

皮膚バリア保護的に働く弱酸性ポリエステルを利用した 化繊アレルギー原因物質の解明

高知大学 弘田量二
(共同研究者) 大妻女子大学 宇梶百恵

Investigation of Causes of Clothing Dermatitis - Absorption Test using Weak-Acidic Polyethylene Terephthalate and PET

by

Ryoji Hirota
Kochi Medical School
Momoe Ukaji
Otsuma Women's University

ABSTRACT

Polyethylene terephthalate (PET) fabrics are frequently used in human clothes but are irritant in direct contact with the skin. Although sportswear made of weak-acidic PET fabrics did not induced skin eczema on irritant contact dermatitis (ICD) patient, this mechanism was not clear. We performed the patch test using both fabrics in 56 medical students from Kochi University in order to determine whether the skin condition was related to clothing. And we also demonstrated the metal absorption test of synthetic sweat using an inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). In addition we demonstrated a protein analysis of sweat from participant using a SDS polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE). Thirteen of participants have developed contact dermatitis at the time of this study. There was positive correlation between positive participants of patch test and participants who had past history of clothing dermatitis. We applied synthetic sweat on each fabric and metals were measured. Pb, Cu, Al were strongly absorbed by both fabric, but remaining 7 metals were not

absorbed. After absorption to fabrics, proteins in sweat were separated by SDS-PAGE, but there were no difference in the gel at this time.

要 旨

本研究では、化繊を着用した際にかゆみやただれといった症状を呈する接触性皮膚炎の原因を明らかにするために、医学科学生にアンケート調査およびパッチテストを行った。また皮膚障害を起こしにくい化繊として開発した新素材繊維がかゆみを抑えるメカニズムを明らかにするために人工汗のICP-MSによる金属成分の吸収試験を行った。さらに、吸収試験後の汗に含まれる蛋白のSDS-PAGE分析を行った。パッチテストでは56名中13名(23.2%)で陽性と回答があり化繊による皮膚障害既往歴と有意に関連が認められた($p=0.024$)。人工汗を作製し弱酸性ポリエステルと従来品の元素吸収の違いをICP-MSで検討したところ、両ポリエステル共にPbやCu, Alの金属元素は強く吸収されることがわかった。しかしながら従来品の方が吸着性能が高かった。さらに汗の吸収試験を行い、両ポリエステルにおける蛋白吸着の違いを検討したが、両群のバンドに大きな違いは認められなかった。

緒 言

20世紀後半から21世紀にかけての科学技術の進歩はめざましく、我々の着衣素材は綿やシルクといった天然素材からデザイン性、吸湿性、加工性に優れ、なおかつ大量生産に向くポリエステル繊維が主流になってきた。街行く女性達は華々しくおしゃれを楽しみ、ビジネスマンは颯爽とスーツを着こなす。スポーツ選手においては、ウェアのおかげで記録向上にもつながった。しかしながら、科学技術の進歩は負の一面をあらわしはじめ、化学繊維着用によるかゆみや赤み、さらにひ

どい場合には、ただれといった生活の質(QOL)を下げる皮膚疾患(いわゆる化繊アレルギー)の予防や対策に我々は向かい合わねばならなくなった。

前回報告¹⁾したように、化繊アレルギーは化学繊維着用による皮膚との摩擦や静電気による角質層の破壊(物理的要因)の場合や、発汗後に表皮に残った蛋白質・脂質・金属が外界の影響(酸化や細菌繁殖など)で変質し、刺激物になって起こる場合(化学的要因)とが想定されている。通常のケースでは化学繊維着用をやめることでかゆみや赤みなどの症状は治まるが、時には、これらの刺激が我々体内の免疫システムに記憶され、次回以降の着衣によりすぐにアレルギー症状を呈することもある(接触性アレルギー)。化学繊維過敏者は、外的因子を経皮吸収しやすく花粉症の併発が起こりやすいという報告^{2,3)}もあることから、化学繊維を避けることが望ましい。特に、表皮構造が弱い弱アレルギー感受性の高い未就学児において避けるべきである。

