

平成14年度

本態性多種化学物質過敏状態の調査研究

研究報告書

平成15年3月

財団法人 日本公衆衛生協会

# 総 目 次

A . 目 的 .....	1
B . 検討会委員 .....	1
C . 調査研究結果 .....	3
第 1 章 二重盲検法による微量化学物質曝露試験 .....	3
第 2 章 マウスを用いた動物モデルに関する研究 .....	1 7 9
D . 付録 The role of neural plasticity in chemical intolerance - 化学物質不耐性における神経の可塑性 - (Ann NY Acad Sci vol 933 2001 要約 ) .....	2 8 9

# 本態性多種化学物質過敏状態の調査研究

## A. 目的

近年、環境中に存在する微量な化学物質による環境汚染や人体汚染が大きな社会問題となっている。とりわけ、シックハウス症候群に代表され、その関連性が指摘されている本態性多種化学物質過敏状態（いわゆる化学物質過敏症）については、不確実な点が多いものの、科学的知見の収集を急ぐ必要がある。

そこで、本調査では、平成12年度に実施した二重盲検法のパイロットスタディを踏まえ、本格的に二重盲検法を実施することで、本病態が化学物質によって誘発されるか否かを検証した。

また、平成10年度の報告で課題に挙げられていた「モデル動物を利用した非アレルギー性の過敏状態の発症機序の検討」を昨年度に引き続き実施することで、メカニズムの解明を図ることを目的とした。

## B. 検討会委員（順不同 敬称略）

座長	大井 玄	独立行政法人国立環境研究所顧問、東京大学名誉教授
	相澤 好治	北里大学医学部衛生学公衆衛生学教授
	荒記 俊一	独立行政法人産業医学総合研究所理事長、東京大学名誉教授
	安藤 正典	国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部長
	浦野 紘平	横浜国立大学大学院環境情報研究院教授
	久保木富房	東京大学医学部附属病院分院心療内科教授
	竹中 洋	大阪医科大学医学部耳鼻咽喉科教授
	土屋 悦輝	工学院大学工学部応用化学科講師
	西岡 清	東京医科歯科大学皮膚科学教授
	橋本 信也	国際学院埼玉短期大学副学長
	藤巻 秀和	独立行政法人国立環境研究所環境健康研究領域生態防御研究室長
	吉村 健清	産業医科大学産業生態科学研究所臨床疫学教授
	鈴木 達夫	（社）北里研究所医療環境科学センター長
	宮田 幹夫	（社）北里研究所北里研究所病院臨床環境医学センター客員部長
	遠乗 秀樹	北里大学医学部衛生学公衆衛生学助手
	嵐谷 奎一	産業医科大学産業保健学部教授

C . 調査研究結果

## 第 1 章 二重盲検法による微量化学物質曝露試験

## 目 次

概要 .....	5
研究実施担当者 .....	11
. 目的 .....	12
. 方法 .....	12
( 1 ) 施設 .....	12
( 2 ) 検査期間 .....	12
( 3 ) 対象 .....	12
( 4 ) 負荷ガス条件 .....	13
( 5 ) 検査実施手順 .....	13
( 6 ) 患者病歴 .....	17
( 7 ) 症例の要約 .....	28
. 結果 .....	30
A . 自覚症状スコア .....	30
B . バイタルサイン検査 .....	52
C . 瞳孔検査 .....	63
D . 脳酸素飽和度 ( NIRO ) 検査 .....	83
E . 呼吸器検査 .....	150
F . 心療内科検査 .....	152
G . 症例ごとの検討 .....	169
. 考察 .....	174
. 結論と今後の課題 .....	177

## 概 要

### 1. 目的

本態性多種化学物質過敏状態（いわゆる化学物質過敏症）については平成9年から研究班が設置された。平成12年度に本病態と診断された被験者8名に微量ホルムアルデヒド曝露試験を行った結果、曝露試験後の自覚症状増強が不確実であり、また他覚的検査でも十分な異常所見を把握し得なかった。そのための課題として、症例数を増やすこと、および同一患者の再負荷検査を行うことにより症状増強の再現性を得られるかどうかを確認することが掲げられた。以降、症例数を蓄積し、化学物質から遮断された空間でプラセボ（0ppb）、極微量の8ppbおよび40ppbホルムアルデヒド曝露試験を二重盲検法により実施してきた。

平成13年度に実施した二重盲検法での調査研究を踏まえ、さらに症例数を増やして、二重盲検法により微量化学物質を負荷し、本病態が化学物質により誘発されるか否かを検証することを目的とした。

本年度も負荷物質は40ppb、8ppb、プラセボ負荷であり、負荷前後の自覚症状、バイタルサイン、呼吸機能検査、神経眼的検査、近赤外線酸素モニターを利用した前頭部の酸化ヘモグロビンの変動、呼吸機能検査、さらに今回は新たに心療内科的検査を記録した。

結果についてはできる限りこれまでの過去3年間の結果と合わせて検討することとした。

### 2. 対象と方法

本態性多種化学物質過敏状態患者に微量ガス負荷試験を化学的に清浄な空間で二重盲検法により行い、それにより引き起こされる自覚的症状および他覚的所見の変化を検討した。

#### 1) 対象

平成14年度の被験者は本態性多種化学物質過敏状態と診断された15名とした。年齢は前年度と同様に、20歳以上、40歳までとし、あまり症状が重症でない者とした。本態性多種化学物質過敏状態の診断は、北里研究所病院臨床環境医学センターに所属する医師が行い、第三者の医師により診断基準に合致しているかどうかの判定を得て選択した。この第三者の医師は、今回も前年度と同様に呼吸器内科専門医に委任した。また、精神疾患患者を除外するために、精神科専門医の診察を受けた。すなわち、研究開始時の患者、対照の選定にあたり、精神疾患の有無についての判定を行い、精神疾患を除外した。その詳細は前年度と同様である。

すべての被験者に、本微量ガス負荷試験の目的と方法を詳しく説明し、十分なインフォームドコンセントを得た後にガス負荷試験を行うこととした。被験者は、負荷後の体調等によっては、任意にプログラムから離脱できることとした。ガス負荷試験実施については事前に北里研究所病院倫理委員会の承認を得た。

## 2) 曝露実施施設

使用施設は前回と同じく、化学的に清浄な空間の準備が可能な北里研究所病院臨床環境医学センターとした。

## 3) 負荷ガス条件

負荷物質はホルムアルデヒドとした。負荷濃度は下記の通りである。

低濃度 (40ppb) ホルムアルデヒド

極低濃度 (8ppb) ホルムアルデヒド

プラセボ\*

\*プラセボ：偽薬。薬理作用の無い水や澱粉などを医薬品等の効果を評価する際の対照として用いる。今回はホルムアルデヒドを含まない (0ppb) ガスを用いた。

このホルムアルデヒド設定濃度は、建築物衛生法の環境衛生管理基準80ppbの1/2および1/10の濃度である。これらの負荷は1日1濃度とした。負荷条件は、ガス負荷室入室後5分間安静、10分間負荷、さらに5分間の観察とした。

## 4) 検査項目

### 自覚症状

自覚症状の記入様式は、国内外で報告されている自覚症状を参考に25項目を選定し、曝露前後で被験者が「ない」から「最も強い」まで直線上に自由にプロットするように設定し、その症状の程度を直線上の長さからスコア化した。

### 全身検査

- ・ 脈拍数
- ・ 血圧
- ・ 体温
- ・ 指先の酸素飽和度
- ・ 瞳孔検査
- ・ 右前頭部の酸素飽和度
- ・ 呼吸機能検査
- ・ 心療内科診察

## 5) 検査実施手順

化学的清浄空間を有する病室に入院する期間は、平成13年度と異なり、すべて6日間とした。マスクing (汚染環境に馴化し、汚染物質負荷により症状が誘発されにくい状態) 除去のために、入院第1日目、2日目はガス負荷検査を行わなかった。すなわちマスクing除去期間を1日間から2日間に増やした。またガス負荷室検査に馴れるために、2日目にガス負荷室模擬検査を行った。

ガス負荷室の汚染の影響を防ぐために、ガス濃度変更の前には必ずガス負荷室のオゾン燻蒸を行い、壁材への負荷ガスのシンク効果除去を図った。燻蒸時間は2時間と

し、燻蒸後はオゾンの消失を待つために、さらに2時間の換気時間を置くこととした。

ガス負荷は、0レベルから徐々にガス濃度を上げ、7～8分後に設定濃度に到達する。徐々にガス濃度を上げるために、この濃度では入室者がガス臭を感じることはない。負荷物質の順序は第三者の立会い医師による阿弥陀クジにより決定した。このガス負荷試験では、被験者、および診療および検査を行う医師にはまったくガス濃度は知らされず、立会い医師のみがクジの内容を知り、ガス負荷を操作した。

自覚症状の検査は自記式の症状票によって行った。記入様式は、国内外で報告されている自覚症状を参考に25項目を選定し、曝露前後で被験者が「ない」から「最も強い」まで直線上に自由にプロットするように設定し、その症状の程度を直線の長さからスコア化した。

第1日目：マスクング除去

第2日目：マスクング除去

一般全身検査

体温 鼓膜温度を測定（テルモ耳式体温計 ミミツピH テルモ株）

血圧 座位で測定

SpO<sub>2</sub>測定（Onyx Nonin社 ミネアポリス 米国）

自覚症状票記入

胸部診察および胸部X線検査、呼吸機能検査

呼吸器内科専門医師による診断基準に該当するかの確認作業

精神科医診察

自覚症状記入票の自己記入と実際の症状の一致性と精神疾患除外のための確認作業

第3日目：ガス負荷

一般全身検査（脈拍、体温、血圧、SpO<sub>2</sub>）

自覚症状票記入

電子瞳孔検査

ガス負荷

ガス負荷中、右前頭部の酸素飽和度の相対的変動を測定（近赤外線酸素モニター装置Near Infrared Oxygen Monitor; NIROによる。）

一般全身検査（脈拍、体温、血圧、SpO<sub>2</sub>）

自覚症状票記入

電子瞳孔検査

問診

病室に帰室

第4日目：ガス負荷

第3日目と同じ検査

第5日目：ガス負荷

第3・4日目と同じ検査

心療内科医により心療的側面からの診察も実施

第6日目：退院前検査

一般全身検査（脈拍、体温、血圧、SpO<sub>2</sub>検査を含む）

## 自覚症状票記入

### ・結果

#### 1) 自覚症状

曝露前後の自覚症状を比較した結果をもとに、被験者を以下の4型に分類した。

#### 曝露試験での被験者の反応による分類

- Type 1: プラセボでは自覚症状の増強がなく、ホルムアルデヒド(8ppb 及び 40ppb、又は 40ppb のみ)で自覚症状増強がみられた者
- Type 2: プラセボ、ホルムアルデヒド(8ppb、40ppb)ともに、自覚症状増強がみられた者
- Type 3: プラセボ、ホルムアルデヒド(8ppb、40ppb)ともに、症状増強がみられなかった者
- Type 4: その他(入院時プラセボのみ、試験時プラセボのみ又はホルムアルデヒド 8ppb のみで自覚症状増強がみられた者)

プラセボ:薬理作用の無い水や澱粉などを医薬品等の効果を評価する際の対照として用いる。偽薬。

今回はホルムアルデヒドを含まない(0ppb)ガスを用いた。

このType分類を、過去の平成12年度にも適用して、平成13年度、14年度の被験者と合わせたものが、次の表である。

#### 平成12年度～平成14年度の曝露試験被験者Type分類

	平成12年度	平成13年度	平成14年度	計
Type 1	1	2	4	7
Type 2	0	4	1	5
Type 3	2	4	6	12
Type 4	5	5	4	14
計	8	15	15	38

すなわち、プラセボで自覚症状の増強がなくホルムアルデヒドで自覚症状増強がみられた者は7名、プラセボ、ホルムアルデヒドともに自覚症状増強がみられた者が5名、プラセボおよびホルムアルデヒドともに自覚症状増強がみられなかった者が12名、その他、プラセボ負荷のみで自覚症状が増強している者、8ppbのみで自覚症状増強のみられた者などあわせて14名であった。

平成12年度～平成14年度の曝露試験被験者の内訳

	プラセボ (人)	8 ppb (人)	40 ppb (人)
症状増強	10 26.30%	15 39.50%	13 34.20%
変化なし	26	21	23
症状改善	2	2	2
計	38	38	38

プラセボでの症状増強、8 ppbでの症状増強、40ppbでの症状増強の3つを 自乗検定を行っても(P=0.472)、またプラセボでの症状増強、40ppbでの症状増強についての比較を行っても (Fisherの直接確率法ではP=0.618、プラセボの症状増強割合を母比率とした40ppbの症状増強割合の有意確率の二項検定ではP=0.355)、有意差は無かった。

Type 1 に分類された者のみは、プラセボで自覚症状の増強がなくホルムアルデヒドにて症状が増強されていることから、ホルムアルデヒドのみに反応し症状が増強された可能性を完全には否定できないが、全体としてホルムアルデヒドとの相関は見られなかった。

結果として、微量ホルムアルデヒド曝露と被験者の症状誘発との間に関連は見いだされなかった。

平成13年度と平成14年度で類似した解析方法を実施できた4名と平成12年度と両年度ともに曝露試験を実施している1名の合計5名について、再曝露検査の結果をまとめると以下のとおりであった。

再曝露試験被験者Type分類

	平成12年度	平成13年度	平成14年度
症例 1		Type 3	Type 3
症例 2		Type 4	Type 4
症例 3	Type 1	Type 4	Type 1
症例 4		Type 1	Type 1
症例 5		Type 3	Type 3

平成13年度と平成14年度で曝露検査反応型が一致したのは、5例中4例であったが、自覚症状スコアからみた場合、両年度を通してType 1の反応を示したのは1名のみであった。

両年度を通して、本態性多種化学物質過敏状態と診断された者の中には、様々な状態の患者が混在し、均一な集団ではないことがわかった。

## 2) 他覚所見

### ・バイタルサイン検査

脈拍数、血圧、体温、経皮的動脈酸素分圧 (sPO<sub>2</sub>) の結果は、すべてガス負荷試験に臨んで、被験者が非常に緊張していることを示していた。すなわち負荷試験後に最高血圧の低下、脈拍数の減少、体温低下を示す傾向があった。

### ・瞳孔検査

暗順応を繰り返して、4回の一過性の光刺激による瞳孔の反応を赤外線モニターで測定し、ガス負荷前後の各変数の有意差について t 検定を行った。各種のパラメーターは、プラセボ負荷では変動が少なく、ホルムアルデヒド負荷で変動が激しかったが、40ppb 負荷と 8ppb 負荷との間では、特に差が認められなかった。

負荷終了後にプラセボでも脈拍数、血圧低下を示していたことは、交感神経緊張の解除を意味し、A1 (瞳孔面積) の減少、および CR の増大はよく一致した結果を示した。被験者の自律神経が非常に不安定であり、容易にストレッサーに反応していることは明らかにし得たと思われる。

### ・NIRO 検査

前頭部の血流を示す酸化ヘモグロビンを、近赤外線レーザー酸素濃度計 (Near Infrared Oxygen Monitor; NIRO と略, NIRO Monitor DU 浜松ホトニクス社) で測定したが、ガス負荷によって差があるとは言いがたい結果であった。判定の客観性を高めるための測定結果の数値化が今後必要であろう。

### ・呼吸機能検査

打聴診、および胸部 X 線検査では器質的疾患はまったく認められなかった。

スパイロメーター測定では、何らかの呼吸機能異常を有していると考えられる患者はあるが、加療により呼吸機能は好転してきている。再入院検査者で異常が軽減している結果、本年度の結果は昨年度よりも異常が少ない傾向が出ていた。

## ・考察と今後の課題

本年度の研究は、平成13年度の研究を踏まえて被験者数を増やし、ごく微量の化学物質曝露による症状誘発の有無を確認するために行った。また、平成13年度の被験者の一部について再検査を行い、再現性についても検討した。

本態性多種化学物質過敏状態と診断された者の中には、様々な状態の患者が混在し、均一な集団ではなく、今回の結果からは、ごく微量(指針値の半分以下)のホルムアルデヒドの曝露と被験者の症状誘発との間に関連はみいだせなかった。

また、自覚症状以外の所見においても、ガス曝露により著明に変化したものはなかった。ガス負荷試験時の悪化症状としての検査項目に挙げることは無理と思われた。

今後は、複数化学物質の混合同時負荷における検討を含め、研究の方向性をさらに検討する必要があると思われた。

## 二重盲検法による微量化学物質曝露試験

### 研究実施担当者

総括 宮田 幹夫 (社)北里研究所 北里研究所病院臨床環境医学センター客員部長  
遠乗 秀樹 北里大学医学部公衆衛生学助手  
尾島 正幸 北里大学医学部公衆衛生学研究員  
小島 恭子 枝川眼科医院視能訓練士  
齋藤麻里子 東京大学医学部附属病院心療内科研究員  
坂部 貢 (社)北里研究所 北里研究所病院臨床環境医学センター部長  
鈴木 幸男 (社)北里研究所 北里研究所病院呼吸器内科部長  
田中館明博 北里大学医療衛生学部医療工学科助教授

## Ⅰ．目的

本報告書は、平成13年度に実施した二重盲検法での調査研究を踏まえ、さらに症例数を増やして、本病態が化学物質により誘発されるか否かを検証することを目的とする。本研究は二重盲検法により微量化学物質を負荷し、本症患者に症状の誘発、悪化が認められるかを科学的に証明することを目的としている。本態性多種化学物質過敏状態研究のためにもっとも必要な最初の研究としての位置付けで研究がなされてきた。これまでも、本態性多種化学物質過敏状態患者の環境コントロールユニットに入院下での微量化学物質負荷により生じる自覚的および他覚的異常所見の確認を二重盲検法で行ってきた。本年度も負荷物質は40ppb、8ppb、プラセボ負荷であり、負荷前後の自覚症状、バイタルサイン、呼吸機能検査、神経眼的検査、近赤外線酸素モニターを利用した脳酸化ヘモグロビンの変動、呼吸機能検査、さらに今回は新たに心療内科的検査を記録報告する事を目的とした。また一部資料に関してはこれまでの過去3年間の報告と合わせて検討することとした。

## ．方法

方法は平成13年度報告書と基本的には同様であり、本態性多種化学物質過敏状態患者に微量ガス負荷試験を化学的清浄空間で二重盲検法により行い、それにより引き起こされる自覚的症状および他覚的所見の変化を検討する。

### (1) 施設

使用施設は前回と同じく、化学的清浄空間の準備が可能な社団法人北里研究所の病院内に設置されている臨床環境医学センターとした。

### (2) 検査期間

研究期間は平成14年4月1日～平成15年3月31日とした。

### (3) 対象

被験者は本態性多種化学物質過敏状態と診断された15名(以下、本態性多種化学物質過敏状態患者という)とし、インフォームドコンセントは十分に行われた。

また被験者の年齢は前年度と同様に、20歳以上40歳までとした。ただし、あまり重症でない患者を選んだ。本態性多種化学物質過敏状態患者の診断は、上記施設所属医師が診断を下したのち、第三者の医師により、本態性多種化学物質過敏状態の診断基準に合致しているかどうかの判定を得て選択した。この第三者の医師としての診断は、今回も先回同様に呼吸器内科専門医に委任した。

また精神疾患患者を除外するために、精神科専門医の診察を受けた。すなわち、研究開始時の患者、対照の選定にあたり、精神疾患の有無についての判定を行い、精神疾患を除外した。その詳細は前年度と同様である。

さらに心療内科医師の協力を得て、心療的側面からの患者の性格についても検討を

加えた。

なお、ガス負荷試験は北里研究所病院倫理委員会の事前の承認を得ている。またすべての被験者に、本微量ガス負荷試験の目的と方法を詳しく説明し、十分なインフォームドコンセントを得た後にガス負荷試験を行った。ただし、ガス負荷試験は、負荷後の体調の不良によっては、患者は任意にプログラムから離脱出来る事とした。

#### (4) 負荷ガス条件

負荷物質はホルムアルデヒドとした。負荷濃度は下記の通りである。

低濃度 (40ppb) ホルムアルデヒド  
極低濃度 (8ppb) ホルムアルデヒド  
プラセボ\*

\* 薬理作用の無い水や澱粉などを医薬品等の効果を評価する際の対照として用いる。

偽薬。今回はホルムアルデヒドを含まない(0ppb)ガスを用いた。

このホルムアルデヒド設定濃度は、国内基準値80ppbの1/2および1/10の濃度である。これらの物質負荷は1日1物質とした。負荷条件は、ガス負荷室入室後5分間安静、10分間負荷、さらに5分間の観察とした。ガス負荷は、0レベルから徐々にガス濃度を上げ、7～8分後に設定濃度に到達する。徐々にガス濃度を上げるために、この濃度では入室者がガス臭を感じることはない。負荷物質の順序は第三者の立会い医師による阿弥陀クジにより決定した。このガス負荷試験では、被験者、および診療および検査医師にはまったくガス濃度は知らされず、立会い医師のみがクジの内容を知り、ガス注入した。

また、ガス負荷室の汚染の影響を防ぐために、ガス濃度変更の前には必ずガス負荷室のオゾン燻蒸を行い、壁材への負荷ガスのシンク効果除去を図った。燻蒸時間は2時間とし、燻蒸後はオゾンの消失を待つために、さらに2時間の換気時間を置くこととした。

#### (5) 検査実施手順

化学的清浄空間を有する病室に入院する期間は、平成13年度と異なり、すべて6日間とした。マスキング(汚染環境に馴化し、汚染物質負荷により症状が誘発されにくい状態)除去のために、入院第1日目、2日目はガス負荷検査を行わなかった。すなわちマスキング除去期間を1日間から2日間に増やした。またガス負荷室検査に馴れるために、2日目に模擬ガス負荷室検査を行った。

入院第1日目

マスキング除去のための第1日。病室内で静養

入院第2日目

マスキング除去のための第2日。

問診

一般全身検査

一般眼科検査

模擬ガス負荷室検査

一般全身検査

脈拍数

体温 鼓膜温度を測定（テルモ耳式体温計 ミミツピH テルモ株）

血圧

SpO2測定（Onyx Nonin社 ミネアポリス 米国）

症状票記入

自覚症状の記入様式は、国内外で報告されている自覚症状を参考に25項目を選定し、曝露前後で被験者が「ない」から「最も強い」までの100mmのvisual analog scale に自由にプロットするように設定した。その症状の程度をミリメートルで表し、スコア化した。またスケールは各項目で少しづつずらして、思い込みによる記載を防ぐ様にしてある。実際の自覚症状の記入用紙は表 A-1-1に示した。

電子瞳孔計検査

ガス負荷室入室

一般全身検査

体温 鼓膜温度を測定

血圧 座位で測定

SpO2測定

症状票記入

胸部診察および胸部X線検査、呼吸機能検査

呼吸器内科専門医師による診断基準に該当するかの確認作業

自覚症状記入票の自己記入と実際の症状の一致性と精神疾患除外のための精神科医診察

入院第3日目

一般全身検査

（脈拍、体温、血圧、SpO2）

症状票記入

電子瞳孔検査

ガス負荷

ガス負荷中、右前頭部の酸化ヘモグロビンの相対的変動を近赤外線酸素モニター装置（Near Infrared Oxygen Monitor; NIROと略、NIRO Monitor DU 浜松ホトニクス社）で測定した\*。

\* これまでに、本症患者ではSPECT検査により脳血流の低下が報告されている（TR Simon et al: Single photon emission computed tomography of the brain in patients with chemical sensitivity. Toxicology Industrial Health 10: 573-577, 1994）。その脳血流の変動を経時的に測定する目的で、本検査を行った。近赤外線酸素モニター装置は脳内の酸化ヘモグロビン、ヘモグロビン、総ヘモグロビン、酸化チトクローム量を測定する装置である。4種類の波長のレーザー近赤外線を経頭

皮的に脳内に入射し、その反射光を高感度のフォトマルチプライアーで測光して各物質の濃度を定める。フォトマルチプライアーの専門メーカーである浜松ホトニクス社がオックスフォード大学と共同開発した機器である。頭髪のない前頭部しか測定できない欠点もあるが、一般的には、大脳皮質 1 cm まで測定可能とされている (Kobayashi Y, et al: Tissue oxygenation monitor with new features using NIR spatially resolved spectroscopy. Theapeutic Research 21: 1528-1531, 2000.)。

一般全身検査

( 脈拍、体温、血圧、SpO<sub>2</sub> )、

症状票記入

電子瞳孔検査

問診

病室に帰室

入院第 4 日目

第 3 日目と同じ検査

入院第 5 日目

第 3 日目と同じ検査

心療内科医師の診察

入院第 6 日目

退院前検査として以下の検査を行う。

一般全身検査

( 脈拍、体温、血圧、SpO<sub>2</sub>検査を含む )

症状票記入

表A-1-1 自覚症状記入表

ブース検査 前・後 症状記入表

今のあなたの体調について書いてください。

以下を目安にしてください。

ない：記載の症状が何もない場合      最も強い：今までの中で、最も強い症状の場合

例) かゆみ： ない |-----×-----| 最も強い

関節の痛み：ない |-----| 最も強い

筋肉の痛み：ない |-----| 最も強い

けいれん：ない |-----| 最も強い

こわばり：ない |-----| 最も強い

目・鼻の刺激：ない |-----| 最も強い

しみる感じ：ない |-----| 最も強い

舌がピリピリする：ない |-----| 最も強い

息苦しい：ない |-----| 最も強い

どうき：ない |-----| 最も強い

脈の異常：ない |-----| 最も強い

お腹の不快感：ない |-----| 最も強い

吐き気：ない |-----| 最も強い

気持ちが悪い：ない |-----| 最も強い

頭がぼーとする：ない |-----| 最も強い

眠い、あくびが出る：ない |-----| 最も強い

いらだち気味：ない |-----| 最も強い

身体がだるい：ない |-----| 最も強い

意欲低下：ない |-----| 最も強い

頭の重い感じ：ない |-----| 最も強い

頭痛：ない |-----| 最も強い

めまい：ない |-----| 最も強い

ふらつき：ない |-----| 最も強い

発疹、かゆみ：ない |-----| 最も強い

口やのどの乾き：ない |-----| 最も強い

手足の冷たい感じ：ない |-----| 最も強い

その他の症状があればご記入ください。

(                    )：ない |-----| 最も強い

## (6) 患者病歴

### 症例 1

25歳 女性

主訴：鼻やのどのむずむずした不快感、集中力の欠如、動悸、めまい、頭痛、筋肉痛、関節痛、咳、生理不順

現病歴：

現在相当注意して暮らしているが、新しい繊維製品や、洗剤、殺虫剤、車の排気ガス、床クリーナー、香水、芳香剤、ヘアスプレーに接触すると、症状が出現してくる。コンタクトレンズの保存液、新聞にも少し反応するようだ。しかし逃げ上手になってきており、上手に空気汚染物質かを避けて生活している。現在の住宅は築11年の木造一戸建てで、居住歴は8年。途中白蟻駆除をした。

アルコールはほとんど飲んでいない。タバコは以前吸ったこともあるが、現在は一切吸っていない。

思い出してみると、中学1年生の時から、友達の制汗剤にも非常に反応して、気持ちが悪くなっていた。その後も化粧品はだんだん使えなくなり、現在、化粧品は一切使用できない。

最近やや症状は安定していると思われるが、化学物質から逃げ上手になっているだけかも知れない。自分でも精神的になお不安定になっていると思う。

平成13年度入院負荷試験試行。

既往歴：

アレルギー性鼻炎

アレルギー性結膜炎

アトピー性皮膚炎

家族歴：

子供が朝の寝起きが悪く、寝汗をかき、切れやすく、活動力がなく、咳が多く、落ち着きがなく、眠りが浅い。

職業：主婦

外来時検査所見：

一般診療所見：異常なし

臨床検査異常所見：

血算 MCV (平均赤血球容積) 高値

尿 潜血++

赤血球 5 - 9

神経眼科学的所見

電子瞳孔計検査：異常なし

眼球追従運動検査：水平、垂直方向とも円滑に追従できない

空間周波数特性検査：感度正常

### 症例 2

40歳 男性

主訴：頭痛、息苦しさ、めまい、目のピントが合わない、吐き気、集中力低下、気分の落ち込み、苛立ち、思考力低下、のどが乾く

現病歴：

16年前にIBM箱崎ビルを建築直後に仕事をして、めまいがひどくなった。平衡障害があると言われた。

11年ほど前に、押入れの掃除をしてからアレルギー性鼻炎を発症。その後花粉症も出現。98年頃に肺炎に罹患。その後喘息を発症。不安、うつも出現した。その後喘息は落ち着いたが、新建材、石鹼にも反応して喘息が誘発されることがあった。

昨年に、自宅新築のためにモデルハウス見学を繰り返したが、モデルハウスに入ると息苦しさ、息が詰まる感じ、頭痛、気分が悪くなるなどの症状が出た。そして、前記主要症状など、多彩な症状が出現してきた。最近下着のゴムにもかぶれる。また上記症状はタバコの煙、仕事のストレスでも悪化する。ディーゼル車の排気ガス、シャンプー、パラベン入りの物品にも反応して、体調不良となる。整髪料は使用できない。

一時期排尿に困難を感じたが、現在は軽快。動悸も時に出現する程度まで改善してきた。

現在の住居は、築20年のマンション、居住12年、入居時壁紙の張り替え等のリフォーム。じゅうたんの洋室でベッドに就眠。芳香剤は使用しないが、ポプリを使用している。殺虫剤は使用しない。

平成13年度入院負荷試験試行。

嗜好品：

アルコールは飲まない。

タバコは吸わない。

コーヒーは1日5杯程度

職業歴：電子回路、プログラム開発

既往歴：

15年前 十二指腸潰瘍

10年前 習慣性扁桃腺炎で摘出手術

7年前 胃潰瘍、花粉症、副鼻腔炎

5年前 急性膵炎

4年前 肺炎、喘息、不眠症、うつ

2年前 悪性の大腸ポリープで内視鏡手術

テオドールで手の震え

バナンで下痢

家族歴：

6歳の子供（長子）がモデルハウスに行くと頭痛、吐き気をもよおす。普段より寝起きが悪く、汗をかき、上半身に発疹をしばしば出す。

外来時検査所見：

一般尿検査：異常なし

血液生化学検査：コレステロール231

血算：異常なし

神経眼科的検査

電子瞳孔計検査：

対光反射検査を繰り返すと、瞳孔は徐々に縮瞳していく。自律神経検査では副交感神経優位の失調が認められた。

眼球追従運動：

垂直方向の滑動性追従運動で、階段状波形を呈している。

視覚空間周波数特性検査：異常なし

### 症例 3

36歳 男性

主訴：めまい、吐き気、頭痛、体がだるい、発疹が出やすい

現病歴：

職場は2×4住宅のパネル製作現場で、その切削作業に従事してから、徐々に体調が不良となっていたが、平成10年2月頃より上記症状が出現してきた。作業対象木材には、防虫、防腐剤が圧入してある。自宅は築10年での中古住宅で、8年前から住んでいる。転居時には体調には特に変化はなかった。自宅寝室は普通のフローリングの部屋で、布団で寝ている。暖房は外部排気型の石油ストーブと、マキストーブを併用している。

小諸厚生総合病院で中毒症として加療中。

途中から微量の殺虫剤に接触しても症状の悪化をきたすようになってきた。発症後、平成10年7月に北里大学病院の眼科の化学物質過敏症外来を受診し、中毒と化学物質過敏症の中間あたりとの説明を受ける。他覚的所見としては、電子瞳孔計検査による瞳孔の対光反応異常、視覚感度の低下、眼球追従運動障害が認められている。

既往歴：スギ花粉症以外には特記すべきものなし。

外来時検査所見：

一般臨床検査で赤血球の軽度増加、GOT、GPT軽度上昇。

アキレス腱反射軽度亢進。ストッキング型の知覚障害。ロンベルグテスト軽度陽性。

神経眼的検査：

瞳孔の対光反応検査による自律神経失調。

眼球の滑動性追従運動に階段状波形混入。

視覚感度障害あり。

平成12年7月17日に40ppbのホルムアルデヒド負荷試験を行う。頭重感、めまい、頭痛が出現。

経過：

生活指導を行う。加療を続けることにより、ふらつきの自覚、他覚検査とも、大幅に改善してきている。加療内容は、酸素補充療法、グルタチオン、ビタミンCの大量、ビタミンB群、マグネシウム、セレン、亜鉛の点滴(\*）、ビタミンE、セルシン 内服である。ここ2年間に、環境コントロール施設へ2週間単位の治療入院を7回繰り返して、体調は非常によくなった。全身状態は徐々に改善し、ストッキング型の知覚低下も改善してきたが、左足小指側の軽度痛覚低下は残存したままである。GOT、GPTは以前は時に軽度上昇を示したが、最近はほぼ正常化してきている。しかしなお、筋肉関節痛、気道粘膜の刺激症

状、動悸、集中力、記憶、気力の低下、めまい、頭痛、皮膚炎を起こしやすい状態は続いている。また、体調不良となると同時に敏感になるが、殺虫剤、除草剤などに反応して、症状の増悪をきたす。しかし、他の化学物質にはあまり敏感ではない。

平成12年度、13年度調査研究への協力のためホルムアルデヒド負荷試験で入院検査実施している今回再度身体の反応性を確認したくて入院検査希望。体調はやや好転してきているが、空気汚染にはいまだ弱くて、職場復帰は出来ていない。

\* 治療内容は、北里研究所病院で日常実施している解毒・身体改善を目的としたビタミンC、B群、グルタチオン、亜鉛、マグネシウム、セレンの点滴と酸素補充療法である。ビタミンCは毎日10gの投与である。酸素補充療法は特製の酸素吸入マスクにより行い、酸素濃度は2.0リットル/分で行っている(鈴木強志、他:化学物質過敏症に対する輸液療法の検討。臨床環境医学 p77, 2003年学会抄録集。石川哲、他:シックハウス症候群患者に対する薬物治療の検討 平成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報告書 pp5-22 2003年)。この治療法の基本は、米国ですで行われている方法であり、細胞の酸素利用能低下の改善、解毒促進を目的に行われており(Rea WJ: Chemical sensitivity Lewis Publishers Boca Raton, 1992)、それをやや改変したものである。

#### 症例 4

36歳 男性

主訴：頭重感、情緒不安定、息切れ、吐き気、睡眠障害

現病歴：

平成9年新しいオフィスに移住してから発症。殺虫剤、除草剤、床クリーナー、香水、芳香剤、カーテン、新車の臭いなどに反応して、症状の悪化をきたすようになった。コーヒー、精神安定剤にも異常に反応して、体調不良となる。タバコにも多少反応するが、会社は全館禁煙のために、問題はない。北里大学病院化学物質過敏症外来を受診。投薬を受け続け、平成14年11月に北里研究所病院へ転医。オフィスを旧オフィスに戻し、ビタミンC、E、グルタチオン内服を継続して行う。徐々に視覚感度検査であるコントラスト感度は正常化してきた。また、臭いに対しても多少感度が以前ほど敏感ではなくなってきた。しかし、睡眠障害はなお続いており、なんとか仕事が継続出来る状態が続いている。

既往歴：じんま疹が出やすい。ホタテ、イカがだめ。

家族歴：特記すべきものなし。

職業：事務職員で、一日6時間以上はコンピューター作業を行っている。

外来時検査所見：

IgE 217以外には一般血算、血液生化学検査、尿検査異常なし。

神経眼科的検査

眼球追従運動障害

コントラスト感度低下  
瞳孔に異常対光反応

症例 5

34歳 女性

主訴：頭痛、鼻つまり、立ちくらみ、筋肉痛、クラクラする

現病歴：

約9年前から頭痛が時々起きていた。頭痛の性質は重鈍痛であり、拍動痛はない。神経内科で、CT、MRIを含めて検査を行ったが特に異常はなく、一般的な頭痛であると言われていた。時々鎮痛剤を投与され、内服を繰り返していた。当時からじんま疹が出やすく、虫刺されでも腫れ上がる傾向が強かった。アルコールには非常に敏感に反応し、ケーキ類に微量でもアルコールが入っていると、頭痛などの症状が出ていた。タバコの煙に会うと、頭痛がすぐ生じ、タバコの煙からは逃げ歩いていた。

4年前から、強い臭いに合うと上記の主要症状をはじめ、のどの痛み、鼻の奥の乾燥感と同時に鼻の奥の詰まった感じが強く生じるようになった。化粧品は一切使えていない。シャンプー、石鹸、洗剤等も特定のものしか使えなくなった。反応する主なものを上げると、整髪料、香水、口紅、マニキュア、新しい衣服、線香の煙、車の排気ガス、新車の臭い、デパートなど、非常に多数のものに反応するようになった。新しい本にも反応するために、本屋に入るのは非常に苦痛である。コンピューターも新しいのは通電してしばらくガスを飛ばしてからでないと、作業が苦痛である。

職業は事務職。職場は同僚に喫煙者はなく、香水には多少困るが、なんとか勤務している。

自宅は築36年の在来型の住宅でまったく問題ない。友人の新築マンションを訪問すると、非常に症状がひどくなり、困っている。

平成13年度入院負荷試験試行。

今回再度入院検査を希望。空気清浄空間に入院中していると、体調がよくなるからである。

既往歴：スギ花粉症

家族歴：特記すべきものなし。

職業：病院検査職員

外来時検査所見：

尿検査、血算、一般血液検査：異常なし

神経眼的検査所見

眼球追従運動検査：円滑に追従できない

電子瞳孔計検査：自律神経失調

視覚感度検査、空間周波数特性検査：感度正常

経過：

初診後、積極的に運動を行い、風呂の入浴時間を長くして、自宅での食事を多くするようにしている。ビタミンCの内服は1日3gとしている。その他のサプリメントは摂っていない。頭痛はある程度改善してきている。

## 症例 6

39歳 女性

主訴：

頭痛、のどのイガイガ、気力の低下、集中力の低下、気分的に不安定、めまい、疲れやすさ、鼻血が出やすい、皮膚に発疹が出やすい

現病歴：

平成13年7月にマンションの部屋の一部を自分で塗り替えたところ、約2日間頭痛がひどくなり、眠りが浅くなった。9月に襖の張替えを自分でしたが、これはなんともなかった。10月に籐の椅子を購入したところ、頭痛が再現した。返品で症状は消失した。11月にトイレの配水管取替え工事と、天井の張り替え工事が入ったとたん、頭痛がひどくなり、床のビニール張替えは中止してもらった。しかし、それ以降、臭いには非常に敏感となってしまい、同じビル内で内装作業が行なわれると、頭痛が出るようになった。そのマンションは築37年で、居住歴は8年である。寝室は畳の上に布団である。床ワックス、芳香剤などは家庭では使用していない。また、これらの症状は、車の排気ガス、ガソリン臭、ペンキ臭、合板などで悪化する。水道のカルキ臭にも弱くなった。化粧品は我慢すれば、耐えられる。しかし、考えてみると、以前から多少疲れやすさ、頭痛は多少はあったように思う。

アルコールはカンビール1本程度。タバコは吸わない。

配偶者は死亡している。

平成13年度入院負荷試験試行。前年度のガス負荷試験自体は、好きではないが、入院して空気清浄な生活は非常に快適であるために、半分は治療目的で入院希望。

既往歴：

小学生の時に扁桃腺切除

数年前より、ドライアイ、花粉症

バクシダ - ル、タリビットで腹部、両手足に赤い粒々が出た。

家族歴：8歳の子供がアトピー性皮膚炎（子供はこの子一人だけ）

職業：職業は事務職で、パソコンを多用している。

外来時検査所見：

一般診療所見：異常なし

臨床検査所見：異常なし

神経眼科学的所見

電子瞳孔計検査：異常なし

眼球追従運動検査：水平、垂直方向とも円滑に追従できない

視覚空間周波数特性検査：異常なし

前回経過：

検査後自宅へ戻って4日目に、鼻血が3回、大量に出た。これまでに出了こともない量であった。排便が同時に1日に6回あった。お茶席で正座したら、足が紫色に腫れた。これは初めての経験である。皮膚にも発疹が出てきたが、実家に戻ってから正常化した。5月からまた自宅に戻る予定である。

## 症例 7

35歳 女性

主訴：頭痛、目の刺激感、かゆみ、不快感、鼻水が出る、のどが痛い、ボーとする、動悸、めまい

現病歴：

2年ほど前から、香水、化粧品、整髪料、防虫剤、建材、印刷物に反応して上記症状が悪化するようになってきた。発症原因は、自分では新築住宅内での化学物質濃度測定や、関連する建材のなどの実験室内での分析操作かと考えている。ちなみに、現在は建築学の大学院生として働いている。ホルムアルデヒド、アセトニトリルなどは常時使用している。しかし症状の悪化をきたす物質は、車の排気ガス、タバコの煙、殺虫剤、除草剤、ガソリン臭、シンナー臭、香水、芳香剤、整髪料、新車の臭い、水道のカルキ臭など、それも非常に微量で症状が悪化する。新しい家具、集会、母親の化粧品などにも反応を示しており、生活に非常に支障をきたしている。

現在の住まいは、築11年のマンションで、居住歴6年である。寝室は和室で、ベッドを使用。

生クリームや揚げ物では下痢をする。バナナ、加熱した牡蠣も体調がおかしくなる。

アルコールは生ビール中ジョッキ1杯程度。タバコは吸わない。最近はややうつが強いように思う。しかし、自覚的には症状はやや落ち着いており、多少の臭いには耐えられることがある。

既往歴：10歳台でブタクサにアレルギーがあったが、現在は特に反応はない。

家族歴：母親が昨年卵巣ガンの手術を受けた。

職業：建築材料実験室の研究者

外来時検査所見：

一般検査所見：異常なし

神経眼科学的検査所見：

眼球追従運動：垂直方向に円滑に追従できない，水平方向は比較的良好

視覚空間周波数特性検査：異常なし

電子瞳孔計検査：A1の増大

## 症例 8

36歳 女性

主訴：のどの違和感、圧迫感、息苦しい、のどや鼻の乾燥感、頭痛、せき、目の疲れ

現病歴：

平成14年4月職場が新しく竣工。コンピューターは新しくなり、床はジュータンとなる。のどが詰まる感じ、息苦しさ、頭痛、うつ、情緒不安定、記憶力低下などがひどくなり、勤務不能となり、退社。症状はその後特に悪化することはない、現在に至っている。殺虫剤、喫煙は以前していたが、タバコの煙には現在は耐えられない。車の排気ガス、ガソリン臭、新車の臭いはだめ。化粧品には耐えられる。自宅は築35年である。

既往歴：ガングリオン

パンスポリンで口の中がしびれた。

ハウスダスト、ネコ、金属アレルギーあり

家族歴：特記すべきものなし。

職業：一般事務職と電話オペレーターの職歴あり。

外来時検査所見：

一般検査

尿潜血（2+）

神経眼的検査

眼球追従運動：水平、垂直方向とも著明に円滑に追従できない

視覚空間周波数特性検査：異常なし

電子瞳孔計検査：副交感神経優位の失調が認められた  
（A1の低下、T5の延長）

## 症例9

28歳 男性

主訴：頭痛、吐き気、疲労感、息苦しさ

現病歴：

大学在学中に化学の実験中に頭痛と吐き気が生じることに気付いていた。研究科に入学してから、一層その傾向が強まり、同時に化粧品の臭い、新聞の臭い、タバコの臭いなどで頭痛が出やすくなってきた。なんとか研究は続けているが、むしろ検体集めの仕事中心にして、分析は極力避けている。

既往歴：特記すべきものなし。

家族歴：特記すべきことなし。

職業：化学研究科学生。

外来時検査所見：

一般検査

尿、血液異常なし

神経眼的検査

眼球追従運動：水平、垂直方向にとも著明に円滑に追従できない

視覚空間周波数特性検査：高周波域軽度低下

電子瞳孔計検査：A1の増大

## 症例10

37歳 男性

主訴：頭痛、倦怠感、筋肉痛

現病歴：

研究所の廃液ガス吸入から発症。最初は目の痛み、頭痛であり、多少気持ちは悪い程度であった。肝機能検査を含めて一般臨床病理検査では異常なしと診断された。他院で、CTを含めて神経内科的に異常なしと言われた。同僚にも似た症状を示した者が数名出た。その後疲労感が強く出現するようになった。また、筋肉痛、記憶力低下、集中力低下が著明となってきた。頭痛は相変わらず続いている。

また、車の排気ガス、他人のタバコ臭、消毒薬、化粧品などの臭いに嫌な反応を示すようになってきた。しかし以前は喫煙していた。

既往歴：以前より蕁麻疹、湿疹になりやすい。現在は花粉症で悩んでいる。

家族歴：特記すべきものなし

職業：研究所技術員

外来時検査所見：

尿、一般血液検査、一般生化学検査では異常所見なし。

血清マグネシウム2.3mg/dl（正常範囲1.8 2.6）

血清亜鉛74 μg/dl（正常範囲65 110）

扁桃肥大

ロンベルグテスト陽性

末梢神経知覚障害なし

MRIで副鼻腔陰影

SpO2 97%

呼吸機能検査

ピークフロー51%、

50%肺活量流量65%、

25%肺活量流量83%と不良

神経眼的検査

眼球追従運動障害著明

視覚感度低下

電子瞳孔計検査

暗所での瞳孔面積の異常拡大と、光刺激後の瞳孔の早過ぎる

戻りという自律神経失調

経過：

特に積極治療経過が長いために、項を改めて述べる。

生活指導、グルタチオン内服等による加療で好転せず。

平成13年9月に末梢血PO2測定し165.mmHgと異常な高値を示す。そのために、臨床環境医学施設に入院。酸素吸入療法、ビタミンC、ビタミンB群、グルタチオン、マグネシウム、セレンの点滴療法を5日間連続して行う。この治療開始2日目は、治療の初期悪化として、自覚症状はやや悪化し、睡眠もやや不良となる。しかしその後は徐々に自覚症状は改善され、末梢血PO2も改善される。しかし、経過とともに、自覚症状は時に悪化し、末梢血PO2も上昇を繰り返す。そのために、上記治療を頻回に繰り返すこととなり、上記5日間の治療を1クールとして、平成15年3月までに都合10回の入院治療を繰り返した。その結果現在は相当体調が回復した。しかしいまだ就業は困難である。

## 症例11

23歳 男性

主訴：吐き気、悪寒、のどの乾き、倦怠感、関節の痛み、動機、記憶力低下、集中力低下、情緒的に不安定、めまい、頭痛

現病歴：

平成14年8月に古着を購入着用した時に吐き気が出現。その後、タバコ、香水、防虫剤排気ガス、殺虫剤、ガソリン、香水、ヘアスプレー等に反応して上記症状の悪化をきたす。しかし生活歴を振り返って詳しく問診すると、高校生時代から香水などの化粧品臭に非常に不愉快な感情を持っており、車の排気ガスにも不快感を持っていた。また父親が喫煙者で、タバコの臭いにも悩まされていた。

既往歴：特記すべきものなし

家族歴：特記すべきものなし

職業：学生

外来時検査所見：ロンベルグテスト陽性

一般尿、血液検査では異常なし

神経眼科的所見 眼球追従運動 円滑に追従できない

瞳孔検査 副交感神経優位の失調（T5延長）

## 症例12

40歳 女性

主訴：頭痛、めまい、ボーとする、肩凝り、臭いが気になる

現病歴：

両親の家屋新築時に帰省、内装時に業者に立会い、最初は眼やのどの異常な感じ程度であった。その1年後に再度内装工事に立会い、そのころより上記の症状が出現し出し、特に臭いに対して非常に敏感になった。臭いで症状は悪化することを繰り返している。症状はそのほかにも、動悸、集中力低下、記憶力低下、無気力、ものごとに興味が持てなくなる、トイレが近い、手足のしびれなど多彩である。石油臭、調理臭、洗剤、塗装臭、化粧品、歯磨きクリーム、家具臭、押入れの臭い、芳香剤、殺虫剤、カビキラー等非常に多くのものに反応して症状は悪化する。そのために家族関係もおかしくなってきた。しかし加療により、ここ1年は自分の調理は出来るようになってきた。また少しの臭いなら我慢できるようになってきた。治療効果を確認したくて検査を希望。

既往歴：未熟児出生(1720g)

脱腸、じんま疹、花粉症、ダニアレルギー

歯科治療の麻酔で吐き気。鼻炎剤ストナリニで頭痛、吐き気。

家族歴：母親が糖尿病と高血圧

姪がアトピー性皮膚炎

職業：衣料品の販売業であるが、仕事は現在不可能である。

外来時検査所見：

一般臨床検査所見 血清コリンエステラーゼやや低下、尿潜血(++)

以外には特に異常なし

神経眼科的検査

眼球追従運動検査 円滑に追従できない

瞳孔検査 副交感神経優位の失調（T5の延長著明）

視覚感度正常

### 症例13

35歳 男性

主訴：頭痛、疲労感

現病歴：

大学学生化学実習中から、時に頭痛、吐き気を催すことがあった。卒業後化学系研究室に入り、研究を続けているが、頭痛は慢性化するとともに、肩凝り、腰痛菜度が出現。化粧品臭、ペンキ、シンナー臭、床ワックス、新車の臭い、クロロホルムに鋭敏に反応して、症状の悪化をきたすようになってきた。また友人の新築アパートへ行くと、同様の症状悪化をきたすようになってきた。

既往歴：数年前より花粉症

家族歴：特記すべきことなし。

職業：大学化学研究室職員

外来時検査所見：血算、血液生化学検査異常なし。

ロンベルグテスト陽性

神経眼科的検査

眼球追従運動：水平、垂直方向とも著明に円滑に追従できない

高周波域軽度低下

電子瞳孔計検査：副交感神経優位の失調（T5の延長）

### 症例14

35歳 女性

主訴：頭がしめつけられる感じ、倦怠感、頭痛、眠気、思考力低下、目がしばしばした感じ、鼻つまり、めまい

現病歴：

平成13年9月家屋新築、14年3月入居。その後上記症状、また頭がボーとするようになった。そこを離れるとやや好転するが、戻ると1時間ぐらいで頭がボーとする。これまでに転居歴は7回。現在の前のマンションでは、バルサンを密閉状態で焚いてしまった。当時は多少おかしな感じはしたが、あまり気にならなかった。現在の住宅では、二階の方が一階より楽である。

現在、ナフタリン、他の防虫剤（ピレスロイドかも知れない）、洗剤、車の排気ガス、タバコの煙、ガソリン臭、化粧品臭、新しい家具などにも反応するようになっている。反応する物質は現在増えている。また最近はうつが強くなっている。

既往歴：10年前より慢性湿疹。

当時貧血あり。

家族歴：特記すべきものなし。

職業：事務職で、現在は専業主婦

外来時検査所見：尿潜血（+）

血算、血液生化学検査異常なし。

眼球追従運動：水平、垂直方向とも著明に円滑に追従できない

高周波域軽度低下

## 電子瞳孔計検査：A1の減少

### 症例15

37歳 女性

主訴：吐き気、頭痛、動悸、めまい、ふらつき、筋肉痛、関節のこわばり、皮膚炎、むくみ

現病歴：

小学生のころより、すでに症状が出ていたように思う。友人の香水には非常に不快を感じていた。そして、頭がいたくなっていた。またドウランにかぶれたり、じんま疹も出やすかった。愁訴は車の排気ガス、塩素、紫外線、過剰な運動、疲れで増悪する。また、タバコ、防虫剤、界面活性剤、殺虫剤、香水、新車の臭い、アスファルトの臭いなど、多種類のものに反応して症状の悪化を示している。そのために、仕事には大きな支障となっている。牛乳、卵、とり肉などに抗体ありと言われている。

既往歴：アトピー性皮膚炎でステロイド、抗ヒスタミン剤を使用したことあり。

家族歴：特記すべきものなし。

職業：昔は一般事務職。現在は主婦業

外来時検査所見：アトピー性皮膚炎の発疹ほぼ全身

ロンベルグテスト陽性

尿潜血(+)、その他は血算、血液生化学的検査異常なし。

神経眼的検査

眼球運動は円滑に追従できない

視覚感度の低下

瞳孔の対光検査で副交感神経優位の失調

(A1縮小、T5大幅に遅延)

### (7) 症例の要約

以下に簡略にまとめる。また過去の入院負荷試験歴の有無を記載した。また過去3年間の症例も合わせて記載した。なお、症例番号は3年間を通して付した。

年齢 性 概要

#### (14年度)

- |     |       |   |
|-----|-------|---|
| 症例1 | 24歳女性 | 中学以前から発症。発症原因不明。アレルギー歴あり。<br>前年度負荷検査(13年度症例番号30)。   |
| 2   | 40歳男性 | 新築ビルで発症。アレルギー歴あり。<br>前年度負荷検査(13年度症例番号22)。           |
| 3   | 36歳男性 | 建材作業で発症。中毒と本症の境界型。アレルギー歴あり。<br>前年度負荷検査(13年度症例番号19)。 |
| 4   | 36歳男性 | 新築オフィスで発症。アレルギー歴あり。                                 |
| 5   | 34歳女性 | 発症原因不明。アレルギー歴あり。<br>前年度負荷試験(13年度症例番号24)。            |

- 6 39 歳女性 マンション改装で発症。アレルギー歴あり。  
前年度負荷試験（13 年度症例番号 25）。
- 7 35 歳女性 建築材料の実験室での曝露で発症。アレルギー歴あり。
- 8 36 歳女性 新築オフィスで発症。アレルギー歴あり。
- 9 28 歳男性 大学化学実験中に発症。アレルギー歴なし。
- 10 37 歳男性 研究所廃液ガス吸入で発症。アレルギー歴あり。  
10 回の入院治療で自覚症状は大幅に改善している。
- 11 23 歳男性 古着を着用して発症。アレルギー歴なし。
- 12 40 歳女性 新築家屋で発症。アレルギー歴あり。
- 13 35 歳男性 生化学実験中に発症。アレルギー歴あり。
- 14 35 歳女性 新築家屋で発症。アレルギー歴あり。
- 15 37 歳女性 小学生ごろより発症。発症原因不明。アレルギー歴あり。

#### （13 年度）

- 16 30 歳女性 マンション入居から発症。二人に子供にも過敏症状あり。
- 17 38 歳男性 設計事務所勤務から発症。
- 18 33 歳女性 シックハウスから発症。
- 19 35 歳男性 建材パネル切削作業で発症。前年度負荷試験（症例番号 35）
- 20 31 歳女性 実家が工務店、新築住居で発症。
- 21 36 歳男性 リフォームと畳の防虫シートで発症。
- 22 40 歳男性 新築ビルで発症。
- 23 35 歳女性 新築住居と職場の実験室で発症。
- 24 33 歳女性 発症原因不明。
- 25 39 歳女性 マンション改装で発症。
- 26 29 歳女性 解剖学実習で発症。
- 27 32 歳男性 実験室から発症。
- 28 37 歳女性 発症原因不明。
- 29 29 歳男性 新築マンションから発症。
- 30 24 歳女性 小児期よりで、発症原因不明。

#### （12 年度）

- 31 26 歳女性 家を改装してから発症。
- 32 34 歳女性 オフィスのレイアウト変更と大量の印刷物と同居。
- 33 35 歳女性 発症原因不明。
- 34 33 歳男性 新築住宅で発症。
- 35 33 歳男性 職場は 2 × 4 住宅のパネル切削作業で発症。
- 36 30 歳男性 新築住宅で発症。
- 37 34 歳女性 新築の開業医勤務から発症。
- 38 33 歳男性 ポリウレタン樹脂作業で発症。

## ．結果

各検査項目とも、資料が大きいために、本年度も検査項目ごとに方法、結果、小考察、および小括を含めて記載する。なお、平成14年度の結果とともに、可能な項目に関しては、平成12年度、平成13年度の結果と合わせて通算結果として記した。各検査項目は下記の通りであるが、A．B．C．Dが負荷検査前後の比較であり、E．呼吸機能検査およびF．心療内科検査は負荷検査とは関係ない一般診療結果である。G．症例ごとの検討は、事前の調査項目で拾えなかった所見と、個々人の特徴を記すための項目である。

- A．自覚症状スコア
- B．バイタルサイン検査
- C．瞳孔検査
- D．脳酸素飽和度検査
- E．呼吸器検査
- F．心療内科的検査
- G．症例ごとの検討

### A．自覚症状スコア

プラセボ、ホルムアルデヒド8ppb（以下、8ppb）、ホルムアルデヒド40ppb（以下、40ppb）を負荷した前後で、症状に差が認められるかどうかを、独自に作成した自覚症状スコアを用いて検討した。スコア記入票の詳細は先にも述べた表.A-1-1をご参照頂きたい。

本年度の曝露検査は、平成13年度と同様に患者のみの15名で行われた。したがって、対照との比較は行っていない。

解析方法は以下の通りである。

#### 1）症例ごとの検討

各患者のスコアは、以下の方法で解析した。

- (1) 曝露条件ごとに、曝露直前と曝露直後の自覚症状スコアを、症状ごとに対応させた上で比較する（Wilcoxon signed-ranks test）（以下、曝露前後比較）
- (2) 全条件での曝露後の症状スコアを、症状ごとに対応させた上で、4群間比較をする（Freidman test）（以下、4群比較）

なお、昨年の報告書内に記載した通り、この症状スコアは曝露前の状況に大きく影響を受けることから、結果の解釈は、(1)の結果を中心にまとめた。

## ( 1 ) 症例ごとの検討

### 1 ) 平成14年度症例の曝露試験結果

#### 症例 1 について

全ての条件下での曝露前後比較、4群比較ともに、有意な変化はみられなかった(表 A-2-1参照)

#### 症例 2 について

入院時のプラセボ曝露で、曝露後に有意な症状の改善がみられたが、他の条件での曝露前後比較、4群間比較では、有意な変化はみられなかった(表 A-2-2参照)。

#### 症例 3 について

入院時のプラセボ曝露で有意な症状の改善が、8ppbと40ppb曝露の両方で有意な症状の増強がみられた。プラセボ曝露では有意な症状の変化はみられなかった。4群間比較では有意な差が認められた(表 A-2-3参照)。

#### 症例 4 について

全ての条件下での曝露前後比較、4群比較ともに、有意な変化はみられなかった(表 A-2-4参照)。

#### 症例 5 について

プラセボ、8ppb曝露では、症状に有意な変化がみられなかったものの、40ppb曝露で症状の有意な増強がみられた。4群間比較でも有意な差がみられた(表 A-2-5参照)。

#### 症例 6 について

全ての条件下での曝露前後比較、4群比較ともに、有意な変化はみられなかった(表 A-2-6参照)。

#### 症例 7 について

8ppb曝露にて症状の有意な増強がみられた。それ以外の条件での曝露前後比較には有意な変化はみられなかった。4群間比較では有意な差がみられた(表 A-2-7参照)。

#### 症例 8 について

8ppb曝露にて症状の有意な増強が認められた。それ以外の条件での曝露前後比較には有意な変化はみられなかった。4群間比較でも有意な差はみられなかった(表 A-2-8参照)。

#### 症例 9 について

全ての条件下での曝露前後比較に有意差はみられなかった。4群間比較では有意な差がみられた(表 A-2-9参照)。

#### 症例 10 について

入院時のプラセボ曝露以外の条件全てで、曝露前後比較において、曝露後の有意な症状増強がみられた。4群間比較でも有意な差がみられた(表 A-2-10参照)。

#### 症例 11 について

全ての曝露条件で、曝露前後比較において、有意な症状の増強がみられた。

4群比較では有意な差はみられなかった（表 A-2-11参照）。

症例 1 2 について

全ての条件下での曝露前後比較に有意差はみられなかった。4群間比較では有意な差がみられた（表 A-2-12参照）。

症例 1 3 について

入院時プラセボ曝露では、曝露前後比較において、有意な変化はみられなかった。その他の曝露条件での症状は、曝露前、曝露後ともに全くなく、全く変化がみられていない（表 A-2-13参照）。

症例 1 4 について

入院時プラセボ曝露、プラセボ曝露にて、曝露前後比較で、有意な症状の増強がみられたが、8ppb、40ppb曝露では、症状に有意な変化はみられなかった（表 A-2-14参照）。

症例 1 5 について

入院時プラセボ曝露では、曝露前後比較において、有意な症状の改善が認められた。同様の比較にて、プラセボ曝露では変化がみられず、8ppb曝露では有意な改善が、40ppb曝露では有意な増強がみられた。4群間比較では有意な差がみられた（表 A-2-15参照）。

昨年度報告書と同様に、曝露前後の自覚症状を比較した解析の結果をもとに、15名の患者は以下の4型に分類することができる。

- Type 1：プラセボでは自覚症状の増強がなく、ホルムアルデヒド(8ppb及び40ppb、又は40ppbのみ)で自覚症状増強がみられた者
- Type 2：プラセボ、ホルムアルデヒド(8ppb、40ppb)ともに、自覚症状増強がみられた者
- Type 3：プラセボ、ホルムアルデヒド(8ppb、40ppb)ともに、自覚症状増強がみられなかった者
- Type 4：その他（入院時プラセボのみ、試験時プラセボのみ又はホルムアルデヒド8ppbのみで自覚症状増強がみられた者）

平成12年度～14年度の自覚症状変化のType別分類のまとめ

Wilcoxon signed-ranks

test による判定

	症例	負荷条件			分類 Type	13年度		12年度	
		プラセボ	8ppb	40ppb		症例	type	症例	type
14年度	1	→	→	→	3	30	3		
	2	↓	→	→	4	22	4		
	3	↓	↑	↑	1	19	4	37	1
	4	→	→	→	3				
	5	→	→	↑	1	24	1		
	6	→	→	→	3	25	3		
	7	→	↑	→	4				
	8	→	↑	→	4				
	9	→	→	→	3				
	10	→	↑	↑	1				
	11	↑	↑	↑	2				
	12	→	→	→	3				
	13	→	→	→	3				
	14	↑	→	→	4				
	15	→	↓	↑	1				
13年度	16	↑	↑	↑	2				
	17	→	↑	→	4				
	18	↑	↑	↑	2				
	19	↑	→	↑	4				
	20	→	↑	↑	1				
	21	→	→	→	3				
	22	↑	↑	→	4				
	23	↑	↑	↑	2				
	24	→	→	↑	1				
	25	→	→	→	3				
	26	↑	↑	↑	2				
	27	↑	→	→	4				
	28	→	↑	→	4				
	29	→	→	→	3				
	30	→	→	→	3				
12年度	31	→	→	↓	4				
	32	→	→	→	3				
	33	↑	↑	→	4				

34	→	→	↓	4
35	→	↓	→	4
36	→	↑	→	4
37	→	→	↑	1
38	→	→	→	3

## 2) 平成14年度症例の曝露検査結果のまとめと小考案

Type 1 に分類された患者は、プラセボで自覚症状の増強がなく、ホルムアルデヒドにて症状が増強されている。また、症例3では、入院時に行ったプラセボ曝露では、逆に症状が有意に軽快しており、この変化は、臨床環境医学センター入室により症状が軽快したものとも考えられる。

Type 2に分類された患者は、曝露条件に関係なく曝露後に有意な症状の増強があることから、曝露物質そのものに反応しているのではなく、何らかの物質に曝された状況そのものに反応している可能性がある。このような機序の反応をする患者では、心因的要因が影響している可能性がある。特に、症例11では、曝露前後比較で症状の増強が有意であるが、曝露後のみに状態を比較した場合はその強さに差がみられなくなっており、曝露物質に関係なく曝露後の状況が一定して増強する反応は、曝露という状況そのものに反応していることが明らかである。つまり、「曝露された」という状況に反応していると言え、心因の関与が疑われる典型例と思われる。

Type 3に分類された患者は、今回の曝露条件では反応がみられておらず、これには、3つの可能性が考えられる。一つは、患者にホルムアルデヒドに対する反応が存在しないこと、これは更に二つの事を含み、その一つが真にホルムアルデヒドへの反応が存在しないこと、残る一つが、ホルムアルデヒドが元来、過敏状態を形成する原因物質ではないことから、反応が存在しない可能性である。もう一つが、ホルムアルデヒドの設定濃度が、患者の反応を誘発する濃度に達していない可能性である。

したがって、今後これらの患者に対しては、至適曝露物資の選定と至適曝露濃度の設定を行い、反応が存在するか否かの確認が必要になってくる。

Type 4に分類された患者は、今回の結果を合理的に説明することが困難な反応を示した患者である。症例2については、症例3の場合と同様に、臨床環境医学センター入室で症状が改善したと解釈することも可能であるが、その他の症例では中毒学等を用いた解釈に矛盾する反応がみられていると言える。これら症例では、量依存的に反応が強くなる関係に矛盾した反応を示しており、現時点でこれら反応の説明は不可能である。

この本格的な群間比較は平成13年度から行われた。この群分けを、平成12年度にも適応し、13年度、14年度と合わせたものが、次の表となる。

平成12年度～平成14年度の曝露試験被験者Type分類

	平成12年度	平成13年度	平成14年度	計
Type 1	1	2	4	7
Type 2	0	4	1	5
Type 3	2	4	6	12
Type 4	5	5	4	14
計	8	15	15	38

すなわち、プラセボで自覚症状の増強がなく、ホルムアルデヒドで自覚症状増強がみられた症例は7名、プラセボ、ホルムアルデヒドともに、自覚症状増強がみられた患者症例が5名、プラセボおよびホルムアルデヒドともに、自覚症状増強がみられなかった症例が12名、その他中毒学的に矛盾を示す被験者が14名であった。このように統計的処理を行うと、微量ホルムアルデヒド曝露と被験者の症状誘発との間に関連は見いだされなかった。

平成12年度～平成14年度の曝露試験被験者の内訳

	プラセボ (人)	8 ppb (人)	40 ppb (人)
症状増強	10 26.30%	15 39.50%	13 34.20%
変化なし	26	21	23
症状改善	2	2	2
計	38	38	38

さらに、プラセボでの症状増強、8 ppbでの症状増強、40ppbでの症状増強の3つを自乗検定を行っても(P=0.472)、またプラセボでの症状増強、40ppbでの症状増強についての比較を行っても (Fisherの直接確率法ではP=0.618、プラセボの症状増強割合を母比率とした40ppbの症状増強割合の有意確率の二項検定ではP=0.355)、有意差は無かった。

3) 平成12年度、平成13年度と平成14年度を通してのまとめと小考案

平成13年度と14年度の患者ごとの解析では類似した解析方法をとっており、また、平成12年度と両年度ともに曝露試験を実施している患者が5人いるために、これら再曝露検査を受けた患者の結果をまとめると以下のような対応になる。

曝露検査反応型

	平成12年度	平成13年度	平成14年度
症例 1		Type 3	Type 3
症例 2		Type 4	Type 4
症例 3	Type 1	Type 4	Type 1
症例 4		Type 1	Type 1
症例 5		Type 3	Type 3

上記のごとく、平成13年度と平成14年度で曝露検査反応型が一致した症例は、5症例中4例であった。また、症例3については平成14年度と13年度では反応型が異なるものの、平成14年度と平成12年度では反応型が一致する。

両年度を通して、自覚症状スコアから患者をみた場合、同じ本態性多種化学物質過敏状態患者でも負荷物質への反応は必ずしも同じとは言えず、大きく4つの反応型に分かれると考えられた。この中には、両年度通して一貫した反応を示す症例が認められ、今後、これら症例を引き続き検討することにより、新たな知見が得られる可能性がある。

また、前年度の報告書内でも述べた通り、年度ごとの比較では期間が開きすぎることもあり、患者ごとの反応が一貫したものであるかを言い切ることが困難である。平成14年度と平成13年度で反応型が一致しなかった患者の中には、病状が変化している故に、異なった反応型を示した患者が含まれる可能性がある。したがって、患者の反応が一貫したものであるかを確認するためには、曝露試験を短い期間に繰り返し施行することが必要と思われる。

さらに、Type 3の患者が存在する以上、曝露検査におけるホルムアルデヒドをはじめとする負荷物質至適濃度設定は重要課題と思われる。現状の条件でType 3の反応を示す患者が認められた場合、真にホルムアルデヒドに反応しないのか、負荷濃度がその患者の症状を誘発する濃度に達していないから反応しないのかの判別ができない。本体性多種化学物質過敏状態患者がほぼ100%反応する濃度を求め、その濃度で患者が反応するかを確認しない限り、負荷物質に対する真の反応が存在するかどうかの断定はできない。これらの点は、今後の曝露試験検査で検討すべき課題と思われる。

両年度を通して、本態性多種化学物質過敏状態患者中には、様々な状態の患者が混在し、均一な集団ではないことがわかった。それと同時に、自覚症状の変化を目安にしながら、統制された曝露試験を行うことで、混在した集団をより均一な集団にしていくことが可能であることが示唆された。より均一な集団が得られることで、今後の研究においては、より精度の高い、一貫した結果が得られる可能性が高くなると思われる。

表 A-2-1 症例1の自覚症状スコアとその比較結果

	プラセボ (入院時)		プラセボ		8ppb		40ppb	
	前	後	前	後	前	後	前	後
関節の痛み	0	0	0	0	0	0	0	0
筋肉の痛み	0	0	0	0	0	0	0	0
けいれん	0	0	0	0	0	0	0	0
こわばり	81	70	0	0	0	0	0	0
鼻と眼の刺激	12	95	25	50	8	38	0	0
しみる感じ	0	0	0	0	0	0	0	0
舌が ぴりぴりする	2	0	0	0	0	0	0	0
息苦しい	7	32	0	0	0	0	0	0
どうき	71	5	0	0	0	0	0	0
脈の異常	0	0	0	0	0	0	0	0
お腹の 不快感	0	0	28	30	0	0	0	0
吐き気	0	0	0	0	0	0	0	0
気持ちが 悪い	0	0	0	0	0	0	0	0
頭がぼーっとする	30	0	0	0	10	50	0	21
眠い あくび	72	43	0	10	50	50	55	64
いらだち 気味	0	0	0	0	0	0	0	0
体がだるい	0	0	0	0	50	0	38	0
意欲低下	0	0	0	0	0	18	0	0
頭痛 重い感じ	0	0	0	0	0	7	0	0
頭痛	0	95	0	0	0	0	0	0
めまい	0	0	0	0	0	0	0	0
ふらつき	0	0	0	0	0	0	0	0
発疹 かゆみ	0	0	0	7	0	0	0	0
口やのどの 乾き	22	89	0	0	0	17	0	9
手足の 冷たい感じ	0	0	0	0	0	0	0	0
合計/2500	297	429	53	97	118	180	93	94
Wilcoxon signed-ranks test	p=0.594		p=0.144		p=0.345		p=0.713	
Friedman test	p=0.099							

表 A-2-2 症例2の自覚症状スコアとその比較結果

	プラセボ (入院時)		プラセボ		8ppb		40ppb	
	前	後	前	後	前	後	前	後
関節の痛み	17	0	10	12	8	9	0	7
筋肉の痛み	50	50	10	12	9	9	15	8
けいれん	0	0	0	0	0	0	0	0
こわばり	15	25	14	9	13	29	15	11
鼻と眼の刺激	8	0	8	10	8	9	8	8
しみる感じ	8	8	9	10	8	10	10	8
舌が ぴりぴりする	0	0	5	5	5	0	0	6
息苦しい	0	0	0	0	0	0	7	7
どうき	0	0	0	0	0	0	0	0
脈の異常	0	0	0	0	0	0	0	0
お腹の 不快感	0	0	0	0	0	0	0	0
吐き気	0	0	0	0	0	8	0	0
気持ちが 悪い	0	0	0	0	0	6	0	0
頭がぼーっとする	50	10	10	12	8	0	11	7
眠い あくび	50	7	8	12	8	10	10	7
いらだち 気味	0	0	10	4	8	21	12	0
体がだるい	50	13	10	12	9	8	11	6
意欲低下	29	13	12	8	9	0	11	5
頭痛 重い感じ	25	11	10	12	7	10	8	7
頭痛	0	0	0	5	6	0	0	0
めまい	0	0	0	0	0	10	0	0
ふらつき	0	0	0	0	0	0	0	0
発疹 かゆみ	0	0	0	0	0	0	0	0
口やのどの 乾き	15	15	9	11	9	10	13	8
手足の 冷たい感じ	0	10	7	6	0	0	9	8
合計/2500	317	162	132	140	115	149	140	103
Wilcoxon signed-ranks test	p=0.038		p=0.372		p=0.223		p=0.086	
Friedman test	p=0.083							

下線：5%水準以下で、有意差のみられたもの

表 A-2-3 症例3の自覚症状スコアとその比較結果

	プラセボ (入院時)		プラセボ		8ppb		40ppb	
	前	後	前	後	前	後	前	後
関節の痛み	56	43	10	9	8	12	7	7
筋肉の痛み	20	16	8	8	8	10	6	7
けいれん	50	26	22	9	10	10	8	8
こわばり	23	14	7	9	8	10	6	8
鼻と眼の刺激	32	25	16	9	10	50	7	25
しみる感じ	21	14	9	7	7	50	6	28
舌が ぴりぴりする	11	9	7	6	8	10	7	7
息苦しい	20	15	7	9	9	10	8	5
どうき	12	11	27	7	8	10	6	7
脈の異常	11	11	10	8	8	9	8	7
お腹の 不快感	14	7	26	11	10	10	7	7
吐き気	12	9	9	7	10	10	7	7
気持ちが 悪い	14	9	9	7	9	8	8	7
頭がぼーっ とする	50	40	8	8	11	12	9	9
眠い あくび	12	12	6	8	10	11	8	9
いらだち 気味	13	12	6	8	7	11	7	8
体がだるい	50	44	7	9	10	9	7	7
意欲低下	13	9	7	8	8	10	8	10
頭痛 重い感じ	18	21	9	12	8	12	10	8
頭痛	14	28	23	12	11	10	8	8
めまい	57	37	6	13	10	10	6	8
ふらつき	53	53	28	25	23	50	8	9
発疹 かゆみ	32	15	9	10	12	10	8	9
口やのどの 乾き	10	12	8	10	9	11	6	10
手足の 冷たい感じ	12	8	7	8	7	8	6	9
合計/2500	630	500	291	237	239	373	182	234
Wilcoxon signed-ranks test	p=0.001		p=0.340		p=0.002		p=0.037	
Friedman test	p<0.0001							

下線：5%水準以下で、有意差のみられたもの

表 A-2-4 症例4の自覚症状スコアとその比較結果

	プラセボ (入院時)		プラセボ		8ppb		40ppb	
	前	後	前	後	前	後	前	後
関節の痛み	0	0	0	0	0	0	0	0
筋肉の痛み	0	0	0	0	0	0	0	0
けいれん	0	0	0	0	0	0	0	0
こわばり	0	0	0	20	0	12	0	0
鼻と眼の刺激	0	0	0	0	0	0	0	0
しみる感じ	0	0	0	0	0	0	0	0
舌が ぴりぴりする	0	0	0	0	0	0	0	0
息苦しい	0	0	0	0	0	0	0	0
どうき	0	0	0	0	0	0	0	0
脈の異常	0	0	0	0	0	0	0	0
お腹の 不快感	19	17	20	15	12	12	18	17
吐き気	0	0	0	0	0	0	0	0
気持ちが 悪い	0	0	0	0	0	0	0	0
頭がぼーっ とする	0	0	0	0	0	0	0	0
眠い あくび	0	0	22	0	22	20	20	50
いらだち 気味	0	0	0	0	0	0	0	0
体がだるい	0	0	0	0	0	0	0	0
意欲低下	14	12	0	0	22	0	0	0
頭痛 重い感じ	0	0	0	0	0	0	0	0
頭痛	0	0	20	0	18	16	0	0
めまい	0	0	0	0	0	0	0	0
ふらつき	0	0	0	0	0	0	0	0
発疹 かゆみ	0	0	0	18	0	0	20	19
口やのどの 乾き	0	0	0	0	0	0	0	0
手足の 冷たい感じ	0	0	0	0	0	0	0	0
合計/2500	33	29	62	53	74	60	58	86
Wilcoxon signed-ranks test	p=0.157		p=0.588		p=0.461		p=1.000	
Friedman test	p=0.876							

表 A-2-5 症例5の自覚症状スコアとその比較結果

	プラセボ (入院時)		プラセボ		8ppb		40ppb	
	前	後	前	後	前	後	前	後
関節の痛み			0	0	0	0	0	0
筋肉の痛み			0	0	0	0	0	0
けいれん			0	0	0	0	0	0
こわばり			0	0	0	0	0	0
鼻と眼の刺激			0	12	24	50	12	38
しみる感じ			0	0	0	25	0	0
舌が ぴりぴりする			0	0	0	0	0	0
息苦しい			0	0	0	0	0	0
どうき			0	0	0	0	0	0
脈の異常			0	0	0	0	0	0
お腹の 不快感			0	0	0	0	0	0
吐き気			0	0	0	0	0	0
気持ちが 悪い			0	0	0	0	0	0
頭がぼーっ とする			13	14	25	35	14	50
眠い あくび			0	0	0	0	0	27
いらだち 気味			0	0	0	0	0	0
体がだるい			0	0	0	0	0	27
意欲低下			0	0	0	0	0	10
頭痛 重い感じ			13	0	24	25	0	32
頭痛			26	26	26	40	26	43
めまい			0	0	0	0	0	0
ふらつき			0	0	0	0	0	0
発疹 かゆみ			0	0	0	0	0	0
口やのどの 乾き			0	0	0	0	0	0
手足の 冷たい感じ			0	0	0	0	0	15
合計/2500	0	0	52	52	99	175	52	242
Wilcoxon signed-ranks test			p=1.000		p=0.080		p=0.017	
Friedman test			p=0.004					

下線：5%水準以下で、有意差のみられたもの

表 A-2-6 症例6の自覚症状スコアとその比較結果

	プラセボ (入院時)		プラセボ		8ppb		40ppb	
	前	後	前	後	前	後	前	後
関節の痛み	0	0	0	0	0	0	0	0
筋肉の痛み	0	0	0	0	0	0	0	0
けいれん	0	0	0	0	0	0	0	0
こわばり	0	0	0	0	0	0	0	0
鼻と眼の刺激	0	0	0	0	0	0	0	0
しみる感じ	0	0	0	0	0	0	0	0
舌が ぴりぴりする	0	0	0	0	0	0	0	0
息苦しい	0	0	0	0	0	0	0	0
どうき	0	0	0	0	0	0	0	0
脈の異常	0	0	0	0	0	0	0	0
お腹の 不快感	0	0	19	16	0	8	0	5
吐き気	0	0	0	0	0	0	0	0
気持ちが 悪い	0	0	0	0	0	0	0	13
頭がぼーっ とする	0	0	0	0	0	0	0	0
眠い あくび	24	18	0	0	0	0	0	0
いらだち 気味	0	0	0	0	0	0	0	0
体がだるい	0	0	12	15	0	0	0	13
意欲低下	0	0	0	0	0	0	0	0
頭痛 重い感じ	0	0	0	8	0	10	0	12
頭痛	0	0	0	0	0	0	0	0
めまい	0	0	0	0	0	0	0	0
ふらつき	0	0	0	0	0	0	0	0
発疹 かゆみ	0	0	0	0	0	0	0	0
口やのどの 乾き	0	0	0	0	0	0	0	0
手足の 冷たい感じ	0	0	0	0	0	0	0	0
合計/2500	24	18	31	39	0	18	0	43
Wilcoxon signed-ranks test	p=0.327		p=0.414		p=0.180		p=0.141	
Friedman test	p=0.187							

表 A-2-7 症例7の自覚症状スコアとその比較結果

	プラセボ (入院時)		プラセボ		8ppb		40ppb	
	前	後	前	後	前	後	前	後
関節の痛み	0	0	0	0	0	0	0	0
筋肉の痛み	23	0	0	0	9	9	0	0
けいれん	0	0	0	0	0	0	0	0
こわばり	0	0	0	0	0	0	0	0
鼻と眼の刺激	0	0	5	12	24	27	10	10
しみる感じ	0	0	0	11	24	26	8	11
舌が ぴりぴりする	0	0	0	0	0	0	0	0
息苦しい	14	0	0	0	0	0	0	0
どうき	0	0	0	0	0	0	0	0
脈の異常	0	0	0	0	0	0	0	0
お腹の 不快感	0	0	0	0	0	0	0	0
吐き気	0	0	0	0	0	0	0	0
気持ちが 悪い	0	0	0	0	0	0	0	0
頭がぼーっとする	50	24	12	20	27	50	26	29
眠い あくび	50	50	24	27	25	26	23	25
いらだち 気味	0	0	0	0	0	0	0	0
体がだるい	50	50	0	8	25	50	25	6
意欲低下	0	0	0	0	0	0	0	0
頭痛 重い感じ	50	50	50	25	26	50	50	50
頭痛	100	100	23	23	100	100	78	100
めまい	0	0	0	0	0	0	0	0
ふらつき	0	0	0	0	0	0	0	0
発疹 かゆみ	0	0	0	0	12	0	23	7
口やのどの 乾き	0	23	0	14	0	25	0	9
手足の 冷たい感じ	0	24	0	0	0	9	0	0
合計/2500	337	321	114	140	272	372	243	247
Wilcoxon signed-ranks test	p=0.786		p=0.236		p=0.038		p=0.611	
Friedman test	p=0.029							

下線：5%水準以下で、有意差のみられたもの

表 A-2-8 症例8の自覚症状スコアとその比較結果

	プラセボ (入院時)		プラセボ		8ppb		40ppb	
	前	後	前	後	前	後	前	後
関節の痛み	0	0	0	0	0	0	6	2
筋肉の痛み	0	0	0	0	0	1	0	0
けいれん	0	0	0	0	0	0	0	0
こわばり	0	25	0	0	0	25	0	0
鼻と眼の刺激	62	60	64	72	33	50	61	50
しみる感じ	0	0	0	0	9	3	0	0
舌が ぴりぴりする	2	6	0	0	0	2	0	8
息苦しい	65	85	65	82	16	87	75	97
どうき	23	42	0	0	45	31	8	5
脈の異常	0	2	0	0	1.5	11	0	0
お腹の 不快感	0	0	0	0	0	36	0	0
吐き気	0	0	0	0	1	0	9	47
気持ちが悪	0	0	0	0	0	13	0	0
頭がぼーっとする	50	90	82	100	50	88	50	50
眠い あくび	18	17	81	98	25	48	0	47
いらだち 気味	11	0	13	10	50	69	50	26
体がだるい	93	77	97	93	68	84	40	47
意欲低下	98	80	97	97	35	23	50	50
頭痛 重い感じ	50	90	100	98	50	93	72	62
頭痛	7	17	100	100	50	94	34	62
めまい	0	0	0	0	0	0	0	0
ふらつき	0	2	0	0	0	2	0	0
発疹 かゆみ	0	1	0	0	0	0	0	0
口やのどの 乾き	76	100	98	98	82	96	91	91
手足の 冷たい感じ	50	80	24	0	0	0	50	0
合計/2500	605	774	821	848	515.5	856	596	644
Wilcoxon signed-ranks test	p=0.037		p=0.575		p=0.002		p=0.695	
Friedman test	p=0.225							

下線：5%水準以下で、有意差のみられたもの

表 A-2-9 症例9の自覚症状スコアとその比較結果

	プラセボ (入院時)		プラセボ		8ppb		40ppb	
	前	後	前	後	前	後	前	後
関節の痛み	0	0	0	0	0	0	0	0
筋肉の痛み	33	8	0	0	0	0	0	0
けいれん	0	0	0	0	0	0	0	0
こわばり	8	6	0	0	0	0	0	0
鼻と眼の刺激	13	0	2	4	12	18	13	19
しみる感じ	0	0	0	0	0	0	0	0
舌が ぴりぴりする	0	0	0	0	0	0	0	0
息苦しい	0	0	0	0	0	0	0	0
どうき	0	0	0	0	0	0	0	0
脈の異常	0	0	0	0	0	0	0	0
お腹の 不快感	27	25	0	0	0	0	6	0
吐き気	0	0	0	0	0	0	0	0
気持ちが悪	0	0	0	0	0	0	0	0
頭がぼーっとする	0	0	0	0	0	0	0	0
眠い あくび	0	3	0	0	0	0	0	0
いらだち 気味	0	0	0	0	0	0	0	0
体がだるい	0	0	0	0	0	0	0	0
意欲低下	0	0	0	0	0	0	0	0
頭痛 重い感じ	50	6	8	5	0	2	0	0
頭痛	50	36	0	0	0	0	0	0
めまい	0	0	0	0	0	0	0	0
ふらつき	0	0	0	0	0	0	0	0
発疹 かゆみ	0	0	0	0	0	0	0	0
口やのどの 乾き	0	0	0	0	0	0	0	0
手足の 冷たい感じ	0	0	0	0	0	0	0	0
合計/2500	181	84	10	9	12	20	19	19
Wilcoxon signed-ranks test	p=0.063		p=0.655		p=0.180		p=1.000	
Friedman test	p=0.030							

下線：5%水準以下で、有意差のみられたもの

表 A-2-10 症例10の自覚症状スコアとその比較結果

	プラセボ (入院時)		プラセボ		8ppb		40ppb	
	前	後	前	後	前	後	前	後
関節の痛み	0	0	0	0	0	0	0	0
筋肉の痛み	21	22	16	17	12	17	12	12
けいれん	0	0	0	0	0	0	0	0
こわばり	22	16	24	25	13	22	18	19
鼻と眼の刺激	0	0	0	0	11	21	0	0
しみる感じ	0	0	0	0	11	15	0	0
舌が ぴりぴりする	0	0	0	0	0	0	0	0
息苦しい	0	0	0	0	0	0	0	0
どうき	0	0	0	0	0	0	0	0
脈の異常	0	0	0	0	0	0	0	0
お腹の 不快感	0	0	0	0	0	0	0	0
吐き気	0	0	0	0	0	0	0	0
気持ちが 悪い	0	0	0	11	0	15	0	14
頭がぼーっとする	14	16	21	23	12	18	14	25
眠い あくび	0	0	0	0	0	0	0	0
いらだち 気味	0	0	0	11	0	0	0	15
体がだるい	28	16	22	22	19	22	18	20
意欲低下	14	15	24	17	0	0	12	15
頭痛 重い感じ	14	17	14	17	13	29	14	23
頭痛	11	9	0	0	0	10	0	15
めまい	0	0	0	0	0	0	0	0
ふらつき	0	0	0	0	0	0	0	0
発疹 かゆみ	27	22	57	63	23	23	25	25
口やのどの 乾き	19	17	17	28	16	20	11	17
手足の 冷たい感じ	0	0	0	0	0	0	0	0
合計/2500	170	150	195	234	130	212	124	200
Wilcoxon signed-ranks test	p=0.258		p=0.049		p=0.007		p=0.011	
Friedman test	p=0.047							

下線：5%水準以下で、有意差のみられたもの

表 A-2-11 症例 11 の自覚症状スコアとその比較結果

	プラセボ (入院時)		プラセボ		8ppb		40ppb	
	前	後	前	後	前	後	前	後
関節の痛み	30	50	37	46	50	60	20	50
筋肉の痛み	30	63	15	50	50	62	12	50
けいれん	37	67	29	57	58	71	22	64
こわばり	37	63	25	60	79	92	22	88
鼻と眼の刺激	46	54	21	52	50	55	16	62
しみる感じ	32	38	55	61	50	56	57	75
舌が ぴりぴりする	87	90	74	81	74	94	62	91
息苦しい	92	91	61	82	72	90	61	90
どうき	40	73	25	46	50	54	7	41
脈の異常	37	51	12	47	44	50	37	39
お腹の 不快感	5	50	7	48	33	46	16	43
吐き気	88	94	63	86	84	94	75	89
気持ちが 悪い	85	91	52	82	82	90	78	90
頭がぼーっ とする	50	79	53	98	62	100	54	87
眠い あくび	80	84	46	99	53	98	55	82
いらだち 気味	85	50	15	53	42	55	15	44
体がだるい	82	86	79	98	68	88	68	98
意欲低下	63	88	76	95	70	97	57	98
頭痛 重い感じ	50	84	62	97	62	90	56	99
頭痛	44	50	20	57	44	55	10	56
めまい	44	76	15	70	50	80	12	58
ふらつき	21	82	45	88	67	88	14	76
発疹 かゆみ	13	24	15	45	35	46	17	37
口やのどの 乾き	89	88	80	100	90	100	92	97
手足の 冷たい感じ	0	0	8	16	8	8	0	22
合計/2500	1267	1666	990	1714	1427	1819	935	1726
Wilcoxon signed-ranks test	p=0.0004		p<0.0001		p<0.0001		p<0.0001	
Friedman test	p=0.058							

下線：5%水準以下で、有意差のみられたもの

表 A-2-12 症例12の自覚症状スコアとその比較結果

	プラセボ (入院時)		プラセボ		8ppb		40ppb	
	前	後	前	後	前	後	前	後
関節の痛み	15	12	15	0	11	11	0	6
筋肉の痛み	27	50	16	9	6	11	0	16
けいれん	30	18	6	8	5	4	6	10
こわばり	4	15	0	0	0	0	0	0
鼻と眼の刺激	40	37	11	23	23	24	14	38
しみる感じ	16	31	4	3	15	16	0	5
舌が ぴりぴりする	13	9	7	16	7	8	9	32
息苦しい	20	13	0	3	2	10	12	8
どうき	17	18	3	7	8	7	30	27
脈の異常	3	8	0	0	3	0	0	3
お腹の 不快感	12	28	4	19	12	20	17	16
吐き気	0	0	0	0	4	0	4	27
気持ちが 悪い	9	4	4	13	7	13	14	22
頭がぼーっ とする	9	8	10	5	8	7	17	28
眠い あくび	17	25	20	10	9	18	30	12
いらだち 気味	6	7	0	3	0	0	3	0
体がだるい	16	8	4	8	10	8	12	32
意欲低下	19	11	4	4	9	3	26	35
頭痛 重い感じ	4	15	7	1	5	5	5	9
頭痛	0	20	17	15	10	15	26	6
めまい	0	7	0	0	5	0	0	0
ふらつき	20	12	3	2	1	5	16	17
発疹 かゆみ	34	23	8	22	0	23	10	12
口やのどの 乾き	16	23	15	9	10	18	30	6
手足の 冷たい感じ	9	25	0	16	0	3	0	7
合計/2500	356	427	158	196	170	229	281	374
Wilcoxon signed-ranks test	p=0.265		p=0.390		p=0.078		p=0.066	
Friedman test	p<0.0001							

下線：5%水準以下で、有意差のみられたもの

表 A-2-13 症例13の自覚症状スコアとその比較結果

	プラセボ (入院時)		プラセボ		8ppb		40ppb	
	前	後	前	後	前	後	前	後
関節の痛み	0	0	0	0	0	0	0	0
筋肉の痛み	0	0	0	0	0	0	0	0
けいれん	0	0	0	0	0	0	0	0
こわばり	0	0	0	0	0	0	0	0
鼻と眼の刺激	0	0	0	0	0	0	0	0
しみる感じ	0	0	0	0	0	0	0	0
舌が ぴりぴりする	0	0	0	0	0	0	0	0
息苦しい	0	0	0	0	0	0	0	0
どうき	0	0	0	0	0	0	0	0
脈の異常	0	0	0	0	0	0	0	0
お腹の 不快感	0	0	0	0	0	0	0	0
吐き気	0	0	0	0	0	0	0	0
気持ちが 悪い	0	0	0	0	0	0	0	0
頭がぼーっ とする	0	0	0	0	0	0	0	0
眠い あくび	0	20	0	0	0	0	0	0
いらだち 気味	0	0	0	0	0	0	0	0
体がだるい	0	0	0	0	0	0	0	0
意欲低下	0	0	0	0	0	0	0	0
頭痛 重い感じ	0	7	0	0	0	0	0	0
頭痛	0	0	0	0	0	0	0	0
めまい	0	0	0	0	0	0	0	0
ふらつき	0	0	0	0	0	0	0	0
発疹 かゆみ	0	0	0	0	0	0	0	0
口やのどの 乾き	22	23	0	0	0	0	0	0
手足の 冷たい感じ	0	0	0	0	0	0	0	0
合計/2500	22	50	0	0	0	0	0	0
Wilcoxon signed-ranks test	p=0.285		変化なし		変化なし		変化なし	
Friedman test	p=0.029							

下線：5%水準以下で、有意差のみられたもの

表 A-2-14 症例14の自覚症状スコアとその比較結果

	プラセボ (入院時)		プラセボ		8ppb		40ppb	
	前	後	前	後	前	後	前	後
関節の痛み	0	0	0	0	0	0	0	0
筋肉の痛み	4	7	0	0	0	0	0	0
けいれん	0	23	0	0	0	0	0	0
こわばり	9	23	0	0	0	0	0	0
鼻と眼の刺激	0	12	0	0	0	0	0	0
しみる感じ	0	11	0	0	0	0	0	0
舌が ぴりぴりする	0	0	0	0	0	0	0	0
息苦しい	0	0	0	0	0	0	0	0
どうき	0	34	0	0	0	0	0	0
脈の異常	0	0	0	0	0	0	0	0
お腹の 不快感	0	0	0	0	0	0	0	0
吐き気	0	0	0	0	0	0	0	0
気持ちが悪	0	0	0	0	0	0	0	0
頭がぼーっとする	37	50	8	13	22	42	23	30
眠い あくび	27	40	13	28	30	40	22	30
いらだち 気味	0	0	0	0	0	0	0	0
体がだるい	39	50	9	23	22	37	25	30
意欲低下	36	30	0	0	0	3	6	0
頭痛 重い感じ	50	50	5	25	12	23	26	50
頭痛	39	50	0	9	0	0	10	29
めまい	0	0	0	0	0	0	0	0
ふらつき	0	0	0	0	0	0	0	0
発疹 かゆみ	28	0	3	4	10	0	5	3
口やのどの 乾き	0	0	0	0	0	0	0	0
手足の 冷たい感じ	0	0	0	0	0	0	0	0
合計/2500	269	380	38	102	96	145	117	172
Wilcoxon signed-ranks test	p=0.041		p=0.046		p=0.093		p=0.091	
Friedman test	p=0.0001							

下線：5%水準以下で、有意差のみられたもの

表 A-2-15 症例15の自覚症状スコアとその比較結果

	プラセボ (入院時)		プラセボ		8ppb		40ppb	
	前	後	前	後	前	後	前	後
関節の痛み	1	0	0	0	0	0	0	0
筋肉の痛み	15	2	0	0	0	0	0	0
けいれん	1	1	0	0	0	0	0	0
こわばり	12	5	8	5	4	0	0	8
鼻と眼の刺激	28	1	0	8	0	0	0	19
しみる感じ	0	0	0	0	0	0	0	13
舌が ぴりぴりする	0	1	0	0	0	0	1	0
息苦しい	0	1	0	5	5	0	0	11
どうき	0	0	4	0	0	0	2	27
脈の異常	24	2	15	10	0	0	10	0
お腹の 不快感	17	1	0	0	5	0	0	17
吐き気	2	1	0	0	1	0	0	81
気持ちが 悪い	0	0	0	0	0	0	0	67
頭がぼーっとする	35	9	0	0	11	4	0	32
眠い あくび	10	0	4	0	5	0	0	19
いらだち 気味	0	0	0	2	0	0	0	0
体がだるい	8	12	6	0	2	0	0	22
意欲低下	1	0	0	0	0	0	0	17
頭痛 重い感じ	35	7	0	3	3	0	0	0
頭痛	1	0	0	0	0	0	0	0
めまい	1	0	0	0	0	0	0	0
ふらつき	1	0	0	0	0	0	1	0
発疹 かゆみ	28	0	15	17	22	23	12	12
口やのどの 乾き	19	1	0	0	5	0	0	0
手足の 冷たい感じ	2	1	0	0	0	0	0	0
合計/2500	241	45	52	50	63	27	26	345
Wilcoxon signed-ranks test	p=0.001		p=0.721		p=0.008		p=0.003	
Friedman test	p=0.002							

## B . バイタルサイン検査

### ( 1 ) 脈拍数

12年度以来の通算38症例について結果が得られた。負荷前後の脈拍数と前後差を表 B-1に示した。プラセボを含めて、ガス負荷後に脈拍数の減少をきたした患者が多かった。t 検定で比較したが、40ppb負荷では $p < 0.051$ となり、各群間には有意差が認められなかった。この差を図 B-1に示した。

### ( 2 ) 血圧

12年度以来の通算38症例について結果が得られた(表 B-2)。理解の便のために、結果を図 B-2に示した。すべての群で負荷後に最高血圧の低下傾向が認められた。最高血圧はプラセボに比べてホルムアルデヒドでは明かにその血圧の低下幅が小さく、また40ppb群では8ppb群に比べてその幅小さかったが、t 検定では有意差が認められなかった。

### ( 3 ) 体温

12年度以来の通算38症例について結果が得られた。表 B-3 に示すように、負荷後体温の上昇を示す患者は、プラセボ負荷で38名中14名であり、8ppb負荷では29名、40ppb負荷では27名であった。差の平均値、標準偏差、およびt 検定の結果を表の下部に示した。理解の便のためにその結果を図 B-3 に示した。プラセボではガス負荷後に体温低下傾向を示したが、ガス負荷時には、体温上昇傾向を示しており、その差は有意であった。一般に化学的熱産生は交感神経の興奮によるノルアドレナリン、アドレナリンを介して行われると考えられている。プラセボでは、負荷終了で緊張がすぐ収まるのに対して、ホルムアルデヒドでは一定の緊張状態を醸し出し続けている事を示しているのかもしれないが、今後の検討にゆだねるべきであろう。

### ( 4 ) 経皮的動脈酸素 (sPO<sub>2</sub>)

12年度以来の通算38症例について結果が得られた。表 B-4 に示すように、負荷後に、プラセボでは38名中15名に酸素濃度の上昇が、8ppbでは14名に上昇が、40ppbでは16名に上昇が認められた。負荷前後の差の平均を図 B-4 に示したが、有意差は認められなかった。

### ( 5 ) 小考察

バイタルサイン検査の結果は、すべてガス負荷試験に臨んで、患者が非常に緊張していることを示している。すなわち負荷試験後に最高血圧の低下、脈拍数の減少、体温低下を示す傾向があった。プラセボでは負荷後体温低下を示すのに対し、40ppbガス負荷では体温上昇が有意に認められた。

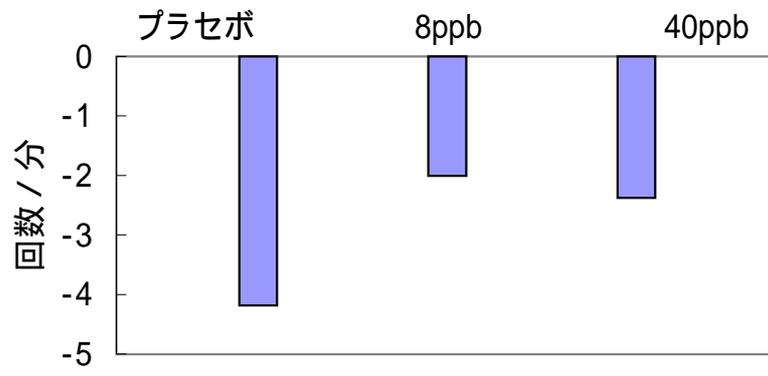
ガス負荷により、本症患者に酸化的ストレスが生じているであろうとの報告 (B Knabenschuh u.a.: Einfluss neuroinformatrischer und neuroendokriner Mechanismen bei MCS. Zeitschrift für Umweltmedizin 11: 30-35, 2003) があ

るように、なんらかのストレスを生じている可能性がある。しかし他のバイタルサインに有意な変動を認めていない以上、これ以上の憶測は控えるべきであろう。

表 B-1 脈拍数

症例	プラセボ				8ppb				40ppb				
	前	後	傾向	差	前	後	傾向	差	前	後	傾向	差	
14年度	1	95	90		-5	87	81		-6	101	94		-7
	2	90	91		1	88	90		2	92	92		0
	3	98	94		-4	83	83		0	82	72		-10
	4	57	59		2	56	56		0	57	59		2
	5	73	74		1	74	73		-1	67	63		-4
	6	80	74		-6	78	73		-5	73	75		2
	7	82	66		-16	75	68		-7	70	70		0
	8	88	75		-13	82	82		0	82	70		-12
	9	92	87		-5	103	88		-15	88	79		-9
	10	87	80		-7	70	82		12	74	74		0
	11	73	69		-4	61	63		2	61	63		2
	12	76	74		-2	81	75		-6	76	75		-1
	13	78	69		-9	70	78		8	76	74		-2
	14	94	93		-1	85	78		-7	82	75		-7
	15	85	85		0	82	80		-2	104	98		-6
13年度	1	79	79		0	86	78		-8	77	81		4
	2	81	75		-6	82	77		-5	73	73		0
	3	68	70		2	69	70		1	76	74		-2
	4	90	82		-8	83	80		-3	75	81		6
	5	77	73		-4	84	81		-3	80	74		-6
	6	86	74		-12	77	78		1	84	79		-5
	7	90	94		4	102	92		-10	87	84		-3
	8	72	64		-8	70	70		0	72	66		-6
	9	61	65		4	61	65		4	62	68		6
	10	76	71		-5	71	65		-6	71	65		-6
	11	118	101		-17	80	80		0	97	85		-12
	12	67	64		-3	71	74		3	67	78		11
	13	80	78		-2	79	71		-8	76	76		0
	14	80	82		2	76	78		2	80	76		-4
	15	104	98		-6	92	89		-3	107	103		-4
12年度	1	72	72		0	76	74		-2	76	74		-2
	2	90	84		-6	79	82		3	87	89		2
	3	92	78		-14	68	72		4	70	70		0
	4	66	71		5	74	76		2	74	70		-4
	5	74	70		-4	66	60		-6	68	61		-7
	6	98	105		7	96	85		-11	86	84		-2
	7	84	75		-9	74	72		-2	60	60		0
	8	76	65		-11	74	70		-4	72	68		-4
測定値	mean	82.3	78.2			78	76			77.9	75.6		
	SD	12.2	11.3			10.3	8.13			11.7	10.2		
	p		0				0.03				0.01		
差	mean				-4.2								-2.4
	SD				5.86						5.32		4.94
	p								0.12				0.05

図 B-1 脈拍数差



表B-2 血圧

症例	プラセボ						8ppb						40ppb						
	前	最高	後	差	前	最低	後	差	前	最高	後	差	前	最高	後	差	前	最低	後
14年度	1	106	94	-12	66	64	-2	94	92	-2	52	68	16	102	98	-4	74	62	-12
	2	120	124	4	76	80	4	122	112	-10	80	84	4	122	124	2	84	82	-2
	3	138	128	-10	92	88	-4	124	120	-4	72	70	-2	140	134	-6	92	88	-4
	4	112	104	-8	60	56	-4	106	110	4	60	64	4	112	116	4	60	64	4
	5	92	88	-4	56	54	-2	96	116	20	58	68	10	92	102	10	64	80	16
	6	92	74	-18	54	56	2	96	88	-8	54	52	-2	98	94	-4	62	64	2
	7	100	90	-10	62	62	0	100	100	0	68	70	2	102	94	-8	80	66	-14
	8	112	116	4	66	78	12	114	108	-6	80	76	-4	118	108	-10	80	82	2
	9	130	102	-28	70	70	0	116	98	-18	60	64	4	116	118	2	58	72	14
	10	122	128	6	72	88	16	116	120	4	60	80	20	116	122	6	64	74	10
	11	124	108	-16	78	64	-14	114	102	-12	64	68	4	118	110	-8	70	74	4
	12	94	96	2	74	70	-4	94	92	-2	68	78	10	100	96	-4	62	62	0
	13	122	102	-20	60	68	8	106	118	12	70	64	-6	112	106	-6	76	64	-12
	14	112	114	2	64	78	14	108	104	-4	68	62	-6	96	108	12	54	72	18
	15	96	110	14	62	62	0	100	110	10	52	58	6	122	156	34	62	96	34
13年度	1	86	104	18	54	86	32	100	88	-12	70	64	-6	96	90	-6	72	62	-10
	2	112	102	-10	80	78	-2	114	100	-14	82	82	0	120	126	6	82	82	0
	3	88	90	2	58	58	0	82	84	2	60	54	-6	92	82	-10	60	44	-16
	4	118	112	-6	92	80	-12	128	122	-6	88	90	2	132	118	-14	94	90	-4
	5	106	102	-4	66	74	8	104	88	-16	70	58	-12	102	100	-2	78	74	-4
	6	106	104	-2	70	78	8	114	126	12	84	82	-2	126	124	-2	78	74	-4
	7	120	118	-2	90	94	4	136	126	-10	82	88	6	124	120	-4	78	90	12
	8	108	94	-14	60	56	-4	104	102	-2	70	64	-6	102	100	-2	58	56	-2
	9	94	88	-6	66	64	-2	94	92	-2	62	62	0	96	94	-2	66	62	-4
	10	92	94	2	60	58	-2	96	96	0	60	62	2	96	94	-2	58	55	-3
	11	134	136	2	94	94	0	138	122	-16	98	80	-18	130	124	-6	98	88	-10
	12	98	92	-6	54	60	6	94	98	4	56	58	2	94	92	-2	54	64	10
	13	114	120	6	84	68	-16	122	104	-18	92	82	-10	128	124	-4	74	100	26
	14	106	102	-4	54	58	4	106	102	-4	68	70	2	102	106	4	58	66	8
	15	100	98	-2	64	58	-6	97	100	3	68	62	-6	104	98	-6	62	58	-4

12年度	1	134	128	-6	76	78	2	138	128	-10	80	80	0	134	122	-12	80	76	-4	
	2	110	104	-6	72	70	-2	100	96	-4	74	64	-10	102	100	-2	76	60	-16	
	3	96	90	-6	70	64	-6	88	80	-8	58	64	6	80	116	36	56	76	20	
	4	120	110	-10	82	84	2	118	108	-10	72	70	-2	118	108	-10	70	72	2	
	5	120	122	2	98	80	-18	124	108	-16	80	70	-10	120	120	0	90	90	0	
	6	116	108	-8	78	62	-16	104	96	-8	70	66	-4	100	100	0	76	64	-12	
	7	104	96	-8	74	56	-18	110	94	-16	72	66	-6	102	92	-10	72	68	-4	
	8	114	120	6	72	74	2	102	100	-2	68	64	-4	92	96	4	64	70	6	
測定値	mean	110	106		70.5	70.3		108	104		69.7	69.2		109	109		70.9	72.2		
	SD	13.5	13.9		12.1	11.6		13.8	12.6		11	9.48		14.4	15.1		11.7	12.5		
	p		0.01			0.87			0			0.64			0.69			0.51		
差	mean			-6.8			-0.3			-4.4			-0.6			-0.7			-0.6	
	SD			9.03			9.82			9.01			7.57			10.3			11.5	
	p							0.86						0.09						
																				0.87
																				0.55

図 B-2 血圧差

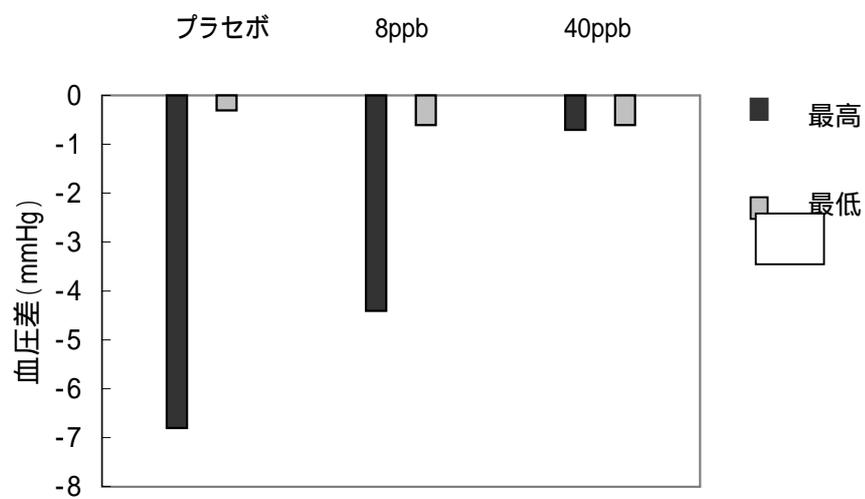


表 B-3 体温

症例	プラセボ				8ppb				40ppb			
	前	後	傾向	差	前	後	傾向	差	前	後	傾向	差
14年度	1	36.5	36.2	-0.3	36.2	36.2	0		36.4	36.5	0.1	
	2	35.8	35.6	-0.2	35.1	35.4	0.3		35.1	35.3	0.2	
	3	36.7	36.6	-0.1	36.2	36.6	0.4		36.1	36.3	0.2	
	4	36.7	36.3	-0.4	36.4	35.9	-0.5		36.1	36.8	0.7	
	5	36.5	36.2	-0.3	36.6	36.4	-0.2		36.8	36.7	-0.1	
	6	36.8	36.8	0	36.6	37	0.4		36.8	36.8	0	
	7	36.2	36.4	0.2	36.2	36.6	0.4		36.6	36.5	-0.1	
	8	36.9	36.4	-0.5	36.8	36.8	0		36.5	36.5	0	
	9	36.5	36.3	-0.2	36.5	36.1	-0.4		36.2	36.3	0.1	
	10	36.2	36.1	-0.1	36	35.4	-0.6		36.4	36.5	0.1	
	11	35.8	35.6	-0.2	35.5	36.1	0.6		35.9	36.6	0.7	
	12	36.2	36.4	0.2	36.2	36.4	0.2		36.6	36.8	0.2	
	13	36.1	36.2	0.1	36.2	36.4	0.2		36.1	36.1	0	
	14	36.9	37	0.1	36.2	36.6	0.4		36.2	36.6	0.4	
	15	36.1	36	-0.1	36	36.1	0.1		35.9	36.1	0.2	
13年度	1	36.6	36.8	0.2	36.6	36.7	0.1		36.6	37	0.4	
	2	36.6	36.5	-0.1	36.7	36.5	-0.2		36.4	36.5	0.1	
	3	35.5	35.8	0.3	35.4	35.7	0.3		35.4	35.5	0.1	
	4	35.9	36.2	0.3	36.4	36.2	-0.2		35.7	35.9	0.2	
	5	36.1	36	-0.1	35.8	36.1	0.3		36.2	36.1	-0.1	
	6	35.9	35.6	-0.3	35.9	35.9	0		36.2	36	-0.2	
	7	36.1	36	-0.1	36	35.9	-0.1		36	36.3	0.3	
	8	36.2	36.4	0.2	36.6	36.7	0.1		36.1	36.4	0.3	
	9	36.5	36.3	-0.2	36	36.5	0.5		36.3	36.3	0	
	10	36.6	36.4	-0.2	36.7	36.7	0		36.6	36.9	0.3	
	11	36.4	36.4	0	36	35.8	-0.2		36.3	35.8	-0.5	
	12	36.1	36.2	0.1	36.1	36.1	0		36	35.8	-0.2	
	13	37	36.8	-0.2	37.1	36.8	-0.3		36.9	37.3	0.4	
	14	35.9	36	0.1	35.9	36	0.1		35.8	36	0.2	
	15	36.1	36.3	0.2	36	36.5	0.5		34.7	34.7	0	
12年度	1	36.7	36.1	-0.6	35.7	36.1	0.4		36.1	36.3	0.2	
	2	36.3	36.3	0	36.5	36.4	-0.1		35.9	36.2	0.3	
	3	36.4	36.3	-0.1	36.9	36.4	-0.5		36.3	36.7	0.4	
	4	35.6	35.7	0.1	35.8	36	0.2		35.4	35.7	0.3	
	5	35.7	35.4	-0.3	35.6	35.5	-0.1		35.4	36.3	0.9	
	6	37.5	37.6	0.1	37.1	37.1	0		36.1	36.6	0.5	
	7	36.5	36.5	0	37	37.1	0.1		36.4	36.7	0.3	
	8	36.2	36.1	-0.1	36.2	36.1	-0.1		36.3	36.4	0.1	
測定値	mean	36.32	36.26		36.23	36.28		36.13	36.31			
	SD	0.423	0.42		0.47	0.435		0.469	0.496			
	p		0.068			0.261			<0.01			
差	mean			-0.1			0.06				0.18	
	SD			0.22			0.3				0.27	
	p											

図 B-3 体温差

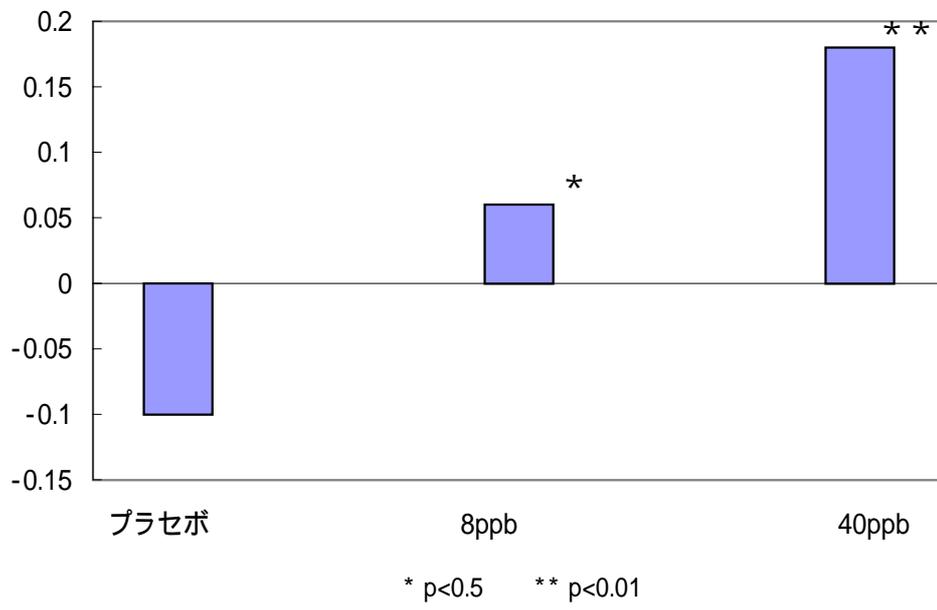
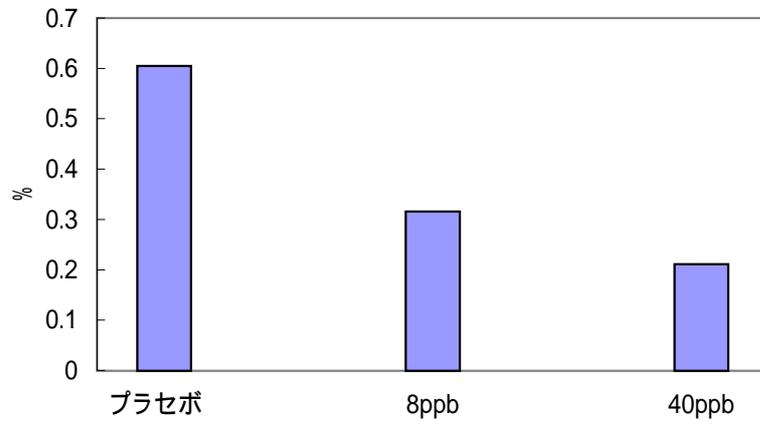


表 B-4 sPO2

症例	プラセボ			8ppb			40ppb			
	前	後	差	前	後	差	前	後	差	
14年度	1	98	98	0	98	98	0	97	98	1
	2	98	98	0	98	98	0	98	98	0
	3	96	96	0	95	96	1	96	96	0
	4	97	97	0	98	98	0	98	98	0
	5	97	97	0	97	98	1	98	98	0
	6	86	99	13	96	99	3	98	96	-2
	7	98	98	0	98	98	0	98	98	0
	8	98	98	0	98	98	0	98	99	1
	9	97	97	0	97	97	0	96	98	2
	10	98	97	-1	97	98	1	97	97	0
	11	96	97	1	96	96	0	95	96	1
	12	98	98	0	98	98	0	98	98	0
	13	96	98	2	96	96	0	97	96	-1
	14	98	94	-4	98	98	0	98	97	-1
	15	98	99	1	98	98	0	98	99	1
13年度	1	98	99	1	98	98	0	98	98	0
	2	96	97	1	98	97	-1	98	98	0
	3	98	98	0	97	98	1	98	95	-3
	4	95	95	0	95	95	0	94	96	2
	5	97	98	1	98	96	-2	96	96	0
	6	95	97	2	96	97	1	96	97	1
	7	97	98	1	98	98	0	98	98	0
	8	95	98	3	97	98	1	97	98	1
	9	98	99	1	98	98	0	98	99	1
	10	98	99	1	97	98	1	98	99	1
	11	98	98	0	98	98	0	98	98	0
	12	97	97	0	97	97	0	97	98	1
	13	97	97	0	97	98	1	98	98	0
	14	98	98	0	98	98	0	98	98	0
	15	98	99	1	98	99	1	98	98	0
12年度	1	97	97	0	96	97	1	96	97	1
	2	95	97	2	99	98	-1	98	95	-3
	3	100	98	-2	98	97	-1	98	98	0
	4	98	98	0	96	98	2	96	97	1
	5	96	96	0	97	98	1	98	99	1
	6	98	96	-2	98	98	0	97	98	1
	7	98	98	0	98	97	-1	99	98	-1
	8	97	98	1	96	98	2	96	98	2
測定値	mean	96.921	97.526		97.263	97.579		97.316	97.526	
	SD	2.1357	1.1086		0.9777	0.8584		1.0681	1.084	
	p		0.1268			0.1389			0.2634	
差	mean		0.6053			0.3158			0.2105	
	SD		2.3885			0.933			1.1427	
	p					0.4102			0.4067	

図 B-4 sPO2差



## C . 瞳孔検査

暗順応を繰り返して、4回の一過性の光刺激による瞳孔の反応を赤外線モニターで測定した。平成13年度は4回の両眼測定、すなわち計8眼の測定を行い検討したが、平成14年度は測定機器の不調のために、片眼しか測定できず、また患者が8回の連続測定の苦痛には耐え得ないために、片眼4回の測定に終わった。測定波形の模式図と変数は昨年と同様である(図C-1)。そして、ガス負荷前後の各変数の有意差についてt検定を行った。

### (1) 負荷前後比較結果(t検定)

各患者測定データの表C-2は、14年度の各症例ごとの測定値と負荷前後のt検定による比較である。負荷前と負荷後のデータは通算4回のデータを並べて一群を形成している。瞳孔反応負荷前後の変動の有意差を認めたパラメーターを抽出して、表C-1にまとめた。表C-1には過去の症例を合わせて記載してある。そのために、平成12年度症例8は、先にも述べたように、トルエン $26\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、および $26\mu\text{g}/\text{m}^3$ である。t検定で有意差のあったもののみを表中に示した。は値の増加を、は値の減少を示し、は $p < 0.01$ 、は $< 0.05$ を示す。各種のパラメーターは、プラセボ負荷では変動が少なく、ホルムアルデヒド負荷で変動が激しいことが分かる。40ppb負荷と8ppb負荷の間では、特に差が認められなかった。

### (2) 小考察

ガス負荷により対光反応が変動を示すことは、患者の自律神経が非常に不安定であり、その結果pupil unrestの状況になっていることを示している。今回は双眼瞳孔検査機の機能障害で、測定が4眼しか行えなかった。その検体数不足は、有意差の出現を抑え、また $p < 0.01$ の例数を減らし、 $p < 0.05$ を増やす傾向となってしまった。先の体温の結果では、負荷終了後にプラセボでも脈拍数、血圧低下を示していたことは、交感神経緊張の解除を意味し、A1の減少、およびCRの増大はよく一致した結果を示した。また、ホルムアルデヒド負荷では、A1(瞳孔面積)の増大は交感神経緊張を意味しており、先の体温上昇傾向とよく一致していた。8ppb負荷ではほぼ増大傾向、すなわちホルムアルデヒド負荷により交感神経緊張を引き起こしていると考えたいが、T5(瞳孔の戻りの時間)が全体としては増大傾向を示しており、必ずしも一定の説明付けが可能な変化ではなかった。さらに40ppbホルムアルデヒド負荷では、A1は一定の傾向を示していなかった。バイタルサイン測定はガス負荷直後に行われるのに対して、瞳孔検査はさらに他の症状スコアの記入が終わり、暗順応15分を終えたあとの測定である。ガス負荷直後の測定ではない。そのために低濃度での軽いストレスでは交感神経緊張を維持している可能性があるも、高濃度の強いストレスでは自律神経のぶり返しも考えざるを得ないであろう。一定の傾向が得らいくい点があったが、患者の自律神経が非常に不安定であり、容易にストレスに反応していることは明らかにし得たと思われる。

なお、本年度と昨年度の重複検査症例をまとめると、以下の通りである。測定眼数

が異なるために、正確な比較は困難であるが、その範囲で検討を加えてみたい。

	14年度	13年度	12年度
症例番号 1		30	
2		22	
3		19	35
5		24	
6		25	

症例 1 は昨年度と異なり、本年度は安定した結果を示していた。症例 2 は昨年度と異なり、本年度は無反応であった。症例 3 は昨年、本年ともまったく無反応であった。症例 4 は異常値が少なくなっていた。症例 5 は症状が安定化していた。全体としては症状が安定化してきているのかも知れない。

