

## 4, $\alpha$ -ジクロロトルエン (4-クロロベンジルクロリド) 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

株式会社ボゾリサーチセンター

### 1 被験物質

#### 1.1 名称等

|         |                                                                    |
|---------|--------------------------------------------------------------------|
| 名称      | : 4, $\alpha$ -ジクロロトルエン (4-クロロベンジルクロリド)<br>4-Chlorobenzyl Chloride |
| 製造元     | : 東京化成工業株式会社                                                       |
| CAS No. | : 104-83-6                                                         |
| ロット番号   | : KLD40                                                            |
| 含量      | : 100.0% (GC)                                                      |
| 分子量     | : 161.03                                                           |

#### 1.2 物理化学的性状等 (文献 1)

|        |                                |
|--------|--------------------------------|
| 外観及び性状 | : 固体 (20°C)、結晶～塊、白色～ほとんど白色     |
| 融点     | : 27°C (凝固点)                   |
| 溶解性    | : 水に不溶、エーテル、アルコール、ベンゼン、アセトンに可溶 |

#### 1.3 製造・輸入量及び用途

|        |                    |
|--------|--------------------|
| 製造・輸入量 | : 3,000 t (H26 年度) |
| 用途     | : 医薬・染料・顔料中間体      |

#### 1.4 有害性情報

ラットを用いた急性毒性試験では、経口投与における概ねの致死量は 500 mg/kg と推定されている<sup>2)</sup>。細菌を用いる復帰突然変異試験では陰性<sup>3)</sup>、ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験において陽性<sup>4)</sup>と判定されている。当該物質は「強い変異原性あり」として行政指導対象となっている既存化学物質である。

### 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、4,  $\alpha$ -ジクロロトルエン (4-クロロベンジルクロリド) 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 25 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)、15、50 及び 150 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 (PB) を 25 mg/kg 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 (以後、PH と表記) を行った。投与終了日の翌日に生存動物を剖検し、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

先に実施した F344 雄性ラットを用いた 1 週間反復経口投与による用量設定毒性試験 (株式会社ボゾリサーチセンター、試験番号 : E-Z3011、投与量 : 50、150 及び 500 mg/kg) では、500 mg/kg 投与群の 2/5 例が死亡した。しかし、50 及び 150 mg/kg 投与群では、体重、血液学検査、血液化学検査、器官重量及び剖検において明確な毒性は認められなかった。引き続き実施した部分肝切除ラットを用いた 2 週間反復経口投与による用量設定毒性試験 (株式会社ボゾリサーチセンター、試験番号 : E-Z3012、投与量 : 30、100 及び 300 mg/kg) では、300 mg/kg 投与群の 2/5 例が死亡したが、30 及び 100 mg/kg 投与群では用量を制限する重篤な毒性は認められなかった。したがって、本試験では 150 mg/kg を高用量に設定し、以下公比約 3 で除した 50 及び 15 mg/kg を中及び低用量に設定した。

#### 5 結果

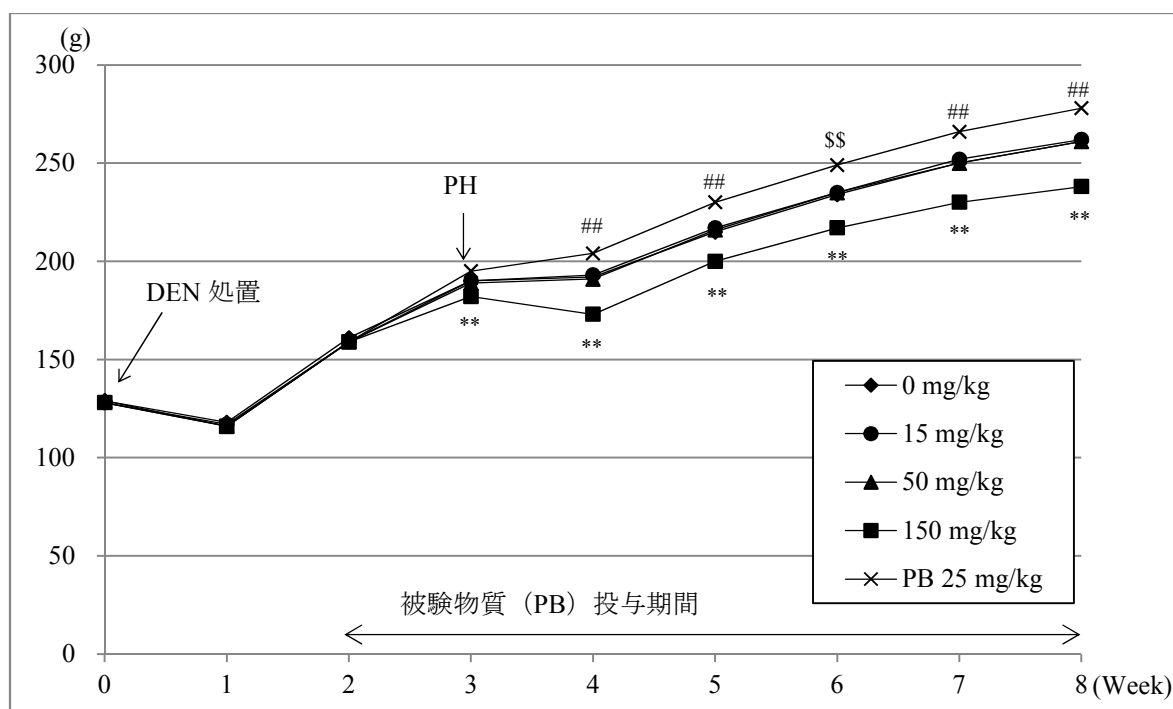
150 mg/kg 投与群では被験物質投与の影響により 4 例が死亡し、体重増加抑制 (媒体対照群の -9%、図 1) 及び摂餌量の高値が認められた。また、被験物質の肝臓への影響を示唆する変化として、50 及び 150 mg/kg 投与群で肝臓重量の増加 (表 1) 及び軽微な小葉中心性肝細胞肥大がみられた。しかし、これらの群の GST-P 陽性肝細胞巢の単位面積当たりの個数及び面積は媒体対照群と比較して統計学的に有意な低値を示し、肝発がんプロモーション作用を示唆する変化とは逆向きの変化であった (表 2)。陽性対照群では、体重及び摂餌量の増加、肝臓重量の増加、小葉中心性肝細胞肥大、肝細胞腺腫がみられた。また、GST-P 陽性肝細胞巢の単位面積当たりの個数及び面積のいずれにも統計学的に有意な高値がみられ、本試験の妥当性が示された。

#### 6 結論

以上の結果から、4,  $\alpha$ -ジクロロトルエン (4-クロロベンジルクロリド) は、本試験条件下において、肝発がんプロモーション作用を示さないと判断された。

#### 7 文献

- 1) 安全データシート 4-Chlorobenzyl Chloride 東京化成工業株式会社, 2013.
- 2)  $\alpha$ , 4-ジクロロトルエンのラットを用いる急性毒性試験 (試験番号 : 04-250-1), 最終報告書, 財団法人畜産生物科学安全研究所. (既存化学物質毒性データベース)
- 3)  $\alpha$ , 4-ジクロロトルエンの細菌を用いる復帰突然変異試験 (試験番号 : 04-250-2), 最終報告書, 財団法人畜産生物科学安全研究所. (既存化学物質毒性データベース)
- 4)  $\alpha$ , 4-ジクロロトルエンの哺乳類の培養細胞を用いる染色体異常試験 (試験番号 : 04-250-3), 最終報告書, 財団法人畜産生物科学安全研究所. (既存化学物質毒性データベース)



\*\* : Significantly different from control group at  $P \leq 0.01$  (Dunnett's test)

## : Significantly different from control group at  $P \leq 0.01$  (t-test)

\$\$ : Significantly different from control group at  $P \leq 0.01$  (Aspin-Welch's t-test)

図 1 4,  $\alpha$ -ジクロロトルエン (4-クロロベンジルクロリド) の肝中期発がん性試験における体重推移

表 1 4,  $\alpha$ -ジクロロトルエン (4-クロロベンジルクロリド) の肝中期発がん性試験における肝臓重量結果

| 投与量<br>(mg/kg/day) | 有効動物数 | 剖検前体重<br>(g)   | 肝臓絶対重量<br>(g)      | 肝臓相対重量<br>(g/100 g) |
|--------------------|-------|----------------|--------------------|---------------------|
| 0                  | 23    | 260 $\pm$ 13   | 8.38 $\pm$ 0.46    | 3.22 $\pm$ 0.12     |
| 15                 | 22    | 263 $\pm$ 14   | 8.60 $\pm$ 0.50    | 3.28 $\pm$ 0.15     |
| 50                 | 23    | 260 $\pm$ 13   | 9.00 $\pm$ 0.60**  | 3.45 $\pm$ 0.11**   |
| 150                | 21    | 237 $\pm$ 11** | 9.04 $\pm$ 0.51**  | 3.81 $\pm$ 0.15**   |
| PB 25              | 24    | 278 $\pm$ 10## | 10.19 $\pm$ 0.47## | 3.66 $\pm$ 0.11##   |

\*\* : Significantly different from control group at  $P \leq 0.01$  (Dunnett's test)

## : Significantly different from control group at  $P \leq 0.01$  (t-test)

表 2 4,  $\alpha$ -ジクロロトルエン (4-クロロベンジルクロリド) の肝中期発がん性試験における  
GST-P 陽性肝細胞巣結果

| 投与量<br>(mg/kg/day) | 有効動物数 | GST-P 陽性細胞巣                      |                                                |
|--------------------|-------|----------------------------------|------------------------------------------------|
|                    |       | 陽性細胞巣数<br>(No./cm <sup>2</sup> ) | 陽性細胞巣面積<br>(mm <sup>2</sup> /cm <sup>2</sup> ) |
| 0                  | 23    | 3.478 $\pm$ 1.497                | 0.287 $\pm$ 0.164                              |
| 15                 | 22    | 3.074 $\pm$ 1.607                | 0.264 $\pm$ 0.149                              |
| 50                 | 23    | 1.894 $\pm$ 1.054**              | 0.162 $\pm$ 0.111**                            |
| 150                | 21    | 1.668 $\pm$ 1.201**              | 0.118 $\pm$ 0.096**                            |
| PB 25              | 24    | 10.198 $\pm$ 2.293##             | 0.985 $\pm$ 0.371##                            |

\*\* : Significantly different from control group at  $P \leq 0.01$  (t-test)

## : Significantly different from control group at  $P \leq 0.01$  (Aspin-Welch's t-test)