

厚生労働科学研究費補助金
労働安全衛生総合研究事業

オルト-トルイジン等芳香族アミンによる膀胱がんの原因解明と
予防に係る包括的研究

平成30年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 武林 亨

平成31(2019)年 3月

目次

I. 総括・分担研究報告

- 疫学アプローチによる原因物質絞込みと因果関係検証 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. 芳香族アミン取扱い作業歴のある集団における膀胱がんの標準化罹患比 9

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 24

研究分担者 鰐淵英機

3. 芳香族アミン類取扱い作業等、経皮曝露を伴う健康リスク評価のあり方の検討 30

研究分担者 甲田茂樹
研究分担者 王 瑞生

4. 化学防護手袋のo-トルイジン透過性試験 35

研究協力者 田中 茂
研究協力者 石井 聡子

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

疫学アプローチによる原因物質絞込みと因果関係検証

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、OT）および他の化学物質曝露と膀胱癌を主とした健康影響との関連を検討することである。今年度は、主に①膀胱がん発生企業の協力可能な全従業員（非曝露、異動・退職含）に平成 28 年度施行したパイロット調査の曝露歴から原因物質絞込むための曝露推定量の 1 つとして ECETOC TRA による吸入と経被曝露推定値を利用したリスク係数を使用して検討、②パイロット調査をベースに、現従業員対象のコホート研究を継続して実施、③健康管理として NMP-22 の検討を行った。OT 等の作業環境濃度および生物学的モニタリング値がないため、入社以来の曝露情報を各芳香族アミンで、4 工程毎に、曝露期間、取扱い頻度/月、ECETOC TRA による吸入と経皮曝露推定値を利用したリスク係数を乗じた曝露推定量 C を検討した。曝露推定量 C で膀胱癌 非罹患群・罹患群を比較した結果は、曝露推定量 A（各芳香族アミン、各工程：曝露期間（年）×曝露頻度/月）での比較結果とすべて同様の工程であった。よって、本集団では、最も簡易な計算式である曝露推定量 A で今後は曝露を評価することとした。罹患群では各芳香族アミンの中で OT は最も平均曝露推定量が高く、OT の総工程、洗浄工程、乾燥工程が最も膀胱癌と関連がある工程であると推察された。また、複合曝露の影響については、さらなる検討を要する。コホート研究では、今年度は 2 名の膀胱癌 新規罹患患者を認めた。また、新規罹患患者は、これまでの罹患患者と同様の特性（OT 曝露推定量が高く、潜伏期間が 20 年前後）を示した。よって、一定以上の OT 曝露者が、約 20 年という潜伏期間を経て発症しており、今後も本集団の注意深い経過観察が必要である。NMP-22 の測定は、新規膀胱癌罹患患者数が少ないため、追跡を行いながら今後さらなる検討が必要である。

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
永滝陽子 慶應義塾大学医学部衛生学公衆衛生学
竹内文乃 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

A. 研究目的

オルト-トルイジン（以下、OT）等芳香族アミン取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、事案発生事業所での調査結果において、作業者がOTに経気道のみならず経皮からの曝露も示唆された¹⁾。今後の対応として、「OT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。また、特定化学物質予防規則など改正(基発1130第4号)がされ、OTは特定化学物質第2類物質に指定、OT取扱い作業員に対して特殊健康診断の実施等を事業主に義務(平成29年1月1日施行)付けられた。平成28年度に膀胱がん発生企業の協力可能な全従業員(非曝露、異動・退職含)から研究参加同意取得と、曝露歴把握、パイロット調査を実施した。これをベースにOTおよび他の化学物質曝露の原因物質絞込みと膀胱癌を主とした健康影響との関連を検討することである。

(1) 全従業員の内部比較研究

ECETOC (European Centre of Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals ; 欧州化学物質生態毒性・毒性センター) の開発した ECETOC TRA²⁾ による吸入と経皮曝露推定値を利用したリスク係数を乗じた曝露推定量 C と膀胱がん罹患との関連についての検討

(2) 現従業者を対象とした追跡調査

(3) 健康管理

健康項目の評価

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全対象としたパイロット調査に協力可能かつ参加した作業員(106名)のうちOT等芳香族アミン〔OT、パラトルイジン (PT)、アニリン (AN)、2、4-キシリジン (MX)、オルトクロロアニリン (OCA)、オルトアニシジン (OA)〕取り扱い歴のある者(81名)を対象とした。曝露者のうち製造以外(検査、設備環境、工務)の作業員(5名)は解析から除外した。協力者からは、研究に関する説明書を配布し、書面による同意を得た。対象事業所は、OT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4工程(①反応工程(原料から)、②蒸留工程、③洗浄工程(ろ過含)、④乾燥工程(製品の袋詰め含))に分かれる。

曝露推定量の検討

OT等の作業環境濃度および生物学的モニタリング値が測定されていないため、入社以来の曝露情報を各芳香族アミンで、4工程毎に、曝露期間(年)、取扱い頻度/月(4群に分類:月平均10日以上、月平均3~9日以上、月平均1~2日以上、月平均1日未満)を利用し、取扱い頻度/月に準じて、10、5、1、0を代用し重みをつけた。これらの作成したjob-exposure matrixを用いて、昨年度は曝露推定量A、および曝露推定量Bと膀胱がん罹患・既往歴との関連について検討した。

曝露推定量 A：各芳香族アミン、各工程：曝露期間（年）×曝露頻度/月
 曝露推定量 B：各芳香族アミン、各工程：曝露推定量 A×取り扱い濃度（％）（工程別）×接触面積（％）（工程別）×100

今年度は、ECETOC TRA²⁾ による吸入と経皮曝露推定値を利用し、算出したリスク係数を乗じた曝露推定量 C を検討した。まず、プロセスカテゴリー、対象物質の性状、発じん性または揮発性、換気条件、作業形態、作業時間、対象物質含有量、保護手袋の使用状況を入力し、吸入曝露推定値と経皮曝露推定値を算出し、有害性評価値と比較した リスク特性比-吸入 (Risk Characterisation Ratio - Long-term Inhalation) とリスク特性比-経皮 (Risk Characterisation Ratio - Long-term Dermal) からリスク特性値 (Risk Characterisation Ratio - Long-term Total Exposure) を計算した。有害性評価値は、日本産業衛生学会 OT の許容濃度 1ppm (4.4mg/m³) と、皮膚吸収はウサギの LD50 3250mg/kg の 1/100 の値である 3.25mg/kg/day を使用した。さらに、リスク特性比-吸入は、災害調査報告書¹⁾ (平成 28 年 5 月) では、作業環境測定や個人ばく露測定結果から得られた最も高い値を許容濃度と比較しても遙かに下回る値であったため、吸入リスクは低いと判断し、リスク特性比-吸入に、0.053 (単位：ppm) (作業環境測定結果に記載のあるガス状オルト-トルイジンの最大値¹⁾) を乗じたリスク特性

比-吸入 (調整後) を計算し、リスク特性比-経皮と合計した値を、リスク係数として使用した。(表 1)

表 1 ECETOC TRA を利用したリスク係数

工程	リスク特性比-吸入	リスク特性比-経皮	リスク特性値	リスク特性比-吸入 (調整後)	リスク係数
反応	2.13	4.22	6.35	0.11	4.33
蒸留	1.28	2.53	3.81	0.07	2.60
洗浄	2.03	8.70	10.73	0.11	8.81
乾燥	1.01	4.35	5.37	0.05	4.40

曝露推定量 C：各芳香族アミン、各工程：曝露期間（年）×曝露頻度/月×リスク係数

アウトカムは、膀胱癌である。

(2) 現従業員を対象とした追跡調査の内容は、以下である。

OT の特殊健康診断対象者

会社による特殊健康診断 (自他覚症状、尿潜血、尿沈渣、尿細胞診)

健康調査票 (血尿などの自覚症状)

尿中腫瘍マーカー (NMP-22)

OT の特殊健康診断対象でない者

健康調査票 (血尿などの自覚症状)

尿中腫瘍マーカー (NMP-22)

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。

(3) 健康管理

罹患者 2 名の NMP-22 のこれまでの推移を検討した。

(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、研究に関する書面で説明後、書面による同意を得た。

C. 研究結果

(1) OT 等の 6 種類の芳香族アミン取り扱い歴のある者 (76 名) を対象とし、そのうち膀胱癌と診断された者は 10 名 (2017 年 3 月時点) である。対象者の特性を表 2 に示す。膀胱癌罹患者 (罹患群) は、膀胱癌非罹患者 (非罹患群) よりも年齢が高かったが、在職年数と喫煙歴に有意な差はなかった。

表 2 対象者の特性

	非罹患群 (n、66)	罹患群 (n、10)
	平均値 (範囲)、 有所見数	平均値 (範囲)、 有所見数
年齢	49.9 (19-73)	56.5* (42-71)
在職年数	23.3 (1-48)	20.3 (6-29)
喫煙	53 (80%)	8 (80%)

*: $p < 0.05$

表 3 曝露推定量 A、C と膀胱癌

	曝露推定量 A		曝露推定量 C	
	非罹患群	罹患群	非罹患群	罹患群
工程	平均値	平均値	平均値	平均値
総 OT	72.4	271.8**	416	1721**
反応	20.4	34.3	88	148
蒸留	7.5	5.3	19	14
洗浄	25.5	121.5**	225	1071**
乾燥	19.0	110.7**	84	488**
総 OA	29.3	60.6**	175	366**
反応	7.5	9.8	32	42
蒸留	2.2	1.3	6	3
洗浄	11.4	23.1*	100	204*
乾燥	8.3	26.4**	37	116**
総 MX	69.4	166.8**	400	1113**
反応	18.0	33.6	78	145
蒸留	7.3	6.1	19	16
洗浄	24.9	89.0**	219	784**
乾燥	19.1	38.1*	84	168*
総 P T	72.9	24.8	475	126
反応	21.8	2.0	94	9
蒸留	1.6	0.6	4	2
洗浄	36.0	4.0	317	35
乾燥	13.6	18.2	60	80
総 AN	82.9	177.4**	482	1095**
反応	21.1	27.1	91	117
蒸留	3.9	3.0	10	8
洗浄	28.4	72.7**	250	641**
乾燥	29.6	74.6**	130	329**
総 OCA	15.9	32.3**	94	208**
反応	3.4	3.5	15	15
蒸留	1.3	0.1	3	0

洗浄	6.1	15.0**	54	132**
乾燥	5.2	13.7**	23	61**

**： p<0.01、 *： p<0.05

表3に、非罹患群と罹患群に分けて曝露推定量Aと曝露推定量Cを用いて総OT（各OTの反応工程、蒸留工程、洗浄工程、乾燥工程の総和）などの工程で比較検討した結果を示す。

曝露推定量Aと曝露推定量Cに共通して2群間で有意差があった工程は、総OT工程、OT洗浄工程、OT乾燥工程、総OA工程、OA洗浄工程、OA乾燥工程、総MX工程、MX洗浄工程、MX乾燥工程、総AN工程、AN洗浄工程、AN乾燥工程、総OCA工程、OCA洗浄工程、OCA乾燥工程とすべて同様の工程で、PT以外のすべての芳香族アミンの総・洗浄・乾燥工程であった。罹患群では各芳香族アミンの中でOTは最も平均曝露推定量が高く、次にMX、ANが高かった。

(2) 不同意、非曝露のため不参加、退職を除き健康調査（のべ数：163名）におこなった。

自記式健康調査票による自覚症状（ここ1カ月）は、血尿 1/163、排尿時痛 1/163、残尿感 4/163であった。

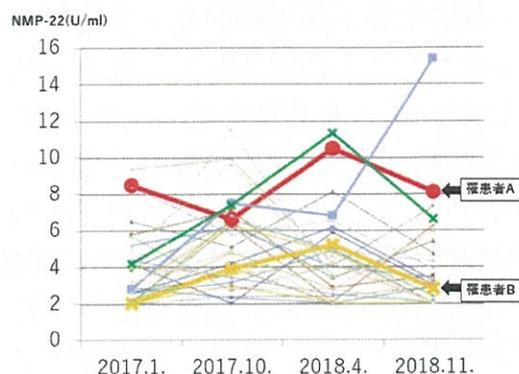
NMP-22 高値（12.0>U/ml）は4/162で、その内訳は膀胱癌既往者3名で、膀胱癌既往歴のない者1名であった。膀胱癌既往歴のない者1名は2次健診で膀胱癌を否定された。

コホート研究では、本年度研究期間中に2名が膀胱癌と新たに診断された。その特性は、平均年齢57.5歳、喫煙率

（過去喫煙含）100%、平均OT曝露期間15年、作業内容は、ともに③洗浄工程（ろ過含）と④乾燥工程（製品の袋詰め含）のみに従事していた。OT以外の芳香族アミンの芳香族アミンの曝露歴は、OA 1/2名、MX 2/2名、PT 1/2名、AN 2/2名、OCA 2/2名であった。OT曝露開始からの平均潜伏期間21年、膀胱炎の既往歴2/2名、過去の尿路系自覚症状は、血尿2/2名、排尿時痛2/2名、残尿感2/2名を認めた。膀胱癌診断時の尿路系自覚症状（血尿0/2名、排尿時痛0/2名、残尿感0/2名）は認めなかった。

