

【退任記念講義】

レギュラトリー・サイエンス
—— 職業がん予防のために ——

清 水 英 佑

東京慈恵会医科大学環境保健医学講座

REGULATORY SCIENCE
—— TO PREVENT OCCUPATIONAL CANCER ——

Hidesuke SHIMIZU

*Department of Public Health and Environmental Medicine,
The Jikei University School of Medicine*

Skin cancer of the scrotum in chimney sweeps was first reported in 1775 by Sir Percival Pott, an English surgeon. Thereafter, many occupational cancers were reported. Many urinary bladder cancers were observed in dye production workers in Japan from 1917 to 1985. The administrative step was not done at all until 1971. In 1975, Professor Bruce N. Ames reported a method for detecting mutagens with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test as a screening system for chemical carcinogens. Animal tests to demonstrate the carcinogenicity of chemicals have problems in term of cost, time, and manpower. On the other hand, the Ames test is used worldwide because of its high sensitivity and specificity. To prevent occupational cancer, the use of short-term test systems, such as the Ames test and other mutagenicity tests, is recommended.

(Tokyo Jikeikai Medical Journal 2007; 122: 267-78)

Key words: occupational cancer, Ames test, mutagenicity, carcinogenicity, chimney sweeper

I. はじめに

ある特定の職業に従事する労働者に特有のがんが発生することを職業がんという。最近社会問題として大きく取り上げられた石綿(アスベスト)取り扱い作業者と肺がんや中皮腫の発生のような関係である。若年でも発生し、潜伏期が長く、離職後にも発生の可能性があるが、臨床症状や病理学的には一般のがんと変わらないというのが特徴である。

ここでは、職業がんの予防のために、どのような対策がとられてきたかについて述べる事にす

II. 職業がんの歴史

職業がんを初めて報告したのは、英国の外科医 Percival Pott 卿である (Fig. 1)¹⁾。彼は、煙突掃除夫に陰嚢皮膚がんが多いことから職業と関連づけて考えた。英国の家庭では各部屋にマントルピースがあり、暖房のために石炭を燃やしていたが、煙突掃除には子供を使用していた (Fig. 2)。煙突の中をくぐって掃除をするためすすだらけになるが、日本人の様に毎日風呂に入る習慣がない英国では、年余にわたって陰嚢の皮膚に付着した石炭すすが原因となって陰嚢皮膚がんを発生させたものとする。その後 1915 年に、日本の山極と市川が、ウサギの耳にコールタールをくりかえし塗布し、皮膚がんの発生を実験的に発生させた²⁾。化



Fig. 1. Percival Pott (1714-1788)



1850年代の煙突掃除夫

『煙突掃除夫とでっち』
〔「キャンサー・リサーチ」
1966年1月号表紙より〕

Fig. 2. Chimney sweeper in England

学物質の刺激により初めて人工的にがんの発生を証明したものである。その後分析機器や技術の発達により、コールタール中に数々の発がん物質が含まれていることがわかっている。ちなみに、わが国における最初の職業がんの報告は、1936年に黒田・川畑による発生炉ガス作業者の肺がんである³⁾。

その後、多くの研究者により職業と関連した化学物質によるがんの発生の報告がある。初期の頃はほとんど皮膚がんであったが、1895年に Rehn は染料工場の労働者に膀胱がんが多いことを報告した。それまでの発がん物質が直接接触した部位にがんを発生させたのとは異なり、生体内に取り込まれた物質が、代謝を受け、標的臓器に発がんさせるということであり、それまでの考え方を一新するものであった。Table 1 には、今日までの職業がんに関する主な経過を示したが、特に注目す

Table 1. History of occupational cancer

1	1775	Pott	陰のうがん→煙突掃除夫	0年
2	1875	Volkman	コールタール→皮膚がん	100
3	1895	Rehn	染料工場→膀胱がん	120
4	1915	山極・市川	コールタール→実験的皮膚がん	140
5	1922	Kennaway	発がん性化学物質分離	147
6	1932	吉田	アゾ色素→実験的肝がん	157
7	1938	Hueper	β -naphthylamine → 実験的膀胱がん	163
8	1945	Case	染料工業の疫学研究	170
9	1951	Clayson	代謝と発がん	176
10	1961	Miller	代謝と発がん	186
11	1967	イギリス	発がん物に対する法的規則	192
12	1972	日本	発がん物に対する法的規則	197
13	1973	Figueroa	ビスクロロメチルエーテル→肺がん	198
14	1974	Creech	塩ビモノマー→肝血管肉腫	199
15	1975	Ames	突然変異原性テスト	200

るのは、今日発がん物質の簡便な検査方法が開発されるまでに200年の歳月がかかったことを示している (Table 1)。

III. 職業性膀胱がんの発生事例

ベンジジンや β -ナフチルアミンは染料の合成原料として、また各種製品の原材料として重要な物質であるが、職業性の膀胱がんを起こすことから、わが国ではすでに製造・使用・輸入禁止物質である。しかし、このような措置がとられるまでには長い年月を要している。Fig. 3 は1917年からのわが国の職業性膀胱がんの発生状況(棒グラフ)と、その原因物質であるベンジジンと β -ナフチルアミンの製造量の年次推移である⁴⁾。

1955年頃にベンジジンが年間1万3千トンの生産量を記録しているが、これは中国への輸出がピークに達した時期である。それから15年後の1970年に棒グラフのピークが見られる。また製造禁止になった1971年頃から約10年後に棒グラフは再びピークを示している。当時の化学物質を合成する職人達は、今日のような分析機器が発達していない時代であり、合成した物質の純度を舌で舐

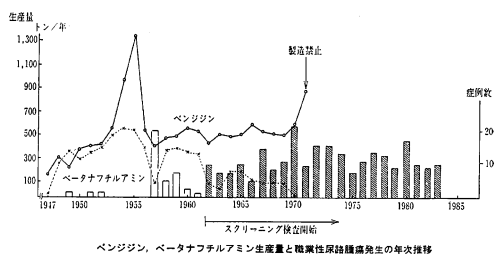


Fig. 3. Production of benzidine and β -naphthylamine (line graph) and number of cases of urinary bladder cancer (bar graph)

