

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 10 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2009～2011

課題番号：21406016

研究課題名（和文）トリクロロエチレンによる全身性皮膚－肝障害の環境的・遺伝的発症要因  
のコホート研究研究課題名（英文）Epidemiological study on environmental and genetic factor of  
trichloroethylene-induced hypersensitivity

研究代表者

那須 民江 (Tamie Nasu)

名古屋大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：10020794

研究成果の概要（和文）：トリクロロエチレンに起因した hypersensitivity 患者 82 名と健康労働者 137 名を対象として、トリクロロエチレンの曝露状況、HLA-B の遺伝子多型、ヒトヘルペスウイルス 6 型 (HHV6) の再活性化、およびサイトカイン (TNF $\alpha$  と IL10) を測定した。患者群の HLA-B:1301 多型は 55 名(67%)であったが、健康労働者は 8 名(6%)であった。これらの尿中 TCA をみると、患者群 38 名中は 27 名 (71%) が HLA-B\*1301 多型を持ち、このうち 22 名 (81%) の TCA が生物学的許容値をこえていた。患者群の HLA-B\*1301 多型を持つ者のなかで、生物学的許容値を超えた者はいなかった。患者群の HHV6 の再活性化(85%)、TNF $\alpha$  (57%)、IL10(85.3%)のレベルが上昇した者は健康労働者（それぞれ 14.5, 14.5 and 3.6%）よりも多かった。

研究成果の概要（英文）：We investigated trichloroethylene exposure levels, HLA-B genotypes, human herpes virus 6 (HHV6) reactivation and cytokine levels (TNF $\alpha$  and IL10) in 82 patients with hypersensitivity and 137 healthy controls who worked factory using trichloroethylene. Frequencies of HLA-B\*1301 genotype were 55 patients (67%) in the patients, while only 8 persons (6%) in the control workers. Of 38 patients, 27 patients (71%) had HLA-B:1301 genotype, and urinary TCA levels of 22 patients (81.5%) exceeded biological exposure index of trichloroethylene. However, all control workers with HLA-B:1301 genotype estimated to work under biological exposure index of trichloroethylene. Frequencies of patients with HHV6 reactivation (85%), elevations of plasma TNF $\alpha$  (57%) and IL10 (85.3%) were significantly higher in the patients group than control workers (14.5, 14.5 and 3.6%, respectively).

交付決定額

(金額単位：円)

|         | 直接経費       | 間接経費      | 合計         |
|---------|------------|-----------|------------|
| 2009 年度 | 5,600,000  | 1,680,000 | 7,280,000  |
| 2010 年度 | 4,200,000  | 1,260,000 | 5,460,000  |
| 2011 年度 | 3,800,000  | 1,140,000 | 4,940,000  |
| 年度      |            |           |            |
| 年度      |            |           |            |
| 総計      | 13,600,000 | 4,080,000 | 17,680,000 |

研究分野：社会医学

科研費の分科・細目：衛生学

キーワード：トリクロロエチレン、Hypersensitivity、HLA-B\*1301、HHV6、TNF $\alpha$ 、IL10、トリクロロ酢酸、疫学研究

## 1. 研究開始当初の背景

中国南部の工業地帯でトリクロロエチレンによる皮膚-肝障害(Hypersensitivity)が多発し、報告されてから約10年が経過した。この疾病は、他のアジア諸国からも1980年代から報告されており(Nakajima et al., 2003)、新しい職業病として注目されている。申請者らはこの8年間中国広東省の職業病防治院と共同研究を行って、かなりの成果をあげてきた。即ち、その病態と職場環境のトリクロロエチレン高濃度曝露の実態が明らかにされてきた。発症要因としては、トリクロロエチレン曝露開始から1ヶ月前後で発症(Huang et al., 2006; Kamijima et al., 2007)、肝障害は必発であり、多くの患者は発熱、26%の患者においてはHHV6の再活性化が見られる等遅発性Hypersensitivityの病態を示し(Huang et al., 2006)、臨床的には重症薬疹に酷似している(Kamijima et al., 2007)。患者はHHV6の再活性化の前にTNF・やIL-10, INF・が上昇している(Kamijima et al., 投稿中)。申請者らはモルモットを用いたマキシミゼーションテストでこの疾病のモデル動物の作製に成功し、トリクロロエチレンにより皮膚炎を発症した動物では肝障害が観察されることを明らかにした(Tang et al., 2008)。さらに興味あることに、中国の研究者らによって、この疾患の感受性要因として、HLA-B\*1301多型が明かにされた(Li et al. これらの業績は2007年11月4,5日中国広州市で開催された第1回のシンポジウムで討論され、また2008年11月29,30日には名古屋市で開催される国際シンポジウムで討論された。

