

地方会・研究会記録

第 60 回日本産業衛生学会アレルギー・免疫毒性研究会*

テーマ：職業・環境起因性気道障害の病態と咳

プログラム

特別講演 1：「職業・環境起因性の咳」

新実彰男（名古屋市立大学大学院）

特別講演 2：「化学物質による神経原性気道炎症」

坂本龍雄（山口大学大学院）

第 61 回日本産業衛生学会アレルギー・免疫毒性研究会**

第 19 回日本免疫毒性学会学術大会（年会長：東京慈恵会医科大学教授 柳澤裕之）との合同大会としておこなった。

テーマ：「免疫毒性疾患の新しい様相」

プログラム

特別講演 1：

“Overview and Application of the WHO/IPCS Harmonized Guidance for Immunotoxicity Risk Assessment for Chemicals”

Henk van Loveren (National Institute of Public Health and the Environment, the Netherlands)

特別講演 2：

「免疫毒性研究の温故知新一免疫毒性学会の発足経過と 20 周年への提言」

大沢基保（財団法人食品薬品安全センター秦野研究所）

教育講演 1：「疲労の分子機構と免疫毒性との関係」

近藤一博（東京慈恵会医科大学）

教育講演 2：

「AIM (Apoptosis Inhibitor of Macrophage) がひも解く生活習慣病としての自己免疫疾患」

宮崎 徹（東京大学大学院）

シンポジウム：「免疫毒性学研究的の進歩」

1. シックハウス症候群の現状と対策～免疫毒性学的側面から

* 日 時：平成 24 年 5 月 30 日 18：00-19：30

（第 85 回日本産業衛生学会期間中）

会 場：名古屋国際会議場 第 12 会場

世話人：上島通浩（名古屋市立大学大学院）

** 日 時：平成 24 年 9 月 15 日（土）-16 日（日）

会 場：東京慈恵会医科大学 大学 1 号館 3 階講堂

世話人：土橋邦生（群馬大学大学院）

坂部 貢（東海大学医学部）

2. 寄生虫感染における腸管免疫の進歩

石渡賢治（東京慈恵会医科大学）

3. 免疫学的所見に基づくアスベスト曝露者の病態解析と診断指標構築の試み

西村泰光ほか（川崎医科大学）

試験法ワークショップ：「In vitro immunotoxicology」

1. Current Trend on In Vitro Immunotoxicology in EU

Emanuela Corsini (University of Milano, Italy)

2. 樹状細胞の表面抗原発現変化を指標とした in vitro 皮膚感作性試験である h-CLAT の開発と応用

坂口 齊（花王）

3. 代替法による感作性の安全性評価についての研究

足利太可雄（資生堂）

4. 代替法による感作性の安全評価についての研究

相場節也（東北大学大学院）

5. Irradiation of light emitting diode at 850 nm inhibits T cell-induced cytokine expression

Kyung Ah Cheong, Chang-hyun Kim, Yun-Seok Choi, Ai-Young Lee (Dongguk University Ilsan Hospital, South Korea)

第 40 回産業中毒・生物学的モニタリング研究会*

<特別講演 1 >

薬物性肝障害：非臨床評価の現状と課題

寺西宗広（第一三共(株) 安全性研究所）

肝臓はもっとも毒性標的となる可能性の高い器官の一つであり、肝毒性は医薬品の開発中止、黒枠警告、販売中止に至る主要な原因の一つである。このような肝毒性への懸念から、米欧当局より肝毒性に関するガイダンス・ガイドラインが出され、国内では平成 20 年に厚労省より重篤副作用疾患別対応マニュアル 薬物性肝障害が出されている。

肝毒性はどの研究開発段階でも発現し得るが、肝毒性のポテンシャルを可能な限り早期に評価し、安全域、回復性、モニタリングマーカー、種差、類薬比較、リスク・ベネフィット分析等を通じて、研究開発の go/no-go を決定することが重要である。しかしながら、肝毒性発現には個人差が大きく、臨床試験段階では被験者の数に限りがあり、市販後に初めて検出されるようことも少なくない。このような特異体質性薬物毒性 (IDT) は、通常

*開催日：平成 24 年 11 月 15-16 日

会 場：マホロバマインズ三浦

世話人：王 瑞生（独立行政法人 労働安全衛生総合研究所）

の毒性試験では予測が困難で、臨床試験段階で少数例に発現したとしても薬物との関連性を明確にするのが困難である。一方で、IDT で警告、販売中止に至るケースが多いため、IDT を回避する方法を見出すことは患者、医療者、規制当局、製薬企業のいずれにとっても重要であり、試行錯誤が続いている。

化学的に反応性の高い薬物（反応性代謝物）は肝細胞内のタンパク、核酸に共有結合し細胞の機能障害、ストレス、細胞死、免疫反応を惹起し IDT を発現する可能性が考えられている。この IDT 発現機序の詳細は不明ではあるが、GSH トラッピングアッセイ、CYP 阻害アッセイ、共有結合量測定等を段階的に実施し、反応性代謝物の生成を抑制したり、低投与用量の設定を試みることは IDT 回避のための賢明な戦略と考えられる。

近年、肝毒性を鋭敏に検出するため miRNA など新規バイオマーカーやオミクスの活用も検討されてきているが、これらは感受性、特異性、再現性等、バリデーションされている必要があり、依然 ALT, AST, T.BIL, ALP 等従来の臨床検査パラメータ、病理組織学的検査を基に総合的に検討することが肝毒性検出には重要である。その一方で特定のタイプの IDT に関与するヒト遺伝子多型の知見も徐々にではあるが得られるようになってきて、IDT 回避のツールとなる可能性に期待が高まっている。本講演では薬物性肝障害モデルの検討の進展状も含め、薬物性肝障害の非臨床評価の現状と課題について概説したい。

<特別講演 2>

化学物質に係る女性労働基準規則の改正

奥村伸人

(厚生労働省 雇用均等・児童家庭局職業家庭両立課
育児・介護休業推進室)

有害物についての女性労働者の母性保護規定については、昭和 23 年の通達において、9 つの物質についての空气中の濃度の上限値が示され、これを上回る場所での就業が禁止されていた。化学物質に係る就業禁止の規定については、内容の見直しが求められていた。

厚生労働省（雇用均等・児童家庭局）は、重量物の取扱いと有害物の発散する場所における業務に関し、母性保護に係る規制の在り方について、医学・化学物質の有害性評価・労働衛生工学の専門家による検討を行い、平成 23 年 12 月に報告書が取りまとめ、平成 24 年 4 月に女性労働基準規則を改正し、同年 10 月に施行された。

本講演では、この報告書に示された内容を踏まえ、女性労働基準規則の改正内容とその考え方について説明する。

(1) 有害物取扱い業務の現状

有害な化学物質に起因する業務上疾病は、男女合わせ

て年間 200-300 件程度発生しているが、業務上のばく露による早産、流産、不妊等の発生は必ずしも確認されていない。また労働安全衛生法令において、有害物で汚染されているタンク、ピットの内部においては、有効な呼吸用保護具を使用させた上で、女性労働者の就業が認められている。これらの有害な環境の下では、顔面とマスク面体等との間からの漏れが発生すれば、妊娠・出産・授乳機能に影響が生じるおそれがある。

(2) 女性労働者の母性保護の考え方（報告書の要旨）

女性労働者の妊娠・出産機能は、本人の健康のみならず胎児や将来の子どもの健康の基盤であることから、女性労働者の妊娠・出産・授乳機能に悪影響を及ぼすおそれのある物質の発散する場所における業務については、女性労働者をばく露から保護するため、一定濃度を上回る作業場での就業を禁止する措置が必要である。

