

アセト酢酸アニリド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

1 被験物質

1.1 名称等

名称 : アセト酢酸アニリド
Acetoacetanilide
製造元 : 東京化成工業株式会社
CAS No. : 102-01-2
ロット番号 : DA4KG
含量 : 100.0% (HPLC)
分子量 : 177.20

1.2 物理化学的性状等 (文献 1 及び 2)

外観及び性状 : 固体 (20°C)、結晶～粉末、白色～ごくうすい黄色
融点 : 85°C
溶解性 : 水に溶けにくい、アルコール、アセトンに溶けやすい

1.3 製造・輸入量及び用途

製造・輸入量 : 2,000 t (H27 年度)
用途 : 染料・顔料中間体

1.4 有害性情報

ラットを用いた急性毒性試験では、経口投与における LD50 は 800~6500 mg/kg と推定されている³⁾。細菌を用いる復帰突然変異試験では陰性又は陽性³⁾⁴⁾、ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験において陰性³⁾⁴⁾と判定されている。当該物質は平成 26 年度遺伝毒性 WG で「強い遺伝毒性あり」とされた物質である。

2 目的

F344/DuCrIj 系ラットを用いた肝中期発がん性試験 (伊東法) を用いて、アセト酢酸アニリドの肝臓に対するプロモーション作用の有無を検索し、その発がん性を予測した。

3 方法

試験は、被験物質投与群 3 群、陰性 (媒体) 対照群及び陽性対照群の計 5 群の構成で、各群とも 25 匹の F344 雄ラットを用いた。起始物質としてジエチルニトロソアミン (DEN) 200 mg/kg を単回腹腔内投与した (以降、DEN 処置と表記)。DEN 処置後、第 3 週目より 6 週間、コーン油に懸濁した被験物質を 0 (媒体対照群)、60、200 及び 600 mg/kg の用量で毎日 1 回、強制経口投与した。陽性対照群にはフェノバルビタールナトリウム (PB) を 25 mg/kg 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 (以後、PH と表記)

を行った。投与終了日の翌日に生存動物を剖検し、肝臓の前腫瘍性病変である胎盤型 Glutathione S-transferase (GST-P) 陽性細胞巢の個数と面積を計測した。

4 投与量設定の理由

先に実施した F344 雄性ラットを用いた 1 週間反復経口投与による用量設定毒性試験 (株式会社ボゾリサーチセンター、試験番号: E-Z3013、投与量: 200、600 及び 2000 mg/kg) では、2000 mg/kg 投与群の全例が死亡した。600 mg/kg 投与群では軽度な体重増加抑制 (対照群と比較して-6%)、血液学検査による貧血並びに胸腺重量の減少及び脾臓重量の増加がみられたものの、用量を制限する変化ではなかった。また、部分肝切除ラットを用いた 2 週間反復経口投与による用量設定毒性試験 (株式会社ボゾリサーチセンター、試験番号: E-Z3014、投与量: 100、300 及び 1000 mg/kg) では、1000 mg/kg 投与群の 4/5 例が死亡したが、100 及び 300 mg/kg では明確な毒性は認められなかった。したがって、本試験では 600 mg/kg を高用量に設定し、以下公比約 3 で除した 200 及び 60 mg/kg を中及び低用量に設定した。

