様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

平成 ２８ 年　 ６ 月　 ７ 日現在

機関番号：１１４０１
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2013～2015
課題番号：２５４６０７３６

研究課題名（和文）選択反応時間と手のふるえ測定により環境有害物質の神経影響評価を精緻化する研究

研究課題名（英文）Improvement of choice reaction time and hand tremor measurement for the assessment of motor nervous effects of environmental chemicals

研究代表者
岩田　豊人（Iwata, Toyoto）

秋田大学・医学（系）研究科（研究院）・助教

研究者番号：００３２１８９４

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,900,000円

研究成果の概要（和文）：有害物質の神経運動系機能への影響評価に用いられる測定法について、反応時間についてStroop条件を含む刺激呈示を可能とし時間計測は1 msecまで計測できるようにした上で、手のふるえの計測は従来（0.9～15 Hz)より高い周波数範囲(15～80 Hz)までが検討できるよう改変を行った。これらの方法を高齢者も含む健康な成年男女に応用したところ、喫煙の急性曝露を反映すると考えられる呼気中一酸化炭素濃度の上昇している者ほど右手のふるえ強度が大きい量－影響関係が認められた。

研究成果の概要（英文）：Choice reaction time including Stroop task was applied for the assessment of motor nerveous effects of chemicals. Hand tremor measurement was also improved to include 15～80 Hz range for the analysis. These methods including measurement of postural balance were applied for apparently healthy adult subjects. Dose-effect relationship between exhaled carbon monoxide and enlarged tremor of right hand was observed among them.

研究分野：産業医学

キーワード：手のふるえ　反応時間　呼気一酸化炭素　量－影響関係　健康影響評価

１．研究開始当初の背景

人に有害な健康影響を及ぼしうる物質に対しては、どの曝露レベルから影響が現れるかについて評価（影響評価）する必要があるが、この目的には顕著な障害にまでは至らない非顕性影響を客観的定量的に捉えられることが望ましい。反応時間や手のふるえの測定はその理由で神経運動系機能の影響評価に用いられている。

刺激が呈示されてから一定の行動が完遂されるまでの時間である反応時間は、神経運動系へ有害影響を及ぼす物質のスクリーニングの目的では有用であるが低レベル曝露の影響を鋭敏に捉えることができるとは限らない（Ando et al. Neurotoxicology. 2008, Anderson et al. Neurotoxicol Teratol. 2015）。影響を鋭敏に捉えるという点からは、単純な刺激への応答時間を測定するよりも被験者に判断が要求される選択課題を用いる方がよいとされ、これまでにも Stroop 課題（色名を示す語を異なる色で呈示して認知の干渉効果を検討できる）が混合有機溶剤の影響評価に応用されている（Maizlish et al. Br J Ind Med. 1987）。このような課題を応用した上で時間測定精度を上げることによって、曝露影響を鋭敏に捉えることが可能になると期待された。

手のふるえは金属水銀や、鉛、マンガン、有機溶剤などへの曝露によって増強することが知られている。ふるえの強度は加速度検出器等を用いて測定され、特にトリクロロエチレンでは非利手の 6-10 Hz、トルエン、スチレンを含む混合溶剤曝露では右手の 0.9-15 Hz で、金属水銀では 1-6、10-14 Hz のふるえが大きくなり（村田ら Peripheral Nerve. 2012）、鉛曝露作業者では利手の 1-10 Hz 非利手の 6-10 Hz でふるえが増加することが観察されている(Iwata et al. Am J Ind Med. 2005)。手のふるえには大脳皮質や基底核、視床（特に腹内側核）、小脳、赤核、下オリーブ核などが関わり(Elble J Clin Neurophysiol. 1996)、手指、前腕の力学的性質と筋収縮とにより健常時にみられる 5-12Hz の基本的なふるえ（生理的振戦）に、下オリーブ核に由来する 8-12 Hz の振動が乗ることや小脳や赤核の障害によって 2-5 Hz の特徴的なふるえが生じることなどが知られている。下オリーブ核等に由来すると言われるより高い周波数のふるえも含めて詳細な影響検討を行えるようにすることで、有害物質による障害部位の推定に役立つ可能性が期待された。

