

肝臓および肺を摘出し、臓器を用いて点突然変異を検出する *gpt* アッセイおよび欠失変異を検出する *Spi* アッセイを実施し、DCP、DCM およびその複合投与による遺伝子変化の誘導を検討するとともに、これらの物質による肝臓の細胞増殖および代謝酵素誘導について検討する。

4) ハムスター4週間反復経口投与試験

7週齢の雄性 Syrian ハムスターに DCP あるいは DCM を1週間あるいは4週間強制経口投与した肝臓の組織切片を使用した。

DCM は 63、250 及び 1000 mg/kg 体重/day の用量で、DCP は 50 及び 100 mg/kg 体重/day の用量で1週間あるいは4週間投与し、DCP の高用量 (400/200 mg/kg 体重/day) 群は、投与1日目のみ 400 mg/kg/day、その後は 200 mg/kg 体重/day を4週間投与した。また、陽性対照 (遺伝毒性発がん物質 BBN 誘発膀胱腫瘍) を同様の方法で染色した。

5) 雄性 F344 系 *gpt delta* ラット及び雄性 B6C3F₁ 系マウス (野生型および p53 欠損型) をもちいた *in vivo* 遺伝毒性試験を行った。

10. ハムスター胆道系および膵管に対する DCP の発がん修飾作用

ハムスター胆道系および膵管に対する DCP の発がん修飾作用について、ハムスター二段階発がんモデルを用いて検討を行った。雄性シリアンゴールデンハムスターにイニシエーション処置として N-nitrosobis (2-oxopropyl) amine (BOP) を投与し、1週間の休薬期間後、15 および 17 週間 DCP を強制胃内投与した。

11.

[材料]

・ 化学物質

本実験の投与物質として、DCP を使用し、投与物質の調整にはコーンオイルを用いた。また、胆道・膵発がん誘導物質として BOP (DIMS 医学研究所より提供) を使用し、調製には生理食塩水を用いた。

・ 実験動物

5 週齢雄性シリアンゴールデンハムスター 87 匹を用いて、1 週間の馴化飼育期間を設けた後に試験に供した。飼育期間中の飲料水は水道水とし、基礎飼料は MF pellet を与えた。なお、動物は室温 23 ± 2°C、相対湿度 50 ± 20%、明期 12 時間の照明条件で飼育した。また、紙の床敷を入れたプラスチック製ケージに、3 匹に分けて飼育し、ケージおよびチップを週 1 回交換した。屠殺までの実験期間中は、体重、摂餌量、摂水量を週 1 回測定した。

[方法]

1. 二段階発がん性試験

6 週齢雄性シリアンゴールデンハムスターに対し、実験開始第 1, 3, 5, 7 日目にイニシエーション処置として BOP を 10 mg/kg b.w. の用量で皮下投与し、1 週間休薬後、実験開始 3 週目から DCP を 0, 62.5, 125 mg/kg b.w. の用量で直接胃内投与する二段階発がん修飾作用群を 3 群に分けた。また、BOP 処置の溶媒対照として生理食塩液 10 mg/kg b.w. を同様に皮下投与し、1 週間の休薬後、実験開始 3 週目から DCP を 0, 125 mg/kg b.w. の用量で直接胃内投与する DCP 単独群および非投与群の 2 群、合計 5 群に分けて実験を行い、実験開始から 17 週後に先行して二段階発がん修飾作用群から各群 9 匹ずつ剖検を実施した。肝内胆管および

膵管について病理組織学的解析を実施したところ、膵管腺腫の用量相関的な増加傾向がみられたことから、19週時に残りの動物について剖検を実施した。今回実験に用いたBOPの投与用量、投与回数、実験期間については、過去のBOP二段階発がん性試験報告に基づき、選択した。また、DCPの投与用量については、本研究のハムスターにおける毒性試験の結果から選択した。剖検時には、イソフルランを用いた吸入麻酔下で安楽死措置を行い、肝臓・総胆管・膵臓を摘出した。摘出した組織については、肝臓のみ重量測定を行い、得られた臓器をそれぞれホルマリン溶液で3日間固定を行った。

2. 病理組織学および免疫組織化学的検索

肝臓の全葉（左側葉、左中葉、右側葉、右中葉、尾状葉）をそれぞれ約3切片ずつ切り出し、膵臓も同様に全葉（胃葉、脾葉、十二指腸葉）に分け切り出しを行った。これらのパラフィンブロックから連続切片を切り出し、HE染色し、光学顕微鏡下で病理組織学的検索を行い、胆管、膵管上皮細胞および肝細胞への影響の確認を行った。

また、細胞増殖能を評価するためにKi67の免疫組織化学的染色を実施し、その陽性細胞率について定量的評価を行った。

[統計学的解析]

統計学的解析は Statlight program (Yukms Co., Ltd., Tokyo, Japan) を用い、F検定もしくはBartlett検定を用いて等分散性を評価した。2群検定において、等分散性であった場合は Student's T 検定を、分散にばらつきがみられた場合は Welch's T 検定を用いて評価を行った。また、多群

検定において、等分散であった場合は両側 Dunnett 検定を、分散にばらつきがみられた場合に両側 Steel 検定を用いて評価した。肝臓病変発生率については Fisher の正確確率検定(カイ二乗検定)で評価した。また、全ての平均値は Mean ± SD として表し、P < 0.05 以下のものを統計学的に有意であるとみなした。

[倫理面への配慮]

大阪市立大学の動物飼育施設における動物実験取り扱い規約に基づき、動物を飼育した。屠殺は動物に苦痛を与えないために麻酔下にて実施した。

C. 研究結果

1. 印刷労働者における従事期間別胆管がん罹患リスク

従事者コホート全体(胆管がん罹患 17 例)の SIR は 1132.5 (95%信頼区間 659.7-1813.2)であった。(表 1-1、1-2)。

DCM 累積使用量 0kg 群、1-19999kg 群、20000-群における SIR は、潜伏期間なしとした場合、それぞれ 981.4、566.1、3822.8 と、DCM 累積使用量が多くなるほど高い傾向があり、潜伏期間 3 年および 5 年の場合も、947.9、721.0、3436.4、および、919.8、1019.4、2468.5 と同様の傾向であった。

DCP 累積使用量 0kg 群、1-19999kg 群、20000-39999 群、40000-59999 群、60000 以上群における SIR は、潜伏期間なしとした場合、それぞれ 0.0、0.0、0.0、3590.7、14632.1 と、DCP 累積使用量が多くなるほど高い傾向があり、潜伏期間 3 年および 5 年の場合も、0.0、0.0、641.6、4158.6、14595.0 および、0.0、221.8、729.5、3690.7、15047.9 と同様の傾向であった。

DCP、DCM の双方の累積使用量別の SIR は、胆管がん症例が少ないために 0.0 となるセルが出現するが、概ね DCM、DCP とともに正の量反応関係が観察され、いずれの潜伏期においてもほぼ同様の結果となった。

DCP および DCM 累積使用量別の SIR は、概ね DCM、DCP とともに正の量反応関係が観察され、いずれの潜伏期においてもほぼ同様の結果となった。

2. 職業性胆管癌症例の臨床病理学的研究

大阪の印刷会社A社の職業性胆管癌の診断のきっかけは、腹痛や黄疸などの症状、 γ

-GTP高値などの肝機能異常、CA19-9などの腫瘍マーカー上昇や超音波検査での異常所見であった。胆管癌診断の数年前より γ -GTP高値などの肝機能異常が見られる症例が多かった。

画像診断上、腫瘤像、胆管狭窄像、主腫瘍による末梢側胆管拡張像に加えて、主腫瘍による胆管狭窄を伴わない限局性肝内胆管拡張像がみられた。主腫瘍は腫瘤形成型肝内胆管癌、胆管内発育型肝内胆管癌や乳頭型肝外胆管癌であった。

