

公募課題名：化学物質による健康障害に関する診断技術等に関する研究

研究課題名：化学物質特異的IgGのアレルギー診断と曝露モニタリングへの有用性に関する調査

研究期間：2014－2016

主任研究者名：辻 真弓（産業医科大学）

分担研究者名：川本 俊弘（産業医科大学）、武林 亨（慶應大学）、郡山 千早（鹿児島大学）、  
土屋 卓人（産業医科大学）、一瀬 豊日（産業医科大学）、太田 雅規（福岡女子大学）  
石原 康宏（広島大学）、 田中 政幸（公益財団法人 福岡労働衛生研究所）

本研究は、化学物質（樹脂）取扱い作業者を含む事業所従業員ならびに一般住民を対象に、化学物質特異的 IgG 抗体のアレルギー診断と曝露モニタリングに対する有用性を調査した。対象者は一般住民、大学教職員・学生、化学物質（樹脂）取扱い作業従事者である。解析した化学物質は以下の 12 種類の化学物質である。ビスフェノール A ジグリシジルエーテル(BADGE)、無水フタル酸(PA)、トルエン-2,4-ジイソシアネート(TDI)、パラフェニレンジアミン(PPD)、ホルムアルデヒド(FA)、グルタルアルデヒド(GA)、アクリルアミド(AA)、エチレンジアミン(ED)、ヘキサメチレンジイソシアネート (HDI)、メタクリル酸メチル(MMA)、無水トリメリット酸(TMA)、メタクリル酸グリシジル(GMA)（大学教職員・学生研究は 6 種類のみ測定：BADGE、PA、FA、AA、MMA、TMA）

### 1) 一般住民を対象とした研究

鹿児島県南九州市住民 191 名のうち 183 名（男性 101 名、女性 82 名）を対象として、化学物質等への血清抗体値の測定を行い、抗体分布と関連する生活・環境要因について検証した。

特異的抗体価を測定した 12 種類中最も抗体陽性率が高かった化学物質は PA で、次いで TMA、TDI、GA、HDI であった。それ以外の化学物質については、ほとんどの対象者は、特異的 IgG 抗体陰性の判定であった。喫煙と総 IgE 抗体間に関係が認められたが、特異的 IgG 抗体と有意な相関が認められる生活習慣はなかった。PA の使用範囲は広く、日常生活における環境曝露による可能性について今後の検討が必要である。

### 2) 大学職員・学生を対象とした研究①

20 歳以上の 80 名の女性（大学教職員と学生）を対象とし、アレルギー疾患の有無、日常生活や職場・学校での化学物質の曝露の有無や、タバコ、アルコールといった生活習慣における曝露の有無、そして、呼吸器系症状の有無と総 IgE および総 IgG 抗体との関連性を検証した。

その結果、横断研究においては、アレルギー疾患の有無において、総 IgG 抗体はアレルギー疾患がある群がない群に比べ高い傾向にあった。生活習慣では、飲酒習慣や喫煙習慣と総 IgE 抗体に関連を認めた。縦断研究では、総 IgG において、ベースライン、1 ヶ月後、3 ヶ月後の時期に関係なく、アレルギー疾患を持つものの方が有意に高いという結果であった。

### 3) 大学職員・学生を対象とした研究②

大学生を対象とした一般住民における化学物質の曝露状況を調査し、特に本研究で対象とした年齢で使

用されている頻度が高いネイル用塗料に着目して、その使用状況の調査とドットプロット法を用いた化学物質特異的 IgG 抗体測定（6 種）を行い、使用状況と IgG 抗体測定値の関連性を検討した。

ネイル用塗料の「非使用群」（7 名）、「現在使用群」（42 名）、「過去使用群」（32 名）の 3 群間の比較において、血清総 IgE 抗体、総・特異的 IgG 抗体平均値は統計学的有意差を認めなかった。

#### 4) 化学物質（樹脂）取り扱い作業者を対象とした研究

化学物質（樹脂）取り扱い作業者を含む 8 つの事業所を対象に、樹脂取り扱い作業従事者と一般人の化学物質特異的 IgG 抗体値を比較した。

ウレタン樹脂の原料である TDI や HDI を使用している a 事業所は TDI、TMA、GA 特異的 IgG 抗体値が一般人と比較して高かった。TMA はエポキシ樹脂やウレタン樹脂の硬化剤または改質剤として有用であるため a 事業所で同時に使用されている可能性が高い化学物質である。GA はプラスチックの定着剤に使用される。TDI や HDI といったイソシアネート特異的 IgG 抗体がそれらの曝露の指標になりうるということが報告されているという先行研究も考慮すると、a 事業所対象者の化学物質特異的 IgG 値上昇は職業上の曝露が反映している可能性が高い。c 事業所はポリアミド樹脂、ポリプロピレン樹脂、ポリエチレン樹脂、ウレタン樹脂等様々な樹脂を使用している。c 事業所対象者は HDI 特異的 IgG 抗体値  $12.55 \mu\text{g/ml}$  以上の高 HDI-IgG 群の割合が一般人より高くなる傾向が認められる。さらにこの高 HDI-IgG 群ではアレルギー既往有の対象者が既往無の対象者より多く、この傾向は TDI でも同様であった。

複数の化学物質抗体を測定することで、職業上曝露の有無や曝露源の推定の精度が上昇する。従業員の健康を保持・増進するために、曝露状況の推測・アレルギー発症を予防するためのツールとして化学物質特異的 IgG 抗体値に注目し、複数の化学物質特異的 IgG 抗体値を事業所ごとにオーダーメイドで測定することは有用であると考えられる。

#### 5) 化学物質付加によるヒト血清アルブミン立体構造変化の解析と化学物質特異的 IgG 検出のための新規 ELISA 法の開発

本研究では、川本らが報告した化学物質特異的 IgG 抗体を測定するドットプロット法を改良し、多検体を短時間で処理できる ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) を構築することを目的とした。候補化学物質として、カルボニル化合物、FA、PA を選択した。まず、ヒト血清アルブミンと化学物質の付加体の立体構造を詳細に解析し、ヒト血清アルブミンと化学物質との反応について、立体構造変化を引き起こすかという点に焦点を当てて解析した。アミノ基定量の結果、ヒト血清アルブミン中のリシン残基が、化学物質中のカルボニル基と反応することが明らかとなった。次にリシン残基を含むヒト血清アルブミン部分ペプチドを設計し、カルボニル化合物とリシン残基との反応様式を調べたところ、FA はイミンを、PA は 3 級アミンを介してリシン残基を修飾することが明らかとなった。一般住民と樹脂工場労働者の血清検体中の抗 FA-ヒト血清アルブミン部分ペプチド IgG および抗 PA-ヒト血清アルブミン部分ペプチド IgG 量を、これら化学物質とヒト血清アルブミン部分ペプチドとの付加体を抗原とした ELISA で調べたところ、一般住民と比較して工場労働者の血清中に高い抗体量が認められた。従って、本ペプチド ELISA は、FA や PA の曝露状況評価に用いることができると考えられる。今後は、ここで作製した ELISA がカルボニル化合物の曝露状況評価に用いることができるか、さらに、カルボニル化合物によるアレルギー診断に用いることができるかについて、慎重に調べ、ELISA をさらに改良して、検査或いは診断の場で使用できるより簡便で精度の高い、IgG 検出法の構築を目指す。