めて確認するといった職人芸的な方法で確認していた。そのため、10年以上の潜伏期を経て膀胱がんが発症したのである。

IV. 過去の発がん物質の検索方法

化学物質の発がん性を調べるために、1970年代まではもっぱら動物を用いて行われていた。Table 2 に示すのは米国の試験ガイドラインであるが⁵⁾、2種類の齧歯類を用いて、雌雄50匹ずつ数段階（通常3用量）の濃度と対照群を取り2年余にわたり化学物質を投与し、全身の臓器について病理学的検査を行い結論を出す。すなわち約800匹の動物と2年間の投与期間を要する。しかも試験は、Good Laboratory Practice (GLP) 基準を満たした施設で行われなければデータの信用は得られない。今日この基準で行うと1物質に約1億円の試験費用がかかると同時に、結果が出るまでに約3年の期間と熟練した病理診断のできる専門家が必要である。わが国だけ見ても、年間500

～600物質が毎年届け出されている現状で⁶⁾、これらの物質の発がん性試験は、経済的にも、人的資源・試験機関数から考えても、とても全物質の発がん性の有無を判定する事は不可能である。

但し、このような状況ではあっても、今日でも、医薬品や農業に関しては、動物を用いた厳しい発がん試験報告は義務づけられている。しかし、こうしたおびただしい数の化学物質が巷にあふれる今日、短期間で化学物質の発がん性を予測できる方法はないかと研究者の間では模索されてきた。

V. 発がん物質のスクリーニング

1970年代の初めにカリフォルニア大学の細菌学者であるB.N. エームス教授は(Fig. 4)、食品中の添加物が人体に影響しないだろうか、特に子供も食べる食品添加物の遺伝毒性に関心を持ち、サルモネラ菌を用いた遺伝毒性を検出する試験方法を開発した⁷⁾。通称エームス (Ames) 試験と呼ばれる。この方法は感度がよいことから瞬く間に世界中で用いられるようになった。わが国では世界に先駆けて労働安全衛生法を改正し、年間100kg以上を生産または輸入する新規化学物質の届け出に際しては、微生物による変異原性試験結果を提出することを義務づけた。

OECD(経済協力開発機構)でも、その後各種の試験系が開発されたのを考慮して、遺伝毒性試験のガイドラインを提案した。それぞれ特徴があるが、微生物の試験系は短期間で結果が出ることで、感度がよいことで広く用いられている (Table 3)⁸⁾。

Table 2. Test guideline of carcinogenicity test in USA

	NCL (米国癌研究所)	FIFRA (殺虫剤, 殺菌剤, 殺鼠剤法)	TSCA (有害物質規制法)
試験	発癌性	発癌性	発癌性
使用動物種	2種類: マウス, ラット	2種類: マウス, ラット	2種類: マウス, ラット
使用動物数	50♀, 50♂	50♀, 50♂	50♀, 50♂
濃度	最大耐量の2倍, 最大耐量1/2倍または1/4倍および対照群	最大耐量の3倍, 最大耐量, 1/2倍または1/4倍, 1/4倍または1/8倍および対照群	高用量の3倍, 高用量1/2倍または1/4倍, 1/4倍または1/10倍および対照群
開始時間	6週齢	In utero or 6週齢	6週齢
終了時間	24月	マウス18~24 ラット24~30	24~30月
観察期間	被験物質投与終了後3~6月	N.S.	N.S.
病理検査	30臓器および組織	30臓器および組織	30臓器および組織
費用	N.S.	N.S.	約1億円



Fig. 4. Prof. Bruce N. Ames (center)

Table 3. Recommended genotoxicity test guideline by OECD

試験法	所要日数
遺伝子突然変異によるもの	
サルモネラ菌を用いる復帰変異試験	1 週
大腸菌を用いる復帰変異試験	1 週
培養細胞を用いる突然変異試験	1~2 カ月
ショウジョウバエを用いる伴性劣性致死試験	2~3 カ月
酵母を用いる突然変異試験	1~2 週
染色体異常によるもの	
<i>in vitro</i> 細胞遺伝学的試験	2~4 週
<i>in vivo</i> 細胞遺伝学的試験	6~8 週
小核試験	3~6 週
優性致死試験	3 カ月
遺伝性染色体転座試験	3~5 カ月
哺乳類生殖細胞を用いる細胞遺伝学的試験	1~3 カ月
DNA 障害によるもの	
<i>in vitro</i> DNA 損傷・修復および不定期 DNA 合成試験	4 週
酵母を用いる体細胞組み換え試験	4~6 週
<i>in vitro</i> 姉妹染色分体交換試験	4~6 週

1. サルモネラ菌を用いた変異原性試験 (Ames 試験)

サルモネラ菌を用いた Ames 試験は、短期間で結果が出ること、費用が安いこと、高度な技術がいらないこと、発がん物質との相関が高いこと、すなわち敏感度と特異度が高いこと等、が世界中で広く用いられている理由である。

この菌株は、ヒスチジンがないと生育できない突然変異株であるが、発がん性化学物質を加えて一緒に培養すると復帰突然変異を起こし、ヒスチジンが無くとも生育できる菌 (His+) となる性質

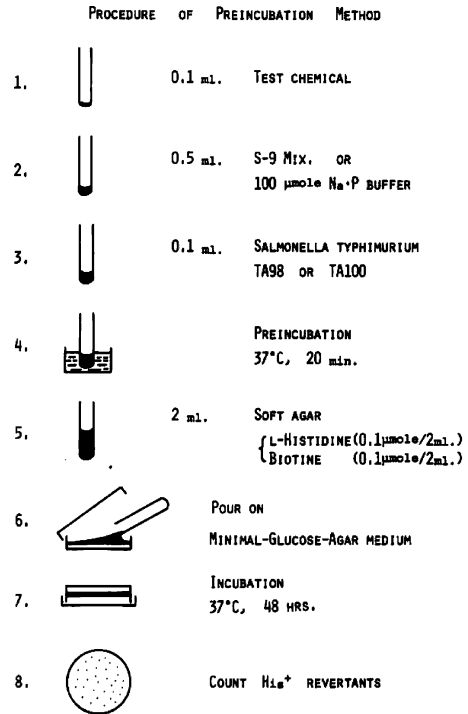


Fig. 5. Procedure of preincubation method in Ames test

を利用したものである。Ames 教授は数種類の菌株を開発したが、現在広く用いられているのは、塩基置換型の変異原物質を検出する系 (*Salmonella typhimurium* TA100, TA1535) とフレイムシフト型の変異原物質を検出する系 (*S. typhimurium* TA98, TA1537) で、これに *E. coli* WP2uvrA を加えた 5 菌株がセットとして広く用いられている。*E. coli* はトリプトファン要求株から非要求株 (Trp+) になることを利用している。

