

厚生労働行政推進調査事業補助金
厚生労働科学特別研究事業

o-トルイジン等芳香族アミンによる膀胱がんに係る研究

平成28年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 武林 亨

平成29（2017）年 3月

目 次

I. 総括・分担研究報告

- o-トルイジン等芳香族アミン曝露作業従事者に関する健康調査 1

研究代表者 武林亨

研究分担者 中野真規子

II. 分担研究報告

1. 福井県と他地域における膀胱がんの疫学指標の動向比較 6

研究分担者 祖父江友孝

2. ヒト膀胱がんの臨床病理学研究と動物モデルを用いた AAOT の膀胱発がん性評価
による発がん機序の解明 16

研究分担者 鰐淵英機

3. o-トルイジン（以下、OTD）等芳香族アミンの吸収・代謝に関する研究 19

研究分担者 甲田茂樹

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

平成 28 年度厚生労働行政推進調査事業補助金(厚生労働科学特別研究事業)

総括・分担研究報告書

o-トルイジン等芳香族アミン曝露作業従事者に関する健康調査

研究代表者 武林 亨 慶應義塾大学医学部衛生学公衆衛生学 教授
研究分担者 中野真規子 慶應義塾大学医学部衛生学公衆衛生学 専任講師

研究要旨

本研究の目的は、オルト-トルイジン(以下、OTD)および他の化学物質曝露と尿路系疾患(尿路系炎症、尿路系がん等)を主とした健康影響との関連を検討することである。2017年1月に膀胱癌発生の集積がみられた事業所を含む OTD 等芳香族アミン取り扱い 3 事業場(165 人)において詳細健康調査を実施した。研究期間中に膀胱癌と新たに診断された 2 人を含め、膀胱癌罹患患者(罹患群)は 10 人と非罹患群に分けて比較検討した。罹患群はすべて男性で、全員が 20 年以上の OTD の取り扱い歴があり、2,4-キシリジンは 90%で取り扱い歴があった。罹患群は非罹患群よりも年齢が高く、在職期間が長く、OTD 取扱い総和量が高かった。既往歴は、非罹患群と比して罹患群で膀胱炎の割合が高かった。罹患群で過去の血尿は 80%と高かったが、非罹患群でも 11%認めた。罹患群では他の癌との重複発症はなく、OTD による発がんの標的臓器は膀胱のみと推測される。本調査における 2 次健診勧奨者は、血尿で1人、NMP22 高値で1人、尿細胞診(クラス3相当以上)で5人の計7人であった。今後も、対象集団において健診による経過観察が必要である。また、OTD 以外の芳香族アミンおよび中間製造物等との関連の検討が必要である。

研究協力者

大前和幸 慶應義塾大学医学部衛生学公衆衛生学
深井航太 慶應義塾大学医学部衛生学公衆衛生学
岩澤聡子 慶應義塾大学医学部衛生学公衆衛生学
吉岡範幸 慶應義塾大学医学部衛生学公衆衛生学
田邊杏由美 慶應義塾大学医学部衛生学公衆衛生学
田中茂 十文字学園女子大学大学院人間生活学研究科

A. 研究目的

オルトトルイジン(以下、OTD)等芳香族アミン取り扱い事業所で発生した膀胱癌については、国による調査が実施され、その暫定とりまとめが公表されている(平成 28 年 3 月 18 日。労働基準局安全衛生部)。ここでは、事案発生事業所での調査結果とともに、今後の対応として、「OTD 等による膀胱がんの発症に関する調査研究の実施」が挙げられており、その因果関係(causality)を明らかにするとともに、適切な予防のあり方について明らかにすることが求められている。o-トルイジン等芳香族アミン曝露作業従事者に関する健康調査では、疫学アプローチにより、OTD 等芳香族アミン取り扱い事業場における取り扱い作業員詳細健康調査を以下の目的で実施する。

- 1) OTD および他の化学物質曝露と尿路系疾患(尿路系炎症、尿路系がん等)を主とした健康影響と関連の有無の検討
- 2) 関連がある場合、最適な健康管理手法の探索

B. 研究方法

(1) 2017 年 1 月に膀胱癌発生の集積がみられた事業所を含む OTD 等芳香族アミン取り扱い3事業場において、協力依頼可能な作業員(6種アミン取り扱いのある者、ならびに、取り扱いのない者)計 165 人の協力を得て詳細健康調査を実施した。協力者からは、研究に関する説明の後、書面による同意を得た。6種アミンとは、OTD、パラトルイジン、アニリン、2,4-キシリジン、オルトクロロアニリン、オルトアニジンである。対象事業所は、OTD を原料とし、原料に溶媒として有機溶剤を加えて、ジケテンを滴下しながら染料・顔料中間体を製造している。製造工程は大きく①反応工程(原料から)、②乾燥工程(製品の袋詰め含)に分かれる。

(2) 詳細健康調査の内容は、以下である。

- 経皮的メトヘモグロビン(SpMet)の測定
- 健康調査票(血尿、排尿時痛、残尿感、頻尿、

蛋白尿の尿路系症状、チアノーゼ、既往歴(尿路感染症、膀胱炎、尿管結石、膀胱結石、腎結石、腎炎、前立腺肥大症、腎不全、その他の腎尿路系疾患、心臓病、心不全、高血圧、糖尿病、肺疾患、腎がん、腎盂がん、尿路がん、膀胱がん、その他のがん、メトヘモグロビン血症、アトピー性皮膚炎、皮疹・湿疹)、常用薬(抗がん剤、頭痛薬など)、喫煙歴、飲酒歴、作業歴(OTD、2,4-キシリジン、ヒ素・2-ナフチルアミン、ベンジジンなど)、保護具等の使用歴、作業後の入浴習慣、手荒れ/手のかぶれの既往、保護クリーム使用歴など)。アトピー性皮膚炎、手荒れ/手のかぶれの既往で、皮膚のバリア、炎症の状況を確認した。

- 医師による面談
- 尿検査(出勤後の 1 番尿)
 - ・ 尿定性・沈渣(血尿、タンパク尿など)
 - ・ 尿中腫瘍マーカー(NMP22)
 - ・ 尿細胞診
 - ・ 尿管機能検査(随時尿)(β_2 -ミクログロブリン、NAG、 α_1 -ミクログロブリンなど)

統計手法は、膀胱癌罹患者(罹患群)と膀胱癌非罹患者(非罹患群)の 2 群に分け、有意水準 5%、両側検定で Mann-Whitney の U 検定、 χ^2 検定、Fisher's exact test を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に従い、慶應義塾大学医学部倫理委員会の承認を得た。協力者からは、研究に関する説明の後、書面による同意を得た。

C. 研究結果

研究期間中に膀胱癌と新たに診断された 2 人(調査前に 1 人、本調査中に 1 人)を含め、対象集団(n=165)における膀胱癌罹患者は計 10 人である。尿検査を施行できたのは 164 人(1 人:月経のため

採尿せず)であった。罹患者はすべて男性であった。以下、膀胱癌罹患者(罹患者群)と膀胱癌非罹患者(非罹患者群)の2群に分けて比較検討した結果を示す。

対象者の特性を表1に示す。罹患者群は非罹患者群よりも年齢が高く(P=0.002)、在職期間が長く(P=0.046)、OTD曝露既往のある非罹患者群と比べてOTD取り扱い総和量(OTDに従事していた年の年間OTD取り扱い量を総和した値)(P<0.001)が高かった。喫煙歴は、罹患者群で80%、非罹患者群で68%とやや罹患者群で高かったが有意な差はなかった(P=0.419)。既往歴は、非罹患者群と比して罹患者群で膀胱炎の割合が高かった(P<0.001)。その他の腎疾患の内訳は、罹患者群は詳細不明、非罹患者群は、腎出血、胆石、腎盂腎炎、腎臓病、前立腺炎であった。また、非罹患者群と比して罹患者群で高血圧(P=0.002)、糖尿病(P=0.013)の割合が高かった。罹患者群では他の癌との重複発症はなく、非罹患者群では、大腸がん、胃がん、胃粘膜下腫瘍、乳がんを各1人ずつ認めた。2群間でアトピー性皮膚炎、皮疹・湿疹の割合は差がなかった。罹患者群で頭痛薬の使用割合が高かった(P=0.018)が、多くはロキソニンであり、膀胱癌との関連はなかった。

表1 対象者の特性

N=165	罹患者群	非罹患者群
男, n (%)	10/10(100)	139/155(93.3)
年齢(範囲)	56.9(44-72)	42.7(19-73)
在職期間(年)	24.4 (19.8-29.1)	18.3 (0.8-53.8)
OTD 取り扱い 総和量/最大 値との比(範囲)	0.69 (0.06-1)	0.14 (0-0.96)
喫煙歴, n (%)		
現在	2/10(20.0)	59/155(38.1)
過去	6/10(60.0)	46/155(29.7)
非喫煙	2/10(20.0)	50/155(32.3)

