

平成 29 年度労災疾病臨床研究事業

職場における化学物質の感作性障害に対する防止措置と
健康管理の有効性に関する研究

平成 30 年 3 月

職場における化学物質の感作性障害に対する防止措置と
健康管理の有効性に関する研究班

職場における化学物質の感作性障害に対する防止措置と
健康管理の有効性に関する研究

研究者一覧

研究代表者	岡山労災病院副院長	岸本 卓巳
研究分担者	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科臨床腫瘍学教授	芦澤 和人
	川崎医科大学衛生学教授	大槻 剛巳
	川崎医科大学放射線医学教授	加藤 勝也
	名古屋市立大学大学院医学研究科環境労働衛生学分野教授	上島 通浩
	名古屋市立大学大学院医学研究科高度医療教育研究センター教授	原 眞咲
	中部労災病院呼吸器内科部長	松尾 正樹
	旭労災病院健康診断部長	横山 多佳子
研究協力者	労働安全衛生総合研究所産業毒性・生体影響研究グループ部長	王 瑞生
	労働安全衛生総合研究所所長代理	甲田 茂樹
	労働安全衛生総合研究所産業疫学研究グループ上席研究員	佐々木 毅
	労働安全衛生総合研究所産業毒性・生体影響研究グループ研究員	豊岡 達士

目 次

はじめに	・・・・・・・・	1
1. ベリリウムリンパ球幼若化試験におけるアラマブルー法の 応用 -試験系の最適化及びベリリウム作業従事者 85 名を 対象とした検討-	・・・・・・・・	2
	豊岡 達士、佐々木 毅、王 瑞生、 甲田 茂樹	
2. 現在及び過去のベリリウム作業における胸部 CT 読影 結果について -平成 28 年度と平成 29 年度の比較-	・・・・・・・・	15
	松尾 正樹、芦澤 和人、原 眞咲、 横山多佳子、加藤 勝也、岸本 卓巳	
3. ベリリウムばく露者の免疫機能解析 -全例解析結果-	・・・・・・・・	24
	大槻 剛巳	

はじめに

労災疾病臨床研究事業費補助金研究の「職場における化学物質の感作性障害に対する防止措置と健康管理の有効性に関する研究」はベリリウムばく露による慢性ベリリウム症とベリリウムの感作性についての早期診断と防止措置をどのように行うかについて研究することを目標に掲げてその取り組みを始め2年が経過した。

ベリリウムは、ごく微量のばく露によっても細胞性免疫障害を来し、肺に類上皮細胞肉芽腫病変が発生する慢性ベリリウム症が発生することが知られている。この病変はサルコイドーシスに類似した病理学的特徴を持つが、サルコイドーシスとは異なり病変が胸腔内に限局することが知られている。しかし、その病原性についてはいまだに明らかとなっていないことも多いため細胞性免疫異常による肺病変のみならず、胸膜及びリンパ節病変についても検討する必要がある。

我々の研究班では、ベリリウムによる健康障害を研究するため、現在及び過去のベリリウムばく露者を対象として、肺、胸膜及びリンパ節病変の有無を調査するため、昨年度は通常線量と低線量胸部CTを同時に撮影し、低線量であっても病変の質的診断に不利益がないことを確認した。そこで、今年度は低線量CTのみで評価を行った。胸部画像の読影には、日本医学放射線学会専門医の原真咲、芦澤和人、加藤勝也研究分担者と日本呼吸器学会専門医である内科医の岸本卓巳研究代表者、松尾正樹、横山多佳子研究分担者が合議制で最終診断を決定した。

また、ベリリウムによる感作の状況を的確に知るための検査方法として昨年度の基礎研究で確立された方法を用いて末梢血リンパ球幼若化試験を対象者86名に対して施行し、一定の成果を得た。本研究は王瑞生、豊岡達士研究協力者が担当した。

さらに慢性ベリリウム症患者の末梢血の免疫担当細胞とサイトカインのうちCD86、CD163と血中IL-4の測定を行いベリリウムばく露者の細胞性免疫に特異性があるかどうか検討した。この研究は大槻剛巳研究分担者が担当した。

また、陽性コントロールとして慢性ベリリウム症の患者様から本研究の趣旨に同意をいただいて、リンパ球幼若化試験結果の参考とさせていただいた。

ベリリウムによる末梢血リンパ球幼若化試験の結果別に胸部画像所見及び末梢血の免疫担当細胞の分布について検討した結果を報告書にまとめた。

平成30年3月31日

職場における化学物質の感作性障害に対する防止措置と健康管理の有効性に関する研究班
研究代表者 岸本 卓巳

ベリリウムリンパ球幼若化試験におけるアラマブルー法の応用 -試験系の最適化及びベリリウム作業従事者 85 名を対象とした検討-

豊岡 達士、佐々木 毅、王 瑞生、甲田 茂樹

【背景・目的、及び前年度報告について】

ベリリウム (Be) は、主に Be-銅合金として、精密機器・医療・軍事・航空宇宙産業等、種々の産業において利用されている重要な金属の一種であるが、その健康影響として、ベリリウム作業従事者の 1~16%で生涯に、ベリリウムばく露による感作 (BeS) が生じていることがアメリカ環境有害物質・特定疾病対策庁から報告されている⁽¹⁾。また、ベリリウム感作者の一部は、さらに症状が進行し、肺の肉芽腫性疾患 (慢性ベリリウム症: CBD) に発展することがある。現在、CBD の根治療法はなく、労災補償の対象にもなっているため、BeS 及び CBD の正確な判定は業務上疾病として認定し、適切な医学的治療を行う上で重要である。

BeS または CBD の判定には、ベリリウムに対するリンパ球幼若化試験 (BeLPT: Beryllium Lymphocyte Proliferation Test) が決め手の一つとなっている。現行の BeLPT は、ベリリウムに対するリンパ球増殖を [³H]チミジンの DNA への取り込み量を指標に評価する方法 ([³H]チミジン法) が一般的であるが、当該試験法は、測定値のバラツキが大きく、判定を困難にする場合が多々あると認識されている。また、当該試験法は、放射性同位元素を用いるため、放射性物質の取得・使用・処分が問題となる場所では実施が制限される。これら背景を踏まえ、ベリリウムを扱う作業者の適切な健康管理のために、現行 BeLPT の検査成績の向上及び放射性同位元素を使用しない代替法の提案が喫緊の課題である。

これらのことを背景に、我々は前年度 (平成 28 年度) 検討において、培養リンパ球細胞を用い、現行 [³H]チミジン法のバラツキ原因の追求をする共に、その改良法を提案した。同時に放射性同位元素を使用しない代替法として、蛍光色素を使用するアラマブルー (ALMB) 法がリンパ球幼若化試験に応用できる可能性を示した。加えて、我々が提案する手法が実血液サンプルに応用できるか否かを健常者ボランティア 5 名で検討し、非特異的にリンパ球幼若化を惹起するコンカナバリン A (ConA) 薬剤に対しては、ALMB 法で問題なくリンパ球幼若化反応を検出できることを確認した。一方、過去に実施されたリンパ球幼若化試験 ([³H]チミジン法による) において、ベリリウム感作が濃厚であることが判明している 4 名について、ベリリウムによるリンパ球幼若化反応を ALMB 法で検出できるか否か試みたが、当該反応を検出することができなかった。これに関して、我々は検出法の感度の問題ではなく、ベリリウムに対するリンパ球幼若化試験の条件 (ベリリウムの作用条件や培養条件等) 自体に問題があったと考えた。そこで、本年度 (29 年度) は、慢性ベリリウム症患者 4 名の協力を得て、まず試験条件の見直しを実施した。種々の検討の結果、ベリ

リウムによりリンパ球幼若化を惹起する最適条件を確立し、ALMB法でその幼若化反応を検出できることを確認した。加えて、当該試験条件をもって、過去または現在ベリリウム取り扱い経験がある85名を対象にリンパ球幼若化試験を実施した。さらに、上記ベリリウム取扱経験者の中から現ベリリウム取り扱い者14名を対象に、上記BeLPT実施の約5か月後に追跡試験を実施した。以下に、方法・結果等の詳細を示す。

【方法】

1. BeLPTにおける試験条件の検討

健康者ボランティア3名及び、慢性ベリリウム症患者4名の採血を行い、密度勾配法にてリンパ球を分離後、ベリリウムリンパ球幼若化試験に供した。ここで、試験条件として表1に示す通り、培地2種類、血清3種類、血清濃度6種類、硫酸ベリリウム調整溶液2種類を検討した。

なお、血清の種類における自己血清とはリンパ球を密度勾配遠心法で分離した際に一番上層に分離されてくるものである。牛胎児血清及びヒト血清ABは市販品であり、熱処理（54℃、30分）によって、血清に含まれる補体、増殖因子等を不活化している。

表1. 試験条件の検討

培地の種類	X	血清の種類	X	血清の濃度	X	BeSO ₄ stock
RPMI		自己血清		0%		水
GT-T551		牛胎児血清		0.1%		PBS
		ヒト血清 AB		0.3%		
				1%		
				3%		
				10%		

試験は96-well plate上で実施し、硫酸ベリリウムの各作用濃度（0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 100μM）について、5 well (n=5) を使用した。硫酸ベリリウム添加後、インキュベーター（37℃、5% CO₂）で5~10日間培養した。幼若化反応の検出には、まずALMB法による蛍光値測定を行った後、同一サンプルに[³H]チミジンを加え、その24時間後にリンパ球を回収、DNA抽出を行い、液体シンチレーションカウンターにてベータ線測定を実施した。

2. ベリリウム取扱経験者85名に対するBeLPT

現在または過去にベリリウム取り扱い経験を有する85名を対象とした。採血は採血後24時間以内にリンパ球を分離、BeLPTに供した。なお、試験条件は表1の検討によ

り見出した条件とし、リンパ球幼若化反応の検出には、ALMB 法を実施したのち、同一サンプルで³H]チミジン法を実施した。

3. 現ベリリウム取り扱い者 14 名を対象とした追跡試験

上記ベリリウム取扱経験者 85 名の内、現ベリリウム取扱者 14 名を対象に、第 1 回目 BeLPT 試験実施の約 5 か月後に、BeLPT 追跡試験を実施した。

