

第14回
シックハウス(室内空気汚染)問題に関する検討会
5/9/2013

厚生労働科学研究より得られた
—シックハウス症候群の病態解明に関する研究成果を
中心として—

東海大学医学部 生体構造機能学領域・
北里大学北里研究所病院 臨床環境医学センター
坂部 貢

配布資料版

**シックハウス症候群病態解析に
関する厚生労働科学研究**

シックハウス症候群の病態解明・診断法・治療法の開発・
標準化および具体的方策に関する研究班

- ・ 平成12年～13年:生活安全総合研究
- ・ 平成14年:健康科学総合研究
- ・ 平成15年:がん予防等健康科学総合研究
- ・ 平成16年～17年:健康科学総合研究
- ・ 平成18年～20年:地域健康危機管理研究
- ・ 平成21年～22年:地域健康危機管理研究
- ・ 平成25年～ :地域健康危機管理研究(予定)

概念の整理

シックハウス症候群の定義

×広義：在室者の健康を維持するという観点から問題のある建物内において見られる健康障害の総称

×狭義：建物内環境における化学物質の関与が想定される、皮膚・粘膜症状や、頭痛・倦怠感等の多彩な非特異的症状群

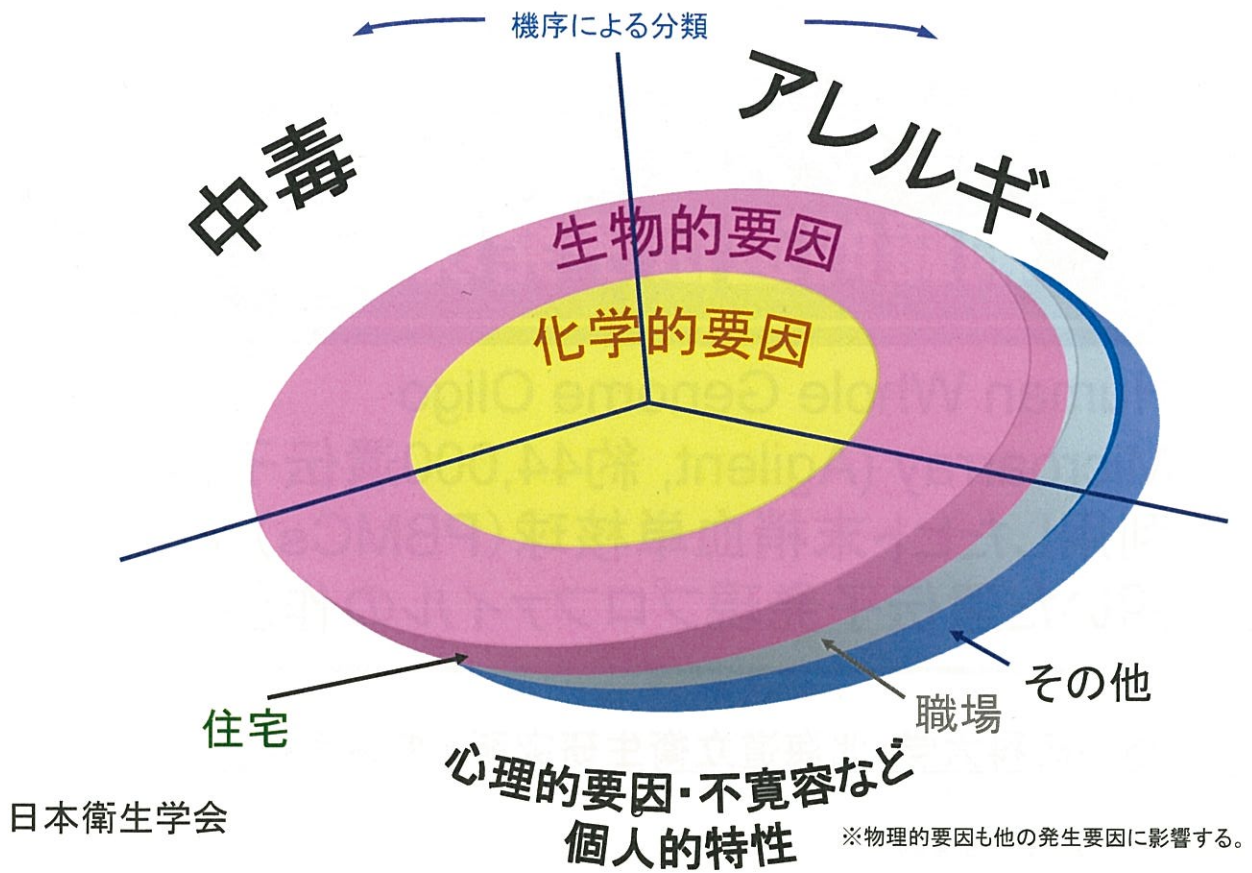
厚生労働科学研究費補助金研究報告から

シックハウス症候群の臨床分類

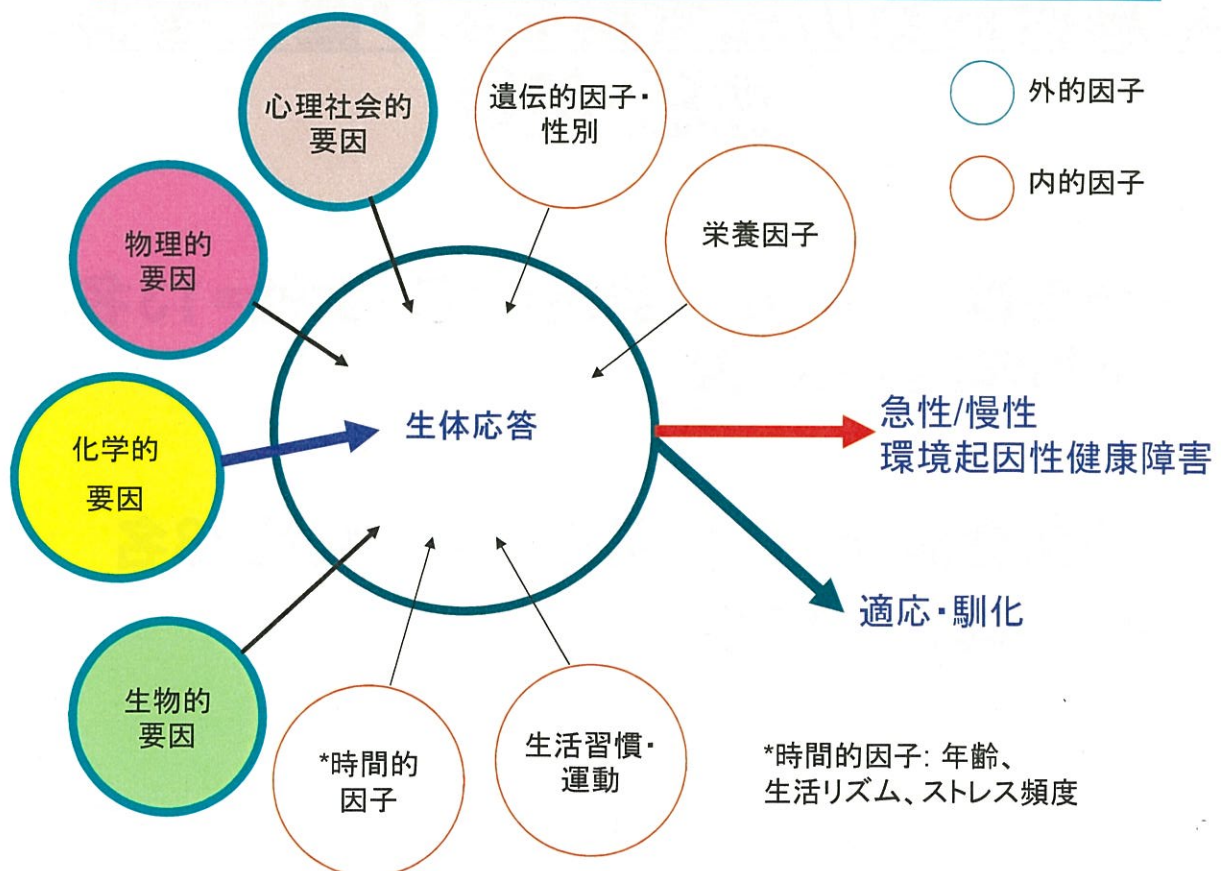
型	分類の基準	例
1型	中毒症状の後出現	防蟻剤などの中毒
2型	何らかの化学物質曝露の存在*	新築、改築、改装
3型	化学物質曝露の曝露はあるが、精神的な要因の比重が高い	不安障害、パニック発作、大うつ病など
4型	アレルギー疾患や他の疾患が出現	喘息、皮膚炎など