(3) 新規罹患患者2名を含むNMP-22の2017年1月から2018年11月までの測定値の推移を図1に示した。罹患患者A（←上）は、初回測定から上昇傾向で2018年4月にNMP-22 >10 U/mlを示したが、高値（>12 U/ml）は示さなかった。罹患患者B（←下）は、4回ともにNMP-22 <6 U/mlであった。膀胱癌診断の契機となった検査は、2名とも尿沈渣（パパニコラ法）による細胞診の結果から、2次健診による精査で診断された。

図1 NMP-22（正常範囲<12 U/ml）測定値の推移（膀胱癌罹患患者は除外）



D. 考察

コホート研究では、本年度において膀胱癌罹患患者を2名認めた。

曝露推定量は、OTの経気道のみならず経皮からの曝露も示唆されたことから¹⁾、昨年度に曝露推定量A（各工程、曝露期間（年）×曝露頻度/月）に取扱い濃度、接触面積を考慮した曝露推定量Bで検討したが、吸入と経皮曝露のより客観的なリスク係数の検討が課題として残っていた。本年度は、吸入と経皮曝露推定値を算出できるECETOC TRAを利用したリスク係数を乗じた曝露推定量C（曝露推定量A×リスク係数）を検討した。結果は、OT（総工程、洗浄工程、乾燥工程）、OA（総工程、洗浄工程、乾燥工程）、MX（総工程、洗浄工程、乾燥工程）、AN（総工程、洗浄工程、乾燥工程）、OCA（総工程、洗浄工程、乾燥工程）において非罹患群と罹患群の比較で有意差を認めた。曝露評価の指標については、曝露推定量Aと曝露推定量Cでは、すべて同じ工程で有意差を認めたため、本対象集団では、最も簡易な計算式である曝露推定量Aで今後は曝露評価することとした。

罹患群では各芳香族アミンの中でOTは最も平均曝露推定量が高く、OTの洗浄・乾燥工程が最も膀胱癌と関連がある工程であると推察された。洗浄・乾燥工程はOT含有濃度が低く（OT濃度<1.5%）、かつ高頻度接触の工程であったこと、製品の短期毒性試験で高濃度の製品が生体内でOTに変わる可能性が示唆されことから³⁾、特定化学物質障害予防規則では、OT等の特殊健康診

断の実施対象者が重量の1%を超えて含有する製剤その他の物の製造・取扱業務に常時従事している労働者⁴⁾であるが、特殊健康診断の対象者の選定には、さらなる検討の必要性が示唆された。

複合曝露の影響の可能性については、MX（洗浄・乾燥工程）、AN（洗浄・乾燥工程）等は、OT（洗浄・乾燥工程）の作業との重複作業でもあることから、さらなる検討を要する。

膀胱癌罹患患者（2名）の特性は、平均年齢57.5歳、喫煙率（過去喫煙含）100%、平均OT曝露期間15年、OT曝露開始からの平均潜伏期間21年で、ともにMX、AN等の複合曝露があった。これまでの膀胱癌罹患患者（10名）の特性（平均年齢56歳、喫煙率80%、平均OT曝露期間16.5年、OT曝露開始からの平均潜伏期間21.9年）⁵⁾と同様の特性を示し、一定以上のOT曝露者が、約20年という潜伏期間を経て発症しており、今後も本集団の注意深い経過観察が必要である。

本調査で特殊健康診断に追加測定しているNMP-22は、ベンジジンの特殊健診項目見直し案⁶⁾で一次健診項目に追加されている腫瘍マーカーである。2名の罹患患者は、ともに2017年1月から4回の測定の中で高値(>12 U/ml)を示さなかった。しかし、1名は、上昇傾向を示していた。NMP-22の測定については、新規膀胱癌罹患患者数が少ないため、これまで高値を示した作業者の追跡も行いながら、今後さらなる検討の必要がある。

E. 結論

一定以上のOT曝露者が、約20年という潜伏期間を経て発症しており、今後も本集団の注意深い経過観察が必要である。

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

1. 論文発表

Eitaki Y、 Nakano M、 Kawai T、 Omae K、 Takebayashi T. Biological monitoring of o-toluidine in urine pretreated by an enzymatic deconjugation method. J Occup Health. 2019 Apr 19. doi: 10.1002/1348-9585.12058. [Epub ahead of print]

Nakano M、 Omae K、 Takebayashi T、 Tanaka S、 Koda S. An epidemic of bladder cancer: ten cases of bladder cancer in male Japanese workers exposed to ortho-toluidine. Journal of Occupational Health. 2018; 60: 307-311.

武林亨、田中茂、中野真規子、岩澤聡子。化学物質の経皮吸収と職業がん。産業医学ジャーナル。2018; 41: 89-93.

2. 学会発表

Nakano M、 et al. Epidemic of bladder cancer in Japanese male workers exposed mainly to *ortho*-toluidine. The 27th International Symposium on Epidemiology in

Occupational Health (EPICOH). 2019.4 (New Zealand、 Wellington)

永滝陽子他. 脱抱合処理の有無と尿中オルトトルイジンおよび代謝物の濃度の比較. 第92回日本産業衛生学会 2019年5月 (愛知県名古屋市)

中野真規子: オルト-トルイジン曝露による膀胱癌発症 (疫学研究より)、第2回学防護手袋研究会 2018年10月 (東京都中央区)

永滝陽子他. 酵素による脱抱合体反応を用いた尿中オルトトルイジン測定法の開発. 第91回日本産業衛生学会 2018年5月 (熊本県熊本市)

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) 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. 災害調査報告書 A-2015-07. 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. 平成28年5月.

<https://www.mhlw.go.jp/file/04-Houdouhappyou-11305000-Roudoukijunkyokuanzenseiseibu-Kagakubushitsutaisakuka/0000126164.pdf> (2019年5月18日アクセス可能)

2) European Centre For Ecotoxicology and toxicology of Chemicals (ECETOC) . Targeted Risk Assessment (TRA).

<http://www.ecetoc.org/tools/targete>

d-risk-assessment-tra/ (2019年5月18日アクセス可能)

3) 鰐淵 英機. オルトトルイジン等の吸収・代謝に関する研究. 平成29年度厚生労働科学研究費補助金(労働安全衛生総合研究事業) 総括・分担研究報告書.

4) 厚生労働省. オルト-トルイジンとMOCAの特殊健康診断について.

<https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11200000->

<http://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-11201000->

[Roudouki_junkyo-](http://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-11201000-Roudouki_junkyo-)

[Soumuka/0000089268.pdf](http://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-11201000-Roudouki_junkyo-Soumuka/0000089268.pdf) (2019年5月18日アクセス可能)

[Roudouki_junkyo/170301_02.pdf](http://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-11201000-Roudouki_junkyo-Soumuka/0000089268.pdf)

(2019年5月18日アクセス可能)

5) Nakano M, Omae K, Takebayashi T, Tanaka S, Koda S. An epidemic of bladder cancer: ten cases of bladder cancer in male Japanese workers exposed to ortho-toluidine. *Journal of Occupational Health*. 2018; 60: 307-311.

6) 特殊健康診断の健診項目に関する調査研究委員会報告書(平成19年度報告書)

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

特になし

平成 30 年度 厚生労働科学研究費補助金（労働安全衛生総合研究事業）
分担研究報告書

芳香族アミン取扱い作業歴のある集団における膀胱がんの標準化罹患比

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

2015 年、複数の芳香族アミンを取り扱っていた化学工場において、膀胱がんの多発事例が報告された。そこで本調査では、当該工場で芳香族アミンの取扱い歴があった作業者の作業歴データおよび膀胱がん罹患データと、国立がん研究センターがん情報サービスが公開している日本国民の人口データ・膀胱がん罹患データを用いて、芳香族アミン取扱い歴のある作業者を観察集団、日本国民を基準集団とした場合における、膀胱がんの標準化罹患比（SIR：Standardized Incidence Ratio）を推定した。

結果として、観察集団の標準化罹患比（基準集団と等しい場合を 100 とする）は 5、907（95%信頼区間：2、701 - 11、210）と有意に高く、芳香族アミンの累積曝露量が多い集団ほど標準化罹患比が大きい傾向が見られた。この結果は、芳香族アミンへの曝露が膀胱がんの発症に強く関与していたことを示唆するが、多くの作業者が複数種類の芳香族アミンに混合曝露していたため、膀胱がん罹患に対する寄与度を芳香族アミン別に分離し、定量的に示すことは困難であった。

研究協力者

品川 貴郁（元大学院医学系研究科 社会医学講座 環境医学、現 日本生命保険相互会社）

A. 研究目的

2015年、複数の芳香族アミンを取り扱っていた某化学工場において、膀胱がんの多発事例が報告された¹⁾。しかし、当該工場では芳香族アミンを取り扱っていた作業員の膀胱がん罹患率が、日本国民全体と比較してどの程度の水準であったのかについて、疫学的な検討はなされていなかった。

そこで昨年度は、当該工場における従業員の作業歴データと、膀胱がんの罹患データを用いて、日本国民に対する膀胱がんの標準化罹患比（SIR：Standardized Incidence Ratio）を推定し、芳香族アミン曝露と膀胱がん発症の関連性について検討した。

しかし昨年度の調査では、対象とするデータの抽出方法（実際には芳香族アミンを取り扱っていなかった従業員も分析対象に含まれていた）や、分析手法（信頼性の低い“作業別曝露濃度”を累積曝露量の計算に取り入れていた）、潜伏期間の設定（0、3、5年と短期であった）などについて、改善の余地が存在していた。

そこで本年度は、当該工場では芳香族アミンを実際に取り扱っていた作業員のみを対象とした上で、昨年度よりも信頼性の高い手法によるSIRの推定を試みた。

B. 研究方法

当該工場の従業員（退職者を含む）に対して疫学調査を実施した慶應義塾大学医学部衛生学公衆衛生学教室より、作業歴データの提供を受けた。

データ提供のあった従業員120名のうち、詳細な作業歴が不明であった9名、芳香族アミン取扱い作業を行わない「工務」「原料・製品検査」「設備環境」の従事者15名、現場作業員のうち芳香族アミンへの曝露が無かった4名を分析対象から除外した。その結果、芳香族アミンへの曝露を確認できた92名（全て男性、膀胱がん罹患患者9名）が分析対象となった（図1）。

SIRの推定では、観察人年の計算が必要となる。本調査では、観察開始日を「各々の作業開始日」、観察終了日を「膀胱がん罹患患者：膀胱がん診断日」「現職者（25名）：2017/9/8」「疫学調査に参加した退職者（3名）：2017/1/18」「疫学調査に参加せず、生存を確認できた退職者（46名）：2017/1/17」「生存を確認できなかった退職者（9名）：各々の退職日」として人年計算を行った。その結果、対象の総観察人年は1769.5人年、観察期間中央値は20.1年であった。

芳香族アミン取扱い作業歴のデータには、作業員別・作業期間別の「取扱い物質」「作業工程」「作業頻度」の情報が含まれていた（表1）。このうち「取扱い物質」は、OT（オルト-トルイジン）、OA（オルト-アニシジン）、MX（2,4-キシリジン）、PT（パラ-トルイジン）、AN（アニリン）、OCA（オルト-クロロアニリン）、その他の7種類に分類されていた。また「作業工程」は、反応、蒸留、濾過・洗浄、乾燥・袋詰め、の4種類に分類されていた。そして「作業頻度」は、月平均10日以上、月平均2

～9日、月平均1～2日、月平均1日未満の4種類に分類されていた。

SIRの推定では、年齢階級別の観察人年を算出する必要がある。また本調査では、芳香族アミンの種類や累積曝露量によって膀胱がん罹患率が異なると予想されたため、芳香族アミン別・累積曝露量別・年齢階級別の人年を計算することとした。

作業に従事した期間が同一であっても、実際に作業に従事した頻度によって曝露量が異なると考えられたため、芳香族アミン取扱い作業の頻度が月平均10日以上であれば「10」、月平均2～9日であれば「5」、月平均1～2日であれば「1」、月平均1日未満であれば「0」を、「作業頻度係数」として仮定した。そして、対象とする作業期間の「従事年数」と「作業頻度係数」の乗算値を、その期間における芳香族アミンの「曝露量」とした（同一期間中に複数の作業工程に従事していた場合は、それぞれの工程における「曝露量」を合算した）。

■曝露量計算の例（表1参照）

A氏の1988年1月～1989年12月（1年間）におけるOT（オルト-トルイジン）の作業頻度は、反応工程が「月平均10日以上」、蒸留工程が「月平均1日未満」、濾過・洗浄工程が「月平均2～9日」、乾燥・袋詰め工程が「月平均1日未満」である。よって、この期間におけるOTの曝露量は、「 $1 \times (10+0+5+0) = 15$ 」となる。

上記の計算で得られた曝露量を、観察開始時点から加算していくことで、累積曝露量別の人年を得ることができる。今回の分析では、累積曝露量を「0 (Reference)」「0超50未満」「50以上100未満」「100以上200未満」「200以上300未満」「300以上」の6グループに層別化した（ただし、曝露量の少なかったOCAは累積曝露量100以上を同一グループ、OAとPTは累積曝露量50以上を同一グループとした）。