図 C-1 対光反応における各ファクター

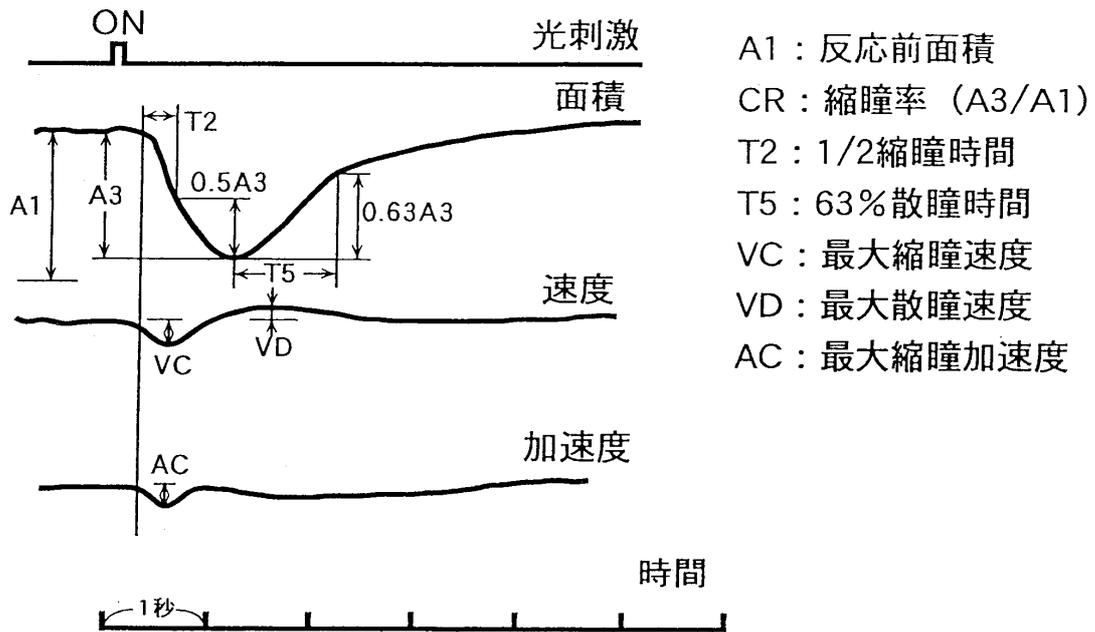


表 C-1 瞳孔値比較 (t検定)

症例	プラセボ						8ppb						40ppb					
	A1	A3	CR	T5	VC	VD	A1	A3	CR	T5	VC	VD	A1	A3	CR	T5	VC	VD
14年度	1																	
	2																	
	3																	
	4																	
	5																	
	6																	
	7																	
	8																	
	9																	
	10																	
	11																	
	12																	
	13																	
	14																	
	15																	
13年度	1																	
	2																	
	3																	
	4																	
	5																	
	6																	
	7																	
	8																	
	9																	
	10																	
	11																	
	12																	
	13																	
	14																	
	15																	
12年度	1																	
	2																	
	3																	
	4																	
	5																	
	6																	
	7																	

p < 0.01  
 p < 0.05  
 増大  
 減少

表 C -2 各症例の瞳孔測定値

# 症例 1

プラセボ	ブース前							ブース後							p
	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD			
8ppb	A1	34.3	35	33.4	32.9	33.90	0.81	A1	33.2	35.8	32	34.4	33.85	1.63	0.95
	A3	18.2	15.7	17.8	13.7	16.35	1.80	A3	16.9	14.4	15.6	14.1	15.25	1.28	0.14
	CR	0.53	0.44	0.53	0.41	0.48	0.05	CR	0.5	0.4	0.48	0.41	0.45	0.05	0.07
	T5	1433.3	1050	1283.3	950	1179.15	190.15	T5	1400	1033.3	1183.3	866.6	1120.80	226.67	0.06
	VC	51.7	44.5	50.3	44	47.63	3.42	VC	48.6	43.3	43.6	47.8	45.83	2.76	0.47
	VD	11.3	14.9	13.6	13.4	13.30	1.29	VD	11.7	15.4	12.2	18.3	14.40	3.07	0.47
	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
40ppb	A1	33.1	34.7	31.8	32.8	33.10	1.04	A1	32.9	34.7	32.6	34.1	33.58	0.99	0.27
	A3	18.3	15.5	17.4	14.8	16.50	1.41	A3	15.9	14.5	17.7	14.7	15.70	1.47	0.27
	CR	0.55	0.44	0.54	0.45	0.50	0.05	CR	0.48	0.41	0.54	0.43	0.47	0.06	0.13
	T5	1433.3	1133.3	1350	1000	1229.15	171.74	T5	1316.6	1083.3	1416.6	966.6	1195.78	206.99	0.44
	VC	51.4	42.6	51.1	45.2	47.58	3.79	VC	48.6	39.9	48.3	41.3	44.53	4.57	0.00
	VD	11.6	15.1	11.6	13.9	13.05	1.51	VD	11.4	12.2	11.3	13.3	12.05	0.93	0.22
	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
40ppb	A1	36.5	39.4	33.8	36.7	36.60	2.29	A1	34.8	38.6	33.1	35.8	35.58	2.30	0.02
	A3	18.5	16.4	17.5	15.2	16.90	1.42	A3	18.5	16.8	17.6	15.1	17.00	1.44	0.42
	CR	0.52	0.41	0.52	0.41	0.47	0.06	CR	0.53	0.43	0.53	0.42	0.48	0.06	0.02
	T5	1383.3	1016.6	1250	950	1149.98	201.85	T5	1433.3	983.3	1300	1000	1179.15	223.34	0.26
	VC	51.5	48.6	53.4	43.3	49.20	4.40	VC	51.4	50.3	46.8	44.8	48.33	3.06	0.68
	VD	11.6	29.9	12.5	15.1	17.28	8.55	VD	12	15.1	14.2	15.4	14.18	1.54	0.49

## 症例 2

プラセボ	ブース前							ブース後							p
	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD			
	A1	25.4	31	24.3	24.5	26.30	3.17	A1	28.8	25.7	26.3	29.8	27.65	1.96	0.60
	A3	13.2	15.5	13.3	12.3	13.58	1.36	A3	14.5	12.8	14.3	15.4	14.25	1.08	0.62
	CR	0.52	0.5	0.54	0.5	0.52	0.02	CR	0.5	0.49	0.54	0.51	0.51	0.02	0.50
	T5	1583.3	1216.6	2300	1550	1662.48	456.13	T5	2766.6	1500	1400	1433.3	1774.98	662.39	0.81
	VC	37.7	49.8	43.6	42	43.28	5.01	VC	43.9	35.8	43	49.4	43.03	5.59	0.96
	VD	11.1	15.3	9.7	11.4	11.88	2.40	VD	11.3	8.8	10.5	13.1	10.93	1.79	0.65
8ppb	ブース前							ブース後							p
	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD			
	A1	27.8	29.5	23.3	29.6	27.55	2.95	A1	25.8	31.7	25.1	29.6	28.05	3.14	0.64
	A3	15.4	15.3	12.6	15.5	14.70	1.40	A3	13.5	15.6	13.8	15.1	14.50	1.01	0.78
	CR	0.55	0.52	0.54	0.52	0.53	0.02	CR	0.52	0.49	0.55	0.5	0.52	0.03	0.16
	T5	2466.6	2866.6	1266.6	2050	2162.45	683.99	T5	2300	933.3	1400	1466.6	1524.98	568.56	0.26
	VC	39	45.1	41.3	46	42.85	3.28	VC	41	61.2	42.5	45.2	47.48	9.31	0.32
	VD	11.1	12.5	9.7	10.7	11.00	1.16	VD	10.7	36.5	10.4	13.9	17.88	12.52	0.32
40ppb	ブース前							ブース後							p
	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD			
	A1	28.3	23.2	25.9	25.9	25.83	2.08	A1	23.7	24	21.1	30.1	24.73	3.81	0.65
	A3	14.7	12.8	14	13.8	13.83	0.78	A3	12.5	14.8	12.2	16.7	14.05	2.11	0.87
	CR	0.52	0.55	0.54	0.53	0.54	0.01	CR	0.52	0.61	0.57	0.55	0.56	0.04	0.12
	T5	2433	1616.6	2250	2016.6	2079.05	352.26	T5	1950	1966.6	1533.3	3983.3	2358.30	1101.72	0.68
	VC	42.3	36.1	43.4	44.6	41.60	3.79	VC	35.5	37.1	39.1	53.5	41.30	8.27	0.94
	VD	10.7	11.7	10.5	12.3	11.30	0.85	VD	8.7	14.6	10.1	13.3	11.68	2.74	0.74

### 症例 3

プラセボ	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
	A1	16.3	20	19.4	16.9	18.15	1.82	A1	17.5	18.2	19.1	21.3	19.03	1.65	0.56
A2	9.3	12.3	7	9.6	9.55	2.17	A2	9.7	9.4	10.3	11	10.10	0.71	0.70	
CR	0.57	0.61	0.52	0.57	0.57	0.04	CR	0.55	0.51	0.53	0.51	0.53	0.02	0.17	
T5	1483.3	1516.6	1133.3	1066.6	1,299.95	232.94	T5	1200	1533.3	1566.6	1266.6	1,391.63	185.33	0.59	
VC	17.4	35.5	24.7	32.2	27.45	8.08	VC	25.7	34.1	29.5	38.2	31.88	5.44	0.12	
VD	6.7	11.4	7.1	8.8	8.50	2.14	VD	7.4	8.4	7.9	10.1	8.45	1.17	0.96	
8ppb	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
A1	15.9	18.2	15.5	16.7	16.58	1.19	A1	19.4	17.5	16.3	17.8	17.75	1.28	0.27	
A2	8.5	10.1	8.1	9.2	8.98	0.88	A2	11.4	9	8.6	9.8	9.70	1.24	0.44	
CR	0.53	0.55	0.52	0.55	0.54	0.01	CR	0.58	0.51	0.52	0.54	0.54	0.03	1.00	
T5	966.6	1033.3	1116.6	1016.6	1,033.28	62.36	T5	1416.6	1166.6	966.6	1283.3	1,208.28	190.76	0.26	
VC	25.2	36.4	32.4	33	31.75	4.71	VC	33.5	23.5	24.7	35.3	29.25	6.01	0.64	
VD	13.7	9.9	6.8	8.4	9.70	2.95	VD	8.1	6.4	9.1	8.4	8.00	1.15	0.41	
40ppb	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
A1	17.7	15.9	17.9	21	18.13	2.12	A1	16	17.4	17.3	20	17.68	1.68	0.56	
A2	8.5	8.4	9.2	10.8	9.23	1.11	A2	8.2	9.5	8.8	11.4	9.48	1.39	0.54	
CR	0.48	0.52	0.51	0.51	0.51	0.02	CR	0.51	0.54	0.51	0.57	0.53	0.03	0.12	
T5	833.3	1133.3	1033.3	933.3	983.30	129.10	T5	1066.6	1133.3	1050	1216.6	1,116.63	75.75	0.17	
VC	25.4	20.3	30.1	35.8	27.90	6.61	VC	27.2	27.5	27.5	36.2	29.60	4.40	0.47	
VD	14.3	7	8.2	11.3	10.20	3.28	VD	8.1	8.1	7.1	9.4	8.18	0.94	0.28	

### 症例 4

プラセボ	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
	A1	39.9	44	40.2	39.5	40.9	2.09	A1	39.5	38.7	39.4	39.6	39.30	0.41	0.29
A2	18.9	22.1	21.2	18.8	20.25	1.66	A2	19.1	17.5	19.4	20	19.00	1.07	0.40	
CR	0.47	0.5	0.52	0.47	0.49	0.02	CR	0.48	0.45	0.49	0.5	0.48	0.02	0.62	
T5	1733.3	2766.6	2016.6	1433.3	1987.45	571.43	T5	1850	1900	1816.6	1633.3	1,799.98	116.28	0.50	
VC	51.2	52.3	58.9	55.2	54.4	3.44	VC	56.4	55.8	58.1	57.8	57.03	1.10	0.13	
VD	14.6	16.2	15.6	15.7	15.525	0.67	VD	16.9	17.7	15.4	15.3	16.33	1.17	0.31	
8ppb	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
A1	37.8	38.8	36.3	36.8	37.43	1.11	A1	39.7	41.7	40.7	40.4	40.63	0.83	0.01	
A2	19.2	19.1	18.9	19.5	19.18	0.25	A2	19.9	21.8	20.5	20	20.55	0.87	0.07	
CR	0.5	0.49	0.52	0.53	0.51	0.02	CR	0.5	0.52	0.5	0.49	0.50	0.01	0.65	
T5	1500	2150	1716.6	1683.3	1762.48	275.34	T5	1750	2066.6	2366.6	1500	1,920.80	376.94	0.46	
VC	57.5	54.1	52.9	59.6	56.03	3.08	VC	58.1	67.4	59.6	59.5	61.15	4.22	0.20	
VD	17.7	18.8	14.3	15.1	16.48	2.12	VD	15.7	16	13.4	16.3	15.35	1.32	0.29	
40ppb	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
A1	36.7	36.3	38.3	39.9	37.80	1.65	A1	37.3	36.9	37.9	39.4	37.88	1.10	0.82	
A2	17.8	18.6	19.5	20	18.98	0.97	A2	18.8	20.2	21.2	21.6	20.45	1.25	0.00	
CR	0.48	0.51	0.51	0.5	0.50	0.01	CR	0.5	0.54	0.56	0.54	0.54	0.03	0.01	
T5	1600	1366.6	1400	1650	1504.15	141.69	T5	1550	1683.3	2166.6	1700	1,774.98	269.57	0.23	
VC	54.6	56.3	60.2	62.5	58.40	3.60	VC	54.6	56.6	57.2	65.3	58.43	4.72	0.98	
VD	13.9	17.9	17.1	12.6	15.38	2.53	VD	16	15.4	14.6	14.6	15.15	0.68	0.87	

### 症例 5

プラセボ	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	SD	平均	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
	A1	34.7	34.6	34.6	33.6	0.52	34.38	A1	34.3	33.3	32.2	33.2	33.25	0.86	0.10
A2	16.3	13.3	15.6	15.2	1.28	15.10	A2	15.5	14.4	15.4	16.3	15.40	0.78	0.57	
CR	0.46	0.38	0.45	0.45	0.04	0.44	CR	0.45	0.43	0.47	0.5	0.46	0.03	0.15	
T5	1116.6	733.3	1216.6	933.3	212.99	999.95	T5	1083.3	883.3	1116.6	1066.6	1037.45	104.85	0.59	
VC	59.6	50.3	55.5	57.8	4.03	55.80	VC	56.6	53.5	55.7	56.9	55.68	1.54	0.93	
VD	16	18.2	16.8	15.6	1.15	16.65	VD	17.4	16.5	15.4	16.9	16.55	0.85	0.91	
8ppb	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	SD	平均	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
A1	34.3	34.3	34.2	34.3	0.05	34.28	A1	33.3	33.7	31.8	31.5	32.58	1.09	0.05	
A2	15.9	14.4	15.3	14.5	0.71	15.03	A2	14.1	15.1	15.5	16	15.18	0.81	0.84	
CR	0.46	0.41	0.44	0.42	0.02	0.43	CR	0.42	0.44	0.48	0.5	0.46	0.04	0.35	
T5	1083.3	883.3	1066.6	1000	90.77	1008.30	T5	1050	1016.6	983.3	1083.3	1033.30	43.04	0.65	
VC	50.9	46.8	51.7	50.6	2.18	50.00	VC	50.1	50.8	54.1	54.7	52.43	2.31	0.12	
VD	16.5	15.9	15.6	15.4	0.48	15.85	VD	16.2	15.4	15.1	14.9	15.40	0.57	0.00	
40ppb	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	SD	平均	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
A1	34.3	33.3	32.2	32.2	1.01	33.00	A1	35.6	33.5	33.7	33	33.95	1.14	0.05	
A2	15.5	14.4	15.4	16.3	0.78	15.40	A2	15.8	15.5	16.3	16.7	16.08	0.53	0.04	
CR	0.45	0.43	0.47	0.5	0.03	0.46	CR	0.44	0.46	0.48	0.5	0.47	0.03	0.44	
T5	1083.3	883.3	1116.6	1066.6	104.85	1037.45	T5	1066.6	1066.6	1083.3	1100	1079.13	15.99	0.46	
VC	56.6	53.5	55.7	56.9	1.54	55.68	VC	53.5	52	55.5	58.1	54.78	2.64	0.40	
VD	17.4	16.5	15.4	16.9	0.85	16.55	VD	17.2	16.5	16.3	15.7	16.43	0.62	0.79	

## 症例 6

プラセボ	ブース前							ブース後							p
	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD			
	A1	25.4	22.6	26	22.3	24.08	1.64	A1	29.2	21	27.3	27.7	26.30	3.63	0.24
	A2	13.9	10.6	14.1	12.5	12.78	1.40	A2	17	10.5	16.6	14.7	14.70	2.97	0.07
	CR	0.54	0.47	0.54	0.56	0.53	0.03	CR	0.58	0.5	0.6	0.53	0.55	0.05	0.29
	T5	116.6	916.6	1816.6	2233.3	1270.78	818.83	T5	1500	1316.6	1800	1500	1529.15	200.20	0.60
	VC	29.5	19.5	29.8	29.8	27.15	4.42	VC	34.7	25.2	29.3	33.9	30.78	4.41	0.08
	VD	12.8	12.7	13.4	11.6	12.63	0.65	VD	12	15.9	11.3	13	13.05	2.02	0.74
8ppb	ブース前							ブース後							p
	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD			
	A1	35.1	26.5	30.8	26.2	29.65	3.63	A1	29.5	31.4	26.2	25.3	28.10	2.85	0.56
	A2	15.4	13.4	14.7	13	14.13	0.97	A2	12.8	15.8	13.8	12.2	13.65	1.58	0.68
	CR	0.43	0.5	0.48	0.49	0.48	0.03	CR	0.43	0.5	0.52	0.48	0.48	0.04	0.55
	T5	1150	2066	1566	866.6	1412.15	452.09	T5	1183	1066.6	2216.6	1516.6	1495.70	517.06	0.84
	VC	35.5	26.3	36.4	28.1	31.58	4.43	VC	39.3	30.9	35	34.7	34.98	3.43	0.14
	VD	16.3	19.5	13.3	13.6	15.68	2.50	VD	17.7	18.8	14.5	16.8	16.95	1.83	0.21
40ppb	ブース前							ブース後							p
	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD			
	A1	26.7	24.7	22.4	23.4	24.3	1.61	A1	24.7	21.2	27.7	25.4	24.75	2.69	0.84
	A2	13.4	13.6	11.7	12.6	12.825	0.75	A2	12.7	9.7	14.9	13.9	12.8	2.25	0.99
	CR	0.5	0.49	0.52	0.53	0.51	0.02	CR	0.51	0.45	0.53	0.54	0.5075	0.04	0.85
	T5	1083.3	1550	983.3	1216.6	1208.3	213.94	T5	1083.3	666.6	1316.6	1650	1179.125	413.31	0.93
	VC	27.3	32.9	34.4	29.6	31.05	2.78	VC	27	33.9	30.3	26.3	29.375	3.48	0.26
	VD	11.4	12.2	12.8	12	12.1	0.50	VD	13.4	15.4	14	12.5	13.83	1.22	0.06

症例 7

プラセボ	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
	A1	34.3	33.2	32.8	32.4	33.18	0.82	A1	35.4	35.7	31.9	34.3	34.33	1.73	0.22
A3	16	14.8	15.9	14.5	15.30	0.76	A3	15.4	15.1	14.6	14.7	14.95	0.37	0.42	
CR	0.46	0.44	0.48	0.44	0.46	0.02	CR	0.43	0.42	0.45	0.43	0.43	0.01	0.02	
T5	1316.6	966.6	1050	916.6	1062.45	178.14	T5	983.3	900	1133.3	883.3	974.98	114.25	0.39	
VC	54.6	50.8	54.7	51.5	52.90	2.04	VC	52.3	57.3	49.8	52.1	52.88	3.16	0.99	
VD	15.4	19.8	14.3	15.1	16.15	2.48	VD	15.1	19.4	20.2	16	17.68	2.50	0.38	
8ppb	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
A1	33.6	34.2	33.5	32.4	33.43	0.75	A1	34.3	33.6	31.1	30.3	32.33	1.93	0.22	
A3	16.1	15.3	16.3	14.8	15.63	0.70	A3	16.4	16.1	15.5	13.6	15.40	1.26	0.66	
CR	0.48	0.44	0.48	0.45	0.46	0.02	CR	0.47	0.47	0.49	0.45	0.47	0.02	0.44	
T5	1066	983.3	1133.3	916.6	1024.80	94.69	T5	1266.6	1166.6	983.3	816.6	1058.28	199.30	0.74	
VC	51.7	56	53.8	50.6	53.03	2.39	VC	52.9	53.1	52.9	49.4	52.08	1.79	0.34	
VD	16.6	18.2	15.7	16	16.63	1.11	VD	14	15.4	15.1	15.3	14.95	0.65	0.07	
40ppb	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
A1	33.4	32.4	32.6	33.5	32.98	0.56	A1	34.6	34	35.8	32.7	34.28	1.29	0.21	
A2	16.3	15.6	15.8	15.7	15.85	0.31	A2	15	15.3	16.2	13.3	14.95	1.21	0.24	
CR	0.48	0.48	0.48	0.46	0.48	0.01	CR	0.43	0.45	0.45	0.4	0.43	0.02	0.01	
T5	1133.3	1033.3	1300	1016.6	1120.80	130.11	T5	1066.6	1033.3	1083.3	800	995.80	132.18	0.11	
VC	54	55.3	50	52.3	52.90	2.29	VC	47.1	51.5	50	47.1	48.93	2.19	0.07	
VD	14.5	14.6	13.6	14.2	14.23	0.45	VD	13.3	15.1	13.4	14.5	14.08	0.87	0.72	

症例 8

プラセボ	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
	A1	20.1	19.9	18.2	19.8	19.50	0.88	A1	21.6	20.1	20.7	22.2	21.15	0.93	0.05
A2	8.9	8.7	8	8.8	8.60	0.41	A2	9.9	8.7	10.1	10.1	9.70	0.67	0.09	
CR	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.00	CR	0.43	0.43	0.48	0.45	0.45	0.02	0.57	
T5	2766.6	3616.6	2833.3	2433.3	2912.45	500.98	T5	2616.6	2516.6	3800	3383.3	3079.13	617.13	0.76	
VC	23.8	24.3	21.7	23.8	23.40	1.16	VC	27.8	24.3	23.5	27.6	25.80	2.22	0.08	
VD	4.7	4.2	4.8	4.5	4.55	0.26	VD	8.4	4.7	4.7	4.1	5.48	1.97	0.40	
8ppb	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
A1	19.2	18	18.7	19.6	18.88	0.69	A1	17.7	18.2	19.2	18.7	18.45	0.65	0.43	
A2	9.7	7.5	8.1	7.9	8.30	0.97	A2	7.7	8.5	9	9.2	8.60	0.67	0.72	
CR	0.5	0.41	0.43	0.4	0.44	0.05	CR	0.43	0.46	0.47	0.49	0.46	0.03	0.48	
T5	2466	2233.3	2283.3	2083.3	2266.48	157.85	T5	1500	2483.3	2450	2550	2245.83	498.95	0.95	
VC	24.1	21.4	19.7	21.8	21.75	1.81	VC	24.1	22.9	24	21.4	23.10	1.26	0.29	
VD	4.8	4.2	4.1	3.9	4.25	0.39	VD	6.1	4.5	4.2	4.1	4.73	0.93	0.19	
40ppb	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
A1	18.9	18.2	19	16.4	18.13	1.20	A1	20.6	20.8	19.4	17.9	19.68	1.34	0.04	
A2	8.5	8.7	8.5	6.5	8.05	1.04	A2	10.1	9.9	8.9	7.9	9.20	1.01	0.02	
CR	0.45	0.47	0.44	0.39	0.44	0.03	CR	0.49	0.47	0.45	0.44	0.46	0.02	0.13	
T5	2750	2183.3	3000	1916.6	2462.48	499.17	T5	3500	2850	2266.6	2750	2841.65	507.47	0.38	
VC	24.6	22.1	24.7	21.8	23.30	1.56	VC	22.4	25	21.8	22.1	22.83	1.47	0.74	
VD	7.3	5.6	3.5	4.4	5.20	1.64	VD	4.1	4.4	4.7	4.7	4.48	0.29	0.51	

症例 9

プラセボ	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
	A1	50	47.5	46.8	47.5	47.95	1.41	A1	52.8	47.3	47	47.3	48.60	2.80	0.43
A2	13.7	14.5	16.5	15.1	14.95	1.18	A2	15.7	18	16.5	17.9	17.03	1.12	0.07	
CR	0.27	0.3	0.35	0.31	0.31	0.03	CR	0.29	0.38	0.35	0.37	0.35	0.04	0.12	
T5	983.3	916.6	1016.6	950	966.63	43.03	T5	816.6	966.6	1183.3	1350	1079.13	235.09	0.41	
VC	43.9	49.5	56.7	51.5	50.40	5.29	VC	56.4	61.2	48.8	54.2	55.15	5.14	0.39	
VD	14.8	16	15.7	13.9	15.10	0.95	VD	21.7	16.5	15.9	15.3	17.35	2.94	0.25	
8ppb	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
A1	51.2	49.4	48	49.2	49.45	1.32	A1	45.9	48.2	45.2	49.6	47.23	2.04	0.16	
A2	18.4	19.8	18.8	16.9	18.48	1.20	A2	14.6	19	12.4	19	16.25	3.30	0.31	
CR	0.36	0.4	0.39	0.34	0.37	0.03	CR	0.31	0.39	0.27	0.38	0.34	0.06	0.38	
T5	1200	1183.3	983.3	916.6	1070.80	142.34	T5	950	1000	966.6	1233.3	1037.48	132.20	0.81	
VC	50	57.2	55.5	48.6	52.83	4.17	VC	38.1	60.1	39.9	48.3	46.60	10.04	0.26	
VD	13.9	14.3	16	16	15.05	1.11	VD	20	16.9	12	14.2	15.78	3.46	0.77	
40ppb	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
A1	48.2	46.7	44.2	45.4	46.13	1.72	A1	51.5	49.2	50.5	45.4	49.15	2.67	0.10	
A2	12.8	15.7	16.1	15.9	15.13	1.56	A2	14.7	17.9	17.4	16.5	16.63	1.41	0.02	
CR	0.26	0.33	0.36	0.35	0.33	0.05	CR	0.28	0.36	0.34	0.36	0.34	0.04	0.42	
T5	766.6	966.6	983.3	1083.3	949.95	132.65	T5	1800	1116.6	1316.6	916.6	1287.45	378.72	0.28	
VC	44.8	46.5	47.4	47.8	46.63	1.33	VC	54.3	52.7	52.6	51.1	52.68	1.31	0.02	
VD	15.7	16.2	14.6	13.9	15.10	1.04	VD	15.6	16.8	14.8	15.7	15.73	0.82	0.23	

症例 10

プラセボ	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
	A1	47.2	47.7	46.9	47	47.20	0.36	A1	46.5	45.5	45	45.6	45.65	0.62	0.02
A3	21.8	20.2	21.2	19.3	20.63	1.10	A3	18	18.8	18.7	18.6	18.53	0.36	0.05	
CR	0.46	0.42	0.45	0.41	0.44	0.02	CR	0.38	0.41	0.41	0.4	0.40	0.01	0.13	
T5	950	783.3	966.6	850	887.48	86.46	T5	783.3	766.6	800	850	799.98	36.03	0.15	
VC	75.4	66.8	78	73.4	73.40	4.79	VC	66.4	63.6	66.4	72	67.10	3.52	0.08	
VD	23.7	25	20.3	20.6	22.40	2.32	VD	22.6	24.3	23.5	20.8	22.80	1.50	0.71	
8ppb	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
A1	46.3	45.9	45.7	46.4	46.08	0.33	A1	49.7	50.1	49	48.1	49.23	0.88	0.01	
A3	19.7	20.2	19.5	19.4	19.70	0.36	A3	18.3	18.7	19.1	19.5	18.90	0.52	0.13	
CR	0.42	0.44	0.42	0.41	0.42	0.01	CR	0.36	0.37	0.38	0.4	0.38	0.02	0.04	
T5	950	933.3	900	916.6	924.98	21.52	T5	700	733.3	800	766.6	749.98	43.03	0.01	
VC	68.5	67.1	68.4	70	68.50	1.19	VC	66.7	61	69.4	70.7	66.95	4.30	0.41	
VD	19.7	20.6	19.7	19.4	19.85	0.52	VD	24	24.9	23.8	22.3	23.75	1.08	0.00	
40ppb	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
A1	43.4	44.5	43.9	44.3	44.03	0.49	A1	47.7	46.8	47	43.7	46.30	1.78	0.12	
A3	1.75	1.74	1.76	18.2	5.86	8.23	A3	19	19.4	21.1	17.9	19.35	1.33	0.06	
CR	0.4	0.39	0.4	0.41	0.40	0.01	CR	0.39	0.41	0.44	0.41	0.41	0.02	0.34	
T5	800	816.6	883.3	900	849.98	49.07	T5	966.6	750	950	766.6	858.30	115.87	0.91	
VC	68.5	68.4	68.1	71.3	69.08	1.49	VC	69	70.7	77.4	70.7	71.95	3.72	0.29	
VD	19.8	19.4	18.5	19.4	19.28	0.55	VD	22.3	23.5	21.8	22.1	22.43	0.75	0.00	

症例 11

プラセボ	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
	A1	46.4	44.9	44	44.6	44.98	1.02	A1	47.3	45.7	46.2	45	46.05	0.97	0.07
A3	24.6	24.8	25.3	25.4	25.03	0.39	A3	26.7	26.8	27.4	26.2	26.78	0.49	0.01	
CR	0.54	0.55	0.57	0.56	0.56	0.01	CR	0.56	0.58	0.59	0.58	0.58	0.01	0.00	
T5	2416.6	2216.6	2633.3	2633.3	2474.95	200.25	T5	2500	2833.3	2633.3	2500	2616.65	157.51	0.45	
VC	64.8	74	72.3	73.4	71.13	4.28	VC	71.4	72.6	15.7	76.9	59.15	29.06	0.48	
VD	18.9	16	16	15.7	16.65	1.51	VD	16.6	16.2	15.7	16.6	16.28	0.43	0.62	
8ppb	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
A1	47.4	43.5	43.7	44.9	44.88	1.79	A1	46.9	47.3	45.8	41.3	45.33	2.76	0.80	
A3	25.8	23.9	25.9	26.4	25.50	1.10	A3	26.7	25.9	26.5	24.5	25.90	0.99	0.66	
CR	0.57	0.55	0.59	0.57	0.57	0.02	CR	0.56	0.54	0.57	0.59	0.57	0.02	0.60	
T5	2133.3	2150	2133.3	2683.3	2274.98	272.33	T5	2616.6	2433.3	2933.3	2800	2695.80	217.90	0.06	
VC	73.1	76.2	74.9	74.6	74.70	1.27	VC	76.5	73.1	72.2	70	72.95	2.70	0.39	
VD	17.9	15.3	17.7	16.2	16.78	1.24	VD	17.9	17.2	16.2	15.4	16.68	1.10	0.90	
40ppb	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
A1	49.5	48.4	44.7	44.1	46.68	2.68	A1	47	40.5	43.6	43.1	43.55	2.67	0.15	
A3	26.6	26.2	25.7	25.6	26.03	0.46	A3	28.6	24	26.4	25.3	26.08	1.95	0.96	
CR	0.53	0.54	0.57	0.58	0.56	0.02	CR	0.6	0.59	0.6	0.58	0.59	0.01	0.09	
T5	1983.3	2483.3	2433.3	2483.3	2345.80	242.81	T5	3800	2383.3	2716.6	2366.6	2816.63	675.11	0.38	
VC	97.3	73.3	72.5	72.3	78.85	12.31	VC	75.5	73.9	76.2	75.4	75.25	0.97	0.60	
VD	17.1	18	15.3	15.3	16.43	1.35	VD	14.5	14.9	14.9	16.6	15.23	0.94	0.32	

症例 12

プラセボ	ブース前							ブース後							p
	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD			
	A1	27.7	24.5	27.3	26.8	26.58	1.43	A1	33	24.7	26.3	25.1	27.28	3.88	0.69
	A3	14.3	11.2	12.9	14.3	13.18	1.47	A3	12.7	11.2	13.4	12.1	12.35	0.93	0.29
	CR	0.51	0.45	0.47	0.53	0.49	0.04	CR	0.38	0.45	0.51	0.48	0.46	0.06	0.41
	T5	3083.3	2066.6	2133.3	3816.6	2774.95	835.38	T5	3500	1616.6	3000	216.6	2083.30	1,477.58	0.54
	VC	38.2	41.6	41.1	43.6	41.13	2.23	VC	39	40.4	37.6	42.3	39.83	2.01	0.24
	VD	7.9	10.6	7.6	7.9	8.50	1.41	VD	10.8	11	9	9.7	10.13	0.94	0.05
8ppb	ブース前							ブース後							p
	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD			
	A1	26.2	28.4	29.1	27.4	27.78	1.26	A1	21.9	19.4	28.1	25	23.60	3.77	0.10
	A3	13.8	13.8	13.6	13.1	13.58	0.33	A3	10.8	8.1	13.5	12.4	11.20	2.35	0.16
	CR	0.52	0.48	0.47	0.59	0.52	0.05	CR	0.49	0.41	0.48	0.49	0.47	0.04	0.14
	T5	2450	1900	1800	2016.6	2041.65	286.26	T5	1266.6	5500	2200	2883.3	2962.48	1,816.83	0.42
	VC	40.5	41.4	46.5	40.5	42.23	2.88	VC	38.8	38.5	41.1	38.5	39.23	1.26	0.04
	VD	8.7	10.2	10.7	8.2	9.45	1.19	VD	8.1	12.8	11	7.6	9.88	2.46	0.61
40ppb	ブース前							ブース後							p
	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD			
	A1	24	29.7	28.7	27.1	27.38	2.49	A1	24.5	20.9	23.9	21.2	22.63	1.84	0.09
	A3	11.1	15.2	12.7	12.3	12.83	1.72	A3	13.7	11.1	9.7	10.6	11.28	1.72	0.37
	CR	0.46	0.51	0.44	0.45	0.47	0.03	CR	0.56	0.53	0.4	0.5	0.50	0.07	0.35
	T5	1216.6	3750	3233.3	2283.3	2620.80	1115.94	T5	3500	3600	1450	3550	3025.00	1,050.79	0.68
	VC	42.3	45.2	43.4	41.1	43.00	1.74	VC	40.8	32.5	33.5	36.8	35.90	3.75	0.07
	VD	11.6	11.3	9.4	7.1	9.85	2.08	VD	9.7	6.1	8.1	7.8	7.93	1.48	0.21

症例 13

プラセボ	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
	A1	55.1	59	56.7	57.3	57.03	1.61	A1	52.3	56.4	52.5	51.9	53.28	2.10	0.01
A3	18.8	20.1	20.6	19.7	19.80	0.76	A3	18.2	21.7	19.3	18.8	19.50	1.53	0.68	
CR	0.34	0.34	0.36	0.34	0.35	0.01	CR	0.34	0.38	0.36	0.36	0.36	0.02	0.22	
T5	1550	1433.3	1333.3	1483.3	1449.98	91.30	T5	1183.3	1500	1250	1416.6	1337.48	146.17	0.30	
VC	53.2	59	56.9	56	56.28	2.40	VC	54.3	59.5	57.9	54.6	56.58	2.54	0.64	
VD	16.2	16.6	17.1	16	16.48	0.49	VD	16	16.6	17.1	15.7	16.35	0.62	0.19	
8ppb	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
A1	56.3	58.9	56.6	56.4	57.05	1.24	A1	53.7	56	53.7	54.7	54.53	1.09	0.00	
A3	17.5	19.7	19.1	19.8	19.03	1.06	A3	17.3	21.9	19.9	18.6	19.43	1.96	0.62	
CR	0.31	0.33	0.33	0.35	0.33	0.02	CR	0.32	0.39	0.37	0.34	0.36	0.03	0.21	
T5	1200	1416.6	1433.3	1316.6	1341.63	107.56	T5	1183.3	1550	1316.6	1183.3	1308.30	172.95	0.62	
VC	50.5	55.2	54.6	57.3	54.40	2.85	VC	50.8	59	55.3	55.5	55.15	3.36	0.56	
VD	18	17.2	15.4	16.2	16.70	1.14	VD	16.2	16.2	16	16.2	16.15	0.10	0.38	
40ppb	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
A1	55.9	57.4	55.9	54.7	55.98	1.11	A1	54.1	55.5	54.4	55.7	54.93	0.79	0.22	
A3	16.8	19.5	19.6	18.8	18.68	1.30	A3	21	18.8	19.5	20.4	19.93	0.97	0.34	
CR	0.3	0.33	0.35	0.34	0.33	0.02	CR	0.38	0.33	0.35	0.36	0.36	0.02	0.28	
T5	1000	1400	1333.3	1166.6	1224.98	179.25	T5	1200	1100	1083.3	1416.6	1199.98	153.33	0.87	
VC	39.1	53.2	55	52.9	50.05	7.36	VC	62.1	57.5	57	58.6	58.80	2.30	0.17	
VD	16.8	16.8	16.8	16.6	16.75	0.10	VD	19.1	18.3	18.9	18.9	18.80	0.35	0.00	

症例 14

プラセボ	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
	A1	32.6	26.4	28.4	29.4	29.20	2.59	A1	31.2	29.9	30.9	29.5	30.38	0.81	0.37
A3	17.3	14.7	16.8	17.8	16.65	1.36	A3	17.4	17	18.3	16.5	17.30	0.76	0.47	
CR	0.52	0.55	0.59	0.6	0.57	0.04	CR	0.55	0.56	0.59	0.56	0.57	0.02	1.00	
T5	1700	1016.6	1333.3	1483.3	1383.30	287.09	T5	1500	1300	1533.3	1150	1370.83	179.69	0.94	
VC	54.6	49.4	56	59.3	54.83	4.12	VC	54.9	56.9	62.5	55.8	57.53	3.42	0.38	
VD	22.4	12	12.2	12.2	14.70	5.13	VD	12.3	11.9	14.5	12.3	12.75	1.18	0.53	
8ppb	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
A1	31.7	33	31.6	31.6	31.98	0.68	A1	30.5	38.1	32.4	29	32.50	3.98	0.77	
A3	17.6	18.5	18.4	18.1	18.15	0.40	A3	15	16.6	17.3	16.7	16.40	0.98	0.01	
CR	0.55	0.56	0.58	0.57	0.57	0.01	CR	0.49	0.43	0.53	0.57	0.51	0.06	0.11	
T5	1516.6	1316.6	1500	1333.3	1416.63	106.29	T5	1300	3500	2350	1333.3	2120.83	1,040.61	0.29	
VC	53.5	54.9	56.1	56.9	55.35	1.48	VC	53.2	52.3	63.9	55.7	56.28	5.28	0.72	
VD	20.2	14	12.5	12.3	14.75	3.71	VD	27.3	22.1	15.4	12	19.20	6.84	0.11	
40ppb	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
A1	30.4	29.9	29.1	29.4	29.70	0.57	A1	31.2	32.1	30.3	30.5	31.03	0.81	0.02	
A3	17.4	16.8	16.3	16.8	16.83	0.45	A3	17.9	16.6	17.2	17.4	17.28	0.54	0.15	
CR	0.57	0.56	0.56	0.57	0.57	0.01	CR	0.57	0.51	0.56	0.57	0.55	0.03	0.39	
T5	1333.3	1266.6	1200	1316.6	1279.13	59.88	T5	1350	1283.3	1316.6	1566.6	1379.13	127.92	0.17	
VC	55.7	55.5	53.7	54	54.73	1.02	VC	61.2	55.7	58.7	60.7	59.08	2.50	0.06	
VD	13.7	13	18.3	12.7	14.43	2.62	VD	12	14	12.3	13.3	12.90	0.92	0.41	

症例 15

プラセボ	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
	A1	18.4	19.3	19.8	20.1	19.40	0.74	A1	23.5	22.3	21.4	20.6	21.95	1.24	0.08
A3	11.9	12	6.8	0.75	7.86	5.33	A3	14.6	14.7	13.2	13	13.88	0.90	0.08	
CR	0.64	0.61	0.58	0.61	0.61	0.02	CR	0.63	0.55	0.61	0.62	0.60	0.04	0.72	
T5	2200	3750	1833.3	1950	2433.33	891.01	T5	3983.3	1866.6	2266.6	3500	2904.13	1,000.43	0.61	
VC	44.6	44	32.1	34.2	38.73	6.50	VC	47.5	44.7	41.3	47.5	45.25	2.95	0.11	
VD	6.4	8.8	8.2	6.8	7.55	1.14	VD	10.4	12.3	8.4	6.5	9.40	2.50	0.19	
8ppb	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
A1	21.1	24.5	21.7	16.9	21.05	3.14	A1	20.4	24	20.7	18.9	21.00	2.15	0.95	
A3	12.8	14.6	14.3	11.2	13.23	1.56	A3	12.9	13.8	12.8	12.3	12.95	0.62	0.66	
CR	0.6	0.59	0.65	0.66	0.63	0.04	CR	0.63	0.57	0.61	0.65	0.62	0.03	0.55	
T5	1666.6	1733.3	2150	1950	1874.98	219.67	T5	1666.6	1416.6	1633.3	2050	1691.63	263.38	0.29	
VC	47.1	49.7	47.2	42.6	46.65	2.96	VC	45.4	45.2	47.7	40.7	44.75	2.93	0.16	
VD	8.8	16.9	8.8	6.7	10.30	4.51	VD	11.1	14.3	8.2	8.5	10.53	2.83	0.86	
40ppb	ブース前	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	ブース後	1回目	2回目	3回目	4回目	平均	SD	p
A1	18.5	15.7	15.8	16.7	16.68	1.30	A1	22.6	24.9	19.4	16.9	20.95	3.52	0.10	
A3	12	9.9	10.2	10.8	10.73	0.93	A3	14.6	12	12.6	10.5	12.43	1.70	0.09	
CR	0.65	0.63	0.64	0.64	0.64	0.01	CR	0.64	0.48	0.64	0.62	0.60	0.08	0.29	
T5	2383.3	1850	1633.3	1916.6	1945.80	315.75	T5	3000	2166.6	3716.6	3166.6	3012.45	641.67	0.07	
VC	42.5	31.6	39.4	43.6	39.28	5.42	VC	51.4	44	46.8	46.9	47.28	3.06	0.02	
VD	7.6	9.9	7.1	7.9	8.13	1.23	VD	11.3	17.8	8.4	16.6	13.53	4.43	0.05	

## D . 脳酸素飽和度 (NIRO) 検査

前頭部の血流を示す酸化ヘモグロビンを、近赤外線レーザー酸素濃度計 (Near Infrared Oxygen Monitor; NIRO と略, NIRO Monitor DU 浜松ホトニクス社) で測定した。NIRO の詳細は前年度の報告書を参照されたい。サンプリングタイムは 0.5sec とした。ECU に入室して 30 分間の安静を保ったのち、ガス負荷室に入室し、最初 5 分間の予備記録、続いてガス負荷を 10 分間行うが、5 分間目に記録にマーキングして、被爆期間を前半と後半に分けた。この間被験者が臭いを感知しないように、徐々にガス濃度を上げ、8 分前後で設定濃度に到達する。ガス負荷中止後さらに 5 分間在室して、状態を記録、そして出室となる。今回は脳血流の意味を示す酸化ヘモグロビン濃度の基線の動きとゆらぎ(\*)を解析対象とした。

基線の動きは前年度では差が認めにくかったが、今年度も同様の調査対象とした。基線の判定は内容を知らせることなく、次のフーリエ解析の専門家に判定を依頼した。

また、揺らぎの検索は前回と同様に、迅速フーリエ解析を行った。すなわち、5 分間の負荷前、5 分間の負荷前半、5 分間の負荷後半、5 分間の負荷終了後のおのおの記録の揺らぎについて周波数解析を行い、パワー(\*\*)を求め比較した。判定はブラインドで専門家に依頼し、負荷による血流のゆらぎに変動ありと判定する基準として以下の項目によった。

- ・パワーが全域にわたり変動が認められた場合
- ・変動が部分的であってもガス負荷に応じて変動が増強または一定の傾向が認められた場合
- ・全周波数域にわたり、パワーの分布に大きな変動が認められた場合

\* ゆらぎ：脳血流も体の血流と同様に、揺らぎながら流れて恒常性を維持している。今回サンプリングタイム 0.5 秒としたのは、心拍による影響を除外した脳自体の揺らぎを検出するための設定である。これまでの自検例や、他の発表でも、安定していた基線がガス負荷後に大きな揺らぎが検出されており、この波形のゆらぎを数値化するために、フーリエ解析を行った。(参考文献：吉野博、他：室内空気中の化学物質汚染に関する研究。平成 13 年度厚生科学研究費補助金：生活安全総合研究事業 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報告書)

\*\* パワーとは周波数解析を行った際に、各周波数ごとに山が作成される。この山の高さを意味し、その周波数の強さ、すなわち電磁波であれば振幅の意味と類似したものと考えることが出来る。

### ( 1 ) 基線の動き

各患者の負荷前後の実際の波形を図 D-1 に提示した。基線の動きの結果のまとめを表 D-1 に、またその結果の判定を表 D-2 に示し。表 D-1、表 D-2 には平成 13 年度の結果も合わせて記載した。負荷前に比べて、負荷後に変動を示した例を変動ありとし

て、網掛けで示した。表 D-1 のうちで比較が不能であった症例（13 年度症例 7 および 14）を除いてまとめると次の表のようになる。

#### 基線の変動（30 症例）

	プラセボ	8ppb	40ppb
	18	13	16（名）
	9	13	10
	1	2	2

この結果からは基線がプラセボでやや変動を示さない傾向があるとしても、これをもって多種類化学物質過敏状態の診断確定の一助とすることは難しいかもしれない。しかし、SPECT で脳血流に hot and cold foci と呼ばれる状態が証明されている。また大脳皮質は機能低下を示していることもポジトロン CT で示されている。酸化ヘモグロビン量の減少や増加を簡便に証明することは、非常に魅力のある主題であり、今後も機器の改良と分析方法の改良を進めて、脳血流の解析が診断の助けとなる様に努力したい。

#### （2）ゆらぎのフーリエ解析

結果判定のまとめと（表 D-2）、各患者毎のフーリエ解析の各図をまとめて示した。パワー表示である。自動解析のために、縦軸が一定間隔ではないために見づらい点多いと思われる。

解析の結果は、パワーが周波数全域にわたり分布しており、特定の周波数域のみのパワーの集中は認められなかった。すなわち、心拍の影響などを投影したものではなく、各種の波形の混合であり、特定の機能を意味しているわけではなかった。

これらの結果の判定は、特定の周波数帯に関しての解析でないために确实性に難点があるが、表 D-2 は専門家にブラインドで判定してもらった 14 年度の結果と平成 13 年度の結果とあわせて記載してある。症例 7 と 14 は基線の動揺が激しいなどの問題があったが、フーリエ解析は可能であったために、データ - を採用した。結果を簡略化して以下の表にまとめた。

#### フーリエ解析のまとめ（30 症例）

	プラセボ	8ppb	40ppb
変動なし	24	21	19（名）
変動あり	6	9	11

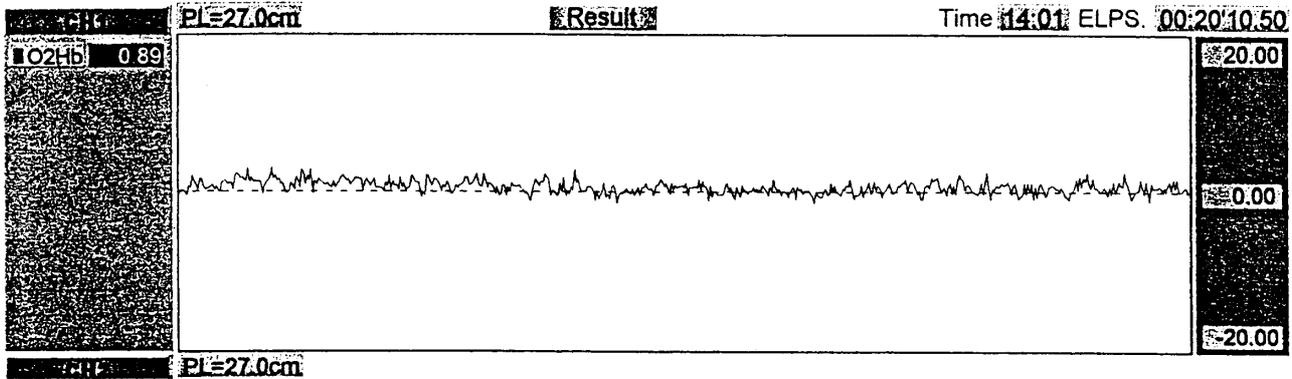
NIRO 検査で、一応はプラセボよりホルムアルデヒドガス負荷による変動を示す患者が多い結果ではあるが、判定はなお専門家の判定に委ねた結果であり、この程度の差で

は、差ありとは言いがたい。判定の客観性を高めるための測定結果の数値化が今後必要であろう。

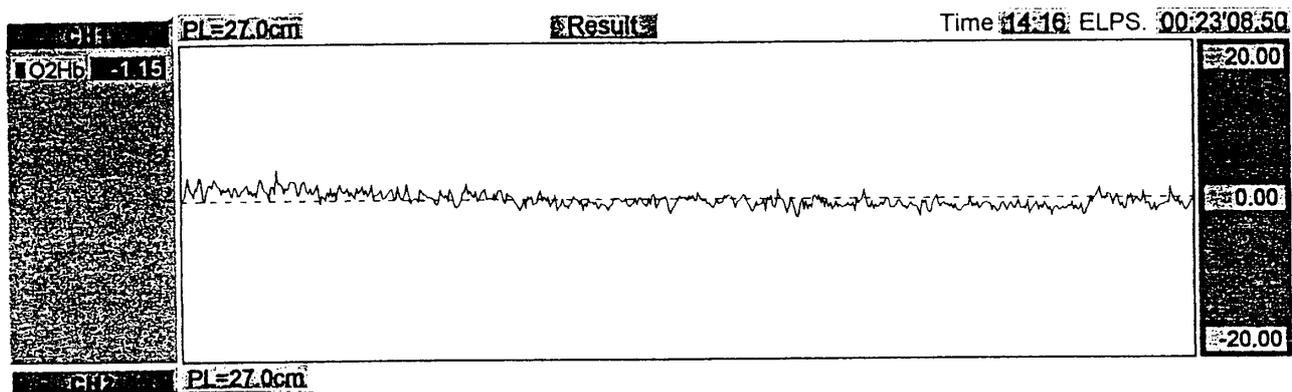
☒ D-1 NIRO の☒

# 症例 1

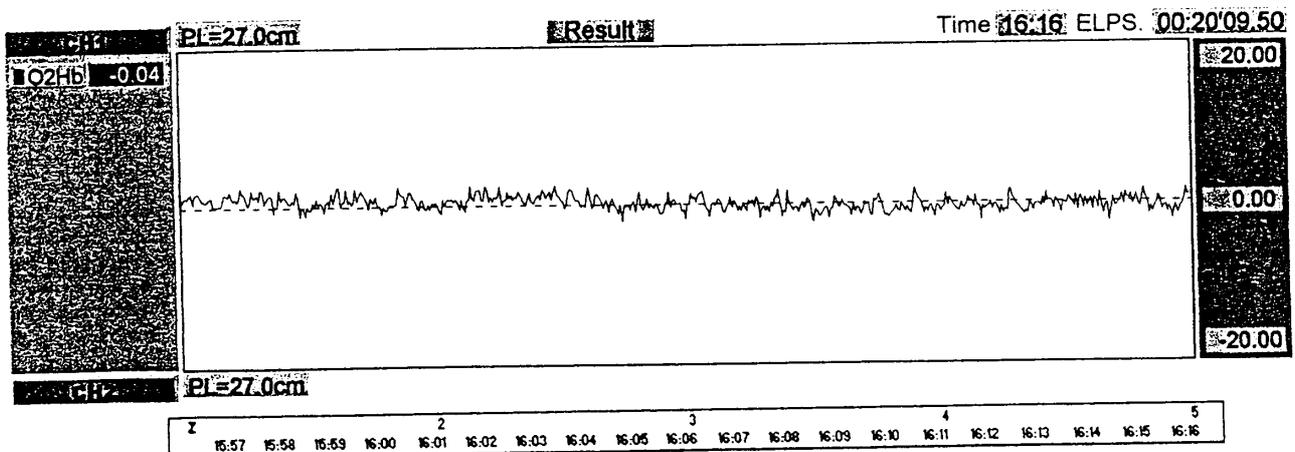
プラセボ



8ppb

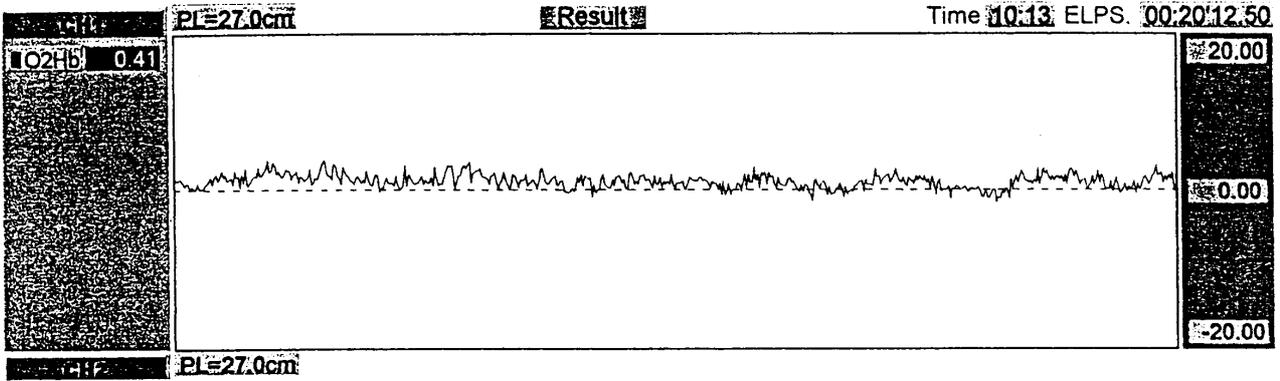


40ppb

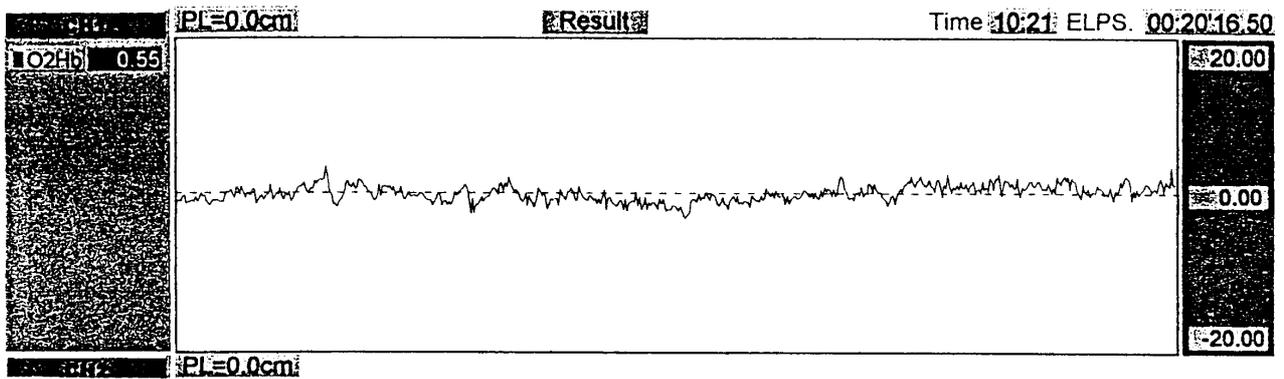


# 症例 2

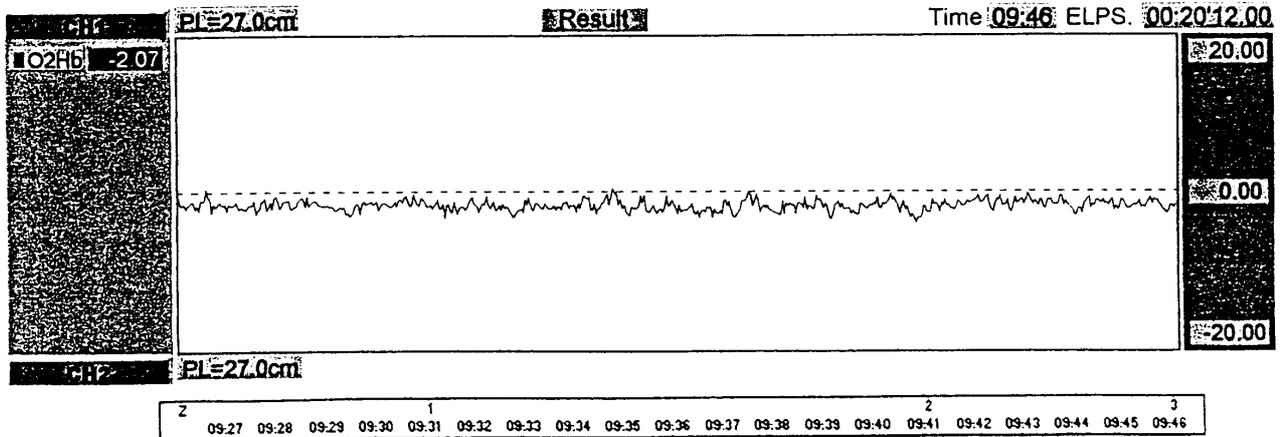
プラセボ



8ppb

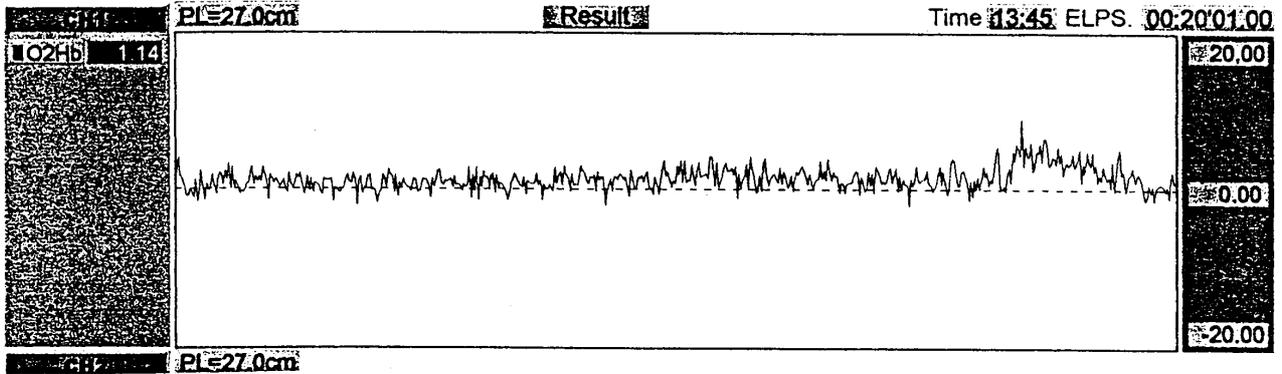


40ppb

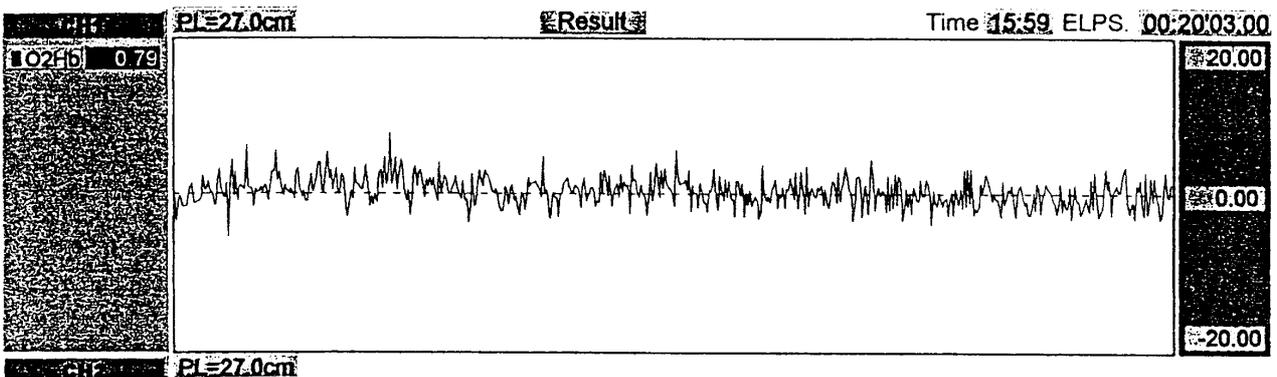


# 症例 3

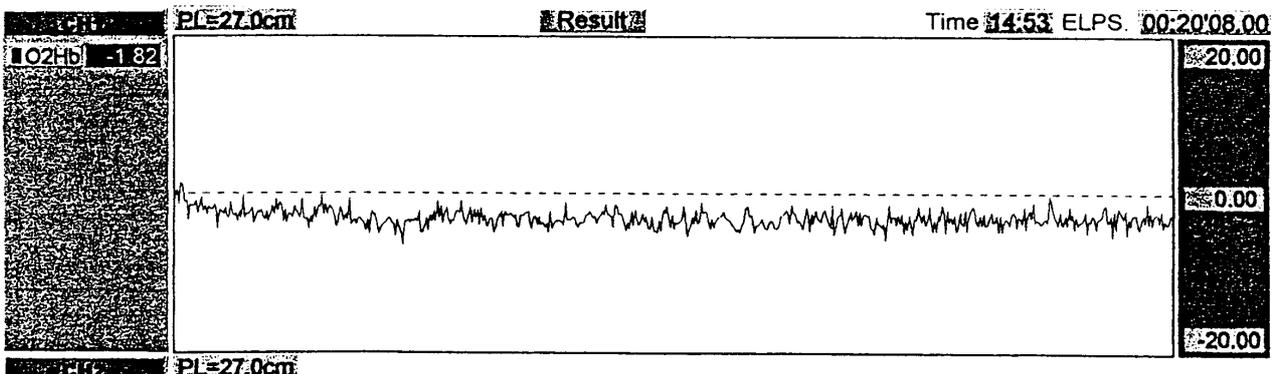
プラセボ



8ppb



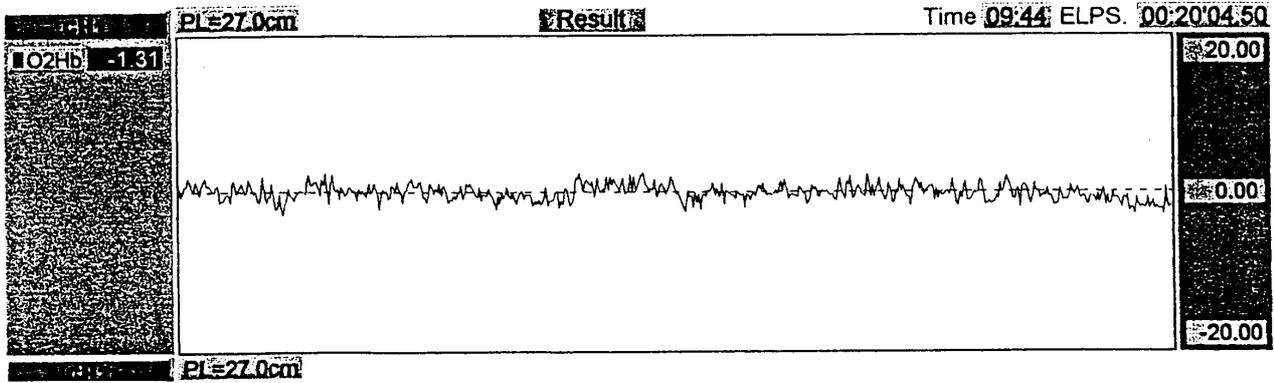
40ppb



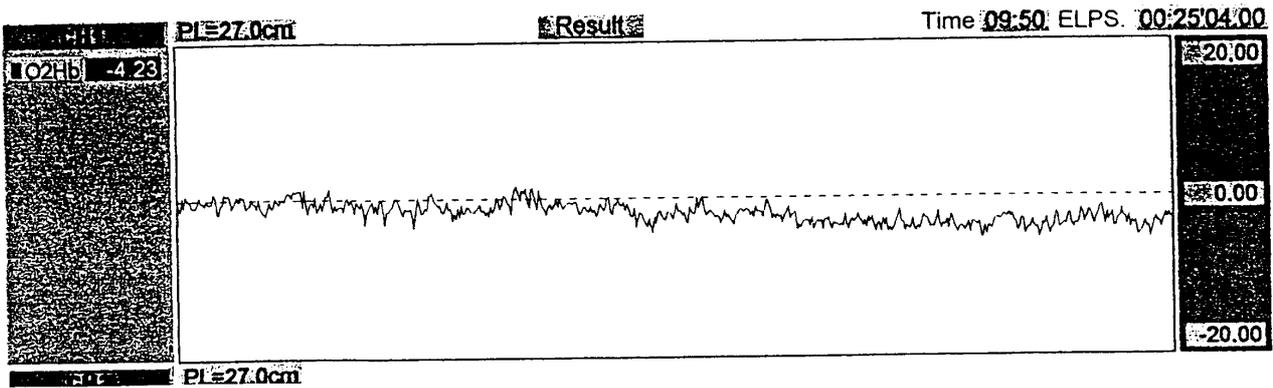
2	1	2	3	4
M:34	M:35	M:36	M:37	M:38
M:39	M:40	M:41	M:42	M:43
M:44	M:45	M:46	M:47	M:48
M:49	M:50	M:51	M:52	M:53

# 症例 4

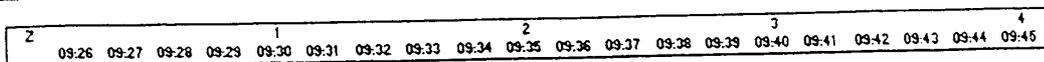
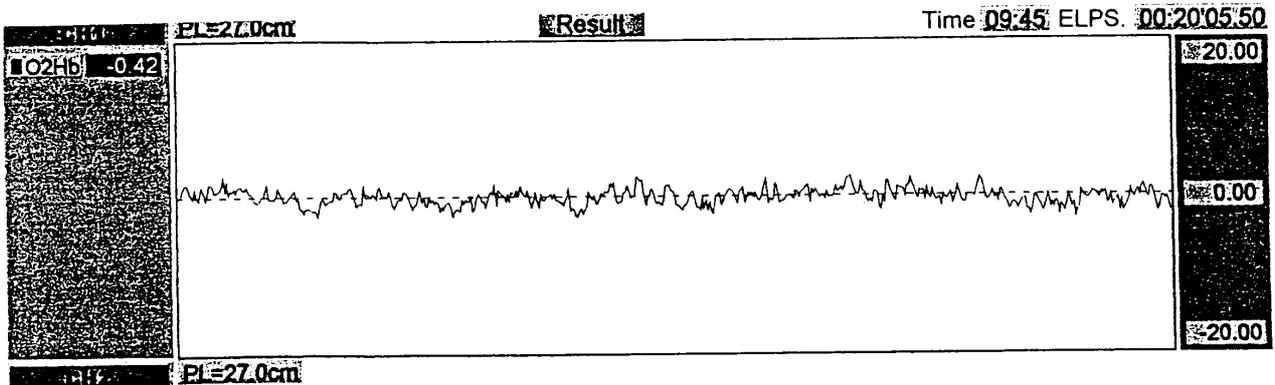
プラセボ



8ppb

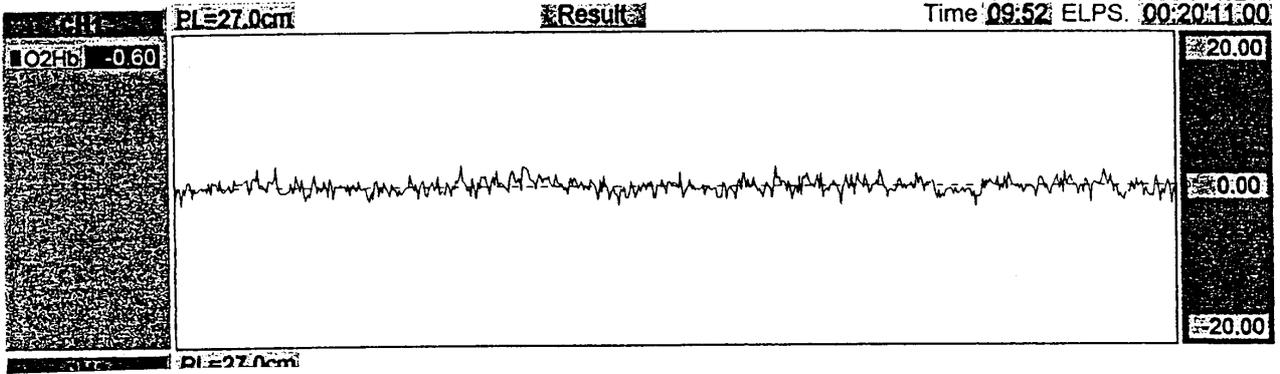


40ppb

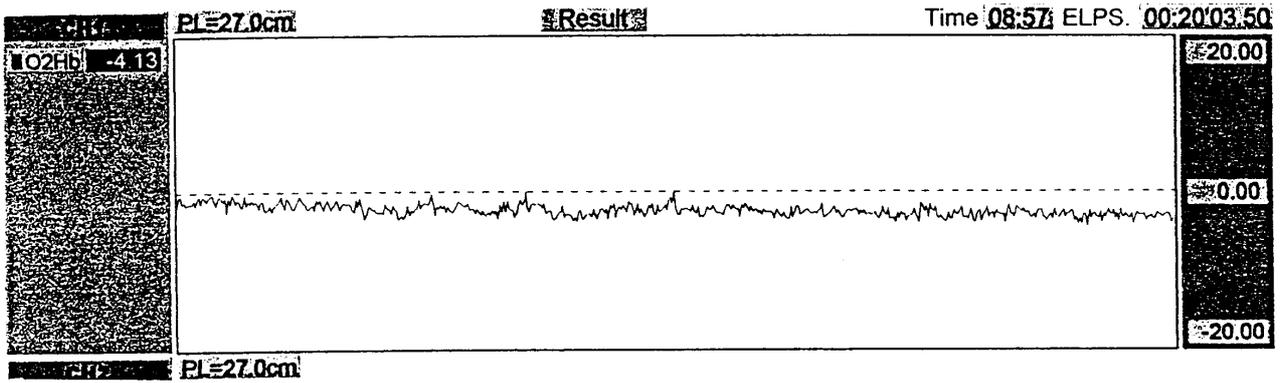


# 症例 5

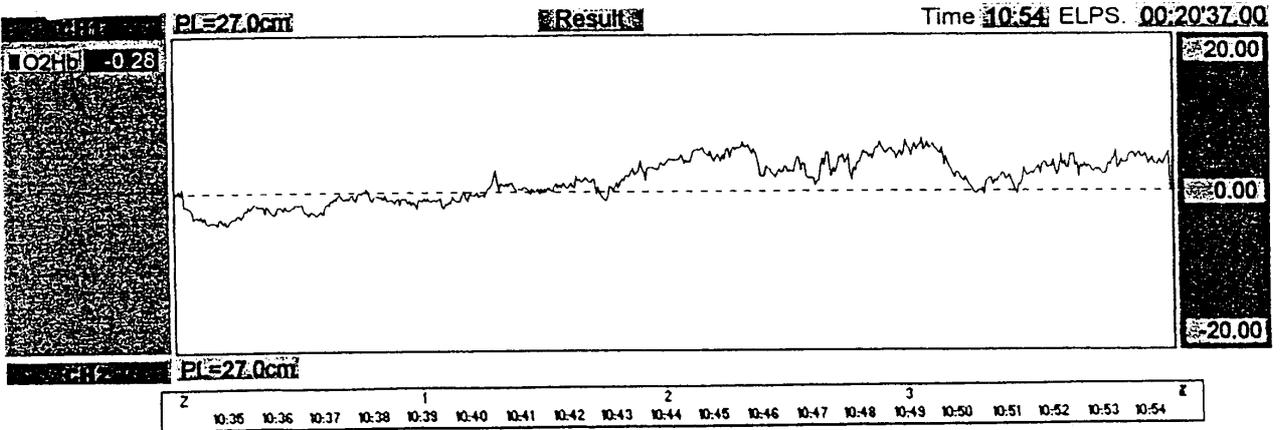
プラセボ



8ppb

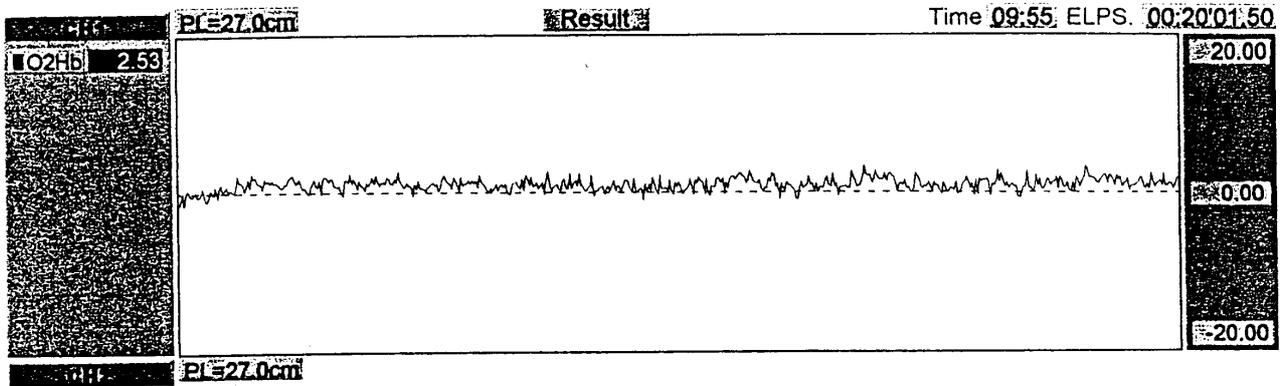


40ppb

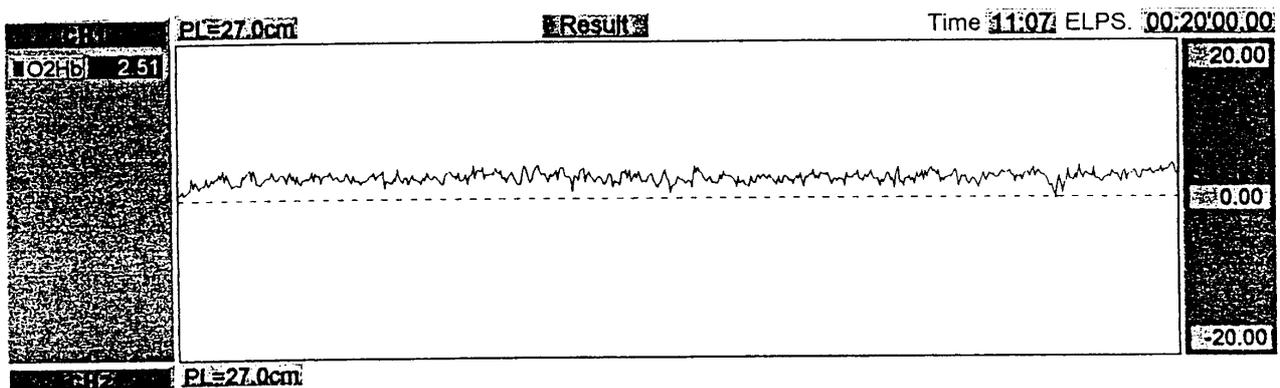


# 症例 6

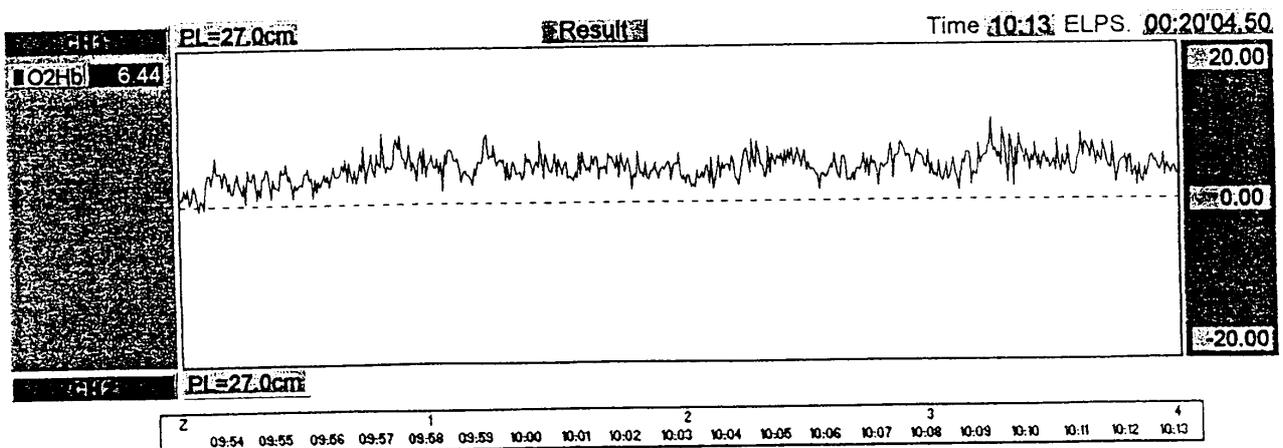
## プラセボ



## 8ppb

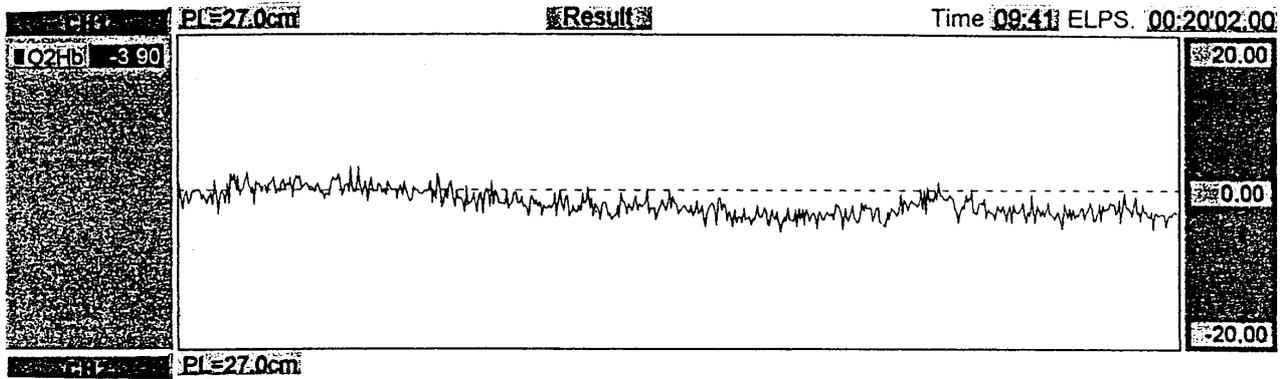


## 40ppb

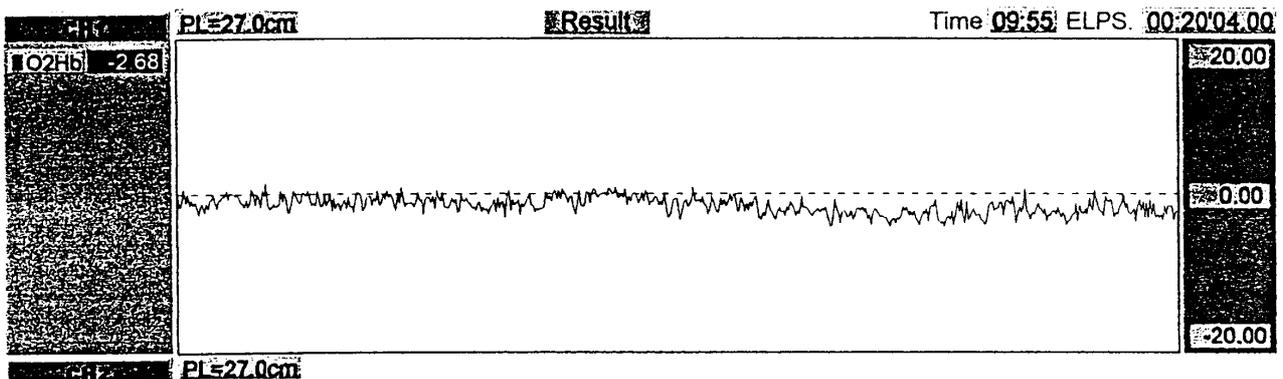


# 症例 7

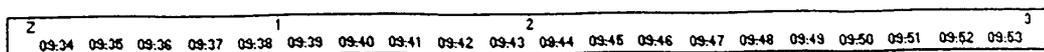
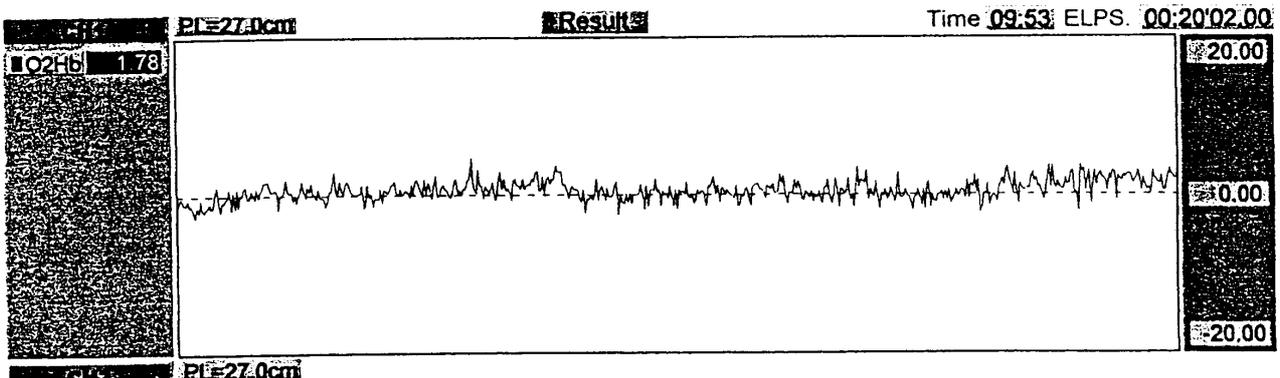
プラセボ



8ppb

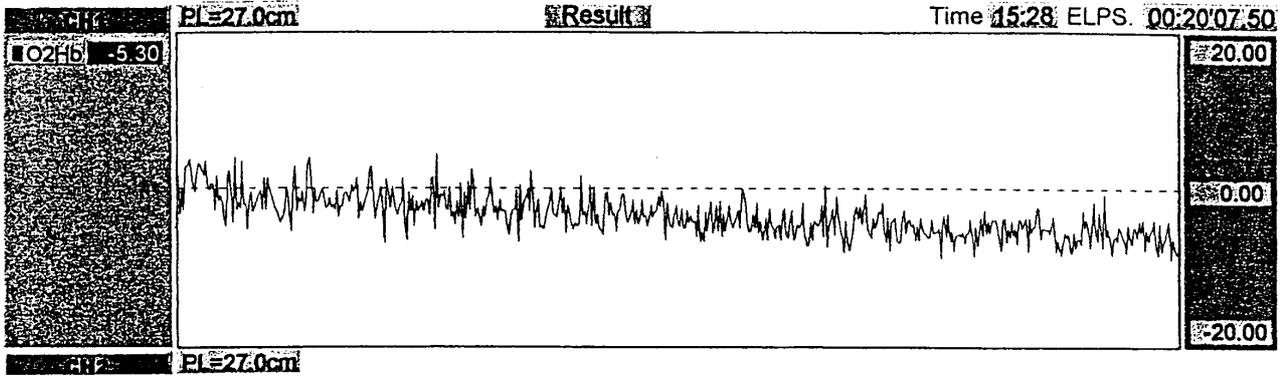


40ppb

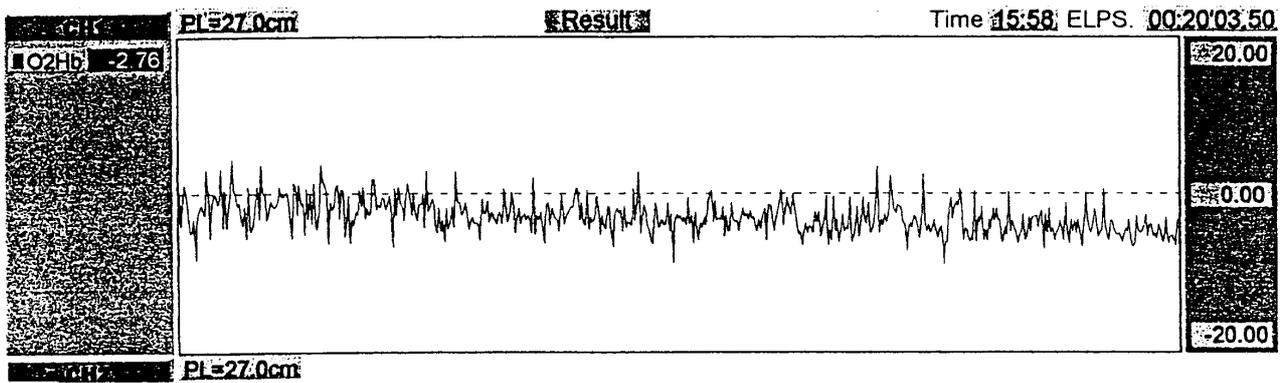


# 症例 8

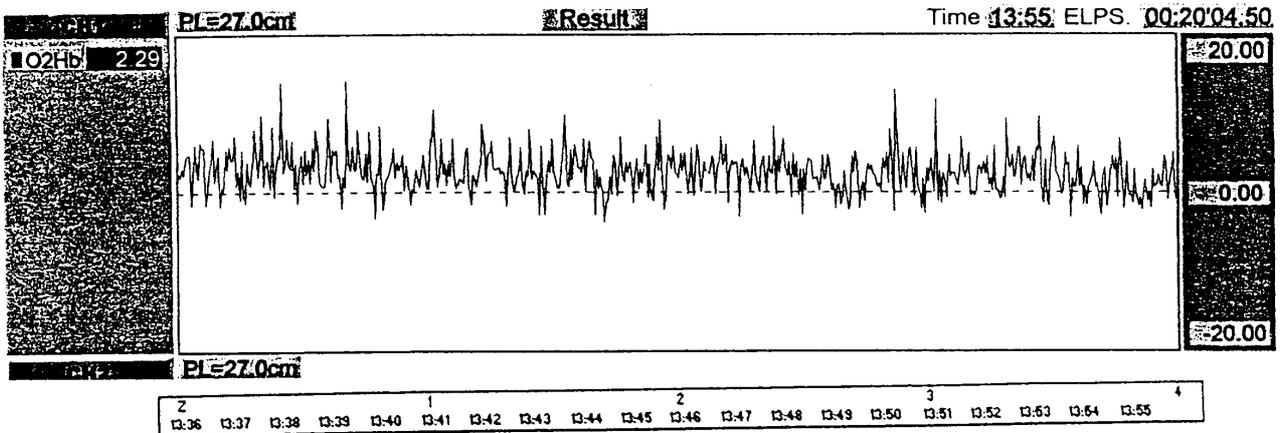
プラセボ



8ppb

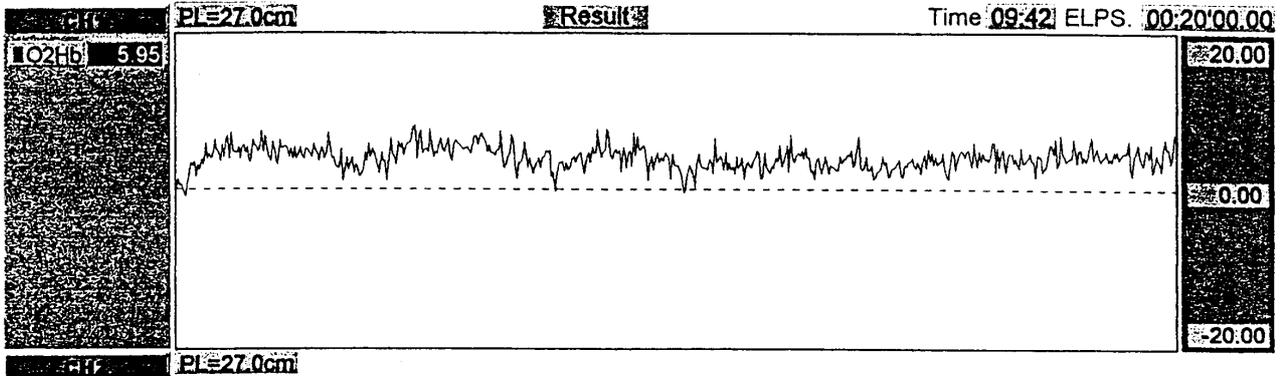


40ppb

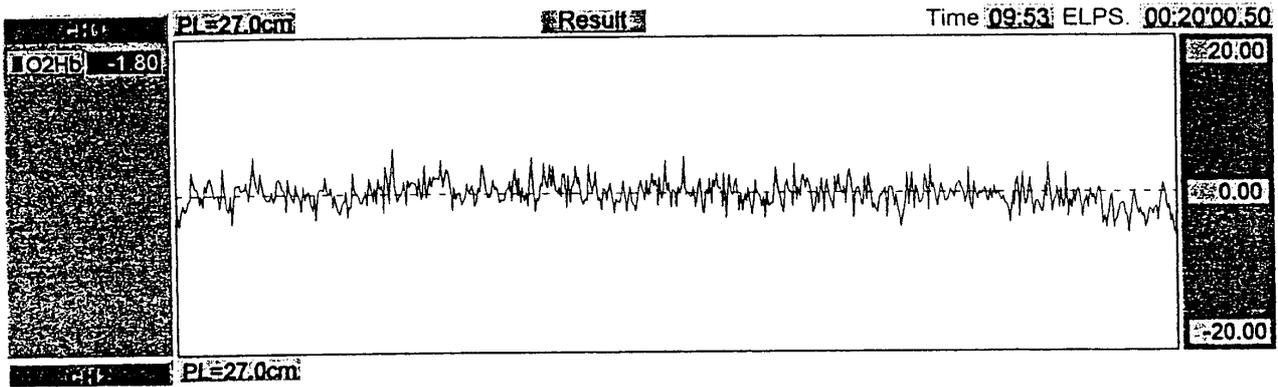


# 症例 9

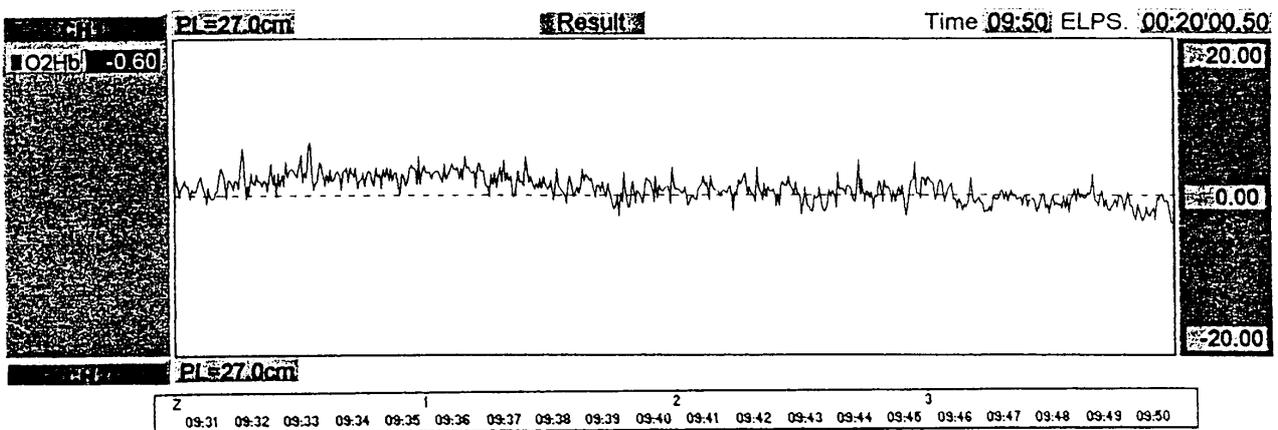
プラセボ



8ppb

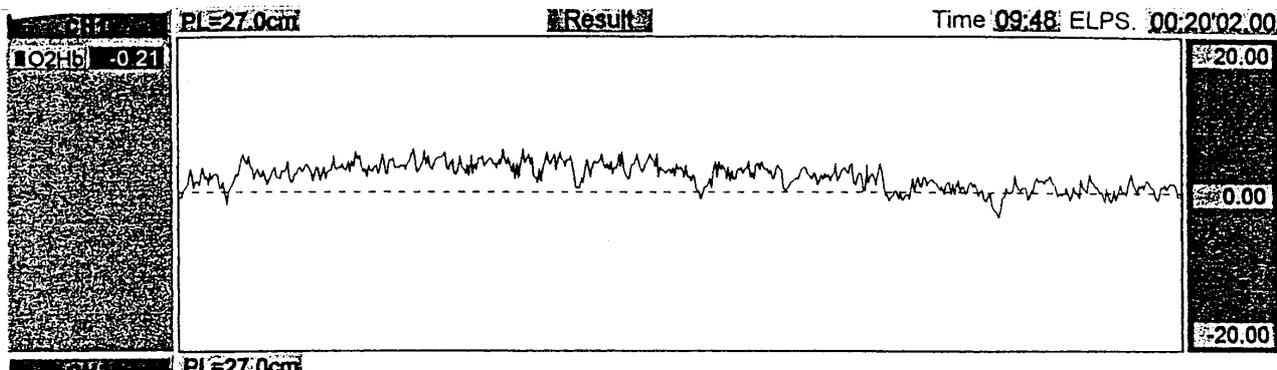


40ppb

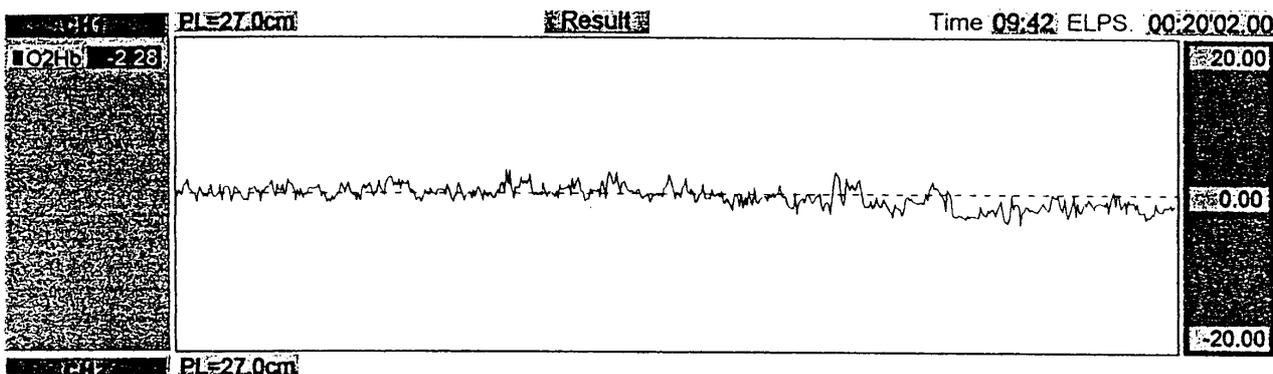


# 症例 10

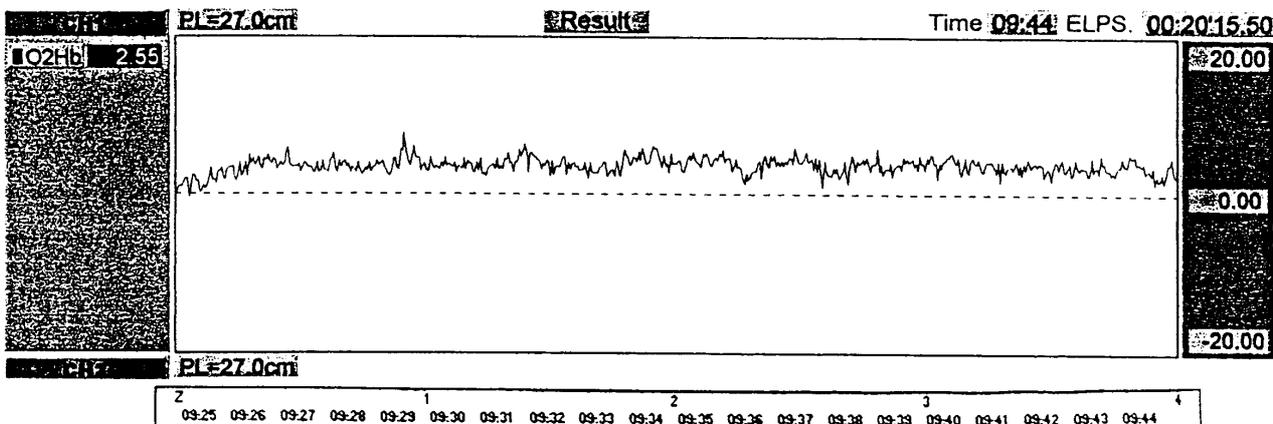
プラセボ



8ppb

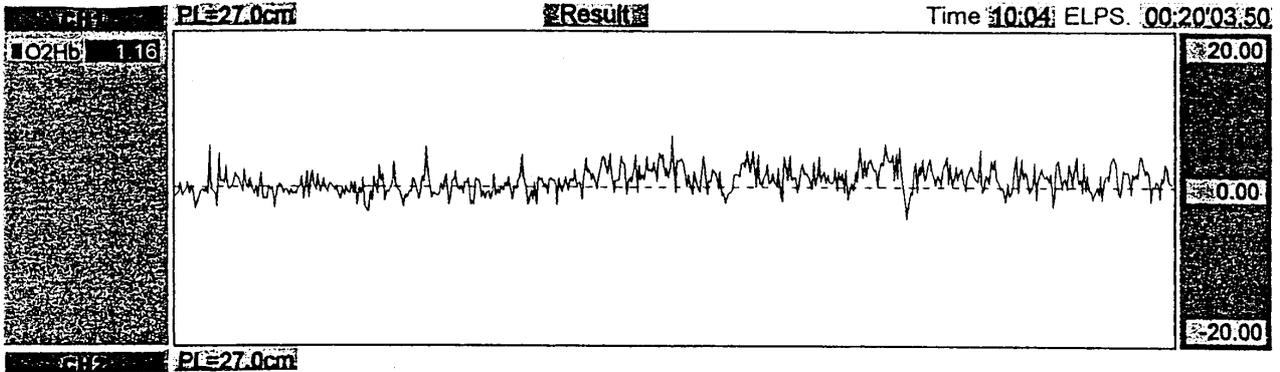


40ppb

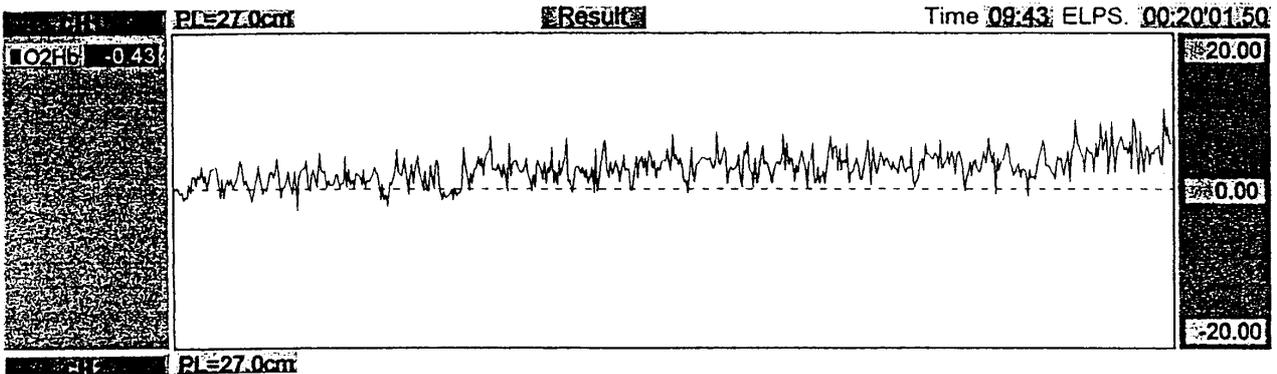


# 症例 11

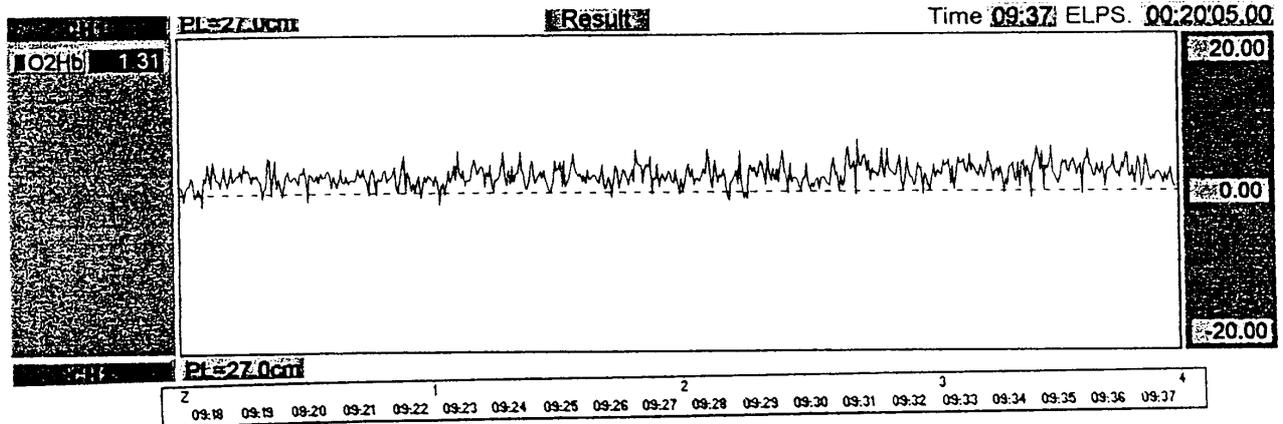
プラセボ



8ppb

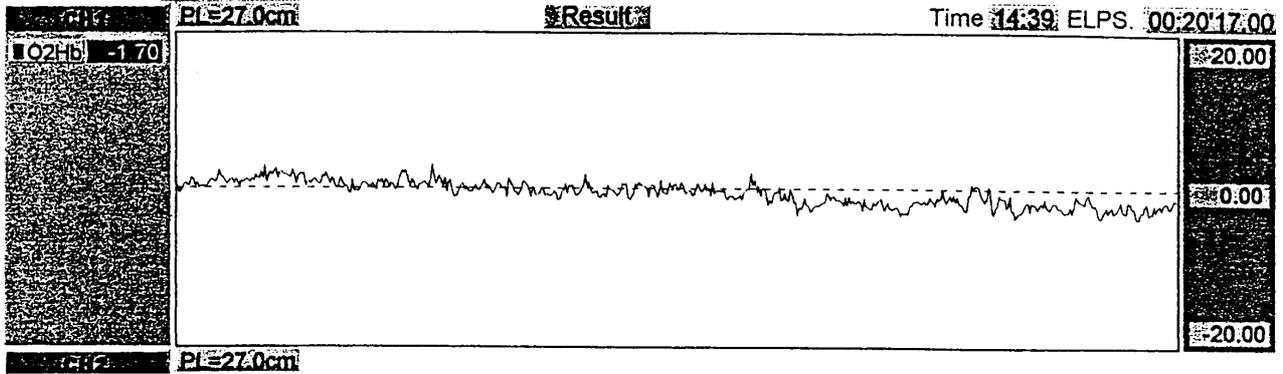


40ppb

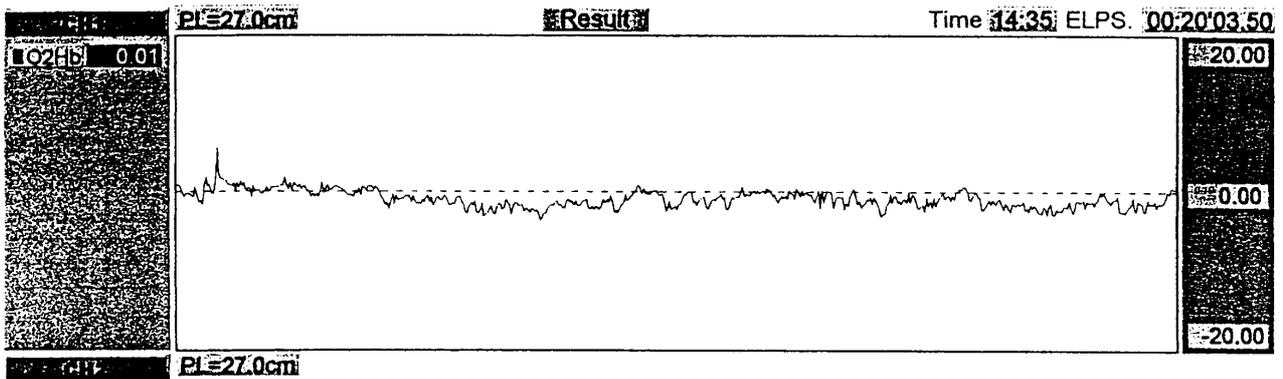


# 症例 12

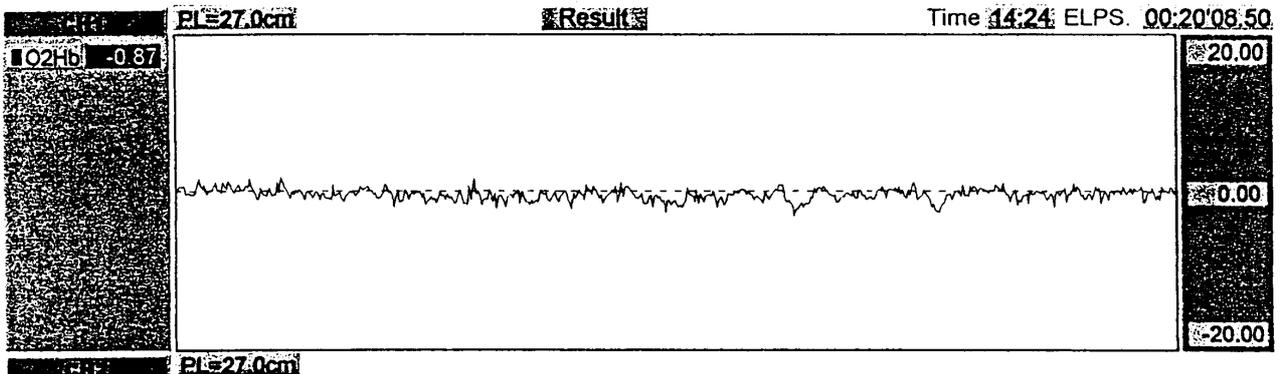
プラセボ



8ppb



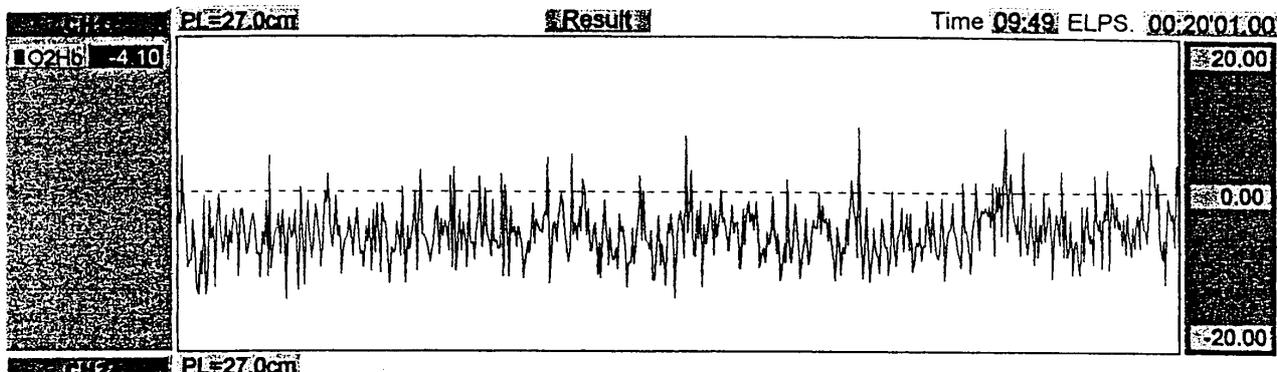
40ppb



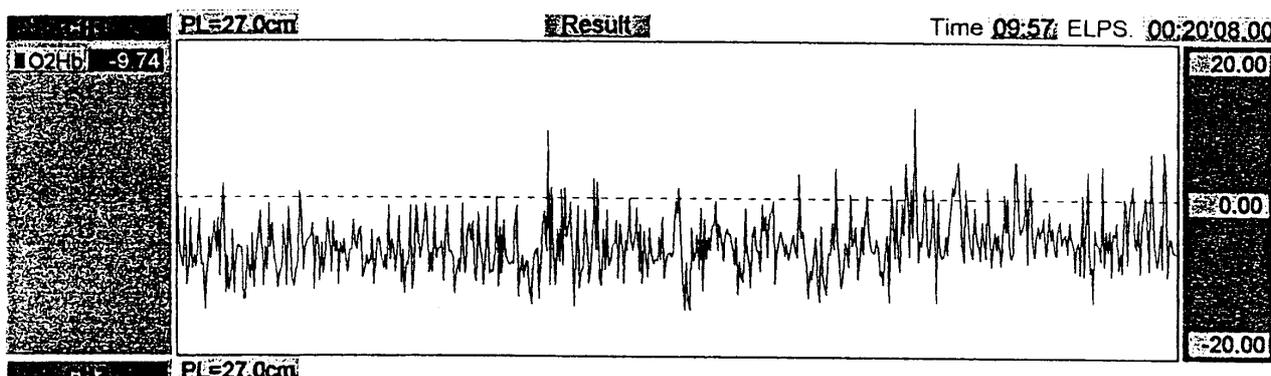
2	1	2	3	4															
14:05	14:06	14:07	14:08	14:09	14:10	14:11	14:12	14:13	14:14	14:15	14:16	14:17	14:18	14:19	14:20	14:21	14:22	14:23	14:24

# 症例 13

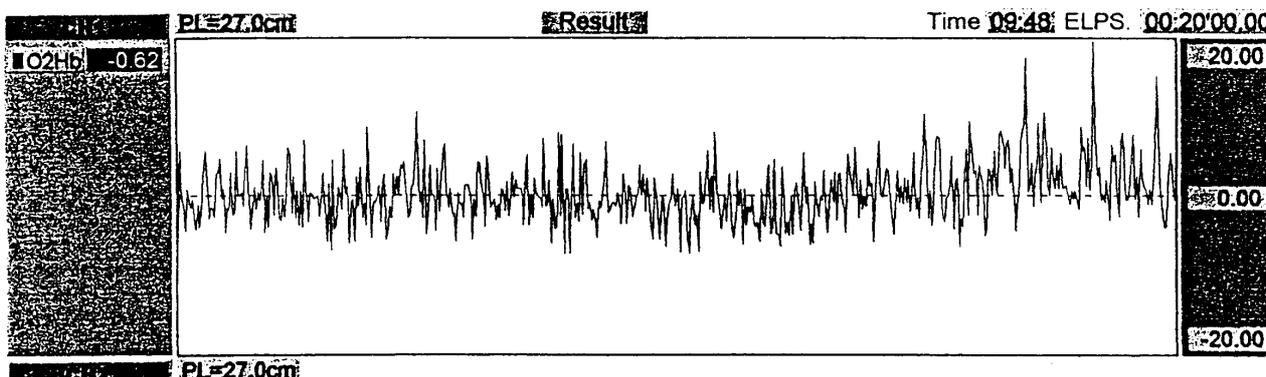
プラセボ



8ppb



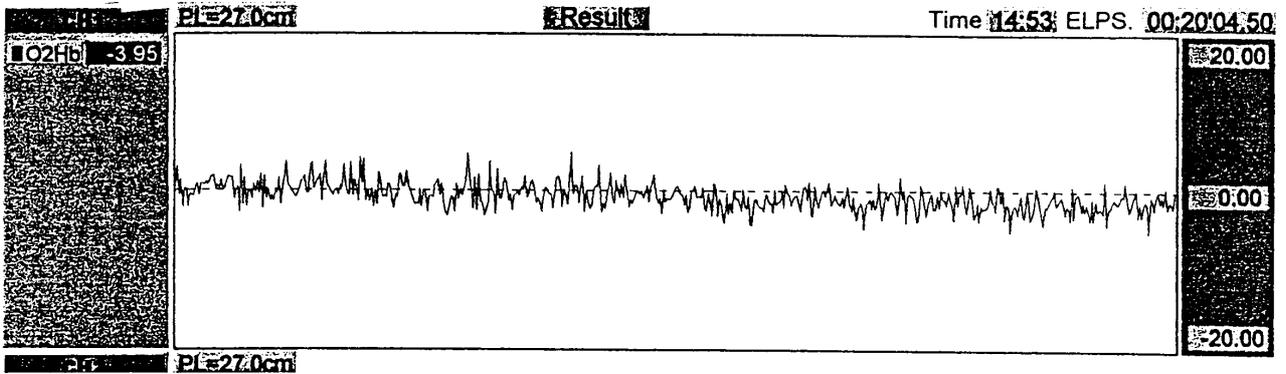
40ppb



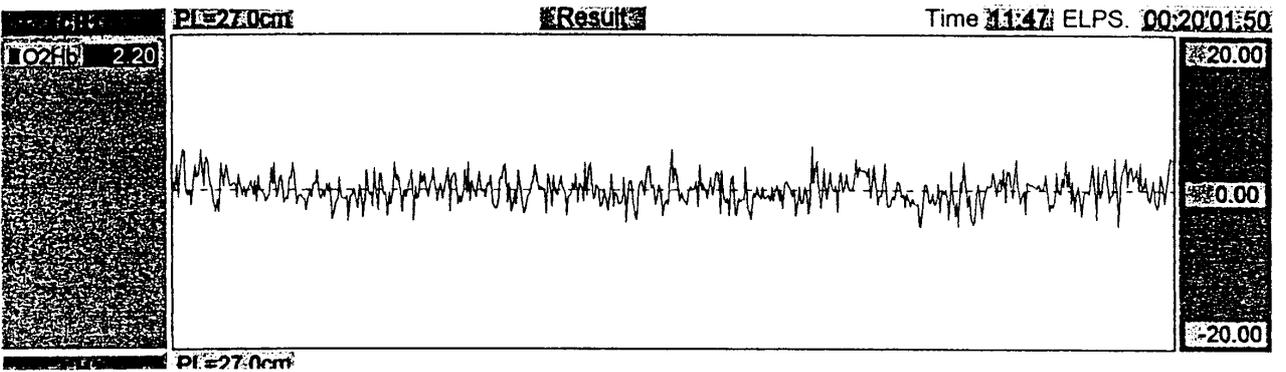
2	1	2	3																
09:29	09:30	09:31	09:32	09:33	09:34	09:35	09:36	09:37	09:38	09:39	09:40	09:41	09:42	09:43	09:44	09:45	09:46	09:47	09:48

# 症例 14

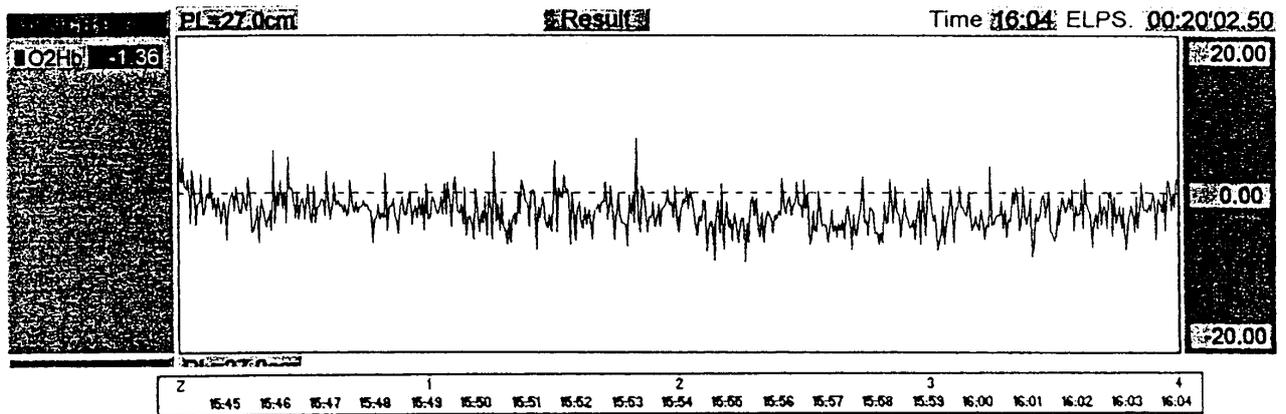
プラセボ



8ppb

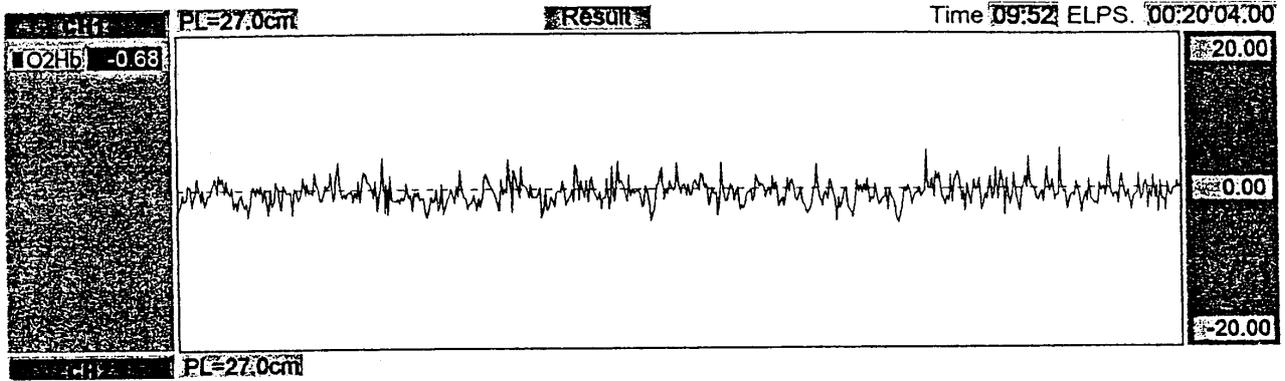


40ppb

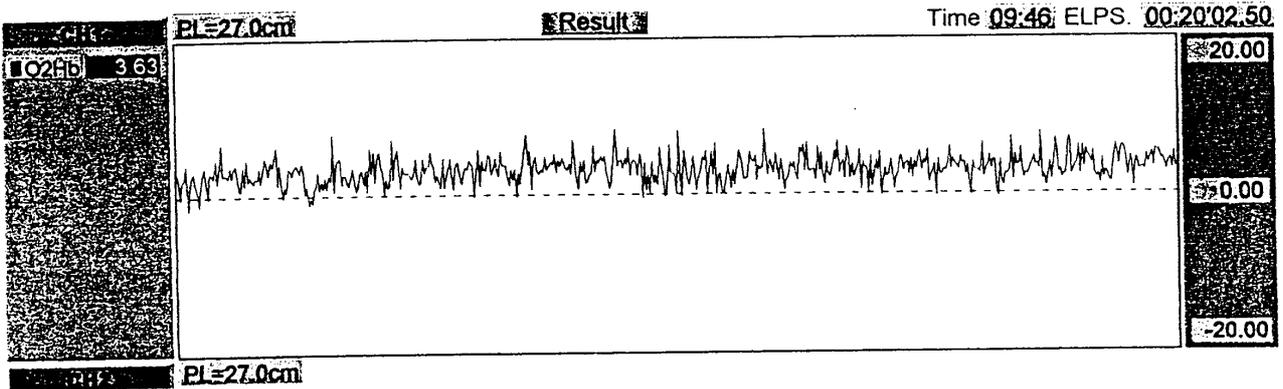


# 症例 15

プラセボ



8ppb



40ppb

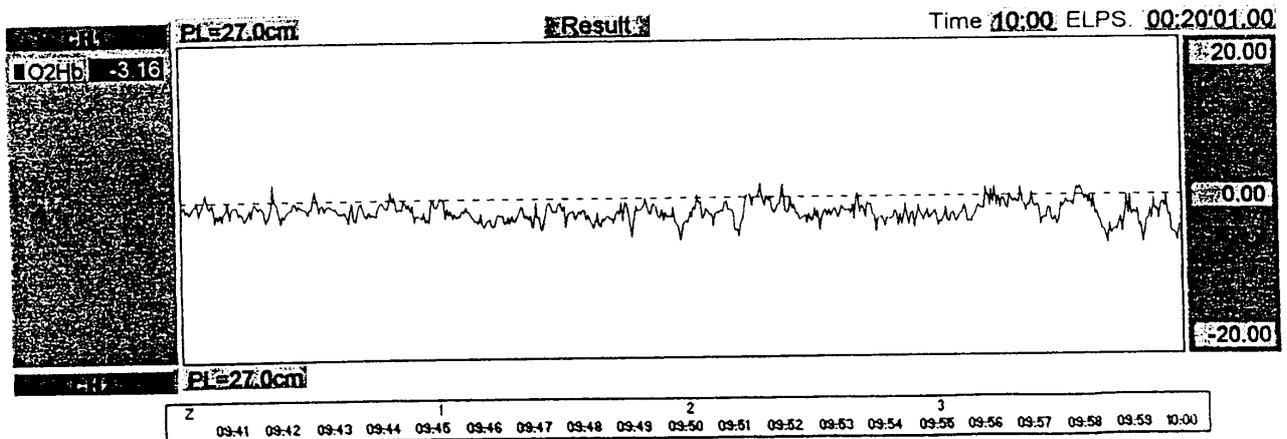


表 D-1 NIRO基線の変動

	症例	プラセボ	8ppb	40ppb	注記
14年度	1	→	↓	↓	
	2	→	→	→	
	3	→	→	→	
	4	→	↓	↓	
	5	→	↓	↑	
	6	→	→	→	
	7	↓	↓	→	
	8	↓	↓	↓	
	9	→	→	↓	
	10	↓	↓	→	
	11	→	→	→	
	12	↓	↓	↓	
	13	→	→	→	
	14	→	→	→	
	15	→	→	↓	
13年度	1	→	→	→	
	2	↓	↓	↑	
	3	↓	↓	↓	
	4	→	→	↓	
	5	→	↓	↓	
	6	→	→	→	
	7	咳き	→	→	咳きで動揺
	8	↑	↑	↓	
	9	→	↑	→	
	10	↓	→	→	
	11	→	↓	→	
	12	↓	↓	→	
	13	↓	↓	→	
	14	判定不能	判定不能	判定不能	動揺強度のため
	15	↓	→	↓	

