

## 喫煙の尿変異原性に及ぼす影響に関する研究

## 第1報：喫煙の健常人と膀胱腫瘍患者の尿変異原性に及ぼす影響

京都大学医学部泌尿器科学教室（主任：吉田 修教授）

金岡 俊雄\*, 宮川美栄子\*\*, 吉田 修

STUDY ON INFLUENCE OF CIGARETTE SMOKING  
ON THE MUTAGENICITY OF URINEI. INFLUENCE OF CIGARETTE SMOKING ON THE MUTAGENICITY OF  
URINE IN HEALTHY SMOKERS AND BLADDER CANCER PATIENTS

Toshio Kanaoka, Mieko Miyakawa and Osamu Yoshida

From the Department of Urology, Faculty of Medicine, Kyoto University

We studied the mutagenicity of urine of healthy smokers and smokers with bladder tumors by the Ames test. The 41 healthy smokers studied showed a significant increase in urinary mutagenic activity compared to the 24 passive smokers and the 22 non-smokers, but there was no significant difference between the passive smokers and non-smokers. In the 5 healthy subjects, the urinary mutagenic activity increased in accordance with the increase of tobacco consumption.

In the 32 healthy subjects and 22 smokers with bladder tumors, the time-course changes of the mutagenicity of urine after smoking were investigated by testing the urine every 2 hours. In the healthy subjects, urinary mutagenic activity was increased up to 4 hours after cigarette smoking and decreased to the level noted before smoking after the 6th hour. By contrast, in the 22 smokers with bladder tumors, the urinary mutagenic activity remained high even after the 6th hour, and only decreased to the level seen before smoking after the 8th hour. The influence of smoking on the mutagenicity of urine tended to protract in smokers with bladder tumors in comparison to healthy smokers. There was no correlation between urinary mutagenic activity and tumor status and recurrence rate of the bladder tumors.

(Acta Urol. Jpn. 36: 385-393, 1990)

**Key words:** Smoking, Mutagenicity of urine, Dose-response, Time-course, Bladder tumor

## 緒 言

喫煙は肺癌、喉頭癌、膀胱癌等に対する重要な危険因子であり膀胱癌についても喫煙が危険因子であることは疫学的にはほぼ確実である<sup>1-3)</sup>。タバコの煙の中には報告されているだけでも数十種類以上の発癌物質（イニシエーター、プロモーター）が含まれており<sup>4)</sup>、喫煙による膀胱癌の機序は他の化学発癌の場合と同様<sup>5,6)</sup>、喫煙により尿中に出現した変異原物質<sup>7,8)</sup>の膀胱上皮に対するイニシエーション作用にさらにプロモーションが加わることによると考えられる<sup>9)</sup>。

喫煙者尿が Ames test で変異原性を示すことは

Yamasaki らによって初めて報告された<sup>10)</sup>。以後受動的喫煙者<sup>11)</sup>、化学工場従業員喫煙者<sup>12)</sup>など様々な喫煙条件下の尿に関して報告がなされている。

諸家の報告で喫煙者尿は変異原性を示すが、受動的喫煙者については結果は一定しておらず<sup>11,13)</sup>、喫煙者尿についても喫煙量との相関について述べたものはあまり見られない。また喫煙の尿変異原性への影響が喫煙後どの程度持続するかは、喫煙の尿路を含めた全身への影響を検討する上でも詳細に明らかにしておく必要がある。これまでの報告では12~24時間以内に非喫煙時の状態に復するであろうと推測しているが<sup>10,14)</sup>、喫煙条件が一定ではなく詳細な経時的変化は明らかとなっていない。さらに一部膀胱腫瘍患者では化学物質の代謝が非膀胱腫瘍者と異なるとの報告があり<sup>15-17)</sup>、喫煙後の尿変異原性が健常人と差があるかどうか、ま

\*現：倉敷中央病院泌尿器科

\*\*現：島田市民病院泌尿器科

た腫瘍の性状、再発率との関連の有無は興味深いところであるが、膀胱腫瘍患者喫煙者の尿変異原性について検討した報告はまだ見られない。

今回われわれは、以上の点を明らかにするため、(1) 喫煙者、受動的喫煙者、非喫煙者の尿変異原活性の差異の有無、(2) 喫煙者の喫煙量と尿変異原活性との関係、(3) 健常人と膀胱腫瘍患者の喫煙後の尿変異原活性の経時的变化の比較、(4) 膀胱腫瘍患者の喫煙後の尿変異原活性の腫瘍の性状、再発率との関連の有無についての検討を行ったのでその結果をここに報告する。

