

労災疾病臨床研究事業費補助金

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

平成 27 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 辻 真弓

平成28 年（2016年） 4 月

目 次

I. 総括研究報告

- 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 ----- 1
辻 真弓

II. 分担研究報告

1. 一般集団における化学物質抗体分布に関する予備調査～一般住民を対象として ----- 5
郡山 千早
2. 日常生活における化学物質曝露が総 IgE・IgG 抗体に及ぼす影響 ----- 29
太田 雅規
3. ネイル用塗料曝露と塗料成分特異的 IgG 抗体保有に関する研究 ----- 43
土屋 卓人
4. 職場における化学物質特異的抗体保有率に関する研究 ----- 60
辻 真弓
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 ----- 104
石原康宏

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 138

IV. 研究成果の刊行物・別刷 ----- 139

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

主任研究者 辻 真弓 産業医科大学 医学部 産業衛生学 准教授

研究要旨

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ている。産業医科大学産業衛生学講座で開発・特許を取得した手法を用いて、一度に数種類の化学物質特異的 IgG 抗体を測定している点が独創的であり、さらに本年度から、現手法を改良し、多検体を短時間で処理できる ELISA（Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay）構築を目的とする研究にも着手した。

本年度は、一般住民、大学教職員・学生、化学物質（樹脂）取り扱い事業所を対象として研究を行った。解析した化学物質は以下の 12 種類の化学物質（大学教職員・学生研究はうち 6 種類）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)

一般住民研究：鹿児島県南九州市住民 191 名のうち 104 名（男性 46 名、女性 58 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。12 種類中 BADGE、PPD、FA、GA、AA、ED、HDI、MMA および GMA の 9 つの特異的 IgG 抗体は、8 割以上の対象者が陰性の判定であった。一方、強陽性判定が最も多かった化学物質は PA であり 63%と半数以上を占めた。AA、BADGE 特異的 IgG 抗体に関しては生活要因として喫煙習慣が影響を及ぼしている可能性が認められた。PA 特異的 IgG 抗体に影響を及ぼした生活要因に関しては現時点で不明であり、更なる検討が必要である。

大学教職員・学生研究：日常生活における化学物質曝露の有無・曝露経路とアレルギー症状、総・特異的 IgG・IgE 抗体との関連性を検証した。特に女性で使用されるネイルに重点をおいた研究も行った。総 IgG 抗体とアレルギー疾患、総 IgE 抗体と飲酒・喫煙習慣 間に関連が認められた。ネイルに含まれることの多い 6 種の化学物質 (BADGE、PA、FA、AA、MMA、TA) 特異的 IgG 抗体と生活要因、ネイルの使用の有無 間に有意な関係は認められなかった。

樹脂取り扱い事業所研究：4 社を対象に、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。樹脂取り扱い作業従事者は一般人より TDI、BADGE、ED、MMA 特異的 IgG 抗体値が比較的高い傾向が認められた。

特異的 IgG 抗体に影響を及ぼす生活要因は化学物質の種類によって異なる可能性が示唆された。また一般人と樹脂取り扱い作業従事者で異なった陽性反応を示す化学物質が明らかになってきた。今後はさらに多くの樹脂取り扱い施設を対象に、特定化学物質に指定されていない化学物質も視野に入れた調査を行うことを計画している。また将来的には、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化学物質特異的 IgG 検出用 ELISA の提供を目指す。

分担研究者

川本 俊弘 産業医科大学 医学部 産業衛生学
武林 亨 慶応大学 医学部 衛生公衆衛生学
郡山 千早 鹿児島大学 医学部 疫学予防医学
土屋 卓人 産業医科大学 医学部 産業衛生学

太田 雅規 福岡女子大学国際文理学部食・健康
学科
石原 康宏 広島大学 大学院総合科学研究科
田中 政幸 公益財団法人 福岡労働衛生研究所
一瀬 豊日 産業医科大学 進路指導部

A. 研究目的

樹脂(プラスチック)原料は、プラスチック製造業のみならず建設業、塗装業、繊維業など幅広い分野で取り扱われており、樹脂作業者のアレルギー疾患の増加が危惧されている。また美容の一種として爪に様々な装飾を施すネイルアートで使用するネイル用塗料にも樹脂原料が含まれており、ネイル用塗料が原因と思われるアレルギー疾患の発生が報告されている。

樹脂(プラスチック)は様々な化学物質を用いて合成され、どの化学物質がアレルギーの原因物質か問診や症状のみで決定することは難しい。昨年度の研究では我々はIgEとIgGの2つの抗体に着目した研究を行った。本年度は特に12種類の化学物質特異的IgG抗体値を測定した。さらに一般人を対象に抗体に影響を及ぼす因子を調査し、アレルギー診断と曝露モニタリングへの特異的IgG抗体の有用性を検討するために研究を遂行した。さらに本年度から、現手法を改良し、多検体を短時間で処理できるELISA(Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)構築を目的とする研究にも着手した。

B. 研究方法

①一般住民を対象とした研究

2014年に鹿児島県南九州市で疫学調査を行った住民191名のうち104名(男性46名、女性58名)を対象として、特異的IgG抗体値を測定した。平均年齢は男性46.4歳、女性51.9歳であった。測定した化学物質特異的抗体は以下の12種類である。

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)

②大学教職員・学生を対象とした研究

対象は、F大学およびS大学の教職員、20歳以上の学生82名(男性2名、女性80名)とした。平均年齢は23.5歳であった。自記式質問票を用いて、喫煙歴、飲酒歴といった生活習慣の他、化学物質曝露情報として、塩素系漂白剤、殺虫剤、染料(髪染め)、ネイル、有機溶剤、ホルムアルデヒド、樹脂、その他の化学物質使用の有無を尋ねた。また、近年、手軽に扱えるようになっていた紫外線硬化樹脂であるネイルに着目し、ネイル

(ペディキュアを含む)使用に関しては、使用期間等も含め詳細に質問した。自記式質問票調査と同時に生体試料(血液)採取を行い、総・特異的IgE・IgG抗体を測定した。測定した化学物質特異的抗体はBADGE、PA、FA、AA、MMA、TAの6種である。

③樹脂取り扱い作業従事者を対象とした研究

事業所従業員(4社)を対象とし、自記式質問票を用いて抗体値に影響を及ぼすと予想される生活習慣に関するデータ(喫煙、飲酒、アレルギー既往歴、化学物質の取り扱い状況等)、ならびに生体試料(血液)を収集し、総・特異的IgE・IgG抗体を測定した。測定した化学物質特異的抗体は一般住民を対象とした研究と同様の12種類である。

④化学物質特異的IgG検出用ELISA開発研究

ヒト血清アルブミンと化学物質の付加体の立体構造をアミノ基定量、電気泳動、円二色性スペクトル、蛍光スペクトル、質量分析により詳細に解析し、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。さらに、ヒト血清アルブミン-化学物質付加体をプレートに固定したELISAを作製し、労働者の血液中に含まれる化学物質特異的IgGを測定した。また、プロテオミクスの手法により、血液中のHSA-化学物質付加体の検出を試み、化学物質曝露の高感度検出を目指して血液中化学物質曝露マーカーの探索も行なった

(倫理面への配慮)

アンケート調査および生体試料の採取は産業医科大学倫理委員会、鹿児島大学医学部倫理委員会、福岡女子大学の承認を得て行われている。また、実施にあたっては、平成14年7月に発表された厚生労働省と文部科学省の合同委員会による「疫学に関する倫理指針」を遵守して行い、結果に対してはプライバシーに十分に配慮した。

C. 研究結果

①一般住民を対象とした研究

12種類中BADGE、PPD、FA、GA、AA、ED、HDI、MMAおよびGMAの9つの特異的IgG抗体は、8割以上の対象者が陰性の判定であった。一方PA特異的抗体は全体の63%が陽性だった。

特異的IgG抗体の分布を男性と女性で比較したところ、GA、HDI、TMA特異的IgG抗体では、女性において抗体値が高い傾向が認められ

た。

50 歳未満と 50 歳以上の 2 群に分けて、特異的 IgG 抗体の分布を比較した。いずれの化学物質においても、年齢との有意な関連は認められなかったが、TDI と TMA において、50 歳未満群の抗体が高い傾向を示した(傾向性の P 値はいずれも 0.1)。

現在喫煙している者は、BADGE、AA 特異的 IgG 抗体値が高い傾向を示したが、他の抗体においてはそのような傾向は認められなかった。

飲酒習慣は化学物質特異的 IgG 抗体と関連していなかった。

②大学教職員・学生を対象とした研究

アレルギー疾患のある群の方がいない群よりも総 IgG 抗体が高い傾向にあった。しかし、総 IgE 抗体については、有意な差を認めなかった。

また、日常生活での化学物質曝露(塩素系漂白剤、染料、殺虫剤のいずれかの曝露)の有無と職場や学校内での化学物質(有機溶剤、ホルムアルデヒド、樹脂、その他の化学物質)の曝露の有無で、それぞれ総 IgE・IgG 抗体を比較したところ、日常生活での化学物質曝露がある群は、ない群に比べ有意に総 IgG 抗体が低いという結果であった。

ネイルを「現在している群」「以前ネイルをしていた群」「全くネイルをしたことがない群」の 3 群間において、総 IgE・IgG 抗体値に有意な差を認めなかった。「現在ネイルをしていない群」と「現在している群」の 2 群間において 6 種の化学物質(BADGE、PA、FA、AA、MMA、TA)特異的 IgG 抗体値に有意な差は認められなかった。

受動喫煙の有無と総 IgE・IgG 抗体の間に有意な差を認めなかった。「現喫煙群」は、「非喫煙群」や「過去喫煙群」よりも有意に総 IgE 抗体が高いことが示された。

③樹脂取り扱い作業従事者を対象とした研究

A 社: 主として使用する樹脂はウレタン樹脂である。事業所の研究対象者総数は 81 名(男性 77 名、女性 4 名)、対象者の年齢の平均値は 38.6 歳であった。対象者は一般人と比較して TDI 特異的 IgG 抗体値 III ($12.5 \mu\text{g/ml}$ 以上)の割合が有意ではないが高くなる傾向が認められた。FA 特異的 IgG 抗体値 $\pm$ (0 より大きく $3.125 \mu\text{g/ml}$ 未満)の割合が有意に高く (OR=5.28 P value=0.003)、+ (3.125 以上 $6.25 \mu\text{g/ml}$ 未満)の割合が有意ではないがやや高くなる傾向が認められた。

B 社: 使用する樹脂はウレタン樹脂、エポキシ樹脂

脂等複数の樹脂である。事業所の研究対象者総数は 39 名(すべて男性)、対象者の年齢の平均値は 37.5 歳であった。対象者は一般人と比較して PA 特異的 IgG 抗体値 II (6.25 以上 $12.5 \mu\text{g/ml}$ 未満)、 III の割合がやや高くなる傾向が認められた。BADGE 特異的 IgG 抗体では値 $\pm$ 、+ の割合がやや高くなる傾向が認められた。MMA・ED 特異的 IgG 抗体値 $\pm$ の割合がやや高くなる傾向が認められた。

C 社: 主として使用する樹脂はエポキシ樹脂である。事業所の研究対象者総数は 35 名(男性 34 名、女性 1 名)、対象者の年齢の平均値は 34.7 歳であった。対象者は一般人と比較して MMA 特異的 IgG 抗体値 $\pm$ の割合がやや高くなる傾向が認められた。

D 社: 主として使用する樹脂はポリプロピレン樹脂、ポリエチレン樹脂である。事業所の研究対象者総数は 26 名(すべて男性)、対象者の年齢の平均値は 34.7 歳であった。対象者は一般人と比較して BADGE 特異的 IgG 抗体値 $\pm$ の割合が高くなる傾向が認められた (OR=6.88 P value=0.073)。ED 特異的 IgG 抗体値 $\pm$ の割合が高くなる傾向が認められた。MMA 特異的 IgG 抗体値 $\pm$ の割合が有意に高かった (OR=20.7 P value=0.020)。

④化学物質特異的 IgG 検出用 ELISA 開発研究

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。この反応によりヒト血清アルブミンの微細な立体構造が変化することを電気泳動、円二色性スペクトル、および蛍光スペクトル測定から示した。残念ながら、ヒト血清アルブミンと化学物質の反応のモル比を明らかにすることはできなかった。これらの結果より、ヒト血清アルブミンはハプテンである化学物質と反応して付加体を形成し、その結果、立体構造を変化させることによって感作性を獲得すると考えられる。ヒト血清アルブミンと化学物質との付加体を用いて ELISA を行なったところ、一般住民や事業所従業員の血清中からヒト血清アルブミン-化学物質を認識する IgG が検出された。曝露された化学物質の少なくとも一部はヒト血清アルブミンと反応し、それが抗原となって抗体が産生されたことを支持する結果が得られたと考えられる。

D. 考察

一般住民を対象とした研究と大学教職員・学生を対象とした研究で、化学物質特異的抗体に影響を与える可能性のある日常因子を探索した。性と

年齢の影響は今後の研究において十分に考慮する必要があることが示唆された。喫煙に関しては、化学物質によって影響を受けやすいものと受けにくいものがある可能性があり、今後の更なる検討を要する。飲酒習慣は特異的 IgG 抗体値に影響を及ぼさないことが分かった。

樹脂取り扱い作業従事者を対象とした研究では、一般人より TDI、BADGE、ED、MMA 特異的 IgG 抗体値が比較的高い傾向が認められた。今後は対象者を増加し、特に上記 4 種類の化学物質、さらに特定化学物質に指定されていない化学物質を十分に視野に入れ、化学物質特異的 IgG 抗体と職業性曝露・アレルギー発症との関係を精査する必要がある。

現在開発中の ELISA 法が完成すると、現行法より少ない血清で一度に多人数の血清中 IgG 値が測定可能となる。今後は化学物質特異的 IgG 抗体値に影響を及ぼす可能性のある日常生活因子の探求とともに、アレルギー診断と曝露モニタリングに特に有用な化学物質特異的 IgG 抗体を明らかにし、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化学物質特異的 IgG 抗体検出用 ELISA を構築する予定である。

E. 結論

特異的 IgG 抗体に影響を及ぼす生活要因は化学物質の種類によって異なる可能性が示唆された。また一般人と比較し、樹脂取り扱い作業従事者の方が陽性反応を示す傾向のある化学物質が明らかになってきた。今後はさらに多くの樹脂取り扱い施設を対象に、特定化学物質に指定されていない化学物質も視野に入れた調査を行うことを計画している。また将来的には、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化学物質特異的 IgG 検出用 ELISA の提供を目指す。

F. 健康危険情報

該当無し

G. 研究発表

1. 論文発表

Kawamoto T, Tsuji M, Isse T.
Comparison of IgG against plastic resin in workers with and without chemical dermatitis. BMC Public Health. 2015 Sep 21;15:930. doi: 10.1186/s12889-015-2302-4.

2. 学会発表

(1)辻 真弓、土屋 卓人、一瀬 豊日、太田 雅規、田中 政幸、川本 俊弘. 感作物質特異的抗体の保有率の検討 1. 第 88 回日本産業衛生学会 大阪 グランフロント大阪 2015 年 5 月

(2)川本 俊弘、辻 真弓、土屋 卓人. プラスチック樹脂原料の血清アルブミンへの結合. 第 88 回日本産業衛生学会 大阪 グランフロント大阪 2015 年 5 月

(3)土屋卓人、辻真弓、一瀬豊日、田中政幸、川本俊弘. 感作物質特異的抗体の保有率の検討 2 -成人女性での検討-. 第 88 回日本産業衛生学会 大阪 グランフロント大阪 2015 年 5 月

(4)土屋卓人、辻真弓、川本俊弘. 成人女性における感作物質特異的抗体の保有率の検討. 第 13 回日本予防医学会 金沢 2015 年 6 月

(5)土屋卓人、辻真弓、川本俊弘. ドットブロット法を用いた感作物質特異的抗体保有率の検討 -成人女性での検討-. 第 33 回産業医科大学会 北九州 2015 年 10 月

(6)辻 真弓、郡山 千早、太田 雅規、田中 政幸、川本 俊弘. 職場における化学物質特異的抗体保有率に関する研究. 第 74 回日本公衆衛生学会総会 長崎 長崎ブリックホール 2015 年 11 月

(7)郡山千早、上床太心、辻真弓、秋葉澄伯. 緑茶飲用による血清脂質等への影響. 第 74 回日本公衆衛生学会 長崎 長崎ブリックホール 2015 年 11 月

(8)Kawamoto T, Tsuji M, Tsuchiya T. Detection of Specific Immunoglobulin G Against Plastic Resin in Workers with Dermatitis. International Symposium of Environmental Science 25th Meeting, Henderson, Nevada. 2015. 10. 18-22.

(9)Tsuji M, T Isse, M Yamamoto, T. Kawamoto. Toluene diisocyanate and formaldehyde specific IgE and IgG antibodies in the urethane resin handling plant. SOT55th Annual Meeting & ToxExpo. New Orleans Ernest N. Morial Convention Center in New Orleans, Louisiana. 2016. 3. 16.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得	特許第 5757519 号
実用新案登録	該当無し
その他	該当無し

一般集団における化学物質抗体分布に関する予備調査 ～一般住民を対象として

分担研究者 郡山千早 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科疫学・予防医学 准教授

研究要旨

【目的】本調査では、一般住民を対象として、化学物質等への血清抗体価の測定を行い、抗体価の分布と関連する生活・環境要因について明らかにすることを目的とする。

【対象と方法】2014年に鹿児島県南九州市で疫学調査を行った住民191名のうち104名（男性46名、女性58名）を対象として、12種類の化学物質に対する特異的IgG抗体価をドットプロット法で測定した。解析した化学物質は、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)である。陽性コントロールの発光強度との比較により、特異的IgG抗体価の半定量を行い、生活習慣および環境要因との関連を調べた。

【結果と考察】12種類中BADGE、PPD、FA、GA、AA、ED、HDI、MMAおよびGMAの9つの特異的IgG抗体は、8割以上の対象者が陰性の判定であった(±を含む)。一方、+++の判定が最も多かった化学物質はPAであり63%と半数以上を占めた。TDIとTMAの強陽性反応は9%の対象者で確認され、TDIとPAの抗体間には有意な相関が認められた(Spearman相関係数0.43、調整後のP値<0.001)。2つ以上の物質への特異的IgG抗体価が高い者について、背景を検討したところ、女性が多く、職業も事務職など、特に化学物質を扱う仕事に従事していると思われる者は認めなかった。抗PA-IgGと総IgG抗体との間に有意な関連は認めなかったことから、抗PA-IgG陽性反応は非特異的反応である可能性は低いと考えられたが、その原因は職業性曝露によるものではなく、日常生活における何らかの環境曝露による可能性が考えられた。しかしながら、今回質問票調査で把握した生活習慣や職業歴、化学物質の使用歴と顕著に関連していた要因はなく、今後の検討が必要である。

研究協力者

秋葉 澄伯

上床 太心

Muflihatul Muniroh

Lai Thi Minh Hang

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
疫学・予防医学

2014年に鹿児島県南九州市の住民、2015年に同県志布志市の住民319名（男性：174名、女性145名）を対象として、生活習慣（喫煙・飲酒習慣、嗜好飲料および運動歴など）、職業歴、アレルギー疾患を含むその他の既往歴および日常生活や職場における化学物質などへの曝露状況などについて質問票を用いて尋ねた。

さらに身体測定（身長、体重、腹囲）と空腹時採血を行った。採血した血液は、12時間以内に血清を分離し、-20℃で保存した。

今年度は、一部の対象者（2014年度に調査）の血清を用いて、12種類の化学物質への特異的IgG抗体を測定した。解析した化学物質は、ビスフェノールAジグリシジルエーテル(Bisphenol A Diglycidyl Ether: BADGE)、無

A. 研究目的

一般住民を対象として、化学物質等への曝露状況を質問票を用いて把握するとともに、化学物質等への血清抗体価の測定を行い、抗体価の分布と関連する生活・環境要因について明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

水フタル酸(Phthalic Anhydride: PA)、トルエン-2,4-ジイソシアネート(2,4-Toluene Diisocyanate: TDI)、パラフェニレンジアミン(para-Phenylenediamine: PPD)、ホルムアルデヒド(Formaldehyde: FA)、グルタルアルデヒド(Glutaraldehyde: GA)、アクリルアミド(Acrylamide: AA)、エチレンジアミン(Ethylenediamine: ED)、ヘキサメチレンジイソシアネート(Hexamethylene Diisocyanate: HDI)、メタクリル酸メチル(Methyl Methacrylate: MMA)、無水トリメリット酸(Trimellitic Anhydride: TMA)、メタクリル酸グリシジル(Glycidolmethacrylate: GMA)である。BADGE と PA は主としてエポキシ樹脂の原料、TDI、PPD、FA および GA は主としてウレタン樹脂の原料である。さらに AA は染料・合成樹脂の原料、ED は塗料・冷却材の防腐剤、HDI はエナメルコーティングなどの外装塗装、MMA および GMA はアクリル樹脂の原料、TMA はエポキシ樹脂硬化剤等に使用されている。各化学物質の特性およびドットプロット法の詳細については、他の分担研究者がすでに報告しているので省略する。予備実験の結果より、化学物質の濃度条件は、いずれの物質とも基準濃度(0.1M)の10倍濃度(1:10)の条件で行い、positive control の発光強度との比較により、特異的 IgG 抗体価の半定量を行い、以下のように5段階に区分した。

- －: 0 µg/ml (陰性)
- ±: >0, <3.125,
- +: ≥3.125, <6.25
- ++: ≥6.25, <12.5
- +++: ≥12.5

さらに血清中の高感度 CRP 値(NanopiaCRP, Skisui Medical CO., LTD) および活性酸素(ROS)の測定を行った。

血清中の特異的 IgG 抗体価の群間差については、Mann-Whitney U 検定を用いて検討した。さらに++以上の判定が比較的多かった PA と TDI の結果について、陰性群(－、±、+)と陽性群(++、+++)に分け、総 IgG、血清高感度 CRP 値および ROS の比較を行った。さらに生活習慣や既往歴との関連について、ロジスティック回帰分析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究計画は、鹿児島大学大学院医歯学総合

研究科 疫学研究等倫理委員会、および産業医科大学倫理委員会の承認を得て実施した。また、実施にあつたては、厚生労働省と文部科学省の合同委員会による「疫学に関する倫理指針」を遵守して行い、結果に対してはプライバシーに十分に配慮した。

すべての対象者に文書と口頭で説明を行い、書面による同意を得た。

C. 研究結果

化学物質特異的 IgG 抗体の分布

今年度は、104 名(男性 46 名、女性 58 名)の血清を用いて、特異的 IgG 抗体の測定を行った。但し、AA、ED、HDI、MMA、TMA と GMA も含めて 12 種類すべての化学物質の測定を終了した者は 44 名である。

12 種類中 BADGE、PPD、FA、GA、AA、ED、HDI、MMA および GMA の 9 つの特異的 IgG 抗体は、8 割以上の対象者が陰性の判定であつた(±を含む)。一方、+++の判定が最も多かつた化学物質は PA であり、全体の 63%と半数以上を占めており、++の判定も 19%であつた。次いで+++判定が多かつたのは TDI と TMA で、いずれも全体の 9%に確認された(図 1)。

すべての対象者で測定が終了している 6 種の化学物質(BADGE、PA、TDI、PPD、FA、GA)について、特異的 IgG 抗体価の相対係数を検討したところ、統計学的に有意であつたのは、TDI と PA (Spearman 相関係数 0.43、調整後の P 値<0.001)、TDI と PPD(Spearman 相関係数 0.29、調整後の P 値 0.042)であつた(表 1)。

性・年齢・体格別

特異的 IgG 抗体の分布を男性と女性で比較したところ、有意差を認めたものは、抗 GA-IgG、抗 HDI-IgG および抗 TMA-IgG であり、いずれも女性において抗体価が高い傾向が認められた(表 2)。この傾向は、統計学的には有意ではないものの、BADGE や PPD などの他の特異的 IgG 抗体の分布においても認められる。

表 3 は、50 歳未満と 50 歳以上の 2 群に分けて、特異的 IgG 抗体の分布を比較した結果を示す。いずれの項目においても、年齢との有意な関連は認められなかったが、TDI と TMA において、50 歳未満群の抗体が高い傾向を示した(傾向性の P 値はいずれも 0.1)。

体格(肥満度)との関連については、明らか

に関連している特異的 IgG 抗体は認められなかった (表 4)。

生活習慣

現在喫煙の有無別に検討した結果を表 5 に示す。現在喫煙している者は、抗 BADGE-IgG および抗 AA-IgG が高い傾向を示したが、他の抗体においてはそのような傾向は認められなかった。

飲酒習慣および飲酒量と関連する特異的 IgG 抗体は認めなかった (表 6)。飲酒量が多い群 (ドリンクスコア 2 以上) で、抗 PA-IgG が高い傾向を示したが、統計学的有意差は認めなかった。

アルコールを摂取した時に“顔が真っ赤になる”ことは、アルコール脱水素酵素 (ADH) およびアルデヒド脱水素酵素 (ALDH) などのアルコール代謝酵素が欠損していることが多いことで知られている。“顔が真っ赤になることがない”と回答した群において、抗 PPD-IgG がやや高い傾向を認めたが、その他の特異的抗体については、そのような遺伝的素因と関連していなかった (表 7)。

緑茶の摂取状況との関連について表 8 に結果を示す。1 日 3 杯未満の摂取群において、抗 TDI-IgG が有意に高かった ($P=0.015$)。その他、統計学的に有意ではないものの、PA および TMA においても同様の傾向が認められた。一方、コーヒーやジュースなどのその他の嗜好飲料と特異的 IgG 抗体の分布との関連も検討したが、いずれの抗体においても有意な関連は認められなかった。

運動習慣との関連を示す特異的 IgG 抗体は認められなかった。

既往歴については、アレルギー疾患の既往歴との関連はなく (表 9)、高血圧、糖尿病、脂質異常症、循環器系疾患のいずれも関連は認めなかった。

化学物質への曝露との関連

日常生活および職場などにおいて、化学物質 (塩素系漂白剤、除草剤、殺虫剤、染料など) の使用について質問票で尋ねた結果との関連を検討したが、有意に関連する特異的 IgG 抗体はなかった。

総 IgG、炎症反応との関連

すべての対象者において抗体価を測定でき

た 6 種類の化学物質の中で、++以上の判定が比較的多かった PA (++以上 : 82%) と TDI (++以上 : 17%) の結果について、総 IgG 抗体、高感度 CRP および活性酸素との関連を検討した。PA、TDI とともに陽性群において、総 IgG 抗体がやや高い傾向を示したものの、統計学的に有意なものではなかった (図 2)。

血清中の高感度 CRP 値を比較したところ、PA 陰性群と比べて、PA 陽性群では高い傾向にあった (図 3-1、 $P=0.051$)。一方、TDI においては、陰性群と比べ、陽性群では CRP 値が低かった (図 3-2、 $P=0.035$)。

血清中の活性酸素を比較したところ、PA 陰性群と比べて、PA 陽性群で有意に高かった (図 4-1、 $P=0.040$)。活性酸素は TDI 陽性率とは関連していなかった (図 4-2)。

複数の特異的 IgG 抗体の保有

2 つ以上の特異的 IgG 抗体が強陽性 (+++) であった対象者は、104 名中 11 名 (11%) であり、すべて抗 PA-IgG 抗体が強陽性であった (表 10)。11 名中 8 名 (73%) が女性であり、抗 PA-IgG と抗 TDI-IgG が陽性であった者が最も多く、11 名中 9 名 (82%) であった。職業は事務職が 7 名と最も多く、次いで看護師が 2 名であった。日常生活で使用している化学物質は、塩素系漂白剤が 7 名と最も多かった。

多変量解析結果

ドットプロット法で++以上の判定割合が比較的多かった PA と TDI について、抗体陰性群 (+以下) と陽性群 (++) に分け、生活習慣、血液検査などの要因との関連について検討した。共変数として性・年齢を用いたロジスティック回帰分析結果を示す (表 11、表 12)。

抗 PA-IgG 抗体陽性リスクの検討を行ったが、いずれの項目において有意な関連を示すものはなかった (表 11)。また、抗 TDI-IgG 抗体においても同様に、有意な関連を示す要因はなかった (表 12)。

D. 考察

本研究は、一般住民を対象として、化学物質等への特異的 IgG 抗体の分布を把握し、関連する生活・環境要因について検討することを目的として行った。

今回、特異的抗体価を測定した 12 種類のほとんど 12 種類の中で BADGE、PPD、FA、GA、AA、

ED、HDI、MMA および GMA の 9 つの特異的 IgG 抗体は、8 割以上の対象者が陰性の判定であったが、PA 半数以上の 63%、TDI と TMA で 9% が強陽性 (+++) の判定であった。特に TDI と PA の抗体間には有意な相関が認められた (Spearman 相関係数 0.43、調整後の P 値 <0.001)。PA (無水フタル酸) はエポキシ樹脂の原料、TDI (トルエン-2, 4-ジイソシアネート) はウレタン樹脂の原料である。特にこの 2 つの物質への特異的 IgG 抗体価が高い者について、背景を検討したが、女性が多く、職業も事務職など、特に化学物質を扱う仕事に従事していると思われる者は認めなかった (表 10)。職業については、現在の職業のみしか確認していないが、塗料やプラスチック樹脂などの特定の化学物質の使用歴も尋ねており、それらの使用歴がある者はいなかった。また、日常生活で用いられる塩素系漂白剤、除草剤や染料 (髪染め) の使用の有無との関連も検討したが、いずれも有意に使用頻度が高いという傾向は認めなかった。11 名 3 名 (27%)

約 8 割の者が ++ 以上の判定で抗 PA-IgG 抗体を有していたため、非特異的反応の可能性を検討するために、総 IgG との関連をみたが、有意な関連は認めず (図 2-1、P=0.314)、相関傾向も見られなかった (P=0.835)。これらの結果は、カットオフ値を +++ としても同様であった。しかしながら、炎症関連バイオマーカーとの関連をみると、PA 陽性群では、陰性群と比べて、血清中の CRP 値および活性酸素が有意に高く (図 3-1、図 4-1)、生体内の炎症反応がある傾向が確認された。これらの結果より、ドットプロット法による抗 PA-IgG 陽性反応が非特異的反応である可能性は低いと考えられたが、その原因は職業性曝露によるものとは考えにくく、日常生活における何らかの環境曝露による可能性が考えられる。だが、今回質問票調査で把握した生活習慣や職業歴、化学物質の使用歴と有意に関連する項目はなく、今後の検討が必要である。

緑茶摂取量が多い群において、特異的 IgG 抗体価が低い傾向が示唆されたが (表 8、TDI:P=0.015)、ロジスティック回帰分析結果では有意ではなかった。

PA はフタル酸系可塑剤の原料と使用されることが最も多く、健康障害に関しては、吸入曝

露により喘息や慢性気管支炎などが報告されている。本研究においてもアレルギー疾患既往歴との関連を検討したが、抗 PA-IgG との関連は見られなかった (表 9、P=0.639)。今後は、臨床診断のみならず呼吸機能検査などの指標を組み合わせた検討が必要であると考ええる。

E. 結論

特定の化学物質への曝露原因がないと思われる一般集団において、12 種類の化学物質に対する特異的 IgG 抗体の分布を検討した結果、無水フタル酸に対して特異的抗体を有する割合が高い可能性が示唆された。日常生活における何らかの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。

参考文献

- Wernfors M. et al., Phthalic anhydride-induced occupational asthma. Int Arch Allergy Immunol 79, 77-82, 1986.
- Nielsen J. et al., Specific serum antibodies against phthalic anhydride in occupationally exposed subjects. J Allergy Clin Immunol 82, 126-33, 1988.

F. 健康危険情報

該当無し

G. 研究発表

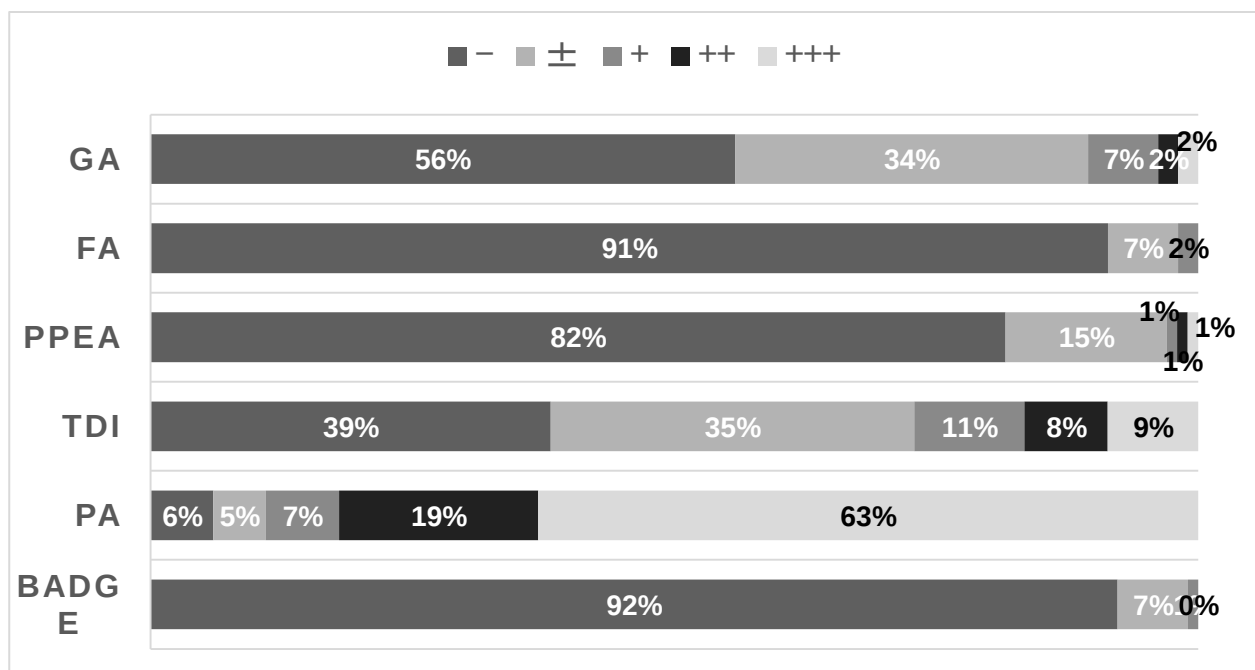
1. 論文発表 該当無し
2. 学会発表

郡山千早、上床太心、辻真弓、秋葉澄伯 緑茶飲用による血清脂質等への影響 (第 74 回 日本公衆衛生学会 11 月 4-6 日 長崎)

H. 知的財産権の出願・登録状況

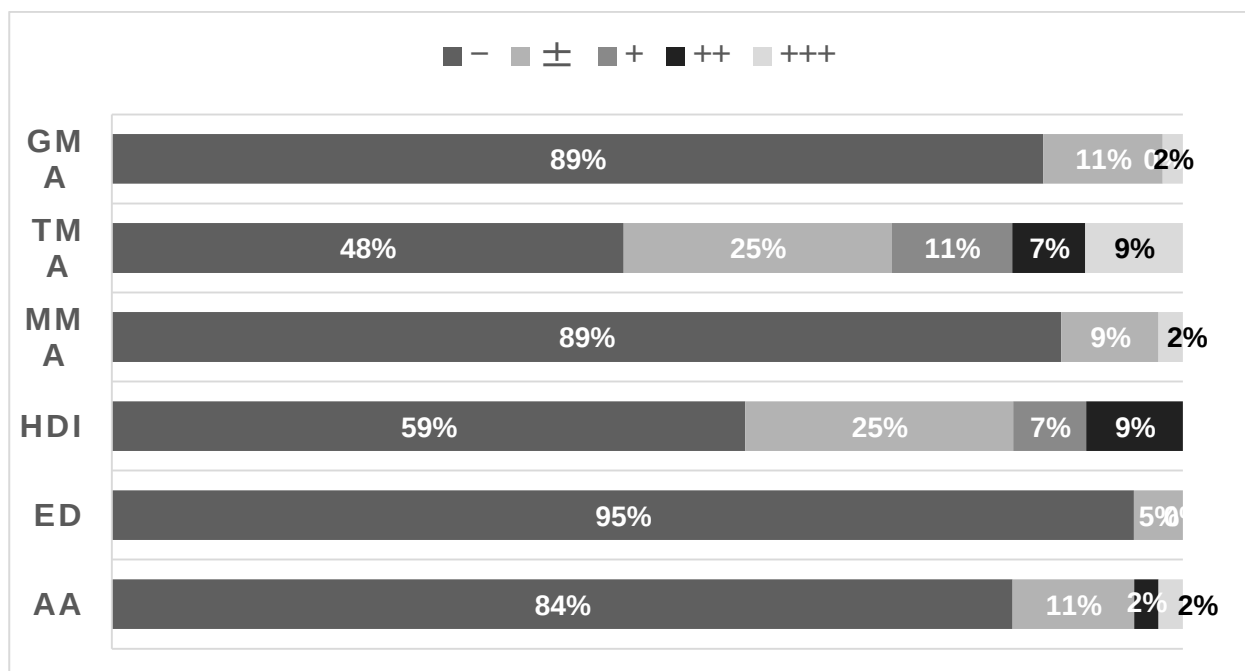
1. 特許取得 該当無し
2. 実用新案登録 該当無し
3. その他 該当無し

図 1-1 化学物質特異的 IgG 抗体の分布（104 名測定結果）



- : 陰性、± : <3.125、+ : 3.125-6.25、++ : 6.25-12.5、+++ : 12.5 以上

図 1-2 化学物質特異的 IgG 抗体の分布（44 名測定結果）



- : 陰性、± : <3.125、+ : 3.125-6.25、++ : 6.25-12.5、+++ : 12.5 以上

表 1 各 IgG 抗体間の相関 (Spearman 相関係数、104 例)

上段：Spearman 相関係数

下段：P 値

	BADGE	PA	TDI	PPD	FA	GA
BADGE	1.0000					
PA	0.1532 1.0000	1.0000				
TDI	0.0621 1.0000	0.4330 0.0001	1.0000			
PPD	-0.0465 1.0000	0.1742 1.0000	0.2903 0.0420	1.0000		
FA	0.1713 1.0000	0.1659 1.0000	0.0566 1.0000	0.1245 1.0000	1.0000	
GA	0.1618 1.0000	0.2124 0.4559	0.2279 0.2999	0.1769 1.0000	0.2031 0.5799	1.0000

表 2 化学物質特異的 IgG 抗体の分布（性別）

男性 46 名、女性 58 名中の割合

		(%)					<i>P value*</i>
化学物質	性	- (陰性)	+/-	+	++	+++	
BADGE	男性	97	3	0	0	0	0.068
	女性	87	11	2	0	0	
PA	男性	7	4	11	13	65	0.973
	女性	5	5	3	24	62	
TDI	男性	39	35	7	13	7	0.918
	女性	38	34	14	3	10	
PPD	男性	87	11	0	2	0	0.225
	女性	78	19	2	0	2	
FA	男性	91	7	2	0	0	0.984
	女性	91	7	2	0	0	
GA	男性	67	28	2	0	2	0.021
	女性	47	38	10	3	2	

*Mann-Whitney U test

男性 17 名、女性 27 名中の割合

		(%)					<i>P value*</i>
化学物質	性	- (陰性)	+/-	+	++	+++	
AA	男性	82	6	0	6	6	0.691
	女性	85	15	0	0	0	
ED	男性	94	6	0	0	0	0.738
	女性	96	4	0	0	0	
HDI	男性	82	6	6	6	0	0.029
	女性	44	37	7	11	0	
MMA	男性	82	18	0	0	0	0.335
	女性	93	4	0	0	4	
TMA	男性	71	12	6	6	6	0.039
	女性	33	33	15	7	11	
GMA	男性	94	6	0	0	0	0.369
	女性	85	15	0	0	0	

* Mann-Whitney U test

表 3 化学物質特異的 IgG 抗体の分布（年齢別：50 歳未満、50 歳以上）

50 歳未満 43 名、50 歳以上 61 名中の割合

化学物質	年齢	(%)					<i>P value*</i>	<i>P for trend</i>
		- (陰性)	+/-	+	++	+++		
BADGE	50 未満	93	7	0	0	0	0.802	0.637
	50 以上	92	7	2	0	0		
PA	50 未満	5	2	5	21	67	0.362	0.298
	50 以上	7	7	8	18	61		
TDI	50 未満	30	40	2	16	12	0.116	0.101
	50 以上	44	31	16	2	7		
PPD	50 未満	81	19	0	0	0	0.965	0.524
	50 以上	82	13	2	2	2		
FA	50 未満	88	9	2	0	0	0.371	0.646
	50 以上	93	5	2	0	0		
GA	50 未満	63	30	2	2	2	0.204	0.136
	50 以上	51	36	10	2	2		

* Mann-Whitney U test

50 歳未満 16 名、50 歳以上 28 名中の割合

化学物質	年齢	(%)					<i>P value*</i>	<i>P for trend</i>
		- (陰性)	+/-	+	++	+++		
AA	50 未満	81	13	0	6	0	0.701	0.473
	50 以上	86	11	0	0	4		
ED	50 未満	94	6	0	0	0	0.685	0.498
	50 以上	96	4	0	0	0		
HDI	50 未満	56	13	6	25	0	0.340	0.161
	50 以上	61	32	7	0	0		
MMA	50 未満	88	6	0	0	6	0.807	0.186
	50 以上	89	11	0	0	0		
TMA	50 未満	37	25	13	13	13	0.220	0.100
	50 以上	54	25	11	4	7		
GMA	50 未満	94	6	0	0	0	0.425	0.470
	50 以上	86	14	0	0	0		

* Mann-Whitney U test

表 4 化学物質特異的 IgG 抗体の分布（肥満度別：BMI25 未満、25 以上）

BMI25 未満 79 名、25 以上 25 名中の割合

化学物質	BMI	(%)					P value*	P for trend
		- (陰性)	+/-	+	++	+++		
BADGE	25 未満	91	8	1	0	0	0.424	0.586
	25 以上	96	4	0	0	0		
PA	25 未満	5	6	6	19	63	0.922	0.663
	25 以上	8	0	8	20	64		
TDI	25 未満	39	35	10	5	10	0.677	0.864
	25 以上	36	32	12	16	4		
PPD	25 未満	84	14	1	0	1	0.395	0.704
	25 以上	76	20	0	4	0		
FA	25 未満	91	6	3	0	0	0.870	0.158
	25 以上	92	8	0	0	0		
GA	25 未満	56	33	6	3	3	0.854	0.337
	25 以上	56	36	8	0	0		

* Mann-Whitney U test

BMI25 未満 37 名、25 以上 7 名中の割合

化学物質	BMI	(%)					P value*	P for trend
		- (陰性)	+/-	+	++	+++		
AA	25 未満	81	14	0	3	3	0.216	0.588
	25 以上	100	0	0	0	0		
ED	25 未満	95	5	0	0	0	0.534	0.693
	25 以上	100	0	0	0	0		
HDI	25 未満	68	22	0	11	0	0.012	0.926
	25 以上	14	43	43	0	0		
MMA	25 未満	89	8	0	0	3	0.816	0.515
	25 以上	86	14	0	0	0		
TMA	25 未満	49	24	11	5	11	0.904	0.356
	25 以上	43	29	14	14	0		
GMA	25 未満	92	8	0	0	0	0.122	0.897
	25 以上	71	29	0	0	0		

* Mann-Whitney U test

表 5 化学物質特異的 IgG 抗体の分布（喫煙習慣別：現在喫煙なし、あり）

現在喫煙なし 83 名、あり 21 名中の割合

化学物質	現在喫煙	- (陰性)	+/-	+	++	+++	(%)	P value*
BADGE	なし	95	5	0	0	0		0.027
	あり	81	14	5	0	0		
PA	なし	6	6	6	20	61		0.401
	あり	5	0	10	14	71		
TDI	なし	39	35	10	6	11		0.942
	あり	38	33	14	14	0		
PPD	なし	83	14	1	0	1		0.451
	あり	76	19	0	5	0		
FA	なし	92	7	1	0	0		0.842
	あり	90	5	5	0	0		
GA	なし	54	34	8	2	1		0.446
	あり	62	33	0	0	5		

* Mann-Whitney U test

現在喫煙なし 36 名、あり 8 名中の割合

化学物質	現在喫煙	- (陰性)	+/-	+	++	+++	(%)	P value*
AA	なし	89	11	0	0	0		0.044
	あり	63	13	0	13	13		
ED	なし	97	3	0	0	0		0.238
	あり	88	13	0	0	0		
HDI	なし	56	31	6	8	0		0.546
	あり	75	0	13	13	0		
MMA	なし	89	8	0	0	3		0.934
	あり	88	13	0	0	0		
TMA	なし	42	31	14	6	8		0.290
	あり	75	0	0	13	13		
GMA	なし	89	11	0	0	0		0.912
	あり	88	13	0	0	0		

* Mann-Whitney U test

表 6 化学物質特異的 IgG 抗体の分布（飲酒量別：ドリンクスコア 2 未満、2 以上）

ドリンクスコア 2 未満 54 名、2 以上 35 名中の割合

化学物質	ドリンク スコア	(%)					P value*
		- (陰性)	+/-	+	++	+++	
BADGE	2 未満	93	7	0	0	0	0.498
	2 以上	89	9	3	0	0	
PA	2 未満	7	6	6	26	56	0.116
	2 以上	3	3	11	9	74	
TDI	2 未満	44	30	9	9	7	0.410
	2 以上	34	37	9	9	11	
PPD	2 未満	83	13	0	2	2	0.534
	2 以上	77	23	0	0	0	
FA	2 未満	87	9	4	0	0	0.102
	2 以上	97	3	0	0	0	
GA	2 未満	48	37	7	4	4	0.056
	2 以上	66	31	3	0	0	

* Mann-Whitney U test

ドリンクスコア 2 未満 22 名、2 以上 14 名中の割合

化学物質	ドリンク スコア	(%)					P value*
		- (陰性)	+/-	+	++	+++	
AA	2 未満	82	9	0	5	5	0.689
	2 以上	86	14	0	0	0	
ED	2 未満	100	0	0	0	0	0.072
	2 以上	86	14	0	0	0	
HDI	2 未満	50	41	0	9	0	0.429
	2 以上	71	7	7	14	0	
MMA	2 未満	91	9	0	0	0	0.839
	2 以上	93	7	0	0	0	
TMA	2 未満	50	18	14	5	14	0.410
	2 以上	64	14	7	7	7	
GMA	2 未満	91	9	0	0	0	0.634
	2 以上	86	14	0	0	0	

* Mann-Whitney U test

表 7 化学物質特異的 IgG 抗体の分布（アルコール摂取による生体反応別：お酒を飲むと顔が真っ赤になる、ならない）

お酒で顔が真っ赤になる(flash)あり 17 名、なし 87 名中の割合

(%)

化学物質	flash	- (陰性)	+/-	+	++	+++	P value*
BADGE	なし	92	7	1	0	0	0.753
	あり	94	6	0	0	0	
PA	なし	7	5	6	17	66	0.489
	あり	0	6	12	29	53	
TDI	なし	39	32	11	9	8	0.857
	あり	35	47	6	0	12	
PPD	なし	78	18	1	1	1	0.034
	あり	100	0	0	0	0	
FA	なし	91	7	2	0	0	0.646
	あり	94	6	0	0	0	
GA	なし	54	36	6	2	2	0.488
	あり	65	24	12	0	0	

* Mann-Whitney U test

お酒で顔が真っ赤になる(flash)あり 6 名、なし 38 名中の割合

(%)

化学物質	flash	- (陰性)	+/-	+	++	+++	P value*
AA	なし	82	13	0	3	3	0.259
	あり	100	0	0	0	0	
ED	なし	95	5	0	0	0	0.570
	あり	100	0	0	0	0	
HDI	なし	61	29	3	8	0	0.313
	あり	50	0	33	17	0	
MMA	なし	89	8	0	0	3	0.686
	あり	83	17	0	0	0	
TMA	なし	50	29	8	5	8	0.159
	あり	33	0	33	17	17	
GMA	なし	89	11	0	0	0	0.663
	あり	83	17	0	0	0	

* Mann-Whitney U test

表 8 化学物質特異的 IgG 抗体の分布（緑茶摂取量別：1 日 3 杯未満、3 杯以上）

緑茶摂取：1 日 3 杯未満 45 名、3 杯以上 59 名中の割合

化学物質	緑茶 1 日	- (陰性)	+/-	+	++	+++	P value*
BADGE	3 杯未満	96	4	0	0	0	0.274
	3 杯以上	90	8	2	0	0	
PA	3 杯未満	7	0	4	18	71	0.138
	3 杯以上	5	8	8	20	58	
TDI	3 杯未満	24	44	7	7	18	0.015
	3 杯以上	49	27	14	8	2	
PPD	3 杯未満	78	20	0	0	2	0.390
	3 杯以上	85	12	2	2	0	
FA	3 杯未満	93	7	0	0	0	0.505
	3 杯以上	90	7	3	0	0	
GA	3 杯未満	58	33	7	2	0	0.642
	3 杯以上	54	34	7	2	3	

* Mann-Whitney U test

緑茶摂取：1 日 3 杯未満 18 名、3 杯以上 26 名中の割合

化学物質	緑茶 1 日	- (陰性)	+/-	+	++	+++	P value*
AA	3 杯未満	72	22	0	0	6	0.084
	3 杯以上	92	4	0	4	0	
ED	3 杯未満	94	6	0	0	0	0.791
	3 杯以上	96	4	0	0	0	
HDI	3 杯未満	67	17	0	17	0	0.598
	3 杯以上	54	31	12	4	0	
MMA	3 杯未満	83	11	0	0	6	0.340
	3 杯以上	92	8	0	0	0	
TMA	3 杯未満	33	33	17	6	11	0.184
	3 杯以上	58	19	8	8	8	
GMA	3 杯未満	89	11	0	0	0	0.965
	3 杯以上	88	12	0	0	0	

* Mann-Whitney U test

表 9 化学物質特異的 IgG 抗体の分布（アレルギー疾患既往歴別）

アレルギー疾患既往あり 35 名、なし 69 名中の割合

化学物質	アレルギー疾患	(%)					P value*
		- (陰性)	+/-	+	++	+++	
BADGE	なし	96	3	1	0	0	0.080
	あり	86	14	0	0	0	
PA	なし	4	3	10	22	61	0.639
	あり	9	9	0	14	69	
TDI	なし	41	33	9	9	9	0.653
	あり	34	37	14	6	9	
PPD	なし	81	14	1	1	1	0.762
	あり	83	17	0	0	0	
FA	なし	90	7	3	0	0	0.433
	あり	94	6	0	0	0	
GA	なし	55	32	7	3	3	0.612
	あり	57	37	6	0	0	

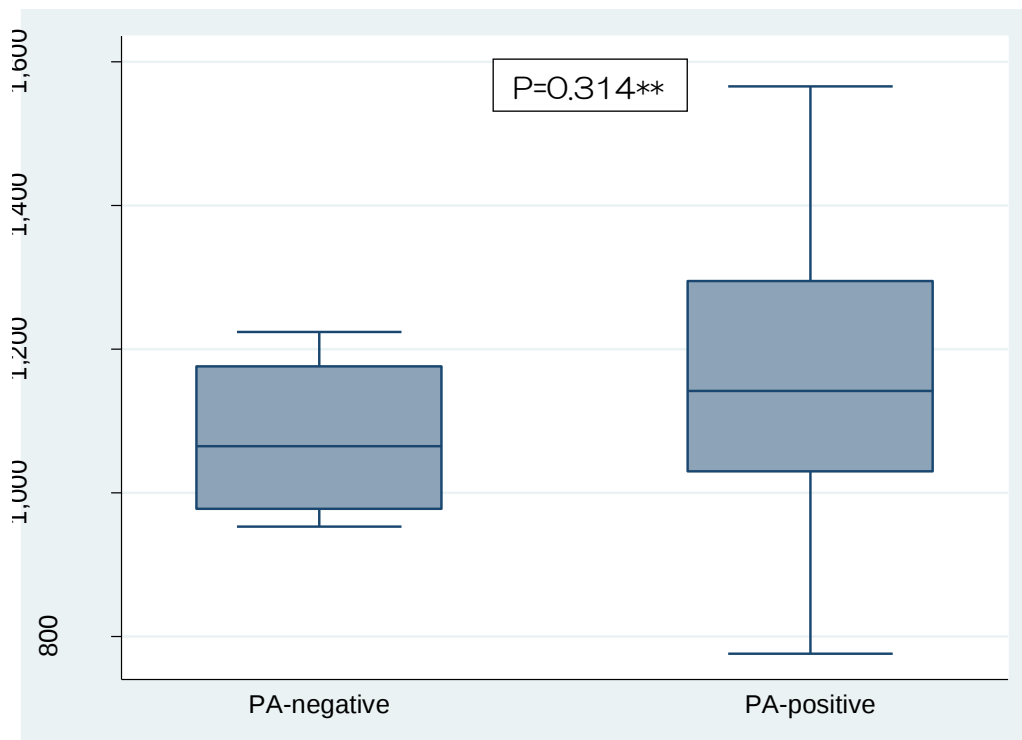
* Mann-Whitney U test

アレルギー疾患既往あり 17 名、なし 27 名中の割合

化学物質	アレルギー疾患	(%)					P value*
		- (陰性)	+/-	+	++	+++	
AA	なし	93	4	0	4	0	0.061
	あり	71	24	0	0	6	
ED	なし	96	4	0	0	0	0.738
	あり	94	6	0	0	0	
HDI	なし	59	19	7	15	0	0.652
	あり	59	35	6	0	0	
MMA	なし	89	7	0	0	4	0.983
	あり	88	12	0	0	0	
TMA	なし	44	22	7	11	15	0.262
	あり	53	29	18	0	0	
GMA	なし	93	7	0	0	0	0.303
	あり	82	18	0	0	0	

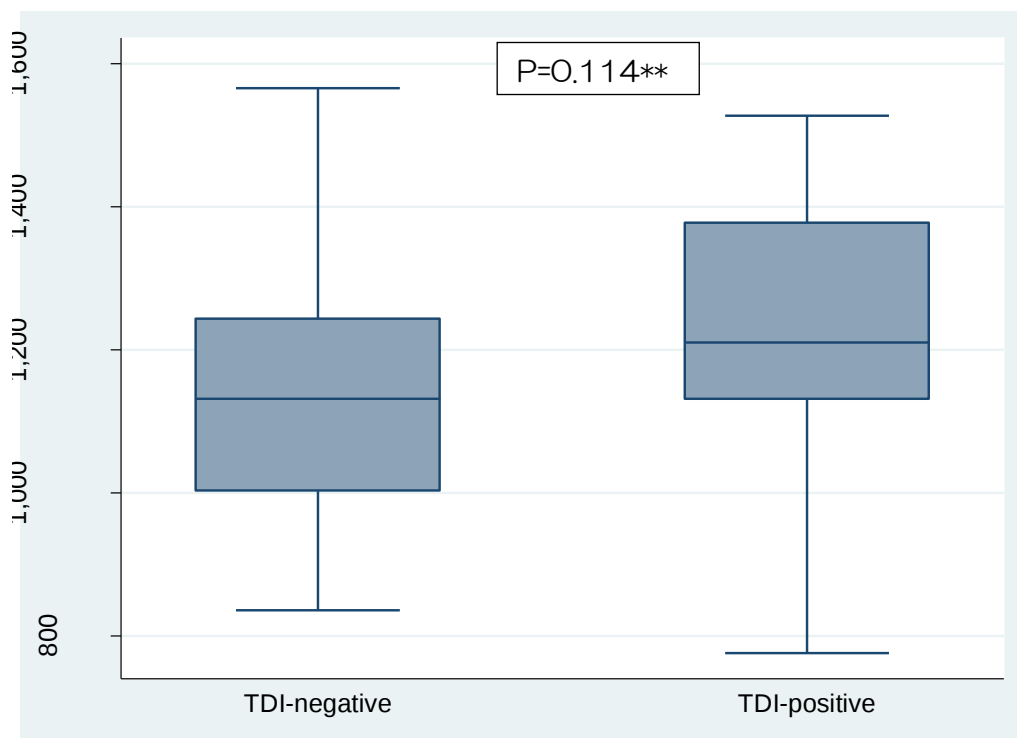
* Mann-Whitney U test

図 2-1 総 IgG 抗体の分布 (PA 抗体価別)