表 D-2 フーリエ解析結果

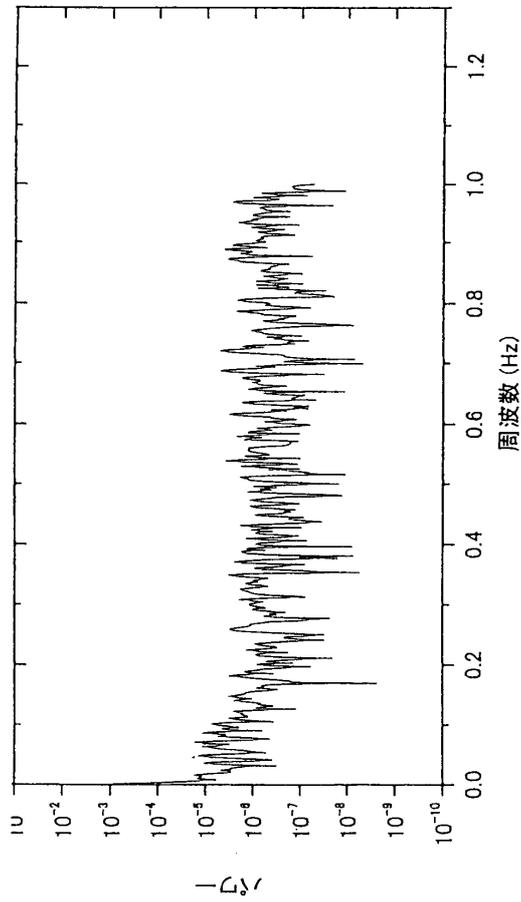
	症例	プラセボ	8ppb	40ppb
14年度	1	変動あり	変動なし	変動あり
	2	変動なし	変動あり	変動なし
	3	変動なし	変動あり	変動なし
	4	変動なし	変動なし	変動なし
	5	変動なし	変動なし	変動なし
	6	変動なし	変動なし	変動あり
	7	変動あり	変動あり	変動あり
	8	変動あり	変動あり	変動なし
	9	変動なし	変動なし	変動なし
	10	変動あり	変動なし	変動なし
	11	変動なし	変動あり	変動あり
	12	変動なし	変動あり	変動なし
	13	変動なし	変動なし	変動あり
	14	変動なし	変動なし	変動なし
	15	変動なし	変動なし	変動なし
13年度	1	変動なし	変動なし	変動あり
	2	変動なし	変動あり	変動なし
	3	変動なし	変動あり	変動なし
	4	変動なし	変動あり	変動なし
	5	変動なし	変動なし	変動なし
	6	変動なし	変動なし	変動なし
	7	変動あり	変動なし	変動あり
	8	変動なし	変動なし	変動なし
	9	変動あり	変動なし	変動なし
	10	変動なし	変動あり	変動あり
	11	変動なし	変動なし	変動なし
	12	変動なし	変動なし	変動あり
	13	変動なし	変動なし	変動あり
	14	変動なし	変動なし	変動あり
	15	変動なし	変動なし	変動なし