5 結果

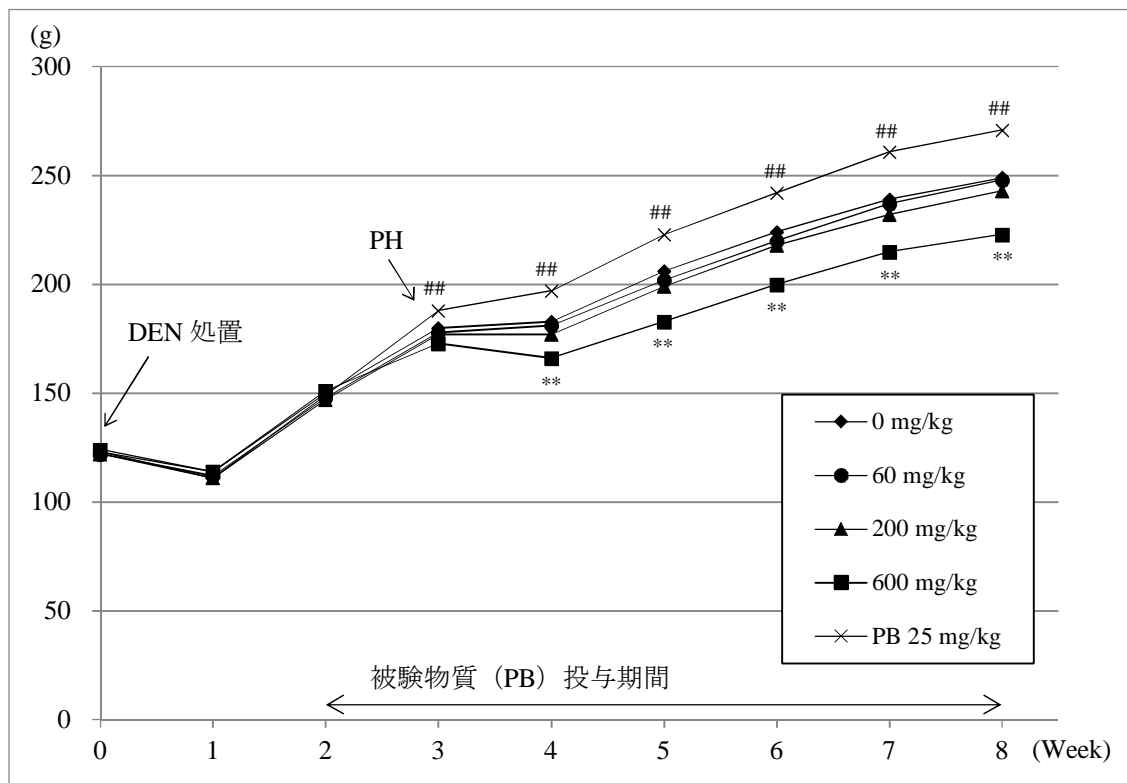
600 mg/kg 投与群では皮膚の蒼白化がみられ、被験物質投与の影響により 1 例が死亡し、体重増加抑制 (媒体対照群と比較して-10%、図 1) がみられた。剖検では 200 mg/kg 以上の投与群で脾臓の大型化がみられ、病理組織学検査では、600 mg/kg 投与群でクッパー細胞の褐色色素沈着及び髓外造血もみられた。本被験物質は溶血性貧血及びメトヘモグロビン血症を誘発することが知られており³⁾、上述の変化は、メトヘモグロビン血症による溶血性貧血及び造血亢進を反映した変化と考えられた。この他に、被験物質の肝臓への影響を示唆する変化として 60 mg/kg 以上の投与群で肝臓重量の増加がみられ (表 1)、200 mg/kg 以上の投与群では小葉中心性の肝細胞肥大もみられた。しかし、被験物質投与群の GST-P 陽性肝細胞巢の単位面積当たりの個数及び面積は媒体対照群との間に差はなかった (表 2)。陽性対照群では、体重及び摂餌量の増加、肝臓重量の増加、小葉中心性の肝細胞肥大がみられた。また、GST-P 陽性肝細胞巢の単位面積当たりの個数及び面積のいずれにも統計学的に有意な高値がみられ、本試験の妥当性が示された。

6 結論

以上の結果から、アセト酢酸アニリドは、本試験条件下において、肝発がんプロモーション作用を示さないと判断された。

7 文献

- 1) 安全データシート Acetoacetanilide 東京化成工業株式会社, 2018.
- 2) 安全データシート Acetoacetanilide 富士フイルム和光純薬株式会社, 2018.
- 3) OECD SIDS. Acetoacetanilide. SIDS Initial Assessment Report for SIAM 7. (Sydney, Australia, 25-27 March 1998).
- 4) 厚生労働省 職場のあんぜんサイト 変異原性試験 (エームス・染色体異常) 結果



** : Significantly different from control group at $P \leq 0.01$ (Dunnett's test)
 ## : Significantly different from control group at $P \leq 0.01$ (t-test)

図1 アセト酢酸アニリドの肝中期発がん性試験における体重推移

表1 アセト酢酸アニリド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)	有効動物数	剖検前体重 (g)	肝臓絶対重量 (g)	肝臓相対重量 (g/100 g)
0	22	249 ± 11	7.82 ± 0.48	3.14 ± 0.11
60	23	247 ± 15	7.97 ± 0.63	3.22 ± 0.13*
200	23	242 ± 14	8.18 ± 0.59	3.37 ± 0.13**
600	23	221 ± 12**	8.41 ± 0.52**	3.81 ± 0.11**
PB 25	23	270 ± 13##	10.20 ± 0.70\$\$	3.78 ± 0.14##

*/** : Significantly different from control group at $P \leq 0.05/0.01$ (Dunnett's test)

: Significantly different from control group at $P \leq 0.01$ (t-test)

\$\$: Significantly different from control group at $P \leq 0.01$ (Aspin-Welch's t-test)

表2 アセト酢酸アニリドの肝中期発がん性試験における GST-P 陽性肝細胞巢結果

投与量 (mg/kg/day)	有効動物数	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	2.896 ± 1.022	0.356 ± 0.182
60	23	3.189 ± 1.189	0.391 ± 0.189
200	23	2.652 ± 1.113	0.415 ± 0.406
600	23	2.713 ± 0.981	0.264 ± 0.107
PB 25	23	8.426 ± 1.955\$\$	1.191 ± 0.324\$\$

\$\$: Significantly different from control group at $P \leq 0.01$ (Aspin-Welch's t-test)