## 2. 研究の目的

約10年前から中国南部をはじめ、工業が急速に発展しているアジアの途上国でトリクロロエチレン曝露に起因した肝障害を伴った全身性の皮膚炎(皮膚-肝障害)が流行している。申請者らは、平成12年度より、患者を対象として、この疾病の病因、臨床像、曝露濃度等の調査を行い、多数の成果をあげてきた。この研究においては、この疾病の遺伝的・環境的発症要因を明らかにし、予防対策の知見収集を目的とした。平成21年度よりトリクロロエチレンを使用する職業に新たに従事する作業者の追跡調査研究を開始した。しかし、追跡する途中で、使用溶剤をトリクロロエチレンから他の溶剤に変更する企業が即出し、さらに世界的な不況の影響を受け、倒産する企業も続出した。そこで、途中から横断研究に変更した。

## 3. 研究の方法

中国広東省職業病防治院で2004年から2011年に収集されたトリクロロエチレンによるHypersensitivityと診断された患者82名の尿と血液を入院時に採取した。2004年から2010年に工場でトリクロロエチレン使用者でかつHypersensitivityを発症しなかった健康労働者137名を対象として、作業終了後に尿、血液を採取し、解析時まで冷凍庫で保存した。

収集したサンプルを用いて、トリクロロエチレンの尿中代謝物(曝露のバイオマーカー)、HLA-B\*1301多型(感受性のバイオマーカー)、TNF $\alpha$ やIL-10等のサイトカイン、ヒトヘルペスウイルス6型(HHV6)の再活性化(DNA量)(重症度のバイオマーカー)を測定した。HLA-Bの遺伝子型はエクソン2と3を解析した。

## 4. 研究成果

4-1. 患者と健康労働者の尿中代謝物  
患者の尿中トリクロロ酢酸を測定し、Ikeda and Imamuraの方法を用いて、曝露終了後のトリクロロ酢酸濃度を推定した。患者82名中曝露終了後のトリクロロ酢酸の推定が出来た患者は38名であった。そのうち30名(78.9%)はトリクロロ酢酸の生物学的許容値50mg/Lを超えていた。健康労働者群137名中トリクロロ酢酸の生物学的許容値50mg/Lを超えていた者は59名(33%)であった。明らかに患者群では生物学的許容値を超えている者が健康労働者よりは多かった。ここで、患者群の中で、生物学的許容値を超えていなかった者(即ち、トリクロロエチレンの許容濃度未満の職場環境で作業をしていた者)が何故Hypersensitivityに罹患したのか、健康労働者の中で生物学的許容値を超え、許容濃度より高い職場環境下で労働していたのにも関わらず、何故、Hypersensitivityに罹患しなかったのか、疑問が残る。

### 4-2. HLA-B多型解析

HLA-B\*1301多型を持つ者は患者群82名中55名(67%)、対照群131名中8名(6.1%)で、明らかに患者群に多かった( $p < 0.001$ )。HLA-B\*1525多型は患者群8名(9.8%)、対照群2名(0.4%)で、やはり患者群が高かった( $p = 0.013$ )。HLA-B\*1302多型は患者群11名(13%)、対照群7名(5.3%)で、この多型に関しても患者群が多かった( $p = 0.034$ )。結局、HLA-B\*1301、HLA-B\*1302あるいはHLA-B\*1525多型を持つ者が多いことが判明した。ところが、