なお、妊娠中の女性を含め女性労働者の就業を制限する規制の検討に当たっては、母性を保護する目的であっても、使用者の過剰な対応により女性労働者の就業の場を必要以上に狭めてしまうおそれがある点について十分配慮する必要がある。

(3) 具体的な規制の内容

- ① 対象となる物質は、労働安全衛生法令により局所排気装置等の設置、作業環境測定の実施等が義務付けられ、さらに管理濃度が設定されている物質であって、国による GHS 分類の結果が次のいずれか又は両方に該当するものであること。
 - 生殖毒性が「区分 1」または「授乳に対する、または授乳を介した影響あり」に該当するもの
 - 生殖細胞変異原性が「区分 1」に該当するもの
- ② 女性労働者の就業が禁止される業務は、以下のとおり。
 - 労働安全衛生法令に基づく作業環境測定の結果が「第 3 管理区分」になった屋内作業場での全ての業務
 - タンク、船倉内などで女性則の対象物質を取り扱う業務で、労働安全衛生法令で呼吸用保護具の着用が義務付けられているもの

<特別報告>

神奈川県下事業場に於ける化学物質管理の現状と課題

- 石渡弘一、○渡辺 哲、中明賢二、千葉宏一、
倉田達明、森田哲也、白須吉男、鶴岡寛治、
芦田敏文、阿部達之、興 貴美子
(独立行政法人 労働者健康福祉機構
神奈川産業保健推進センター)

【目的】化学物質管理に MSDS がどのように活用され

ているか、また、改善が要望されているか等を平成 12、14 年度に調査し、特に 50 人未満の事業場では理解が困難という結果が得られた。そこで平成 15 年度には諸種の化学物質について「現場作業者に理解し易いマニュアル」を作成し化学物質取り扱い事業場の利用に供した。次いで、平成 18 年に義務化された GHS 対応 MSDS が現場でどのように理解され、化学物質管理の改善に寄与しているか等、および「GHS 対応化学物質取り扱いマニュアル」作成の必要性について調査を実施した。【方法】過去に調査対象とした 1,709 事業場にアンケート調査票を郵送し、MSDS の提供状況、GHS 対応状況、GHS 表示・文書交付義務化の認知度、GHS 対応 MSDS の理解度、改善要望事項等 18 項目、および産業医への質問 7 項目の調査を実施した。また、「GHS 対応化学物質取り扱いマニュアル」は、相談員が各事業場に赴き安全衛生担当者等の意見を聴取し作業現場に則したものを作成した。【結果】平成 20 年、511 事業場より回答を得、回答率は 29.9%であった。製造業が全体の 71.8%を占めた。規模別では 50-299 人が 31.3%を占め最も多く、回答事業場の 67.3%に化学物質の使用が認められた。MSDS の提供状況は、20 人以上の各群では「必ず提供してくれる」と「請求すれば提供してくれる」を合わせると 90%を超えたが、1,000 人以上でも請求しなければ MSDS は提供されない状況にあった。提供 MSDS が GHS 対応であった割合は全体では 31.7%で、1,000 人以上でも 40.0%に止まった。GHS 表示・文書交付の義務化の認知割合は、1,000 人以上では 95%であったが、19 人以下ではわずか 11.1%であった。GHS 導入で MSDS が理解し易くなったかについては、「はい」の回答は 1,000 人以上では 80%であったが、30 人-999 人までの 3 群では 40%強に止まり、29 人以下では 20%程度であった。更にこの 19 人以下の群の 50%が GHS 対応 MSDS は提供されていないと回答した。MSDS の改善要望事項では「有害性の程度が分かり難い」、「作業者に分かり難い用語が多い」の割合が高く、以前の調査結果と同様であった。作業者に理解できるよう MSDS を書き直している事業場は全体で 17.2%に過ぎなかった。この結果から、最も使用頻度が高いトルエンの GHS 対応取扱いマニュアルを試作し、12 事業場に掲示して安全衛生担当者等から意見を聴取し、これらを反映させ最終版を作成した。キシレン、イソプロピルアルコール、酢酸エチル、硫酸、ホルムアルデヒド (FA) 水溶液、FA 病理検査についても作成した。マニュアルの有効性等アンケート調査を事業場で実施した内容の内、「作業員への反応」は、わかりやすい、1 ページに知りたいことが記載されているとおおむね好評であった。「健康への意識・注意」等については半数以上が意識し、注意するようになった。その他は文字が小さい、文章が長い、多く

の化学物質も作成して欲しい等の要望があった。「作業員の健康影響の聞き取り調査から」①換気装置を運転するようになった。②呼吸用保護具を着用するようになった。③作業衣を着るようになった。④保護手袋を使うようになった。等作業員の意識の高まりに留まらず、マニュアルによる新人教育にも活用されている。今後、意見・要望を取り入れたマニュアル作りを積極的に進めたい。

<一般発表>

1. 金属の亜急性ばく露と明暗シフト—臓器蓄積量の相違—

○三浦伸彦¹, 芦森温茂^{1,2}, 竹内明日佳^{1,2}, 高田直子², 大谷勝己¹, 柳場由絵¹, 外川雅子³, 長谷川達也³
(¹ 独立行政法人 労働安全衛生総合研究所, ² 麻布大学生命環境科学部, ³ 山梨環境科学研究所)

【目的】交代制勤務は生体が持つ概日リズムを攪乱し、様々な健康障害を惹起する可能性が指摘されている。ばく露物質の取り込み・排泄に関わる生体因子の発現も概日リズムを示すことから、交代制勤務による概日リズムの攪乱は、ばく露物質の臓器蓄積量に変動を与える可能性がある。そこで本研究では明暗シフト(交代制勤務モデル)がクロムの肝臓中蓄積量に与える影響を検討した。【方法】ICR マウスを通常明暗(12 時間サイクル: DL 群), または明暗シフト(2 日おきに 12 時間明暗が逆転: シフト群)の 2 条件で 2 週間予備飼育し、重クロム酸カリウム(10 mg/kg)を 1 日 1 回、4 日間連続して定時に背部皮下投与した。これを 1 週単位として 4 週間繰り返し投与した後、肝臓中クロム量を定量した。【結果と考察】クロムの投与により、DL 投与群では対照群に比べてクロムの明らかな肝臓蓄積が認められたが、興味深いことに、シフト投与群では DL 投与群に比べて有意に肝臓中蓄積量が増大していた。なお本実験での投与量は肝障害を生じるレベルの量ではないことを確認している。本検討により、明暗シフトによる概日リズムの攪乱がクロムの体内蓄積量を増加させる可能性を見出した。鉄鋼業界では金属取扱量が高く、交代制勤務従事者の割合も多い。従って、本検討の様な時間毒性学的視点を導入したリスク管理が必要であると思われる。

2. 金属の急性毒性発現の強さは、ばく露時刻によって異なる

○芦森温茂^{1,2}, 竹内明日佳^{1,2}, 高田直子², 大谷勝己¹, 柳場由絵¹, 外川雅子³, 長谷川達也³, 三浦伸彦¹
(¹ 独立行政法人 労働安全衛生総合研究所, ² 麻布大学生命環境科学部, ³ 山梨環境科学研究所)