２．研究の目的

反応時間および手のふるえ測定について、サンプリング時間を短縮する改変を行うことによって計測の精緻化と高い周波数のふるえ計測ができるようにする。その測定法を職域集団を対象とする横断的研究に応用して有害物質の影響評価を試みる事を目的とした。

３．研究の方法

反応時間には、被験者が音を聞いてスイッチを押すまでの時間計測（Catsys2000、デンマーク DPD 社）を右手（音右手）と左手（音左手）について行った。本研究ではさらに刺激呈示ソフト（SuperLab5、米国 Cedrus 社）およびタイマーを内蔵した応答端末（RB-530）を用いて、パーソナルコンピュータの画面上に呈示された文字に応じて被験者が手許のボタンを選択して利手で押すまでの時間を計測した。呈示した刺激は認知や行動抑制を要する Stroop 課題で、反応時間として「視覚黒色」（黒色の文字で呈示された色名に対応するボタンを押すまでの時間）の他に Stroop 条件（文字についた色に対応するボタンを押すまでの反応時間と、反応時間のうち黒色文字呈示より遅延した割合）、逆 Stroop 条件（文字の意味に対応する色のボタンを押すまでの反応時間と、反応時間のうち黒色文字呈示より遅延した割合）について測定した。

手のふるえは加速度検出器を内蔵したペン（Catsys2000）を把持してもらい、右手、左手それぞれのふるえ強度を測定し、周波数解析によって 1～6、6～10、10～14 Hz の周波数帯に含まれるふるえ強度も評価した。この測定時にペンの先端に別の加速度検出器（NP-3211、小野測器）をとりつけて鉛直方向のふるえを測定した。また、座位で両腕、手、指を前方に伸展してもらい右手中指に検出器 NP-3211 を貼付して鉛直方向のふるえを測定した。

横断的研究は大学倫理委員会の承認を受け、健康な労働者男女の自由意思による参加を得て行った。当初塗装作業者を予定していたが、協力いただける事業者との関係で喫煙による呼気中一酸化炭素濃度（CO）の影響を検討することとした。CO は piCO Smokerlyzer（英国 Bedfont 社）を用いて、神経行動学的検査と同じ日に全ての項目の検査後に測定した。また飲酒量は１週間あたりの習慣的摂取量を聴取してエタノール摂取量(g)として算出した。

４．研究成果

(1) 反応時間

本研究によって取得できた反応時間に関わる変数と年齢について相互の順位相関係数を下表に示す。

聴覚反応時間（音右手、音左手）と視覚反応時間との間には基本的に有意な相関は認められず、それぞれの計測内容が異なる事が示唆された。また単純な視覚反応時間（視覚黒色）についても年齢が上昇すると延長する関連が認められたが、聴覚反応時間には年齢との有意な関連は認められなかった。文字とそれについた色の干渉効果は反応時間中の黒色文字に比して遅延した割合で評価すべ

きとされているが、文字の意味をより的確のとれる人（逆 Stroop 割合低）は反応時間の長くなる関連が認められた。

表・反応時間測定値間の順位相関係数

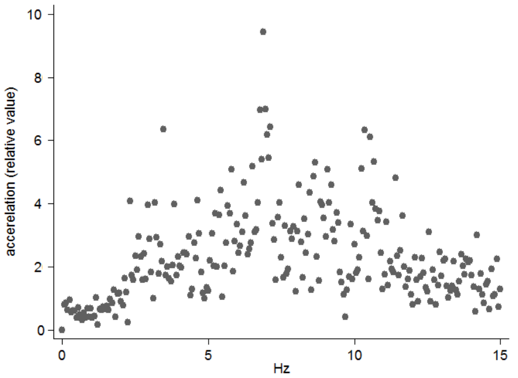
	音右手 (msec)	音左手 (msec)	視覚黒色 (msec)	Stroop時間 (msec)	Stroop 割合（%）	逆 Stroop 時間（msec）	逆 Stroop 割合（%）	年齢 (歳)
音右手	1.000							
音左手	0.439	1.000						
視覚黒色	0.153	0.293	1.000					
Stroop 時間	0.118	0.187	0.643 **	1.000				
Stroop 割合	-0.041	-0.054	-0.195	0.563 **	1.000			
逆 Stroop 時間	0.262	0.506 *	0.746 **	0.373	0.373	1.000		
逆 Stroop 割合	-0.088	-0.033	-0.195	-0.495 *	-0.054	0.027	1.000	
年齢	0.040	0.158	0.581 **	0.422	-0.095	0.335	-0.439	1.000

