

労災疾病臨床研究事業費補助金

職業性胆管癌に対する総合的診断法の確立

平成26年度 総括研究報告書

研究代表者 久保正二

平成27年（2017年）5月

目 次

I. 総括研究報告

職業性胆管癌に対する総合的診断法の確立	2
研究代表者氏名 久保正二	

II. 分担研究報告

1. 職業性胆管癌の検診結果と臨床像	11
研究代表者 久保正二	
分担研究者 石河 修、河田則文、首藤太一	
研究協力者 竹村茂一、田中肖吾、新川寛二、西岡孝芳、木下正彦、 濱野玄弥、伊藤得路、村上善基、川村悦史、打田佐和子、榎本 大、 萩原淳司、藤井英樹、小塚立蔵、元山宏行、森川浩安、佐藤恭子、圓藤吟史	
2. 職業性曝露（印刷業）による胆管・胆道癌の病理学的特徴および推定発癌メカ ニズムの解析	16
分担研究者 中沼安二、久保正二	
研究協力者 佐藤保則、木下正彦	
3. 胆管癌症例のメタボロームおよびトランスクリプトーム解析	22
分担研究者 河田則文	
研究協力者 村上善基	
4. 職業性胆管癌に対する総合的診断法の確立（分子生物学的検討）に関する 研究	25
分担研究者 土原一哉	
5. 職業性胆管癌患者の化学物質曝露に関する研究	27
分担研究者 熊谷信二	
研究協力者 圓藤吟史、山田憲一	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	33
---------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	36
-----------------	----

労災疾病臨床研究事業費補助金
総括研究報告書

職業性胆管癌に対する総合的診断法の確立

研究代表者	久保正二（大阪市立大学大学院医学研究科肝胆膵外科学）
研究分担者	石河 修（大阪市立大学医学部附属病院） 河田則文（大阪市立大学大学院医学研究科肝胆膵病態内科学） 首藤太一（大阪市立大学大学院医学研究科総合医学教育学・ 医学部附属病院総合診療センター） 中沼安二（静岡県立がんセンター病理診断科） 土原一哉（国立がん研究センター早期・探索研究センター） 熊谷信二（産業医科大学産業保健学部環境マネジメント学） 祖父江友孝（大阪大学大学院医学系研究科環境医学）
研究協力者	竹村茂一、田中肖吾、新川寛二、西岡孝芳、木下正彦、 濱野玄弥、伊藤得路（大阪市立大学大学院医学研究科肝胆膵 外科学） 村上善基、川村悦史、打田佐和子、榎本 大、萩原淳司、 藤井英樹、小塚立蔵、元山宏行（大阪市立大学大学院医学 研究科肝胆膵病態内科学） 森川浩安（大阪市立大学大学院医学研究科先端予防医療学） 佐藤恭子、圓藤吟史（大阪市立大学大学院医学研究科産業医学） 山田憲一（中央労働災害防止協会・労働衛生調査分析センター） 佐藤保則（金沢大学医薬保険研究域医学系・形態機能病理学）

研究要旨

（１）大阪の印刷事業場Ｓ社の元あるいは現従業員のうちジクロロメタンや１，２-ジクロロプロパンに曝露したと考えられる従業員に対して、検診を行った。また、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も行った。その結果、新たな１例が胆管癌と診断された。一方、職業性胆管癌と診断された９例（大阪Ｓ社６例および他の事業場３例）において、胆管癌診断までの連続した検診成績を検討した結果、胆管癌診断の数年前よりγ-GPTの上昇がみられ、同時あるいはそれに遅れてAST、ALTの上昇がみられた。また２例では腹部超音波検査像を検討したが、１例では数年前から、他の１例では数か月前から肝内胆管癌の拡張像がみられた。このような所見は通常の胆管癌症例ではみられず、職業性胆管癌の特徴と考えられた。胆管癌診断時には全例でγ-GTPが異常高値であり、CEAあるいはCA19-9異常高値例が多くみられた。画像診断上、肝内腫瘤像、胆管内腫瘤像、腫瘍による胆管閉塞とその末梢胆管の拡張像に加えて、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特徴的であった。大阪の印刷事業場Ｓ社の職業性胆管癌１７例および

全国での職業性胆管癌 9 例の臨床病理学的所見と検討した結果、前者 17 例でみられた多くの特徴が後者 9 例でも認められた。

(2) 職業性胆管癌 17 症例の病理学的検討を行った。その結果、17 例は腫瘤形成型肝内胆管癌、胆管内発育型肝内胆管癌、乳頭型肝外胆管癌のいずれかに分類され、17 例全例で、総肝管から肝内第三次分枝までの比較的大型の胆管が原発部位と考えられた。8 例の手術症例の検索を行ったが、全例の肝内大型胆管で Biliary intraepithelial neoplasia (BilIN)-2/3 が認められた。また、胆管周囲付属腺にも BilIN-2/3 病変が認められた。また、大型胆管を観察し得た 7 例において、胆管内に Intraductal papillary neoplasm of the bile duct (IPNB) が認められ、IPNB からの浸潤性病変も認められた。一般の胆管癌あるいは肝内結石症に合併する胆管癌例に比べ、IPNB が高率にみられたことが、特徴の 1 つと考えられた。次いで、免疫組織化学的な方法で、CYP2E1 経路、GST T1-1 経路に関連する酵素の発現をヒト組織(正常および胆管癌)、ラット組織、マウス組織で検討した。その結果、CYP2E1 はヒト、ラット、マウスの肝細胞でコンスタントに発現していたが、肝内外の胆管上皮には発現が見られなかった。また、職業性胆管癌症例の BilIN や胆管癌にも、CYP2E1 の発現が見られなかった。一方、GST T1-1 はヒト、ラット、マウスの肝細胞および肝内外の胆管上皮で明瞭な発現が見られ、胆管周囲付属腺にも発現がみられた。また、職業性胆管癌症例の BilIN や胆管癌にも発現が見られた。胆管系には CYP2E1 の発現はなく GST T1-1 が分布しているので、肝門部胆管や肝内大型胆管が、高濃度で流入して来た DPC や DCM に曝露し、ここに局在する GST T1-1 が発癌性や遺伝子障害作用のある中間代謝産物が形成され、胆管癌の発生に深く関連したと考えられた。さらに、 γ -H2AX の免疫染色を行ったが、職業性胆管癌症例の BilIN、IPNB および傷害胆管上皮で、高率に γ -H2AX の発現が認められた。一方、肝内結石症での傷害胆管や BilIN 病変では発現がみられなかった。このことから、職業性胆管癌症例では、発癌に先行して、DNA 傷害が高率、広汎に発生し、発癌に関連していることと考えられた。これらの結果、職業性胆管癌症例では広範囲の胆管に DNA 傷害がみられ、その広範囲の胆管から BilIN や IPNB などの前癌病変が発生、さらに進行胆管癌に進展していく多段階発育を示すことが特徴であると考えられた。

