話 題

職業性胆管がんの発生と化学物質管理について —ジクロロプロパンによる肝臓への影響を中心として—

Chemical management and occupational cholangiocarcinoma among workers in printing industry

柳場 由絵¹, 須田 恵¹, 豊岡 達士¹, 王 瑞生¹

労働安全衛生総合研究所

Yukie YANAGIBA¹, Megumi SUDA¹, Tatoshi TOYOOKA¹ and Rui-Sheng WANG¹

National Institute of Occupational Safety and Health, Japan

(産衛誌 2016; 58(2): 78-83)
doi: 10.1539/sangyoeisei.wadai15005

キーワード: Occupational cholangiocarcinoma, Solvent, 1,2-dichloropropane, Dichloromethane, Chemical management

I. はじめに

2014年6月に「労働安全衛生法の一部を改正する法律」が公布され、化学物質管理のあり方が見直された。この背景には、2012年に報道された大阪の印刷事業場のオフセット印刷部門の元従業員や従業員に多発した胆管がんの事例がある¹⁾。この事例を踏まえ、2013年3月に厚生労働省による「印刷事業場で発生した胆管がんの業

務上外に関する検討会」では、胆管がんはジクロロメタン (DCM) または 1,2-ジクロロプロパン (DCP) に長期間、高濃度曝露することにより発症し得ると医学的に推定でき、当該事業場で発生した胆管がんは、DCP に長期間、高濃度曝露したことが原因で発症した蓋然性が極めて高いことが報告された²⁾。この事業所では DCP や DCM を含んでいる洗浄剤が使用されていた。当時、洗浄剤に含まれる DCP は特別規則の対象外であったが、専門家による検討会を経て、使用量や使用方法によっては労働者の安全や健康に害を及ぼす恐れがあると判断され、同年 10 月、DCP は特定化学物質障害予防規則の規制対象物質となった。そして、「DCM や DCP にさらされる業務による胆管がん」が業務上疾病に分類され、ここではじめて胆管がんが職業性胆管がんとして認識されるに至った。2015 年 6 月時点で、大阪の印刷事業場の 17 例と他地域の印刷事業場での 19 例が職業性胆管がんとして労災認定された³⁾。そこで、本稿では、法律改正の背景ともなったオフセット印刷会社で使用されていた塩素系有機溶剤についての動物実験による知見と今後の化学物質管理について紹介する。

II. 校正印刷過程での有機溶剤への曝露

オフセット印刷会社の問題¹⁾を受けて、厚生労働省による全国的な実態調査や疫学調査が行われた。その結果、他の印刷会社でも胆管がんの症例が報告された³⁾。特に若年者 (25~45 歳) で非常に高い発生率が認められている。大阪の校正印刷業者やその他の印刷業者従業員へのインタビューや提供された資料から、DCP や DCM などがインク用洗浄剤として使用されており、それらが胆管がんを発生させる大きなリスクファクターである可能性が示唆された。さらに、労働安全衛生総合研究所の実施した模擬実験では、作業者の曝露濃度は、DCP が 60~210 ppm (平均 110 ppm)、DCM は 130~360 ppm (平均 240 ppm) であった⁴⁾。当時の作業場には局所排気装置が設置されておらず、全体換気装置は設置されていたものの、室内の汚染された空気を吸引した後、外気と混合して室内に還流しており、これが高濃度曝露につながったことが推測された⁴⁾。

III. 有機溶剤の代謝

体内に吸入された有機溶剤の一部はそのままの形で呼気中に排泄され、残りは解毒の器官である肝臓に存在する代謝酵素の働きにより体外へと排泄されやすい形に変換され、尿として体外へ排泄される。この過程には多くの代謝酵素が関与する。肝臓での代謝は、第 I 相反応と第 II 相反応に大別される。第 I 相反応には酸化反応があり、

2015 年 11 月 23 日受付; 2016 年 2 月 2 日受理

J-STAGE 早期公開日: 2016 年 3 月 16 日

連絡先: 柳場由絵 〒214-8585 神奈川県川崎市多摩区長尾 6-21-1 労働安全衛生総合研究所

Correspondence to: Yukie Yanagiba, National Institute of Occupational Safety and Health, 6-21-1 Nagao, Tama-ku, Kawasaki, Kanagawa 214-8585, Japan

