

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：23903

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2022

課題番号：18K19691

研究課題名（和文）トリクロロエチレン過敏症症候群（重症薬疹様皮膚肝障害）の発症前診断法開発の試み

研究課題名（英文）Investigation into early detection and prevention of trichloroethylene hypersensitivity syndrome

研究代表者

上島 通浩（Kamijima, Michihiro）

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・教授

研究者番号：80281070

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：有機溶剤トリクロロエチレン(TCE)による職業病の1つに、重症薬疹に酷似する全身性皮膚・肝障害（過敏症症候群、以下HS）がある。死亡など重篤な結果を招きやすいTCE-HSの発症には感受性遺伝子(HLA-B\*13:01)が関与し、曝露管理を中心とする従来の労働衛生対策では十分な予防が困難と本研究提案時には思われていた。本研究により、TCE-HSの発症リスクはTCEの尿中代謝物（トリクロロ酢酸）の濃度が15 mg/L超で大きく上昇すること、すなわち曝露量管理が疾患発生の予防に必要であることが解明された。また、代謝酵素チトクロムP450への血清自己抗体レベルが曝露により上昇することが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

1. 本研究によって曝露量の管理がTCE-HSの発生予防に必要なことが明らかになり、日本産業衛生学会がTCEの許容濃度（尿中トリクロロ酢酸の生物学的許容値）を従来の50 mg/Lから10 mg/Lに引き下げる改訂の根拠となった。
2. TCEへの曝露により血清チトクロムP450（CYP2E1）自己抗体が上昇し、CYP2E1との免疫複合体形成がTCE-HS発症の機序である可能性が、感受性遺伝子HLA-B\*13:01が自己抗体上昇に関与しないこととともに明らかになった。すなわち、自己抗体を産生させない曝露管理が発症予防に有用であるという、有機溶剤中毒予防の領域で新しい概念を打ち立てた。

研究成果の概要（英文）：Occupational exposure to trichloroethylene (TCE) can cause generalized skin disorder accompanied with severe hepatitis (hypersensitivity syndrome, TCE-HS), which resembles severe adverse cutaneous reactions to drugs. Traditional occupational safety measures focusing on controlling TCE exposure concentrations were considered not effective to enough prevent TCE-HS since a susceptibility gene (HLA-B\*13:01) is involved in the occurrence of the disease. This study project clarified that the risk of the occurrence markedly increased at exposure levels higher than 15 mg/L of urinary trichloroacetic acid, regardless of whether the patient had the gene, which means that reduction in the exposure is necessary to prevent TCE-HS. The project also clarified that serum anti-CYP2E1 IgG autoantibody levels increased by the TCE exposure.

研究分野：衛生学

キーワード：トリクロロエチレン リング 尿中代謝物 過敏症症候群 許容濃度 薬剤性過敏症症候群(DIHS) 自己抗体 CYP2E1 生物学的モニタ

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

有機溶剤トリクロロエチレン(TCE)を使用する労働者に発生する職業病のひとつに、重症薬疹に酷似する重篤な全身性皮膚・肝障害(過敏症症候群 hypersensitivity syndrome、以下 TCE-HS)がある。この疾患は、1) TCE 曝露作業への従事開始後、平均1か月で曝露量がほぼ同じ同一職場の作業者の1%以下のみが発症する、2) 皮疹は全身に生じ、発熱、白血球増多、表在リンパ節腫脹、劇症型肝障害を伴う、3) 体内に潜伏感染するヒトヘルペスウイルス6型が再活性化する点で、重症薬疹の1タイプである薬剤性過敏症症候群と病態が共通する、4) 感受性遺伝子としてHLA-B\*13:01がリスク要因として報告されている、という特徴を有する。患者発生への報告はTCEに職域曝露する人口の多い中国を中心に1990年代以降急増し、我が国でも複数の症例報告がなされている。TCE-HSの病態や患者が発生する職場の曝露実態は明らかになってきた一方で、患者が中毒疹等として潜在している可能性もあり、疾患発生への対処が強く望まれる状況にあった。

## 2. 研究の目的

TCE-HSは感作性疾患であるため、有機溶剤曝露作業における従来の労働衛生対策、すなわち、TCEの許容濃度等の設定による曝露管理では発症を十分に予防できない、という意見が根強くあることを踏まえ、本研究では、発症の早期診断が可能な臨床検査項目開発に結びつく、TCE-HSの病態解明をめざした。