(3) 職業性胆管癌症例、有機溶剤の曝露のない胆管癌症例および肝細胞癌症例それぞれの代謝物質、遺伝子発現解析を行い、化学物質由来胆管癌特異的な代謝物質、遺伝子発現異常の同定を試みた。その結果、統計的に有意差のある特徴的なメタボローム、トランスクリプトームは認められなかった。主成分分析によって、肝内胆管癌とその非癌部、肝細胞癌とその非癌部の四群を分別したところ、14 種の化合物、62 種の mRNA、17 種の micro RNA が肝内胆管癌に関与していることが明らかになった。また、職業性胆管癌 4 例の全エクソン解析により、通常型胆管癌ゲノムと著しく異なる①きわめて高頻度の体細胞変異、②一塩基置換のセンス・アンチセンス鎖間のバイアスが認められた。

(4) 職業性胆管癌 7 例について、厚生労働省が収集した情報を基にして曝露濃度を推定した。7 人中 4 人は 1,2-DCP および DCM に曝露されており、最高曝露濃度は 1,2-DCP が

230～420 ppm、DCM が 58～720 ppm と推定され、1 日労働時間の時間荷重平均濃度は 1,2-DCP が 0～210 ppm、DCM が 15～270 ppm と推定された。一方、残りの 3 人は DCM への曝露はあるが、1,2-DCP への曝露はなかった。DCM の最高曝露濃度は 600～1300 ppm と推定され、1 日労働時間の時間荷重平均濃度は 84～440 ppm と推定された。これらの結果は、1,2-DCP 曝露だけでなく、DCM 曝露もヒトに胆管癌を引き起こす可能性を示唆した。

A. 研究目的

職業性胆管癌の臨床像および病理学的所見および分子生物学的特徴を検討し、通常の胆管癌症例のそれらと比較することにより職業性胆管癌の特徴を明らかにする。これらにより職業性胆管癌の診断法を確立する。また分子生物学的検討により職業性胆管癌の発癌メカニズムの解明と新規バイオマーカーを検討する。さらに臨床病理学的所見、分子生物学的所見、曝露状況や過去および今後の健康診断結果の解析により職業性胆管癌のハイリスクグループの設定と胆管癌発症予測を含めた健康診断法を検討する。

B. 研究方法

職業性胆管癌と診断された症例における臨床像や検診結果を検討し、通常の胆管癌症例のそれらと比較した。また、職業性胆管癌の切除標本や病理解剖標本を用いた免疫組織学的検討を含む病理学的検討において、職業性胆管癌の発癌過程を検討するとともに、通常の胆管癌症例との比較を行った。さらに、職業性胆管癌症例と通常の胆管癌症例の癌部および非癌部標本のメタボロームおよびトランスクリプトーム解析を行った。また、職業性胆管癌の切除標本を用いてゲノム解析を行った。一方、職業性胆管癌症例の曝露状況を評価し、その環境因子を検討した。

「印刷労働者にみられる胆管癌発症の疫学研究」(承認番号 2368)として大阪市立大学医学部倫理委員会および「ゲノム異常解析に基づく胆管癌の発生・進展の分子機構の解明」(承認番号 2840)として大阪市立大学ヒトゲノム遺伝子解析研究に関する倫理委員会の承認を得て行った。また、「胆管がん等の職業性発癌の原因解明とバイオマーカー開発」のためヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針に則り研究を計画し、国立がん研究センター研究倫理審査委員会の承認(2014-072)を得て実施した。

C. 研究結果

(1) 検診および臨床像の解析

大阪の印刷事業場 S 社の元あるいは現従業員のうちジクロロメタン (DCM) や 1,2-ジクロロプロパン (1,2-DCP) に曝露したと考えられる従業員に対して、検診を行った。また、1,2-DCP 業務従事者の健康管理手帳による検診も行った。その結果、新たな 1 例が胆管癌と診断された。一方、職業性胆管癌と診断された 9 例(大阪 S 社 6 例および他の事業場 3 例)において、胆管癌診断までの連続した検診成績を検討した結果、胆管癌診断の数年前より γ -GPT の上昇がみられ、同時あるいはそれに遅れて AST、ALT の上昇がみられた。また 2 例では腹部超音波検査像を検討したが、1 例では数年前

