

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 8 月 25 日現在

機関番号：74329

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09179

研究課題名(和文) 化学物質過敏症の病態を免疫機能から解明する基礎研究

研究課題名(英文) Studies for elucidation of pathological status on multiple chemical sensitivity from immunological function tests

研究代表者

谷川 真理 (Tanigawa, Mari)

公益財団法人ルイ・パストゥール医学研究センター・その他部局等・研究員(移行)

研究者番号：50291018

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では化学物質過敏症(MCS: Multiple chemical sensitivity)患者と健常者の多項目免疫機能検査を測定し、比較検討した。MCS患者群と対照群から採血し、一般検査、リンパ球サブセット解析と12種のサイトカイン産生能を測定した。結果はMCSでIFN- $\gamma$ 産生能が有意の低下を認め、他項目では差がなかった。IFN- $\gamma$ は、自然免疫系と獲得免疫系の両方に関与するTh1系サイトカインで、MCSではTh1系の反応に、なんらかの不全がある可能性が示唆された。血中IgE、コーチゾールは異常なく、Th2系サイトカイン産生能にも差がないことから、MCSはアレルギーを介さない病態と考える。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本における化学物質過敏症(MCS)の患者数は数十万人と推定される。化学物質への曝露後多様な症状が反復し社会活動が困難となる例が多いが一般臨床検査では異常がなく診断がつかない。診断は既知の疾患除外と化学物質への曝露既往、質問票による評価等から診療経験のある少数の医師に委ねられている。MCSは化学物質曝露による神経、内分泌、免疫系の異常を介し起こるとされるが、発症機序や病態は解明されておらず、臨床や公衆衛生の観点からも早急な検査・診断法の開発が必要である。本研究によりMCSの病態理解が進み、指標になる検査が見つければ、医学的、社会的にも助けになることが期待され、その社会的貢献度は高い。

研究成果の概要(英文)：Backgrounds: The etiology of multiple chemical sensitivity (MCS) is poorly understood, but dysregulation of the immune system has been assumed as part of the pathophysiology. Methods: Blood samples were obtained from MCS individuals and from age- and sex- matched healthy controls. Lymphocyte subsets were analyzed. Productions of cytokines were assayed. All participants completed a questionnaire including questions on MCS (QEEI). Results: Significantly lower IFN- $\gamma$  productions were revealed in MCS patients ( $P < 0.05$ ) compared with controls. In MCS, numbers of regulatory T cells or other immunological parameters were not significantly different from controls. Conclusion: Decreased IFN- $\gamma$  production in MCS suggested dysfunctions of immunological reactions through Th1 and associated cytokine response not involving IgE mediated mechanisms. Further examinations are required for understanding the immunological disorders in MCS.

研究分野：内科学、免疫学

キーワード：化学物質過敏症 免疫機能異常 IFN- $\gamma$ 産生能 内科 公衆衛生

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 化学物質過敏症(Multiple Chemical Sensitivity: MCS)は、過去に大量の化学物質に曝露されるか、あるいは低濃度の有害な化学物質に長期間反復曝露されて起こる過敏状態で、その後極めて微量の同系統の化学物質に再曝露された場合に眼振などの神経症状をはじめ多臓器にわたる症状を反復、慢性的に呈する疾患とされる<sup>1)</sup>。化学物質過敏症のスクリーニングのために米国で開発された調査票 Quick Environmental Exposure and Sensitivity Inventory (QEESI) を用いて日本では2003年に内山、村山ら<sup>2)</sup>が、2013年に内山、東ら<sup>3)</sup>が、実態調査を行い報告した。その結果、日本でも化学物質過敏症有訴者が一般住民の中になりの割合で存在すると推定される。

(2) 一方、多くの医療機関では、MCSの患者の訴えや多様な症状から、アレルギー疾患を始めさまざまな疾患を疑われるも、通常の臨床検査で異常が認められないため、自律神経失調症や精神神経疾患とされることも多い。MCSの診断は主としてMCSの診療経験がある少数の医師の判断に委ねられているのが実情である。

(3) MCSは化学物質により、神経系、免疫系、内分泌系の相互バランスに異常をきたし発症するとされるが、客観的な知見に乏しく、MCSの疾患概念の確立、病態把握や診断に有用な検査法等を開発することは、学術的、内科臨床・公衆衛生の観点から急務である。

