

チモ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 : チモール  
Thymol  
製造元 : 東京化成工業株式会社  
CAS No. : 89-83-8  
ロット番号 : 3S4BC  
純度 : 100.0%  
分子量 : 150.2

### 1.2 物理化学的性状等 (文献 1)

外観及び性状 : 白色結晶～塊  
融点 : 50.5°C  
沸点/沸騰範囲 : 232°C  
溶解性 : 水に難溶 (900 mg/L, 20°C)

### 1.3 製造・輸入量及び用途

製造・輸入量 : 10,000 t (2017 年度)  
用途 : 殺菌剤、軟膏・貼り薬の原料、水溶性塗料・皮革塗料防腐剤

### 1.4 有害性情報

急性毒性 (文献 1)  
LD<sub>50</sub> (ラット経口投与) : 980 mg/kg

## 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、チモ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。実験開始日に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 2 週間後より 6 週間、コーン油に溶解した被験物質を 0 (媒体対照群)、200、400 及び 800 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て肝臓を摘出し、病理組織学的検査を実施すると

ともに、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

被験物質の投与量は、2週間反復投与毒性試験(株式会社 DIMS 医科学研究所、試験番号 20566)及び用量設定試験(株式会社 DIMS 医科学研究所、試験番号 20568)の結果を基に決定した。

雄 F344/DuCrIj ラットに被験物質を 0、200、300 及び 400 mg/kg/day の用量で 2 週間強制経口投与した結果、400 mg/kg/day 群において血液生化的検査及び器官重量で肝臓への毒性影響がみられたが、体重に明らかな毒性影響は認められず、毒性兆候としては弱いと考えられたことから、肝中期発がん性試験の用量設定試験に用いる用量は高用量を 800 mg/kg/day、低用量を 400 mg/kg/day に設定した。

用量設定試験では、本試験と同様に DEN 処置及び PH を実施し、被験物質を 3 週間強制経口投与した。その結果、一般状態において、被験物質投与群で歩行失調が観察され、症状は用量に依存して頻度及び程度が増強した。また、体重増加量において、被験物質投与群で有意な低値が、器官重量では、被験物質投与群で肝臓の絶対重量及び相対重量の有意な高値が認められたことから、800 mg/kg/day の用量は肝中期発がん性試験において毒性兆候を示す最小限の用量であると判断し、本試験における用量は、800 mg/kg/day を最高用量とし、以下、公比 2 で除した 400 mg/kg/day 及び 200 mg/kg/day に設定した。

#### 5 結果

被験物質による影響として、一般状態では歩行失調、自発運動の低下又は消失が被験物質投与群で観察された。200 mg/kg/day 群では肝部分切除術の影響と考えられる死亡動物が 1 例、800 mg/kg/day 群で被験物質の影響と考えられる死亡動物が 1 例みられた。

体重(図 1)では、400 及び 800 mg/kg/day 群で被験物質の影響と考えられる有意な低値が認められた。摂餌量では、被験物質投与による変化はみられなかった。

肝臓重量(表 1)では、400 及び 800 mg/kg/day 群で絶対重量、被験物質投与全群で相対重量の有意な高値がみられた。病理組織学的検査では、被験物質投与全群で肝臓の脂肪変性が、800 mg/kg/day 群で被膜の線維化及び汎小葉性の肝細胞肥大が有意に増加し、被験物質の影響と考えられた。

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、被験物質投与群において対照群と比較して同程度、あるいは低値を示したことから発がんプロモーション作用は示さないと判断した。

