

(IARC) では 2010 年発行のモノグラフ vol.99 において発がん性について十分な証拠があるとして Group 1 に変更⁵⁾していることから、発がん性分類について検討した。

1. IARC の発がん分類変更理由

IARC モノグラフ vol.99⁶⁾では、モノグラフ vol.77⁶⁾以降、ドイツ、イタリア、英国、米国などの5つのコホート研究が増え、ヒトにおける知見として、膀胱癌について発がん性を示す十分な根拠があると判断した。また、動物実験においても発がん性を示す十分な根拠があると判断された。これにより、発がん分類を Group 1 に変更している。

2. ヒト発がんに関する知見

IARC では、2010 年の発がん分類 Group 1 変更⁵⁾に加えて、2012 年 (モノグラフ vol. 100F)⁷⁾においても再度検討している。参照された主要なコホート研究および最新の再解析されたコホート研究について以下に検討した。

Rubino ら⁸⁾は、イタリアの 1922 年から 1970 年にかけて染料工場に従事していた *o*-トルイジンおよび 4,4'-メチレンビス (2-メチルアニリン) に曝露されていた作業員 53 名において、5 名の膀胱癌死亡例が観察され、標準化死亡比は 62.5 (95% 信頼区間: 20.3-145.9) であったとしているが、混合曝露であるので正しく評価することは困難であると報告している。Stasik ら⁹⁾は、ドイツにおいて 1929 年から 1982 年にかけて 4-クロロ-*o*-トルイジン製造に従事していた男性作業員 335 名 (4-または 6-クロロ-*o*-トルイジン, N-アセチル-*o*-トルイジンおよび *o*-トルイジンの複合曝露) を 1986 年まで観察した結果、8 名の膀胱癌死亡例が観察され、標準化罹患比が 72.7 (95% 信頼区間: 31.4-143.3) と膀胱癌の増加を報告している。Ward ら¹⁰⁾は、米国において 1957 年から 1988 年にゴム用薬品合成作業に従事していた作業員 1,749 名のうち、明らかに *o*-トルイジンおよびアニリン曝露があった 708 名について解析した結果、膀胱癌に罹患したものは 7 名で標準化罹患比が 6.48 (90% 信頼区間: 3.04-12.2) であり、これらを曝露期間で層別化すると曝露 5 年未満に比して 10 年以上の曝露者では標準化罹患比が 27.2 (90% 信頼区間: 11.8-53.7) となり、明らかに曝露により膀胱癌の発生率が増加していることを報告している。なお、1975 年以前の曝露濃度は不明であるが、1988 年に NIOSH が室内空気中の濃度を測定しており、1ppm 以下であったと報告している。Carreon ら^{11,12)}は Ward ら¹⁰⁾のデータを用いて再評価を 2 度実施している。1988 年までの解析結果¹¹⁾では、明らかに *o*-トルイジンおよびアニリン曝露があった男性作業員 962 名中 11 名の膀胱癌が観察され、標準化罹患比は 5.8 (95% 信頼区間: 2.9-10.5)、さらに 10 年以上の曝露者では標準化罹患比が 11.1 (95% 信頼区間:

発がん性分類暫定物質 (2016) の提案理由

平成 28 年 5 月 24 日
日本産業衛生学会
許容濃度等に関する委員会

オルト-トルイジン
 $C_6H_4(NH_2)CH_3$
[CAS No. 95-53-4]
発がん性分類 第 1 群

日本産業衛生学会では、1991 年にオルト-トルイジン (以下、*o*-トルイジン) の許容濃度を設定¹⁾し、1986 年には発がん分類について第 2 群 A²⁾としてきたが 1995 年に第 2 群 B に引き下げ、再度、2001 年に第 2 群 A³⁾とした。その後コホート研究による発がん性に関する報告が増え、2015 年 12 月には、わが国において *o*-トルイジン取扱作業員の膀胱癌の報告があり⁴⁾、また国際がん研究機関

5.07-21.05)であった。追跡期間を2007年まで延長して解析した結果¹²⁾, 900名中27名の膀胱癌が観察され, 標準化罹患比は3.90(95%信頼区間:2.57-5.68), *o*-トルイジンおよびアニリンに曝露されていない作業員562名では膀胱癌に罹患したものは5名未満であり, 標準化罹患比が0.59(95%信頼区間:0.07-2.12)であった。曝露濃度については, 1990年にNIOSHにより測定された呼吸エリアの*o*-トルイジンの個人曝露濃度は, 0.02-0.37 ppm(88-1628 $\mu\text{g}/\text{m}^3$), GM:0.051-0.096 ppm(220-430 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)であったことが示されている。なお, このプラントは1970年には化学物質曝露を軽減させるため作業のプロセスなどを変更しているが, 膀胱癌の発生は明らかに増加している¹²⁾。

またWardら¹³⁾は, 1996年に上記同プラントのゴム用薬品合成作業に従事していた作業員73名(曝露群 $n=46$, 対照群 $n=27$)について, 作業前後の尿中*o*-トルイジン濃度を測定した結果, 曝露群の作業前が $15.4 \pm 27.1 \mu\text{g}/\text{L}$ であったのに対し, 作業後では $98.7 \pm 119.4 \mu\text{g}/\text{L}$ であった。また, *o*-トルイジンのヘモグロビン(Hb)付加体量は, 曝露群で $40,830 \pm 32,518$, 対照群で $3,515 \pm 6,036 \text{ pg}/\text{gHb}$ であった。なお, Hb付加体が検出された群($n=28$)と検出されなかった群($n=7$)では, *o*-トルイジン曝露濃度は各々 $412 \pm 366 \mu\text{g}/\text{m}^3$, $516 \pm 513 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.09-0.12 ppm)で有意差はなかった。同対象者に対し, このプラントで複合曝露が考えられる発がん性の高い4-アミノビフェニルのHb付加体も測定した結果, 曝露の有無によって付加体濃度に有意差は認められず, 対照群(非喫煙)と同程度であった。またアニリンの発がん性も報告されていないことから, 膀胱癌への罹患の原因は*o*-トルイジン曝露ではないかと考察している^{7,13)}。

Sorahanら^{14,15)}は, 英国において1955年から1984年にかけてゴム用薬品合成作業に6ヶ月以上従事していた男性作業員2,160名中, 特に*o*-トルイジン曝露があった53名について評価している。3名の膀胱癌による死亡が観察され標準化死亡比が15.9(95%信頼区間:3.3-46.4)で, 5年以上曝露では相対危険度が7.7(95%信頼区間:1.0-56.9)と, 年齢や曝露期間で調整後でも膀胱癌の有意なリスク増加が示されたとしている。

なお, Ottら¹⁶⁾は, 米国において1940年から1958年に染料合成工場に従事していた男性作業員342名中特に*o*-トルイジンに曝露されている117名について1975年まで観察した結果, 膀胱癌死亡者数は0人であり, また1948年当時の工場内の気中*o*-トルイジン濃度は0.5 ppm以下であったと報告したが, 膀胱癌との因果関係なしと結論づけるには対象者数が少なすぎるとIARC⁵⁾は評価している。

以上, コホート研究のいくつかでは膀胱癌の原因となり得る他の化学物質への曝露もあったが, 全体的な証拠

として*o*-トルイジンへの曝露による膀胱癌との関連について, 概ね一致した有意なリスク増加が観察され, *o*-トルイジンの発がん性については, 疫学研究からの証拠が十分であると考えられた。

