

## 労災疾病臨床研究事業費補助金

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

平成 30 年度 総括・分担 研究報告書

研究代表者 須賀 万智

平成 31 (2019) 年 3月

## 目 次

## I. 総括研究報告

- 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  
研究代表者 須賀万智 ----- 2

## II. 分担研究報告

1. 業務起因性の疫学的検討～胸部レントゲン検査の有所見発症率の比較評価  
研究代表者 須賀万智 ----- 5
2. ラットを用いた曝露試験による有害性評価  
研究分担者 森本泰夫 ----- 11
3. アクリル酸ポリマーのpH変化による影響評価  
研究分担者 木戸尊将 ----- 16
4. アクリル酸ポリマー気管内投与における濃度依存的/経時的影響の評価  
研究分担者 木戸尊将 ----- 20
5. 間質性肺疾患の罹患率に関する研究文献のシステマティックレビュー  
研究分担者 山内貴史 ----- 26
6. 作業環境の評価と曝露量の推定  
研究分担者 村田 克 ----- 32
7. 架橋型アクリル酸系水溶性高分子化合物の精密物性評価  
研究分担者 望月慎一 ----- 36

- III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 40

平成30年度労災疾病臨床研究事業費補助金  
「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（180301-01）」  
総括研究報告書

研究代表者 須賀万智（東京慈恵会医科大学 環境保健医学講座 教授）  
研究分担者 森本泰夫（産業医科大学 産業生態科学研究所 教授）  
木戸尊将（東京慈恵会医科大学 環境保健医学講座 助教）  
山内貴史（東京慈恵会医科大学 環境保健医学講座 助教）  
村田 克（早稲田大学 理工学術院 准教授）  
望月慎一（北九州市立大学 環境技術研究所 准教授）

**【研究要旨】**

架橋型アクリル酸系水溶性高分子化合物を製造する工場において間質性肺炎や肺気腫などの肺障害が多発し、当該物質を日常的に高濃度に吸入したことに起因する可能性が指摘された。しかし、当該物質曝露と肺障害発生の因果関係を裏付けるエビデンスが全くなかったことから、実験と疫学の両面から業務起因性を検証する研究を実施した。ラットを用いた曝露試験や定期健康診断結果の後方視的分析などにより、実験と疫学の両面から、架橋型アクリル酸系水溶性高分子化合物の粉体を取扱作業中に日常的に高濃度に吸入しつづけたことによって肺障害を生じた、すなわち、当該作業が肺障害を生じた原因であること（業務起因性）が裏付けられた。

**A. 研究目的**

架橋型アクリル酸系水溶性高分子化合物の粉体（以下、アクリルポリマー）を製造する工場において間質性肺炎や肺気腫などの肺障害が多発し、同物質を主成分とする吸入粉じんが日常的に高濃度に曝露されたことに起因する可能性が報告された（厚生労働省平成29年4月28日報道発表資料）。しかし、これまでアクリルポリマーならびに有機合成高分子化合物が肺に対する有害性を持つことは報告されておらず、アスベストやシリカなどの無機粉じんとは異なる作用機序を持つことが推察されたが、具体的な詳細は不明であった。

肺障害を発症した労働者からは労災保険給付の請求書が提出されたが、アクリルポリマーの吸入と肺障害の発生の因果関係を裏付けるエビデンスが全くなかったことから、実験と疫学の両面から業務起因性を検証する研究を実施した。

**B. 研究方法**

アクリルポリマーについて、1) ラットを用いた曝露試験に基づく実験的検討、2) 現地調査結果に基づく疫学的検討、3)

物理化学的特性の分析を実施した。

本研究を進めるにあたり、当該工場に研究協力を依頼し、平成30年10月11日付にて研究協力協定を締結した。これに基づき、研究代表者は当該工場より試料・資料の提供を受け、研究分担者は各所属機関において試料・資料を使用した曝露実験・データ分析を遂行した。

**1) ラットを用いた曝露試験に基づく実験的検討**

曝露試験による有害性評価(森本)では、アクリルポリマーの肺に対する有害性(炎症、線維化)を評価するため、ラット雄12週齢に経気道的に投与し、気管支肺胞洗浄液と肺組織を経時的に観察した。投与方法は懸濁液の単回気管内投与(1匹あたり投与量0.05、0.2、0.5、1.0mg)と粉体の連続吸入曝露(曝露気中濃度2、10mg/m<sup>3</sup>、1日6時間×5日間)とした。

免疫毒性と変異原性の評価(木戸)では、アクリルポリマーによる肺障害における免疫担当細胞のマクロファージの関与を調べるため、ラット雄10週齢に経気道的に投与し、気管支肺胞洗浄液と肺組織を経時的に観察した。投与方法は懸濁液の単回

気管内投与(1匹あたり投与量0.1、0.5mg)とした。あわせて懸濁液の pH の影響を調べるため、中和した場合としない場合で比較した。

## 2) 現地調査結果に基づく疫学的検討

業務起因性の疫学的検証(須賀)では、当該工場でアクリルポリマーを取り扱う作業に従事した従業員を対象として、2009年9月以降の定期健康診断の胸部レントゲン検査の有所見発症率を計算して、一般労働者(公益財団法人東京都予防医学協会の定期健康診断受診者)の値と比較した。

疫学的因果関係の評価(山内)では、医学文献データベースを用いて国内外の間質性肺疾患の罹患率に関する報告をレビューした。

作業環境の評価と曝露量の推計(村田)では、独立行政法人労働者健康安全機構・労働安全衛生総合研究所による災害調査報告書(平成28年2月)のデータに基づき、アクリルポリマー取扱作業者の発症当時の曝露濃度と総曝露量を推計した。

## 3) 物理化学的特性の分析

有機合成高分子化合物の物理化学的特性の評価(望月、村田)では、アクリルポリマーの分子量、粒子径、密度、架橋度を測定した。

### (倫理面での配慮)

ラットを用いた曝露試験に関して、各所属機関の動物実験委員会の審査承認を受けた。定期健康診断結果の後方視的分析に関して、東京慈恵会医科大学と公益財団法人東京都予防医学協会の倫理委員会の審査承認を受けた。

## C. 研究結果

### 1) ラットを用いた曝露試験に基づく実験的検討

懸濁液の単回気管内投与、粉体の連続吸入曝露のいずれも肺組織に激しい炎症を

生じた。炎症細胞浸潤は長期間(1ヶ月)持続し、比較的早期(3ヶ月以内)から間質の線維化を認めた。これらの反応は、従来、職業性肺疾患の原因として知られるシリカや金属ナノ粒子よりも高度かつ早期に進行した。(森本)

曝露後の肺組織内のマクロファージの分布は、M1(炎症型)、M2(抗炎症型)ともにアクリルポリマー投与群で有意に増加し、肺胞腔内に多数浸潤した状態が2ヶ月後も持続していた。アクリルポリマーは水溶液中で強酸性(リン酸緩衝生理食塩水PBS(-)に溶解した場合pH4.7)を示すため、懸濁液を水酸化ナトリウムで中和して投与しても、炎症の強度が変わらなかった。(木戸)

## 2) 現地調査結果に基づく疫学的検討

アクリルポリマー取扱作業者の胸部レントゲン検査の有所見発症率は人月当たり0.00448であり、同年代の喫煙男性に比べ有意に高かった。(須賀)

文献レビューから得られた間質性肺疾患の罹患率は10万人年対100未満であり、アウトカムの定義のちがいを考慮しても、アクリルポリマー取扱作業者の有所見発症率(10万人年対換算5376.0)が極めて高かった。(山内)

アクリルポリマー取扱作業者の発症当時の曝露濃度は2.5~5.0mg/m<sup>3</sup>、作業者あたりの総曝露量は平均約24.5(11.2~41.0)gと推計され、取扱作業中に日常的に高濃度に吸入していた状況が裏付けられた。(村田)

## 3) 物理化学的特性の分析

アクリルポリマーは粒子径5 $\mu$ m以下(肺胞まで到達するレスピラブル粉じん)であり、粒子径1 $\mu$ m以下の微小粒子も多く含まれ、飛散しやすい性状であった。懸濁液中の粒子の分布を観察すると、超音波処理前後は粒子径5 $\mu$ m以上の凝集体も見られたが、超音波処理後は粒子径1 $\mu$ m以下まで小さくなった。(望月、村田)

#### D. 考察

本研究では、アクリルポリマーについて実験と疫学の両面から業務起因性を検証した。ラットを用いた曝露試験から、アクリルポリマーを吸入すると肺組織に炎症、線維化を生じることが確認された。一方、定期健康診断結果の後方視的分析から、アクリルポリマー取扱作業者の胸部レントゲン検査の有所見発症率が同年代の喫煙男性に比べ有意に高く、文献レビューから得られた間質性肺疾患の罹患率と比べても極めて高いことが確認された。これら結果により、実験と疫学の両面から、アクリルポリマーを取扱作業中に日常的に高濃度に吸入しつづけたことによって肺障害を生じたことが裏付けられた。

このように業務起因性については証明されたが、本研究だけでは明らかにできなかった課題として、以下が挙げられる。

##### • 発癌リスク

ラットを用いた曝露試験は最長3ヶ月しか観察しておらず、発癌性評価が十分に実施できていない。間質性肺疾患が肺がんの発生母地になることが知られており、将来的に肺がんを合併する危険性が考えられる。

##### • 毒性発現機序

病理組織変化が既知の物質よりも高度かつ早期に進行することから、既知の物質とは異なる機序に基づく可能性が考えられる。胸部CT画像所見から、当該物質が細気管支を閉塞し（チェックバルブ）、その先の肺胞を破壊した（肺気腫）ことが示唆され、当該物質に特徴的な高粘度性が肺からの排出を妨げ、炎症を長期に持続させたと推察される。即ち、肺障害の主因が物質固有の有害性なのか、水溶性・高粘度の類似する化学物質によっても起こりうるものなのかが明らかでない。

##### • 喫煙の関与

肺障害を発症した労働者はほとんどが喫煙者であり、肺障害を生じる素地とし

て喫煙の影響を無視できない。即ち、喫煙が肺障害を増強した可能性が考えられるが、明らかでない。

##### • 病理組織検体からの検出

口・鼻から吸入した物質が肺に到達し、肺組織を障害したことを真に証明するには、当該物質を病理組織検体内に検出することが望まれるが、アクリルポリマーは水に溶解すると無色透明になり、存在を同定するには至っていない。

同様の健康被害の拡大を防止するために、今後も研究を継続し、課題解決に取り組む必要がある。

#### E. 結論

ラットを用いた曝露試験や定期健康診断結果の後方視的分析などにより、実験と疫学の両面から、アクリルポリマーを取扱作業中に日常的に高濃度に吸入しつづけたことによって肺障害を生じた、すなわち、当該作業が肺障害を生じた原因であること（業務起因性）が裏付けられた。

#### F. 健康危険情報

これまでアクリルポリマーならびに有機合成高分子化合物を取り扱う作業者に肺障害を認めた事例は報告されていなかったことから、有害物質として健康障害防止策を講じられていないのが現状である。このたび労災請求事案が明らかになり、厚生労働省より関係各者に注意喚起を呼びかける文書（平成29年4月28日付）が発出されたところであるが、本研究結果を受けて、アクリルポリマーならびに有機合成高分子化合物の吸入曝露に関して、より一層の対策強化が求められる。

#### G. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

平成 30 年度労災疾病臨床研究事業費補助金  
「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 (180301-01)」  
分担研究報告書

業務起因性の疫学的検討  
～胸部レントゲン検査の有所見発症率の比較評価～

研究代表者 須賀 万智 (東京慈恵会医科大学 環境保健医学講座 教授)

【研究要旨】当該事業場で平成 21 (2009) 年 9 月以降に架橋型アクリル酸系水溶性高分子化合物を取り扱う作業に従事した者 30 名について定期健康診断の胸部レントゲン検査の有所見発症率を計算し、作業環境・内容が異なる作業場 (A、B) 間の比較と、一般労働者との比較を実施した。肺障害事例が報告された作業場 A (24 名) の発症率は肺障害事例が報告されていない作業場 B (9 名) の 2.77 倍であった。作業場 A のカプランマイヤー法による累積発症率は 12 ヶ月 0.042、24 ヶ月 0.095、36 ヶ月 0.258 と推計され、一般労働者の 30～34 歳喫煙男性の値と比べ、24 ヶ月以降で有意差を認めた。

研究分担者：山内貴史  
(東京慈恵会医科大学 環境保健医学講座  
助教)

#### A. 研究目的

架橋型アクリル酸系水溶性高分子化合物の粉体 (以下、アクリルポリマー) を製造する工場において間質性肺炎や肺気腫などの肺障害が複数の労働者に認められた。同物質に日常的に高濃度に曝露されたことに起因する可能性が指摘されているが、このことを証明するには、実験的に曝露試験で確認すると共に、疫学的に因果関係を評価することが求められる。

本研究では、当該事業場で平成 21 (2009) 年 9 月以降にアクリルポリマー取扱作業に従事した者の定期健康診断結果を見なおし、胸部レントゲン検査の有所見発症率の比較評価を実施した。

#### B. 研究方法

##### 1) 当該事業場のアクリルポリマー取扱作業従事者のデータ

平成 30 (2018) 年 10 月 11 日付で当該事業場と研究協力協定を締結し、当該事業場で平成 16 (2004) 年 1 月～平成 29

(2017) 年 5 月にアクリルポリマー取扱作業に従事した者に関する情報 (性別、生年、喫煙歴、アクリルポリマー取扱作業の

従事期間、定期健康診断の胸部レントゲン検査の判定結果) を提供いただいた。

当該事業場内でアクリルポリマーを取り扱う作業場のひとつ (後出の作業場 A) が平成 21 (2009) 年 9 月に改修され、作業環境が変化したこと、肺障害事例 (労災申請 5 名) がアクリルポリマー取扱作業に従事したのが平成 21 (2009) 年以降であったこと、また、平成 21 (2009) 年より以前の定期健康診断結果は入手できなかったことから、当該事業場で平成 21

(2009) 年 9 月以降にアクリルポリマー取扱作業に従事した者を対象として、定期健康診断の胸部レントゲン検査の有所見発症率を計算した。観察期間は平成 21 (2009) 年 9 月またはアクリルポリマー取扱作業に配属された年月から有所見発症または退職または平成 29 (2017) 年 5 月までの最も短い期間とした。有所見発症の定義は胸部レントゲン検査 (間接撮影) で C (要注意) 判定以上を受けた場合とした。

定期健康診断を観察期間中に 2 回 (年) 以上受けていたのは調査対象 53 名のうち 30 名であった。この中には観察開始時点の直近の胸部レントゲン検査で何らかの所見を認めた者が含まれていなかったことから、この 30 名を分析対象とした。

## 2) 一般労働者のデータ

公益財団法人東京都予防医学協会は首都圏内の事業場から従業員の定期健康診断を委託され、受検者は年間 13 万人を越える。上述のアクリルポリマー取扱作業従事者のデータに対して、比較対照（基準）となる一般労働者のデータを得るため、定期健康診断データを匿名・非識別加工したうえで提供いただいた。

公益財団法人東京都予防医学協会で平成 13（2001）～18（2006）年度に定期健康診断を受けた 20～54 歳男性（心疾患、脳血管疾患、腎疾患治療中を除く）のうち、平成 23（2011）年度までに定期健康診断を再度 1 回以上受けた者を分析対象とした。