は変動あり

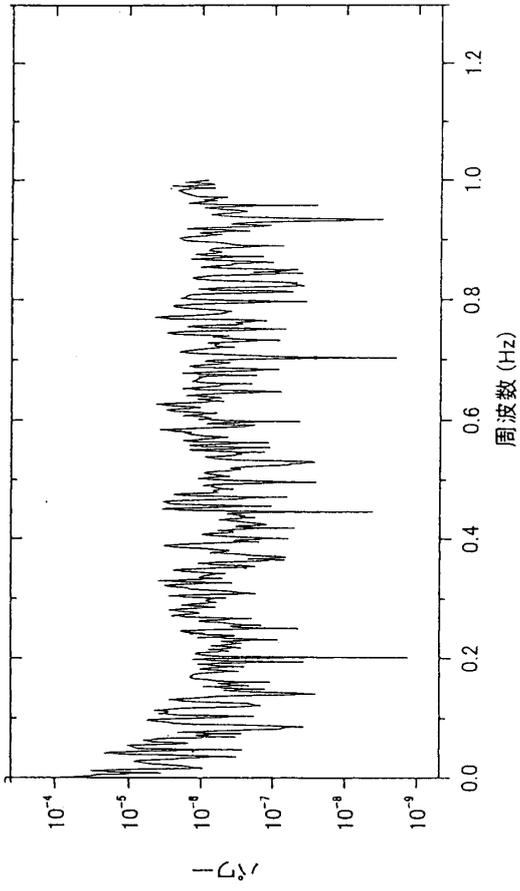
図 D-2 NIRO フーリエ解析図

症例1 プラセボ

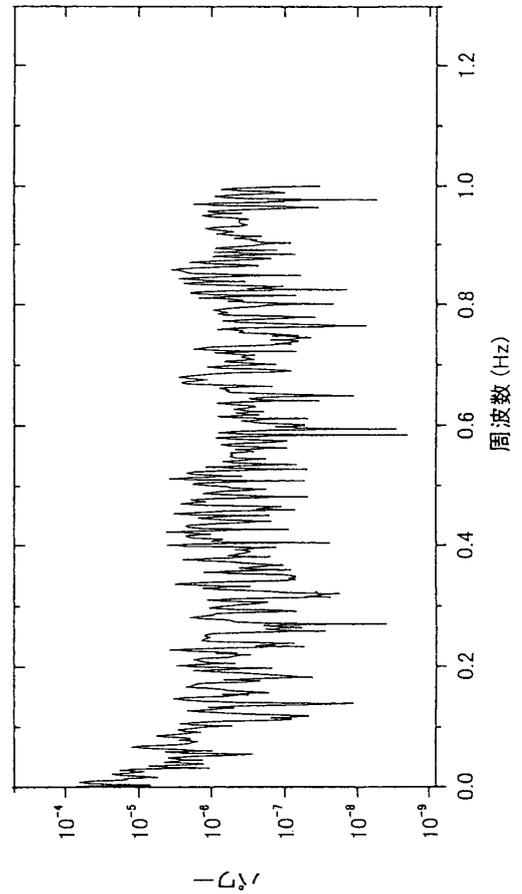
前5分



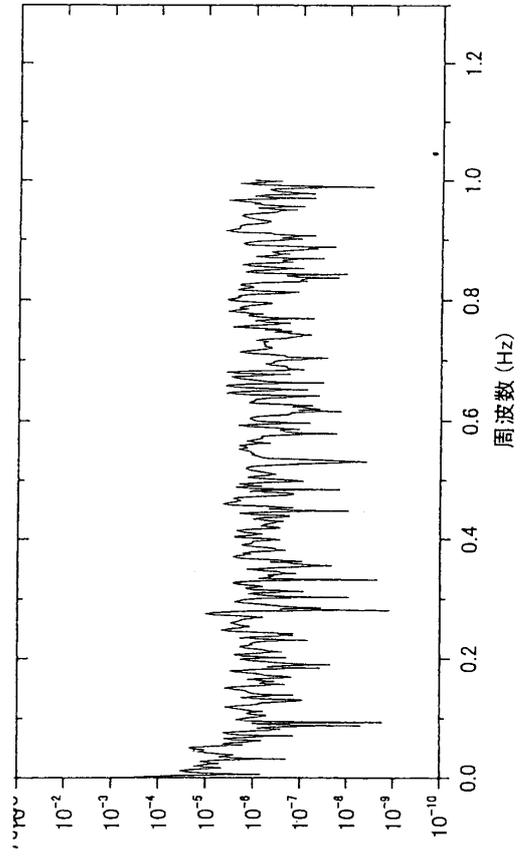
5~10分後



0~5分後

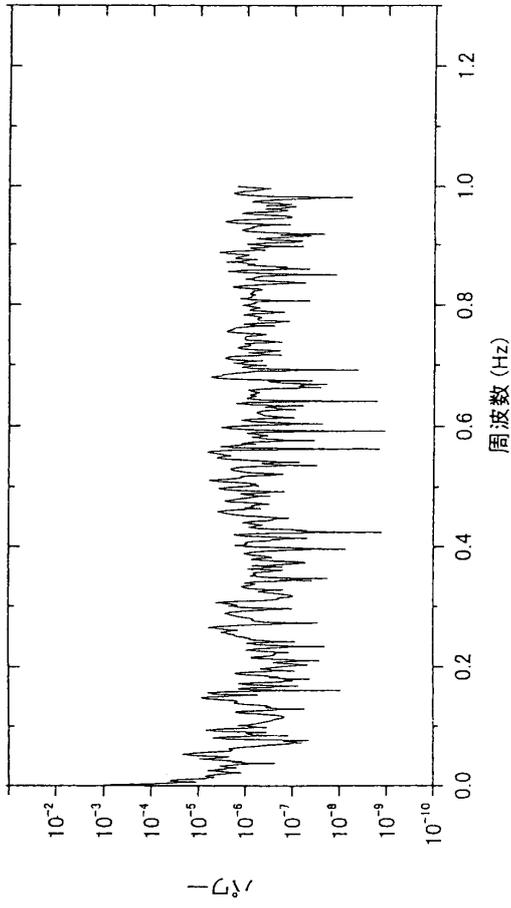


中止後

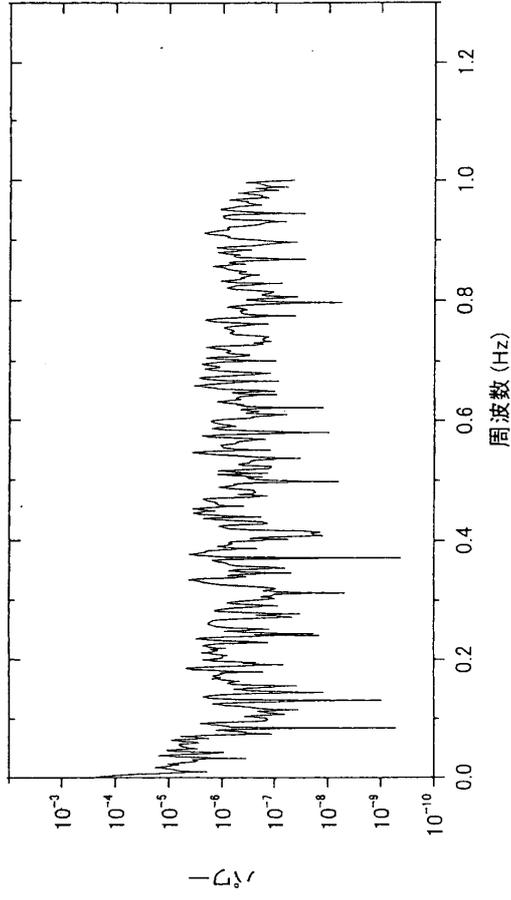


症例 1 8ppb

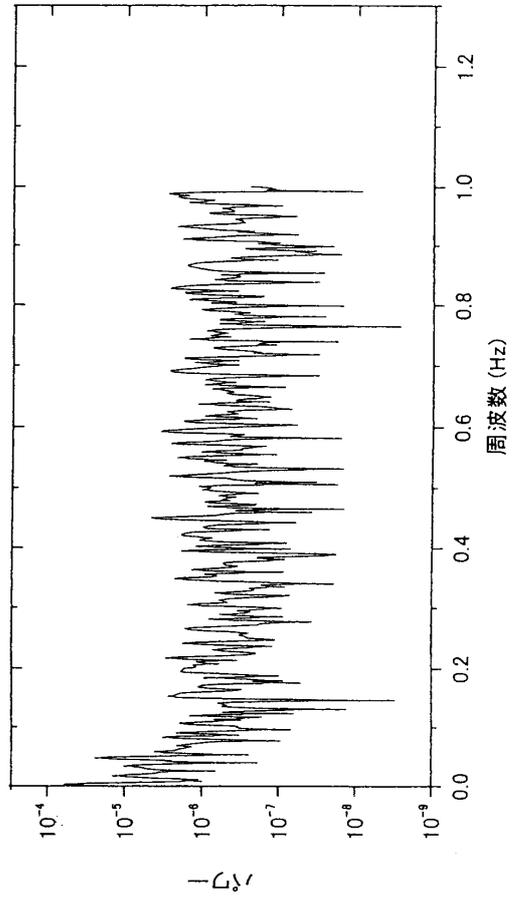
前 5 分



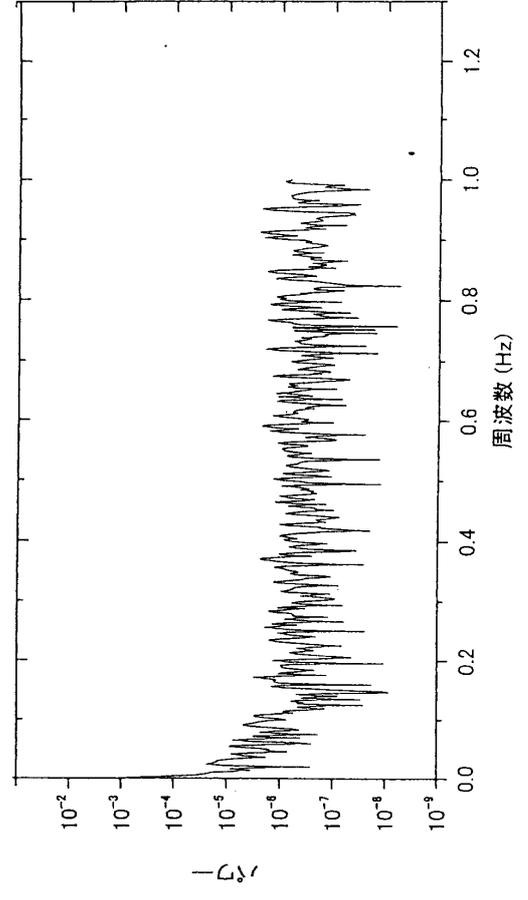
5~10 分後



0~5 分後

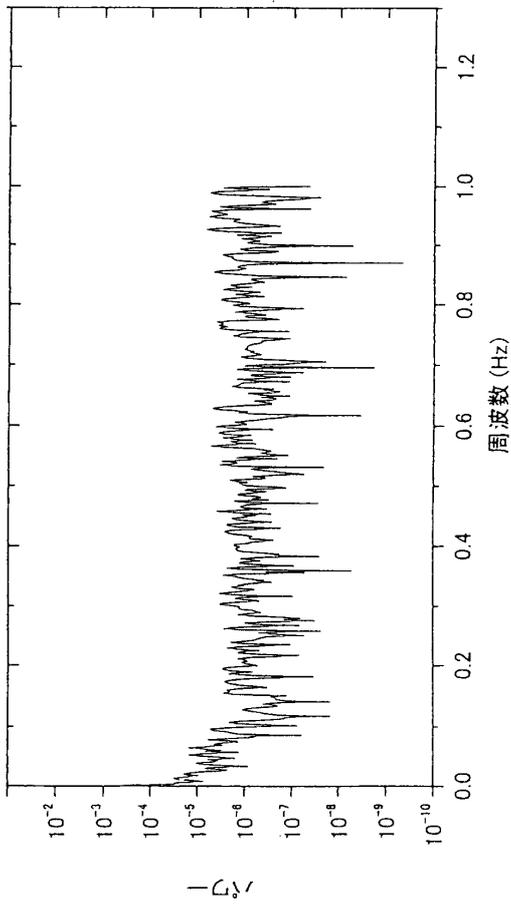


中止後

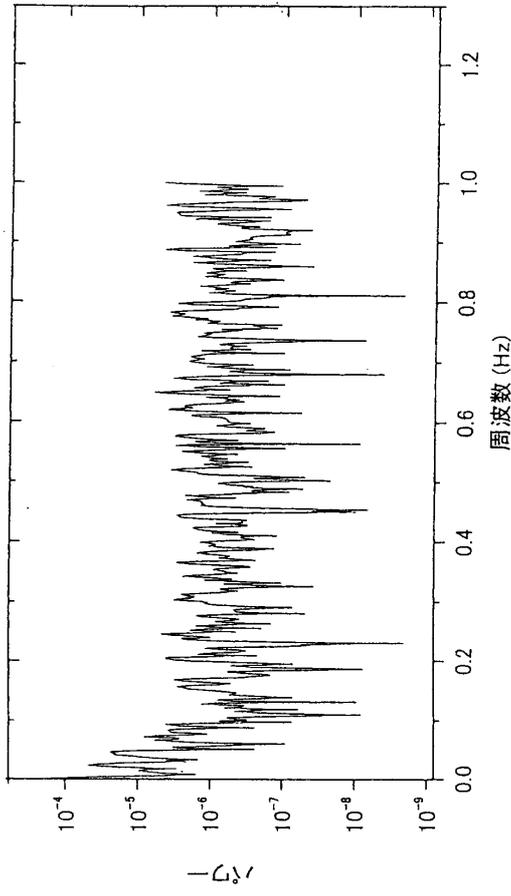


症例 1 40ppb

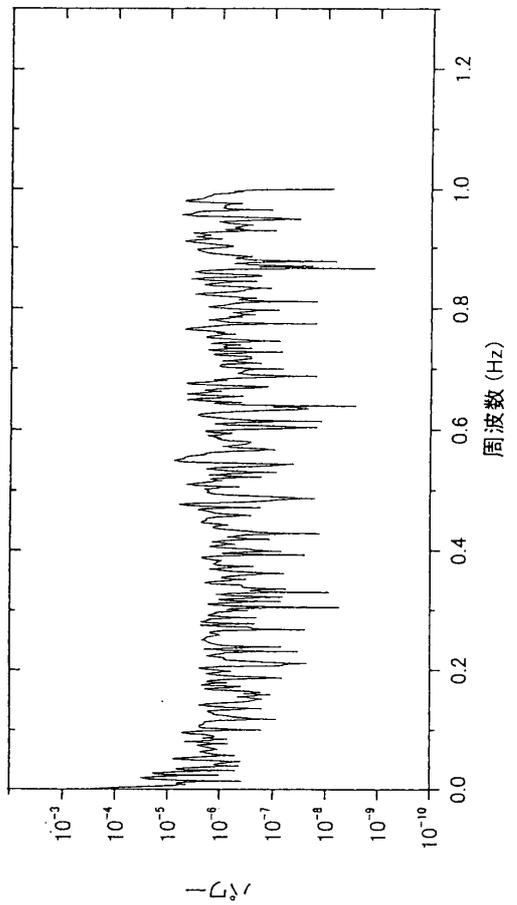
前 5 分



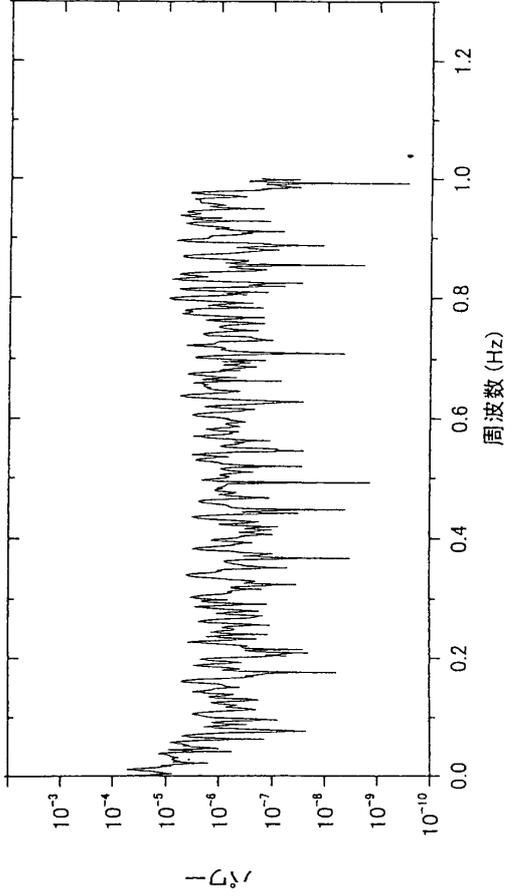
5~10 分後



0~5 分後

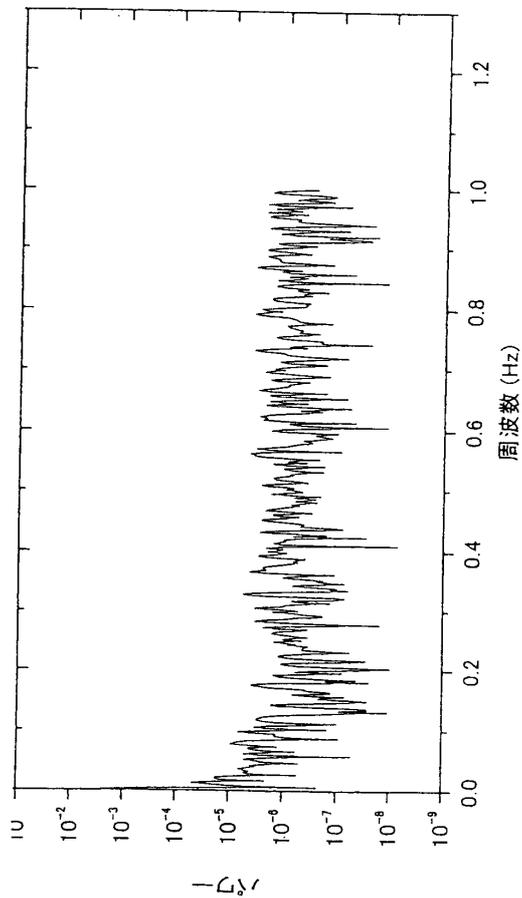


中止後

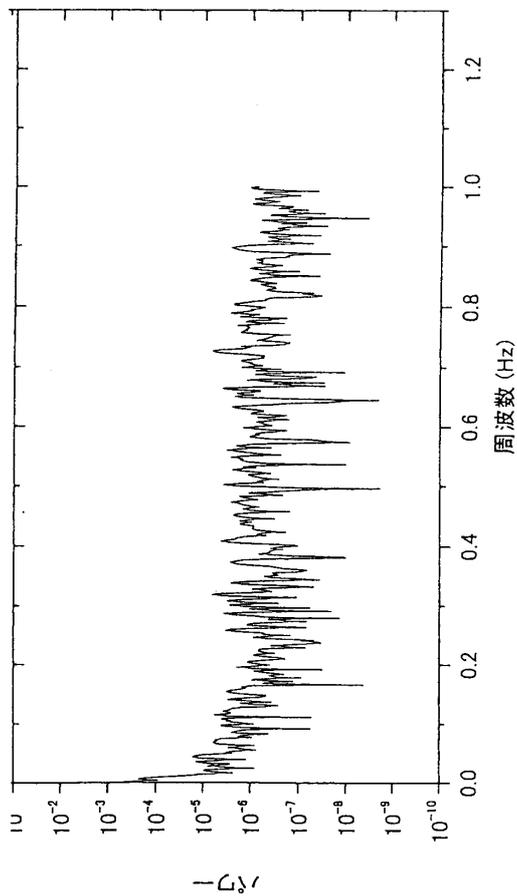


症例2 プラセボ

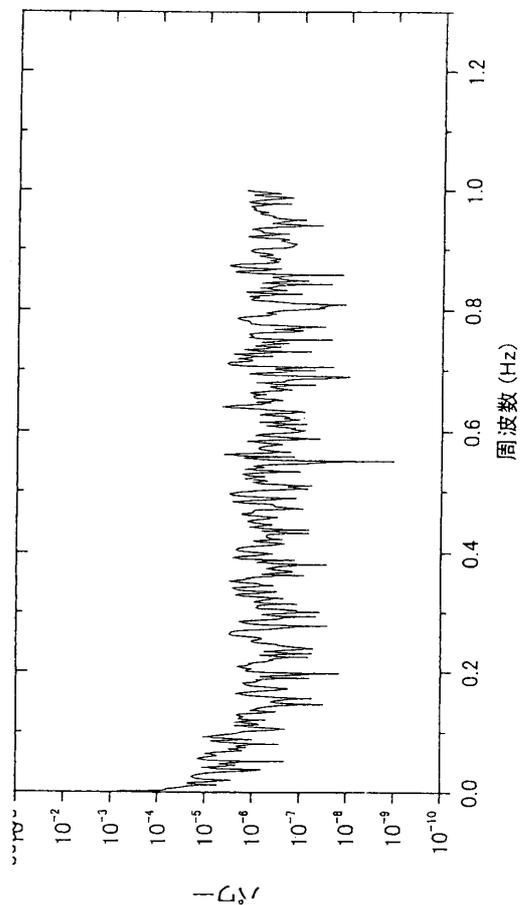
前5分



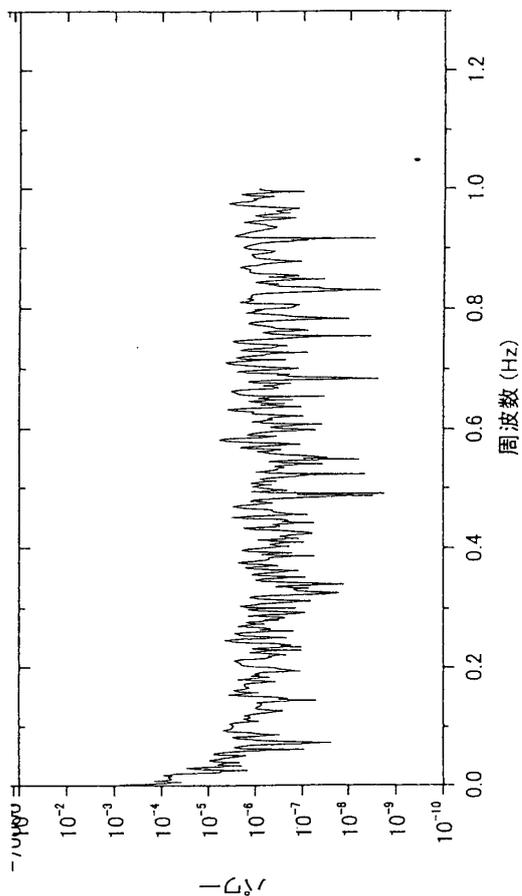
5~10分後



0~5分後

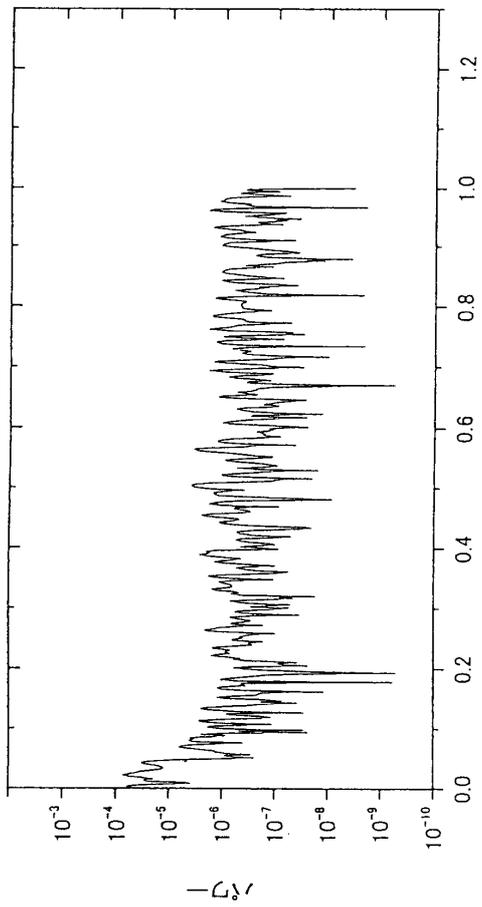


中止後

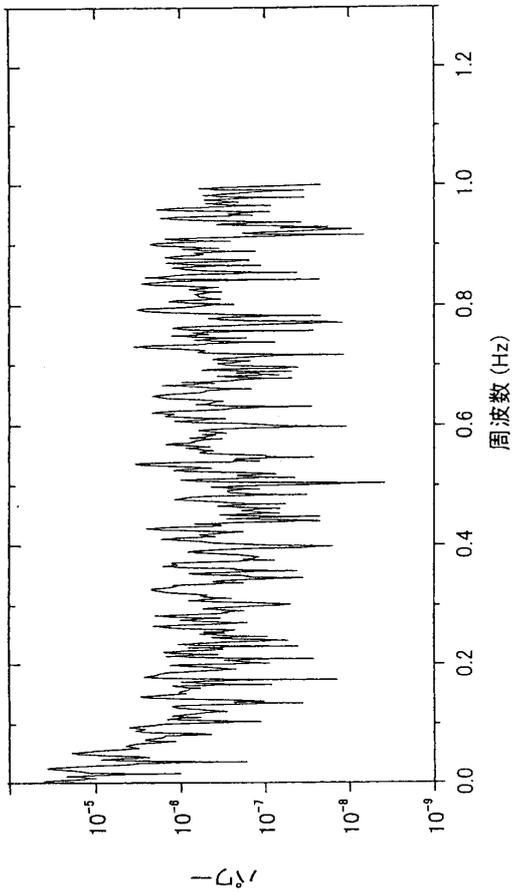


症例 2 8ppb

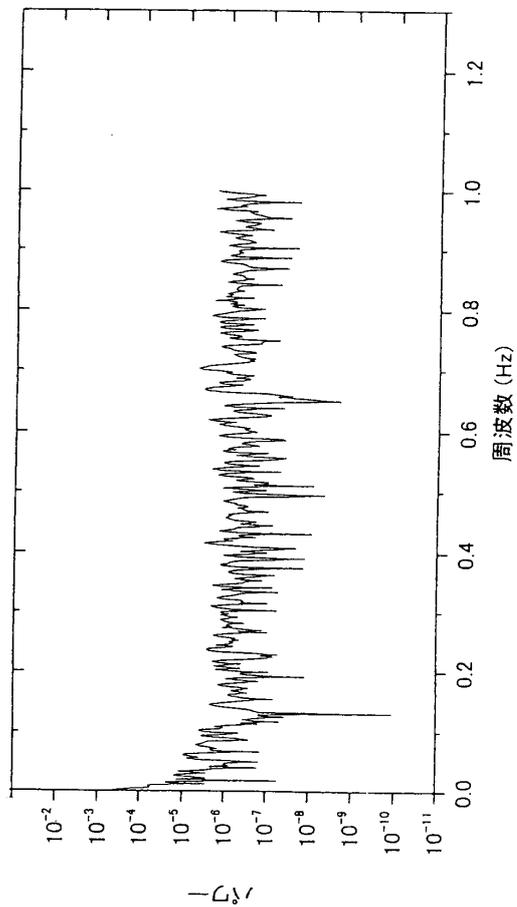
前 5 分



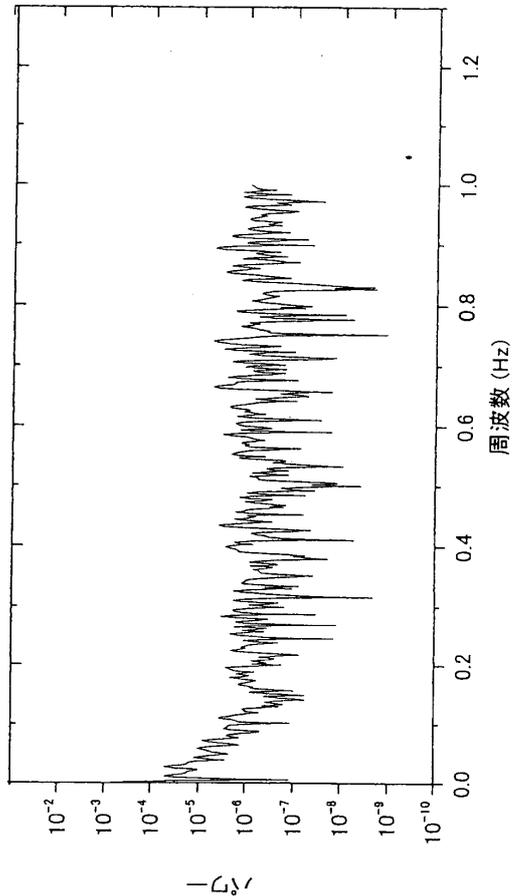
5~10 分後



0~5 分後

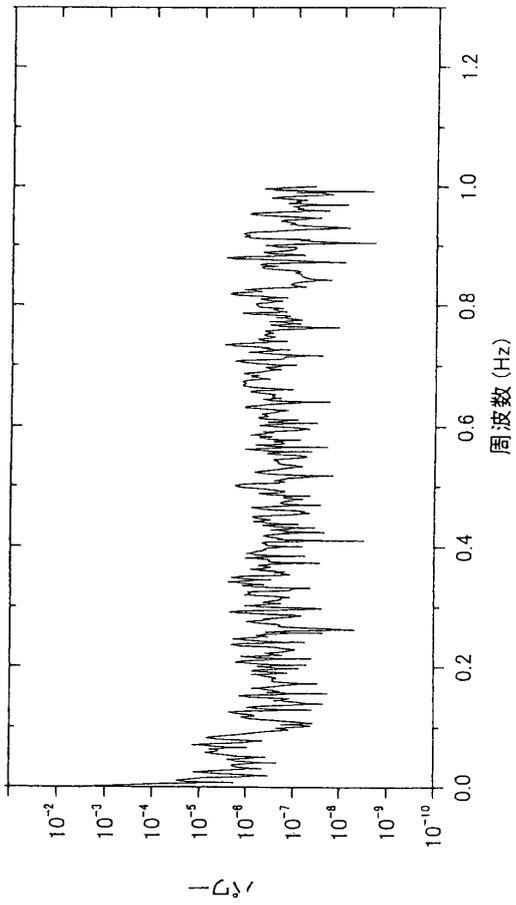


中止後

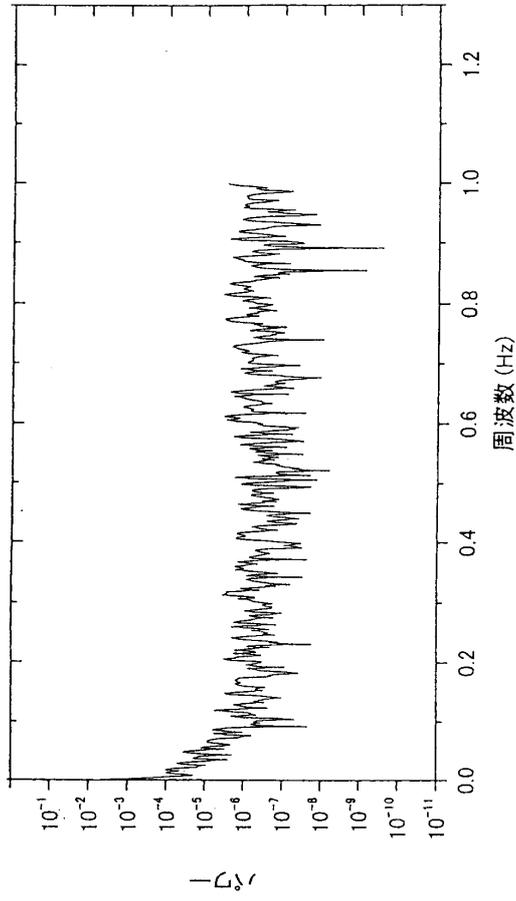


症例 2 40ppb

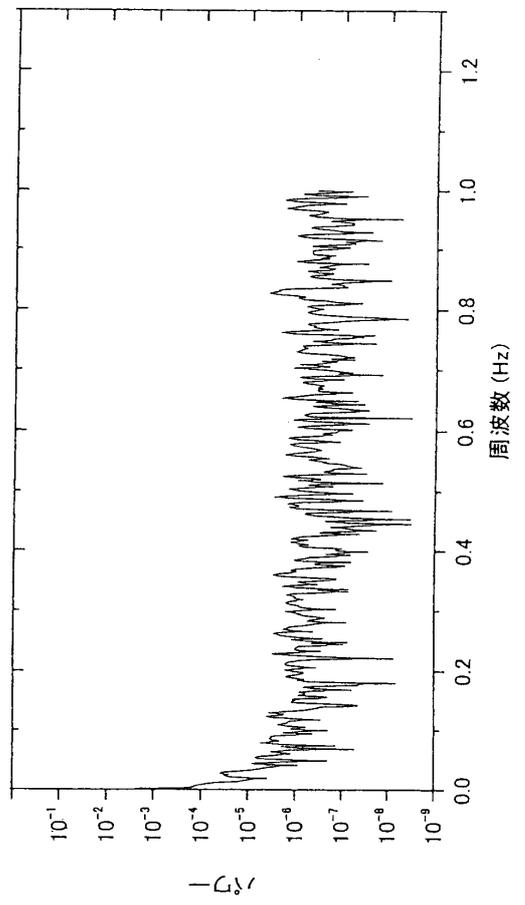
前 5 分



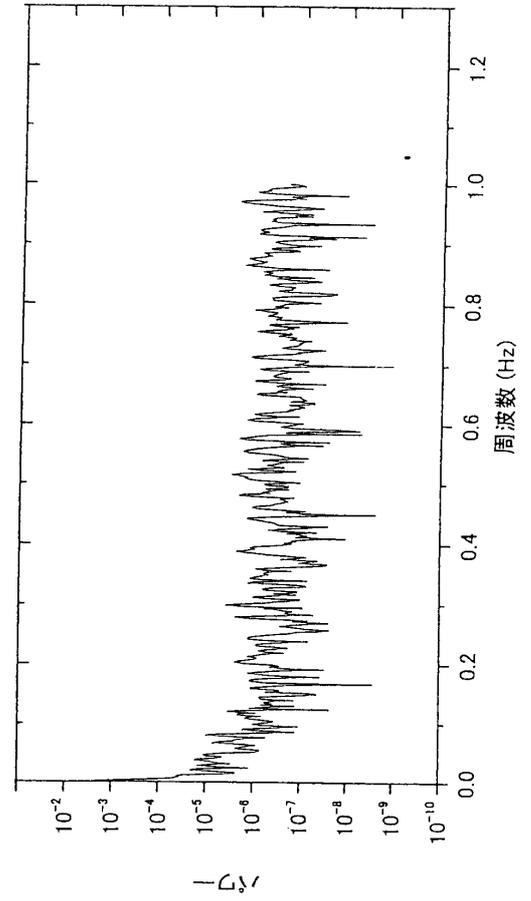
5~10 分後



0~5 分後

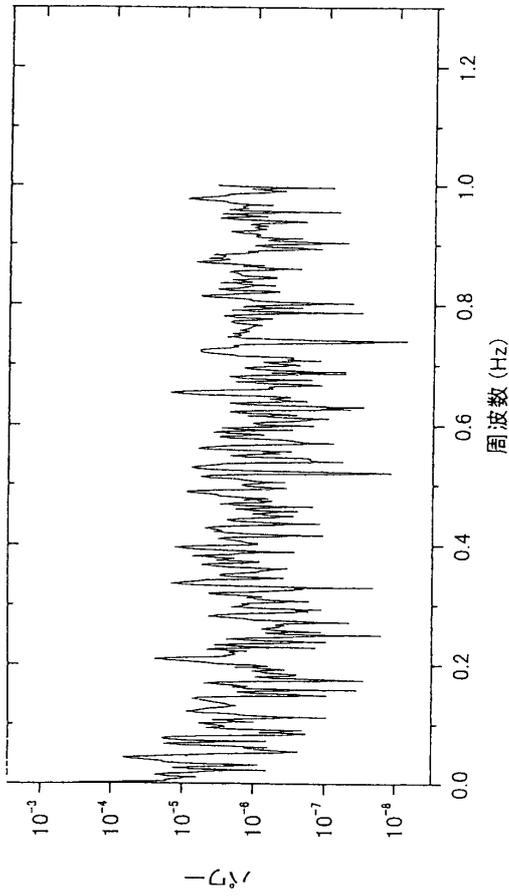


中止後

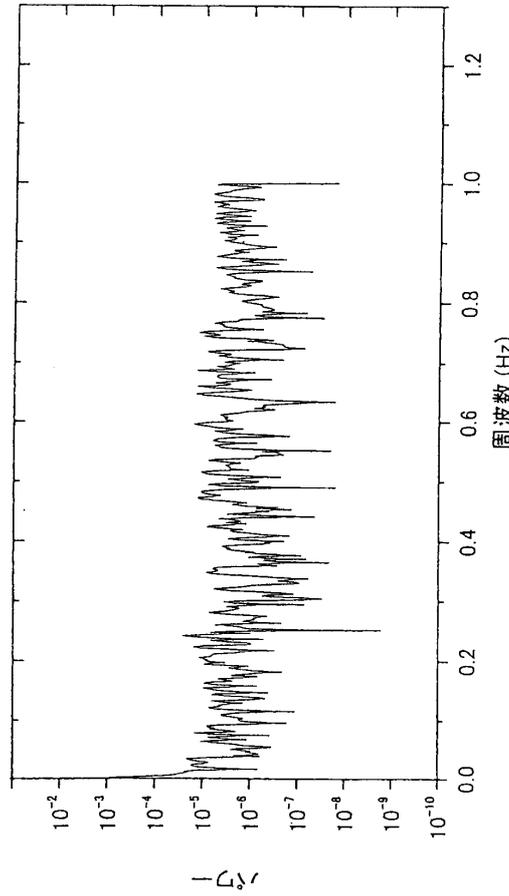


症例3 プラセボ

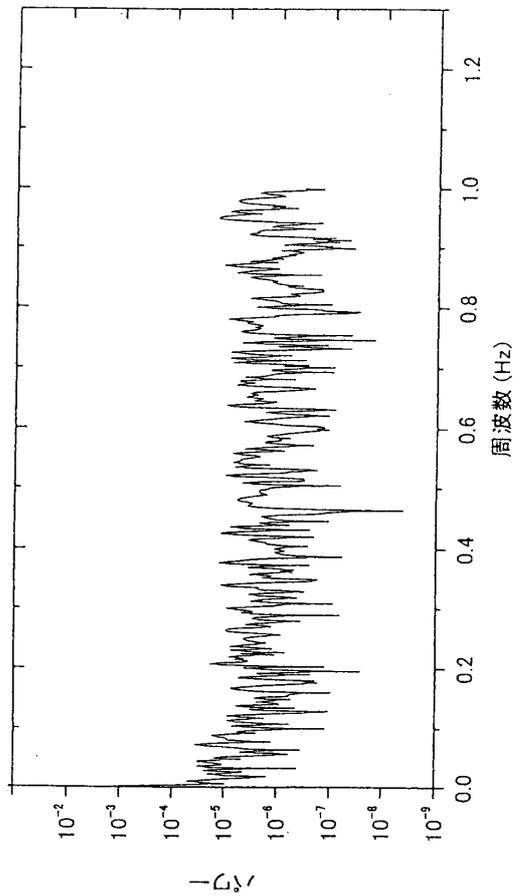
前5分



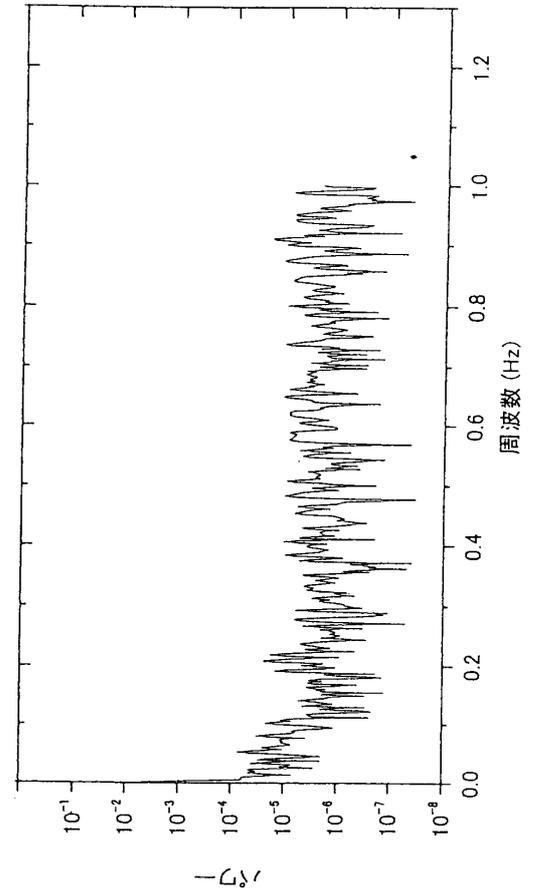
5~10分後



0~5分後

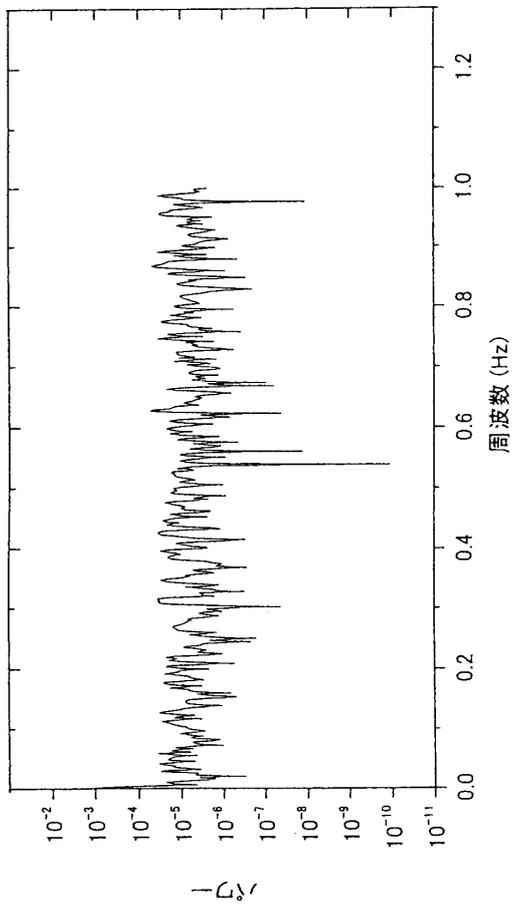


中止後

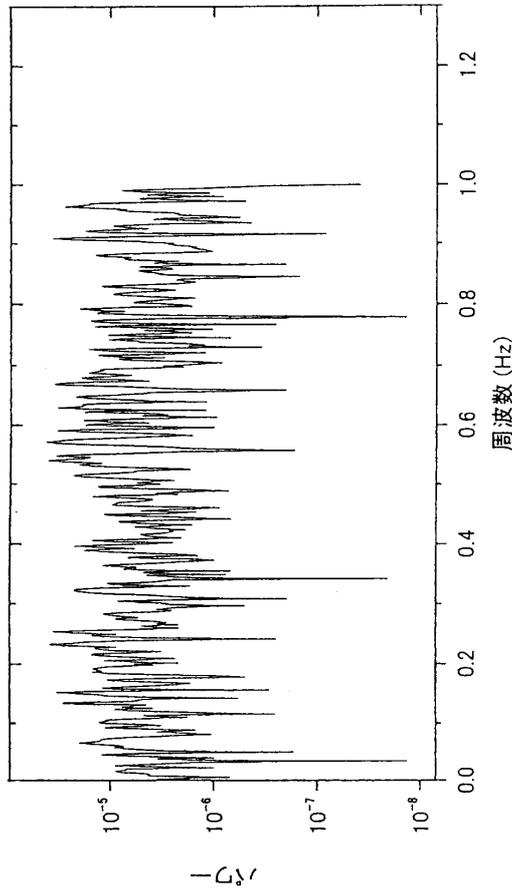


症例 3 8ppb

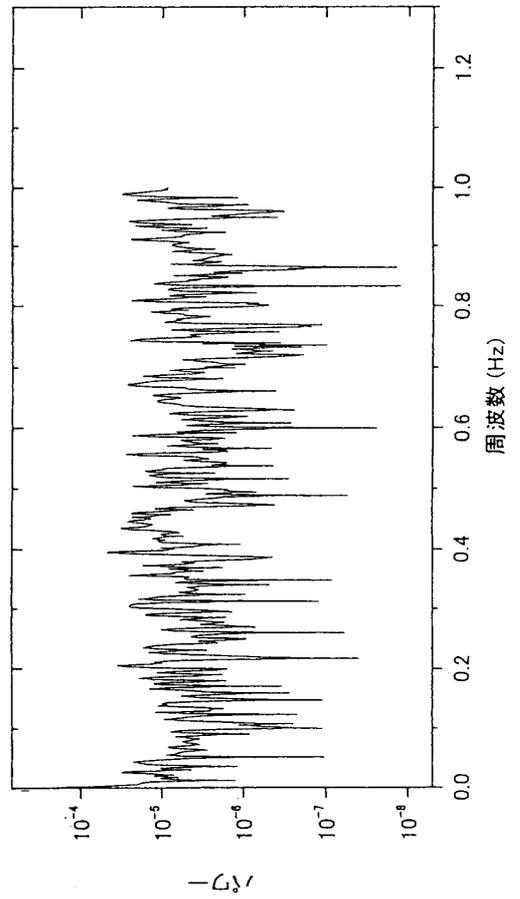
前 5 分



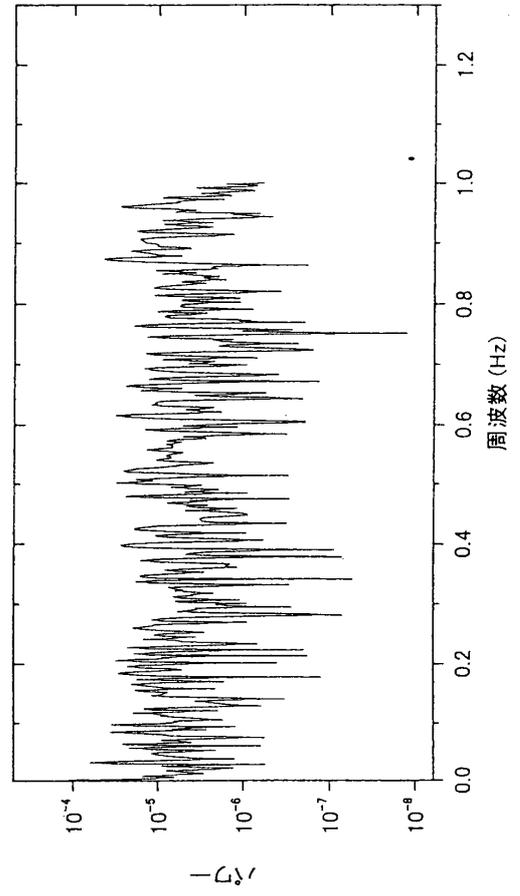
5~10 分後



0~5 分後

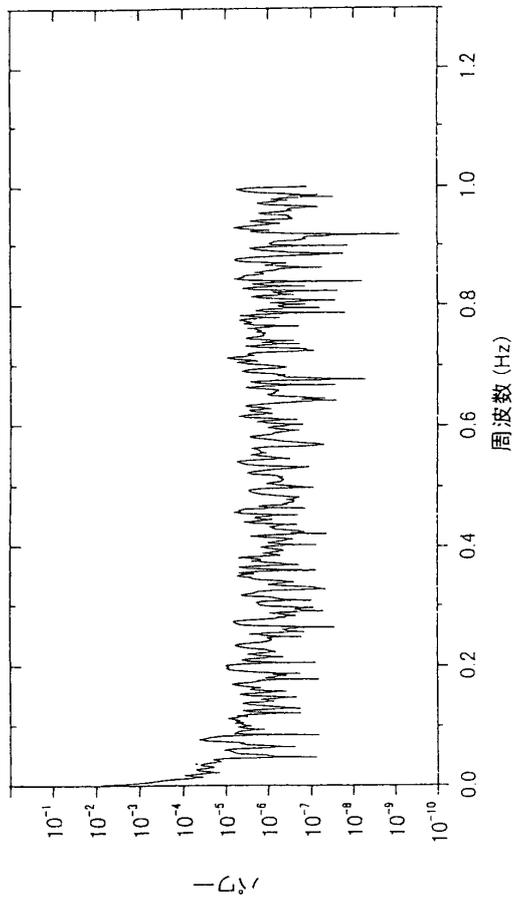


中止後

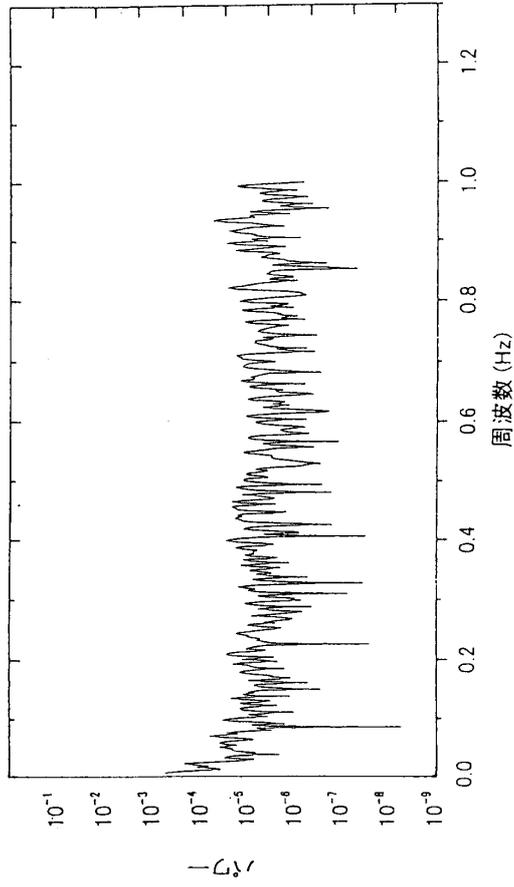


症例 3 40ppb

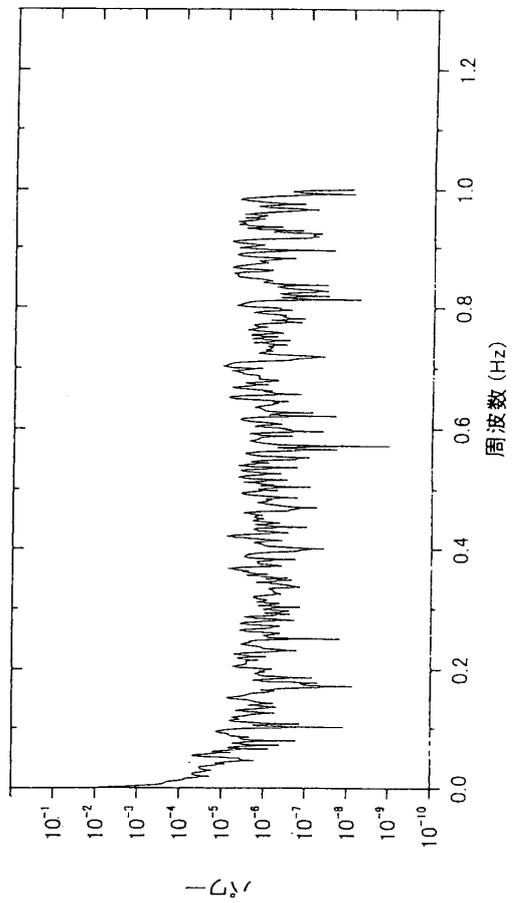
前 5 分



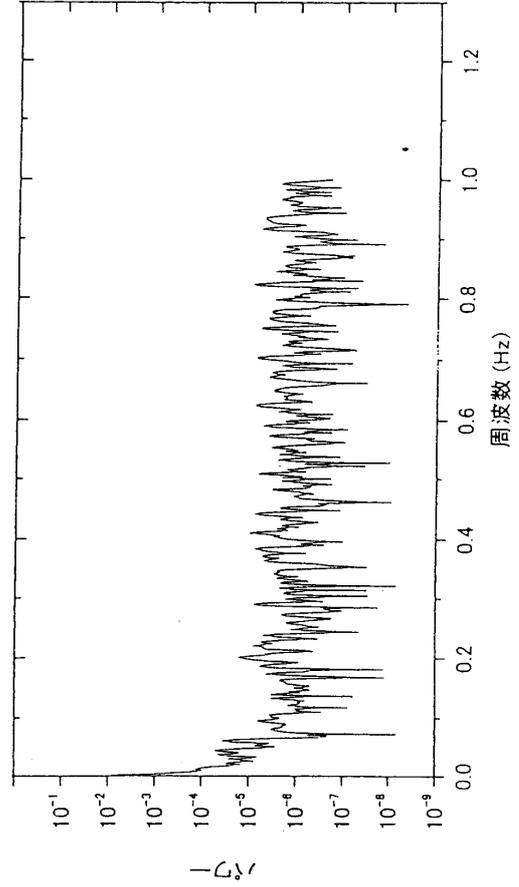
5~10 分後



0~5 分後

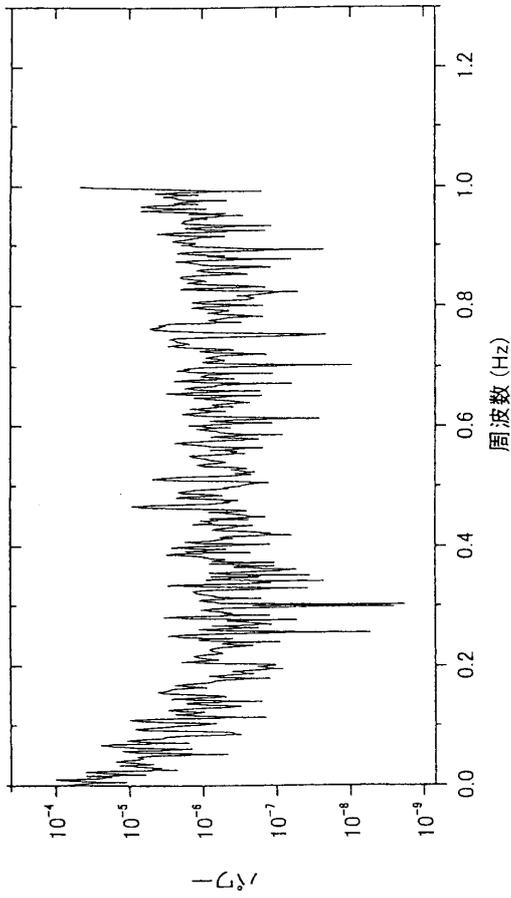


中止後

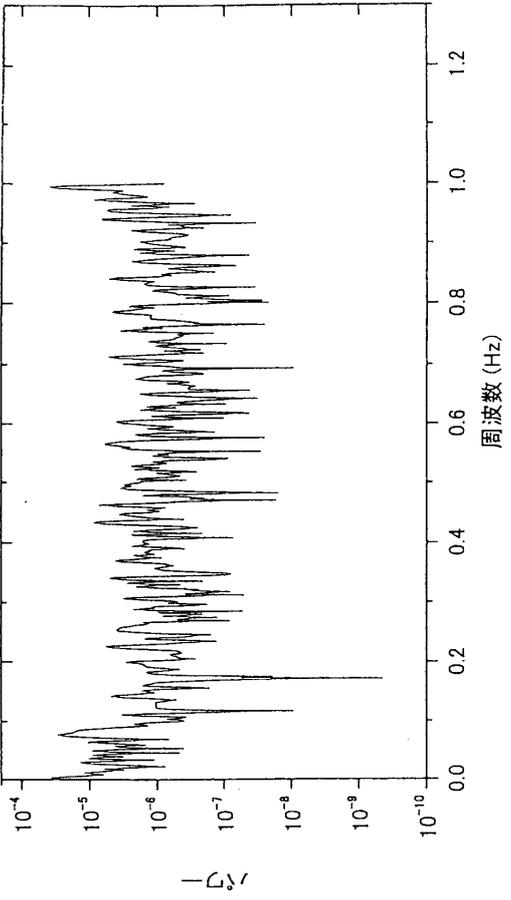


症例4 プラセボ

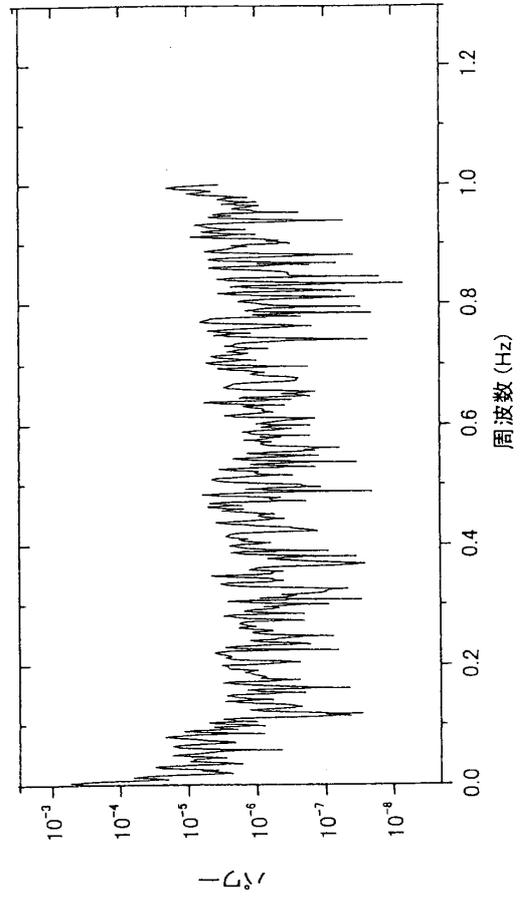
前5分



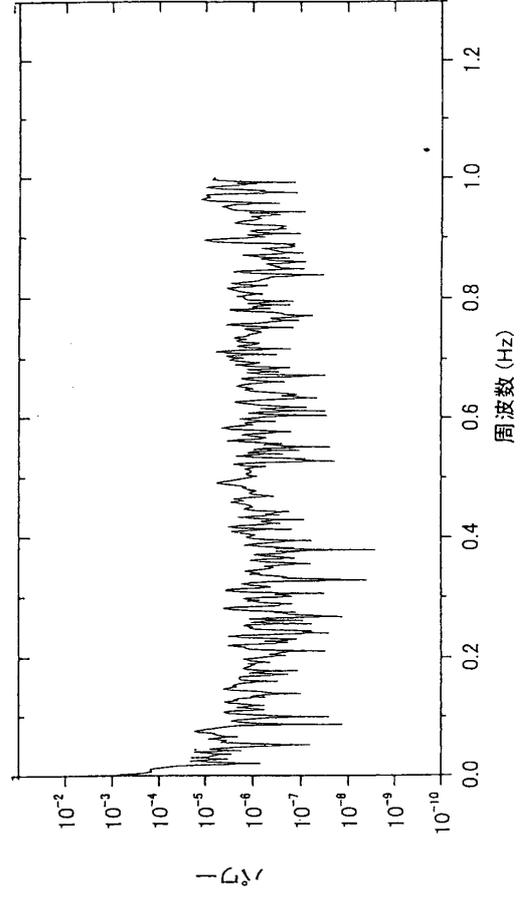
5~10分後



0~5分後

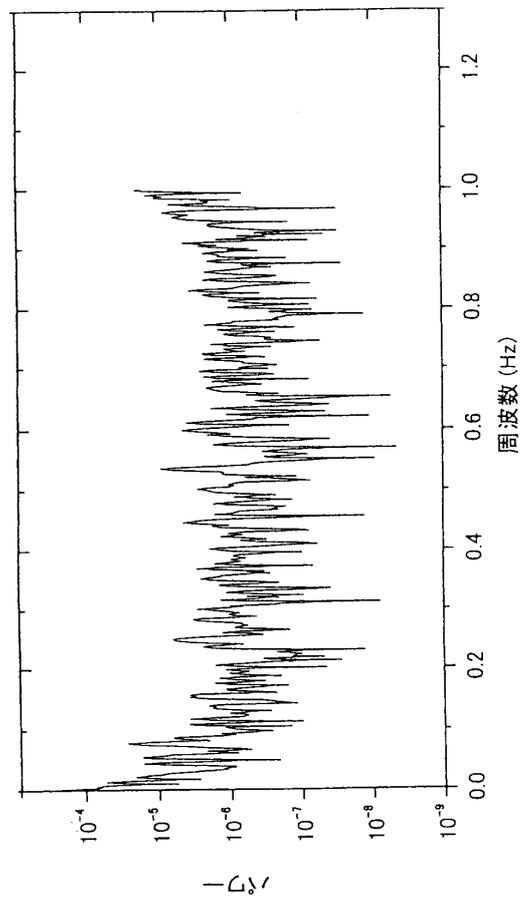


中止後

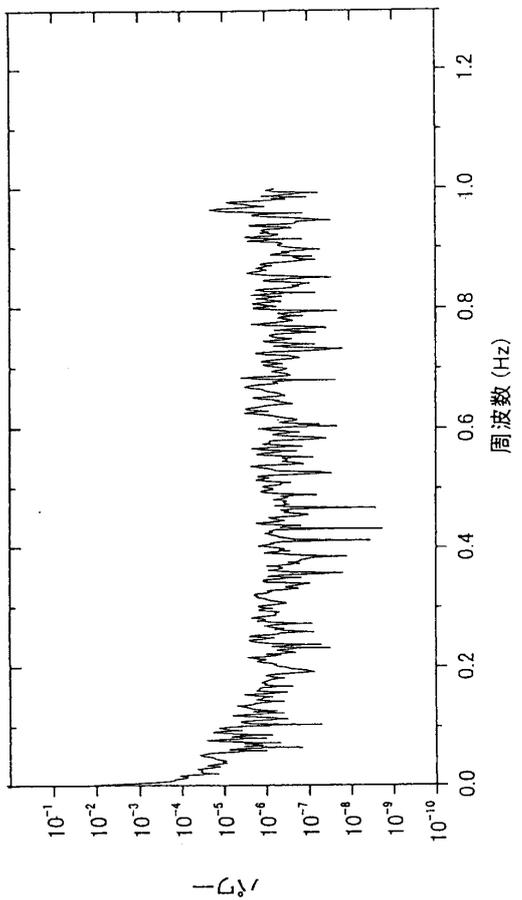


症例 4 8ppb

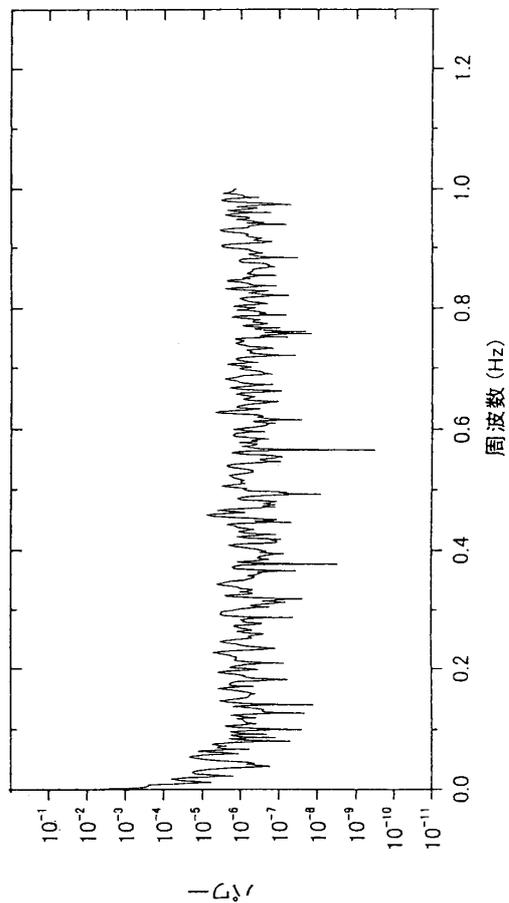
前 5 分



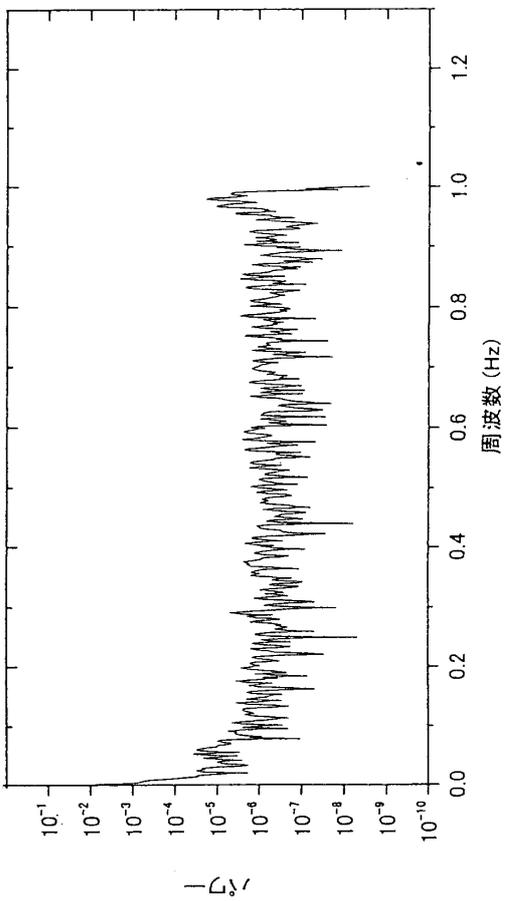
5~10 分後



0~5 分後

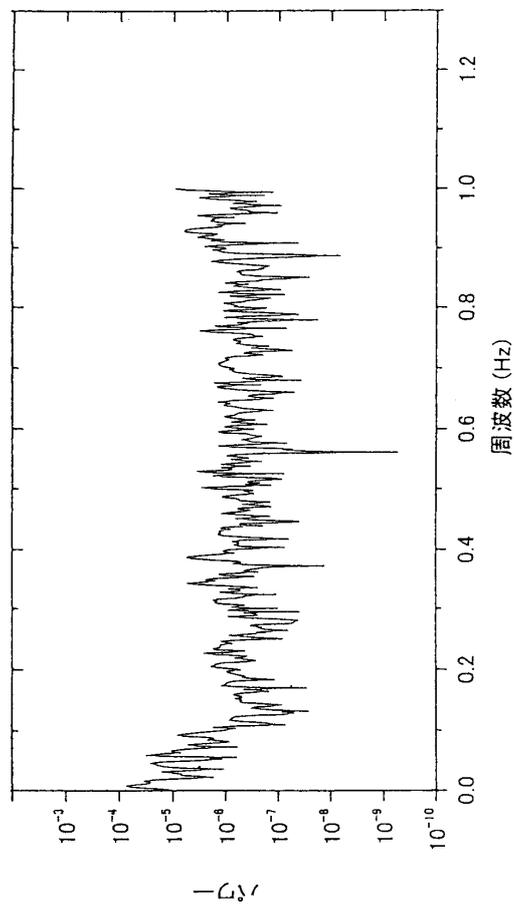


中止後

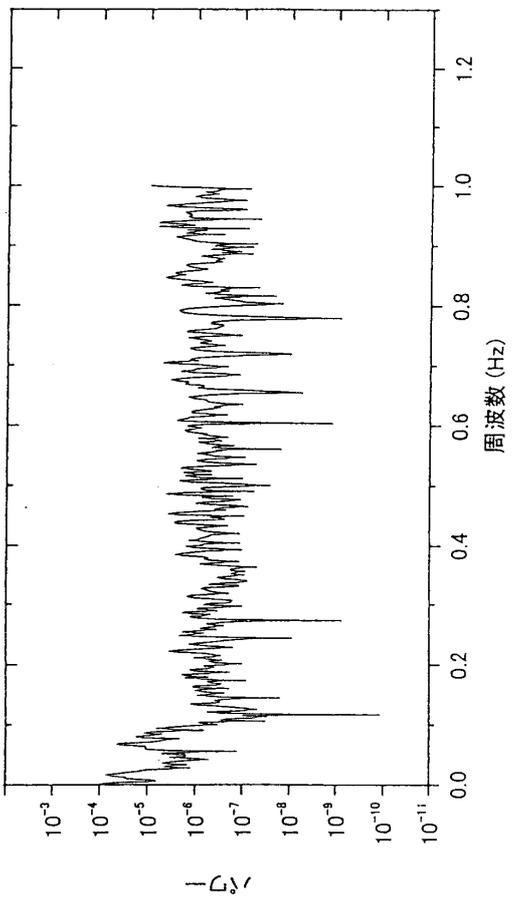


症例 4 40ppb

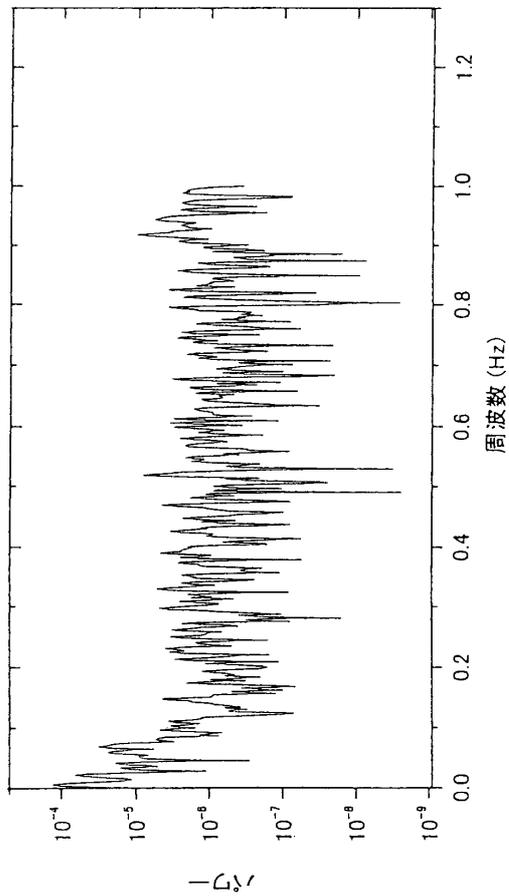
前 5 分



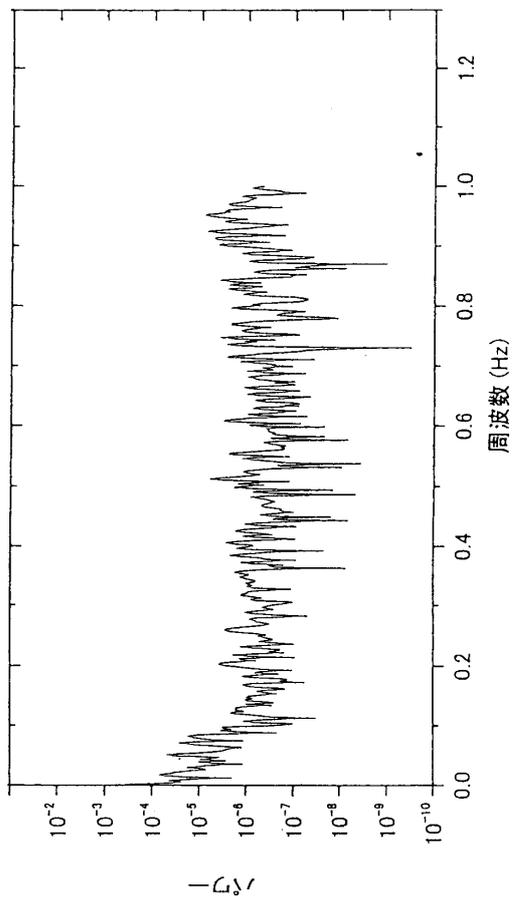
5~10 分後



0~5 分後

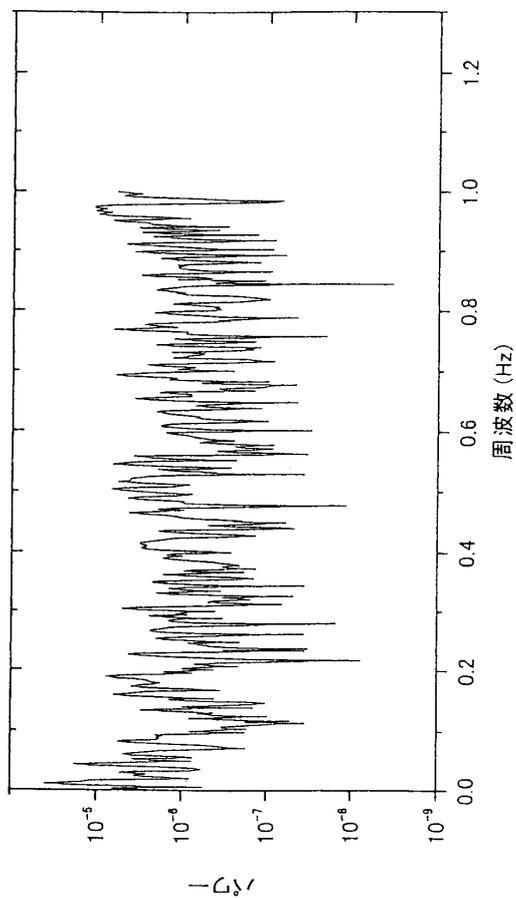


中止後

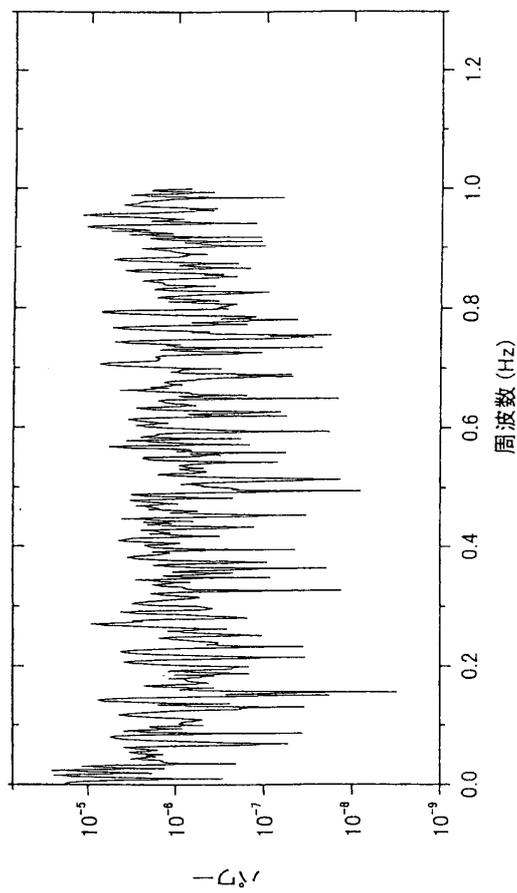


症例5 プラセボ

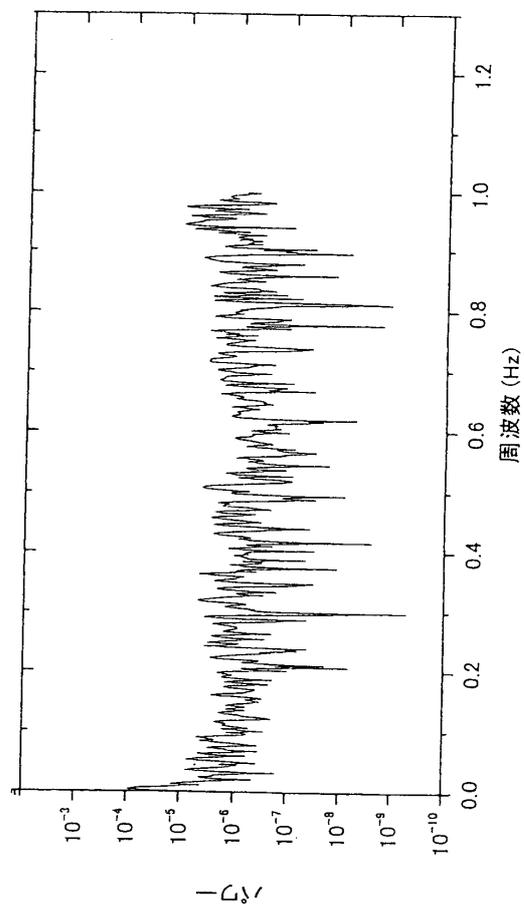
前5分



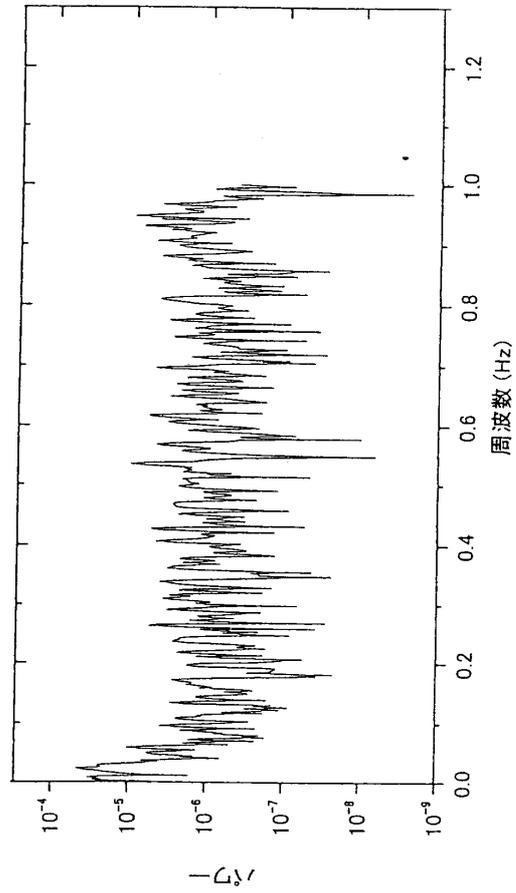
5~10分後



0~5分後

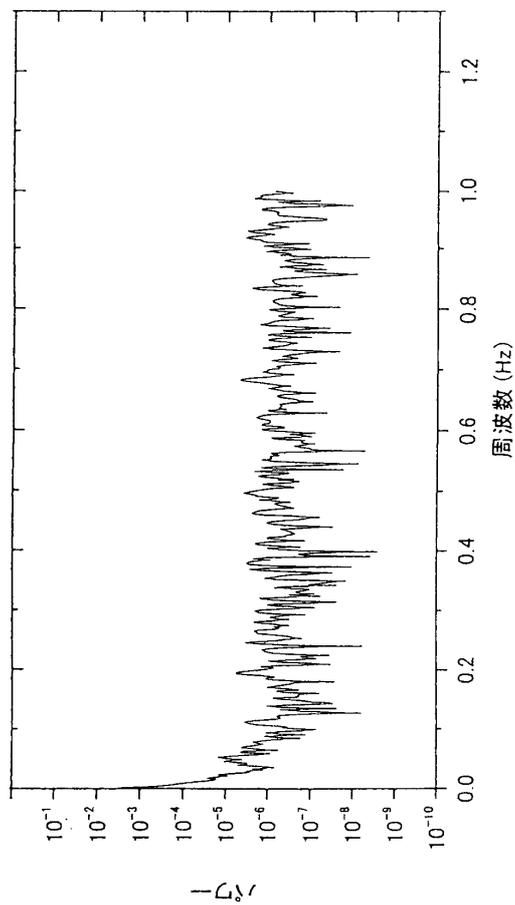


中止後

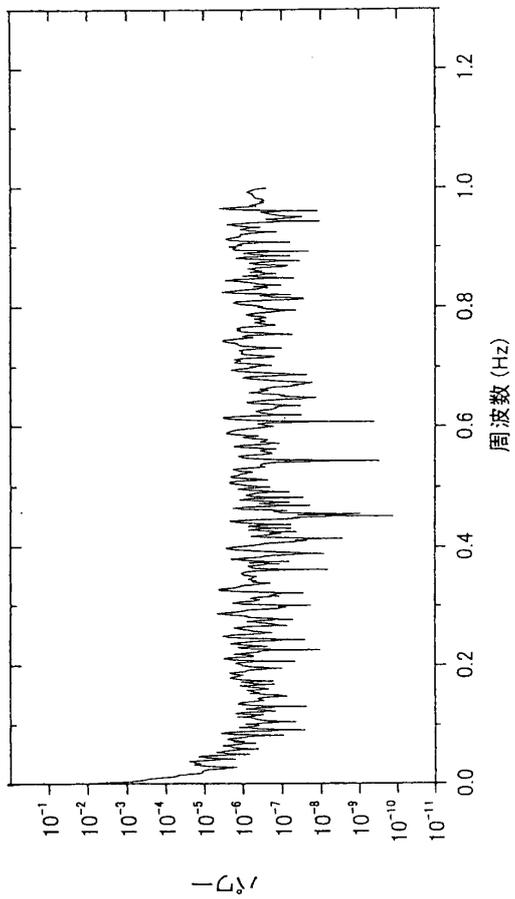


症例 5 8ppb

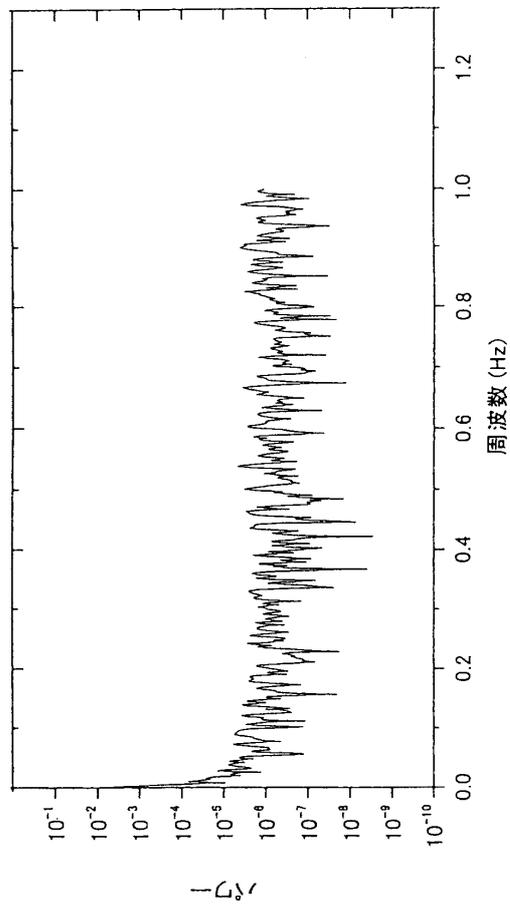
前 5 分



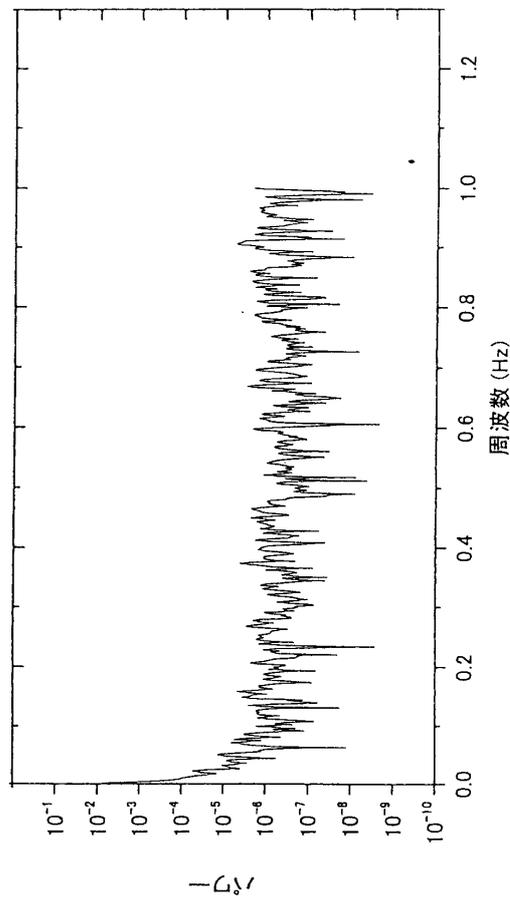
5~10 分後



0~5 分後

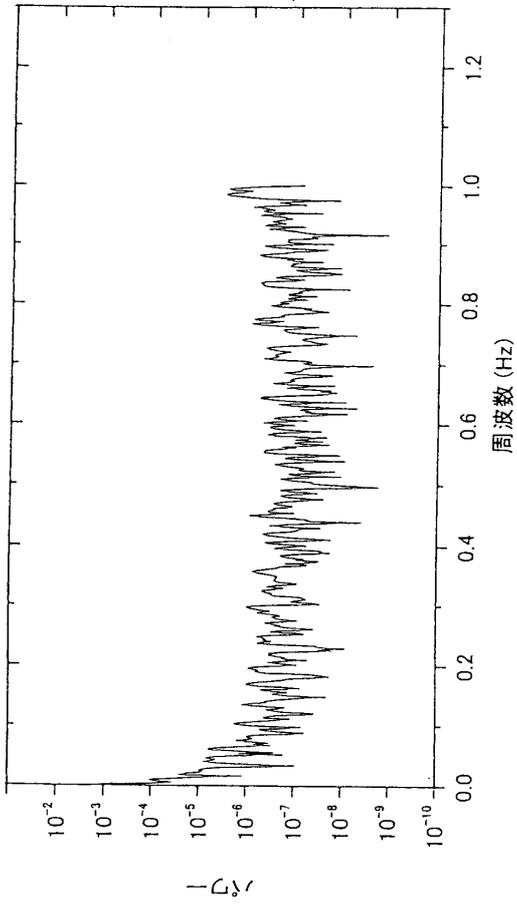


中止後

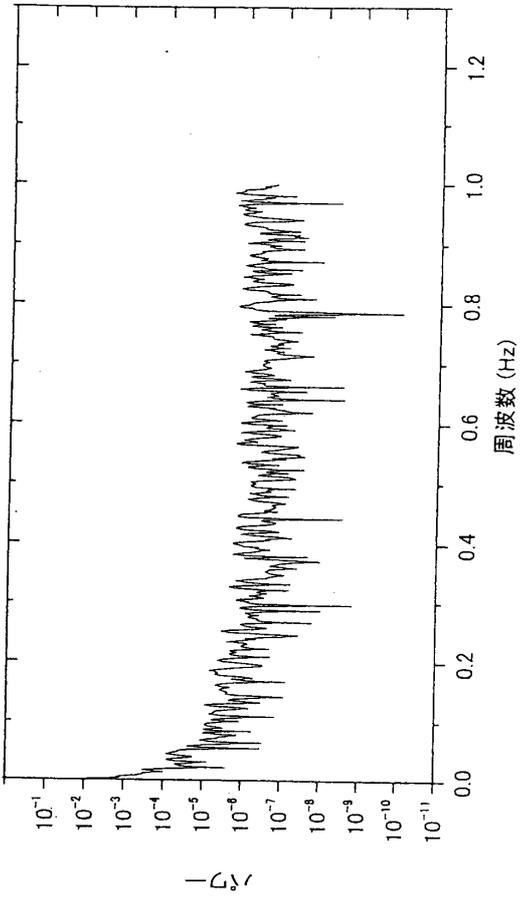


症例 5 40ppb

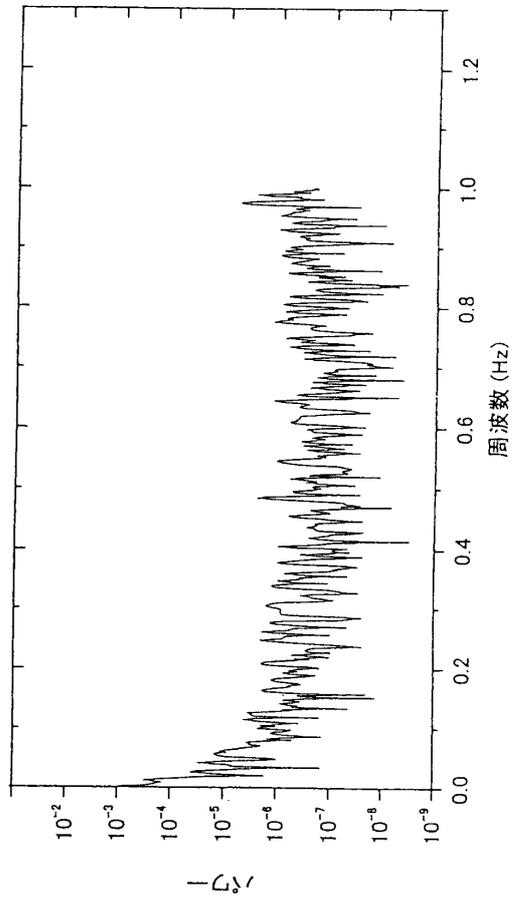
前 5 分



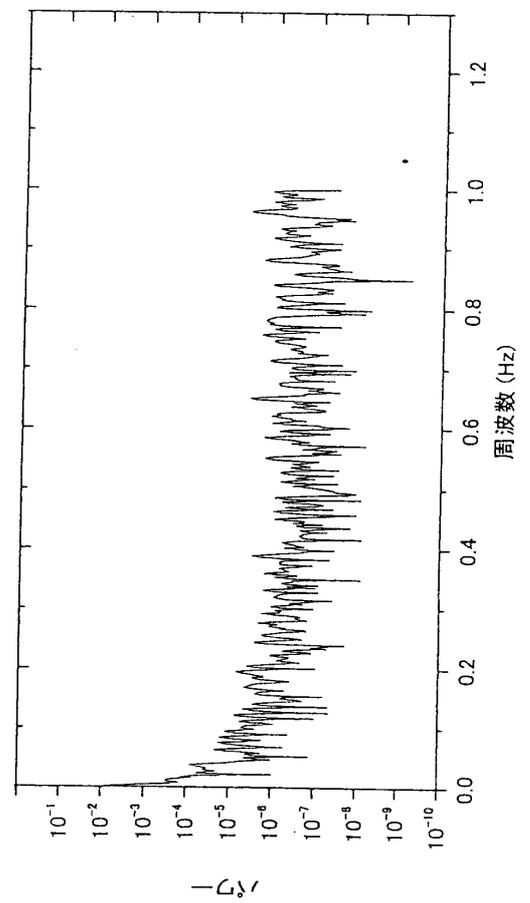
5~10 分後



0~5 分後

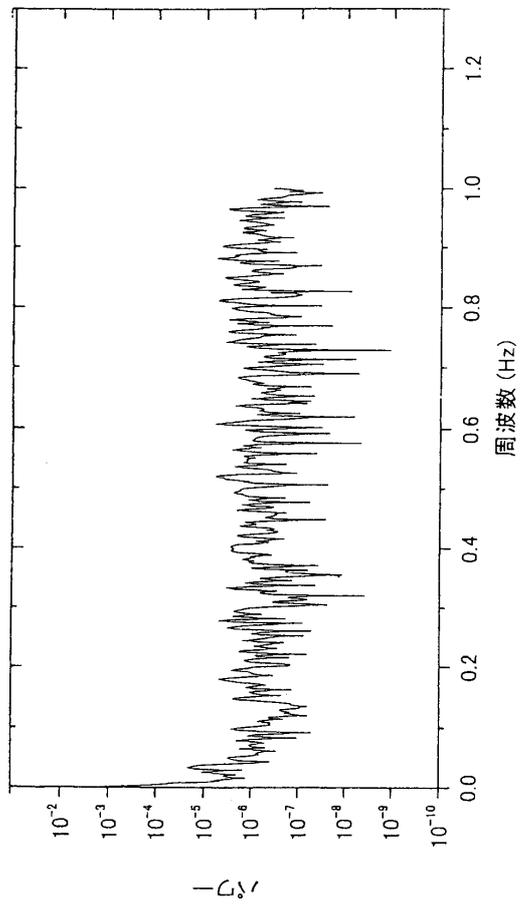


中止後

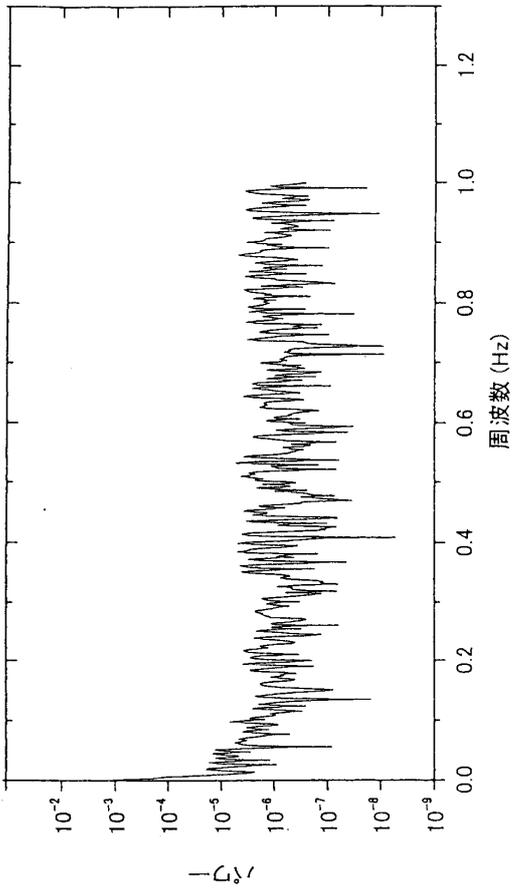


症例6 プラセボ

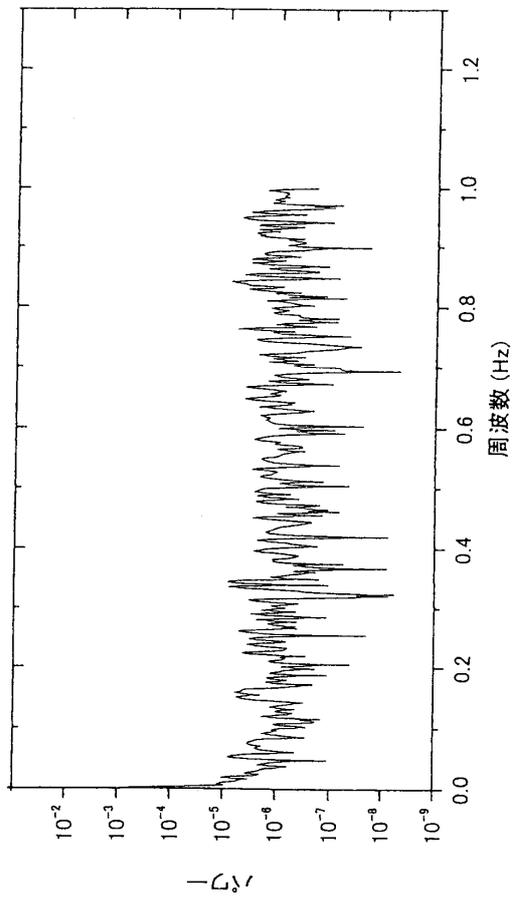
前5分



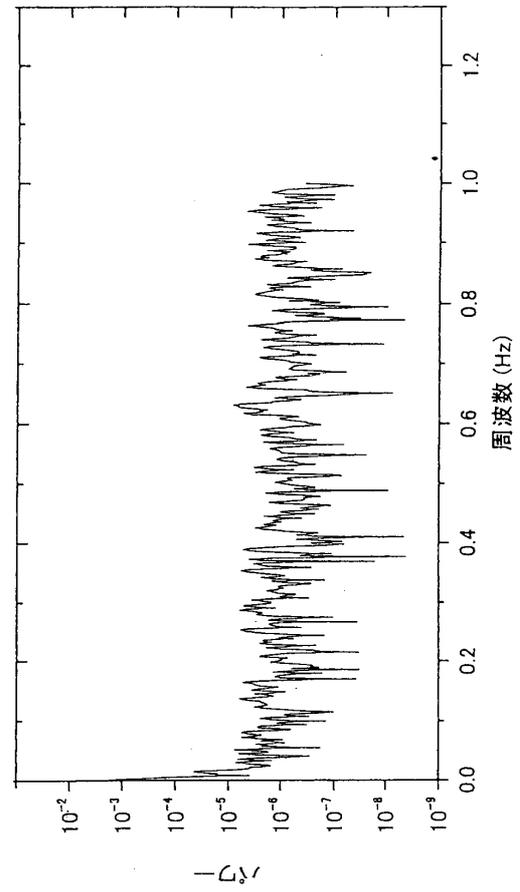
5~10分後



0~5分後

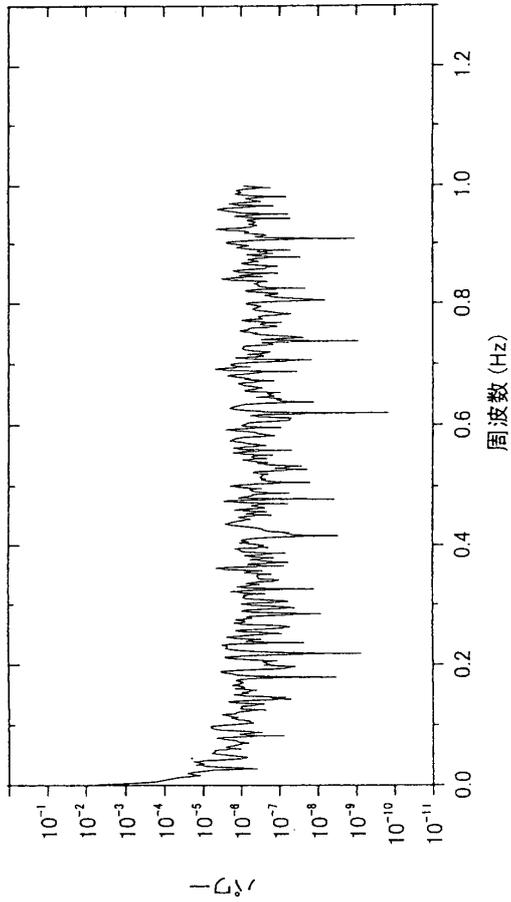


中止後

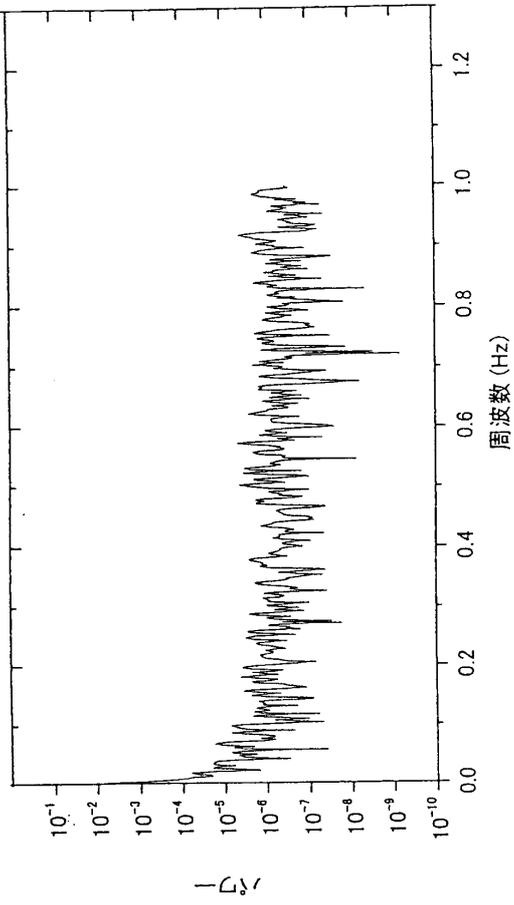


症例 6 8ppb

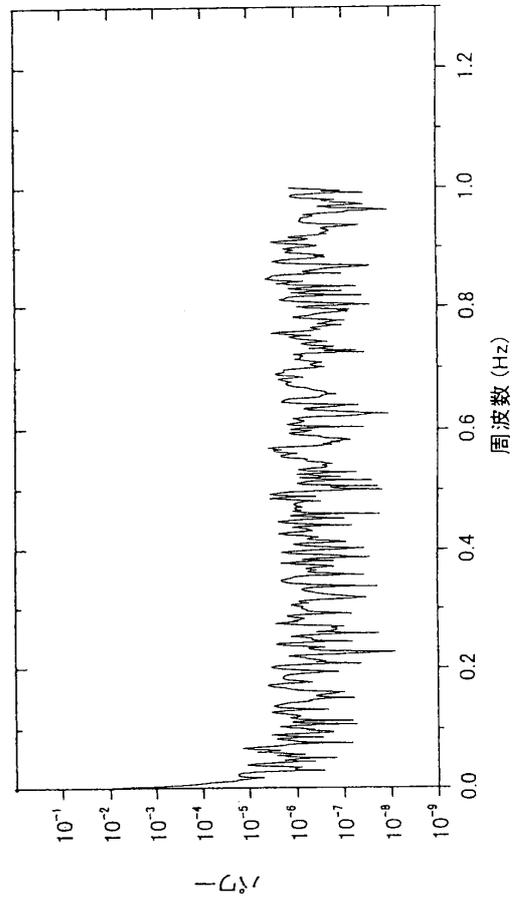
前 5 分



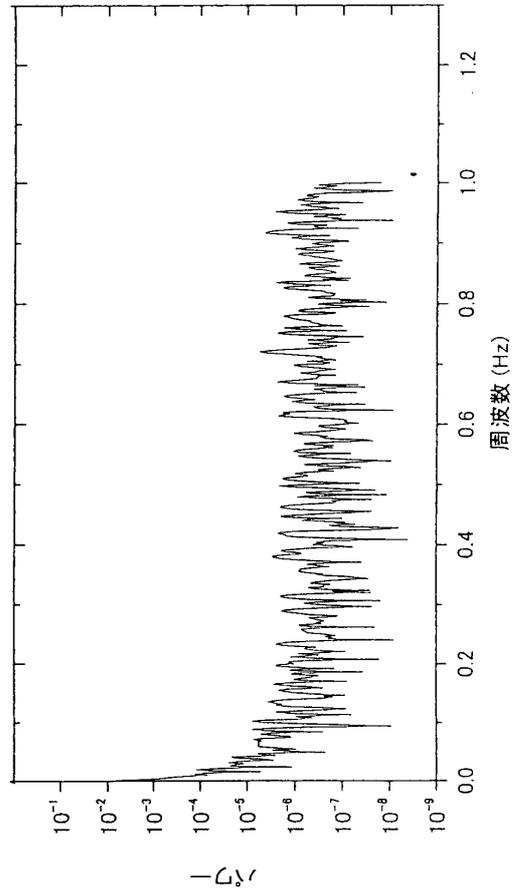
5~10 分後



0~5 分後

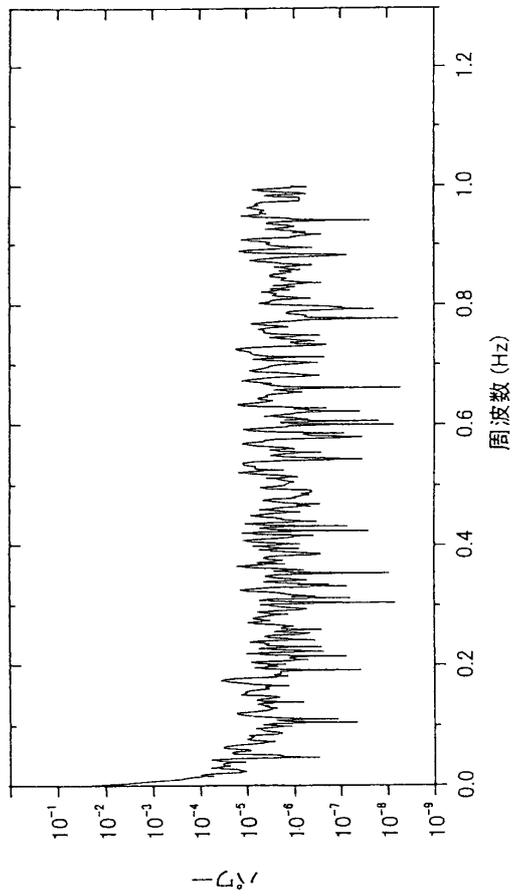


中止後

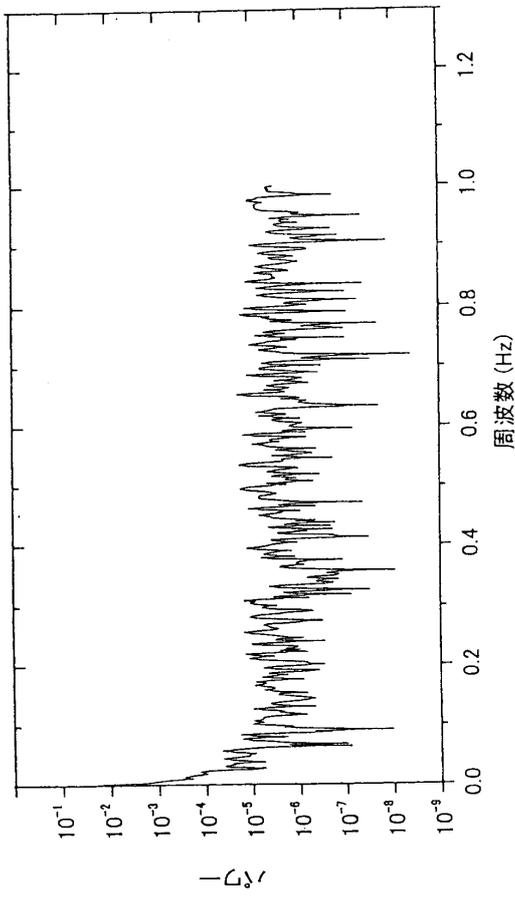


症例 6 40ppb

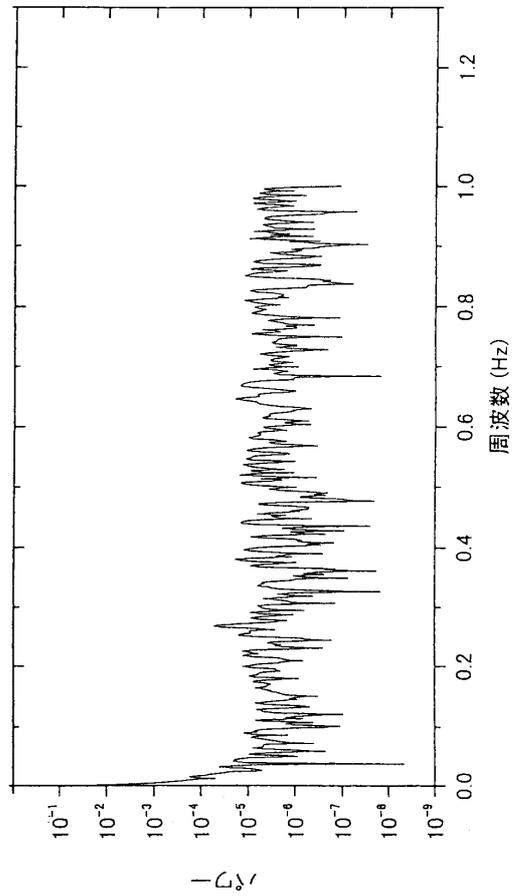
前 5 分



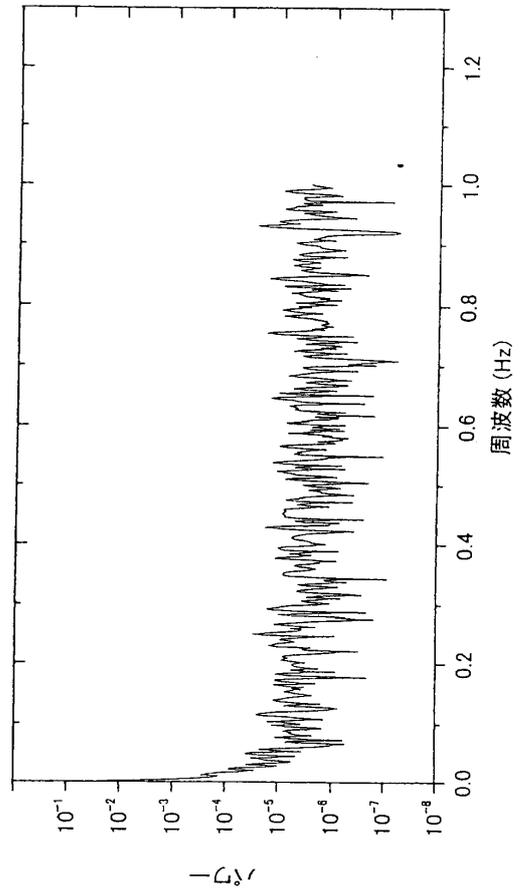
5~10 分後



0~5 分後

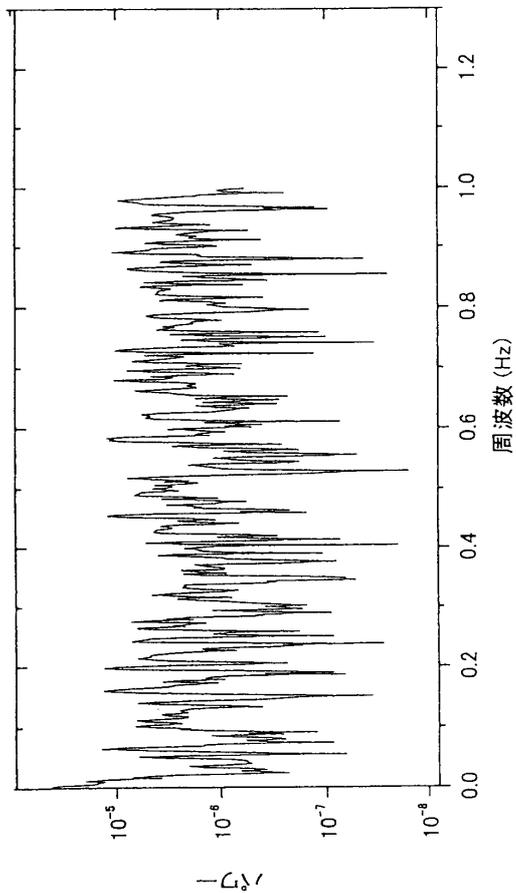


中止後

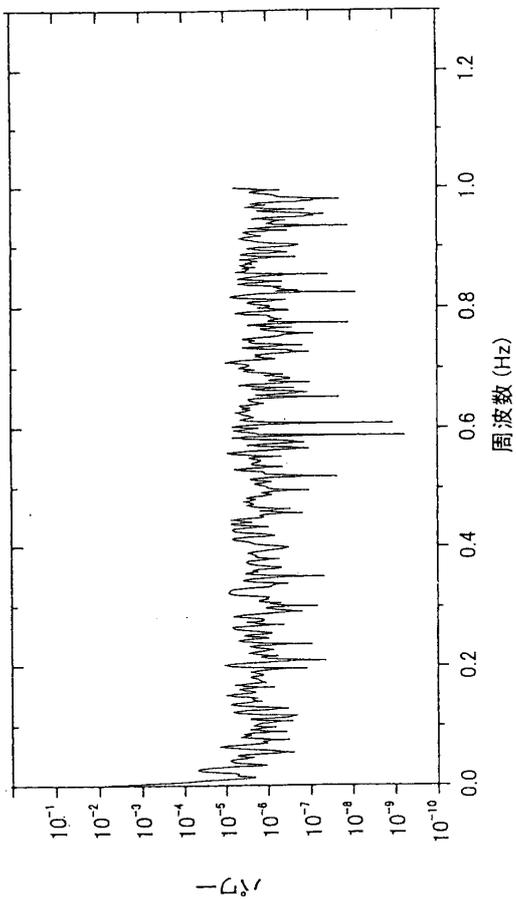


症例7 プラセボ

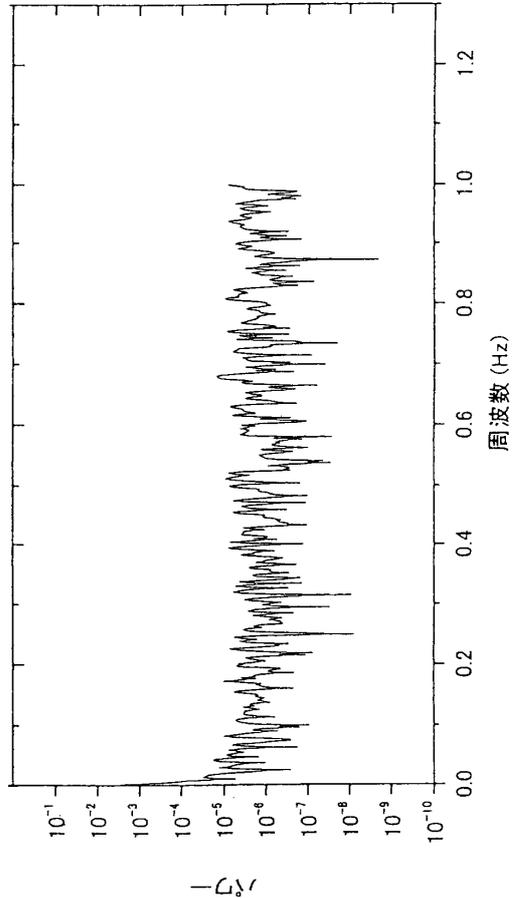
前5分



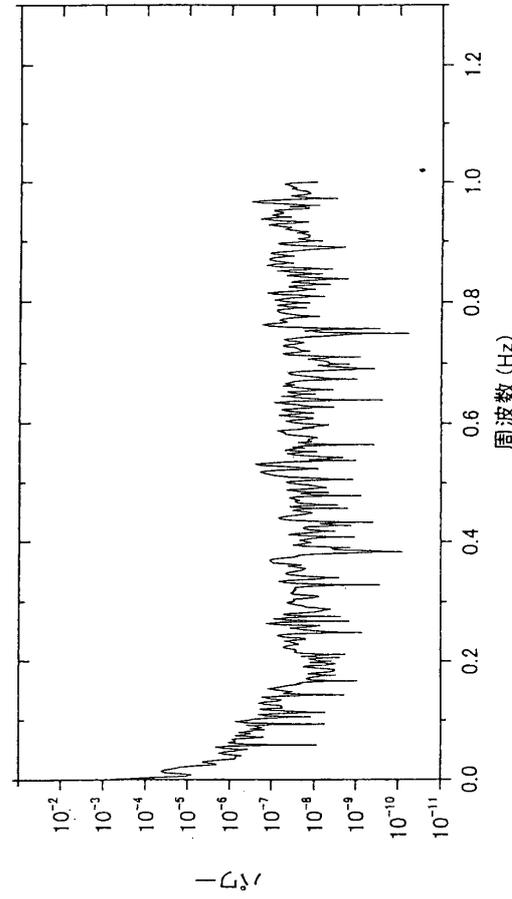
5~10分後



0~5分後

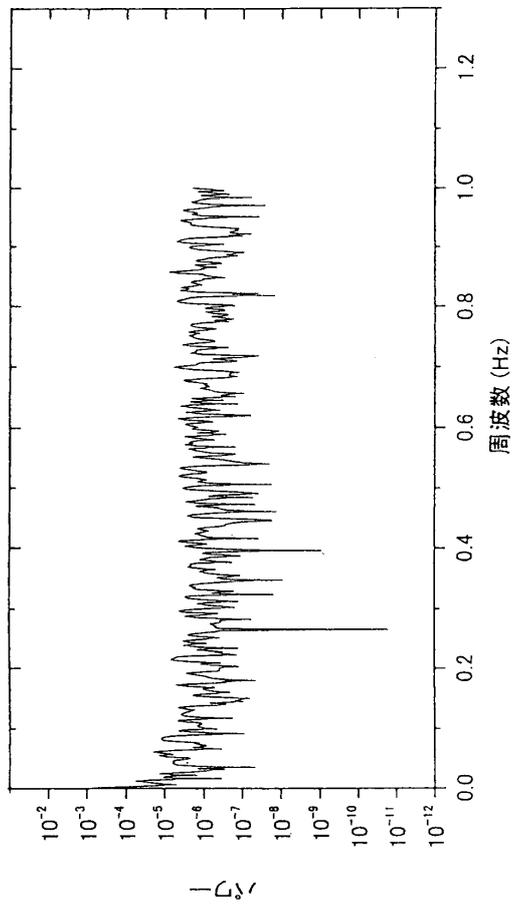


中止後

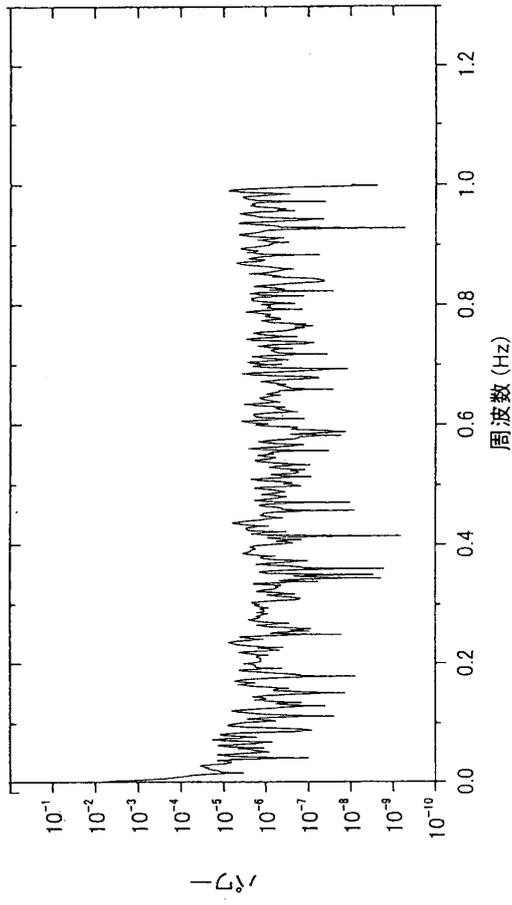


症例 7 8ppb

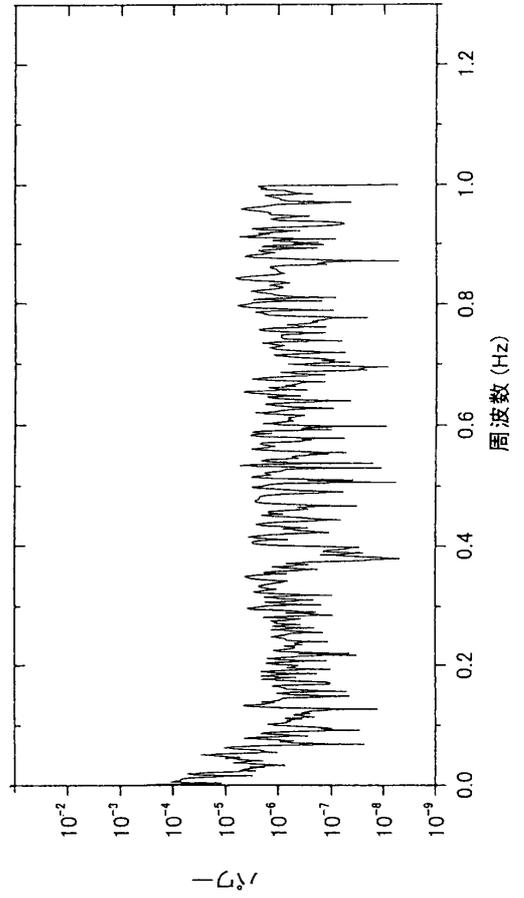
前 5 分



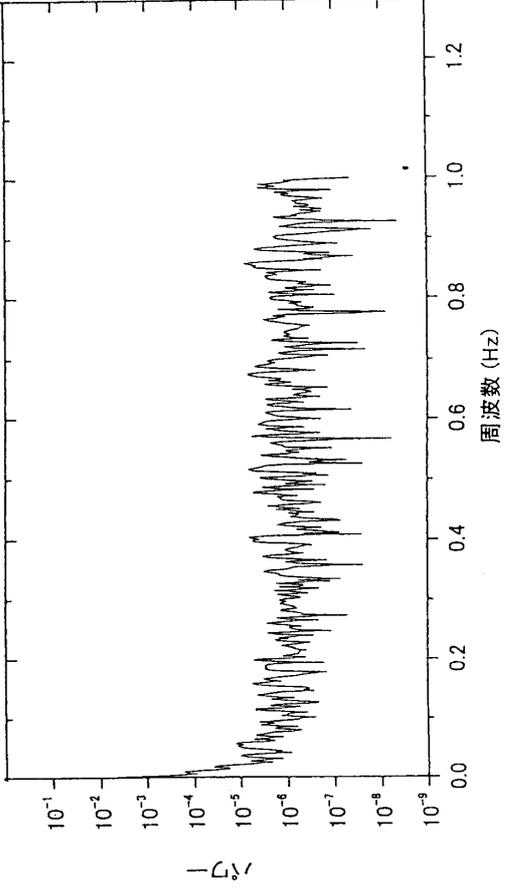
5~10 分後



0~5 分後

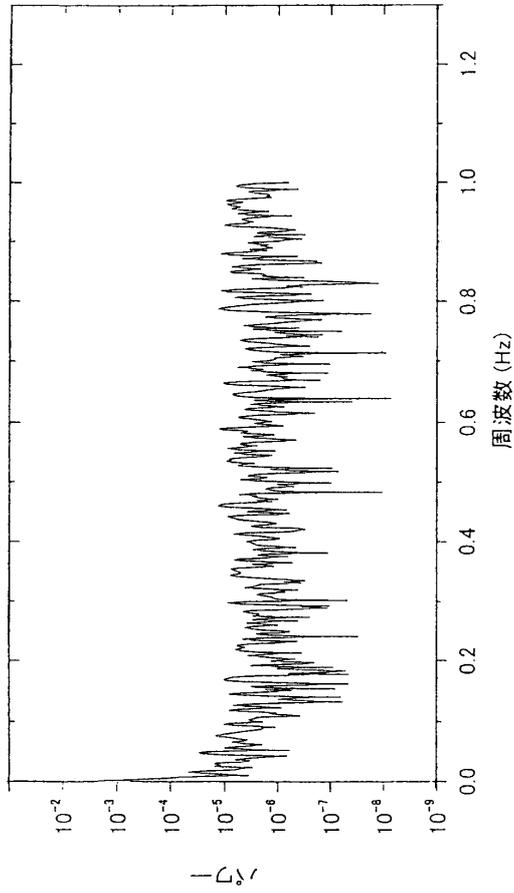


中止後

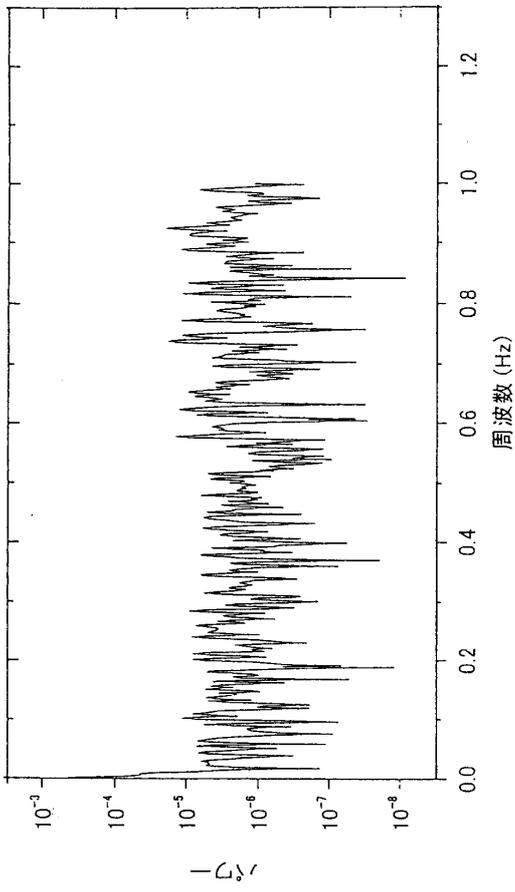


症例 7 40ppb

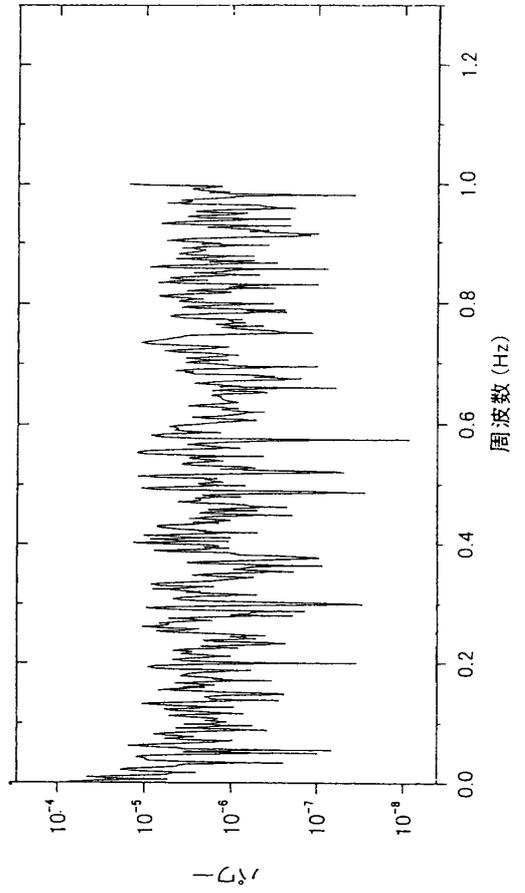
前 5 分



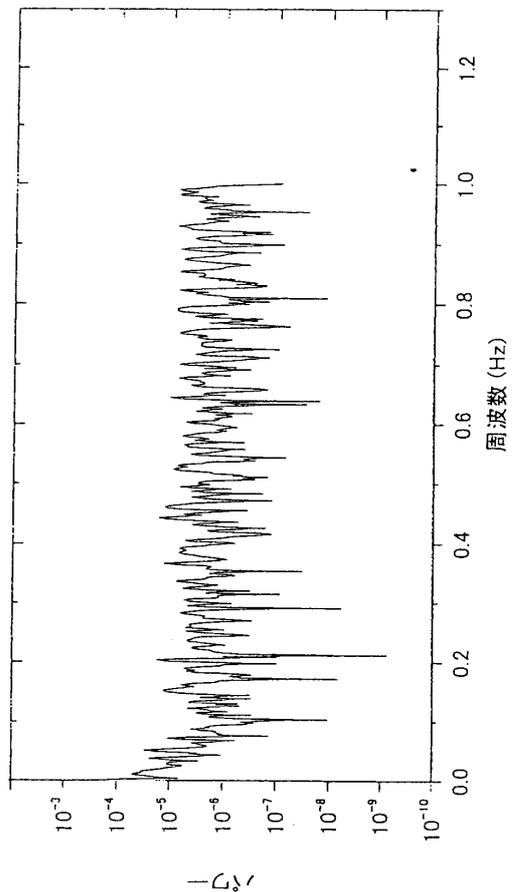
5~10 分後



0~5 分後

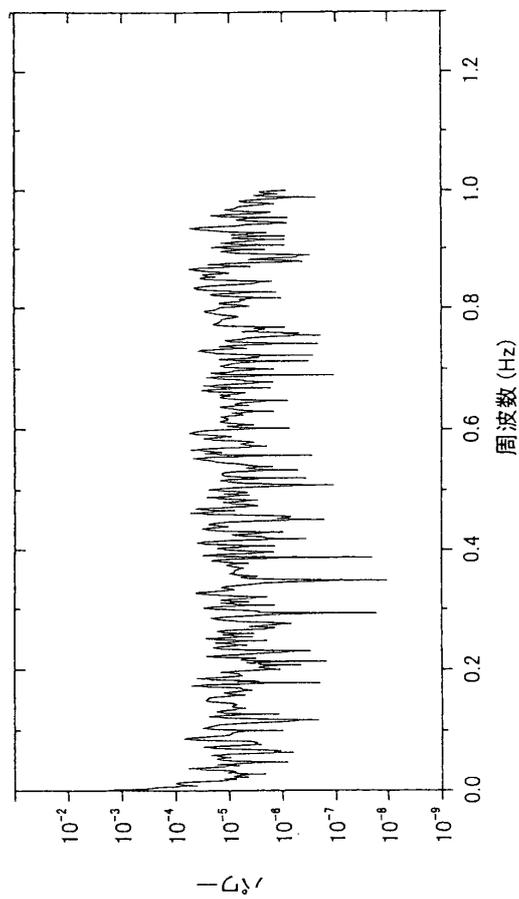


中止後

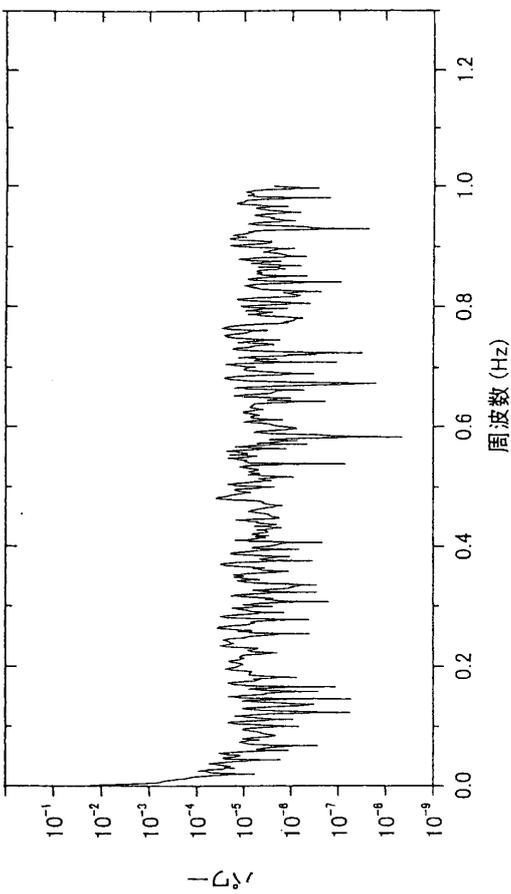


症例8 プラセボ

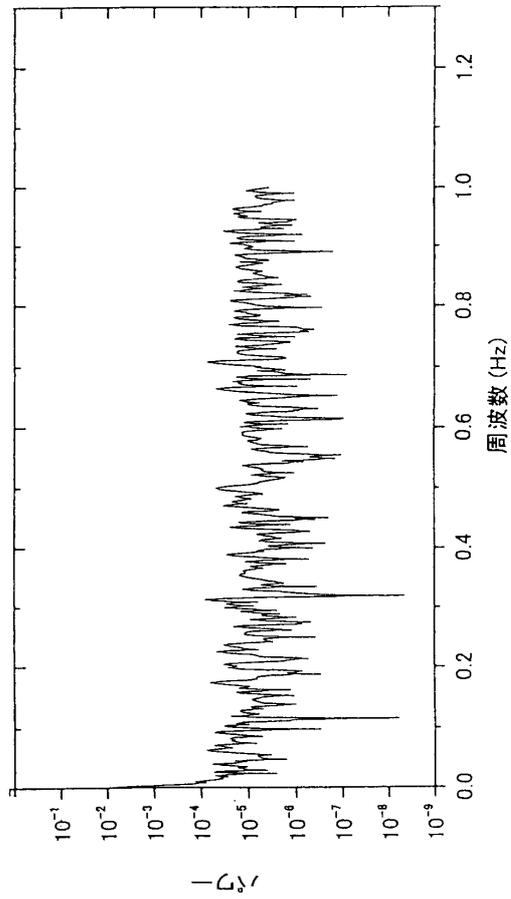
前5分



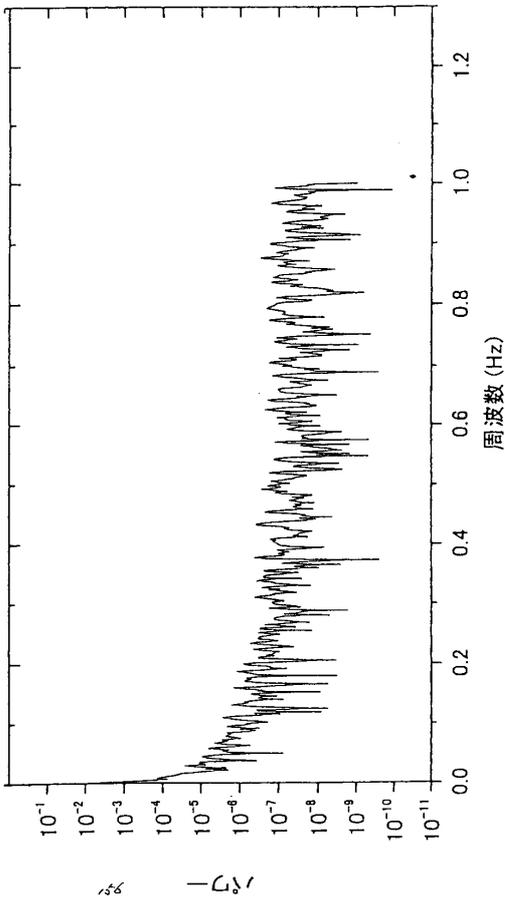
5~10分後



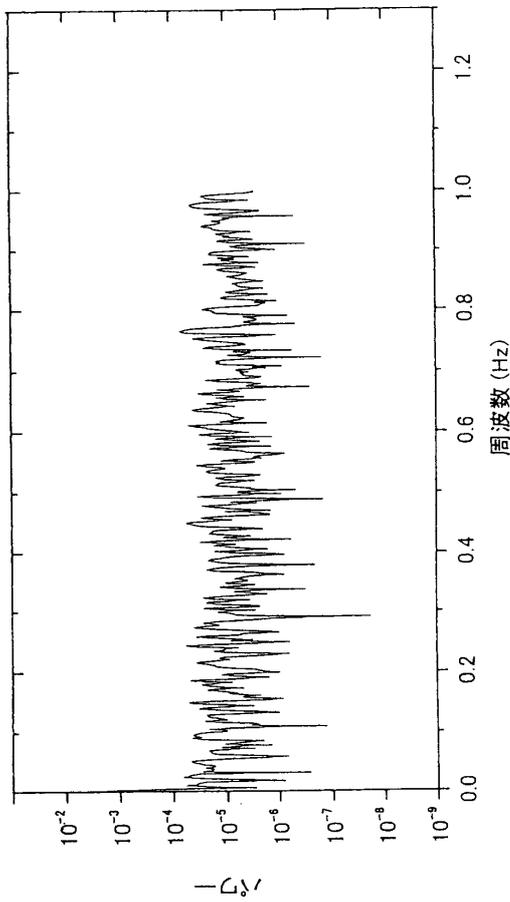
0~5分後



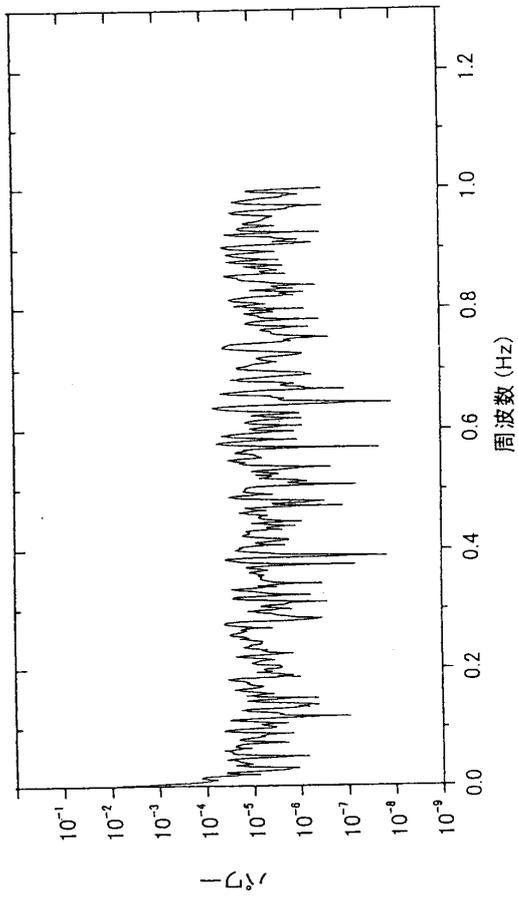
中止後



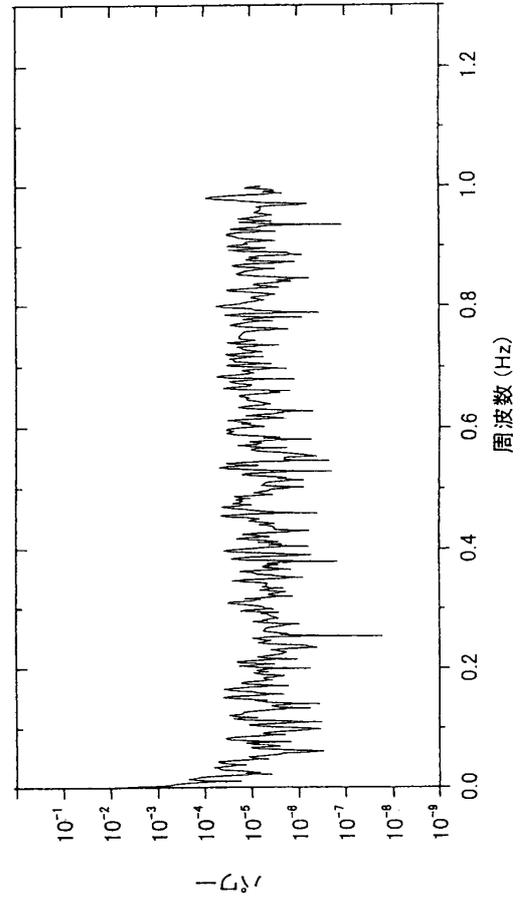
前5分



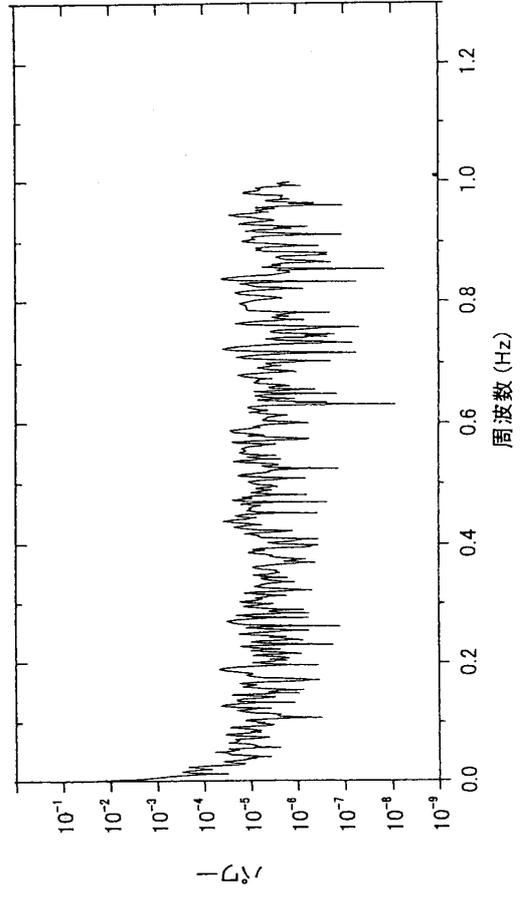
5~10分後



0~5分後

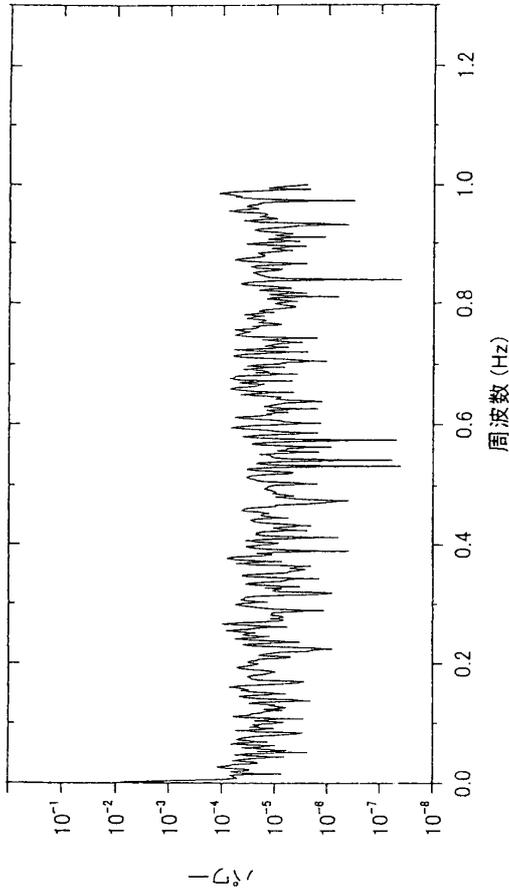


中止後

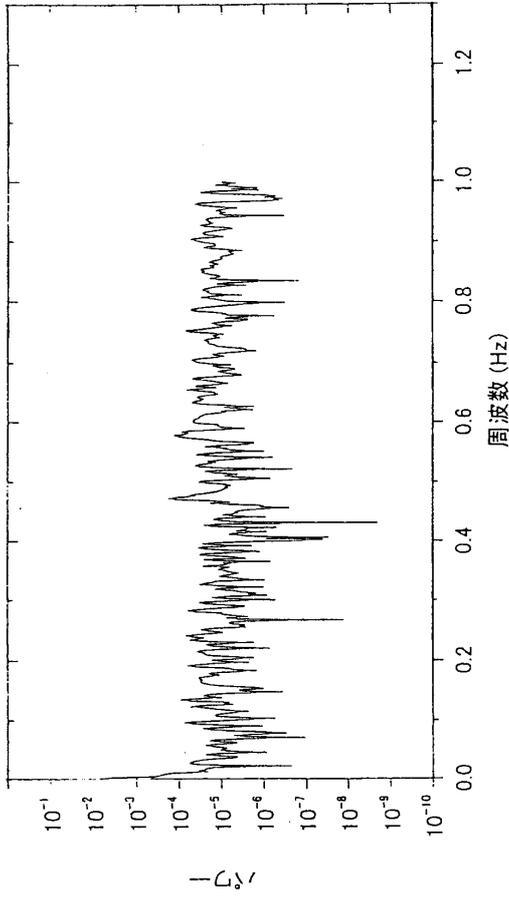


症例 8 40ppb

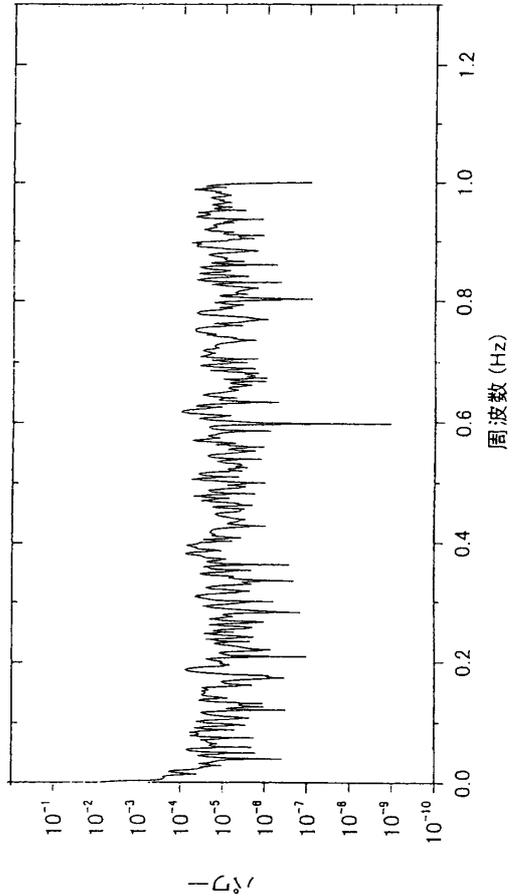
前 5 分



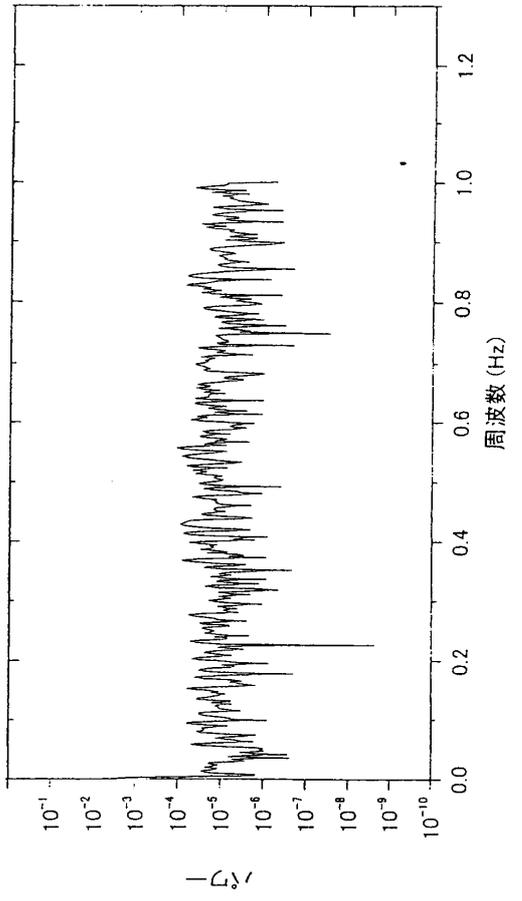
5~10 分後



0~5 分後

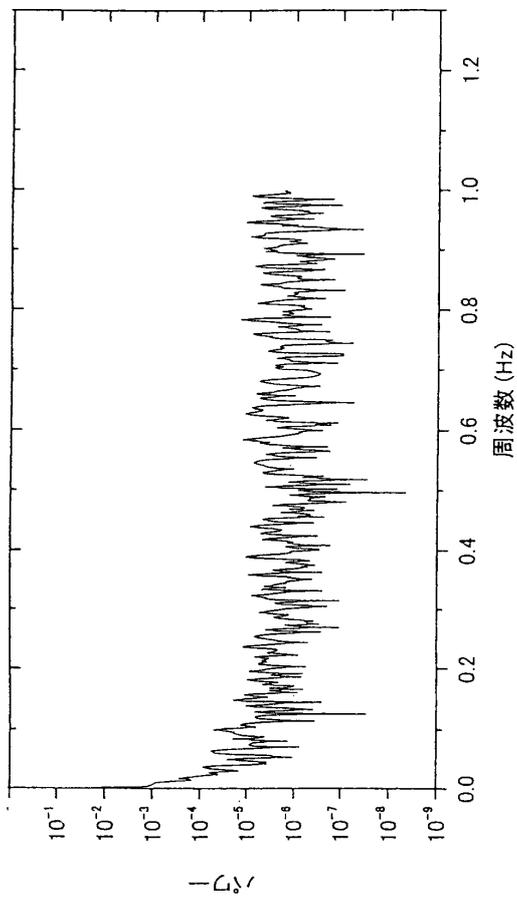


中止後

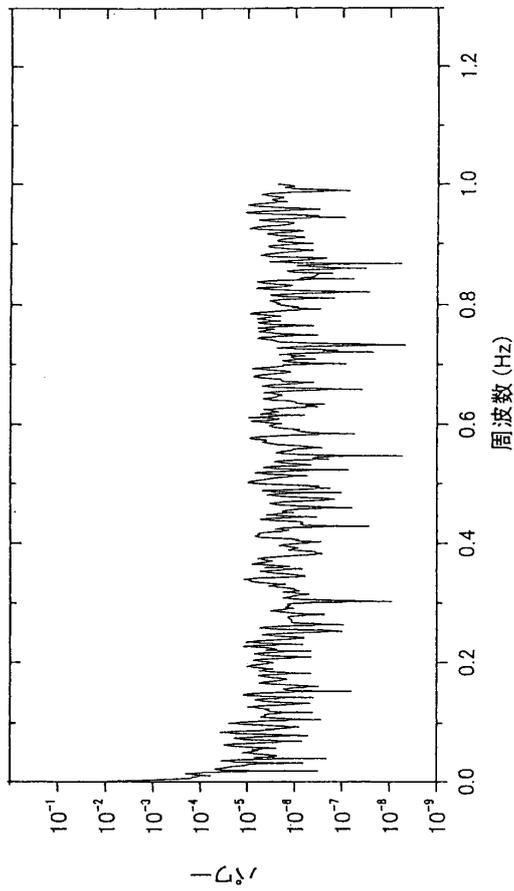


症例9 プラセボ

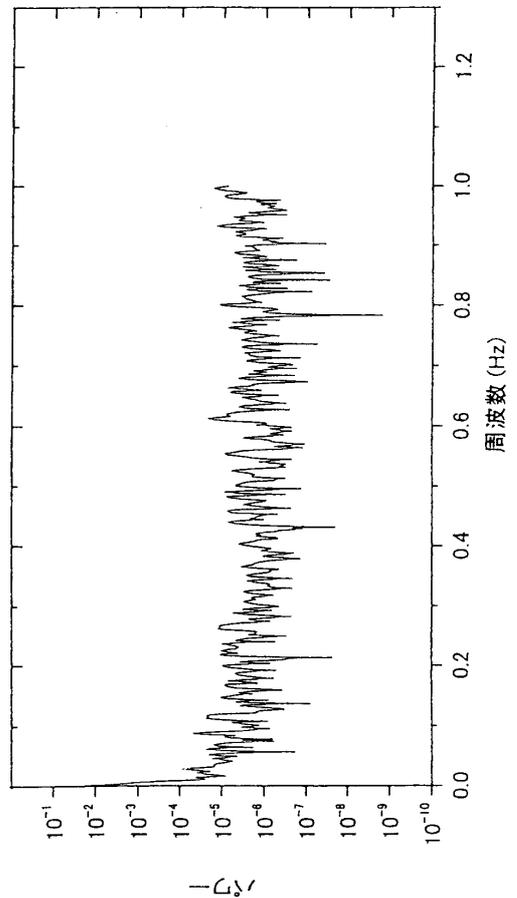
前5分



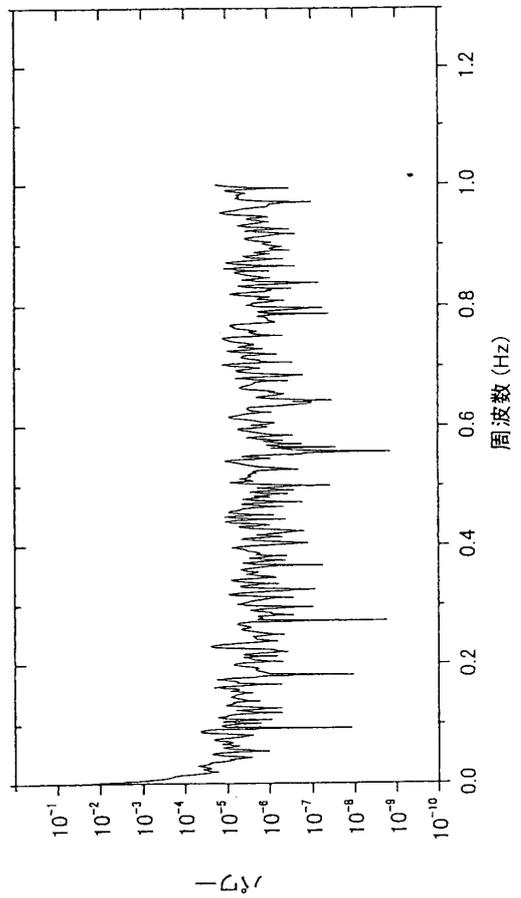
5~10分後



0~5分後

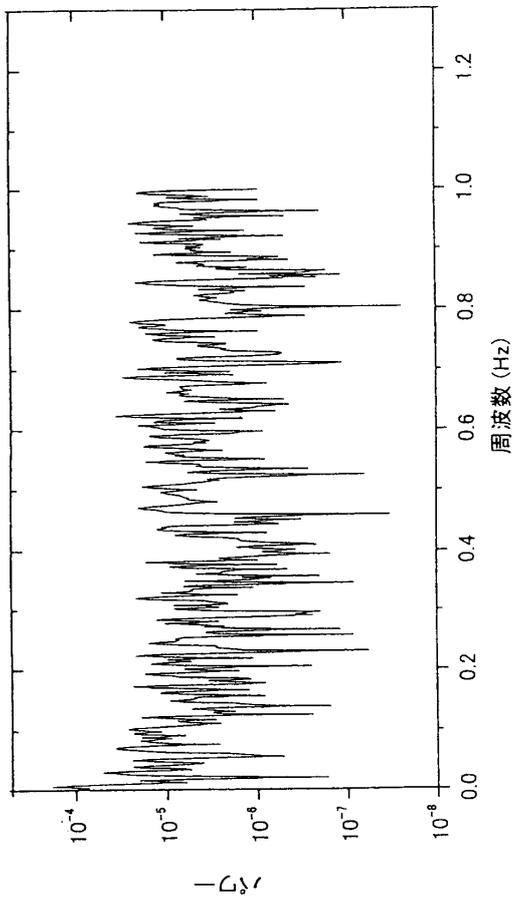


中止後

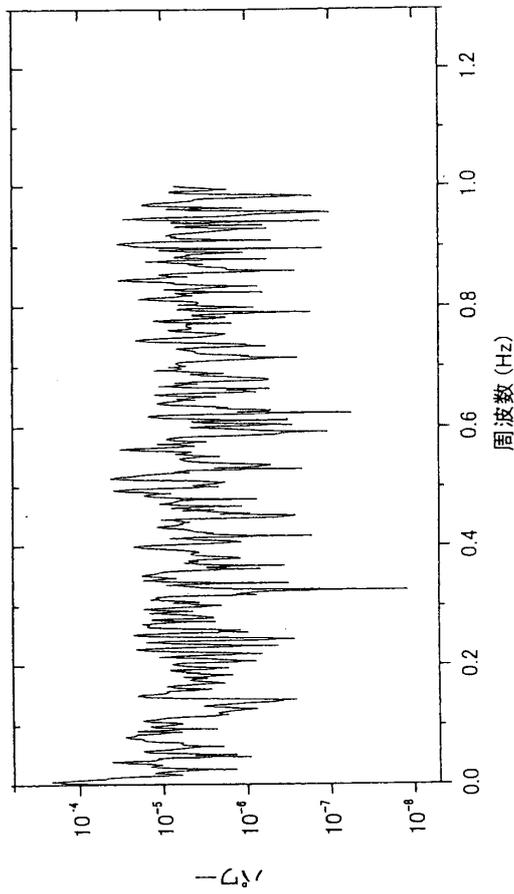


症例 9 8ppb

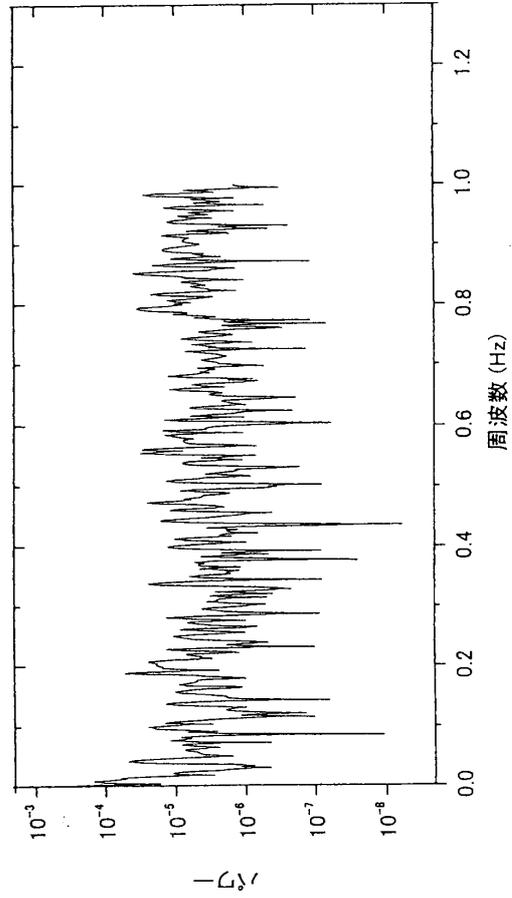
前 5 分



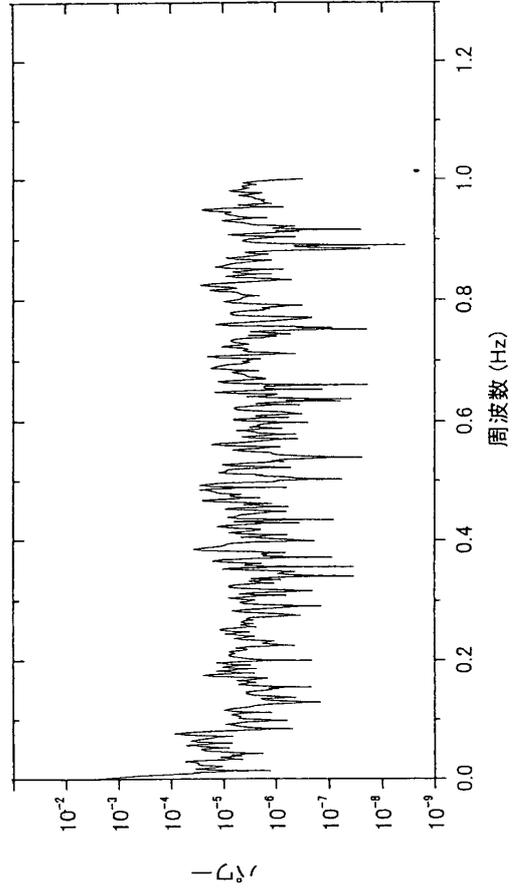
5~10 分後



0~5 分後

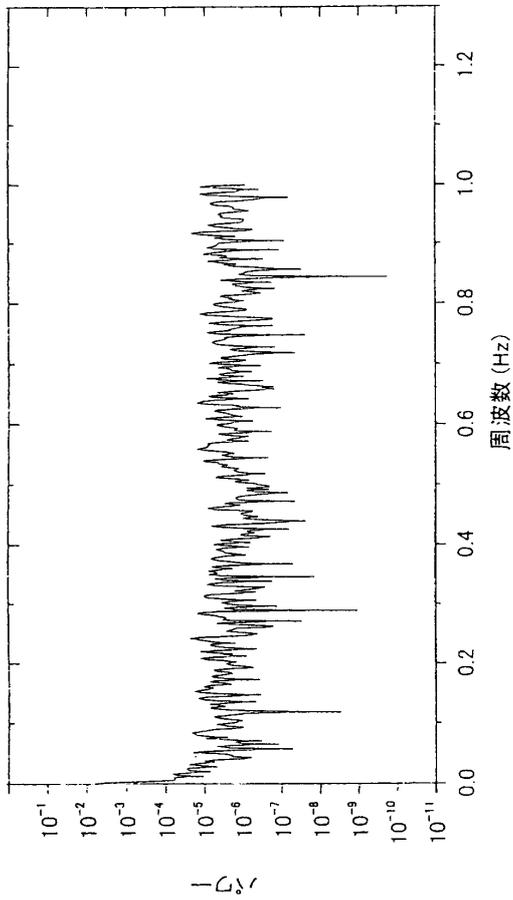


中止後

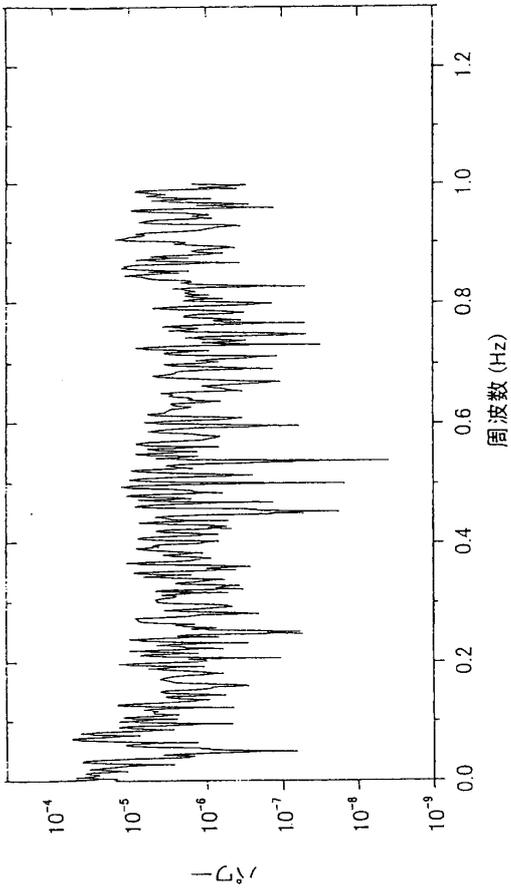


症例9 40ppb

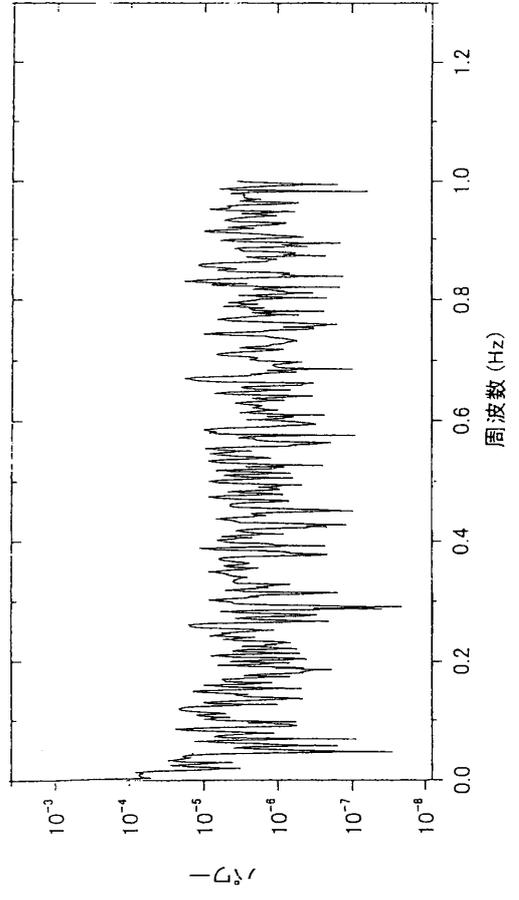
前5分



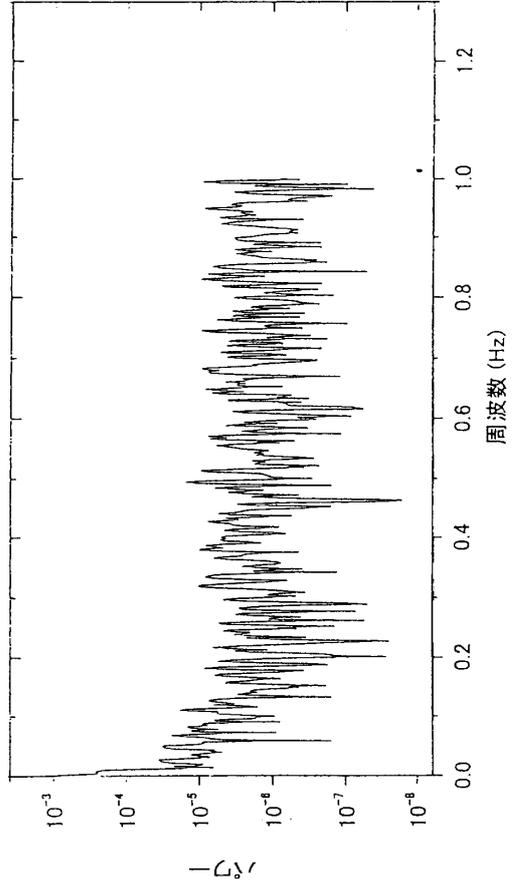
5~10分後



0~5分後

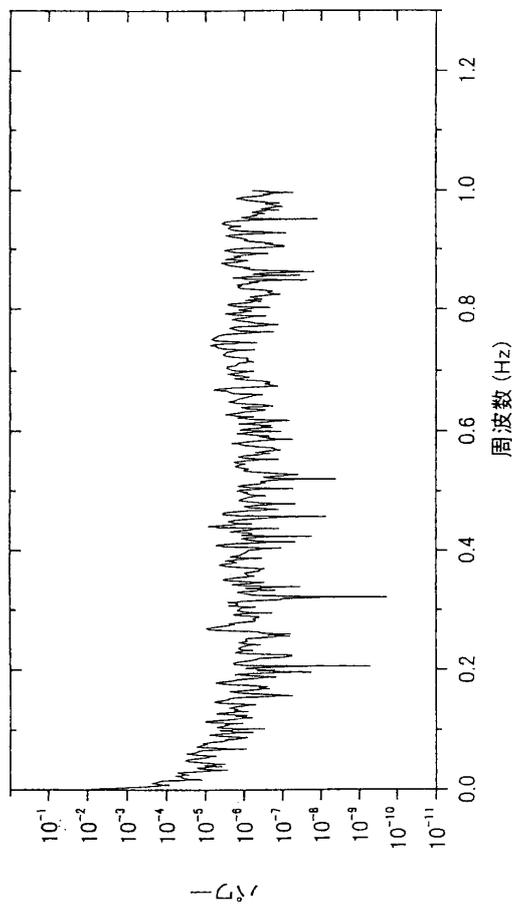


中止後

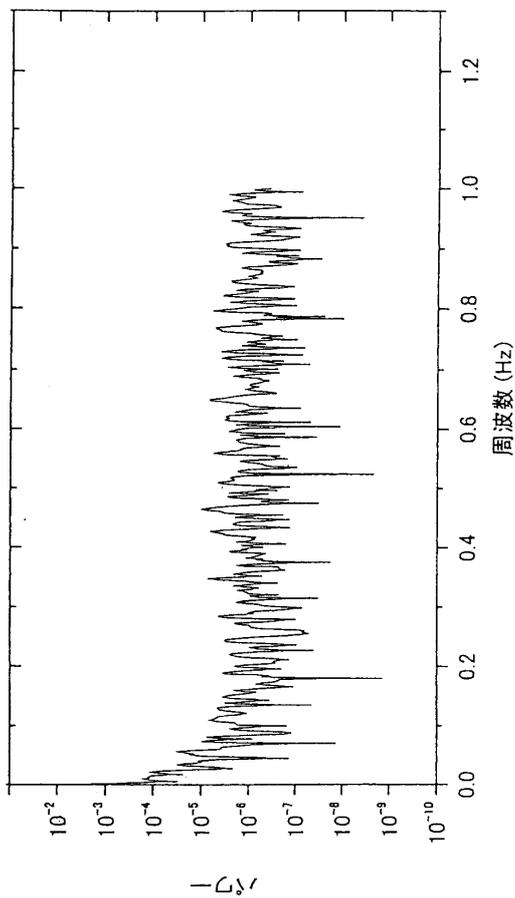


症例 10 プラセボ

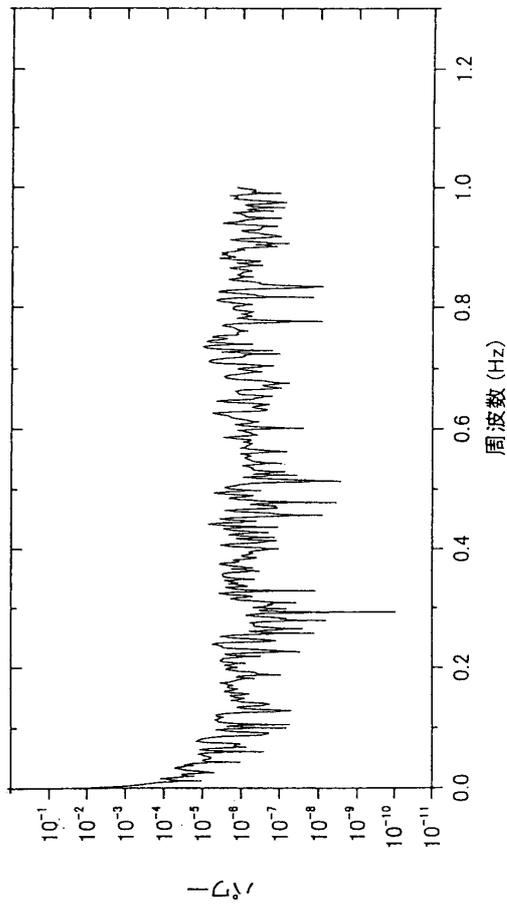
前 5 分



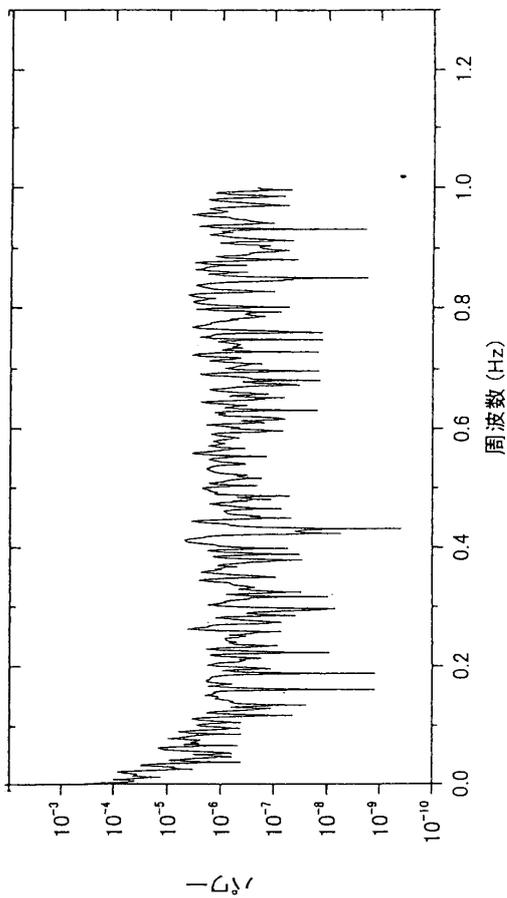
5~10 分後



0~5 分後

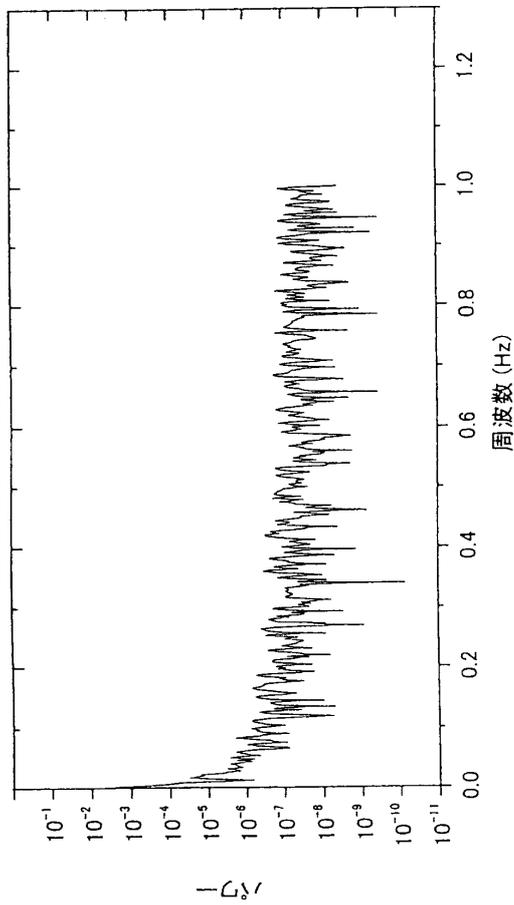


中止後

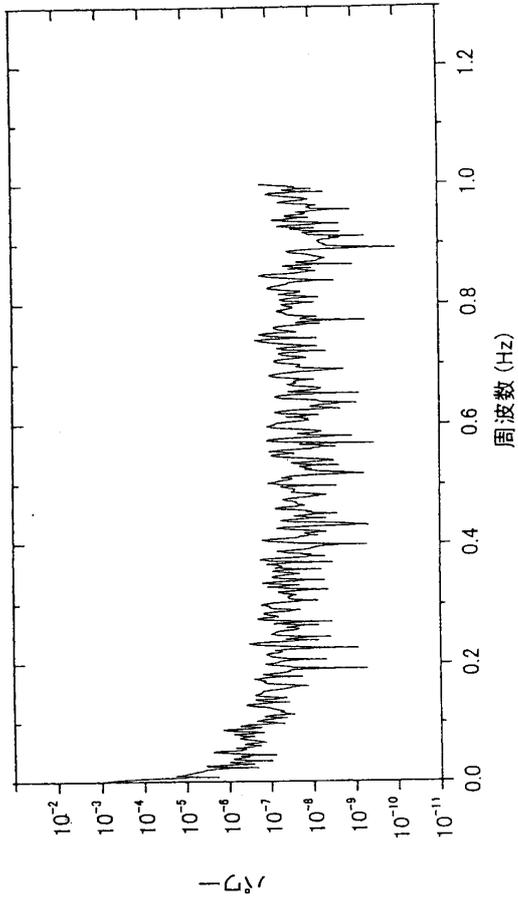


症例 10 8ppb

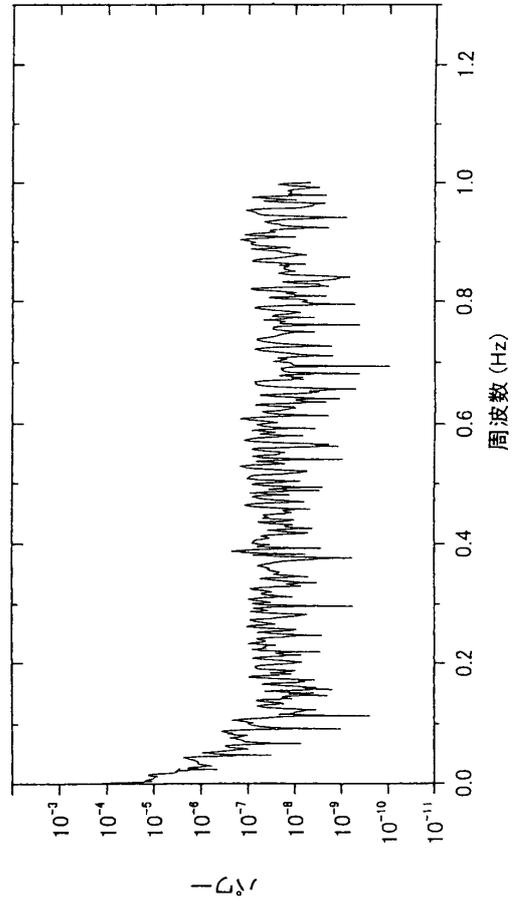
前 5 分



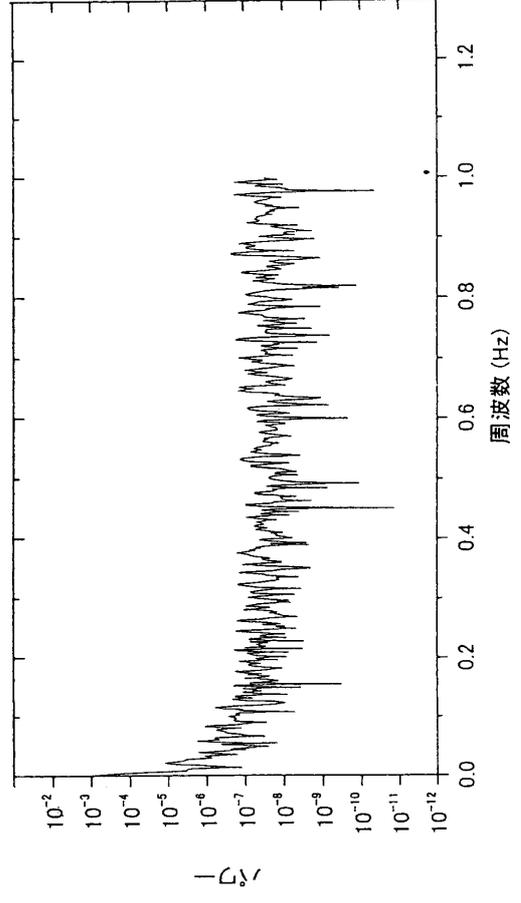
5~10 分後



0~5 分後

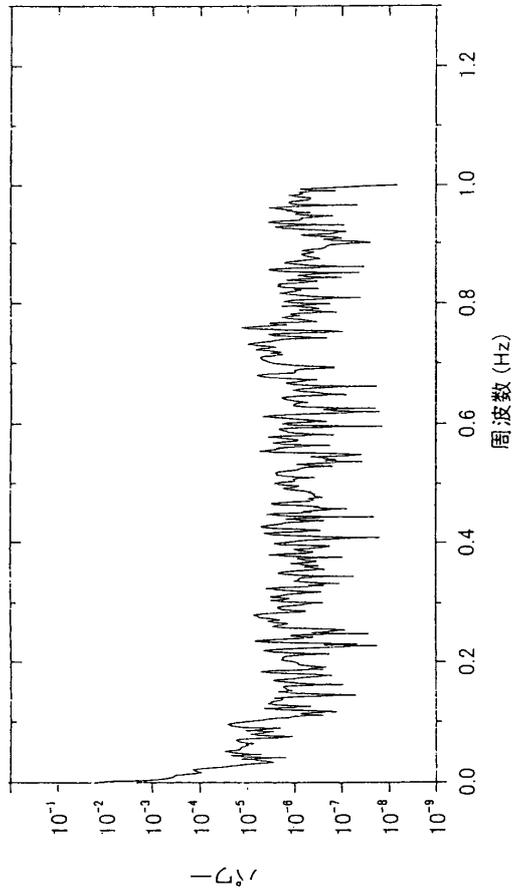


中止後

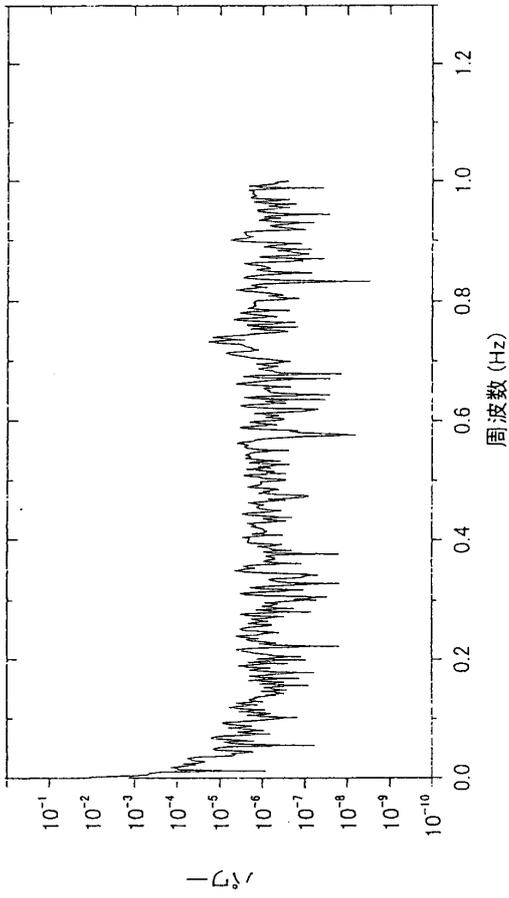


症例 10 40ppb

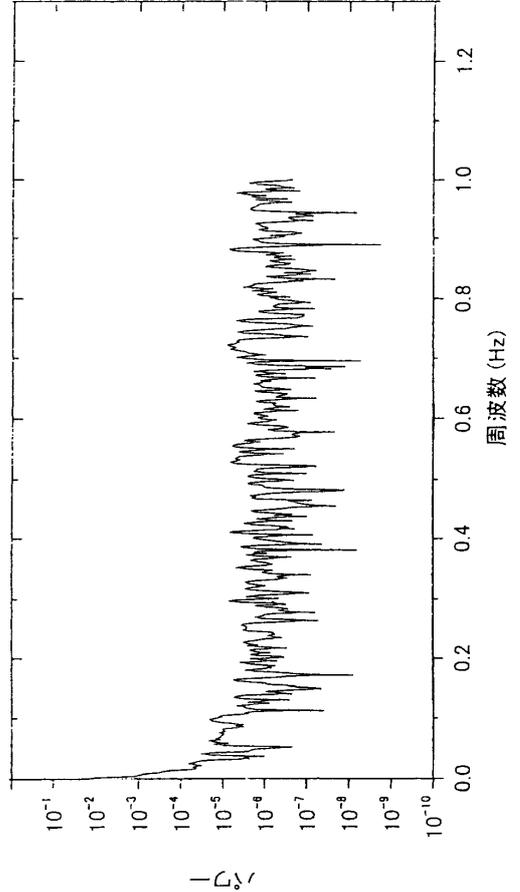
前 5 分



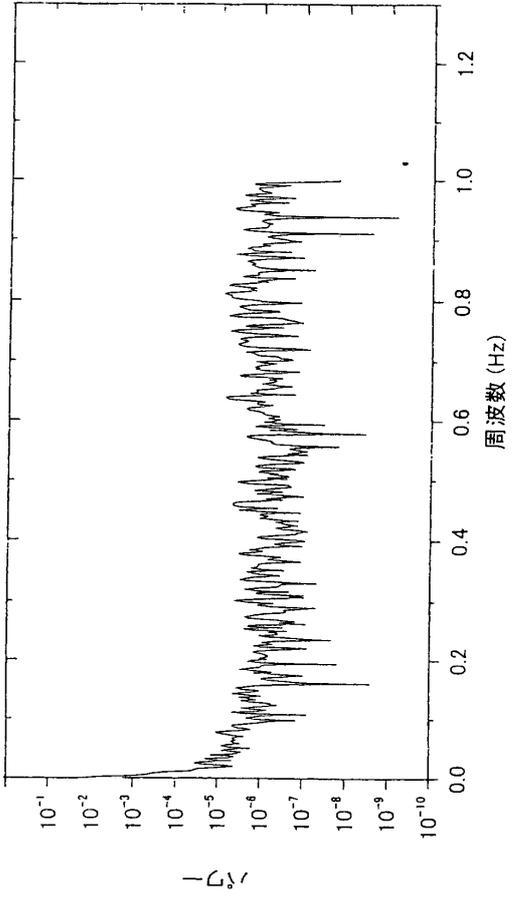
5~10 分後



0~5 分後

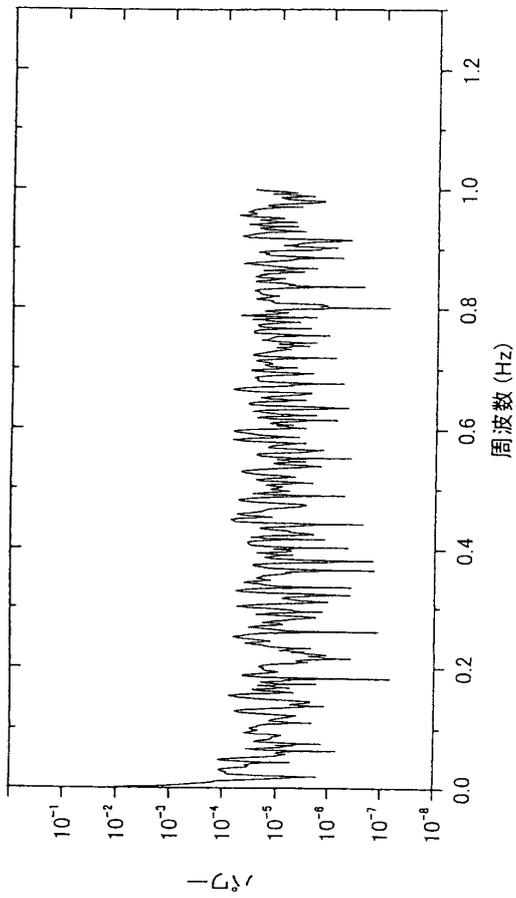


中止後

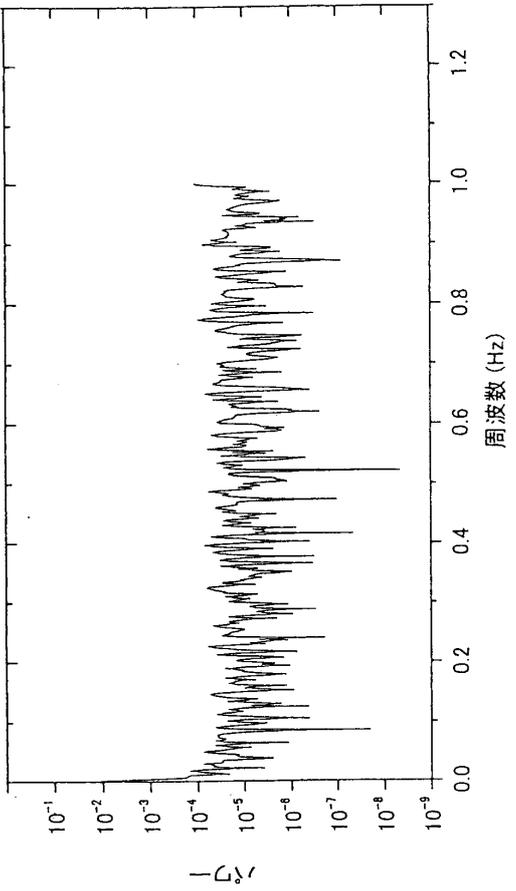


症例 11 プラセボ

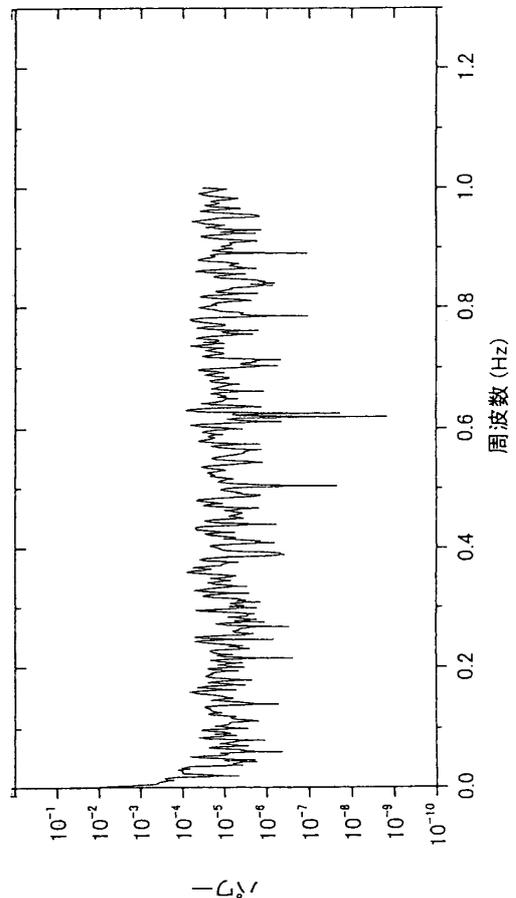
前 5 分



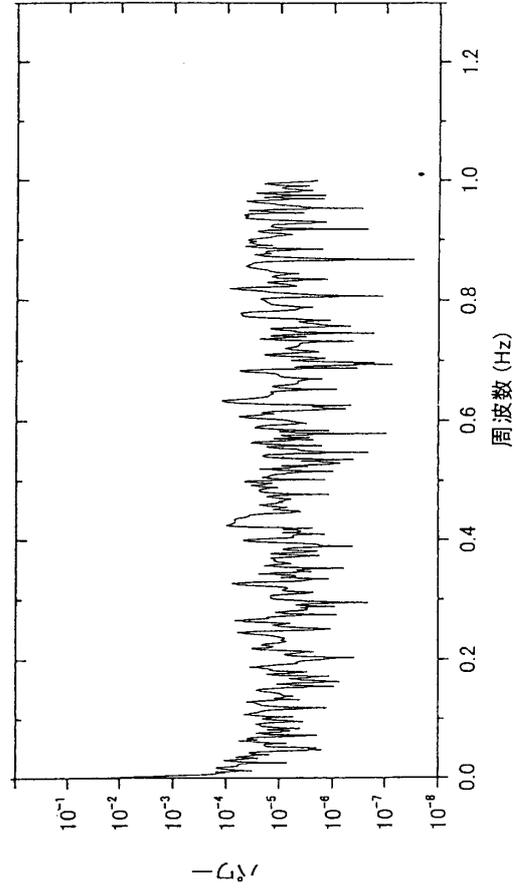
5~10 分後



0~5 分後

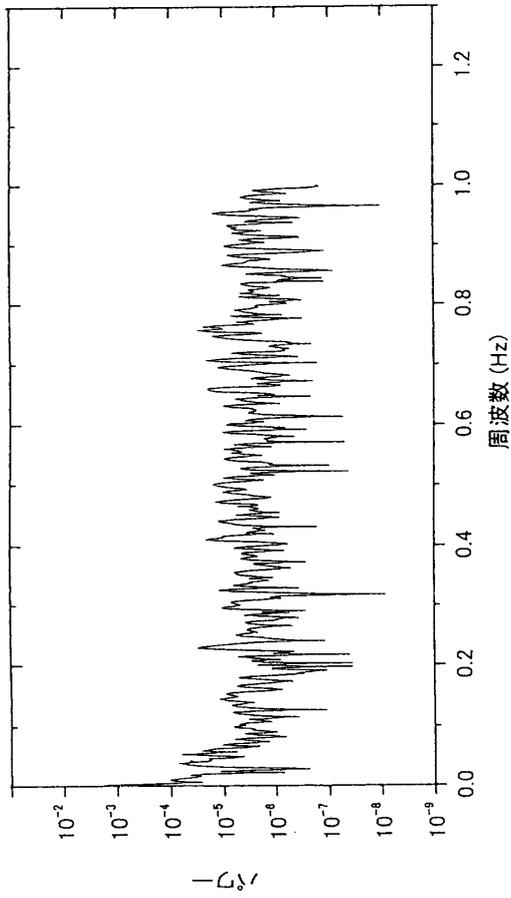


中止後

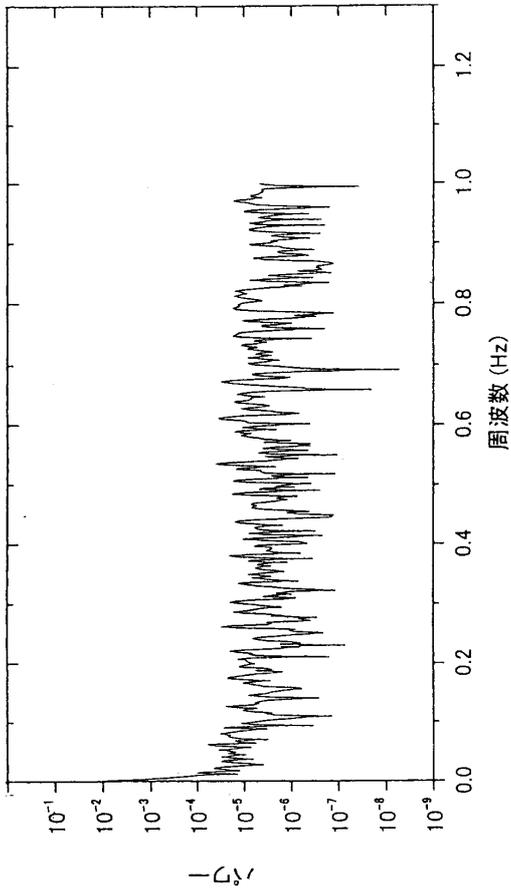


症例 11 8ppb

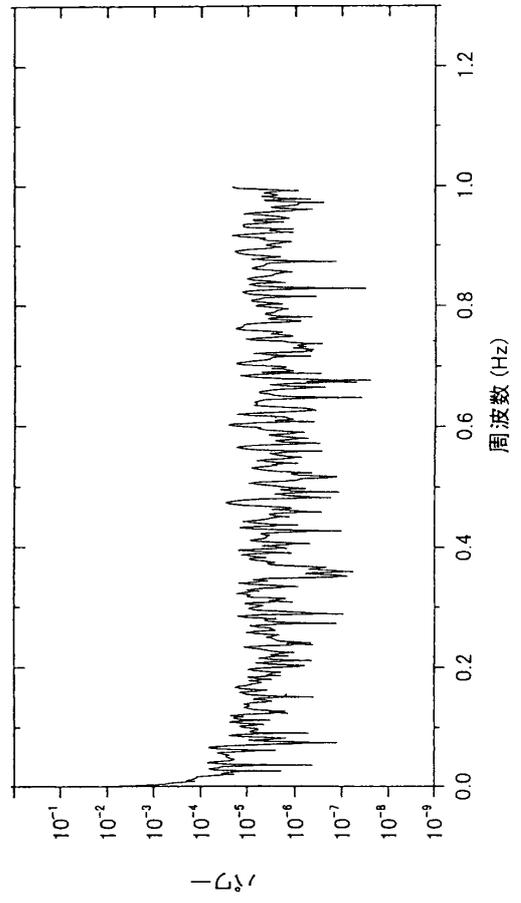
前 5 分



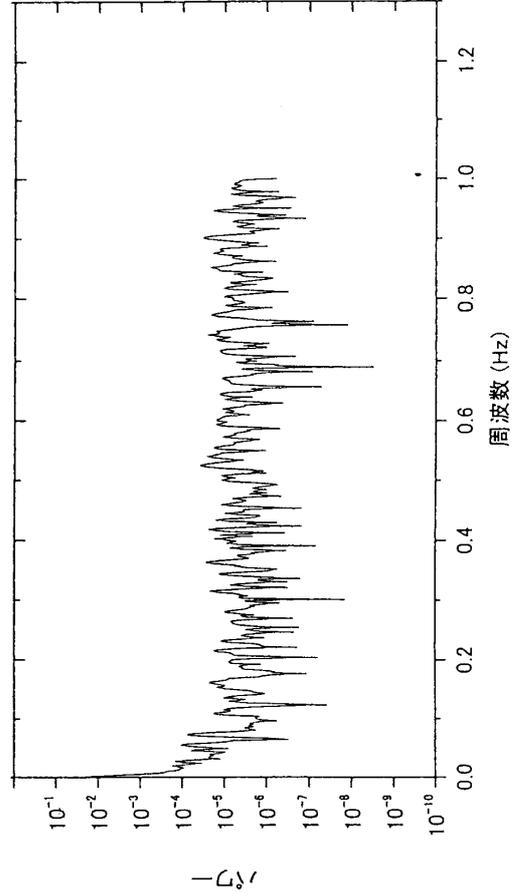
5~10 分後



0~5 分後

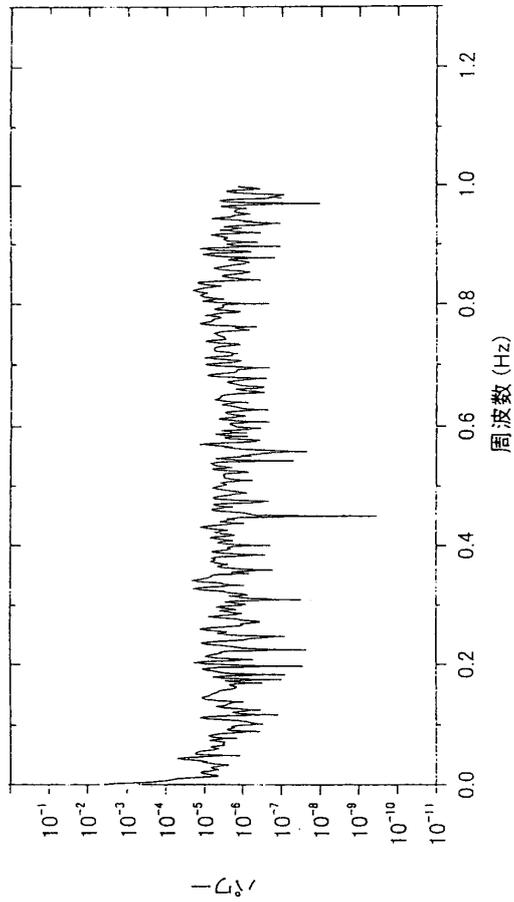


中止後

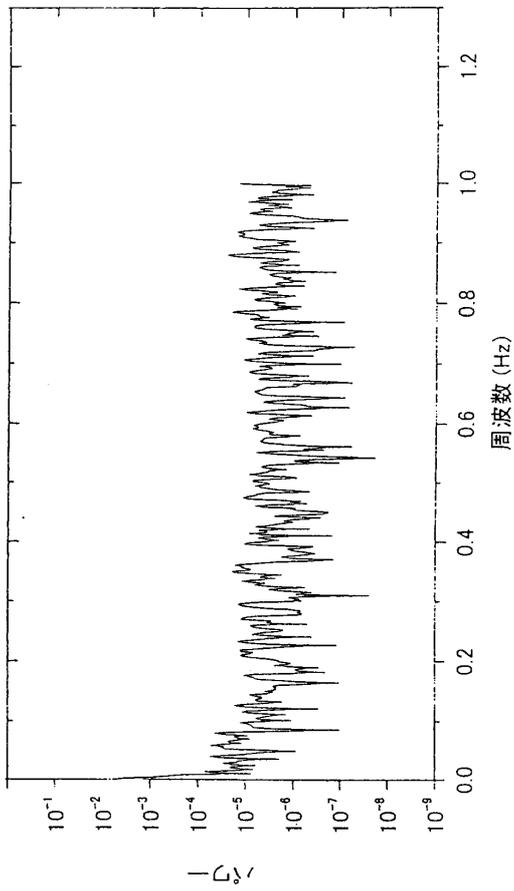


症例 11 40ppb

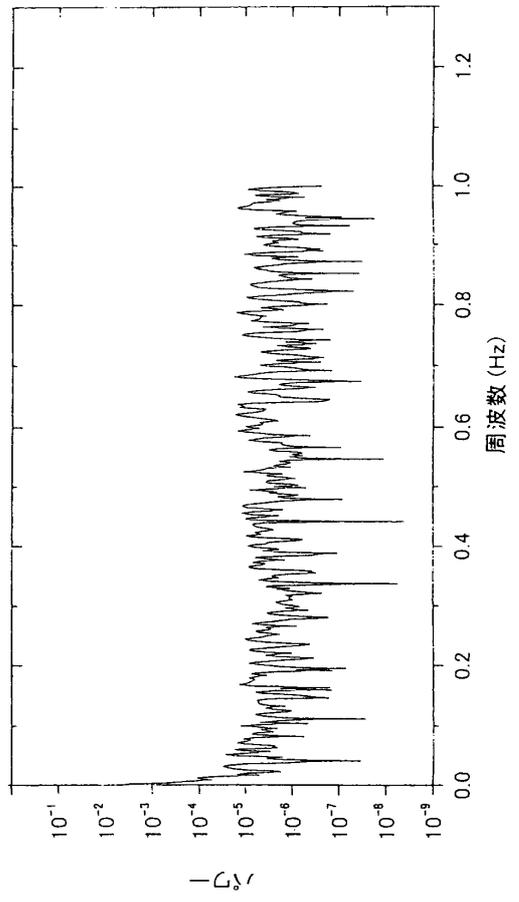
前 5 分



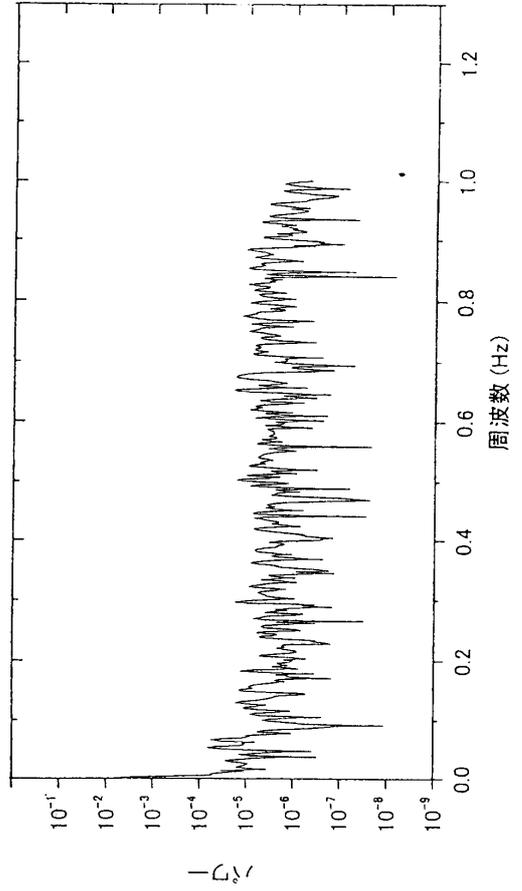
5~10 分後



0~5 分後

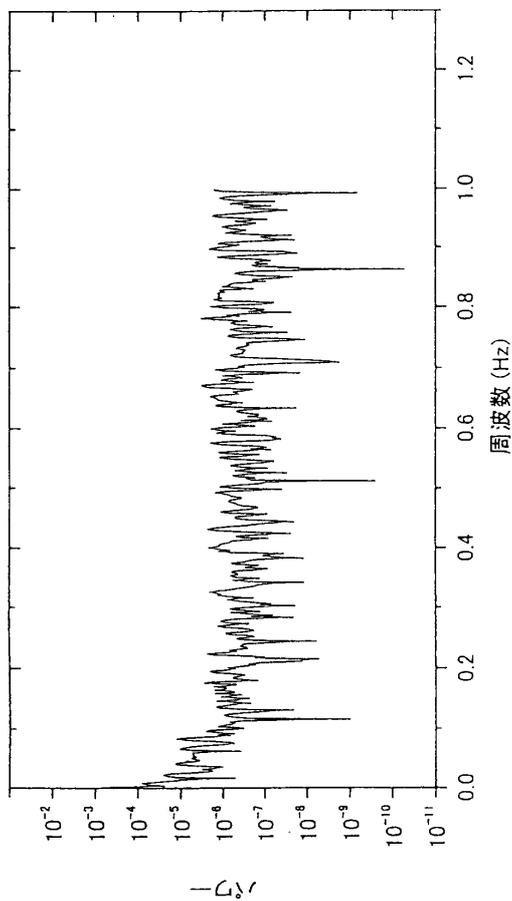


中止後

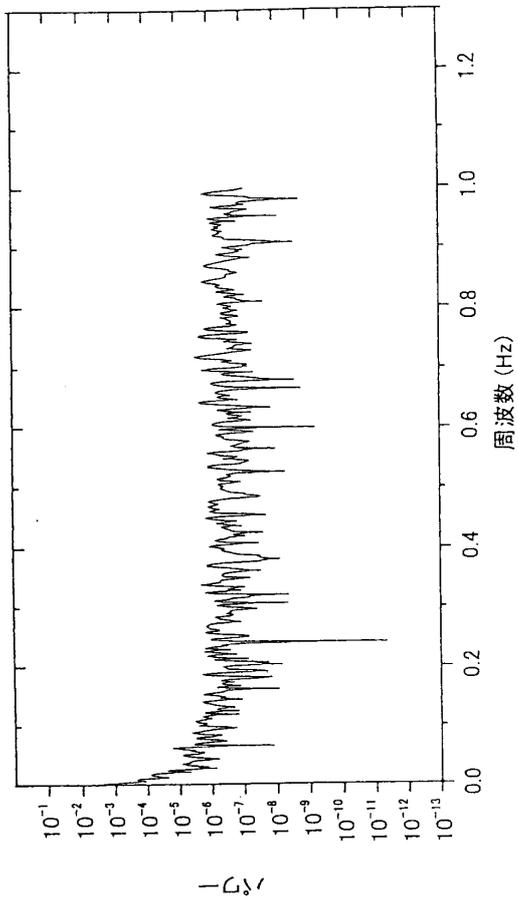


症例 12 プラセボ

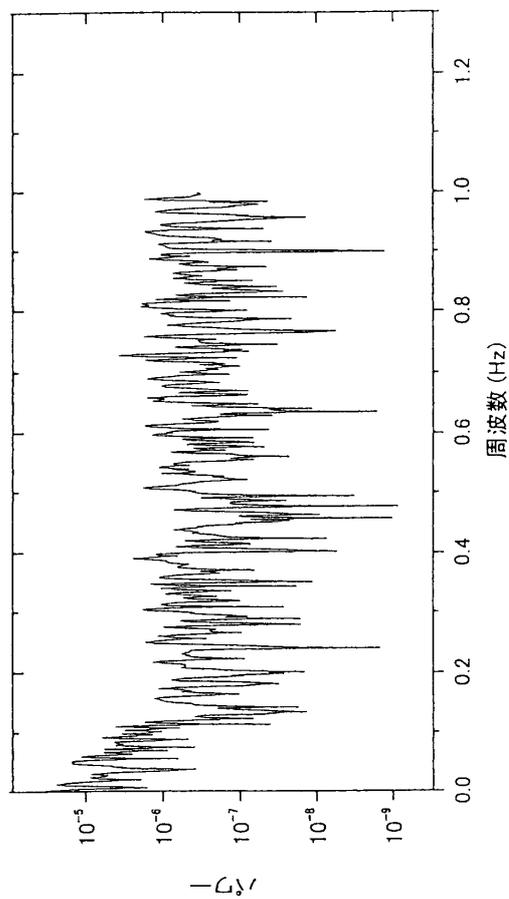
前 5 分



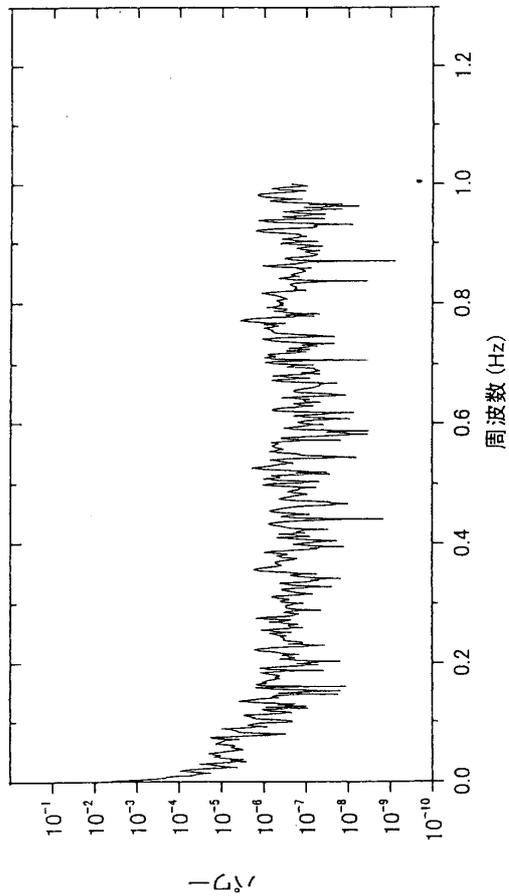
5~10 分後



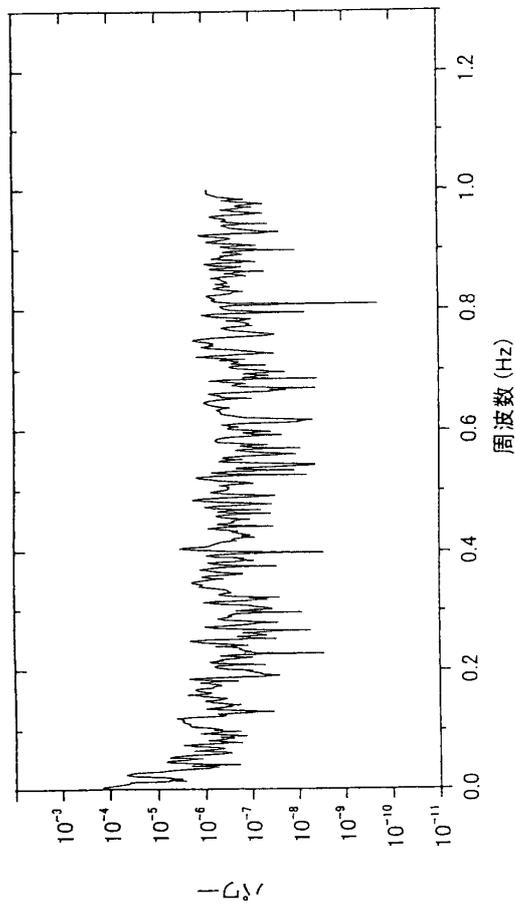
0~5 分後



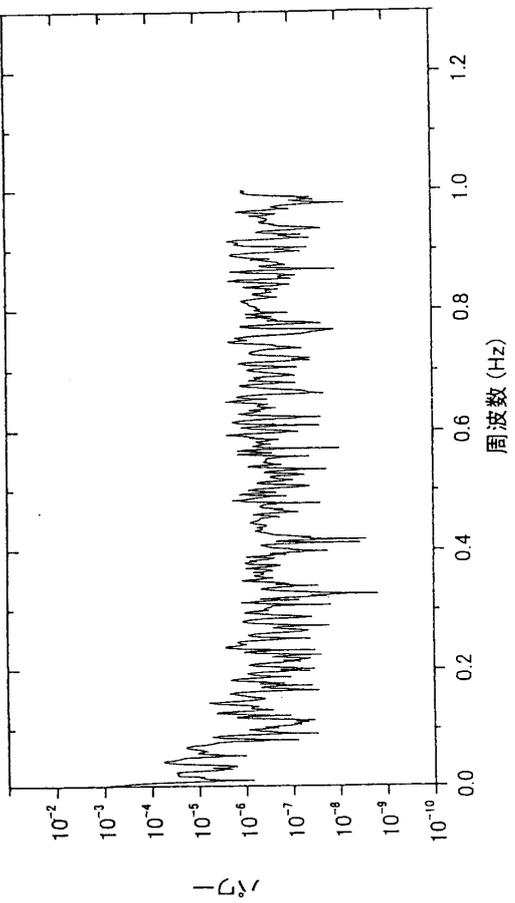
中止後



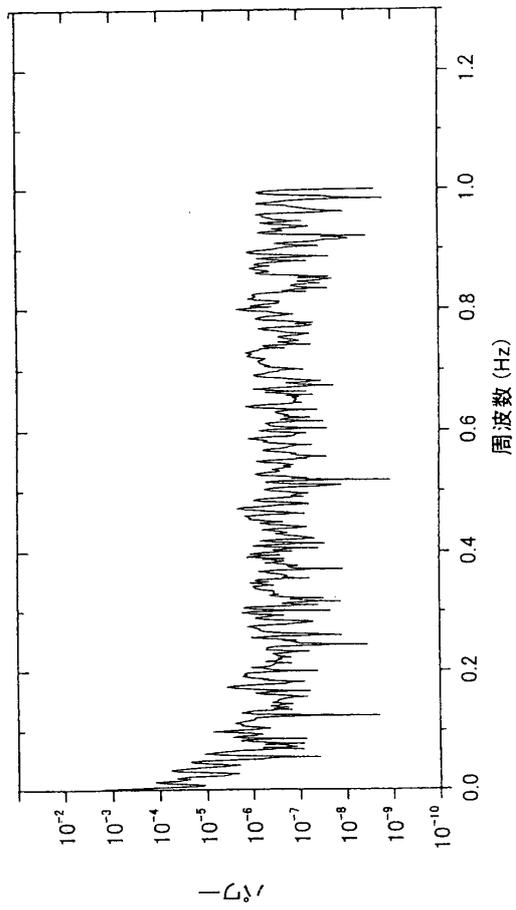
前 5 分



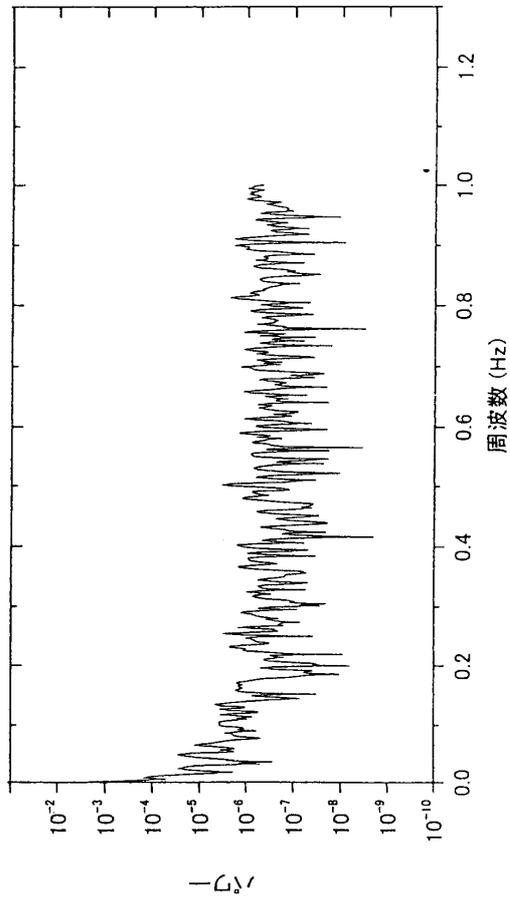
5~10 分後



0~5 分後

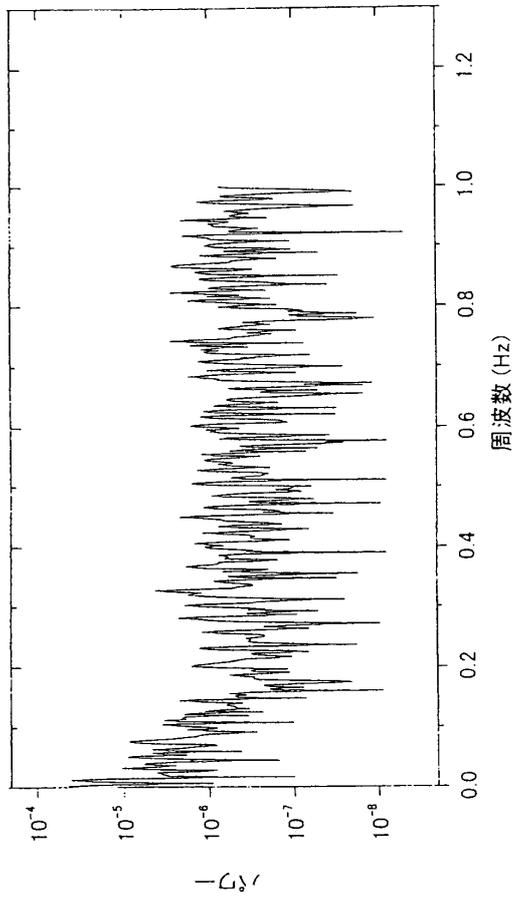


中止後

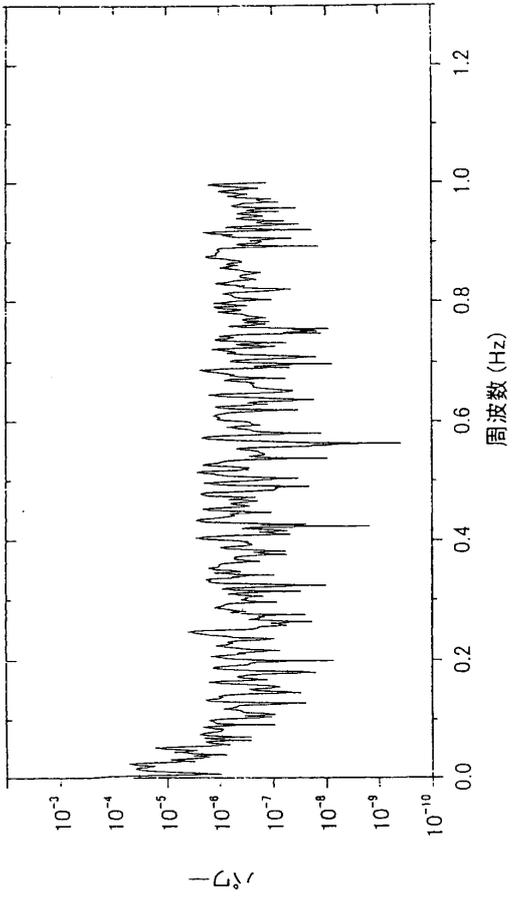


症例 12 40ppb

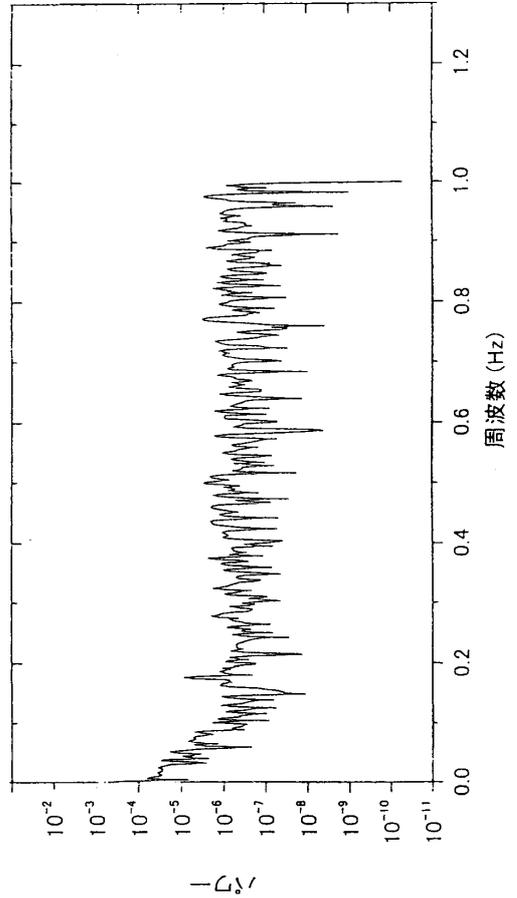
前 5 分



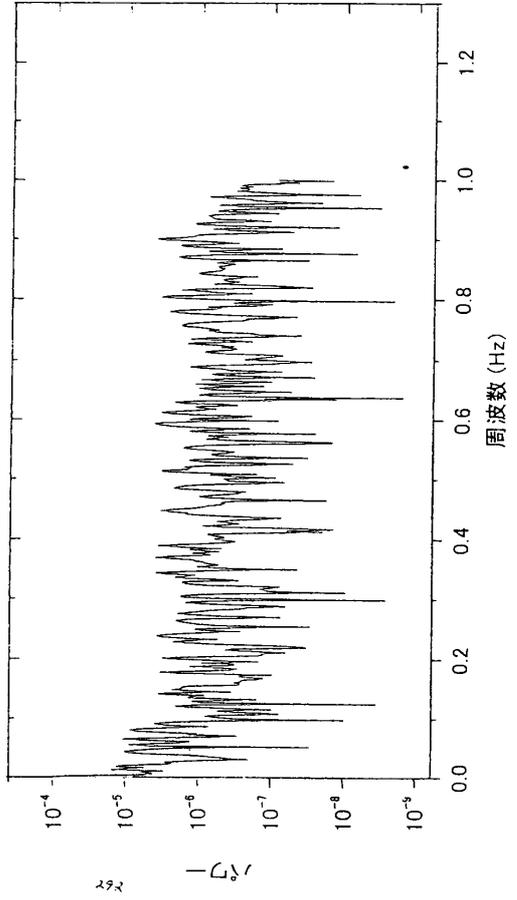
5~10 分後



0~5 分後

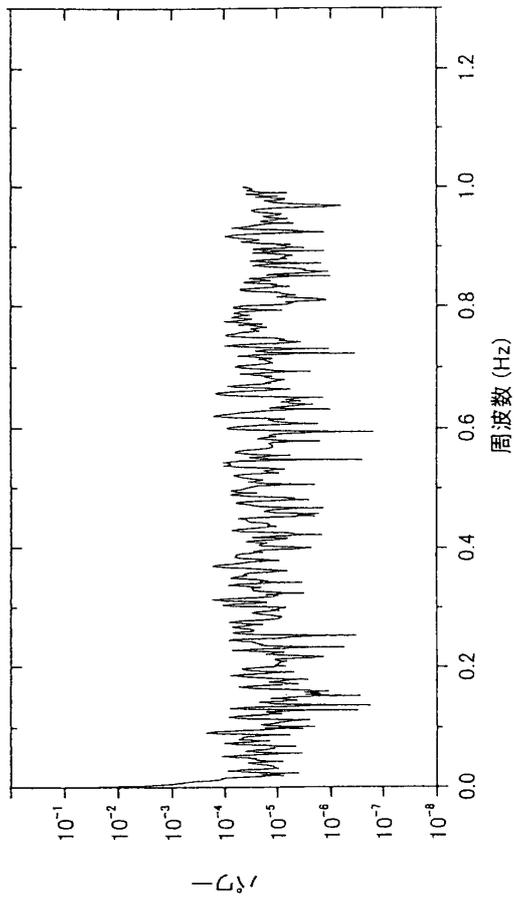


中止後

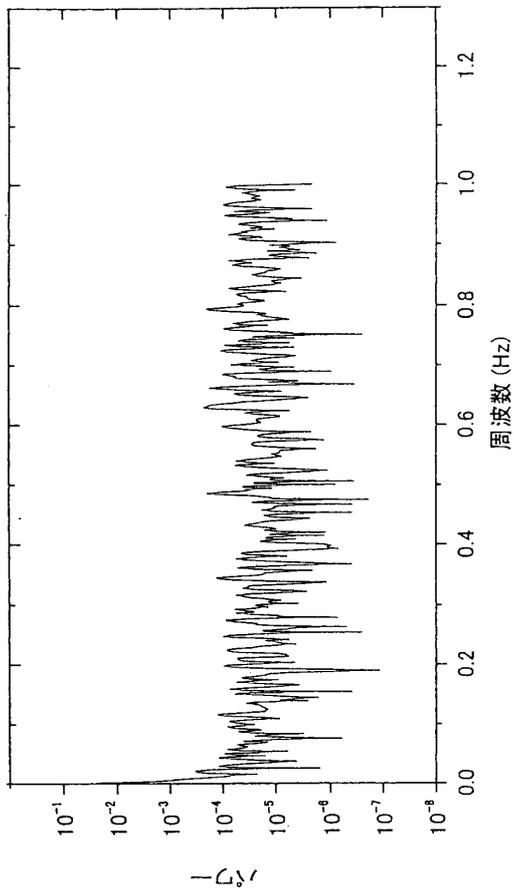


症例 13 プラセボ

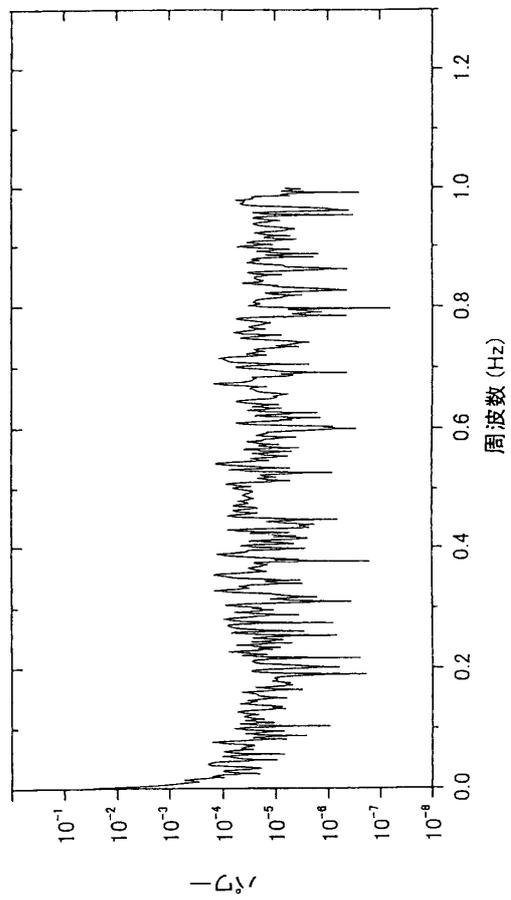
前 5 分



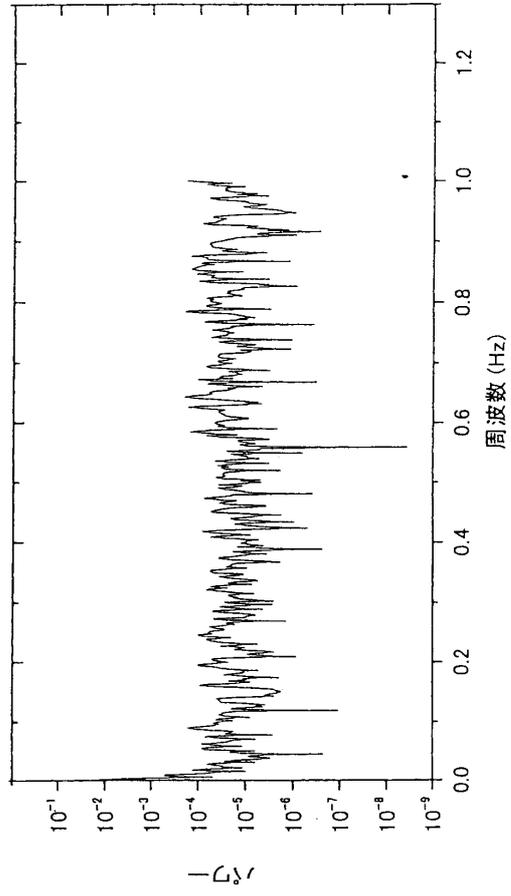
5~10 分後



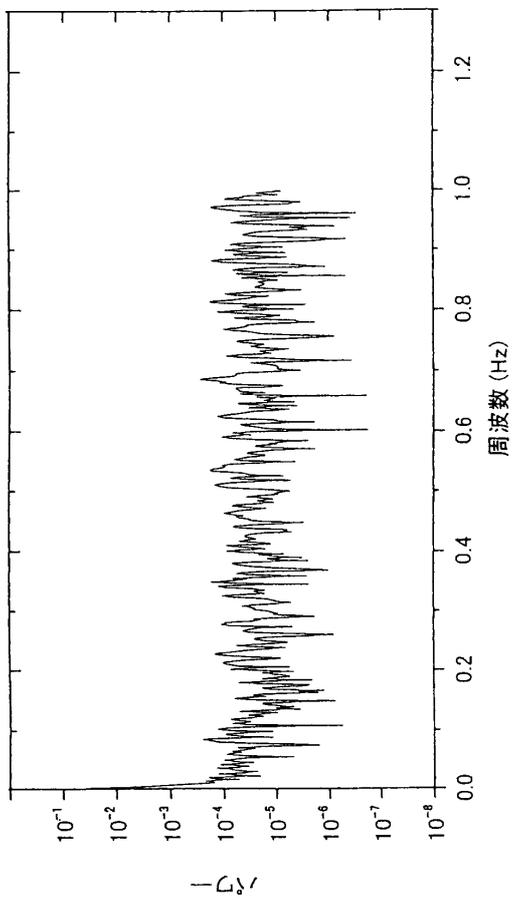
0~5 分後



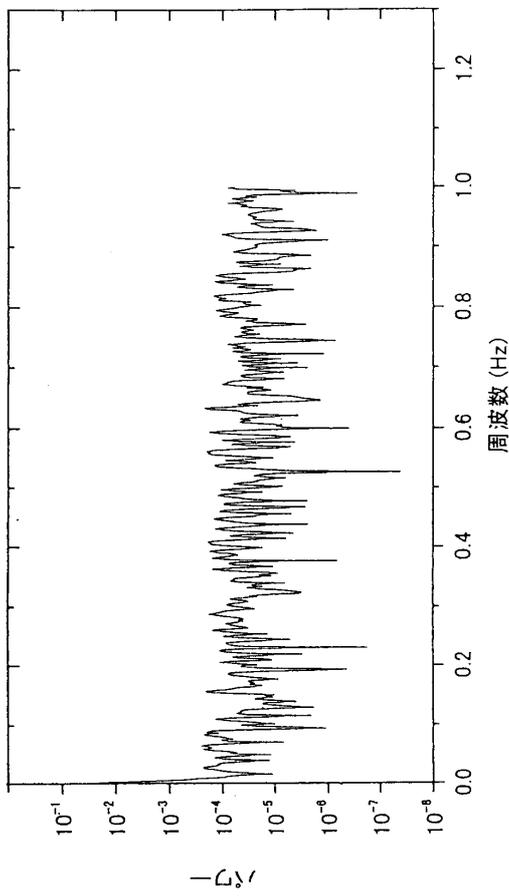
中止後



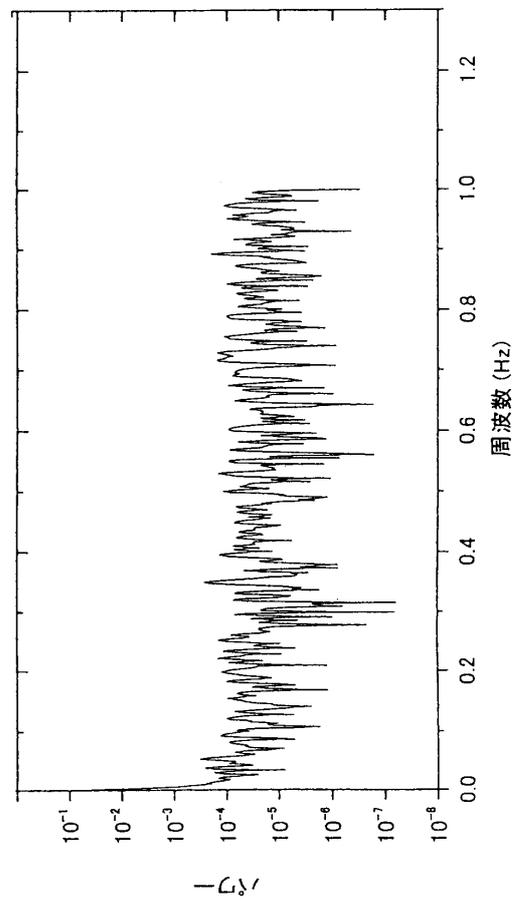
前 5 分



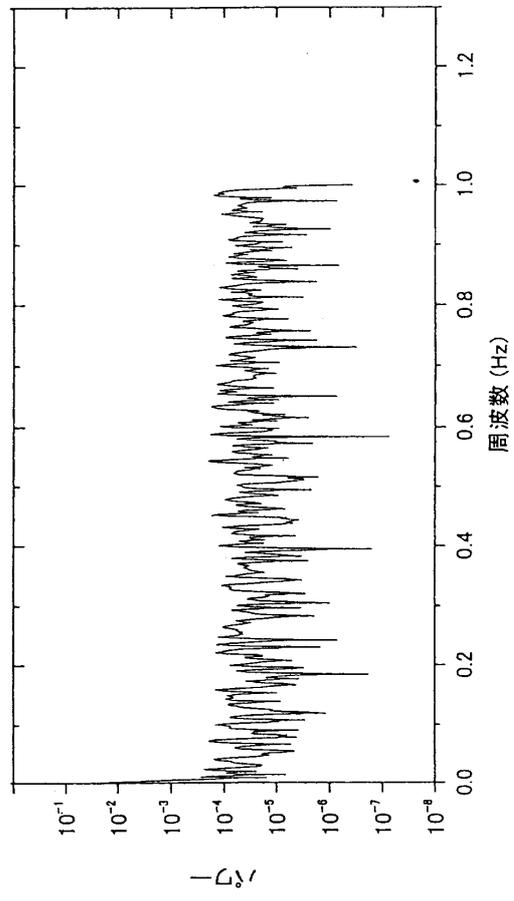
5~10 分後



0~5 分後

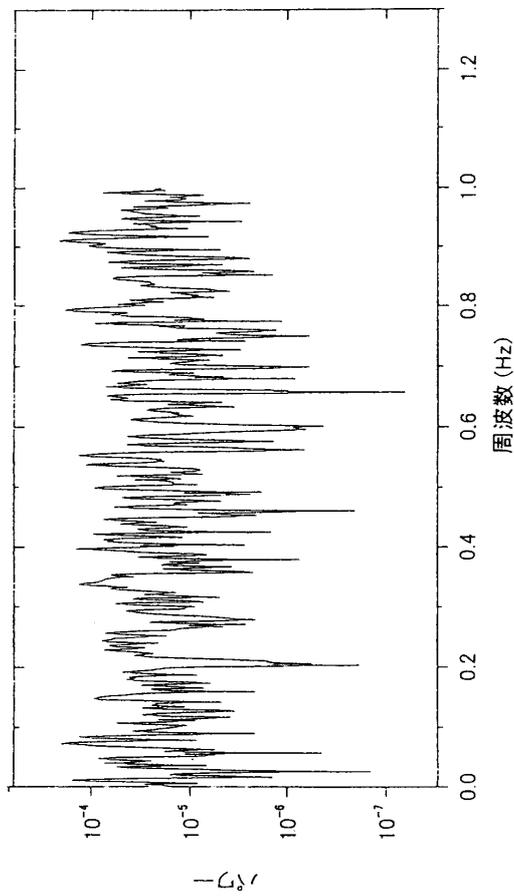


中止後

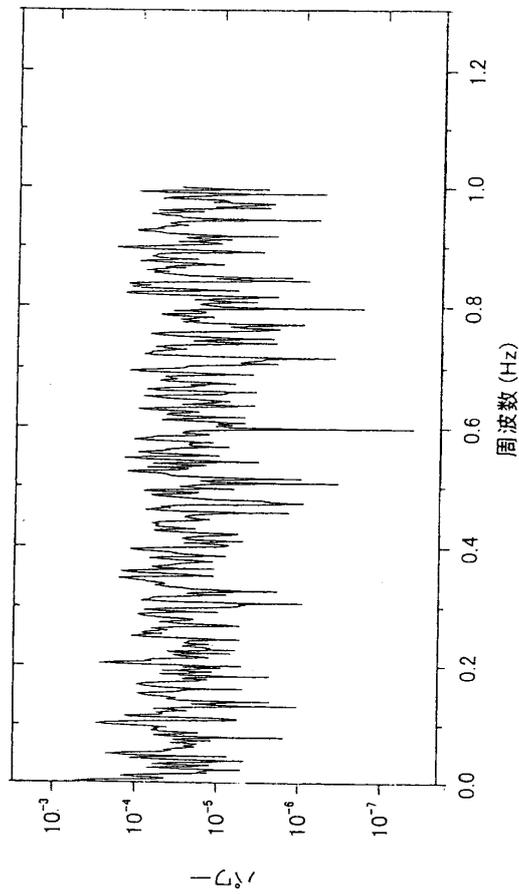


症例 13 40ppb

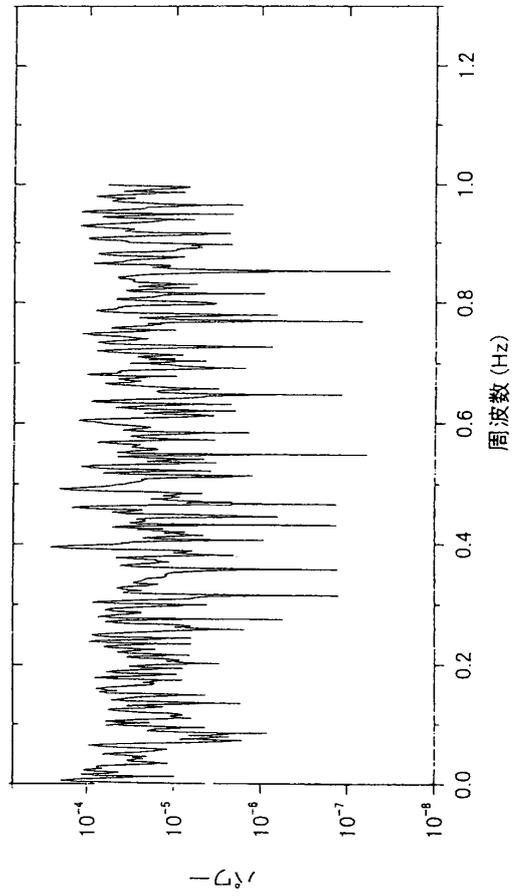
前 5 分



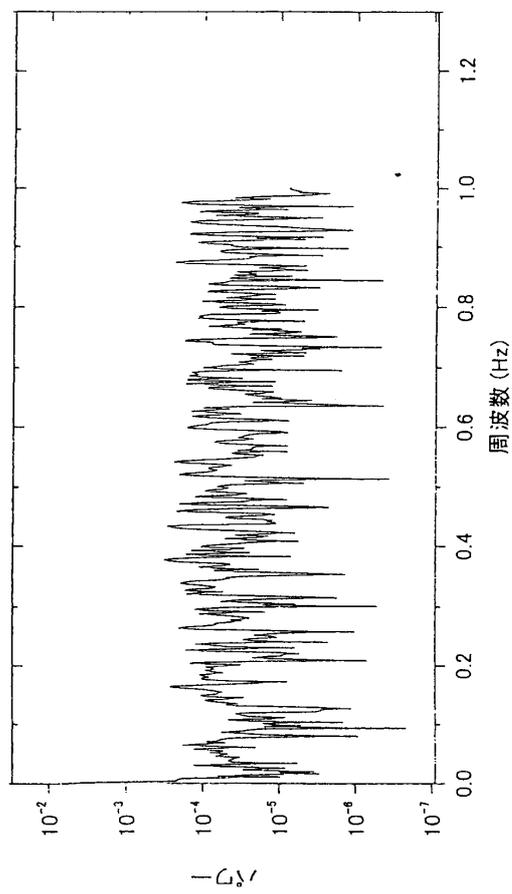
5~10 分後



0~5 分後

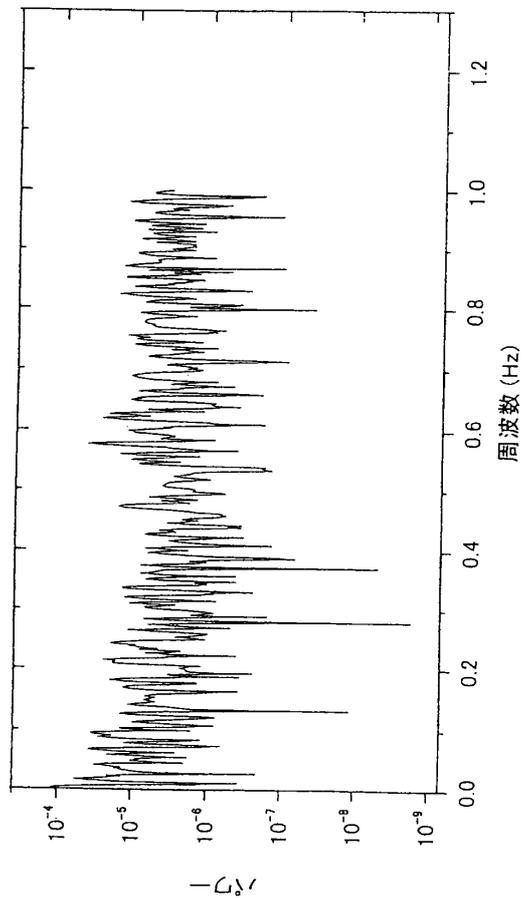


中止後

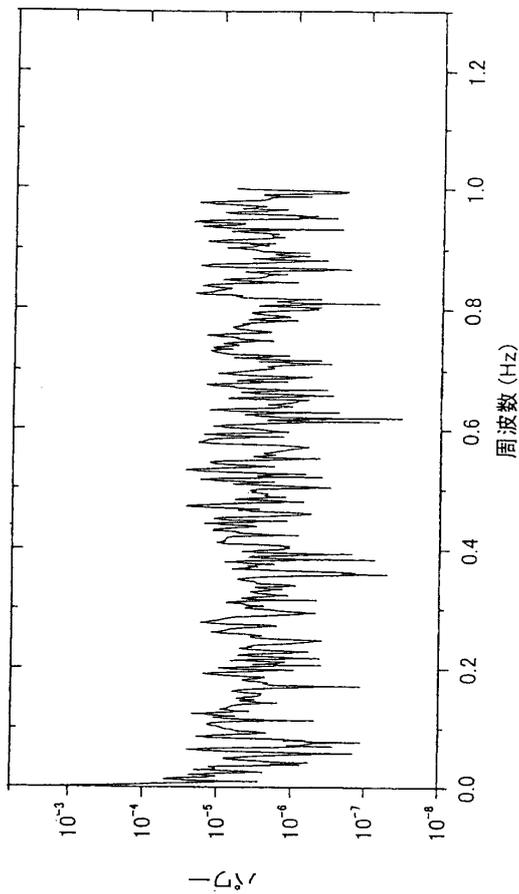


症例 14 プラセボ

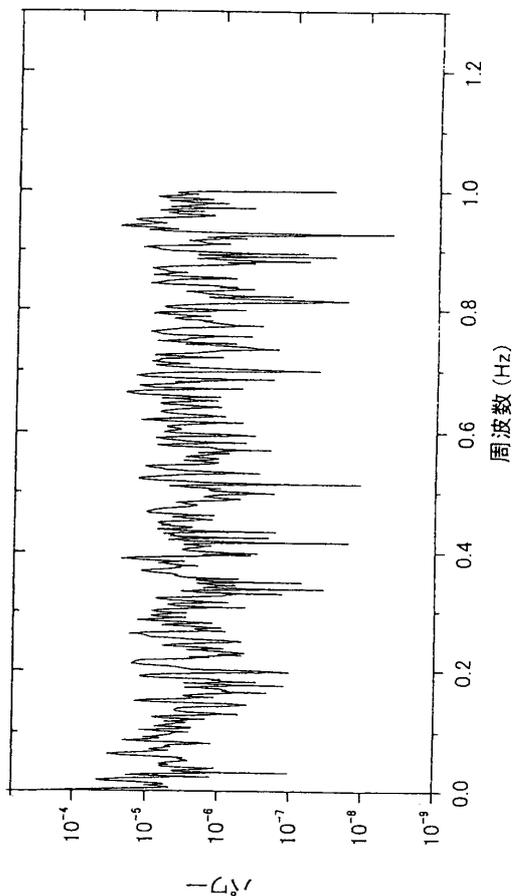
前 5 分



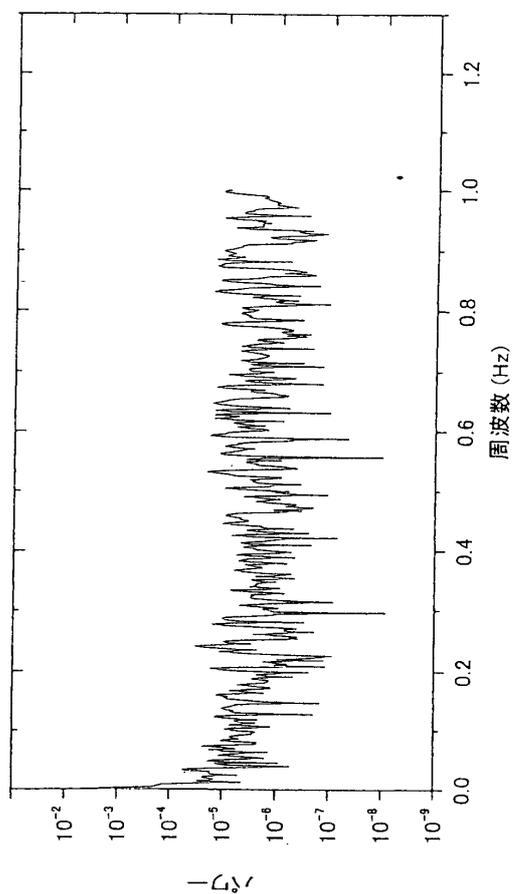
5~10 分後



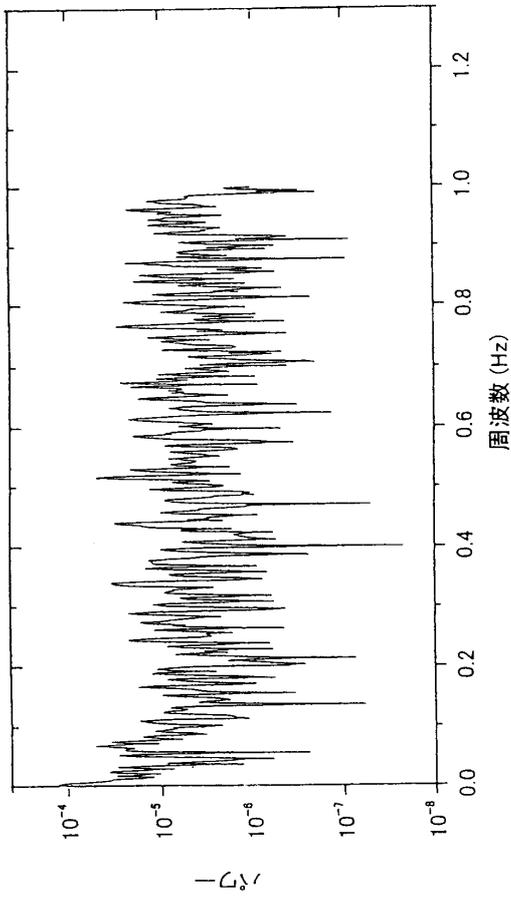
0~5 分後



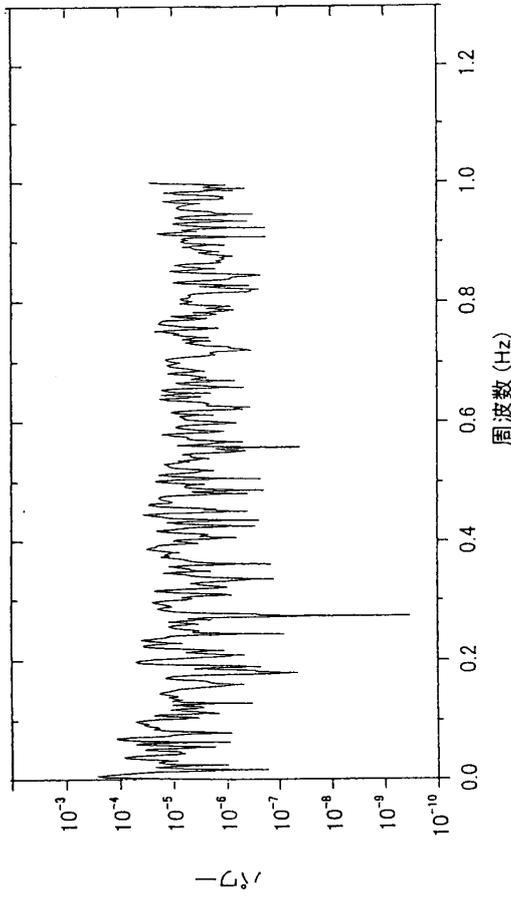
中止後



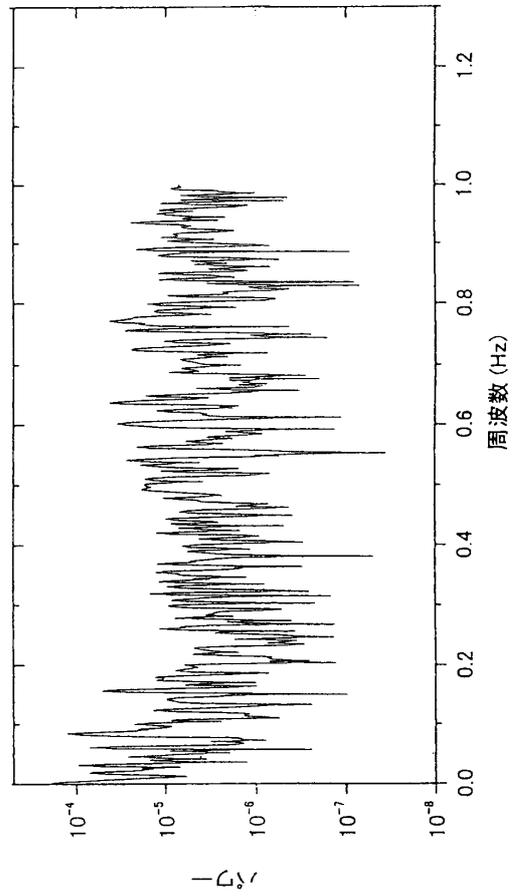
前 5 分



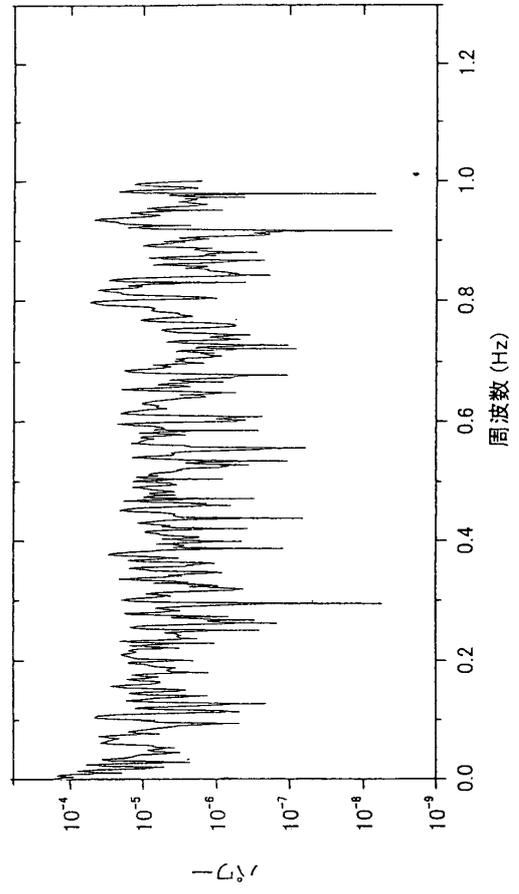
5~10 分後



0~5 分後

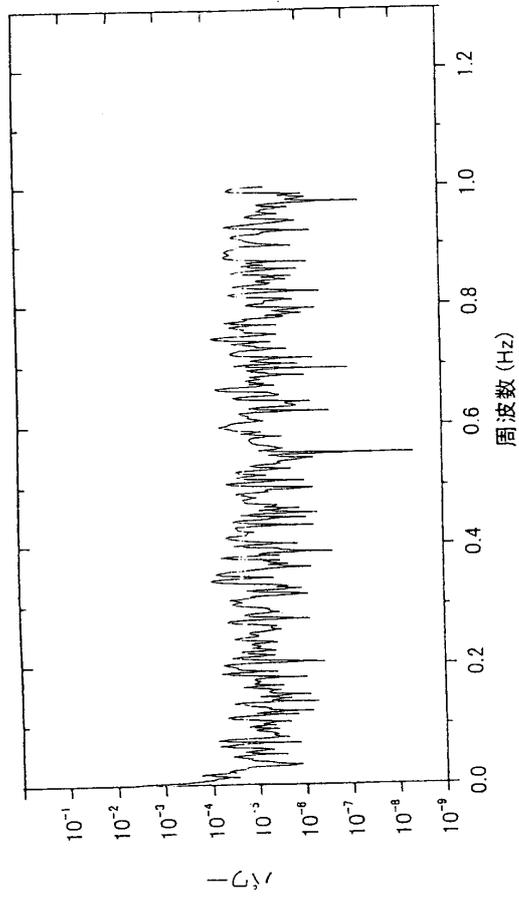


中止後

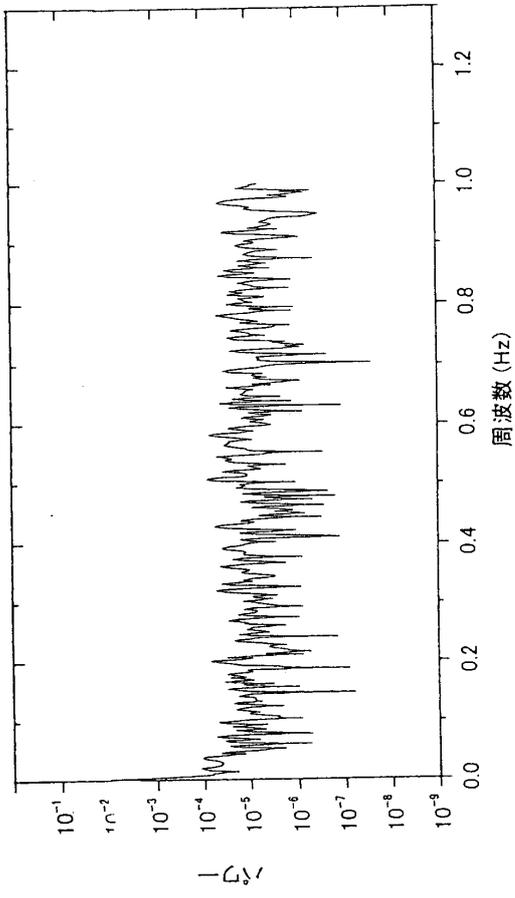


症例 14 40ppb

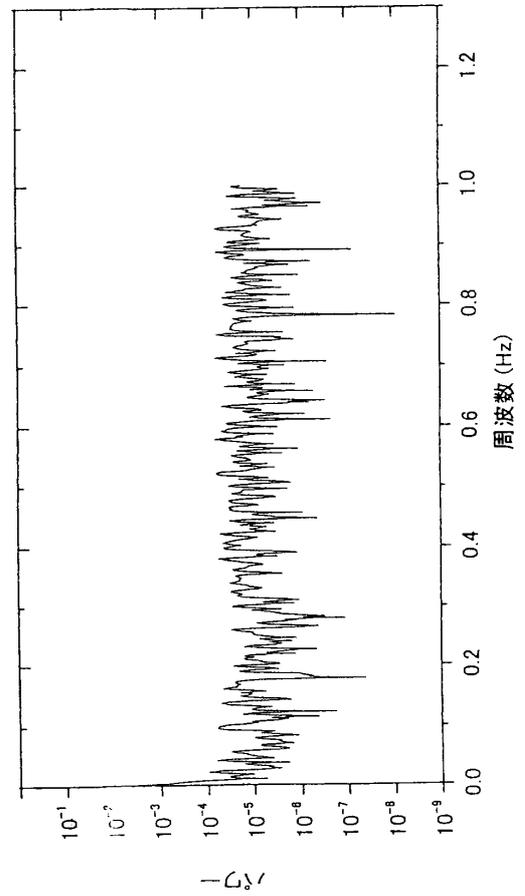
前 5 分



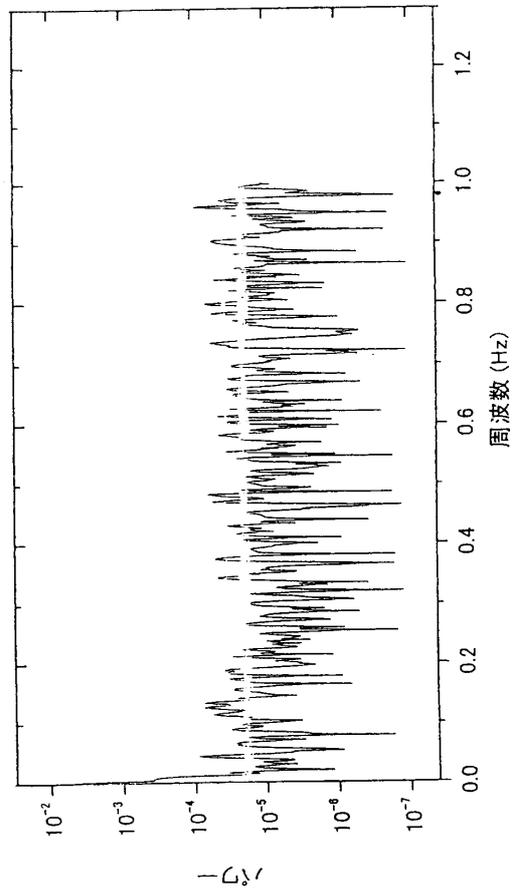
5~10 分後



0~5 分後

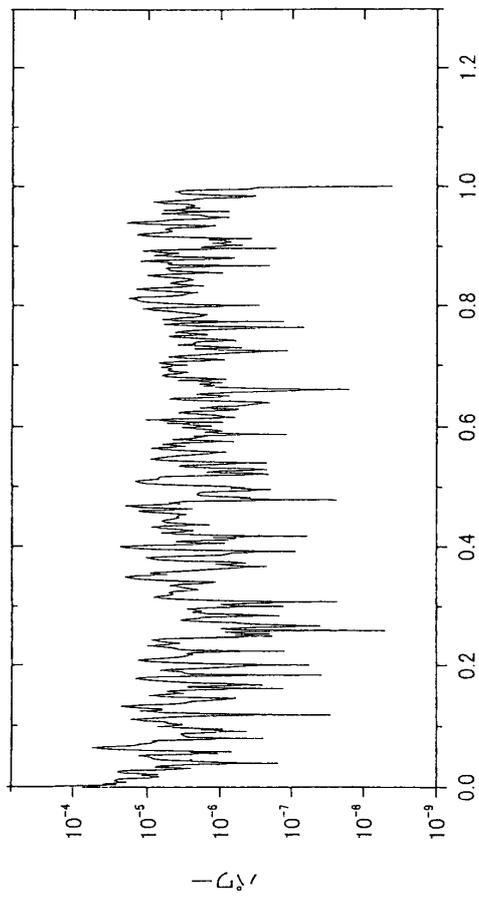


中止後

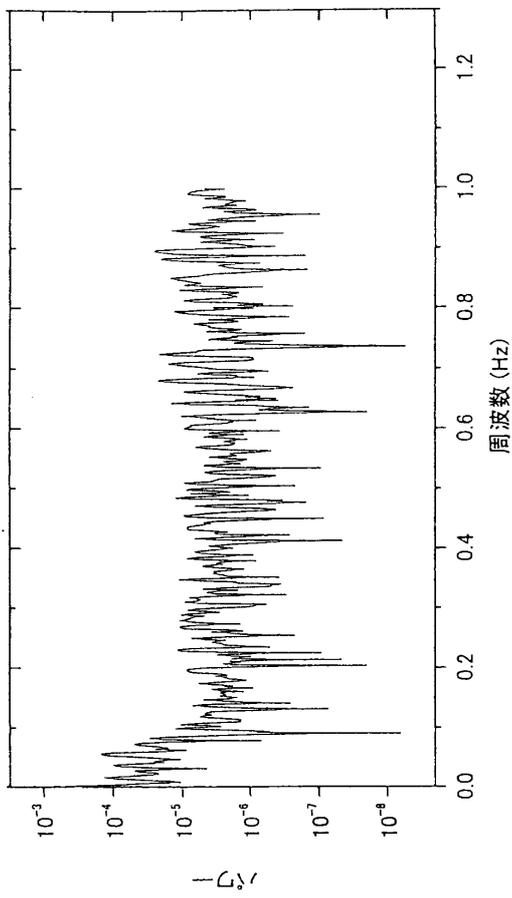


症例 15 プラセボ

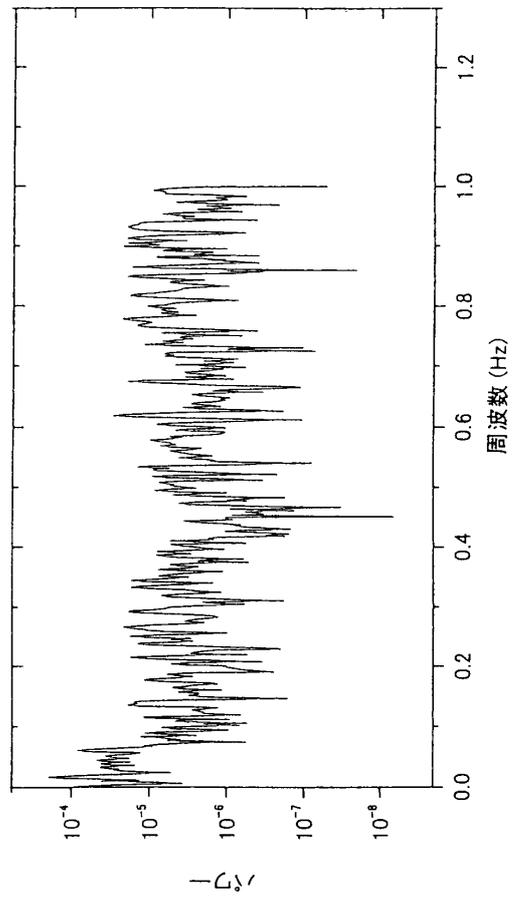
前 5 分



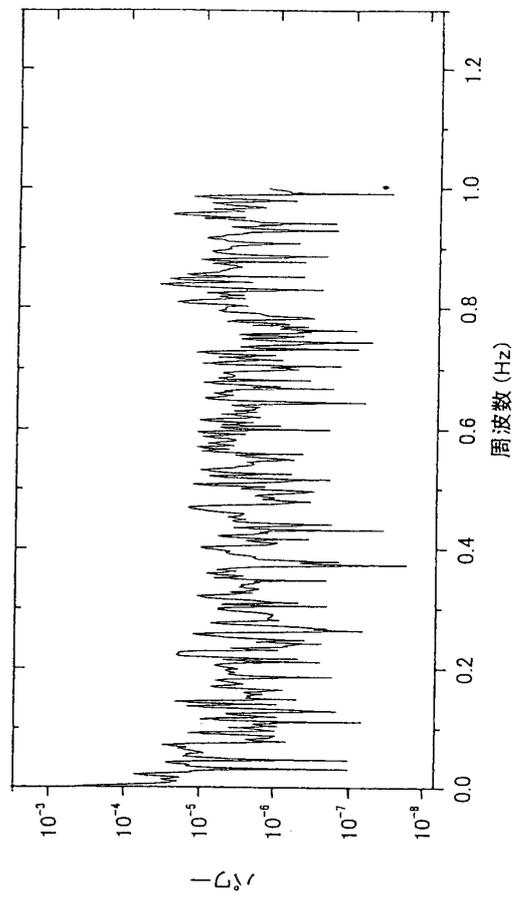
5~10 分後



0~5 分後

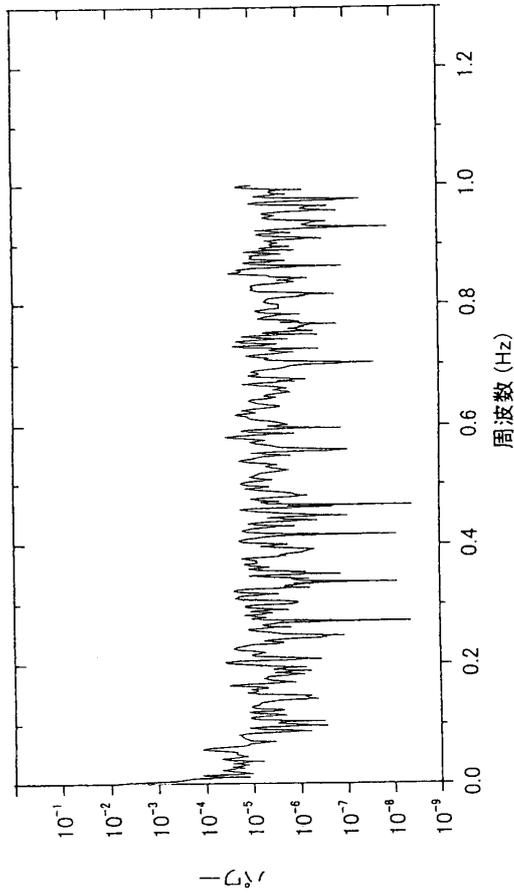


中止後

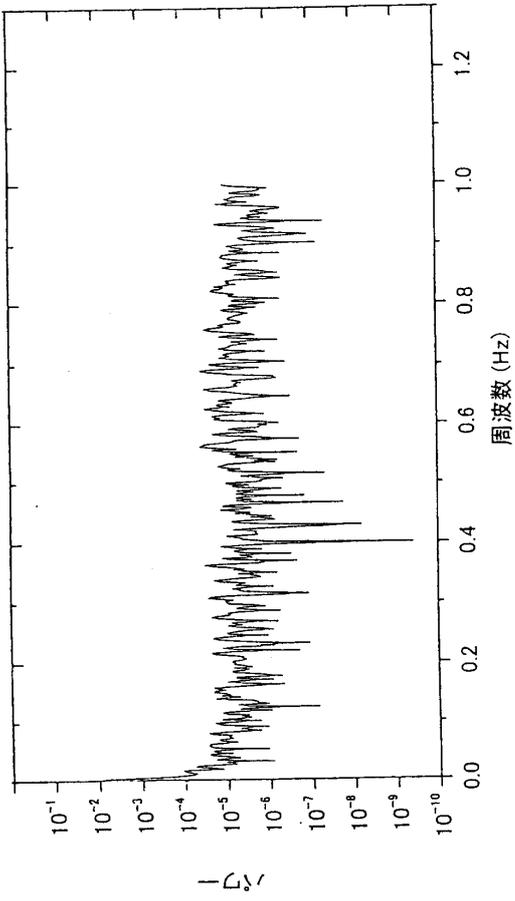


症例 15 8ppb

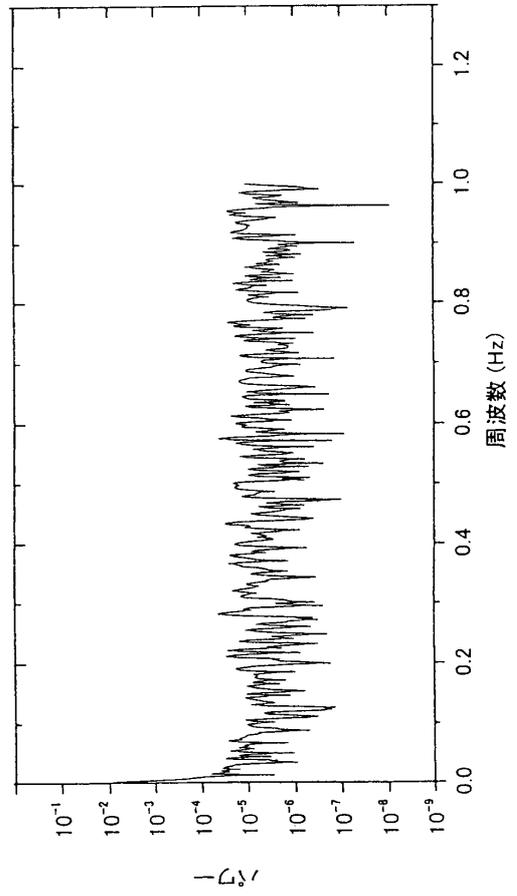
前 5 分



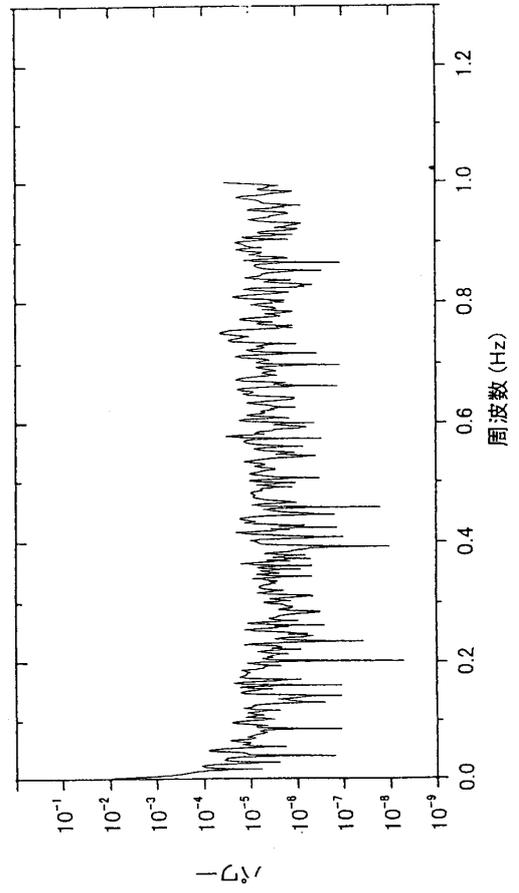
5~10 分後



0~5 分後

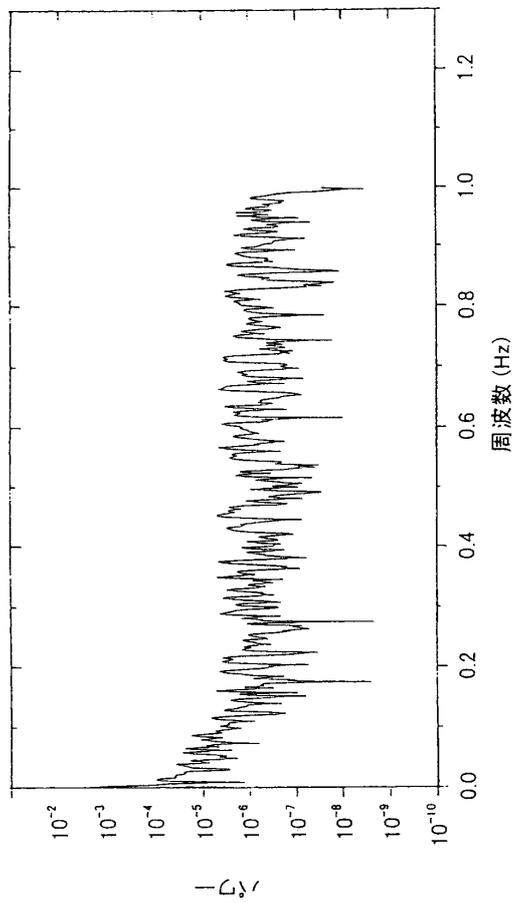


中止後

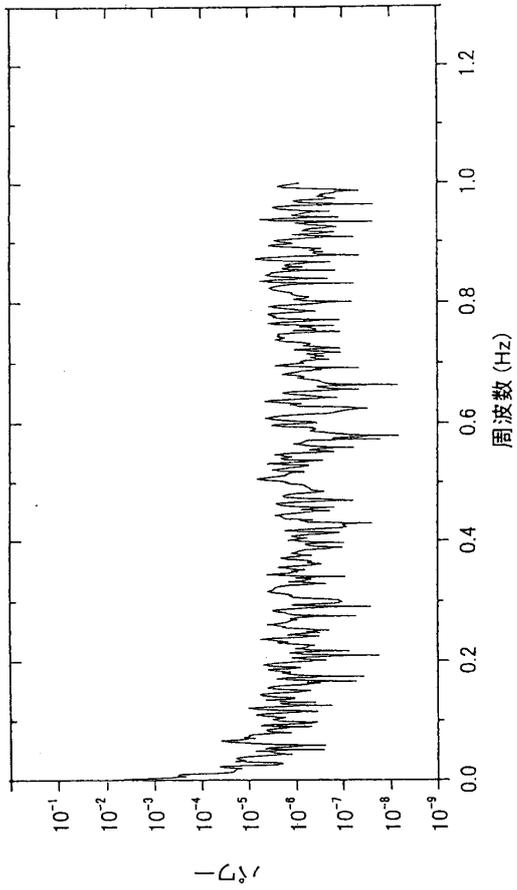


症例 15 40ppb

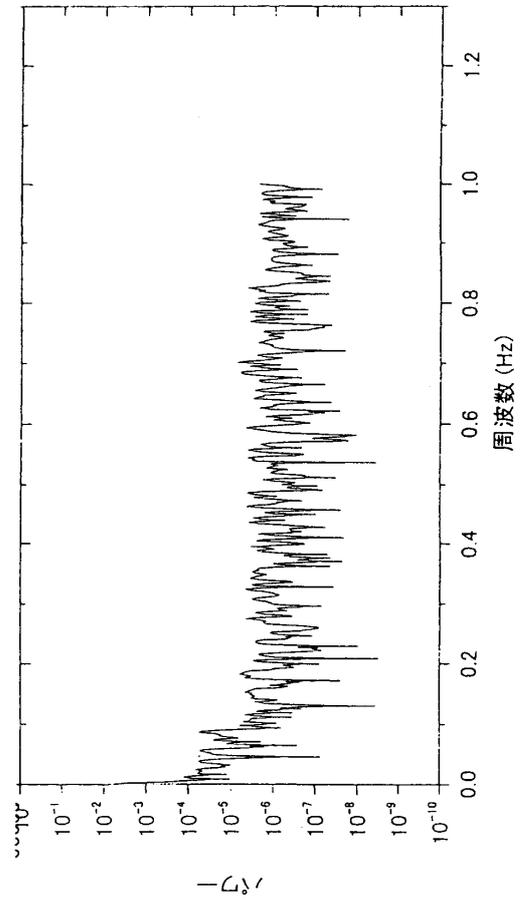
前 5 分



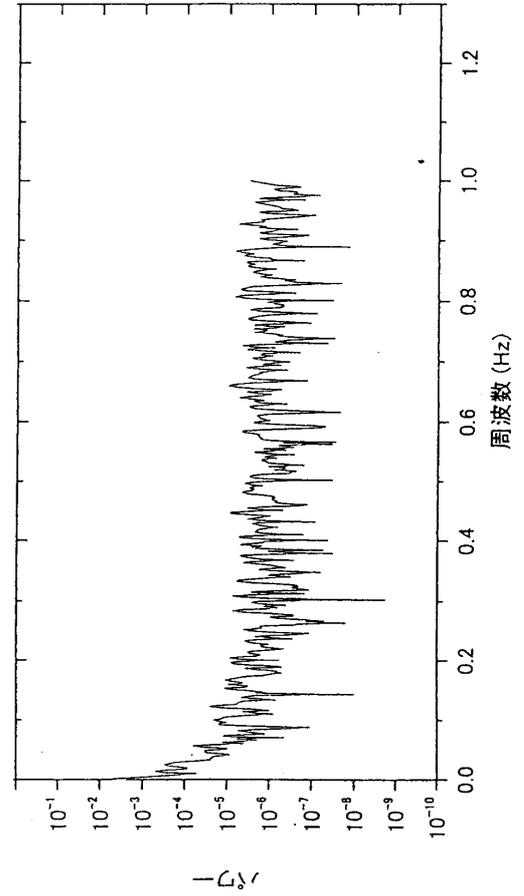
5~10 分後



0~5 分後



中止後



## E . 呼吸器検査

打聴診、および胸部X線検査では器質的疾患はまったく認められなかった。

スパイロメーター測定では平成11年度以来の通算41症例について結果が得られた。結果を表Eに示す。実測値/予測値の値を示している。予測値よりも20%以上減少している値にはシャドウを、低下はしているが20%以内の低下値は太字で示した。各患者の予測値に対して低下を示す結果が、中間呼気流量、ピークフロー、50%肺活量流量、25%肺活量流量で得られた。特に25%肺活量流量では、ほとんどの患者で低下を示している。末梢性の気道閉塞を意味する結果が得られた。喘息ではないが、何らかの呼吸機能異常を患者は有していると考えられた。平成13年度の症例2は1年加療後の平成14年度の症例3であるが、加療により呼吸機能は好転してきている。症例2、5も好転してきている。このように再入院検査者で異常が軽減している結果、本年度の結果は昨年度よりも異常が少ない傾向が出ていた。

### (1) 小考察

本態性多種化学物質過敏状態の呼吸器症状については、すでに関心が持たれていきいている。上部気道に関しては、反応性気道機能障害症候群 (reactive airway dysfunction syndrome) や反応性上部気道機能障害症候群 (reactive upper airway dysfunction syndrome) と本態性多種化学物質過敏状態が重なり合うところが多い疾患であることが報告されている (Meggs WJ: Hypothesis for induction and propagation of chemical sensitivity based on biopsy studies. Environ Health Perspective 105: Suppl 2: 473-478, 1997)。上気道の粘膜上皮の障害、末梢神経線維の増殖などを報告している。その他にも、本態性多種化学物質過敏状態の呼吸器障害に関する展望もなされているが (Bascom R: Multiple chemical sensitivity: a respiratory disorder. Toxicol & Indust Health 8: 221-228) また本態性多種化学物質過敏状態とアレルギー疾患の類似性は指摘されているが、本態性多種化学物質過敏状態患者の末梢性気道閉塞についての報告は検索した範囲ではいまだ見出されなかった。今後本症確定診断のための参考事項の一つとして、今回の結果が利用できるかも知れない。しかし、ガス負荷試験時の悪化症状としての検査項目に挙げることは、平成12年度の報告からも、無理と思われた。

表 E スパイロメーター測定結果  
(実測値/予測値)

症例	肺活量	努力性肺活量	1秒量	一秒率	中間呼気流量	ピークフロー	50%肺活量流量	25%肺活量流量	
14年度	1	3.68/3.23	3.51/3.23	<b>3.04/3.27</b>	86.6/85.59	<b>3.29/4.16</b>	<b>6.55/6.73</b>	<b>3.49/4.95</b>	1.5/2.9
	2	4.76/3.78	4.6/3.78	3.84/3.29	83.47/76.12	4.41/4.32	9.51/8.57	<b>5.18/5.36</b>	<b>1.69/2.57</b>
	3	6.31/4.11	6.31/4.11	5.01/3.80	79.39/78.36	4.85/4.78	<b>7.81/9.22</b>	<b>5.66/5.78</b>	<b>1.99/2.95</b>
	4	5.05/3.96	5.04/3.96	3.99/3.59	79.16/78.36	<b>3.78/4.66</b>	11.05/8.88	<b>4.64/5.62</b>	1.25/2.86
	5	3.44/3.03	3.36/3.03	3.00/2.95	89.28/83.24	3.99/3.77	6.83/6.46	<b>4.36/5.67</b>	<b>1.82/2.56</b>
	6	<b>2.38/2.78</b>	<b>2.35/2.78</b>	<b>2.23/2.57</b>	94.89/81.93	3.45/3.44	<b>5.71/6.05</b>	<b>4.28/4.33</b>	1.73/2.3
	7	4.17/3.01	4.06/3.01	3.47/2.92	85.46/82.98	4.42/3.74	7.60/6.44	5.08/4.65	<b>1.74/2.52</b>
	8	4.03/2.92	4.0/2.92	3.43/2.79	85.75/82.71	4.36/3.63	6.55/6.28	4.8/4.53	<b>7.93/2.45</b>
	9	5.26/4.16	5.26/4.16	4.17/3.92	<b>79.3/81.35</b>	<b>3.78/5.07</b>	9.66/9.18	<b>4.39/5.92</b>	<b>1.46/3.22</b>
	10	4.32/4.02	4.32/4.02	3.97/3.66	91.89/77.24	6.17/4.62	8.37/9.09	5.82/5.66	3.19/2.81
	11	4.86/4.51	4.86/4.51	<b>4.27/4.43</b>	87.86/83.21	<b>5.05/5.50</b>	<b>7.20/9.87</b>	<b>5.40/6.33</b>	<b>2.51/3.57</b>
	12	4.21/2.69	4.19/2.96	3.72/2.84	88.78/81.67	4.44/3.59	8.09/6.42	4.91/4.58	<b>2.03/2.37</b>
	13	5.03/3.93	5.02/3.93	3.69/3.54	<b>73.5/78.74</b>	<b>2.71/4.66</b>	10.19/8.77	<b>3.07/5.59</b>	<b>0.99/2.87</b>
	14	3.31/2.92	3.31/2.92	2.8/2.79	84.59/82.45	<b>3.17/3.61</b>	7.12/6.3	<b>3.7/4.53</b>	1.18/2.43
	15	4.02/2.94	3.92/2.94	3.26/2.81	83.16/82.98	<b>3.44/3.67</b>	7.14/6.3	<b>3.72/4.55</b>	<b>1.45/2.49</b>
13年度	1	3.84/2.93	<b>3.69/2.93</b>	<b>3.06/2.81</b>	82.9/84.0	<b>3.06/3.75</b>	<b>5.06/6.22</b>	<b>3.47/4.54</b>	1.32/2.59
	2	4.80/4.09	4.74/4.09	3.81/3.77	80.3/77.6	<b>3.06/4.71</b>	<b>7.99/9.23</b>	<b>3.80/5.74</b>	1.07/2.88
	3	3.48/3.04	3.43/3.04	3.04/2.97	88.6/83.5	<b>3.56/3.81</b>	<b>4.95/6.48</b>	<b>3.72/4.69</b>	<b>1.87/2.59</b>
	4	6.32/4.13	6.28/4.13	4.89/3.83	<b>78.1/78.7</b>	<b>4.50/4.82</b>	<b>7.14/9.24</b>	<b>5.10/5.81</b>	1.94/2.99
	5	<b>2.88/2.89</b>	2.84/2.89	<b>1.93/2.76</b>	<b>68.0/84.0</b>	<b>1.42/3.72</b>	<b>2.60/6.15</b>	<b>1.43/4.50</b>	<b>0.85/2.57</b>
	6	5.39/4.23	5.38/4.23	<b>3.65/3.97</b>	<b>67.8/78.0</b>	<b>2.52/4.85</b>	<b>8.44/9.54</b>	<b>2.50/5.90</b>	1.16/2.99
	7	4.81/3.78	4.77/3.78	3.93/3.29	82.4/76.1	<b>4.19/4.32</b>	9.20/8.57	<b>5.10/5.36</b>	<b>1.57/2.57</b>
	8	4.15/2.99	4.12/2.99	3.58/2.89	86.9/83.0	4.49/3.72	7.35/6.40	5.32/4.62	<b>2.06/2.52</b>
	9	3.40/3.04	3.35/3.04	3.03/2.97	90.4/83.5	3.88/3.81	6.87/6.47	<b>4.42/4.69</b>	<b>1.69/2.59</b>
	10	<b>2.36/2.78</b>	<b>2.29/2.78</b>	<b>2.15/2.57</b>	93.9/81.9	3.57/3.44	<b>5.45/6.05</b>	<b>3.65/4.33</b>	<b>2.14/2.30</b>
	11	3.27/3.09	3.32/3.09	3.09/3.06	93.1/84.5	5.17/3.94	8.34/6.51	6.03/4.76	<b>2.30/2.72</b>
	12	3.20/2.80	3.20/2.80	2.74/2.60	85.6/82.5	<b>2.84/3.49</b>	<b>5.57/6.05</b>	<b>4.22/4.36</b>	1.14/2.36
	13	6.81/4.31	6.66/4.31	4.82/4.10	<b>72.4/79.1</b>	<b>3.66/5.01</b>	<b>9.18/9.66</b>	<b>3.96/6.02</b>	<b>1.44/3.13</b>
	14	5.16/4.13	5.15/4.13	4.39/3.86	85.2/80.6	5.25/4.97	11.62/9.14	6.51/5.86	<b>2.03/3.14</b>
	15	3.59/3.23	3.59/3.23	3.09/3.27	86.1/85.6	<b>3.51/4.16</b>	<b>5.23/6.73</b>	<b>4.17/4.95</b>	<b>1.55/2.90</b>
12年度	1	4.95/4.17	4.9/4.17	<b>3.60/3.93</b>	<b>73.46/80.6</b>	<b>2.59/5.01</b>	9.79/9.25	<b>3.34/5.91</b>	<b>0.88/3.17</b>
	2	5.38/3.97	5.25/3.97	3.88/3.62	<b>73.9/79.48</b>	<b>2.94/4.76</b>	9.48/8.84	<b>3.61/5.66</b>	<b>1.20/2.96</b>
	3	4.49/4.12	4.48/4.12	4.02/3.83	89.73/79.11	4.88/4.85	<b>8.11/9.21</b>	<b>5.59/5.81</b>	<b>2.31/3.02</b>
	4	<b>3.29/2.92</b>	3.25/2.92	2.98/2.79	91.69/82.98	3.96/3.65	6.42/6.26	<b>4.49/4.52</b>	<b>1.84/2.48</b>
	5	<b>2.94/2.95</b>	<b>2.69/2.95</b>	<b>2.60/2.87</b>	96.65/85.32	<b>3.63/3.88</b>	<b>4.00/6.20</b>	<b>3.49/4.59</b>	2.84/2.73
	6	3.85/2.93	3.84/2.93	3.20/2.81	83.33/83.24	<b>3.41/3.69</b>	<b>5.63/6.27</b>	<b>4.07/4.54</b>	<b>1.55/2.51</b>
	7	6.35/4.15	6.27/4.15	80.38/79.11	80.38/79.11	<b>4.70/4.87</b>	<b>8.13/9.27</b>	<b>5.10/5.84</b>	<b>2.55/3.03</b>
	8	3.4/2.95	3.39/2.95	3.07/2.84	90.56/82.98	3.88/3.81	<b>6.27/6.33</b>	<b>4.19/4.57</b>	<b>1.86/2.5</b>
11年度	1	3.03/2.9	3.00/2.9	<b>2.66/2.79</b>	88.66/84.8	<b>3.27/3.79</b>	<b>4.89/6.13</b>	<b>3.44/4.52</b>	<b>1.48/2.66</b>
	2	3.24/3.02	3.04/2.97	2.73/2.85	<b>81.5/82.37</b>	<b>3.35/3.89</b>	<b>5.23/6.41</b>	<b>3.32/4.58</b>	<b>1.62/2.71</b>
	3	<b>2.65/2.83</b>	<b>2.64/2.83</b>	<b>2.58/2.74</b>	97.72/86.89	4.25/3.92	<b>5.58/5.92</b>	4.60/4.46	<b>2.30/2.84</b>

太字 は予測値(身長、年齢、体重からの)の20%以上の減少  
太字20%には達しないが予測値より低値

## F. 心療内科検査

### (質問紙・構造化面接および心拍変動による検討)

#### (1) 研究目的

MCS の発症には化学物質の曝露が必要条件であるという前提に立って、心身相関 (mind-body correlation) すなわち「精神的葛藤や行動様式が体の状態に影響を与えて病気を作り、逆に体の状態が心の働きに影響を及ぼすこと (心身医学用語辞典; 1999)」が、発症に関わるメカニズムおよび発症後の病態においても成立しているという心身医学的観点から研究を進めていくこととした。そこで、化学物質の曝露のほか心理社会的要因も含む様々なストレスや、パーソナリティ、ストレス対処スタイルなどの個人差要因が MCS の発症と経過にどのように関わっているか、発症後の病態には身体面と心理面の間にどのような関連が認められるかという検討を行うために、図 F-1 に示したようなストレスモデルを仮定した。このストレスモデルに従って、以下の観点から MCS とストレス性要因との関わりを解明していくことを目的とした。

##### 1) 患者背景

- a) 発症に先立つ心理社会的ストレス
- b) 発症および経過に関わる個人差要因

##### 2) 発症後の身体・心理・行動的反応

#### (2) 研究方法

<対象> (表 F-1)

##### 1) 患者群

各種質問紙は入院時に手渡し、入院後 3 日目または 4 日目に回収し、同センターの病室 (クリーンルーム) で医師による精神疾患構造化面接を行ったあと、安静 15 分間の心電図を記録した。

##### 2) コントロール群

20~70 歳の健康男女 過去 3 年以内の自宅新改築 現在医療機関にて内服治療を受けていない シックハウス症候群と診断されていない、という条件に加え 5,000 円の謝金を支払うという内容で、家庭用情報誌首都圏版計 25 万部に平成 13 年 2 月 8 日~2 月 22 日の期間応募広告を掲載した。33 名が参加し、そのうち自宅新築を契機に化学物質過敏症の診断基準に合致する症状が出現したもの 1 名を除外した。また、上記条件を満たす北里大学の学生 4 名をコントロール群に加えた。合計 36 名 (男性 7 名・女性 29 名) に対して予め研究の同意書および心理テストを送付し、東京大学附属病院心療内科外来にて患者群と同様の検査を施行した。

##### 3) 倫理面への配慮

患者には、化学物質過敏症の化学物質曝露試験の検査の一環として各種心理テストおよび自律神経機能検査を行うことを説明し、文書にて別途同意を得た。コントロールについても上記各条件と調査内容を説明した後、文書で参加の同意を得た。

## < 評価 >

### 1) 患者背景

#### a) 発症に先立つ心理社会的ストレス

生活健康調査票 (LHQ; Life health Questionnaire) [1]を用いて A. 過去 1 年間のライフイベント、B. 日常の苛立ち事 (daily hassles) の 2 項目を評価した。

#### b) 発症に関わる個人差要因

パーソナリティ傾向を検討するものとしてアイゼンク人格質問紙 (EPQ-R; Eysenck Personality Questionnaire-Revised) [2,3]、トロントアレキシサイミアスケール (TAS-20R; The Twenty-Item Tronro Alexithymia Scale Revised) [4,5]、身体感覚増幅尺度 (SSAS; Somatosensory Amplitude Scale) [6,7]を、ストレス対処を検討するものとして TAC-24 (The Tri-Axial Coping Scale) [8]および LHQ の項目のうち C. ストレス対処スキルを、さらにその他の個人差要因として、D. ソーシャルサポート、F. 過去 1 ヶ月間の喫煙量、G. 過去 1 ヶ月間の飲酒量の 4 項目を評価した。

### 2) 発症後の身体・心理・行動的反応

化学物質過敏症によって出現した身体症状および心理症状の相互関係を検討するために、CMI 健康調査表 (Cornell Medical Index health questionnaire) ([9,10]、感情プロフィール検査 (POMS; Profile of Mood States) [11,12]および LHQ のうち A. 現在感じているストレス度、E. 最近の行動変化、H. 最近の心理状況、I. 最近の身体状況、の各項目について評価した。また精神疾患の有無を調べるために精神疾患簡易構造化面接 (M.I.N.I.; Mini International Neuropsychiatric Interview) [13]および精神疾患構造化面接 (SCID; Structured Clinical Interview for DSM-) [14,15]から身体表現性障害の項目を抜粋して行った。また自律神経機能を評価するために心拍変動 [16]の測定を行った。

## < 解析方法 >

### 1) 年齢差について

患者群とコントロール群の年齢の平均は、t 検定において有意差を認めないことを確認した。

### 2) 性差について

患者群とコントロール群の性別の母比率は、<sup>2</sup>検定の結果において有意差を認めため、次項のように性差を考慮した解析をおこなった。

### 3) 各種質問紙・精神疾患構造化面接

数量データについては、患者群とコントロール群という“グループの違い”の要因と“性の違い”の要因の 2 要因を含む 2 元配置の分散分析にて検討した。そこで交互作用の認められた項目に関しては、男女別に患者群とコントロール群の比較を t 検定により行った。喫煙や飲酒の有無、各精神疾患の有無といったカテゴリデータについては、患者群およびコントロール群をそれぞれ男女に分けて 4 群とし、2×4 のクロス集計表を作成し <sup>2</sup>検定および Fisher の直接確率検定を行った。そこで有意差が認められた項目について、患者群のみ・コントロール群のみ・男性のみ・女性のみ の 4 条

件で比較するために、4通りの2×2のクロス集計表を作成してさらに<sup>2</sup>検定およびFisherの直接確率検定を行った。

#### 4) 心拍変動

心拍変動は、15分間の安静仰臥位の心電図記録からR-R間隔の周波数解析を行った。患者群とコントロール群の比較は、PNS indicator(HF/Total)、SNS indicator(LF/HF)に関してそれぞれヒストグラムを作成し、どちらも正規性が認められなかったため、Mann-Whitney U検定を行った。

### (3) 研究結果

#### 1) 患者背景

##### a) 発症に先立つ心理社会的ストレス(表 F-2)

生活健康調査表(LHQ)：過去1年間のライフイベント、日常の苛立ち事に両群間に有意差を認めなかった。

##### b) 発症および経過に関わる個人差要因

アイゼンク人格質問表(EPQ-R)(Table 3.)：両群間に有意差はなかった。

トロント・アレキシサイミア・スケール(TAS-20R)(Table 3.)：アレキシサイミア傾向について、下位尺度およびトータルスコアのどちらにおいても両群間に有意差を認めなかった。

身体感覚増幅尺度(SSAS)(表 F-3)：両群間に有意な差はなかったが、患者群で高い傾向を認めた。

ストレス対処スタイル(TAC-24)(表 F-3)：両群間に有意な差はなかった。

生活健康調査表(LHQ)：ストレス対処スキル、ソーシャルサポートにおいて両群間に有意差はなかった(表 F-3)。過去1ヶ月間に飲酒をしなかった者の母比率は、有意差はないもののコントロール群に比べて患者群が大きい傾向を認めた。

( $p=0.054$ )。過去1ヶ月間の喫煙については有意差を認めなかった(表 F-4)。

#### 2) 発症後の身体・心理・行動的反応

CMI健康調査表(表 F-5)：身体的自覚症状のうち「呼吸器系」「心臓脈管系」「疲労度」「疾病頻度」「既往歴」と「総点」は患者群で有意に高かった。精神的自覚症状では両群に有意差を認めなかった。

感情プロフィール(POMS)(表 F-5)：患者群において「活力」が有意に低かった。

生活健康調査表(LHQ)(表 F-5)：現在感じているストレス度は患者群において有意に高かった。ストレス反応としての身体症状、心理症状および行動変化に両群間に有意差は認められなかった。

DSM- (米国精神疾患の分類と診断)(表 F-6)：何らかの精神疾患の診断がつくものは、男女とも患者群で明らかに多かった( $p=0.000$ )。M.I.N.I.で現在の精神疾患の診断がつくものは患者群で有意に多く(男性： $p=0.010$ 、女性： $p=0.002$ )、M.I.N.I.で生涯の診断のつくものは患者群とコントロール群とで有意差は認めなかった。主診断カテゴリーの内訳では、身体表現性障害の診断は患者群の男女

ともに有意に多く(男性： $p=0.010$ ，女性： $p=0.001$ )、不安障害および気分障害は有意差を認めなかった。患者群における精神疾患の診断率は、何らかの精神疾患の診断が80%、M.I.N.I.(現在)66%、M.I.N.I.(生涯)27%、主診断カテゴリーの内訳では身体表現性障害60%、不安障害20%、気分障害33%であった。

心拍変動係数(HRV)(表 F-7)：自律神経機能に関して、副交感神経機能(HF/total)は有意差は認められなかったが、交感神経機能(LF/HF)は患者群で有意に高かった。

#### (4) 小考察

##### 1) 患者背景

##### a) 発症に先立つ心理社会的ストレス

発症に先立つ心理社会的ストレスとして、LHQのライフイベント項目のうち、最近1年間に起こった生活上の出来事について感じたストレス度の合計点、耐えられるストレス度の2項目と、日常の苛立ち事(daily hassles)を評価した。本研究ではいずれの項目においても患者群とコントロール群とに統計学上の明らかな有意差は見られなかった。

過去に心理社会的ストレスとMCSとの関連については様々な研究がなされており、PTSD(posttraumatic stress disorder)とストレスとの関連について神経生理学・神経薬理学などの視点から言及しているFriedmanは、ストレスを受けることによって神経生理学的に過敏性を獲得し様々な身体精神症状を発現するPTSDのメカニズムが、MCSにも当てはまる可能性を報告している[17]。また、女性の化学物質過敏症(chemical intolerance; CI)患者とうつ病患者と健常者を比較したBellらは、CI患者においてより人生早期のストレス(幼少期の虐待や両親との希薄な関係など)が認められたと報告し、先のFriedmanと同様のストレスによる神経感作モデル(neural sensitization model)仮説を支持する結果とした[18]。本研究で過去1年間のストレス度の合計点に有意差が出なかった理由として、発症前のストレス評価が過去1年間のみに限られており人生早期のストレスは評価できていないこと、また初診時より1年以上たっている再診患者も含まれているため、厳密には発症前のストレスを評価できていない可能性が考えられる。LHQを用いてバセドウ病の発症とストレスとの関連を調べたYoshiuchiらは、日常の苛立ち事との間には関連がなかったがライフイベントとは関連が認められたとしている[19]。ストレス関連疾患の中でも、人生早期に受けたストレスによって発症する疾患群と、急性期に受けたストレスによって発症する疾患群とがあるとすれば、ストレスの評価方法をさらに工夫する必要があった。

##### b) 発症および経過に関わる個人差要因

本研究では、個人差要因としてのパーソナリティの特徴をEPQ-R、TAS-20R、SSAS(身体感覚増幅尺度)にて評価した。EPQ-Rは、喫煙、ストレス、性格と癌の発症との関連の研究[20]などを精力的に実施したイギリスの心理学者、アイゼンクが作成した一連の性格検査の一つで、Psychoticism(P; 非協調性・攻撃性)、Extraversion/Introversion(E; 外向性, 内向性)、Neuroticism(N; 神経質さ)、Lie

(L;虚構性、律儀さ)のそれぞれ12項目からなる4因子にわけて、性格傾向をみる。結果では患者群とコントロール群との間に有意差は認められず、双方ともEPQ-Rの正常範囲内に入っていた。TAS-20Rはアレキシサイミア(失感情症)傾向、すなわち想像力が乏しく心的葛藤を言語化できない、情動を感じ言語表現することが困難、事実関係を述べるがそれに伴う感情を表出しない、面接者との交流が困難、というような性格傾向をF1;感情を識別することの困難さ、F2;感情を他者に語ることの困難さ、F3;外面性志向の思考という3因子構造で評価する質問紙である。この傾向は心身症患者によく認められるが、本研究ではコントロール群との間に有意差は認められなかった。SSASは不快な身体感覚に対する関心の高まりを評価する10項目の質問紙で、頻度や程度が強くないにも関わらず、特定の身体感覚へ選択的に注意が集中する傾向、あるいは出現した感覚を病的なものと感じる感情・認知面の傾向を評価する。心気症などの身体表現性障害の患者においてこの傾向が高いと言われている[21]が、結果はコントロール群と有意差はなかった。先行研究では、妥当性尺度・臨床尺度・追加尺度から被験者の人格障害傾向や精神疾患傾向を身体諸機能・行動傾向・習慣・興味・社会的態度など550項目によって評価するMMPI-2(Minnesota Multiphasic Personality Inventory 2)を使用している報告がいくつかあり[22-24]、MCS患者では発症後に心気症・ヒステリー尺度が高くなり、病像が進行すると共に心気症・ヒステリー・抑うつ・精神衰弱・精神分裂病尺度が高くなるとしている報告もある[24]。本研究ではMCS患者の発症に関わるパーソナリティ傾向を評価することが目的であったため、上記3つの質問紙を使用し、これらが評価できる範囲内ではMCSの発症に特徴的なパーソナリティの関与は認められないという結果を得た。つまり、偏った性格やアレキシサイミア、身体に生じた感覚を病的に感じる誤った認知などの問題と、化学物質による症状発現には明らかな関わりはないということが示唆された。これらの患者が、病像の進行と共にどのようにパーソナリティが変化していくのかを調べていくことは、今後の課題である。

次に、何らかの心理ストレスを体験したときの対処方法の傾向を調べた。ストレス対処とは、なんらかの心理的ストレスを体験した個人が、嫌悪の程度を弱め、また問題そのものを解決するために行う、さまざまな認知的・行動的試みのことである。TAC-24では対処法略の次元として、問題焦点-情動焦点軸;具体的問題解決によって対処しようとするか情動調整を行おうとするか、接近-回避軸;積極的に関わる態度か回避あるいは無視して距離を置こうとする態度か、反応系軸;認知系か行動系か、という3つの側面を組み合わせた8通り(情報収集、放棄・諦め、肯定的解釈、計画立案、回避的思考、気晴らし、カタルシス、責任転嫁)のストレス対処スタイルを評価する。今回の患者群は、自己の症状の原因を化学物質であると認知し専門外来を受診するという行動をしたものであり、問題焦点型の傾向、問題に接近する傾向、行動系の傾向があるのではないかと推測していたが、コントロール群との間に有意差は認められなかった。LHQのストレス対処スキルの項目(問題解決、時間解決型、情動焦点型)でも有意差はなかったことから、本患者群が特徴的な対処スタイルに起因した受療行動を取ったとは言えないことが示唆された。ソーシャルサポートの項目も

有意差を認めず、少なくとも今回調査した範囲内では発症や経過に関わる個人差要因として患者群に特徴的な心理行動特性は認められないと考えられた。

また、個人差要因としての過去1ヶ月間の喫煙および飲酒の有無は有意差は認められなかった。

## 2) 発症後の身体・心理・行動的反応

MCSを発症して出現した身体症状および心理症状の相互関係を検討するために、質問紙としてはCMI健康調査票、POMS、LHQのうちストレス反応としての身体症状・行動変化・心理症状を評価した。CMIは、個人の身体面と精神面の両方にわたる自覚症状を比較的短時間で調査でき、深町の神経症判別基準により個人の神経症傾向も評価出来る。結果では、身体的自覚症状のうち「呼吸器系」「心臓脈管系」「疲労度」「疾病頻度」「既往歴」と「総点」は患者群で有意に高かった。精神的自覚症状では両群に有意差を認めなかった。POMSは一過性の変化しやすい情動的状态を迅速に評価する質問紙で、緊張-不安(Tension-Anxiety)・抑うつ-落胆(Depression)・怒り-敵意(Anger-Hostility)・活力-積極性(Vigor)・疲労-無気力(Fatigue)・混乱-物怖じ(Confusion)の6つの因子で評価する。患者群は、「活力」が有意に低かった。LHQにおいても、ストレス反応としての身体・行動・心理いずれの症状も有意差は認められなかった。LHQで患者群に高かった「現在感じているストレス度」は発症後のものと考えられ、本症による身体的苦痛のほか化学物質を避けるためにライフスタイルそのものの変化(転職や転居など)を余儀なくされるなど、心理的苦痛を伴うことが多いのではないかと推測された。これまでの報告では、先述のMMPI-2を使用して特徴的な結果が得られたというものや心理症状が多いとする報告もあるが、MCS患者はストレス反応として心理症状よりも身体症状を多く出現させるという報告もある[23]。本研究では、POMSで認められた項目もMCS発症後の身体的症状により引き起こされているものと考えられ、不安や抑うつなどの心理症状よりも主に身体症状が認められたと考えてよい。

精神疾患の診断は、欧米の精神科医と一般臨床医が共同で作成した短時間で施行可能な構造化面接であるM.I.N.I.と、DSM- (精神疾患の分類と診断の手引き;米国精神医学会)の軸および軸の主要な障害の診断を下すための構造化面接であるSCIDの一部を使用した。本研究ではM.I.N.I.のうち、大うつ病エピソード(現在・過去)、気分変調症、躁病・軽躁病エピソード(現在・過去)、パニック障害(現在・生涯)、広場恐怖、社会恐怖、強迫性障害、精神病性障害(現在・生涯)、神経性無食欲症、神経性大食症、全般性不安障害の項目を選択し、SCIDからはMCSとの合併が多いと言われている[25]身体表現性障害の項目を抜粋して施行した。この結果、何らかの精神疾患の診断率が80%と患者群で明らかに多く、特に身体表現性障害が60%と明らかに多かった。これまでの報告では、Blackのreviewでも12の研究でMCS(IEI)の42%から100%に精神疾患の合併を認めたと述べられており[26]、本研究も含め非常に高い精神疾患の合併率を示している。その内訳は各報告によって若干異なるが、ほとんどが身体表現性障害、不安障害、気分障害の3つである。この考察にはいろいろな意

見があり、ある研究者は MCS の病態がすなわち身体化障害そのものであると位置付けている [27]。MCS 発症以前から身体化障害の診断基準に当てはまっているものがあるという判断であるが、発症の時期が断定できない患者については MCS と身体化障害のどちらが先に発症したのかという議論は困難であろう。さらに、身体表現性障害の診断基準の捉え方および MCS の病態の不確かさにも問題があると考えられる。つまり、MCS が既知の一般身体疾患ではないという前提のもとでは、MCS によるさまざまな身体症状が身体表現性障害として診断されてしまい、MCS が既知の一般身体疾患とすれば、ほとんどの患者に身体表現性障害の診断がつかなくなるのである。この点に関して慢性疲労症候群の研究を行った Johnson らは、身体表現性障害という概念は原因が確定していない病態に対しては限られた有用性しか持たないと述べている [28]。MCS の病態が解明されていない現時点では、MCS を既知の一般身体疾患としない前提で身体表現性障害の診断をする必要があり、MCS と身体表現性障害との関連は今後課題を残している。

次に不安障害についても様々な報告があり、中でも Binkley らの最近の報告では IEI 患者の DNA に、パニック障害患者に認められる cholecystokinin B (CCK-B) receptor allele 7 がコントロールに比べて有意に多く認められたとしている [29]。先の Black は、患者が発症とともに強めていく「毒物恐怖 (化学物質恐怖)」を広場恐怖と区別することは実質的に困難で、化学物質の曝露によってパニック発作を疑わせるような症状を発現するために、不安障害の診断率が高くなるのではないかとしている。本研究でも、不安障害の内訳では「パニック発作の既往のない広場恐怖」が認められ、化学物質に曝露されると様々な症状が起こるという恐怖から特定の場所 (例えば新築の家、衣料品売り場、書店など) を避けたり、苦痛や不安を伴うということが考えられ、通常のパニック障害患者が避けようとする場所 (電車、バス、映画館など) とは若干異なる印象を受けた。

気分障害は、MCS の診断基準のうち副症状にも抑うつ状態・精神の不安定さという項目があるように、MCS 患者に多く合併すると言われている。MCS 患者と他の疾患に罹患している眼科外来患者と比較して不安と抑うつとの検討を行った Tonori らは、MCS 患者群において不安も抑うつも明らかに高いという結果を報告しており、MCS 患者に不安障害と気分障害の合併率が高いことと一致していると結論付けている [30]。本研究では、不安障害、気分障害ともに高い診断率であったが、質問紙では心理症状としての不安や抑うつに有意差を認めなかった。この理由としては、MCS 発症の結果として起こる行動面の障害によって診断に至ることが多い一方で、自覚的な認知・感情面の障害は目立たない可能性が考えられる。

以上のように、今回患者群に認められた精神疾患の大部分は、MCS 発症に関連して診断されたものと考えられた。面接時のインタビューから M.I.N.I. で生涯 (過去) の診断がついた者は明らかに MCS 発症前の診断であることが分かっているが、生涯 (過去) の診断率のみでは有意差を認めおらず、元々精神疾患を有していた者が MCS を発症したとは言えない。

最後に、自律神経機能がどのような影響を受けているかを調べるために心拍変動の

測定を行った。心拍変動とは自律神経入力のゆらぎによって変動する心拍周期のゆらぎであり、心電図波形のRR間隔(RRI)のゆらぎをさす。RRIを周波数解析すると呼吸性の変動成分、血圧変動が反映された変動成分、フラクタル成分の3要素が分離される。欧米の心臓病学会の(暫定的)分類基準[16]に従って、心拍変動を連続した4つの間隔に分けると、High frequency(HF;0.15-0.40Hz)は呼吸入力による副交感神経系のバックグラウンド活動の変調、Low frequency(LF;0.04-0.15Hz)は血圧のフィードバック調節に伴う交感・副交感神経系活動の変調によるものとされている。そしてHF成分は副交感神経機能、LF/HFは交感神経機能を表す指標として利用される。今回、安静時の心拍変動では患者群でLF/HFが有意に高かった。このことからMCS患者では賦活されなくてもよい安静時に賦活されてしまうという交感神経系の不安定性が示唆された。

#### (5) 小結論

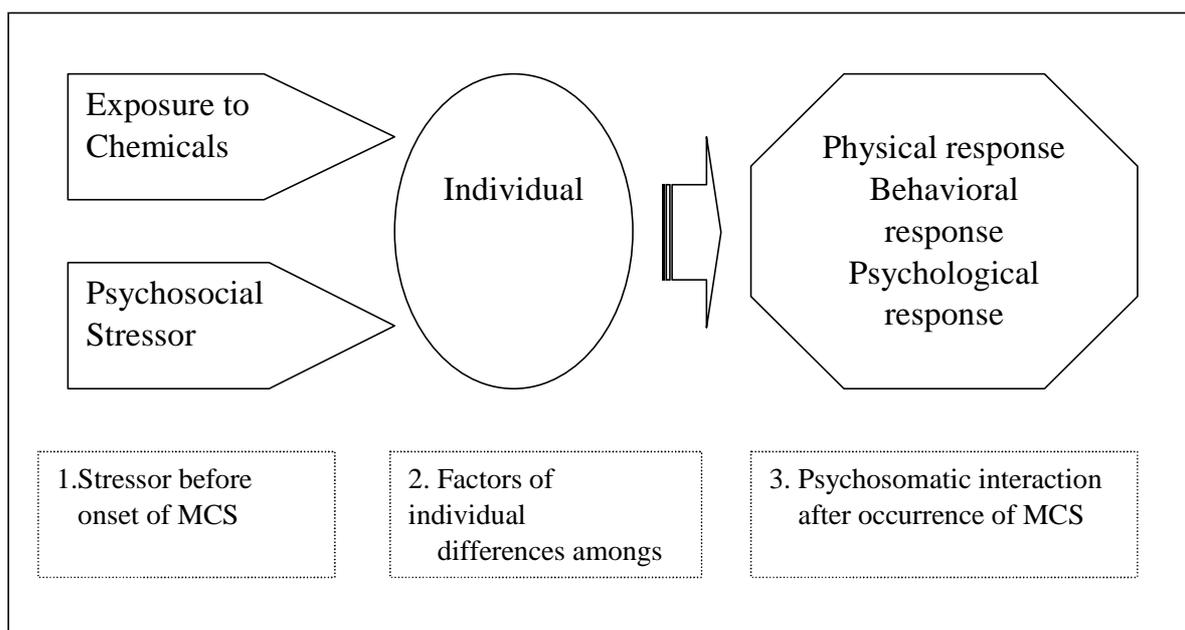
以上より、MCSの発症に関わるメカニズムおよび発症後の病態において心身相関が成立しているという心身医学的観点からストレスモデルを仮定した。1)患者背景 a)発症に先立つ心理社会的ストレス、b)発症および経過に関わる個人差要因、2)発症後の身体・心理・行動的反応という観点から研究を行った。その結果、発症への心理社会的ストレスの関与はあるとはいえなかったが、発症後には様々な身体精神症状が認められ、精神疾患の合併も増えることが分かった。発症及び経過に関わる特徴的なパーソナリティやストレス対処スタイルは認められなかった。以上より、特徴的なパーソナリティやストレス対処スタイルとは関係なく、化学物質の曝露という身体的ストレスによってMCSが発症するという可能性が考えられた。

#### 心療内科検査参考文献

- 1) 野村忍.: 新しいストレス評価質問紙法(生活健康調査表)の信頼性と妥当性に関する研究. 東京大学医学部学位論文, 1996.
- 2) Eysenck HJ. et.al. : A revised version of the Psychoticism scale. Personality and Individual Differences 6:21-29, 1985.
- 3) Toru H. Masahiro O.: Reliability and Validity of a Japanese Version of the Short-Form Eysenck Personality Questionnaire-Revised. Psychological Report 72:823-832, 1993.
- 4) Bagby, R.M. et.al. : The Twenty-Item Toronto Alexithymia Scale-. Item selection and cross-validation of the factor structure. J Psychosomatic Research 38: 23-32, 1994a.
- 5) Greame JT.他著, 福西勇夫監訳:アレキシサイミア 感情制御の障害と精神・身体疾患、星和書店. 1998.
- 6) Barsky AJ, et.al. : The amplification of somatic symptoms. Psychosomatic Medicine, 50:510-519, 1988.
- 7) 中尾睦宏、熊野宏昭、久保木富房、他:身体感覚増幅尺度日本語版の信頼性・妥

- 当性の検討 - 心身症患者への臨床的応用について - . 心身医 41 : 539-547、2001
- 8) 神村栄一他.: 対処方略の三次元モデルの検討と新しい尺度 (TAC-24) の作成. 教育相談研究, 33:41-47, 1995.
  - 9) Brodman, K. et.al. : Cornell Medical Index-Health Questionnaire Manual (revised 1955). The New York Hospital and the Department of Medicine (Neurology) and Psychiatry. Cornell University Medical College.
  - 10) 金久卓也、深町 健著 : 日本版コーネル・メディカル・インデックスその解説と資料、三京房、1983 .
  - 11) McNair D.M. et.al. : Manual for the Profile of mood states (POMS). Educational and industrial testing service, 1971.
  - 12) 横山和仁他. : 日本語版 POMS 手引き、金子書房、1994 .
  - 13) David V. et.al. : The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): The Development and Validation of a Structured Diagnostic Psychiatric Interview for DSM- and ICD-10. J Clin Psychiatry 59[suppl 20]: 22-33, 1998.
  - 14) 高橋三郎他 . : Structured Clinical Interview for DSM- R 使用の手引き . 医学書院 , 1991 .
  - 15) 岡野禎治他 . : Structured Clinical Interview for DSM- (未発刊)
  - 16) Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. : Heart rate variability : standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Circulation Vol.93, pp.1043-1065, 1996.
  - 17) Friedman MJ. : Neurobiological sensitization models of post-traumatic stress disorder: their possible relevance to multiple chemical sensitivity syndrome. Toxicol Ind Health 10(4-5): 449-62, 1994.
  - 18) Bell IR. Baldwin CM. Russek LG. et.al. : Early life stress, negative paternal relationships, and chemical intolerance in middle-aged women: support for a neural sensitization model. J Womens Health 7(9): 1135-47, 1998.
  - 19) Yoshiuchi K. et.al. Stressful life events and smoking were associated with Graves' disease in women, but not in men. Psychosomatic Medicine 60:182-5, 1998
  - 20) Eysenck HJ 著, 清水義治, 水沼寛, 永島克彦訳/監訳 : たばこ・ストレス・性格のどれが健康を害するか, 星和書店, 1993 .
  - 21) Barsky AJ, et.al. : The somatosensory amplification scale and its relationship to hypochondriasis. J Psychiat Res 24:323-334,1990.
  - 22) Fiedler N, Kippen HM, DeLuca J, et.al. : A controlled comparison of multiple chemical sensitivities and chronic fatigue syndrome. Psychosomatic Medicine 58: 38-49, 1996.
  - 23) Fiedler N, Kipen H, DeLuca J, et.al. : Neuropsychology and Psychology

- of MCS. *Toxicol Ind Health* 10(4-5) : 545-54, 1994.
- 24) Davidoff AL, Forgarty L, Keyl PM.: Psychiatric inferences from data on psychologic/psychiatric symptoms in multiple chemical sensitivities syndrome. *ArchEnviron Health* 55(3): 165-75, 2000.
  - 25) Bell IR, Hardin EE, Baldwin CM, Schwartz GE. : Increased limbic system symptomatology and sensitizability of young adults with chemical and noise sensitivities. *Environ Res*70(2): 84-97, 1995.
  - 26) Black DW. : The relationship of mental disorders and idiopathic environmental intolerance. *J Occup Med* 15(3):557-70, 2000.
  - 27) Gothe CJ, Molin C, Nilson CG.: The environmental somatization syndrome. *Psychosomatics* 36:1-11, 1995.
  - 28) Johnson SK. et.al. Assessing somatization disorder in the chronic fatigue syndrome. *Psychosomatic Medicine* 58:50-57, 1996.
