

biochemical effects of region-specific nephrotoxins. *Mol Pharmacol* 1989; 35: 242-250.

- 13) Holmes E, Bonner FW, Nicholson JK. 1H NMR spectroscopic and histopathological studies on propyleneimine-induced renal papillary necrosis in the rat and the multimammate desert mouse (*Mastomys natalensis*). *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol* 1997; 116: 125-134.
- 14) Weisburger EK, Ulland BM, Nam J, Gart JJ, Weisburger JH. Carcinogenicity tests of certain environmental and industrial chemicals. *J Natl Cancer Inst* 1981; 67: 75-88.
- 15) Simmon VF, Rosenkranz HS, Zeiger E, Poirier LA. Mutagenic activity of chemical carcinogens and related compounds in the intraperitoneal host-mediated assay. *J Natl Cancer Inst* 1979; 62: 911-918.
- 16) Vogel EW, Nivard MJ. The response of germ cells to ethylene oxide, propylene oxide, propylene imine and methyl methanesulfonate is a matter of cell stage-related DNA repair. *Environ Mol Mutagen* 1997; 29: 124-135.

発がん性分類暫定物質（2017）の提案理由

平成 29 年 5 月 11 日
日本産業衛生学会
許容濃度等に関する委員会

ベンゾ [a] ピレン

$C_{20}H_{12}$

[CAS No. 50-32-8]

発がん性分類 第 1 群

日本産業衛生学会は、1986年にベンゾ[a]ピレン (BaP) の発がん性分類について第 2 群 A に分類した¹⁾。国際がん研究機関 (IARC) は BaP について 1983 年に Group 2A に分類し²⁾、2010 年に Group 2A から Group 1 に変更した^{3,4)}。

許容濃度委員会・発がん分類小委員会の発がん分類手順(「我が国で使用されている産業化学物質の判定ガイドライン(第 153 回許容濃度委員会(2015.5)で承認)」)に従えば、BaP は産業化学物質でないとみなされ、発がん分類対象化学物質ではない。しかし、他の多環芳香族炭化水素類との混合曝露であるが、BaP 曝露が高いコークス炉作業者などで発がん性が強く疑われていることから、BaP を発がん性分類対象物質として取り上げ、検討した。

1. IARC の発がん分類変更理由

IARC は、1983 年にモノグラフ 32 で実験動物の発がんについて十分な証拠があるとして BaP を Group 2A に分類した²⁾。その後、2010 年のモノグラフ 92 で検討し、2012 年の IARC のモノグラフ 100F で、BaP の単独曝露でのヒト発がんの証拠はないが、動物実験での発がんの十分な証拠があり、動物からヒトへ外挿する際の一貫性と整合性がある発がんメカニズムの証拠が認められるとして、BaP の発がん性分類を Group 2A から Group 1 にした⁴⁾。

2. ヒト発がんに関する知見

BaP 単独曝露によるヒト発がんの疫学データはない。

しかし、他の多環芳香族炭化水素類との混合曝露であるが、職業性の BaP 曝露による発がんは強く疑われ⁴⁾、BaP 曝露が高い職業としては、コークス炉作業、石炭ガス化・石炭工業、コールタールの精製、アルミ製錬、舗装・屋根塗装などがあげられ、最高曝露濃度で 100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 程度とされ、曝露レベルは作業工程に依存すると言われている⁴⁾。肺の過剰発がんリスクは、対照群との有意な差が認められない報告も多いが、コークス炉作業者でみられ、Costantino らは米国の製鉄所作業者のコホートの

継続調査を行い、1951年から1982年までのコークス炉作業員5,321名の中で10年以上の勤務者で有意な肺がんリスクの上昇が認められ、炉頂作業員の過剰発がんリスクが高く、量反応関係がみられるとしている⁵⁾。また、Armstrongらはアルミニウム製錬工場に1年以上勤務する肺がん85症例(同工場の対照255名)および338症例(対照1,138名)を取り上げて、症例対照研究を行っている⁶⁾。その際、年1回のベンゼン可溶性物質濃度とBaP濃度測定結果から濃度の比率を求め、他のデータにも適用してBaP曝露濃度を推定した。他の多環芳香族炭化水素類との混合曝露ではあるが、BaP曝露と肺がんのオッズ比がJob Matrixによる推定からBaP濃度・年($\mu\text{g}/\text{m}^3 \times \text{years}$)ごとに1.00(基準)(<10)、1.48, 95%CI: 1.09~2.00(10~99)、2.23, 95%CI: 1.46~3.39(100~199)、2.10, 95%CI: 1.40~3.15(200~299)、1.87, 95%CI: 1.05~3.33(≥ 300)⁶⁾であり、200 $\mu\text{g}/\text{m}^3 \times \text{years}$ 以上で上昇が認められたとしている。いずれもBaP曝露と肺がんの発症リスクの間に量反応関係が示唆され、職業性のBaP曝露による発がんが強く疑われたが、他の多環芳香族炭化水素類との混合曝露であり他の多環芳香族炭化水素の影響を否定できないので、BaPのヒト発がんについての証拠は限定的と考えられる。

