慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	インジウム等重金属曝露作業者における酸化ストレスマーカーとの量影響関係
Sub Title	Dose-effect relationship between heavy-metal exposure levels and oxidative stress markers in heavy-metal exposed workers
Author	岩澤, 聡子(Iwasawa, Satoko) 大前, 和幸(Omae, Kazuyuki) 中野, 真規子(Nakano, Makiko)
Publisher	
Publication year	2014
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2013.)
JaLC DOI	
Abstract	本研究の目的は、重金属曝露作業者における酸化ストレスマーカーとの量影響関係を検討することである。対象は、二次鉛精錬工場における男性作業者27名と、金属インジウムおよびインジウム化合物作業者59名であった。曝露指標として、血中鉛(Pb-B)と血清インジウム(In-S)濃度を用いた。影響指標としては、リン脂質で過酸化を受け合成する8-iso-PGF、およびDNAの酸化損傷指標8-OHdGを、生体内の酸化ストレスマーカーとして用いた。鉛曝露作業者において曝露と尿中8-iso-PGFおよび尿中8-OHdGとの量影響関係を明らかにすることができたが、インジウム曝露との間では関連が示されなかった。 The aim of this study was to investigate the dose-effect relationships between heavy metal exposure and oxidative stress markers. The subjects were 27 male workers in a lead secondary smelting factory, and 59 workers exposed to indium metal or indium compounds. Lead in whole blood (Pb-B) or indium in serum (In-S) was measured as an exposure index of lead or indium. Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) and urinary 8-isoprostaglandin F2 alpha(8-iso-PGF) were determined as a DNA peroxidation stress marker and as a cell membrane peroxidation stress biomarker. Significant exposure-effect relationships were observed between Pb-B and 8-OHdG, and between Pb-B and 8-iso-PGF. Lead exposure may induce peroxidation stress on DNA and cell membrane lipid. Conversely, there were no significant relationships between In-S and two biomarkers.
Notes	研究種目：若手研究(B) 研究期間：2012～2013 課題番号：24790591 研究分野：医歯薬学 科研費の分科・細目：社会医学・衛生学
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_24790591seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

平成 ２６ 年　 ５ 月 ３０ 日現在

機関番号：３２６１２
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2012～2013
課題番号：２４７９０５９１

研究課題名（和文）インジウム等重金属曝露作業者における酸化ストレスマーカーとの量影響関係

研究課題名（英文）Dose-effect relationship between heavy-metal exposure levels and oxidative stress markers in heavy-metal exposed workers

研究代表者
岩澤　聡子（Iwasawa, Satoko）

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：１０５７０３６９

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,200,000円、（間接経費）　　960,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、重金属曝露作業者における酸化ストレスマーカーとの量影響関係を検討することである。対象は、二次鉛精錬工場における男性作業者27名と、金属インジウムおよびインジウム化合物作業者59名であった。曝露指標として、血中鉛(Pb-B)と血清インジウム(In-S)濃度を用いた。影響指標としては、リン脂質で過酸化を受け合成する8-iso-PGF、およびDNAの酸化損傷指標8-OHdGを、生体内の酸化ストレスマーカーとして用いた。鉛曝露作業者において曝露と尿中8-iso-PGFおよび尿中8-OHdGとの量影響関係を明らかにすることができたが、インジウム曝露との間では関連が示されなかった。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study was to investigate the dose-effect relationships between heavy metal exposure and oxidative stress markers. The subjects were 27 male workers in a lead secondary smelting factory, and 59 workers exposed to indium metal or indium compounds. Lead in whole blood (Pb-B) or indium in serum (In-S) was measured as an exposure index of lead or indium. Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) and urinary 8-isoprostaglandin F2 alpha(8-iso-PGF) were determined as a DNA peroxidation stress marker and as a cell membrane peroxidation stress biomarker.
Significant exposure-effect relationships were observed between Pb-B and 8-OHdG, and between Pb-B and 8-iso-PGF. Lead exposure may induce peroxidation stress on DNA and cell membrane lipid. Conversely, there were no significant relationships between In-S and two biomarkers.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・衛生学

キーワード：産業中毒　酸化ストレスマーカー　血液中鉛　血清インジウム　量影響関係

１．研究開始当初の背景

生体内で過剰産生した活性酸素種・フリーラジカルが、生体成分の DNA、蛋白質、脂質等を変性させ、悪性新生物，動脈硬化，高血圧，糖尿病の一因となることが明らかになってきた。代表的な DNA に対する酸化ストレスマーカーは、8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (以下、8-OHdG と略)であるが、近年脂質の酸化ストレスマーカーとして 8-iso-prostaglandin-F2α（以下 8-iso-PGF と略）の測定が可能になってきた。8-iso-PGF は、ホスファチジルコリンに 2 分子の酸素分子が作用し、phospholirase A2(PLA2)によって、エステル結合が加水分解されて遊離し、血中に入り尿中に分泌されると考えられている。イソプラスタン類の中で、リン脂質で直接的に活性酸素により過酸化を受け、酵素を介することなく合成する 8-iso-PGF は、生体内の酸化ストレスマーカーとして、特に高感度の指標であるとして注目を集めている。『これまで鉛やヒ素、カドミウムなどの重金属曝露では、尿中 8-OHdG 排泄が増加する』ことが報告されており、これらの重金属が酸化ストレスを増大することが明らかとなっているが、『重金属曝露と 8-iso-PGF の関連』に関する報告はない。

レアメタルであるインジウムは、1990 年頃までは産業需要が少なく、毒性は注目されることもなかった。1990 年代になると、化合物半導体としてのインジウムリン・インジウムヒ素、および、液晶ディスプレイパネルの透明伝導電膜用の酸化インジウム・酸化スズ焼結体（ITO）の需要増により、インジウム化合物粒子曝露機会が増大し、健康影響が懸念された。1995 年以降、慶應大および九州大は化合物半導体粒子の強い肺への起炎症性を明らかにし（Uemura et al.,1997;Oda 1997; Tanaka et al.,1996;Tanaka et al.,2000;他)、「吸入すると危険な金属化合物」である可能性を示した。

2001 年には、1988 年に発症した ITO 微細粒子曝露に起因する可能性がある間質性肺炎死亡例が世界で初めてわが国で発生し、日本産業衛生学会英文誌 Journal of Occupational Health(JOH)(Homma et al.,2003)に公表された。我々のチームはこの症例発生情報を得た後、インジウム曝露と間質性肺炎の因果関係の確立を目的として、平成 15～16 年度に文部科学省科学研究費補助金基盤研究(B)、平成 17～18 年度に同基盤研究(B)、平成 20～22 年度に同基盤研究(A)を得て、ITO 製造・研究・リサイクルに関わる秋田～鹿児島の 24 社 28 工場・研究所、2 大学で baseline study、follow-up study、情報交換を実施し因果関係を確立した。研究成果は、Occupational and Environmental Medicine (Hamaguchi et al., 2007)、JOH (Nakano et al., 2009)に公表した。

厚生労働省は、我々の研究成果及び日本バイオアッセイ研究所の発がん実験結果を背景に、「インジウムの健康障害防止に係る小検討会」を平成 22 年 8 月 26 日に設置し、4 回の検討会を実施し、9 月 28 日に「インジウム・スズ酸化物等の取扱い作業による健康障害防止のための技術指針（案）」を策定した。「インジウム・スズ酸化物等の取扱い作業による健康障害防止対策の徹底について」（平成 22 年 12 月 22 日付け基発 1222 第 2 号）と関係通達された。

これらの一連の研究成果から、日本産業衛生学会は血清インジウムの生物学的許容値を 3μg/L と勧告したが、この値は、時間断面研究に基づく数値であり、長期追跡データが欠落していることから、十分な情報量と質に基づいているとはいえない。肺内インジウム負荷量を反映していると考えられる血清インジウムの減衰、それに伴う影響指標の変化、不可逆性であるインジウム肺の間質性・気腫性肺障害の予後等の情報を得るために、コホート研究に基づくインジウム肺の自然史を明らかにすることを目的に、研究を続けている。

一方、必須脂肪酸であり細胞膜形成に必須のアラキドン酸の過酸化により生成される 8-iso-PGF と生活習慣病との関連については、先行研究がある。なお、調べた範囲では、重金属や化学物質等産業有害物質と 8-iso-PGF の関連についての論文は見いだせなかった。

２．研究の目的

難溶性インジウム化合物と肺障害（インジウム肺）の因果関係が確立したが、その自然史は明らかになっていない。その自然史に活性酸素が関与していることが疑われる。イソプラスタン類のうち、リン脂質で直接的に活性酸素により過酸化を受け合成する 8-iso-prostaglandin-F2α (以下 8-iso-PGF と略)は、生体内の酸化ストレスマーカーとして、特に高感度の指標である。本研究は、インジウム曝露作業者さらには、他の重金属である鉛、カドミウム曝露作業者を対象（曝露）群とし、コントロール群との比較において、重金属曝露と酸化ストレスマーカー尿中 8-iso-PGF との量影響関係を明らかにすることを目的とする。

３．研究の方法

インジウム取扱い工場、鉛曝露が比較的高い鉛蓄電池工場において疫学調査を実施した。

曝露指標として、血清インジウム濃度（In-S)、血中鉛測定および曝露作業歴を調査した。影響指標として尿中 8-iso-PGF および尿中 8-OHdG、尿中δ-アミノレブリン酸、生活習慣病関連項目を調査した。交絡因子として生活習慣（喫煙、飲酒)、既往・現病歴等を自記式調査票と問診により調査した。BLL はフレームレス原子吸光法、尿中 8-iso-PGF 濃度は固相抽出-HPLC 法を、尿中 8-OHdG 濃度はカラムスイッチング HPLC-ECD 法を用い測定し

た。
統計解析は、曝露の有無による解析のほか，曝露群を曝露評価によって 2～3 群に分類した解析，曝露指標を連続変数とした解析を行った。平均値の解析には分散分析、Dunnett 検定、prevalence の解析には Fisher の正確検定、Cochran-Armitage の傾向性検定、量反応関係・量影響関係の解析には、単回帰分析および多重ロジスティック回帰分析を採用した。

４．研究成果

（1）二次鉛精錬工場における男性作業者 27 名（年齢 47.8 歳±14.1 歳、喫煙者は 14 名）に対して全血中鉛濃度(BLL: blood lead level)と尿中デルタアミノレブリン酸（δ-aminolevulinic acid: ALA)、および尿中に含まれる酸化ストレスマーカーで、DNA の酸化損傷の指標である 8-hydroxy-2’-deoxyguanosine (8-OHdG)、細胞膜や LDL に含まれるアラキドン酸の過酸化指標である 8-iso-prostaglandin F2α（8-iso-PGF）との関連を見た。ALA は比重補正、8-OHdG、8-iso-PGF は尿中クレアチニン値で補正した。

こうして得たデータを、BLL の三分位により低濃度群、中濃度群、高濃度群に３分割して解析した。8-OHdG のカットオフ値は Nakano 等による一般人の分布 4.52±1.86 から+2SD である 8.24、8-iso-PGF のカットオフ値は Nassar 等による一般人の分布 0.97 ± 0.72ng/m/g creatinine から＋2SD である 2.41 とした。ALA については鉛特殊健康診断における分布１と２の境界値である 2mg/L をカットオフ値とし、各群においてこれらの値を越えるサンプルの割合を各々の群における prevalence とし、またこの判定結果に対する鉛１μg/dL あたりの増加のオッズ比を求めた。

BLL との相関係数は ALA、8-OHdG、8-iso-PGF で 0.659(図 1)、0.696(図 2)、0.692(図 3)であり、BLL による 3 分位により 9 人ずつ 3 群に分けたそれぞれを群間比較したところ、いずれも BLL の上昇に応じ有意に値が上昇した。またそれぞれのカットオフ値を設定し prevalence を求めたところ、これも同様の傾向を有意に認め、鉛 1μg/dL あたりのこれに対する年齢調整オッズ比は、ともに有意であり、8-OHdG で 1.078、8-iso-PGF で 1.067 であった。よってこれらは酸化ストレスマーカーとして BLL の上昇に対し有意な変化を示すと考えられる。

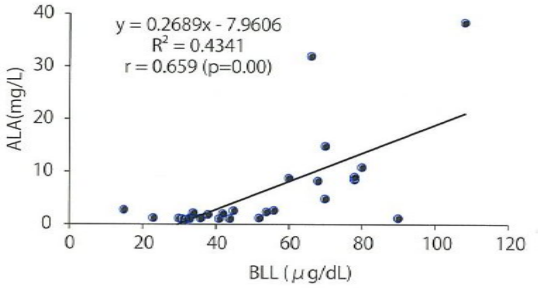


図 1　Dose-effect relationships between BLL and ALA

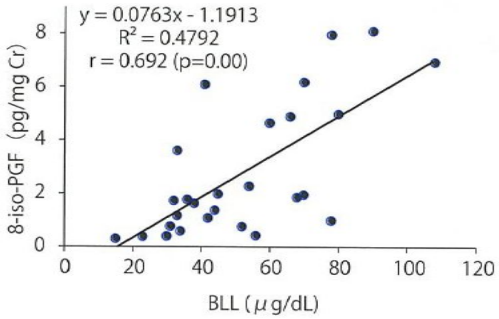


図 2　Dose-effect relationships between BLL and 8-iso-PGF

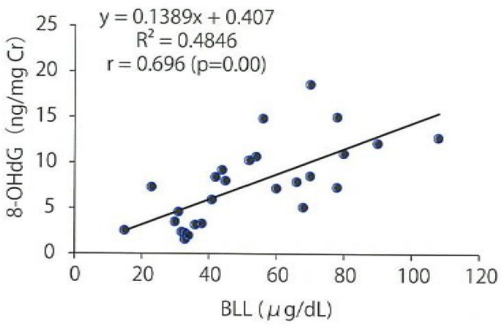
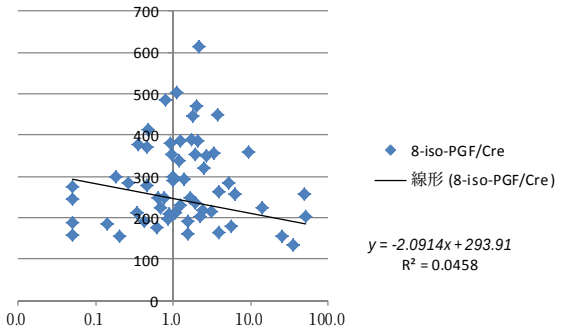


図 3　Dose-effect relationships between BLL and 8-OHdG

BLL と、DNA の酸化ストレスマーカーである 8-OHdG との量依存性の関連は、8-OHdG が鉛による変異原性・発がん性の早期指標となる可能性を、また膜脂質の酸化ストレスマーカーである 8-isoPGF との量依存性の関連は、8-iso-PGF が鉛による神経系障害をはじめとする腎障害、造血障害といった様々な症状の早期指標となる可能性を示唆している。一方、対象人数が少ない、基礎疾患や背景の影響を考慮していない、複合曝露を考慮できていないといった理由から、さらなる研究が必要と考えられた。

（2）金属インジウムおよびインジウム化合物作業者 59 名に対し、血清インジウム濃度（μg/L :In-S）と尿中 8-iso-PGF（pg/mg・

cre) および尿中 8-OHdG(ng/mg・cre)との関連を検討した。
　対象者の平均濃度（範囲）は、In-S 4.58 (検出下限未満から 51.8)、8-iso-PGF 284.3(134-613)、8-OHdG 4.75(検出下限未満から 11.3)であった。In-S との相関係数は、8-iso-PGF、8-OHdG で 0.046、0.004 であり関連は示唆されなかった。



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）
大日方謙介，賀陽智之，岩澤聡子，細田加那江，大前和幸。　鉛曝露作業服務者における血液中鉛と尿中酸化ストレスマーカーの関係　：パイロット研究。　健康開発（査読有）17 巻 2013 年 43-46 ページ

〔学会発表〕（計　0　件）

〔図書〕（計　0　件）

〔産業財産権〕
○出願状況（計　0　件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計　0　件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

６．研究組織
(1)研究代表者
岩澤　聡子（Iwasawa, Satoko）
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号：10570369

(2)研究協力者
大前　和幸(Omae, Kazuyuki)
慶應義塾大学・医学部・教授
研究者番号：60118924

中野　真規子(Nakano, Makiko)
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号：70384906