また、芳香族アミンへの曝露から膀胱がんの発症までには、一定の「潜伏期間」が存在すると考えられたため²⁻⁵⁾、本調査では、0年、5年、10年、15年の4パターンの「潜伏期間」を設定し、それぞれでSIR推定を行った。

以上のような方法に基づき、観察集団における芳香族アミン別・潜伏期間別・累積曝露量別・年齢階級別の人年計算を行った。

SIRは観察集団の年齢階級別の観察人年に、基準集団の年齢階級別罹患率を乗算することで期待罹患数を算出し、観察集団の罹患数を期待罹患数で除算することで得られる。本調査では、SIR推定における基準集団データとして、国立がん研究センターがん情報サービスが公開している「地域がん登録全国推計によるがん罹患データ」の、膀胱がん罹患数データおよび人口データ（いずれも男性のみ）を用いた⁶⁾。なお、当該工場で発生した膀胱がんには上皮内癌が含まれていたため、基準集団においても上皮内癌を含む膀胱がん罹患数を用いた。ところで、SIRの

推定について正確を期すのであれば、観察集団の人年を暦年別に層別化し、基準集団の罹患率も暦年別のものを用いて SIR 推定を行うべきである。しかし、人年計算が煩雑になること、基準集団で上皮内癌を含む膀胱がん罹患数が 2003～2014 年度分しか得られなかったこと、基準集団の年齢階級別膀胱がん罹患率は、暦年毎に大きく変化していなかったことを鑑み（図 2）、基準集団の 2003～2014 年度の膀胱がん罹患数・人口をそれぞれ合算して得られた年齢階級別の膀胱がん罹患率を算出し、この罹患率を用いて SIR の推定を行うこととした。

SIR の推定に際しては、フィッシャーの正確確率検定による 95%信頼区間の計算を行った。また、累積曝露量が多いグループほど SIR が高い傾向にあるか否かを判定するため、推定された芳香族アミン別・潜伏期間別・累積曝露量別の SIR について、Kendall の順位相関係数と、その P 値（有意水準 5%）を算出した。総計ソフトウェアは OpenEpi Version 3.01 および EZR Version 1.37 を用いた^{7, 8)}。

なお本調査は、大阪大学医学部附属病院にて観察研究倫理審査委員会の倫理審査を受け、承認を得ている。

C. 研究結果

表 2～7 に、芳香族アミン別・潜伏期間別・累積曝露量別の SIR と、Kendall 順位相関係数の推定結果を示す。

当該工場の芳香族アミン取扱い作業者全体における、一般国民に対する膀胱がんの SIR（基準集団を 100 とする）は 5、907 で、95%信頼区間は 2、701-11、210 であった。

また、OT（潜伏期間：0、5、10 年）、MX（潜伏期間：0 年）、AN（潜伏期間：5 年）において、累積曝露量別の SIR に関して有意な正の相関係数が得られた。

D. 考察

芳香族アミン取扱い歴のある作業者を観察集団とした場合の SIR が有意に高かったことと、一部において芳香族アミンの累積曝露量が多い集団ほど標準化罹患比が大きい傾向が見られたことから、芳香族アミンへの曝露が、膀胱がんの罹患に関与していた可能性が示唆された。

本調査の限界としてまず挙げられるのは、今回の方法で算出した曝露量が、芳香族アミンという化学物質の“真の曝露量”を示していない点である。本調査で示した曝露量は、作業の「従事年数」と「頻度」の乗算値、すなわち“作業回数”を意味しているに過ぎず、作業工程による曝露量の違いも考慮されていない。“真の曝露量”を算出するためには、作業者一人一人の芳香族アミン曝露量を、何らかの生化学検査等によって明らかにする必要がある。しかし本調査を行った時点では、芳香族アミンの曝露量を正確に反映する検査は開発されておらず、“真の曝露量”を用いる分析は困難であっ

たため、今回の曝露量推計方法を用いることとなった。

本調査のもう一つの限界として、「芳香族アミンの種類別」に膀胱がん罹患への寄与度を分析することが困難であった点が挙げられる。今回の分析結果では、芳香族アミンの累積曝露量が多いほどSIRが高い傾向が見られた。しかし、本調査で用いた作業歴データによれば、同一の作業期間中に、複数種類の芳香族アミンに同時に曝露していた作業者が多かったことが判明している。そのため、膀胱がん罹患に対する寄与度を芳香族アミンの種類別に分離し、定量的に示すことは困難であった。芳香族アミンの種類別の寄与度に関しては、混合曝露のない集団を対象とした疫学調査が必要と思われた。

上記の通り、本調査で提供を受けたデータによって実行可能な疫学的分析には限界が存在した。芳香族アミン曝露と膀胱がん罹患の関連性についてより詳細な検討を行うためには、本調査で利用したデータよりも更に精緻なデータの収集が必要と考えられた。

E. 結論

芳香族アミン取扱い作業者を観察集団、日本国民を基準集団とした場合の膀胱がんの標準化罹患比は有意に高く、芳香族アミンの累積曝露量が多い集団ほど標準化罹患比が大きい傾向が見られた。

この結果は、芳香族アミンへの曝露が膀胱がんの発症に強く関与していたことを示唆する。ただし、多くの作業者が複数種類の芳香族アミンに混合曝露していたため、膀胱がん罹患に対する寄与度を芳香族アミン別に分離し、定量的に示すことは困難であった。

F. 健康危険情報

(総括研究報告書にまとめて記入)

G. 研究成果の発表

なし

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. 災害調査報告書. https://www.jniosh.go.jp/publication/pdf/saigai_houkoku_2016_01.pdf (2019年4月1日アクセス可能)
2. Rubino GF、 Scansetti G、 Piolatto G、 et al. The carcinogenic effect of aromatic amines: an epidemiological study on the role of o-toluidine and 4, 4'-methylene bis (2-methylaniline) in inducing

- bladder cancer in man. Environ Res. 1982 Apr;27(2):241-54.
3. Stasik MJ. Carcinomas of the urinary bladder in a 4-chloro-o-toluidine cohort. Int Arch Occup Environ Health. 1988;60(1):21-4.
4. Ward E, Carpenter A, Markowitz S, et al. Excess number of bladder cancers in workers exposed to ortho-toluidine and aniline. J Natl Cancer Inst. 1991 Apr 3;83(7):501-6.
5. Markowitz SB, Levin K. Continued epidemic of bladder cancer in workers exposed to ortho-toluidine in a chemical factory. J Occup Environ Med. 2004 Feb;46(2):154-60.
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」. 地域がん登録全国推計によるがん罹患データ (1975年～2014年).
[https://ganjoho.jp/data/reg_stat/statistics/dl/cancer_incidence\(1975-2014\).xls](https://ganjoho.jp/data/reg_stat/statistics/dl/cancer_incidence(1975-2014).xls) (2019年4月1日アクセス可能)
7. Dean AG, Sullivan KM, Soe MM. OpenEpi: Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health, Version 3.01. http://www.openepi.com/Menu/OE_Menu.htm (Accessed 2019/4/1).
8. Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics. Bone Marrow Transplant. 2013 Mar;48(3):452-8.

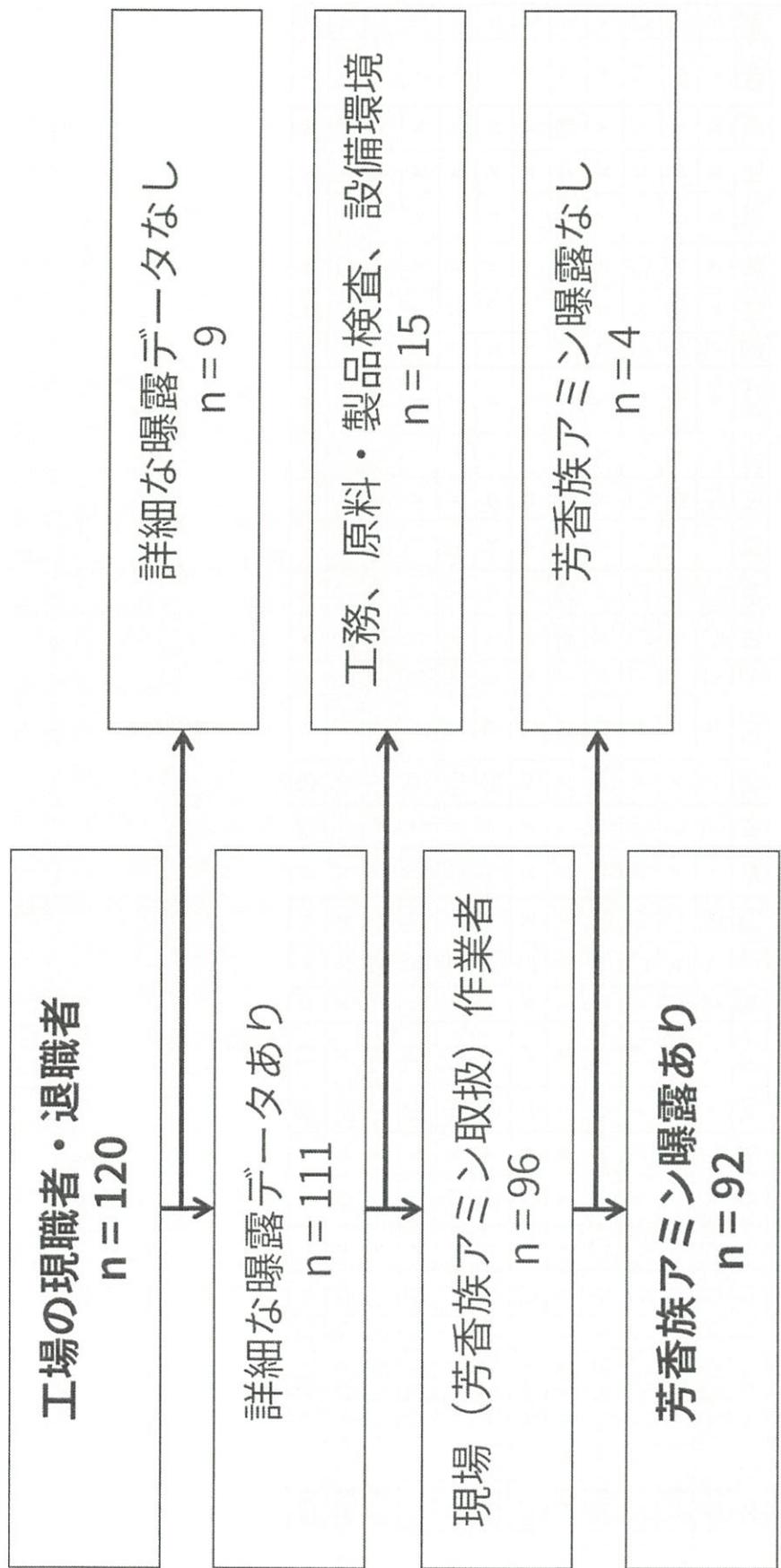


図1 分析対象

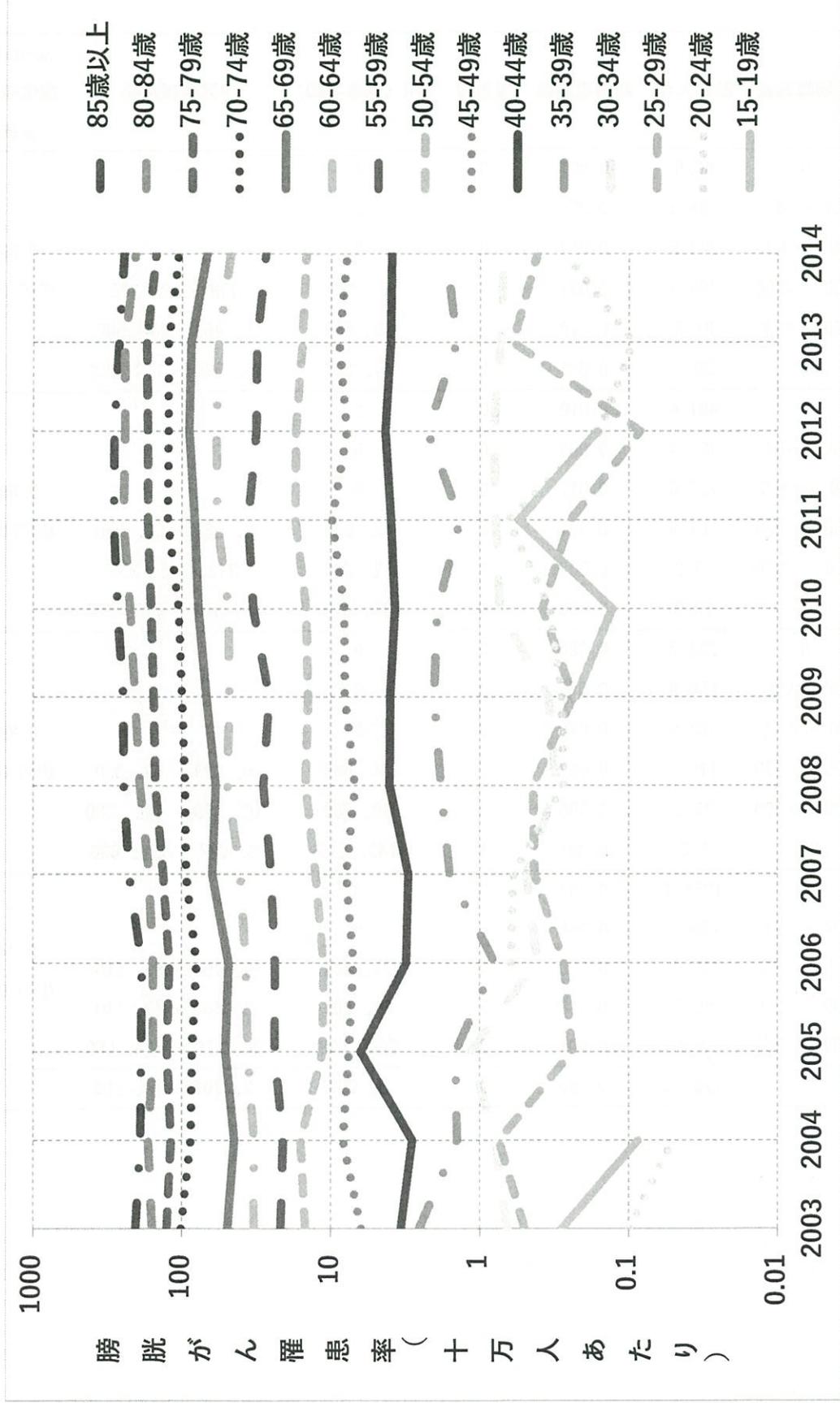


図2 膀胱がん罹患率 (全国推計値、男性、上皮内癌含む)