(e-mail: yanagiba@h.jniosh.go.jp)

図1. ジクロロプロパンの代謝経路（文献10を基に著者らが作成）

ここに属する代表的な代謝酵素はシトクロム P450 (CYP) である。この CYP にはさまざまな分子種が存在し、それぞれは似ているが若干異なる酵素である。第 II 相反応にはグルタチオン抱合、グルタチオン抱合 (GST), 硫酸抱合等を含む抱合反応が含まれる。大半の化学物質は代謝されることで、物質の持つ毒性が弱まることが分かっている。しかし、物質によっては代謝過程で親物質より毒性が強くなる場合もある^{5,6)}。例えば、肝毒性や腎毒性、腎発がん物質として知られるトリクロロエチレン (TCE) は、主に肝臓で CYP2E1 により代謝され、抱水クロラールとなり、さらにアルデヒド脱水素酵素とアルコール脱水素酵素により酸化されてトリクロロ酢酸とトリクロロエタノールとなるが、トリクロロ酢酸はペルオキシゾーム増殖を誘発し、ペルオキシゾーム増殖作用によりペルオキシゾームにおける脂肪酸の β 酸化が亢進される^{7,8)}。しかし、腎発がんのメカニズムについては未解明である。また、TCE の副次的な代謝経路としてグルタチオン転移酵素による代謝経路が存在する。これは CYP による反応が飽和に達した場合に作動する。グルタチオン (GSH) の触媒作用により産生された GSH 抱合体が DNA 損傷性、変異原性を有するという報告もある⁷⁾。

また、ヒトと動物では、代謝酵素の種類や発現量が異なることがあり、同じ物質でも与える損傷の部位や程度も違ってくる⁹⁾。DCP はヒトでは胆管がんを誘発するが、動物を用いた実験では胆管部位での発がんは検出されていない。これは DCP の代謝における種差による影響の違いによるのかもしれない。

IV. DCP および DCM の代謝と発がん

DCP の代謝には CYP の中でも CYP2E1 という分子種が関与することが報告されているが、GST の関与については不明である^{2,10)} (図1)。ラット (F344 系統) を用いた DCP の2年間の吸入曝露実験では、鼻腔扁平上皮乳頭腫の発生増加¹¹⁾、マウス (B6D2F1 系統) を用いた DCP の2年間の吸入曝露実験では、雌マウスでの細気管支-肺胞上皮瘤を含む肺腫瘍の発生増加、雄マウスでのハーダー腺腺腫の発生増加が認められた¹²⁾。それに対し、ヒトにおける疫学研究ではこれらのがんの発生は認められていない²⁾。

DCP と構造の類似する 1,2-ジクロロエタンや 1,2-ジクロロプロモエタンの研究から、DCP についても、高濃度曝露による CYP 経路の飽和から、GST 経路が活性化することで DCP がグルタチオン抱合され、グルタチオン抱合体がエビスルフォニウムイオンに変換された一部が DNA に結合する付加体損傷を引き起こすのではないかと推測されている²⁾。しかし、これまで、それを明確に示す報告は無い。従って、一般的には、DCP の発がん性は代謝後の代謝産物によるものと推測されているが、現時点においては詳細なメカニズムはまだ不明である。

一方、DCM の代謝には CYP2E1 が関与する CYP 経路と GST が関与する GST 経路が存在する²⁾ (図2)。低濃度曝露では、主に CYP 経路で代謝され、高濃度曝露になると CYP 経路が飽和状態となり、GST 経路が活性化する。GST 経路では DCM はグルタチオン抱合され S-(クロロメチル) グルタチオン、ホルムアルデヒド、ギ酸を

図2. ジクロロメタンの代謝経路 (文献2を基に著者らが作成)

経て二酸化炭素に代謝される²⁾。また、この代謝過程で産生された中間代謝物 (S-(クロロメチル) グルタチオン、ホルムアルデヒド) が DNA 損傷を誘発し、発がんに至るメカニズムが考えられている²⁾。