から、他の 1 例では数か月前から肝内胆管癌の拡張像がみられた。

現在、職業性胆管癌と認定されている症例は全国で 36 例である。これらの症例の臨床データを順次収集し、臨床像等の検討を行っている。大阪の印刷事業場 S 社の職業性胆管癌 17 例および全国での職業性胆管癌 9 例の臨床病理学的所見と検討した。その結果、いずれも比較的若年者であり、男性であった。胆管癌診断の数年前より γ -GTP 高値が上昇していた。また、同時あるいはそれに遅れて AST や ALT が上昇していた。また 2 例では腹部超音波検査像を検討しえたが、1 例では数年前から、他の 1 例では数か月前から肝内胆管癌の拡張像がみられた。このような所見は通常の胆管癌症例ではみられず、職業性胆管癌の特徴と考えられた。胆管癌診断時には全例で γ -GTP が異常高値であり、CEA あるいは CA19-9 異常高値例が多くみられた。画像診断上、肝内腫瘍像、胆管内腫瘍像、腫瘍による胆管閉塞とその末梢胆管の拡張像に加えて、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特徴的であった。主腫瘍は腫瘍形成型肝内胆管癌、胆管内発育型肝内胆管癌や乳頭型肝外胆管癌であった。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を示す胆管を病理学的に検討すると、同部には後述する慢性胆管傷害、Biliary intraepithelial neoplasia (BilIN) と intraductal neoplasm of the bile duct (IPNB) の前癌病変や胆管癌の進展がみられた。

(2) 病理学的検討

職業性胆管癌 17 症例の病理学的検討を

行った。その結果、17 例は腫瘍形成型肝内胆管癌、胆管内発育型肝内胆管癌、乳頭型肝外胆管癌のいずれかに分類され、17 例全例で、総肝管から肝内第三次分枝までの比較的大型の胆管が原発部位と考えられた。8 例の手術症例の検索を行ったが、全例の肝内大型胆管で Biliary intraepithelial neoplasia (BilIN)-2/3 が認められた。また、胆管周囲付属腺にも BilIN-2/3 病変が認められた。また、大型胆管を観察し得た 7 例において、胆管内に Intraductal papillary neoplasm of the bile duct (IPNB) が認められ、IPNB からの浸潤性病変も認められた。一般の胆管癌あるいは肝内結石症に合併する胆管癌例に比べ、IPNB が高率にみられたことが、特徴の 1 つと考えられた。次いで、免疫組織化学的な方法で、CYP2E1 経路、GST T1-1 経路に関連する酵素の発現をヒト組織(正常および胆管癌)、ラット組織、マウス組織で検討した。その結果、CYP2E1 は、ヒト、ラット、マウスの肝細胞でコンスタントに発現し、胆道系では、胆管周囲付属腺と胆嚢上皮にわずかな発現がみられたが、肝内外の胆管上皮には発現が見られなかった。また、職業性胆管癌症例の胆管異型上皮である BilIN や胆管癌にも、CYP2E1 の発現が見られなかった。一方、GST T1-1 の発現は、ヒト、ラット、マウスの肝細胞および肝内外の胆管上皮で明瞭な発現が見られ、胆管周囲付属腺にも発現がみられた。ヒトとマウスでは、胆嚢上皮にも発現がみられた。また、職業性胆管癌症例の胆管異型上皮である BilIN や胆管癌にも発現が見られた。胆管系には CYP2E1 の発現はなく GST T1-1 が分布しているので、肝門部胆管や肝内大型胆管が、高濃度で流入

して来た DPC や DCM に曝露し、ここに局在する GST T1-1 が発がん性や遺伝子傷害作用のある中間代謝産物が形成され、胆管癌の発生に深く関連したと考えられた。さらに、 γ -H2AX の免疫染色を行ったが、職業性胆管癌症例の BilIN および IPNB、および非腫瘍性の傷害胆管上皮で、高率に γ -H2AX の発現が認められた。一方、肝内結石症での傷害胆管や BilIN 病変では発現がみられなかった。このことから、職業性胆管癌症例では、発癌に先行して、DNA 傷害が高率、広汎に発生し、発癌に関連していることと考えられた。これらの結果、印刷事業場で多発した胆管癌症例の切除標本などの病理学的検討を行ったところ、広範囲の胆管に DNA 傷害がみられ、その広範囲の胆管から BilIN や IPNB などの前癌病変が発生、さらに進行胆管癌に進展していく多段階発育を示すことが特徴であると考えられた。

(3) 分子生物学的検討

1. 職業性胆管癌症例、有機溶剤の曝露のない胆管癌症例および肝細胞癌症例それぞれの代謝物質、遺伝子発現解析を行い、化学物質由来胆管癌特異的な代謝物質、遺伝子発現異常の同定を試みた。その結果、統計的に有意差のある特徴的なメタボローム、トランスクリプトームは認められなかった。主成分分析によって、肝内胆管癌とその非癌部、肝細胞癌とその非癌部の四群を分別したところ、14 種の化合物、62 種の mRNA、17 種の micro RNA が肝内胆管癌に関与していることが明らかになった。
2. 職業性胆管癌症例 4 例の全エクソン解析により、通常型胆管癌ゲノムと著しく異なる①きわめて高頻度の体細胞変異、②一

塩基置換のセンス・アンチセンス鎖間のバイアスが認められた。今後これらの特徴が職業性胆管癌の原因物質と考えられている有機溶剤に起因するか、他地域の類似症例にも共通するものかなどを明らかにすることで、職業性胆管癌の診断補助に有用なゲノムバイオマーカーが開発される可能性が示唆された。以上、網羅的ゲノム解析から職業性胆管癌に特徴的な遺伝子変異プロファイルを見出した。

(4) 曝露状況の評価

これまで 3 事業場の職業性胆管癌 6 例の曝露状況の評価した。今回、職業性胆管癌 7 例について、厚生労働省が収集した情報（印刷作業場の気積と換気量、印刷機の種類、ブランケットとインキロールの洗浄剤の化学成分と使用量、洗浄時間）を取得した。さらにそれらの情報を基にして曝露濃度を推定した。7 人中 4 人は 1,2-DCP および DCM に曝露されており、最高曝露濃度は 1,2-DCP が 230~420 ppm、DCM が 58~720 ppm と推定され、1 日労働時間の時間荷重平均濃度は 1,2-DCP が 0~210 ppm、DCM が 15~270 ppm と推定された。一方、残りの 3 人は DCM への曝露はあるが、1,2-DCP への曝露はなかった。DCM の最高曝露濃度は 600~1300 ppm と推定され、1 日労働時間の時間荷重平均濃度は 84~440 ppm と推定された。これらの結果は、1,2-DCP 曝露だけでなく、DCM 曝露もヒトに胆管癌を引き起こす可能性が示唆された。

D. 考察

職業性胆管癌症例の診断までの臨床検査値や画像診断の変化を検討すると、 γ -GTP、

AST、ALT の変化や肝内胆管の拡張像が特徴であることが判明した。切除病本の病理学的検討を勘案すると、塩素系有機溶剤による慢性胆管傷害と発癌過程を反映していると考えられた。また、職業性胆管癌症例では広範囲の胆管に DNA 傷害がみられ、その広範囲の胆管から BiLIN や IPNB などの前癌病変が発生、さらに進行胆管癌に進展していく多段階発育を示すことが特徴であると考えられた。今後、他の職業性胆管癌症例でも同様の所見が見られるか、また、通常の胆管癌症例との詳細な比較が必要となる。

職業性胆管癌症例のゲノム解析において、①きわめて高頻度の体細胞変異、②一塩基置換のセンス・アンチセンス鎖間のバイアスは 4 例に共通して認められ、高濃度の環境変異原の曝露歴を示唆する結果であった。これらのゲノム変化が 1,2-ジクロロプロパンおよびジクロロメタンに起因するものか今後検討する必要がある。また、従来実験レベルではこれらの有機化合物の変異原性が比較的軽度とされていたことから、生体内ではさらに複雑なメカニズム（化合物間の相互作用、胆管上皮における化合物代謝機構、炎症等宿主因子との相互作用など）も考慮する必要がある。また臨床例の解析は大阪の一事業所で発症した症例に限られており、職業性胆管癌が疑われる他の地域の症例や、発症原因が不明な胆管癌症例との比較も実施すべきであると考えられる。

完全混合モデルでは、作業場内で発生した化学物質は瞬間的に拡散混合し、気中濃度は均一であると仮定している。また、近接場-遠隔場モデルでは、2 つの場の内部の気中濃度は均一であると仮定している。現実には、気中濃度には空間的な変動がある

ので、これらの仮定は正しくない。しかし、対象者が勤務した作業場内の気中濃度の空間的な変動に関する情報はないので、これらのモデルを使用することとした。したがって、本研究で算出された濃度は粗い推定値である。本研究の対象者 7 人中 4 人は 1,2-DCP および DCM の高濃度長期間曝露を受けており、残りの 3 人は DCM のみの高濃度曝露を受けていた。したがって、DCM のみの曝露であっても、高濃度長期間曝露であれば、胆管癌を発症する可能性のあることが示唆された。

E. 結論

印刷事業場で多発した胆管癌症例の切除標本などの病理学的検討を行ったところ、 γ -GTP、AST、ALT の上昇、画像診断上、癌による閉塞を伴わない胆管の拡張像など、塩素系有機溶剤による胆管傷害を示す臨床像がみられた。また、病理学的に広範囲の胆管に DNA 障害がみられ、その広範囲の胆管から BiLIN や IPNB などの前癌病変が発生、さらに進行胆管癌に進展していく多段階発育を示すことが特徴であると考えられた。さらに網羅的ゲノム解析から職業性胆管癌に特徴的な遺伝子変異プロファイルが見出された。大阪の印刷事業場以外の印刷事業場においても 1,2-DCP および DCM の高濃度長期間曝露を受けており、これまで報告された事例と同様であることが確認された。

F. 健康危険情報

本研究は介入試験等ではいため、健康危険情報はない。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kubo S, Nakanuma Y, Takemura S, Sakata C, Urata Y, Nozawa A, Nishioka T, Kinoshita M, Hamano G, Terajima H, Tachiyama G, Matsumura Y, Yamada T, Tanaka H, Nakamori S, Arimoto A, Kawada N, Fujikawa M, Fujishima H, Sugawara Y, Tanaka S, Toyokawa H, Kuwae Y, Ohsawa M, Uehara S, Sato KK, Hayashi T, Endo G. Case-series of 17 patients with cholangiocarcinoma among young adult workers of a printing company in Japan. *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences* 2014;21:479-488
2. Sato Y, Kubo S, Takemura S, Sugawara Y, Tanaka S, Fujikawa M, Arimoto A, Harada K, Sasaki M, Nakanuma Y. Different carcinogenic process in cholangiocarcinoma cases epidemically developing among workers of a printing company in Japan. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology* 2014;7:4745-4754
3. Kubo S, Kinoshita M, Takemura S, Tanaka S, Shinkawa H, Nishioka T, Hamano G, Ito T, Abue M, Aoki M, Nakagawa K, Unno M, Hijioka S, Fujiyoshi T, Shimizu Y, Mizuguchi T, Shirabe K, Nishie A, Oda Y, Takenaka K, Kobarai T, Hisano T, Saiura A, Numao H, Toda M, Kuwae Y, Nakanuma Y, Endo G. Characteristics of printing company workers newly diagnosed with occupational cholangiocarcinoma. *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences* 2014;21:809-817
4. 久保正二、竹村茂一、坂田親治、浦田順久、野沢彰紀、西岡孝芳、木下正彦、濱野玄弥、田中肖吾、菅原寧彦、中沼安二、圓藤吟史. 印刷労働者における胆管癌多発事例：新たな職業癌. *日本消化器病学会雑誌* 2014;111:500-509
5. 久保正二. 胆管癌におけるトピックスー印刷事業場での胆管癌集中発生を含めて一. 胆膵の病態生理 2014;30:1-4
6. 久保正二、竹村茂一、坂田親治、田中肖吾、中沼安二、圓藤吟史. 印刷労働者に多発した胆管癌. *胆道* 2014;28:763-771
7. 中沼安二、角田優子、佐藤保則、久保正二. 職業性暴露（印刷業）による胆管・胆道癌の特徴：病理所見および発癌メカニズムを中心に. *肝胆膵* 2014;69:1079-1085
8. Tanaka S, Fukumoto N, Ohno K, Tanaka S, Ohsawa M, Yamamoto T, Nakanuma Y, Kubo S. Cholangiocarcinoma in a middle-aged patient working at a printing company. *Osaka City Medical Journal* 2014;60:39-44
9. Kubo S, Takemura S, Sakata C, Urata Y, Nishioka T, Nozawa A, Kinoshita M, Hamano G, Nakanuma Y, Endo G. Changes in laboratory test results and diagnostic imaging presentation before the detection of occupational cholangiocarcinoma. *Journal of Occupational Health* 2014;56:317-322
10. 虻江 誠、鈴木雅貴、塚本啓祐、青木 優、久保正二. 印刷会社勤務歴を有する肝内胆管癌の1例. *胆道* 2014;28:696-702
11. 中沼安二、角田優子、佐藤保則、久保正二. 職業的暴露(印刷業)における胆管・胆道癌の特徴：病理所見および発癌メカニズムを中心に *肝胆膵* 2014;69:1079-1085

