

性細胞の肥大がみられたことから、甲状腺刺激ホルモンの産生が示唆され、甲状腺の濾胞細胞の肥大との関連性が考えられた。甲状腺機能の変化に伴い変動するとされている⁹⁾総コレステロール、トリグリセリド等の高値あるいは低値が本試験においても認められていることから、甲状腺機能に対する影響も示唆された。同群の雌雄で腎臓の相対重量の高値が認められたが、これらの変化は病理組織学検査における褐色色素の腎臓への沈着に対応した変化と考えられた。この重量変化は回復期間終了時には軽減ないしは回復していることから可逆性の変化であると考えられた。

病理組織学検査では、前述の肝臓、腎臓および脾臓の色素沈着および甲状腺の濾胞細胞の肥大の他に、720 mg/kg投与群の雄で腎臓に近位尿細管上皮の硝子滴沈着が認められ、240 mg/kg以下の投与群では散見される程度であるのと比較して発現例数の増加が認められた。この変化は通常ラットの雄に特有の変化¹⁰⁾であるが、今回の発現状況が全例であることから3-アミノフェノール投与に関連した変化と考えられた。この変化も回復期間終了時には認められず可逆性の変化と考えられた。

以上のことから、本試験条件下における3-アミノフェノールの無影響量(NOEL)は雌雄とも80 mg/kg/day未満と考えられた。

文献

- 1) G. K. Lloyd, M. P. Liggett, S. R. Kynoch and R. E. Davies, *Food Cosmet. Toxicol.*, **15**, 607(1977).
- 2) 須永昌男他, 化学物質毒性試験報告, **8**, 689(2001).
- 3) 金井泉, “臨床検査法提要,” 金井正光編, 金原出版, 東京, 1983, pp. 103-109.
- 4) 竹内康浩, “毒性試験講座. 18, 産業化学物質・環境化学物質,” 和田攻編, 地人書館, 東京, 1991, pp. 135-136.
- 5) J. R. Glaister, “毒性病理学の基礎: Principles of Toxicological Pathology,” ソフトサイエンス社, 東京, 1992, pp. 142-147.
- 6) 須藤雅人他, 化学物質毒性試験報告, **5**, 447(1997).
- 7) 3-アミノフェノールのラットにおける急性経口投与毒性試験のための予備試験(未公開).
- 8) T. A. Re, R. F. Loehr, S. C. Rodriguez, D. E. Rodwell, and C. M. Burnett, *Fundam. Appl. Toxicol.*, **4**, 98 (1984).
- 9) 伊東信行編著, “最新 毒性病理学,” 中山書店, 東京, 1994, pp. 289-295.
- 10) J. R. Glaister, “Principles of Toxicological Pathology: 毒性病理学の基礎,” ソフトサイエンス社, 東京, 1992, pp. 160-161.

連絡先

試験責任者: 須永昌男
 試験担当者: 堀川裕尚, 咲間正志, 山本美代子,
 平田真理子, 古川正敏
 (株)化合物安全性研究所
 〒004-0839 札幌市清田区真栄363番24
 Tel 011-885-5031 Fax 011-885-5313

Correspondence

Authors: Masao Sunaga (Study director)
 Hironao Horikawa, Masashi Sakuma,
 Miyoko Yamamoto, Mariko Hirata,
 Masatoshi Furukawa
 Safety Research Institute for Chemical
 Compounds Co., Ltd.
 363-24 Shin-ei, Kiyota-ku, Sapporo, Hokkaido,
 004-0839, Japan
 Tel +81-11-885-5031 Fax +81-11-885-5313

Table 3 Blood chemical findings of male rats treated orally with 3-aminophenol in twenty-eight-day repeat dose toxicity test

Item	Administration period				Recovery period	
	0 mg/kg	80 mg/kg	240 mg/kg	720 mg/kg	0 mg/kg	720 mg/kg
Number of animals	7	7	7	7	7	7
Total protein (g/dL)	5.49 ± 0.22	5.41 ± 0.25	5.43 ± 0.16	5.64 ± 0.13	5.64 ± 0.10	5.44 ± 0.20*
A/G	1.146 ± 0.090	1.177 ± 0.118	1.200 ± 0.108	1.191 ± 0.102	1.036 ± 0.056	1.120 ± 0.062*
Protein fraction (%)						
Albumin	53.46 ± 1.94	54.06 ± 2.27	54.54 ± 2.11	54.37 ± 2.11	50.97 ± 1.44	52.91 ± 1.37*
α_1 -globulin	22.70 ± 1.35	23.23 ± 1.69	21.63 ± 1.43	21.13 ± 1.40	24.29 ± 2.61	22.69 ± 1.65
α_2 -globulin	8.97 ± 0.59	9.20 ± 1.16	8.84 ± 0.77	9.23 ± 0.62	8.19 ± 0.79	8.53 ± 0.88
β -globulin	13.21 ± 1.82	12.49 ± 1.06	13.40 ± 1.15	13.71 ± 1.59	14.50 ± 0.86	14.20 ± 1.34
γ -globulin	1.66 ± 1.06	1.03 ± 0.52	1.59 ± 0.58	1.56 ± 0.59	2.06 ± 0.86	1.67 ± 0.76
GOT (IU/L)	64.9 ± 6.9	66.0 ± 5.2	66.9 ± 6.4	77.1 ± 16.9	68.9 ± 7.6	64.9 ± 8.2
GPT (IU/L)	26.4 ± 4.4	23.3 ± 3.1	27.1 ± 3.8	41.9 ± 10.2*	27.0 ± 3.1	28.0 ± 6.1
ALP (IU/L)	408.4 ± 103.1	495.7 ± 118.7	491.1 ± 97.5	409.1 ± 85.8	342.9 ± 41.7	395.0 ± 105.9
LDH (IU/L)	306.4 ± 72.1	290.0 ± 54.3	301.4 ± 54.9	311.7 ± 37.4	313.3 ± 66.0	306.9 ± 85.7
γ -GTP (IU/L)	0.96 ± 0.14	1.09 ± 0.33	1.16 ± 0.17	1.24 ± 0.31	0.40 ± 0.26	0.56 ± 0.13
Total bilirubin (mg/dL)	0.046 ± 0.008	0.050 ± 0.014	0.047 ± 0.011	0.101 ± 0.023**	0.059 ± 0.011	0.060 ± 0.008
Glucose (mg/dL)	157.3 ± 21.1	148.7 ± 10.6	133.6 ± 20.4*	153.9 ± 16.8	153.9 ± 11.6	156.1 ± 19.2
Total cholesterol (mg/dL)	64.1 ± 7.8	58.1 ± 6.8	60.0 ± 7.1	77.3 ± 12.3*	59.4 ± 9.1	56.9 ± 5.6
Triglyceride (mg/dL)	49.1 ± 18.2	50.6 ± 21.9	35.9 ± 12.5	26.1 ± 5.9*	41.0 ± 15.2	50.4 ± 22.1
Urea nitrogen (mg/dL)	15.77 ± 1.44	14.99 ± 1.38	17.33 ± 1.65	15.47 ± 1.74	16.70 ± 1.83	17.03 ± 1.69
Creatinine (mg/dL)	0.426 ± 0.021	0.410 ± 0.022	0.417 ± 0.034	0.406 ± 0.033	0.404 ± 0.021	0.394 ± 0.035
Sodium (mEq/L)	142.64 ± 1.44	143.07 ± 1.81	143.36 ± 1.21	143.14 ± 0.94	144.21 ± 1.80	143.79 ± 1.95
Potassium (mEq/L)	4.773 ± 0.139	4.880 ± 0.195	4.800 ± 0.282	4.674 ± 0.325	4.980 ± 0.320	5.103 ± 0.172
Chlorine (mEq/L)	106.7 ± 1.8	106.6 ± 1.9	106.6 ± 1.1	106.7 ± 1.4	106.7 ± 1.6	106.9 ± 0.9
Calcium (mg/dL)	9.29 ± 0.33	9.29 ± 0.32	9.41 ± 0.28	9.30 ± 0.22	9.70 ± 0.21	9.60 ± 0.22
Inorganic phosphorous (mg/dL)	8.50 ± 0.39	8.56 ± 0.48	8.53 ± 0.45	8.51 ± 0.67	8.40 ± 0.19	8.29 ± 0.33

Values are expressed as Mean ± S.D.

Significantly different from 0 mg/kg group (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$)

Table 4 Blood chemical findings of female rats treated orally with 3-aminophenol in twenty-eight-day repeat dose toxicity test

Item	Administration period				Recovery period	
	0 mg/kg	80 mg/kg	240 mg/kg	720 mg/kg	0 mg/kg	720 mg/kg
Number of animals	7	7	7	7	7	7
Total protein (g/dL)	5.77 ± 0.27	5.67 ± 0.21	5.60 ± 0.16	5.69 ± 0.16	5.87 ± 0.16	5.57 ± 0.19**
A/G	1.360 ± 0.056	1.399 ± 0.087	1.416 ± 0.042	1.457 ± 0.126	1.344 ± 0.083	1.319 ± 0.104
Protein fraction (%)						
Albumin	57.70 ± 1.02	58.36 ± 1.47	58.69 ± 0.72	59.30 ± 2.24	57.36 ± 1.53	56.90 ± 1.88
α_1 -globulin	19.36 ± 1.50	18.66 ± 1.44	18.90 ± 1.28	18.14 ± 1.06	19.49 ± 1.44	19.60 ± 1.19
α_2 -globulin	8.07 ± 0.72	7.74 ± 0.57	7.74 ± 1.14	7.59 ± 0.83	6.87 ± 0.44	7.16 ± 0.84
β -globulin	12.61 ± 0.88	13.19 ± 0.75	12.71 ± 0.59	12.77 ± 0.81	13.14 ± 0.61	13.60 ± 0.97
γ -globulin	2.26 ± 0.83	2.06 ± 1.01	1.96 ± 0.75	2.20 ± 0.59	3.14 ± 0.77	2.74 ± 1.06
GOT (IU/L)	65.0 ± 5.9	59.1 ± 2.9	58.9 ± 4.1	64.3 ± 7.3	60.9 ± 9.5	61.3 ± 9.9
GPT (IU/L)	21.3 ± 2.4	19.1 ± 3.7	22.4 ± 1.4	31.1 ± 3.9**	21.3 ± 3.5	21.0 ± 3.8
ALP (IU/L)	280.9 ± 99.2	232.9 ± 57.0	234.6 ± 49.0	226.4 ± 82.1	159.9 ± 63.6	183.1 ± 61.6
LDH (IU/L)	345.1 ± 59.5	263.4 ± 64.8	306.1 ± 38.4	395.9 ± 75.4	275.4 ± 60.8	333.4 ± 80.7
γ -GTP (IU/L)	1.27 ± 0.23	1.31 ± 0.27	1.39 ± 0.23	1.67 ± 0.37*	0.80 ± 0.24	0.86 ± 0.22
Total bilirubin (mg/dL)	0.057 ± 0.017	0.057 ± 0.008	0.063 ± 0.010	0.093 ± 0.010**	0.084 ± 0.021	0.066 ± 0.013
Glucose (mg/dL)	135.7 ± 7.1	135.7 ± 14.9	129.1 ± 10.4	124.9 ± 15.3	132.0 ± 15.2	121.0 ± 13.8
Total cholesterol (mg/dL)	79.6 ± 14.0	73.7 ± 17.2	69.6 ± 13.0	72.6 ± 8.1	66.7 ± 8.6	70.1 ± 8.6
Triglyceride (mg/dL)	16.4 ± 8.1	15.0 ± 6.2	15.3 ± 5.1	13.3 ± 1.7	21.0 ± 26.1	15.1 ± 3.5
Urea nitrogen (mg/dL)	17.41 ± 0.98	17.31 ± 1.36	18.17 ± 3.75	21.64 ± 4.37*	18.73 ± 1.89	18.41 ± 1.64
Creatinine (mg/dL)	0.506 ± 0.049	0.469 ± 0.030	0.469 ± 0.078	0.437 ± 0.068	0.419 ± 0.020	0.437 ± 0.020
Sodium (mEq/L)	140.79 ± 1.63	141.29 ± 0.64	140.50 ± 0.91	142.36 ± 0.69*	144.57 ± 1.30	145.57 ± 1.92
Potassium (mEq/L)	4.559 ± 0.257	4.440 ± 0.265	4.669 ± 0.306	4.667 ± 0.459	4.946 ± 0.468	4.920 ± 0.227
Chlorine (mEq/L)	108.3 ± 2.1	107.7 ± 0.8	107.6 ± 1.0	109.1 ± 1.6	106.0 ± 0.8	108.4 ± 1.3**
Calcium (mg/dL)	9.37 ± 0.29	9.30 ± 0.27	9.26 ± 0.34	9.23 ± 0.16	9.83 ± 0.29	9.77 ± 0.25
Inorganic phosphorous (mg/dL)	7.16 ± 0.76	7.26 ± 0.72	7.09 ± 0.89	7.61 ± 0.82	7.69 ± 0.67	8.07 ± 0.44

Values are expressed as Mean ± S.D.

Significantly different from 0 mg/kg group (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$)

Table 5 Absolute and relative organ weights of male rats treated orally with 3-aminophenol in twenty-eight-day repeat dose toxicity test

Item	Administration period				Recovery period	
	0 mg/kg	80 mg/kg	240 mg/kg	720 mg/kg	0 mg/kg	720 mg/kg
Number of animals	7	7	7	7	7	7
Body weight (g)	328.6 ± 14.1	337.4 ± 22.8	324.0 ± 15.0	288.7 ± 27.2**	399.6 ± 33.4	370.0 ± 33.3
Absolute organ weight						
Brain (g)	2.027 ± 0.089	2.093 ± 0.069	2.086 ± 0.125	2.083 ± 0.086	2.123 ± 0.071	2.083 ± 0.105
Lungs (g)	1.337 ± 0.057	1.363 ± 0.066	1.290 ± 0.060	1.196 ± 0.117**	1.421 ± 0.135	1.330 ± 0.147
Heart (g)	1.186 ± 0.143	1.260 ± 0.095	1.146 ± 0.080	1.056 ± 0.151	1.373 ± 0.117	1.267 ± 0.155
Liver (g)	10.359 ± 0.840	10.667 ± 1.454	10.544 ± 0.873	11.129 ± 1.255	11.720 ± 1.213	10.967 ± 1.674
Kidneys (g)	2.671 ± 0.246	2.759 ± 0.225	2.803 ± 0.179	2.734 ± 0.364	2.926 ± 0.142	2.879 ± 0.325
Spleen (g)	0.634 ± 0.072	0.740 ± 0.088	0.736 ± 0.105	0.646 ± 0.107	0.706 ± 0.115	0.776 ± 0.116
Adrenals (mg)	56.6 ± 6.7	53.0 ± 4.3	50.9 ± 5.1	47.4 ± 4.0**	65.6 ± 8.3	57.9 ± 9.3
Pituitary gland (mg)	10.91 ± 1.05	12.11 ± 2.19	12.34 ± 0.83	10.84 ± 1.65	11.80 ± 1.34	11.66 ± 1.72
Thymus (mg)	549.1 ± 61.4	635.4 ± 123.9	592.3 ± 123.4	492.4 ± 62.3	547.0 ± 117.0	444.4 ± 75.7
Thyroids (mg)	18.13 ± 3.27	21.37 ± 2.53	21.33 ± 4.01	27.86 ± 4.25**	21.49 ± 3.35	24.91 ± 3.44
Testes (g)	3.089 ± 0.090	3.050 ± 0.336	3.029 ± 0.253	3.213 ± 0.308	3.197 ± 0.211	3.326 ± 0.169
Epididymides (g)	0.727 ± 0.047	0.697 ± 0.066	0.757 ± 0.044	0.694 ± 0.033	0.980 ± 0.024	0.960 ± 0.068
Relative organ weight						
Brain (g%)	0.619 ± 0.043	0.624 ± 0.051	0.646 ± 0.034	0.727 ± 0.048**	0.533 ± 0.042	0.564 ± 0.034
Lungs (g%)	0.407 ± 0.013	0.404 ± 0.025	0.399 ± 0.020	0.414 ± 0.022	0.357 ± 0.026	0.357 ± 0.018
Heart (g%)	0.361 ± 0.041	0.374 ± 0.028	0.353 ± 0.018	0.366 ± 0.024	0.346 ± 0.018	0.341 ± 0.018
Liver (g%)	3.153 ± 0.227	3.150 ± 0.233	3.254 ± 0.235	3.851 ± 0.188**	2.931 ± 0.132	2.954 ± 0.261
Kidneys (g%)	0.813 ± 0.053	0.819 ± 0.044	0.864 ± 0.058	0.944 ± 0.073**	0.736 ± 0.064	0.777 ± 0.040
Spleen (g%)	0.191 ± 0.021	0.217 ± 0.014	0.226 ± 0.032	0.224 ± 0.034	0.177 ± 0.034	0.210 ± 0.026
Adrenals (mg%)	17.181 ± 1.493	15.714 ± 0.950	15.713 ± 1.593	16.507 ± 1.546	16.503 ± 2.386	15.706 ± 2.675
Pituitary gland (mg%)	3.331 ± 0.387	3.586 ± 0.571	3.819 ± 0.352	3.757 ± 0.468	2.970 ± 0.409	3.151 ± 0.411
Thymus (mg%)	166.980 ± 15.580	188.216 ± 34.490	181.973 ± 32.644	171.874 ± 27.022	136.047 ± 20.825	120.819 ± 23.154
Thyroids (mg%)	5.501 ± 0.842	6.344 ± 0.746	6.557 ± 1.027	9.717 ± 1.779**	5.371 ± 0.620	6.756 ± 0.940**
Testes (g%)	0.941 ± 0.045	0.904 ± 0.085	0.937 ± 0.085	1.117 ± 0.092**	0.801 ± 0.064	0.904 ± 0.082*
Epididymides (g%)	0.223 ± 0.017	0.209 ± 0.020	0.234 ± 0.021	0.241 ± 0.017	0.246 ± 0.023	0.261 ± 0.020

Values are expressed as Mean ± S.D.

Significantly different from 0 mg/kg group (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$)

Table 6 Absolute and relative organ weights of female rats treated orally with 3-aminophenol in twenty-eight-day repeat dose toxicity test

Item	Administration period				Recovery period	
	0 mg/kg	80 mg/kg	240 mg/kg	720 mg/kg	0 mg/kg	720 mg/kg
Number of animals	7	7	7	7	7	7
Body weight (g)	203.1 ± 19.1	195.3 ± 5.3	196.6 ± 8.7	183.1 ± 14.9	221.9 ± 22.0	203.6 ± 16.1
Absolute organ weight						
Brain (g)	1.933 ± 0.080	1.893 ± 0.052	1.866 ± 0.053	1.859 ± 0.107	1.944 ± 0.076	1.847 ± 0.097
Lungs (g)	0.984 ± 0.038	0.944 ± 0.050	0.936 ± 0.042	0.926 ± 0.062	0.976 ± 0.054	0.927 ± 0.093
Heart (g)	0.769 ± 0.074	0.764 ± 0.053	0.739 ± 0.043	0.701 ± 0.065	0.794 ± 0.048	0.737 ± 0.066
Liver (g)	6.273 ± 0.782	6.083 ± 0.572	6.416 ± 0.371	6.631 ± 0.947	6.374 ± 0.753	6.016 ± 0.546
Kidneys (g)	1.716 ± 0.195	1.726 ± 0.105	1.799 ± 0.110	1.813 ± 0.209	1.754 ± 0.145	1.647 ± 0.127
Spleen (g)	0.443 ± 0.056	0.454 ± 0.094	0.426 ± 0.045	0.610 ± 0.088**	0.469 ± 0.070	0.474 ± 0.029
Adrenals (mg)	66.0 ± 8.0	61.4 ± 8.4	62.9 ± 7.6	61.3 ± 13.5	64.1 ± 7.4	63.4 ± 12.0
Pituitary gland (mg)	12.94 ± 1.49	11.96 ± 1.38	12.56 ± 1.05	12.07 ± 2.21	13.37 ± 2.64	11.97 ± 1.73
Thymus (mg)	439.4 ± 51.1	523.9 ± 98.4	452.0 ± 76.9	420.9 ± 84.7	407.0 ± 65.8	366.0 ± 57.4
Thyroids (mg)	14.23 ± 2.66	18.06 ± 3.22	17.57 ± 2.67	23.84 ± 6.77**	15.07 ± 2.32	19.09 ± 4.35
Ovaries (mg)	83.1 ± 13.3	96.3 ± 18.2	83.0 ± 8.8	83.3 ± 22.1	85.9 ± 17.1	79.4 ± 16.5
Relative organ weight						
Brain (g%)	0.954 ± 0.052	0.969 ± 0.034	0.951 ± 0.063	1.019 ± 0.078	0.883 ± 0.073	0.910 ± 0.034
Lungs (g%)	0.486 ± 0.036	0.486 ± 0.021	0.477 ± 0.021	0.504 ± 0.029	0.444 ± 0.064	0.456 ± 0.030
Heart (g%)	0.379 ± 0.029	0.391 ± 0.021	0.377 ± 0.026	0.384 ± 0.016	0.360 ± 0.026	0.361 ± 0.021
Liver (g%)	3.083 ± 0.144	3.111 ± 0.231	3.264 ± 0.139	3.609 ± 0.272**	2.871 ± 0.166	2.956 ± 0.165
Kidneys (g%)	0.844 ± 0.058	0.881 ± 0.038	0.917 ± 0.065	0.989 ± 0.054**	0.794 ± 0.052	0.811 ± 0.056
Spleen (g%)	0.219 ± 0.013	0.233 ± 0.045	0.216 ± 0.030	0.333 ± 0.039**	0.211 ± 0.027	0.234 ± 0.024
Adrenals (mg%)	32.584 ± 3.690	31.441 ± 4.150	31.937 ± 3.150	33.277 ± 5.740	29.167 ± 4.674	31.100 ± 4.999
Pituitary gland (mg%)	6.383 ± 0.621	6.114 ± 0.581	6.399 ± 0.601	6.587 ± 1.016	6.040 ± 1.106	5.866 ± 0.547
Thymus (mg%)	216.959 ± 24.416	268.336 ± 51.074	230.107 ± 38.549	230.826 ± 47.182	184.353 ± 31.363	179.564 ± 23.222
Thyroids (mg%)	6.997 ± 1.035	9.237 ± 1.547	8.999 ± 1.738	12.940 ± 2.846**	6.888 ± 0.755	9.320 ± 1.638**
Ovaries (mg%)	40.881 ± 4.493	49.194 ± 8.585	42.253 ± 4.384	45.026 ± 8.717	38.613 ± 6.068	38.994 ± 7.541

Values are expressed as Mean ± S.D.

Significantly different from 0 mg/kg group (**p < 0.01)

Table 7 Histopathological findings of male rats treated orally with 3-aminophenol in twenty-eight-day repeat dose toxicity test

Item		End of administration period				End of recovery period	
		0 mg/kg	80 mg/kg	240 mg/kg	720 mg/kg	0 mg/kg	720 mg/kg
Number of animals examined		7	7	7	7	7	7
Organ:Findings	Grade						
Liver							
Deposit, brown pigment, Kupffer cell	+	0	0	0	7	0	1
Single cell necrosis, hepatocyte	+	0	0	0	1	0	0
Microgranuloma	+	1	0	1	0	0	0
Kidney							
Deposit, brown pigment, proximal tubular epithelium	+	0	0	0	7	0	0
Hyaline droplet, proximal tubular epithelium	+	2	1	2	7	0	1
Cast, hyaline	+	1	1	1	0	1	0
Regeneration, tubular epithelium	+	0	0	2	1	1	0
Cyst	<+>	1	0	0	0	0	0
Dilatation, renal pelvis	+	0	0	0	0	0	1
Spleen							
Deposit, hemosiderin	Total	0	0	0	6	0	6
	+	0	0	0	2	0	5
	++	0	0	0	4	0	1
Thyroid							
Hypertrophy, follicular cell	+	0	0	0	3	0	0

Values are number of animals with findings.

Grade of histopathological finding; +:slight, ++:moderate, <+>:detected.

Table 8 Histopathological findings of female rats treated orally with 3-aminophenol in twenty-eight-day repeat dose toxicity test

Item		End of administration period				End of recovery period	
		0 mg/kg	80 mg/kg	240 mg/kg	720 mg/kg	0 mg/kg	720 mg/kg
Number of animals examined		7	7	7	7	7	7
Organ:Findings	Grade						
Liver							
Deposit, brown pigment, Kupffer cell	+	0	0	0	7	0	2
Necrosis, focal	+	0	0	0	1	1	0
Microgranuloma	+	0	1	0	0	2	0
Kidney							
Deposit, brown pigment, proximal tubular epithelium	+	0	0	6	7	0	7
Cast, hyaline	+	1	0	0	0	0	0
Regeneration, tubular epithelium	+	0	0	2	0	0	1
Cyst	<+>	0	0	0	1	1	0
Spleen							
Deposit, hemosiderin	Total	0	0	1	7	0	7
	+	0	0	1	0	0	0
	++	0	0	0	7	0	7
Hyperplasia, lymphoid cell	+	0	0	0	0	1	0
Thyroid							
Hypertrophy, follicular cell	+	0	0	0	5	0	0

Values are number of animals with findings.

Grade of histopathological finding; +:slight, ++:moderate, <+>:detected.

3-アミノフェノールの細菌を用いる復帰変異試験

Reverse Mutation Test of 3-Aminophenol on Bacteria

要約

3-アミノフェノールについて、細菌を用いる復帰変異試験を実施した。

検定菌として、*Salmonella typhimurium* TA100, TA1535, TA98, TA1537¹⁾および*Escherichia coli* WP2 *uvrA*²⁾の5菌株を用い、S9 mix無添加および添加試験のいずれも、用量設定試験で抗菌性が認められなかったことから、本試験はS9 mix無添加試験および添加試験ともに313~5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の範囲で実施した。

その結果、TA98のS9 mix添加試験において、2回の本試験とも最高用量の5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ で復帰変異コロニー数に増加が認められたが、陰性対照値の2倍以上にはならなかった。また、TA98のS9 mix無添加試験およびその他の検定菌においては、いずれの用量においても陰性対照値の2倍以上となる復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

以上の結果から3-アミノフェノールは、用いた試験系において変異原性を有しないもの(陰性)と判定した。

方法

1. 被験物質

3-アミノフェノールは、淡灰色結晶性粉末である。用いた被験物質は、ロット番号720208、純度99.70%，製造 三井化学(株)(山口)であり、三井化学(株)から供与された。被験物質は、使用時まで室温で保管した。本ロットについては、試験期間中安定であることが確認された。

3-アミノフェノールは、ジメチルスルホキシド(DMSO, ロット番号:ACQ2095, 和光純薬工業(株))に溶解して最高用量の調製液を調製した後、同溶媒で所定の濃度に希釈して速やかに試験に用いた。

2. 陽性対照物質

用いた陽性対照物質および調製法は以下のとおりである。

各検定菌ごとに用いた陽性対照物質は、当研究所で十分な蓄積データが得られている物質および用量とし、それぞれTable中に示した。

2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

(AF2, 和光純薬工業(株))

アジ化ナトリウム (SA, 和光純薬工業(株))

9-アミノアクリジン (9AA, Sigma Chem. Co.)

2-アミノアントラセン (2AA, 和光純薬工業(株))

AF2, 9AAおよび2AAはDMSOに、SAは超純水に溶解したものを -20°C で凍結保存し、解凍後、速やかに試験に用いた。

3. 検定菌

Salmonella typhimurium TA100, TA1535, TA98, TA1537および*Escherichia coli* WP2 *uvrA*を用いた。

*S. typhimurium*の4菌株は1997年8月7日に、*E. coli* WP2 *uvrA*株は1997年4月9日に日本バイオアッセイ研究センターの松島泰次郎博士から分与された。

検定菌は -80°C で凍結保存したものをを用い、各菌株の特性確認は、凍結保存菌の調製時に、アミノ酸要求性、UV感受性、膜変異(*rfa*)およびアンピシリン耐性因子pKM-101(プラスミド)の有無について調べ、特性が維持されていることを確認した。

試験に際して、ニュートリエントブロスNo. 2(Oxoid Ltd.)を入れたL字型試験管に解凍した種菌を一定量接種し、 37°C で10時間往復振とう培養したものを検定菌液とした。

分光光度計により660 nmの吸光度を測定し、検定菌液の増殖を確認した。

4. 培地およびS9 mixの組成

1) 合成培地

培地は、極東製薬工業(株)製の最少グルコース寒天培地を用いた。なお、培地1 Lあたりの組成は下記のとおりである。

硫酸マグネシウム・7水和物	0.2 g
クエン酸・1水和物	2 g
リン酸水素二カリウム	10 g
リン酸一アンモニウム	1.92 g
水酸化ナトリウム	0.66 g
グルコース	20 g
大洋寒天(清水食品)	15 g

径90 mmのシャーレ1枚あたり30 mLを流して固めたものである。

2) トップアガー

下記の水溶液(A)および(B)または(C)を容量比10:1の割合で混合した。

(A) バクトアガー(Difco Lab.)	0.6 w/v %
塩化ナトリウム	0.5 w/v %
(B) <i>Salmonella typhimurium</i> 用	
L-ヒスチジン	0.5 mmol/L

D-ビオチン	0.5 mmol/L
(C) <i>Escherichia coli</i> 用	
L-トリプトファン	0.5 mmol/L

結果および考察

3) S9 mix

S9 mix 1 mLあたりの組成は下記のとおりである。

S9*	0.1 mL
塩化マグネシウム	8 μ mol
塩化カリウム	33 μ mol
グルコース-6-リン酸	5 μ mol
NADH	4 μ mol
NADPH	4 μ mol
ナトリウム-リン酸緩衝液(pH 7.4)	100 μ mol

*:7週齢のSprague-Dawley系雄ラットをフェノバルビタール(PB)および5,6-ベンゾフラボン(BF)の併用投与で酵素誘導して作製したS9(キッコマン株)を用いた。

5. 試験方法

ブレインキューベーション法³⁾により、S9 mix無添加試験およびS9 mix添加試験を行った。

小試験管中に、被験物質調製液0.1 mL、リン酸緩衝液0.5 mL(S9 mix添加試験においてはS9 mix 0.5 mL)、検定菌液0.1 mLを混合し、37℃で20分間ブレインキューベーションしたのち、約45℃に保温したトップアガー2 mLを加えて混和し、合成培地平板上に流して固めた。また、対照群として被験物質調製液の代わりに使用溶媒、または数種の陽性対照物質溶液を用いた。各検定菌ごとに用いた陽性対照物質の名称および用量は各Table中に示した。同時に実施した試験については、陰性および陽性対照群を共通とした。

培養は37℃で48時間行い、生じた復帰変異コロニー数をコロニーアナライザーまたは目視によって算定した。被験物質に由来する沈殿の有無は、肉眼により確認した。また、抗菌性の有無については、肉眼あるいは実体顕微鏡下で、寒天表面の菌叢の状態から判断した。用いた平板は用量設定試験においては、陰性および陽性対照群では3枚ずつ、各用量については1枚ずつとした。また、本試験においては、両対照群および各用量につき、3枚ずつを用い、それぞれの平均値と標準偏差を求めた。

用量設定試験は1回、本試験は同一用量について2回実施し、結果の再現性を確認した。

6. 判定基準

用いた5種の検定菌のうち、1種以上の検定菌のS9 mix無添加試験あるいはS9 mix添加試験において、被験物質を含有する平板上における復帰変異コロニー数の平均値が、陰性対照値の2倍以上に増加し、その増加に再現性および用量依存性が認められた場合に、当該被験物質は本試験系において変異原性を有するもの(陽性)と判定することとした。

50.0~5000 μ g/plateの範囲で公比を約3として、用量設定試験を実施した。その結果、すべての検定菌のS9 mix無添加試験および添加試験のいずれにおいても抗菌性は認められなかった。また、被験物質に由来する沈殿もすべての用量で認められなかった。

したがって、本試験における最高用量は、S9 mix無添加試験および添加試験とも5000 μ g/plateとした。

最高用量を5000 μ g/plateとして公比2で5用量を設定して2回の本試験を実施した(Table 1, 2)。その結果、TA98のS9 mix添加試験において、2回の試験とも最高用量の5000 μ g/plateで復帰変異コロニー数に増加が認められたが、陰性対照値の2倍以上には達しなかった。また、TA98のS9 mix無添加試験およびその他の検定菌においては、2回の試験とも陰性対照値の2倍以上となる復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

以上の結果に基づき、3-アミノフェノールは、用いた試験系において変異原性を有しないもの(陰性)と判定した。

なお3-アミノフェノールは、当研究所で本試験と並行して実施したチャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験では染色体の構造異常が誘発され、陽性であった⁴⁾。また、関連物質である4-アミノフェノールについては、復帰変異試験で陰性、染色体異常試験で陽性の結果が得られている^{5,6)}。

文献

- 1) D. M. Maron, B. N. Ames, *Mutat. Res.* 113, 173 (1983).
- 2) M. H. L. Green, "Handbook of Mutagenicity Test Procedures," eds. by B. J. Kilbey, M. Legator, W. Nichols, C. Ramel, Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford, 1984, pp.161-187.
- 3) T. Matsushima, T. Sugimura, M. Nagao, T. Yahagi, A. Shirai, M. Sawamura, "Short-term Test Systems for Detecting Carcinogens," eds. by K. H. Norpoth, R. C. Garner, Springer, Berlin, 1980, pp.273-285.
- 4) 山影康次, 化学物質毒性試験報告, 8, 709(2000).
- 5) 澁谷徹, 化学物質毒性試験報告, 5, 463(1997).
- 6) 田中憲穂, 化学物質毒性試験報告, 5, 471(1997).

連絡先

試験責任者：澁谷 徹
試験担当者：川上久美子, 原 巧, 須井 哉,
山本明子, 三枝克彦, 加藤初美
(財)食品薬品安全センター 秦野研究所
〒257-8523 秦野市落合 729-5
Tel 0463-82-4751 Fax 0463-82-9627

Correspondence

Authors: Tohru Shibuya (Study Director)
Kumiko Kawakami, Takumi Hara,
Hajime Sui, Akiko Yamamoto,
Katsuhiko Saegusa, Hatsumi Kato
Hatano Research Institute, Food and Drug Safety
Center
729-5 Ochiai Hadano-shi, Kanagawa, 257-8523,
Japan
Tel +81-463-82-4751 Fax +81-463-82-9627

Table 1 Mutagenicity of 3-aminophenol on bacteria (I)

With(+) or without(-) S9 mix	Test substance dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Number of revertants (number of colonies/plate, mean $\pm$ S.D.)									
		Base - pair substitution type						Frameshift type			
		TA100		TA1535		WP2 <i>uvrA</i>		TA98		TA1537	
S9 mix (-)	0	128 134 123 (128 $\pm$ 5.5)	12 7 12 (10 $\pm$ 2.9)	39 29 30 (33 $\pm$ 5.5)	25 34 29 (29 $\pm$ 4.5)	6 12 7 (8 $\pm$ 3.2)					
	313	147 128 114 (130 $\pm$ 16.6)	6 15 7 (9 $\pm$ 4.9)	24 26 30 (27 $\pm$ 3.1)	21 28 18 (22 $\pm$ 5.1)	9 9 5 (8 $\pm$ 2.3)					
	625	123 114 126 (121 $\pm$ 6.2)	10 13 8 (10 $\pm$ 2.5)	38 23 27 (29 $\pm$ 7.8)	20 19 32 (24 $\pm$ 7.2)	6 13 7 (9 $\pm$ 3.8)					
	1250	117 104 131 (117 $\pm$ 13.5)	6 8 12 (9 $\pm$ 3.1)	29 20 28 (26 $\pm$ 4.9)	23 19 14 (19 $\pm$ 4.5)	6 11 8 (8 $\pm$ 2.5)					
	2500	110 108 113 (110 $\pm$ 2.5)	5 8 7 (7 $\pm$ 1.5)	23 28 15 (22 $\pm$ 6.6)	22 22 20 (21 $\pm$ 1.2)	13 7 11 (10 $\pm$ 3.1)					
	5000	114 130 127 (124 $\pm$ 8.5)	7 6 2 (5 $\pm$ 2.6)	19 28 24 (24 $\pm$ 4.5)	18 28 25 (24 $\pm$ 5.1)	8 15 13 (12 $\pm$ 3.6)					
S9 mix (+)	0	140 137 150 (142 $\pm$ 6.8)	10 9 12 (10 $\pm$ 1.5)	28 37 34 (33 $\pm$ 4.6)	39 38 40 (39 $\pm$ 1.0)	10 17 18 (15 $\pm$ 4.4)					
	313	166 168 168 (167 $\pm$ 1.2)	15 16 6 (12 $\pm$ 5.5)	36 42 36 (38 $\pm$ 3.5)	44 40 32 (39 $\pm$ 6.1)	13 22 9 (15 $\pm$ 6.7)					
	625	179 181 190 (183 $\pm$ 5.9)	7 12 8 (9 $\pm$ 2.6)	30 28 31 (30 $\pm$ 1.5)	56 36 43 (45 $\pm$ 10.1)	13 13 12 (13 $\pm$ 0.6)					
	1250	175 190 148 (171 $\pm$ 21.3)	15 3 11 (10 $\pm$ 6.1)	44 29 31 (35 $\pm$ 8.1)	40 44 38 (41 $\pm$ 3.1)	14 19 15 (16 $\pm$ 2.6)					
	2500	172 150 161 (161 $\pm$ 11.0)	10 13 3 (9 $\pm$ 5.1)	34 31 38 (34 $\pm$ 3.5)	50 42 56 (49 $\pm$ 7.0)	10 15 8 (11 $\pm$ 3.6)					
	5000	153 150 166 (156 $\pm$ 8.5)	13 6 10 (10 $\pm$ 3.5)	41 32 22 (32 $\pm$ 9.5)	68 61 73 (67 $\pm$ 6.0)	17 16 16 (16 $\pm$ 0.6)					
Positive control S9 mix (-)	Chemical	AF2	SA	AF2	AF2	9AA					
	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	0.01	0.5	0.01	0.1	80					
	Number of colonies/plate	559 542 535 (545 $\pm$ 12.3)	697 666 701 (688 $\pm$ 19.2)	258 235 241 (245 $\pm$ 11.9)	623 645 603 (624 $\pm$ 21.0)	368 397 519 (428 $\pm$ 80.1)					
Positive control S9 mix (+)	Chemical	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA					
	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	1	2	10	0.5	2					
	Number of colonies/plate	966 944 929 (946 $\pm$ 18.6)	378 362 366 (369 $\pm$ 8.3)	1041 1085 969 (1032 $\pm$ 58.6)	430 472 517 (473 $\pm$ 43.5)	337 301 326 (321 $\pm$ 18.4)					

The purity of the test substance was 99.70 %.

AF2:2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, SA:Sodium azide, 9AA:9-Aminoacridine, 2AA:2-Aminoanthracene

Table 2 Mutagenicity of 3-aminophenol on bacteria (II)

With (+) or without (-) S9 mix	Test substance dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Number of revertants (number of colonies/plate, mean $\pm$ S.D.)											
		Base - pair substitution type						Frameshift type					
		TA100			TA1535			WP2 <i>uvrA</i>			TA98		
S9 mix (-)	0	178	137	144	8	9	15	31	26	31	22	19	24
		(153 $\pm$ 21.9)			(11 $\pm$ 3.8)			(29 $\pm$ 2.9)			(22 $\pm$ 2.5)		
	313	142	143	145	16	12	7	27	25	27	19	18	21
		(143 $\pm$ 1.5)			(12 $\pm$ 4.5)			(26 $\pm$ 1.2)			(19 $\pm$ 1.5)		
	625	154	129	149	11	7	8	27	33	17	17	16	25
		(144 $\pm$ 13.2)			(9 $\pm$ 2.1)			(26 $\pm$ 8.1)			(19 $\pm$ 4.9)		
	1250	150	129	131	11	9	7	18	20	28	18	22	17
		(137 $\pm$ 11.6)			(9 $\pm$ 2.0)			(22 $\pm$ 5.3)			(19 $\pm$ 2.6)		
	2500	144	144	134	12	16	9	21	28	22	21	23	28
		(141 $\pm$ 5.8)			(12 $\pm$ 3.5)			(24 $\pm$ 3.8)			(24 $\pm$ 3.6)		
	5000	124	152	139	13	9	5	26	21	26	23	22	21
		(138 $\pm$ 14.0)			(9 $\pm$ 4.0)			(24 $\pm$ 2.9)			(22 $\pm$ 1.0)		
S9 mix (+)	0	160	134	157	13	12	12	32	34	36	39	38	42
		(150 $\pm$ 14.2)			(12 $\pm$ 0.6)			(34 $\pm$ 2.0)			(40 $\pm$ 2.1)		
	313	180	175	164	5	6	11	28	25	27	38	35	34
		(173 $\pm$ 8.2)			(7 $\pm$ 3.2)			(27 $\pm$ 1.5)			(36 $\pm$ 2.1)		
	625	186	176	181	9	4	8	33	25	27	39	39	39
		(181 $\pm$ 5.0)			(7 $\pm$ 2.6)			(28 $\pm$ 4.2)			(39 $\pm$ 0.0)		
	1250	186	189	162	16	10	14	26	26	27	25	44	41
		(179 $\pm$ 14.8)			(13 $\pm$ 3.1)			(26 $\pm$ 0.6)			(37 $\pm$ 10.2)		
	2500	171	167	184	17	12	12	21	26	31	51	55	49
		(174 $\pm$ 8.9)			(14 $\pm$ 2.9)			(26 $\pm$ 5.0)			(52 $\pm$ 3.1)		
	5000	199	172	188	6	8	6	31	34	22	72	66	62
		(186 $\pm$ 13.6)			(7 $\pm$ 1.2)			(29 $\pm$ 6.2)			(67 $\pm$ 5.0)		
Positive control S9 mix (-)	Chemical	AF2			SA			AF2			AF2		
	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	0.01			0.5			0.01			0.1		
	Number of colonies/plate	582	544	532	711	680	708	244	223	226	614	655	598
Positive control S9 mix (+)	Chemical	2AA			2AA			2AA			2AA		
	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	1			2			10			0.5		
	Number of colonies/plate	1010	944	1013	407	385	392	1013	995	1058	417	471	468
		(989 $\pm$ 39.0)			(395 $\pm$ 11.2)			(1022 $\pm$ 32.4)			(452 $\pm$ 30.3)		

The purity of the test substance was 99.70 %.

AF2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, SA: Sodium azide, 9AA: 9-Aminoacridine, 2AA: 2-Aminoanthracene

In Vitro Chromosomal Aberration Test of 3-Aminophenol
on Cultured Chinese Hamster Cells

要約

3-アミノフェノールの培養細胞に及ぼす細胞遺伝学的影響について、チャイニーズ・ハムスター培養細胞(CHL/IU)を用いて染色体異常試験を実施した。

連続処理(24時間)およびS9 mix非存在下の短時間処理(6時間)では、1.1 mg/mL(10 mM)においても50%を越える増殖抑制を示さなかった。S9 mix存在下の短時間処理における50%細胞増殖抑制濃度は、0.062 mg/mLであった。従って、連続処理およびS9 mix非存在下における短時間処理では1.1 mg/mL(10 mM)を最高処理濃度とし、公比2で3濃度を設定した。S9 mix存在下における短時間処理では、50%細胞増殖抑制濃度の約2倍濃度を最高処理濃度とし、公比2で5濃度を設定した。連続処理では、24時間処理後、短時間処理ではS9 mix非存在下および存在下で6時間処理し、新鮮培地で更に18時間培養後、標本作製し、検鏡することにより染色体異常誘発性を検討した。24時間連続処理では全処理濃度で強い細胞分裂阻害のために染色体分析が不可能であったため、濃度を設定し直し(1.1 mg/mL(10 mM)を最高処理濃度として、公比2で10濃度)再度試験を行った。その結果、染色体分析が可能な最高濃度は、0.14 mg/mLであったことから、これを高濃度群として3濃度群を観察対象とした。また、S9 mix非存在下および存在下での短時間処理では1.1 mg/mL(10 mM)および0.060 mg/mLの濃度が分析可能な最高濃度であったことから、これらの濃度を高濃度群として3濃度群を観察対象とした。

CHL/IU細胞を24時間連続処理したすべての処理群(0.034-0.14 mg/mL)において、染色体の構造異常が誘発され、その頻度は8.0-21.0%(gapを除く)であった。倍数性細胞については、高濃度群(0.14 mg/mL)で観察細胞数が規定の細胞数に満たなかった(764細胞)が、誘発作用は認められなかった。S9 mix非存在下での短時間処理では、いずれの処理群においても、染色体の構造異常および倍数性細胞の誘発作用は認められなかった。S9 mix存在下での短時間処理では、染色体の構造異常について、傾向性検定($p < 0.01$)において有意差が認められたが、フィッシャーの直接確率法においてはいずれの濃度群でも溶媒対照群との間で有意差($p < 0.01$)が認められなかったことから、陰性と判定した。倍数性細胞の誘発作用は、認められなかった。

以上の結果より、本試験条件下で3-アミノフェノールは、染色体異常を誘発する(陽性)と結論した。

方法

1. 使用した細胞

リサーチ・リソースバンク(JCRB)から入手(1988年2月、入手時:継代4代、現在21代)したチャイニーズ・ハムスター由来のCHL/IU細胞を、解凍後継代10代以内で試験に用いた。

2. 培養液の調製

培養には、仔牛血清(CS, Cansera International)を10 vol%添加したイーグルMEM(日水製薬(株))培養液を用いた。

3. 培養条件

2×10^4 個のCHL/IU細胞を、培養液5 mLを入れたディッシュ(径6 cm, Corning)に播き、37°CのCO₂インキュベーター(5% CO₂)内で培養した。連続処理では、細胞播種3日目に被験物質を加え、24時間処理した。また、短時間処理では、細胞播種3日目にS9 mix非存在下および存在下で6時間処理し、処理終了後新鮮な培養液でさらに18時間培養した。

4. S9

S9(キッコマン(株))は、フェノバルビタールと5,6-ベンゾフラボンを投与した雄Sprague-Dawley系ラットの肝臓から調製したものを購入した。添加量は培地に対して5 vol%とした。

5. 被験物質

3-アミノフェノール(ロット番号:720208, 三井化学(株)(山口))は、淡灰色結晶性粉末で、水に対しては100 mmol/L以上、50 mg/mL未満、DMSOでは2 mol/L以上で溶解し、融点122.7°C、沸点280°Cで、純度99.70%(不純物は不明)の物質で、室温保存した。被験物質原体は、常温で安定であった。

6. 被験物質の調製

被験物質は用時調製して試験に用いた。溶媒は局方注射用水(ロット番号:K8D75およびK8H73, (株)大塚製薬工場)を用いた。原体を溶媒に溶解して原液を調製し、ついで原液を溶媒で順次希釈して所定の濃度の被験物質調製液を作製した。被験物質調製液は、すべての試験において培養液の10 vol%になるように加えた。