

平成21年 4月 30日現在

研究種目：基盤研究 (B)
 研究期間：2005～2008
 課題番号：17406017
 研究課題名 (和文) ヒトにおける1-ブロモプロパン中枢神経毒性と量-反応関係に関する疫学的研究
 研究課題名 (英文) Study on dose-dependency of the central nervous system toxicity of 1-bromopropane in humans.
 研究代表者
 市原 学 (Ichihara Gaku)
 名古屋大学・大学院医学系研究科・准教授
 研究者番号：90252238

研究成果の概要：1-ブロモプロパンに曝露された中国労働者の個人曝露量、曝露期間を調べるとともに、健康調査を行った。健康調査は、下肢の運動神経伝導速度、感覚神経伝導速度、遠位潜時、F波伝導速度、WHO神経行動学的検査、血球検査、生化学検査、振動覚検査であった。その結果、1-ブロモプロパン曝露が遠位潜時を延長することがわかった。一方、同時に調査した米国の重症1-ブロモプロパン症例は中枢神経系障害を示した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	4,600,000	0	4,600,000
2006年度	2,600,000	0	2,600,000
2007年度	3,100,000	930,000	4,030,000
2008年度	3,100,000	930,000	4,030,000
年度			
総計	13,400,000	1,860,000	15,260,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・衛生学

キーワード：オゾン層、代替物質、ブロモプロパン、神経毒性、疫学、健康影響、量反応性

1. 研究開始当初の背景

オゾン層破壊作用を有するクロロフルオロカーボンに対する国際的な規制に伴い、代替物質である1-ブロモプロパンが世界的に導入されている。米国環境保護庁は、オゾン層保護の立場と、そのリスク評価結果より1-ブロモプロパンを許容することを発表した。一方、われわれの動物実験研究、米国症例研究、中国疫学調査により、1-ブロモプロパン神経毒性が明らかにされた。とりわけ米国症例では中枢神経系への影響が疑われ、中枢神

経影響に焦点をあわせたヒトにおける量-反応関係の確立が、許容濃度設定のための科学的基礎を形成することが期待される。現時点では日本において1-ブロモプロパンの許容濃度は提案されていない。

2. 研究の目的

1-ブロモプロパンのヒトにおける量-反応関係を中枢神経毒性に焦点をあわせて解明し、許容濃度提案の科学的基礎データを形成す

る。

3. 研究の方法

中国にある3つの1-ブロモプロパン製造工場に働く労働者の曝露量と健康状態を調べた。今回は、年齢をマッチングさせた非曝露労働者を選ぶことができた女性労働者だけに限定し、71人の1-ブロモプロパン製造女性労働者の個人曝露濃度をパッシブサンプラーで調べた。曝露された71人の女性労働者とともに、年齢をマッチさせた71人の女性労働者に対して、質問紙による問診、中国人内科医師による理学的検査を行った。さらに温度が一定に保たれた部屋で、下肢運動神経伝導速度、感覚神経伝導速度、遠位潜時、F波伝導速度を測定した。WHO神経行動学コアテストバッテリー（中国版、復旦大学作成）を用いた神経行動学的評価も行った。あわせて血液学的指標（赤血球、白血球、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板）、血液生化学検査（BUN、フルクトサミン、クレアチニン、総蛋白、総コレステロール、クレアチンキナーゼ、GOT、GPT、 γ GTP、LDH、ALP、ビタミンB1、フェリチン、LH、FSH、エストラジオール）も行った。すべてのプロトコールは名古屋大学医学部倫理委員会の承認を事前に受け、関連法規に従い行った。文書によるインフォームドコンセントを労働者から得た。血漿を分離した後の赤血球を高張液で洗浄後、低張液にて溶血させ、アセトナーオキサロ酢酸混液にて抽出を繰り返し、グロビン蛋白を精製した。乾固したグロビン蛋白をPicoTagにて無酸素下で加水分解し、誘導体化後、LC-MS/MSにて蛋白付加物を定量した。