## 方法と材料

以下の4項目について検討を行った。

I) 喫煙者、受動的喫煙者、非喫煙者の尿変異原活性の差異

II) 喫煙量と尿変異原活性との関係

III) 健常人と膀胱腫瘍患者の喫煙後の尿変異原活性の経時的变化の比較

IV) 膀胱腫瘍患者の喫煙後の尿変異原活性と腫瘍の性状、再発率、採尿時の腫瘍の有無との関連

(1) 対象

I) 喫煙者41名(男性41名, 24歳~42歳, 平均32歳), 受動的喫煙者24名(男性21名女性3名, 24歳~45歳, 平均34歳), 非喫煙者22名(女性22名, 19歳~46歳, 平均23歳)の健常人 volunteer.

II) 5名の健常人 volunteer (28歳から41歳の5名の男性)

III, IV) 健常人: 特殊な化学物質や薬剤に暴露された経験のない32名を対象とした。32名の内訳は18名の volunteer, 生化学検査上腎機能肝機能正常, 尿路感染症のない3名の尿路結石患者と11名の前立腺肥大症患者で, 男性28名, 女性4名であった。年齢は20歳から83歳までで平均43歳であった。

膀胱腫瘍患者: 京大病院ならびにその関連病院に入院あるいは通院中の患者で腎機能肝機能正常, 尿路感染症なく採尿前最低3日間は投薬を受けていない22名を対象とした。全員男性で組織学的に移行上皮癌であることが確認され, grade は1が10名, 2が8名, 3が3名, 不明1名で, stage は pTa 17名, pT3 1名, pT4 1名, 不明3名であった。年齢は42歳から83歳で平均64歳であった。

(2) 採尿方法

I) 喫煙者尿は1日喫煙量2~60本の喫煙者の午後の spot 尿, 受動喫煙者尿は比較的換気条件の良い会議室等で, 周囲に喫煙者が多くいる状態に数時間以上

いた非喫煙者の spot 尿, 非喫煙者尿はまったくタバコの煙に暴露されていない人の spot 尿を集めた。

II) 3日間にわたり24時間尿を採尿した。1日目は禁煙, 2日目は10本, 3日目は20本喫煙することとし, 24時間尿は当日の起床時尿を含めず, 2回目の排尿より翌日の起床時尿までとした。24時間尿量は800~2,100 ml であった。

III, IV) 起床時排尿後2時間の尿をコントロールとし2時間後にマイルドセブンを2本喫煙し, その後2時間毎に4回計8時間の尿を採取した。喫煙はフィルターより3 cm のところまで約1分間に2回深く吸うよう指示した。また採尿期間中は他の喫煙者に近付かないよう指示した。

(3) 尿検体

尿はポリプロピレン製容器に採取し冷蔵庫に保存し, 24時間以内に No.1 filter paper (東洋濾紙会社) で濾過した後, 尿を濃縮, ヒスチジンの除去を行った。24時間以内に処理できない場合は $-20^{\circ}\text{C}$ の冷凍庫に保存し室温解凍した後, 同様の処理をした。

(4) 尿の濃縮, ヒスチジンの除去

Yamasaki らの方法によった<sup>10)</sup>, XAD-2 resin (東京有機化学工業株式会社) を10倍量の acetone (半井化学薬品株式会社) で攪拌しながら数回洗浄し, 10倍量の methanol で同様に数回洗浄し, 最後に蒸留水で洗浄し, 内径 0.7 cm, 長さ 10 cm のガラスカラムに 1.5 cm<sup>3</sup> 容量(高さ 4 cm) を詰めた。蒸留水約 50 ml にてカラムを洗浄した後, 尿をその量が 200 ml 以下の場合には全量を, 200 ml 以上の場合には 200 ml を, 三方活栓(株式会社トープ)にて流量を 2~3 ml/min に調節してカラムを通し, 三方活栓より resin を乾燥させないように 2~3 秒窒素ガスを通して resinに残った尿を除去した。吸着物質は 10 ml acetone で 18×150 mm のガラス試験管に溶出させ, 60~65°C の恒温槽の中で窒素ガス下に acetone を蒸発させた。試験管底の残留物を完全に乾燥させた後に,  $-20^{\circ}\text{C}$  の冷凍庫に保存した。

(5) 菌種

カリフォルニア大学 Bruce N. Ames 教授より京都大学放射線生物センター武部啓教授へ送られた *Salmonella typhimurium* TA98 と TA100<sup>18)</sup> を同教授のご好意により提供を受け使用した。

(6) 試料調整

1) 尿試料調整: 冷凍庫内の試験管を室温にて 1~2 時間放置し, 1 ml の dimethyl sulfoxide (DM SO) (Merck) を加え, 試験管底の残留物を完全に溶解する。これを 0.2 μm ミリポアフィルター (Mil-

lipore Corporation) に通して滅菌し, その 0.1 ml を試料とした。

2) 対照試料: negative control として DMSO 0.1 ml を, positive control として代謝活性化を行わない場合は TA98 には 2-nitrofluorene (半井化学薬品株式会社) 40  $\mu\text{g}$  を, TA 100 には sodium azide (Merck) 100  $\mu\text{g}$  を, 代謝活性化を行う場合は TA98, TA 100 ともに aminoanthracene (半井化学薬品株式会社) 100  $\mu\text{g}$  を使用した。

#### (7) 突然変異試験

矢作らの方法にしたがった<sup>19)</sup>。すなわち試料に代謝活性化を行わない場合は 0.5 ml の Na-リン酸緩衝液を加え, 代謝活性化を行う場合は 0.5 ml の S-9Mix を加え<sup>20)</sup>, 37°C の恒温槽内で20分間ゆるく振盪した後, ソフトアガーを 2 ml 加えてアガープレートに展開した。S-9 は phenobarbital で誘導したラットのもので Co-factor とともにオリエンタル酵母工業株式会社製のものを使用した。negative control は毎回調べた。

#### (8) 判定

1) revertant colony: 37°C で72時間インキュベートしてプレート上のコロニーを数えた。1試料について3枚のプレートを用い平均をとった。試料のコロニー数から negative control のコロニーを引いたものをその試料の revertant colony とした。実験は TA 98 に S-9Mix を使用して行ったが, negative control のコロニー数が60以上の場合, positive control が500以下の場合はその回の実験を無効とし, 再実験を行った。

2) 尿変異原活性: 尿中クレアチニン値を測定し, クレアチニン 0.1 mmol を含む尿量あたりの rever-

tant colony 数を, 尿変異原活性とした<sup>21-23)</sup>。

3) 検定: Student-T 検定にて行った。

## 結 果

(I) 喫煙者, 受動的喫煙者, 非喫煙者の尿変異原活性の差異: 尿変異原活性は, Fig. 1 のようになった。喫煙者は, 受動的喫煙者, 非喫煙者と比べ, 有意に高い尿変異原活性を示したが, 受動的喫煙者, 非喫煙者間には有意差は認めなかった。

(II) 喫煙量と尿変異原活性との関係: 1日の喫煙量と尿変異原活性の関係を Table 1 に示す。喫煙量の増加にともない尿変異原活性も上昇しているのが認められた。

(III) 健常人と膀胱腫瘍患者の喫煙後の尿変異原活性の経時的変化の比較: 両者の喫煙前と比べた尿変異原活性の経時的変化を Table 2 に示す。Fig. 2 は両者の二次回帰曲線を求めたものである。健常人尿変異原活性は喫煙後4時間目まで上昇し, 6時間後には喫煙前のレベルに減少した。一方, 膀胱腫瘍患者では喫煙4時間後尿が最高値を示すのは健常人と同様であるが, 6時間後尿もなお高値を示し8時間後に喫煙前のレベルに復した。

二次回帰曲線の両群間の F 検定では F 値は 0.094 と差はなく, 6時間値の t 検定でも  $t=1.08$ ,  $p=0.285$  と有意差は認めなかったが, 最高値から喫煙前の値までの減少率は健常人が  $-5.7/\text{hr}$  であるのに対し膀胱腫瘍患者では  $-2.5/\text{hr}$  と健常人と比較し喫煙の尿変異原活性への影響が遷延している傾向が認められた。

(IV) 膀胱腫瘍患者の喫煙後の尿変異原活性と腫瘍の性状 再発率との関連の有無: 膀胱腫瘍患者の喫煙後の尿変異原活性上昇の最高値とその back ground

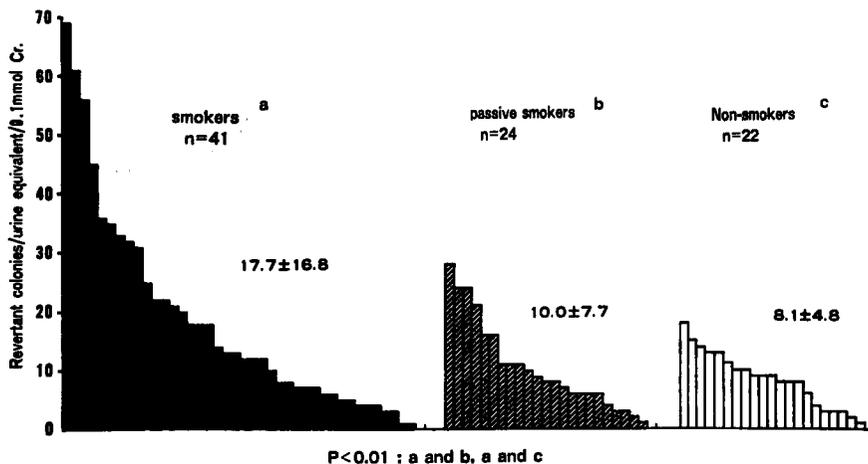


Fig. 1. Mutagenic activity of urine in smokers, passive smokers and non-smokers

を Table 3 に示す。

腫瘍の grade, stage, 再発率, 採尿時の腫瘍の有無の4項目について尿変異原活性との関連の有無を検討した結果を Table 4 に示す。

1) grade: 評価可能症例は grade 1 10例, grade 2 8例, grade 3 3例でそれぞれの喫煙後の喫煙前と比べた尿変異原活性の最大上昇幅は $16.4 \pm 14.4$ ,  $12.8 \pm 11.5$ ,  $21.0 \pm 13.9$ と grade 間で有意差は認めなかった。

Table 1. Dose of tobacco consumption per day and mutagenic activity of urine

(age, sex)	0	10	20	cigarette/day
1. (30, M)	1	4	5	
2. (35, M)	10	11	41	
3. (28, M)	1	6	12	
4. (41, M)	3	6	9	
5. (29, M)	1	4	5	
mean $\pm$ SD	$3.2 \pm 3.9$	$6.2 \pm 2.9$	$14.4 \pm 15.2$	

Table 2. Time course of mutagenic activity of urine after smoking in healthy smokers and bladder cancer patients

	revertant colonies/urine equivalent/0.1mmol Cr. (mean $\pm$ SD)				
	0	2	4	6	8
	hrs after smoking				
healthy smokers (n = 32)	0 <sup>a</sup>	$6.1 \pm 18.4^b$	$11.9 \pm 15.6^c$	$0.8 \pm 12.9^d$	$0.4 \pm 8.8^e$
bladder cancer (n = 22)	0 <sup>A</sup>	$4.4 \pm 10.5^B$	$8.6 \pm 15.7^C$	$4.4 \pm 12.9^D$	$-0.9 \pm 13.9^E$

a and c, c and d, c and e :  $p < 0.01$   
A and C, C and E :  $p < 0.05$

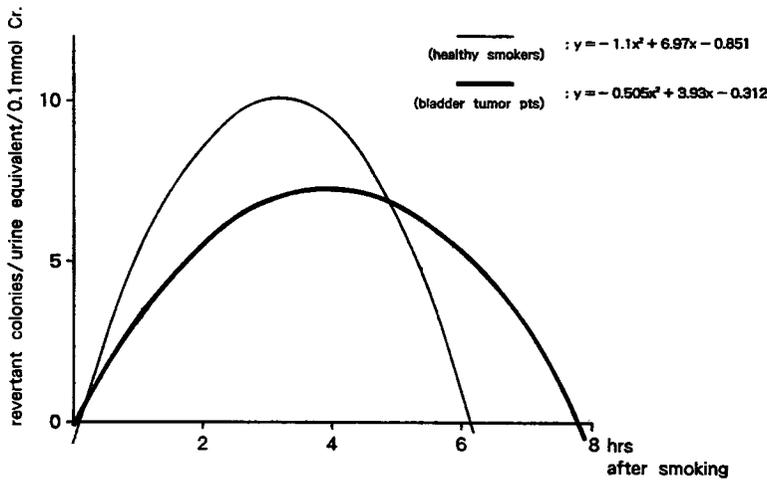


Fig. 2. Quadratic regression curve of mutagenic activity of urine after smoking: healthy smokers and bladder cancer patients

2) stage: 評価可能症例は pTa 18例, pT3 1例, pT4 1例で尿変異原活性はそれぞれ $16.2 \pm 1.42$ , 51, 14であったが stage 2, 3 それぞれ1例で検定不能であった。

3) recurrence rate: 再発率 (recurrences/100 pt months) の平均値は8.4で平均以下が13例, 平均以上が7例 (2例は初発症例で評価不能) でそれぞれの

尿変異原活性は $17.6 \pm 14.0$ ,  $17.3 \pm 14.9$ で両者間に差は認めなかった。

4) 採尿時の腫瘍の有無: 採尿時腫瘍の存在しなかった症例10例, 存在したもの12例でそれぞれ尿変異原活性は  $14.8 \pm 12.9$ ,  $18.3 \pm 14.4$ で両者に差はなかった。



一般に化学物質の変異原性の評価には、試料の復帰コロニー数を negative control の復帰コロニー数で除した値を示す変異原性比 (mutagenic ratio) が用いられるが<sup>24)</sup>、これはヒト喫煙者尿の場合、尿中変異原濃度が低い場合、また尿量の影響を考慮せねばならぬため評価の指標として適当でないことも多い。

Jaffe<sup>21)</sup> や Doorn<sup>22)</sup>, Falck<sup>23)</sup> らもわれわれと同様尿中クレアチニン値で補正した尿の変異原性の評価を行っているが、その値は一定の腎血流量に含まれる変異原物質の量を反映していると考えられ、体内に取入れられた変異原物質の動向を評価するにも有用な指標と思われる。

喫煙者が尿変異原性を示すことは諸家の報告でも明かであるが、受動的喫煙者の尿変異原性については Bos らが 157 本の喫煙が行われた密室内 (110 m<sup>3</sup>) での受動的喫煙者 8 名について尿変異原性が有意に上昇したと報告している<sup>11)</sup>。一方 Scherer らは日常環境では受動的喫煙者尿は変異原性を認めなかったとしている<sup>13)</sup>。今回われわれの検討でも喫煙者は受動的喫煙者、非喫煙者に比べ有意に高い尿変異原活性を示したが、受動的喫煙者と非喫煙者との間に有意差はなかった。これはわれわれが換気条件のよい室内での受動的喫煙者について検討を行ったため非喫煙者との間に有意差がなかったものと考えられる。

受動的喫煙によるタバコの煙の吸入量の定量的評価は難しいが、ニコチン個人曝露モニターを用いて計測した結果では、自家用車内で喫煙者が 1 本喫煙した時に同乗の非喫煙者は、0.001~0.056 本喫煙したのに相当するニコチンを吸入するといわれている<sup>25)</sup>。しかしながらタバコの side stream は main stream よりも多く、癌原性物質を多く含むといわれ<sup>2)</sup>、タバコ 1 本分のニコチンを吸入した時には、10~20 本分の尿路癌原性物質を吸入している計算になり、尿路癌への受動的喫煙の影響を考えるに当ってはこの点も考慮に入れる必要がある。受動的喫煙者の尿変異原性については今後、種々の条件下で定量的に検討していく必要がある。

5 名の volunteer の喫煙量の増加に伴い全員で尿変異原活性も上昇を認めたが、同一喫煙量であっても非喫煙時で 1~10, 10 本喫煙時で 4~11, 20 本喫煙時では 5~41 revertant colonies/urine equivalent/0.1 mmol Cr. と個体差は大きかった。

喫煙の尿変異原性への持続時間については、これまでの報告では 6~12 時間以内に消失するであろうと推測している<sup>10,14)</sup>。また DeMarini ら<sup>26)</sup> は午前中の尿の変異原性が夕方尿に比べて低い傾向があること

より尿中変異原物質が尿路上皮から再吸収される可能性を示唆している。いずれにしても一定の喫煙条件下に経時変化を調べたものはみられない。

今回われわれは厳密な条件下で 32 名の健康人について喫煙後の尿変異原活性の経時変化をしらべたところ、尿変異原活性は喫煙 4 時間後尿 (喫煙後 2 時間~4 時間の尿) で最高となり、6 時間後尿では喫煙前の状態に復した。4 時間後尿が、喫煙前、喫煙 6 時間後、喫煙 8 時間後尿に比べて有意に高く ( $p < 0.01$ )、喫煙の尿変異原活性への影響は 4 時間以内に消失することが明らかとなった。

このことは、喫煙の尿路への影響のみならず全身の臓器への影響を考えるうえで参考となるであろう。

尿変異原活性は個体差が大きく、それには喫煙条件、環境等の外的因子、代謝機能排泄機能等の内的因子の両者が関与していると考えられる。

喫煙後の経時変化を調べる実験はタバコの種類、喫煙量、喫煙環境等の外的因子を可能な限り一定に行われた。また尿路感染があるとその起炎菌により、尿中の硝酸塩から亜硝酸が生じこれに 2 級アミンが反応し発癌物質である N-ニトロソサミンを一定の条件下で生成することが知られている<sup>27)</sup>ので今回の実験にあたっては尿路感染症のある症例は評価の対象から除外した。

大部分の健康人で喫煙 4 時間後尿が最も高い尿変異原活性を示し、6 時間後尿では喫煙前の状態に復するという同一パターンをしめしながら、各々の値には個体差が著明であった。この原因のひとつとして、内的因子とくに代謝機能の個体差にある可能性を示唆するものと考えられる。Jaffe らも同一人については喫煙量が同じであればほぼ一定の尿変異原性を認めるのに、同程度の喫煙量であっても尿変異原性は個体差が大きいことよりわれわれと同様の推論をしている<sup>21)</sup>。

ヒト膀胱発癌にも、喫煙であれ職業的要因であれ化学物質が関与している以上代謝もまたこれに大きくかわっていることは容易に考えられることである。再発を繰返す表在性膀胱腫瘍の患者における tryptophan の代謝異常も検討されており<sup>28)</sup>、また Lower ら<sup>16)</sup> は arylamine に対する acetylation の速度が、膀胱発癌に影響を与えているのではないかと考えている。すなわち N-水酸化された arylamine は尿路に対して強い発癌性を有するが、N-水酸化される前に acetylation をうけ arylacetamide として排泄されると尿路に対しては発癌性を持たなくなると考えられることより、アセチル化が緩慢なものでは膀胱癌に対するリスクが高くなる可能性があるというものである。遺伝

的要因を含んだ Lower の仮説は疫学的研究とあわせて検討されているが、現在のところ、研究者によって報告結果は異なっており結論はでていない<sup>28-32)</sup>。タバコの煙の中には 2-naphtylamine 等の arylamine 類も含まれており、タバコの尿路発癌への影響を検討するにあたってはこの Lower らの仮説は考慮に入れる必要があろう。

膀胱発癌については、喫煙の他、職業性膀胱腫瘍にみられる化学物質への暴露<sup>5,6)</sup>、コーヒー<sup>33)</sup>、人工甘味料<sup>34)</sup>、ウイルス感染<sup>35)</sup>等の外的因子と、トリプトファン代謝、arylamine のアセチル化等の代謝に関する問題、さらに尿路上皮の感受性<sup>35)</sup>などの内的因子の検討がなされている。その中でも喫煙は男子膀胱癌患者の約半数に、女子では約3分の1に関与しているといわれ<sup>1)</sup>、他の因子との関連を含めて検討すべき重要因子と思われる。

今回の研究目的の一つは、一定の喫煙条件により同一量の変異物質が体内に取り入れられた時の尿変異原活性の差を見ることにより膀胱腫瘍患者と健常人との変異原物質に対する代謝の相違の有無を検討しようというものであった。

膀胱腫瘍患者の喫煙後の尿変異原活性の経時的変化の検討では、喫煙後2時間で尿変異原活性は上昇を始め4時間後尿で最高値となった。しかし健常人の場合と異なり、6時間後もなお高値を示し8時間後に喫煙前のレベルにもどり、健常人に比べて喫煙の尿変異原活性への影響が遷延する傾向が認められた。しかしながら対象の年齢は健常人では平均43歳、膀胱腫瘍患者は平均63歳と差があり喫煙の尿変異原活性への影響時間の延長が、健常人と膀胱腫瘍患者との代謝の差によるものか対象年齢の違いによるものかはわからない。尿変異原性は肝硬変患者では高値を示す<sup>37)</sup>といわれているように、後天的な代謝の変化の影響を受けているかもしれない、この年齢差が影響をおよぼしている可能性は考慮に入れる必要がある。