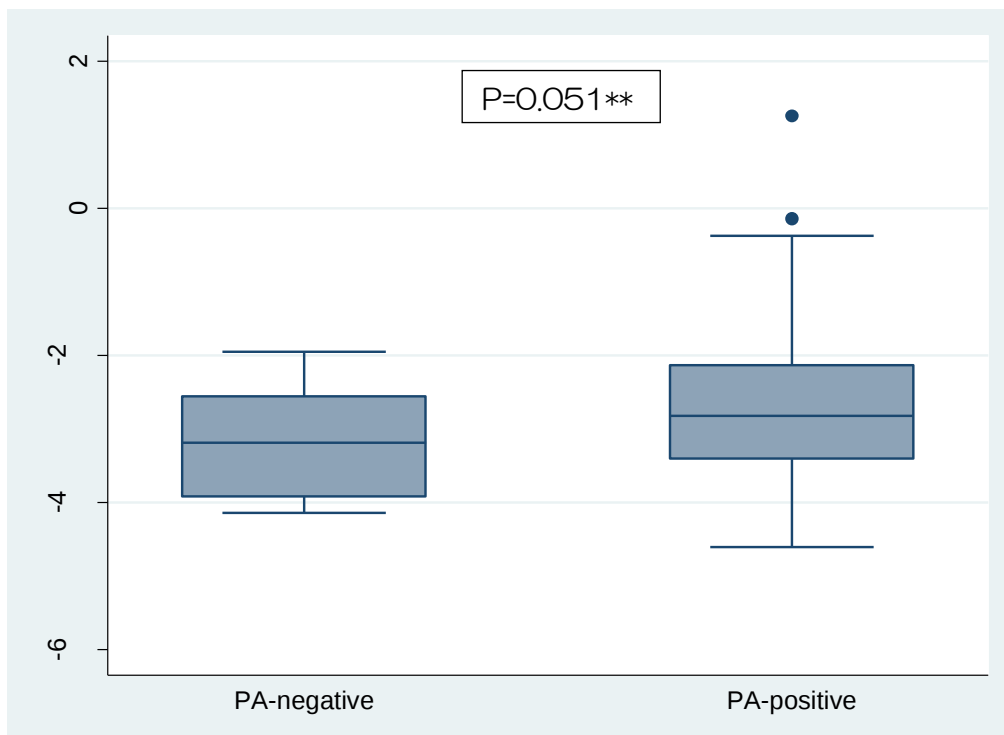
*PA-positive: ++以上、**Mann-Whitney U test

図 2-2 総 IgG 抗体の分布 (TDI 抗体価別)



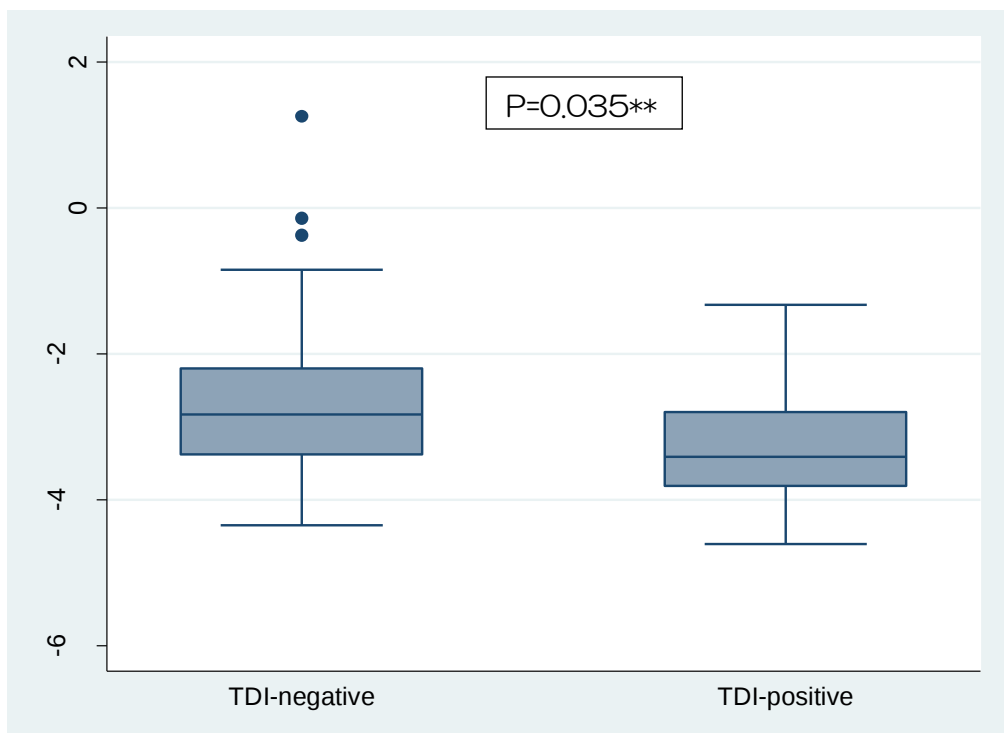
*TDI-positive: ++以上、**Mann-Whitney U test

図 3-1 高感度 CRP 値の分布（PA 抗体価別）



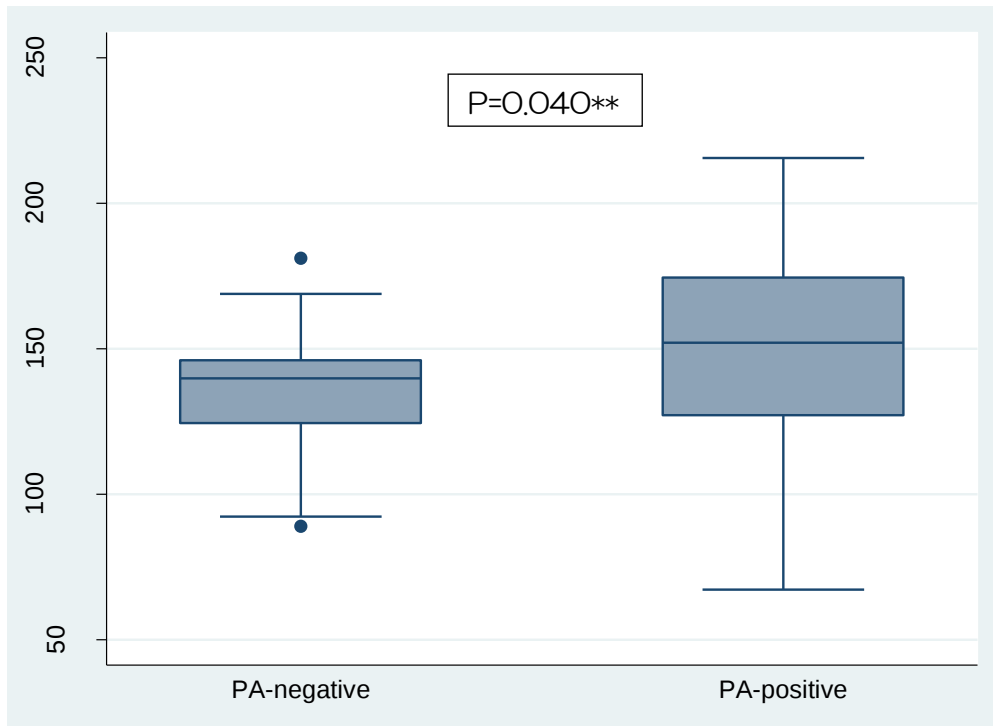
*PA-positive: ++以上、**Mann-Whitney U test

図 3-2 高感度 CRP 値の分布（TDI 抗体価別）



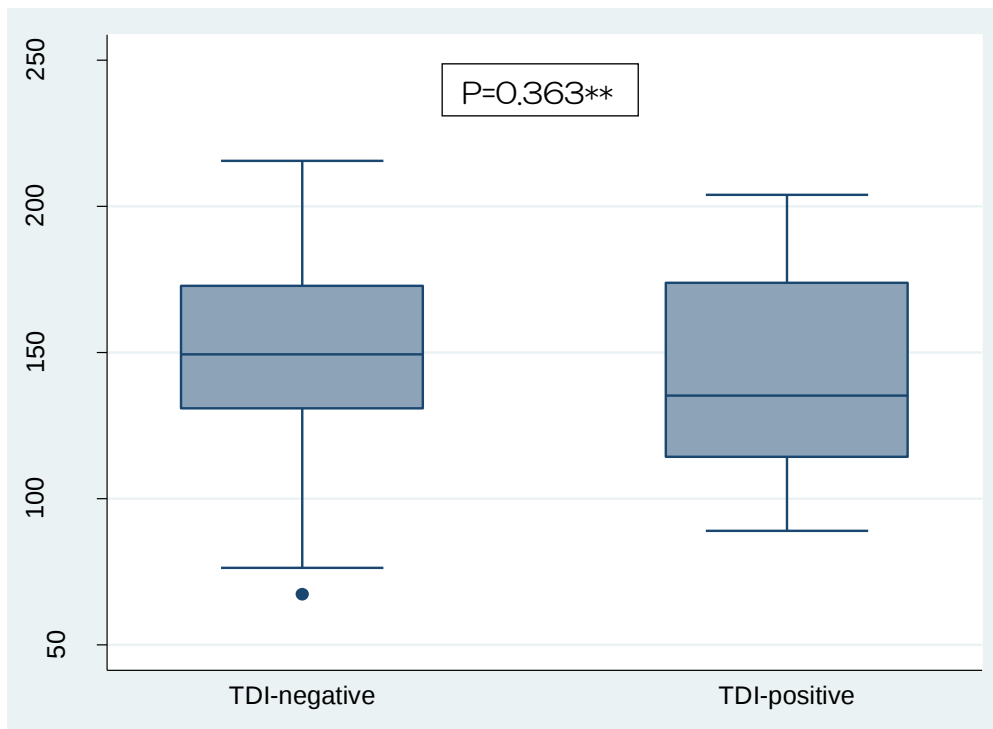
*TDI-positive: ++以上、**Mann-Whitney U test

図 4-1 血清 ROS の分布（PA 抗体価別）



*PA-positive: ++以上、**Mann-Whitney U test

図 4-2 血清 ROS の分布（TDI 抗体価別）



*PA-positive: ++以上、**Mann-Whitney U test

表 10 2つ以上の特異的 IgG 抗体が強陽性（+++）を示した対象者

性	年齢	職業	喫煙	除草剤	殺虫剤	塩素系 漂白洗剤	染料 (髪染め)	アレルギー疾患既往歴	陽性（+++）を示した特 異的 IgG 抗体
女性	23 歳	事務職	吸わない	なし	なし	なし	なし	なし	PA, TDI
女性	29 歳	事務職	吸わない	なし	なし	なし	あり	なし	PA, TDI
女性	31 歳	事務職	吸わない	なし	なし	なし	なし	なし	PA, TDI
女性	43 歳	看護師	吸わない	あり	あり	あり	あり	あり	PA, TDI
女性	50 歳	事務職	吸わない	なし	あり	あり	なし	なし	PA, PPD
女性	52 歳	無職	吸わない	なし	なし	あり	あり	なし	PA, TDI
女性	58 歳	看護師	吸わない	なし	なし	あり	なし	あり	PA, TDI
女性	63 歳	事務職	吸わない	あり	あり	あり	あり	なし	PA, GA
男性	27 歳	事務職	吸わない	なし	なし	あり	なし	あり	PA, TDI
男性	55 歳	事務職	やめた	なし	なし	あり	あり	なし	PA, TDI
男性	58 歳	団体職員	やめた	あり	なし	なし	なし	なし	PA, TDI

表 11-1 無水フタル酸 (PA) 特異的抗体価の分布と血液検査および生活習慣・環境要因との関連

		PA 特異的抗体価		オッズ比*	95%信頼区間*	P 値*
		人数 (%)	<6.25 ≥6.25			
性						
	男性	46 (100)	10 (22) 36 (78)	0.51	0.18-1.48	
	女性	58 (100)	8 (14) 50 (86)	1.0	(ref)	
肥満度 (BMI)						
	25 未満	79 (100)	14 (18) 65 (82)	1.0	(ref)	P for trend = 0.149
	25~	25 (100)	4 (16) 21 (84)	1.38	0.39-4.90	
中性脂肪値 (mg/dL)						
	150 未満	82 (100)	14 (17) 68 (83)	1.0	(ref)	P for trend = 0.455
	150~	13 (100)	2 (15) 11 (85)	1.39	0.27-7.16	
	200~	9 (100)	2 (22) 7 (78)	0.96	0.17-5.41	
HDL コレステロール値 (mg/dL)						
	40 未満	10 (100)	1 (10) 9 (90)	2.72	0.31-24.2	P for trend = 0.346
	40 以上	94 (100)	17 (18) 77 (82)	1.0	(ref)	
LDL コレステロール値 (mg/dL)						
	140 未満	85 (100)	14 (16) 71 (84)	1.0	(ref)	P for trend = 0.801
	140 以上	19 (100)	4 (21) 15 (79)	0.66	0.18-2.40	
ヘモグロビン A _{1c} (%)						
	6.2 未満	102 (100)	18 (18) 84 (82)	1.0	(ref)	P for trend = 0.514
	6.2 以上	2 (100)	0 (0) 2 (100)	-	-	

*年齢を共変数とした多変量ロジスティック回帰分析結果

表 11-2 無水フタル酸 (PA) 特異的抗体価の分布と血液検査および生活習慣・環境要因との関連 (続き)

		PA 特異的抗体価		オッズ比*	95%信頼区間*	P 値*
	人数 (%)	<6.25	≥6.25			
喫煙習慣						
吸わない	62 (100)	10 (16)	52 (84)	1.0	(ref)	P for trend = 0.287
やめた	21 (100)	5 (24)	16 (76)	1.20	0.23-6.37	
吸う	21 (100)	3 (14)	18 (86)	2.12	0.32-13.9	
飲酒習慣						
飲まない	19 (100)	1 (5)	18 (95)	1.0	(ref)	P for trend = 0.287
付き合い程度	44 (100)	8 (18)	36 (82)	0.24	0.03-2.10	
1-4 回/週	20 (100)	4 (20)	16 (80)	0.23	0.02-2.41	
5 回以上/週	21 (100)	5 (24)	16 (76)	0.20	0.02-2.22	
ドリンクスコア						
1 未満	25 (100)	2 (8)	23 (92)	1.0	(ref)	P for trend = 0.491
1 以上 2 未満	29 (100)	8 (28)	21 (72)	0.24	0.04-1.31	
2 以上 4 未満	20 (100)	2 (10)	18 (90)	0.99	0.11-8.56	
4 以上	15 (100)	4 (27)	11 (73)	0.24	0.03-1.84	
緑茶摂取量 (1 日あたり)						
3 杯未満	45 (100)	5 (11)	40 (89)	1.0	(ref)	P for trend = 0.202
3 杯以上	59 (100)	13 (22)	46 (78)	0.41	0.13-1.36	

*性・年齢を共変数とした多変量ロジスティック回帰分析結果

表 11-3 無水フタル酸 (PA) 特異的抗体価の分布と血液検査および生活習慣・環境要因との関連 (続き)

		PA 特異的抗体価		オッズ比*	95%信頼区間*	P 値*
人数 (%)		<6.25	≥6.25			
コーヒー摂取量 (1 日あたり)						
あまり飲まない	49 (100)	9 (18)	40 (82)	1.0	(ref)	P for trend = 0.537
3 杯未満	47 (100)	7 (15)	40 (85)	1.46	0.46-4.59	
3 杯以上	7 (100)	1 (14)	6 (86)	1.47	0.15-14.3	
ジュース等の甘い飲み物						
飲まない	78 (100)	16 (21)	62 (79)	1.0	(ref)	0.217
1 本	19 (100)	1 (5)	18 (95)	4.73	0.57-39.2	
2 本以上	7 (100)	1 (14)	6 (86)	1.76	0.19-16.5	
運動習慣 (週 2 日以上、1 年以上継続)						
あり	24 (100)	5 (21)	19 (79)	1.0	(ref)	
なし	80 (100)	13 (16)	67 (84)	1.09	0.33-3.61	
高コレステロールの指摘						
あり	34 (100)	6 (18)	28 (82)	1.09	0.35-3.41	
なし	70 (100)	12 (17)	58 (83)	1.0	(ref)	
高血糖の指摘						
あり	18 (100)	2 (11)	16 (89)	2.00	0.41-9.76	
なし	86 (100)	16 (19)	70 (81)	1.0	(ref)	
アレルギー性疾患の既往						
あり	35 (100)	6 (17)	29 (83)	0.98	0.33-2.92	
なし	69 (100)	12 (17)	57 (83)	1.0	(ref)	

*性・年齢を共変数とした多変量ロジスティック回帰分析結果

表 12-1 トルエン-2,4-ジイソシアネート (TDI) 特異的抗体価の分布と血液検査および生活習慣・環境要因との関連

		TDI 特異的抗体価			オッズ比*	95%信頼区間*	P 値*
		人数 (%)	<6.25	≥6.25			
性	男性	46 (100)	37 (80)	9 (20)	1.35	0.46-3.92	
	女性	58 (100)	50 (86)	8 (14)	1.0	(ref)	
肥満度 (BMI)							P for trend = 0.637
	25 未満	79 (100)	67 (85)	12 (15)	1.0	(ref)	
	25～	25 (100)	20 (80)	5 (20)	1.86	0.54-6.36	
中性脂肪値 (mg/dL)							P for trend = 0.965
	150 未満	82 (100)	69 (84)	13 (16)	1.0	(ref)	
	150～	13 (100)	11 (85)	2 (15)	1.20	0.22-6.56	
	200～	9 (100)	7 (78)	2 (22)	2.62	0.42-16.3	
HDL コレステロール値 (mg/dL)							P for trend = 0.205
	40 未満	10 (100)	7 (70)	3 (30)	2.58	0.53-12.7	
	40 以上	94 (100)	80 (85)	14 (15)	1.0	(ref)	
LDL コレステロール値 (mg/dL)							P for trend = 0.327
	140 未満	85 (100)	71 (84)	14 (16)	1.0	(ref)	
	140 以上	19 (100)	16 (84)	3 (16)	1.27	0.30-5.33	
ヘモグロビン A _{1c} (%)							P for trend = 0.869
	6.2 未満	102 (100)	85 (83)	17 (17)	1.0	(ref)	
	6.2 以上	2 (100)	2 (100)	0 (0)	-	-	

*年齢を共変数とした多変量ロジスティック回帰分析結果

表 12-2 トルエン-2,4-ジイソシアネート (TDI) 特異的抗体価の分布と血液検査および生活習慣・環境要因との関連 (続き)

		TDI 特異的抗体価		オッズ比*	95%信頼区間*	P 値*
	人数 (%)	<6.25	≥6.25			
喫煙習慣						
吸わない	62 (100)	52 (84)	10 (16)	1.0	(ref)	
やめた	21 (100)	17 (81)	4 (19)	0.62	0.12-3.30	
吸う	21 (100)	18 (86)	3 (14)	0.24	0.03-1.67	
飲酒習慣						
飲まない	19 (100)	18 (95)	1 (5)	1.0	(ref)	P for trend = 0.710
付き合い程度	44 (100)	34 (77)	10 (23)	4.39	0.49-39.0	
1-4 回/週	20 (100)	16 (80)	4 (20)	3.70	0.34-39.8	
5 回以上/週	21 (100)	19 (90)	2 (10)	1.18	0.09-16.2	
ドリンクスコア						
1 未満	25 (100)	22 (88)	3 (12)	1.0	(ref)	P for trend = 0.914
1 以上 2 未満	29 (100)	23 (79)	6 (21)	1.73	0.37-8.12	
2 以上 4 未満	20 (100)	15 (75)	5 (25)	2.19	0.40-11.8	
4 以上	15 (100)	13 (87)	2 (13)	0.73	0.10-5.52	
緑茶摂取量 (1 日あたり)						
3 杯未満	45 (100)	34 (76)	11 (24)	1.0	(ref)	P for trend = 0.268
3 杯以上	59 (100)	53 (90)	6 (10)	0.51	0.16-1.62	

*性・年齢を共変数とした多変量ロジスティック回帰分析結果

表 12-3 トルエン-2,4-ジイソシアネート (TDI) 特異的抗体価の分布と血液検査および生活習慣・環境要因との関連 (続き)

		TDI 特異的抗体価		オッズ比*	95%信頼区間*	P 値*
人数 (%)		<6.25	≥6.25			
コーヒー摂取量（1 日あたり）						
あまり飲まない	49 (100)	42 (86)	7 (14)	1.0	(ref)	P for trend = 0.848
3 杯未満	47 (100)	38 (81)	9 (19)	1.16	0.37-3.66	
3 杯以上	7 (100)	6 (86)	1 (14)	1.06	0.10-10.8	
ジュース等の甘い飲み物						
飲まない	78 (100)	66 (85)	12 (15)	1.0	(ref)	0.870
1 本	19 (100)	5 (79)	4 (21)	1.10	0.30-4.12	
2 本以上	7 (100)	6 (86)	1 (14)	0.59	0.06-5.90	
運動習慣（週 2 日以上、1 年以上継続）						
あり	24 (100)	21 (88)	3 (13)	1.0	(ref)	
なし	80 (100)	66 (83)	14 (18)	1.26	0.31-5.17	
高コレステロールの指摘						
あり	34 (100)	28 (82)	6 (18)	1.89	0.56-6.30	
なし	70 (100)	59 (84)	11 (16)	1.0	(ref)	
高血糖の指摘						
あり	18 (100)	18 (100)	0 (0)	-	-	
なし	86 (100)	69 (80)	17 (20)	1.0	(ref)	
アレルギー性疾患の既往						
あり	35 (100)	30 (86)	5 (14)	0.71	0.22-2.29	
なし	69 (100)	57 (83)	12 (17)	1.0	(ref)	

*性・年齢を共変数とした多変量ロジスティック回帰分析結果

日常生活における化学物質曝露が 総 IgE・IgG 抗体に及ぼす影響

分担研究者 太田 雅規 福岡女子大学国際文理学部食・健康学科（公衆衛生学研究室）教授

研究要旨

一般人を対象として、日常生活における化学物質曝露の有無や曝露経路とアレルギー症状、総・特異的 IgG・IgE 抗体との関連性を横断研究として検証することを目的とした。本分担研究では、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・IgG 抗体との関連性を検証した。その結果、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。また、化学物質曝露については、化学物質曝露がない方がある群よりも総 IgG 抗体が有意に低値であった。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。以上から、IgE 抗体の検証を行うに当たっては、飲酒習慣や喫煙習慣について層別化するか、あるいは補正に加えるなど、交絡要因としての補正が必要であると考えられた。本結果の解釈には特異的 IgE・IgG 抗体での更なる検証を必要とする。

分担研究者

川本 俊弘 産業医科大学 医学部 産業衛生学
土屋 卓人 産業医科大学 医学部 産業衛生学

A. 研究目的

エポキシ樹脂、ウレタン樹脂等の樹脂（プラスチック）の原料は、ここ 30 年増加しており、例えば 2011 の年間生産量は 1,159 万トンに上っている。樹脂の生産量の増加は労働現場における使用量の増加と直結しており、樹脂作業者のアレルギー疾患の増加が危惧されている。2008 年にはエポキシ樹脂原料が原因のアレルギー性皮膚炎がエポキシ樹脂作業従事者 8 名（19 名中）に発症した労災事例も報告されている。

合成樹脂（プラスチック）は様々な化学物質を用いて生成されており、どの化学物質が労働者のアレルギーの原因物質（アレルゲン）か、問診や症状のみで決定することは難しい。また症状の経過を客観的に判定するためのツールも存在していない。特に樹脂原料として常に新規化学物質が開発され、使用現場や労働衛生行政、医療現場はそれに対応できていない状況である。

近年 IgG 抗体が曝露の指標になりうることや抗原への曝露の機会を減少させると特異的 IgG 抗体・IgG/IgE 比の減少がおけると報告がある¹⁻³⁾。今回我々は産業医科大学医学部産業衛生学

講座が開発した特異的 IgG・IgE 抗体検出法を用いて、化学物質曝露とアレルギー症状、抗体との関連について分子疫学研究を行った。

本分担研究においては、上記の分子疫学研究の一環として、一般人を対象とし、日常生活における化学物質曝露の有無や曝露経路とアレルギー症状、総・特異的 IgG・IgE 抗体との関連性について横断研究として検証することを目的とした。

なお、今年度の報告では、日常生活における化学物質曝露と総 IgE・IgG 抗体との関連を中心に報告する。特異的 IgG 抗体についての検証は分担研究者の土屋の報告書を参照されたい。

B. 研究方法

1. 方法の概要

自記式質問票を用いて、喫煙歴、飲酒歴といった生活習慣の他、化学物質曝露情報として、塩素系漂白剤、殺虫剤、染料（髪染め）、ネイル、有機溶剤、ホルムアルデヒド、樹脂、その他の使用の有無を尋ねた。また、近年、手軽に扱えるようになっている紫外線硬化樹脂であるネイルに着目し、ネイル（ペディキュアを含む）使用に関しては、使用期間等も含め詳細に質問した。

自記式質問票調査と同時に採血を行い、総・特異的 IgE・IgG 抗体を測定する。得られた結果を用いて、化学物質曝露の有無やアレルギー症状と総・特異的 IgG・IgE 抗体との関連性を検証した。

2. 研究・解析対象者

対象は、F 大学および S 大学の教職員、20 歳以上の学生 82 名とした。学内掲示板等を利用して募集をかけた。対象者には、目的と内容を十分説明し、調査への参加とデータの使用に同意した者全てを対象とした。また、情報はすべて連結可能匿名、ID 化して管理・保存した。

3. 研究方法（調査内容等）

①アレルギー・日常生活についての質問紙調査（別添資料参照）

上記対象者に対し、別紙の質問紙調査を行った。

②総・特異的 IgG・IgE 抗体

上記対象者に対し、採血を行い産業医科大学医学部産業医学講座の開発した手法および外注検査で総・特異的 IgG・IgE 抗体を測定した。

③化学物質曝露やアレルギー症状と総・特異的 IgG・IgE 抗体との関連についての検証

以上の情報をもとに、化学物質曝露やアレルギー症状と総・特異的 IgG・IgE 抗体との関連について検証を行った。

4. 解析

82 名中男性 2 名は除外して集計、解析を行った。2 群比較には対応のない t 検定、3 群以上の場合は一元配置分散分析を用いた。解析は JMP Pro 12.2.0 を用い、データは平均±標準偏差で表した。

5. 倫理面への配慮

本研究は産業医科大学および福岡女子大学の倫理委員会(2015-03)にて承認を得て行われた。本人の自由意志で協力いただき、本研究の意義、目的、方法、不利益および危険性について説明文書を作成し文書および口頭で十分な説明を行い、同意をいただいた者のみを対象とした。なお、生体試料（血清）は連続可能匿名化した状態で産業医科大学医学部産業衛生学のフリーザーに保管している。

C. 研究結果

1. 対象者の特性（表 1）

平均年齢 23.5±6.4 歳、総 IgE 抗体 393.6±825.4 IU/ml、総 IgG 抗体 1248.2±210.3 mg/dl であった。

2. アレルギー疾患と総 IgE・IgG 抗体

気管支喘息やアレルギー性鼻炎、花粉症、アトピー性皮膚炎、食物アレルギーなどのアレルギー疾患をもつ者（既往も含む）は 80 名中 52 名であった。アレルギー疾患の内訳を表 2 に示す。

表 2 に示すとおり、アレルギー性鼻炎が最も多く、次いで花粉症、蕁麻疹、アレルギー性結膜炎、アトピー性皮膚炎の順となっている。今回の対象者では化学物質過敏症は 1 名であった。

次に、アレルギー疾患の有無による総 IgE・IgG 抗体の違いについて検証した（表 3）。その結果、アレルギー疾患のある群の方がいない群よりも総 IgG 抗体が高い傾向にあった（ $p=0.053$ ）。しかし、総 IgE 抗体については、有意な差を認めなかった（ $p=0.418$ ）。

更に、アレルギー疾患別に総 IgE・IgG 抗体の違いを検証したところ（表 4）、アトピー性皮膚炎のある群は、アレルギー性鼻炎に比べて総 IgE 抗体が高い傾向が見られたが、総 IgG 抗体についてはアレルギー疾患毎ではその有無で有意な差を認めなかった。

3. 化学物質曝露と総 IgE・IgG 抗体

表 5 に化学物質曝露の有無と総 IgE・IgG 抗体の違いを示す。表 5 が示すとおり、総 IgG 抗体は基準値内の範囲であるが（870-1800mg/dl）、化学物質曝露のある群の方が、ない群よりも有意に低いという結果であった（ $p=0.022$ ）。

さらに、化学物質ごとの解析を行ったところ（表 6-12）、塩素系漂白剤、染料、殺虫剤の使用の有無で総 IgE・IgG 抗体に有意な差を認めなかった。職場や学校内での化学物質の曝露として、有機溶剤やホルムアルデヒド、樹脂といった化学物質に曝露されているとの回答であったが、それらの有無と総 IgE・IgG 抗体に有意な差を認めなかった。

また、日常生活での化学物質曝露（塩素系漂白剤、染料、殺虫剤のいずれかの曝露）の有無と職場や学校内での化学物質（有機溶剤、ホルムアルデヒド、樹脂、その他の化学物質）の曝露の有無で、それぞれ総 IgE・IgG 抗体を比較したところ、日常生活での化学物質曝露がある群は、ない群に比べ有意に総 IgG 抗体が低いという結果であった（ $p=0.02$ ）。

4. ネイルの使用の有無と総 IgE・IgG 抗体

表 15 にネイルの使用の有無と総 IgE・IgG 抗体の違いを示す。ネイルを「現在している群」「以前ネイルをしていた群」「全くネイルをしたことがない群」の 3 群間に総 IgE・IgG 抗体レベルに有意な差を認めなかった。

また、「現在ネイルをしている群」において、ネイルをつける頻度と総 IgE・IgG 抗体を比較したところ、有意な差を認めなかった（図 1）。さらに、「以前ネイルをしていた群」において、ネイルをつけていた時期と総 IgE・IgG 抗体を比較した場合でも有意な差を認めなかった（図 2）。

5. 受動喫煙の有無と総 IgE・IgG 抗体

表 16 に受動喫煙の有無と総 IgE・IgG 抗体の違いを示す。表 16 からわかるように、受動喫煙の有無で有意な差を認めなかった。

6. 喫煙状況と総 IgE・IgG 抗体

「非喫煙」「過去喫煙」「現喫煙」の 3 群に分け、総 IgE・IgG 抗体を比較した（表 17）。その結果、「現喫煙群」は、「非喫煙群」や「過去喫煙群」よりも有意に総 IgE 抗体が高いことが示された。ただし、「過去喫煙群」および「現喫煙群」の人数が少ないため結果の解釈には注意を要する。

7. 飲酒状況と総 IgE・IgG 抗体

飲酒状況として、「やめた」「飲まない」「飲む」の 3 群に分け総 IgE・IgG 抗体の比較を行った（表 18）。その結果、「やめた」群は、「飲まない」群および「飲む」群と比べて有意に総 IgE 抗体が高いことが示された。ただし、喫煙状況と同様に、「やめた」群は N=2 と少ないため結果の解釈には注意を要する。

8. 呼吸器症状と総 IgE・IgG 抗体

呼吸器症状として、「息切れ」の有無、「咳や痰」の有無についての解析を行った（表 19, 20）。その結果、いずれの呼吸器症状においても、それらの有無と総 IgE および総 IgG 抗体に有意な差を認めなかった。

D. 考察

本分担研究では、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 との関連性を検証した。

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。また、化学物質曝露については、化学物質曝露がない方がある群よりも総 IgG 抗体が低いという結果であった。

アレルギー疾患により総 IgG 抗体やそのサブクラスが増加するとの報告はこれまでもなされている^{4,5)}。一方で、化学物質については、動物

実験において毒素の摂取で総 IgG 抗体が抑制されたとの報告や⁶⁾、ヒトにおける樹脂曝露では総 IgG 抗体が高いとの報告もある⁷⁾。アトピー性皮膚炎で総 IgG 抗体と IgG サブクラスの IgG4 抗体との関連を調べた横断研究では、IgG4 抗体はアトピー性皮膚炎で高値を示すが、7 割以上の症例で総 IgG 抗体は基準値の範囲内に収まっていたと報告している⁸⁾。今回、アレルギー疾患の有無と化学物質曝露の有無との間に総 IgG 抗体が逆の結果となったが、基準値内の範囲での差であった。今後、特異的 IgG 抗体の測定を行うことで更なる検証を行っていく必要がある。

本研究では、生活習慣として飲酒習慣および喫煙習慣に着目し、総 IgE・IgG 抗体についての解析も行った。その結果、受動喫煙の有無では有意な差を認めなかったが、「現喫煙群」は「非喫煙群」や「過去喫煙群」に比べ有意に総 IgE 抗体が高い結果であった。また、飲酒を「やめた群」は、「飲酒する群」や「飲酒しない群」よりも有意に総 IgE 抗体が高い結果であった。

飲酒習慣が総 IgE 抗体に与える影響についてはこれまでも多くの報告があり、Díaz らのレビューによると、慢性的なエタノール摂取それ自体が総 IgE 抗体の増加に関係していることが示唆されており、このことは、アルコールが抗原やアレルゲンとして作用するとも考えられると述べている⁹⁾。喫煙習慣と総 IgE 抗体についての報告もあり、いくつかの疫学研究で喫煙と総 IgE 抗体との関連性が示されている¹⁰⁾。ただし、現喫煙群・過去喫煙群や飲酒をやめた群の人数は非常に少ないため本分担研究の結果の解釈には注意を要する。

E. 結論

アレルギー疾患の有無や化学物質曝露の有無で総 IgE・IgG 抗体が変動する可能性が示唆された。今後、症例数を増やすとともに、特異的な IgE や IgG 抗体での更なる検証を必要とする。また、特異的 IgE 抗体の検証を行うに当たっては、飲酒習慣や喫煙習慣について、層別化するか、あるいは補正に加えるなど、交絡要因としての補正が必要であると考えられた。

参考文献

1. Pronk, et al. Am J Respir Crit Care Med 2007; 176: 1090-1097.
2. Wisnewski, et al. Ann Occup Hyg 2012; 56: 901-910.
3. Erwin, et al. Ann Allergy Asthma Immunol 2014; 112: 545-550.
4. Platts-Mills, et al. Lancet 2001; 357: 752-756.
5. Shakib, et al. British J Dermatol 2006; 97: 59-63.
6. Rasooly, et al. Food and Chemical Toxicology 1992; 30: 499-504.
7. Littorin, et al. Occup Environ Med 2000; 57: 396-405.
8. Merrett, et al. Clin Exp Immunol 1984;56:645.
9. Diaz, et al. Euro J Clin Nutrition 2002; 56(supple 3): S50-S53.
10. González-Quintela, et al. Frontiers in Bioscience 2002; 7: e234-244.

F. 健康危険情報

該当無し

G. 研究発表

- | | |
|---------|------|
| 1. 論文発表 | 該当無し |
| 2. 学会発表 | 該当無し |

H. 知的財産権の出願・登録状況

- | | |
|-----------|------|
| 1. 特許取得 | 該当無し |
| 2. 実用新案登録 | 該当無し |
| 3. その他 | 該当無し |

(表)

表 1 対象者の特性

	ベースライン (N=80)	
	平均	SD
年齢	23.5 ± 6.4	
総 IgE (IU/ml)	393.6 ± 825.4	
総 IgG (mg/dl)	1248.2 ± 210.3	

表 2 アレルギー性疾患の内訳

疾病	N
気管支喘息	8
アレルギー性鼻炎	16
花粉症	15
アトピー性皮膚炎	11
アレルギー性結膜炎	12
食物アレルギー	6
薬疹	2
蕁麻疹	14
接触性皮膚炎	5
シックハウス症候群	0
化学物質過敏症	1
その他のアレルギー疾患	8

表 3 アレルギー疾患の有無と総 IgE・IgG 抗体

	あり (N=50)		なし (N=30)		p 値
	平均	SD	平均	SD	
総 IgE (IU/ml)	451.9 ± 1001.8		296.5 ± 380.2		0.418
総 IgG (mg/dl)	1283.4 ± 208.2		1189.6 ± 203.8		0.053

表 4 アレルギー疾患別の解析結果

疾病	あり			なし		
	N	総 IgE (IU/ml)	総 IgG (mg/dl)	N	総 IgE (IU/ml)	総 IgG (mg/dl)
気管支喘息	8	389.0 ± 370.6	1282.0 ± 202.6	72	394.1 ± 862.9	1244.5 ± 212.2
アレルギー性鼻炎	16	439.3 ± 860.1	1297.0 ± 246.0	64	382.2 ± 823.1	1236.0 ± 200.7
花粉症	15	393.4 ± 680.5	1305.3 ± 180.2	65	393.6 ± 860.0	1235.0 ± 215.8
アトピー性皮膚炎	11	775.7 ± 1635.6 [¶]	1329.5 ± 200.1	69	332.7 ± 608.9	1235.3 ± 210.4
アレルギー性結膜炎	12	712.3 ± 1581.1	1270.2 ± 185.6	68	337.3 ± 609.5	1244.3 ± 215.4
食物アレルギー	6	372.8 ± 272.7	1245.5 ± 227.1	74	395.3 ± 855.7	1248.4 ± 210.5
薬疹	2	60.8 ± 68.2	1286.0 ± 113.1	78	402.1 ± 834.3	1247.2 ± 212.5
蕁麻疹	14	720.2 ± 1496.2	1240.3 ± 176.3	66	324.3 ± 593.7	1249.9 ± 218.0
接触性皮膚炎	5	114.8 ± 101.6	1253.4 ± 112.8	75	412.2 ± 849.2	1247.9 ± 215.7
シックハウス症候群	0			80	393.6 ± 825.4	1248.2 ± 210.3
化学物質過敏症	1	24.2	1214.0	79	398.3 ± 829.6	1248.6 ± 211.6
その他のアレルギー疾患	8	217.2 ± 327.1	1356.9 ± 203.3	72	413.2 ± 862.3	1236.1 ± 208.9

あり vs なし, [¶]: p < 0.1

表 5 化学物質曝露の有無と総 IgE・IgG 抗体

	あり (N=56)		なし (N=24)		p 値
	平均	SD	平均	SD	
総 IgE (IU/ml)	420.2 ± 911.0		331.5 ± 591.4		0.663
総 IgG (mg/dl)	1213.1 ± 183.2		1330.1 ± 248.3		0.022

表 6 塩素系漂白剤の使用の有無と総 IgE・IgG 抗体

	あり (N=28)		なし (N=52)		p 値
	平均	SD	平均	SD	
総 IgE (IU/ml)	392.2	± 710.5	394.3	± 887.8	0.446
総 IgG (mg/dl)	1223.6	± 145.9	1261.5	± 238.2	0.975

表 7 染料の使用の有無と総 IgE・IgG 抗体

	あり (N=27)		なし (N=53)		p 値
	平均	SD	平均	SD	
総 IgE (IU/ml)	270.3	± 402.5	456.4	± 970.6	0.344
総 IgG (mg/dl)	1201.8	± 137.7	1271.8	± 236.7	0.264

表 8 殺虫剤の使用の有無と総 IgE・IgG 抗体

	あり (N=6)		なし (N=74)		p 値
	平均	SD	平均	SD	
総 IgE (IU/ml)	329.0	± 293.6	398.8	± 855.0	0.844
総 IgG (mg/dl)	1188.3	± 144.3	1253.1	± 214.7	0.472

表 9 有機溶剤の使用の有無と総 IgE・IgG 抗体

	あり (N=20)		なし (N=60)		p 値
	平均	SD	平均	SD	
総 IgE (IU/ml)	490.7	± 1237.8	361.2	± 643.9	0.547
総 IgG (mg/dl)	1262.2	± 223.8	1243.6	± 207.4	0.735

表 10 ホルムアルデヒドの使用の有無と総 IgE・IgG 抗体

	あり (N=5)		なし (N=75)		p 値
	平均	SD	平均	SD	
総 IgE (IU/ml)	85.1	± 101.7	414.2	± 848.5	0.391
総 IgG (mg/dl)	1251.0	± 234.8	1248.0	± 210.3	0.976

表 11 樹脂の使用の有無と総 IgE・IgG 抗体

	あり (N=3)		なし (N=77)		p 値
	平均	SD	平均	SD	
総 IgE (IU/ml)	182.1	± 270.4	401.8	± 839.3	0.654
総 IgG (mg/dl)	1310.7	± 103.0	1245.8	± 213.4	0.603

表 12 その他の化学物質の使用の有無と総 IgE・IgG 抗体

	あり (N=2)		なし (N=78)		p 値
	平均	SD	平均	SD	
総 IgE (IU/ml)	21.9	± 9.5	403.1	± 833.9	0.522
総 IgG (mg/dl)	1158.5	± 178.9	1250.5	± 211.5	0.545

表 13 日常生活での化学物質曝露の有無と総 IgE・IgG 抗体

	あり (N=47)		なし (N=33)		p 値
	平均	SD	平均	SD	
総 IgE (IU/ml)	343.5	± 609.1	465.0	± 1067.6	0.520
総 IgG (mg/dl)	1204.1	± 137.7	1311.0	± 273.9	0.024

表 14 職場あるいは学校内での化学物質曝露の有無と総 IgE・IgG 抗体

	あり (N=23)		なし (N=57)		p 値
	平均	SD	平均	SD	
総 IgE (IU/ml)	441.4	± 1158.4	374.3	± 657.8	0.744
総 IgG (mg/dl)	1270.2	± 225.6	1239.3	± 205.2	0.556

表 15 ネイルの有無と総 IgE・IgG 抗体

	している (N=42)		以前した (N=33)		全くなし (N=5)		p 値
	平均	SD	平均	SD	平均	SD	
総 IgE (IU/ml)	435.9	± 1064.0	352.9	± 433.2	306.7	± 554.8	0.887
総 IgG (mg/dl)	1247.8	± 213.3	1256.2	± 209.4	1199.0	± 229.4	0.854

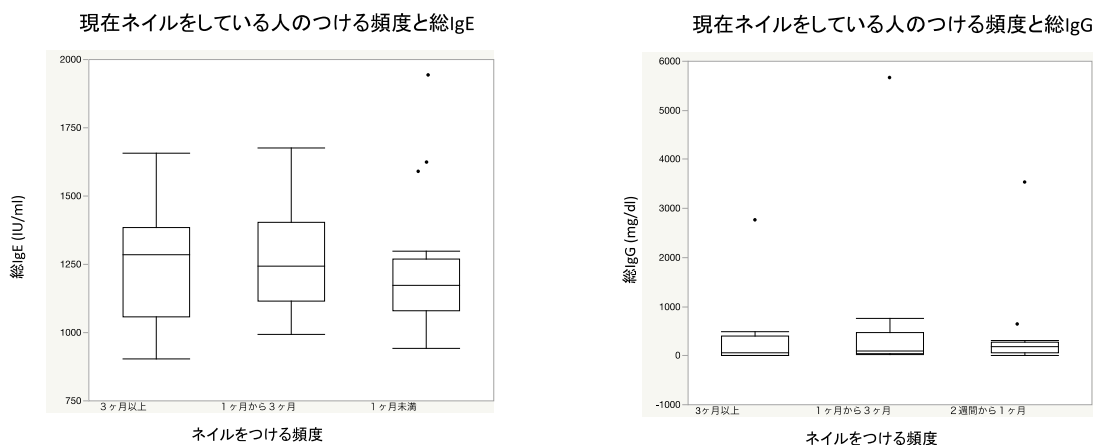


図 1 現在ネイルをつけている人の頻度と総 IgE・IgG 抗体との関係

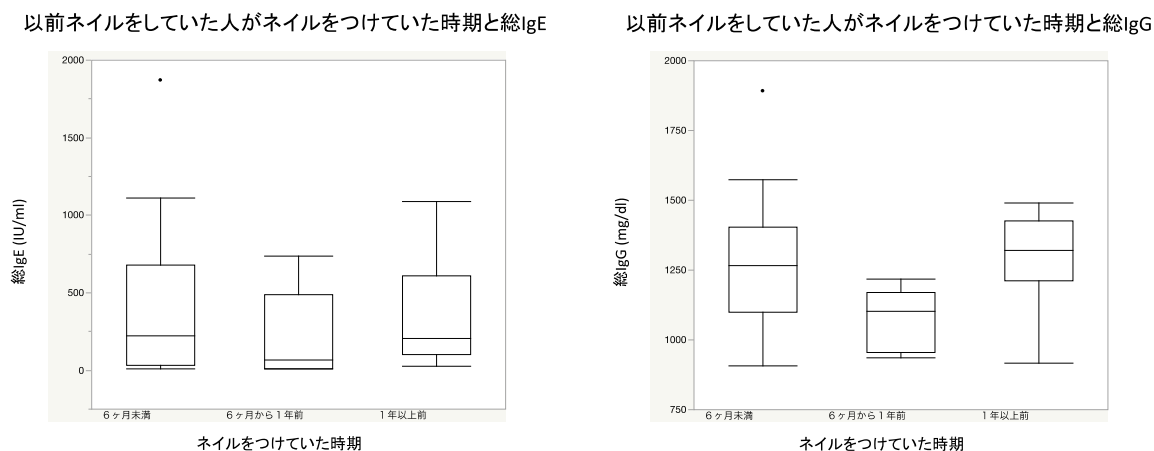


図 2 以前ネイルをつけていた人がネイルをつけていた時期と総 IgE・IgG 抗体との関係

表 16 受動喫煙の有無と総 IgE・IgG 抗体

	あり (N=30)		なし (N=50)		p 値
	平均	SD	平均	SD	
総 IgE (IU/ml)	574.0 ±	1203.1	285.3 ±	458.0	0.131
総 IgG (mg/dl)	1267.7 ±	226.4	1236.5 ±	201.5	0.524

表 17 喫煙状況と総 IgE・IgG 抗体

	非喫煙 (N=76)		過去喫煙 (N=2)		現喫煙 (N=2)		p 値
	平均	SD	平均	SD	平均	SD	
総 IgE (IU/ml)	336.8 ±	583.4	25.1 ±	15.8	2921.0 ±	3873.5	<0.0001
総 IgG (mg/dl)	1250.7 ±	213.1	1269.5 ±	149.2	1132.0 ±	196.6	0.730

現喫煙 vs 非喫煙 : p<0.0001, 現喫煙 vs 過去喫煙 : p=0.0004

表 18 飲酒状況と総 IgE・IgG 抗体

N	やめた (N=2)		飲まない (N=57)		飲む (N=21)		p 値
	平均	SD	平均	SD	平均	SD	
総 IgE (IU/ml)	2930.0 ±	3860.8	280.6 ±	372.0	458.8 ±	935.0	<0.0001
総 IgG (mg/dl)	1241.0 ±	350.7	1254.5 ±	209.1	1232.0 ±	213.7	0.917

やめた vs 飲まない : p<0.0001, やめた vs 飲む : p<0.0001

表 19 呼吸器症状と総 IgE・IgG 抗体:息切れ

	あり (N=32)		なし (N=48)		p 値
	平均	SD	平均	SD	
総 IgE (IU/ml)	406.9 ±	609.9	384.7 ±	948.5	0.907
総 IgG (mg/dl)	1274.3 ±	211.6	1230.9 ±	209.9	0.369

表 20 呼吸器症状と総 IgE・IgG 抗体:咳や痰

	あり (N=4)		なし (N=7)		風邪の時のみ (N=69)		p 値
	平均	SD	平均	SD	平均	SD	
総 IgE (IU/ml)	360.4 ±	317.3	815.8 ±	1266.2	352.7 ±	790.9	0.371
総 IgG (mg/dl)	1165.8 ±	208.4	1276.4 ±	199.9	1250.1 ±	213.2	0.694

質問票ご記入のお願い

この度は産業医科大学産業衛生学講座・福岡女子大学国際文理学部食・健康学科との多施設共同研究である「化学物質特異的IgGのアレルギー診断の可否と曝露モニタリングへの有用性についての研究」へご参加をいただきありがとうございます。

お寄せいただく回答が目的外で使用されることは決してございません。質問票はこの研究が終了した時点で破棄されます。

健康診断問診票と重複する質問項目に関しましてもご回答いただきますようお願い申し上げます。（推測される解答時間は10分です。全部で6ページあります。）

皆様のご理解とご参加を心よりお願い申し上げます。

本研究は、厚生労働省 労災疾病臨床研究事業費補助金で行われます。

質問票記入日 平成 年 月 日

お名前 _____ (歳) (男・女)

所属部署（学生の場合は「学生」と記載） _____

1. 身長と体重を教えてください。

身長 _____ cm 体重 _____ kg

2. 喫煙についておたずねします。あてはまる項目の□にチェック（し）をつけ、□内にあてはまる数字をご記入ください。

□喫煙したことはない。

□喫煙したことがある。

吸い始めた年齢は？ □ □ 歳 吸うのを止めた年齢は？ □ □ 歳

平均して毎日何本くらい吸っていましたか？ □ □ □ 本

□喫煙している。

吸い始めた年齢は？ □ □ 歳

平均して毎日何本くらい吸っていますか？ □ □ □ 本

3. あなたが現在、家の中や仕事場、外出先の屋内で、定期的に他の人が吸ったタバコの煙を吸う機会が1週間のうち、どれくらいありますか？（1つだけ□にチェック（し））

□ほとんどない □週1日くらい □週2～3日 □週4～6日 □毎日

3-1.