V. DCP および DCM による肝臓への影響について

我々は、CYP2E1 遺伝子が欠損したマウスを用いた実験において、DCP はまず CYP2E1 による代謝を受けて、急性肝毒性を誘発しうることを見出した¹³⁾。CYP2E1 遺伝子を有するマウス (野生型 129sv マウス) と欠損するマウス (CYP2E1-KO 型マウス) に DCP (0, 100, 200, 300 mg/kg bw) を腹腔内単回投与した動物実験を行った。その結果、野生型でのみ用量依存的な肝機能障害や肝臓の組織学的な変化を観察した。また、野生型マウスと CYP2E1-KO 型マウスの肝臓ホモジネートを用いた *in vitro* アッセイでは、野生型マウスの肝臓組織では DCP の代謝率が CYP2E1-KO 型に比べ約 20 倍高く、DCP の代謝反応の第 1 ステップとして CYP2E1 による触媒作用を受けることが実証された¹³⁾ (図 3)。さらに、CYP2E1 による代謝ステップで急性肝障害を誘発する代謝物が産生される可能性を示唆した。そこで我々は、雄性の野生型と CYP2E1-KO 型マウスを用い、グルタチオンの枯渇剤である L-Buthionine-SR-sulfoximine (BSO) を滅菌水に混ぜて投与した群と BSO を投与していない群

を設け、5 日間の DCP 吸入曝露 (曝露濃度: 0, 300, 500 ppm) を行い、CYP2E1 による代謝経路と GSH による触媒作用について検討を行った¹⁴⁾。その結果、肝機能値は野生型の 500 ppm 曝露群で上昇し、BSO を投与した野生型および CYP2E1-KO 型マウスの 300 ppm 曝露群において有意に上昇した (図 4)。BSO を投与した野生型の 500 ppm 曝露群でのみ曝露 1 日目に全ての個体が死亡した。これらの結果から、DCP による肝毒性を誘発する代謝物は CYP2E1 による代謝産物であること、一方、GSH は肝細胞を保護する解毒酵素として作用している可能性が示唆された。また、Gi らの報告でも、DCP 曝露による GST-T1 の発現は、DCP による毒性から肝細胞を保護するためではないかと述べている¹⁵⁾。しかし、DCP による肝毒性さらに発がんにつながる因子について明確にできていないため、現在検討を進めている。さらに、DCP (150, 300, 600 ppm) また DCM (400, 600, 1600 ppm) の単剤吸入曝露と二つの溶媒 (DCP 150 ppm + DCM 400 ppm, DCP 300 ppm + DCM 800 ppm) による複合吸入曝露実験を 6 週間行い、DCP および DCM の B6 C3F1 マウスの肝臓での DNA 損傷性について検討を行った。その結果、DCP は DCM より強い DNA 損傷性を示し、さらに、複合曝露により DNA 損傷性が増強することを示唆した¹⁶⁾。今後は、DCP と DCM の 2 つの化学物質の曝露による代謝能の相互作用と遺伝毒性の関係についての検討が必要である。

図3. DCPによる急性肝障害を誘発する代謝反応（文献10, 13を基に著者らが作成）

図4. DCP吸入曝露による肝臓への影響¹⁴⁾

BSO飲水投与を行っていない野生型、CYP2E1-KO型雄マウス (n=4) と BSO飲水投与を行った野生型、CYP2E1-KO型雄マウス (n=4) を用いて DCPの5日間吸入曝露し、曝露後の血漿中 ALT 値を測定し肝障害の指標とした。*：対照群（野生型 (BSO無)）との間に有意差 ($p<0.05$)。

Zhang らは、DCPによる胆管がんを再現するため、C57BL/6, Balb/cA マウス, F344 ラット, Syrian ハムスターを用いた DCP 吸入曝露実験での GST の分布について報告している¹⁷⁾。GST は肝管細胞および肝細胞に分布しており、種差や系統差は観察されていない。また、DCP 非曝露と曝露の間での違いは顕著ではなく、GST の分布から DCP 曝露による胆管がんの発生が GST 発現の種差に関連する可能性を説明することは難しいと考えられる。

VI. これからの化学物質管理

労働現場で取り扱われている化学物質は約 6 万種類あり、その生産量や種類は年々増加しているように、労働現場では多くの化学物質が使用されている。これまで、8 種類の禁止物質に加えて 116 種類の化学物質が個別規制の対象となっていたが、今回の安衛法の一部改正により、安全データシート (SDS) の交付義務がある化学物質