上述のアクリルポリマー取扱作業従事者の場合と同様に、定期健康診断の胸部レントゲン検査の有所見発症率を 5 歳階級別・喫煙習慣別に計算した。

## 3) 統計学的解析

人年法による発症率を計算し、リスク比と 95%信頼区間を算出した。さらに、 Kaplan-Meier 法による累積発症率を計算し、ログランク検定を実施した。アクリルポリマー取扱作業従事者のデータと一般労働者のデータの比較は Z 値による母比率の検定を実施した。有意確率は 0.05% とした。

### （倫理面での配慮）

本研究を実施するにあたり東京慈恵会医科大学と公益財団法人東京都予防医学協会が倫理委員会の審査承認を受けた。

## C. 研究結果

### 1) 作業環境・内容が異なる作業場間の比較

アクリルポリマー取扱作業従事者 30 名の配属先は肺障害事例が報告された作業場 A に 24 名（労災申請 5 名を含む）、肺障害事例が報告されていない作業場 B に 9 名、時期を変えて両方に配属されたのが

3 名であった。対象者は全員男性で、年齢は平均 32 歳と若く、喫煙率はデータを得られた者で 84%と高率であった（表 1）。

表 1 分析対象の基本情報

	全体 (n=30)		
	平均	SD	(範囲)
年齢	31.9	9.8	(19-55)
追跡期間(月)	61.8	32.3	(13-93)
曝露期間(月)	34.1	25.9	(5-93)
喫煙率†	21/25 (84%)		

†データを得られた者のみを分析した

人年法による発症率（表 2）は、作業場 A が作業場 B の 2.77 (95%信頼区間 0.33～2305) 倍であった。

Kaplan-Meier 法による累積発症率（図 1）は、観察期間全体を通して作業場 A が作業場 B よりも高かった。

表 2 人年法による推計結果

	観察期間 (人月合計)	発症数	発症率 (人月あたり)
全体 (n=30)	1564	7	0.00448
作業場 A (n=24)	1198	6	0.00501
作業場 B (n=9)	554	1	0.00181

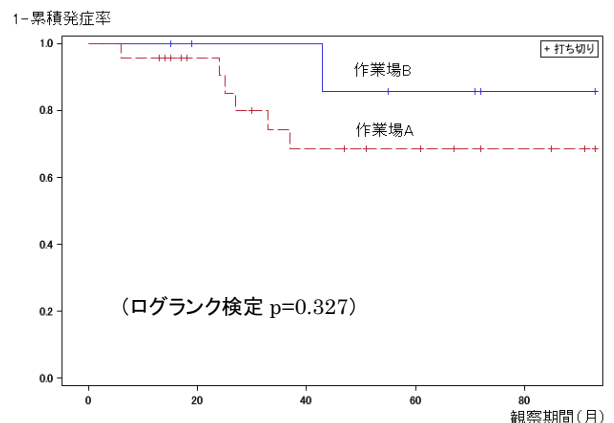


図 1 カプランマイヤー法による推計結果

### 2) 一般労働者との比較

一般労働者の累積発症率（別紙）から、対象者の属性に近い 30～34 歳喫煙男性の値と比較した。全体では、36 ヶ月で有意差を認めた。作業場 A だけに限定した場合、24、36 ヶ月で有意差を認めた（表 3）。

表 3 胸部レントゲン検査の累積発症率

	全体 (n=30) p 値†	作業場 A (n=24) p 値†	一般労働者 30-34 歳 喫煙男性 0.012
12 ヶ月	(0.005-0.221) p=0.493 0.078	(0.006-0.261) p=0.371 0.095	(0.010-0.015)
24 ヶ月	(0.020-0.028) p=0.125 0.213	(0.024-0.333) p=0.045 0.258	(0.019-0.026)
36 ヶ月	(0.094-0.440) p<0.001	(0.116-0.517) p<0.001	(0.028-0.037)

† 一般労働者に比べて高いかを検討するため片側検定で比較した

#### D. 考察

当該事業場で平成 21 (2009) 年 9 月以降にアクリルポリマー取扱作業に従事し、定期健康診断結果を後方視的に分析できた全 30 名について、胸部レントゲン検査の有所見発症率を計算し、作業環境・内容が異なる作業場 (A、B) 間の比較と、一般労働者との比較を実施した。

観察期間中の有所見発症は肺障害事例が報告された作業場 A で 24 名中 6 名 (うち労災申請 5 名)、肺障害事例が報告されていない作業場 B で 9 名中 1 名みられ、人年法による発症率は作業場 A が作業場 B の 2.77 倍であった。また、作業場 A のカプランマイヤー法による累積発症率を一般労働者の 30~34 歳喫煙男性の値と比較すると、24 ヶ月以降で有意差を認めた。作業場 A と作業場 B を比較した結果はいずれも統計学的に有意と言えるレベル

( $p<0.05$ ) に達しなかったが、これはサンプルサイズが小さいことによる検出力 (パワー) 不足によると考えられる。

以上より、肺障害事例が報告された作業場 A の胸部レントゲン検査の有所見発症率は、もうひとつの作業場 B や一般労働者に見られる値よりも高いことが確認された。即ち、作業場 A には、肺障害発症リスクを高める要因が存在したことが裏付けられた。

独立行政法人労働者健康安全機構・労働

安全衛生総合研究所による災害調査報告書 (平成 30 年 2 月) および当該事業場からの説明によれば、作業場 A はアクリルポリマーを最終製品として包装する作業を行うため、作業場 B よりもアクリルポリマーが作業環境中に飛散しやすい状況にあった。また、平成 21 (2009) 年 9 月に建物外に飛散するのを防止する措置を強化 (半密閉化) したことで、作業場 A の建物内のアクリルポリマー濃度がさらに上昇した。結果的に、作業場 A でアクリルポリマー取扱作業にあたる者がアクリルポリマーをより高濃度で吸引することになり、このたびの事例発生に至ったことが推察された。

なお、アクリルポリマーを吸入してから肺障害を発症するまでの期間について、本研究で厳密に推計することは難しいが、作業場 A の有所見発症例 6 名中 5 名が曝露開始 24 ヶ月以降に発症していたこと、また、一般労働者との比較結果で 24 ヶ月以降で有意差を認めたことから、24 ヶ月以上というのが妥当であろうと考えられる。

#### E. 結論

当該事業場で平成 21 (2009) 年 9 月以降にアクリルポリマー取扱作業に従事した者の胸部レントゲン検査の有所見発症率を評価した結果、肺障害事例が報告された作業場の発症率は一般労働者に見られる値よりも高く、本作業場に肺障害発症リスクを高める要因が存在したことが裏付けられた。

#### 参考文献

公益財団法人東京都予防医学協会の定期健康診断データについては、下記にて報告している。

- 須賀万智ら. 定期健康診断における心血管危険因子の有所見率の 10 年間の推移. 産業衛生学雑誌 2013;55(1):1-10

#### F. 健康危険情報

なし



G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

別紙 一般労働者の胸部レントゲン検査の有所見発症率(カプラン・マイヤー法による累積発症率)

年齢	年	非喫煙			喫煙		
		発症率	95%信頼区間		発症率	95%信頼区間	
20-24	1	0.8%	0.6%	1.1%	0.7%	0.5%	1.0%
	2	1.2%	0.9%	1.6%	1.4%	1.1%	1.8%
	3	1.8%	1.4%	2.2%	2.1%	1.7%	2.6%
	4	2.3%	1.9%	2.8%	2.7%	2.2%	3.2%
	5	2.9%	2.4%	3.5%	3.5%	2.9%	4.2%
	6	3.9%	3.2%	4.7%	4.4%	3.7%	5.2%
	7	4.7%	3.9%	5.6%	5.4%	4.6%	6.3%
	8	5.1%	4.2%	6.1%	6.0%	5.1%	7.1%
	9	5.4%	4.5%	6.5%	6.5%	5.5%	7.7%
	10	5.4%	4.5%	6.5%	7.0%	5.9%	8.2%
25-29	1	1.0%	0.8%	1.3%	1.0%	0.8%	1.2%
	2	1.9%	1.6%	2.2%	1.7%	1.4%	2.0%
	3	2.7%	2.3%	3.1%	2.4%	2.0%	2.8%
	4	3.2%	2.8%	3.8%	3.1%	2.7%	3.6%
	5	4.0%	3.5%	4.6%	4.1%	3.6%	4.7%
	6	4.7%	4.1%	5.4%	4.6%	4.1%	5.3%
	7	5.6%	4.9%	6.3%	5.6%	4.9%	6.3%
	8	6.6%	5.9%	7.5%	6.4%	5.7%	7.2%
	9	7.2%	6.3%	8.1%	6.9%	6.2%	7.8%
	10	7.7%	6.8%	8.7%	8.0%	7.1%	9.0%
30-34	1	1.0%	0.8%	1.3%	1.2%	1.0%	1.5%
	2	1.9%	1.6%	2.3%	2.2%	1.9%	2.6%
	3	2.6%	2.2%	3.1%	3.2%	2.8%	3.7%
	4	3.7%	3.2%	4.2%	4.2%	3.7%	4.7%
	5	4.7%	4.2%	5.3%	5.1%	4.5%	5.7%
	6	5.4%	4.8%	6.1%	6.2%	5.6%	6.9%
	7	6.5%	5.7%	7.3%	7.2%	6.5%	8.0%
	8	7.5%	6.7%	8.4%	7.9%	7.1%	8.8%
	9	8.2%	7.4%	9.2%	8.9%	8.0%	9.9%
	10	9.1%	8.2%	10.2%	10.1%	9.1%	11.1%
35-39	1	1.0%	0.8%	1.3%	1.1%	0.9%	1.4%
	2	2.1%	1.7%	2.5%	2.3%	1.9%	2.8%
	3	2.9%	2.5%	3.4%	3.6%	3.2%	4.2%
	4	3.9%	3.4%	4.5%	4.9%	4.3%	5.6%
	5	4.8%	4.2%	5.5%	6.0%	5.4%	6.8%
	6	5.6%	4.9%	6.3%	7.1%	6.4%	8.0%
	7	6.5%	5.7%	7.3%	8.3%	7.4%	9.2%
	8	7.8%	6.9%	8.7%	9.3%	8.4%	10.3%
	9	8.7%	7.8%	9.8%	11.1%	10.0%	12.2%
	10	10.0%	8.9%	11.2%	12.0%	10.8%	13.2%

(つづき)

年齢	年	非喫煙			喫煙		
		発症率	95%信頼区間		発症率	95%信頼区間	
40-44	1	1.5%	1.2%	1.9%	2.0%	1.6%	2.4%
	2	2.2%	1.8%	2.7%	3.8%	3.2%	4.5%
	3	3.1%	2.6%	3.7%	5.2%	4.5%	5.9%
	4	4.1%	3.5%	4.8%	6.5%	5.7%	7.4%
	5	5.2%	4.5%	6.0%	8.0%	7.1%	9.0%
	6	6.6%	5.8%	7.5%	10.3%	9.3%	11.4%
	7	8.2%	7.3%	9.3%	11.9%	10.7%	13.1%
	8	10.1%	9.0%	11.4%	13.5%	12.3%	14.9%
	9	11.7%	10.4%	13.1%	15.4%	14.0%	16.9%
	10	12.5%	11.1%	14.0%	17.2%	15.6%	18.9%
45-49	1	1.7%	1.4%	2.2%	2.1%	1.7%	2.6%
	2	3.0%	2.5%	3.6%	3.7%	3.1%	4.3%
	3	4.4%	3.8%	5.1%	5.7%	5.0%	6.6%
	4	5.7%	4.9%	6.5%	7.5%	6.6%	8.4%
	5	7.0%	6.2%	8.0%	9.4%	8.4%	10.5%
	6	8.5%	7.5%	9.5%	11.5%	10.4%	12.7%
	7	10.0%	8.9%	11.2%	14.2%	12.9%	15.6%
	8	11.8%	10.6%	13.1%	16.2%	14.8%	17.7%
	9	13.8%	12.4%	15.3%	18.6%	17.0%	20.2%
	10	15.1%	13.6%	16.7%	20.0%	18.4%	21.8%
50-54	1	2.1%	1.8%	2.5%	2.7%	2.3%	3.2%
	2	3.7%	3.2%	4.2%	5.2%	4.5%	5.9%
	3	5.5%	4.9%	6.2%	7.5%	6.7%	8.4%
	4	7.0%	6.3%	7.8%	9.6%	8.7%	10.6%
	5	9.1%	8.2%	10.0%	12.3%	11.2%	13.4%
	6	11.1%	10.1%	12.2%	15.2%	14.0%	16.5%
	7	13.5%	12.3%	14.7%	18.0%	16.6%	19.5%
	8	15.7%	14.4%	17.1%	20.7%	19.1%	22.4%
	9	17.4%	15.9%	18.9%	22.5%	20.8%	24.4%
	10	18.9%	17.3%	20.7%	24.2%	22.2%	26.2%

平成 30 年度労災疾病臨床研究事業費補助金  
「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(180301-01)」  
分担研究報告書

ラットを用いた曝露試験による有害性評価

研究分担者 森本泰夫(産業医科大学 産業生態科学研究所 呼吸病態学講座 教授)

【研究要旨】架橋型アクリル酸系水溶性高分子化合物による肺疾患を発症した事案のうち、事案 2 および事案 3 の作業者がもっとも多く取り扱ったポリマー①および次に多く取り扱ったポリマー②を使用し、ラットを用いた曝露試験に基づく実験的検討を行った。

《気管内注入試験》

- ・ ポリマー①および②を蒸留水で懸濁し、Fischer 雄性ラット 12 週齢に気管内注入した。
- ・ ポリマー①は 0.05 mg、0.2 mg\*、0.5 mg、1.0 mg/rat\*の用量(\*但しポリマー①の 0.2 mg と 1 mg は本プロジェクト外の参考データ)で気管内注入し、3 日、1 週間、1 か月、3 か月後に解剖を行い、肺内炎症を検討した。陰性対照群は蒸留水とした。気管支肺胞洗浄液や肺組織では、用量依存性の著明な好中球性の炎症所見を認め、持続した。3 か月後には、線維化所見を認めた。
- ・ ポリマー②は 0.2 mg、1.0 mg の用量で気管内注入し、3 日、1 週間、1 か月に解剖を行い、肺内炎症を検討した。ポリマー①と同様に用量依存性の著明な好中球性の炎症所見を認めた。
- ・ ポリマー①または②を気管内注入した際の炎症の程度は、高い炎症能を持つことで知られる酸化ニッケル\*を投与した場合(\*本プロジェクト外の参考データ)よりもかなり著明であった。
- ・ ポリマー①とポリマー②の比較では、ポリマー②のほうが炎症が低い傾向にあった。

《吸入曝露試験》

- ・ ポリマー①が吸入可能かを検討するために、Fischer 雄性ラット 12 週齢に、乾式法にてポリマー①を発じんして吸入ばく露を行った。
- ・ 5 日間(6 時間/日)の吸入ばく露を行い、3 日後、1 ヶ月後に解剖し、肺内に好中球浸潤を認めた。

以上より、実験に使用したポリマー①および②は用量依存性に肺への有害性を有することが示唆された。

## A. 研究目的

平成 29 年 4 月に有機物である「架橋型アクリル酸系水溶性高分子化合物」の粉体(以下、アクリル酸系ポリマー)による肺疾患が発生したと厚生労働省から発表があった。発症者はいずれも同じ作業場において、本物質を主成分とする吸入性粉じんにより日常的に高濃度で曝露し、多くが曝露開始から 2 年前後の短期間に、じん肺を含むさまざまな肺疾患を発症していたことが判明している。

