

3-アミノフェノールのラットを用いた  
経口投与による2週間毒性試験（混水試験）報告書

試験番号：0689

CAS No. 591-27-5

2008年3月12日

中央労働災害防止協会  
日本バイオアッセイ研究センター

目次

標題	.....	i
試験目的	.....	i
試験法	.....	i
試験委託者	.....	i
試験施設及び運営管理者	.....	i
試験日程	.....	i
試験関係者一覧	.....	ii
試資料の保管	.....	iii
試験責任者（最終報告書作成者）の署名、捺印及び日付	.....	iii
陳述書	.....	iv
本文	.....	v
<b>TABLES</b>	<b>A 1~L 2</b>	
<b>FIGURES</b>	<b>1~6</b>	
<b>APPENDICES</b>	<b>1-1~2</b>	

## 標題

3-アミノフェノールのラットを用いた経口投与による2週間毒性試験(混水試験)

## 試験目的

3-アミノフェノールの経口投与によるがん原性試験の投与濃度決定試験(13週間試験)の予備試験として、3-アミノフェノールをラットに2週間経口(混水)投与して、その生体影響を検索した。

## 試験法

本試験はOECD化学品テストガイドライン407(げっ歯類における28日間反復経口投与毒性試験 1995年7月27日採択)を参考にして実施した。

## 試験委託者

厚生労働省労働基準局安全衛生部化学物質対策課  
東京都千代田区霞ヶ関1-2-2

## 試験施設及び運営管理者

中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター  
副所長 長野 嘉介  
神奈川県秦野市平沢2445

## 試験日程

試験開始日	2007年5月15日
動物導入日	2007年5月21日
群構成日	2007年6月4日
被験物質投与開始日	2007年6月4日
被験物質投与終了日	2007年6月18日
定期解剖日	2007年6月18日
試験終了日	2008年3月12日

3-アミノフェノールのラットを用いた  
経口投与による2週間毒性試験（混水試験）報告書

試験番号：0689

本文

## 本文目次

	頁
要約 .....	1
I 試験材料 .....	3
I-1 被験物質の性状等 .....	3
I-1-1 名称等 .....	3
I-1-2 構造式及び分子量 .....	3
I-1-3 物理化学的性状等 .....	3
I-2 被験物質の使用ロット等 .....	3
I-3 被験物質の特性・同一性、安定性 .....	4
I-3-1 特性・同一性 .....	4
I-3-2 安定性 .....	4
I-4 試験動物 .....	4
II 試験方法 .....	5
II-1 投与 .....	5
II-1-1 投与経路 .....	5
II-1-2 被験物質の投与方法 .....	5
II-1-3 投与期間 .....	5
II-1-4 投与濃度 .....	5
II-1-5 投与方法、投与期間及び投与濃度の設定理由 .....	5
II-1-6 被験物質混合飲水の調製方法 .....	6
II-1-7 調製時における被験物質混合飲水中の被験物質の濃度 .....	6
II-1-8 被験物質混合飲水中の被験物質の安定性 .....	6
II-1-9 被験物質の摂取量 .....	7
II-2 動物管理 .....	7
II-2-1 各群の使用動物数 .....	7
II-2-2 群分け及び個体識別方法 .....	7
II-2-3 飼育条件 .....	8
(1) 飼育環境 .....	8
(2) 飼料 .....	8
(3) 飲水 .....	8

II-3	観察・検査項目及び方法	9
II-3-1	動物の生死及び一般状態の観察	9
II-3-2	体重測定	9
II-3-3	摂餌量測定	9
II-3-4	摂水量測定	9
II-3-5	血液学的検査	9
II-3-6	血液生化学的検査	10
II-3-7	病理学的検査	10
	(1) 剖検	10
	(2) 臓器重量	10
	(3) 臓器の採取保存	10
	(4) 病理標本の作製及び病理組織学的検査	10
II-4	数値処理と統計方法	11
II-4-1	数値の取り扱いと表示	11
II-4-2	統計処理	11
III	試験成績	12
III-1	生死状況	12
III-2	一般状態	12
III-3	体重	12
III-4	摂餌量	13
III-5	摂水量	13
III-6	被験物質摂取量	14
III-7	血液学的検査	14
III-8	血液生化学的検査	14
III-9	病理学的検査	15
	III-9-1 剖検	15
	III-9-2 臓器重量	15
	III-9-3 病理組織学的検査	16
IV	考察及びまとめ	17
IV-1	用量-反応関係	17
IV-2	13週間試験の濃度決定	18

V	文献	20
VI	予見することのできなかつた試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態 及び試験計画書に従わなかつたこと	21

## 要約

3-アミノフェノールの F344/DuCrIj ラットを用いた経口投与による 2 年間 (104 週間) のがん原性試験のための予備試験である 13 週間試験を実施するに当たり、その投与濃度を決定するために 2 週間試験を実施した。

本試験は、被験物質投与群 5 群と対照群 1 群の計 6 群の構成で、雌雄各群とも 5 匹とし、合計 60 匹を用いた。被験物質の投与は、3-アミノフェノールを混合した飲水を動物に自由摂取させることにより行った。投与濃度は、雌雄とも 0、625、1250、2500、5000 及び 7500 ppm (重量比 w/w) とした。観察、検査として、一般状態の観察、体重、摂餌量及び摂水量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、臓器重量測定及び脾臓、肝臓、腎臓及び甲状腺の病理組織学的検査を行った。