【目的】現代社会の労働形態は多様化し、本来ヒトが活動を行わない時刻で働く勤務が増えている。もし有害物

質に対する感受性時刻差が存在した場合、時刻差を考慮しなければ労働者へのリスクが高まる懸念される。そこで本研究では、金属の毒性発現の感受性時刻差について検討した。【方法】C57BL/6J マウスに投与時刻を変えて(10, 14, 18, 22, 2または6時), CdCl₂を単回腹腔内投与し, 致死毒性や肝毒性を調べた。【結果と考察】Cd投与14日後までの致死率は, 14時で高く2時で低いことが明らかとなった。この時刻差は肝毒性(ALT指標)でも確認され, Cdに対する感受性に明らかかな時刻差が存在することを見出した。この感受性時刻差は肝臓中Cd蓄積量の違いに起因するものではなく, またメタロチオネインの誘導量の違いによるものでもないことを確認している。感受性を決定する一因子として, グルタチオンの関与を示唆する知見を得ている。【結論】Cdの毒性発現強度は日内で一定ではないことが明らかとなった。この結果は労働者等のリスク管理を考慮するための基礎的知見になるものと考えられる。またメカニズムとしては, Cdの肝臓への到達速度や蓄積量の違いによるものではなく, MTの定常レベル, あるいは誘導され易さ, および誘導量に起因しないことを明らかにし, 感受性時刻差を規定する可能性のある要因としてGSHを捉えることができた。

3. マウスにおけるカドミウムにより誘発される精巣毒性の投与時刻依存性

○大谷勝己¹, 柳場由絵¹, 外川雅子², 長谷川達也², 三浦伸彦¹

(¹独立行政法人 労働安全衛生総合研究所, ²山梨県環境科学研究所)

生体リズムと生体影響発現との関連を調べる目的で, カドミウム(Cd)の精巣毒性を, 投与時刻を変えて検討した。(1)マウス(C57BL/6J, 7週齢, 雄)に塩化カドミウム(CdCl₂) 4.5 mg/kgを1回腹腔内投与した。投与は14:00(ZT6)および2:00(ZT18)の時刻に行った。投与6日後に体重を測定し, 麻酔下で解剖し生殖臓器重量を測定した。また, 精巣上部尾部の精子の運動能, 精巣および精巣上部尾部の精子頭数を精子運動能解析装置(HTM-IVOS)で測定した。次にCdCl₂ 4.5または6.0 mg/kgを1回皮下投与し, 10日後に同様な測定をした。(2)同マウスにCdCl₂を0.33または1.0 mg/kgを週2回4週間皮下投与した(全8回)。最終投与2日後に同様な測定をした。その結果(1)体重, 臓器重量に変化は認められなかった。腹腔内投与でも皮下投与でも精子運動率および前進精子率が対照群に比べZT6の投与群で有意に低下した。ZT18の投与群では変化がなかった。精巣および精巣上部尾部中の精子数も同様であった。(2)体重, 臓器重量に変化は認められなかった。精子運動率が対照群に比べZT6の投与群の

みで有意に低下していた。Cdの投与時間により精巣毒性が変化している。明期の投与群における精巣上部尾部の精子数および精子運動能の特異的な低下も, 精巣毒性の結果であると評価でき, 投与経路に関わらないと考えられる。さらに, 単回投与でも反復投与においても同様である可能性が高い。投与時刻によりCdのマウスへの精巣(精子)毒性に差が見出され, ヒトに外挿する場合には, 注意を要すると考えられる。

4. Effects of short- and long-term exposure to 1-bromopropane on neurogenesis in adult rats

○Lingyi Zhang¹, Taku Nagai², Kiyofumi Yamada², Daisuke Ibi², Sahoko Ichihara³, Kaviarasan Suburamanian¹, Zhenlie Huang¹, Sahabudeen Sheik Mohideen¹, Hisao Naito¹ and Gaku Ichihara¹

(¹Department of Occupational and Environmental Health,

²Department of Neuropsychopharmacology, Nagoya University Graduate School of Medicine, Japan,

³Mie University Graduate School of Regional Innovation Studies, Japan)

Purpose: Patients with 1-bromopropane (1-BP) intoxication show depression, cognition function and memory deficits. The present study tested the hypothesis that 1-BP suppresses neurogenesis in dentate gyrus which involved in higher central nerve system function, in adult rats. **Methods:** Four groups of twelve male Wistar rats were exposed 8 hrs/day to 1-BP at 0, 400, 800 and 1,000 ppm for 7 days. Four groups of six Wistar male rats were exposed to 1-BP at 0, 400, 800 and 1,000 ppm for two weeks and 0, 200, 400 and 800 ppm for another two weeks. Four groups of six male Wistar rats were exposed to 1-BP at 0, 200, 400 and 800 ppm for four weeks. Rats were injected with 5-bromo-2'-deoxy-uridine (BrdU) after exposure to examine neurogenesis in the dentate gyrus using immunostaining. Factors known to affect neurogenesis, including monoamine level in different brain regions, hippocampal brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and glucocorticoid receptor (GR) mRNA expression levels were also measured. **Results:** BrdU positive cells decreased significantly at 800 ppm after four-week exposure to 1-BP. One-week exposure to 1-BP at 800 and 1,000 ppm significantly reduced noradrenalin level in the striatum. Four-week exposure

to 1-BP decreased significantly noradrenalin level in the hippocampus, prefrontal cortex and striatum at 800 ppm. 1-BP also reduced hippocampal BDNF and GR mRNA expression levels. **Conclusion:** Long-term exposure to 1-BP decreased neurogenesis in the dentate gyrus. Downregulation of mRNA expression of BDNF and GR and low norepinephrine hippocampal levels might partly contribute to the reduced neurogenesis.

5. トリクロロエタノールの代謝における CYP2E1 の役割

日比野優衣¹, 内藤久雄¹, 王 棟¹,
伊藤由起^{1,2}, 上島通浩², 那須民江¹

(¹名古屋大学大学院医学系研究科環境労働衛生学,
²名古屋市立大学大学院医学研究科環境保健学)

【背景】トリクロロエチレン (TRI) は、ヒトでは Hypersensitivity を誘発することが報告されている。我々は Guinea Pig Maximization Test (GPMT) により、TRI のみならず、その主要代謝物のトリクロロエタノール (TCE) 曝露によっても Hypersensitivity が見られることを報告した。TRI による肝障害には、その主要代謝酵素 CYP2E1 が深く関わることから、我々は「TRI による Hypersensitivity にもこのアイソザイムが関わっている」とする仮説をもっている。TCE は肝臓でトリクロロ酢酸 (TCA) に代謝されるので、この代謝に CYP2E1 が関与しているか明らかにすることは、Hypersensitivity のメカニズムを解析する上で重要である。本研究では、CYP による TCE から TCA への生成反応に、CYP2E1 が関与していることを明らかにすることを目的とした。【方法】TRI, TCA および TCE の GPMT を行った。各被験物質を皮内注射した後の 24 時間尿を採取し、TCA と TCE の測定を行った。また、TCE の経口投与を行った野生型マウスと CYP2E1-null 型マウスの 24 時間尿を採取し、同様に TCA と TCE の測定を行った。さらに、肝臓中の CYP2E1 の発現について、Western Blotting 法を用いて検討した。【結果・考察】GPMT を行った各曝露群の尿中代謝物 (TCA, TCE) を測定したところ、どの曝露群でも TCA が検出されたのに対し、TCE は TRI 曝露群と TCE 曝露群のみで検出された。マウスの TCE 曝露実験では、野生型マウスのみ、尿中に TCA が検出された。また Western Blot 分析の結果、モルモットとマウス両方に CYP2E1 の発現が認められた。これらの結果から、CYP2E1 が、TCE から TCA の生成反応を触媒する主要な酵素であることが考えられる。