本物質は、これまでに国際的に広く用いられている物質であるが、これまでに肺への有

害性の報告はない。また、じん肺とは粉じんを吸入することによって肺に生じた線維増殖性変化を主体とする疾病であるが、これまで報告されたじん肺症例の多くは無機粉じんによるものである。さらに、通常のじん肺は曝露から 20 年程度以上をかけて緩徐に進行する場合が多いことに対して、本物質においては、驚くべきことに、曝露期間が 2 年前後という非常に短い期間で発症しており、通常のじん肺よりも著しく進行が早い。

このような状況を鑑みると、本物質の肺への有害性を検証し、研究成果についての情報を

社会に提供することで、産業医学的介入や啓発による疾病の予防を徹底させること、本物質による肺疾患の発症機序を解明することが喫緊の課題と言える。

そこで、本研究では、ラットを用いて、アクリル酸系ポリマーの気管内注入試験および吸入曝露試験を行い、肺への影響を検証した。

## B. 研究方法

アクリル酸系ポリマーをラットに気管内注入または吸入曝露し、定期的に、気管支肺胞洗浄、肺組織採取および3DマイクロCTを行った。気管内注入に使用する物質は、作業者がもっとも多く取り扱ったポリマー①と次に多く取り扱ったポリマー②とした。気管内注入試験の結果を踏まえ、ポリマー①が吸入可能であることを検討するため、ポリマー①を用いて吸入曝露試験を行った。

### 《気管内注入試験》

- 1) ポリマー①および②を蒸留水で懸濁し、超音波分散を行い、肺内に到達が可能な5 μm以下の粒子になるように動的光散乱法で凝集径を調整した。
- 2) ポリマー①は0.05 mg, 0.5 mg/ratの用量で、ポリマー②は0.2 mg/rat, 1.0 mg/ratの用量で気管内注入した。対照群には蒸留水を注入した。
- 3) 投与匹数は1群あたり5匹とした。
- 4) ポリマー①は気管内注入の3日後、1週間後、1か月後、3か月後に、ポリマー②は気管内注入後の3日後、1週間後、1か月後に、それぞれ3DマイクロCTを行い、その後、解剖をし、気管支肺胞洗浄、肺の摘出を行った。
- 5) 気管支肺胞洗浄液：細胞数、細胞分画、およびLDH活性を測定した。  
肺組織：病理標本にて、炎症や線維化などの評価を行った。

### 《吸入曝露試験》

- 1) ポリマー①を乾式法で発じんさせた。
- 2) 曝露濃度が2 mg/m<sup>3</sup>, 10 mg/m<sup>3</sup>となるように発じん量を調整し、曝露時間は、6時間/日×5日間とした。

- 3) 投与匹数は1群あたり5匹とした。
- 4) 曝露期間終了の3日後に3DマイクロCTを行い、その後、解剖をし、気管支肺胞洗浄、肺の摘出を行った。
- 5) 気管支肺胞洗浄液：細胞数、細胞分画およびLDH活性を測定した。  
肺組織：病理標本にて、炎症や線維化などの評価を行った。

(倫理面での配慮)

本研究を実施するにあたり産業医科大学動物実験委員会の審査承認を受けた。実験時には、必要に応じて適切な麻酔を行い、十分な麻酔深度に達していることを確認してから行った。

## C. 研究結果

### 《気管内注入試験》

- 1) ポリマー①を注入した肺では、
  - ・ 用量依存的に、著しい炎症が1か月程度持続し、3か月目には線維化を来した。
  - ・ 3DマイクロCTでは、浸潤影・すりガラス影が1か月程度持続した(図1\_A, B)。
  - ・ 気管支肺胞洗浄液：炎症の指標である、LDH活性、総細胞数、好中球数、好中球割合の増加などが著しく起こり、1か月程度持続した(図2\_A, B, C)。
  - ・ 肺組織：著明な好中球性の炎症所見を認め、1か月程度持続した。3か月後には、線維化を来した(図3\_A)。
- 2) ポリマー①および②を気管内注入した際の炎症の程度は、高い炎症能を持つことで知られる酸化ニッケルを投与した場合よりもかなり著明であった(図3\_B)。
- 3) ポリマー①とポリマー②との比較では、ポリマー②のほうが、炎症が低い傾向にあった。

### 《吸入曝露試験》

- ・ ポリマー①は吸入可能な粒子であった。
- ・ ポリマー①を吸入した肺では、用量依存的に、肺内に好中球浸潤を認めた(図4)。詳細については解析中である。

#### D. 考察

ポリマー①および②は、肺に慢性炎症・線維化を来すことが示唆された。

吸入性粉じんの有害性を炎症に着目し評価した報告では、肺への有害性が高い結晶質シリカや酸化ニッケルナノ粒子などの物質は慢性的な持続炎症を呈し、有害性が低い酸化チタンナノ粒子などの物質は一過性の炎症のみに留まるとされている。肺における持続炎症は、線維化や癌化などの前段階と考えられており、不可逆性病変の形成に重要である。

われわれは、まず、気管内注入試験によって、ポリマー①および②の肺への有害性評価を行った。気管内注入試験は、ボラス効果による一過性の急性炎症が惹起される可能性があるものの、長期間の観察を行い、慢性の持続炎症の有無をみることで、肺への有害性評価のスクリーニングの手段として有用である。ポリマー①および②は、いずれも、高い有害性を持つ既知の物質と比較しても格段に著しい炎症を起こし、その炎症は1か月持続した。3か月間の観察を行ったポリマー①においては線維化も来した。気管内注入試験により、ポリマー①および②は、肺への高い有害性を持つ可能性が示唆された。

次に、吸入性粉じんの肺への有害性評価のゴールドスタンダードである吸入曝露試験を、ポリマー①を用いて行った。吸入曝露試験においても、肺内に著しい炎症が起きた。炎症は用量依存性に炎症が引き起こされており、作業者が特に高濃度で曝露した場合、じん肺を含む肺疾患を引き起こす可能性が考えられた。

今後、今回の研究のより詳細な解析や長期間の吸入曝露試験を行うことで、アクリル酸系

ポリマーの肺への有害性について、更なる検討を行うことが、産業医学的に重要であると考えている。

#### E. 結論

今回の研究に用いたポリマー①および②は、用量依存的に、炎症能・線維化能を有することが示唆された。

#### 参考文献

- Significance of persistent inflammation in respiratory disorders induced by nanoparticles. Morimoto Y, Izumi H, Kuroda E. J Immunol Res. 2014;2014:962871.
- Significance of Intratracheal Instillation Tests for the Screening of Pulmonary Toxicity of Nanomaterials. Morimoto Y, Izumi H, Yoshiura Y, Fujisawa Y, Fujita K. J UOEH. 2017;39(2):123-32.

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

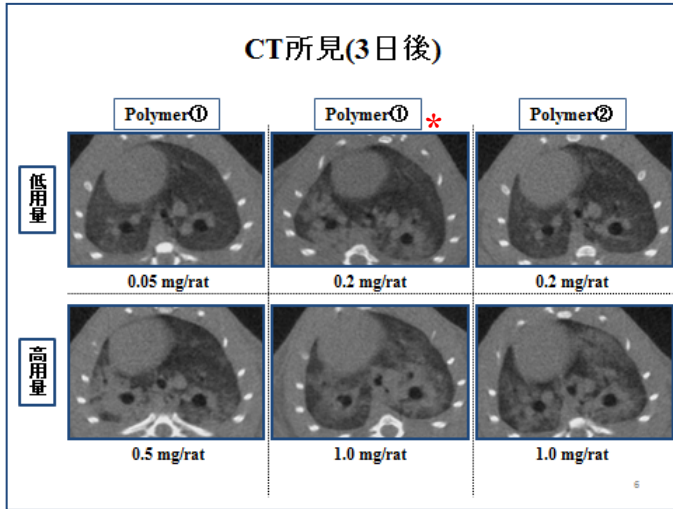
なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

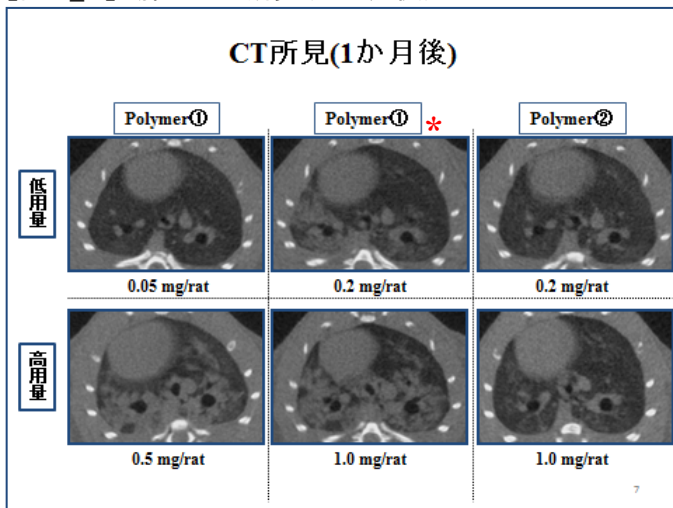
《気管内注入試験結果》

【図 1\_A】 肺の CT 所見(3日後)



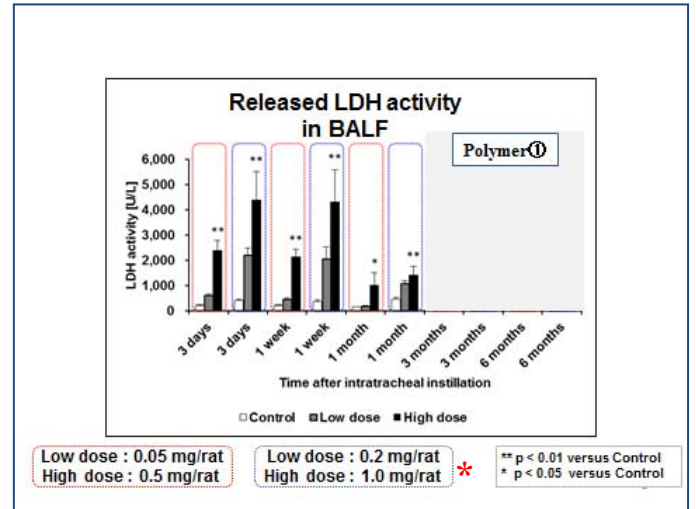
\*本プロジェクト以外の参考データ

【図 1\_B】 肺の CT 所見(1か月後)



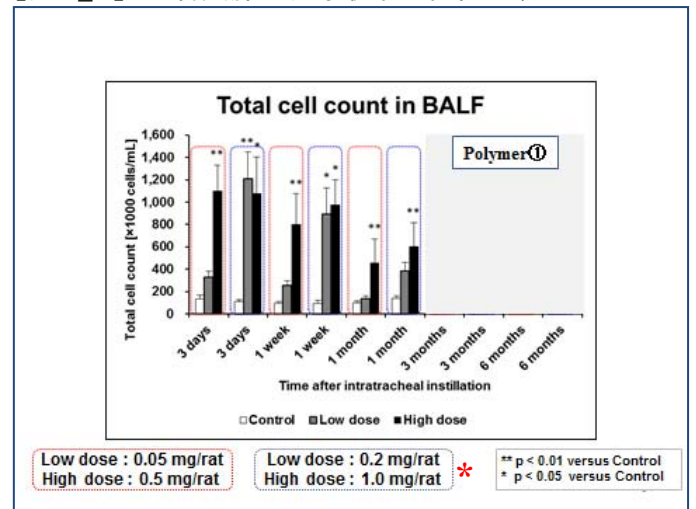
\*本プロジェクト以外の参考データ

【図 2\_A】 気管支肺胞洗浄液中の LDH 活性



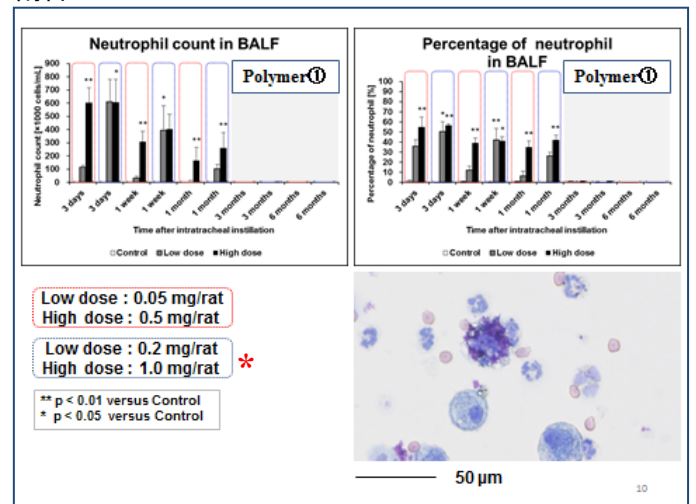
\*本プロジェクト以外の参考データ

【図 2\_B】 気管支肺胞洗浄液中の総細胞数



\*本プロジェクト以外の参考データ

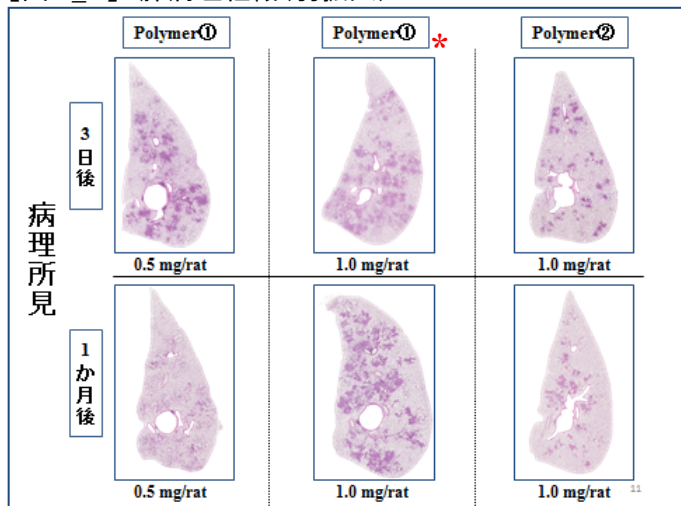
【図 2\_C】 気管支肺胞洗浄液中の好中球数・好中球割合



\*本プロジェクト以外の参考データ

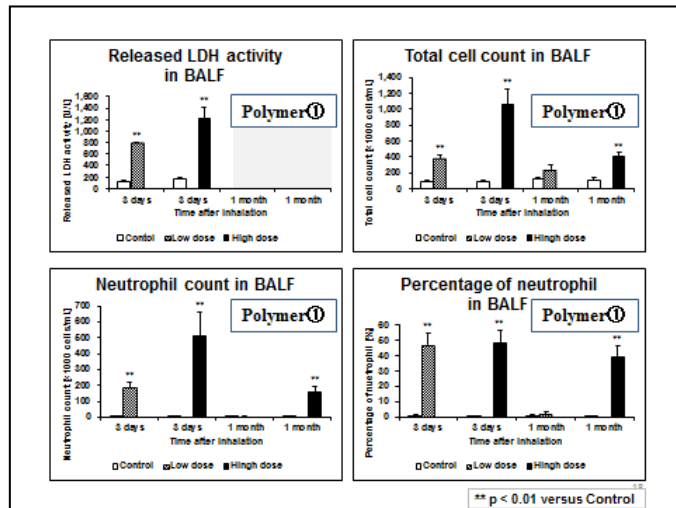
《吸入曝露試験結果》

【図 3\_A】 肺病理組織(弱拡大)



