

「第18回日本臨床環境医学会学術集会会長賞受賞論文」

シックハウス症候群関連化学物質の循環器系と 心筋活動への影響

高 木 都

奈良県立医科大学生理学第二講座

Effects of sick house syndrome related chemical compounds on cardiovascular system in *in situ* rat hearts and myocardial activity

Miyako Takaki

Department of Physiology II, Nara Medical University

要約

シックハウス症候群関連化学物質であるホルムアルデヒド (FA) の心機能、特に全身の循環制御に寄与するポンプ機能に対する影響を、正常心と高血圧症患者を想定した左心室肥大病態心で検討した。正常心、肥大心ともに、FA 静注開始30分経過後 (血中濃度; $0.4 \pm 0.09 \text{ mmol/l}$)、コントロールに比べて、左心室収縮期末圧、心拍数、分時心拍出量の有意な減少が起こった。すなわち、急性ポンプ機能失調を来した。電顕的観察では筋小胞体の膨張が認められ、 Ca^{2+} トランジェントの測定では、筋小胞体の Ca^{2+} ポンプ機能障害により生じた細胞外への Ca^{2+} 排出機構 (順方向の $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換体) の活性化が示された。FA 静注により生じた急性ポンプ機能失調は、筋小胞体の Ca^{2+} ポンプ機能障害によるものと推察された。高血圧患者を含めて多くの人々が自宅でもより快適に暮らすためには、ホルムアルデヒドの完全に除去された住環境が望ましいと思われる。 (臨床環境18: 98~105, 2009)

《キーワード》シックハウス症候群、ホルムアルデヒド、心機能、左心室肥大心、筋小胞体 Ca^{2+} ポンプ

Abstract

The aim of the present study was to examine effects of formaldehyde (FA) solution on rat left ventricular function and compare with those in hypertrophic hearts treated with isoproterenol by pressure-volume measurements with catheter method. After 20–30 min of intravenous infusion of 3.7% FA solution at $10 \mu\text{l} (3.7 \text{ mg}) \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ (blood FA concentration; $0.4 \pm 0.09 \text{ mmol/l}$), normal and

受付: 平成21年9月10日 採用: 平成21年12月18日

別刷請求宛先: 高木 都

〒634-8521 橿原市四条町840 奈良県立医科大学生理学第二講座

Received: September 10, 2009 Accepted: December 18, 2009

Reprint Requests to Miyako Takaki, Department of Physiology II, Nara Medical University, Shijo-cho 840, Kashihara, Nara 634-8521, Japan

hypertrophic hearts showed significant decreases in left ventricular end-systolic pressure, heart rate and cardiac output per min, indicating an acute pumping failure. Hypertrophic hearts showed significantly smaller end-systolic pressure, stroke volumes, cardiac output than those in normal hearts. Systolic pressure-volume area at midrange left ventricular volume (PVA_{mLVV} : a mechanical work capability index) was significantly smaller than that in normal hearts and % of mean PVA_{mLVV} versus pre-infusion mean value in hypertrophic hearts were significantly decreased compared to normal hearts 30 min after FA solution infusion. Although the marked decrease of pH, base excess and no changes in PaO_2 and $PaCO_2$ suggested metabolic acidosis, the correction of metabolic acidosis with 9%NaHCO₃ did not influence on the acute pumping failure. This indicated that metabolic acidosis did not cause it. Ultrastructural observations revealed the marked dilation of the sarcoplasmic reticulum with intact sarcolemmal membranes and no disintegration of muscle myofibrils. Ca^{2+} transient measurements suggested the possibility for activation of Ca^{2+} extrusion mediated via Na^+/Ca^{2+} exchange compensating impaired Ca^{2+} uptake function of sarcoplasmic reticulum. Taken together, acute pumping failure by FA may derive from the impairment of Ca^{2+} handling in the cardiac excitation-contraction coupling. (Jpn J Clin Ecol 18 : 98~105, 2009)

《Key words》 Sick house syndrome, formaldehyde, cardiac function, left ventricular hypertrophy, sarcoplasmic reticulum calcium pump

I. はじめに

シックハウス症候群とは住宅あるいは建物の構造や建築材料により引き起こされる病的状態全般をさし、固有の原因や症状などを表すものではない¹⁾。しかし、主たる原因物質として揮発性有機化学物質が挙げられ、これらによる健康被害予防のため、厚生労働省は室内濃度の指針値を策定している。シックハウス症候群関連化学物質としてホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、トルエン、キシレン等の有害化学物質がよく知られている。特に、ホルムアルデヒドはその代表的物質で、室内濃度指針値は0.08ppmに決められている。ホルムアルデヒドの健康への影響は鼻、咽頭への刺激、流涙、くしゃみ、咳、吐き気、呼吸器障害、頭痛、発ガン性など様々なものが挙げられている。これらのほとんどは、空気中に含まれたホルムアルデヒドが呼吸器を介して吸入された場合に生体に起こる影響である。一方、循環器系に対するホルムアルデヒドの影響を調べた研究は、ほとんど見られない。唯一、ペントバルビタールで麻酔したラットを用い、ホルムアルデヒド $0.1ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ ($3.6mg \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1} = 0.12mmol \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$)を頸静脈から注入し、動脈血圧(左頸動脈から測定)、心拍数(心電図から求めた)と心

拍出量(熱希釈法で求めた)の経時変化を求めた非侵襲的方法による心機能計測に基づくStrubeltらの報告²⁾しかない。この報告²⁾も参考にして、ホルムアルデヒドの心機能、その中でも特に全身の循環制御に寄与するポンプ機能に対する影響の研究に、焦点を絞った。

彼らの方法²⁾では正確に計測できない左心室収縮期末圧と1回心拍出量を、左心室圧計測のための圧センサーと、我々がラット用にS-I Medicotech社(柏原、日本)と共同開発した左心室容積計測のためのコンダクタンスカテーテル³⁾を用いて圧-容積ループを描記することにより、正確に計測した。左心室収縮期末圧と1回心拍出量をリアルタイムで連続的にモニターしながらホルムアルデヒド注入後の経時変化を計測した。

さらに、健康な人のみならず、高血圧症患者で左心室肥大になっている人もシックハウス症候群関連化学物質に曝露される危険性がある。このような人が健康な人に比べてシックハウス症候群関連化学物質による影響を強く受けるかどうかを調べることは現実的な課題として重要と思われる。これを明らかにするために、著者らが最近開発した左心室肥大病態モデル(弛緩機能の低下が心機能障害として認められている)^{4,5)}を用いて同様の

研究を行った。

II. 研究方法

すべての動物実験は、奈良県立医科大学動物実験委員会の許可の下に、奈良県立医科大学動物実験管理規定に従って行った。

1. 心機能解析

実験には、雄性ウイスターラット（体重320–450g）を使用し、ネブタール50mg/kg 腹腔内注射で麻酔し、気管切開後人工呼吸を開始し、ついで外頸静脈にカニューレを挿入後、持続的静注で維持麻酔（ $25\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$ ）を行った。心臓を露出し、心尖部より3.0Frの圧センサーと1.5Frの左心室容積計測のためのコンダクタンスカテーテル^{3,4)}を挿入して、圧–容積ループをディスプレイ上に描記し、モニターしながら適正な位

置で固定した（図1）。

心臓が定常状態になってから、外頸静脈より生理食塩水で10倍希釈した3.7%ホルムアルデヒド溶液（FA）を $0.1\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ （ $3.7\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}=0.12\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ）で注入しながら、10分間隔で上行大動脈の閉塞を一定速度で行い後負荷を上昇させて収縮期末圧容積関係を求めた。同時に血液ガス分析器（ABL 510, RADIOMETER、コペンハーゲン、デンマーク）で血液ガスの分析を行った。統計的有意差検定は反復測定分散分析と一標本または二標本t検定で行った。

2. 肥大心モデルの作成

ネブタール50mg/kg 腹腔内注射でラットを麻酔後、イソプロテレノール（ $1.2\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$ ）を封入したオスモミニポンプ（model

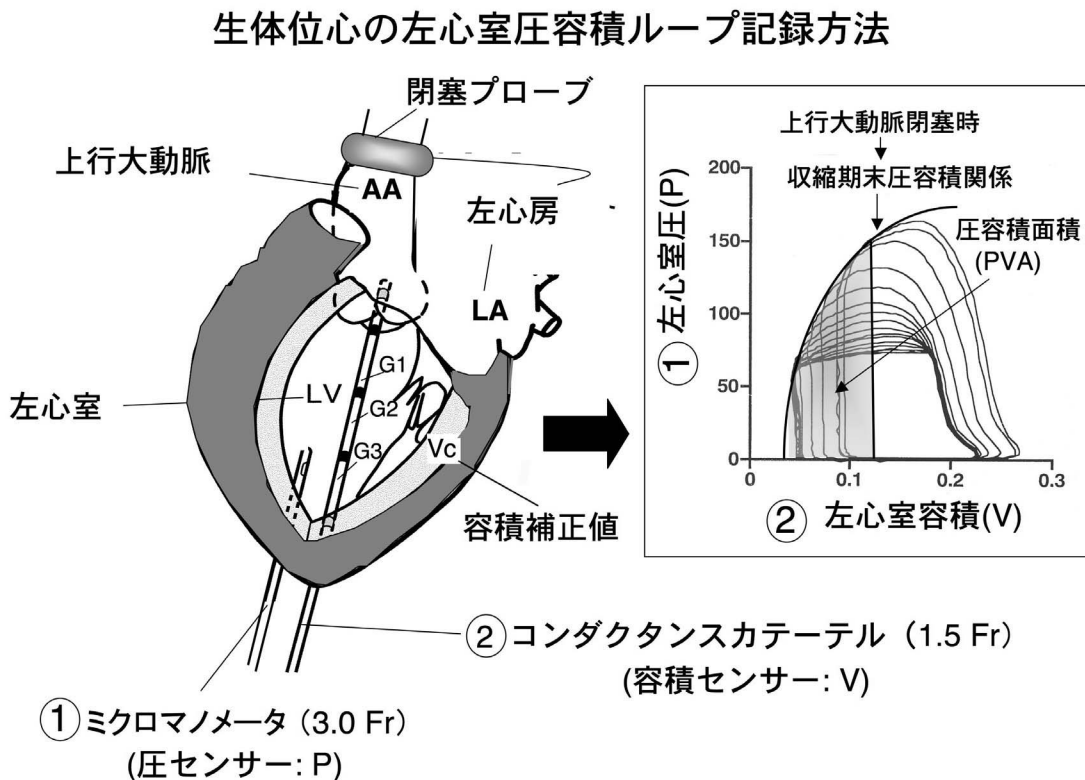


図1 圧容積ループ描記による心機能評価法³⁾

①ミクロマノメータと②コンダクタンスカテーテルを心尖部より挿入し左心室圧と容積を同時記録する。上行大動脈を閉塞することにより収縮期末圧容積関係を求める。G1–3: 各セグメントのコンダクタンス。Vc: 容積補正值。電流が心室中の血液以外の組織を流れて生じるパラレルコンダクタンス。

1003D、Alzet、Durect Corp、Cupertino、CA)を頸部の皮下に3日間植え込むことによって作成した^{4,5)}。

3. 組織学的解析

FA 静注によりラットが死亡した後、左心室と大動脈を摘出し、顕微鏡および電顕観察用の試料を作製した。FA は組織中(心筋、血管平滑筋)のタンパク質のアミノ基やSH基と結合してタンパク質の変性を起こして循環器系にも抑制作用を示すと思われる。HE染色による顕微鏡レベルの観察と電顕レベルでの観察を行った。

4. Ca^{2+} トランジェントの解析

FA 注入正常心と生理食塩水注入正常心の心筋スライス標本(厚さ: $300\ \mu\text{m}$)⁶⁾を作成して、 Ca^{2+} 蛍光指示薬である Fluo-3 をロード後、顕微鏡下で AQUACOSMOS (浜松、日本) を使って、1 Hz の電気刺激によって起こる Ca^{2+} トランジェントを測定した。

III. 結果

1. 心機能解析

FA 注入後のラットの生存プロットをとってみると、正常心群、肥大心群ともに、FA 投与開始30分後で血中濃度が、 $0.4 \pm 0.09\text{mmol/l}$ を越えたと想定される²⁾頃からラットは死亡しはじめた。FA 注入による左心室圧-容積ループの経時変化の代表例を示す(図2)。左心室圧-容積ループはまず弛緩期末圧容積点(右下)から等容収縮を行い(上に向かうほぼ直線の軌跡で圧のみ上昇)、ついで駆出期(右肩から左に向かうほぼ真横の直線の軌跡で容積の減少のみ)、等容弛緩期(左上肩から下に向かうほぼ直線の軌跡で圧のみ下降)、流入期(左下から弛緩期末圧容積点に向かうほぼ真横の直線の軌跡で容積の増加のみ)で一心拍に相当する。

左心室の収縮期末圧(=大動脈血圧)はFA注入20分後から急速に低下した。一回心拍出量は40分後では顕著に減少したが、30分後までは比較的良く保たれており、これには後述する心拍数の減少も関与している。

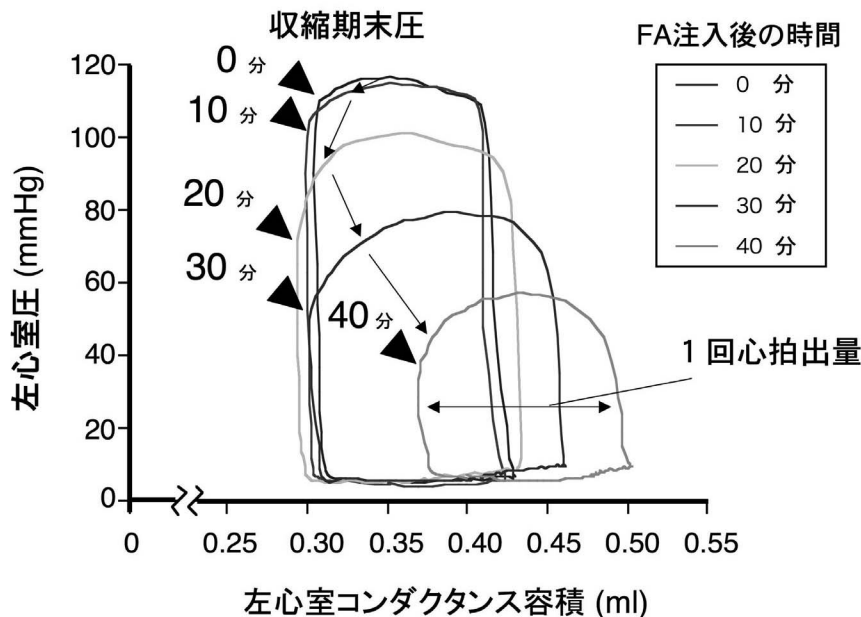


図2 ホルムアルデヒド (FA) 注入によって生じた左心室圧-容積ループの経時変化
各矢頭は各時間帯における各ループの収縮期末圧を示す。FA 注入30分後から顕著な低下を示した。

図3 (6例) に示すようにFA注入による平均左心室収縮期末圧の低下は顕著である。平均左心室収縮期末圧は時間と共に低下し、正常心では30分後で68%、肥大心では42%まで低下している。

平均左心室収縮期末圧と平均一回心拍出量に対するFAの効果自体は、肥大心と正常心では特に

顕著な差は見られなかった。しかし、FA注入30分後には、正常心では一回心拍出量はコントロールの86%を維持しているのに比べ、肥大心では初期値がもともと正常心より有意に小さいうえ、コントロールの約50%まで減少してきており(図3、矢印)、正常心の36%の一回心拍出量になり2/3

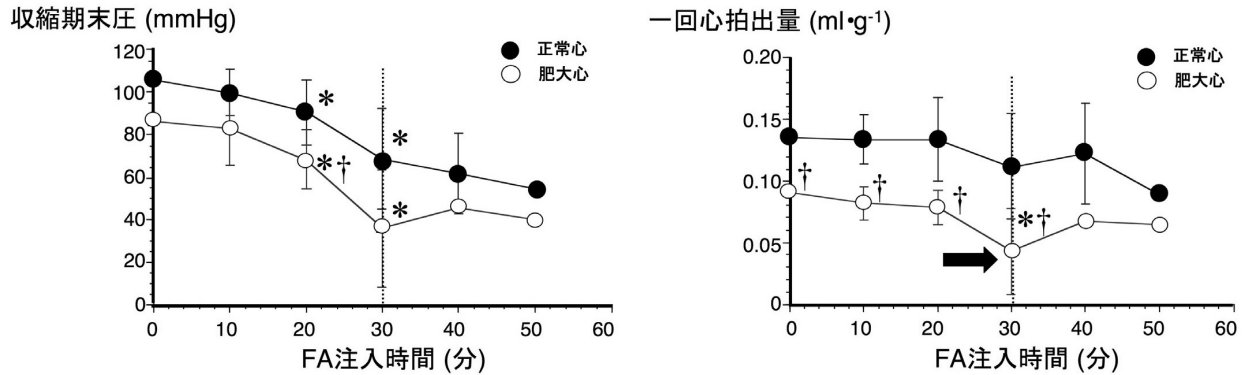


図3 ホルムアルデヒド (FA) 注入による平均左心室収縮期末圧の低下と平均1回心拍出量の減少

* : P<0.05 vs. FA注入前。† : P<0.05 vs. 正常心。

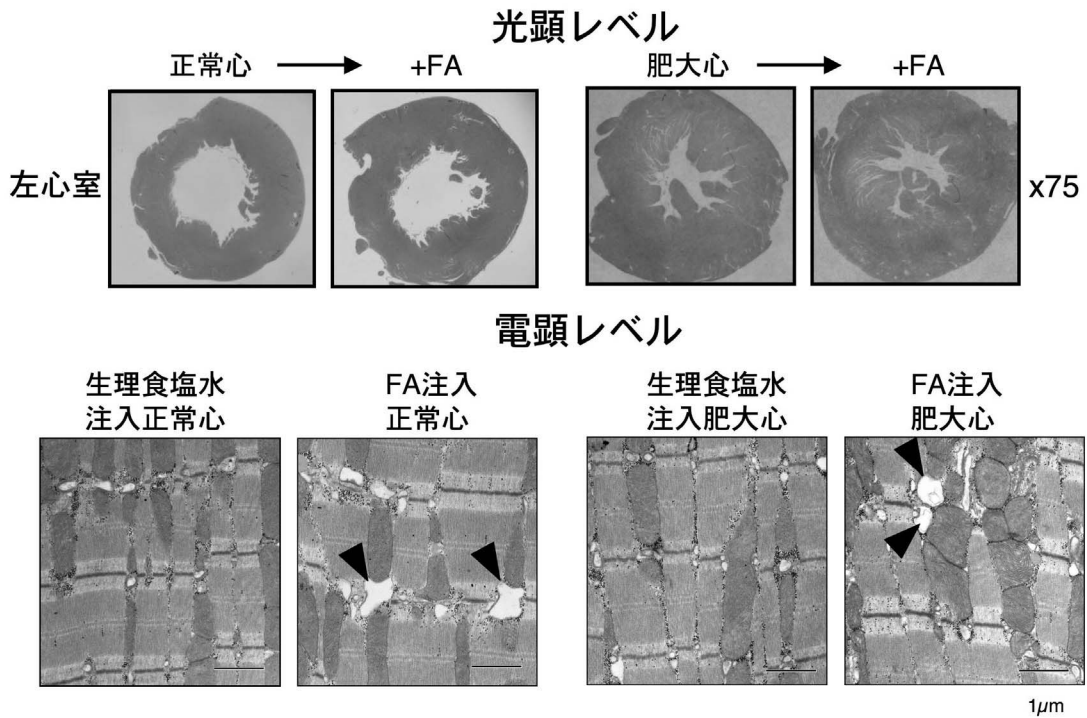


図4 ホルムアルデヒド (FA) 注入による左心室・心筋細胞の形態学的変化

光顕レベルでは、顕著な変化は見られなかった。電顕レベルでは、FA注入により筋小胞体の顕著な膨大(矢頭)が起こっていた。

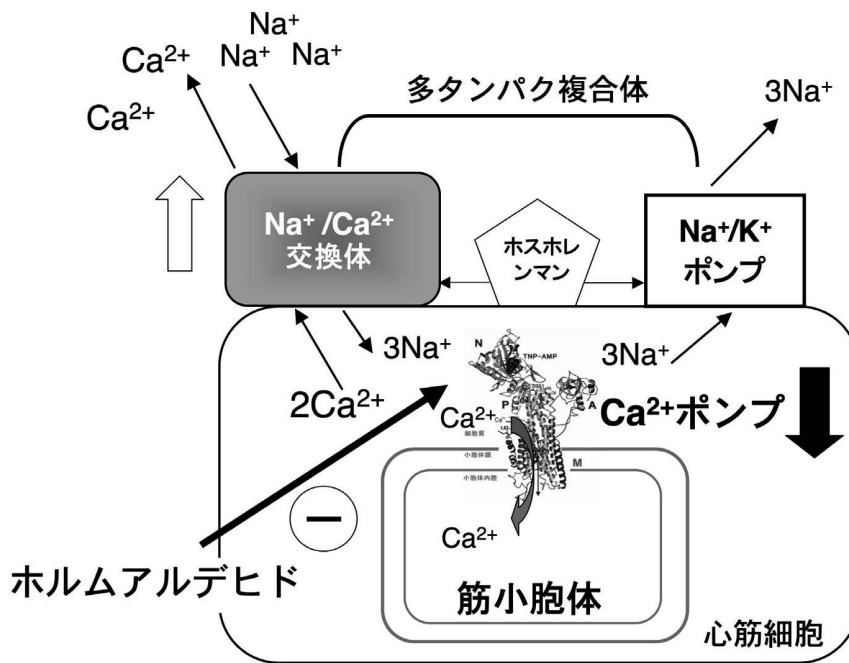


図5 ホルムアルデヒド (FA) 注入による急性ポンプ機能不全の起こるメカニズム

FA は心筋細胞内の筋小胞体 Ca^{2+} ポンプの機能を抑制する。これが、急性ポンプ機能不全の原因と思われる。細胞内 Ca^{2+} 濃度が過度に上昇すると、弛緩期に $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換体による Ca^{2+} の排出が促進される。

の肥大心ラットが死に至った。

同様に、一心拍あたりの機械的総エネルギー：圧容積面積 (PVA) に対する FA の抑制効果も顕著であり、肥大心ではその抑制効果はさらに強く有意であった。

生理食塩水の代わりに 9% NaHCO_3 溶液で FA を希釈して pH の低下の発生を補正しても、得られたすべての実験結果に差は見られなかった。