そのような場合、他の人が吸ったタバコの煙を、あなたが吸う時間は1日のうち、どれくらいですか？（1つだけ□にチェック（し））

□1時間未満 □1～2時間くらい □3時間以上

4. ご自身の呼吸についておたずねします。
あてはまる回答の□にチェック（し）をつけてください。

4-1. 過去4週間に、どのくらい頻繁に息切れを感じましたか？

- ☐まったく感じなかった ☐数回感じた ☐ときどき感じた
☐ほとんどいつも感じた ☐ずっと感じた

4-2. 咳をしたとき、粘液や痰などが出たことが、これまでにありますか？

- ☐一度もない ☐たまに風邪や肺の感染症にかかったときだけ
☐1か月のうち数日 ☐1週間のうち、ほとんど毎日
☐毎日

4-3. 過去12か月のご自身に最も当てはまる回答を選んでください。

呼吸に問題があるため、以前に比べて活動しなくなった。

- ☐まったくそう思わない ☐そう思わない ☐何とも言えない
☐そう思う ☐とてもそう思う

5. 労働時間についておたずねします。（学生は回答せず次の「6」に進んでください。）

5-1. 平均して週に何日働きますか？ 日

5-2. 1日の平均労働時間は何時間ですか？残業時間も含めてお答え下さい。

時間

5-3. 勤続年数は何年ですか？（1年未満の方は1年とご記入下さい。） 年

6. ネイル（ペディキュアを含む）についておたずねします。

あてはまる回答の□にチェック（し）をつけてください。

6-1. これまでネイルをしたことがありますか？

- ☐全くしたことがない →問い7へ
☐以前はしていたが今はしていない →問い6-2へ
☐している →問い6-3へ

6-2. 以前していた人にお尋ねします。いつ頃までしていましたか？

- ☐1年以上前 ☐6ヶ月から1年未満 ☐6ヶ月未満

6-3. 現在、ネイルをしている人にお尋ねします。つける頻度はどのくらいですか？

- ☐2週間以内に一回 ☐2週間から1ヶ月に1回 ☐1ヶ月から3ヶ月に1回
☐3ヶ月から6ヶ月に1回 ☐6ヶ月以上あいている

7. お酒についておたずねします。

一番あてはまる□にチェック(し)をつけてください。

☐ もともと飲まない

機会飲酒

飲み会のときのみ

☐ 以前は飲んでいたが止めた

☐ 現在も飲んでいる

「以前は飲んでいたが止めた」方のみ

「以前は飲んでいたが止めた」、
「現在も飲んでいる」方のみ

7-1. 以前は飲んでいたが止めた人におたずねします。

止めたのは何歳のときですか？ ☐ ☐ 歳

7-2. 以前は飲んでいたが止めた、現在も飲んでいると答えた人におたずねします。

お酒はどれくらいの頻度で飲みますか？（飲みましたか？）。

一番あてはまる□にチェック(し)をつけてください。

☐ ほとんど飲まなかった ☐ 月1～3日 ☐ 週1～2日 ☐ 週3～4日

☐ 週5～6日 ☐ 毎日飲んでいた

7-3. お酒はどのくらいの量飲みますか？（飲みましたか？）

1日に飲むもっとも普通の組合せを選んで、あてはまる□にチェック(し)してください。

例：ふだんビールを1本飲んだ後に、日本酒を2合飲むなら、ビール「1本」と日本酒の「2合」にチェック(し)。

- 日本酒1合(180ml)： ☐ 0.5合未満 ☐ 1合 ☐ 2合 ☐ 3合 ☐ 4合 ☐ 5合以上
- 焼酎・泡盛： ☐ 0.5合未満 ☐ 1合 ☐ 2合 ☐ 3合 ☐ 4合 ☐ 5合以上
- ビール大ビン1本(633ml)： ☐ 0.5本未満 ☐ 1本 ☐ 2本 ☐ 3本 ☐ 4本以上
*中ビンまたは500ml缶を0.8本、小ビンまたは350ml缶を0.6本と換算してください。
- ウィスキー シングル(30ml)： ☐ 0.5杯未満 ☐ 1杯 ☐ 2杯 ☐ 3杯 ☐ 4杯以上
- ワイン グラス(60ml)： ☐ 0.5杯未満 ☐ 1杯 ☐ 2杯 ☐ 3杯 ☐ 4杯以上

8. 既往歴および現在の健康状態についておたずねします。

下記の病気の中であなたが生まれてから今まで**医師から診断をつけた**病名があれば教えてください。あてはまる病名の**すべての口**に**チェック（し）**をつけて、最初に診断を受けた時の年齢をご記入ください。

	診断を受けたことがある	現在通院中	最初に診断を受けた時の年齢
貧血	☐	☐	歳
高血圧	☐	☐	歳
高脂血症	☐	☐	歳
脳卒中(脳出血・脳梗塞・くも膜下出血)	☐	☐	歳
心筋梗塞・狭心症	☐	☐	歳
糖尿病(1型)	☐	☐	歳
糖尿病(2型)	☐	☐	歳
高尿酸血症(痛風)	☐	☐	歳
			歳
慢性閉塞性肺疾患(COPD)	☐	☐	歳
			歳
気管支喘息	☐	☐	歳
アレルギー性鼻炎	☐	☐	歳
花粉症	☐	☐	歳
アトピー性皮膚炎	☐	☐	歳
アレルギー性結膜炎	☐	☐	歳
食物アレルギー	☐	☐	歳
薬疹・薬剤アレルギー	☐	☐	歳
じんましん	☐	☐	歳
接触性皮膚炎	☐	☐	歳
シックハウス症候群	☐	☐	歳
化学物質過敏症	☐	☐	歳
その他のアレルギー	☐	☐	歳
			歳
慢性副鼻腔炎	☐	☐	歳
慢性中耳炎	☐	☐	歳
			歳
甲状腺疾患	☐	☐	歳
腎臓疾患	☐	☐	歳
肝臓疾患	☐	☐	歳
			歳
その他の疾患既往歴(疾患名)	☐	☐	歳

9. 現在までに仕事や趣味・家庭などの日常の環境で以下のものを扱いましたか？
例に従って、当てはまる項目すべての口にチェックをつけてください。

例：

物質名	いいえ	月に()回	1回あたりに扱う時間
例)殺虫剤	☐	2 回	3 分・時間
例)除草剤	☒	回	分・時間

①主に日常生活上使用する機会が多いもの

物質名	いいえ	月に()回	1回あたりに扱う時間
a. 塩素系漂白剤・殺菌剤 (「混ぜるな危険」の表示のあるもの)	☐		分・時間
b. 染料(髪染め)	☐		分・時間
c. 殺虫剤	☐		分・時間
d. 除草剤	☐		分・時間

②主に職業上使用する機会が多いもの

物質名	いいえ	月に()回	1回あたりに扱う時間
e. 有機溶剤(シンナー、試験・分析・抽出用溶剤、ドライクリーニング用洗浄剤、染み抜き溶剤、ペイント塗料、除光液(リムーバーなど)	☐		分・時間
f. ホルマリン、ホルムアルデヒド	☐		分・時間
g. クロム、ヒ素、カドミウム	☐		分・時間
h. 水銀	☐		分・時間
i. プラスチック樹脂(フェノール、エポキシ樹脂など)	☐		分・時間
j. その他の化学物質 (名前が分かれば記載ください。)			
	☐		分・時間
	☐		分・時間

質問は以上です。ご協力ありがとうございました。

ご記入方法にご不明な点がございましたら、本研究スタッフにお尋ねください。

ネイル用塗料曝露と塗料成分特異的 IgG 抗体保有に関する研究

分担研究者 土屋 卓人 産業医科大学医学部産業衛生学 助教

研究要旨

【目的】本研究の目的は、ネイル用塗料の使用状況と塗料成分特異的 IgG 抗体保有の関連性を我々の教室で開発した化学物質特異的 IgG 抗体検出法を用いて明らかにすることである。

【対象と方法】対象は 20 歳以上の大学生および大学教職員 82 名（男性 2 名、女性 80 名）とし、対象者には質問票調査（既往歴、飲酒・喫煙歴、ネイル用塗料使用歴、化学物質曝露歴と血液採取を行った。採取した血液より総 IgE 値、総 IgG 値を測定した。82 名をネイル用塗料の「非使用群」、「現在使用群」、「過去使用群」に分け、喫煙歴、既往歴（アレルギー疾患）割合、および総 IgE 値、総 IgG 値を比較した。さらに 3 群の内「非使用群」と、「現在使用群」の 2 群に属する対象者の血清を用いて、ネイル用塗料含有化学物質特異的 IgG 抗体を測定した。対象化学物質はビスフェノール A ジグリシジルエーテル（BADGE）、無水フタル酸（PA）、ホルムアルデヒド（FA）、アクリルアミド（AA）、メタクリル酸メチル（MMA）および無水トリメリット酸（TA）とした。

【結果】ネイル用塗料の「非使用群」は 7 名（8.5%）、「現在使用群」は 42 名（51.2%）、「過去使用群」は 33 名（40.2%）で総 IgE 抗体、IgG 抗体平均値は 3 群間で統計学的有意差は認めなかった。「非使用群」と「現在使用群」の 2 群間における 6 種の化学物質（BADGE、PA、FA、AA、MMA、TA）に対する特異的 IgG 抗体平均値、および特異的 IgG 抗体値が高い class3 以上（ $3.125\mu\text{g/ml}$ 以上）だった人の割合はいずれも統計学的有意差は認めなかった。今後は対象症例や対象化学物質を増やし、またネイル用塗料自体を抗原としてそれに対する特異的 IgG 抗体保有の有無を検討する予定である。

分担研究者

川本 俊弘 産業医科大学医学部産業衛生学
辻 真弓 産業医科大学医学部産業衛生学
太田 雅規 福岡女子大学国際文理学部食・健康
学科
石原 康宏 広島大学大学院総合科学研究科行
動科学講座 分子脳科学研究室

A. 研究目的

美容の一種として爪に様々な装飾を施すネイルアートの中で特に専用の塗料を塗る行為（手の爪への塗装は「マニキュア」、足の爪への塗装は「ペディキュア」という：以下まとめて「ネイル」とする）はよく行われており、使用経験のある成人女性は多い。このネイル用塗料の特徴としては、アクリル樹脂やウレタン樹脂といった樹脂成分を主成分として使用している例が多いこと、可塑剤や染料、香料など様々な成分が含まれていることが挙げられる。近年ネイル用塗料を顧客に塗布する職業（ネイリスト）や自らネイル用塗料を使用している人においてネイル用塗料が原因と思

われる皮膚炎などのアレルギー疾患の発生報告が散見されるようになった。実際アクリル樹脂の原料であるメタクリル酸やエポキシ樹脂の原料であるビスフェノール A ジグリシジルエーテルは日本産業衛生学会や「化学品の分類および表示に関する世界調和システム（GHS）」が定める感作性物質分類において皮膚感作性、あるいは呼吸器感作性ありとされる物質で比較的曝露の大きい労働現場では様々な対応がとられてきた。しかし美容行為として日常生活上行っている人のネイル用塗料に対する曝露の程度やアレルギー発生意因（塗料中のどの物質がアレルゲンとなっているか）などの詳細は明らかではない。

そこで今回、ネイル用塗料使用者はネイル用塗料の構成成分に対する特異的抗体を有しているのではないかと考えの下、本研究の目的をネイル用塗料の使用状況と化学物質特異的 IgG 抗体保有の関連性を我々の教室で開発した化学物質特異的 IgG 抗体検出法を用いて明らかにすることとした。

B. 研究方法

1. 対象者

対象は20歳以上の本学および分担研究者の所属機関である福岡女子大学の学生および教職員で、本研究に同意の得られた82名（男性2名、女性80名）とした。

2. 質問紙調査と生体試料（血清）採取

対象者には自記式による質問票調査と血液採取を行った。質問票では基本属性（身長、体重、既往歴（アレルギー疾患など）、飲酒・喫煙歴など）、ネイル用塗料使用歴（使用期間、頻度、製品名）、その他の化学物質への曝露歴（殺虫剤、除草剤、染料、塩素系漂白剤・殺菌剤、職業性曝露の有無）を尋ねた。採取した血液より血清を分離し、総IgE値、総IgG値を測定した。82名を質問票調査において「これまでネイルを全く使用したことがない」と回答した群（以下「非使用群」）と、「現在ネイルをしている」と回答した群（以下「現在使用群」）と「以前はしていたが今はしていない」と回答した群（以下「過去使用群」）に分け、3群間での喫煙歴、既往歴（アレルギー疾患）割合、および総IgE値、総IgG値を比較した。さらに「非使用群」と「現在使用群」の対象者の血清を用いて、ネイル用塗料含有化学物質特異的IgG抗体を測定した（図1）。

3. 化学物質特異的IgG抗体測定

測定用抗原として化学物質と生体内蛋白の付加体を作成した。対象とする化学物質はネイル用塗料に含まれていることがあるビスフェノールAジグリシジルエーテル（Bisphenol A Diglycidyl ether : BADGE）、無水フタル酸（Phthalic Anhydride : PA）、ホルムアルデヒド（Formaldehyde : FA）、アクリルアミド（Acrylamide : AA）、メタクリル酸メチル（Methyl methacrylate : MMA）および無水トリメリット酸（Trimellitic Anhydride : TA）の6種類とした。生体内蛋白はヒト血清アルブミン（Human Serum Albumin : HSA）を用いた。

溶媒はジメチルスルホキシド（Dimethyl sulfoxide : DMSO）を用い、各化学物質とHSAを混合後遠心にて上清を抽出した。作成条件としてバッファのpH条件を10.8とし、化学物質の濃度条件を「1:1」（＝HSAモル濃度：化学物質モル濃度）、「1:10」、「1:100」およびHSAのみ（コントロール）の4濃度とし、化学物質毎に化学物質-HSA付加体を作成した。

作成した化学物質-HSA付加体にBTB（Bromothymol Blue）溶液を混ぜ着色し、ニトロセルロース膜に1μlずつ、各濃度で2ブロットした。またStandardとしてHuman IgGを40.8μg/mlから順に25μg/ml、12.5μg/ml、

6.25μg/ml、3.125μg/ml、0μg/mlとブロットした。ブロットを行ったニトロセルロース膜にブロッキング剤を添加した後、一次抗体反応としてヒト血清を用いた。対象者の血清でニトロセルロース膜を浸し一次抗体反応を行った。さらに蛍光標識した抗ヒトIgG抗体（Goat anti-human IgG）を用いて二次抗体反応を行った。検体ごとにStandardの発行強度より検量線を作成し、化学物質特異的抗体の発行強度を定量化（2ブロットの平均値）した。各濃度条件下で最も高い数値を採用し、class1（0μg/ml）、class2（>0μg/ml、3.125μg/ml <）、class3（≥ 3.125μg/ml、<6.25μg/ml）、class4（≥ 6.25μg/ml、<12.5μg/ml）、class5（≥ 12.5μg/ml）にclass分類し評価した。

（倫理面への配慮）

本研究は産業医科大学および福岡女子大学の倫理委員会にて承認を得て行われた。対象者には本人の自由意志で協力いただいた。本研究の意義、目的、方法、不利益および危険性について説明文書を作成し文書および口頭で十分な説明を行い、同意をいただいた者のみを対象とした。生体試料（血清）は連続可能匿名化した状態で所属講座のフリーザーに保管している。

C. 研究結果

1. 質問票によるネイル用塗料使用歴の結果

82名（男性2名、女性80名）に対し質問票調査を行った。平均年齢は24.1歳であった。ネイル用塗料使用歴（表1）については「これまでネイルを全く使用したことがない」（非使用群）のは7名（8.5%：2名の男性含む）、「現在ネイルをしている」（現在使用群）のは42名（51.2%）、「以前はしていたが今はしていない」（以下「過去使用群」）のが33名（40.2%）で平均年齢は各々37.0歳、22.3歳、23.7歳で非使用群が高かったが統計学的には有意差は認めなかった。各群の喫煙率、アレルギー疾患既往率は表2に記した。

「現在使用群」の42名中、ネイル用塗料の使用頻度が「2週間以内に1回」が6名（14.3%）、「2週間から1か月に1回」が16名（38.1%）、「1か月から3か月に1回」が12名（28.6%）、「3か月から6か月に1回」が8名（19.0%）で「2週間から1か月に1回」が最も多かった。「過去使用群」33名において最も直近で使用してからどのくらい時間が経過しているかについては「1年以上使用していない」が12名（36.4%）、「6か月から1年未満」が5名（15.2%）、「6か月未満」が16名（48.5%）と「6か月未満」が最も多かった。

2. 総IgE抗体値、IgG抗体値の比較

「非使用群」、「現在使用群」、「過去使用群」の

3群における総IgE抗体、IgG抗体平均値は、「非使用群」で各々250 (IU/ml)、1207 (mg/dl)、「使用群」で436 (IU/ml)、1248 (mg/dl)、「過去使用群」で353 (IU/ml)、1256 (mg/dl)であり、3群間で統計学的有意差は認めなかった(表2)。各群において総IgE抗体値(基準値173IU/ml以下)が基準値を超えている人の割合は「非使用群」で3名(42.9%)、「現在使用群」で17名(40.5%)、「過去使用群」で19名(57.6%)であった。一方総IgG抗体値は全例で基準値(870-1700mg/dl)内を示した。

3. 化学物質特異的IgG抗体測定

ネイル塗料に含有されている頻度の高い6種の化学物質(BADGE、PA、FA、AA、MMA、TA)に対する特異的IgG抗体値を「非使用群」(7名)と「現在使用群」(42名)の2群の血清を用いて測定した。「非使用群」におけるIgG抗体平均値はBADGE 0 (μg/ml)、PA 14.33 (μg/ml)、FA 0.23 (μg/ml)、AA 0 (μg/ml)、MMA 0.06 (μg/ml)、TA 0.71 (μg/ml)で「現在使用群」におけるIgG抗体平均値はBADGE 0.04 (μg/ml)、PA 17.06 (μg/ml)、FA 1.93 (μg/ml)、AA 0.11 (μg/ml)、MMA 0.17(μg/ml)、TA 1.87 (μg/ml)と測定した全物質で「非使用群」より高い数値であったがいずれも統計学的有意差は認めなかった(図2)。

さらに両群における特異的IgG抗体値のclass分類別の結果を表3に記す。特異的IgG抗体値が高いclass3以上(3.125μg/ml以上)だった人の割合は「非使用群」ではPA 7人(100%)認めたものの他のBADGE、FA、AA、MMA、TAはいずれも0人であった。一方「現在使用群」におけるclass3以上だった人の割合はBADGE 0人(0%)、PA 42人(100%)、FA 3人(7%)、AA 0人(0%)、MMA 0人(0%)、TA 9人(21%)であり、両群間でのFA、TAにおけるclass3以上の割合に統計学的有意差は認めなかった。

「現在使用群」の42名中、ネイル用塗料の使用頻度別の特異的IgG抗体値を表4に記す。TAが、使用頻度が高くなるに従い平均値も高くなっていた。

最後に3名の症例を提示する。

【症例1(図3)】22歳女性。大学生。ネイル用塗料使用経験なし。喫煙歴：なし
既往歴：アレルギー性結膜炎
血清抗体値：総IgE抗体値638(IU/ml)、総IgG抗体値1589 (mg/dl)。

化学物質特異的IgG抗体測定(class分類)
BADGE : class1、PA : class4、FA : class1、AA : class1、MMA : class1、TA : class2

【症例2(図4)】22歳女性。大学生。ネイル用

塗料Aを使用。ネイル用塗料Aの含有物質は図4に表記。使用頻度は2週間から1か月に1回。
喫煙歴：あり(0.5本×1年)

既往歴：花粉症、接触性皮膚炎

血清抗体値：総IgE抗体値182 (IU/ml)、総IgG抗体値1271 (mg/dl)。

化学物質特異的IgG抗体測定(class分類)
BADGE : class1、PA : class5、FA : class5、AA : class1、MMA : class1、TA : class2

【症例3(図5)】22歳女性。大学生。ネイル用塗料Bを使用。ネイル用塗料Bの含有物質は図5に表記。使用頻度は2週間から1か月に1回。
喫煙歴：なし

既往歴：花粉症

血清抗体値：総IgE抗体値638 (IU/ml)、総IgG抗体値1589 (mg/dl)。

化学物質特異的IgG抗体測定(class分類)
BADGE : class1、PA : class5、FA : class2、AA : class2、MMA : class2、TA : class4

D. 考察

今回我々は主に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、特に本調査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、その使用状況と含有化学物質特異的IgG抗体との関連性の有無を検討した。我々の生活環境にはアレルギー症状の原因となる様々な物質(アレルゲン)が存在する。アレルゲンの種類は大きく分けて、吸入性アレルゲン(ハウスダスト、カビ、ダニ、花粉など)、食物性アレルゲン(牛乳、卵、落花生、そば、小麦、えび、かになど)、そして薬物性アレルゲン(塗料、洗剤、金属、化粧品、衣服、ラテックス、医薬品など)に分けられる。吸入性および食物性アレルゲンによるアレルギー疾患の罹患率が高いことは周知の事実であるが、近年ネイル用塗料を塗布する職業(ネイリスト)や自らネイル液を使用している人においてネイル用塗料が原因と思われる皮膚炎などのアレルギー疾患の発生報告が散見されるようになった。また昨年、平成13年4月施行された「化粧品基準」に定められた全ての化粧品に配合が禁止されている成分の一つが市販されているネイル用塗料より検出されたため対象製品が回収された事例もあり、ネイル用塗料による健康障害が注目されている。

ネイル用塗料には多くの化学物質が含まれている。主な成分として皮膚形成剤(ニトロセルロース、アクリル樹脂、エポキシ樹脂、ポリメタクリル酸メチルなど)、揮発性溶剤(酢酸エチル、酢酸ブチルなど)、可塑剤(カンフル、クエン酸エステル、無水フタル酸、無水トリメリット酸な

ど)、助溶剤(イソプロパノール)、ゲル化剤(有機粘土鉱物など)、着色剤(有機顔料、無機顔料)、パール剤(天然魚鱗箔、合成パール剤)などである。またネイルカラーだけでなく、爪を保護し、ネイルカラーの接着を高め、剥がれ難くし発色を向上させる役割のあるベース液(ベースコート)や、保護、耐久性目的の仕上げ剤(トップコート)を重ねて塗布することもあり、実際はより多くの化学物質に曝露されている可能性がある。

曝露経路としては爪や皮膚からの経皮曝露、および揮発性のある物質では経気道性の曝露が考えられるが、最近の報告で主に外国製のネイル用塗料に可塑剤として含有されている「リン酸トリフェニル」という物質が経気道ではなく経皮曝露によって血中のリン酸トリフェニル代謝物(リン酸ジフェニル)が高濃度になるとされており、爪に塗布する程度の極少量の曝露であっても物質によっては体内に高濃度で吸収されていることがある。

次に本研究では対象とした6種類の化学物質のうち、昨年度の報告書に記載していない3種類の概要について述べる。

アクリルアミド(Acrylamide: AA)は分子量71.08の無臭の白色結晶である(表5)。アクリルアミド系ポリマーとして凝集剤や、土地改良剤、合成繊維の改質、樹脂加工、アクリル系熱硬化性塗料の原料、紙力増強剤、接着剤など様々な用途で使われている。健康障害に関しては皮膚から容易に吸収され接触性皮膚炎の他に慢性障害で神経症状、肝障害を起こす。AAは日本産業衛生学会が定める感作性物質分類で皮膚感作性物質第1群(人間に対して明らかに感作性のある物質)に分類されている。また「化学品の分類および表示に関する世界調和システム(GHS)」の感作性分類において皮膚感作性区分1(化学物質が相当な数のヒトに皮膚接触により過敏症を引き起こす証拠がある場合、又は適切な動物試験より陽性結果が得られている場合)に分類されている(呼吸器感作性は区分なし)。

メタクリル酸メチル(Methyl methacrylate: MMA)は分子量100の無色透明の液体である(表6)。重合物はガラス状の硬い透明な樹脂のモノマーで、ポリマーは耐候性に優れている。電気絶縁性、耐薬品性、加工性に優れ、中間物、有機化学製品用(接着剤、合成樹脂、防汚剤)、添加剤(樹脂用)とされているほか、建築材料、成型用ペレット、照明器具、広告看板、日用品、塗料、接着剤とされている。ネイル用塗料では皮膜合成剤としてアクリル系樹脂の原料として使われている。鼻、のど、皮膚、粘膜を刺激し接触性皮膚炎などの報告がある。MMAは日本産業衛生学会

が定める感作性物質分類で気道感作性物質第2群(人間に対しておそらく感作性があると考えられる物質)、皮膚感作性物質第2群に分類されている。GHSの感作性分類において呼吸器感作性区分1(ヒトに対し当該物質が特異的な呼吸器過敏症を引き起こす証拠がある場合、又は適切な動物試験より陽性結果が得られている場合)、皮膚感作性区分1に分類されている。

無水トリメリット酸(Trimellitic Anhydride: TA)は分子量192.12の白色の粉末で、無臭である(表7)。水、エタノール、アセトンに溶解、有機溶剤にも溶解しやすい。三官能のカルボキシル基を持ち、耐熱性、耐薬品性で特に優れ、水溶性塗料、エステル系耐熱性可塑剤、ポリアミドイミド原料、エポキシ樹脂硬化剤、接着剤、繊維処理剤、界面活性剤、染料、顔料など用途は広い。ネイル用塗料では無水フタル酸とともに可塑剤として含有されていることが多い。TAの健康障害として軽度の皮膚障害、および蒸気の吸入により呼吸器系の刺激、喘息の発作、高濃度では鼻粘膜の潰瘍を起こすことがある。TAは日本産業衛生学会が定める感作性物質分類で気道感作性物質第1群に分類されている。GHSの感作性分類において呼吸器感作性区分1、皮膚感作性区分1に分類されている。

本研究ではネイル用塗料の使用状況と化学物質特異的IgG抗体陽性の関連性を検討したが、今回対象とした6種類の化学物質においては統計学的にはその関連性は明らかにはならなかった。その理由であるが、まず「非使用群」と「現在使用群」における群間比較を行ったが対象者がほとんど女性であったため今まで一度もネイル用塗料を使用しなかったことがあげられる。我々の先行研究では今まで測定しえた化学物質での特異的IgG抗体保有率に関しては、明らかな性差は認められなかったことから、今後「非使用群」の対象者を増やすため大学生年代の男性(非喫煙者が望ましい)にも多く参加いただけるよう検討していきたいと考えている。

また前述のようにネイル用塗料には一つの製品に多くの化学物質が含まれているのに加え、違う種類の塗料を重ね塗りしている人もおり、実際化学物質単位での曝露状況の把握は困難を伴う。今回は6種類のみで行ったが今後は対象化学物質の数を増やすことを検討する必要があると思われる。また我々が我々の教室で開発した化学物質特異的IgG抗体検出法で測定対象となる抗原は、化学物質単体だけでなく、ネイル用塗料製品そのものを用いてHSAとの付加体を作成することも可能であるため、今後は多くの化学物質が含まれているネイル用塗料での解析も検討したい

と考えている。

さらに今回、化学物質特異的 IgG 抗体保有に関して、検体毎に Standard の発行強度より検量線を作成し化学物質特異 IgG 的抗体の発行強度を定量化して、数値事に class 分類化した。6 種類の化学物質ではあるが、その数値がネイル用塗料の曝露有無に関係なく、PA が高い一方 BADGE、AA、MMA が低いという、化学物質間の数値に大きな差異があった。今後は class 分類をするにあたっては化学物質毎にその数値基準を設定していくことが必要であろうと思われる。

以上のように今回はネイル用塗料の使用状況と化学物質特異的 IgG 抗体陽性の関連性は認められなかったが、今回の得られた結果から今後は、症例数を増やす、対象化学物質を増やす、ネイル用塗料そのものの解析を行う、特異的 IgG 抗体陽性判定基準の見直し、あるいは縦断調査による経時の変化、などの課題に取り組んでいく予定である。

E. 結論

今回ネイル用塗料の使用状況と塗料成分特異的 IgG 抗体保有の関連性は明らかにはならなかった。今後はさらに対象症例や対象化学物質を増やし、またネイル用塗料自体を抗原としたそれに対する特異的 IgG 抗体保有の有無を検討する予定である。

参考文献

- ・後藤 穉ら．産業中毒便覧．東京，医歯薬出版，1981，1630p
- ・14705 の化学商品．東京，化学工業日報社，2005，2152p
- ・産業医の職務 Q&A 編集委員会．産業医の職務 Q&A 第 10 版．東京，産業医学振興財団，2014，538p
- ・中村 晋ら．職業アレルギー．大阪，永井書店，2011，279p
- ・中央労働災害防止協会．労働衛生のしおり．平成 27 年度．東京，2015，359p
- ・日本産業衛生学会許容濃度等に関する委員会．許容濃度等の勧告（2015 年度）．産衛誌 57（4），146-172，2015
- ・日本皮膚科学会接触皮膚炎診療ガイドライン委員会．接触皮膚炎診療ガイドライン．日皮会誌 119（9），1757-1793，2009
- ・化粧品基準 - 厚生労働省<<http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-1120000-Iyakushokuhinkyoku/keshouhin-standard.pdf#search=%E5%8C%96%E7%B2%A7>

%E5%93%81%E5%9F%BA%E6%BA%96'>

2016 年 2 月 11 日アクセス

- ・国際連合（2013）「化学品の分類および表示に関する世界調和システム（GHS）改訂 5 版」<http://www.env.go.jp/chemi/ghs/attach/unece_ghs_rev05_ja.pdf> 2016 年 2 月 12 日アクセス
- ・独立行政法人医薬品医療機器総合機構「安全対策業務、情報提供業務、医薬部外品・化粧品、回収情報」<<http://www.info.pmda.go.jp/rgo/MainServlet?recallno=2-6538>> 2016 年 2 月 13 日アクセス
- ・渡部 裕子．ネイルアートによるアレルギー性接触皮膚炎の 1 例．Journal of Environmental Dermatology and Cutaneous Allergology. 7; 251-255, 2013
- ・Mendelsohn E et al. Nail polish as a source of exposure to triphenyl phosphite. Environ Int. 86, 45-51, 2016
- ・Minamoto K. Allergic contact dermatitis from two-component acrylic resin in a manicurist and a dental hygienist. J Occup Health. 56, 229-34, 2014

F. 健康危険情報

該当無し

G. 研究発表

- | | |
|---------|------|
| 1. 論文発表 | 該当無し |
| 2. 学会発表 | 該当あり |

・土屋卓人、辻真弓、一瀬豊日、田中政幸、川本俊弘：感作物質特異的抗体の保有率の検討 2 - 成人女性での検討 - 第 88 回日本産業衛生学会、大阪、2015 年 5 月

・土屋卓人、辻真弓、川本俊弘：成人女性における感作物質特異的抗体の保有率の検討．第 13 回日本予防医学会、金沢、2015 年 6 月

・土屋卓人、辻真弓、川本俊弘：ドットプロット法を用いた感作物質特異的抗体保有率の検討 - 成人女性での検討 - 第 33 回産業医科大学会、北九州、2015 年 10 月

H. 知的財産権の出願・登録状況

- | | |
|-----------|------|
| 1. 特許取得 | 該当無し |
| 2. 実用新案登録 | 該当無し |
| 3. その他 | 該当無し |

図 1. 対象者の群分け、測定項目

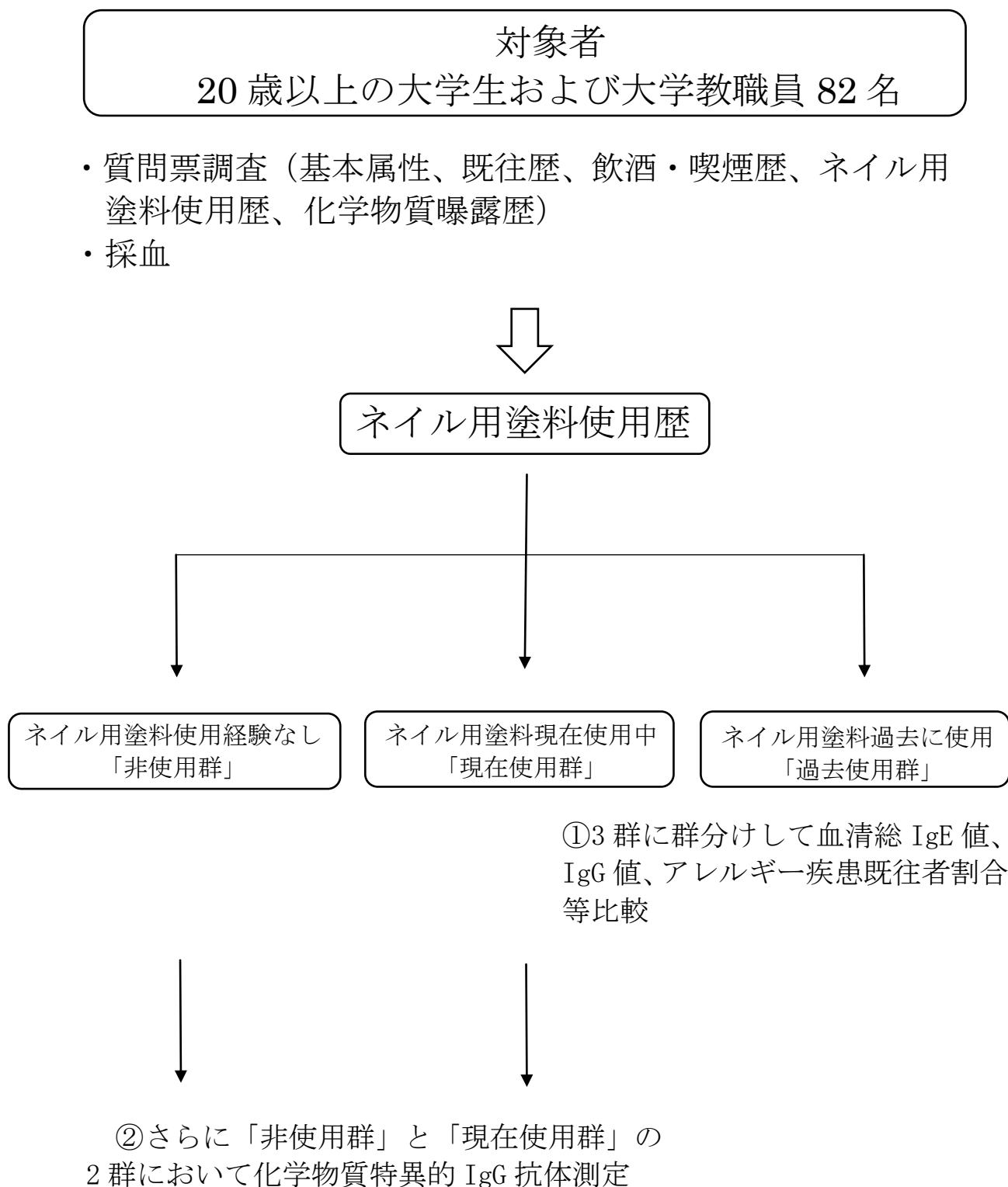


表 1. ネイル用塗料に関する質問紙表結果

全くしたことがない	7名 (8. 5%)	⇒「非使用群」
現在使用している	42名 (40. 2%)	⇒「現在使用群」
使用頻度		
2週間以内に1回	6名	
2週間から1か月に1回	16名	
1か月から3か月に1回	12名	
3か月から6か月に1回	8名	
以前はしていたが今はしていない	33名 (51. 2%)	⇒「過去使用群」
いつ頃までしていたか		
1年以上前	12名	
6か月～1年未満	5名	
6か月未満	16名	
計	82名	

表 2. ネイル用塗料使用歴による群分け

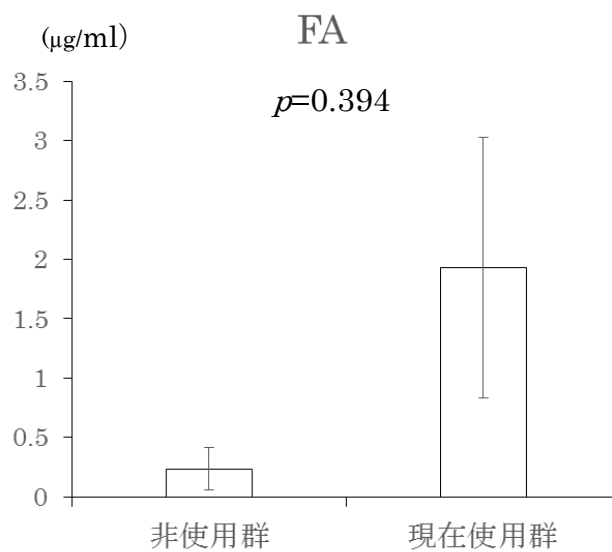
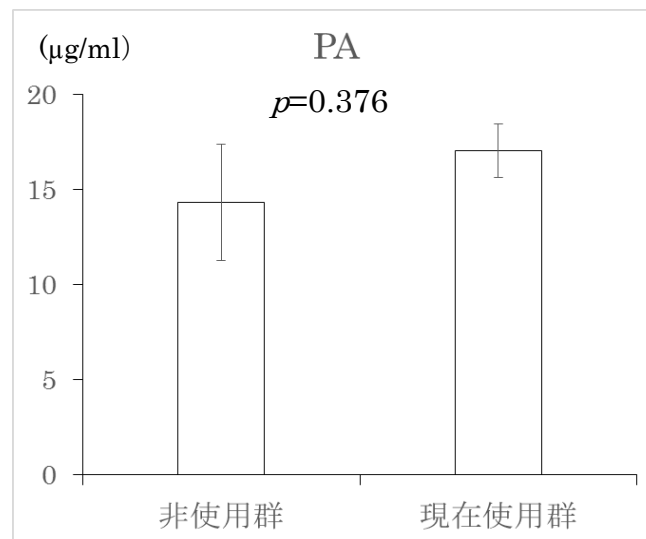
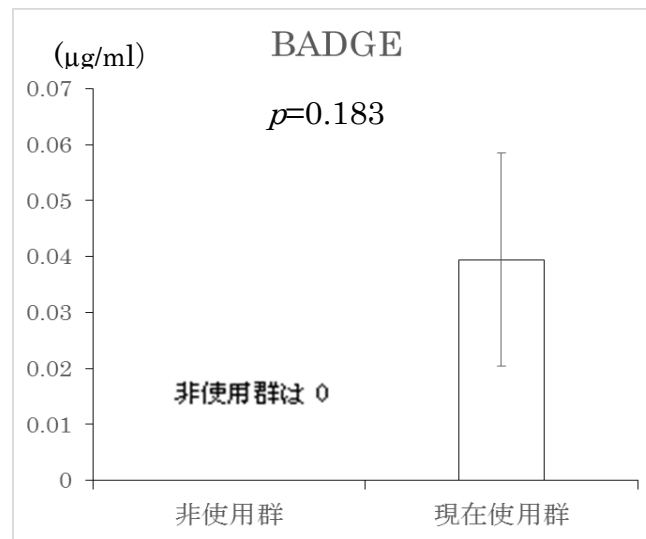
	非使用群	現在使用群	過去使用群	p 値
人数	7 名(男 2 名、女 5 名)	42 名 (全て女性)	33 名(全て女性)	
平均年齢	37.0±6.0 歳	22.3±0.5 歳	23.6±1.2 歳	0.08*
喫煙経験あり	2 名(28.6%)	4 名 (9.5%)	0 名(0%)	0.162#
アレルギー疾患 既往歴あり	6 名(85.7%)	30 名 (71.4%)	16 名(48.5%)	0.054#
血清総 IgE 平均値	250±176 IU/ml	436±164 IU/ml	353±75 IU/ml	0.287*
血清総 IgG 平均値	1207±83 mg/dl	1248±32 mg/dl	1256±36 mg/dl	0.671*

Mean±SE

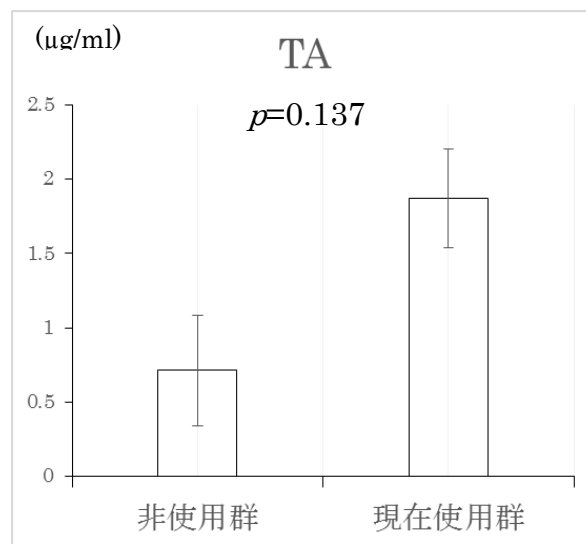
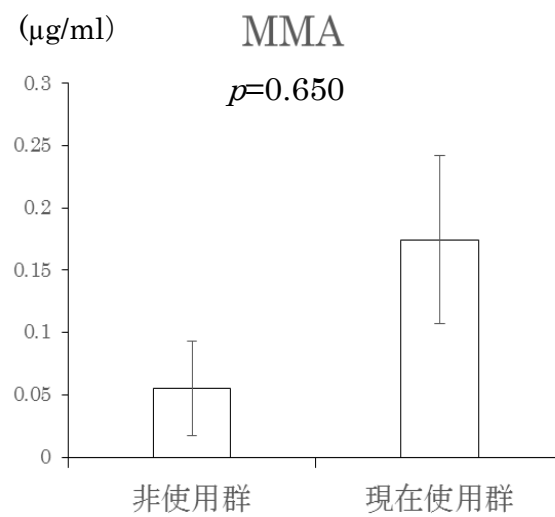
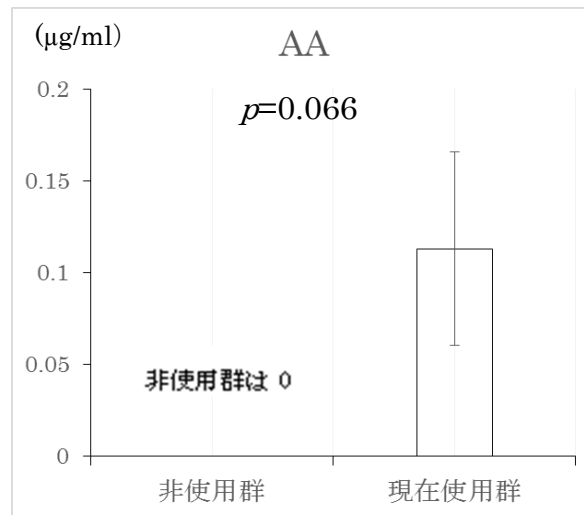
* : Kruskal-Wallis test

: カイ二乗検定

図 2. 化学物質特異的 IgG 抗体平均値



Mean $\pm$ SE
Mann-Whitney U test



Mean $\pm$ SE
Mann-Whitney U test

表 3. 化学物質特異的 IgG 抗体測定 (2 群の class 分類
および class3 以上の割合の検定)

非使用群 (N=7)

	BADGE	PA	FA	AA	MMA	TA
class1	7 (100%)	0	4 (57.1%)	7 (100%)	5 (71.4%)	1 (14.3%)
class2	0	0	3 (42.9%)	0	2 (28.6%)	6 (85.7%)
class3	0	0	0	0	0	0
class4	0	4 (57.1%)	0	0	0	0
class5	0	3 (42.9%)	0	0	0	0
class3 以上	0	7 (100%)	0	0	0	0

名 (%)

現在使用群 (N=42)

	BADGE	PA	FA	AA	MMA	TA
class1	33 (78.6%)	0	20 (47.6%)	27 (64.3%)	27 (64.3%)	6 (14.3%)
class2	9 (21.4%)	0	19 (45.2%)	15 (35.7%)	15 (35.7%)	27 (64.3%)
class3	0	3 (7.1%)	1 (2.4%)	0	0	5 (11.9%)
class4	0	12 (28.6%)	0	0	0	4 (9.5%)
class5	0	27 (64.3%)	2 (4.8%)	0	0	0
class3 以上	0	42 (100%)	3 (7.1%)	0	0	9 (21.4%)

名 (%)

BADGE : ビスフェノール A ジグリシジルエーテル

PA : 無水フタル酸

FA : ホルムアルデヒド

AA : アクリルアミド

MMA : メタクリル酸メチル

TA : 無水トリメリット酸

class1 (0μg/ml)

class2 (>0μg/ml、3.125μg/ml <)

class3 ($\geq 3.125\mu\text{g/ml}$ 、 $< 6.25\mu\text{g/ml}$)

class4 ($\geq 6.25\mu\text{g/ml}$ 、 $< 12.5\mu\text{g/ml}$)

class5 ($\geq 12.5\mu\text{g/ml}$)

	非使用群	現在使用群	P 値
FA class3 未満	7	39	0.466
FA class3 以上	0	3	
TA class3 未満	7	33	0.175
TA class3 以上	0	9	

カイ二乗検定

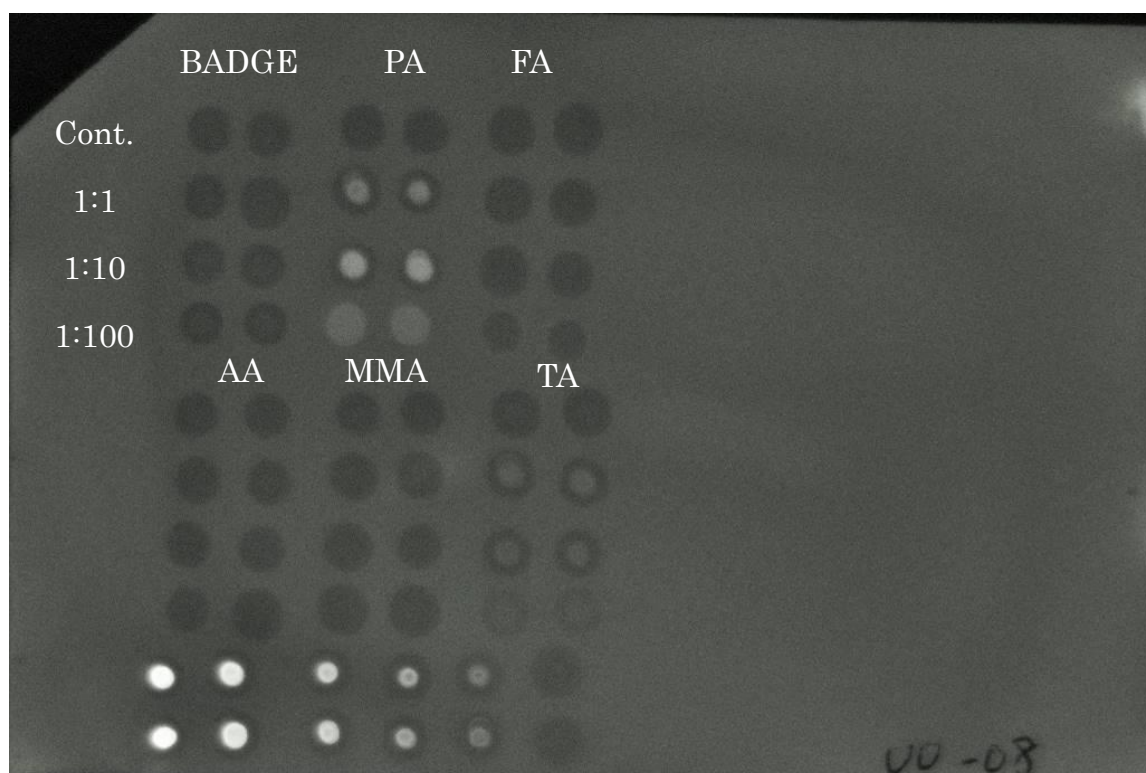
表 4. ネイル用塗料使用頻度別化学
物質特異的 IgG 抗体平均値

使用頻度	BADGE	PA	FA	AA	MMA	TA
～2 週 (N=6)	0.010	15.409	0.232	0.094	0.140	2.744
2～4 週 (N=16)	0.023	15.455	3.116	0.198	0.109	2.203
4～12 週 (N=12)	0.100	19.545	0.851	0.071	0.382	1.766
12 週～ (N=8)	0.003	17.801	2.453	0.021	0.022	0.715

(μg/ml)

図 3. 化学物質特異的 IgG 抗体検出法による結果
(症例 1)

【症例 1】 22 歳女性。大学生。ネイル用塗料使用経験なし。
喫煙歴：なし 既往歴：アレルギー性結膜炎
血清抗体値：総 IgE 抗体値 638(IU/ml)、総 IgG 抗体値 1589 (mg/dl)。



Standard 40.8 25 12.5 6.25 3.125 0($\mu\text{g/ml}$)
Human-IgG

BADGE : ビスフェノール A ジグリシジルエーテル
PA : 無水フタル酸
FA : ホルムアルデヒド
AA : アクリルアミド
MMA : メタクリル酸メチル
TA : 無水トリメリット酸

Cont : HSA のみ
1:1、1:10、1:100
→HSA モル濃度：化学物質モル濃度

化学物質特異的 IgG 抗体測定 (class 分類) BADGE : class1、PA : class4、FA : class1、
AA : class1、MMA : class1、TA : class2

class1 ($0\mu\text{g/ml}$)、class2 ($>0\mu\text{g/ml}$ 、 $3.125\mu\text{g/ml} <$)、class3 ($\geq 3.125\mu\text{g/ml}$ 、
 $<6.25\mu\text{g/ml}$)、class4 ($\geq 6.25\mu\text{g/ml}$ 、 $<12.5\mu\text{g/ml}$)、class5 ($\geq 12.5\mu\text{g/ml}$)

図 4. 化学物質特異的 IgG 抗体検出法による結果
(症例 2)

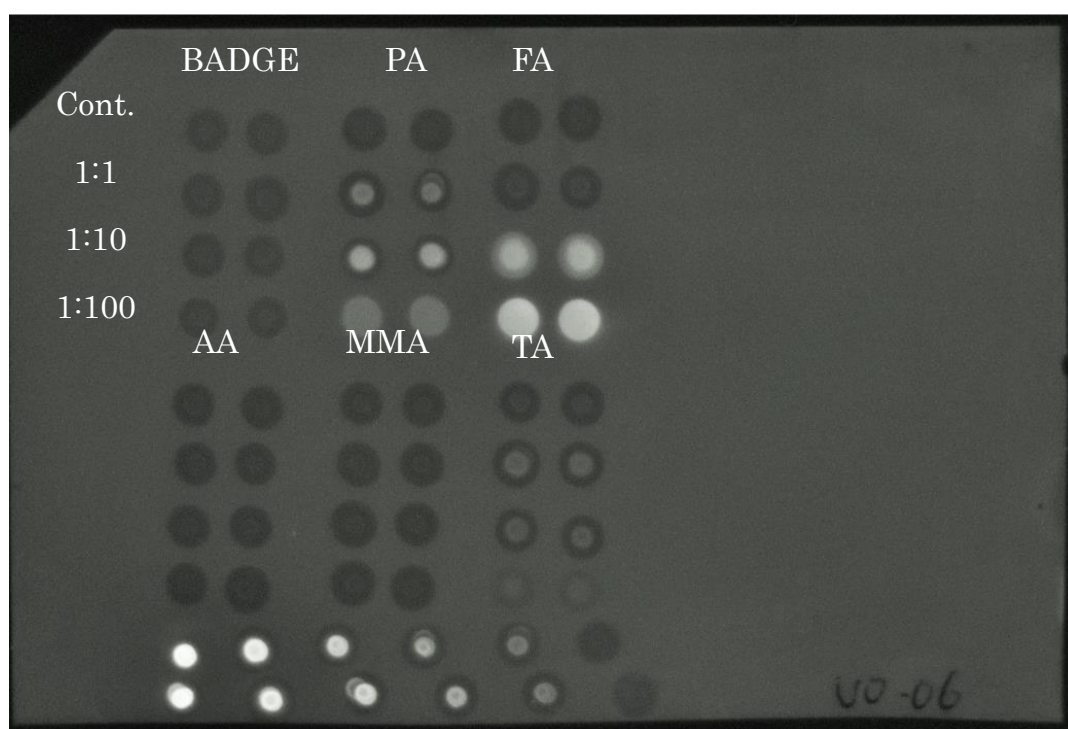
【症例 2】22 歳女性。大学生。

ネイル用塗料 A を使用（含有成分は下記）。使用頻度は 2 週間から 1 か月に 1 回。

喫煙歴：あり（0.5本×1年） 既往歴：花粉症、接触性皮膚炎

血清抗体値：総 IgE 抗体値 182 (IU/ml)、総 IgG 抗体値 1271 (mg/dl)。

ネイル用塗料 A の含有成分：酢酸ブチル、酢酸エチル、ニトロセルロース、イソプロパノール、アルキッド-2、クエン酸アセチルトリブチル、エタノール、安息香酸スクロース、ステアラルコニウムヘクトライト、カンフル、オキシベンゾン-3、リンゴ酸、カーボンブラック、(PET/Al/エポキシ樹脂)ラミネート



Standard	40.8	25	12.5	6.25	3.125	0($\mu\text{g/ml}$)
Human-IgG						

化学物質特異的 IgG 抗体測定 (class 分類) BADGE : class1、PA : class5、FA : class5、AA : class1、MMA : class1、TA : class2

class1 (0 μ g/ml)、class2 (>0 μ g/ml、3.125 μ g/ml <)、class3 ($\geq$ 3.125 μ g/ml、<6.25 μ g/ml)、class4 ($\geq$ 6.25 μ g/ml、<12.5 μ g/ml)、class5 ($\geq$ 12.5 μ g/ml)

図 5. 化学物質特異的 IgG 抗体検出法による結果 (症例 3)

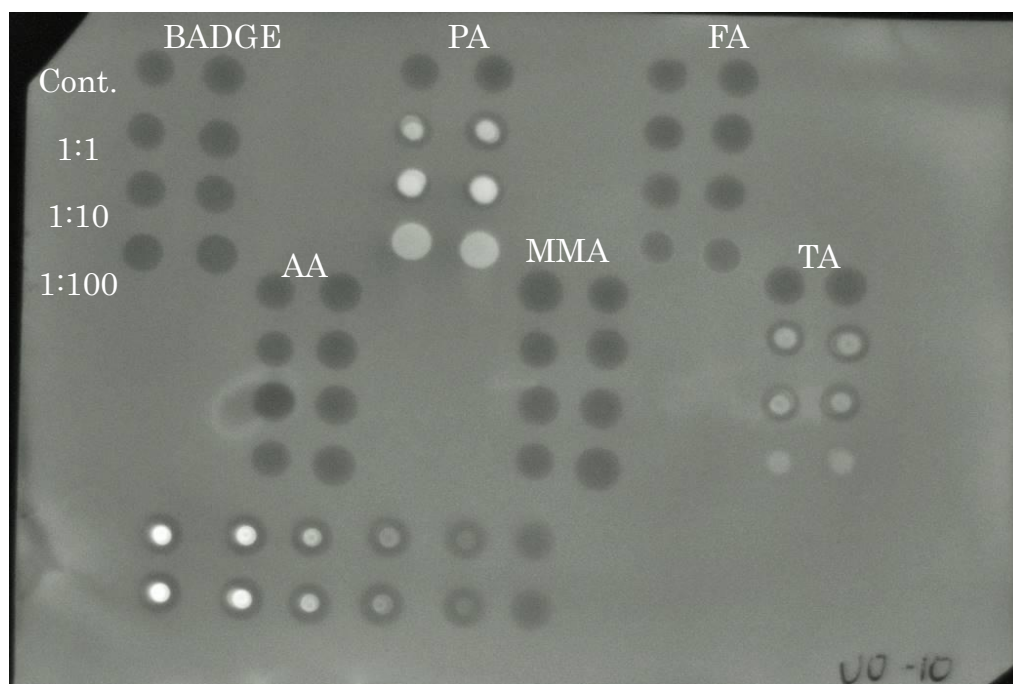
【症例 3】22 歳女性。大学生。

ネイル用塗料 B を使用 (含有成分は下記)。使用頻度は 2 週間から 1 か月に 1 回。

喫煙歴：なし 既往歴：花粉症

血清抗体値：総 IgE 抗体値 638 (IU/ml)、総 IgG 抗体値 1589 (mg/dl)

ネイル用塗料 B の含有成分：酢酸エチル、酢酸ブチル、ニトロセルロース、トリベンゾイン、イソプロパノール、酢酸プロピル、クエン酸アセチルトリブチル、ステアラルコニウムベントナイト、トリアセチン、ヒドロキシ安息香酸フェニルテトラブチル、PPG-2 ジメチコン、ジメチコン、クエン酸、リンゴ酸、シルク、シリカ、オキシベンゾン-1、ホウケイ酸(Ca/Al)、リン酸、水、PET、(アジピン酸/ネオペンチルグリコール/無水トリメリト酸)コポリマー、合成金雲母、アルミナ、マイカ、酸化チタン、マンガンバイオレット、ホウケイ酸(Ca/Na)、グンジョウ、コンジョウ、カーボンブラック、酸化スズ、カルミン、酸化鉄、ステアラルコニウムヘクトライト、ジ安息香酸トリメチルペンタンジイル、ポリブチレンテレフタレート、変性アルコール、ポリウレタン-11、ブタノール、硫酸 Ba、赤 201、赤 202、黄 4



Standard 40.8 25 12.5 6.25 3.125 0(μg/ml)
Human-IgG

化学物質特異的 IgG 抗体測定 (class 分類) BADGE : class1、PA : class5、FA : class2、
AA : class2、MMA : class2、TA : class4

class1 (0μg/ml)、class2 (>0μg/ml、3.125μg/ml <)、class3 (≥3.125μg/ml、
<6.25μg/ml)、class4 (≥6.25μg/ml、<12.5μg/ml)、class5 (≥12.5μg/ml)

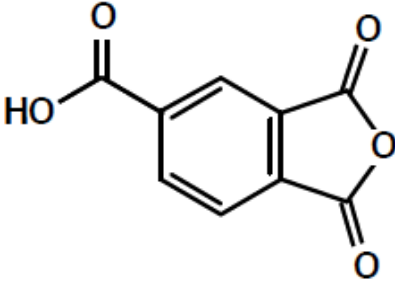
表 5. アクリルアミドの概要

アクリルアミド (Acrylamide : AA)	
化学式	$\text{CH}_2=\text{CH}-\text{C}\begin{array}{l} \text{O} \\ \parallel \\ \text{NH}_2 \end{array}$
性質	分子量 70.08 無臭の白色結晶
用途	凝集剤、土壌改良剤、繊維の改質及び樹脂加工、紙力増強剤、接着剤、塗料、石油回収剤
感作性物質分類 (日本産業衛生学会)	皮膚感作性物質第 2 群
許容濃度 (日本産業衛生学会)	0.10mg/m ³

表 6. メタクリル酸メチルの概要

メタクリル酸メチル (Methyl methacrylate : MMA)	
化学式	$ \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{H}_2\text{C}=\text{C}-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{CH}_3 \end{array} $
性質	分子量 100 無色透明の液体
用途	建築材料、成型用ペレット、照明器具、広告看板、日用品、塗料、接着剤
感作性物質分類 (日本産業衛生学会)	気道感作性物質第 2 群 皮膚感作性物質第 2 群
許容濃度 (日本産業衛生学会)	2ppm、 8.3mg/m ³

表 7. 無水トリメリット酸の概要

無水トリメリット酸 (Trimellitic Anhydride : TA)	
化学式	
性質	分子量 192.12 白色の粉末
用途	水溶性塗料、エステル系耐熱性可塑剤、ポリアミドイミド原料、エポキシ樹脂硬化剤、接着剤、繊維処理剤、界面活性剤、染料、顔料
感作性物質分類 (日本産業衛生学会)	気道感作性物質第 1 群
許容濃度 (日本産業衛生学会)	0.0005mg/m ³ 最大許容濃度 0.004mg/m ³

職場における化学物質特異的抗体保有率に関する研究

研究代表者 辻 真弓 産業医科大学 医学部 産業衛生学 准教授

研究要旨

化学物質（樹脂）取扱い作業を含む事業所 4 社を対象に、樹脂取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。今年度測定した化学物質 12 種類の中で、樹脂取扱い作業者は一般人より TDI（トルエンジイソシアネート）、BADGE（ビスフェノール A ジグリシジルエーテル）、ED（エチレンジアミン）、MMA（メタクリル酸メチル）特異的 IgG 抗体値が比較的高い傾向が認められた。BADGE はエポキシ樹脂の原料として、ED はエポキシ樹脂の硬化剤として使用されている。MMA はメタクリル樹脂（アクリル樹脂）のポリマーである。4 社中 3 社は中小企業であり、主たる使用樹脂は把握できるが、時期によっては複数の樹脂を同時に使用する。4 社中 1 社の規模は大きく、工場全体として多数の樹脂を常時使用している。いずれの社においても従業員や産業医がすべての使用樹脂、化学物質を把握することは非常に難しい状況である。

樹脂取扱い現場で単一の化学物質のみを使用することはなく、同時に複数の化学物質を使用する。今回の研究において、特異的 IgG 抗体が特定の化学物質において曝露の指標になりうる可能性があることを示唆する結果が得られた。職業現場で一度に複数種類の化学物質特異的 IgG 抗体値を半定量化した研究は国内外で本研究が初めてであり、その意義は大きい。今後さらに多くの樹脂取扱い施設を対象に、特定化学物質に指定されていない化学物質も十分に視野に入れた調査を行うことを計画している。

研究分担者

川本 俊弘	産業医科大学医学部産業衛生学
一瀬 豊日	産業医科大学進路指導部
土屋 卓人	産業医科大学医学部産業衛生学
武林 亨	慶應義塾大学 医学部 衛生学公衆衛生学慶応大学
田中 政幸	公益財団法人 福岡労働衛生研究所
石原 康宏	広島大学大学院総合科学研究科 行動科学講座 分子脳科学研究室

A. 研究目的

「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への有用性に関する調査」に関し、化学物質（樹脂）取扱い作業を含む事業所従業員の特異的 IgG 抗体値と一般住民の特異的抗体値を比較する。

B. 研究方法

対象：

事業所従業員を対象とし、抗体値に影響を及ぼすと予想される生活習慣に関するデータ（喫煙、飲酒、アレルギー既往歴、化学物質の取り扱い状

況等）ならびに生体試料（血液）を収集した。

生体試料（血液）：

- ・総 IgG、総 IgE、特異的 IgE 抗体測定：業者に測定を委託した。

測定方法：蛍光酵素免疫測定法（FEIA）

- ・特異的 IgG 抗体測定：産業医科大学産業衛生学講座で開発・特許を取得（2015 年特許第 5757519 号）した方法を用いた。

（倫理面への配慮）

調査内容は産業医科大学倫理委員会の承認を得て実施した。また、実施にあたっては、平成 14 年 7 月に発表された「疫学に関する倫理指針」を遵守して行い、結果に対してはプライバシーに十分に配慮した。

C. 化学物質基本情報

本報告書で使用している略語

TDI：トルエンジイソシアネート

PA：無水フタル酸

FA：ホルムアルデヒド

GA：グルタルアルデヒド

PPD：パラフェニレンジアミン

BADGE：ビスフェノール A ジグリシジルエーテル
AA：アクリルアミド
ED：エチレンジアミン
HDI：ヘキサメチレンジイソシアネート
MMA：メタクリル酸メチル
TMA：無水トリメリット酸
GMA：メタクリル酸グリシジル

今年度本研究でのみ追加された化学物質の詳細
(他の化学物質の特性については、他の分担研究者が報告しているので省略)

ED エチレンジアミン

性状：NH₂CH₂CH₂NH₂ 分子量 60.11。アンモニア臭のある無色の液体。

用途：キレート剤、エポキシ樹脂硬化剤、殺菌剤、繊維加工剤（防しわ剤、染料固着剤）・可塑剤、ゴム薬品合成原料、イオン交換樹脂、ゴム薬品原料（繊維関係、農薬原料、キレート化剤）等

原料：エチレンジクロライド、アンモニア

毒性：許容濃度 10ppm

蒸気は不快なアンモニア臭を持っており、目、鼻、のど、呼吸器系等に痛みと刺激を与え、時には生命に危険を及ぼす。

HDI ヘキサメチレンジイソシアネート

性状：OCN(CH₂)₆NCO 分子量 168.2

ベンゼン、トルエン、クロルベンゼン、酢酸エチル等に可溶。

用途：塗料、接着剤、コーティング加工用樹脂の原料

原料：ヘキサメチレンジアミン

毒性：許容濃度 0.005ppm

皮膚や目に入った場合炎症を起こすことがある。吸入した場合、上部呼吸器気管を刺激し、喘息症状を起こすことがある。

GMA メタクリル酸グリシジル

性状：C₇H₁₀O₃

用途：熱硬化性塗料、接着剤、塩ビ安定剤、ゴム、樹脂などの改質剤、印刷インキのバインダー、イオン交換樹脂、繊維処理剤、帯電防止剤 など

原料：メタクリル酸、エピクロロヒドリン

毒性：急性経口毒性 LD50 500 mg/kg (ラット)
急性経皮毒性 LD50 450 μl/kg (ラビット)

D. 結果

A 社

A 質問票の結果

主として使用する樹脂はウレタン樹脂である。

事業所の研究対象者総数は 81 名（男性 77 名、女性 4 名）、対象者の年齢の平均値は 38.6 歳。アレルギー既往歴ありのものは 35%（28 名/81 名）であった。喫煙率は 44%（36 名/81 名）、ほぼ毎日飲酒するものが全体の 57%（39 名/81 名）であった。厚生労働省国民健康・栄養調査（平成 26 年度）では、喫煙習慣のある者の割合は男性で 34.1%、女性で 9.6%である。飲酒習慣のある者の割合は男子で 32.8%、女性で 8.7%である。よって A 社の対象者は全国と比較して、喫煙・飲酒習慣者が多いといえる。（A 社 A 質問票の結果 ①～⑥）

B 採取試料から得られた結果

(a) 総 IgG 抗体、総 IgE 抗体

総 IgG 抗体・総 IgE 抗体の平均値は職種別・特化物健診の有無・アレルギー既往歴別間で大きな違いは見られなかった。（A 社 B 採取試料から得られた結果（1）（2））

(b) 特異的 IgG 抗体、特異的 IgE 抗体

TDI：特化物健診あり群は、特化物健診なし群と比較して、TDI 特異的 IgG 抗体陽性者の割合が高い傾向が認められたが有意ではなかった（OR=5.58 P value=0.066）。アレルギー既往歴あり群は、アレルギー既往歴なし群と比較して、TDI 特異的 IgG 抗体陽性者の割合が高い傾向が認められたが有意ではなかった（OR=3.04 P value=0.069）。

PA：特化物健診あり群は、特化物健診なし群と比較して、PA 特異的 IgG 抗体陽性者の割合が高い傾向が認められたが有意ではなかった（OR=6.01 P value=0.124）。アレルギー既往歴あり群は、アレルギー既往歴なし群と比較して、PA 特異的 IgG 抗体陽性者の割合がやや高い傾向が認められたが有意ではなかった（OR=2.25 P value=0.248）。FA：FA 特異的 IgG 抗体陽性者の割合は職種別・特化物健診の有無・アレルギー既往歴の有無で大きな違いはなかった。（A 社 B 採取試料から得られた結果（3））

(c) 特異的 IgG 抗体値の一般人・A 社比較

①対象者が一般人より高い抗体値を示した物質
TDI：対象者は一般人と比較して TDI 特異的 IgG 抗体値 12.5 μg/ml 以上の割合が有意ではないが高くなる傾向が認められた（OR=2.73 P value=0.063）。

FA：対象者は一般人と比較して FA 特異的 IgG 抗体値 0 より大きく 3.125 μg/ml 未満の割合が有意に高かった（OR=5.28 P value=0.003）。3.125 以上 6.25 μg/ml 未満の割合が有意ではないがや

や高くなる傾向が認められた (OR=2.07 P value=0.591)。

②対象者が一般人より低い抗体値を示した物質
PA: 対象者は一般人と比較して PA 特異的 IgG 抗体値が低い傾向が認められた。

(A 社 B 採取試料から得られた結果 (4))

B 社

A 質問票の結果

使用する樹脂はウレタン樹脂、エポキシ樹脂等複数の樹脂である。全員が特化物健康診断対象者である。事業所の研究対象者総数は 39 名 (すべて男性)、対象者の年齢の平均値は 37.5 歳。アレルギー既往歴ありのものは 8% (3 名/39 名) であった。喫煙率は 28% (11 名/39 名)、ほぼ毎日飲酒するものが全体の 26% (10 名/39 名) であった。よって B 社の対象者は全国と比較して、喫煙・飲酒習慣者が少ないといえる。(B 社 A 質問票の結果①～⑥)

B 採取試料から得られた結果

(a) 総 IgG 抗体、総 IgE 抗体

総 IgE 抗体の平均値はアレルギー既往歴あり群は 385 IU/ml、アレルギー既往歴なし群は 177 IU/ml と、アレルギー既往歴あり群の方が高かった。(B 社 B 採取試料から得られた結果 (1) (2))

(b) 特異的 IgG 抗体値の一般人・B 社比較

①対象者が一般人よりやや高い抗体値を示した物質 (OR 2.0 以上 3.0 未満)

PA: 対象者は一般人と比較して PA 特異的 IgG 抗体値 6.25 以上 12.5 μ g/ml 未満、12.5 μ g/ml 以上の割合がやや高くなる傾向が認められた (OR=1.94 P value=0.303, OR=2.89 P value=0.503)。

BADGE: 対象者は一般人と比較して BADGE 特異的 IgG 抗体値 0 より大きく 3.125 μ g/ml 未満、3.125 以上 6.26 μ g/ml 未満の割合がやや高くなる傾向が認められた (OR=1.83 P value=0.375, OR=2.67 P value=0.520)。

MMA: 対象者は一般人と比較して MMA 特異的 IgG 抗体値 0 より大きく 3.125 μ g/ml 未満の割合がやや高くなる傾向が認められた (OR=2.04 P value=0.573)。

②対象者が一般人より高い抗体値を示した物質 (OR 3.0 以上)

ED: 対象者は一般人と比較して ED 特異的 IgG 抗

体値 0 より大きく 3.125 μ g/ml 未満の割合が高くなる傾向が認められた (OR=4.61 P value=0.194)。

③対象者が一般人より低い抗体値を示した物質
PPD: 対象者は一般人と比較して PPD 特異的 IgG 抗体値 0 より大きく 3.125 μ g/ml 未満の割合が有意に低かった (OR=0.09 P value=0.033)。

④対象者と一般人の抗体値にほとんど差がない物質 (OR 0.3 以上 2.0 未満)

TDI, FA, GA, AA, HDI, TMA, GMA: 対象者と一般人の特異的 IgG 抗体値に差はほとんど見られなかった。(B 社 B 採取試料から得られた結果 (5))

(c) 特異的 IgG 抗体値の一般人・B 社比較

使用樹脂の主剤 TDI 及び BADGE: 2 群比較

TDI: 2 群間 (陰性～弱陽性: <6.25 μ g/ml, 強陽性: $\geq$ 6.25 μ g/ml) で比較した結果、対象者は有意ではないが、一般人より強陽性者の割合が低い傾向が認められた (OR=0.35 P value=0.155)。

BADGE: 2 群間 (陰性: <0 μ g/ml, 陽性: $\geq$ 0 μ g/ml) で比較した結果、対象者は有意ではないが、一般人より陽性者の割合が高い傾向が認められた (OR=5.12 P value=0.059)。(B 社 B 採取試料から得られた結果 (6))

C 社

A 質問票の結果

主として使用する樹脂はエポキシ樹脂である。全員が特化物健康診断対象者である。事業所の研究対象者総数は 35 名 (男性 34 名、女性 1 名)、対象者の年齢の平均値は 34.7 歳。アレルギー既往歴ありのものは 63% (22 名/39 名) であった。喫煙率は 46% (16 名/35 名)、ほぼ毎日飲酒するものが全体の 49% (17 名/39 名) であった。よって C 社の対象者は全国と比較して、喫煙・飲酒習慣者が多いといえる。(C 社 A 質問票の結果①～⑥)

B 採取試料から得られた結果

(a) 総 IgG 抗体、総 IgE 抗体

総 IgG 抗体・総 IgE 抗体の平均値はアレルギー既往歴有り・無し群間で、大きな違いは、みられなかった。(C 社 B 採取試料から得られた結果 (1) (2))

(b) 特異的 IgG 抗体値の一般人・C 社比較

①対象者が一般人よりやや高い抗体値を示した物質 (OR 2.0 以上 3.0 未満)

MMA: 対象者は一般人と比較して MMA 特異的 IgG

抗体値0より大きく3.125 μ g/ml未満の割合がやや高くなる傾向が認められた (OR=2.65 P value=0.374)。

②対象者が一般人より低い抗体値を示した物質
TDI: 対象者は一般人と比較して *TDI* 特異的 IgG 抗体値が全体として低い傾向がみられた。

③対象者と一般人の抗体値にほとんど差がない物質 (OR 0.3 以上 2.0 未満)
FA, GA, BADGE, AA, ED, HDI, TMA, GMA: 対象者と一般人の特異的 IgG 抗体値に差はほとんどみられなかった。

④どちらともいえない物質(特異的 IgG 値の割合が高い場合と低い場合が混在)
PA: 対象者は一般人と比較して *PA* 特異的 IgG 抗体値0より大きく3.125 μ g/ml未満、3.125以上6.25 μ g/ml未満の割合が高くなる傾向が認められた (OR=2.55 P value=0.483, OR=1.55 P value=0.764)。対して6.25以上12.5 μ g/ml未満、12.5 μ g/ml以上の割合は低くなる傾向が認められた (OR=0.38 P value=0.438, OR=0.25 P value=0.254)。
PPD: 対象者は一般人と比較して *PPD* 特異的 IgG 抗体値0より大きく3.125 μ g/ml未満の割合が低かった (OR=0.20 P value=0.066) が3.125以上6.25 μ g/ml未満の割合は高くなる傾向が認められた (OR=4.30 P value=0.318)。
(C社 B採取試料から得られた結果 (5))

(c)特異的 IgG 抗体値の一般人・C社比較 使用樹脂の主剤 BADGE : 2群比較

BADGE: 2群間(陰性:<0 μ g/ml, 陽性: $\geq$ 0 μ g/ml)で比較した結果、対象者は有意ではないが、一般人より陽性者の割合がやや高い傾向が認められた (OR=1.98 P value=0.462)。
(C社 B採取試料から得られた結果 (6))

D社

A質問票の結果

主として使用する樹脂はポリプロピレン樹脂、ポリエチレン樹脂である。事業所の研究対象者総数は26名(すべて男性)、対象者の年齢の平均値は34.7歳。アレルギー既往歴ありのものは46%(12名/26名)であった。喫煙率は50%(13名/26名)、ほぼ毎日飲酒するものが全体の39%(10名/26名)であった。よってB社の対象者は全国と比較して、喫煙・飲酒習慣者が多いといえる。
(D社 A質問票の結果①～⑥)

B採取試料から得られた結果

(a)総 IgG 抗体、総 IgE 抗体

総 IgE 抗体の平均値はアレルギー既往歴あり群は1012 IU/ml、アレルギー既往なし群は188 IU/mlと、アレルギー既往歴あり群の方が有意ではないが高い傾向がみられた。(D社 B採取試料から得られた結果 (1)(2))

(b)特異的 IgG 抗体値の一般人・D社比較

①対象者が一般人より高い抗体値を示した物質 (OR 3.0 以上)

BADGE: 対象者は一般人と比較して *BADGE* 特異的 IgG 抗体値0より大きく3.125 μ g/ml未満の割合が高くなる傾向が認められた (OR=6.88 P value=0.073)。

ED: 対象者は一般人と比較して *ED* 特異的 IgG 抗体値0より大きく3.125 μ g/ml未満の割合が高くなる傾向が認められた (OR=4.93 P value=0.247)。

MMA: 対象者は一般人と比較して *MMA* 特異的 IgG 抗体値0より大きく3.125 μ g/ml未満の割合が高かった (OR=20.7 P value=0.020)。

②対象者が一般人より低い抗体値を示した物質
PPD: 対象者は一般人と比較して *PPD* 特異的 IgG 抗体値0より大きく3.125 μ g/ml未満の割合は低い傾向が認められた (OR=0.30 P value=0.200)。
AA: 対象者は一般人と比較して *AA* 特異的 IgG 抗体値0より大きく3.125 μ g/ml未満の割合は低い傾向が認められた (OR=0.19 P value=0.211)。
HDI: 対象者は一般人と比較して *HDI* 特異的 IgG 抗体値0より大きく3.125 μ g/ml未満の割合は低い傾向が認められた (OR=0.27 P value=0.173)。

③対象者と一般人の抗体値にほとんど差がない物質 (OR 0.3 以上 2.0 未満)
TDI, FA, GA, TMA, GMA: 対象者と一般人の特異的 IgG 抗体値に差はほとんどみられなかった。

④どちらともいえない物質(特異的 IgG 値の割合が高い場合と低い場合が混在)
PA: 対象者は一般人と比較して *PA* 特異的 IgG 抗体値3.125以上6.25 μ g/ml未満の割合がわずかに高くなる傾向が認められた (OR=1.26 P value=0.915)。対して6.25以上12.5 μ g/ml未満、12.5 μ g/ml以上の割合は有意に低かった (OR=0.06 P value=0.007, OR=0.03 P value=0.001)。(D社 B採取試料から得られた結果 (5))

E. 考察

今回の研究で、一般人と対象者の特異的 IgG 抗体値を比較し、TDI、BADGE、ED、MMA 特異的 IgG 抗体値が曝露の指標になりうる可能性があることを示唆する結果が得られた。

TDI

A 社は主としてウレタン樹脂を取り扱っている中小企業である。一般人と比較して TDI 特異的 IgG 抗体値 $12.5 \mu\text{g/ml}$ 以上の割合が有意ではないが高くなる傾向が認められた (OR=2.73 P value=0.063)。さらに A 社の中でも製品製造業に携わり、他の従業員と比較しより長く TDI 取り扱い作業に従事している特化物健診あり群は、特化物健診なし群と比較して、TDI 特異的 IgG 抗体陽性者の割合が高い傾向が認められている (OR=5.58 P value=0.066)。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おり²⁴、先行研究を考慮すると、事業所での TDI 曝露が今回の結果に影響を及ぼしている可能性がある。しかしながら B 社も同様にウレタン樹脂を使用しているが、TDI 特異的 IgG 抗体値は一般人と比較し、差はみられない。A 社は自動車用ウレタンパッドを生産する会社であり、B 社は電気機器を主として生産する会社である。生産する製品の違い、作業管理や作業環境管理の違い、作業従事者の意識等が結果に影響を及ぼしている可能性がある。

BADGE

D 社対象者は一般人と比較して BADGE 特異的 IgG 抗体値 0 より大きく $3.125 \mu\text{g/ml}$ 未満の割合が高くなる傾向が認められた (OR=6.88 P value=0.073)。B 社対象者は一般人と比較して BADGE 特異的 IgG 抗体値 0 より大きく $3.125 \mu\text{g/ml}$ 未満、 3.125 以上 $6.26 \mu\text{g/ml}$ 未満の割合がやや高くなる傾向が認められた (OR=1.83 P value=0.375, OR=2.67 P value=0.520)。C 社は 2 群間 (陰性: $<0 \mu\text{g/ml}$, 陽性: $\geq 0 \mu\text{g/ml}$) で比較した結果、対象者は有意ではないが、一般人より陽性者の割合がやや高い傾向が認められた (OR=1.98 P value=0.462)。

ED

B 社・D 社対象者はともに一般人と比較して ED 特異的 IgG 抗体値 0 より大きく $3.125 \mu\text{g/ml}$ 未満の割合が高くなる傾向が認められた (B 社 OR=4.61 P value=0.194、D 社 OR=4.93 P value=0.247)。

MMA

B、C、D 社対象者は一般人と比較して MMA 特異的 IgG 抗体値 0 より大きく $3.125 \mu\text{g/ml}$ 未満の割合が高かった (B 社 OR=2.04 P value=0.573、C 社 OR=2.65 P value=0.374、D 社 OR=20.7 P value=0.020)。

BADGE はエポキシ樹脂の原料として、ED はエポキシ樹脂の硬化剤として使用されている。B 社、D 社において一般人と比較して BADGE と ED 特異的 IgG 抗体値が、共に高い傾向が認められた点は、曝露因子・曝露経路を推定するうえで注目すべき点である。BADGE は接触性皮膚炎の原因物質として報告されているだけでなく^{5,6} 生殖機能への影響の有無⁷ が依然として取だたされている化学物質である。ED はヒトを対象とした疫学調査において、呼吸器障害⁸ や接触性皮膚炎⁹ の原因物質であると報告されている。また、ラットを用いた研究では臓器 (肝臓、腎臓、心臓、脾臓等) の重量減少¹⁰ や母動物への毒性用量で発生毒性 (胎児の前腕頭動脈の短縮・欠損、体重減少、胸骨非骨化発現数増加等)¹¹ が報告されている。MMA はメタクリル樹脂 (アクリル樹脂) のポリマーである。メタクリル樹脂は、熱硬化性塗料・接着剤、ラテックス改質剤、イオン交換樹脂、紙、織物加工剤等、その使用目的の範囲が非常に広く、プラスチックの女王と評される樹脂である。透明性が樹脂中で最も高く、強靱で、加工しやすく、着色もしやすいことから、特に電子機器の光学用途、自動車部品に使用されている。またその特性からコスメ用品、特にネイル製品にも使用されている。先行研究の疫学調査では、MMA 取り扱い作業従事者において、重度な症状はみられないが、咳・痰の増加、喉の痒み等がみられたことが報告されている¹²。メタクリル酸と呼吸器に関するレビュー論文では、目の刺激症状や皮膚刺激性、鼻腔の炎症、喘息といった上気道炎症とメタクリル酸との関係性が報告されている¹³。D 社は特にアレルギー既往歴ありのものが対象者の約半数 (46%) を占めており、今後 MMA 曝露とアレルギー一症状の関係を詳細に調査する必要がある。

A・B・C 社は中小企業で、主たる使用樹脂は把握できるが、時期によっては複数の樹脂を同時に使用する。D 社対象者が所属する部署はポリエチレン、ポリプロピレン樹脂を主として使用している。しかしながら D 社の規模は大きく、工場全体として多数の樹脂を使用している。いずれの社においても従業員や産業医がすべての使用樹脂、化学物質を把握することは非常に難しい。特に BADGE、ED、MMA は TDI や FA とは異なり、特定化

学物質ではないため、作業従事者ならびに医療スタッフの意識にのぼりにくい化学物質である。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必要があると考える。

樹脂取り扱い施設を対象に、一度に複数種類の化学物質特異的 IgG 抗体値を半定量化した研究は国内外で本研究が初めてであり、その意義は非常に大きい（測定方法：H27 年度特許取得）。次年度は対象事業所をさらに増加させ、特定化学物質にリストアップされていない化学物質も十分に視野に入れた調査を行うことを計画している。

E. 結論

今回の研究で、一般人と対象者の特異的 IgG 抗体値を比較し、TDI、BADGE、ED、MMA 特異的 IgG 抗体値が曝露の指標になりうる可能性があることを示唆する結果が得られた。BADGE、ED、MMA は TDI と異なり、特定化学物質ではない。しかしながら、先行研究において接触性皮膚炎や発生毒性、上気道炎症との関係が指摘されている化学物質である。今後は対象者数ならびに測定する化学物質の種類を増やして更なる研究を行う必要がある。

参考文献

1. 厚生労働省 平成 26 年度 国民健康・栄養調査
2. Pronk A et al. Respiratory symptoms, sensitization, and exposure response relationships in spray painters exposed to isocyanates. *Am J Respir Crit Care Med*. 176:1090-1097, 2007
3. Wisniewski A et al. Biomonitoring Hexamethylene diisocyanate (HDI) exposure based on serum levels of HDI-specific IgG. *Ann Occup Hyg*. 56:901-910, 2012
4. Pham le D et al. Serum specific IgG response to toluene diisocyanate-tissue transglutaminase conjugate in toluene diisocyanate-induced occupational asthmatics. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 113(1):48-54, 2014.
5. Bangsgaard N et al. Contact allergy to epoxy resin: risk occupations and consequences. *Contact Dermatitis*. Aug;67(2):73-7, 2012.
6. Breuer K et al. Contact allergy induced by bisphenol A diglycidyl ether leachables from aluminium tubes for pharmaceutical use. *Allergy*. 70(2):220-6, 2015.
7. Peretz J et al. Bisphenol a and reproductive health: update of experimental and human evidence, 2007-2013. *Environ Health Perspect*. 122(8):775-86, 2014.
8. Popa V et al. Bronchial asthma and asthmatic bronchitis determined by simple chemicals. *Dis Chest*. 56(5):395-402, 1969.
9. Tas J et al. Allergy to aminophylline; report of a case. *Acta Allergol*. 12(1):39-42, 1958.
10. Yang RS et al. Acute and subchronic toxicity of ethylenediamine in laboratory animals. *Fundam Appl Toxicol*. 3(6):512-20, 1983.
11. DePass LR et al. Evaluation of the teratogenicity of ethylenediamine dihydrochloride in Fischer 344 rats by conventional and pair-feeding studies. *Fundam Appl Toxicol*. 9(4):687-97, 1987.
12. Mizunuma K et al. Biological monitoring and possible health effects in workers occupationally exposed to methyl methacrylate. *Int Arch Occup Environ Health*. 65(4):227-32, 1993.
13. Borak J et al. Methyl methacrylate and respiratory sensitization: a critical review. *Crit Rev Toxicol*. 41(3):230-68, 2011.

F. 健康危険情報

該当無し

G. 研究発表

1. 論文発表
Kawamoto T, Tsuji M, Isse T.
Comparison of IgG against plastic resin in workers with and without chemical dermatitis.
BMC Public Health. 2015 Sep 21;15:930.
doi: 10.1186/s12889-015-2302-4.
2. 学会発表
(1) 辻 真弓、土屋 卓人、一瀬 豊日、
太田 雅規、田中 政幸、川本 俊弘 感作
物質特異的抗体の保有率の検討 1. 第 88 回
日本産業衛生学会 大阪 グランフロント
大阪 2015.5.15

- (2)川本 俊弘、辻 真弓、土屋 卓人・プラスチック樹脂原料の血清アルブミンへの結合. 第 88 回日本産業衛生学会 大阪 グランフロント大阪 2015. 5. 16
- (3)辻 真弓、郡山 千早、太田 雅規、田中政幸、川本 俊弘. 職場における化学物質特異的抗体保有率に関する研究. 第 74 回日本公衆衛生学会総会 長崎ブリックホール 2015. 11. 5
- (4) Kawamoto T, Tsuji M, Tsuchiya T.
Detection of Specific Immunoglobulin G Against Plastic Resin in Workers with Dermatitis. International Symposium of Environmental Science 25th Meeting, Henderson, Nevada, Oct. 18-22, 2015
- (5) Tsuji M, T Isse, MYamamoto, T. Kawamoto.
Toluene diisocyanate and formaldehyde specific IgE and IgG antibodies in the urethane resin handling plant. SOT55th Annual Meeting & ToxExpo. New Orleans Ernest N. Morial Convention Center in New Orleans, Louisiana. 2016. 3. 16.

H. 知的財産権の出願・登録状況

- | | |
|-----------|---------------|
| 1. 特許取得 | 特許第 5757519 号 |
| 2. 実用新案登録 | 該当無し |
| 3. その他 | 該当無し |

1 A 社 自動車用ウレタンパッド製造会社

A 質問票の結果

① 主たる使用樹脂：ウレタン樹脂

ウレタン樹脂原料：

イソシアネート成分・・・トルエンジイソシアネート、ジフェニルメタンジイソシアネート、
ヘキサメチレンジイソシアネートおよびそれらの誘導体 等
ポリオール成分・・・ポリエーテルポリオール、ポリエステルポリオール 等

A 社で確認された使用製品

・コスモネート TM-20 (三井化学)

主な原料 TDI (トルレンジイソシアネート)

・スミジュール 44V (住化バイエル株式会社)

主な原料 MDI (ジフェニルメタンジイソシアネート)

・SBU ポリオール H556 (住化バイエル株式会社)

・4053 Polyol DA (THE DOW CHEMICAL COMPANY)

・離型剤 URH-520 (コニシ株式会社)、有機成分含有シリコーン
グリコール、グリセリン、ジエタノールアミン 等

② 対象者 81 名 (男性 77 名、女性 4 名)

③ 年齢 mean (S.E.) 38.6 (1.1)

④ アレルギー疾患既往歴 なし 53 名 (65%) あり 28 名 (35%)

⑤ 喫煙習慣

喫煙習慣	N=81	%
吸わない	18	22
やめた	27	33
吸う	36	44

⑥ 飲酒習慣

飲酒習慣	N=68	%
飲まない・機会飲酒	29	43
ほぼ毎日飲んでいる	39	57

⑦ 職 種

職種	N=81	%
管理的職業従事者	4	5
生産工程従事者(製品製造)	64	79
生産工程従事者(製品検査)	4	5
生産工程従事者(生産制御監視)	8	9
生産工程従事者(機械整備・修理作業)	1	1

⑧ 特定化学物質健康診断対象者 (トルエンジイソシアネート:TDI) 12 名

職種	特化物健診	
	なし	あり
管理的職業従事者	4	0
生産工程従事者(製品製造)	53	11
生産工程従事者(製品検査)	4	0
生産工程従事者(生産制御監視)	7	1
生産工程従事者(機械整備・修理作業)	1	0

B 採取試料(血清)から得られた結果

(1) 総 IgG 値

・男女別

総 IgG (mg/dl)	男性	女性
	N=77	N=4
mean (S.E.)	1174(30)	1323(127)

・職種別

職種	総 IgG(mg/dl)
	mean (S.E.)
管理的職業従事者	1209 (107)
生産工程従事者(製品製造)	1179 (34.9)
生産工程従事者(製品検査)	1125 (52.9)
生産工程従事者(生産制御監視)	1256 (52.9)
生産工程従事者(機械整備・修理作業)	848

・特定化学物質健康診断対象者別

特化物健診	総 IgG(mg/dl)
	mean (S.E.)
なし	1201 (32.2)
あり	1068 (52.7)

・アレルギー既往歴別

アレルギー既往歴	総 IgG(mg/dl)
	mean (S.E.)
なし	1148 (37.6)
あり	1244 (42.3)

(2) 総 IgE 値

・男女別

総 IgE (mg/dl)	男性	女性
	N=77	N=4
mean (S.E.)	292 (108)	249 (142)

・職種別

職種	総 IgE(IU/ml)
	mean (S.E.)
管理的職業従事者	539 (321)
生産工程従事者(製品製造)	285 (127)
生産工程従事者(製品検査)	228 (135)
生産工程従事者(生産制御監視)	234 (168)
生産工程従事者(機械整備・修理作業)	269

・特定化学物質健康診断対象者別

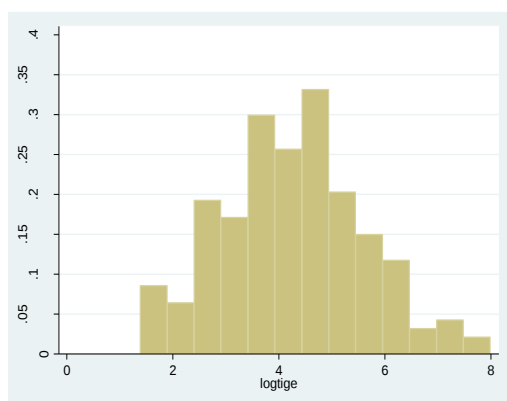
特化物健診	総 IgE (IU/ml)
	mean (S.E.)
なし	309 (119)
あり	180 (116)

・アレルギー既往歴別

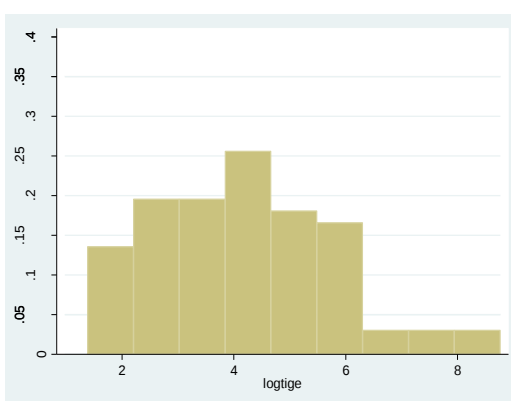
アレルギー既往歴	総 IgE (IU/ml)
	mean (S.E.)
なし	127 (31.2)
あり	598 (285)

グラフ1. 総 IgE 値

一般人

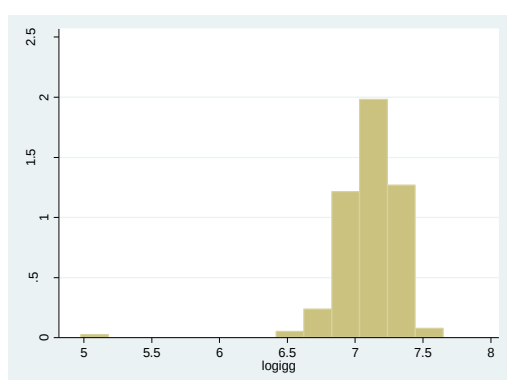


A 社

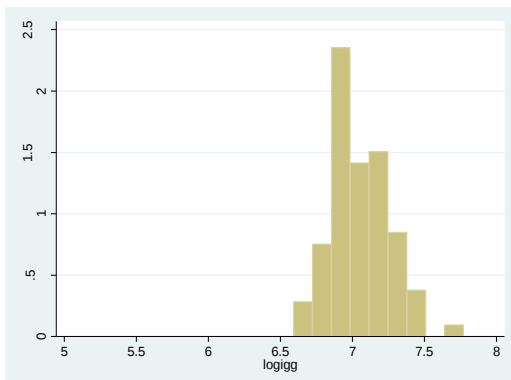


グラフ2. 総 IgG 値

一般人



A 社



(3) 特異的 IgE 値・IgG 値と職種・特化物健診・アレルギー既往歴の関係

職種	TDI						
	IgE (IU/ml)		IgG (μ g/ml)				
	<173	≥173	<12.5	≥12.5	OR	95%CI	P 値*
管理的職業従事者	4	0	2	2	1.00	(ref)	
生産工程従事者(製品製造)	62	2	36	28	0.18	0.013-2.30	0.186
生産工程従事者(製品検査)	4	0	3	1	0.09	0.003-3.53	0.202
生産工程従事者(生産制御監視)	8	0	4	4	0.70	0.018-27.2	0.846
生産工程従事者(機械整備・修理作業)	1	0	1	0	—		

特化物健診	TDI						
	IgE (IU/ml)		IgG (μ g/ml)				
	<173	≥173	<12.5	≥12.5	OR	95%CI	P 値*
なし	67	2	42	4	1.00	(ref)	
あり	12	0	27	8	5.58	0.89-34.9	0.066

アレルギー既往歴	TDI						
	IgE (IU/ml)		IgG (μ g/ml)				
	<173	≥173	<12.5	≥12.5	OR	95%CI	P 値*
なし	53	0	33	20	1.00	(ref)	
あり	26	2	13	15	3.04	0.92-10.0	0.069

*性、年齢、喫煙歴、飲酒歴、アレルギー既往歴を共変数とした多変量ロジスティック回帰分析結果

職種	PA						
	IgE (IU/ml)		IgG (μ g/ml)				
	<173	≥ 173	<12.5	≥ 12.5	OR	95%CI	P 値*
管理的職業従事者	4	0	1	3	1.00	(ref)	
生産工程従事者(製品製造)	63	1	19	45	0.30	0.02-4.76	0.393
生産工程従事者(製品検査)	4	0	1	3	0.62	0.02-24.1	0.797
生産工程従事者(生産制御監視)	8	0	0	8	—		
生産工程従事者(機械整備・修理作業)	1	0	0	1	—		

特化物健診	PA						
	IgE (IU/ml)		IgG (μ g/ml)				
	<173	≥ 173	<12.5	≥ 12.5	OR	95%CI	P 値*
なし	68	1	20	49	1.00	(ref)	
あり	12	0	1	11	6.01	0.61-59.1	0.124

アレルギー既往歴	PA						
	IgE (IU/ml)		IgG (μ g/ml)				
	<173	≥ 173	<12.5	≥ 12.5	OR	95%CI	P 値*
なし	53	0	17	36	1.00	(ref)	
あり	27	1	4	24	2.25	0.57-8.95	0.248

*性、年齢、喫煙歴、飲酒歴、アレルギー既往歴を共変数とした多変量ロジスティック回帰分析結果

職種	FA						
	IgE (IU/ml)		IgG (μ g/ml)				
	<173	≥ 173	<12.5	≥ 12.5	OR	95%CI	P 値*
管理的職業従事者	4	0	3	1	1.00	(ref)	
生産工程従事者(製品製造)	64	0	49	15	0.69	0.05-10.4	0.787
生産工程従事者(製品検査)	4	0	3	1	0.96	0.02-42.9	0.984
生産工程従事者(生産制御監視)	8	0	6	2	1.21	0.03-53.7	0.920
生産工程従事者(機械整備・修理作業)	1	0	1	0	—		

特化物健診	FA						
	IgE (IU/ml)		IgG (μ g/ml)				
	<173	≥ 173	<12.5	≥ 12.5	OR	95%CI	P 値*
なし	69	0	54	15	1.00	(ref)	
あり	12	0	8	4	1.49	0.27-8.25	0.645

アレルギー既往歴	FA						
	IgE (IU/ml)		IgG (μ g/ml)				
	<173	≥ 173	<12.5	≥ 12.5	OR	95%CI	P 値*
なし	53	0	42	11	1.00	(ref)	
あり	28	0	20	8	1.33	0.34-5.25	0.681

*性、年齢、喫煙歴、飲酒歴、アレルギー既往歴を共変数とした多変量ロジスティック回帰分析結果

(4)特異的 IgG 値の一般人・A 社比較

TDI

特異的 IgG 値 (μ g/ml)	一般人(N=104)	A 社(N=81)	OR	95%CI	P 値*
0	40	34	1.00	(ref)	
>0, <3.125	36	10	0.21	0.07-0.58	0.003
$\geq$ 3.125, <6.25	11	0	—		
$\geq$ 6.25, <12.5	8	2	0.35	0.04-2.72	0.313
$\geq$ 12.5	9	35	2.73	0.95-2.72	0.063

PA

特異的 IgG 値 (μ g/ml)	一般人(N=104)	A 社(N=81)	OR	95%CI	P 値*
0	6	12	1.00	(ref)	
>0, <3.125	5	1	0.03	0.002-0.58	0.019
$\geq$ 3.125, <6.25	7	3	0.31	0.04-2.42	0.265
$\geq$ 6.25, <12.5	20	5	0.05	0.01-0.28	0.001
$\geq$ 12.5	66	60	0.28	0.08-1.03	0.055

FA

特異的 IgG 値 (μ g/ml)	一般人(N=104)	A 社(N=81)	OR	95%CI	P 値*
0	95	36	1.00	(ref)	
>0, <3.125	7	19	5.28	1.77-15.8	0.003
$\geq$ 3.125, <6.25	2	1	2.07	0.15-29.6	0.591
$\geq$ 6.25, <12.5	0	6	—		
$\geq$ 12.5	0	19	—		

*性、年齢を共変数とした多変量ロジスティック回帰分析結果

2. B 社 ボイラー・電気機器製造会社

A 質問票の結果

①主たる使用樹脂： ウレタン樹脂、エポキシ樹脂等 複数の樹脂

② 対象者 39 名(男性) *特化物健診対象者
生産工程従事者(製品製造)

③ 年齢 mean (S.E.) 37.5 (1.7)

④ アレルギー疾患既往歴 なし 36 名(92%) あり 3 名(8%)

⑤ 喫煙習慣

喫煙習慣	N=39	%
吸わない	22	56
やめた	6	15
吸う	11	28

⑥ 飲酒習慣

飲酒習慣	N=39	%
飲まない・機会飲酒	29	74
ほぼ毎日飲んでいる	10	26

B 採取試料(血清)から得られた結果

(1) 総 IgG 値、総 IgE 値

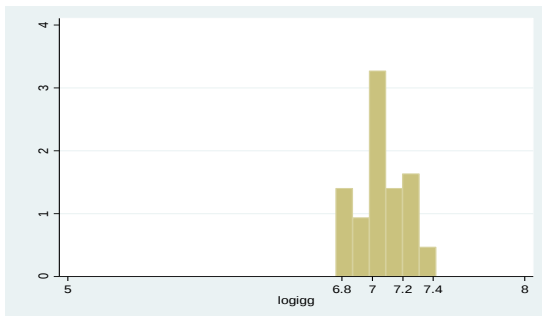
	IgG (mg/dl)	IgE (IU/ml)
mean (S.E.)	1178 (32)	193 (41)

(2) アレルギー既往歴別

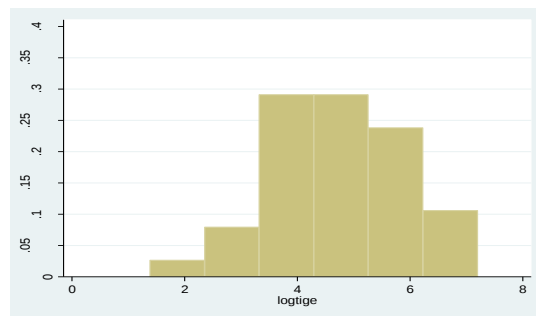
アレルギー既往歴	総 IgG(mg/dl)	総 IgE(IU/ml)
	mean (S.E.)	mean (S.E.)
なし (N=36)	1179 (32.5)	177 (41.5)
あり (N=3)	1166 (159)	385 (187)

グラフ1

B 社 総 IgG, 総 IgE 値
総 IgG 値



総 IgE 値



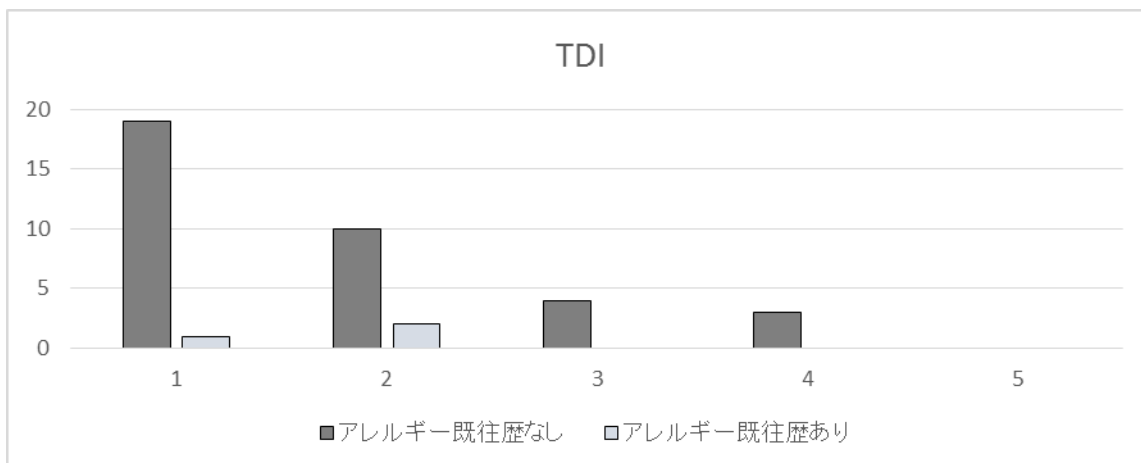
(3)特異的 IgE 値

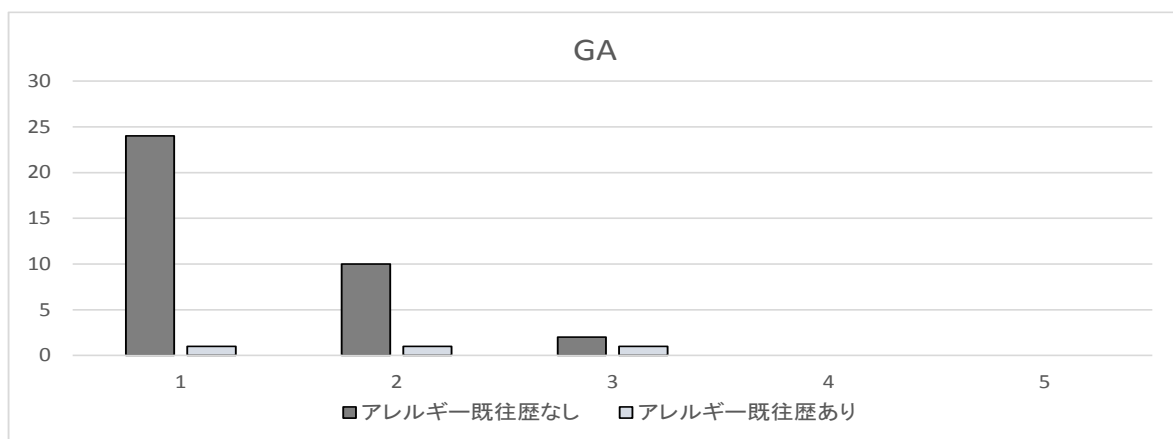
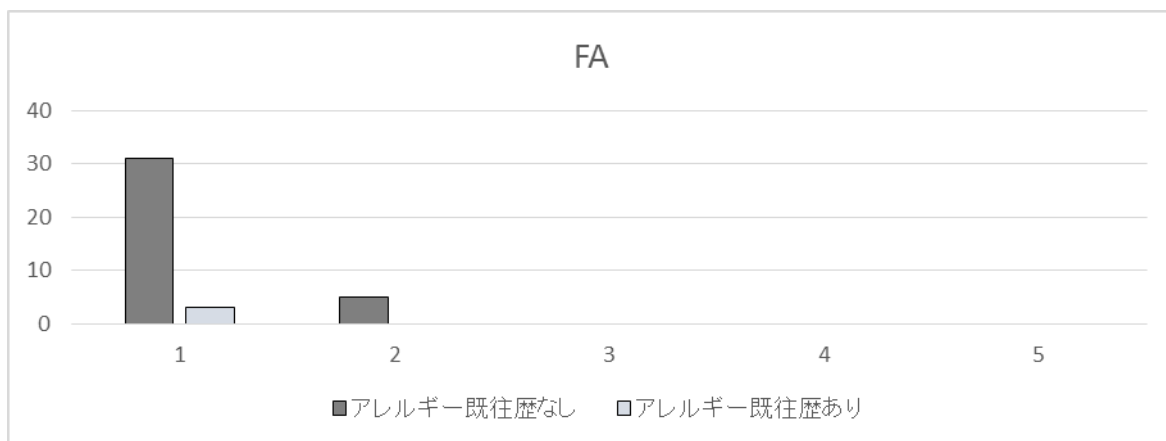
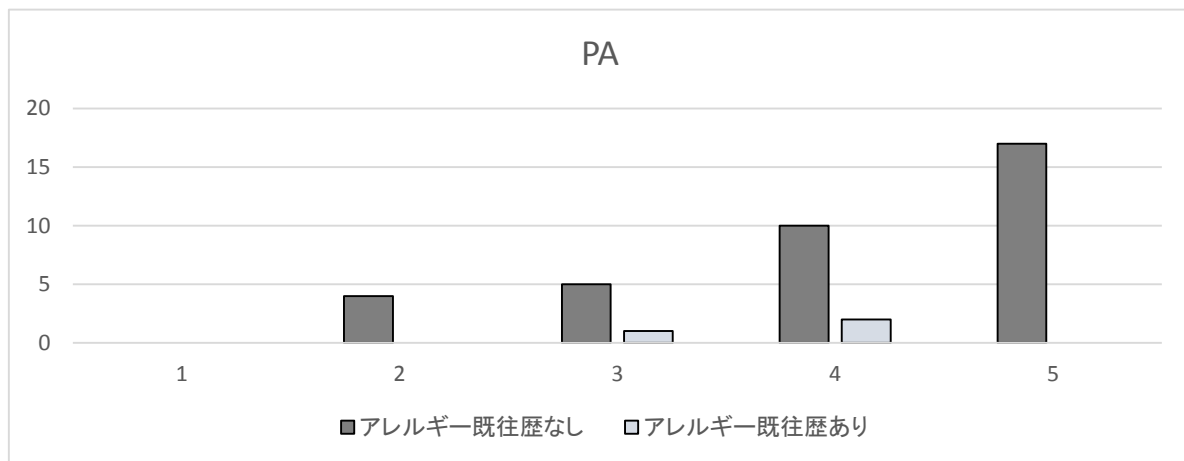
	特異的 IgE	
	<0.1UA/ml	≥0.1UA/ml
TDI	34	1
FA	39	0
PA	39	0

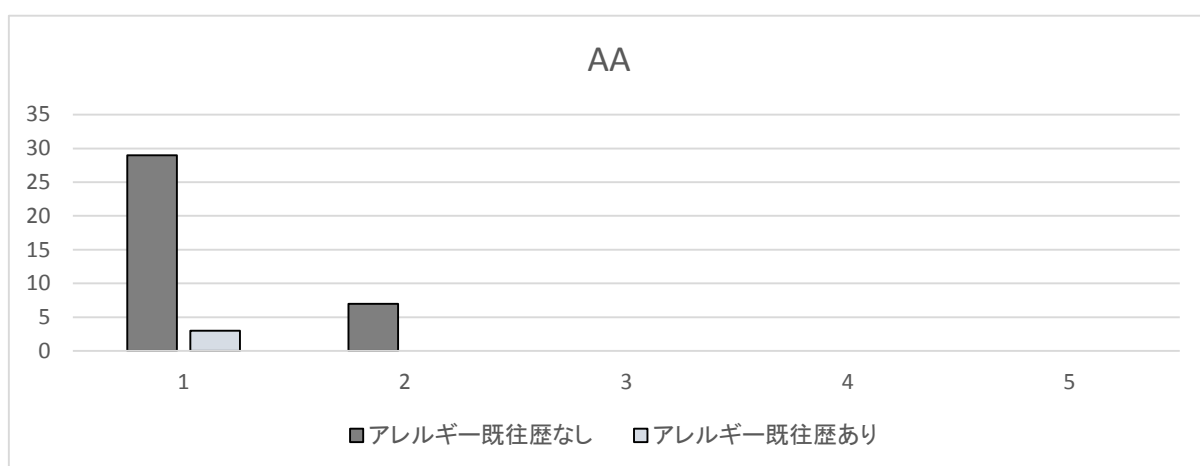
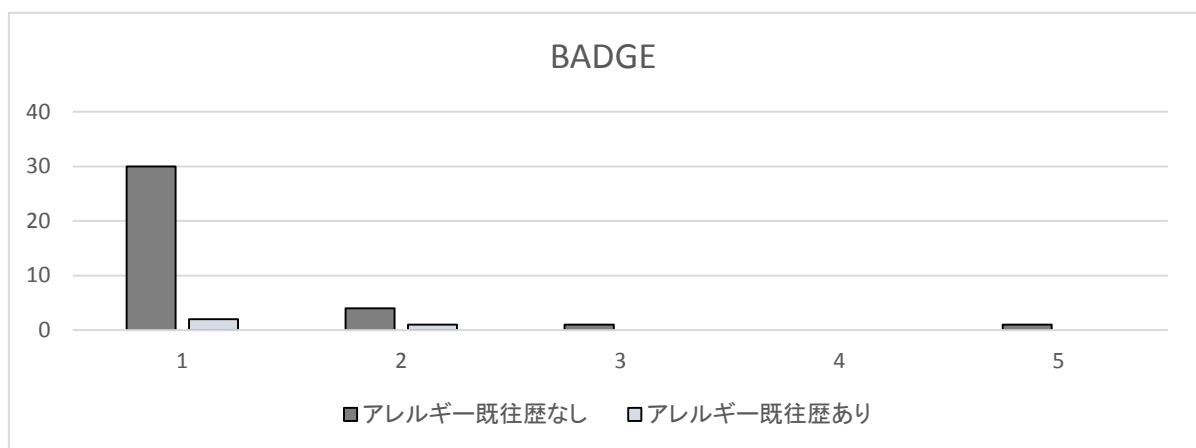
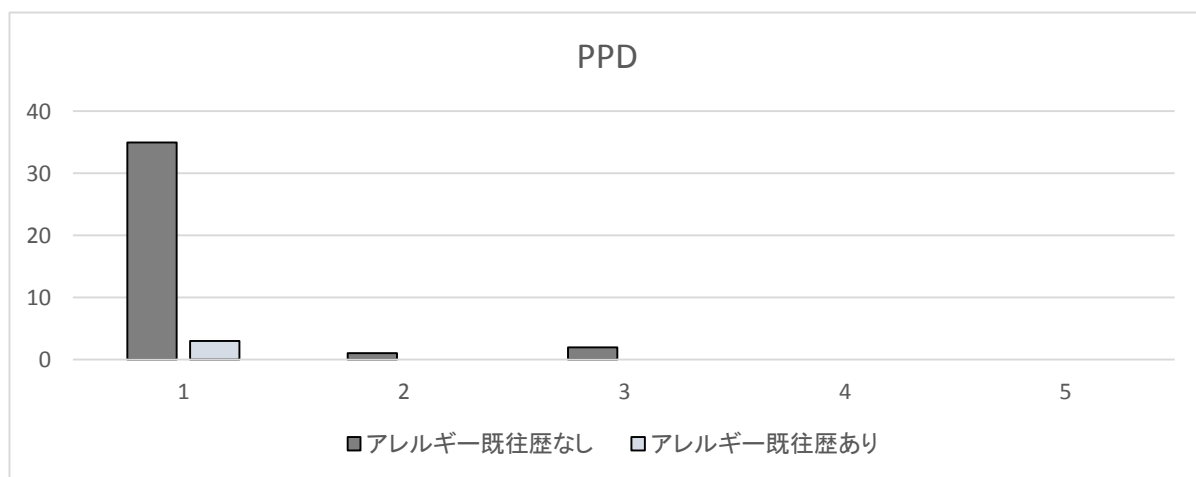
(4)特異的 IgG 値 と アレルギー既往歴

