

3,4-ジメチル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

株式会社 DIMS 医科学研究所

1 被験物質

1.1 名称等

名称 : 3,4-ジメチルフェノール
3,4-Dimethylphenol
製造元 : 東京化成工業株式会社
CAS No. : 95-65-8
ロット番号 : Q3ANM
純度 : 99.4%
分子量 : 122.17

1.2 物理化学的性状等 (文献 1)

外観及び性状 : 白色〜ごくうすい黄色の結晶〜粉末
融点 : 66°C
沸点/沸騰範囲 : 225°C
溶解性 : 水に微溶、エーテル、アルコール、ベンゼン、クロロホルムに可溶

1.3 製造・輸入量及び用途

製造・輸入量 : 2000 - 7000 t (H27 年度)
用途 : 医薬・農薬・酸化防止剤・レジスト樹脂原料

1.4 有害性情報

急性毒性 (文献 1)
LD₅₀ (ラット経口) : 727 mg/kg
遺伝毒性
Bhas42 形質転換試験 : 陽性 (H29 年度)

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、3,4-ジメチル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、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 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、コーン油に溶解した被験物質を 0 (媒体対照群)、80、250 及び 750 mg/kg/day の用量で毎日 1 回、強制経口投与し、陽性対照群には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) 陽性細胞巢の個数と面積を計測した。

4 投与量設定の理由

実験 1. 「3,4-ジメチルフェノールのラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験」(試験番号 18536)

ラットを用いた急性毒性試験において、LD₅₀ が 727 mg/kg と報告されていることから、被験物質を 0、200、300、400 及び 500 mg/kg/day の用量で 2 週間反復投与毒性試験を実施した。その結果、一般状態において被験物質投与による毒性影響がみられたものの、その他では、血液生化学的検査において軽微な影響がみられたのみであったことから、肝中期発がん性試験の用量設定試験に用いる高用量の設定には至らなかった。

実験 2. 「3,4-ジメチルフェノールのラットを用いた用量設定試験」(試験番号 18548)

実験 1. で高用量の設定ができなかったことから、追加試験として、750 及び 1000 mg/kg/day の用量で各 1 匹にそれぞれ 13 及び 2 日間反復経口投与した。750 mg/kg/day を投与した動物には投与 7 日目に肝部分切除術を行った。その結果、750 mg/kg/day を投与した動物の体重変動は、先に実施した 400 及び 500 mg/kg/day とほぼ同様であり、肝部分切除術後も生存し、剖検時にも肝臓に変化がみられなかった。また、1000 mg/kg/day を投与した動物では被験物質の毒性作用が強く、投与 2 日目に切迫屠殺した。これらの結果から、肝中期発がん性試験の用量設定試験に用いる用量としては、高用量を 900 mg/kg/day、低用量を 750 mg/kg/day に設定した。

実験 3. 「3,4-ジメチル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の用量設定試験」(試験番号：18538)

実験 1、2 の結果を受けて、0、750 及び 900 mg/kg/day の用量で肝中期発がん性試験の用量設定試験を実施した。その結果、被験物質投与群では、一般状態で被験物質投与による影響がみられ、その影響は用量に関連して程度及び頻度が増強した。さらに、肝臓の絶対重量及び相対重量の有意な高値も認められた。しかし、体重において被験物質投与による影響がみられなかったことから、900 mg/kg/day の用量は、肝中期発がん性試験(本試験)において最小限の毒性兆候を表すのに十分な用量であると考えられた。

実験 4. 「3,4-ジメチルフェノールのラットを用いた用量設定試験 2」(試験番号：18556)

上記の 3 試験では、富士フィルム和光純薬株式会社製の被験物質を用いて実施していたが、本試験では使用する被験物質の製造元が東京化成工業株式会社製に変更となったことから、製造元の違いによる毒性発現の差を確認し、本試験で用いる投与量を設定する目的で 0、600、750 及び 900 mg/kg/day の用量で東京化成工業株式会社製の被験物質を 2 週間反復経口投与した。その結果、被験物質投与群で、一般状態において被験物質投与による影響がみられ、その影響は用量に関連して程度及び頻度が増強した。また、体重では投与期間中、対照群と比較して 600

mg/kg/day より有意な低値又は低値傾向がみられた。さらに、被験物質投与群で肝臓の絶対重量の高値傾向又は有意な高値並びに相対重量の有意な高値も認められた。

以上の結果より、900 mg/kg/day では被験物質による影響が強く、本試験において DEN 投与及び肝部分切除術を実施することを考慮して、最小限の毒性兆候を表すのに十分な用量であると考えられる 750 mg/kg/day を最高用量とし、以下、公比約 3 で除した 250 mg/kg/day 及び 80 mg/kg/day に設定した。