また今回の検討では腫瘍の性状や再発率と尿変異原活性との間に関連を認めなかった。その原因は、喫煙者尿の変異原性は単一成分に由来するものではなく多種類の微量物質の変異原作用の総和であると考えられる<sup>8)</sup>ことより、特定の物質に対する代謝に差があり尿中に排泄される変異原物質の量が異なる可能性があるとしても、その差は長期間にわたり暴露されることによって始めて影響がでてくるほどわずかであって、われわれの実験系では十分とらえきれなかったことによると考えられる。

## 結 語

健常人喫煙者と膀胱腫瘍患者喫煙者の尿変異原性を調べ以下の結果を得た。

1. 喫煙者の尿変異原活性は受動的喫煙者、非喫煙者より有意に高い。受動的喫煙者と非喫煙者との間には有意差はない。
2. 喫煙量の増加にともない尿変異原活性も上昇した。
3. 健常人では喫煙の尿変異原活性に対する影響は4時間以内に消失する。
4. 膀胱腫瘍患者では健常人より喫煙の尿変異原活性への影響が遷延する傾向があった。
5. 腫瘍の性状、再発率と喫煙後の尿変異原活性の上昇とは関連がなかった。

本研究の一部は、日本たばこ産業株式会社喫煙と健康に関する委託研究費ならびに文部省科研費57440072によった。

## 文 献

- 1) Wynder EL and Goldsmith R: The epidemiology of bladder cancer; A second look. *Cancer* 40: 1246-1268, 1977
- 2) Mommsen S and Aagaard J: Tobacco as a risk factor in bladder cancer. *Carcinogenesis* 4: 335-338, 1983
- 3) Augustine A, Hebert JR, Kabat GC and Wynder EL: Bladder cancer in relation to cigarette smoking. *Cancer Res* 48: 4405-4408, 1988
- 4) U.S. Department of Health Education and Welfare: Involuntary smoking and lung cancer. The health consequences of smoking: *Cancer* 1982, pp237-254, U.S. Government Printing Office, Maryland USA, 1982
- 5) Rehen L: Blasengeschwülste bei Fuchsin-Arbeitern. *Arch Klin Chir* 50: 588-600, 1895
- 6) Yoshida O, Miyakawa M: Etiology of bladder cancer: "Metabolic" aspect. In: *Analytical and experimental epidemiology of cancer*. Edited by Nakahara W. pp31-39, Univ. Tokyo Press, Tokyo, 1973
- 7) Connor TH, Ramanujam VMS, Ward Jr JB and Legator MS: The identification and characterization of a urinary mutagen resulting from cigarette smoke. *Mutat Res* 113: 161-172, 1983
- 8) Putzrath RM, Langley D and Eisenstadt E: Analysis of mutagenic activity in cigarette smokers' urine by high performance liquid chromatography. *Mutat Res* 85: 97-108, 1981
- 9) Droller MJ: Bladder cancer. *Monogr Urol*

- 3: 131-154, 1982
- 10) Yamasaki E and Ames BN : Concentration of mutagens from urine by absorption with the nonpolar resin XAD-2: cigarette smokers have mutagenic urine. *Proc Natl Acad Sci USA* 74 : 3555-3559, 1977
  - 11) Bos RP, Theuws JLG and Henderson PT: Excretion of mutagens human urine after passive smoking. *Cancer Lett* 19:85-90, 1983
  - 12) Dolara P, Mazzoli S, Rosi D, Buiatti E, Baccetti S, Turchi A and Vannucci V : Exposure to carcinogenic chemicals and smoking increasing urinary excretion of mutagens in humans. *J Toxicol Environ Health* 8: 85-103, 1981
  - 13) Scherer G, Westphal K, Biber A, Hoepfner I and Adlkofer F : Urinary mutagenicity after controlled exposure to environmental tobacco smoke (ETS). *Toxicol Lett* 35 : 135-140, 1987
  - 14) Kobayashi H and Hayatsu H : A time course study on the mutagenicity of smoker's urine. *Gann* 75: 489-493, 1984
  - 15) Gorrod JW, Jenner P, Keysill GR and Mikhael BR: Oxative metabolism of nicotine by cigarette smokers with cancer of the urinary bladder. *JNCI* 52: 1421-1424, 1974
  - 16) Lower Jr GM, Nilsson T, Nelson CE, Wolf H, Gamsky TE and Bryan GT : N-acetyltransferase phenotype and risk in urinary bladder cancer: approaches in molecular epidemiology. Preliminary results in Sweden and Denmark. *Environ Health Perspec* 29: 71-79, 1979
  - 17) Brown RR, Price JM, Friedell GH and Burney SW : Tryptophan metabolism in patients with bladder cancer: geographical differences. *JNCI* 43: 295-301, 1969
  - 18) McCann J, Spingarn NE, Kobori J and Ames BN : Detection of carcinogens as mutagens: bacterial tester strains with R factor plasmids. *Proc Nat Acad Sci USA* 72: 979-983, 1975
  - 19) Yahagi T, Degawa M, Seino Y, Matsushima T, Nagao M, Sugimura T and Hashimoto Y: Mutagenicity of carcinogenic azo dyes and their derivatives. *Cancer Lett* 1: 91-96, 1985
  - 20) Ames BN, Durston WE, Yamasaki E and Lee FD: Carcinogens are mutagens: a simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. *Proc Nat Acad Sci USA* 70: 2281-2285, 1973
  - 21) Jaffe RL, Nicholson WJ and Garro AJ : Urinary mutagen levels in smokers. *Cancer Lett* 20: 37-42, 1983
  - 22) van Doorn R, Bos RP, Leijdekkers CM, Wagenaas-Zegers MAP, Theuws J LG and Henderson PT : Thioether concentration and mutagenicity of urine from cigarette smokers. *Int Arch Occup Environ Health* 43: 159-166, 1979
  - 23) Falck K, Sorsa M and Vainio H : Mutagenicity in urine of workers in rubber industry. *Mutat Res* 79: 45-52, 1980
  - 24) 吉川邦衛: 代謝活性化からみた Ames 試験の再検討, 変異原と毒性 6: 35-45, 1975
  - 25) Muramatsu M, Umenura S, Okada T and Tomita H: Estimation of personal exposure of tobacco smoke with a newly developed nicotine personal monitor. *Environ Res* 35: 218-227, 1984
  - 26) DeMarini DM : Genotoxicity of tobacco smoke and tobacco smoke condensate. *Mutat Res* 114: 59-89, 1983
  - 27) Hicks RM Nitrosamines as possible etiological agents in bilharzial bladder cancer. In : Nitrosamines and Human Cancer. Edited by. Magree PN, pp.455-472, 1982
  - 28) Yashida O, Brown RR and Bryan GT : Relationship between tryptophan metabolism and heterotopic recurrences of human urinary bladder tumors. *Cancer* 25: 773-780, 1970
  - 29) Mommsen S, Sell A and Barford N: N-acetyltransferase phenotypes of bladder cancer patients in a low-risk population. *Lancet* ii: 1228, 1982
  - 30) Miller ME and Cosgriff JM : Acetylator phenotype in human bladder cancer. *J Urol* 130: 65-66 1983
  - 31) Cartright RA, Glashan RW, Rogers HJ, Ahmad RA, Barham-Hall D, Higgins E and Kahn MA : Role of N-acetyltransferase phenotypes in bladder carcinogenesis: a pharmacogenetic epidemiological approach to bladder cancer. *Lancet* ii: 842-845, 1982
  - 32) Mommsen S, Barford NM and Aagaard J : N-acetyltransferase phenotypes in the urinary bladder carcinogenesis of a low risk population. *Carcinogenesis* 6:199-201, 1985
  - 33) Cole P : Coffee-drinking and cancer of lower urinary tract. *Lancet* i:1335-1337, 1971
  - 34) Hicks RM and Chowanec J : The importance of synergy between weak carcinogens in the inductions of bladder cancer in experimental animals and humans. *Cancer Res* 37: 2943-2949, 1977
  - 35) Fraley EE, Elliot AY, Castro AE, Cleaveland P, Hakala T and Stein N: Ribonucleic

- acid virus associated with human urothelial tumors. : significance for diagnosis and treatment. J Urol 111: 378-381, 1974
- 36) Shur BD and Roth S: Cell surface glycosyltransferases. Biochem Biophys Acta 415 : 473-512, 1975
- 37) Gelbart SM and Sontag SJ : Mutagenic urine in cirrhosis. Lancet i: 894-896, 1980  
(Received on November 13, 1989)  
(Accepted on December 4, 1989)  
(迅速掲載)