

硫酸鉄（Ⅱ）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

株式会社 DIMS 医科学研究所

## 1 被験物質

### 1.1 名称等

名称 : 硫酸鉄（Ⅱ）（Iron(II)sulfate heptahydrate）  
製造元 : 和光純薬工業株式会社  
CAS No. : 7782-63-0  
ロット番号 : HWM7165  
含量 : 99.8%  
分子量 : 278.01

### 1.2 物理化学的性状等（文献 1）

外観及び性状 : うすい青緑色、結晶～結晶性粉末  
臭い : 無臭  
融点・凝固点 : 64℃  
溶解性 : 水に溶ける、エタノールにはほとんど溶けない

### 1.3 製造・輸入量及び用途

製造・輸入量 : 300,000 t（H24 年度）  
用途 : ベンガラ、し尿処理剤、顔料、医薬品、食品添加物

### 1.4 有害性情報

急性毒性（文献 1）  
LD50（マウス経口） : 1520 mg/kg  
遺伝毒性  
形質転換試験 : 陽性

## 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、硫酸鉄（Ⅱ）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 20 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/day 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、注射用水に溶解した被験物質を 0（媒体対照群）、100、300 及び 1000 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（S.PB）を 500 ppm の濃度で混餌投与した。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) 陽性細胞巢の発生を検査した。

#### 4 投与量設定の理由

投与量は、当研究所において F344 ラットの雄を用いて実施した用量設定試験の結果（文献 2）を参考に決定した。

用量設定試験では 0、300、600 及び 1000 mg/kg/day を設定した。F344 ラットの雄を用いて DEN 処置及び PH を実施し、DEN 処置の 2 週間より被験物質を 3 週間、強制経口投与した。その結果、1000 mg/kg/day 群において投与開始初期に体重増加抑制が認められたが、その後は回復傾向にあったことから、1000 mg/kg/day は中期肝発がん性試験の投与期間である 6 週間の投与に耐えられる用量であると判断した。また、1000 mg/kg/day 群では肝臓の相対重量の有意な高値がみられており、肝臓への影響も認められる十分な量であると考えられた。以上より、被験物質の投与量は 1000 mg/kg/day を最高用量とし、以下、公比約 3 で除した 300 mg/kg 及び 100 mg/kg が妥当であると判断した。