多重検定補正(Sidak)により　* $p < 0.05$ ** $p < 0.001$

(2) 手のふるえ

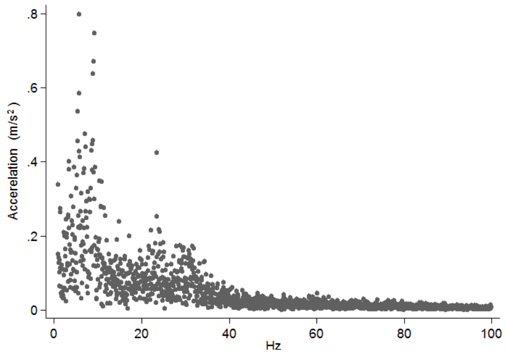
Catsys2000 によって得られた手のふるえの周波数スペクトラムは下図で示した例のようになった。周波数の上限が 15 Hz であるのはサンプリング時間に依存するためである。

図・Catsys2000 による右手ふるえの周波数スペクトラム



一方、同じ人について検出器 NP-3211 によって得た周波数スペクトラムは下図のようになった。この例では、15～20Hz、20～40Hz、40～80Hz に全体のふるえのパワーのそれぞれ 5.6、17、1.4%が含まれていた。物理的な実体は明らかではないが、筋繊維の収縮に由来する事が考えられる。

図・NP-3211 による右手ふるえの周波数スペクトラム



Catsys2000 のペンを把持して測定したふるえ測定値と、右手中指に NP-3211 を貼付して得られた測定値の間の順位相関係数は次の表のように、ほぼ対応する周波数帯間で相関係数が大きくなっていた。また、殆どが右利である対象者において Catsys2000 によって測定されたふるえ強度のうち、右手 1-10 Hz のふるえは右手中指で測定されるふるえとは有意な相関が認められず、相関が認められた右手 10-14 Hz や左手 1-14 Hz のふるえとは異なる内容を含んでいる可能性が示唆された。さらに NP-3211 で測定された 40-80 Hz のふるえ強度は他の測定値との相関が低く、この周波数帯の測定の意義については今後さらに注意深い検討が必要であると考えられた。なお、手のふるえに関する測定値、反応時間、同時に測定していた重心動揺に関する測定値の間に有意な関連は認められなかった。

表・周波数帯ごとのふるえ強度間の順位相関係数

		Catsys2000 による手のふるえ強度					
		右手			左手		
		1-6 Hz	6-10 Hz	10-14 Hz	1-6 Hz	6-10 Hz	10-14 Hz
NP-3211 による	全ふるえ	0.3938	0.5873	0.6917 *	0.6166 *	0.7405 **	0.6520 *
	1-6 Hz	0.5745	0.1996	0.3400	0.6215 *	0.3462	0.3474
	6-10 Hz	0.2772	0.5775	0.6422 *	0.4896	0.8126 **	0.6221 *
	10-14 Hz	0.3309	0.5031	0.7241 *	0.6832 *	0.6850 *	0.7265 *
	14-20 Hz	0.1148	0.5293	0.6612 *	0.4652	0.6435 *	0.6026
	20-40 Hz	0.3071	0.4884	0.6184 *	0.4921	0.5635	0.4560
	40-80 Hz	0.4212	0.3877	0.3779	0.3974	0.4274	0.2759