  - 29) Binkley K, King N, Poonai N, et.al. : Idiopathic environmental intolerance: increased prevalence of panic disorder-associated cholecystokinin B receptor allele 7. *J Allergy Clin Immunol* 107(5):887-90, 2001.
  - 30) Tonori H, Aizawa Y, Ojima M, et.al. : Anxiety and depressive states in multiple chemical sensitivity. *Tohoku J Exp Med* 193(2):115-26, 2001.



☒ F -1 Understanding of idiopathic multiple chemical hypersensitivity (MCS) as stress

表 F-1 Subject Characteristics

Group		Patients	Controls
Number		15	36
Sex	Male	7	7
	Female	8	29
Age	Min.~Max.	23y.o.~42y.o.	21y.o.~48y.o.
	Mean±SD	34.3±5.3	31.7±6.6
Educataion	University	9	13
	College	2	9
	High school	2	8
	Student	2	6
Occupation	(+)	9	21
	(-)	6	15
Marriage	(+)	7	20
	(-)	8	16

表 F-2 Stressors before Onset of MCS

Scale	Patients		Controls		Main Effect of Group			Main Effect of Sex			Interaction of Group x Sex		
	Mean	SD	Mean	SD	F	p		F	p		F	p	
LHQ A. Life events													
Total stress scores during past one years	105.60	126.35	120.53	141.13	0.153	0.698	N.S.	0.275	0.602	N.S.	0.391	0.535	N.S.
Endurable highest stress scores	71.53	25.82	79.19	12.59	1.135	0.292	N.S.	0.710	0.404	N.S.	2.061	0.158	N.S.
LHQ B. Daily hassles													
	26.00	10.97	25.56	10.40	0.083	0.774	N.S.	0.484	0.490	N.S.	1.081	0.304	N.S.

LHQ; Life Health Questionnaire

表 F-3 Factors of Individual Differences

Scales	Patients		Controls		Main Effect of Group			Main Effect of Sex			Interaction of Group & Sex		
	Mean	SD	Mean	SD	F	p		F	p		F	p	
EPQ-R Psychoticism (P)	3.27	1.71	3.36	1.85	0.000	0.997	N.S.	2.362	0.131	N.S.	2.874	0.097	N.S.
Extraversion/Introversion (E)	5.73	2.31	6.08	3.66	0.148	0.702	N.S.	0.001	0.982	N.S.	0.060	0.808	N.S.
Neuroticism (N)	6.53	3.66	6.00	3.35	0.828	0.368	N.S.	0.098	0.756	N.S.	1.146	0.290	N.S.
Lie scales (L)	4.40	3.33	4.92	2.70	0.444	0.509	N.S.	1.745	0.193	N.S.	2.044	0.159	N.S.
TAS-201 ① Difficulty identifying feelings	14.53	6.61	15.83	5.98	0.079	0.780	N.S.	0.160	0.691	N.S.	0.478	0.493	N.S.
② Difficulty describing feelings	14.00	3.48	13.06	3.93	0.724	0.399	N.S.	0.022	0.884	N.S.	0.225	0.637	N.S.
③ Externally oriented thinking	20.47	3.00	20.47	2.48	0.033	0.857	N.S.	0.006	0.939	N.S.	0.208	0.650	N.S.
④ Total	49.00	11.01	49.50	9.90	0.006	0.939	N.S.	0.036	0.850	N.S.	0.249	0.620	N.S.
SSAS Total	27.60	6.61	30.86	5.52	3.632	0.063		0.404	0.528	N.S.	0.066	0.798	N.S.
TAC-24 ① Getting information	10.07	2.31	9.39	2.75	0.570	0.454	N.S.	0.066	0.798	N.S.	0.041	0.841	N.S.
② Giving up	6.73	1.83	6.03	2.26	1.246	0.270	N.S.	0.225	0.637	N.S.	0.003	0.953	N.S.
③ Positive interpretation	10.60	2.26	10.78	2.85	0.049	0.827	N.S.	0.656	0.422	N.S.	0.523	0.473	N.S.
④ Plan drafting	12.00	2.36	10.56	2.79	0.860	0.358	N.S.	0.440	0.510	N.S.	2.488	0.121	N.S.
⑤ Avoidance-like thinking	6.93	2.49	7.58	2.60	0.309	0.581	N.S.	1.644	0.206	N.S.	0.194	0.662	N.S.
⑥ Distractive recreation	9.07	2.60	8.08	2.63	1.620	0.209	N.S.	3.409	0.071	N.S.	1.224	0.274	N.S.
⑦ Catharsis	9.93	2.84	10.36	2.97	0.009	0.927	N.S.	8.662	0.005		0.512	0.478	N.S.
⑧ Evading one's responsibility	4.73	1.79	5.14	1.81	0.847	0.362	N.S.	0.397	0.532	N.S.	0.062	0.804	N.S.
LHQ C. Stress coping skills													
f1.Problem-focused coping	9.00	2.67	7.81	1.89	1.112	0.297	N.S.	0.664	0.419	N.S.	7.502	0.009	
f2.Waiting-for-time-to-pass coping	4.13	6.12	4.00	2.27	0.064	0.801	N.S.	5.335	0.025		2.050	0.159	N.S.
f3.Emotion-focused coping	4.80	1.78	4.39	1.76	0.582	0.449	N.S.	5.419	0.024		3.178	0.081	N.S.
D. Social support	16.00	3.18	14.78	4.58	0.279	0.600	N.S.	0.035	0.851	N.S.	1.279	0.264	N.S.

EPQ-R; Eysenck Personality Questionnaire Revised, TAS-20R; Toronto Alexithymia Scale, SSAS; Somatosensory Amplitude Scale

TAC-24; Tri-Axial Coping Scale, LHQ; Life Health Questionnaire

表 F-4 The Number of Subjects Having Smoking or Drinking Habit

Category	Patients			Controls		
	Male(n=7)	Female(n=8)	TOTAL(n=15)	Male(n=6)	Female(n=30)	TOTAL(n=36)
Smoking habits	3	1	4	3	7	10
Before onset	3	1	4			
Drinking habits	4	3	7	5	21	26
Before onset	5	6	11			

表 F-5 Psychosomatic Interaction after Occurrence of MCS

Scales	Patients		Controls		Main Effect of Group			Main Effect of Sex			Interaction of Group & Sex				
	Mean	SD	Mean	SD	F	p		F	p		F	p			
CMI															
Physical symptoms	A. Eyes and ears	3.00	2.17	1.75	1.76	1.814	0.184	N.S.	1.738	0.194	N.S.	0.789	0.379	N.S.	
	B. Respiratory system	5.73	4.54	2.83	2.85	4.567	0.038		0.531	0.470	N.S.	0.278	0.601	N.S.	
	C. Cardiovascular system	3.13	2.90	1.64	1.76	5.699	0.021		4.372	0.042		0.911	0.345	N.S.	
	D. Digestive tract	4.93	3.58	3.08	2.47	2.662	0.109	N.S.	0.322	0.573	N.S.	0.191	0.664	N.S.	
	E. Musculoskeletal system	1.27	0.96	1.14	0.99	0.110	0.742	N.S.	0.559	0.458	N.S.	0.581	0.450	N.S.	
	F. Skin	3.07	2.63	2.47	1.73	1.030	0.315	N.S.	0.606	0.440	N.S.	0.034	0.855	N.S.	
	G. Nervous system	2.80	2.54	1.53	1.78	3.843	0.056		0.280	0.599	N.S.	0.009	0.926	N.S.	
	H. Genitourinary system	2.13	2.03	2.31	2.04	0.596	0.444	N.S.	13.440	0.001		0.028	0.867	N.S.	
	I. Fatigability	2.00	1.60	1.00	1.22	4.301	0.044		0.038	0.847	N.S.	0.038	0.847	N.S.	
	J. Frequency of illness	2.27	2.76	0.33	0.76	14.240	0.000		0.120	0.731	N.S.	0.169	0.683	N.S.	
	K. Miscellaneous diseases	1.60	1.24	0.89	1.21	5.269	0.026		5.679	0.021		0.229	0.635	N.S.	
	L. Habits	2.73	1.49	2.06	1.57	2.165	0.148	N.S.	0.059	0.809	N.S.	0.509	0.479	N.S.	
	Total	34.67	18.28	21.03	12.24	8.257	0.006		0.540	0.466	N.S.	0.221	0.640	N.S.	
Psychological symptoms	M. Inadequacy	2.40	2.87	1.78	2.02	0.900	0.348	N.S.	0.346	0.559	N.S.	0.001	0.975	N.S.	
	N. Depression	0.87	1.55	0.44	0.65	2.537	0.118	N.S.	0.340	0.563	N.S.	0.281	0.599	N.S.	
	O. Anxiety	1.87	1.46	1.28	1.72	1.988	0.165	N.S.	1.913	0.173	N.S.	0.012	0.912	N.S.	
	P. Sensitivity	2.20	2.46	1.33	1.60	2.283	0.137	N.S.	1.591	0.213	N.S.	0.367	0.548	N.S.	
	Q. Anger	2.13	2.45	2.36	2.44	0.052	0.820	N.S.	0.013	0.908	N.S.	0.052	0.820	N.S.	
	R. Tension	1.13	1.81	1.11	1.12	0.013	0.910	N.S.	0.001	0.971	N.S.	0.259	0.613	N.S.	
	Total	10.60	10.62	8.31	7.31	0.945	0.336	N.S.	0.563	0.457	N.S.	0.014	0.907	N.S.	
POMS	Tension-Anxiety	11.27	8.88	10.78	6.62	0.010	0.920	N.S.	0.018	0.893	N.S.	0.150	0.700	N.S.	
	Depression	13.67	14.39	13.31	11.95	0.397	0.532	N.S.	1.040	0.313	N.S.	0.621	0.435	N.S.	
	Anger-Hostility	9.27	8.60	12.58	9.55	0.958	0.333	N.S.	0.295	0.590	N.S.	0.437	0.512	N.S.	
	Vigor	8.20	5.33	12.86	6.00	7.714	0.008		0.007	0.935	N.S.	1.200	0.279	N.S.	
	Fatigue	11.47	7.16	9.97	6.26	0.672	0.416	N.S.	1.266	0.266	N.S.	0.244	0.623	N.S.	
	Confusion	10.00	6.65	7.69	4.33	2.118	0.152	N.S.	0.510	0.479	N.S.	0.046	0.830	N.S.	
LHQ															
A. Life events	Present stress scores	48.47	27.73	36.89	26.91	4.422	0.041		3.480	0.068	N.S.	0.675	0.415	N.S.	
	Stress responses	E. Behavioral change	22.67	8.08	22.08	6.93	0.000	0.993	N.S.	1.268	0.266	N.S.	0.051	0.823	N.S.
		H. Psychological symptoms	16.20	10.91	15.50	10.04	0.336	0.565	N.S.	0.957	0.333	N.S.	0.108	0.744	N.S.
		I. Physical symptoms	21.93	10.95	16.61	9.48	2.757	0.104	N.S.	0.799	0.376	N.S.	0.259	0.613	N.S.

CMI; Cornell Medical Index, POMS; Profile of Mood State, LHQ; Life Health Questionnaire

表 F-6 The Number of Subjects Having Psychiatric Diseases

Category		Patients			Controls			
		Male(n=7)	Female(n=8)	TOTAL(n=15)	Male(n=6)	Female(n=30)	TOTAL(n=36)	
Anxiety Disorders	TOTAL	3	2	5	0	3	3	
	Present	Agoraphobia without History of Panic Disorder	1	0	1	0	0	0
		Limited Symptom Panic Attack	0	0	0	0	2	2
		Panic Disorder With Agoraphobia	0	1	1	0	0	0
		Generalized Anxiety Disorder	0	0	0	0	0	0
		Social Phobia	1	0	1	0	0	0
		Obsessive-Compulsive Disorder	0	1	1	0	0	0
		Lifetime Panic Disorder	1	0	1	0	1	1
Mood Disorders	TOTAL	3	4	7	0	2	2	
	Present	Major Depressive Episode Melancholic Features !	0	0	0	0	0	0
		Dysthymic Disorder	1	1	2	0	0	0
		Major Depressive Episode	1	1	2	0	1	1
		Mood Disorder With Psychotic Disorder				0	0	0
	Lifetime	Hypomanic Episode	0	1	1	0	1	1
		Manic Episode	0	0	0	0	1	1
		Major Depressive Episode	1	1	2	0	0	0
Somatoform Disorders	TOTAL	4	4	8	0	0	0	
	Present	Somatization Disorder	1	3	4	0	0	0
		Undifferentiated Somatoform Disorder	3	1	4	0	0	0

表 F-7 Heart Rate Variability

	Patients		Controls		Main Effect of Group			Main Effect of Sex			Interaction of Group & Sex		
	Mean	SD	Mean	SD	F	p		F	p		F	p	
HF/Total	0.14	0.07	0.13	0.15	0.537	0.467	N.S.	0.745	0.393	N.S.	0.285	0.596	N.S.
LF/HF	2.00	1.02	0.75	1.16	9.715	0.003		0.013	0.909	N.S.	0.134	0.716	N.S.

LF; Low frequency power: 0.040-0.150 hz, HF; High frequency power: 0.150-0.400 hz

HF/Total; PNS (parasympathetic nervous system) indicator, LF/HF; SNS (sympathetic nervous system) indicator

## G . 症例ごとの検討

患者に個人差が大きく、事前に設定した検査項目の平均値では理解し得ない点もある。そのために、各症例毎に改めて検討を加えた。

### 症例 1

本人の子供の症状は自律神経失調である。本人は精神的には不安定な状態であると思われた。

外来時一般血液検査で、MCV が高値を示していた。本症患者、特に女性患者では MCV の高値がしばしば観察されている（遠乗秀樹：2002 年臨床環境医学会抄録）。

体温はプラセボ負荷では低下、40ppb ホルムアルデヒド負荷で上昇がみられた。

瞳孔検査では、プラセボでは異常無く、ホルムアルデヒド負荷では異常が出現していたが、昨年度と異なり、変化は軽かった。体調がやや回復してきたとの自覚症状の反映かも知れない。

呼吸機能検査では、末梢性気道閉塞を示唆する低値を示していた。

### 症例 2

診療を行っていても非常に常識的な患者であるが、昨年度ガス負荷ではヤマを掛けた傾向があった。本年度は 2 日間のマスク除去と馴らし検査で、特に緊張無く検査は推移したようである。

本年度の症状スコアはプラセボでスコア減少を示していた。一見精神的に安定化と思われても、ガス負荷には緊張をもって臨んでいる様である。一方 8ppb、40ppb とも、負荷終了後もスコアの増加を示していた。

体温はプラセボでは低下、8ppb、40ppb では負荷後に上昇を示していた。昨年度もプラセボで体温低下、40ppb 負荷では体温上昇を示していた。間違いなく体温は反応を示しているようである。

瞳孔検査ではプラセボを含めて負荷後にまったく変動は生じなかった。

呼吸機能検査では V25 のみが低値であった。

### 症例 3

中毒症から多種類化学物質過敏状態に移行してきた患者である。平成 13 年度の入院検査患者で、なお休職加療中のために、今年度も入院ガス負荷試験に応じてくれた。過去 2 年間に点滴、酸素補充療法により自覚症状は非常に好転しており、顔の表情も非常に明るくなっていた。下肢末端の知覚障害も軽減し、肝機能も正常化している。しかし職場に顔を出すと、早期から頭痛などが出現するために、いまだ復職出来ない。

自覚症状では、プラセボ負荷後に改善、ホルムアルデヒドではスコアの増加を認めた。前回と同様に、今回も後日の診療では、40ppb 負荷日を見事に言い当てていた。引き起こされる体調の変化から分かるということである。

体温検査ではプラセボでは低下、ホルムアルデヒドでは上昇を明らかに示していた。

瞳孔検査ではすべてに反応せず、13年度と大きな差を示した。前年度よりも体調が回復してきていることを示唆していた。

#### 症例 4

新築オフィスに移転してから発症した患者である。加療と旧オフィスに戻ることに  
より、徐々に体調の回復をみている。

自覚症状では、40ppb で差はわずかであるが、スコアの増加を認めた。

体温も 40ppb のみに反応性の上昇を認めていた。

瞳孔検査ではプラセボで反応せず、8ppb ではわずかに、40ppb では強く反応を示し  
ていた。この患者にとっては 40ppb には反応しても、8ppb ではあまり反応しないのか  
もしれない。

#### 症例 5

患者の自覚症状は過去 1 年間で相当改善し、一番苦痛であった頭痛も減少してきて  
いる。

自覚症状スコアでは、13 年度と同様に非常に安定していた。プラセボ負荷では変動  
なく、ホルムアルデヒド負荷では用量依存性にスコアが上昇していた。

体温はすべてにわたって低下を示していたが、プラセボで最も低下が著明で、用量  
依存性に低下の幅が小さくなっていた。

瞳孔検査では、プラセボで反応せず、8ppb、40ppb 負荷では僅かなな変動を示した。  
40ppb ではまったく変動を示さなかった。

スパイロメーター検査結果での異常は軽微である。

#### 症例 6

極めて普通の印象の患者である。体調がやや安定化しているために、就職する予定  
とのことである。平成 13 年度負荷検査で反応を示したが、今回反応性の確認のため  
に、再度のガス負荷試験に応じてくれた。

自覚症状総スコアでは用量依存性にスコアの上昇を示していた。昨年度も同様に用  
量依存性にスコアの上昇を示していた。

体温は 8ppb のみで上昇を認めたが、40ppb では認められなかった。

最高血圧はプラセボで最も低下、8ppb では軽度低下、40ppb ではさらに軽度低下と  
用量依存性が認められた。

s P02 も同様の傾向で、プラセボでは上昇、8ppb、40ppb と用量依存性に末梢の酸  
素濃度の低下が認められた。

瞳孔検査では、昨年度はホルムアルデヒド負荷では変動を示したが、今回ではプラ  
セボを含めて、まったく異常を示さなかった。

呼吸機能検査では、特に異常を示さなかった。

NIRO 検査でも負荷による変動はなかった。

症例 4 もそうであったが、積極的な入院治療を行うと、反応が鈍くなるようである。

## 遅発症状

今回の負荷後の特徴的所見は、40ppb 負荷後 5 時間目頃から自覚的にも熱発し、検温で 38.5 度を示した。特に処置をせずに経過観察したところ、翌朝 9 時には 36.8 度、昼には 36.6 度の平熱へ復した。これまで、体温測定をガス負荷直後に行ってきたが、さらに時間を追って測定する必要があるかもしれない。なおこの異常体温上昇はスコアには反映されていない。さらに、40ppb 負荷翌朝には皮膚に小皮下出血斑が出現していた。この点もスコアには入っていない。

## 症例 7

実験室勤務の常識的な人物である。女性で化粧品が使えないという状況に至っている。また、食物アレルギーも併存しているようである。

自覚症状の総スコアでは、8ppb では増加を示したが、40ppb ではプラセボより増加が少なかったために、判定不能とした。

体温でも 8ppb では上昇を示したが、40ppb ではプラセボ以下であり、同様の傾向を示したと言える。最高血圧でも同様の傾向が認められた。

瞳孔検査でも、プラセボおよび 40ppb で変動を示しており、この結果は 13 年度も同様であり、判定には利用できない症例であった。

スパイロメーターでの異常は非常に軽微であった。

## 症例 8

職場の新築入居と同時に発症した。尿潜血が 2 + である。

自覚症状総スコアでは 40ppb より 8ppb が高値を示したが、いずれもプラセボよりも高い値を示した。

体温はプラセボで低下し、8ppb、40ppb では変動を示さなかった。

最高血圧は一定の傾向を示さなかった。

瞳孔検査では 40ppb のみに異常を示した。

スパイロメーターでの異常は非常に軽微であった。

## 症例 9

実験室で発症した患者である。

自覚症状スコアでは、すべての検査日で変動が少なく、非常に安定していた。

体温は 40ppb では上昇を示した。

最高血圧は 8ppb、40ppb と濃度に応じて上昇を示した。

瞳孔検査では、プラセボ、8ppb では変動なく、40ppb 負荷では変動を示した。

スパイロメーター検査ではピークフローでは異常が認められなかったが、末梢性の気道閉塞を明らかに示していた。

## 症例 10

職場の空気汚染から発症。同僚にも患者が発生しており、急性中毒から発症した本

態性多種類化学物質過敏状態である。しかし、積極的な加療により自覚症状は非常に好転しており、検査所見も変動を示すとはいえ、徐々に好転してきている。

自覚症状スコアでは、プラセボでは減少、ホルムアルデヒド負荷では増加を示した。しかし用量依存型ではなかった。

体温は 8ppb で上昇を示したが、プラセボ、40ppb では低下を示しており、一定の傾向を示さなかった。

瞳孔検査では、プラセボ、40ppb で変動を示し、一定の傾向を示さなかった。

呼吸機能ではまったく正常であった。

#### 遅発症状

40ppb 負荷の夜より、全身にかゆみが出現。そのかゆみは退院後も数日続いた。また頭痛、筋肉痛が 40ppb 負荷日の夜より出現した。その後の検査はがまんをして受けたが、一応以前の状態に戻るのに約 1 ヶ月を要した。これらの所見は症状スコアにはまったく反映されていない。なお患者はもう 2 度と負荷試験は行いたくないとのことであった。

#### 症例 1 1

本人は古着からの発症を気にしているが、問診からは相当以前からの発症であり、直接の発症原因は不明と言ってよい。

自覚症状スコアはすべてに渡り高い値を示しており、プラセボが最もスコアが高く、8ppb、40ppb の順でスコアが低くなっていた。

体温はプラセボで低下、8ppb、40ppb と上昇を示していた。

最高血圧の負荷後の低下は、プラセボが最も大きく、8ppb、40ppb の順であった。

瞳孔検査はプラセボで変動を示したが、ホルムアルデヒド負荷ではまったく変動を示さなかった。

呼吸機能では末梢性気道閉塞の傾向を示していた。

#### 症例 1 2

改装で発症しているが、職歴の衣料品販売も関与していると思われる。

尿に潜血が出ている。

自覚症状スコアは用量依存性に増加を示した。

体温はすべてにわたり、同等に上昇を示した。

最高血圧はむしろ 40ppb が最も低下している。

瞳孔検査では、8ppb でわずかに変動を示したのみであった。

#### 症例 1 3

実験室発症である。

自覚症状スコアが、現在落ち着いているために、0 の連続に終始していた。

体温上昇も認められなかった。

最高血圧の低下がプラセボで最も大きかった。

瞳孔検査では、プラセボ、8ppb、40ppb でわずかづつ変動を示した。  
呼吸機能検査では、末梢性の気道閉塞の傾向を示した。  
以上の結果は、全体としても一貫性のない結果と言えた。

#### 症例 1 4

転居の繰り返しと新築家屋の入居から発症。

尿潜血 1 +

自覚症状スコアではプラセボ、ホルムアルデヒドのいずれにも変動差がほとんど認められず、判定不能であった。

体温はホルムアルデヒド負荷後に、プラセボに比べて明かに上昇を示していた。

遅発症状

8ppb、40ppb 負荷時に、夜遅くに頭痛が出現していた。しかしプラセボの日にはむしろ快適であった。この状態はスコアに反映されていない。自覚症状からどの日がプラセボであったかが分かったと、見事に言い当てていた。ともかく、全体の傾向としては空気清浄な ECU に入院して、これまでにないほど頭はスッキリしたとのことであった。

#### 症例 1 5

小児期よりの発症である。

この症例も尿潜血 1 + である。

症状総スコアでは 40ppb で非常に増加が認められている。

体温はプラセボで低下、ホルムアルデヒドで上昇を示している。

最高血圧も 40ppb では上昇している。

瞳孔検査では 40ppb で変動が出現した。

遅発症状

40ppb 負荷時には負荷中に泣きはじめ、情緒的に非常に不安定となる。何とか検査を終了する。またその夕刻より皮膚に発疹が増悪し、赤い点状疹が多数出現する。この遅発性の症状はスコアには反映していない。

#### 小 括

今回と前回の検査で最も注意が必要な点は、症状には即時に出現するものと、遅発性に出現してくるものがあることである。今回は症状スコアを従前と同じにすることを前提にして症例数を増やしたが、将来は症状スコア、他覚的所見についても、負荷後どの時点で症状が出現するかについても注意して行く必要があると思われた。

## ・考察

本年度の研究は前年度の研究を踏まえて、検査対象患者数を増やし、微量化学物質負荷による患者の症状誘発を確認するために行われた。また、平成 13 年度と同様に前年度患者の再入院検査を行い、前年度負荷試験結果の再現性についても検討を加えた。すなわち本方法の信頼性の確認を行うことも一つの目標とした。その結果、本年度の再検査患者は昨年度の 1 名でなく、5 名が可能であった。また、平成 13 年度ではマスク除去のための日数を 1 日としたが、平成 14 年度は 2 日に増やした。マスク除去は、空気清浄室に入室してから 5 日目ごろまでは徐々に進行して、微量化学物質に反応性を高めるも、逆にその後は化学物質に対する反応性が低くなると言われている。またマスク除去は、軽症では速く、重症では遅いと言われている。日々変転し続ける身体の下で、プラセボ、ガス負荷をダブルブラインドで行っても必ずしも同一条件での負荷とは言い得ないかもしれないが、症例数を増やすことで、この欠点を防ぐ必要があると思われた。今回、平成 12 年度からの調査研究での資料を含めて検討したために、検査項目によっては、通算 38 症例となった。症例数が増えたことで、一応この問題点は避け得ると思われた。

本年度の対象患者には前年度と同様に比較的男性が多い。女性は家事の都合で入院検査を受けづらいのに対して、実質的に就業不能となっている男性患者にとっては入院検査を受けることが容易であったためである。また室内空気の指針値が設定されてから、シックハウス症候群の患者が外来の印象として多少軽症化してきたことも一因かも知れない。すなわち、主婦が家庭に長時間滞在してシックハウスの被害者になることがやや少なくなり、男性では職場環境からの発症が含まれているからかも知れない。

本態性多種化学物質過敏状態の患者が微量化学物質に反応して症状が出現すると、症状が 1 日以内に消失することもあるが、さらに長期にわたることがあることもあり、また症状出現が即時でなく、数日遅れて出現してくる可能性があることは、既報の通りである（宮田幹夫 他：多種類化学物質過敏症患者のホルムアルデヒド負荷試験と瞳孔 神経眼科 19: 155 161, 2002 年）。昨年度の結果から、患者によっては、遅発性に症状が出現していたり、また自覚各症状スコアに表出していない症状も出ていた。今後の自覚症状検討には、スコアの負荷後時間を置いての記入も必要と考えられた。

一方この 3 年間で再曝露試験を行った患者についても、自覚症状スコアから患者をみた場合、同じ本態性多種化学物質過敏状態患者でも負荷物質への反応は必ずしも同じとは言えず、大きく 4 つの反応型にわかれると考えられた。この中には、両年度通して一貫した反応を示す症例が認められ、今後、これら症例を引き続き検討することにより、新たな知見が得られる可能性がある。特に、症例 5 のように微量な化学物質に反応している可能性がある患者については、更に一貫性を確認しつつ、生化学や免疫、遺伝子等の多方面からの解析が継続されることが望まれる。さらに、曝露検査におけるホルムアルデヒドをはじめとする負荷物質至適濃度設定は重要課題と思われる。すなわち、真にホルムアルデヒドに反応しないのか、負荷濃度がその患者の

症状を誘発する濃度に達していないから反応しないのかの判別ができない。これらの点は、今後の曝露試験検査で検討すべき課題と思われる。また両年度を通して、本態性多種化学物質過敏状態患者中には、様々な状態の患者が混在し、均一な集団ではないことがわかった。それと同時に、自覚症状の変化を目安にしながら、統制された曝露試験を行うことで、混在した集団をより均一な集団にしていくことが可能であることが示唆された。より均一な集団が得られることで、今後の研究においては、より精度の高い、一貫した結果が得られる可能性が高くなると考えられた。

一方、バイタルサイン検査という他覚的検査では、患者がガス負荷に対して非常に緊張をもって臨んでいることが示された。また体温が 40ppb で有意に上昇を示したとはいえ、同様の傾向を示すべき他の測定値に有意の差が生じなかったために、体温のみの変動で、他覚的検査所見陽性とすべきではないと考えられた。

瞳孔検査では、本年度は測定機器の思わぬ不調があり、検査眼数が減り、そのために有意差を示す項目が減少したように思われる。しかし、ほぼ前年度同様の結果が得られた。

NIRO の基線の動揺は、サンプリング時間を 0.5 秒として、本態性多種化学物質過敏状態患者判定には利用しがたいことが判明した。サンプリング時間は短いほど、beat 信号のような周波数の一つの波の遅れを拾いこむことが少なくなるために、今後も出来るだけサンプリング時間の短い測定が望ましいと思われた。しかし、サンプリング時間を短くすると、測定時間が短時間しか出来なくなり、ガス負荷が実際上測定困難になる欠点がある。そのために、止むを得ず今回は従前通りの測定条件とした。

NIRO 検査でのゆらぎ検討のためのフーリエ解析結果は、一応の結果を示しているが、ブラインドで行ったとは言え、判断者の主観的判断であるために、今後の判定のためには、結果の数値化が求められる。これも前記と同様にサンプリングタイムの問題があり、いまだよい解決法が得られていない。

呼吸機能検査では、本態性多種化学物質過敏状態患者の末梢性気道閉塞を示す結果が前年度同様に再度確認された（表 E）。

今回の報告書の特徴は心療内科学的知見を加え得た点である。その中には患者背景としての発症に先立つ心理社会的ストレスと、発症および経過に関わる個人差要因について先ず検討が加えられた。患者群とコントロール群とに統計学上の明らかな有意差は見られなかった。一方発症後の身体・心理・行動的反応についての検討では患者群は、「活力」が有意に低かった。高かった「現在感じているストレス度」は発症後のものと考えられ、本症による身体的苦痛のほか化学物質を避けるためにライフスタイルそのものの変化（転職や転居など）を余儀なくされるなど、心理的苦痛を伴うことが多いのではないかと推測された。また何らかの精神疾患の診断率が 80% と患者群で明らかに多く、特に身体表現性障害が 60% と明らかに多かった。発症の時期が断定できない患者については本態性多種化学物質過敏状態と身体化障害のどちらが先に発症したのかという議論は困難であろう。また、本態性多種化学物質過敏状態の病態が解明されていない現時点では、本態性多種化学物質過敏状態を既知の一般身体疾患としない前提で身体表現性障害の診断をする必要があり、本態性多種化学物質過敏状

態と身体表現性障害との関連は今後に課題を残している。本態性多種化学物質過敏状態は最初から精神症状を中心した疾患である、当然の結果であろう。また中毒の後遺症としての外因性の精神疾患の記載があるように、外因性精神疾患との重複部分も考慮していく必要がある。いずれにしろこの問題は、本態性多種化学物質過敏状態患者の精神症状に大脳辺縁系の関与がこれまでも取り上げられていることを裏付けているとも言えた。さらに、自律神経機能がどのような影響を受けているかを調べるために心拍変動の測定が行われた。その結果本態性多種化学物質過敏状態患者では賦活されなくてもよい安静時に賦活されてしまうという交感神経系の不安定性が示唆された。この結果は、これまでの瞳孔対光反射分析からの患者の自律神経失調が認められている結果とも、また今回のバイタルサイン検査でも容易に測定値が変動することとも類似した結果を示しているとも考えられた。いずれにしろ、本症患者が精神症状をともなっていることは特徴でもあり、米国の精神科医が本症の主要侵襲部位に大脳辺縁系を挙げている理由もそこにある。今後も精神症状、自律神経症状が大きな特徴である本症の研究には、精神科医および心療内科医の協力が必要であることが明かであると考えられた。

今後、他疾患と鑑別するためには、他覚的マーカーを多数揃えることも、診断の参考になるのかも知れない。本態性多種化学物質過敏状態の他覚的マーカーとして使用し得る可能性のあるものとして報告されているものを以下に列記する。

一般的他覚的所見

- ・眼球追従運動異常:宮田幹夫、難波龍人:多種類化学物質過敏症(multiple chemical sensitivity)の臨床 自律神経 33:257-261、1996
- ・瞳孔対光反応での自律神経異常:宮田幹夫、難波龍人:多種類化学物質過敏症(multiple chemical sensitivity)の臨床 自律神経 33:257-261、1996
- ・視覚感度低下:宮田幹夫、難波龍人:多種類化学物質過敏症(multiple chemical sensitivity)の臨床 自律神経 33:257-261、1996
- ・調節機能異常:菊池裕美、市辺義章、難波龍人、宮田幹夫、石川哲:化学物質過敏症患者の神経学的および眼科学的所見 臨床環境医学 9:22-27, 2000
  - ・重心動揺計での異常:厚生労働省石川研究班2002年度報告書 pp31-55
  - ・脳 SPECT での血流低下:TR Simon et al: Single photon emission computed tomography of the brain in patients with chemical sensitivity. Toxicology Industrial Health 10: 573-577, 1994
  - ・Positron CTによる脳機能異常(大脳皮質の機能低下と辺縁系の興奮): G Heuser, JC Wu: Deep subcortical(including limbic) hypermetabolism in patients with chemical intolerance: Human PET studies. The role of neural plasticity in chemical intolerance Ann NY Acad Sci vol 933 2001
- ・サブスタンス P の低値(病期により高値を示す時期もある): MCSB Knabenschuh, F Bartram, WP Bieger: Einfluss neuroinflammatorischer und neuroendokriner

Mechanischen. Zeitschrift für Umweltmedizin 11: 30-35, 2003

・グルタチオンパーオキシダーゼの遺伝子的特異性(本態性多種類化学物質過敏状態患者の解毒機能の遺伝的個人差で、グルタチオン S 転移酵素とアセチル転移酵素について): NS Prang, Vvon Baehr, WP Bieger: Erhoeet genetisce Suszeptibilitaet gegennuiber Umbertgiften bei Schadestoffbelasten Patienten mit chronischem Erschoepfungssyndrom Zeitschrift fuir Umbeltmedizin 9:38-45, 2001

今回の結果から、微量ホルムアルデヒド曝露と被験者の症状誘発との間には関連はみいだせなかった。そして、今後の課題として複数化学物質混合同時負荷の検討が挙げられ、併せて、負荷時間延長の検討、症状の重み付けの必要性、負荷後遅発症状検討の必要性、患者を4群に分けて考えることが適切かどうかの検討、再現性があり整合性のある患者への再負荷試験の検討、本態性多種化学物質過敏状態自体の存否、今回の結果をさらに細かく分析することの必要性、などの問題を含め、今後の研究の方向性をさらに検討する必要があると思われた。

## ． 結論と今後の課題

本年度の研究は、平成13年度の研究を踏まえて被験者数を増やし、ごく微量の化学物質曝露による症状誘発の有無を確認するために行った。また、平成13年度の被験者の一部について再検査を行い、再現性についても検討した。

本態性多種類化学物質過敏状態と診断された者の中には、様々な状態の患者が混在し、均一な集団ではなく、今回の結果からは、ごく微量(指針値の半分以下)のホルムアルデヒドの曝露と被験者の症状誘発との間に関連はみいだせなかった。

また、自覚症状以外の所見においても、ガス曝露により著明に変化したものは無かった。ガス負荷試験時の悪化症状としての検査項目に挙げることは無理と思われた。

今後は、複数化学物質の混合同時負荷における検討を含め、研究の方向性をさらに検討する必要があると思われた。

## 第 2 章 マウスを用いた動物モデルに関する研究

## 目 次

. 研究結果の概要 .....	181
. 研究者および研究協力者名簿 .....	185
. 研究結果報告 .....	187
1 . 吸入曝露装置および曝露条件 .....	187
2 . 低濃度のホルムアルデヒドに長期曝露されたマウス嗅覚系の 形態学的解析 .....	192
3 . ホルムアルデヒド長期曝露が視床下部 - 下垂体 - 副腎軸に及ぼす 影響 .....	207
4 . 脳内海馬での情報処理変化の検討 .....	226
5 . 低濃度長期ホルムアルデヒド曝露の免疫系への影響についての検討 ..	252
6 . ホルムアルデヒド曝露した肥満細胞欠損(WBB6F1 - W/W <sup>v</sup> ) マウスとその正常対照(WBB6F1 - +/+ )マウスの免疫系への影響 ..	263
A . 病理組織およびリンパ球画分の変化 .....	263
B . 炎症性反応について .....	271
7 . 行動毒性における研究成果 .....	280
8 . 化学分析における成果 .....	283

## I. 研究結果の概要

平成13年度に引き続き、平成14年度には低濃度ホルムアルデヒド曝露による脳神経 - 内分泌 - 免疫軸それぞれのエンドポイントにおける過敏状態の発現の有無について明らかにするとともに、嗅球 - 海馬間での情報伝達系への影響をより深く分子レベルで解析した。

平成13, 14年度では、平成12年度とは違うエンドポイントで、あるいは、影響がみられたところはより詳細に過敏状態との関連について検索した。以下に、概要を示す。

### 1. 低濃度のホルムアルデヒドに長期曝露されたマウス嗅覚系の形態学的解析

化学物質の低濃度長期曝露によって、嗅覚系ニューロンに与える影響を調べるため、平成12年度はホルムアルデヒド(0, 80, 400, 2000ppb)に3ヶ月間持続的に曝露したマウスの嗅上皮を観察した結果、一部変性過程を示すものもあるが、全体としては軽微な影響であった。

平成13, 14年度は、嗅球ニューロンへの解析を主に、さらに大脳辺縁系における扁桃体での解析にも着手した。嗅球におけるチロシン水酸化酵素に対する抗体を用いて、嗅球系球体に存在するドーパミンニューロンへの影響について検討した。その結果、0ppb に比べて曝露群で陽性ニューロンの数が増え、さらに、嗅球外叢状層に存在する  $Ca^{2+}$  結合タンパク質 Parvalbumin 陽性の抑制性 GABA ニューロンの数が、曝露群で増加する傾向が見いだされた。これらの結果は、持続的に刺激が嗅球に入力するため、これを抑制する必要から、嗅球の活動が高まりこれらの免疫陽性ニューロン数が増加したものと推測される。扁桃体におけるホルムアルデヒド曝露の影響を解析した結果、扁桃体皮質核の Parvalbumin 陽性ニューロンが曝露群で多くなる傾向が認められた。扁桃体の Parvalbumin 陽性ニューロンは GABA ニューロンであるとの報告があるので、扁桃体においても、ホルムアルデヒド曝露により GABA ニューロンの活動が高まっていることが示唆される。

### 2. ホルムアルデヒド長期曝露が視床下部 - 下垂体 - 副腎軸に及ぼす影響

低濃度ホルムアルデヒドの長期曝露が視床下部室旁核の副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン (CRH) 神経細胞と下垂体副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) 細胞にどのような影響を与えるかを解析した。

平成12年度には、視床下部における CRH 免疫陽性ニューロンの増加、下垂体における ACTH mRNA の発現の増加を報告した。

平成13, 14年度には、より詳細に明らかにするためにマウスをホルムアルデヒド曝露群(非アレルギーモデル群: A群)、アレルギー性炎症モデル群(B群)、トルエン前投与群(C群)の3群に分類した。A群では0, 80, 400, 2000 ppb の濃度で12週間ホルムアルデヒドを曝露した。B群は抗原としてOVAを曝露開始前に10  $\mu$ g/マウスの濃度で2mg alumとともに腹腔内に投与し、以降OVAを3週間ごとに腹腔内に投与した。ホルムアルデヒド曝露は、A群同様に行った。C群では、500ppmのトルエンを3日間経気道曝露後、A群同様の処理を行った。

A群のCRH-免疫陽性(ir)神経細胞数、下垂体のACTH-ir細胞出現率と数並びに下垂体のACTH-mRNAの発現量は曝露量依存的に増加した。B群対照群のCRH-ir神経細胞数、下垂体のACTH-ir細胞出現率と数、並びに下垂体のACTH-mRNAの発現量は、A群対照群のものよりそれぞれ

れ有意に増加していた。B群 80ppb ホルムアルデヒド曝露マウスの CRH-ir ニューロン数、ACTH-ir ニューロンの出現率と数並びに ACTH-mRNA の発現量は、さらに増加し、A 群の 2000ppb 曝露マウスの値と差はなかった。しかし、400ppb と 2000ppb ではこれらの値は減少した。C 群の CRH-ir 神経細胞数、ACTH-ir 細胞の出現率と数並びに ACTH-mRNA の発現量は、ホルムアルデヒド曝露量依存的に増加して、A 群と同様の結果であった。

平成 13, 14 年度のまとめとして、非アレルギーモデル群では、ホルムアルデヒドがストレスラーとして作用していることを示した。一方、アレルギー性炎症モデル群では、ホルムアルデヒド曝露により HPA 軸が障害を受けていた。このように、アレルギーによるストレスと低濃度ホルムアルデヒドによるストレスで HPA 軸が損傷を受けている可能性が考えられる。

### 3. 脳内海馬での情報処理変化の検討

低濃度ホルムアルデヒドの長期吸入曝露により、大脳辺縁系の一部で学習、記憶などの高度情報処理に重要な海馬において、どのような影響を受けるか検討してきた。

平成 12 年度には、400ppb, 2000ppb で抑制性シナプス回路の反回抑制系の減弱、2000ppb 曝露群の海馬長期増強の低下を報告した。

平成 13, 14 年度には、スライス標本を用いて、集合スパイク電位と集合シナプス後電位のペアパルス解析を行った。歯状回では、対照群と比較して、集合スパイク電位のペアパルス比が 5ms, 10ms, 20ms で増加したが、集合シナプス後電位のペアパルス比は変化しなかった。CA1 領域では、集合シナプス後電位のペアパルス比が 5ms, 10ms で増加していたが、集合スパイク電位のペアパルス比は、変化しなかった。海馬スライス標本 CA1 領域におけるシナプス伝達の長期増強(LTP)については、対照群に比べて、80ppb, 400ppb, 2000ppb で減弱していたが、LTP 強度とくしゃみ回数との相関はなかった。脳内シグナル伝達の検索は、2000ppb 濃度で実験を行った。海馬では CaM キナーゼ系、大脳皮質では MAP キナーゼ系が影響を受け、海馬 CA1 領域と歯状回で synapsin I が増加していた。行動試験は 2000ppb 曝露群をもちいた。活動性、探索行動の評価としてオープンフィールド試験を行い、立ち上がり回数に有意な増加がみられた。不安の指標としては、高架プラス迷路試験を行ったが、曝露群と対照群とのあいだでは差がみとめられなかった。3 年間の海馬の結果は、低濃度ホルムアルデヒド曝露によりシナプス伝達の異常が惹起された可能性を強く示唆する。

### 4. 低濃度長期ホルムアルデヒド曝露の免疫系への影響についての検討

非アレルギーモデルとアレルギー性炎症モデルに低濃度ホルムアルデヒド曝露を行い、免疫反応への影響について比較検討した。

平成 12 年度には、アレルギー性炎症モデルでの 400 ppb 曝露による Th1 タイプのサイトカイン産生抑制、非アレルギーモデルでの 2000 ppb 曝露による脳内の炎症性サイトカイン IL-1 $\beta$  の増加を報告した。

平成 13, 14 年度には、アレルギー性炎症モデルマウスの脳において、80 と 400 ppb ホルムアルデヒド曝露による神経成長因子である NGF の増加が認められた。また、海馬における NGF mRNA の発現の増強は低濃度ホルムアルデヒドにおいて顕著であり、蛋白レベルの結果と合致した。免疫組織化学的検索でも、海馬において NGF 陽性反応の顕著な増強が確認できた。血漿中と肺胞洗浄液では、脳内とは逆に、ホルムアルデヒド曝露による NGF の有意な低下が認められた。

次に、曝露により脳の情報伝達が恒常的に変化した場合、神経伝達物質受容体の遺伝子発現量に変化が現われると仮定し、海馬及び扁桃体の NMDA 型グルタミン酸受容体(  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  mRNA)、ドーパミン受容体(D1, D2, mRNA)の mRNA 発現量を半定量的 PCR 法により測定した。海馬において、ホルムアルデヒド曝露(400ppb)により  $\alpha 1$  増加と  $\alpha 2$  低下が認められ、また D1、D2 の増加傾向もみられた。扁桃体では、 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、D1 の増加が認められた。海馬において  $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$  の構成が変化したことは、記憶形成機構に変化が生じた可能性を示唆しており、また扁桃体における  $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、D1 の増加は、情動機能の変化の可能性を示唆している。

3年間のまとめとして、低濃度ホルムアルデヒド曝露のみでは蛋白の発現の変動がみられない低い濃度でも、免疫系への刺激が加わることにより脳内での分子の動きが誘導されることが明らかとなり、過敏状態に繋がる可能性が示唆された。

## 5 . ホルムアルデヒド曝露した肥満細胞欠損(WBB6F1-W/Wv)マウスと

### その正常対照(WBB6F1-+/+)マウスの免疫系への影響

平成12年度の報告で、ホルムアルデヒド曝露によるくしゃみの増加が観察された。今年度に、肥満細胞が関与する機構について解明するために、肥満細胞欠損マウスとその正常対照マウスを用いて、ホルムアルデヒド曝露により誘導される炎症性反応について比較検討した。その結果、肥満細胞欠損モデルマウス W/Wv を用いたホルムアルデヒド(2000ppb)の12週間吸入曝露で、気道粘膜上皮細胞の著明な剥離や扁平上皮化成、腫瘍変化等を認めなかった。一方これまでに使用した C3H/HeN や C57BL/6N マウスより OVA 前感作による気道粘膜変化や炎症性細胞の浸潤が強く観察され、感受性がより高いと思われた。なお、+/+マウスでは、ホルムアルデヒド曝露群で気管上皮内の肥満細胞が増加する傾向がみられた。肥満細胞欠損マウスにみられた皮膚の慢性炎症病変は、ホルムアルデヒドの吸入曝露による反応というよりはむしろ脱毛を基盤とした皮膚刺激・掻痒の増強によるものと考えられた。またフローサイトメーターを用いてリンパ球分画について検討した結果、変化はなかった。肺胞洗浄液中への炎症性細胞の集積においては、W/Wv マウスと+/+マウスでホルムアルデヒド曝露による違いが認められた。神経成長因子である NGF や炎症誘導の神経ペプチドであるサブスタンス P については、ホルムアルデヒド曝露による変動は認められなかった。

## 6 . 行動毒性における研究成果

平成12年度の報告では、ホルムアルデヒド低濃度経気道曝露によりマウスにくしゃみが誘発されることを確認した。

平成13、14年度は、C3H/HeN マウスにおいてトルエンを前曝露した群および OVA 感作した群、さらに肥満細胞欠損モデルマウスについてホルムアルデヒド3ヶ月曝露終了時におけるくしゃみを検索した。その結果、C3H/HeN マウスにおいてはこれまでの結果同様にホルムアルデヒドの曝露濃度依存的にくしゃみの増加が観察された。また、トルエン前曝露の影響は認められなかったが、OVA を感作することにより有意にくしゃみの頻度が増加し、80ppb においても有意なくしゃみの増加が認められた。一方、肥満細胞欠損モデルマウスにおいては、有意なくしゃみの増加は認められなかった。このことは、観察されたくしゃみに肥満細胞が関与していないことが示唆された。

## 7. 化学分析における成果

今年度新たに用いた肥満細胞欠損モデルマウス W/W<sup>v</sup> において強度の皮膚病変を呈したため、マウスの飲料水などにホルムアルデヒド以外の揮発性有機溶剤 VOCs などの混入を含め水質に異常がないか検討した。その結果、測定したクロロホルムは日本の環境基準の約 1/10、トリクロロエチレンは検出限界以下と低値であった。マウスの飲料水中の残留塩素濃度は、水道法の水質基準を満たしており、かつ北九州市水道局水質検査結果と同程度であった。また、以前から試みているバイオマーカーの検索としてホルムアルデヒド-ヘモグロビン付加体の測定法の改良や、今年度は新たに酸化ストレスの代表的マーカーである尿中 8-OHdG(8-ヒドロキシデオキシグアノシン)の ELISA 法による測定を試みた。しかし、2000ppb までの濃度では、これらに曝露の影響を認められなかった。

以上、平成 13, 14 年度でのまとめとして、低濃度ホルムアルデヒドのマウスへの長期曝露により嗅覚系におけるニューロンの活動の増強、視床下部 下垂体でのホルモン産生の障害、脳内海馬におけるシナプス伝達の異常、アレルギー性炎症モデルでの NGF の変動が新たな科学的知見として明らかとなった。これら反応の相互の関連性について解明することと、これらの反応がアレルギー性の過敏状態とどのように異なるのか、これらの反応はホルムアルデヒド特異的な反応か否かについては、更なる検討が必要と考えられる。

## II. 研究者及び研究協力者名簿

### 1. 吸入曝露装置および曝露条件

櫻田 尚樹	産業医科大学産業保健学部
保利 一	産業医科大学産業保健学部
嵐谷 奎一	産業医科大学産業保健学部

### 2. 低濃度のホルムアルデヒドに長期曝露されたマウス嗅覚系の形態学的解析

市川 眞澄	(財)東京都医学研究機構東京都神経科学総合研究所
林 洋	(財)東京都医学研究機構東京都神経科学総合研究所

### 3. ホルムアルデヒド長期曝露が視床下部 - 下垂体 - 副腎軸に及ぼす影響

佐々木文彦	大阪府立大学大学院
トウイ・クスマ・カ	大阪府立大学大学院
桑原 佐知	大阪府立大学大学院
塚本 康浩	大阪府立大学大学院
櫻田 尚樹	産業医科大学産業保健学部

### 4. 脳内海馬での情報処理変化の検討

笛田由紀子	産業医科大学産業保健学部
夏目季代久	九州工業大学大学院生命体工学研究科脳情報
福永 浩司	東北大学大学院薬学研究科・薬理学分野
栗生 修司	九州工業大学大学院生命体工学研究科脳情報
新井 潤	九州工業大学大学院生命体工学研究科
緒方 元気	九州工業大学大学院生命体工学研究科
野村 和美	熊本大学大学院医学研究科
名倉 陽子	東北大学大学院薬学研究科・薬理学分野

### 5. 低濃度長期ホルムアルデヒド曝露の免疫系への影響についての検討

藤巻 秀和	独立行政法人国立環境研究所
黒河 佳香	独立行政法人国立環境研究所

掛山 正心 独立行政法人国立環境研究所

櫻田 尚樹 産業医科大学産業保健学部

## 6 .ホルムアルデヒド曝露した肥満細胞欠損(WBB6F1-W/Wv)マウスとその正常対照(WBB6F1-+/+)

マウスの免疫系への影響

### A. 病理組織およびリンパ球画分の変化

佐藤 房枝 産業医科大学産業保健学部

菊池 亮 産業医科大学産業保健学部

櫻田 尚樹 産業医科大学産業保健学部

嵐谷 奎一 産業医科大学産業保健学部

### B. 炎症性反応について

藤巻 秀和 独立行政法人国立環境研究所

黒河 佳香 独立行政法人国立環境研究所

櫻田 尚樹 産業医科大学産業保健学部

## 7 .行動毒性における研究成果

櫻田 尚樹 産業医科大学産業保健学部

嵐谷 奎一 産業医科大学産業保健学部

## 8 .化学分析における成果

櫻田 尚樹 産業医科大学産業保健学部

嵐谷 奎一 産業医科大学産業保健学部

### Ⅲ. 研究結果報告

#### 1. 吸入曝露装置および曝露条件

研究協力者：榊田尚樹・保利 一・嵐谷奎一（産業医科大学産業保健学部）

ホルムアルデヒドの吸入曝露は、昨年まで同様に産業医科大学・産業保健学部において行った。なお、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を行い許可を得たうえで実施した。

以下に曝露方法の概要を示す。

##### （1）吸入曝露装置

吸入曝露実験装置の概略図（図1）を示す。装置はホルムアルデヒドのガス発生装置と、曝露チャンバーとから構成されている。

ホルムアルデヒドガスの発生には、パラホルムアルデヒドからの昇華現象を利用したホルムアルデヒドガス発生装置(1) (Hori and Arashidani, 1997) を用いた。この装置を一定温度の室内（20℃）に設置し、空気を通じることにより、一定濃度のホルムアルデヒドガスを発生させた。ガスの発生量はパラホルムアルデヒドの充填量および空気流量でコントロールした。

曝露チャンバー（容積 400L）(6)はステンレス製で、下部に尿・糞を廃棄処理するための容器と配管(7)が取り付けられている。また、チャンバー側面には、内部の空気をサンプリングするためのガス採取口が取り付けられている。このチャンバーの下部は常設の排ガス処理装置(9)に接続されており、ブローア(10)を用いて処理された空気を排気することにより、チャンバー上部から HEPA フィルター(8)を通した室内空気を希釈空気として導入する。ホルムアルデヒドガスを含む空気は、チャンバー上部の T 字型の配管部の側面から導入され、希釈空気と混合されてチャンバー内に入る。

##### （2）実験動物

実験動物は、日本チャールス・リバー(株)のC3H/HeN 雌性マウスを使用し、10週齢より曝露開始した。また、一部はJackson Laboratoryより輸入した肥満細胞欠損モデルマウス(W/Wv)およびそのコントロールマウス(+/+)を用いた。このマウスは、WB系の雌で第5染色体上にW突然変異遺伝子を1つ持ったマウスとC57BL/6系の雄でWv遺伝子を1つ持ったマウスを掛け合わせて生産されたWBB6F1雌マウスである。このWBB6F1マウスには、W/Wv、W/+、Wv/+、+/+の4つの遺伝子型が出現するが、正常対照マウスとして用いたものは+/+、肥満細胞欠損マウスとして用いたものはW/Wvの遺伝子型のものである。+/+マウスは全身黒色の毛を有しているのに対し、W/Wvマウスは皮膚のメラニン細胞がないため毛は白色で貧血を有する特徴があり、肥満細胞はほとんど欠損し、卵巣には生殖細胞がないとされている(2)。この肥満細胞の欠損は前駆細胞のc-kit tyrosin kinase growth factor receptorの産生と機能の異常によるもので、生後20日では正常対照マウスの10%程度の肥満細胞を持っているが、生後100日を経過すると1%以下となり、肥満細胞欠損マウスとして用いられている(3)(図2)。

マウスは、2000ppb 曝露群、400ppb 曝露群、80ppb 曝露群およびコントロール群の 4 群に分け、曝露群には調整したホルムアルデヒドガスを、また、コントロール群には清浄空気のみを曝露した。

### ( 3 ) 曝露方法

ホルムアルデヒドの吸入曝露時間は午後 6 時から翌朝 10 時までの夜間帯 16 時間とし、最大 3 ヶ月の曝露を行った(図 3)。また、曝露中は自由飲水・摂食(CE-2 日本クレシア株式会社)とした。なお曝露室の照明は午前 8 時点灯、午後 8 時消灯の 12 時間サイクルとした。

### ( 4 ) 曝露濃度評価

チャンバー内曝露濃度は化学分析により評価した。すなわち 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) を含浸したシリカゲルカラム (Waters Sep-Pak XPoSure™ Aldehyde Sampler) 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・定量を行った。その結果、曝露期間中の平均濃度および標準偏差は、2000ppb 曝露では  $1941 \pm 42$ ppb、400ppb 曝露では  $392 \pm 18$ ppb、80ppb 曝露では  $78 \pm 5$ ppb であった(図 4)。また、一日 16 時間曝露中の濃度変化も、連続モニタリングを実施したが、曝露開始 30 分程度で目標濃度に達し安定した濃度を維持し、曝露中止後は速やかにバックグラウンドレベルに低下することが確認された(図 5)。

### ( 5 ) OVA 感作およびトルエン前曝露

実験群は、ホルムアルデヒド曝露単独分に加え、昨年同様に卵白アルブミン(OVA)感差を行ったアレルギー性炎症モデルモ作成を、またホルムアルデヒド以外の有機溶剤との混合作用を検討するために、あらかじめトルエン前曝露を実施した群を設けた(図 6)。すなわち OVA の感作は、初回はホルムアルデヒド曝露開始時に OVA とアルミニウムの混合液の腹腔内投与を行い、その後は曝露期間中に 3 週間毎に生理食塩水に溶解した OVA のみを、臨床用吸入器を改良したエアロゾル発生装置と曝露装置を用いて 1 回あたり 6 分間吸入曝露した(図 7)。

またトルエンの前曝露は 500ppm を昼間に 6 時間、連続 3 日間吸入曝露する前処置を行った。本態性多種化学物質過敏状態の臨床所見において、何らかの化学物質にある限度を超えて曝露を受けた場合に、以後は異なった化学物質についても症状を呈することも特徴として挙げられている。そこで、今年度は、職域等でも使用量が多く、本症の発症との関連性も懸念されているトルエンの前処置による影響を検討した。今回トルエン前曝露に用いた 500ppm は、労働環境における許容濃度 50ppm の 10 倍濃度である。

### ( 6 ) 体重変化

1 2 週間曝露期間中の C3H/HeN マウスの体重変化は曝露群、コントロール群ともに順調な体重増加を認め、両群に相違は認めなかった(図 8)。肥満細胞欠損モデル群では、ホルムアルデヒド曝露の有無に関係なく曝露開始 2 週間ほど一時的に体重の減少が認められたが、その後は野生型同様に増加を示した(図 9)。また外見上の変化として、肥満細胞欠損群では、後述するように強度の皮膚の炎症所見を呈した。

( 7 ) 参考文献

- 1) Hori H, Arashidani K: Basic Characteristics of a Formaldehyde Gas Generator Using Solid Paraformaldehyde, J. UOEH, 19(2), 123-131 (1997)
- 2) 関正利, 平嶋邦猛, 小林好作: 疾患モデル . 実験動物の血液学 . ソフトサイエンス社 . 東京 , 1981 : 205-227
- 3) Barry K et al : The analysis of mast cell function in vivo using mast cell deficient mice . Immunobiology of proteins and peptides . Advances in Experimental Medicine and Biology . 1981 ; 347 : 39-54

( 8 ) **Abstract**

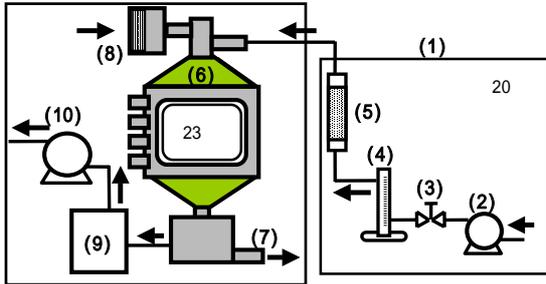
Exposure apparatus and experimental procedure

Naoki Kunugita, Hajime Hori, Keiichi Arashidani

School of Health Sciences, University of Occupational and Environmental Health, Japan.