5 結果

被験物質投与に起因した体重の変化（図 1）はみられなかった。

一般状態では、250 mg/kg/day 群において、第 26 日の投与後に 1 例のみ自発運動の低下がみられ、750 mg/kg/day 群では被験物質投与開始日（第 15 日）以降、投与後に自発運動の低下が断続的にみられた。また、被験物質投与開始後、1 週間以内に被毛の汚れ（肛門周囲）及び軟便がみられた。摂餌量では 250 mg/kg/day 群で第 7 週以降、750 mg/kg/day 群で第 5 週以降に有意な高値が認められた。肝臓重量（表 1）では、250 mg/kg/day 群において相対重量の有意な高値が、750 mg/kg/day 群においては絶対重量及び相対重量の有意な高値がみられたが、病理組織学的には被験物質投与に関連した変化は認められなかった。肝臓の GST-P 陽性細胞巢の個数及び面積の定量的解析（表 2）では、250 mg/kg/day 群において対照群との間に統計学的に有意な低値がみられたものの、用量依存性はなく、減少性の変化であることから、発がんプロモーション作用は検出されなかったと判断した。

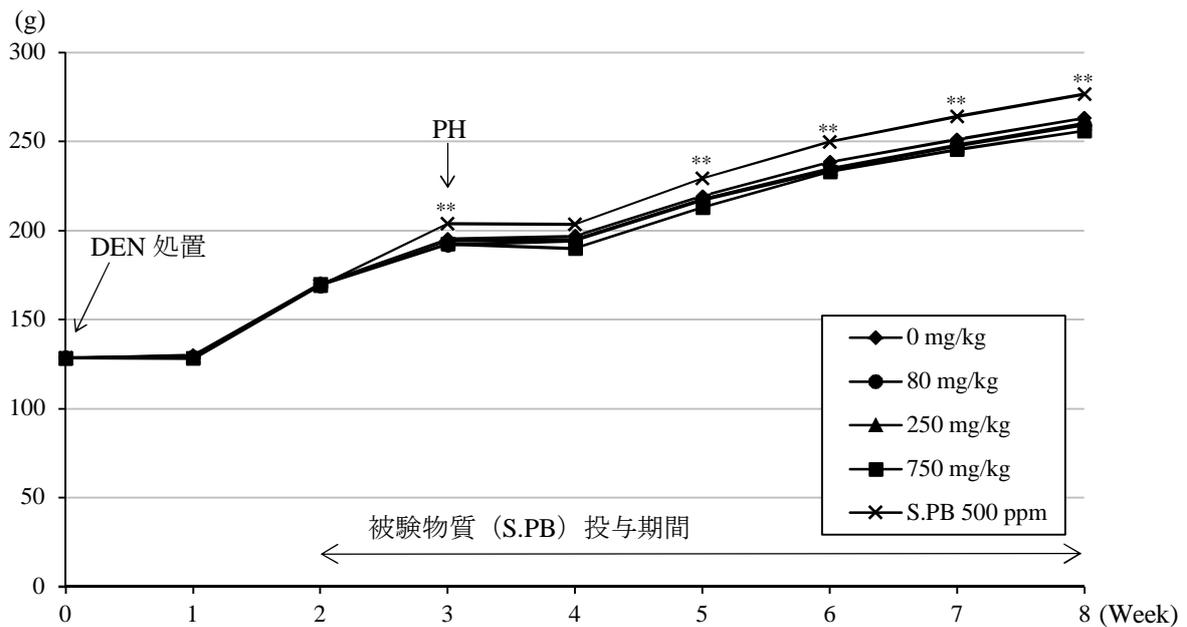
陽性対照群では、体重及び摂餌量の有意な高値、肝臓重量の有意な高値が認められ、病理組織学的検査では S.PB 投与により認められる変化が観察された。また、GST-P 陽性細胞巢は個数及び面積のいずれも統計学的に有意な高値が認められたことから、肝発がんプロモーション作用が明確に検出され、本試験の妥当性が示された。

6 結論

3,4-ジメチルフェノールは、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 3,4-ジメチルフェノール 東京化成工業株式会社、2018.



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

図 1 3,4-ジメチル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 3,4-ジメチル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)	有効 動物数	剖検日体重 ^a (g)	肝臓絶対重量 (g)	肝臓相対重量 (%)
0	20	255.0 ± 11.0	5.897 ± 0.335	2.313 ± 0.079
80	20	251.2 ± 11.5	5.784 ± 0.268	2.304 ± 0.059
250	20	251.6 ± 12.2	6.067 ± 0.329	2.413 ± 0.102*
750	20	244.4 ± 9.9*	6.831 ± 0.380**	2.795 ± 0.085*
S.P.B 500 ppm	19	260.2 ± 9.6	8.104 ± 0.377**	3.115 ± 0.103*

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

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

表 2 3,4-ジメチル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)	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	20	2.420 ± 1.051	0.254 ± 0.231
80	20	2.437 ± 1.176	0.239 ± 0.221
250	20	1.633 ± 0.767*	0.138 ± 0.070*
750	20	1.847 ± 0.692	0.170 ± 0.082
S.P.B 500 ppm	19	5.038 ± 1.445**	0.596 ± 0.234**

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