

化学物質負荷試験に用いるクリーンルームにおける化学物質濃度とその負荷濃度の安定性に関する検討

後藤 浩之¹⁾, 吉田 辰夫¹⁾, 国戸千薫子²⁾, 藤之原仁美²⁾

西中川秀太³⁾, 小川 真規³⁾, 圓藤 陽子⁴⁾

¹⁾独立行政法人勤労者健康福祉機構関西労災病院環境医学研究センター, ²⁾同 検査科,

³⁾独立行政法人勤労者健康福祉機構東京労災病院環境医学研究センター, ⁴⁾同 産業中毒センター

(平成 18 年 11 月 22 日受付)

要旨: [目的] シックハウス症候群や化学物質過敏症の診断には, 気中の化学物質濃度が微量であるクリーンルームにおける患者への化学物質の負荷試験が有用とされている. 特に化学物質過敏症の診断においては, 微量の化学物質の負荷試験が必要なので, クリーンルームでの安定した微量化学物質の濃度維持が不可欠である. それ故, 本院に設置されたクリーンルームが, 負荷試験において安定した化学物質濃度を維持できるかを検討した. [方法] 空調システムを作動し, 一時間後に各部屋の中央部においてトルエン (Tol), キシレン (Xy), ホルムアルデヒド (FA) を測定した. 負荷試験を行うブース検査室では, Tol または FA 濃度を測定した. 空間的均一性を観察するために, 部屋の中央部の他に 6 カ所の測定点を定め, 各測定点は高さ 75 及び 150cm の 2 カ所を測定した. 室内の設定濃度は厚生労働省の定める室内指針値とした. 室内空気試料は活性炭管またはアルデヒド捕集用シリカゲル管で採取し, Tol, Xy は加熱脱着装置付きガスクロマトグラフィー質量分析計, FA は液体クロマトグラフィーにて分析した. [結果] 空調作動時の各部屋の Tol, Xy の濃度は $10\mu\text{g}/\text{m}^3$ 未満, FA の濃度は $5\mu\text{g}/\text{m}^3$ 未満であった. ブース検査室の負荷濃度として Tol $260\mu\text{g}/\text{m}^3$, FA $100\mu\text{g}/\text{m}^3$ を設定してシステムを稼働した時, 室内空間の平均濃度は Tol $260.2 \pm 17.9\mu\text{g}/\text{m}^3$, FA $86.7 \pm 2.5\mu\text{g}/\text{m}^3$ と FA はやや低めであったが, 変動係数は Tol 6.9%, FA 2.9% といずれも小さく室内空間の均一性が良かった. [結語] 今回の測定結果により, 均一で低濃度の化学物質環境の作製が確認できたので, 目標となる微量化学物質の負荷試験が可能であることが示された. この検査室で負荷試験を行うことにより, 化学物質過敏症やシックハウス症候群の診断や原因物質の解明に役立つと考えられる.

(日職災医誌, 55: 80-84, 2007)

キーワード

化学物質濃度, 曝射試験, シックハウス症候群

目 的

シックハウス症候群は室内環境汚染に由来する健康障害である¹⁾²⁾. 特定の揮発性化学物質の室内濃度指針値が厚生労働省によって設定されているが³⁾, 過去の住宅や職域などでは必ずしもそれらの濃度が守られているとは限らず, シックハウス症候群の患者は多い. 一方, 微量の化学物質に反応する病態を化学物質過敏症といい⁴⁾⁵⁾, 近年日本においてもこれを訴える患者が増加している. そのため, 平成 8 年に厚生労働省のアレルギー班が化学

物質過敏症の診断基準を作成した⁶⁾が, 自覚症状に基づく診断基準となっており, 他覚所見や有用な検査所見に乏しい. 化学物質負荷試験は, 化学物質と症状との関連性を確認できる誘発試験なので, シックハウス症候群や化学物質過敏症診断の根拠になると期待されている⁷⁾.