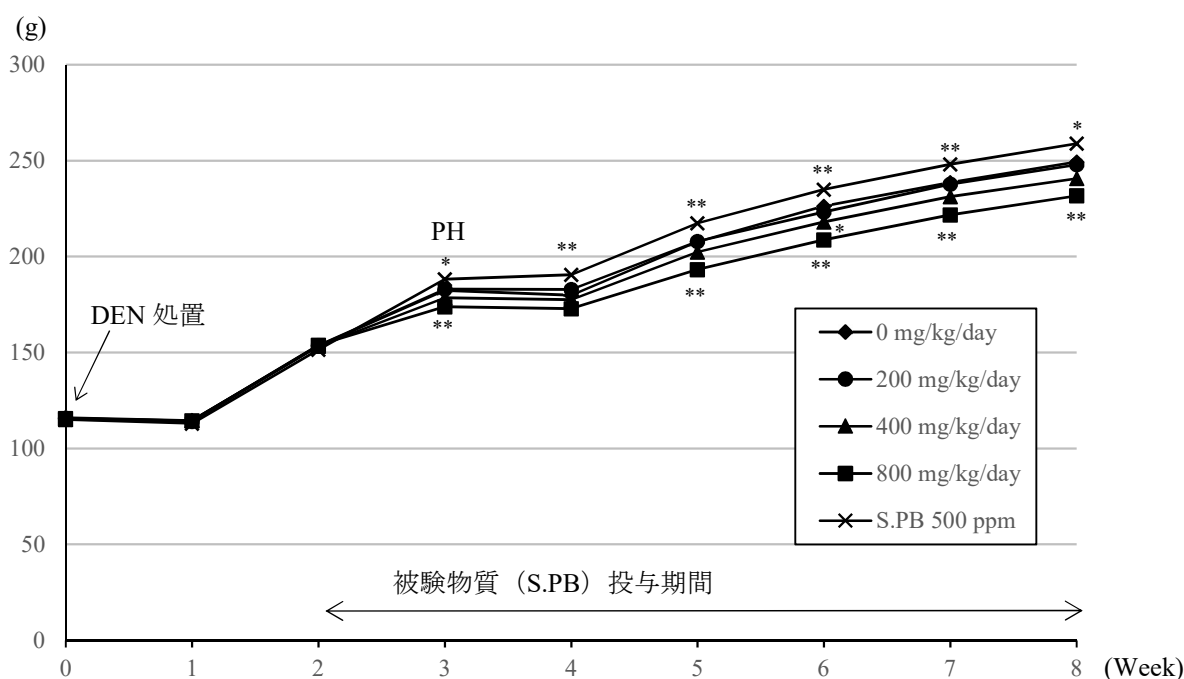
陽性対照群では、体重及び摂餌量の有意な高値、肝臓重量の有意な高値が認められ、病理組織学的検査では S.PB 投与により認められる変化が観察された。また、GST-P 陽性細胞巢は個数及び面積のいずれも統計学的に有意な高値が認められたことから、肝発がんプロモーション作用が明確に検出され、本試験の妥当性が示された。

#### 6 結論

チモールは、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 チモール 東京化成工業株式会社、2018.



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

図1 チモールの肝中期発がん性試験における体重推移

表1 チモ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 <sup>a</sup> (g)	肝臓絶対重量 (g)	肝臓相対重量 (g/100g B.W.)
0	20	238.0 ± 10.2	5.610 ± 0.332	2.356 ± 0.073
200	19	235.4 ± 8.7	5.853 ± 0.270	2.486 ± 0.064**
400	20	227.8 ± 12.3*	6.405 ± 0.468**	2.810 ± 0.105**
800	19	213.9 ± 13.3**	7.450 ± 0.511**	3.483 ± 0.113**
S.PB 500 ppm	19	243.0 ± 12.1	7.790 ± 0.565**	3.203 ± 0.103**

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

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

表2 チモ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 <sup>2</sup> )	陽性細胞巢面積 (mm <sup>2</sup> /cm <sup>2</sup> )
0	20	3.386 ± 1.065	0.344 ± 0.140
200	19	2.941 ± 1.421	0.323 ± 0.212
400	20	2.198 ± 0.687**	0.234 ± 0.087*
800	19	2.325 ± 0.572**	0.250 ± 0.119*
S.PB 500 ppm	19	4.848 ± 1.536**	0.758 ± 0.610**

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