

労災疾病臨床研究事業費補助金研究報告書概要版

公募課題名：化学物質による健康障害に関する診断技術等に関する研究

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

研究期間：2014－2016

主任研究者名：辻 真弓（産業医科大学）

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

本研究は、化学物質（樹脂）取扱い作業者を含む事業所従業員ならびに一般住民を対象に、化学物質特異的 IgG 抗体のアレルギー診断と曝露モニタリングに対する有用性を調査している。本年度も引き続き、一般住民、大学教職員・学生、化学物質（樹脂）取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)

1) 一般住民を対象とした研究

【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値の測定を行い、抗体値の分布を調査した。

【対象と方法】2014 年に鹿児島県南九州市の住民 191 名（男性：107 名、女性 84 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。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。

【結果と考察】特異的抗体価を測定した 12 種類中最も抗体陽性率が高かった化学物質は PA で、次いで TMA、TDI、GA、HDI であった。それ以外の化学物質については、ほとんどの対象者は、特異的 IgG 抗体陰性の判定であった。PA の使用範囲は広く、日常生活における環境曝露による可能性について今後の検討が必要である。

2) 大学職員・学生を対象とした研究①

【目的】一般人を対象として、抗体値の推移があるかどうかを検証することを目的とした。

【対象と方法】対象は、大学の教職員、20 歳以上の学生 80 名（男性 2 名は除いた）のうち、1 ヶ月、3 ヶ月の経時変化の調査に自主的に参加した 38 名を対象とし、アレルギー・日常生活についての質問紙調査並びに血液採取をベースライン、1 ヶ月後、3 ヶ月後の 3 回行い、化学物質曝露やアレルギー症状と総 IgE、IgG 抗体の経時変化との関連について検証を行った。測定した化学物質特異的抗体は BADGE、PA、FA、AA、MMA、TMA の 6 種である。

【結果と考察】総 IgG において、ベースライン、1 ヶ月後、3 ヶ月後の時期に関係なく、アレルギー疾患を持つものの方が持たないものよりも有意に高いという結果であった。

3) 大学職員・学生を対象とした研究②

【目的】ネイル使用状況と抗体値の推移に関連があるか検証することを目的とした。

【対象と方法】対象は 20 歳以上の大学生および大学教職員 81 名（男性 2 名、女性 79 名）である。大学教職員・学生を対象とした研究①と質問紙・採血の間隔は同様である。②の対象者には特にネイル用塗料使用歴に関しては詳細な聞き取りを行い 81 名をネイル用塗料の「非使用群」、「現在使用群」、「過去使用群」の 3 群に分け検討した。

【結果と考察】3 群間において、総 IgE・総・特異的 IgG 抗体値に有意な差を認めなかった。「現在使用群」の 42 名中、ネイル用塗料の使用頻度別の各化学物質の特異的 IgG 抗体値に関しては、TMA の使用頻度が高くなるに従い平均値も高くなっていた。

4) 化学物質（樹脂）取り扱い作業者を対象とした研究

【目的】樹脂取り扱い作業従事者と一般人の化学物質特異的 IgG 抗体値を比較することを目的に研究を行った。

【対象と方法】事業所従業員（4 社）を対象とし、自記式質問票ならびに生体試料（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。

【結果と考察】複数事業所において事業所内で使用している樹脂に関連する複数種類の化学物質の特異的 IgG 抗体値が一般人より高い値を示し、事業所内曝露が生じている可能性が示唆された。複数の化学物質抗体を測定することで、曝露源の推定の精度が上昇すると言える。

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

【目的】当班班員によって開発された化学物質特異的 IgG 抗体を測定するドットプロット法を改良し、多検体を短時間で処理できる ELISA（Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay）を構築することを目的とした。

【方法】以下のステップで ELISA 開発を行った。1. リシン含有ヒト血清アルブミン（HSA）部分配列の設計と合成 2. Lys 含有 HSA 部分ペプチドと化学物質との付加体の形成 3. 2, 4, 6-Trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) による ε-アミノ基の定量 4. MALDI-TOF MS 解析によるペプチドの分子量の決定

5. 血液の採取と血清の分離 6. ビオチン標識 IgG の作製 7. Lys 含有 HSA 部分ペプチドを用いた ELISA

8. システイン含有 HSA 部分配列の設計と合成 9. Cys 含有 HSA 部分ペプチドと化学物質との付加体の形成

10. Ellman's reagent を用いたペプチド中システイン残基の定量 11. Cys 含有 HSA 部分ペプチドを用いた ELISA

【結果と考察】今年度は FA と PA を標的とした。カルボニル化合物は、生体アミノ酸の中でもリシン残基と反応することが予測される。そこで、リシン残基を含む HSA 部分ペプチドを設計し、カルボニル化合物とリシン残基との反応様式を調べたところ、FA はイミンを、PA は 3 級アミンを介してリシン残基を修飾することが明らかとなった。一般住民と樹脂工場労働者の血清検体中の抗 FA-HSA 部分ペプチド IgG および抗 PA-HSA 部分ペプチド IgG 量を、これら化学物質と HSA 部分ペプチドとの付加体を抗原とした ELISA で調べたところ、一般住民と比較して工場労働者の血清中に高い抗体量が認められた。従って、本ペプチド ELISA は、FA や PA の曝露状況評価に用いることができると考えられる。