12. Yamada K, Kumagai S, Nagoya T, Endo G. Chemical exposure levels in printing workers with cholangiocarcinoma. *J Occup Health* 2014;56:332-338
13. Kubo S. Occupational cholangiocarcinoma. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2015;22:E2-E3
14. 中川 圭、片寄 友、石田和之、林 洋毅、森川孝則、吉田 寛、元井冬彦、内藤剛、久保正二、海野倫明. 印刷業職業性胆管癌に対する化学放射線療法と根治的肝切除の経験. *日本消化器病学会雑誌* (印刷中)
15. Yamada K, Kumagai S, Endo G. Chemical exposure levels in printing workers with cholangiocarcinoma (second report). *J Occup Health* (in press).

2. 学会発表

1. Kubo S. Development of cholangiocarcinoma in a printing company employee. *International Symposium on Cholangiocarcinoma Tokyo2013*
2. Sato Y, Nakanuma Y, Kubo S. Immunohistochemical analysis of the carcinogenic process of cholangiocarcinoma cases epidemically developing among workers of a printing company in Japan. *64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases* 2013
3. 竹村茂一、浦田順久、久保正二. 環境暴露による発癌が疑われた若年性多発胆管癌の臨床像. *第49回日本肝臓学会総会* 2013
4. 久保正二. 新たな職業癌:印刷労働者にみられた胆管癌多発事例. *第24回日本消化器癌発生学会総会* 2013
5. 佐藤保則、久保正二、中沼安二. 印刷事業場で発生した胆管癌の発癌機序に関する免疫組織化学的検討. *第24回日本消化器癌発生学会総会* 2013
6. 佐藤保則、久保正二、原田憲一、佐々木素子、中沼安二. 肝胆道系でのジクロロメタン代謝関連酵素の発現と胆管癌の発癌. *第49回日本胆道学会学術集会* 2013
7. 久保正二、竹村茂一、坂田親治、浦田順久、西岡孝芳、野沢彰紀、木下正彦、濱野玄弥、中沼安二、圓藤吟史. 印刷労働者にみられた胆管癌多発事例. *第51回日本癌治療学会学術集会* 2013
8. Kinoshita M, Takemura S, Sakata C, Tanaka S, Urata Y, Nishioka T, Nozawa A, Hamano G, Ito T, Nakanuma Y, Arimoto A, Nakamori S, Terajima H, Kubo S. Outcomes of treatment intrahepatic cholangiocarcinoma among young workers at a printing company. *Daegu-Kansai HBP Surgeons Joint Meeting* 2014
9. Hamano G, Takemura S, Tanaka S, Shinkawa H, Nishioka T, Kinoshita M, Ito T, Koda M, Aota T, Yamamoto T, Wakasa K, Kubo S. Comparison of clinicopathological characteristics between in the patients with occupational and non-occupational intrahepatic cholangiocarcinoma. *The 2nd Kansai-Yeungnam HBP Surgeons Joint Meeting* 2015
10. Kinoshita M, Nakanuma Y, Takemura S, Tanaka S, Shinkawa H, Nishioka T, Hamano G, Ito T, Koda M, Kubo S. Radiological and pathological

characteristics in occupational cholangiocarcinoma developing among young workers at a printing company in Japan. The 2nd Kansai-Yeungnam HBP Surgenos Joint Meeting 2015

11. 木下正彦, 竹村茂一, 坂田親治, 浦田順久, 西岡孝芳, 野沢彰紀, 濱野玄弥, 伊藤得路, 中森正二, 豊川秀吉, 有本 明, 田中省吾, 久保正二. 印刷労働者関連胆管癌症例における FDG-PET 像. 第 114 回日本外科学会定期学術集会 2014

12. 浦田順久, 祝迫恵子, 西岡孝芳, 野沢彰紀, 木下正彦, 濱野玄弥, 伊藤得路, 坂田親治, 竹村茂一, 久保正二. オフセット校正印刷会社関連胆管癌切除例の病理組織学的検討. 第 114 回日本外科学会定期学術集会 2014

13. 佐藤保則, 原田憲一, 佐々木素子, 久保正二, 中沼安二. 胆道癌とその前癌病変における DNA 損傷に関する病理的検討. 第 50 回日本肝癌研究会 2014

14. 木下正彦, 竹村茂一, 坂田親治, 田中肖吾, 新川寛二, 浦田順久, 西岡孝芳, 野沢彰紀, 濱野玄弥, 伊藤得路, 中沼安二, 有本 明, 中森正二, 寺嶋宏明, 久保正二. 印刷事業場関連肝内胆管癌の治療成績. 第 26 回日本肝胆膵外科学会・学術集会 2014

15. 吉田 寛, 海野倫明, 久保正二, 宮川秀一, 山上裕機. 若年者胆道癌の発症要因に関する研究-日本肝胆膵外科学会プロジェクト委員会 胆 04 研究-. 第 26 回日本肝胆膵外科学会・学術集会 2014

16. 木下正彦, 中沼安二, 竹村茂一, 坂田親治, 浦田順久, 西岡孝芳, 野沢彰紀, 濱野玄弥, 伊藤得路, 久保正二. 印刷労働者関連胆管癌症例における画像所見および病

理組織像の検討. 第 69 回日本消化器外科学会総会 2014

17. 濱野玄弥, 竹村茂一, 坂田親治, 浦田順久, 西岡孝芳, 野沢彰紀, 木下正彦, 伊藤得路, 久保正二. 印刷労働者関連胆管癌と他の胆管癌の臨床病理学的比較. 第 69 回日本消化器外科学会総会

18. 三牧幸代, 戸塚ゆ加里, 鈴木 穰, 中井智嘉子, 柴田龍弘, 江角浩安, 落合淳志, 中釜 斉, 久保正二, 中森正二. 印刷工胆管癌の全エクソンシーケンス解析. 第 73 回日本癌学会学術集会 2014

19. 木下正彦, 中沼安二, 竹村茂一, 坂田親治, 田中肖吾, 新川寛二, 浦田順久, 西岡孝芳, 野沢彰紀, 濱野玄弥, 伊藤得路, 江田将樹, 水口 徹, 久保正二. 印刷労働者関連胆管癌症例における病理学的特徴. 第 50 回日本胆道学会学術集会 2014

20. 久保正二, 竹村茂一, 田中肖吾, 中沼安二, 熊谷信二, 圓藤吟史. 職業性胆管癌の臨床的特徴. 第 62 回日本職業・災害医学会学術大会 2014

21. Tsuchihara K, Hypermuation in cholangiocarcinoma of offset color proof-printing workers. 4th Asian Conference on Environmental Mutagens. Dec 10, 2014. Kolkata, India

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

労災疾病臨床研究事業費補助金
分担研究報告書

1. 職業性胆管癌の検診結果と臨床像

研究代表者	久保正二（大阪市立大学大学院医学研究科肝胆膵外科学）
研究分担者	石河 修（大阪市立大学医学部附属病院） 河田則文（大阪市立大学大学院医学研究科肝胆膵病態内科学） 首藤太一（大阪市立大学大学院医学研究科総合医学教育学・ 医学部附属病院総合診療センター）
研究協力者	竹村茂一、田中肖吾、新川寛二、西岡孝芳、木下正彦、濱野玄弥、 伊藤得路（大阪市立大学大学院医学研究科肝胆膵外科学） 村上善基、川村悦史、打田佐和子、榎本 大、萩原淳司、藤井英樹、 小塚立蔵、元山宏行（大阪市立大学大学院医学研究科肝胆膵病態内科学） 森川浩安（大阪市立大学大学院医学研究科先端予防医療学） 佐藤恭子、圓藤吟史（大阪市立大学大学院医学研究科産業医学）

研究要旨

大阪の印刷事業場 S 社の元あるいは現従業員のうちジクロロメタンや 1,2-ジクロロプロパンに曝露したと考えられる従業員に対して、検診を行った。また、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も行った。その結果、新たな 1 例が胆管癌と診断された。一方、職業性胆管癌と診断された 9 例（大阪 S 社 6 例および他の事業場 3 例）において、胆管癌診断までの連続した検診成績を検討した結果、胆管癌診断の数年前より γ -GPT の上昇がみられ、同時あるいはそれに遅れて AST、ALT の上昇がみられた。また 2 例では腹部超音波検査像を検討しえたが、1 例では数年前から、他の 1 例では数か月前から肝内胆管癌の拡張像がみられた。このような所見は通常の胆管癌症例ではみられず、職業性胆管癌の特徴と考えられた。胆管癌診断時には全例で γ -GTP が異常高値であり、CEA あるいは CA19-9 異常高値例が多くみられた。画像診断上、肝内腫瘍像、胆管内腫瘍像、腫瘍による胆管閉塞とその末梢胆管の拡張像に加えて、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特徴的であった。大阪の印刷事業場 S 社の職業性胆管癌 17 例および全国での職業性胆管癌 9 例の臨床病理学的所見と検討した結果、前者 17 例でみられた多くの特徴が後者 9 例でも認められた。

A. 研究目的	胆管癌症例のそれらと比較することにより
職業性胆管癌の臨床像および病理学的所見	職業性胆管癌の特徴を明らかにする。これ
および分子生物学的特徴を検討し、通常の	らにより職業性胆管癌の診断法を確立する。

B. 研究方法

大阪の印刷事業場 S 社の元あるいは現従業員のうちジクロロメタンや 1,2-ジクロロプロパンに曝露したと考えられる従業員に対して、検診を行った。また、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も行った。また、職業性胆管癌と診断された症例における臨床像や画像所見を検討した。また、大阪の印刷事業場 S 社の 17 例と全国で職業性胆管癌と診断された 9 例のそれらを比較した。

C. 研究結果

(1) 検診および臨床像の解析

大阪の印刷事業場 S 社の元あるいは現従業員のうちジクロロメタンや 1,2-ジクロロプロパンに曝露したと考えられる従業員に対して、検診を行った。また、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も行った。その結果、新たな 1 例が胆管癌と診断された。一方、職業性胆管癌と診断された 9 例（大阪 S 社 6 例および他の事業場 3 例）において、胆管癌診断までの連続した検診成績を検討した結果、胆管癌診断の数年前より γ -GPT の上昇がみられ、同時あるいはそれに遅れて AST、ALT の上昇がみられた。また 2 例では腹部超音波検査像を検討しえたが、1 例では数年前から、他の 1 例では数か月前から肝内胆管癌の拡張像がみられた。