多重検定補正(Sidak)により　* $p < 0.05$ ** $p < 0.001$

(3) 呼気中一酸化炭素濃度（CO）と手のふるえ強度との関連

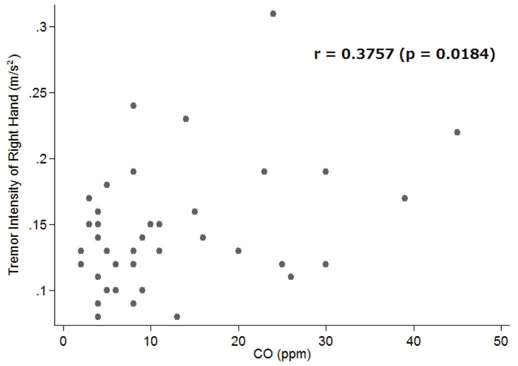
協力いただける事業所の関係で研究期間中に 39 名の男女の参加を得て検討を行った（女性 18%、年齢（平均±標準偏差）49.9±14.2）。

CO と様々な変数との関連を検討したところ、CO が高いほど右手ふるえ強度（0.9～15 Hz）が大きくなる有意な関連が認められた（下図）。この関連は性別、年齢、アルコール摂取量を調整しても認められた。また、右手ふるえ強度（0.9～15 Hz、1～6 Hz (Catsys2000)）、左手ふるえ強度（20～40 Hz (NP-3211)）は喫煙習慣を持つ者で大きくなっていた。このような関連はブリンクマン指数では認められなかった。また、CO の影響は、反応時間や重心動揺に対しては見出されなかった。Catsys2000 で喫煙の有無により右手ふるえ強度の違いが認められた理由は 1～6 Hz の周波数帯でのふるえを捉えているためと考えられるが、検出器の特性についての検討は今後の課題である。

今回見出された CO と右手ふるえ強度との関連を用いて、統計パッケージ SPBS により性別、年齢、アルコール摂取量を考慮した上でベンチマークドースを算出した。曝露がない時の異常値発生率を 5%とした集団に異常値を有する者 5%が上乗せされる曝露量の推定値（BMD）は 9.3 ppm、この値の 5%下限推

定値（BMDL）であり集団に影響が現れはじめるレベルの推定値は 5.3 ppm であった。
　ROC 曲線にもとづいて喫煙者と非喫煙者の間に見出された CO のカットオフ値には 6.5 ppm という報告があり（Deveci et al. Respir Med.2004)、上気道炎を有する患者で喫煙なしに 10 ppm 程度まで上昇していたとされる（Yamaya et al. Am J Respir Crit Care Med. 1998)。CO で捉えられている曝露が手のふるえに影響を及ぼすレベルの推定値（BMDL、BMD）はこれらの値とほぼ整合している。

図・呼気中一酸化炭素濃度と右手ふるえ強度との関連



　本研究では、反応時間について呈示刺激を変え時間計測精度を上げた条件、手のふるえについて 15～80 Hz の周波数帯を検討できる条件での計測が実現できた。計測の妥当性についてはなお検討が必要ではあるが、影響を詳細に検討することが可能になった。今後は標的部位の異なる可能性のある様々な有害性曝露の影響検討に応用する。
　また、本研究では CO との量－影響関係を示す事ができた。これまでにも習慣的喫煙によって手のふるえが増加する事を示した報告はあるが（Iwata et al. J Occup Health. 2005)、量－影響関係が捉えられることで制御に応用することが可能になる。本研究は対象者数をさらに増やして進める予定である。

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　０件）

〔学会発表〕（計　０件）

〔その他〕
講座ホームページ
http://www.med.akita-u.ac.jp/~eisei/

６．研究組織
(1)研究代表者
岩田　豊人（IWATA, Toyoto）
　秋田大学・医学系研究科・助教
　研究者番号：００３２１８９４

(2)研究分担者
村田　勝敬（MURATA, Katsuyuki）
　秋田大学・医学系研究科・教授
　研究者番号：　８０１５７７７６

堀口　兵剛（HORIGUCHI, Hyogo）
　北里大学・医学部・教授
　研究者番号：９０２５４００２