(4) 筆者らは、MCSについて近赤外分光法(fNIRS)を用いた嗅覚負荷試験による脳血流変化を評価し、症例群では健常者と比較して嗅覚野が強く反応していることを見出し報告した<sup>4,5,6,7)</sup>。

免疫系についても免疫機能を症例群と健常者群で多面的に検討し、MCS患者群ではNK活性はじめ自然免疫系の機能は保たれているが、Th2系炎症性サイトカイン産生能が高くないことから、アレルギーと異なる病態であり、多項目のバランスを健常者と比較すると歪みがあることを見出した<sup>8)</sup>。

## 2. 研究の目的

(1) これまでの研究を踏まえ、本研究では、MCSにおける、ある種の免疫不全状態の把握と病態の解明のために、従来の測定項目に加え、制御性T細胞の測定を含むより詳細な免疫機能検討を試みた。制御性T細胞は自己免疫、アレルギー疾患、腫瘍免疫等において重要な役割を担うリンパ球として注目されており、疾患関連の研究も増えつつある。MCSの病態理解にも鍵となるかもしれない。

(2) 多面的免疫機能のより詳細な検討により、MCSの病態の特徴や発症メカニズムを解明する知見を得られれば、臨床的にもより正しくMCSの病態把握の指標、治療研究の指標を得る可能性がある。

## 3. 研究の方法

### (1) 対象

2017年～2019年に、書面による同意を得た化学物質過敏症(MCS)有訴者13名(Patients, Pと略)(年齢 $52.7 \pm 11.9$ 歳、男性2名+女性11名)と性別および年齢をマッチさせた健常者13名(Healthy controls, Hと略)(年齢 $52.6 \pm 11.8$ 歳、男性2名+女性11名)の協力を得て本研究を実施した。

全参加者に環境過敏、自律神経系の知覚、感情や不安、ストレス、ライフイベント等について質問紙(QEESI)による生活・心理調査を実施し評価しP群・H群として適切であることを確認した。

### (2) 測定項目と測定方法

末梢血を採血し一般的な血液臨床検査(コーチゾール、IgE含む)と免疫機能 を実施した。

血液中のリンパ球サブセット解析

NK、キラーT、ヘルパーTについてフローサイトメトリーによりその割合(%)を測定した。

制御性 T 細胞については標準的な手順によりフローサイトメトリーによりその細胞数 (個数/ $\mu$ l) を測定した。  
インターフェロン (IFN)・サイトカイン産生能測定

a. IFN- $\alpha$  産生能

全血にセンダイウイルスで刺激した後に産生される IFN- $\alpha$  をバイオアッセイで測定した。<sup>9)</sup>

b. IFN- $\gamma$ , IL1, IL2, IL4, IL6, IL10, IL12, IL13, IL17, TNF- $\alpha$ , GM-CSF 産生能

全血に PHA 刺激した後、血漿検体をマルチビーズ法で測定した。<sup>10)</sup>

#### 4. 研究の成果

(1) 一般的な血液検査項目とコーチゾール、IgE は MCS 患者群と健常者群とも正常範囲で、2 群比較で差異を認めなかった。

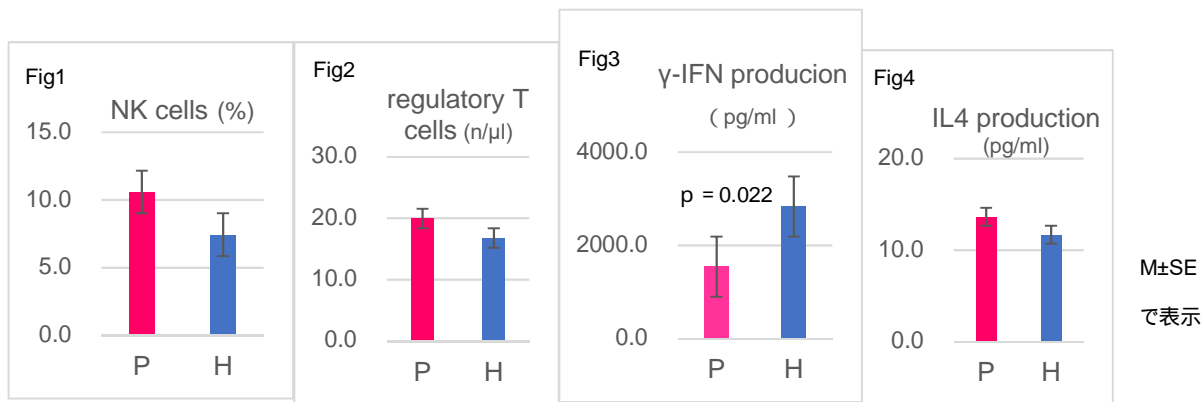
(2) リンパ球サブセット解析では制御性 T 細胞は MCS でやや多い印象があるものの有意差はみられなかった。NK 細胞、ヘルパー T、キラー T 細胞分画等についても有意差がなく、一定の傾向を認めなかった。