HLA-B\*1501 多型は患者群 2 名 (2.4%) に対し、対照群は 18 名 (14%) ( $p=0.09$ )、HLA-B\*1501 多型は患者群 3 名に対し、対照群 10 名 (7.6%)、HLA-B:1511 多型は患者群 0、対照群 10 名 (7.6%)、HLA-B\*3501 多型は患者群が 1 名 (1.0%)、対照群が 21 名 (16%) ( $p<0.001$ )、HLA-B\*4001 多型は患者群 2 名に対し、対照群は 22 (17%) 名であった ( $p=0.002$ )。HLA-B\*4601 多型は患者群 7 名に対し対照群は 27 名 (21%) であり、この多型も対照群に多かった ( $p=0.034$ ) HLA-B\*5101 と HLA-B\*5179 多型は患者群それぞれ 2 名に対し、対照群はそれぞれ 13 名 (10%) で、両者の間に有意差が認められた。対照群の HLA-B の遺伝子型は HLA-B\*1501、HLA-B\*1502、HLA-B:1511、HLA-B\*3501、HLA-B\*4001、HLA-B\*4601、HLA-B\*5101 および HLA-B\*5179 多型が多いことが判明した。このように、患者群には HLA-B\*1301 多型が多く、感受性遺伝子の候補として有力であることが明らかとなった。

|                 | Hypersensitivity 患者 | 健康労働者     |
|-----------------|---------------------|-----------|
| HLA-B*1301 多型あり | 55 (67%)            | 8 (6%)    |
| HLA-B*1301 多型なし | 27 (33%)            | 123 (94%) |

表 1 HLA-B の遺伝子多型  
HLA-B\*1301 のオッズ比は 31.3

#### 4.3 尿中トリクロロエチレン代謝物と HLA-B\*1301 多型との関連性

患者 82 名中作業終了後から採尿日が判明したのは 38 名であった。一方、対照群 131 名の中に尿提供がなかった者が 13 名いたので、測定できたのは 118 名であった。対照群の尿は作業終了後採取したので、TCA の測定値をそのまま使用した。患者群の尿中 TCA 濃度の平均と標準偏差は  $480 \pm 930 \text{mg/L}$ 、対照群は  $57 \pm 159 \text{mg/L}$  であった。日本産業衛生学会許容濃度委員会が勧告している生物学的許容値  $50 \text{mg/L}$  を超えていた者は患者群 30 名 (79%)、対照群 30 名 (25%) であった。昨年度測定した HLA-B の遺伝子型で分類すると、HLA-B\*1301 多型の TCA 値は患者群  $525 \pm 1058 \text{mg/L}$ 、対照群  $16 \pm 10 \text{mg/L}$  であった。これらの測定値において、生物学的許容値  $50 \text{mg/L}$  を超えていた者は患者群 27 名中 22 名 (81%)、

患者群は 8 名中 0 であった。これらの結果は、1) HLA-B\*1301 多型を持つ患者の 81% はトリクロロエチレンの生物学的許容値を超える職場環境 (即ち、日本産業衛生学会が勧告しているトリクロロエチレンの許容濃度を超える環境) で作業をしていたこと、2) 対照群にも HLA-B\*1301 多型を持つ作業員がいるが、トリクロロエチレンの許容濃度以下の環境で作業をしていたことを示す。HLA-B\*1301 多型はトリクロロエチレンによる Hypersensitivity の感受性遺伝子であるが、職場のトリクロロエチレンの曝露量管理の重要性を示す結果である。

|            | Case                | Control            |
|------------|---------------------|--------------------|
| 全遺伝子型      | 30/38<br>(480±930)  | 30/118<br>(57±159) |
| HLA-B*1301 | 22/27<br>(525±1058) | 0/8<br>(16±10)     |