試験方法は極めて簡単で、Fig. 5 に示すように、試験管内に菌株、被験物質、緩衝液または S9mix、微量のヒスチジンを含む軟寒天を加えて 37°C にて 20 分間プレインキュベーションした後に、寒天培地の上に重層し 48 時間後に出現する復帰変異コロニー数を数えればよい⁹⁾。S9mix とは、ラットに肝臓の酵素誘導剤をあらかじめ投与し、肝臓を摘出後すりつぶし 9,000 G で遠心沈殿した上澄み (S9) に酵素を加えたものをいう。ヒトでは、薬物は肝臓で代謝を受け、代謝産物が健康影響を来すことから、試験管内で同じような代謝機構を働かせるための工夫である¹⁰⁾。

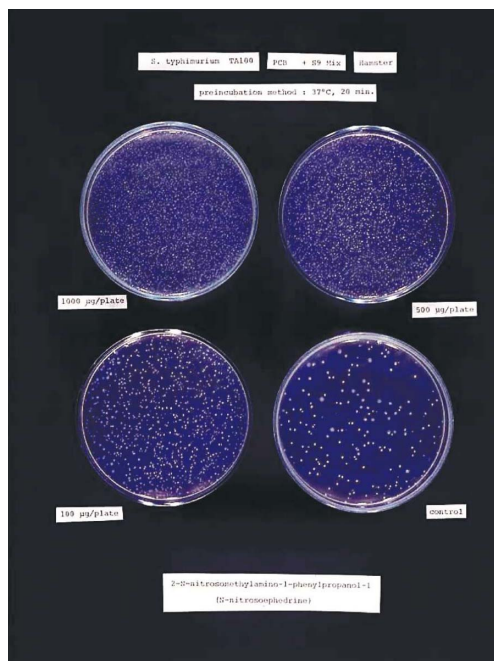


Fig. 6. Result of Ames test. Histidine revertants were shown on the plate.

結果は Fig. 6 に示すように肉眼で十分判定可能な復帰変異コロニーが出現する。しかも用量反応曲線を得ることもでき、定性的だけでなく定量的にも評価する事ができる (Fig. 7)¹¹⁾。その結果、比活性値を求めて変異原性の強さの比較が出来る事になる。

動物を用いて発がん性が証明されている物質の変異原性が陽性なもの (感受性・感受性) と、動物実験で発がん性が無いことが明らかな物質の変異原性を調べたら陰性であった物質 (特異度) を調べた結果が Table 4 である¹²⁾¹³⁾。生物系の試験でこれほど高い相関を示すものはない。50%の動物にがんを発生させる発がん物質の量 ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$) と 1,000 個の復帰変異コロニーを発生させる時の変異原物質の濃度 (μg) との相関を示したのが Fig. 8 である¹¹⁾。発がん性の強い物質は変異原性も強く、発がん性の弱い物質は変異原性も弱いことが明らかである。

以上のようなことから、Ames 試験で復帰突然変異の数が用量反応性をもって増加し、比活性値が mg 当たり 10^3 個以上である場合には発がんとの関係が極めて強いことから、行政的には物質の

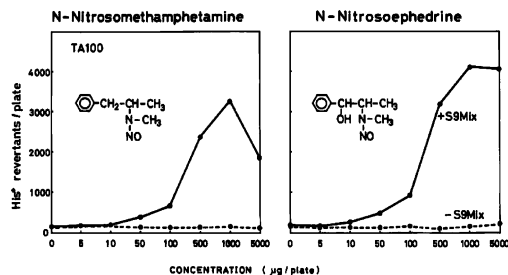


Fig. 7. Dose-response curve of mutagenic activity of some chemicals in Ames test

Table 4. Comparison of sensitivity and specificity of carcinogenic potential in animals and Ames test

報告者	感受性 (%)	特異性 (%)
McCann, et al. (1975)	89.7 (157/175)	87.0 (94/108)
Nagao, et al. (1978)	85.0 (136/160)	74.1 (60/ 81)
Purchase, et al. (1978)	91.4 (53/ 58)	96.8 (60/ 62)
Bartsch, et al. (1980)	75.6 (62/ 82)	57.1 (4/ 7)

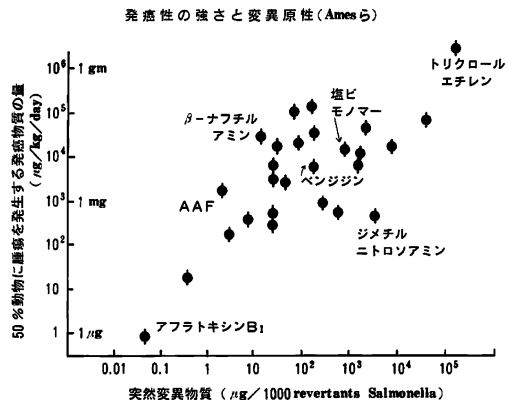


Fig. 8. Correlation between mutagenic activities in Ames test and carcinogenic potential in animals (TD_{50})

取り扱いに規制を加えることとされた。すなわち、将来職業がんの危険性が高いことから、作業工程を密閉化または作業者が曝露しない方法を講ずることが要求される。

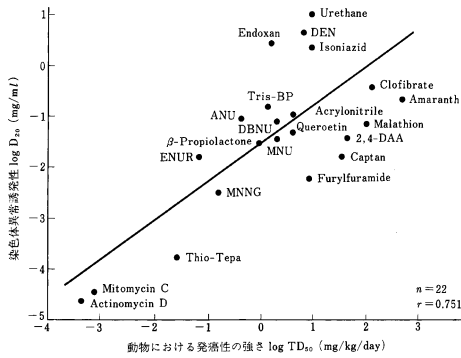
2. ほ乳類培養細胞を用いた染色体異常試験

Ames 試験は微生物を用いた試験であるが、ヒトへの影響を見るにはさらに高等動物の細胞を用いることが望ましい。染色体異常試験として Ishidate らにより開発されたチャイニーズ・ハムスターの肺線維芽細胞 (CHL/IU) を用いた系は、