6. メタボリック症候群の標的分子マーカーの探索

○常 杰^{1,2}, 市原 学¹, 及川伸二³,
堀田康弘², 加藤智英子², 市原佐保子²

(¹名古屋大学大学院医学系研究科環境労働衛生学,
²三重大学大学院地域イノベーション学研究所,
³三重大学大学院医学系研究科環境分子医学)

Background: It is difficult to study the mechanisms of the metabolic syndrome in humans because it attributes to the heterogeneous genetic background and lifestyle. The present study investigated the alteration of gene and protein profiles in the animal model of metabolic syndrome to find possible genes and proteins related with metabolic syndrome. **Methods and Results:** We extracted RNA and protein from the epididymal adipose tissue in the spontaneously hypertensive/NIH-corpulent rat SHR/NDmcr-cp (cp/cp) (CP), SHR/Lean (Lean), or Wistar Kyoto rat (WKY). We observed the different mRNA expression in the adipose tissue at the early (6 weeks of age) and chronic (25 weeks of age) stages on the metabolic syndrome using the oligo DNA microarray analysis. On microarray, 33 genes were significantly ($p < 0.01$) up-regulated and 17 genes were significantly down-regulated compared with WKY and Lean in both 6 and 25 weeks of age. We also observed different protein expression in the adipose tissue at the early and chronic stages on metabolic syndrome using 2D-DIGE connected with MALDI-TOF-TOF analysis. Among them, the expression of monoglyceride lipase is significantly increased and carboxylesterase 3 is significantly decreased in the adipose tissue of CP compared with both Lean and WKY in both 6 and 25 weeks. **Conclusion:** The proteins associated with adipocyte lipolysis may contribute to the pathogenesis or progression of metabolic syndrome.

7. オフセット校正印刷労働者に発生する肝内・肝外胆管癌

○熊谷信二¹, 車谷典男², 市原 学³

(¹産業医科大学, ²奈良県立医科大学, ³名古屋大学)

【発端】オフセット校正印刷会社の元従業員から「肝臓がん」「胆管がん」が複数発生しているが職業関連性のものではないかと、との相談を受けた。【方法】同社の校正印刷部門の従業員 (元従業員を含む) の中で、男性 33 人および女性 7 人について、本人あるいは遺族から、属性、職歴、病歴、飲酒・喫煙習慣、および設備、作業内容、使用物質などについて聞き取り調査を行った。ま

た、肝内・肝外胆管癌患者については診療情報を確認した。【結果】健康影響：男性 11 人が肝内・肝外胆管癌に罹患したことを確認した。そのうち 6 人がすでに死亡している。勤務年数は 8-20 年（平均 12 年）、診断時年齢は 25-45 歳（平均 36 歳）であり、死亡した 6 人の死亡年齢は 27-46 歳（平均 37 歳）であった。原発部位は肝内胆管が 5 人、肝外胆管が 6 人であった。B 型および C 型肝炎ウイルスに関する検査は全員が陰性であった。また多量飲酒者はいなかった。1991 年から 2006 年までの間に、校正印刷部門に 1 年以上勤務したものは男性 62 人、女性 11 人である。このうち、2011 年 12 月までに、少なくとも男性 6 人が肝内・肝外胆管癌で死亡しており、肝内・肝外胆管の悪性新生物の SMR は 2,900（95% 信頼区間 1,100-6,400）となった。作業内容：校正印刷は、刷り上がりの確認のために、本印刷の前に少数枚の印刷を行う工程である。校正印刷では版交換を頻繁に行うので、インキロールおよびブランケットの洗浄剤の使用頻度が非常に高い。作業場からの排気は不十分で、呼吸保護具は支給されていなかった。インキロール洗浄剤は灯油であり、ブランケット洗浄剤は時期により異なる。患者 11 人全員が曝露されたものは 1,2-ジクロロプロパンと灯油であり、10 人が曝露されたものはジクロロメタンである。1,2-ジクロロプロパンへの曝露期間は 7-17 年（平均 10 年）であり、初回曝露から肝内・肝外胆管癌の診断までの期間は 7-20 年（平均 14 年）である。また、10 人のジクロロメタンへの曝露期間は 1-13 年（平均 7 年）である。【結論】校正印刷部門における肝内・肝外胆管癌の高い罹患リスクは、この病気が業務に起因していることを示している。原因としてもっとも疑われるのは 1,2-ジクロロプロパンであり、ジクロロメタンも疑われる。

8. 大阪の印刷工場における疾病災害 一胆管がん発症事例での有機溶剤ばく露を推定する一

○甲田茂樹, 菅野誠一郎, 小野真理子, 小嶋 純, 萩原正義, 鷹屋光俊, 篠原也寸志, 佐々木 毅, 中村憲司, 山田 丸, 柴田延幸
(独立行政法人 労働安全衛生総合研究所)

著者らは、大阪の印刷工場で発症した胆管がんの事例を巡って、有害要因のばく露の有無および程度を検証するために、実際に現地の事業所の協力を得て、有機溶剤ばく露の推定を実施した結果を報告する。胆管がん発症に関わる有機溶剤ばく露を推定するために、事業所で使用してきた化学物質の種類と量、校正印刷機の位置や大きさ等、排気装置の仕組みや位置・性能等について事前に情報を収集した上で模擬実験を行い、有機溶剤のばく露を推定した。労働者の有機溶剤ばく露を推定するために実施した模擬実験では、2 系統の空調システム（全

体循環系と床下排気系）のみを稼働させ、DCM と DCP を混合し（各々容積比で 53.6% と 46.4%）、1 時間当たり 1.75 リットルを使用した。排気量は 3,344 m³/h と多かったが、還流率が 56% に達しており、このような環境下で有害化学物質を大量に使用した場合、汚染された空気が循環するため、高濃度ばく露につながることは容易に予想され、事実、DCM 検知管による測定で全体循環系の吹出口から供給される空気が汚染されていることを確認した。今回、模擬作業を行った安衛研職員の個人ばく露は DCM : 130-360 ppm, DCP : 60-210 ppm であった。これは ACGIH の 8 時間平均許容濃度のそれぞれ 2.6-7.2 倍、6-21 倍程度のばく露である。仮に、実際の洗浄作業で使用されていた有機溶剤の使用量が今回より多いとすれば、従事していた作業者のばく露量は、これよりさらに高かったと予想される。環境濃度については、DCM : 70-190 ppm, DCP : 30-80 ppm であり、個人ばく露濃度は環境濃度の 2 倍近い値であった。A エリアと B エリアでの個人ばく露濃度 (A > B) と定点における環境濃度 (S1 > S6) の測定結果から、場所によって個人ばく露濃度と環境濃度に高低の不均等が認められた。すなわち、この作業場では、2 系統の空調システムの不適切な配置等が均一な拡散と排気を妨げ、局所的な室内空気の滞留を起こしやすくしていると推測された。このことを考慮して、有限要素解析 (FEM) を用いて環境濃度を推定した結果、混合有機溶剤の使用量が 1.75 リットルの場合 DCM : 110-200 ppm, DCP : 62-110 ppm, 3.5 リットルの場合 DCM : 230-410 ppm, DCP : 130-220 ppm, DCP 単独の使用量が 1.75 リットルの場合 DCP : 140-230 ppm, 3.5 リットルの場合 DCP : 280-460 ppm と推定された。この結果は環境濃度であるため、個人ばく露濃度はさらに高くなることが予想される。

9. マウスにおける 1,2-ジクロロプロパンの代謝経路と毒性について

○柳場由絵¹, 鈴木哲矢¹, 須田 恵¹, 那須民江², 王 瑞生¹

(¹独立行政法人 労働安全衛生総合研究所, ²中部大学生命健康科学部)