既往歴, n(%)		
尿路感染症	0/8(0)	1/153(0.7)
膀胱炎	5/8(62.5)	16/155(10.3)
尿管結石	2/9(22.2)	11/155(7.1)
膀胱結石	0/9(0)	1/155(0.6)
腎結石	0/9(0)	1/155(0.6)
腎炎	0/9(0)	2/155(1.3)
前立腺肥大症	1/9(11.1)	2/154(1.3)
その他の腎疾患	2/9(22.2)	4/155(2.6)
心臓病	2/9(22.2)	12/155(7.7)
高血圧症	5/8(62.5)	28/155(18.1)
糖尿病	2/9(22.2)	6/155(3.9)
肺疾患	0/9(0)	2/155(1.3)
その他の癌	0/9(0)	4/155(2.6)
メトヘモグロビン血症	0/9(0)	0/153(0)
アトピー性皮膚炎	1/9(11.1)	11/154(7.1)
皮疹、湿疹	2/9(22.2)	27/153(17.6)
抗癌剤使用歴	1/10(10.0)	1/155(0.6)
頭痛薬使用歴	5/9(55.6)	33/155(21.3)

表2に、膀胱癌患者群別の作業歴・作業管理を示す。罹患者群で OTD は全員、2,4-キシリジンは90%で取扱っていた。作業後の入浴の習慣、手あれ/かぶれの割合、および手荒れ等に対するの保護クリームの使用歴については2群間で差がなかった。

表2 膀胱癌罹患群別の作業歴・作業管理

N=165	罹患群	非罹患群
【作業歴】		
OTD 取り扱い歴	10/10(100)	64/155(41.3)
2.4-キシリジン取り扱い歴	9/10(90.0)	57/154(37.0)
ヒ素、ベンジジンなど	0/10(0)	0/153(0)
【作業管理】		
入浴		
ほぼ毎日	6/10(60.0)	96/154(62.3)
半々	2/10(20.0)	25/154(16.2)
ほとんどせず	2/10(20.0)	33/154(21.4)
手荒れ/かぶれ		
現在	3/10(30.0)	50/154(32.5)
過去	4/10(40.0)	70/154(45.5)
保護クリーム使用	4/10(40.0)	54/133(40.6)

表3に、膀胱癌罹患群別の自覚症状等を示す。罹患群で過去の血尿は80%と高かった($p < 0.001$)が、非罹患群でも11%認めた。罹患群の血尿持続期間はさまざまで、1-2日、1カ月、4カ月、1年と短期～長期にわたっていた。自覚症状は、非罹患群に比して、罹患群で過去の排尿時痛($P=0.009$)の割合が高かった。また、残尿感の割合も高かったが非罹患群との間に差はなかった($P=0.522$)。チアノーゼの割合も高かったが非罹患群との間に差はなく($P=0.112$)、パラトルイジン曝露による影響の関連との検討が必要である。

表3 膀胱癌罹患群別の自覚症状等

N=165	罹患群	非罹患群
血尿		
現在	1/10 (10.0)	0/155 (0)
過去	8/10 (80.0)	17/155 (11.0)
発症時期	-	夏
持続期間	1-2日(4人)、1カ月(2人)、4カ月、1年	1-2日(3人)、1週間以内(5人)、1カ月(4人)、2-3カ月(2人)
排尿時痛		
現在	1/10(10.0)	1/155(0.6)
過去	5/10(50.0)	18/154(11.7)
残尿感		
現在	2/10(20.0)	20/155(12.9)
過去	4/10(40.0)	29/155(18.7)
頻尿		
現在	4/10(40.0)	58/155(37.4)
過去	5/10(50.0)	67/155(43.2)
蛋白尿		
現在	1/10(10.0)	5/155(3.2)
過去	3/10(30.0)	19/155(12.3)
チアノーゼ	3/10(30.0)	19/154(12.3)
SpMet>1.5%	0/10(0)	0/164(0)

表4に、膀胱癌罹患群別の尿検査結果を示す。本調査における2次健診勧奨者は、血尿で1人、NMP22 高値で1人、尿細胞診(クラス3相当以上)で5人の計7人であった。本調査期間中に新たに膀胱癌と診断された1名の所見は、NMP22 が高値を示し、また同時期に施行した会社による特殊健康診断結果にて尿細胞診クラス3を認めていた。

表4 膀胱癌罹患群別の尿検査結果

N=164	罹患群	非罹患群
定性		
潜血(2+,3+)	0, 1/10	1, 0/154
蛋白(1+)	1/10	2/154
糖(1+,2+,4+)	0,0,2/10	2,4,3/154
沈査		
白血球(≥ 10/HPF)	0/10(0)	1/154(0.6)
扁平上皮(≥ 5/HPF)	0/10(0)	2/154(1.3)
硝子円柱(+)	0/10(0)	0/154(0)
NMP22	76.1(2-694)	4.1(2-<12)
>12U/ml	3/10(30.0)	0/154(0)
細胞診		
クラス 1	5/10(50.0)	102/154(65.8)
クラス 2	5/10(50.0)	49/154(31.63)
クラス 3/3A	0/10(0)	3/154(1.9)

D. 考察

罹患群では他の癌との重複発症はなく、非罹患群では、大腸がん、胃がん、胃粘膜下腫瘍、乳がん各1人ずつを認めた。よって、OTDによる発がんの標的臓器は膀胱のみと推測される。なお、調査期間中にも新規罹患患者が発生していること、非罹患群の11%に血尿を認め、その血尿持続期間が短期～長期にわたっていることから、既発症者と類似する曝露歴や OTD 取り扱い開始からの期間が20年を超える者については、特に注意深い特殊健康診断による経過観察が必要と考えられる。

罹患群では、既往歴は膀胱炎の割合が高く、また自覚症状(過去も含)は排尿時痛の割合が高く、これまでの知見と同様であった¹⁾。また、非罹患群と比して罹患群で高血圧、糖尿病の割合が高く、交絡要因の1つとして年齢があることから、今後のさら

なる検討が必要である。

罹患群と非罹患群との間でアトピー性皮膚炎、手荒れ/手のかぶれの既往の割合に差がなかったことから、皮膚のバリア、炎症の状況に差はなかったと推測する。

曝露歴からも明らかのように、OTD 以外の芳香族アミン曝露もあることから、因果関係を明らかにするためには、OTD による影響に加え、その他の芳香族アミンおよび中間製造物等との関連も今後検討が必要と考える。

E. 結論

OTD 推定総曝露量が多く、OTD 取り扱い開始からの期間20年以上で膀胱癌が発症していた。今後も対象集団での健康診断による経過観察が必要である。また、OTD 以外の芳香族アミンおよび中間製造物等との関連の検討が必要である。

F. 健康危険情報

記載すべきことなし。

G. 研究発表

なし(2017年8月に、The 26th International Symposium on Epidemiology in Occupational Health (EPICOH) で発表予定)

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

記載事項なし

文献)

1) 日本泌尿器科学会. 膀胱癌診療ガイドライン 2015年版. P9. 医学図書出版株式会社. 東京

平成 28 年度 厚生労働行政推進調査事業補助金（厚生労働科学特別研究事業）
分担研究報告書

福井県と他地域における膀胱がんの疫学指標の動向比較

研究分担者

祖父江 友孝（大阪大学大学院医学系研究科 社会医学講座 環境医学）

研究要旨

平成 27 年、福井県の化学工場において膀胱がんの多発事例が報告された。しかし、膀胱がんの多発が当該化学工場のみにも留まる現象であるのか否かの検証はなされていなかった。そこで本調査では、「国立がん研究センター がん情報サービス」や人口動態統計のデータをもとに、福井県と他地域における、膀胱がんの①年齢調整罹患率、②年齢階級別罹患率、③年齢調整死亡率、④年齢階級別死亡率、⑤標準化罹患比、⑥標準化死亡比、⑦5 年相対生存率を計算し、その推移を比較検討した。結果として、膀胱がんの罹患率・死亡率いずれの指標に関しても、福井県と他地域で明らかな動向の違いは認められなかった。したがって現時点では、膀胱がんの多発は当該化学工場のみにも留まる現象であったと考えられる。一方、福井県における膀胱がんの生存率は低下傾向を示していたが、その原因は早期膀胱がんの罹患割合の減少と考えられる。各疫学指標の動向に変化が生じる可能性は残されているため、今後も注意が必要である。

研究協力者

品川 貴郁（大阪大学大学院医学系研究科 社会医学講座 環境医学）

A. 研究目的

平成 27 年、福井県の化学工場において膀胱がんの多発事例が報告された¹⁾。しかし、膀胱がんの多発が当該化学工場のみに限られる現象であるのか、福井県全体の現象であるのか、あるいは全国的な現象であるかの検証はなされていなかった。

そこで本調査では、公開されているデータをもとに、福井県と他地域における膀胱がんの罹患率・死亡率・生存率を算出し、その推移を比較検討した。

B. 研究方法

罹患率の計算には、「国立がん研究センター がん情報サービス」が公表している「全国がん罹患モニタリング集計」の都道府県別膀胱がん罹患率と²⁾、「高精度地域がん登録のがん罹患データ」に掲載されている、がん登録高精度地域の膀胱がん罹患数および総人口データを用いた³⁾。

死亡率の計算には、人口動態統計の「保管統計表 都道府県編（報告書非掲載表）」における「死亡数、性・年齢（5 歳階級）・死因（死因単分類）・都道府県（13 大都市再掲）（全国）別」の膀胱がん死亡数と⁴⁾、「国立がん研究センター がん情報サービス」が公表している「地域がん登録集計用人口データ」の日本人人口データを用いた⁵⁾。なおこの人口データは、国立がん研究センターがん対策情報センターがん統計研究部が、国立社会保障・人口問題研究所と共同で、国勢調査を基に推計したものである。

生存率の集計には、「国立がん研究センター がん情報サービス」が公表している「地域がん登録によるがん生存率データ 5 年相対生存率（1993 年～2008 年診断例）」のデ

