

令和 4 年 6 月 2 日現在

機関番号：23903

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22770

研究課題名(和文) 気体である揮発性有機化合物の皮膚への反復曝露による接触皮膚炎発症の解明

研究課題名(英文) Examination of skin damage after chronic exposure to gaseous volatile organic compounds in relation to contact dermatitis

研究代表者

伊藤 由起 (Ito, Yuki)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・准教授

研究者番号：80452192

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：2-エチル-1-ヘキサノール(2EH)は、長期的に比較的高濃度で室内空気中に検出される事例が日本中で報告されている物質であり、シックビル症候群(SBS)の原因物質の1つである。SBSでは、鼻、喉、目などの症状に加え、皮膚症状を訴える症例が数%報告されている。2EH反復曝露により皮膚症状が生じるか、2EH慢性吸入曝露マウスの皮膚を評価した。2EH曝露開始22週目からマウス臀部から背中にかけて紅斑、脱毛と皮膚硬化、表皮の肥厚を有する個体が増加したが、真皮の変化とは一致しなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

建築資材等から放出される揮発性有機化合物によるシックビル(シックハウス)症候群(SBS)は未だ重要な健康課題である。中でも2-エチル-1-ヘキサノール(2EH)は、長期的に比較的高濃度で室内空気中に検出される事例が日本中で多数報告されている物質である。研究が十分とは言えないため、室内の2EH濃度については室内濃度指針値が定まっていない。本研究は指針値作成の一助となると考える。

研究成果の概要(英文)：Non-regulated compound 2-ethyl-1-hexanol (2EH) of which indoor concentrations are sometimes relatively high has been reported to be associated with sick building syndrome (SBS). A few SBS patients complain of skin symptoms as well as nasal, ocular, and throat symptoms. We examined whether or not 2EH chronic exposure causes skin damage. Inhalation exposure to 2EH increased erythematous area, hair loss, dermal sclerosis, and epidermal thickness in the dorsal area after 21-week exposure to 2EH, however, these changes are independent of dermal changes.

研究分野：衛生学

キーワード：2-エチルヘキサノール

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

揮発性有機化合物 (VOC) によるシックハウス症候群 (シックビル症候群, SBS) 患者においては、鼻やのどの不調、頭痛、結膜刺激、めまい、倦怠感等に加え、アレルギー性の皮膚症状を引き起こすことが知られており (米国環境保護庁)、本邦における職場環境調査においても皮膚症状有症率は冬期で 4.5%、夏期では 2.2%と報告されている (大澤ら、2012)。

このような所見が報告されているにも関わらず、気体である VOC 曝露と皮膚症状との関係追及は置き去りになっている。環境中化学物質によるアレルギーに関しては、触れた部位において接触皮膚炎を引き起こすことが知られているが、ガスや蒸気に曝露した場合におきる皮膚症状については、金属による皮膚炎の報告 (Jaeger et al., 1979; Candura et al., 20001) 以外ほぼ皆無であり、VOC による報告はヒトのケラチノサイトの不活性化を示した論文 (Dezest et al., 2017) があるのみである。

我々は、近年 SBS の原因として注目されている 2-エチル-1-ヘキシル (2EH) の長期吸入曝露実験を行う中で、2EH 曝露開始から 4~5 か月経過頃から皮疹が増加することを発見した。飼育時の喧嘩や咬傷によるものではないことは確認済みである。

### 2. 研究の目的

本研究では、これまで SBS の症状として知られていながら、VOC との因果関係が明らかではなかった皮膚症状について、1) VOC の 1 つである 2EH の経皮反復曝露が接触皮膚炎を惹起するかを明らかにし、2) 接触皮膚炎を引き起こしている場合、その発症機序を解明することを目的とした。

今回用いた 2EH は、全国でも比較的高濃度で検出される事例が日本全国で多数報告されている化学物質である。新築時よりも経年変化で濃度が上昇するという特殊な室内空気汚染物質であり、実際の環境下においても慢性的に曝露する可能性のある物質である。

### 3. 研究の方法

9週齢の雄 ICR マウスを 1週間馴化した後、10週齢の雄 ICR マウスに、0 (清浄空気)、0.5、10、100 ppm の 2EH を 8時間/日、5日/週、6ヶ月間、全身型の吸入曝露装置を用いて 2EH を曝露した。2EH はバブリング法で気化させて用いた。チャンバー内の 2EH 濃度は、チャコールチューブにより捕集し、二硫化炭素で溶出させ、ガスクロマトグラフ-質量分析計にて測定した。週に 1度、体重測定時に皮膚の状態を記録した。6ヶ月曝露終了後、4%パラホルムアルデヒドで還流固定を行った後、背中 of 皮疹部分 (皮疹観察された場合のみ、肉眼的に一番顕著な部分) に加え、頸背部、腹部を病理用サンプルは 1.5cm 四方に切り取り、伸ばした状態で、固定液内に浸した。パラフィン包埋を行い、横断面をマイクロームで厚さ 5  $\mu\text{m}$  に薄切した。皮膚組織の観察には、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し、角質層、顆粒層、有棘層それぞれの形態変化、炎症細胞浸潤の有無、アポトーシスの有無などを中心に観察した。特に、接触皮膚炎で観察される海綿状変化と呼ばれる表皮細胞間浮腫の有無を確認した。

また、真皮の細胞の同定のために、CD45、及び線維芽細胞に分布する細胞骨格タンパクであるビメンチンに対する抗体を一次抗体とする免疫染色を行った。ヒストファインシンプルステイン (ニチレイバイオサイエンス) で発色させた。

#### 4. 研究成果

20 週経過時には 2EH 低濃度曝露群では 19 匹中 5 匹、高濃度群では 19 匹中 8 匹が皮疹を発症しており、対照群の 19 匹中 1 匹に比べて統計学的に有意であった (Fisher の正確検定  $p < 0.05$ )。マウス臀部から背中にかけて紅斑を中心とする皮疹を有する個体が多かった。腹側には見られなかった。マウスは曝露中背中を丸めて固まっていることが多いため、2EH の気中曝露が皮膚の形態に影響を与えることが示唆された。また、脱毛と皮膚硬化が観察された。

皮疹部分の表皮は、濃度依存的に表皮有棘層の肥厚が増大し、また 2EH 10、100 ppm 曝露群の真皮の血管の拡張が見られた。角質層、顆粒層には明らかな変化は見られなかった。また、接触皮膚炎で観察される海綿状変化と呼ばれる表皮細胞間浮腫は観察されなかった。

真皮には、線維芽細胞などの皮膚の構成細胞が増加する傾向が見られたが、CD45 陽性の白血球の浸潤は見られなかった。皮疹がほとんど観察されなかった頸背部について、表皮肥厚が 0.5 ppm 群 7 匹中 1 匹、100 ppm 群 6 匹中 3 匹見られ、皮膚の構成細胞の増加は 0.5 ppm 群で 7 匹中 1 匹、10 ppm 群 7 匹中 2 匹に見られた。真皮の変化と外観上の皮疹の度合いは一致しなかった。

腹部の皮膚は、どの群にも変化は見られなかった。

以上により、2EH の吸入曝露実験において、皮膚の表皮及び真皮に病理組織学的変化が現れることがわかった。また、部位により変化の有無が異なっており、吸入曝露による全身影響の可能性は低いと考えられた。

VOC の 1 種である 2EH の長期曝露により観察された皮疹は、当初予想していた接触性皮膚炎である可能性は低いと考えられた。2EH の皮膚刺激性は僅かであると報告されている (Scala et al., 1973)。皮膚感作性については報告がなく、今後マウスを用いた感作性試験である Local Lymph Node Assay 法を、ポジティブコントロールであるジニトロクロロベンゼンまたはヘキシルシンナムアルデヒドを用いて行う必要がある。

いずれにしても、上記の通り、VOC 曝露と皮疹に関する報告は皆無である。SBS の原因となる多くの VOC と異なり、2EH は床材に含まれる可塑剤が加水分解を起こすことにより発生するため、新築時よりも経年変化で濃度が上昇するという特殊な室内空気汚染物質である (Sakai et al., 2006)。したがって、実際の環境下においても慢性的に曝露する可能性のある物質であり、今回観察された皮疹の発生機序について、今後も更なる研究が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Wakayama T, Ito Y, Miyake M, Nomasa K, Sakai K, Oya N, Sato H, Ohno H, Kamijima M	4. 巻 59
2. 論文標題 Inhalation exposure to 2-ethyl-1-hexanol causes hepatomegaly and transient lipid accumulation without induction of peroxisome proliferator-activated alpha in mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Industrial Health	6. 最初と最後の頁 383-392
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2486/indhealth.2020-0252	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 伊藤由起、三宅美緒、大矢奈穂子、佐藤博貴、若山貴成、上島通浩
2. 発表標題 2-エチル-1-ヘキサノール慢性吸入曝露によるマウス皮膚の形態変化と線維芽細胞の集積
3. 学会等名 第94回日本産業衛生学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 三宅美緒、伊藤由起、大矢奈穂子、佐藤博貴、若山貴成、上島通浩
2. 発表標題 2-エチル-1-ヘキサノール慢性吸入曝露によるマウス皮膚への影響
3. 学会等名 第93回日本産業衛生学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Miyake M, Ito Y, Oya N, Sato H, Wakayama T, Kamijima M.
2. 発表標題 Time course of olfactory epithelium damages after cessation of inhalation exposure to 2-ethyl-1-hexanol in mice
3. 学会等名 International Congress of Toxicology XV. (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Wakayama T, Ito Y, Miyake M, Sakai K, Oya N, Sato H, Ohno H, Kamijima M.
2. 発表標題 Hepatic lipidosis after inhalation exposure to 2-ethyl-1-hexanol in mice.
3. 学会等名 ISES-ISIAQ 2019 annual meeting. (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三宅美緒、伊藤由起、大矢奈穂子、佐藤博貴、若山貴成、上島通浩.
2. 発表標題 2-エチル-1-ヘキサノール慢性吸入曝露によるマウス皮膚への影響.
3. 学会等名 第93回日本産業衛生学会 誌上発表
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	三宅 美緒  (Miyake Mio)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------