2. 組織学的解析

光顕レベルの HE 染色像では、FA 非注入正常心・肥大心と比べて FA 注入による明らかな変化は認められなかった。しかし、電顕レベルでは、FA 注入正常心・肥大心ともに選択的に筋小胞体の膨張が起こっていた (図4、矢頭)。

3. Ca^{2+} トランジェントの解析

正常 Ca^{2+} 濃度下では筋小胞体の機能障害からの予測では FA 注入心筋スライスでは蛍光強度比 0.2 における Ca^{2+} トランジェントの持続時間 (D_{20}) が長くなると考えていた。しかし、FA 注

入と生理食塩水注入心筋スライスで D_{20} はもちろん、電気刺激による反応は変わらなかった。一方、4 倍の細胞外 Ca^{2+} 濃度下では FA 注入心筋スライスにおいて、 Ca^{2+} トランジェント後の弛緩期に細胞内 Ca^{2+} 濃度の有意な減少が見られた。

IV. 考察

結果をまとめると、

1. 正常心・肥大心ともに、FA 静注開始30分経過後、コントロールに比べて、左心室収縮期末圧、心拍数、分時心拍出量の有意な減少が起こった。すなわち、急性ポンプ機能失調を来した。
2. 肥大心では一心拍あたりの総機械エネルギー (一心拍あたりの左心室のなす仕事量の指標) は正常心に比べ有意に小さい値を示し、生存率も低い値を示した。
3. FA による代謝性アシドーシスを 9% NaHCO_3 で補正をしても、得られた結果に差は見られなかった。心機能の抑制効果はアシドーシスの

