

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

令和元年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 武林 亨

令和元年(2020)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

..... 25

研究分担者 鰐淵 英樹

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

..... 31

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

..... 37

研究協力者 田中 茂

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

令和元 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

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がん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事者(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指標は、前年度までに検討し、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)と決定し、使用した。②パイロット調査をベースに、現従事者対象のコホート研究を継続して実施、③健康管理として特殊健康診断の項目およびNMP-22の検討を行った。コホート研究(平成29年4月から令和2年1月まで)の膀胱がん罹患者は2名だった(H29年度0名、H30年度2名、本年度0名)。罹患者の特性は、平均年齢58歳、喫煙歴あり、平均OT曝露期間15.3年、OT曝露開始からの平均潜伏期間21.1年で、OT推定曝露量は100<300、ともに2,4-キシリジン、アニリン等の複合曝露があった。これまでの膀胱がん罹患者(10名)と同様の特性(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、OT推定曝露量平均274、範囲:105-440)であった。つまり、芳香族アミン等に複合曝露のあるOT推定曝露量100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いた。また、罹患者2名は、いずれも診断前の特殊健康診断で膀胱がん関連所見を繰り返し認め、膀胱がん診断の契機となった1次健診項目は、尿沈渣による尿細胞診(パパニコラ法)classⅢであった。NMP-22の測定は、新規膀胱がん罹患者数が少なく、明確な有効性は示せなかったが、10<NMP-22<12 U/ml(正常範囲内高値)を示す場合は罹患の前兆なのか、さらなる検討が必要である。芳香族アミン等の曝露歴のある現従事者は、本年度の特殊健康診断結果で尿潜血を8%に認め、今後も本集団の注意深い経過観察が必要である。最後に、OTの特殊健康診断の対象者の選定時:重量の<1%含有濃度の従事者の検討、製品の生体内代謝物(OTおよびOT代謝物)、複合曝露の影響については、特に今後の課題である。

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人間生活学研究科

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がんについては、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事者(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がんを主とした健康影響との関連を検討することである。

(1)全従事者の内部比較研究

曝露推定量と膀胱がん罹患との関連についての検討(H29-H30に検討済み事項)

(2)現従従事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

(2)平成29年4月から令和2年1月にA事業所(膀胱がんの集積罹患があ

った事業所)(のべ56名)、B事業場(のべ89名)の現従事者を(芳香族アミン等[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)]曝露者、非芳香族アミン等曝露者両方を対象とし、追跡調査をおこなった。調査内容は、以下である。

- 会社による特殊健康診断(尿潜血、尿沈渣、尿細胞診)
- コホート調査による自記式健康調査票(血尿などの自覚症状)
- 尿中腫瘍マーカー(NMP-22)

統計手法は、芳香族アミン等曝露者(曝露群)と非芳香族アミン等曝露者(非曝露群)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

当該企業にて平成29年4月以降の膀胱がん罹患患者(2名)の経時的な特殊健康診断結果から特徴を検討した。

(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

本年度(令和元年4月以降～令和2年3月)に膀胱がんの罹患者はいなかった。

(2)本年度は、現従事者(のべ数:145名、膀胱がん罹患者含む)に健康調査をおこなった。但し、不同意、非曝露のため不参加、退職は除外した。

自記式健康調査票による自覚症状(ここ1カ月)は、血尿 1/145、排尿時痛 5/145、残尿感 14/145、頻尿 56/145であった。

NMP-22 高値(正常値<12.0 U/ml)は0/145で、膀胱がん既往者を除き全員正常範囲内であった。また、10<NMP-22 <12 U/ml は3/145で、その内訳はOT 曝露推定量 200-<300(非膀胱がん罹患者)2名、芳香族アミン等非曝露者1名であった。

図1(A事業所)、図2(B事業所)は、現従事者の特殊健康診断結果である(すべての膀胱がん罹患者を除外)。

図1 A事業所の特殊健康診断結果

	非曝露 A 群 (n=4)	曝露 A 群 (n=50)	p
年齢, 平均(年)	44.0	46.4	0.61
従業年数, 平均(年)	17.5	21.5	0.69
アミン曝露期間(年)	-	12.7	-
喫煙歴, n(%)	0(0)	36(72.0)	0.01
尿潜血(+≦), n(%)	1(25.0)	6(12.0)	0.44
尿沈渣(5≦), n(%)			
赤血球数	0(0)	4(8.0)	1.00
白血球数	0(0)	2(4.0)	1.00

扁平上皮数	0(0)	2(4.0)	1.00
硝子円柱数	0(0)	1(2.0)	1.00
尿細胞診, n(%)			
Class I	2(50.0)	7(14.0)	0.13
Class II	2(50.0)	43(86.0)	
Class III ≦	0(0)	0(0)	
NMP-22, 平均(範囲)	3.3(2.0-5.7)	4.2(2.0-11.9)	0.41
OT 推定曝露量, n(%)			
0		6(12.0)	
0-<50		6(12.0)	
50-<100		10(20.0)	
100-<200		14(28.0)	
200-<300		8(16.0)	
300-<		6(12.0)	

非曝露 A 群と曝露 A 群の特性の比較では、2 群間に、年齢、従業年数に差はなかったが、曝露 A 群で喫煙歴が著明に高かった。一次健康診断の必須項目である尿潜血は 2 群間で明らかな差はなかった。また、一次健康診断時に医師が必要と認める場合に行う検査項目の尿沈渣、尿細胞診(パパニコラ法)は 2 群間で明らかな差は認めなかったが、曝露 A 群で尿中赤血球数(5≦/HPF: high power field) 4 名(8.0%)に、白血球数(5≦/HPF) 2 名(4.0%)に認めた。尿中核マトリックスプロテイン 22 (NMP-22) (正常値<12 U/ml)は曝露 A 群の中に 10<NMP-22<12 U/ml の正常範囲内高値を示す者が 2 名 (OT 推定曝露 200-<300) いたが膀胱がんの診断はされなかった。

図2 B 事業場の特殊健康診断結果

	非曝露 B 群 (n=37)	曝露 B 群 (n=48)	p
年齢, 平均(年)	37.4	52.4	<0.001
従業年数, 平均(年)	14.2	27.3	0.002
アミン曝露期間(年)	-	2.8	<0.001
喫煙歴, n(%)	26(72.2)	43(89.6)	0.048
尿潜血(+≦), n(%)	0(0)	4(8.3)	0.13
尿沈渣(5≦), n(%)			
赤血球数	2(5.4)	4(8.3)	0.69
白血球数	1(2.7)	1(2.1)	1.00
扁平上皮数	0(0)	0(0)	-
硝子円柱数	6(16.2)	9(18.8)	1.00
尿細胞診, n(%)			0.50
Class I	35(91.9)	45(85.4)	
Class II	4(8.1)	6(14.6)	
Class III ≦	0(0)	0(0)	
NMP-22, 平均(範囲)	4.1(2.0-11.5)	3.7(2.0-9.7)	0.32
OT 推定曝露量, n(%)			
0		25(52.1)	
0<50		12(25.0)	
50<100		5(10.4)	
100<200		6(12.5)	
200<300		0(0)	
300<		0(0)	

*:喫煙歴:n=36, 48 (非曝露 B 群、曝露 B 群)

非曝露 B 群と曝露 B 群の特性の比較では、曝露 B 群は、非曝露 B 群に比して、年齢が高く、従業年数が高く、喫煙率が高かった。一次健康診断の必須項目である尿潜血は曝露 B 群で 4 名(8.3%)であったが有意差はなかった。ま

た、一次健康診断時に医師が必要と認める場合に行う検査項目の尿沈渣、尿細胞診(パパニコラ法)は 2 群間で明らかな差はなかった。NMP-22 は、非曝露 B 群の中に 10<NMP-22<12 U/ml の正常範囲内高値を示す者がいたが膀胱がんの診断には至らなかった。

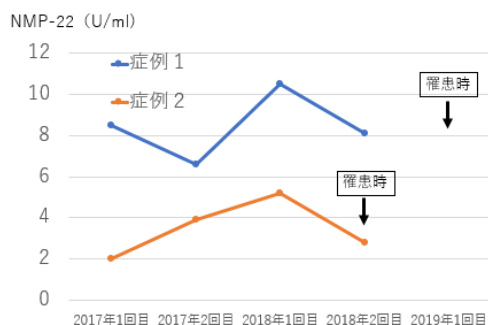
(3)当該企業が平成 29 年 4 月以降に健診契機に膀胱がんと診断された 2 名は、ともに男性、平均年齢 58 歳、OT 曝露歴があり、平成 29 年 4 月以降の診断までの平均観察期間 1.5 年、膀胱がん診断へ繋がった 1 次健診項目は、すべて尿沈渣による尿細胞診(パパニコラ法)class III を指摘後、2 次健診による膀胱鏡検査、組織診により確定診断された。

1 例目は、平成 29 年 4 月以降に特定健康診断を 7 回受診し、尿細胞診 class III (4 回目の健診、2 次健診で膀胱がんを否定)、一時的に 10<NMP-22<12 U/ml の正常範囲内高値(5 回目の健診)を示し、最終的に尿細胞診 class III (7 回目の健診)を示し、2 次健診で診断に至った。2 例目は、8 回受診し、尿中赤血球数 1-4/HPF(1 回目の健診)、尿中白血球数 5-9/HPF(7、8 回目の健診)を繰り返し、尿細胞診 class III (8 回目の健診)を示し、最終的に 2 次健診で診断に至った。2 症例とも診断前の健診で、軽度の尿中白血球数上昇、10<NMP-22<12 U/ml の正常範囲内高値、尿細胞診 class III など様々な膀胱がん関連所見を繰り返していた。

図3 罹患者の平成29年4月以降～
診断に至るまで健診結果

症例	1	2
従業年数(年)	20.6	21.3
H29年4月以降の観察期間(年)	1.4	1.7
罹患までの健診受診数	7	8
OT/OT以外に関連する自覚症状(回数)	0/0	0/0
有所見回数		
尿潜血(+≦)	0	0
尿沈渣(5≦)		
赤血球数	0	0
白血球数	0	2
扁平上皮数	0	0
硝子円柱数	0	1
尿細胞診 Class III ≦	2	2
NMP-22(診断時)	8.4	4.0

図4 膀胱がん罹患までのNMP-22の変化



D. 考察

本年度は、膀胱がん罹患者は認めなかった。

(1)全従事者の内部比較研究

曝露推定量と膀胱がん罹患との関連

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⁾、昨年度までに3つの計算式;①曝露推定量A(各工程、曝露期間(年)×曝露頻度/月)、②曝露推定量Aに取扱い濃度、接触面積を考慮した曝露推定量B、③より客観的なリスク係数として、吸入と経皮推定曝露濃度の算出(ECETOC TRA)したリスク係数を使用した曝露推定量C(曝露推定量A×ECETOC TRAを利用したリスク係数)で検討した結果、すべて同じ工程で関連を認めため、最も簡易な計算式である①曝露推定量Aを曝露指標とした。

膀胱がん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がん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、1)重量の<1%含有濃度の従

事者の検討、2)製品の生体内代謝物(OTおよびOT代謝物)を考慮しさらなる検討が必要である。

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、複合曝露による影響も考慮を要する。

(2)現従事者を対象とした追跡調査では、現在、OT取り扱いがないため、曝露指標は、過去の推定曝露量を用いた。A事業所の芳香族アミン等の曝露群(曝露A群)は、B事業場の芳香族アミン等の曝露群(曝露B群)と比してOT推定曝露量が高かった。

特定健康診断結果は、曝露A群および曝露B群は、非曝露群と有意な所見の差は認めなかった。しかし、曝露群は、尿潜血を12.0%(曝露A群)、8.3%(曝露B群)、尿沈渣の赤血球数(5 \leq /HPF)の有所見を8.0%(曝露A群)、8.3%(曝露B群)に認めていること、膀胱がん患者(2名)は、診断前健診で膀胱がん関連所見を繰り返し認めていたことから、特殊健康診断および離職後は健康管理手帳(「労働安全衛生法施行令の一部を改正する政令案要綱」及び「労働安全衛生規則の一部を改正する省令案要綱」厚生労働省発基安0319第1号平成31年3月)を取得し、今後も継続した健診による注意深い観察が必要である。

平成29年4月以降に診断された膀胱がん罹患患者2名の特性は、平均年齢58歳、ともに喫煙者(過去喫煙含)、平均OT曝露期間15.3年、OT曝露開始

からの平均潜伏期間21.0年で、OT推定曝露量は100<300、ともにMX、AN等の複合曝露があった。これまでの膀胱がん罹患患者(10名)と同様の特性(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、OT推定曝露量平均274、範囲:105-440)⁵⁾を示し、芳香族アミン等に複合曝露のあるOT推定曝露量100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いた。

(3)健康管理

健康項目の評価

罹患患者の平成29年4月以降～診断に至るまで健診結果(図3)から、継続性のある健診が必要かつ重要である。また慢性尿路感染症は、膀胱がんのリスクをあげるという報告⁶⁾もあることから尿路系炎症・感染を示唆する尿中白血球数の上昇の存在も注視したい。

現在の特殊健康診断の一次健康診断の必須項目と医師が必要と認める場合に行う検査項目(尿中OT量の測定、尿沈渣検鏡の検査、尿沈渣のパパニコラ法による細胞診の検査)がある。いずれの罹患患者の確定診断は、尿細胞診classⅢを指摘後の2次健診による精査によるものであった。より早期の診断には検査が必要か否かを判断する「医師」の判断が重要である。一定の推定曝露量のあるOT取り扱い従事者へは、1次健診で尿沈渣検鏡の検査、尿沈渣のパパニコラ法による細胞診をおこなうべきである。

本調査で特殊健康診断に追加測定したNMP-22は、ベンジジンの特殊健康診断項目見直し案⁷⁾で一次健診項目に追加されている腫瘍マーカーである。罹患患者2名は、ともに平成29年1月から4回の測定の中で高値(12 \leq U/ml)を示さなかった。しかし、1名は、正常範囲内で上昇傾向を示し、一時的に正常範囲内高値(10 \leq NMP-22<12 U/ml)を示していた。NMP-22の測定は、新規膀胱がん罹患患者数が少ないため解釈に限界があるが、10 U/ml \leq NMP-22の場合は、注意して経過観察する必要がある。(図4)

E. 結論

芳香族アミン等に複合曝露のあるOT推定曝露量100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、芳香族アミン等の曝露歴のある現従事者は、特殊健康診断結果で尿潜血を8%に認めており、今後も本団体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;61:349-357.