試験系として確立されており広く用いられている¹⁴⁾。染色体が25本であることから判別がしやすく、1カ月くらいで結果が得られ、高度な熟練を要しない事、発がん物質との相関が高く (Fig. 9)、さらに Ames 試験結果とも相関性が高い (Fig. 10) という特徴による⁸⁾¹³⁾。

試験は短時間処理法 (6 時間 S9mix と反応後、洗浄し 18 時間培養する方法) と連続処理法 (24 時間または 48 時間連続曝露) の両者を行い、分裂中期の染色体に起こる構造異常 (染色体型または染色分体型の異常) および数的異常をカウントする¹⁵⁾。

評価は、構造異常あるいは数的異常の数が 10%



動物における発癌性の強さ (TD50) と CHL 細胞に対する染色体異常誘発性の強さ (D20) との相関性 (財日本化学物質安全情報センターによる)

Fig. 9. Correlation between clastogenic activities *in vitro* (D₂₀) and carcinogenic potential in animals (TD₅₀)

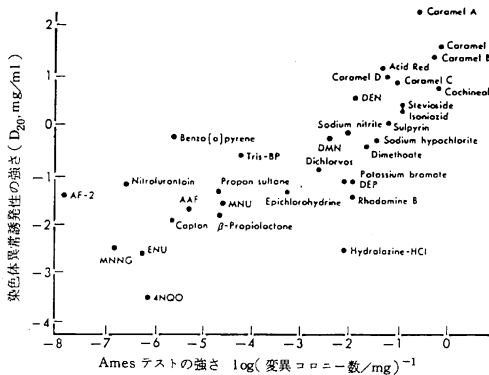


図-3 染色体異常の強さ (D₂₀ 値) と Ames テストの強さ (単位濃度あたりの変異コロニー数) との相関

Fig. 10. Correlation between mutagenic activities in Ames test and clastogenic activities of different substances

以上で、用量反応性があり、D₂₀ 値が mg/ml 当たり 0.01 以下の場合には、発がんとの関係が極めて強いと判定し、行政的には物質の取り扱いに規制をかけることになる。Ames 試験の時と同様に職業がん予防措置が執られることになる。

3. *In vitro* 小核試験

Schmid により開発された小核試験は *in vivo* の試験法であった¹⁶⁾¹⁷⁾。マウスに化学物質を投与し、一定時間後に大腿骨より骨髓を取り出し染色後、1,000 個の多染性赤血球中に占める小核を有する多染性赤血球の数を数えて判断した。この方法は、生体内で化学物質が代謝を受け骨髓に達して染色体に作用する点でヒトの場合を想定できる利点がある。しかし、今日動物愛護の観点から、わが国では CHL/IU 細胞 (有核細胞) を用いた *in vitro* の小核試験を検討し、試験方法が確立されている¹⁸⁾¹⁹⁾。

試験方法は、染色体異常試験とほとんど同じ手

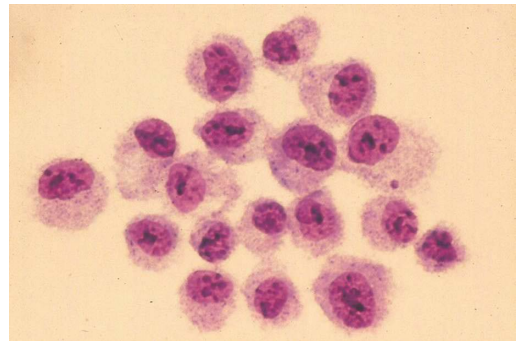
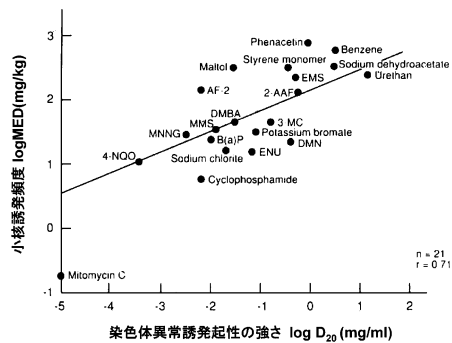


Fig. 11. Micronucleus test *in vitro*



染色体異常誘発性 (D₂₀) とマウス小核試験による小核誘発頻度 (mg/kg, i.p.)

Fig. 12. Correlation between clastogenic potential *in vitro* and micronucleus test in mice (the minimum effective dose, mg/kg. i.p.)

法である。染色体異常試験では細胞を破裂させ、染色体を散らばせることで観察し易くしたが、小核試験では細胞を破裂させずにそのまま染色し、細胞質に残存する小核を数えることで判定した (Fig. 11)。化学物質が染色体に作用し、小核として出現するか、紡錘体機能が阻害されて小核として残るかを見たものである。

染色体異常試験結果との相関も高く (Fig. 12)¹³⁾、しかも手技的には染色体異常試験とさほど変わりなく、判定は熟練を要しないことからスクリーニング試験として有効である。判定は統計処理をして有意差を求めて判定する。

VI. 化学物質の構造活性相関

化学物質の構造と生物活性との関係は古くから検討されてきたが、必ずしも一致率は高くない。しかし、Ames 試験は他の試験系より簡便であることから多くの化学物質について変異原性の試験結果があり、化学構造との関係について検討されている。

例えば、ニトロ基、アミノ基、ニトロソ基、エポキシ等の基を持つものは比較的陽性になりやすいが、メトキシ基、カルボキシ基、スルホン基、水酸基等を持つものは陰性の可能性が高いといっ

