

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 25 日現在

機関番号：24302

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670319

研究課題名(和文)環境暴露による胆管発癌時の胆汁プロファイルとレドックス解析による早期診断への応用

研究課題名(英文) Bile acid profiles in cholangiocarcinoma developing in printing workers for the application to early diagnosis

研究代表者

南山 幸子 (Minamiyama, Yukiko)

京都府立大学・生命環境科学研究科(系)・教授

研究者番号：00362989

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：印刷業従事者に発症する胆管がんが社会問題となり、有機溶剤が原因ではないかと推測されている。本研究は大阪市大病院の胆管がん特別外来および外科治療で得た胆汁中に印刷業従事者に特異的な発がんプロモーターを探索することを目的とした。印刷業従事者の胆管がん、それ以外の胆道系がん、総胆管結石、膵がん、肝がんについて胆汁の変異原性試験、酸化還元動態(脂質過酸化物質、チオール分析)、胆汁酸組成を解析した。結果、印刷業従事者とそれ以外の胆管癌を比較すると、酸化型グルタチオンの割合と二次胆汁酸が多いことであった。本結果の意義やその他のがんとの比較など課題は多いが、継続して新たな発がんプロモーターの探索に着手する。

研究成果の概要(英文)：Cholangiocarcinoma that epidemically occurred among young adult workers in the printing company (PC) becomes a social problem in Japan. It is speculated that the causes some organic solvents. This study was aimed to explore the specific tumor promoter for the PC practitioners in bile obtained in special outpatient clinic and surgical treatment of Osaka City University Hospital. Bile samples were analyzed mutagenicity, redox status (lipid peroxide, thiol analysis), and bile acid composition in cholangiocarcinoma of the PC workers and the others, choledocholithiasis, pancreatic cancer, and liver cancer. Comparing the printing industry workers and other cholangiocarcinoma, the ratio of oxidized glutathione and many secondary bile acids were increased. These results suggested to be caused by potentially elevated the long-acting bile duct inflammation, the change of intestinal flora. We will continue the research for a new carcinogenic promoter on the PC workers.

研究分野：病態生化学 食環境安全性学

キーワード：酸化ストレス 二次胆汁酸 炎症

1. 研究開始当初の背景

印刷業従事者の胆管がん患者は全国で38名が労災認定されている。本原因は特定されておらず、ジクロロプロパン等の有機化学物質の吸引が原因ではないかと推測されているが、その発がんメカニズムの詳細は不明である。

発がんまでの期間も数年から数十年と比較的短く、全症例で γ -GTP が高値であることが報告されている。しかしながら、現段階では、直接、化学物質の暴露はなくリアルタイムにそのものの毒性や中間代謝物が発現しているとは考えにくい。そこで、比較的長期間の変化から原因究明につなげる必要があり、解明には困難を極めると考えられた。

2. 研究の目的

本申請研究は大阪市立大学病院での胆管がん特別外来およびそれに伴う検査および外科治療の際に得た胆汁中に印刷業従事者に特異的な胆管がんプロモーターが存在するか否かを酸化還元動態および胆汁酸分析から探索することを目的とした。

3. 研究の方法

印刷業従事者の胆管がん4例、印刷業以外の胆道系がん9例、総胆管結石(含む胆嚢ポリープ)14例、膵がん3例、肝がん31例について2012年秋~2015年4月までに採取した胆嚢胆汁を解析した。

解析項目は umu テストによる変異原性試験、酸化還元動態(脂質過酸化物質、チオール分析) 73種類の胆汁酸組成について検討した。

4. 研究成果

(1) 変異原性試験

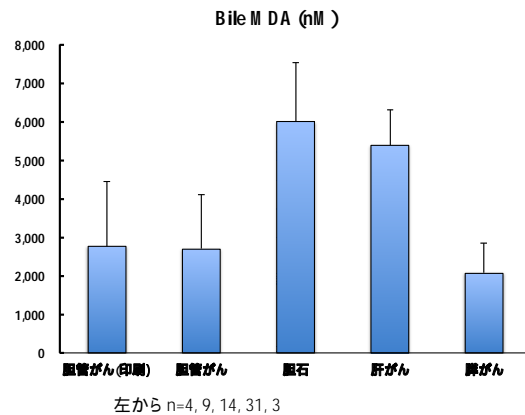
印刷業従事者以外の胆管がん患者1例に変異原性が確認されたが、その他の胆汁に変異原性はなかった。

(2) 酸化還元動態

脂質過酸化物質

患者61例の胆汁について測定した。胆汁中

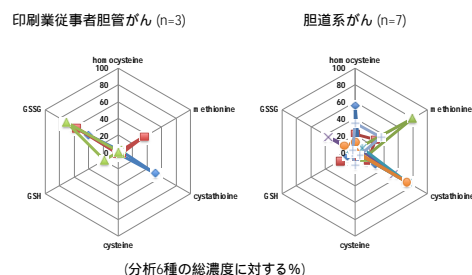
の過酸化脂質は総胆管結石および肝がん(HBV, HCV, ウイルス(-))で高値を示した。印刷業従事者の胆管がん、それ以外の胆管がん、膵がんの値は高値を示した疾患の約1/2であり、3グループに差はなかった。



胆汁チオール分析

ほぼ全例において methionine と cystathionine の割合は逆相関していた。これは、メチオニン代謝過程において S-Adenosyl-methionine (SAM) から homocysteine, cystathionine への代謝動態を反映しているものと考えられた。印刷業胆管がん患者では3例中3例 GSSG が測定項目の40%を超えていた。GSSG が総グルタチオン量に占める割合は44.1, 87.5, 71.4 と非常に高く、それ以外の患者の割合は高値でも胆嚢炎1例と肝細胞がん3例で約20%であった(図)。印刷業以外の胆道系がん、胆石症、肝がん・膵がんにおいて GSSG の割合が高値の症例は36例すべてになく、胆石患者の1例のみ37%と比較的高値であった。GSH 量には症例における相関はなかった。

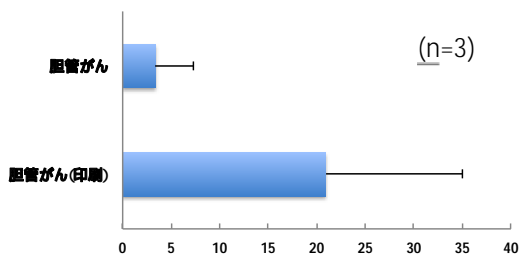
図: 胆汁チオール動態



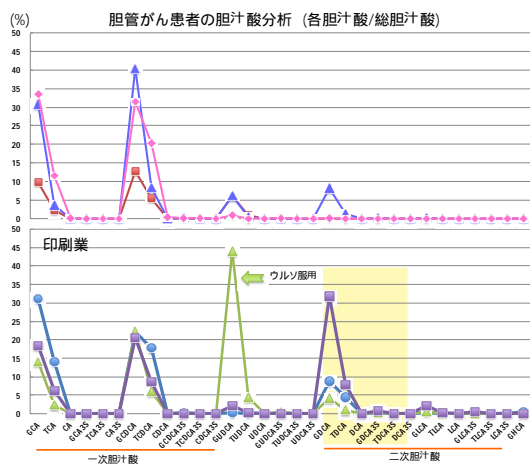
(3) 胆汁酸分析

LC/MS/MS により、印刷業従事者およびそれ以外の胆管がん患者(それぞれ n=3)の 73

二次胆汁酸/総胆汁酸 (%)



種類の胆汁酸分析を行った(順伸クリニック胆汁酸研究所の入野先生、武井先生の協力)。印刷業従事者の胆汁中には二次胆汁酸が多い傾向があった(図の下段および棒グラフ)。



考察

胆汁 GSSG が高値である例は、薬物代謝や移植など肝での酸化ストレスの亢進を反映することは知られているが、印刷業従事者はすでに有機溶剤の暴露からは長期間離れているので現時点では薬物代謝によるものとは考えにくい。これらの患者の病理組織像は胆管付属腺を含む広範囲の胆管に、炎症性細胞浸潤を伴う胆管硬化像、胆管傷害像や増殖性病変が見られていることから胆管炎症を反映した上昇である可能性が示唆される(図)。また、二次胆汁酸は大腸癌や肝癌のリスクファクターであることが報告されているものの、胆管癌患者で比較した場合何故印刷業従事者に高比率に含まれるのかもその原因は不明である。二次胆汁酸の上昇は高脂肪摂取

による腸内細菌フローラの変動だけでなく、小腸移植の拒絶反応時、胆嚢炎等様々報告されている。肝発がんに関する報告(Nature2013;499:97-101)では高脂肪食とデオキシコール酸(DCA)の腸管循環により肝星細胞が老化関連分泌表現型に変化することで発がんに至ると考えられており、DCA単独ではこのようなことは起こらないことから二次胆汁酸とそれ以外のファクターの相乗効果が原因と考えられる。また、トリクロロエチレンを2011年から2014年まで扱った男性が腸管嚢腫様気腫症と診断され労災認定されていることから有機溶剤と腸内フローラとの関連が大いに考えられる。本研究課題で得られた結果の確信的意義を見つけることや総胆管結石およびその他のがんについて、すべての検討項目を比較できるデータをとることができなかつたため、まだまだ研究課題は多い。よって、次年度の基礎研究につなげていくとともに、印刷業従事者特異的な新たな発がんプロモーターの探索に着手したい。

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 5 件)

- (1) Kubo S, Takemura S, et al. Outbreak of cholangiocarcinoma developing in printing company workers : a new type of occupational cancer. Nihon Shokakibyō Gakkai Zasshi. 査読有、2014;111(3):500-9.
- (2) Sato Y, Kubo S, Takemura S, et al. Different carcinogenic process in cholangiocarcinoma cases epidemically developing among workers of a printing company in Japan. Int J Clin Exp Pathol. 査読有、2014 15;7(8):4745-54.
- (3) Kubo S, Kinoshita M, Takemura S, et al. Characteristics of printing company workers newly diagnosed with occupational cholangiocarcinoma. J Hepatobiliary Pancreat Sci. 査読有、2014;21(11):809-17.
- (4) Kubo S, Takemura S, et al. Changes in laboratory test results and diagnostic imaging presentation before the detection of occupational cholangiocarcinoma. J Occup

Health. 査読有、2014;56(4):317-22.

- (5) Kubo S, Nakanuma Y, Takemura S, et al. Case series of 17 patients with cholangiocarcinoma among young adult workers of a printing company in Japan. 査読有、J Hepatobiliary Pancreat Sci. 2014 Jul;21(7):479-88.

〔学会発表〕(計2件)

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年7月17日 (郡山 竹村 茂一、坂田 親治、浦田 順久、野沢 彰紀、西岡 孝芳、濱野 玄弥、木下正彦、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 (シンポジウム) 2013年6月6日 (東京)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

南山 幸子 (MINAMIYAMA YUKIKO)
京都府立大学・大学院生命環境科学研究科・教授
研究者番号：00362989

(2) 研究分担者

竹村 茂一 (TAKEMURA SHIGEKAZU)
大阪市立大学・大学院医学研究科・講師
研究者番号：00322363
岡 真優子 (OKA MAYUKO)
京都府立大学・大学院生命環境科学研究科・准教授
研究者番号：40347498