* QEESI問診票：化学物質不耐性項目40ポイント以上：化学物質過敏症

シックハウス症候群に関する概念整理－要因・機序・場所 による分類－



外部環境因子と健康障害の考え方



シックハウス症候群に関連した 網羅的遺伝子発現解析

Human Whole Genome Oligo·
Microarray (Agilent, 約44,000遺伝子)を
利用したヒト末梢血単核球(PBMCs)を
用いた遺伝子発現プロファイルの作製

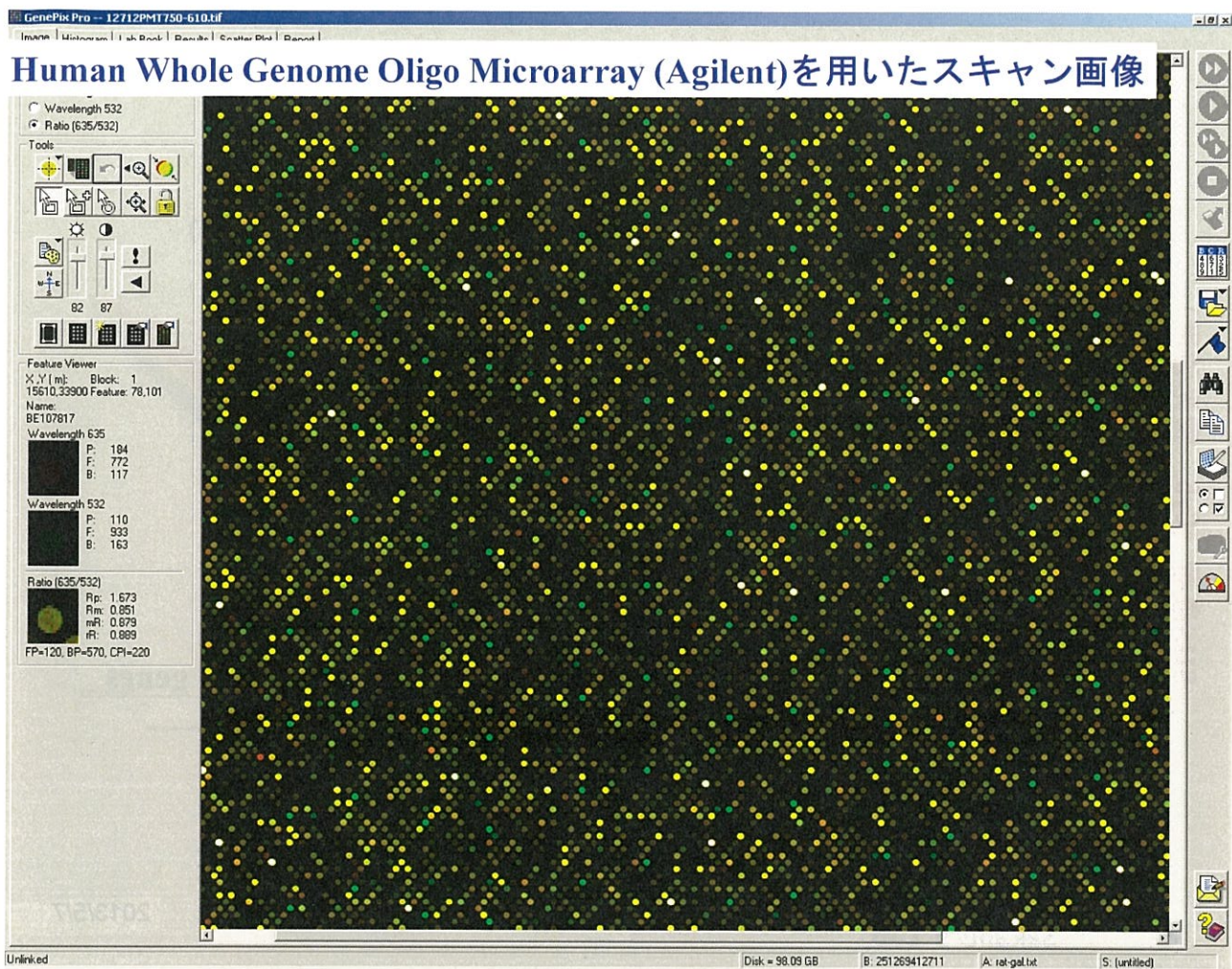
旭川医科大学・北海道立衛生研究所との共同研究

Sakabe's Lab.

本解析対象の患者群および健常者群の 性別・年齢

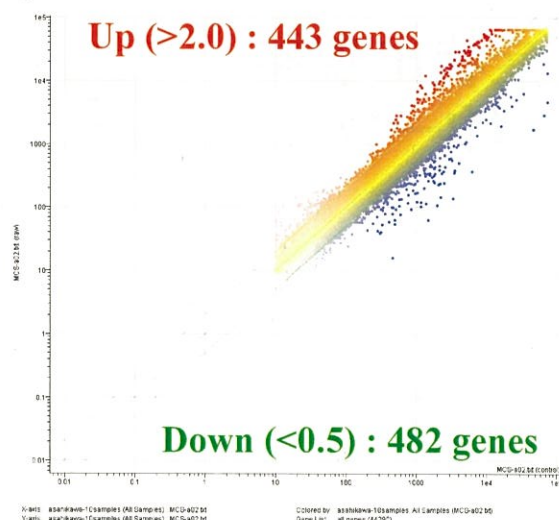
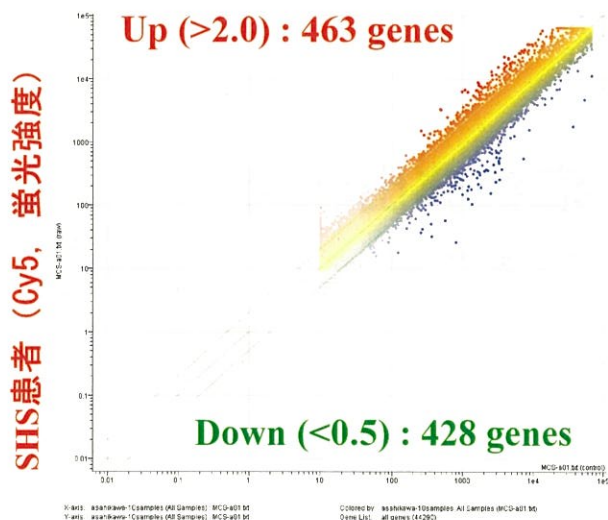
- ・ **患者群 (n=16) : 男性=3名、女性=13名、
平均年齢=43.1歳**
- ・ **健常者群 (n=13) : 男性=5名、女性=8名
平均年齢=42.6歳**

Sakabe's Lab.