Nakano M, Shinagawa T, Eitaki Y, Omae

K, Takeuchi A, Iwasawa S, Fukai K, Yoshioka N, Tanaka S, Koda S, Sobue T, and Takebayashi T. Risk of bladder cancer in male Japanese workers exposed to *ortho*-toluidine and other aromatic amines. (投稿中)

中野真規子。近年の職業がんをめぐる動向。産業医学ジャーナル。2019;42(6):8-11.

田中茂、岩澤聡子、寺内靖裕、中野真規子。化学物質の経皮吸収曝露防護のための化学防護手袋を学ぶ。産業医学ジャーナル。2019;42(1):61-67.

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)

中野真規子、品川貴郁、永滝陽子、大前和幸、竹内文乃、岩澤聡子、深井航太、吉岡範幸、田中茂、甲田茂樹、祖父江友孝、武林亨。オルトトルイジン曝露作業者の時間断面研究。第93回日本産業衛生学会 2020年5月(北海道旭川市)

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

50 - <100	217.6	1	0.020	49.8	2.5 - 245.4
100 - <200	153.3	6	0.032	187.7	76.1 - 390.4
200 - <300	38.5	3	0.007	430.3	109.5 - 1171.0

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がん。第 29 回 東京大学 環境安全研究センター シンポジウム。2019.12.11

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-Roudoukijunkyokuanzeniseibu-Kagakubushitsutaisakuka/0000126164.pdf>(令和 2 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/targeted-risk-assessment-tra/>(令和 2 年 5 月 18 日アクセス可能)

3)鰐渕 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。 <https://mhlw-grants.niph.go.jp/niph/search/NIDD00.do?resrchNum=201822010A>(令和 2 年 5 月 18 日アクセス可能)

告書。 <https://mhlw-grants.niph.go.jp/niph/search/NIDD00.do?resrchNum=201822010A>(令和 2 年 5 月 18 日アクセス可能)

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-Roudoukijunkyoku/170301_02.pdf(令和 2 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)Akhtar, Saeed; Al-Shammari, Ahmad; Al-Abkal, Jarrah. [Chronic urinary tract infection and bladder carcinoma risk: a meta-analysis of case-control and cohort studies.](#) World Journal of Urology. 2018;36:839-848.

<https://doi.org/10.1007/s00345-018-2206-x>

7)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) <http://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-11201000-Roudoukijunkyoku-Soumuka/0000089268.pdf> (令和 2 年 5 月 18 日アクセス可)

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、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。そこで今回の研究では、当該工場で芳香族アミンの取扱い歴のある作業者の作業歴データ・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、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）を算出した。

その結果、観察集団の標準化罹患比（罹患率が基準集団と等しい場合を1とする）は、61.0（95%信頼区間: 32.1 - 106.1）と有意に高値であった。また、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。

今回の研究結果からは、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が示唆された。ただし分析に用いたデータの都合上、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て定量的に示すことは困難であった。

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；
現 日本生命保険相互会社）

A. 目的

2015 年、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⁾。しかしこの時点では、当該工場従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。

そこで我々は 2017 年度に、当該工場従業員の作業歴データ・膀胱がんの罹患データを用いて、国民に対する膀胱がんの標準化罹患比 (SIR: Standardized Incidence Ratio) を算出し、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²⁾。

しかし 2017 年度の研究では、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 年/3 年/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。

よって 2018 年度は、当該工場で芳香族アミンを実際に取り扱っていた作業者のみを対象とした上で、信頼性の高い「従事年数×作業頻度」を推定曝露量とし、さらに潜伏期間を 0 年/5 年/10 年/15 年とした場合の SIR を算出した³⁾。

今年度の研究にあたっては、当該工場従業員の追跡調査データを更新し、観察期間の延長と、新たな膀胱がん罹患者の発生を反映した。また、SIR の計算を更に精緻化するため、観察開始日を分析対象とする芳香族アミンの取扱い

開始日とし、当該芳香族アミンの取扱い作業に従事していなかった従業員は、その SIR 計算から除外することとした。

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 12 名、芳香族アミンの取扱い作業を行っていなかった 3 名、女性 7 名 (女性の膀胱がん罹患率が 0 名であり、SIR 計算ができないため) を分析対象から除外した。

この結果、芳香族アミンの取扱い作業歴を確認できた男性 98 名が分析対象となった (図 1)。なお、対象者における膀胱がん罹患者は 11 名であった。

SIR の算出においては、観察人年の計算が必要となる。今回の調査では、観察開始日を「分析対象とする芳香族アミン取扱い作業の開始日」、観察終了日を「膀胱がん罹患患者:膀胱がん診断日」「現職者(24名):2020年1月31日」「生存を確認できた退職者(55名):最終生存確認日」「生存を確認できなかった退職者(8名):退職日」として人年計算を行った (総観察人年:2006.4 人年、観察期間中央値:20.8 年)。

芳香族アミン取扱い作業歴のデータには、従業員別・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)。

「取扱い物質」は、オルト-トルイジン

(OT)、オルト-アニシジン(OA)、2,4-キシリジン(MX)、パラ-トルイジン(PT)、アニリン(AN)、オルト-クロロアニリン(OCA)、その他の7種類に分類されていた。

「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。

「作業頻度」は、月間の平均作業日数が、“10日以上”、“2～9日”、“1～2日”、“1日未満”の4種類に分類されていた。

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、月間の平均作業日数が10日以上であれば「10」、2～9日であれば「5」、1～2日であれば「1」、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)の月間の平均作業頻度は、反応工程が「10日以上」、蒸留工程が「1日未満」、濾過・洗浄工程が「2～9日」、乾燥・袋詰め工程が「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」が存在することも考えられたため⁴⁻⁷⁾、今回の調査では、0年/5年/10年/15年の4パターンの「潜伏期間」を設定し、それぞれにおける曝露量を計算した。

以上の方法に基づき、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。なお今回の調査では、観察開始日を分析対象の芳香族アミン取扱い開始日とし、当該芳香族アミンの取扱い作業に従事していなかった従業員は人年計算から除外したことから、分析の対象者数や観察人年は、対象とする芳香族アミンによって異なっている(表2)。

ところで、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。

今回の研究では、SIR計算における基準集団のデータとして、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「がん罹患データ」を用いた。具体的には、「地域がん登録による全国推計値

(～2013年)」「地域がん登録による全国実測値(2014年～2015年)」「全国がん登録による全国実測値(2016年)」の、膀胱がん罹患数データと総人口データ(いずれも男性のみ)を用いた⁸⁾。当該工場で発生した膀胱がんには上皮内癌の症例も含まれていたため、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。

なお、SIR 計算にお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た上で、基準集団の罹患率も暦年別のものを用いて計算を行うべきである。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 年～2016 年のデータ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 年～2016 年における膀胱がん罹患数・人口を合算して得られた年齢階級別の膀胱がん罹患率をもとに、SIR 計算を行うこととした。

SIR の計算と同時に、Mid-P exact test による 95%信頼区間の推定を行った。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、計算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 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 1.41 を用いた^{9,10)}。

本研究は、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3～9に、芳香族アミン別・潜伏期間別・累積曝露量別の SIR と、Kendall 順位相関係数の計算結果を示す。

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(罹患率が基準集団と等しい場合を1とする)は、61.0(95%信頼区間:32.1 - 106.1)であった。

また、OT(潜伏期間:0年/5年/10年)と AN(潜伏期間:5年)において、累積曝露量が多い集団ほど SIR が大きい傾向(Kendall 順位相関係数が正、かつ P 値<0.05)が認められた。

D. 考察

芳香族アミン取扱い歴のある作業者集団の SIR が有意に高かったことと、一部の芳香族アミンにおいて累積曝露量が多い集団ほど SIR 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、膀胱がんの罹患に強く関与していた可能性が示唆された。

研究の限界としては、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”を示していない点が挙げられる。今回示した曝露量は、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。しかし本研究を行った時点では、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、今回示した方法によって推計された曝露量を用いることとなった。

本研究のもう一つの限界として、「芳香族アミンの種類ごと」に、膀胱がん罹患への寄与度を分析できなかった点が挙げられる。今回の分析結果では、特定の潜伏期間設定時にオルトトルイジン(OT)およびアニリン(AN)の累積曝露量が多いほど SIR が高い傾向が見られた。しかし本研究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く存在していたことが判明している。そのため、統計学的分析によって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別途必要と思われた。

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(SIR)は有意に高値であり、一部の芳香族アミンでは、累積曝露量が多い集団ほど SIR 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している。ただし、今回の分析方法は真の曝露量を反映しておらず、かつ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て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. 災害調査報告書 A-2015-07(一般公開版) 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.
2. 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 29 年度 総括・分担研究報告書分担研究報告書. 平成 30 (2018)年 3 月. 8-15 ページ.
3. 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・分担研究報告書分担研究報告書. 平成 31 (2019)年 3 月. 9-23 ページ.
4. 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.
5. Stasik MJ. Carcinomas of the urinary bladder in a 4-chloro-o-toluidine cohort. *Int Arch Occup Environ Health.* 1988;60(1):21-4.
 6. 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.
 7. 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.
 8. 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(MCIJ))
https://ganjoho.jp/reg_stat/statistics/dl/index.html
(2020年2月20日アクセス可能)
 9. 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 2020/2/20).
 10. Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics. *Bone Marrow Transplant.* 2013 Mar;48(3):452-8.