ータを用いた⁶⁾。

上記のデータから、膀胱がんの①年齢調整罹患率、②年齢階級別罹患率、③年齢調整死亡率、④年齢階級別死亡率、⑤標準化罹患比、⑥標準化死亡比、⑦5 年相対生存率を計算した。罹患率・標準化罹患比については福井県とがん登録高精度地域（山形県・福井県・長崎県）で、死亡率・標準化死亡比については福井県と全国の都道府県で、生存率については福井県と推計対象地域（登録精度が全国推計の比較可能基準を満たし、かつ住民票照会実施で不明率が 5% 未満あるいは全死亡照会実施を満たす地域）で比較を行った。

対象期間について、罹患率は福井県単独のデータが得られた 2003 年～2012 年、死亡率は福井県単独のデータが得られた 1999 年～2015 年、標準化罹患比・標準化死亡比は 2008 年～2012 年、生存率はデータが得られた 1993 年～2008 年とした。

なお、本研究で利用した罹患率・生存率データには上皮内がんが含まれていなかったため、本研究で算出した罹患率・標準化罹患比・生存率は全て浸潤性膀胱がんのみを対象とした値である。また、本研究で用いたデータは全てインターネット上で公開されている集計データであり、個人を特定できるような情報は含まれていなかったため、倫理的配慮は不要と判断した。

C. 研究結果

① 膀胱がん年齢調整罹患率

図 1 に、福井県と高精度地域の膀胱がん年齢調整罹患率（10 万対）を男女別に示す。特に男性において減少傾向が見られたが、男女いずれにおいても、動向に明らかな違

いは認められなかった。

② 膀胱がん年齢階級別罹患率

図2・図3に、福井県と高精度地域の膀胱がん年齢階級別罹患率（10万対）を男女別に示す。特に男性において40～79歳の罹患率の減少傾向が目立ったが、男女いずれにおいても、動向そのものに明らかな違いは認められなかった。

③ 膀胱がん年齢調整死亡率

図4に、福井県および全国各都道府県の膀胱がん年齢調整罹患率（10万対）を男女別に示す。年次によって多少の変動は見られたものの、男女いずれにおいても、各県に見られるばらつきの範囲内と考えられた。

④ 膀胱がん年齢階級別死亡率

図5・図6に、福井県および全国の膀胱がん年齢階級別死亡率（10万対）を男女別に示す。福井県・全国いずれも年次によって多少の変動は見られるものの、ほぼ一定の死亡率で推移していた。

⑤ 膀胱がん標準化罹患比 および ⑥ 膀胱がん標準化死亡比

図7に、高精度地域に対する福井県の膀胱がん標準化罹患比と、全国に対する福井県の膀胱がん標準化死亡比、およびそれらの95%信頼区間を男女別に示す。女性において、福井県の標準化死亡比が100を超えていた（109.4）ものの、いずれの標準化罹患比・標準化死亡比も有意差は認められなかった。

⑦ 膀胱がん5年相対生存率

図8に、男性と女性における、福井県と推計対象地域の膀胱がん5年相対生存率を示す。特に福井県において、5年相対生存率が低下傾向であった。なお、直近（2006年～2008年）の生存率水準は福井県と推計対象地域で明らかな差は見られなかった。

D. 考察

罹患率・死亡率のいずれも、福井県と他地域における動向に明確な差は認められなかった。また、罹患率は福井県・他地域ともに減少傾向であり、福井県や他地域において膀胱がんが多発している事実も認められなかった。以上の結果より、現時点では膀胱がんの多発は当該化学工場のみにも留まる現象であり、福井県全体の膀胱がん罹患率・死亡率には明確な影響が及んでいないものと考えられる。ただし、リスク因子への曝露から実際にがんを発症までには時間がかかる（ラグタイム）ため、今後も各指標の動向には注意する必要がある。

福井県の生存率は低下傾向を示していた。しかし、膀胱がんに関する医療水準が悪化したとは考えにくいと、予後の良好な早期がんの罹患割合が減少した可能性が高い。「国立がん研究センター がん情報サービス」が公表しているデータによると、推計対象地域の統計結果ではあるが、2000年以降「限局」（早期がん）の罹患割合が減少傾向であったことが確認できる（図9）⁶⁾。早期膀胱がんの罹患率が減少する理由としては、次の三点が考えられる。

第一に、喫煙率の低下である。喫煙は膀胱がん発症の最大のリスク因子とされており⁷⁻⁹⁾、近年の喫煙率の低下は膀胱がん罹患率の減少に大きく影響したと考えられる。

しかし、福井県と全国で喫煙率の動向にどの程度違いがあるのかは、現在の所、明らかにされていない。

第二に、化学物質への職業性曝露の減少である。膀胱がんの発症には多数の化学物質が影響すると報告されているが^{7,9)}、労働衛生環境の改善に伴い、化学物質への曝露量が減少したことが予想される。しかし、具体的な曝露減少量が不明な上に、「職業性曝露の減少によって膀胱がん罹患率が減少した」という報告は世界的に見てもまだ無く、日本国内において職業性曝露の減少が膀胱がん罹患率にどの程度影響を及ぼしたかは定かではない。

第三に、がん登録ルールの浸透である。本調査で計算した罹患率は浸潤性膀胱がんを対象としているが、がん登録のルールが浸透する以前には上皮内がんと浸潤がんの区別をせずに登録が行われ、浸潤性膀胱がんの罹患率が押し上げられていた可能性が考えられる。仮にそうであった場合、がん登録の精度向上に伴って上皮内がんが正しく区別されるようになると、浸潤性膀胱がんの罹患率は低下する。実際、スコットランドでは膀胱の非悪性腫瘍も浸潤がんとして登録されていたが、欧州の新たながん登録ガイドラインの浸透に伴い、それらが非浸潤がんとして登録されるようになった結果、浸潤性膀胱がんの罹患率が急激に低下したことが確認されている(参考図1)¹⁰⁾。スコットランドのような現象が福井県でも生じていた可能性はあるものの、がん登録のデータ管理体制上、それを確認することは困難である。なお、日本では2016年より「全国がん登録」が開始されており¹¹⁾、それに伴ってがん登録精度が向上することが

予想されるため、今後の罹患率の動向に変化が生じる可能性がある。

E. 結論

膀胱がんの罹患率・死亡率いずれの指標に関しても、福井県と他地域で明らかな動向の違いは認められなかった。したがって現時点では、膀胱がんの多発は当該化学工場のみにも留まる現象であったと考えられる。福井県の膀胱がん生存率は低下傾向を示していたが、その原因は早期膀胱がんの罹患割合の減少の可能性が高い。各疫学指標の動向に変化が生じる可能性は残されているため、今後も注意が必要である。

F. 健康危険情報

(総括研究報告書にまとめて記入)

G. 研究発表

なし(2017年6月のがん予防学術大会にて発表予定)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

引用文献

1. 独立行政法人労働者健康安全機構労働安全衛生総合研究所. 福井県内の化学工場で発生した膀胱がんに関する災害調査 災害調査報告書. <http://www.mhlw.go.jp/file/04-Houdouuhappyou-11305000-Roudoukijunkyokuanzeniseibu-Kagakubushitsutaisakuka/0000126164.pdf> (2017年4月13日アクセス可能)

2. 国立がん研究センターがん情報サービス「がん登録・統計」. 全国がん罹患モニタリング集計 .
http://ganjoho.jp/reg_stat/statistics/brochure/monitoring.html (2017年4月13日アクセス可能)
3. 国立がん研究センターがん情報サービス「がん登録・統計」. 高精度地域がん登録のがん罹患データ(1985年~2012年) .
[http://ganjoho.jp/data/reg_stat/statistics/dl/cancer_incidence3pref\(1985-2012\).xls](http://ganjoho.jp/data/reg_stat/statistics/dl/cancer_incidence3pref(1985-2012).xls) (2017年4月13日アクセス可能)
4. 厚生労働省 . 人口動態調査 .
<http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/OtherList.do?bid=000001041668&cycode=7>(2017年4月13日アクセス可能)
5. 国立がん研究センターがん情報サービス「がん登録・統計」. 地域がん登録集計用人口データ .
http://ganjoho.jp/reg_stat/statistics/dl/statistics_p05.html (2017年4月13日アクセス可能)
6. 国立がん研究センターがん情報サービス「がん登録・統計」. 地域がん登録によるがん生存率データ .
[http://ganjoho.jp/data/reg_stat/statistics/dl/cancer_survival\(1993-2008\).xls](http://ganjoho.jp/data/reg_stat/statistics/dl/cancer_survival(1993-2008).xls) (2017年4月13日アクセス可能)
7. Burger M, Catto JW, Dalbagni G, et al. Epidemiology and risk factors of urothelial bladder cancer. *Eur Urol.* 2013; 63: 234-41.
8. Brennan P, Bogillot O, Greiser E, et al. The contribution of cigarette smoking to bladder cancer in women (pooled European data). *Cancer Causes Control.* 2001; 12: 411-7.
9. Kirkali Z, Chan T, Manoharan M, et al. Bladder cancer: epidemiology, staging and grading, and diagnosis. *Urology.* 2005; 66 (6 Suppl 1): 4-34.
10. Antoni S, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Bladder Cancer Incidence and Mortality: A Global Overview and Recent Trends. *Eur Urol.* 2017; 71: 96-108.
11. 松田智大. 全国がん登録の開始とがん登録情報利用の促進. *日本保険医学会誌.* 2015 ; 113 : 71-83.