米国1-ブロモプロパン患者5名に対し、質問紙法に基づく問診を行うとともに、歩行状態の解析、神経学的検査を米国医師との共同で行った。

4. 研究成果

71の曝露群および年齢をマッチングさせた同数の対照労働者との間と対応のあるt検定では、下肢Tibial Nerveの遠位潜時が有意に曝露群で延長し、運動神経伝導速度は低下した。Sural Nerve感覚神経伝導速度も曝露群で対照群に比べ有意に低下していた。神経行動学的検査では、Digit Symbol、Bentonで曝露群の有意な低値、Pursuit aiming testの

incorrect pointsで曝露群の有意な増加が見られた。Profile of Mental States (POMS)

では、曝露群が対照群に比べて有意に高いTension、Vigor、有意に低いFatigueとConfusionスコアを示した。振動覚計を用いた振動覚閾値は、左下肢において有意に曝露群で上昇していたが、右下肢においては有意でなかった。血液検査では、赤血球、白血球、ヘモグロビンが曝露群で有意に低下していた。血清総蛋白は曝露群で有意に上昇、クレアチンキナーゼは低下、LDHは上昇していた。の下肢振動覚、感覚神経伝導速度、運動神経伝導速度、遠位潜時、F波検査を行い、曝露群と非曝露群との間に有意な差があることを示した。TSH、FSHは有意に曝露群で上昇していた。また、曝露量別の解析では、遠位潜時、クレアチンキナーゼ、TSHで量依存性が示唆された。25人の労働者から得た血液サンプルにてグロビン蛋白付加物が定量可能であり、さらにこれらの蛋白付加物が白血球数の負の相関にあることがわかった。米国症例では、連続するクロノスなど明瞭な中枢神経障害が示唆された。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 20 件）

1. Ichihara S, Yamada Y, Gonzalez FJ, Nakajima T, Murohara T, Ichihara G. Inhibition of ischemia-induced angiogenesis by benzo[a]pyrene in a manner dependent on the aryl hydrocarbon receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 2009, in press (査読有)
2. Huang F, Ning H, Xin QQ, Huang Y, Wang H, Zhang ZH, Xu DX, Ichihara G, Ye DQ. Melatonin pretreatment attenuates 2-bromopropane-induced testicular toxicity in rats. *Toxicology* 2009; 256:75-82. (査読有)
3. Endo M, Tsuruoka S, Ichihara G. Carbon Nanotubes in historical and future perspective: summary of an extended session at Carbon 2008 in Nagano (JP). *Part Fibre Toxicol* 2008; 5:21. (査読有)
4. Liu Y, Song W, Li W, Ichihara G. In vitro cytotoxicity and oxidative damage effects of multi-wall carbon nanotube on RAW246.7 macrophages. *Wei Sheng Yan Jiu*. 2008; 37: 281-4. (in Chinese). (査読有)

5. Ichihara G, Castranova V, Tanioka A, Miyazawa K. Re: Induction of mesothelioma in p53^{+/+} mouse by intraperitoneal application of multi-wall carbon nanotube. *J Toxicol Sci* 2008; 33:381-2. (査読有)
6. Furuhashi K, Ogawa M, Suzuki Y, Endo Y, Kim Y, Ichihara G. Methylation of dimethyltin in mice and rats. *Chemical Research in Toxicology* 2008; 21:467-71. (査読有)
7. Ramdhan DH, Kamijima M, Yamda N, Ito Y, Yanagiba Y, Nakamura D, Okamura A, Ichihara G, Aoyama T, Gonzalez FJ, Nakajima T. Molecular mechanism of trichloroethylene-induced hepatotoxicity mediated by CYP2E1. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008; 231: 300-7. (査読有)
8. Yamanoshita O, Ichihara S, Hama H, Ichihara G, Chiba M, Kamijima M, Takeda I, Nakajima T. Chemopreventive Effect of Selenium-Enriched Japanese Radish Sprout against Breast Cancer Induced by 12-Dimethylbenz[a]anthracene in Rats. *Tohoku J Exp Med.* 212: 191-8, 2007 (査読有)
9. Ito Y, Yamanoshita O, Asaeda N, Tagawa Y, Lee C, Aoyama T, Ichihara G, Furuhashi K, Kamijima M, Gonzalez FJ, Nakajima T. Di(2-ethylhexyl)phthalate induces hepatic tumorigenesis through a peroxisome proliferator-activated receptor alpha-independent pathway. *J Occup Health.* 49: 172-82. 2007 (査読有)
10. Ichihara S, Yamada Y, Ichihara G, Nakajima T, Kondo T, Gonzalez FJ, Murohara T. A role for the aryl hydrocarbon receptor in regulation of ischemia-induced angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 27: 1297-1304, 2007 (査読有)
11. Ichihara S, Yamada Y, Kawai Y, Osawa T, Furuhashi K, Duan Z, Ichihara G. Roles of oxidative stress and Akt signaling in doxorubicin cardiotoxicity. *Biochem Biophys Res Commun* 359: 27-33, 2007 (査読有)
12. Matsushita A, Iwase M, Kato Y, Ichihara S, Ichihara G, Kimata H, Hayashi K, Hashimoto K, Yokoi T, Noda A, Koike Y, Yokota M, Nagata K. Differential cardiovascular effects of endotoxin derived from *Escherichia coli* or *Pseudomonas aeruginosa*. *Exp Anim* 56: 339-48, 2007 (査読有)
13. Valentine H, Amarnath K, Amarnath V, Li W, Ding X, Valentine WM, Ichihara G. Globin S-propyl cysteine and urinary N-acetyl-S-propylcysteine as internal biomarkers of 1-bromopropane exposure. *Toxicological Sciences* 98: 427-35, 2007 (査読有)
14. Banu S, Ichihara S, Huang F, Ito H, Inaguma Y, Furuhashi K, Fukunaga Y, Wang Q, Kitoh J, Ando H, Kikkawa F, Ichihara G. Reversibility of the adverse effects of 1-bromopropane exposure in rats. *Toxicol Sci* 100: 504-12, 2007 (査読有)
15. Ichihara S, Yamada Y, Ichihara G, Kanazawa H, Hashimoto K, Kato Y, Matsushita A, Oikawa S, Yokota M, Iwase M. Attenuation of oxidative stress and cardiac dysfunction by bisoprolol in an animal model of dilated cardiomyopathy. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;350105-13. (査読有)
16. Furuhashi K, Kitoh J, Tsukamura H, Maeda K, Wang H, Li W, Ichihara S, Nakajima T, Ichihara G. Effects of exposure of rat dams to 1-bromopropane during pregnancy and lactation on growth and sexual maturation of their offspring. *Toxicology*, 2006; 224: 219-228. (査読有)
17. Ichihara S, Obata K, Yamada Y, Nagata K, Noda A, Ichihara G, Yamada A, Kato T, Murohara T, Yokota M. PPAR- α attenuates left ventricular remodeling and dysfunction by the suppression of the redox-regulated transcription factors activity. *Journal of Molecular Cellular Cardiology* 2006; 41:318-329. (査読有)
18. Ichihara S, Noda A, Nagata K, Obata K, Xu J, Ichihara G, Oikawa S, Kawanishi S, Yamada Y, Yokota M. Pravastatin increases survival and suppresses an increase in myocardial MMP activity in a rat model of heart failure. *Cardiovascular Research* 2006;69:726-735. (査読有)
19. Okamura A, Kamijima M, Shibata E, Ohtani K, Takagi K, Ueyama J, Watanabe Y, Omura M, Wang H, Ichihara G, Kondo T, Nakajima T. A comprehensive evaluation of the testicular toxicity of dichlorvos in

