発症した単発性の海綿状血管腫患者 17 例（男性 8 例、平均 29.6 歳）の脳磁図解析を行い、発作間欠時の棘波分布から 4 群に分類することが出来た。海綿状血管腫症例におけるてんかん原性焦点と血管腫病変の位置関係を正確にとらえるのに脳磁図が有用であった。シックハウス症候群の嗅覚異常を評価する際にも等価電流双極子を用いた信号源推定を応用できる可能性がある。

A. 研究目的

我々はこれまでシックハウス症候群の病態解明のために機能的 MRI (functional MRI: fMRI) を用いて嗅覚異常の客観的評価を試みてきた。すなわち、独自の嗅物質発生装置および送気装置を作成し、バニラとトルエンを刺激物質として fMRI を撮影した。この結果、トルエン暴露と脳内血流変化の関

連を可視化することに成功し、健常対照群に比してシックハウス症候群患者群では左側頭葉内側面や両側視床下部領域における活性化が疑われた¹⁾。しかし、fMRI で捉えているものは血流や酸素代謝に伴う酸素飽和度の変化という間接情報であり、脳神経細胞の電気活動そのものを観察している訳ではないという問題点がある。

脳神経細胞の電気活動を直接捉える方法には脳波と脳磁図の二つがある。脳波は時間分解能に優れるものの空間分解能が十分でなく、この両方を兼ね備えた脳磁図の臨床応用が進んでいる。シックハウス症候群の嗅覚異常の評価に脳磁図を用いることで、fMRI で得られた知見の信頼度を高めることが出来ると考えられる²⁾。fMRI、脳波、脳磁図の比較を表1に示す。

我々は脳磁図の臨床応用の一例として、てんかんを発症した海綿状血管腫患者における病変と発作焦点との位置関係の検討を行ったので報告する。

海綿状血管腫症例の40-70%はてんかんを発症すると言われ、血管腫周囲のヘモジデリン沈着がてんかん原性の獲得に重要であると考えられている³⁾。てんかん原性焦点と血管腫病変との位置関係に関する検討は脳波のみでは不十分であり、空間分解能に勝る脳磁図が有用であると推察されるが、これまでほとんど報告されていない⁴⁾。

B. 研究方法

対象はてんかんを発症した単発性の海綿状血管腫患者17例で、内訳は男性8例、女性9例、年齢が15-51歳（平均29.6歳）である。

脳磁図はヘルメット型脳磁計（Neuromag Ltd., Helsinki, Finland）を用いて、全例で発作間欠時に自発脳磁図を計測し、棘波信号源推定を試みた。等磁図上、明確な電流双極子型磁界分布が得られた場合に限り、左右各半球に電流双極子を1個だけ仮定して信号源を推定し、その棘波の代表的信号源とした。計算した棘波の信号源をあらかじめ座標合わせを行った

MRI 立体 T1 強調画像上に表示した。てんかん棘波の局在分布を明らかにし、血管腫病変との位置関係を調べた。

C. 研究結果

発作間欠時の棘波分布から以下の4群に分類できた（表2）。（1）血管腫近傍のみに集積する（6例、35.3%、図1）。（2）血管腫近傍に加え、鏡面焦点も認める（5例、29.4%、図2）。この場合、病変近傍の棘波に同期する鏡面焦点と独立してみられる鏡面焦点がある。（3）血管腫から離れた同側の部位に集積する（3例、17.6%、図3）。（4）てんかん棘波を記録できない（3例、17.6%）。

D. 考察

血管腫近傍の棘波集積は同部位における易興奮性の存在を示している。血管腫近傍の棘波に同期する鏡面焦点は発作間欠時棘波の急速な伝播を示唆している。一方、血管腫近傍の棘波とは独立してみられる鏡面焦点や離れた部位の棘波は、独立したてんかん原性の存在あるいは病変近傍の棘波活動が小さすぎて記録できていない可能性を示唆している。

E. 結論

脳磁図は海綿状血管腫症例におけるてんかん原性焦点と血管腫病変の位置関係を正確にとらえるのに有用であった。

シックハウス症候群の嗅覚異常を評価するのに等価電流双極子を用いた信号源推定を応用できる可能性がある。

今後、fMRI 研究で用いた嗅覚刺激システムを脳磁図室に設置することで嗅覚誘発磁界の計測を試みていく予定である。

F. 研究発表

1) Jin K, Nakasato N, Shamoto H, Kanno A, Fujiwara S, Itoyama Y: Neuromagnetic spike localization in perilesional, contralateral mirror, and ipsilateral remote areas in patients with cavernoma. The 15th International Conference on Biomagnetism. August 20-25, 2006, Vancouver, Canada.