SHS-a01

SHS-a02



コントロール群 (Cy3, 蛍光強度)

注) 今回の解析では、コントロール群に対してmRNA遺伝子発現倍率が2倍以上の増加あるいは0.5倍以下の減少を示す場合を変動遺伝子として扱った。

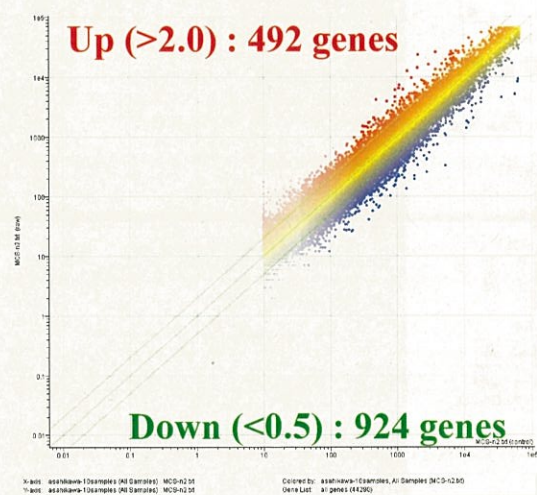
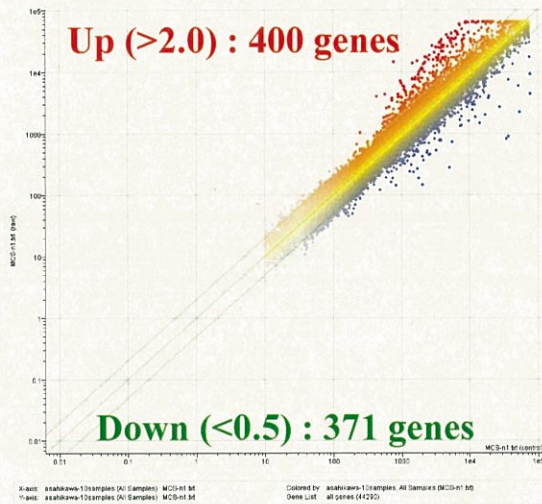
Sakabe's Lab.

SHS-n1

体調不良時
(症状出現時)

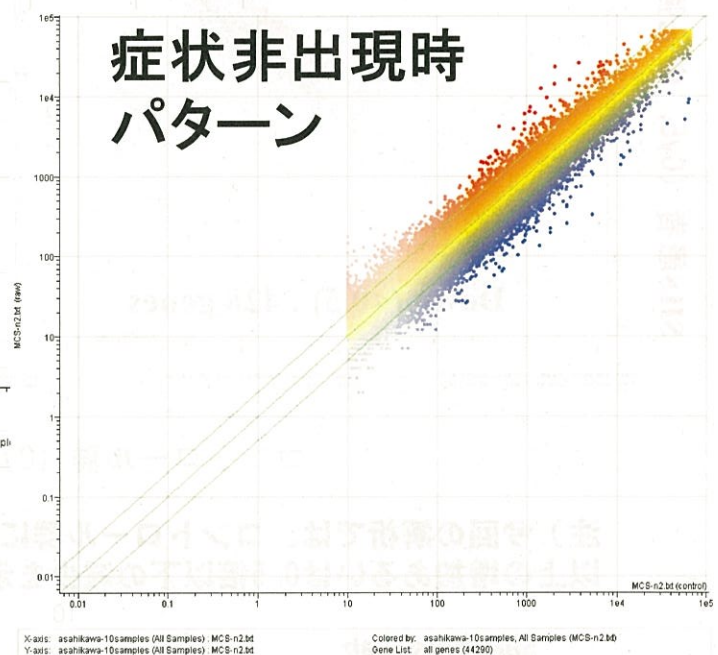
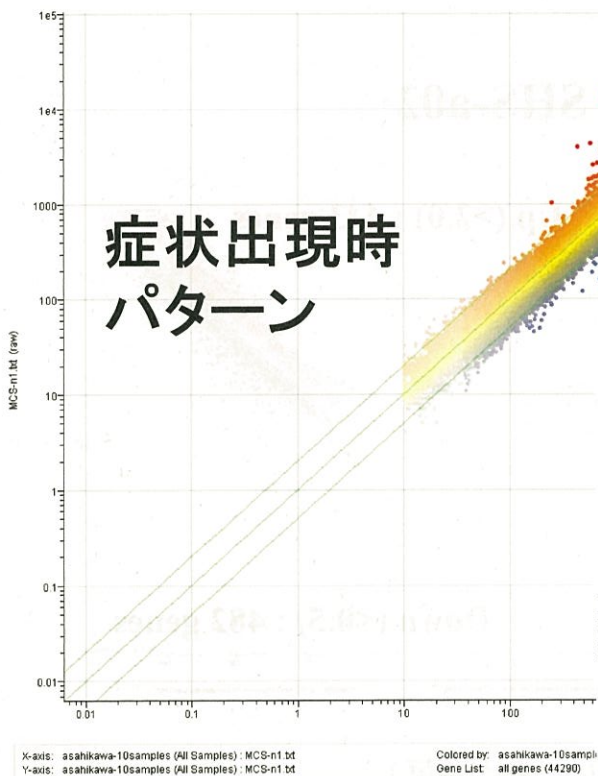
体調良好時
(症状非出現時)

SHS患者 (Cy5, 蛍光強度)



コントロール群 (Cy3, 蛍光強度)

Sakabe's Lab.