また、広範囲の胆管に前癌病変である biliary intraepithelial neoplasia (BilIN) や intraductal papillary neoplasm of the bile duct (IPNB) がみられ、さらに慢性胆管傷害像やDNA傷害を示す γ -H2AX陽性胆管上皮がみられた。前述の限局性肝内胆管拡張像を示す胆管には、胆管傷害、前癌病変や浸潤癌がみられた。

全国の職業性胆管癌症例をみると、年齢は31歳から57歳、全例男性であった。全例で γ -GTPが高値で、CA19-9値は6例で高値であった。胆道閉塞によって肝内胆管が拡張している症例を除く4例中2例において、主腫瘍による胆管閉塞を伴わない限局性肝内胆管拡張像がみられた。9例中4例が肝内胆管癌、5例が肝外胆管癌であった。切除標本や剖検標本の検討が可能であった4例では、BilIN-2/3病変やIPNBがみられた。

3. 胆管がん検診の実施

1) 胆管がん検診(第1回)の対象者の選定

・校正印刷部門元従業員の検診希望の有無の調査

校正印刷部門元従業員名簿 107 名(平成

25年7月31日時点)のうち1,2-ジクロロプロパンが使用されていたのは2006年10月までと考え2006年11月以降に大阪・東京・名古屋の校正印刷部門に在籍した従業員(7名)をまず除いた。対象者は、2006年10月以前に大阪・東京・名古屋校正印刷部門に在籍していた元従業員100名のうち、胆管がん発症者(12名)、住所不明者(2名)、他疾患にて死亡者(1名)の合計15名を除く85名(対象外5名含む)であった。

胆管がん検診(第1回)の対象者の選定結果は(図3-1)に示す。まず、A社では平成24年度においても自主的に胆管がん検診を2回施行しており、A社の名簿をもとに、A社と研究班の代表研究者である圓藤が連携して元従業員56名(対象外5名含む)に対して検診希望の有無を調査するために、案内状と確認書を郵送した(図3-1のB)。受診希望者は33名(対象外5名含む)、希望しなかった2名は他機関にて受診済みであった。24名が期限までに返信がなかった(最終的には21名において返信がなかった)。次に受診希望者33名に対して日程調整および同意書に準ずる申込書を送付した(図3-1のC)。受診可能であったのは31名(対象外4名含む)、日程が合わず受診不可能であったのは2名(対象外1名含む)であった。

前述した、期限までに返信がなかった24名に対して、研究班の代表研究者である圓藤からのみの案内状を郵送した(図3-1のE)。受診希望者は7名(2名はBの受診希望者と重複)、希望しなかったのは2名、返信がなかったのは12名(1名はBの受診希望者と重複)、宛先不明で返送されてきたのは3名であった。結局受診可能であったの

は5名であった。

さらに、A社が把握していない元従業員29名に対してに対して研究班の代表研究者である圓藤からのみの案内状を郵送した(図3-1のF)。受診希望者は6名、希望しなかったのは5名で、うち1名は他機関にて受診済みのため希望しなかった。返信がなかったのは10名、宛先不明で返送されてきたのは8名であった。結局受診可能であったのは6名であった。

以上より、案内状を郵送した、2006年10月以前に大阪・東京・名古屋校正印刷部門に在籍していた元従業員85名のうち、宛先不明で返送された11名を除き、案内状が届いたと考えられたのは74名であった。受診可能であったのは42名、日程が合わず受診不可能となったのは2名、希望しなかったのは9名、返信がなかったのは21名であった。

・ 校正印刷部門現従業員はA社の判断で選定した。

現従業員38名のうち胆管がん発症者(5名)、大阪市大で検診を受診できない者(14名)合計19名を除く19名(対象外3名含む)およびA社が必要と判断した1名の合計20名が選定された。

2) 胆管がん検診(第1回)の実施

校正印刷部門元従業員42名および現従業員20名、合計62名が受診した。

検診結果を以下の6つに分類した。

①腹部エコー(肝・胆・胆管に関する異常所見)、肝機能検査(γ -GPTの上昇など)、腫瘍マーカー(CA19-9、CEAの上昇など)要精査、②腹部エコー(肝・胆・胆管に関する所見)、肝機能検査要経過観察、③腹部エコー(肝・胆・胆管に関する所見)、肝機

能検査治療継続、④他所見要精査・要医療、⑤他所見要経過観察、⑥異常なしとし、人数のカウントは①～③は重複がなく①>②>③の順で一番重要な判定の分類にカウントした。同様に④～⑤は重複がなく④>⑤の順で一番重要な判定の分類にカウントした。⑥異常なしは①～⑤に該当しない者とした。①～⑥各々、12名、23名、2名、7名、43名、7名であった。①の腹部エコー（肝・胆・胆管に関する所見）、肝機能検査、腫瘍マーカー要精査となった者のうち、7名が大阪市立大学附属病院胆管がん特別外来で別途検診結果の説明を受けた。そのうち、2名が精密検査を受け、胆管がんは認められなかった。

3) 胆管がん検診（第2回）の対象者の選定

- ・ 校正印刷部門元従業員の検診希望の有無の調査

校正印刷部門元従業員名簿（平成25年12月16日時点）108名のうち2006年11月以降に大阪・東京・名古屋の校正印刷部門に在籍した従業員（7名）をまず除いた。対象者は、2006年10月以前に大阪・東京・名古屋校正印刷部門に在籍していた元従業員101名のうち、胆管がん発症者（12名）、住所不明者（13名）、他疾患にて死亡者（1名）の合計26名を除く75名（対象外5名含む）であった。

胆管がん検診（第2回）の対象者の選定結果は図3-2に示す。まず、A社と研究班の代表研究者である圓藤が連携して元従業員53名（対象外5名含む）に対して検診希望の有無を調査した。

尚、この53名のうち1名は他機関を受診していることを事前に把握していたために

除外し、案内状、確認書と申込書を52名に郵送した（図3-2のBC）。受診希望者は25名（対象外4名含む）、希望しなかったのは4名で、うち3名は他機関にて受診済みのため希望しなかった。30名が期限までに返信がなかった（最終的には23名において返信がなかった）。実際、受診可能であったのは24名（対象外4名含む）、日程が合わず受診不可能であったのは1名であった。

前述した、期限までに返信がなかった30名に対して、研究班の代表研究者である圓藤からのみの案内状を郵送した（図3-2のEG）。受診希望者は5名（2名はBCの受診希望者と重複）、希望しなかったのは2名

（1名はBCの受診希望せずと重複）、返信がなかったのは23名（4名はBCの受診希望と重複）であった。結局受診可能であったのは3名であった。

さらに、A社が把握していない元従業員22名に対して研究班の代表研究者である圓藤からのみの案内状を郵送した（図3-2のFG）。受診希望者は7名、希望しなかったのは4名、返信がなかったのは11名であった。実際、受診可能であったのは6名、日程が合わず受診不可能であったのは1名であった。

以上より案内状を郵送した2006年10月以前に大阪・東京・名古屋校正印刷部門に在籍していた元従業員は74名で、宛先不明で返送されたものはなく、全員に案内状が届いたと考えられた。受診可能であったのは33名、日程が合わず受診不可能となったのは2名、希望しなかったのは9名、返信がなかったのは30名であった。

- ・ 校正印刷部門現従業員はA社の判断で選定した。

現従業員 37 名のうち胆管がん発症者（5 名）、大阪市大で検診を受診できない者（14 名）、2006 年 11 月以降に校正印刷部門に在籍した従業員（2 名）合計 21 名を除く 16 名（対象外 1 名含む）および A 社が必要と判断した 2 名の合計 18 名が選定された。