3-アミノフェノールの投与の結果、雌雄ともすべての群に死亡動物は認められなかった。一般状態の観察では、雌雄とも 2500 ppm 以上の群で褐色尿が全動物に投与期間を通して認められた。7500 ppm 群では雄で糞小粒が、雌で被毛の汚染、尿による外陰部周囲の汚染、糞小粒、糞少量が観察された。5000 ppm 群では雌で被毛の汚染と糞少量がみられた。体重は、雌雄の 7500 ppm 群と雌の 5000 ppm 群で投与初期に減少がみられ、投与期間を通して増加の抑制が認められた。雄の 5000 ppm 群でも 7 日以降増加の抑制がみられた。摂餌量は、雌雄の 7500 ppm 群と 5000 ppm 群で全投与期間、雌の 2500 ppm 群でも 3 日目に低値がみられ、摂水量は、雌雄の 2500 ppm 以上の群で全投与期間、1250 ppm 群では 14 日目に低値がみられた。また、摂水量の低下にともない、被験物質摂取量は設定濃度比よりも低い値を示した。

血液学的検査では、メトヘモグロビン濃度の軽度な高値が雄では 1250 ppm 群と 7500 ppm 群で、雌では 7500 ppm 群で認められ、メトヘモグロビン血症が示唆された。その他、MCV の低値が雌の 5000 ppm 以上の群、血小板数の低値が雌雄の 7500 ppm 群でみられた。血液生化学的検査では、総ビリルビンの高値が雄の 7500 ppm 群と雌の 5000 ppm 以上の群に認められ、赤血球への傷害が示唆された。その他、雄で総コレステロールとリン脂質の高値が 5000 ppm 以上の群、CK の低値が 7500 ppm 群、雌では、AST、ALT、尿素窒素、ナトリウム及びクロールの高値が 7500 ppm 群でみられた。これらの変化は肝臓や腎臓への影響を示唆するものの、いずれの変化も比較的軽度なものであった。また、総蛋白の高値が雄の 7500 ppm 群と雌の 5000 ppm 以上の群、アルブミンの高値が雌雄の 7500 ppm 群でみられたが、これらの群は摂水量が低下しており、摂水量の低下による血液濃縮による変化と考えられた。

病理学的検査では、腎臓で雄の腎臓重量体重比の高値が 625 ppm 以上の群、雌では実重量の高値が 2500 ppm 群と 5000 ppm 群、体重比の高値が 1250 ppm 以上の群で認められた。また、雄の 2500 ppm 以上の群で、腎臓の近位尿細管上皮に好酸体の程度の増強が認められた。甲状腺では、実重量の高値が雌の 7500 ppm 群、体重比の高値が雌雄の 7500 ppm 群で認められ、雄に甲状腺の軽度の濾胞増生が 1 匹にのみみられた。また、脾臓では、雌



の 7500 ppm 群でヘモジデリン沈着が認められ、赤血球の溶血が示唆された。

以上の結果より、13 週間試験の最高投与濃度は雌雄とも 5000 ppm とし、以下、4000、2500、1250、625 ppm の濃度とした。

I 試験材料

I-1 被験物質の性状等

I-1-1 名称等

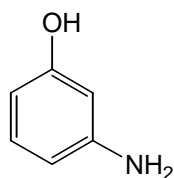
名 称： 3-アミノフェノール (3-Aminophenol)

別 名： *m*-アミノフェノール (*m*-Aminophenol)

CAS No. : 591-27-5

I-1-2 構造式及び分子量 (文献 1)

構 造 式：



分 子 量： 109.13

I-1-3 物理化学的性状等 (文献 1)

性 状： 白色ないし薄い灰色の結晶

比 重： 1.265

融 点： 122°C

溶 解 性： 2.6g/100g 水 (0°C)、アルコール、エーテルに可溶

保 管 条 件： 室温で暗所に保管

I-2 被験物質の使用ロット等

製 造 元： 和光純薬工業(株)

グ レ ー ド： 和光一級

純 度： 100.0% (和光純薬工業(株) 検査成績書データ)

使用ロット番号： LTN7029

### I-3 被験物質の特性・同一性、安定性

#### I-3-1 特性・同一性

被験物質の同一性は、マススペクトルを質量分析計 (Agilent Technologies 5973N) を用いて測定し、また、赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計 (Shimadzu FTIR-8200PC) を用いて測定し、それぞれの文献値と比較することにより確認した。

その結果、被験物質のマススペクトルは、文献値 (文献 2) と同じ分子イオン及びフラグメントピークを示し、また、赤外吸収スペクトルも文献値 (文献 3) と同じ波数にピークが認められ、被験物質は 3-アミノフェノールであることを確認した。

それらの結果は APPENDIX 1-1 に示した。

#### I-3-2 安定性

被験物質の安定性は、使用開始前及び使用終了後にクロマトグラムを高速液体クロマトグラフ (Shimadzu LC-10) を用いて測定し、それぞれのデータを比較することにより確認した。

その結果、使用開始前と使用終了後の測定結果に差はみられず、使用期間中の被験物質は安定であったことを確認した。

それらの結果は APPENDIX 1-2 に示した。

### I-4 試験動物

動物は、3-アミノフェノールのがん原性試験で使用する動物種及び系統に合わせ、日本チャールス・リバー(株) (厚木飼育センター：神奈川県厚木市下古沢 795) の F344/DuCrIjラット (SPF) の雌雄を使用した。

