

NTP の 2 年間吸入研究におけるラットとマウスの間の腫瘍形成および腫瘍臓器分布に関する高い不一致性

要約

米国国家毒性プログラム (NTP) は、マウスおよびラットへの単一物質または近縁物質群に関する 2 年間の吸入試験の結果を 60 件報告している。“カドミウムとカドミウム化合物” および “ディーゼル排気微粒子” については特定化合物に関する結果が得られていないので、今回の解析から除外した。3 酸化アンチモン、硫酸ニッケル 6 水和物およびリン化インジウムに関するエームス試験のデータは入手できなかった。3 酸化アンチモンについてはエームス試験の代わりにコメットアッセイを用いた。選択バイアスを避けるために、エームス試験に関するすべての陽性測定結果と NTP の 2 年間吸入試験における肺腫瘍形成率のバックグラウンド以上のあらゆる統計的に有意な増加は補正せずそのまま受け取った。NTP が吸入試験を行った 58 物質に対するマウスとラットの間肺腫瘍形成感受性に高い不一致性が存在した。また、肺以外の吸入経路における解剖学的部位の腫瘍との因果関係もマウスとラットで一致せず、例えば NTP 吸入試験で検討された 58 物質中 11 物質 (19%) はエームス試験陰性であり、マウスでのみ肺腫瘍形成を誘発した。遺伝毒性がない場合、マウスにおける肺腫瘍形成には他のメカニズム、例えば細胞障害後の修復細胞増殖が関与する可能性を示す。ある種の物質の肺以外の臓器における腫瘍形成能力はマウスとラットで一致せず、肺以外の臓器で腫瘍を形成する化合物は、それぞれ 0 物質および 16 物質であった。マウスとラットは肺における腫瘍形成および肺外臓器における腫瘍形成に関して明確に異なるパターンを示す。

イントロダクション

米国国家毒性プログラム (NTP) は米国保健福祉省の一部門である。NTP の主要な現行プログラムの 1 つは、“21 世紀の毒物学 ; 国家毒性プログラムの役割”¹ である。ウェブサイト上で、NTP はこのプログラムを以下の様に記載している。

「国家毒性プログラムの役割は、毒性学の、疾患特異的モデルのレベルを中心とした観察科学から標的特異的かつ発生メカニズムに基づいた生物学的観察の幅広い内容に着目した予測科学への、進化を支援することにある。この NTP 構想の意図する所は、環境因子の潜在的毒性に関する公衆衛生上の方針を決定する科学的基礎を拡大することである。」

NTP の採用した主な “疾患特異的モデル” の 1 つは、齧歯類における被験物質 2 年間吸入に関する生物学的試験である。

米国国立環境健康科学研究所（NIEHS）のウェブサイトには、単一物質または近縁物質群についてラットおよびマウスの両方で行なわれた 60 件の 2 年間吸入試験が掲載されている²。60 件の吸入試験のうちの 2 件は、“カドミウムとカドミウム化合物”³と“ディーゼル排気微粒子”⁴に関する研究であった。これらの研究には特定の物質に関する結果が含まれていなかったため今回の解析から除外した。今回の解析に用いた 58 件の齧歯類における 2 年間吸入試験研究は、B6C3F 系マウスで行われた。ラットに関しては 58 件中 55 件が F344/N 系ラットを用いて実施され、Trim VX および 3 酸化アンチモンの吸入試験には Wistar Han 系ラット、アリルグリシジルエーテルの吸入試験には用い Osborn Mendel 系ラットが用いられた。3 酸化アンチモン、硫酸ニッケル 6 水和物およびリン化インジウムの 3 物質に関するエームス試験のデータは入手できなかった。3 酸化アンチモンはコメットアッセイで陽性を示したので、その結果はエームス試験陽性と等価であると判断した。

良性肺腺腫が見られた大部分のマウスとラットにおいては悪性細気管支肺胞癌も検出された。齧歯類の良性肺腺腫は悪性細気管支肺胞性癌の前駆型であるため⁵、両腫瘍型は互換可能であると見做してカウントした。肺以外の解剖学的部位においては、少数ではあるが、鼻孔に腫瘍形成が認められた。本解析では鼻孔と肺は別個の器官と見做すが、この 2 つの解剖学部位間には微小解剖学的／生理学的差異があるにもかかわらず⁶、両部位における腫瘍形成性を合併して考察することもできる。

Pdf 6 ページ

NTP は、最近の発癌物質に関する以下の報告で示されているように、エームス試験の結果が発がん性物質の評価に非常に重要であると考えている¹⁰。

「Salmonella 変異原性試験による DNA 反応性は、齧歯類の複数の種／性や複数の組織部位での発癌性誘発と高度に相関する¹¹。Salmonella 変異原性試験陽性は、齧歯類における発癌性に関する最良の *in vitro* 指標であることが示されている（Salmonella 変異原性試験陽性物質の 89%は齧歯類における発癌物質である）^{12,13}。また、Salmonella 変異原性試験を含むいずれの試験も予測性の点で Salmonella 変異原性試験単独を超えることはなかった。」

本解析への選択バイアス導入を排除するため、文献で報告されたエームス試験における Salmonella 変異原性の全陽性結果と NTP の 2 年間吸入試験におけるバックグランド以上の統計学的に有意な肺腫瘍発生率の増加は補正せずそのまま受け入れた。

結果

表 1 は、2 年間吸入試験で NTP により検討されたラットおよびマウスに対する 58 物質

の比率の要約を提示する。肺腫瘍のみを誘発する物質の比率はラットで 7/58 (12.1%)、マウスで 15/58 (25.9%)であった。これらの比率の差異は、信頼度 95%で、 p 値₁ = 0.0588 (プール試験) および p 値₂ = 0.0549 (非プール試験) でほぼ有意であった。肺以外の組織でのみ腫瘍を誘発する物質の比率はラットで 34/58 (58.6%)、マウスで 10/58 (17.2%) (p 値₁ < 0.0001、 p 値₂ < 0.0001) であった。エームス試験陰性で肺腫瘍のみを誘発する物質の比率は、ラットで 3/58 (5.2%)、マウスで 11/58 (19.0%) (p 値₁ = 0.0226、 p 値₂ = 0.0198) であった。エームス試験陽性で肺以外の組織でのみ腫瘍を誘発する物質の比率は、ラットで 25/58 (43.1%)、マウスで 10/58 (17.2%) (p 値₁ = 0.0024、 p 値₂ = 0.0016) であった。エームス試験陽性で肺腫瘍のみを誘発する物質の比率は、ラットで 1/58 (1.7%)、マウスで 6/58 (10.3%) (p 値₁ = 0.0512、 p 値₂ = 0.0477) であった。エームス試験陽性で肺以外の組織でのみ腫瘍を誘発する物質の比率は、ラットで 14/58 (24.1%)、マウスで 1/58 (1.7%) (p 値₁ = 0.0003、 p 値₂ < 0.0001) であった。1種の齧歯類のみにおいて肺以外の組織でのみ腫瘍を誘発する物質の比率は、ラットで 16/58 (27.6%)、マウスで 0/58 (p 値₁ < 0.0001、 p 値₂ < 0.0001) であった。

NTP の吸入研究においてラットおよびマウスを用いて試験された 58 物質中 11 物質はエームス試験陰性でありマウスにおいてのみ肺腫瘍を誘発した (表 2)。表 2 に示した 11 物質中 10 物質 (90.9%) は水に不溶かあるいは僅かに可溶、有機溶媒可溶性であり、中程度の疎水性を有していた。これら物質の \log_{10} オクタノール - 水分配係数 (Log P) は 0.17、1.85、2.10、2.13、2.42、2.53、2.61、3.15、3.30、3.66 および 3.80 であった。これらの中程度の $\log P$ ($\log Kow$) 値は、細胞膜の脂質 2 重層透過のための最適値に近似した。これらの物質はマウス気道で過形成を誘発する。過形成は細胞増殖による細胞数の増加である¹⁶。

NTP の吸入試験においてラットおよびマウスを用いて検討された 58 物質中 3 物質はエームス試験陰性であり、ラットにおいてのみ肺腫瘍を誘発した (表 3)。これら 3 化合物は分子内に金属を含有し、水に不溶であった。実験用ラットに肺過負発生ポイントまで無機粒子を曝露した場合、良性および悪性腫瘍が発生する可能性がある。ラットでは微粒子の肺からのクリアランスは比較的速く、過剰負荷微粒子は主に肺胞中マクロファージに保持されると考えられるが、マウスでは同様の粒子過剰過負荷効果は認められない¹⁷。

NTP の吸入試験においてラットおよびマウスを用いて検討された 58 物質中 3 物質 (8.6%) はエームス試験陰性であり、ラットおよびマウスの両方において肺腫瘍を誘発した (表 4)。表 4 に示す 5 物質中 4 物質 (80%) は粉末金属であり、残りの 1 物質 (20%) である Trim VX は化学的エマルジョンを形成する水溶性オイルである。これら 5 物質は、それぞれ、肺で炎症と過形成を誘発した。表 5 には、NTP の吸入試験でラットおよびマウスを用いて検討された 58 物質中エームス試験陽性であり、ラットおよびマウスの両方で肺腫瘍を示した 9 物質 (15.5%) を示す。これら 9 物質中 3 物質 (33.3%) は金属であった。