表2 OT（オルト-トルイジン）

潜伏期間	累積曝露量	観察人年	期待罹患数	罹患数	SIR（基準=100）	95%信頼区間	Kendall 順位相関 係数
0年	0	80.5	0.001	0	0	-	0.89 (P=0.02)
	0< - <50	954.3	0.083	0	0	-	
	50 - <100	343.5	0.017	0	0	-	
	100 - <200	259.9	0.031	2	6、422	778 - 23、200	
	200 - <300	81.3	0.010	2	20、589	2、493 - 74、380	
	300 -	50.1	0.011	5	47、237	15、340 - 110、200	
5年	0	497.4	0.010	0	0	-	0.89 (P=0.02)
	0< - <50	761.4	0.082	0	0	-	
	50 - <100	257.6	0.017	0	0	-	
	100 - <200	187.5	0.031	4	12、988	3、539 - 33、250	
	200 - <300	47.2	0.007	1	13、496	342 - 75、200	
	300 -	18.3	0.006	4	67、419	18、370 - 172、600	
10年	0	893.2	0.026	0	0	-	0.89 (P=0.02)
	0< - <50	556.9	0.075	0	0	-	
	50 - <100	182.9	0.018	0	0	-	
	100 - <200	110.3	0.027	5	18、568	6、029 - 43、330	
	200 - <300	25.2	0.006	3	50、750	10、470 - 148、300	
	300 -	1.0	0.001	1	143、215	3、627 - 798、000	
15年	0	1251.4	0.052	0	0	-	0.74 (P=0.08)
	0< - <50	358.8	0.066	0	0	-	
	50 - <100	105.3	0.016	4	24、844	6、769 - 63、610	
	100 - <200	50.7	0.018	3	16、805	3、466 - 49、110	
	200 - <300	3.2	0.001	2	200、598	24、290 - 724、600	
全体		1769.5	0.152	9	5、907	2、701 - 11、210	

表 3 OA (オルト-アニシジン)

潜伏期間	累積曝露量	観察人年	期待罹患数	罹患数	SIR (基準=100)	95%信頼区間	Kendall 順位相関係数
0年	0	850.5	0.052	0	0	-	1 (P=0.33)
	0< - <50	732.0	0.080	3	3、752	774 - 10、970	
	50 - <100	187.0	0.020	6	29、555	10、850 - 64、330	
5年	0	1129.1	0.062	0	0	-	0.33 (P=1)
	0< - <50	535.2	0.076	8	10、569	4、563 - 20、820	
	50 - <100	105.2	0.014	1	6、924	175 - 38、580	
10年	0	1333.4	0.075	1	1、341	34 - 7、473	0.33 (P=1)
	0< - <50	371.0	0.066	7	10、593	4、259 - 21、820	
	50 - <100	65.2	0.012	1	8、533	216 - 47、550	
15年	0	1509.9	0.092	1	1、083	27 - 6033	1 (P=0.33)
	0< - <50	230.0	0.053	7	13、257	5、330 - 27、310	
	50 - <100	29.6	0.007	1	13、890	352 - 77、390	
全体		1769.5	0.152	9	5、907	2、701 - 11、210	

表 4 MX (2、4-キシリジン)

潜伏期間	累積曝露量	観察人年	期待罹患数	罹患数	SIR (基準=100)	95%信頼区間	Kendall 順位相関係数
0 年	0	131.2	0.003	0	0	-	0.83 (P=0.02)
	0< - <50	964.4	0.084	0	0	-	
	50 - <100	312.3	0.019	1	5、205	132 - 29、000	
	100 - <200	268.1	0.032	4	12、466	3、397 - 31、920	
	200 - <300	68.8	0.008	3	37、182	7、668 - 108、700	
	300 -	24.7	0.005	1	18、596	471 - 103、600	
5 年	0	533.2	0.012	0	0	-	0.45 (P=0.23)
	0< - <50	777.2	0.084	0	0	-	
	50 - <100	236.2	0.020	1	4、961	126 - 27、640	
	100 - <200	178.6	0.029	6	20、406	7、488 - 44、420	
	200 - <300	36.9	0.006	2	34、297	4、153 - 123、900	
	300 -	7.3	0.002	0	0	-	
10 年	0	914.0	0.027	0	0	-	0.09 (P=0.82)
	0< - <50	583.9	0.079	0	0	-	
	50 - <100	160.4	0.022	2	8、969	1086 - 32400	
	100 - <200	95.8	0.022	7	31、517	12670 - 64930	
	200 - <300	15.2	0.002	0	0	-	
	300 -	0.3	0.000	0	0	-	
15 年	0	1260.5	0.052	0	0	-	0.32 (P=0.45)
	0< - <50	385.3	0.070	2	2、838	344 - 10、250	
	50 - <100	85.1	0.019	4	20、737	5、650 - 53、090	
	100 - <200	35.2	0.010	3	29、733	6、132 - 86、890	
	200 - <300	3.4	0.000	0	0	-	
全体		1769.5	0.152	9	5、907	2、701 - 11、210	

表5 パラ-トルイジン (PT)

潜伏期間	累積曝露量	観察人年	期待罹患数	罹患数	SIR (基準=100)	95%信頼区間	Kendall 順位相関係数
0年	0	1673.6	0.146	7	4、806	1、932 - 9、902	-0.33 (P=1)
	0< - <50	90.7	0.007	2	30、405	3、682 - 109、800	
	50 -	5.2	0.000	0	0	-	
5年	0	1742.3	0.150	9	6、012	2、749 - 11、410	-1
	0< - <50	27.2	0.003	0	0	-	(P=1)
10年	0	1757.8	0.151	9	5、975	2、732 - 11、340	-1
	0< - <50	11.7	0.002	0	0	-	(P=1)
15年	0	1762.8	0.151	9	5、958	2、724 - 11、310	-1
	0< - <50	6.7	0.001	0	0	-	(P=1)
全体		1769.5	0.152	9	5、907	2、701 - 11、210	

表 6 アニリン (AN)

潜伏期間	累積曝露量	観察人年	期待罹患数	罹患数	SIR (基準=100)	95%信頼区間	Kendall 順位相関係数
0 年	0	92.7	0.003	0	0	-	0.69 (P=0.06)
	0< - <50	884.3	0.079	0	0	-	
	50 - <100	323.1	0.017	1	6、044	153 - 33、680	
	100 - <200	308.5	0.035	5	14、366	4、664 - 33、520	
	200 - <300	104.8	0.012	2	16、699	2、022 - 60、320	
	300 -	56.2	0.007	1	13、795	349 - 76、860	
5 年	0	504.8	0.011	0	0	-	0.97 (P=0.01)
	0< - <50	700.2	0.078	0	0	-	
	50 - <100	255.3	0.018	2	11、276	1、365 - 40、730	
	100 - <200	225.0	0.033	4	12、305	3、353 - 31、500	
	200 - <300	66.8	0.010	2	19、127	2、316 - 69、090	
	300 -	17.4	0.003	1	33、662	853 - 187、600	
10 年	0	891.8	0.026	0	0	-	0.74 (P=0.08)
	0< - <50	509.9	0.072	0	0	-	
	50 - <100	197.4	0.020	3	14、833	3、059 - 43、350	
	100 - <200	140.9	0.028	4	14、251	3、883 - 36、490	
	200 - <300	29.5	0.006	2	34、886	4、225 - 126、000	
15 年	0	1249.2	0.052	0	0	-	0.32 (P=0.45)
	0< - <50	321.9	0.062	1	1、622	41 - 9、037	
	50 - <100	133.8	0.020	3	14、904	3、074 - 43、560	
	100 - <200	59.8	0.018	5	27、217	8、837 - 63、520	
	200 - <300	4.7	0.000	0	0	-	
全体		1769.5	0.152	9	5、907	2、701 - 11、210	

表7 オルト-クロロアニリン (OCA)

潜伏期間	累積曝露量	観察人年	期待罹患数	罹患数	SIR (基準=100)	95%信頼区間	Kendall 順位相関係数
0年	0	532.3	0.037	0	0	-	0.18 (P=0.72)
	0< - <50	1068.4	0.098	7	7、124	2、864 - 14、680	
	50 - <100	148.8	0.017	2	12、014	1、455 - 43、400	
	100 -	20.0	0.001	0	0	-	
5年	0	865.7	0.045	0	0	-	-0.18 (P=0.72)
	0< - <50	799.0	0.093	8	8、569	3、700 - 16、880	
	50 - <100	94.4	0.014	1	7、246	184 - 40、370	
	100 -	10.4	0.000	0	0	-	
10年	0	1150.1	0.056	0	0	-	-0.18 (P=0.72)
	0< - <50	552.1	0.084	8	9、514	4、108 - 18、750	
	50 - <100	61.9	0.012	1	8、595	218 - 47、890	
	100 -	5.4	0.000	0	0	-	
15年	0	1411.4	0.076	0	0	-	0.18 (P=0.72)
	0< - <50	325.2	0.068	8	11、755	5、075 - 23、160	
	50 - <100	32.6	0.008	1	12、285	311 - 68、450	
	100 -	0.4	0.000	0	0	-	
全体		1769.5	0.152	9	5、907	2、701 - 11、210	

平成 30 年度厚生労働科学研究費補助金(労働安全衛生総合研究事業)

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がん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 Acetoaceto-o-toluidide (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がん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に関して本年度は芳香族アミン取扱事業所で発生したヒト膀胱がん、比較対象として芳香族アミン類の暴露のない膀胱がんについて次世代シーケンサーを用いたがん関連遺伝子の変異解析を行ったが、両者の遺伝子変異には大きな違いは認められなかった。②動物モデルを用いた AAOT の膀胱発がん性評価に関して本年度は AAOT の 2 段階膀胱発がん試験を施行した。6 週齢の F344 ラットに既知の膀胱発がん物質である BBN を 4 週間飲水投与後、AAOT を混餌で 0%、0.167%、0.5%、1.5%濃度で 36 週まで投与したところ、0.5%以上の AAOT 投与群では膀胱腫瘍の発生数、発生率が有意に増加していた。また、AAOT 投与群では、o-toluidine (OTD) が尿中 AAOT、OTD 代謝物よりも著明に高濃度で検出された。これらの結果から、AAOT が膀胱発がん促進作用を有すること、AAOT が既知の膀胱発がん物質である OTD に代謝され尿中に排泄されることが膀胱発がん促進作用に関与している可能性が高いことが明らかとなった。次年度以降は AAOT の詳細な発がんメカニズムについて検討を行う予定である。

研究協力者

魏民、行松直、奥野高裕 (大阪市立大学)、柳場由絵、須田恵、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)

A. 研究目的

芳香族アミンによる膀胱がん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がんについて、ヒト腫瘍検体と動物モデルの両面から解析し、Acetoaceto-*o*-toluidide (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がんの遺伝子変異解析結果を、芳香族アミンの曝露がない膀胱がん症例や既存の膀胱癌変異遺伝子データベース (TCGA) 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。

平成 30 年度は職業性膀胱がん 7 例と比較対象として芳香族アミン非暴露膀胱がん 8 例 (病理学的進行度をマッチングした大阪市立大学附属病院の膀胱がん症例) を解析した。ニードルダイセクション法によって FFPE ブロックの腫瘍部を切り出し、QIAamp DNA FFPE Tissue Kit (QIAGEN) を用いて DNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いた遺伝子変異解析を行った。

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。1 および 2 は前年度までに解析を終了しており、平成 30 年度は 3 の 2 段階膀胱発がん試験を行った。

2 段階膀胱発がん試験では 6 週齢の雄雌 F344 ラット 162 匹 (雄 81 匹、雌 81 匹) を雄雌それぞれ 4 群ずつ、計 8 群に群分けした。既知の膀胱発がん物質である N-butyl-(-4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) を 4 週間飲水投与し、1 週間の休薬期間の後、AAOT を 0%、0.167%、0.5%、1.5%濃度で 31 週間混餌投与し、解剖を行った (図 1)。観察期間中には毎週飲水量、摂餌量、および体重を測定した。解剖時には膀胱を採取して重量を測定し、ホルマリン注入固定後に病理組織学的な検索を行った。