しかしながら、化学繊維は、幼稚園、中学高校の制服、運動部などのユニフォームにほぼ100%使われている素材であり、化繊アレルギー患者のみが他の生徒やメンバーとは別な素材・デザインの衣服を着用することは、周囲から奇異の目で見られる。しかも、化繊アレルギーの実態がよく知られていないことも有り理解が得られないので化学繊維を避けることは困難である。

前回のアンケートによる検討では、障害を経験した被験者(93名)に、その原因となる素材に関して質問したところ、羊毛48.2%、ポリエステル47.3%、ナイロン30.7%、麻16.7%、綿7.0%(複数回答可)と実に60%を超える学生がかゆみを

経験し、しかも25%の学生は皮膚の赤みを経験していた。さらに10%の学生は化繊が原因でかぶれも経験していた。このため、化繊アレルギーは非常に高い頻度で存在すると考えられた¹⁾。

このため著者らは、アンケート方式による化繊アレルギー既往歴調査と化繊を用いたパッチテストを実施し、物理刺激と化学刺激の両方を皮膚に伝えることができるパッチテストを行うことで、化学繊維過敏者の精密な頻度調査を行った。さらに、弱酸性ポリエステル¹⁾の化学繊維過敏者への負担が少ないメカニズムを明らかにするために元素吸着や蛋白吸着についても検討した。

1. 方法

1.1 対象

高知大学医学科に在学中の4年生111名を対象にアンケート調査およびパッチテストを行った(実施時期:平成26年10月)(回答者56名,回収率50.5%)。

1.2 アンケート調査内容

衣類の素材による皮膚障害の有無について、アンケート調査を行った。

1.3 パッチテスト

被験者にはパッチテストの素材がわからないよう全く同一の縫製を施した、帯状(幅10センチメートル)の弱酸性ポリエステル(WAP, 青色)と従来品ポリエステル(REG, 黄色)を右上腕には青色, 左上腕には黄色のポリエステルを装着してもらった。上腕の直径に合わせて帯の両端は結んで結び目が外側で、布が広がる部分が腕の内側に来るようにして、上腕部からずれないように固定した。装着は午後7時~翌朝まで実施した。もし、症状が強い場合には、試験中止までの装着時間と症状を記述することとした。本研究は、高知大学医学部倫理審査委員会の承認を経て実施した。

1.4 汗の採取

被験者からの汗の採取は被験者を25℃湿度60%に設定した人工気象室で2時間エアロバイク運動をしてもらい、プラスチック製へらで、衣服に接していない被験者の背中から汗を掻き取り、プラスチック製容器に移し(0.5~1ml)、マイナス20℃で解析まで凍結保存した。

1.5 人工汗の調整

10元素の混合溶液(Al, B, Cd, Cr, Cu, Fe, Mo, Mn, Na, Ni, Pb, Zn 各100ppm 1mol/l HNO₃溶液)をミリQ水で希釈し, 1ppm (pH5.4), 0.1ppm (pH5.4)の2種類を作製し人工汗溶液とした。

1.6 ポリエステル繊維への元素吸収試験

WAP, REGを0.02グラムに切断(約1cm角)した(対照はNo textile)。次に、人工汗または汗(対照はミリQ水)を0.1ml滴下し0分(すぐ), 10分, 30分放置した。放置後1.9mlミリQ水を加え1分攪拌ののち繊維を取り去り(No textile群は液量合わせのため0.1mlを除外した), 1.9mlサンプル溶液組成(6%硝酸・3%酢酸・1ppm Terbium)を添加した。

1.7 ICP-MS分析

サンプル溶液は、ICP-MS 7700x(アジレントテクノロジー製)のオートサンプラーにセットし、アルゴンガス, ノーガスモードにて計測した。No textileを1として、時間経過に伴う、10元素の繊維の吸収状態をグラフ化した。データは、平均値±SDで示した。