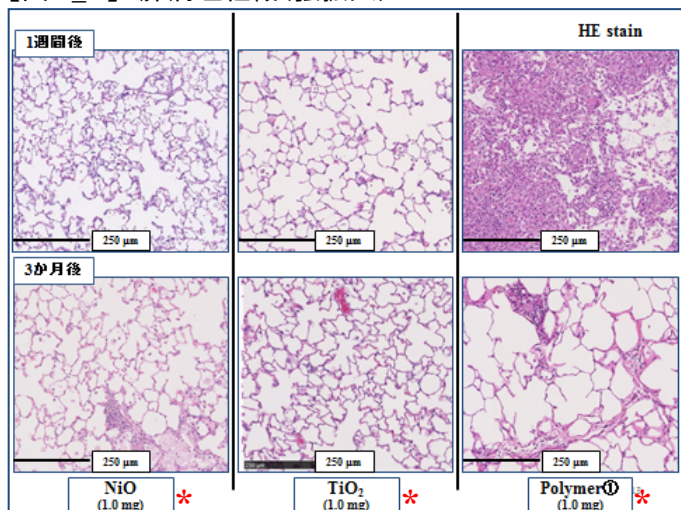
\*本プロジェクト以外の参考データ

【図 4】 気管支肺胞洗浄所見



総細胞数、好中球数、好中球比率のみ1ヶ月のデータあり

【図 3\_B】 肺病理組織(強拡大)



\*本プロジェクト以外の参考データ



平成 30 年度労災疾病臨床研究事業費補助金  
「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 (180301-01)」  
分担研究報告書

アクリル酸ポリマーの pH 変化による影響評価

研究分担者 木戸 尊将 (東京慈恵会医科大学 環境保健医学講座 助教)

【研究要旨】アクリル酸ポリマーの酸性力によって間質性肺炎を誘発しているのかを検討するため、F344 ラットの気管内に pH 調整あり/なしのアクリル酸ポリマーを投与し、肺重量、肺組織中に浸潤したマクロファージサブタイプ (M1: 炎症型、M2: 抗炎症型) を観察した。相対肺重量とマクロファージサブタイプは有意に増加したが、pH 調整による影響は認められなかった。アクリル酸ポリマーによる間質性肺炎は、pH が酸性に傾く影響とは関係なく、物質自体の影響であることが確認された。

#### A. 研究目的

架橋型アクリル酸系水溶性高分子化合物の粉体 (以下、アクリル酸ポリマー) を製造する工場において間質性肺炎などの肺障害が複数の労働者に認められた。同物質に日常的に高濃度に曝露されたことに起因する可能性が指摘されており、このことを実験的に証明するには、アクリル酸ポリマーを動物に投与して評価する必要がある。

本研究では、アクリル酸ポリマーの酸性力によって間質性肺炎を誘発しているのかを検討するため、F344 ラットの気管内にアクリル酸ポリマーの pH 調整あり/なしを投与し、肺重量、肺組織中に浸潤したマクロファージサブタイプ (M1: 炎症型、M2: 抗炎症) を観察した。

#### B. 研究方法

1) 被験物質: アクリル酸ポリマーの溶媒の選択  
被験物質アクリル酸ポリマーの pH 変化を検討するために、溶媒を生理食塩水、イオン交換水、ミリ Q、PBS にそれぞれアクリル酸ポリマーを 1 mg/ml を懸濁し、超音波破碎機で 3 分間照射し、pH メーターで測定した。その結果を図 1 に示す。この結果より pH の低下が最も少なかった PBS(-) を溶媒として選択することにした。

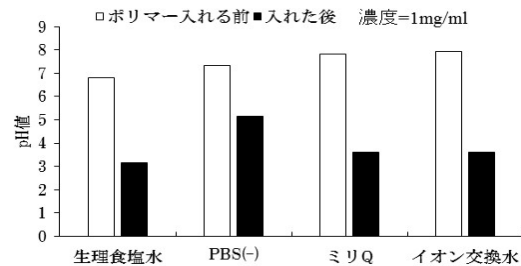


図1 アクリル酸ポリマー懸濁後の各溶媒の pH 値

#### 2) アクリル酸ポリマーの pH 補正

アクリル酸ポリマーを PBS(-) に懸濁し、超音波破碎機で 3 分間照射した後に pH メーターで pH6.8 になるように水酸化ナトリウム水溶液で調製した。

#### 3) pH 補正したアクリル酸ポリマーの気管内投与

F344/Nslc ラット(雄:180 ~ 200g)(n = 12) を 3 群(各群 4 匹)に分けた。①PBS(-)、②アクリル酸ポリマー pH4.3、③アクリル酸ポリマー pH6.8 を 0.5 mg/rat になるように 200µl ずつイソフルラン麻酔下で気管内投与を施した。投与終了後は 1 ヶ月間観察した後に解剖し、臓器を摘出した。なお、動物は東京慈恵会医科大学の動物飼育室 (22°C) で 12 時間明/暗サイクルで飼育した。

#### 4) 免疫組織染色と陽性細胞数の計測

パラフィン包埋した肺を 6  $\mu\text{m}$  の厚さで薄切し、キシレン $\times 3$ , 99.5%エタノール $\times 2$ , 80%エタノール $\times 1$ , 70%エタノール $\times 1$  で脱パラフィン処理を行った。その後、蒸留水とトリス緩衝液 (TBS) で洗浄し、3%過酸化水素に浸した後に熱 (オートクレーブ、105 $^{\circ}\text{C}$ 、9 分) で賦活化処理を施した。賦活化処理後はブロッキングワシ (Nacalai Tesque, Tokyo, Japan) で 1 時間ブロッキングを行い、一次抗体として ED-1 (CD68, 総/M0 マクロファージマーカー)、ED-2 (CD163, M2 マクロファージマーカー)、ED-3 (CD169, M1 マクロファージマーカー) を切片に載せ、冷蔵庫で一晩おいた。一次抗体反応後に、TBS で洗浄を行い、二次抗体として Envision<sup>TM</sup>+ polymer (Dako, Tokyo, Japan) で 1 時間反応させ、ジアミノベンジジン (DAB) で陽性細胞の発色を行った。その後、ヘマトキシリンで核染色を施し、エタノールによる脱水とキシレンによる透徹を経て EntellanNeu (Merck-Millipore, Tokyo, Japan) で封入した。顕微鏡標本を無作為に撮影 (15 視野/20 倍レンズ) し、陽性細胞数をイメージングソフト (winroof 2013) で計測した。

#### 5) 統計処理

統計解析には JMP 11.2 (SAS Institute, Cary, NC, USA) を用いて、一元配置分散分析 (ANOVA) で比較し、post hoc test として Tukey-Kramer 法で検定した。

(倫理面での配慮)

本研究は東京慈恵会医科大学の動物実験委員会で承認を得て実施した。

### C. 結果

#### 1) 投与前と投与後 1 ヶ月の体重と相対肺重量

PBS(-)、アクリル酸ポリマー pH4.3 または pH6.8 を F344 ラットに気管内投与を施してから 1 ヶ月後の体重の変化と相対肺重量 (左肺) の結果を図 2、3 に示す。

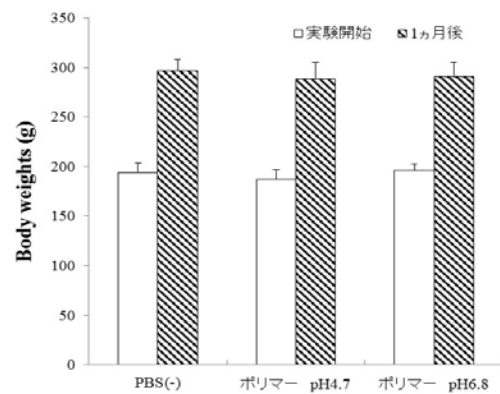


図2 ポリマー投与1ヵ月後の体重の変化

Mean values  $\pm$  standard errors are indicated. \* $P < 0.05$  compared to control group by ANOVA followed by Student-Newman-Keuls test.  $N = 5$ /groups.

アクリル酸ポリマーを投与しても体重の変化は観察されなかった。

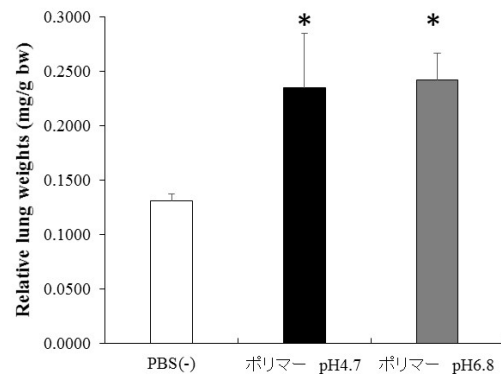


図3 ポリマー投与1ヵ月後の左肺の相対重量

Mean values  $\pm$  standard errors are indicated. \* $P < 0.05$  compared to control group by ANOVA followed by Student-Newman-Keuls test.  $N = 5$ /groups.

アクリル酸ポリマーを気管内投与したことで、相対肺重量は有意に増加したが、pH 調整による影響は認められなかった。

#### 2) 投与後 1 ヶ月の肺組織中のマクロファージサブタイプの陽性細胞数の解析

PBS(-)、アクリル酸ポリマー pH4.3 または pH6.8 を F344 ラットに気管内投与を施してから 1 ヶ月後の肺組織中のマクロファージサブタイプの陽性細胞数の結果を図 4 と別紙に示す。

全てのマクロファージサブタイプにおいて、アクリル酸ポリマー投与群は PBS(-) 群よりも有意に増加したが、pH 調整による影響は認められなかった。

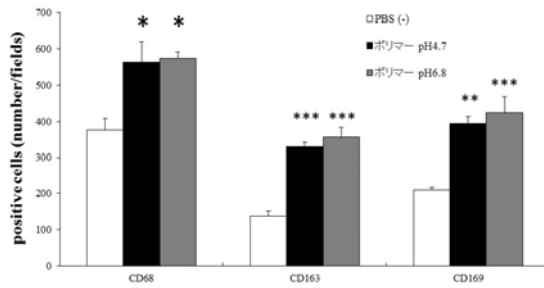


図4 マクロファージサブタイプによる陽性細胞数の数値化

Mean values  $\pm$  standard errors are indicated. \* $P < 0.05$  compared to PBS (-), #  $P < 0.05$  compared to pH group by ANOVA followed by Student-Newman-Keuls test.  $N = 4$ /groups.

#### D. 考察

アクリル酸ポリマーの酸性力によって間質性肺炎が誘発されているのかを検討するため、アクリル酸ポリマー0.5mgをPBS(-)に懸濁し、pH調整あり/なしに気管内に投与することで、相対肺重量、肺組織への炎症細胞の浸潤(マクロファージサブタイプ)について、検討した。

結果として、pH調整と間質性肺炎に関係はなく、pH4.7及び6.8に調整したアクリル酸ポリマー曝露群も肺胞空内に炎症細胞の浸潤が確認された。つまり、アクリル酸ポリマーによる間質性肺炎はpHが酸性に傾く影響とは関係なく、物質自体の影響であることが証明された。

#### E. 結論

アクリル酸ポリマーによる間質性肺炎は、pHが酸性に傾く影響と関係はなく、物質自体の影響であることが示唆された。

#### 参考文献

Ohnishi M; Improved method for measurement of multi-walled carbon nanotubes in rat lung. J Occup Med Toxicol 2016

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

なし

##### 1. 論文発表

なし

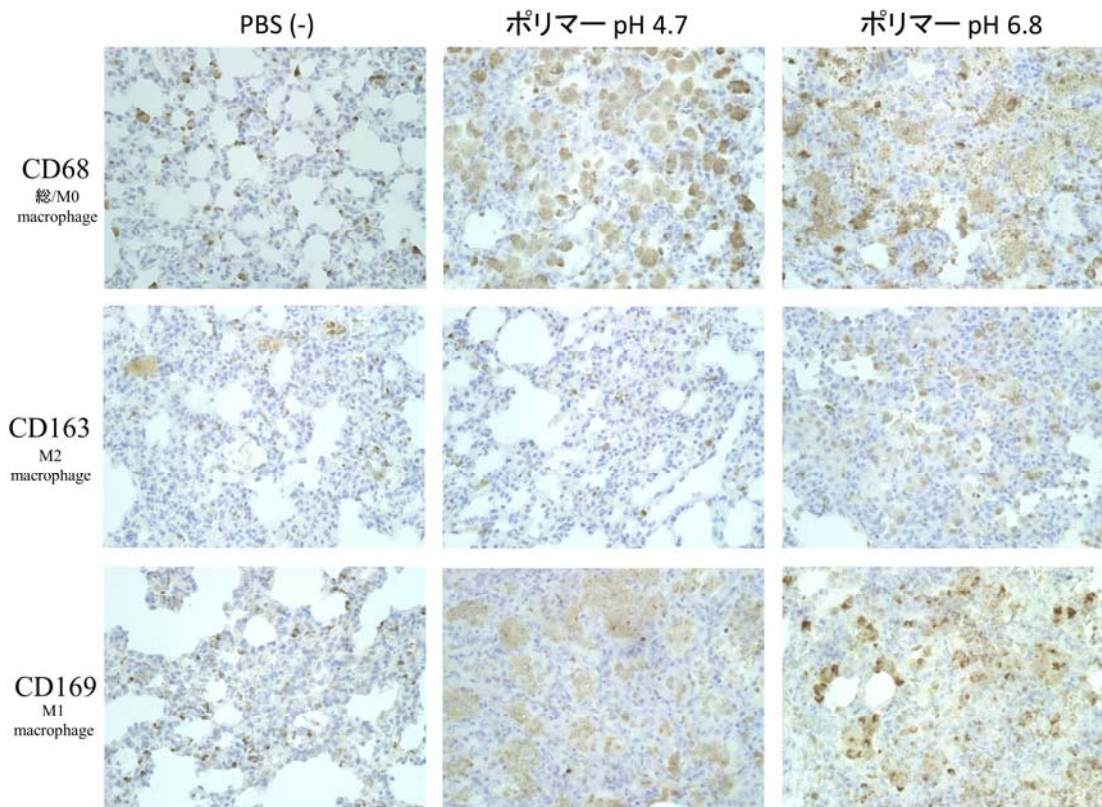
##### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

別紙 マクロファージの免疫組織染色（茶色が陽性細胞を示す）



平成 30 年度労災疾病臨床研究事業費補助金  
「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 (180301-01)」  
分担研究報告書

アクリル酸ポリマー気管内投与における濃度依存的/経時的影響の評価

研究分担者 木戸 尊將 (東京慈恵会医科大学 環境保健医学講座 助教)

【研究要旨】アクリル酸ポリマーが濃度依存的かつ経時的に肺に炎症を引き起こすのかを明らかにするために、F344 ラットに気管内投与を施し、気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中の総細胞数とタンパク濃度の計測、肺組織の免疫組織染色によるマクロファージサブタイプ (M1: 炎症型、M2: 抗炎症型) の検出、Masson trichrome 染色による線維化面積の測定を実施した。相対肺重量、BALF 中の総細胞数とタンパク濃度は、投与後 1 ヶ月まで濃度依存的に増加した。肺組織中のマクロファージは、M1、M2 とも投与後 2 ヶ月まで濃度依存的に増加した。Masson trichrome 染色陽性面積は、投与後 3 ヶ月次点で拡大する傾向が認められた。以上より、投与直後の急性反応は 1 ヶ月以降に回復するが、肺組織内の炎症反応は 2 ヶ月以降も持続的に影響し、3 ヶ月以降、線維化が進展していく可能性が示唆された。

#### A. 研究目的

架橋型アクリル酸系水溶性高分子化合物の粉体 (以下、アクリル酸ポリマー) を製造する工場において間質性肺炎や肺気腫などの肺障害が複数の労働者に認められた。同物質に日常的に高濃度に曝露されたことに起因する可能性が指摘されており、このことを実験的に証明するには、アクリル酸ポリマーを動物に投与して評価する必要がある。