大阪府にある印刷事業場において、従業員や元従業員に胆管がんを発症したことが報告された。この事業場では、通気が不十分な作業場において、1,2-ジクロロプロパン (DCP) などの有機塩素系溶剤を含有する洗浄剤が多量に使用されていたことが判明し、洗浄作業に従事していた労働者は高濃度の蒸気に曝露していたと考えられている。一方、DCP は動物では高濃度のばく露により肝臓の腺腫および肺がんなどの発生率が増えたという報告があるが、ヒトにおける発がん性については

不明である。本研究では DCP の代謝にかかわる可能性が示唆される CYP2E1 に注目し、DCP ばく露による肝臓への影響およびそのメカニズムについて検討を開始した。【方法】8～9 週齢の雄性野生型および CYP2E1-null 型マウスを用い、DCP (0, 100, 200, 300 mg/kg 体重, 各群 n = 6) の腹腔内投与を行った。投与 16 時間後に肝臓、血液を採取した。肝障害の指標である血漿中 ALT と AST 活性、肝臓中の GSH の濃度を測定した。【結果・考察】ALT については、野生型マウスでのみ用量依存的に上昇傾向があったが、高濃度ばく露群でのみにおいて対照群との間に有意差が認められた。これらの結果から、CYP2E1 が DCP の代謝に関与し、その代謝物は急性肝障害を誘発することが示唆された。また、肝臓中の GSH 濃度は野生型でのみは有意な差は無いものの、用量依存的に低下傾向が観察された。以上の結果から、CYP2E1 が DCP の代謝に関与し、CYP2E1 を介した代謝物が急性肝障害の発生に重要な役割を果たしていることが推察された。

10. 芳香族アミン曝露作業者の発癌リスクに関する歴史的コホート研究

○岡岡公子, 岡本 希, 佐伯圭吾, 大林賢史, 車谷典男 (奈良県立医科大学地域健康医学教室)

【目的】ベンジジン、 β -ナフチルアミンなどの芳香族アミンが尿路系に癌を引き起こすことは良く知られているが、他の部位の発癌性については十分検討されていない。そこで、芳香族アミン曝露による尿路系以外の部位の発癌リスクを検討する目的で、歴史的コホート研究を実施した。【方法】対象者は 1953-1980 年に芳香族アミンを製造していた事業所に半年以上就労し、芳香族アミンを取扱っていた男性労働者全員 (231 名) である。地域がん登録資料、死亡診断書または診療情報によって癌罹患が確認できたケースを癌罹患ありと判定した。大阪府男性を基準集団として標準化罹患比 (SIR) を求め、ポアソン分布に従いその 95% の信頼区間 (CI) を求めた。比例ハザード性の仮定は満たされていなかったため、肺癌の要因分析は、追跡期間中の肺癌罹患を従属変数、芳香族アミンの推定曝露量、ビスクロロメチルエーテルの取扱い歴の有無、喫煙曝露、芳香族アミンの取扱い開始時の年齢および追跡年数を説明変数とした多重ロジスティック回帰分析を用いた。【結果】2012 年 9 月時点で追跡出来た 178 名 (追跡率 77.1%) のうち、60 名で癌罹患を認めた。重複癌については、二重癌が 5 名、三重癌が 1 名であった。全癌 (観察値 67) の SIR は 1.9 (95% CI : 1.5-2.5) で有意な過剰発癌を認めた。部位別 SIR について、芳香族アミンの推定曝露量別に解析した結果、低曝露群では前立腺癌 (SIR : 10.4, 95% CI : 2.8-26.7)、高曝露群では大腸癌 (3.1, 1.4-5.8)、肺癌 (3.1,

1.5-5.5) および尿路系癌 (7.6, 3.3-15.0) の有意な SIR 上昇を認めた。多重ロジスティック回帰分析の結果、ビスクロロメチルエーテル、喫煙曝露、取扱い開始時の年齢および追跡年数で調整しても、肺癌罹患は芳香族アミンの推定曝露量と有意な関連を認めた (調整オッズ比 = 6.1, 95% CI : 1.7-22.3)。【考察】芳香族アミンは肺への発癌性を有している可能性がある。今後、追跡率を向上させ、本コホートにおける最終的な発癌リスクを評価する予定である (本研究は平成 23-24 年度科学研究費若手 B の助成を受け、大阪府悪性新生物患者登録資料を利用した)。

11. MCS の嗅覚嫌悪条件づけモデル —嗅覚刺激を条件刺激として—

北條理恵子¹, 橋本 充^{1,2}, 嵯峨智之^{1,2}, 久保田久代¹, 小林健一¹, 宮川宗之¹

(¹独立行政法人 労働安全衛生総合研究所, ²麻布大学)

いわゆる多種化学物質過敏症患者の多くが化学物質のにおいへの嫌悪反応を訴えるため、においと「病的状態」を接近して経験すると、そのにおいを「嫌悪的」と知覚し、過敏症状が発現するとする「嗅覚刺激への嫌悪条件づけ」が発症機序仮説として挙げられるが、いままでも検証実験はほとんどない。【目的】「嗅覚嫌悪条件づけ仮説」にもとづき、嗅覚刺激と有害化学物質による病的状態間に条件付けが成立するかを検討した。【方法】飲水制限を施した SD オスラットに、嗅覚刺激としてキシレン溶液を 30 分間摂取させ、直後に 0.3 M の塩化リチウム (LiCl)、0.2 または 0.4 mg/kgBW のネオスチグミン (Neo) を 1 ml 腹腔内投与 (i.p.) した。対照群には生理食塩水を同量 i.p. した。投与 24 時間後にキシレン溶液と飲用水を 30 分間対提示し、水分総摂取量に対するキシレン溶液の相対摂取量を測定し、条件づけ成立を判定した。その 2 日後、トルエン飽和溶液と飲用水を 30 分間対提示した。【結果】LiCl 投与群のみ対照群よりキシレン飽和溶液の相対摂取量が少なく、キシレン溶液と LiCl 投与での内臓不快感に条件付けが成立した。LiCl 群のトルエン飽和水溶液の相対摂取量も対照群より少なく、般化が生じたことが示唆された。Neo 群では条件付けは成立しなかった。【結論】LiCl 投与では嗅覚刺激による条件性嫌悪学習が成立する可能性が示唆された。

12. ヒトのフタル酸ジ-2-エチルヘキシル代謝能とマウスとの種差

○伊藤由起¹, 上島通浩¹, 長谷川知恵¹, 田川雅大², 河合俊夫³, 三宅美緒¹, 林 由美², 那須民江²

(¹名古屋市立大学大学院医学研究科環境保健学,

²名古屋大学大学院医学系研究科環境労働衛生学,

³中央労働災害防止協会・大阪労働衛生総合センター)