- Wistar rats. *Toxicology*. 2005 Sep 15;213(1-2):129-37. (査読有)
20. Ito Y, Yokota H, Wang R, Yamanoshita O, Ichihara G, Wang H, Kurata Y, Takagi K, Nakajima T. Species difference in the metabolism of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in several organs of mice, rats, and marmosets. *Archives of Toxicology* 2005; 79: 147-54. (査読有)

[学会発表] (計 81 件)

1. Ichihara G., Li W, Shibata E, Zhou Z, Ichihara S, Wang Q, Li J, Ding X, Takeuchi Y. Dose-dependent neurological and hematological effects of 1-bromopropane exposure on workers. The 29th International Congress on Occupational Health (2009. 3. 22-27, Cape Town, South Africa)
2. Ichihara S, Li W, Kobayashi T, Ding X, Fujitani Y, Liu Y, Wang Q, Cui U, Hata N, Ichihara G. Occupational Health Survey on workers handling titanium dioxide. The 29th International Congress on Occupational Health (2009. 3. 22-27, Cape Town, South Africa)
3. Ichihara G, Li W, Kobayashi T, Ding X, Fujitani Y, Liu Y, Sai U, Hata N, Wang Q, Ichihara S. Exposure assessment and health examination of workers handling titanium dioxide. The 48th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2009. 3. 15-19, Baltimore, USA)
4. Ichihara S, Yamada Y, Ichihara G, Nakajima T, Gonzalez E.J, Murohara T. Inhibition of ischemia-induced angiogenesis by benzo[a]pyrene in a manner dependent on aryl hydrocarbon receptor. The 48th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2009. 3. 15-19, Baltimore, USA)
5. Ichihara G Animal experiments and human studies in risk assessment of manufactured nanomaterials. International Workshop at Nagoya University “Recent Progress in EHS Research on Manufactured Nanomaterials.” (2008. 12.12, Nagoya, Japan)
6. Ichihara G, Li W, Kobayashi T, Ding X, Fujitani Y, Liu Y, Wang Q, Cui U, Hata N, Ichihara S. Assessment of exposure and health status in workers handling titanium dioxide. Internatoinal Conference on safe production and use of nanomaterials, NANOSAFE 2008 (2008. 11.03-07, Minatec, Grenoble, France)
7. Ichihara G, Li W, Kobayashi T, Ding X, Fujitani Y, Liu Y, Wang Q, Cui U, Hata N, Ichihara S. Occupational Health Survey on workers handling titanium dioxide. The 45th Congress of the European Societies of Toxicology (2008. 10. 5-8, Rhodes, Greece)
8. Ichihara G Recent studies of bromopropane toxicity-animal studies and newly found human cases in United States. China-Japan Collaboration Workshop “Environmental Health and Safety Research on new manufactured materials”.(2008. 7. 30-31, Shanghai, China)
9. Ichihara G Microarray study on bromopropane toxicity. China-Japan Collaboration Workshop “Environmental Health and Safety Research on new manufactured materials”.(2008. 7. 30-31, Shanghai, China)
10. Ichihara G International collaboration and coordination of nanotoxicology research. China-Japan Collaboration Workshop “Environmental Health and Safety Research on new manufactured materials”.(2008. 7. 30-31, Shanghai, China)
11. Furuhashi K, Ogawa M, Suzuki Y, Endo Y, Ichihara G. Methylation of dimethyltin in mice and rats. The 47th Annual Meeting of Society of Toxicology (2008.3.16-20 Seattle, Washington, USA)
12. Sheik Mohideen S, Ichihara S, Liu F, Furuhashi K, Li W, Ichihara G. Effect of 1-bromopropane exposure on gene expression of neurotransmitter receptors in rat. The 47th Annual Meeting of Society of Toxicology (2008.3.16-20 Seattle, Washington, USA)
13. Ichihara G. Neurotoxicity and reproductive toxicity of 1-bromopropapane, an alternative to

- ozone-depleting solvents. International Conference on "Toxic Exposure Related Biomarker : Genomes and Health Effects" (2008.1.10-11, National Environmental Engineering Research Institute, Nagpur, India)
14. Ichihara G. Occupational Health Survey on workers handling nano-titanium dioxide. Roundtable on Nanotechnology and engineered nanoparticles: Research perspectives in Occupational Health and Safety (2007.2.12, Canadian Embassy, Tokyo, Japan)
 15. Sahabudeen S, Ichihara G. Effect of 1-bromopropane exposure on gene expression of neurotransmitter receptors and exploration of biomarkers for the central nervous system toxicity. The 24th International Neurotoxicology Conference (2007.11-14, San Antonio, TX, US)
 16. Ichihara G. Environment, Health and Safety Research on Manufactured Nanomaterials. The 13th International Symposium on Toxicity Assessment (2007.8.19-24, Toyama, Japan)
 17. Huang F, Ichihara S., Kitagawa E, Mizugami S, Iwahashi H, Kito J, Furuhashi K, Banu S, Iida M, Ichihara G. DNA microarray study with two dimensional analysis on susceptibility to 1-bromopropane exposure. The 11th International Congress of Toxicology (2007.7.15-19, Montreal, Canada)
 18. Li W, Wang Q, Ding X, Shibata E, Takeuchi Y, Valentine W, Ichihara G. Dose-dependent effects of 1-bromopropane exposure on workers. The 18th Korea Japan China Joint Conference on Occupational Health (2007.5.20-22, Nagoya, Japan)
 19. Ichihara G., Li W, Ding X, Valentine W, Kitoh J, Takeuchi Y. Study on 1-bromopropane neurotoxicity through animal experiments and human studies. International Symposium on 1-Bromopropane Toxicity in the 77th annual meeting of the Japanese Society for Hygiene (2007.3.26, Osaka, Japan)
 20. Li W, Ding X, Valentine W, Shibata E, Takeuchi Y, Ichihara G. Exposure to 1-bromopropane causes neurologic deficits in humans. International Symposium on 1-Bromopropane Toxicity in the 77th annual meeting of the Japanese Society for Hygiene (2007.3.26, Osaka, Japan)
 21. Valentine W, Valentine H, Amarnath K, Ding X, Ichihara G. Globin S-propylcysteine and urinary N-acetyl-S-propylcysteine as biomarkers of 1-bromopropane exposure. The 46th Annual Meeting of Society of Toxicology (2007.3.25-29 Charlotte, North Carolina, USA)
 22. Huang F, Ichihara S., Kitagawa E, Mizugami S, Iwahashi H, Fukunaga S, Furuhashi K, Banu S, Iida M, Kitoh J, Ichihara G. Susceptibility to 1-bromopropane exposure and alteration of mRNA expression in rats. The 46th Annual Meeting of Society of Toxicology (2007.3.25-29 Charlotte, North Carolina, USA)
 23. Banu S, Ichihara S., Huang F, Ito H, Inaguma Y, Furuhashi K, Fukunaga S, Wang Q, Ichihara G. Reversibility of the adverse effects of 1-bromopropane exposure in rats. The 46th Annual Meeting of Society of Toxicology (2007.3.25-29 Charlotte, North Carolina, USA)
 24. Ichihara G., Li W, Ding X, Valentine W, Kitoh J, Takeuchi Y. Study on 1-bromopropane neurotoxicity through animal experiments and human studies. International Symposium on 1-Bromopropane Toxicity in the 77th annual meeting of the Japanese Society for Hygiene (2007.3.26, Osaka, Japan)
 25. Li W, Ding X, Valentine W, Shibata E, Takeuchi Y, Ichihara G. Exposure to 1-bromopropane causes neurologic deficits in humans. International Symposium on 1-Bromopropane Toxicity in the 77th annual meeting of the Japanese Society for Hygiene (2007.3.26, Osaka, Japan)
 26. Ichihara G. EHS research strategies on manufactured nanomaterials in Japan. The Dialogue between Academia and the Participants of OECD's Working Party on Manufactured Nanomaterials (WPMN). (2007.3.21, Dortmund, Germany)
 27. Ichihara G., Li W, Shibata E, Ding X, Li J, Wang H, Huang F, Peng S, Gu B, Ichihara S., Miyata M, Takeuchi Y. Exposure to 1-bromopropane adversely affects vibration sense and nerve conduction velocity of lower limbs and