4) 胆管がん検診（第 2 回）の実施

校正印刷部門元従業員 33 名および現従業員 18 名、合計 51 名が受診した。校正印刷部門元従業員のうち 2 名が初回であった。

検診結果を第 1 回と同様に以下の 6 つに分類した。

①腹部エコー（肝・胆・胆管に関する所見）、肝機能検査、腫瘍マーカー要精査、②腹部エコー（肝・胆・胆管に関する所見）、肝機能検査要経過観察、③腹部エコー（肝・胆・胆管に関する所見）、肝機能検査治療継続、④他所見要精査・要医療、⑤他所見要経過観察、⑥異常なしとした。①～⑥各々、6 名、20 名、2 名、3 名、32 名、6 名であった。①の腹部エコー（肝・胆・胆管に関する所見）、肝機能検査、腫瘍マーカー要精査と判定した中で、総合的に判断した結果、積極的に胆管がんを疑う所見は認められなかった。

5) 健康状況調査票による健康調査の実施

健康状況調査票を作成し健康調査を実施した。対象は平成 25 年 10 月 17 日時点の A 社従業員名簿 330 名（元従業員 222 名、現従業員 108 名）のうち、胆管がん検診を受診していない下記に該当する従業員である。

・元従業員は 222 名のうち胆管がん発症者（12 名）、住所不明者（13 名）、他疾患にて死亡者（1 名）、胆管がん検診受診者（42 名）合計 68 名を除く 154 名が対象である。

この 154 名の元従業員は①～③の 3 つに大別される。①校正印刷部門元従業員で受診を希望したが受診不可能であった 2 名（図 3-1 の D）と受診を希望しなかった 9 名、（図 3-1 の D）、返信のなかった 21 名（図 3-1 の H）合計 32 名、②校正印刷部門以外に在籍した元従業員 115 名のうち、名簿上住所不明であったため 1 名を除く元従業員 114 名（図 3-3 の J）、③2006 年 11 月以降に校正印刷部門に在籍した元従業員 7 名（図 3-3 の K）。平成 25 年 10 月に健康状況調査票を郵送し、①8 名、②38 名、③1 名から返信があった。宛先不明者は②24 名、③2 名であった。

以上より、健康状況調査票を郵送した元従業員 153 名のうち、宛先不明者の 26 名を除き、健康状況調査票が届いたと考えられたものは 127 名であった。そのうち健康状況調査票を回収できたのは 47 名であった。

・現従業員は 108 名のうち胆管がん発症者（5 名）、大阪市大で検診を受診した者（20 名）合計 25 名を除く 83 名が対象である（図 3-3 の I）。現従業員は 83 名全員から回収できた。

回収できた元・現従業員 130 名の健康状況調査票からは胆管がんの有病は認められなかった。

3 回目の受診者は検診を希望した元従業員 4 名のうちの 3 名および 2014 年度から大阪市立大学附属病院で実施している 1,2-ジクロロプロパン業務従事者の健康管理手帳による検診に併せて受診した 1 名、合計 4 名であった。

検診結果に関しては 2 名に腹部エコー（肝・胆・胆管に関する異常所見）、肝機能

検査（ γ -GPTの上昇など）、腫瘍マーカー（CA19-9、CEAの上昇など）のいずれかに精密検査をすべき異常所見が認められた。しかし、明らかな胆管がんは認められなかった。

第1回検診の要約を以下に示す。また、作業環境別および入社年度別の要約を表3-5、表3-6に示す。

- ・ 2013年7月23日～2013年10月25日の間に61例受診。
- ・ 男性44例、女性17例。
- ・ 年齢：38.7±10.6歳。
- ・ 勤務期間：5.7±4.8年
- ・ 主な溶剤（多くの従事者は複数に曝露）：ジクロロメタン、1,2-ジクロロプロパン、ブラクリン、トルエン。
- ・ 血清肝酵素および胆道系酵素：ALT 22.1±18.1 IU/L、ALP 208.8±70.3 IU/L、 γ -GTP 37.7±28.9 IU/L。
- ・ 腫瘍マーカー：CA19-9 6.9±5.5 IU/mL、CEA 1.9±1.3 ng/mL。
- ・ エコーでの肝臓および胆道の異常所見20例（複数の所見をもつ症例あり）：内訳は、脂肪肝11例、肝内胆管拡張4例、胆嚢ポリープ4例、肝内エコーの不整2例、胆嚢壁肥厚2例、胆嚢結石2例、肝嚢胞1例、胆嚢萎縮1例、肝内胆管癌0例。

4. 労災病院病職歴データベースにおける胆管癌と病職歴との関連

① 4つに分けた時期別の若年性・非若年性胆管癌の発生状況

全期間及び時期別の平均年齢（±標準偏差）〔表4-1〕1) 男性70±10歳（n=3390）、女性72±11歳（n=2390）であった。2) 男女とも期間を経るごとに平均年齢が上昇し、一元配置分散分析の結果は有意な増加（ $p<0.001$ ）であった。

時期別の年齢階級別度数分布〔表4-2〕

1) 男性では50歳代未満の比率が減じる一方で、70歳代以降の比率は増加傾向を認めた。2) 女性では60歳未満の世代で比率が減じる一方で、80歳代以上で比率が上昇した。3. 若年性（50歳未満）と非若年性（50歳以上）の比率〔表4-2〕1) 男性・女性ともに若年性の比率は時期を経るにつれて減じた。(1) 男性では84～90年度：6.2%、91～97年度：4.8%、98～04年度：2.7%、05～12年度：1.6% (2) 女性では84～90年度：6.5%、91～97年度：4.1%、98～04年度：2.6%、05～12年度：1.9% (3) 若年性の比率は男女において大きな差はなかった。これらの結果は平成24年度の班研究報告の結果と同等である。

② 最も長い期間働いた職業の産業・職業分類の分布と若年性発症との関連

最も長い期間働いた職歴について、男女別、期間別に産業分類や職業分類を検討した。

1) 産業大分類〔表4-3〕

(1) 男性ではa.全期間を通じて最も比率が高いのは製造業の21.8%で、次に分類不能の産業12.1%、建設業の11.7%の順であった。b.98～04年度、05～12年度に、それ以前に比べて胆管癌患者数が倍になっているが、その中で、産業大分類における相対比率が大きく増加しているものは

ない。建設業、運輸業、卸・小売業は増加傾向を認め、農業、漁業など一次産業は減少傾向を認めた。

(2) 女性では a.全期間を通じて最も比率が高いのは分類不能の産業 56.5%で、農業 11.2%、製造業 8.2%の順であった。b.男性同様に 98～04 年度、05～12 年度には、それ以前に比べて胆管癌患者数が 2 倍近くになっているが、分類不能の産業が半数を占め中で、産業大分類における相対比率が大きく増加しているものはない。サービス業は増加傾向を認め、農業、林業、漁業など一次産業は減少傾向を認めた。

2) 職業大分類〔表 4-4〕

(1) 男性では a.全期間を通じて最も比率が高いのは生産工程・労務作業（製造・制作作業）の 15.9%で、次いで分類不能の職業 12.1%、農林漁業作業 11.7%の順であった。b.職業別大分類における相対比率は、専門的・技術的業務従事者、事務従事者、製造・制作作業において増加傾向を認め、管理的業務従事者、農林業漁業作業では減少傾向を認めた。

(2) 女性では a.全期間を通じて最も比率が高いのは分類不能の職業の 57.2% \times 二乗で、次いで 農林漁業作業 11.7%、生産工程・労務作業（製造・制作作業）の 7.2%の順であった。b.職業別大分類における相対比率が一定の増加傾向、減少傾向を認める職業分類はなかった。

3) 期間別の産業中分類別／職業中分類別度数〔表 4-5～4-8〕

男女別に期間ごとに産業中分類と職業中分類について度数を記載した。詳細は省略する。

5. 産業大分類・職業大分類と若年性・非若年性発症

1) 産業大分類〔表 4-9〕

(1) 男性では、運輸業や製造業で若年性の非若年性に対する相対比率が高く、建設業で低かったが、有意ではなかった。

(2) 女性では、製造業や卸売・小売業で若年性の非若年性に対する相対比率が高く、分類不能の産業の比率が低くなっており、 χ^2 乗検定の結果は有意であった ($p < 0.001$)。

2) 職業大分類

(1) 男性では、運輸・通信従事者や定置機関運転・建設機械運転・電気作業において若年性の非若年性に対する相対比率が高く、管理的業務従事者で低かった。 χ^2 乗検定の結果は有意であった ($p = 0.008$)。

(2) 女性では、事務従事者で若年性の職業別大分類別比率が高く、分類不能の職業で低かった。 χ^2 乗検定の結果は有意であった ($p < 0.001$)。

③ 有機溶剤使用(推定)の有無と若年性・非若年性発症との関連

6. 製造業において有機溶剤を使用していると推定される者の産業中分類別度数〔表 4-11〕

1) 男性では、有機溶剤使用(推定)ありは全体で 244 人で、最多は金属製品製造業の 79 人 (32.4%)、次点は一般機械器具製造業の 48 人 (19.7%) であった。

2) 女性では、有機溶剤使用(推定)ありは全体で 65 人で、最多は衣服・その他の繊維製品製造業の 31 人 (47.7%)、次点は金属製品製造業の 16 人 (24.6%) であった。

7. 有機溶剤使用（推定）の有無別の平均年齢〔表 4-12〕

1) 全体では、有機溶剤使用（推定）あり 69.4±9.9 歳、有機溶剤使用（推定）なし 71.0±10.9 歳で t-検定で有意差を認めた（ $p=0.014$ ）。男女別の解析ではそれぞれ有意差は認めなかった。

2) 製造業に限った場合は、逆に有機溶剤使用（推定）ありの方が有機溶剤使用（推定）なしよりも年齢が高い傾向を認め、特に女性の平均年齢は有機溶剤使用（推定）あり 70.0±9.2 歳に対し、有機溶剤使用（推定）なし 65.9±10.8 歳で有意差を認めた（ $p=0.007$ ）。

8. 有機溶剤使用（推定）の有無別の、最も長期に就労した産業・職業への就労年数〔表 12〕就労年数は一般的な意味で、曝露群においては有害要因への曝露期間を示唆する一方で、曝露群・非曝露群における共通の背景要因の一つとして比較すべきものと考え、統計的解析を行った。

1) 全体では、有機溶剤使用（推定）あり 31.8±11.5 年、有機溶剤使用（推定）なし 32.5±16.9 年で有意差はなかった。

2) 男性では有意差を認めなかったが、女性では有機溶剤使用（推定）あり 26.4±11.7 年、有機溶剤使用（推定）なし 33.0±19.7 年で有意差を認めた（ $p<0.001$ ）。

9. 有機溶剤使用（推定）の有無と若年性・非若年性の関連〔表 4-13〕 1) 全体、男性、女性とも X 二乗検定は有意ではなく、有機溶剤使用（推定）の有無と若年性・非若年性との関連は認められなかった。 2) 製造業に限っても同様の結果であった。

④ その他の胆管癌発症リスクと若年性・非若年性発症との関連

10. 各種生活習慣病関連リスクと若年性・非若年性の関連〔表 4-14〕

1) 喫煙では Brinkman Index（以下 BI）の多寡との関係をみたが、全体、男性、女性とも BI 1～399の方が BI 400以上よりも若年性の非若年性に対する比率が高く、X 二乗検定の結果はいずれも有意であった。おそらく、BI（喫煙本数×年数）の年数の項が交絡しているためと考える。

2) 飲酒との関連では、全体では通常飲酒よりも常習飲酒家、大酒家になるにつれ、若年性の非若年性に対する比率が増加する傾向を認めたが、有意ではなかった。女性も同様で、女性の場合は有意であった（ $p<0.001$ ）。一方、男性では逆に飲酒量が増える群の方が若年性の相対比率は低下する傾向を認めたが有意ではなかった。

3) 肥満との関連では、全体、男性、女性とも肥満なしの方が若年性の比率が高い傾向を認めたが、いずれも有意ではなかった。

4) 糖尿病との関連では、全体、男性、女性とも糖尿病なしの方が若年性の比率が高い傾向を認めたが、いずれも有意ではなかった。

5) その他、高血圧、高脂血症、高尿酸血症との関連も検討したが、全体、男性、女性ともこれら疾患がない方が若年性の比率が高い傾向を認めたもののいずれも有意ではなかった。

6) 上記の生活習慣病は一般的には加齢とともに増加することから、若年者でこれら生活習慣病の有病率が低いことが上記の結果につながっていると考えられた。

11. 胆管がん発症リスクとされる各種疾患の有無と若年性・非若年性との関連〔表 4-15, 表 4-16〕

1) 先天性胆管拡張症や膵管胆管合流異常は合わせて 19 人(うち 3 人は両者を合併)いたが、奇形ありの方が若年性の比率が高く、有意であった ($p<0.001$)。

2) 胆道系の先天性奇形を有する胆管癌患者の病歴データベース上の記録を整理した。男性 4 名(36 歳~75 歳、若年性 1 名)、女性 15 名(31 歳~88 歳、若年性 4 名)で、腫瘍占拠部位は男性は全員が肝外、女性は肝外が 12 名、2 名が肝内、1 名が肝内・肝外であった。産業大分類では製造業は皆無で、有機溶剤に使用したと推測される職歴を有する者はいなかった。男性では 4 人中 2 人が、女性では 15 人中 4 人が飲酒歴を認めたが、大酒家と推定される者はいなかった。喫煙歴に関しては男性 4 人中 3 名が喫煙をし、Brinkman Index (BI) はいずれも 900 以上であった。女性では 2 名のみが喫煙をし、BI は 400 前後であった。その他、胆管癌の発症リスクとされる糖尿病(表中 DM)、肥満 (Ob)、B 型、C 型ウイルス性慢性肝炎 (HBV, HCV)、原発性胆汁性肝硬変 (PBC) の既往を有するものはいなかった。

3) B 型慢性肝炎や C 型慢性肝炎、原発性胆汁性肝硬変についてはそれら疾患の有無と若年性・非若年性との有意な関連は認められなかった。

4) 肝吸虫は 1 例あり、年齢 72 歳で非若年性であったが、X 二乗検定は行えなかった。

5) クロウン病や潰瘍性大腸炎もリスク疾患として知られているが、5780 例の中に

は一人も該当者がいなかった。6) 胆管炎や胆管結石については既述の理由で解析しなかった。

⑤ 腫瘍占拠部位と若年性・非若年性との関連

12. 腫瘍占拠部位(肝内か肝外か)と若年性・非若年性の関連〔表 4-16〕

1) 若年性の比率は肝内の方が肝外より有意に高かった ($p<0.001$)。

2) 男性、女性でも同様に肝内の方が肝外より高く、男性では有意であった ($p=0.042$)。

13. 腫瘍占拠部位と(入院時)年齢の関係〔表 4-17〕

1) 全体では肝内 69.7±10.9 歳、肝外 71.6±10.8 歳で肝内が有意に低かった ($p<0.001$)。この結果は 13 の結果と相似であった。

2) 男性・女性においても同様で、いずれも有意であった ($p<0.001$)。

14. 腫瘍占拠部位と就労年数の関係〔表 16〕

1) 全体では肝内 31.0±16.2 歳、肝外 33.1±16.7 歳で、肝内が有意に短かった ($p<0.001$)。肝内は肝外に比べて短い就労期間で、かつ、より若い年齢で入院しているように考えられる。

2) 男性・女性においても同様で、いずれも有意であった(それぞれ $p<0.001$ 、 $p=0.029$)。

ケース・コントロール研究において、最終的に抽出されたケースおよびコントロールはそれぞれ 1068 例で、男性は 624 例、女性は 444 例ずつであった。

ケースの年齢階級別度数分布(図 4-1)では男女とも 70 歳代にピークを認めた。年齢

階級別の比率では同様に男女とも 70 歳代が最多で 41.8%、36.5%であった。女性では 80 歳も比率が 35.8%と高かった。

平均年齢は男性ではケース 72.4±9.4 歳、コントロール 72.2±9.4 歳、女性ではケース 77.0±9.7 歳、コントロール 76.8±9.7 歳で、いずれも有意差はなかった (表 4-18)。一方、ケース、コントロールともその抽出条件の一つが単一職歴であったが、その就労年数においては男性ではケース 35.0±13.3 歳、コントロール 37.2±12.0 歳でコントロールの方が有意に長く ($p=0.002$)、逆に女性ではケース 38.3±17.2 歳、コントロール 35.1±15.9 歳でケースの方が有意に長かった ($p=0.004$) (表 4-18)。

ケースの入院した病院所在地でみた地域性は東北地方が最多 (189 人)、関東地方が次点 (172 人)、九州地方 (154 人) が続いた (図 4-2)。

産業大分類別比率を男女別に検討した (図 4-3)。男性ケースでは製造業の比率が 20.7%で最多、建設業が 12.3%が続いた。男性コントロールでは製造業の比率が 24.7%で最多で、次点も同様に建設業の 17.1%であった。女性ケースでは農業の比率が 31.3%で最多、製造業が 13.6%が続いた。女性ケースでは主婦等の分類不能の産業を除くと、農業の比率が 13.1%と最多で、製造業の 6.8%が続いた。女性コントロールにおいては分類不能の産業が 40.5%で、農業が 12.8%、製造業 10.4%が続いた。男女とも産業大分類の比率に関してはケースとコントロールに有意差を認めた (男女それぞれ、 $p<0.001$ と $p=0.001$)。

同様に職業大分類別比率を男女別に検討した (図 4-4)。男性ケースでは生産工程 (製

造・制作) が 15.5%で最多、分類不能の 12.7%をはさんで専門・技術的職業 11.2%、生産工程 (採掘・建設) 10.6%が続いた。男性コントロールでは生産工程 (製造・制作) が 19.9%で最多、生産工程 (採掘・建設) が 14.4%で次点、農林漁業の 11.5%、事務の 9.6%などの順であった。一方、女性ではケース、コントロールとも分類不能が最多で、いずれも農林漁業が次点であった。男女とも産業大分類の比率に関してはケースとコントロールに有意差を認めた (男女とも $p<0.001$)。

入院の主病名 (入院の主たる理由となった病名) を ICD10 の分類で検討した (表 2)。ケースで胆管癌以外の疾患が主病名にあがっている場合は既往に胆管癌がある症例である。男性では 549 例 (88.0%) が悪性腫瘍で、次点は消化器疾患の 37 例 (5.9%)、循環器疾患の 12 例 (1.9%) が続いた。女性では 379 例 (85.4%) が悪性腫瘍で、消化器疾患の 35 例 (7.9%) が続いた。コントロールは悪性腫瘍が除外されており、男性では最多が循環器疾患の 146 例 (23.4%) で、消化器疾患の 84 例 (13.5%)、損傷および死亡の外因の 64 例 (10.3%) が続いた。女性では循環器疾患の 85 例 (19.1%)、損傷および死亡の外因の 82 例 (18.5%)、筋骨格系および結合組織の疾患 61 例 (13.7%) の順であった。

産業大分類別に胆管癌の Odds 比を検討した (表 4-20)。製造業で、男性では 1.020 (95%信頼区間: 0.776-1.339) ($p=0.945$)、女性では 1.394 (0.944-2.058) ($p=0.115$)、男女全体では 1.129 (0.905-1.410) ($p=0.309$) でいずれも有意ではなかった。同様に他のいずれの産業大分類においても、男女別に

あるいは男女合わせてみても Odds 比が有意となるものはなかった。

職業大分類別に胆管癌の Odds 比を検討した(表 4-21)。生産工程(製造・制作作業)では男性では 0.872 (0.649-1.173) (p=0.407)、女性では 1.167 (0.747-1.823) (p=0.571)、男女全体では 0.954 (0.747-1.219) (p=0.755) でいずれも有意ではなかった。同様に他のいずれの職業大分類においても、男女別にあるいは男女合わせてみても Odds 比が有意となるものはなかった。

有機溶剤使用(推定)の Odds 比は、全ての産業大分類を一括してみて、男性では 0.722 (0.479-1.089) (p=0.146)、女性では 0.764 (0.331-1.761) (p=0.673)、男女全体では 0.733 (0.508-1.058) (p=0.116) でいずれも有意ではなかった(表 4-22)。印刷業はケースに一人、コントロールに2人の計3人(いずれも男性)であったが、男性のみあるいは男女合わせてみても有意ではなかった。

生活習慣病の有無についてケースとコントロールで比較した(表 4-23)。今回のケースとコントロールの組み合わせでは、高血圧や高脂血症については男女とも、コントロールの方がケースよりも有意に多いという結果であった。また、高尿酸血症については男性のみにおいて同様にコントロールの方がケースよりも有意に多かった。ただ、糖尿病や肥満については男女ともケースとコントロールに有意差を認めなかった。

生活習慣病や喫煙、飲酒の Odds 比について検討した(表 7)。高血圧は、男性では有意ではなかったが、女性では 0.630 (0.479-0.828) (p=0.001)、男女全体では

0.724 (0.606-0.866) (p<0.001) で有意であった。高脂血症は、男性では 0.588 (0.386-0.895) (p=0.017)、女性では 0.382 (0.235-0.621) (p<0.001)、男女全体では 0.486 (0.354-0.667) (p<0.116) でいずれも有意であった。高尿酸血症も男性と男女全体で有意であったが、糖尿病や肥満は男女別に見ても男女全体でも有意ではなかった。喫煙や飲酒も同様であった。

本研究では産業・職業と胆管癌発症との関連をみるために国内で唯一、職歴をデータとしてもつ(独)労働者健康福祉機構入院患者病職歴データベースを活用した。このデータベースには、全国の労災病院で同意を得た入院患者の病名(ICD9, 10でコード化)を7つまでと職歴(現職のみならず過去の職歴を4つまで。特殊健診受検の有無も含む)、肥満・高血圧・高脂血症・糖尿病・高尿酸血症の有無や喫煙・飲酒習慣について記載している。本研究では、これら産業・職業や生活習慣病ならびに喫煙・飲酒習慣と胆管癌発症との関連を1:1のケースコントロール研究にて検討した。

産業・職業大分類別でいずれの産業、職業とも胆管癌の Odds 比が有意ではなかった。有機溶剤使用推定ありの Odds 比も有意ではなかった。

5. 大阪における胆管がん罹患の地理的集積性の検討

性年齢階級別罹患率の推移

肝内胆管がん及び肝外胆管がんにおける25歳から49歳までの5歳毎の各年齢階級における罹患率は、顕著な上昇傾向は見られなかった。70代以上の高齢者層で若干の増加傾向が認められた(図5-1、図5-2)。

年齢調整罹患率の推移

肝内胆管がんでは男女とも 1975 年から 1990 年代前半まで増加傾向がみられ 90 年代後半をピークに 2000 年代から緩やかな減少傾向となっていたが (図 5-1)、肝外胆管がんにおいては 1980 年代まで上昇の後、90 年代以降はほぼ横ばいであった (図 5-2)。肝細胞がんは男女とも 90 年代後半から減少していた (図 5-3)。胆嚢がんでは 1975 年以降上昇し 1980 年代後半をピークに以後減少傾向となった (図 5-4)。

臨床進行度・外科治療分布

部位別年齢階級別 (25-49/50-74/75-99) に臨床進行度分布 (図 5-5) および外科治療の分布 (図 5-6) を示した。25-49 歳の肝内・肝外胆管がんの臨床進行度は 50-74 歳の群と比較し限局の割合が小さいものの遠隔転移の割合も小さかった。胆嚢がんにおいては 25-49 歳、50-74 歳、75-99 歳の群の順に限局の割合が小さく遠隔の割合が大きくなった (図 5-5)。外科治療については、肝内・肝外胆管がん、胆嚢がんとも年齢層が上がるごとに、外科治療の割合が小さくなった (図 5-6)。

地域集積性

・ A 事業所からの距離と罹患の関係

A 事業所から半径 1 km, 2 km, 5 km 以内と外部の SIR を表 1 に示した。A 事業所に近い地域で SIR が統計的有意に高くなっていることはなかった。

・ 胆管がん罹患の集積性の検定

性別および男女計で Kulldorff のスキャン統計量を検討し、集積の可能性の高い順 (p 値の小さい順) にクラスターを提示した (表 5-2)。男女計で最も高い集積性の可能性 (most likely cluster) を示す地域でも

p=0.196 であり、統計的に有意な胆管がん罹患の集積は大阪府内では見られなかった (有意水準 $p<0.05$)。

6. 全国印刷健康保険組合 DPC データによる胆管がん受療率

結果を表 6-1 に示す。

21~60 歳男性本人では、期待退院数 7.79 に対して、観察された入院数は 17 と、標準化受療率比は 2.18 であった。標準化退院率比の 95%信頼区間は、0.93-5.09 で統計的には有意ではなかった。

うち 40 歳未満の男性 2 人は業務上疾病として認定されている。

7. ジクロロメタン取扱事業所における作業環境測定結果について

A 測定には作業環境管理、B 測定には作業員数が影響していることが判明した。また管理区分を管理区分 1 と管理区分 2・3 の 2 群に分け、 χ^2 検定を行ったところ作業環境管理が影響していることが判明した。

表 7-1 に示すように、A 測定の区分 I は 34 単位作業所、区分 II・III は 22 単位作業所であった。2 群間で調査項目の結果を比較したところ、作業環境管理の適切、不適切において有意差 (OR:15.4, 95%CI 2.19-102.7, $p=0.004$) を認めた。

表 7-2 に示すように、B 測定の区分 I は 40 単位作業所、区分 II・III は 16 単位作業所であった。2 群間で調査項目の結果を比較したところ、作業員数の単独、複数において有意差 (OR:5.73, 95%CI 1.26-25.2, $p=0.031$) を認めた。

表 7-3 に示すように、管理区分 1 は 30 単位作業所、管理区分 2・3 は 26 単位作業所 (第

2 管理区分は 16 単位作業所、第 3 管理区分は 10 単位作業所)であった。2 群間で調査項目の結果を比較したところ、作業環境管理の適切、不適切において有意差(OR:10.7, 95%CI 1.54-70.7, p=0.019)を認めた。

8. 職業性胆管がん患者の化学物質曝露に関する研究

事業場 I

症例 A : 1969 年生まれの男性である。1988 年から 2011 年まで事業所 I においてオフセット校正印刷に従事し、2011 年に胆管がんと診断された。その他には化学物質の使用歴はない。

症例 B : 1974 年生まれの男性である。1992 年から 2011 年まで事業所 I においてオフセット校正印刷に従事し、2011 年に胆管がんと診断された。その他には化学物質の使用歴はない。

事業所 I は 2 つの印刷室があり、その気積は 1260 m³ と 570 m³ で、換気量は 3690m³/hr と 1960 m³/hr と推計された。局所排気装置はつけられていなかった。

1,1,1-トリクロロエタン (1,1,1-TCE) は 1994 年まで使用され、DCP と DCM は 1994 年から 2011 年まで使用していた。ミネラルスピリットやナフサも使用していた。印刷室の DCP 使用量は 320-710 g/hr で、DCM 使用量は 1 g/hr 未満であった。(Table 1). 洗浄作業での DCP 使用量は 630-1800 g/hr で、DCM 使用量は 4 g/hr 未満であった (Table 1).

洗浄作業での溶剤が蒸発する発生源と呼吸域との距離は 0.5m、凸版輪転印刷機での距離は 0.85 m と考えられる。

Table 2 に DCP と DCM の推定濃度を

示す。印刷室の環境濃度は DCP が 35-42 ppm、DCM が 1 ppm 未満と見積もられる。インク洗浄作業では症例 A では DCP が 280-490 ppm、DCM が 3 ppm 未満、症例 B では、DCP が 490 ppm、DCM が 3 ppm 未満、と見積もられる。10 時間の時間荷重平均濃度は症例 A では DCP が 100-170 ppm、DCM が 1 ppm 未満で、症例 B では DCP が 80-120 ppm、DCM が 1 ppm 未満と見積もられた。2 人とも保護具は着用していなかった。

事業場 II

症例 C : 1950 年生まれの男性である。1970 年から 1973 年までと、1975 年から 1998 年まで、事業場 II で勤務し、1998 年に胆管がんと診断された。その他には化学物質の使用歴はない。

症例 D : 1965 年生まれの男性である。1992 年から 2008 年まで事業場 II で勤務し、2008 年に胆管がんと診断された。その他には化学物質の使用歴はない。

事業場 II は二つの印刷室があり、気積は 170 m³ と 180 m³ で、換気量は 3,020 か 1,790 m³/h と 1,100 m³/h であった。印刷機には局所排気装置は設置されていなかった。

1985 年まで、ブランケットからインク除去にガソリンが使用されていて、その後、DCP が 1986-2008 年に、DCM が 1986-1998 年に、1,1,ジクロロ 1 フルオロエタンが 1996-1999 年に、ミネラルスピリットが 1993-1998 年に使用していた。ケラセンとミネラルオイルはインクロールからインクの除去のために用いられた。

作業場全体で使用した DCP は 230-580 g/h、DCM は 0-310 g/h であった。また洗浄作業中に使用した DCP は 330-1200 g/h、

DCMは0-830 g/hであった。

発生源から呼吸域までの距離は0.5mとした。

作業環境濃度はDCPが17-92 ppm、DCMが0-50 ppmと推定された。(Table 2)

洗浄作業中の曝露濃度は症例CではDCPが150-620 ppm、DCMが110-560 ppm、症例DではDCPが170-420 ppm、DCMが0-340 ppmと推定された。1日の労働時間は9時間であり、9時間荷重平均濃度は症例CではDCPが62-170 ppm、DCMが29-150 ppm、症例DではDCPが75-200 ppm、DCMが0-150 ppmと推定された。呼吸保護具は使用しなかった。

事業場Ⅲ

症例E：1946年生まれの男性である。1980年から1995年まで事業場Ⅲで勤務し、2003年に胆管がんと診断された。その他に7箇所の印刷作業場に勤務し、そのうちの5事業場ではガソリン、DCM(0.15kg/日)、イソプロピルアルコール、ミネラルスピリット、ミネラルオイル、ポリオキシエチレンノニールフェニールエーテルなどを洗浄作業に使っていた。

症例F：1955年生まれの男性である。1980年から1995年まで事業場Ⅲで勤務し、2013年に胆管がんと診断された。他の印刷事業場で働いたことがあるが、DCPとDCMは使用していない。

事業場Ⅲは三つの印刷室があり、気積はそれぞれ150 m³、750 m³、340 m³で、換気量はそれぞれ480 m³/h、2,400 m³/h、1,090 m³/hであった。印刷機には局所排気装置は設置されていなかった。

1984年まで、ブランケットからインク除

去にガソリンが使用されていて、その後、DCPとDCMが1985-1995年に1,1,1-TCEが1985-1992年に、ミネラルスピリットが1993-1995年に使用していた。ケラセンはインクロールからインクの除去のために用いられた。

作業場全体で使用したDCPは320-390 g/h、DCMは160-370 g/hであった。また洗浄作業中に使用したDCPは280-350 g/h、DCMは140-320 g/hであった。発生源から呼吸域までの距離は0.5mとした。

作業環境濃度はDCPが35-180 ppm、DCMが20-98 ppmと推定された。(Table 2)

洗浄作業中の曝露濃度は症例Eと症例FではDCPが160-290 ppm、DCMが91-250 ppmと推定された。1日の労働時間は11.5時間であり、11.5時間荷重平均濃度は症例Eと症例FではDCPが110-240 ppm、DCMが60-180 ppmと推定された。呼吸保護具は使用しなかった。

9. DCM及びDCPの毒性影響

1)免疫染色標本においても1、2-ジクロロプロパンを投与した個体において胆管増生が認められた(図1)

2)ラット13週間反復吸入試験

肝臓を用いた検討では、細胞増殖に関連した抗体では、投与に関連した変化は認めなかったものの、肝細胞の核における γ -H2AXのドット状陽性像が観察された。無処置コントロール群においても、ごくわずかに肝細胞および胆管上皮細胞に陽性像が見られたが、肝細胞における陽性像はDCP投与群において増加傾向を示した(Figure 1)。胆管上皮細胞については、陽

性細胞はごくわずかであり、DCP 投与による増加は明らかではなかった (Figure 2)。一方、鼻腔および肺の標本においては、Ki67 および γ -H2AX の抗体による陽性像は認めなかった。PCNA では、扁平上皮での陽性像は散見されたが、鼻腔および細気管支上皮細胞における陽性像は一部にのみ見られた。

3) *gpt* delta ラット 4 週間反復経口投与試験

Figure 3 に示すプロトコールに沿って、週 7 日の強制経口投与試験を実施中であり、体重については、DCP 投与群で、溶媒群と比較してわずかに増加抑制がみられるものの、いずれの群も有意差は見られず (Figure 4)、一般状態は良好である。

4) ハムスター 4 週間反復経口投与試験

肝臓では肝細胞に γ -H2AX 陽性像が散見されたが、肝内胆管上皮細胞には陽性像はほとんど認められなかった。これらの所見は全群においてほぼ同様であり、また、1 週間及び 4 週間投与にも差は認められなかった。陽性対照のラット膀胱腫瘍では、すべてのスライドで腫瘍組織に陽性細胞が観察されたことから、染色条件は適切であったことが確認された。

4) DCM、DCP の混合投与ラットにおける毒性影響

【実験 I】 DCP、DCM 及びその混合物の投与群は溶媒対照群に対し、体重、肝臓の絶対、相対重量に有意な変化は確認されなかった (Table I)。

血清生化学検査の結果より、ビリルビンについては DCP の高用量群で、無機リンについては混合物群で、それぞれ有意な高値が確認された。また、コレステロール、

トリグリセリド、アラニンアミノ基転移酵素については DCP 及び混合物の群において、それぞれ用量相関性の減少が確認された (Table II)。肝臓の病理組織学的検査の結果、何れの投与群においても、被験物質による影響を示す変化は認められなかった (Table III)。

q-PCR の結果より、溶媒対照群と比較して、全ての投与群で *Cyp2e1* 及び *Gstt1* の遺伝子発現に変化は見られなかった (Figure 1 A)。またウエスタンブロットの結果も同様に、全ての投与群でこれらの代謝酵素のタンパク発現に変化は見られなかった (Figure 1 B)。

gpt mutation assay の結果より、溶媒対照群と比較して、全ての群で点突然変異の増加は認めなかった (Figure 2 A)。また *Spi*-assay の結果も同様に、全ての群で欠失変異の増加は認めなかった (Figure 2 B)。*gpt* 変異頻度及び *Spi*-変異頻度の詳細については Table IV 及び V に示した。

5) DCM、DCP の混合投与マウスにおける毒性影響

【実験 II】 DCP、DCM 及びその混合物の投与群は溶媒対照群に対し、体重は有意な変化を示さなかったが、野生型の混合群で、肝臓の絶対及び相対重量の有意な増加が確認された。また欠損型では DCP 群で肝臓の絶対及び相対重量の有意な増加が確認された (Table VI)。

血清生化学検査の結果より、野生型において DCP 群で、尿素窒素の有意な減少がみられた。また欠損型において混合群で、ビリルビン及びカルシウムの有意な増加が認められた (Table VII)。

病理組織学的検索より、野生型・欠損型

ともに DCP 及び混合群で肝細胞のグリコーゲン沈着が、欠損型の DCP 群で karyocytomegaly が認められた (Table VIII)。

q-PCR の結果より、各遺伝子型間においてそれぞれの溶媒対照群と比較して、DCP 及び混合群で Cyp2e1 の遺伝子発現に減少傾向が確認された (Figure 3 A)。Gstt1 及び Trp53 に関しては遺伝子発現に変化は見られなかった (Figure 3 B,C)。またウエスタンブロットの結果より、野生型の DCP 及び混合群において CYP2E1 のタンパク発現の減少が確認され、欠損型群でも混合群において CYP2E1 のタンパク発現の減少傾向が確認された (Figure 4)。GSTT1 においてはいずれの遺伝子型においても全ての群で有意な発現変化は確認されなかった。

gpt mutation assay の結果より、各遺伝子型間において、それぞれ溶媒対照群と比較して、全ての群で点突然変異の増加は認めなかった (Figure 5 A)。また Spi- assay の結果も同様に、全ての群で欠失変異の増加は認めなかった (Figure 5 B)。*gpt* 変異頻度及び Spi-変異頻度の詳細については Table IX 及び X に示した。

gpt delta ラット及び、マウスを用いて、4 週間の強制経口投与による DCP、DCM 及びその混合投与の影響について、肝臓に対する変異原性と代謝酵素発現を主体に検討した。

10. ハムスター胆道系および膵管に対する DCP の発がん修飾作用

・ 一般所見

剖検時における生存率、最終体重および肝重量、実験期間中における摂餌量および飲

水量について Table.1 に示した。

BOP → DCP 125 mg/kg b.w. 投与群において、投与第 3 週より溶媒対照群との間に有意な体重減少が最終週までみられ、最終体重についても同様に有意な減少が認められた。また、二段階修飾作用群および DCP 単独投与群ともに相対肝重量に有意な変化はみられなかった。

・ 肝内胆管および膵管における病理組織学的解析

肝内胆管における病理組織学的変化について Table.2 に、膵臓については Table.3 に、またそれぞれの所見における代表的な組織像について Figure.1 に示した。

肝内胆管における腫瘍性病変 (Figure.1-C) は BOP → DCP 62.5 mg/kg b.w. 投与群 (19 週剖検群) においてみられたが、14 例中 1 例のみ (0.07 ± 0.27) であり、BOP → DCP 125 mg/kg b.w. 投与群において 17、19 週ともに腫瘍性病変がみられなかったため、前がん病変である異型過形成 (Figure.1-A,B) を INHAND に基づいて検索を行った。その結果、DCP 投与による肝内胆管の異型過形成の発生頻度および発生数に有意な変化および用量相関性は 17、19 週ともにみられなかった。