【結果・考察等】

1. BeLPT における試験条件の検討

ベリリウムによるリンパ球幼若化反応を ALMB 法で検出するということをアウトプットに置いた場合、種々の条件を検討した結果、最終的に表 2 に示す試験条件が、最適であると結論した。以下、各条件について、上記条件に決定した理由等を記載する。また、最適試験条件下で実施された、慢性ベリリウム症患者 4 例における BeLPT 結果を表 3 に示す。

表 2. 試験条件の最適化

	前回までの試験条件	最適化した試験条件
培地	GT-T551	GT-T551
血清の種類・濃度	血清なし	ヒト血清 AB (1%)
BeSO ₄ stock	PBS	水

① 培地の種類について

検討候補に挙げた RPMI 培地は一般的に浮遊細胞の培養に適していることがよく知られているクラシカルな培地である。実際に、³H]チミジン法による BeLPT においても、多くの使用実績がある。一方、GT-T551 培地はヒトリンパ球培養用に近年開発された培地である。なお、両培地ともに培地自体には細胞増殖刺激を与える IL-2 は含まれていない。両培地を用いて、ConA 刺激によるリンパ球幼若化反応を比較した場合、添加血清濃度にかかわらず全ての場合において、僅かながらではあるが、リンパ球増殖は GT-T551 培地を用いた方が良好であった（データ示さず）。このことより、培地は GT-T551 培地を使用することに決定した。

② 血清の種類及び濃度について

試験系における血清の有無、血清を添加する場合は、その種類と濃度は、結果に大

大きく影響すると考えられる。これまでに報告されている BeLPT における血清条件に関する情報は限定的ではあるが、入手できた情報を整理すると、無血清（添加濃度 0%）で実施しているもの、自己血清、牛胎児血清、ヒト血清で実施しているものが存在し、その添加濃度も 1~20%と幅がある。

ConA 刺激によるリンパ球幼若化反応を指標に血清の種類・濃度を検討したところ、血清の種類にかかわらず、濃度 3%, 10%では、濃度 1%以下の場合と比して、ALMB 蛍光値が低く、幼若化反応が抑制されているという結果になった（データ示さず）。これは、血清による毒性影響が出たものと考えられる。一方、血清濃度 1%以下における ConA 刺激によるリンパ球幼若化反応では、いずれの血清の種類においても良好な結果が得られたが、中でも、ヒト血清 AB、濃度 1%を適用したときに、（被検物質蛍光値）/（コントロール ALMB 蛍光値）によって算出する評価指標 S.I.（Stimulation Index）の値が最も高くなった。なお、自己血清を用いた場合、コントロール自体のリンパ球に増殖・分化が確認され、S.I.の S/N 比が悪化する傾向にあった。これは、自己血清の熱処理をしていないため、血清中の増殖因子等が影響を与えたものと考えられる。以上のことから、試験系に用いる血清は、ヒト血清 AB、濃度 1%と決定した。

③ 硫酸ベリリウム調整溶液について

BeSO₄を PBS で調整した場合、ベリリウム（Be²⁺）と PBS に含まれる、リン酸が反応し不溶性のリン酸塩が生成し、ストック溶液中で沈殿が生ずることが判明した。水で BeSO₄を調整した場合はそのような沈殿は生成しない。PBS で調整したときに生じた沈殿は均一分散が困難であり、試験結果に影響を与える可能性があると考え、BeSO₄は水でストック溶液を作成することにした。

*実際に PBS で調整した BeSO₄を使用して慢性ベリリウム症患者について BeLPT を実施したところ、幼若化反応は惹起したものの、水で調整した BeSO₄を使用した場合に比して S.I.がばらつく傾向にあった（データ示さず）。

④ 慢性ベリリウム症患者 4 例について

最適化した条件において、4 名の慢性ベリリウム症患者のリンパ球に対して、ベリリウム刺激によるリンパ球幼若化試験を実施したところ、硫酸ベリリウム処理後、5 日目において、全症例でベリリウムによるリンパ球幼若化反応を ALMB 法で検出することができた。また、ALMB 法と同時に実施した³Hチミジン法においても ALMB 法と一致する結果が得られた。一方で、前回と同条件（無血清）で実施した場合、ベリリウム処理後、5 日目においては、やはりリンパ球幼若化反応は見られなかったが、7~10 日目（症例によって培養期間が異なる）には、ベリリウム処理をしたリンパ球で幼若化反応に特徴的な細胞形態変化・コロニー形成が顕微鏡下で確認された。また、そのときに ALMB 法を実施したところ、ベリリウム処理サンプルにおいて明らかな蛍

光値上昇が観察された。したがって、前回までの我々の試験条件では、血清無添加で実施していたため、ConA 刺激によるリンパ球幼若反応を検出するには問題がなかったが、ベリリウム刺激によるリンパ球幼若化反応を検出するには、培養日数が足りなかったと考えられた。適切な濃度で血清を加えることにより、ベリリウムによる幼若化反応が増強されたと推測された。

表 3. 慢性ベリリウム症患者 4 例に対する BeLPT

BeSO ₄ 濃度 (μM)		0	1	3	10	30	100	ConA
健常者1	S.I. (ALMB)	1.000	0.881	0.890	0.857	0.736	0.735	7.337
	STDEV	0.148	0.018	0.032	0.040	0.048	0.061	0.029
	S.I. (3H-T)	1.000	0.749		0.774		0.462	270.337
	STDEV	0.091	0.102		0.103		0.055	1.216
健常者2	S.I. (ALMB)	1.000	0.921	0.880	0.858	0.775	0.720	3.646
	STDEV	0.081	0.106	0.125	0.058	0.071	0.061	0.322
	S.I. (3H-T)	1.000	0.548		0.471		0.414	1217.811
	STDEV	0.058	0.152		0.096		0.109	2.490
健常者3	S.I. (ALMB)	1.000	0.983	0.993	0.932	0.846	0.820	6.815
	STDEV	0.039	0.028	0.049	0.043	0.042	0.026	0.057
	S.I. (3H-T)	1.000	1.136		0.784		0.782	594.704
	STDEV	0.159	0.067		0.140		0.193	1.244
症例1	S.I. (ALMB)	1.000	2.495	2.163	1.020	0.707	0.758	6.409
	STDEV	0.134	0.128	0.261	0.239	0.116	0.106	0.841
	S.I. (3H-T)	1.000	43.800	22.926	16.702	2.103	1.067	173.789
	STDEV	0.548	3.840	3.563	2.643	1.040	0.657	25.448
症例2	S.I. (ALMB)	1.000	2.780	3.952	4.178	3.616	3.622	3.131
	STDEV	0.068	0.067	0.016	0.053	0.046	0.072	0.108
	S.I. (3H-T)	1.000	823.524	744.815	746.101	736.126	648.530	253.583
	STDEV	0.442	70.058	40.336	30.279	70.231	10.918	60.444
症例3	S.I. (ALMB)	1.000	1.460	1.758	2.162	2.505	3.213	1.711
	STDEV	0.038	0.049	0.063	0.212	0.118	0.124	0.085
	S.I. (3H-T)	1.000	746.959	2283.917	3633.566	4078.051	4681.731	789.628
	STDEV	0.565	57.029	52.201	271.843	148.783	99.400	87.449
症例4	S.I. (ALMB)	1.000	2.740	1.557	0.735	0.691	0.694	2.172
	STDEV	0.250	0.349	0.177	0.064	0.034	0.022	0.118
	S.I. (3H-T)	1.000	46.867	28.487	11.728	4.600	2.277	672.426
	STDEV	0.756	8.572	1.002	0.727	0.662	0.777	31.123

* BeSO₄ 0μM の値を 1 として S.I.を算出 (n=5)。

赤及び青のハイライトは、それぞれ ALMB 法による S.I.及び³H]チミジン法による S.I.を示す。

2. ベリリウム取扱経験者 85 名に対する BeLPT

現在または過去にベリリウム取り扱い経験を有する 85 名を対象に、ALMB 法及び³H]チミジン法を同一サンプルに適用した BeLPT を実施した。以下には、①ALMB

法を応用した BeLPT における陰性・陽性判定について、②ALMB 法暫定基準値に基づいた陰性・陽性判定、③グラフ形状からみた本試験系の特徴について記述する。

① ALMB 法を応用した BeLPT における陰性・陽性判定について

[³H]チミジン法による BeLPT の陰性・陽性判定は、米国エネルギー省 (DOE) が公表されている「標準 BeLPT 法⁽²⁾」による基準を参考に、S.I.が 2.5 以上を陽性とする場合が多いようである。ただし、S.I.: 4 以上で陽性、S.I.: 2.5~4 はボーダーと扱う場合もある。一方で、ALMB 法は新しい試験法であるため、本検討の中で、陰性・陽性判定の基準を決定していく必要があった。そこで本研究では、(1)これまでの健常者ボランティアを対象とした検討においては、BeSO₄ の濃度範囲 0.1~100μM で刺激をしても S.I.が 1.1 未満であること、(2) 慢性ベリリウム症患者を対象とした検討において、幼若化反応が観察された時の S.I.が 1.1 を有意に超えること (幼若化反応が確実に惹起されていることは顕微鏡観察による細胞形体変化及び [³H]チミジン法の同一サンプル実施において確認している)、(3) ConA 刺激によるリンパ球幼若化反応では、健常者及び慢性ベリリウム症患者ともに S.I.が 1.2 以上となることから、ALMB 法における陰性・陽性判定基準値として、暫定的に S.I.=1.1 以上を陽性とした。

② ALMB 法暫定基準値に基づいた陰性・陽性判定

ALMB 法における陽性判定を S.I.=1.1 以上を暫定陽性とした場合、今回検査した 85 名中 16 名が暫定陽性と判定され (黄ハイライト)、検査対象集団におけるベリリウム感作率は 18.8%であった。表 4 に暫定陽性判定者を抜粋して示す。なお、ALMB 法による暫定陽性判定は、顕微鏡観察による細胞形体変化結果と完全に一致しており (データ示さず)、また同一サンプルで実施した [³H]チミジン法における暫定陽性判定ともほぼ一致している (一部 [³H]チミジン法において、テクニカルな問題で測定値が全体的にバックグラウンドに近くなり、正常な判定が困難であったサンプルが存在する: 表 4 オレンジハイライト)。