関西地区におけるシックハウス症候群及び化学物質過敏症の臨床拠点として, 平成 16 年に当病院内に環境医学センターが設置された. 環境医学センターの揮発性化学物質濃度は厚生労働省が設定した室内指針値濃度の 20 分の 1 未満レベルとなっている. その中には, 化学物質の負荷試験を行うブース検査室がある. 今回, 微量の化学物質の負荷試験を実施するにあたって, ブース検査室における気中化学物質の低濃度の維持および曝露濃度の

正確性と均一性を検討し、微量化学物質の負荷試験が実施可能な施設であることを確認したので報告する。

対象および方法

環境医学センターのブース検査室、診察室、待合室におけるトルエン、キシレン、ホルムアルデヒド濃度を測定した。空調システムを1時間作動すると室内中化学物質濃度が一定となることは設置業者のデータを基に確認しており、患者の入室も作動後1時間以降なので、空調システムを作動した1時間後に採気を開始し30分間捕集した。診察室、待合室における測定点は各部屋の中央で、床面より1.5mの高さにおいて試料を採取した。

ブース検査室は負荷試験時の濃度の均一性を検討するために、図1のように15の測定点を次のような条件で設定し、目的とするガス濃度を負荷の前後で測定した(図1)。

1) 室内の広さを勘案して、等間隔に6点をコーナーから0.5mの位置にとり、高さは立位における呼吸位置の1.5mと座位における呼吸位置の0.75mの計12点を設定した。

2) 室内の中央の位置で、高さが0.75m、1.25mおよび

1.5mの3点を設定した。

ブース検査室では、バックグラウンドレベルを測定した後、トルエンおよびホルムアルデヒドの曝露試験を行い、上記15点における各物質の濃度を測定した。ブース検査室の化学物質濃度はモニター計を用いた監視によるとシステム稼動後トルエンは10分、ホルムアルデヒドは20分間で安定化することが確認されているので、いずれの物質もシステム稼動後20分後にサンプリングを開始し、30分間被検空気を採取した。負荷試験の設定濃度はトルエンが $260\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、ホルムアルデヒドが $100\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。キシレンは指針値濃度でも匂いがきつく、「被験者にブラインド試験をする」という負荷試験が不可能なので、今回はキシレンの曝露試験について検討しなかった。

<トルエン、キシレン測定法>

トルエン、キシレンの測定法は、厚生労働省の標準的な方法³⁾である、固相吸着/加熱脱着—ガスクロマトグラフ質量分析法により実施した。サンプリングは携帯型ガス採取装置(GSP-250FT、ガステック社製)を用いて100ml/minで30min行い、環境気中のトルエン及びキシレンを加熱脱着用捕集管(Air Toxics Tube、スペルコ社)に捕集した。サンプリング終了後、捕集管を高純度窒素ガスを30ml/minで5min流して乾燥後、内部標準液トルエンD-8(20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、和光純薬、東京)を1 μl 注入した。同様に未使用の捕集管に標準液の揮発性芳香族混合液(100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、和光純薬、東京)と内部標準液を注入したものをスタンダード、内部標準液のみを注入したものをブランクとした。これらの捕集管を加熱脱着装置(Matrix ATD、Perkin Elmer Ltd, USA)にかけ、発生させたガスをトランスファーラインを経由してガスクロマトグラフ質量分析計(Clarus 500、Perkin Elmer Ltd, USA)に導入し、SIFIモードにて表1の質量数(m/z)を用いて検出した。

加熱脱着装置付きガスクロマトグラフ質量分析計(ATD-GC/MS)の条件を表1に記した(表1)。

<ホルムアルデヒド測定法>

ホルムアルデヒドは厚生労働省の標準的な方法³⁾である、ジニトロフェニルヒドラゾン(DNPH)誘導体化固相吸着—高速液体クロマトグラフ(HPLC)法により測定した。サンプリングは吸引ポンプ(GiliAir5、Gilian, USA)を用いて1.0l/minで30min行い、環境気中のホルムアルデヒドをDNPHアルデヒドサンプラー(Sep-Pak XPoSure、Waters Ltd, USA)に捕集した。サンプリング終了後、DNPH誘導体を5mlのアセトニトリルで溶出させ、その溶液5 μl をHPLC(SCL-10A、島津製作所、京都)にて分析した。分離カラムはスペルコ社製Discovery RP-Amid C16(250mm \times 4.6mm \times 5 μm)を用い、カラム温度を40 $^{\circ}\text{C}$ に設定し、移動相としてアセトニトリル/水(55:45)を1ml/minの流量で流した。標準液として16種アルデ