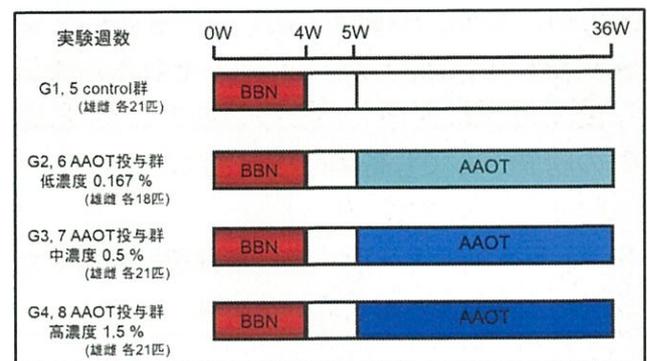


図 1. AAOT 2 段階膀胱発がん試験の実験プロトコール

(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、研究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)。また、動物実験に関しては大阪市立大学実験動物施設の承認を得ている。動物

実験施設飼育規定を遵守し、動物愛護の精神で飼育するとともに、解剖に際しては苦痛を与えないように麻酔下脱血による安楽死を施行している。

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

同意を得られた職業性膀胱がん罹患患者 7 名の FFPE ブロックから DNA を抽出した。7 例中 6 例で次世代シーケンサーを用いた遺伝子変異解析が可能であった。比較対象としての芳香族アミン非暴露群の膀胱がん症例では全例で遺伝子変異解析が施行できた。芳香族アミン暴露群と非暴露群で変異の頻度が高かった遺伝子について、TCGA データベースで報告されている変異率を加えて表1に示す。芳香族アミン暴露群ではこれまで膀胱がんで変異率が高いと報告されている TP53 や FGFR3 などが全例で確認され、さらにこれまでの報告では変異率が低い FLT3、KDR、STK11、PDGFR、APC、ERBB4、RET など高率に変異が認められた。しかしながら、それらの遺伝子変異は比較対象である芳香族アミン非暴露群の膀胱がんでも高率に検出された。

表 1. 芳香族アミン取り扱い事業所で発生した膀胱がんで検出された遺伝子変異

	芳香族アミン 曝露群(n=6)	芳香族アミン 非曝露群(n=8)	TCGA2017 (n=412)
TP53	6 (100%)	7 (87.5%)	198 (48.1%)
FGFR3	6 (100%)	8 (100%)	58 (14.1%)
FLT3	6 (100%)	8 (100%)	10 (2.4%)
KDR	6 (100%)	8 (100%)	17 (4.1%)
STK11	6 (100%)	7 (87.5%)	0 (0%)
PDGFRA	6 (100%)	8 (100%)	15 (3.7%)
APC	6 (100%)	8 (100%)	25 (6.1%)
ERBB4	5 (83.3%)	6 (75%)	13 (3.2%)
RET	5 (83.3%)	7 (87.5%)	9 (2.2%)
CSF1R	4 (66.7%)	7 (87.5%)	11 (2.7%)
PIK3CK	3 (50%)	2 (25%)	91 (22.1%)
HRAS	3 (50%)	2 (25%)	18 (4.4%)
ALK	3 (50%)	2 (25%)	13 (3.2%)

②動物モデルを用いた AAOT の膀胱発がん性評価

2 段階膀胱発がん試験の一般状態を表 2 に示す。体重は雄では AAOT1.5%投与群、雌では AAOT0.5%以上の投与群で有意な低下が認められた。飲水量や摂餌量は雄雌ともにコントロール群と AAOT 投与群で差はみられなかった。

36 週時のラット尿中の AAOT、o-toluidine(OTD)及び OTD 代謝物の濃度を表 3 に示す。AAOT 投与群では、OTD が AAOT、OTD 代謝物よりも著明に高濃度で検出された。AAOT 投与群では、濃度依存性に AAOT、OTD 及び OTD 代謝物いずれも濃度上昇が認められた。

膀胱断面の肉眼像を図 2 に示す。雄雌ともに AAOT 投与群では結節性病変や腫瘍性病変の数が増加しており、腫瘍径が増加していた。膀胱重量は雄雌ともに 0.5%以上の AAOT 投与群で有意に増加していた(図 3)。病理組織学的に検討し、PN hyperplasia、papilloma、urothelial carcinoma および papilloma と urothelial carcinoma を合わせて total tumor として分類した。病変それぞれの発生率や発生数を表 4 に示す。雄雌ともに 0.5%以上の AAOT 投与群で urothelial carcinoma の発生率が有意に増加しており、雄の 0.5%以上投与群と雌の 1.5%投与群で total tumor の発生率が有意に増加していた。また、雄の 1.5%投与群と雌の 0.5%以上投与群で urothelial carcinoma と total tumor の発生数が有意に増加していた。

表 2. AAOT 2 段階膀胱発がん試験 (一般状態)

Group	AAOT (%)	No. of rats	Final body weight (g)	Average food consumption (g/day/rat)	Average water consumption (g/day/rat)	Daily intake of AAOT (g/kg b.w./day)
Male						
G1	0	21	403.6 ± 19.5	14	19.4	0
G2	0.167	18	411.7 ± 19.1	14	19.8	0.07
G3	0.5	21	406.4 ± 14.1	14.2	19.8	0.21
G4	1.5	21	364.4* ± 14.3	14.1	19.2	0.65
Female						
G5	0	21	206.2 ± 8.3	9.1	14.6	0
G6	0.167	18	202.7 ± 8.2	9.2	15.4	0.08
G7	0.5	21	196.5* ± 6.5	9.1	14.8	0.25
G8	1.5	21	185.8* ± 5.4	8.4	14.6	0.71

Significant differences compared with the control group (*p<0.05)

表 3. AAOT 2 段階膀胱発がん試験 (尿中代謝物)

Group	AAOT (%)	No. of rats	Urinary metabolites (µM)			
			AAOT ^a	OTD ^b	NAOTD ^c	4AMC ^d
Male						
G1	0	3	0.1 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
G2	0.167	3	2.7 ± 0.3	69.6 ± 38.3	9.0 ± 2.0	1.2 ± 0.2
G3	0.5	3	12.4 ± 5.1	392.7 ± 101.0	28.7 ± 7.5	18.1 ± 13.2
G4	1.5	3	57.6 ± 37.7	3749.6 ± 580.0	44.9 ± 8.6	163.7 ± 65.8
Female						
G5	0	5	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.1
G6	0.167	3	1.6 ± 0.3	17.0 ± 13.9	4.0 ± 1.9	0.9 ± 1.6
G7	0.5	3	4.5 ± 1.1	106.8 ± 22.4	26.5 ± 6.0	13.5 ± 11.7
G8	1.5	5	24.6 ± 19.4	1191.1 ± 674.0	39.1 ± 15.5	78.9 ± 45.8

^a acetoacetyl-toluidide
^b toluidide
^c N-acetyl-toluidide
^d 4-aminocresol

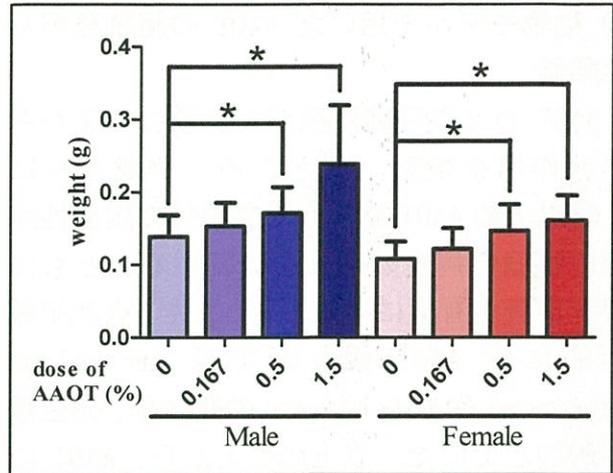


図 3 AAOT 2 段階膀胱発がん試験 (膀胱重量)

表 4. AAOT 2 段階膀胱発がん試験 (膀胱腫瘍の発生率、発生数)

Group	AAOT (%)	No. of rats	Incidence (%)				Multiplicity			
			PN hyperplasia	Papillomas	Urothelial carcinomas	Total tumors	PN hyperplasia	Papillomas	Urothelial carcinomas	Total tumors
Male										
G1	0	21	14 (66.7%)	8 (38.1%)	3 (14.3%)	10 (47.6%)	1.1 ± 1.1	0.5 ± 0.7	0.1 ± 0.4	0.6 ± 0.7
G2	0.17	18	17 (94.4%)*	11 (61.1%)	4 (22.2%)	13 (72.2%)	2.7 ± 1.7*	0.7 ± 0.8	0.2 ± 0.4	0.9 ± 0.8
G3	0.5	21	21 (100%)*	14 (66.7%)	10 (47.6%)*	18 (85.7%)*	3.0 ± 1.6**	0.8 ± 0.7	0.6 ± 0.8	1.4 ± 1.0
G4	1.5	21	21 (100%)*	20 (95.2%)*	18 (85.7%)*	21 (100%)*	5.4 ± 3.0**	2.0 ± 1.2**	1.2 ± 0.9**	3.2 ± 1.5**
Female										
G5	0	21	16 (76.2%)	5 (23.8%)	3 (14.3%)	7 (33.3%)	1.2 ± 0.9	0.2 ± 0.4	0.1 ± 0.4	0.4 ± 0.6
G6	0.17	18	16 (88.9%)	8 (44.4%)	5 (27.8%)	11 (61.1%)	2.3 ± 2.1	0.4 ± 0.5	0.3 ± 0.5	0.7 ± 0.7
G7	0.5	21	21 (100%)*	8 (38.1%)	10 (47.6%)*	14 (66.7%)	3.5 ± 2.5**	0.5 ± 0.7	0.5 ± 0.6*	1.0 ± 1.0*
G8	1.5	21	21 (100%)*	11 (52.4%)	11 (52.4%)*	17 (81.0%)*	4.7 ± 3.0**	0.9 ± 1.0	0.5 ± 0.5*	1.4 ± 1.1**

Significant differences compared with the control group (*p<0.05, **p<0.01)

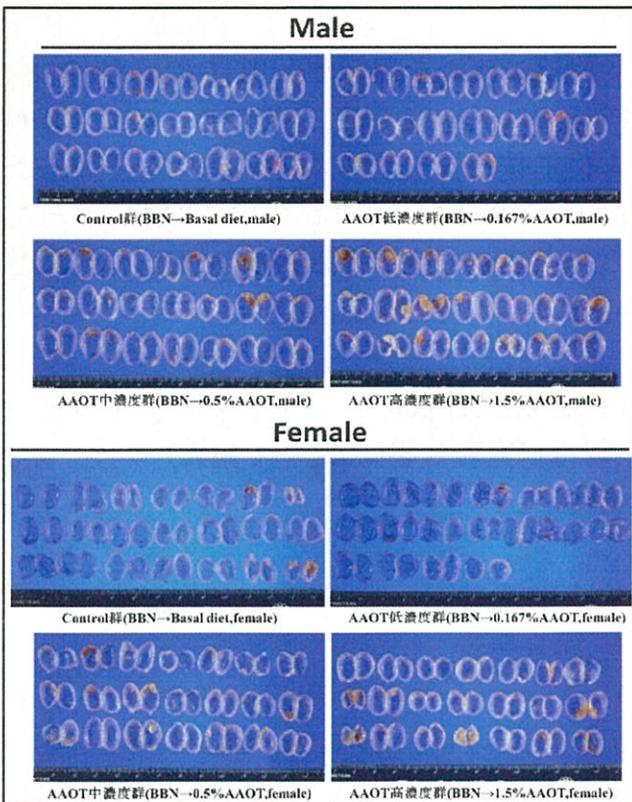


図 2. AAOT 2 段階膀胱発がん試験 (膀胱肉眼像)

D. 考察

① ヒト膀胱がん腫瘍組織を用いた臨床病理学研究

次世代シーケンサーを用いた芳香族アミン暴露群の膀胱がんではこれまで変異率が高いと報告されている遺伝子に加え、変異率が低い複数の遺伝子にも変異が高率で認められた。しかしながら、それらの変異は芳香族アミン暴露のない膀胱がんと同程度に検出されたことから、芳香族アミン暴露による特徴的な変異は同定できなかった。今回用いた実験手法によって非特異的に検出されてしまう変異あるいは日本人特有の変異である可能性がある。来年度は、特異的な塩基変化や、変異数などより詳細な検討を行う予定である。

② 動物モデルを用いた AAOT の膀胱発がん性評価

AAOT の 2 段階膀胱発がん試験にて発がん促進作用を検討したところ、雄雌ともに 0.5%以上の AAOT 投与群で肉眼的に結節性病変や腫瘍性病変の増加を確認するとともに、膀胱重量が有意に増加した。また、病理組織学的にも AAOT 投与群では urothelial carcinoma や total tumor の発生率、発生数が増加していた。以上のことから、AAOT にはラット膀胱に対して発がん促進作用を有することが明らかとなった。また、AAOT 投与群では尿中 AAOT と比較し、OTD が著明に高濃度で検出され、OTD 代謝物も検出された。このことから AAOT が既知の膀胱発がん物質である OTD に代謝され尿中に排泄されることが膀胱発がん促進作用に関与している可能性が高い。