Formaldehyde exposure is considered to be one of the causes of multiple chemical sensitivity (MCS). In this study, we developed an animal model to investigate the effect of chronic exposure to low levels of formaldehyde in mice. Female mice (C3H/He, mast cell deficient WBB6F1-W/W<sup>v</sup> and unaffected WBB6F1-+/+ mice, 10 weeks old) with or without ovalbumin (OVA)-immunization were exposed to either ambient air or formaldehyde gas obtained by depolymerization of paraformaldehyde at a dose of 80, 400 and 2000 ppb over a 3-month period (16 hours/day x 5 days/week x 12 weeks). The formaldehyde gas concentration in the chamber was measured by a 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) - high performance liquid chromatography (HPLC). The concentrations of 80, 400 and 2000 ppb exposure groups were  $78 \pm 5$ ,  $392 \pm 18$  and  $1941 \pm 42$  ppb, respectively. The body weights of animals exposed to formaldehyde were similar to those of their controls

図1 吸入曝露装置の概略図



(1):ホルムアルデヒドガス発生装置 (2):ポンプ (3):バルブ  
 (4):流量計 (5):試料充填セル (6):吸入曝露チャンバー  
 (7):セパレーター (8):HEPAフィルター (9):排ガス処理装置  
 (10):ブロー

図2 実験動物

日本チャールスリバー

・C3H/HeN

メスを8週齢で購入、10週齢より曝露

Jackson Laboratoryより輸入マウス

・肥満細胞欠損モデルマウス(W/W<sup>v</sup>)

・コントロールマウス(+/+)

これらはWB系雌とC57BL/6系雄のF1マウスWBB6F1マウス。  
 WBB6F1マウスには、W/W<sup>x</sup>、W/+、W<sup>v</sup>/+、+/+の4つの遺伝子型が  
 出現するが、+/+は正常対照マウス、W/W<sup>v</sup>が肥満細胞欠損マウス。  
 +/+マウスは全身黒色毛、W/W<sup>v</sup>マウスは皮膚のメラニン細胞がな  
 いため毛は白色で貧血を有し、肥満細胞はほとんど欠損し、卵巣に  
 は生殖細胞がない。生後20日では正常対照マウスの10%程度の肥  
 満細胞を持っているが、生後100日を経過すると1%以下となる。

図3 タイムスケジュール

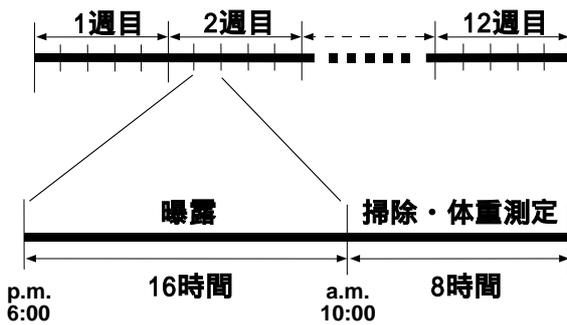


図4 濃度設定値と測定濃度

設定値	実測値
80ppb	78 ± 5
400ppb	392 ± 18
2000ppb	1941 ± 42

図5 チャンバー内濃度の日内変化

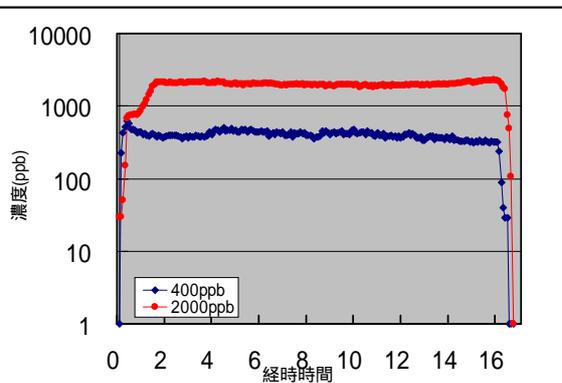


図6 実験群

- 1) C3H/HeN:ホルムアルデヒド曝露単独群
- 2) C3H/HeN: OVA感作 + ホルムアルデヒド曝露群
- 3) C3H/HeN:トルエン前曝露 + ホルムアルデヒド曝露群  
 トルエン曝露 = ホルムアルデヒド曝露前に500ppmx3日間
- 4) 肥満細胞欠損モデルマウス群: W/W<sup>v</sup>群および+/+群

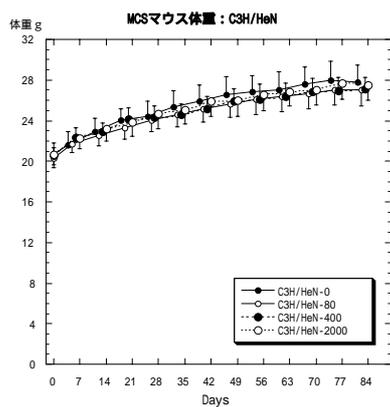
図7 アレルギー性疾患モデルのOVA感作

曝露開始時 (第0週)	第3週	第6週	第9週	第11週	第12週終了後
OVA + Alum (ip)	OVA alone (aerosol)	OVA alone (aerosol)	OVA alone (aerosol)	OVA alone (aerosol)	解剖

写真1 OVA感作の様子



図8 各週におけるマウス体重変化  
(C3H/HeN)



## 2. 低濃度のホルムアルデヒドに長期曝露されたマウス嗅覚系の形態学的解析

研究者：市川眞澄（財）東京都医学研究機構東京都神経科学総合研究所）

研究協力者：林 洋（財）東京都医学研究機構東京都神経科学総合研究所）

### （1）研究要旨

低濃度の揮発性物質による脳・神経系への影響をあきらかにするため、嗅覚系ニューロンに与える影響を調べるた。ホルムアルデヒド（0, 80, 400, 2000ppb）に3ヶ月間持続的に曝露したマウスの嗅覚系を形態学的に解析した。

これまで、嗅上皮を観察した結果、一部変性過程を示すものもあるが、全体としては軽微なものであり、機能的障害を起こしているとは考えにくい。

本年度は、嗅球ニューロンへの解析を主に、さらに大脳辺縁系における解析も着手した。

OMPの免疫細胞化学染色により嗅細胞の軸索である嗅神経が特異的に染色される。したがって、嗅球の神経細胞層および糸球体が染まる。染色像で見る限り、各グループ間で差はなく、2000ppbグループでも嗅神経は嗅球に正常に投射しているものと考えられる。嗅球におけるTHに対する抗体を用いて、嗅球糸球体に存在するドーパミンニューロンを観察した。この結果、0ppbに比べて曝露群で陽性ニューロンの数が増える傾向が見いだされた。嗅球におけるドーパミンニューロンの機能は明らかでないが、刺激依存的に増加し嗅覚情報を調節していると考えられる。

さらに、Ca<sup>2+</sup>結合タンパク質のParvalbumin, Calbindin, Calretininの抗体を用いて、解析した。嗅球外叢状層に存在するParvalbumin陽性のGABAニューロンの数が、曝露群で増加する傾向が見いだされた。個体間の差がおおきいので、さらに定量的解析が必要である。いずれにしても、これらのニューロンの活動が高まっている可能性が示唆される。Calbindin, Calretininでは差は認められなかった。

嗅球のドーパミンニューロンおよび外叢状層のGABA抑制ニューロンの一部が曝露群で増加している結果を得た。これは、持続的に刺激が嗅球に入力するため、これを抑制する必要から、嗅球の活動が高まりこれらの免疫陽性ニューロン数が増加したものと推測される。これらニューロンの活動の増強が動物の脳にどのような影響を与えているか推測の域を出ないが、少なくとも嗅球においては、ホルムアルデヒドの持続的な刺激を解除するような脳内メカニズムが働いていると思われる。

扁桃体におけるホルムアルデヒド曝露の影響をCa<sup>2+</sup>結合タンパク質の抗体を用いて、解析した。その結果、扁桃体皮質核のParvalbumin陽性ニューロンが曝露群で増える傾向が認められた。扁桃体のParvalbumin陽性ニューロンはGABAニューロンであるとの報告がある。したがって、扁桃体においても、ホルムアルデヒド曝露によりGABAニューロンの活動が高まっていることが示唆される。しかしながら、扁桃体GABAニューロンの役割はほとんど明らかになっていない。あくまでも、推測であるが、ホルムアルデヒドによる扁桃体GABAニューロンへの作用がさらにストレスとして働いている可能性もある。

## (2) 研究目的

低濃度の揮発性化学物質が脳・神経系に影響を及ぼす可能性は、本態性多種化学物質過敏症の原因の一つと考えられ、多方面から指摘されているが、明確な証拠はない。

嗅覚はいわゆる5感とよばれるもののひとつで、ニオイを感受する感覚系である。ニオイは化学物質により引き起こされるので、5感のうちでは味覚とともに化学受容系に分類される。このニオイ物質は吸気とともに鼻腔に取り込まれ鼻腔の奥にある嗅覚器に到達する。ここで、感覚細胞(嗅細胞)に受容され、その情報は嗅覚系を經由して高次脳中枢へと運ばれる。このように、嗅覚器の特徴は、嗅細胞が外界に接していることである。この理由から、外界の様々な物質に曝露されてその影響を直接を受けることである。そこで、ホルムアルデヒドの脳・神経系への影響を明らかにするには、嗅覚系への影響を明らかにする必要があると考えられる。この理由から、本研究は、低濃度ホルムアルデヒド(80,400,2000 ppb)長期曝露により、嗅覚系にどのような影響を与えるかを形態学的に解析するものである。嗅覚系は、嗅上皮から嗅球さらに高次の大脳辺縁系に存在する幾つかの神経核群より構成される(図1,2)。平成13年度までの研究により、嗅覚系の感覚器である嗅上皮では、2000 ppb濃度のもので微絨毛の脱落と言った軽微な障害があるものの機能障害を引き起こすとおもわれる形態変化は認められなかった(図3,4)。一方、嗅球ニューロンの予備的な解析から、嗅球の糸球体に存在する傍糸球体ニューロン(図5)のうち、ドーパミンニューロンの機能亢進を示唆する結果をえた。そこで、平成14年度は、低濃度ホルムアルデヒド長期曝露の影響を、ドーパミンニューロンを含め嗅球のニューロンで解析した。また、嗅球からさらに高次中枢への影響を明らかにするために、嗅球の大脳辺縁系投射部位である梨状葉および扁桃体におけるニューロンを解析することを開始した。

## (3) 研究方法

低濃度ホルムアルデヒド(0,80,400,2000 ppb)を3ヶ月間曝露したマウス(C3H/HeN)(各曝露群5匹)を、組織標本用に固定し、嗅球および大脳辺縁系を含む脳部位を4.0mmの厚さの連続横断切片を作成した。この切片を6グループ(内訳は、(1)ドーパミンニューロンのマーカーであるチロシン水酸化酵素(TH)をもちいた免疫細胞化学、(2)Ca結合タンパク質のうち、Parvalbuminの抗体を用いた免疫細胞化学、(3)Ca結合タンパク質のうち、Calbindinの抗体を用いた免疫細胞化学、(4)Ca結合タンパク質のうち、Calretininの抗体を用いた免疫細胞化学、(5)Nissl染色、(6)保存用)に分け、解析をおこなった。

平成13年度の標本を用いて、嗅球糸球体のサイズを計測し、シナプスの可塑性の解析をおこなった。

## (4) 嗅球ニューロンの解析

### 1) 嗅球の構造

光学顕微鏡で観察すると主嗅球は他の大脳皮質と同じように層構造を形作っている事がわかる。図5に示すように表層から嗅神経層(ONL)、糸球体層(GL)、外叢状層(EPL)、僧帽細胞層(ML)、内叢状層(IPL)、顆粒細胞層(GRL)とよばれる層により構成されている。嗅球を構成するニューロンは、嗅球から軸索を高次中枢に投射する出力ニューロン(中継ニューロンあるいは

投射ニューロンともよばれる)である僧帽細胞(MC)と房飾細胞、そして嗅球内に限局する介在ニューロンの顆粒細胞(gc)と傍系球体細胞(pgc)がおもなものである(図5)。その他に嗅球を構成する神経要素としては、嗅球に入力する線維である。代表は、嗅上皮に存在してにおいを受容する嗅細胞の軸索である嗅神経(ON)で、ほかには、高次中枢からの入力線維がある。これらの神経要素が組織的に構成され、6層構造が形成される。

嗅神経は嗅上皮の基底膜を通過した後、束となり篩板を貫いて嗅球に入り、主嗅球の表層を表面に平行に走行し、次第に束がほぐれてお互い混ざり込む。嗅球表層で嗅神経により構成される部位を嗅神経層と呼ぶ。嗅神経は束がほぐれた後、糸球体に入り枝分かれして糸球の形となる。また糸球体はまわりを小型の傍系球体細胞(直径6-8 $\mu$ m)で取り巻かれて、ユニットを形成している。このことから糸球体という名前がついた。嗅神経終末は糸球体内の他の神経要素とシナプスを形成する(図11)。糸球体の中には、僧帽細胞、房飾細胞および傍系球体細胞の樹状突起が存在し、それぞれが嗅神経終末とシナプスを形成している。傍系球体細胞は伝達物質としてGABAをもっており、中継ニューロンの興奮を抑制する機能を持つ。このように、糸球体は嗅神経からのにおい情報に関して、最初に情報処理をする部位である。糸球体の数はネズミでおおよそ1700・2000個といわれている。これらが、主嗅球に同心円状にほぼ一列に並んでいる

## 2)ホルムアルデヒド長期曝露マウスの嗅球ニューロンの免疫細胞化学による解析

### TH陽性(ドーパミン)ニューロン

糸球体を取り囲む傍系球体ニューロンの一部はドーパミンを共存させている。(THはドーパミン合成酵素群の律速酵素である)。ドーパミンの存在意義はいまだ不明であるが、GABAの抑制機能を修飾していると推測されてる。たとえば、嗅上皮を破壊したりあるいは鼻腔をふさぐなどして嗅神経の活動を抑制すると、TH量あるいはTH陽性細胞が減少することが知られている。したがって、嗅神経の活動をモニターするには、大変有効である。

そこで、TH抗体により免疫染色し、染色された細胞数を計測した(図6,7)。嗅球糸球体はほぼ一定の大きさと同心円状に並んでいる。嗅球背側のTH陽性ニューロンを1糸球体あたりの数で示した結果が図8である。0ppb群に比べて80,400,2000ppb曝露群で有為にTH陽性細胞が増加している。これは、曝露の結果THの合成が高まり免疫的に染色された細胞数が増加した結果と考えられる。THはドーパミン合成酵素である、したがって、ドーパミンの含有量も増加していると推測される。

### Ca結合タンパク質含有ニューロン

Ca結合タンパク質はニューロンに存在し、Caの輸送あるいは細胞内のCaバッファーとしての役割を持つと言われている。また、脳内に広く特異的に分布するので、ニューロンのマーカーとしても用いられている。嗅覚系のニューロンでは、GABAニューロンと共存し、活動依存的にその発現が変化する事が報告されている。おそらく、ニューロンの活動を抑制的に調節する役割を持つものと考えられる。したがって、嗅覚系のニューロンの活動をモニターするのに有効であると考え、免疫細胞化学的に解析した。

Calbindin陽性ニューロンは糸球体および外叢状層に存在する。それぞれを計測した結果、ホ

ホルムアルデヒド曝露による影響は認められなかった(図9)。Parvalbumin 陽性ニューロンは外叢状層に存在する。このニューロンを計測した結果、曝露群で増加する傾向が認められた(図10)。

この結果、嗅球に存在する Ca 結合タンパク質含有ニューロンも、ホルムアルデヒド曝露の影響を受けている事があきらかになった。

### 3)ホルムアルデヒド長期曝露マウスの嗅球系球体シナプスの電子顕微鏡による解析

平成13年度にサンプリングしたマウス嗅球をもちいて、嗅球のシナプスへのホルムアルデヒド長期曝露の影響を解析した。曝露0ppbおよび2000ppbのマウス嗅球の系球体に存在する嗅神経終末と嗅球2次ニューロンとの間に形成されるシナプスの後膜肥厚の長さを計測した(図11)。この結果、2000ppb曝露群のシナプスが小さくなっていることが明らかになった(図12)。

一般的に、活動依存的にシナプスのサイズは大きくなることが知られている。したがって、今回の結果、曝露群でシナプスが小さくなっていた説明は難しいが、一つは、刺激がくり返されることにより、シナプスの数を増やすことによりサイズを増大することと同じ効果を得ている可能性がある。いずれにしても、さらなる解析が必要である。

### 4)まとめ

嗅球のドーパミンニューロンおよびCa結合タンパク質含有ニューロンが低濃度ホルムアルデヒド長期曝露の影響を受け、その細胞内発現量を増加させている事が明らかになった。これらのニューロンは、GABAと共存していることから、抑制的に働いている。したがって、嗅球における抑制機構が高まっていると考えられる。持続的な曝露によるホルムアルデヒドの刺激を抑制する機構が働いている可能性を示唆するものである(図13)。

## (5)大脳辺縁系ニューロンの解析

### 1)大脳辺縁系

大脳辺縁系は大脳を中心である大脳新皮質の縁を構成する部位の総称である。主なものは、海馬、梨状葉、扁桃体などである。このうち、嗅球から投射するものは、梨状葉、扁桃体である(図14)。そこで、これらの部位のホルムアルデヒド長期曝露の影響を解析することを開始した。

### 2)Ca結合タンパク質Parvalbumin陽性ニューロンの解析

Ca結合タンパク質のうちparvalbuminの免疫細胞化学法により、曝露の影響を解析した。扁桃体内嗅球から投射する部位は扁桃体皮質核である。そこで、扁桃体皮質核と梨状葉皮質で、Parvalbumin陽性ニューロンの数を計測した。表に単位面積当たりの陽性ニューロン数を各マウスごとに、±(細胞数が0・5)、+(6・10)、++(11・15)、+++ (16以上)の標記で示してある(図15)。扁桃体皮質核および梨状葉ともに曝露された個体で、Parvalbumin陽性ニューロンの数が増加する傾向を示す。ホルムアルデヒド曝露の影響が認められる。

### 3) Ca 結合タンパク質 Calbindin 陽性ニューロンの解析

Ca 結合タンパク質のうち Calbindin の免疫細胞化学法により、曝露の影響を解析した。扁桃皮質核と梨状葉皮質で、陽性ニューロンの数を計測した。表に単位面積当たりの陽性ニューロン数を各マウスごとに、± (細胞数が 0・10)、+ (11・20)、++ (21・30)、+++ (31以上) の標記で示してある (図16)。扁桃皮質核では、わずかに曝露された個体で、陽性ニューロンの数が増加する傾向を示すが、梨状葉では差は認められなかった。

### 4) まとめ

Ca 結合タンパク質陽性ニューロンの免疫細胞化学的解析により、ホルムアルデヒド長期曝露の影響が、大脳辺縁系とくに扁桃体に影響を及ぼしている可能性が明らかになった。扁桃体は、本能行動、特に摂食や情動に強く関わっている。また、視床下部との神経連絡も密であることから、自律機能や内分泌機能への影響も考えられる。今後、詳細な解析が必要とされる。

### (6) 考察

ホルムアルデヒドの低濃度長期曝露により、嗅球のドーパミンニューロンおよび外叢状層の GABA 抑制ニューロンの一部が曝露群で増加している結果を得た。これは、持続的に刺激が嗅球に入力するため、これを抑制する必要から、これら抑制性嗅球ニューロンの活動が高まり免疫陽性ニューロン数が増加したものと推測される。これらニューロンの活動の増強が動物の脳にどのような影響を与えているか推測の域を出ないが、少なくとも嗅球においては、ホルムアルデヒドの持続的な刺激を抑制機能により解除するような脳内メカニズムが働いていると思われる。

扁桃体におけるホルムアルデヒド曝露の影響を  $Ca^{2+}$  結合タンパク質の抗体を用いて、解析した。その結果、扁桃皮質核の Parvalbumin 陽性ニューロンが曝露群で多くなる傾向が認められた。扁桃体の Parvalbumin 陽性ニューロンは GABA ニューロンであるとの報告がある。したがって、扁桃体においても、ホルムアルデヒド曝露により GABA ニューロンの活動が高まっていることが示唆される。(図17)。

低濃度ホルムアルデヒドの長期曝露は嗅覚系に影響を及ぼしていることが明らかになった。特に、扁桃体のニューロンに作用している可能性が高くなった。扁桃体ニューロンの役割はほとんど明らかになっていないが、扁桃体が情動に関わっていることは明らかである。あくまでも、推測であるが、ホルムアルデヒドによる扁桃体ニューロンへの作用がさらにストレスとして働いている可能性もある。今後は、行動学的研究を併用しながら、今回明らかになった形態学的変化の機能的意味を明らかにすることにより、化学物質の嗅覚系に対する作用を明らかにし、化学物質 嗅覚系 (嗅上皮—嗅球—大脳辺縁系 (扁桃体)) 視床下部 ストレスの発現という経路を明確にすることが可能となる。

## ( 7 ) Abstract

### Effect of prolonged low-level formaldehyde exposure on the olfactory system

Multiple chemical sensitivity (MCS) is a controversial disorder characterized by multi-organ symptoms in response to low-level chemical exposure. Formaldehyde is one of the more problematic chemicals. To determine the role of brain function in induction of MCS, we study morphologically the effect of prolonged low-level formaldehyde on the olfactory system. The olfactory system consists of olfactory epithelium, olfactory bulb, limbic system. Morphological analysis of olfactory system has been examined in mice after long-term (3 months) exposure of low-levels (0, 80, 400 and 2000 ppb) formaldehyde. The influence of the exposure was analyzed using immunocytochemistry and electron microscopy. Electron microscopic observation showed that the olfactory epithelium has not so much severe damage. Immunoreactivity of olfactory marker protein, a specific marker for olfactory cells, suggested that projection of olfactory epithelium to the olfactory bulb was normal even in 2000 ppb exposed group. These finding indicated that the olfactory epithelium of exposed animals has normal functions. Tyrosine hydroxylase (TH) immunoreactive dopamine neurons in the olfactory bulb of exposed group were more numerous than in those of control group. These results indicated that low-level formaldehyde may affects on neuronal function in the olfactory bulb. Furthermore, immunoreactivity of Ca binding proteins (parvalbumin, calbindine) showed that the cortical amygdaloid nucleus has more numerous Ca binding protein-immunopositive neurons in exposed animals than in control ones. The present study has revealed that the olfactory system has effects of prolonged low-level formaldehyde exposure. It is necessary to examine on the olfactory function by use of physiological or behavioral technique.

## 嗅覚系

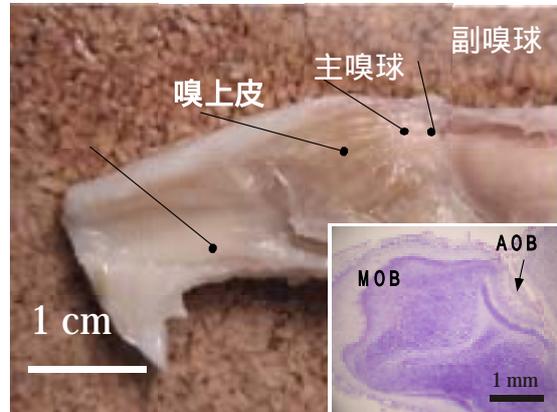


図 1

## 嗅覚系神経路

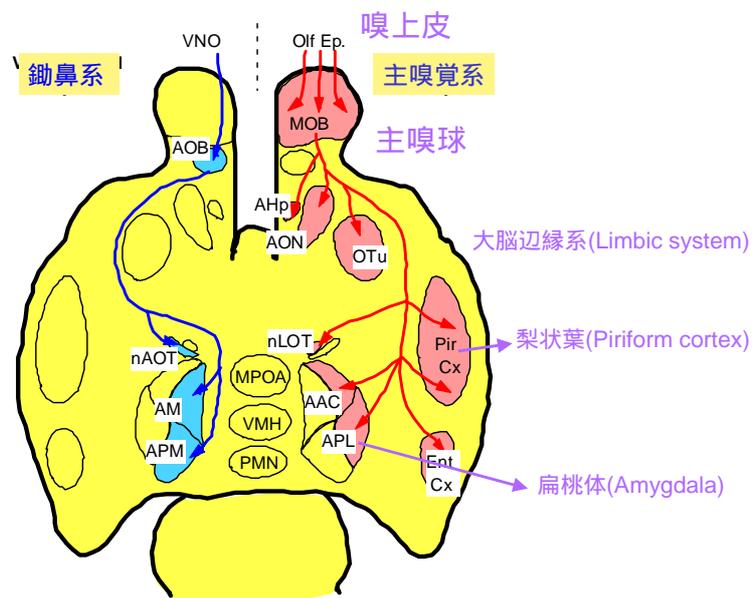


図 2

図 1 鼻腔の解剖図および嗅球の組織図(右下図)

嗅覚系の匂い受容器の嗅上皮と嗅球(主嗅球: MOB、および副嗅球: AOB)を示す。

図 2 嗅覚系神経路の概念図 右に主嗅覚系(一般の匂いに関わる神経路、通常嗅覚系と呼ぶ)。嗅上皮(olf Ep)、主嗅球(MOB)、大脳辺縁系(梨状葉、扁桃体)などから構成される。嗅上皮の受容細胞である嗅ニューロンは主嗅球に投射し、主嗅球の2次ニューロンは大脳辺縁系の様々な神経核に投射する。その代表は、梨状葉および扁桃体である。

### ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅上皮 OMP (olfactory marker protein)

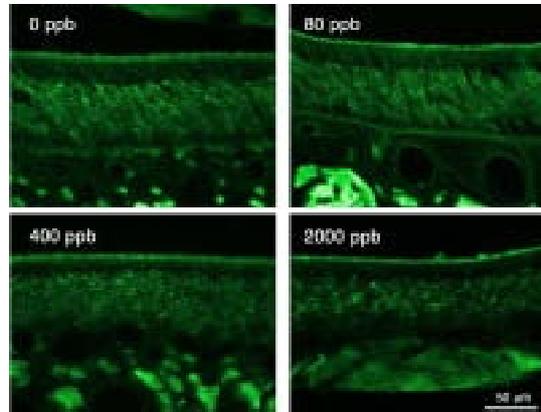


図 3

### ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅上皮 電子顕微鏡像

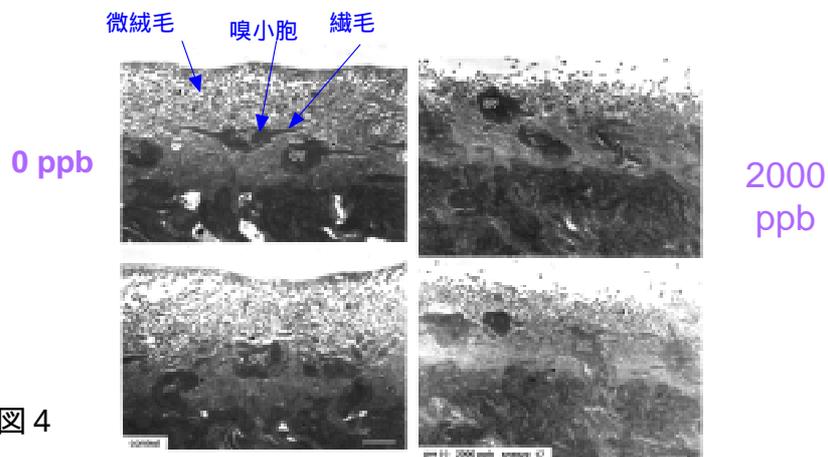


図 4

図3 ホルムアルデヒド長期曝露マウスの嗅上皮を olfactory marker protein(OMP)で免疫染色した標本。OMPは嗅ニューロンのマーカーとして用いられる。OMPの染色性に各群(0, 80, 400, 2000 ppb)で差は認められなかった。嗅ニューロンの変性、脱落は認められない。

図4 ホルムアルデヒド長期曝露マウスの嗅上皮の電子顕微鏡像 0 ppb群(左図)に比べて2000 ppb群(右図)では、嗅上皮の支持細胞の微絨毛に多少の脱落が見られるものの、おおきな変化は認められない。曝露による直接の傷害は無いと推測できる。

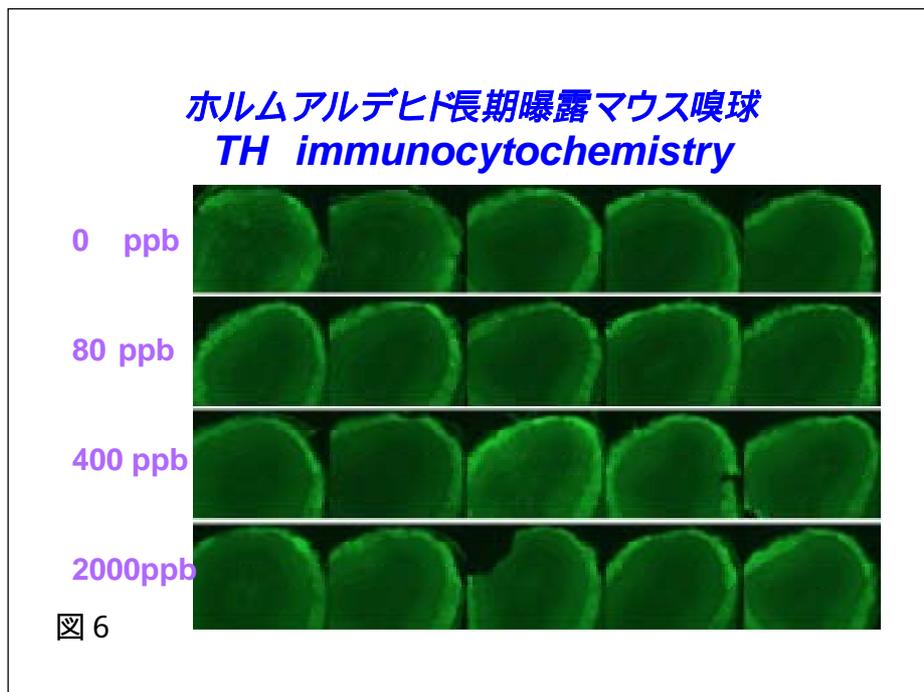
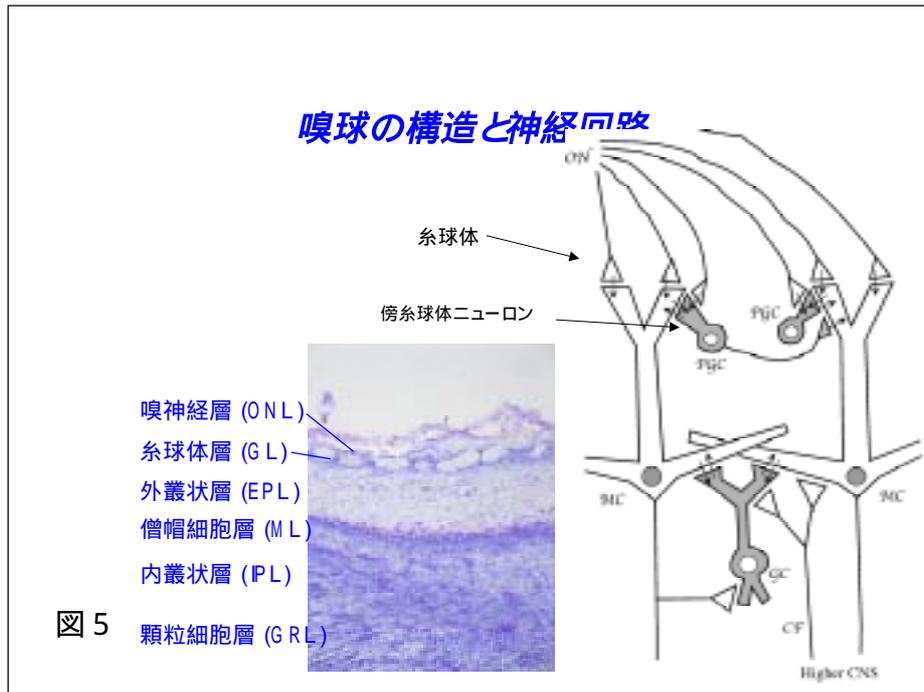


図 5 嗅球の構造と神経回路 主嗅球は神経層、系球体層、外叢状層、僧帽細胞層、内叢状層、および顆粒細胞層の6層から構成されている(左図)。ニューロンはおもに僧帽細胞(MC),傍系球体細胞(PGC)および顆粒細胞(GC)存在し、比較的簡単な神経回路を構成する(右図)。小型はシナプスおよびその方向性をしめす。僧帽細胞と傍系球体細胞および顆粒細胞との間には相反シナプスが形成される。ON: 嗅ニューロンの軸索、CF: 大脳辺縁系からのニューロンの投射線維。

図 6 ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅球のチロシン水酸化酵素(TH)の免疫細胞化学(Immunocytochemistry)像。各曝露群のそれぞれ5個体のマウス嗅球を示す。この倍率の観察では、差は認められない。

## ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅球 TH immunocytochemistry

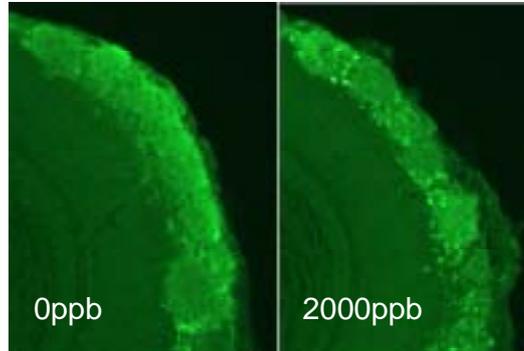


図 7

系球体全体の染色性と傍系球体ニューロンの数は一致しない  
定量的解析が必要

## ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅球 TH Immunocytochemistry

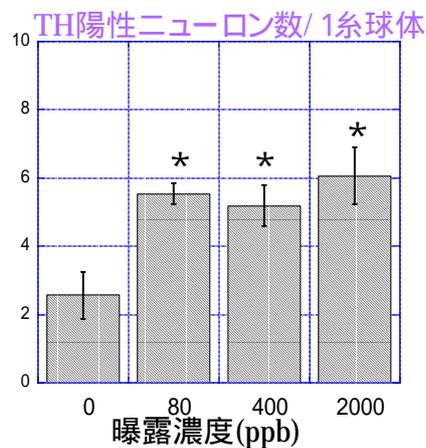
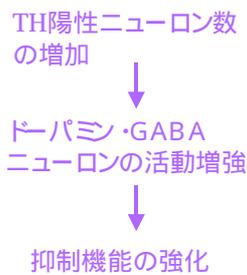
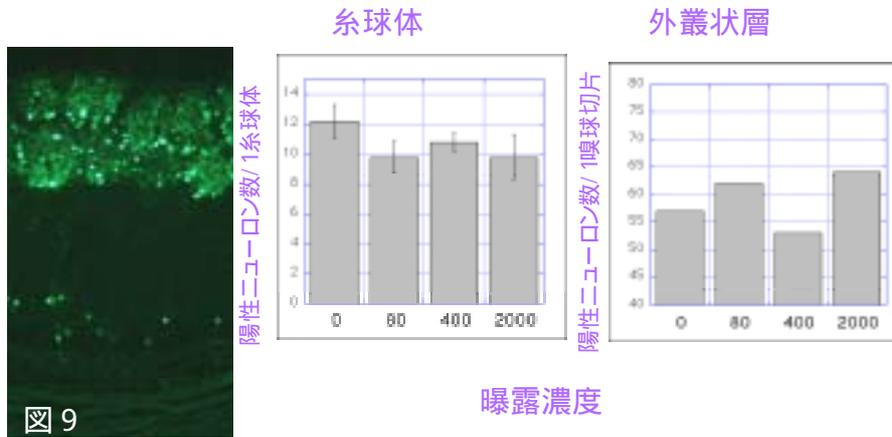


図 8

図 7 ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅球のチロシン水酸化酵素 (TH) の免疫細胞化学 (Immunocytochemistry) 高倍拡大像。0 ppb (左図) に比べて、2000ppb (右図) の嗅球で傍系球体細胞 (小型の明るく見える細胞) が多く観察される。

図 8 ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅球のチロシン水酸化酵素 (TH) 陽性ニューロンの定量的解析。TH 陽性ニューロンを計測し、系球体あたりで表示した。0ppb に比べて曝露群 (80, 400, 2000 ppb) で有意に増加していた。TH 陽性ニューロンの増加は神経伝達物質であるドーパミンやGABAの活動の高まりの反映と考えられる。すなわち、これら伝達物質は抑制性機能をもつことから、嗅球での抑制機能が高まっていると考えられる。

ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅球  
Ca 結合タンパク質 Calbindin



ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅球  
Ca 結合タンパク質 Parvalbumin

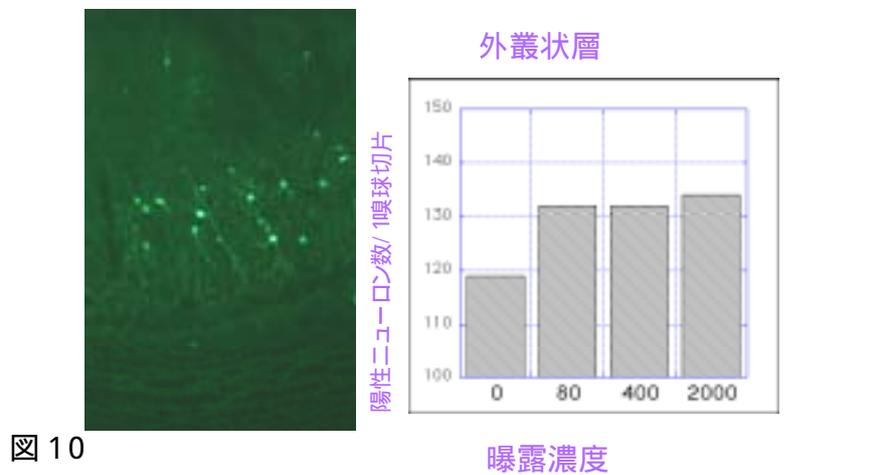


図9 ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅球の Calbindin 免疫細胞化学の解析 Calbindin 陽性細胞の量は各曝露群で差がなかった。曝露の影響を受けないことを示している。

図10 ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅球の Parvalbumin 免疫細胞化学の解析 Parvalbumin は曝露群で増加の傾向を示しているが、統計学的に有意な差は認められなかった。

## 低濃度ホルムアルデヒドに長期曝露されたマウス嗅球のシナプスは変化するのか？

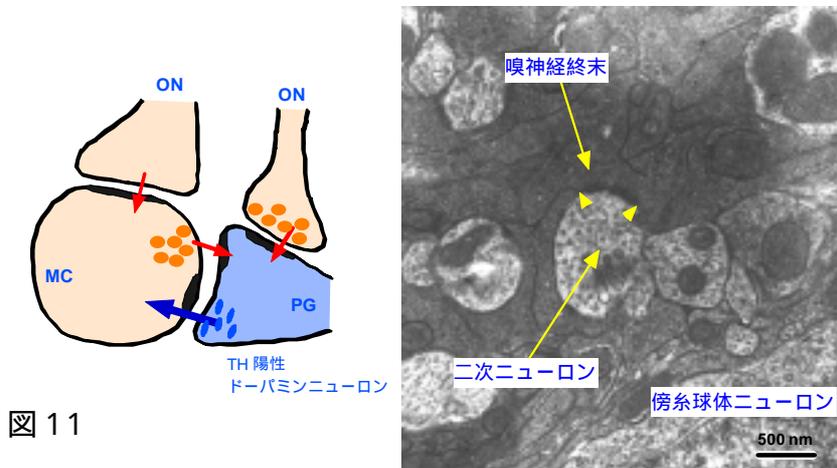


図 11

## 低濃度ホルムアルデヒド長期曝露の嗅球系球体シナプスへの影響

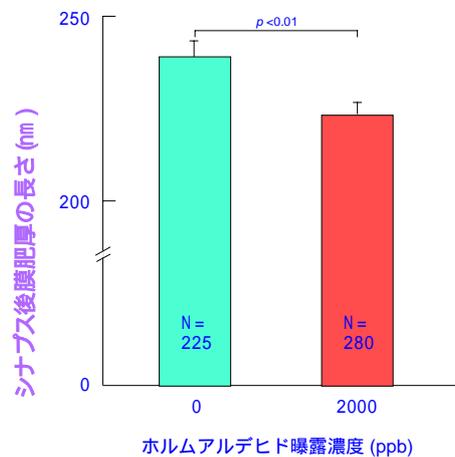
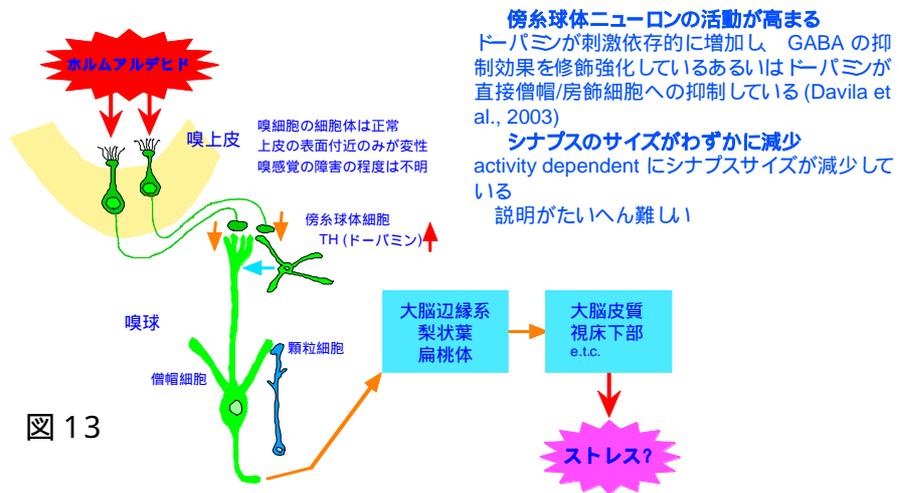


図 12

図 11 ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅球系球体のシナプスサイズの解析 嗅ニューロンの軸索(ON)は系球体でシナプスを形成する(左図: がシナプスを示す。)。右図は電子顕微鏡像。矢頭で示されるシナプス後膜肥厚のサイズを計測した。結果は図 12 に示す。

図 12 ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅球系球体のシナプスサイズの解析 曝露群(2000ppb)でシナプスのサイズが有意に小さくなっている。

## 嗅球ニューロンは、低濃度ホルムアルデヒドの長期曝露の影響を受ける



## 大脳辺縁系

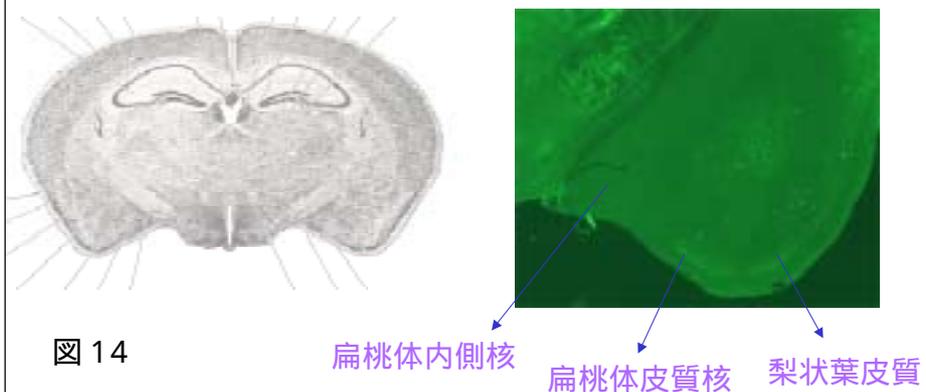


図13 ホルムアルデヒド長期曝露のマウス嗅球への影響 嗅球のドーパミンニューロンおよび Ca 結合タンパク質含有ニューロンが低濃度ホルムアルデヒド長期曝露の影響を受け、その細胞内発現量を増加させている事が明らかになった。これらのニューロンは、GABA と共存していることから、抑制的に働いている。したがって、嗅球における抑制機構が高まっていると考えられる。持続的な曝露によるホルムアルデヒドの刺激を抑制する機構が働いている可能性を示唆するものである。

図14 マウス脳の横断面切片(左図)および大脳辺縁系(右図)

## ホルムアルデヒド長期曝露マウス大脳辺縁系 Parvalbumin

マウス 曝露濃度 扁桃体皮質核 梨状葉皮質

Mouse	ppb	CAH(Thal#1)	CAH(Thal#2)	PF(Thal#1)	PF(Thal#2)
93	0				
94	0	+	++	++	++
95	0	++	±	++	++
96	0	±		++	
97	0	++	++	+	++
98	30	++	++	+	++
99	30	+++	+++	+++	++
100	30	++	+++	+	++
101	30	+++	+++	+++	+++
102	30				
103	400	+++		+++	
104	400	+++	++	+++	+++
105	400				
106	400	+++	+++	+++	+++
107	400	+++	+++	+++	+++
108	2000		+++		++
109	2000	+++		+++	
110	2000	++	+++	+++	+++
111	2000	+++	++	+++	+++
112	2000	++	+++	+++	+++

免疫陽性細胞数/  
20x10<sup>3</sup> μm<sup>2</sup>  
± (0-5)  
+ (6-10)  
++ (11-15)  
+++ (16< )

図 15

## ホルムアルデヒド長期曝露マウス 扁桃体Calbindin

マウス 曝露濃度 扁桃体皮質核 梨状葉皮質

Mouse		CAH(Thal#1)	CAH(Thal#2)	PF(Thal#1)	PF(Thal#2)
93	0				
94	0	+		+	
95	0	+	±	+	+
96	0		++		+
97	0		++		++
98	30	++	+++	++	+
99	30	++	++	+	+
100	30	++	+++	+	++
101	30		+++		++
102	30				
103	400	+++		+	
104	400	++	++	++	+
105	400				
106	400	++	++	++	++
107	400	++	+++	+	++
108	2000	++	+++	++	+
109	2000	+++	++	+	++
110	2000	++	++	++	+
111	2000	+++	+++		++
112	2000	+++		+	

免疫陽性細胞数/  
20x10<sup>3</sup> μm<sup>2</sup>  
± (0-10)  
+ (11-20)  
++ (21-30)  
+++ (31< )

図 16

図 15 ホルムアルデヒド長期曝露のマウス大脳辺縁系（扁桃体皮質核および梨状葉）の Parvalbumin の免疫細胞化学による解析 各曝露群のマウス（# 93・# 112）における Parvalbumin 免疫陽性細胞数を計測した。単位面積（20 × 10<sup>3</sup> μm<sup>2</sup>）当たり陽性細胞数を ±（0・5）、+（6・10）、++（11・15）、+++（16<）で示した。扁桃体皮質核および梨状葉で曝露群の陽性細胞数が増加している。両神経核で曝露の影響を受けていることを示唆する。

図 16 ホルムアルデヒド長期曝露のマウス大脳辺縁系（扁桃体皮質核および梨状葉）の calbindin の免疫細胞化学による解析 各曝露群のマウス（# 93・# 112）における Calbindin 免疫陽性細胞数を計測した。単位面積（20 × 10<sup>3</sup> μm<sup>2</sup>）当たり陽性細胞数を ±（0・10）、+（11・20）、++（21・30）、+++（31<）で示した。扁桃体皮質核で曝露群の陽性細胞数が増加する傾向にある。

## 大脳辺縁系ニューロンは、低濃度ホルムアルデヒドの長期曝露の影響を受ける

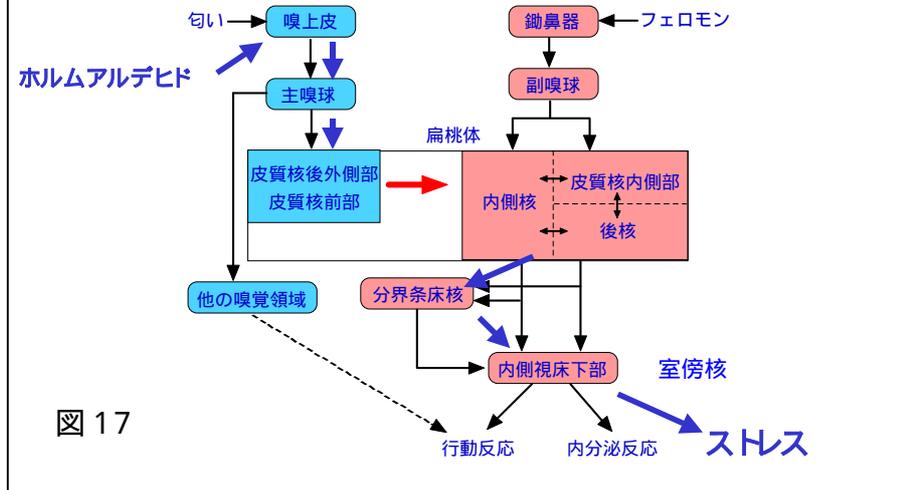


図 17

図17 ホルムアルデヒド長期曝露によるマウス嗅覚系への影響 低濃度ホルムアルデヒドの長期曝露は嗅覚系に影響を及ぼしていることが明らかになった。特に、扁桃体のニューロンに作用している可能性が高くなった。扁桃体ニューロンの役割はほとんど明らかになっていないが、扁桃体が情動に関わっていることは明らかである。あくまでも、推測であるが、ホルムアルデヒドによる扁桃体ニューロンへの作用がさらにストレスとして働いている可能性もある。今後は、行動学的研究を併用しながら、今回明らかになった形態学的変化の機能的意味を明らかにすることにより、化学物質の嗅覚系に対する作用を明らかにし、化学物質 嗅覚系(嗅上皮—嗅球—大脳辺縁系(扁桃体)) 視床下部 ストレスの発現という経路を明確にすることが可能となる。

### 3. ホルムアルデヒド長期曝露が視床下部 下垂体 副腎軸に及ぼす影響

研究者：佐々木文彦（大阪府立大学大学院）

研究協力者：トウイ・ケマ・リサ（大阪府立大学大学院）

桑原 佐知（大阪府立大学大学院）

塚本 康浩（大阪府立大学大学院）

樺田 尚樹（産業医科大学）

#### （1）研究要旨

本態性多種化学物質過敏状態(Multiple Chemical Sensitivity: MCS)の研究の内、今回の課題である低濃度ホルムアルデヒドの長期曝露は日本はもとより世界的にも問題視されているシックハウス症候群の解明にも結びつく研究である。したがって、低濃度ホルムアルデヒドの長期曝露が視床下部室旁核の副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン(CRH)神経細胞と下垂体副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)細胞にどのような影響を与えるかを免疫組織学的方法、計量計測学的方法、半定量的 RT-PCR 法とラジオイムノアッセイにより解析した。又、シックハウス症候群に罹患した患者の多くは、アレルギーを発症している事から卵白アルブミン(OVA)を前処置して作成したアレルギー発症モデルを用いた。更に、アレルギーを発症しないトルエンを前処置したマウスを用いて、OVA 前処置で発症したアレルギーの意義を解析した。

マウスをホルムアルデヒド曝露群(A 群)、アレルギー発症モデル群(B 群)とトルエン投与群(C 群)の 3 群に分類した。A 群では 80ppb、400ppb、2000ppb の濃度で 12 週間ホルムアルデヒドを曝露し、曝露しないマウスを対照に用いた。B 群は抗原として OVA を曝露開始前に 10  $\mu$ g/マウスの濃度で 2mg alum とともに腹腔内に投与し、以降 OVA を 3 週間ごとに腹腔内に投与した。ホルムアルデヒド曝露は、A 群同様に行った。C 群では、500ppm のトルエンを 3 日間経気道曝露後、A 群同様の処理を行った。

A 群の CRH-免疫陽性(ir)神経細胞数、下垂体の ACTH-ir 細胞出現率と数並びに下垂体の ACTH-mRNA の発現量は曝露量依存的に増加した。B 群対照群の CRH-ir 神経細胞数、下垂体の ACTH-ir 細胞出現率と数並びに下垂体の ACTH-mRNA の発現量は、A 群対照群のものよりそれぞれ有意的に増加していた。B 群 80ppb ホルムアルデヒド曝露マウスの CRH-ir ニューロン数、ACTH-ir ニューロンの出現率と数並びに ACTH-mRNA の発現量は、さらに増加し、A 群の 2000ppb 曝露マウスの値と差はなかった。しかし、400ppb と 2000ppb ではこれらの値は減少した。C 群の CRH-ir 神経細胞数、ACTH-ir 細胞の出現率と数並びに ACTH-mRNA の発現量は、ホルマリン曝露量依存的に増加していた。

A 群では、ホルムアルデヒドがストレスラーとして作用していることを示した。一方、B 群では高濃度ホルムアルデヒド曝露により HPA 軸が障害を受けていた。このように、シックハウス症候群とは、アレルギーとホルムアルデヒドの 2 つのストレスの相乗作用で HPA 軸が損傷を受け、更なるストレス（腹痛、頭痛など）を処理

できない状態になっていると考えられる。

アレルギー発症モデル B 群とトルエン前処理した C 群の結果から、アレルギー性炎症は、ホルムアルデヒド曝露に対する HPA 軸の反応に悪影響を与えるが、アレルギー炎症を発現しないトルエン前処置ではなんらの影響も与えていないと考えられる。

このような 3 年間の結果を総合して、MSC 研究の代表であるシックハウス症候群発症の機構を解明した。

## ( 2 ) 研究目的

最近、環境中に存在する多種類の微量な化学物質が人体に種々の疾病を引き起こす本態性多種化学物質過敏状態(Multiple Chemical sensitivity: MCS)の研究が重要視されている<sup>1, 2)</sup>。MCS の中でも低濃度ホルムアルデヒドにより惹起されるシックハウス症候群については社会問題として取り上げられている。家屋内で発生するホルムアルデヒドの曝露とシックハウス症候群罹患との関係が研究され<sup>3, 4)</sup>、特に、低レベルのホルムアルデヒド曝露とヒト<sup>5)</sup>、ラット<sup>6)</sup>やマウス<sup>7)</sup>の呼吸器の疾病との関係が研究された。視床下部 - 下垂体 - 副腎(HPA)軸はあらゆるストレスに対応し、ホルムアルデヒドの様な化学薬品曝露に際してもそのストレスを解消する<sup>8-10)</sup>。しかしながら、低濃度のホルムアルデヒド曝露が HPA 軸にいかなる効果を及ぼすかについては報告がないのが現状である。したがって、本研究の第一の目的は低濃度ホルムアルデヒド曝露が HPA 軸に如何なる影響をもたらすかを免疫組織学的方法、計量学的方法、半定量的 RT-PCR 法と RIA 法を用いて解明することである。又、シックハウス症候群に罹患する患者の多くは、アレルギーを発症している事から、卵白アルブミンを前処理したアレルギー発症マウスの HPA 軸が低濃度ホルムアルデヒドの曝露でどのようになるかを検討する事が第二の目的である。更に、第三の目的は、アレルギーを発症しないトルエンを前処置したマウスの HPA 軸が低濃度ホルムアルデヒド曝露でどのように反応するかを検討する事により卵白アルブミン処理で発症したアレルギーの意義を解析する事である。このような 3 年間の実験を総合して、MSC の代表の一つであるシックハウス症候群の発症の機構を解明することが本研究の主目的である。

## ( 3 ) 研究方法

### 1 ) 動物

日本エスエルシー株式会社より 8 週齢の成熟メスマウス ( C3H/He ) を購入し、2 週間の馴化後実験に使用した。マウスをホルムアルデヒド曝露群(A 群)、アレルギー発症モデル群(B 群)とトルエン投与群(C 群)の 3 群に分類した。さらに、A 群では 80ppb、400ppb、2000ppb の濃度で 1 2 週間ホルムアルデヒドを曝露し、曝露しないマウスを対照に用い、それぞれ A-80、A-400、A-2000 と A-0 群とした。B 群では抗原として卵白アルブミン(OVA)をホルムアルデヒド曝露開始前に 10  $\mu$ g/マウスの濃度で 2mg alum とともに腹腔内に投与し、以降 OVA を 3 週間ごとに腹腔内に投与した。ホルムアルデヒド曝露は、A 群同様に行い、B-80、B-400、B-2000 と B-0 群

とした。C 群では、500ppm のトルエンを経気道曝露後、ホルムアルデヒド曝露は、A 群同様に行い、C-80、C-400、C-2000 と C-0 群とした。合計 30 群の内それぞれの群は、10 匹づつのマウスから成り、5 匹は形態学的観察に、他の 5 匹は下垂体の ACTH-mRNA 発現の観察に使用した。体重測定後、視床下部、下垂体、副腎を採取した。副腎は、ブアンの液で固定し、全ての試料採取後重量を測定し、絶対重量と相対重量(副腎絶対重量/体重)で示した。

## 2) 視床下部室旁核の CRH-ir ニューロンの解析

視床下部をブアンの液で固定し、アルコール系列で脱水後、パラフィン包埋した。光学顕微鏡用のミクロトームで 10 $\mu$ m の連続切片とし、ガラススライドに塗付した。切片をキシレンで脱パラフィンし、ヒト CRH 抗体(希釈倍率: 1:1,000)を用いて免疫染色(ABC 法)し、核はヘマトキシリンで対比染色した。二次抗体としては、ビオチン標識抗ウサギ IgG (Vector Laboratories, Inc., USA) を用い、ジアミノベンチジン(Zymed Laboratories, Inc., USA)で発色させた。結果を光学顕微鏡で観察した。室旁核を含む切片を 4 枚ごとに選択し、CRH-ir 細胞数を数えた。数えた切片の数は各群 7 ~ 8 枚である。室旁核中の CRH-ir ニューロン数(T) は、下記の公式に代入して求めた。T = n/i  $\times$   $\Sigma$ Ni (n: それぞれの動物の室旁核を含む全切片数; i: 選択した切片数)。

## 3) 下垂体前葉の ACTH 細胞の解析

### 免疫組織化学による解析

下垂体を 10%ホルマリンで固定し、アルコール系列で脱水後、パラフィンに包埋した。パラフィンブロックを 10 $\mu$ m の連続切片とし、キシレンで脱パラフィン後、ヒト ACTH 抗体(希釈倍率: 1: 1,000)にて ABC 法を用いて免疫染色し、核をヘマトキシリンで染色し、光学顕微鏡で観察した。二次元画像解析装置 Cosmozone-1SB を用いて ACTH-ir 陽性細胞を計測した。パソコン画面上に 1 辺が 40 $\mu$ m の正方形を描き、倍率 400 倍の顕微鏡像を投影し、画面上に存在する核を持つ免疫陽性細胞と全核数を数えた。ただし、正方形内に存在する免疫陽性細胞と核並びに上辺と左辺にまたがるものは数えるが、下辺と右辺にまたがるものは除外した。このようにして、ACTH 免疫陽性細胞の出現率と数は、下記の公式に代入して求めた。

ACTH-ir 細胞の出現率(%) = (免疫陽性細胞数  $\div$  全核数)  $\times$  100。

下垂体前葉実質細胞の絶対数(T) =  $N^{3/2} \times V/40^3$  (N: 40<sup>2</sup>  $\mu$ m<sup>2</sup>中に存在する平均の核数; V: 下垂体の体積)。

### 下垂体の半定量的 RT-PCR による ACTH-mRNA の発現量の測定

下垂体を採取後直ちに液体窒素で凍結し、使用するまで -70 $^{\circ}$ C の冷凍庫中で保存した。組織を TORISOL(Life Technologies, Inc., USA)中でホモジナイズし、total RNA を抽出した。2 $\mu$ g の total RNA、オリゴ dT プライマーおよび逆転写酵素を用いて cDNA を鋳型 DNA として、マウス ACTH に対するプライマーを使い、PCR により増幅させた。PCR 産物は、アガロースゲルで電気泳動し、得られたそれぞれの

バンドについてその強度を比較することにより、ACTH-mRNA の発現の測定を行った。なお、得られた PCR 産物は、DNA シークエンスにより ACTH であることを確認している。

#### 4 ) Corticosterone の測定

Corticosterone の測定は、解剖時に採取した血清を - 80 で保存後、ICN ImmChem Double Antibody Corticosterone 1251 RIA Kit for Rats and Mice を使用して、R I A により測定した。

#### ( 4 ) 研究結果

##### 1 ) A 群 ( OVA - )

体重、副腎重量、下垂体前葉体積

結果を Table 1 に示した。体重、副腎重量、下垂体前葉体積は、曝露群と対照群で差がなかった。

視床下部室旁核の CRH-ir ニューロン数

CRH-ir ニューロン数は、ホルムアルデヒド曝露量依存的に増加していた(Figs. 1, 2)。

ACTH-ir 細胞の出現率、数

ACTH-ir 細胞の出現率(Fig. 3)、数(Fig. 4)は、ホルムアルデヒド曝露量依存的に増加していた。

半定量的 RT-PCR による下垂体内 ACTH-mRNA

ACTH-mRNA の発現量ホルムアルデヒド曝露量依存的に増加していた(Fig. 5)。

血中の corticosterone 濃度

対照群のコルチコステロン濃度に比べて、80ppb と 400ppb のもので有意に増加していた(Fig. 6)。

##### 2 ) B 群 ( OVA + )

体重、副腎重量、下垂体前葉体積

80ppb ホルムアルデヒド曝露群の体重は対照群のものより減少し、副腎の相対重量は増加していた。400ppb と 2000ppb の体重と副腎重量は対照群のものと差はなかった。下垂体前葉の体積は、曝露群と対照群で差がなかった(Table 2)。

視床下部室旁核の CRH-ir ニューロン数

B 群の対照群マウスの CRH-ir ニューロン数は、A 群マウス対照群のものより有意に増加していた。80ppb 曝露マウスの CRH-ir ニューロン数は、さらに増加し、A 群の 2000ppb 曝露マウスの値と差はない。400ppb と 2000ppb では減少した(Figs. 7, 8)。

ACTH-ir 細胞の出現率、数

B 群の対照群マウスの ACTH-ir ニューロンの出現率(Fig. 9)と数(Fig. 10)は、A 群マウス対照群のものより有意に増加していた。80ppb 曝露マウスの ACTH-ir ニューロン数は、さらに増加し、A 群の 2000ppb 曝露マウスの値と差はない。400ppb と 2000ppb では減少した。

#### 半定量的 RT-PCR による下垂体内 ACTH-mRNA

B 群の対照群マウスの ACTH-mRNA の発現量は、A 群マウス対照群のものより有意に増加していた。80ppb 曝露マウスの ACTH-mRNA の発現量は、さらに増加し、A 群の 2000ppb 曝露マウスの値と差はない。400ppb と 2000ppb では減少した(Fig. 5)。

#### 血中の corticosterone 濃度

本群の他対照群のコルチコステロン濃度と比較して全曝露群で有意の差は無かった(Fig. 11)。

### 3) C 群 (OVA - 、トルエン + )

#### 体重、副腎重量、下垂体前葉体積

結果を Table 3 に示した。体重と下垂体前葉体積は、曝露群と対照群で差がなかった。80ppb と 2000ppb 曝露群の副腎重量は、対照群のものより小さく、相対重量では、80ppb 曝露群のものが対照群のものより小さかった。

#### 視床下部室旁核の CRH-ir ニューロン数

CRH-ir ニューロン数は、ホルムアルデヒド曝露量依存的に増加し、特に 2000ppb 曝露群のものが対照群のものより有意的に増加していた(Figs. 12, 13)。

#### ACTH-ir 細胞の出現率、数

ACTH-ir 細胞の出現率(Fig. 14)は、ホルムアルデヒド曝露量依存的に増加していたが、数(Fig. 15)では差が見られなかった。

#### 半定量的 RT-PCR による下垂体内 ACTH-mRNA

ACTH-mRNA の発現量ホルムアルデヒド曝露量依存的に増加していた(Fig. 16)。

#### 血中の corticosterone 濃度

本群の他対照群のコルチコステロン濃度と比較して全曝露群で有意の差は無かった(Fig. 17)。

### ( 5 ) 考察

A 群では、低濃度の長期ホルムアルデヒド曝露により視床下部室旁核の CRH-ir ニューロン数、ACTH-ir 細胞の出現率と数、下垂体内 ACTH-mRNA 発現量は曝露量依存的に増加し、ホルムアルデヒドがストレスとして作用していることを示した。ACTH-ir 細胞の出現率は、短期間の cold ストレスにより増加する<sup>11)</sup>。一方、B 群の視床下部 CRH 神経細胞と下垂体の ACTH 細胞は A 群のものと異なる反応を示した。すなわち、B 群の CRH-ir ニューロン数、ACTH-ir 細胞の出現率と数、下垂体内 ACTH-mRNA の発現量はホルムアルデヒド曝露がなくても増加し、80ppbFA 曝露で最高の増加を示した。このように、アレルギーは、ストレスとして HPA 軸に働き、ホルムアルデヒドはアレルギーの感受性を高めたと考えられた。また、B 群での高濃度(2000ppb)ホルムアルデヒド曝露では 80ppb 曝露マウスに比べて、CRH-ir ニューロン数、ACTH-ir 細胞の出現率と数、下垂体内 ACTH-mRNA の発現量は減少している。すなわち、B 群では高濃度ホルムアルデヒド曝露により HPA 軸が障害を受け、ストレスに対応できなくなっていて、更なるストレス(腹痛、頭痛

など)を処理できない状態になっていると考えられる。すなわち、MSCの一つであるシックハウス症候群とは、アレルギーとホルムアルデヒドの2つのストレスが相乗的に作用して、HPA軸が損傷を受け、更なるストレス(腹痛、頭痛など)に対応できなくなった状態と考えられる。

トルエン前処理したC群のHPA軸の結果は、A群の結果と似ている。即ち、卵白アルブミン前処置により発症したアレルギー性炎症は、ホルムアルデヒド曝露に対するHPA軸の反応に影響を与えるが、アレルギー炎症を発現しないトルエン前処置では影響を与えていないと考えられる。

#### (6) 参考文献

1. Sorg, BA, Willis, JR, Nowatka, TC, Ulibarri, C, See, RE, Westberg, HH. Proposed animal neurosensitization model for multiple chemical sensitivity in studies with formalin. *Toxicology* 111:135-145, 1996.
2. Sorg, BA, Bailie, TM, Tschirgi, ML, Li, Na, Wu, W-R. Exposure to repeated low-level formaldehyde in rats increases basal corticosterone levels and enhances the corticosterone response to subsequent formaldehyde. *Brain Res* 898:2001, 314-320.
3. Olsen, JH, Dossing, M. Formaldehyde induced symptoms in day care centers. *Am Ind Hyg Assoc J* 43:366-370, 1982.
4. Main, DM, Hogan, TJ. Health effects of low-level exposure to formaldehyde. *J Occup Med* 25:896-900, 1983.
5. Thrasher, JD, Broughton, A, Madison, R. Immuno activation and autoantibodies in humans with long-term inhalation exposure to formaldehyde. *Arch Environ Health* 45:217-223, 1990.
6. Sorg, BA, Bailie, TM, Tschirgi, ML, Li, N, Wu, W-R. Exposure to repeated low-level formaldehyde in rats increases basal corticosterone levels and enhances the corticosterone response to subsequent formaldehyde. *Brain Res* 898:314-320, 2001.
7. Kerns, WD, Pavkov, K, Donofrio, DJ, Gralla, EJ, Swenberg, JA. Carcinogenicity of formaldehyde in rats and mice after long-term inhalation exposure. *Cancer Res* 43:4382-4392, 1983.
8. Menzaghi, F, Heinrichs, SC, Pish, EM, Weiss, F, Koob, GF. The role of limbic and hypothalamic corticotrophin-releasing factor in behavioral responses to stress. *Ann NY Acad Sci* 697:142-154, 1993.
9. Whitnall, MH. Regulation of the hypothalamic corticotrophin-releasing hormone neurosecretory system. *Prog Neurobiol* 40:573-629, 1993.
10. Seasholtz, A. Regulation of adrenocorticotrophic hormone secretion: lessons from mice deficient in corticotrophin-releasing hormone. *J Clin Invest* 105:1187-1189, 2000.
11. Sasaki, F, Wu, P, Rougeau, D, Unabia, G, Childs, GV. Cytochemical studies

of responses of corticotropes and thyrotropes to cold and novel environmental stress. *Endocrinology* 127:285-297, 1990.

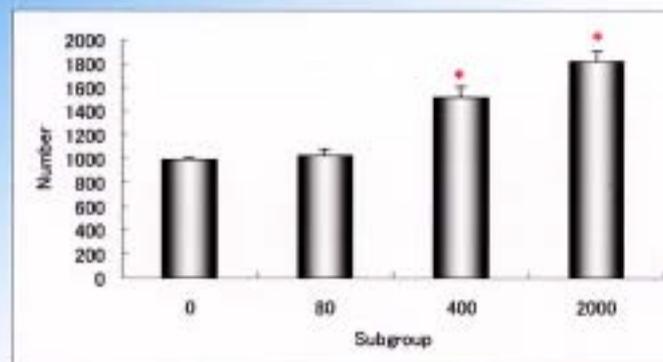
( 7 ) **Abstract**

Effect of long term exposure to low concentrations of formaldehyde on the hypothalamo-pituitary-adrenal gland axis in mice

We study the effect of low-level formaldehyde inhalation on the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in adult female C3H/He mice, using immunocytochemical, morphometric, RT-PCR and RIA methods. The mice were divided into three large groups (non allergy group (A group), allergy group (B group) and toluene-treated group (C group)), and each group was subdivided into 0, 80, 4000 and 2000 subgroups that were exposed to 0, 80, 400 and 2000 ppb formaldehyde. B group mice were injected intraperitoneally with 10  $\mu$ g OVA and 2 mg alum per mouse immediately before the inhalation of formaldehyde and were sensitized with aerosolized OVA at 3-week intervals for 3 months. C group mice were inhaled by 500ppm toluene before the inhalation of formaldehyde. The number of corticotrophin releasing hormone (CRH)-immunoreactive (ir) neurons and adrenocorticotrophin (ACTH)-ir-cells, and ACTH-mRNA expression of A group mice, were all up-regulated in a manner depending on the dose of formaldehyde. Results for B group mice differed significantly from those of A group mice. The number of CRH-ir neurons and ACTH-ir cells, and ACTH-mRNA expression of unexposed B group mice, were all significantly higher than in the unexposed A group mice. The number of CRH-ir neurons and ACTH-ir cells, and ACTH-mRNA expression in the 80 subgroup, were all greater than in other subgroups of B group mice. The number of CRH-ir neurons, percentage of ACTH-ir cells and ACTH-mRNA expression of C group mice were approximately up-regulated in a manner depending on the dose of formaldehyde. We suggest that the formaldehyde causes stress to CRH neurons and ACTH cells, and the corresponding allergic condition contributes to sensitization to chemical exposure. Mechanisms for the effects of sick building syndrome (SBS), which is a form of MCS, are discussed.

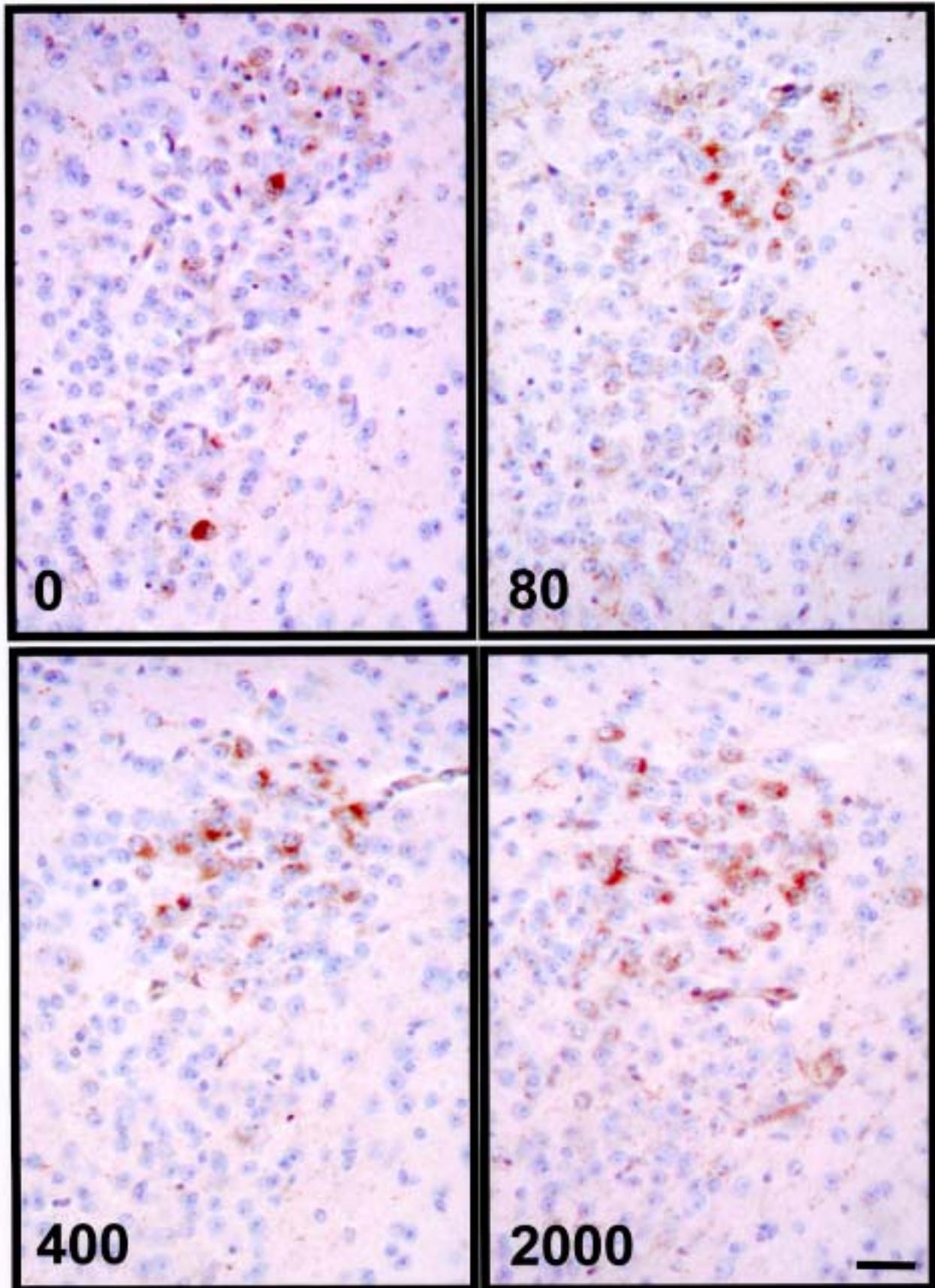
Subgroup	BW (g)	AW (mg)	AW/BW ( $\times 10^{-4}$ )	VPG ( $\times 10^7$ )
0	27.62 $\pm$ 0.44	5.57 $\pm$ 0.16	2.02 $\pm$ 0.07	75.206 $\pm$ 2.862
80	28.97 $\pm$ 0.59	5.28 $\pm$ 0.47	1.83 $\pm$ 0.16	78.242 $\pm$ 2.148
400	28.24 $\pm$ 0.34	5.23 $\pm$ 0.17	1.85 $\pm$ 0.05	80.521 $\pm$ 2.308
2000	28.50 $\pm$ 0.67	4.91 $\pm$ 0.31	1.74 $\pm$ 0.12	79.878 $\pm$ 3.359

**Table 1.** Body weight (g), absolute (mg) and relative weight (adrenal weight/body weight) of the adrenal gland, and volume of pituitary gland of A group mice. BW: body weight, AW: adrenal weight, VPG: volume of anterior pituitary gland

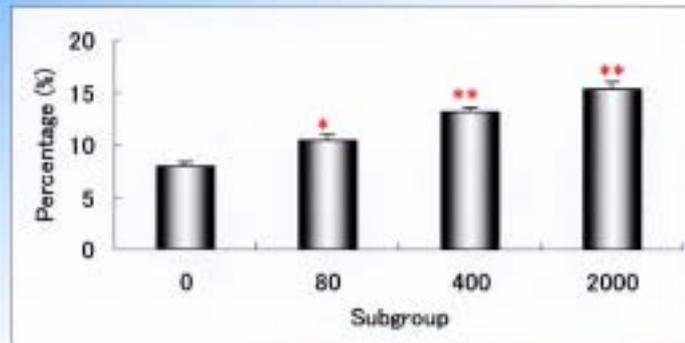


**Fig. 1.** The number of CRH-ir neurons in the PVN areas of hypothalamus of A group mice. Values are expressed as means  $\pm$  SEM. \* $p < 0.01$  vs. 0 subgroup (control). The number of mice in each subgroup is 5.

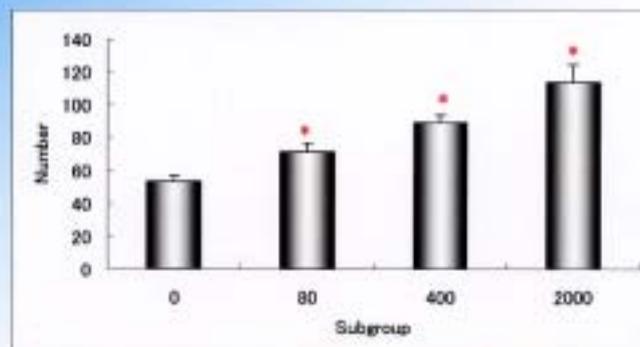
**Fig. 2.**



**Fig. 2.** The CRH-ir neurons in the PVN of A group mice. (0) 0 ppb formaldehyde; (80) 80 ppb formaldehyde; (400) 400 ppb formaldehyde; (2000) 2000 ppb formaldehyde. The CRH-ir neurons were up-regulated according to the quantity of formaldehyde inhaled. Bar = 50  $\mu$ m.

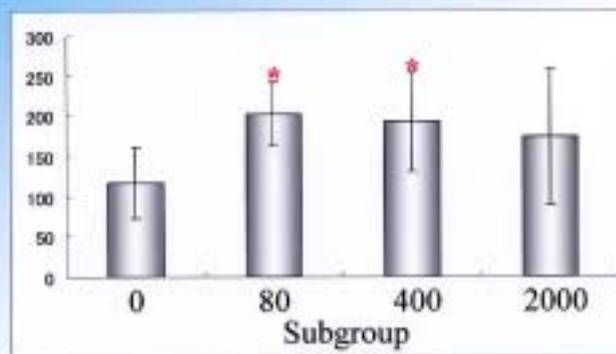
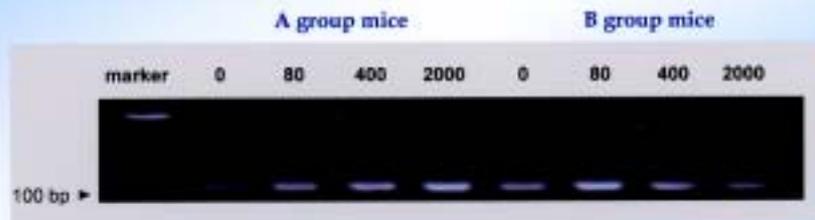


**Fig. 3.** The percentage of ACTH-ir cells in the anterior pituitary gland of A group mice. Values are expressed as means  $\pm$  SEM. \* $p < 0.05$  and \*\* $p < 0.01$  vs. 0 subgroup (control). The number of mice in each SG is 5.



**Fig. 4.** The numbers of ACTH-ir cells in the anterior pituitary gland of A group mice. Values are expressed as means  $\pm$  SEM. \* $p < 0.01$  vs. 0 subgroup (control). The number of mice in each SG is 5.

**Fig. 5. Quantitative RT-PCR analysis of expression of ACTH gene in the pituitary of A and B group mice**



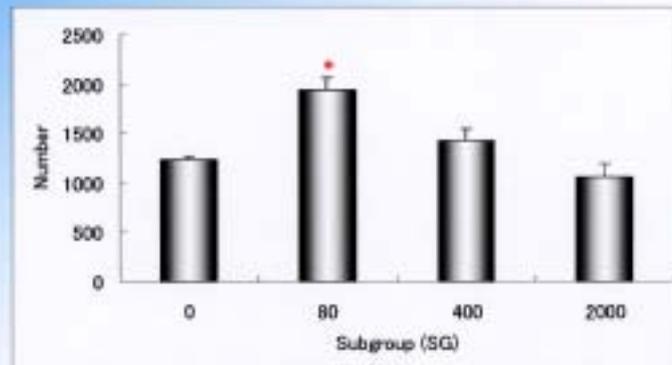
**Fig. 6. Serum corticosterone concentration of A group mice. (0) 0 ppb formaldehyde; (80) 80 ppb formaldehyde;(400) 400 ppb formaldehyde; (2000) 2000 ppb formaldehyde. Values are mean  $\pm$  SD.**

\*P<0.05 vs. 0 subgroup (control).

The number of mice in each group is 5.

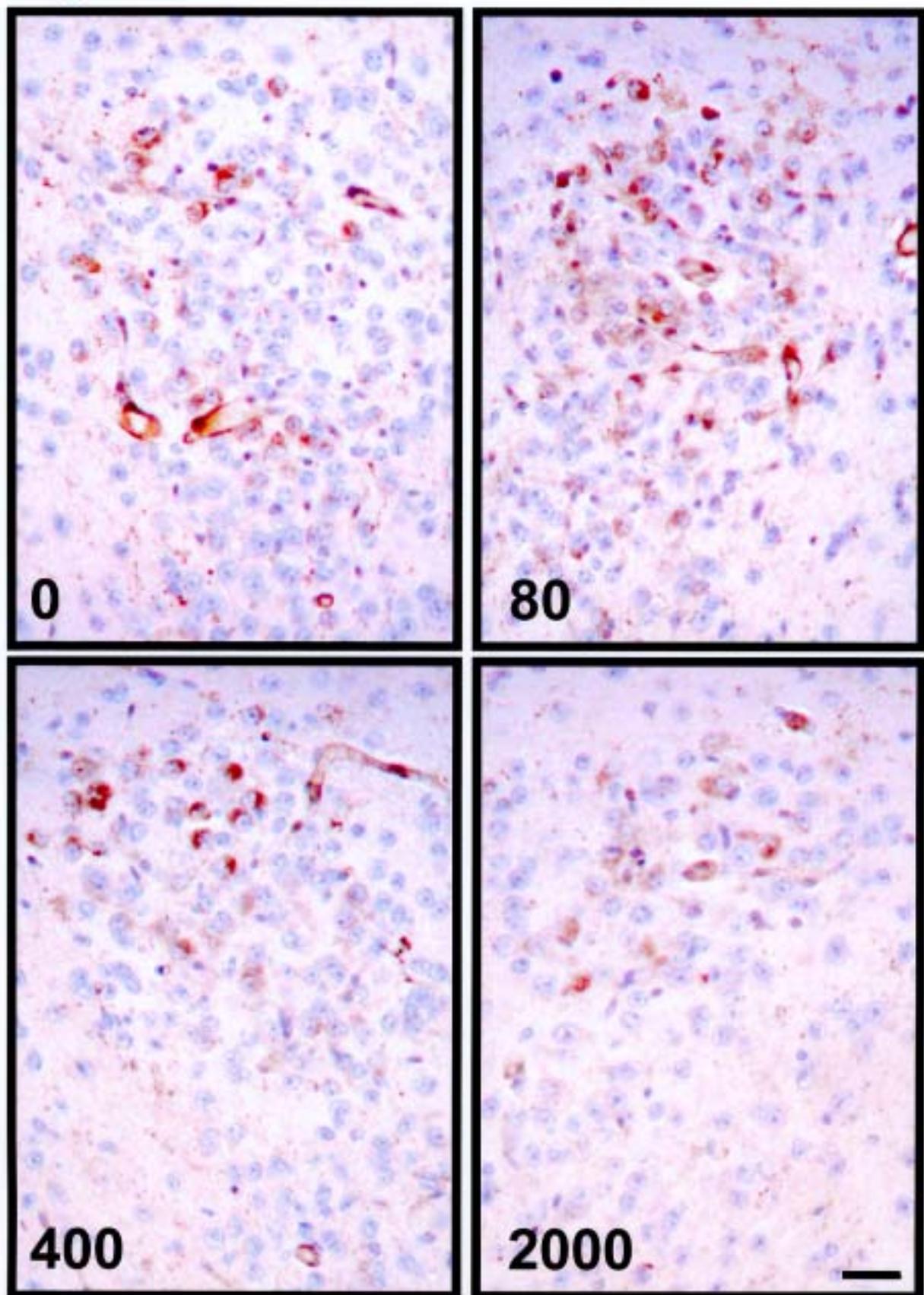
Subgroup	BW (g)	AW (mg)	AW/BW ( $\times 10^{-4}$ )	VPG ( $\times 10^7$ )
0	28.46 $\pm$ 0.45	5.83 $\pm$ 0.27	2.05 $\pm$ 0.09	83.025 $\pm$ 3.219
80	27.00 $\pm$ 0.47*	6.17 $\pm$ 0.35	2.29 $\pm$ 0.38	76.803 $\pm$ 1.459
400	28.78 $\pm$ 0.25	5.68 $\pm$ 0.18	1.98 $\pm$ 0.23	85.682 $\pm$ 3.911
2000	29.02 $\pm$ 0.33	5.68 $\pm$ 0.39	1.96 $\pm$ 0.14	81.907 $\pm$ 2.945

**Table 2.** Body weight (g), absolute (mg) and relative weight (adrenal weight/body weight) of adrenal gland, and volume of pituitary gland of B group mice. Data are expressed as mean  $\pm$  SEM. \* $p < 0.05$  vs. control (0 subgroup). BW: body weight, AW: adrenal weight, VPG: volume of anterior pituitary gland

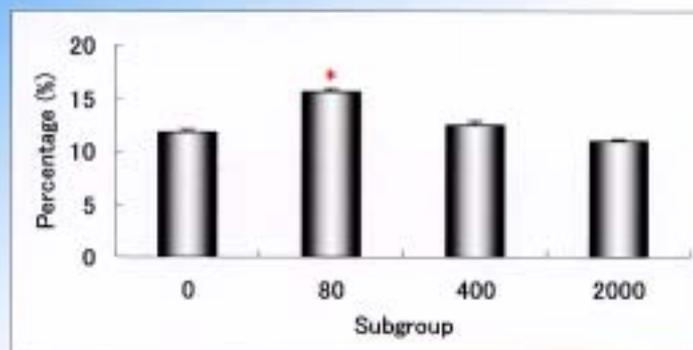


**Fig. 7.** The number of CRH-ir neurons in the PVN areas of hypothalamus of B group mice. Values are expressed as means  $\pm$  SEM. \* $p < 0.01$  vs. 0 subgroup (control). The number of mice in each subgroup is 5.

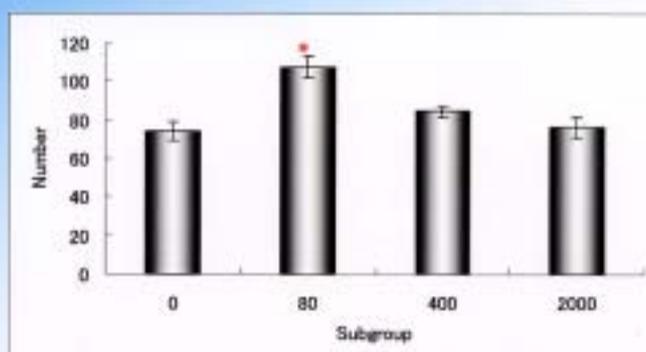
**Fig. 8.**



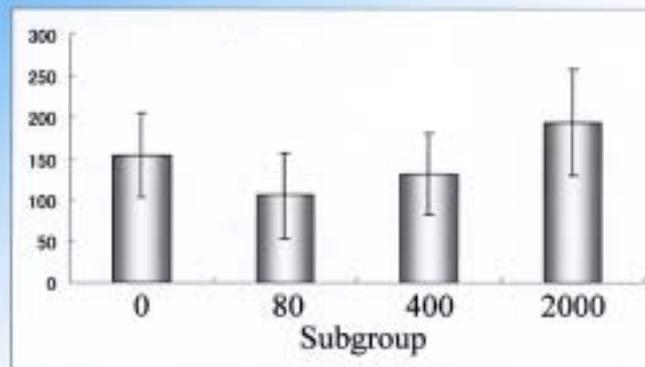
**Fig. 8.** The CRH-ir neurons in the PVN of B group mice. (0) 0 ppb FA; (80) 80 ppb FA; (400) 400 ppb FA; (2000) 2000 ppb FA. The CRH-ir neurons was significantly, higher in the 80 subgroup than other subgroups and no differences were found between CRH-ir neurons in the 400 subgroup or 2000 subgroup and the control subgroup. Bar = 50  $\mu$ m.



**Fig. 9.** The percentage of ACTH-ir cells in the anterior pituitary gland of B group mice. Values are expressed as means  $\pm$  SEM. \* $p < 0.01$  vs. 0 subgroup (control). The number of mice in each SG is 5.



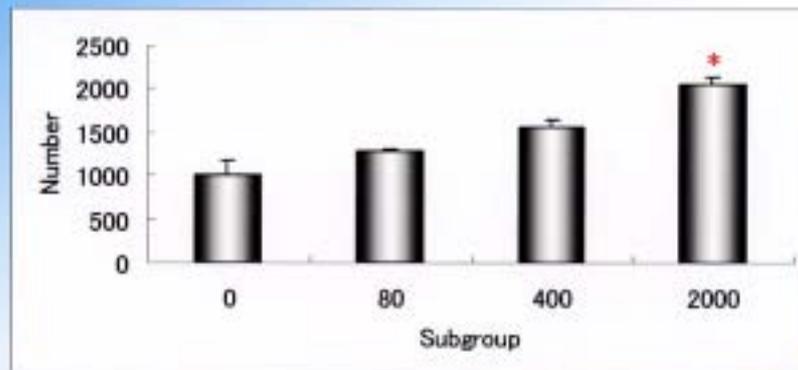
**Fig. 10.** The numbers of ACTH-ir cells in the anterior pituitary gland of B group mice. Values are expressed as means  $\pm$  SEM. \* $p < 0.01$  vs. 0 subgroup (control). The number of mice in each SG is 5.



**Fig. 11.** Serum corticosterone concentration of B group mice. (0) 0 ppb formaldehyde; (80) 80 ppb formaldehyde; (400) 400 ppb formaldehyde; (2000) 2000 ppb formaldehyde. Values are mean  $\pm$  SD. The number of mice in each group is 5.

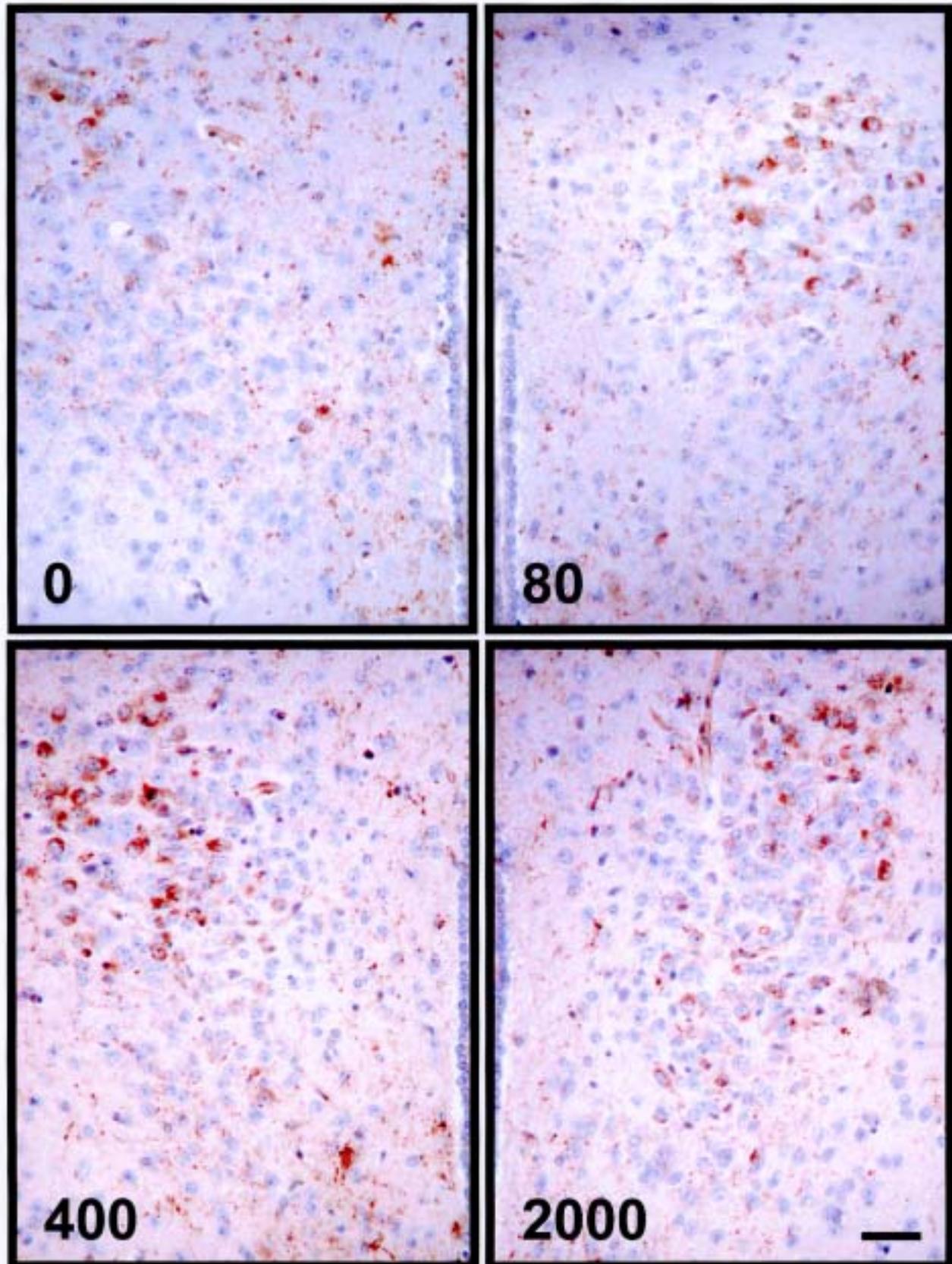
Subgroup	BW (g)	AW (mg)	AW/BW ( $\times 10^{-4}$ )	VPG ( $\times 10^7$ )
T-0	27.76 $\pm$ 0.59	6.55 $\pm$ 0.24	2.38 $\pm$ 0.12	92.78 $\pm$ 14.34
T-80	28.44 $\pm$ 0.53	5.47 $\pm$ 0.18*	1.93 $\pm$ 0.07*	79.45 $\pm$ 9.09
T-400	27.72 $\pm$ 0.26	6.26 $\pm$ 0.24	2.26 $\pm$ 0.08	90.30 $\pm$ 3.58
T-2000	27.06 $\pm$ 0.45	5.72 $\pm$ 0.23*	2.12 $\pm$ 0.09	78.79 $\pm$ 4.40

**Table 3.** Body weight (g), absolute (mg) and relative weight (adrenal weight/body weight) of adrenal gland, and volume of pituitary gland of C group mice. Data are expressed as mean  $\pm$  SEM. \* $p$ <0.05 and  $^{\#}p$ <0.01 vs. control (0). BW: body weight, AW: adrenal weight, VPG: volume of anterior pituitary gland

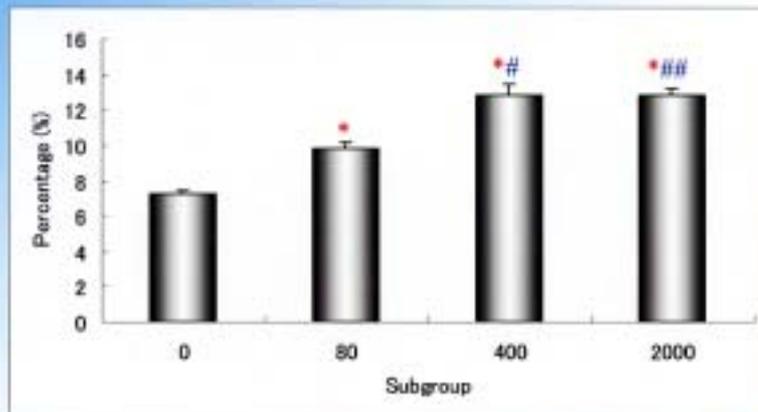


**Fig. 12.** The number of CRH-ir neurons in the PVN areas of hypothalamus of C group mice. Values are expressed as means  $\pm$  SEM. \* $p$ <0.05 vs. 0 subgroup (control). The number of mice in each subgroup is 3.

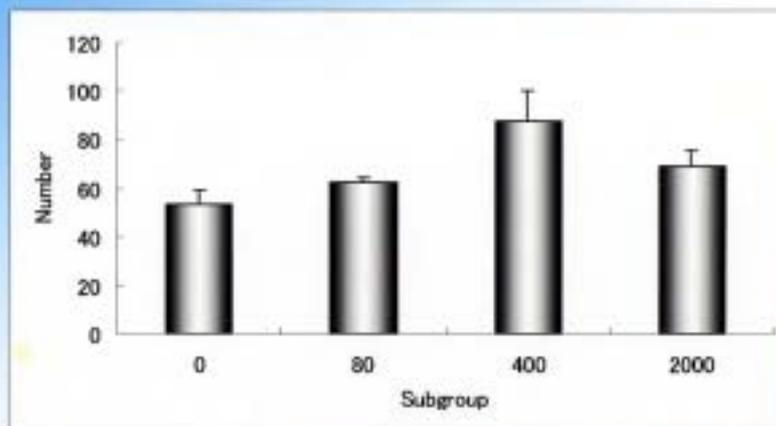
**Fig. 13.**



**Fig. 13.** The CRH-ir neurons in the PVN of C group mice. (0) 0 ppb formaldehyde; (80) 80 ppb formaldehyde; (400) 400 ppb formaldehyde; (2000) 2000 ppb formaldehyde. The CRH-ir neurons were up-regulated according to the quantity of formaldehyde inhaled. Bar = 50  $\mu$ m.

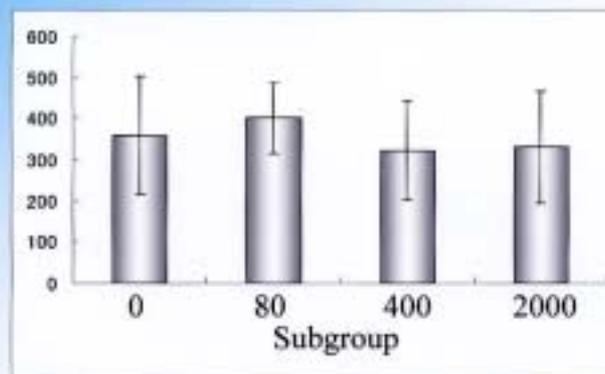
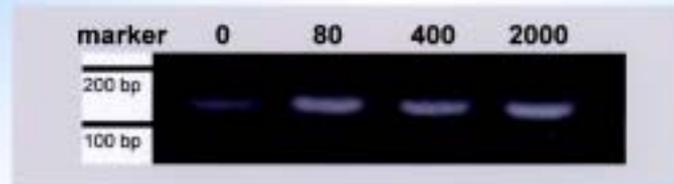


**Fig. 14.** The percentage of ACTH-ir cells in the anterior pituitary gland of C group mice. Values are expressed as means  $\pm$  SEM. \* $p < 0.01$  vs. 0 subgroup (control), # $p < 0.05$  and ## $p < 0.01$  vs 80 subgroup. The number of mice in each SG is 3.



**Fig. 15.** The numbers of ACTH-ir cells in the anterior pituitary gland of C group mice. The number of mice in each SG is 3.