(3) 多項目インターフェロン・サイトカイン産生能で、IFN -  $\gamma$  産生能が健常者に比し有意に低かった ( $p = 0.022$ )。他のサイトカイン類には差を認めなかった。それ以外の 14 項目にも有意差は認められなかった  
16 項目の免疫機能検査の結果を表 1 に提示する。

Table 1 各種免疫機能検査の結果と有意差の有無

Tests	group P (MCS)	group H (cont)	p-値	Methods
NK cells (%)	M 10.6 $\pm$ 6.5 SD	M 7.4 $\pm$ 4.1 SD	0.151	flowcytometry
CD4T (%)	35.5 $\pm$ 5.5	38.5 $\pm$ 6.6	0.233	
CD8T (%)	25.0 $\pm$ 7.5	23.4 $\pm$ 4.9	0.533	
Treg (n/ $\mu$ l)	20.0 $\pm$ 11.2	16.8 $\pm$ 7.8	0.242	
IFN- (IU/ml)	17668.4 $\pm$ 11195.2	15810.8 $\pm$ 10317.6	0.663	bioassey
IFN- (pg/ml)	1242.7 $\pm$ 1609.7	2981.7 $\pm$ 1822.7	* 0.022	multibeads assey
IL-1b (pg/ml)	384.9 $\pm$ 322.7	527.4 $\pm$ 291.9	0.249	
IL-2 (pg/ml)	336.6 $\pm$ 110.3	285.6 $\pm$ 94.3	0.217	
IL-4 (pg/ml)	13.6 $\pm$ 4.2	11.7 $\pm$ 1.5	0.125	
IL-6 (pg/ml)	1141.6 $\pm$ 282.3	1008.0 $\pm$ 193.9	0.172	
IL-10 (pg/ml)	169.9 $\pm$ 85.4	131.2 $\pm$ 52.2	0.176	
IL-12 (pg/ml)	24.0 $\pm$ 37.3	14.6 $\pm$ 13.0	0.399	
IL-13 (pg/ml)	244.1 $\pm$ 278.7	117.3 $\pm$ 56.1	0.120	
IL-17 (pg/ml)	291.9 $\pm$ 131.4	311.9 $\pm$ 103.6	0.670	
GM-CSF (pg/ml)	12.8 $\pm$ 12.9	10.1 $\pm$ 4.7	0.486	
TNF-a (pg/ml)	24149.3 $\pm$ 8839.2	21631.0 $\pm$ 7772.2	0.448	

表 1 から、NK 細胞分画、制御性 T 細胞数、IFN 産生能、IL4 産生能の 4 項目をグラフ Fig1-4 に呈示する。



γインターフェロン産生能以外の項目には有意差を認めず。P 値は表1を参照

(4) 化学物質過敏症(MCS)における免疫系の変調は症状の要因と考えられているが、未解明な部分が多く、臨床的に鑑別を要するアレルギー疾患とMCSとの異同が議論されてきた。

T.M. Dantoft らは血中の炎症性サイトカインを測定し、MCS で増加していたと報告した<sup>11)</sup>。またその病態は Ig E を介さず、アレルギーと異なる機序によると考察している。しかしながら血中のサイトカインは通常ごく微量であり、我々も初期には血中のサイトカイン類の測定を試みたが、測定値が検出限界以下であることが多く、疾患の診断や経過の評価をすることは難しかった。

(5) 筆者らは、疾患関連の臨床研究で血中サイトカインの測定に替えて、サイトカイン産生能を測定してきた実績がある<sup>12,13)</sup>。MCS においても、これまで多面的免疫機能検査で MCS では NK 活性や IFN-α 産生能などの自然免疫系が高めに保たれている一方、Th2 系サイトカインである IL4,10 産生能が低めであったので、アレルギーと異なる病態が示唆されると報告した<sup>8)</sup>。

(6) IFN-γ は自然免疫と獲得免疫の両方に関与するサイトカインで、Th1 系であり、細胞性免疫を促進するサイトカインである。肝疾患と各種サイトカインの関係については多くの研究があり<sup>14)</sup>、各務らは IFN-γ 産生能が慢性肝炎 HBV、HCV で高値であること、急性肝炎、特に劇症肝炎で血中の Th2 系炎症性サイトカイン IL-6 や TNF-α の増加が著しいことなどを記述した。MCS では逆に低値であることが示された。

(7) 本研究で血中 IgE やコーチゾール値は正常で、Th2 系のサイトカイン産生能にも対照と差がなかったことから、MCS はアレルギー機序を介する病態とは異なると考えられた。また、MCS で IFN-γ 産生能が有意に低いことから、自然免疫系は保たれているが Th1 系の反応になんらかの問題がある可能性が示唆された。今回の研究では症例数が少なかったため、今後さらにデータを蓄積し検討していく必要がある。

#### <引用文献>

- 1) 石川 哲, 宮田幹夫: 化学物質過敏症—診断基準・診断に必要な検査法—, アレルギー・免疫, 6,34-42, (1999).
- 2) 内山巖雄, 村山留美子: QEESI 調査票を用いた化学物質過敏症の全国調査, 第 44 回大気環境学会講演要旨集, 246-247, (2003).
- 3) 東 賢一, 内山巖雄: 化学物質過敏症の実態について—全国規模の調査と臨床の現場から—, AROMA RESEARCH, 54 (14), 107-110, (2013).
- 4) Azuma K., Uchiyama I., Takano H., Tanigawa M., Azuma M., Bamba I., Yoshikawa T.: Changes in cerebral blood flow during olfactory stimulation in patients with multiple chemical sensitivity: a multi-channel near-infrared spectroscopic study, PLoS One, 8 (11), e80567, (2013).
- 5) Azuma K., Uchiyama I., Tanigawa M., Bamba I., Azuma M., Takano H., Yoshikawa T., Sakabe K.: Association of Odor Thresholds and Responses in Cerebral Blood Flow of the Prefrontal Area during Olfactory Stimulation in Patients with Multiple Chemical Sensitivity, PLoS One, 11 (12). e0168006, (2016).

- 6) 萬羽郁子, 東 賢一, 東 実千代, 谷川真理, 内山巖雄: 化学物質過敏症 (Multiple chemical sensitivity: MCS)の嗅覚知覚に関する検討, におい・かおり環境学会誌, 50 (1), 27-39, (2019).
- 7) Kenichi Azuma, Iwao Uchiyama, Mari Tanigawa, Ikuko Bamba, Michiyo Azuma, Hirohisa Takano, Toshikazu Yoshikawa, Kou Sakabe: Chemical intolerance: involvement of brain function and networks after exposure to extrinsic stimuli perceived as hazardous, *Environmental Health and Preventive Medicine*, 24, 1-11, (2019)
- 8) 谷川真理, 東 賢一, 宇野賀津子, 東 実千代, 萬羽郁子, 高野裕久, 内山巖雄, 吉川敏一: 免疫機能検査から見た化学物質過敏症 (Multiple chemical sensitivity: MCS) 有訴者の特徴, *日本免疫学会会誌*, 36 (5). 414, (2012).
- 9) Uno K, Nakano K. Maruo N., Onodera H., Mata H., et al.: Determination of interferon-alpha-producing capacity in whole blood cultures from patients with various diseases and from healthy persons. *J. Interferon Cytokine Res.*, 16, 911-918, (1996)
- 10) 村田圭一郎, 宇野賀津子: インターフェロン- $\gamma$  産生能測定のための ELISA 法、Bioplex 法によるインターフェロン- $\gamma$  量測定の比較検討, *Pasken J.*, 21・22, 10-12, (2009)
- 11) T.M. Dantoft, J., Elberling, S. Brix, P. B. Szecsi, S. Vesterhauge, S. Skovbjerg: An elevated pro-inflammatory cytokine profile in multiple chemical sensitivity, *Psychoneuroendocrinology*, 40, 140-150, (2014)
- 12) Uno K., Setoguchi J., Tanigawa M., Kishi A., Ogawa M., Saotome H., Fujiwara H., Kishida T.: Differential IL-12 responsiveness for interferon  $\gamma$  production in advanced stages of cancer patients correlates with performance status. *Clin. Cancer Res.*, 42, 425-2432, (1998)
- 13) 宇野賀津子, 富永真澄, 長谷川剛二, 福井道明, 八木克己, 谷川真理, 藤田哲也, 吉川敏一, 中村直登: 境界型糖尿病から糖尿病への進展とサイトカイン・ケモカイン動態: 多項目同時測定法による網羅的解析, *Pasken J.*, 20, 6-11, (2007)
- 14) 各務伸一: 肝疾患とサイトカイン, *肝臓*, 39(11).797-811, (1998)