現在、職業性胆管癌と認定されている症例は全国で 36 例である。これらの症例の臨床データを順次収集し、臨床像等検討している。大阪の印刷事業場 S 社の職業性胆管癌 17 例および全国での職業性胆管癌 9 例の

臨床病理学的所見と検討した。その結果、いずれも比較的若年者であり、男性であった。胆管癌診断の数年前より γ -GTP 高値が上昇していた。また、同時あるいはそれに遅れて AST や ALT が上昇していた。また 2 例では腹部超音波検査像を検討しえたが、1 例では数年前から、他の 1 例では数か月前から肝内胆管癌の拡張像がみられた。このような所見は通常の胆管癌症例ではみられず、職業性胆管癌の特徴と考えられた。胆管癌診断時には全例で γ -GTP が異常高値であり、CEA あるいは CA19-9 異常高値例が多くみられた。画像診断上、肝内腫瘍像、胆管内腫瘍像、腫瘍による胆管閉塞とその末梢胆管の拡張像に加えて、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特徴的であった。主腫瘍は腫瘍形成型肝内胆管癌、胆管内発育型肝内胆管癌や乳頭型肝外胆管癌であった。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を示す胆管を病理学的に検討すると、同部には後述する慢性胆管傷害、Biliary intraepithelial neoplasia (BilIN) と intraductal neoplasm of the bile duct (IPNB) の前癌病変や胆管癌の進展がみられた。

D. 考察

職業性胆管癌症例の診断までの臨床検査値や画像診断の変化を検討すると、 γ -GTP、AST、ALT の変化や肝内胆管の拡張像が特徴であることが判明した。切除病本の病理学的検討を勘案すると、塩素系有機溶剤による慢性胆管傷害と発癌過程を反映していると考えられた。今後、他の職業性胆管癌症例でも同様の所見が見られるか、また、通

常の胆管癌症例との詳細な比較が必要となる。

E. 結論

印刷事業場で多発した胆管癌症例の切除標本などの病理学的検討を行ったところ、 γ -GTP、AST、ALTの上昇、画像診断上、癌による閉塞を伴わない胆管の拡張像など、塩素系有機溶剤による胆管傷害を示す臨床像がみられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Kubo S, Nakanuma Y, Takemura S, Sakata C, Urata Y, Nozawa A, Nishioka T, Kinoshita M, Hamano G, Terajima H, Tachiyama G, Matsumura Y, Yamada T, Tanaka H, Nakamori S, Arimoto A, Kawada N, Fujikawa M, Fujishima H, Sugawara Y, Tanaka S, Toyokawa H, Kuwae Y, Ohsawa M, Uehara S, Sato KK, Hayashi T, Endo G. Case-series of 17 patients with cholangiocarcinoma among young adult workers of a printing company in Japan. *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences* 2014;21:479-488
2. Sato Y, Kubo S, Takemura S, Sugawara Y, Tanaka S, Fujikawa M, Arimoto A, Harada K, Sasaki M, Nakanuma Y. Different carcinogenic process in cholangiocarcinoma cases epidemically developing among workers of a printing company in Japan. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology* 2014;7:4745-4754
3. Kubo S, Kinoshita M, Takemura S, Tanaka S, Shinkawa H, Nishioka T, Hamano G, Ito T, Abue M, Aoki M, Nakagawa K, Unno M, Hijioka S, Fujiyoshi T, Shimizu Y, Mizuguchi T, Shirabe K, Nishie A, Oda Y, Takenaka K, Kobarai T, Hisano T, Saiura A, Numao H, Toda M, Kuwae Y, Nakanuma Y, Endo G. Characteristics of printing company workers newly diagnosed with occupational cholangiocarcinoma. *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences* 2014;21:809-817
4. 久保正二、竹村茂一、坂田親治、浦田順久、野沢彰紀、西岡孝芳、木下正彦、濱野玄弥、田中肖吾、菅原寧彦、中沼安二、圓藤吟史. 印刷労働者における胆管癌多発事例：新たな職業癌. *日本消化器病学会雑誌* 2014;111:500-509
5. 久保正二. 胆管癌におけるトピックス—印刷事業場での胆管癌集中発生を含めて—. *胆膵の病態生理* 2014;30:1-4
6. 久保正二、竹村茂一、坂田親治、田中肖吾、中沼安二、圓藤吟史. 印刷労働者に多発した胆管癌. *胆道* 2014;28:763-771
7. 中沼安二、角田優子、佐藤保則、久保正二. 職業性暴露（印刷業）による胆管・胆道癌の特徴：病理所見および発癌メカニズムを中心に. *肝胆膵* 2014;69:1079-1085
8. Tanaka S, Fukumoto N, Ohno K, Tanaka S, Ohsawa M, Yamamoto T, Nakanuma Y, Kubo S. Cholangiocarcinoma in a middle-aged patient working at a printing company. *Osaka City Medical Journal* 2014;60:39-44
9. Kubo S, Takemura S, Sakata C, Urata Y, Nishioka T, Nozawa A, Kinoshita M, Hamano G, Nakanuma Y, Endo G. Changes

in laboratory test results and diagnostic imaging presentation before the detection of occupational cholangiocarcinoma. *Journal of Occupational Health* 2014;56:317-322

10. 虻江 誠、鈴木雅貴、塚本啓祐、青木 優、久保正二. 印刷会社勤務歴を有する肝内胆管癌の1例. *胆道* 2014;28:696-702

11. 中沼安二、角田優子、佐藤保則、久保正二. 職業的暴露(印刷業)における胆管・胆道癌の特徴：病理所見および発癌メカニズムを中心に *肝胆膵* 2014;69:1079-1085