表 6 には、NTP の研究においてラットおよびマウスを用いて行われた全試験で検討された 58 化合物中エームス試験陽性であり、マウスにおいてのみ肺腫瘍を誘発した 6 物質

(10.3%)を示す。これら6物質のすべては変異原性発現に肝臓S9分画による活性化を必要としない直接作用によってエームス試験陽性を示す変異原であった。表7は表6の結果と際立ったコントラストを示す。表7には、NTPの吸入試験で検討された58化合物中エームス試験で陽性を示しラットにおいてのみ肺腫瘍を誘発した唯一の物質(1.7%)を示した。また、本物質(2-エポキシブタン)の Mausにおける致死用量が低くこのために Mausにおける最大曝露用量はラットにおける最大曝露用量の僅か1/4であったので、この唯一の陽性結果は誤りである可能性がある。

表8に示すように、NTPの吸入試験研究で検討された58物質中22物質(37.9%)はエームス試験陰性であり、ラットおよび Mausのいずれにおいても肺腫瘍を誘発しなかった。これら22物質は肺で腫瘍性変化を示さなかったため、この一群の化合物による非腫瘍性変化には触れなかった。これら物質の多くは比較的水溶性でありそのlog P値は-2.59、-0.38、-0.34、0.055、0.28、0.46、0.58、0.77 および0.83であったが、残りの物質は極めて疎水性であった(単一化合物のlog P値、4.8 および5.04、他成分系物質のlog P値 3.16 ~ 7.06)。これら12物質のlog p値が最適細胞透過性範囲(log P値2付近)から外れていたために齧歯類の肺上皮細胞へのそれらの浸透能力が低下し、潜在的腫瘍形成能が減少したのかについては明らかではない。

表9は、NTPの吸入試験においてラットと Mausを用いて検討した結果、エームス試験陽性でありながらラットおよび Mausのいずれにおいても肺腫瘍を形成しなかった唯一の化学物質である(1/58; 1.7%)プロピレングリコールモノ-*t*-ブチルエーテルを示す。しかし、エームス試験陽性を示す利用可能な唯一のデータがラット肝臓S9分画による活性化のない条件におけるSalmonella TA97株におけるデータのみであるため、この結果には疑問の余地がある。表10にはNTPの吸入試験においてラットおよび Mausを用いて検討した58物質中エームス試験のデータが欠失していた2物質(3.4%)を示す。これらの化合物はラットおよび Mausのいずれにおいても肺腫瘍を生じなかった硫酸ニッケル6水和物、およびオス/メスのラットおよびオス/メスの Mausにおいて肺腫瘍を誘発したリン化インジウムである。

Pdf 8 ページ

表11には、58物質中ラット肺において腫瘍形成を誘発したが肺以外の組織では誘発しなかった7物質を示す。これら7物質中4物質は金属である。7物質は、テトラニトロメタン、亜硝酸イソブチル、3酸化アンチモン、5酸化バナジウム、6価クロム、Trim VX および3酸化モリブデンである。また、表11には、58物質中 Maus肺において腫瘍形成を誘発したが、肺以外の組織では誘発しなかった15物質(25.9%)をも示す。これら15物質中7物質(46.7%)は金属である。15物質は、金属コバルト、テトラニトロメタン、硫酸コバルト7水和物、亜硝酸イソブチル、3酸化アンチモン、5酸化バナジウム、6価クロム、ビス(クロロメチル)エーテル、Trim VX、酸化ニッケル、3酸化モリブデン、オゾン、塩

化ビニリデン、ナフタレンおよびジビニルベンゼン HP である。ラットにおいて肺腫瘍を誘発したが肺以外の解剖学的部位では誘発しなかった 7 物質はすべて、マウスにおいても肺腫瘍を誘発した。

さらに表 11 には、吸入試験によって検討された 58 物質のうち 34 物質がラットにおいて肺以外の解剖学的部位における腫瘍形成を誘発したが肺では誘発しなかったことが示されている。これら 34 物質には金属は含まれていなかった。これら 34 物質は 1,3-ブタジエン、トリクロロエチレン、クメン、ジクロロメタン、イソプレン、ニトロメタン、クロロプレン、1,2-ジブromo-3-クロロプロパン、ニトロベンゼン、塩化エチル、ナフタレン、エチルベンゼン、CIMSTAR、ジビニルベンゼン HP、アリルグリシジルエーテル、プロピレングリコール モノ-*t*-ブチルエーテル、テトラリン、プロパルギルアルコール、 α -メチルスチレン、メチルイソブチルケトン、Standard Solvent IIC、デカリン、イソブテン、2-ブトキシエタノール、フルフリルアルコール、テトラヒドロフラン、テトラフルオロエチレン、アセトニトリル、ヘキサクロシクロペンタジエン、2-クロロアセトフェノン、テトラクロルエチレンおよび酸化プロピレンである。

ラットの結果とは対照的に、マウスでは吸入試験によって検討された 58 物質中 10 物質のみが肺以外の解剖学的部位における腫瘍形成を誘発したが肺では誘発しなかった。これら 10 物質はプロピレングリコール モノ-*t*-ブチルエーテル、プロパルギルアルコール、メチルイソブチルケトン、Standard Solvent IIC、デカリン、フルフリルアルコール、テトラヒドロフラン、テトラフルオロエチレン、テトラクロルエチレンと酸化プロピレンである。マウスにおいて肺腫瘍を引き起こさず、肺以外の解剖学的部位で腫瘍を生じるこれら 10 物質はすべて、ラットにおいても同じ腫瘍形成パターンを示した。

表 11 に示すように、データが利用可能な 58 物質のそれぞれについて、ラットおよびマウスの肺における潜在的肺腫瘍誘発能を降順に格付けした。齧歯類の肺腫瘍形成能の最上位 3 物質中 2 物質は金属であった。齧歯類の肺への肺腫瘍形成能の第 2 位に位置する化合物は金属であった。齧歯類の肺への肺腫瘍形成能の第 3 位に位置する 2 物質中 1 物質は金属であった。さらに、齧歯類の肺への肺腫瘍形成能の第 4 位に位置する化合物も金属であった。従って、ラットとマウスの肺での腫瘍形成能が最も強い 7 物質中 5 物質は金属であった。

表 11 では、吸入経路で検討された 58 物質のそれぞれについて肺以外の臓器部位における腫瘍誘発に関するラットとマウス間での一貫性についても比較している。58 物質中 26 物質 (44.8%) はラットおよびマウスの肺以外の組織において異なったタイプの腫瘍形成を誘発した。すなわち吸入経路で検討した場合、26 物質の肺以外の組織における腫瘍形成能はラットとマウスの間で一致した。ここで、表 11 の通常でない結果を以下に述べる。58 物質中 16 物質 (27.6%) はラットにおいて肺以外の組織における腫瘍形成を誘発したが、マウスでは同様の方法で検討したにも関わらず、肺以外の組織で腫瘍形成を誘発しなかった。これとは対照的に、マウスでは肺以外の組織で腫瘍形成を誘発したがラットでは同様

の部位で腫瘍形成を誘発しなかった物質はなかった (0/58)。

マウスにおいて肺では陰性であるが、他の部位では陽性である 10 物質はすべてラットにおいて肺では陰性であるが他の部位で陽性である 34 物質の中に含まれていた。

表 11 には、ラットおよびマウスのいずれにおいても肺および他の解剖学的部位のいずれにおいても腫瘍形成を誘発しなかった 7 物質 (7/58; 12.1%) が示されている。これら 7 種の完全陰性物質は、ジエチルアミン、イソブチルアルデヒド、*t*-塩酸エピネフリン、CS₂ (94% *o*-クロロベンジリデンマロノニトリル)、トルエン、メチルメタクリレートおよび硫酸ニッケル 6 水和物である。7 物質中硫酸ニッケル 6 水和物を除く 6 物質のエームス試験データが入手可能であり、6 物質すべてエームス試験陰性であった。

表 11 に示すように、リン化インジウムはメス/オスのラットおよびメス/オスのマウスで肺腫瘍を誘発し、ラットおよびマウスの両方において他の解剖学的部位で腫瘍形成を示した唯一の化合物であった。したがって、本物質は NTP による吸入試験研究を通してこれまでに検討された 58 物質中で齧歯類肺に対する最も明確な腫瘍原性物質と位置づけられる。

結論

NTP の吸入試験研究で検討した 58 物質に対する肺腫瘍形成感受性にはラットとマウスの間に高度な不一致性が存在する。吸入経路を介した肺以外の解剖学的部位の腫瘍の因果関係も、ラットとマウスで一致していなかった。2年間吸入試験の結果におけるこの不一致性の高さはラットとマウスの肺腫瘍形成には異なる発癌機序が多少なりとも関与する可能性を示唆している。2年間吸入試験の結果がラットとマウスで一致して陽性である場合、当該物質はヒトへのリスク評価に特別な懸念を与える可能性がある。