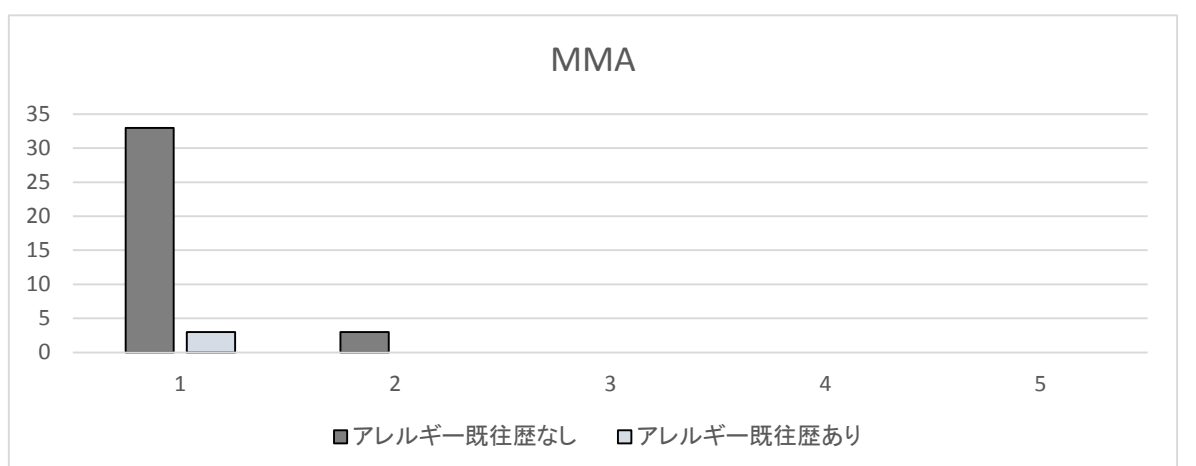
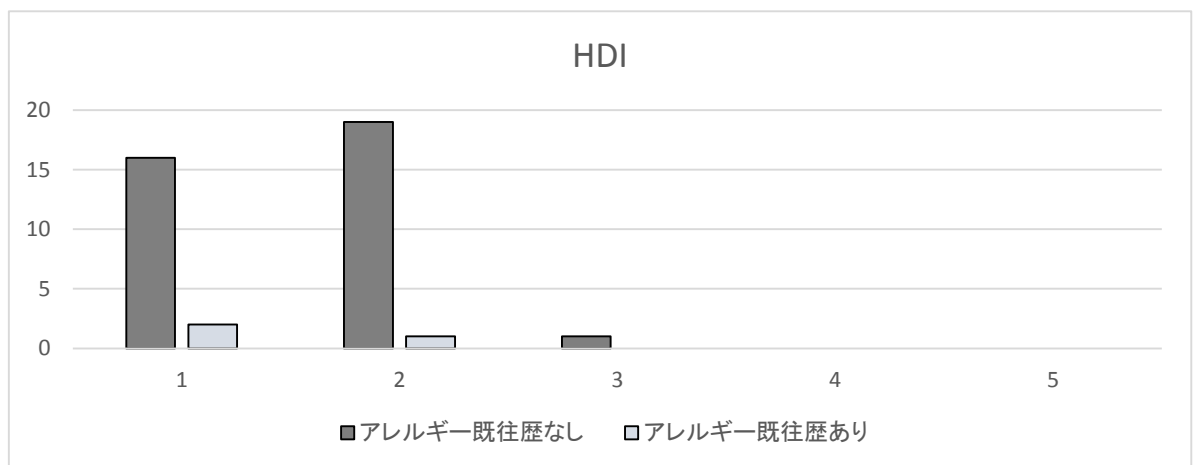
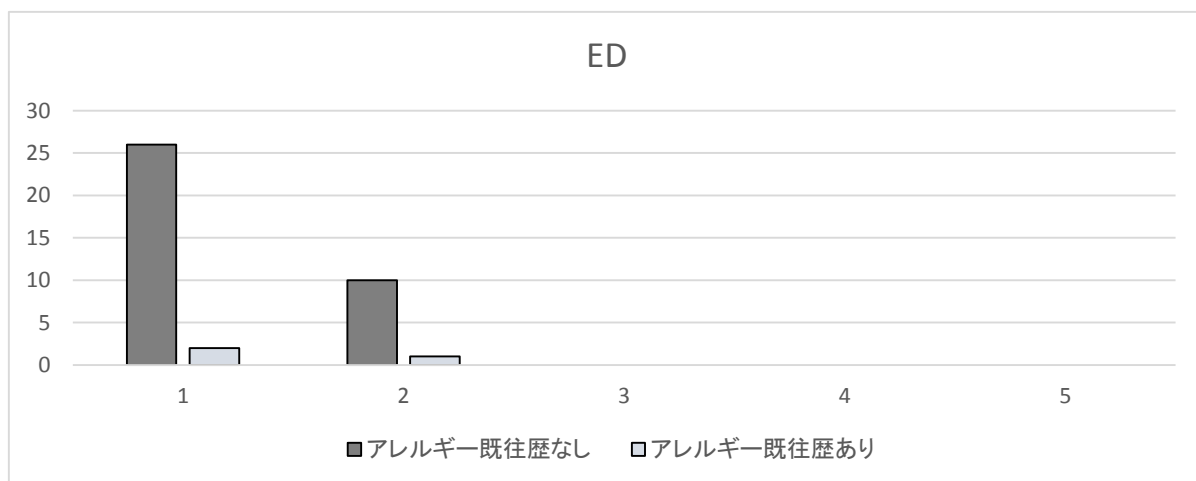
＊ 特異的 IgG 値 (μ g/ml) のクラス分け基準＊

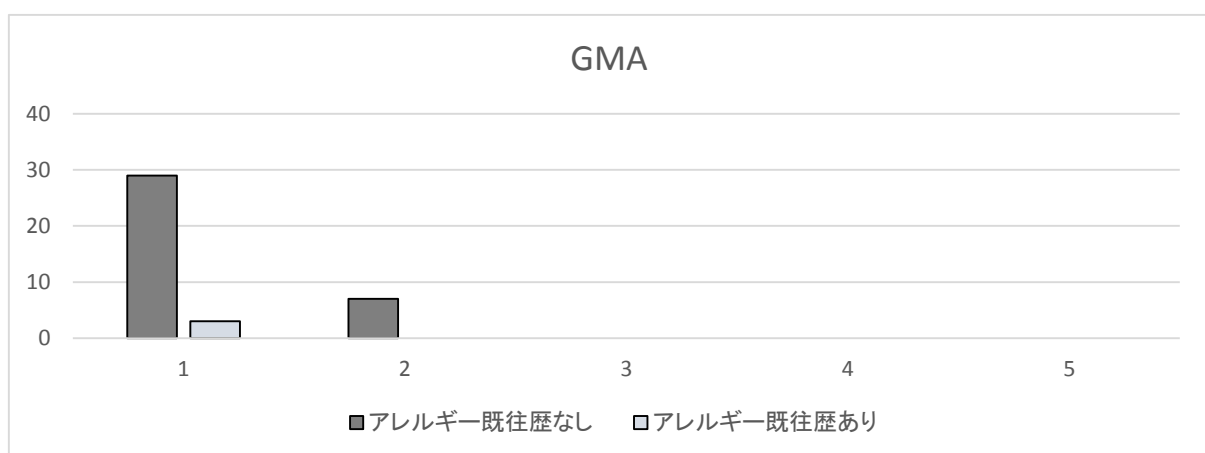
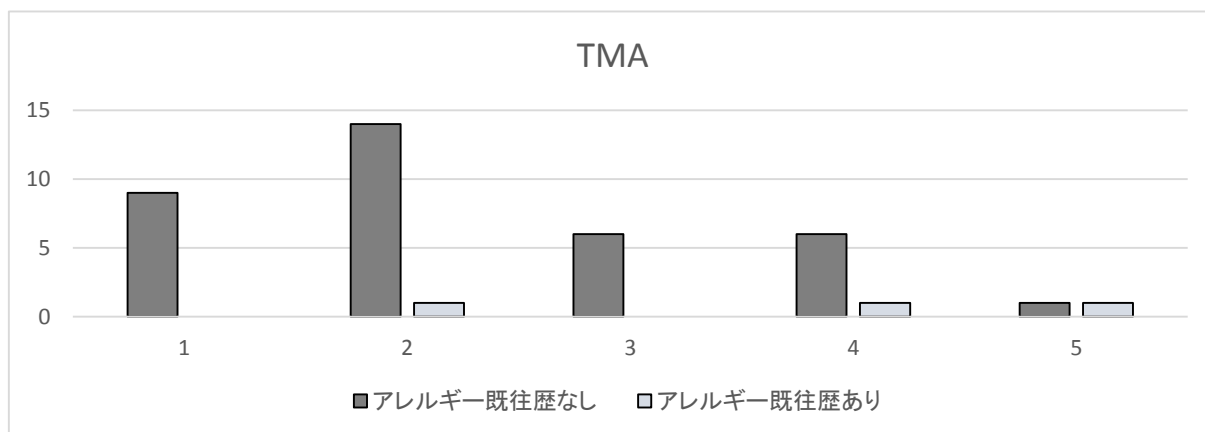
class1(ー): 0 μ g/ml, class2(±): >0, <3.125, class3(+): ≥3.125, <6.25
class4(≡): ≥6.25, <12.5, class5(≡): ≥12.5











(5)特異的 IgG 値の一般人・B 社比較

TDI

特異的 IgG 値 (μg/ml)	一般人(N=104)	B 社(N=39)	OR	95%CI	P 値*
0	40	20	1.00	(ref)	
>0, <3.125	36	12	0.38	0.12-1.20	0.098
≥3.125, <6.25	11	4	0.61	0.14-2.62	0.505
≥6.25, <12.5	8	3	1.14	0.14-9.37	0.900
≥12.5	9	0	—		

PA

特異的 IgG 値 (μg/ml)	一般人(N=104)	B 社(N=39)	OR	95%CI	P 値*
0	6	0	—		
>0, <3.125	5	4	1.00	(ref)	
≥3.125, <6.25	7	6	0.30	0.03-3.14	0.318
≥6.25, <12.5	20	12	1.94	0.30-12.4	0.303
≥12.5	66	17	2.89	0.50-16.7	0.503

FA

特異的 IgG 値 (μg/ml)	一般人(N=104)	B 社(N=39)	OR	95%CI	P 値*
0	95	34	1.00	(ref)	
>0, <3.125	7	5	1.14	0.25-5.28	0.868
≥3.125, <6.25	2	0	—		
≥6.25, <12.5	0	0	—		
≥12.5	0	0	—		

GA

特異的 IgG 値 (μg/ml)	一般人(N=104)	B 社(N=39)	OR	95%CI	P 値*
0	58	25	1.00	(ref)	
>0, <3.125	35	11	0.69	0.25-1.89	0.465
≥3.125, <6.25	7	3	0.83	0.17-4.01	0.820
≥6.25, <12.5	2	0	—		
≥12.5	2	0	—		

PPD

特異的 IgG 値 (μg/ml)	一般人(N=104)	B 社(N=39)	OR	95%CI	P 値*
0	85	38	1.00	(ref)	
>0, <3.125	16	1	0.09	0.01-0.83	0.033
≥3.125, <6.25	1	0	—		
≥6.25, <12.5	1	0	—		
≥12.5	1	0	—		

BADGE

特異的 IgG 値 (μg/ml)	一般人(N=104)	B 社(N=39)	OR	95%CI	P 値*
0	96	32	1.00	(ref)	
>0, <3.125	7	5	1.83	0.48-6.92	0.375
≥3.125, <6.25	1	1	2.67	0.13-53.7	0.520
≥6.25, <12.5	0	0	—		
≥12.5	0	1	—		

AA

特異的 IgG 値 (μg/ml)	一般人(N=44)	B 社(N=39)	OR	95%CI	P 値*
0	37	32	1.00	(ref)	
>0, <3.125	5	7	0.86	0.20-3.85	0.843
≥3.125, <6.25	0	0	—		
≥6.25, <12.5	1	0	—		
≥12.5	1	0	—		

ED

特異的 IgG 値 (μg/ml)	一般人(N=44)	B 社(N=39)	OR	95%CI	P 値*
0	42	28	1.00	(ref)	
>0, <3.125	2	11	4.61	0.46-46.4	0.194
≥3.125, <6.25	0	0	—		
≥6.25, <12.5	0	0	—		
≥12.5	0	0	—		

HDI

特異的 IgG 値 (μ g/ml)	一般人(N=44)	B 社(N=39)	OR	95%CI	P 値*
0	26	18	1.00	(ref)	
>0, <3.125	11	20	0.95	0.30-3.06	0.939
$\geq$ 3.125, <6.25	3	0	—		
$\geq$ 6.25, <12.5	4	1	—		
$\geq$ 12.5	0	0	—		

MMA

特異的 IgG 値 (μ g/ml)	一般人(N=44)	B 社(N=39)	OR	95%CI	P 値*
0	39	36	1.00	(ref)	
>0, <3.125	4	3	2.04	0.17-24.3	0.573
$\geq$ 3.125, <6.25	0	0	—		
$\geq$ 6.25, <12.5	0	0	—		
$\geq$ 12.5	1	0	—		

TMA

特異的 IgG 値 (μ g/ml)	一般人(N=44)	B 社(N=39)	OR	95%CI	P 値*
0	21	9	1.00	(ref)	
>0, <3.125	11	15	1.24	0.33-4.70	0.755
$\geq$ 3.125, <6.25	5	6	0.85	0.15-4.80	0.858
$\geq$ 6.25, <12.5	3	7	1.62	0.22-11.9	0.635
$\geq$ 12.5	4	2	0.67	0.08-5.61	0.715

GMA

特異的 IgG 値 (μ g/ml)	一般人(N=44)	B 社(N=39)	OR	95%CI	P 値*
0	39	32	1.00	(ref)	
>0, <3.125	5	7	1.04	0.24-4.45	0.961
$\geq$ 3.125, <6.25	0	0	—		
$\geq$ 6.25, <12.5	0	0	—		
$\geq$ 12.5	0	0	—		

*性、年齢を共変数とした多変量ロジスティック回帰分析結果

(6) 特異的 IgG 値の一般人・B 社比較 使用量の多い TDI 及び 微量使用 BADGE (2 群比較)

TDI

特異的 IgG 値 ($\mu\text{g/ml}$)	一般人(N=104)	B 社(N=39)	OR	95%CI	P 値*
陰性～弱陽性	87	36	1.00	(ref)	
強陽性	17	3	0.35	0.08-1.55	0.155
陰性～弱陽性 $< 6.25 \mu\text{g/ml}$ 、強陽性 $\geq 6.25 \mu\text{g/ml}$					

BADGE

特異的 IgG 値 ($\mu\text{g/ml}$)	一般人(N=104)	B 社(N=39)	OR	95%CI	P 値*
陰性	96	32	1.00	(ref)	
陽性	8	7	5.12	0.94-27.9	0.059
陰性 $0 \mu\text{g/ml}$ 、陽性 $> 0 \mu\text{g/ml}$					

*性、年齢を共変数とした多変量ロジスティック回帰分析結果

3. C 社 電気機器製造会社

A 質問票の結果

①主たる使用樹脂： エポキシ樹脂

C 社で確認された使用製品

・エピホーム(K8846F A) (ソマール(株))

主な原料 ビスフェノール液状エポキシ樹脂

脂肪族ジグリシジルエーテル

・EPOXY RESIN XNR3114

主な原料 ビスフェノール A 型エポキシ樹脂

パラターシャブリンチルフェニルグリシジルエーテル

② 対象者 35 名(男性) 1 名(女性)
 生産工程従事者(製品製造) (質問票完答者 N=35)

③ 年齢 mean (S.E.) 34.7 (1.6)

④ アレルギー疾患既往歴 なし 13 名(37%) あり 22 名(63%)

⑤ 喫煙習慣

喫煙習慣	N=35	%
吸わない	11	33
やめた	8	23
吸う	16	46

⑥ 飲酒習慣

飲酒習慣	N=35	%
飲まない・機会飲酒	18	51
ほぼ毎日飲んでいる	17	49

B 採取試料(血清)から得られた結果

(1) 総 IgG 値、総 IgE 値

	総 IgG (mg/dl)	IgE (IU/ml)
mean (S.E.)	1270 (48)	245 (52)

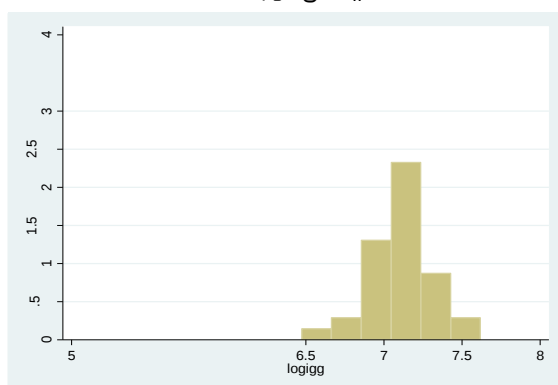
(2) アレルギー既往歴別

アレルギー既往歴	総 IgG(mg/dl)	総 IgE(IU/ml)
	mean(S.E.)	mean(S.E.)
なし (N=13)	1270(95.0)	289(118)
あり (N=22)	1269(55.6)	211(49.3)

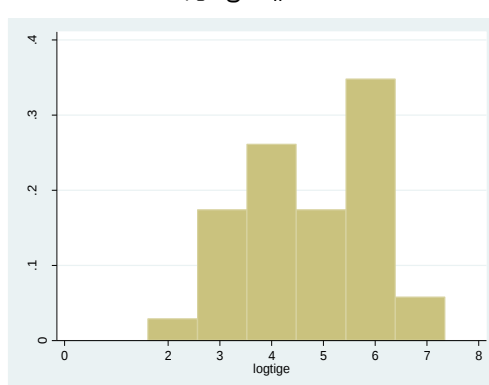
グラフ1

C 社 総 IgG, 総 IgE 値

総 IgG 値



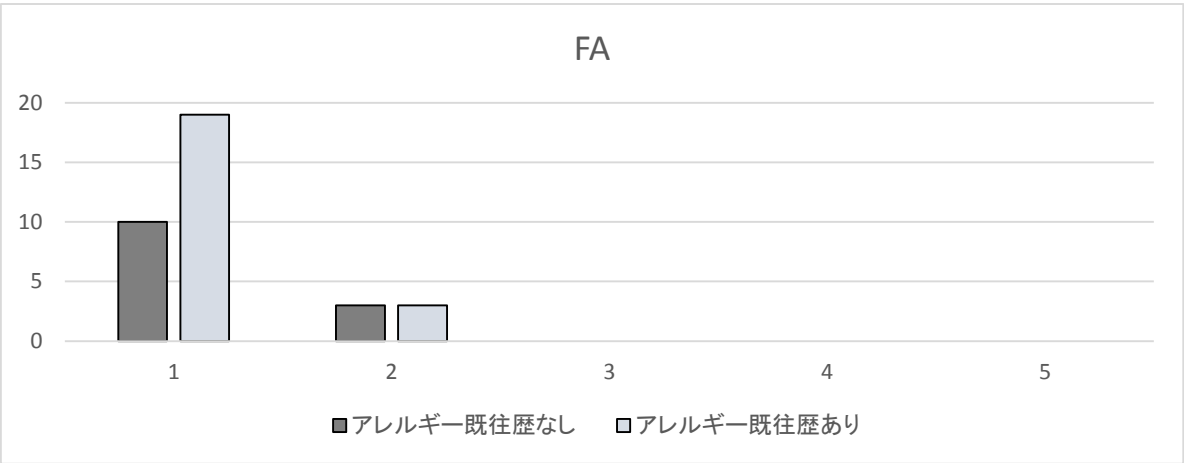
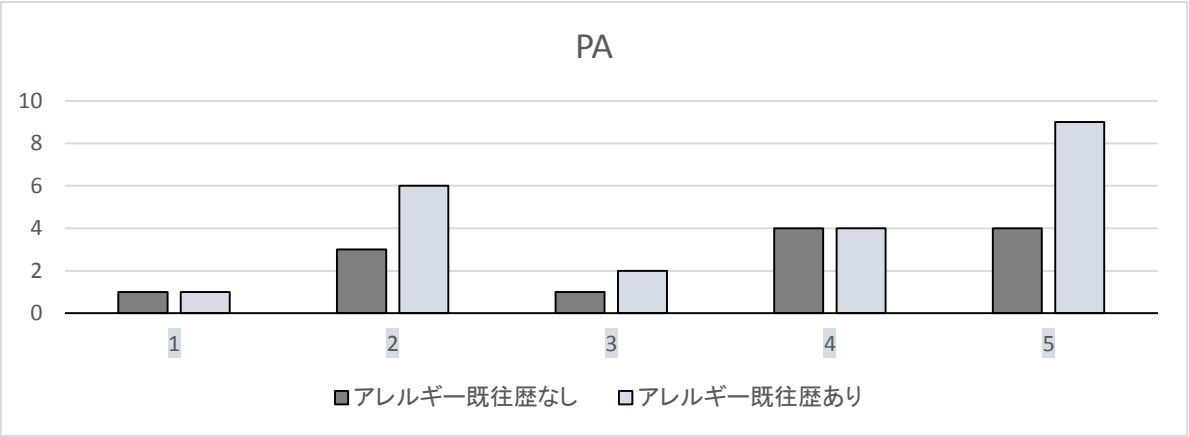
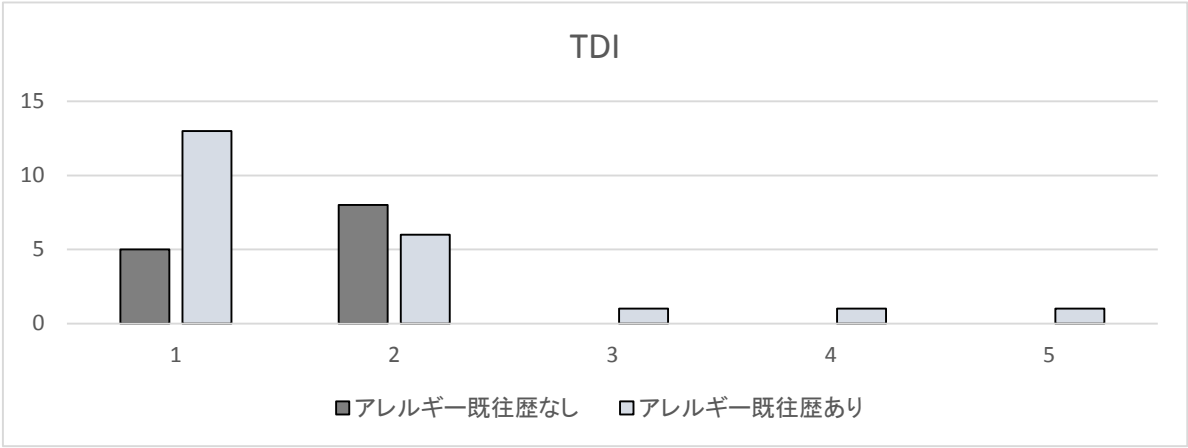
総 IgE 値

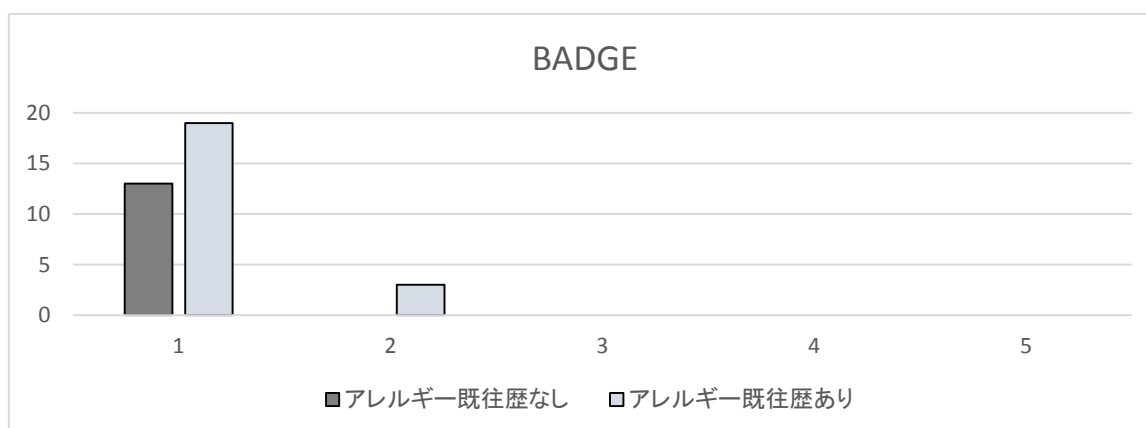
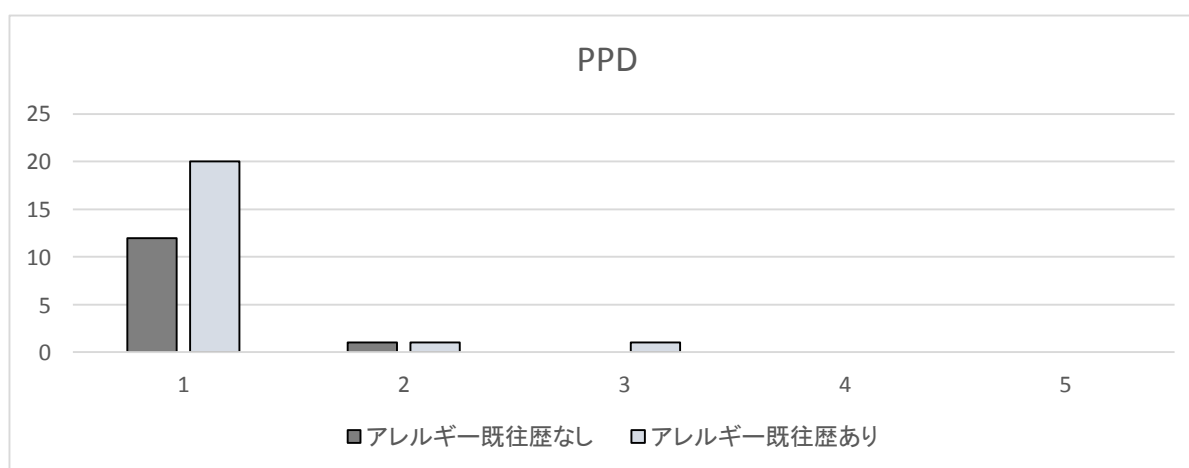
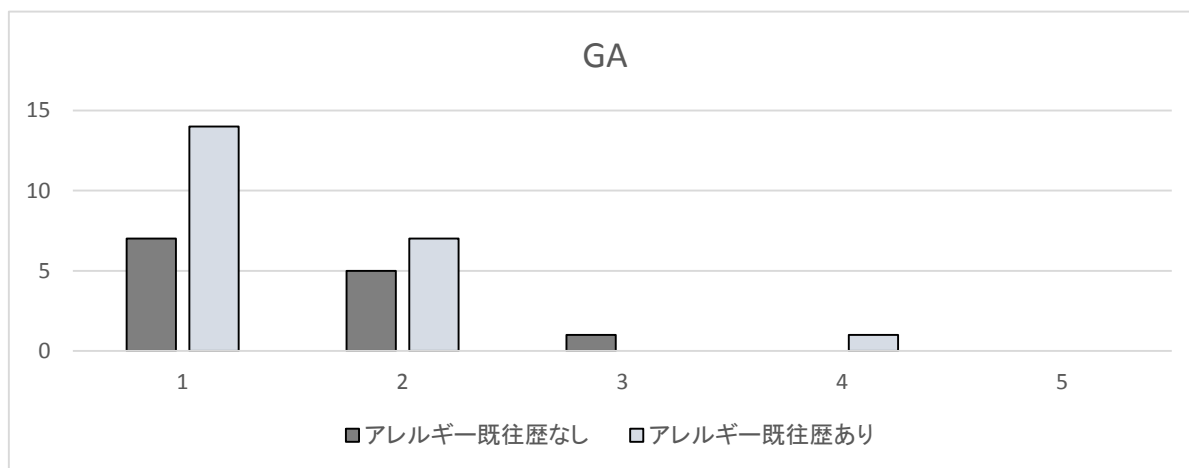


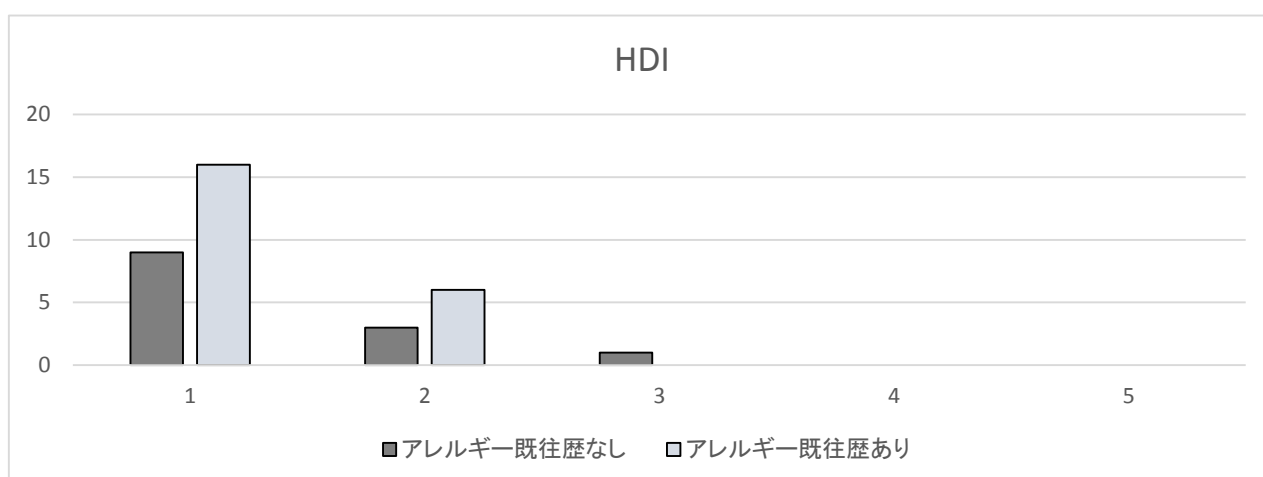
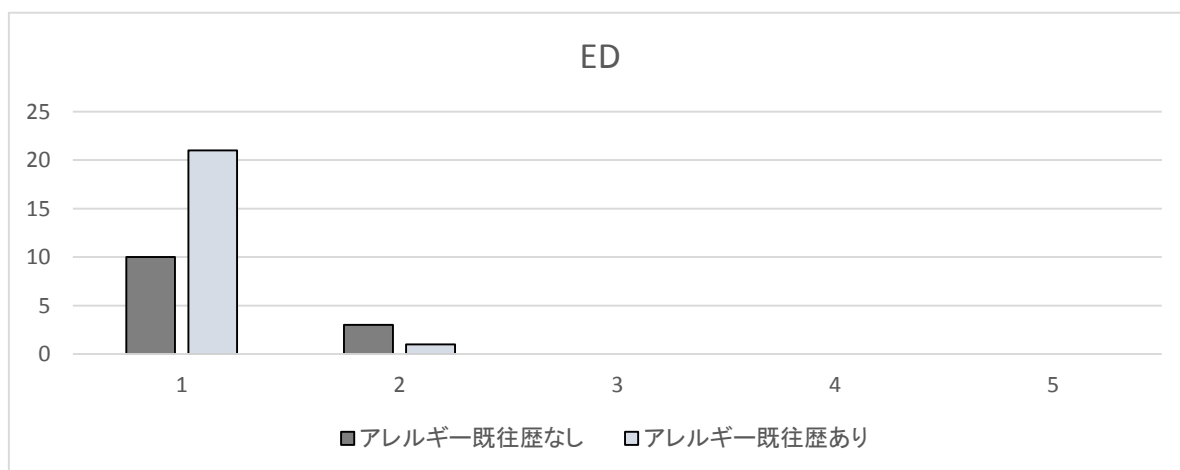
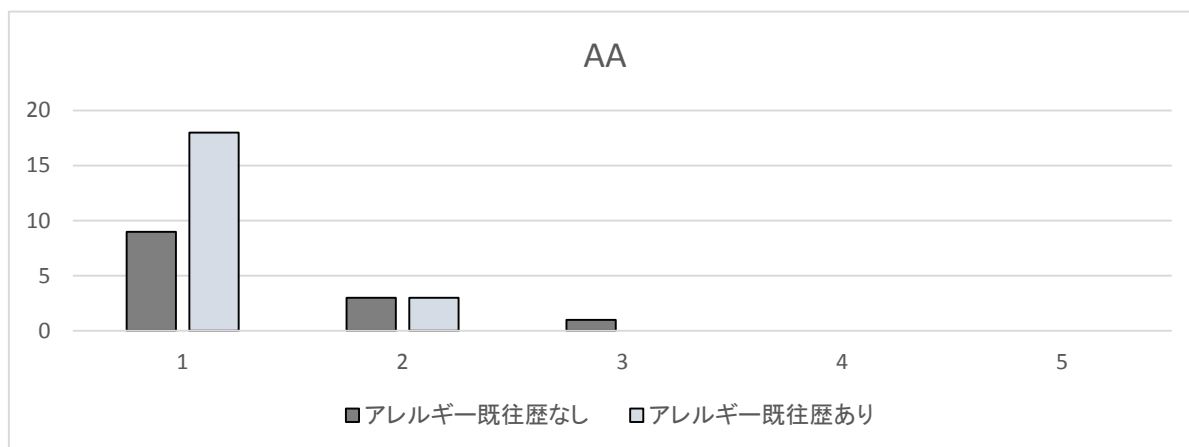
(3) 特異的 IgE 値

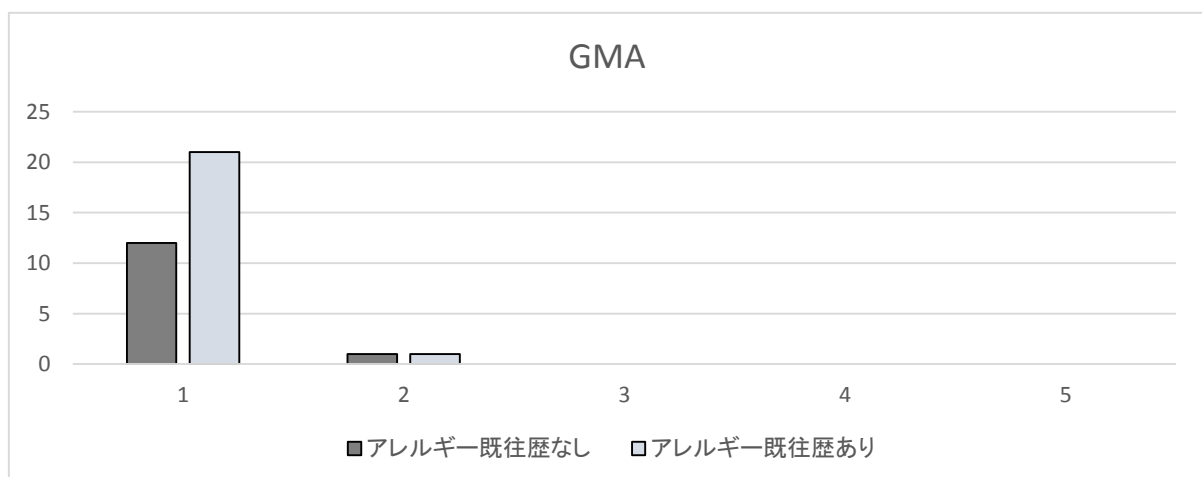
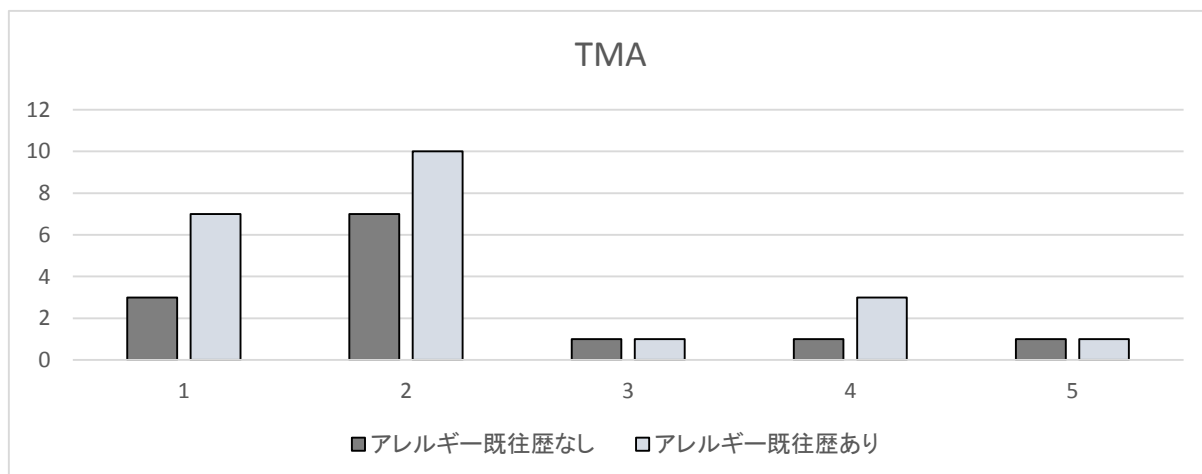
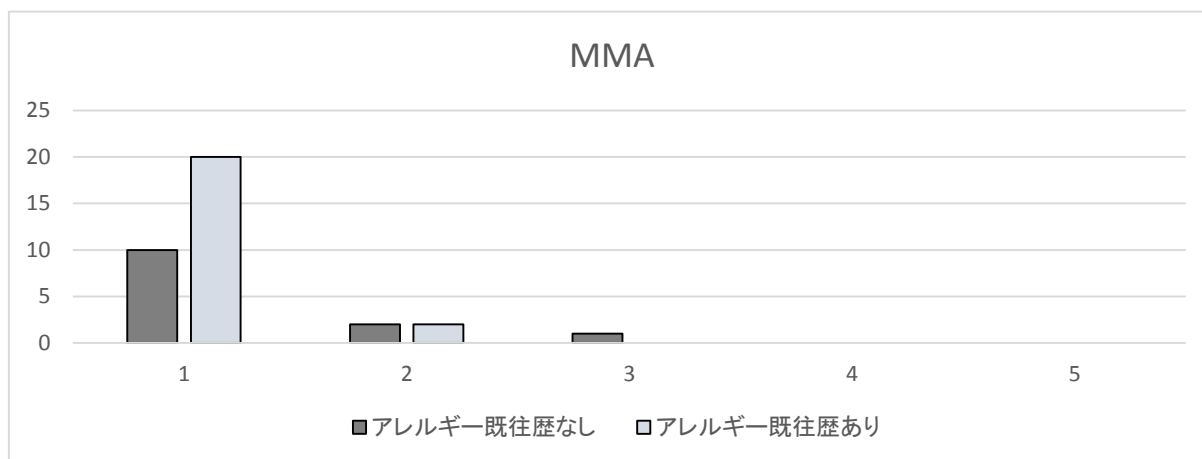
	特異的 IgE	
	<0.1UA/ml	≥0.1UA/ml
TDI	35	1
FA	36	0
PA	36	0

(4) 特異的 IgG 値 と アレルギー既往歴









(5) 特異的 IgG 値の一般人・C 社比較

TDI

特異的 IgG 値 (μ g/ml)	一般人(N=104)	C 社(N=36)	OR	95%CI	P 値*
0	40	18	1.00	(ref)	
>0, <3.125	36	15	0.60	0.20-1.75	0.346
$\geq$ 3.125, <6.25	11	1	0.19	0.02-2.29	0.192
$\geq$ 6.25, <12.5	8	1	0.21	0.01-3.16	0.258
$\geq$ 12.5	9	1	0.09	0.007-1.20	0.068

PA

特異的 IgG 値 (μ g/ml)	一般人(N=104)	C 社(N=36)	OR	95%CI	P 値*
0	6	2	1.00	(ref)	
>0, <3.125	5	9	2.55	0.19-35.0	0.483
$\geq$ 3.125, <6.25	7	3	1.55	0.09-26.8	0.764
$\geq$ 6.25, <12.5	20	9	0.38	0.03-4.45	0.438
$\geq$ 12.5	66	13	0.25	0.02-2.68	0.254

FA

特異的 IgG 値 (μ g/ml)	一般人(N=104)	C 社(N=36)	OR	95%CI	P 値*
0	95	30	1.00	(ref)	
>0, <3.125	7	6	1.94	0.43-8.71	0.387
$\geq$ 3.125, <6.25	2	0	—		
$\geq$ 6.25, <12.5	0	0	—		
$\geq$ 12.5	0	0	—		

GA

特異的 IgG 値 (μ g/ml)	一般人(N=104)	C 社(N=36)	OR	95%CI	P 値*
0	58	21	1.00	(ref)	
>0, <3.125	35	13	0.84	0.29-2.40	0.591
$\geq$ 3.125, <6.25	7	1	0.35	0.03-4.09	0.401
$\geq$ 6.25, <12.5	2	1	0.73	0.04-13.8	0.839
$\geq$ 12.5	2	0	—		

PPD

特異的 IgG 値 (μ g/ml)	一般人(N=104)	C 社(N=36)	OR	95%CI	P 値*
0	85	33	1.00	(ref)	
>0, <3.125	16	2	0.20	0.03-1.11	0.066
$\geq$ 3.125, <6.25	1	1	4.30	0.24-75.6	0.318
$\geq$ 6.25, <12.5	1	0	—		
$\geq$ 12.5	1	0	—		

BADGE

特異的 IgG 値 (μ g/ml)	一般人(N=104)	C 社(N=36)	OR	95%CI	P 値*
0	96	32	1.00	(ref)	
>0, <3.125	7	4	1.13	0.15-8.30	0.905
$\geq$ 3.125, <6.25	1	0	—		
$\geq$ 6.25, <12.5	0	0	—		
$\geq$ 12.5	0	0	—		

AA

特異的 IgG 値 (μ g/ml)	一般人(N=44)	C 社(N=36)	OR	95%CI	P 値*
0	37	28	1.00	(ref)	
>0, <3.125	5	7	1.13	0.25-5.11	0.876
$\geq$ 3.125, <6.25	0	1	—		
$\geq$ 6.25, <12.5	1	0	—		
$\geq$ 12.5	1	0	—		

ED

特異的 IgG 値 (μ g/ml)	一般人(N=44)	C 社(N=36)	OR	95%CI	P 値*
0	42	32	1.00	(ref)	
>0, <3.125	2	4	1.00	0.10-9.92	0.997
$\geq$ 3.125, <6.25	0	0	—		
$\geq$ 6.25, <12.5	0	0	—		
$\geq$ 12.5	0	0	—		

HDI

特異的 IgG 値 (μg/ml)	一般人(N=44)	C 社(N=36)	OR	95%CI	P 値*
0	26	25	1.00	(ref)	
>0, <3.125	11	10	0.76	0.20-2.83	0.677
≥3.125, <6.25	3	1	0.26	0.01-5.96	0.406
≥6.25, <12.5	4	0	—		
≥12.5	0	0	—		

MMA

特異的 IgG 値 (μg/ml)	一般人(N=44)	C 社(N=36)	OR	95%CI	P 値*
0	39	31	1.00	(ref)	
>0, <3.125	4	4	2.65	0.31-22.8	0.374
≥3.125, <6.25	0	1	—		
≥6.25, <12.5	0	0	—		
≥12.5	1	0	—		

TMA

特異的 IgG 値 (μg/ml)	一般人(N=44)	C 社(N=36)	OR	95%CI	P 値*
0	21	10	1.00	(ref)	
>0, <3.125	11	18	1.72	0.45-6.59	0.430
≥3.125, <6.25	5	2	0.35	0.04-3.20	0.354
≥6.25, <12.5	3	4	1.94	0.17-22.7	0.598
≥12.5	4	2	0.56	0.06-5.11	0.609

GMA

特異的 IgG 値 (μg/ml)	一般人(N=44)	C 社(N=36)	OR	95%CI	P 値*
0	39	34	1.00	(ref)	
>0, <3.125	5	2	0.67	0.09-4.77	0.688
≥3.125, <6.25	0	0	—		
≥6.25, <12.5	0	0	—		
≥12.5	0	0	—		

(6) 特異的 IgG 値の一般人・C 社比較 BADGE (2 群比較)

BADGE

特異的 IgG 値 ($\mu\text{g/ml}$)	一般人(N=104)	C 社(N=36)	OR	95%CI	P 値*
陰性	96	32	1.00	(ref)	
陽性	8	4	1.98	0.32-12.3	0.462

陰性 $0\mu\text{g/ml}$, 陽性 $>0\mu\text{g/ml}$

*性、年齢を共変数とした多変量ロジスティック回帰分析結果

4. D 社 自動車部品製造会社

A 質問票の結果

- ① 主たる使用樹脂： ポリプロピレン樹脂、ポリエチレン樹脂
- ② 対象者 26 名(男性) 0 名(女性)
 生産工程従事者(製品製造、プレス)
- ③ 年齢 mean (S.E.) 34.7 (1.6)
- ④ アレルギー疾患既往歴 なし 14 名(54%) あり 12 名(46%)

⑤ 喫煙習慣

喫煙習慣	N=26	%
吸わない	9	35
やめた	4	15
吸う	13	50

⑥ 飲酒習慣

飲酒習慣	N=26	%
飲まない・機会飲酒	16	61
ほぼ毎日飲んでいる	10	39

B 採取試料(血清)から得られた結果

(1) 総 IgG 値、総 IgE 値

	総 IgG (mg/dl)	IgE (IU/ml)
mean (S.E.)	1141 (61)	568 (275)

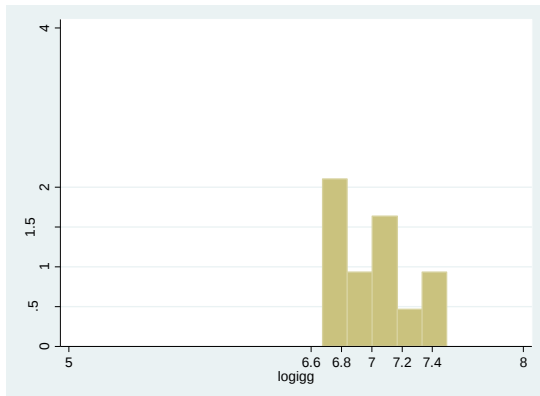
(2) アレルギー既往歴別

アレルギー既往歴	総 IgG(mg/dl)	総 IgE(IU/ml)
	mean(S.E.)	mean(S.E.)
なし (N=14)	1093(66)	188(68)
あり (N=12)	1196(108)	1012(577)

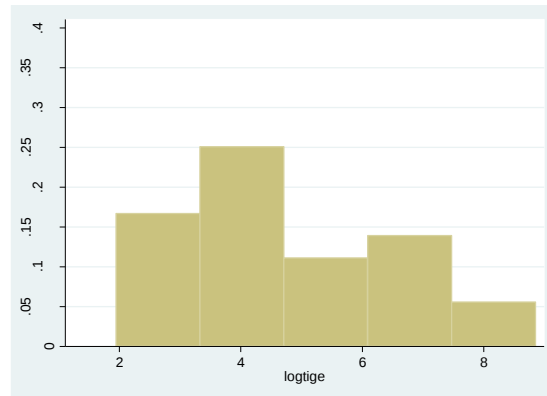
グラフ1

D 社 総 IgG, 総 IgE 値

総 IgG 値



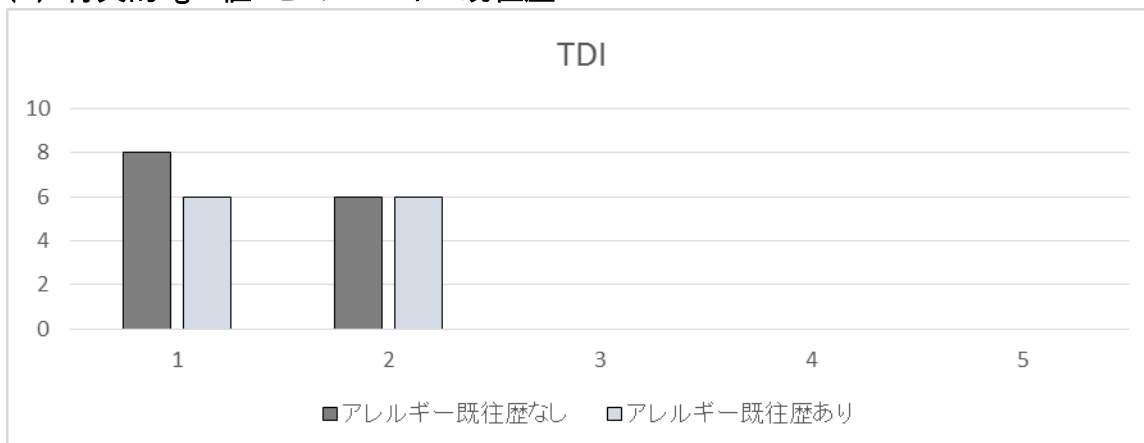
総 IgE 値

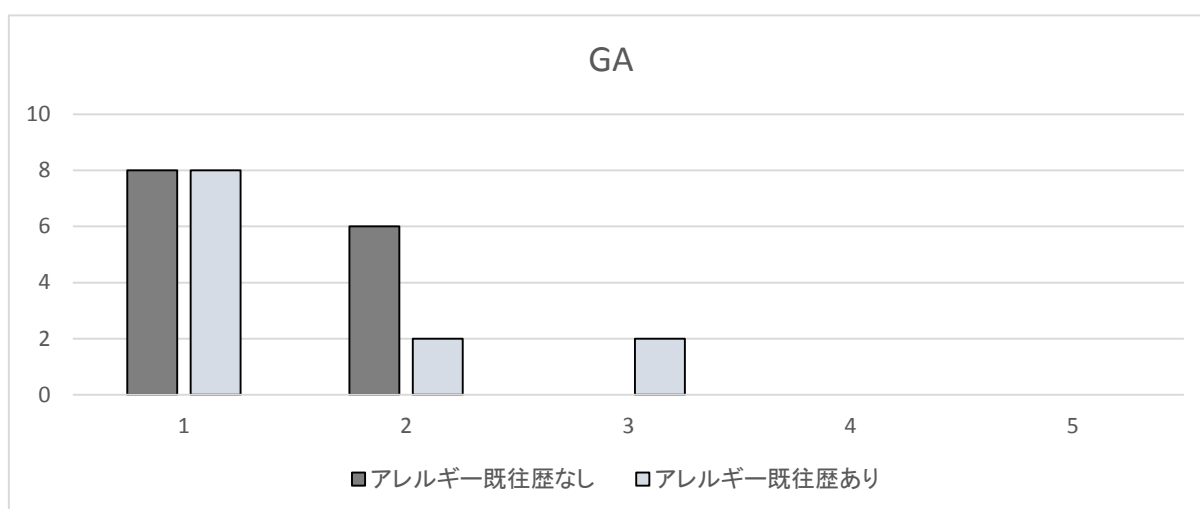
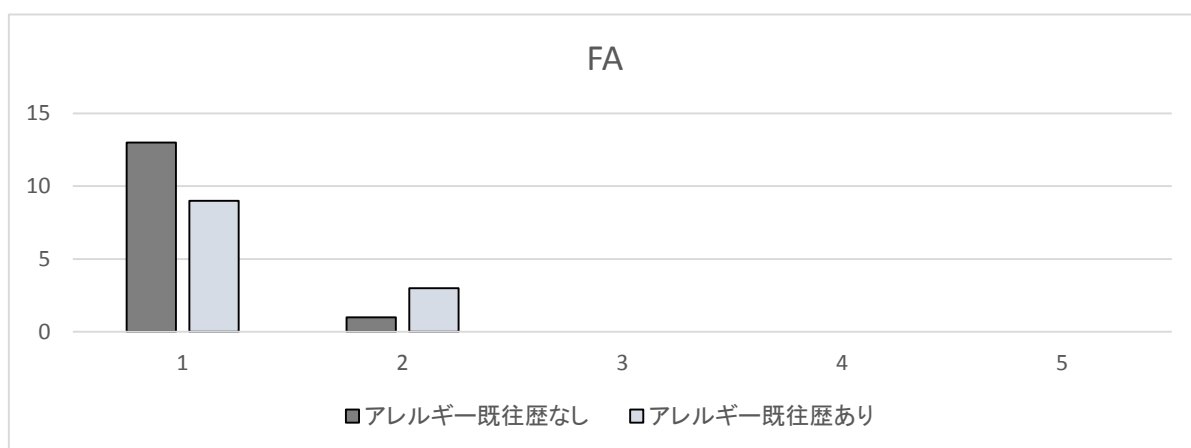
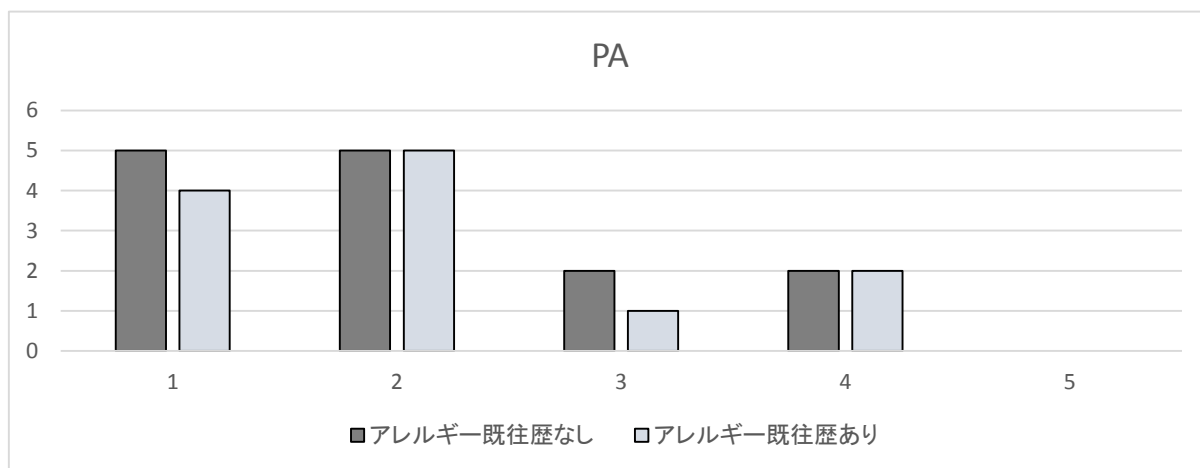