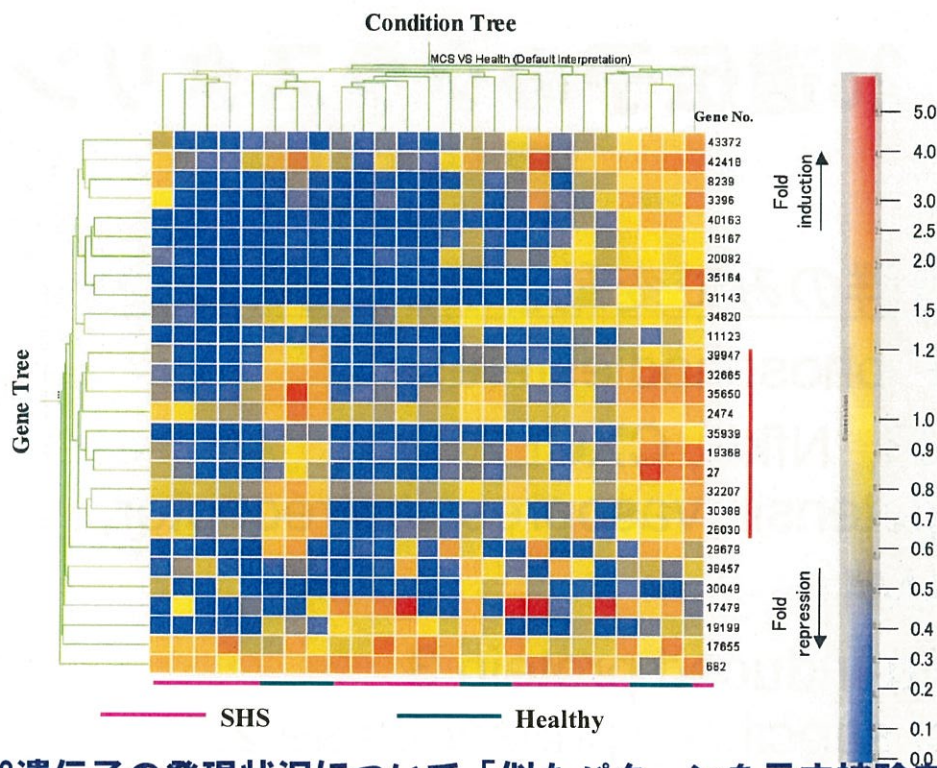


Sakabe's Lab.

まとめ

- ・ 半数以上の患者でコントロール群に対して共通して増加ないし減少傾向を示した遺伝子の抽出を行ったところ、**28遺伝子**を選び出すことができた。

Sakabe's Lab.



縦方向は28遺伝子の発現状況について「似たパターンを示す被験者」を集めてクラスター (Condition Tree) を形成させ、横方向は28遺伝子の中で発現状況が「似たパターンを示す遺伝子」を集めてクラスター (Gene Tree) を形成させた。

Sakabe's Lab.

28遺伝子のクラスタリング 解析結果

- 患者群を遺伝子発現が大きく変動した高変動群と変動が少ない低変動群に分割可能であることが示された
→患者は大きく2種類に分けられる
- 患者群で変動する一方で、健常者群で変動しない遺伝子群が同一クラスター (Gene Tree) に属することが判った
→患者に特徴的な動きがある

Sakabe's Lab.

28遺伝子のクラスタリング 解析結果

- 患者群のみで変動を示したものは…
AMP phosphodiesterase,
CD83, NfκB, CXCL2,
angiotensin/vasopressin receptor,
ICAM1,
TNFα-induced protein 3,
dual specificity phosphatase 2,
IL-4, unknown の10遺伝子が抽出された。

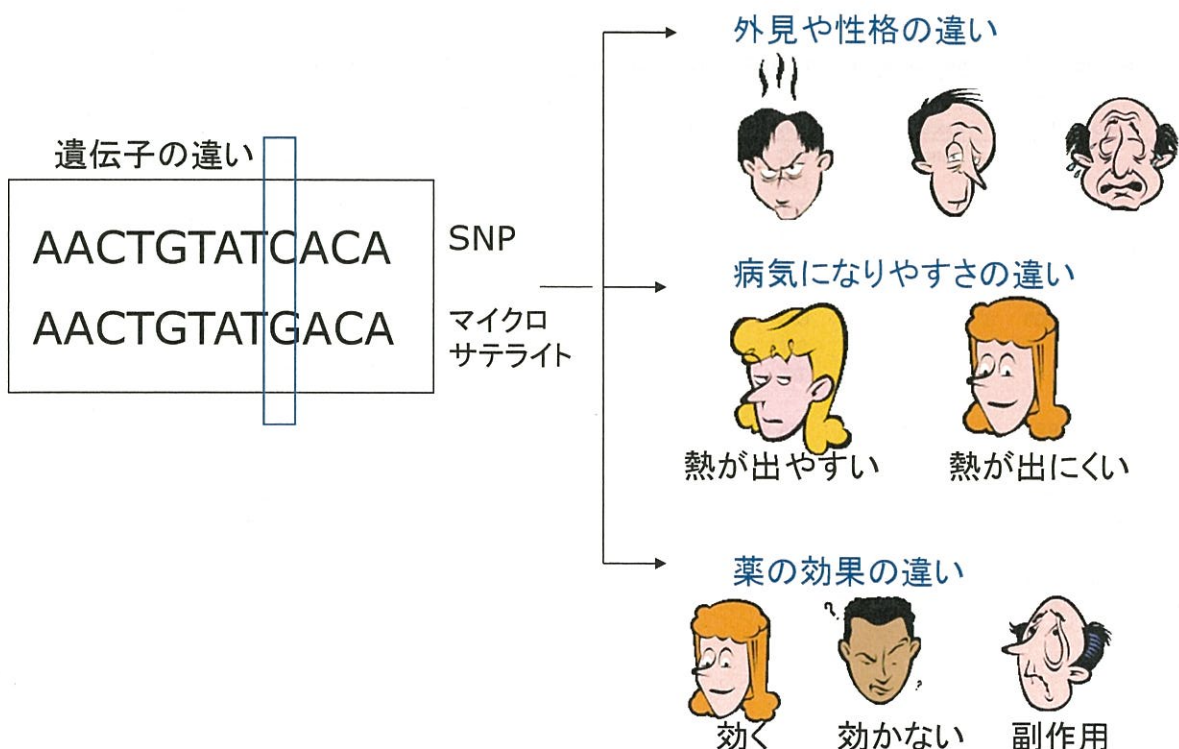
Sakabe's Lab.

