

## オルト・トルイジンのばく露による膀胱がんの発症メカニズムに関する 文献レビューのまとめ

### 1 文献レビュー結果

#### ○文献No. 5

DNA adducts of ortho-toluidine in human bladder.

Böhm F, Schmid D, Denzinger S, Wieland WF, Richter E.

Biomarkers. 2011 Mar;16(2):120-8. doi: 10.3109/1354750X.2010.534556. Epub

2010 Nov 30. Erratum in: Biomarkers. 2011 May;16(3):288.

(ヒト膀胱内の *o*-トルイジン DNA 付加体)

芳香族アミン類のヘモグロビン付加体量及びタバコに特異的なニトロソアミン由来の 4-ヒドロキシピリイルプタンの DNA 付加体を測定する分析法を組み合わせ、ヒト膀胱組織中の *o*-トルイジンの DNA 付加体を測定したところ、膀胱がん患者の腫瘍サンプル 12 個のうち、4 個に 4-アミノビフェニル (4-ABP) の DNA 付加体 ( $0.057 \pm 0.125 \text{ fmol}/\mu\text{g DNA}$ )、11 個に *o*-トルイジンの DNA 付加体 ( $8.72 \pm 4.49 \text{ fmol}/\mu\text{g DNA}$ ) が検出された。

*o*-トルイジン由来の DNA 付加体の検出は、*o*-トルイジンのヒト膀胱発がん性を裏付けるものであるとしている。また、*o*-トルイジンの代謝活性化は未解明であるが、4-アミノビフェニル (4-ABP) の代謝活性化とは異なると考察している。

#### ○文献No. 6

Determination of 2,5-toluylenediamine (2,5-TDA) and aromatic amines in urine after personal application of hair dyes: kinetics and doses.

Schettgen T, Heinrich K, Kraus T, Gube M.

Arch Toxicol. 2011 Feb;85(2):127-33. doi: 10.1007/s00204-010-0563-3. Epub 2010 Jun 15

(個人による毛髪染色剤使用後の尿中の 2,5-トルイレンジアミン(2,5-TDA)及び芳香族アミン類の定量：動態と用量)

毛髪染色剤に含まれる可能性がある芳香族ジアミン類及び芳香族アミンの皮膚吸収を実生活の条件下で調査したところ、毛髪染色剤の使用後に発がん性アミン類へのヒト体内ばく露量増加を証明することはできなかった。

#### ○文献No.10

Hemoglobin adducts of the human bladder carcinogen *o*-toluidine after treatment with the local anesthetic prilocaine.

Gaber K, Harréus UA, Matthias C, Kleinsasser NH, Richter E.

Toxicology. 2007 Jan 5;229(1-2):157-64. Epub 2006 Oct 29.

(プリロカイン局所麻酔処置後のヒト膀胱発がん物質、*o*-トルイジンのヘモグロビン付加体)

プリロカイン（局所麻酔薬）処置による *o*-トルイジンばく露をヘモグロビン付加体により評価したところ、プリロカイン麻酔薬の投与により、*o*-トルイジンのヘモグロビン付加体の濃度が増大する。*o*-トルイジンによる発がん性リスクを考慮する必要性を示唆する。

#### ○文献No.11

NMR-based model reveals the structural determinants of mammalian arylamine N-acetyltransferase substrate specificity.

Zhang N, Liu L, Liu F, Wagner CR, Hanna PE, Walters KJ.

J Mol Biol. 2006 Oct 13;363(1):188-200. Epub 2006 Aug 15.

（NMR（核磁気共鳴法）を用いたモデルによる哺乳類のアリールアミン N-アミノアセチルトランスフェラーゼの基質特異性の構造的決定因子の解明）

アリールアミン N-トランスフェラーゼ（N-アセチル化転移酵素、NAT）は、多くの発がん物質解毒作用の重要ステップであるアリールアミンのアセチル化反応を触媒する。ヒト NAT1 が 4-アミノビフェニル（4-ABP）をアセチル化して、*o*-トルイジンなど膀胱がんに関連するアリールアミン類をアセチル化しない理由を解明する。

ヒトの NAT1 とハムスターの NAT2 の触媒キャビティ中の残基は同一である。4-アミノ安息香酸（PABA）の認識において重要な役割を果たす残基が同定され、モデルによりヒト NAT1 とハムスター NAT2 と 4-アミノ安息香酸（PABA）の結合様式が示された。

*o*-トルイジンは立体障害により、ヒト NAT1 とハムスター NAT2 が基質となることを妨げられ、アセチル化低下に関与することを示唆している。

#### ○文献No.32

Hamoglobin adducts of aromatic amines in people exposed to cigarette smoke.

Bryant MS, Vineis P, Skipper PL, Tannenbaum SR.

IARC Sci Publ. 1988;(89):133-6.

（タバコ煙ばく露によるヒト体内の芳香族アミンのヘモグロビン付加体）

喫煙者の血液中 4-アミノビフェニル（4-ABP）などの芳香族アミンのヘモグロビン付加体濃度を測定したところ、4-アミノビフェニル 4-ABP 付加体レベルは、喫煙者は非喫煙被験者に比べて約 5 倍高値であった。

#### ○文献No.37

Metabolism of ortho-, meta-, and para-toluidine in the adult male rat.

Cheever KL, Richards DE, Plotnick HB.

Toxicol Appl Pharmacol. 1980 Dec;56(3):361-9.

（成獣雄ラットに投与された *o*-、*m*-及び *p*-トルイジンの代謝）

SD 雄ラットへ *o*- [メチル-14C] トルイジン塩酸塩 50mg/kg を経口単回投与したところ、14C の主な排泄経路は尿中であり、投与後 24 時間以内にこの経路で 92%以上の 14C が排泄された。ラットへ *o*-、*m*-及び *p*-トルイジンを単回経口投与後、アミノメチルフェ

ニール類が排泄された。新規の代謝物として、*m*-トルイジン代謝物の2-アミノ-5-メチルフェノールが同定された。

トルイジン未変化体の排泄量は異性体ごとに異なり、*o*-異性体で21%、*m*-異性体、*p*-異性体ではそれぞれ2.5%であった。これらの違いは、*o*-異性体だけがラットの膀胱腫瘍の原因であるという観察結果を裏付けると考える。

*o*-及び*m*-トルイジンへ分解する2,3'-アゾトルエン関連研究で、尿中の代謝産物と膀胱粘膜の直接的な接触がラットの腫瘍発生に必要であることが明らかになっている (Strombeck,1946)。発がんの異性間の相違は、*o*-異性体の高い尿中濃度から説明できるかもしれないと考察している。

#### ○文献No.46

IARC MONOGRAPHS ON EVALUATION OF CARCINOGENIC RISKS TO HUMANS Volume100F (Chemical Agent and Related Occupation)

World Health Organization Inter National Agency For Research On Cancer 2012  
(IARC の *o*-トルイジンに関するモノグラフの更新)

- ・ *o*-トルイジンばく露に関連して膀胱がんのリスクが高まると報告した (Rubino et al.,1982)。
- ・ タンパク質付加バイオマーカー試験が実施され、*o*-トルイジンが膀胱がんの過剰症例の原因である可能性が最も高いという結論が支持された (Ward et al., 1996)。
- ・ 総合すると、疫学研究では *o*-トルイジンばく露と膀胱がんの間に一貫した関係があることを示している。
- ・ ラットに膀胱がんや乳腺がん、マウスに肝腫瘍や血管肉腫を誘発させた (IARC,2010)。
- ・ *o*-トルイジンの代謝は、N-酸化よりも環酸化もしくはN-アセチル化の寄与が大きい (Son et al.,1980)。
- ・ 職業性ばく露に伴って生じる膀胱がんは、膀胱上皮内のプロスタグランジン H シンターゼが触媒する *o*-トルイジンの過酸化活性化によるものと考えられる (Zenser et al.,2002)。
- ・ 麻酔薬プリロカインの投与 (Gaber et al.,2007) や、ある化学工場での労働者 (Ward et al.,1996) では、*o*-トルイジン-ヘモグロビン付加体レベルが上昇した。
- ・ *o*-トルイジンの代謝物質は、主に硫酸塩もしくはグルクロニド抱合体として排出される (Zhang et al.,2006)。

#### ○文献No.47

Comparative investigation of multiple organs of mice and rats in the comet assay  
Kaoru Sekihashi, Ayumu Yamamoto, Yukie Matsumura, Shunji Ueno, Mie Watanabe-Akanuma, Fekadu Kassied, Siegfried Knasmüller, Shuji Tsuda, Yu F. Sasaki

Mutation Research 2002 vol517

(コメットアッセイでのマウスとラットの複数の臓器に関する比較研究)