本研究では、アクリル酸ポリマーが濃度依存的かつ経時的に肺に炎症を引き起こすのかを明らかにするため、F344 ラットに気管内投与を施し、気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中の総細胞数とタンパク濃度の計測、肺組織の免疫組織染色によるマクロファージサブタイプ (M1: 炎症型、M2: 抗炎症型) の検出、Masson trichrome 染色による線維化面積の測定を実施した。

#### B. 研究方法

1) 被験物質: アクリル酸ポリマーの調整  
被験物質アクリル酸ポリマーを PBS(-) に懸濁し、超音波破碎機で 3 分間照射した

後に pH メーターで pH6.8 になるように水酸化ナトリウム水溶液で調製した。

2) アクリル酸ポリマーの気管内投与  
F344/Nslc ラット(雄:180~200g)(n = 90) を 3 群に分け、①PBS(-)、②アクリル酸ポリマー 0.1 mg/rat、③アクリル酸ポリマー 0.5 mg/rat を 200µl ずつイソフルラン麻酔下で気管内投与を施した。投与終了後は 1 週間、1 ヶ月、2 ヶ月、3 ヶ月間観察した後解剖し、臓器を摘出した。なお、動物は東京慈恵会医科大学動物飼育室 (22°C) で 12 時間明/暗サイクルで飼育した。

#### 3) 観察期間終了後の処理

##### A) 肺組織観察用 (N = 4/群)

気管から肺までを摘出し、右肺の細気管支を 9mm の動脈クレメンで閉塞し、気管から 10%リン酸緩衝ホルムアルデヒドを 600µl 注入し、左肺のみホルマリンで拡張させた後にパラフィン包埋を行い、顕微鏡標本を作成した。

##### B) BALF 観察用 (N = 5/群)

気管を切開し、栄養カテーテルを挿入し、

PBS(-)5ml を 10ml シリンジで注入し、肺が膨張したところで注入した PBS(-)を回収した。その後、250 G で遠心分離を行い、上清を回収し、沈殿した細胞に PBS(-)10ml を入れて攪拌し、BALF 標本を作成した。

#### 4) Masson trichrome 染色と陽性面積の計測

パラフィン包埋した肺を 3 $\mu$ m の厚さで薄切し、キシレン $\times$ 3, 99.5%エタノール $\times$ 2, 80%エタノール $\times$ 1, 70%エタノール $\times$ 1 で脱パラフィン処理を行った後、水道水で 5 分間洗い、Masson trichrome 染色を施した。顕微鏡標本を無作為に撮影 (15 視野/20 倍レンズ)し、青色に染色された陽性面積をイメージングソフト (winroof 2013)で計測した。

#### 5) 免疫組織染色と陽性細胞数の計測

パラフィン包埋した肺を肺を 6 $\mu$ m で薄切し、4)と同様の方法で脱パラフィン処理を行った後、蒸留水とトリス緩衝液 (TBS) で洗浄し、3%過酸化水素に浸した後に熱 (オートクレーブ、105 $^{\circ}$ C、9 分)で賦活化処理を施した。賦活化処理後はブロッキングワシ (Nacalai Tesque, Tokyo, Japan)で 1 時間ブロッキングを行い、一次抗体として ED-1 (CD68, 総/M0 マクロファージマーカー)、ED-2 (CD163, M2 マクロファージマーカー)、ED-3 (CD169, M1 マクロファージマーカー)を切片に載せ、冷蔵庫で一晩おいた。一次抗体反応後に、TBS で洗浄を行い、二次抗体として Envision<sup>TM</sup> + polymer (Dako, Tokyo, Japan)で 1 時間反応させ、ジアミノベンジジンで陽性細胞の発色を行った。その後、ヘマトキシリンで核染色を施し、エタノールによる脱水とキシレンによる透徹を経て EntellanNeu (Merck-Millipore, Tokyo, Japan)で封入した。顕微鏡標本を無作為に撮影 (15 視野/20 倍レンズ)し、各抗体に反応した陽性細胞数をイメージングソフト (winroof 2013)で計測した。

#### 5) 統計処理

統計解析には JMP 11.2 (SAS Institute, Cary, NC, USA)を用いて、一元配置分散分析(ANOVA)で比較し、post hoc test として Tukey-Kramer 法で検定した。

(倫理面での配慮)

本研究は東京慈恵会医科大学の動物実験委員会で承認を得て実施した。

### C. 結果

#### 1) 体重と相対肺重量の経時推移

投与後 1 週間、1 カ月、2 カ月の体重の変化と相対肺重量(右肺)の結果を図 1 に示す。アクリル酸ポリマーを投与しても体重の変化は観察されなかった。相対肺重量は 1 週間後と 1 カ月後で濃度依存的に有意に増加したが、2 カ月後では、有意な変化は認められなかった。

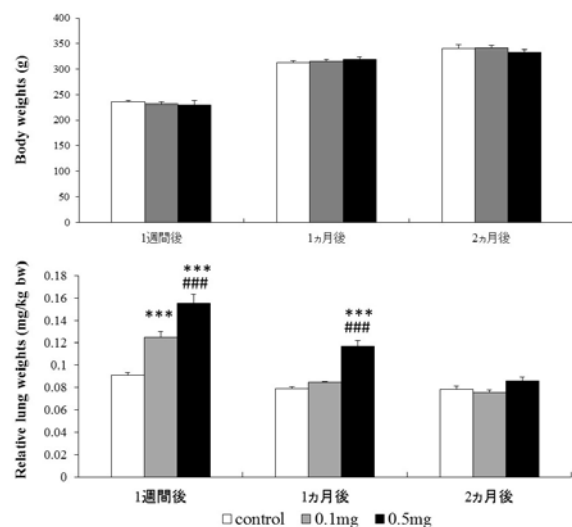


図1 気管内投与後の体重と相対肺重量の経時変化  
Mean values  $\pm$  standard errors are indicated. \*P < 0.05 compared to control group, # P < 0.05 compared to 0.1 mg by ANOVA, followed by Student-Newman-Keuls test. N = 4 groups.

#### 2) BALF 中の総細胞数とタンパク濃度の経時推移

投与後 1 週間、1 カ月、2 カ月の BALF 中の総細胞数とタンパク濃度の結果を図 2 に示す。総細胞数とタンパク濃度は 1 週間後と 1 カ月後で濃度依存的に有意に増加したが、2 カ月後では、有意な変化は認められなかった。

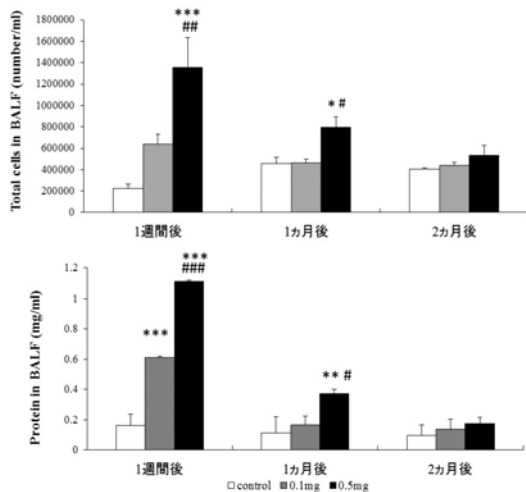


図2 肺洗浄液中の総細胞数とタンパク濃度における経時変化  
Mean values  $\pm$  standard errors are indicated. \* $P < 0.05$  compared to control group, # $P < 0.05$  compared to 0.1 mg by ANOVA followed by Student-Newman-Keuls test.  $N = 5$ /groups.

3) 肺組織中のマクロファージの経時推移  
投与後1週間、1ヵ月、2ヵ月の肺組織中の総/M0マクロファージ (CD68陽性細胞)数の結果を図3と別紙1に示す。総/M0マクロファージ数は観察した全ての期間において濃度依存的に有意に増加した。

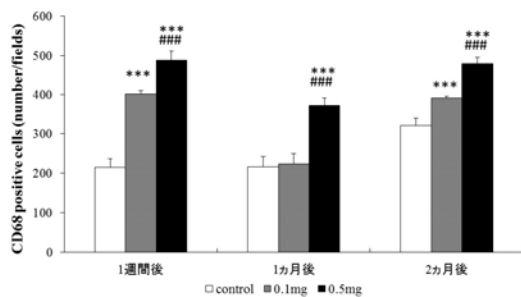


図3 気管内投与後のCD68マクロファージ数の経時変化  
Mean values  $\pm$  standard errors are indicated. \* $P < 0.05$  compared to control group, # $P < 0.05$  compared to 0.1 mg by ANOVA followed by Student-Newman-Keuls test.  $N = 5$ /groups.

4) 投与後2ヵ月の肺組織中のマクロファージサブタイプの分布  
投与後2ヵ月の肺組織中のマクロファージサブタイプ(M1; CD169, M2; CD163)の陽性細胞数の結果を図4に示す。M1、M2とも2ヵ月後も濃度依存的に有意に増加した。

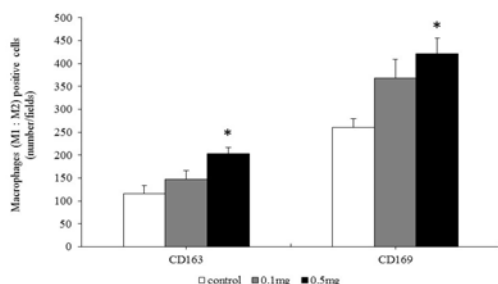


図4 気管内投与2ヵ月後のマクロファージサブタイプ(M1: M2)数  
Mean values  $\pm$  standard errors are indicated. \* $P < 0.05$  compared to control group, compared by ANOVA followed by Student-Newman-Keuls test.  $N = 5$ /groups.

5) 投与後3ヵ月の肺組織の線維化面積  
投与後3ヵ月の肺組織のMasson trichrome染色陽性面積の結果を図5と別紙2に示す。アクリル酸ポリマー投与群で陽性面積が増加する傾向を認めた( $p = 0.0684$ )。

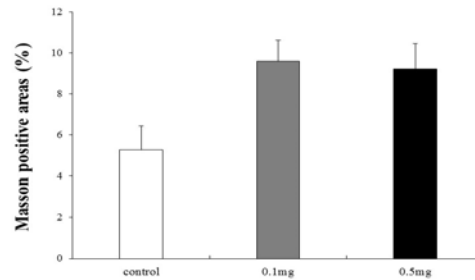


図5 気管内投与3ヵ月後のMasson陽性面積の結果  
Mean values  $\pm$  standard errors are indicated.  $P = 0.0684$  by ANOVA followed by Student-Newman-Keuls test.  $N = 3$ /groups.

#### D. 考察

アクリル酸ポリマーの肺毒性を調べるため、F344ラットに気管内投与を施し、濃度依存的かつ経時的に肺に炎症を引き起こすかを検討した。相対肺重量、BALF中の総細胞数とタンパク濃度は、投与後1ヵ月まで濃度依存的に増加したが、2ヵ月後では有意な変化を示さなかった。一方、肺組織中のマクロファージは、M1、M2とも投与後2ヵ月まで濃度依存的に増加した。また、Masson trichrome染色による線維化面積は、投与後3ヵ月時点で増加する傾向が認められた。以上より、投与直後の急性反応は1ヶ月以降に回復するが、肺組織中の炎症反応は2ヵ月以降も持続的に影響しており、3ヵ月以降、線維化が進展していく可能性が示唆された。マクロファージなどの炎症細胞(特にM2マクロファージ)が線維化の前駆体などを誘導したことが推察された。

#### E. 結論

アクリル酸ポリマーの気管内投与の結果、投与直後の急性反応は1ヶ月以降に回復するが、肺組織中の炎症反応は2ヵ月以降も持続的に影響しており、3ヵ月以降、線維化が進展していく可能性が示唆された。

## 参考文献

Ohnishi M; Improved method for measurement of multi-walled carbon nanotubes in rat lung. J Occup Med Toxicol 2016

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

なし

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

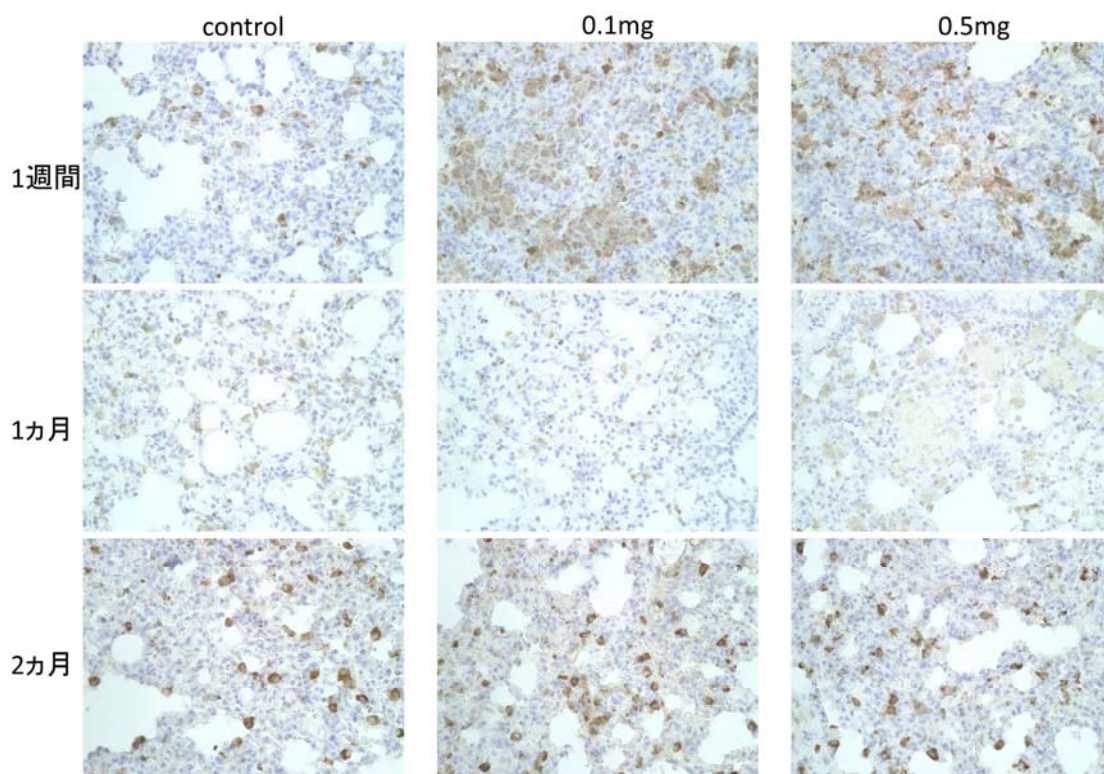
なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況

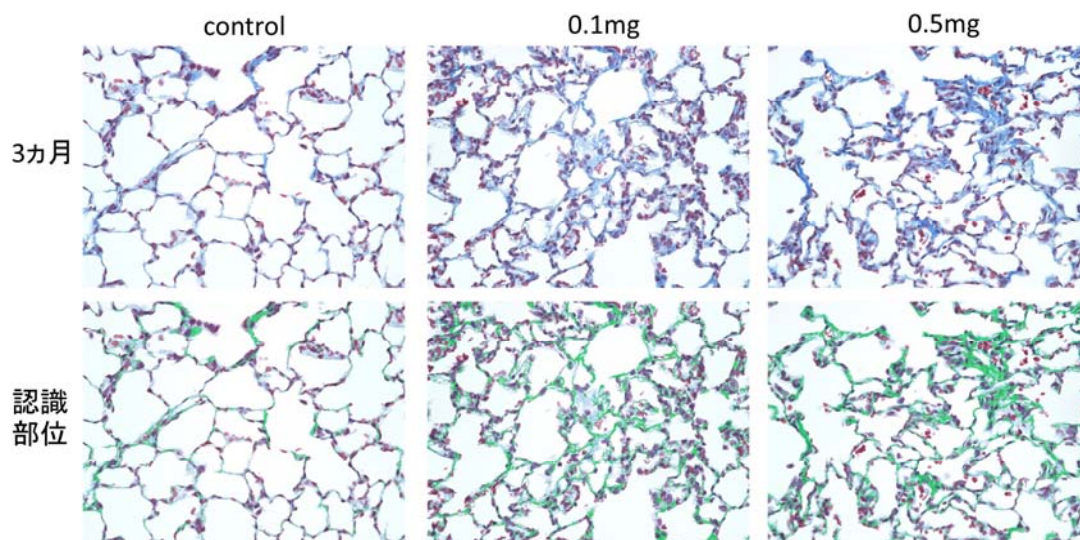
なし



別紙1 総/M0 マクロファージ (CD68 陽性細胞) の経時変化 (病理写真)



別紙2 Masson trichrome 染色による線維化面積の評価 (病理写真)



組織中の線維が Masson trichrome 染色で青色に染色され、イメージングソフトで染色された部位を認識して面積を測定する

参考資料

ラット骨髓細胞を用いた in vivo 小核試験

試験動物 : F344/Nslc ラット(雄:180~200g)

被験物質 : 架橋型アクリル酸系水溶性高分子化合物

試験群 : Control(0mg/rat)、Low(0.1mg/rat)、High(0.5mg/rat) (各群 4 匹)

投与方法 : 単回気管内投与

標本作製 : 投与 1 週間後に摘出した大腿骨より骨髓細胞を採取

塗抹標本を作製後に May-Grünwald Giemsa にて染色

評価方法 : 各匹 1000 個の多染性赤血球を観察、小核(MN)を有する細胞数を計測

試験結果 : 投与群(Low、High)は対照群(Control)と変わらず、

小核の出現をほとんど認めなかった。

Chemical	Animal number	Number of MN cells / 1000 cells
Control	1	0
	2	0
	3	1
	4	0
Low	1	0
	2	1
	3	0
	4	0
High	1	0
	2	1
	3	1
	4	0

平成 30 年度労災疾病臨床研究事業費補助金  
「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 (180301-01)」  
分担研究報告書

間質性肺疾患の罹患率に関する研究文献のシステマティックレビュー

研究分担者 山内 貴史 (東京慈恵会医科大学 環境保健医学講座 助教)

【研究要旨】国内外の間質性肺疾患の罹患率に関する先行文献のシステマティックレビューを行った。一般人口における間質性肺疾患の罹患率を報告しており、2008 年 1 月～2018 年 8 月に英語で執筆・公表された文献を抽出した。PubMed による検索の結果、2,129 編の文献が抽出され、最終的に 10 編を分析対象とした。研究間で罹患情報のソース、罹患の確定基準、罹患率算出の対象年齢などが異なるため研究間の比較は困難であったが、全体の罹患率が 10 万人年対で 100 を超える研究はなく、また、39 歳以下の罹患率は 60 歳以上の罹患率よりも顕著に低かった。当該アクリルポリマー作業場の労働者における間質性肺疾患の罹患率は、地域や疾患の確定基準にかかわらず、先行研究で報告されてきた罹患率と比較して極めて高いことが示唆された。

研究分担者：須賀万智

(東京慈恵会医科大学 環境保健医学講座  
教授)

#### A. 研究目的

架橋型アクリル酸系水溶性高分子化合物の粉体（以下、アクリルポリマー）を製造する工場において間質性肺炎や肺気腫などの肺障害が複数の労働者に認められた。同物質に日常的に高濃度に曝露されたことに起因する可能性が指摘されている。

当該工場でアクリルポリマー関連作業に従事した労働者における、特発性間質性肺炎 (idiopathic interstitial pneumonias: IIPs) を含めた間質性肺疾患 (interstitial lung disease: ILD) の罹患状況を議論するうえで、一般人口中におけるこれらの疾患の罹患率と比較することが必要である。しかしながら、一般人口における ILD の罹患率については IIPs のうちの特発性肺線維症 (idiopathic pulmonary fibrosis: IPF) のみを対象疾患とした研究が多く、ILD 全体または IIPs の罹患率に関するレビューは報告されていない。そこで本研究では、国内外の ILD、IIPs の罹患率に関する先行文献

のシステマティックレビューを行った。

#### B. 研究方法

##### 1) 文献収集方法

アメリカ国立医学図書館の医学文献データベース PubMed を用い、以下の検索式により文献検索を実施した：

("interstitial lung diseases" OR "interstitial pneumonia" OR "diffuse parenchymal lung diseases" OR "idiopathic interstitial pneumonias" OR "idiopathic pulmonary fibrosis" OR "nonspecific interstitial pneumonia" OR "desquamative interstitial pneumonia" OR "respiratory bronchiolitis-associated interstitial lung disease" OR "cryptogenic organizing pneumonia" OR "acute interstitial pneumonia" OR "pleuroparenchymal fibroelastosis" OR "lymphoid interstitial pneumonia" OR "unclassifiable idiopathic interstitial pneumonia" OR "cryptogenic fibrosing alveolitis" OR "pulmonary fibrosis" OR "lung fibrosis") AND incidence AND "humans"[MeSH Terms] AND

"english"[Language] AND  
("2008/01/01"[PDAT] :  
"2018/08/31"[PDAT])

## 2) 対象文献の適合・除外基準

一般人口におけるILDまたはIIPsの罹患率を報告しており、2008年1月～2018年8月の間に英語で執筆・公表された文献を抽出した。IPFのみを対象疾患とした文献や、症例報告・症例集積報告は除外した。  
(倫理面での配慮)

本研究は既発表の学術論文のシステマティックレビューであり、個人を特定可能な情報は一切含まれないため、特別な倫理的配慮を要する研究には該当しない。

## C. 研究結果

PubMedによる文献検索の結果、2,129編の文献が抽出された。タイトルおよび抄録から本研究の目的に合致すると考えられた文献について本文の詳細な検討を行い、9編の文献を抽出した。また、検索式では抽出されなかったものの本研究の目的に合致する文献1編を加え、最終的に10編の文献を本研究の分析対象とした<sup>1-10)</sup>。

抽出された10編について、研究対象地域・期間、対象疾患、ILD・IIPs罹患情報のソース、罹患の確定基準、罹患者数・罹患率の概要を表1にまとめた。特定の国・地域における研究が多く、また、1編を除いてILDの罹患率が報告されていた。罹患情報については、医療保険関連レジストリー、単一施設または多施設の診療記録、および研究協力施設への調査票に基づくデータが用いられていた。

罹患率については、対象年齢を限定したり、基準人口で年齢調整した罹患率を報告した研究が多く、研究間の比較は困難であった。また、罹患の確定基準として国際疾病分類(ICD)を用いている研究、諸学会が作成した国際基準(2002年に策定されたIIPsの米国呼吸器学会・欧州呼吸器学会(ATS/ERS)の分類など)を用いている研究、および両者を用いた研究が混在していた。学会策定基準に基づいた罹患率は、ICD

に基づいた罹患率よりも総じて低かった。学会策定基準に基づいたILDの罹患率は、対象年齢を限定した研究も含めて、最大で10万人年対で25.8であるとともに<sup>6)</sup>、全年齢込みでの罹患率が10万人年対で100を超えていた研究は見られなかった。なお、疾患別ではサルコイドーシスが最も多いとする報告が散見された。

また、ILDの罹患者数・罹患率の内訳を報告した3編を対象に、年齢階級別罹患率を表2に示した。最も高いILD罹患率を報告した研究において<sup>10)</sup>、15～39歳におけるILDの罹患率は18.9であった。いずれの研究においても、39歳以下の罹患率は60歳以上の罹患率よりも顕著に低かった。

## D. 考察

本研究では、国内外のILD・IIPsの罹患率に関する文献10編のシステマティックレビューを行った。研究間で罹患情報のソース、罹患の確定基準、罹患率算出の対象年齢および年齢調整の有無などが異なっており、研究間の比較は困難であった。とりわけ、学会策定基準に基づいた罹患率は、ICDに基づいた罹患率よりも低かった。例えば、デンマークにおける2編の研究を比較すると、両者で報告されている罹患率には約8倍(4.1 vs. 31.2)の差が見られた<sup>7,10)</sup>。各文献の結果を解釈するうえでこれらの点に留意する必要があるものの、全年齢込みでの罹患率が10万人年対で100を超えていた研究は見られなかった。

本研究班の別の分担研究報告(須賀)において、当該工場で肺障害による労災を申請した労働者が業務に従事していた作業場での胸部レントゲン検査の有所見発生率は人月当たり0.00448(10万人年対で5376.0)と報告されている。単純な数値の比較には多くの制約があるが、この数値は、本研究の結果からうかがわれる海外の間質性肺疾患の罹患率と比較して極めて高いことが示唆される。なお、本研究のレビューにわが国で実施された研究は含まれていないが、学会策定基準に基づいたわが国のIPFの罹

患率は2.65と推定されており(Natsuizaka M, et al. 2014)、諸外国と同水準と考えられる。

また、年齢別罹患率については、対象とした3編全てで、39歳以下の罹患率は60歳以上の罹患率よりも顕著に低かった。上記分担研究報告(須賀)の対象者の多くが30歳代であることを考慮すると、当該工場での肺障害による労災を申請した労働者における罹患状況の特異性がうかがえた。

## E. 結論

本研究では、国内外の間質性肺疾患の罹患率に関する先行文献のシステマティックレビューを行った。研究間で罹患情報のソース、罹患の確定基準、罹患率算出の対象年齢などが異なっており、研究間の比較は困難であったものの、全体の罹患率が10万人年対で100を超える研究はなく、また、39歳以下の罹患率は60歳以上の罹患率よりも顕著に低かった。当該アクリルポリマー作業場の労働者における間質性肺疾患の罹患率は、国や疾患の確定基準にかかわらず、先行研究で報告されてきた罹患率と比較して極めて高いことが示唆された。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## I. 引用文献(表1の文献番号に対応)

- 1) Choi WI, Park SH, Dauti S, Park BJ, Lee CW. Interstitial lung disease and risk of mortality: 11-year nationwide population-based study. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2018;22(1):100-5.
- 2) Duchemann B, Annesi-Maesano I, Jacobe de

Naurois C, Sanyal S, Brillet PY, Brauner M, et al. Prevalence and incidence of interstitial lung diseases in a multi-ethnic county of Greater Paris. *Eur Respir J.* 2017;50(2).

- 3) Storme M, Semionov A, Assayag D, Lefson M, Kitty D, Dannenbaum D, et al. Estimating the incidence of interstitial lung diseases in the Cree of Eeyou Istchee, northern Quebec. *PLoS One.* 2017;12(9):e0184548.
- 4) Lee HE, Myong JP, Kim HR, Rhee CK, Yoon HK, Koo JW. Incidence and prevalence of idiopathic interstitial pneumonia and idiopathic pulmonary fibrosis in Korea. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2016;20(7):978-84.
- 5) Gjonbrataj J, Choi WI, Bahn YE, Rho BH, Lee JJ, Lee CW. Incidence of idiopathic pulmonary fibrosis in Korea based on the 2011 ATS/ERS/JRS/ALAT statement. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2015;19(6):742-6.
- 6) Musellim B, Okumus G, Uzaslan E, Akgun M, Cetinkaya E, Turan O, et al. Epidemiology and distribution of interstitial lung diseases in Turkey. *Clin Respir J.* 2014;8(1):55-62.
- 7) Hyldgaard C, Hilberg O, Muller A, Bendstrup E. A cohort study of interstitial lung diseases in central Denmark. *Respir Med.* 2014;108(5):793-9.
- 8) Saad N, Camus P, Suissa S, Ernst P. Statins and the risk of interstitial lung disease: a cohort study. *Thorax.* 2013;68(4):361-4.
- 9) Karakatsani A, Papakosta D, Rapti A, Antoniou KM, Dimadi M, Markopoulou A, et al. Epidemiology of interstitial lung diseases in Greece. *Respir Med.* 2009;103(8):1122-9.
- 10) Kornum JB, Christensen S, Grijota M, Pedersen L, Wogelius P, Beiderbeck A, et al. The incidence of interstitial lung disease 1995-2005: a Danish nationwide population-based study. *BMC Pulm Med.* 2008;8:24.

表 1. 間質性肺疾患の罹患率に関する文献ならびにその概要 (2008 年-2018 年)

文献	地域	対象期間 (年)	対象疾患	疾患のデ ータソー ス	疾患の確定基準	罹患数	罹患率	年 齢 別	疾 患 別
1 Choi et al. 2018	韓国、 全国	2003-2007	ILD	医療保険 利用者デ ータベー ス(全体か らの無作 為抽出集 団)	ICD-10 (J84、ただ し薬剤性肺疾患な どを除く)	783	粗罹患率 (40 歳以 上; 100,000 人年 対; 総数) : 51	NA	NA
2 Duchemann et al. 2017	フラン ス、パ リ(セ ーヌサ ンドニ 県)	2012	ILD	地域医療 機関の診 療記録、及 び社会保 障記録	ATS/ERS/JRS/ALAT 基準など、及び ICD-10	232(う ち、サル コイドー シス 58)	粗罹患率 (15 歳以 上; 100,000 人年 対) : 19.4 (うち、サルコイド ーシス 4.9)	NA	○
3 Storme et al. 2017	カナ ダ、ケ ベック 州北部 (クリ 一族 (先住 民)地 域)	2006-2013	ILD	医療機関 の診療記 録など	ICD-10	41 (内数 : IPF 23, NSIP 8)	粗罹患率 (100,000 人年対) : 32 年齢調整罹患率 : 80 (95% CI: 55-106)	NA	NA
4 Lee et al. 2016	韓国、 全国	2011-2012	IIPs	医療保険 利用者デ ータベー ス	ICD-10 (J84, J84.0, J84.1, J84.8, J84.9)	男 10,822、 女 7,004	粗罹患率 (100,000 人対) 男: 42.3、女: 27.5	○	IPF の み
5 Gjonbrataj et al. 2015	韓国、 全国	2008-2012	ILD	医療保険 利用者デ ータベー ス	ICD-10 定義 1: J84 定義 2: J84 及び HRCT, BAL または肺 生検 定義 3: J84.1 定義 4: J84.1 及び HRCT, BAL または肺 生検 定義 5: J84.1A (ATS/ERS/JRS/ALAT 基準に基づく独自 基準)	定義 1: 21,805; 定義 2: 13,680; 定義 3: 5,881; 定義 4: 4,219; 定義 5: 615	粗罹患率 (20 歳以 上; 100,000 人年対; 2012 年) 男 定義 1: 64.5; 定義 2: 43.9; 定義 3: 22.6; 定義 4: 16.1; 定義 5: 2.8 女 定義 1: 38.3; 定義 2: 24.5; 定義 3: 12.4; 定義 4: 8.5; 定義 5: 0.9	○	NA

(続き)

表 1. 間質性肺疾患の罹患率に関する文献ならびにその概要 (2008 年-2018 年)

文献	地域	対象期間 (年)	対象疾患	疾患のデ ータソー ス	疾患の確定基 準	罹患数	罹患率	年 齢 別	疾 患 別
6 Musellim et al. 2014	トル コ、9 都市	2007-2009	ILD	21 のセ ンター の調 査票レ ジス トリー	ATS/ERS 分類	—	粗罹患率 (100,000 人 対) 総数: 25.8、男: 24.7、 女 27.0	NA	NA
7 Hyldgaard et al. 2014	デンマ ーク、 中部	2003-2009	ILD (サル コイドー シスを除 く)	単一施設 の患者レ ジス トリー	ICD-10、 ATS/ERS 分類 など	344	粗罹患率 (100,000 人 年対; 年平均) ILD: 4.1 IPF: 1.3	NA	NA
8 Saad et al. 2013	カナ ダ、ケ ベック 州	1990-2005	ILD	健康保険 プラン関 連データ ベース	ICD-9、 ICD-10	6,665 (診断 確定事例: 2,856)	粗罹患率 (100,000 人 年対): 81.0 診断確定事例のみ: 35.0	NA	NA
9 Karakatsani et al. 2009	ギリシ ヤ、全 国	2004	ILD	研究協力 施設 (15 歳以上人 口の約 60%をカ バー) の 調査票レ ジス トリー	ATS/ERS 分類	259 (うち、サル コイドーシ ス 60)	粗罹患率 (100,000 人 対; 総数): 4.6 (うち、サルコイドー シス 1.0)	NA	○
10 Kornum et al. 2008	デンマ ーク、 全国	1995-2005	ILD	全国患者 レジス トリー (国 内全病院 をカバ ー)	ICD-10 (J60-J70, J82, J84, J99, D76, D86)	21,765 (2001-2005 年 11,447; うち、サルコ イドーシス (D86.0, D86.2) 1,257)	年齢調整罹患率 (100,000 人年対; 2001-2005 年) 総数: 31.2 (95% CI: 30.6-31.9) (うち、サ ルコイドーシス 4.1 (95% CI: 3.8-4.3)) 男: 37.7 (95% CI: 36.8-38.7) 女: 25.4 (95% CI: 24.6-26.2)	○	○

表2. 間質性肺疾患の年齢階級別罹患率を報告している文献ならびにその概要 (2008年-2018年)

文献	地域	対象疾患、 対象期間	年齢階 級	罹患数 (男)	罹患率 (男) <sup>注1)</sup>	罹患数 (女)	罹患率 (女) <sup>注1)</sup>	罹患数 (総数)	罹患率 (総数) <sup>注1)</sup>
Lee et al. 2016	韓国、全 国	IIPs, 2011-2012	<20	226	3.8	177	3.3	403	-
			20-29	72	2.0	79	2.4	151	-
			30-39	198	4.7	229	5.6	427	-
			40-49	506	11.2	515	11.9	1,021	-
			50-59	1,410	36.7	1,090	28.6	2,500	-
			60-69	3,105	151.7	1,314	59.5	4,419	-
			70+	5,307	356.2	3,602	149.7	8,909	-
			全体	10,822	42.3	7,004	27.5	17,826	-
Gjonbrataj et al. 2015	韓国、全 国	ILD (ICD-10の J84.1で定 義), 2008-2012	20-29	41	1.2	23	0.7	64	-
			30-39	108	2.6	72	1.8	180	-
			40-49	265	5.9	209	4.8	474	-
			50-59	629	16.4	398	10.4	1,027	-
			60-69	942	45.9	419	18.9	1,361	-
			70-79	1,175	98.2	625	37.3	1,800	-
			80+	517	165.5	458	60.4	975	-
			全体	3,677	22.6	2,204	12.4	5,881	-
Kornum et al. 2008	デンマ ーク、全 国	ILD, 1995-2005	0-14	-	-	-	-	815	16.2 (95% CI: 15.1-17.3)
			15-39	-	-	-	-	1,693	18.9 (95% CI: 18.0-19.8)
			40-64	-	-	-	-	3,737	42.0 (95% CI: 40.7-43.4)
			65-79	-	-	-	-	3,418	118.0 (95% CI: 114.0-121.9)
			80+	-	-	-	-	1,784	165.4 (95% CI: 157.7-173.0)
			全体	6,576	-	4,871	-	11,447	42.6 (95% CI: 41.8-43.4)

注1) 各文献における罹患率の扱いについては表1を参照のこと。



平成 30 年度労災疾病臨床研究事業費補助金  
「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 (180301-01)」  
分担研究報告書

作業環境の評価と曝露量の推定

研究分担者 村田 克 (早稲田大学 理工学術院 准教授)

【研究要旨】当該事業場で平成 21 (2009) 年 9 月以降に架橋型アクリル酸系水溶性高分子化合物を取り扱う作業の作業者の曝露状況を評価した結果、当該化合物は一次粒子として、吸入性粉じんに含まれるようなほぼ  $2 \mu\text{m}$  前後の粒子の集合体であると考えられた。湿度などの環境条件によって粗大粒子の割合も増えるが、特に投入や包装作業のような発じん源の直近においては高濃度で曝露され、またその他の作業場でも、粗大粒子が沈降した後の一部の微細な粒子が空气中に浮遊しつづけていたと考えられた。災害調査での測定値から曝露濃度を包装作業で  $4.0 \text{ mg/m}^3$ 、投入作業で  $25.6 \text{ mg/m}^3$ 、その他の作業では  $0.3 \text{ mg/m}^3$  と想定し、作業者の呼吸量を  $1.2 \text{ m}^3/\text{h}$  と仮定し、発症者の作業時間と掛け合わせると、従事期間の総曝露量は平均約  $24.5 \text{ g}$  ( $11.2 \sim 41.0 \text{ g}$ ) と算出された。

#### A. 研究目的

架橋型アクリル酸系水溶性高分子化合物の粉体 (以下、アクリルポリマーと記す) の製造工場で発生した呼吸器障害事例は、この粉体への高濃度かつ定常的な曝露に起因する可能性があるとして指摘されている。そこで発症に至る疫学的検討を行うにあたり、実際のアクリルポリマーへの曝露状況や曝露量を把握することは重要であると考えられる。そこで本研究では、現場で取り扱われていた粉じん試料粒度分布の測定結果や、災害調査報告などをもとに、当該事業場におけるアクリルポリマーの発じん環境を評価し、作業による曝露量を推計した。

#### B. 研究方法

作業場における有害物質への曝露状況を把握するには、一般に個人サンプラーなどを用いて作業者曝露を測定する必要がある。しかし当該作業場はすでに作業環境の改善を実施済みであることなどにより、発症に至る曝露状況を本研究の実施期間に把握することは困難であった。そこで、所轄労働基準監督署への呼吸器障害事例報告の直後に実施された、災害調査の報告書<sup>1)</sup> (以下、安衛研報告と記す) や、当該事業場から本研究班へ提出された、被災作業者の従事状況記録<sup>2)</sup> (以下、作業記録と記す) の情報

や、当該事業場から入手したアクリルポリマーの粒度分布測定値をもとに、以下に示す手順で作業者曝露量を推計した。

##### 1) 試料の粒度分布の測定

チャンバー (容量約 6 L) 内の空气中に、当該事業場より入手した試料を分散させてから、Sioutas Impactor (SKC 社製) を用いて捕集した。チャンバー内での試料の分散は、試料数十 mg をチャンバー内へ入れ、チャンバー自体を振とうさせることにより行った。また同試料をプレパラート上に捕集し、光学顕微鏡 (株式会社ニコン製、位相差顕微鏡 ECLIPSE 80i) を用いて、コンデンサを調整して位相差観察を外した状態で、試料粒子の形状を観察した。

なお Sioutas Impactor は流量  $9.0 \text{ L/min}$  で吸引することにより、慣性衝突の原理によって空气中に浮遊する粒子状物質を 5 つの粒径範囲 ( $2.5 \mu\text{m}$  以上、 $2.5 \sim 1.0 \mu\text{m}$ 、 $1.0 \sim 0.5 \mu\text{m}$ 、 $0.5 \sim 0.25 \mu\text{m}$ 、 $0.25 \mu\text{m}$  以下) で分粒捕集することができる。

##### 2) 各作業者の曝露量の推定

1) で得た情報や安衛研報告、作業記録などをもとに、呼吸器障害に至った曝露状況を評価し、各作業における曝露濃度や各作業者の曝露量を推定した。

### (倫理面での配慮)

本研究を実施するにあたり、早稲田大学利益相反マネジメント委員会における利益相反審査を行い、問題なしとの審査結果を得ている。

## C. 研究結果

### 1) アクリルポリマーの粒度分布

アクリルポリマー試料を空气中に分散させた際の、粒度分布の測定結果を表1に示す。表1から、空气中に浮遊していた粒子の9割近くが1 $\mu\text{m}$ 以上の粒径であった。

表1 アクリルポリマーの粒度分布

	捕集量(mg)	割合(%)
2.5 $\mu\text{m}$ 以上	1.65	69
1.0~2.5 $\mu\text{m}$	0.45	19
0.5~1.0 $\mu\text{m}$	0.14	6
0.25~0.5 $\mu\text{m}$	0.04	2
0.25 $\mu\text{m}$ 以下	0.11	5

### 2) 光学顕微鏡による試料観察

光学顕微鏡を用いた試料の観察例を図1に示す。

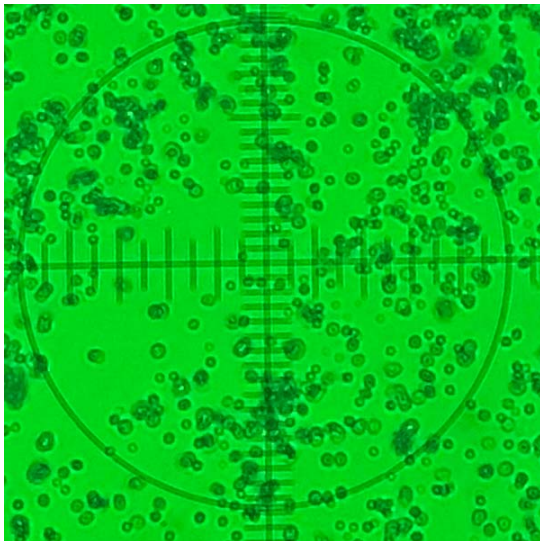


図1 光学顕微鏡による観察例(x400)

図1からアクリルポリマー試料は、一次粒子として約2~3 $\mu\text{m}$ のほぼ均一な粒径であり、これらが凝集して数 $\mu\text{m}$ もしくはそれ以上の粒子を形成していた。なお図1で縦や横に走る目盛線や円形線は、接眼レン

ズに挿入されたアイピースグレイティクル像の一部であり、縦線の目盛間隔は3 $\mu\text{m}$ 、横線の目盛間隔は5 $\mu\text{m}$ 、円の直径は100 $\mu\text{m}$ である。またバックグラウンドは光学フィルターによって着色されている。

### 3) 曝露状況の把握

安衛研報告によると、まずアクリルポリマーの投入作業に対しては、環境対策の条件をできるだけ改善前に戻した状態での作業者の曝露濃度が、作業時間69分間において25.6 $\text{mg}/\text{m}^3$ 、37分間において38.0 $\text{mg}/\text{m}^3$ であった<sup>1)</sup>。なおこの災害調査では、IOM サンプラーを用いて、粒径がおよそ100 $\mu\text{m}$ 以下であるインハラブル粉じんを捕集していた。また投入作業場所の囲いの外における連続測定の結果、60~90分間隔で投入作業による濃度上昇が観測されていた<sup>1)</sup>。

一方、アクリルポリマー製品の包装作業に対しては、作業者の曝露濃度は4.02~5.90 $\text{mg}/\text{m}^3$ だったが、特に包装作業のみに従事していた作業者が、作業時間5.5時間において4.0 $\text{mg}/\text{m}^3$ だった<sup>1)</sup>。

なおフォークリフト運転者では0.38 $\text{mg}/\text{m}^3$ 、充てん作業では0.33~0.36 $\text{mg}/\text{m}^3$ であった。

表2 発症者、非発症者の作業時間(h)

作業	発症者平均	非発症者
包装	2505.5 (61%)	3825.5 (57%)
清掃	810.2 (20%)	1007.5 (15%)
荷揚げ・投入	391.2 (9%)	575.5 (9%)
積込・フォーク	109.2 (2.5%)	549.5 (8%)
計量	124.2 (3%)	68.5 (1%)
雑作業	190.5 (4.5%)	656.0 (10%)

また作業記録によると、呼吸器障害の発症者(3名)と非発症者(1名)の従事期間の作業時間とその割合は表2の通りであった<sup>2)</sup>。

## D. 考察

まず今回のアクリルポリマー試料の粒子は、粒度分布測定や、顕微鏡を用いた観察

の結果から、粒子が凝集していない状態ならばほぼ 2 μm 前後の粒子の集合体であると考えられる。安衛研報告<sup>1)</sup>によるとアクリルポリマーの密度は 1.4 g/cm<sup>3</sup>、かさ密度は 0.18~0.22 g/cm<sup>3</sup>とのことから、この粒子は吸入性粉じんに含まれ、飛散性が高く、呼吸器への吸引で容易に肺の深奥まで達すると考えられる。ただしこのような微細粒子は凝集しやすく、またこのアクリルポリマーは吸湿性を有し、水分のある表面に付着した場合にはゼリー状に固着する<sup>1)</sup>とされていることから、湿度などの環境条件により凝集し、吸入性粉じんよりも粗大な粒子を形成する。安衛研報告で災害調査時の湿度は不明だが、インハラブル粉じんに対する吸入性粉じんの割合が 20~30%程度であった<sup>1)</sup>ことから、作業によって浮遊した粒子を作業者が吸引した場合に、その一部は呼吸器の深奥へ達していたことが考えられる。従って、特に投入や包装作業のような発じん源の直近においては高濃度で曝露され、またその他の作業場でも、粗大粒子が沈降した後の一部の微細な粒子が空气中に浮遊しつづけていたことが考えられる。

また作業者が装着する防じんマスクの効果について、安衛研報告<sup>1)</sup>では作業者からの聞き取り調査により、当該事業場では平成 11 年 6 月 11 日以前はガーゼマスクが用いられ、その後平成 28 年 3 月 30 日まで使い捨て式防じんマスク DS1 (3M No.8710)、平成 28 年 5 月 2 日まで防じんマスク DS2 が用いられていた。またマスクのフィッティングや交換頻度は作業者任せであり、使い捨て式マスクの鼻部の金具の折曲げをしていない作業者もいたこと、補助作業(フォークリフト運転や段ボール準備)ではマスク未着用のこともあったと報告されている<sup>1)</sup>。防じんマスクに関しては着用状態が不良の場合、漏れ率が 5 割を超えることのあることは経験的に知られているが、例えば石川ら<sup>3)</sup>は防じんマスク漏れ率について、教育指導前の測定値が 1 社の平均で最大 43.9%であったと報告している。そこで呼吸器障害発症に至る曝露状況を想定する上

で、マスクを着用していても装着状態が不良であれば 50%程度の漏れ率であったか、もしくはマスク着用していなかった場合を想定できると考える。

作業者の曝露濃度について、まずアクリルポリマーの投入作業に対しては、連続測定の結果よりおよそ 1 時間強の間隔で投入作業が行われていたと考えられることから、曝露濃度として作業時間 69 分間における 25.6 mg/m<sup>3</sup> が妥当な値に近いと考えられる。また包装作業に対してはこの作業のみに従事していた作業者の、作業時間 5.5 時間における 4.0 mg/m<sup>3</sup> が考えられる。なおその他の作業については、フォークリフト運転者や充てん作業に対する曝露濃度測定値をもとに、0.3 mg/m<sup>3</sup> 程度を考慮することができる。

