

パラ-トルエンスルホン酸メチ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	: パラ-トルエンスルホン酸メチル (Methyl <i>p</i> -toluenesulfonate)
製造元	: 東京化成工業 (株)
CAS No.	: 80-48-8
ロット番号	: CG3NE
含量	: 99.5%
分子量	: 186.23

1.2 物理化学的性状等

外観及び性状	: 白色～ごくうすい黄色、液体～固体
融点	: 25°C
沸点	: 145°C
溶解性	: 水に不溶

1.3 製造・輸入量及び用途

製造・輸入量	: ー
用途	: 有機合成におけるメチル化剤・アルキル化剤・酸触媒、 塩基性染料の中間体

1.4 有害性情報

急性毒性	: LD ₅₀ (ラット経口) 341 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、染色体異常試験 陽性 遺伝子突然変異試験 陽性
発がん性	: 情報なし

2 目的

F344/DuCrIj ラットを用いた肝中期発がん性試験 (伊東法) を用いて、パラ-トルエンスルホン酸メチ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、オリブ油に溶解した被験物質を 0 (媒

体対照群)、40、80 及び 160 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 10 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 100、300、600 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、600 mg/kg/day は投与 2 回で自発運動減少及び体温低下が顕著にみられたことから安楽死させた。300 mg/kg/day では 3 回投与後の体重が 86% に減少した。100 mg/kg/day では軽微な体重増加抑制が認められた。

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)、25、50、100 及び 200 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、200 mg/kg/day で餌の食べこぼし量が目立った他、一般状態に異常はみられなかった。体重増加の抑制は 100 mg/kg/day 以上で認められ、投与 3 週間後の体重は媒体対照を 100% とすると、100 mg/kg/day は 95%、200 mg/kg/day は 86% であった。また、100 mg/kg/day 以上では腎臓の相対重量が増加、200 mg/kg/day では肝臓の相対重量も増加した。血液学及び血液生化学検査で異常は認められなかった。

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 10 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)、100、150 及び 200 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、10 日間、強制経口投与した。その結果、被験物質投与に起因する死亡や一般状態の異常はなかったが、100 mg/kg/day 以上で体重増加の抑制がみられ、投与 10 日目の体重は媒体対照を 100% とすると、100 mg/kg/day は 95%、150 mg/kg/day は 90%、200 mg/kg/day は 87% であった。また、100 mg/kg/day 以上で腎臓の相対重量が増加、200 mg/kg/day では肝臓の相対重量の増加も認められた。

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、100 mg/kg/day から 200 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 160 mg/kg/day に設定し、公比 2 で除して中用量を 80 mg/kg/day、低用量を 40 mg/kg/day とした。

5 結果

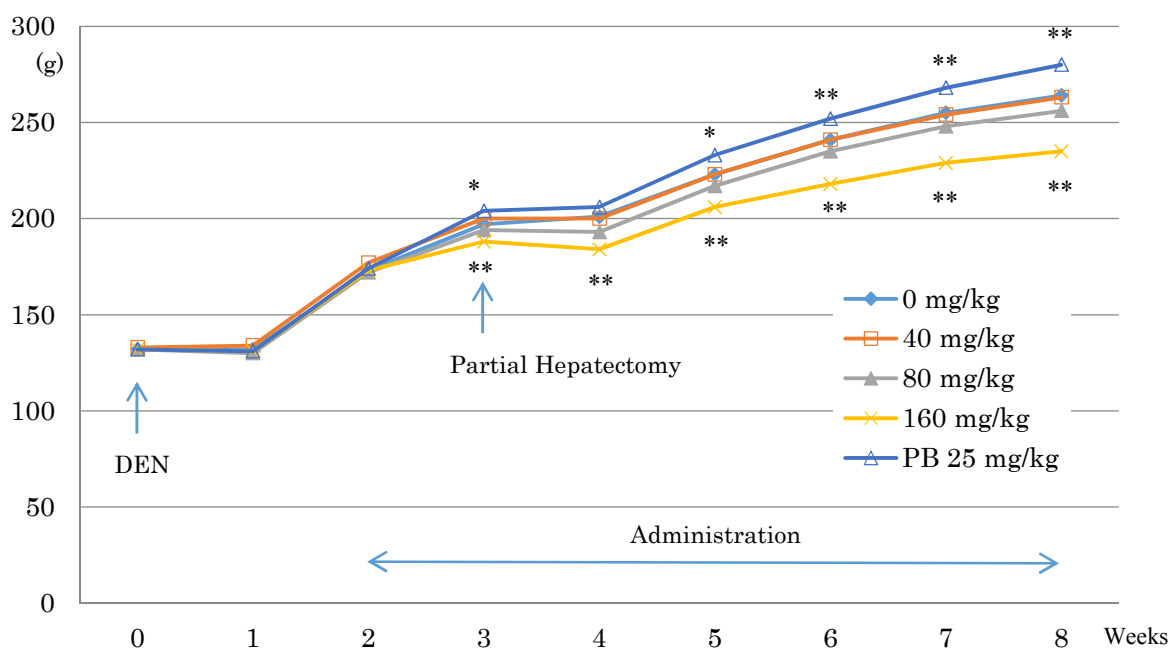
パラ-トルエンスルホン酸メチルの経口投与に起因する一般状態所見は観察されなかった。160 mg/kg 群には投与開始から体重増加の抑制がみられた。80 mg/kg 以下の群では体重の変化に対照群との差は認められなかった。肝臓重量については、40 mg/kg 以上の群で相対重量の増加がみら

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、40 mg/kg 以上の群で相対重量の増加がみられ、160 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肝臓と腎臓にパラ-トルエンスルホン酸メチ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は 80 mg/kg 以上の群に、面積は 160 mg/kg 群に有意な減少が認められた。

陽性対照群は、媒体対照群に比較して体重、肝臓重量（絶対重量・相対重量）及び腎臓重量（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

パラ-トルエンスルホン酸メチルは、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 パラ-トルエンスルホン酸メチルの肝中期発がん性試験における体重推移

表1 パラ-トルエンスルホン酸メチ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	246 ± 13	5.915 ± 0.416	2.400 ± 0.075
40	21	243 ± 10	6.383 ± 1.357	2.635 ± 0.660**
80	22	233 ± 13**	6.031 ± 0.475	2.588 ± 0.121**
160	21	210 ± 11**	5.870 ± 0.407	2.792 ± 0.103**
PB 25	20	260 ± 11**	8.051 ± 0.561**	3.091 ± 0.119**

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

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

表2 パラ-トルエンスルホン酸メチ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	4.427 ± 1.720	0.373 ± 0.195
40	21	3.583 ± 1.555	0.272 ± 0.155
80	22	3.272 ± 1.425*	0.318 ± 0.195
160	21	2.004 ± 1.418**	0.152 ± 0.157**
PB 25	20	9.164 ± 2.779**	0.869 ± 0.434**

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