

## トンネル塵肺患者の末梢血マイクロヌクレウスの検討

富山医科薬科大学医学部・保健医学教室

藤田 孝子, 成瀬 優知, 鏡森 定信

金沢医科大学・公衆衛生学教室

中川 秀昭, 河野 俊一

公立能登総合病院

奥村 義治

富山県黒部保健所

倉本 安隆

### I 緒 言

珪肺症は、遊離結晶シリカ ( $\text{SiO}_2$ ) を含む粉塵を一般に長期間吸入することにより生ずる職業病で、粉塵暴露中止後でも結核、慢性気管支炎、肺気腫、肺癌などを併発し、予後不良の疾患である<sup>1)</sup>。

富山県東部の黒部保健所管内は、昔から、黒部川電源開発事業に伴うずい道建設工事への出稼ぎが盛んに行われており、1972年に松浦は、この地域で76名の珪肺有所見者を報告した<sup>2)</sup>。これをうけて、中川らは、1977年より、黒部保健所管内の出稼ぎ経験者について、珪肺有所見者を把握し、その実態を明らかにするために、アンケート調査と塵肺検診を行っている。そして、彼らは、その追跡調査より、トンネル塵肺を主とする出稼ぎ者の死亡率が、粉塵職場以外の出稼ぎ者あるいは非出稼ぎ者に比較して有意に高いこと、さらにこの集団では、非出稼ぎ者より肺癌死亡率が1.5倍高く、粉塵作業出稼ぎと肺癌の関連性が示唆されたことを報告している<sup>3)</sup>。今回、我々は、昭和61年度塵肺定期検診において、染色体レベルの損傷の指標となる末梢血リンパ球のマイクロヌクレウス頻度（小核試験）を調査した。小核試験は、姉妹染色分体交換法と同様、染

色体構造異常試験に代わる簡便な染色体異常<sup>4)</sup>に関連する指標である。そして、その特性より、新しい環境発癌物質、環境変異原物質の検出さらには染色体DNA損傷のモニタリングの指標として、近年利用されているものである。今回は、これによって、粉塵作業出稼ぎと発癌性との関連性を細胞遺伝学的に検討し、珪肺と肺癌との関連に関して一考察を試みたので報告する。

### II 方 法

対象は、昭和61年8月19日～22日に黒部保健所管内で行われた、トンネル工事建設出稼ぎ者塵肺検診の受診者より、胸部X線写真の分類を考慮して、18名選出した。その年齢、喫煙状況および胸部X線分類は表Iに示した。

末梢血リンパ球の小核試験は、姉妹染色分体交換法<sup>5)</sup>の手順で作製した標本で行った。即ち、全血を使用し、BrdU(5-Bromo-2-deoxyuridine, 最終濃度 $10\mu\text{g/ml}$ )、PHA-P(Phytohemagglutinine-Purified, BACTO社)  $0.05\text{ml}$  添加のもとで72時間培養後、Colcemid(最終濃度 $0.05\mu\text{g/ml}$ )を加え、その3時間後、培養を終了した。培養終了後、低張処理、固定操作2～3回行い、標本を作製し

表1 じん肺患者の喫煙状況、胸部X線分類およびマイクロヌクレウスの頻度

症例 No.	性	年齢 (才)	喫煙 (本/日)	胸部X線分類	マイクロヌクレウス(%) (MMC-)	マイクロヌクレウス(%) (MMC+)
1	男	58	10	1	8	6
2	男	60	20	1	5	14
3	男	60	30	1	2	7
4	男	63	20	1	5	17
5	男	51	13	2	5	18
6	男	53	15	2	3	7
7	男	53	20	2	6	9
8	男	56	20	2	12	4
9	男	57	20	2	5	12
10	男	61	20	2	14	16
11	男	71	4	2	8	18
12	男	76	Ex	2	2	11
13	男	77	Ex	2	7	16
14	男	55	Ex	4	5	5
15	男	58	Ex	3		12
16	男	58	17	4	7	17
17	男	73	Ex	3	3	
18	男	76	15	3	8	20

た。染色は、FPG法<sup>6)</sup>を行った。小核出現頻度は、間期のリンパ球1000個を観察し、その中に小核を持った細胞がどれだけあるかを計数し求めた。小核の判定基準は、Countryman<sup>7)</sup>らに従い、小核の直径が主核の直径の3分の1以下であること、色は主核と同じ位の明るさかそれよりも明るいこと、小核の位置は、主核の直径の3~4倍以内にありかつ主核に接していないこと等とした。

小核頻度を増加させる薬剤としては、Mitomycin-CのMEM (Minimum Essential Medium) 溶液 (最終濃度 $50 \times 10^{-8}M$ ) を培養液に添加して、上記と同様に、培養、標本作製を行った。

一方、対照としては、富山県庄川町で行われた健康づくりのための住民検診を受診した健康男子 (非喫煙者、喫煙者共に5名) で行ったリンパ球小核試験の結果を参考にした。この時の小核試験は、Countryman<sup>8)</sup>らの方法に準じた。即ち、全血を使用し、PHA-Pの添加のもとで96時間培養し、培養終

了後、低張処理、固定を行い標本作製した。染色は、マイグリーンワルドギムザ染色を行った。

### III 結 果

各対象者の末梢血リンパ球の小核頻度をMMC添加の有無別に区分し、その平均値 (SE) を対照の成績とともに表2に示した。またその分布を、これまで我々が粉塵暴露歴のないコントロール群で実施してきた成績と比較して、図1に示した。その結果、小核の頻度は、塵肺のX線分類の1, 2, 3/4型の間で差があるとはいえなかった。一方、トンネル塵肺患者の小核頻度の分布は、コントロ

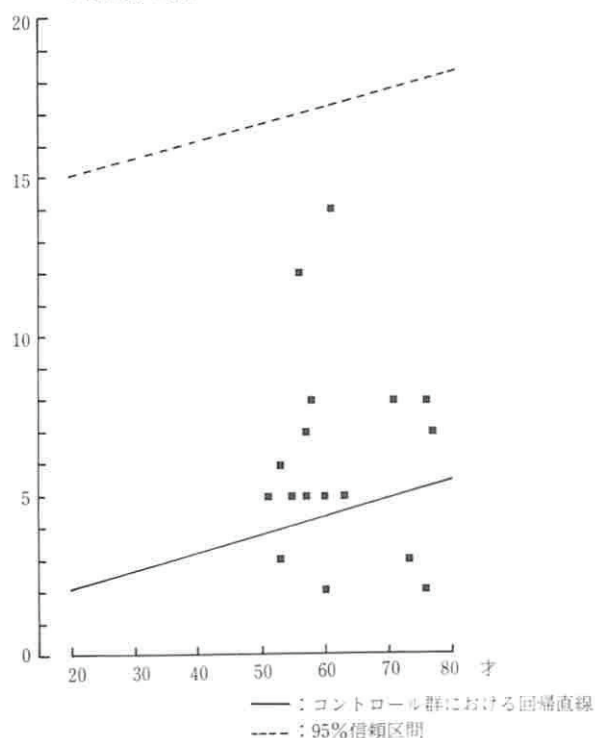
表2 胸部X線分類別にみたマイクロヌクレウスの頻度 (%)

		年齢	マイクロヌクレウス (MMC-)	マイクロヌクレウス (MMC+)
対照	非喫煙者 (n=5)	62.0(2.1)	3.9(1.0)	-
	喫煙者 (n=5)	61.3(3.0)	4.8(1.1)	-
1型	(n=4)	60.3(1.1)	5.0(1.2)	11.0(2.7)
2型	(n=9)	61.7(3.4)	6.9(1.3)	12.3(1.7)
3/4型	(n=5)	64.0(4.4)	5.8(1.1)	11.0(3.3)

M(SE)



図1 じん肺患者の小核頻度の分布のコントロールとの比較  
小核試験 (%)



ール群の平均値をこえる者が多かったが、しかしその分布の95%信頼区間をこえる例はみられなかった。

対象者のうち5人は、Ex-smokerであった。そのうち、小核頻度を求めることができた4人の成績は、MMC添加なしの場合、平均値4.3 (SE=1.1) であり、MMC添加ありの場合、平均値11.0 (SE=2.3) であった。

#### IV 考 察

これまで、珪肺患者の追跡調査<sup>10)</sup>や剖検例の検討<sup>11)</sup>から、珪肺患者の死因には珪肺結核や塵肺が多いことが、報告されてきた。一方、粉塵暴露と肺癌との関連性は昔から注目されていたが、否定的な報告が多かった。しかし、近年病院受療者<sup>12)</sup>や剖検統計<sup>13)</sup>の検討から珪肺と肺癌との関連を示唆する報告がなされている。この原因としては、今まで、肺結核や塵肺の

高い死亡率に覆い隠されてきた珪肺患者が、医療の進歩と労災保障の向上により延命したためと考えられており、今後ますます珪肺と肺癌の関連が重要視されてくるものと思われる。

富山県東部は、古くからずい道建設工事への出稼ぎが盛んに行われており、その80%前後が珪肺有所見者であることが示唆されている<sup>14)</sup>。また、その追跡調査より、粉塵作業出稼ぎ者に塵肺や、肺結核死亡が高率なことさらには、肺癌死亡率が非出稼ぎ者に比して、1.5倍高く、粉塵作業出稼ぎと肺癌との関連が示唆されている<sup>3)</sup>。

今回、黒部保健所管内の珪肺有所見者で、その細胞遺伝学的効果をリンパ球小核試験を用いて検討したところ、胸部X線分類にも、また対照と比較しても差はみられなかった。珪肺有所見者群と対照群の小核試験の方法は、BrdU含有の有無、培養時間などが多少異なるが、新川らの報告を参考にすれば、両者の結果は、比較にたえうるものと思われる。従って、今回の珪肺有所見者では、末梢血リンパ球の染色体損傷に関しては、対照と比べて著しい差は認められなかったものと思われた。これに関しては、Price-Jonesら<sup>16)</sup>が、チャイニーズハムスター肺由来のV79-4細胞を用いて、珪肺の原因物質であるシリカを暴露させたが、SCE頻度は増加せず、発癌性効果を認めなかったことと符号するものと思われた。しかし、珪肺有所見者の小核頻度の分布をみると、コントロール群の平均値をこえる者が多く、染色体損傷に関して、粉塵暴露者がハイリスクである可能性が示唆された。

これに関して、我々は、石綿肺患者(喫煙者)における末梢血リンパ球を使った同様の検討で、やはりその頻度がコントロールに比して高い方に偏位していることをすでに報告した<sup>9)</sup>。石綿に関しては、In vitroの暴露実験で、染色体異常が誘発されることやヒト<sup>17)</sup>の石綿暴露者で、SCE頻度が増加すること、さら

に、これまでの石綿の健康影響に関する疫学研究によれば、石綿暴露と喫煙は肺癌の発生に相乗的に作用することなどが確認されている。<sup>18)</sup>

従って、今回の変異原性試験で、珪肺有所見者が、前回の石綿肺患者（喫煙者）と同様の結果を示したことより、粉塵暴露と発癌性に関して、さらに今後の疫学的、細胞遺伝学的な検討が必要かと思われた。

また、上記に加えて、珪肺と肺癌の関連性を検討する上では、珪肺の組織変化と肺の瘢痕癌の密接な関連といった局所レベル<sup>19)</sup>の知見ともあわせた総合的な検討が、今後ますます必要と思われる。

## V 結 語

ずい道建設出稼ぎが盛んで、珪肺患者の集積がみられた富山県東部において、トンネル塵肺を主とする出稼ぎ者の死亡率が、粉塵職場以外の出稼ぎ者あるいは非出稼ぎ者に比較して有意に高いこと、さらにこの集団では、非出稼ぎ者より肺癌死亡率が約1.5倍高いことをすでに報告した。今回、定期検診において、染色体レベルの損傷の指標となる末梢血リンパ球の小核試験を行い、粉塵暴露と発癌性との関連性を細胞遺伝学的に検討し、珪肺と肺癌との関連に関して一考察を試みた。

結果は以下に示す通りであった。

1 各対象者のリンパ球小核試験を行い、胸部X線分類別に検討したが、1, 2, 3/4型の間では小核頻度に差はみられなかった。また対照と比較しても差はみられなかった。

2 各対象者で、Mitomycin-Cを添加して、リンパ球小核試験を行ったが、胸部X線別の小核頻度に差はみられなかった。

3 各対象者の小核頻度の分布をみてみると、コントロール群の平均値をこえる者が多く、末梢血リンパ球の染色体損傷に関して、粉塵暴露者がハイリスクである可能性が示唆された。これは、前回の石綿肺患者（喫煙者）

でみられた結果として類似していた。

以上より、粉塵暴露と発癌性に関しては、今後さらに疫学的、細胞遺伝学的検討が必要と思われた。

なお、本論文の要旨は第60回日本産業衛生学会において発表した。

## 文 献

- 1) 佐野辰雄：最近のじん肺の諸問題と対策の方向，労働の科学，31(5)，4-8，1976。
- 2) 松浦実：黒部保健所管内に於けるじん肺，珪肺結核に就いて，日農医誌，21，328-329，1972。
- 3) 中川秀昭 他：出稼ぎ経験者にみられた珪肺有所見者に関する研究（第三報）ずい道建設工事出稼ぎ者の死亡率，日衛誌，40(3)，671-678，1985。
- 4) 菊池康基 他：1，小核試験，変異原検出のための簡単なin vivo試験，変異原と毒性，8，12-18，1979。
- 5) Crossen, P.E.: SCE in lymphocytes. 175-193, In Sandberg, A.A. (ed), Sister chromatid exchange. Alan R. Liss, Inc., New York, 1982.
- 6) Perry, P. et al.: New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids. Nature (London) 251, 156-158, 1974.
- 7) Countryman, P.I. et al.: The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. Mut. Res., 41, 321-332, 1976.
- 8) Countryman, P.I. et al.: A true microculture technique for human lymphocytes. Hum. Genet., 35, 197-200, 1977.
- 9) 鏡森定信 他：石綿肺有所見の末梢血リンパ球の姉妹染色分体交換および小核試験について，第59回日本産業衛生学会，P.122，広島，1986。
- 10) 中川秀昭 他：粉じん作業への出稼ぎ経

- 験者にみられた珪肺有所見者の予後に関する研究, 北陸公衛誌, 6, 47-52, 1979.
- 11) 吉野貞尚: けい肺剖検100例の検討, 日胸臨床, 33, 16-24, 1974.
- 12) 千代谷慶三 他: けい肺症における肺がん発生の超過危険について-第1報-, 日災医学会誌, 27, 112-117, 1979.
- 13) 藤沢泰憲: 珪肺症の臨床病理的研究II, 珪肺症と肺癌の合併についての統計的検討, 札幌医誌, 44, 252-260, 1975.
- 14) 中川秀昭 他: 出稼ぎ農民にみられた珪肺症の社会医学的検討, 日農医誌, 30, 810-817, 1981.
- 15) 新川加奈子 他: 実験法フォーラム, ヒトリンパ球小核試験, トキシコロジーフォーラム, 9(6), 619-627, 1986.
- 16) Price-Jones, M.T. et al.: The genetic effects of crocidolite asbestos: Comparison of chromosome abnormalities and sister chromatid exchanges. *Mutat. Res.*, 79:331-336, 1980.
- 17) Rom, N. W. et al.: Sister Chromatid Exchange Frequency in Asbestos Workers. *JNCI*. 70, 45-48, 1983
- 18) 昭和60年度環境庁委託業務結果報告書: 大気汚染物質のレビュー: 石綿, セオライト, 日本科学技術情報センター, 昭和61年, 3月
- 19) 海老原勇 他: じん肺と肺癌, 第60回日本産業衛生学会, P.263, 東京, 1987.