コメットアッセイでの動物種の選択のガイドラインの構築のため、マウスとラットの

複数の臓器に関する比較研究を行う。

複数の臓器でのコメットアッセイで発がん能力を示すには、両方の動物種を用いることが適切であることを示唆する。

#### ○文献No.48

The genetic toxicology of ortho-toluidine

Natalie Danford

Mutation Research 1991 vol258

(オルトトルイジンの遺伝毒性についての総説 1991)

o-トルイジンは特別な条件、とりわけ代謝に関して特殊な条件下で遺伝毒性作用があるとみなすことができる。

#### ○文献No.49

Metabolism of N-acetylbenzidine and initiation of bladder cancer

Terry V. Zenser, Vijaya M. Lakshmi, Pong Fu Hsu, Bernard B. Davis

Mutation Research 2002 vol506-507

(N-アセチルベンジジンの代謝と膀胱がんのイニシエーション 2002)

高レベルのベンジジン (BZ) の代謝についてレビューし、発がん性のイニシエーション (きっかけ) に関与している経路を明らかにする。

体内酵素であるシトクロム P-450、プロスタグランジン H シンターゼ (PHS)、ホースラディッシュペルオキシダーゼは N-アセチルベンジジン (ABZ) を活性化させ、DNA 付加体である N<sup>+</sup>-(3'-モノホスホ-デオキシグアシノン-8-yl)-N-アセチルベンジジン (d Gp-ABZ) を形成させる。

膀胱上皮にはプロスタグランジン H シンターゼ (PHS) が比較的多く、シトクロム P-450 が低レベルであることは、プロスタグランジン H シンターゼ (PHS) による活性化を示唆する。プロスタグランジン H シンターゼ (PHS) による活性化では、N-アセチルベンジジン (ABZ) を N<sup>+</sup>ヒドロキシ-N-アセチルベンジン (N<sup>+</sup>HA) に変換する。一方、ホースラディッシュペルオキシダーゼは N-アセチルベンジジン (ABZ) を活性化してジイミンモノカチオンを形成する。活性窒素酸素種 (RNOS) が活性化の新たな経路となる可能性も推察されている。

ベンジジン (BZ) による膀胱がんのイニシエーションは複雑で、複数の臓器 (すなわち、肝臓、腎臓、膀胱) と代謝経路 (すなわち、N-アセチル化、N-グルクロン酸抱合、過酸化、RNOS) が関与していることが示唆される。

## 2 文献レビュー結果のまとめ

o-トルイジンの発がんメカニズムについては、何らかの酵素による酸化、代謝活性化によるものと考えられるところ、o-トルイジンの代謝経路は複雑であり、その解明には今後の研究が待たれるところであるが、本検討会の文献検討の結果は、以下のとおりである。

ヒトの膀胱内の o-トルイジン付加体を測定した Böhm ら (2011) は、膀胱がん患者の腫

瘍サンプルから *o*-トルイジン由来の DNA 付加体が高率で検出されたと報告している。また、ラットに投与された *o*-、*m*-及び *p*-トルイジンの代謝を観察した Cheever ら (1980) は、*m*-、*p*-異性体に比べて *o*-異性体の尿中濃度が最も高いことを報告している。

NAT (N-アセチル化転移酵素) は多くの発がん物質の解毒作用の重要なステップであるアリールアミンのアセチル化を触媒することが知られているところであるが、ヒト NAT1 が、*o*-トルイジンのアセチル化しない理由を研究した Zhang ら (2006) は、*o*-トルイジンの立体障害により、ヒト NAT1 が基質となることが妨げられアセチル化が低下するとしている。

Terry ら (2002) は、*o*-トルイジンの類似物質である N-アセチルベンジジン (ABZ) の膀胱がんのイニシエーションを報告している。N-アセチルベンジジン (ABZ) は肝臓で N-グルクロン酸抱合を受け、N-グルクロニドに変換される。N-グルクロニドは血液により濾過されて、その結果、膀胱腔内の尿に蓄積される。N-グルクロニドは酸に不安定であり、酸性の尿中で N-アセチルベンジジン (ABZ) に変わる。膀胱上皮にはプロスタグランジン H シンターゼ (PHS) が比較的多く、グランジン H シンターゼ (PHS) の活性化により、DNA 付加体である N'- (3'-モノホスホ-デオキシグアシノン-8-yl) -N-アセチルベンジジン (d Gp-ABZ) を形成する。この DNA 付加体が突然変異を生じさせることで、がんをイニシエートさせ、それがゲノムに固定されるようになり、最終的に腫瘍形成に寄与している。

以上のことから、本検討会では、*o*-トルイジンばく露による膀胱がん発症のメカニズムについては、複数のメカニズムが考えられるところ、尿中の *o*-トルイジン又は *o*-トルイジンの代謝生成物が膀胱内に高濃度に集積し、膀胱粘膜の接触等によって形成された DNA 付加体の突然変異により、膀胱がんが発症すると考えられる。