ために起こっているのではない。

4. 電顕的観察では筋小胞体の膨張が認められた。 Ca^{2+} トランジェントの測定では、細胞外の Ca^{2+} 濃度が高い条件下では、 Ca^{2+} トランジェントを生じた後、細胞内 Ca^{2+} 濃度の低下が起こっている。この減少の詳細なメカニズムはさらに検討の余地はあるが、これまでの著者らの研究⁷⁾から、FA 注入心筋スライスにおいて、筋小胞体の Ca^{2+} ポンプ機能が傷害されたため、細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇すると、細胞膜の $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換体が活性化され、弛緩期における細胞外への Ca^{2+} の排出が促進されたと考えられる (図5)。

心機能の指標のうち、一回心拍出量は正常心、肥大心共に30分後までは比較的よく保たれている。これは、心拍数の減少や自律神経反射を介する調節機構の働きなどが関連していると思われる。

一方、高木ら⁸⁾が提唱している一心拍あたりの機械的総エネルギー：PVA に対するFAの抑制効果は正常心で認められ、肥大心ではその抑制効果は増強された。この肥大心モデルでは、もともと筋小胞体の Ca^{2+} ポンプの働きが傷害されており^{4, 5, 9)}、さらにFAにより筋小胞体の機能障害が進んでいることから、この結果は当然である。

FA 静脈注入により生じた急性ポンプ機能失調は、筋小胞体の Ca^{2+} ポンプ機能障害によるものと推察される¹⁰⁾。FAは組織中(心筋、血管平滑筋)のタンパク質のアミノ基やSH基と結合してタンパク質の変性を起こすが、細胞表面に近い筋小胞体の Ca^{2+} ポンプタンパクからまず変性を来したと思われる。

高血圧患者を想定した左室肥大心においては筋小胞体の Ca^{2+} ポンプの機能障害がすでに起こっており、そのためにFAの抑制効果がより強く表れたと思われる。このような高血圧患者を含めて多くの人が自宅でより快適に暮らすためには、シックハウス症候群関連物質の完全に除去された住環境が望ましいと思われる。

謝辞

本研究は、大和ハウス工業(株)寄付講座「住居医学講座」との共同研究の成果である。

次の共同研究者に謝意を表す：竹下大輔、服部宇孜、中島千香子、三澤裕美、張 国興、柴田宗孝、松吉ひろ子(以上奈良県立医科大学生理学第二講座)、清水壽一郎(広島国際大学保健医療学部)、中島民治、菊田彰夫(以上産業医科大学第一解剖学講座)。

文献

- 1) Hodgson M: Sick building syndrome. *Occup Med* 15: 571-85, 2000
- 2) Strubelt O, Brasch H, et al: Experimental studies on the acute cardiovascular toxicity of formalin and its antidotal treatment. *Clin Toxicol* 28: 221-233, 1990
- 3) Ito H, Takaki M, et al: Left ventricular volumetric conductance catheter for rats. *Am J Physiol* 270: H1509-H1514, 1996
- 4) Kitagawa Y, Yamashita D, et al: Reversible effects of isoproterenol-induced hypertrophy on in situ left ventricular function in rat hearts. *Am J Physiol* 287: H277-H285, 2004
- 5) Nakajima-Takenaka C, Shimizu J, et al: Left ventricular lusitropic dysfunction of isoproterenol-induced hypertrophied rat heart. *J Physiol Sci* 57 (Suppl.): S209, 2007
- 6) Yasuhara S, Takaki M, et al: Myocardial VO_2 of mechanically unloaded contraction of rat ventricular slices measured by a new approach. *Am J Physiol* 270: H1063-1070, 1996
- 7) Shimizu J, Yamashita D, et al: Increased O_2 consumption in excitation-contraction coupling in hypertrophied rat heart slices related to increased $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ exchange activity. *J Physiol Sci* 59: 63-74, 2009
- 8) Takaki M. *Review*: Left ventricular mechanoenergetics in small animals. *Jpn J Physiol* 54: 175-207, 2004
- 9) Nakajima-Takenaka C, Zhang G-X, et al.: Left ventricular function of isoproterenol-

induced hyper-trophied rat hearts perfused with blood: mechanical work and energetics. Am J Physiol Heart Circ Physiol 297: 1736-1743, 2009

10) Takeshita D, Nakajima-Takenaka C, et al: Effects of formaldehyde on cardiovascular system in *in situ* rat hearts. Basic Clinical Pharmacol Toxicol 105: 271-280, 2009