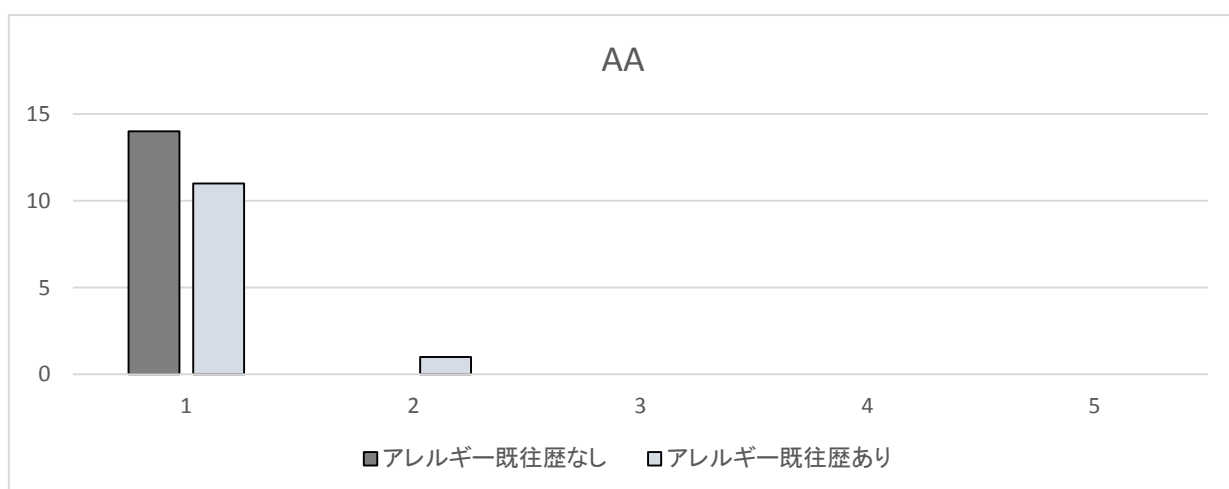
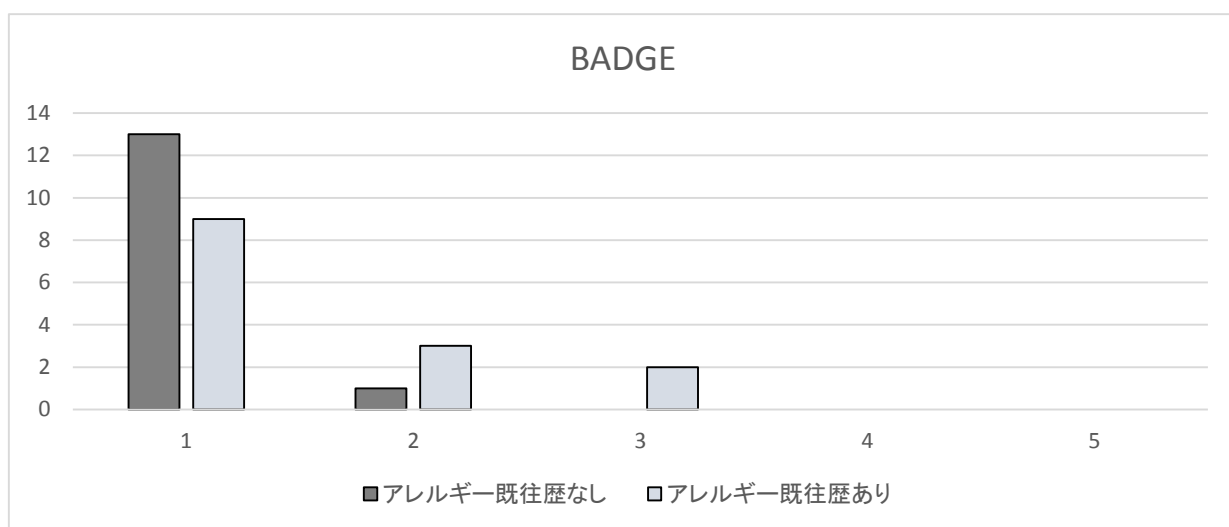
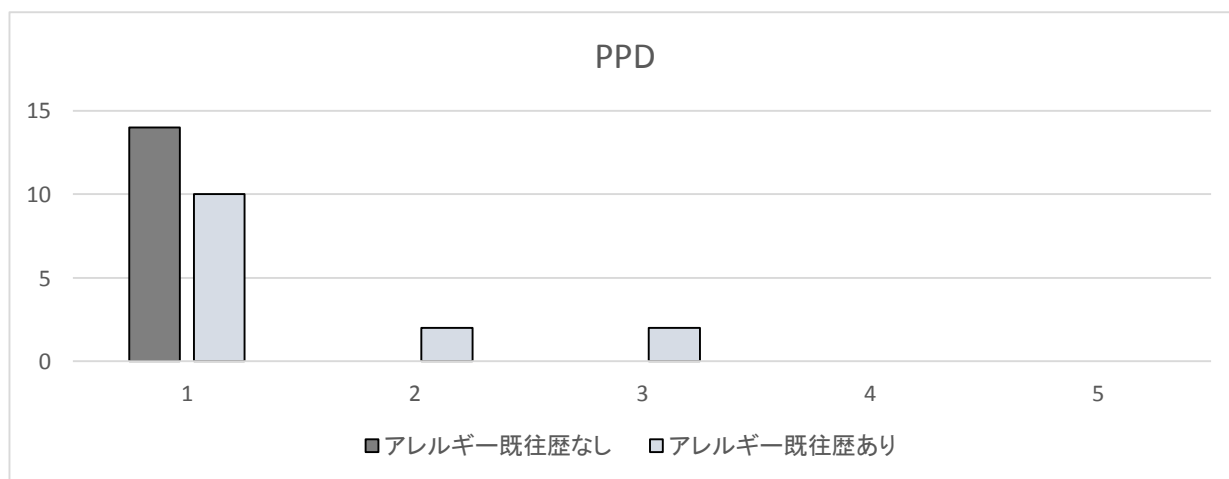
(3) 特異的 IgE 値

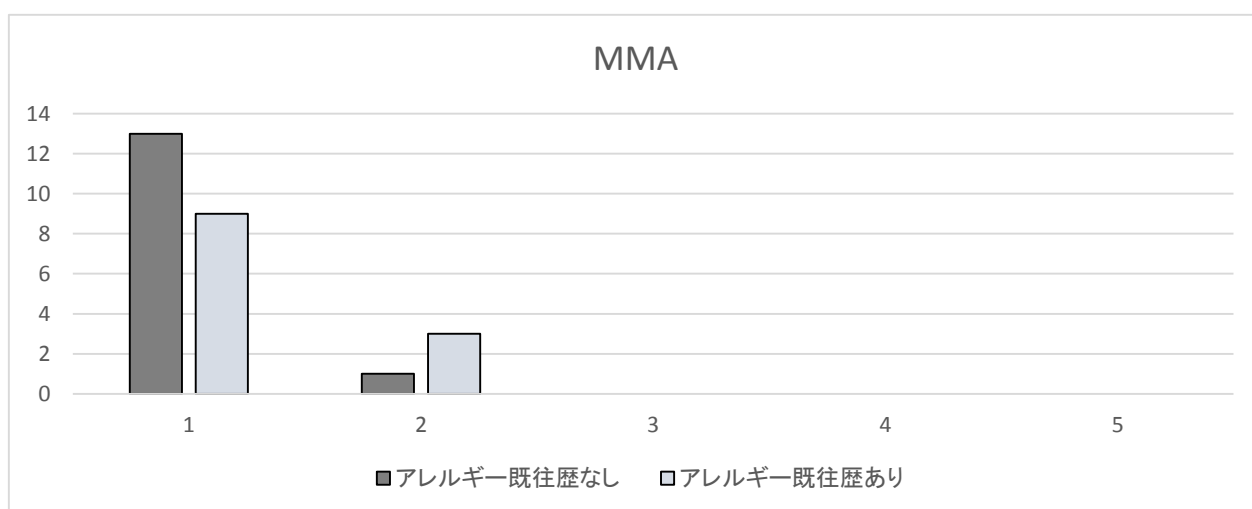
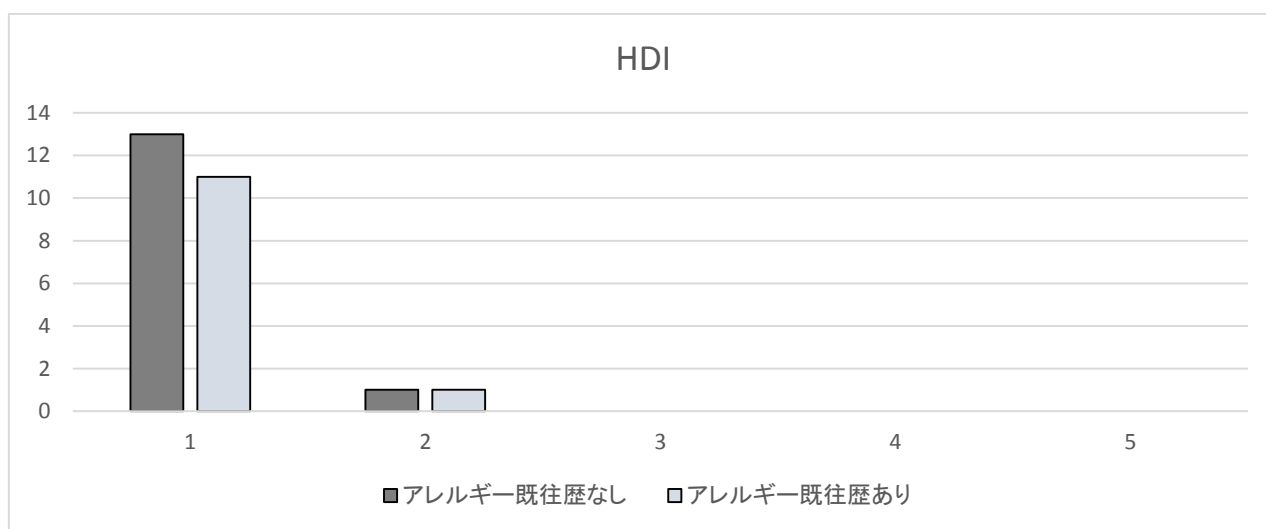
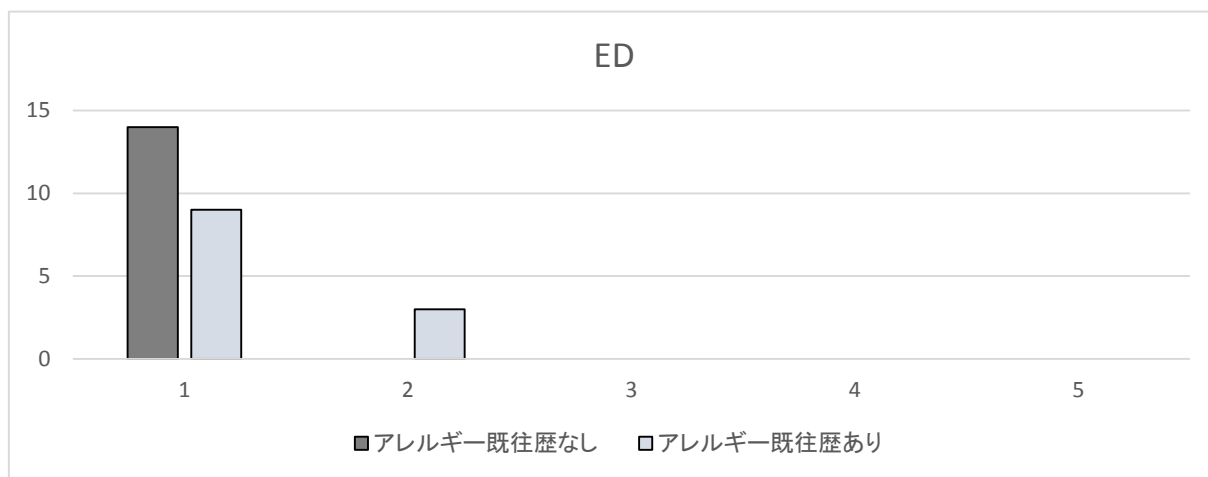
	特異的 IgE	
	<0.1UA/ml	≥0.1UA/ml
TDI	22	4
FA	23	3
PA	25	1

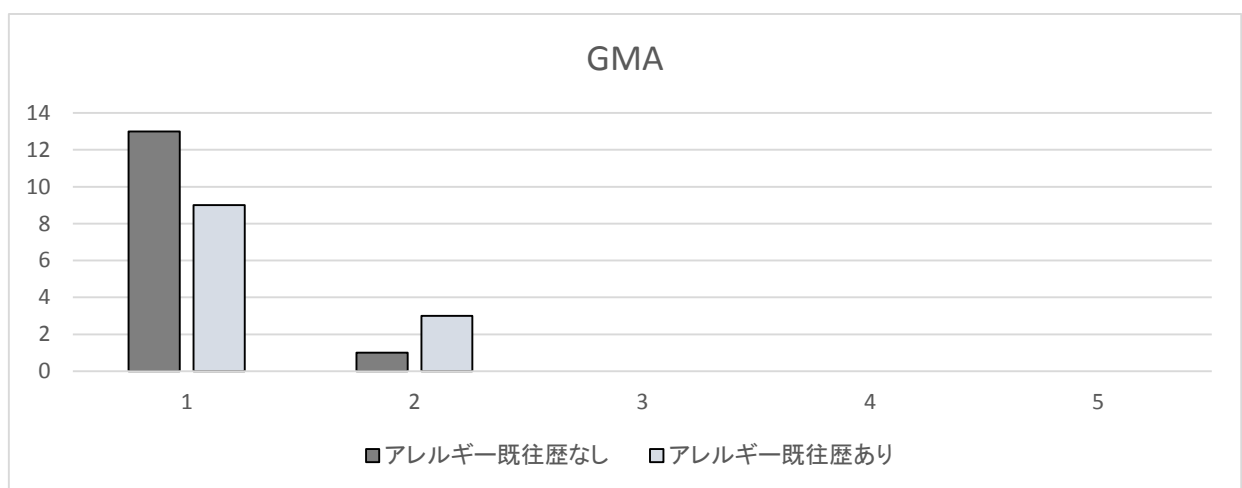
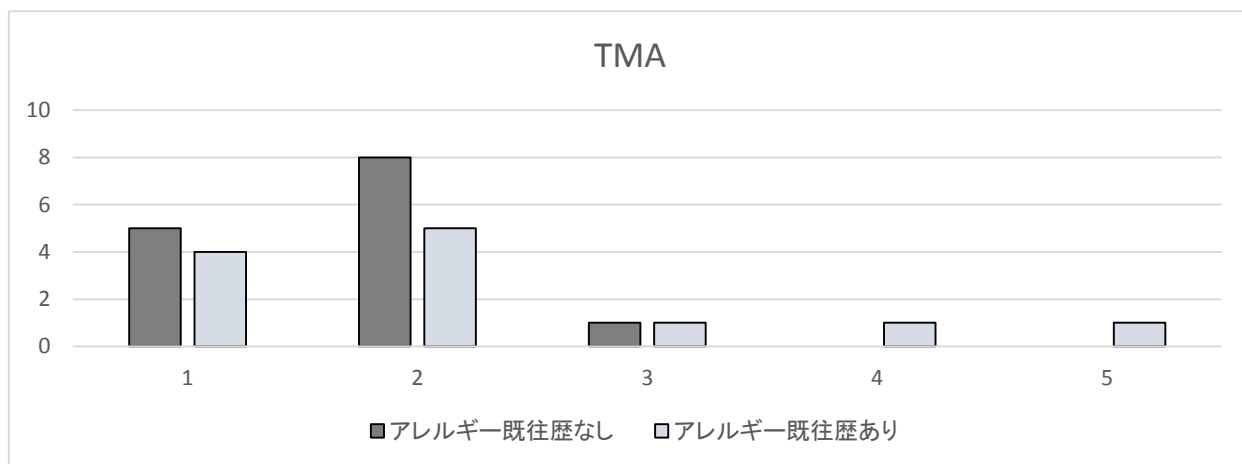
(4) 特異的 IgG 値 と アレルギー既往歴











(5) 特異的 IgG 値の一般人・D 社比較

TDI

特異的 IgG 値 (μ g/ml)	一般人(N=104)	D 社(N=26)	OR	95%CI	P 値*
0	40	14	1.00	(ref)	
>0, <3.125	36	12	1.18	0.35-3.96	0.783
$\geq$ 3.125, <6.25	11	0	—		
$\geq$ 6.25, <12.5	8	0	—		
$\geq$ 12.5	9	0	—		

PA

特異的 IgG 値 (μ g/ml)	一般人(N=98)	D 社(N=26)	OR	95%CI	P 値*
0	6	0	—		
>0, <3.125	5	9	1.00	(ref)	
$\geq$ 3.125, <6.25	7	10	1.26	0.14-11.5	0.915
$\geq$ 6.25, <12.5	20	3	0.06	0.009-0.45	0.007
$\geq$ 12.5	66	4	0.03	0.004-0.22	0.001

FA

特異的 IgG 値 (μ g/ml)	一般人(N=104)	D 社(N=26)	OR	95%CI	P 値*
0	95	22	1.00	(ref)	
>0, <3.125	7	4	1.52	0.27-8.65	0.635
$\geq$ 3.125, <6.25	2	0	—		
$\geq$ 6.25, <12.5	0	0	—		
$\geq$ 12.5	0	0	—		

GA

特異的 IgG 値 (μ g/ml)	一般人(N=104)	D 社(N=26)	OR	95%CI	P 値*
0	58	16	1.00	(ref)	
>0, <3.125	35	8	0.71	0.21-2.40	0.580
$\geq$ 3.125, <6.25	7	2	0.85	0.11-6.56	0.874
$\geq$ 6.25, <12.5	2	0	—		
$\geq$ 12.5	2	0	—		

PPD

特異的 IgG 値 (μg/ml)	一般人(N=104)	D 社(N=26)	OR	95%CI	P 値*
0	85	24	1.00	(ref)	
>0, <3.125	16	2	0.30	0.05-1.81	0.200
≥3.125, <6.25	1	0	—		
≥6.25, <12.5	1	0	—		
≥12.5	1	0	—		

BADGE

特異的 IgG 値 (μg/ml)	一般人(N=104)	D 社(N=26)	OR	95%CI	P 値*
0	96	22	1.00	(ref)	
>0, <3.125	7	4	6.88	0.83-56.7	0.073
≥3.125, <6.25	1	0	—		
≥6.25, <12.5	0	0	—		
≥12.5	0	0	—		

AA

特異的 IgG 値 (μg/ml)	一般人(N=44)	D 社(N=26)	OR	95%CI	P 値*
0	37	25	1.00	(ref)	
>0, <3.125	5	1	0.19	0.01-2.55	0.211
≥3.125, <6.25	0	0	—		
≥6.25, <12.5	1	0	—		
≥12.5	1	0	—		

ED

特異的 IgG 値 (μg/ml)	一般人(N=44)	D 社(N=26)	OR	95%CI	P 値*
0	42	23	1.00	(ref)	
>0, <3.125	2	3	4.93	0.33-73.6	0.247
≥3.125, <6.25	0	0	—		
≥6.25, <12.5	0	0	—		
≥12.5	0	0	—		

HDI

特異的 IgG 値 (μg/ml)	一般人(N=44)	D 社(N=26)	OR	95%CI	P 値*
0	26	18	1.00	(ref)	
>0, <3.125	11	20	0.27	0.04-1.77	0.173
≥3.125, <6.25	3	0	—		
≥6.25, <12.5	4	1	—		
≥12.5	0	0	—		

MMA

特異的 IgG 値 (μg/ml)	一般人(N=44)	D 社(N=26)	OR	95%CI	P 値*
0	39	22	1.00	(ref)	
>0, <3.125	4	4	20.7	1.63-263	0.020
≥3.125, <6.25	0	0	—		
≥6.25, <12.5	0	0	—		
≥12.5	1	0	—		

TMA

特異的 IgG 値 (μg/ml)	一般人(N=44)	D 社(N=26)	OR	95%CI	P 値*
0	21	9	1.00	(ref)	
>0, <3.125	11	13	1.48	0.32-6.74	0.616
≥3.125, <6.25	5	2	0.55	0.05-6.22	0.633
≥6.25, <12.5	3	1	0.27	0.01-5.06	0.381
≥12.5	4	1	0.60	0.04-9.60	0.720

GMA

特異的 IgG 値 (μg/ml)	一般人(N=44)	D 社(N=26)	OR	95%CI	P 値*
0	39	22	1.00	(ref)	
>0, <3.125	5	4	1.12	0.19-6.71	0.905
≥3.125, <6.25	0	0	—		
≥6.25, <12.5	0	0	—		
≥12.5	0	0	—		

*性、年齢を共変数とした多変量ロジスティック回帰分析結果

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

分担研究者 石原 康宏 広島大学 大学院総合科学研究科 助教

研究要旨

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ブロット法を改良し、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する。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アミノ基定量、電気泳動、円二色性スペクトル、蛍光スペクトル、質量分析により詳細に解析し、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。次に、ヒト血清アルブミン-化学物質付加体をプレートに固定した ELISA を作製し、労働者の血液中に含まれる化学物質特異的 IgG を測定した。また、プロテオミクスの手法により、血液中の HSA-化学物質付加体の検出を試み、さらに、化学物質暴露の高感度検出を目指して血液中化学物質暴露マーカーの探索も行なった。

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。この反応によりヒト血清アルブミンの微細な立体構造が変化することを電気泳動、円二色性スペクトル、および蛍光スペクトル測定から示した。残念ながら、ヒト血清アルブミンと化学物質の反応のモル比を明らかにすることはできなかった。これらの結果より、ヒト血清アルブミンはハプテンである化学物質と反応して付加体を形成し、その結果、立体構造を変化させることによって感作性を獲得すると考えられる。ヒト血清アルブミンと化学物質との付加体を用いて ELISA を行なったところ、一般住民や事業所従業員の血清中からヒト血清アルブミン-化学物質を認識する IgG が検出された。この結果は、暴露された化学物質の少なくとも一部はヒト血清アルブミンと反応し、それが抗原となって抗体が産生されたことを支持する。しかし、ヒト血清アルブミンと化学物質との付加体を用いた ELISA は測定誤差が大きく、臨床検査に応用するには正確性に問題があると思われた。そこで、本 ELISA を改良し、再現性が良く、さらに、血液中の抗体を $\mu\text{g/mL}$ オーダーで定量できる新規の ELISA を作製した。今後は、ここで作製した ELISA を用い、化学物質抗体が暴露の指標になるか、さらに、ヒト血清アルブミン-化学物質抗体量とアレルギーとの関連性を疫学的に調べ、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化学物質特異的 IgG 検出用 ELISA の提供を目指す。

分担研究者

該当なし

研究協力者

石原 波 (広島大学 自然科学研究支援開発
センター 遺伝子実験部門)

川本 俊弘 (産業医科大学 医学部 産業衛生学)

土屋 卓人 (産業医科大学 医学部 産業衛生学)

A.研究目的

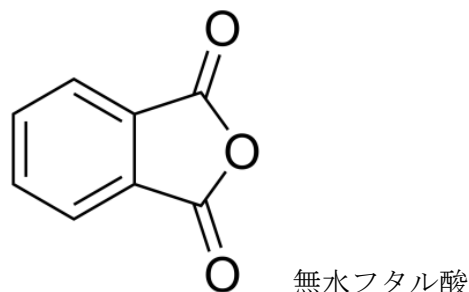
現在、10 万種類にもおよぶ化学物質が工業的に生産され、産業、農業や医療等さまざまな分野で使用されている。一方、化学物質を取り扱う職場での化学物質曝露に伴う様々な健康被害も報告されている。ホルムアルデヒドは接着剤、塗料、防腐剤などの成分であり、安価なためフェノール樹脂、メラミン樹脂、尿素樹脂

などの原料として建材に広く用いられている。しかし、ホルムアルデヒドは濃度によって粘膜への刺激性を中心とした急性毒性があり、蒸気は呼吸器系、目、のどなどの炎症を引き起こし、水溶液への接触により、皮膚の炎症が生ずる (Alexandersson and Hedenstierna 1988, 1989; Fowler et al. 1992; Ritchie and Lehnen 1987; Wantke et al. 1995)。「シックハウス症候群」の対策として現在、建築基準法によりホルムアルデヒドを放散する建築材料の使用制限が設けられ、居室内の気中濃度として世界保健機関 (World Health Organization: WHO) や厚生労働省により 0.08 ppm の指針値が定められている。さらに、ホルムアルデヒドは国際がん研究機関によりグループ 1 の化学物質に指定され、発癌性があると警告されている。ホルムアルデヒドは日本産業衛生学会が定める感作性物質分類で気道感作性物質第 2 群、皮膚感作性物質第 1 群に分類されている。改正労働安全衛生法の感作性分類において呼吸器感作性区分 1、皮膚感作性区分 1 に分類されている。

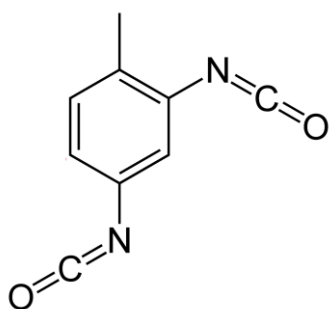


無水フタル酸は、軟質ポリ塩化ビニル製品及びゴム製品の可塑剤として用いられる他、フタル酸樹脂塗料(無水フタル酸を原料とするアルキド樹脂を塗膜形成要素とする塗料)として建築物の塗装に用いられている。また、エポキシ樹脂の硬化剤としての需要もあり、経済産業省生産動態統計年報によると、平成 25 年において本邦では 160,153 トンの無水フタル酸が生産された。無水フタル酸は、特定化学物質には指定されていない。しかし、眼、皮膚、呼吸器系に対して刺激性を有し、これに起因した喘息、慢性気管支炎が認められる。また、皮膚接触による感作性もみられる。樹脂製造工場において無水フタル酸に暴露した労働者に鼻炎、上気道炎症、気管支喘息、結膜炎などの症状が認められており (Wernfors et al. 1986; Nielsen et al. 1988; Nielsen et al. 1991)、無水フタル酸は日本産業衛生学会が定める感作性物質分類で気道感作性物質第 1 群 (人間に対して明らかに感作性のある物質) に分類されている。改正労働安全衛生法の感作性分類において呼吸器感作性区分 1、皮膚感作性区分 1 に分類されている。

労働安全衛生法の感作性分類において呼吸器感作性区分 1 (ヒトに対し当該物質が特異的な呼吸器過敏症を引き起こす証拠がある場合、又は適切な動物試験より陽性結果が得られている場合)、皮膚感作性区分 1 に分類されている。



トルエンジイソシアネートはポリウレタン樹脂の原料として自動車用のシートクッションや寝具の製造に幅広く使用されており今後も需要の増大が予想されている。トルエンジイソシアネートの健康影響については皮膚や粘膜の刺激作用があり、化学火傷、接触皮膚炎、眼に暴露すれば流涙、炎症、角膜上皮浮腫 (一過性視力障害) を生じることがある。吸入した場合は咳、分泌充進、胸痛、呼吸困難が現れるほか、重篤な場合では肺水腫を引き起こすことがある。さらに皮膚・気道感作性があり、喘息を発生させる。ラットを用いた実験により、トルエンジイソシアネートは、血液中では血漿に 74-87% 分布し、それらの 97-100% が 10kDa 以上の生体高分子との付加体を形成していることが明らかになっている (Kennedy et al. 1994)。トルエンジイソシアネート製造工場やポリウレタンフォーム製造工場労働者における疫学的研究から、トルエンジイソシアネートはトルエンジイソシアネート喘息と称する喘息症状を引き起こし、また、閉塞性肺機能変化の原因となる (Diem et al. 1982; Omae et al. 1992; Pisati et al. 1993)。トルエンジイソシアネートの職業暴露による発ガンリスクは認められていない (Sorahan and Pope 1993)。日本産業衛生学会が定める感作性物質分類で気道感作性物質第 1 群、皮膚感作性物質第 2 群 (人間に対しておそらく感作性があると考えられる物質) に分類されている。改正労働安全衛生法の感作性分類において呼吸器感作性区分 1、皮膚感作性区分 1 に分類されている。



2,4-トルエンジイソシアネート

上述のように、近年化学物質に起因したアレルギー疾患（気管支喘息、アレルギー性皮膚炎など）の報告が増加し産業衛生分野における大きな課題となっている。しかしそのメカニズムは明らかではなく、化学物質に起因するかどうかの診断法も確立されていない。ヒトが化学物質に暴露すると免疫反応が惹起されて抗体が産生されると考えられるが、化学物質そのものはハプテンであり免疫原性を欠いているため抗体産生を刺激しない。一方、体内に取り込まれた反応性の高い化学物質は、高分子のキャリアータンパク質と結合することにより免疫原性をもつようになる。現在、ヒト血清アルブミンやヘモグロビン、ケラチン 18、グルコース調節タンパク質、アクチン、チューブリンなど、生体内で化学物質が様々なタンパク質と付加体を形成することが報告されているが、その病態生理学的意義は不明である（Day et al. 1996; Lange et al. 1999; Wisniewski et al. 2000; Hettick adn Siegel 2011）。最近、川本らはヒト血清アルブミンと化学物質との付加体を用いたドットブロット法により、血液中化学物質 IgG を測定する方法を開発し（特許第 5757519 号）、この方法を用いて労働者の血液中化学物質 IgG と化学物質による皮膚炎との関連を示した（Kawamoto et al. 2015）。この報告は、血液中化学物質特異的 IgG の測定を可能としたのみならず、化学物質特異的 IgG が化学物質アレルギーの診断に使用できるとの可能性を示した点で意義がある。ドットブロット法は多種類の抗原を使用できる点で優位性があるが、定量性を欠き、また、多検体の処理には向かない。事業所で起こりうる化学物質アレルギーを予防するためには、事業所従業員全員に対して、各事業所で暴露しうる（工業的に用いている、あるいは合成している）化学物質に対する抗体を調べねばならず、そのためには、短時間で多検体を処理するアッセイ法が必

要である。さらに、血液中化学物質特異的抗体とアレルギーとの関係を明らかにするためには、化学物質特異的抗体の“定量”が不可欠である。そこで、本研究では、トルエン-2,4-ジイソシアネート（2,4-Toluene Diisocyanate : TDI）、無水フタル酸（Phthalic Anhydride : PA）、ホルムアルデヒド（Formaldehyde : FA）の 3 種の化学物質を対象とし、血液中の化学物質特異的 IgG を迅速かつ正確に定量できる ELISA を作製し、労働者の血液中化学物質 IgG を測定し、一般住民と比較することによって、ELISA の化学物質アレルギー診断における有用性を明らかにすることを目的とした。また、その前段階として、ヒト血清アルブミンが化学物質と反応することにより構造変化を起こし、免疫原性を獲得することも併せて示した。

B.研究方法

1. 測定用抗原の作製

樹脂原料などの化学物質は、分子量が小さいためそれ単体では抗原とならず（ハプテン）、生体内でタンパク質と結合して初めて抗原性を獲得すると考えられる。川本らは、化学物質とヒト血清アルブミン（HSA）との付加体が、ヒト血液中化学物質 IgG の検出に適していることを報告した（Kawamoto et al. 2015）。そこで、本研究では、化学物質と HSA を反応させた HSA-化学物質付加体を使用した。

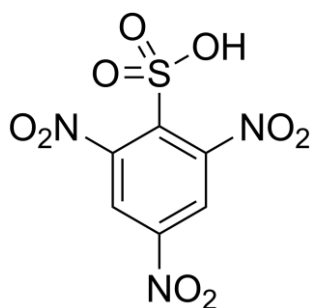
対象とする化学物質はトルエン-2,4-ジイソシアネート（2,4-Toluene Diisocyanate : TDI）、無水フタル酸（Phthalic Anhydride : PA）、ホルムアルデヒド（Formaldehyde : FA）の 3 種とした。いずれも樹脂原料や可塑剤として広く用いられている化学物質であり、かつ、カルボニル基を有しているためタンパク質中のリシンとの反応し、付加体を形成すると考えられる（図 1）。HSA は Sigma 社から購入したものをを用いた。

化学物質は終濃度 1M、0.1M でジメチルスルホキシド（Dimethyl sulfoxide : DMSO）に溶解した。HSA は終濃度 2mM で蒸留水に溶解した。化学物質と HSA との反応は 3 種類の pH 条件、3 種類の化学物質と HSA のモル比により行なった。即ち、リン酸ナトリウム緩衝液 pH6.0 と 8.0、炭酸ナトリウム緩衝液 pH10.8 を使用した。HSA と化学物質の比が 1 : 1、1 : 10、1 : 100 となるように混合した。

反応溶液中の HSA の終濃度は 1mM、DMSO の終濃度は 10%、緩衝液の終濃度は 100mM とした。HSA と化学物質との混合溶液を 37℃ で 1 時間インキュベートした後遠心分離し、上清を HSA-化学物質付加体溶液とした。HSA-化学物質付加体溶液はエッペンチューブに分注し、実験に使用するまで-80℃で保存した。

2. 2,4,6-Trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) によるアミノ基の定量

TNBS はアミノ基と反応すると黄色に呈色する化学物質であり、呈色反応はアミノ基の物質に比例することから、リシンやその他アミノ酸で検量線を作製することにより、タンパク質中のリシン残基を定量することができる (Sarantonis et al. 1986)。また、TNBS は、プロリンや尿素、アンモニアとは反応しないことから (Brown 1968)、TNBS は HSA-化学物質付加体との反応においては、リシン残基に特異的な反応であると考えられることができる。



TNBS の構造式

HSA 6.6μg を含む HSA-化学物質付加体 100μL に 4%炭酸水素ナトリウム溶液 50μL を加えた後、0.01% TNBS 水溶液を 50μL 加えて 42℃で 2 時間インキュベートした。1M 塩酸を 50μL 加えた後、340nm における吸光度を測定した。10、30、100、300μM リシン水溶液を作製し、検量線として使用した。

3. SDS-PAGE

HSA-化学物質付加体を Laemmli's loading buffer に溶解し、100℃で 5 分間加熱した。加熱後の溶液を 10%(w/v)ポリアクリルアミドゲルにアプライし、定法に従って電気泳動を行った。電気泳動後のゲルを Coomassie Brilliant Blue (CBB) で染色した。

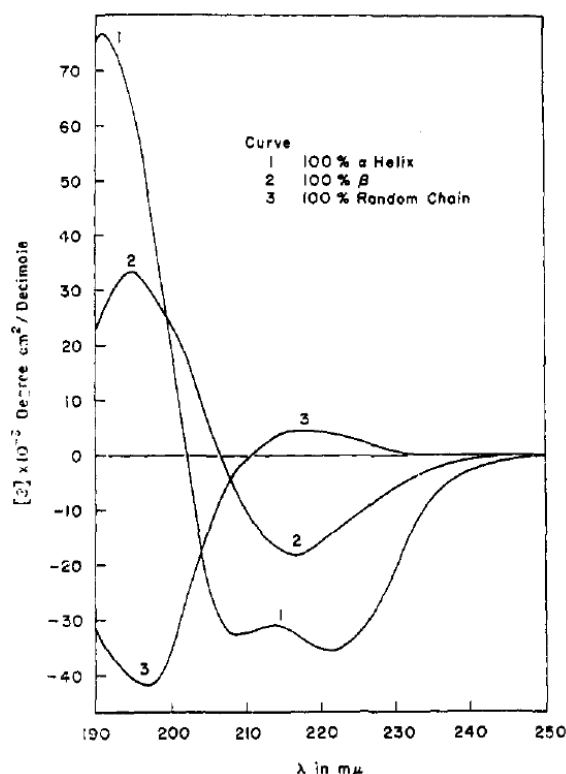
4. Native PAGE

Native PAGE ではタンパク質が従来の構造

を保ったままで電気泳動されるため、泳動像から分子量を求めることはできないが、泳動度の違いを構造の違いとして解釈することが可能である。3 で示した SDS-PAGE について、緩衝液類から SDS を除き、さらに、Laemmli's loading buffer から β-メルカプトエタノール、および、混合後の加熱を除いたプロトコールにより Native PAGE を行なった。

5. 円二色性 (CD: circular dichroism) 測定によるタンパク質 2 次構造変化の検出

CD とは、左円偏光と右円偏光に対して吸光度に差が生じる現象であり、キラルな物質の検出する手法である。この測定法をタンパク質に応用すると、αヘリックス、β構造、不規則構造のそれぞれで紫外領域でのスペクトルパターンと CD 強度が異なるため、タンパク質の 2 次構造を推定することが可能となる。合成ポリアミノ酸であるポリ-L-グルタミン酸あるいはポリ-L-リジンなどでは、pH を変えたり、加熱することにより二次構造が変わる。それらの CD スペクトルでは、αヘリックスの場合に 208-209、222 nm に負の極大、191-193 nm に正の極大、β構造では 216-218 nm に負の極大、195-200 nm に正の極大、不規則構造では 195-200 nm に負の極大が観察される (下図、Greenfield and Fasman 1969)。



そこで、本研究では、CD スペクトル測定により、HSA-化学物質付加体の二次構造を評価した。CD 測定には Jasco J-715（日本分光）を使用した。HSA-化学物質付加体溶液を 10mM 緩衝液（1 に記載）で希釈し、終濃度 0.2mg/mL に調製した。測定条件：波長 185nm～250nm、分解能 1nm、スキャン速度 100nm/min、積算 8 回、HT 電圧 405V で CD スペクトルを測定した。

6. 蛍光スペクトル測定によるタンパク質立体構造変化の測定

タンパク質を構成するアミノ酸の中で、トリプトファンは蛍光を発する。また、トリプトファンの蛍光は、トリプトファン残基の周囲の環境に影響される。従って、タンパク質の（トリプトファン由来の）蛍光を測定することにより、タンパク質の微小な構造変化を検出することが可能である（Pham et al. 2009）。

蛍光測定には分光蛍光光度計 F-7000（日立ハイテクサイエンス）を使用した。HSA-化学物質付加体溶液を 50mM 緩衝液（1 に記載）で希釈し、終濃度 20μg/mL に調製した。測定条件：励起波長 231nm、蛍光波長 250nm～400nm、スキャン速度 240nm/min、励起スリット 5nm、蛍光スリット 5nm、フォトマル電圧 500V にて蛍光スペクトルを測定した。

7. AXIMA CFR plus MALDI-TOF MS

MALDI-TOF MS を用い、HSA-化学物質付加体の分子量を測定することにより、HSA と化学物質の反応のモル比を実験的に求めることを目的とした。サンプルプレートに HSA-化学物質付加体 0.5μL を滴下し、続いてマトリックスである 10mg/mL sinapic acid を 0.5μL 滴下した。これらの溶液を風乾させた後、測定に供した。ウシ血清アルブミンを用いてキャリブレーションを行い、以下の条件で測定した。測定範囲 10,000～75,000m/z、測定モード MS/positive/Linear。

8. 血液の採取と血清の分離

福岡県の事業所従業員を対象とし、インフォームドコンセントを十分に行なった後、自記式質問票調査と血液の採取を行なった。血液を 37℃で凝固させたのち遠心分離し、血清を得た。血清は-80℃で保存した。

9. ELISA

マキシソープ 96 well 白色 plate（Thermo Scientific）を使用した。マキシソープは、well の底面が疎水性に加工されており、タンパク質を疎水性相互作用で結合させることができる。Plate にモル比 1:100 で反応させた HSA-トルエン-2,4-ジイソシアネート付加体と HSA-無水フタル酸を加えて室温で 1 時間インキュベートした。0.1% Tween20 を含む PBS で plate を洗浄した後、ブロッキング液を加え、室温で 1 時間インキュベートした。1 次抗体溶液（ヒト血清）を加えて室温で 1 時間インキュベートした後、plate を洗浄し、Anti-human IgG, HRP conjugate（Thermo Scientific, 20,000 倍希釈）を添加して 1 時間培養した。SuperSignal ELISA Femto Substrate（Thermo Scientific）を基質とした発光を FlexStation 3（Molecular Devices）で検出した。尚、1 次抗体と 2 次抗体は Can Get Signal（東洋紡）を用いて希釈した。

10. 二次元電気泳動

HSA-化学物質付加体と膨潤液（7M Urea, 2M Thiourea, 1.2% CHAPS, 0.4 %ASB14, 0.0025 % Orange G, 20 mM DTT, 0.25% Biolyte 3-10）と混合し、20℃で 20 分間インキュベートした後に遠心分離し、上清を泳動サンプルとした。Immobiline Dry Strips; pI 3-10, 3-10 NL, 4-7, 6-11（GE Healthcare）を膨潤し、50V、20℃で一晩前泳動した後、サンプルをロードして下記のパログラムで等電点電気泳動を行った。

Steps	Voltage (V)	Vh
1	200	66
2	500	750
3	700	175
4	1000	250
5	1500	375
6	2000	500
7	2500	625
8	3000	750
9	3500	10500
(10)	(500)	(Hold)

泳動後のストリップを還元緩衝液（6 M

Urea, 2 % SDS, 20 % Glycerol, 0.002 % BPB, 62.5 mM Tris-HCl (pH 6.8), 50 mM DTT) に浸して 25 分間インキュベートした。ストリップを 10%アクリルアミドゲルの上方にアガロースで固定し、定法に従って SDS-PAGE を行った。電気泳動後のゲルを Coomassie Brilliant Blue (CBB) で染色した。

1 1. ゲル内消化と AXIMA QIT plus MALDI-TOF MS 解析

染色後のゲルからメスでスポットを切り出し、脱色液 (50% アセトニトリル, 5mM 炭酸水素ナトリウム) に浸して 4℃で一晩静置した。脱色液を除き、アセトニトリルを加えて 5 分間浸透した。アセトニトリルを真空デシケーターで減圧乾燥し、還元液 (10mM DTT, 5mM 炭酸水素ナトリウム) を添加して 56℃で 1 時間インキュベートした。還元液を除き、アルキル化液 (55mM iodoacetamide, 5mM 炭酸水素ナトリウム) を添加して、室温で 45 分間振盪した。アルキル化液を除き、洗浄液 (5mM 炭酸水素ナトリウム) で洗浄した後、再度アセトニトリルを加えて脱水した。トリプシン溶液 (12.5 ng/μL Trypsin, 5mM 炭酸水素ナトリウム) を加え、4℃で一晩反応させた後、抽出液 (75% アセトニトリル, 0.1% TFA) でペプチドを抽出し、測定サンプルとした。

サンプルプレートに HSA-化学物質付加体 0.5μL を滴下し、続いて、マトリックスである 10mg/mL 2,5-dihydroxy benzoic acid を 0.5μL 滴下した。これらの溶液を風乾させた後、AXIMA QIT plus MALDI-TOF MS 測定に供した。測定範囲は 200~5000m/z、測定モードは MS/positive とした。

1 2. MASCOT 検索によるタンパク質の同定

AXIMA-QIT-plus-MALDI-TOF/MS 解析で得られた MS スペクトルを Mascot (HP : http://www.matrixscience.com/cgi/search_form.pl?FORMVER=2&SEARCH=PMF) に入力し、データベース NCBIInr にて検索した。得られた Protein Score について、統計的にランダムヒットを除き、スコアの高いタンパク質を選択した。

※ 血液化学物質特異的 IgG を定量する ELISA については、特許出願準備中のため方法の記載は割愛させていただきます。

(倫理面への配慮)

生体試料 (血液) の採取にあたっては、産業医科大学倫理委員会の承認を得て実施した。また、厚生労働省と文部科学省の合同委員会による「疫学に関する倫理指針」を遵守して行い、結果に関してはプライバシーに十分に配慮した。

C.研究結果

1. 化学物質との反応による HSA の構造変化

トルエン-2,4-ジイソシアネート、無水フタル酸、ホルムアルデヒドはいずれも樹脂原料であり、国内で大量に製造、使用されている化学物質である。一方、これら化学物質暴露による健康影響、特にアレルギー疾患が引き起こされることが報告されている。トルエン-2,4-ジイソシアネート、無水フタル酸、ホルムアルデヒドはカルボニル基を有することから、タンパク質中のリシン残基と反応すると考えられる。カルボニル炭素は親電子性を有し、アミノ基の窒素原子中の非共有電子対と反応する (図 1)。その反応性はタンパク質中のリシン残基の pKa に依存し、pKa が大きいリシン残基ほど反応性が高くなる。HSA は 1 分子内に 59 個のリシン残基を有し、それぞれのカルボニルに対する反応性が異なることが報告されている (Hettick et al. 2012)。

HSA と化学物質の反応に影響する因子は、HSA と化学物質のモル比と反応時の pH である。pH が高くなるとアミノ基の平衡がイオン型 (-NH₃⁺) から分子型 (-NH₂) に移動し、求核性が高くなる。そこで、3 種類のモル比 (HSA : 化学物質 = 1 : 1, 1 : 10, 1 : 100) と pH (6.0, 8.0, 10.8) の条件化で HSA とトルエン-2,4-ジイソシアネート、無水フタル酸、ホルムアルデヒドをそれぞれ反応性させ、HSA 中のアミノ基を定量した。トルエン-2,4-ジイソシアネートにおいては、pH6.0, 8.0 ではアミノ基はほとんど反応しなかったが、pH10.8、モル比 1 : 100 条件でアミノ基の減少が認められた (図 2)。HSA と無水フタル酸、或いはホルムアルデヒドとの反応において、pH6.0 ではアミノ基の減少はわずかであったが、pH8.0, 10.8 ではアミノ基が大きく減少した (図 2)。また、減少率は化学物質の比が大きくなるに従って増大した (図 2)。以上の結果より、化学物質は HSA のリシン残基と反応すること、さらに、HSA と化学物質との反応

は化学物質のモル比が大きくなるほど、また、pH が高くなるほど増加することが明らかとなった。従って、反応条件を変化させることにより、効率的に HSA-化学物質付加体を得ることができる。3 種の化学物質で反応性が異なるのはカルボニル基周囲の構造に起因すると考えられる。

次に、作製した HSA-化学物質付加体の HSA との立体構造の違いを評価した。SDS-PAGE により電気泳動を行なったところ、HSA-無水フタル酸付加体の泳動度は HSA のそれと比較して減少した (図 3)。従って、HSA が無水フタル酸と反応してアミノ基に付加し、分子量が増加していると考えられる。トルエン-2,4-ジイソシアネートと HSA との反応産物の泳動度は HSA と同程度であった。また、Native PAGE における泳動度を比較したところ、HSA-無水フタル酸付加体、および、HSA とトルエン-2,4-ジイソシアネートを 1:100 で反応させた反応産物の泳動度が増加した (図 3)。従って、これらのサンプルの立体構造は、HSA の構造と異なると考えられる。泳動度が増加していることから、アクリルアミドの網目構造を容易に通過できる構造に変化していることが示唆される。

CD スペクトル測定はタンパク質の二次構造の解析に広く用いられている手法であり、スペクトル変化から、 α -ヘリックスと β -構造の変化を推察することができる。HSA-トルエン-2,4-ジイソシアネート付加体と HSA-無水フタル酸付加体の 250~350nm における CD スペクトルを測定したところ、スペクトルに HSA と化学物質のモル比依存的な変化は認められなかった (図 4)。また、同様に、185~250nm における CD スペクトルを測定したところ、HSA-トルエン-2,4-ジイソシアネート付加体、HSA-無水フタル酸付加体共に、238nm 付近の負のピークが HSA と化学物質のモル比依存的に減少した (図 5)。CD スペクトルのみで二次構造変化を確実に検出することは困難であるが、HSA の構造と CD スペクトルに変化があった波長を鑑みると、トルエン-2,4-ジイソシアネートや無水フタル酸との反応により、HSA の α -ヘリックス構造が失われていると推察される。

タンパク質を構成するアミノ酸の中で、トリプトファンは比較的強い蛍光特性をもつ。HSA は 214 番目に 1 つだけトリプトファン残

基を有するため、HSA の蛍光は 214 番目トリプトファン付近の構造を反映する。従って、HSA と HSA-化学物質付加体の蛍光を測定すると、214 番目トリプトファン付近の構造の微細変化が観察できる。HSA を 231nm で励起すると、348nm 付近にピークをもつ蛍光スペクトルが観察された (図 6)。このスペクトルは、HSA とトルエン-2,4-ジイソシアネートまたは無水フタル酸との反応により大きく変化した (図 6)。従って、HSA のトリプトファン残基周辺が化学物質の影響を受けていると考えられ、化学物質による HSA の立体構造変化が示唆された。

次に、HSA-化学物質付加体のより正確な立体構造の理解を目指し、AXIMA CFR plus MALDI-TOF MS を用いて詳細な分子量の測定を試みた。HSA-化学物質とマトリックスを混ぜた後レーザーでイオン化し、質量分析を行なった。しかし、結果としてブロードなピークが得られた (図 7)。レーザーパワーを調節し、また、異なるマトリックスを使用しても同様の結果であった。コントロールとしてアポミオグロビンの分析を行なったところ、シャープなピークが観察され、分子量の決定が可能であったことから (図 8)、測定系は機能していると考えられる。原因は不明であるが、HSA-化学物質付加体の正確な分子量の決定には至らず、HSA に対する化学物質の付加におけるモル比は不明である。

以上の結果を表 1 に纏めた。トルエン-2,4-ジイソシアネート、無水フタル酸、ホルムアルデヒドは HSA のアミノ基 (リシン残基) と反応し、付加体を形成する。アミノ基は塩基性下で分子型となり求核性が増加するので、付加体系性反応は塩基性下で促進すると考えられる。Native PAGE、CD スペクトルおよび蛍光スペクトルの測定結果より、HSA が付加体形成により立体構造を変化させることが明らかとなった。化学物質自身はハプテンであり免疫原性を欠いているが、HSA と反応することにより生じる HSA-化学物質付加体は HSA と異なる構造をもつことから、免疫原性を有すると考えられる。

2. ヒト血液中化学物質特異的 IgG の ELISA による測定

HSA-化学物質付加体は HSA と異なる構造を有することが明らかとなったため、次に、

HSA・化学物質付加体を認識する抗体 (IgG) が血液中に存在することを確認すると共に、多検体中の化学物質特異的抗体をより短時間で測定するための ELISA の作製を目指した。川本らはドットブロットにより化学物質特異的 IgG の検出に成功しているため (Kawamoto et al. 2015)、ELISA 系の作製には川本らの方法を参考にした (図 9、10)。

HSA を化学物質と反応させた後、マキシソープ 96 well plate に疎水性相互作用で結合させた。HSA と HSA・化学物質付加体の plate への結合を抗 HSA 抗体で確認したところ、plate に対する HSA の結合は HSA の濃度依存的に増加し、また、HSA と HSA・トルエン-2,4-ジイソシアネート付加体、HSA・無水フタル酸付加体とのあいだで差は認められなかった (図 11)。次に、plate のブロッキング剤を検討した。スキムミルクや BSA をブロッキングに用いると、バックグラウンドが上昇する検体が見受けられた (図 12)。一方、非タンパク質性のブロッキング剤はバックグラウンドが低く、中でも Pierce 社製の Protein-free blocking buffer が最もバックグラウンドが低かった (図 12)。これらの結果から、plate のブロッキングには Protein-free blocking buffer を使うこととした。タンパク質性のブロッキング剤は、ヒト血清中にそれらを認識する抗体が含まれる場合にバックグラウンドが上昇すると考えられる。さらに、一次抗体として使用するヒト血清の希釈率も検討したところ、10,000 希釈により、測定に最適なシグナル強度が得られることが明らかとなった (図 13)。

福岡県の事業所従業員 81 名 (事務員と化学物質を取り扱う従業者を含む) より得た血清を用い、抗原として HSA・トルエン-2,4-ジイソシアネート、HSA・無水フタル酸を使用して ELISA を行った。HSA 未修飾体を抗原として ELISA を時に得られるシグナルをバックグラウンドとして差し引き、ELISA スコアを算出した (図 14)。正のスコアが得られていることから、従業員血清中には化学物質特異的 IgG が含まれると考えられる。しかし、同一条件でもう一度 ELISA を行ってみると、ELISA スコアに再現性の得られない検体が認められた (図 15)。HSA や HSA・化学物質付加体を疎水性相互作用で plate に結合させているため、HSA の配向性が一定とならないこと、感度を上げるために発光で検出しているが、発光

強度にバラつきが生じる (定量性がない) こと、さらに、検量線を用いていないためプレート間の測定値を補正できていないことに問題があると考えられた。そこで、これらの点を改善し、化学物質特異的 IgG の定量するための ELISA を構築した。改良型の ELISA は、ヒト血清中の化学物質特異的 IgG を ag/mL オーダーで検出でき、さらに再現性も非常に良かった。また、検査上重要な validation のための手法も確立できたため、この ELISA 法について特許出願を行なう予定である。尚、現在、特許出願準備中のため方法や結果の詳細な記述は割愛する。

以上の結果より、新規 ELISA により、血液中の化学物質特異的 IgG を ag/mL オーダーで定量することに成功した。今後、測定検体数を増やし、さらに、問診票の内容や血液中炎症マーカーの測定値と照らし合わせて、化学物質特異的 IgG が化学物質暴露指標になりうるか、さらに、化学物質アレルギーの診断に使えるか精査したい。

3. プロテオミクスの手法を用いた血液中 HSA・化学物質付加体検出の試みと新規血液中化学物質暴露マーカーの探索

生体内に取り込まれた化学物質は、HSA やヘモグロビン、アクチン、チューブリンなど様々なタンパク質と付加体を形成して免疫原性を獲得し、その結果、化学物質アレルギーが発症すると考えられる (Day et al. 1996; Lange et al. 1999; Wisniewski et al. 2000; Hettick and Siegel 2011)。従って、血液中における化学物質付加体を検出することができれば、化学物質暴露のマーカーや診断手法に応用できるかもしれない。このような背景の下、一般事務員と職場でトルエン-2,4-ジイソシアネートを使用している労働者の血清とをプロテオミクスの手法で解析し、労働者の血清中のタンパク質・化学物質付加体の検出を目指し、さらに、労働者の血清中で増減するタンパク質も検索し、新規化学物質暴露マーカーとしての可能性を検討することを目的とした。

トルエン-2,4-ジイソシアネートを取り扱っている労働者の血清と一般事務員 (トルエン-2,4-ジイソシアネートを扱わない) の血清を二次元電気泳動で展開し、CBB 染色すると複数のスポットが認められた (図 16)。スポットを切り取り、トリプシンで消化した後、AXIMA QIT plus MALDI-TOF MS を用いてタンパク質の同定を試みたところ、図 16 中の

スポット3がHSAであることが明らかとなった(図17、18)。スポット3の周囲には複数のタンパク質が配置しており、これらはHSAの修飾体であると考えられる。現在の二次元電気泳動ではスポットの分離が悪く、CBB染色であるため検出感度も低い。グラジエントゲルを用いて分解能を上げ、さらに、蛍光染色により感度を上げて、HSAの化学物質付加体の分離を目指したい。HSAに対する化学物質の結合部位、および、結合のモル比が明らかになると、これらにフォーカスしたELISAを作製することが可能となり、化学物質暴露の検出感度がさらに高まり、化学物質アレルギーとの関連についてより高度な議論が展開できる。

二次元電気泳動の結果、分解能よく単離されたHSA以外の3つのスポットについて、タンパク質の同定を試みた。スポット2のタンパク質は同定できなかったが、スポット1のタンパク質はアポリポプロテインA-I、スポット2のタンパク質は α 1-酸性糖タンパク質と同定できた(図19、20)。アポリポプロテインA-Iはトルエン-2,4-ジイソシアネート取り扱い労働者において増加しており、 α 1-酸性糖タンパク質は減少していた。アポリポプロテインA-Iは、脂質運搬タンパク質であり、HDLの変化を知るための指標として臨床検査の場で使用されている。一方、 α 1-酸性糖タンパク質は外傷、外科手術、熱傷、心筋梗塞、腫瘍疾患、炎症性疾患(リウマチ、クローン病など)、感染時などに激増する急性期蛋白であり、塩基性化学物質と強く結合する特徴がある。まだ1例だけであるため、これらのタンパク質と化学物質暴露との関連は不明であるが、例数を増やし、プロテオミクスの手法からもタンパク質の化学物質付加体を同定し、また、新たな血液マーカーを探索して、化学物質暴露指標の決定や化学物質とアレルギーとの関連の解明に貢献したい。

D. 考察

職業性アレルギーは労働者が職場内において原因物質に曝露されることによって感作され、物質への曝露が継続されることで症状を呈する。10万種類にもおよぶ化学物質が工業的に生産され、産業、農業や医療等さまざまな分野で使用されていることから、化学物質に起因したアレルギー障害が産業保健現場での大

きな課題となっている。化学物質への曝露は経気道、或いは、経皮が中心であることから、症状として、気管支喘息やアレルギー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎などが目立つ。本研究では、本邦における使用量が多い樹脂原料(可塑剤を含む)であり、かつ、生産物が一般に広く流通している(一般住民も生産物に日常的に接する)化学物質として、トルエン-2,4-ジイソシアネート、無水フタル酸、ホルムアルデヒドに焦点を当てて解析した。