Table 5. Mutagenicity and carcinogenicity of 26 hydrazine derivatives

No	Chemical	Structure	Mutagenicity			Carcinogenicity and Reference's No.
			TA 100	TA 1537	TA 98	
1	Hydrazine hydrate	$N_2N-NH_2 \cdot H_2O$	+	-	-	+16
2	Hydrazine sulfate	$H_2N-NH_2 \cdot H_2SO_4$	+	-	-	+17, 18
3	Methylhydrazine sulfate	$H_8CHN-NH_2 \cdot H_2SO_4$	-	-	-	+27, 28
4	1,1-Dimethylhydrazine	$(CH_3)_2N-NH_2$	-	-	-	+6, 29
5	1,2-Dimethylhydrazine dihydrochloride	$H_3C \cdot HN-NH \cdot CH_3 \cdot 2HCl$	-	-	-	+30, 31
6	Ethylhydrazine oxalate	$H_8CH_2C \cdot HN-NH_2 \cdot (COOH)_2$	-	-	-	+19
7	2-Hydroxyethylhydrazine	$H_2N-NH \cdot CH_2CH_2OH$	+	*	-	+20, 21
8	Butylhydrazine oxalate	$H_8CH_2CH_2CH_2C \cdot HN-NH_2 \cdot (COOH)_2$	+	*	-	+26
9	Carbamylhydrazine HCl	$H_2N-NH \cdot CO \cdot NH_2 \cdot HCl$	-	-	-	+32
10	Succinic acid 2,2-dimethylhydrazide	$HOOCCH_2 \cdot CH_2 \cdot CO \cdot HN-N(CH_3)_2$	-	-	-	+33
11	Guanylhiazine HCl	$H_2N \cdot C(NH) \cdot HN-NH_2 \cdot HCl$	-	-	-	?
12	Thiosemicarbazide	$H_2N \cdot CS \cdot HN-NH_2$	-	-	-	?
13	1,2-Diethylhydrazine dicarboxalate	$H_5C_2 \cdot HN-NH \cdot C_2C_5 \cdot 2(COOH)_2$	-	-	-	?
14	Formicacid hydrazide	$HCO \cdot HN-NH_2$	-	-	-	?
15	1,2-Diformylhydrazine	$HCO \cdot HN-NH \cdot CHO$	-	-	-	?
16	Phenylhydrazine HCl	$\langle \bigcirc \rangle-NH-NH_2 \cdot HCl$	+	*	+	+22, 23
17	Benzylhydrazine 2HCl	$\langle \bigcirc \rangle-CH_2 \cdot NH-NH_2 \cdot 2HCl$	-	-	-	+23
18	β -Phenylethylhydrazine sulfate	$\langle \bigcirc \rangle-CH_2 \cdot CH_2 \cdot HN-NH_2 \cdot H_2SO_4$	+	*	-	+24
19	Benzoylhiazine	$\langle \bigcirc \rangle-CO \cdot HN-NH_2$	-	-	-	+34
20	1-Carbamyl-2-phenyl hydrazine	$\langle \bigcirc \rangle-NH-NH \cdot CO \cdot NH_2$	-	-	-	+35
21	<i>p</i> -Tolylhydrazine HCl	$H_3C-\langle \bigcirc \rangle-NH-NH_2 \cdot HCl$	+	*	+	+25
22	2,4-Dinitrophenyl hydrazine	$O_2N-\langle \bigcirc \rangle-NH-NH_2$	+	*	+	?
23	Isonicotinic acid hydrazide	$\langle \bigcirc \rangle-CO \cdot HN-NH_2$	-	-	-	+2, 3
24	β -Phenylisopropyl hydrazine	$\langle \bigcirc \rangle-NH-NH \cdot CH(CH_3)_2$	-	-	-	?
25	2-Methyl-4-chloro phenoxy acetic acid hydrazide HCl	$Cl-\langle \bigcirc \rangle-OCH_2 \cdot CO \cdot HN-NH_2 \cdot HCl$	-	-	-	+36
26	<i>p,p'</i> -Oxybisbenzen disulfonyl hydrazide	$H_2N-NH \cdot SO_2-\langle \bigcirc \rangle-O-\langle \bigcirc \rangle-SO_2 \cdot HN-NH_2$	+	*	-	?

+ : with S-9 Mix, +* : with and without S-9 Mix

た傾向はある。ヒドラジン化合物について発がん性が証明されているもの21物質についてAmes試験を行ったところ、陽性を示したものは38%、陰性を示したものは62%であった (Table 5, 6, 7)²⁰⁾²¹⁾。また、芳香族ニトロ・アミノ化合物については発がん性との一致率は高い (Table 8)²²⁾。一方、アニリン誘導体については一致率は高くなかった (Table 9)²³⁾ が、エポキシ樹脂硬化剤の一

致率は高かった (Table 10)²⁴⁾。今後、Ames 試験結果と化学構造との関係について、コンピュータによるよいソフトが開発されれば、構造活性相関の一致率はさらに向上することが期待できる。

VII. 職業がん予防のための法的整備と国際協力について

古今東西を問わず、職業がんの場合は、ある職

Table 6. Results of hepatocyte/DNA repair, Ames test and carcinogenicity


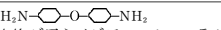
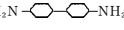
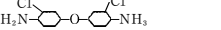
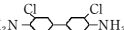
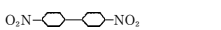
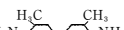
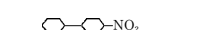