- central nervous system in workers. North American Congress of Clinical Toxicology (2006.10.4-9. San Francisco, USA)
28. Ichihara G. Microarray studies on neuro-reproductive toxicities of bromopropanes, alternatives to ozone-depleting solvents. The 3rd International Workshop on Biochips and Environmental Monitoring (2006.8.17-18. Ikeda, Osaka, Japan)
29. Ichihara G., Li W, Shibata E, Ding X, Li J, Wang H, Huang F, Peng S, Gu B, Ichihara S., Tang Y, Shao B, Sun Y, Miyata M, Takeuchi Y. Adverse effects of exposure to 1-bromopropane on central nervous system and peripheral nerve in human. 28th International Congress on Occupational Health (2006.6.11-16, Milan, Italy)
30. Ichihara G., Li W, Shibata E, Ding X, Li J, Peng S, Ichihara S., Wang H, Huang F, Gu B, Tang Y, Shao B, Sun Y, Miyata M, Takeuchi Y. Exposure to 1-bromopropane reduces nerve conduction velocity in human. The 45th Annual Meeting of Society of Toxicology (2006.3.5-9 San Diego, California, USA)
31. Ichihara G. Round table discussion in the 2nd Joint Science Council of Japan-Royal Society workshop on the potential health, environmental and societal impacts of nanotechnologies. (2006.2.23. Tokyo)
32. Ichihara G. Neurotoxicity of 1-bromopropane in human -investigation through human cases/data and animal data. Symposium in the meeting for young epidemiologists in China (2005.10.13 Hefei, Anhui, China)
33. Ichihara G., Li W, Shibata E, Ding X, Wang H, Li Jiefei, Huang F, Peng S, Gu B, Ichihara S., Shao B, Tang Y, Sun Y, Miyata M, Takeuchi Y. Exposure to 1-bromopropane reduces nerve conduction velocity in lower limb of human. 9th International Symposium on Neurobehavioral Methods and Effects in Occupational and Environmental Health (2005.9.26-29. Gyongju Neurobehavior meeting in Gyeongju, Korea)
34. Ichihara G. Occupational Health in a National University Corporation in Japan. 16th Japan-China-Korea Joint Conference on Occupational Health (2005.6.2-4. Dalian, China)
35. Li W, Shibata E, Ding X, Li Jiefei, Wang H, Huang F, Peng S, Gu B, Ichihara S., Tang Y, Shao B, Sun Y, Miyata M, Takeuchi Y, Ichihara G. Exposure to 1-bromopropane reduces nerve conduction velocity in lower limb of human. 16th Japan-China-Korea Joint Conference on Occupational Health (2005.6.2-4. Dalian, China) (ほか 46 件学会発表)
- [図書] (計 1 件)
- 市原 学 有機溶剤 IV.中毒各論 2. 有毒ガス 中毒症のすべて—いざという時に役立つ、的確な治療のために— 編集 黒川 顕、永井書店 2006 年 1 月, p.177-184.
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
市原 学 (Gaku Ichihara)
名古屋大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：90252238
- (2) 研究分担者
市原 佐保子 (Sahoko Ichihara)
三重大学・生命科学支援センター・助教
研究者番号：20378326
- (3) 連携研究者
玉腰 暁子 (Akiko Tamakoshi)
愛知医科大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：90236737
八谷 寛 (Hiroshi Yatsuya)
名古屋大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：30324437
山本 直彦 (Naohiko Yamamoto)
名古屋大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：40220488
山本 敏充 (Toshimitsu Yamamoto)
名古屋大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：50260592