1.8 SDSポリアクリルアミド(SDS-PAGE)解析

汗を0.1ml繊維に滴下後30分放置した。次に0.1mlのミリQ水を滴下し1分間攪拌ののち溶液

を回収した (0.1 ml). 3×Loading 溶液を 0.2 ml 加え 100℃ 3分ボイル後, 5-20% SDS アクリルアミドゲル (e パジエル 5-20%, ATTO) で蛋白を分離し, バンドは銀染色 (銀染色 II キットワコー, 和光純薬) を行って可視化した.

1. 9 統計解析

統計解析には, SPSS ver.20 を用い, アンケート・パッチテスト調査の統計解析は, Fisher's exact test, マクネマー検定, ICP-MS 元素分析の解析には, multiple analysis of variance (MANOVA) を使用した. p 値 0.05 以下で有意差ありと判定した.

2. 結果

アンケート調査結果

2. 1 衣服による皮膚障害の経験の有無

衣服による皮膚障害の経験については, かゆみ 33.3%, ちくちく 45.2%, かぶれ (ただれ) 8.6%, 赤み 12.9% の被験者で経験していた (複数回答) (図 2).

2. 2 パッチテスト陽性率

56 名のパッチテストにおいて, かゆみもしくは, 発赤, ただれが生じた被験者は, 両方の繊維で症状あり 7 名 (12.5%), REG のみ症状有り 5 名 (8.9%), WAP のみ症状有り 1 名 (1.8%), 症状無し 43 名 (76.8%) であった (図 1).

2. 3 既往歴とパッチテストの関連

アンケートによる化学繊維過敏の既往歴とパッチテストの関連を検定した (表 1). 既往歴があると回答した 42 名のうちパッチテスト陽性であった被験者は 13 名 (31.0%), 一方, 既往歴無しの被験者 14 名におけるパッチテスト陽性者は 0 名で統計的に有意な差が認められた (Fisher's exact test $p=0.024$).

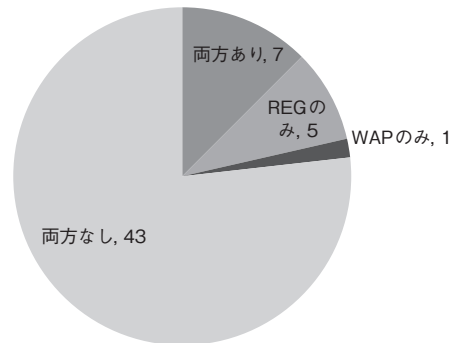


図 1 パッチテストの結果

表 1 衣服症状の既往とパッチテスト症状

	パッチテスト 症状あり	なし	合計
衣服既往あり	13	29	42
なし	0	14	14
合計	13	43	56

$p=0.02451$ (Fisher's exact test)

2. 4 REG と WAP のパッチテスト

REG 陽性者と WAP 陽性者の頻度に差があるかどうか, マクネマー検定を行った. その結果, p 値 0.2207 となり, 有意な差は認められなかった (表 2).

表 2 WAP と REG パッチテストの比較

	REG 症状あり	REG 症状なし	合計
WAP 症状あり	7	1	8
WAP 症状なし	5	43	48
合計	12	44	56

$p=0.2207$ (マクネマー検定)

2. 5 ポリエステル繊維への元素吸収条件

REG と WAP に対して, 人工汗 0.1ppm と 1ppm, 0, 10, 30 分吸収させた場合の, ポリエステル繊維から溶出された元素を ICP-MS で測定した. 大部分の元素において, 濃度 0.1ppm, 吸収時間 30 分の場合において最大の吸収が認められた. このため, 吸収率の算定はこの条件に従った. 典型例として図 2 に, Al, Cr, Cu, Pb を表した.

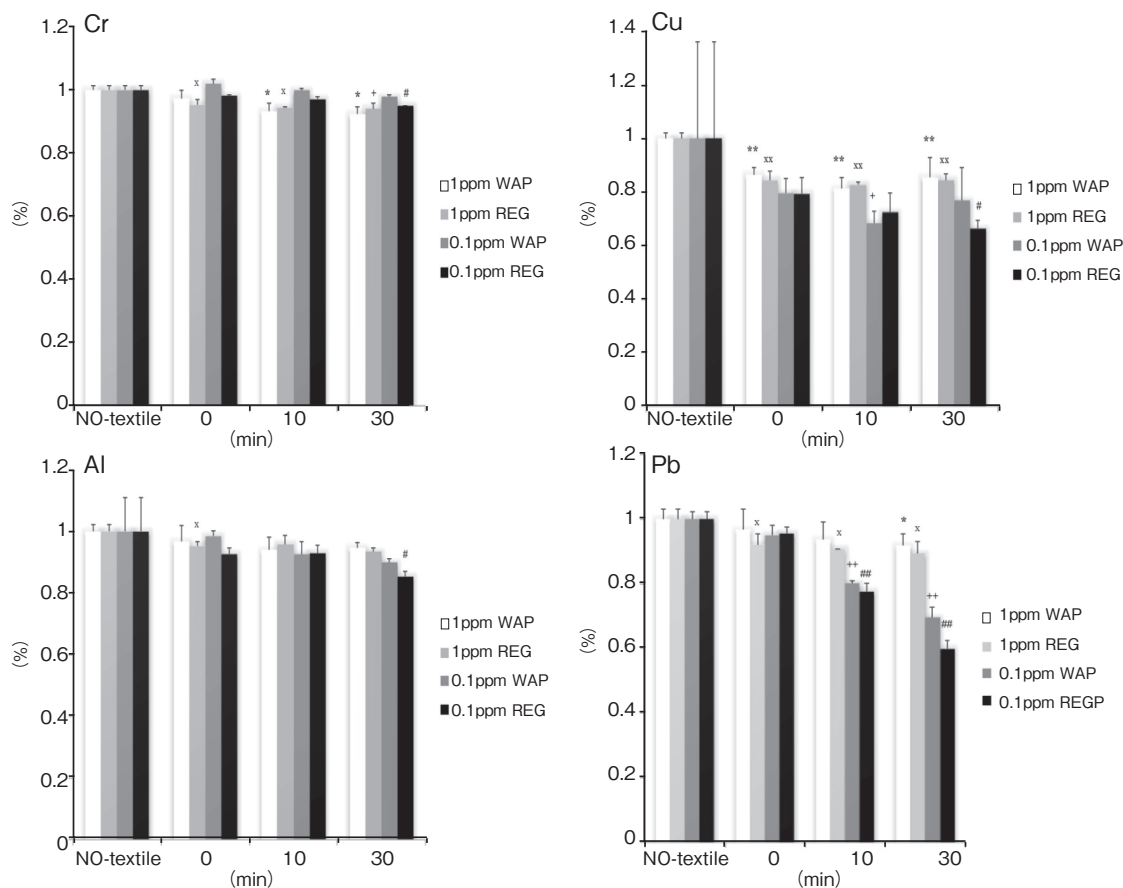


図2 WAPとREGの元素吸収率の比較
 *, x, +, # : p < 0.05, **, xx, ++, ## : p < 0.01 vs. NO-textile

2. 6 ポリエステル繊維の元素吸収率

REGとWAPに対してAl, B, Cd, Cr, Cu, Fe, Mo, Mn, Na, Ni, Pb, Zn混合液(各0.1ppm)を30分間吸収させた後、超純水で溶出させた際の各元素のカウントを、繊維なしと比較した(表3)。吸収率は、Pb, Cr, Cuが高く、Na, Mn,

表3 ポリエステル繊維の元素吸収率

元素	吸収率 (%)	
	WAP	REG
Na	-1%	2%
Al	10%	15%
Cr	23%	5%
Mn	-25%	-19%
Fe	-9%	1%
Ni	-5%	-2%
Cu	23%	34%
Zn	6%	9%
Cd	0%	3%
Pb	30%	40%
平均	5%	9%

Feは、吸収が認められなかった。

2. 7 被験者の汗の蛋白質分析

被験者1人から3日連続で汗を採取し(Sample1, Sample2, Sample3), そのまま(生汗), WAPから溶出, REGから溶出の3群につき, SDS-PAGE電気泳動を行い, 銀染色にて蛋白のバンドを検出させた。50KDa付近にSample1 Sample2では強く染色されるバンドが認められた。しかしながら, 生汗, WAP, REGに明瞭なバンドの差は認められなかった(図3)。

3. 考察

我々は, 化学繊維による皮膚障害(化繊アレルギー)の頻度を明らかにする目的で, ポリエステ

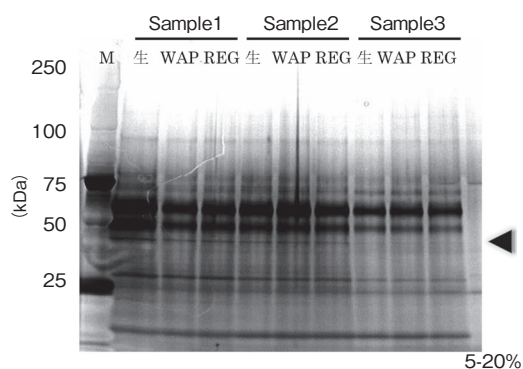


図3 被験者の汗の蛋白質分析

ル繊維によるパッチテストを行った。通常のパッチテストでは疑わしい物質を上腕の内側や背中の外見上正常な場所に48時間貼付後、紅斑、浸潤、丘疹の有無を判定する⁴⁾。しかしながら、我々のプレテストでは、この方法ではほとんど陽性者がでないことが判明している⁵⁾。我々はその理由として化繊アレルギーの発症は汗や細菌繁殖といった刺激の他に、繊維による皮膚への物理的な摩擦が必要であると考えている。従って、今回のパッチテストでは筒状に縫製したポリエステル繊維を上腕部に弛みができるようにし（つまり袖口のみ縫製し）、被験者に最長12時間装着してもらうことで実施した。その結果、23%の被験者（56名中13名）でかゆみなどの軽度な症状が認められた。また、このパッチテストの結果は、化繊アレルギーの既往歴と有意に関連性が認められた（ $p=0.0245$ ）。

Mizutani et al は、繊維表面にリンゴ酸を付加した弱酸性ポリエステルを着用することで、化繊アレルギーが劇的に改善した症例を報告している⁶⁾。今回のパッチテストでは、従来品のポリエステル（中性）と全く肌触りが同一で、摩擦皮膚との被験者からは見分けがつかない弱酸性ポリエステルを用いたが、従来品と弱酸性の間に皮膚障害の頻度に差は認められなかった。本研究のリミテーションとして、被験者数が56名と少ないことや両方で症状ありとした症例が過半数（7名

vs. 6名）を占めており、パッチテストのやり方に改良の余地があると考えられた。

さらに今回の検討では、本弱酸性ポリエステルと全くそのような加工がされていない従来品の間には、吸着元素の種類に違いがあり着用時の汗の元素を吸着し、皮膚障害を引き起こしにくくしていると仮説を立て、10種類の元素を含む溶液（人工汗）を作製し吸収試験を行った。汗と繊維の吸収時間を最適化するために最大30分両者を吸収させた。その結果、PbやCu、Alの金属元素は強く吸収されることがわかった。金属アレルギーの原因として知られているCr、Niについては、Crでは繊維への吸収が認められたものの、Niについては、吸収が認められなかった。WEPとREGの比較では、Crの場合を除いた9種類の元素においてREGの方が吸収率が高かった。しかしながら元素の吸収のしやすさが、特に金属や遷移に多いといった傾向は認められなかった。

Dai et al.⁷⁾ は、健常者の汗を表皮細胞に添加するとインターロイキン-1やインターロイキン-31、転写因子NF- κ B等が増加するので、汗の中に含まれる何らかの物質が、炎症やかゆみを促進するリスク因子であると論じている。したがって本検討ではさらに、被験者汗に含まれる何らかの蛋白質が、繊維により吸収され皮膚障害を防いだ、との仮説のもとに、被験者の汗のSDS-PAGEを実施した。同一被験者より3連日で汗を採取し、吸収試験を実施したが、生汗、WAP、REGに明瞭なバンドの差は認められず、この仮説を明らかに出来なかった。今回は健常者の汗の解析だけにとどまっている。今後の検討では、化繊過敏者の汗の検討が必要である。

4. 結論

本研究では、化繊を原因とするかゆみの原因を明らかにするために、医学科生にアンケート調査およびパッチテストを行った。23%の被験者で

パッチテスト陽性を認め、しかも化繊アレルギーと有意な関連性が認められた。また、人工汗を複製し弱酸性ポリエステルと従来品の元素吸収の違いを ICP-MS で検討したところ、両ポリエステル共に Pb や Cu, Al の金属元素では強く吸収されることがわかった。しかしながら従来品の方が吸着性能が高かった。さらに汗の吸収試験を行い、両ポリエステルにおける蛋白吸着の違いを検討したが、両群のバンドに大きな違いは認められなかった。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、研究助成を賜りました公益財団法人石本記念デサントスポーツ科学振興財団に厚く御礼申し上げます。また、パッチテストやアンケート調査用紙の配布と回収に協力いただいた、高知大学医学部医学科 4 年生の皆様へ深謝いたします。研究遂行に当たりまして、様々なアドバイスを頂きました大妻女子大学 川之江豊教授、水谷千代美准教授、帝人フロンティア株式会社 堀川直幹様に深くお礼を申し上げます。

文 献

- 1) 弘田量二, 水谷千代美, 川之上豊, ポリエステル化繊を原因とする新規接触性皮膚炎診断法の開発と患者頻度の介入調査. *デサントスポーツ科学*, **34**: 65-71 (2013)
- 2) G.Ricci, A.Patrizi, F.Bellini, M.Medri, Use of Textiles in Atopic Dermatitis: Care of Atopic Dermatitis., *Curr. Probl. Dermatol.*, **33**: 127-143 (2006)
- 3) E.Dawes-Higgs, S.Freeman, Allergic Contact Dermatitis Caused by the Clothing Dye, Disperse Blue 106, an Important Contact Allergen That May Be Frequently Missed., *Australas J. Dermatol.*, **45**: 64-66 (2004)
- 4) 日本皮膚科学会接触皮膚炎診療ガイドライン委員会, 接触皮膚炎診療ガイドライン. *日皮会誌*, **119** (9) : 1757-1793 (2009)
- 5) R.Hirota, C.Mizutani, Y.Kawanoue, Prevalence of Clothing-Caused Contact Dermatitis among Japanese Female Adults., 第 12 回 KMS リサーチミーティング 2012/2/20-21 (高知市), (2013)
- 6) C.Mizutani, M.Ukaji, N.Horikawa, T.Yamamoto, K.Kajiwara, Study of Weak-Acidic Clothing Materials Developed for Skin Conditioning., *SEN'I GAKKAISHI*, **69**, 4: 73-77 (2013)
- 7) X.Dai, H.Okazaki, Y.Hanakawa, M.Murakami, M.Tohyama, Y.Shirakata, K.Sayama, Eccrine Sweat Contains Il-1alpha, Il-1beta and Il-31 and Activates Epidermal Keratinocytes as a Danger Signal., *PLoS One*, **8**: e67666 (2013)