

m-クロロフェノールのラットを用いた強制経口投与による肝中期発がん性試験

日本バイオアッセイ研究センター

1 被験物質

1.1 名称等

名称	: <i>m</i> -クロロフェノール(<i>m</i> -Chlorophenol)
製造元	: 東京化成工業 (株)
CAS No.	: 108-43-0
ロット番号	: V6ELG
含量	: 98.9%
分子量	: 128.6

1.2 物理化学的性状等

外観及び性状	: 白色～うすい黄色、結晶～塊
融点	: 33°C
沸点	: 214°C
溶解性	: 水に不溶

1.3 製造・輸入量及び用途

製造・輸入量	: —
用途	: 医薬・農薬の中間体、接着剤溶剤、耐熱性樹脂原料

1.4 有害性情報

急性毒性	: LD ₅₀ (ラット経口) 570 mg/kg
刺激性	: 強い (眼、皮膚、気道)
遺伝毒性	: 復帰突然変異試験 陽性
発がん性	: 情報なし
その他毒性	: 神経毒性の疑い

2 目的

F344/DuCrIcrlj ラットを用いた肝中期発がん性試験 (伊東法) を用いて、*m*-クロロフェノールの肝臓に対するプロモーション作用の有無を検索した。

3 方法

試験は、被験物質投与群 3 群、媒体対照群及び陽性対照群の計 5 群の構成で、各群 22 匹の F344 雄ラット (6 週齢) を用いた。起始物質として *N*-ニトロソジエチルアミン (DEN) 200 mg/kg を単回腹腔内投与した。DEN 処置後、第 3 週目より 6 週間、オリーブ油に溶解した被験物質を 0 (媒体対照群)、180、360 及び 720 mg/kg/day の用量で毎日 1 回、強制経口投与し、また陽性対照群と

してフェノバルビタールナトリウムを 25 mg/kg/day の用量で毎日 1 回、強制経口投与した。なお、DEN 処置後、第 3 週目の終わりに肝臓の 2/3 切除手術を行った。投与終了日の翌日に生存動物を安楽死させ、肝臓の前腫瘍性病変である胎盤型 Glutathione S-transferase (GST-P) 陽性細胞巢 (直径 0.2 mm 以上) の数及び面積を計測し、肝臓単位面積当たりの陽性細胞巢の数及び面積を算出して評価した。

4 投与量設定の理由

被験物質の投与量は、用量設定試験の結果を基に決定した。用量設定試験は、急性 (3 回投与) 試験、3 週間反復投与試験及び部分肝切除した動物を用いる 9 日間反復投与試験を実施した。

急性 (3 回投与) 試験は、被験物質投与量を 600、1000、2,000 mg/kg/day に設定して雄の F344 ラット 3 匹に 8 週齢から毎日 1 回、3 日間、強制経口投与した。その結果、2,000 mg/kg/day では 1 回目の投与約 10 分後に激しい震戦、横臥がみられ、投与 1 時間後までに 3 匹とも死亡した。1,000 mg/kg/day 及び 600 mg/kg/day では体重増加の抑制はあったが一般状態の異常は認められなかった。

3 週間反復投与試験では、被験物質投与量を 0 (媒体対照、オリーブ油)、125、250、500 及び 1,000 mg/kg/day に設定して、雄の F344 ラットに 8 週齢から毎日 1 回、3 週間、強制経口投与して投与終了翌日に剖検した。その結果、1,000 mg/kg/day では投与後に震戦及び流涎がみられ、1 匹は投与 6 回で死亡した。体重増加の抑制は 250 mg/kg/day 以上でみられ、投与 3 週間後の体重は媒体対照を 100% とすると、250 mg/kg/day は 96%、500 mg/kg/day は 94%、1,000 mg/kg/day は 80% であった。また、500 mg/kg/day 以上で血中の総コレステロールとリン脂質の増加、肝臓及び腎臓の相対重量の増加が認められた。

本試験の高用量を最終決定する目的で、部分肝切除した動物を用いる 9 日間反復投与試験を実施した。投与量は 0 (媒体対照、オリーブ油)、300、500 及び 700 mg/kg/day とし、9 週齢で部分肝切除した雄の F344 ラットに、部分肝切除翌日から毎日 1 回、9 日間、強制経口投与した。その結果、被験物質投与による死亡や一般状態の異常はなく、体重増加の抑制もみられなかった。500 mg/kg 以上で肝臓及び腎臓の相対重量増加が認められた。

以上の結果から、本試験に用いる高用量は、動物に最小限の毒性兆候がみられるが、動物が 6 週間の投与に耐え得る用量として、500 mg/kg/day から 1,000 mg/kg/day の間が適切であると判断した。したがって、本試験では、高用量を 720 mg/kg に設定し、公比 2 で除して中用量を 360 mg/kg、低用量を 180 mg/kg とした。

5 結果

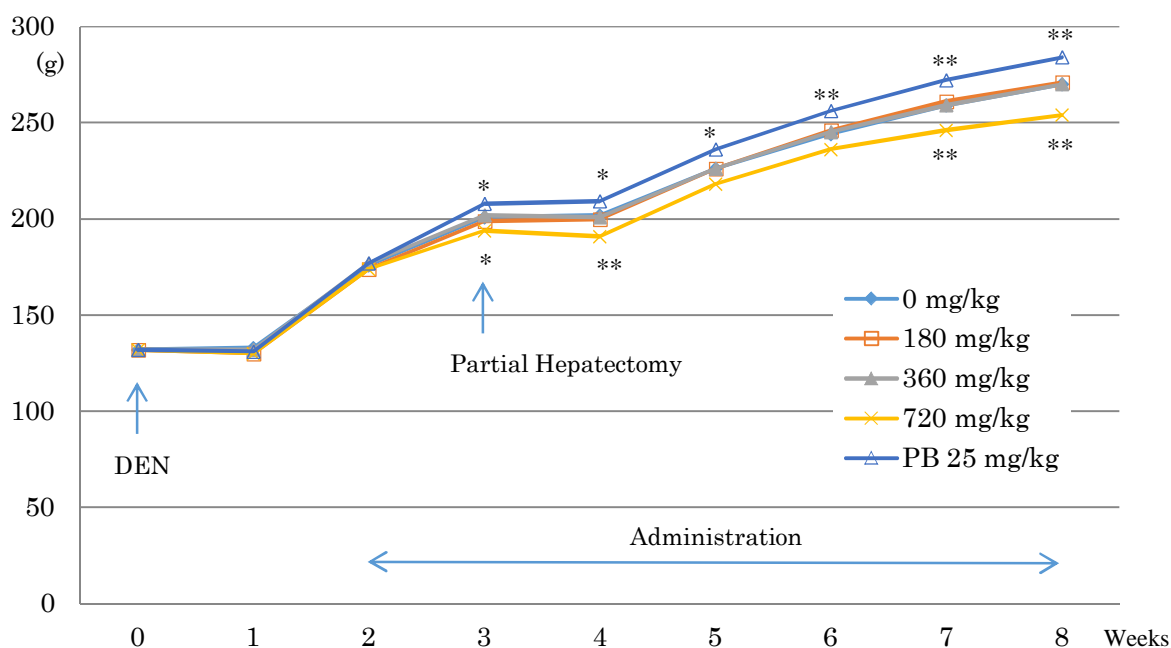
m-クロロフェノールの経口投与に起因する一般状態所見として、720 mg/kg 群で投与後の震戦と異常呼吸音が観察され、また、投与による死亡が 3 匹に認められた。720 mg/kg 群では体重増加の抑制もみられた。肝臓重量については、360 mg/kg 以上の群で相対重量の増加がみられたが、絶対重量に対照群との差は認められなかった。また、腎臓重量については、360 mg/kg 以上の群で相対重量の増加がみられ、360 mg/kg 群では絶対重量の増加も認められた。病理組織学的検査で *m*-ク

ロクロフェノールの投与による毒性病変は観察されなかった。肝臓の GST-P 陽性細胞巢を解析した結果、単位面積当たりの数及び面積に投与の影響は認められなかった。

陽性対照群は、媒体対照群に比較して体重、摂餌量及び肝臓重量（絶対重量・相対重量）に増加が認められた。肝臓の GST-P 陽性細胞巢については単位面積当たりの数、面積ともに明らかな増加を示したことから、肝臓に対する発がんプロモーション作用は陽性であると確認された。

6 結論

m-クロロフェノールは、本試験条件下では肝臓に対する発がんプロモーション作用を示さないと結論した。



*, **: Significantly different from control group at P<0.05, 0.01, respectively.

図1 *m*-クロロフェノールの肝中期発がん性試験における体重推移

表1 *m*-クロロフェノールの肝中期発がん性試験における肝臓重量結果

投与量 (mg/kg/day)	検索 匹数	剖検時体重 ^a (g)	肝臓絶対重量 (g)	肝臓相対重量 (%)
0	22	251 ± 16	6.571 ± 0.808	2.630 ± 0.393
180	21	253 ± 9	6.694 ± 0.620	2.640 ± 0.208
360	21	251 ± 13	7.191 ± 1.201	2.874 ± 0.505**
720	18	234 ± 9**	6.774 ± 0.521	2.896 ± 0.172**
PB 25	21	264 ± 11**	8.367 ± 0.473**	3.168 ± 0.115**

a : The value presented were obtained after the animals were fasted overnight.

** : Significantly different from control group at P<0.01.

表2 *m*-クロロフェノールの肝中期発がん性試験における免疫組織化学的検査結果

投与量 (mg/kg/day)	検索 匹数	GST-P 陽性細胞巢	
		陽性細胞巢数 (No./cm ²)	陽性細胞巢面積 (mm ² /cm ²)
0	22	5.196 ± 2.005	0.441 ± 0.209
180	21	6.053 ± 2.083	0.523 ± 0.248
360	21	5.417 ± 2.326	0.450 ± 0.240
720	18	5.357 ± 2.050	0.441 ± 0.184
PB 25	21	10.373 ± 2.247**	0.980 ± 0.360**

** : Significantly different from control group at P<0.01.