

炭酸ジフェニ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	: 炭酸ジフェニル (Diphenyl carbonate) (別名 Carbonic acid diphenyl ester)
製造元	: 東京化成工業(株)
CAS No.	: 102-09-0
ロット番号	: 66TWA
純度	: 100 %
分子量	: 214.22

1.2 物理化学的性状等

外観及び性状	: 白色結晶性粉末
融点	: 80.2 °C
水溶解性	: 不溶 (58.4mg/L, 25°C)

1.3 製造・輸入量及び用途

製造・輸入量	: 4,000-5,000 t (平成 31 年度)
用途	: 医薬・農薬原料、ポリカーボネート樹脂やフェニルエステル化の原料

1.4 有害性情報 (文献 1)

急性毒性	: LD50 : 1,500 mg/kg (ラット経口)
刺激性	: 皮膚刺激性・眼刺激性なし (ウサギ)
遺伝毒性	: エームス試験 : 陰性 チャイニーズハムスター V79 細胞染色体異常試験 : 構造異常陽性 マウスを用いた小核試験 : 陰性
細胞形質転換	: Bhas42 形質転換試験 : 陽性 (2019 年度)
特定標的臓器毒性	: ラットへの混餌による反復投与試験で肝臓重量の増加、肝細胞肥大、 卵巣への影響がみられた。

2 目的

F344/DuCr1Cr1j ラットを用いた肝中期発がん性試験（伊東法）を用いて、炭酸ジフェニ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、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 ラット（雄 6 週齢）を用いて行った。起始物質として *N*-ニトロソジエチルアミン（DEN）200 mg/kg を単回腹腔内へ投与した後、第 3 週目より 6 週間、オリブ油に懸濁させた被験物質を 0（媒体対照群）、150、300 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を 25 mg/kg の用量で、毎日 1 回強制経口投与した。DEN 処置後、第 3 週目の終わりに肝臓の 2/3 を切除する手術を行った。

動物は投与終了日の翌日に安楽死させ、肝臓の前腫瘍性病変である胎盤型 Glutathione *S*-transferase（GST-P）陽性細胞巣（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巣の数及び面積を計測した。

4 投与量設定の理由

被験物質の投与量は、以下に示す用量設定試験の結果を基に決定した。用量設定試験は、3 週間反復投与試験及び部分肝切除した動物を用いる 2 週間反復投与試験を実施した。

3 週間反復投与試験では、被験物質投与量を 0（媒体対照、オリブ油）、100、300、600 及び 1000 mg/kg に設定して、6 週齢で DEN を 200 mg/kg 腹腔内投与した雄の F344 ラットに 8 週齢から毎日、3 週間、強制経口投与し、投与終了翌日に剖検した。その結果、300 mg/kg 以上で投与後に全身の震えがみられ、投与量に対応してその程度や発症持続時間が増加し、それは投与 2 時間以内には消失、また、投与回数に対応して減少したが、3 週間の投与期間中に消失することはなかった。また、300 mg/kg 以上では投与量に対応した肝臓重量（実重量、体重比）の増加、1000 mg/kg では体重増加の軽微な抑制が認められた。なお、投与期間中に死亡した動物はなかった。

この結果を基に、部分肝切除した動物を用いる 2 週間反復投与試験を実施した。被験物質投与量は 0（媒体対照、オリブ油）、300、600 及び 1000 mg/kg 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、2 週間、強制経口投与した。その結果、300 mg/kg 以上で投与後に全身の震えがみられ、1000 mg/kg では 1 回の投与後に痙攣及び意識消失がみられた動物があり、翌朝には死亡したことから、1000 mg/kg の投与は中止した。600 mg/kg では体重増加の軽微な抑制も認められた。

以上の結果から、動物が 6 週間の投与に耐え得る最大用量として、600 mg/kg が適切であると判断し、本試験では、高用量を 600 mg/kg とし、公比 2 で除して中用量を 300 mg/kg、低用量を 150 mg/kg とした。

5 結果

投与後の振戦が 150 mg/kg 以上の群に観察され、300 mg/kg 以上の群では全動物に認められた。また、300 mg/kg 以上の群では体重増加の抑制もみられた (図 1)。肝臓、腎臓重量については、実重量の増加が 300 mg/kg 以上の群に、重量体重比の増加は 150 mg/kg 群以上の群に、投与用量に対応した変化として認められた (表 1)。病理組織学検査では肝臓、腎臓に被験物質投与による病変は観察されなかった。肝臓の GST-P 陽性細胞巢は、単位面積当たりの数、面積ともに 600 mg/kg 群に増加が認められた (表 2)。

