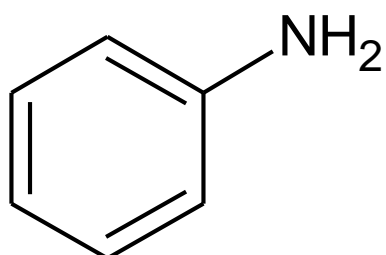


優先評価化学物質のリスク評価（一次）
人健康影響に係る評価Ⅱ
有害性情報の詳細資料

アニリン

優先評価化学物質通し番号 54



平成 30 年 9 月

厚 生 労 働 省

| | | |
|----|------------------------|----|
| 1 | | |
| 2 | 目 次 | |
| 3 | 1 有害性評価（人健康） | 1 |
| 4 | 1-1 有害性評価に関する国内外の評価 | 1 |
| 5 | 1-1-1 非発がん影響 | 1 |
| 6 | (1) 経口 | 1 |
| 7 | (2) 吸入 | 2 |
| 8 | 1-1-2 発がん影響 | 4 |
| 9 | (1) 発がん性分類 | 4 |
| 10 | (2) 経口 | 4 |
| 11 | (3) 吸入 | 6 |
| 12 | 1-1-3 国内の他法令による規制値等 | 7 |
| 13 | 1-2 一般毒性 | 7 |
| 14 | 1-2-1 経口 | 7 |
| 15 | (2) 実験動物 | 7 |
| 16 | 1-2-2 吸入 | 8 |
| 17 | (1) ヒト | 8 |
| 18 | (2) 実験動物 | 8 |
| 19 | 1-3 生殖・発生毒性 | 9 |
| 20 | 1-3-1 経口 | 9 |
| 21 | (1) ヒト | 9 |
| 22 | (2) 実験動物 | 9 |
| 23 | 1-3-2 吸入 | 10 |
| 24 | (1) ヒト | 10 |
| 25 | (2) 実験動物 | 11 |
| 26 | 1-4 変異原性（遺伝毒性） | 11 |
| 27 | 1-4-1 ヒトへの影響 | 11 |
| 28 | 1-4-2 遺伝毒性試験 | 11 |
| 29 | 1-5 発がん性 | 18 |
| 30 | 1-5-1 経口 | 18 |
| 31 | (1) ヒト | 18 |
| 32 | (2) 実験動物 | 18 |
| 33 | 1-5-2 吸入 | 20 |
| 34 | (1) ヒト | 21 |
| 35 | (2) 実験動物 | 21 |
| 36 | 1-6 その他の有害性に関する情報 | 21 |
| 37 | 1-6-1 生体内運命（体内動態） | 21 |
| 38 | 1-6-2 急性毒性 | 23 |
| 39 | (1) ヒト | 23 |
| 40 | (2) 動物 | 24 |
| 41 | 1-6-3 眼・皮膚に対する刺激性及び感作性 | 24 |
| 42 | (1) 刺激性 | 24 |
| 43 | (2) 感作性 | 24 |
| 44 | 1-7 作用機序 | 25 |

| | | |
|---|----------------------|----|
| 1 | 1-8 有害性評価値の導出..... | 27 |
| 2 | 1-9 文献..... | 30 |
| 3 | (参考) BMD 算出データ | 33 |
| 4 | | |

1 有害性評価（人健康）

はじめに

アニリンの人健康に関する有害性評価の優先度を検討するため実施され、2010 年度に公表されたスクリーニング評価において、有害性クラス「2」（変異原性クラス 2、発がん性クラス 2）、暴露クラス「2」と評価されたことから、優先度「高」と判定され、アニリンは 2011 年（平成 23 年）4 月 1 日に優先評価化学物質（通し番号 54）に指定された。有害性評価Ⅰ^①における優先順位付けの結果を踏まえ、より詳細な評価として有害性評価Ⅱを実施することとなった。

国内外の評価機関による既存の評価書等及び新しい知見を調査し、参照に挙げた資料を用いてアニリンの有害性評価を実施した。新しい知見の調査範囲については、有害性情報の包括的レビューが行われた国際機関の評価書のうち、最新のものであった EU-RAR の発表年である 2004 年を起点とし、ここから 2 年遡り、2002 年から 2018 年 3 月現在までに公表された有害性情報の検索及び収集を行い、参照に挙げた資料を用いてアニリンの有害性評価を実施した。

1-1 有害性評価に関する国内外の評価

入手できた情報のうち、毒性データの包括的レビューによる定量的評価が実施された最も新しい評価書は、国際機関では WHO 国際がん研究機関（IARC）によるモノグラフ（1987）、海外機関ではカナダ環境省/保健省（CEPA）による Follow-up Report in a PSL substance for Aniline（2011）、国内では独立法人製品評価技術基盤機構（NITE）による「化学物質の初期リスク評価書 No. 63 アニリン」（2007）であった。

1-1-1 非発がん影響

国内外の評価機関による非発がん影響の定量的評価は、経口経路では脾臓、吸入経路では血液（赤血球）及び脾臓に対する影響に基づいて行われた。

（1）経口

経口経路の非発がん影響について定量的評価を行っていたのは、下表 1-1 に示すカナダ環境省/保健省（CEPA）、欧州化学品局（ECB）、NITE の 3 機関であった。いずれの機関においても、米国化学工業毒性研究所（Chemical Industry Institute of Toxicology, CIIT）（1982）によるアニリン硫酸塩のラットを用いた 104 週間混餌投与試験をキースタディに採用していた。いずれの評価においても、本試験で見られた雄の最低用量群で見られた脾臓におけるヘモジデリン沈着、髄外造血、うっ血を根拠に、LOAEL を 7 あるいは 7.2 mg/kg bw/day（アニリン相当濃度）と判断し、耐容一日摂取量（Tolerable Daily Intake, TDI）の設定（CEPA）あるいは暴露マージン（Margin of Safety, MOS または Margin of Exposure, MOE）の算出（ECB 及び NITE）を行った。

^① 評価Ⅰで用いられた有害性クラス及び D 値等の有害性情報は、一般毒性 3（D 値: 0.007 mg/kg bw/day）、変異原性 2（化管法変異原性クラス 1）、発がん性 2（IARC: 3; EPA: B2（1986）; EU: 3）であった。生殖発生毒性のクラス及び D 値は設定されていない。

1

表 1-1 アニリンの経口経路の非発がん影響に関する国内外の定量的評価

| 機関 | 根拠データ | エンドポイント | NOAEL 又は LOAEL ^{注1} | 評価値 | 備考 |
|--|---|------------------------|---------------------------------|----------------------------|---|
| カナダ環境省 / 保健省 (CEPA) 1994 | ラット 104 週間 混餌投与試験 (アニリン塩酸塩) CIIT. 1982 | 脾臓のヘモジデリン沈着、髄外造血亢進、うっ血 | 経口 LOAEL : 7.2 mg/kg bw/day | TDI : 0.00144 mg/kg bw/day | UF5,000 (種差 10、種間差 10、LOAEL 使用 10、限定的な発がん性の証拠による不確実性 5) |
| 欧州化学品局 (ECB) EU リスク評価書 (EU Risk Assessment Report, EURAR) 2004 | ラット 104 週間 混餌投与試験 (アニリン塩酸塩) CIIT. 1982 | 脾臓のヘモジデリン沈着、髄外造血亢進、うっ血 | 経口 LOAEL : 7 mg/kg bw/day | | MOS 算出 |
| (独) 製品評価技術基盤機構 (NITE) 2007 | ラット 104 週間 混餌投与試験 (アニリン塩酸塩) CIIT. 1982 | 脾臓のヘモジデリン沈着、髄外造血亢進、うっ血 | 経口 LOAEL : 7 mg/kg bw/day | | MOE 算出 |

2

注 1 : アニリンに換算した用量で示す。

3

4

(2) 吸入

5

吸入経路の非発がん影響について定量的評価を行っていたのは、下表 1-2 に示す米国環境保護庁 (EPA) 及び NITE の 2 機関であった。

7

8

表 1-2 アニリンの吸入経路の非発がん影響に関する国内外の定量的評価

| 機関 | 根拠データ | エンドポイント | NOAEL 又は LOAEL 等 | 評価値 | 備考 |
|--|--|--|---|--|---|
| 米国環境保護庁 (U.S. EPA)/ 統合リスク情報システム (Integrated Risk Information System, IRIS). 1990 | ラット反復吸入暴露試験 ① 20-26週間吸入) 1 日 6 時間、週 5 日) Oberst et al. 1956 ② 2 週間吸入) 1 日 6 時間、週 5 日) Du Pont de Nemours. 1982 | メトヘモグロビン量増加、ヘモグロビン、ヘマトクリットの減少、脾臓相対重量増加 | ① 吸入 NOAEL : 5 ppm (19 mg/m ³) ② 吸入 LOAEL : 17 ppm (64.7 mg/m ³) | RfC : 1 x 10 ⁻³ mg/m ³ | RfC は吸入 NOAEL 19 mg/m ³ を暴露期間で補正した NOAEL 3.4 mg/m ³ より算出 UF 3,000 (高感受性ヒト亜集団の保護 10、ヒトと動物の種差 10、亜慢性試験の使用 10、適切な生殖試験の欠如 3) |

| | | | | | |
|--|----------------------------------|---------------------------------------|---|--|---|
| (独) 製品 評価技術基 盤機構 (NITE) 初期リスク 評価書 2007 | ラット反復 吸入暴露試 験 EPA. 1981 | 脾臓の腫 大、ヘモジ デリン沈 着、髄外造 血亢進 | 吸入 LOAEL : 17 ppm (換算 値 : 65.8 mg/m ³ 、 経口換算 : 8.7 mg/kg bw/day) | | MOE 算出 |
| 産業衛生学 会 許容濃 度等の勧告 (2017 年度) | | | | 許容濃度 : 1 ppm (3.8 mg/m ³) (経皮 吸収) | 根拠 : 経皮吸収を防止するこ とを含め、暴露を極力抑制す る目的で当面許容濃度を 1 ppm とした (提案理由 1998)。 |
| 米国産業衛 生専門家会 (ACGIH) 2015) | | | | TLV-TWA : 2 ppm (7.6 mg/m ³) | 根拠 : メトヘモグロビンレベ ルを正常値の 1.5%以下に抑制 したほうが好ましいとの観点 から、TLV-TWA 値を 2 ppm に設定した (提案理由 2001, 2004)。 |
| ドイツ研究 振興協会 (DFG) 2017 | | | | MAK value : 2 ppm (7.7 mg/m ³) | 健常人で 45 mg がアニリン単 回経口摂取によるメトヘモグ ロビン血症の初期症状を伴う 閾値である。これより低めに 見て、MAKvalue を 2 ppm (8 mg/m ³) と設定し皮膚接触を 避けることが望ましいとした (DFGOT vol. 17 (1994))。2015 年の評価では、この値に基づ いたヒトへの暴露試験を実施 し、BAT (biological tolerance value) 値及び BLW(biologischer Leitwert) 値を見直した (Bolt et al., 2017)。 |

米国 EPA では、投与期間が短いものの検査項目が多く重要なエンドポイントを捉えることができたラットを用いた 2 週間吸入暴露試験 (Du Pont de Nemours & Co., 1982) の LOAEL 17ppm を考慮した上で、ラット、マウス、モルモットを用いた 1 用量による試験動物数が少ない 20～26 週間吸入暴露試験(Oberst et al., 1956) の NOAEL 5 ppm (換算値 19 mg/m³) を採用した(U.S. EPA, 1993)。

NITE は、米国 EPA が 1981 年に実施した SD ラットの 2 週間吸入暴露 (鼻部) 試験 (詳細不明で入手不可。試験条件等から Du Pont de Nemours. 1982 と同一データと推測される)で認められた脾臓の腫大、ヘモジデリン沈着、髄外造血亢進を指標とした LOAEL 値 17 ppm (換算値 : 65.8 mg/m³) より得られた経口換算値 8.7 mg/kg bw/day (= 65.8 mg/m³ x 0.26 m³/日呼吸量 x 6 時間/24 時間 x 5 日/7 日 x 1.0 (吸収率)/0.35 kg bw) を MOE 算出に用いた。

EU は、NITE と同じく米国 EPA(1981)による SD ラットの 2 週間吸入暴露 (鼻部) 試験の結果より、脾臓の腫大、ヘモジデリン沈着、髄外造血亢進を指標として、本試験の LOAEL 値を 17 ppm (換算値 : 65.8 mg/m³) としたが、MOS の算出には経口 LOAEL 値を用いたため、この吸入 LOAEL 値を評価値算出に使用しなかった (EU RAR, 2004)。

1-1-2 発がん影響

(1) 発がん性分類

主な機関による発がん性分類（表 1-3）及び定性評価の概要を以下にまとめた。

表 1-3 アニリンの発がん性分類

| 機関名/出典 | 分類 | 分類基準 |
|-------------------------------|---------|--|
| 国際がん研究機関 IARC (1982, 1987) | 3 | ヒトに対する発がん性については分類できない |
| U.S. EPA/IRIS (1988) | B2 | おそらくヒト発がん性物質。動物での発がん性の十分な証拠があり、かつ、疫学研究から不十分な証拠、またはデータがない物質 |
| ACGIH (2004) | A3 | ヒトへの関連性は不明であるが、実験動物で発がん性が確認された物質 |
| EU RAR | 3 | 発がん性の影響に関する限定的な証拠がある |
| EU CLP | Carc. 2 | ヒトに対する発がん性が疑われる物質 |