OTD の主な発がんメカニズムとして、OTD の代謝物である N-hydroxyl-OTD が膀胱上皮に DNA 付加体を形成し DNA 損傷を引き起こすこと¹⁾、OTD の別の代謝物である N-acetyl-4-amino-m-cresol が膀胱上皮細胞増殖及び DNA 損傷を引き起こす活性酸素種を生成すること²⁾が知られている。

今回、AAOT 投与群の尿中代謝物に N-acetyl-o-toluidine と 4-amino-m-cresol が検出された。これらの代謝産物である N-acetyl-4-amino-m-cresol も尿中に検出され活性酸素種の産生が示唆される。このことから AAOT による膀胱発がんに関与していると考えられる。

今後、AAOT の膀胱発がんメカニズム、AAOT の代謝メカニズムについて更なる検討が必要であると考えられる。

参考文献

- 1) DNA adducts of ortho-toluidine in human bladder. Bohm F, Schmid D, Denzinger S, Wieland W.F, and Richter E. Biomarkers. 2011; 16(2)、120-8.
- 2) Establishing a total allowable concentration of o-toluidine in drinking water incorporating early lifestage exposure and susceptibility. English J. C, Bhat V. S, Ball G. L, and McLellan C. J. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 2012; 64(2)、264-84

E. 結論

ヒト膀胱がん腫瘍組織を用いた臨床病理学研究では、芳香族アミン暴露群の膀胱がんに関与する遺伝子変異は認められなかった。

動物モデルを用いた AAOT の膀胱発がん性評価では、AAOT はラット膀胱に対して発がん促進作用を有することが明らかとなった。AAOT が代謝され OTD が尿中に排泄されることが AAOT の毒性や膀胱発がん促進作用に関与している可能性が高い。

F. 健康危険情報

(総括研究報告書にまとめて記入)

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Acetoaceto-o-toluidide enhances cellular proliferative activity in the urinary bladder of rats. Okuno T, Gi M, Fujioka M, Yukimatu N, Kakehashi A, Takeuchi A, Endo G、

Endo Y, Wanibuchi H. Toxicol Sci. in press. 2019.

2. 学会発表

1) 行松 直、奥野高裕、魏 民、藤岡正喜、梯アンナ、鰐渕英機. o-Acetoacetotoluidide による膀胱に対する毒性、発がんプロモーション作用の検討. 第 35 回日本毒性病理学会総会、東京 (2019.1)

2) 奥野高裕、行松 直、魏 民、藤岡正喜、梯アンナ、鰐渕英機. 職業性膀胱癌に関わるヒト膀胱癌の特徴と実験病理学的解析. 第 18 回分子予防環境医学研究会大会、名古屋 (2019.01)

3) 奥野高裕、行松 直、藤岡正喜、梯アンナ、魏 民、神吉将之、鰐渕英機. Induction of cell proliferation and DNA damage by Acetoaceto-o-toluidide (AAOT) in the urinary bladder of rats. 第 77 回日本癌学会学術総会、大阪 (2018.9)

4) 行松 直、奥野高裕、魏 民、藤岡正喜、梯 アン ナ 、 鰐 渕 英 機 . o-Acetoacetotoluidide による膀胱に対する毒性の検討. 第 33 回発癌病理研究会、静岡 (2018.8)

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
特になし

平成 30 年度厚生労働科学研究費補助金(労働安全衛生総合研究事業)
分担研究報告書

芳香族アミン類取扱い作業等、経皮曝露を伴う健康リスク評価のあり方の検討

研究分担者 甲田茂樹 (独)労働者健康安全機構労働安全衛生総合研究所 所長代理
研究分担者 王 瑞生 (独)労働者健康安全機構労働安全衛生総合研究所 部長

研究要旨

芳香族アミン類取り扱い作業者の尿中ばく露評価用のマーカーを検討するため、前年度で確立した LC/MS/MS 法の条件で、オルト-トルイジン(OT)を含む数種類の芳香族アミン類を取り扱った作業者の尿サンプルの分析を試みた。また、最適な採尿タイミングを検討するため、ラットに背部皮膚に OT を塗布した後、血中、及び尿中における OT(未代謝体)とその代謝物の経時変化を解析した。作業員から採集したすべての尿から OT を含む 5 種類の芳香族アミン類(未代謝体)、またはその代謝物が検出され、その濃度は作業後のほうが高かった。本研究で検討した測定条件・方法は作業員の尿サンプルにも適用できることが確認され、また各物質のばく露マーカーの選択に有用な情報が得られた。OT のラット経皮ばく露実験から、OT の血中濃度は 4 時間、尿中濃度は 8 時間でピークに達し、16 時間後は著しく減少することが明らかとなった。本結果は、培養ヒト 3 次元皮膚モデルを用いた実験で明らかとなった芳香族アミン類の高い皮膚透過性が、動物実験においても裏付けられたものと考えられる。今年度の研究で得られた知見は芳香族アミン類の経皮を含むばく露に対する生物学的モニタリング手法の開発に寄与すると思われる。

研究協力者

小野真理子、柳場由絵、小林健一、須田 恵、豊岡達士

A. 研究目的

福井県の事業所で、オルト-トルイジン(OT)を含む芳香族アミンを取り扱う作業従事者に膀胱がんを発症した事案において、労働安全衛生総合研究所による現場調査の結果から、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報告された¹⁾。この報告により、芳香族アミン類の皮膚吸収性の評価、代謝・体内動態の解明が重要であり、これらの物質に対する適切な生物学的モニタリング指標の開発が必要である。H28年度は、ヒト3次元皮膚モデルを用いて芳香族アミン類の皮膚透過性を比較検討した。H29年度は、動物にOTを皮下投与し、OT(未代謝体)およびその代謝物の測定方法の検討、経皮吸収後の体内動態について検討した。

今年度は、芳香族アミン類の経皮吸収を想定したばく露バイオマーカーの確立に資する知見を得ることを目的に、前年度の動物実験で確立した解析方法を利用し、作業員尿における芳香族アミン類およびその代謝物の測定方法を検討した。また、ラットにおけるOT経皮ばく露実験において、経皮投与後のOT及び代謝物の経時的変化についてより早いタイムポイントを加えて分析することで、経皮吸収の速さについて検討した。

B. 研究方法

1. 作業員尿における芳香族アミン類の分析方法の検討

OTを含む数種類の芳香族アミン類を使用し、これらが複合曝露する可能性のある工場で働く作業員12名と事務員1名から尿の提供を受けた(36検体)。LC/MS/MSにおける測定物質は、5種類(オルト-トルイジン(OT)、アニリン(ANL)、2,4-ジメチルアニリン(DMA)、アニシジン(ANS)、パラトルイジン(PT))の芳香族アミン類(未代謝体)、

およびこれらの代謝物の内、硫酸抱合やグルクロン酸抱合がされていない遊離の物質31種類に加え、タバコに含まれる2-ナフチルアミンと4-アミノビフェニル等、計34種類とした。

尿試料を二つに分け、分析する34種類の標準物質の混合液(アセトニトリルに溶解)を添加した尿試料と、アセトニトリルだけを添加した尿試料のそれぞれの濃度を測定した。添加した標準物質で算出したイオン化率を用いて、アセトニトリルを添加した試料中の各物質の含有量を求めた。

2. 経皮投与実験

実験動物(雄性F344ラット(8週齢))を用いて芳香族アミン類の経皮吸収後のオルト-トルイジン(OT)濃度の経時的変化を解析した。OTをPBSに希釈し4ml/kgの投与容量で使用した。対照群には同量のPBSを投与した。ラット背部を剪毛および剃毛し、アセトンにより脱脂後、リント布(3cm×3cm)を適用した。0、50、150mg/kgの用量を滴下したリント布を非吸収性粘着シートにより背部に貼り付け、その上からプラスチックフィルムを胴体に巻き、リント布の上部に当たる位置に緩衝材(4cm×5cm)を貼り付けた。さらにその上から伸縮包帯で胴体を巻き、固定した。処置後の動物は代謝ケージで個飼いし、投与4時間、8時間、16時間後にイソフルラン吸入麻酔下で血液、肝臓、尿管、膀胱、適用部位(背部皮膚)を採材した。試料を前処理した後、前年度で確立したLC/MS/MS法を用いてOT及びその代謝物の定量分析を行った。

(倫理面への配慮)

作業員の尿を分析するにあたり、慶應義塾大学および当研究所の倫理審査委員会による承認を受け、実験を実施した。また、動物実験については、当研究所の動物実験委員会の承

認を受け、動物実験指針に準拠して実験を行った。

C. 研究結果

1. 作業尿における芳香族アミン類の分析方法の検討

OT(未代謝体)は1名(初日朝の時点の尿サンプル)を除き、すべての作業尿から検出された。また、OTの代謝物も検出された。PT自体はほとんどの検体で検出されていないが、PTの代謝物はすべての検体から検出された。ANL、ANS、DMAやこれらの代謝物はすべての検体から検出された。また、代謝物は朝の尿に比べ夕方方の尿で高くなる傾向が観察された。

2. 経皮投与実験

血液中および投与部位(皮膚)のOT濃度(未代謝体)は4時間をピークであったが、16時間後には対照群と変わらない程度まで減少が観察された。一方、尿中OT濃度は8時間をピークとし、16時間後には対照群と変わらない程度まで減少していた(図1)。また、OTの代謝物についても同様の傾向が観察された。

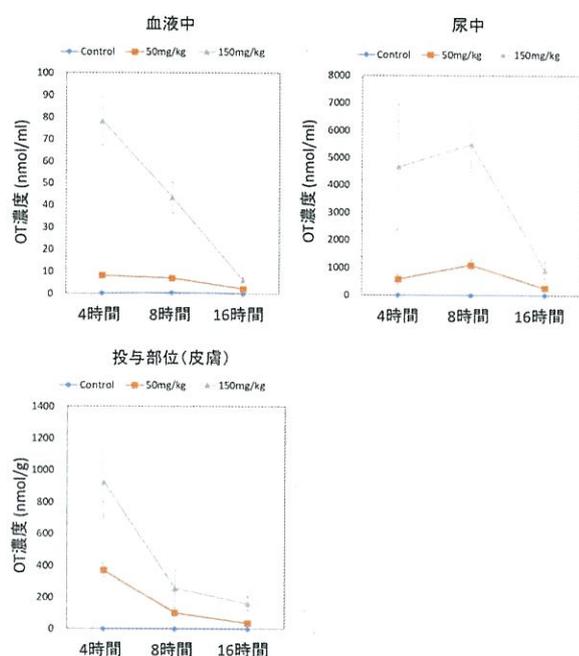


図1. OT塗布後の血液、尿及び塗布部位の皮膚における濃度の経時的変化

D. 考察

作業尿の分析では、尿中のOT(未代謝体)と比較して尿中のOT代謝物量は微量であるため、ばく露を評価するには未代謝体のOTを測定することが重要と考えられる。一方で、我々のこれまでの研究で、強いDNA損傷性が示唆されたOT代謝物の一つである2-アミノ-m-クレゾール(2AMC)が作業尿でも検出可能であったことから、OTばく露影響指標として尿中2AMC濃度を測定することも意義が大きいかもしれない。DMAについては、尿中のDMA代謝物ではなく、ばく露評価には未代謝体のDMAを指標とすることが望ましいと結論された。しかし、DMAの代謝過程でDNA損傷を示す報告があることから、今後、代謝とDNA損傷性の観点からさらなる検討が必要である。ANL、PTについては未代謝体に比べ代謝物の方が安定的に検出されていたことから、これらの代謝物は、ばく露評価に有用な指標となることが示唆された。今後、代謝物の安定性を考慮した採尿のタイミング・採尿の回数などを検討し、最適なばく露マーカーを提案したいと考えている。

ラットを用いた経皮投与実験からは、OTは経皮投与後、速やかに経皮吸収され、投与後4時間から8時間までに投与したOTの大部分が尿中へと排泄されることが明らかとなった。これらの結果は、OTのばく露濃度を反映させた適切な生物学的モニタリングには、作業終了後比較的早いタイミングでの採尿が必要となる可能性が示唆される。

E. 結論

本年度検討により、動物実験に応用してきたLC/MS/MSを用いた芳香族アミン類5種類

(OT、アニリン ALN、DMA、ANS、PT)とその代謝物の分析方法は作業尿の測定に活用できることを見出した。また動物皮投与実験から、芳香族アミン類の非常に速い経皮吸収性という特徴が明らかとなった。本研究の知見は経皮ばく露を反映した生物学的モニタリング手法の開発に寄与するものであると考えられる。

参考文献

- 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. 災害調査報告書 A-2015-07: 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. (<http://www.mhlw.go.jp/file/04-Houdouhappyou-11305000-Roudoukijunkyokuanzeneseibu-Kagakubushitsutaisakuka/0000126164.pdf>)

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

論文:

Yonggang Qi, Tatsushi Toyooka, Kashiwagi Hiroki, Yukie Yanagiba, Hisayoshi Ohta, Shigeki Koda, Rui-sheng Wang (2018) 2, 4-Dimethylaniline generates phosphorylated histone H2AX in human urothelial and hepatic cells through reactive oxygen species produced by cytochrome P450 2E1. Arch Toxicol. 92, 3093-3101.

学会:

Yukie Yanagiba, Kenichi Kobayashi, Megumi Suda, Tatsushi Toyooka, Shigeki Koda, Rui-Sheng Wang (2018) Whole body autoradiography and urinary excretion of

ortho-toluidine after percutaneous administration to rats. 2018 International Meeting on 22nd MDO and 33rd JSSX, Book of Abstracts, p408.

豊岡達士、祁 永剛、柳場由絵、太田久吉、王 瑞生、甲田茂樹(2018) 職業性膀胱がん発生現場で使用されていた芳香族アミン 6 種の DNA 損傷性および DNA 損傷誘導メカニズムの検討. 第 45 回日本毒性学会、要旨集 p102.

須田 恵、柳場由絵、小林健一、祁 永剛、豊岡達士、王 瑞生、甲田茂樹(2018) オルトレイジン単回経口投与時の尿中代謝物濃度の経時的変化. 第 91 回日本産業衛生学会、産業衛生学雑誌 60(Suppl.)、419.

小林健一、柳場由絵、須田 恵、豊岡達士、王 瑞生、甲田茂樹(2018) ラットへのオルトトルイジン経皮投与後の代謝及び遺伝毒性作用の検討. 第 45 回日本毒性学会、要旨集 p102.

祁永剛、豊岡達士、柳場由絵、太田久吉、王 瑞生 (2018) 2, 4-dimethylaniline shows genotoxicity via CYP2E1-mediated metabolism. 第 91 回日本産業衛生学会、産業衛生学雑誌 60(Suppl.)、400.

柳場由絵、小林健一、須田 恵、豊岡達士、王 瑞生、甲田茂樹(2018) ラット膀胱における ortho-Toluidine 皮下投与後の γ -H2AX の生成および強い遺伝毒性を有する可能性のある尿代謝産物の同定. 第46回産業中毒・生物学的モニタリング研究会、要旨集 p27.

須田 恵、柳場由絵、小林健一、豊岡達士、王 瑞生、甲田茂樹(2018) オルトトルレイジンのラッ

トへの経皮投与後の体内動態. 第46回産業中毒・生物学的モニタリング研究会、要旨集、p26.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
特に無し

分担研究報告書

化学防護手袋の α -トルイジン透過性試験

研究分担者	和田 丈晴	一般財団法人化学物質評価研究機構
研究協力者	田中 茂	十文字学園女子大学大学院
	石井 聡子	一般財団法人化学物質評価研究機構

研究要旨

本研究の目的は、 α -トルイジン(以下、OTD)取扱い作業場における化学防護手袋(以下、手袋)の透過性能を確認し、OTD の経皮吸収曝露について予測するとともに、今後の経皮吸収による曝露を軽減するために、透過しにくい素材による手袋の選定と、現場での簡易的な透過検知(交換時期)を推定する手法の開発について検討することである。

今年度は、膀胱がんを発症した事業場で長期間使用してきた2種類の天然ゴム製手袋(手袋(a)は乾燥工程、手袋(b)は反応工程で主に使用)を対象に、OTD に対する透過時間の測定を行った。その結果、JIS 規格の基準である標準透過速度 $0.1 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$ に達するまでの時間は手袋(a)で3回の平均150分(130分~180分)、手袋(b)で3回の平均105分(76分~131分)であった。当時、事業場における手袋の交換の指標は、手袋の透過時間(耐透過)を考慮されてなく、手袋が切れたり、穴があくなどの物性的な変化(耐劣化)であったため、手袋(a)は16日/人・双、手袋(b)は42日/人・双と、作業者は1双の手袋を長期間使用していたのが実態であった。すなわち、OTD 取扱い作業において作業者は天然ゴム製手袋を長い期間にわたり装着使用した結果、手袋表面に付着した OTD が透過により手袋内側に達し、手表面から経皮吸収により OTD に曝露したことが推察された。

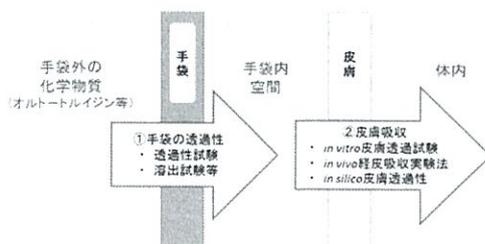
今後、OTD 曝露が大きかったと思われる反応工程での使用状況である OTD と有機溶剤の共存下における天然ゴム製手袋の透過時間の測定、OTD の透過しにくい素材の手袋の開発、および手袋内の簡易的な透過検知(廃棄の確認)等について研究を行いたいと考える。

A. 研究目的

I. 化学防護手袋を着用した化学物質(オルトトルイジンを含む)取り扱い作業者のばく露評価

—オルトトルイジン等の化学物質の皮膚吸収量の推定—

化学防護手袋の外側にあるオルトトルイジン等の化学物質が経皮ばく露により体内へ取り込まれるには、図1に示す通り、①化学防護手袋を透過して汗中へ溶出し皮膚へ到達する、②皮膚と接触した化学物質が皮膚を介して体内へ吸収される、の2つのプロセスがある。1つ目のプロセスについては、オルトトルイジンに対して透過しにくい化学防護手袋を開発し、透過性試験を行い、使用条件等の検討を行っているところである。本検討では、2つ目のプロセスに関連して、オルトトルイジン等、安衛法表示・通知義務対象物質の皮膚吸収量を推定し、吸入ばく露量に比べて皮膚吸収量の大きな化学物質の特徴を整理することを目的とした。



また、化学防護手袋の種類は厚手手袋と薄手手袋に分けられる。厚手手袋は、多くの化学工場等での使用が中心であり、手袋の素材としてゴム製:天然ゴム、シリコンゴム、ニトリルゴム、ネオプレンゴム(クロロプレン)、フッ素ゴム、ポリウレタン、ブチル等とプラスチック製:ポリ塩化ビニル、ポリエチレン、ポリビニルアルコール、エチレンビニルアルコール共重合体(EVOH)、バリ

ア(ナイロン)等が市販されている。これらは①一般に定価1000円~45000円/双と高価であること、②事業場では劣化や作業性を重要視し、使用化学物質の透過時間のデータを考慮せず手袋を選定していることが多い、③支給した手袋は1~2か月/双程度、長期に使用して交換(廃棄)することが多い。一方、薄手手袋は多くの研究機関、大学等で主に使用されており、手袋の素材として、ゴム製:天然ゴム、ニトリル、クロロプレン等と、プラスチック製:ポリエチレン、ポリプロピレン等が市販されており、①10円~50円/双と安価、②透過データは無視して選定されており、③飛沫が付いたらそく交換するように使用されている。事業場、大学、研究機関等の手袋に対する要望をふまえ、薄手で多くの化学物質に対して透過しにくい手袋を開発することを目標に、素材の選定について検討を行った。

1) 厚手手袋の化学物質に対する公表されている透過データより、多くの化学物質に対して透過しにくい素材として、商品名シルバーシールド(素材エチレンビニルアルコール共重合体(EVOH))と、商品名バリア(素材ポリアミド(ナイロン))の素材があげられた。

2) 1990年代オゾン層破壊物質として臭化メチル(沸点4℃、当時、日本での農薬としての使用量が第2位)が規制対象となり、農林水産省からの委託試験で、臭化メチルに対するフィルムの透過試験を行ったことがある。その結果、農家が使用していたフィルム(ポリエチレン)の臭化メチルに対する透過速度に対して、EVOH(クラレ製)、ナイロン(フランス製)、ポリ塩化ビニリデン(旭化成製)は、1/50から1/100のバリア性があることを報告した。

3) 食品包装材として使用されている素材としては、耐酸素透過の結果よりナイロン、EVOH、ポリ塩化ビニリデンが使用されていた。

これらの情報や結果より、ナイロン、EVOH とともに、近年、食品包装材等で使用されている PET (Polyethylene terephthalate ポリエチレンテレフタレート) が候補にあがり、これらの素材をもとに薄手手袋の開発を行い、一般の有機溶剤に対する透過試験を行った。

B. 研究方法

(1) オルトートルイジン等の化学物質の皮膚吸収量の推定

1 対象物質

平成 31 年 3 月現在、安衛法表示・通知義務対象物質は合計 735 物質ある。本検討では、標準状態で液体である 348 物質を対象とした。

2 皮膚からの吸収量の求め方

Fick 第一法則から誘導される式(a)を用いて、単位時間当たり単位面積の膜を通過する化学物質の量 J_{\max} ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$)を求めた。

$$J = K_p \times C_{\text{veh}} \dots\dots\dots(a)$$

J: 単位時間当たり単位面積の膜を通過する化学物質の量 ($\text{mg}/\text{cm}^2/\text{h}$)

K_p : 皮膚透過係数 (cm/h)

C_{veh} : 皮膚と接触する化学物質濃度(mg/cm^3)

上述の通り、J を計算するための重要なパラメータの 1 つが皮膚透過係数 K_p である。 K_p は、実測によって得ることができるが、予測値としてよく利用されるのが、皮膚透過係数予測式から求めた値である。皮膚透過係数予測式の一つである、次式(b)の Potts and Guy の予測式から皮膚透過係数 K_p を求めた。

$$\text{Log } K_p = -2.7 + 0.71 \times \text{Log } K_{ow} - 0.0061 \times \text{MW} \dots\dots\dots(b)$$

K_p : 皮膚透過係数 (cm/h)

Log K_{ow} : オクタノール/水分配係数 (単位なし)
MW: 分子量 (g/mol)

また、式(b)に示す通り、 K_p は Log K_{ow} と MW に基づいて計算される。Log K_{ow} の実測値が得られなかった場合、QSAR 予測モデルによる推定値を利用した。その他、(a)式の J を計算するための皮膚と接触する化学物質濃度は、飽和水溶解度とし、Log K_{ow} と同様に実験値が得られなかった場合は、推定値を利用した。

皮膚からの吸収量

上記より求めた J に続いて、通常の皮膚吸収においては、定常状態になるまでに時間を要するが、安全側に立って最初から定常状態であると仮定し、ばく露時間 8 時間、ばく露面積(手の甲と手のひら) 840 cm^2 とし、皮膚からの吸収量は、次式で求めた。

$$\text{皮膚からの吸収量} = J(\text{mg}/\text{cm}^2/\text{h}) \times 8(\text{h}) \times 840(\text{cm}^2)$$

吸入ばく露量

吸入ばく露量は、8 時間の軽作業における呼吸量を 10 m^3 とし、肺から吸入量の全量が体内に取り込まれたと仮定する。また、その労働者は ACGIH TLV に等しい当該物質にばく露されたと仮定し、次式で求めた。

$$\text{吸入ばく露量} = \text{ACGIH TLV}(\text{mg}/\text{m}^3) \times 10 \text{ m}^3$$

3 皮膚からの吸収量と吸入ばく露量の比較

上記の方法によって求めた皮膚吸収量と吸入ばく露量を比較し、皮膚吸収量が吸入ばく露量を上回る物質を抽出した。これらの物質の蒸

気圧と日産衛の皮表示や ACGIH の skin 表示の有無を調べた。

蒸気圧レベル	物質数
低 (<500Pa)	77
中 (500-25、000Pa)	54
高 (>25、000Pa)	16

(2) 化学物質

物質に対する耐透過性のある薄手手袋の開発と有機溶剤に対する透過試験

1) 厚手手袋の化学物質に対する公表されている透過データより、多くの化学物質に対して透過しにくい素材として、商品名シルバーシールド（素材エチレンビニルアルコール共重合体（EVOH））と、商品名バリア（素材ポリアミド（ナイロン））の素材があげられた。

2) 1990 年代オゾン層破壊物質として臭化メチル（沸点 4℃、当時、日本での農薬としての使用量が第 2 位）が規制対象となり、農林水産省からの委託試験で、臭化メチルに対するフィルムの透過試験を行ったことがある。その結果、農家が使用していたフィルム（ポリエチレン）の臭化メチルに対する透過速度に対して、EVOH（クラレ製）、ナイロン（フランス製）、ポリ塩化ビニリデン（旭化成製）は、1/50 から 1/100 のバリア性があることを報告した。

3) 食品包装材として使用されている素材としては、耐酸素透過の結果よりナイロン、EVOH、ポリ塩化ビニリデンが使用されていた。

これらの情報や結果より、ナイロン、EVOH とともに、近年、食品包装材等で使用されている PET（Polyethylene terephthalate ポリエチレンテレフタレート）が候補にあがり、これらの素材をもとに薄手手袋の開発

を行い、一般の有機溶剤に対する透過試験を行った。

C. 研究結果

(1) オルトートルイジン等の化学物質の皮膚吸収量の推定

安衛法表示・通知義務対象物質のうち、標準状態で液体である 348 物質のうち、皮膚吸収量と吸入暴露量の両方を求めることができ、さらには、皮膚吸収量が吸入暴露量を上回った物質が 147 物質あった（表 1）。この中には、オルトートルイジンや N、N-ジメチルホルムアミドも含まれており、皮膚吸収量/吸入暴露量の大きい順で並べると、オルトートルイジンは 107 番目、N、N-ジメチルホルムアミドは 102 番目であった。

(2) 化学物質に対する耐透過性のある薄手手袋の開発と有機溶剤に対する透過試験

① 試験手袋：試験に使用した手袋は、A 社が製造した 3 種類の手袋（ナイロンポリ、EVOH ナイロンポリ（ナイロン+EVOH）、PET ナイロン（PET+ナイロン））である。

表 1 開発した薄手手袋

名称	従来呼び名	内容
ガードMN MCS製	ナイロンポリ (60μ)	NY-PE-LL
ガードMB MCS製	EVOH ナイロンポリ (60μ)	NY-EVOH-NY-PE-LL
ガードMH スター製	PET ナイロン (50μ)	PET-PE-NY-PE-LL

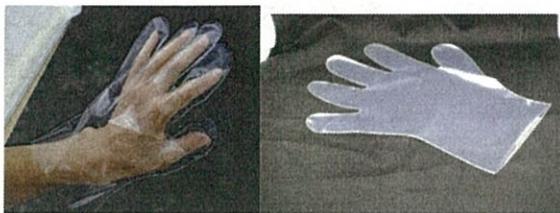
NY: ナイロン PE: ポリエチレン

LL: 変性ポリエチレン

EVOH: エチレンビニルアルコール共重合樹脂

PET: ポリエチレンテレフタレート

写1 試験で使用した手袋



- ② 試験有機溶剤：トルエン：エタノール：酢酸エチル：n-ヘキサン：アセトン
- ③ 試験方法：JIST 8030:2015 「化学防護服—防護服材料の耐透過性試験」に記載された方法のうち、閉鎖回路系透過試験による方法を用いて試験を行った。本法では累積透過質量($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)として $0.1\ \mu\text{g}/\text{cm}^2$ に達するまでの時間を求めた。試験は光イオン化型検出器 (PID) を用いたセンサ (理研計器製 Cub) を手袋内に入れ、袖口をシールして溶液内に入れ、閉鎖回路系にして、累積透過質量に達するまでの時間を求めた。

- ・ドラフトチャンバー内及び液相温度を 23°C に設定した。
- ・試験手袋の中に、理研計器 (株) のPID式モニターCubを入れて、袖口をシーラーSURE社 NL-301Jを使用して密閉にした。
- ・3ℓのビーカーに試験溶剤1.5Lを投入し、試験手袋を挿入した時点を試験開始した。
- ・Cubは2秒ごとに手袋内の溶剤濃度のデータが入力され、累積透過質量 $0.1\ \mu\text{g}/\text{cm}^2$ に達すると警報がなり測定終了とした。
- ・データをCub付属のソフトウェアを用いてデータを取り出し、図を作成するとともに $0.1\ \mu\text{g}/\text{cm}^2$ に達した時間を求めた。

図2 手袋にCubを入れて袖口をシールした

図3 ビーカー内での実験装置の図



- ・Cubの警報点の設定値 (累積透過質量 $0.1\ \mu\text{g}/\text{cm}^2$ におけるCub指示値の求め方)

手袋体積： 400cm^3

手袋面積： 873cm^2

累積透過質量($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) = Cub 指示値 (mg/m^3) * (1/1000) * 手袋体積(cm^3) * (1/手袋面積(cm^2)) より、累積透過質量を $0.1\ \text{mg}/\text{cm}^2$ とすると、Cubの指示値は $218.25\ \text{mg}/\text{m}^3$ となる。

- ・Cub校正方法：

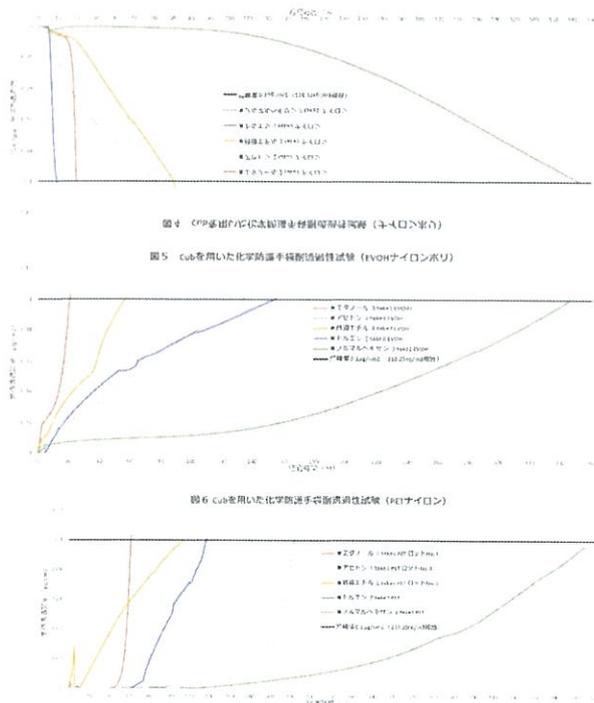
Cub付属のキャリブレーションドッキングステーションを用い、背面にある挿入口のゼロガス (清浄な大気)、スパンガス (イソブチレンガス 100ppm) をそれぞれ接続し校正を行った。

・Cubの洗浄：Cubのセンサ部分に清浄空気を流しセンサの洗浄を行い、指示値が0になったことを確認した。更に、Cub本体を洗浄容器内に入れ、容器の中に清浄空気を流して本体に付着した有機溶剤の洗浄を行った。Cubの指示値が0に近づくまで清浄空気を流し続けた。

・透過試験：Cubに測定対象ガスを選択、入力した後、手袋内に投入 (この際は電源

未投入)した。5分間静置した後、手袋入口から1cmの部分にシールド(シールド温度280℃)した。シールド後、電源スイッチONにし、指示値が安定(指示値20mg/m³未満)するまで静置した。そして、有機溶剤が入ったビーカー内に手袋ごと投入し、試験開始とした。指示値が218.25mg/m³に到達して警報が鳴った後、回収を行い、Cubをパソコンに接続し、データを取り出した。

試験結果を以下に図示する。



D. 考察

(1) オルトートルイジン等の化学物質の皮膚吸収量の推定

皮膚吸収量が吸入暴露量を上回った147物質について、蒸気圧レベルとACGIH Skin表示の有無で整理した結果を表2と表3に示す。

蒸気圧レベルは、低(<500 Pa)、中(500~25,000 Pa)、高(>25,000 Pa)の3つの区分とした結果、147物質のうち、蒸気圧レベル低、中、高に対して、各々、77物質、54物質、16物質が該当した。蒸気圧の低い物質がより多いことがわかる。なお、オルトトルイジンは蒸気圧レベル「低」に、N、N-ジメチルホルムアミドは蒸気圧レベル「中」に位置した。

表2 皮膚吸収量が吸入暴露量を上回った147物質の蒸気圧レベル

(2) 化学物質に対する耐透過性のある薄手手袋の開発と有機溶剤に対する透過試験

累積透過質量として0.1μg/cm²に達するまでの透過時間を表3に示す。

表3 累積透過質量(0.1μg/cm²)に達するまでの透過時間

有機溶剤	累積透過質量(0.1μg/cm ²)に達した時間		
	ナイロンポリ	EVOHナイロンポリ	PETナイロンポリ
エタノール	18分	18分	60分
アセトン	57分	2時間09分	3時間39分
酢酸エチル	1時間10分	52分	1時間51分
トルエン	4分	2時間30分	2時間08分
ノルマルヘキサン	4時間40分	5時間42分	8時間以上

これより、3種類の素材において、エタノールの透過時間が他の有機溶剤に比べ短い結果であったこと、ナイロンポリにおいてトルエンに対する透過時間が短い結果であった。これらの有機溶剤に対する手袋の使用については考慮する必要があるが、その他の有機溶剤について概ね1時間を超える透過時間が得られ、薄手手袋としての使用が可能であると考えられる。

E. 結論

皮膚吸収量が吸入暴露量を上回った 147 物質についての皮膚吸収性の推定の結果、ACGIH Skin 表示について、皮膚吸収量が吸入暴露量を上回った 147 物質のうち、ACGIH Skin 表示があるものは 84 物質、ないものは 63 物質となり、ACGIH Skin 表示がない、皮膚吸収に注意が必要だと考えられる物質が相当数あることがわかった (表 4)。

表 4 皮膚吸収量が吸入曝露量を上回った 147 物質の ACGIH Skin 表示の有無

ACGIH Skin 表示	物質数
あるもの	84

ないもの	63
------	----

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

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む) 特に無し

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
Eitaki Y, Nakano M, Kawai T, Omae K, Takebayashi T.	Biological monitoring of o-toluidine in urine pretreated by an enzymatic deconjugation method.	J Occup Health [Epub ahead of print]		doi: 10.1002/1348-9585.12058.	2019
Okuno T, Gimi M, Fujioka M, Yukimatu N, Kakehashi A, Tanaka A, Endo G, Endo Y, Watanabuchi H.	Acetoaceto-o-toluidide enhances cellular proliferative activity in the urinary bladder of rats.	Toxicol Sci.	in press		2019
Nakano M, Omae K, Takebayashi T, Tanaka S, Koda S.	An epidemic of bladder cancer: ten cases of bladder cancer in male Japanese workers exposed to ortho-toluidine.	J Occup Health	60	307-311	2018
武林亨、田中茂、中野真規子、岩澤聡子	化学物質の経皮吸収と職業がん	産業医学ジャーナル	41	89-93	2018

平成31年3月31日

厚生労働大臣 殿

機関名 慶應義塾大学

所属研究機関長 職名 学長

氏名 長谷山 彰



次の職員の平成30年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 労働安全衛生総合研究事業
2. 研究課題名 オルト-トルイジン等芳香族アミンによる膀胱がんの原因解明と予防に係る包括的研究
3. 研究者名 (所属部局・職名) 慶應義塾大学医学部・教授
(氏名・フリガナ) 武林 亨・タケバヤシ トオル

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	慶應義塾大学医学部	<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

平成31年3月31日

厚生労働大臣 殿

機関名 慶應義塾大学

所属研究機関長 職名 学長

氏名 長谷山 彰



次の職員の平成30年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 労働安全衛生総合研究事業

2. 研究課題名 オルト・トルイジン等芳香族アミンによる膀胱がんの原因解明と予防に係る包括的研究

3. 研究者名 (所属部局・職名) 慶應義塾大学医学部・専任講師

(氏名・フリガナ) 中野 真規子・ナカノ マキコ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	慶應義塾大学医学部	<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

平成31年 3月 29日

厚生労働大臣
~~(国立医薬品食品衛生研究所長)~~ 殿
~~(国立保健医療科学院長)~~

機関名 公立大学法人大阪市立大学
所属研究機関長 職名 理事長
氏名 荒川 哲男 印



次の職員の平成30年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 労働安全衛生総合研究事業
2. 研究課題名 オルトトルイジン等芳香族アミンによる膀胱がんの原因解明と予防に係る包括的研究
3. 研究者名 (所属部局・職名) 大阪市立大学大学院医学研究科 教授
(氏名・フリガナ) 鰐淵 英機・ワニブチ ヒデキ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	大阪市立大学	<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	大阪市立大学	<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	大阪市立大学	<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

平成 31年 3 月 29 日

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学院長)

機関名 労働安全衛生総合研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 豊澤康男



次の職員の平成30年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 労働安全衛生総合研究事業
2. 研究課題名 オルト・トルイジン等芳香族アミンによる膀胱がんの原因解明と予防に係る包括的研究
3. 研究者名 (所属部局・職名) 産業毒性・生体影響研究グループ部長
(氏名・フリガナ) 王 瑞生 (オウ ズイセイ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	労働安全衛生総合研究所	<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	労働安全衛生総合研究所	<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する口[○]にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

平成 31年 3 月 29 日

厚生労働大臣
—(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
—(国立保健医療科学院長) —

機関名 労働安全衛生総合研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 豊澤康男



次の職員の平成30年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 1. 研究事業名 労働安全衛生総合研究事業
- 2. 研究課題名 オルト・トルイジン等芳香族アミンによる膀胱がんの原因解明と予防に係る包括的研究
- 3. 研究者名 (所属部局・職名) 所長代理
(氏名・フリガナ) 甲田茂樹 (こうだ しげき)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	労働安全衛生総合研究所	<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	労働安全衛生総合研究所	<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

平成 31 年 1 月 29 日

厚生労働大臣

殿

機関名 国立大学法人大阪大学
所属研究機関長 職名 大学院医学系研究科長
氏名 金田安史



次の職員の平成30年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 研究事業名 労働安全衛生総合研究事業
- 研究課題名 オルト-トルイジン等芳香族アミンによる膀胱がんの原因解明と予防に係る包括的研究
- 研究者名 (所属部局・職名) 大阪大学大学院医学系研究科・教授
(氏名・フリガナ) 祖父江 友孝・ソブエ トモタカ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

平成31年3月31日

厚生労働大臣
—(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
—(国立保健医療科学院長) —

機関名 一般財団法人化学物質評価研究機構

所属研究機関長 職 名 理事長

氏 名 今田中 伸哉



次の職員の平成30年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 労働安全衛生総合研究事業
2. 研究課題名 オルト・トルイジン等芳香族アミンによる膀胱がんの原因解明と予防に係る包括的研究
3. 研究者名 (所属部局・職名) 一般財団法人化学物質評価研究機構・環境技術部・技術課長
(氏名・フリガナ) 和田 丈晴・ワダ タケハル

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