また、ALMB 法による暫定陽性判定結果と、対象者の年齢やベリリウム作業従事通算年数には相関がみられなかったが、これがベリリウム感作の特性であると考えられた。対象者の結果を個別に見ると、今回の検討では、過去に実施された [³H]チミジン法による BeLPT で陽性判定、臨床的にも慢性ベリリウム症であることが確認されている 1 名について、ALMB 法及び同一サンプルに実施した [³H]チミジン法は陰性判定となった。この理由として、当該対象者が服用していた免疫抑制剤であるステロイドの影響が可能性として考えられる。

表 4. ALMB 法による暫定陽性判定者の結果 (抜粋)

11	S.I. (ALMB)	1.000	1.040	1.062	1.090	1.227	1.124	0.980	0.600	1.460	C
	S.D.	0.043	0.026	0.065	0.043	0.069	0.069	0.059	0.016	0.025	
	S.I. (3H-T)	1.000	1.089	1.055	3.266	22.358	8.746	1.862	0.587	92.920	
	S.D.	0.074	0.054	0.028	0.160	0.292	0.377	0.122	0.047	1.788	
14	S.I. (ALMB)	1.000	1.040	1.276	1.280	1.264	1.197	0.621	0.713	3.192	C
	S.D.	0.068	0.127	0.087	0.088	0.169	0.202	0.067	0.146	0.124	
	S.I. (3H-T)	1.000			38.752	32.872	37.244	4.722	2.844	72.833	
	S.D.	0.069			1.535	1.109	1.078	0.133	0.125	2.054	
16	S.I. (ALMB)	1.000	0.976	1.098	1.200	1.233	1.048	0.658	0.666	2.203	C
	S.D.	0.133	0.129	0.234	0.099	0.151	0.139	0.082	0.168	0.470	
	S.I. (3H-T)	1.000			3.570	28.685	22.052	5.201	5.491	69.850	
	S.D.	0.041			0.125	0.946	0.577	0.247	0.250	2.239	
19	S.I. (ALMB)	1.000	0.956	0.940	1.666	1.407	1.139	0.801	0.811	2.625	C
	S.D.	0.046	0.045	0.111	0.163	0.451	0.022	0.132	0.185	0.163	
	S.I. (3H-T)	1.000			6.114		66.435		96.970	79.952	
	S.D.	0.038			0.172		1.342		1.832	1.600	
30	S.I. (ALMB)	1.000	0.945	0.948	1.041	1.120	0.904	0.504	0.532	1.444	C
	S.D.	0.051	0.086	0.074	0.113	0.065	0.045	0.033	0.027	0.029	
	S.I. (3H-T)	1.000			11.706	21.953	42.302		1.540	158.209	
	S.D.	0.148			0.230	0.241	0.165		0.129	0.813	
37	S.I. (ALMB)	1.000	0.978	0.965	1.020	1.063	1.156	0.989	0.996	1.759	C
	S.D.	0.043	0.034	0.030	0.036	0.056	0.086	0.029	0.039	0.052	
	S.I. (3H-T)	1.000			1.163	1.463	7.959	1.449	1.102	1948.571	
	S.D.	0.263			0.277	0.268	0.642	0.367	0.282	54.726	
44	S.I. (ALMB)	1.000	0.983	1.139	1.254	1.480	1.209	0.905	0.820	10.220	C
	S.D.	0.192	0.075	0.107	0.068	0.107	0.120	0.227	0.085		
	S.I. (3H-T)	1.000			2.150	5.221	5.577	4.972	4.732	2197.751	
	S.D.	0.118			0.182	0.212	0.198	0.403	0.424	37.040	
45	S.I. (ALMB)	1.000	0.901	1.003	1.888	3.614	2.645	1.315	1.269	5.191	C
	S.D.	0.158	0.115	0.180	0.284	0.230	0.099	0.135	0.156	0.265	
	S.I. (3H-T)	1.000			102.667		484.452		272.520	232.618	
	S.D.	0.094			2.273		10.486		4.759	5.203	
56	S.I. (ALMB)	1.000	1.257	1.270	1.361	1.351	0.759	0.308	0.362	1.948	C
	S.D.	0.209	0.307	0.384	0.183	0.761	0.529	0.624	0.481	0.208	
	S.I. (3H-T)	1.000			2.689	2.751	0.480	0.288	0.277	16.175	
	S.D.	0.183			0.319	0.342	0.153	0.095	0.085	1.196	
57	S.I. (ALMB)	1.000	1.071	1.041	1.069	1.153	1.032	0.875	0.952	1.391	C
	S.D.	0.050	0.070	0.110	0.138	0.114	0.049	0.072	0.061	0.088	
	S.I. (3H-T)	1.000			1.027	1.155	0.945	0.827	0.964	397.045	
	S.D.	0.420			0.466	0.444	0.357	0.391	0.359	99.813	
58	S.I. (ALMB)	1.000	1.062	1.167	1.133	0.991	0.318	0.414	0.564	1.050	C
	S.D.	0.171	0.148	0.225	0.187	0.049	0.125	0.169	0.079	0.091	
	S.I. (3H-T)	1.000			1.065	0.981	0.888	0.888	1.009	11.112	
	S.D.	0.677			0.336	0.473	0.287	0.386	0.436	5.294	
59	S.I. (ALMB)	1.000	0.927	1.017	1.292	1.447	0.964	0.466	0.654	2.347	C
	S.D.	0.179	0.311	0.264	0.519	0.148	0.398	0.320	0.156	0.212	
	S.I. (3H-T)	1.000			0.822	0.508	0.530	0.670	0.616	640.486	
	S.D.	0.432			0.452	0.246	0.252	0.307	0.229	110.885	
62	S.I. (ALMB)	1.000	0.988	1.006	1.044	1.120	1.039	0.643	0.697	2.004	C
	S.D.	0.030	0.046	0.040	0.092	0.145	0.179	0.014	0.013	0.062	
	S.I. (3H-T)	1.000			0.941	2.400	1.434	0.596	0.609	226.227	
	S.D.	0.098			0.171	0.304	0.235	0.167	0.113	3.829	

表 4. (つづき) ALMB 法による暫定陽性判定者の結果 (抜粋)

No.	BeSO ₄ (μM)	0	0.1	0.3	1	3	10	30	100	ConA	Type
64	S.I. (ALMB)	1.000	0.946	0.932	1.034	1.088	1.136	1.004	1.098	1.626	C
	S.D.	0.015	0.087	0.135	0.104	0.133	0.104	0.077	0.031	0.017	
	S.I. (3H-T)	1.000			1.038	4.713	1.450	0.838	1.150	272.000	
	S.D.	0.310			0.385	0.520	0.310	0.425	0.597	10.162	
67	S.I. (ALMB)	1.000			1.477	1.421	1.096	0.480	0.554	0.665	C
	S.D.	0.049			0.042	0.046	0.030	0.154	0.230	0.051	
	S.I. (3H-T)	1.000			47.459	299.732	101.254		12.239	232.259	
	S.D.	0.204			2.010	7.335	2.650		0.661	5.927	
78	S.I. (ALMB)	1.000	1.036	1.152	1.406	1.509	1.147	0.819	0.831	1.261	C
	S.D.	0.037	0.018	0.070	0.081	0.012	0.046	0.011	0.031	0.035	
	S.I. (3H-T)	1.000			8.277		48.396		2.635	115.585	
	S.D.	0.232			0.826		2.311		0.482	5.721	

* オレンジハイライトは³H]チミジン法において、テクニカルな問題で測定値が全体的にバックグラウンドに近くなり、正常な判定が困難であったサンプルを示す。

③ グラフ形状からみた本試験系の特徴

ALMB 法によって得られた数値結果を、横軸に BeSO₄ 作用濃度、縦軸に S.I. をとりプロットすると、そのグラフの形状は図 1 に示す 4 種類のいずれかに分類されると考えられる。A タイプは、BeSO₄ での細胞毒性作用により、BeSO₄ 作用濃度依存的に S.I. が低下する形状。B タイプは BeSO₄ の細胞毒性作用に耐性を示しており、いずれの BeSO₄ 濃度においても S.I. が 1 に近いが、明確なピークは存在しない形状。C タイプは低濃度領域の BeSO₄ 作用により、S.I. のピーク (S.I.=1.1 以上) を形成するが、高濃度領域の BeSO₄ 作用では細胞毒性作用により S.I. が低下する形状。D タイプは BeSO₄ 作用濃度依存的に S.I. が上昇する形状である。これらのうち、A、B タイプはベリリウム感作陰性、C、D タイプは陽性である。

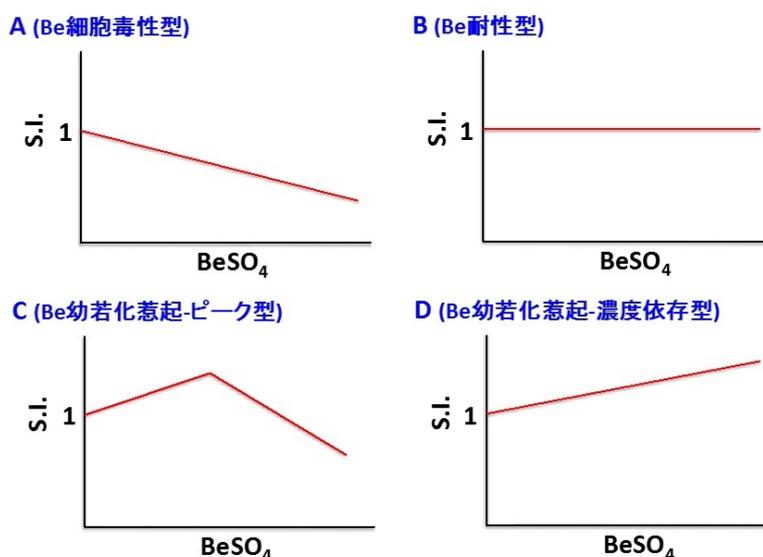


図 1. ALMB 法による BeLPT において考えられうるグラフ形状

検査対象者 85 名の ALMB 法における S.I. をグラフタイプによって分類したものを以下表 5 に纏めた。A, B タイプは共に陰性判定であるが、今回の検討では BeSO₄ 濃度依存的に徐々に S.I. が低下しているものであっても、BeSO₄ 最高濃度である 100 μ M 作用時の S.I. が 0.8 以上であった場合は B タイプとした。その結果、陰性判定のうち 3 分の 2 は A タイプに分類された。A, B 両タイプに代表されるように、BeSO₄ の細胞毒性効果に違いが出る理由については、現時点では不明であるが、個人差のように考えられる。一方、ベリリウム感作暫定陽性と判定した 16 名については、全て C タイプに分類され、D タイプはなかった(ただし、慢性ベリリウム症患者 4 例の内、3 例は C タイプであり、1 例のみ D タイプであった)。