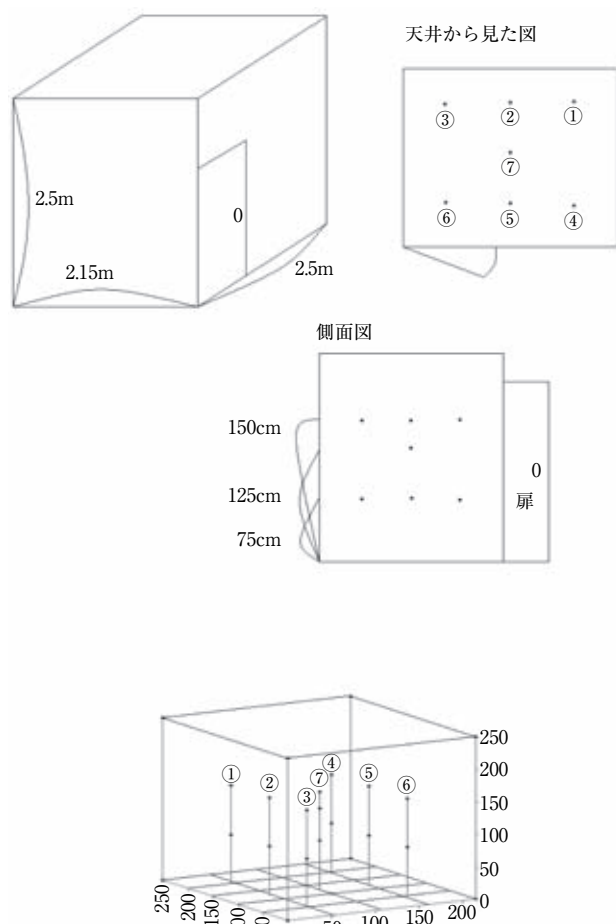


図1 ブース検査室見取り図

表1 熱脱着装置及び質量分析計の分析条件

加熱脱着装置	Turbo Matrix 350 ATD (パーキンエルマー社製)
脱着温度	300℃
脱着流量	30 ml/min
脱着時間	10 min
冷却トラップ流入量	30 ml/min
冷却トラップ温度	5℃
冷却トラップ脱着温度	300℃
冷却トラップ脱着時間	35 min
冷却トラップ流出量	10 ml/min
質量分析計	
カラム	DB-1 (Spelco, USA) 0.25 mm×60 m×0.25 μm
カラム温度	40℃ (2 min) - 10℃/min (8 min) - 20℃/min - 260℃ (8 min)
キャリアーガス	ヘリウム, 17 気圧
イオン源温度	230℃
検出モード	SIFI (SIM-Scan)
トルエン	m/z = 91
d8-トルエン	m/z = 98
キシレン	m/z = 91

ヒド-DNPH 混合標準液 (10μg/ml, Spelco, USA) を用いて、360nm の吸光度により定量した。なお、本施設は室温 25~26℃, 相対湿度 50% に維持されているので、測定値の補正はしなかった。

結 果

環境医学センター内の空調システム稼働中の化学物質濃度は表2に示したようにトルエンおよびキシレンは10μg/m³未満, ホルムアルデヒドは5μg/m³未満であった。