【背景・目的】プラスチック可塑剤フタル酸ジ-2-エチルヘキシル (DEHP) は、発がん性等を有することが知られている。これらの毒性にはげっ歯類とマウスの間に種差があり、DEHP の代謝の種差が大きく寄与している。しかし、ヒトの DEHP 代謝能についてはほとんど検討されていない。そこで本研究では、ヒトとマウス間での DEHP の代謝能と尿中の DEHP 代謝物量の比較検討をおこなった。【方法】ヒトの肝臓は倫理審査委員会の承認後に入手した。白人男性を中心に、各年代・性別・人種を考慮した 38 人の肝臓と、対照として雄マウスの肝臓を用いて、DEHP 代謝酵素 (リパーゼ、UDP-グルクロニルトランスフェラーゼ (UGT)、アルコール脱水素酵素 (ADH)、アルデヒド脱水素酵素 (ALDH)) の活性の測定を行った。また、肝臓中ならびにマウスの 24 時間畜尿中の DEHP 代謝物濃度は、ガスクロマトグラフィー質量分析計で測定した。【結果】リパーゼと UGT の活性は、マウスの方がヒトよりもそれぞれ 6.7 倍と 5.5 倍活性が高かった。肝臓中の DEHP 代謝物濃度はヒトとマウスでは同程度であるが、尿中の酸化、カルボキシル化代謝物濃度は、マウスではヒトでの報告に比べて低かった。ALDH 活性は、マウスの方がヒトよりも 1.6 倍高かったが、ADH 活性は逆にマウスよりもヒトの活性の方が 2.0 倍高かった。いずれの酵素活性も個人差が大きく、最高値と最小値の間に 10-26 倍の差が見られた。明らかな人種差、性差、年齢差は見られなかった。【結論】リパーゼ活性と UGT 活性の両方が DEHP の動態には大きく寄与していると推察された。ヒトとマウス間の DEHP 代謝能の種差よりもむしろヒトの個人差が大きい為、リスク評価の際には個人差を重視することが必要である。

13. ETBE 低濃度ばく露後マウスの各種組織における DNA 損傷について

○王 瑞生, 須田 恵, 大谷勝己, 柳場由絵, 鈴木哲矢
(独立行政法人 労働安全衛生総合研究所)

エチルターシャリーブチルエーテル (ETBE) はバイオ燃料である。先行の動物実験の結果から、ETBE の最大無毒性量 (NOAEL) は 500 ppm と推定された。一方では体内で ETBE からアセトアルデヒドなどのアルデヒド類が代謝されるが、東アジア人の約 4 割はアルデヒドを代謝する酵素 (ALDH2) の活性が低い。私達は ALDH2 遺伝子ノックアウト (KO) マウスを用いて検討した結果、500 ppm においても種々の組織の DNA 鎖断裂や酸化損傷が検出された。本実験はより低い濃度領域において ETBE 曝露による生体影響を解明するのが目的である。【方法】野生型と ALDH2 遺伝子のヘテロノックアウト型 (HT), KO 型雄性マウスを 0, 50, 200, 500 ppm の ETBE に毎日 6 時間、5 日 / 週で 9 週

間吸入ばく露させた。血液、肝臓、精巣上体尾部を摘出して、その一部を用いてコメットアッセイ法で DNA 損傷度 (コメットのテール輝度, TI 値) の解析を行った。【結果】比較的低濃度の ETBE ばく露後、肝小葉中心性細胞腫大は野生型マウスでは ETBE ばく露による増加はなかったが、HT と KO マウスでは有意差がないものの、増加傾向が見られた。野生型マウスにおいては ETBE 曝露による肝細胞 DNA 損傷の上昇が認められなかった。HT および KO マウスでは、200 と 500 ppm ばく露群は対照群より有意に上昇した。白血球および精子における DNA 損傷の変化は肝細胞と類似していた。【考察】本研究から ALDH2 酵素活性欠損マウスでは ETBE の NOAEL は 50 ppm と推測され、野生型マウスより著しく低いことが判明した。

14. 二つの尿中代謝物と個人曝露濃度の測定による N,N-ジメチルホルムアミド取扱い作業者の曝露評価

○簗添 葵¹, 宮内博幸¹, 津田洋子², 田中 茂³,
有藤平八郎⁴, 塚原照臣², 野見山哲生²

(¹産業保健協会, ²信州大学医学部衛生学公衆衛生学,

³十文字学園女子大学大学院・人間生活,

⁴中央労働災害防止協会労働衛生調査分析センター)

【緒言】日本の有機溶剤特殊健康診断や ACGIH, ドイツ DFG では、N,N-dimethylformamide (DMF) の生物学的モニタリング指標値として作業後尿中 N-methylformamide (NMF) 濃度を定めているほか、ACGIH では週の最終シフト日の作業前尿中 N-acetyl-S- (N-methylcarbamoyl) cysteine (AMCC) 濃度も勧告している。AMCC の生物学的半減期は NMF より長く、肝毒性の指標になるとの報告もある。本研究では樹脂製造工場の付帯業務に従事している DMF 低濃度曝露作業者を対象に、季節による変動を考慮して DMF 個人曝露濃度、尿中 NMF と AMCC 濃度について検討を行った。【方法】夏季 128 名、冬季 142 名の DMF 取扱い作業者を対象とした。週の最終シフト日の作業前後に採尿し、尿中 NMF, AMCC 濃度測定を行った。また、DMF 個人曝露濃度の測定は、精製水を捕集液としたパッシブサンプラー (LiPS) を用いて行った。作業者は呼吸用保護具、化学防護服・手袋等は未装着であった。LiPS の捕集液、尿中 NMF, AMCC は、GC-MS に導入して分析を行った。AMCC は Mraz らの前処理方法に従い、GC-MS で分析を行った。【結果及び考察】DMF 個人曝露濃度を 10 ppm に換算し、夏季と冬季に分けて DMF 曝露濃度と作業後尿中 NMF 濃度を比較した結果、夏季のほうが冬季に比べて有意に DMF 曝露濃度が高い値であった。夏季は冬季に比べて気温や相対湿度が高く、発汗量が多いため、DMF の経皮吸収量が多くなったことに起因すると考察された。ま

た、両季節を合わせた作業前尿中 AMCC 濃度と DMF 曝露濃度を比較した結果、DMF 曝露濃度が高いほど尿中 AMCC 濃度も高くなった。尿中 AMCC 濃度は、生物学的半減期 (23 h) が比較的長いこと、蓄積性を示し、日々の曝露レベルの状況を反映した結果になったと推測され、生物学的モニタリング指標としての有用性が認められた。

15. 尿中 N-メチルホルムアミドおよび N-メチルアセトアミドのクロスチェック集計結果

○市場正良^{1,3}, 山本 忍^{1,3},
天野有康^{2,3}, 中村 正^{2,3}

(¹ 佐賀大学社会医学, ² 江東微生物研究所,

³ 労働衛生検査精度向上研究会)

【はじめに】労働衛生検査精度向上研究会では、特殊健康診断項目の精度向上および測定法の標準化等を目的として活動を続けている。今回、N,N-ジメチルホルムアミド (DMF) の尿中代謝物 N-メチルホルムアミド (NMF) について、平成 23 年度に実施したクロスチェックの結果について報告する。また、DMF に類似した物質として今後ばく露評価を考えるべき N,N-ジメチルアセトアミド (DMAC) の尿中代謝物である N-メチルアセトアミド (NMAC) について、精度管理の予備的検討と会員機関の検査受託状況調査を実施したので報告する。【試料および方法】今回実施したクロスチェックに参加した機関は NMF 8 施設、NMAC 6 施設である。試料は、NMF では標準水溶液 3 濃度、ばく露尿 4 濃度、非ばく露添加尿 3 濃度を、NMAC では、ばく露尿 2 濃度を用いた。5 施設が GC-NPD 法、3 施設が GC-MS 法であり、いずれの施設も NMAC、NMF と同じ分析条件を用い、使用カラムは極性カラム、定量には内部標準法を採用していた。また、炭酸カリウム処理は、5 施設で行われ、注入口温度は、150℃から、280℃であった。【結果および考察】変動係数は NMF では、ばく露尿と水溶液の低濃度試料でそれぞれ 13.2、19.1%、それ以外は、ばく露尿 5.5-8.5%、添加尿 5.1-7.5%、5.0-9.0% であった。NMAC は、低濃度試料で 24.4%、高濃度試料で 7.1% であった。DMF、DMAC の代謝では、中間代謝物である DMF-OH および DMAC-OH が、GC 注入口の熱によって熱分解し NMF、NMAC に変化していると考えられている。NMAC を注入口温度を変えて分析すると、注入口温度 175℃でプラトーとなった。したがって、注入口温度 150℃では未変化体の DMAC-OH も含まれることから測定値に影響を及ぼすことが示唆された。NMAC の検査受託状況は、3 施設で受託があり、年間受託件数は 1,279 件であった。そのうち、30 mg/l 以上を示す検体数は、7% であった。NMF 検体での NMAC 混合に関しては、MMF 検体数の 0.8% とわ