表 5. グラフタイプによる分類

陰性		暫定陽性		
A	B	C	D	合計
46 (54.1%)	23 (27.1%)	16 (18.8%)	0 (0%)	85 (100%)

これらのことから ALMB 法による BeLPT の試験系を特徴づけると、ある検体がベリリウム感作している場合、低濃度領域の BeSO₄ 作用、特に 1~10 μ M の濃度範囲内で、リンパ球幼若化反応を示す S.I. ピークが検出され、感作がない場合は、BeSO₄ 作用濃度依存的に S.I. が低下することが多いといえる。また、グラフ C タイプの S.I. ピークの位置をさらに詳細にみていくと、多くの場合、BeSO₄ 作用濃度 3 μ M でピークを示し、10 μ M では既に、S.I. が低下傾向にあることが判明した。したがって、本検討では 1, 3, 10 μ M で BeSO₄ を作用したが、1~10 μ M の濃度範囲において、より細かく BeSO₄ の濃度を設定すると、真の S.I. ピークにあたる確率が高まり、陰性・陽性判定が容易になると考えられる。また、図 2 に示すように、ピーク値を与える濃度の近傍濃度では、ピーク値に近い値になると考えられるため、ピーク値 (赤) とその近接の値 (オレンジ) を積算した値で評価すれば、特に陰性判定である B タイプとの差を明確にすることができ、ピーク値 1 点で判定するよりも、より正確な判定ができる可能性がある。

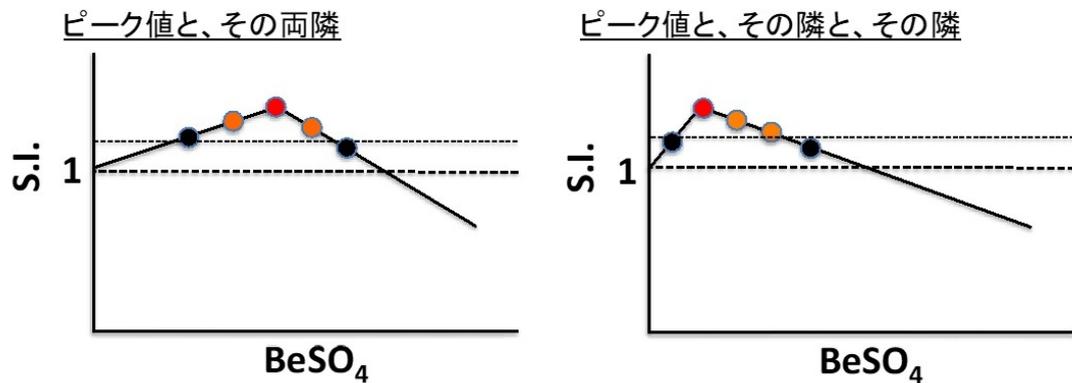


図2. 正確な判定をするための方策

3. 現ベリリウム取扱者 14 名を対象とした BeLPT 追跡試験

ベリリウム取扱経験者 85 名の内、ベリリウム作業内容等に関するアンケート調査の回答より、現ベリリウム取扱者 14 名を対象に、ALMB 法による第 1 回目 BeLPT 試験実施の約 5 か月後に、追跡試験（第 2 回目）を実施した。表 6 に第 1 回目と第 2 回目の結果を併せて示す。その内 1 名においては、第 1 回目試験において、暫定陽性判定をした取扱者は、第 2 回目試験においても暫定陽性判定であった。なお、当該取扱者は CT 検査において、結節影、リンパ節腫大が認められている。他 13 名においては、1,2 回目試験共に陰性であり、直近 5,6 か月の作業では、感作していないと考えられる。また、作業内容アンケートから見た、作業内容は、全員ほぼ同様であり、現時点で作業内容と感作の関係は不明である。

表6. 現ベリリウム取り扱い者14名を対象とした追跡試験結果

7	第1回目	S.I. (ALMB)	1.000	1.005	0.988	1.002	1.031	1.040	0.975	0.984	4.302	B
		S.D.	0.013	0.022	0.011	0.009	0.027	0.034	0.007	0.005	0.426	
	第2回目	S.I. (ALMB)	1.000			0.999	1.020	0.803	0.865	0.776	4.069	A
		S.D.	0.023			0.036	0.030	0.207	0.157	0.217	0.020	
13	第1回目	S.I. (ALMB)	1.000	1.003	0.927	0.856	0.794	0.797	0.797	0.704	3.245	A
		S.D.	0.180	0.135	0.136	0.193	0.198	0.110	0.032	0.147	0.088	
	第2回目	S.I. (ALMB)	1.000			0.962	0.840	0.544	0.530	0.534	3.190	A
		S.D.	0.043			0.072	0.126	0.172	0.114	0.089	0.057	
22	第1回目	S.I. (ALMB)	1.000	0.849	0.835	0.837	0.762	0.606	0.399	0.482	4.282	A
		S.D.	0.034	0.200	0.235	0.273	0.286	0.303	0.169	0.099	0.158	
	第2回目	S.I. (ALMB)	1.000			0.932	0.898	0.475	0.418	0.448	2.875	A
		S.D.	0.143			0.149	0.178	0.155	0.063	0.117	0.192	
23	第1回目	S.I. (ALMB)	1.000	0.927	0.850	0.946	0.786	0.815	0.751	0.836	3.794	B
		S.D.	0.073	0.149	0.201	0.403	0.174	0.135	0.101	0.039	0.067	
	第2回目	S.I. (ALMB)	1.000			0.915	0.855	0.855	0.768	0.886	2.631	B
		S.D.	0.009			0.193	0.185	0.219	0.204	0.206	0.191	
26	第1回目	S.I. (ALMB)	1.000	0.990	0.938	0.955	0.805	0.675	0.432	0.492	2.451	A
		S.D.	0.117	0.081	0.162	0.134	0.153	0.145	0.177	0.151	0.226	
	第2回目	S.I. (ALMB)	1.000			1.007	0.975	0.639	0.675	0.709	1.549	A
		S.D.	0.028			0.046	0.034	0.255	0.193	0.104	0.243	
29	第1回目	S.I. (ALMB)	1.000	0.948	0.840	0.879	0.959	0.855	0.790	0.871	3.857	B
		S.D.	0.033	0.076	0.198	0.141	0.144	0.157	0.116	0.029	0.054	
	第2回目	S.I. (ALMB)	1.000			1.052	0.974	0.649	0.597	0.624	3.938	A
		S.D.	0.036			0.014	0.069	0.125	0.142	0.126	0.061	
34	第1回目	S.I. (ALMB)	1.000	0.983	0.990	0.970	1.006	0.982	0.949	1.016	2.753	B
		S.D.	0.041	0.033	0.034	0.070	0.038	0.060	0.022	0.006	0.009	
	第2回目	S.I. (ALMB)	1.000			1.024	0.944	0.873	0.979	0.939	3.833	B
		S.D.	0.015			0.011	0.170	0.170	0.180	0.150	0.150	
38	第1回目	S.I. (ALMB)	1.000	0.925	0.880	0.878	0.791	0.852	0.815	0.785	2.825	A
		S.D.	0.232	0.250	0.169	0.175	0.077	0.079	0.113	0.159	0.257	
	第2回目	S.I. (ALMB)	1.000			0.970	0.743	0.660	0.672	0.697	1.280	A
		S.D.	0.019			0.044	0.260	0.264	0.264	0.142	0.183	
39	第1回目	S.I. (ALMB)	1.000	0.951	1.015	0.810	0.746	0.905	0.730	0.809	6.785	B
		S.D.	0.022	0.097	0.493	0.103	0.207	0.144	0.179	0.090	0.183	
	第2回目	S.I. (ALMB)	1.000			0.926	0.913	0.758	0.752	0.775	2.946	A
		S.D.	0.150			0.117	0.102	0.036	0.049	0.042	0.076	

表6. (つづき) 現ベリリウム取り扱い者 14 名を対象とした追跡試験結果

No.	BeSO ₄ (μM)	0	0.1	0.3	1	3	10	30	100	ConA	Type	
40	第1回目	S.I. (ALMB)	1.000	1.005	0.783	0.663	0.690	0.573	0.391	0.406	3.278	A
		S.D.	0.196	0.107	0.215	0.100	0.268	0.271	0.145	0.080	0.230	
	第2回目	S.I. (ALMB)	1.000			1.065	0.986	0.471	0.389	0.384	2.846	A
		S.D.	0.020			0.045	0.051	0.061	0.080	0.076	0.112	
43	第1回目	S.I. (ALMB)	1.000	1.096	1.006	1.019	1.016	0.884	0.771	0.772	5.336	A
		S.D.	0.277	0.128	0.020	0.013	0.010	0.030	0.178	0.077	0.221	
	第2回目	S.I. (ALMB)	1.000			0.865	0.932	0.735	0.761	0.628	2.521	A
		S.D.	0.211			0.093	0.141	0.135	0.188	0.127	0.070	
44	第1回目	S.I. (ALMB)	1.000	0.983	1.139	1.254	1.480	1.209	0.905	0.820	10.220	C
		S.D.	0.192	0.075	0.107	0.068	0.107	0.120	0.227	0.085		
	第2回目	S.I. (ALMB)	1.000			1.289	1.391	1.052	0.995	1.105	2.124	C
		S.D.	0.129			0.119	0.074	0.105	0.174	0.088	0.042	
46	第1回目	S.I. (ALMB)	1.000	0.935	0.777	0.807	0.758	0.735	0.484	0.477	2.362	A
		S.D.	0.193	0.233	0.186	0.227	0.076	0.164	0.135	0.102	0.236	
	第2回目	S.I. (ALMB)	1.000			0.955	0.779	0.472	0.446	0.421	2.075	A
		S.D.	0.081			0.093	0.290	0.097	0.118	0.118	0.062	
50	第1回目	S.I. (ALMB)	1.000	1.002	1.011	1.018	0.938	0.921	0.651	0.755	4.195	A
		S.D.	0.143	0.053	0.051	0.020	0.183	0.048	0.117	0.032	0.167	
	第2回目	S.I. (ALMB)	1.000			0.997	0.945	0.685	0.641	0.656	2.868	A
		S.D.	0.024			0.071	0.136	0.115	0.088	0.175	0.086	

【まとめと今後の予定】

平成 29 年度の検討においては、BeLPT の試験条件を最適化し、ALMB 法において、ベリリウム刺激によるリンパ球幼若化反応を検出することに成功した。また、暫定的ではあるが、ALMB 法における陰性・陽性判定の基準値を設定し、ベリリウム取扱経験者 85 名を対象に試験を行ったところ、16 名が暫定陽性判定となり、対象集団の感作率は 18.8%であった。これまでの報告におけるベリリウム作業従事者の感作率は、ベリリウムの取扱業種及び調査年代によって幅があるが、20%以内とするものが多い。例えば、米国における原子力軍事産業関連企業数社では、1~5%の感作率が報告されている⁽³⁾。一方、同じく米国における金属ベリリウム・ベリリウム合金・酸化ベリリウム製造関連企業数社では 2~15%の感作率が報告されている⁽³⁾。いずれも、調査年代が 2000 年以前では高く、2000 年以降に雇用された従業員を対象に検査をした場合は感作率が低い⁽³⁾。これらの知見から判断すると、本研究における検査対象者の感作率はやや高く出たが、大きく外れてはならず、十分考える数値である。なお、一般的な^[3H]チミジン法による BeLPT を慢性ベリリウム症であると考えられる被験者に実施した場合、繰り返し陽性水準の値が出るのは 44~50%であるとされている⁽²⁾。一方で、ALMB 法による判定結果は、同一サンプルで実施した^[3H]チミジン法の結果、及び顕微鏡による細胞形態変化観察結果と一致していること、追跡試験において全く同じ判定結果が得られたことより、ALMB 法による判定暫定基準値の設定が妥当な線にあるといえると同時に、試験系の判定精度は高いと考えている。また、今回の検討を

通じて、我々の試験系の特性が明らかになったため、今後は判定方法を工夫するなどし、さらに精度が高い試験系の構築を行う。

今後は、対象集団の継続的な追跡調査により、感作の原因となった作業内容を特定し、防止策を講じていくことが重要な課題になるであろう。加えて、平成30年度には、ベリリウム感作の成立に重要であると考えられている HLA-DPB1 Glu69 の遺伝子多型解析を実施する予定である。これまでの疫学研究から、HLA-DPB1 Glu69 の遺伝子多型の場合、そうでない場合に比べて2~20倍ほどベリリウムに感作しやすいことが報告されている⁽¹⁾。今後、臨床所見、リンパ球幼若化試験、遺伝子解析の情報を総合し、ベリリウムばく露による感作性障害の防止・有効な健康管理の在り方について検討していきたい。

[参考文献]

1. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) Case Studies in Environmental Medicine Beryllium Toxicity. WB1095, 2008
2. U.S. Department of Energy: Beryllium lymphocyte proliferation testing (BeLPT), DOE SPECIFICATION 1142-2001
3. An Official American Thoracic Society Statement: Diagnosis and Management of Beryllium Sensitivity and Chronic Beryllium Disease. Am J Respir Crit Care 2014, 15;190(10):e34-59

現在及び過去のベリリウム作業における胸部 CT 読影結果について

- 平成 28 年度と平成 29 年度の比較 -

松尾 正樹、芦澤 和人、原 眞咲、
横山多佳子、加藤 勝也、岸本 卓巳

【目 的】

本研究において、平成 28 年度よりベリリウム取り扱い作業における胸部病変の有無を確認するため、年 1 回の胸部 CT 撮影を行っている。今回は平成 28 年度と平成 29 年度の胸部 CT 読影結果について比較検討を行った。また、このうち、慢性ベリリウム肺と診断されている 2 症例の画像の比較検討結果を報告する。

【対 象】

現在及び過去にベリリウム取り扱い業務に従事したことがあり、本研究の趣旨に同意を得られた症例で、平成 28 年度は 90 例、平成 29 年度は 86 例であった。平成 29 年度は、療養・退職・出向などのため平成 28 年度から 6 名が対象から外れ、新たに 2 名が参加した。

【方 法】

胸部 CT は、平成 28 年度は通常線量と低線量を同時に撮影し、平成 29 年度は被曝量低減のため低線量のみで撮影した。撮影は Optima CT660Pro Advance (GE 社) で行い、平成 29 年度は新たに導入された GE 社製 Revolution EVO を使用し、AEC 法併用、Z-filter 最適化のもと、至適撮影条件として、被曝線量 1mSv の低線量、最新の ASiRV 法の設定 60 にて逐次近似画像再構成を使用、Chest 関数 1.25mm 厚再構成を採用した。画像の読影は研究班員である岸本、芦澤、加藤、原、横山、松尾が独立行政法人労働者健康安全機構本部を中心に行い、合議制で最終診断を決定した。

【結 果】

対象症例は全症例男性で、平均年齢は平成 28 年度 37.6 歳、平成 29 年度 39.8 歳であり中央値はともに 41 歳だった。胸部 CT にて何らかの所見を有していた症例は平成 28 年度 40 例 (44.4%)、平成 29 年度は 42 例 (48.8%) だった。

表 1~4 に具体的な胸部 CT 読影結果の比較を示す。平成 28 年度と平成 29 年度で所見の有無に比較的差が大きかった項目は、「結節影あり」、「びまん性肺気腫あり」、「その他の合併症あり」、「胸膜病変あり」の 4 項目であった。そこで、各々の項目につき各症例の胸部 CT を比較して検証を行った。「結節影あり」に関しては直接の胸部 CT 画像比較では同様の所見を呈している症例が多く、平成 29 年度の読影において微小な結節影を丹念に指摘した結果、所見ありの症例が増加したと考えられた。「びまん性肺気腫あり」は減少していたが、平成 29 年度は低線量 CT のノイズ低減のため逐次近似画像再構成法を用いた影響で微

細な気腫性変化を捉えることが困難となったためと考えられる。「その他の合併症あり」については肝嚢胞、腎結石、脂肪肝、胸腺過形成などの所見であったが、単に年度により記載方法が異なっていたために生じた差であった。「胸膜病変あり」についても CT 条件の違いによる影響と考えられた。

表 1. CT 所見 ①

		H29年度	H28年度
すりガラス影（線維化関連）	あり	10例	13例
	なし	76例	77例
すりガラス影±網状影	あり	4例	4例
	なし	82例	86例
胸膜下楔状影 （fibrotic consolidation）	あり	1例	1例
	なし	85例	89例
牽引性気管支拡張・細気管支拡張	あり	3例	4例
	なし	83例	86例
蜂窩肺	あり	0例	0例
	なし	86例	90例

表 2. CT 所見 ②

		H29年度	H28年度
粒状影	あり	10例	9例
	なし	76例	81例
結節影	あり	16例	7例
	なし	70例	83例
びまん性肺気腫	あり	5例	10例
	なし	81例	80例
肺嚢胞	あり	9例	10例
	なし	77例	80例
リンパ節腫大	あり	10例	11例
	なし	76例	79例

表 3. CT 所見 ③

		H29年度	H28年度
胸水	あり	0例	0例
	なし	86例	90例
病変分布の優位性	あり	2例	2例
	なし	84例	88例
その他の合併症	あり	0例	4例
	なし	86例	86例
大陰影	あり	0例	
	なし	86例	

表 4. CT 所見 ④

		H29年度	H28年度
肺癌疑い病変	あり	0例	0例
	なし	86例	90例
胸膜プラーク	あり	1例	2例
	なし	85例	88例
胸膜病変	あり	4例	1例
	なし	82例	89例

平成 29 年度に新たに参加した 2 例を除いた 84 症例について平成 28 年度からの所見の変化について検討した。変化のなかった症例は 52 例 (61.9%)、何らかの所見が増加した症例は 23 例 (27.4%)、何らかの所見が軽快もしくは消失した症例は 9 例 (10.7%) であった。**表 5** に所見が増加した 23 例の詳細を示す。前述した結節影の出現以外に、新たにすりガラス影や粒状影の増加した症例が多くみられた。また、**表 6** に所見の軽快、消失した 9 例の詳細を示しているが、前述のびまん性肺気腫の消失のほかに、すりガラス影や粒状影の軽快・消失の頻度が高かった。

表 5. 所見が増加した 23 例

◆ すりガラス影	2例
◆ すりガラス影＋結節影	2例
◆ 粒状影	3例
◆ 粒状影＋気管支血管束肥厚	1例
◆ 結節影	6例
◆ 結節影＋胸膜肥厚	1例
◆ びまん性肺気腫＋肺嚢胞	1例
◆ 肺嚢胞	2例
◆ 索状影	2例
◆ 気管支拡張・壁肥厚	2例
◆ 胸腺過形成	1例