#### 5 結果

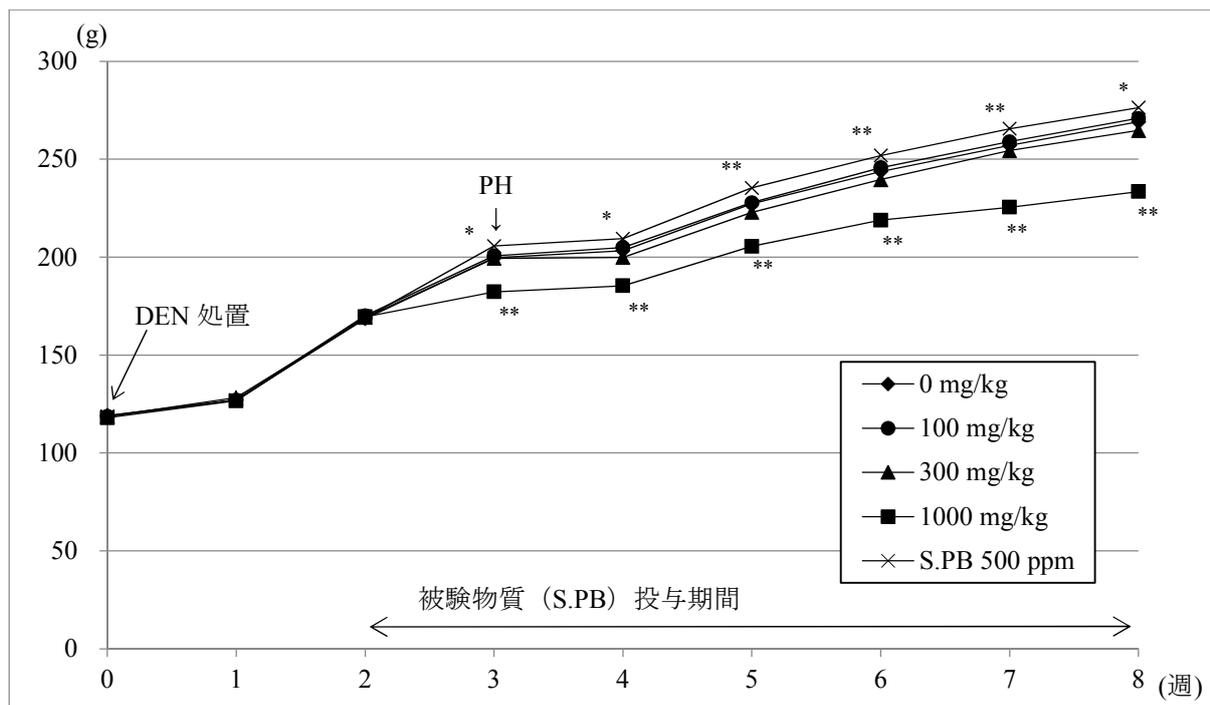
一般状態においては、被験物質投与開始以降、300 及び 1000 mg/kg/day 群の全生存動物において黒色便が継続して観察された。また、被験物質投与開始以降、1000 mg/kg/day 群で体重の有意な低値（図 1）、第 3～7 週に摂餌量の有意な低値が認められた。剖検時には低用量群も含む被験物質投与全群に胃、小腸あるいは大腸の黒色内容物が観察された。肝臓の絶対重量は 1000 mg/kg/day 群において有意な高値、相対重量については被験物質全群において有意な高値が認められた（表 1）。肝臓の病理組織学的検査においては、被験物質投与に起因した変化はみられなかった。肝臓の GST-P 陽性細胞巢の定量的解析では、対照群と被験物質投与群との間に統計学的な差異は認められなかった（表 2）。陽性対照群では、体重及び摂餌量の有意な高値、肝臓の絶対重量及び相対重量の有意な高値が認められ、病理組織学的検査では S.PB 投与により認められる変化が観察された。また、GST-P 陽性細胞巢は個数及び面積のいずれも統計学的に有意な高値が認められたことから、肝発がんプロモーション作用が明確に検出され、本試験の妥当性が示された。

#### 6 結論

以上の結果から、硫酸鉄（II）は、本試験条件下において、肝発がんプロモーション作用はないと判断された。

#### 7 文献

- 1) 安全データシート 硫酸鉄(II)七水和物 和光純薬工業株式会社、2015.
- 2) 土井悠子「硫酸鉄（II）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の用量設定試験（試験番号：15164）」株式会社 DIMS 医科学研究所、2015.



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

図1 硫酸鉄（Ⅱ）の肝中期発がん性試験における体重推移

表1 硫酸鉄（Ⅱ）の肝中期発がん性試験における肝臓重量結果

群	投与量 (mg/kg/day)	検索 匹数	剖検日体重 <sup>a</sup> (g)	肝臓絶対重量 (g)	肝臓相対重量 (%)
1	0	20	252.4 ± 9.0	5.8494 ± 0.2913	2.3172 ± 0.0722
2	100	20	254.7 ± 9.7	6.0604 ± 0.3121	2.3791 ± 0.0740*
3	300	19	250.0 ± 10.1	6.0588 ± 0.3071	2.4228 ± 0.0440**
4	1000	19	220.1 ± 12.8**	6.1559 ± 0.2238**	2.8024 ± 0.1312**
5	S.P.B 500 ppm	20	259.9 ± 10.9*	8.2997 ± 0.4895**	3.1924 ± 0.0966**

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

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

表3 硫酸鉄（Ⅱ）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

群	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 <sup>2</sup> )	陽性細胞巢面積 (mm <sup>2</sup> /cm <sup>2</sup> )
1	0	20	3.545 ± 1.046	0.358 ± 0.134
2	100	20	2.923 ± 1.138	0.314 ± 0.127
3	300	19	3.095 ± 1.511	0.302 ± 0.213
4	1000	19	3.424 ± 1.301	0.325 ± 0.137
5	S.P.B 500 ppm	20	6.581 ± 1.531**	0.664 ± 0.256**

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