**Fig. 16. Quantitative RT-PCR analysis of expression of ACTH gene in the pituitary of C group mice**



**Fig. 17. Serum corticosterone concentration of C group mice. (0) 0 ppb formaldehyde; (80) 80 ppb formaldehyde; (400) 400 ppb formaldehyde; (2000) 2000 ppb formaldehyde. Values are mean  $\pm$  SD. The number of mice in each group is 10.**

## 4 . 脳内海馬での情報処理変化の検討

### 研究協力者

笛田由紀子 (産業医科大学産業保健学部第1 生体情報学)

担当：海馬興奮性の電気生理学的解析

夏目季代久(九州工業大学大学院生命体工学研究科脳情報)

担当：海馬の LTP を電気生理学的に検索

福永 浩司 (東北大学大学院薬学研究科・薬理学分野)

担当：細胞内シグナル伝達を神経化学的に検索

粟生 修司(九州工業大学大学院生命体工学研究科脳情報)

担当：行動変化を検索

### 研究補助者

新井 潤 (九州工業大学大学院生命体工学研究科)

緒方元気 (九州工業大学大学院生命体工学研究科)

野村和美 (熊本大学大学院医学研究科)

名倉陽子 (東北大学大学院薬学研究科・薬理学分野)

### (1) 研究要旨

化学物質過敏状態のモデル作成において重要なことは、「過敏になる」すなわち「感作、sensitization」という機構を脳レベルで解明することであろう。その第1歩として、海馬において FA 長期曝露で変化した指標をみだし、その機構の解明に向かってきた。神経の sensitization という問題は、アプリシアのえら引込め反射の長期感作や、齧歯類海馬 CA1 領域が関与する空間記憶や作動記憶について先人たちが多くの成果をあげている。化学物質過敏状態動物モデル作成においては、単に影響の羅列は意味がなく、神経の電気生理学的変化を分子レベルで説明し、さらにはどのような行動変化に影響するかという、分子から行動までの機構軸を構築しなければ、真のモデル作成とはいえないのではないだろうか。

化学物質過敏状態のモデルを作成するという目的にむかって、まず、低濃度ホルムアルデヒド (以下 FA) の長期吸入曝露により、大脳辺縁系の一部である海馬において神経情報処理がどのような影響を受けるか検討した。情報処理の指標としては、シナプスの可塑性として長期増強 (Long term potentiation, 以下 LTP) の程度、抑制系としてペアパルス抑制強度、脳内シグナル伝達に關与する活性化酵素系の種類、海馬が關与すると考えられている行動試験を検討した。

海馬スライス標本 CA1 領域におけるシナプス伝達の LTP については、対照群に比べて、80ppb, 400ppb, 2000ppb で減弱していた。脳内シグナル伝達の検索は、2000ppb 濃度で実験を行った。海馬では CaM キナーゼ系、大脳皮質では MAP キナーゼ系が影響を受け、海馬 CA1 領域と歯状回で synapsin I が増加していた。また、副腎皮質刺激ホルモン (CRH) 濃度は大脳皮質では増加したが、海馬では変化がなかった。2000ppb 曝露群の海馬スライス標本をもちいて、集合スパイク電位と集合シナプス後電位のペアパルス解析をおこなった。歯状回では、対照群と比較して、集合スパイク電位のペアパルス比が 5ms, 10ms, 20ms で増加したが、集合シナプス後電位のペアパルス比は変化しなかった。CA1 領域では、集合シナプス後電位のペアパルス比が 5ms, 10ms で増加

していたが、集合スパイク電位のペアパルス比は、変化しなかった。行動試験は 2000ppb 曝露群をもちいた。活動性、探索行動の評価としてオープンフィールド試験を行い、立ち上がり回数に有意な増加がみられた。不安の指標としては、高架プラス迷路試験を行ったが、曝露群と対照群とのあいだでは差がみとめられなかった。また、くしゃみ回数と LTP との間に相関はなかった。

これら海馬についての検討結果は、シナプス伝達の異常が惹起された可能性を強く示唆する。今回、海馬が関与する空間学習への影響を調べるために、モーリス水迷路試験をおこなったが、活動性の変化を排除した評価方法を用いる必要性が、空間学習試験の今後の検討課題となった。

## (2) 研究目的 - いままでの研究成果をふまえて

### 1) 平成 12 年度の成果

平成 12 年度は、FA 曝露濃度 2000ppb において検討した。その結果、海馬から皮質への出力領域である CA1 領域において、シナプス伝達の LTP が減弱されていた。また、内嗅皮質から海馬への入力部位である歯状回では、集合スパイク電位のペアパルス抑制が低下しており、顆粒細胞層への反回抑制が減弱されていることが示唆された。形態学的な検索としては、免疫組織化学で調べたかぎりでは、細胞やシナプスの脱落等の形態学的に顕著な変化はみられず、機能分子の分布にも顕著な変化はないことを報告した。

### 2) 平成 13 年度の成果

平成 13 年度は、曝露濃度を 80ppb、400ppb、2000ppb とした。そして、CA1 の LTP は 80ppb 以上で減弱する傾向にあることを示唆する結果をえた。歯状回におけるペアパルス抑制も 80ppb でも減弱の傾向があることがわかった。細胞内シグナルに関しては、2000ppb 濃度で実験を行い、CaM キナーゼ系と MAP キナーゼ系が影響を受けることと、synapsin I や GluR1 に大きな変化がみられることを報告した。ペアパルス解析、細胞内シグナル解析ともに個体のばらつきがあったため、再実験が必要と考えた。

### 3) 今年度の研究目的

今年度は、海馬 CA1 において観察された LTP の減弱の機序解明のための実験を計画した。LTP の減弱についての量-反応関係を明らかにするために低濃度曝露の実験数を増加した。そして、LTP と関係すると思われる細胞内シグナル伝達分子の検索についても実験数を増やした。くわえて、興奮性の変化との関係を解明するために、歯状回におけるペアパルス解析の実験数を追加し、CA1 領域、歯状回ともに、解析範囲をひろげてシナプス由来成分も解析した。これらの一部は同一個体の海馬各領域について検討されたものであり、指標どうしの相関を検討した。さらに、行動レベルで海馬機能の評価するためオープンフィールド試験、高架プラス迷路試験、モーリス水迷路試験をおこない、空間学習、探索行動、不安情動に及ぼす影響を調べた。また、行動試験に用いたマウスのスライス標本を作成し、海馬 CA1 における LTP を解析した。

### 4) 細胞内シグナル伝達検索の意義

カルシウム・カルモデュリン依存性プロテインキナーゼ II (CaM キナーゼ II)、プロテインキナーゼ C (PKC)、増殖因子活性化プロテインキナーゼ (MAP キナーゼ) は海馬を介する記憶学習の獲得過程に関与している。特に、CaM キナーゼ II は海馬の興奮性入力である錐体細胞の

樹状突起に高濃度発現しており、スパインの形態変化を引き起こすこと、あるいはシナプス後部のグルタミン受容体 (GluR1) の発現量とリン酸化状態を変化させることによってシナプス伝達効率を長期的に変化させる。すなわち、シナプス伝達長期増強 (LTP)、長期抑制 (LTD) などのシナプス可塑性に必須の役割を果たしている。一方、MAP キナーゼは核内の CREB 蛋白質をリン酸化して、神経の回路形成や生存に関する蛋白質発現を調節している。PKC に関してはその標的は不明である。FA はシックハウス症候群に代表されるように、ヒトにおいて疲労感、集中力の低下、記憶力の低下など、精神的ストレス状態を引き起こす。本研究では微量 FA の長期曝露による中枢神経系への影響についてマウスを用いて検討した。特に海馬において記憶、学習に関する CaM キナーゼ II、PKC、MAP キナーゼ系について解析した。また、マウス視床下部室傍核において、副腎皮質刺激ホルモン (CRH) の免疫陽性細胞数が FA 曝露で増加するという佐々木の報告があることから、海馬と大脳皮質における CRH の変化についても解析した。

### 5) 行動の解析

FA2000ppb 慢性曝露の活動性や探索行動、不安情動および空間学習機能に及ぼす影響を調べるため、オープンフィールド試験、高架プラス迷路試験、モーリス水迷路試験を用いて評価した。モーリス水迷路試験は代表的海馬機能である空間学習記憶機能を評価する行動試験としてよく使われており、海馬への影響を調べる上で重要な行動学的評価法である。また、探索行動や不安情動にも海馬が関与していることが知られている。これらの行動評価試験により、これまでに明らかになった細胞レベルの変化が、個体の行動レベルにどの程度反映されるか検討した。

### (3) 研究方法

#### 1) 集合シナプス後電位と集合スパイク電位のペアパルス解析

海馬神経細胞群の興奮性の変化を調べる方法は、1) 刺激強度・反応の関係 (SR 曲線) が変化していないかどうか、2) 興奮系が変化していないかどうか、3) 抑制系が変化していないかどうかの3つである。CA1 領域については、LTP を検討した夏目らが1, 2について報告しているので、ここでは、CA1 領域については抑制系をペアパルス解析によって検討した。歯状回の septo-temporal の抑制系の影響と思われるが、スライスによって SR 曲線のばらつきがみられ、両群間に変化がなかったため、1, 2に関して、集合スパイク電位の閾値刺激、最大集合スパイク電位および最大集合スパイク電位を誘発した電気刺激の大きさでもって比較した。3の抑制系については、最大集合シナプス後電位と集合スパイク電位のペアパルス解析をし、横断実験用に準備された FA (2000ppb) を 12 週間 (12 週間) 曝露した C3H/HeN 雌マウスと対照群 C3H/HeN 雌マウスを用いた。後述する結果には、3年間の総実験解析結果を記載した。

スライス標本の作成方法は、一昨年、昨年と同様におこなったが、今年は、藤巻らのグループで海馬における mRNA の発現量変化を調べるための試料を採取するため、RNAase の混入を防ぐような処置を行って、スライス標本を作成した。ジエチルエーテル麻酔下で断頭した後、両側の海馬を脳より速やかに取り出し、McIlwain tissue chopper で 450 $\mu$ m の厚さで海馬スライスを作成した。スライスは、O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> 混合ガス (95%/5%) で飽和した人工脳脊髄液を灌流したインターフェイス型チャンバーで 1 時間インキュベートした後、実験に用いた。人工脳脊髄液の組成は、124mM NaCl、2mM KCl、1.25 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、2mM CaCl<sub>2</sub>、2mM MgSO<sub>4</sub>、26mM NaHCO<sub>3</sub>、10mM グルコースを使用した。歯状回 (dentate gyrus, DG) 顆粒細胞層に微小ガラス電極を置き、貫通

線維軸索が走行する外側分子層に刺激電極を配置した。最大の集合スパイク電位を誘発する大きさ（すなわち最大刺激）で電気刺激して、FA 曝露群マウスと対照群マウスからえられたスライスの実験条件を合わせた。

平成 12、13 年度同様に、反回（側方）抑制を誘発する方法として、最大の集合スパイク電位を誘発できる刺激の大きさで 2 回連続電気刺激を与えた。とくに今年度は、解析刺激間隔を 5、10、20、50、100、200、500、1000ms と広げた。そして、一回目の電気刺激に対する電位の応答が 2 回目の電気刺激に対する応答にどのくらい影響しているかを調べた。影響の評価は、今まで同様に一般的に広く用いられているペアパルス比を用い、集合スパイク電位 (population spike, PS) のペアパルス比 = PS2/PS1 で行った。今年は細胞体への入力部位についても解析をひろげて、集合シナプス後電位 (field excitatory postsynaptic potential, fEPSP) の slope のペアパルス比 = fEPSP2/fEPSP1 を追加した。PS の振幅と slope の測り方は平成 13 年度報告書の 354 頁図 1 を参照。

## 2) CA1 における LTP

測定には、59 匹のメス（10 週齢）の C3H/HeN マウスを用いた。使用したマウスを 2 群（コントロール群 19 匹、曝露群 40 匹）に分けて、そのうち、曝露群に FA（80、400、2000ppb）を 12 週間曝露した。曝露濃度によるマウス匹数の内訳は、80ppb : 8 匹、400ppb : 16 匹、2000ppb : 16 匹であった。コントロール群は、通常空気下中、飼育した。曝露終了後、両群マウスをジエチルエーテルで麻酔し、断頭した後、海馬を取り出し、スライスチョッパー (McIlwain tissue chopper) 及びマニュアルで 4-500  $\mu$ m の海馬スライスを切り出した。スライスは、海馬体の真ん中 1/3 から切り出した。切り出したスライスを人工脳脊髄液溶液（124mM NaCl, 5mM KCl, 1.25mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 2mM  $\text{MgSO}_4$ , 26mM  $\text{NaHCO}_3$ , 10mM Glucose, 2mM  $\text{CaCl}_2$ ）に浸し、スライスして 1 時間後から測定を開始した。LTP の測定は、CA1 への入力繊維である Schaffer 側枝を両極性のタングステン刺激電極にて刺激して、CA1 のシナプス層 (stratum radiatum) にガラス微小電極（抵抗 1-2 M $\Omega$ ）を指した。テスト刺激は、1/60 Hz で行い、LTP を誘導する刺激には、バースト刺激 (theta burst stimulation; TBS; 100Hz X 5, 5Hz X 5) を使用した。テスト刺激、TBS 共に、集合シナプス後電位 (pEPSP) の最大値の半分の振幅を与える刺激強度に設定した。LTP の増強度は、TBS 前の 5 分間の平均傾きを 1 とした時の、TBS 35 - 40 分後の pEPSP の傾きで示した。測定したスライス数は、コントロール : 30 枚、80ppb : 12 枚、400ppb : 30 枚、2000ppb : 42 枚であった。

また、行動実験に用いた動物より海馬スライスを作成し、上記方法により、LTP の大きさを測定した。行動実験で用いた 12 匹（コントロール群 6 匹、曝露群 6 匹）のマウスから海馬スライス（コントロール群 11 枚、曝露群 14 枚）を作成し、LTP 測定を行った。但し、今回は、過去 2 年間と異なり、スライス毎に、LTP 測定前、異なる刺激強度に対する pEPSP 反応を測定し、刺激強度・反応曲線 (SR 曲線) が S 字状になるスライスに関してのみデータを測定した。以上の操作によって、スライス毎の条件が、過去 2 年間に比べそろい、それらの結果に比べ、よりばらつきが小さくなった。

## 3) 細胞内シグナル伝達

C3H マウス (12 匹) を FA の 2000 ppb に 12 週間曝露した。コントロール群としては清浄空

気を同様に曝露した C3H マウス (12 匹)を用いた。最終曝露後に大脳皮質(頭頂部)、海馬を摘出した。海馬においては CA1, CA3, 歯状回(DG)の各領域に分割して液体窒素で凍結後、-80 °C に保存した。各組織を 0.5 % Triton X-100、プロテアーゼ阻害剤、ホスファターゼ阻害剤を含む可溶性バッファーでホモゲナイズした。Bradford 法で蛋白定量した後、Laemmli 法のサンプルバッファーと混合して、100 °C、3 分間熱処理した。

CaM キナーゼ II の活性化反応には、分子内の Thr-286 の自己リン酸化反応が必要である。私達は Thr-286 の自己リン酸化を特異的に認識する抗体(抗リン酸化 CaM キナーゼ II 抗体)を作成した。一方、MAP キナーゼ (ERK) は上流の酵素 MAP キナーゼキナーゼ (MEK) によって、活性化ループ内の Thr-183 と Tyr-185 がリン酸化され、活性化される。プロテインキナーゼ C (PKC) は分子内の Ser-657 が活性化反応に伴って自己リン酸化される。以上のことから、それぞれの分子内のリン酸化部位を認識する抗体に対する反応性を測定することによって、各々のプロテインキナーゼの活性化状態をモニターすることができる。本研究では、FA 曝露後の海馬、大脳皮質のプロテインキナーゼの活性を測定するために、これらのリン酸化認識抗体を用いて免疫プロットを行った。笛田、夏目らの研究により、シナプス伝達効率が海馬で変化することが明らかにされたことから、神経終末において興奮性伝達物質、グルタミン酸の放出に参与する synapsin I の量、後シナプスにおいてはグルタミン酸受容体のうち AMPA 受容体 (GluR 1)の量を免疫プロットにて測定した。また、CRH の定量は同様に、抗体による免疫プロット法を用いた。

#### 4) 行動試験

##### オープンフィールド試験

中央にオブジェクトを置いたオープンフィールドにマウスを入れ、10 分間の観測期間中の総移動距離、立ち上がり回数、中央部侵入回数、中央部滞在時間を測定した。総移動距離は活動性の指標であり、他の 3 項目は探索行動の指標となる。

##### 高架プラス迷路試験

高架プラス迷路の中央部にマウスを置き、5 分間の観測期間中の総移動距離、オープンアーム侵入回数、オープンアーム滞在時間を測定した。オープンアーム侵入回数および滞在時間が不安レベルの指標であり、これらの値が大きいほど不安が少ないとされている。

##### モーリス水迷路試験

マウスを円形プールの 4 ヶ所からランダムに入れ、プラットホーム(ゴール)に到達するまでの時間を測定した。1 日 4 回の試行を 1 ブロックとして、連続 4 日間訓練を行い、ゴール到達時間の経時変化を調べた。次に probe test として、訓練終了後プラットホームを取り去り、プラットホームの反対側からマウスをプールに入れ、100 秒間行動を観察し、プール内の総移動距離、ゴールエリア侵入回数、ゴールエリア滞在時間を測定した。

#### (4) 研究結果

##### 1) 単一刺激および 2 連続刺激に対する誘発電位の解析

CA1 領域と歯状回で単一誘発電位記録を行ったときの、集合スパイク電位(PS)の subthreshold、PS の最大値 (maximum PS) 最大の PS が得られたときの刺激値(maximum stimulation)の値を表 1 にまとめた。曝露群と対照群ではいずれの値も差はなかった。

CA1 領域と歯状回から記録された集合シナプス後電位と集合スパイク電位のペアパルス比を刺

刺激間隔 5ms ~ 500ms (CA1) または 5ms ~ 1000ms ごとにまとめたプロファイルを図 1 に示す。対照群から得られたプロファイルは、同様の電気刺激で得られたマウスやラットのものと同様であったので、対照群からの変化に注目した。2000ppb 曝露群の CA1 領域では、5、10ms 刺激間隔の集合シナプス後電位についてのみペアパルス比の増加がみられた (Student's t-test)。一方、歯状回では、集合シナプス後電位の比には差がみられなかったが、集合スパイク電位のプロファイルでは、刺激間隔 10ms, 20ms, 50ms でペアパルス比の増加がみられた (Welch's t-test)。

**表 1** 歯状回、CA1 領域で単一電気刺激による誘発電位記録時の subthreshold, maximum stimulation, maximum PS。3 年間のデータをスライスごとの平均 +/-SD でまとめた。N はスライスの数である。いずれのパラメーターも、2000ppbFA 曝露群と 0ppb 対照群では差がなかった。

		0 ppb	2000ppb	
DG	subthreshold ( $\mu$ A)	91 $\pm$ 59		86 $\pm$ 68
	max stim. ( $\mu$ A)	755 $\pm$ 287	n=37	678 $\pm$ 300 n=61
	max PS (mV)	8.7 $\pm$ 3.9		7.7 $\pm$ 4.3
CA1	subthreshold ( $\mu$ A)	36 $\pm$ 26		32 $\pm$ 13
	max stim. ( $\mu$ A)	225 $\pm$ 123	n=11	183 $\pm$ 71 n=18
	max PS (mV)	14.8 $\pm$ 4.1		14.7 $\pm$ 4.7

## 2) CA1 領域における LTP

まず横断実験に用いた FA2000ppb 曝露の結果を示す。その後、その他の濃度のデータを示し、最後に、行動実験に用いたマウスより切り出した海馬スライスにおける LTP の結果について報告する。

2000ppb の FA 曝露したマウス海馬スライスの LTP

pEPSP の傾きの大きさを、曝露群及びコントロール群で比較した所、両者に違いは観察されなかった (図 2 と 3)。

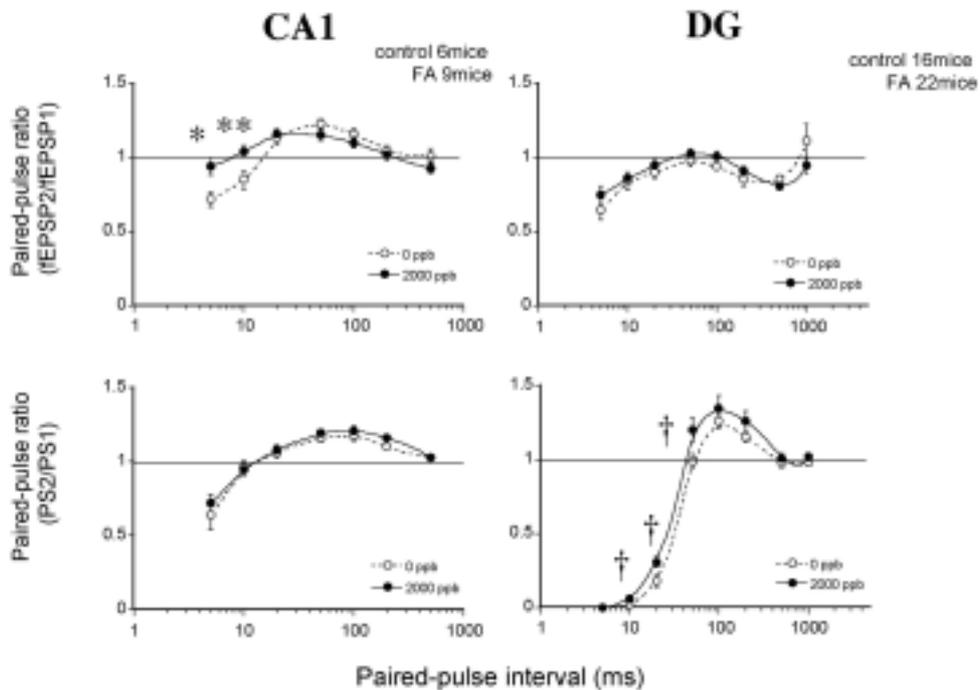


図1 海馬 CA1 領域と歯状回における集合シナプス後電位と集合スパイク電位のペアパルスプロファイル。スライス実験に使用したマウスの数は、2000ppb 曝露群計 22 匹、対照群計 16 匹であった。スライス数は、CA1 からの記録には、曝露群 18 枚、対照群 11 枚、歯状回からの記録には曝露群 61 枚、対照群 37 枚であった。\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , by Student's t-test, † $p < 0.05$  by Welch's t-test。

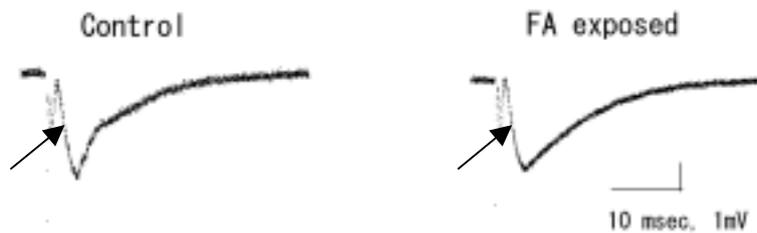


図2 コントロール群、FA 曝露群 (FA exposed; 2000ppb) マウス海馬スライスから測定された LTP。pEPSP の傾き (矢印の先) は、両者で違いは観察出来なかった。

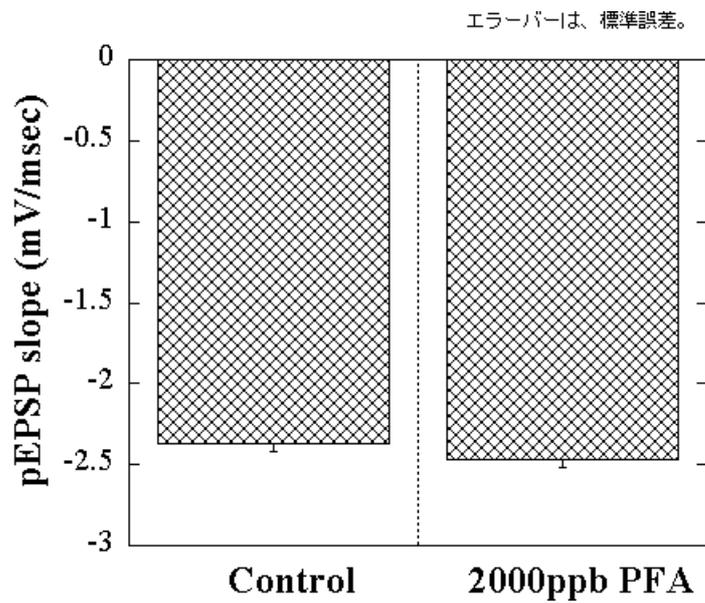


図 3 FA 曝露の pEPSP に対する影響



図 4 コントロール群、FA 曝露群マウス海馬スライスから測定された LTP。大きくなっている信号が、TBS 後の pEPSP の波形である。スケールバーは、10 ミリ秒、1 mV。

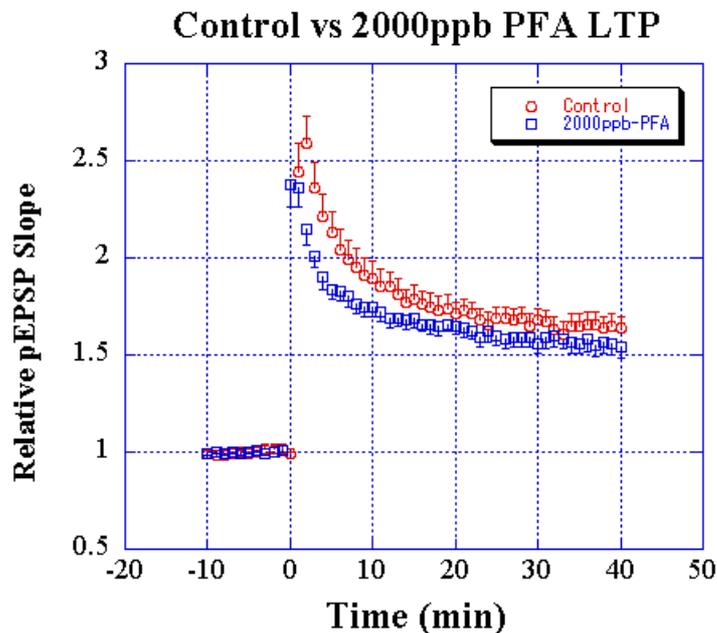


図5 コントロール群と曝露群マウス海馬スライスにおける LTP の経時変化 . 0 分で TBS 刺激を行った。TBS 前 10 分間の平均 pEPSP 傾きを 1 とした時の pEPSP 傾きを、縦軸にプロットしている。バーは、標準誤差である。

そこで、TBS によって誘導される LTP を測定すると、図 5 に示すような結果になった。コントロール群、曝露群共に TBS によって LTP が形成された。TBS 直後の TBS 後増強に差が見られた他に、誘導された LTP の大きさに差が見られた。曝露群の方の LTP は、有意に抑制されていた(図 6)。この結果は、平成 13 年度報告書で報告した結果と同様の結果であった。但し、コントロール群、曝露群の差は以前のデータに比較して、小さかった。これは、本年度より、LTP 測定前、スライス毎に SR 曲線を測定し、LTP 測定する海馬スライスの条件をそろえたためと考えられる。SR 曲線の違いは、測定場所近辺の神経回路の違いを反映しているためと考えられるので、図 5, 6 に図示したデータは、昨年度までの 2 年間のデータより、より同一条件スライスでの LTP データと考えられる。本年度のデータにおいても、過去 2 年間同様、FA 曝露による LTP 抑制が測定出来たので、本年度得られた曝露群による LTP 抑制の効果は、小さいながらも、確実なものであると考えられる。

図 7, 8 に、今年度得られたデータを掲載した。

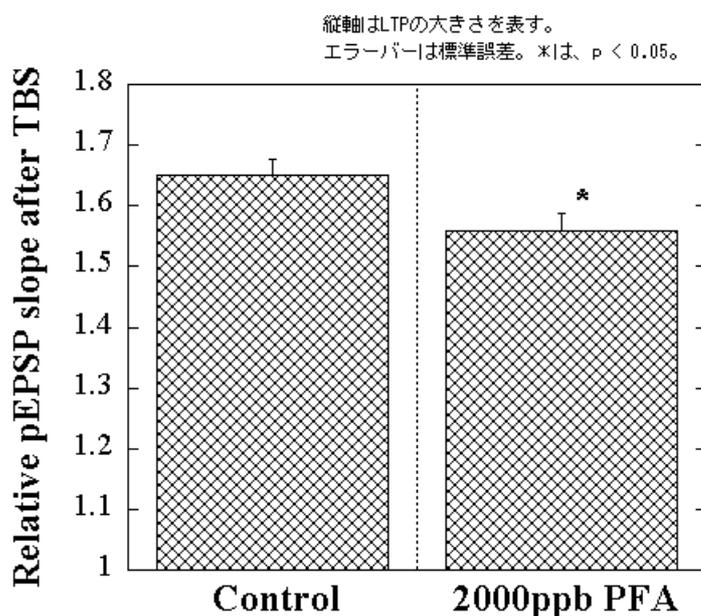


図 6 FA 曝露による LTP に対する影響 . 検定方法は、t-test (対応なし) である。縦軸は、TBS 前 10 分間の平均 pEPSP 傾きを 1 とした時の pEPSP の傾きである。

#### FA 曝露の LTP に対する濃度依存性

LTP の FA 濃度依存性を測定する実験を行った。この実験は、過去の報告では、例数が少なかったので行った。FA を 80, 400, 2000ppb 曝露した時の LTP の結果を図 7 に示す。過去の報告同様、FA80ppb 以上で LTP が抑制された。さらに、図 7 を見ると、FA 曝露が、TBS による刺激直後増強 (PTP) 及び短期増強 (STP ; 正確な定義は無いが、TBS 後、数 10 分の増強) にも影響があるかもしれない。LTP の大きさについては、図 8 に示した。80ppb 以上で、LTP が有意に抑制されていた。

#### くしゃみ回数と LTP 抑制の関係

昨年度報告があったように、FA 濃度に依存してくしゃみの回数が増加した。そこで、同一個体からくしゃみ回数と LTP を測定し、それらの間の相関関係を調べた。曝露群マウスのくしゃみ回数と LTP の大きさを図 9 に示した。顕著な相関関係は観察できなかった。

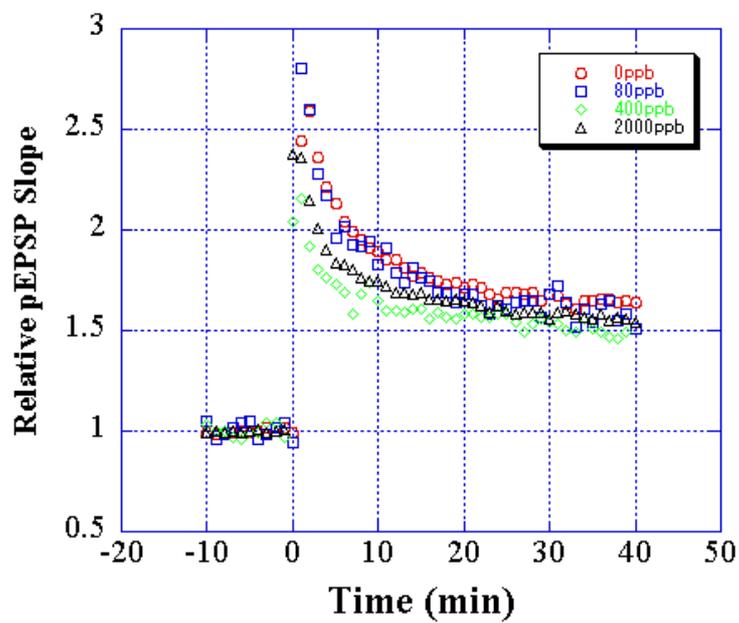


図 7 0, 80, 400, 2000ppb の FA の LTP に対する効果。見やすいように、図には平均値のみをプロットした。

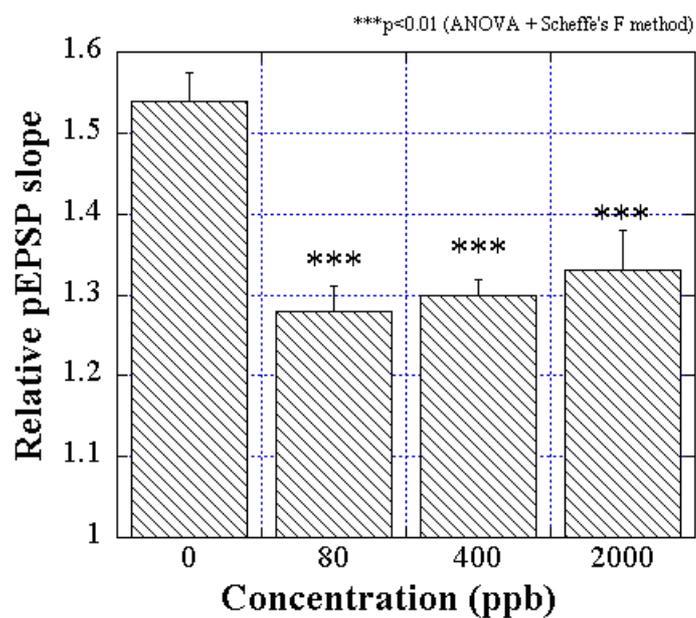


図 8 FA の様々な濃度の LTP に対する効果。バーは、標準誤差である。



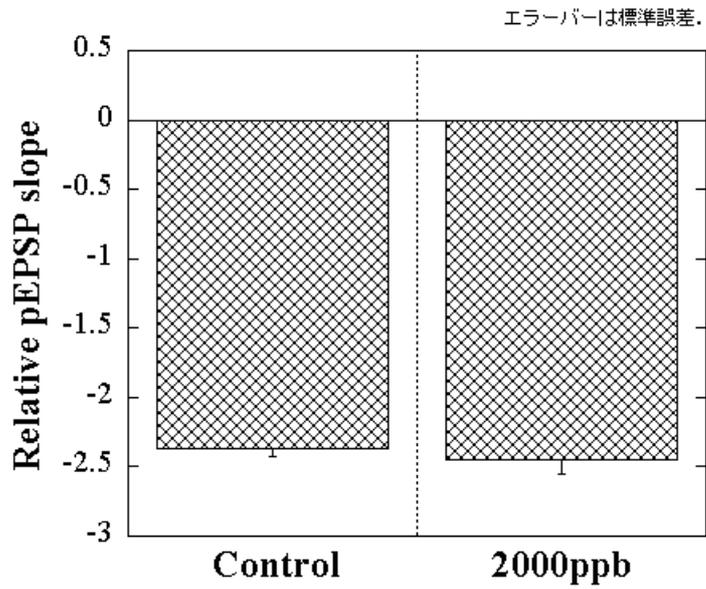


図 10 行動実験で使用したマウス海馬スライスにおける、曝露群、コントロール群の pEPSP。

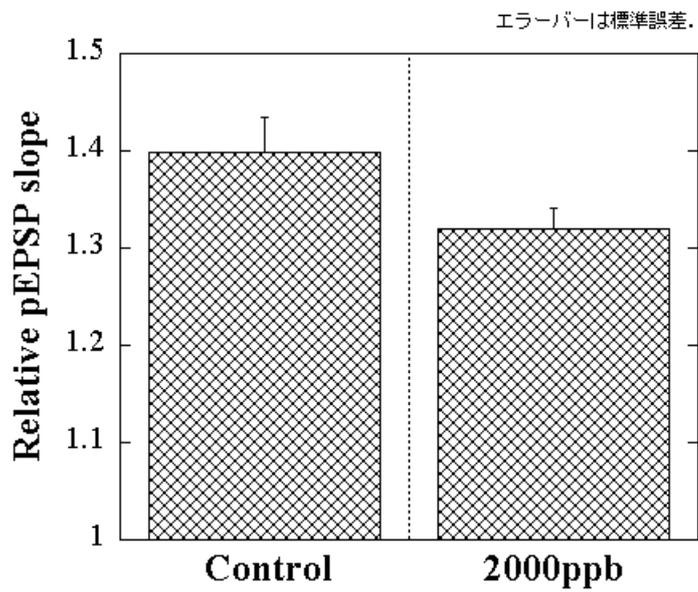


図 11 行動実験で使用したマウス海馬スライスにおける LTP。

### 3) 細胞内シグナル伝達

CaM キナーゼ II は分子量約 5~6 万の  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  分子が 10~12 分子会合するオリゴマーとして存在する。海馬、大脳皮質では主に  $\alpha$  と  $\beta$  が発現していることから、CaM キナーゼ II の活性型  $\alpha$  と  $\beta$  の量を測定した。2000 ppb 曝露によって海馬の CA1 領域のみにおいて  $\alpha$  型と  $\beta$  型 CaM キナーゼ II の活性が有意に上昇した (図 12)。同様に、活性型のキナーゼを認識する特異抗体を用いて、PKC と MAP キナーゼ (MAPK) の活性を測定した。いずれの部位においても PKC の活性には変化が見られなかった。一方、MAP キナーゼにおいては 大脳皮質のみで有意な活性の上昇が見られた。

次に、synapsin I とグルタミン酸受容体の GluR1 の定量を行った。海馬 CA1 と DG 領域において synapsin I が有意に上昇した。しかし、大脳皮質では逆に有意に減少した (図 13)。GluR1 はいずれの部位においても変化は見られなかった。

CRH は GABA 神経系に作用して、神経細胞の興奮性を調節している。マウス視床下部室傍核での CRH 陽性ニューロンの増加は海馬、大脳皮質での CRH 量に影響するのか検討した (図 14)。大脳皮質での CRH 量が有意に上昇した。海馬では変化は見られなかった。

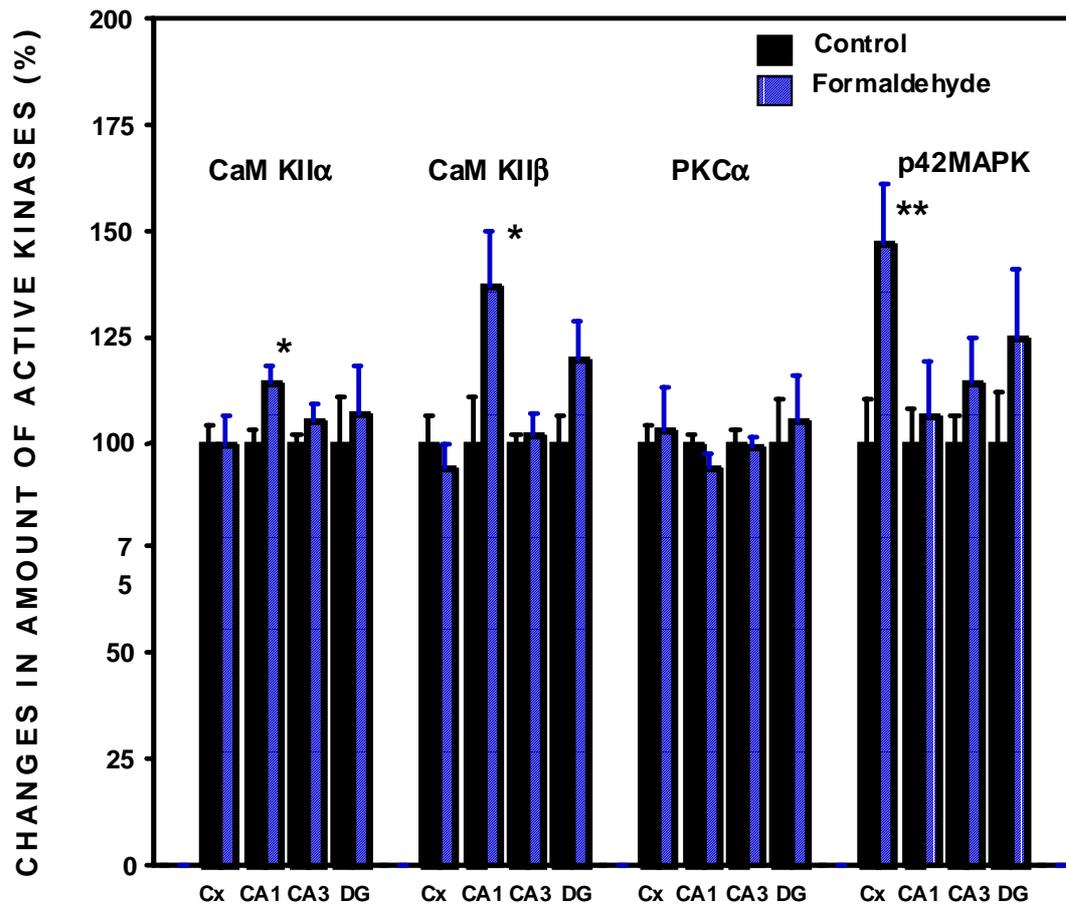


図 12 ホルムアルデヒド暴露に伴う活性型プロテインキナーゼの変化

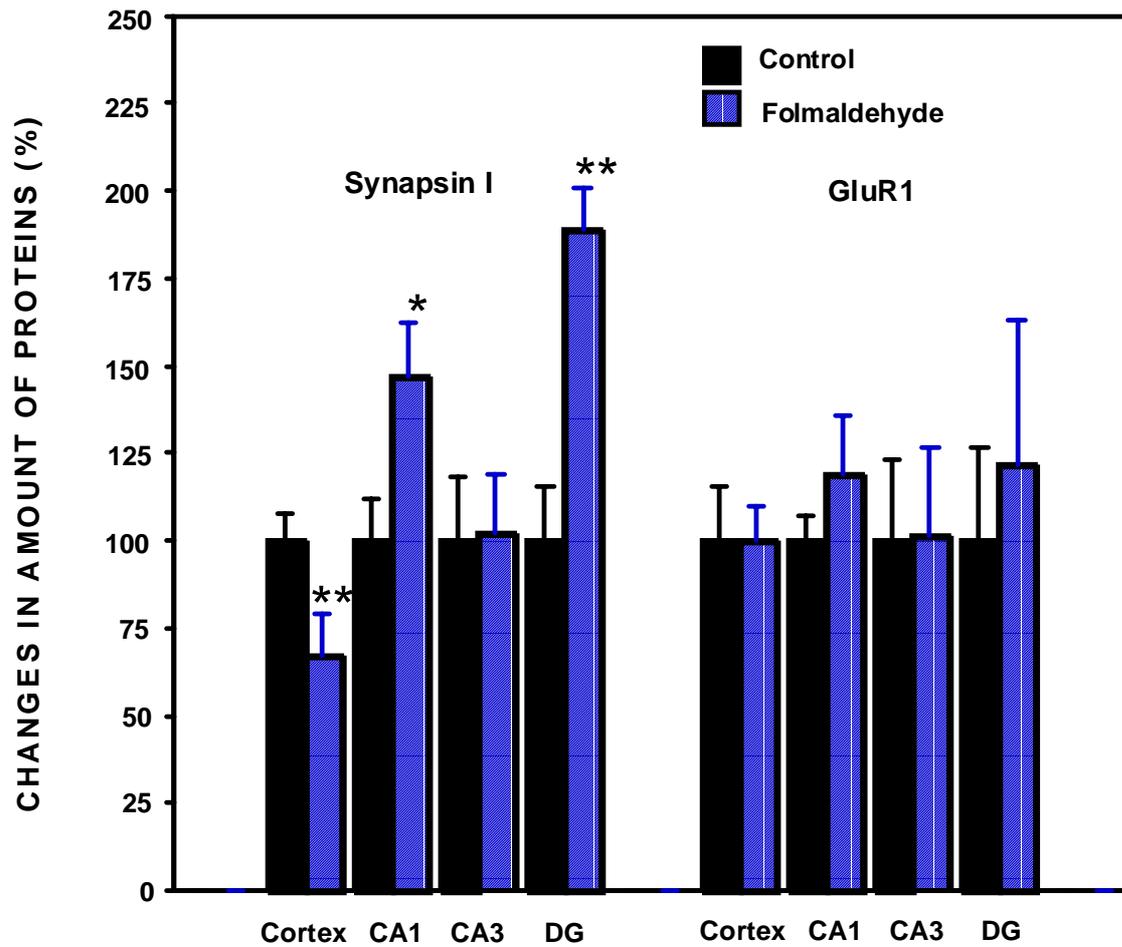


図 13 ホルムアルデヒド暴露に伴う synapsin I と GluR1 の変化

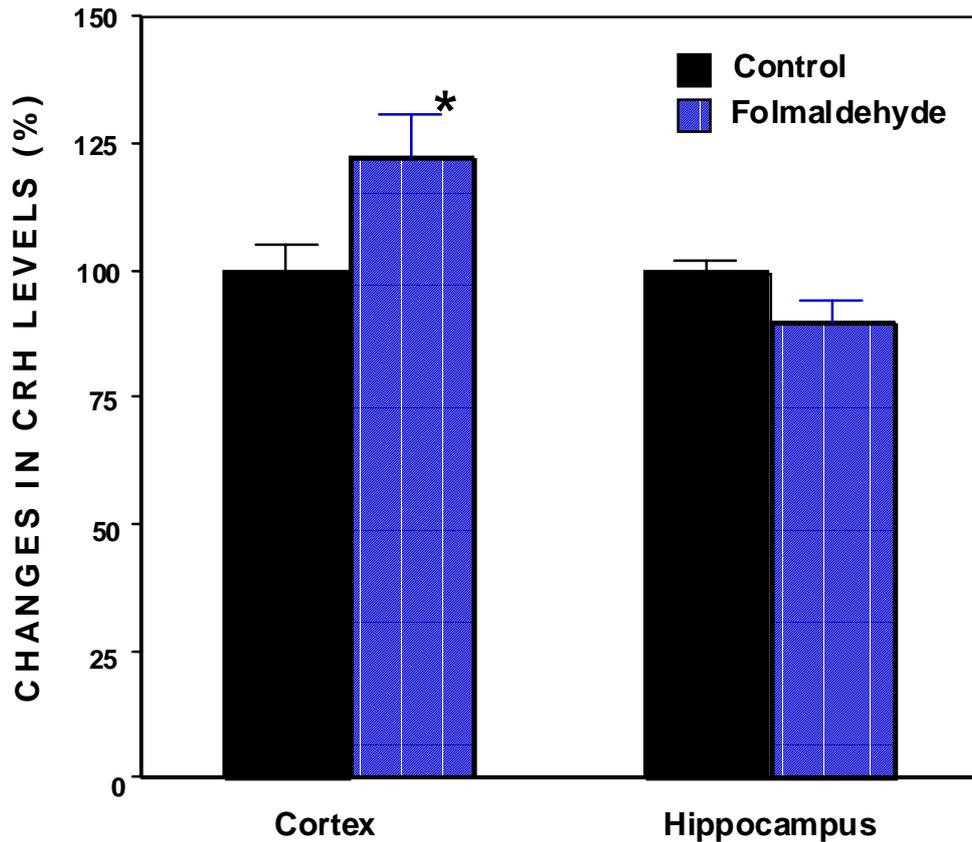


図 14 ホルムアルデヒド暴露による CRH の変化

#### 4) 行動試験

##### オープンフィールド試験

FA 曝露群は立ち上がり回数が対照群に比べ有意に多かった (図 15)。総移動距離も曝露群の方が高値を示したが、両群に有意の差は認められず、また中央部侵入回数、中央部滞在時間にも同様に有意の差はなかった。

##### 高架プラス迷路試験

高架プラス迷路試験における総移動距離、オープンアーム侵入回数、オープンアーム滞在時間を調べると、どの指標も曝露群と対照群の間に有意な差は認められなかった (図 16)。不安レベルの指標となるオープンアーム滞在時間は見かけ上、対照群の方が長い、これは対照群の 1 匹が対照群の全体の平均値を引き上げるほどの高値を示したためであった。

##### モーリス水迷路試験

4 日間の訓練中、対照群のゴール到達時間はほとんど変化を示さなかった (図 17)。一方、FA 曝露群は 3 日目までゴール到達時間が短縮する傾向にあり、3 日目における平均ゴール到達時間は対照群に比べ有意に短縮していた。しかし 4 日目にはゴール到達時間の短縮は認められなかった。

訓練終了後の probe test ではゴール到達までの総移動距離、ゴールエリア侵入回数、ゴールエリア滞在時間に両群で有意差は認められなかった (図 18)。

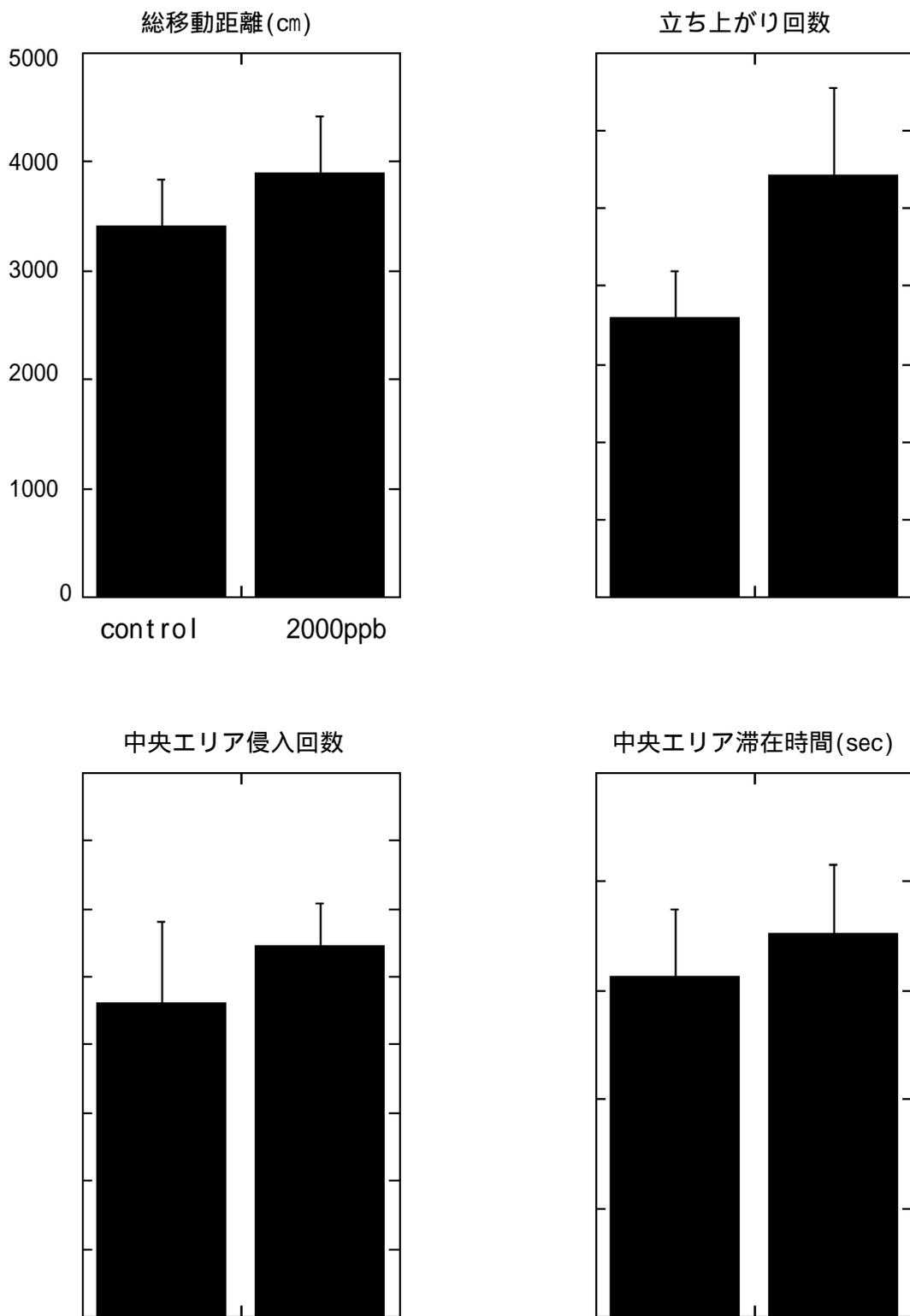
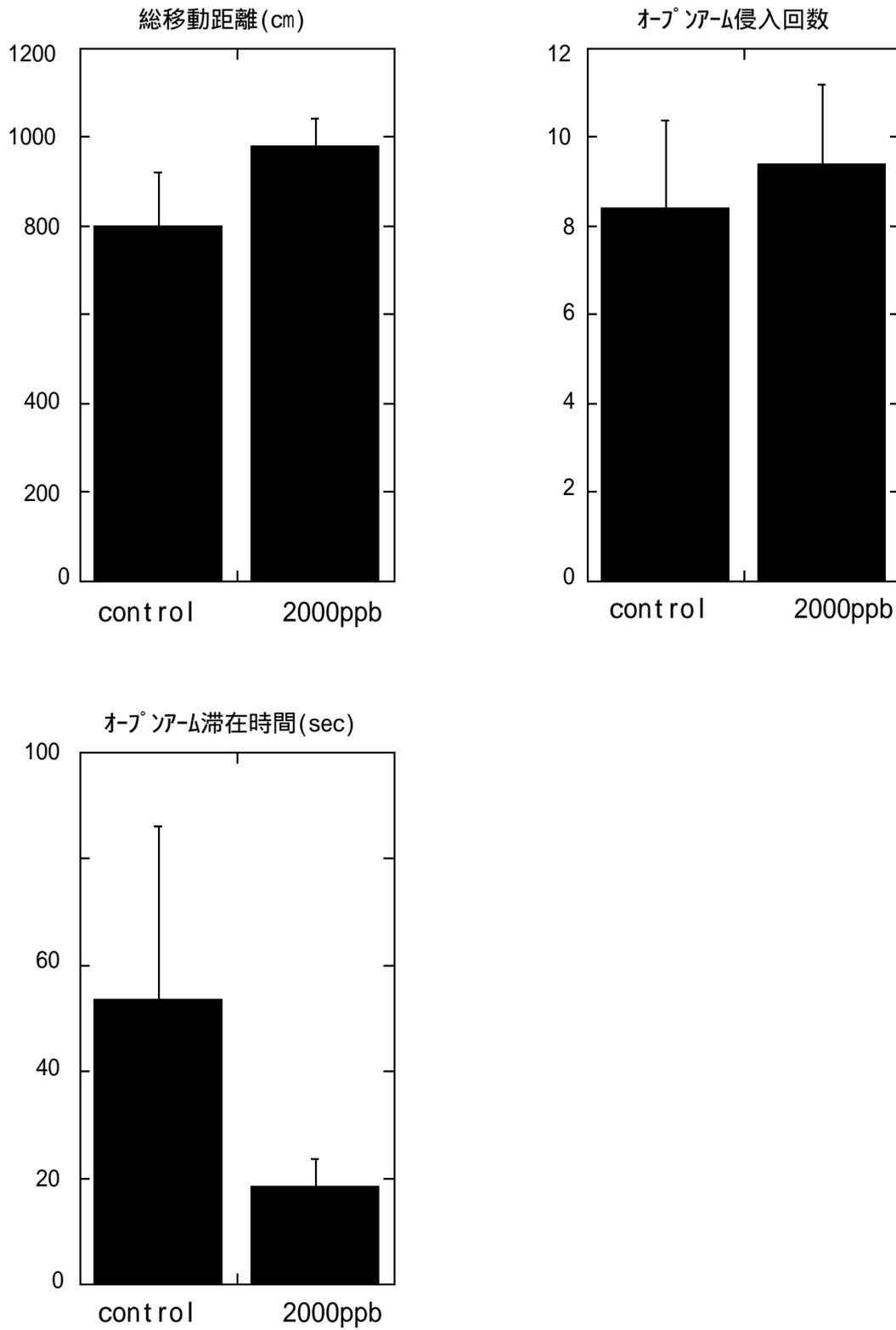


図 15 オープンフィールド試験  
 control 群(n=9) vs 2000ppb 曝露群(n=10) 平均値 ± SE



**図 16 高架プラス迷路試験**

control群(n=7) vs 2000ppb曝露群(n=10) 平均値 ± SE

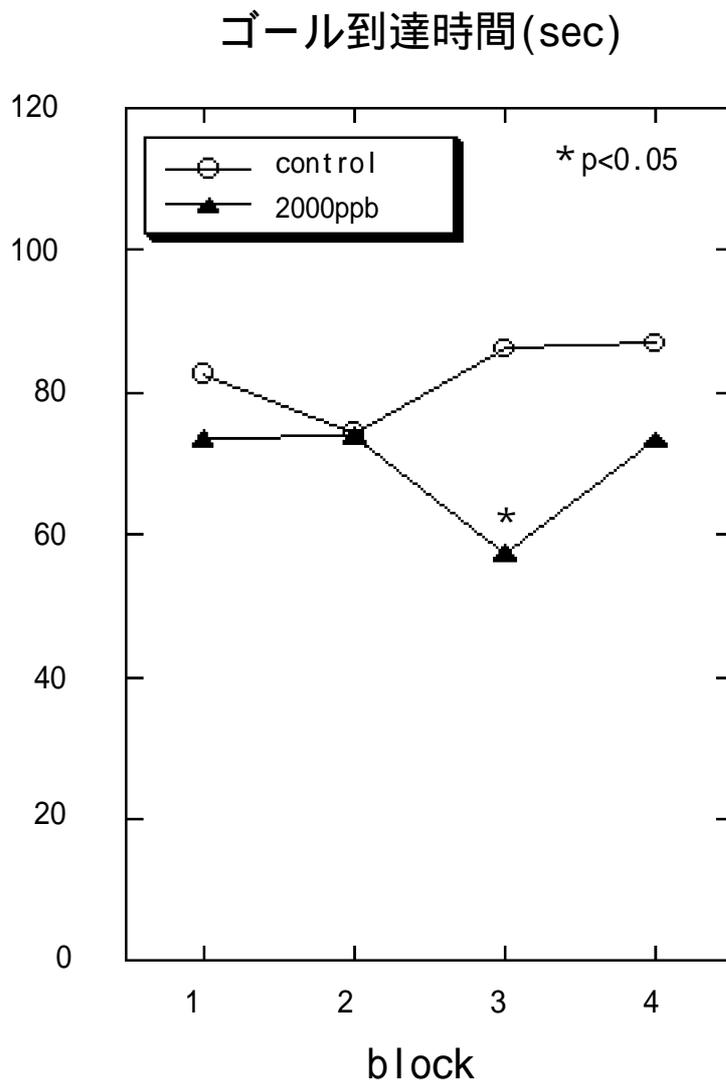


図 17 モーリス水迷路試験-学習曲線

control群(n=9) vs 2000ppb曝露群(n=10)

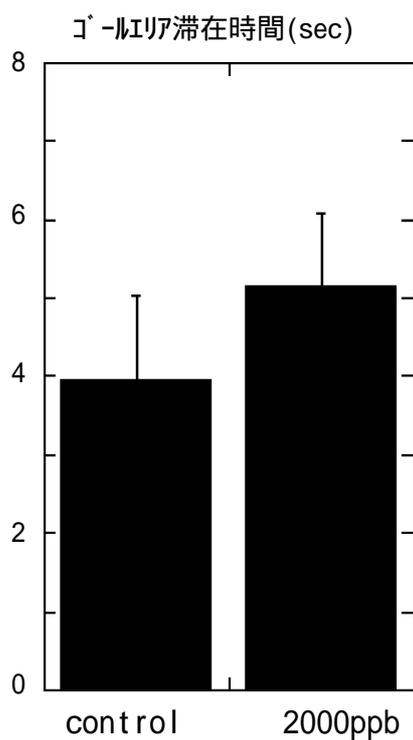
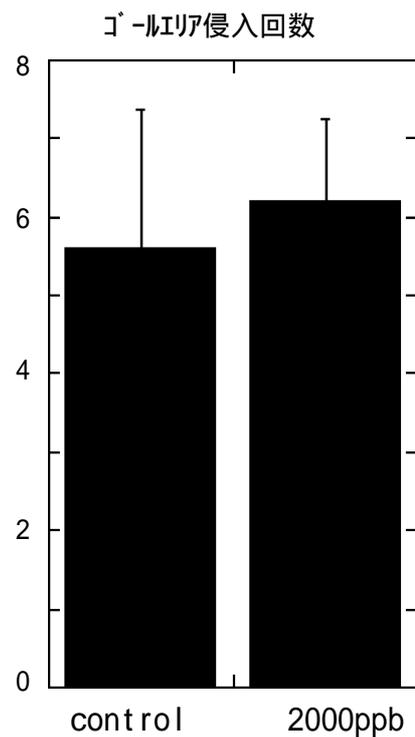
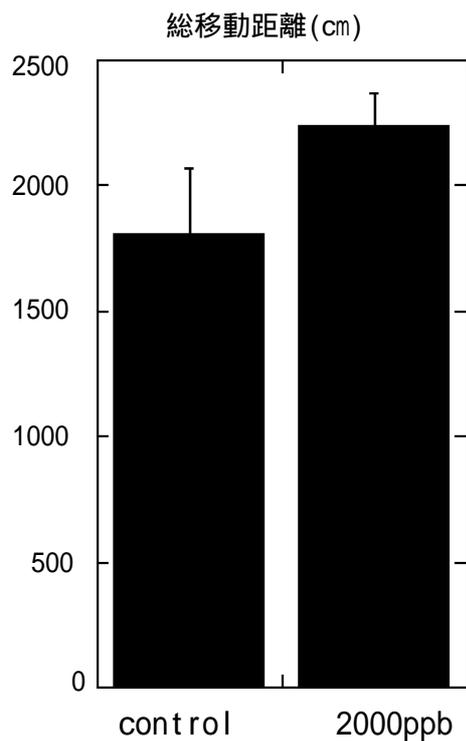


図 18 モーリス水迷路試験-probe test

control群(n=9) vs 2000ppb曝露群(n=10) 平均値 ± SE

## (5) 考察

### 1) CA1 と歯状回のペアパルス比増加について

Subthreshold 値、最大集合スパイク電位の大きさ、最大刺激値などについては、2000ppb と 0ppb 群とで 2 領域ともに差が認められなかった(表 1)。錐体細胞や顆粒細胞の興奮閾値、活動電位の同期性などへの曝露の顕著な影響はないと思われる。海馬 CA1 領域と歯状回における集合スパイク電位と集合シナプス後電位のペアパルス解析を行った。その結果、図 1 に示したように、CA1 領域では集合シナプス後電位について、歯状回では集合スパイク電位について、短い刺激間隔でペアパルス比が増加した。

CA1 における集合シナプス後電位のペアパルス比の増加の解釈については、1) CA3 錐体細胞からの興奮性シナプス終末の伝達物質放出確率の増加と、2) feed-forward 抑制の減弱が考えられる。シナプス終末では、グルタミン酸などの伝達物質は vesicle 単位で  $Ca^{2+}$  依存性にシナプス間隙に放出される。その vesicle が細胞骨格から自由になれるかどうかにかかわる蛋白群が、synapsin family、cAMP 依存性のキナーゼおよび CaMKII キナーゼと考えられている。終末の脱分極によって  $Ca^{2+}$  濃度が上昇すると、CaMKII キナーゼは活性化されて、基質である synapsin I が燐酸化されると考えられる。その結果 vesicle は細胞骨格から free となり、active zone へと移動が可能になり、シナプス間隙へと放出される。福永が報告した synapsin I の蛋白量の増加と CaMKII の増加は、2 回目の電気刺激後このプロセスの効率をあげるのに関わっているのではないかと推測される。fEPSP の slope には差がないという夏目らの結果と、AMPA 型グルタミン酸受容体である GluRI の蛋白量に変化がないという福永らの結果は、この解釈と矛盾しないと考えられる。しかし、synapsinI のノックアウトマウスを用いた実験では、ノックアウトマウスの興奮性シナプス電流のペア比が変化する刺激間隔がもっと大きな区間であるので、我々の結果は、グルタミン酸放出の増加によるものと考えられるよりも、feed-forward 抑制の減弱と考えるべきかも知れない。この確認のためには、集合スパイク電位を誘導しない閾値刺激値でのペアパルスプロファイルを比較する実験が必要であろう。

歯状回では集合シナプス後電位のペアパルス比は変化しない(図 1)。よって、CA1 とは別のメカニズムすなわち、feedback 抑制の減弱が、集合スパイク電位のペアパルス比の増加の原因メカニズムではないかと考えられた。このような例は、てんかんモデルマウスやフロン代替化合物 1-プロモプロパン吸入曝露ラットで報告をしたからである。初年度の研究報告で、九州大学の福田は、抑制性介在神経細胞 (GABA ニューロン) の分布を GABA の合成酵素であるグルタミン酸脱炭酸酵素 (GAD) と GABA 作動性神経細胞のサブグループをマーカー分子 (parvalbumin、calretinin、nitric oxide synthase) に対する抗体を用いてそれぞれ免疫染色を行ったが、曝露による GABA ニューロンへの影響はみとめられなかった。顆粒細胞や介在神経細胞の形態的な変化がほとんどないとするれば、シナプスの伝達効率への影響は、形態変化には至らない機能蛋白分子の機能の変化と考えられる。このように、GABA シナプスの関連機能分子の機能変化と考えて抑制性シナプス電位/電流のキネティクスの変化と考えるならば、GABA 作動性介在神経細胞の終末に存在すると考えられている B 型の GABA autoreceptor の機能亢進が報告されているので、GABA B 受容体の拮抗薬や GABA トランスポート阻害剤への脱抑制の感受性を検討する必要があるだろう。

福永らによれば、歯状回で synapsinI が顕著に増加した。SynapsinI 増加の機構として、興奮性シナプスの発芽によるものか、興奮性シナプス部位の軸策末端におけるグルタミン酸の細胞

骨格アンカーによるものかは現在のところ不明であり、下記の脳内シグナル伝達の変化の考察で述べているような詳細な実験が必要となろう。

## 2) LTP の抑制効果について

昨年度、2000ppb の FA 曝露における結果同様、今年度も、2000ppb の曝露によって、海馬スライス CA1 領野における LTP が抑制された（図 6）。曝露は、海馬 CA1 領野における pEPSP には影響しなかった（図 3）ので、興奮性の神経伝達には影響が無いと考えられる。一方、LTP は抑制されたので、曝露は、LTP 誘導プロセスに影響があると考えられる。TBS によって、CA1 錐体細胞であるシナプス後細胞が脱分極すると、NMDA レセプター/チャネルが開き、錐体細胞内に Ca<sup>2+</sup> が流入する。その後、Ca<sup>2+</sup>依存性の細胞内蛋白キナーゼが活性化し、LTP が誘導される。このうちのどこかの機構に曝露が影響すると考えられる。また、この LTP は、抑制性神経、神経成長因子などの影響を受ける。

本報告書にもあるように、産業医科大学笛田らによると、曝露により、海馬スライスにおける抑制性神経の抑制、つまり脱抑制が誘導されている。脱抑制によって、CA1 LTP は増強すると考えられる。しかし、過去 3 年間に得られたデータによると、曝露によって、LTP はむしろ逆に抑制された。この事は、LTP 抑制の原因には、脱抑制が関与していない事を示唆している。また、国立環境研の藤巻らは、FA 曝露により脳内神経成長因子(NGF)が増加することを明らかにした。最近の知見によれば、NGF の一種である脳由来神経成長因子(BDNF)により、LTP は増強されるが、環境研の藤巻らは、BDNF は、曝露により増加しないことも報告している。従って、観察された LTP 抑制現象には、海馬内における抑制性神経や BDNF、NGF は関与せず、それら以外の因子の影響によるものと推察される。私たちは、本報告書にも記載がある細胞内蛋白キナーゼの関与を考えている。昨年 Bejar らの報告によると、遺伝子工学的に、細胞内の CaMKII 活性を上げた場合、海馬スライス CA1 領域における LTP は抑制された。本報告書の福永らの結果によれば、曝露によって、CaMKII $\alpha$ 、CaMKII $\beta$  共に活性型が増加しているため、CaMKII の活性型が増加した結果、LTP が抑制されているのかもしれない。

さらに、LTP に対する FA 濃度を変化依存性を調べた実験結果によると、80ppb 以上の FA 濃度で、LTP の抑制が生じた。さらに、図 5 の結果より、曝露の影響は、TBS 後 30 分以降の LTP のみでなく、TBS 後、すぐに観察できる PTP、STP にも影響しているように見える。LTP、PTP、STP 等には、CA1 錐体細胞上の NMDA レセプターが関与していると考えられているので、曝露の影響は、シナプス後細胞にある NMDA レセプター周辺に影響があるものと思われる。

行動実験に用いたマウスの海馬スライスにおいても、曝露群からのスライスでは、神経伝達には有意差は無かった（図 10）が、LTP が抑制される傾向にあった（図 11）。

以上まとめると、FA 曝露により、海馬 CA1 領域における LTP は、80ppb 以上の濃度で、抑制されることが明らかになった。この作用点の一つは、おそらく、LTP 誘導機構に關与する CA1 錐体細胞膜上にある受容体(NMDA レセプター)等の変化であると考えられる。今後は、LTP 抑制現象の詳細機構を明らかにするために、ホールセル記録実験法によって、曝露群と対照群における受容体やイオンチャネルなどを流れる電流を比べて行きたいと考えている。

## 3) 脳内シグナル伝達の変化について

2000 ppb の FA 曝露によって、特に、海馬においては CaM キナーゼ II が大脳皮質において

は MAP キナーゼが影響を受けることが明らかとなった。これまでの報告から海馬 CA1 領域ではシナプス伝達長期増強(LTP) の抑制が FA 曝露で起こることが知られている。海馬において CaM キナーゼ II は LTP の発現に必須の役割を果たしているが、恒常的な CaM キナーゼ II の活性化反応は LTP の発現に対して、むしろ抑制的に働くという報告もある。今回の CaM キナーゼ II の CA1 領域での活性上昇に関してはさらに、そのターゲットである GluR1 や synapsin I のリン酸化反応の詳細な解析が必要である。また、CaM キナーゼ II の恒常的活性化反応は GABA 合成酵素 (GAD65)の発現を誘導することによって LTP を障害するという報告もあるので GAD65 の発現についても詳細に検討する。同様に、MAP キナーゼの脳皮質での活性上昇についても、その基質である CREB のリン酸化反応と CREB によって活性化される c-Fos の誘導を調べる必要がある。c-Fos は種々ストレスで誘導される蛋白質であり、FA が脳のどの部位でストレスを与えているかを知ることができる。

さらに、今回最も、顕著な変化が見られた synapsin I は興奮性伝達物質を含む神経終末の数を反映している。歯状回でみられる脱抑制による興奮性増大との関連が示唆される。GAD65 と synapsin I の二重染色によって GABA 神経終末での synapsin I の発現量を解析する。synapsin I は CaM キナーゼ II と MAP キナーゼで異なる部位がリン酸化される。その結果、CaM キナーゼ II は神経伝達の放出機構に、MAP キナーゼは発芽やシナプス形成に関わっている。synapsin I の発現部位とリン酸化部位を同定することによって FA の作用部位を今後、明らかにする。また、CRH に関しては脳皮質全体ではなく視床下部室傍核からの投射部位での詳細な免疫組織学的解析が必要である。

#### 4) 行動試験について

今回の実験で用いた行動試験はすべて海馬機能に少なくとも一部は依存していることが明らかとなっている。しかしながら、行動レベルで海馬機能の障害を明確に示す結果は得られなかった。オープンフィールド試験では、すべての項目で、曝露群が高値を示したが、有意差が認められたのは立ち上がり回数だけであった。FA 曝露で探索行動が促進される可能性が示唆された。この傾向はこれまでの研究でも観察されており、今回の結果もそれを支持するものである。ただし、曝露群 10 匹のうち、2 匹のマウスはオープンフィールド上でほとんど動かず、残りのマウスと異なる行動様式を示した。これらの 2 匹のマウスは調べた 4 項目全てが他のマウスと比べ極端に低値を示した。ヒトにおいても化学感受性に個体差が認められるが、曝露効果の個体差については今後の研究課題である。

オープンフィールド試験で活動抑制を示した 2 匹は高架プラス迷路試験でも総移動距離およびオープンアーム滞在時間ともに低値を示した。曝露群全体の平均総移動距離値は対照群より高値を示したが有意差は無かった。オープンアーム滞在時間、オープンアーム進入回数ともに差がないので、不安情動については FA は影響を及ぼしていないことが示唆された。

モーリス水迷路試験では FA 曝露群の方が 3 日目のゴール到達時間が短縮していたことは、対照群より空間学習がよい可能性を示している。しかし、今回の実験では対照群に十分な学習効果が得られていない。曝露室で飼育し、測定のために行動実験室に輸送したため、移動および行動実験がストレスとして作用している可能性がある。また、曝露群は活動性が高いため、見かけ上訓練時のゴール到達時間が短縮し、ゴールエリア侵入回数や滞在時間が増加する可能性がある。モーリス水迷路試験は空間学習能の評価法としてよく使われるが、その過程には様々な要素が存

在する。FA 曝露が記憶学習能に影響を及ぼしているかどうか判断するのは、対照群で十分学習効果が認められる条件で検討する必要があると思われる。

#### ( 6 ) 結論

低濃度 FA 経気道曝露による海馬情報処理への影響を検討した。平成 13、14 年で、FA 曝露によって、反回抑制の減弱による興奮性の増加、LTP の抑制によるシナプス可塑性の変化を確認した。LTP の抑制は 80ppb から観察された。さらに、LTP が抑制される機構を解明するために、細胞シグナル伝達の変化を検討した。海馬では特に CaMKII 系が変化しており、MAPK 系に変化がなかったことは、活性化される酵素系特異的な反応を示すことが示唆される。LTP が抑制される機構に関しては、LTP に関連すると考えられる因子をひとつずつ検討していく必要があった。今回の成果として、1) AMPA 受容体蛋白量が変化していないこと、2) BDNF などの因子が変化していないこと (国立環境研究所の藤巻ら報告) 3) 抑制系の減弱は通常 LTP を増加するので FA 曝露では脱抑制との関連は低い、そして、4) 曝露群では CaMKII 活性化型増加が背景としてあるので逆に LTP が抑制された可能性がある、等々が明らかになってきた。今後さらに検討をくわえることとして、1) NMDA 受容体を基質とする細胞内酵素系の検討、2) リン酸化部位の詳細な検討、3) GABA 抑制系との関連として、GAD などの共染色を検討するなどがあげられる。行動については、活動性および探索行動が増加したが、不安行動は明らかな影響は受けなかった。FA 曝露の空間学習に及ぼす影響は活動性の変化を排除した評価法を用いて検討する必要がある。

低濃度 (80-2000ppb) の FA 曝露の海馬への影響については、文献で調べる限りでは、今回の研究成果が新知見と考える。3年間の研究成果として、低濃度 FA 長期曝露はマウス海馬の興奮性やシナプス可塑性に影響を与えることがわかったが、LTP の抑制機構解明には、上に述べたようにさらに実験を積み重ねていく必要があると思われた。

#### ( 7 ) Abstract

Electrophysiological, neurochemical and behavioral analysis on disturbance of neuronal information processing in mice chronically exposed to a low concentration of formaldehyde

Yukiko FUETA<sup>1</sup>, Kiyohisa NATSUME<sup>2</sup>, Kohji FUKUNAGA<sup>3</sup>, Shuji AOU<sup>2</sup>

(The authors were in equal contribution.)

<sup>1</sup>Department of Medical Technology I, School of Health Sciences, University of Occupational and Environmental Health

<sup>2</sup> Graduate School of Life Science and Systems Engineering, Kyushu Institute of Technology

<sup>3</sup>Department of Pharmacology, Tohoku University, Graduate School of Pharmacology Sciences

To investigate effects of long-term inhalation (12w) of a low concentration of formaldehyde (FA) on neuronal information processing in the hippocampal formation, we analyzed paired-pulse responses of population spike (PS) and field excitatory postsynaptic potential (fEPSP), and long-term potentiation (LTP) using slices, and then combined the

electrophysiological results with neurochemical study of intracellular signaling. LTP induced by a  $\gamma$ -burst stimulation applied to Schaffer collaterals in the CA1 was significantly suppressed in the mice exposed to 80, 400 and 2000 ppb FA. In mice exposed to 2000ppb FA, granule cell disinhibition in the dentate gyrus and a decrease in paired-pulse inhibition of fEPSPS in the CA1 were confirmed. The electrophysiological results suggest that inhibitory system and memory processing can be impaired in the mice exposed to FA. Since the suppression of LTP induction was observed following exposure to FA, we next investigated amount of the active forms of  $Ca^{2+}$ /calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII), protein kinase C (PKC) and mitogen-activated protein kinase (MAPK) which are involved in the hippocampal LTP induction. We also assessed amount of the synaptic components such as synapsin I and an AMPA type glutamate receptor (GluR1 subunit). The amount of active CaMKII and CaMKII significantly increased in the CA1 without changes in the active PKC. Significant increases in amount of synapsin I in the CA1 region and the DG were also evident in the FA-exposed mice. An open field test disclosed an increase in searching behavior, rearing, while there was no change in the fear behavior of the FA-exposed mice in the elevated maze test. The abnormalities in the expression of the signaling molecules and synaptic components may be associated with the suppression of LTP induction and disturbance of the neural functions by exposure to FA.

## 5 . 低濃度長期ホルムアルデヒド曝露の免疫系への影響についての検討

研究者：藤巻秀和（独立行政法人国立環境研究所）

研究協力者：黒河佳香（独立行政法人国立環境研究所）

掛山正心（独立行政法人国立環境研究所）

櫻田尚樹（産業医科大学）

### （１）研究要旨

昨年度、抗原を吸入感作したマウスの脳において、炎症性のサイトカインレベルでは顕著な差はみられなかったが、神経成長因子であるNGFにおいては低濃度ホルムアルデヒド曝露による顕著な増加が認められた。今年度は、抗原の吸入感作によるアレルギー性炎症モデルを作成して低濃度ホルムアルデヒド曝露のNGF産生に関連する機能への影響について検討した。その結果、海馬におけるNGF mRNAの発現の増強は低濃度において顕著であり、蛋白レベルの結果と合致した。免疫組織化学的検索でも、海馬においてNGF陽性反応の顕著な増強が確認できた。血漿中と肺胞洗浄液中のNGFにおいては、脳内とは逆に、ホルムアルデヒド曝露による有意な低下が認められた。

次に、免疫したマウスへの曝露により脳の情報伝達が恒常的に変化した場合、神経伝達物質受容体の遺伝子発現量に変化があらわれるという仮説をたて、海馬及び扁桃体のNMDA型グルタミン酸受容体(1, 2 mRNA)、ドーパミン受容体(D1, D2 mRNA)のmRNA発現量を半定量的PCR法により測定した。海馬において、ホルムアルデヒド曝露(400 ppb)により1増加と2低下が認められ、またD1, D2の増加傾向もみられた。扁桃体では、1, 2, D1の増加が認められた。海馬において1, 2の構成が変化したことは、記憶形成機構に変化が生じた可能性を示唆しており、また扁桃体における1, 2, D1の増加は、情動機能の変化の可能性を示唆している。

### （２）研究目的

MCSの発症と極低濃度化学物質曝露との関連について検索するためには、アレルギー反応とは異なる過敏状態の誘導の有無について調べることは重要である。そこで、低濃度ホルムアルデヒド曝露の免疫系への影響と抗原感作により誘導される即時型、あるいは遅発型のアレルギー反応との差異や関連について明らかにすることを目的とした。MCS患者の中にはアレルギー疾患の既往歴のある人が60%近く含まれるという報告もみられているので、MCSの発症と免疫系との何らかの関連性が推測される。これまでは低濃度ホルムアルデヒド曝露によるsensitizationとアレルギー性炎症との関連について明らかにするために、ホルムアルデヒド曝露と抗原のエアロゾル投与とを行い、脳内、呼吸器、脾臓、血中におけるサイトカイン、抗体価の変動について比較検討した。また、脳組織のNGF産生が顕著に低濃度ホルムアルデヒド曝露により増加することを明らかにした。本年度は、昨年度と同様の濃度でホルムアルデヒド曝露を行い、呼吸器を介した抗原エアロゾル感作によるアレルギー性炎症モデルで、海馬、扁桃体、及びNGF産生に関連する指標についてより詳細に検討した。

### (3) 研究方法

#### 1) 実験動物

8週齢の雌 C3H/HeN (日本チャールスリバー) マウスを購入し、2週間馴化後10週齢より曝露実験に供した。ホルムアルデヒドの曝露は、昨年同様2000 ppb、400 ppb、80 ppb、および0 ppb (コントロール) 群の4群で12週間行った。曝露の詳しい条件については、曝露方法の報告を参照のこと。

#### 2) アレルギー性炎症モデルの作成

抗原の吸入感作を繰り返すことにより肺への炎症性細胞の集積と抗原特異的 IgE 抗体産生増強を示すマウスモデルを作成した。まず、ホルムアルデヒド曝露前に10 µg/マウスの濃度で卵白アルブミン(OVA)を2 mg alum とともに腹腔内投与し、以後ホルムアルデヒド曝露期間中 OVA のみのエアロゾル感作を3週間に1回の割合で行った。最終抗原投与の1週間後、ネブタール麻酔下で肺胞洗浄液の採取、脳組織の採取と採血を行った。

#### 3) 炎症性細胞の算定とサイトカイン・神経成長因子産生の測定

肺胞洗浄液中の炎症性細胞の集積については、洗浄液を遠心後に細胞数を算定しサイトスピン標本を作成し、ディフクイック (国際試薬) で染色して検索した。肺胞洗浄液中、血漿中のサイトカイン・神経成長因子の産生量について、monocyte chemotactic protein (MCP)-1, KC (Endogen, R&D), Substance P (Assay Designs, Inc.) と nerve growth factor (NGF) (Promega) の ELISA キットを用いてそれぞれ測定した。

#### 4) 海馬の免疫組織化学

脳組織を摘出後、粉末ドライアイスにて凍結した。クライオスタット下 (-20 °C) で厚さ12 µm の前額断切片を作成した。抗マウス NGF 抗体を用い、免疫組織化学的検査を行った (0 ppb 曝露群、400ppb 曝露群各3例)。

#### 5) RT-PCR による神経伝達物質受容体 mRNA 発現量の半定量

脳組織を摘出後、粉末ドライアイスにて凍結した。クライオスタット下 (-20 °C) で厚さ35 µm の前額断切片を作成し、海馬および扁桃体の組織片を回収し、それぞれの total RNA を抽出した (0 ppb 曝露群、400ppb 曝露群各5例)。各サンプルの NMDA 型グルタミン酸受容体 (1, 2 mRNA)、ドーパミン受容体 (D1, D2 mRNA) の mRNA を RT-PCR 法により半定量した。半定量では、PCR 産物を2%シナガロスゲルで電気泳動し、電気泳動ゲル撮影/解析システム EDAS 290 (Kodak) により蛍光強度解析を行った。400 ppb 曝露-OVA(+) 群と0 ppb 曝露-OVA(+) 群のサンプル (計12個) を同時に PCR、電気泳動および解析した。

#### 6) 統計処理

測定データは平均値 ± SE で表示し、全体の分散分析と個々の対照群と曝露群間の有意差の検定は、それぞれ ANOVA と Dunnett による検定で行った。

#### (4) 結果

##### 1) 海馬における NGF mRNA の発現

低濃度ホルムアルデヒド曝露と抗原感作による海馬での NGF mRNA について検討した。蛋白レベルの結果と同様に、対照群と比べて、80 と 400 ppb 曝露群での顕著な発現増強が見られた(図 1)。2000 ppb では対照群と同程度の発現であった。デンシトメーターにおける解析でも同様の結果を示した。

##### 2) 肺胞洗浄液と血漿中のケモカイン・神経ペプチドの解析

低濃度ホルムアルデヒド曝露と抗原感作により脳内における NGF 産生が顕著に増加したので、肺胞洗浄液中における NGF 産生について検討した。その結果、ホルムアルデヒド曝露のみで抗原感作していないマウスでは、ホルムアルデヒド濃度依存的な増加傾向がみられたが、有意な差ではなかった(図 2 a)。一方、抗原感作を行いホルムアルデヒド曝露したマウスでは、80 と 400 ppb 曝露で顕著に抑制が認められ脳内において見られたパターンと対象的な結果であった(図 2 b)。つぎに、血漿中での NGF 産生を調べるとホルムアルデヒドのみの曝露群では対照群との差はみられなかった(図 3 a)が、抗原感作を行いホルムアルデヒド曝露したマウスでは、400 ppb 曝露で顕著に抑制がみられ、80 ppb 曝露群でも低下した(図 3 b)。

昨年度、肺胞洗浄液中の MCP-1 産生においては抗原の感作の有無に関係なくホルムアルデヒド曝露群と対照群との間に有意な差はみられなかった。ところが、抗原感作したマウスからの脾臓細胞を *in vitro* で抗原刺激したときには、この Th2 タイプの誘導にかかわる MCP-1 の産生は、ホルムアルデヒド濃度依存的に上昇し 400ppb と 2000ppb 曝露群で有意な増加が認められた。そこで、血漿中の MCP-1 産生について検討した。その結果、ホルムアルデヒド曝露のみでは、血漿中の MCP-1 産生に低下が見られ、2000ppb では有意な低下であった(図 4 a)。しかしながら、抗原感作したマウスへのホルムアルデヒド曝露は、低下傾向がみられたのみである。いずれのホルムアルデヒド濃度でも、MCP-1 産生の増加はみられなかった(図 4 b)。好中球の走化性にかかわる KC ケモカインの産生を調べると、免疫していないマウスでは、ホルムアルデヒド濃度依存的な増加がみられた(図 5 a)。しかしながら、抗原感作とホルムアルデヒド曝露したマウスでは大きな変動はみられなかった(図 5 b)。末梢神経の終末より分泌され NGF により増加し炎症の誘導に関与する Substance P について血漿中で検討した。免疫していないマウスの血漿中では、ホルムアルデヒドの濃度依存的に Substance P の増加が認められた(図 6 a)。しかしながら、免疫したマウスへのホルムアルデヒド曝露では、曝露による低下傾向が認められた(図 6 b)。

##### 3) 免疫組織化学における、ホルムアルデヒド曝露による海馬 NGF の発現増強の検証

海馬を含む前額断切片について NGF の免疫組織化学的検討を行った(図 7)。対照群の海馬では CA1 領域から CA3 領域にかけて、また歯状回の細胞において NGF 陽性反応が認められた(図 7 a)。この発現パターンは、神経細胞を特異的に染色するニッスル染色の発現パターンと酷似していることから、NGF の発現は神経細胞に特に強く見られることが確認された。一方 400 ppb 曝露-OVA(+) 群では、対照群と比較して明らかな NGF 発現増強が認められた(図 7 b)。また、今回は特に詳細な検討は行っていないが、大脳皮質など海馬以外の部位でも、ホルムアルデヒド曝露および OVA 刺激により NGF 発現は増強している傾向がみられた。

#### 4) RT-PCRによる神経伝達物質受容体 mRNA 発現量の半定量

RT-PCRによる半定量では、400 ppb 曝露-OVA(+)群と0 ppb 曝露-OVA(+)群を海馬と扁桃体で比較した(図8および9)。400 ppb 曝露及びOVA刺激により、海馬における1は160.0%に増加していた( $p < 0.001$ , by one way ANOVA)(図8)。2は約80.0%に低下していた( $p < 0.001$ , by one way ANOVA)。またD1の若干の増加(約115.1%、 $p < 0.01$ )、D2の増加傾向もみられた(111.3%)。扁桃体では、1の増加(約128.5%、 $p < 0.01$ )と2の増加(約132.1%、 $p < 0.001$ , by one way ANOVA)、D1の増加(124.4%、 $p < 0.001$ )が認められた(図9)。D2の変化は認められなかった(107.6%)。

#### (5) 考察

これまでに我々は、OVA抗原感作したマウスに低濃度ホルムアルデヒド(80または400ppb)曝露することで、脳内のNGF産生が増強されることを明らかにした。また、OVA抗原単独あるいはホルムアルデヒド曝露単独ではこのNGF増強は顕れないことから、免疫刺激とホルムアルデヒド曝露が複合的に作用することで、脳においてはじめて影響が顕れることが示唆された。今年度はさらに詳細に解析するために、NGF mRNAの発現を海馬で調べた。その結果、80と400 ppbの濃度でNGF mRNAの発現増強が認められ、メッセージと蛋白レベルでの増強が確認できた。このNGF増強について免疫組織化学的手法を用いて再検証したところ、400ppbホルムアルデヒド曝露とOVA刺激により、海馬においてNGF陽性反応の増強が確認できた。化学物質曝露が及ぼす影響を調べる際に、海馬のNGF発現は極めて鋭敏かつ信頼性の高い指標になる可能性が示唆された。

NGFの発現増強は、脳が慢性的あるいは亜慢性的に変化している可能性を示している。また、NGFの発現は、*c-fos*の発現により調節を受けており、*c-fos*の発現はNMDAやドーパミン受容体の働きにより誘導されることが報告されている(Hengerer et al., 1990; Morgan and Curran, 1991)。そこで次に、神経伝達物質(グルタミン酸およびドーパミン)受容体mRNAの発現量を調べた。400ppbホルムアルデヒド曝露及び抗原感作により、海馬においてNMDA型グルタミン酸受容体のサブユニットである1 mRNAの増加、2 mRNAの低下、ドーパミンD1受容体mRNAの増加が認められた。また、扁桃体では1 mRNA、2 mRNA、D1受容体mRNAの増加が認められた。

本研究におけるmRNA発現量の変化だけで、脳の機能的変化を直接説明することは難しい。しかし、海馬は記憶形成の部位であり、またNMDA型受容体は記憶形成・保持に重要な働きをもつことが示唆されており、このサブユニット構成が海馬において変化したことは、脳の記憶形成機構に変化が生じた可能性を示唆している。また扁桃体は情動の中心的な部位であり、1、2、D1の増加は、情動機能の変化の可能性を示唆すると考えられる。

今回のmRNA半定量の結果から、NGF以外にも神経伝達物質mRNAの発現が変化していることが示された。すなわち、それ自身では影響を及ぼさないレベルの極めて低濃度の化学物質曝露であっても、抗原感作と組み合わせることで脳が分子レベルで明らかに影響を受けていることが確認された。

本年度の脳以外の部位での検索では、抗原感作とホルムアルデヒド曝露したマウスの肺胞洗浄液中と血漿中のNGFは、400 ppbの濃度で有意な低下を示した。OVAを抗原として使用したアレルギー性喘息モデルマウスにおいては血清中、肺胞洗浄液中のNGFの増加が報告されており(Aloe et al., 1997)、低濃度ホルムアルデヒド曝露が抑制的に作用したと考えられる。炎症との関連では、NGFの増加は、proinflammatoryサイトカインであるIL-1 $\beta$ とTNF- $\alpha$ の増加と相関がみられ

ており (Gadient et al., 1990) 我々の昨年度のBAL中におけるIL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ の低下と今年度のNGFの低下の結果とが負の方向に調節されているようである。しかしながら、サイトカインの抑制は2000 ppbで顕著であり、NGFの抑制は400 ppbをピークとしてみられており、その機構は異なる可能性もある。また、これらのホルムアルデヒド曝露による種々の因子の抑制と2000 ppbでの炎症性細胞の有意な増加との関連については不明である。これまでの結果をまとめると、脳内でのNGF産生は抗原感作とホルムアルデヒド曝露の併用により増強が認められた。肺胞洗浄液や血漿中ではホルムアルデヒド曝露のみでNGFとSubstance Pの増加の方向が示唆されたが、抗原感作とホルムアルデヒド曝露の併用によりNGF産生は有意に抑制された。

NGFはサブスタンスPの産生を増強し、肥満細胞を活性化することにより炎症に関与し、さらに痛覚過敏や喘息にかかわる気道平滑筋の過敏反応にも関連があるという報告もみられる (Donnerer et al., 1992)。そこで、つぎに肥満細胞欠損マウスを用いて低濃度ホルムアルデヒドの影響について検討した。

#### ( 6 ) 参考文献

Aoe, L., Bracci-Laudiero, L., Bonini, S., Manni, L. 1997. The expanding role of nerve growth factor: from neurotrophic activity to immunologic diseases. *Allergy* 52, 883-894.

Donnerer, J., Schuligoi, R., Stein, C. 1992. Increased content and transport of substance P and calcitonin gene-related peptide in sensory nerves innervating inflamed tissue: evidence for a regulatory function of nerve growth factor *in vivo*. *Neurosci.* 49,693-698.

Gadient, R. A., Cron, K. C., Otten, U. 1990. Interleukin-1 $\alpha$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  synergistically stimulate nerve growth factor (NGF) release from cultured rat astrocytes. *Neurosci. Lett.* 117, 335-340.

Hengerer, B., Lindholm, D., Heumann, R., R  ther, U., Wagner, E. F., Thoenen, H., 1990. Lesion-induced increase in nerve growth factor mRNA is mediated by *c-fos*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 87,3899-3903.

Morgan, J. I., Curran, T., 1991. Stimulus-transcription coupling in the nervous system: involvement of the inducible proto-oncogenes *fos* and *jun*. *Annu. Rev. Neurosci.* 14,421-451.

#### ( 7 ) Abstract

To clarify the effects of low levels of formaldehyde (FA) inhalation on the neuro-immune interactions, C3H/He mice were exposed to 0 (controls), 80, 400 and 2000 ppb formaldehyde for 12 weeks. In another experiment, using a mouse model of allergic inflammation the exposure to formaldehyde was performed. Expression of NGF mRNA in the hippocampus of immunized mice exposed to 80 and 400 ppb FA significantly increased. However, the NGF content in bronchoalveolar lavage fluid and plasma in immunized mice markedly suppressed. The RT-PCR evaluation showed higher concentrations of hippocampal NMDA and dopamine

receptors mRNA in mice exposed to 400 ppb FA with immunization. Thus, exposure of immunized mice to low levels of FA may alter NGF levels and neurotrophic activity in the hippocampus and contribute to the behavioural effects.

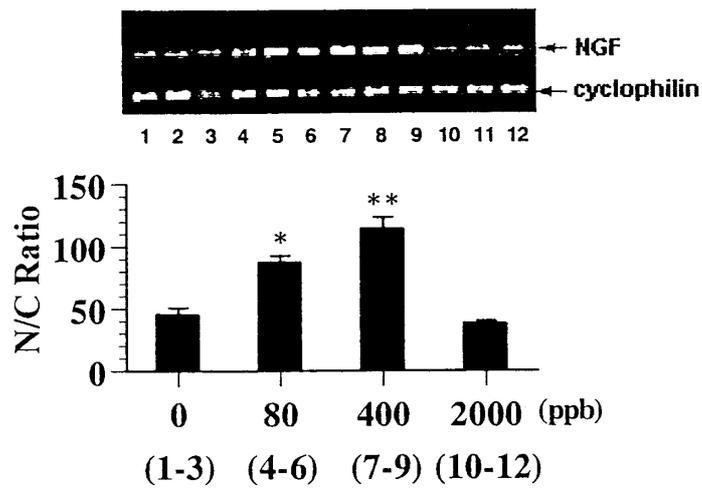


図1 FA 曝露したマウスの海馬における NGF mRNA 発現増強

\* P<0.05

\*\* P<0.01

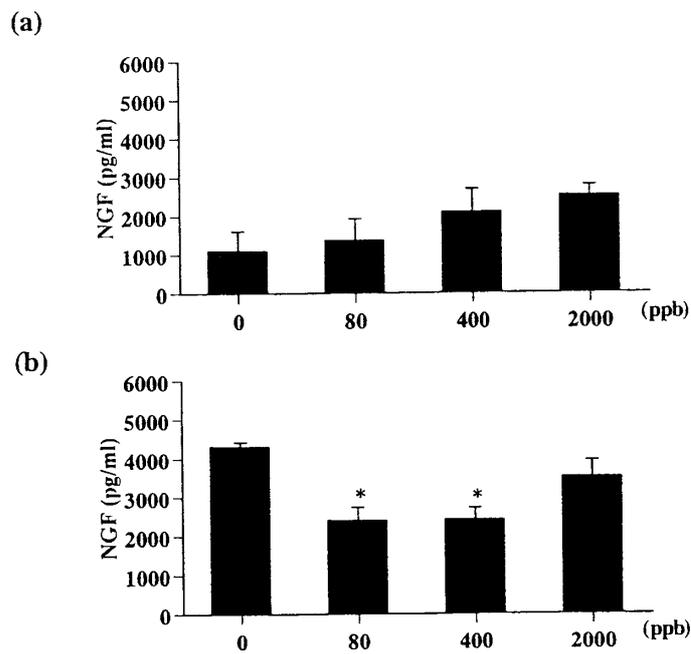


図2 FA 曝露したマウスの BALF 中の NGF 産生量

(a) nonimmunized mice

(b) immunized mice

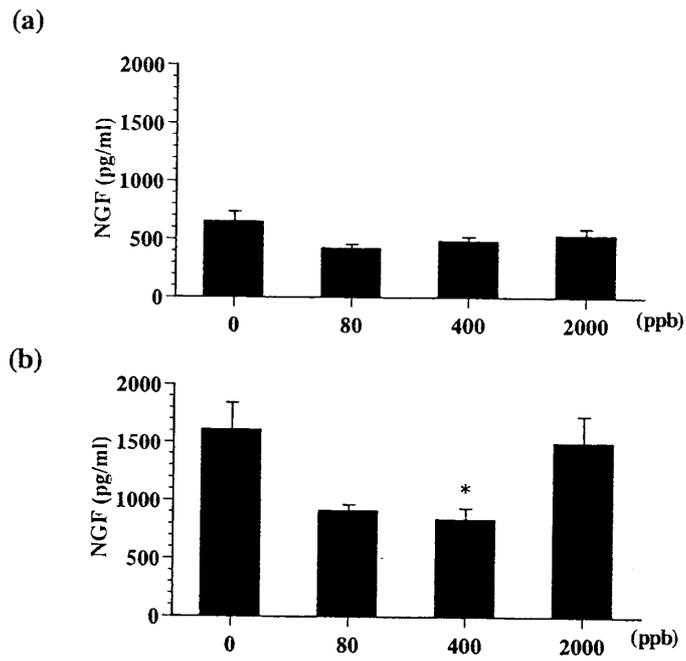


図3 FA 曝露したマウスの血漿中の NGF 産生量  
(a) nonimmunized mice (b) immunized mice

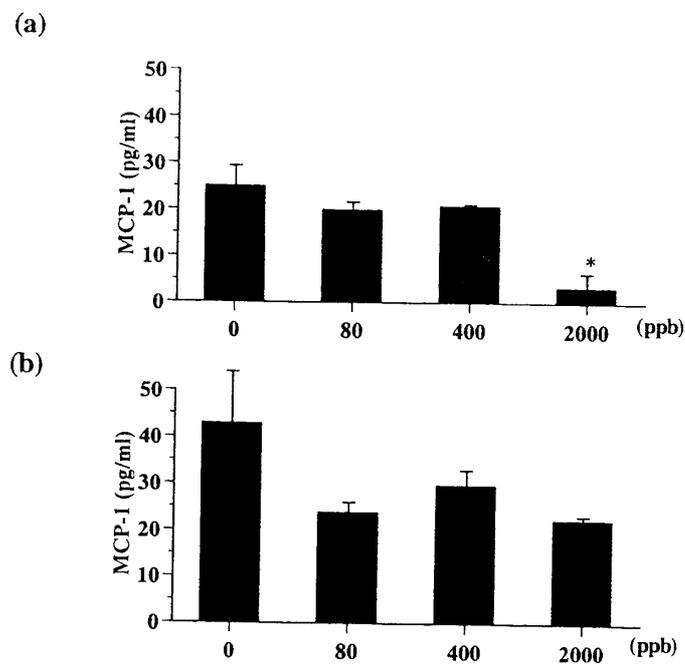


図4 FA 曝露したマウスの血漿中の MCP-1 産生量  
(a) nonimmunized mice (b) immunized mice

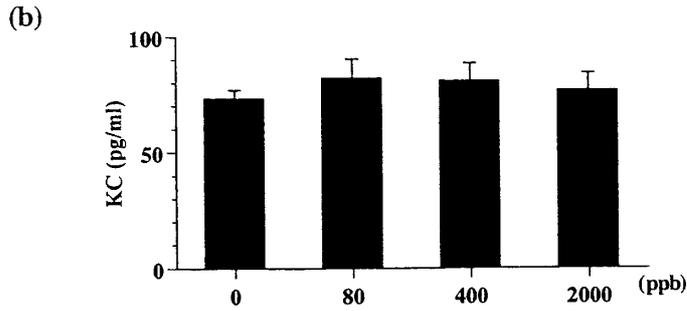
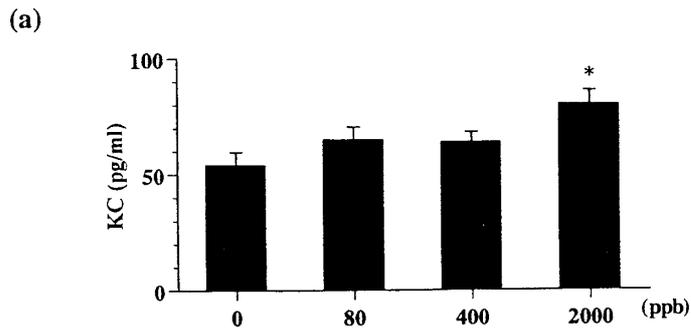


図5 FA 曝露したマウスの血漿中の KC 量

(a) nonimmunized mice (b) immunized mice

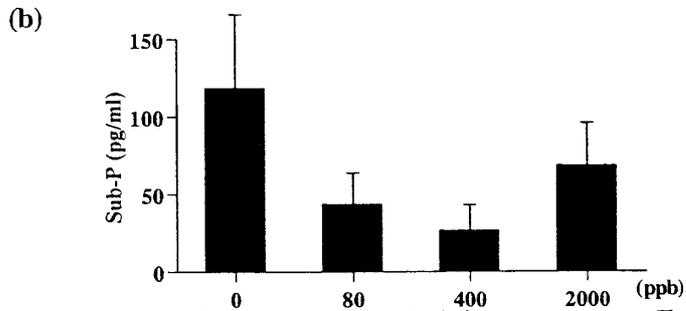
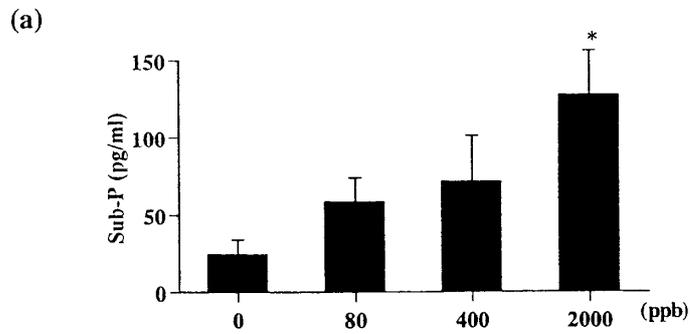


図6 FA 曝露したマウスの血漿中の Substance P 量

(a) nonimmunized mice (b) immunized mice

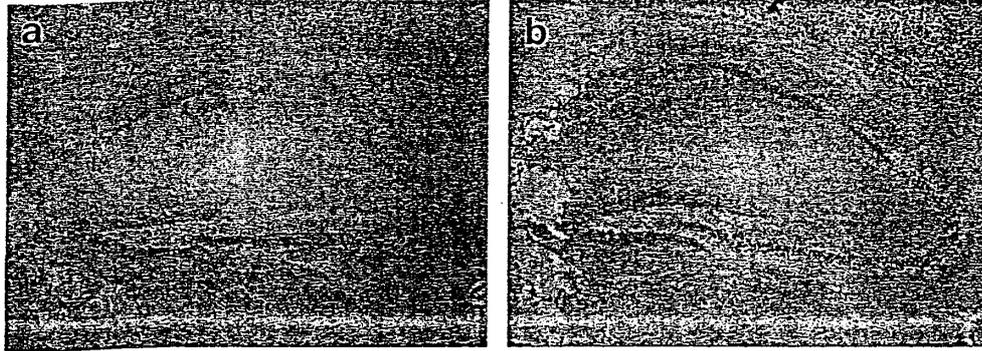


図7 免疫組織化学による海馬におけるNGF免疫陽性反応  
 (a) OVA免疫とホルムアルデヒド 0 ppb曝露群、  
 (b) OVA免疫とホルムアルデヒド 400 ppb曝露群。

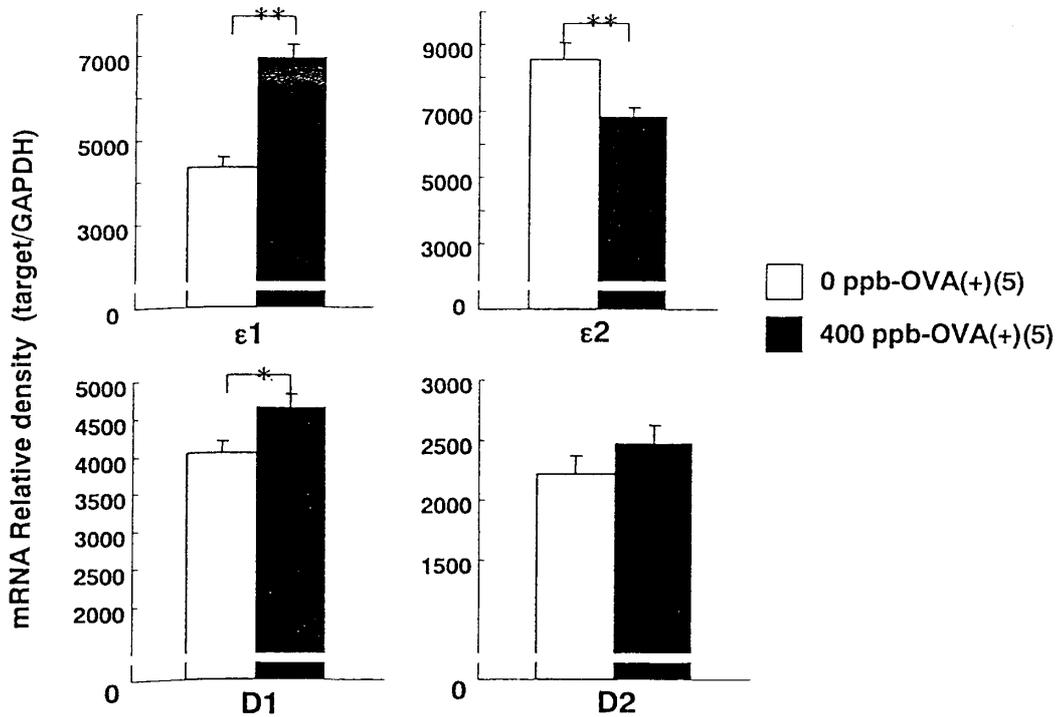


図8 海馬におけるNMDA型グルタミン酸受容体サブユニットε1 mRNA、  
 ε2 mRNA、ドーパミン受容体D1 mRNA、D2 mRNA発現量  
 \* p < 0.01、 \*\* p < 0.001

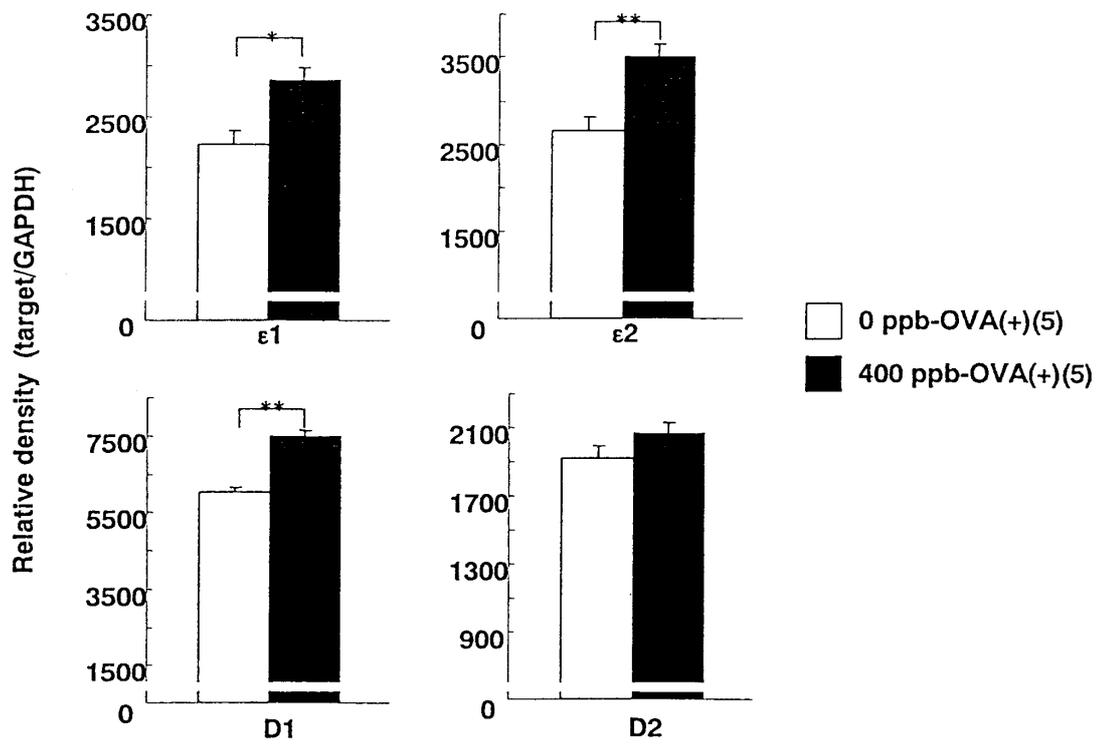


図9 扁桃体におけるNMDA型グルタミン酸受容体サブユニット  $\epsilon 1$  mRNA、 $\epsilon 2$  mRNA、ドーパミン受容体D1 mRNA、D2 mRNA発現量  
\* $p < 0.01$ 、\*\* $p < 0.001$

## 6. ホルムアルデヒド曝露した肥満細胞欠損 (WBB6F1 - W/W<sup>v</sup>) マウスとその正常対照 (WBB6F1 - +/+ ) マウスの免疫系への影響

### A. 病理組織およびリンパ球画分の変化

研究協力者：佐藤房枝・菊池 亮・樺田尚樹・嵐谷奎一  
(産業医科大学産業保健学部)

#### (1) 研究要旨

WBB6F1 マウスのうち肥満細胞欠損モデルマウスW/W<sup>v</sup>を用いた低濃度ホルムアルデヒド(2000ppb)の12週間吸入曝露でも、気道粘膜上皮細胞の著明な剥離や扁平上皮化生、腫瘍変化等を認めなかった。一方これまでに使用したC3H/HeNやC57BL/6NマウスよりOVA前感作による気道粘膜変化や炎症性細胞の浸潤が強く観察され、感受性がより高いと思われた。WBB6F1 - +/+マウスでは、ホルムアルデヒド曝露群で気管上皮内の肥満細胞が増加する傾向がみられたが、WBB6F1 - W/W<sup>v</sup>マウスでは、ホルムアルデヒド曝露後においても肥満細胞の増加は認められなかった。肥満細胞欠損マウスにみられた皮膚の慢性炎症病変は、ホルムアルデヒドの吸入曝露による反応というよりはむしろ脱毛を基盤とした皮膚刺激・掻痒の増強によるものと考えられた。またフローサイトメーターを用いてリンパ球分画について検討した結果、脾細胞中および末梢血中のCD3陽性細胞の比率、CD4, CD8陽性細胞比率は、マウスの系統差、ホルムアルデヒドの曝露にかかわらず有意な変化は認めなかった。リンパ球の活性化の指標として、CD26抗原の発現の変化について検討したが、変化はなかった。CD3陽性細胞中の TcR陽性細胞の比率は、系統的にはW/W<sup>v</sup>マウスで低値を示し、ホルムアルデヒド曝露によりW/W<sup>v</sup>マウスの末梢血を除いて増加する傾向が認められた。

#### (2) 研究目的

本態性多種化学物質過敏状態の原因物質の1つとして、室内環境中のホルムアルデヒドの関与が推測されているが、その生体影響についてはまだよくわかっていない。

これまでにC3H/HeNならびにC57BL/6Nマウスを用いて、低濃度(最大2000ppb)・長期(3ヶ月)ホルムアルデヒド曝露によるマウス気道粘膜上皮の変化と炎症細胞の動態について、卵白アルブミン(OVA)前感作との関連性も含めて形態学的に検索をおこなった。その結果、OVA投与による影響と推定される気管上皮での肥満細胞の粘膜内浸潤や気管支上皮の杯細胞増生が観察されたが、ホルムアルデヒド曝露による影響と考えられる明らかな組織学的変化を観察することができなかった。

今回は、OVA前感作状態での低濃度(2000ppb)・長期(3ヶ月)ホルムアルデヒド曝露において、その生体影響を気道粘膜上皮を中心として形態学的に検索するとともに、アレルギー - 反応に寄与する肥満細胞の有無がどのような組織変化の違いをもたらしのかについて、肥満細胞欠損マウスを用いて比較検討した。加えて、脾細胞および末梢血中の免疫担当細胞分画の変化をについて検討した。

### (3) 研究方法

#### 1) 病理学的検索

10週齢・メスの肥満細胞欠損(W/W<sup>v</sup>)マウス8匹とその正常対照(+ / +)マウス9匹を用いた。すべてのマウスはホルムアルデヒド曝露前に、別項に述べられているようにネブライザ - を用いてOVAを吸入感作した。W/W<sup>v</sup>マウスは4匹・4匹の2群に、また正常対照マウスは4匹・5匹の2群に分け、それぞれホルムアルデヒド濃度0ppbと2000ppbで3ヶ月間吸入曝露した。

曝露終了後、ネンブタ - ル麻酔下においてマウスを失血死させ、頭部、気管・肺、皮膚、肝臓、腎臓、心臓、胸腺、脾臓、腸管(食道・胃・小腸・大腸・膵臓)、卵巣・子宮、膀胱、一部リンパ節を採取した。

固定は4%パラホルムアルデヒド / 0.1M磷酸緩衝液(pH7.4)ならびに各群2匹の気管・肺はcarnoy液で浸漬固定をおこない、型どおりにパラフィン包埋切片を作製した。なお、頭部は固定後Plank-Rychlo法にて脱灰し、昨年度と同様4 Point(図1)で分割した後にパラフィン包埋をおこなった。

すべての組織からHE染色標本を作製した。またHE染色標本の他に、頭部、気管・肺は炎症性細胞の動態を観察するためにGiemsa染色とToluidin blue染色、粘液分泌の状態を観察するためにPAS反応とAlcian blue染色を、皮膚はGiemsa染色とToluidin blue染色の他に、線維の変化を観察するためにAzan染色とElastica染色を施した。

さらにcarnoy固定した正常対照マウスの肺・気管より20枚 / 匹、2匹 / 群の1群計40枚の連続切片を作製し、Toluidin blue染色を施して気管粘膜上皮内に出現する肥満細胞の数を計数して、ホルムアルデヒド曝露濃度0ppb群と2000ppb群間で比較した。

#### 2) フローサイトメーターによるリンパ球分画の検索

屠殺時に脾細胞単細胞浮遊液、および末梢血単核球についてフローサイトメーターを用いて、リンパ球分画の変化について観察した。観察した表面抗原は、CD3, CD4, CD8, CD19, CD26および TcRである。なお、各処置群8~9匹のマウスを用いた。

### (4) 研究結果

#### 1) 気道粘膜組織における変化

頭部の4 Pointにおける上気道粘膜上皮の基本構造は昨年度と同様であった。

正常対照マウスとW/W<sup>v</sup>マウスはともに、これら4 Pointのいずれの粘膜上皮においても、ホルムアルデヒド曝露0ppbと2000ppb間で組織像に差はみられなかった。

喉頭から肺にかけては連続した標本を作製して粘膜上皮の変化を検索したが、すべての標本において、明らかな上皮細胞の剥離や扁平上皮化生、腫瘍性変化等は観察されなかった。しかし、気管支から終末細気管支にかけての著明な杯細胞の増生と粘液の分泌像がみられ(写真1)、また、末梢気管支ならびに血管周辺に多数の好酸球、形質細胞、リンパ球の浸潤がみられた(写真2)。これらの組織所見はホルムアルデヒド曝露の有無、肥満細胞欠損マウスであるか否かに関わらず、すべての標本で観察された。

carnoy固定した正常対照マウスWBB6F1 - + / +のToluidin blue染色標本より、気管上皮内に分布する肥満細胞を計数し、上皮内肥満細胞数 / 上皮気管軟骨数で補正してその出現率を算出した。各マウス20切片の平均値±標準偏差は、0ppb群は0.19±0.09、0.26±0.08で、2000ppb群は0.67±0.21、0.61±0.15であり2000ppb群の方が気管上皮内に肥満細胞が多くみられた(図2, 写真3)。なお、

WBB6F1-W/W<sub>v</sub>においては、ホルムアルデヒド曝露後においても肥満細胞はごくわずかしが観察されず、変化は認めなかった。

## 2) 皮膚組織における変化

正常対照マウスWBB6F1-+/+の毛色は黒色、肥満細胞欠損モデルマウスWBB6F1-W/W<sub>v</sub>は白色ある。W/W<sub>v</sub>マウスは飼育の途中で脱毛が著しく、脱毛部では肉眼的に皮膚の硬化と搔爬による出血がみられた(写真4)。この皮膚の硬化・出血像はホルムアルデヒド曝露0ppb群においても少数みられたが、2000ppb群では多数のマウスで観察された。

組織学的に、過角化を伴った表皮肥厚と真皮の膠原線維の増加(写真5)が種々の程度でみられ、出血部には表面に潰瘍を有する炎症性変化がみられた(写真6)。炎症細胞の主体は好中球で好酸球の出現は目立たなかった。これらの皮膚所見により、不感蒸泄の増加が考えられたので、飲水量の計測したところ、図3に示すようにW/W<sub>v</sub>マウスが正常対照マウスに比較し有意に飲推量が多く、さらに0ppbに比較しても2000ppb群で飲推量の増加が観察され、皮膚の障害が強いことをうかがわせた。

さらに2000ppb群では、硬化・出血部周辺の皮下に、腫大したリンパ節がみられた。リンパ節組織には多数のリンパ濾胞がみられ、膨大した髄索はほとんど形質細胞で占められていた(写真7)。

## 3) その他の組織における変化

気道、皮膚・リンパ節の他に肝臓、腎臓、胸腺、脾臓、心臓、腸管(食道・胃・小腸・大腸・膵臓)、卵巣・子宮、膀胱の各組織を比較検討した。

肝臓では肝小葉内に、腎臓では腎盂の血管周辺に好酸球、形質細胞、リンパ球の集簇がみられた(写真8)。これらの所見は、個体差が多少みられたが、正常対照マウスもW/W<sub>v</sub>マウスにも出現し、ホルムアルデヒド曝露0ppb群と2000ppb群の間で差はみられなかった。同様に胸腺、脾臓においても好酸球や形質細胞の出現が目立った。特にホルムアルデヒド曝露2000ppb群で皮下にリンパ節の腫大があったマウスでは、胸腺は、皮質が狭小で葉様構造は不明瞭であったが、髄質ではリンパ球やリンパ芽球様細胞に混じて好酸球や形質細胞が散見された(写真9)。また、脾臓は腫大しており、白脾髄のリンパ濾胞は胚中心を形成し、胚中心・濾胞辺縁体を中心として好酸球や形質細胞が散見された(写真10)。心臓、腸管、膀胱においては組織学的な変化を認めなかった。W/W<sub>v</sub>マウスでは生殖器は萎縮性で卵巣は明らかではなかった。

## 4) リンパ球分画の変化

脾細胞中および末梢血中のCD3陽性細胞の比率、CD4、CD8陽性細胞比率およびB細胞比率は、マウスの系統差、ホルムアルデヒドの曝露にかかわらず有意な変化は認めなかった(図4-8、図11-15)。CD3陽性細胞中のTcR陽性細胞の比率は、系統的にはW/W<sub>v</sub>マウスで低値を示し、ホルムアルデヒド曝露によりW/W<sub>v</sub>マウスの末梢血を除いて増加する傾向が認められた(図9、16)。またリンパ球の活性化の指標として、CD26抗原の発現の変化について検討したが、変化はなかった(図10、17)。

## ( 5 ) 考察

今回使用したW/W<sub>v</sub>マウスは、前述したように生後20日では正常対照マウスの10%程度の肥満細胞を持っているが、生後100日を経過すると1%以下となり、肥満細胞欠損マウスとして用いられている(1)。

結果において、組織変化の強弱に多少の個体差はあったものの、すべてのマウスにおいて観察された気管支から終末細気管支にかけての著明な杯細胞の増生ならびに粘液の分泌像と末梢気管支ならびに血管周辺の好酸球・形質細胞・リンパ球等の浸潤、さらに肝臓、腎臓、脾臓、胸腺組織でのこれら炎症性細胞の集簇は、前回の結果も踏まえOVA前感作による反応と考えられた。昨年C3H/HeNマウスを用いてOVA前感作の影響としてホルムアルデヒド曝露濃度に関係なくみられた気管上皮内への肥満細胞の浸潤は、今回ホルムアルデヒド曝露0ppb群と2000ppbの間でその出現率に差がみられたことより、ホルムアルデヒド曝露によるアレルギー-症状増強効果も否定できないと思われるが、検討個体数が少ないこともあり推測にとどまる。いずれの所見も前回用いたC3H/HeNマウスやC57BL/6NマウスよりWBB6F1-W/W<sub>v</sub>マウスの方が反応が強く、感受性が高く感じられた。

W/W<sub>v</sub>マウスでみられた皮膚病変については、脱毛部における広範で種々な程度の皮膚増殖変化は炎症変化との移行像も見られ、その形態学的特徴から慢性皮膚炎の状態と考えられた。皮膚の掻痒と継続的な掻爬が推測される。このW/W<sub>v</sub>マウスは肥満細胞が欠損しているため、掻痒はIgEと肥満細胞が関与するI型アレルギー-による過敏反応とは考えがたい。また、ホルムアルデヒドを曝露した群の方がより多くの病変部位がみられ、その程度も強かったことを合わせると、脱毛を基盤として直接皮膚に外部刺激を受けた結果生じた掻痒による反応の可能性がある。ホルムアルデヒド曝露という持続性の外部刺激はより強い掻痒を引き起こしたであろうと考える。さらに、皮下のリンパ節の腫大は、皮膚の炎症の程度に比例して出現しており、気道からのOVA前感作やホルムアルデヒド曝露による反応というよりはむしろ皮膚の炎症による二次的な反応と考えられた。

肝臓・腎臓にみられた炎症性細胞の集簇は、ほとんどすべてのマウスに同様に観察されたことより、主としてOVA前感作による反応であろうと考えられた。また、胸腺、脾臓での炎症性細胞の増加は、皮膚病変の強いマウスでより強かったことからOVA前感作による反応と皮膚病変による反応が混在しているものと思われた。

## ( 6 ) 参考文献

1) 関正利,平嶋邦猛,小林好作:疾患モデル.実験動物の血液学.ソフトサイエンス社., 東京, 1981: 205-227

## ( 7 ) Abstract

Histopathological changes after repeated formaldehyde exposure in WBB6F1-W/W<sub>v</sub> and WBB6F1-+/+ mice

Fusae Sato, Makoto Kikuchi, Naoki Kunugita, Keiichi Arashidani

School of Health Sciences, University of Occupational and Environmental Health, Japan.

To study the effect of repeated formaldehyde exposure on respiratory and dermal

systems, histopathological changes of the lung, trachea and skin have been observed in mast cell deficient WBB6F1-W/W<sup>v</sup> and unaffected WBB6F1-+/+ mice. We also observed surface phenotype of splenic and peripheral mononuclear cells in mice. Formaldehyde exposure did not show any adverse effects including epithelial cell proliferation, epithelial dysplasia and squamous metaplasia on morphology of the lung and trachea under light microscope. There was a mild infiltration of mast cells in the groups of mice previously sensitized with OVA in WBB6F1-+/+ mice. However, there were no infiltration of mast cells in WBB6F1-W/W<sup>v</sup> after formaldehyde exposure. We also observed the severe skin reaction including erosion and ulcer after formaldehyde exposure in WBB6F1-W/W<sup>v</sup> mice. There were no significant changes in surface phenotype of splenic and peripheral mononuclear cells in both mice. It was shown that the skin of mast cell deficient WBB6F1-W/W<sup>v</sup> mice may be high susceptible to formaldehyde exposure.

図1 頭部の切片作成部位

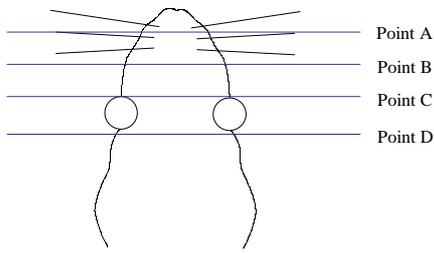


図2 WBB6F1(+/-)マウスにおける肥満細胞の出現

マウス番号	曝露濃度	肥満細胞数/軟骨
#1	0ppb	0.19 ± 0.09
#2	0ppb	0.26 ± 0.08
#3	2000ppb	0.67 ± 0.21
#4	2000ppb	0.61 ± 0.15

WBB6F1(+/-)マウスでは、ホルムアルデヒド曝露で、肥満細胞数が増加する傾向にあるが、観察個体数が少なく今後さらなる検討が必要。

一方、肥満細胞欠損モデルマウスWBB6F1-W/W<sup>v</sup>では、皮下において数箇所肥満細胞が観察されたが、数はわずかであった。

図3 飲水量比較

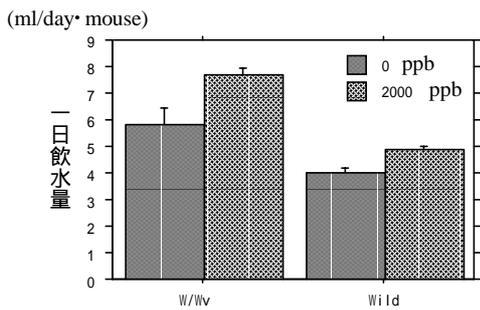


図4 Mutantマウス Spleen CD3陽性細胞比率

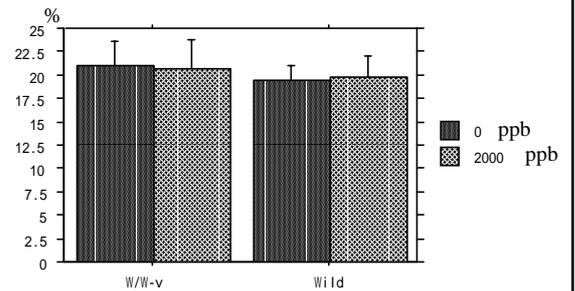


図5 Mutantマウス Spleen CD3&CD8+4-

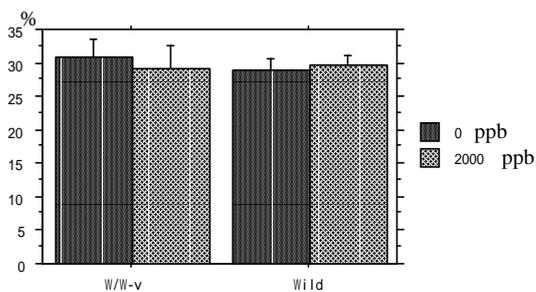


図6 Mutantマウス Spleen CD3&CD8-4+

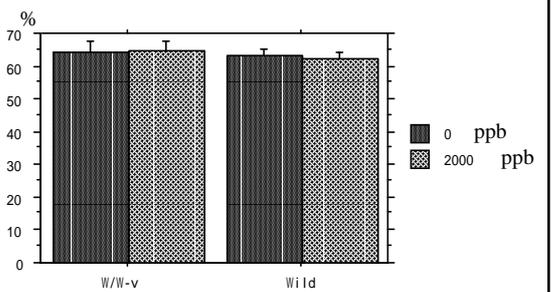


図7 Mutantマウス Spleen CD4/CD8

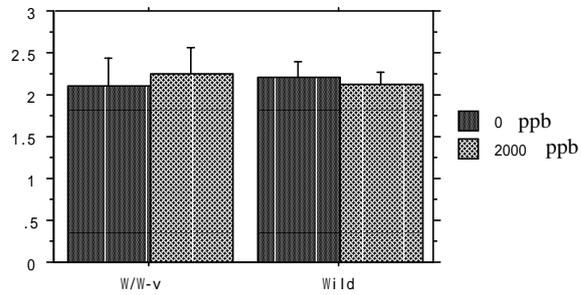


図8 Mutantマウス Spleen B cells

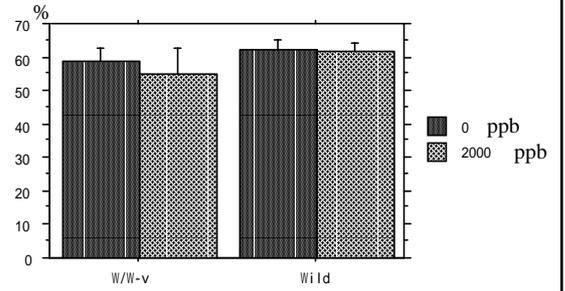


図9 Mutantマウス Spleen -TcR Tcells

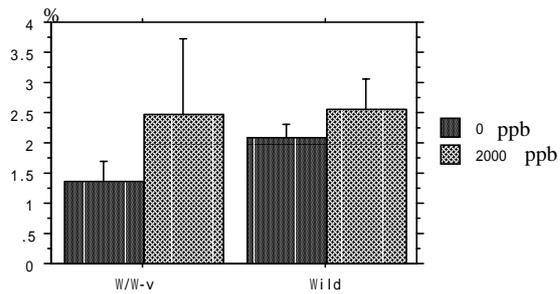


図10 Mutantマウス Spleen CD26+ Tcells

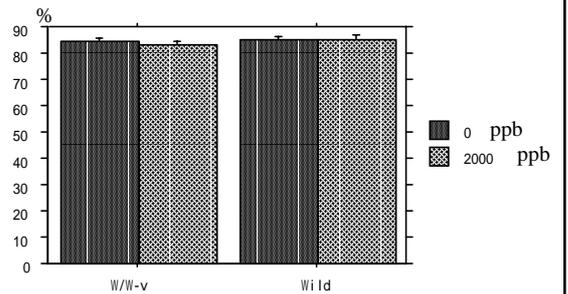


図11 Mutantマウス 末梢血 CD3陽性細胞比率

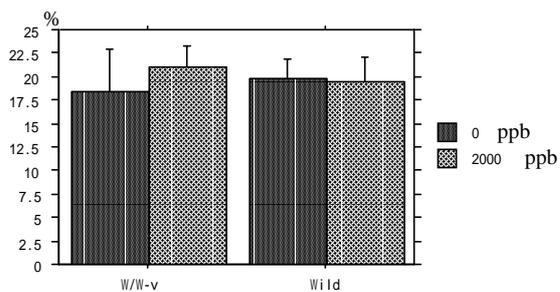


図12 Mutantマウス 末梢血 CD3&CD8+4-

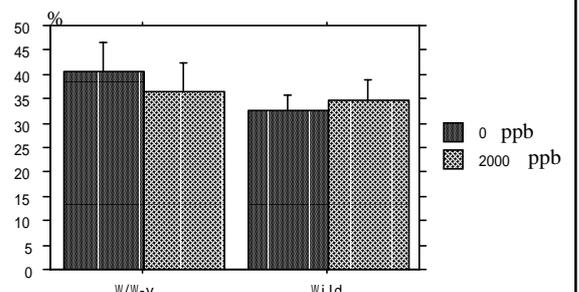


図13 Mutantマウス末梢血 CD3&CD8-4+

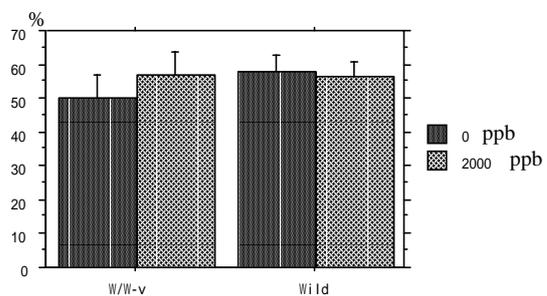


図14 Mutantマウス末梢血 CD4/CD8

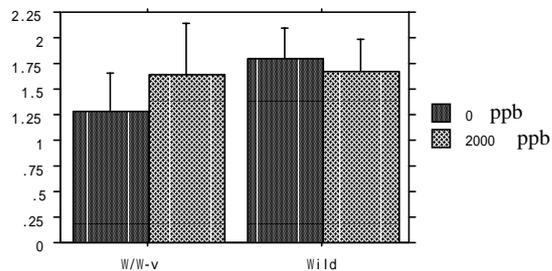


図15 Mutantマウス末梢血 B cells

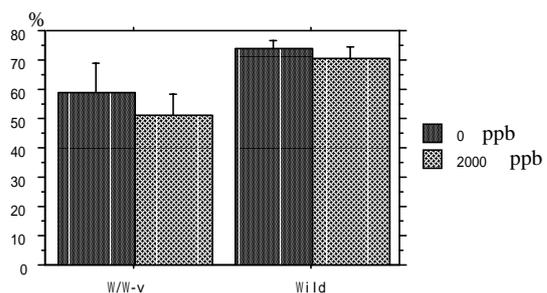


図16 Mutantマウス末梢血 -TcR Tcells

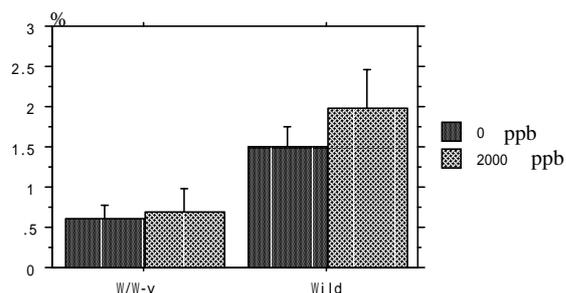
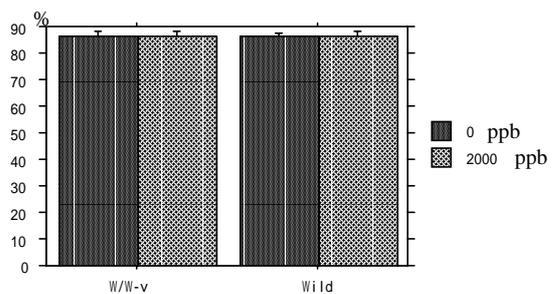


図17 Mutantマウス末梢血 CD26+ Tcells



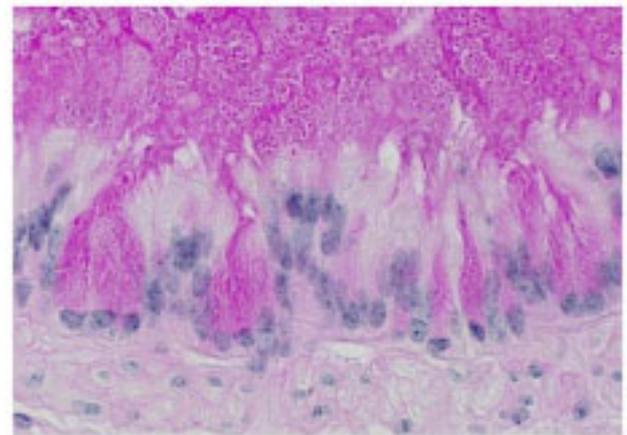
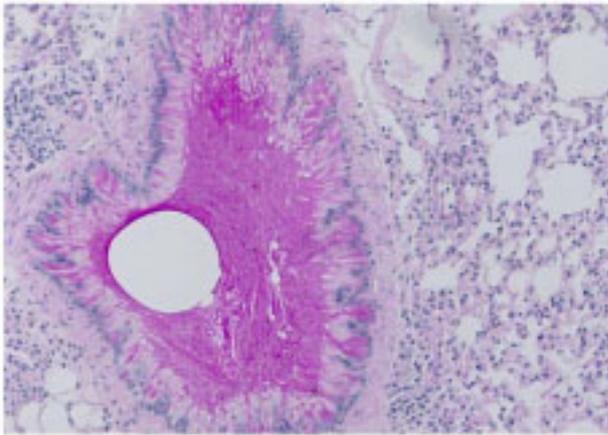


写真1. 気管支・肺の組織像 (+/+マウス, 0ppb)

左: 肺組織の中央に赤紫色に染まる粘液を満した気管支腔がみられる。PAS 反応 10×3.3

右: 拡大, 気管支腔に向かって粘液を分泌している多数の気管支杯細胞がみられる。

PAS 反応 40×3.3

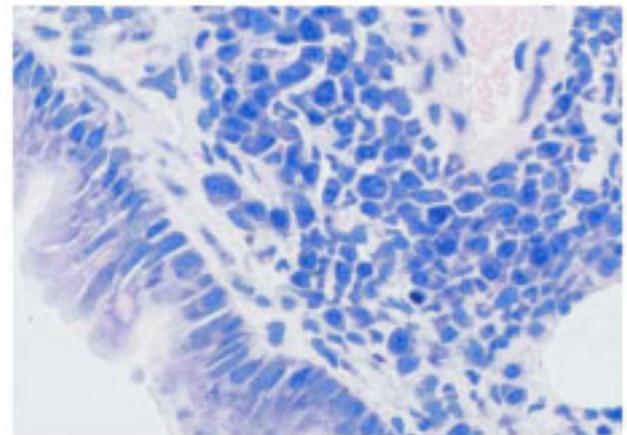
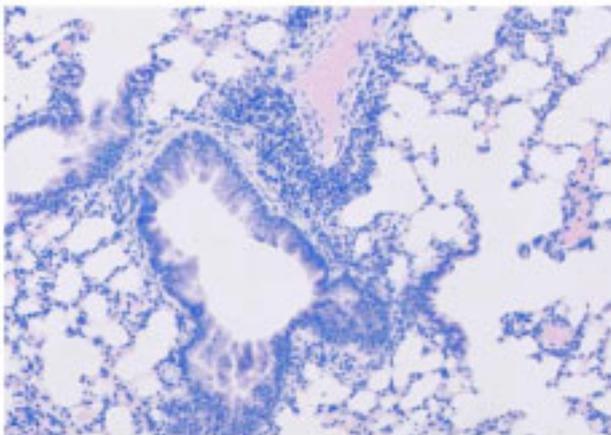


写真2. 気管支・肺の組織像 (+/+マウス, 0ppb)

左: 肺組織の中央部に気管支腔と血管がみられ、それら周囲の間質に炎症細胞の浸潤がみられる。

Giemsa 染色 10×3.3

右: 拡大, 主に好酸球・形質細胞・リンパ球の浸潤がみられる。Giemsa 染色 40×3.3

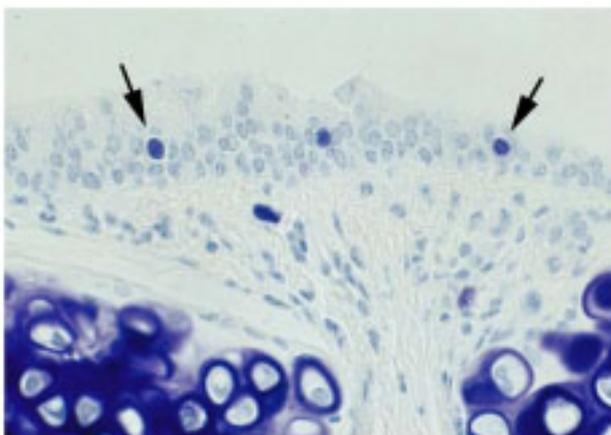


写真3. 気管上皮の組織像 (+/+マウス, 2000ppb)

気管上皮内に紫色にそまる肥満細胞 (矢印) が散見される。

Toluidin blue 染色 40×3.3



写真4. 皮膚の肉眼像 (W/Wvマウス, 2000ppb)

頭部から背中にかけて広範な脱毛がみられ、脱毛部の皮膚は硬化して、搔爬により一部に出血がみられる。

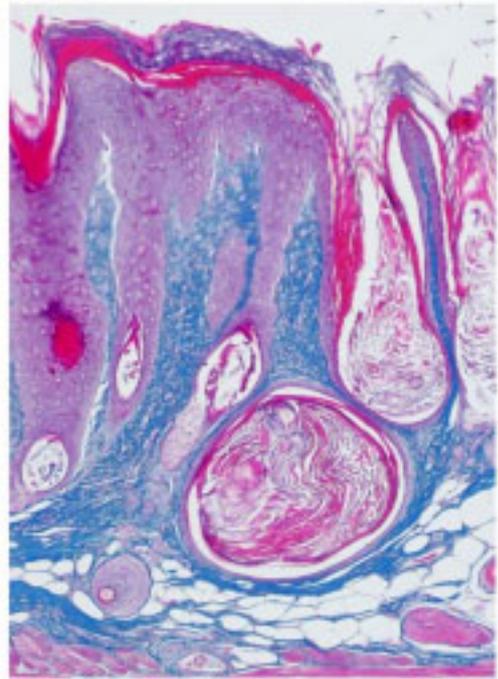
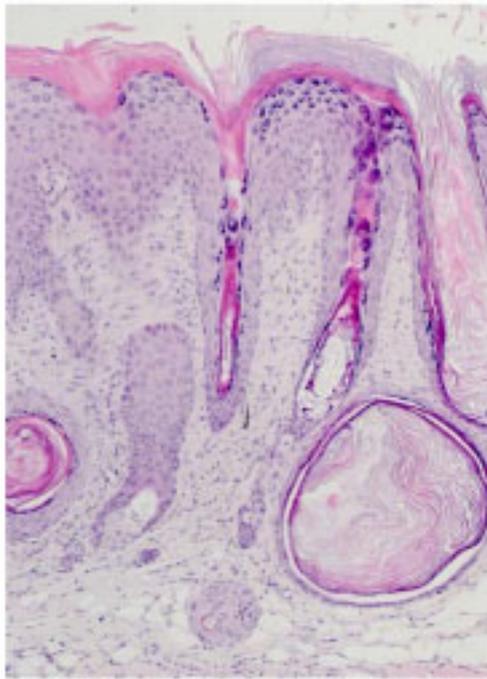
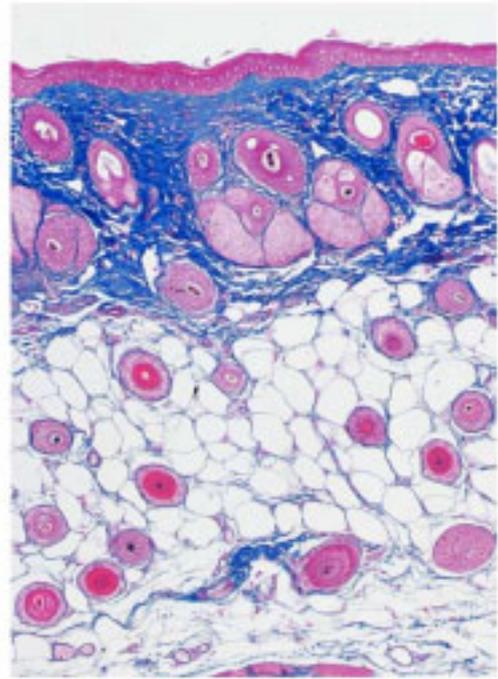
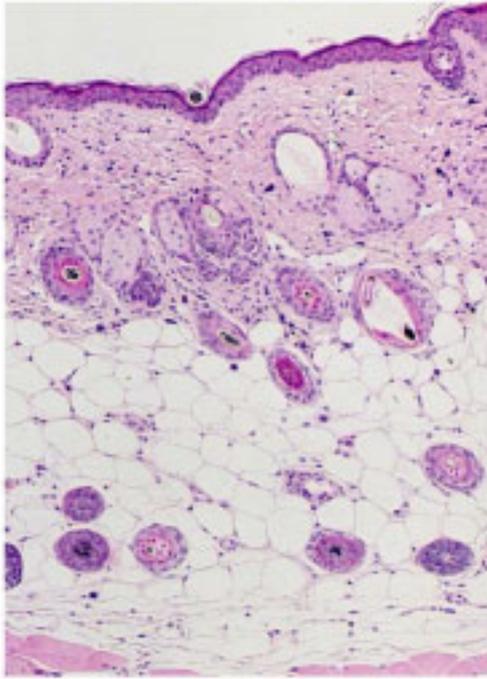


写真5. 皮膚の組織像

上: +/マウス, 0ppb (左)HE 染色 (右)Azan 染色 各  $10\times 2.5$

上方より3~4層の重層扁平上皮よりなる表皮、続いて主に膠原線維よりなる真皮、脂肪組織、筋層の順にみられる。真皮と脂肪織内に点在する円形構造は毛包である。膠原線維はAzan染色で青色に染色されている。

下: W/Wマウス, 2000ppb (左)HE 染色 (右)Azan 染色 各  $10\times 2.5$

表皮は過角化を伴って肥厚しており、真皮の膠原線維も増加している。残存する毛包内では角質物質の蓄積による角栓形成がみられる。

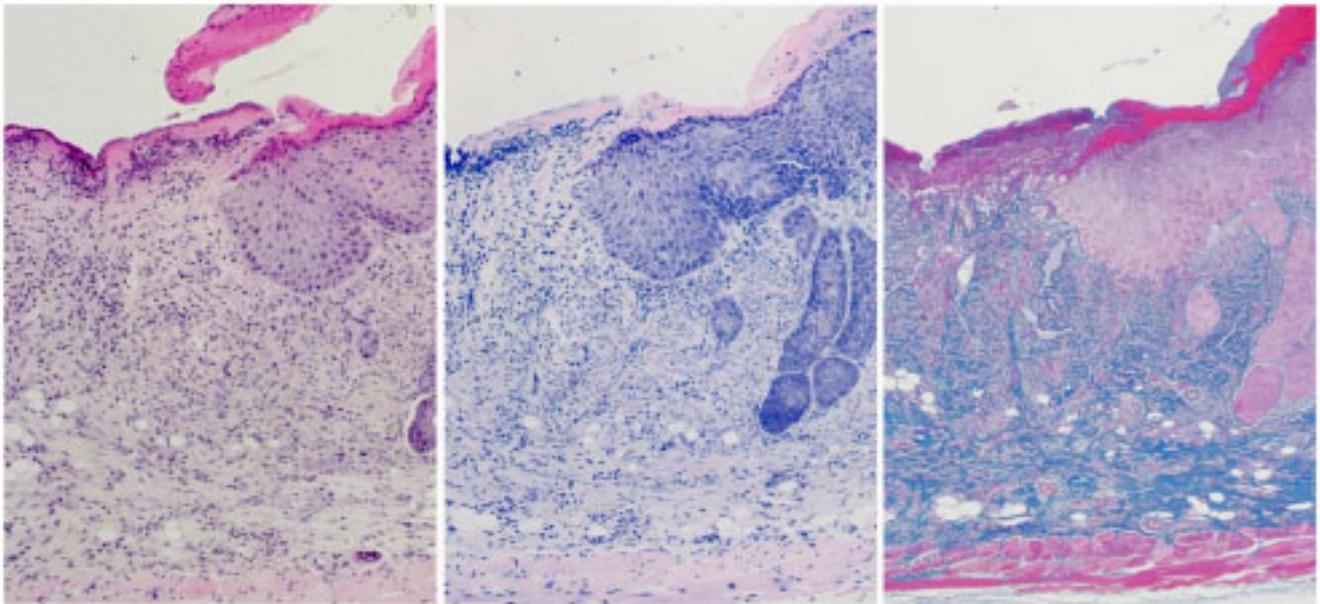


写真6. 出血部皮膚の組織像 (W/Wvマウス, 2000ppb)

左: HE 染色 中央: Giemsa 染色 右: Azan 染色 各 10×2.5

肥厚した上皮が途中から欠損している。欠損部は表面から壊死層、浸出層、肉芽組織層へ移行している。浸出層の炎症細胞は好中球が主体で好酸球は目立たない。真皮には著明な膠原線維の増加がみられる。

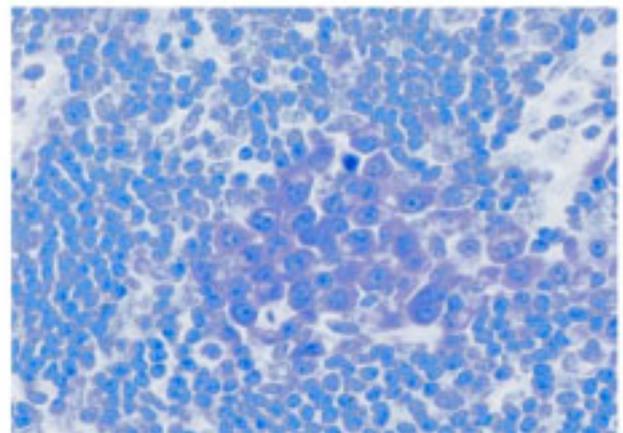
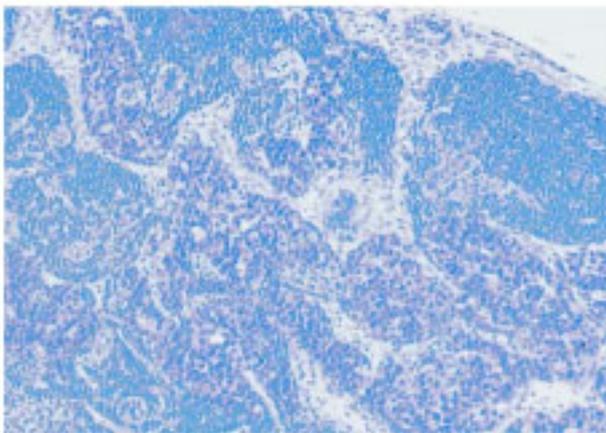


写真7. リンパ節の組織像 (W/Wvマウス, 2000ppb)

左: 多数のリンパ濾胞と膨大した髄索がみられる。 Giemsa 染色 10×3.3

右: 拡大。リンパ濾胞は小型のリンパ球よりなり、髄索には大型で細胞質がやや紫色に染まる形質細胞が多数みられる。 Giemsa 染色 40×3.3

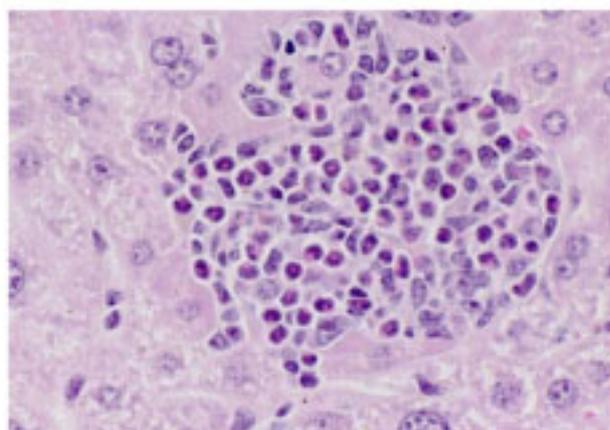
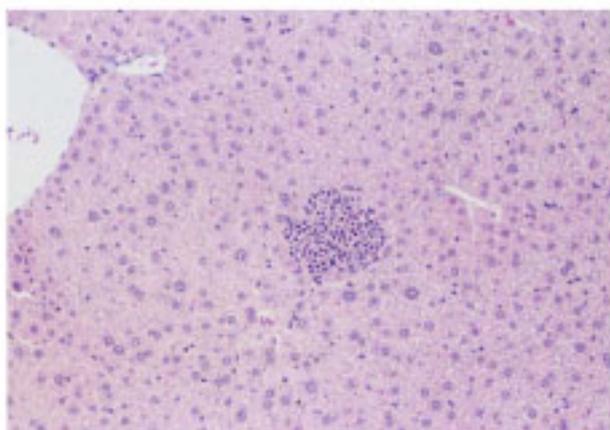


写真8. 肝臓の組織像 (W/Wvマウス, 0ppb)

左: 肝小葉内に炎症細胞の集簇がみられる(中央)。 HE 染色 10×3.3

右: 拡大, 炎症細胞は好酸球・形質細胞・リンパ球よりなる。 HE 染色 40×3.3

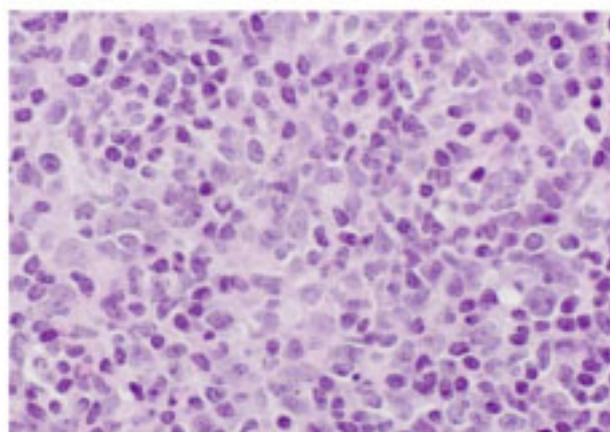
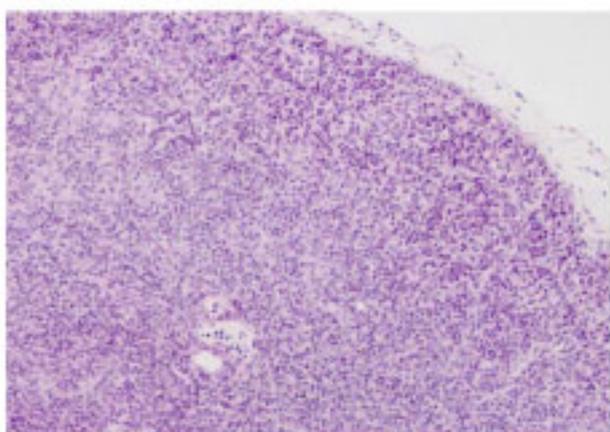


写真9. 胸腺の組織像 (W/Wvマウス, 2000ppb)

左: 皮質は狭小で小葉構造は不明瞭である。 HE 染色 10×3.3

右: 拡大, 髄質ではリンパ球やリンパ芽球様細胞に混じて好酸球、形質細胞がみられる。

HE 染色 40×3.3

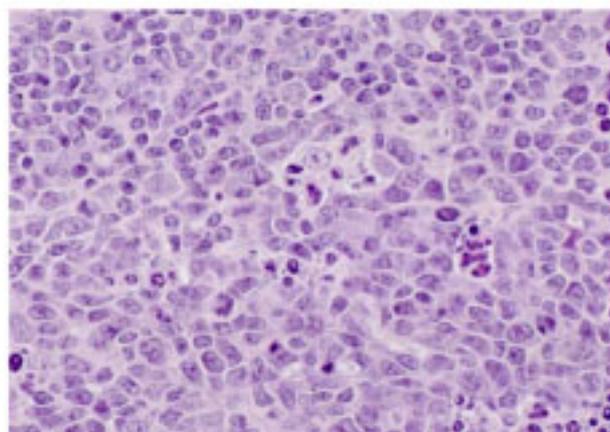
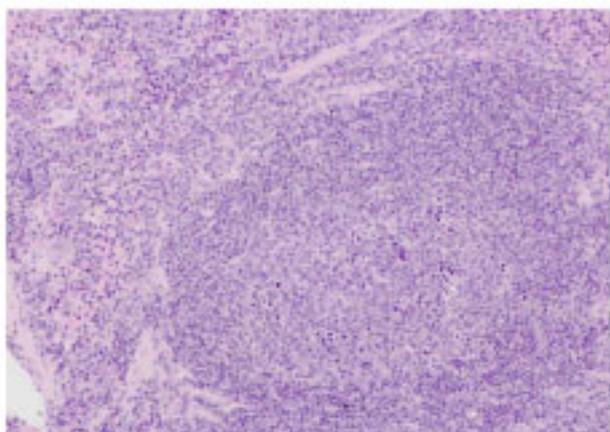


写真10. 脾臓の組織像 (W/Wvマウス, 2000ppb)

左: 白脾髄に胚中心を有したリンパ濾胞がみられる。 HE 染色 10×3.3

右: 拡大, 胚中心や濾胞辺縁体には、好酸球や形質細胞が散見される。 HE 染色 40×3.3

## 6.ホルムアルデヒド曝露した肥満細胞欠損マウス(WBB6F1-W/Wv) と その正常対照マウス (WBB6F1-+/+)の免疫系への影響

### B. 炎症性反応について

研究者：藤巻秀和（独立行政法人国立環境研究所）

研究協力者：黒河佳香（独立行政法人国立環境研究所）

樺田尚樹（産業医科大学）

#### （１）研究要旨

くしゃみ様症状の増加に肥満細胞が関与する機構について解明するために、肥満細胞欠損マウス(WBB6F1-W/Wv) とその正常対照マウス (WBB6F1-+/+)を用いて、ホルムアルデヒド曝露により誘導される炎症反応について比較検討した。その結果、肺胞洗浄液中への炎症性細胞の集積においては、W/Wvマウスと +/+マウスでホルムアルデヒド曝露による違いが認められた。脾細胞におけるサイトカイン産生、及び血漿中の抗体価において増強は認められなかった。神経成長因子であるNGFや炎症誘導の神経ペプチドであるSubstance Pについては、ホルムアルデヒド曝露による変動は両マウスの血漿中では認められなかった。

#### （２）研究目的

MCSの発症と低濃度化学物質曝露との関連について検索するためには、アレルギー反応とは異なる過敏状態の誘導の有無について調べることが重要である。そこで、低濃度ホルムアルデヒド曝露の免疫系への影響と抗原感作により誘導される即時型、あるいは遅発型のアレルギー反応との差異や関連について明らかにすることを目的として研究を進めている。MCS患者の中にはアレルギー疾患の既往歴のある人が60%近く含まれるという報告もみられているので、MCSの発症と免疫系との何らかの関連性が推測される。昨年度までに、行動毒性への影響検索において、くしゃみ様症状の増加がホルムアルデヒド曝露に依存して増加することが明らかになった。さらに、抗原の吸入感作によるアレルギー性炎症モデルにおいてホルムアルデヒド曝露による顕著なくしゃみの増加が観察された。そこで、本年度は、その機構を解明するために、肥満細胞欠損マウスと正常対照マウスに2000 ppbの濃度でホルムアルデヒド曝露と抗原エアロゾル感作を行い、そのときの炎症反応について比較検討した。

#### （３）研究方法

##### 1) 実験動物

8週齢の雌肥満細胞欠損マウス(WBB6F1-W/Wv) とその正常対照マウス (WBB6F1-+/+)をJackson Lab.より購入し、2週間馴化後10週齢より曝露実験に供した。ホルムアルデヒドの曝露は、2000ppb 曝露群とコントロール群の2群で12週間行った。

##### 2) アレルギー性炎症モデルの作成

抗原の吸入感作を繰り返すことにより肺への炎症性細胞の集積と抗原特異的 IgE 抗体産生増強を示すマウスモデルを作成した。まず、ホルムアルデヒド曝露前に10 µg/マウスの濃度で卵白アルブミン(OVA)を2 mg alum とともに腹腔内投与し、以後ホルムアルデヒド曝露期間中 OVA のみの

エアロゾル感作を3週間に1回の割合で行った。最終投与の1週間後、ネンプター麻酔下で肺胞洗浄液、脾臓の採取と採血を行った。

### 3) 炎症性細胞の算定と細胞増殖、サイトカイン・ケモカイン産生の測定

肺胞洗浄液中の炎症性細胞の集積については、洗浄液を遠心後に細胞数を算定しサイトスピン標本を作成し、ディフクイック(国際試薬)で染色して検索した。脾臓細胞は、スライドグラスを用いて細胞をばらばらにし、遠心により洗浄したあと細胞数を算定した。一部は、WST-1(Roche)を用いた48時間での細胞増殖試験に、他はin vitroでOVAと共に24時間と48時間培養した。培養上清は、使用時まで-80に保存した。肺胞洗浄液中、培養上清中、あるいは脳内のサイトカイン・ケモカイン産生量について、インターロイキン(IL)-4, IL-5, IL-10, monocyte chemotactic protein (MCP)-1, macrophage inflammatory protein (MIP)-1 $\alpha$ , KC (Endogen, R&D Systems,あるいはBiosource International), Substance P (Assay Designs Inc.)と nerve growth factor (NGF) (Promega)のELISAキットを用いてそれぞれ測定した。

### 4) 抗体価の測定

血漿中の抗原特異的IgE抗体価は、anti-mouse IgE, biotinylated OVAを用いてのELISA法で測定した。抗原特異的IgG1,IgG2aは、HRP標識したanti-mouse IgG1,IgG2aをそれぞれ用いてELISA法で測定した。また、総IgE(ヤマサ)もELISA法により測定した。

### 5) 統計処理

測定データは平均値 $\pm$ SEで表示し、全体の分散分析と個々の対照群と暴露群間の有意差の検定は、Student's *t*-testにより行った。

## (4) 研究結果

### 1) 肺胞洗浄液中での炎症性細胞の変動

ホルムアルデヒド曝露と抗原感作終了後に、肺胞洗浄液を採取して、総細胞数とその細胞成分について検討した。総細胞数については、W/Wvマウスと+/+正常マウスにおいて対照群と比べホルムアルデヒド曝露による増加はみられなかった(表1)。しかしながら、炎症性細胞の割合においては、両系統間で違いがみられた。+/+マウスでは対照群と比べホルムアルデヒド曝露群で肺胞マクロファージの数に顕著な増加がみられた。しかしながら、他の好中球(Ne)、好酸球(Eo)、リンパ球(Ly)では曝露群と対照群との間に差はみられなかった。W/Wvマウスでは、肺胞マクロファージの数には影響がみられないものの、好酸球とリンパ球においてホルムアルデヒド曝露による有意な増加が認められた。

### 2) 脾臓細胞における細胞増殖とサイトカイン産生

ホルムアルデヒド曝露終了後に採取した脾細胞を培養してWST-1アッセイで抗原刺激による増殖反応を調べたところ、W/Wvマウスと+/+マウスでともにホルムアルデヒド曝露群での有意な増加が認められ、W/Wvマウスのほうがより顕著であった(図1)。なお、in vitroでの抗原刺激なし(-OVA)群でもホルムアルデヒド曝露による増加がみられた。次に、脾細胞の活性化の指標としてのサイトカイン産生を抗原と共に培養したときの上清で測定した。Th2タイプのサイトカ

インである IL-4(a), -5(b), -10(c)の産生では、ホルムアルデヒド曝露群と対照群とで有意な差はみられなかった(図2)。Th1 タイプのサイトカインである IFN- $\gamma$ 産生量(d)の比較では、+/+ マウスでは抗原刺激の有無にかかわらず産生はみられなかったが、W/Wv マウスでは抗原刺激により産生が誘導された。しかしながら、ホルムアルデヒド曝露の影響はみられなかった。

### 3) 抗原特異的抗体価の変動

全身的なホルムアルデヒド曝露の影響の指標としての抗原特異的抗体価について比較検討した。血漿中での抗 OVA IgE 抗体価においては、+/+ マウスでは曝露の影響は見られず、W/Wv マウスにおいてはホルムアルデヒド曝露群の方がやや低下傾向を示したが、有意差はみられなかった(図3a)。抗 OVA IgG1 抗体価については、両系統でまったく曝露の影響は認められていない(図3b)。抗 OVA IgG2a 抗体価においては、+/+ マウスでは曝露の影響は見られず、W/Wv マウスにおいてはホルムアルデヒド曝露群の方がやや増加傾向を示したが、有意差はみられなかった(図3c)。

### 4) 血漿中でのサイトカイン、神経ペプチドの変動

前報告で、ホルムアルデヒド曝露により皮膚病変の増悪が観察されていたので、炎症に関連するサイトカイン、ケモカイン、神経ペプチドについて血漿中での変動について検討した。好酸球の活性化因子であり、アレルギー反応の増悪に関連する IL-5 については、+/+ マウスではホルムアルデヒド曝露による低下傾向がみられ、W/Wv マウスにおいては逆にホルムアルデヒド曝露群の方がやや増加傾向を示したが、ともに有意な差はみられなかった(図4)。好中球の遊走にかかわる KC ケモカインと単球、活性化した T 細胞、未熟樹状細胞などのケモカインである Th2 タイプの反応に関連する MCP-1 を測定した。その結果、KC 産生では+/+マウスでの変動はなく、W/Wv マウスではホルムアルデヒド曝露による増加傾向がみられた(図5a)。MCP-1 産生では、ホルムアルデヒド曝露による有意な差はみられなかったが、W/Wv マウスではホルムアルデヒド曝露による増加の傾向が認められた(図5b)。知覚神経終末から分泌され神経性炎症誘導にかかわる Substance P を血漿中で測定したが、両マウスでホルムアルデヒド曝露による有意な増減はみられなかった(図6)。

次に、昨年度脳内で顕著な変動がみられた NGF 産生について、肺胞洗浄液と血漿中で測定して比較した。その結果、肺胞洗浄液中では、両マウスで増減は認められなかった(図7a)。血漿中では、両マウスでホルムアルデヒド曝露による増加の傾向が見られたが、有意な差ではなかった(図7b)。

### (5) 考察

W/Wv マウスと+/+マウスを用いて、2000 ppb ホルムアルデヒド曝露と抗原感作とで誘導されるくしゃみ様症状の機構について検討した。くしゃみ様症状の回数については差がなく、肥満細胞の関与はあまり大きくないと思われる(行動毒性の項参照)。他のアレルギー性炎症について比較すると、脾臓でのサイトカイン産生、血漿中でのケモカイン産生では、いずれも W/Wv マウスの方でホルムアルデヒド曝露による増強傾向が認められている。しかしながら、抗原特異的 IgE 抗体価や IgG1 抗体価の結果に見られるように、Th2 タイプへの偏りはみられなかった。肺胞洗浄液における炎症性細胞の集積については、W/Wv マウスと+/+マウスとで顕著な差が認められ、

肥満細胞欠損マウスの方がより好酸球が増加した知見は興味深い。しかしながら、好酸球の活性化、遊走に關与する Eotaxin や IL-5 などでの顕著な増加はみられていない。皮膚病変の増加に伴う炎症に關与すると考えられた NGF や substance P のレベルは、血漿中では特に変動はみられなかったが、局所においてはどのように変動しているのか不明である。全般的に、2000 ppb ホルムアルデヒド曝露により有意な差はみられなかったものの、W/Wv マウスの方がサイトカイン系の増加傾向が認められ、肥満細胞が欠損していることで肥満細胞の機能を補填するための別の機構が過敏に反応しようとしているのかもしれない。

#### ( 6 ) Abstract

Effect of repeated formaldehyde exposure on immune response to OVA in WBB6F1-W/Wv and WBB6F1-+/+ mice

To study the effect of repeated formaldehyde exposure on immune response to OVA in mast cell deficient WBB6F1-W/Wv and normal WBB6F1-+/+ mice, changes in the number of inflammatory cells of bronchoalveolar lavage fluid and cytokine production in plasma of mice were investigated. Formaldehyde exposure did not show any significant increase in total number of bronchoalveolar lavage fluid cells in both strains of mice. In bronchoalveolar lavage fluid in WBB6F1-W/Wv mice, exposure to formaldehyde significantly increased the numbers of eosinophils and lymphocytes. Exposure of +/+ mice to formaldehyde markedly increased the number of macrophages. There was a mild increase of IL-5 and KC production in plasma of formaldehyde-exposed WBB6F1-W/Wv mice. However, there was no significant difference of OVA-specific IgE and IgG1 antibody production in WBB6F1-W/Wv and +/+ mice. These things suggest that exposure of mast-cell deficient WBB6F1-W/Wv mice to 2000 ppb formaldehyde may induce a minor immune response to OVA.

低濃度長期ホルムアルデヒド曝露による免疫系への影響について、3年間の成果をまとめると以下のようなものである。

1 .ホルムアルデヒド曝露のみによる免疫系への影響としては、肺泡マクロファージの増加、脳内 IL-1 の増加 (2000ppb)、血漿中での MCP-1 の減少、KC と Substance P の有意な増加 (2000ppb) がみられた。これらの結果は、ホルムアルデヒド曝露のみでは 2000ppb の濃度曝露が免疫系に影響を及ぼし、過敏反応にかかわる可能性を示唆している。

2 .抗原感作とホルムアルデヒド曝露による免疫系の変動では、invitro での IFN- と IL-2 産生の抑制、あるいは MCP-1 の増加 (400, 2000ppb) がみられた。肺泡洗浄液中での IL-1 の低下(2000ppb)、NGF の 80, 400 での有意な低下が認められた。

3 .抗原感作と 2000ppb 曝露による肥満細胞欠損マウスへの影響については、くしゃみ様症状の増加に肥満細胞はあまり積極的には關与していないことが示唆され、このマウスは肺泡洗浄液中

の炎症性細胞の割合の変化を除いて血漿中成分においては顕著な変動はみられなかった。しかしながら、神経系の刺激を介したと考えられる皮膚病変は比較的早期から観察されたため、ホルムアルデヒドの感覚神経の刺激作用を解明するためには新たな指標になりえると考えられる。

4．抗原感作とホルムアルデヒド曝露の脳内での変動として、NGF が 80 と 400ppb で増加し、海馬での NGF mRNA の発現増強もみられた。また、400ppb で海馬と扁桃体における NMDA 型グルタミン酸受容体やドーパミン D1 受容体で顕著な変動が認められたことは、ホルムアルデヒド単独では分子発現の変動がみられないような濃度でも免疫刺激が加わることで脳における分子レベルの動きが誘導されることから、過敏状態に繋がる可能性を示唆している。

表1 FA曝露した肥満細胞欠損マウスの脾臓洗浄中の炎症性細胞数の変動

WBB6F1/J		総細胞数 ( $10^6$ )	M $\phi$	Ne	Eo	Ly
+/+	C	10.0 $\pm$ 0.7	3.84 $\pm$ 0.28	0.07 $\pm$ 0.02	4.96 $\pm$ 0.26	1.17 $\pm$ 0.10
	FA	12.1 $\pm$ 1.2	6.09 $\pm$ 0.55*	0.08 $\pm$ 0.02	4.69 $\pm$ 0.52	1.22 $\pm$ 0.11
w/w <sup>r</sup>	C	13.1 $\pm$ 1.2	7.58 $\pm$ 0.75	0.02 $\pm$ 0.01	4.16 $\pm$ 0.71	1.36 $\pm$ 0.17
	FA	12.9 $\pm$ 2.8	8.54 $\pm$ 0.92	0.02 $\pm$ 0.01	6.85 $\pm$ 1.01*	2.33 $\pm$ 0.13*

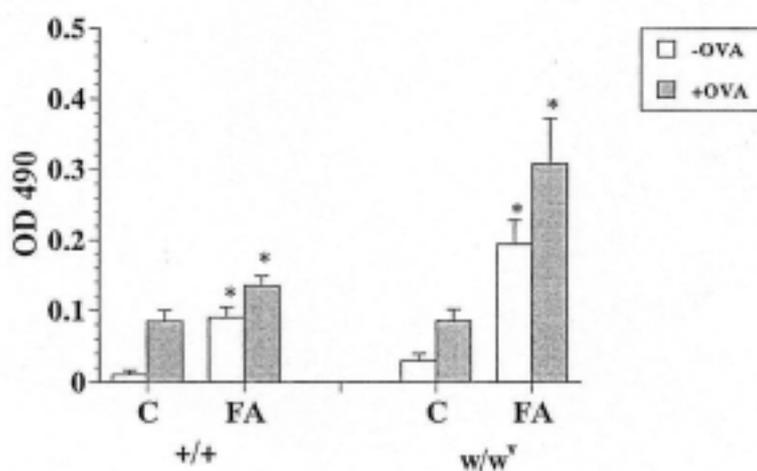


図1 FA曝露した肥満細胞欠損マウスの脾細胞の増殖反応

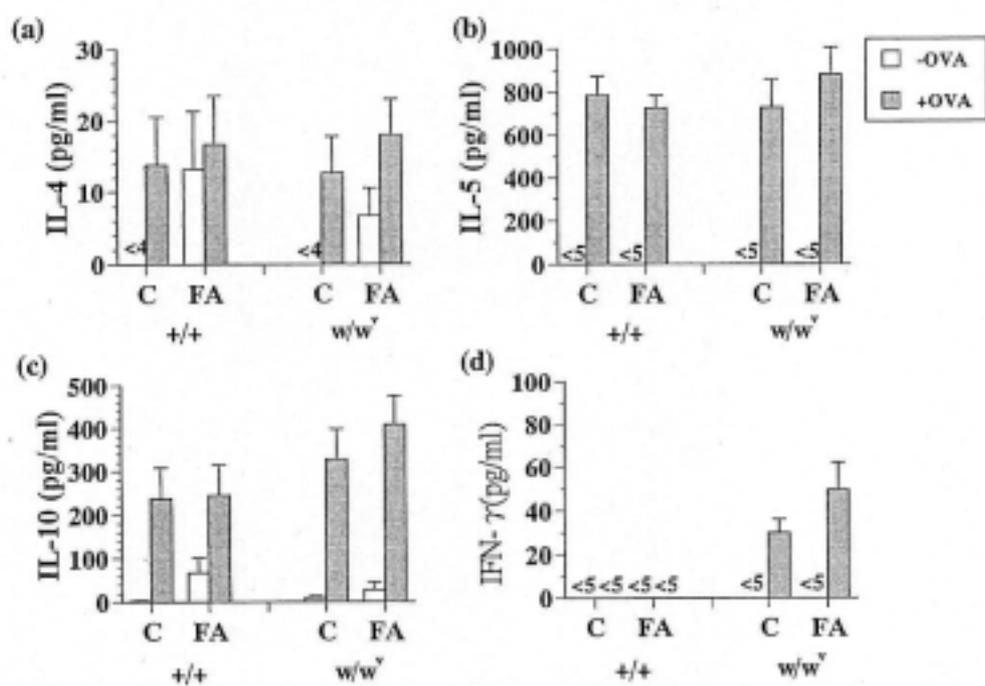


図2 FA曝露した肥満細胞欠損マウスの脾臓細胞培養上清中のサイトカイン産生

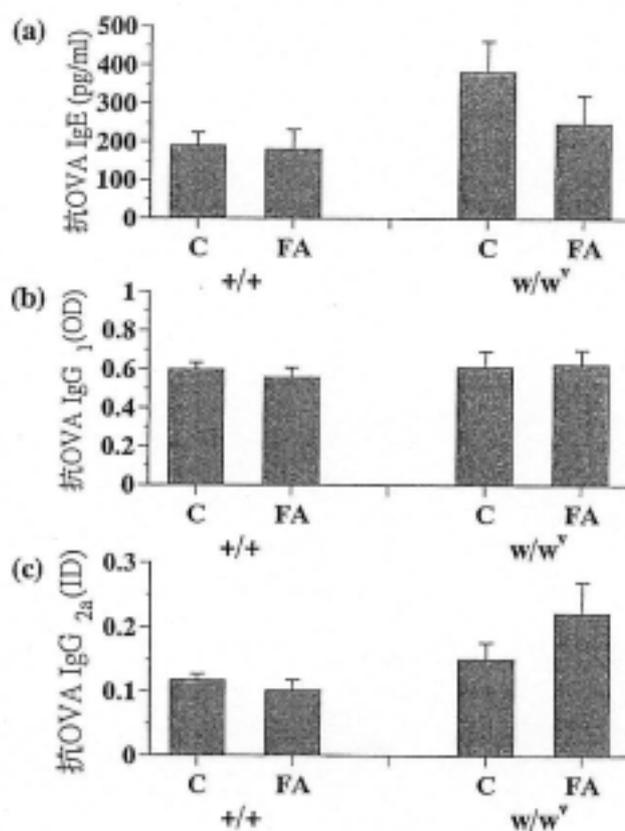


図3 FA曝露による血漿中の抗体価の変動

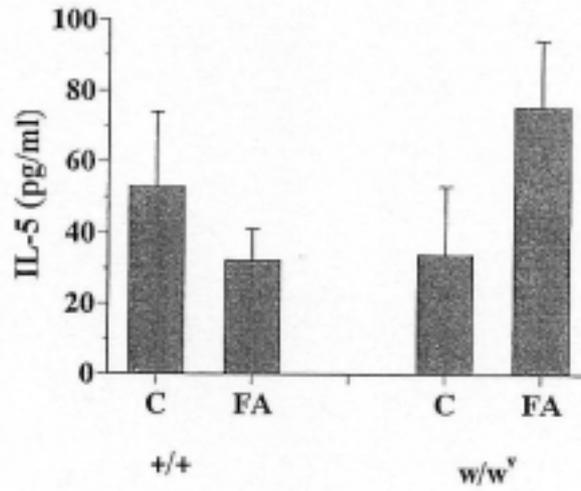


図4 FA曝露した肥満細胞欠損マウスの plasma中のIL-5産生

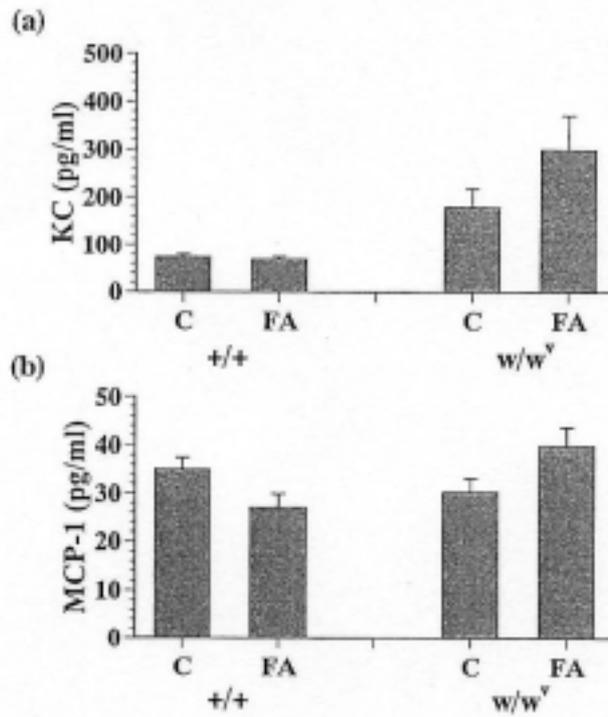


図5 FA曝露した肥満細胞欠損マウスの血漿中の KC(a)とMCP-1(b)産生

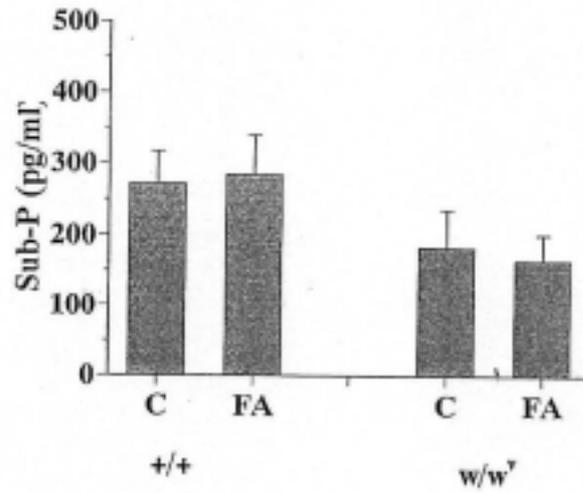


図6 FA曝露した肥満細胞欠損マウスの血漿中のSubstance-P量

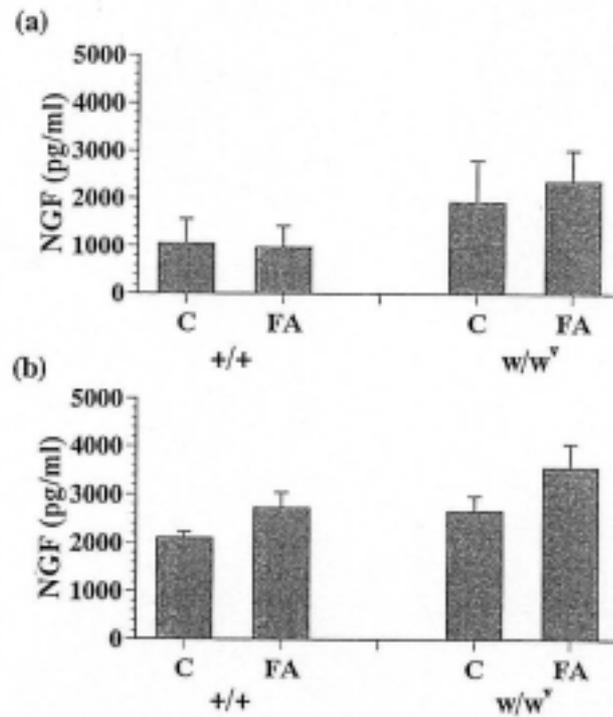


図7 FA曝露した肥満細胞欠損マウスのBALF中(a), 血漿中(b)のNGF量

## 7. 行動毒性における研究成果

研究協力者： 櫻田尚樹・嵐谷奎一（産業医科大学・産業保健学部）

### （1）研究要旨

これまでの研究において、ホルムアルデヒド低濃度経気道曝露によりマウスにくしゃみが誘発されることを確認した。今年度は、C3H/HeN マウスにおいてトルエンを前曝露した群およびOVA感作した群、さらに肥満細胞欠損モデルマウスについてホルムアルデヒド3ヶ月曝露終了時におけるくしゃみを観察した。その結果、C3H/HeN マウスにおいては昨年までの結果同様にホルムアルデヒドの曝露濃度依存的にくしゃみの増加が観察された。また、トルエン前曝露の影響は認められなかったが、OVAを感作することにより有意にくしゃみの頻度が増加し、昨年観察されたように今年も80ppbにおいても有意なくしゃみの増加が認められた。一方、肥満細胞欠損モデルマウスにおいては、有意なくしゃみの増加は認められなかった。このことは、観察されたくしゃみに肥満細胞が関与していないことが示唆された。

### （2）研究目的

低濃度ホルムアルデヒド曝露の影響として、過去2年間は、自発運動能の変化等を評価したが、ホルムアルデヒド曝露による明確な変化は観察されなかった。一方、曝露によりくしゃみの増加が観察され、定量評価を行ってきた。

今年度は、運動能に関しては、自発運動量、記憶学習に関して別項の海馬グループのところでもとめて示す。

本項では、くしゃみについて昨年度まで同様に定量評価するとともに、肥満細胞欠損モデルマウスであるW/W<sup>v</sup> マウスについてもくしゃみの定量化を行い、くしゃみと肥満細胞の関与についても検討する。

### （3）研究方法

くしゃみの定量法：3ヶ月曝露終了時点において、各マウスを一匹用個別ケージに入れ、15分間目視にてくしゃみをカウントした。

### （4）結果

くしゃみの変化：

1) 濃度依存性：C3H/HeN マウスにホルムアルデヒドだけを曝露した結果では、昨年まで同様に、曝露濃度依存的なくしゃみの増加を認めた(図1)。

2) トルエン前曝露の影響：C3H/HeN マウスにおいて、トルエンを前曝露した群も、していない群もホルムアルデヒドの濃度依存的なくしゃみの増加は同様な傾向を示し、トルエン前曝露の影響は認められなかった(図2)。

3) OVA感差の影響：昨年まで同様に、OVA感作群では、非感作群に比較し、有意に高い頻度でくしゃみを認めた。とくに、OVA感作群では80ppbにおいても有意なくしゃみの増加を観察した(図3)。

4) 肥満細胞欠損モデルにおける検討：肥満細胞欠損モデルマウスであるW/W<sup>v</sup> マウスとコン

トロール群の+/+を比較すると、W/W<sup>v</sup> マウスの方が多い傾向を認めたが、統計的には両系統で有意差を認めなかった。しかも両群ともホルムアルデヒド 2000ppb 曝露と非曝露群で差を認めなかった(図 4)。

#### ( 5 ) まとめ

C3H/HeN マウスにおいては、今年度もホルムアルデヒドの曝露濃度依存的なくしゃみの増加が観察された。しかも OVA 感差群においては 80ppb という低濃度においてもくしゃみの誘発されたことは、本病態を考えていく上で意義深いものと思われる。またくしゃみの発生および抑制メカニズムに関して、肥満細胞欠損モデルマウスにおいては、有意なくしゃみの増加は認められなかった。このことは、観察されたくしゃみに肥満細胞が関与していないことが示唆された。

#### ( 6 ) Abstract

Sneezing after repeated formaldehyde exposure in mice

Naoki Kunugita, Keiichi Arashidani

School of Health Sciences, University of Occupational and Environmental Health, Japan.

We observed that frequency of sneeze in each animal. The frequency of sneeze increased dose-dependently in C3H/He mice at the end of exposure for three month. The frequency in the groups of mice previously sensitized with OVA is significantly high in comparison with non-sensitized mice. On the other hand, there were no significant increase of sneeze in mast cell deficient WBB6F1-W/W<sup>v</sup> and unaffected WBB6F1-+/+ mice.

図1 ホルムアルデヒド曝露によるくしゃみの増加の濃度依存性

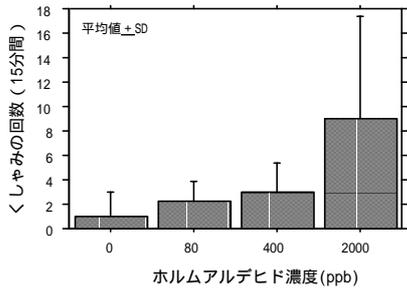


図2 トレン前処理マウスの曝露終了時点でのくしゃみの回数

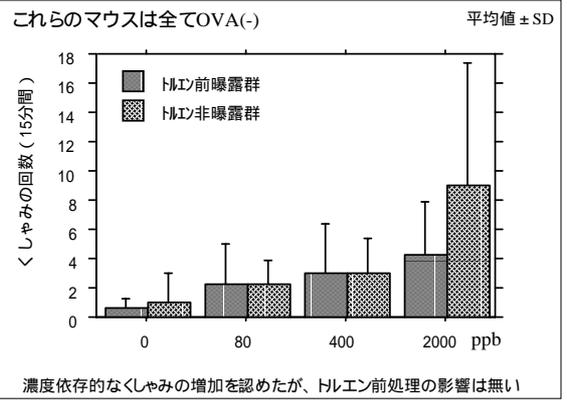


図3 OVA感作処理マウスの曝露終了時点でのくしゃみの回数

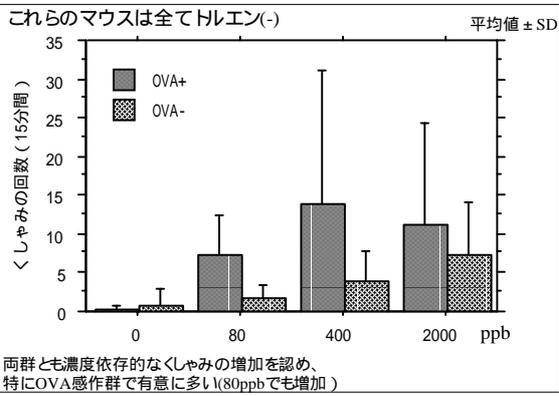
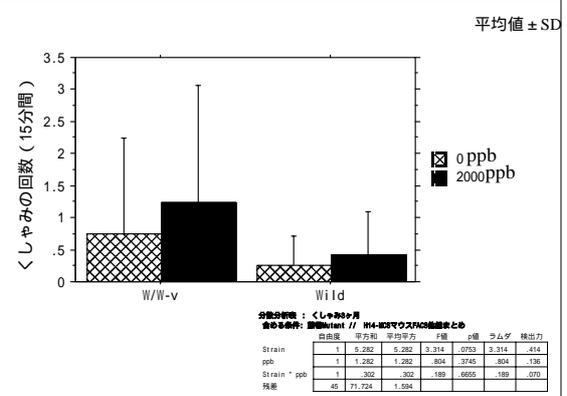


図4 肥満細胞モデルマウスの曝露終了時点でのくしゃみの回数



## 8 . 化学分析における成果

研究協力者： 櫻田尚樹・嵐谷奎一（産業医科大学・産業保健学部）

### （ 1 ）研究要旨

今年度新たに用いた肥満細胞欠損モデルマウス W/W<sup>v</sup> において強度の皮膚病変を呈したため、マウスの飲料水などにホルムアルデヒド以外の揮発性有機溶剤 VOCs などの混入を含め水質に異常がないか検討した。その結果、測定したクロロホルムは日本の環境基準の約 1/10、トリクロロエチレンは検出限界以下と低値であった。マウスの飲料水中の残留塩素濃度は、水道法の水質基準をみたしており、かつ北九州市水道局水質検査結果と同程度であった。また、以前から試みているバイオマーカーの検索としてホルムアルデヒド-ヘモグロビン付加体の測定法の改良や、今年度は新たに酸化ストレスの代表的マーカーである尿中 8-OHdG (8-ヒドロキシデオキシグアノシン) の ELISA 法による測定を試みた。しかし、2000ppb までの濃度では、これらに曝露の影響を認められなかった。

### （ 2 ）研究目的

今年度実験で、別項に述べたように W/W<sup>v</sup> マウスにおいて強度の皮膚病変を呈したが、ホルムアルデヒド曝露以外に飲料水中の各種 VOCs 類（クロロホルム、トリクロロエチレン）などの影響が無いか検討した。さらに、ホルムアルデヒド曝露によるバイオマーカーを検討するひとつとして、昨年に引き続きホルムアルデヒド-ヘモグロビン付加体（以下 HCHO-Hb 付加体）の検討を行った。加えて、ホルムアルデヒド曝露による生体影響として酸化ストレスが加わっていないかを検討するために、酸化ストレスの代表的マーカーである尿中 8-OHdG (8-ヒドロキシデオキシグアノシン) を ELISA 法で測定した。

### （ 3 ）研究方法

#### 1 ) 飲料水の分析

##### マウスの飲料水中のクロロホルム、トリクロロエチレン分析

衛生試験法・注解 2000（日本薬学会）に添って行った。すなわち、マウス給水用水道水をバイアル瓶に 5ml 採取、塩化ナトリウム（純度 99%）1.5g 添加し、よく混合溶解した後（NaCl の添加は、塩類濃度の違いによる測定値の変動を防ぐためである）、25℃ の恒温槽で 30 120 分静置したものを測定試料とした（5 本）。検量線用のサンプルは、純度 99% のクロロホルム及びトリクロロエチレンをそれぞれ 100mg 秤量し、メタノール（精密分析用）で 100ml にメスアップして 1mg/ml の Mix STD を調整した。それを希釈し、100 µg/ml、200 µg/ml、300 µg/ml を作成した。試料調整同様に 蒸留水 5ml+NaCl に各々の希釈液を 1 µl 入れ、20ng/ml、40ng/ml、60ng/ml の標準液を作成した（絶対検量線）。これらをヘッドスペース・ガスクロマトグラフィー質量分析法により分離・定量した。

##### マウスの飲料水中の残留塩素分析

残留塩素はジエチル-p-フェニレンジアミン(DPD)法により以下のように定量した。すなわち、  
ア．器具・試薬

DPD 溶液：無水 N,N-ジエチル-p-フェニレンジアミン硫酸塩 0.11 g を水に溶かして全量が

100 mL となるようにしたものに CyDTA(1,2-シクロヘキサン-ジアミン四酢酸)0.01 g を加えて、透明ガラス瓶中に貯蔵した(冷暗所保存)

リン酸塩緩衝液: 0.2 mol/L の  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  溶液 50 mL, 0.2 mol/L の水酸化ナトリウム溶液 15.2 mL の割合で pH 6.5 に調整した液 100 mL に CyDTA を 0.1 g 溶かした。

標準比色液調製用  $\text{KMnO}_4$  溶液:  $\text{KMnO}_4$  を  $0.891 (=35.45 / (39.1 + 54.9 + 16 \times 4) / 0.253)$  g、水に溶かして全量を 1000 mL とし、原液とした。用時、これを 0.5, 1, 2, 4 mL とって水で希釈して 1 L にした溶液は、それぞれ、0.5, 1, 2, 4 mg/L の塩素水に相当する。

比色管 50 mL 容: 検量線作成時は 4 本。検水測定時は 2 本準備した。

#### イ. 方法

4 本の比色管にそれぞれリン酸塩緩衝液を 0.5 mL とり、DPD 溶液を 0.5 mL 加えて混和した。各濃度の「標準比色液調整用過マンガン酸カリウム溶液」を 10 mL ずつ加えて混和した。すみやかに 510 nm 付近の吸収極大における吸光度(SHIMADZU UV-2200A)を測定して検量線を作成した。

次いで、2 本の比色管にそれぞれリン酸塩緩衝液を 0.5 mL とり、DPD 溶液を 0.5 mL 加えて混和した。

それぞれに検水を 10 mL ずつ加えて混和した。

1 本の比色管についてすみやかに 510 nm 付近の吸収極大における吸光度を測定し、作成済みの検量線から遊離残留塩素濃度(mg/L)を算出した。

残りの 1 本の比色管について、KI を約 0.1 g 加えて溶解し、約 2 分間放置した。

510 nm 付近の吸収極大における吸光度を測定し、作成済みの検量線から全残留塩素濃度(mg/L)を算出した。

全残留塩素濃度と遊離残留塩素濃度との差から結合残留塩素濃度(mg/L)を算出した。

なお、水中の塩素は分子状塩素  $\text{Cl}_2$ 、次亜塩素酸  $\text{HClO}$ 、次亜塩素酸イオン  $\text{ClO}^-$  の 3 種類の形態をとる。これらはいずれも遊離残留塩素である。水中にアンモニア、アミン類、アミノ酸などの水素化窒素化合物が存在すると、塩素と反応して  $\text{NH}_2\text{Cl}$ 、 $\text{NHCl}_2$  などのクロラミンを生成する。これらのクロラミン類を結合残留塩素という。

#### 2) HCHO-Hb 付加体測定

昨年度は付加体測定法として、誘導体を形成する試薬として DNPH (2,4-Dinitrophenyl hydrazine Hydrochloride) あるいは cyclohexane-1,3-dione を用いて反応させた後、HPLC で分析測定したが十分な測定ができなかった。今回、Dimedone (5,5 dimethyl 1,3cyclohexanedione) による誘導体形成を行い、HPLC-蛍光分析を試みた。

#### 3) 尿中 8-OHdG 測定

代謝ケージで蓄尿採取した尿を ELISA キット: 8-OHdG Check(高感度)キット(日本老化制御研究所)を用いて分析した。

#### 4) Corticosterone の測定

Corticosterone の測定は、解剖時採取した血漿を -80 度で保存した後、ICN ImmChem Double Antibody Corticosterone 125I RIA Kit for Rats and Mice を用いて、ラジオイムノアッセイ

(RIA)により測定した。

#### (4) 結果

##### 1) 飲料水の分析

クロロホルム濃度は7.04ppbであり、トリクロロエチレンは検出されなかった(図1)。残留塩素は、遊離残留塩素が0.54mg/L, 総残留塩素が0.67 mg/Lであった(図2)。これらの値は北九州市水道局の給水栓における水質検査結果と合致しており、日本の水質基準値と比較しても問題ないものであった。

##### 2) HCHO-Hb 付加体測定

図3に示すように採血した赤血球を生理食塩水で洗浄後、溶血して測定試料とした。これを図4に示すようにDimedoneを用いた誘導体形成法により比較的安定した測定法を確立できた。その結果、図5に示すようにホルムアルデヒドの良好な分離が可能で安定性の高い測定法が確立できた。しかしこの方法で一部のマウスの試料を測定したがホルムアルデヒド曝露による差は認められなかった(図6)。

##### 3) 尿中 8-OHdG 測定

サンプル数が少ないが1~6 µg/g Creatinine程度を示した。ホルムアルデヒド曝露の影響は無かった。今後サンプル数を増やして再度検討する予定である(図7)。

##### 4) Corticosterone の測定

C3H/HeN マウスにおけるCorticosterone濃度は、OVA感作群、あるいはトルエン前曝露群ともホルムアルデヒドの曝露濃度による変化は認めなかった(図8)。このことは、別項で述べられている視床下部-下垂体軸での鋭敏な変化に比較し、副腎での反応は比較的恒常性が保たれているものと考えられる。

#### (5) まとめ

飲料水の水質に関しては、特に問題は無いことが判明した。またバイオリジカルモニタリングとして、検討したHCHO-Hb付加体、尿中8-OHdGにはホルムアルデヒド曝露による差は認めなかった。これらの指標はこの程度の曝露濃度では変化しないものと考えられた。

#### (6) Abstract

Hemoglobin-associated HCHO level and 8-OHdG in HCHO exposed mice

Naoki Kunugita, Keiichi Arashidani

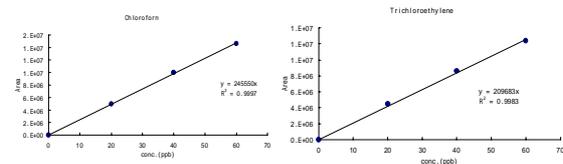
School of Health Sciences, university of Occupational and Environmental Health, Japan

Blood samples of mice were centrifuged to separate plasma and erythrocyte. The erythrocyte samples were washed in normal saline and were incubated in saline overnight at 4°C to remove the unstable adduct of aldehyde from hemoglobin. The red cells were

hemolyzed with distilled water and CCl<sub>4</sub>. Stroma were removed by centrifugation. HCHO associated with hemoglobin was reacted with acidified 5,5- dimethyl-1,3-cyclohexanedione and was determined by reversed-phase high- performance liquid chromatography with UV detection at 395nm and 460nm as excitation and emission wavelengths. Concentration of 8-OHdG (8-Hydroxy-2'- deoxyguanosine) was evaluated by ELISA system. In the results, there were no differences in concentration of HCHO associated with hemoglobin and 8-OHdG between the groups of mice exposed and unexposed to formaldehyde.

図1 マウス飲料水の分析 (VOCs)

飲料水中のVOCs(クロロホルム、トリクロロエチレン)分析  
 —ヘッドスペース・ガスクロマトグラフィー法による定量—  
 衛生試験法 注解2000 (日本薬学会)

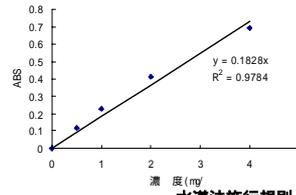


測定結果とWHOガイドライン値および日本の水質基準値との比較

	Chloroform (ppb)	Trichloroethylene (ppb)
マウス給水水道水	7.04 ± 0.22	ND
WHO	200	70
日本水質基準	60	30

図2 マウス飲料水の分析(残留塩素濃度)

マウス飲料水中の残留塩素分析  
 - ジエチル-p-フェニレンジアミン(DPD)法による定量 -



水道法施行規則、北九州市水道局水質検査との比較

	遊離残留塩素	残留塩素
マウス給水水道水	0.54 ± 0.002mg/l	0.67 ± 0.004mg/l
水道法	0.1mg/l以上	
北九州市水道局水質検査結果	0.6mg/l	

図3 ヘモグロビン付加体の測定方法

ヘパリン採血

遠心分離 (2800rpm 5m n)

生理食塩水を加え、遠心分離 (2000rpm 5m n) × 3回

蒸留水で溶血、CC 4添加遠心してdebris除去

高速遠心分離 (20,000g, 4, 10m n)

誘導体試薬と反応

図4 HCHO-Hb測定方法 (im edone)

溶血させた血液  
 +反応試薬  
 沸騰水で反応

冷却

+酢酸添加  
 高速遠心分離 (15,000rpm, 4, 10min)

HPLC

反応試薬: 5,5 dimethyl 1,3cyclohexanedione 0.15g

酢酸アンモニウム 12.5g

酢酸 0.2ml

蒸留水で50mlにメスアップ

- HPLC条件: Wakosil-II)5C 18 (250mm × 0.4mm, ID.)
- 励起波長: 395nm, 測定蛍光波長: 460nm
- 移動相: 水/アセトニトリル = 60/40 (v/v)

図5 HCHOの検量線と標準溶液のクロマトグラム

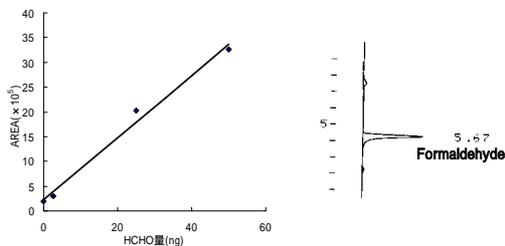


図6 血液試料のクロマトグラム



HCHO量 (μmol/g Hb)	
曝露群	1 1.7
	2 2.2
非曝露群	1 1.9
	2 2.4

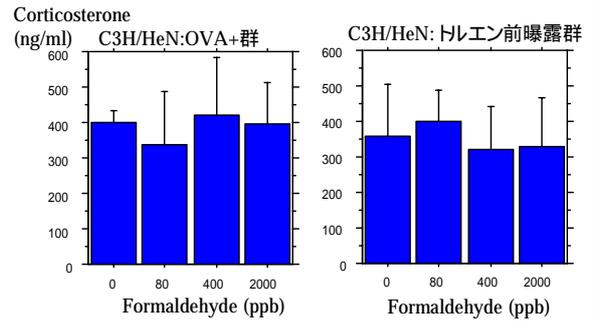
図7 尿中 8-OHdG の測定

- 酸化ストレスの代表的なマーカーである尿中8-OHdG (8-ヒドロキシデオキシグアノシン)をELISA法で測定
- キット 8-OHdG Check(高感度)キット

日本老化制御研究所

- 結果 :1~6  $\mu\text{g/g}$  Creatinine程度を示すが、ホルムアルデヒド曝露の影響は無さそう。今後サンプル数を増やして再度検討予定。

図8 血漿中のコルチコステロン濃度



付録

Ann NY Acad Sci vol 933 2001 要訳

The role of neural plasticity in chemical intolerance

化学物質不耐性における神経の可逆性

編集兼学会組織委員

Barbara A. Sorg and Iris R. Bell

この巻はニューヨークのロックフェラー大学で2000年6月16日から19日間かけて Newyork Acsdemy of Science により「The role of neural plasticity in chemical intolerance」の名称で行われた結果である

## 序文

不思議さは知らないことの娘であり、不思議さの対象が大きいほど不思議さが増す。VICO

化学物質不耐性は低濃度環境化学物質で引き起こされる病気の感じを表現する時に使用され、しばしば多種類化学物質と互換性をもって使用される状態である。化学物質不耐性は多種類化学物質過敏症の極印である。とはいえ、化学物質不耐性は多種類化学物質過敏症、湾岸戦争症候、慢性疲労症候群、線維筋痛症、有機溶媒暴露作業者を含めたもっと幅広い患者群を表現する時に使用される。化学物質不耐性は環境医学で生じている重要問題であり、米国での有病率は5%にのぼっている。ただこの調査値はほんの少数の論文を下にしたものであり、もっと調査が必要であるが人件費の関係で難しい。化学物質不耐性の患者はもはや通常の世界には住めなくなってしまう。なぜなら、多彩な症状が一般的な化学物質や食物に反応して出現してくるからである。これらの患者は身体的にも情緒的にも孤立し、またその経過はよく分かっておらず、さらに明確な一般に受け入れられるような治療法がない。

論議が多い疾患のために、化学物質不耐性や多種類化学物質過敏症の単一の定義は存在していない。研究者達や臨床医達の間には統一した見解はない。しかしすべての関係者が同意していることは、化学物質不耐性や多種類化学物質過敏症患者は非常に患っていることである。確実な障害としての化学物質不耐性や多種類化学物質過敏症の真実についての議論が今後も続くことは間違いない。

本シンポジュームの目的は討論をまとめることではない。化学物質不耐性や前記の疾患に関する多くの可能性が出てくるであろう。症状が非常に多岐にわたるために、特定の仮説をテストする要点を見つけようとしての努力がなされてきている。これら疾患の原因決定のために前進し続ける最善の方法は焦点を絞り込むことである。患者集団が異なっているとしても、一番多い症状は神経症状であることが最近の研究で示されている。本シンポジュームのオーガナイザー達は、化学物質不耐性に起きていると考えられている神経生物学的な変化の基盤となっている機序を明らかにする方向へ研究が向かうべきと考えている。

本シンポジュームは、神経系機能、または神経の可塑性の変化が化学物質不耐性の起因展開や持続に重要な役割を果たしているとする仮説の発展に焦点を合わせた。これらの仮説を明かにするために、われわれはこの消耗を強いる症状の説明を行い得るような基礎神経科学者のトップを集めた。本シンポジュームの主要テーマは、(1)ヒト化学物質不耐性；(2)化学物質不耐性の実験モデルと神経の可塑性の役割；(3)病的疼痛における神経可塑性；(4)サイトカイン、慢性疲労状態、そして病気の動態；(5)身体的なストレスと神経内分泌軸；そして(6)神経の条件付けである化学物質不耐性。

本学会では学会中およびセッション間に多くの実り多い議論のための素晴らしい機会が得られた。すべての分野で興味あるデータ - が示された。今回の会の大きな収穫は、疲労状態、慢性の痛み、身体・精神的なストレスに反応する脳、そしてその基盤となる神経回路の変化についての生物学的な変化について基礎科学者が臨床医と意見の交換を行ったことである。さらに、基礎科学者達の一部は、この問題はこれまで気付いていなかった領域で

あり、これからの生物学の新しい展開の窓口を開くきっかけとなると述べていた。

全体としてみると、このシンポジウムは科学者と臨床医との意見交換の場となり、さらに神経科学者の訓練のうちに終えられた。このような興味をそり、しかし議論の多い疾患は理論的に、また可能性のある方法で始められるべきであり、臨床医が治療法を確立しようとするならばなおさらである。種々の領域の神経科学者が集まったが、ある程度の情報が得られたと思う。しかしさらに情報を積み重ねる必要があることは明白である。本会の進行とともに、関係者の認識は増し、それは(1)物質不耐性患者が経験している多数の系にまたがる問題、(2)この領域の系統だった、そして相互に情報を交換できる研究の必要性である。過敏性獲得、睡眠/疲労、痛み、条件付け、そしてストレスのような臨床の現象は、一見体の各所に広がり、重複しているが、この広がりが全体としてみると化学物質不耐性の現象を解読する役に立つであろう。将来の研究では、個人差、経過を追っての状態、繰り返しての診察計画を考慮すべきだろう。中枢神経の可塑性はこの研究の出発点である。

今回の発表者 ME Gilbert が述べたように、われわれは「これら疾患が確実に存在しているかという点を越えたところで討論した。本会が多種類化学物質過敏症の存在を確実に証明することにはほとんど役に立たなかったかもしれないが、この疾患やその関連疾患が重大な神経生物学問題であるとして健全な討論を発展させた。」

化学物質不耐性やその関連疾患の基盤にある原因についてはわれわれは知識が足りないが、知識の少なさで患者の症状を幻覚であるなどとして見過ごすべきではない。これら疾患の不可解な性質は逆に興味をわれわれに引き起こし、そして神経の可塑性の機構についての理解を深めるものであろう。各演者はそれぞれの領域から正しい内容を用意した。それらの発表はわれわれに臨床の症状と基礎的な科学的知識を結びつける方向へ誘導してくれた。この基金で、化学物質不耐性やその関連疾患の原因や治療についての新しい問題へと進むことができるであろう。

## 第一章 ヒト化学物質不耐性

### 化学物質不耐性の動かしがたい異常

#### The compelling anomaly of chemical intolerance

CS Miller

科学においては、異常な事実を見出した場合には、その時に存在している範例の限界を明らかにして、新しい範例を作成する研究に駆り立てるものである。1880年代晩期は、医者はある種の疾患が熱性疾患の患者と接触した人に発症することに気付き、疾患の病原菌説の道を切り開いた。病原菌説は、すべての器官にわたる一見無関係かと思われる多くの疾病に、やや粗野ではあるが、素晴らしい定型化した考えを示した。今日、われわれは多くの国々で、これまでと異なった医学的異常に直面している。すなわち化学物質に暴露して、多種類の症状を示し、新たに、化学物質、食物および薬剤に不耐性になってしまう独特の患者達である。これらの不耐性は、ちょうど熱発が感染症の目印となったように、新しい疾患の過程や範例となるかも知れない。発症はかたまっても起きてくるわけではなく、最初の化学物質暴露が共通項であること以外は特にまとまった傾向がないことは、本疾患

が新しい疾患概念であることを示唆しており、化学物質誘発の耐性喪失( toxicant induced loss of tolerance )とも呼ばれている。また、化学物質誘発の耐性喪失は、ある種の喘息、偏頭痛、うつ、また慢性疲労、線維筋痛症、また湾岸戦争症候群の有力な説明材料ともなり得る。2段階で発症してくると考えられている。(1)開始、急性または慢性の化学物質暴露(殺虫剤、有機溶媒、室内空気汚染など)による普通の化学物質に対する耐性の極端なまでの喪失。(2)症状がそれまで耐えてこられた微量化学物質により誘発される。それらの中には、排気ガス、香料、ガソリンなどがある。さらに食物、薬剤、食物と薬剤との混合物(アルコールやカフェイン)によっても誘発される。発症機序はなぞのままであるが、これまでの患者の診察から、患者は化学構造がまったく異なる多種類の化学物質に反応し、さらにその化学物質に対して、刺激症状や離脱症状をしめしており、薬物嗜癖と平行して考え得る状態である。そしてこのことは、多種類の神経伝達路が侵されている可能性を示している。

### 過敏性患者群に対する揮発性有機化合物の対照を置いた曝露

#### Controlled exposure to volatile organic compounds in sensitive groups

N Fiedler, HM Kipen

化学物質に対しての過敏性は低濃度化学物質暴露に反応して多種類の器官に症状が出現することを特徴としている。本論文は発臭物質および揮発性有機化合物混合物曝露の対照を置いた研究のレビューである。過敏性を示す群としては、Cullenの1987年の本態性多種化学物質過敏状態に適応する患者(MCS)、慢性疲労症候群や化学物質過敏症を示す湾岸戦争症候群(CFS/CS)、ガソリン中のメチルテトラブチルエーテルニ特異的に反応している患者(MTBE)が含まれる。すべての研究で、性、年齢をマッチさせた健常者を置いた。嗅覚検査では、MCS患者で嗅覚閾値が低下しているとされてきた過敏性は示されなかった。しかし、用量依存性に閾値以上の濃度でのフェニールエチルアルコールによる症状の出現が認められた。盲検で、清浄空気、ガソリン、11%MTBE混入ガソリン、および15%MTBE混入ガソリン試験で、MTBE感受性群では、閾値の効果が認められ、ガソリン15%MTBE混入曝露で症状が有意に増加した。化学物質混合物の臭いに対する反応を自律神経機能(心拍数、呼吸数、正常呼吸時の終末呼気のCO<sub>2</sub>濃度)を測定した。一般の多種類化学物質に反応する患者では症状に変動を与える傾向があったが、特定の物質にのみ反応を示す患者では変動を示さなかった。例えば、CFS/CSの湾岸戦争症候群退役軍人群では、ジーゼル排気ガス負荷に対して終末呼気CO<sub>2</sub>が減少したが、MTBE過敏性群では精神身体的な変化を示さなかった。対照を置いた嗅覚試験では、特にマスキング除去のための脱順応を行わなくても、化学物質に過敏性を示す患者では有意に反応を示すことが明らかにあった。とはいえ、これらの研究は、症状が必ずしも身体的な所見とは一致しないことを示していた。結果には患者個々人の特性が決定的な役割を果たしていた。

## 化学物質不耐性患者の過敏性獲得の研究：個人差の関わりの研究

### Sensitization studies in chemically intolerant individuals: Implications for individual difference research

I Bell, CM Baldwin, GER Schwartz

化学物質不耐性は個人差を特徴とするが、化学構造的に無関係な環境微量化学物質に反応する多彩な症状を示す疾患である。本論文では最初の化学物質暴露後に生じる微量化学物質に反応し多彩な症状を示し、症状が進行、増大して行く傾向を示す神経系の過敏性獲得について考察を加える。過敏性獲得のモデルは、環境化学物質、身体的ストレス、および精神的ストレスの負荷を受けている一群の人達の化学物質不耐性の始まりや、その症状の発症の種々な仮説を提供する。われわれの研究室での最近の成果では、化学物質不耐性患者では脳波や拡張期血圧のような関連する因子の経過を追って過敏性獲得を供覧してきた。精神病的な不調のみではこのような所見を説明することは不可能である。化学物質不耐性患者や、過敏性を容易に獲得する人には一定の傾向がある。例えば、女性、ある種の遺伝的背景(アルコール好きの両親からの出生)、砂糖の取り過ぎや炭水化物取り過ぎなどである。全体的にみると、高度に化学物質不耐性となっている人々の15~30%は非常に過敏性を獲得しやすい。過敏性を獲得しやすいことは、不良環境に対して、情報処理が適正に行われてはいないが、適応や警戒に役立っていると思われる。とはいえ、過敏性獲得は徐々に外部状況に適正に反応する点からずれてしまうために、この反応は慢性の、多症状の不健康状態を生み出し、その例としては多種類化学物質過敏症、線維筋痛症などを上げることが出来る。原因物質の種類によるのではなく、個人の反応性の特性や常同症のような繰り返し刺激が、中枢神経、自律神経、および末梢神経系の機能障害の症状の出現をむしろ規制しているように思われ、その機能障害も臨床症状を示したり、それ以下の軽微な症状を示したりする。

## アイオワ州化学物質過敏症患者の追跡調査

### The Iowa Follow-up of Chemically Sensitive Persons

Donald W Black, Christopher Okishi, Steven Schlosser

多種類化学物質過敏症患者の臨床症状と患者の自己申告による健康状態の9年間の追跡調査である。1988年に面接した患者26名のうち、1997年に追跡可能であった患者が18名(69%)について、組織だった面接と自己記入問診票調査を行った。精神科的な診断では、DSM-IV判定で15名(83%)、15名(83%)が終生気分障害、10名(56%)終生不安障害、10名(56%)が終生身体型障害であった。自己記入疾患行動問診票90年型では、1988年とほとんど変わっていなかった。もっとも頻発する10症状としては、頭痛、記憶喪失、忘れっぽい、のどの痛み、関節痛、思考の混乱、息切れ、背部痛、筋肉痛、および吐き気であった。全体としての評価では、2名(11%)が軽快、8名(45%)が相当にまたは非常に改善、6名(35%)が改善、そして2名(11%)が不変または悪化であった。SF-36健康調査での平均スコアでは、患者はUSの人間に比べて、自己申告での一般的身体機能、身体痛、一般健康度、社会的機能、情緒的な働きの障害または精神的な健康度は良好であった。すべての対象者は多種類化学物質過敏症であると考え続けている。そして16名(89%)は診断が議論の多いものであることを認

めている。結論として、対象者は多種類化学物質過敏症の診断を強く受け入れている。ほとんどの調査対象者は最初の面接時よりも改善されているが、なお多くの対象者は症状が残存しており、生活スタイルの変更を模索し続けている。

## 第二章 化学物質不耐性の動物モデル 中枢神経系可塑性の役割

### 多種類化学物質過敏症の動物モデルに対する反復ホルムアルデヒド負荷の効果

Repeated Formaldehyde Effects in an Animal Model for Multiple Chemical Sensitivity  
BA Sorg, ML Tschirgi, et al

化学物質不耐性とは多種類化学物質過敏症で認められる症状であるが、揮発性有機化合物曝露により引き起こされるヒトの定義しにくい症状である。多種類化学物質過敏症の患者の症状の増幅は、げっ歯類で見られる精神刺激物質誘発の過敏性獲得やストレス誘発の過敏性獲得と類似している。我々は最近反復化学物質は中枢神経回路に感作状態を誘導することを明らかにし得た。我々の研究室での多種類化学物質過敏症モデルとしてのラットの実験では、反復したホルムアルデヒド曝露（毎日1時間、週5日間、4週間）後の中枢神経系の種々な変動を観察した。反復ホルムアルデヒド曝露は、後にコカイン注射に対する行動の過敏性獲得を示し、メゾ辺縁系のドパミン作動性神経の感度の変調を示唆していた。ホルムアルデヒド反復曝露ラットはフットショックと組み合わせた。

### MCSのモデル動物におけるホルムアルデヒドの反復曝露の生体効果

Repeated Formaldehyde Effects in an animal model for multiple chemical sensitivity

Barbara A. Sorg, Matthew L. Tschirgi, Samantha Swindell, Lichao Chen, and Jidong Fang

化学物質不耐性は、揮発性有機化合物に曝露されたヒトにおける本態不明の疾病異常であるMCS症候群で観察される現象である。MCS患者においてその症候が時間とともに増幅していく現象は、げっ歯類において心理的刺激・ストレスで惹起される過敏化の現象と類似している。我々は最近、ラットを用いて、化学物質への反復曝露が中枢神経系の神経回路の過敏化を誘発するという仮説を検証している。我々の研究施設では、MCSモデルラットを用いて、反復性のホルムアルデヒド曝露（1時間/日×5日/週×4週）の後に、中枢神経系機能のいくつかの指標を調べた。その結果、反復性の曝露によって、曝露後に実施したコカイン注射による行動学的変化の過敏化が観察され、このことから、曝露により大脳辺縁系中心部におけるドパミン神経の過敏性が変化することが示唆された。曝露ラットではまた、足への電撃ショックと対呈示された匂いへの恐怖条件づけが強化されたが、このことは条件づけられた匂いに対して恐怖反応を誘導する神経回路が増強されたことを意味している。ホルムアルデヒドへの連日曝露が曝露中の自発行動に与える効果を調べた最近の研究では、曝露12～15日目での立ち上がり行動の減少が見られている。さらに、連日曝露からの離脱後1週間でのEEG記録では、睡眠構築の変化が観察されている。この睡眠の変化のいくつかは、その翌日の短時間（15分間）再曝露により消失した。これ

らの所見をまとめると、低濃度の化学物質への反復曝露が、MCS 患者に見られるものと類似した行動変化、例えば、曝露に対しての不安感の増大として表れる化学物質への感受性増加、あるいは睡眠・疲労感の変化などを動物に誘発できることを意味している。それらの動物の中樞神経系に生じる変化を調べることは、MCS の作用機序に基づいた動物モデルの開発につながるであろう。

### **てんかんのキンドリングモデルは本態性多種化学物質過敏状態の理解に貢献するか？**

**Does the kindling model of epilepsy contribute to our understanding of multiple chemical sensitivity?**

**ME Gilbert**

本態性多種化学物質過敏状態(MCS)は、環境中に低濃度存在する化学物質に対して感受性が増加する現象である。キンドリングはシナプス可塑性のモデルであり、低いレベルの電気刺激を繰り返すことにより、てんかん発作の感受性が持続的に増加する。臨床的な発作にはいたらないような低い閾値の電気刺激を繰り返し与えた場合、一定の期間を過ぎるとその刺激は完全な運動発作を誘発するようになる。キンドリングは化学的な刺激によっても誘発することができる。ある種の農薬に繰り返し曝露されると行動異常を示すようになるが、連続曝露は電気キンドリングを促進し、扁桃体において臨床閾値下の過剰興奮性を示す電氣的な活動を誘導する。MCS にはいろいろな症状があり、MCS の患者の中には不安に関係している大脳辺縁系が変化している人がいる。大脳辺縁系は、キンドリングで誘導された発作に対して最も感受性の高い部位であり、ヒトの側頭葉てんかん(TLE)患者や動物のキンドリングモデルで認知や情動に関する持続する変化が示されてきた。このように、キンドリングと MCS という現象の間には多くの類似点があり、MCS がキンドリングのメカニズムによって起こるものではないかと推察された。しかし、キンドリングには電氣的な発作放電が必要で、だからこそ TLE のモデルとして使われている。臨床的な発作に至る前の最初の変化というのはほとんど研究されていないが、これらの変化こそが、MCS に特徴的な化学物質への反応性増強をうまく説明するのもかも知れない。キンドリングは、恐怖に関する神経回路の感受性を選択的に増加させるツールとして有効で、MCS の発達や発現における不安の役割に関係することかも知れない。

### **コリン系過敏反応の遺伝的ラットモデル：化学物質不耐性、慢性疲労、喘息への関連性**

**A Genetic Rat Model of Cholinergic Hypersensitivity: Implications for Chemical Intolerance, Chronic Fatigue, and Asthma.**

**DH Overstreet and V Djuric**

環境中化学物質の曝露を受けた人の中でも化学物質不耐性に進行するのはごく一部であるという事実は、遺伝的要因が寄与している可能性を示している。本報告では、コリン性システムの異常が遺伝的要因により起こりうることを示唆するコリン系強反応状態の遺伝的動物モデルからの結果を要約する。FSL (Flinders 感受性ライン) ラットは有機リン化合物への反応が増加したものを選択繁殖することで確立された。通常の対照ラットや FRL (Flinders 耐性ライン) と比較すると、FSL ラットはムスカリン系の直接的作動剤に対しても感受性が高いこと、ムスカリン性受容体が多くなっていたことが次々に明らかとな

った。コリン系薬剤に対する反応増強はいくつかの人間集団でも観察されており、その中には化学物質不耐性の患者も含まれている。確かに、FSL ラットは睡眠異常、活動性異常、摂食異常など、これらの人間集団に類似した行動特性を示す。加えて、FSL ラットはその他の化学物質に対しても強い感受性を示すことが報告されている。腸や気道の平滑筋などの末梢組織はコリン性薬剤や抗原、卵白アルブミンに対してより強い感受性をもつと思われる。中枢性の反応である低体温症は、ニコチンやアルコール、ドーパミン系およびセロトニン系の選択的薬剤投与により FSL ラットでより顕著に現れる。いくつかのケースでは、感受性の増強が見られる際に、他の受容体（ニコチン受容体）は変化するが、その薬剤が作用する受容体（ドーパミン受容体）の変化を伴わない。すなわち、FSL ラットにおける多種化学物質過敏状態 - 化学物質不耐性には複数のメカニズムが関与すると考えられる。これらのメカニズムの解明は、人間の化学物質不耐性についての有用な手がかりを提供できるだろう。

### 化学物質に対する反復発作的な曝露：化学物質不耐性に何が関連するか？

#### Episodic Exposures to Chemicals: What Relevance to Chemical Intolerance?

R. C. Macphail

反復発作的な曝露(episodic exposures)とは、種々の化学物質に対する断続的な急性曝露のことであり、通常急に起こり、短期間の影響を引き起こすものである。曝露実験を行う行動薬理的領域においては、個々の個体について量-反応関係を確立するために episodic exposure のパラダイムを検討するという長い伝統がある。これらの実験においては、行動上の安定したベースラインがまず求められ、次に種々の量の薬が断続的に、例えば週に1回とか2回とかで投与される。この方法はうまく作られており、例えば被験者内実験デザイン (within-subjects design) (すなわち同一被験者内反復測定) は、エラーを低減し、有効量 (effective dose) の全範囲において外挿可能となり、さらに薬剤感受性の個体差を見出すことに使用することもできる。もちろん、この方法は可逆的な反応を示す物質についてだけ適用可能であり、別の曝露量に対する先に投与された曝露によって一回曝露量の効果が影響をされないということを確認しておく必要がある。われわれは、成熟の雄ラットおよびマウスにおける行動に対する殺虫剤および溶剤の影響について検討するために、ベースライン・アプローチを使用している。さらに、そのデータを用いた新しい確率論による耐性用量分析 (dose-tolerance analysis) は、化学物質に対する感受性に個体差があり、しばしばその個体差の大きさは何桁にも及ぶことを示唆した。これらの結果より、化学物質感受性における個体差は以前から知られていたよりはるかに大きい可能性が示唆された。

### 環境リスクと公衆衛生

#### Environmental Risks and Public Health

Bernard D. Goldstein

環境保健の役割について考察し、また再定義することを目的とした多くの先駆的な動きがみられている。これには、環境保健への Institute of Medicine Roundtable や American Schools of Public Health の後援の下での活動が含まれている。両者ともに本報告書のも

ととなった ” The role of Neural Plasticity in Chemical Intolerance ” の NYAS の会議と同じ月に開かれた会議である。環境保健の分野へのわれわれのアプローチとその定義についての疑問点が、環境リスクと公衆衛生の問題点を考えるうえでの背景となっており、NYAS 会議の主催者からわたしに与えられた課題である。わたしの講演では、神経系に関連し、しかも本学会の課題である説明できない症状とも関連する問題、環境保健を取り巻く広い意味でのいくつかの問題についても触れようと考えている。

### **第三章 病的疼痛における神経の可塑性**

#### **過敏性獲得、自覚的健康の訴え、および持続する覚醒**

**Sensitization, subjective health complains, and sustained arousal**

**H Ursin, HR Eriksen**

本論文の目的は過敏性獲得は多種類化学物質過敏症だけではなく、もっと多くの自覚的健康障害とされる一連の疾患も、精神的基礎にあることを明かにすることである。これらの状態では、持続する覚醒や持続するストレス反応が重要な発症因子である。他覚的所見もなく、自覚症状のみを示す患者に対して「適当な診断名」や「説明不能の症候群」としてこれらの状態が扱われている。多種類化学物質過敏症、流行性疲労、慢性疲労症候群、消耗、ストレス、複合中毒、環境病、放射線、食物不耐性、機能性消化不良、過敏性腸炎、筋痛性脳炎、ウイルス感染後症候群、ユッピ - 感冒、生体消耗症のような名前が付けられている。これらが一つの関連疾患か、それとも別個の疾患群かが問題である。今一つの問題は、過敏性獲得はこれらすべての疾患の精神生物学的な機序であるかである。さらに持続する覚醒は、神経回路に過敏性獲得の発症を促進する可能性があるかであろうか？。本展望では、筋痛、骨格痛に主眼を置いた。この痛みというものは、病気の補償行為や、作業不能性のための最もしばしば認められ、また最も贅沢なものである。とはいえ、他の訴えもこの範疇に入るであろう。

#### **ヒト中枢神経における急性および持続性疼痛の出現：本態性多種化学物質過敏状態の強力な説明**

**Representation of acute and persistent pain in the human CNS: Potential implications for chemical intolerance**

**P Rainville, M C Bushnell, GH Duncan**

痛みの研究は種々な意味で本態性多種化学物質過敏状態の研究の助けになると思われる。他覚的な所見が得にくい症状であるが、痛みは本態性多種化学物質過敏状態ではしばしば認められる症状であり、他の多くの症状と同様に自覚的な症状として挙げられている。しかしさらに、持続する痛みや異常な痛覚反応の発生の基盤となっている中枢神経の可塑性変化は環境化学物質に過敏に反応する症状の発生との類似性もある。ヒトの機能性脳画像の研究では、痛覚刺激により引き起こされた急性の痛みの感覚は大脳の広範囲のネットワークの活性化を伴うことが分かってきた。その部位としては、視床、体性感覚の、Reil島の、そして前帯状領域の脳が含まれる。この領域の異常な活動は、多数の患者で末梢や中枢の障害時に痛みを伴ってくる（神経症痛）。正常人でも、この領域の活動は自覚的な痛

みの感覚に関係しており、催眠や注意集中のような認識力の大きい干渉され、情緒によっても影響される。その他、期待のような認識力を伴う要因は痛覚に強大な影響を及ぼす(例えばプラセボによる無痛化)。これらの効果は、高次大脳構造と脊髄下降性の痛みの活動に依存しているように思われる。これらの精神的な過程は、臨床での痛みを軽減をさそい、急性の痛みから持続性の痛みへの移行での中枢神経の役割を減らしたり、促進したりして痛みを軽減できるかもしれない。自覚的な症状に対する中枢神経の研究は、持続性の疼痛状態の発症に高次中枢神経/心理学的過程が変動や変質を加えている可能性を追求することが必須である。これらの因子がまた本態性多種化学物質過敏状態の症状出現に関与しているかもしれない。

### 痛みの反応の過敏性獲得における神経伝達物質の役割

#### Role of neurotransmitters in sensitization of pain responses

W D Willis JR

キャプサイシン(トウガラシの成分 訳者注)の皮内注射は痛みを引き起こす。一次的な熱や、機械的刺激に対する痛覚過敏、そして二次的な異疼痛(普通は痛くない刺激で痛みを感じることー訳者注)や痛覚過敏が生じる。二次的な異疼痛や痛覚過敏が生じている部分の感覚受容器は障害されていない。そのために、この二次的な感覚器の変化は、キャプサイシン注射により引き起こされた最初の強力な痛みを受容できるような中枢神経の刺激放出によるに違いない。脊髄 視床路神経の反応の中枢神経の感受性獲得は数時間持続する。しかし、この過敏性は非 NMDA(N-methyl-D-aspartate 訳者注)や NMDA glutamate 受容器拮抗薬、そして NK1 サブスタンス P 受容器拮抗薬の脊髄投与によって予防できる。脊髄 視床路の細胞の長期に持続する刺激性亢進は、種々な二次的なメッセンジャーのカスケード反応系(PKC、PKA、そして NO/PKG 信号伝達経路)の活性化によるものである。また、被刺激性の変化はカルシウム/カルモデュリン依存性カイン-ス II の活性化にもよる。この酵素は中枢神経の感受性獲得の長期持続性であることの確実な証拠となっている。

### 中枢神経系の可塑性と病的疼痛

#### Central neuroplasticity and pathological pain

R Melzack, TJ Coderra, J Katz, A Vaccarino

痛覚の従来の説は痛みは体の受容器から脳への直接の伝達により生じるとされてきた。受信された痛みの量は、末梢の障害の程度に直接比例するとされてきた。しかし、最近の研究ではさらに複雑な機構が関わっていることが明らかになってきている。臨床的な、また実験的な研究では、有害な刺激は、痛覚に関与する中枢神経機構を感作するかもしれないことが明らかになってきている。この臨床的な好適な例として、四肢の切断患者が、切断する前と類似した、または同様な感覚を示す痛みの幻影を感じることや、手術時に術前の鎮痛剤が術中に起きる痛みをブロックしたりする中枢神経作用を挙げることができる。実験的な例としては、感作の発生、ワインドアップ、中枢神経の感受性領域の拡大、さらには障害組織のブロック後に生じる屈曲反射の増大や痛みや痛覚過敏が生じることなどを挙げることができる。痛みの感覚は瞬間瞬間の有害刺激の知覚の単純な結果ではなく、過去

の経験の効果によって影響されるものである。感覚の刺激とは、過去の入力に影響され、行動という出力は過去の事件の「記憶」によって大いに影響されるものである。末梢の障害や有害な刺激によって引き起こされる中枢神経の変化の理解が将来進むと、病的疼痛の予防や治療に新しい展開がもたらされるであろう。

### 反復するオピオイド暴露による脊髄の神経可塑性と病的痛みへの関係

#### Spinal cord neuroplasticity following repeated opioid exposure and its relation to pathological pain

J Mao, DJ Mayer

脊髄に反復してオピオイドに暴露すると神経の可塑的变化が起きることが確実となってきた。そのような可塑的变化は細胞レベルでも、細胞間レベルでも引き起こされる。N-methyl-D-aspartate(NMDA)受容体の活性化が、反復したオピオイド暴露による神経可塑性の展開に中心的役割を果たしていることは一般的に受け入れられている。細胞内のカスケイド反応は、また NMDA 受容体の活性化に続いて活性され得る。特にプロテインカイネ - ス C は神経可塑性変化の行動表現の細胞内キー要素であることが示されてきている。さらに、NMDA とオピオイド受容体の相互干渉が、オピオイド耐性の発達に伴って脊髄に神経の強力な不可逆的変成をきたし得る。興味あることに、末梢神経損傷でも同様の脊髄細胞レベルおよび細胞間レベルの変化が認められる。これらの所見は、一見なんの関連もない二つの条件、すなわち慢性オピオイド暴露と病的な疼痛状態の間に、脊髄内では神経構築に相互作用が発揮されていることを示している。これらの結果は化学物質不耐性、本態性多種化学物質過敏状態、さらにはオピオイド鎮痛剤の疼痛療法の臨床的応用の機構の理解するために有用と思われる。

## 第四章 サイトカイン、慢性疲労症候群、および疾病行動

### サイトカインと慢性疲労症候群

#### Cytokines and chronic fatigue syndrome

R Patarca

慢性疲労症候群患者は免疫系の活性化が認められる。すなわち、cytotoxic T cell を含めた活性 T リンパ球数増加、そして循環サイトカインレベルの上昇である。とはいえ、慢性疲労症候群患者の免疫細胞機能の情報は貧しいもので、natural killer 細胞細胞毒性 (NKCC) の低値、マイトゲンに対する培養リンパ球反応の欠乏、そして時に IgG1 と IgG3 の欠乏が最も多い免疫グロブリンの欠乏がしばしば認められという程度である。いわゆる T ヘルパー細胞 type2 や、炎症起因性サイトカインの増加を示すという慢性疲労症候群の免疫異常は、一時的であったり、また潜在性のウイルスや細菌感染症による身体的および精神的機能障害の原因や結果であったりする。これら因子の相互作用が緩和と悪化を繰り返す本症の恒久化に関係しているのかもしれない。ヘルパー T 細胞 type2 の優位は湾岸戦争症候群患者に認められている。また本態性多種化学物質過敏状態のような関連疾患でも認められるかもしれない。この視点からの治療への介入法は、サイトカインを好ましい状態に、そして免疫系を望ましい状態に導くこととなる。

## 炎症のメディエーターおよびそれらの睡眠との相互作用

### 慢性疲労症候群やそれと関係する疾患に対する関連性

#### Mediators of inflammation and their interaction with sleep

#### Relevance for chronic fatigue syndrome and related conditions

JA Mullington, D Hinze-Selch, T Pollmaecher

ヒトでは、一次的な防衛機能の活性化は非 REM 睡眠の質の増加や減少が生じる。そしてそれは初期の免疫機能の活性化の程度による。ある種の炎症性サイトカインの軽度の上昇はヒトの実験的睡眠欠乏で認められ、さらに、精神科的治療薬で中枢神経作動性の clozapine、これは免疫調整機能を有することが知られているが、この投薬の継続とともに、サイトカインの軽度の上昇が認められる。TNF- $\alpha$  やその可溶性受容体、そして IL-6 のようなサイトカインは末梢にも中枢神経系にも存在し、末梢の免疫刺激と中枢神経系に仲介される行動や、睡眠、眠気そして疲労のような感じとリンクしている。慢性疲労症候群では生じている衰弱するほどの疲労や、それと関連してくる疾患はサイトカインの変動と関係しているかもしれない。

## 生理的睡眠の調整におけるサイトカインの役割

### The role of cytokines in physiological sleep regulation

JM Krueger, F Obal Jr, J Fang, T Kubota, P Taishi

種々な成長因子(Gfs)が睡眠の調整の連携している。これらの成長因子は神経活動の反応して生成され、その作られた神経回路の中での入出力の関係に影響して、その局所の状況を左右していると考えられている。これらの Gfs は神経シナプシスの効果に影響している。最近同定された睡眠の調整に連携しているすべての Gfs はまたシナプシスの可塑性に連携している。これらの物質のうちで、睡眠調節に関係していることが最も研究されているのは、IL-1 (interleukin-1 $\alpha$ ) と TNF (tumor necrosis factor) である。IL-1 や TNF の注射はノンレム睡眠を増強する。IL-1 または TNF のどちらを抑制しても、自然の睡眠を障害し、また睡眠欠乏後の睡眠のリバウンドを抑制する。IL-1 および TNF の内部産生の刺激はノンレム睡眠を増強する。IL-1 および TNF 脳内レベルは睡眠傾向と関連している。例えば、睡眠欠乏後にはこれらのレベルが増大している。IL-1 および TNF は睡眠を調整している複雑な生化学的なカスケード反応の一部である。カスケード反応の流れの中には、NO、成長ホルモン放出ホルモン、神経成長因子、核因子カッパ B、そして多分アデノシンやプロスタグランディンも含まれている。IL-1 および TNF の効果を調整している内因性の物質としては、IL-4、IL-10、そして IL-13 のような抗炎症性サイトカインが含まれている。IL-1 および TNF の活性を変動させ得る臨床的な条件としては睡眠の変化を伴ってくるが、その例としては感染性疾患や睡眠時無呼吸を上げることができる。睡眠の生化学的調整知識が進歩すれば、睡眠問題はさらによく理解され、多くの臨床症状も改善され得るであろう。

## サイトカインにより誘発される疾病行動：機構と連携

### Cytokine-induced sickness behavior: Mechanisms and implication

R Dantzer

疾病行動 (sickness behavior) とは感染症の経過中に病気になっている患者に起きる一連の同調してくる行動の変化を意味している。分子レベルで見れば、この変化は IL-1 (interleukin-1) や TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor alpha) のような炎症性のサイトカインの脳への影響によるものである。末梢で放出されたサイトカインは、炎症の起きている部分を支配している求心神経線維の速い伝達経路を介して脳に働く。また遅い伝達経路としては、脈絡叢や脳室周囲の部位から生じて、脳実質に大量にサイトカインが拡散される経路がある。行動的なレベルで見れば、疾病行動とは感染病原菌と戦う組織を認識する中枢神経の動機付け状態の表現として考えられ得る。疾病の動機付けの状態は他の動機付けと干渉しあい、そして過敏性獲得とか古典的な条件付けといわれるような非免疫的な刺激に反応することが知られてきている。とはいえ、この疾病の動機付けの状態の可塑性に関する機構に関してはいまだ分かっていない。

## 化学物質不耐性と関連した症状の説明可能な機構

### Potential mechanisms in chemical intolerance and related condition

DJ Clauw

化学物質不耐性の症状はそれのみの孤立した症状としても起きるが、しばしば他の疼痛、疲労、記憶障害などの慢性症状と一緒に起きてくる。このため、個々人にしばしば起きるこの多彩な症状は、多種類化学物質過敏症、線維筋痛症、慢性疲労症候群、そして湾岸戦争症候群のような種々の慢性の多くの症状を抱えた症候群として定義されてきた。これら症候群の研究を集めてみると、これら症状を引き起こす何らかの統一した機構が存在していることが示唆される。種々な方面からの研究結果は、自律神経系、および視床下部・下垂体系のような非常に多くの遠心性神経経路の機能異常がある範囲のこれら患者にあることを示している。多数の感覚器刺激に対して「不快の閾値」が低いという、感覚情報処理の異常についての証拠が最も多数集まっているといえる。これら疾患の発症や慢性化に精神的な、また行動的な因子が重要な役割を果たしていることが知られている。痛覚研究の分野では、症状の発現に身体と精神との間に緊密な関係があることが知られている。すでに確立している方法や新しい方法により、警戒や期待のような精神因子が線維筋痛症のほとんどの患者では小さな役割しか果たしていないこと、そして感覚器の刺激性が精神的な意味でなく身体的な意味で増大していることが明快に示されている。これらの研究はさらに多くの感覚器について推し進め、またもっと多数の患者を対照に推し進める必要がある。とはいえ、もし症状のみを基盤とした考え方でなく、例えば化学物質暴露を避けたがるというような行動によってこの疾患を定義しようとすると、精神的な関与が非常に大きく評価されるようになる可能性があることには注意しておいた方がよい。

## 第五章 生理的ストレスと神経内分泌軸

### 視床下部□下垂体□副腎軸におけるガス状神経伝達物質の役割

#### Role of gaseous neurotransmitters in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis

C Rivier

一酸化窒素 (NO) は、脳、特に神経内分泌機能に重要な役割を演じる不安定なガスである。NO は正中隆起 下垂体軸内では脳内と反対の効果を発揮することを示した。即ち、[前炎症性サイトカインやバソプレッシン (VP) の全身投与にみられる] 血行性シグナルに対する ACTH の反応は抑制する。脳室内投与では、血液 脳関門により脳内に留まり、NO は視床下部ペプチドである副腎皮質刺激ホルモン放出因子 (CRF) や VP の合成を促進する。神経終末からペプチドが放出され、視床下部の室旁核を活性化する (例えば緩やかな避けることの出来ない フロートショックの様な) 刺激が動物に負荷されると、NO はその2つの効果のバランスを取り、ACTH の放出に関わる。我々は、ラットを用いた実験で、以下のことを提唱する。弱いショックの少なくとも初期では、NO と VP との相互作用に依存して ACTH の放出が起る (この作用は、NO 形成を阻害する薬剤により促進される)。より強いショックでは、NO と視床下部との相互作用により ACTH の放出が起る (すなわち、NO 形成を阻害する薬剤により抑制される)。

### 海馬の可塑性：慢性的なストレスに対する適応と Allostatic Load

#### Plasticity of the Hippocampus: Adaptation to chronic stress and allostatic load.

Bruce S. McEwen

海馬は記述的および空間的記憶にとって重要な部位で、慢性的な痛みの認知に関係している。海馬体は、発作や虚血や頭部外傷などに対して非常に脆弱性をもち、日内リズムや慢性ストレスの時に分泌される副腎グルココルチコイドの影響に対して特に感受性がある。副腎ステロイドは短期間においては適応の効果を持つが、ストレスが繰り返されたり HPA 軸の調節がうまくいかない機能不全があるような時には病的状態に陥る。そのような状況下において障害を与えるようなグルココルチコイドの作用は Allostatic Load と呼ばれてきた。それは副作用に対する体の適応障害に関係している。副腎ステロイドは、海馬においては防御的でもあり障害を与えるものでもある。副腎ステロイドは、海馬の神経細胞の興奮を二相性に調節し、高いレベルのグルココルチコイドや重篤な急性ストレスは、可逆的に記述的記憶を障害する。海馬は構造的な可塑性をも示し、歯状回において引き続き起こる neurogenesis、CA1 領域でエストロゲンのコントロール下でおこるシナプス生成、そして繰り返されるストレスや外来性のグルココルチコイドによって起こる CA3 領域の樹状突起リモデリングがそれに該当する。3つの構造的可塑性すべてにおいて、ステロイドホルモンと興奮性アミノ酸が共に働く。グルココルチコイドとストレスは、歯状回においては neurogenesis を抑制する。それらはまた、虚血や発作によっておこる障害を増強する。さらに高齢ラットの海馬では、急性ストレスの間に放出される興奮性アミノ酸レベルが非常に高く長く続く。我々の作業仮説では、連続ストレスに反応する構造的可塑性は適応や防御という反応で始まるが、そのキーマディエータの調節による非平衡が解決さ

れなければ障害となる。いろいろな種類の Allostatic Load によってもたらされる海馬の形態的な再構築は、記憶機能に関係する海馬の関与を変え、それはおそらく慢性痛覚の認知において重要な役割をすると考えられる。

## 第六章 神経の条件付け

### 臭いに対する反応での学習された症状：多種類化学物質過敏症についての学習の関与

Acquiring symptoms in response to odors: A learning perspective on multiple chemical sensitivity

O van den Bergh, S Devriese, W Winters, H Veulemans, B Nemery, P Ellen, K van de Woestijne

本論文では多種類化学物質過敏症の症状の有力な説明として、学習の関与を論議する。臨床的な証拠は少なく、またあっても科学的ではあまりない。実験的なモデルが確実な結果を提示している。炭酸ガス濃度の高い空気呼吸を条件付けでない呼吸ガスとし、それに無害な有臭物質を含むガスを条件付けのガスとして、数呼吸すると、有臭ガスでのみ自覚症状が誘発され、呼吸の状態が変化する。また、精神的な心象が自覚症状の引き金を引く条件付け刺激となり得る。学習効果は反応の偏見 (bias) や s 条件付けられた興奮により説明出来るものではない。臭いと炭酸ガスの吸入との関係を知っているという認識と重複しない基礎的な連想的な過程が存在しているように思われる。学習して身についた症状は新しい臭いに拡がり、さらにパプロフの消失過程で消滅しえるかもしれない。臨床的な所見と一致して、神経過敏な人や、神経病的な人は臭いに反応する際に、より敏感になりやすい。学習の関与を考えると、認識 - 行動学的治療の技術が臨床例に有用な結果をもたらすと思われる。本項ではさらに学習の機構の重要な役割に関する種々な批判や未解決な疑問をあわせて議論した。

### 嗅覚と文脈的刺激に対する情動反応のパプロフ様条件付け

#### - 化学物質不耐性の発生と発現のための有力なモデル

Pavlovian Conditioning of Emotional Responses to Olfactory and Contextual Stimuli.

A Potential Model for the Development and Expression of Chemical Intolerance.

Tim Otto and Nicholas D. Giardino

ヒトにおける化学物質不耐性(CI)は病因論的にはほとんど理解されていない現象の一つである。これは、おそらく、患者間では、あるいは同じ患者でも様々な因子により影響を受けているためと思われる。幾つかのケースでは、CIの発生はパプロフの条件付けに類似の過程に部分的にはあるが依存しているらしい。すなわち、ある物質に対する強い症状の発現は嗅覚と文脈的刺激に対する古典的条件付けの反映であると指摘されている。この論文では、動物実験で示された、嗅覚と文脈的條件付けとの有力な因果関係を述べ、さらにヒトにおけるCIの発生と発現について言及する。また、最近の研究の進展によりこれらの条件付けに関わる学習反応を司る脳の部位について詳細な記載がある。そこで、特に、嗅覚と文脈的刺激に対する恐怖条件付けには扁桃体と嗅脳溝周囲皮質が関わっているとい

う最近の研究をレビューする。

## ポスター論文

### 末梢作用性コリンエステラ - ゼ阻害剤の中樞神経系への効果： ストレス、遺伝的素因との相互作用

Central Nervous System Effects from A peripherally acting cholinesterase inhibiting agent: Interaction with stressor **Genetics**

Kevin D. Beck, Guanping Zhu, Dawn Beldowicz, Francis X. Brennan, John E. Ottenweller, Roberta L. Moldow, and Richard J. Servatius

多くの薬剤はある特定の作用部位を持つように開発される。しかしながら、生理学（遺伝）的な個体差により、あるいは環境条件によって生理学的に個体に変化（化学的感受性の増大など）することにより、作用部位の分布が変異する場合がある。末梢作用型コリンエステラ - ゼ阻害剤である Pyridostigmine bromide (PB) は、遺伝的素因および環境条件の違いに基づいて異なった作用発現部位を示す化合物とみなされている。疫学研究では、湾岸戦争時に PB 注射によって薬効が遷延するのを経験したヒト個体の一部が、PB に対して過剰な反応を見せるヒト表現型と似た遺伝的素因を持っている可能性について示されている。ストレス状態を引き起こし、急性もしくは持続性の生理学的変化をもたらす環境状況が、薬物作用部位の分布を変える可能性を示す他の研究もある。PB の作用部位の順応的变化に関する基礎的研究では、ストレス状態にある個体に PB を注射するとその作用部位が変化することが示されている。以下に示すのは、PB の行動学的・生理学的作用に関する二つの仮説（個体差の関与、および環境ストレスの役割）を検証した一連の研究を短く要約したものである。

### 臭い負荷呼吸器学習試験における臭いに対する反応の症状の学習効果

A symptom learning in response to odors in a single odor respiratory learning paradigm

W Winter, S Devriese, P Eelen, H Veulemans, B Nemery, O van den Bergh

多種類化学物質過敏症発症の説明中で、古典的な条件付け (conditioning) が提唱されており、その説明付けが正しいことが実験的にも積み重ねられてきている。その実験的な方法はほとんどが、条件付けとしての臭い刺激と、条件付けでない負荷としての CO<sub>2</sub> 高濃度 (例えば 7.5% 濃度) の呼吸気体条件により行われている。この作業条件での研究法は、有毒物質暴露の効果や、臭いのある環境でしばしば見られる過換気 (ストレス誘引のものであるが) の状態を模擬したものである。この実験計画では、臭いに対して症状の増加が認められている。本実験では 50 名の精神科新入医局員を対象に 2 分間 10 呼吸の負荷試験を行った。臭いの型としてアンモニアと niaouli の 2 種類を、実験的および明かな対照なしの 4 型の負荷試験を行った。空気での試行では差が認められなかった。一方 CO<sub>2</sub> 混入での試行では、症状の増加が認められた。これらの結果を論議、考察した結果、予測的なヒントとして臭いを目立たせる処置はすべて臭いの条件付けの可能性を高めるかも知れず、また、それが 1 種類の臭いの例でも起こり得ることが考えられた。

## 化学物質不耐性患者の深い皮質下（大脳辺縁系を含む）の代謝亢進：ヒト PET の研究

Deep subcortical(including limbic) hypermetabolism in patients with chemical intolerance: Human PET studies

G Heuser, JC Wu

神経中毒的な傷害は記憶、認識機能、共同運動、バランス、また行動に障害をもたらすことが知られている。さらに患者は化学物質に対して過敏性を獲得することもある。化学物質に対する反応には広範囲のものがあり、苛立ちや、パニック障害を含めた非合理的な行動を伴った情緒的な不安定性までである。Bell、Sorg 等は大脳辺縁系の関与を示唆しているが、その際にはキンドリング（閾値以下の刺激でも繰り返した刺激で反応を引き起こすこと——訳者注）を伴い、上記反応の機構を説明可能のものである。7名の成人患者を PET で検査した。これら患者は有機溶媒、殺虫剤や各種神経毒暴露後に発症し慢性の経過をたどっている患者である。PET には F-18 deoxyglucose を使用した。性、年齢をマッチさせた健常者のデータと比較した。大脳皮質の多くの部分で有意な代謝低下が認められた。過去の SPECT による大脳皮質血流障害の結果と一致するものである。一方扁桃核を含めた大脳辺縁系やその近傍では代謝亢進が証明された。代謝亢進は小脳、視領野、さらには下方の脳幹にも及んでいた。代謝亢進は発作を意味し、片縁系の発作はパニック発作を意味している。結論として、化学物質不耐性の患者の行動学異常や認識力の異常のような臨床症状は前記の所見で説明出来るということである。われわれの PET の所見は 1999 年に報告したが、印刷はしていない。化学物質不耐性の他の側面は、化学物質暴露が肥満細胞を活性化し、極端な場合には mastocytosis を引き起こすことは、これまでのわれわれの過去の所見で説明できるであろう。

## 本態性多種化学物質過敏症・慢性疲労症候群・心的外傷ストレスの共通の病因に関係する、一酸化窒素、ペルオキシナイトライト上昇機序

Elevated nitric oxide/peroxynitrite mechanism for the common etiology of multiple chemical sensitivity, chronic fatigue syndrome, and posttraumatic stress disorder.

Martin L. Pall and James D. Satterlee

MCS や化学物質不耐性において、多くの証拠が一酸化窒素や酸化体や、おそらくペルオキシナイトライトとの関与を示唆している。以前慢性疲労症候群でいわれてきた正のフィードバック機構により、いくつかの報告されている特質だけでなく、MCS (CI) の慢性的な特徴を説明できるであろう。以前に Miller は、「我々は新たな疾病理論の出発点に立っているのだろうか。」と問いかけたが、今回の研究で、一酸化窒素、ペルオキシナイトライト上昇機序は、新たな疾病の枠組みから成る機序であるという可能性を高めていると思われ、その問いに答えるものなのかもしれない。