樹脂原料や薬物など低分子はハプテンでありそれ単独では免疫原性をもたない。しかし、生体内高分子と結合し、高分子の構造が変化することによって免疫原性を獲得すると考えられる。従って、化学物質の反応性とタンパク質を(部分的に)変性させる活性が化学物質アレルギーの起こりやすさを決定する一因であろう。本研究ではハプテンが免疫原性獲得に至る過程で特に重要なタンパク質変性活性を6つの手法で解析した。今回、用いたトルエン-2,4-ジイソシアネート、無水フタル酸、ホルムアルデヒドはすべてカルボニル基を有している。カルボニル基は親電子性であり、アミノ基と反応する。従って、HSA中のリシン残基がこれらの化学物質の標的となっていると考えられる。実際、TNBS法により、化学物質と反応させたHSAは、分子中に含まれるアミノ基数が減少していることが明らかとなり、化学物質がリシン残基と反応していること証明された。HSA-トルエン-2,4-ジイソシアネート付加体、および、無水フタル酸付加体は電気泳動、CDスペクトル、蛍光スペクトルの変化が観察され、質量分析による付加体の分子量の決定には至らなかったものの、化学物質の付加により構造が変化することが明らかとなった。ホルムアルデヒドについても、トルエン-2,4-ジイソシアネートや無水フタル酸と同様の機構でHSAと反応することから、HSAの構造変化を引き起こすと考えられる。さらに、これら付加体を用いたELISAにより、ヒト血液中に抗HSA-トルエン-2,4-ジイソシアネート付加体特異的IgG、抗HSA-無水フタル酸付加体特異的IgGが検出された。従って、経皮曝露、あるいは、経気道曝露により体内に取り込まれたトルエン-2,4-ジイソシアネートや無水フタル酸の一部は血液中に取り込まれ、HSAと付加体を形成することによって抗体産生を刺激していると考えられる。

実験室レベルで HSA-化学物質付加体を作製する場合、リシン残基の電離平衡は塩基性領域で分子型に偏ることを利用し、塩基性下で HSA と化学物質を反応させることにより効率的にリシンへの付加反応を進めることができる。しかし、図 2 より、pH10.8、モル比 1 : 100 で HSA と化学物質とを反応させても、すべてのリシン残基が化学物質と反応しなかった。Hettick らは、HSA とトルエン-2,4-ジイソシアネートとの反応について、反応性の高いリシン残基を MALDI-TOF MS を用いて同定している (Hettick et al. 2012)。タンパク質中のアミノ酸の pKa は、周囲のアミノ酸に影響される。例えば、カスパーゼやプロテインホスファターゼ PTP1B の活性中心に存在するシステインは、塩基性アミノ酸に囲まれているために一般的なシステインと比較して低い pKa をもつ (Peters et al. 1998; Rotonda et al. 1996; Winterbourn and Metodiewa 1999)。このことは、酵素の触媒反応に寄与すると共に、これらタンパク質の親電子物質に対する脆弱性の原因にもなっている。HSA 中のリシン残基についても、周囲を取り囲むアミノ酸を解析することにより、in silico で HSA-化学物質付加体のどのリシンに化学物質が付加しているかを見積もることができるかもしれない。

HSA は血液中における生体内低分子のキャリアであり、HSA は薬物をはじめとした低分子と結合して構造を変化させることが報告されている。また、CD スペクトルは、タンパク質の立体構造変化を簡便に観察できることから、HSA の立体構造研究にも頻用されており、胆汁酸やイブプロフェン、ゲムフィプロジル、5-アザシチジン、クルクミン、イソフラボンなど、生体内外の低分子との結合による HSA の構想変化が CD スペクトル変化により測定されている (Mahesha et al. 2006; Pulla Reddy et al. 1999; Tunç et al. 2013; Zsila 2013)。本研究において、化学物質との反応により HSA の CD スペクトルは大きく変化することから (図 5)、上記の報告は、本研究における HSA-トルエン-2,4-ジイソシアネート付加体、および、無水フタル酸付加体の立体構造変化を強く支持すると考えられる。

職業性アレルギー疾患の予防のためには起因抗原の正確な診断が重要である。正確な診断のためにはまず検査の前に経過や症状の程度、職業歴や既往歴などの詳細な問診が必要であ

る。問診の後アレルギー性が疑われるようであれば検査を行うことになるが、アレルギー性皮膚炎の診断で最も行われているのがパッチテストである。十分な量のアレルゲンを強制的に経皮吸収させ、アレルギー反応を惹起させ、紅斑、膨疹といった局所反応がみられれば陽性という判定になる。イギリスの接触皮膚炎ガイドラインでは、パッチテストの感度と特異度が 70~80%とされており、パッチテストは接触皮膚炎の原因検索を行う際に必須であると判断されている。一方でパッチテストによる副作用も指摘されており、日本皮膚科学会接触皮膚炎診療ガイドラインではパッチテストにより、強刺激物質や腐食性化学物質は強い反応を生じることがあり、それに伴い色素沈着や色素脱失、瘢痕を形成することがあり、強感作物質はパッチテストにより新たな感作を起こすことがあるとされている。よって妊婦への使用は診断上の有益性が危険性を上回ると判断される場合にのみしか使用できないとされていることや、あるいは併用内服薬 (プレドニゾロンを 1 日 15mg 以上経口内服している患者など) によってはパッチテストを実施できないなど簡便にできる検査とは言えない。従って、より安全アレルギー診断法の確立が待たれている。

アレルギー性皮膚炎は一般的に、表皮にいる抗原提示細胞であるランゲルハンス細胞を介した遅延型のアレルギー反応 (IV型) とされている。気管支喘息やアレルギー性鼻炎は IgE を介した即時型 (I 型) とされているが最近では IgG が関与した遅発性アレルギーの報告もあり化学物質に起因したアレルギー疾患の発生病序は不明な点が多い。川本らは化学物質特異的 IgG と皮膚炎との関連を示しており (Kawamoto et al. 2015)、IgG も化学物質アレルギーの指標になり得ると考えられる。IgG 抗体は血中に最も多く存在し免疫グロブリン全体の約 80%を占める一方、IgE のそれは 0.001%以下と極微量しか存在しない。従って、IgG が化学物質アレルギーの指標になり得るとの知見が集積すれば、IgG をターゲットとする診断の方が鋭敏にアレルギーを診断することが期待される。現在でも特定の抗原に対する特異的 IgE 抗体を測定する RAST (radioallergosorbent test) や ELFA (Enzyme-Linked Fluorescence Assay) が商業ベースで使用されているが、測定できる抗原の数も少なく、また、化学物質アレルギーを反

映するかについては十分な証拠もない。さらに、これらの測定では、化学物質抗体を定量できない。また、特異的 IgG 抗体の測定については食物抗原特異的 IgG 抗体検査が行われているがその有用性については議論がある。

本研究では、新規に開発した ELISA により、血液中の化学物質特異的 IgG の定量に成功した(特許出願準備中のため詳細の記述は割愛します)。タンパク質と化学物質付加体を抗原として化学物質抗体を測定している報告は少ないながらも存在するが (Park et al. 2002)、その手法は確立されていない。今後、TDI 喘息など、アレルギー発症患者の血液等を用い、本研究で開発した ELISA のアレルギー診断における有用性を示したいと考えている。

Lemons らは、60G2 というトルエン-2,4-ジイソシアネートに対する抗体を用い、血液中の HSA-トルエン-2,4-ジイソシアネート付加体を検出するためのサンドイッチ ELISA を開発したと報告している (Lemons et al. 2013)。60G2 は、トルエン-2,4-ジイソシアネートを Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH) をキャリアとしてマウスに免疫して作製したモノクローナル抗体であり、HSA や MSA、ケラチンなど様々なトルエン-2,4-ジイソシアネート付加体を認識するとされる (Ruwona et al. 2011)。血液中のトルエン-2,4-ジイソシアネート付加体を定量するためには非常に有用なツールであると考えられ、研究が進むと、トルエン-2,4-ジイソシアネート付加体の絶対量とアレルギーとの関連を考察することも可能となるかもしれないが、抗体のターゲットが不明 (トルエン-2,4-ジイソシアネートは低分子であり、それ自身が抗体の産生を刺激するとは考え難い) であることや、付加体間で親和性が異なることなど、60G2 の詳細な解析が必要であろう。トルエン-2,4-ジイソシアネート付加体を用いて血液中の IgG と IgE を検出した報告は少ないながらも存在する。Park らは、トルエン-2,4-ジイソシアネート喘息患者を、I : 診断の後薬物治療によっても改善しない群、II : 改善はしたが喘息症状が残り薬物の投与を必要とする群、及び、III : 寛解した群の 3 群に分け、血液中の HSA-トルエン-2,4-ジイソシアネートを認識する IgG と IgE を ELISA で測定している (Park et al. 2002)。結果として、IgG は I 群の方が高く、IgE は II 群の方が高いという結果を得た。この報告では、例数が 10

例程度であるため、例数の追加が必要であると思われるが、IgE と IgG との反応が異なる点で非常に興味深い。本研究において、HSA-化学物質付加体を用いた ELISA では、同一検体でも結果がバラつき、validation をとるのが難しいことが明らかとなっている。新規 ELISA 法により、IgG に加えて IgE も定量し、それらの相関も調べるべきであると考えられる。

本研究により、HSA-化学物質付加体の立体構造解析の手法と HSA 部分ペプチドを用いた ELISA 構築の手法を確立することができた。これらの手法は他の化学物質にも応用可能である。即ち、新しい化学物質を使う際には、高分子と反応して立体構造を変化させるか、つまり、化学物質ハプテンが免疫原性をもつ可能性があるかをここで示した 6 種の測定により検討することができる。さらに、新規 ELISA の測定系を構築し、ヒト血清中の化学物質特異的 IgG を定量した。この ELISA は、IgE の定量に応用することも可能である。本研究は、新しく開発された化学物質によるタンパク質変性活性や、血液中化学物質抗体測定法を提案する点でも意義がある。

E. 結論

本研究において、HSA-化学物質付加体の立体構造を詳細に解析し、化学物質により HSA の微細構造が変化することを明らかにし、化学物質が免疫原性を獲得するに至る過程を示した。また、新規 ELISA を構築し、ヒト血清中の化学物質特異的 IgG を $\mu\text{g/mL}$ オーダーで定量することを可能とした。今後、検体数や対象とする化学物質数を増やし、血液中化学物質特異的 IgG と化学物質曝露 (職業歴、生活歴) との関連性、さらには、職業アレルギーとの関連性を詳細に検討する。

参考文献

- Alexandersson R, Hedenstierna G. Respiratory hazards associated with exposure to formaldehyde and solvents in acid-curing paints. Arch Environ Health. 43:222-7, 1988.
- Alexandersson R, Hedenstierna G. Pulmonary function in wood workers exposed to formaldehyde: a prospective study. Arch Environ Health. 44:5-11, 1989.

- Brown HH. A study of 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid for automated amino acid chromatography. *Clin Chem.* 14:967-78, 1968.
- Day BW, Jin R, Karol MH. In vivo and in vitro reactions of toluene diisocyanate isomers with guinea pig hemoglobin. *Chem Res Toxicol.* 9:568-73, 1996.
- Diem JE, Jones RN, Hendrick DJ, Glindmeyer HW, Dharmarajan V, Butcher BT, Salvaggio JE, Weill H. Five-year longitudinal study of workers employed in a new toluene diisocyanate manufacturing plant. *Am Rev Respir Dis.* 126:420-8, 1982.
- Fowler JF Jr, Skinner SM, Belsito DV. Allergic contact dermatitis from formaldehyde resins in permanent press clothing: an underdiagnosed cause of generalized dermatitis. *J Am Acad Dermatol.* 27:962-8, 1992.
- Greenfield N, Fasman GD. Computed circular dichroism spectra for the evaluation of protein conformation. *Biochemistry* 8:4108-16, 1969.
- Hettick JM, Siegel PD. Determination of the toluene diisocyanate binding sites on human serum albumin by tandem mass spectrometry. *Anal Biochem.* 414(2):232-8, 2011.
- Hettick JM, Siegel PD, Green BJ, Liu J, Wisniewski AV. Vapor conjugation of toluene diisocyanate to specific lysines of human albumin. *Anal Biochem.* 421:706-11, 2012.
- Kawamoto T, Tsuji M, Isse T. Comparison of IgG against plastic resin in workers with and without chemical dermatitis. *BMC Public Health.* 15:930, 2015.
- Kennedy AL, Wilson TR, Stock MF, Alarie Y, Brown WE. Distribution and reactivity of inhaled ¹⁴C-labeled toluene diisocyanate (TDI) in rats. *Arch Toxicol.* 68:434-43, 1994.
- Lange RW, Lantz RC, Stolz DB, Watkins SC, Sundareshan P, Lemus R, Karol MH. Toluene diisocyanate colocalizes with tubulin on cilia of differentiated human airway epithelial cells. *Toxicol Sci.* 50:64-71, 1999.
- Lemons AR, Bledsoe TA, Siegel PD, Beezhold DH, Green BJ. Development of sandwich ELISAs for the detection of aromatic diisocyanate adducts. *J Immunol Methods.* 397:66-70, 2013.
- Mahesha HG, Singh SA, Srinivasan N, Rao AG. A spectroscopic study of the interaction of isoflavones with human serum albumin. *FEBS J.* 273:451-67, 2006.
- Nielsen J, Welinder H, Schütz A, Skerfving S. Specific serum antibodies against phthalic anhydride in occupationally exposed subjects. *J Allergy Clin Immunol.* 82:126-33, 1988.
- Nielsen J, Bensryd I, Almquist H, Dahlqvist M, Welinder H, Alexandersson R, Skerfving S. Serum IgE and lung function in workers exposed to phthalic anhydride. *Int Arch Occup Environ Health.* 63:199-204, 1991.
- Omae K, Higashi T, Nakadate T, Tsugane S, Nakaza M, Sakurai H. Four-year follow-up of effects of toluene diisocyanate exposure on the respiratory system in polyurethane foam manufacturing workers. II. Four-year changes in the effects on the respiratory system. *Int Arch Occup Environ Health.* 63:565-9, 1992.
- Park HS, Lee SK, Kim HY, Nahm DH, Kim SS. Specific immunoglobulin E and immunoglobulin G antibodies to toluene diisocyanate-human serum albumin conjugate: useful markers for predicting long-term prognosis in toluene diisocyanate-induced asthma. *Clin Exp Allergy.* 32:551-5, 2002.
- Peters GH, Frimurer TM, Olsen OH. Electrostatic evaluation of the signature motif (H/V)CX5R(S/T) in protein-tyrosine phosphatases. *Biochemistry* 37:5383-93, 1998.
- Pham TT, Oyama T, Isse T, Kawamoto T. Application of tryptophan fluorescence to assess sensitizing potentials of chemicals. *Arch Environ Contam Toxicol.* 57:427-36, 2009.
- Pisati G, Baruffini A, Zedda S. Toluene diisocyanate induced asthma: outcome according to persistence or cessation of exposure. *Br J Ind Med.* 50:60-4, 1993.
- Pulla Reddy AC, Sudharshan E, Appu Rao AG, Lokesh BR. Interaction of curcumin with human serum albumin--a spectroscopic study. *Lipids.* 34:1025-9, 1999.
- Ritchie IM, Lehnen RG.

Formaldehyde-related health complaints of residents living in mobile and conventional homes. *Am J Public Health*. 77:323-8, 1987.

・ Rotonda J, Nicholson DW, Fazil KM, Gallant M, Gareau Y, Labelle M, Peterson EP, Rasper DM, Ruel R, Vaillancourt JP, Thornberry NA, Becker JW. The three-dimensional structure of apopain/CPP32, a key mediator of apoptosis. *Nat Struct Biol* 3:619-625, 1996.

・ Ruwona TB, Johnson VJ, Hettick JM, Schmechel D, Beezhold D, Wang W, Simoyi RH, Siegel PD. Production, characterization and utility of a panel of monoclonal antibodies for the detection of toluene diisocyanate haptenated proteins. *J Immunol Methods*. 373(1-2):127-35, 2011.

・ Sarantonis EG, Diamandis EP, Karayannis MI. Kinetic study of the reaction between trinitrobenzenesulfonic acid and amino acids with a trinitrobenzenesulfonate ion-selective electrode. *Anal Biochem*. 155:129-34, 1986.

・ Sorahan T, Pope D. Mortality and cancer morbidity of production workers in the United Kingdom flexible polyurethane foam industry. *Br J Ind Med*. 50:528-36, 1993.

・ Tunç S, Cetinkaya A, Duman O. Spectroscopic investigations of the interactions of tramadol hydrochloride and 5-azacytidine drugs with human serum albumin and human hemoglobin proteins. *J Photochem Photobiol B*. 120:59-65, 2013.

・ Wantke F, Hemmer W, Haglmüller T, Götz M, Jarisch R. Anaphylaxis after dental treatment with a formaldehyde-containing tooth-filling material. *Allergy* 50:274-6, 1995.

・ Wernfors M, Nielsen J, Schütz A, Skerfving S. Phthalic anhydride-induced occupational asthma. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 79:77-82, 1986.

・ Wisnewski AV, Srivastava R, Herick C, Xu L, Lemus R, Cain H, Magoski NM, Karol MH, Bottomly K, Redlich CA. Identification of human lung and skin proteins conjugated with hexamethylene diisocyanate in vitro and in vivo. *Am J Respir Crit Care Med*. 162:2330-6, 2000.

・ Winterbourn CC, Metodiewa D. Reactivity of biologically important thiol compounds with superoxide and hydrogen peroxide.

Free Radic Biol Med 27:322-328, 1999.

・ Zsila F. Circular dichroism spectroscopic detection of ligand binding induced subdomain IB specific structural adjustment of human serum albumin. *J Phys Chem B*. 117:10798-806, 2013.

F.健康危険情報

該当無し

G.研究発表

1. 論文発表

該当無し

2. 学会発表

該当無し

H.知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

1) 新規 ELISA 法による血液中化学物質特異的抗体の定量（出願準備中）

血液中化学物質特異的 IgG と IgE を定量するための新規 ELISA について特許出願を行なうべく産業医科大学 関学連携・知的財産本部と打ち合わせを重ねている。現在、出願書類作成中であり、来年度（平成 28 年度）早々に出願する予定である。本稿において、新規 ELISA に関連する記述については、特許出願準備中のため割愛させていただきます。

2. 実用新案登録

該当無し

3. その他

該当無し

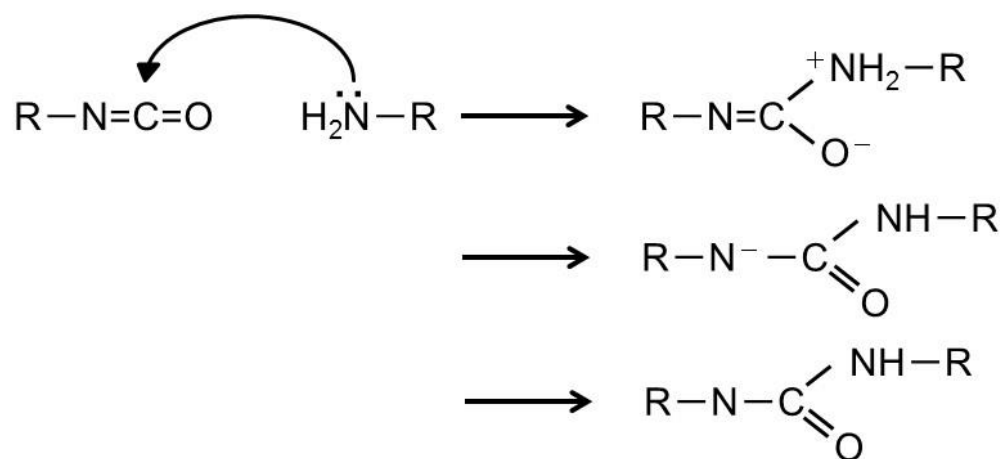
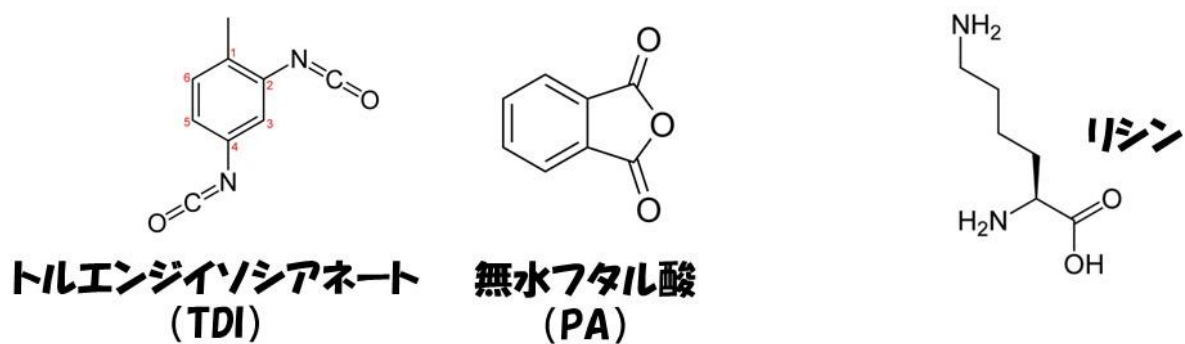


図1. カルボニル基を有する化学物質とタンパク質リシン残基との反応

トルエン-2,4-ジイソシアネートや無水フタル酸のカルボニル基は、電荷の偏りのため親電子性をもち、タンパク質リシン残基の非共有電子対と反応する。リシンのε-アミノ基のpKaは10.5なので、塩基性条件で分子型となり、カルボニル基との反応が促進する。

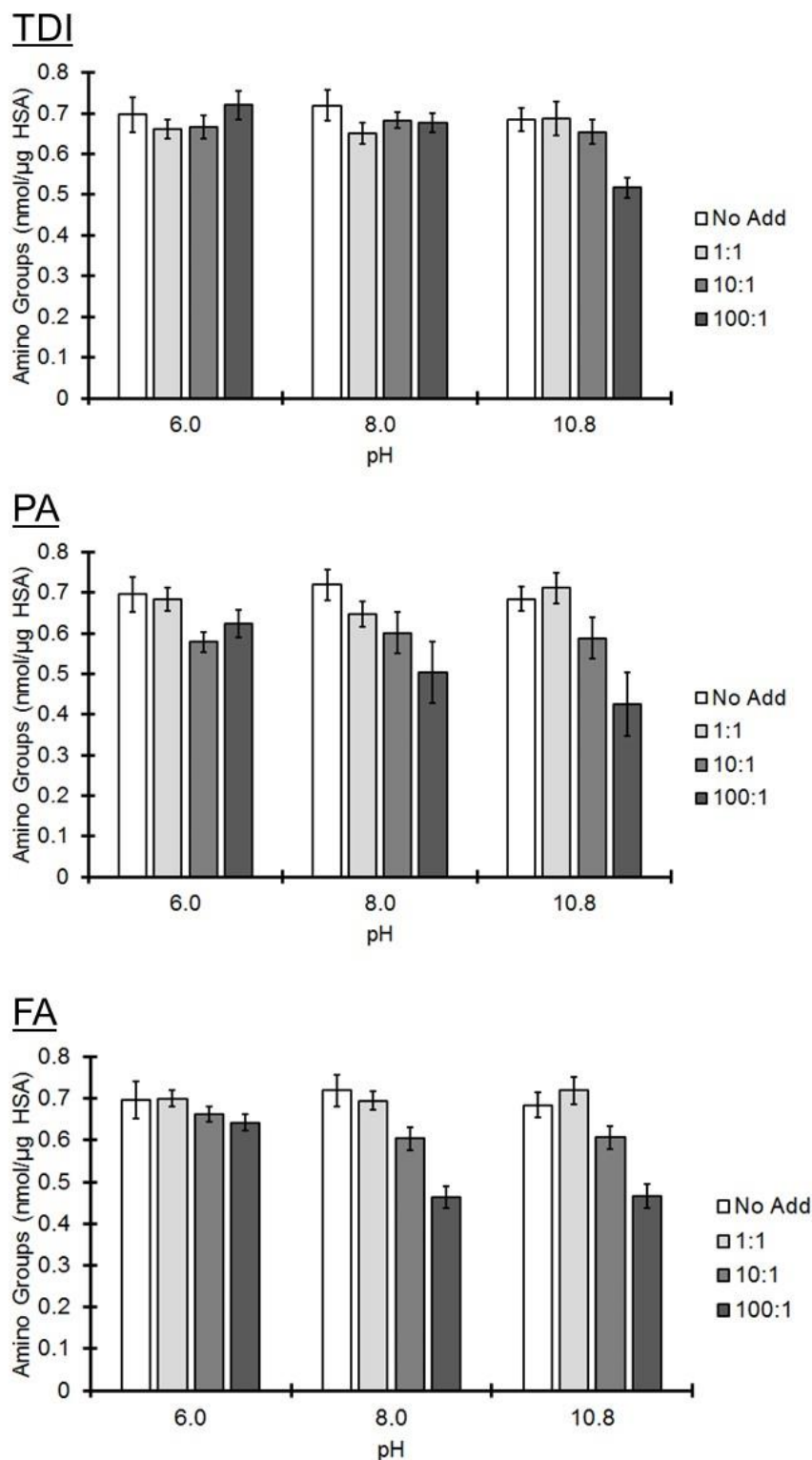
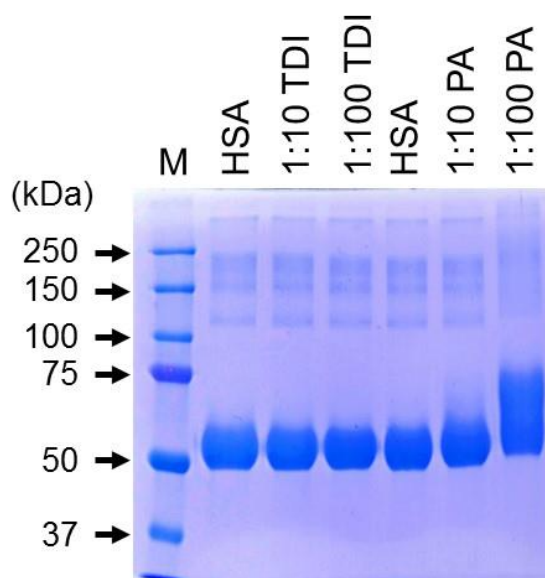


図2. HSA-化学物質付加体に含まれるアミノ基の定量

HSA とトルエン-2,4-ジイソシアネート (TDI)、無水フタル酸 (PA)、ホルムアルデヒド (FA) を反応させた後、アミノ基を TNBS 法により定量した。尚、反応条件は、pH が 3 条件 (6.0、8.0、10.8)、HSA と化学物質のモル比が 3 条件 (1:1、1:10、1:100) である。PA と FA は、pH が高いほど、化学物質の比が大きいほどアミノ基が多く失われることが明らかとなり、TDI は pH10.8、モル比 100:1 のときのみアミノ基が減少した。Values are the mean $\pm$ S.E. of 6 separate experiments.

SDS-PAGE



Native PAGE

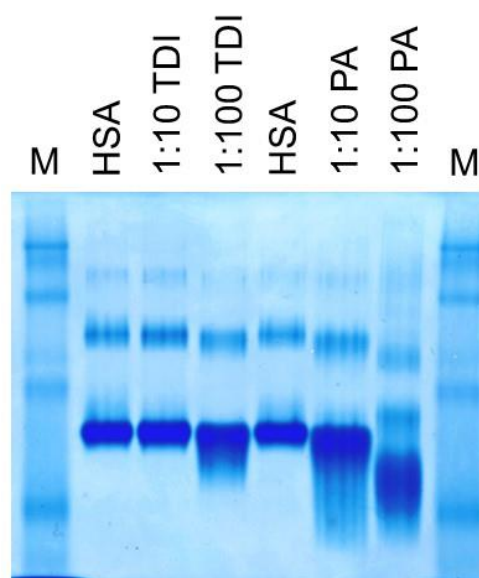
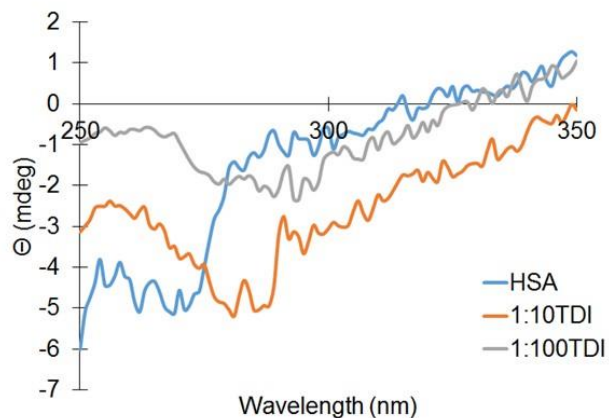


図3. タンパク質電気泳動法による立体構造変化の解析

HSA とトルエン-2,4-ジイソシアネート (TDI) 、および、無水フタル酸 (PA) を pH10.8、HSA と化学物質とのモル比 1:10 または 1:100 で反応させた後、SDS-PAGE (左図) と Native-PAGE (右図) を行った後、CBB で染色した。TDI については、SDS-PAGE による分子量の変化は検出できなかったが、1:100 条件で反応させた際のタンパク質の構造変化が認められた。PA について、分子量はモル比依存的に増加し、また、構造変化もモル比依存的に大きくなるとの結果を得た。

250 – 350 nm

HSA-TDI 付加体



HSA-PA 付加体

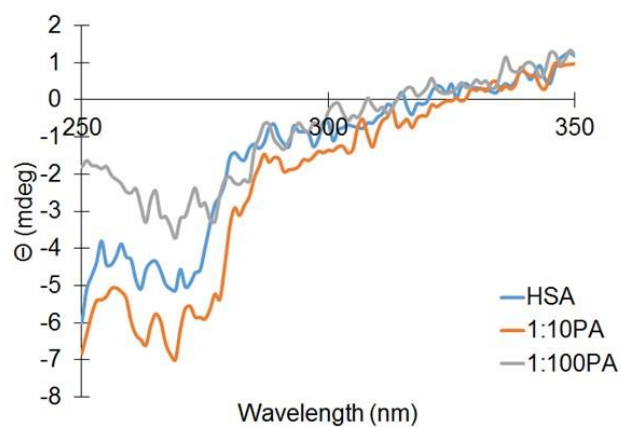


図4. CD スペクトル測定による HSA 二次構造の解析 (1)

HSA とトルエン-2,4-ジイソシアネート (TDI)、および、無水フタル酸 (PA) を pH10.8、HSA と化学物質とのモル比 1:10 または 1:100 で反応させた。反応産物を CD スペクトル測定に供し、HSA と DMSO の混合液とスペクトルを比較した。250～350nm の波長の範囲において、HSA-TDI 付加体と HSA-PA 付加体のモル比依存的なスペクトル変化は検出されなかった。

185 – 250 nm

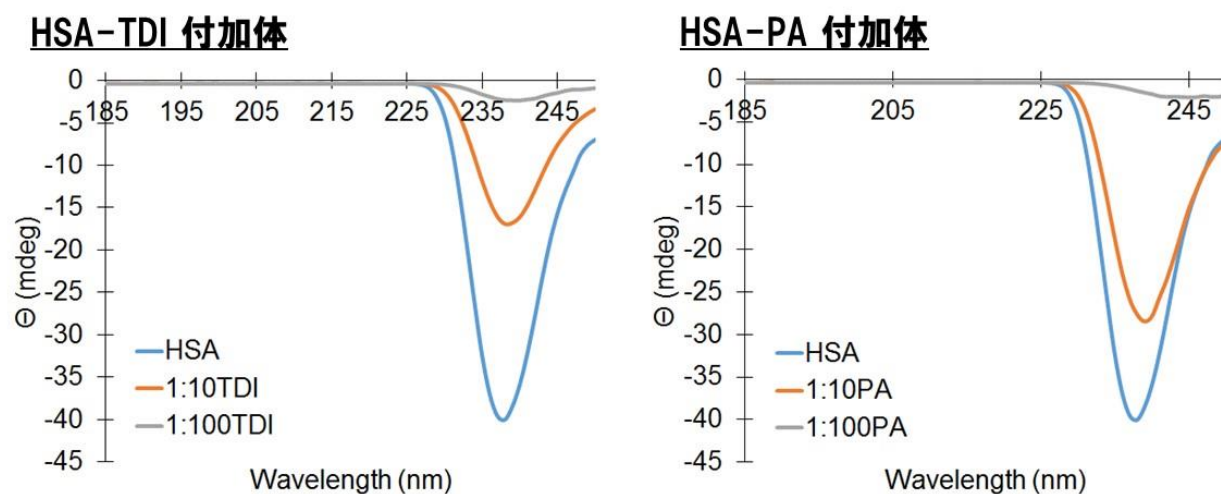
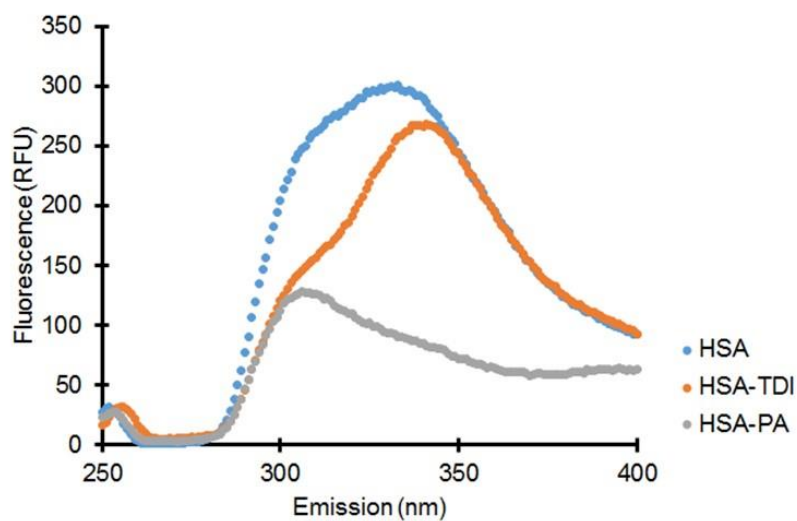


図5．CD スペクトル測定による HSA 二次構造の解析（2）

HSA とトルエン-2,4-ジイソシアネート (TDI) 、および、無水フタル酸 (PA) を pH10.8、HSA と化学物質とのモル比 1:10 または 1:100 で反応させた後、185nm～250nm における CD スペクトルを測定した。HSA-TDI 付加体、HSA-PA 付加体ともに 238nm で認められる負のピークが化学物質のモル比依存的に減少した。従って、化学物質の濃度依存的に HSA の二次構造が変化していると考えられる。

Ex: 231 nm(トリプトファンを励起)

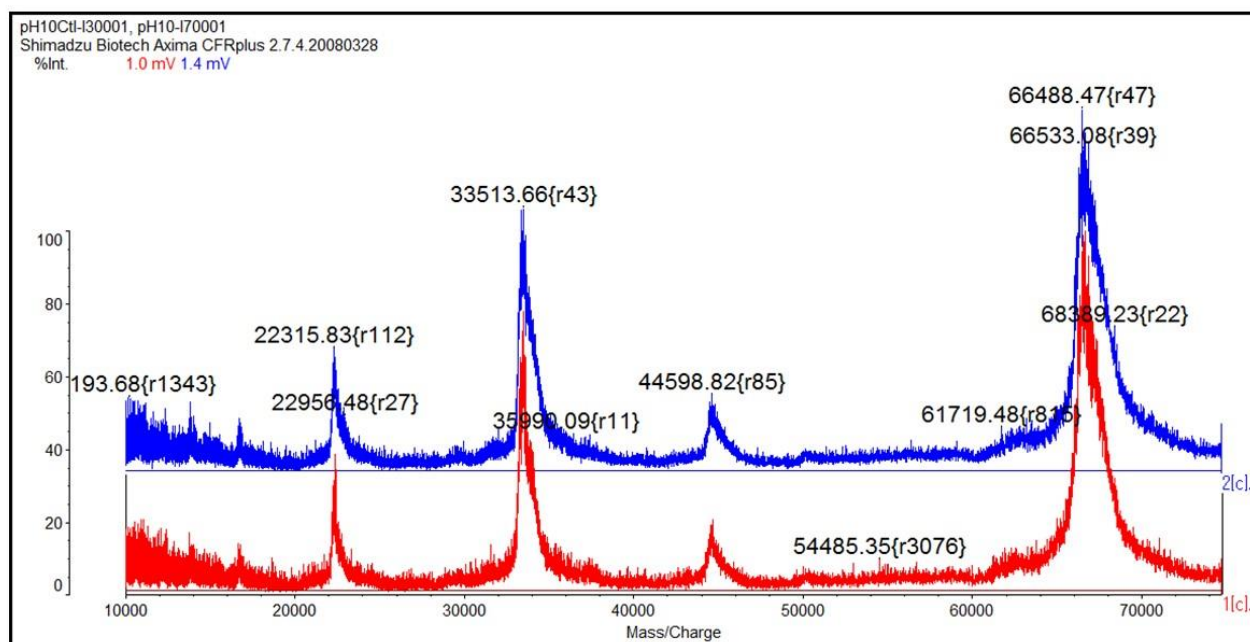


1:100 TDI
1:100 PA

図6．蛍光スペクトル測定によるタンパク質立体構造変化の解析

HSA とトルエン-2,4-ジイソシアネート (TDI)、および、無水フタル酸 (PA) を pH10.8、HSA と化学物質とのモル比 1:100 で反応させた後、231nm で励起したときの蛍光スペクトルを測定した。尚、231nm は、トリプトファン残基の励起波長である。HSA の蛍光スペクトルと比較して、HSA-TDI 付加体、HSA-PA 付加体のスペクトルはピーク波長が変わるなど大きく変化しており、特に HSA-PA 付加体において顕著であった。従って、TDI や PA との反応により、HSA は構造を変化させていることが明らかとなった。

赤: Cont HSA, pH10.8, 青: HSA-TDI, pH10.8



赤: Cont HSA, pH10.8, 青: HSA-TDI, pH10.8
(拡大図)

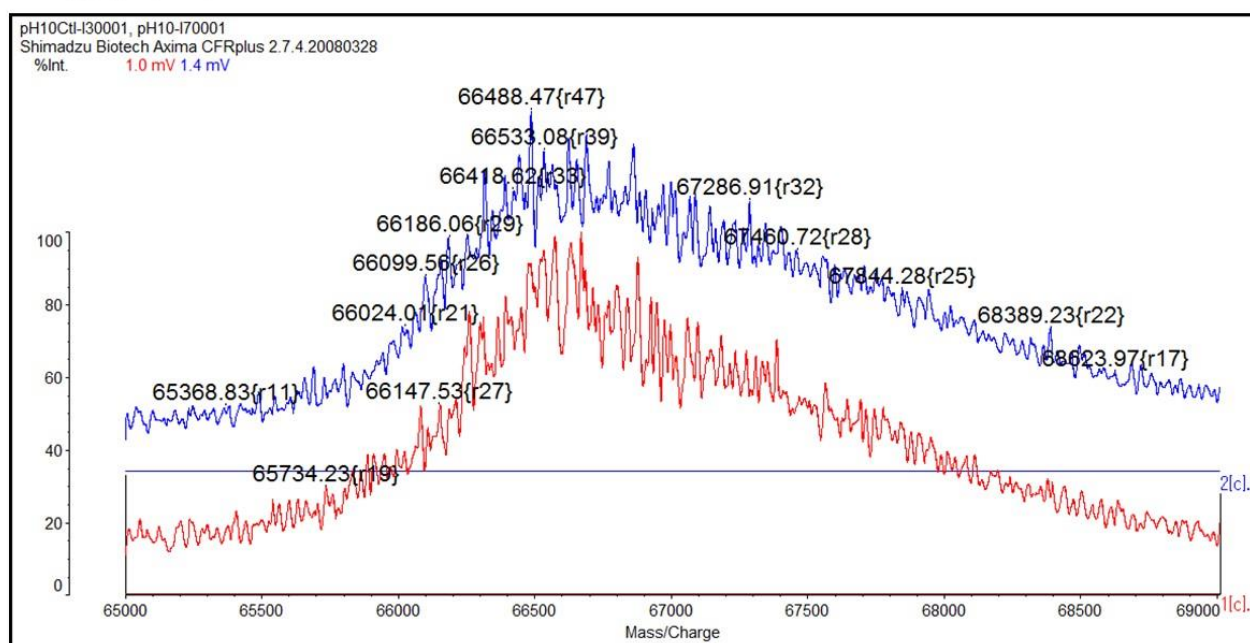
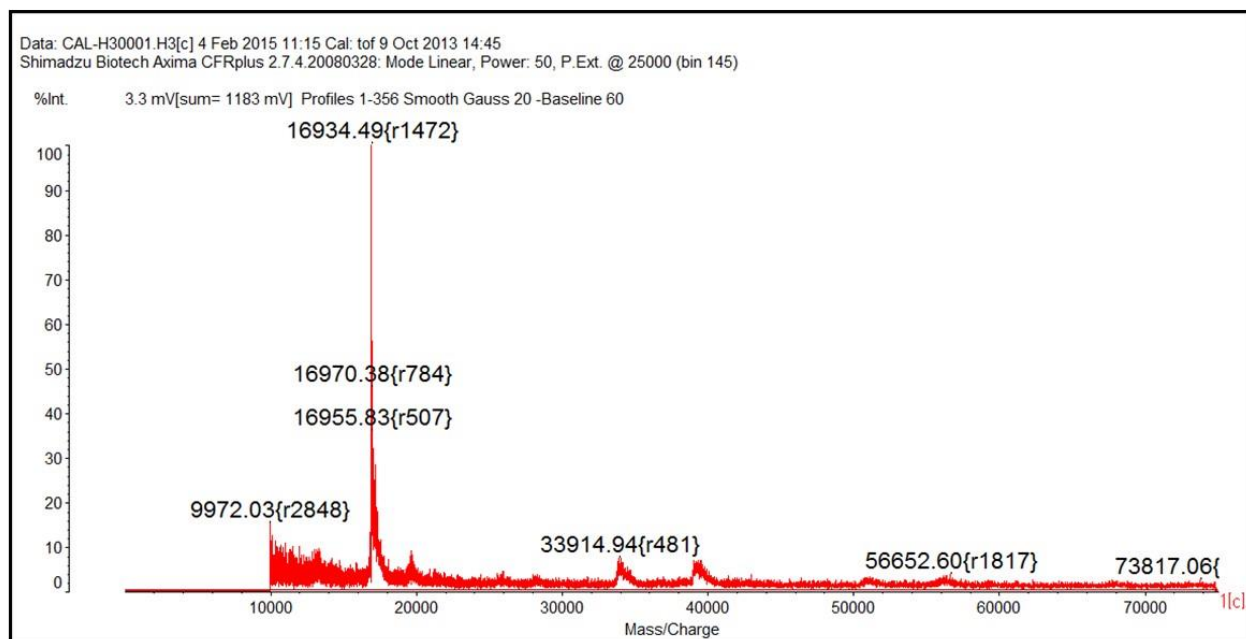


図 7. AXIMA-CFR-plus-MALDI-TOF/MS による HSA-化学物質付加体の分子量決定の試み

HSA とトルエン-2,4-ジイソシアネート (TDI) を pH10.8、HSA と化学物質とのモル比 1:100 で反応させた後、マトリックスと混合し、AXIMA-CFR-plus-MALDI-TOF/MS により MS スペクトルを測定した (上図: 広域図、下図: 拡大図)。HSA の分子量 (66kDa) 付近にピークが得られたもののブロードとなり、正確な分子量の決定には至らなかった。

Calibration: Apomyoglobin (16952Da, Ave)



Calibration: Apomyoglobin (16952Da, Ave) (拡大図)

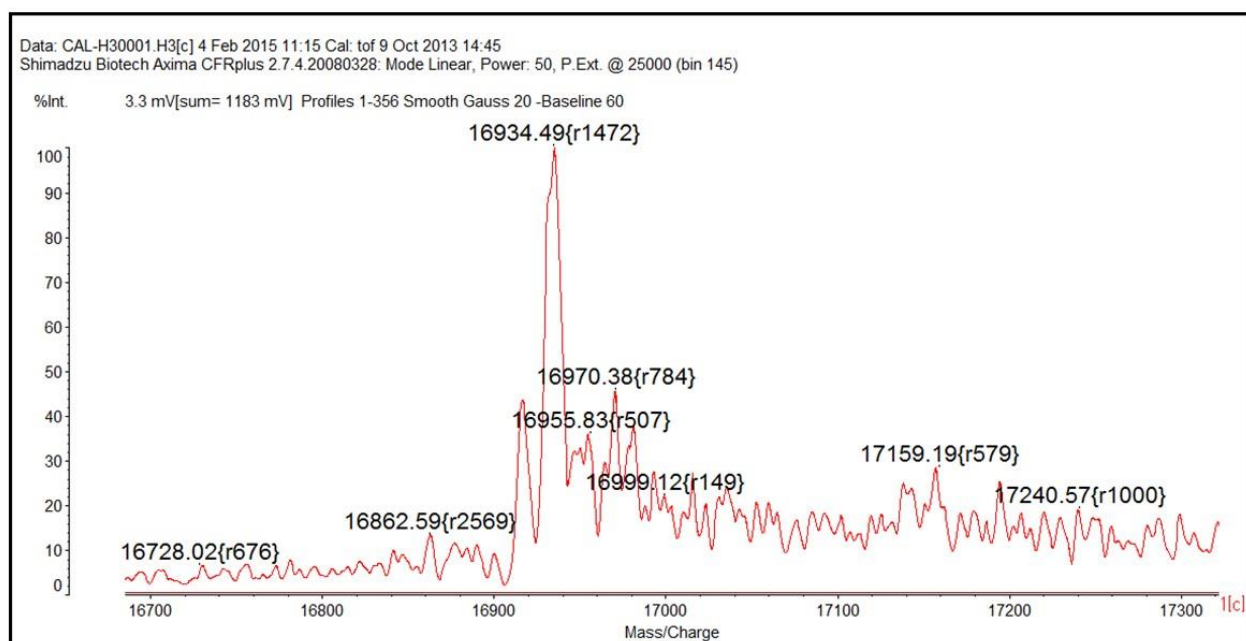


図 8. AXIMA-CFR-plus-MALDI-TOF/MS のキャリブレーション：分解能の確認

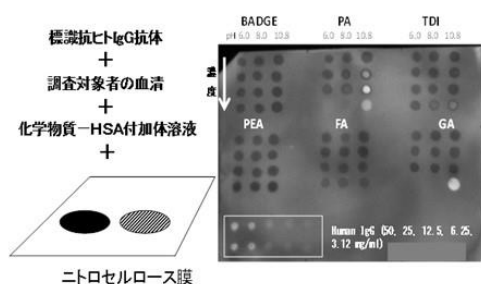
アポミオグロビンをマトリックスと混合し、AXIMA-CFR-plus-MALDI-TOF/MS により MS スペクトルを取得した。非常にシャープなピークが 1 本観察され、AXIMA-CFR-plus-MALDI-TOF/MS にて分子量決定に足るスペクトルが得られることを確認した。

表 1. 化学物質の HSA に対する作用

	TDI	PA	FA
TNBS	アミノ基修飾	アミノ基修飾	アミノ基修飾
SDS-PAGE	検出されず	分子量増加（付加）	N.D.
Native-PAGE	泳動度増加	泳動度増加	N.D.
CD	α -ヘリックス減少？	α -ヘリックス減少？	N.D.
Fluorescence	微細構造変化	微細構造変化	N.D.
MALDI-TOF CFR	検出されず	検出されず	N.D.
N.D.: Not determined			

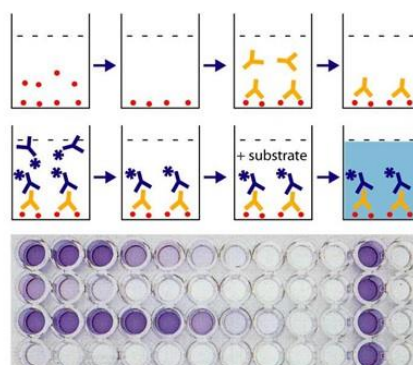
※ 図 2～7 で得られた結果を表として纏め、HSA と化学物質との反応による構造変化について示した。

Dot Blot



数種類の化学物質抗体を一斉検出可能

ELISA



**数百検体を一度に測定可能
検量線により定量可能**

図9. Dot Blot と ELISA の比較

Dot Blot はニトロセルロースメンブレン或いは PVDF メンブレンに抗原をスポティングするため、一度に複数種の化学物質に対する抗体を検出できるが、検体数だけのメンブレンを準備する必要があり、多検体の解析には向かない。また、メンブレンへの抗原の結合を定量できないことから、抗体の絶対定量は不可能である。一方、ELISA は、多検体の分析に長じており、96well plate や 384well plate など用いる plate によって同時に分析できる検体数がことなる。しかし、複数種の化学物質抗体の同時検出については、可能であるが操作が煩雑となる。検量線を作成することによって、化学物質抗体を定量することも可能である。

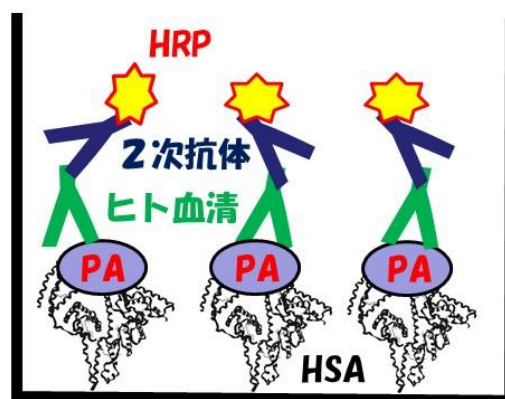
1. ヒト血清アルブミン-
化学物質付加体の作製

2. 付加体を plate に結合
(疎水性相互作用)

3. ヒト血清を添加

4. 標識 2 次抗体を添加

5. 検出 (発光法)



96 well plate

HSA: Human Serum Albumin

PA: Phthalic Anhydride

HRP: Horseradish Peroxidase

図 1 0. HSA-化学物質付加体を抗原とした ELISA の模式図

HSA と化学物質を反応させた後、HSA-化学物質付加体を 96well plate に疎水性相互作用で結合させる。ヒト血清を 1 次抗体、HRP を結合させた抗ヒト IgG 抗体を 2 次抗体とし、HRP の基質を用いて発光法により化学物質特異的 IgG を検出する。

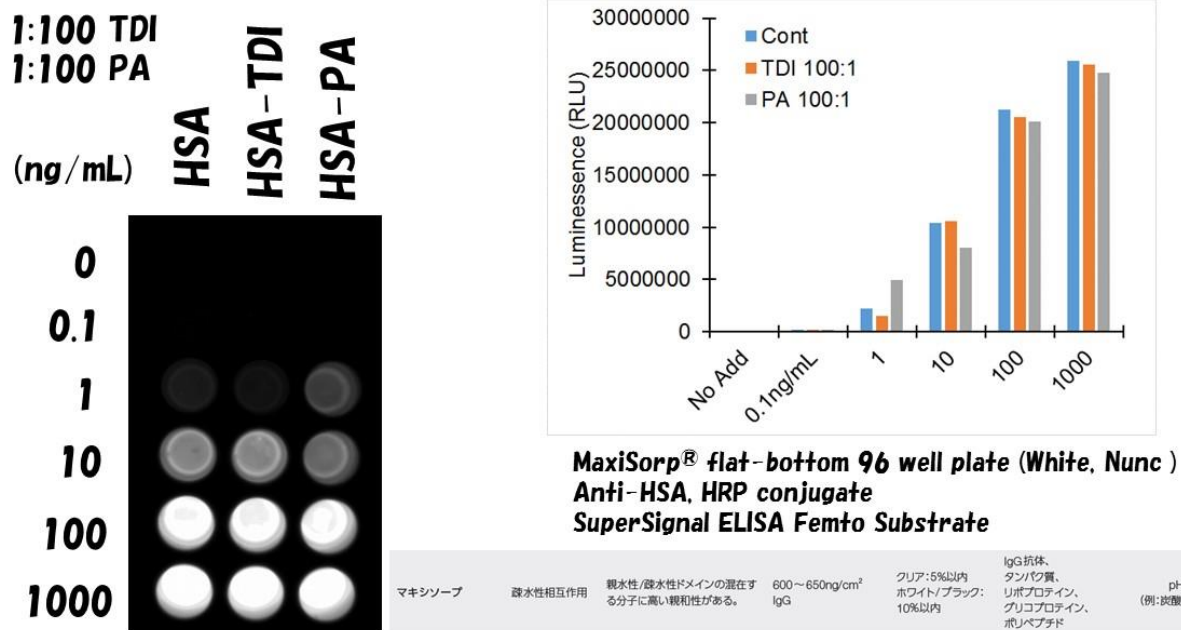


図 1 1. HSA-化学物質付加体の ELISA プレートへの結合
(一部、Thermo Scientific 社 HP より抜粋)

HSA とトルエン-2,4-ジイソシアネート (TDI) 、および、無水フタル酸 (PA) を pH10.8、HSA と化学物質とのモル比 1:100 で反応させた後、反応産物をマキシソープ 96well plate (白色) に添加した。HRP を結合させた抗 HSA 抗体を用いて well に結合した HSA を検出し、HSA、HSA-TDI 付加体、HSA-PA 付加体が well への添加量依存的に well 底面に結合することを確認した。

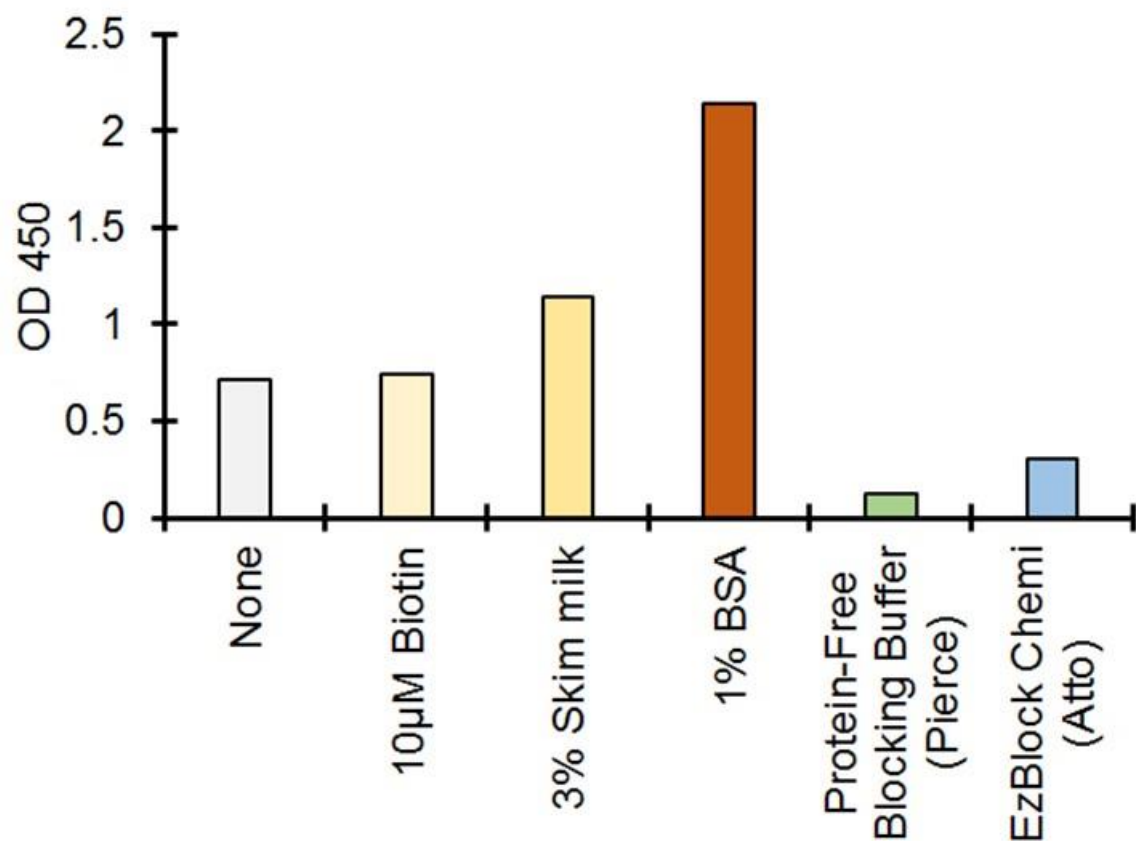


図 1 2. ELISA におけるプレートのブロッキングの検討

ELISA を行なうにあたり、5 種類のブロッキング剤のバックグラウンドを測定した。HSA を plate に固定した後、10µM Biotin、Skim milk、1% BSA、Protein-Free Blocking Buffer、EzBlock Chemi それぞれでブロッキングした後、10 種類の検体（ヒト血清）を使用し、ELISA を行なった。上記グラフは 10 種類の検体の中でもっとも高いシグナルを示した検体の OD450 値を示している。Skim milk や BSA といったタンパク質性のブロッキング剤により、検体によってはバックグラウンドが上昇することが分かる。