以上をもとに就業期間全体について総曝露量を求める。包装作業では 4.0 mg/m<sup>3</sup>、投入作業では 25.6 mg/m<sup>3</sup>、その他の作業では 0.3 mg/m<sup>3</sup> として、作業者の呼吸量を 1.2 m<sup>3</sup>/h と仮定し、表 2 の発症者の作業時間と掛け合わせると、総曝露量は平均約 24.5 g (11.2~41.0 g) となる。なお非発症者については 36.9 g であった。また着用マスクの効果があったとして、不良な装着状態により 50%程度の漏れ率であったと仮定すると、発症者の総曝露量は平均約 12.3 g (5.6~20.5 g) となる。

## E. 結論

肺障害事例が報告された作業場でアクリルポリマー取扱い作業者の曝露状況を評価した結果、アクリルポリマーには容易に肺の深奥まで達する粒子の割合が多く、従事期間の総曝露量は平均約 24.5 g (11.2~41.0 g) と算出された。

## 参考文献

- 1) 独立行政法人労働者健康安全機構 労働安全衛生総合研究所、災害調査報告書 (概要版) 化学工場で発生した呼吸器疾患に関する災害調査、2019
- 2) 作業従事者 4 名の作業割合 (事業場提供資料)

3) 石川紘ほか、防じんマスク適正使用の教育指導の効果に関する検討、平成 20 年度岡山産業保健推進センター調査研究報告書、2008

F. 健康危険情報  
なし

G. 研究発表

1. 論文発表  
なし

2. 学会発表  
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

平成 30 年度労災疾病臨床研究事業費補助金  
「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 (180301-01)」  
分担研究報告書

架橋型アクリル酸系水溶性高分子化合物の精密物性評価

研究分担者 望月慎一 (北九州市立大学 国際環境工学部 准教授)

【研究要旨】架橋型アクリル酸系水溶性高分子化合物の 2 種 (PAA1, PAA2) に関し、分子量、粒子系、粘弾性、架橋の程度を様々な機器を用いて詳細な物性評価を実施した。多角度光散乱測定より、両ポリマーとも同程度の大きさであることが分かったが、その分子量は PAA2 の方が約 2 倍の大きさを示した。さらに粘弾性測定より PAA2 は PAA1 よりも約 10 倍高い値を示した。これらのけっかより PAA2 は非常に架橋度の高い、中身の詰まった (密度の高い) 粒子構造をとっていることが明らかとなった。

研究分担者：櫻井和朗  
(北九州市立大学 環境技術研究所 教授)

散現象と逆方向に力を与えることにより、  
粒径によるサイズ分離を行う (図 1)。

### A. 研究目的

架橋型アクリル酸系水溶性高分子化合物の粉体 (以下、アクリルポリマー) を製造する工場において間質性肺炎や肺気腫などの肺障害が複数の労働者に認められた。ラットを用いた動物実験においてもアクリルポリマーの暴露により重篤な肺傷害が観察された。アクリルポリマーと一言でいってもその分子量、架橋度の程度の違いにより数種類が存在する。マクロファージ等の貪食能の高い細胞では粒子の大きさ・形状を認識して物質を取り込んでいる等の報告もあり、アクリルポリマーに関してもこうした物理化学的性質の違いが肺傷害の程度に影響を与えているのではと考えられる。本研究では、代表的なアクリルポリマー 2 種類に関してその分子量、粒子系、粘弾性、架橋の程度を様々な機器を用いての詳細な物性評価を実施した。

### B. 研究方法

#### 1) 流動場分画法と多角度光散乱を用いたアクリルポリマーの分子量・形状測定

流動場分離 (Field Flow Fractionation: FFF) では粒子のサイズに依存した自己拡

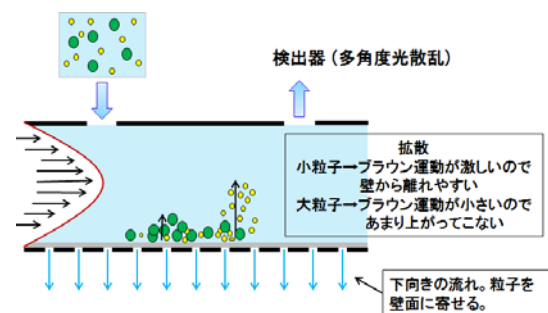


図 1、FFF の粒径分離図

まず様々な粒径サイズを持つ集合体を一箇所  
にフォーカスする。この集合体において  
粒径の大きいものは自己拡散速度が小さく、  
粒径の小さな試料の自己拡散速度が大きい  
特性を利用し、分離セル内において粒度分  
布を縦方向に作成する。さらに粒子の拡散  
方向 (垂直) とは異なる方向 (水平) に外  
部場 (クロスフロー) を加える。粒径の自  
己拡散の違いとクロスフローによる流れ場  
の両方を利用することで広範囲サイズ領域  
における粒径分離を可能にする。分離した  
粒子はそれぞれ流出時間の差を生じながら  
検出器 (多角度光散乱) に移動する。

本実験では PAA1, PAA2 に関し FFF 測  
定を行い、ポリマーの分子量、慣性半径、

流体力学的半径を求めた。

## 2) 粘度測定

アクリルポリマー溶液は 10 mg/ml で溶解させた際、目視でも分かる程度の粘性を示している。動物実験でもこうした溶液の粘性が肺組織内での挙動（動態）に影響を与えるのではないかと考えられる。本実験では回転式レオメーターを使用してサンプルの貯蔵弾性率  $G'$ （せん断処理中のサンプルの内部に貯蔵される変形エネルギー）及び損失弾性率  $G''$ （せん断処理中のサンプルによって使用され失われる変形エネルギー）を測定した。また、今回の測定では貯蔵弾性率より分子差の絡み合いの度合いも推測できるため、そこから考え得る分子の密度についても考察した。

## 3) 共振式質量測定法によるポリマーサイズの測定

FFF を用いた粒子サイズ測定では最大で数百ナノメートルの大きさの粒子までしか測定出来ない（検出器の測定限界があるため）。しかし、サンプル溶液には数マイクロオーダーの粒子も混在していると考えられる。そこで、こうしたマイクロサイズの粒子の測定を可能にするために共振式質量測定法によるサイズ分布の測定も行った。

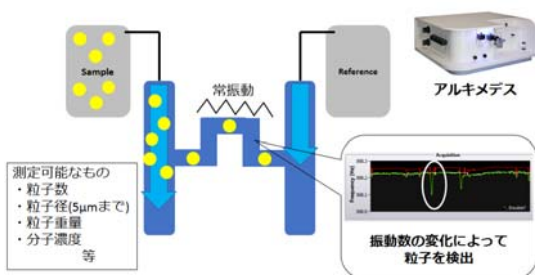


図 2、共振式質量測定法による粒子系の計測

共振式質量測定法は図 2 に示すようにマイクロ流体チャンネルが埋め込まれた共振用カンチレバーを持つセンサーで、微粒子 1 つずつを検出、測定することが出来る。50

nm - 5 μm の粒子が流体チャンネルを通ると、カンチレバーの共振周波数が変化し、この変化から粒子の粒子系、質量及びその分布を測定する。

## C. 研究結果

### 1) 流動場分画法と多角度光散乱を用いたアクリルポリマーの分子量・形状測定

PAA1, PAA2 それぞれを 1 mg/ml に調製し、FFF で分離後、多角度光散乱、屈折率測定を行った。両ポリマーとも分布はあるものの一つのピークとして観察された（図 3）。FFF では分子量の小さいものほど早く溶出されるため、PAA2 の方が若干大きなフラクションが含まれていることが分かる。また、得られた分子量 ( $M_w$ ) と流体力学的半径 ( $R_h$ ) の関係を両対数プロットし（図 4）、ポリマーの形状を推察した。

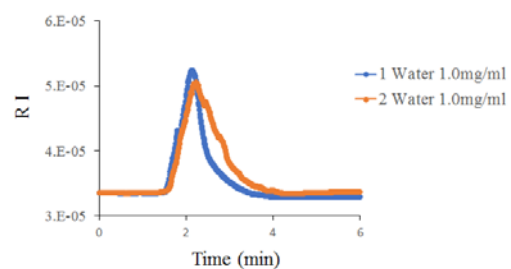


図 3、PAA1, PAA2 のクロマトグラム（屈折率; RI）

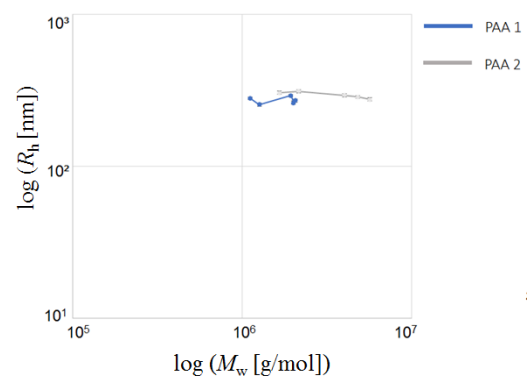


図 4、分子量 ( $M_w$ ) に対する流体力学的半径 ( $R_h$ ) の両対数プロット

分子量 ( $M_w$ ) に対し流体力学的半径 ( $R_h$ ) を両対数プロットした時（コンフォメーションプロット）、その傾きが 1 の時は直鎖状



分子、傾きが0.5の時はランダムコイル状、傾きが0.3の時は球状を表す。両ポリマーとも  $R_h$  の値はほぼ同じであることが分かる。また、分子量が増加してもその半径はほとんど変わっていない。これより両者とも大きさは同じでも密度の異なる分子が存在していると考えられる。そして、PAA2の方がPAA1よりも分子量は大きい（密度が高い）ことがわかる。

## 2) 粘度測定

PAA1, PAA2 それぞれについて 5 mg/ml, 10 mg/ml, 15 mg/ml に調製し粘弾性測定を行った。得られた弾性率に関し、貯蔵弾性率、損失弾性率共に PAA2 の方が PAA1 よりも約 10 倍高い値が得られた。この弾性率の違いから分子と分子の絡み合い点間分子量を算出し、表 1 に示す。PAA2 の方が絡み合い点間分子量が小さいことがわかる。とりわけ低濃度では PAA2 は PAA1 の約 20 分の 1 である。絡み合い点間分子量の値が小さいことは分子同士が近くに存在する、つまり架橋密度に依存すると考えられる。これより、PAA2 の方が PAA1 に対し非常に密に絡まりあっている分子であることが分かった。

表 1、PAA1、2 の絡み合い点間分子量

	絡み合い点間分子量 (g/mol) [10 <sup>3</sup> ]	高分子1本鎖当たりの絡まり数 [ ]
PAA1 5 mg/ml	21.9	1.37
PAA2 5 mg/ml	1.03	58.0
PAA1 10 mg/ml	2.52	11.9
PAA2 10 mg/ml	1.34	44.8
PAA1 15 mg/ml	1.10	27.4
PAA2 15 mg/ml	0.98	61.3

## 3) 共振式質量測定法によるポリマーサイズの測定

FFF 測定からでは約 100-200 nm の粒子サイズが大半を占めると予想されるが、それ以上の数マイクロオーダーの粒子も一定数存在していると考えられる。そこで、最大 5  $\mu\text{m}$  まで測定可能な共振式質量測定を行った。PAA1 を 25  $\mu\text{g/ml}$  で溶解させ、超音波処理前後で測定を行った (図 5)。溶かした直後では 500 nm 以上の粒子が 30% 以

上存在していたが、超音波処理後では、500 nm 以下の粒子がほとんどを占めるようになった。PAA2 に関しても同様のサイズ分布が得られたが、PAA2 は超音波前のサンプルでは凝集体の割合が多いせいか測定不能であった。これらより、溶かして直ぐの状態では凝集体が多数存在しているが、超音波処理によりそれらがほぐれ十分に小さい粒子として存在していることが分かった。

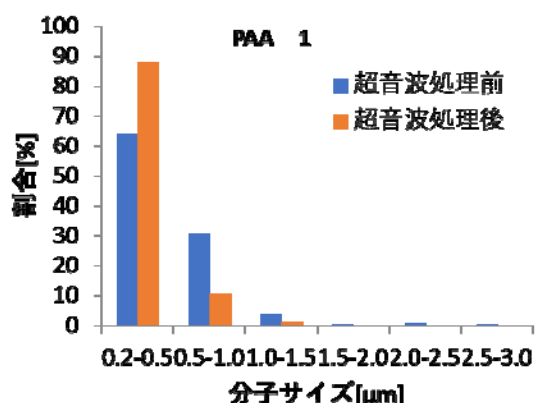


図 5、分子サイズ分布 (PAA1)

## D. 考察

主に PAA1、PAA2 に関し分子量、分子サイズ、粘弾性測定を行った。慣性半径 ( $R_g$ )、流体力学的半径 ( $R_h$ ) は両者とも同程度の値を示したが、分子量、密度、高分子 1 本鎖当たりの絡まり数等に大きな違いがみられた。PAA2 の方が上記の値が大きく、PAA2 は中身が詰まった (架橋密度の高い) 分子となっていると考えられる (図 6)。大きさが変わらず PAA2 の方が架橋密度の高い分子であると考え、粘弾性に大きな違い (PAA2 の方が 10 倍高い) として表れていることも一致している。

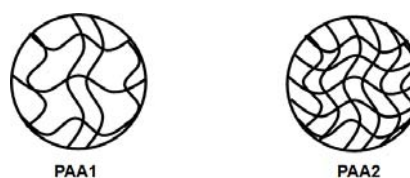


図 6、PAA1、2 のイメージ図

以上より同じ分子サイズに対し密度の異なるポリマーであると考えられるため、

PAA2はPAA1よりおそらく製造工程の中で架橋剤の濃度を高くしてあるいは架橋剤との反応が長い条件等で調製されたのではないかと考えられる。あるいはモノマーの段階でPAA2の方が分子量の大きいものが使用されていると考えられる(分子量が大きいものを使用した方が架橋剤との反応性が高く密な高分子になると考えられる)。

こうして作製されたアクリルポリマーの性質の違いが組織・細胞への取り込みに影響を与えることは十分に考えられる。今回はまだ未測定であるが、おそらく表面のポリマー濃度も異なると考えられるため、表面の電荷にも違いが現れると考えられる

(アクリルポリマーは基本的にカルボキシル基を有するため負に帯電している)。マクロファージ等の貪食能の高い細胞ではスカベンジャー受容体を利用して負電荷を強く帯びた分子を取り込む性質等があること知られている。よって、分子の大きさ・表面電荷の違いにより細胞への親和性が異なり細胞応答(炎症応答)に影響すると考えられる。また、粘弾性の違いが気道等での留まりやすさに影響するのではと考えられる。アクリルポリマーを吸い込んでも粘性の高いポリマーは肺の奥まで行き届かず、途中で気道の粘膜に留まってしまい、後に痰として吐き出される可能性も考えられる。今

後、ラットを用いた動物実験結果と照合しながら慎重にアクリルポリマー分子の性質と肺傷害との関係について議論していこうと考えている。

## E. 結論

肺傷害の原因が疑われているアクリルポリマー2種に関しFFF、レオメーター、共振式質量測定等、様々な機器を用いその分子サイズ・分子量・粘弾性・架橋の程度を測定した。PAA1、PAA2共に分子サイズは同程度であったが、PAA2の方が分子量が大きくまた、分子同士の絡まり数もPAA1よりも大きいことから、PAA2は非常に架橋度の高い密度の高い分子構造していることが明らかとなった。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



## 研究成果の刊行に関する一覧表

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
なし							

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
なし					