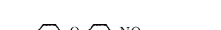

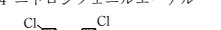

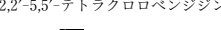


Chemicals	Hepatocyte/DNA repair		Bacterial mutagenicity ^{a)}	Carcinogenicity
	rat	mouse		
<i>N'</i> -Acetyl-4-(hydroxymethyl)-phenylhydrazine (1)	+	+	- (31)	+ (5)
1-Acetyl-2-phenylhydrazine (2)	-	-	- (31)	+ (6)
4-Allylthiosemicarbazide (3)	-	-	+ (31)	?
Benzylhydrazine (4)	-	-	- (31)	+ (7)
Benzylhydrazine · 2HCl (5)	-	-	- (31)	+ (8)
Butylhydrazine oxalate (6)	-	-	+ (31)	+ (9)
Carbamylhydrazine · HCl (7)	-	-	- (31)	+ (10)
1-Carbamyl-2-phenylhydrazine (8)	-	-	- (31)	+ (11)
1,2-Diethylhydrazine dicarboxalate (9)	-	-	- (31)	?
1,2-Diformylhydrazine (10)	-	-	- (31)	+ (12)
1,1-Dimethylhydrazine (11)	-	+	- (31)	+ (13)
1,2-Dimethylhydrazine · 2HCl (12)	+	+	- (31)	+ (14, 15)
2,4-Dinitrophenylhydrazine (13)	-	-	+ (31)	?
Ethylhydrazine oxalate (14)	-	-	- (31)	+ (16)
Formic acid hydrazide (15)	-	-	- (31)	+ (17)
Guanylhydrazine · HCl (16)	-	-	- (31)	?
β - <i>N</i> -[γ -L-(+)-Glutamyl]-4-hydroxymethyl-phenylhydrazine (Agaritin) (17)	-	-	- (31)	?
Hydrazine hydrate (18)	-	+	+ (31)	+ (18)
Hydrazine sulfate (19)	-	+	+ (31)	+ (19, 20)
1-Hydrazinophthalazine · HCl (20)	+	+	+ (31)	+ (21)
2-Hydroxyethylhydrazine (21)	-	-	+ (31)	+ (22)
Isonicotinic acid hydrazide (22)	-	-	+ (31)	+ (3, 4)
2-Methyl-4-chlorophenoxyacetic acid hydrazide · HCl (23)	-	+	- (31)	+ (23)
<i>N</i> -Methyl- <i>N</i> -formylhydrazine (24)	-	-	- (31)	+ (24)
Methylhydrazine · sulfate (25)	+	+	- (31)	+ (25, 26)
4-Methylphenylhydrazine · HCl (26)	-	-	+ (31)	+ (27)
<i>p,p'</i> -Oxybisbenzene disulfonylhydrazide (27)	+	+	+ (31)	?
β -Phenylethylhydrazine · sulfate (28)	-	-	+ (31)	+ (28)
Phenylhydrazine · HCl (29)	+	+	+ (31)	+ (8)
β -Phenylisopropylhydrazine (30)	-	-	- (31)	?
Succinic acid 2,2-dimethylhydrazine (31)	-	-	- (31)	+ (29)
Thiosemicarbazide (32)	-	-	- (31)	?

a) In *Salmonella typhimurium*.

Table 7. Summary of mutagenicity in Ames test and carcinogenicity in animals of 21 hydrazine derivatives

突然変異性 (+)	突然変異性 (-)
Hydrazine hydrate	Methylhydrazine sulfate
Hydrazine sulfate	1,1-Dimethylhydrazine
2-Hydroxyethylhydrazine	1,2-Dimethylhydrazine
Butylhydrazine hydrochloride	Ethylhydrazine hydrochloride
Phenylhydrazine hydrochloride	Carbamylhydrazine hydrochloride
Beta-phenylhydrazine sulfate	Succinic acid 2,2-dimethylhydrazine
p-Tolylhydrazine hydrochloride	Benzylhydrazine dihydrochloride
1-Hydrazinophthalazine	Benzylhydrazine
	1-Carbamyl-2-phenylhydrazine
	Isonicotinic acid hydrazide
	2-Methyl-4-chlorophenoxy acetic acid hydrazine
	N-Methyl-N-formylhydrazine
	N'-Acetyl-4(hydroxymethyl) phenylhydrazine
38%	62%

Table 8. Mutagenicity and carcinogenicity of aromatic nitro and amino compounds

化学物質	突然変異性		発がん性 報告者	化学物質	突然変異性		発がん性 報告者
	TA98	TA100			TA98	TA100	
1  4-アミノジフェニル	+	+	Walpole AL (1952)	9  4,4'-ジアミノジフェニルエーテル	+	+	Grisswold DP (1968)
2  ベンジジン	+	+	Spitz S (1950)	10  3,3'-ジクロロ-4,4'-DDE	-	+	Steinhoff D (1970)
3  3,3'-ジクロロベンジジン	+*	+	Pliss GB (1959)	11  4,4'-ジニトロジフェニル	+*	+*	Laham S (1964)
4  オルトトリジン	+	+	Pliss GB (1970)	12  4-ニトロジフェニル	+*	+*	Deichman WB (1958)
5  オルトメトキシアニリン	+	+	Hadidian Z (1966)	13  4-ニトロジフェニルエーテル	+*	+*	?
6  4,4'-ジアミノジフェニルメタン	-	+	Schoental R (1968)	14  2,2',5,5'-テトラクロロベンジジン	-	+	Takemura N (1974)
7  4,4'-メチレンビス-(2-クロロアニリン)	-	+	Steinhoff D (1969)	15  5-ニトロアセナフテン	+*	+*	Hashida C (1968)
8  4-アミノジフェニルエーテル	+	+	?	16  5-アミノアセナフテン	+	+	Hashida C (1968)

(注) 突然変異性の+はS-9Mixを加えた場合、*は加えなくとも陽性となったものである。

種に高頻度になんが発見されて初めて疫学調査なり因果関係が調査されて明らかになり、対策を取るのが常套手段であった。事前に予防的措置を執るような時代ではなかったし、科学もそこまで発達していなかった。最近問題となっている石綿肺癌でさえ、1935年に米国で初めて報告されて以来わが国では対策も取らず、今日まで放置されてきた。2005年に石綿障害予防規則が公布され、予防

と健康管理対策および救済が始まったところである。

化学物質による職業がんに対するわが国の法的規制は、1971年に特定化学物質等障害予防規則の制定、および1972年に労働安全衛生法の公布によりベンジジンなどの製造・使用禁止、健康管理手帳交付制度、有害性事前調査制度に始まる²⁵⁾。

1976年には予防対策の観点から、疫学調査や有

Table 9. Mutagenicity and carcinogenicity of aniline derivatives

Chemical	DNA repair ^a	Mutagenicity ^b	Carcinogenicity ^c
Aniline	-	(+) (Nagao et al, 1977)	- (IARC, 1982)
Aniline hydrochloride	-	(+) (Nagao et al, 1977)	- (IARC, 1982)
Metanilic acid	-	- (Shimizu and Takemura, 1983)	u
<i>p</i> -Toluidine- <i>m</i> -sulfonic acid	-	- (Shimizu and Takemura, 1983)	u
4-Methyl-2-nitroaniline	-	- (Shimizu and Takemura, 1983)	u
Anthranilic acid methylester	-	(+) (Shimizu and Takemura, 1983)	u
2-Methoxy-5-methylaniline (<i>p</i> -cresidine)	-	(+) (Shimizu and Takemura, 1983)	+ (NCI, 1979a; OSHA, 1980)
<i>N</i> -Methylantranilic acid methylester	-	(+) (Shimizu and Takemura, 1983)	u
<i>N,N</i> -Dimethylaniline	-	(+) (Shimizu and Takemura, 1983)	- (Walpole et al, 1963)
<i>N,N</i> -Diethylaniline	-	(+) (Shimizu and Takemura, 1983)	u
<i>o</i> -Ethylaniline	-	(+) (Shimizu and Takemura, 1983)	u
<i>N</i> -Methylaniline	-	(+) (Shimizu and Takemura, 1983)	+ (Greenblatt et al, 1971)
2,4,6-Trichloroaniline	-	+ (Shimizu and Takemura, 1983)	+ (Weisburger et al, 1978)
2,4,6-Trimethylaniline (mesidine)	+	+ (Shimizu and Takemura, 1983)	+ (Weisburger et al, 1978)
2,4-Xylidine	+	+ (Shimizu and Takemura, 1983)	+ (Weisburger et al, 1978)
<i>o</i> -Nitroaniline	-	+ (Shimizu and Takemura, 1983)	u
2-Methyl-4-nitroaniline	-	+ (Shimizu and Takemura, 1983)	u
2-Chloro-4-nitroaniline	-	+ (Shimizu and Takemura, 1983)	u
<i>o</i> -Methoxyaniline (<i>o</i> -anisidine)	-	+ (Shimizu and Takemura, 1983)	+ (NCI, 1978b)
2,4-Dinitroaniline	-	+ (Shimizu and Takemura, 1983)	u
<i>m</i> -Phenylenediamine	-	+ (Shimizu and Takemura, 1983)	- (Weisburger et al, 1978; Sontag, 1981)
<i>p</i> -Phenetidine	-	- (Suzuki et al, 1986)	u
<i>p</i> -Aminoacetanilide	-	+ (Suzuki et al, 1986)	u
<i>o</i> -Chloroaniline	-	- (Suzuki et al, 1986)	- (Pienta et al, 1977)
2,5-Dichloroaniline	-	- (Suzuki et al, 1986)	u
3,4-Dichloroaniline	-	- (Suzuki et al, 1986)	u
3,5-Dichloroaniline	-	- (Suzuki et al, 1986)	u
2,4,5-Trichloroaniline	-	- (Suzuki et al, 1986)	u
4-Amino-2-chlorotoluene-5-sulfonic acid sodium	-	- (Suzuki et al, 1986)	u
2,5-Diaminobenzene sulfonic acid	-	+ (Suzuki et al, 1986)	u
3,5-Diaminobenzoic acid	+	+ (Suzuki et al, 1986)	u
3,4-Diaminobenzene	+	+ (Suzuki et al, 1986)	+ (NCI, 1978a; OSHA, 1980)
3,5-Diaminobenzene	-	+ (Suzuki et al, 1986)	u
2-Chloro-4-methylaniline	+	(+) (Suzuki et al, 1986)	u
2-Chloro-5-methylaniline	-	(+) (Suzuki et al, 1986)	u
5-Chloro-2-methylaniline	-	(+) (Suzuki et al, 1986)	+ (OSHA, 1980)
4-Chloro- <i>N</i> -methylaniline	+	(+) (Suzuki et al, 1986)	u

^a+, induced DNA repair; -, failed to induce DNA repair.

^b+, induced mutagenicity; (+), only induced mutagenicity with norharman; -, failed to induce mutagenicity.

^c+, shown carcinogenicity; -, not shown carcinogenicity; u, unknown.

Table 10. Mutagenicity and carcinogenicity of epoxy resin hardeners

No.	Chemical	Structure	Muta- geni- city	Carci- noge- nicity
1	4-Aminodiphenylether		+	?
2	4,4'-Diaminodiphenylether		+	+
3	3,4,4'-Triaminodiphenylether		+	?
4	1,4-Phenylene-di-4-aminophenylether		+	?
5	1,3-Phenylene-di-4-aminophenylether		+	?
6	3,3'-Dichloro-4,4'-diaminodiphenylether		+	+
7	4,4'-Diaminodiphenylmethane		+	±
8	4,4'-Methylene-bis-(2-chloroaniline)		+	+
9	4,4'-Diaminodiphenylsulfone (Dapsone)		-	(+) ?

害性調査制度，作業環境測定などを含む労働安全衛生法の一部改正が行われた。この中で，工場で年間 100 kg 以上新規に製造・輸入する化学物質に関しては，世界に先駆けて Ames 試験の実施と，その結果を厚生労働大臣に報告することが義務づけられ，1979 年 6 月より今日まで約 16,000 物質が審査されてきた。また，試験は GLP 基準 (Good Laboratory Practice: 優良試験所基準) に則って行われなければならない，しかも，世界のどこの施設で行われた試験結果でも，GLP 基準に従って行われた試験結果であれば相互に交換できるようになっている⁶⁾。つまり，試験の重複を避け，経済効率を高めることが目的である。

さらに最近では，MSDS (Material Safety Data Sheet: 化学物質等安全データシート) に記載すること，また国連 GHS 勧告 (化学品の分類および表示に関する世界調和システム) に基づき，化学物質の危険・有害性の程度を区分し，その区分に応じた絵表示，注意喚起語，危険有害性情報を貼付することが国際的に進められている²⁶⁾。国内法の上からも，また国際的なハーモナイゼーションの上からも，化学物質の発がん性は勿論のこと，健康影響を与える化学物質全般に関して法的規制だけでは規制できないことから，企業における自主管理の推進が進められている。これからは環境問題も含めて，企業における社会的責任 (Corporate Social Responsibility: CSR) が問われる時代となっている。

VIII. おわりに

がんの発生と職業との因果関係が明らかとなり，その予防対策が取られるまでは，人間はモルモット同然であった。化学物質の毒性の中でも発がんは最も重度の健康障害となるが，対策が遅れるのは，潜伏期があるため，なかなか因果関係を明らかに出来なかったことにもよる。

近年では，米国の自動車タイヤメーカーの産業医 Creech が，米国人には希な肝臓の血管肉腫が自社の従業員に異常に多発していることに気づき調査したところ，塩化ビニルモノマーを重合させる作業者に多いことがわかった²⁷⁾。そこで，世界中の塩化ビニルモノマーを扱う工場の従業員について調べたところ，同様に高率に発生していることを突き止めた例がある。わが国でも 4 例の報告がある。その後の研究で，動物実験で肝血管肉腫の再現性が証明され，また，Ames 試験では強陽性物質であった²⁸⁾²⁹⁾。

職業がんの予防のために Ames 試験の実施と結果の提出を 1979 年から義務付け，今日までに約 16,000 物質が評価されている。2005 年 3 月までに報告された 12,743 物質の集計では，この内の 509 物質 (約 4%) が強陽性物質で，1,019 物質 (約 8%) が弱陽性である⁶⁾。しかし，Ames 試験で陰性物質といえども，化学構造から見て，染色体異常試験を行えば強陽性になる可能性の物質もあり職業癌に結びつく可能性が残る。Ames 試験結果だけで安心というわけにはいかない。数種類の試験系を組み合わせれば判断しなければ本当の安心・安全を得ることは難しい。

文 献

- 1) Clayson DB. Occupational and environmental hazards: chemical carcinogenesis in man. In: Clayson DB, editor. Chemical carcinogenesis. Little, Brown and Company; 1962. p. 10-54.
- 2) 小田嶋成和, 橋本嘉幸 編. 化学物質と癌の発生. 東京: 学会出版センター; 1978. p. 2-8.
- 3) 倉恒匡徳. 職業ガン. 久保田重孝 編. 職業病とその対策. 東京: 興生社; 1969. p. 385-422.
- 4) 石津澄子. 尿細胞診による職業性膀胱腫瘍の管理. 山田 喬監修. 東京: 化成品工業協会; 1975.

- p. 1-15.
- 5) Gough M. Federal research aimed at reducing cancer risks. In: Desler PF Jr., editor. Reducing the carcinogenic risks in industry. New York: Marcel Dekker, Inc.; 1984. p. 67-98.
 - 6) 労働衛生のしおり 平成17年度. 中央労働災害防止協会; 2005. p. 19-20.
 - 7) Ames BN, McCann J, Yamasaki E. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella/mammalian-microsome* mutagenicity test. *Mutat Res* 1975; 31: 347-64.
 - 8) 清水英佑. 変異原性から見た発がん物質のスクリーニング. *労働の科学* 1993; 48: 68-72.
 - 9) 清水英佑. 環境変異原についての公衆衛生学的研究. *慈恵医大誌* 1986; 101: 167-83.
 - 10) Miller JA, Miller E. Perspectives on the metabolism of chemical carcinogens. In: Emmelot P, Kriek E, editors. Environmental carcinogenesis. Amsterdam; Elsevier: 1979. p. 25-50.
 - 11) Shimizu H, Takemura N, Ando H, Morita M, Machida K. Mutagenic activity of N-nitrosomethamphetamine and N-nitrosophedrine. *Cancer Lett* 1983; 21: 63-8.
 - 12) Zeiger E. Mutagenicity tests in bacterial as indicators of carcinogenic potential in mammals. In: Phillips DH, Venitt S, editors. Environmental Mutagenesis. Oxford: BIOS scientific Publishers Limited; 1995. p. 107-19.
 - 13) Ishidate M. Genetic toxicology, Mutagenicity tests for the primary risk assessment of chemical substances. In: Roberts CN, editor. Risk assessment: the common ground. 東京: 中外貿易株式会社; 1987. p. 57-82.
 - 14) Ishidate M Jr, Odashima S. Chromosome test with 134 compounds on Chinese hamster cell in vitro: a screening for chemical carcinogens. *Mutat Res* 1974; 8: 337-54.
 - 15) 石館 基. GLPに基づく染色体異常試験ガイド. 東京: 株式会社エル・アイ・シー; 2006.
 - 16) Schmid W. The micronucleus test. *Mutat Res* 1975; 31: 9-15.
 - 17) Suzuki Y, Shimizu H, Ishikawa T, Sakaba H, Fukumoto M, Okonogi H, et al. Effects of prostaglandin E₂ on the micronucleus formation in mouse bone marrow cells by various mutagens. *Mutat Res* 1994; 311: 287-3.
 - 18) 鈴木勇司. In vitro 小核試験. 環境変異原研究 1990; 12: 75-87.
 - 19) Li J, Suzuki Y, Shimizu H, Fukumoto M, Okonogi H, Nagashima T, et al. In vitro micronucleus assay of 30 chemicals in CHL cells. *Jikeikai Med J* 1993; 40: 69-83.
 - 20) 清水英佑, 林 和夫, 竹村 望. ヒドラジン化合物の突然変異誘起性に関する研究, とくに発がん性との関係について. *日衛誌* 1978; 33: 474-85.
 - 21) Mori H, Sugie S, Yoshimi N, Iwata H, Nishikawa A, Matsukubo K, et al. Genotoxicity of a variety of hydrazine derivatives in the hepatocyte primary culture/DNA repair test using rat and mouse hepatocytes. *Jpn J Cancer Res* 1988; 79: 204-11.
 - 22) 清水英佑, 竹村 望. 芳香族アミノおよびニトロ化合物の変異性と発がん性についての検討. *産業医学* 1976; 18: 138-9.
 - 23) Yoshimi N, Sugie S, Iwata H, Niwa K, Mori H, Hashida C, et al. The genotoxicity of a variety of aniline derivatives in a DNA repair test with primary culture rat hepatocytes. *Mutat Res* 1988; 206: 183-91.
 - 24) 清水英佑, 鈴木勇司, 鈴木孝之, 秋山 巖, 崎谷寿子, 竹村 望. エポキシ樹脂硬化剤の突然変異原性について. *産業医学* 1982; 24: 498-503.
 - 25) 原 一郎. 職業癌の予防の問題. 鈴木武夫 編. 日本の職業癌. 東京: 篠原出版; 1987. p. 11-31.
 - 26) 城内 博. ハザードコミュニケーションにおけるGHS導入の意義と期待. *安全と健康* 2006; 7: 24-9.
 - 27) Creech JL, Johnson MN. Angiosarcoma of liver in the manufacture of polyvinylchloride. *J Occup Med* 1974; 16: 150-1.
 - 28) IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Human. 1978; 22: 19-126.
 - 29) 詳細リスク評価書 塩化ビニルモノマー (クロロエチレン) (外部レビュー版 v0.5): 独立行政法人産業技術総合研究所 化学物質リスク管理研究センター; 2005年11月21日.
http://unit.aist.go.jp/crm/mainmenu/zantei_0.4/VCM_0.4.pdf [accessed 2007-10-27]