#### 尿 2 HLA-B\*1301 多型と尿中トリクロロエチレン代謝物 (トリクロロ酢酸) との関連について

尿中 TCA が生物学的許容値  $50 \text{mg/L}$  を超えた者の数/総数

Case の尿中 TCA は: Ikeda and Imamura, 1973 の方法を用いて推測した

括弧内の数値は作業終了後の尿中 TCA ( $\text{mg/L}$ ) 平均±標準偏差

#### 4.4 サイトカイン、HHV6 の再活性化

患者 42 名の血清  $\text{TNF}\alpha$  がカットオフ値を超えていた者は 24 名 (57.1%)、 $\text{IL10}$  値がカットオフ値を超えていた者は 34 名 (81.0%) であった。HHV6 の再活性化が見られた者は患者 82 名中 45 名 (54.8%) であった。健康労働者 137 名中これらの測定ができた者は 55 名であった。そのうち、 $\text{TNF}\alpha$  がカットオフ値を超えた者が 8 名 (14.5%)、 $\text{IL10}$  は 2 名 (3.6%)、HHV6 が再活性化していた者は 8 名 (14.5%) で

|                                 | 患者    | 健康労働者 |
|---------------------------------|-------|-------|
| HHV6 <sup>a</sup>               | 45/82 | 8/55  |
| $\text{TNF}\alpha$ <sup>b</sup> | 24/42 | 8/55  |
| $\text{IL10}$ <sup>c</sup>      | 36/42 | 2/55  |

表3患者と健康労働者のHHV6とサイトカイン  
数値はカットオフ値を超えた者/総数を示す

a 患者と健康労働者の間に有意差あり (p =0.001) ; b 患者と健康労働者の間に有意差あり (p =0.002) ; c 患者と健康労働者の間に有意差あり (p =0.000)

このように、HHV6の再活性化およびサイトカインの上昇は患者群に多いことが明らかとなった。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

1. Ramdhan DH, Kamijima M, Wang D, Ito Y, Naito H, Yanagiba Y, Hayashi Y, Tanaka N, Aoyama T, Gonzalez FJ, Nakajima T. Differential Response to Trichloroethylene-Induced Hepatosteatosis in Wild-Type and PPAR $\alpha$ -Humanized Mice. Environ Health Perspect.118: 1557-1563、2010. (査読あり)

[学会発表] (計7件)

1. 内藤久雄、日比野優衣、斉藤優、王棟、趙娜、宋向榮、王海蘭、上島通浩、那須民江。モルモットを用いたトリクロロエチレンによる皮膚・肝障害のメカニズム解析 第85回日本産業衛生学会総会 2012.5.31 名古屋 名古屋国際会議場
2. 日比野優衣、内藤久雄、斉藤優、王棟、趙娜、宋向榮、王海蘭、上島通浩、那須民江。トリクロロエチレン曝露による免疫性肝障害に関する研究第82回日本衛生学会学術総会 2012.3.25 京都、京都大学
3. Ramdhan DH, Kamijima M, Wang D, Ito Y, Yanagiba Y, Hayashi Y, Naito H, Gonzalez FJ, Nakajima T. DIFFERENTIAL RESPONSE TO TRICHLOROETHYLENE-INDUCED

#### HEPATOSTEATOSIS IN WILD-TYPE AND PPAR $\alpha$ -HUMANIZED MICE.

XII International Congress of Toxicology 2010.7.19-23

Barcelona-Spain Palau de Congressos de Barcelona

4. Ramdhan DH, 上島通浩, 王棟, 伊藤由起, 柳場由絵, 林由美, 内藤久雄, Gonzalez FJ, 那須民江。トリクロロエチレン誘発性肝障害における PPAR $\alpha$ 活性の種差による影響について。 第83回日本産業衛生学会総会 2010.5.28 福井、福井国際交流会館
5. 那須民江。トリクロロエチレンによる全身性皮膚肝障害の背景第79回日本衛生学会総会 2009.3.30 東京北里大学白金キャンパス
6. 上島通浩。トリクロロエチレンによる全身性皮膚肝障害ではヒトヘルペスウイルス6型が再活性化する 第79回日本衛生学会総会 2009.3.30 東京北里大学白金キャンパス
7. 柳場由絵。HHV6バリエーションと再活性化 第79回日本衛生学会総会 2009.3.30 東京北里大学白金キャンパス

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

那須 民江 (中島) (Tamie Nasu )  
名古屋大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号：10020794

##### (2) 研究分担者

上島 通浩 (Michihiro Kamijima)  
名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号：80281070

##### (3) 連携研究者

柳場 由絵 (yukie yanagiba)  
独立行政法人労働衛生研究所・研究員  
研究者番号：90467283