## 3. 研究の方法

本研究のヒトを対象とした部分については、名古屋市立大学医学系研究倫理審査委員会及び研究分担・協力機関の倫理審査委員会の、また、動物実験については実施施設の動物実験に係る規程にしたがって行った。

### 3-1. 患者のTCE作業終了後の曝露量(尿中トリクロロ酢酸(TCA)濃度)の推定および曝露量に応じた発症リスクの解明

TCE-HS患者107人のうち作業終了後14日以内に採尿した患者37人を選び、当該集団の尿中代謝物であるTCA濃度の生物学的半減期83.7時間<sup>1)</sup>を用い、作業終了時の尿中TCA濃度を推定した。対照者として、患者発生地域における患者発生工場を含む12工場の非発症曝露作業員180人から患者と性・年齢で1:2-1:3でマッチさせた97人を選定し、作業終了時の尿中TCA濃度を解析に使用した。患者、非発症曝露作業員ともにバッフィーコートまたは全血からDNAを抽出し、HLA-Bアレルのエクソン2、3のPCR増幅を行い、HLA-B遺伝子型を決定した。尿中TCA濃度またはHLA-BアレルとTCE-HSの関連について、飲酒、喫煙を調整した条件付き多重ロジスティック解析を行った。

### 3-2. モルモットを用いた検討

Hartleyモルモットを用いた感作試験(マキシミゼーションテスト)を実施した。モルモットを8群に分け、TCE、TCE代謝物であるトリクロロエタノール、TCAの曝露実

験群（以上の3群はn=10）、TCE、トリクロロエタノール、TCAの溶媒対照群（以上の3群はn=5）、陽性対照群（2,4-ジニトロクロロベンゼン投与群、n=5）、ブランク群（n=5）に割り付けた。対象化合物を皮内注射してその7日後に、曝露実験群は対象化合物を、溶媒対照群は溶媒（オリーブオイルまたは生理食塩水）のみをパッチテストにより投与し、2回目の感作誘導とした。初回投与の21日後、対象化合物のチャレンジパッチテストを行い、23日目に皮膚の感作性を確認した。血清肝逸脱酵素測定とともに、皮膚と肝については組織病理学的評価を行った。

次に、TCEの主要代謝酵素であるCYP2E1の阻害薬の投与量を文献に基づき検討した。複数用量段階、複数の投与回数パターンを設定し、この量の投与に動物が耐えるかを、また代謝が実際に抑制されるか尿中TCAの測定により検討する予備実験を行った。そして決定した投与量のもと、TCEとともに阻害薬を与える本実験を行い、皮膚所見を含む各種評価指標を生体試料とともに得た。

### 3—3. 血中のチトクロム P450 自己抗体の測定

TCE-HS患者80名、曝露開始後66日以内の非発症曝露作業員（TCE耐性曝露者TCE-TTC）186名、TCE非曝露者（TCE-nonEC）71名の血清のCYP2E1抗体（自己抗体）IgGをELISA法で測定した。CYP2E1発現ベクターを作成・動物細胞に導入し、抽出後免疫沈降法で精製したCYP2E1タンパク質を用い、これに対する抗CYP2E1抗体(IgG)が非発症作業員の血清中に存在するか、ELISA法で測定した。

## 4. 研究成果

### 4—1. 患者のTCE作業終了後の曝露量（尿中トリクロロ酢酸(TCA)濃度）の推定および曝露量に応じた発症リスクの解明

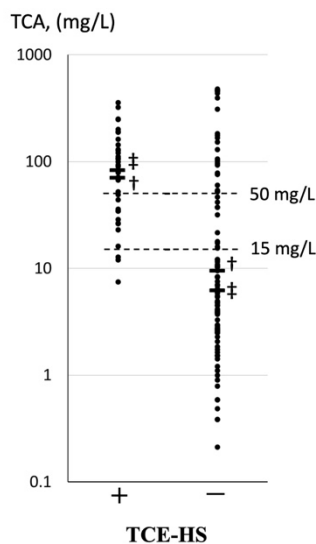


図1. 患者群（+）と非発症曝露作業員群（-）の尿中TCA濃度

患者群（男性18人（年齢 $25.2 \pm 6.7$ 歳）、女性19人（年齢 $22.7 \pm 5.9$ 歳））の尿中TCA幾何平均（中央値）濃度は70.3(82.4)mg/L、非発症曝露作業員（男性45人（年齢 $25.3 \pm 6.3$ 歳）、女性52人（年齢 $23.3 \pm 6.1$ 歳））の尿中TCA濃度は9.5(6.2)mg/Lで、両群の濃度間には有意差がみられたが濃度分布には重なりがみられた（図1）。

