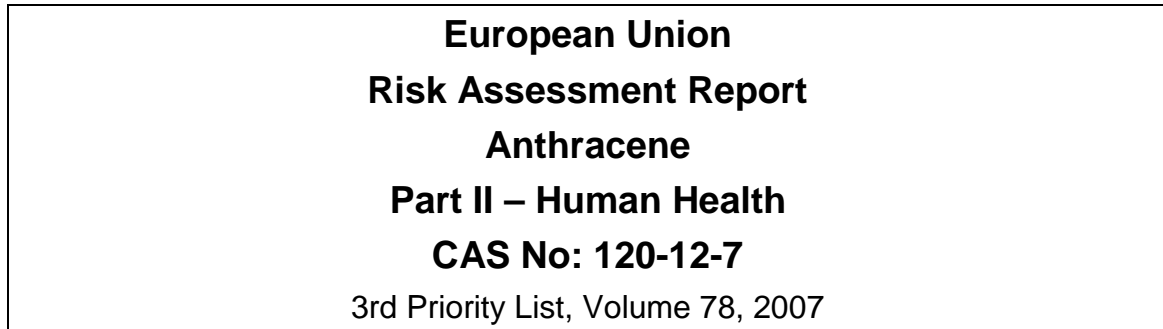
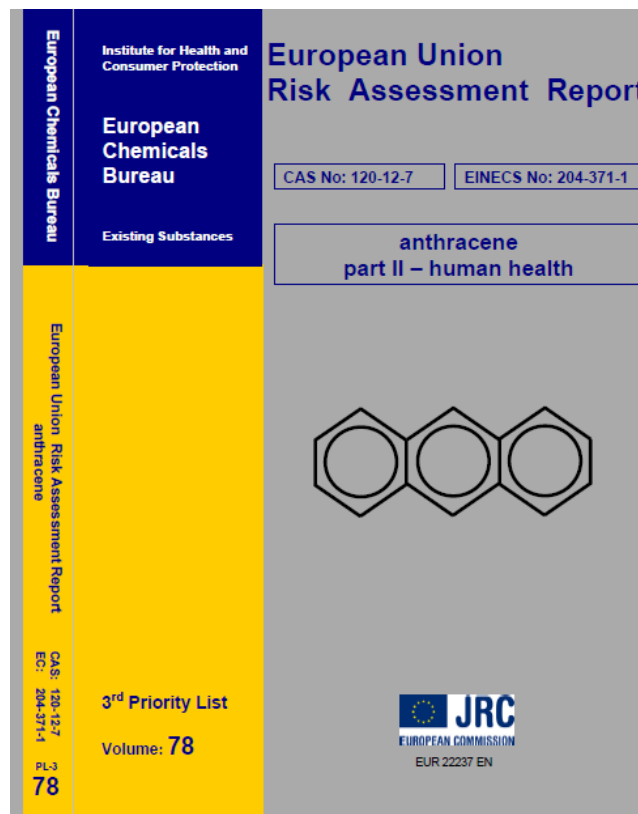


部分翻訳



欧州連合  
リスク評価書 (Volume 78, 2007)  
アントラセン  
第2部 ヒト健康



国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部

2009年8月

本部分訳文書は、Anthracene, CAS No: 120-12-7)に関する EU Risk Assessment Report, Part II Human Health (Vol. 78, 2007)の第4章「ヒト健康」のうち、第4.1.2項「影響評価：有害性の特定および用量反応関係」を翻訳したものである。原文（評価書全文）は、[http://ecb.jrc.ec.europa.eu/DOCUMENTS/Existing-Chemicals/RISK\\_ASSESSMENT/REPORT/anthraceneHHreport316.pdf](http://ecb.jrc.ec.europa.eu/DOCUMENTS/Existing-Chemicals/RISK_ASSESSMENT/REPORT/anthraceneHHreport316.pdf)を参照のこと。

#### 4.1.2 影響評価：有害性の特定および用量反応関係

アントラセンは、強力な遺伝毒性およびがん原性物質が多く含まれる化合物群である（同素環）多環芳香族炭化水素（PAH）類に属する（IPCS, 1998）。PAHの毒性試験のほとんどはアントラセン以外の化合物を用いて実施されており、PAHは一般に肺、胃腸管および皮膚から吸収されることが示されている。いずれの経路からも、一度吸収されると体内に広く分布し、ほぼすべての内臓、特に脂質の多い内臓で検出される。胎盤を通過することがあり、胎児組織中に検出されている。

PAHの代謝は複雑である。主に中間体エポキシド類を経てフェノール類、ジオール類およびテトロール類へ変換し、その後第2段階の抱合体（硫酸エステル類またはグルクロン酸エステル類、若しくはグルタチオンエステル類）を形成することがある。代謝物およびその抱合体は尿および糞便中に排泄されるが、胆汁に排泄された抱合体は、腸内菌叢の酵素により加水分解された後に再吸収されることがある。PAHの吸入または気管内注入後、代謝物の大部分が糞便中から回収されたことから、経肺吸収に続く肝胆道の再循環が示唆された。PAHは体内に残留せず、その代謝回転は急速である（IPCS, 1998）。

PAHの遺伝毒性およびがん原性の分子的基盤については広範に検討されており、ベイ領域ジオールエポキシドへの代謝能は重要な構造的特徴であると考えられる。この点から、アントラセン分子にベイ領域がないのは注目に値する。

##### 4.1.2.1 トキシコキネティクス、分布および代謝

アントラセンは感光性物質であり、実験では遮光下で取り扱う必要がある。報告されている多くの試験では、適切な措置が講じられていたかどうかは明確にされていない。取るべき措置が把握されたものについて、以下に記載する。

###### 4.1.2.1.1 動物における試験

## In vivo 試験

### 吸入投与

吸入曝露によるアントラセンの吸収、代謝または排泄についての情報は得られていない。しかし、他の多環芳香族炭化水素から得られたデータに基づき、吸入によるアントラセン摂取および分布の程度および速度が、その物理的性状、すなわち、蒸気、エアロゾルまたは微粒子であるかどうか、あるいは固形粒子に吸着されるかどうかにより有意に影響されることが予想される。(IPCS, 1998 ; Montizaan et al., 1989)。微粒子または微粒子結合(半減期までの経過日数)の場合、蒸気または溶解形態(通常半減期までの経過時間数)よりもPAHの肺クリアランスが有意に緩慢であり、粒子径およびPAH対担体重量比に依存する。微粒子または粒子結合PAHが肺へ侵入する程度は、粒子径に依存する。空気力学的直径10~20 μm以上の吸入粒子は、鼻咽頭および肺の気管気管支部分で遮断される可能性があるが、<2.5 μmの粒子は吸入することができ、肺胞に到達することがある。粘液線毛系は、さまざまな粒子の大きさにより、クリアランスにさまざまな程度に寄与する可能性があり、次にこれが微粒子吸着PAHの溶出および吸収の程度に影響を及ぼす。環境大気中に認められる粒子結合PAHでは、肺による全吸収率は、約20%と推定された(Montizaan et al., 1989)。その他の環境(アントラセン製造および取り扱いを行う工場等)での吸収率は、PAH微粒子の粒度分布に依存すると思われるが、それについての情報は得られていない。

ラットを用いて気管内注入後のアントラセン肺クリアランス動態を検討した(Bond et al., 1985)。雌F344/Crlラット24匹に対し、9-<sup>14</sup>C-アントラセン(0.9%生理食塩水中でDMSOを10%に希釈調整した溶媒250μLに懸濁)1 nmole(178 ng, 約1.2 ng/kg)を単回気管内注入し、3例ずつ1、3、12、24、48、72および96時間後に屠殺した。肺を可溶化し、含有放射エネルギーをシンチレーション計測法により測定した。ほとんどの放射能(99.7%)は非常に急速に消失したが(1時間未満)、残りの0.3%は極めて緩徐に消失した(半減期は25.6時間)。粘液線毛クリアランスであることが、第一相の極度に急速な消失に寄与したかどうかは明らかになっていない。他のPAHを用いた同じ試験では、定性的に類似した測定図が報告されており、他のPAH(ベンゾ[a]ピレン等)について概ね同様の所見(気管内注入または吸入後の二相性およびかなりの肺クリアランス)も得られたことを注記する(Weyand and Bevan, 1986 ; Mitchell, 1982 ; Montizaan らによるレビュー, 1989)。しかし、Bondら(1985)の試験データからは、肺から消失した物質が残らず体内に吸収されたのかどうか、吸入または異なる用量の投与後にも同じ動態のままであるのか等の重要な問いに対する明確な答えは得られていない。

### 経口投与

胃腸上皮によるアントラセン実質吸収量は、推定に必要な情報が欠如している。以前に、雄白色ラットを用いて実施された試験では、各群 4 例にアントラセン 0.2%または 1%を添加した飼料を 1 日 2 回、各 1 時間給餌し（総摂取量 270~830 mg；約 1-3 mg/kg）、その後 2 日間糞便を採取した（Chang, 1943）。エーテル抽出、アルコール性水酸化カリウムによる鹼化、および水による鹼化物質の析出に基づく糞便の重量分析から、それぞれ投与量の 53% および 83%に相当する量の鹼化可能物質（著者は未変化アントラセンに相当するものと解釈）がこの経路により排泄されたことが示された。同試験に関連して、アントラセン 100 mg の水性デンプン懸濁液を雄白色ラット 2 匹に強制経口投与した。その後 3 日間に各動物から採取された糞便中の“未変化アントラセン”は、投与量の 64%または 74%に相当する量であった。この試験で報告された陽性および陰性対照の結果から、使用用量では、糞便中から検出された物質が実際に投与に関連したものであったことが示された。しかし、分析法が（現代の標準からすると）稚拙であることから、経口摂取による胃腸管からのアントラセン実質吸収については、50%を超えないとする示唆以外に結論を得ることは不可能である。

水溶解度が低いため、PAH が物理的に胃腸管粘膜表面に吸着することがある。この理由から（アントラセン以外の PAH(主にベンゾ[a]ピレン)を用いた試験により示された通り）、吸収量、ひいては組織中濃度は、用量に指数関数的に増大する傾向にある（IPCS, 1998；Montizaan, 1989）。同じ理由から、PAH の体内吸収が胆汁により助長される可能性がある。経口摂取によるアントラセンの腸管吸収における胆汁の役割を検討するため、胆管カテーテルおよび十二指腸カテーテルを用いて、覚醒ラットに同位体で標識したアントラセン（コーンオイル 0.2 mL 中 1 mg、3.7 mg/kg に相当）を投与し、胆汁および尿中放射能の回収量を測定した（Rahman et al., 1986）。動物の 1 群に十二指腸カテーテルを介してアントラセン溶液のみを投与し、一方、別の 1 群には胆汁 0.5 mg と混和したアントラセン溶液を投与し、さらに 1 時間間隔で胆汁 0.5 mL を 8 回投与して胆汁の正常な流れを再現した。その後、24 時間にわたり胆汁および尿検体を採取し、標識放射能の回収量を吸収効率の指標として測定した。胆汁の有無にかかわらず、吸収された放射能の約 3 分の 2 が胆汁中に、3 分の 1 が尿中に認められた。胆汁存在下における累積回収率は、投与量の 75.55% であり、胆汁非存在下では若干低かった（53.65%）。これはアントラセンの比較的低い水溶性に起因する所見であり、胆汁を介したミセル可溶化が取り込み過程を容易にすることを示唆している。この試験から、胆汁流が正常なラットでは、経口投与されたアントラセンの 75%以上が最初にラット胃腸管から 24 時間で吸収されることが明らかであるが、胆汁分泌物中の未代謝アントラセン量に関する情報はなく、アントラセンの腸を介した実質体内吸収の推定は不可能である。しかし、この試験結果は、実質吸収は 50%未満とする Chang による試験結果（1943）と矛盾するものではない。初期のアントラセンの代謝試験では、アントラセン 4%を添加した飼料を給与したラット尿中に、(-) -1,2-ジヒドロキシ-1,2-ジヒドロアントラセンが認められた（Boyland and Levi, 1935；1936a；1936b）。主要代謝物として遊離 1,2-ジヒ

ドロジオールが認められ、このほかにグルクロン酸エステル並びに1-アントリルメルカプツール酸が検出された。同様に投与されたウサギでは、主にグルクロン酸エステルの(+)-立体異性体が尿中排泄された。

さらに最近の詳細な試験では、Chester Beatty ラット雄 24 匹に、アントラセン 5% 添加飼料を 3 週間投与した (Sims, 1964)。尿中代謝物検査では、アントラセンが 1,2-ジヒドロキシアントラセンおよび trans-1,2-ジヒドロ-1,2-ジヒドロキシアントラセンに転換され、主に硫酸およびグルクロン酸抱合体として排泄された。このほか 1 および 2 位におけるアントラセンの代謝産物が、N-アセチル-S- (1,2-ジヒドロ-2-ヒドロキシ-1-アントリル) シス테인 (グルタチオン抱合生成物) であり、尿中からも検出された。アントラセンは、trans-9,10-ジヒドロ-9,10-ジヒドロキシ-アントラセン、並びにその代謝物である 2-ヒドロキシ-9,10-アントラキノン、アントロンの検出、さらに 9-ヒドロキシ-, 9,10-ジヒドロキシ-および 2,9,10-トリヒドロキシアントラセンの抱合体の検出が示すように、9-および 10-位においても代謝されると考えられる。ラット肝ミクロソームを用いたアントラセンの *in vitro* 代謝により、主として trans-1,2-ジヒドロキシ-1,2-ジヒドロアントラセンの形成が引き起こされたが、9,10-位における代謝物は形成されなかったことから、9,10-位における代謝物が非肝由来である可能性が示唆された (Akhtar et al., 1979)。

### 経皮投与

55 日齢の Strong/A 系マウスを用いてアントラセンの皮膚吸収率を検討した (Bock and Burnham, 1961)。ベンゼンと鉱油との 99 : 1 混合液で 1% アントラセン溶液を調製し、約 6 cm<sup>2</sup> の皮膚を剃毛した部位に 0.25 mL を塗布した。推定用量はおおよそ 400 μg/cm<sup>2</sup> であった。10 分～4 時間後に動物を屠殺し、塗布部をベンゼンで洗浄した。皮膚片の切除、ホモジナイズ処理、ベンゼンによる抽出および分光蛍光法による抽出物分析を実施した (アントラセンの光分解予防措置についての情報は得られていない)。皮膚のアントラセン濃度は急速に増大して約 1 時間後に最大値 (10～15 μg/g 皮膚湿重量、塗布用量の約 0.2～0.3%) に達し、塗布後最大 4 時間はほぼ変化がみられなかった (この時点以後の測定値は報告されていない)。この定常濃度には動物の性別による有意な影響はみられなかった。有効な脱脂剤であるベンゼンを溶媒として用いることで吸収動態に影響を及ぼす可能性があることが指摘されている。

アントラセンの皮膚吸収についても、雌 Sprague-Dawley ラットを用いて、ヘキサンとアセトンとの 1 : 7 混合液 71 μL に溶解させた <sup>14</sup>C-アントラセン (14.2 μg、9.3 μg/cm<sup>2</sup>) を、皮膚に単回局所塗布して検討した。塗布直後に溶媒を気流により取り除き (<sup>14</sup>C-アントラセンの光分解予防措置についての情報は得られていない) (Yang et al., 1986)、糞尿を毎日採取した。6 日間にわたり塗布した放射能の累積回収率は、尿中から 29.1%、糞便中から 21.9%

であり、一方、期間終了時に屠殺した動物から採取した組織（主に肝臓および腎臓）中から 1.3%回収された。吸収は最初の 24 時間に最も速く（20.1%）、上述の通り、6 日目で 52.3%に達し、速度は大きく低下したものの、上昇を続けた。この測定図は、前項に示した Bock と Burnham（1961）の試験における所見と一致するものであり、アントラセンの組織中濃度の増加の初速度が 0.2%~0.3%/時間であったことに基づけば、5~10 日間で 50%吸収されることを示している。

Yang らの試験（1986）では、比較的低用量において、ラット皮膚吸収率は 1 時間で約 1%であることが示された。同報告では、*in vitro* 系を用いた場合、初期吸収速度は約 2 倍であるものの、6 日後の累積皮膚吸収率はほぼ同じであった（55.9%）ことが報告されている：350  $\mu\text{m}$  の厚さのラット皮膚切片に、*in vivo* 試験と同濃度（9.3  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ）の  $^{14}\text{C}$ -アントラセンを塗布し、放射能の浸透に関し、皮膚およびフランツ型拡散セルのレセプター液への動態を測定した。

Van Rooij ら（1995）は、分離したブタ血液灌流耳組織を用いて、コールドタル状の PAH 類を塗布し、皮膚浸透を検討した。この試験系は、ブタとヒトの皮膚の形態および機能が類似しており、ブタ皮膚の経皮吸収率がヒト皮膚と同等であることがわかっていることから、経皮吸収試験に有用なモデルと考えられる。アントラセン 3.7%含有コールドタル（PAH にはこのほか、フェナントレン、フルオランテン、フルオレンおよびピレンが濃度 6.8~2.1%、さらに質量の大きな各種 PAH が濃度 1%以下で含有した）を、11  $\text{mg}/\text{cm}^2$ （アントラセン 407  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  に相当）の用量で、ブタ耳の表面 24  $\text{cm}^2$  に塗布した。後者は血液で 250 分間灌流し、各種 PAH の血液中濃度を一定間隔で測定した。アントラセンの平均吸収率は 1 時間あたり 19.6  $\text{ng}/\text{cm}^2$  であり、1 時間あたりの投与量の 0.005%に相当する。この速度は、前述の *in vivo* および *in vitro* ラット試験で報告された速度よりはるかに遅い。この差異は、主として、van Rooij の試験（1995）で用いられたのが大幅に高用量であったことに起因する可能性があり、200 分後にも、各 PAH の 0.2%以下が吸収された。さらに、錯体混合液を用いる 1 種類の PAH の塗布により、皮膚滞留時間が有意に増加することが知られている（Dankovich et al., 1989）。このため、本試験の結果をアントラセン皮膚吸収の速度または程度の絶対値を推定するのに用いることはできない。

Sartorelli ら（1999）は、サル（*Cercopithecus aetiops*）全層皮膚により、*in vitro* 静的拡散セルおよび生理食塩水を用い、硫酸ゲンタマイシンおよび 4%ウシ血清アルブミンをレセプター液として、アントラセンを含む各種 PAH の吸収動態を検討した。アントラセンを 15.1  $\text{nmol}/\text{cm}^2$ （2.7  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ）の用量で、潤滑油に懸濁またはアセトン 30  $\mu\text{L}$  に溶解した 13 種の PAH 混合物の一部として塗布した。後者では、溶媒の蒸発後、人工汗数滴を皮膚表面の残留物に塗布した。化学物質の光分解予防措置についての情報は得られていない。人工汗の

存在下では、アントラセン吸収率は1時間あたりの投与量の0.35%に相当する定常状態に到達した一方、潤滑油を使用した場合約4倍遅かった。

### その他の投与経路

アントラセン（ゴマ油 200  $\mu\text{L}$  中 0.4  $\mu\text{mol}$ 。約 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  に相当）を皮下注射により雄 Sprague-Dawley ラットに投与した (Myers et al., 1988)。動物は 24 時間後に屠殺し、アントラセンに接触した組織を採取して有機溶媒で抽出し、HPLC を用いて分析した。検出された代謝物は、9-ホルミルアントラセン、9-メチルアントラセン、9-ヒドロキシメチル-10-メチルアントラセン、9-ヒドロキシメチル-アントラセン、9,10-ジメチル-アントラセン、および 9,10-ジヒドロキシメチル-アントラセン等であった。以上の代謝物検出は、アントラセンの 9 および 10 位のメチル化につながる経路過程およびそれに続く酸化代謝を示している。同じ代謝物が、S-アデノシルメチオニン添加ラット肝サイトゾルを用いたアントラセンの *in vitro* インキュベーション（光分解予防措置を実施）後に認められた。9,10-ジメチルアントラセンの発癌イニシエーション活性が微弱であること (LaVoie et al., 1985) から見て、この型のバイオメチル化経路（経口投与後の報告はなし）が、アントラセンの皮下投与による局所肉腫誘発に寄与している可能性が示唆された。

弱酸加水分解後、アントラセンのコロイド懸濁液 0.5 mg を静脈内投与したマウス（A 系）の十二指腸および腸の水溶性抽出物だけでなく、胆汁中にも、1-アントリルグルクロン酸およびアントラセン遊離体が検出されたことにより、肝胆道の再循環が明らかにされた (Harper, 1959)。この所見から、2-ヒドロキシ-1,2-ジヒドロ-1-アントリルグルクロン酸はアントラセンの代謝過程で形成されると結論した。

### In vitro 試験

*In vitro* 試験 2 件についてはすでに記載した。ラット肝ミクロソームによるアントラセンの *in vitro* 代謝により、主に trans-1,2-ジヒドロキシ-1,2-ジヒドロアントラセンが形成され、9,10-位における代謝の痕跡はほとんどみられなかった (Akhtar et al., 1979)。ラット肝由来精製チトクロム P450 を用いてアントラセンをインキュベートしたところ、中間体 1,2-エポキシドが *in vitro* で形成されたことが van Blanderen らにより明らかにされた (1985)。一方、S-アデノシルメチオニン添加ラット肝サイトゾル（ミクロソーム沈降後上清）を用いて *in vitro* で代謝させると、9 および 10 位におけるメチル化から生じる代謝物だけでなく、さらに酸化が進んだ代謝産物が得られ (Myers et al., 1988)、同じ代謝物が皮膚塗布後にも認められた。

New Zealand 白色ウサギの肝臓および皮膚由来マイクロソームを用いて、アントラセンを *in vitro* で代謝させたところ、ラットマイクロソームにも認められる 1,2-ジヒドロジオールが主として得られた (Hall and Grover, 1987)。

#### 4.1.2.1.2 ヒトにおける試験

##### *In vivo* 試験

皮膚疾患を有さない健常成人ボランティア 5 名の皮膚に、アントラセン 190 mg/L を含有するワセリンの 2%粗コールタール溶液を塗布した (Storer et al., 1984)。全体で、85 g の溶液を 8 時間にわたり塗布しておき、これを連続 2 日間実施した。ボランティア 5 名中 4 名においては、2 回目の塗布終了後に血液を採取し、ガスクロマトグラフィおよびマススペクトロメトリーで処理したところ、有機抽出液からアントラセン吸収の痕跡が認められた。この血中濃度は 0.08~0.47 µg/L であった。

#### 4.1.2.1.3 要約

ボランティアを対象にした限定的な試験から、アントラセンはヒト皮膚に浸透することがわかっているが、経皮塗布したアントラセンがヒトの体内に吸収される割合を定量的に推定することはできないことが示されている。ヒトの胃腸管または肺呼吸系を介したアントラセンの吸収についての情報は得られていない。

ラットを用いた *in vivo* 試験およびラット皮膚、サル皮膚を用いた *in vitro* 試験から、数µg~数百µg/cm<sup>2</sup>の用量では、アントラセンの経皮吸収が、塗布用量の 0.3%~1%/時間の速度で起こることが示唆される。

経口投与されたアントラセンの 75%以上は、24 時間以内にラットの胃腸管に吸収されるものの、得られているデータからは経口摂取後の実質吸収は推定できない。以前に実施した試験データから、ラットの実質消化管吸収は 50%以下であると示唆される。

ラットへの気管内注入データから、肺クリアランスは 1 時間以内に実質的に 100%に達すると思われる。吸入後のアントラセン体内吸収量に関する情報は得られていない。物理的形状 (微粒子、エアロゾル) および粒子径は、そのような吸収の速度および程度の重要な決定因子であると考えられる。

尿中代謝物の分析並びに *in vitro* 試験から、経口摂取後のアントラセンの代謝は、最初に 1,2 位におけるエポキシ化を介して進行し、続いて 1,2-ジヒドロジオールに加水分解され、さらに、主としてグルクロン酸抱合体または硫酸抱合体へと代謝されるものと思われる。少な



くともラット皮膚には、さらに続く代謝経路を示す証拠もあり、9,10位におけるアントラセンのメチル化および酸化へとつながっている。アントラセン代謝物が胆汁および糞便中から検出されるとする証拠はあるものの、その代謝物の量および性質についての情報は得られていない。

結論として、これまでの試験からは、吸入または経皮暴露による体内吸収の程度や胃腸管における代謝物濃度および性質等、アントラセンの吸収、分布および代謝に関する重要な疑問が解決されないままである。他の PAH についてのデータから、通常 PAH は体内に残留しないことが示唆されるものの (IPCS, 1998)、アントラセンの log Pow が中等度であり水溶性が低いことを考慮すると、脂質の多い哺乳類組織に蓄積する可能性があることも、検討されるべきである。

#### 4.1.2.2 急性毒性

##### 4.1.2.2.1 動物における試験

###### 吸入投与

動物への吸入後のアントラセンの急性毒性に関する情報は得られていない。

###### 経口投与

各群雌雄各 5 匹の Wistar ラットに、アントラセン (0.5%カルボキシメチルセルロース溶液に 40%を懸濁) を 16 g/kg の用量で胃内投与した。14 日間の観察期間後に死亡はみられず、LD<sub>50</sub> は >16 g/kg であることが示された (Grote, 1979a)。毒性作用として、疲労無力状態、腎臓、肝臓、心臓および肺の充血、肝臓における脂質の変化並びに白血球増加等が認められた。アントラセンを 17 g/kg の用量でマウス (系統不明) に投与した場合に、ほぼ同じ結果が報告された (Nagorny and Rodionov, 1969)。

別の試験において、雄 Wistar 系ラット各群 5 匹にアントラセンを 5.0、10.0 および 20.0 g/kg 体重の用量で単回強制経口投与した (Mellon Institute, 1977)。投与後 14 日以内に、10.0 g/kg 投与群の 4 例および 20.0 g/kg 投与群の全例の死亡が認められた (5.0 g/kg 投与群では毒性症状は報告されなかった)。LD<sub>50</sub> は、8.12 g/kg 体重 (95%信頼区間: 5.90~11.2) と算定された。所見として、立毛、不活発、平伏、呼吸促迫および眼出血 (bloody eye) 等が認められた。肉眼的剖検により、肺の出血が認められた。隆起状腺房および白色熱傷部 (burned white color) を伴った斑状肝臓; 脾臓および腎臓に斑状の淡色部; 腎臓および副腎にうっ血; 膨張し化学物質で満たされくすんだ胃; 淡紅色の幽門; および腸の膨張、薄化、ガス充填、黄変。

### 経皮投与

各種化合物のマウス皮脂腺抑制能を、皮膚がん原性の指標として検討した初期の試験では、アントラセンが陰性であると報告された (Bock and Mund, 1958)。

剃毛した Wistar ラット (雌雄各 5 匹) の皮膚に、アントラセン (高純度 'Anthrazen reinst', ポリエチレングリコール中に 0.4 g/mL で溶解) を 1,320 mg/kg の用量で、24 時間の閉塞パッチ法により単回塗布し、14 日間観察した。死亡は認められず、局所または全身毒性症状、あるいは病理学的所見はみられなかった (把握された症状または変化の詳細は提示されていない)。このことから、経皮投与による LD<sub>50</sub> は 1,320 mg/kg 体重以上と結論された (Worstmann, 1981)。

経皮暴露後の急性毒性は、6 匹の雄白色ウサギ (系統の報告なし) の 1 群に、アントラセンを 4.0 g/kg 体重の用量で単回閉塞塗布して評価した (Mellon Institute, 1977)。被験物質を 24 時間無傷の皮膚に接触させた (ポリエチレンシート下)。14 日間の投与期間中に死亡はみられず、LD<sub>50</sub> は 4.0 g/kg 体重を超えると判定された。所見には下痢等がある。肉眼的剖検により、肝臓および脾臓にうっ血、並びに腎臓に斑状の白色部が認められた。さらなる詳細は報告されていない。

### 腹腔内投与

マウス (系統不明) へのアントラセン腹腔内投与後の LD<sub>50</sub> は 430 mg/kg と報告されている (Salamone, 1981)。

マウス 5 匹にオリーブ油に溶解したアントラセンを 1,000 mg/kg の用量で腹腔内投与した。1 例の屠殺を行なったところ、15 日後にはオリーブ油が完全に再吸収されたことが明らかになった。残りの 4 例については、5 カ月後にも影響はみられなかった (Shubik and Della Porta, 1957)。

二次文献に引用された古い試験において、アントラセンを 1,000 mg/kg の用量でマウス (系統不明) に腹腔内投与したところ、体重増加の程度が 4.7 g/日から 2.8 g/日に減少したことが報告された (Elson et al., 1945)。

チトクロム P450 発現制御機序に関する試験では、アントラセン 300 mg/kg 体重 (コーンオイルに溶解) の B6C3F1 マウスへの単回腹腔内注射が、24 時間後に肝ミクロソームメトキシレゾルフイン O-ジエチラーゼ活性 (チトクロム P4501a2-依存性活性) を 10 倍に増大させることが認められた (Chaloupka et al., 1994)。またこれは、Ah レセプター非依存性機序に

より、チトクロム P4501A2 の mRNA 濃度の増加ももたらした。以上の所見に、特異的な毒性学的意義はみられなかった。

#### その他の投与経路

二次報告によると、アントラセン 0.5 mg をラットに皮下注射したところ、注射後 25 日間に脾臓の抗酸化活性の低下が認められた。脾臓細胞において、細胞、核、および核小体の膨大が認められた (Clayton and Clayton, 1981)。

がん原性 PAH 類と非がん原性 PAH 類との間で、ウサギの洗浄血小板のカルシウムイオンフォア A23187 誘発性活性化の影響能を比較する目的で実施した試験では、トロンボキサン B2 の生合成を指標にして測定が行なわれ、アントラセンには増強作用があることが報告された。その他の (がん原性) PAH 類 (ベンズ[a]アントラセン、クリセン、ベンゾ[a]ピレン、およびベンゾ[ghi]ペリレン) には抑制作用が認められた (Yamazaki et al., 1990)。

#### 4.1.2.2.2 ヒトにおける試験

二次資料の報告によると、これ以外に詳細は提示されていないものの、アントラセン暴露による急性症状は、上気道の刺激性、流涙、羞明、眼瞼浮腫および結膜充血等である (Volkova, 1983)。その他、アントラセン暴露とは経路による因果関係がないとされる作用に、頭痛、悪心、食欲減退、胃腸管の炎症、緩慢反応および脱力等がみられる。以上の症状は、接触の休止後数日以内に消失するとされる。

ヒトにおけるアントラセンの急性毒性に関し、具体的情報は得られていない。

#### 4.1.2.2.3 要約

経口、経皮および腹腔内投与後のアントラセンの急性毒性は低い。経口投与による LD<sub>50</sub> はラットで 8.12 g/kg であるのに対し、経皮投与による LD<sub>50</sub> はラットで 1,320 mg/kg を超え、ウサギで 4 g/kg を超えた。組織特異性の急性毒性作用は報告されていない。ヒトの急性毒性情報は得られていない。

#### 4.1.2.3 腐食性および刺激性

アントラセンは、紫外線照射下において光毒性 (光刺激性) を誘発することが知られている (4.1.2.5 項参照)。本項では、紫外線照射非存在下におけるアントラセンの刺激性試験について論及する。

#### 4.1.2.3.1 動物における試験

##### 皮膚刺激性

米国連邦規則集で規定される方法 (Title 16, 1500.41 項) に準じて、アントラセンによる皮膚一次刺激性の誘発を検討した。白色ウサギ 6 匹の無傷皮膚または擦過皮膚 (剃毛により無毛) 1 平方インチの領域に、アントラセン (reinst = 最高純度) 0.5 g を 0.5% カルボキシメチルセルロースの 10% 懸濁液として塗布し、24 時間閉塞ガーゼで覆った (Grote, 1979b)。皮膚状態には、標準 Draize スケールを用い、ガーゼ取り外し時および 48 時間後、紅斑/痂皮および浮腫形成を評価した。無傷の皮膚の観察 2 時点における浮腫形成の値 (4 値) と同様、無傷の皮膚の観察 2 時点における紅斑/痂皮形成の値を擦過皮膚の値に加えた (4 値)。8 つの値の合計を 4 で除して、一次刺激性スコアとした。ごくわずかな紅斑や浮腫がウサギ 6 例中 5 例で認められ、総合刺激性スコアは 0.79、使用された方法の基準によると、その特性は“わずかな刺激性”とされた。現行のガイドライン下において皮膚刺激性物質と分類するためには、2 以上のスコアが要求される。一方、この試験方法は Dir. 92/69/EEC の別添 V とは多くの点で異なり、最も重要な相違点は、純物質よりも希釈物の使用である。

前述 (4.1.2.2.1 項参照) の試験では、Wistar ラット (雌雄各 5 匹) の剃毛した皮膚に、アントラセン (高純度 'Anthrazen reinst', ポリエチレングリコール中 0.4 g/mL) 平均用量 300 mg ( $8 \text{ mg/cm}^2$ ) を、閉塞パッチ (5×7.5 cm) 法により 24 時間塗布しておき、14 日間観察を行った (Worstmann, 1981)。いずれの時点においても、紅斑または浮腫はみられなかった。本試験の使用容量は低いと思われる。

短報ではあるが、New Zealand 白色ウサギの耳介表面に、“アントラセン残留物”と称される物質を塗布し (雌雄各 1 匹、500 mg ずつ)、閉塞性ガーゼを用いて 24 時間被覆したことが報告された。暴露後 7 日間の検査では、“刺激活性”がみられなかった (Thyssen J, 1979)。本報告では、この試験を刺激活性の探索に用いていることに触れているが、通常は (このほか類似の Mouse Ear Swelling Test [マウス耳介腫脹試験] と同様に) 感作性試験に用いられるものである。さらに、本試験で用いられた“アントラセン残留物”とは、アントラセン製品のうち組成不明の廃物質から成るものである (Höke, 2002)。したがって、この試験からアントラセンに関する結論を導くことは不可能である。

再結晶化アントラセンを MNRI マウスの耳介皮膚に塗布し、24 時間後に刺激性を検査した。ID50 (50% の動物に刺激性を引き起こす用量) は各耳介につき 118  $\mu\text{g}$  (4.7 mg/kg に相当、すなわち、塗布領域の面積  $1 \text{ cm}^2$  につき 118  $\mu\text{g/cm}^2$ ) であった (Brune et al., 1978)。試験方法についてさらに詳しい情報は得られていない。

コーンオイル (2.5 mg) の 25% (w/v) アントラセン懸濁液 (“poor” と記載) 0.01 mL を、ウサギ 5 匹の剃毛していない無傷の腹部皮膚に塗布し、被覆しなかった (Mellon Institute, 1977)。24 時間後には刺激性は報告されなかったが、1 例にわずかな影響 (「中等度の毛細血管充血」) が認められた。さらに詳細には報告されていない。使用したものが低用量であることが言及されている。

### 眼刺激性

米国連邦規則集で規定される方法 (Title 16, 1500.42 項) に準じて、眼刺激性を検討した。白色ウサギ 6 匹の結膜嚢にアントラセン (最高純度を意味する reinst) 100 mg/匹の用量を点眼投与し、24、48 および 72 時間後に標準 Draize スケールに準じ刺激性のスコアリングを行った。いずれの供試動物においても、角膜または虹彩に対する影響はみられなかった。軽度から中等度の結膜の充血がウサギ 6 例中 4 例で認められた一方、分泌物の軽度増加が 1 例で認められたことから、総合 Draize 刺激性スコアは 1.0 とされ、用いられた方法の基準に従い、“非刺激性”とした (Grote, 1979c)。本試験は、Dir. 92/69/EEC 眼刺激性試験の別添 V の基準を概ね満たしており、この方法の基準により、アントラセンは“非刺激性”として分類されると結論した。

短報ではあるが、New Zealand 白色ウサギ (雌雄各 1 匹) の結膜嚢に、“アントラセン残留物”と称される物質 50 mg/匹を投与し、7 日間の観察を行ったことが報告された。眼刺激性はみられなかった (Thyssen, 1979)。上記 (「皮膚刺激性」の項) の理由により、この試験からアントラセンに関する結論を導くことは不可能である。

アントラセンを粉末 (40 mg) またはコーンオイルの 25% 懸濁液 (アントラセン 0.5 mg/眼) として、ウサギ 5 匹の結膜嚢に点眼した (Mellon Institute, 1977)。直後の無染色眼および 24 時間後の 5% フルオレセイン染色眼の検査において、角膜損傷はみられなかった。本報告には、より詳細な試験手技または臨床所見は示されていない。

### 腐食性

上述の動物における皮膚刺激性試験から、アントラセンが皮膚または眼に対し腐食性であることを示唆する証拠は得られなかった。

#### 4.1.2.3.2 ヒトにおける試験

二次参考資料によると、さらなる具体的情報は得られないが、アントラセンは、“工作中的のアントラセン煙霧または粉末への暴露による皮膚、眼、粘膜および気道の軽度刺激性を惹き起こす可能性があり” (Montizaan et al., 1989)、さらに上気道の刺激性、流涙、眼瞼浮腫

および結膜充血を引き起こす一次刺激性物質である (Volkova, 1983)。このような報告は情報価値に乏しいという点で、さらに錯体混合物への暴露が関与すると思われる職場のデータに基づいていることから結論を導くことは不可能である。

刺激性および感作に関連した皮膚障害 (“職業性皮膚火傷”) は、コールタールおよび関連製品に暴露される労働者の間には比較的多い (Emmett, 1986 ; Riala et al., 1998)。しかし、アントラセンと一連の作用を特異的に関連付ける試験は報告されていない。

#### 4.1.2.3.3 要約

アントラセンについて、Dir. 92/69/EEC の別添 V の基準に適合する方法により皮膚刺激活性の検討は行われていない。500 mg (10%懸濁液として) 投与により、ウサギの皮膚にわずかな紅斑および浮腫が認められた。一方、ラット皮膚に (40%調製品として) 平均 300 mg の用量を 24 時間塗布した場合、14 日後まで皮膚刺激性は認められなかった。最終的に、118  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  の用量で 50%のマウスの耳皮膚に刺激性が認められたとの報告は、報告内容が不十分なため評価は不可能である。以上の報告からは、アントラセンが紫外線非存在下で皮膚刺激活性を示す確実な証拠は得られないものの、Dir. 92/69/EEC の別添 V の基準を厳密に満たしているものはない。一方、アントラセンの強力な皮膚光毒性 (下記 4.1.2.5 項参照) および、それに基づき皮膚刺激性物質に分類すべきであるとする提案を考慮し、紫外線非存在下におけるこれ以上の皮膚刺激活性の検討は必要ではないと考えられる。

アントラセンは、Dir. 92/69/EEC の別添 V の該当方法と酷似した眼刺激性試験で陰性であった。

アントラセンが光非存在下で皮膚刺激性を示す証拠がないことを考慮し、肺刺激性誘発を検討する追加試験を具体的に提言する必要はない。

#### 4.1.2.4 感作性

##### 4.1.2.4.1 動物における試験

アントラセンの接触過敏性誘発能は、生理食塩水の 1 : 1 乳剤の形でのアントラセン 125  $\mu\text{g}$  および完全フロイントアジュバント法を用いて、成熟雌 Hartley モルモットの四肢足蹠を免疫化することにより検討された (Old et al., 1963)。2~3 週間後、各動物について、アセトン-オリーブ油混合物に溶解し段階 2 倍希釈したアントラセン (1~0.001%) を 1 滴、剃毛した背腹皮膚に塗布し、接触過敏症の検査を行った。24 時間後に皮膚硬化および紅斑について検査した。本試験において、(がん原性) PAH であるベンゾ[a]ピレン、3-メチルコラン

トレンおよびジメチルベンズアントラセンが陽性であったのに対し、アントラセンは陰性を示した。

#### 4.1.2.4.2 ヒトにおける試験

ヒトにおけるアントラセンの感作作用（遮光下）についての情報は得られていない。刺激性および感作に関連した皮膚障害（“職業性皮膚火傷”）は、コールタールおよび関連製品に暴露される労働者の間では比較的多い（Emmett, 1986 ; Riala et al., 1998）。しかし、アントラセンとこれらの作用を特異的に関連付ける試験は報告されていない。

#### 4.1.2.4.3 要約

ヒトにおけるアントラセンの皮膚感作性試験は実施されていない。

ウサギを用いるアントラセンの感作性試験に関して、限定的な報告では陰性を示した。動物におけるアントラセンの皮膚感作活性は、Dir. 92/69/EEC の別添 V に準拠して検討されていない。一方、アントラセンの強力な皮膚光毒性（4.1.2.5 項参照）、さらにこれに基づき皮膚刺激性物質に分類すべきであるとする提案を考慮し、紫外線非存在下におけるこれ以上の皮膚感作活性の検討は必要ではないと考えられた。

#### 4.1.2.5 光毒性

光毒性とは、Commission Directive 2000/33/EC（Council Directive 67/548/EEC の技術的進歩に対する第 27 改定）、別添 II（“B.41. 光毒性-*In vitro* 3T3 NRU 光毒性試験”）に準拠して、皮膚の特定の化学物質への初回暴露およびその後の光暴露により誘発される毒性作用、または化学物質の全身投与後、皮膚照射することにより同様に誘発される毒性作用と定義されている。光刺激性は、同指示書(Directive)では、化学物質暴露（局所または経口）により皮膚に発生する光毒性反応だけを指すものと定義されている。以上の光毒性反応は常に非特異的細胞損傷（日焼け様反応）を引き起こす。最後に、光アレルギーは、化合物初回投与および光照射で引き起こされるものではなく、皮膚反応が表れるまでに 1～2 週間の誘発期間を要する後天性免疫反応と定義されている。

アントラセンは光力学的化合物であり、紫外線照射下で活性酸素種（一重項酸素、スーパーオキシドアニオン）を生成し（Joshi and Pathak, 1984）、毒性作用を誘発する可能性がある。アントラセンの光毒性作用の基本的機序が、細胞構成要素との光の介在による相互作用および細胞構成要素の変性の原因となる可能性がある。

アントラセンと紫外線とが組み合わさると、DNA、蛋白質および脂質に損傷を与えることが明らかにされてきた。酸素はアントラセンの光毒性作用において重要であると考えられているが、アントラセンは細胞成分への酸素非依存性の作用をも惹き起こすことがあるという証拠もある。したがって、ウシ胸腺 DNA 存在下において  $^{14}\text{C}$  標識アントラセンに紫外線（波長 $>292\text{ nm}$ ）を照射すると、酸素の有無に依存せずに、放射能標識アントラセンの DNA への共有結合が認められた（Sinha and Chignell, 1983）。アントラセンが *in vitro*、並びにサル腎臓細胞、培養ヒト皮膚上皮細胞でも DNA と光誘導的に共有結合することは、Blackburn らの試験により明らかにされている（Blackburn et al., 1973; Blackburn and Tausig, 1975）。一方、アントラセン+紫外線によるウシ胸腺 DNA の熱変性温度が低温であることと、さらに環状プラスミドに切断が生じたこと（いずれも DNA 鎖切断の誘発を反映）は酸素依存性であったことから、活性酸素種の関与が示唆された。

同様の酸素依存性が、アントラセンのヒト血清アルブミンとの紫外線誘発共有結合およびそれに伴う同じ蛋白質の架橋において認められた（Sinha and Chignell, 1983）。グルタチオン（活性酸素種および求電子反応的中间体の消去剤）は、酸素依存性であるかどうかとは関係なく、上記の全作用を抑制した。アントラセン存在下でアミノ酸 19 種を混合した溶液に波長 $> 320\text{ nm}$ の光照射を行ったところ、トリプトファンのみ変異が引き起こされた（Schothorst et al., 1979）。グルタチオン溶液を同様に投与したところ、-SH 基が消失し、アントラセンが低濃度であると、グルタチオン二量体が形成された。一連の現象の意義とは、蛋白質またはペプチドの修飾が免疫応答またはその他の毒性作用の誘発を引き起こす可能性にある。

最後に、アントラセン+紫外線は、ラット肝ミクロソーム由来のリポソームで脂質過酸化を引き起こす（Sinha and Chignell, 1983）。この酸化反応は、スーパーオキシドジスムターゼまたはカタラーゼの単独使用または併用により有意に抑制されなかったことから、本反応はスーパーオキシド、水酸化ラジカルまたは過酸化水素を介さないことが示唆された。

#### 4.1.2.5.1 動物における試験および *in vitro* 細胞培養試験

光がん原性試験において、Skh-1 無毛マウスにメタノールの 0.01%アントラセン溶液 40  $\mu\text{L}$ （アントラセン約 4  $\mu\text{g}$ ）を皮膚（塗布領域面積不明）に塗布し、その後紫外線照射（強度および期間不明）を行ったところ、メタノールのみを塗布し紫外線照射を行うよりも重篤な皮膚炎が認められた（Forbes et al., 1976）。

Skh-1 無毛マウスの背部（塗布領域面積不明）に、20% ピロリドン/イソプロピルアルコール 20:80 の 0.025%アントラセン溶液 20  $\mu\text{L}$ （アントラセン約 5  $\mu\text{g}$ ）を局所塗布し、続いて紫外線（320~400 nm）を 100~2,000 秒間局所照射した（総放射輝度 1.3-26  $\text{kJ/m}^2$ ）（Argenbright



et al., 1980a)。急速かつ相当な充血の発症が認められたが、血漿アルブミンに対する血管壁の透過性には何ら変化がみられなかった。充血は、ヒスタミン H1 および H2 受容体遮断薬の同時塗布により抑制することができたことから、皮膚肥満細胞が一次損傷を受け、結果としてヒスタミンが放出され、これが今度は血管拡張を引き起こしたことが示唆された。

白色ブタ 9 匹（雌雄、9～15 kg）を用いて、6 cm<sup>2</sup> の部位にアントラセン 12.5 μg（ピロリドン/イソプロパノール 20:80 の 0.025% 溶液 50 μL）を塗布したところ、ほぼ同じ結果が得られた。45 分後、動物を総放射輝度 2.6～52 kJ/m<sup>2</sup> の紫外線に 100～2,000 秒間暴露した。照射開始後 2 分以内に軽微な紅斑が認められ、放射線量の増加に伴い増加した（それ以上の情報は得られていない）。ヒスタミンおよびセロトニン受容体を介した血管透過性の放射線量相関性の亢進も認められた（Argenbright et al., 1980b）。

アントラセンが動物のリソソームおよびヒトの内皮細胞に蓄積しているとする観察所見は、アントラセン+紫外線が肥満細胞膜に損傷を与え、それにより炎症性メディエーターの放出が引き起こされる可能性を裏付けるものである（Alison et al., 1966）。そのような蓄積は、光活性化時に、膜障害を引き起こし、溶菌酵素および、炎症カスケードを惹起する可能性のある他の化学物質の漏出をきたすと考えられてきた。さらに、光が媒介するアントラセンの膜障害誘発能は、*in vitro* における光溶血（光を介する赤血球の溶解）誘発能により明らかである。

無毛マウスの皮膚にアントラセンを塗布し（飽和溶液を 2 回塗布、溶媒および濃度不明）、その後 48 時間にわたり連続紫外線照射（強度および波長不明）を行った（Gloxhuber, 1970）。著明な紅斑が認められた。アントラセン（100 mg/kg）を腹腔内投与し、その後 48 時間紫外線照射を行ったところ、紅斑は認められなかった。Dayhaw-Barker ら（1985）の抄録では、マウスにアントラセン（コーンオイル中 50 mg/mL）を強制経口投与し、その後 1 時間皮膚に紫外線を照射したところ、皮膚に暴露を受けたマウスに角膜炎が認められたとされており、先の所見と対照的である。この作用は、紫外線照射のみを受けた動物ではあまり顕著ではなく、溶媒のみを投与した動物ではみられなかった。

Kochevar らは、モルモットにおけるアントラセンおよび紫外線照射の併用による紅斑の誘発とこれ以外のモルモットの作用スペクトルを検討した（1982）。Hartley 系雌白色モルモット各群 6 匹の背部の剃毛および脱毛部位（2.5×2.5 cm）に、メタノールのアントラセン溶液 0.1 mL（濃度範囲 0.005～5 mM）を塗布した。30 分後、動物に総放射エネルギー 100 KJ/m<sup>2</sup> の放射輝度 20～40 W/m<sup>2</sup> の紫外線（320～400 nm）を照射した（紫外線暴露時間は約 40～80 分と算定される）。照射 20 時間後、紅斑の用量相関性の増大がアントラセンおよび紫外線照射の両方を受けた全例で認められた（いずれか片方のみを受けた動物には全くみられなかった）。0.005 mM（14 ng/cm<sup>2</sup> に相当）のアントラセンを塗布した動物では紅斑は認

められず、何らかの作用が認められた最低用量は 0.05 mM であった。作用スペクトルは概ねアントラセンの吸収スペクトルと一致することが判明し、ヒトに相当する試験でみられたように、340～380 nm で活性が認められ、最高値は約 360 nm であった (Kaidbey and Nonaka, 1984)。したがって、モルモットにおけるアントラセンと紫外線 100 kJ/m<sup>2</sup> との併用による皮膚刺激性誘発に対する NOAEL は 14 ng/cm<sup>2</sup>、LOAEL は 140 ng/cm<sup>2</sup> である。

別の試験において、雌モルモット (Colworth Dunkin-Lartley) 各群 10 匹の剃毛した背面皮膚にアントラセン (直径 14-mm の面積に対しエタノール中 0.01% 溶液 10 μL ; 0.65 μg/cm<sup>2</sup> に相当) を塗布した (Lovell and Sanders, 1992)。30 分後、動物に 150 kJ/m<sup>2</sup> の紫外線 A (313～400 nm) を照射した。皮膚刺激性症状は照射期間中に既に認められており、最初 (照射 4 時間後) の観察時点において最高値に達し、その際の平均紅斑スコアは 5.5 であった (スコア 4 は軽度紅斑、スコア 6 は明らかな紅斑に相当)。その後作用は低下したが、72 時間後においても検出可能であった (スコア 0.5 ; スコア 2 が紅斑のかすかな痕跡に相当)。照射を行わなかった場合、アントラセン塗布後 4 時間のスコアは 0.1 であり、24 時間後まで完全に消失した。75～200 kJ/m<sup>2</sup> のさまざまな線量の紫外線 A を用いた場合、4 時間後の症状レベルに影響はみられなかったが、その消失速度にわずかな影響が認められた。エタノールの代わりにアセトンまたはジメチルアセトアミド-アセトンアルコールを溶媒として使用したところ、作用に変化はみられなかった。アントラセンの様々な用量 0.001%～1% を用いた場合、(150 kJ/m<sup>2</sup> 時の) 最低光刺激物濃度は 0.003% (220 ng/cm<sup>2</sup>) であることが示され、Kochevar らの試験 (1982) における所見と概ね一致した。Burnham と Rahman (1992) は、雌 C3H/HeN マウスの剃毛した背面皮膚 (約 1 cm<sup>2</sup>) または背面部位を *in vitro* 培養した皮膚に、125 ng/cm<sup>2</sup> に相当する 1:1 アセトン/オリーブ油のアントラセン (5 μg/mL) 溶液 25 μL を 2 時間塗布した。続いて、紫外線 A 波 (365±10 nm) 線量 20 kJ/m<sup>2</sup> を 11 J/m<sup>2</sup>/秒の速度で照射した (30 分間)。40 時間後、IA<sup>k</sup> 発現ランゲルハンス細胞数、および IA<sup>k</sup>-陰性、Thy-1-陽性の樹状細胞数を、免疫細胞染色により計数したところ、有意な減少が認められた。これらの細胞の枯渇が、免疫応答の低下につながる可能性がある。アントラセンの 10 倍低用量では類似作用がみられなかった。

#### 4.1.2.5.2 ヒトにおける試験

(二次資料中の) 報告によると、その他に具体的な情報は得られなかったものの、ヒトにおけるアントラセンの光毒性作用には、灼熱感、そう痒および浮腫の症状を伴う急性皮膚炎が含まれる。これらの症状は露出した皮膚暴露部位でさらに顕著である (Volkova, 1983)。長期暴露により露出した皮膚部位に色素沈着、表面境界層の角化および毛細血管拡張症を引き起こすとされる。この報告は具体性に欠け不十分であったため、結論を導くことは不可能である。

3名のボランティアに、ベンゼンの2%アントラセン溶液を、1日2回、2日間にわたって長波長紫外線（340～380 nm）照射前に前腕皮膚に塗布した。被験者3名全員に蕁麻疹反応および灼熱感が認められ、症状が数日間持続した後、色素沈着した。被験者1名には紅斑も認められ、数日間持続した（Crow et al., 1961）。

Kaidbey と Nonaka（1984）は、ボランティア被験者を対象に、アントラセンの光刺激性誘発を左右する作用スペクトルと紫外線との線量反応関係を明らかにした。色白の白人男性6名の日焼けしていない背部に、95%エタノールとベンゼンを等量に用いた0.25%アントラセン（純度99%以上）溶液10  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ （すなわちアントラセン25  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ）を塗布した。塗布部位は非吸収性綿布で2時間覆い、その後覆いはずして15分間空気乾燥させた。続いて、任意の波長範囲（半値幅6.6 nm）でさまざまな回数の紫外線照射を行った。各波長で以下の症状の誘発に要する放射線閾値線量を評価した。すなわち a) 照射後数分以内に発現し、暴露部位に局限し15分後には消失する即時性の紅斑、b) 照射後22～24時間に発現する遅発性の紅斑、c) 照射後5～10分に発現するみみず腫れと発赤反応、である。作用の波長範囲は340～380 nm であり、3評価項目すべての最高活性は360 nm で認められ、作用スペクトルはアントラセンの吸収スペクトルとほぼ一致した。検討された3評価項目のうち、最低照射強度で発現したのは即時性で一過性の紅斑（平均閾値線量 $1.0 \pm 0.6 \text{ kJ}/\text{m}^2$ ）であり、続いて遅発性紅斑（平均閾値線量 $1.9 \pm 1.0 \text{ kJ}/\text{m}^2$ ）、みみず腫れと発赤反応（平均閾値線量 $2.8 \pm 1.9 \text{ kJ}/\text{m}^2$ ）の順であった。各評価項目に異なる閾値が観察されたことから、異なる細胞および分子標的の存在が示唆された。発赤およびみみず腫れ作用は、肥満細胞脱顆粒抑制剤であるコデインの事前の注射により予防されるが、即時性紅斑は予防されないという事実が示す通り、主に肥満細胞からの炎症性メディエーター放出に起因している可能性が示唆された。

アントラセンの光毒性の乾癬に対する治療的使用については、会議抄録で報告されている（Rispler and Urbanek, 1978）。0.025%アントラセン溶液（アントラセン10  $\mu\text{g}$ ；溶媒および投与面積不明）40  $\mu\text{L}$ を患者の乾癬斑に塗布し、1時間後に長波長紫外線または日中の自然太陽光を照射した。光毒性は投与部位に0.1～1Jの長波長紫外線を照射することにより誘発された（紅斑および刺痛覚を生じた）。20～40回の処置後、病変は最大1年間で消失し、投与部位の色素過剰はほとんどみられなかった。アントラセンの光毒性作用が明らかになっている一方、この試験からは皮膚光刺激または光感作の誘発能についての情報は得られていない。

#### 4.1.2.5.3 要約

*In vivo* の光毒性評価に有効とされる標準的方法はない。紫外線存在下における *in vitro* 細胞毒性評価を基準にして、Commission Directive 2000/33/EC の別添 II で光毒性評価のための標

準化 *in vitro* 法が定義され、これが Commission Directive 67/548/EEC の別添 V に追加された。これまで、この方法はアントラセンの光毒性の検討に使用されたことはない。しかし、ヒト、マウス、モルモットにおける試験から、長波長紫外線（340～380 nm）とアントラセンの併用が光刺激性を誘発する可能性があることが十分に明らかにされた。光刺激性とは、Commission Directive 2000/33/EC に定義された通りの症状発現であり、容易性が高いものから順に、一過性紅斑、遅発性紅斑および発赤 - みみず腫れである。モルモットでは、100 kJ/m<sup>2</sup> の照射を併用しても紅斑を引き起こさなかったアントラセンの最高皮膚用量（NOAEL）は 14 ng/cm<sup>2</sup> であり、同じく LOAEL は 140 ng/cm<sup>2</sup> であった。

ヒトでは、アントラセン 25 µg/cm<sup>2</sup> を単回皮膚塗布すれば、1～2.8 kJ/m<sup>2</sup>（波長による）の紫外線 A 照射に暴露した後、必ず皮膚刺激性が誘発された。中欧、南欧地方における全天日射の放射束（地表に到達する総日射と定義（WHO, 1994））はほぼ 800～1,000 W/m<sup>2</sup> 程度であり、紫外線 A は日射の約 5～6% を占める（すなわち 40～60 W/m<sup>2</sup>）ことから、自然太陽光に暴露されれば、数秒から数分間（1 J = 1 W・秒）に紫外線 A 1 kJ/m<sup>2</sup> に暴されることになる（Moseley et al., 1981）。当該試験では 25 µg/cm<sup>2</sup> が唯一の塗布用量であったため、これがヒトの LOAEL に相当すると結論されているがモルモットにおける所見から見てヒトへの作用はかなり低濃度で発現する可能性がある。したがって、動物における LOAEL（140 ng/cm<sup>2</sup>）および NOAEL（14 ng/cm<sup>2</sup>）はリスク判定においても検討される。

#### 4.1.2.6 反復投与毒性

##### 4.1.2.6.1 動物における試験

###### 吸入投与

二次資料の報告では、その他に具体的な情報は得られなかったものの、白色ラットにアントラセンエアロゾルを 0.05 および 0.01 mg/L の濃度で長期間吸入させると、体重増加抑制および血液変化（ヘモグロビン減少、網赤血球増加、白血球減少および残留血中窒素増加）が認められた（Volkova, 1983）。胃内投与後にも血液の同じ変化が認められた。情報価値が乏しいという点でこの報告から結論を導くことは不可能である。

###### 経口投与

二次参考資料に記載された試験において、ラットのアントラセン反復胃内投与（用量、期間不明）により、ヘモグロビン減少、細網症、白血球減少および残留血中窒素の増加が引き起こされた（Volkova, 1983）。

多環芳香族炭化水素による酵素誘導試験では、ラットにアントラセンを4日間胃内投与(100 mg/kg/日)したところ、マイクロソームのカルボキシエステラーゼ活性亢進の誘発が胃腸粘膜で認められたが、腎臓では認められず(Nousiainen et al., 1984)、肝臓では細胞質アルデヒド脱水素酵素活性のわずかな亢進が認められた(Torronen et al., 1981)。以上の変化に、明らかな毒性学的意義はなかった。

US EPA の GLP 条件に基づいて実施した詳細な試験 (US EPA, 1989) では、アントラセンをコーンオイルに溶解し、各群雌雄 20 匹の CD-1 (ICR) BR マウスに 0、250、500、および 1,000 mg/kg/日の用量で 13 週間強制経口投与した。死亡、臨床症状、体重、摂餌量、眼科学的所見、血液学的検査および臨床化学的検査結果、器官重量、器官重量-体重比、剖検所見および病理組織学的所見を評価した。以上のパラメータにはいずれも、有意な投与関連作用はみられなかった。平均卵巣重量(絶対重量平均値および終了時体重に対する相対重量平均値)では、500 mg/kg/日群に統計学的に有意な増加が認められた(他の群では認められず)ことだけでなく、血清グロブリン濃度、総たん白質濃度および分葉核好中球数に非用量相関性変化が認められたことは、偶発的な変化であり、病理学的意義はないと考えられた。

長期間投与試験において、BD I および BD III ラットの 1 群 28 匹に、約 100 日齢からアントラセンの混餌投与を開始した(Schmahl, 1955)。1日投与量をまず 5 mg/匹とし、その後 15 mg/匹(動物の平均体重を 300 g とした場合の 17~50 mg/kg/日に相当)まで増加させ、総投与量が 4.5 g/匹に達した第 550 日で実験を終了した。ラットを死亡時まで観察したところ、数例が 1,000 日以上生存した。寿命または組織の肉眼的および組織学的的外観には、投与量関連性の作用はみられなかった。対照群についてのデータは報告されておらず、体重に関する言及もなかった。血液学的パラメータについても測定されていないことから、以前に実施されたこの試験は望ましい水準に達していないと考えられた。

Swiss マウス(性別不明)7匹の1群に、アントラセン 1 mg/kg 添加飼料を任意量、17日間給餌した(Rigdon and Giannukos, 1964)。その後、飼料中アントラセン含量を 18~24 日目には 5 mg/kg、25~32 日目には 25 mg/kg に増加した。以上の期間中のアントラセン1日摂取量は約 150 mg/kg/日(1~17日目)、750 mg/kg/日(18~24日目)および 3,750 mg/kg/日(25~32日目)であった。対照群には、アントラセン無添加の同一飼料を同時に給餌した。アントラセン投与群では、摂餌量が対照群よりわずかに高く、これに相当するだけ体重増加量が大きかった。腎臓および肝臓の組織学的検査において、有意なアントラセン誘発性変化は全くみられなかった。

アントラセン(514 mg/kg 体重/日)添加飼料を10日間給餌した部分肝切除ラットには、肝臓の再生に及ぼす影響はみられなかった(Gershbein, 1975)。

### その他の投与経路

アントラセンを B6C3F1 マウスに 14 日間毎日腹腔内投与 (28.5 mg/kg/日 ; コーンオイル中) したところ、ヒツジ赤血球に対する抗体産生細胞応答により明らかなように、免疫応答に有意な影響はみられなかった (White et al., 1985)。

二次参考資料に言及された過去の試験では、白色マウスにゼラチンのアントラセン 0.05% コロイド溶液を週 1 回、40 週間皮下注射したところ、細網細胞の増加、鉄の蓄積、リンパ系細胞の減少およびリンパ腔の拡張等、投与によるリンパ系作用が認められたことが明らかにされている (Hoch-Ligeti, 1941)。

#### 4.1.2.6.2 ヒトにおける試験

ヒトにおけるアントラセン反復投与毒性についての情報は得られていない。4.1.2.2.2 項で考察された“急性作用”が、ヒト反復暴露後にみられる作用の参考になると考えられる。

#### 4.1.2.6.3 要約

以前に実施され、記載が不十分であった試験によると、ラットにアントラセンを最大 550 日間、1 日量 50 mg/kg までの用量で混餌投与したところ、有害作用はみられなかった。一方、適切に実施された試験では、マウスにアントラセン最大 1,000 mg/kg/日を 90 日以上連日強制経口投与したところ、毒性学的意義のある投与関連性の影響(NOEL)はみられなかった。

吸入によるアントラセンの動物またはヒトに対する作用に関する情報は得られていない。しかし、90 日間経口暴露試験では毒性作用がみられなかったこと、アントラセンが全般的に低毒性であること、ヒトでの吸入暴露が低レベルであること (4.1.3 項、リスク判定参照) から、吸入試験に妥当性があるとは考えられない。

#### 4.1.2.7 遺伝毒性

アントラセンの遺伝毒性は、多数の試験で検討されてきているが、数が多いため個別に考察することはできない。以下の考察においては、陰性結果の得られた代表的試験および陽性結果が報告されている少数の試験についてのみ考察し、必要に応じて総括的な結論を示す。

アントラセンを用いた他の試験と同じく、紫外線照射から十分に保護する器具を使用したかどうかについては、試験報告書に常に記載があるわけではない。アントラセンの光分解産

物の遺伝毒性を評価することが、特に目的とされた報告は見つかっていない。しかし、すでに述べた通り（4.1.2.5.1 項参照）、アントラセンは、紫外線照射存在下では *in vitro* のほかにも、培養サル腎臓および培養ヒト皮膚の上皮細胞でも、DNA 付加体を形成することが可能である（Sinha and Chignell, 1983 ; Blackburn et al., 1973 ; Blackburn and Tausig, 1975）。一方、紫外線存在下における *in vivo* のアントラセン関連 DNA 損傷の誘発、または細胞培養における DNA 付加体形成以外（遺伝子または染色体の突然変異等）の遺伝学的評価項目の誘発に関し、試験結果は報告されていない。

#### 4.1.2.7.1 *In vitro* 試験

##### 細菌および下等真核生物における試験

アントラセンは、*Escherichia coli*（大腸菌）、*Salmonella typhimurium*（ネズミチフス菌）および *Bacillus subtilis*（枯草菌）等多数の細菌系を用いて、遺伝毒性（DNA 損傷および突然変異）誘発をみるため代謝活性化系の存在下と非存在下で検討されており、大体において陰性の結果が得られている。多数の報告に、*Salmonella typhimurium* の変異原性試験の結果が記載されている。使用した菌株は、TA1535, TA1536, TA1537, TA1538, TA97, TA98 および TA100 であり、様々な酵素誘導前処理を行ったラットおよびモルモットの肝 S9 の代謝系を使用した試験と使用していない試験がある（S9 以外の代謝系が用いられた遺伝毒性試験の報告が探索されることはなかった）。その試験ではほぼ例外なく、明らかな陰性結果が報告された。たとえば、*Salmonella typhimurium* TA1535, TA1538, TA98 および TA100 を用いて、アロクロール誘発性ラット肝 S9 抽出物存在下で検討され、陰性結果が得られた（Purchase et al., 1976）。*Salmonella typhimurium* における変異原作用が陽性であったことを示した報告は稀であったが、それらは代謝活性化系存在下で TA97 または TA100 に認められたごくわずかな活性に基づくものであった（自然突然変異頻度の 3 倍未満の増加。紫外線保護具の使用については記載なし）（Sakai et al., 1985 ; Carver et al., 1986）。

アントラセンは、*Saccharomyces cerevisiae*（酵母サッカロミセスセレビシエ）および *Saccharomyces pombe*（酵母サッカロミセスポンベ）の遺伝子突然変異または細胞遺伝学的損傷の誘発を検討した多くの試験でも陰性であった。

##### 哺乳類細胞における試験

アントラセンは、代謝活性化系非存在下では、*in vitro* のヒト末梢血白血球 DNA 損傷を誘発しなかった。また、多くの試験で、アントラセンは代謝活性化系存在下で、初代培養ラット肝細胞（Williams, 1988）、チャイニーズハムスター卵巣細胞、ヒト HeLa 細胞（Martin et al., 1978）の不定期 DNA 合成を誘発しない一方、初代培養ヒト皮膚上皮細胞には、わずか

に用量非相関性の陽性反応をもたらした（紫外線保護具の使用については記載なし）（Lake et al., 1978）。

チャイニーズハムスター卵巣細胞およびヒトリンパ芽球細胞を用いた試験など多くの試験では、遺伝子突然変異誘発に陰性の結果が認められた。マウスリンパ腫 L5178/TK<sup>+</sup>細胞を用いた突然変異誘発試験では、ほとんどが陰性であった。しかし、C57Bl/6J マウス肝 S9 抽出物存在下で（しかし S9 抽出物の他の 6 種類は使用せず）実施した（紫外線保護下）1 件の試験では、弱い変異原性が認められた（Amacher and Turner, 1980）。

アントラセンはこれまで、代謝活性化系存在下でチャイニーズハムスター卵巣細胞を用いて、ラット肝上皮細胞系を用いて、さらにマウスに移植したチャイニーズハムスター V79 細胞の *in vitro/in vivo* 試験により、姉妹染色分体交換誘発が検討されてきた。わずかに陽性を示した 1 試験（Perry and Thomson, 1981）を除くすべての試験において、陰性の結果が報告された。

アントラセンは、チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた試験とラット肝 RLL（右肝葉）細胞を用いた試験で、染色体異常誘発に対し陰性を示した。しかし、代謝活性化系存在下でチャイニーズハムスター卵巣細胞を用いて、最大 0.02 mg/mL までの濃度で検討したところ、陽性結果が得られた（代謝活性化系非存在下では陽性結果は得られなかった）（Sofuni et al., 1985）。

*In vitro* で細胞形質転換の誘発をみる諸試験には、引き続き *in vivo* でこの形質転換巢の増殖能を検討したものもあったが、アントラセンは 12 以上の試験で陰性であった。たとえば、マウス BALB/3T3 細胞を用いて最大 10 µg/mL の濃度のアントラセンを試験し、この同系動物にこれを皮下注射したのち、細胞に腫瘍の形成能があるかどうか、形態学的形質転換巢の誘発をみる試験（DiPaolo et al., 1972）でも、シリアンハムスター胚細胞を用いて、50 µg/mL の用量で 7 日間暴露後、形質転換巢誘発をみる試験でも、明らかに陰性であった（LeBoeuf et al., 1996）。しかし、代謝活性化系存在下および非存在下でシリアンハムスター腎細胞 BHK 21 C13/HRC 1 を用いた試験では、陽性の結果が報告された（紫外線保護具の使用については記載なし）（Purchase et al., 1976）。Rauscher 白血病ウイルス感染ラット胚細胞（2FR450）の接着非依存性の獲得を測定した試験でも、陽性の結果が報告された（Traul et al., 1981）。最後に、Rauscher 白血病ウイルスに感染させた Fischer ラット胚細胞系 F1706 P88 に、アントラセン（0.001～50 µg/mL の濃度）で処理し、続いて新生 Fischer ラットに形質転換細胞を移植して、腫瘍誘発を分析した試験では、不明瞭な結果が得られた（1 件の実験ではわずかに陽性であったが、その後の実験では陰性であった）。紫外線保護具の使用についての記載はなかった（Freeman et al., 1973）。



#### 4.1.2.7.2 *In vivo* 試験

##### 動物における試験

アントラセンは、キイロショウジョウバエにおいて、伴性劣性致死変異を誘発なかった。しかし、体細胞突然変異および遺伝子組換え試験（SMART）では陽性の結果が得られ、高い生体内活性（正常ではない）系統の昆虫にひとつの小斑点が出現した（遮光具の使用に関する情報は記載されていない）（Delgado-Rodriguez et al., 1995）。

哺乳類を用いてアントラセンの遺伝毒性を検討した *in vivo* 試験では、いずれも陰性の結果が得られた。雄 C57Bl マウスに最大 125 mg/kg を腹腔内投与したのち、種々の組織（肝臓、腎臓および精巣など）の不定期 DNA 合成誘発が検討され、陰性結果が出た（Friedman and Straub, 1976）。344 mg/kg の単回投与 96 時間後の骨髄（Salamone, 1981）および最大 2,500 mg/kg/日の 4 日間連日投与 24 時間後の末梢血赤血球における（Oshiro et al., 1992）マウス小核誘発についても陰性であった。マウスおよびチャイニーズハムスターに用量 450 mg/kg を 2 回腹腔内投与した場合、骨髄細胞に姉妹染色分体交換および染色体異常頻度の増加はみられなかった（Roszinsky-Koecher et al., 1979）。

妊娠 10～11 日目のシリアン（ゴールデン）ハムスターにアントラセンを腹腔内投与（10～30 mg/kg）し、2～3 日後に胚を切除してから、胚細胞を *in vitro* 培養した。この *in vivo-in vitro* 試験系では、形質転換細胞群の誘発に関しても陰性であった（DiPaolo et al., 1973）。この試験系では、並行して検討された多くの発癌物質が陽性を示した。

Balb/c マウス皮膚にアントラセン 0.21 mg（アセトン中に溶解）を 4 回塗布（0、6、30 および 54 時間）してから、24 時間後に屠殺し、マウス皮膚を高感度 <sup>32</sup>P-ポストラベル法にかけたところ、DNA 付加体は検出されなかった（遮光具の使用についての情報は記載されていない）（Reddy et al., 1984）。

4.1.2.1.1 項で考察した 1 件の試験では、皮下投与によるアントラセンとラット皮膚との接触、さらにメチル化剤である S-アデノシルメチオニンを添加したラット肝抽出物にアントラセンを添加する *in vitro* 培養により、弱遺伝毒性（Fujikawa et al., 1993 ; Spano et al., 2001）およびがん原性（LaVoie et al., 1985）化合物である 9,10-ジメチルアントラセンの検出が報告されたことが想起される（Myers et al., 1988）。

##### ヒトにおける試験

ヒトにおけるアントラセンの遺伝毒性についてのデータはない。

#### 4.1.2.7.3 要約

多数の試験でアントラセンの遺伝毒性が検討されてきた。*In vitro* で細菌を用いる試験から宿主経路により細菌を用いる試験まで、さらに *in vitro* で下等真核生物および哺乳類細胞を用いる試験からげっ歯類を用いる *in vivo* 試験まで、さまざまな複合試験系を用いて、DNA 損傷、点突然変異、染色体異常、姉妹染色分体交換および形態学的細胞形質転換を誘発能が検討され、大半で陰性結果が得られた。アントラセンに関する遺伝毒性試験の多くは、施設間および試験間比較研究との関連で、共通の明確に定義されたプロトコル（例：Bridges et al., 1981; Brookes and Preston, 1981）に基づき実施された。このことから、陰性結果が出やすい傾向は妥当なものであると考えなければならない。時折、わずかに、または矛盾した陽性反応が報告されたが、アントラセンには遺伝毒性ないとする総合的結論を覆すには不十分であると考えられた。さらに、一連の *in vivo* 試験では、一貫して遺伝毒性活性がみられなかったことから、アントラセンの代謝物、弱遺伝毒性 9,10-ジメチルアントラセンの形成には、遺伝毒性に関する有意な生物学的影響がまずないことが強く示唆された。

限られた試験から、紫外線存在下では、アントラセンは DNA と結合する可能性があることが示されたが、そのような結合が *in vitro* または *in vivo* で及ぼす生物学的影響は明らかにされていない。

#### 4.1.2.8 がん原性

##### 4.1.2.8.1 動物における試験

アントラセンは、さまざまなデザインおよび妥当性により多くの試験で検討されてきた。このような試験は、IARC により詳細に評価を受けてきた（1983b）。IARC の総合的結論として、以上のデータからアントラセンが実験動物に対してがん原性であるとする証拠は得られず、ヒトにおけるがん原性物質に分類することはできない。

##### 吸入投与

アントラセンの吸入がん原性についての情報は得られていない。

##### 経口投与

性別不明の 14 週齢の BDI ラットまたは BDIII ラット 1 群 28 匹に、最初「混合しない」アントラセン 5 mg を、その後 15 mg を週に 6 日間、78 週間混餌投与し、総投与量を各動物 4.5 g とした（Schmahl, 1955）。対照群は設定しなかった。動物は生存中観察を続けたところ、その平均生存期間が 700 日間であった。動物 1 例は 18 カ月後に肝肉腫を発症し、別の

1例は25カ月後に子宮腺癌を発症した。以上の腫瘍はいずれもアントラセンに起因するものではないとされた。以前に実施されたこの試験では、対照群および比較的低用量群が設定されていなかったことから、アントラセンのがん原性評価には十分ではない。

### 経皮投与

各種プロトコルを用いる多くの試験では、明確ながん原性、発癌イニシエーション活性、または光がん原性の検出を目的とし、アントラセンのがん原性が皮膚塗布により検証されてきた。その試験の多くは古いものであり、品質が低く報告が不十分であった。

初期の試験では、系統、性別、週齢不明のマウス100匹の皮膚にラノリンの40%アントラセン懸濁液を塗布した (Kennaway, 1924a)。純度、用量、塗布回数についての詳細は示されていない。6カ月以上生存した動物45例に、皮膚腫瘍はみられなかった。

ベンゼンまたはゴマ油中に溶解したアントラセンを系統、性別、週齢不明のアルビノマウス41匹の皮膚に塗布したところ (回数または用量不明)、皮膚腫瘍の形成はみられなかった (Pollia, 1939)。同じ実験では、1,2,5,6-ジベンゾアントラセンを投与した陽性対照群において、腫瘍の形成が認められた。

週齢不明の雌 Swiss マウス5匹の皮膚に、アントラセンのアセトン中10%溶液 (アントラセンの純度および用量の記録はなし) を、生存中週3回塗布した。(Wynder and Hoffman, 1959)。動物にはいずれも皮膚腫瘍が認められず、試験開始後10~20カ月以内に全例が死亡した。同じ試験では、陽性対照として使用されたベンゾ[a]ピレンにより、高い発生量の皮膚乳頭腫および癌腫形成をもたらした。

性別および週齢不明の“S”マウス20匹を用いて、アセトンの0.5%アントラセン (純度不明) 溶液0.3 mLを30分間隔で2回、週3回、各動物ともアントラセン総投与量30 mgとなるように皮膚に塗布し、アントラセンの腫瘍のイニシエーション活性を検討した (Salaman and Roe, 1956)。これに続いて、腫瘍プロモーターであるクロトン油をアセトンに溶解して、週1回、18週にわたり皮膚塗布した。初回アントラセン塗布後25日目に開始し、以下の通り塗布した：0.17%クロトン油溶液0.3 mLを1回、0.085%クロトン油溶液0.3 mLを2回、さらに0.17%クロトン油溶液0.3 mLを15回塗布した。対照群にはクロトン油だけで処理した。全生存動物 (アントラセン投与群17/20例、対照群19/20例) は、クロトン油投与終了後に屠殺した。アントラセン投与動物3例に4個の皮膚乳頭腫が発生したものの、対照動物では4例に計4個皮膚乳頭腫が発生したことから、アントラセンによる皮膚腫瘍誘発は認められなかった。

別のイニシエーション-プロモーション試験では、8週齢の雌 CD-1 マウス 30 匹に、ベンゼン中アントラセン（クロマトグラフィーを用いて精製）1,782  $\mu\text{g}$  溶液を単回皮膚塗布し、1週間後から腫瘍プロモーター TPA（当該文献には 5  $\mu\text{mol}$  と示されているが、5  $\mu\text{g}$  の可能性が高い）を週 2 回、34 週間皮膚塗布した（Scribner, 1973）。対照群には TPA のみを投与した。投与終了時、生存アントラセン投与動物 28 例中 4 例で皮膚乳頭腫が各 1 個認められ、生存対照動物 30 例中 1 例にも 1 個認められた。著者は、このことは“イニシエーション活性の有無が明確ではない”ことを示すと結論づけるが、統計解析は含まれていない。

また、多くの試験では、紫外線または可視光線と併用し、アントラセンの皮膚がん原性について検討されてきた。そのような試験の 1 つ（Miescher, 1942）では、系統、性別、週齢不明のマウス各群 44 匹の 2 群に、ワセリン-オリーブ油混合液中 5% アントラセン（純度および用量不明）溶液を週 3 回、生存期間にわたって皮膚塗布（耳の裏側）した。そのうちの 1 群には、各皮膚塗布後 40 分、60 分および 2 時間にわたり紫外線照射（波長 > 320 nm）も行った。マウス 100 匹を第 3 の群とし、アントラセンを同じように投与したが、紫外線は 90 分間照射した。全群とも、ほとんどの動物が 7~11 カ月以内に死亡した。アントラセンと紫外線との併用群では“表皮の広がり”がみられたが、皮膚乳頭腫または癌腫は、いずれの群にもみられなかった。

別の光がん原性試験（Heller, 1950）では、白色マウスの皮膚にワセリン-オリーブ油混合液中 10% アントラセン（純度不明）溶液を塗布し、その後、紫外線（波長 405~320 nm）を単独で、または可視光線と併用で 5 時間照射した。アントラセンの用量および投与期間についての情報は記載されていない。アントラセン+紫外線および可視光線の併用群では、5~8 週間以内に皮膚腫瘍（癌腫を含む）の高い発生率が観察されたが、アントラセンまたは紫外線照射のみ、あるいは紫外線+可視光線のみを受けた群にはみられなかった。潜在期が異例に短期であることと報告が不十分であることにより、この試験から信頼性が高い結論を導き出すことは困難である。

比較的最近実施された光がん原性試験（Forbes, 1976）では、適切なデザインおよび報告がされた。3 週齢の非近交系 Skh（無毛）-1 マウス（雌雄混合）24 匹 1 群に、アントラセン（純度不明）4  $\mu\text{g}$  をメタノール 40  $\mu\text{L}$  に溶解して、1 日 1 回、週に 5 日 38 週間皮膚塗布し、各塗布後、2 時間の紫外線照射を行った（300  $\text{J}/\text{m}^2$ 、波長 > 290 nm）。各試験動物には、アントラセン計 0.76 mg を投与した。同じく陰性対照群および陽性対照群には、それぞれメタノールだけ、8-メトキシソラレン 4  $\mu\text{g}$  だけを投与し、紫外線照射をおこなった。38 週後、溶媒対照群、アントラセン投与群および陽性対照群では、それぞれ 20、19 および 16 匹が生存していた。腫瘍発生率 50% 到達期間は、陰性対照群およびアントラセン投与群でそれぞれ 27.2 および 28.2 週間であり、統計学的有意差はみられなかった。対照的に、陽性対照群の

腫瘍発生率 50%到達期間は 20.0 週であり、有意に短期であった。全群で認められた腫瘍は、主として扁平上皮癌であった。

### 皮下投与

以前に少数例を用いて実施した試験では、ラット 10 匹（系統、性別、週齢、体重不明）に 0.05%アントラセン（純度不明）懸濁水溶液 2 mL を週 1 回、生存期間にわたり皮下注射した（Boyland and Burrows, 1935）。最大総投与量は 103 mg/匹であった。死亡数は、6 ヶ月後 0/10 例、12 ヶ月後 7/10 例、さらに 18 ヶ月後 8/10 例であった。皮下肉腫は報告されていない。同様に 1,2,5,6-ジベンゾアントラセンを投与した陽性対照群のラット少なくとも 6/10 例および 9/18 例に皮下肉腫が発生した。

短期間の小規模試験では、Wistar ラット 5 匹（性別不明、6~8 週齢）に、ゴマ油にアントラセンを溶解した溶液（5 mg アントラセン/注射液）0.5 mL（純度不明）を週 1 回皮下注射した。（Pollia, 1941）。10 ヶ月後、4 匹を屠殺した。1,2,5,6-ジベンゾアントラセンが投与された陽性対照群に腫瘍が認められたのとは対照的に、腫瘍は報告されなかった。

14 週齢の BDI ラットおよび BDII ラット（性別不明）1 群 10 匹に、油（種類不明）中 2%の高純度アントラセン 1 mL を、週 1 回、33 週にわたり皮下注射により投与し（総投与量 660 mg/匹）、生存期間にわたり観察した（Schmahl, 1955）。5/9 例では、注射部位に線維肉腫（一部肉腫性領域）が認められ、平均潜在期間は 26 ヶ月であった。溶媒対照群を用いて同時比較することはなかった。しかし、1 群のラットに油に溶解したナフタリン（種類不明）を同じく投与したところ、腫瘍の形成はみられなかった。

BALB/C、C3H/A および C57BlxCBAF1 の交雑系マウスに、アントラセン（8 mg/匹、精製ひまわり油に溶解）を、妊娠最終週に 1 日 1 回皮下投与、または単回胃内投与した（Shabad et al., 1972）。胎仔腎臓の断片を培養した。対照培養物とは反対に、アントラセン投与動物由来の培養物に、活着率の増大および上皮の過形成性変化が認められた。この変化は、発がん物質 7,12-ジメチルベンズ[a]アントラセン投与がもたらす変化と質的に類似していたがそれほど大きいものではなかった。著者は、観察された変化は前悪性を示すものと考えるが、既知の発がん物質の作用と非発がん性類縁体の作用との間に一定の相関はみられず、一定の用量 - 反応関係もみられないことから、以上の作用の有意性を評価することは困難である。

アントラセンの皮下投与によるがん原性評価に関し、1 件の代謝試験で、ラットへのアントラセン皮下投与後にも、S-アデノシルメチオニン添加ラット肝抽出物の *in vitro* 代謝中にも、

弱発がん性物質である 9,10-ジメチルアントラセンの形成が明らかにされたことは注目に値する（4.1.2.1.1 項参照）（Myers et al., 1988）。

#### 腹腔内投与

14 週齢の BDI ラットおよび BDII ラット（性別不明）1 群 10 匹に、油中 2% の高純度アントラセン 1 mL を、週 1 回、33 週にわたり腹腔内注射により投与し（総投与量 660 mg/匹）、生存期間にわたり観察した。平均生存期間は 2 年以上であった。ラット 1 例で腹腔の紡錘細胞肉腫が発生した。溶媒対照群を用いて同時比較することはなかった（Schmahl, 1955）。

#### 包埋投与

3～6 カ月齢雌 Osborne-Mendel ラット 60 匹に、ミツロウとトリカプリリンの 1:1 混合物中の 0.5 mg アントラセン（純度不明）の 0.05 mL を 1 個肺に包埋投与した。1 年後に“ほぼ半数”の動物を屠殺したが、肺腫瘍はみられなかった。同様の条件下で 3-メチルコラントレンを投与した群で、肺類表皮癌（扁平上皮癌）が認められた（Stanton et al., 1972）。

小規模であるため、有用な結果が得られなかった試験では、さまざまな品種、月齢および体重のウサギ 9 匹（系統、性別、月齢および体重不明）に、アントラセン 4～20 mg（純度不明）の包埋錠 1 個を大脳、小脳または眼に投与した。動物は投与の 20～54 週後に死亡または屠殺した。グリオーマは見つからなかった（Russel, 1947）。

#### 4.1.2.8.2 ヒトにおける試験

粗アントラセン（40%、組成についてその他のデータなし）を扱う労働者のうち、3 名がそれぞれ手部、頬および手首に上皮腫を発症したことが報告された（Kennaway, 1924a,b）。3 名のうち 2 名は、それぞれ 30 年間と 32 年間暴露された。精製アントラセンのみに接触した同じ工場の労働者は、腫瘍をはじめとする皮膚病変は発症しなかった。

アントラセンのヒトにおけるがん原性について、その他の情報は得られていない。

#### 4.1.2.8.3 要約

ラットおよびマウスの各種系統を用いた多くの試験では、各種投与経路（経口、経皮、皮下、腹腔内、肺包埋）によるアントラセンの明確ながん原性、腫瘍イニシエーション活性および光がん原性（紫外線と複合）について検討を行ってきた。その試験の多くは何年も前に実施された小規模で低品質の試験であった。光がん原性を探索する試験以外の皮膚がん原性試験について特に言えることである。

マウス皮膚塗布試験ではいずれも、明確ながん原性および腫瘍イニシエーション活性について陰性の結果が得られた。光がん原性試験 3 件中 2 件（最近の適切に実施された試験を含む）では、がん原性の証拠は得られなかった一方、もう 1 件の陽性結果が得られた試験の報告は不十分であり、腫瘍誘発潜在期が著しく短期間であった。

ラットへの経口、皮下および肺内投与では、多量の注射により線維肉腫の誘発が認められた皮下注射の 1 試験を除き、陰性の結果が得られた。この背景で、ある代謝試験では、ラットへのアントラセン皮下塗布後、または添加 S-アデノシルメチオン存在下の *in vitro* 代謝後に、弱発がん性物質である 9,10-ジメチルアントラセンが形成されたとする報告がある。この所見は、アントラセンの皮下投与後に局所肉腫が誘発される可能性と適合すると考えられる。しかし、各種 *in vivo* 試験において、一貫して遺伝毒性活性がみられなかったことから、この代謝物の生成には、遺伝毒性およびがん原性の観点から有意な生物学的影響がないことが強く示唆された。

前述のがん原性試験のほとんどが今日の水準に達していなかったにもかかわらず、概して、入手可能なデータからアントラセン単独または光との複合を示すがん原性の証拠は得られていない。この結論は、*in vitro* および *in vivo* 試験系において一貫してアントラセンの遺伝毒性活性がみられなかったことから（4.1.2.7 項「遺伝毒性」参照）、裏付けられた。

がん原性試験では結果が陰性であったこと、遺伝毒性が認められなかったこと、さらにヒトでの吸入暴露が比較的低レベルであったこと（4.1.3 項、「リスク判定」参照）を考え合わせれば、長期吸入試験に妥当性があるとは考えられない。

#### 4.1.2.9 生殖発生毒性

##### 4.1.2.9.1 動物における試験

PAH の生殖発生作用に関する試験はほとんど報告されていない。しかし、アントラセン以外の PAH を用いた試験により、PAH は胎盤を通過することができ、ベンゾ[a]ピレンには胎仔毒性および催奇形性があり、マウスでは生殖能の低下を引き起こすことが明らかにされた (IPCS, 1998)。このような作用の一部は、Ah レセプターとの相互作用を介し、PAH による胎仔と母動物の PAH 代謝酵素遺伝子の修飾（誘導性）に依存性であった。こうした背景に照らし、アントラセンは Ah レセプターと結合しないことは注目に値する (Machala et al., 2001)。

アントラセンが動物に及ぼす生殖発生作用に関し、正式な試験は実施されていないと思われる。

既に記述した 90 日間経口暴露試験 (4.1.2.6.1 項参照) では、CD-1 マウスに 1 日量 0、250、500 および 1,000 mg/kg/日を 90 日間投与して、精巣と卵巣の重量および組織学的検査、さらに臨床化学検査値、血液学的検査値を評価した (US EPA, 1989)。平均卵巣重量および卵巣重量/最終体重比が、500 mg/kg/日群に統計学的に有意な増加がみられたことが記載されている (他の 2 投与群にはみられない) もの、これは付随して起こりうるものであり、毒性学的意義はないと考えられた。臨床化学検査および血液学的検査には、この所見をさらに詳細に評価するのに有用と思われるパラメータは含まれておらず、投与群では全雄動物の総蛋白量増大、低用量群雄では血清グロブリンおよび分葉核好中球の減少だけが観察された変化であった。これらの変化もすべて、偶発的事例であり、毒性学的意義のないものと判断された。精巣および卵巣などいずれの器官においても、組織学的変化は認められなかった。

前述の経胎盤暴露によるがん原性試験 (4.1.2.8.1 項参照) との関連で、BALB/C、C3H/A および C57BlxCBAF1 交雑系マウスに、アントラセン (8 mg/匹、精製ひまわり油に溶解) を、妊娠最終週に 1 日 1 回皮下投与、または単回胃内投与した (母体毒性の情報は得られていない) (Shabad et al., 1972)。胎仔由来胎仔腎臓の断片を培養した。対照培養物とは反対に、アントラセン投与動物由来の培養物に、生存率の増大および上皮の過形成性変化が認められた。この変化は、発がん物質 7,12-ジメチルベンズ[a]アントラセン投与がもたらす変化と質的に類似していたがそれほど大きいものではなかった。著者は、観察された変化は前悪性状態を示すものと考えるが、既知の発がん物質の作用と非発がん性類縁体の作用との間に一定の相関はみられず、一定の用量 - 反応関係もみられないことから、以上の作用の有意性を評価することは困難である。類似の試験では、アントラセン 8 mg/匹を経口投与したのち、胎仔腎臓を器官培養することにより、アントラセンがマウスに及ぼす経胎盤作用を検討した (Sorokina, 1971)。個々の尿細管の過形成および異型上皮構造の増殖が、対照動物の組織では 1.8% で認められたのに対し、アントラセン投与動物組織では 15.6% であった。

タバコ煙の成分が胎盤の代謝活性に及ぼす影響を検討した試験において、妊娠 18 日のラット (系統および週齢不明) にアントラセン 40 mg/kg を経口投与したところ、24 時間後に、胎盤のベンズ[a]ピレンヒドロキシラーゼ活性レベルが 6 倍以上増大した (Welch et al., 1969)。しかし、妊娠 19 日の F1 Sprague-Dawley ラット (週齢不明) に、アントラセン 60 mg/kg (DMSO に溶解) を胃内投与した場合、肝の同酵素または 3-メチル-4-モノメチルアミノアズベンゼンデメチラーゼの濃度に変化がみられなかった (Welch et al., 1972)。このことから、以上のデータは、アントラセンの生殖発生毒性評価に利用することができない。

#### 4.1.2.9.2 ヒトにおける試験

アントラセンがヒトに及ぼす生殖発生作用についての情報は得られていない。



#### 4.1.2.9.3 要約

90日間給餌試験では、アントラセンがマウス生殖系に対し検出できる毒性作用をもたらすことはなかった。一方、不十分であった試験において、妊娠しているマウスまたはラットに投与した場合、アントラセンは発生中の胚に対し、形態学的変化の誘発およびPAH代謝酵素のアップレギュレーション等の毒性作用を及ぼす可能性があることが示唆された。しかし、データの品質が低く、情報の量が不足していたことから、確実な質の高い結論を、あるいは用量反応関係から結論を導き出すことはできなかった。

生殖毒性データが非常に少ないこと、アントラセンが妊娠転帰または哺乳類動物の発生に影響を及ぼす可能性を検討した試験がないこと、*in vivo/in vitro* 試験におけるラット胎仔の毒性作用誘発の証拠が少ないこと、PAH類の他の化合物には胎盤通過性も、胎仔毒性および催奇形性作用の惹起性も明らかにされていること(IPCS, 1998)を考え合わせれば、アントラセンの生殖発生毒性について追加データが必要であると結論づけられる。そのようなデータが現在欠如していることの重要性を鑑み、4.1.2.9.1項の冒頭で既に示したとおり、PAH類の発生毒性は少なくとも一部がAhレセプターとの結合に依存性であり、アントラセンがそのような結合をしないことが有意に明らかであるとする事実を考慮すべきである。