また、膵臓における腫瘍性病変 (Figure.1-E,F) は二段階修飾作用群にみられ、さらに 17 週剖検群で用量相関傾向がみられたが、19 週剖検群における溶媒対照群において 15 匹中 5 例 (0.33 ± 0.49)、BOP → DCP 62.5 mg/kg b.w. 投与群では 14 匹中 4 例 (0.29 ± 0.46)、そして BOP → 125 mg/kg b.w. 投与群では 15 匹中 4 例 (0.27 ± 0.46) の腫瘍性病変が発生し、DCP 投与による腫瘍性病変の発生頻度および発生数の

増加がみられなかった。そのため、膵管上皮の異型過形成(Figure1-D)の発生頻度および発生数について INHAND を基に検索を行った。その結果、DCP 投与群および溶媒対照群間に有意な変化および用量相関性は 17、19 週ともに変化がみられなかった。また、DCP 125 mg/kg b.w.単独投与群および溶媒対照群間における異型過形成の発生頻度および発生数も同様に、有意な変化および用量相関性は 17、19 週ともにみられなかった。

・ 細胞増殖能の定量的解析

胆管上皮細胞および膵管上皮細胞における異型過形成(いずれも 19 週剖検群について)の Ki-67 陽性率の半定量的解析を行った結果、細胞増殖能に有意差はみられなかった。また、DCP125 mg/kg b.w.単独投与群および溶媒対照群の正常様胆管上皮および膵管上皮細胞においても同様に有意な差はみられなかった(Figure2-A,B)。さらに、膵管腺癌における細胞増殖能について検討した結果(17 および 19 週剖検)、DCP 投与による有意な変化はみられなかった(Figure.2-C)。

D. 考察

1. 印刷労働者における従事期間別胆管がん罹患リスク

胆管がん多発事例のみられた印刷会社オフセット校正印刷部門の従事者において、使用洗浄剤を考慮した従事期間別に標準化罹患比（SIR）を計算したところ、全体として極めて高い SIR を示したが、DCP 曝露ありの集団の中で DCM 有無別には SIR に相違はなかった。

昨年度の解析以降、対象者の追跡状況等で追加修正があったため、全体の SIR が若干異なった数字となっている。また、洗浄剤の累積使用量別に SIR を検討するに際して、1986 年 1 月から 1991 年 1 月における DCM および DCP の使用量が少なかったため、昨年度の従事期間別の解析においては、年数の加算対象に含めなかったが、今回はこの期間も解析に含めた。この期間の使用量は他の期間に比べて 10 分の 1 以下なので、この違いが SIR 推定値に与える影響は少ないと考える。

2. 職業性胆管癌症例の臨床病理学的研究

全国の職業性胆管癌症例においても、大阪の印刷事業場 A 社の胆管癌症例の臨床的特徴を有する症例が多くみられた。

本研究によって、本病態は広範囲の胆管傷害、BillIN 病変や IPNB を経て浸潤性胆管癌に至る多段階発育を示すと考えられ、そのなかで乳頭状増殖を示す胆管癌（浸潤性 IPNB）が多くみられることが特徴的であった。また、傷害された胆管の複数部位から癌が発生したと考えられる症例がみられ、

胆管癌が多発する点も特徴的であった。

また、胆管癌診断の数年前より γ -GTP が高値となることがしばしばあり、胆管癌診断の数年前より発癌プロセスが開始しているものと考えられた。

臨床検査値や画像所見の推移は胆管癌発癌、進展に関連していると考えられた。また、有機溶剤の曝露がみられた就業者ではこれらの肝機能検査や画像診断所見の推移を観察することが重要であると考えられた。大阪の A 事業場の職業性胆管癌症例の特徴であった γ -GTP 高値、癌による胆管狭窄を伴わない限局性肝内胆管拡張、前癌病変や早期癌病変が、他の事業場の職業性胆管癌症例でもみられることが多かった。

3. 胆管がん検診の実施

胆管がんの早期発見には検診は不可欠である。胆管がん検診の対象者であることおよび検診を実施することの周知が必要であった。胆管がん検診の対象者の選定に関しては、DCP が使用されていたのは 2006 年 10 月までと考え、原則 2006 年 10 月以前に大阪・東京・名古屋校正部に在籍した従業員を対象とした。校正印刷部門元従業員名簿をもとに、まず胆管がん検診希望の有無を調査するために、案内状を郵送した。名簿上住所不明や郵送したが転居のため宛先不明で返送されてきたのが 13 名あった。連絡のつかない対象者にはご自身が対象者であるとの認識のない者が含まれると考えられる。

胆管がん検診（第 1 回）は平成 25 年 7 月～10 月に実施し、校正印刷部門元従業員 42 名および現従業員 20 名、合計 62 名が受診した。胆管がん検診（第 2 回）は平成 26

年1月～3月に実施し、校正印刷部門元従業員33名および現従業員18名、合計51名が受診した。胆管がん検診（第2回）の受診者数は1回目より減ったが、1回目に遠方から受診した者が2回目は受診しなかったことが挙げられる。一方、2回目実施に初めて受診された元従業員は2名おり、少しでも多くの従業員に検診の意義を周知できたと考える。

検診結果に関して腹部エコー（肝・胆・胆管に関する異常所見：たとえば肝門部胆管拡張）、肝機能検査（ γ -GPTの上昇など）、腫瘍マーカー（CA19-9、CEAの上昇など）で特に異常があった者に対して要精査と判定した。第1回の検診で要精査と判定した12名のうち、7名が別途検診結果の説明を受け、そのうち2名は大阪市立大学附属病院胆管がん特別外来にて精密検査を施行し、胆管がんは認められなかった。要精査と判定された中で放置している者もいると推測されるが、第1・2回の検診および精査結果を総合的に判断した結果、積極的に胆管がんを疑う所見は認められなかった。しかし今後も早期発見のため検診受診は必要である。労働安全衛生法施行令などが平成25年10月に改正され、DCPを取り扱う業務が健康管理手帳交付の対象業務となった。交付要件は3年以上従事した経験があることではあるが、該当者は健康管理手帳交付申請をしていただきたいと切に思う。

平成25年10月に実施した元・現従業員の健康状況調査票において、回収できた元従業員47名、現従業員83名合計130名には胆管がんの有病は認められなかった。

元従業員名簿上の222名について、胆管がん発症者（12名）、他疾患にて死亡者（1

名）、胆管がん検診受診者（42名）以外、名簿上住所不明や郵送したが転居のため宛先不明で返送されてきたのが40名、返信のない80名の合計120名の健康状況は不明である。

3回目の検診結果に関しては2名に腹部エコー（肝・胆・胆管に関する異常所見）、肝機能検査（ γ -GPTの上昇など）、腫瘍マーカー（CA19-9、CEAの上昇など）のいずれかに精密検査をすべき異常所見が認められた。しかし、明らかな胆管がんは認められなかった。異常所見が認められたことから、精密検査が求められる。

色校正室での作業歴があった群、1996年以前に入社した群のいずれにおいても腹部超音波上の異常所見を認める頻度に有意な差はなかった。

異常所見を認めた20例のうち7例（肝内胆管拡張4例、肝内エコーの不整2例、肝嚢胞1例）は、胆管癌の前癌状態ではないかを考慮する必要があった。

しかし現時点で胆管癌発症例は確認されていない。1996年以前に入社した作業者の群において有意に γ -GTPおよびALTの値が高かった。この群は飲酒回数が多く、アルコール性肝障害をみている可能性もあるが、今後の検診では厳重な観察が求められる。本班の久保正二らの報告によると γ -GTPおよびALTの高値は胆管癌のリスク因子である可能性がある。我々は、この2項目は正常範囲内であっても「高め」の傾向がないか、留意すべきと考えている。