3. 動物発がんに関する知見

IARCは2010年のモノグラフ92で、BaPは多くの動物種で一貫して腫瘍を誘発しているとし、マウス、ラットおよびハムスターでの肺腫瘍、マウスでの皮膚腫瘍、肝腫瘍、マウスおよびハムスターでの前胃腫瘍およびラットでの乳腺腫瘍などが誘発されているとした³⁾。

Thyssenらは、8から14週齢の雄Syrian goldenハムスターに、0, 2.2, 9.5, 46.5 mg/m^3 のBaPを最初の10週間は1日4.5時間、週7日、その後死亡まで1日3時間の吸入曝露をさせたところ、9.5 mg/m^3 曝露群で上部消化管に、また46.5 mg/m^3 曝露群で気道と上部消化管に乳頭腫および扁平上皮がんが認められたとした⁷⁾。

Weyandらは、6週齢の雌A/Jマウスに16, 98 ppm(mg/kg) (著者らは飼料としてゲル約4gを与えており体重を20gと仮定すると、約3mg, 20mg/kg体重/日に相当)のBaPを含む餌を260日間与えたところ、対照群と比べ有意に肺および前胃がんが観察されたとした⁸⁾。Culpらは、5週齢の雌B6C3F1マウスに、0, 5, 25, 100 ppm(0, 20.5, 104, 416 $\mu\text{g}/\text{日}$ と著者らは記載していることから、体重を20gと仮定すると、0, 1, 5, 20mg/kg体重/日に相当)のBaPを含む餌を2年間与え、100ppmのBaP曝露群で食道および舌に扁平上皮乳頭腫および扁平上皮がん、25, 100ppmのBaP曝露群で前胃がんの有意な増加が認められたとした⁹⁾。El-Bayoumyらは、新生仔の雌CDラットに13.21mgを含む餌を週に1

回、8週間与え41週間観察したところ、乳腺腫瘍(線維腺腫、腺腫、腺がん)が顕著に増加したとした¹⁰⁾。

DiGiovanniらは、発がん性物質への感受性が高いSENCARマウスおよびCD-1マウスを用いた皮膚のイニシエーションプロモーション試験で、プロモータの12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate(TPA)を塗布することでBaPが皮膚がんのイニシエーターとしての機能を持つことを示した¹¹⁾。BaPはアリアル炭化水素受容体(AhR)と結合し核内に移動するとされ、ShimizuらはBaPの皮膚塗布あるいは腹腔内投与でAhRの野生型に発生する扁平上皮がんがAhR欠損マウスでは認められないとした¹²⁾。Rodriguezらは16日齢の乳仔雌雄B6C3F1(C57BL/6N \times C₃H/HeN MTV⁻)マウスにBaPを125~375 μg を1回腹腔内投与し、肺および肝腫瘍が発生したとした¹³⁾。Horikawaらは、11週齢の雄F344/DuCrjラットにBaPとして50, 100, 200 μg を肺内への1回注入し100週間観察した結果、50 μg 投与群から肺腫瘍が増加し、量反応関係も見られたとした¹⁴⁾。

その他、雄Syrian goldenハムスターの頬内への塗布による前胃の乳頭腫発生増加¹⁵⁾、新生仔C57BL/6J \times C3HeB/FeJのF1マウスの腹腔内投与で肝および肺での腫瘍発生増加¹⁶⁾、雌雄Syrian goldenハムスターの腹腔内投与で肉腫の発生¹⁷⁾、雌Wistarラットの気管内注入で肺腫瘍の発生¹⁸⁾、など多種動物での様々な経路による発がん増加の報告がなされている。

以上より、多種動物で肺、皮膚、肝臓等での腫瘍発生があり、BaPの発がん性は動物実験からの証拠が十分であると考えられた。

4. 発がんメカニズムについて

IARCは2012年のモノグラフ100FでBaPの代謝メカニズムについてまとめ、DNAとアダクトを形成する活性物質を生じる代謝が、BaPの遺伝毒性のメカニズムに関与しているとした⁴⁾。BaPの代謝に関与する代謝酵素による代謝メカニズムについては動物種間では同様であり、またDNAアダクトを介した発がんメカニズムはヒトにおいても同様とする多くの報告がみられる⁴⁾。