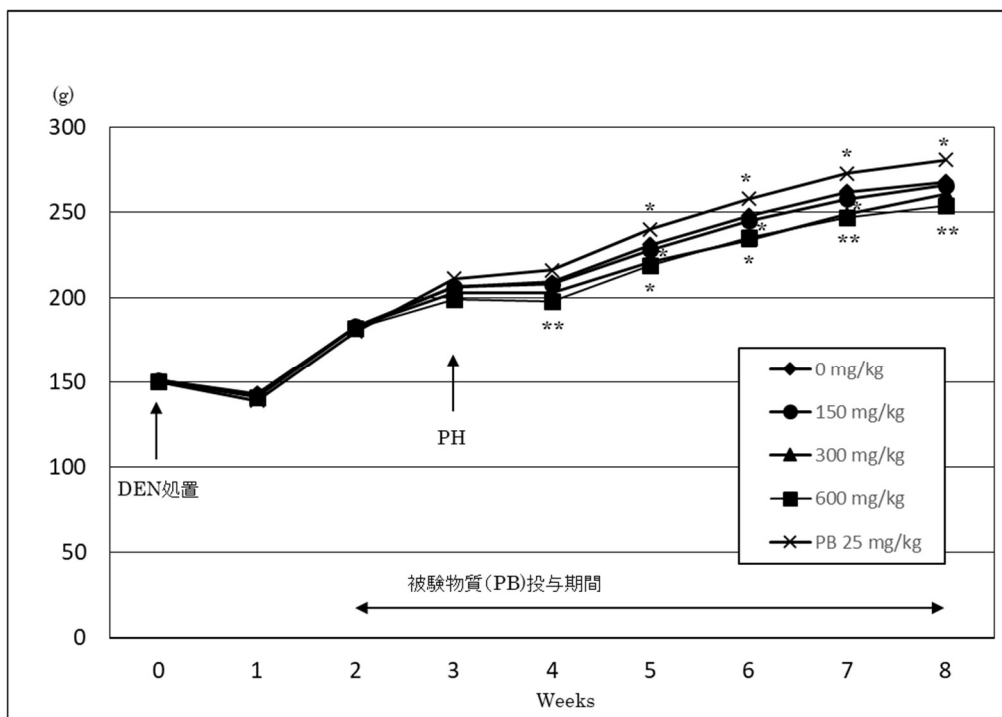
陽性対照群では、体重及び摂餌量が高値で推移し、肝臓、腎臓重量についても実重量、体重比重量ともに高値を示した。また、肝臓の GST-P 陽性細胞巢については単位面積当たりの数、面積が媒体対照群に比較して高値であったことから肝臓に対する発がんプロモーション作用は陽性であることを確認した。

6 結論

以上の結果から、炭酸ジフェニルは、本試験条件下で肝臓に対する発がんプロモーション作用を示すと結論した。

7 文献

- 1) Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) 2004 SIDS Initial Assessment Report : Diphenyl carbonate



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

図 1 炭酸ジフェニルの肝中期発がん性試験における体重推移

表 1 炭酸ジフェニ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	剖検時体重 ^a (g)	肝臓絶対重量 (g)	肝臓相対重量 (%)
0	22	251 ± 18	5.977 ± 0.576	2.379 ± 0.134
150	22	247 ± 11	6.354 ± 0.446	2.567 ± 0.115**
300	20	241 ± 14	6.677 ± 1.077*	2.775 ± 0.490**
600	21	232 ± 12**	6.945 ± 0.599**	2.993 ± 0.241**
PB 25	20	260 ± 13	8.074 ± 0.539**	3.107 ± 0.136**

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

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

表 2 炭酸ジフェニ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	22	7.369 ± 2.440	0.698 ± 0.369
150	22	7.683 ± 1.782	0.798 ± 0.292
300	19 ^{a)}	7.757 ± 1.679	0.750 ± 0.127
600	20 ^{a)}	9.514 ± 2.094**	0.861 ± 0.245*
PB 25	20	11.325 ± 2.725**	1.507 ± 0.764**

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

a) : 肝臓の細胆管の増殖が広く顕著に認められ、解析に必要な肝実質細胞領域（面積）が少ないことから、GST-P 陽性細胞巢の本解析から各 1 匹除外