謝辞

脳磁図検査の施行・解析にあたってご指導・ご協力頂きました広南病院脳神経外科・中里信和先生に深謝いたします。

参考文献

- 1) 糸山泰人、武田篤、斎藤尚宏：シックハウス症候群における嗅覚異常：fMRIを用いた新しい嗅覚検査法の検討. 平成15-17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」総合研究報告書，2006年3月.
- 2) 中里信和、社本博、井上敬ら：てんかんの機能画像診断. 画像診断 21 (2) : 182-190, 2001.
- 3) Kraemer DL: Vascular malformations and epilepsy: clinical considerations and basic mechanisms. *Epilepsia* 35: S30-S43, 1994.
- 4) Stefan H: Magnetencephalography (MEG) predicts focal epileptogenicity in cavernomas. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 75: 1309-1313, 2004.

表 1. 機能的 MRI (fMRI)、脳波、脳磁図の比較

	fMRI	脳波	脳磁図
結果に反映される情報	局所脳血流の変化	神経細胞の電氣的活動	神経細胞の電氣的活動
空間分解能	◎	△	◎
時間分解能	△	◎	◎

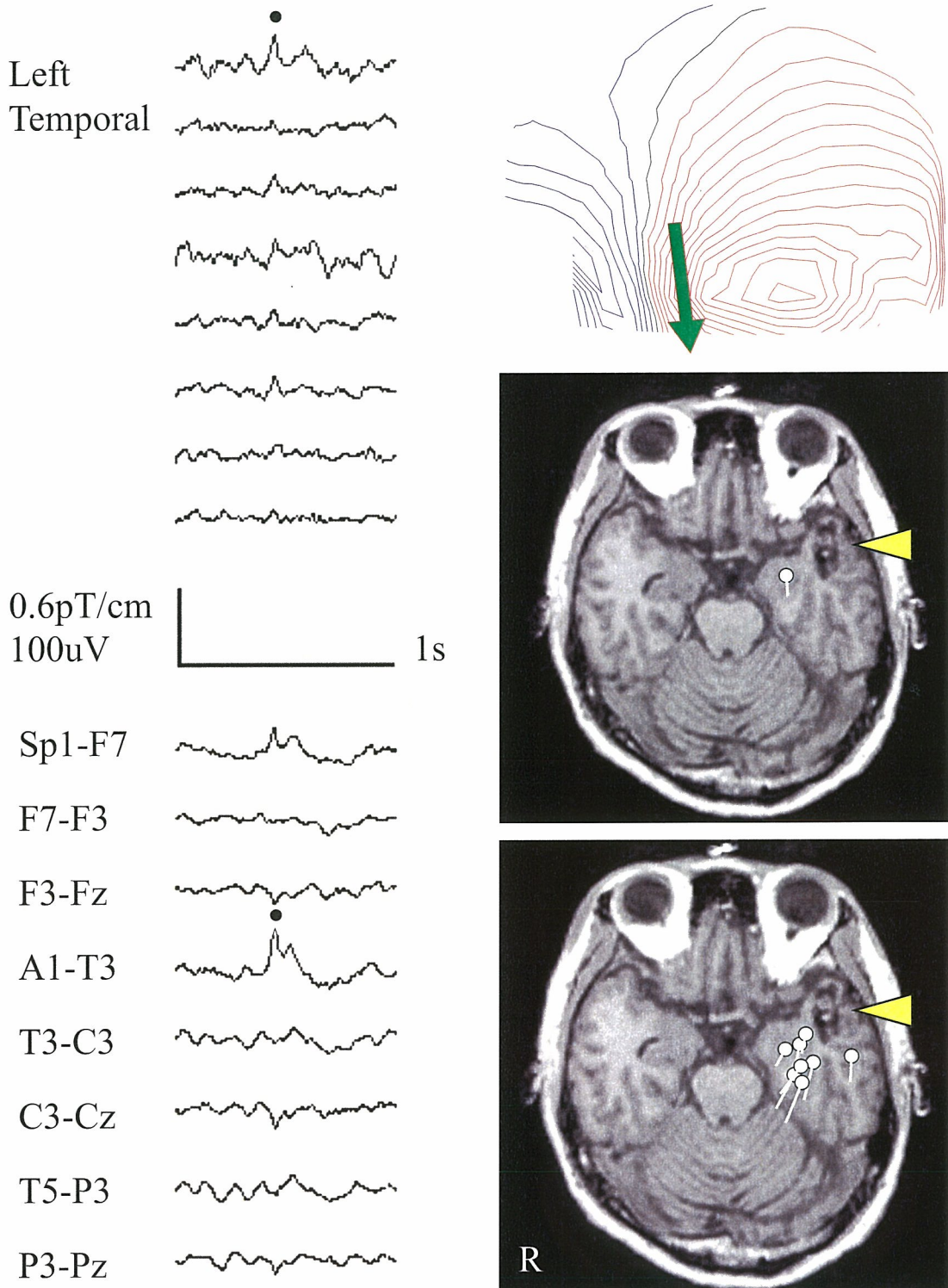
表 2. 単発性の海綿状血管腫患者 17 例の臨床所見および脳磁図所見

症例	性別	年齢 [歳]	てんかん発作		MRI 所見	脳磁図における棘波信号源分布		
			発作型	罹病期間 [年]		Perilesional	Remote	Mirror
Perilesional								
1	女性	44	CP	3	左 T	+++	-	-/-
2	男性	37	SP, CP	2	左 T	+++	-	-/-
3	男性	32	SP, 2GTC	5	左島	++	-	-/-
4	女性	15	2GTC	1	右 F	++	-	-/-
5	女性	51	2GTC	1	左 T	++	-	-/-
6	男性	29	CP, 2GTC	7	左島	++	-	-/-
Mirror								
7	女性	44	SP	<1	左 T	+++	-	+/-
8	男性	15	CP, 2GTC	4	左 P	++	-	+++ / +++
9	女性	44	SP, CP, 2GTC	3	右 T	+++	-	+/-
10	男性	29	2GTC	1	右 T	++	-	++/-
11	男性	15	CP	2	左 T	+	-	+++/-
Remote								
12	男性	42	CP, 2GTC	<1	左 T	++	+++	-/-
13	女性	16	SP, CP, 2GTC	1	左 T	-	+++	-/-
14	男性	26	SP, 2GTC	4	左 T	-	+++	-/-
No spike								
15	女性	23	SP, 2GTC	<1	左 P	-	-	-/-
16	女性	24	SP, 2GTC	<1	左 T	-	-	-/-
17	女性	19	SP, 2GTC	16	右 F	-	-	-/-

SP = 単純部分発作; CP = 複雑部分発作; 2GTC = 二次性全般化発作.

F = 前頭葉, T = 側頭葉, P = 頭頂葉. - : なし, +: 1-4 個, ++: 5-9 個, +++: ≥10 個

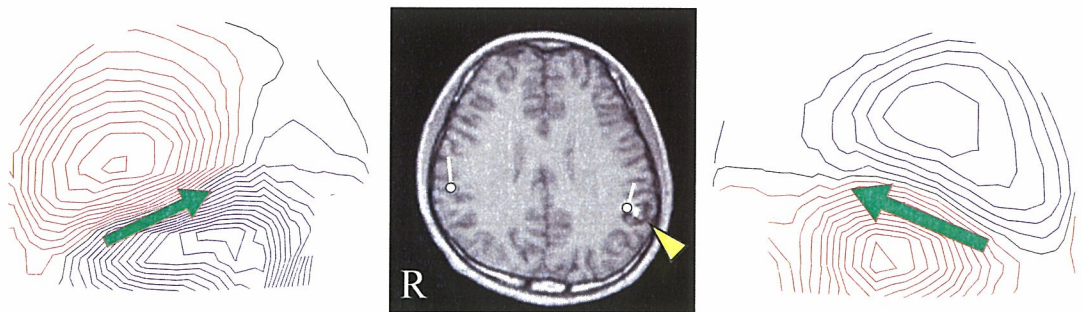
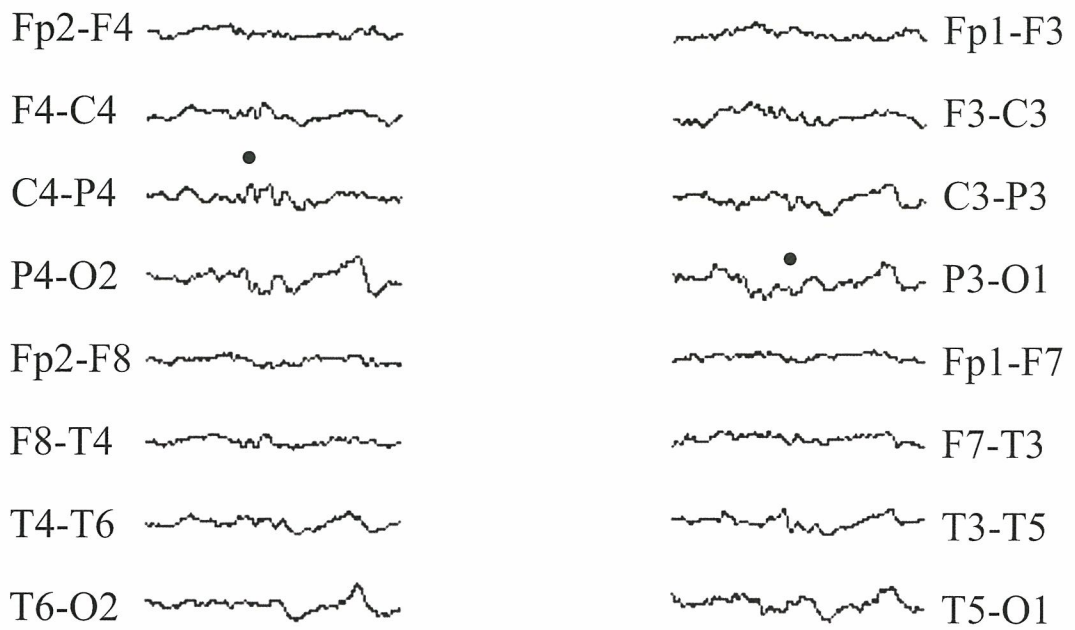
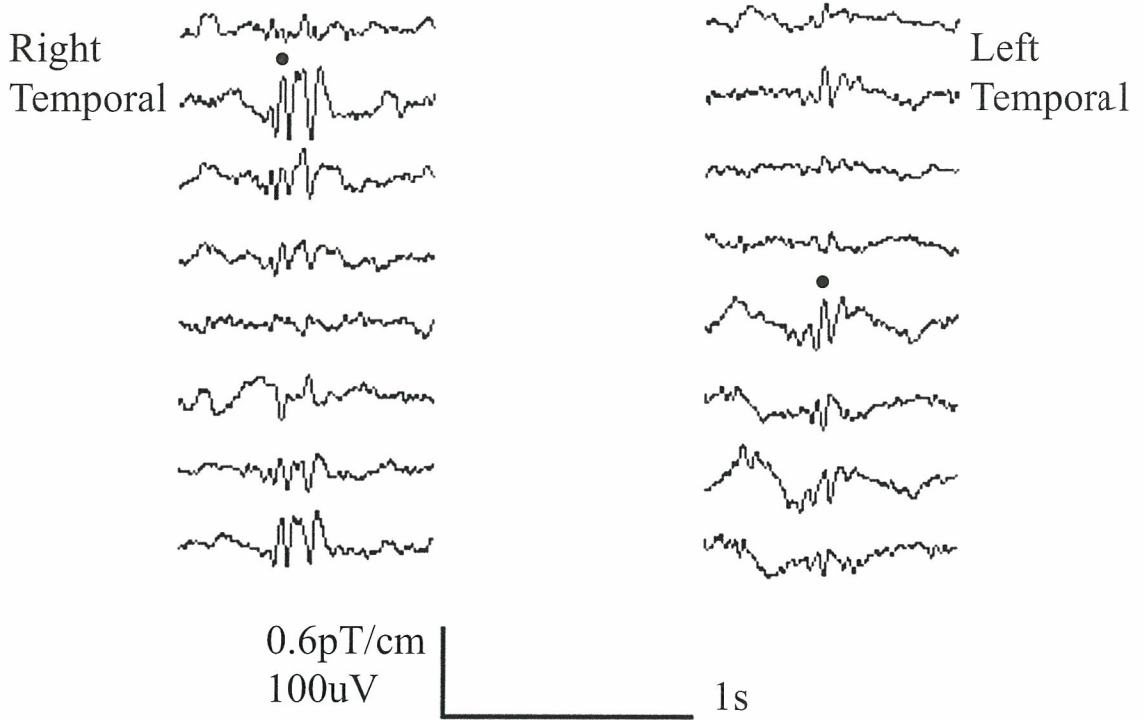
図1



Perilesional spikes in Case 2.

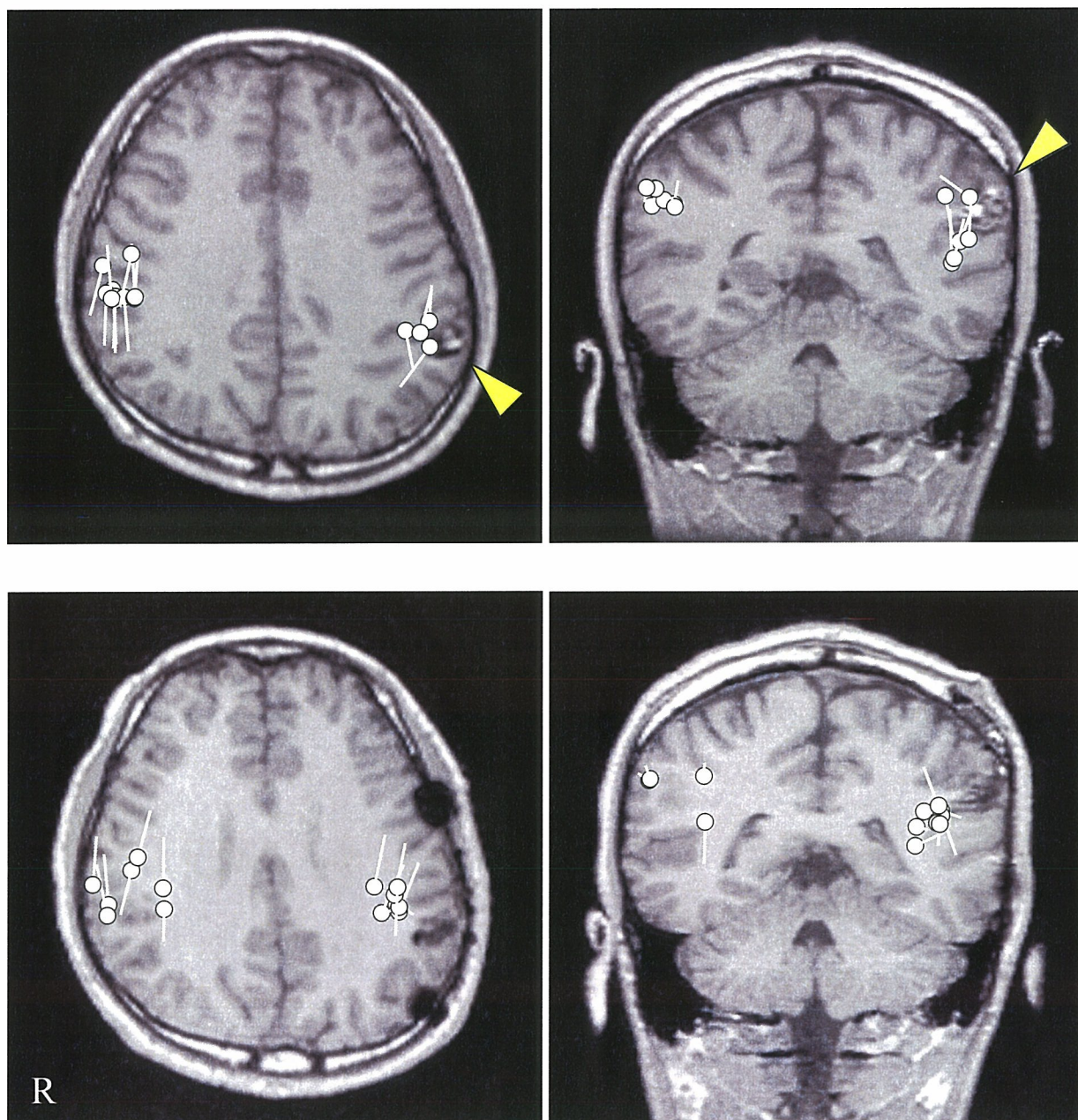
At the spike peak, the isofield map shows a single ECD pattern over the left temporal area. All the spike ECDs are estimated adjacent to the lesion (arrowheads).

図2A



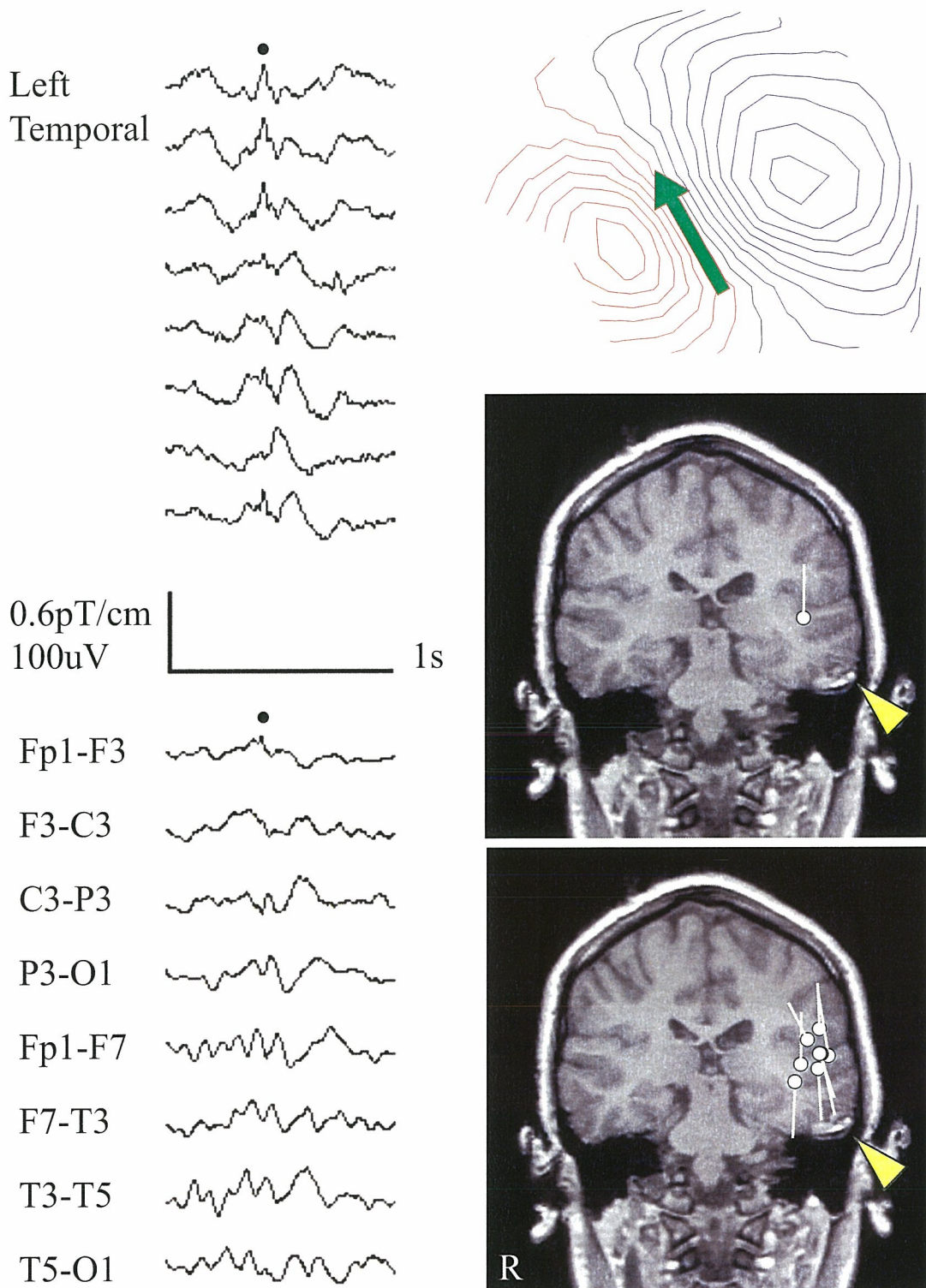
Synchronized perilesional and the contralateral mirror spikes in Case 8. Left hemispheric spike peak precedes the right peak by 22 ms. The spike ECDs are estimated adjacent to the lesion (arrowhead) and at the contralateral homologous site.

図2B



ECD localization of the mirror spikes before (Upper) and after pure lesionectomy (Lower) in Case 8.

図3



Remote spikes in Case 13.

At the spike peak, isofield map shows a single ECD pattern over the left temporal area. The spike ECDs are estimated in the left sylvian area though the lesion is located in the temporal base (arrowheads).

環境中微量化学物質の健康影響に関する分子疫学研究

分担研究者 加藤貴彦 宮崎大学医学部 社会医学講座 公衆衛生学分野 教授
研究協力者 黒田嘉紀 宮崎大学医学部 社会医学講座 公衆衛生学分野 助教授
中原 愛 宮崎大学医学部 社会医学講座 公衆衛生学分野

研究要旨 微量化学物質によるとされる病態として中毒、アレルギー疾患、心因反応、多種化学物質過敏状態 (MCS) がある。本研究では、化学物質によってこれらの病態を引き起こす人々を“化学物質高感受性集団” (Chemical Hyper susceptible Population: 以下CHPと略) と定義し、その実態把握と病態を明らかにすることを目的とする。

CHPの実態把握を目的として、九州内の3つの企業社員 (総計2618名: A社1310名、B社891名、C社417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。また、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。質問表による調査結果を、“症状”、“化学物質曝露”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)、ロースコア群 (0)の3群、“その他の化学物質曝露”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)、ロースコア群 (0)の3群に分け、GSTM1、GSTT1の遺伝子多型の頻度を比較検討した。その結果、いずれの遺伝子多型頻度も、3種類の質問項目のハイスコア群、ミドルスコア群、ロースコア群のあいだに統計学的に有意な差は認められなかった。

A. 研究目的

近年、身近に存在する化学物質の種類が増加やオフィス・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。これらの症状は、シックハウス症候群、多種化学物質過敏状態 (MCS)などの名称で呼ばれているが、その概念・病態については十分

に解明されておらず、有効な健康影響の指標も見つかっていない。我々は、これらの病態を引き起こす人々を“化学物質高感受性集団 (Chemical Hyper susceptible Population: 以下 CHP と略)” (Fig 1) と定義し、その病態を検討した。

本年度は、工場労働者に対し Quick

Environmental Exposure AND Sensitivity Inventory (QEESI) 調査を行い、同時に対象者よりゲノムDNAを抽出し、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3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)、自動車を生産品とするC社の有機溶剤取り扱い作業員417名を対象とした。調査は平成15年8月～10月と平成18年4月～6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名(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 [2]、さらに内山らが改良を加えたものを参考に作成した [3]。

Millerらが開発したオリジナルのQEESIは、“Chemical Exposure (化学物質曝露による反応) ”、“Other exposure (その他の化学物質曝露による反応) ”、“Symptoms (症状) ”、“Masking Index (症状のマスキング) ”、“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 (化学物質曝露による反応) ”、“Other exposure (その他の化学物質曝露による反応) ”、“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。

解析対象遺伝子は、代表的な第2相薬物代謝酵素である GSTM1、GSTT1 である。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 (Fig 2)

(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) 化学物質曝露による反応

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) その他の化学物質曝露による反応

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 Fig 3、Fig 4 に示している。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) 化学物質曝露による反応

スコアの分布は Fig 5、Fig 6 に示している。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) その他の化学物質曝露による反応

スコアの分布は Fig 7、Fig 8 に示している。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関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、GST 遺伝子多型に焦点を合わせて研究を実施した。

ホルムアルデヒド代謝の第一段階に関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、解毒に関与する代表的な第2相薬物代謝酵素である。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関与しているのかは明確ではない。分子種のなかで、 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、これらのタイプは代謝能が欠損している。また、Pang らは GST 分子種の一つである GSTP1 遺伝子多型が化学物質過敏症と関連性があることを報告している [4]。

今回の分析結果で、QEESI のスコアと GSTM1、GSTT1 の遺伝子多型頻度とのあいだに有意な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、2つの遺伝子の化学物質高感受性と考えられている 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。対象は女性コケージアン（症例 203 名、対照 162 名）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 曝露情報、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、降圧剤デブリン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の代謝

に関与する 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、統計学的に有意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

加藤貴彦ら：工場労働者における化学物質過敏状態の質問票調査、産業衛生学雑誌 (in press).

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) 石川哲, 宮田幹夫. 化学物質過敏症—診断基準・診断に必要な検査法—, アレルギー・免疫 1999; 6: 34-42.
- 3) 内山巖夫, 村山留美子. 平成11年度厚生科学研究費補助金報告書—公衆衛生学的立場から見た化学物質過敏症 2000; 1-5.
- 4) Pang N.S., et al. Genetische susceptibilitaet gengenuber umweltgifen. Zeitschrift fur umweltmedizin. 2001; 9: 38-45.
- 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.