国際がん研究機関 (IARC)は、アニリンのヒトでの発がん性について、1949 年～1961 年に膀胱発がんが報告された 6 件の職業暴露の疫学調査結果を基に評価した。評価対象とした疫学調査には、アニリン単体に暴露された報告例がなく、アニリンとの関連性が疑問視されているものの膀胱がんを誘発する可能性が否定されておらず、ヒトへの発がん性に関して結論を下すには証拠が不十分であるとして、グループ 3 (ヒトに対する発がん性については分類できない物質) に分類した。一方、他の機関は、US EPA がグループ B2、米国産業衛生専門家会議 (ACGIH) が A3、EU RAR がカテゴリー 3 と分類しており、ヒトでの発がん性の証拠は不十分であるが、動物での発がん性を支持するデータがある物質と評価している。また、欧州化学物質庁 (European Chemicals Agency, ECHA) の CLP 分類 (化学品の分類、表示、包装に関する規則 Regulation on Classification, Labelling and Packaging of substances and mixtures) では、アニリンは Carc.2 に分類されている (<https://echa.europa.eu/information-on-chemicals/cl-inventory-database/-/discli/details/115877>)。

(2) 経口

主な評価機関による経口経路による発がん性の定量評価の概要を以下に示す。有害性評価値の算出は米国 EPA と ECB が行っている。実験動物における発がん性の評価はすべて経口経路によるものであり、吸入経路での評価は行われていない。

表 1-4 アニリンの経口経路の発がん影響に関する定量的評価

| 機関 | 根拠データ | エンドポイント | 評価値・算出方法 | 10 ⁻⁵ のリスク ※1 |
|---------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|--|--|
| U.S. EPA/IRIS 1988 | ラット 104 週 混餌試験 CIIT. 1982 | 脾臓での線維肉腫、間質系肉腫、被膜肉腫、血管肉腫の発生 | 過剰リスクの線形多段階モデルによる外挿から算出。 経口 SF : $5.7 \times 10^{-3} \text{ (mg/kg bw/day)}^{-1}$ UR (飲用水) : $1.6 \times 10^{-7} \text{ (}\mu\text{g/L)}^{-1}$ 腫瘍発生リスク 10 ⁻⁴ 、10 ⁻⁵ 、10 ⁻⁶ に相当する飲用水中濃度はそれぞれ 600、60、6 $\mu\text{g/L}$ | $1.75 \times 10^{-3} \text{ mg/kg bw/day}$ (経口 SF より算出) |
| ECB 2004 | ラット 104 週 混餌試験 CIIT. 1982 | 脾臓での線維肉腫、間質系肉腫、被膜肉腫、血管肉腫の発生 | T25 = 46 mg/kg bw/day (72 mg/kg/day 投与群での腫瘍発生率 39%から、 $72 \times 25/39$ により算出。 MOE 算出のための評価値。) | $1.84 \times 10^{-3} \text{ mg/kg bw/day}$ (T25 より算出) |
| ICH-M7 (R1) Step 4 (2017) | ラット 104 週 混餌試験 CIIT. 1982 | 脾臓の間質肉腫等 | 生涯 PDE 720 $\mu\text{g/day}$ | UF10,000 として TDI=0.0072 mg/kg bw/day |

※1：本調査において算出したもの

● U.S. EPA Integrated Risk Information System (IRIS) (1988)

U.S. EPA IRIS は、米国化学工業毒性研究所 (Chemical Industry Institute of Toxicology, CIIT. 1982)が実施したラットにアニリン塩酸塩を 0、200、600、2,000 ppm の用量で 104 週間経口 (混餌) 投与した試験に基づき、脾臓での線維肉腫、間質肉腫、被膜肉腫及び血管肉腫の発生数の合計から得られた発生率 (0/64、0/90、1/90、31/90) を指標として、過剰リスクの線形多段階モデルによる外挿により経口スロープファクター (SF) $5.7 \times 10^{-3} \text{ (mg/kg bw/day)}^{-1}$ 、飲用水ユニットリスク (UR) $1.6 \times 10^{-7} \text{ (}\mu\text{g/L)}^{-1}$ を算出した。更に腫瘍発生リスクレベル 10⁻⁴、10⁻⁵、10⁻⁶に相当する飲用水中濃度を各々 600、60、6 $\mu\text{g/L}$ と算出した。

● EU Risk Assessment Report (EU RAR) (2004)

ECB (欧州化学品局) は、CIIT(1982)によるラットにアニリン塩酸塩を 104 週間経口 (混餌) 投与した試験において、雄の高用量群 (100 mg/kg bw/day) で脾臓の血管肉腫と間質肉腫発生率が有意に上昇したこと及び NCI(1978)によるラットにアニリン塩酸塩を 103 週間経口 (混餌) 投与した実験で、雄の全投与群で脾臓における血管肉腫の発生率が、高用量群で脾臓及び他の体腔内器官での線維肉腫及び分類不能の肉腫の発生率が有意に上昇し、雌でも有意差はないものの上昇傾向がみられたことから、アニリンはラットに発がん性を示すと結論した。

ヒトに関しては Ward et al., 1991.の報告を含む NIOSH の疫学調査を引用し、アニリンと他の化学物質に暴露した労働者で膀胱がんの発症率が上昇したことからアニリンとの関連性が疑われるものの、アニリンが膀胱がんの原因物質と判断することはできないとした。また、ECB は、アニリンがラットとヒトで同じように代謝されるため、あらゆる暴露シナリオにおいてヒトでのある程度の発がんリスクを除外することはできないが、ヒトでのデータが限られたものであるため、ヒトでの発がん性のリスクの最終的な評価は不可能であると結論している。

以上より、ECB は、発がん物質の分類に関する EU の基準に従い、アニリンは発がん性のカテゴリー3 (ヒト発がん性の懸念を引き起こす物質)、表示は R40 (発がん性の影響に関する限定的な証拠がある) と分類した。

EU RAR における発がん性に関する定量評価では、ラットにおける脾臓腫瘍の発生率から T25 を算出し、MOE を導出した。

●日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (ICH)による調和 3 極ガイドライン「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性 (変異原性) 不純物の評価及び管理」ガイドライン補遺 ICH-M7 (R1) Step 4 (2017)

ICH が 2015 年に公表した「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性 (変異原性) 不純物の評価及び管理」ガイドラインの補遺として公表されている本報告書(以下、ICH M7 (R1))は、医薬品製造でよく使用され、変異原性物質や発がん物質であるとみなされている一連の化学物質について、ICH M7 ガイドラインで示された化合物特異的摂取量を求める原則を例示する目的で作成された。この中で、複数の *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験で陽性であったことから、歴史的に遺伝毒性発がん物質として考えられていたアニリンが実例の一つとして挙げられ、変異原性及び発がん性並びに発がん機序 (Mode of Action)を評価した上で、許容 1 日暴露量 (Permissible daily exposure, PDE) が求められた。

ICH M7 (R1)では、発がん性については、CIIT (1982)及び米国国立がん研究所 (National Cancer Institute, NCI) (1978)に加え、Hagiwara ら(1980)の報告 (発がん性が認められなかったラットへの 80 週間混餌投与試験)を用いて評価した。また、アニリンの発がん機序への遺伝毒性の関与については、アニリン投与がメトヘモグロビン血症及び溶血を惹起し、その結果生じる赤血球の造血亢進が、小核形成の間接的な発生原因となる可能性があるが、小核形成がラットとマウスに認められたものの、発がん性試験では脾臓腫瘍はラットのみに認められ、マウスには認められなかったことから、遺伝毒性はアニリンの発がん機序の重要な要因ではないと判断している。この発がん機序に関する判断及び脾臓腫瘍の用量反応が非線形であることから、ICH M7 (R1)では、CIIT (1982)の 2 年間のラットがん原性試験から得たデータを用い、最低用量である 7.2 mg/kg bw/day を発がん性の NOAEL とし、体重 50 kg 及び安全係数 500 (ラットからヒトへ 5、個人間のばらつき 10、重篤な毒性 10)を用いて生涯 PDE を 720 µg/day と算出した。

(3) 吸入

吸入暴露の発がん性については、定性的評価は行われているものの、現在のところ定量的評価を行った評価機関はなく、スロープファクター、ユニットリスク、VSD 等の評価値は得られなかった。

1-1-3 国内の他法令による規制値等

国内外の一般環境、労働環境等における大気や水の基準値、指針値、勧告値等の主な規制値について、下の表 1-5 にまとめた。

表 1-5 アニリンの国内の他法令による規制値

| 法令 | 規制値 |
|----------------------|---|
| 大気汚染防止法 | 大気基準：設定されていない 有害大気汚染物質（中環審第9次答申の11） |
| 水質汚濁防止法 | 排水基準：設定されていない |
| 水道法 | 水質基準：設定されていない |
| 労働安全衛生法 | 管理濃度：未設定 |
| 日本産業衛生学会 (2017 年) | 許容濃度 1 ppm (3.8 mg/m ³) |
| 米国 ACGIH (2015 年) | TLV-TWA: 2 ppm (7.6 mg/m ³) |

1-2 一般毒性

アニリンの経口及び吸入暴露による主な毒性影響は、ヒト及び動物ともにアニリン暴露によるメトヘモグロビン生成及びその二次的影響（血液（赤血球）、脾臓等）であった。

1-2-1 経口

(1) ヒト

反復経口投与によるアニリンのヒトへの影響については、Jenkins らによる臨床実験の報告(1972)がある。本実験では、ボランティア 20 人（年齢 22-45 歳、男性: 17 人、女性: 3 人）を対象にアニリン 5、15、25 mg/人の用量を各々3 日間連続で経口投与し、更に、その中の 13 人に各々35、45、55 又は 65 mg/人の用量を連続経口投与した（総投与日数の詳細は記載なし）。その結果、5 mg/人投与時の値に比し 25 mg/人以上でメトヘモグロビンの増加がみられ、増加のピークは 4 時間以内（65 mg/人で 2 時間後に 16.1%）であったほか、投与 24 時間後に実施した検査では 45、65 mg/人で血清ビリルビンの軽度の増加がみられた。よってヒトの体重を 60 kg と仮定すると、メトヘモグロビンの生成を指標とした本試験の NOAEL は 15 mg/人(0.25 mg/kg bw/日)であった。

(2) 実験動物

アニリンを経口投与した反復投与毒性試験のうち、キースタディ候補として検討が必要な試験は、カナダ環境省/保健省（CEPA）、EU、NITE がキースタディに採用した CIIT (1982) のラット 104 週間混餌投与試験であった。本試験の概要を以下に示す。

雌雄 CD-F ラット（1 群 130 匹/群/性）にアニリン塩酸塩 0、10、30、100 mg/kg bw/day（アニリン 0、7、22、72 mg/kg bw/日に相当）を 104 週間混餌投与した結果、血液学的検査においては 10 mg/kg bw/day 以上で網状赤血球及び MCV の増加、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット値の減少、30 mg/kg bw/day 以上で血中メトヘモグロビンの増加、100 mg/kg bw/day でハインツ小体及び MCH の増加が認められた（雌雄については記載なし）。その他の検査においては、10 mg/kg bw/day 以上で 52 週目以降に脾臓のヘモジデリン沈着及び髓外造血亢進、30 mg/kg bw/day 以上で脾重量の増加及び脾臓における髓外造血亢進、100 mg/kg bw/day の死亡率の増加（雄）のほか、26 週目以降に脾臓の腫大及び退色、脾臓の慢性被膜炎（雌雄）、104 週目に脾臓の間質過形成及び線維化並びにリンパ球減少（萎縮）、赤脾髄における脂肪変性（雄のみ）、骨髓における造血亢進、腸間膜リンパ節、副腎及び肝臓におけるヘモジデリン沈着、肝臓の重量増加、卵巣の相対重量減少がみられた。以上の結果より、本試験の一般毒性に関する NOAEL は設定できず、LOAEL は 10 mg/kg bw/day（アニリン相当値 7 mg/kg bw/day）であると判断した。

（本試験については、原典入手不可のため、NITE 化学物質の初期リスク評価書（2007）の記載から引用し、EU RAR に記載された情報を追記した）。

1-2-2 吸入

（1）ヒト

調査した範囲で、吸入経路からのヒトへの慢性暴露によるアニリン単体の毒性情報は得られなかった

（2）実験動物

既存の反復吸入暴露試験は試験デザインがテストガイドライン等に合致していなかったため、アニリンの吸入による影響については妥当なデータが得られていないが、U.S. EPA IRIS 及び EU RAR 並びに NITE の化学物質の初期リスク評価書では、雄ラットを用いた 2 週間または 26 週間の吸入暴露試験をキースタディとしている。また、カナダ環境省/保健省（CEPA）による 2011 年の報告において、雄ラットを用いた 2 週間の吸入暴露試験（2004）を新たに上げている。各々の試験の概要を以下に示す。

Oberst et al. ら（1956）は、雄性 Wistar ラットにアニリン 5 ppm（19 mg/m³）を 6 時間/日、5 日/週、26 週間吸入（全身）暴露した。その結果、投与群にチアノーゼ及び血中メトヘモグロビン量の軽微な増加（最高メトヘモグロビン量 6 mg/mL。ただし、無処置対照群の値及び統計学的有意差の有無に関する記載なし）が認められた。病理学的検査では、投与群の脾臓を含む全身諸臓器に投与による影響は認められなかった。本試験における LOAEL は、5 ppm（19 mg/m³）と判断された。

Du Pont de Nemours（1982）*は、雄性 Crl:CD ラットにアニリン 0、17、45、87 ppm（0、64.7、171.4、331.3 mg/m³）を 6 時間/日、5 日/週、2 週間吸入暴露（鼻部）し、13 日間の休薬期間を設けた試験を実施した。その結果、17 ppm 以上で、脾臓での赤血球系造血巣の増加、細網内皮細胞過形成、ヘモジデリン沈着が、45 ppm 以上で用量依存的なメトヘモグロビン量増加、貧血（赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球ヘモグロビン濃度（MCHC）の減少）及び脾臓比重量の増加が、87 ppm でチアノーゼが認められた。本試験における LOAEL は、17 ppm（65.8 mg/m³）であると判断された。

(原典入手不可のため、U.S. EPA IRIS (1990) から引用。)

EPA (1981) *は、雄性 SD ラットにアニリン 0、17、45、87 ppm (0、65.8、174.2、336.7 mg/m³) を 6 時間/日、5 日/週、2 週間吸入暴露 (鼻部) した試験を実施した。その結果、17 ppm 以上で脾臓の腫大、回復性がないヘモジデリン沈着、髄外造血亢進が、45 ppm 以上でメトヘモグロビン量、網状赤血球数、平均赤血球容積の増加及び赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球ヘモグロビン濃度、赤芽球系骨髓細胞の減少、87 ppm で尿量平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)、リンパ球数の増加及び分節核好中球、血小板数の減少、肝臓における髄外造血亢進がみられた。本試験における LOAEL は、17 ppm (65.8 mg/m³) であると判断された。

(原典入手不可のため、NITE 化学物質の初期リスク評価書 (2007) の記載から引用。)

*EPA (1981)と Du Pont de Nemours (1982) はいずれも Huskell Laboratory のデータであり、試験条件が類似していることから同一データと推測されるが、いずれも入手不可のため詳細は不明である。

Pauluhn(2004)は、雄性 Wistar ラットにアニリンを 9.2-274.9 mg/m³ の用量で 6 時間/日、5 日/週、2 週間吸入 (鼻部) 暴露した。その結果、32.4 mg/m³ で脾臓における髄外造血の軽微な増加、96.5 mg/m³ 以上でメトヘモグロビン血症や赤血球毒性が認められたことから、本試験の NOAEC は 32.4 mg/m³、NOEC は 9.2 mg/m³ と判断した。

1-3 生殖・発生毒性

いずれの機関においても、生殖発生毒性を指標に有害性評価値を求めた評価を実施していなかった。また、ラット及びマウスを用いた試験では、アニリン投与による顕著な生殖発生毒性は認められていない。

1-3-1 経口

(1) ヒト

アニリンの経口暴露によるヒトの生殖発生影響について、評価に資する情報は得られなかった。

(2) 実験動物

妊娠ラットにアニリンを強制経口投与した実験において、母動物に溶血性貧血に関連する所見がみられているが、生殖毒性あるいは発生毒性は認められなかった。

EU Risk Assessment Report (EU RAR) (2004)及び(独) 製品評価技術基盤機構 (NITE) の「化学物質の初期リスク評価書」(2007)においてキースタディとしたラット生殖発生毒性試験 (Price et al., 1985) の詳細は、以下の通りである。

雌 F344 ラットにアニリン塩酸塩 10、30、100 mg/kg bw/day (アニリン 7、21、70 mg/kg bw/day に相当) を妊娠 7~20 日又は妊娠 7 日~分娩 (生後 0 日) まで強制経口投与した。その結果、妊娠 7~20 日にアニリンを投与された母動物では、10 mg/kg bw/day 以上で脾臓

の相対重量増加、100 mg/kg bw/day で体重増加量の低値、メトヘモグロビンの増加、赤血球数減少、網状赤血球数増加等が認められたが、妊娠率、母動物当たりの黄体数及び着床数は、溶媒（蒸留水）対照群との間に統計学的有意差は認められなかった。また、一腹当たりの生存胎児数、平均胎児重量、平均体腎長及び胎児の平均相対脾重量にも溶媒対照群との差は認められなかった。妊娠 7 日～分娩までアニリンを投与された母動物では、100 mg/kg bw/day で相対脾重量の増加、メトヘモグロビン濃度及び平均赤血球容積の増加が認められた。一方、100 mg/kg bw/day の用量を投与された母動物由来の胎児では、相対肝重量の有意だが軽微な増加及び平均赤血球容積の増加が認められた。また、100 mg/kg bw/day の用量を投与された母動物由来の新生児では、平均赤血球容積が統計学的に有意に増加した。しかしながら胎児及び新生児においては、最高用量群においても、胎児および新生児の生存性、出生後の身体的発達などにアニリン投与による毒性影響は認められなかった。また催奇形性もなかった。以上の結果から、本試験の母動物への影響に関する LOAEL は 10 mg/kg bw/day（アニリン 7 mg/kg bw/day 相当）、児動物への影響に関する NOAEL は 30 mg/kg bw/day（アニリン 21 mg/kg bw/day 相当）であると考えられた。

EU RAR (2004)及び NITE「化学物質の初期リスク評価書」(2007)では、アニリンのマウスを用いたスクリーニングのための生殖発生毒性試験 (Hardin et al., 1987, Piccirillo et al., 1983) についても、キースタディとして扱っていた。これらの試験では、雌性 ICR マウスにアニリンを 560 mg/kg bw/day（予測された LD50 に相当）の用量で妊娠 6～13 日に強制経口投与した結果、母動物の死亡（6/50 匹）及び体重減少、出生児の体重及び体重増加量の統計学的に有意な減少が認められた。本試験では、アニリン投与によるマウスの生殖発生毒性影響は認められなかった。

その他、最近の研究報告によると、妊娠マウスにアニリン(31 または 93 mg/kg bw/day)を妊娠 7 日～分娩まで強制経口投与した結果、雌雄の児動物に肛門生殖突起間距離の短縮、雌の児動物に卵胞数（原始卵胞～胞状卵胞）の減少傾向が認められた(Holm et al., 2015; Holm et al., 2016)。また、母動物に同じ条件でアニリン(30 または 90 mg/kg bw/day)を投与し子宮内暴露された雄性マウス児動物に、視床下部前部における内側視索前野の性的二型核 (SDN-POA)の神経細胞数減少が認められた (Hay-Schmidt et al., 2017)。以上の報告に基づき、LOAEL は 30 mg/kg bw/day であると判断した。これらの報告の中では、母動物にアニリンの代謝産物であるアセトアミノフェン (4-ヒドロキシアセトアニリド) も 50 または 150 mg/kg bw/day の用量で強制経口投与しており、雌雄の児動物に肛門生殖突起間距離の短縮、雌の児動物に卵胞数（原始卵胞～胞状卵胞）の減少及び成熟後の受精能低下、雄の児動物に視床下部前部における内側視索前野の性的二型核 (SDN-POA)の神経細胞数減少及び性成熟後の雄の性行動の減退が認められた(Holm et al., 2015; Holm et al., 2016; Hay-Schmidt et al., 2017)。

1-3-2 吸入

(1) ヒト

アニリン暴露によるヒトの生殖発生毒性影響については、他の化学物質と共に職業暴露された報告 (Podluzhnyi, 1979)が 1 件あり、ロシア人女性に月経障害、卵巣機能障害及び自然流産の増加が報告されている。しかし、本報告はアニリン単独暴露によるものではなく、暴露データや毒性影響に関するデータの記載が不十分であったため、EU RAR はこの報告を評価に用いなかった。

(2) 実験動物

調査した範囲で、アニリンの吸入暴露による生殖発生毒性に関する動物のデータは得られなかった。

1-4 変異原性（遺伝毒性）

1-4-1 ヒトへの影響

調査した範囲で、アニリンのヒトにおける変異原性に関するデータは得られなかった。

1-4-2 遺伝毒性試験

アニリンに関する *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験について、表 1-6, 1-7 に示す。

EU-RAR (2004)、NITE の初期リスク評価書 (2007)、カナダ環境省/保健省 (CEPA)(2011) のレビューによると、表 1-6 に示した通り、アニリン又はアニリン塩酸塩は、細菌を用いた復帰突然変異試験において、S9 mix の有無にかかわらず陰性であることが報告されている (Haworth et al., 1983; Jung, 1992; Chung et al., 1995; Abmann et al., 1997; Martinez et al. 2000)。その他多くの報告においても、アニリンは細菌を用いた復帰突然変異試験において陰性であることが示されていた (Simmon et al., 1979; de Flora, 1981; Dunkel et al., 1984; Nakamura et al., 1987)。

アニリンの哺乳動物の培養細胞を用いた試験は、マウスリンフォーマ試験、染色体異常試験、姉妹染色分体交換、不定期 DNA 合成 (UDS)、DNA 鎖切断について報告があった。マウスリンフォーマ試験については、その多くが S9 mix 存在の有無にかかわらず陽性 (Wangenheim and Bolcsfoldi et al., 1988) あるいは弱陽性 (Mitchell et al., 1988; McGregor et al., 1991) と報告されているが、S9 mix 存在下でのみ行った試験では、1100 µg/mL まで陰性であった (Amacher et al., 1980)。陽性結果が出た試験では、いずれも代謝活性化により低い用量から陽性結果が出た。なお、いずれの試験においても、コロニーの大きさの測定は行われていない。

in vitro 染色体異常試験では、S9 mix 存在下で高用量のアニリンによる陽性結果が、チャイニーズハムスター卵巣由来 (CHO) 細胞 (Galloway et al., 1987 ; 1600 および 5000 µg/mL)、及びチャイニーズハムスター肺由来 (CHL) 細胞 (Ishidate, 1988 ; 1000 および 2000 µg/mL) で認められた (細胞毒性データについては記載なし)。この他、表 1-6 に記載はないが、EU RAR (2004)によると、S9 mix 存在下で V79 細胞でも陽性結果が (Miltenburger, 1986 ; 4300 µg/mL)、S9 mix 非存在下では、陰性結果が Galloway ら (1987) による CHO 細胞 (最高用量 1600 µg/mL) 及び Ishidate と Odashima (1977) による CHL 細胞 (最高用量 250 µg/mL) で各々確認されている。一方、S9 mix 非存在下では、陽性所見が Ishidate ら (1988) による CHL 細胞 (1000 および 2000 µg/mL) 及び Miltenburger (1986) による V79 細胞 (4300 µg/mL) 並びに Chung ら (1995)による CHO 細胞で各々認められている。

EU RAR (2004)によると、アニリンの姉妹染色分体交換 (SCE)試験については、アニリン (塩酸塩) は、チトクロム P-450 と NADPH-チトクロム P-450 還元酵素をほとんど含まないヒト線維芽細胞において、5 および 10 mmol/L (465 および 930 µg/mL) の濃度で SCE を誘発した (Wilmer et al., 1981)。また、本試験ではアニリン代謝物である *o*-アミノフェノールと *N*-フェニルヒドロキシルアミンが、親化合物より低い濃度 (各々 0.1 および 0.05 mmol/L 以上) で SCE を誘発した。CHO 細胞においては、アニリンは代謝系非存在下の 50~500 µg/mL で

SCE を誘発した。S9 mix 存在下での作用濃度は 3000～5000 $\mu\text{g/mL}$ であった。S9 mix 存在下と非存在下における作用濃度の差は、S9 mix 非存在下では長時間暴露、S9 mix 存在下では短時間暴露であったことを反映していた (Galloway et al., 1987)。また、表 1-6 に記載はないが、別の試験では、全血培養法によって得たコンカナバリン A 誘導 T リンパ球において、アニリンは 0.1～1.0 mmol/L (9.3～93 $\mu\text{g/mL}$) の範囲で用量依存性に SCE を誘発した (Wilmer et al., 1984)。本作用は、純化したリンパ球をヘモグロビン 1000 $\mu\text{g/mL}$ の存在下でアニリンに暴露したときのみわずかな SCE の増加が観察されたことから、アニリンから遺伝毒性のある中間代謝物への変換には赤血球が関与していると結論付けられている。

アニリンの不定期 DNA 合成 (UDS) については、ヒト初代培養肝細胞 (Butterworth et al., 1989) およびラット初代培養肝細胞 (Yoshimi et al., 1988) において、1.0 mmol/L (93 $\mu\text{g/mL}$) まで DNA 修復 (不定期 DNA 合成, UDS) を誘発しなかった (細胞毒性については、データの記載なし)。

アニリンの DNA 鎖切断については、S9 mix 存在下のマウスリンフォーマ細胞において、非常に高濃度のアニリン (21.5 mmol/L) によって増加した。ただし、著者らはこの結果を「不確定」としている (Garberg et al., 1988)。S9 mix 非存在下では結果は陰性であった (Garberg et al., 1988; Kozumbo et al., 1992)。Garberg ら (1988) の試験では、S9 mix 存在下、非存在下とも軽度の毒性が報告された。

In vivo 系では、マウスを用いた小核試験で、比較的低い用量で実施した試験 (Harper et al., 1984) 及び経口最大耐量 (610 mg/kg) で実施した試験 (BG-Chemie, 1985) は陰性だったが、その他の試験は、毒性を示す最高用量のみで陽性を示した (Ashby et al., 1991; Westmoreland and Gatehouse, 1991; Vlachos, 1989)。ラットを用いた小核試験では、弱陽性 (George et al., 1990) 又は陰性 (Bayer AG, 2001a) であったが、いずれの試験も小核の計数の信頼性及び試験方法の不備のため、EU RAR では完全には信頼できないとしている。

その他の *in vivo* 遺伝毒性試験については、マウスの骨髄を用いた染色体異常試験は陰性 (Bayer AG, 2001b)、ラットを用いた SCE 試験では弱い陽性結果を示した (Parodi et al., 1982)。また、DNA 鎖切断については、マウスの腎臓 (Cesarone et al., 1982) あるいはラットの肝臓及び腎臓 (Parodi et al., 1982) において陽性所見が認められた。アニリンの DNA 結合については、ラットの腎臓、脾臓、肝臓又は大腸において結合性があるとの報告がなされている (McCarthy et al., 1985; Roberts and Warwick, 1966)。ただし、Roberts と Warwick による試験結果は、比較的弱い DNA 結合能であったこと及び非特異的反応を含んでいること、また、McCarthy らの試験でみられた脾臓の結果は、同器官がリンパ球系細胞を多く含んでいることや微量の放射能を測定した間接的な結果であることに留意する必要がある。コメットアッセイによる DNA 障害に関する試験では、ラット及びマウスの膀胱、肝臓等の諸臓器において陽性結果が得られているが、脾臓については検索されていなかった (Sekihashi et al., 2002; Sasaki et al., 1999)。

アニリンの主要代謝物である *p*-アミノフェノールについて、*in vivo* 小核試験に関する報告があった。マウスを用いた小核試験において、*p*-アミノフェノールは骨髄細胞、肝細胞、脾細胞に各々小核を誘発した (Benning et al., 1994; Cllet et al., 1989; Wild et al., 1980)。このことから、*in vivo* 系や代謝活性化系でみられた一連の陽性結果は、アニリン代謝物による可能性が示唆された。

一方、EU-RAR (2004) によると、現在入手可能な生殖細胞変異原性に関しては、マウスへの投与による精子頭部異常は認めず (Topham, 1980a)、ラットを用いた優性致死試験で

は、明確な結論は得られていない(CTL, 1998)。また、精祖細胞を用いた染色体異常試験は行われていない。

表 1-6 *in vitro* 遺伝毒性試験

| 試験系 | 試験材料 | 処理条件 | 用量 | 結果 ^{a), b)} | | 文献 |
|-----------------|--|--|--|----------------------|------------------|---|
| | | | | -S9 | + S9 | |
| 復帰突然変異試験 | ネズミチフス菌 TA98 TA100 TA1535 TA1537 | シリアンハムスターのS9 | 100、333、 1,000、3,333、 6,666 (µg/plate) | — — — — | — — — — | Haworth et al., 1983 (NITE, 2007; EU RAR 2004) |
| | ネズミチフス菌 TA102 | Aroclor1254誘導 SDラット肝S9 10% S9mix | 用量不記載 | — | — | Jung, 1992 (NITE, 2007; EU RAR 2004) |
| | ネズミチフス菌 TA98 TA100 TA98NR TA100NR | ラットS9 mix | 1-3000 µ g/plate | — | — | Chung et al., 1995 (CEPA, 2011) |
| | ネズミチフス菌 TA98 TA100 | ラットS9 mix | 317, 325, 1250, 2500, 5000 µg/plate | — | — | Aßmann et al., 1997. (CEPA, 2011) |
| | IC188 (its oxyR+ parent WP2 uvrA/pKM101), IC203 (deficient in OxyR) | WP2 Mutoxitest | 1000 µ g/plate アニリン塩酸塩 | — | ND | Martinez et al., 2000. (CEPA, 2011) |
| <i>umu</i> test | ネズミチフス菌 TA1535/pSK1002 | — | ~2100 (µg/mL) | — | — | Nakamura, et al., 1987 (NITE, 2007; EU RAR 2004) |
| マウスリンフォーマ試験 | L5178YTK ^{+/-} マウスリンフォーマ | Aroclor1254誘導 SDラット肝S9 | S9-:2.5-15.1 (mM/L) S9+: 0.5-5 (mM/L) | + | + | Wangenheim & Bolcsfoldi, 1988 (NITE, 2007; EU RAR 2004) |

| | | | | | |
|---------|--------------------------------------|---|---|------------------------------|---|
| | L5178YTK ^{+/+} マウスリンフォーマ | Aroclor1254誘導 F344雄ラット肝 S9。S9-、S9+とも試験を2回繰り返した。 | S9-: 0.63-2.4 (µl/mL) S9+: 0.04-0.8 (µl/mL) | + + (用量依存性あり) | Mitchell et al., 1988 (NITE, 2007; EU RAR 2004) |
| | L5178YTK ^{+/+} マウスリンフォーマ | Aroclor1254誘導 F344雄ラット肝 S9 | S9-: 125-2400 (µg/mL) S9+: 62.5-2000 (µg/mL) | + + (用量依存性あり) | McGregor et al., 1991 (NITE, 2007; EU RAR 2004) |
| | L5178YTK ^{+/+} マウスリンフォーマ | Aroclor1254誘導 SD ラット肝 S9、3時間処理 | 1.18-11.83 (mM) | + (P<0.01 で有意差あり、弱い陽性) | Amacher et al., 1980 (NITE, 2007; EU RAR 2004) |
| 染色体異常試験 | CHO細胞 | — | S9-: 160、500、 1,600 (µg/mL) S9+: 500、 1,600、5,000 (µg/mL) | + (1600, 5000 µg/mL) — | Galloway et al., 1987 (NITE, 2007; EU RAR 2004) |
| | CHL細胞 | — | 1,000、2,000 (µg/mL) | + (1000, 2000 µg/mL) | Ishidate, 1988 (NITE, 2007; EU RAR 2004) |
| | V79細胞 | 詳細不明 | 詳細不明 | + (4300µg/mL)) | Miltenburger, 1986 (unpublished report) (EU RAR 2004) |
| | CHO 細胞 | 代謝活性化なし | 444-2664 (µg/ml) | + | Chung et al., 1996. (CEPA, 2011) |
| SCE 試験 | ヒト正常二倍体線維芽細胞 | アニリン塩酸塩で実施。シトクロム P-450、NADPH- シトクロム P-450 リダクターゼ非存在下 | 0.05、0.5、5、10 (mM) | + (有意差は認められたが、わずかな増加) | Wilmer et al., 1981 (NITE, 2007; EU RAR 2004) |

| | | | | | |
|---------------|-----------|---|--|-----------------------------------|---|
| | CHO 細胞 | ①長時間の暴露 (26 時間) ②短時間の暴露 (2 時間) | 50-500 (µg/mL) 4,000-5,000 (µg/mL) | ＋ ＋ | Galloway et al., 1987 (NITE, 2007; EU RAR 2004) |
| 不定期 DNA 合成 | 初代ヒト肝細胞 | － | 0.01、0.1、1 (mM) | － | Butterworth et al., 1989 (NITE, 2007; EU RAR 2004) |
| | 初代ラット肝細胞 | アニリン、アニリン塩酸塩を使用。 | 0.001、0.01、0.1、1 (mM) | － － | Yoshimi et al., 1988 (NITE, 2007; EU RAR 2004) |
| DNA鎖切断 | マウスリンフォーマ | － | S9-: 1.07、7.47、14、21.5 (mM/L) S9+: 1.07、7.47、10.7、21.5 (mM/L) | － ＋ (21.5 mM/L) (軽度の細胞毒性あり) | Garberg et al., 1988 (NITE, 2007; EU RAR 2004) |

＋：陽性、－：陰性

a) SCE 試験：姉妹染色分体交換試験、CHO 細胞：チャイニーズハムスター卵巣細胞、CHL 細胞：チャイニーズハムスター肺細胞

b) カッコ内は陽性反応が観察された用量

表 1-7 *in vivo* 遺伝毒性試験

| 試験系 | 試験材料 | 処理条件 | 用量 | 結果 ^{a), b)} | | 文献 |
|------|------------------|----------------------------------|-----------------|--------------------------------|------|--|
| | | | | -S9 | + S9 | |
| 小核試験 | CBA 雄マウス 骨髓細胞 | 腹腔内2回投与 (投与6、24、48時間後にサンプリング) | 100-380 (mg/kg) | ＋ (380 mg/kg、投与24時間後サンプリング) | | Ashby et al., 1991 (NITE, 2007; EU RAR 2004) |
| | CRH 雄マウス 骨髓細胞 | 腹腔内1回投与 (投与24 時間後にサンプリング) | 380 (mg/kg) | ＋ (380 mg/kg、 P<0.05) | | Westmoreland & Gatehouse et al., 1991 (NITE, |

| | | | | | |
|-----------------|---|---|---|---|--|
| 雄マウス 骨髄細胞 | 経口1回投与 (投与24-48時間後 にサンプリング) | 400-1,000 (mg/kg) | + | (1,000 mg/kg 、 P<0.05、投与24時 間後サンプリン グ) | 2007; EU RAR 2004) |
| 雌雄マウス 骨髄細胞 | 腹腔内2回投与 (投与24、48時間 後にサンプリン グ) | 30-300 (mg/kg) | + | | Viachos, 1989 (EU RAR 2004) |
| 雄マウス 骨髄細胞 | 経口1回投与(投 与24 時間後にサ ンプリング) | 125-250 (mg/kg) | — | | Harper et al., 1984 (EU RAR 2004) |
| 雌雄マウス 骨髄細胞 | 経口1回投与 (投与24、48、72 時間後にサンプ リング) 投与 | 610 (mg/kg) | — | | BG- Chemie, 1985 (NITE, 2007; EU RAR 2004) |
| 雄ラット 骨髄細胞 | 経口1回投与 (投与24時間後に サンプリング) | 215-500 (mg/kg) | + | (287 mg/kg) | George et al., 1990 (NITE, 2007; EU RAR 2004) |
| | 経口1回投与 (投与48時間後に サンプリング) | 215-500 (mg/kg) | + | (400 mg/kg) | |
| 雄PVGラット 骨髄細胞 | 経口1回投与(投 与24, 48時間後に サンプリング) | 300-500 (mg/kg) アニリン塩酸塩 | + | (300 mg/kg以上) 投与24時間後のみ | Bomhard. 2003. (CEPA, 2011) |
| マウス 骨髄細胞 | 経口投与 | <i>p</i> -アミノフェノ ール 109-436 (mg/kg) | + | (109-436 mg/kg) | Wild et al., 1980 (NITE, 2007) |
| マウス (肝細胞) | 腹腔内1回投与 | <i>p</i> -アミノフェノ ール 107-214 (mg/kg) | + | (107-214 mg/k g) | Cliet et al., 1989 (NITE, 2007) |
| マウス (脾臓細胞) | 経口投与 | <i>p</i> -アミノフェノ ール 53-214 (mg/kg) | + | (53-214 mg/kg) | Benning et al., 1994 (NITE, 2007) |

| | | | | | |
|------------------|----------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|---|---|
| 染色体異常試験 | マウス骨髄細胞 | 腹腔内2回投与(投与16、20、24時間後にサンプリング) | 220、300、380 (mg/kg) | — | Bayer AG, 2001b (NITE, 2007; EU RAR 2004) |
| | 雄PVGラット骨髄細胞 | 経口1回投与(投与18、30時間後にサンプリング) | 300-500 (mg/kg) アニリン塩酸塩 | +(400 mg/kg以上) 投与18時間後のみ | Bomhard. 2003. |
| DNA鎖切断 | マウス | 腹腔内投与 | 300 (mg/kg) | 腎で陽性 肝で陰性 | Cesarone et al., 1982 (NITE, 2007; EU RAR 2004) |
| | ラット及びマウス | 腹腔内投与(肝、腎、脾、骨髄において解析) | 210 (mg/kg) | 陽性(ラット肝臓及び腎臓) ラットのその他臓器及びマウス各臓器では陰性 | Parodi et al., 1982 (EU RAR 2004) |
| DNA結合試験 | 雄ラット | 腹腔内投与(単回) | 87 (mg/kg) | 肝、腎、脾において、DNA、rRNA、タンパク画分での弱い結合性。 | Roberts & Warwick, 1966 (NITE, 2007; EU RAR 2004) |
| | B6C3F ₁ マウス及び F344ラット | 腹腔内投与(単回) | 250 (mg/kg) | ラット腎・脾臓・大腸で結合性、ラット肝及びマウス各組織で非結合性 | McCarthy et al., 1985 (NITE, 2007; EU RAR 2004) |
| DNA障害(Cometアッセイ) | 雄ddYマウス及び Wistarラット | 経口投与(単回) | 100 mg/kg (マウス) 150 mg/kg (ラット) | 陽性 マウス大腸・肝・膀胱・肺・大脳・骨髄。 ラット胃・大腸・肝・腎・膀胱・肺 | Sekihashi et al., 2002 (CEPA, 2011) |
| | 雄ddYマウス | 経口投与(単回) | 1000 mg/kg | 陽性 肝・膀胱・肺・大脳・骨髄(脾は検索せず) | Sasaki et al., 1999. (CEPA, 2011) |

+: 陽性、±: 弱陽性、—: 陰性

a) SCE 試験: 姉妹染色分体交換試験、CHO 細胞: チャイニーズハムスター卵巣細胞、CHL 細胞: チャイニーズハムスター肺細胞

b) カッコ内は陽性反応が観察された用量

表 1-8 アニリンの遺伝毒性試験結果（まとめ）

| | DNA 損傷性 | 突然変異 | 染色体異常 |
|-------------------------|---------|------|-------|
| バクテリア | — | — | ND |
| カビ／酵母／植物 | ND | ND | ND |
| 昆虫 | ND | ND | ND |
| 培養細胞 | — | + | + |
| 哺乳動物 (<i>in vivo</i>) | ＋、－ | ND | ＋、－ |

＋： 陽性、－： 陰性、ND： データなし

EU-RAR (2004)、NITE 初期リスク評価書 (2007)、カナダ環境省/保健省 (CEPA) の Follow-up Report (2011) の発表以降、遺伝毒性に関する新たな評価結果は報告されていない。

1-5 発がん性

1-5-1 経口

(1) ヒト

アニリンを含む複合物質のヒトへの暴露による膀胱発がんについては、多くが職業暴露であったため、主要な暴露経路は吸入であると考えられた (4-5-2 吸入 (1) ヒトの項参照)。

(2) 実験動物

CIIT (1982) によるラットを用いた慢性毒性・発がん性併合試験において、雌雄 F344 ラットにアニリン塩酸塩を 0、10、30、100 mg/kg bw/day (アニリン 0、7、22、72 mg/kg bw/day に相当) の用量で 104 週間経口混餌投与した結果、雌雄の脾臓に各種間葉系腫瘍が認められた。脾臓に見られた腫瘍の発生数を表 1-9 に示す。雄では 30 mg/kg bw/day 以上で脾臓の間質性肉腫 (30 mg/kg bw/day 群で 1/130、100 mg/kg bw/day 群で 21/130)、100 mg/kg bw/day 群で線維肉腫 (3/130)、被膜肉腫 (1/130)、骨肉腫 (3/130)、リンパ細網系腫瘍 (1/130)、血管肉腫 (6/130) の発生数増加が認められた。雌では 100 mg/kg bw/day で血管肉腫 (1/100) の発生数増加が認められた (原典入手不可のため、EU RAR (2004) の記載から引用)。

表 1-9 F344 ラット 104 週間混餌投与試験の脾臓における病理所見の発生数 (CIIT, 1982)

| 性別 | 雄 | | | | 雌 | | | |
|--|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 用量 (アニリン塩酸塩 0 10 30 100 として : mg/kg bw/day) | 0 | 10 | 30 | 100 | 0 | 10 | 30 | 100 |
| 用量 (アニリンとして : mg/kg bw/day) | 0 | 7 | 22 | 72 | 0 | 7 | 22 | 72 |
| 検索動物数 ¹ | 130 | 130 | 130 | 130 | 130 | 130 | 130 | 130 |
| 脾臓を検索した動物数 | 123 | 129 | 128 | 130 | 129 | 129 | 130 | 130 |
| 腫瘍性病変 | | | | | | | | |
| 線維肉腫 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |

| | | | | | | | | |
|-------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 間質肉腫 | 0 | 0 | 1 | 21 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 被膜肉腫 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 血管肉腫 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 骨肉腫 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| リンパ細網系腫瘍 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| その他の脾臓病変 (104 週) | | | | | | | | |
| 検索動物数 ¹ | 90 | 90 | 90 | 90 | 90 | 90 | 90 | 90 |
| 非腫瘍性病変 | | | | | | | | |
| 間質過形成 ² | 1 | 0 | 0 | 31 | 0 | 0 | 0 | 9 |
| 慢性被膜炎 | 1 | 1 | 2 | 62 | 0 | 4 | 4 | 70 |
| 脂肪変性 | 0 | 0 | 0 | 14 | 0 | 0 | 0 | 0 |

¹: 26 週目に 10 匹、52 週目に 10 匹、78 週目に 20 匹解剖 (104 週間投与群は 90 匹/性/群)

²: 間質過形成の細胞は、間質肉腫の形態に類似していたため、前がん病変である可能性が考えられた (EU RAR, 2004)。

本試験で見られたラット脾臓における発がん性については、明らかに各種肉腫の発生増加がみられた 100 mg/kg bw/day (アニリン相当 72 mg/kg bw/day) を LOAEL とし、NOAEL は 30 mg/kg bw/day (アニリン相当 22 mg/kg bw/day) と判断した。

また、上記試験より投与用量が高い F344 ラットを用いたアニリン塩酸塩の 103 週間混餌投与試験の詳細を以下に示す。

NCI (1978) は、雌雄 F344 ラットにアニリンの塩酸塩を 0、0.3、0.6% (アニリン雄 ; 0, 225.0, 550.0, 雌 ; 0, 174.4, 360.5 mg/kg bw/日に相当) の用量で 103 週間混餌投与した試験を実施した。その結果を表 1-10 に示す。雄の投与群で脾臓における血管肉腫の発生数が顕著に増加した (発生率 : 0.3%群 38%, 0.6%群 43%)。そのほか、雄の投与群では線維肉腫及び肉腫 NOS (分類不能) の発生が認められた。線維肉腫は浸潤性で、腹腔内に広範囲に広がっていた。雌の投与群でも、脾臓における血管肉腫及び肉腫 NOS の発生が少数であるが認められた。さらに、雄の全投与群及び雌の高用量群では、脾臓でみられた肉腫及び平滑筋肉腫 (雄のみ) が胸腔および腹腔の諸臓器に観察された。NCI の報告書によると、雄における脾臓の血管肉腫の発生数、および脾臓の線維肉腫と肉腫 NOS を合わせた発生数は、各々統計学的に有意に増加した。また、複数器官の線維肉腫と肉腫 NOS を合わせた発生頻度も雄で有意に増加した。雌では、脾臓のみ、または体腔の複数器官に線維肉腫または肉腫 NOS が見られた動物数が、アニリン塩酸塩の用量に相関して有意に増加していた (コクラン・アーミテージ検定による)。なお、脾臓に見られた肉腫 NOS は、非常に分化度が低い線維肉腫であると考えられた。

本試験でみられた非腫瘍性病変については、Weinberger ら (1985) が NCI 試験 (1978) の脾臓切片を再検査した結果の概要が EU-RAR (2004) に記載されている。同概要によると、雌雄各投与群では、脾臓の線維化、被膜過形成、出血等が有意に高い頻度で認められ、雄では脂肪変性の発生数も有意に増加した。また、脾臓の線維化と脂肪変性は、腫瘍発生頻度と統計学的に高い相関を示していた。前述の CIIT (1982) による試験でもこれらの非腫瘍性病変が同様に認められたことから、これらの非腫瘍性病変は、アニリン塩酸塩によるラットの脾臓腫瘍の発生に関与することが示唆された。

表 1-10 F344 ラット 104 週間混餌投与試験における腫瘍性病変の発生数 (NCI, 1978)

| 性別 | 雄 | | | 雌 | | |
|----------------------|----|-------|-------|----|-------|-------|
| 用量 (%) | 0 | 0.3 | 0.6 | 0 | 0.3 | 0.6 |
| 用量 (mg/kg bw/day) | 0 | 225.0 | 550.0 | 0 | 174.4 | 360.5 |
| 脾臓 | | | | | | |
| 検索動物数 | 25 | 50 | 46 | 23 | 50 | 50 |
| 血管腫 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 血管肉腫 | 0 | 19 | 20 | 0 | 1 | 2 |
| 線維腫 | 0 | 7 | 6 | 0 | 0 | 0 |
| 線維肉腫 ¹ | 0 | 3 | 7 | 0 | 0 | 0 |
| 肉腫, NOS ² | 0 | 4 | 2 | 0 | 0 | 3 |
| 脂肪腫 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 体腔内諸臓器 | | | | | | |
| 検索動物数 | 25 | 50 | 48 | 24 | 50 | 50 |
| 血管肉腫 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 線維肉腫 | 0 | 2 | 8 | 0 | 1 | 3 |
| 肉腫, NOS | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| 平滑筋肉腫 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 |
| 副腎 | | | | | | |
| 検索動物数 | 24 | 50 | 44 | 24 | 50 | 48 |
| 褐色細胞腫 (良 性または悪性) | 2 | 6 | 12 | 1 | 0 | 5 |

¹: 一部は骨化生が認められた。また、非常に浸潤性が強く、腹腔内に浸潤していた。

²: 肉腫 NOS は、非常に分化度が低い線維肉腫であると考えられた (NCI 報告書より)。

一方マウスでは、アニリン塩酸塩の混餌投与と関連した腫瘍性病変の発生はなかった (NCI, 1978)。マウスの発がん性試験では、B6C3F1 マウス各群 50 匹にアニリン塩酸塩を 0、0.6、1.2% の用量 (雄: 737 及び 1510 mg/kg bw/日、雌: 733 及び 1560 mg/kg bw/日に相当) で 103 週間混餌投与し、その後 4 週間の休薬期間を設けた。その結果、腫瘍は対照群と投与群ではほぼ同数発生しており、被験物質によるものとは考えられなかった。ラットの発がん標的器官であった脾臓に関しては、高用量群の雄で血管腫が 1 例 (1/49 = 2%)、低用量群の雄で血管肉腫が 1 例 (1/49 = 2%)、対照群の雄で悪性リンパ腫が 1 例 (1/38 = 3%) 認められた。雌では、対照群に血管肉腫が 1 例、低用量群に悪性リンパ腫が 3 例 (3/48 = 6%) 認められた。

1-5-2 吸入

吸入暴露による発がん性について有害性評価値を求めた評価書はない。

1 (1) ヒト

2 アニリンによるヒト腫瘍発生との関連性について複数の報告があるが、多くが職業暴露による膀胱がんに関するものであった (Case and Pearson, 1954; Case et al., 1954; Goldblatt, 1949; Kuchenbecker, 1920; Muller, 1949; Ott and Langner, 1983; Ruder et al., 1992; U.S. NIOSH Alert, 1990; Vigliani and Barsotti, 1962; Ward et al., 1991)。しかし、これらの報告には、暴露状況の詳細情報及びアニリン単体に暴露された報告例はない。また、これらの報告の多くは、ヒトに同時暴露されたアニリン以外の化合物が不明であり (Case and Pearson, 1954; Case et al., 1954; Goldblatt, 1949; Kuchenbecker, 1920; Muller, 1949; Ott and Langner, 1983)、複合曝露物質として明らかなものは、発がん性を有する *o*-トルイジン等であった (Ruder et al., 1992; U.S. NIOSH Alert, 1990; Ward et al., 1991)。

11
12 また、2000 年以降に報告された米英における研究報告によると、アニリンや *o*-トルイジン等
13 4 種の化学物質に労働暴露された労働者を対象に疫学調査及びシミュレーション解析した結果、
14 アニリンに暴露された期間と膀胱がんのリスクに相関は認められなかったこと及びアニリン
15 以外の物質、特に *o*-トルイジンが、膀胱がんの発生と高い相関があることが明らかになった
16 (Sorahan et al., 2000; Sorahan, 2008; Carreón et al., 2014)。

17 なお、国内においても、平成 28 年に *o*-トルイジン等の芳香族アミンを取り扱う業務に従事
18 していた労働者に発症した膀胱がんについて、その発症と労働者が従事していた業務との因
19 果関係が検討された際、検討対象とした 6 種の芳香族アミンのうち *o*-トルイジンは IARC による
20 発がん性分類が唯一グループ 1 (ヒトに対して発がん性がある) だったため評価対象とし
21 たが、アニリンは使用量が多いものの IARC による発がん性分類がグループ 3 と評価されてい
22 ることから、評価対象外としている (厚生労働省、2016)。

23 以上より、アニリンとヒト腫瘍についての既往知見からは、アニリンがヒト膀胱がんの原因
24 物質であるか否かを特定することはできない。

26 (2) 実験動物

27 調査した範囲で、アニリンの吸入暴露による発がん性に関する動物のデータは得られな
28 かった。

30 1-6 その他の有害性に関する情報

31 1-6-1 生体内運命 (体内動態)

32 NITE の初期リスク評価書 (2007) 及び EU-RAR (2004) によると、アニリンは、気道、皮
33 膚及び消化管から速やかに吸収される。経口摂取後の吸収量は、ラットで 89~96% に達する。
34 また、マウス、ヒツジおよびブタでの吸収量は、それぞれ 72、80 および 56% である。ヒト
35 における経皮吸収は最大 38% と推定されている。

36 ラットに放射能標識アニリンを 1 日投与したときの各組織中の放射能の分布は、赤血球が
37 最高濃度を示し、これに血漿、脾臓、腎臓、肺、心臓、脳、脂肪が続く。反復投与では脾臓
38 に放射能の蓄積がみられる。また、妊娠ラットを用いた実験では、胎盤通過性及び胎児移行
39 性を示唆する報告例もある。

40 アニリンの代謝 (図 4-1) には、主にアセチル化反応と水酸化反応及び抱合 (グルクロン酸
41 抱合、硫酸抱合) の組合せが関与し、代謝物及びアニリン抱合物は尿中に排泄される。アセ
42 トアニリドは脱アセチル化されてアニリンに戻るか、4-水酸化されて 4-ヒドロキシアセトア

ニリド（アセトアミノフェン）になる。4-ヒドロキシアセトアニリドのグルクロン酸および硫酸抱合体は、アニリンの主要尿中代謝物である。アニリンの N-アセチル化は、肝臓の N-アセチル転移酵素で触媒され、アニリン解毒時の主要経路である。ヒツジ、ブタおよびラットにおいて、経口投与したアニリン（50 mg/kg）の *in vivo* での代謝を検討した結果、24 時間後のアニリンの主要代謝物は N-アセチル誘導体であり、ヒツジ、ブタおよびラットの尿中代謝物のそれぞれ 82、85 及び 76%を占めていた。ヒツジ及びブタでは N-アセチル-4-アミノフェニルグルクロニドが主要代謝物（それぞれ 60 および 66%）であったのに対し、ラットでは N-アセチル-4-アミノフェニル硫酸塩が主要代謝物（56%）であった。これらの動物種ではより少量の尿中代謝物として、2-および 4-アミノフェノールの O 抱合体（約 20%）、アセトアニリド（約 3%）および N-アセチル-4-アミノフェノール（約 10%）が認められた。アニリンの N-グルクロン酸抱合体類や硫酸抱合体類または遊離アニリンは、尿中代謝物としては検出されなかった（Kao et al., 1978）。ラットでは、アニリン投与用量が 50 mg/kg までの場合、主要代謝物 N-アセチル-4-アミノフェノールは主に硫酸抱合体として排泄されるが、高用量になると飽和がみられ、4-アミノフェニル硫酸塩および N-アセチル-4-アミノフェニルグルクロニドが生成されるようになる。一方、マウス、ヒツジおよびブタではグルクロン酸抱合が主要経路であり、飽和は認められなかった（Kao et al., 1978; McCarthy et al., 1985）。高用量でもこの排出経路を維持していることで、マウスはラットよりアニリンおよびその代謝物を効果的に排泄できる。McCarthy ら（1985）によると、肝酵素活性の量的解析、種々の組織における高分子と結合した放射能標識物活性及び尿中に排泄されるアニリンの代謝物から、マウスはラットよりアニリンの N-アセチル化を介する代謝能と解毒能が高く、ラットとは異なり暴露量が増加しても代謝は限界に達せず、さらに「反応性代謝物」の生成量も少ないと結論した。また、アニリンの影響に対する雄ラットの感受性の高さも、アニリン代謝（アニリン水酸化酵素活性、チトクロム P-450 量、ミクロソームのアニリン誘導性結合スペクトル）における雌雄間の量的な差に関連している可能性があることが、Sprague-Dawley ラットを用いた試験で示されている（Pence and Schnell, 1979）。これらの代謝に関する種差及び性差が、アニリン投与で動物に認められた脾臓における毒性及び発がん性の発生に関与した可能性がある。

EU RAR（2004）によると、ヒトにおけるアセチル化の個人差に関する経験的知見について、欧州人の 50%は遺伝的に N-アセチル転移酵素活性が低くアセチル化が遅いとされ、「slow acetylator」と呼ばれており、このような状態では、アニリンからアセトアニリドへの反応が遅延し、フェニルヒドロキシルアミン、ニトロソベンゼンおよびアミノフェノールの形成、ひいてはメトヘモグロビンの形成が起きやすくなるとしている（Lewalter and Korallus, 1985）。なお、日本人は、人口の約 10%が slow acetylator であると考えられている。

一方、アニリンの芳香環水酸化にはチトクロム P-450 酵素系が関与する。N-水酸化によるアニリンから N-フェニルヒドロキシルアミンへの変換（さらにニトロソベンゼンへの酸化、グルタチオンとの抱合、アニリンへの再還元が起きる場合がある）は、アニリンがメトヘモグロビン血症などの毒性を発現させる主要経路である。

図 1-1 アニリンの肝臓における代謝経路 (EU RAR (2004) Appendix E を転載)

Appendix E Hepatic metabolism of aniline

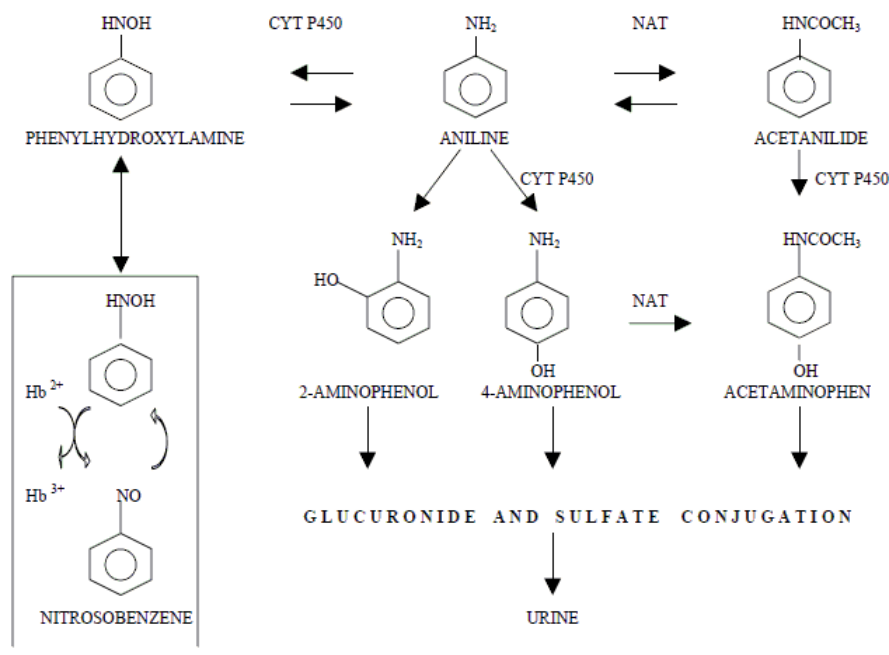


Fig. 1 Hepatic metabolism of aniline (from Harrison and Jollow, 1987)

P450, cytochrome P450; NAT, N-acetyltransferase;
Hb²⁺, haemoglobin; Hb³⁺, methaemoglobin

1-6-2 急性毒性

(1) ヒト

EU-RAR (2004) 及び初期リスク評価書 (NITE, 2007) によると、アニリン／アニリン蒸気によるヒトの急性中毒については、複数の報告があった。主な急性影響は、メトヘモグロビンの生成が原因と考えられ、経口、吸入あるいは経皮暴露時に、貧血、チアノーゼ、頭痛、めまい、意識障害 (錯乱、昏睡)、痙攣、呼吸困難などの症状が、総ヘモグロビン中に占めるメトヘモグロビン量に依存してみられる。ヒトでは、アニリン 60 mL (体重 70 kg としてアニリン約 876 mg/kg に相当) の経口摂取 4 日後に死に至った (Janik-Kurylcio et al., 1973)。この事例では、メトヘモグロビン濃度は初期に 85% まで増加し、4 日目には 27% に減少した。また、職業暴露による事例によると、0.1~0.25 mg/L であっても数時間の暴露で軽度の症状が生じ、ヒトにおける平均致死吸入濃度は 25 mg/L または 0.35~1.43 g/kg であると報告されている (Smyth, 1931)。メトヘモグロビン形成に関しては、Jenkins ら (1972) による臨床実験では、ボランティアに最高 65 mg/人の用量で 3 日間経口投与した場合、5、15 mg/人の用量ではメトヘモグロビンの生成がみられなかったが、25 mg/人以上でメトヘモグロビンの生成増加が認められた。投与 24 時間後に実施した血液学的検査、血清生化学検査及び尿検査では、投与による顕著な毒性影響は認められなかった。この実験におけるアニリンの無影響量 (NOEL) は、約 15 mg/人 (約 0.21 mg/kg bw) であると判断された。

(2) 動物

EU-RAR (2004) 及び初期リスク評価書 (NITE, 2007) によると、アニリンは、動物では皮膚と肺から吸収されてメトヘモグロビンを形成させ、主な毒性としてチアノーゼ、振戦、流涙、呼吸障害を発現させる。動物におけるアニリンの急性毒性には、投与経路にかかわらず大きな種差がみられる。アニリンの急性毒性は、ラットおよびウサギを用いた実験では投与経路にかかわらず重度である (ラット経口 LD50 : 442~930 mg/kg、ラット吸入 LC50 : 1~3.3 mg/L/4 時間、ウサギ経皮 LD50 : 1540 mg/kg)。また、ネコはメトヘモグロビン形成が著しい動物種であるため、反応感受性が高くなるに高い (経皮 LD50: 254 mg/kg、経口 LD50: 約 50~100 mg/kg)。イヌでは、アニリン 15 mg/kg の経口投与直後から、可視粘膜にチアノーゼ様の変化が認められ、投与 3 時間後にメトヘモグロビン濃度が最高濃度(19~29%)となり、24 時間後には症状は見られずメトヘモグロビン濃度は正常範囲内の約 0.8%となった。また、アニリン 0.174 mg/L を 4 時間鼻部暴露したイヌの急性吸入試験では、メトヘモグロビン濃度の最高値は 3~24% (毎分呼吸量の差によるばらつき) となり、半減期 100 分で正常レベルに戻った。

1-6-3 眼・皮膚に対する刺激性及び感作性

EU-RAR (2004) 及び初期リスク評価書 (NITE, 2007) によると、ヒトではマキシマイゼーションテストあるいはパッチテストで皮膚感作性が認められている。実験動物では、ウサギの皮膚及び眼に中等度又は強度の刺激性がみられており、感作性についてもマキシマイゼーションテスト及び単回注射アジュバントテストで陽性反応が得られている。

(1) 刺激性

EU-RAR (2004) 及び初期リスク評価書 (NITE, 2007) によると、ウサギの皮膚にアニリン 20 mg を 24 時間適用した実験では、中等度の皮膚刺激性が報告されている (Marhold, 1986)。ウサギの眼にアニリン 50 mg を適用した実験では、強度の角膜混濁、結膜発赤及び浮腫がみられ、これらの反応は 8 日後までに回復せず、持続的であった (BASF, 1972)。また、ウサギの眼に 102 mg を適用した他の実験では、結膜の刺激性反応は 2 日後までにピークに達し、96 時間後までに回復しなかったが、角膜混濁は 48 時間後までに回復した (Sziza and Podhragyal, 1957)。なお、ウサギの眼にアニリン 20 mg を 24 時間適用した実験では、中等度の眼刺激性が報告されており (Marhold, 1986)、ウサギの眼にアニリン 102 mg を適用した実験では強度の眼刺激性が報告されている (Bio Fax Industrial Bio-Test Laboratories, 1969)。

(2) 感作性

① ヒト

EU-RAR (2004) 及び初期リスク評価書 (NITE, 2007) によると、アニリンによるヒトへの感作性については、複数の報告事例がある。ボランティア 25 人を対象に実施したマキシマイゼーションテストで陽性反応がみられた (Kligman, 1966)。下肢の潰瘍及び皮膚炎に 6 か月以上罹患している 200 人を対象に実施したパッチテストでは、5%アニリン (ワセリン基剤) に対し 8 人で陽性反応がみられた (Ebner and Lindemayer, 1977)。ローマの皮膚科において実施された 10%アニリン (溶媒: スイートアーモンドオイル) を用いたパッチテストでは、5.1%~13%の陽性率であった (Scarpa and Ferrea, 1966)。芳香族アミン化合物に対し感作性を示す

1 181 人を対象に実施したパッチテストでは、1%アニリン（軟膏を基剤、軟膏の組成不明）に
2 対し 24 人（13%）に軽度から中等度の陽性反応がみられた（Dungemann and Borelli, 1966）。さ
3 らに、下肢にうつ血性皮膚炎を示す患者 306 人（男性: 187 人、女性: 119 人）を対象に 63 種
4 類の化学物質について実施したパッチテスト（ワセリン基剤）では、5%アニリンにおいて
5 8.8%で陽性反応がみられ、交差感受性があることが示された（Angelini et al., 1975; Dungemann
6 and Borelli, 1966）。

7 また、日本産業衛生学会による許容濃度の勧告（2017 年度）によると、アニリンは皮膚感
8 作性物質（第 1 群：人間に対して明らかに感作性がある物質）と判断されている。

9 10 ② 動物

11 EU-RAR（2004）及び初期リスク評価書（NITE, 2007）によると、モルモットを用いた実験
12 において、惹起濃度を低く設定したドレイズの変法（皮内感作濃度 2.5%、皮内惹起濃度 1%）
13 では、皮膚感作性は陰性であった（Goodwin et al., 1981; Sziza and Podhragyal, 1957）が、マキシ
14 マイゼーションテスト（皮内感作濃度 1.5%、貼付感作濃度 25%、貼付惹起濃度 10%）では 10
15 例中 1 例に陽性反応が認められ、単回注射アジュバントテスト*（皮内感作濃度 1.5%、貼付
16 惹起 20%）では再惹起を行った（1 週間間隔で 2 又は 3 回）際に 10 例中 5 例に反応がみら
17 れた（Goodwin et al., 1981）。

18
19 { *単回注射アジュバントテスト：フロイントの完全アジュバントで乳化した被験物質
20 を皮内投与して感作後 14 日目から腹側部に薬物を閉塞貼付して惹起し、皮膚反応
21 を観察する方法。
22 }

23 1-7 作用機序

24 ヒト及びラットの血液（赤血球）及びラットの脾臓に認められたアニリンの毒性影響は、
25 メトヘモグロビン生成が主因であると考えられた。

26 EU RAR(2004)によると、メトヘモグロビン形成に関するラットの感受性は、ヒトに比べて
27 低いことが報告されている。1-2-1 章に示した通り、Jenkins ら（1972）の試験では、志願者
28 にアニリンを 3 日間またはそれより長く連続経口投与したところ、25 mg 以上の用量でメ
29 トヘモグロビン血症が誘発された。平均体重を 70 kg として計算すると、ヒトの LOAEL は
30 0.36 mg/kg bw/日となる。一方、アニリンを経口投与したラットでは、40 mg/kg bw 以上の用
31 量でメトヘモグロビン濃度が増加し、投与後 1～4 時間以内に最高値に達した（無処置動物
32 2.4%に対し、16.6%）。この試験における NOAEL は 20 mg/kg bw/日と考えられた。ヒトで感
33 受性が高い理由は、メトヘモグロビンをヘモグロビンに還元するメトヘモグロビン還元酵素
34 活性の種差によるものと考察されている。ラット赤血球およびマウス赤血球における本酵素
35 活性は、ヒト赤血球よりそれぞれ 5 および 10 倍高い（Smith, 1986）。

36 ラットに見られた血液及び脾臓におけるアニリンの非腫瘍性変化の概要は以下の通りで
37 ある。ラットにアニリンを吸入又は経口経路で反復投与すると、投与経路にかかわらず、造
38 血器系（赤血球）に主な毒性が生じ、症状として、チアノーゼ、体重増加抑制および摂餌量
39 減少が認められ、高用量では試験途中で動物が死亡した。アニリン投与によるメトヘモグロ
40 ビン濃度増加により赤血球が障害され、溶血性貧血をもたらし、障害を受けた赤血球は主に
41 ラットの脾臓の赤脾髄で除去され、その結果、脾臓ではヘモジデリンの蓄積、脾洞うつ血、
42 重量増加および色の暗調化が認められた。アニリン暴露の長期化は赤血球の持続的な障害を
43 もたらし、脾臓の間質過形成および線維化ならびに慢性被膜炎も認められた。また、溶血作
44 用に対する反応として、網状赤血球数が増加し、骨髓および髄外部位（主に脾臓）で赤血球

造血活性が上昇した。赤血球に対するアニリンの毒性はヒトでもみられ、ラットと同様、障害を受けた赤血球の排除は脾臓で行われる。アニリンに反復暴露されたヒトにおける脾臓毒性に関するデータはないが、脾臓はヒトでもアニリンの標的器官となり得ることが考えられる。また、マウスでは赤血球に対する毒性は認められていないが、構造類縁体であるアゾベンゼンを、ラットにおいて赤血球への影響及び骨髓小核が認められる用量でマウスに投与したとき、貧血及びメトヘモグロビン血症が認められたとする報告 (George et al., 1990)があることから、アニリンがマウスにおいても赤血球を標的とする可能性は否定できない。

表 1-4 に示した ICH-M7 (R1) Step 4 (2017) の報告書によると、ラットの脾臓にみられたアニリン誘発毒性は発がん性の一因であり、フリーラジカルの形成や組織損傷を介していると考えられている (Khan et al., 1999)。高用量 (10 mg/kg 超) のアニリンにより脾臓で鉄が蓄積するが、これはアニリンが赤血球へ優先的に結合し、損傷した細胞が脾臓に蓄積する結果であるとしている。脾臓における鉄を介した酸化ストレスは、脂質過酸化、マロンジアルデヒドタンパク質付加体、タンパク質酸化、形質転換増殖因子 (TGF)- β 1 の上方制御を誘発し、いずれもアニリン暴露後のラット脾臓で検出されている (Khan et al., 2003)。酸化ストレスの増加は、アニリンへの長期暴露中は持続的事象であると考えられ、ラットの脾臓で観察された過形成、線維化、腫瘍原性の一因となっていた可能性がある (Weinberger et al., 1985; Khan et al., 1999)。マウスに腫瘍原性がないことは、ラットと比べて脾臓でみられる毒性が少ないことによる可能性がある (Smith et al., 1967; Bomhard, 2003)。一方、EU-RAR (2004)によると、Khan らの報告を引用しつつ、生理的条件下ではヘモジデリンの形をとる鉄は、フェリチンに結合した鉄より脂質過酸化を促進しにくく、鉄の過負荷をもたらすヘモジデリン形成は、細胞防御メカニズムと考えるべきとの報告 (O'Connelet et al., 1986)を提示し、メトヘモグロビン血症や溶血性貧血及びそれに伴う脾臓での変化、そしてその結果生じる酸化的ストレスが、腫瘍発生機序に大きく寄与しているとは断定していない。

既存のアニリンに関する毒性評価の中で、ラットの脾臓に見られた間葉系腫瘍の発生機序における遺伝毒性の関与については、2 つの異なる意見が出されている。EU-RAR(2004)では、ラット脾臓における肉腫の発生と骨髓での小核形成及び脾臓細胞での DNA 付加体の形成は、腫瘍発生がアニリンと脾臓細胞の DNA との直接作用によるものである可能性を示唆し、アニリンの *in vivo* 遺伝毒性と腫瘍形成は密接に関連していると結論付けている。脾臓細胞での DNA 付加体形成を報告した McCarthy ら(1985)の試験では、同器官が有核細胞としてリンパ球系細胞、有核赤血球、顆粒球を多く含んでいることに留意する必要があるが、本来は DNA 付加体形成の定量を行う必要があるが、EU-RAR (2004)による考察では、これらの血液細胞でアニリン投与による DNA 付加体が形成されないと仮定すると、脾臓の間葉系細胞分画の DNA 付加体形成率はより高くなるとしている。一方、カナダ環境省/保健省 (CEPA)による Follow-up Report in a PSL substance for Aniline (2011)では、ラットにみられた脾臓腫瘍の発がん機序が遺伝毒性によるものであると判断できる直接的な根拠はないこと、高用量でしか発がん性が認められないこと及び遺伝毒性試験の投与経路や用量が発がん性試験とは異なること等を挙げ、ラットにみられた脾臓における発がん性は非遺伝毒性機序によるもので閾値があることを示唆した。しかしながら、最終的には、2011 年の再評価では、アニリンの発がん機序を前回の評価 (1994 年) よりも明確にすることができなかつたと結論付けている。また、ICH M7 (R1) Step 4 (2017) でも、アニリンのラットにおける発がん性には閾値が存在し、変異原性作用機序の結果ではないと結論づけている。ICH M7 (R1) Step 4 (2017) では、動物実験ではアニリンは高用量でメトヘモグロビン血症と溶血を誘発し、溶血は造血誘発による小核形成へ間接的につながる可能性がある (Steinheider et al., 1985; Ashby et al, 1991; Tweats et al, 2007) が、マウスで小核が誘発される一方、マウスではなくラットでアニリン誘発性の腫瘍がみられたことから、遺伝毒性がアニリン誘発性腫瘍の主な作用機序ではないとしている。

そして、ICH M7 (R1) Step 4 (2017) では、前述の通り、アニリン誘発脾毒性及びフリーラジカルの形成や組織損傷が発がん性の一因であり、ラットのアニリン誘発性腫瘍原性の用量反応は非線形となっていること (Bus and Popp, 1987) 及び同系統のラットを用いた NCI 及び CIIT による発がん性試験においてアニリン塩酸塩を 0.02% (アニリン相当約 7.2 mg/kg bw/day) の用量で混餌投与しても腫瘍はみられなかったことが、脾臓でのアニリンに由来する結合放射標識の蓄積パターンを評価した試験 (Roberston et al., 1983) と併せ、アニリンの発がん性には閾値が存在するという結論を裏付けており (Bus and Popp, 1987)、その証拠の重みから、ラット脾臓にみられた間葉系腫瘍は変異原性作用機序の結果ではないとしている (Bomhard and Herbold 2005)。

複数の疫学調査によると、アニリン及び *o*-トルイジン等他の化合物との混合暴露により、ヒトにおいて膀胱がんの発生が報告されている。但しアニリン単体による明らかな発がんへの関与については証拠が得られていないことから、アニリンが労働者に生じた膀胱がんの発生に関与する原因物質であるか否かを特定することはできない。しかし、アニリンはいくつかの *in vitro* および *in vivo* 変異原性試験で再現性のある陽性の結果を示し、この変異原性が、ラットにみられた脾臓腫瘍の発生に全く関与していないとは断定できないことを考慮し、本評価では、より安全側に立ち、アニリンによるヒトへの発がんは閾値がない遺伝毒性発がん機序によると考えて有害性評価値を求めるのが妥当であるとした。

1-8 有害性評価値の導出

アニリンの一般毒性、生殖発生毒性、発がん性等に関するキースタディからの毒性データをレビューしたところ、アニリンの経口及び吸入暴露によるヒト及び実験動物への主な毒性影響は、メトヘモグロビン血症であり、その二次的影響が血液 (赤血球：溶血性貧血、ハイנטツ小体形成等) 及び脾臓等 (ラットのみ) に認められた。したがって、本評価ではアニリンの血液及び脾臓への影響に着目し、非発がんデータについて用量反応関係を検討し、評価値の試算を行うこととした。

また、アニリンの発がん性について、ヒトでは膀胱がんの発生が複数報告されているものの混合暴露の結果であり、アニリン単体による明らかな発がんへの関与については証拠が得られていないが、ラットでは、アニリン相当 72 mg/kg bw/day の経口暴露により、雄動物に脾臓の間葉系肉腫の発生増加が認められ、明らかな発がん性が確認されている。ただし、マウスでは発がん性は認められていない。遺伝毒性については、復帰突然変異試験はすべて陰性であったが、*in vitro* 染色体異常試験及びマウスリンフォーマ試験並びに *in vivo* 小核試験等の各種試験において陽性結果が報告されている。1-7 章で述べたとおり、ラットにみられた脾臓腫瘍の発がん機序については、非遺伝毒性に基づくかもしくは遺伝毒性によるものであるかを判断できる直接的な根拠はないが、いくつかの変異原性試験で再現性のある陽性結果が得られていることより、より安全サイドの立場から、ヒトに対しては、閾値がない遺伝毒性発がん機序で生じる可能性があるかと判断し、アニリンの発がん性に関する定量的評価及び評価値の試算を行うこととした。

経口経路については、ヒトのデータが得られなかったため、動物の非がん影響及び発がんデータの用量反応関係について検討した。その結果、10 mg/kg bw/day (アニリン相当 7 mg/kg bw/day) 以上で網状赤血球、MCV の増加、赤血球数・ヘモグロビン・ヘマトクリット値の減少、脾臓におけるヘモジデリン沈着、髄外造血亢進等の非発がん影響が、100 mg/kg bw/day (アニリン相当 22 mg/kg bw/day: もう一つのラット発がん性試験 (NCI, 1978) より低い用量)

で脾臓に間葉系肉腫が認められた CIIT (1982)によるラットを用いた 104 週間発がん性試験をキースタディに選定した。なお、発がん影響については、閾値のない発がん物質の有害性評価値としてリスクレベル 10^{-5} の実質安全量 VSD を算出することとした。本試験の非発がん影響については、NOAEL を設定できなかったが、各所見の発生頻度データを入手することができなかったため BMDL₁₀ を算出することができなかった。したがって、LOAEL 7 mg/kg bw/day を POD として、不確実係数 1000 (種差 : 10、個人差 : 10、LOAEL 採用 : 10) を適用し、経口経路の非発がん影響の有害性評価値を 0.007 mg/kg bw/day^①と算出した。なお、この値は生殖発生毒性試験の中で最小の評価値であった Price らの報告(1985)から得た母動物の一般毒性に関する TDI 0.007 mg/kg bw/day (LOAEL 7 mg/kg bw/day、不確実係数 1000: 種差 : 10、個人差 : 10、LOAEL 採用 : 10)と同値であった。また、発がん影響については、本試験において高用量群での発生数が最も多く、中間用量でも発生が認められた雄ラットの脾臓に生じた間質肉腫をエンドポイントとして求めた BMDL₁₀ 46.75 mg/kg bw/day (LogProbit model) を外挿の出発点 (POD)として原点まで直線外挿すると、スロープファクター (SF)=0.00214 (mg/kg/day)^{-1②}となり、VSD0.00468 mg/kg bw/day^③が導出されたため、この値を経口経路の発がん影響の有害性評価値とした (BMDL₁₀の算出については、「(参考) BMD 算出データ」を参照のこと)。以上で求めた有害性評価値を検討した結果、一般毒性の評価においてみられた各所見については発生頻度のデータを入手できず、用量反応相関を明らかにできなかったことから、本評価における経口経路の有害性評価値は発がん影響の VSD 0.00468 mg/kg bw/dayを選択することが妥当であると判断した。この値は、ヒトにおいてアニリンの経口暴露による非発がん及び発がん影響いずれの発生に関しても懸念がないものと考えた。また、この値は、反復経口投与によるアニリンのヒトへの影響をみた Jenkins らの報告(1972)で得られたメトヘモグロビンの生成を指標とした NOAEL 0.25 mg/kg bw/日とは約 50 倍の差があるため、個人差を考慮してもヒト健康影響に対して懸念はないと考えた。

吸入経路による非発がん影響については、1-2-2 章に挙げた一般毒性に関する 4 試験のうち、1 用量による試験ではあるが、アニリンをより長期間 (26 週間)ラットに投与し 5 ppm (19 mg/m³)で病理所見を伴わない軽微な血中メトヘモグロビン量の増加 (統計学的有意差なし) がみられた Oberst らの報告 (1956)をキースタディに選定した。本試験の LOAEC 19 mg/m³に基づき導出した内部暴露量を POD とし、不確実係数 100 (種差 : 10、個人差 : 10) を適用した 0.0628 mg/m³^④を、吸入経路による非発がん影響の有害性評価値とした。この値は、LOAEC に基づく評価値であるが、根拠となる所見の程度が軽微であったことから、追加の安全係数は考慮しなかった。また、吸入経路による発がん影響については、ヒト及び動物のデータがないため、経口経路によるラット 104 週間混餌投与試験 (CIIT, 1982)を、吸入による発がん性試験の代替キースタディとして選定した。すなわち、経口経路による発がん影響の有害性評価値の導出の際に求めた BMDL₁₀ 46.75 mg/kg bw/day (LogProbit model) を起点に、ヒト等価 BMCL₁₀ 116.875 mg/m^{3⑤} (ヒト吸入濃度に相当) を求め、この吸入濃度を POD として原点まで直線外挿すると、ユニットリスク (UR)=0.856 (μg/m³)^{-1⑥}となり、これらの値から求めた VSD 0.0117 mg/m^{3⑦}を吸入経路の発がん影響の有害性評価値とした。以上で求めた有害性評価値を検討した結果、発生頻度データがあり、用量反応についてより信頼性高く評価することができた発がん影響の有害性評価値 0.0117 mg/m^{3⑧}を本評価における吸入経路の有害性評価値とするのが妥当と判断した。なお、この値は、経口経路による生殖発生毒性試験 (Price et al., 1985)における母動物の一般毒性に基づく吸入評価値 0.0175 mg/m³と同等であることから、ヒトにおいてアニリンの吸入暴露による非発がん影響についても懸念がない値であると考えた。

＜参考＞各有害性評価値の導出過程

- ① 経口経路の非発がん影響有害性評価値＝LOAEL 7 [mg/kg bw/day]÷1000＝ 0.007 [mg/kg bw/day]
- ② 経口スロープファクター (SF)＝0.1/BMDL₁₀＝ 0.1/46.75 [mg/kg bw/day] ≒0.00214 [(mg/kg/day)⁻¹]
- ③ 経口経路の発がん影響有害性評価値 (VSD)＝ BMDL₁₀ 46.75 [mg/kg bw/day] ×10⁻⁴≒ 0.00468 [mg/kg bw/day]
- ④ 暴露時間補正後の LOAEL＝19 [mg/m³]×5 [日] / 7 [日]×6 [時間] / 24 [時間]≒3.39 [mg/m³]
 ラットの呼吸量を 0.26 m³/day、体重を 0.35 kg、吸収率を 1.0 と仮定し、吸入経路の動物内部
 暴露量 3.39 [mg/m³]×0.26 [m³/day]÷0.35 [kg]×吸収率 1.0≒ 2.52 [mg/kg bw/day]
 ヒトの内部暴露量＝2.51 [mg/kg bw/day]/不確実係数 100＝0.0251 [mg/kg bw/day]
 ヒト有害性評価値＝0.0251 [mg/kg bw/day]×ヒト体重 50 [kg]×吸収率 1.0÷ヒト呼吸量 20
 [m³/day]＝0.0628 [mg/m³]
- ⑤ ヒト等価 BMCL₁₀＝経口 BMDL₁₀ 46.75 [mg/kg bw/day]×ヒト体重 50 [kg]×吸収率 1.0÷ヒト呼吸量
 20 [m³/day]＝116.875 [mg/m³] (ヒト吸入濃度に相当)
- ⑥ 吸入 UR＝0.1/ヒト吸入濃度 [mg/m³]≒0.856 [(μg/m³)⁻¹]
- ⑦ 吸入経路の発がん影響有害性評価値 (VSD)＝ヒト吸入濃度[mg/m³]×10⁻⁴＝116.875×10⁻⁴ ≒0.0117 [mg/m³]

本評価において導出した経口及び吸入経路の有害性評価値を表 1-11 にまとめる。

表 1-11 アニリンの有害性評価値のまとめ

| 暴露経路 | 有害性評価値 | 根拠 |
|------|---------------------------------------|---|
| 経口 | <u>0.00468 mg/kg bw/day</u> | CIIT (1982)によるラットを用いた 104 週間発がん性試験 雄ラットにみられた脾臓間質肉腫をエンドポイントとした BMDL ₁₀ 46.75 mg/kg bw/day から求めた VSD |
| 吸入 | <u>0.0117 mg/m³</u> | CIIT, 1982 の経口経路によるラット 104 週間混餌投与試験 雄ラットにみられた脾臓間質肉腫をエンドポイントとした BMDL ₁₀ 46.75 mg/kg bw/day に基づくヒト等価 BMCL ₁₀ 116.875 mg/m ³ から求めた VSD |

1-9 文献

<国内外の評価書>

- ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists. 2001, 2004. TLVs and BEIs.
- ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists. 2015. TLVs and BEIs. Based on the documentation of the threshold limit values for chemical substances and physical agents and biological exposure indices. p. 13
- Bolt HM., Leng G., Drexler H., Hartwig A., MAK Commission. 2017. Addendum to Aniline. BAT Value Documentation. The MAK Collection for Occupational Health and Safety, Vol 2, No 2. 1032-1038. (in The German Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area. The MAK-Collection for Occupational Health and Safety)
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/3527600418.bb6253e2217>
- EU, European Union. 2004. European Union Risk Assessment Report, aniline. ECB, European Chemicals Bureau.
- Health Canada. 2011. Follow-up Report on a PSL Substance for Aniline. Chemical Abstract Registry Number 62-53-3.
- IARC, International Agency for Research on Cancer. 1982. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, 27, 39-62.
- IARC, International Agency for Research on Cancer. 1987. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs Volumes 1 to 42, Supplement 7: 99-100.
(<http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/suppl7/Suppl7-18.pdf>)
- International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. 2017. ICH Harmonised Guideline. Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk M7(R1). Current Step 4 version.
- U.S. Environmental Protection Agency (EPA). Last revised in 2002. Integrated Risk Information System (IRIS) Chemical Assessment Summary. Aniline; CASRN 62-53-3.
(https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0350_summary.pdf)
- 厚生労働省. 2016. 「芳香族アミン取扱事業場で発生した膀胱がんの業務上外に関する検討会」報告書 膀胱がんとオルトートルイジンのばく露に関する医学的知見.
- 独立行政法人 製品評価技術基盤機構. 2007. 化学物質の初期リスク評価書 Ver. 1.0 No.63 アニリン.
- 日本産業衛生学会. 2017. 許容濃度等の勧告 (2017 年度). 産業衛生学雑誌 59: 153-185.
- ### <文献> 注：二次引用以外の文献
- Bomhard, E.M. 2003. High-dose clastogenic activity of aniline in the rat bone marrow and its relationship to the carcinogenicity in the spleen of rats. Arch. Toxicol., 77, 291-297.
- Carreón, T., Hein, M.J., Hanley, K.W., Viet, S.M. and Ruder, A.M. 2014. Bladder cancer incidence among workers exposed to o-toluidine, aniline and nitrobenzene at a rubber chemical manufacturing plant. Occup. Environ. Med., 71, 175-182.
- Case, R.A.M., Hosker, M.E., McDonald, D.B. and Pearson, J.T. 1954. Tumours of urinary bladder in workman engaged in the manufacture and use of certain dyestuff intermediates in the British

chemical industry. I. The role of aniline, benzidine, alpha-naphtylamine, and beta-naphthylamine. *Br. J. ind. Med.*, 11, 75-104.

Goldblatt, M.W. 1949. Vesical tumours induced by chemical compounds. *Brit. J. Ind. Med.*, 6, 65-81.

Goodwin, B.F.J., Crevel, R.W.R. and Johnson, A.W. 1981. Acomparison of three guinea-pig sensitization procedures for the detection of 19 reported human contact sensitizers. *Contact Derm.*, 7, 248-258.

Hardin, B.D., Schuler, R.L., Burg, J.R., Booth, G.M., Hazelden, K.P., MacKenzie, K.M., Piccirillo, V.J. and Smith, K.N. 1987. Evaluation of 60 chemicals in a preliminary developmental toxicity test. *Teratogen. Carcinogen. Mutagen.*, 7, 29-48.

Hay-Schmidt, A., Finkielman, O.T.E., Jensen, B.A.H., Høgsbro, C.F., Bak Holm, J., Johansen, K.H., Jensen, T.K., Andrade, A.M., Swan, S.H., Bornehag, C.G., Brunak, S., Jegou, B., Kristiansen, K. and Kristensen, D.M. 2017. Prenatal exposure to paracetamol/acetaminophen and precursor aniline impairs masculinisation of male brain and behaviour. *Reproduction.*, 154, 145-152.

Holm, J.B., Chalmey, C., Modick, H., Jensen, L.S., Dierkes, G., Weiss, T., Jensen, B.A., Nørregård, M.M., Borkowski, K., Styrihave, B., Martin Koch, H., Mazaud-Guittot, S., Jegou, B., Kristiansen, K. and Kristensen, D.M. 2015. Aniline is rapidly converted into paracetamol impairing male reproductive development. *Toxicol. Sci.*, 148, 288-298.

Holm, J.B., Mazaud-Guittot, S., Danneskiold-Samsøe, N.B., Chalmey, C., Jensen, B., Nørregård, M.M., Hansen, C.H., Styrihave, B., Svingen, T., Vinggaard, A.M., Koch, H.M., Bowles, J., Koopman, P., Jégou, B., Kristiansen, K. and Kristensen, D.M. 2016. Intrauterine Exposure to Paracetamol and Aniline Impairs Female Reproductive Development by Reducing Follicle Reserves and Fertility. *Toxicol. Sci.*, 150, 178-189.

Jenkins, F.P., Robinson, J.A., Gellatly, J.B.M. and Salmond, G.W.A. 1972. The no-effect dose of aniline in human subjects and a comparison of aniline toxicity in man and the rat. *Fd. Cosmet. Toxicol.*, 10, 671-679.

Kawamori, T., Totsuka, Y., Uchiya, N., Kitamura, T., Shibata, H., Sugimura, T. and Wakabayashi K. 2004. Carcinogenicity of aminophenylnorharman, a possible novel endogenous mutagen, formed from norharman and aniline, in F344 rats. *Carcinogenesis*, 25, 1967-1972.

Martínez, A., Urios, A., Blanco, M. 2000. Mutagenicity of 80 chemicals in *Escherichia coli* tester strains IC203, deficient in OxyR, and its oxyR(+) parent WP2 uvrA/pKM101: detection of 31 oxidative mutagens. *Mutat. Res.*, 467, 41-53.

Muller, A. 1949. Rückblick auf die gewerblichen Blasen- und Nierenschädigungen in der Basler Farbstoffindustrie. *Schweiz. Med. Wchenschr.*, 79, 445-450.

National Cancer Institute. 1978. Bioassay of aniline hydrochloride for possible carcinogenicity. *Carcinogenesis technical report series*. No. 130.

National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH). 1990. Request for assistance in preventing bladder cancer from exposure to o-toluidine and aniline. *DHHS (NIOSH) publication No.* 90-116.

Ott, M.G. and Langner, R.R. 1983. A mortality survey of men engaged in the manufacture of organic dyes. *J. Occup. Med.*, 25, 763-768.

Pauluhn, J. 2004. Subacute inhalation toxicity of aniline in rats: analysis of time-dependence and concentration-dependence of hematotoxic and splenic effects. *Toxicol. Sci.*, 81, 198-215.

- 1 Piccirillo, V.J., McCall, D.L., Lunchik, C., Plankenhorn, L. and Sexsmith, C. 1983. Screening for
2 priority chemicals for reproductive hazards. Final report to U.S. NIOSH of contract 210-81-
3 6010, Borriston Laboratories, Inc., Temple Hills, Md. January 1983. Ntis No. PB83-257-600.
- 4 Price, C.J., Tyl, R.W., Marks, T.A., Paschke, L.L., Ledoux, T.A. and Reel J.R. 1985. Teratologic and
5 postnatal evaluation of aniline hydrochloride in the Fischer 344 rat. *Toxicol. Appl.*
6 *Pharmacol.*, 7, 465-478.
- 7 Ress, N.B., Witt, K.L., Xu J., Haseman, J.K. and Bucher J.R. 2002. Micronucleus induction in mice
8 exposed to diazoaminobenzene or its metabolites, benzene and aniline: implications for
9 diazoaminobenzene carcinogenicity. *Mutat. Res.*, 521, 201-208.
- 10 Ruder, A.M., Ward, E.M., Roberts, D.R., Teass, A.W., Brown, K.K., Finferhut, M.A. and Stettler, L.E.
11 1992. Response of National Institute for Occupational Safety and Health to an occupational
12 health risk from exposure to ortho-toluidine and aniline. *Scand. J. Work Environ. Health*, 18,
13 Suppl. 2, 82-4.
- 14 Sorahan, T., Hamilton L. and Jackson J.R. 2000. A further cohort study of workers employed at a
15 factory manufacturing chemicals for the rubber industry, with special reference to the
16 chemicals 2-mercaptobenzothiazole (MBT), aniline, phenyl-beta-naphthylamine and o-
17 toluidine. *Occup. Environ. Med.*, 57, 106-115.
- 18 Sorahan T. 2008. Bladder cancer risks in workers manufacturing chemicals for the rubber industry.
19 *Occup Med (Lond)*, 58, 496-501.
- 20 Sugimura, T. 1998. A new concept of co-mutagenicity from a phenomenon forgotten for the past two
21 decades: Is it more important than previously expected? *Environ. Health Perspect.*, 106,
22 A522-523.
- 23 Totsuka, Y., Hada, N., Matsumoto, K., Kawahara, N., Murakami, Y., Yokoyama, Y., Sugimura, T. and
24 Wakabayashi, K. 1998. Structural determination of a mutagenic aminophenylnorharman
25 produced by the co-mutagen norharman with aniline. *Carcinogenesis*, 19, 1995-2000.
- 26 Ushiyama, H., Oguri, A., Totsuka, Y., Itoh, H., Sugimura, T. and Wakabayashi K. 1995. Norhaeman
27 and harman in human urine. *Proc. Jpn. Acad.*, 71B, 57-60.
- 28 Vigliani, E.C. and Barsotti, M. 1962. Environmental tumors of the bladder in some Italian dye-stuff
29 factories. *Acta Unio. Int. Contra. Cancrum.*, 18, 669-675.
- 30 Ward, E., Carpenter, A., Markowith, S., Roberts, D. and Halperin, W. 1991. Excess number of bladder
31 cancers in workers exposed to ortho-toluidine and aniline. *J. Nat. Cancer Inst.*, 83, 501-506.
- 32

(参考) BMD 算出データ

モデルの選択は、技術ガイダンス ver.1.1 に基づき、ベンチマークドース法の適用に関するガイダンス(http://dra4.nihs.go.jp/bmd/BMDS_guidance.pdf) に示された方法に従った。

●CIIT (1982)のラットを用いた 104 週間混餌投与試験（経口キースタディ）

雄ラットの脾臓間質肉腫

| Dose [mg/kg bw/day] | N | Effect |
|---------------------|-----|--------|
| 0 | 123 | 0 |
| 7 | 129 | 0 |
| 22 | 128 | 1 |
| 72 | 130 | 21 |

LogProbit model
BMDL₁₀=46.75 mg/kg bw/day

| Model Name | BMD ₁₀ [mg/kg bw/day] | BMDL ₁₀ [mg/kg bw/day] | BMD ₁₀ /BMDL ₁₀ | P-value | AIC |
|--------------------------------------|--|---|---------------------------------------|---------|----------|
| Gamma model, restrict | 58.2488 | 49.0363 | 1.187871026 | 0.9838 | 130.732 |
| Logistic model | 64.6711 | 59.0205 | 1.095739616 | 0.7435 | 131.518 |
| LogLogistic model, restrict | 58.9669 | 49.4094 | 1.193434852 | 0.9773 | 130.757 |
| LogProbit model, restrict | 56.5132 | 46.7506* | 1.208822988 | 0.9953 | 130.69 |
| Multistage model, poly 2, restrict | 57.3183 | 48.557 | 1.180433305 | 0.8592 | 129.739 |
| Multistage model, poly 3, restrict | 59.9454 | 50.0704 | 1.197222311 | 0.9662 | 130.792 |
| Probit model | 62.6852 | 56.2574 | 1.114256969 | 0.818 | 131.267 |
| Weibull model, restrict | 59.47 | 50.1234 | 1.186471788 | 0.9754 | 130.763 |
| Quantal-Linear model | 58.8855 | 42.2669 | 1.393182372 | 0.0746 | 138.569 |
| Gamma model, unrestrict | 58.2485 | 49.0363 | 1.187864908 | 0.9838 | 130.732 |
| LogLogistic model, unrestrict | 58.9669 | 49.4094 | 1.193434852 | 0.9773 | 130.757 |
| LogProbit model, unrestrict | 56.5132 | 46.7506* | 1.208822988 | 0.9953 | 130.69 |
| Multistage model, poly 2, unrestrict | 57.0529 | | #DIV/0! | 0.8619 | 130.023 |
| Multistage model, poly 3, unrestrict | 46.377 | 2.04E-05 | 2268001.408 | 0 | 3.81E+45 |
| Weibull model, unrestrict | 59.47 | 50.1234 | 1.186471788 | 0.9754 | 130.763 |

*選択された BMDL₁₀