ずかではあるが NMF のサンプルに NMAC ピークが確認された。【まとめ】クロスチェック結果は、低濃度でのばらつきがあった。注入口温度も測定精度に影響を及ぼすことが示唆された。NMAC 千件以上の受託があり、NMF との混合使用は少なかった。

16. Dispersion method for safety research on manufactured nanomaterials

○Wenting Wu^{1,2}, Gaku Ichihara¹, Yuka Suzuki²,
Kiyora Izuoka², Saeko Oikawa-Tada², Jie Chang^{1,2},
Kiyoshi Sakai³, Kunichi Miyazawa⁴, Dale Porter⁵,
Vincet Castranova⁵, Masami Kawaguchi⁶ and
Sahoko Ichihara²

(¹Department of Occupational and Environmental Health, Nagoya University Graduate School of Medicine, Japan,

²Graduate School of Regional Innovation Studies, Mie University, Japan,

³Nagoya City Public Health Research Institute, Japan,

⁴National Institute for Materials Science, Japan,

⁵National Institute for Occupational Safety and Health, USA,

⁶Department of Chemistry for Materials, Faculty of Engineering, Mie University, Japan)

Intratracheal instillation is commonly used in *in vivo* safety research on manufactured nanomaterials. However, nanomaterials tend to agglomerate in aqueous media, resulting in inaccurate assessment of the respiratory system response to these substances. The present study searched for suitable dispersion methods for the preparation of nanomaterial suspensions. Titanium dioxide (TiO₂) and zinc oxide (ZnO) nanoparticles were dispersed in a biocompatible dispersion medium by direct probe-type sonicator and indirect cup-type sonicator. Size characterization was completed using dynamic light scattering and transmission electron microscopy. A series of sonication time and output power, as well as two different particle concentrations were tested. Microscopic contamination of metal titanium that broke away from the tip of the probe into the suspension was found when it was operated at 220 W for 30 min. Size of agglomerated TiO₂ nanoparticles decreased with increase in sonication time or output power. The size distribution of TiO₂ nanoparticles deflected toward a larger size in higher particle concentration, while a small difference in size was noted between

different concentrations of ZnO nanoparticles. Agglomerated TiO₂ nanoparticles were dispersed into 371.8 ± 12.5 nm when cooled by circulating 30% ethanol kept at -10°C, but 154.5 ± 4.7 nm at 5°C. A practical protocol was then selected and used. The average size of well-dispersed nanoparticles using the selected protocol increased by less than 8% at 7 days after sonication. Multi-walled carbon nanotubes were also well dispersed by the same protocol. The study suggests that temperature plays an important role in nanomaterial dispersion in terms of both size distribution and suspension stability. Dispersion concentration should also be taken into consideration when specific particles are dispersed at different concentrations. The cup-type sonicator might be a useful alternative to the traditional bath-type sonicator of probe-type sonicator based on its effective energy delivery and assurance of suspension purity.

17. ナチュラルキラー細胞機能に対する多層カーボンナノチューブの曝露影響

○西村泰光, 武井直子, 松崎秀紀, 李 順姫, 大槻剛巳
(川崎医科大学衛生学)

カーボンナノチューブ (CNT) は, 次世代素材として利用が期待されている一方, 細くて長い特徴はアスベスト (石綿) に類似し, CNT 投与による悪性中皮腫発症が実験動物で確認されている。我々は, 抗腫瘍免疫機能への石綿曝露影響に注目し, 活性化受容体の一つである NKp46 の発現量低下を伴う細胞傷害性低下が石綿曝露により引き起こされ, 中皮腫患者の NK 細胞にも同様の特徴が見られることを明らかにしてきた。そこで, CNT 曝露の NK 細胞機能への影響を調べた。PBMC または単離した CD14 + 単球, CD4 + Th 細胞, CD3-CD56 + NK 細胞を 10% FBS 含, IL-2 添加, RPMI1640 培地で曝露濃度 1 または 5 μg/ml のガラスウール (GW), 石綿 chrysotile B (CB) または多層 CNT (国立環境研, 平野氏より供与) と共に培養した。CNT は 10% Pluronic F68 に懸濁後, 超音波処理により分散し用いた。PBMC 培養 7 日後, NK 細胞上 NKp46・NKp44 発現量は CB または CNT 曝露により抑制され, GW では対照培養と差がなかった。CNT 曝露は, 単離 NK 細胞培養時の NKG2D 発現量低下も引き起こした。CNT 曝露 PBMC 由来 NK 細胞は NKp46 依存的標的細胞への細胞傷害の低下を示し, CB 曝露由来 NK は加えて K562 への細胞傷害性低下を示した。CB 曝露は CD14 + 単球培養時の annexin V + アポトーシスを引き起こし, CNT は NK にもアポトーシスを誘導した。CNT 曝露下では NK または CD4 + Th 培養時の細

胞増殖・生存能が低下したが, CB では見られなかった。上記の結果は CNT 曝露がアスベスト曝露に類似し NK 細胞機能に影響する可能性を示唆するとともに, アスベストとは異なる曝露影響の特徴も示す。今後, CNT 直接曝露時の NK 細胞傷害性への影響など更に機能解析をすすめる必要がある。

18. *Aldh2* 遺伝子ノックアウトマウスにおける ETBE 代謝物の尿中への排泄

○須田 恵¹, 柳場由絵¹, 大谷勝己¹,
翁 祖銓², 王 瑞生¹

¹ 独立行政法人 労働安全衛生総合研究所,
² 米国国立毒性研究センター (NCTR/FDA)

【背景】エチルターシャリーブチルエーテル (ETBE) の代謝にアルデヒド脱水素酵素 2 (ALDH2) が関与することから, 我々は *Aldh2* 遺伝子ノックアウトマウス (KO マウス) を用いてアセトアルデヒド代謝が遅い場合の毒性情報の蓄積に努めてきた。その実験の一部により, ETBE の一次代謝産物であるターシャリーブチルアルコール (TBA) のさらなる代謝にも ALDH2 の関与をすることが示唆されたので, 尿中へ排泄される代謝物の量を測定した。【方法】C57BL/6J 系の雄の野生型マウスを 15 匹, KO マウスを 15 匹実験に用いた。各タイプのマウスのそれぞれ 3 匹づつを 1 組としてひとつの採尿ケージに入れ (n = 5), 8 週齢, 9 週齢の時点で対照として採尿し, 10 週齢以降 ETBE への 6 時間曝露を 1 週間間隔で, 1, 5, 50, 500 ppm と濃度を変えて曝露し, 採尿した。採尿は曝露終了後 0-1, 1-2, 2-3, 3-5, 5-7, 7-9, 9-24 時間で行った。遊離 + 抱合体の TBA (総 TBA) は, GC/MS に導入して定量した。定量した総 TBA 濃度はクレアチニンで補正した。【結果】対照群では全ての測定時間において, 総 TBA は検出されなかった。曝露後 0-1 時間尿の総 TBA 濃度は, 1 ppm では KO マウスの方が有意に野生型マウスよりも濃度が有意に高く, 野生型, KO 型の両方のタイプで用量依存的に増加したが, 5 ppm 以上の濃度ではタイプ間に有意差はなかった。しかし, ばく露終了後 1-2 間の尿では 1 ppm, 5 ppm と 50 ppm で, また, 2-3, 3-5 時間の尿では, ばく露群は全て KO 型の方が総 TBA 濃度は有意に高かった。【考察】時間帯にもよるが, 多くの時間帯で野生型マウスと KO マウスの尿中総 TBA 濃度には各タイプとも用量依存的に濃度が変化した。しかしながら, 他の時間には現れる総 TBA 濃度のタイプ間の有意差が, 0-1 時間尿には無いので, 結果の解釈にはさらに検討が必要である。

19. ビスフェノール A の次世代生殖系へ及ぼす影響

○小林健一, 大谷勝己, 久保田久代,
北條理恵子, 宮川宗之

(独立行政法人 労働安全衛生総合研究所)

本研究ではビスフェノール A (BPA) の生殖発生毒性に絞り, 低用量影響を明らかにすることを目的とした。ここでは低用量影響を「従来の生殖試験で得られた無毒性量 (5 mg/kg/日) よりも低い用量においても観察される生体影響」と仮定し, 次世代生殖発生における影響を検索した。CD (SD) IGS ラットの妊娠第 6 日から離乳日 (生後 21 日) にかけて BPA を各群 0, 0.33, 3.3 および 33 ppm の濃度で混餌曝露した。児は若齢期および成熟期において, 雌雄の体重, 肛門生殖突起間距離, 精巣, 精巣上部, 前立腺, 卵巣, 子宮および膈重量を測定した。成熟期雄については精巣上部尾部から採材した精子運動能を調べた。成熟期の雌については 13 週齢以降, 膈上皮細胞診観察による発情間期に採材を行なった。若齢期および成熟期の児から得られた血中のテストステロンおよびジハイドロテストステロン濃度 (雄) は酵素免疫測定法により, エストロジェンおよびプロジェステロン (雌) 濃度は時間分解蛍光免疫測定法により測定を行なった。母動物の妊娠期から授乳期にかけての体重変化, 妊娠期間, 児数およびその性比は, BPA 群は対照群と比べ差は見られなかった。児においては, BPA 群は対照群との間で差が認められた指標が幾つかみられたものの, BPA に起因すると思われる明確な影響は認められなかった。

20. Pig-A アッセイの中長期ばく露実験における遺伝毒性モニタリングへの応用

○鈴木哲矢¹, 柳場由絵¹, 須田 恵¹,
大谷 真^{2,3}, 櫻田尚樹³, 王 瑞生¹

(¹独立行政法人 労働安全衛生総合研究所
健康障害予防研究グループ,

²明治薬科大学衛生化学,

³国立保健医療科学院生活環境部)

近年, GPI アンカーの生合成に関係する *Pig-A* 遺伝子を指標とした遺伝子突然変異の検出系が開発され, 動物個体の末梢血を用いて遺伝子突然変異を解析することが可能になった。*Pig-A* 遺伝子の変異により GPI アンカーの生合成が行われなくなると膜表面より GPI アンカー結合タンパク質が失われる。化学物質により造血幹細胞の *Pig-A* 遺伝子に変異が起きるとそこから分化した赤血球は表面タンパク質を欠失しているため, GPI アンカー結合タンパク質である CD24 に対する蛍光標識抗体

を用いて, フローサイトメトリーによって遺伝子突然変異を測定することができる。本研究では, 変異原性を有するアルキル化剤であるエチルニトロソ尿素 (ENU) を用いて *Pig-A* アッセイの有用性を検証した。8 週齢の B6C3F1 雄マウスを用い, ENU を 70 mg/kg で腹腔内投与した。投与後 2, 3, 4, 6 週目に尾静脈より採血を行い, *Pig-A* アッセイに用いた。フローサイトメーターにより赤血球を分離し, そのうちの CD24 陰性の赤血球を分離した。赤血球のうち CD24 陰性の赤血球数をカウントし突然変異頻度として算出した。ENU 投与群では CD24 陰性の赤血球の蓄積し, 変異頻度の増加が見られた。この結果は, *Pig-A* アッセイが産業化学物質の中長期的なばく露実験を行う際の継続的な遺伝子突然変異のモニタリングに有用であることを示している。

21. 2-プロモプロパンによるラット精子の形態変化

○大谷勝己¹, 山崎 蒼²

(¹独立行政法人 労働安全衛生総合研究所,
²昭和大学医学部)

【目的】筆者らはコンピューターを用いた精子運動能自動解析法 (CASA) を利用している間に (1) 塗沫や染色の操作を必要とせず無傷の状態の精子の形態を観察できる, (2) 画像を容易に保存できる, (3) 暗視野の画像のために未成熟精子を肉眼で検出しやすい, 等の有用性を見出した。そこで 2-プロモプロパン (2BP) を試験物質としこの有用性を検討した。【方法】12 週齢 F344 雄性ラットに溶媒とともに 2BP (25-100 mg/kg) を週 2 回 4 週間皮下投与した (全 8 回)。1 週間後, 麻酔して解剖し, 生殖臓器重量等を測定し, 精巣上部尾部の精子数および運動能を CASA (HTM-IVOS) で測定した。また CASA における拡大画像から, 首折精子, 短形精子, 未成熟精子, 無頭精子, 無尾精子を目視計測した。【結果】精巣重量は全ての群で減少していた。また, 最高濃度の 2,000 mg/kg 投与群において有意な精子減少を確認した。さらに, 短形精子, 首折精子, 無頭精子, 無尾精子は最高濃度の 2,000 mg/kg 投与群においてのみ有意に増加していた。未成熟精子はすべての投与群において増加した。他方, 運動能に変化は認められなかった。【考察】運動能の低下が顕著でない状況でも, 2BP による精子の形態変化が検出可能であることが示された。また, 特に未成熟精子の検出など精子の尾部に顕著な変化を検出できることも示された。さらに塗沫標本では, アーチファクトとされがちな離断精子や首折精子を定量的に観察できたことも本法の有利な点といえる。

会費納入のお願い

正会員各位

平成 25 年度の会費 10,000 円をご納入くださいますようお願い申し上げます。

本号 55 卷 2 号 (3 月号) に郵便振替の払込取扱票を綴じ込みしております。
必ず、会員番号、会員名等をご記入ください。

振込先口座：00100-7-133495

加入者名：公益社団法人 日本産業衛生学会

また、インターネットバンキングや他金融機関からの振り込みをなさる方は、
振込先口座を下記のように読み替えてお手続きください。

ゆうちょ銀行 〇一九 (ゼロイチキョウ) 店

口座番号：当座 0133495

受取人：コウエキシャダンホウジン ニホンサンギョウエイセイガツカイ
ご本人様確認のため、「依頼人番号入力」などで必ず会員番号をご入力ください。
入力設定のない場合は「振込人氏名」で氏名に続けて会員番号をご入力ください。
氏名と会員番号の両方の記載がない場合、どなたのお振り込みかを特定できない
ことがありますのでご注意ください。

※法人名でお振込みになる場合は、会員特定のため、必ず下記の内容を FAX にて
ご連絡ください。

- ・振込年月日・振込者名
- ・会員番号・会員氏名

早期のご納入にご協力いただけますよう、お願い申し上げます。

公益社団法人 日本産業衛生学会
事務局

TEL：03-3356-1536

FAX：03-5362-3746