Xueらは多環および複素環芳香族炭化水素類のDNA損傷の文献をレビューし、動物実験によるBaPの代謝には、主にチトクロームP450が関与し、酸化体、ジヒドロジオール体、フェノール体、キノン体化した後、グルタチオン、硫酸あるいはグルクロン酸抱合を受け、比較的速やかに排泄される¹⁹⁾。主要な3つの代謝活性経路として、ベイ領域のジヒドロジオールエポキシド化、1電子酸化によるラジカルカチオン化、およびオルトキノン化が報告されている。その中でも、最初にチトクロームP450(CYP1A1およびCYP1B1)によりBaP-7,8-エポキシド、続いてエポキシドヒドロラーゼによりBaP-

7,8-ジヒドロジオール, さらにP450により9, 10-エポキシ化し anti-benzo [a] pyrene-7, 8-diol-9, 10-epoxide (BPDE) になる代謝活性経路が発がん性には重要であるとした^{19, 20)}.

また, Shimizu らも BaP など多環芳香族炭化水素類は AhR に結合し, CYP 類の遺伝子転写の変化をもたらすとした^{12, 20)}. 特に BaP に誘導される発がんメカニズムで重要とされているルートは, ジオールエポキシドおよびラジカルカチオンの2つの相補的な経路に基づいたものであるとしている⁴⁾.

まず, ジオールエポキシドのメカニズムとしては, BaP-7, 8-diol-9, 10-epoxide が DNA と付加体を形成することであるが, 不斉炭素があることから16種類の立体異性体が考えられ, その内, 7R, 8S-dihydroxy-9R, 10R-epoxy-7, 8, 9, 10-tetrahydrobenzo [a] pyrene (anti-benzo [a] pyrene-7, 8-diol-9, 10-epoxide (BPDE)) とデオキシグアノシンとの付加体である (+)-N2-10S-(7R, 8S, 9R-trihydroxy-7, 8, 9, 10-tetrahydrobenzo [a] pyrene-yl)-2'-deoxyguanosine (BPDE-deoxyguanosine) が最も活性に富んでいる³⁾. Mass らはこの BPDE-deoxyguanosine が, がん原遺伝子 K-ras のコドン 12 の GGT を TGT, GTT あるいは GAT に変異させることで, 肺腫瘍が誘導されるとしている²¹⁾.

つぎにラジカルカチオンのメカニズムとしては, マウスの皮膚腫瘍でのみ研究されている. Cavalieri および Rogan は, 1電子酸化ではCYP類とペルオキシダーゼが関与しているとし²²⁾, Melendez-Colon らは, BaP の6位の炭素の電子的な偏りが生じて構造が変化し, この BaP 代謝物のラジカルカチオンがグアニンの7位のNあるいは8位のCおよびアデニンの7位のNと結合し, DNA 付加体を形成しているとしている. それらの付加体は不安定で, BaP 塗布のマウスでは低濃度でしか検出されていない²³⁾. Rogan らは, BaP を腹腔内投与したラットの尿および糞中のデオキシグアニンの7位のNがBaPの6位のCと結合したBaP-N7Guaを検出している²⁴⁾.

また, Chakravarti らおよび Ruggeri らは, とくに代謝活性体の BPDE は DNA のグアニンに付加し, マウスおよびヒラ細胞で Ha-Ras 発がん遺伝子および P53 がん抑制遺伝子の変異を誘導しているとした^{25, 26)}. Denis-senko らは, この変異はヒトの肺がんで誘導される変異と同じであるとした^{27, 28)}.

BaP 曝露が考えられるヒトでの DNA 付加体について, いくつかの報告がなされている. Rojas らは, コークス炉作業者と対照群を比較し, 白血球および単球中のヌクレオチド当たりの BPDE-DNA 付加体が約8倍増加していたとした²⁹⁾. Pavanello らは, 煙突掃除夫でも同様なことが生じているとした³⁰⁾.

また, Rojas らは, 非喫煙者に比べ喫煙者において気

管上皮細胞に BPDE-N2dG 付加体が高レベルに検出され, この BPDE に誘導される変異はヒトのがん抑制遺伝子 TP53 遺伝子にみられる変異と同様であるとした³¹⁾. 動物種で検出される K-ras のコドン 12 の変異が²²⁾, Demarini らはヒトの肺腫瘍内でも認められるとした³²⁾. また, Casale らは, 喫煙者および石炭煙曝露がある女性の尿で7-(benzo [a] pyren-6-yl) guanine および7-(benzo [a] pyren-6-yl) adenine を検出したとした³³⁾.

以上より, BaP の代謝活性体, とくに BPDE が DNA 付加体を形成し細胞レベルで遺伝毒性および発がん性を示し, BaP により DNA 付加体形成を介したヒトの発がんメカニズムについては十分な証拠があると考えられた.

5. 発がん性分類の提案

日本産業衛生学会では, 1986年にBaPの発がん性分類について第2群Aに分類した¹⁾. 今回, 再度検討した結果, BaP 単独曝露によるヒト発がんの疫学データはなく, ヒト発がん性についての証拠は限定的だが, 多くの動物実験において, 肺, 皮膚, 肝臓等に腫瘍の発生を認め, 動物発がんについての発がんの証拠は十分であった. また, 動物における BaP の発がんメカニズムがヒトでも機能する十分な証拠が示された.

以上より, 日本産業衛生学会は, BaP の発がん性分類を第2群Aから第1群へと変更することを提案する.

6. 勧告の履歴

2017年度(改定案) 第1群

1986年度(新規提案) 第2群A

文 献

- 1) 産業衛生学会. 許容濃度等の勧告. 産業医学 1986; 28: 215-230.
- 2) IARC. Monograph 32 Polynuclear Aromatic Compounds, Part 1: Chemical, Environmental and Experimental Data. Lyon: IARC, 1983: 211-224.
- 3) IARC. Monograph 92 Some Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Exposures. Lyon: IARC, 2010: 394-423.
- 4) IARC. Monograph 100 F Chemical agents and related occupations A review of human carcinogens. Lyon: IARC, 2012: 111-144.
- 5) Costantino JP, Redmond CK, Bearden A. Occupationally related cancer risk among coke oven workers: 30 years of follow-up. J Occup Environ Med 1995; 37 (5): 597-604.
- 6) Armstrong BG, Tremblay C, Baris D, Thériault G. Lung cancer mortality and polynuclear aromatic hydrocarbons: A case-cohort study of aluminum production workers in Arvida, Quebec, Canada. Am J Epidemiol 1994; 139: 250-262.
- 7) Thyssen J, Althoff J, Kimmerle G, Mohr U. Inhalation studies with benzo [a] pyrene in Syrian golden hamsters. J natl Cancer Inst 1981; 66: 575-577.
- 8) Weyand EH, Chen Y-C, Wu Y, Koganti A, Dunsford HA,

- Rodriguez LV. Differences in tumorigenic activity of a pure hydrocarbon and a complex mixture following ingestion: Benzo [a] pyrene vs manufactured gas plant residue. *Chem Res Toxicol* 1995; 8: 949-954.
- 9) Culp SJ, Gaylor DW, Sheldon WG, Goldstein LS, Beland FA. A comparison of the tumors induced by coal tar and benzo [a] pyrene in a 2-year bioassay. *Carcinogenesis* 1998; 19: 117-124.
 - 10) El-Bayoumy K, Chae Y-H, Upadhyaya P. Comparative tumorigenicity of benzo [a] pyrene, 1-nitropyrene and 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazol [4,5-b] pyridine administration by gavage to female CD rats. *Carcinogenesis* 1995; 16: 431-434.
 - 11) DiGiovanni J, Slaga TJ, Boutwell RK. (1980) Comparison of the tumor-initiating activity of 7,12-dimethylbenz [a] anthracene and benzo [a] pyrene in female SENCAR and CD-1 mice. *Carcinogenesis* 1980; 1: 381-389.
 - 12) Shimizu Y, Nakatsuru Y, Ichinose M, et al. Benzo [a] pyrene carcinogenicity is lost in mice lacking the arylhydrocarbon receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2000; 97: 779-782.
 - 13) Rodriguez LV, Dunsford HA, Steinberg M, et al. Carcinogenicity of benzo [a] pyrene and manufactured gas plant residues in infant mice. *Carcinogenesis* 1997 Jan; 18 (1): 127-135.
 - 14) Horikawa K, Sera N, Otofujii T, et al. Pulmonary carcinogenicity of 3,9- and 3,7-dinitrofluoranthene, 3-nitrofluoranthene and benzo [a] pyrene in F344 rats. *Carcinogenesis* 1991 Jun; 12 (6): 1003-1007.
 - 15) Solt DB, Polverini PJ, Calderon L. Carcinogenic response of hamster buccal pouch epithelium to 4 polycyclic aromatic hydrocarbons. *J oral Pathol* 1987; 16: 294-302.
 - 16) Vesselinovitch SD, Kyriazis AP, Mihailovich N, Rao KVN. Factors influencing augmentation and/or acceleration of lymphoreticular tumors in mice by benzo(a)pyrene treatment. *Cancer Res* 1975; 35: 1963-1969.
 - 17) Homburger F, Hsueh S-S, Kerr CS, Russfield AB. Inherited susceptibility of inbred strains of Syrian hamsters to induction of subcutaneous sarcomas and mammary and gastrointestinal carcinomas by subcutaneous and gastric administration of polynuclear hydrocarbons. *Cancer Res* 1972; 32: 360-366.
 - 18) Steinhoff D, Mohr U, Hahnemann S. Carcinogenesis studies with iron oxides. *Exp Pathol* 1991 43, 189-194.
 - 19) Xue W, Warshawsky D. Metabolic activation of polycyclic and heterocyclic aromatic hydrocarbons and DNA damage: a review. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005; 206: 73-93.
 - 20) Shimada T. Xenobiotic-metabolizing enzymes involved in activation and detoxification of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons. *Drug Metab Pharmacokinet* 2006; 21: 257-276.
 - 21) Mass MJ, Jeffers AJ, Ross JA et al. Ki-ras oncogene mutations in tumors and DNA adducts formed by benz [j] aceanthrylene and benzo [a] pyrene in the lungs of strain A/J mice. *Molecular Carcinogenesis* 1993; 8: 186-192.
 - 22) Cavalieri EL, Rogan EG. Central role of radical cations in metabolic activation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Xenobiotica* 1995; 25: 677-688.
 - 23) Melendez-Colon VJ, Luch A, Seidel A, Baird WM. Cancer initiation by polycyclic aromatic hydrocarbons results from formation of stable DNA adducts rather than apurinic sites. *Carcinogenesis* 1999; 20: 1885-1891.
 - 24) Rogan EG, RamaKrishna NVS, Higginbotham S et al. Identification and quantitation of 7-(benzo [a] pyren-6-yl) guanine in the urine and feces of rats treated with benzo [a] pyrene. *Chem Res Toxicol* 1990; 3: 441-444.
 - 25) Chakravarti D, Venugopal D, Mailander PC, et al. The role of polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in inducing mutations in mouse skin. *Mutat Res* 2008; 649: 161-178.
 - 26) Ruggeri B, DiRado M, Zhang SY, et al. Benzo [a] pyrene-induced murine skin tumors exhibit frequent and characteristic G to T mutations in the p53 gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90: 1013-1017.
 - 27) Denissenko MF, Pao A, Tang M, Pfeifer GP. Preferential formation of benzo [a] pyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in P53. *Science* 1996; 274: 430-432.
 - 28) Smith LE, Denissenko MF, Bennett WP, et al. Targeting of lung cancer mutational hotspots by polycyclic aromatic hydrocarbons. *J natl Cancer Inst* 2000; 92: 803-811.
 - 29) Rojas M, Alexandrov K, Auburtin G, et al. (1995) Anti-benzo [a] pyrene dilepoxide-DNA adduct levels in peripheral mononuclear cells from coke oven workers and the enhancing effect of smoking. *Carcinogenesis* 1995; 16: 1373-1376.
 - 30) Pavanello S, Favretto D, Brugnone F, Mastrangelo G, Dal Pra G, Clonfero E. HPLC/fluorescence determination of anti-BP-DE-DNA adducts in mononuclear white blood cells from PAH-exposed humans. *Carcinogenesis* 1999; 20: 431-435.
 - 31) Rojas M, Marie B, Vignaud JM, et al. High DNA damage by benzo [a] pyrene 7,8-diol-9,10-epoxide in bronchial epithelial cells from patients with lung cancer: Comparison with lung parenchyma. *Cancer Lett* 2004; 207: 157-163.
 - 32) DeMarini DM, Landi S, Tian D, et al. Lung tumor KRAS and TP53 mutations in nonsmokers reflect exposure to PAH-rich coal combustion emissions. *Cancer Res* 2001; 61: 6679-6681.
 - 33) Casale GP, Singhal M, Bhattacharya S, et al. Detection and quantification of depurinated benzo [a] pyrene-adducted DNA bases in the urine of cigarette smokers and women exposed to household coal smoke. *Chem Res Toxicol* 2001; 14: 192-201.