雌雄各 37 匹を 4 週齢で導入し、検疫、馴化を各 1 週間実施した後、発育順調で一般状態に異常を認めなかった動物から、体重値の中央値に近い雌雄各 30 匹 (投与開始時体重範囲、雄：117～132g、雌：95～104g) を選別し、試験に用いた。

なお、がん原性試験に F344/DuCrIj ラット (SPF) を選択した理由は、遺伝的に安定していること、過去に多くのがん原性試験に用いたデータがあり、化学物質による腫瘍発生の感受性が知られていることによる。

## II 試験方法

### II-1 投与

#### II-1-1 投与経路

投与経路は経口投与とした。

#### II-1-2 被験物質の投与方法

投与は、被験物質を設定濃度に調製した被験物質混合飲水を、褐色ガラス製給水瓶に充填し、動物に自由摂取させた。なお、給水瓶の交換は週に2回実施した。

#### II-1-3 投与期間

投与期間は2週間とし、定期解剖直前まで連続投与した。

#### II-1-4 投与濃度

投与濃度は、雌雄とも625、1250、2500、5000及び7500 ppm（重量比 w/w）の5段階に設定した。なお、対照群として脱イオン水[市水（神奈川県秦野市水道局供給）をフィルターろ過し、紫外線照射、脱イオンしてさらにフィルターろ過したもの]のみの群を設けた。

#### II-1-5 投与方法、投与期間及び投与濃度の設定理由

被験物質は、室温で固体であるが、水に可溶で水溶液中で安定であるため、混水による経口投与とした。

投与期間は、がん原性試験の投与濃度決定試験（13週間毒性試験）の投与濃度を決定するために2週間とした。

2週間試験の投与濃度は予備検討試験の結果と文献を参考に決定した。予備検討試験では、6週齢のF344/DuCr1Cr1jラット（雌雄とも各群3匹）を用い、0、1000、5000、10000及び20000 ppm（w/w）の濃度で10日間の飲水投与試験を実施した。その結果、雌の20000 ppm群でのみ2匹の死亡がみられた。20000 ppm群と10000 ppm群では、雌雄とも投与開始時より継続した体重減少がみられ、摂餌量及び摂水量の低値も顕著であった。5000 ppm群では、摂水量の低値がみられたものの、10日目の体重は、対照群に比較して雄91%、雌93%であった。1000 ppm群では、雌で僅かな摂水量の低値がみられたのみであった。

以上の結果から、2週間試験の最高投与濃度は、動物の死亡がみられず、明らかな毒性兆候を示すと予想される 5000 ppm 以上、10000 ppm 未満であると推察された。また、ラットを用いた強制経口投与による 28 日間反復投与毒性試験（文献 4）では、無影響量（NOEL）は雌雄とも 80 mg/kg/day 未満、また、ラット雌を用いた 90 日間混餌投与試験（文献 5）では、無毒性量（NOAEL）は約 100 mg/kg/day と報告されており、最低投与濃度は、それらと同等の用量となる 1000 ppm 以下が適切と考えられた。

従って、2週間試験の最高投与濃度は雌雄とも 10000 ppm と 5000 ppm の間の 7500 ppm とし、以下、5000、2500、1250 及び 625 ppm の 5 段階の濃度に設定した。

#### II-1-6 被験物質混合飲水の調製方法

被験物質に脱イオン水を加え、マグネチックスターラー（池田理化(株)製 1S 3GL 型）を用いて各設定濃度になるように被験物質を溶解した。なお、試験における濃度の表示は、ppm（w/w）とした。また、調製頻度は給水瓶の交換に合わせ、週に 2 回とした。

#### II-1-7 調製時における被験物質混合飲水中の被験物質の濃度

被験物質混合飲水中の被験物質の濃度は、初回調製時に各投与濃度ごとに調製容器内の被験物質混合飲水を 3 点サンプリングし、高速液体クロマトグラフ（Shimadzu LC-10）を用いて測定し、確認した。

その結果、各群の平均調製濃度は、設定濃度に対して 97.0～102%の範囲にあった。従って、被験物質混合飲水中の被験物質は、設定濃度に対して正確に調製されたことを確認した。

その結果を APPENDIX 1-3 に示した。

#### II-1-8 被験物質混合飲水中の被験物質の安定性

被験物質混合飲水中の被験物質の安定性は、投与開始前に最低投与濃度の 625 ppm と最高投与濃度の 7500 ppm の被験物質混合飲水で確認した。625 ppm と 7500 ppm の被験物質混合飲水をラット用給水瓶に充填し、動物飼育室内で室温保管（4 日間）し、調製時と保管期間後の被験物質濃度を、高速液体クロマトグラフ（Shimadzu LC-10）を用いて測定し、それぞれの濃度を比較することにより確認した。

その結果、調製時の濃度を 100%とした場合に、4 日目で 625 ppm : 98.1%、7500 ppm : 103%であり、給水期間中における被験物質混合飲水中の被験物質は安定であった。

その結果を APPENDIX 1-4 に示した。

## II-1-9 被験物質の摂取量

体重、摂水量及び設定濃度より、被験物質の体重 kg 当たりの 1 日摂取量 (mg/kg body weight per day) を算出した。

## II-2 動物管理

### II-2-1 各群の使用動物数

投与群 5 群及び対照群 1 群の計 6 群を設け、各群雌雄各 5 匹の動物を用いた。

群名称	動物数 (動物番号)	
	雄	雌
対照群	5 匹 (1001~1005)	5 匹 (2001~2005)
625 ppm 群	5 匹 (1101~1105)	5 匹 (2101~2105)
1250 ppm 群	5 匹 (1201~1205)	5 匹 (2201~2205)
2500 ppm 群	5 匹 (1301~1305)	5 匹 (2301~2305)
5000 ppm 群	5 匹 (1401~1405)	5 匹 (2401~2405)
7500 ppm 群	5 匹 (1501~1505)	5 匹 (2501~2505)

### II-2-2 群分け及び個体識別方法

供試動物の各群への割り当ては、一般状態及び体重の推移に異常を認めなかった動物を体重の重い順より各群に 1 匹ずつ割り当て、二巡目からは各群の動物の体重の合計を比較して、小さい群より順に体重の重い動物を割り当てることにより、群間の体重の偏りを小さくする群分け方法 (適正層別方式) により実施した (文献 6)。

動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間では尾に油性マーカーによる色素塗布、投与期間では耳パンチにより行った。また、ケージには個体識別番号を記したラベルを付した。

なお、動物はバリア区域内の独立した室 (雌雄とも 203 室) に収容し、室の扉に試験番号、動物種及び動物番号を表示し、他試験及び異種動物と区別した。

## II-2-3 飼育条件

### (1) 飼育環境

動物は、飼育期間を通して以下の環境で飼育した。飼育室の温度、湿度は実測値（平均値±標準偏差）を< >内に記した。飼育室内の環境には、動物の健康状態に影響を与えるような大きな変化は認められなかった。

温度 :  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$  < $22.9 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ >

湿度 :  $55 \pm 15\%$  < $58 \pm 1\%$ >

明暗サイクル : 12時間点灯(8:00~20:00)/12時間消灯(20:00~8:00)

換気回数 : 15~17回/時

ケージへの動物の収容方法 : 単飼

ケージの材質・形状・寸法等 :

ステンレス製2連網ケージ (170(W)×294(D)×176(H) mm/匹)

### (2) 飼料

飼料は、全飼育期間を通して、オリエンタル酵母工業(株)（千葉工場：千葉県千葉市美浜区新港 8-2）の CRF-1 固型飼料（30KG $\gamma$ -線照射滅菌飼料）を使用し、固型飼料給餌器により自由摂取させた。

なお、試験に使用した飼料の栄養成分については、オリエンタル酵母工業(株)から自社分析データを使用ロットごとに入手し、保管した。飼料中の夾雑物については、(財)日本食品分析センター（東京都渋谷区元代々木町 52-1）の分析データを使用ロットごとに入手し、試験計画書に規定した許容基準と照合して異常のないことを確認し、保管した。

### (3) 飲水

飲水は、検疫期間については市水（神奈川県秦野市水道局供給）をフィルターろ過した後、紫外線照射し、自動給水装置により自由摂取させた。馴化期間については、脱イオン水を給水瓶により自由摂取させた。投与期間については、各投与群には脱イオン水を用いて所定の濃度に調製した被験物質混合飲水を、対照群には脱イオン水のみを給水瓶により自由摂取させた。

なお、飲水は、試験施設として実施している定期サンプリングによる飲水を(財)食品薬品安全センター秦野研究所（神奈川県秦野市落合 729-5）に依頼して、水道法を参考にして規定した項目について分析し、結果を試験計画書に規定した許容基準と照合して異常のないことを確認し、保管した。

## II-3 観察・検査項目及び方法

### II-3-1 動物の生死及び一般状態の観察

動物の生死及び瀕死の確認を毎日 1 回行った。また、一般状態の詳細な観察は、投与開始後 3 (1 週 3 日)、7 (1 週 7 日)、10 (2 週 3 日)、14 (2 週 7 日) 日目に行った。

### II-3-2 体重測定

体重測定は、投与開始後 3 (1 週 3 日)、7 (1 週 7 日)、10 (2 週 3 日)、14 (2 週 7 日) 日目に行った。

### II-3-3 摂餌量測定

摂餌量は体重測定に合わせ毎週 2 回、給餌量及び残餌量を測定し、その値から 1 匹 1 日当たりの摂餌量を算出した。

### II-3-4 摂水量測定

摂水量は体重測定に合わせ毎週 2 回、給水量及び残水量を測定し、その値から 1 匹 1 日当たりの摂水量を算出した。

### II-3-5 血液学的検査

定期解剖時に生存していた採血可能な動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈より EDTA-2 カリウム入り採血管及びヘパリンリチウム入り採血管 (下記※印検査項目) に採血した血液を用いて、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX 2 に示した。

検査項目：赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)、血小板数、網赤血球比、※メトヘモグロビン濃度、白血球数



### II-3-6 血液生化学的検査

定期解剖時に生存していた採血可能な動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈よりヘパリンリチウム入り採血管に採血した血液を遠心分離し、得られた血漿を用いて、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX 2 に示した。

検査項目：総蛋白、アルブミン、A/G 比、総ビリルビン、グルコース、総コレステロール、リン脂質、AST、ALT、LDH、 $\gamma$ -GTP、CK、尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、無機リン

### II-3-7 病理学的検査

#### (1) 剖検

全動物について肉眼的に観察を行った。

#### (2) 臓器重量

定期解剖時まで生存した動物について、下記に示した臓器の湿重量（臓器実重量）を測定した。また、各臓器の湿重量の搬出時体重に対する百分率（臓器重量体重比）を算出した。なお、甲状腺（上皮小体を含む）は、10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で固定後、翌日に測定した。

測定臓器：胸腺、副腎、精巣、卵巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳、甲状腺（上皮小体を含む）

#### (3) 臓器の採取保存

全動物について下記に示した器官、組織を摘出し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で固定した。

器官・組織：皮膚、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、骨髄（大腿骨）、リンパ節（腋窩、腹壁等）、胸腺、脾臓、心臓、舌、唾液腺、食道、胃、小腸（十二指腸を含む）、大腸、肝臓、膵臓、腎臓、膀胱、下垂体、甲状腺、上皮小体、副腎、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、卵巣、子宮、膣、乳腺、脳、脊髄、末梢神経（坐骨神経）、眼球、ハーダー腺、筋肉、骨（大腿骨）、肉眼的に変化のみられた器官及び組織

#### (4) 病理標本の作製及び病理組織学的検査

全動物について、脾臓、肝臓、腎臓、甲状腺を切り出し、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い、光学顕微鏡で病理組織学的に検査した。

## II-4 数値処理と統計方法

### II-4-1 数値の取り扱いと表示

各数値データは測定機器の精度に合わせて表示した。

体重は g を単位とし、整数値の 1 の位まで測定し、表示した。

摂餌量は g を単位とし、給餌量及び残餌量を小数点以下第 1 位まで測定し、給餌量値から残餌量値を減じて摂餌量とした。この値を測定期間の日数で除し、1 日当たりの平均摂餌量を算出し、小数点以下第 2 位を四捨五入して小数点以下第 1 位までを表示した。

摂水量は g を単位とし、給水量及び残水量を小数点以下第 1 位まで測定し、給水量値から残水量値を減じて摂水量とした。この値を測定期間の日数で除し、1 日当たりの平均摂水量を算出し、小数点以下第 2 位を四捨五入して小数点以下第 1 位までを表示した。

被験物質の体重 kg 当たりの 1 日摂取量は、摂水量に被験物質の設定濃度を乗じ、体重で除した値を、mg/kg body weight per day を単位として小数点以下第 1 位を四捨五入し、整数値の 1 の位までを表示した。

臓器実重量は g を単位とし、小数点以下第 3 位まで測定し、表示した。臓器重量体重比は臓器実重量値を搬出時体重で除し、パーセント単位で小数点以下第 4 位を四捨五入し、小数点以下第 3 位までを表示した。

血液学的検査、血液生化学的検査は APPENDIX 2 に示した単位と精度により表示した。

なお、各数値データの平均値及び標準偏差は、上記に示した桁数と同様になるよう四捨五入を行い表示した。

### II-4-2 統計処理

各群の有効動物数は、供試動物より事故等の理由で外された動物数を減じた動物数とした。

病理組織学的検査は、臓器ごとに検査不能臓器を除いた臓器数、その他の検査及び測定は、実施できた動物数を検査（測定）数とした。

体重、摂餌量、摂水量、血液学的検査、血液生化学的検査及び臓器重量の測定値は、対照群を基準群として、まず Bartlett 法により等分散の予備検定を行い、その結果が等分散の場合には一元配置分散分析を行い、群間に有意差が認められた場合は Dunnett の多重比較により平均値の検定を行った。また、分散の等しくない場合には各群を通して測定値を順位化して、Kruskal-Wallis の順位検定を行い、群間に有意差が認められた場合には Dunnett 型の多重比較を行った。

各検定は 5% の有意水準で両側検定を行い、検定結果を表示する場合には 5% 及び 1% の有意水準の表示を行った。

### Ⅲ 試験成績

#### Ⅲ-1 生死状況

生死状況を TABLE A 1, 2 に示した。

—雌雄—

雌雄ともすべての群に死亡動物はみられなかった。

#### Ⅲ-2 一般状態

一般状態の観察結果を TABLE B 1, 2 に示した。

—雄—

2500 ppm 以上の群で褐色尿（各群 5 匹）が投与期間を通して認められた。7500 ppm 群では、糞小粒（5 匹）が 3 日目に認められた。1250 ppm 以下の群では、一般状態に変化はみられなかった。

—雌—

2500 ppm 以上の群で褐色尿（各群 5 匹）が投与期間を通して認められた。7500 ppm 群では、被毛の汚染（5 匹）と尿による外陰部周囲の汚染（2～4 匹）が投与期間を通して、糞小粒（5 匹）が 3 日目から 10 日目、糞少量（5 匹）が 7 日目と 10 日目に認められた。5000 ppm 群では、被毛の汚染（1 匹）が 3 日目と 7 日目、糞少量（5 匹）が 3 日目に認められた。1250 ppm 以下の群では、一般状態に変化はみられなかった。

#### Ⅲ-3 体重

体重の推移を TABLE C 1～4、及び FIGURE 1, 2 に示した。

—雄—

7500 ppm 群では、3 日目の体重は投与開始時より減少し、その後増加に転じたが、全投与期間を通して体重の低値が認められた。5000 ppm 群では、7、10、14 日目に体重の低値がみられた。2500 ppm 以下の群では、対照群とほぼ同様の推移を示した。

なお、最終計測日における各投与群の体重は、対照群に対して、625 ppm 群：101%、1250 ppm 群：98%、2500 ppm 群：95%、5000 ppm 群：87%、7500 ppm 群：80%であった。

—雌—

7500 ppm 群では、3 日目と 7 日目に、5000 ppm 群でも 3 日目の体重は投与開始時より減少し、その後増加に転じたが、全投与期間を通して体重の低値が認められた。2500 ppm 以下の群では、対照群とほぼ同様の推移を示した。

なお、最終計測日における各投与群の体重は、対照群に対して、625 ppm 群：97%、1250

ppm 群 : 98%、2500 ppm 群 : 97%、5000 ppm 群 : 88%、7500 ppm 群 : 75%であった。

### Ⅲ-4 摂餌量

摂餌量を TABLE D 1~4 及び FIGURE 3, 4 に示した。

—雄—

7500 ppm 群と 5000 ppm 群では、全投与期間を通して、摂餌量の低値が認められた。2500 ppm 以下の群では対照群とほぼ同様の推移を示した。

全投与期間における各群の平均一日摂餌量(対照群に対する相対比)は、対照群 : 15.2 g、625 ppm 群 : 15.2 g (100%)、1250 ppm 群 : 14.7 g (97%)、2500 ppm 群 : 13.9 g (91%)、5000 ppm 群 : 12.8 g (84%)、7500 ppm 群 : 11.1 g (73%) であった。

—雌—

7500 ppm 群と 5000 ppm 群では、全投与期間を通して、摂餌量の低値が認められた。2500 ppm 群では 3 日目に低値がみられた。1250 ppm 以下の群では対照群とほぼ同様の推移を示した。

全投与期間における各群の平均一日摂餌量(対照群に対する相対比)は、対照群 : 11.0 g、625 ppm 群 : 10.7 g (97%)、1250 ppm 群 : 10.7 g (97%)、2500 ppm 群 : 10.2 g (93%)、5000 ppm 群 : 8.9 g (81%)、7500 ppm 群 : 7.6 g (69%) であった。

### Ⅲ-5 摂水量

摂水量を TABLE E 1~4 及び FIGURE 5, 6 に示した。

—雄—

2500 ppm 以上の群では、全投与期間を通して、摂水量の低値が認められた。1250 ppm 以下の群では対照群とほぼ同様の推移を示した。

全投与期間における各群の平均一日摂水量(対照群に対する相対比)は、対照群 : 18.6 g、625 ppm 群 : 17.5 g (94%)、1250 ppm 群 : 17.3 g (93%)、2500 ppm 群 : 13.9 g (75%)、5000 ppm 群 : 12.4 g (67%)、7500 ppm 群 : 9.4 g (51%) であった。

—雌—

2500 ppm 以上の群では、全投与期間を通して、摂水量の低値が認められた。1250 ppm 群では 14 日目に低値がみられた。625 ppm 群では対照群とほぼ同様の推移を示した。

全投与期間における各群の平均一日摂水量(対照群に対する相対比)は、対照群 : 13.8 g、625 ppm 群 : 13.6 g (99%)、1250 ppm 群 : 13.0 g (94%)、2500 ppm 群 : 10.9 g (79%)、5000 ppm 群 : 8.3 g (60%)、7500 ppm 群 : 6.9 g (50%) であった。

### Ⅲ-6 被験物質摂取量

体重、摂水量及び設定濃度より算出した被験物質摂取量を TABLE F 1, F 2 に示した。

—雄—

各投与群の1日当たりの被験物質摂取量 (mg/kg body weight per day) は、625 ppm 群 : 57~76 (平均 : 67) 、1250 ppm 群 : 115~155 (平均 : 135) 、2500 ppm 群 : 191~265 (平均 : 223) 、5000 ppm 群 : 398~470 (平均 : 424) 、7500 ppm 群 : 490~552 (平均 : 522) の範囲にあった。各投与群の平均被験物質摂取量は、摂水量の低値にともない、2500 ppm 以上の群で設定濃度比よりも低い値を示した。

—雌—

各投与群の1日当たりの被験物質摂取量 (mg/kg body weight per day) は、625 ppm 群 : 64~82 (平均 : 75) 、1250 ppm 群 : 123~161 (平均 : 141) 、2500 ppm 群 : 214~281 (平均 : 242) 、5000 ppm 群 : 362~431 (平均 : 396) 、7500 ppm 群 : 457~652 (平均 : 564) の範囲にあった。各投与群の平均被験物質摂取量は、摂水量の低値にともない、2500 ppm 以上の群で設定濃度比よりも低い値を示した。

### Ⅲ-7 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE G 1, 2 に示した。

—雄—

血小板数の低値が 7500 ppm 群に認められた。また、メトヘモグロビン濃度の高値が 1250 ppm 群と 7500 ppm 群でみられた。その他、MCV の高値が 1250 ppm 群でみられたが投与濃度に対応したものではなく、僅かな変化であった。

—雌—

MCV の低値が 5000 ppm 以上の群で、血小板数の低値とメトヘモグロビン濃度の高値が 7500 ppm 群で認められた。

### Ⅲ-8 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE H 1, 2 に示した。

—雄—

総コレステロールとリン脂質の高値が 5000 ppm 以上の群で、総蛋白、アルブミン及び総ビリルビンの高値、並びに CK の低値が 7500 ppm 群で認められた。

—雌—

総蛋白と総ビリルビンの高値が 5000 ppm 以上の群で、アルブミン、AST、ALT、尿素窒素、ナトリウム及びクロールの高値が 7500 ppm 群で認められた。その他、カルシウム

の低値が 1250 ppm 群と 7500 ppm 群でみられたが、投与濃度に対応したものではなく、僅かな変化であった。

### Ⅲ-9 病理学的検査

#### Ⅲ-9-1 剖検

剖検所見を TABLE I 1, 2 に示した。

—雌雄—

被験物質投与による変化は認められなかった。

#### Ⅲ-9-2 臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量を TABLE J 1, 2 に、体重比を TABLE K 1, 2 に示した。

—雄—

腎臓の体重比の高値が全投与群で認められた。

甲状腺の体重比の高値が 7500 ppm 群で認められた。

その他、2500 ppm 以上の群で、胸腺、精巣、心臓、肺、脾臓、肝臓及び脳の実重量や体重比に変化がみられたが、2500 ppm 以上群の搬出時体重は低値あるいは低値傾向であり、これらの臓器重量の変化は、搬出時体重の低値に関連した変化と考えた。

—雌—

腎臓の実重量の高値が 2500 ppm 群と 5000 ppm 群で、体重比の高値が 1250 ppm 以上の群で認められた。

甲状腺の実重量と体重比の高値が 7500 ppm 群で認められた。

その他、5000 ppm 以上の群で、胸腺、副腎、卵巣、心臓、肺、脾臓、肝臓及び脳の実重量や体重比に変化がみられたが、5000 ppm 以上群の搬出時体重は低値であり、これらの臓器重量の変化は、搬出時体重の低値に関連した変化と考えた。

### Ⅲ-9-3 病理組織学的検査

非腫瘍性病変及びそれらの発生数を TABLE L 1, 2 に示した。

—雄—

[7500 ppm 群]

甲状腺に濾胞増生（軽度 1 匹）が認められた。

腎臓に好酸体（中等度 5 匹）の程度の増強が認められた。

[5000 ppm 群]

腎臓に好酸体（中等度 5 匹）の程度の増強が認められた。

[2500 ppm 群]

腎臓に好酸体（軽度 1 匹、中等度 4 匹）の程度の増強が認められた。

[1250 ppm 群・625 ppm 群]

被験物質投与による変化は認められなかった。

—雌—

[7500 ppm 群]

脾臓にヘモジデリン沈着（軽度 5 匹）が認められた。

[5000 ppm 群・2500 ppm 群・1250 ppm 群・625 ppm 群]

被験物質投与による変化は認められなかった。

#### IV 考察及びまとめ

3-アミノフェノールの F344/DuCr1Cr1j ラットを用いた経口投与による2年間(104週間)のがん原性試験のための予備試験である13週間試験を実施するに当たり、その投与濃度を決定するために2週間試験を実施した。被験物質の投与は、3-アミノフェノールを混合した飲水を自由摂取させることにより行った。1群当たりの動物数は雌雄各5匹とし、被験物質投与群5群と対照群1群の計6群構成で行った。投与濃度は、雌雄とも0、625、1250、2500、5000及び7500 ppm (w/w)とした。観察、検査として、一般状態の観察、体重、摂餌量及び摂水量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、臓器重量測定及び脾臓、肝臓、腎臓及び甲状腺の病理組織学的検査を行った。

##### IV-1 用量-反応関係

3-アミノフェノールの投与の結果、雌雄ともすべての群に死亡動物は認められなかった。一般状態の観察では、雌雄とも2500 ppm以上の群で褐色尿が全動物に投与期間を通して認められた。7500 ppm群では雄で投与3日目に糞小粒が、雌で被毛の汚染と尿による外陰部周囲の汚染が投与期間を通して、糞小粒が3~10日目、糞少量が7日と10日目に観察された。5000 ppm群では雌で被毛の汚染が3日と7日目、糞少量が3日目にみられた。なお、1250 ppm以下の群では、雌雄とも一般状態に変化はみられなかった。

体重は、雌雄の7500 ppm群と雌の5000 ppm群で投与初期に減少がみられ、投与期間を通して増加の抑制が認められた。雄の5000 ppm群でも7日以降増加の抑制がみられた。最終体重は対照群に対し、雄では、625 ppm群：101%、1250 ppm群：98%、2500 ppm群：95%、5000 ppm群：87%、7500 ppm群：80%、雌では、625 ppm群：97%、1250 ppm群：98%、2500 ppm群：97%、5000 ppm群：88%、7500 ppm群：75%であった。

摂餌量は、雌雄の7500 ppm群と5000 ppm群で全投与期間、雌の2500 ppm群でも3日目に低値がみられ、摂水量は、雌雄の2500 ppm以上の群で全投与期間、1250 ppm群では14日目に低値がみられた。また、摂水量の低下にともない、被験物質摂取量は2500 ppm以上の群で設定濃度比よりも低い値を示した。

血液学的検査では、メトヘモグロビン濃度の軽度な高値が雄では1250 ppm群と7500 ppm群で、雌では7500 ppm群で認められた。多くの芳香族ニトロ及びアミノ化合物はメトヘモグロビンの生成と貧血がみられることが報告されており(文献7)、3-アミノフェノール投与によるメトヘモグロビン血症が示唆された。赤血球への傷害を反映する変化として、総ビリルビンの高値と脾臓でのヘモジデリンの沈着が認められた。その他、MCVの低値が雌の5000 ppm以上の群、血小板数の低値が雌雄の7500 ppm群でみられた。

血液生化学的検査では、総ビリルビンの高値が雄の7500 ppm群と雌の5000 ppm以上の群に認められ、赤血球への傷害が示唆されたが、その程度は軽度であった。その他、雄



で総コレステロールとリン脂質の高値が 5000 ppm 以上の群に、CK の低値が 7500 ppm 群で、雌では、AST、ALT、尿素窒素、ナトリウム及びクロールの高値が 7500 ppm 群でみられた。これらの変化は肝臓や腎臓への影響を示唆するものの、いずれの変化も比較的軽度なものであった。また、総蛋白の高値が雄の 7500 ppm 群と雌の 5000 ppm 以上の群、アルブミンの高値が雌雄の 7500 ppm 群でみられたが、これらの群は摂水量が低下しており、摂水量の低下による血液濃縮による変化と考えられた。

病理学的検査では、腎臓で雄の腎臓重量体重比の高値が 625 ppm 以上の群で、雌では実重量の高値が 2500 ppm 群と 5000 ppm 群、体重比の高値が 1250 ppm 以上の群で認められた。また、雄の 2500 ppm 以上の群で、腎臓の近位尿細管上皮に好酸体の程度の増強が認められた。腎臓の好酸体は、雄ラットでは、無処置の動物でも通常にみられる変化（文献 8）であり、本試験でも対照群からすべて投与群の動物に認められた。しかし、雄の 2500 ppm 以上の群で、投与濃度に対応して好酸体の程度の増強がみられた。雄ラットにみられる好酸体は近位尿細管上皮細胞への  $\alpha_{2u}$ -グロブリン蓄積によると報告されており（文献 8、9）、3-アミノフェノールの投与による腎臓への  $\alpha_{2u}$ -グロブリンの蓄積を示す所見と考えられた。甲状腺では、実重量の高値が雌の 7500 ppm 群、体重比の高値が雌雄の 7500 ppm 群で認められた。なお、雄の実重量も統計学的に有意でないものの高値傾向であった。病理組織学的には、甲状腺の濾胞増生が雄の 1 匹（軽度）にのみみられた。脾臓では、雌の 7500 ppm 群でヘモジデリン沈着（軽度 5 匹）が認められ、メトヘモグロビン血症による赤血球の溶血があったことが示唆された。

#### IV-2 13 週間試験の濃度決定

本試験の結果より、13 週間試験の投与濃度を以下の通り決定した。

雌雄ともすべての投与群で死亡はみられなかった。7500 ppm 群では、雌雄とも体重増加の抑制（最終体重は対照群に対し、雄 80%、雌 75%）、摂水量と摂餌量の低値が認められ、雌の一般状態に動物の状態悪化を示す所見が観察され、この濃度での 13 週間の投与は高すぎると考えられる。5000 ppm 群では、体重増加抑制（雄 87%、雌 88%）、摂水量と摂餌量の低値が認められた。臓器重量は腎臓重量の高値（雄で体重比、雌で実重量と体重比）がみられたが、病理組織学的検査では雄の尿細管における好酸体の程度の増強がみられたのみであった。また、血液学的検査や血液生化学的検査での変化も比較的軽度なものであった。2500 ppm 以下の群では、体重増加の抑制はほとんど認められず、雄に腎臓重量体重比の高値が最低投与濃度の 625 ppm 群までみられた。

従って、13 週間試験の最高投与濃度は、体重増加抑制、摂水量と摂餌量の低値がみられるものの、13 週間の投与に充分耐えうる濃度と考えられる 5000 ppm が適当であると考えた。以下、公比 2 で 2500、1250、625 ppm の濃度を設定し、さらに、5000 ppm と 2500 ppm の間の変化をより詳細に得るために 4000 ppm を追加した。

以上のように、13 週間試験の最高投与濃度は雌雄とも 5000 ppm とし、以下、4000、2500、1250、625 ppm とした。

## V 文献

1. 化学工業日報社. 2006. 14906 の化学商品. 東京：化学工業日報社, 662-663.
2. McLafferty FW, ed. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th ed. New York, NY : John Wiley and Sons.
3. 和光純薬工業(株). 2007. 3-アミノフェノール, 赤外吸収スペクトル.
4. 化学物質点検推進連絡協議会. 2001. 3-アミノフェノールのラットを用いる 28 日間反復投与毒性試験. 化学物質毒性試験報告 8 : 692-703.
5. Re TA, Loehr RF, Rodriguez SC, Rodwell DE, Burnett CM. 1984. Results of teratogenicity testing of *m*-aminophenol in Sprague-Dawley rats. *Fundam Appl Toxicol* 4: 98-104.
6. 阿部正信. 1986. 長期毒性試験に用いるラット、マウスの体重変化の解析による群分けの適正層別方式の確立. *薬理と治療* 14: 7285-7302.
7. Benya TJ, Cornish HH. 1999. 16 章 芳香族ニトロ化合物 (aromatic nitro compounds), 芳香族アミノ化合物 (aromatic amino compounds). 化学物質毒性ハンドブック II. Clayton GD, Clayton FE 編. 内藤裕史, 横手規子 訳. 東京: 丸善株式会社. 2-13.
8. 伊東信行. 2000. 腎臓. 毒性病理組織学. 名古屋: アイペック, 253.
9. Yamazaki K, Aiso S, Matsumoto M, Arito H, Nagano K, Yamamoto S, et al. 2005. Thirteen-week oral toxicity study of 1,4-dichloro-2-nitrobenzene in rats and mice. *Ind Health* 43: 597-610.

VI 予見することのできなかつた試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかつたこと

予見することのできなかつた試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかつたことはなかつた。