

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一般的に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後の帰還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および化学物質過敏症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。

第一の成果は *NTE* 遺伝子領域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および化学物質過敏症集団および健常者集団を用いた相関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。

また、第2にはヒトリンパ球における *NTE* タンパク質の酵素活性について、*NTE* 酵素活性と関連する遺伝的多型部位の検索を行った。

第3にはさらに、この遺伝子の機能について明らかにするためにモデル生物として線虫を選択し、相同遺伝子のクローニング、酵素活性の検出、有機リン (ジクロロボス) に対する感受性等を求め、実験系の整備を行ったことが主な3年間の成果である。

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。

## 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) 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、アニー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。

## 3) 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った。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。

## 4) NTE 酵素活性の測定

ヒト末梢血 10ml より室温で 8 時間以内にリンパ球を分画した。NTE 活性は、0.8mM Paraoxon の存在下および 0.8mM Paraoxon、0.2mM mipafox の存在下における 5.3mM Phenyl valerate の加水分解の割合によって算出された。

## 5) 統計解析

上記の解析で得られた多型データについて、患者集団および健常者集団における対立遺伝子頻度および遺伝子型頻度、両集団間の各頻度についての有意差検定は  $\chi^2$  検定およびフィッシャーの Probability 検定、Mann - Whitney U 検定により解析を行った。NTE 酵素活性についても同様の検定を行った。

## 6) 線虫の相同遺伝子クローニング

線虫の相同遺伝子をデータベースより探索し、その遺伝子塩基配列よりほぼ全長を含むようにプライマー配列設定を行った。EcoRI 配列をプライマー末端に配置し、PCR で増幅した N2 株由来の 7Kb DNA 断片を pGEM - Teasy ベクター (Promega 社) の EcoRI 部位にクローニングした。

## 7) 線虫の NTE 酵素活性測定

L4 期の線虫が多く含まれる非同調培養線虫を集め、これまでと同様に人工基質を用いて NTE 酵素活性を測定した。さらに、有機リンの一種である DDVP に対する感受性を検討した。

なお、本研究は遺伝子解析を含むため、3 省庁の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従い、北里研究所・北里研究所病院および東海大学医学部の医の倫理委員会での承認を得ると共に、酵素活性の測定を含め、試料提供者には十分な説明を行い、試料提供の同意書を得るように十分配慮した。

一方、この研究については、個人情報管理、遺伝カウンセリングの体制も十分備えて万全を期している。

## C. 研究成果

### 1. NTE 酵素活性

シックハウス症候群患者 42 名および健常者 52 名を用いて、末梢血から分画したリンパ球における NTE 酵素活性を測定した。両群間の酵素活性について有意差検定を行った結果、患者集団において統計学的有意に酵素活性が上昇していた ( $P < 0.0005$ 、図 1)

### 2. マイクロサテライトマーカー多型解析

NTE 遺伝子の 3' flanking 領域に存在するマイクロサテライト繰り返し配列のタイピングを行った。このマイクロサテライトは、塩基配列 (ATT) の繰り返し配列であり、日本人対象者集団 370 人とシックハウス症候群患者 180 人におけるタイピングの結果、11 個の対立遺伝子が存在していた。このうち 1 個の対立遺伝子 (allele) においては、患者集団で数を減らしている負の統計学的な有意差を示した (表 1)。

### 3. DNA 多型解析

遺伝マーカーとしての有用性を検定された 58 個の SNP について、シックハウス症候群患



者集団において特異的な対立遺伝子を解析するために、相関解析を行った。その結果、イントロン 21 に存在する遺伝マーカー (rs480208) において、統計学的有意差を示す対立遺伝子が見出された (表 2、 $P = 0.028$ )。同様に、遺伝子型頻度についても有意差検定を行った結果、上記の対立遺伝子頻度において有意差の得られた遺伝マーカーに加えて、プロモーター領域 (rs560849)、イントロン 21 領域 (rs473899, rs2432110, rs581698) において患者集団において統計学的有意に遺伝子型頻度が低下していることが見出された (表 3)。

#### 4. NTE 酵素活性と遺伝子型

NTE 酵素活性と関連する遺伝子多型を見出すために、末梢血から分画したリンパ球における NTE 酵素活性と NTE 遺伝子多型の間の相関を解析した。その結果、NTE 遺伝子のイントロン 21 に存在する遺伝的多型 (rs480208) と NTE 酵素活性の間に相関が得られた。遺伝的多型 (rs480208) は、A/A, A/G, G/G の遺伝子型を持ち、A/A の遺伝子型も持つ集団は、それ以外の集団に比べて有意に NTE 酵素活性が低い値を示すことが見出された (図 2)。

#### 5. 線虫を用いた NTE の基礎的解析。

NTE に関しては遺伝子解析からのアミノ酸配列の推測などから、ヒトからバクテリアに至るまでの活性ドメイン (NEST ドメイン) のアミノ酸配列の保存性の高さが指摘されている (活性中心のセリン残基中心のアミノ酸配列の相同性は線虫とヒトの間でも 80% 以上と非常に高値を示している)。

線虫は世代が数日と短く、体長が 2 - 3cm と小さく透明性の高いことから顕微鏡下での観察も容易である点で部分的にはヒトの表現型の解析系に十分持ちうる価値のある実験動物であり、ヒト疾患と同様の変異体も多数見ついている。

そこでまず線虫の NTE 遺伝子は DNA データベースより得られた配列をもとにプライマーを作成し、7Kb の遺伝子領域をクローニングしていたが、制限酵素の位置等からヒトの NTE 遺伝子の相同遺伝子であることが判明した。今後、遺伝子発現の検出プローブや、遺伝子導入のツールとして利用価値が高い。

#### 6. 線虫を用いた解析

昨年度クローニングに成功した相同遺伝子の

さらなる解析を行うとともに、昨年度予備的に行ったヒト血液と同様の NTE 活性測定系において線虫の NTE 活性測定を L4 期の成虫について検出した (図 3)。

次いで、有機リンに対する線虫の感受性を求め、おおよそ 1-5mg/ml 程度の濃度で DDVP (ジクロルボス) に L1 期に暴露すると約半数が L4 期までに死亡することが判明した (図 4)。

#### D. 考察

シックハウス症候群および化学物質過敏症の候補遺伝子として NTE 酵素活性に影響を与える遺伝的多型部位の検索を患者数および健常者数を用いて行った。

ヒト NTE 遺伝子の下流領域に存在するマイクロサテライトマーカーの遺伝的相関解析では、11 個の対立遺伝子のうち 1 個の対立遺伝子について統計学的有意差が示された (表 1)。これは、患者集団において対立遺伝子頻度を低下させているもので、シックハウス症候群に抵抗性の対立遺伝子であると予想される。

さらに、NTE 遺伝子領域において合計 58 個の遺伝マーカーに関して、シックハウス症候群患者集団および健常者集団における対立遺伝子頻度および遺伝子型頻度に関する有意差検定を行った。その結果、対立遺伝子頻度に関しては、イントロン 21 に存在する遺伝マーカー (rs480208) においてのみシックハウス症候群との相関が見られた。さらに、この遺伝マーカーに加えて、イントロン 21 に存在する 3 つの遺伝マーカー (rs473899, rs2432110, rs581698) およびプロモーター領域に存在する 1 つの遺伝マーカー (rs560849) の遺伝子型頻度についてシックハウス症候群と相関が見られた。これらの相関は全て患者集団においてその頻度が減少している負の相関であり、各対立遺伝子および遺伝子型はシックハウス症候群において抵抗性の遺伝子型であると推測される。

上記の相関の得られた 4 個の遺伝的多型部位における遺伝子型と NTE 酵素活性の関係を調べた結果、イントロン 21 に存在する遺伝マーカー (rs480208) においてのみ NTE 酵素活性との相関が見られた (図 2)。この遺伝マーカーについては、A/A, A/G, G/G の 3 個の遺伝子型が存在しており、A/A の遺伝子型を持

つ集団は、それ以外の遺伝子型を持つ集団と比べて有意に NTE 酵素活性が低い値を示した (図 2)。このことから、遺伝マーカー (rs480208) における遺伝子型が NTE 酵素活性に影響を及ぼしている可能性が考えられた。

また、NTE 酵素はシックハウス症候群患者集団において有意にその活性が上昇していたが、NTE 遺伝子の遺伝的多型部位 (rs480208) における遺伝子型 A/A は有意にその頻度が減少していた。このことより、シックハウス症候群患者集団における酵素活性の上昇は、遺伝マーカー (rs480208) の遺伝子型 A/A 頻度の減少による可能性が考えられる。本研究の対象者は多様の病態を含んでいるので今後提案されたシックハウス症候群診断基準により選択された対象で検討を行うことが必要と思われる。

一般に NTE タンパク質は、生体内において有機リンと結合し、エステルを生成する。このエステルは有毒であるが、炭化水素基を解離しエステラーゼ活性を有する「Aged Esterase」に変化し、次なるエステル化反応を行うと考えられている。シックハウス症候群患者においては、NTE 活性が上昇していることから、この有機リン代謝経路の中間生成物である有毒なエステルの生成量が健常者に比べて増加し、慢性的な神経毒性が表われる可能性があることが考えられるが、これは NTE 遺伝子領域内に存在する遺伝的多型に由来する可能性があると言える。

一方、モデル生物として線虫の利用を重視し、相同遺伝子のクローニングおよび酵素活性の測定、さらには DDVP の暴露による生存率の測定を行った。いずれもモデル生物としての妥当性を示す結果であり、特にアミノ酸配列の相同性の高さは注目に値する。

## E. 結論

主な成果は下記の通りである。

1. ヒトリンパ球を用いた NTE 活性の測定の結果、一般健常者集団に比べて、シックハウス症候群患者集団における NTE 活性が有意に上昇していた。
2. NTE 遺伝子の下流領域に存在するマイクロサテライト繰り返し多型に関する相関解析の結果、シックハウス症候群に抵抗性の対立遺伝子が見いだされた。

3. NTE 遺伝子領域内に存在する SNP マーカーを用いた相関解析の結果、イントロン 21 に存在する遺伝マーカー (rs480208) の対立遺伝子頻度および遺伝子型頻度について、統計学的有意に負の相関が示された。

4. 遺伝マーカー (rs480208) と NTE 酵素活性に関連を調べた結果、遺伝子型 A/A をもつ集団は NTE 酵素活性が有意に低い値を示した。

5. 線虫での相同遺伝子のクローニングおよび酵素活性の測定、さらには DDVP の暴露による生存率の測定を行ったが、発症メカニズム解析等に線虫を利用する十分な価値があると判断された。

## F. 研究発表

1. 論文発表  
投稿準備中

2. 学会発表

1. Matsuzaka Y. *et al.* Association of Neuropathy Target Esterase gene polymorphism with Sick House Syndrome in the Japanese population. 20<sup>th</sup> IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress. June 18-23 2006, Kyoto Japan.
2. 松坂恭成他、シックハウス症候群における *Neuropathy Target Esterase* (NTE) 遺伝子のハプロタイプ解析、第 15 回日本臨床環境医学会、2006 年 7 月 仙台
3. 松坂恭成他、シックハウス症候群と *Neuropathy Target Esterase* (NTE) 遺伝子多型および酵素活性、日本分子生物学会 2006 フォーラム、2007 年 12 月 名古屋など。

## 参考文献

1. Glynn P. NTE: one target protein for different toxic syndromes with distinct mechanisms? *Bioessays* 25 (8) : 742-745, 2003.
2. Winrow CJ *et al.* Loss of neuropathy target esterase in mice links organophosphate exposure to hyperactivity. *Nature Genetics* 33: 477-485, 2003.



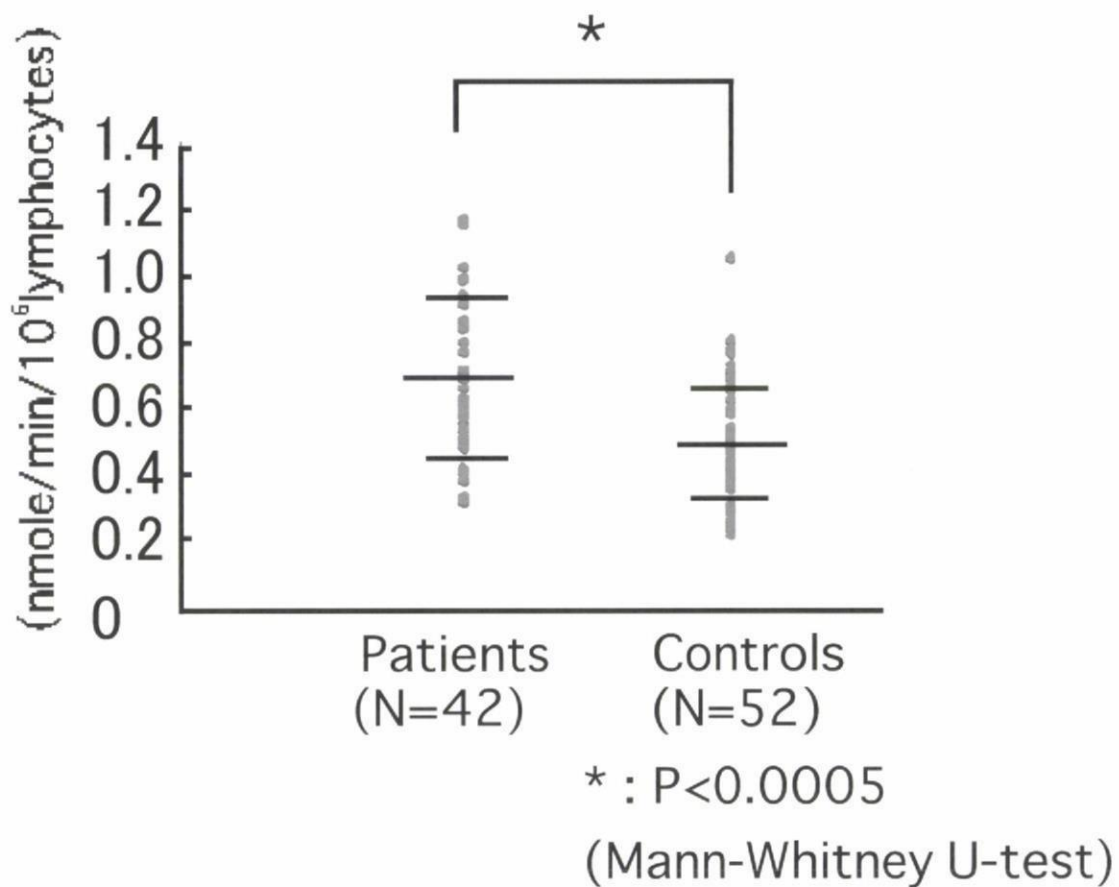


図1 ヒトリンパ球におけるNTE酵素活性

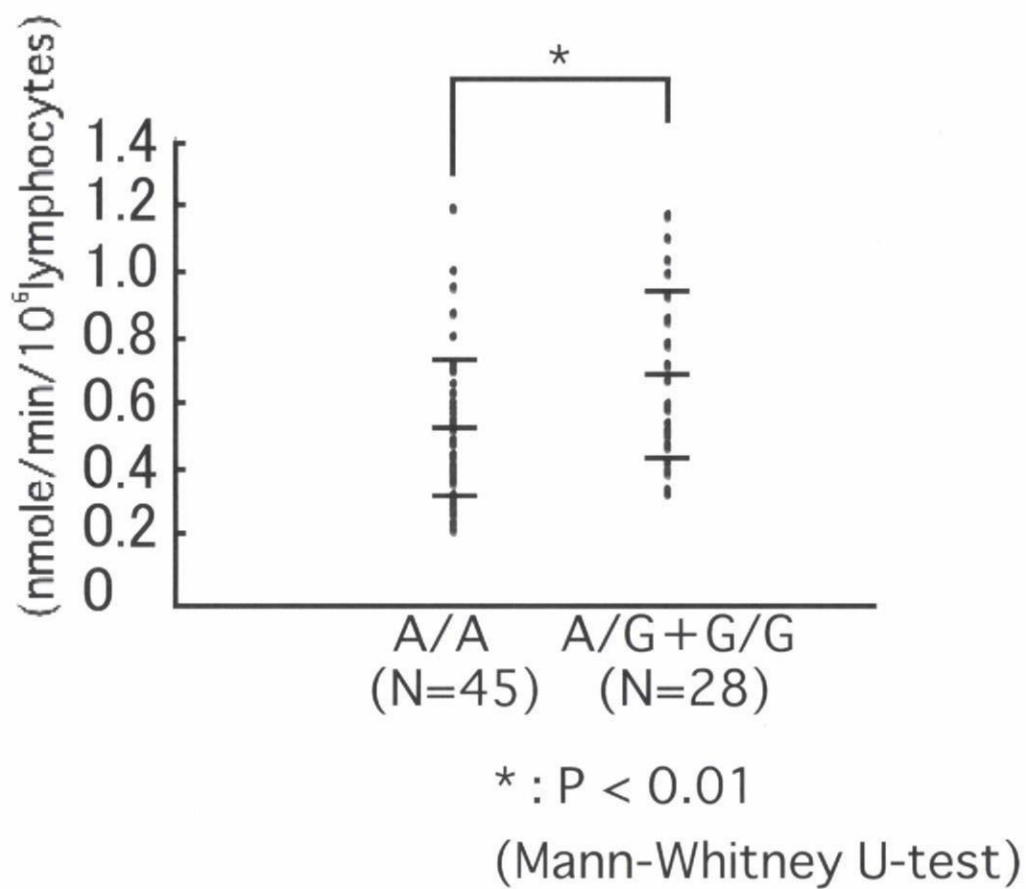
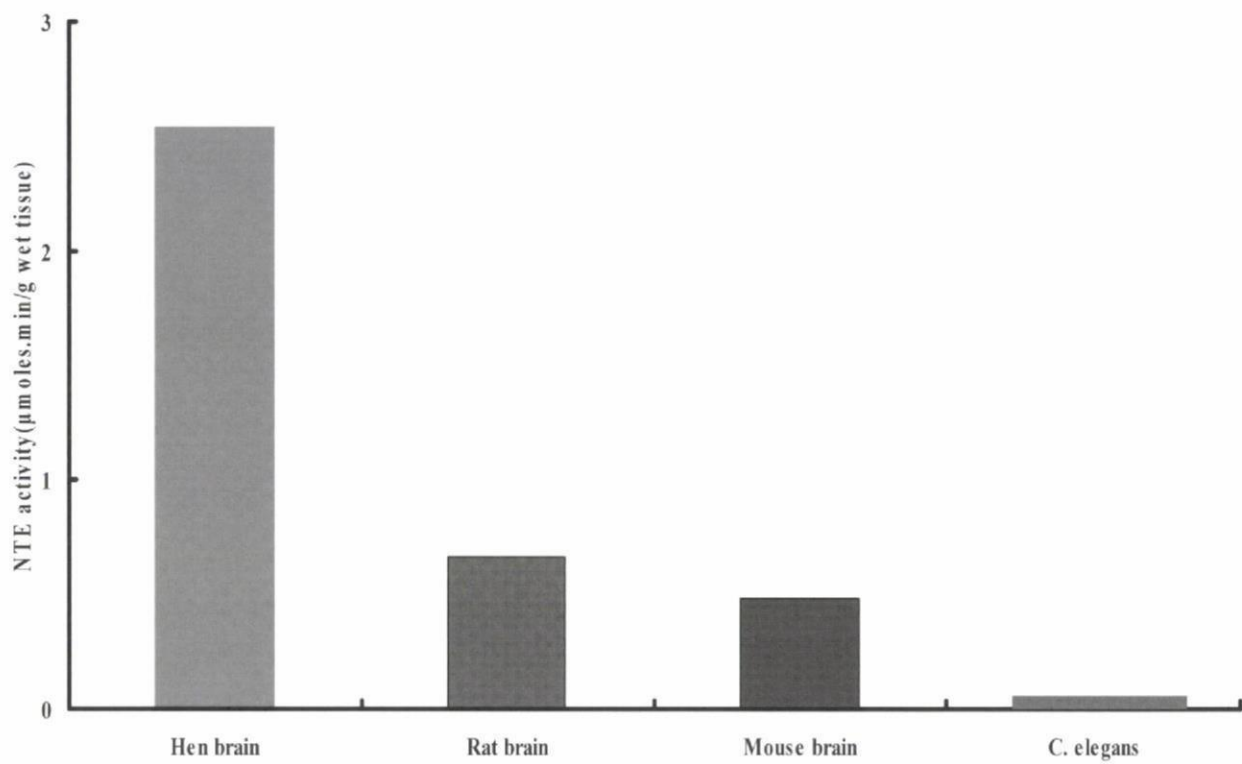
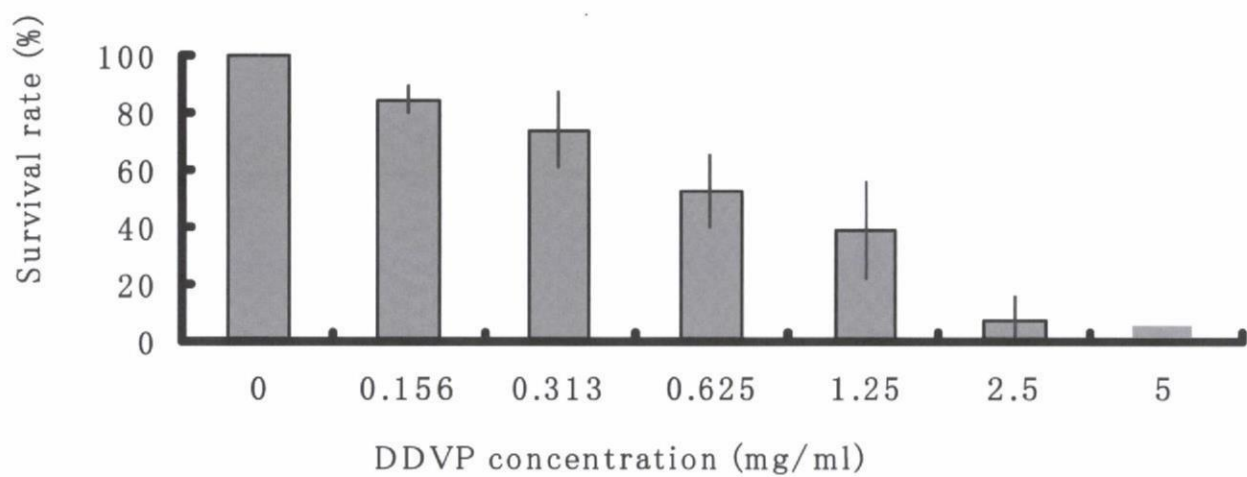


図2 NTE酵素活性と遺伝子型 (rs480208)



☒ 3 NTE activity in *C. elegans*



☒ 4 Survival rate after DDVP exposure in *C. elegans*



表1. Allele frequencies of ATT repeat polymorphism of the *NTE* gene in patients with Sick House Syndrome and controls

Allele	length	Repeat	PCR product		OR ( 90% I)	$\chi^2$	P-value
			PATIENTS (2n=360)	CONTROLS (2n=740)			
Allele 1	283	9	0	0.001	0	0.487	0.485
Allele 2	286	10	0.169	0.185	0.90 (0.64-1.25)	0.404	0.525
Allele 3	289	11	0.003	0.005	0.51 (0.06-4.42)	0.370	0.543
Allele 4	292	12	0.069	0.061	1.15 (0.70-1.91)	0.303	0.582
Allele 5	295	13	0.067	0.064	1.05 (0.63-1.75)	0.040	0.842
Allele 6	298	14	0.072	0.070	1.03 (0.63-1.68)	0.014	0.906
Allele 7	301	15	0.394	0.380	1.06 (0.82-1.38)	0.222	0.638
Allele 8	304	16	0.192	0.174	1.12 (0.81-1.55)	0.493	0.482
Allele 9	307	17	0.028	0.055	0.49 (0.24-0.97)	4.181	0.041
Allele 10	311	18	0.006	0.003	2.06 (0.30-14.09)	0.544	0.461
Allele 11	314	19	0	0.001	0	0.487	0.485

表2. Allelic association between SNPs in the *NTE* gene and Sick House Syndrome.  
Allele number (frequency)

No.	rs No.	Location	Allele	Patients	Controls	OR (90% CI)	$\chi^2$	P-value
1	rs560849	Promoter	T/c	120 (0.47)	363 (0.46)	1.04 (0.79 - 1.39)	0.087	0.768
2	rs540516	intron 1	C/t	105 (0.41)	287 (0.37)	1.21 (0.90 - 1.61)	1.609	0.205
3	rs604959	exon 2	A/c	118 (0.42)	297 (0.37)	1.25 (0.95 - 1.65)	2.557	0.110
4	rs541271	intron 6	G/a	121 (0.45)	215 (0.39)	1.28 (0.95 - 1.72)	2.733	0.098
5	rs526411	intron 6	C/t	120 (0.45)	218 (0.40)	1.23 (0.92 - 1.23)	1.963	0.161
6	rs654059	intron 6	T/c	137 (0.51)	270 (0.49)	1.07 (0.80 - 1.43)	0.200	0.655
7	rs522750	intron 6	A/g	126 (0.52)	317 (0.48)	1.20 (0.89 - 1.61)	1.419	0.234
8	rs488886	intron 6	C/t	118 (0.43)	147 (0.37)	1.28 (0.94 - 1.75)	2.394	0.122
9	rs491518	intron 6	C/a	137 (0.50)	190 (0.48)	1.11 (0.81 - 1.50)	0.407	0.524
10	rs591040	exon 9	C/t	8 (0.03)	8 (0.02)	1.92 (0.72 - 5.08)	1.719	0.190
11	rs492092	intron 12	C/g	158 (0.56)	453 (0.56)	1.00 (0.76 - 1.31)	0.000	0.992
12	rs620744	intron 14	C/t	132 (0.47)	351 (0.44)	1.15 (0.88 - 1.51)	1.019	0.313
13	rs586551	intron 16	C/t	119 (0.43)	124 (0.36)	1.34 (0.97 - 1.85)	3.147	0.076
14	rs577219	intron 19	G/t	116 (0.43)	153 (0.38)	1.24 (0.90 - 1.69)	1.750	0.186
15	NEW	intron 19	DEL/a	115 (0.42)	157 (0.39)	1.15 (0.84 - 1.58)	0.790	0.374
16	rs473899	intron 21	A/g	82 (0.39)	130 (0.38)	1.04 (0.73 - 1.48)	0.050	0.823
17	rs661825	intron 21	G/c	78 (0.38)	127 (0.38)	1.03 (0.72 - 1.47)	0.024	0.878
18	rs496380	intron 21	A/g	78 (0.38)	127 (0.38)	1.03 (0.72 - 1.47)	0.024	0.878
19	rs557596	intron 21	T/c	80 (0.39)	126 (0.37)	1.09 (0.87 - 1.55)	0.203	0.653
20	rs2432110	intron 21	T/c	59 (0.42)	125 (0.41)	1.03 (0.69 - 1.55)	0.022	0.881
21	rs793864	intron 21	C/g	102 (0.75)	205 (0.68)	1.42 (0.90 - 2.24)	2.267	0.132
22	rs1645799	intron 21	G/a	65 (0.46)	135 (0.45)	1.04 (0.70 - 1.56)	0.045	0.832
23	NEW	intron 21	C/g	67 (0.49)	133 (0.44)	1.25 (0.83 - 1.87)	1.153	0.283
24	NEW	intron 21	T/a	67 (0.49)	133 (0.44)	1.25 (0.83 - 1.87)	1.153	0.283
25	NEW	intron 21	C/g	67 (0.49)	129 (0.42)	1.32 (0.88 - 1.98)	1.775	0.183
26	NEW	intron 21	G/t	67 (0.49)	133 (0.44)	1.25 (0.83 - 1.87)	1.153	0.283
27	rs688348	intron 21	A/c	65 (0.48)	129 (0.42)	1.24 (0.83 - 1.86)	1.095	0.295
28	rs480208	intron 21	A/g	85 (0.45)	137 (0.36)	1.49 (1.04 - 2.12)	4.832	0.028
29	rs581698	intron 21	G/c	74 (0.50)	173 (0.44)	1.28 (0.88 - 1.86)	1.609	0.205
30	rs582611	intron 21	A/g	58 (0.48)	129 (0.43)	1.23 (0.80 - 1.87)	0.881	0.348
31	rs534758	intron 21	G/t	42 (0.25)	95 (0.25)	1.01 (0.66 - 1.53)	0.001	0.974
32	rs583984	intron 21	T/c	77 (0.47)	169 (0.44)	1.12 (0.77 - 1.61)	0.340	0.560
33	rs50874	intron 21	A/g	80 (0.49)	174 (0.46)	1.16 (0.80 - 1.67)	0.589	0.443
34	rs534464	intron 23	G/c	177 (0.71)	269 (0.69)	1.12 (0.79 - 1.59)	0.414	0.520
35	rs563266	intron 23	T/c	148 (0.60)	229 (0.58)	1.05 (0.76 - 1.46)	0.099	0.752
36	rs597582	intron 23	C/t	179 (0.72)	275 (0.70)	1.10 (0.78 - 1.57)	0.302	0.583
37	rs598023	intron 23	A/g	176 (0.72)	275 (0.70)	1.07 (0.75 - 1.52)	0.141	0.707
38	rs598028	intron 23	C/g	178 (0.72)	275 (0.70)	1.08 (0.76 - 1.54)	0.193	0.660
39	rs599328	intron 24	C/g	74 (0.31)	110 (0.28)	1.16 (0.81 - 1.64)	0.658	0.417
40	rs599330	intron 24	C/t	76 (0.32)	120 (0.31)	1.06 (0.75 - 1.50)	0.120	0.729
41	rs524530	intron 24	A/g	67 (0.28)	110 (0.28)	1.01 (0.71 - 1.45)	0.004	0.950
42	rs539887	intron 24	A/c	68 (0.29)	111 (0.28)	1.02 (0.71 - 1.46)	0.012	0.914
43	rs563826	intron 25	A/g	59 (0.29)	113 (0.29)	1.01 (0.70 - 1.47)	0.004	0.951
44	rs2446176	intron 29	G/a	183 (0.66)	274 (0.66)	1.02 (0.74 - 1.41)	0.014	0.905
45	rs1645800	intron 30	G/a	170 (0.62)	248 (0.58)	1.17 (0.86 - 1.60)	1.016	0.314
46	rs503336	intron 30	A/g	175 (0.63)	248 (0.58)	1.20 (0.88 - 1.63)	1.291	0.256
47	rs518321	intron 30	T/c	176 (0.63)	250 (0.59)	1.19 (0.87 - 1.62)	1.229	0.268
48	rs504149	intron 30	T/G/c	24 (0.09)	28 (0.07)	1.33 (0.76 - 2.35)	0.989	0.320
49	rs504934	intron 30	C/t	173 (0.62)	247 (0.58)	1.17 (0.86 - 1.59)	1.015	0.314
50	rs7245592	intron 30	G/a	59 (0.42)	126 (0.41)	1.03 (0.69 - 1.54)	0.019	0.890
51	NEW	intron 30	T/c	60 (0.42)	121 (0.40)	1.11 (0.74 - 1.66)	0.241	0.623
52	rs506104	intron 30	C/a	58 (0.41)	119 (0.39)	1.07 (0.72 - 1.61)	0.117	0.732
53	rs538850	intron 31	C/t	150 (0.63)	235 (0.59)	1.16 (0.83 - 1.61)	0.747	0.388
54	rs538852	intron 31	G/a	68 (0.28)	101 (0.25)	1.16 (0.81 - 1.67)	0.672	0.412
55	rs577029	intron 31	T/c	149 (0.62)	231 (0.58)	1.17 (0.84 - 1.62)	0.874	0.350
56	rs577145	intron 31	T/c	149 (0.62)	230 (0.59)	1.15 (0.83 - 1.60)	0.721	0.396
57	rs541600	intron 31	C/t	149 (0.62)	228 (0.59)	1.15 (0.83 - 1.60)	0.681	0.409
58	rs89621	intron 31	C/t	149 (0.62)	228 (0.59)	1.15 (0.83 - 1.60)	0.681	0.409

表3. Genotype association between SNPs in the *MTE* gene and Sick House Syndrome.  
Genotype number (frequency)

No.	rs No.	Location	Genotype	Patients	Controls	OR (90% CI)	$\chi^2$	P-value
1	rs560849	Promoter	C/C	33 (0.26)	77 (0.20)	1.44 (0.90 - 2.30)	2.351	0.125
			C/T	54 (0.43)	209 (0.53)	0.65 (0.44 - 0.97)	4.364	0.037
			T/T	40 (0.31)	107 (0.27)	1.23 (0.80 - 1.90)	0.863	0.353
2	rs473899	intron 21	A/A	45 (0.43)	64 (0.38)	1.25 (0.76 - 2.06)	0.783	0.376
			A/G	36 (0.35)	80 (0.47)	0.59 (0.36 - 0.97)	4.264	0.039
			G/G	23 (0.22)	25 (0.15)	1.64 (0.88 - 3.05)	2.382	0.123
3	rs2432110	intron 21	C/C	20 (0.29)	31 (0.21)	1.55 (0.81 - 2.96)	1.742	0.187
			C/T	19 (0.27)	63 (0.42)	0.52 (0.28 - 0.96)	4.356	0.037
			T/T	31 (0.44)	57 (0.38)	1.31 (0.74 - 2.33)	0.853	0.356
4	rs480208	intron 21	A/A	32 (0.34)	93 (0.48)	0.55 (0.33 - 0.91)	5.315	0.021
			A/G	39 (0.41)	61 (0.32)	1.52 (0.92 - 2.53)	2.621	0.105
			G/G	23 (0.24)	38 (0.20)	1.31 (0.73 - 2.36)	0.822	0.364
5	rs581698	intron 21	C/C	25 (0.34)	40 (0.20)	2.00 (1.11 - 3.60)	5.361	0.021
			C/G	24 (0.32)	93 (0.47)	0.54 (0.31 - 0.94)	4.787	0.029
			G/G	25 (0.34)	64 (0.32)	1.06 (0.60 - 1.87)	0.041	0.840



シックハウス症候群の診断・治療法及び具体的対応方策に関する研究

シックハウス症候群患者が日常生活下で示す身体的異常と、VOC 曝露との関連性の検討

研究分担者	熊野宏昭	東京大学大学院医学系研究科ストレス防御・心身医学准教授
研究協力者	水越厚史	東京大学大学院新領域創成科学研究科環境システム学
	柳沢幸雄	東京大学大学院新領域創成科学研究科環境システム学
	吉内一浩	東京大学大学院医学系研究科ストレス防御・心身医学
	石澤哲郎	東京大学大学院医学系研究科ストレス防御・心身医学
	赤林 朗	東京大学大学院医学系研究科ストレス防御・心身医学
	坂部 貢	北里大学薬学部公衆衛生学
	松井孝子	北里研究所病院臨床環境医学センター
	宮田幹夫	北里研究所病院臨床環境医学センター
	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】研究 1：シックハウス症候群の基礎疾患としての化学物質過敏症患者（MCS）の病態の基盤となる身体的異常として、症状出現時に限らず体動や心拍変動に異常が認められるかどうかを検討し、健常者と鑑別するための簡便な指標を見出すことを目的にした。研究 2：日常生活下での症状や心拍変動に加え、化学物質への曝露の経時的な調査を行うことで両者の関連を検討し、病態の把握や診断及び具体的な対応方策のための客観的なデータを得ることを目的とした。【方法】研究 1：MCS 患者 21 名と、健常者 11 名に対し、体動の記録を 1 週間、心拍変動の記録を 24 時間連続で行い、日中活動時と夜間睡眠時の別に解析を行った。体動のパターンを調べるため、Detrended Fluctuation Analysis (DFA) により  $\alpha$  を算出した。心拍変動に関しては、RR 間隔の変動パターンを調べるため、DFA により  $\alpha$  ( $\alpha 1$ ：心拍数 11 拍以下、 $\alpha 2$ ：11 拍以上) を算出した。研究 2：患者 8 名と健常者 7 名に、日常生活下で Holter モニタと VOC モニタを携帯してもらい、心拍変動と TVOC 個人曝露濃度を 24 時間記録した。心拍変動は RR 間隔の時系列データを wavelet 解析して 10 秒間毎の HF と LF / HF の平均値を求め、5 分間の平均値とした。TVOC は、20 秒～1 分間毎の平均値、最大値、最小値を記録し、5 分間隔の値とした。また、変化量の指標として最大値と最小値の差 ( $\Delta$  TVOC)、5 分前からの濃度増加量 ( $d +$  TVOC) と減少量 ( $d -$  TVOC) を求めた。これらの指標について交絡因子となる活動時のデータを除去後、解析を行った。【結果と考察】研究 1：体動では、睡眠中の  $\alpha$  が MCS 群で有意に大きく、MCS 患者では睡眠中に不規則な動きが断続的に現れる特徴が示された。心拍変動では、日中の  $\alpha 2$  で MCS 群の方が有意に大きく、日中活動中の心拍のホメオスタシス維持機能が弱まっている可能性が示唆された。以上より、MCS の病態の基盤には、症状非出現時にも何らかの生物学的異常が関与していると考えられた。研究 2：TVOC と心拍変動の指標の相関を確認したところ、患者、健常者とも TVOC 濃度の変化量と HF の間に負の相関、LF / HF の間に正の相関が見られる例が多く、TVOC 濃度の変化が、増加あるいは減少にかかわらず、引き続き自律神経活動と関連していることが示唆された。また、症状自覚時に HF が低下する被験者が多かった（8 名中 6 名）。しかし、個々の患者の TVOC 濃度と心拍変動の時系列データをみると、症状と心拍変動が良く関連しているように見える患者とそうでない患者がいたことから、ケース毎に、症状の予防対策を提言することが望ましいと考えられた。

## [研究1]

### A. 研究の目的

近年、シックハウス症候群の基礎疾患としての化学物質過敏症（MCS）に関する研究が数多く行われてきている。しかしこれまで、本疾患の診断及び病態把握に不可欠と考えられる、日常生活における症状出現や行動変化については、診療場面での自己報告あるいは日記型式による記録しかなかった。これらの方法では、記憶によるバイアスや症状をすぐに記載しないなどのコンプライアンスの問題が避けられず、信頼性に乏しいものであった。

これに対しわれわれは、携帯型コンピューターによる電子日記、微量ガスサンプリング、及び活動度計付きホルター心電図を用い、さらにはデータの解析法を工夫することにより、日常生活下での自覚症状・化学物質負荷・体動パターン・自律神経機能の解析を行った [1]。その結果様々な知見が得られたが、体動解析ではMCS患者において日中体動が持続しない一方、夜間は急に動き出したりだらだらと動いていることが伺われた。また心拍変動解析では、患者群で日中・夜間を通じて心拍のホメオスタシスを維持する力が弱いことが示唆された。しかしいずれも症例数が少なかつたため、更なるデータの蓄積が必要と考えられた。

本研究の目的は、より多くの症例を用いて体動及び心電図データの蓄積・検討を行い、MCS患者の身体活動パターンと自律神経活動に対する考察を深めることである。

### B. 研究方法

#### 1. 対象

[患者群]

平成17年6月28日より平成18年3月14日までに、北里研究所病院臨床環境センターのアレルギー科MCS外来を受診し、石川らの診断基準と1999年コンセンサス [2] によって、MCSと診断された患者を対象とした。書面にて研究に関する詳細な説明を行い、同意の得られた21名を研究に導入した。うち2名は中途脱落、4名は心電図記録のみ測定に同意し、1名は体動の研究のみ測定に同意した。その結果、体動の解析は15名（表1）、心電図の解析は残り18名から精神疾患の合併のあった3名（全

般性不安障害・広場恐怖、社会不安障害、広場恐怖のないパニック障害）を除いた15名で行った（表2）。なお、化学物質への暴露歴が特定できない患者は、厳密にはMCSの定義を満たさない可能性もあるため、あらかじめ除外した。

[コントロール群]

コントロール群として、自覚的にMCSの症状を認めていない健常者12名を対象にした。うち、1名は心電図のみ、他の1名は睡眠中ホルターのデータ記録時間が短かつたため解析対象から除外した。したがって、体動の解析も心電図の解析もどちらも11名の健常者がコントロール群の対象になった（表1・2）。

(倫理面への配慮)

本研究の実施に際しては、北里研究所病院倫理委員会および東京大学医学部附属病院倫理委員会の承認を得、参加者本人からはインフォームドコンセントを得た。すなわち、本研究の参加に先立ち、研究担当医師が研究参加への同意を説明文付きの同意書を用いて得た。説明項目は、以下のものであった。

- ①検査の目的。
- ②検査の内容。
- ③安全性及び考えられる不都合。
- ④参加の同意や中途での中止は本人の自由であり、それによって何ら不利益は受けないこと。ただし、器材は中断した場合にも返却してもらうこと。
- ⑤本検査は研究段階のものであるため、検査に係る費用は研究者が負担すること。
- ⑥名前や個人が特定できる情報は、本研究結果の報告の際にも公表しないこと。
- ⑦結果は本人に知らせ、治療にも役立てること。

#### 2. 装置

本研究では2種類の装置を使用した。体動の記録については、腕時計型の小型活動度計（八角型アクティグラフ、米国AMI社製）を用いた。ゴムバンドに対し接触性皮膚炎を来す可能性を考慮し、オーガニックコットン製のバンドも用意した。バンドの刺激のために測定を中断せざるを得なかつた患者はいなかつた。またホルター心電図（FM-100、フクダ電子）を用いて、心拍変動（R-R間隔の変動）を測定し



た。MCS の患者はアレルギー性皮膚炎を合併していることが多いため、2種類の電極シールを用意した。電極、電極固定用テープともに匂いはないわけではないが、電極とテープの匂いや刺激のために測定を中断せざるを得なかった患者はいなかった。

### 3. 評価手順

〔患者群〕

まず研究内容についての詳細な説明を行った上、研究への参加を依頼した。同意が得られた患者に対しては、一般的な情報（年齢・既往歴など）および MCS の発症の経過を問診した後、精神疾患の合併の有無を評価するため、精神疾患簡易構造面接法（MLNI；Mini International Neuropsychiatric Interview）を行った [3]。同時に抑うつや不安症状を評価するために、標準的な質問紙である POMS（今回は解析対象にせず）を、また MCS の程度を把握するために、北條らが作成した日本語版 QEESI [4] をあわせて行った。機材については、小型活動度計は 1 週間、ホルター心電図計は 24 時間、入浴時以外は常に着用するよう依頼し、心拍と体動の記録を行った。

〔コントロール群〕

上記健常者を対象に、患者群と同様に心拍と体動の記録を行った。

### 4. データ解析

〔体動の解析〕

体動データは小型活動度計に付属の統計ソフト（AW2、米国 AMI 社製）にて体動量の解析及び Cole のアルゴリズムに基づく睡眠時間の測定を行った。また体動の平均値や標準偏差では表されない体動パターンの特徴を抽出するため、フラクタル解析と呼ばれる手法を用いた。長期相関（フラクタル指数）については、今回は Detrended Fluctuation Analysis（DFA）法を用いて解析を行った [5]。DFA 法は単位時間あたりの体動をその前後の体動の値との自己相関を計算することによって、活動が持続しているかどうかを見ることができる。フラクタル指数  $\alpha = 0.5$  がまったく相関がなく、それより大きければ正の相関が高いとみなす。

〔心拍変動の解析〕

覚醒している日中および睡眠中の、連続した 3 時間の RR 間隔時系列データを対象として解析を行った。時間帯によって自律神経機能の変動が予想されるため、日中は 12 時から 15 時、夜間は 2 時から 5 時（一部就寝時間の遅い患者は 3 時から 6 時）のデータを用いた。

具体的な R-R 間隔データの処理と解析の手順は以下の通りである。

#### 1. Coarse Graining Spectral Analysis (CGSA、

粗視化スペクトル解析) 法による解析 [6] → 心拍変動の周波数分析結果から、呼吸や血圧の変動に関連する周期的成分を除いた非周期的成分を求める。長期相関（フラクタル指数）による検討が可能であり、症状非出現時の特徴を解析できる。

① R-R 間隔の時系列データを 4Hz で再サンプリング後、線形トレンドを除去。

② 粗視化スペクトル解析で周期成分とフラクタル成分に分解した。

③ 周期成分については、低周波領域（LF、0.04 - 0.15Hz）と高周波領域（HF、0.15 - 0.40Hz）のパワーを求め、交感神経活動との関連が報告されている LF/HF も計算した。

④ フラクタル成分については 2 つのパラメータによって評価した。(1) 心拍変動のパワーの総和におけるフラクタル成分の割合（% Fractal；今回は解析対象にせず）。(2) スペクトルパワーと周波数を両対数プロットして得た直線回帰の傾きの絶対値であるスペクトル指数  $\beta$ 。

2. 体動の解析同様、RR 間隔の時系列データの長期の変動パターンを調べるため、DFA 法によるフラクタル解析を行い、フラクタル指数  $\alpha$  ( $\alpha 1$ ：心拍数 11 拍以下、 $\alpha 2$ ：11 拍以上) を算出した。

### C. 研究結果

#### 1. 解析対象者の基礎データ

表 1・2 に、対象者の基礎データを示す。コントロール群の 1 名で、睡眠時間が 197 分と極端に短かったため、解析対象から除外した。また、ID14 の患者では、QEESI 得点の 3 下位尺度（化学物質不耐性、自覚症状、生活障害度）のいずれも、健常者と弁別するためのカットオフ値以下であったため、寛解状態にあるものと



考え除外した。

いずれの患者も発症初期のような強い自覚症状は認めず、ある程度自立した日常生活が可能な状態であった。また発症の契機は自宅（新築・リフォームなど）と職場での暴露が大部分であり、原因と考えられた化学物質が同定されている患者では、そのほぼ半数がホルムアルデヒドによるものだった。

## 2. 体動の解析結果

体動の解析結果では、睡眠中の  $\alpha$  が MCS 群で有意に大きく ( $t(22) = 2.606, p = 0.016$ )、睡眠時間が MCS 群で有意に長かったが、体動量、睡眠効率、睡眠潜時には差はなかった（表 3、図 1）。そこで、睡眠時間を共変量にした共分散分析を行ったところ、 $\alpha$  の有意差は大きくなった ( $F(1, 21) = 9.27, p = 0.006$ )。また、睡眠中の  $\alpha$  と睡眠指標との相関を見ると、睡眠効率との間に強い負の相関が認められた（表 4）。そこで、睡眠効率を共変量にした共分散分析を行ったところ、 $\alpha$  の有意差はさらに大きくなった ( $F(1, 21) = 11.44, p = 0.003$ )。

## 3. 心拍変動の解析結果

心拍変動の解析結果では、睡眠中の LF に、 $t(22) = 2.10, p = 0.047$  の有意差を認めたが、各群とも 1 名ずつ外れ値を含めたため、Mann-Whitney 検定を行ったところ、 $p = 0.053$  と有意ではなくなった。さらに、HF、LH/HF、 $\beta$ 、 $\alpha 1$  にも差を認めなかったが、日中の  $\alpha 2$  では MCS 群の方が有意に大きかった ( $t(22) = 2.20, p = 0.038$ )（図 2）。

## D. 考察

体動の解析では、体動の量については、患者群と健常群で大きな違いはなかった。しかしその一方で、睡眠中のフラクタル指数  $\alpha$  が患者群で有意に高い値を取っていた。過去の先行研究より日中でも極端に体動を制限するとフラクタル指数  $\alpha$  が低下することが知られており [7]、このことと考え合わせると、患者群では睡眠中にも不規則な体動が持続し、十分な休息が取れていないことが示唆された。また、両群で有意差が認められた睡眠時間、各群内で  $\alpha$  と高い負の相関が認められた睡眠効率のそれぞれで補正をした共分散分析を行うと、睡眠中の  $\alpha$  の有意

差はさらに際立つ結果となった。このことは、睡眠時間や睡眠効率といった基本的な睡眠の特質とは関連のない脳神経系の調節異常が、患者群における夜間の体動異常の背景にあることを窺わせる結果である。将来的には、ポリソムノグラフィとともに体動の解析を行うことができれば、MCS の病態の神経学的メカニズムに迫ることができるかもしれない。

心拍変動解析では、自律神経系の変動を表す HF や LF/HF などには有意差は認められなかったが、日中の  $\alpha 2$  が MCS 群の方で有意に大きいという結果が得られた。このことから、MCS 患者では日中活動中の心拍のホメオスタシス維持機能（ホワイトノイズの特徴を持つ  $\alpha = 0.5$  の時、ホメオスタシスを維持する力が最も強いと考えられる）が弱まっている可能性が示唆された。

われわれは、化学物質過敏症（MCS）患者に対して、日常生活下での自覚症状の経時的なプロフィールを検討し、化学物質の負荷があると考えられる状況のみで多彩な症状が出現していることを示してきた [1]。しかし、この症状出現が化学物質に伴った臭いなどに対する古典的条件付けで説明できる可能性もある。しかし、今回、症状出現時に限らず心拍変動や体動に異常が認められるという結果が得られたことは、MCS の病態が古典的条件付けのみでは説明できないという立場を支持するものである。また、体動のように比較的簡便に測定できる指標によって、健常者との間に強い有意差を認めたことから、今回の指標（睡眠中の  $\alpha$ ）が、健常者と MCS 患者を鑑別するために役立つ可能性を示唆している。

## [研究 2]

### A. 研究目的

シックハウス症候群の研究において、化学物質曝露と症状の実態を把握することは急務であるが、揮発性有機化合物（VOC）の個人曝露濃度を測定し、症状出現との関連を調べた研究は稀である。前年度は、VOC のリアルタイムモニタを用いて曝露濃度を測定し、自覚症状と心拍変動の関係を調べる調査を健常者に対して行い、調査方法の有効性を確認した。その結果、TVOC 曝露濃度の変化（5 分間隔）が自律神

経活動へ影響を及ぼすことが示唆された [8]。そこで今年度は、同様の調査を患者に対して行い、シックハウス症候群患者の病態の把握や診断及び具体的な対応方策のための客観的なデータを得ることを目的とした。

## B. 研究方法

### 1. 対象者

〔被験者〕

北里研究所病院臨床環境センターのアレルギー科化学物質過敏症外来を受診し、診察および各種検査後、専門医によりシックハウス症候群と診断された患者 8 名（男性 3 名、女性 5 名、年齢は、31 歳～62 歳）に協力を依頼した。

（倫理面への配慮）

本研究の実施に際しては、北里研究所病院倫理委員会の承認を得、参加者本人からはインフォームドコンセントを得た。すなわち、本研究の参加に先立ち、研究担当員が研究参加への同意を説明文付きの同意書を用いて得た。説明項目は、以下のものであった。

- ①検査の目的。
- ②検査の内容。
- ③安全性および考えられる不都合。
- ④参加の同意や中途での中止は本人の自由であり、それによって何ら不利益は受けないこと。
- ⑤名前や個人が特定できる情報は、本研究結果の報告の際にも公表しないこと。
- ⑥結果は本人に知らせ、治療にも役立つこと。

### 2. 調査方法

〔概要〕

調査は 2006 年 7 月から 2007 年 12 月にかけて行った。日常生活において VOC モニタ (ppbRAE、RAE systems) や Holter 心電計 (FM-150 または FM-180、フクダ電子) を用いて TVOC の曝露と心拍変動のリアルタイムモニタリングを行った。測定は午前 8 時から 24 時間連続で行った。同時に行動記録表への記入を依頼した。以下にそれぞれについて詳細を述べる。

〔VOC モニタ〕

VOC モニタにより 24 時間の TVOC の個人曝露濃度を測定した。検出器は光イオン化検出器 (PID) であり、10.6 eV の UV ランプを使

用した。測定の前には純空気 (G1) と 10ppm または 100ppm のイソブチレンガスによって校正した。また、モニタの値を見ることによる心理的なバイアスを防ぐため、ディスプレイにシールを貼って、読み取り値が見えないようにした。また、ポンプの騒音を防ぐため、消音ボックスに入れた状態にした。被験者には、モニタを手提げバッグに入れ、持ち運ぶか、身近なところに置いておくように指示した。測定期間中の 20 秒間か 1 分間の TVOC 濃度の平均値、最小値、最大値を記録した。また、温室時計 (HOBO U10、Onset) もバッグに入れ、同じ時間間隔で温湿度を記録した。

〔Holter 心電計〕

Holter 心電計により 24 時間の心電図を記録した。被験者には 4 つの電極を規定の場所双極誘導、CM5、NASA) に張り付けるよう指示した。電極シールに反応しないよう、使用前は空気にさらし、なるべく匂いがなくなるようにした。心電計はゆれや振動によるノイズを避けるため、おなかの部分にシールで固定し、ひもで首から提げてもらった。心電図データは 125 Hz で記録し、マルチメディアカードに記録した。

〔行動記録表〕

行動記録表を図 3 に示す。健常者と同様、被験者には測定期間中に滞在した環境 (自宅、職場、その他室内、屋外) と行った活動 (着席、起立、徒歩、運動、睡眠、食事) を選択肢の中から選んでもらった。また、自覚症状を感じた場合、症状のレベルを 10 段階で表し、QESSI の症状の項目から該当するものを複数選択可で選んでもらった。以上の項目は、5 分間隔で記入するように依頼した。

### 3. 解析方法

〔TVOC〕

VOC モニタにより記録した値は、イソブチレンからトルエンへの換算係数 0.5 を用いてトルエン濃度に換算し [9]、さらに温度補正して  $\mu\text{gm}^{-3}$  に変換した。この値を用いて、5 分間隔の TVOC の平均濃度、最高濃度、最低濃度を求めた。

濃度の絶対値に加え、濃度の変化量の指標として、最大値と最小値の差 (以下、 $\Delta$  TVOC)



を求めた。この値は5分間内での濃度変化の最大値を表す。濃度増加時、減少時のどちらも正の値となることに留意する必要がある。この値に加え、ひとつ前(5分前)の平均値との差分を求め、正の値を  $d + \text{TVOC}$ 、負の値を  $d - \text{TVOC}$  とした。これらの値は、5分前からの濃度増加、あるいは減少を表す。

#### [心拍変動]

記録された心電図のRR間隔の時系列データに対して、Gabor関数を用いたwavelet変換を行い(Fluclet WT、大日本住友製薬)、10秒間の低周波領域(LF、0.04-0.15Hz)と高周波領域(HF、0.15-0.40Hz)のパワー(msec<sup>2</sup>)およびLF/HFを求め、5分間隔の平均値とした。なお、HFは副交感神経活動、LF/HFは交感神経活動との関連が報告されている[10]。

#### [除外データ]

生理学的状態と心拍変動の関係については多くの研究がなされている。様々な条件により必ずしも一貫した傾向はないが、運動によるHFの減少[11]、食事によるLF/HFの増加とHFの減少[12]、睡眠時のLFの減少、HFの増加[13]等が報告されている。したがって、これらの交絡因子の影響を除くため、これらの活動(運動、食事、睡眠)およびその影響が続くと考えられる時間(運動+15分、食事+60分)のデータは解析から除外した。

### C. 結果と考察

#### 1. 各指標の健常者との比較

TVOCや心拍変動の指標に関して、健常者と比較した結果を表5に示す。すべての指標に関して、健常者と患者の間に有意な差は確認されなかった(wilcoxonの検定)。TVOC曝露濃度に関しては、患者のほうが高い傾向が示されたが、自宅での曝露濃度は低く、環境の改善が可能な自宅においては、濃度を低減する対策を行っていることが考えられた。また、患者のHFの値は健常者の6割程度と低い値を示した。

#### 2. TVOCと心拍変動の関係

TVOCと心拍変動の間の関係を調べるため、二変量の相関解析を行った。データの分布が正規分布に従わなかったことと、外れ値の影響を

低減するため、Spearmanの順位相関係数を求めた。統計ソフトはJMP7(SAS)を用いた。結果を表6と図4、5に示す。TVOC濃度とHFの間には、8名中4名に負の相関が示された(2名は有意、 $p < 0.05$ )のに対し、 $\Delta \text{TVOC}$ とHFの間には、5名に負の相関が確認された(4名は有意、 $p < 0.05$ )。一方、TVOC濃度とLF/HFの間には、4名の被験者に正の相関が示された(1名は有意、 $p < 0.05$ )のに対し、 $\Delta \text{TVOC}$ とLF/HFの間には、6名に正の相関が確認された(1名は有意、 $p < 0.05$ )。このことから、VOC濃度の変化量が大きいとき、副交感神経活動が抑制され、交感神経活動が賦活することが考えられた。

さらに  $d + \text{TVOC}$  と  $d - \text{TVOC}$  についてみると、 $d + \text{TVOC}$  と HF は負の相関の傾向(7名が負の相関、うち4名は有意、 $p < 0.05$ )、 $d - \text{TVOC}$  と HF は正の相関の傾向(7名が正の相関、うち5名は有意、 $p < 0.05$ )が示された。また、 $d + \text{TVOC}$  と LF/HF は正の相関の傾向(7名が正の相関、そのうち4名は有意)、 $d - \text{TVOC}$  と LF/HF は負の相関の傾向(7名が負の相関、そのうち3名は有意)が示された。これらの傾向は、TVOC濃度の変化が、増加あるいは減少にかかわらず、引き続き心拍変動の指標と関連していることを示唆している。

これらの傾向は、健常者にもよく見られる傾向であったことから(図4、5)、VOC曝露に対して患者と健常者は同様の反応を示すことが示唆された。

#### 3. 自覚症状時と通常時との比較

自覚症状時と通常時の各指標の比較を表7と図6に示した。症状時に6名はTVOC曝露濃度が高く、3名はTVOC変化量が高く、統計的に有意ではないが(wilcoxonの検定)、患者fを除く全ての被験者において、TVOC濃度あるいは変化量が高値を示していた。患者fは症状自覚時間が短かったため(0.3時間)、他の患者と異なる傾向を示した可能性がある。この結果から、患者はTVOC濃度が高いとき、あるいは変化量が大きいときに症状を自覚する可能性が示唆された。

心拍変動に関しては、症状自覚時にHFが低下する被験者が多かった(8名中6名)。また、



6名の患者は、湿度が高いときに自覚症状を感じており、症状出現に湿度の影響があることも示唆された。

#### D. 結論

研究1における体動の解析からは、MCS患者では睡眠中に不規則な動きが断続的に現れる特徴が示された。総睡眠時間で補正した結果、両群間の有意差が大きくなったことから、 $\alpha$ の群間差には、睡眠時間とは関連のない脳神経系の調節異常が背景にあると推定された。心拍変動の解析からは、MCS患者では日中活動中の心拍のホメオスタシス維持機能が弱まっている可能性が示唆された。以上より、MCSの病態の基盤には、症状非出現時にも何らかの生物学的異常が関与していることが示唆された。

研究2では、シックハウス症候群患者8名と健常者7名に対して、TVOCと心拍変動のリアルタイムモニタリングを行った。健常者との比較では、すべての指標に関して有意な差は確認されなかった(wilcoxonの検定)。TVOCと心拍変動の指標の相関を確認したところ(Spearmanの順位相関係数)、患者、健常者ともTVOC濃度の変化量とHFの間に負の相関、LF/HFの間に正の相関が見られる例が多く、TVOC濃度の変化が、増加あるいは減少にかかわらず、引き続き自律神経活動と関連していることが示唆された。症状自覚時と通常時で比較すると、1名を除く全ての患者において、統計的に有意ではないがTVOC濃度または $\Delta$ TVOCが症状自覚時に高値を示し、患者はTVOC濃度が高いか、変化量が大きいために症状を自覚する可能性が示唆された。また、症状自覚時にHFが低下する被験者が多かった(8名中6名)。

以上より、シックハウス症候群の基礎疾患としてのMCS患者には、症状非出現時にも体動や心拍の調節機構に異常があり、TVOC濃度の変化による副交感神経活動の低下が症状出現に関わっている可能性が示唆された。

#### E. 研究発表

##### 1. 学会発表

- 1) Kumano H: The impact of stress-related factors on multiple chemical sensitivity. The 24th

Annual International Symposium on Man and His Environment (Dallas), June, 2006

- 2) Kumano H: The symptom profile of multiple chemical sensitivity in actual life. The 24th Annual International Symposium on Man and His Environment (Dallas), June, 2006
- 3) 水越厚史, 熊谷一清, 山本尚理, 野口美由貴, 吉内一浩, 熊野宏昭, 小沢 学, 松井孝子, 坂部 貢, 柳沢幸雄, 化学物質過敏症患者におけるVOC曝露と心拍変動のリアルタイムモニタリング, 第17回日本臨床環境医学会総会, 2008.

#### 参考文献

- 1) Saito M, Kumano H, Yoshiuchi K, Kokubo N, Ohashi K, Yamamoto Y, Shinohara N, Yanagisawa Y, Sakabe K, Miyata M, Ishikawa S, Kuboki T. Symptom profile of multiple chemical sensitivity in actual life. *Psychosomatic Medicine*. 67 (2) : 318-25, 2005.
- 2) Multiple chemical sensitivity: a 1999 consensus. *Arch Environ Health* 1999; 54:147-9.
- 3) Sheehan DV, Lecrubier Y, Sheehan KH, Amorim P, Janavs J, Weiller E, Hergueta T, Baker R, Dunbar GC. The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *J Clin Psychiatry* 1998; 59 Suppl 20: 22-33; quiz 34-57.
- 4) Hojo S, Kumano H, Yoshino H, Kakuta K, Ishikawa S. Application of Quick Environment Exposure Sensitivity Inventory (QEESI) for Japanese population: study of reliability and validity of the questionnaire. *Toxicology & Industrial Health*. 19 (2-6) : 41-9, 2003.
- 5) Peng CK, Havlin S, Stanley HE, Goldberger AL. Quantification of scaling exponents and crossover phenomena in nonstationary heartbeat time series. *Chaos*. 5 (1) : 82-7, 1995.
- 6) Yamamoto Y, Hughson RL. Coarse-graining spectral analysis: new method for studying heart rate variability. *Journal of Applied Physiology*. 71 (3) : 1143-50, 1991.
- 7) Amaral N, Soares B, Silva D, Lucena S, Saito

- M, Kumano H, Aoyagi N, Yamamoto Y. Power law temporal auto-corrrelations in day-long records of human physical activity and their alteration with disease. *Europhysics Letters*. 66 (3) : 448-454, 2004.
- 8) Mizukoshi A, Yamamoto N, Kumagai K, Yoshiuchi K, Kumano H and Yanagisawa Y, Real-time measurements of VOC exposure and heart rate variability in indoor and outdoor environments, *the 6th International Conference on Indoor Air Quality Ventilation & Energy Conservation in Buildings*, 2007.
- 9) RAE systems: Application & Technical Notes 3rd Edition, 2005.
- 10) Camm AJ, Malik M, Bigger JT, Breithardt G, Cerutti S, Cohen RJ, Coumel P, Fallen EL, Kennedy HL, Kleiger RE, Lombardi F, Malliani A, Moss AJ, Rottman JN, Schmidt G, Schwartz PJ and Singer DH: Heart rate variability Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. *European Heart Journal* 17: 534-381, 1996.
- 11) Casadei B, Cochrane S, Johnston J, Conway J and Sleight P: Pitfalls in the interpretation of spectral-analysis of the heart-rate-variability during exercise in humans. *Acta Physiologica Scandinavica* 153: 125-131, 1995.
- 12) Lu CL, Zou XP, Orr WC and Chen JDZ: Postprandial changes of sympathovagal balance measured by heart rate variability. *Digestive Diseases and Sciences* 44: 857-861, 1999.
- 13) Baharav A, Kotagal S, Gibbons V, Rubin BK, Pratt G, Karin J and Akselrod S: Fluctuations in autonomic nervous activity during sleep displayed by power spectrum analysis of heart-rate-variability. *Neurology* 45: 1183-1187, 1995.

表1 体動の解析対象者の基礎データ

		A.患者群	B.コントロール群
人数		15 [14]*	11 [10]*
性別	男性	6 [5]	5
	女性	9	6 [5]
年齢	レンジ	21-57 [25-57]	26-48 [23-60]
	mean ± SD	39.0 ± 10.0 [40.3 ± 9.1]	36.4 ± 12.1 [34.1 ± 10.3]

\* 患者群の1名は、QEESI得点の3下位尺度が全てカットオフ値以下であったため除外し、コントロール群の1名は、睡眠時間の短さから外れ値と見なされたため除外した。

ID	発症のきっかけ	精神疾患の合併	QEESI (Q1, Q3, Q5)		
1	リフォーム	全般性不安障害、広場恐怖	61	63	49
2	新築	-	68	58	58
3	職場での暴露	-	19	22	39
5	職場での暴露	-	64	49	45
6	職場での暴露	-	46	27	45
8	職場での暴露	-	77	80	57
9	新築	-	46	54	23
11	農薬暴露	-	79	76	56
12	新築	-	71	29	73
14	ストーブの臭い	-	12	2	4
16	職場での暴露	-	29	14	47
17	職場での暴露	-	42	40	35
18	新築	-	73	62	51
20	整髪料	-	28	6	32
21	防虫剤	-	88	65	57