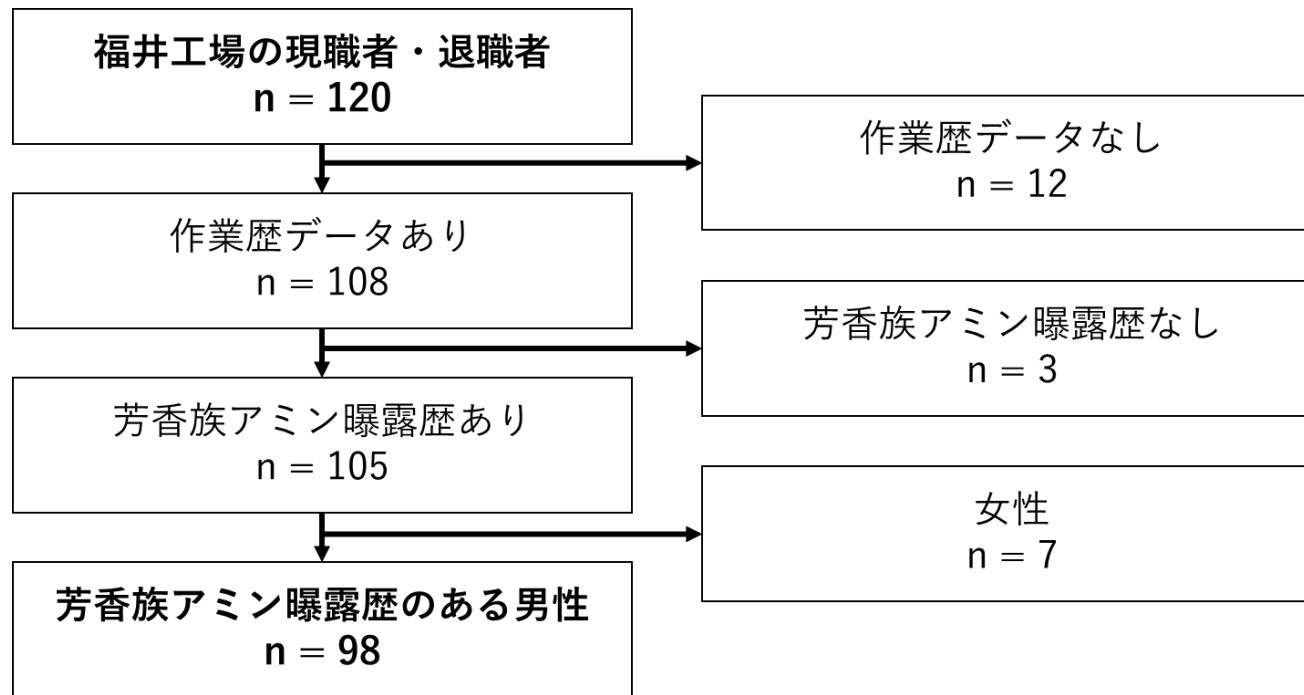


図1 分析対象の抽出

表1 芳香族アミンの取扱い作業歴データ (例)

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																																			
ID	作業開始		～	作業終了		芳香族アミン平均取扱い頻度 「◎: ほぼ毎日 (月平均 10 日以上)」「○: 月に数回 (月平均 2~9 日)」「△: 月に数回短時間 (月平均 1~2 日)」「×: ほとんどなし (月平均 1 日未満)」																													
	年	月		反応工程							蒸留工程							濾過・洗浄工程							乾燥・袋詰め工程										
				OT	OA	MX	PT	AN	OCA	他	OT	OA	MX	PT	AN	OCA	他	OT	OA	MX	PT	AN	OCA	他	OT	OA	MX	PT	AN	OCA	他				
A	1988	1	～	1989	12	◎	◎	×	◎	×	×	△	×	○	×	○	×	×	△	○	○	×	◎	×	×	△	×	×	×	×	×	×	×	×	×
	1990	1	～	2011	12	◎	◎	×	◎	×	△	△	×	○	×	○	×	×	△	○	○	×	◎	×	△	△	○	×	×	×	×	×	△	△	
	2012	1	～	2016	12	○	○	×	○	×	△	△	○	○	×	○	×	×	△	○	○	×	○	×	△	△	×	○	×	×	×	×	△	△	
B	1988	10	～	1989	6	◎	○	◎	×	◎	△	×	◎	○	◎	×	◎	△	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×		
	1989	7	～	1991	6	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	◎	○	×	×	◎	×	×	◎	○	×	×	◎	×	×			
	1991	7	～	1996	9	○	×	×	×	◎	△	×	○	×	×	×	◎	△	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×		
C	1993	2	～	2010	8	◎	×	◎	×	◎	△	×	◎	×	◎	△	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×		
	2010	9	～	2011	5	◎	×	◎	×	◎	△	×	◎	×	◎	×	◎	△	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×		
	2011	6	～	2013	12	◎	×	◎	×	◎	△	×	◎	○	◎	×	◎	△	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×		
D	1988	4	～	1988	7	○	×	◎	×	×	◎	×	○	×	◎	×	×	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×		
	1988	8	～	1988	12	◎	×	◎	×	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	◎	○	◎	×	◎	△	×	◎	○	◎	×	◎	△	×			
	1989	1	～	2011	12	×	×	×	×	◎	○	×	×	×	×	◎	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×		

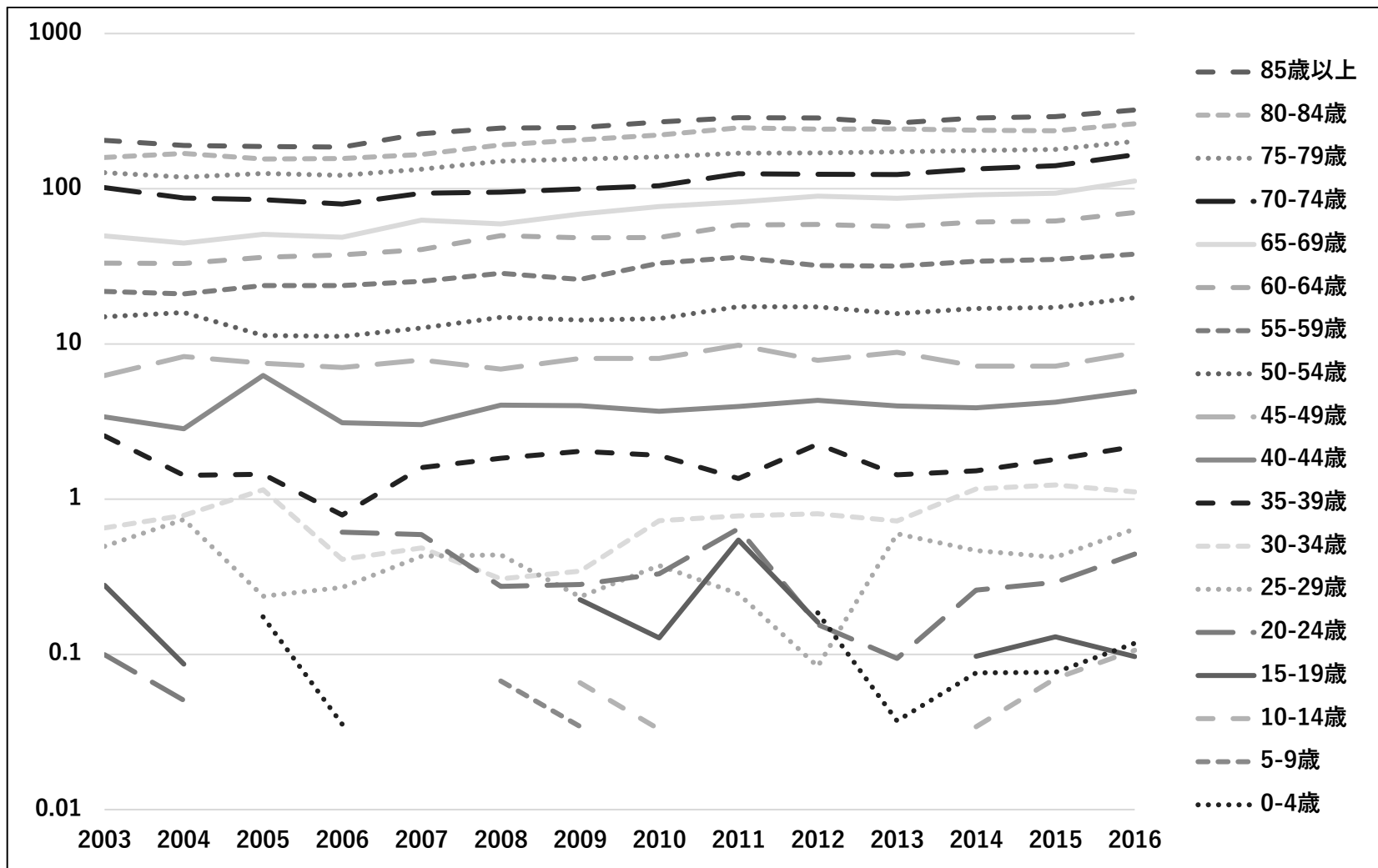


図2 日本国民の膀胱がん罹患率（10万対・男性・上皮内癌を含む）

表2 対象とした芳香族アミン別の分析対象者数・観察人年

芳香族アミンの種類	対象者数	観察人年
いずれかの芳香族アミン	98	2006.4
オルト-トルイジン (OT)	94	1945.6
オルト-アニシジン (OA)	64	1113.5
2,4-キシリジン (MX)	92	1905.8
パラ-トルイジン (PT)	18	183.9
アニリン (AN)	95	1956.5
オルト-クロロアニリン (OCA)	78	1467.5

表3 いずれかの芳香族アミンに曝露した集団における SIR

いずれかの芳香族アミン (n=98)	累積曝露量	観察人年	実罹患数	期待罹患数	SIR (基準=1)	95%信頼区間
全て		2006.4	11	0.180	61.0	32.1 - 106.1

表4 オルト-トルイジン（OT）に曝露した集団における SIR

OT (n=94)	累積曝露量	観察人年	実罹患数	期待罹患数	SIR (基準=1)	95%信頼区間
	全て	1945.6	11	0.180	61.3	32.2 - 106.5
潜伏期間 0年	0< - <50	1028.9	0	0.096	0	n/a
	50 - <100	391.9	1	0.020	50.7	2.5 - 249.9
	100 - <200	317.6	2	0.036	55.9	9.4 - 184.5
	200 - <300	125.1	3	0.012	246.0	62.6 - 669.5
	300 -	82.0	5	0.016	317.2	116.2 - 703.0
	Kendall 順位相関係数				1 (P=0.02)	
潜伏期間 5年	0	449.9	0	0.009	0	n/a
	0< - <50	834.8	0	0.095	0	n/a
	50 - <100	305.0	1	0.020	50.4	2.5 - 248.5
	100 - <200	238.3	5	0.036	139.8	51.2 - 310.0
	200 - <300	74.7	1	0.009	110.5	5.5 - 544.8
	300 -	42.8	4	0.011	374.2	118.9 - 902.7
Kendall 順位相関係数				0.83 (P=0.02)		
潜伏期間 10年	0	884.3	0	0.026	0	n/a
	0< - <50	631.6	0	0.089	0	n/a
	50 - <100	217.6	1	0.020	49.8	2.5 - 245.4
	100 - <200	153.3	6	0.032	187.7	76.1 - 390.4
	200 - <300	38.5	3	0.007	430.3	109.5 - 1171.0
	300 -	20.3	1	0.005	202.4	10.1 - 998.1
Kendall 順位相関係数				0.83 (P=0.02)		
潜伏期間 15年	0	1290.3	0	0.055	0	n/a
	0< - <50	424.2	0	0.079	0	n/a
	50 - <100	130.5	6	0.019	320.5	129.9 - 666.7
	100 - <200	75.1	3	0.022	138.3	35.2 - 376.3
	200 - <300	13.4	2	0.002	963.1	161.5 - 3182.0
	300 -	12.0	0	0.003	0	n/a
Kendall 順位相関係数				0.3 (P=0.42)		

表5 オルト-アニシジン（OA）に曝露した集団における SIR

OA (n=64)	累積曝露量	観察人年	実罹患数	期待罹患数	SIR (基準=1)	95%信頼区間
	全て	1113.5	10	0.119	83.9	42.6 - 149.5
潜伏期間 0年	0< - <50	821.7	3	0.088	34.0	8.6 - 92.5
	50 - <100	258.6	7	0.027	262.1	114.6 - 518.5
	100 - <200	33.2	0	0.004	0	n/a
	Kendall 順位相関係数				-0.33 (P=1)	
潜伏期間 5年	0	308.6	0	0.011	0	n/a
	0< - <50	635.0	9	0.086	104.8	51.1 - 192.3
	50 - <100	141.8	1	0.019	53.9	2.7 - 265.9
	100 - <200	28.2	0	0.004	0	n/a
Kendall 順位相関係数				-0.18 (P=0.72)		
潜伏期間 10年	0	576.6	2	0.026	76.0	12.7 - 251.1
	0< - <50	421.8	7	0.074	95.1	41.6 - 188.2
	50 - <100	92.0	1	0.015	65.8	3.3 - 324.4
	100 - <200	23.2	0	0.004	0	n/a
Kendall 順位相関係数				-0.67 (P=0.33)		
潜伏期間 15年	0	775.6	2	0.046	43.8	7.3 - 144.6
	0< - <50	268.9	7	0.059	118.3	51.8 - 234.1
	50 - <100	50.8	1	0.010	96.0	4.8 - 473.7
	100 - <200	18.2	0	0.004	0	n/a
Kendall 順位相関係数				-0.33 (P=0.75)		