図5. 労働現場で用いられる化学物質管理の規制について（文献18を基に著者らが作成）

(640種類)について、業種や規模に関わらず、対象の化学物質を製造あるいは取り扱っているすべての事業者に対してリスクアセスメントの実施が義務化された¹⁸⁾。事業者は、対象の化学物質のSDSの収集だけではなく、これらの化学物質によるものと考えられる危険または健康障害から労働者を守る有効な措置を取らなければならなくなった(図5)。

リスクアセスメントを実施しなければならない化学物質は、一定の危険性・有害性が確認されている化学物質である。これらの化学物質は、労働安全衛生法に基づいて、事業者間での譲渡・提供する際にSDSの交付が義務付けられていたが、今回の改正により、SDSの交付義務の対象となっている化学物質について、リスクアセスメントが義務付けられた。事業者と労働者が化学物質を適切に管理するためには、危険有害性情報を認識しておくことが重要であり、SDS等による危険有害性情報が確実に提供されることが必要である。事業者は、化学物質を取り扱う際に生ずるおそれのある負傷・疾病の重篤度と発生の可能性を調査し、労働災害が発生するリスクの大きさを評価する。また、リスクアセスメントを実施した結果を踏まえて、当該化学物質について、労働安全衛生法に基づく労働安全衛生規則や特定化学物質障害予防規則等の特別規則に講ずべき措置が定められている場合、当該措置を講ずる義務がある。法令に規定がない場合には、リスクレベルが高いと判定したものから優先的に、事業者の判断により必要な措置を講ずること、そして、その結果を労働者に周知することが努力義務とされている。

VII. おわりに

オフセット印刷工場での胆管がんの多発をきっかけに、国内では「労働安全衛生法の一部を改正する法律」が公布され、化学物質管理のあり方について見直された。これからの化学物質管理は、事業者が法令を遵守するとともに、労働者が化学物質の危険有害性や曝露状況を理解し、作業場や作業方法の改善等を進め、労働災害や健康障害の予防策を機能させていくことが求められる。

校正印刷工程で使用されていたDCPやDCMに関して、国際がん研究機関(IARC)はDCPをGroup 3(分類不能)からGroup 1(ヒトに対する発がん性が認められる)に、DCMをGroup 2BからGroup 2A(ヒトに対する発がん性がおそらくある)に分類した^{3,19)}。また、2014年度の日本産業衛生学会による許容濃度の勧告では、DCPの発がん性について暫定物質として第1群とされたが、さらに2015年度には第1群で確定された^{20,21)}。DCMについては2015年度の勧告で動物での発がんの証拠は十分であると判断され、発がん性分類第2群Aと提案された²¹⁾。

我々の研究から、DCPによる急性肝障害の発生にはCYP2E1を介した代謝物の関与が疑われるが、現在までのところ、この肝障害発生と発がんを結びつける因子の同定には至っていない。また、複合曝露による各溶剤の体内代謝が変化したことが示唆されたが、この変化と遺伝毒性や発がんの関係については未解明であり、今後の課題である。現在、産業現場で使用される化学物質は6万種近く、さらに新規化学物質が使用されている。これらすべてに関する曝露実験を行うことは困難である。

従って、このような毒性発現メカニズムの解明研究から得られる情報の蓄積は、他の産業化学物質による労働災害や健康障害発生の予防対策にもつながるため、さらなる実験研究が望まれる。

文 献

- 1) Kumagai S, Kurumatani N, Arimoto A, Ichihara G. Cholangiocarcinoma among offset colour proof-printing workers exposed to 1,2-dichloropropane and/or dichloromethane. *Occupational and Environmental Medicine* 2013; 70(7): 508-510.
- 2) 厚生労働省. 「印刷事業場で発生した胆管がんの業務上外に関する検討会」報告書, 化学物質曝露と胆管がん発症との因果関係について～大阪の印刷事業場の症例からの検討～. [Online]. 2013 [cited 2015 Nov. 16]; Available from: URL: <http://www.go.jp/stf/houdou/2r9852000002x6at-att/2r9852000002x6zy.pdf>
- 3) 久保正二, 竹村茂一, 田中肖吾, ほか. 職業性胆管癌症例の臨床的特徴. *産業医学レビュー* 2015; 28: 139-145.
- 4) 災害調査報告書 (A-2012-02) 大阪府の印刷工場における疾病災害. [Online]. 2013 [cited 2015 Nov. 16]; Available from: URL: <http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/2r985200002ioeh-att/2r9852000002ioik.pdf>
- 5) Nakajima T, Wang RS, Elovaara E, Park SS, Gelboin HV, Vainio H. Cytochrome P450-related differences between rats and mice in the metabolism of benzene, toluene and trichloroethylene in liver microsomes. *Biochem Pharmacol* 1993; 9: 45(5): 1079-1085.
- 6) Ramdhan DH, Kamijima M, Yamada N, et al. Molecular mechanism of trichloroethylene-induced hepatotoxicity mediated by CYP2E1. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008; 231(3): 300-307.
- 7) Lash L, Chiu WA, Guyton KZ, Rusyn I. Trichloroethylene biotransformation and its role in mutagenicity, carcinogenicity and target organ toxicity. *Mutan Res Rev* 2014; 762: 22-36.
- 8) Ramdhan DH, Kamijima M, Wang D, et al. Differential response to trichloroethylene-induced hepatosteatosis in wild-type and PPARalpha-humanized mice. *Environ Health Perspect* 2010; 118(11): 1557-1563.
- 9) Elfarrar AA, Krause RJ, Last AR, Lash LH, Parker JC. Species- and sex-related differences in metabolism of trichloroethylene to yield chloral and trichloroethanol in mouse, rat, and human liver microsomes. *Drug Metab Dispos* 1998; 26(8): 779-785.
- 10) Timchalk C, Dryzga MD, Smith FA, Bartels MJ. Disposition and metabolism of [^{14}C]1,2-dichloropropane following oral and inhalation exposure in Fischer 344 rats. *Toxicology* 1991; 68(3): 291-306.
- 11) Umeda Y, Matsumoto M, Aiso S, et al. Inhalation carcinogenicity and toxicity of 1,2-dichloropropane in rats. *Inhalation Toxicology* 2010; 22(13): 1116-1126.
- 12) Matsumoto M, Umeda Y, Take M, Nishizawa T, Fukushima S. Subchronic toxicity and carcinogenicity studies of 1,2-dichloropropane inhalation to mice. *Inhalation Toxicology* 2013; 25(8): 435-443.
- 13) Yanagiba Y, Suzuki T, Suda M, et al. Cytochrome P450 2E1 is responsible for the initiation of 1,2-dichloropropane-induced liver damage. *Toxicol Ind Health* 2015; in press.
- 14) 柳場由絵, 須田 恵, 鈴木哲矢, ほか. 1,2-ジクロロプロパン吸入曝露による肝臓への影響と尿中代謝物の変動について. *日本衛生学雑誌講演集* 2015; 70: S208.
- 15) Gi M, Fujioka M, Yamano S, et al. Determination of hepatotoxicity and its underlying metabolic basis of 1,2-dichloropropane in male Syrian hamster and B6C3F1 mice. *Toxicol. Sci* 2015; 145: 196-208.
- 16) Suzuki T, Yanagiba Y, Suda M, Wang RS. Assessment of genotoxicity 1,2-dichloropropane and dichloromethane after individual and co-exposure by inhalation in mice. *J Occup Health* 2014; 56: 205-214.
- 17) Zhang L, Zong C, Ichihara S, et al. A trial to find appropriate animal models of dichloropropane-induced cholangiocarcinoma based on hepatic distribution of glutathione s-transferases. *J Occup Health* 2015; in press.
- 18) 厚生労働省. 「労働安全衛生法の一部を改正にする法律 (2014 年法律第 82 号) の概要」. [Online]. [cited 2015 Nov. 16]; Available from: URL: <http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11200000-Roudoukijunkyou/0000049215.pdf>
- 19) Benbrahim-Tallaa L, Lauby-Secretan B, Loomis D, et al. Carcinogenicity of perfluorooctanoic acid, tetrafluoroethylene, dichloromethane, 1,2-dichloropropane, and 1,3-propane sultone. International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group. *Lancet Oncol* 2014; 15(9): 924-925.
- 20) 許容濃度の勧告 (2014 年度). *産業衛生学雑誌* 2014; 56: 162-188.
- 21) 許容濃度の勧告 (2015 年度). *産業衛生学雑誌* 2015; 57: 209-213.