表 6. 所見が軽快・消失した 9 例

◆ すりガラス影＋粒状影	2例
◆ すりガラス影	2例
◆ 結節影	1例
◆ びまん性肺気腫	3例
◆ 胸膜プラーク	1例

次に、本研究の対象者において施行されたベリリウム末梢血リンパ球幼若化試験の結果と今回の画像所見について検討を行った。リンパ球幼若化試験の詳細は豊岡達士研究協力者による平成 28 年度ならびに本報告書を参照いただきたい。今回リンパ球幼若化試験が陽性となったのは 16 例 (18.8%) だった。表 7 に検査陽性症例の画像所見を示す。画像所見に異常を認めなかった症例は 4 例で 1 例 (No.11) は昨年度すりガラス影と粒状影を認めていたが今回消失していた。慢性ベリリウム肺に頻度が高く観察されると考えられる粒状影やすりガラス影を呈していた症例は 5 例で、このうち今回新たに所見が出現したのは 2 例 (No.3、No.9) であった。

表 7. リンパ球幼若化試験 (BeLPT 陽性) と CT 所見の比較

	平成29年度CT所見	以前の Be-LPT	本研究の Be-LPT
1	すりガラス影	—	+
2	所見なし	±	+
3	粒状影、リンパ節腫大	—	+
4	結節影	+	+
5	慢性ペリリウム肺症例	+	+
6	肺気腫、索状影	+	+
7	胸腺過形成	±	+
8	所見なし	+	+
9	すりガラス影	+	+
10	溶接工肺 (疑い)、すりガラス影、網状影、粒状影、リンパ節腫大	+	+
11	所見なし	+	+
12	すりガラス影、網状影、粒状影、リンパ節腫大、気管支壁肥厚	+	+
13	結節影、リンパ節腫大	±	+
14	所見なし	—	+
15	肺気腫、肺嚢胞	+	+
16	慢性ペリリウム肺症例	+	+

すでに慢性ペリリウム肺と診断されている 3 例のうち 1 例がのみ検査陰性であった。この症例は以前のリンパ球幼若化試験では陽性で現在ステロイド加療がなされているところである。図 1 に示したように、ステロイド治療 9 か月後の胸部 CT では、異常所見が軽快していることから検査陰性になったものと考えられた。

図 1. ステロイド加療により軽快している症例

参考情報：平成 X 年 Y+5 月、ステロイド治療 (30mg/日) が開始。

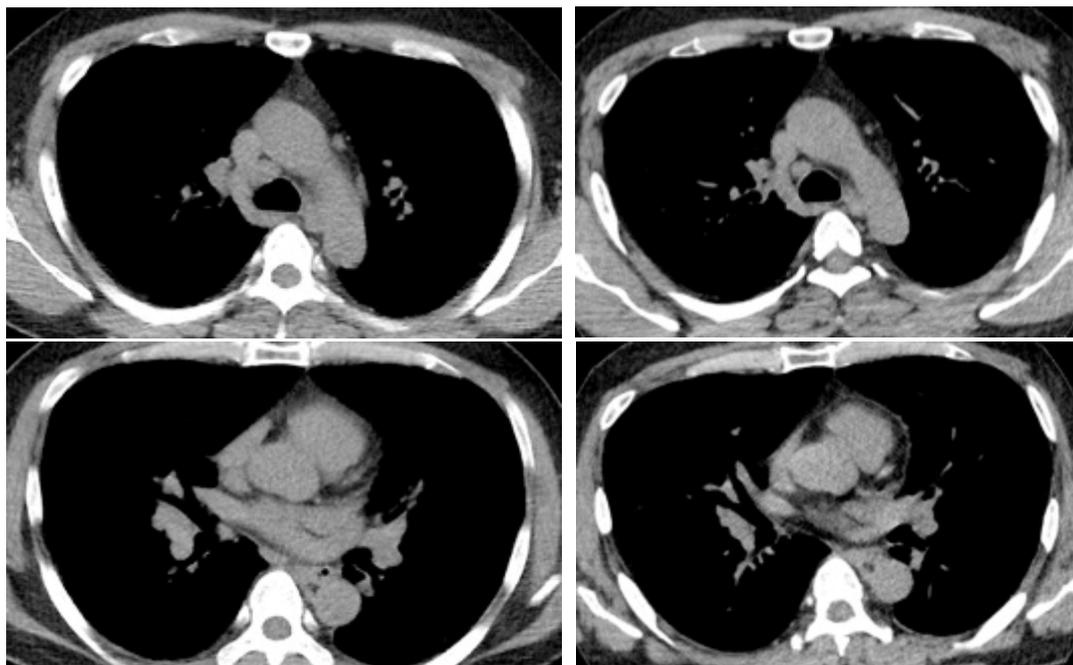
その後、ステロイドは漸減され、平成 X 年 Y+10 月時点で 10mg/日投与中。

胸部 CT 【平成 X 年 Y 月】

【平成 X 年 Y+9 月】

縦隔条件 (低線量 画像再構成厚 5mm)

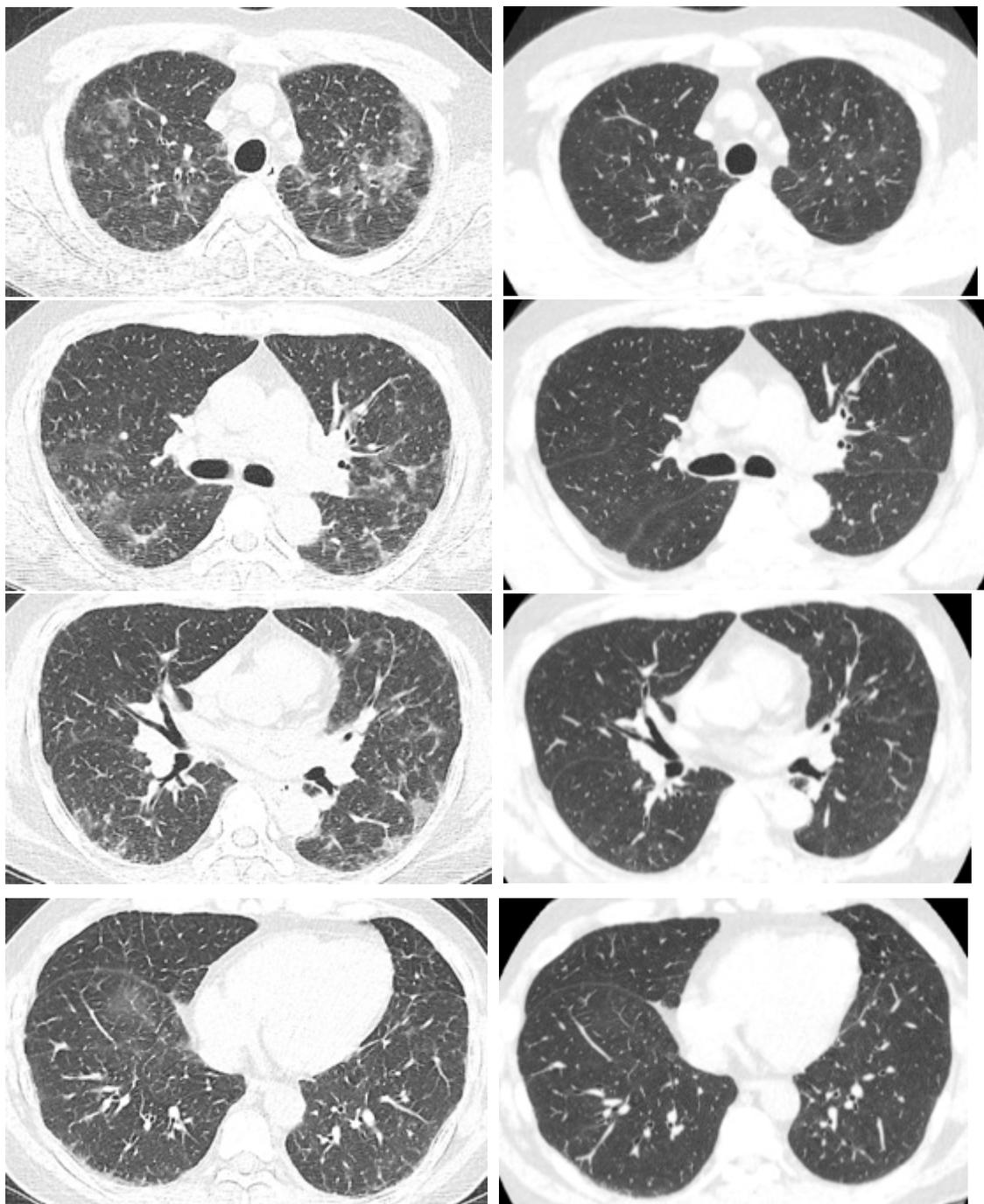
縦隔条件 (低線量 画像再構成厚 1.25mm)



平成 X 年 Y 月で認められた縦隔・両側肺門リンパ節腫大は軽快している。

肺野条件（低線量 画像再構成厚 2.5mm）

肺野条件（低線量 画像再構成厚 1.25mm）



平成 X 年 Y 月の CT では、両側上葉を主体に斑状のすりガラス影が多発性に認められていたが、平成 X 年 Y+9 月は、画像再構成厚や再構成関数が異なるものの明らかに改善している。また、小葉中心性の淡い粒状影や小葉間隔壁の肥厚、気管支壁の肥厚所見も認められていたが、今回はっきりしなくなっている。

他方で、比較対象として慢性ベリリウム症のうち、ステロイド加療をせず経過観察としている症例の CT 所見を図 2 に示す。

図2. ステロイド加療がされていない症例

胸部 CT【平成 X 年 Y 月】

【平成 X 年 Y+9 月】

縦隔条件（通常線量 画像再構成厚 5mm）

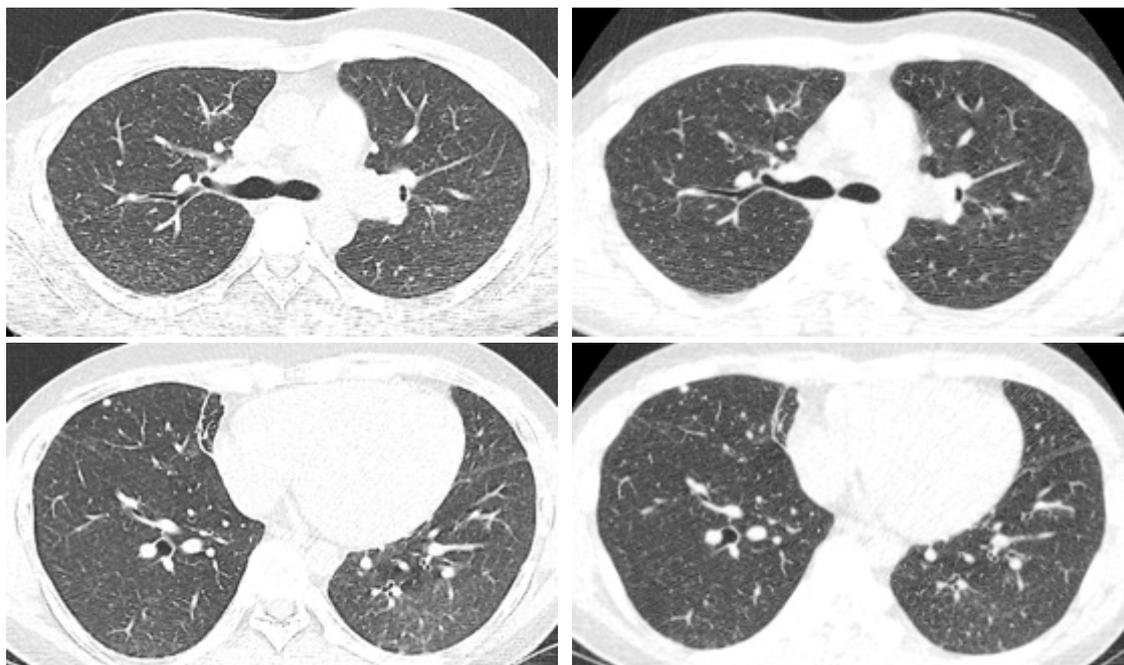
縦隔条件（低線量 画像再構成厚 1.25mm）

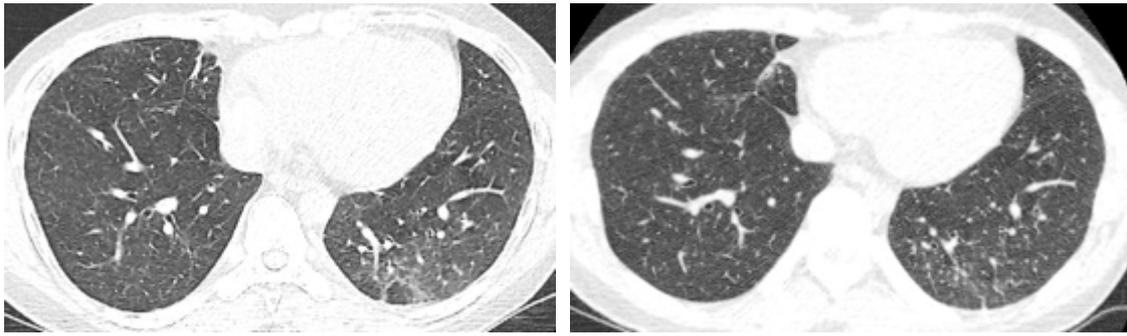


縦隔・両側肺門リンパ節腫大が認められ、平成 X 年 Y+9 月の CT 所見は平成 X 年 Y 月と大差見られない。

肺野条件（低線量 画像再構成厚 2.5mm）

肺野条件（低線量 画像再構成厚 1.25mm）





平成 X 年 Y+9 月の CT では、平成 X 年 Y 月同様、左下葉にすりガラス影が認められる。また、両側下葉を主体に小葉中心性の淡い粒状影がみられるが、今回の画像再構成厚はより薄いためか、より目立つ印象である。平成 X 年 Y 月の画像で、葉間を含めた胸膜下に多角形の小结節（肺内リンパ節疑い）が多数認められていたが、これらも大きな変化はみられない。

【考 察】

慢性ペリリウム肺では自覚症状の出現前に微細な陰影を呈することが知られている。本研究では、早期病変の有無を確認することを目的にペリリウム作業従事者に対して年 1 回胸部 CT 検査を行っている。今回は平成 28 年度と平成 29 年度の胸部 CT 読影結果を比較した。何らかの所見を有していた症例は平成 28 年度 40 例（44.4%）、平成 29 年度は 42 例（48.8%）で大きな変化はなかった。しかし、平成 29 年度は低線量 CT のノイズ低減のため逐次近似画像再構成法を用いた影響で病変の有無が判断しにくい所見があった。具体的にはすりガラス影、粒状影と気腫性変化の有無であった。平成 28 年度報告書にて低線量 CT 読影の問題点を指摘されていたため、画像再構成法の条件を可能な限り適切に設定して施行したが、すりガラス影と粒状影の判断は困難な症例があった。これらの所見は慢性ペリリウム肺の早期所見として重要であるため、平成 30 年度の撮影条件、画像再構成法は再検討が必要と考えられる。

個々の症例での比較検討では約 40%の症例に何らかの所見の変化がみられていた。なかでも変化の多かった所見は結節影、びまん性肺気腫、すりガラス影、粒状影であった。特にすりガラス影と粒状影は新規出現もしくは軽快・消失ともに多く認められていた。これは一過性の炎症性変化を見ているものかペリリウムばく露に関連した陰影なのか判断が難しい。さらに前述の画像再構成法の影響もあって解釈が困難となっている。現時点では経過観察を継続して判断するほかないと考えられる。

末梢血リンパ球幼若化試験の結果、陽性症例 16 例（18.8%）のうち 2 例が慢性ペリリウム肺症例で、その他に 10 例が何らかの所見を有していた。慢性ペリリウム肺を強く疑うほどの所見ではないが、すりガラス影、粒状影を認めた症例は 5 例あり今後も注意深く経過観察する必要があると思われた。リンパ球幼若化試験が陰性の症例でも同様の所見を認めた症例もあり、これらも可能な限り検査継続が望ましいだろう。

また、慢性ペリリウム肺患者のステロイド治療は、一般には自覚症状があり肺機能低下

が証明された患者において開始されるが、慢性ペリリウム肺症例の CT 所見の比較検討を行ったところ、ステロイド治療により改善されていることが分かったことから、自覚症状がなくても線維化などの非可逆的な変化を来す前に、早期の治療介入が有用であることが示唆された。もう一方の症例についても、自覚症状がなく画像上の進行が確認されていないが、今後も胸部 CT を含めて画像による定期的な経過観察が必要と考えられる。

最後に、今回の検討にて低線量 CT 検査は胸部病変の検出に有効であると考えられたが、一部の所見に偽陽性、偽陰性を生じる可能性もあることが分かった。撮影条件や画像再構成法を再検討し、平成 30 年度の検査に備えていく予定である。また、経年的な経過観察によって得られる情報を解析し、今後のペリリウムばく露者の適切な健康管理に有用な知見が得られるよう努力したい。

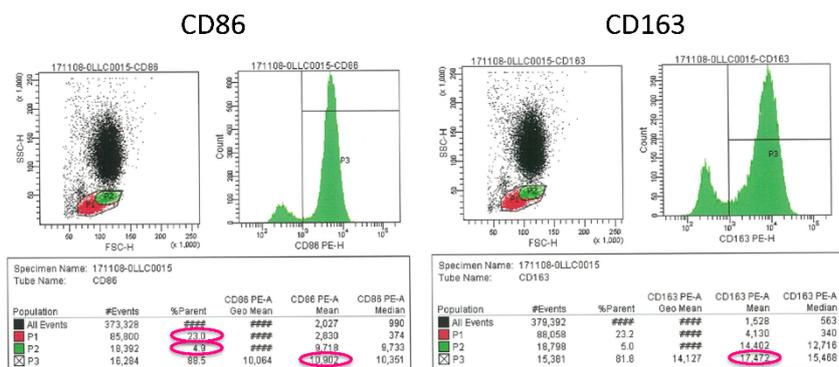
ベリリウムばく露者の免疫機能解析 -全例解析結果-

大槻 剛巳

前年度までに慢性ベリリウム症患者 4 症例の末梢血単核球 (PBMC) の免疫機能解析を行い、単球上 CD86, CD163 発現量及び血中 IL-4 濃度における特徴的变化を捉えた。そこでベリリウム (Be) ばく露者の末梢血を検体として単球比率 (%)、単球上 CD86, CD163 発現量及び血中 IL-4 濃度を測定し、Be ばく露者内での集団分布を解析した。測定は日本 SRL 社に委託し 85 例について測定結果の報告を受けた。

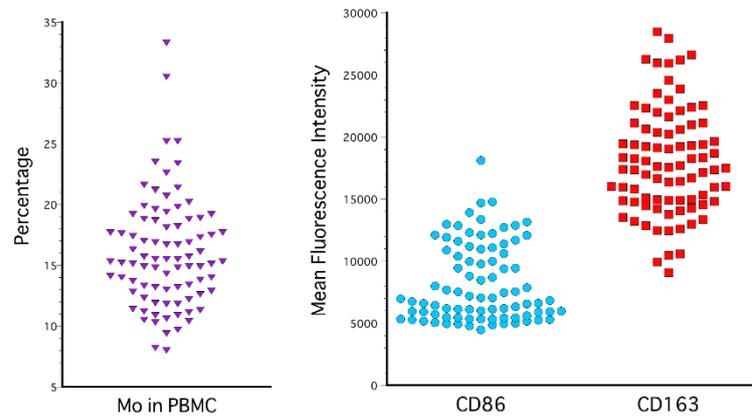
ヘパリン採血管と血清分離剤入り採血管にそれぞれ採血され、前者は単球比率 (%)、単球上 CD86, CD163 発現量、後者は血中 IL-4 濃度の測定に用いられた。得られた結果について、群間比較や多変量解析により BeLPT 陰性・陽性者間における差異を調べた。

単球比率・単球上細胞表面分子 (手順・内容)



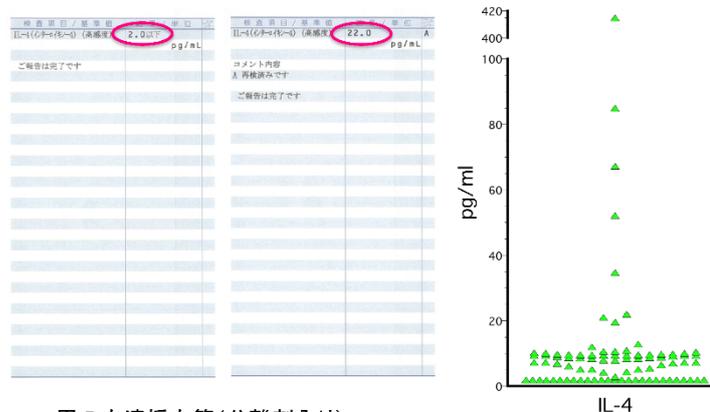
- CD86、CD163用のヘパリン採血管:5mL(室温保存、当日発送)
- 溶血後の白血球成分を解析←前年度のCBD症例解析と異なる
- Flow cytometry (蛍光標識抗体)
- Mono% in PBMC = [P2%]/[P1%]x100
- CD86 mean fluorescence intensity (MFI)
- CD163 MFI

単球比率・単球上細胞表面分子（結果）



ヘパリン採血管血液から溶血処理により白血球成分を分取し PE 標識抗 CD 86 または抗 CD 163 抗体で染色したのち flow cytometry で解析した。FSC, SSC の 2D プロットより末梢血単核細胞 (PBMC) 集団を特定しこれを 100%として単球集団の比率%を算出した。単球の CD86 と CD163 の表面発現量の比較には mean fluorescence intensity (MFI) を用いた。単球%及び CD163MFI の値は集団において一様の広がりを示したが、CD 86MFI は高値群と低値群に分かれる集団の特徴を示した。

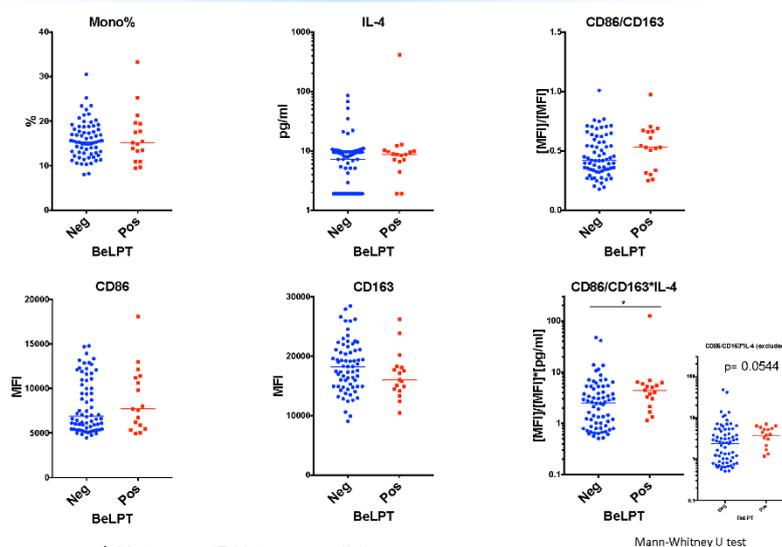
血清中IL-4濃度



- IL-4用の血清採血管(分離剤入り):3mL
- 血清分離、凍結保存、0.3mL以上
- CLEIA (Chemiluminescent enzyme immunoassay)←前年度CBD症例はluminex
- 一部は < 2.0 pg/ml(測定限界以下)、便宜 1.9 pg/mlを充てた

血清分離剤入り採血管に採取した血液より分離した血清を凍結保存したのち、chemiluminescence enzyme immunoassay (CLEIA) により血清中 IL-4 濃度が測定された。検査結果は濃度 2.0 pg/ml 未満については測定限界以下のため値不明であったが、統計解析に適用するため当該検体については便宜 1.9 pg/ml の濃度を充てた。IL-4 濃度は高値群 (約 20 pg/ml 以上)・低値群 (20 pg/ml 未満)・測定限界以下の 3 群に分かれる特徴を示した。

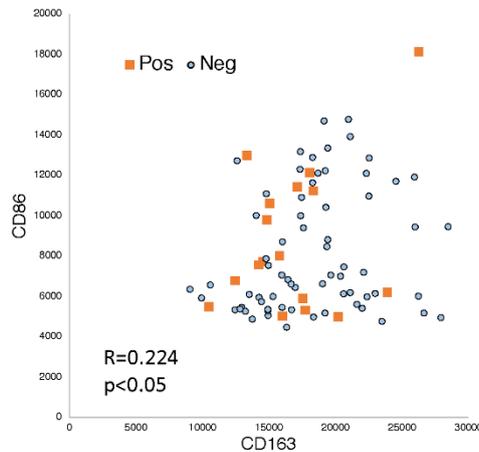
BeLPT陰性・陽性者の群間比較



- BeLPTの陰性(Neg)・陽性(Pos)で群分け
- 各項目単独では群間に統計学的有意差無し
- CD86, CD163, IL-4を統合したスコア値(CD86/CD163*IL-4)はPos群で有意に高い 10

被検集団の単球上 CD86MFI や血清中 IL-4 濃度は一様の広がりではなく幾つかの集団に分かれる特徴を示し、集団内の不均質性を示唆した。そこで、被検集団を BeLPT 陽性者・陰性者に分け、両群間で各測定値を比較した。単球比率(%)、単球上 CD86MFI、CD163MFI、血清中 IL-4 濃度のいずれについても群間で有意な差は見られなかった。しかし、中央値については BeLPT 陽性群では CD86MFI が高く、CD163MFI は低く、IL-4 濃度は高い傾向を示した。そこで、被検体毎にスコア値： $[\text{CD86, MFI}]/[\text{CD163, MFI}] * [\text{IL-4, pg/ml}]$ を算出し比較したところ、BeLPT 群は有意に高いスコア値を示した。

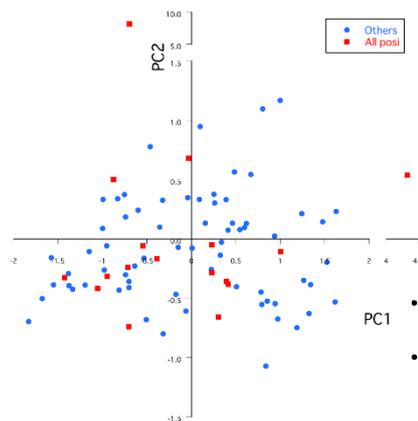
CD86とCD163の相関性



- CD86とCD163発現量は正相関性を示す
- BeLPT-Pos群・Neg群間で分布の差異は見られない

主成分分析

	主成分負荷量 Principal component loading	
	PC1	PC2
CD86mfi	0.729	-0.24
CD163mfi	0.685	0.028
Mono_in_PBMC	0.588	0.384
IL4	-0.077	0.918



- 4つの変数は2つの主成分とすることが可能
- しかし、BeLPT陽性群をそれ以外は区別されない

次に、相関解析及び多変量解析から被検集団の特徴を調べた。単球上 CD86MFI と CD163MFI は有意な正相関性を示した。このとき、BeLPT 陰性者・陽性者で集団分布の特徴を見たが、集団間での分布の差異は確認されなかった。そこで、測定した 4 因子 (変数) から理解できる被検集団内の免疫学的特徴を全体的に把握し、BeLPT 群間で比較するために主成分分析を行った。主成分分析により 4 つの変数から 2 つの主成分を抽出され、第一主成分 (PC1) には CD86MFI, CD163MFI, 単球%が、第二主成分 (PC2) には IL-4 濃度

が正に寄与することが分かった。2つの成分 PC1 と PC2 による 2D プロットは被検集団の第一象限から第四象限に渡る幅広い分布を示した。しかしながら、BeLPT 陽性者はその他（陰性者）と区別されるような集団分布の特徴を示さなかった。

解析結果はいくつかの集団内の免疫学的特徴を示した。単球上 CD86 発現量は症例内で 2 群に分かれる傾向を示し、CD86 発現量は CD163 と有意な正相関性を示した。BeLPT 陰性・陽性で比較したとき、群間において各測定項目の有意差は見られなかったが、3 項目を包含したスコア値 ($[\text{CD86 MFI}]/[\text{CD163 MFI}] \times [\text{IL-4 pg/ml}]$) は BeLPT 陽性群で有意に高値を示した。他方、主成分分析の結果は、単球%・CD163 発現量・CD86 発現量の負荷が大きい PC1、血中 IL-4 濃度の負荷が大きい PC2 を導いた。しかし、PC1 と PC2 で 2D プロット図を作成し BeLPT 陰性・陽性で比較したとき、両群は類似に分布し差異は見られなかった。以上の結果は、被検集団内において明確な免疫学的差異をもつ集団の存在を示す事ができなかったものの、包含したスコア値が BeLPT 結果と関連することが分かったように、集団内において Be ばく露と関連する免疫機能動態の存在を示唆する。Be 感作及び CBD と HLA ハプロタイプの間わりは知られているところ^{(1),(2)}であるが、これと関連する、あるいはまた別の特徴として、Be ばく露の免疫学的影響があるかもしれない。今後の末梢血中免疫細胞の更なる機能動態の解析から CBD に関連する免疫機能異常の解明、及び診断指標の構築が期待される。

[参考文献]

1. T Cell Recognition of Beryllium Curr Opin Immunol. 2013 December ; 25(6): . doi:10.1016/j.coi.2013.07.012.
2. An Official American Thoracic Society Statement: Diagnosis and Management of Beryllium Sensitivity and Chronic Beryllium Disease. Am J Respir Crit Care 2014, 15;190(10):e34-59

労災疾病臨床研究事業

職場における化学物質の感作性障害に対する防止措置と
健康管理の有効性に関する研究

平成 29 年度 総括・分担研究報告書

平成 30 年 3 月 31 日発行

発行：研究代表者 岸本 卓巳

〒702-8055 岡山市南区築港緑町 1-10-25
独立行政法人 労働者健康安全機構 岡山労災病院