

労災疾病臨床研究事業費補助金研究結果報告書（概要）

令和 5 年 5 月 31 日

厚生労働大臣 殿

【研究課題名】（課題番号）：架橋型アクリル酸系水溶性高分子化合物の粉体を取り扱う労働者に発生した呼吸器疾患に関する研究（200101-01）

【研究代表者】：矢寺 和博（産業医科大学 医学部 教授）

【研究実施期間】：令和 2 年 4 月 1 日から 令和 5 年 3 月 31 日まで
（ 3 ）年計画

【研究目的】：「架橋型アクリル酸系水溶性高分子化合物」（以下、アクリル酸系ポリマー）の気管内注入試験・吸入ばく露試験や、物理化学的特性の分析により、1) 肺有害性（特に線維化能や腫瘍能）の評価、2) 有害性に関わる物理化学的特性の特定、3) 有害性の機序の解明を行い、ヒトの臨床所見・経過等との整合性を検証し、ばく露と疾病発症との因果関係を解明することを目的とする。

【研究方法・成果】：

1) ばく露物質の物性評価

- ・ 複数のアクリル酸系・非アクリル酸系ポリマーの物理化学的特性を評価し、労働者の情報や我々がこれまでに行ってきた実験の結果なども考慮し、下記をばく露物質に選定した。ポリマー①～④は気管内注入試験に、ポリマーAは吸入ばく露試験に用いた。

サンプル	重量平均分子量 (Mw)	慣性半径 (Rg) (nm)	備考
ポリマー① (非架橋型ポリアクリル酸)	7.53×10^5	74.9	研究チーム内で合成
ポリマー② (非架橋型ポリアクリル酸)	2.58×10^5	42.1	研究チーム内で合成
ポリマー③ (ポリエチレンオキシド)	7.63×10^5	75.1	市販品
ポリマー④ (非架橋型ポリアクリル酸ナトリウム)	6.17×10^5	60.1	研究チーム内で合成
ポリマーA (架橋型ポリアクリル酸)	7.65×10^5	68.7	市販品

- ・ 吸入ばく露試験に用いたポリマーAの空気動学的直径 (MMAD) は、 $2.0 \mu\text{m}$ （設定濃度 0.2 mg/m^3 ）、 $2.1 \mu\text{m}$ （設定濃度 2.0 mg/m^3 ）であった。

2) 気管内注入試験

- ・ ポリマー①～④を蒸留水に懸濁し、2用量でラットに気管内注入した。対照群には、分散媒である蒸留水を投与した。注入3日後、1週後、1ヶ月後、3ヶ月後、6ヶ月後に3DマイクロCTを撮影し、その後、解剖を行い、気管支肺胞洗浄液や肺組織を採取した。アクリル酸系ポリマーであるポリマー①、②および④では、気管内注入後に強い炎症が起きた。炎症は1ヶ月ほど持続した。3ヶ月以降は炎症は消退傾向であった。また、ポリマー①、②および④のいずれのポリマーにおいても線維化を認めたが、ポリマー①と②では観察期間(6ヶ月間)を通して線維化が持続したのに対し、ポリマー④では線維化は1ヶ月ほど持続した後、3ヶ月以降は消退傾向であり、6ヶ月後には消失した。いっぽう、非アクリル酸系ポリマーであるポリマー③では、観察期間(6ヶ月間)を通して軽度の炎症を認めたが、線維化はほぼ皆無であった。これらの所見はいずれも用量依存性であった。
- ・ ポリマー①、②および④では、気管支肺胞洗浄液中で、好中球やマクロファージを主体とする炎症細胞、細胞傷害性のマーカーであるLDH、好中球走化性因子である

CINC-1やCINC-2が、対照群と比較して、有意な増加が1ヶ月程度持続していた。また、肺組織中のH0-1も、対照群と比較して、有意な増加が持続していたが、H0-1値は、ポリマー①、②のほうが、ポリマー④と比較して、高値であり、有意な増加の持続期間も、ポリマー①、②のほうが、ポリマー④と比較して、長かった。これらの所見はいずれも用量依存性であった。

3) <肺組織の遺伝子解析>

- ・ アクリル酸系ポリマーの肺障害性と架橋の関係を調べるために、架橋以外の物理化学的特性の差異がない、異なるポリマーを用いて、肺障害性の比較や遺伝子発現のプロファイルを調べた。
- ・ 非架橋型ポリアクリル酸であるポリマー①を気管内注入した肺組織と、これまで我々が行った架橋型ポリアクリル酸であるポリマーA（架橋0.1%以下）を気管内注入した肺組織を用いて、肺障害性を比較した。その結果、ポリマーAは、ポリマー①よりも、細胞傷害性や線維化が強く、0.1%以下の架橋度では線維化などの肺障害性が増強することが示唆された。
- ・ ポリマーAを気管内注入した肺組織を用いたmRNAのマイクロアレイでは、アポトーシスやPI3K-AKT経路に関連する遺伝子発現の上昇を認めた。

4) 吸入ばく露試験

<ラット>

- ・ 市販の架橋型ポリアクリル酸（ポリマーA）をラットに吸入ばく露した。設定濃度は低濃度群0.2 mg/m³・高濃度群2.0 mg/m³とし、対照群には大気を吸入させた。ばく露時間は6時間/日×5日間/週、ばく露期間は5日間または13週間とした。
- ・ 5日間の吸入ばく露試験では、ばく露群において、濃度依存性に一過性の炎症が起きたが、1ヶ月後には消退した。線維化は認めなかった。
- ・ 13週間の吸入ばく露試験では、高濃度群において、炎症が1ヶ月程度持続したが、3ヶ月目以降は消退傾向であった。線維化は軽微なものが1ヶ月程度持続したが、3ヶ月以降はほぼ消退し、6ヶ月では消失した。低濃度群でも炎症は起きたが軽度でかつ一過性であった。線維化はほぼ皆無であった。

<マウス（クラブ細胞除去モデル含む）>

- ・ 市販の架橋型ポリアクリル酸（ポリマーA）をマウスに吸入ばく露した。設定濃度は低濃度群0.2 mg/m³、高濃度群2.0 mg/m³とし、対照群には大気を吸入させた。ばく露時間は6時間/日×5日間/週、ばく露期間は13週間とした。各群において、クラブ細胞除去なし群とクラブ細胞除去あり群を設けた。吸入ばく露終了の3日後、1ヶ月後、3か月後、6ヶ月後に解剖を行った。
- ・ クラブ細胞の除去は、ナフタレン200 mg/kg（コーン油に溶解）を、吸入ばく露開始の前日から3週間毎に腹腔内注射を行う方法を用いて行った。クラブ細胞除去なし群には、コーン油のみを同様のスケジュールで腹腔内注射した。
- ・ 観察期間（6ヶ月間）を通して、クラブ細胞除去あり群では、クラブ細胞除去なし群と比較して、炎症や線維化が強い傾向にあった。
- ・ クラブ細胞除去なし群では、吸入ばく露終了3日後の低濃度群と3ヶ月後の高濃度群でのみ軽度の炎症を認めた。線維化は、吸入ばく露終了1ヶ月後の低濃度群でごくわずかに認めたのみであった。
- ・ クラブ細胞除去あり群では、炎症は、対照群を含めた全群で、吸入ばく露終了3日後から6ヶ月後までの間認めた。線維化は、3日後の対照群を除き、全群の各観察ポイントにおいて認めたが、全般的に軽度であった。これらの所見において、濃度依存性は一定ではなかった。

【結論】：

- ① 1) 分子量75.3万と25.8万の非架橋型ポリアクリル酸では、同程度の高い肺の炎症能や線維化能を有し、分子量が数十万レベルの比較的大きい非架橋型ポリアクリル酸は肺障害性があることを認めた。
2) 架橋型ポリアクリル酸（架橋度0.1%以下）と非架橋型のポリアクリル酸では、架橋型ポリアクリル酸（架橋度0.1%以下）のほうが、細胞傷害性や線維化が強かったことから、0.1%以下の架橋度では線維化などの肺障害性が増強することが示唆された。
- ② 13週間の架橋型ポリアクリル酸の吸入ばく露試験（ラット）では、最大濃度2.0 mg/m³にて肺組織の炎症や線維化が観察された。これらの所見は1ヶ月まで持続したが、その後消退した。本試験におけるNOAELは0.2 mg/m³であった。

- ③ クラブ細胞除去マウスへの13週間の架橋型ポリアクリル酸の吸入ばく露試験では、クラブ細胞の除去で、架橋型ポリアクリル酸による炎症や線維化が増強した。これらの結果から、クラブ細胞は、炎症や線維化を抑制する役割を有することが示唆された。

【今後の展望】：

- ・ 引き続き実験を継続し、長期観察の結果も踏まえつつ、アクリル酸系ポリマーの肺障害性（特に線維化能や腫瘍能）の評価、肺障害性に関わる物理化学的特性の特定、および肺障害性の機序の解明を行う。