3. 動物発がんに関する知見

動物実験における発がん性に関する情報については, *o*-トルイジンの塩酸塩の経口投与によりラットに脾臓や膀胱等の複数の臓器に悪性腫瘍の発生増加, またマウスに肝臓と腹腔に悪性腫瘍または良性と悪性を合わせた腫瘍の発生が増加することが複数の試験で報告されている。すなわち, F344ラット雌雄に*o*-トルイジンの塩酸塩を3,000, 6,000 ppmの濃度(ラットは1日に体重の5%の飼料を摂取すると仮定して約150, 300 mg/kg体重/日に相当)で101~104週間混餌投与した試験において, 脾臓や腹膜の間葉系腫瘍(血管肉腫, 線維腫, 線維肉腫, 骨肉腫等)が雌雄に, 腹膜や陰囊の中皮腫と皮下組織の線維腫が雄に, 膀胱の移行上皮癌と乳腺の線維腺腫が雌で発生増加したことが報告されている。膀胱の移行上皮癌の発生増加が認められた用量は3,000 ppm以上であり, この用量では雌雄とも膀胱に上皮の過形成がみられている¹⁷⁾。また, F344ラット雄に*o*-トルイジンの塩酸塩を0.028 mol/kg飼料(約4,000 ppm, 約200 mg/kg体重/日に相当)の濃度で72週間混餌投与した試験で腹膜に肉腫, 皮膚と脾臓に線維腫, 乳腺に線維腺腫の発生増加が報告されている¹⁸⁾。SDラット雄に*o*-トルイジンの塩酸塩を8,000, 16,000 ppmの濃度で3ヶ月, その後4,000, 8,000 ppmに濃度(約200, 400 mg/kg体重/日に相当)を下げ15ヶ月混餌投与した試験でも, 皮下に線維腫と線維肉腫を合わせた発生の増加, また, 膀胱に移行上皮癌の発生増加が報告されている¹⁹⁾。B6C3F1マウス雌雄に*o*-トルイジンの塩酸塩を1,000, 3,000 ppmの濃度(マウスは1日に体重の10%の飼料を摂取すると仮定して約100, 300 mg/kg体重/日に相当)で102~103週間混餌投与した試験では, 雄に腹腔の生殖器周囲(主に精巣上体周囲の脂肪組織)の血管肉腫の発生増加, 雌に肝臓の肝細胞腺腫と肝細胞がんを合わせた発生の増加が報告されている¹⁷⁾。また, ICRマウス雌雄に*o*-トルイジンの塩酸塩を16,000, 32,000 ppmの濃度で3ヶ月, その後8,000, 16,000 ppmに濃度(約800, 1,600 mg/kg体重/日に相当)を下げ15ヶ月混餌投与した試験でも, 雌雄とも腹部臓器に血管腫と血管肉腫を合わせた発生の増加が認められている¹⁹⁾。従って, *o*-トルイジンの発がん性は, 動物実験からの証拠が十分であると考えられる。

4. 発がんメカニズムについて

発がんメカニズムに係る事項として以下が報告されている^{5,7)}。すなわち, *o*-トルイジンの吸収, 体内分布, 代

謝, 排泄が, 実験動物およびヒトにおいて明らかになっていること, 実験動物において *o*-トルイジンはヘモグロビン・アルブミン・DNA との付加体を形成し, 曝露者でも検出されていること, 実験動物において *o*-トルイジン代謝物の 4-アミノ-3-メチルフェノールは銅 (CuII) 存在下で, 8-オキソ-7,8-ジヒドロ-2'-デオキシグアノシンを生成すること, アルカリ溶出法により DNA 損傷が誘導されることなど, *o*-トルイジンによる腫瘍誘発には遺伝毒性が関与していると考えられる。

5. 発がん性分類の提案

日本産業衛生学会では, 1991 年に *o*-トルイジンの許容濃度を設定¹⁾し, 1986 年には発がん性分類について第 2 群 A²⁾としてきたが, その後のコホート研究により発がん性に関する報告が増え, 膀胱癌についてはヒトに対する有意なリスク増加が確認されたことから, 疫学研究からの十分な証拠があると判断した。なお, 動物実験においても脾臓, 肝臓, 膀胱など複数の臓器において腫瘍の発生を認める十分な証拠があると判断した。また IARC は, 2000 年 (モノグラフ vol. 77) において Group 2A⁶⁾としていたが, 2010 年 (モノグラフ vol. 99)⁵⁾において発がん性について十分な証拠があると Group 1 に変更しており, 2012 年 (モノグラフ vol. 100F)⁷⁾でも再度検討し同様の結論を得ている。

以上より, *o*-トルイジンの発がん性分類を, 第 2 群 A から第 1 群へ変更することを提案する。

6. 許容濃度について

日本産業衛生学会では, 許容濃度 1 ppm (4.4 mg/m³) としているが, これはヒトへの吸入または皮膚接触によるメトヘモグロビン形成, 頭痛, 疲労感, 血尿などの中毒作用および, アニリンの許容濃度が現行 1 ppm であることや実際の管理面を考慮して設定されている¹⁾。しかし, *o*-トルイジンの腫瘍発生は遺伝毒性が関与していると考えられることより, 表中に「ψ」のマークを付し, 発がん以外の健康影響を指標として許容濃度が設定されている物質として, 注意を喚起することとしたが, 許容濃度は別途検討する必要があると思われる。

7. 勧告の履歴

2016 年度 (改定案)	第 1 群
2001 年度 (改定)	第 2 群 A
1995 年度 (改定)	第 2 群 B
1986 年度 (新設)	第 2 群 A

文 献

- 1) 日本産業衛生学会. 許容濃度の暫定値 (1991) の提案理由書. 産業医学 1991; 33: 317-318.
- 2) 日本産業衛生学会. 許容濃度等の勧告 (1986). 産業医学 1986; 28: 221.
- 3) 日本産業衛生学会. 発がん物質暫定物質 (2001) の提案理由書. 産業衛生学雑誌 2001; 43: 158-160.
- 4) 厚生労働省. 「芳香族アミンによる健康障害の防止対策について」平成 27 年 12 月 18 日 基安発 1218 第 1 号 [online]. 2015 [cited Dec. 19, 2015]; Available from: <http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/0000107468.html>.
- 5) IARC. Some aromatic amines, organic dyes, and related exposures. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 2010; 99: 1-658.
- 6) IARC. Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: some industrial chemicals. 15-22 February 2000, Lyon, France. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 2000; 77: 1-529.
- 7) IARC. Chemical agents and related occupations. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 2012; 100F: 9-562.
- 8) Rubino GF, Scansetti G, Piolatto G, Pira E. 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; 27: 241-254.
- 9) Stasik MJ. Carcinomas of the urinary bladder in a 4-chloro-*o*-toluidine cohort. Int Arch Occup Environ Health 1988; 60: 21-24.
- 10) Ward E, Carpenter A, Markowitz S, Roberts D, Halperin W. Excess number of bladder cancers in workers exposed to ortho-toluidine and aniline. J Natl Cancer Inst 1991; 83: 501-506.
- 11) Carreon T, Hein MJ, Viet SM, Hanley KW, Ruder AM, Ward EM. Increased bladder cancer risk among workers exposed to *o*-toluidine and aniline: a reanalysis. Occup Environ Med 2010; 67: 348-350.
- 12) Carreon T, Hein MJ, Hanley KW, Viet SM, Ruder AM. Bladder cancer incidence among workers exposed to *o*-toluidine, aniline and nitrobenzene at a rubber chemical manufacturing plant. Occup Environ Med 2014; 71: 175-182.
- 13) Ward EM, Sabbioni G, DeBord DG, et al. Monitoring of aromatic amine exposures in workers at a chemical plant with a known bladder cancer excess. J Natl Cancer Inst 1996; 88: 1046-1052.
- 14) Sorahan T, Hamilton L, Jackson JR. A further cohort study of workers employed at a factory manufacturing chemicals for the rubber industry, with special reference to the chemicals 2-mercaptobenzothiazole (MBT), aniline, phenyl-beta-naphthylamine and *o*-toluidine. Occup Environ Med 2000; 57: 106-115.
- 15) Sorahan T. Bladder cancer risks in workers manufacturing chemicals for the rubber industry. Occup Med (Lond) 2008; 58: 496-501.
- 16) Ott MG, Langner RR. A mortality survey of men engaged in the manufacture of organic dyes. J Occup Med 1983; 25: 763-768.
- 17) National Cancer Institute (NCI). Bioassay of *o*-toluidine hydrochloride for possible carcinogenicity. Natl Cancer Inst Carcinog Tech Rep Ser 1979; 153: 1-147.
- 18) Hecht SS, El-Bayoumy K, Rivenson A, Fiala E. Comparative carcinogenicity of *o*-toluidine hydrochloride and *o*-nitrosotoluene in F-344 rats. Cancer Lett 1982; 16: 103-108.
- 19) Weisburger EK, Russfield AB, Homburger F, et al. Testing of

twenty-one environmental aromatic amines or derivatives for long-term toxicity or carcinogenicity. *J Environ Pathol Toxicol* 1978; 2: 325-356.