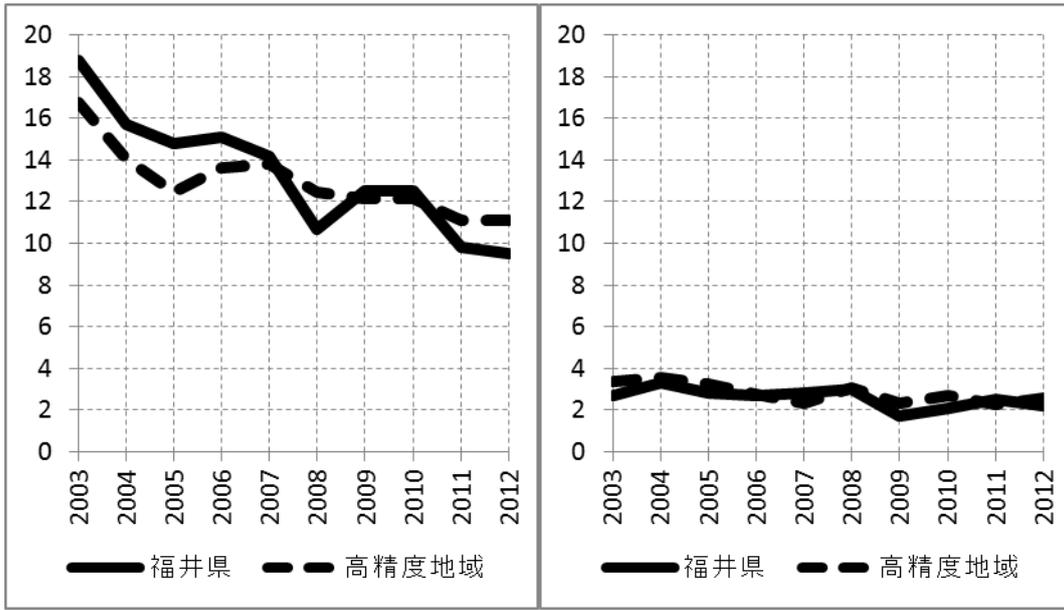


図1 膀胱がん年齢調整罹患率（10万対）

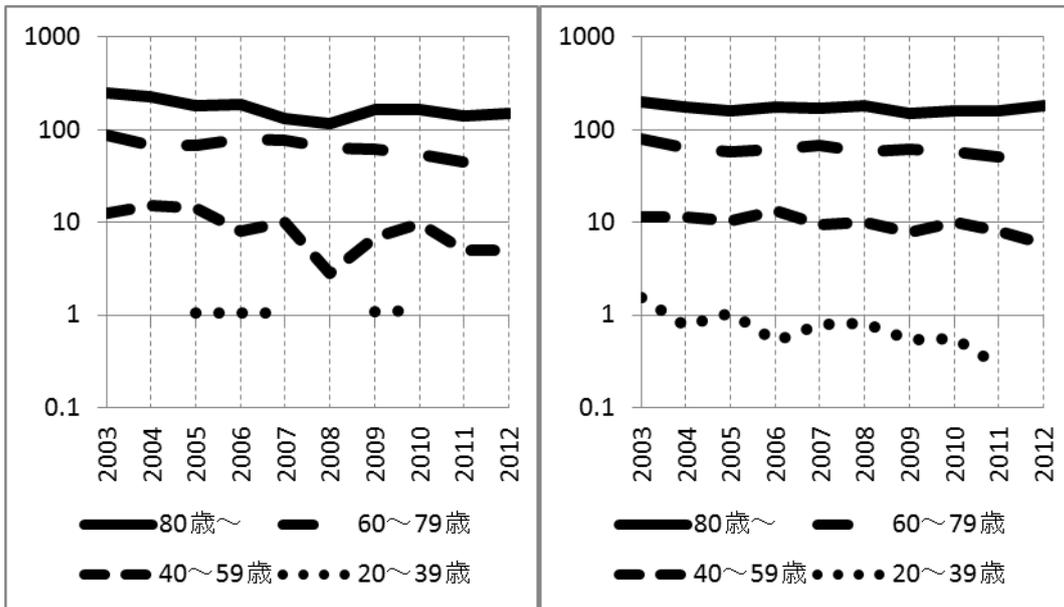
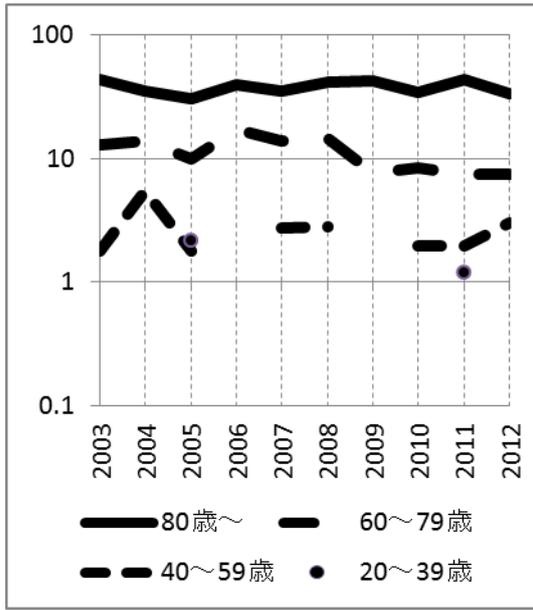
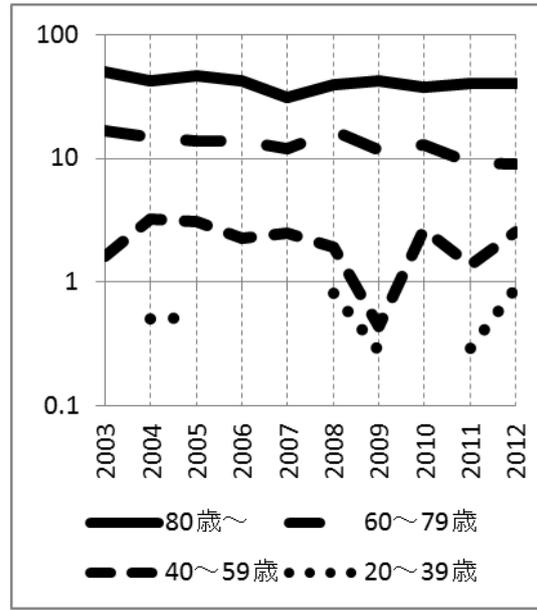


図2 膀胱がん年齢階級別罹患率（男性，10万対）

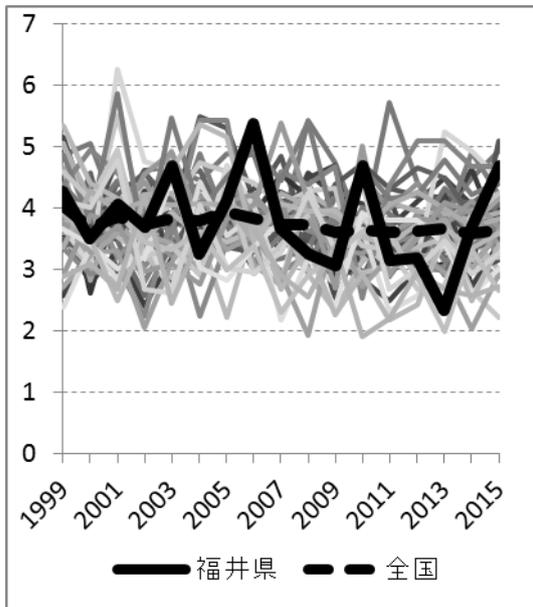


福井県

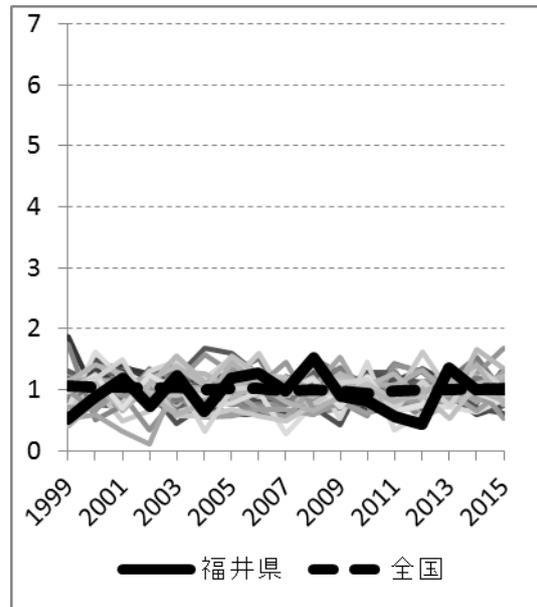


高精度地域

図3 膀胱がん年齢階級別罹患率（女性，10万対）

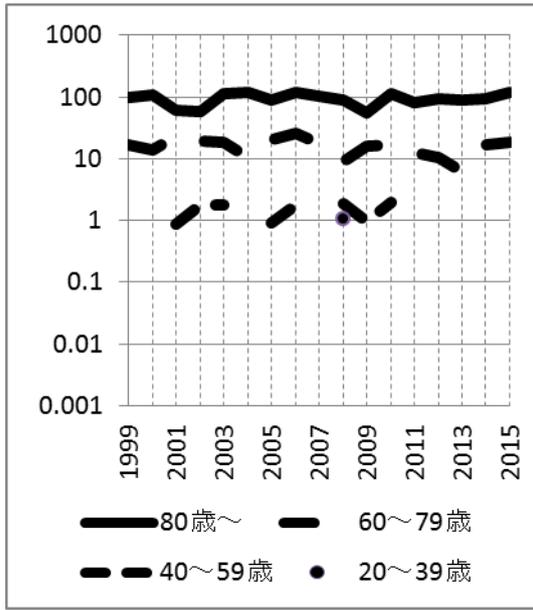


男性

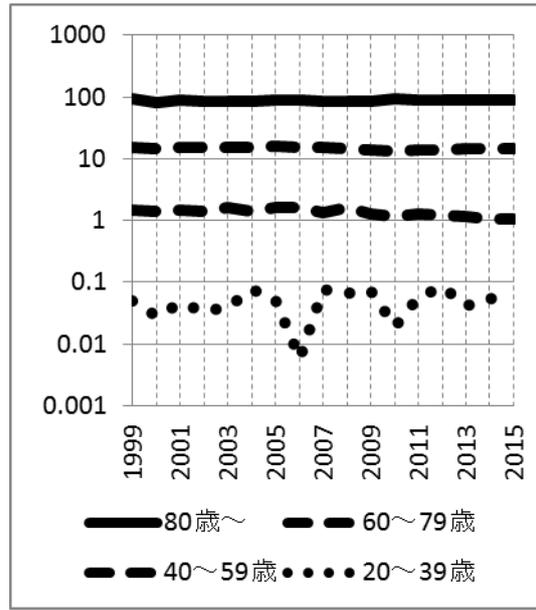


女性

図4 膀胱がん年齢調整死亡率（10万対）

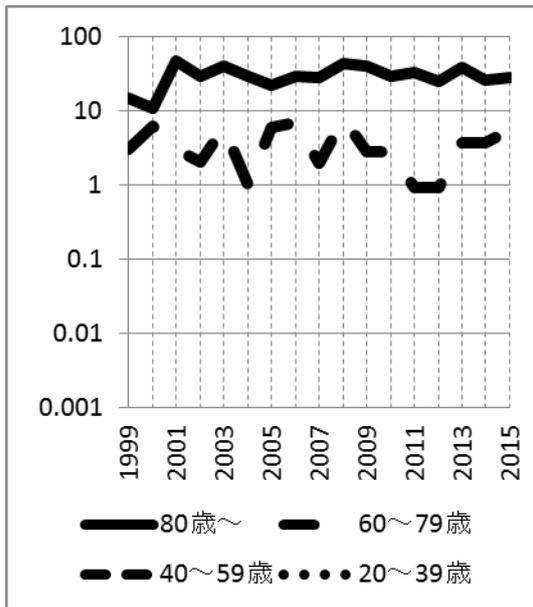


福井県

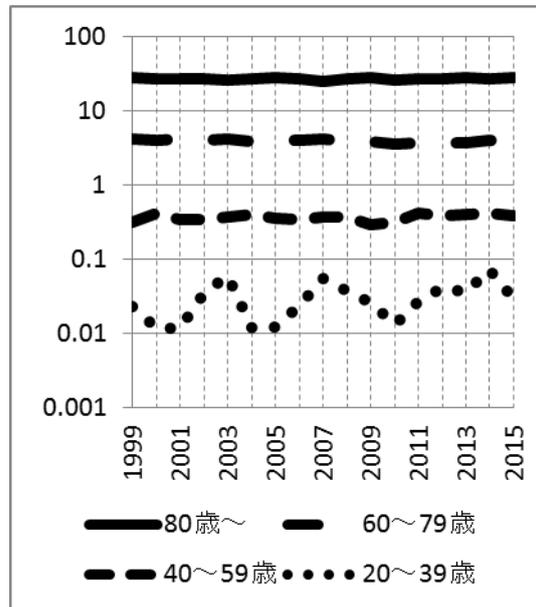


全国

図5 膀胱がん年齢階級別死亡率（男性，10万対）



福井県



全国

図6 膀胱がん年齢階級別死亡率（女性，10万対）

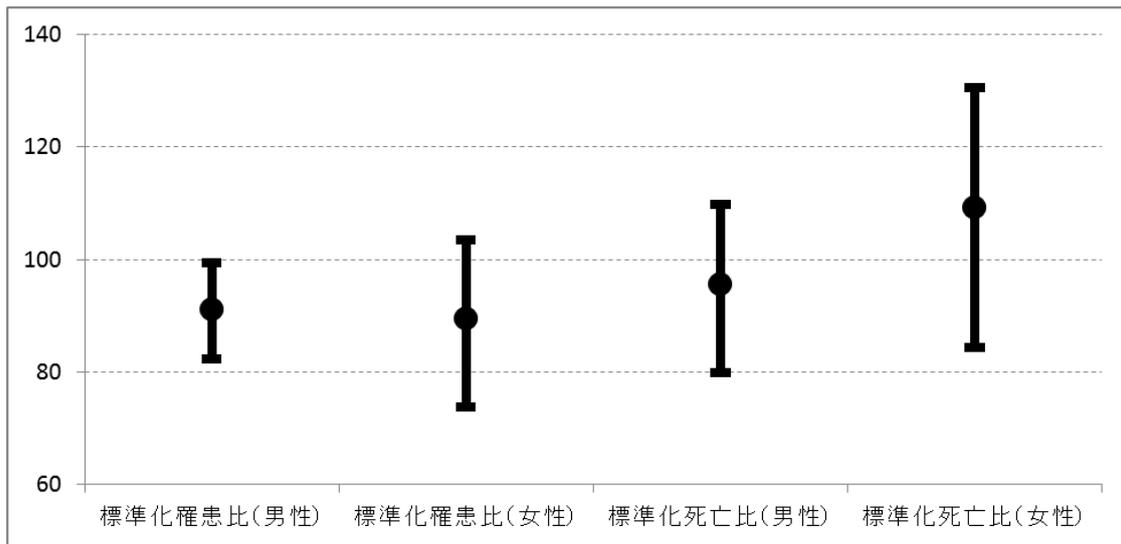


図7 膀胱がんの標準化罹患比（対高精度地域）および標準化死亡率（対全国）

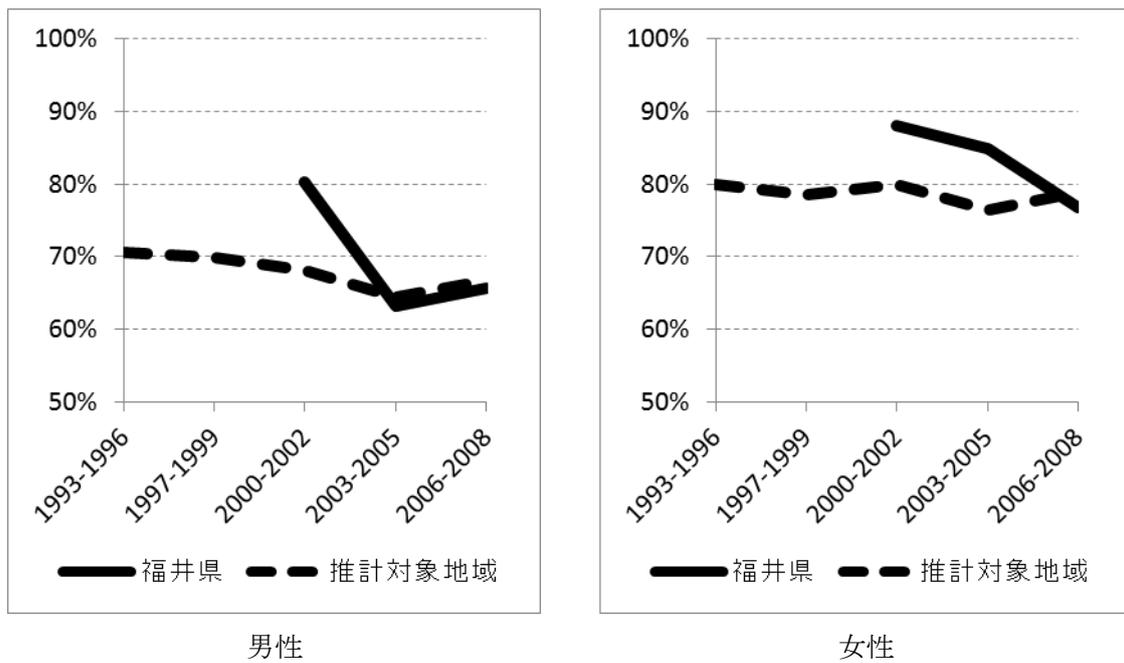


図8 膀胱がん5年相対生存率

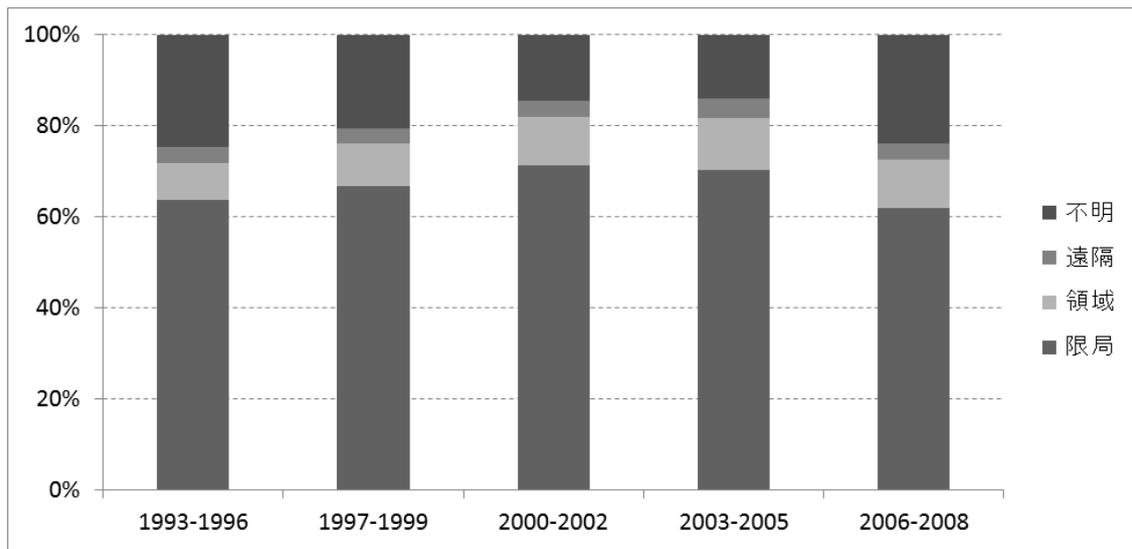
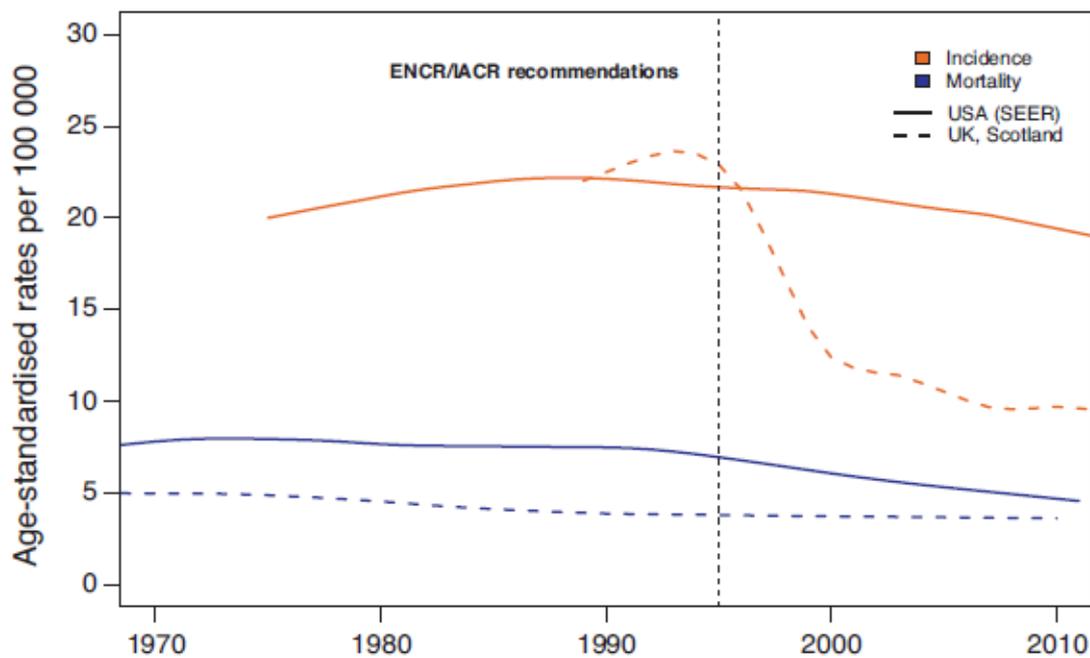


図9 膀胱がんの臨床進行度別罹患割合



参考図1 スコットランドと米国における膀胱がんの罹患率と死亡率の動向 (文献10より)

平成 28 年度厚生労働行政推進調査事業補助金(厚生労働科学特別研究事業)

分担研究報告書

ヒト膀胱がんの臨床病理学研究と動物モデルを用いた AAOT の膀胱発がん性評価
による発がん機序の解明

研究分担者 鰐淵 英機 大阪市立大学大学院医学研究科分子病理学 教授

研究要旨

芳香族アミンによる膀胱癌発生のメカニズムはいまだ明らかでない点が多く、本研究では①芳香族アミン取扱事業所で発生したヒト膀胱がん腫瘍組織を用いた臨床病理学研究と、②動物モデルを用いた AAOT の膀胱発がん性評価を行い、ヒトと動物モデルの両面から発癌に関わる分子メカニズムの解明を目指す。①ヒト膀胱がん腫瘍組織を用いた臨床病理学研究では網羅的遺伝子解析とプロテオーム解析により、芳香族アミンによって発生する膀胱癌の特徴を明らかにする。平成 28 年度では腫瘍組織を収集し研究を行う為に必要な大阪市立大学倫理委員会の承認を得た後に、患者本人から研究への同意を取得した。平成 29 年度以降は腫瘍組織を実際に入手し、解析を行っていく予定である。②動物モデルを用いた AAOT の膀胱発がん性評価では 1. *in vitro* における AAOT の代謝および毒性評価、2. AAOT の短期毒性試験、3. AAOT の 2 段階膀胱発がん試験を行う。平成 28 年度は *in vitro* における AAOT の毒性評価を施行した。ヒト膀胱上皮細胞およびラット膀胱上皮細胞を、3ppb～100ppm の濃度で AAOT を添加した培地を用いて 48 時間培養し、生存率の測定を行ったところ、ヒト膀胱上皮細胞、ラット膀胱上皮細胞ともに 100ppm までの濃度では生存率の低下は認められず、*in vitro* では AAOT の細胞毒性は低いと考えられた。平成 29 年度以降はさらに高濃度の AAOT を添加した培地を用いて *in vitro* での細胞毒性を調べるとともに、膀胱上皮細胞による AAOT の代謝の有無を検討する。また、ラットを用いた AAOT の短期毒性試験を行う予定である。

研究協力者

魏民(大阪市立大学)

竹内靖人(中央労働災害防止協会)

A. 研究目的

芳香族アミンによる膀胱癌発生のメカニズムはいまだ明らかでない点が多い。本研究では、芳香族アミン取扱事業所で発生した膀胱癌について、ヒト腫瘍検体と動物モデルの両面から解析し、*o*-Acetoacetotoluidide(AAOT)の毒性について評価することで、発がんメカニズム解明とヒトへの外挿可能な動物モデルの開発を目指す。

B. 研究方法

①ヒト膀胱がん腫瘍組織を用いた臨床病理学研究

膀胱がん発症患者の協力を得て、膀胱がんのホルマリン固定パラフィン包埋組織標本(FFPE)を収集する。FFPE から HE 標本を作製して病理組織学的検討を行う。また、遺伝子を抽出し、次世代シーケンサー(Ion AmpliSeq™ Cancer Hotspot Panel v2)を用いて、50 種類の代表的ながん遺伝子、がん抑制遺伝子について変異の有無を検索する。芳香族アミン取り扱い事業所で発生した膀胱癌の解析結果と、芳香族アミンの曝露なく発生した膀胱癌の解析結果、あるいは膀胱癌の遺伝子変異についての既存のデータベースとの比較を行うことで、芳香族アミン暴露によっておこる特徴的な遺伝子変異を明らかにする。同時に蛋白質を抽出してプロテオーム解析(QSTAR Elite LC-MS/MS と Ingenuity Pathway™ analysis)を行い、同様に比較、検討することで、芳香族アミン取り扱い事業所で発生した膀胱癌で発現が変動している蛋白質を総合的に検討する。遺伝子変異、蛋白質発現の網羅的解析により、発癌メカニズムの解明を目指す。

平成 28 年度は FFPE ブロック収集や解析に必要な手続きを進めた。

②動物モデルを用いた AAOT の膀胱発がん性評価

1. *in vitro* における AAOT の代謝および毒性評価、2. AAOT の投与経路および用量を決定する

ための短期毒性試験、3. AAOT の膀胱発がん性を検討するための 2 段階膀胱発がん試験を行う。平成 28 年度は *in vitro* における AAOT の代謝および毒性評価の一部を施行した。2,3 に関しては平成 29 年度以降行う予定である。

1. *in vitro* における AAOT の代謝および毒性評価に関して、ヒト膀胱上皮細胞株(1T1)とラット膀胱上皮細胞株(MYP3)を用いて AAOT の毒性を行った。AAOT を添加した培地を用いてそれぞれの細胞を培養し(N=3)、48 時間後に Cell Counting Kit-8(同人化学研究所)を用いて、生細胞数を比較定量し、生存率を測定した。AAOT の濃度に関しては芳香族アミンによって発生した職業膀胱癌患者の尿中濃度の報告(14.3ppb~292ppb)を参考にして^{(1)~(3)}、最低濃度を 3ppb とし、培地に直接溶解可能な 100ppm を最高濃度とした。

(倫理面への配慮)

本研究はヒト組織標本を用いる研究であり、健忘を実施するにあたり、大阪市立大学倫理委員会の承認を得ている(受付番号 3560)

C. 研究結果

①ヒト膀胱がん腫瘍組織を用いた臨床病理学研究

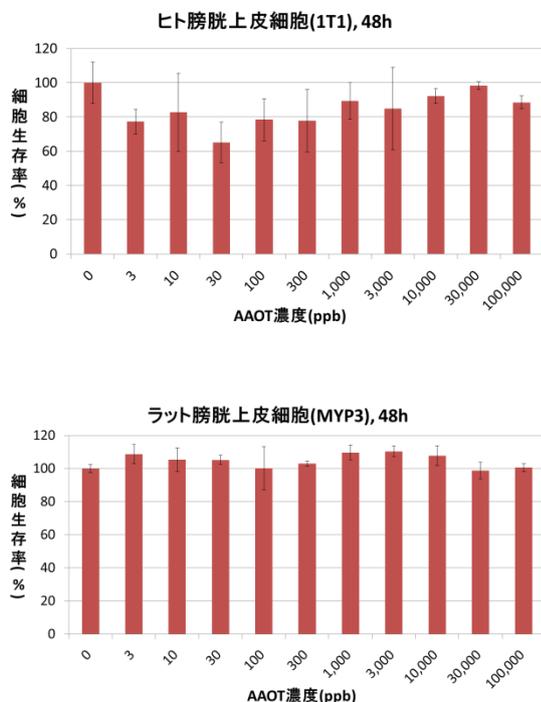
大阪市立大学倫理委員会の承認を得た後に、膀胱癌罹患患者本人から書面にて研究への参加に関して同意を取得したが、膀胱がん組織を入手するためには罹患患者が受診した各病院にて再度倫理委員会等の手続きを行う必要があり、現在その手続きを行っているところである。平成 29 年度以降は FFPE ブロックを入手次第、遺伝子変異や蛋白質発現の解析を行う予定である。

②動物モデルを用いた AAOT の膀胱発がん性評価

ヒト膀胱上皮細胞株(1T1)とラット膀胱上皮細胞株(MYP3)を用いた AAOT の毒性評価では、ヒト膀

膀胱上皮細胞、ラット膀胱上皮細胞ともに 3ppm～100ppm いずれの濃度でも AAOT 添加による生存率の低下は認められなかった(図 1)。

図 1 培養細胞を用いた AAOT の細胞毒性



D. 考察

②動物モデルを用いた AAOT の膀胱発がん性評価

ヒト膀胱上皮細胞株(1T1)とラット膀胱上皮細胞株(MYP3)を用いた AAOT の毒性評価では 100ppm の濃度までは生存率の低下はなく、AAOT の細胞毒性は観察されなかった。*in vitro*における AAOT の細胞毒性は弱いために、今回実験を行った濃度では毒性が検出されなかったと推察される。これまで AAOT の毒性に関する報告はほとんどないが、チャイニーズハムスターの線維芽細胞株を用いた染色体異常試験では、2500ppm の高濃度において染色体構造異常の出現頻度が 10%と軽度増加しており⁽⁴⁾、高濃度の培地を用いることで細胞毒性を検出できる可能性がある。今後、溶液として DMSO やメタノール等を用いることで高濃度の培地を作成し、再度 AAOT の毒性評価を行う予定である。また、培地中の AAOT 濃度を測定することで、膀胱上皮細胞

による AAOT の代謝、分解の有無について検討を行う。

E. 結論

ヒト膀胱上皮細胞株とラット膀胱上皮細胞株を用いた AAOT の毒性評価では、100ppm までは AAOT による生存率の低下は認められず、AAOT の *in vitro*での毒性は低いと考えられた。今後はより高濃度での AAOT の毒性評価を行うとともに、ヒト膀胱がん腫瘍組織を用いた臨床病理学研究、AAOT の短期毒性試験を進めていく。

参考文献

- 1) Monitoring of aromatic amine exposures in workers at a chemical plant with a known bladder cancer excess. Ward EM et al. J Natl Cancer Inst. 1996 Aug 7;88(15):1046-52.
- 2) Percutaneous absorption of aromatic amines in rubber industry workers: impact of impaired skin and skin barrier creams. Korinth G et al. Occup Environ Med. 2007 Jun;64(6):366-72. Epub 2006 Dec 20.
- 3) Biological monitoring for occupational exposures to o-toluidine and aniline. Teass AW et al. Int Arch Occup Environ Health. 1993;65(1 Suppl):S115-8.
- 4) o-acetoacetotoluidide の哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験. 食品農医薬品安全評価センター. Exp. No.3649 (115-082)

F. 健康危険情報

(総括研究報告書にまとめて記入)

G. 研究発表

特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

特になし

平成 28 年度厚生労働行政推進調査事業補助金(厚生労働科学特別研究事業)

分担研究報告書

o-トルイジン（以下、OTD）等芳香族アミンの吸収・代謝に関する研究

研究分担者 甲田茂樹 独立行政法人労働者健康安全機構 労働安全衛生総合研究所 所長代理

研究要旨

職業性膀胱がんの発生現場で使用された o-トルイジンなどの 5 種類芳香族アミン類の経皮吸収の情報、特に定量的評価に関する研究は見当たらない。H28 年度は培養ヒト 3 次元皮膚モデルを用いて、o-トルイジン、p-トルイジン、アニリン、2,4-ジメチルアニリン、o-アニシジンの透過性、相対透過速度などを検討した。その結果、本モデルを用いることで複数の化学物質の皮膚透過性や相対透過速度を簡便に評価できる可能性がある。現場で使用されていた 5 種類の芳香族アミンはいずれも皮膚透過性があることが示唆され、また物質によって透過速度が異なるが、今回検討した化学物質はその透過がかなり速いことが判明した。

研究協力者

王 瑞生、小野真理子、豊岡達士、柳場由絵、小林健一

(独立行政法人労働者健康安全機構 労働安全衛生総合研究所)

A. 研究目的

福井県の事業場で、*o*-トルイジンをはじめとした芳香族アミンを取り扱う作業に従事していた複数名の労働者が膀胱がんを発症した事案において、我々が現地調査を行った結果、*o*-トルイジン(OT)について、気中濃度レベルと尿中濃度レベルに大きな乖離があることが示唆されている。このことより、皮膚吸収性の評価、代謝・体内動態の解明ならびに生物学的モニタリング手法の開発が喫緊の課題である。そこで、ヒト3次元皮膚モデルを用いて、現場で使用していたOT等5種類の芳香族アミンの皮膚透過性や相対透過速度について検討し、本モデルの経皮吸収評価における有効性を確認するとともに、今後動物を用いての経皮ばく露実験に必要な情報を収集することを目的とした。

B. 研究方法

ヒト皮膚に類似した構造をしており、基底層・有棘層・顆粒層・角質層を有する培養ヒト3次元皮膚モデルを用いて、¹⁴CラベルされたOT、*p*-トルイジン(PT)、アニリン(ANL)、2,4-ジメチルアニリン(DMA)、*o*-アニシジン(ANS)を0.1・Ci(3700 Bq)皮膚に添加した後、経時的にサンプリングし、液体シンチレーションカウンター(LSC)で透過量を定量した(¹⁴Cから放出されるβ線の検出による)。なお、培養ヒト3次元皮膚モデルはフランチセルまたは、ボトルにセットし透過実験を行った。また、各物質の添加量(約10⁻⁶・M)では細胞毒性がないことを確認している。透過実験の概略図は図1に示すとおりである(本報告書ではボトルを用いた方法についてのみ示す)。

(倫理面への配慮)

本実験は人工皮膚を使用するため、特に倫理面の考慮は必要ない。

C. 研究結果

図2に示すように、各種芳香族アミン5種は添加後8時間以降いずれもLSCによるβ線カウント数がほぼプラトーに達しており、8時間までに添加量のほぼ全量が透過していることが明らかとなった。一方で、皮膚透過性試験において、非透過性物質(ネガティブコントロール)として用いられる、³H-Thymidineは、培養ヒト3次元モデルを使用した本研究においても、ほとんど透過が観察されなかった。

次に、β線カウント数増加の直線性が高い、作用2時間後までにおいて、各種芳香族アミンの初期透過速度に違いがあるのか否かを検討した(図3)。なお、初期透過速度の比較は、2時間までの各時間におけるβ線カウント数のプロットを1次関数で近似し、その傾きをもって相対的に評価した。図3に示すとおり、透過速度は各物質で異なり、OTとANLが特に速く、ANS、PT、DMAが続いた。この透過速度の順位はフランチセルを用いた場合も同様であった。

D. 考察および結論

現場で使用されていた5種類の芳香族アミンは、透過速度に違いが観察されたものの、いずれも8時間程で添加量のほぼ全量が透過しており、その速度は概して速いことが推測された。また、本研究で用いた培養ヒト皮膚モデルは、非透過性物質として知られる³H-Thymidineの透過を確かに認めず、透過性が高いと推測された芳香族アミン5種については、その透過性順位を決定することができた。これらのことより、今後、本研究のように培養ヒト3次元皮膚モデルを用いた評価系は、高透過性物質の選別等、スクリーニング目的で広く産業化学物質に応用できる可能性が考えられた。

平成 28 年度 3 月末時点ではなし。

F. 健康危険情報
(総括研究報告書にまとめて記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

特になし。

G. 研究発表

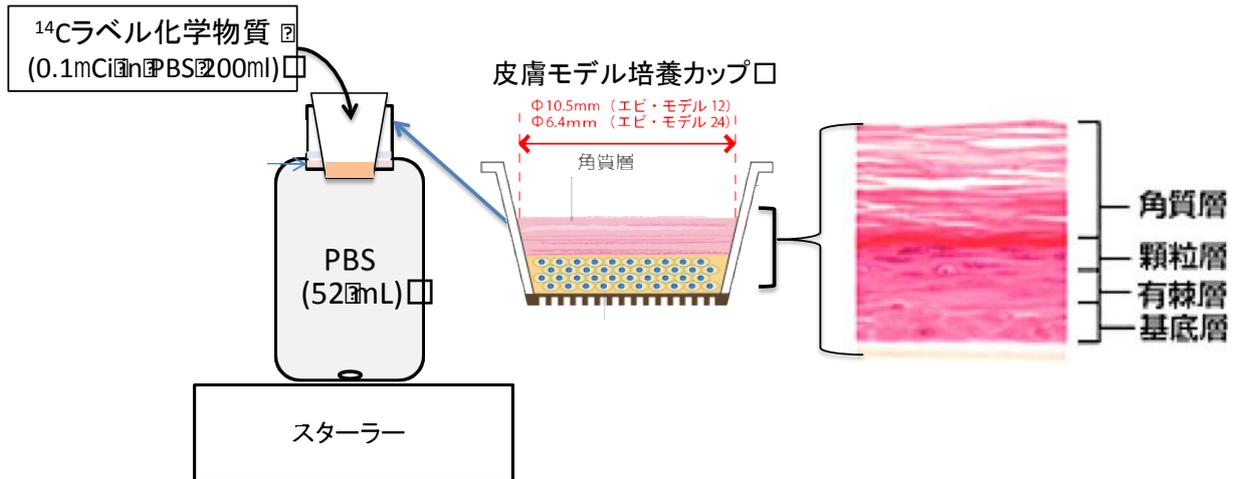


図 1. 培養ヒト 3 次元皮膚モデルを使用した皮膚透過性試験法の概略

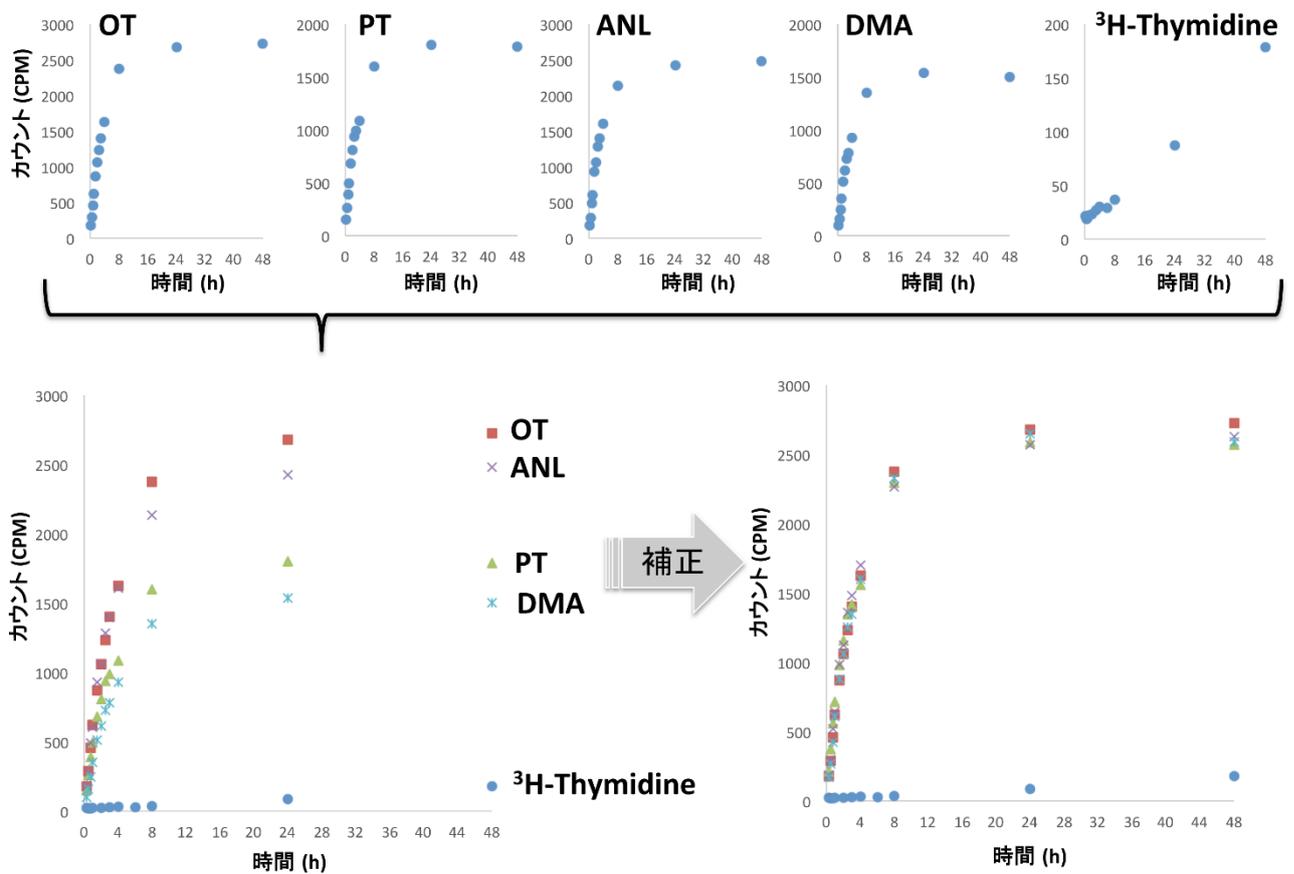


図 2. 各種芳香族アミンの皮膚透過性試験結果

培養皮膚モデルに各種芳香族アミンおよび ^3H -Thymidine を $0.1\mu\text{Ci}$ (3700Bq) 添加し、48 時間まで経時的にサンプリングし、各物質の透過量を LSC で定量した。なお、各時間における最終的なカウント数(CPM)は、各物質の ^{14}C ラベル化効率を LSC 実測値から求め補正した。

結果例

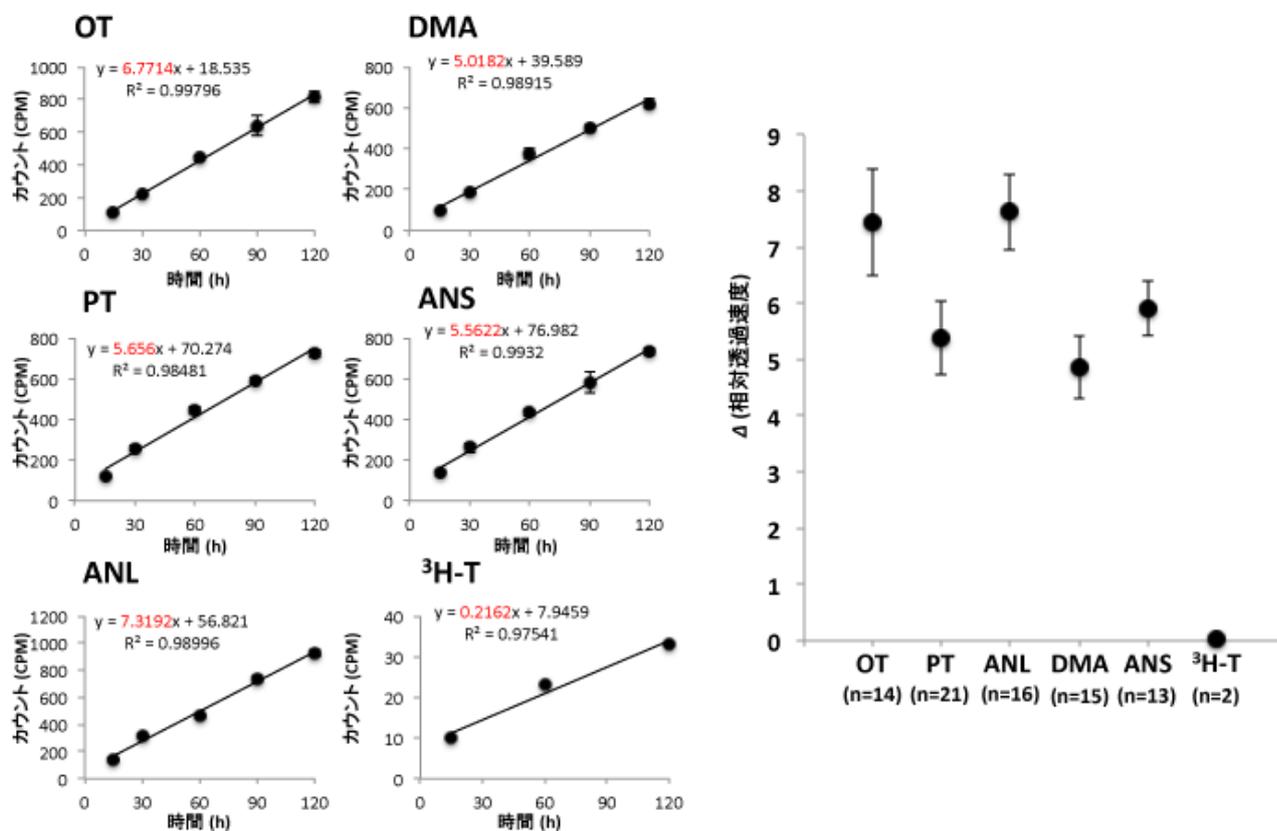


図 3. 各種芳香族アミンの相対透過速度比較

培養皮膚モデルに各種芳香族アミンおよび ^3H -Thymidine を $0.1 \cdot \text{Ci}$ (3700Bq) 添加し、2 時間まで経時的にサンプリングし、各物質の透過量を LSC で定量した。各時間におけるカウント数のプロットを 1 次関数で近似し、その傾きを相対透過速度とした。

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
なし							

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
なし					