12. Kubo S. Re:Occupational cholangiocarcinoma. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2015;22:E2-E3

13. 中川 圭、片寄 友、石田和之、林 洋毅、森川孝則、吉田 寛、元井冬彦、内藤 剛、久保正二、海野倫明. 印刷業職業性胆管癌に対する化学放射線療法と根治的肝切除の経験. *日本消化器病学会雑誌* (印刷中)

2. 学会発表

1. Kubo S. Development of cholangiocarcinoma in a printing company employee. *International Symposium on Cholangiocarcinoma Tokyo2013*

2. Sato Y, Nakanuma Y, Kubo S. Immunohistochemical analysis of the carcinogenic process of cholangiocarcinoma cases epidemically developing among workers of a printing company in Japan. *64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases* 2013

3. 竹村茂一、浦田順久、久保正二. 環境暴露による発癌が疑われた若年性多発胆管癌の臨床像. *第49回日本肝臓学会総会* 2013

4. 久保正二. 新たな職業癌：印刷労働者にみられた胆管癌多発事例. *第24回日本消化器癌発生学会総会* 2013

5. 佐藤保則、久保正二、中沼安二. 印刷事業場で発生した胆管癌の発癌機序に関する免疫組織化学的検討. *第24回日本消化器癌発生学会総会* 2013

6. 佐藤保則、久保正二、原田憲一、佐々木素子、中沼安二. 肝胆道系でのジクロロメタン代謝関連酵素の発現と胆管癌の発癌. *第49回日本胆道学会学術集会* 2013

7. 久保正二、竹村茂一、坂田親治、浦田順久、西岡孝芳、野沢彰紀、木下正彦、濱野玄弥、中沼安二、圓藤吟史. 印刷労働者にみられた胆管癌多発事例. *第51回日本癌治療学会学術集会* 2013

8. Kinoshita M, Takemura S, Sakata C, Tanaka S, Urata Y, Nishioka T, Nozawa A, Hamano G, Ito T, Nakanuma Y, Arimoto A, Nakamori S, Terajima H, Kubo S. Outcomes of treatment intrahepatic cholangiocarcinoma among young workers at a printing company. *Daegu-Kansai HBP Surgeons Joint Meeting* 2014

9. Hamano G, Takemura S, Tanaka S, Shinkawa H, Nishioka T, Kinoshita M, Ito T, Koda M, Aota T, Yamamoto T, Wakasa K, Kubo S. Comparison of clinicopathological characteristics between in the patients with occupational and non-occupational intrahepatic cholangiocarcinoma. *The 2nd Kansai-Yeungnam HBP Surgenos Joint*

Meeting 2015

10. Kinoshita M, Nakanuma Y, Takemura S, Tanaka S, Shinkawa H, Nishioka T, Hamano G, Ito T, Koda M, Kubo S. Radiological and pathological characteristics in occupational cholangiocarcinoma developing among young workers at a printing company in Japan. The 2nd Kansai-Yeungnam HBP Surgenos Joint Meeting 2015

11. 木下正彦, 竹村茂一, 坂田親治, 浦田順久, 西岡孝芳, 野沢彰紀, 濱野玄弥, 伊藤得路, 中森正二, 豊川秀吉, 有本 明, 田中省吾, 久保正二. 印刷労働者関連胆管癌症例における FDG-PET 像. 第 114 回日本外科学会定期学術集会 2014

12. 浦田順久, 祝迫恵子, 西岡孝芳, 野沢彰紀, 木下正彦, 濱野玄弥, 伊藤得路, 坂田親治, 竹村茂一, 久保正二. オフセット校正印刷会社関連胆管癌切除例の病理組織学的検討. 第 114 回日本外科学会定期学術集会 2014

13. 佐藤保則, 原田憲一, 佐々木素子, 久保正二, 中沼安二. 胆道癌とその前癌病変における DNA 損傷に関する病理的検討. 第 50 回日本肝癌研究会 2014

14. 木下正彦, 竹村茂一, 坂田親治, 田中肖吾, 新川寛二, 浦田順久, 西岡孝芳, 野沢彰紀, 濱野玄弥, 伊藤得路, 中沼安二, 有本 明, 中森正二, 寺嶋宏明, 久保正二. 印刷事業場関連肝内胆管癌の治療成績. 第 26 回日本肝胆膵外科学会・学術集会 2014

15. 吉田 寛, 海野倫明, 久保正二, 宮川秀一, 山上裕機. 若年者胆道癌の発症要因に関する研究-日本肝胆膵外科学会プロジェクト委員会 胆 04 研究-. 第 26 回日本肝胆膵外科学会・学術集会 2014

16. 木下正彦, 中沼安二, 竹村茂一, 坂田親治, 浦田順久, 西岡孝芳, 野沢彰紀, 濱野玄弥, 伊藤得路, 久保正二. 印刷労働者関連胆管癌症例における画像所見および病理組織像の検討. 第 69 回日本消化器外科学会総会 2014

17. 濱野玄弥, 竹村茂一, 坂田親治, 浦田順久, 西岡孝芳, 野沢彰紀, 木下正彦, 伊藤得路, 久保正二. 印刷労働者関連胆管癌と他の胆管癌の臨床病理学的比較. 第 69 回日本消化器外科学会総会

18. 木下正彦, 中沼安二, 竹村茂一, 坂田親治, 田中肖吾, 新川寛二, 浦田順久, 西岡孝芳, 野沢彰紀, 濱野玄弥, 伊藤得路, 江田将樹, 水口 徹, 久保正二. 印刷労働者関連胆管癌症例における病理学的特徴. 第 50 回日本胆道学会学術集会 2014

19. 久保正二, 竹村茂一, 田中肖吾, 中沼安二, 熊谷信二, 圓藤吟史. 職業性胆管癌の臨床的特徴. 第 62 回日本職業・災害医学会学術大会 2014

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし