

---

原 著

---

## 胆道癌の成因に関する遺伝疫学的研究

新潟大学医学部衛生学教室 (主任: 山本正治教授)

羽 賀 正 人

Genetic Epidemiology of the Biliary Tract Cancer

Masato HAGA

*Department of Hygiene and Preventive Medicine*

*Niigata University School of Medicine*

*(Director: Prof. Masaharu YAMAMOTO)*

The mortality rate for the biliary tract cancer (BTC) in Niigata Prefecture is the highest in Japan. It is shown that the higher incidence of gallbladder cancer (GBC) rather than extrahepatic bile duct cancer (BDC) may account for BTC in Niigata. In order to explain the geographical clustering of deaths from GBC and to search for the presence of genetic difference, a study of HLA typing of the patients was undertaken.

Forty patients of GBC and 32 cases of BDC were extracted from the patients admitted to five hospitals in Niigata Prefecture from 1987 to 1989. The control subjects were selected from employees in a steel-manufacturing company located in Niigata City.

The HLA antigens were examined by the Terasaki-NIH standard method. Statistical analysis of difference in frequencies of phenotypes between the cases and the controls was undertaken by Fisher's exact test of probability. Concerning the HLA-A, B, C antigens, none of them was associated with the GBC and BTC. The positive association was found only in the DR locus in GBC. The DR4 frequency of 60.0% (24/40) in GBC was statistically higher than that of the control group at the probability level of 0.00646 by Fisher's exact test. The relative risk and its 95% confidence limits were 3.5 and 1.4~8.7, respectively. The value of etiologic fraction was 0.429, that is, the HLA-DR4 attributed 42.9% to the occurrence of GBC in terms of the genetic susceptibility. In the case of the BDC, the frequency of DR4 was 28.1% (9/32) and not different from the control group.

---

Key words: biliary tract cancer, Gallbladder cancer, Extrahepatic bile duct cancer, HLA analysis

胆道癌, 胆嚢癌, 肝外胆管癌 HLA 分析

---

Reprint requests to: Masato HAGA,  
Department of Hygiene and Preventive  
Medicine, Niigata University School of  
Medicine, Niigata City, 951, JAPAN.

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通1番町  
新潟大学医学部衛生学教室

羽賀正人

## 緒 言

日本における胆道癌（胆嚢癌および肝外胆管癌，ICD 156）の死亡率は世界39カ国中男性2位，女性5位と世界でも高い方である<sup>1)</sup>。日本においては，新潟県や山形県などの東日本で死亡率が高く，西日本に少ないといった疫学的特徴がある<sup>1)2)</sup>。新潟県における本症死亡率は，米どころの新潟平野部および佐渡に高い特徴がある。さらに新潟におけるこのような集積性は胆嚢癌によることが明らかになっている<sup>3)</sup>。以上のような世界から新潟までの統計分析を通じて，本症が極めて地域集積性の顕著な疾患であると指摘されている<sup>1)2)3)4)</sup>。

このような地域集積性を規定する要因について分析疫学的観点から研究が行われている<sup>5)6)7)</sup>。従来から本症の原因として疑われているものに，胆石症，腸チフス，肝吸虫症，潰瘍性大腸炎，肥満，女性ホルモンなどがあるが<sup>1)2)3)</sup>，新潟における本症多発の原因をこれらの要因で説明するには至っていない。さらにこれら環境要因とは別に本症の宿主要因については，全く検討が行われていない現状にある。そこで胆道癌患者の宿主要因を遺伝疫学的に解析する目的で，その分子生物学的手法<sup>8)</sup>のひとつとして，HLA (Human Leukocyte Antigen) を用いて検討を行った。

## 対象及び方法

分析対象は胆道癌症例63名（胆嚢癌31名，肝外胆管癌32名）である。対照として新潟市内の某企業健康従業員32名を用いた。

DR 抗原については，さらに検討を行うため，胆嚢癌は9名を追加し，計40名で，対照は8名を追加し，計40名で行った。

なお胆道癌症例は病理組織学的確認を行うと共に，胆石合併の有無についても調査を行った。

HLA 検査は末梢血 15 ml を用い，TERASAKI-NIH-Standard Typing Techniques<sup>9)10)</sup>により分析を行った。HLA-A, B, Cは，白血球の膜表面に存在する抗原に，HLA-DR はB細胞膜表面に存在する抗原に対して各抗血清を反応させ，補体を加え，死滅細胞が41%以上存在する場合を陽性と判定した。HLA 抗原は A-locus が12種類，B-locus が31種類，C-locus が7種，DR-locus が13種類であった。そのサブタイプの内訳は以下のとおりである。

A locus : A1, A2, A3, A9, A10, A11, A23(9), A24(9), A25(10), A26(10), A31, Aw33.

B locus : B5, B7, B8, B12, B13, B14, B15, B16, B17, B18, Bw22, B27, B35, B38(16), B39(16), B40, B44(12), B45(12), Bw46, Bw48, B51(5), Bw52(5), Bw54(w22), Bw55(w22), Bw56(w22), Bw59, Bw60(40), Bw61(40), Bw62(15), Bw67, Bw70.

C locus : Cw1, Cw2, Cw3, Cw4, Cw5, Cw6, Cw7.

D LOCUS : DR1, DR2, DR3, DR4, DR5, DRw6, DR7, DRw8, DRw9, DRw11(5), DRw12(5), DRw13(w6), DRw14(6).

各抗原の出現頻度の統計学的検定は  $\chi^2$  検定と Fisher の直接確率計算法を用いた。また相対危険度と etiologic fraction を算出した。また2因子間のハプロタイプの出現頻度についても検討した。

## 結 果

胆嚢癌症例の平均年齢は 65.6±10.81 才 (31名)，65.9±9.98 才 (40名) で，肝外胆管群は 70.0±8.24 才，対照群は 43.5±9.90 才 (32名) 及び46.2±11.79 才であった。対照群は胆嚢癌，肝外胆管癌症例に比べ，有意に若年であった。性別については最終分析総数で計算すると，胆嚢癌で，男性12名，女性28名，肝外胆管癌では，男性24名，女性8名，対照群では，男性26名，女性14名であった (表 1)。

HLA-A 抗原の出現頻度は示すとおりである (表 2)。12種の抗原について調べた結果 A2, A11, A24(9), A

表 1 分析対象数，性別および平均年齢

	胆 嚢 癌	肝外胆管癌	対 象
症 例 数	31	32	32
男/女比	8/23	24/8	23/9
平均年齢 (+標準偏差)	65.6±10.58	70.0±8.11	43.5±9.90

表 2 HLA-A 抗原の出現頻度

対象 抗原	胆 嚢 癌 (31名)	肝外胆管癌 (32名)	対 象 (32名)
A2	14(45.2)	6(18.8)	13(40.6)
A11	8(25.8)	6(18.8)	6(18.8)
A24(9)	14(45.2)	26(81.3)	22(68.8)
A26(10)	7(21.9)	8(25.0)	7(21.9)
A31(w19)	4(12.9)	6(18.8)	7(21.9)
Aw33(w19)	5(15.6)	4(12.5)	6(18.8)

注：抗原型は陽性のみをあげ，その出現頻度を ( ) 内に%で示した。

26(10), A31(9) の6種の抗原が検出されたが胆嚢癌、肝外胆管癌、対照群で有意の差を示すものはなかった。

HLA-B 抗原の出現頻度は示すとおりである(表3)。31種の抗原について調べた結果、B5, B7, B13, B15, B16, B35, B39(16), B44(12), Bw46, Bw48, B51(5), Bw52(5), Bw54(w22), Bw55(w22), Bw56(w22), Bw59, Bw60(40), Bw61(40), Bw62(15), Bw67 の20種の抗原が検出されたが胆嚢癌、肝外胆管癌、対照群で有意の差を示すものはなかった。

HLA-C 抗原の出現頻度は示すとおりである(表4)。13種の抗原について調べた結果、Cw1, Cw3, Cw4, Cw7

の4種の抗原が検出されたが胆嚢癌、肝外胆管癌、対照群で有意の差を示すものはなかった。

HLA-DR 抗原の出現頻度は示すとおりである(表5)。31抗原を調べたうち、DR1, DR2, DR4, DRw6, DRw8, DRw9, DRw11(5), DRw12(5), DRw13(w6), DRw14(w6) の10種の抗原が検出された。このうち胆嚢癌群でDR4の出現数が40名中24名(60.0%)と多く、対照群の40名中12名(30.0%)に比べ有意差が認められた( $p=0.00646$ , Fisherの直接確率計算法)。また補正p値は0.0646であった。相対危険度は3.5(95%信頼限界:1.4~8.7), etiologic fractionは0.429と算出

表3 HLA-B 抗原の出現頻度

対象 抗原	胆 嚢 癌 (31名)	肝外胆管癌 (32名)	対 象 (32名)
B5	0	1(3.1%)	0
B7	1(3.2%)	5(15.6%)	3(9.4%)
B13	2(6.5%)	0	1(3.1%)
B15	0	0	1(3.1%)
B16	0	0	2(6.3%)
B35	2(6.5%)	5(15.6%)	4(12.5%)
B39(16)	6(19.4%)	3(9.4%)	1(3.1%)
B44(12)	5(16.1%)	4(12.5%)	6(18.8%)
Bw46	2(6.5%)	3(9.4%)	1(3.1%)
Bw48	1(3.2%)	4(12.5%)	1(3.1%)
B51(5)	8(25.8%)	3(15.6%)	3(9.4%)
Bw52(5)	7(21.9%)	12(37.5%)	11(34.4%)
Bw54(w22)	2(6.5%)	5(15.6%)	4(12.5%)
Bw55(w22)	1(3.2%)	1(3.1%)	1(3.1%)
Bw56(w22)	0	1(3.1%)	1(3.1%)
Bw59	0	2(6.3%)	2(6.3%)
Bw60(40)	1(3.2%)	4(12.5%)	3(9.4%)
Bw61(40)	7(21.9%)	4(12.5%)	5(15.6%)
Bw62(15)	7(21.9%)	2(6.3%)	7(21.9%)
Bw67	1(3.2%)	1(3.1%)	0

表4 HLA-C 抗原の出現頻度

対象 抗原	胆 嚢 癌 (31名)	肝外胆管癌 (32名)	対 象 (32名)
Cw1	5(16.1%)	8(25.0%)	6(18.8%)
Cw3	11(35.5%)	10(31.3%)	13(40.6%)
Cw4	2(6.5%)	1(3.1%)	3(9.4%)
Cw7	11(35.5%)	11(34.4%)	6(18.8%)

表5 HLA-DR 抗原の出現頻度

対象 抗原	胆 嚢 癌 (39名)	肝外胆管癌 (32名)	対 象 (40名)
DR1	2(5.1%)	5(15.6%)	3(7.5%)
DR2	12(30.8%)	13(40.6%)	19(47.5%)
DR4	*24(61.5%)	9(28.1%)	12(30.0%)
DRw6	8(20.5%)	4(12.5%)	7(17.5%)
DRw8	8(20.5%)	8(25.0%)	11(27.5%)
DRw9	8(20.5%)	9(28.1%)	13(32.5%)
DRw11(5)	3(7.7%)	3(9.7%)	3(7.5%)
DRw12(5)	7(17.9%)	4(12.5%)	9(22.5%)
DRw13(w6)	1(2.6%)	4(12.5%)	0
DRw14(w6)	1(2.6%)	1(3.1%)	0

\* $p=0.00646$  (Fisherの直接計算法)

表6 ハプロタイプ(2因子)の検討

ハプロタイプ	胆 嚢 癌	肝外胆管癌	対 象
A2-DR4	10(32.3)	3(9.4)	3(9.4)
A24(9)-DR4	9(29.0)	4(12.5)	4(12.5)
A24(9)-Bw52	8(25.8)	11(34.4)	7(21.9)

注:( )内は%を示す。

表7 胆道癌の病理組織型

病理組織型	胆 嚢 癌	肝外胆管癌
高分化管状腺癌	24(77.4%)	28(87.4%)
低分化管状腺癌	1(3.2%)	2(6.3%)
腺扁平上皮癌	2(6.5%)	0(0.0%)
不明	4(12.9%)	2(6.3%)
合 計	31(100.0%)	32(100.0%)

された。

肝外胆管癌の DR4 抗原の出現頻度は、32名中9名(28.1%)で、対照群と差がなかった。なお本研究の対照群における DR 抗原の出現頻度を、過去の報告<sup>11)</sup>と比較検討したが、特に出現頻度の高い抗原存在しなかった。

表 6 にハプロタイプ(2因子)の結果を示す。胆嚢癌で A2-DR4 が10名(32.3%)、対照群で3例(9.4%)であったが、有意差は認められなかった( $p=0.051$ , Fisherの直接確率計算法)。

次に病理組織型についてみると、胆嚢癌群では、31例中24名(77.4%)が乳頭状および管状腺癌からなる高分化型腺癌で占められ、他は腺扁平上皮癌2名(6.5%)、低分化型癌1名(3.2%)、不明4名(12.9%)であった。肝外胆管癌では32例中、管状型高分化腺癌が28例(87.4%)、低分化型腺癌2例(6.3%)、不明2名(6.3%)であった(表 7)。病理組織型別に HLA 抗原の出現頻度を調べたが、特に有意差は認められなかった。さらに、胆嚢癌において胆石(胆嚢内結石)の有無別にサブタイプの出現頻度を比較したが、対照群と有意差を認められた DR4 についても、胆石有で DR4 の出現数が6例(54.5%)、胆石無-DR4 出現数が13例(61.9%)であり、この間に有意差は無かった(表 8)。

表 8 胆嚢癌症例における胆石の有無と DR4 の出現率

	DR4 出現率
胆 石 (+)	6/11 (54.5%)
胆 石 (-)	9/13 (61.9%)

## 考 察

胆道癌の宿主要因を解明するための、生物学的指標として HLA を用いて、研究を行った。HLA に着目して研究を行ったのは、今までに HLA と疾患との関連について、いくつかの報告があるからである<sup>11)~13)</sup>。

HLA はすべての有核細胞の膜に表現される Class I (HLA-A, B, C locus) とマクロファージ, B細胞, 活性型T細胞など限られた細胞の膜表面に表現される Class II (HLA-DR locus, その他) とに分類される<sup>14)</sup>。疾患と HLA の相関のメカニズムについて、前者は不明であるが、Class II は数々の抗原に対するヒトのT細胞-マクロファージ相互作用における遺伝的拘束分子と

して機能しており、さらに抗 DR 抗体がこの免疫応答を完全に抑えることから、免疫応答遺伝子としての役割を演じていることは明らかで、この免疫学的機能から疾病との相関が解明されることが期待されている<sup>12)13)</sup>。

ところで疾患と HLA についての研究は進んでいるが、腫瘍と HLA の相関を調べた報告は少ない<sup>11)</sup>。胆道癌に関しては、我々<sup>14)</sup>が本研究の予備的報告をした以外、研究がみられない。本研究で最も注目すべき結果は、胆嚢癌症例で DR4 との相関を認め、胆管癌では関連を認めなかったことである。ここで本研究における対照群と胆嚢癌群の年齢の不均衡が統計的に問題となる。これら対照群の中には、将来胆道癌に罹患する者がいるはずである。しかし、胆嚢癌群に多い DR4 の出現頻度を検討する際、対照群が若年令であるということは、両群間の差を少なくする方向に働くバイアスであるので、統計的にはより安全であるといえる。さらに対照群の HLA-DR 抗原の出現頻度は徳永ら<sup>11)</sup>の報告と有意差がなく、偏りがあるとはいえない。よって、胆嚢癌と DR4 の関連の可能性が統計的に偽相関である危険性は少ないと考えられる。

ところで胆嚢癌多発地帯である新潟県で実施された症例-対照研究<sup>3)</sup>では、胆石症、胆嚢炎の既往歴が高危険因子として指摘されている。しかしこれら疾患が新潟県に多発しているわけではなく、本症の疫学研究上の矛盾となっている。この矛盾の解決を行った上で、HLA-DR4 の役割について言及する必要がある。この解決に山本ら<sup>15)</sup>は「胆嚢癌発生の多因子説」を発表している。即ち、HLA-DR4 を有し、さらに胆石による物理化学的刺激を受け、胆嚢炎により胆嚢粘膜上皮の脱落、再生を繰り返す者がハイリスク・グループを形成し、彼らが新潟県の地域特性を示す何等かの環境因子(発癌物質あるいは発癌補助物質)に暴露され、これらの相互作用のなかで発症する可能性である。

一方、肝外胆管癌で有意差をもつ因子は認められていない。加藤ら<sup>3)</sup>が、症例-対照研究で指摘しているように、胆嚢癌と肝外胆管癌では成因を異にする可能性がある。

いずれにしても、今後は宿主要因と環境要因の両面から、胆道癌、とりわけ胆嚢癌の成因解明をはかる必要があると考える。このことが、近年増加傾向にあり、臨床的に早期診断が困難な本症<sup>16)</sup>に対し、高危険群に対する早期診断方法および予防対策の確立につながると思われる。

## 結 語

胆道癌の宿主要因をさぐる目的で、胆道癌症例72名(胆嚢癌40名及び肝外胆管癌32名)のHLA分析を行い、対照群と比較検討した。

1. 胆嚢癌においてDR4の出現頻度が高かった( $p=0.00646$ , Fisherの直接確率計算法)
2. 肝外胆管癌においては対照群と比べ、有意なサブタイプは認められなかった。

(稿を終わるにあたり、ご指導、ご校閲をいただきました新潟大学医学部衛生学教室、山本正治教授に深謝いたします。またご協力をいただきました新潟大学第一外科 吉田圭介先生、県立ガンセンター外科 加藤清先生、故赤井貞彦先生及び新潟市民病院外科、厚生連村上病院外科、新潟勤医協下越病院の諸先生方に感謝します)。

## 参 考 文 献

- 1) 山本正治, 遠藤和男, 陳 偉師: 胆道癌死亡の地域集積性. 日本医事新報, **3356**: 43~46, 1988.
- 2) 富永祐民: 胆道癌の疫学的研究. 胆と膵, **1**: 1611~1622, 1980.
- 3) Kato, K. and Akai, S.: Geographical distribution of biliary tract cancer in Niigata Prefecture. Jpn.J. Clin.Oncol., **20**: 67~71, 1990.
- 4) Diehl, A.K.: Epidemiology of gallbladder cancer. JNCI, **65**: 1209~1214, 1980.
- 5) Yamamoto, M., Endoh, K., Toyama, S., Sakai, H., Shibuya, N., Takagi, S., Magara, J. and Fujiguchi, K.: Biliary tract cancers in Japan: A study from the point of view of environmental epidemiology. Acta Medica et Biologica (Niigata), **134**: 65~76, 1986.
- 6) Magara, J., Haga, M., Weishi, C., Endoh, K., Yamamoto, M., Tsutsui, M., Kato, K. and Akai, S.: Re-assay of human bile for mutagenicity and co-mutagenicity. Tohoku J. Exp. Med., **157**: 177~182, 1989.
- 7) Yamamoto, M., Endoh, K., Magara, J., Watanabe, M., Takagi, S., Sakai, H., Shibuya, N. and Fujiguchi, K.: Ecological correlation between the use of agricultural chemicals and biliary tract cancer in Japan. Acta Medica et Biologica (Niigata), **135**: 63~68, 1987.
- 8) 津金昌一郎: 分子生物学的指標を用いたがんの疫学研究—Molecular epidemiology—. 癌の臨床, **35**: 229~233, 1989.
- 9) Terasaki, P.I. and McClelland, J.D.: Microdroplet assay of human serum cytotoxins. Nature, **204**: 998~1000, 1964.
- 10) Terasaki, P.I., Bernoco, D., Park, M.S., Ozturk, G. and Iwak, Y.: Microdroplet testing for HLA-A, B, C and D antigens. Amer.J. Clin.Pathol., **69**: 103~120, 1978.
- 11) 徳永勝士, 十字猛夫: 日本人のHLA分布. 日本臨床, **42**: 335~344, 1984.
- 12) 笹月健彦: HLAと疾患. 代謝, **23**: 233~238, 1986.
- 13) Naito, S.: The association of HLA with diseases in Japanese. Jpn.J. Human Genet., **31**: 323~329, 1986.
- 14) Yamamoto, M., Haga, M., Takagi, S., Endoh, K., Ito, S., Yoshida, K., Kato, K. and Akai, S.: HLA antigens in cancer of the gallbladder. Tohoku J.Exp.Med., **161**: 69~71, 1990.
- 15) 山本正治, 遠藤和男, 高木修子, 中平浩人, 角田正史, 真野 裕, 渋谷範夫, 足立泰儀: 胆道癌発生の多因子説. 日本医事新報, **3531**: 23~26, 1991.
- 16) 羽賀正人, 坂井洋一郎, 安達哲夫, 山川良一, 会田博, 斉藤俊一, 時光昭二, 五十嵐修, 樋口正身, 鬼島 宏, 渡辺英伸: 胆嚢腺腫内癌の臨床病理学的検討. 胆と膵, **9**: 1421~1428, 1988.

(平成4年1月21日受付)