そして、TCA濃度と感受性遺伝子である $HLA-B*13:01$ <sup>2)</sup>を相互に補正したオッズ比を求めた。尿中TCA濃度15mg/L以下を参照カテゴリとした時、オッズ比は15mg/L超-50mg/L以下で33.4(95%信頼区間4.1-270.8)、50mg/L超で34.0(同5.3-217.1)であった。一方、 $HLA-B*13:01$ 非保有者に対する保有者のオッズ比は、11.0(95%信頼区間2.4-50.7)であった。 $HLA-B*13:01$ と尿中トリクロロ酢酸濃度の交互作用は認められなかった

( $p=0.550$ )。TCE曝露に $HLA-B*13:01$ 遺伝子多型が加わるとHS発症のリスクが高まるが、曝露は感受性遺伝子とは独立したリスク要因であり、発症予防のために第一に求められることは、曝露濃度（曝露量）の低減であることが明らかになった。

#### 4-2. モルモットを用いた検討

感作率は TCE 群で 90.0%、トリクロロエタノール群で 50.0%、TCA 群では 0.0% であった。TCE およびトリクロロエタノールの曝露実験群では真皮への好酸球浸潤を伴うさまざまな程度の皮膚紅斑を生じた。紅斑を生じた個体では、血清 ALT、 $\gamma$ -GTP 値が溶媒対照群に比べ有意に上昇した。また、肝にはリンパ球浸潤を伴う巣状壊死が生じた。これらの変化は TCA では生じなかった。すなわち、TCE はモルモットにおいて皮膚感作性を有することが示され、トリクロロエタノールも免疫系を介する皮膚感作を生じることが示された。福地らは日本人の TCE-HS 患者の皮膚生検をしており、真皮上皮層のリンパ球浸潤を認めている<sup>3)</sup>が、それに相当する所見であった。

TCE とともに CYP2E1 阻害薬を投与する実験では、チャレンジパッチテスト後の皮膚紅斑の出現頻度に各群の有意差がみられなかった。血算、血清生化学指標の結果と総合して考えると CYP2E1 の阻害の程度の個体差のばらつきが大きいことが窺われ、3-3 で検討した自己抗体の測定には至らなかった。

#### 4-3. 血中のチトクロム P450 自己抗体の測定

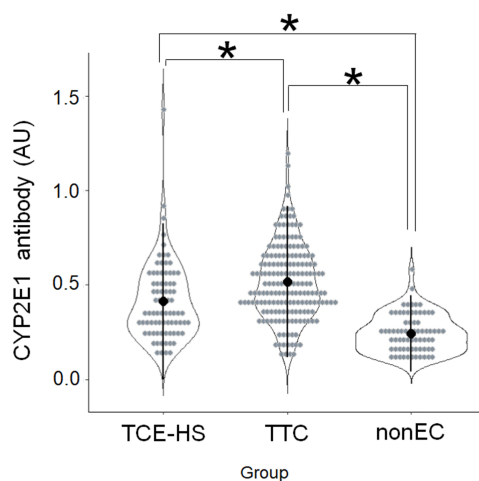


図2. 3群の血清抗 CYP2E1 自己抗体値のバイオリンプロット。縦軸は 490 nm における吸光度を示す。

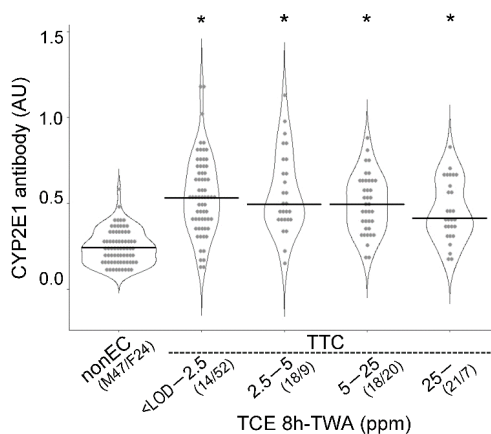


図3. 8時間時間加重平均 TCE 個人曝露濃度帯別の血清抗 CYP2E1 自己抗体値のバイオリンプロット。

血清中の抗 CYP2E1 抗体は、曝露開始後の期間が長くなるにつれて高値となり、曝露開始後 20 日頃以降の作業員ではほぼ一定範囲となりそれ以降は上昇傾向が見られなかった。CYP2E1 に対する血中自己抗体量は、TCE-TTC 群 > TCE-HS 群 > TCE-nonEC 群であり、TCE 曝露が CYP2E1 抗体値を上昇させることが示された (図 2)。

ところが、血清中の CYP2E1 タンパク (抗原) は患者のみ約 8 倍高く、二つの対照群の間には差が見られなかった。患者群の自己抗体の多くは免疫複合体を形成しており、あるいはさらに補体と結合して循環免疫複合体を形成して、測定値上では TCE-TTC 群より低値を示したが、TCE-HS 発症直前の CYP2E1 抗体値は TCE-TTC 群よりはるかに高かったと推察される。実際、Zhao ら<sup>4)</sup>は 8 名の患者と 38 名の TCE-TTC の補体と循環免疫複合体 (C3d・CIC) を測定し、入院時の患者の C3 の低下と C3d・CIC の上昇を報告している。これは TCE-TTC 群程度の抗体値上昇では HS は発症しないであろうことも示す。患者で見られた循環免疫複合体は TCE-HS においてどのように悪影響を及ぼすかについては今後の検討課題である。なお、自己抗体値は感受性遺伝子である *HLA-B\*13:01* の有無では差がなく、女性の方が男性より高かった。喫煙、飲酒、血中 ALT レベルは自己抗体値に影響を与

えなかった。また、TCE-TTC 群では 8 時間時間加重平均濃度として 2.5 ppm 以下、尿中 TCA 濃度が 5 mg/L 以下で抗体値が上昇していた（図 3、4）。

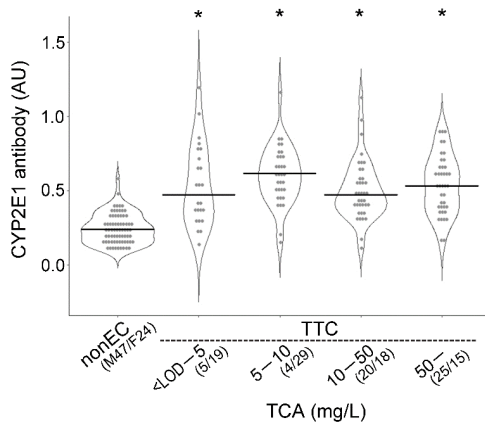


図 4. 尿中 TCA の濃度帯別の血清抗 CYP2E1 自己抗体値のバイオリンプロット。カッコ内の数値は男性/女性の人数。

以上、本研究により、TCE-HS の発症リスクは TCE の代謝物である TCA の尿中濃度が 15 mg/L 超で大きく上昇することが明らかになり、日本産業衛生学会が設定する許容濃度（生物学的許容値）改訂の根拠となった。CYP2E1 自己抗体測定は本疾患予防および早期発見のために有用な検査法となる可能性はあるものの、曝露管理が発症予防に最も重要である。疫学的知見を直接裏付ける生物学的機序もある程度明らかになり、自己抗体を産生させない曝露管理が有機溶剤中毒予防のために必要であるという、TCE の労働衛生管理における新しい概念を生み出すことができた。

#### <引用文献>

- 1) Nakajima T. et al. Exposure reconstruction of trichloroethylene among patients with occupational trichloroethylene hypersensitivity syndrome. *Ind Health*. 56:300-307, 2018.
- 2) Li H. et al. *HLA-B\*1301* as a biomarker for genetic susceptibility to hypersensitivity dermatitis induced by trichloroethylene among workers in China. *Environ. Health Perspect*. 115:1553-1556, 2007.
- 3) 福地達ほか. トリクロロエチレン曝露による薬剤過敏症症候群の 1 例. *日本内科学会雑誌*. 106:598-604, 2017.
- 4) Zhao N. et al. Studying the changes of the related serum complement immune indexes in patients with occupational medicamentosa-like dermatitis induced by trichloroethylene and workers occupationally exposed to trichloroethylene. *Chin J Ind Hyg Occup Dis* 30:284-288, 2012.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Zhao Na, Song Xiangrong, Naito Hisao, Li Hongling, Huang Yongshun, Liu Lili, Lu Fengrong, Cai Tingfeng, Ito Yuki, Kamijima Michihiro, Huang Hanlin, Nakajima Tamie, Wang Hailan	4. 巻 62
2. 論文標題 Trichloroethylene and trichloroethanol induce skin sensitization with focal hepatic necrosis in guinea pigs	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Occupational Health	6. 最初と最後の頁 e12142
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/1348-9585.12142	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 該当する

1. 著者名 Wang Hailan, Nakajima Tamie, Ito Yuki, Naito Hisao, Zhao Na, Li Hongling, Qiu Xinxiang, Xia Lihua, Chen Jiabin, Wu Qifeng, Li Laiyu, Huang Hanlin, Yanagiba Yukie, Qu Hongyung, Yatsuya Hiroshi, Kamijima Michihiro	4. 巻 191
2. 論文標題 Increased risk of occupational trichloroethylene hypersensitivity syndrome at exposure levels higher than 15 mg/L of urinary trichloroacetic acid, regardless of whether the patients had the HLA-B*13:01 allele	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Environmental Research	6. 最初と最後の頁 109972 ~ 109972
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.envres.2020.109972	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Nakajima Tamie, Wang Hailan, Yuan Yuan, Ito Yuki, Naito Hisao, Kawamoto Yoshiyuki, Takeda Kozue, Sakai Kiyoshi, Zhao Na, Li Hongling, Qiu Xinxiang, Xia Lihua, Chen Jiabin, Wu Qifeng, Li Laiyu, Huang Hanlin, Yanagiba Yukie, Yatsuya Hiroshi, Kamijima Michihiro	4. 巻 96
2. 論文標題 Increased serum anti-CYP2E1 IgG autoantibody levels may be involved in the pathogenesis of occupational trichloroethylene hypersensitivity syndrome: a case-control study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Archives of Toxicology	6. 最初と最後の頁 2785 ~ 2797
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00204-022-03326-x	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 該当する

1. 著者名 那須（中島）民江、伊藤由起、内藤久雄、上島通浩	4. 巻 65
2. 論文標題 トリクロロエチレンの職業病とそれを補完する基礎研究	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 産業衛生学雑誌	6. 最初と最後の頁 171-182（予定）
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1539/sangyoeisei.2023-010-A	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 -

1. 著者名 那須民江、伊藤由起、内藤久雄、王海蘭、上島通浩	4. 巻 45
2. 論文標題 トリクロロエチレンによる過敏症候群の病因における血清抗CYP2E1自己抗体の関与	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 産業医学ジャーナル	6. 最初と最後の頁 53-57
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 那須民江、伊藤由起、内藤久雄、王海蘭、上島通浩
2. 発表標題 トリクロロエチレンによる過敏症候群発症の労働衛生的考察
3. 学会等名 産業中毒・生物学的モニタリング研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 那須民江、王海蘭、袁媛、内藤久雄、伊藤由起、柳場由絵、八谷寛、上島通浩
2. 発表標題 トリクロロエチレン曝露によるCYP2E1抗体の上昇とその影響因子
3. 学会等名 第47回産業中毒・生物学的モニタリング研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤由起、王海蘭、内藤久雄、柳場由絵、那須民江、上島通浩
2. 発表標題 トリクロロエチレン曝露と血中CYP2E1タンパク量の関係
3. 学会等名 第47回産業中毒・生物学的モニタリング研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤由起、内藤久雄、柳場由絵、那須民江、上島通浩
2. 発表標題 トリクロロエチレン曝露患者の血中CYP2E1タンパク量とヒト白血球抗原
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 那須民江
2. 発表標題 トリクロロエチレンによるCYP2E1抗体上昇とhypersensitivity syndromeとの関係
3. 学会等名 第92回日本産業衛生学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 那須民江、伊藤由起、内藤久雄、八谷寛、上島通浩.
2. 発表標題 トリクロロエチレンによる抗CYP2E1自己抗体の上昇と過敏症候群
3. 学会等名 2022年度日本産業衛生学会東海地方会学会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 上島通浩	4. 発行年 2021年
2. 出版社 中日出版社	5. 総ページ数 -
3. 書名 名市大ブックス10 地域に根ざし、寄り添う医療（執筆章：安心して暮らせる環境を実現する医学）	



1. 著者名 上島通浩	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 -
3. 書名 福井次矢ら（総編）今日の治療指針 2020年 （有機溶剤中毒 p1106）	

〔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 分 担 者	那須 民江  (Nasu Tamie)  (10020794)	中部大学・生命健康科学部・客員教授   (33910)	

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			
中国	広東省職業病防治院			