表 6 2,4-キシリジン (MX) に曝露した集団における SIR

MX (n=92)	累積曝露量	観察人年	実罹患数	期待罹患数	SIR (基準=1)	95%信頼区間
	全て	1905.8	11	0.176	62.4	32.8 - 108.5
潜伏期間 0 年	0 < - <50	1047.2	0	0.096	0	n/a
	50 - <100	357.3	1	0.021	46.7	2.3 - 230.6
	100 - <200	348.8	4	0.038	104.2	33.1 - 251.3
	200 - <300	96.3	4	0.010	412.1	131.0 - 994.1
	300 -	56.2	2	0.011	187.8	31.5 - 620.5
	Kendall 順位相関係数				0.8 (P=0.08)	
潜伏期間 5 年	0	439.9	0	0.009	0	n/a
	0 < - <50	858.1	0	0.095	0	n/a
	50 - <100	273.9	1	0.022	44.5	2.2 - 219.4
	100 - <200	249.0	6	0.036	168.2	68.2 - 349.9
	200 - <300	53.9	3	0.007	402.3	102.3 - 1095.0
	300 -	31.0	1	0.006	155.4	7.8 - 766.4
	Kendall 順位相関係数				0.69 (P=0.06)	
潜伏期間 10 年	0	864.3	0	0.025	0	n/a
	0 < - <50	661.2	0	0.091	0	n/a
	50 - <100	197.7	2	0.025	79.1	13.3 - 261.5
	100 - <200	139.1	7	0.027	254.6	111.3 - 503.6
	200 - <300	25.3	2	0.003	575.4	96.5 - 1901.0
	300 -	18.2	0	0.004	0	n/a
	Kendall 順位相関係数				0.45 (P=0.23)	
潜伏期間 15 年	0	1262.5	0	0.052	0	n/a
	0 < - <50	456.8	2	0.083	24.0	4.0 - 79.2
	50 - <100	101.5	4	0.021	186.1	59.1 - 448.9
	100 - <200	60.8	5	0.015	344.0	126.0 - 762.4
	200 - <300	13.6	0	0.001	0	n/a
	300 -	10.5	0	0.003	0	n/a
	Kendall 順位相関係数				0 (P=1)	

表7 パラ-トルイジン（PT）に曝露した集団における SIR

PT (n=18)	累積曝露量	観察人年	実罹患数	期待罹患数	SIR (基準=1)	95%信頼区間
	全て	183.9	3	0.014	211.8	53.9 - 576.3
潜伏期間 0年	0< - <50	137.3	3	0.010	312.6	79.5 - 850.9
	50 - <100	46.6	0	0.005	0	n/a
	Kendall 順位相関係数				-1 (P=1)	
	0	88.4	2	0.004	456.5	76.5 - 1508.0
潜伏期間 5年	0< - <50	63.8	1	0.006	179.8	9.0 - 886.7
	50 - <100	31.7	0	0.004	0	n/a
	Kendall 順位相関係数				-1 (P=0.33)	
	0	140.0	3	0.007	400.8	102.0 - 1091.0
潜伏期間 10年	0< - <50	17.4	0	0.003	0	n/a
	50 - <100	26.5	0	0.004	0	n/a
	Kendall 順位相関係数				-0.82 (P=0.22)	
	0	150.0	3	0.008	375.3	95.5 - 1021.0
潜伏期間 15年	0< - <50	12.4	0	0.002	0	n/a
	50 - <100	21.5	0	0.004	0	n/a
	Kendall 順位相関係数				-0.82 (P=0.22)	

表 8 アニリン（AN）に曝露した集団における SIR

AN (n=95)	累積曝露量	観察人年	実罹患数	期待罹患数	SIR (基準=1)	95%信頼区間
	全て	1956.5	11	0.177	62.1	32.7 - 108.0
潜伏期間 0 年	0< - <50	975.1	0	0.091	0	n/a
	50 - <100	361.8	1	0.019	53.2	2.7 - 262.5
	100 - <200	378.0	5	0.040	126.5	46.4 - 280.4
	200 - <300	132.5	3	0.014	209.5	53.3 - 570.3
	300 -	109.1	2	0.013	149.3	25.0 - 493.3
	Kendall 順位相関係数				0.8 (P=0.08)	
潜伏期間 5 年	0	455.6	0	0.009	0	n/a
	0< - <50	779.8	0	0.090	0	n/a
	50 - <100	293.1	2	0.020	99.6	16.7 - 329.2
	100 - <200	285.6	4	0.038	106.3	33.8 - 256.4
	200 - <300	83.4	3	0.012	240.9	61.3 - 655.6
	300 -	59.1	2	0.008	237.8	39.9 - 785.5
Kendall 順位相関係数				0.83 (P=0.02)		
潜伏期間 10 年	0	885.7	0	0.025	0	n/a
	0< - <50	586.3	0	0.084	0	n/a
	50 - <100	226.3	3	0.023	132.4	33.7 - 360.4
	100 - <200	183.9	4	0.033	121.1	38.5 - 292.0
	200 - <300	56.8	4	0.008	479.3	152.3 - 1156.0
	300 -	17.5	0	0.004	0.0	n/a
Kendall 順位相関係数				0.3 (P=0.42)		
潜伏期間 15 年	0	1294.9	0	0.053	0	n/a
	0< - <50	385.0	1	0.074	13.5	0.7 - 66.8
	50 - <100	151.5	3	0.022	133.6	34.0 - 363.6
	100 - <200	97.5	7	0.024	296.7	129.8 - 586.9
	200 - <300	16.1	0	0.001	0	n/a
	300 -	11.5	0	0.003	0	n/a
Kendall 順位相関係数				0 (P=1)		

表9 オルト-クロロアニリン（OCA）に曝露した集団における SIR

OCA (n=78)	累積曝露量	観察人年	実罹患者数	期待罹患者数	SIR (基準=1)	95%信頼区間
	全て	1467.5	11	0.138	79.5	41.8 - 138.2
潜伏期間 0 年	0< - <50	1194.5	8	0.111	71.9	33.4 - 136.5
	50 - <100	215.0	3	0.022	139.4	35.5 - 379.5
	100 - <200	58.0	0	0.006	0	n/a
	Kendall 順位相関係数				-0.33 (P=1)	
潜伏期間 5 年	0	370.7	0	0.009	0	n/a
	0< - <50	912.2	9	0.107	84.5	41.2 - 155.1
	50 - <100	143.3	2	0.018	109.5	18.4 - 361.9
	100 - <200	41.4	0	0.005	0	n/a
Kendall 順位相関係数				0.18 (P=0.72)		
潜伏期間 10 年	0	707.5	0	0.022	0	n/a
	0< - <50	635.0	10	0.097	103.6	52.6 - 184.6
	50 - <100	94.0	1	0.015	65.9	3.3 - 325.1
	100 - <200	31.0	0	0.005	0	n/a
Kendall 順位相関係数				-0.18 (P=0.72)		
潜伏期間 15 年	0	1002.1	0	0.043	0	n/a
	0< - <50	390.4	10	0.080	125.1	63.6 - 223.0
	50 - <100	54.0	1	0.011	89.1	4.5 - 439.2
	100 - <200	21.0	0	0.004	0	n/a
Kendall 順位相関係数				-0.18 (P=0.72)		

令和 1 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 鱒渕 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臨床病理学研究に関して本年度は、昨年度に施行した芳香族アミン取扱事業所で発生したヒト膀胱がん、芳香族アミン類のばく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スペクトラム解析を行った。両者の遺伝子変異数、遺伝子変異スペクトラムに有意な差は認められなかった。②AAOT の膀胱発がん性評価に関して本年度は、AAOT の発がんメカニズムを明らかにするため AAOT を 6 週齢の F344 ラットに 0%、0.167%、1.5%濃度で 4 週間単独投与し、ラット膀胱上皮から RNA を抽出し、マイクロアレイ遺伝子発現解析を行った。その結果、JUN とその下流にある「腫瘍の増生」関連遺伝子の発現が亢進していたことが明らかになった。このことから、AAOT の膀胱発がんには JUN シグナリング伝達経路の活性化が関与していることが示唆された。

研究協力者

魏民、行松直、鈴木周五 (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未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 (Ion AmpliSeq™ Cancer Hotspot Panel v2) を用いて、50 種類の代表的ながん遺伝子、がん抑制遺伝子の変異を検索した。前年度は、ortho-toluidine (OTD)などの芳香族アミン取り扱い事業所で発生した職業性膀胱がん 6 例 (OTD ばく露群)と、芳香族アミン非ばく露群 8 例 (喫煙歴、性別、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 (OTD 非ばく露群)の遺伝子変異頻度を解析した。本年度は、さらに各群の遺伝子変異数の差の検索、詳細な変異スペクトラム解析を行った。

②動物モデルを用いた AAOT の膀胱発がん性評価

前年度までに、*in vitro* における AAOT の代謝および毒性評価、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、AAOT の膀胱発がん性を検討するための 2 段階膀胱

発がん試験を行い、膀胱発がん性を明らかにしてきた。本年度は、AAOT のその発がんメカニズムを明らかにするため網羅的遺伝子発現解析を行った。

6 週齢の雄 F344 ラット 18 匹を 3 群に分け、AAOT を 0%、0.167%、1.5%の濃度で 4 週間混餌投与し、解剖を行った。最高投与濃度 1.5% は 2 段階発がん試験で膀胱発がん用量である。観察期間中には毎週飲水量、摂餌量、体重を測定した。解剖時に、ラット膀胱上皮を採取し、RNeasy Mini Kit (QIAGEN) を用いて RNA を抽出し、GeneChip Rat Genome 230 2.0 Array (Affymetrix) を用いてマイクロアレイ解析を行った。対照群 (0%) に対して 1.5%投与群において発現が変動した遺伝子を選出し、Ingenuity Pathway Analysis (Ingenuity Systems) を用いてパスウェイ解析を行った。そこで得られた遺伝子ネットワークに関わる 9 つの遺伝子の発現をリアルタイム PCR にて評価した。また、解剖時に採取しホルマリン固定を行ったラット膀胱組織に対して JUN、prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (PTGS2; COX2)の免疫染色を行った。

(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、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で施行した。

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 OTD ばく露群 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 OTD 非ばく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。前年度は両群で変異遺伝子を調べたが、両群間に各遺伝子変異率の差はなかった。本年の追加検討の結果、両群間で non-synonymous (非同義)、synonymous (同義)、合計の変異数はそれぞれ有意差を認めなかった (表 1)。また、単塩基変異 (SNV) の塩基スペクトラム解析の結果、置換を受けた塩基、置換された後の塩基についても両群間に有意差は認められなかった (図 1)

表 1. OTD ばく露群、OTD 非ばく露群における遺伝子変異数

	Number of mutations		
	Non-synonymous	Synonymous	Total
OTD 暴露群			
Case 1	15	5	20
Case 2	14	6	20
Case 3	10	4	14
Case 4	11	5	16
Case 5	12	6	18
Case 6	7	8	15
Average	11.5	5.7	17.2
SD	2.9	1.4	2.6
OTD 非暴露群			
Case 1	14	8	22
Case 2	7	7	14
Case 3	10	3	13
Case 4	15	5	20
Case 5	14	7	21
Case 6	11	7	18
Case 7	15	6	21
Case 8	12	7	19
Average	12.3	6.3	18.5
SD	2.8	1.6	3.3

② 動物モデルを用いた AAOT の膀胱発がん性評価

ラット膀胱上皮から RNA を抽出し、マイクロアレイ解析を行った結果、対照群と比較し 1.5% 投与群で、94 個の発現変動遺伝子が認められた。そのうち 65 個は発現亢進しており、29 個は発現低下していた。これらの 94 個の発現変動遺伝子を Ingenuity Pathway Analysis を用いて解析を行った結果「腫瘍の増生」に關与するネットワークが検出された (図 2)。このネッ

トワークは、JUN、PTGS2 を上流調節因子とし、9 つの発現亢進された遺伝子により形成されていた (図 2)。

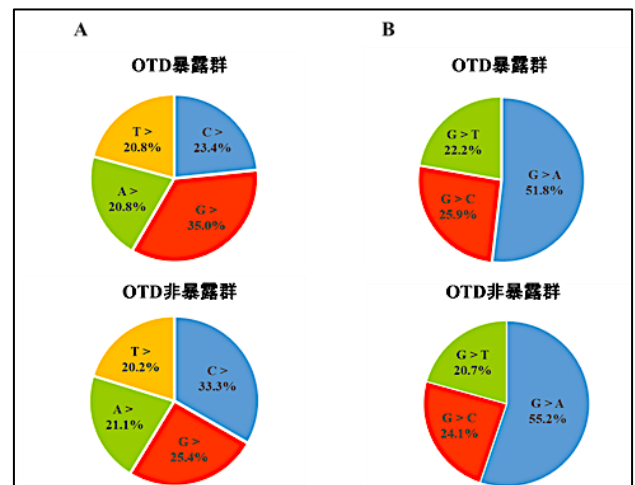


図 1. OTD ばく露群、OTD 非ばく露群における塩基変化の分布 A. 置換を受けた塩基の分布 B. G が置換された後の塩基の分布

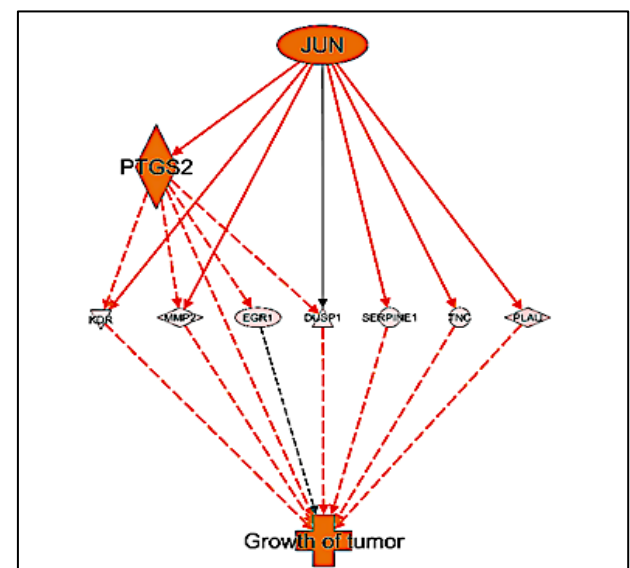


図 2. 「腫瘍の増生」関連遺伝子ネットワーク

ラット膀胱上皮から抽出した RNA を用いてリアルタイム PCR を施行した結果、上流調節因子である、JUN、PTGS2 および、PLAU、DUSP1、SERPINE1 の mRNA 発現は 1.5% 投与群で有意に亢進していた。また、解析した 9 つの遺伝子全て、AAOT 投与量に關して mRNA 発現

が亢進していた (図 3)。

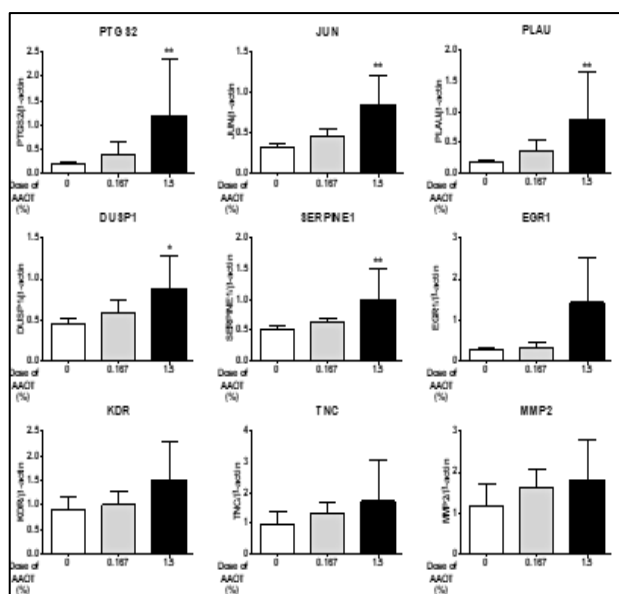


図 3. ラット膀胱上皮における mRNA 発現

ラット膀胱粘膜組織に対し、JUN および PTGS2 免疫染色を行った結果、JUN は対照群および 1.5% 投与群の形態学的に正常な膀胱上皮細胞の核内で染色された (図 4)。膀胱上皮細胞の JUN 核陽性率は、1.5% 投与群で有意に上昇していた (図 5)。PTGS2 は、1.5% 投与群の単純過形成を来した膀胱上皮の基底層の細胞質で染色され、対照群及び 1.5% 投与群の正常な膀胱上皮細胞では染色されなかった (図 4)。

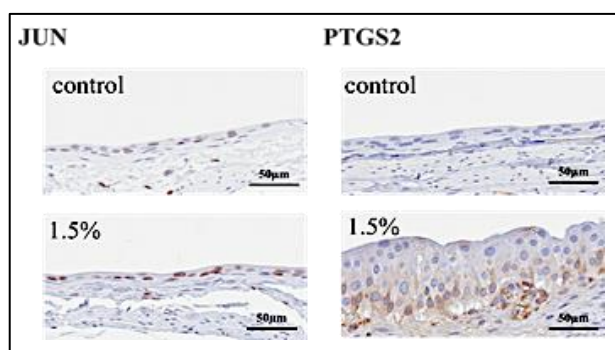


図 4. ラット膀胱上皮における JUN, PTGS2 発現

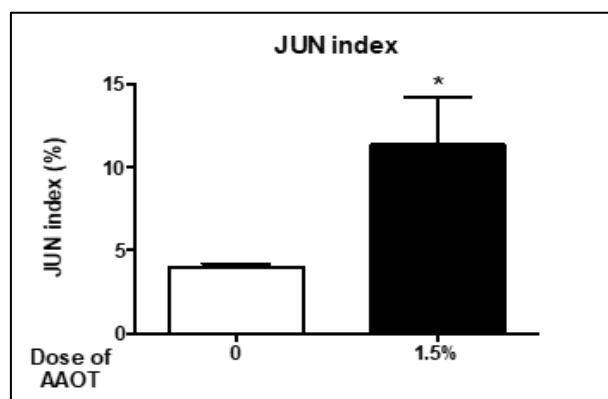


図 5. ラット膀胱上皮における JUN 陽性率

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

OTD の発がんメカニズムとして、OTD の代謝物である N-hydroxyl-OTD が膀胱上皮の主にグアニン(G)に対して DNA 付加体を形成し DNA 損傷を引き起こすことが知られている¹⁾。今回、SNV の塩基スペクトラム解析を行ったが、両群間に有意差は認められなかった。

膀胱がんリスクの主な原因として喫煙があり、膀胱がんの約半数に関与していると考えられている²⁾。喫煙による膀胱がんのリスクの増加には、タバコの煙中に含まれる既知の膀胱発がん物質である OTD、2-ナフチルアミン、4-アミノビフェニルなどの芳香族アミンのばく露が関与していると報告されている³⁾。今回の対照群である OTD 非ばく露群 8 人の膀胱がん患者全員に喫煙歴がある。本研究の芳香族アミンばく露膀胱がん、非ばく露膀胱がんの遺伝子変異に有意差がないという結果は、喫煙による膀胱がん発症にはタバコ煙中に存在する膀胱発がん物質である芳香族アミンが主に関与しているという考えを支持するものと考えられる。

② 動物モデルを用いた AAOT の膀胱発がん性評価

前年度までに施行した AAOT の短期毒性試

験、2 段階発がん試験にて、AAOT はラット膀胱に対して発がん促進作用を有し、AAOT が既知の膀胱発がん物質である OTD に代謝され発がん性をもつことが明らかとなった。

今年度は、AAOT を単独投与したラット膀胱上皮を用いて、マイクロアレイによる遺伝子発現解析を行い、変動遺伝子による発がんメカニズムを検討した。その結果、「腫瘍の増生」に参与するネットワークが検出され、JUNとその下流にある標的遺伝子の発現が亢進していた。実際に、ラット膀胱上皮から抽出した RNA を用いてリアルタイム定量的 PCR を施行した結果、これらの遺伝子は AAOT 投与群で用量に相関して発現亢進を認めた。上流調節因子である JUN、PTGS2 免疫染色の結果からも AAOT 投与群における膀胱上皮内の JUN、PTGS2 の過剰発現が示唆され、AAOT の膀胱発がん性には JUN とその下流にある「腫瘍の増生」関連遺伝子の発現が亢進したことが明らかになった。

E. 結論

ヒト膀胱がん腫瘍組織を用いた臨床病理学研究において、今回の手法では芳香族アミンばく露群の膀胱がんの特徴的な遺伝子変異は得られなかった。

動物モデルを用いた AAOT の膀胱発がん性評価では、AAOT の膀胱発がん性には JUN シグナル伝達経路の活性化が関与していることが示唆された。

引用文献

- 1) Synthesis, characterization, and conformational analysis of dna adducts from methylated anilines present in tobacco smoke. Marques MM, Mourato LL, Santos MA, Beland FA. 1996: Chem Res Toxicol. 9(1):99-108
- 2) A comparison of exposures and meta

analysis of incidence and mortality risks. Cumberbatch MG, Rota M, Catto JW, La Vecchia C. 2016: Eur Urol. 70(3):458-466

- 3) Genotoxicity of tobacco smoke-derived aromatic amines and bladder cancer: Current state of knowledge and future research directions. Besaratinia A, Tommasi S. 2013: Faseb j. 27(6):2090-2100

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yukimatsu N, Gi M, Okuno T, Fujioka M, Suzuki S, Kakehashi A, Yanagiba Y, Suda M, Koda S, Nakatani T, and Wanibuchi H. Promotion effects of acetoaceto-*o*-toluidide on N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine-induced bladder carcinogenesis in rats. Arch Toxicol. 93: 3617-3631, 2019.

2. 学会発表

- 1) 奥野高裕、魏民、藤岡正喜、梯アンナ、鰐渕英機. Acetoaceto-*o*-toluidide はラット膀胱上皮の細胞増殖を促進し、発がん促進作用を示す. 第 108 回日本病理学会総会、東京(2019 年 5 月)
- 2) 鰐渕英機、魏民. 芳香族アミンによる職業性膀胱がんに関する最新知見. 第 78 回日本癌学会学術総会、京都(2019 年 9 月)
- 3) 行松直、奥野高裕、魏民、梯アンナ、鰐渕英機. ラットにおける BBN 誘発膀胱発がんに対するアセトアセト-*o*-トルイジドの促進効果. 第 78 回日本癌学会学術総会、京都(2019 年 9 月)
- 4) 行松直、魏民、梯アンナ、鈴木周五、鰐渕英機. ラットにおける BBN 誘発膀胱発がんに対する *o*-Acetoacetotoluidide の促進効

果. 第 36 回日本毒性病理学会総会、東京(2020年2月)

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

特になし

令和 元 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

我々は、これまでに職業性膀胱がんの発生現場で使用されていたオルト-トルイジン(OT)等5種類の芳香族アミン類の経皮吸収や体内動態、尿中代謝物の測定条件の検討を行なうとともに、今後の産業化学物質の皮膚透過性試験モデルとして三次元ヒト培養皮膚モデル応用に関する検討を行ってきた。最終年度では、これまでの実験・解析系をベースに、さらなる補強的、応用的検討である以下①-③の検討を実施した。①三次元ヒト培養皮膚モデルにおける物質透過に関する特性を詳細に把握するための補強的検討。②正常皮膚動物におけるOTの経皮吸収、体内動態、尿中の代謝物解析(損傷皮膚動物における検討は実施済)③現場作業者の尿サンプルを用いた、尿中バイオマーカーの開発に関する検討。本研究では、これら、芳香族アミン類の経皮吸収性から、代謝・体内動態、毒性、バイオモニタリング指標開発まで一貫した検討は実施し、芳香族アミン類等の経皮ばく露によるリスク評価を実施するための基盤を築くことを目的とした。

研究協力者： 小野真理子、豊岡達士、柳場由絵、小林健一、須田 恵

A. 研究目的

福井県の事業場で、オルト-トルイジン(OT)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、労働安全衛生総合研究所が現地調査を行った結果、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¹⁾。このことは、OT 等芳香族アミン類が経皮吸収され健康障害を引き起こしたことを意味するものである。一方で、芳香族アミン類の経皮吸収性、代謝・体内動態、毒性等についての一貫した検討は不足している。今後、経皮吸収によるリスク評価を実施するために、皮膚吸収性の評価法の構築、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。

我々は、これまでに、「芳香族アミン類の経皮吸収性に関する検討」として、ヒト3次元皮膚モデルを用いて OT 等の芳香族アミンの皮膚透過性が非常に高いこと、また、損傷皮膚動物(ラット)を使用したオートラジオグラフィ法によってOT 経皮ばく露後の体内動態を明らかにした。「代謝・体内動態、毒性等に関する検討」では、動物(ラット)を用いた皮膚投与法の検討、投与後の体内動態及び膀胱などの特定組織における遺伝毒性を明らかにした。さらに、「生物学的モニタリング手法の開発」に関して、LC/MS/MS法において、OT、ジメチルアニリン(DMA)、アニリン(ANL)、オルト-アニシジン(OAS)、パラ-トルイジン(PT)の5物質及びその代謝物の分析方法を確立した。

最終年度では、これまでの実験・解析系をベースに、さらなる補強的、応用的検討である以下①-③の検討を実施した。①三次元ヒト培養皮膚モデルにおける物質透過に関する特性を詳細に把握するための補強的検討。②正常皮膚動物における OT の経皮吸収、体内動態、尿中の代謝物解析③現場作業者の尿サン

ルを用いた、尿中バイオマーカーの開発に関する検討。

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-Roudoukijunkyokuanzeneiseibu-Kagakubushitsutaisakuka/0000126164.pdf>)

B. 研究方法

① 三次元ヒト培養皮膚モデルにおける物質透過に関する特性を詳細に把握するための補強的検討

放射性^[14C]ラベルしたアニリン(ANL)を用い、皮膚透過率に対する作用濃度依存性、及び、滴下量依存性を次の条件で検討した。なお、^[14C] ANL の原液は 0.1mCi (dissolved in ETOH)であり、条件に応じてPBSで希釈して使用した。(1) 三次元培養皮膚への滴下量を200μl一定とし、濃度を0.01~1μCi/200μlの範囲で変化させる(2) 濃度を一定(0.1μCi/200μl)にし、滴下量を25-800 μlの範囲で変化させる(多滴下量ほど、^[14C] ANL分子数は増える)(3) 滴下量25-800 μlの範囲で変化させ、各滴下量に含まれる^[14C]ANL分子数を0.1μCiと一定にする(少滴下量ほど濃度が高くなる)

② 正常皮膚動物におけるOTの経皮吸収、体内動態、尿中の代謝物解析

ラットの背部をバリカンおよびシェーバーで剪毛・剃毛し(正常皮膚)、^[14C]OTを50mg/712kBq/4ml/kgの用量でリント布を介して経皮ばく露した(リント布貼付法)(投与用量は体重から算出)。ばく露時間(リント布貼付時

間)は、8 時間、または 24 時間とし、ばく露終了後、リント布を剥離しエタノールで湿らせた脱脂綿を用いて投与部位に残った投与液を拭きとり、オートラジオグラフィに供する切片を作製した。なお、切片は 1 匹につき3面(左面、左傍正中面、正中面)とし、厚さ40 μm とした。血液、肝臓、腎臓、膀胱における ^{14}C OT 放射能濃度 (Counts/ mm^2)をイメージングアナライザーによる全身オートラジオルミノグラムによって算出した。また、正常皮膚動物における尿中の代謝物の解析として、同様に剪毛・剃毛したラットの背部にリント布貼付法によって ^{14}C OT を経皮ばく露し、代謝ケージ内で 24 時間後まで尿を採取した。ラジオクロマトグラフィー (LC/MS)を用いて、ラット尿中(2 群 0-24 h)の OT 代謝物の解析を行なった。

③現場作業者の尿サンプルを用いた、尿中バイオマーカーの開発に関する検討

尿中バイオマーカーの開発にあたって、測定法の信頼性を担保するために、測定値の変動を把握する必要がある。芳香族アミン類取り扱い作業者の尿合計 49 サンプルについて、17 試料は採取から11、12、15か月目、32試料は採取後1、3、5か月目にそれぞれ 1 回(1 試料辺り 3 回)の分析をし、測定値の変動係数(CV 値)が機器による誤差範囲内に収まるか否かを確認した。また、OT の代謝物として我々が注目している 4-アミノメタクレゾール(4AMC)と 2-アミノメタクレゾール(2AMC)について、OT の肝臓での代謝だけではなく、尿路系の代謝においても生じる可能性があるかどうかを検討した。

(倫理面への配慮)

3D 皮膚の実験については、特になし。動物実験は動物実験委員会の承認を受けて行った。作業者の尿試料の解析は倫理委員会の承認を受けて実施した。

C. 研究結果

① 三次元ヒト培養皮膚の物質透過に関する補強的検討

研究方法①に示す(1)-(3)を実施したところ、次のことが明らかになった(図示せず)。(i) 滴下溶液体積が一定であれば、ANL 分子数によらず、透過率はほぼ一定である。(ii) ANL 分子数が一定であれば、滴下溶液体積が増えるにつれ、透過率は低く算出される。(iii)滴下溶液体積が増えるにつれ、カップ内の ANL 分子数が増えるため、透過率は、低く算出される(分母が大きくなるため)。

② 正常皮膚動物におけるOTの経皮吸収、体内動態、尿中の代謝物解析

正常皮膚ラットに ^{14}C OT をリント布貼付法により、経皮ばく露した結果、貼付 8 時間後では腎臓、膀胱、24 時間後では膀胱で高い放射能濃度が検出された(表 1)。また、24 時間でばく露量の 81.3%が排泄されていた。

表 1.正常皮膚ラットにおける ^{14}C OT 経皮ばく露後の組織中放射能濃度

組織	濃度 ($\mu\text{g eq./g}$)	
	8 h	24 h
血液	BLQ	BLQ
肝臓	12.324	BLQ
腎臓	80.180	BLQ
膀胱	28.639	12.374

BLQ: BLQ: 定量下限未満

ラット尿の代謝物として、ヒドロキシル化、硫酸抱合された ^{14}C OT が 44.8%、アセチル化、ヒドロキシル化、硫酸抱合、グルクロン酸抱合された ^{14}C OT が 4.8%、アセチル化、ヒドロキシル化、グルクロン酸抱合された ^{14}C OT が 2.2%検出された。未変化 ^{14}C OT は 33.7%であった(図 2, 表 2)。

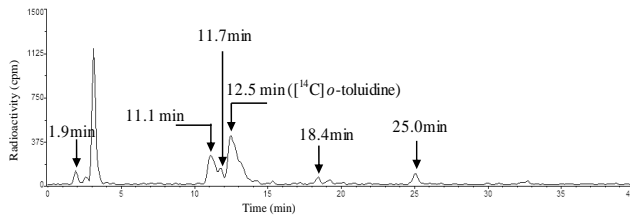


図 2. 正常皮膚ラットにおける¹⁴C OT 経皮ばく露後の尿中¹⁴C OT 及びその代謝物の解析

表 2. 正常皮膚ラットにおける¹⁴C OT 経皮ばく露後の尿中¹⁴C OT 代謝物の解析

Retention time of the radioactive peak (min)	Composition ratio of total radioactivity (%)	Accurate mass (m/z)		Mass shift (Da)	Estimated formula	Estimated transformation
		Observed	Theoretical			
1.9	3.6	NE				
3.1	32.2	204.0303	204.0325	95.9501	C ₇ H ₇ NO ₂ S	Hydroxylation and Sulfation
11.1	12.6	204.0304	204.0325	95.9502	C ₇ H ₇ NO ₂ S	Hydroxylation and Sulfation
11.7	4.8	246.0418	246.0431	137.9616	C ₁₂ H ₁₁ NO ₂ S	Acetylation, Hydroxylation and Sulfation
		342.1145	342.1183	234.0343	C ₁₂ H ₁₁ NO ₃	Acetylation, Hydroxylation and Glucuronidation
12.5	33.7	108.0802	108.0808	0.0000	C ₇ H ₇ N	Unchanged
18.4	2.2	342.1169	342.1183	234.0367	C ₁₂ H ₁₁ NO ₃	Acetylation, Hydroxylation and Glucuronidation
25.0	3.9	NE				
Others	7.0					

NE: Not estimated

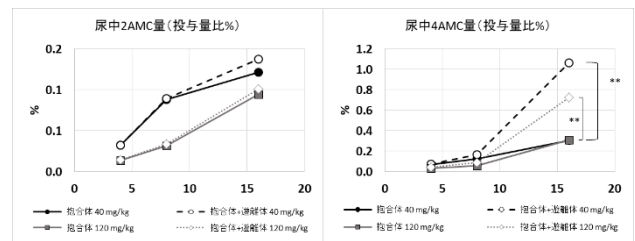
*Mass shift represents the difference between observed accurate mass of the o-toluidine and metabolites.

③現場作業者の尿サンプルを用いた、尿中バイオマーカーの開発に関する検討
 作業者の尿では OT の添加回収率が 21-83%となり、尿におけるマトリックス効果による変動は非常に大きいことが示された。

測定値の誤差(ばらつき)の原因は、分注器や分注の手技によるばらつき、分析機器に由来する注入や検出器の揺らぎによるばらつき、分析時のベースラインの変動によるピークの読取りのばらつきが挙げられ、これらは独立した要因である。分注器等のばらつきは実測で 1-2%、分析機器に由来するばらつきは公称で CV5%以下、分析時のベースラインの変動によるピークの読取りのばらつきは定量下限値を 20%のばらつきと定義されるため、これらを足し合わせたものが誤差の期待値となる。定量下限値-定量下限値×5未満(26-10%が誤差の期待値)、定量下限値×5以上(誤差の期待値 10%以内)として濃度をクラス分けし、各試料の

CV 値のクラスごとの平均を求めると、前者が 17.2%、後者が 7.4%となり、誤差は期待値通りであった。

動物の尿中 4AMC と 2AMC について抱合体と抱合体+遊離体を比較した結果、16時間後の尿中 4AMC では有意に(p<0.01)遊離体が増加した。また、2AMC については、有意差はなかったが同様の傾向を示した。



D. 考察

三次元ヒト培養皮膚の物質透過に関する補強的検討において、滴下溶液の量(体積)は、透過率に大きく影響することが明らかになった。滴下量が多くなるにつれて各時間における透過率が低下したのは、PBS 溶液中の ANL が三次元培養皮膚に接触する(または取り込まれる)機会が減少したからではないかと考えられる。つまり、溶液体積が過剰になると過小評価につながることを意味している。実験条件としては、三次元皮膚に対して、被験物質を含む溶液が薄く行き渡る状態がよいと考えられた(100-200µl が適当)(皮膚単位面積当たりの透過速度を算出する際にも理解しやすい)。

正常皮膚動物における OT の経皮吸収、体内動態、尿中の代謝物解析において、OT は経皮ばく露後 24 時間以内に投与量の約 80%が排泄されており、蓄積性は少ないことが推察された。また、尿中代謝物の解析から、OT の約 50%は代謝物として排泄され、約 45%がヒドロキシル化、硫酸抱合として検出されていることから、OT の代謝にはヒドロキシル化や硫酸抱合による代謝の寄与が大きいと推測される。

現場作業者の尿サンプルを用いた、尿中バイオマーカーの開発に関する検討について、GC/MS や UV 法等で内部標準を用いずに外部標準で分析を行うには、プールされた標準尿を使用して一律の回収率補正をすることが多いが、LC/MS/MS 法では、尿ごとの回収率の変動が大きいと、標準尿を用いた一律の回収率補正は推定ばく露量の過小評価に繋がる可能性がある。その点、今回使用した LC/MS/MS による分析方法は変動誤差が期待値の範囲内であったので、生物学的モニタリングの任に十分堪え得ると思われた。変動誤差が期待値の範囲内ということは1-5か月の間 OT は安定であることを示唆しているものであると考えられた。(貯蔵用の OT のアセトニトリル溶液は2年安定)。また、動物実験の加水分解尿試料の結果から、16 時間後に 4AMC や 2AMC の遊離体が増加していることが示めされ、尿路系で OT が代謝されている可能性が示唆された。

E. 結論

最終年度におけるそれぞれの検討により、以下の研究成果を得ることができた。三次元ヒト培養皮膚の物質透過に関する補強的検討では、より適切に物質皮膚透過性を評価できる条件を見出した。また、正常皮膚動物における OT の経皮吸収、体内動態、尿中の代謝物解析では、OT は投与後速やかに腎臓や膀胱へと移行し、他臓器における蓄積性は少ないことが示された一方、膀胱には代謝物を含む OT がばく露 24 時間後でも存在し、他臓器に比べ、膀胱がんに関連する代謝物(ヒドロキシル化や硫酸抱合体)が、比較的長時間、膀胱内に存在する可能性が明らかになった。さらに、現場作業者の尿サンプルを用いた、尿中バイオマーカーの開発に関する検討から、作業員尿試料の分析については、含有量が多く、安定度

が高い尿中の未変化体の OT は生物学的モニタリングの指標として最適であることが明らかになった(但し、16 時間後では尿路系で代謝されてしまう可能性があることから、作業終了後に採尿することが望ましい)。

本研究で得られた知見は、今後、芳香族アミン類等の産業化学物質の経皮吸収によるリスク評価系を構築する上で重要な礎となると考えられる。

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

論文発表:

Qi Y, Toyooka T, Nie J, Ohta H, Koda S and Wang RS (2020) Comparative γ -H2AX analysis for assessment of the genotoxicity of six aromatic amines implicated in bladder cancer in human urothelial cell line. *Toxicology In Vitro, in press*
<https://doi.org/10.1016/j.tiv.2020.104880>

豊岡達士, 祁 永剛, 王 瑞生, 甲田茂樹 (2019) 3,3'-ジクロロ-4,4'-ジアミノフェニルメタン及びその類似化学構造を有する産業化学物質の DNA 損傷性に関する研究. 労働安全衛生研究. 12巻 2 号, p113-118.

小林健一, 柳場由絵 (2019) 産業化学物質のマウス経皮ばく露方法の検討. 労働安全衛生研究. 12 巻 3 号, p195-198.

学会発表:

須田 恵, 柳場由絵, 豊岡達士, 王 瑞生, 甲

田茂樹(2019)オルト-トルイジン作業者の尿中芳香族アミン類とその代謝物の分析. 第 92 回日本産業衛生学会, 産業衛生学雑誌 61 (Suppl.), p330. N-G29-10 2019 年 5 月

豊岡達士, 祁 永剛, 太田久吉, 甲田茂樹, 王 瑞 生 (2019) 3,3'-dichloro-4,4'-diaminodiphenylmethan 及び類似構造物質の DNA 損傷性に関する研究. 第 92 回日本産業衛生学会, 産業衛生学雑誌 60 (Suppl.), 400. 2019 年 5 月

柳場由絵, 小林健一, 豊岡達士, 祁永剛, 須田恵, 王瑞生 甲田茂樹, (2019) 2,4-ジメチルアニリンの経皮吸収、体内分布及び DNA 損傷性についての検討. 第46回日本毒性学会要旨集 p305. 2019 年 7 月

柏木裕呂樹, 豊岡達士, 王 瑞生, 甲田茂樹 (2019) オルトトルイジン及び 4-クロロオルトトルイジンの DNA 損傷性に関する比較検討. 第47 回産業中毒・生物学的モニタリング研究会. 要旨集 p16. 2019 年 10 月

豊岡達士, 柏木裕呂樹, 柳場由絵, 祁 永剛, 王 瑞生, 甲田茂樹 (2019) ヒト三次元培養皮膚を用いた芳香族アミン類の皮膚透過性に関する研究. 第47 回産業中毒・生物学的モニタリング研究会. 要旨集 p17. 2019 年 10 月

王 瑞生, 祁 永剛, 豊岡達士, 甲田茂樹 (2019) 膀胱発がんに寄与する可能性がある芳

香族アミン類等の遺伝毒性に関する検討. 第 47 回産業中毒・生物学的モニタリング研究会. 要旨集 p15. 2019 年 10 月

Rui-Sheng Wang, Tatsushi Toyooka, Yonggang Qi, Yukie Yanagiba, and Megumi Suda (2019) 2,4-Dimethylaniline May Contribute to the Occurrence of Bladder Cancer among Workers in a Chemical Factory. 55th Eurotox Congress, Toxicology Letters, 314S1, S230.

Hiroki Kashiwagi, Tatsushi Toyooka, Shigeki Koda, Rui-Sheng Wang (2019) Study on DNA damage property of 4-Chloro-o-toluidine. The 6th Asian Congress on Environmental Mutagen and the 48th Annual Meeting of the Japanese Environmental Mutagen Society, Abstract p.190.

Yonggang Qi, Tatsushi Toyooka, Hyogo Horiguchi, Shigeki Koda, Rui-Sheng Wang (2019) Comparative γ -H2AX analysis for assessment of the genotoxicity of four chemicals implicated in bladder cancer. The 6th Asian Congress on Environmental Mutagen and the 48th Annual Meeting of the Japanese Environmental Mutagen Society, Abstract p.192.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
特になし

令和元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

化学防護手袋の α -トルイジン透過性試験

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)

研究協力者 田中 茂(十文字学園女子大学名誉教授)

研究要旨

本研究の目的は、平成 27 年 12 月にオルトトルイジン(以下、OTD)取扱い作業場において膀胱がん発症が報告された事例をふまえ、当時、使用していた化学防護手袋(以下、手袋)の透過性能を確認し、今後の化学物質取扱作業場における手袋の透過を考慮した選択と交換に関する指針を提案することである。

今年度は、膀胱がんを発症した事業場の反応部署で使用していた天然ゴム製の手袋(b)を対象に、OTD と共存する有機溶剤が OTD の透過時間に与える影響と、昨年、開発した多くの化学物質に対して透過しにくい 3 種類の素材の手袋について OTD に対する透過時間を求める試験を行った。

昨年度、本研究で初めて使用したガス検知器(理研計器製 CUB)と透過試験部を組み込んだ簡易透過試験装置を用いて、①有機溶剤(有機溶剤の代表として使用量の多いトルエンを用いて試験した)に対する透過時間を求めた。②OTD10%と有機溶剤(トルエン)90%の含有溶液において、有機溶剤共存による OTD の透過時間の影響について実験を行った。③開発した多くの化学物質に対して透過しにくい 3 種類の素材の手袋を用いて OTD の透過時間を求めた。

その結果、①手袋(b)における JIS 規格における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 15 分であった。②平成 29 年度の試験結果は、手袋(b)における OTD の透過時間は 105 分であったが、今回、有機溶剤(トルエン)10%と OTD90%の混合における OTD の透過時間は 50 分であった。①と②の試験結果より、使用した天然ゴムの手袋(b)では、OTD より早く透過する有機溶剤(トルエン)が共存することにより、OTD はトルエンに溶解しながら手袋の素材内を移動し、単独の時の透過時間(105 分)より早い 50 分で透過することが示唆された。それ故、混合で化学物質を使用する際の手袋の透過に対する評価は、両物質の混合における透過試験を行うことが必要であることが確認された。③より、3 種類の透過しにくい素材(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))の手袋を対象にした OTD の透過試験は、全て 370 分まで透過しなかった。

以上の測定結果より、今後の OTD を取り扱う作業で、手袋の経皮吸収による曝露防護するためには、手袋の中敷きとして対透過性の手袋を装着し、その上に作業性のよい厚手のニトリル製、天然ゴム製等の手袋をすることを提案する。薄手の耐透過性手袋は半日～1 日で廃棄し、外側の厚手の手袋は 1 日～数日で廃棄することが望ましいと考える。

A. 研究目的

オルトトルイジン(以下、OTD)取扱い作業場で使用されていた2種類の天然ゴム製の化学防護手袋(以下、手袋)のうち、反応作業等で使用していた手袋(b)を対象に、有機溶剤の共存による OTD に対する透過時間の測定を行った。試験は、昨年使用した PID センサー(理研計器(株)製 CUB)を取り付けた簡易透過試験装置を用いて、①有機溶剤として一般的に使用量の多いトルエンを用いて、天然ゴム(b)の手袋における透過時間を求めた。更に、②同天然ゴムの手袋に対してトルエン10%と OTD90%の混合における OTD の透過時間を求めた。更に、③昨年度開発した多くの化学物質に対する長い透過時間が期待される3種類の手袋(ナイロンポリ、EVOHポリ、PET ナイロン)を用いて OTD に対する透過試験を行った。

表 1 開発した薄手手袋

名称	従来の呼び名	内容
ガード MN MICS 製	ナイロンポリ (60 μ)	NY-PE-LL
ガード MB MICS 製	EVOH ナイロンポリ (60 μ)	NY-EVOH- NY-PE-LL
ガード MH スタ 一製	PET ナイロン (50 μ)	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

B. 研究方法

B-1 天然ゴム手袋の有機溶剤共存下での OTD 透過時間への影響

1. 試料:

天然ゴム手袋:作業短手袋3号 弘進株式会社 厚さ 0.90 mm

2. 対象有機溶剤(トルエン濃度>99%、東京化成工業製)

対象試液OTD (濃度>99%、東京化成工業製)

3. 試験方法

(1) 試験操作

試験状況の概要を図 1 に示す。

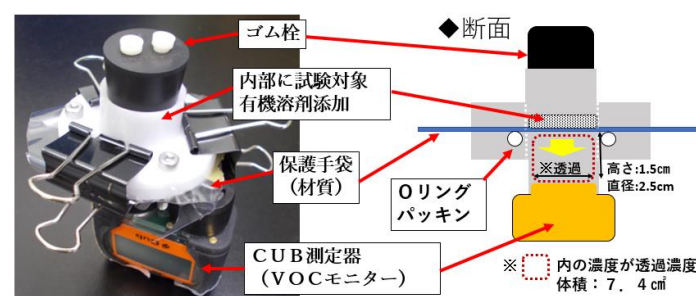


図1 透過試験装置と分析装置を接続した簡易透過試験装置

試験装置の組立て:

- ・化学防護手袋を装置の大きさに合わせてカットした。
- ・下部の装置、Oリング、化学防護手袋をセットした。
- ・上部の装置をセットしクリップ及び必要に応じてネジ締めをした。
- ・CUB をトルエンの測定条件にセットした。

① トルエンの透過試験

- ・測定対象の有機溶剤(トルエン)を上部から 1ml 添加した。

・有機溶剤(トルエン)が揮発しないようにゴム栓をして、電源を入れた。

・リアルタイムで測定結果がモニター内に入力された。

② 10%OTD と90%トルエン混合における透過試験

同様に、試験装置の上部にトルエン 0.9ml に OTD 0.1ml を滴下し、試験を開始した。

透過ガスを採取するときは、モニターを外してガスタイトシリンジで 1ml 採取し GC に導入した。

OTD の分析条件:

分析方法: 質量分析計型検出器付ガスクロマトグラフ(GC-MS)分析法

機器 : GC-MS , 7820A GC/MSD(Agilent Technologies 製)

カラム: DB-WAX (60 m × 0.32 mm, 0.5 μm) (J&W 製)

キャリアーガス: He (1.0 mL/min)

オープン条件: 35°C (2 min) - 3°C /min - 200°C(2 min)

注入口温度: 200°C

インターフェイス温度: 250°C

イオン源温度: 220°C

注入口モード: パルスドスプリット(10:1)

定量モード: SIM

定量イオン(確認イオン): 106 m/z (77 m/z)

③ 開発した 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))を用いて OTD に対する透過時間を求めた。

4 研究結果

① CUB の測定結果より、トルエンに対する透過時間と透過トルエン濃度の関係を図2に示す。

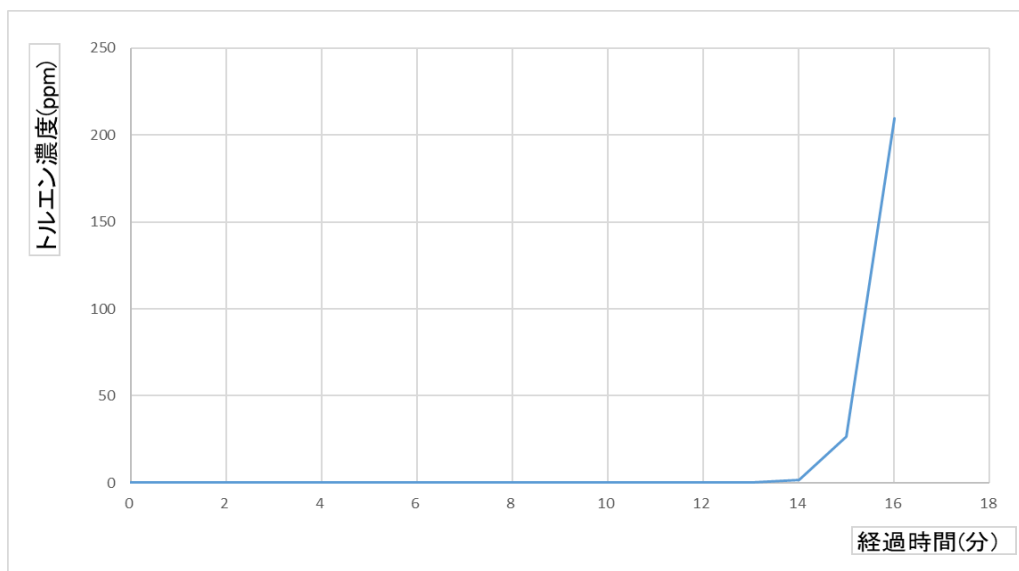


図2

天然ゴム手袋のトルエンに対する透過時間

・天然ゴム製手袋のトルエンに対する透過は 14 分後から認められ、透過基準濃度 $0.1 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$ をふまえると、破過時間は 15 分であった。

② トルエン共存下における OTD 濃度は 50 分経過後で透過基準濃度 $0.1 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$ を超える結果を得られた。

③ 図 3 から5より、3 種類の素材とも 370 分間の経時間に対する OTD の透過を認める結果が得られなかった。

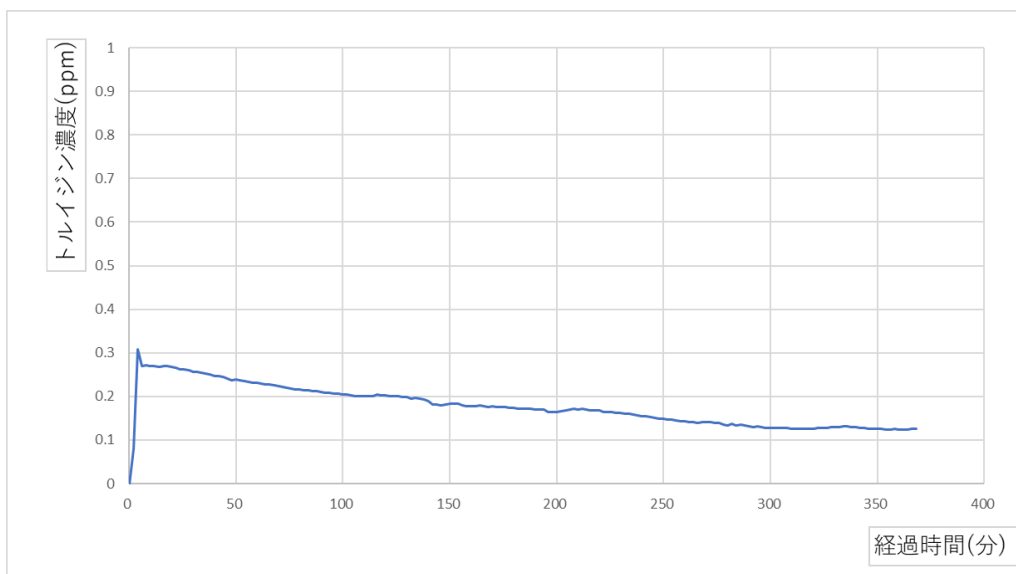


図3 ナイロン手袋のオルトトルイジンに対する透過時間

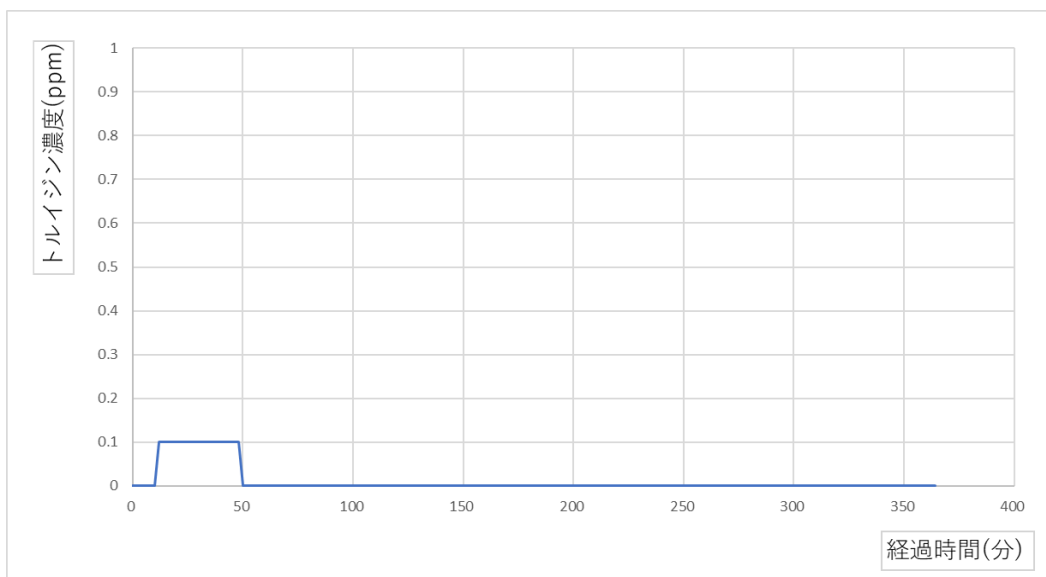


図4 EVOH手袋のオルトトルイジンに対する透過時間

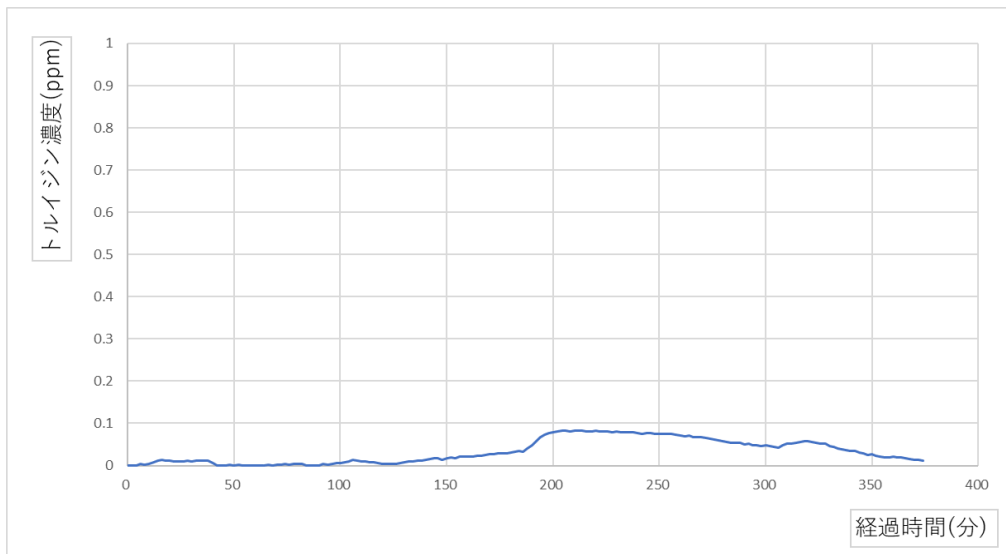


図5

PET手袋のオルトルイジンに対する透過時間

今回の試験結果のまとめ:

今回の試験結果より、OTDを有機溶剤に溶解させて作業を行うときには、中敷きにOTDに対して透過しにくい素材の薄手手袋を装着し、外側に作業性(物をつかんだりすること等)の良い手袋(例えば、天然ゴムやニトリルゴムの手袋)などを装着することを提案する。

耐透過性のフィルムの手袋は30円～50円/双であるため、休憩ごとに廃棄するようなローテンションで使用することにより、作業者のOTDの経皮吸収による曝露を防ぐことができると思われる。

総括

天然ゴムのトルエンに対する透過時間は下記のケミカルインデックス(トルエンに対して)Ansell製10分未満、North製3分、重松製作所製10～30分が報告されており、今回の手袋(b)の透過時間も15分と同様の値といえる。このこ

とより、天然ゴムの手袋はトルエンに対する透過時間が短く、作業者の経皮吸収曝露防護のためには適していないことが示唆される。

市販の天然ゴムの手袋において、OTDに対する透過時間は報告されていない。膀胱がんが発症した後、透過試験を行った結果、現場で使用していた天然ゴムの手袋の透過時間は、105分(平成28年報告)であったのに対し、今回のトルエン存在下ではOTDが50分と短い結果が得られた。両物質が混合、溶解して手袋に接することにより、OTD単独より早く透過する傾向が認められた。すなわち、単独で求めた透過時間より、混合溶解しているときは透過時間の短い物質に影響され、より早く透過が進めことが認められたと考える。

参考：(田中作成の2019年版ケミカルインデックスより)

CAS番号	108-88-3	化学物質名	トルエン		
化学防護手袋の透過時間（分）					
< Ansell製 2019年度 >					
バリアー (PE-PA-PE)	>480	ニトリル	10~30	ネオプレン	<10
ポリビニルアルコール	>480	ポリ塩化ビニル	<10	天然ゴム	<10
ネオプレン/天然ゴム	<10	ブチルゴム	<10	バイトン/ブチル	313
< North製 2013年度 >					
シルバーシールド (PE-EVAL-PE)	>480	バイトン	>960	ブチルゴム	21
ニトリルラテックス	11	天然ゴム	3		
< 重松製作所 2018年度 >					
フッ素ゴム	>480	天然ゴム	10~30	ウレタン	31~60
< ダイヤゴム 2018年度 >					
EVOH(PA-EVOH-PA)	>480	ブチルゴム	<10	フッ素ゴム	>480
< ショウワグローブ 2019年度 >					
クロロプレン	>30	塩化ビニル			
< Micro Flex製（薄手）2019年度 >					
ニトリル/ネオプレン	6	ニトリル	<10		

CAS番号	95-53-4	化学物質名	オルト-トルイジン		
化学防護手袋の透過時間（分）					
< Ansell製 2019年度 >					
バリアー (PE-PA-PE)		ニトリル		ネオプレン	
ポリビニルアルコール		ポリ塩化ビニル		天然ゴム	
ネオプレン/天然ゴム		ブチルゴム		バイトン/ブチル	
< North製 2013年度 >					
シルバーシールド (PE-EVAL-PE)	>480	バイトン		ブチルゴム	>480
ニトリルラテックス		天然ゴム			
< 重松製作所 2018年度 >					
フッ素ゴム		天然ゴム		ウレタン	
< ダイヤゴム 2018年度 >					
EVOH(PA-EVOH-PA)	>480	ブチルゴム		フッ素ゴム	
< ショウワグローブ 2019年度 >					
クロロプレン	>480	塩化ビニル			
< Micro Flex製（薄手）2019年度 >					
ニトリル/ネオプレン		ニトリル			

（化学物質に対するメーカーが公表している透過データをまとめて、化学防護手袋のケミカルインデックスを作成し、ホームページ等で公表している）

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】なし

2. 【学会発表】

・田中茂：耐透過性の優れた薄手手袋の開発、シンポジウム4「最近の化学物質による経皮吸収を防ぐための化学防護手袋の研究」、第93回日本産業衛生学会（2020）

3. 【書籍、雑誌発表】

・田中茂、岩澤聡子、寺内靖裕、中野真規子：産業医に役立つ最新の研究報告：化学物質の経皮吸収曝露防護のための化学防護手袋を学ぶ、産業医学ジャーナル 42(1) 61-67（2019）

・田中茂：基礎と実践 安全衛生保護具の話(1)化学物質の経皮ばく露を防ぐ化学防護手袋（前編）安全と健康 70(1) 55-57（2019）

・田中茂：基礎と実践 安全衛生保護具の話(2)化学物質の経皮ばく露を防ぐ化学防護手袋（後編）安全と健康 70(2) 57-59（2019）

・田中茂：基礎と実践 安全衛生保護具の話(3)防じんマスク、防毒マスク、化学防護手袋を使用する際には保護具着用管理責任者の配置を 安全と健康 70(3) 54-57（2019）

・田中茂：基礎と実践：2019年版保護具選定のためのケミカルインデックスの活用 安全と健康 70(11) 40-44（2019）

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

記載事項なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

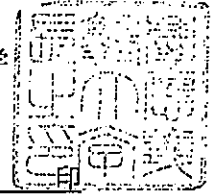
著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
なし							

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	61	349-357	2019
中野真規子	近年の職業がんをめぐる動向	産業医学ジャーナル	42	89-93	2019
Yukimatsu N, Gi M, Okuno T, Fujioka M, Suzuki S, Kakehashi A, Yanagibashi Y, Suda M, Kodama S, Nakatani T, Wanibuchi H	Promotion effects of acetoaceto-o-toluidide on N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine-induced bladder carcinogenesis in rats	Archives of Toxicology	93	3617-3631	2019
Qi Y, Toyooka T, Kashiwagi H, Yanagibashi Y, Kodama S, Wang S	Comparative γ -H2AX analysis for assessment of the genotoxicity of six aromatic amines implicated in bladder cancer in human urothelial cell line	Toxicology in Vitro	66		2020
小林 健一、柳場 由絵	化学物質のマウス経皮ばく露方法の検討	労働安全衛生研究	12	195-198	2019
豊岡達士、祁永剛、王瑞 生、甲田茂樹*	3,3'-ジクロロ-4,4'-ジアミノジフェニルメタン及びその類似化学構造を有する産業化学物質のDNA損傷性に関する研究— γ H2AXを指標に評価したDNA損傷強度の違い—	労働安全衛生研究	12	113-118	2019

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



次の職員の令和元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) 医学部・教授
 (氏名・フリガナ) 武林 亨・カハヤシ トシ
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"/>	大阪市立大学大学院医学研究科	<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"/>
-------------	---

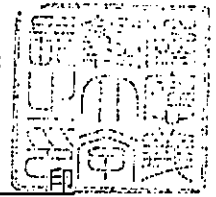
6. 利益相反の管理

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。

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



次の職員の令和元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) 医学部・専任講師
 (氏名・フリガナ) 中野 真規子・ナノ マキ
- 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"/>	大阪市立大学大学院医学研究科	<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 checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	大阪市立大学大学院医学研究科、(独)労働者健康安全機構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。

2020 年 / 月 30 日

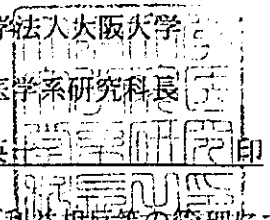
厚生労働大臣

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 森井 英



次の職員の令和元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 checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	大阪大学 医学部附属病院	<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

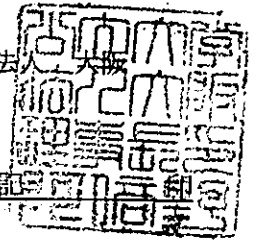
研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

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。

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 西澤 良記



次の職員の令和元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。

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 (独) 労働者健康安全機構
 労働安全衛生総合研究所
 所属研究機関長 職名 所長
 氏名 梅崎 重夫

次の職員の令和元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 (コウダ シゲキ)

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 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。

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 (独) 労働者健康安全機構
 労働安全衛生総合研究所

所属研究機関長 職名 所長
 氏名 梅崎 重夫



次の職員の令和元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) 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。