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Azuma Kenichi, Uchiyama Iwao, Tanigawa Mari, Bamba Ikuko, Azuma Michiyo, Takano Hirohisa, Yoshikawa Toshikazu, Sakabe Kou	4. 巻 24
2. 論文標題 Chemical intolerance: involvement of brain function and networks after exposure to extrinsic stimuli perceived as hazardous	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Environmental Health and Preventive Medicine	6. 最初と最後の頁 61
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12199-019-0816-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 萬羽郁子, 東賢一, 東実千代, 谷川真理, 内山巖雄	4. 巻 50
2. 論文標題 化学物質過敏症患者の嗅覚知覚に関する検討	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 におい・かおり環境学会誌	6. 最初と最後の頁 27-39
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Azuma K, Uchiyama I, Kunugita N.	4. 巻 118
2. 論文標題 Factors affecting self-reported chemical intolerance: A five-year follow-up study in Japan.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Psychosom Res.	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kenichi Azuma, Hideto Jinno, Toshiko Tanaka-Kagawa, Shinobu Sakai	4. 巻 225
2. 論文標題 Risk assessment concepts and approaches for indoor air chemicals in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Hygiene and Environmental Health, International Journal of Hygiene and Environmental Health	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 東 賢一	4. 巻 22
2. 論文標題 健康リスクの立場から見た環境過敏症の予防について	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 室内環境	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 1.30008E+11	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 東賢一	4. 巻 161
2. 論文標題 シックハウス(室内空気汚染)問題に関する国内での取り組みについて	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ビルと環境	6. 最初と最後の頁 51 - 55
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計4件(うち招待講演 4件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Azuma K., Uchiyama I, Tanigawa M, Bamba I, Azuma M, Takano H, Yoshikawa T, Sakabe
2. 発表標題 Effects of olfactory stimulus by odor on cerebral blood flow and peripheral blood oxygen levels in multiple chemical sensitivity
3. 学会等名 the 32nd International Congress on Occupational Health (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 東 賢一
2. 発表標題 脳科学的見地からみた環境過敏症
3. 学会等名 第27回日本臨床環境医学会学術集会シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 東 賢一
2. 発表標題 健康リスクの立場からみた環境過敏症の予防について
3. 学会等名 平成30年度室内環境学会学術大会環境過敏症分科会セミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Azuma K, Uchiyama I, Tanigawa M, Bamba I, Azuma M, Takano H, Yoshikawa T, Sakabe K
2. 発表標題 Effects of olfactory stimulus by odor on cerebral blood flow and peripheral blood oxygen levels in multiple chemical sensitivity
3. 学会等名 The 32 nd International Congress on Occupational Health, Dublin, Ireland, 2018（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2017年～2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	内山 巖雄  (Uchiyama Iwao)  (20151897)	公益財団法人ルイ・パストゥール医学研究センター・その他部局等・研究員（移行）   (74329)	
研究分担者	野瀬 三佳  (Nose Mika)  (30590228)	公益財団法人ルイ・パストゥール医学研究センター・その他部局等・研究員（移行）   (74329)	
研究分担者	東 賢一  (Azuma Kenichi)  (80469246)	近畿大学・医学部・准教授   (34419)	