Candidate Genes for SHS

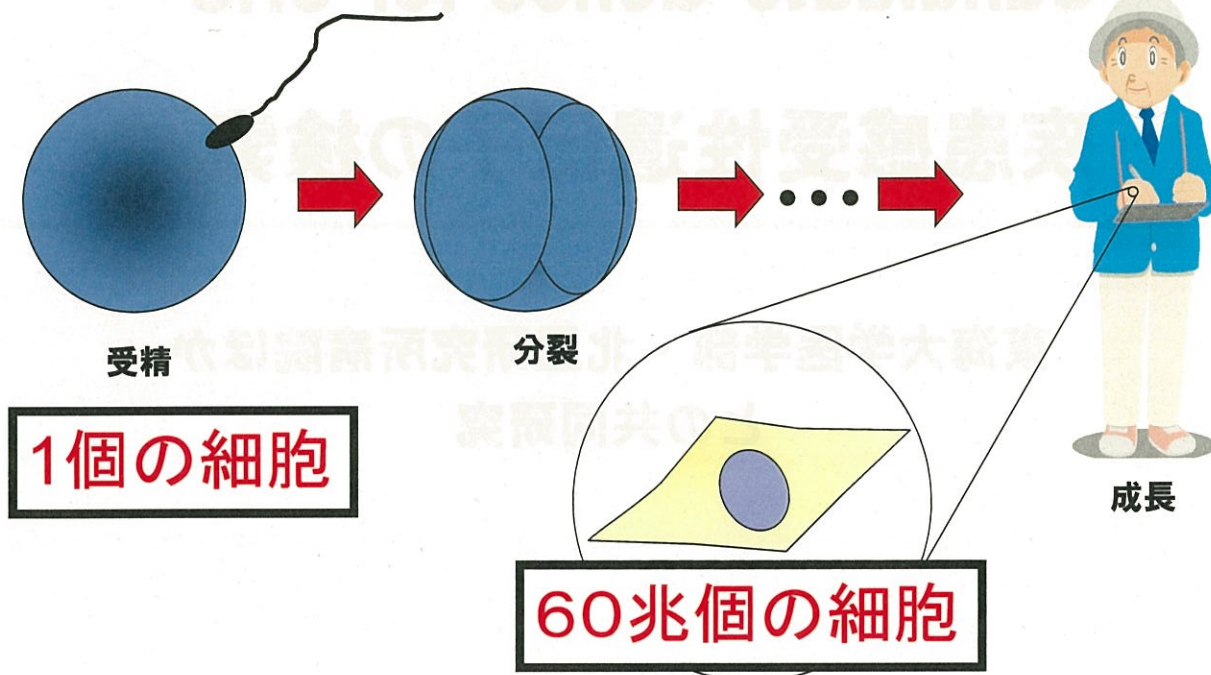
疾患感受性遺伝子の検索

東海大学医学部・北里研究所病院ほか
との共同研究

遺伝子が違うことによる人の違い



遺伝情報は不変



CYP1A1 and *GSTP1* Genes and Sick House Syndrome

Table Genotype frequencies of the human *CYP1A1* and *GSTP1* genes and the significance of their association with Sick house syndrome

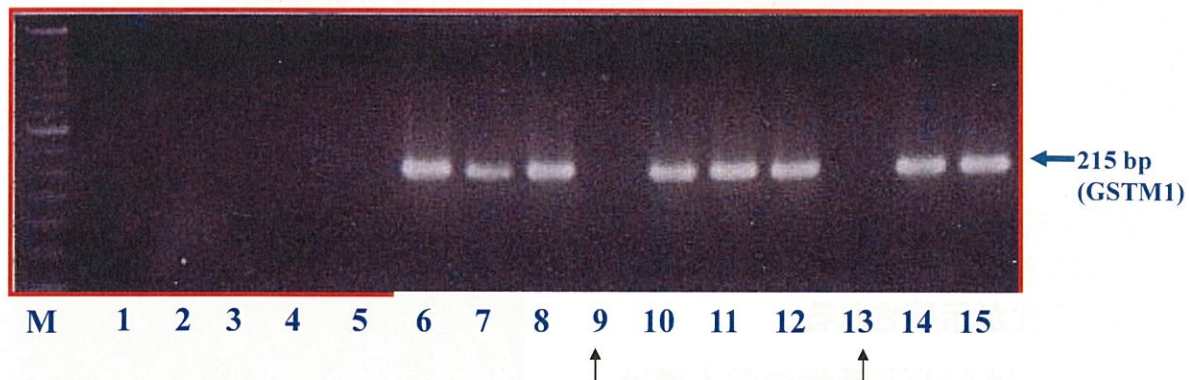
Gene	Accession No.	Location	Genotype*	Genotype frequency		OR (90% CI)	χ^2	P-value
				Patients (2n=120)	Controls (2n=262)			
<i>CYP1A1</i>	rs4646421	intron 1	C/C	0.48	0.37	1.57 (0.85 - 2.90)	2.03	0.154
			C/T	0.38	0.46	0.74 (0.39 - 1.37)	0.93	0.334
			T/T	0.13	0.17	0.76 (0.32 - 1.82)	0.37	0.542
	rs1048943	exon 7	A/A	0.65	0.56	1.43 (0.76 - 2.69)	1.23	0.267
			A/G	0.30	0.39	0.67 (0.35 - 1.29)	1.42	0.233
			G/G	0.05	0.05	-	-	-
	rs5030838	3' flanking region	C/C	0.17	0.17	-	-	-
			C/T	0.38	0.47	0.71 (0.38 - 1.33)	1.13	0.287
			T/T	0.45	0.37	1.41 (0.76 - 2.63)	1.21	0.272
<i>GSTP1</i>	rs1695	exon 5	A/A	0.65	0.72	0.72 (0.38 - 1.36)	1.04	0.308
			A/G	0.34	0.26	1.46 (0.76 - 2.81)	1.29	0.255
			G/G	0.02	0.02	-	-	-
	rs4891	exon 7	T/T	0.00	0.02	-	1.35	0.245
			T/C	0.40	0.24	2.03(1.06 - 3.91)	4.52	0.034
			C/C	0.60	0.73	0.55 (0.29 - 1.06)	3.16	0.075

*Each genotype is represented by the nucleotide sequence of the sense strand of each gene.

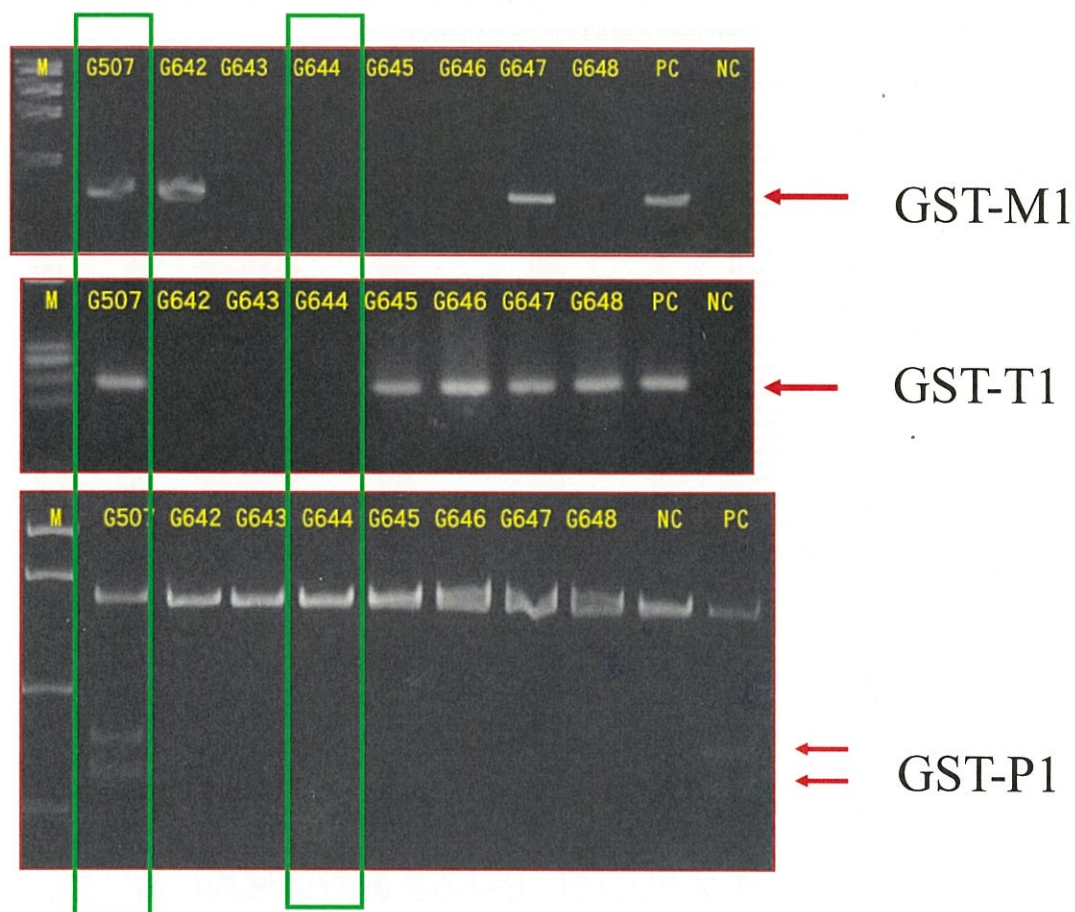
化学物質(薬物)代謝酵素・・・

グルタチオン-S-トランスフェラーゼ(第2相代謝酵素の一つ)

PCR法(判定)



1:blank 2:blank 3:blank 4:blank 5:blank 6:present 7:present 8:present
9:absent 10:present 11:present 12:present 13:absent 14:absent 15:absent





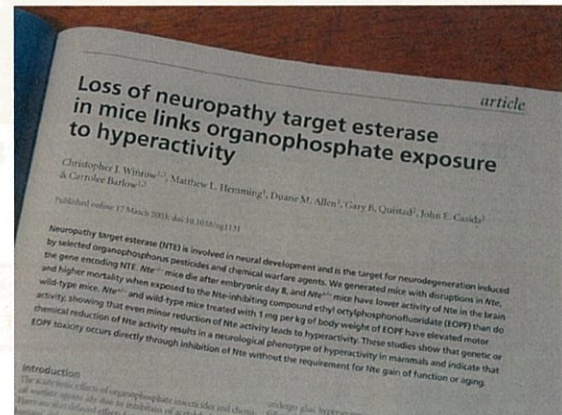
環境化学物質誘導遅発性神経障害にNTE
発現機構の重要性が指摘されている。

Winrow CJ et al. : 33 (4), 2003

・NTE活性の低い動物は、有機リン系
化学物質に敏感であり、多動性障害と
の関連性が示唆される。

・ヒトにおけるNTE活性の個人差は
6倍近くある。

・主としてニューロンの細胞膜に存在



Association Study of NTE Gene with Sick House Syndrome

Table. Allelic association between SNPs in the NTE gene and Sick house syndrome.

No.	rs No.	Location	Allele	Allele frequency		OR (90% CI)	χ^2	P-value
				Patients (2n=120)	Controls (2n=304)			
1	rs590849	Promoter	T/C	0.500	0.447	1.24 (0.81 - 1.89)	0.947	0.330
2	rs540516	intron 1	C/T	0.407	0.362	1.21 (0.78 - 1.87)	0.733	0.392
3	rs604959	exon 2	A/C	0.475	0.365	1.57 (1.03 - 2.41)	4.341	0.037
4	rs541271	intron 6	G/A	0.418	0.388	1.13 (0.74 - 1.74)	0.325	0.569
5	rs526411	intron 6	C/T	0.418	0.398	1.09 (0.71 - 1.66)	0.145	0.704
6	rs654059	intron 6	T/C	0.508	0.497	1.05 (0.69 - 1.59)	0.046	0.830
7	rs591040	exon 9	C/T	0.017	0.016	1.05 (0.20 - 5.48)	0.003	0.955
8	rs492092	intron 12	C/G	0.598	0.566	1.14 (0.75 - 1.75)	0.378	0.539
9	rs620744	intron 14	C/T	0.451	0.438	1.06 (0.69 - 1.61)	0.063	0.802
10	rs577219	intron 19	G/T	0.415	0.382	1.15 (0.75 - 1.77)	0.405	0.525
11	NEW	intron 19	DEL/A	0.415	0.395	1.09 (0.71 - 1.68)	0.149	0.699
12	rs473899	intron 21	A/G	0.393	0.385	1.04 (0.67 - 1.59)	0.027	0.870
13	rs661825	intron 21	G/C	0.631	0.625	1.03 (0.66 - 1.59)	0.014	0.906
14	rs496380	intron 21	A/G	0.639	0.625	1.06 (0.69 - 1.65)	0.077	0.782
15	rs557596	intron 21	T/C	0.646	0.628	1.09 (0.70 - 1.68)	0.139	0.708
16	rs2432110	intron 21	T/C	0.458	0.410	1.21 (0.78 - 1.86)	0.787	0.375
17	rs793864	intron 21	C/G	0.754	0.679	1.45 (0.90 - 2.35)	2.289	0.129
18	rs1645799	intron 21	G/A	0.492	0.443	1.21 (0.79 - 1.86)	0.793	0.373
19	NEW	intron 21	C/G	0.508	0.438	1.33 (0.87 - 2.03)	1.739	0.187
20	NEW	intron 21	T/A	0.508	0.438	1.33 (0.87 - 2.03)	1.739	0.187
21	NEW	intron 21	G/T	0.508	0.424	1.40 (0.92 - 2.14)	2.454	0.117
22	NEW	intron 21	G/T	0.508	0.438	1.33 (0.87 - 2.03)	1.739	0.187
23	rs539887	intron 21	A/C	0.492	0.424	1.31 (0.85 - 2.00)	1.580	0.209
24	rs480208	intron 21	A/G	0.492	0.408	1.40 (0.92 - 2.15)	2.461	0.117
25	rs581698	intron 21	G/C	0.517	0.434	1.39 (0.91 - 2.13)	2.345	0.126
26	rs582611	intron 21	A/G	0.500	0.433	1.31 (0.85 - 2.01)	1.519	0.218
27	rs534758	intron 21	G/T	0.750	0.733	1.09 (0.67 - 1.78)	0.120	0.729
28	rs583984	intron 21	T/C	0.491	0.447	1.20 (0.78 - 1.84)	0.673	0.412
29	rs50874	intron 21	A/G	0.509	0.470	1.17 (0.76 - 1.80)	0.508	0.476
30	rs534464	intron 23	G/C	0.742	0.704	1.21 (0.75 - 1.94)	0.600	0.438
31	rs563266	intron 23	T/C	0.458	0.421	1.16 (0.76 - 1.78)	0.487	0.485
32	rs597582	intron 23	C/T	0.742	0.720	1.11 (0.69 - 1.80)	0.196	0.658
33	rs598023	intron 23	A/G	0.737	0.720	1.09 (0.67 - 1.76)	0.122	0.727
34	rs598028	intron 23	C/G	0.742	0.720	1.11 (0.69 - 1.80)	0.196	0.658
35	rs599328	intron 24	C/G	0.742	0.737	1.03 (0.63 - 1.66)	0.010	0.919
36	rs599330	intron 24	C/T	0.708	0.701	1.04 (0.65 - 1.65)	0.024	0.876
37	rs524530	intron 24	A/G	0.750	0.701	1.28 (0.79 - 2.07)	1.027	0.311
38	rs539887	intron 24	A/C	0.492	0.424	1.01 (0.63 - 1.62)	0.003	0.953
39	rs563826	intron 25	A/G	0.717	0.704	1.06 (0.67 - 1.70)	0.067	0.795
40	rs2446176	intron 29	G/A	0.690	0.671	1.09 (0.69 - 1.73)	0.133	0.716
41	rs1645800	intron 30	G/A	0.456	0.418	1.17 (0.76 - 1.80)	0.499	0.480
42	rs503336	intron 30	A/G	0.442	0.418	1.10 (0.72 - 1.69)	0.201	0.654
43	rs518321	intron 30	T/C	0.442	0.418	1.10 (0.72 - 1.69)	0.201	0.654
44	rs504149	intron 30	T/G/C	0.500	0.441	1.27 (0.83 - 1.94)	1.215	0.270
45	rs504149	intron 30	C/T	0.474	0.421	1.24 (0.81 - 1.90)	0.982	0.327
46	rs7245592	intron 30	G/A	0.432	0.414	1.08 (0.70 - 1.65)	0.110	0.740
47	NEW	intron 30	T/C	0.432	0.398	1.15 (0.75 - 1.77)	0.411	0.521
48	rs506104	intron 30	C/A	0.432	0.391	1.18 (0.77 - 1.82)	0.587	0.444
49	rs538850	intron 31	C/T	0.448	0.408	1.18 (0.77 - 1.82)	0.562	0.453
50	rs538852	intron 31	G/A	0.741	0.737	1.02 (0.63 - 1.67)	0.009	0.925
51	rs577029	intron 31	T/C	0.448	0.418	1.13 (0.74 - 1.74)	0.320	0.572
52	rs577145	intron 31	T/C	0.448	0.418	1.13 (0.74 - 1.74)	0.320	0.572
53	rs541600	intron 31	C/T	0.448	0.418	1.13 (0.74 - 1.74)	0.320	0.572
54	rs89621	intron 31	C/T	0.448	0.418	1.13 (0.74 - 1.74)	0.320	0.572

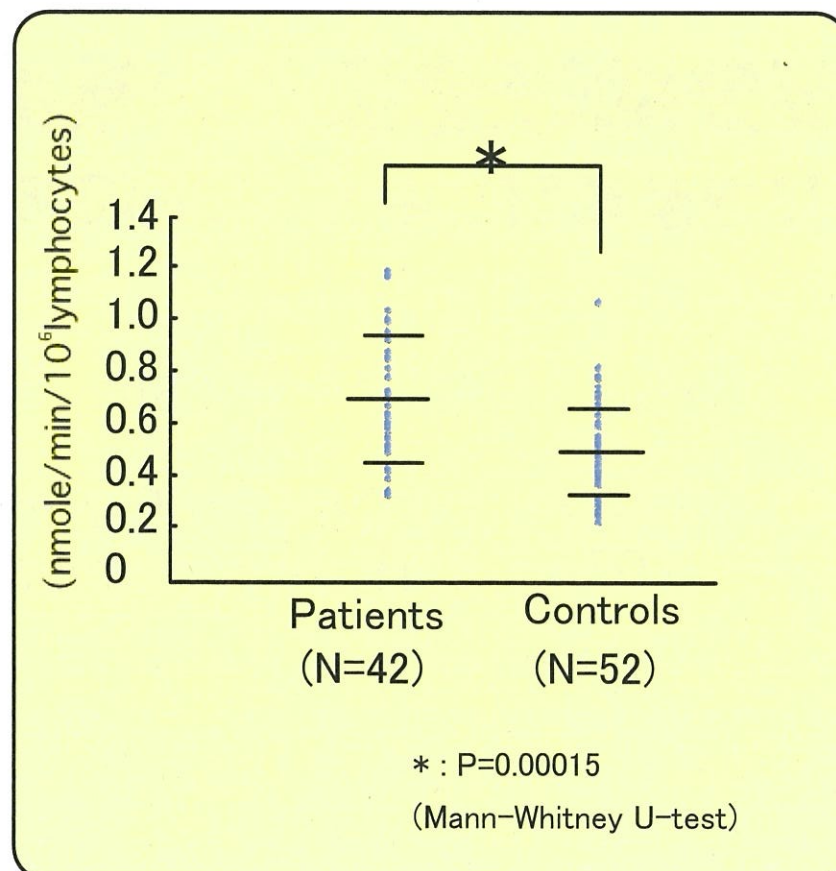
NTE遺伝子のエクソン2における非翻訳領域内において、
統計学的有意差を示すSNPを見出した(P=0.037)

Genotype Frequencies of SNPs in the *NTE* Gene

Table. Genotype association between SNPs in the *NTE* gene and Chemical Sensitivity

No.	rs No.	Location	Genotype	Genotype frequency		OR (90% CI)	χ^2	P-value	Pc-value
				Patients (2n=120)	Controls (2n=304)				
1	rs560849	Promoter	C/C	0.305	0.151	2.46 (1.23 - 4.94)	6.419	0.011	0.068
			C/T	0.390	0.592	0.44 (0.24 - 0.81)	6.991	0.008	0.049
			T/T	0.305	0.257	1.27 (0.66 - 2.47)	0.507	0.476	1.000
2	rs540516	intron 1	C/C	0.390	0.375	1.06 (0.57 - 1.97)	0.040	0.842	1.000
			C/T	0.407	0.526	0.62 (0.34 - 1.13)	2.430	0.119	0.714
			T/T	0.203	0.099	2.33 (1.04 - 5.25)	4.176	0.041	0.246
3	rs604959	exon 2	A/A	0.317	0.375	0.77 (0.41 - 1.46)	0.637	0.425	1.000
			A/C	0.417	0.520	0.66 (0.36 - 1.21)	1.829	0.176	1.000
			C/C	0.267	0.105	3.09 (1.46 - 6.53)	8.744	0.003	0.019

エクソン2のSNPの遺伝子型頻度について、統計学的有意差を示す遺伝子型(C/C)を見出した(Pc=0.019)



NTE activity in lymphocyte of CS patients and controls.

まとめ

1. *NTE*遺伝子のエクソン2における非翻訳領域内において、統計学的有意差を示すSNPを見出した($P=0.04$)。
3. 上記SNPの遺伝子型頻度について、統計学的有意差を示す遺伝子型(C/C)を見出した($P_c=0.02$)。
4. ハプロタイプ解析の結果、患者群において統計学的有意差を示すハプロタイプ(T-C-C)を見出した($P_c=0.00004$)。
5. ヒトリンパ球における*NTE* activityの測定の結果、*NTE* activityは患者群において有意に高かった($P=0.00015$)。

Environmental Toxicol. 29:190-194, 2010

Environ. Toxicol. Epub.(DOI 10.1002/tox), 2013

疾患関連遺伝子の検索

異物代謝酵素群を中心とした解析結果

• *GSTP1* (Glutathione S-transferase P1)

SNP: Location: exon7 Genotype :T/C
 $p<0.034$ vs Healthy Controls

• *NTE* (Neuropathy Target Esterase)

SNP: Location: exon 2 Genotype :C/C
 $P<0.019$ vs Healthy Controls

微量化学物質曝露と生体応答に関する研究

東海大学、北里大学、東京大学、京都大学、東北大学、早稲田大学、
慶応義塾大学、玉川大学、旭川医科大学、横浜国立大学、
山形大学等との共同研究

化学物質曝露と心拍変動のリアルタイムモニタリング

化学物質曝露 → 心拍変動 → 自覚症状



VOCモニタ



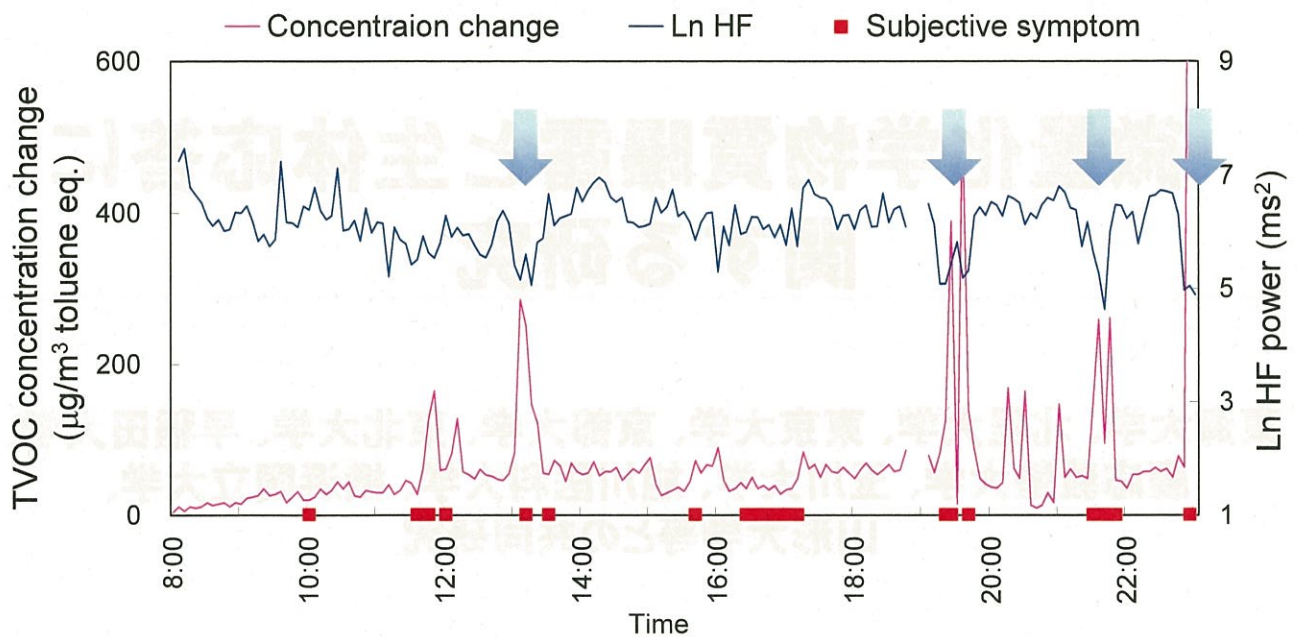
ホルター心電計



患者の曝露と症状の関係を客観的に評価

- 診断の補助ツール
- 日常生活への提案

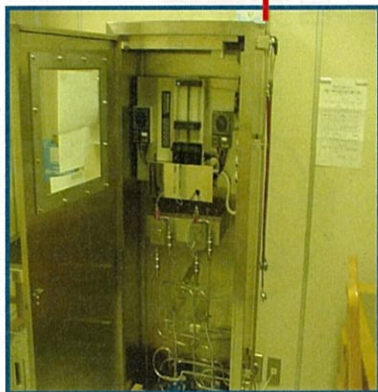
心拍変動とTVOC濃度変化量（患者）



・心拍変動は、TVOC濃度変化量と相関する

化学物質負荷テスト

自動制御負荷装置

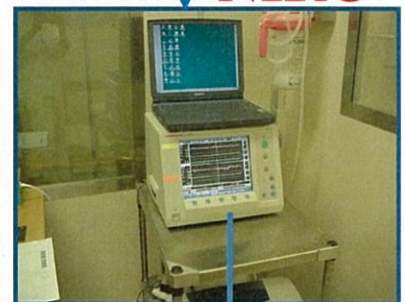


ホルムアルデヒド
(16 & 40ppb)
トルエン
(25 & 70ppb)



ブース室

NIRO



評価

脳内酸素モニター測定方法 プローブ装着・起立試験・ガスの調整・吸入負荷

●プローブ装着

(右前頭部・右上腕)



●起立試験 吸入負荷試験前後で実施

座位



起立



治療効果判定に起立試験を利用



ポリ袋に入れた脱脂綿に各化学物質を1~3滴下して揮発させる。



約8cmの紙製リングを使って開口し吸入



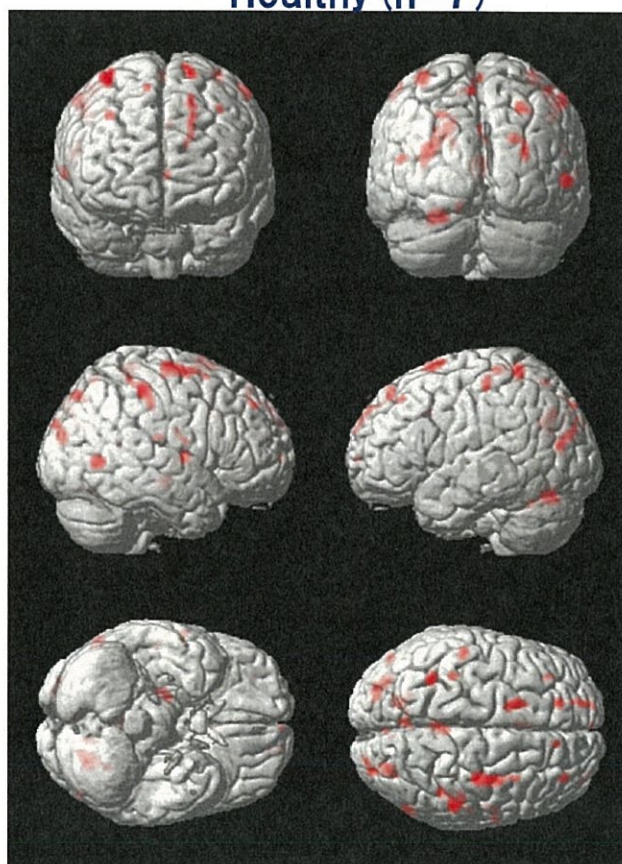
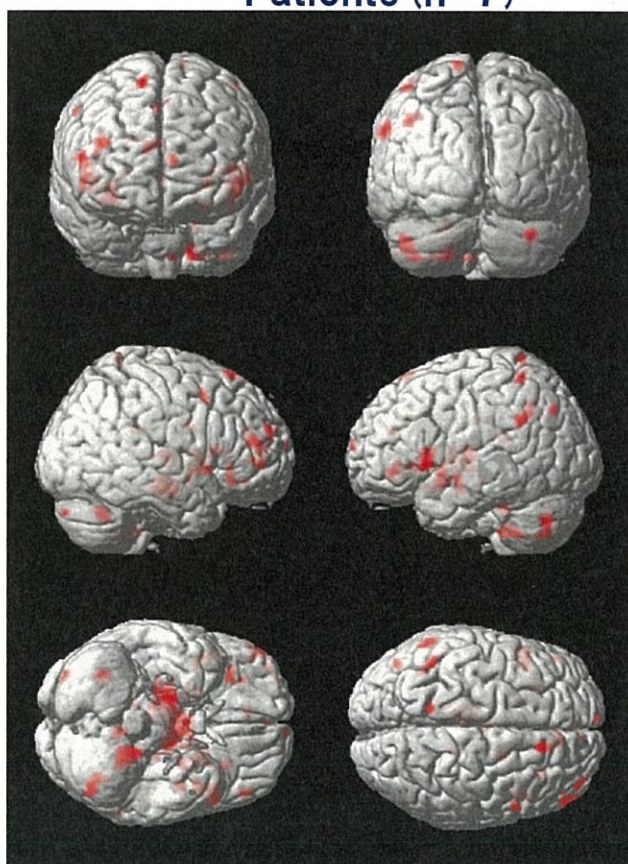
●ガス吸入負荷試験

厚生労働科学研究より

Toluene (100ppb)

Patients (n=7)

Healthy (n=7)



子どものシックハウス症候群 個人情報との関係で当日紹介