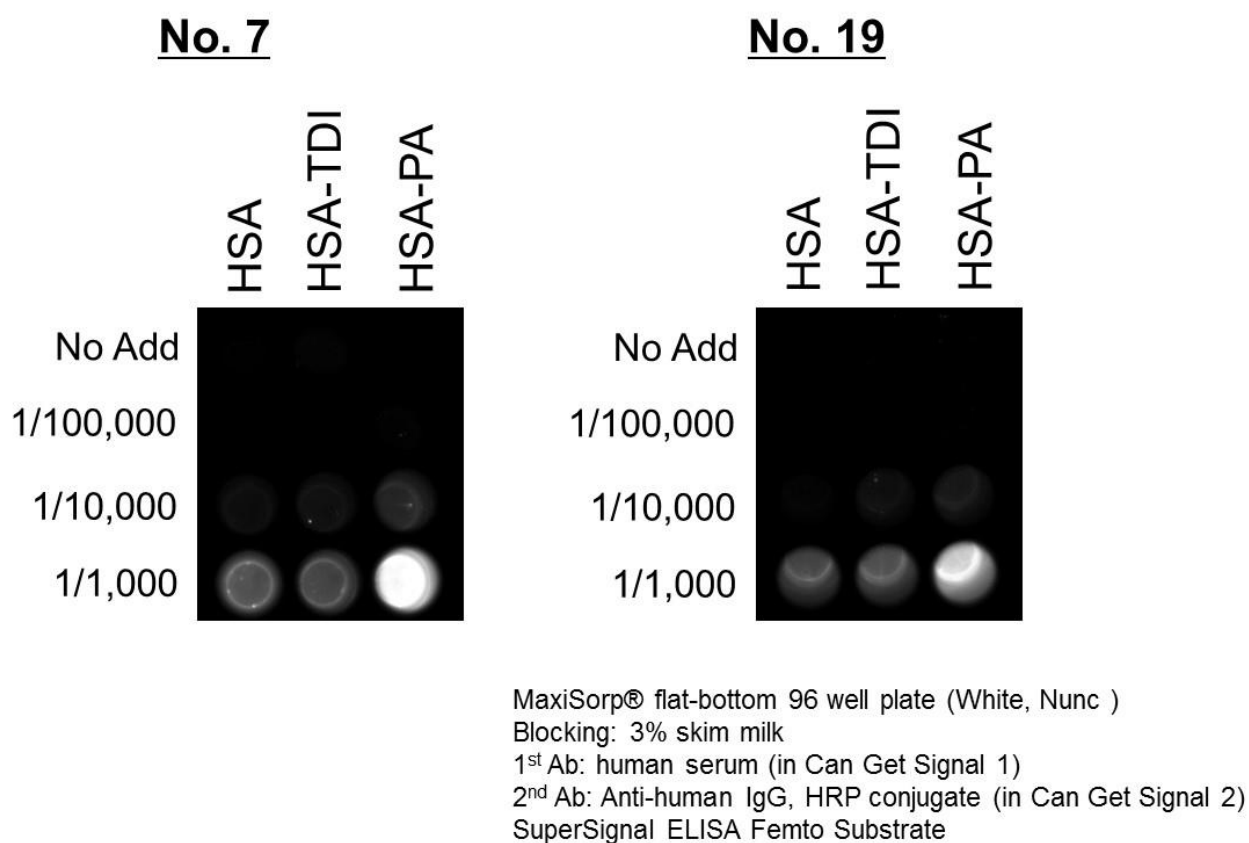


図 1 3. ELISA におけるヒト血清希釈率の検討

HSA とトルエン-2,4-ジイソシアネート (TDI) 、および、無水フタル酸 (PA) を pH10.8、HSA と化学物質とのモル比 1:100 で反応させた後、反応産物をマキシソープ 96well plate (白色) に添加した。2 種類の検体 (ヒト血清) について希釈率を変えて ELISA を行い、検体の 1 次抗体としての希釈率を検討した。最適なシグナルが得られる希釈率として、希釈率を 1/10,000 と決定した。

81検体の発光を測定 HSA化学物質付加体の値から未修飾HSAの値を引き算

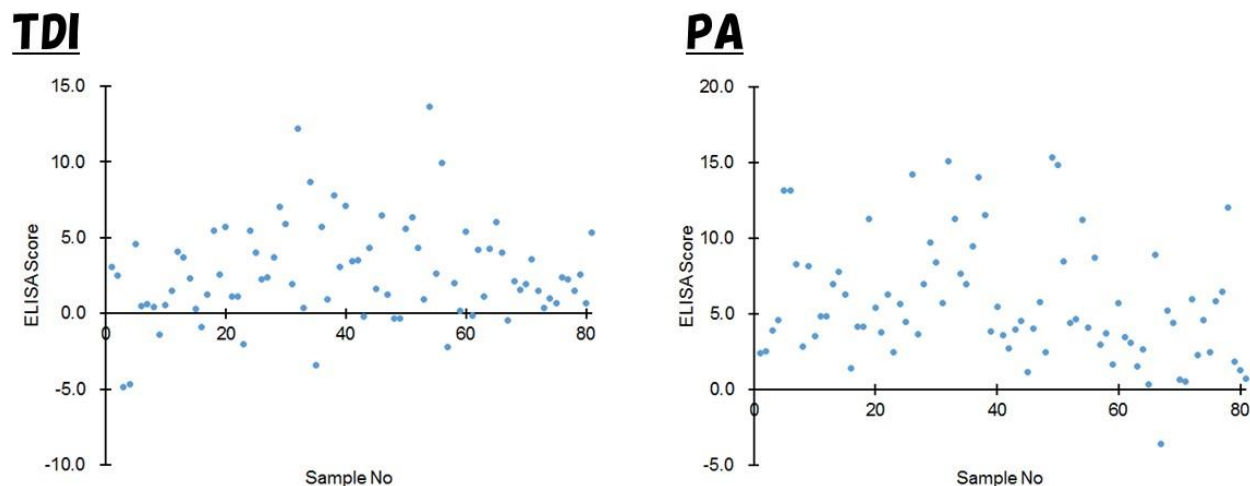


図 1 4. ELISA による労働者血液中の化学物質抗体の測定（1）

HSA とトルエン-2,4-ジイソシアネート（TDI）、および、無水フタル酸（PA）を pH10.8、HSA と化学物質とのモル比 1:100 で反応させた後、マキシソープ 96 well plate に結合させた。Protein-Free Blocking Buffer を用いてブロッキングした後、ヒト血清を 1 次抗体、HRP を結合させた抗ヒト IgG 抗体を 2 次抗体として用いて ELISA を行なった。HSA-化学物質付加体の OD450 から HSA 未修飾の OD450 を差し引き、ELISA Score としてグラフに表した。横軸は 81 検体のサンプル番号を示す。

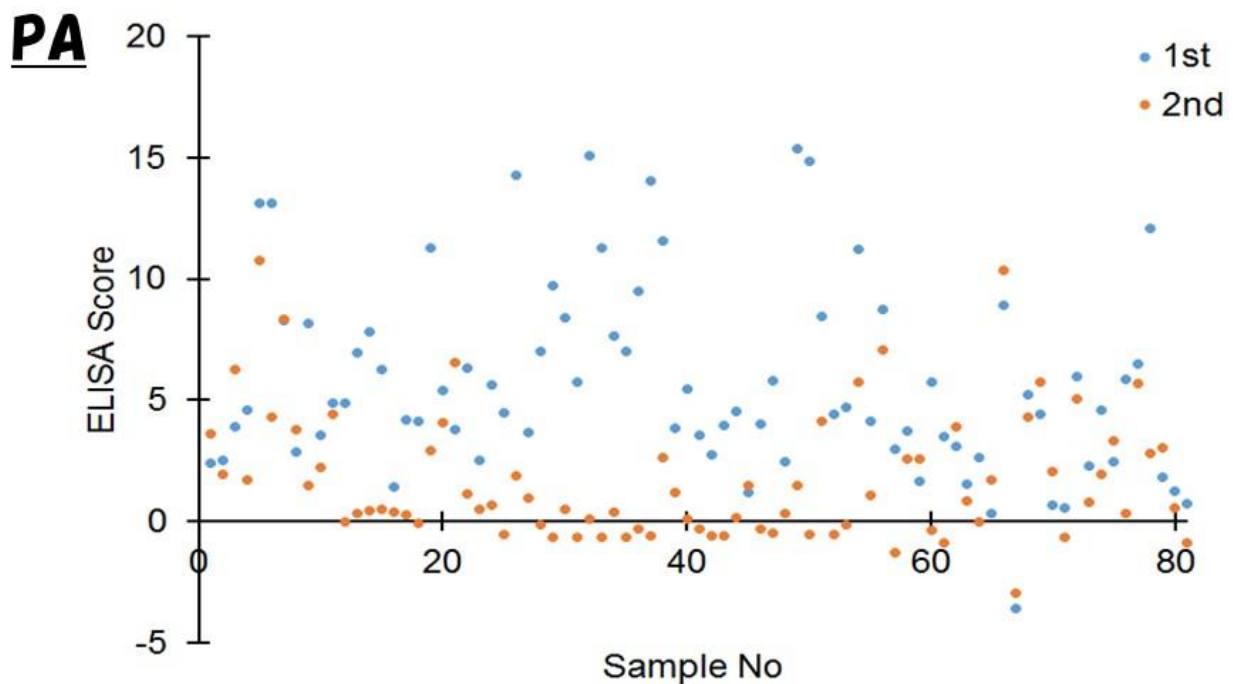


図 1 5. ELISA による労働者血液中の化学物質抗体の測定 (2)

HSA と無水フタル酸 (PA) を pH10.8、HSA と化学物質とのモル比 1:100 で反応させた後、マキシソープ 96 well plate に結合させた。Protein-Free Blocking Buffer を用いてブロッキングした後、ヒト血清を 1 次抗体、HRP を結合させた抗ヒト IgG 抗体を 2 次抗体として用いて ELISA を行なった。HSA-化学物質付加体の OD450 から HSA 未修飾の OD450 を引き、ELISA Score としてグラフに表した。独立した 2 度の試行の結果をグラフに示した。

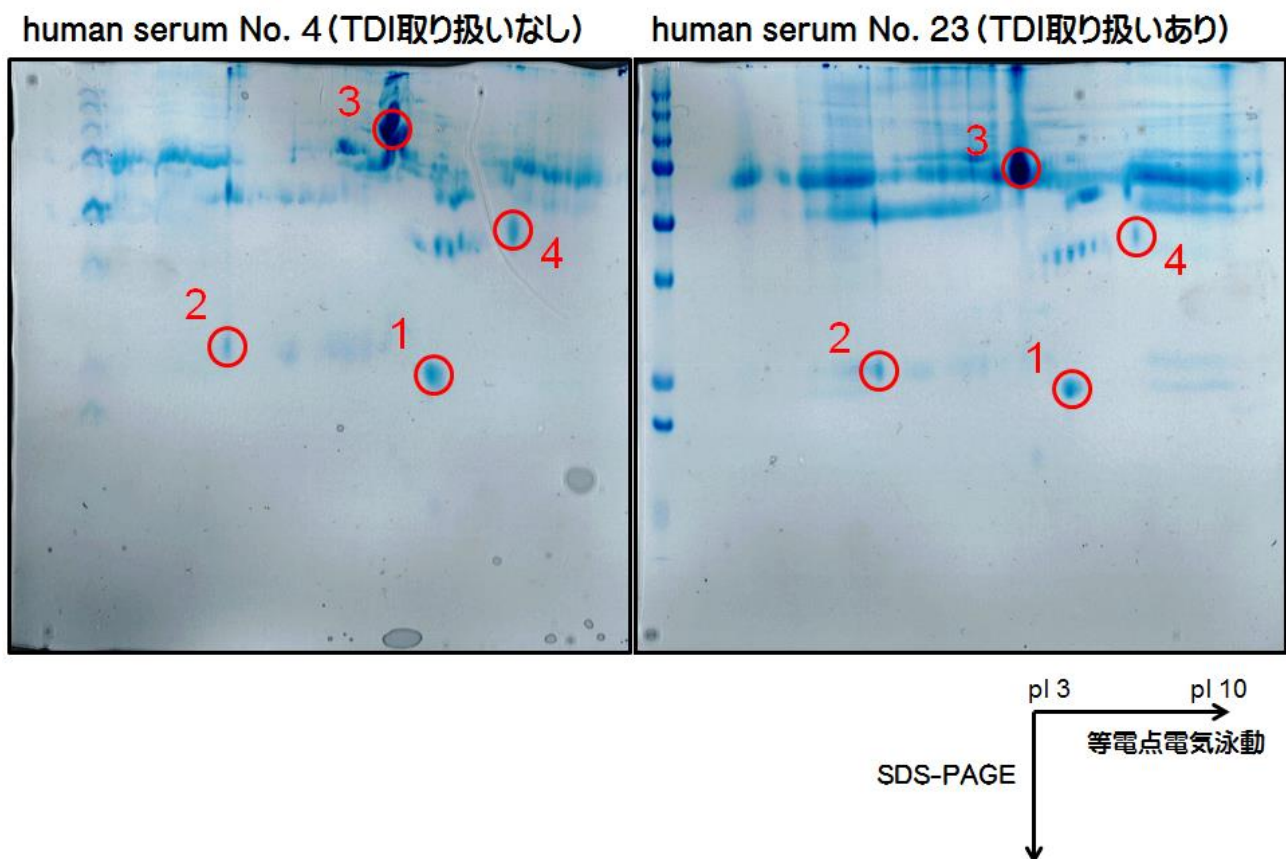


図 1 6 . 事業所事務員と事業所従業員の血清の二次元電気泳動パターンと比較

事業所事務員（左）と事業所従業員（右、トルエン-2,4-ジイソシアネート（TDI）の取り扱いあり）の血清を二次元電気泳動により分離し、CBBにより染色した。着目したスポットを1～4の数字で示す。

Spot No. 3

Chain A, Structure Of Human Serum Albumin

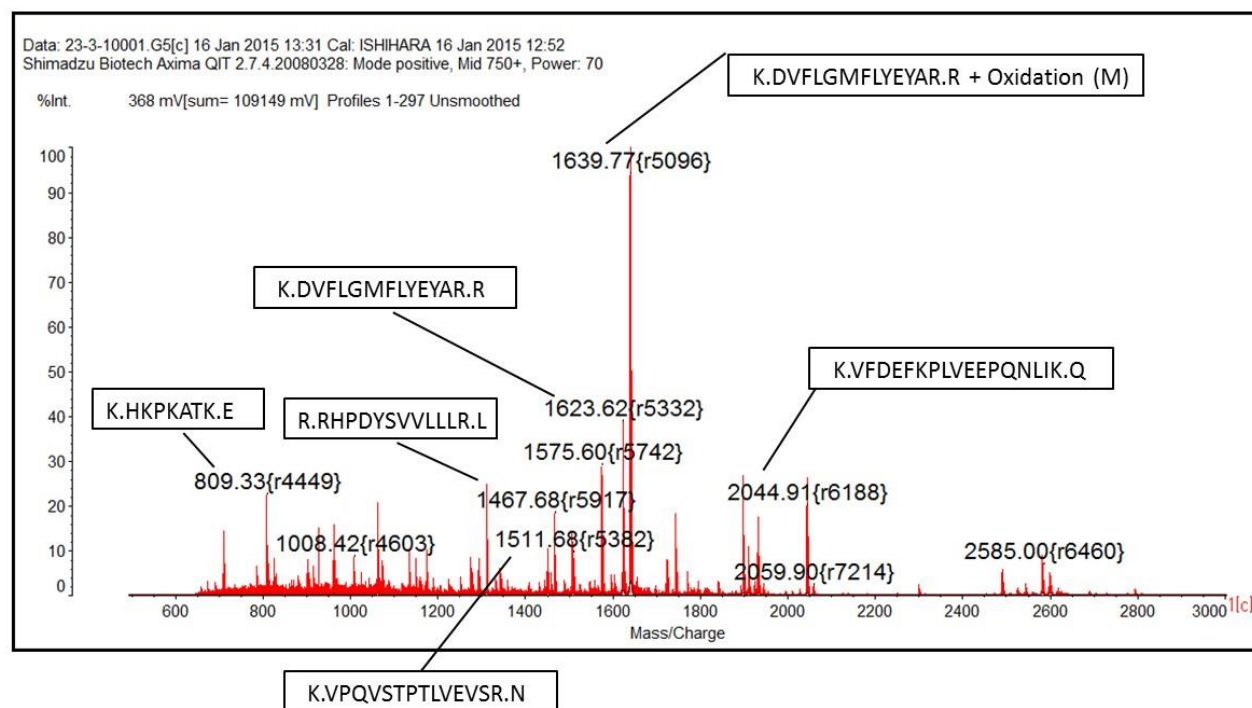


図 1 7. 染色スポットの MALDI TOF QIT 解析 (1)

図 1 6 スポット 3 のタンパク質をトリプシンにより消化し、マトリックスと混合して AXIMA QIT plus MALDI-TOF MS で解析した。代表的な MS スペクトルを示す。

Search parameters

Enzyme: Trypsin: cuts C-term side of KR unless next residue is P.
Fixed modifications: [Carbamidomethyl \(C\)](#)
Variable modifications: [Oxidation \(M\)](#)
Mass values searched: 20
Mass values matched: 12

Protein sequence coverage: 19%

Matched peptides shown in **bold red**.

```

1  EVAHRFKDLG EENFKALVLI AFAQYLQQCP FEDHVKLVNE VTEFAKTCVA
51  DESAENCCKS LHTLFGDKLC TVATLRETYG EMADCCAKQE PERNECFLQH
101 KDDNPNLPRL VRPEVDVMCT AFHDNEETFL KKYLYEIAARR HPYFYAPELL
151 FFAKRYKAAF TECCQAADKA ACLLPKLDEL RDEGKASSAK QRLKCASLQK
201 FGERAFKAWA VARLSQRFPK AEFAEVSKLV TDLTKVHTEC CHGDLLECAD
251 DRADLAKYIC ENQDSISSKL KECCEKPLLE KSHCIAEVEN DEMPADLPSL
301 AADFVESKDV CKNYAEAKDV FLGMFLYEYA RRHPDYSVVL LLRLAKTYET
351 TLEKCCAAAD PHECYAKVFD EFKPLVEEPQ NLIKQNCELF EQLGEYKFQN
401 ALLVRYTKKV PQVSTPTLVE VSRNLGKVGS KCKKHPEAKR MPCEADYLSV
451 VLNQLCVLHE KIPVSDRVTK CCTESLVNRR PCFSALEVDE TYVPKEFNAE
501 TFTFHADICT LSEKERQIKK QTALVELVKH KPKATKEQLK AVMDDFAAAFV
551 EKCKKADDKE TCFAEEGKKL VAASQAALG
  
```

Unformatted sequence string: [579 residues](#) (for pasting into other applications).

Sort peptides by ☒ Residue Number ☐ Increasing Mass ☐ Decreasing Mass

Show predicted peptides also

Start - End	Observed	Mr(expt)	Mr(calc)	Delta M	Peptide
60 - 76	1931.8400	1930.8327	1931.0299	-0.1972 1	K.SLHTLFGDKLCTVATLR.E
77 - 88	1450.6500	1449.6427	1449.5210	0.1217 0	R.ETYGEMADCCAK.Q + Oxidation (M)
133 - 139	927.3700	926.3627	926.4861	-0.1234 0	K.YLYEIAAR.R
141 - 154	1742.7300	1741.7227	1741.8868	-0.1641 0	R.HPYFYAPELLFFAKR.R
141 - 155	1898.8000	1897.7927	1897.9879	-0.1952 1	R.HPYFYAPELLFFAKR.Y
319 - 331	1623.6200	1622.6127	1622.7803	-0.1676 0	K.DVFLGMFLYEYAR.R
319 - 331	1639.7700	1638.7627	1638.7752	-0.0125 0	K.DVFLGMFLYEYAR.R + Oxidation (M)
332 - 343	1467.6800	1466.6727	1466.8358	-0.1630 1	R.RHPDYSVVLRL.L
333 - 343	1311.6200	1310.6127	1310.7347	-0.1219 0	R.HPDYSVVLRL.L
368 - 384	2044.9100	2043.9027	2044.0881	-0.1853 0	K.VFDEFKPLVEEPQNLIK.Q
410 - 423	1511.6800	1510.6727	1510.8355	-0.1628 0	K.VPQVSTPTLVEVSR.N
530 - 536	809.3300	808.3227	808.4919	-0.1692 1	K.HKPKATK.E

No match to: 710.2800, 962.4700, 1061.4600, 1135.4500, 1175.4000, 1508.5900, 1575.6000, 1910.6900

図 1 8. MALDI TOF QIT で得られたパターンの MASCOT 検索結果

図 1 7 で得た MS スペクトルを NCBI データベースにおいて MASCOT 検索を行なった。HSA の断片が複数同定され、スポット 3 は HSA であることが明らかとなった。

Spot No. 1

Chain A, Crystal Structure Of Lipid-Free Human Apolipoprotein A-I

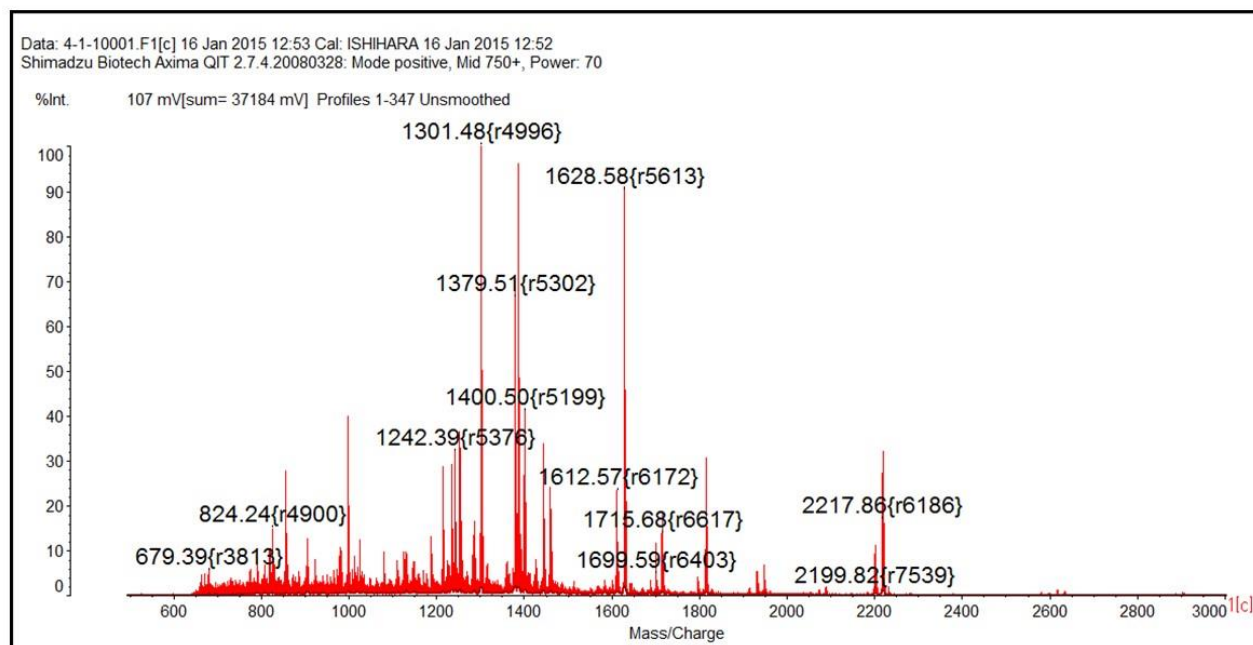


図 1 9. 染色スポットの MALDI TOF QIT 解析 (2)

図 1 6 スポット 1 のタンパク質をトリプシンにより消化し、マトリックスと混合して AXIMA QIT plus MALDI-TOF MS で解析した。代表的な MS スペクトルを示す。

Spot No. 4

Chain A, Crystal Structure Of Human Alpha 1 Acid Glycoprotein

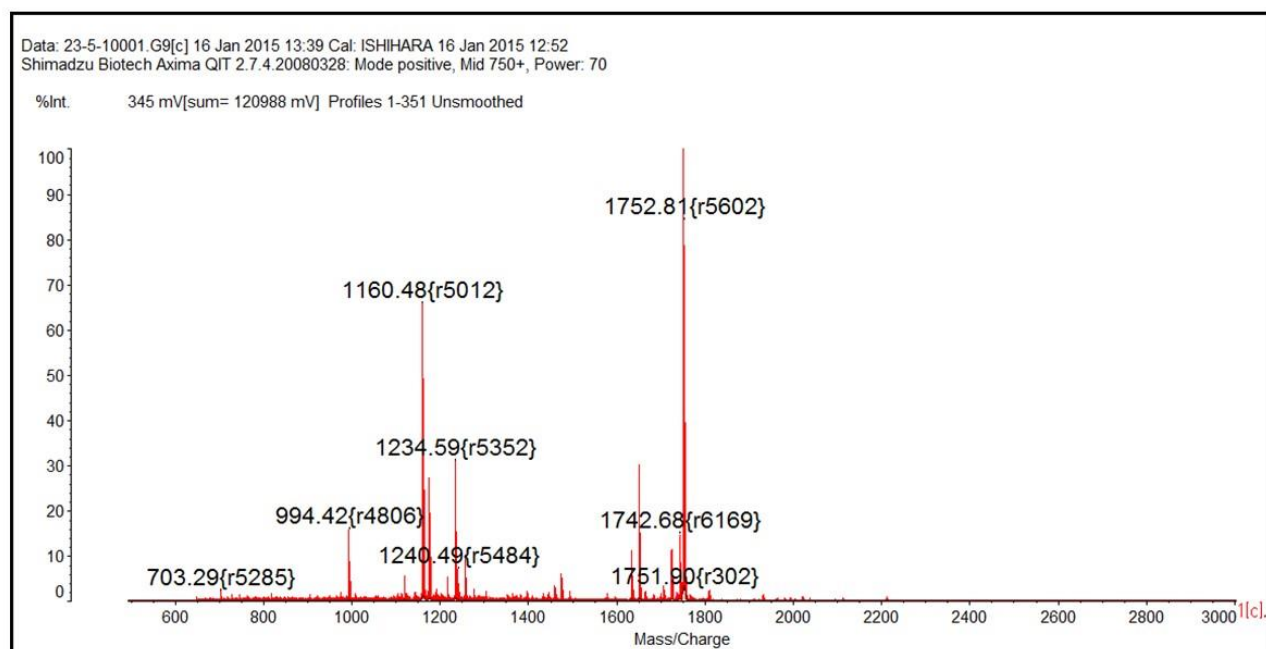


図 2 0. 染色スポットの MALDI TOF QIT 解析 (3)

図 1 6 スポット 4 のタンパク質をトリプシンにより消化し、マトリックスと混合して AXIMA QIT plus MALDI-TOF MS で解析した。代表的な MS スペクトルをここに示す。

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kawamoto T, Tsuji M, Isse T	Comparison of IgG against plastic resin in workers with and without chemical dermatitis.	BMC Public Health.	15	930	2015

RESEARCH ARTICLE

Open Access



Comparison of IgG against plastic resin in workers with and without chemical dermatitis

Toshihiro Kawamoto*, Mayumi Tsuji and Toyohi Isse

Abstract

Background: There are many chemical sensitizers which cause allergy in the surrounding environment. However, the identification of substances causing allergy is difficult. We developed a new method to detect IgG which reacts against many kinds of chemical-human serum albumin (HSA) adducts at the same time. In this study, the diagnostic significance of the IgG was studied among workers of a company where a mass outbreak of chemical dermatitis had occurred after changing a plastic resin to a new one.

Methods: Eleven workers who handled the new plastic resin and suffered from dermatitis (case) and 9 workers who also handled the same resin in the same company but were free from dermatitis (control) were the subjects. Immunological dot blotting was carried out to detect serum IgG using originally prepared diagnostic antigens, comprising a mixture of HSA and the plastic resin or its components under various conditions.

Results: IgG against the plastic resin in use was detected in all workers who suffered from dermatitis. The prevalence of the IgG against the plastic resin was significantly higher in workers with than in those without dermatitis. On the other hand, IgG against its components (bisphenol A diglycidyl ether, *m*-xylylenediamine and butyl 2,3-epoxypropyl ether) was detected in a few workers with dermatitis.

Discussion: This suggests that IgG against chemical-HSA adduct reflects not only exposure but also causative chemicals of dermatitis. Our method to use a material itself as a hapten is practical and useful in the occupational field.

Conclusion: It is suggested that IgG against chemicals is a useful marker of chemicals inducing dermatitis.

Keywords: Allergy, IgG, Plastic resin, Dermatitis, Dot blotting, Worker

Background

Occupational contact dermatitis caused by epoxy resin is an important health concern due to the wide diffusion of products containing this powerful hapten [1, 2]. The prevalence of epoxy resin sensitization was 0.89 % in 19,088 consecutive patients with symptoms and/or signs of suspected allergic dermatitis in Northeastern Italy from 1996 to 2010 [1]. Positive patch test reaction to epoxy resin was found in 1.3 % of 20,808 consecutive dermatitis patients in Denmark [3]. The American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) gave the designation “SEN” to 1,2-epoxypropane; propylene oxide (CAS#: 75-56-9) and 2,3-epoxypropyl phenyl ether (CAS#: 122-60-1), referring “the potential for an

agent to produce sensitization, as confirmed by human or animal data”. 1-Allyloxy-2,3-epoxypropane; allyl glycidyl ether (CAS#: 106-92-3), polymer of 4,4-isopropylidenediphenol & 1-chloro-2,3-epoxypropane (liquid); diglycidylether of BPA; bisphenol A type epoxy resin (liquid) (CAS#: 25068-38-6), 1,3,5-tris(2,3-epoxypropyl)-1,3,5-triazine-2,4,6-(1H,3H,5H)-trione; 3,5-triglycidyl-S-triazinetrione (CAS#:2451-62-9) and 2,3-epoxypropyl methacrylate; glycidyl methacrylate; GMA (CAS#:106-91-2) are classified as “R43: May cause sensitization by skin contact” by the European Unions [4, 5]. Other than epoxy resins, some materials of urethane resins, acrylic resins and so on are also designated as sensitizers.

Even though it is known that plastic resin materials cause sensitization, the identification of individual chemicals causing dermatitis is very difficult because there are so many sensitizing chemical substances other than plastic resin materials surrounding us in our everyday

* Correspondence: kawamott@med.uoeh-u.ac.jp
Department of Environmental Health, University of Occupational and Environmental Health, 1-1 Iseigaoka, Yahatanishi-ku, Kitakyushu 807-8555, Japan

lives. Patch test and skin prick tests are commonly used to diagnose causative chemicals for allergic dermatitis. However, these tests have a risk to sensitize patients [6].

We developed a new method to detect serum IgG or IgE against many kinds of chemical-HSA adducts at the same time. In this study, we measured IgG and IgE against a plastic resin and its component using this method among workers of a house foundation repair and reinforcement company where a mass outbreak of allergic dermatitis had taken place just after they had started to use a new plastic (epoxy) resin.

Methods

Case

A house foundation repair and reinforcement company changed a plastic (epoxy) resin to a new one in 2007. Most workers engaged in repair and reinforcement of house basements started to complain of pruritus, redness, and swelling on the face, neck, and upper limbs. The onset was just 1 or 2 hours after the initial use of the new plastic resin in some workers and 2 or 3 weeks later in others. On the other hand, some workers who were engaged in the same work showed no skin problems. In this study, we enrolled 11 workers who had consulted dermatologists and been diagnosed with allergic contact dermatitis. They were recognized as an occupational disease by Labor Standards Inspection Office. Nine workers, who had engaged in the same work in the same company, but had not suffered from dermatitis about six months after the onset, were also enrolled as controls. This study was approved by the Institutional Ethics Committee at the University of Occupational and Environmental Health (#05-57). Written consent was obtained from all participants.

Chemicals

The plastic resin which is suspected to have caused the mass outbreak of dermatitis was kindly provided by the house foundation repair and reinforcement company. The plastic resin is called Product-X in this paper. Bisphenol A diglycidyl ether (BADGE), *m*-xylylenediamine (XDA) and butyl 2,3-epoxypropyl ether (BEE) were purchased from Wako Chemical Co. Human serum albumin (HSA: > = 99 %, essentially globulin-free) was obtained from the Sigma Corporation. Human IgG (chromatographically purified) and horseradish peroxidase (HRP) conjugated goat anti-human IgG (AFFINITY PURIFIED SECONDARY ANTIBODY) were purchased from ZYMED® Laboratories and Millipore, respectively. Human IgE myeloma, and horseradish peroxidase (HRP) labeled goat anti-Human IgE (epsilon) antibody were obtained from Calbiochem® and Kirkegaard & Perry Laboratories, Inc. (KPL). Nitrocellulose (NC) blotting membrane was Amersham Hybond ECL (Cat No. RPN2020D) made in Germany.

Components of Product-X

Product-X is an epoxy resin composed of two agents, a base resin and a hardener. According to a safety data sheet (SDS), the base resin contains bisphenol A type epoxy resin (50 – 60 %), silica (1 – 5 %), and titanium oxide (1 – 5 %). The hardener contains *m*-xylylenediamine (<8 %) and phenol (1-5 %). Besides these, butyl 2,3-epoxypropyl ether, carbon black, aramid fiber, and inorganic fibers are contained in the base resin, and isophorondiamine, benzylalcohol, and ethyltrimethane in the hardener based on an inquiry by the house foundation repair and reinforcement company to the product manufacturer.

Preparation of diagnostic antigens, chemical-HSA adducts

There kinds of pH buffer were prepared. Two of them were 100 mM sodium phosphate buffer at pH 7.4 and 8.0. The other was 100 mM sodium carbonate buffer at pH 9.2. BADGE, XDA, and BEE were mixed with 100 μM of human serum albumin (HSA) in pH 7.4, 8.0, and 9.4 buffer solutions. BADGE, XDA and BEE were mixed with 100 μM HSA in the three different pH buffer solutions at the ratios (Chemical : HSA) were 1:1, 12.5:1, 25:1, 50:1, 100:1, 200:1, and 1,000:1 in molecular bases. The base resin of Product-X was also mixed with HSA in the buffer solutions with final concentrations of 0.01, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2, and 4 % (w/v). The mixing was carried out at 25 °C for 3 hours and the supernatant was dispensed in a small volume and stored at -80 °C until analyses. The chemical-HSA adducts served as diagnostic antigens.

Dot blotting

One μL of the diagnostic antigens was blotted on a NC membrane. After blocking with blocking buffer (Nacalai Tesque, sp05150-45), the membrane was treated with patients' serum which was diluted 200 times with phosphate-buffered saline containing 0.1 % tween 20 (PBST) for 60 min. After washing with PBST twice, the membrane was treated with horseradish peroxidase (HRP)-conjugated goat anti human-IgG or horseradish peroxidase (HRP)-labeled goat anti-Human IgE (epsilon). The chemiluminescence was measured based on a light capture (ATTO: AE-6972/C/FC) with Amersham ECL Western blotting detection reagents (GE Healthcare, RPN2106). The result was determined positive with chemiluminescence of at least one dot spot.

Measurements of immunological parameters

Total IgE, total IgG, cortisol, IFN-gamma, IL-1beta, IL-2, IL-5, IL-4, IL-6, and the CD4/CD8 ratio in serum were measured by SRL, Inc., Tokyo, Japan (Additional file 1). Specific serum IgE antibody was measured with the multiple allergen simultaneous test (MAST)-26

chemiluminescent assay systems (Hitachi Chemical Co., Tokyo, Japan) [7].

Results

Study participants

Subject characteristics regarding the age, smoking status, drinking habit, and allergic history are summarized in Table 1. No significant differences were observed between the two worker groups with and without dermatitis.

Specific IgE against inhalant and food antigens and CD4/CD8 ratio

The IgE levels against common allergens were compared between the two worker groups with and without dermatitis. No significant differences were observed between the two groups except for *dermatophagoides farinae* and shrimp. However, the median and range of IgE levels against *dermatophagoides farinae* and shrimp were higher in the workers without than in those with dermatitis. Serum cortisol and cytokines (IL-1beta, IL-2, IL-5, IL-4, and IL-6) did not show any differences between the two groups. CD4/CD8 ratio in workers with dermatitis was not different from that in those without dermatitis. These results indicate that there is no association between the onset of dermatitis and atopy (Table 2).

Detection of IgG which reacts with chemical-HSA adduct

Figure 1 shows the results of dot blotting. The serum from a worker with dermatitis reacted with the dot spots of Product-X high concentration at pH9.2. However, HSA-BADGE, -XDA, and -BEE antigens did not react with the serum. This indicated that the worker had IgG against Product-X-HSA adduct. On the other hand, serum from a worker without dermatitis did not react with any of BADGE, XDA, BBE, or Product-X.

Prevalence rates of IgG and IgE which reacts with chemical-HSA adduct in the workers

The rates of workers showing IgG and IgE against BADGE, XDA, BEE, and Product-X are shown in Table 3. No IgE was detected in any workers who had handled Product-X. However, a few workers had IgG against the components of Product-X, i.e., BADGE, XDA, or BEE.

Table 1 Profiles of the study subjects

	Dermatitis	
	Yes	No
Number of subjects	11	9
Age	43.5 ± 3.3	41.6 ± 3.9
Number of current smokers (%)	8 (72.3 %)	7 (77.8)
Number of habitual drinkers (%)	7 (63.6)	6 (66.7)
Allergic history (%)	2 (18.2)	4 (44.4)

All workers who suffered from dermatitis had IgG against Product-X. Although 5 (55.6 %) of the workers without dermatitis also had IgG against Product-X, there was a significant difference ($p < 0.05$) in the prevalence rates of the IgG between the two worker groups with and without dermatitis. The sensitivity was 100 % (11/11) and the specificity was 44.4 % (4/9).

Discussion

The results of specific IgE levels against inhalants and food antigens, cytokine levels, and the CD4/CD8 ratio did not indicate an association of dermatitis with atopy. All workers with dermatitis had been diagnosed with allergic dermatitis by dermatological specialists in the area. However, the patients had not undergone a patch test or skin prick test in the dermatological clinics because such tests occasionally exaggerate patients' dermatitis [6]. Although allergic dermatitis would be supposed from their history, it was impossible to diagnose as allergic dermatitis. Their dermatitis improved after ceasing to use Product-X.

The IgG which reacts with chemical-HSA adducts was detected in workers with dermatitis in this study. The diagnostic significance of the IgG on dermatitis is not clear at present. Vojdani et al. [8] reported high IgG and IgM levels against formaldehyde, terimellitic anhydride, phthalic anhydride, and a benzene ring among 289 chemical exposed workers in computer manufacturing plants. Pronk et al. [9] studied serum IgG and IgE against hexamethylene diisocyanate (HDI) in relation to exposure and respiratory symptoms in 581 workers in the spray-painting industry, and concluded that the IgE was found in only a minority of symptomatic individuals, and the IgG seems to be merely an indicator of exposure. Wisniewski et al. [10] demonstrated elevated HDI-specific serum IgG levels in aircraft painters, but it was not associated with atopy, asthma, or other demographic information. They concluded that the IgG provides a practical biomarker to aid in exposure surveillance and ongoing industrial hygiene efforts.

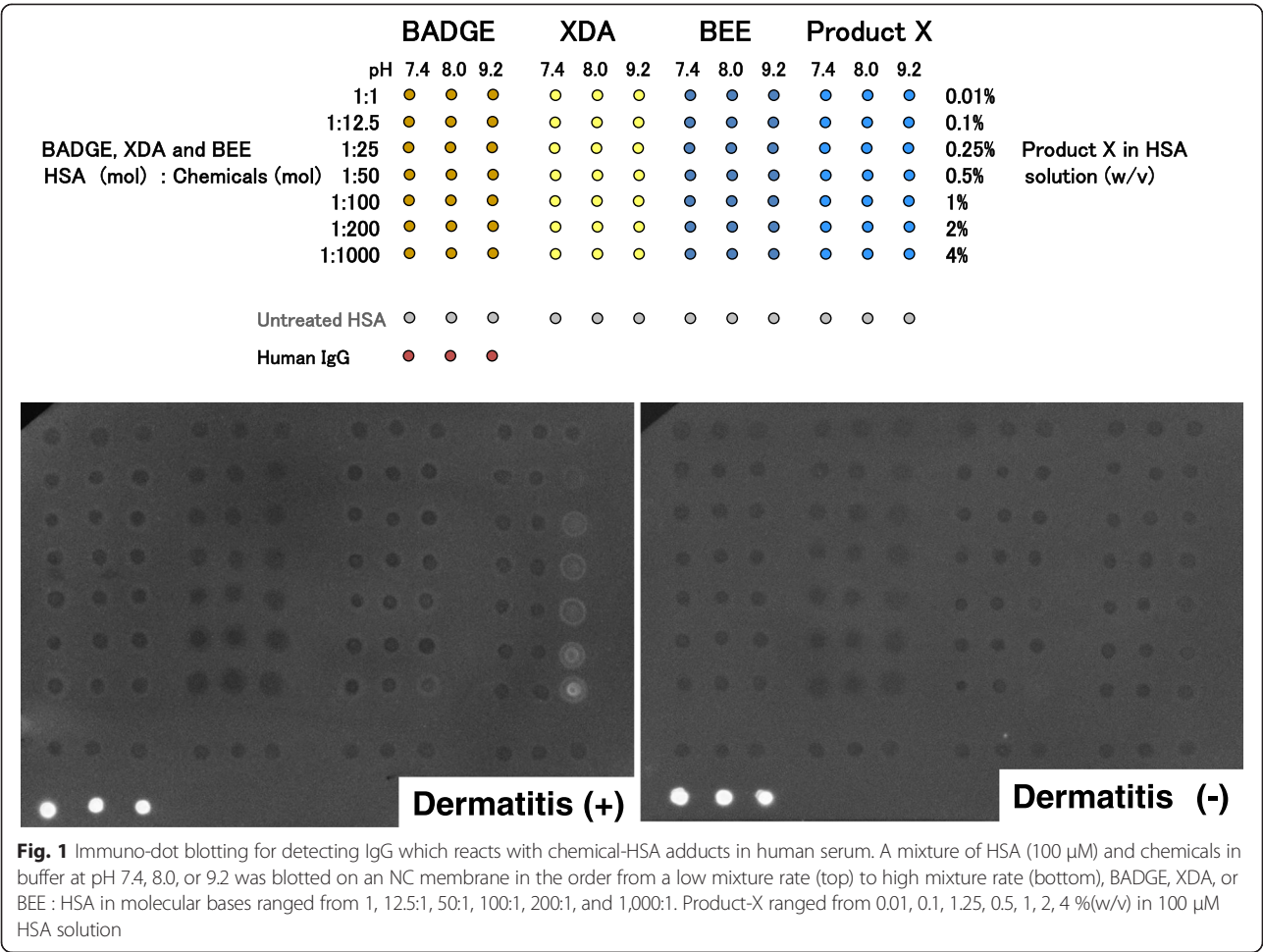
In this study, the prevalence of IgG against Product-X in workers with dermatitis was 100 %, being significantly higher than in those without dermatitis ($p < 0.05$). This suggests that IgG against chemical-HSA adduct reflects not only exposure but also causative chemicals of dermatitis. Although IgG against Product-X was positive in all workers with dermatitis, the prevalence rate of IgG against Product-X components, BADGE, XDA, and BEE, were much smaller. As mentioned in "Introduction", the SDS describes very few components of Product-X and most components of Product-X appear to be proprietary. Possible reasons are that the workers might have IgG against such proprietary components or these components might interact with each other to produce neo-

Table 2 Specific IgE against inhalant and food antigens and CD8/CD4

		Dermatitis				
		Yes		No		
	Units	Median	(Range)	Median	(Range)	
Nonspecific IgE	IU/mL	84.3	(15.1 - 442)	76.6	(6.9 – 1,930)	n.s.
<i>Dermatophagoides farinae</i>	lumicount	0.44	(0–68.3)	20.8	(0.24 - 99.9)	<i>p</i> < 0.05
House dust	lumicount	0.32	(0–3.43)	0.38	(0–19.1)	n.s.
Cat	lumicount	0.16	(0–5.19)	0.23	(0–1.46)	n.s.
Dog	lumicount	0.28	(0.07 - 0.56)	0.43	(0–24.1)	n.s.
Timothy grass	lumicount	0.32	(0.16 - 18.4)	0.8	(0–99.6)	n.s.
Vernal grass	lumicount	0.09	(0–12.7)	0.33	(0–75.3)	n.s.
Ragweed mix	lumicount	0.06	(0–0.16)	0.02	(0–4.46)	n.s.
Mugwort	lumicount	0.08	(0–1.93)	0	(0–96.4)	n.s.
Japanese cedar	lumicount	0.72	(0–81.5)	0.65	(0–49.8)	n.s.
Penicillin	lumicount	0	(0–0.07)	0	(0–2.38)	n.s.
Cladosporium	lumicount	0	(0–0.25)	0.01	(0–2.08)	n.s.
Candida	lumicount	0	(0–0.33)	0	(0–1.17)	n.s.
Alternaria	lumicount	0	(0–0.12)	0	(0–0.77)	n.s.
Aspergillus	lumicount	0.13	(0–0.32)	0.3	(0–3.99)	n.s.
Wheat	lumicount	0	(0–0.1)	0	(0–1.56)	n.s.
Soy bean	lumicount	0.05	(0–0.21)	0.02	(0–2.58)	n.s.
Rice	lumicount	0.02	(0–0.14)	0	(0–2.93)	n.s.
Tuna	lumicount	0.02	(0–0.26)	0.11	(0–1.26)	n.s.
Salmon	lumicount	0.05	(0–0.23)	0.09	(0–0.59)	n.s.
Shrimp	lumicount	0	(0–0.27)	0.18	(0–0.98)	<i>p</i> < 0.05
Crab	lumicount	0.04	(0–0.22)	0.13	(0–9.48)	n.s.
Cheddar cheese	lumicount	0.01	(0–0.27)	0	(0–0.21)	n.s.
Milk	lumicount	0.08	(0–0.42)	0	(0–1.13)	n.s.
Beef	lumicount	0	(0–0.16)	0	(0–0.8)	n.s.
Chicken	lumicount	0	(0–0.08)	0.01	(0–1.02)	n.s.
Egg white	lumicount	0.12	(0–0.36)	0.08	(0–0.53)	n.s.
Cortisol	ug/dL	4.8	(2.5 - 12)	5	(3.5 - 19.4)	n.s.
IFN-gamma	IU/mL	Under detection limit		Under detection limit		
IL-1beta	pg/mL	5	(5–5)	5	(5–13)	n.s.
IL-2	U/mL	Under detection limit		Under detection limit		
IL-5	pg/mL	6.2	(2.5 - 9)	5.3	(2.5 - 9)	n.s.
IL-4	pg/mL	10.8	(3.6 - 31.1)	7.2	(3.6 - 11.1)	n.s.
IL-6	pg/mL	1.2	(0.6 - 18.6)	1.3	(8–41.2)	n.s.
CD8(+)CD4(+)	%	1.5	(0.4 - 5.5)	0.8	(0.4 - 1.9)	n.s.
CD8(+)CD4(–)	%	26.8	(14.5 - 37.7)	25.3	(15.2 - 35.1)	n.s.
CD8(–)CD4(+)	%	49.3	(31.8 - 57.8)	47.7	(43.7 - 62.2)	n.s.
CD8(–)CD4(–)	%	21.7	(15.1 - 37.2)	25.3	(16.1 - 27.5)	n.s.
CD4/CD8 ratio		1.77	(1.04 - 3.11)	1.92	(1.23 - 4.01)	n.s.

Significance was calculated using Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

*Lumicount by multiple allergen simultaneous test (MAST)-26 chemiluminescent assay systems [7, 12]



antigens. With such an SDS, it is impossible to identify causative chemicals for dermatitis. However, our method to use a material itself as a hapten is practical and useful in the occupational field. Our method makes it possible to evaluate potential exposure to plastic resins and identify causative materials.

Table 3 Positive rates of specific IgG and IgE against plastic resins

	Dermatitis		
	Yes (N = 11)	No (N = 9)	
IgE against BADGE	0 (0.0 %)	0 (0.0 %)	n.s.
IgE against XDA	0 (0.0)	0 (0.0)	n.s.
IgE against BEE	0 (0.0)	0 (0.0)	n.s.
IgE against Product-X	0 (0.0)	0 (0.0)	n.s.
IgG against BADGE	3 (27.3)	0 (0.0)	n.s.
IgG against XDA	1 (9.1)	0 (0.0)	n.s.
IgG against BEE	1 (9.1)	0 (0.0)	n.s.
IgG against Product-X	11 (100)	5 (55.6)	p < 0.05

Significance was calculated using Chi-square test

The environment surrounding us has become quite different from what it used to be. Furniture, stationary, floors, and walls in our houses and offices are coated with artificial polymers. The Japanese government started a large-scale and long-term birth cohort study (the Japan Environment and Children’s Study: JECS) to elucidate environmental factors that affect children’s health and development [11]. IgG against chemicals measurement which was developed in this study will be useful not only to evaluate exposure to plastics resins, but also to suggest suspicious chemicals causing allergy.

Conclusions

IgG which reacts with chemical-HSA adduct was analyzed in serum from workers who had handled a plastic resin in the same company. The prevalence of IgG against the plastic resin was significantly higher in workers who suffered from dermatitis than in workers without dermatitis. It is suggested that IgG against chemicals is a favorable marker of causative chemicals for chemically induced dermatitis.

Additional file

Additional file 1: Details of the study subjects. (PDF 125 kb)

Abbreviations

BADGE: Bisphenol A diglycidyl ether; BEE: Butyl 2,3-epoxypropyl ether; HDI: Hexamethylene diisocyanate; HSA: Human serum albumin; NC: Nitrocellulose; SDS: Safety data sheet; XDA: Xylylenediamine.

Competing interests

The Authors declare that they have no competing interests.

Authors' contributions

TK is primary investigator of this study, and conceived the chemical-specific IgG detection method and designed the study. TK and MT collected blood samples and conducted statistical analyses. TK and TI analyzed IgG and IgE against chemicals. All authors participated in the discussion of the manuscript approval.

Authors' information

Not applicable.

Acknowledgements

This study was supported by JSPS KAKENHI Grant Numbers 22510036 and 25340064.

Received: 2 January 2015 Accepted: 18 September 2015

Published online: 21 September 2015

References

1. Prodi A, Rui F, Fortina AB, Corradin MT, Filon FL. Occupational sensitization to epoxy resins in Northeastern Italy (1996–2010). *Int J Occup Environ Health*. 2015;21(1):82–7.
2. Carino M, Romita P, Foti C. Allergy-related disorders in the construction industry. *ISRN Prev Med*. 2013;2013:864679.
3. Bangsgaard N, Thyssen JP, Menne T, Andersen KE, Mortz CG, Paulsen E, et al. Contact allergy to epoxy resin: risk occupations and consequences. *Contact Dermatitis*. 2012;67(2):73–7.
4. Murakami T, Oyama T, Isse T, Ogawa M, Sugie T, Kawamoto T. International comparison of criteria for evaluating sensitization of PRTR-designated chemical substances. *Environ Health Prev Med*. 2007;12(2):56–65.
5. Murakami T, Oyama T, Isse T, Narai R, Kanaoka M, Pham TT, et al. International comparison of sensitizing chemical substances. *J UOEH*. 2007;29(3):303–88.
6. Hillen U, Frosch PJ, John SM, Pirker C, Wundtberg J, Goos M. Patch test sensitization caused by para-tertiary-butylcatechol. Results of a prospective study with a dilution series. *Contact Dermatitis*. 2001;45(4):193–6.
7. Miller SP, Marinkovich VA, Riege DH, Sell WJ, Baker DL, Eldredge NT, et al. Application of the MAST Immunodiagnostic System to the determination of allergen-specific IgE. *Clin Chem*. 1984;30(9):1467–72.
8. Vojdani A, Ghoneum M, Brautbar N. Immune alteration associated with exposure to toxic chemicals. *Toxicol Ind Health*. 1992;8(5):239–54.
9. Pronk A, Preller L, Raulf-Heimsoth M, Jonkers IC, Lammers JW, Wouters IM, et al. Respiratory symptoms, sensitization, and exposure response relationships in spray painters exposed to isocyanates. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;176(11):1090–7.
10. Wisniewski AV, Stowe MH, Nerlinger A, Opare-Addo P, Decamp D, Kleinsmith CR, et al. Biomonitoring Hexamethylene diisocyanate (HDI) exposure based on serum levels of HDI-specific IgG. *Ann Occup Hyg*. 2012;56(8):901–10.
11. Kawamoto T, Nitta H, Murata K, Toda E, Tsukamoto N, Hasegawa M, et al. Rationale and study design of the Japan environment and children's study (JECS). *BMC Public Health*. 2014;14:25.
12. Konno S, Takahashi D, Hizawa N, Hattori T, Takahashi A, Isada A, et al. Genetic impact of a butyrophilin-like 2 (BTNL2) gene variation on specific IgE responsiveness to *Dermatophagoides farinae* (Der f) in Japanese. *Allergol Int*. 2009;58(1):29–35.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit



労災疾病臨床研究事業補助金
平成 27 年度 総括・分担研究報告書

**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**

2016 年（平成 28 年） 4 月

主任研究者 辻 真弓
〒807-8555 北九州市八幡西区医生ヶ丘 1-1
産業医科大学医学部産業衛生学講座
TEL 093-691-7243
FAX 093-691-9341