ブース検査室内の化学物質濃度測定結果を表3に示した。化学物質負荷前の濃度は、測定点15カ所の全ての箇所においてトルエンおよびキシレンは10μg/m³未満, ホルムアルデヒドは5μg/m³未満であった。負荷後は、トルエン濃度の平均と標準偏差が260.3±17.9 (範囲: 233~290) μg/m³, ホルムアルデヒド濃度のそれらが86.7±2.5 (範囲: 84~92) μg/m³であった。トルエン濃度は設定値の100.1±6.7%と完全に合致し、ホルムアルデヒドは設定値の86.7±2.5%とやや低めであったが、いずれも精度良く、変動係数もトルエン6.9%, ホルムアルデヒド2.9%と小さく、検査室内の濃度も均一に分布していると考えられた (表2, 3)。

考 察

MCS の診断にはクリーンルームにおける、微量の化学物質による負荷試験が必要であると考えている。また、厳密な化学物質負荷試験を行うには、クリーンエアのみの負荷を含めた二重盲検法が必要である。

MCS 診断のための化学物質負荷試験を行う誘発試験室は米国環境保護庁 (US-EPA) が North Carolina 大学に珪瑯引き鉄鋼, ガラス及びアルミニウムを用いて建設している⁸⁾⁹⁾。当院のクリーンルームも、これを参考にし、調度は白木を用いている。建材は一部異なるが、供給す

表2 空調システム稼働中の化学物質濃度 (μg/m³)

	トルエン	キシレン	ホルムアルデヒド
診察室	< 10	< 10	< 5
検査室	< 10	< 10	< 5
待合室	< 10	< 10	< 5

る空気清浄システムは同じである。外気の取り込みについては、HEPA フィルターにより細菌を含む粒子状物質の除去および活性炭により揮発性有機化合物の除去を除去している。表2の空調システムを稼働したときの各室及び表3のブース検査室の負荷前のトルエン, キシレン, ホルムアルデヒド濃度がいずれも検出限界以下であることから、建材である白木からの放出もなく、除去性能は十分であることが示された。

負荷試験においては、有機溶剤の原液を吸入させた事例¹⁰⁾や、負荷濃度を許容濃度に設定した報告⁸⁾がある。前者においては、曝露方法の詳細は不明であるが、曝露の前後における肺機能検査値や血液生理値に差はなかったと報告されている。後者においては、特異臭のある物質の場合はペパーミントなどで臭いをマスキングし、このマスキング剤の曝露をシャムコントロールとして二重盲検法で試験し、感度33.3%, 特異度64.7%, 的中度52.4%と報告している⁸⁾。彼らは曝露と症状との因果関係を明白にするためには、十分高い曝露濃度と適度な曝露時間が必要であるとして、曝露濃度は許容濃度レベルに設定し、曝露時間は15~120分間に設定している。しかしながら、多くの被験者は曝露後数分から数時間以内に刺激などの急性の症状を訴える¹¹⁾。それ故、濃度を高く設定すると、マスキング剤を使って臭いを隠すことはできるが粘膜刺激を隠すことは難しいので、二重盲検法が成立しているか疑問となる。二重盲検法を可能にするには、粘膜刺激を感じない低い濃度における負荷試験が必要だと考えられる¹¹⁾。本院における曝露負荷室は Stauden-

表3 ブース検査室内の化学物質濃度測定結果

測定位置		負荷前 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)			負荷後 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	
測定点	高さ (cm)	トルエン	キシレン	ホルムアルデヒド	トルエン	ホルムアルデヒド
1	75	< 10	< 10	< 5	250	86
	150	< 10	< 10	< 5	273	87
2	75	< 10	< 10	< 5	272	87
	150	< 10	< 10	< 5	283	88
3	75	< 10	< 10	< 5	245	83
	150	< 10	< 10	< 5	277	91
4	75	< 10	< 10	< 5	240	84
	150	< 10	< 10	< 5	272	92
5	75	< 10	< 10	< 5	254	87
	150	< 10	< 10	< 5	290	84
6	75	< 10	< 10	< 5	233	87
	150	< 10	< 10	< 5	262	84
7	75	< 10	< 10	< 5	238	89
	125	< 10	< 10	< 5	245	86
	150	< 10	< 10	< 5	270	86
平均		< 10	< 10	< 5	260.3	86.7
標準偏差		—	—	—	17.9	2.5
変動係数 (%)		—	—	—	6.9	2.9

mayer⁸⁾の設定濃度の1/15~1/1,000程度であるので、ほとんどの人がその粘膜刺激や臭いを検知しない。このことは、精神心理的な影響が大きいと言われている¹²⁾¹³⁾化学物質過敏症の患者における診断法として有用であると考えられる。

本施設においては、ホルムアルデヒドとトルエンの曝露を負荷できるように準備した。ホルムアルデヒドは反応性に富んだ水溶液なので、まず鼻腔に沈着し、次に鼻腔粘膜の構成成分と作用するので、最も良い誘発試験物質とされている¹⁴⁾。その施設内のホルムアルデヒド濃度は、負荷前は検出下限である $5\mu\text{g}/\text{m}^3$ 以下で、負荷試験時の濃度は、厚生労働省³⁾が設定した室内基準値 $100\mu\text{g}/\text{m}^3$ をやや下回る濃度の $87\mu\text{g}/\text{m}^3$ であるとともに、変動係数は2.9%と小さくブース試験室内の濃度が均一であることが示された。この設定濃度では、ほとんどのヒトが臭いだけではなく粘膜刺激も感じられないので、通常の室内空気をコントロールとして二重盲検による負荷試験が可能である。他方、トルエンは反応性のない不溶性の有機物で肺胞から血液内に吸収され、標的である脳を含む中枢神経系に運ばれる¹⁴⁾ので、ホルムアルデヒドとは異なった作用を見るための代表と考えられる。このトルエン濃度は $260\mu\text{g}/\text{m}^3$ と室内基準値に合致しており、その変動係数も6.9%と室内濃度の均一性について満足のいく範囲内であった。この設定濃度では、臭いが感じられず、二重盲検法による負荷試験が可能となる。

以上のごとく、本院における負荷試験用ブース検査室は、低濃度のホルムアルデヒドおよびトルエンを負荷試験の間一定濃度で維持できることが明らかになり、性質

の異なる両物質による負荷試験を実施することにより、シックハウス症候群及び化学物質過敏症の診断に寄与することが期待される。

謝辞：本研究は独立法人 労働者健康福祉機構「労災疾病13分野研究開発事業」によるものであり、一部は平成18年度厚生労働科学研究「シックハウス症候群の実態解明及び具体的方策に関する研究」の補助金を用いた。

文 献

- 1) Kipen HM, Fiedler N: Environmental factors in medically unexplained symptoms and related syndromes: the evidence and the challenge. *Environ Health Perspect* 110 (Suppl 4): 597—599, 2002.
- 2) 室内空気質健康影響研究会：室内空気質と健康影響 解説シックハウス症候群。東京、ぎょうせい、2004.
- 3) 厚生労働省医薬品局化学物質安全対策室：室内空気中化学物質の採取方法と測定方法。シックハウス（室内空気汚染）問題に関する検討会中間報告書—第6回~7回のまとめについて。東京、厚生労働省、2001.
- 4) Multiple chemical sensitivity: A 1999 consensus. *Arch Environ Health* 54 (3): 147—149, 1999.
- 5) Staudenmayer H: Multiple chemical sensitivities or idiopathic environmental intolerances: psychophysiological foundation of knowledge for a psychogenic explanation. *J Allergy Clin Immunol* 99 (4): 434—437, 1997.
- 6) 石川 哲, 宮田幹夫：化学物質過敏症について。日本医事新報 3857: 25—29, 1998.
- 7) 石川 哲：シックハウス症候群・化学物質過敏症の診断基準に関する合意事項。臨環医 12: 99—100, 2003.
- 8) Staudenmayer H, Selner JC, Buhr MP: Double-blind provocation chamber challenges in 20 patients presenting

- with "multiple chemical sensitivity". *Regul Toxicol Pharmacol* 18 (1) : 44—53, 1993.
- 9) Selner JC : Chamber challenges : the necessity of objective observation. *Regul Toxicol Pharmacol* 24 (1 Pt 2) : S87—95, 1996.
- 10) Lee YL, Pai MC, Chen JH, Guo YL : Central neurological abnormalities and multiple chemical sensitivity caused by chronic toluene exposure. *Occup Med (Lond)* 53 (7) : 479—482, 2003.
- 11) Cohen N, Kehrl H, Berglund B, et al : Psychoneuroimmunology. *Environ Health Perspect* 105 (Suppl 2) : 527—529, 1997.
- 12) Staudenmayer H : Idiopathic environmental intolerances (IEI) : myth and reality. *Toxicol Lett* 120 (1-3) : 333—342, 2001.
- 13) Osterberg K, Orbaek P, Karlson B, et al : Annoyance and performance during the experimental chemical challenge of subjects with multiple chemical sensitivity. *Scand J Work Environ Health* 29 (1) : 40—50, 2003.
- 14) Bascom R, Meggs WJ, Frampton M, et al : Neurogenic inflammation : with additional discussion of central and perceptual integration of nonneurogenic inflammation. *Environ Health Perspect* 105 (Suppl 2) : 531—537, 1997.
(原稿受付 平成 18. 11. 22)

別刷請求先 〒660-8511 兵庫県尼崎市稲葉荘 3-1-69
関西労災病院環境医学研究センター
後藤 浩之

Reprint request :

Hiroyuki Goto
Research Center for Environmental Medicine, Kansai Rosai Hospital, Japan Labour Health and Welfare Organization, 3-1-69 Inabasou, Amagasaki City, Hyogo Prefecture 660-8511, Japan

CONCENTRATIONS OF CHEMICALS IN A CLEAN-ROOM FOR A CHEMICAL CHALLENGE TEST

Hiroyuki GOTO¹⁾, Tatsuo YOSHIDA¹⁾, Chikako KUNITO²⁾, Hitomi FUJINOHARA²⁾,
Shuta NISHINAKAGAWA³⁾, Masanori OGAWA⁴⁾ and Yoko ENDO⁴⁾

¹⁾Research Center for Environmental Medicine, Kansai Rosai Hospital, Japan Labour Health and Welfare Organization

²⁾Clinical Laboratory, Kansai Rosai Hospital

³⁾Research Center for Environmental Medicine, Tokyo Rosai Hospital, Japan Labour Health and Welfare Organization

⁴⁾Research Center for Occupational Poisoning, Tokyo Rosai Hospital

[Purpose] Since provocation challenge tests with low concentrations of chemical are required for the diagnosis of sick-house syndrome or multiple chemical sensitivity, maintenance of a stable concentration in a clean room is necessary. We therefore examined whether the clean room in our hospital could maintain stable chemical levels during provocation challenge testing. [Methods] One hour after we operated an air-conditioning system, toluene (Tol), xylene (Xy), and formaldehyde (FA) levels were measured in the central part of each room in the Research Center for Environmental Medicine. Tol and FA levels were measured at six places other than the central part of a chamber-room for provocation challenge testing at heights of 75 and 150cm to observe spatial uniformity of the air in the room. The level for the challenge test was set at the indoor guideline value recommended by the Japanese Ministry of Health, Labour, and Welfare. Air samples were collected by activated carbon tubes for Tol and Xy, and by silica-gel tubes for FA. Tol and Xy were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry with a heating-desorption system, and FA by liquid chromatography. [Results] The levels of Tol, Xy, and FA in each room which had been air-conditioned were below 10, 10, and 5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, respectively. When the exposure system was set for load levels of Tol at 260 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ and FA at 100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, the mean concentration of Tol was $260.2 \pm 17.9 \mu\text{g}/\text{m}^3$ and that of FA, $86.7 \pm 2.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$, with coefficients of variation of 6.9% and 2.9%, respectively. [Conclusion] This study confirmed that environments with homogeneous and low chemical exposure could be prepared. Challenge tests in humans with low levels of chemicals can be performed in this challenge room in order to diagnose or elucidate the causative agents of multiple chemical sensitivity and sick-house syndrome.