

3-アミノフェノールのマウスを用いた
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：0690

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
TABLES	A 1~L 2	
FIGURES	1~6	
APPENDICES	1-1~2	

標題

3-アミノフェノールのマウス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マウスに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 28日
群構成日	2007年 6月 11日
被験物質投与開始日	2007年 6月 11日
被験物質投与終了日	2007年 6月 25日
定期解剖日	2007年 6月 25日
試験終了日	2008年 3月 12日

3-アミノフェノールのマウスを用いた
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：0690

本文

本文目次

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

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

V	文献	18
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	19

要約

3-アミノフェノールの B6D2F1/Crlj マウス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。雄の 5000 ppm 以上の群と雌の 1250 ppm 以上の群では、投与初期に糞少量が観察された。体重は、雌雄の 7500 ppm 群と雄の 5000 ppm 群で、投与 3 日目に減少がみられ、投与期間を通して増加の抑制が認められた。また、雌の 5000 ppm 群と 2500 ppm 群では、3 日目に体重の低値が認められた。摂餌量は、雌雄とも 2500 ppm 以上の群で投与初期に低値が、摂水量は 1250 ppm 以上の群で全投与期間を通して低値がみられた。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、赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値が雄の 5000 ppm 以上の群で、赤血球数の低値と MCH の高値が雌の 2500 ppm 以上の群でみられ、貧血が認められた。また、雌雄の 2500 ppm 以上の群で網赤血球比の高値がみられた。血液生化学的検査では、雌雄とも総ビリルビンの高値が 1250 ppm 以上の群で認められた。総ビリルビンの高値は、赤血球の傷害による貧血に対応した変化と考えられた。

病理学的検査では、脾臓の重量 (実重量・体重比) の増加が、雄の 5000 ppm 以上の群と雌の 2500 ppm 以上の群でみられ、病理組織学的検査では、ヘモジデリン沈着が雄の 5000 ppm 以上の群と雌の 2500 ppm 以上の群、髄外造血が雄の 2500 ppm 以上の群と雌の 1250 ppm 以上の群で認められた。これらの変化も貧血に対応した変化と考えられた。また、肝臓では、ヘモジデリン沈着が雌雄の 5000 ppm 以上の群、髄外造血が雌雄の 7500 ppm 群で認められた。これらの変化も貧血に対応した変化と考えられた。腎臓では、実重量の高値が雌の 5000 ppm 以上の群で、体重比の高値が雄の 5000 ppm 以上の群と雌の 2500 ppm 以上の群でみられたが、病理組織学的には変化は認められなかった。

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、公比 2 で 2500、1250、625、313 ppm の濃度とした。

I 試験材料

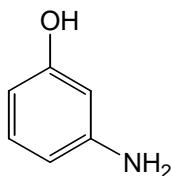
I-1 被験物質の性状等

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 B6D2F1/Crlj マウス (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：22.0~24.6g、雌：17.8~19.9g) を選別し、試験に用いた。

なお、がん原性試験に B6D2F1/Crlj マウス (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B6D2F1/Crlj マウス（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、20000 ppm 群では、雌雄とも投与開始時に比べて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。10000 ppm 群では、雌雄とも体重増加の抑制（10日目の体重は対照群と比較して雄84%、雌75%）がみられ、摂水量の低値が顕著であった。5000 ppm 群では、雄で体重増加の抑制（雄87%、雌97%）と摂餌量の僅かな低値、雌雄で摂水量の低値がみら

れた。1000 ppm 群では、雄で摂餌量の僅かな低値、雌雄で摂水量の低値がみられた。

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、最低投与濃度は、マウスを用いた実験の報告ないが、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、それらと同等の用量となる 600 ppm 程度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 101～102%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マウス用給水瓶に充填し、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 : 99.5、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 202 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 : $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ < $22.7 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ >

湿度 : $55 \pm 15\%$ < $53 \pm 1\%$ >

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 (112(W)×212(D)×120(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 γ -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、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、 γ -GTP、CK、尿素窒素、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。

測定臓器：胸腺、副腎、精巣、卵巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳

(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、胆嚢、膵臓、腎臓、膀胱、下垂体、甲状腺、上皮小体、副腎、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、卵巣、子宮、膣、乳腺、脳、脊髓、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、小数点以下第 1 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。また、5000 ppm 群と 7500 ppm 群では、糞少量 (各群 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。また、糞少量が 7500 ppm 群 (3 日目と 7 日目に 5 匹)、5000 ppm 群 (3 日目に 5 匹、7 日目に 1 匹)、2500 ppm 群 (3 日目に 3 匹) 及び 1250 ppm 群 (3 日目に 1 匹) に認められた。625 ppm 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 群と 5000 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。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 : 100%、1250 ppm 群 : 102%、2500 ppm 群 : 99%、5000 ppm 群 : 92%、7500 ppm 群 : 90%であった。

—雌—

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 群と 2500 ppm 群では、3 日目に体重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。

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 : 94%、2500 ppm 群 : 95%、5000 ppm 群 : 94%、7500 ppm 群 : 90%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—

2500 ppm 以上の群で、3 日目に摂餌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餌量（対照群に対する相対比）は、対照群：3.9 g、625 ppm 群：4.0 g（103%）、1250 ppm 群：4.0 g（103%）、2500 ppm 群：3.9 g（100%）、5000 ppm 群：3.7 g（95%）、7500 ppm 群：3.5 g（90%）であった。

—雌—

7500 ppm 群では3日目と7日目に、5000 ppm 群と2500 ppm 群では3日目に摂餌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餌量（対照群に対する相対比）は、対照群：3.4 g、625 ppm 群：3.4 g（100%）、1250 ppm 群：3.3 g（97%）、2500 ppm 群：3.2 g（94%）、5000 ppm 群：3.1 g（91%）、7500 ppm 群：2.8 g（82%）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—

1250 ppm 以上の群で、全投与期間を通して摂水量の低値が認められた。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：4.3 g、625 ppm 群：4.0 g（93%）、1250 ppm 群：3.5 g（81%）、2500 ppm 群：2.7 g（63%）、5000 ppm 群：1.9 g（44%）、7500 ppm 群：1.7 g（40%）であった。

—雌—

1250 ppm 以上の群で、全投与期間を通して摂水量の低値あるいは低値傾向が認められた。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：4.2 g、625 ppm 群：4.0 g（95%）、1250 ppm 群：3.5 g（83%）、2500 ppm 群：2.6 g（62%）、5000 ppm 群：2.1 g（50%）、7500 ppm 群：1.6 g（38%）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, 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 : 89~119 (平均 : 102) 、1250 ppm 群 : 162~203 (平均 : 177) 、2500 ppm 群 : 254~339 (平均 : 283) 、5000 ppm 群 : 332~492 (平均 : 425) 、7500 ppm 群 : 387~712 (平均 : 576) 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 : 112~141 (平均 : 125) 、1250 ppm 群 : 204~253 (平均 : 232) 、2500 ppm 群 : 313~361 (平均 : 342) 、5000 ppm 群 : 494~601 (平均 : 563) 、7500 ppm 群 : 550~895 (平均 : 712) 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—

網赤血球比の高値が 2500 ppm 以上の群で、赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値が 5000 ppm 以上の群で認められた。

—雌—

赤血球数の低値、及び MCH と網赤血球比の高値が 2500 ppm 以上の群で、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及び MCHC の低値、並びに MCV の高値が 5000 ppm 以上の群で認められた。

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—

総ビリルビンの高値が 1250 ppm 以上の群で、A/G 比のわずかな高値が 2500 ppm 以上の群で認められた。

—雌—

総ビリルビンの高値が 1250 ppm 以上の群で認められた。

Ⅲ-9 病理学的検査

Ⅲ-9-1 剖検

雄の剖検所見を TABLE I に示した。(雌は全動物に所見がみられなかったため、TABLE は掲載しない)

—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—

脾臓の実重量と体重比の高値が 5000 ppm 以上の群で認められた。

腎臓の体重比の高値が 5000 ppm 以上の群で認められた。

その他、7500 ppm 群で精巣、肺及び脳で体重比の高値がみられたが、7500 ppm 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。なお、625 ppm 群で脾臓の実重量と体重比が低値を示したが、被験物質投与との関連については不明であった。

—雌—

脾臓の実重量と体重比の高値が 2500 ppm 以上の群で認められた。

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

その他、1250、2500 及び 7500 ppm 群で肺の体重比の高値、2500 ppm 以上の群で肝臓の体重比の高値、5000 ppm 以上の群で脳の体重比の高値がみられたが、これらの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。

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]

脾臓にヘモジデリン沈着（軽度 5 匹）と髄外造血（中等度 5 匹）が認められた。

肝臓にヘモジデリン沈着（軽度 4 匹）と髄外造血（軽度 1 匹）が認められた。

[5000 ppm 群]

脾臓にヘモジデリン沈着（軽度 5 匹）と髄外造血（軽度 5 匹）が認められた。

肝臓にヘモジデリン沈着（軽度 1 匹）が認められた。

[2500 ppm 群]

脾臓に髄外造血（軽度 4 匹）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）と髄外造血（中等度 5 匹）が認められた。

肝臓にヘモジデリン沈着（軽度 5 匹）と髄外造血（軽度 3 匹）が認められた。

[5000 ppm 群]

脾臓にヘモジデリン沈着（軽度 5 匹）と髄外造血（軽度 1 匹、中等度 4 匹）が認められた。

肝臓にヘモジデリン沈着（軽度 3 匹）が認められた。

[2500 ppm 群]

脾臓にヘモジデリン沈着（軽度 5 匹）と髄外造血（軽度 5 匹）が認められた。

[1250 ppm 群]

脾臓に髄外造血（軽度 3 匹）が認められた。

[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 B6D2F1/Crlj マウス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。雄の 5000 ppm 以上の群と雌の 1250 ppm 以上の群では、投与初期に糞少量が観察された。なお、雄の 1250 ppm 以下の群と雌の 625 ppm 群では、一般状態に変化はみられなかった。

体重は、雌雄の 7500 ppm 群と雄の 5000 ppm 群で、投与 3 日目に減少がみられ、投与期間を通して増加の抑制が認められた。また、雌の 5000 ppm 群と 2500 ppm 群では、3 日目に体重の低値が認められた。最終体重は対照群に対し、雄では、625 ppm 群 : 100%、1250 ppm 群 : 102%、2500 ppm 群 : 99%、5000 ppm 群 : 92%、7500 ppm 群 : 90%、雌では、625 ppm 群 : 101%、1250 ppm 群 : 94%、2500 ppm 群 : 95%、5000 ppm 群 : 94%、7500 ppm 群 : 90%であった。

摂餌量は、雌雄とも 2500 ppm 以上の群で投与初期に低値が、摂水量は 1250 ppm 以上の群で全投与期間を通して低値がみられた。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、雄では、赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値が 5000 ppm 以上の群で、雌では赤血球数の低値と MCH の高値が 2500 ppm 以上の群、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及び MCHC の低値、並びに MCV の高値が 5000 ppm 以上の群で認められ、雄の 5000 ppm 以上の群と雌の 2500 ppm 以上の群で貧血の発生が示された。また、雌雄の 2500 ppm 以上の群で網赤血球比の高値がみられたが、この変化は貧血に対する代償性反応によるものと考えられた。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いる (文献 7)。本試験ではメトヘモグロビンの測定を行っていないが、ラットへの 7500 ppm の本被験物質投与によってメトヘモグロビン血症が認められたことから (文献 8)、メトヘモグロビン形成による貧血と推察される。

血液生化学的検査では、雌雄とも総ビリルビンの高値が 1250 ppm 以上の群で認められた。また、雄では A/G 比の高値が 2500 ppm 以上の群でみられたが、軽度の変化であった。総ビリルビンの高値は、赤血球の傷害による貧血に対応した変化と考えられた。

病理学的検査では、脾臓の重量（実重量・体重比）の増加が、雄の 5000 ppm 以上の群と雌の 2500 ppm 以上の群でみられ、病理組織学的検査では、ヘモジデリン沈着が雄の 5000 ppm 以上の群と雌の 2500 ppm 以上の群、髄外造血が雄の 2500 ppm 以上の群と雌の 1250 ppm 以上の群で認められた。これらの変化も貧血に対応した変化と考えられた。また、肝臓では、ヘモジデリン沈着が雌雄の 5000 ppm 以上の群、髄外造血が雌雄の 7500 ppm 群で認められた。これらの変化も貧血に対応した変化と考えられた。腎臓では、実重量の高値が雌の 5000 ppm 以上の群で、体重比の高値が雄の 5000 ppm 以上の群と雌の 2500 ppm 以上の群でみられたが、病理組織学的には変化はみられなかった。

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、最終体重は対照群に対し、雌雄とも 90%であったが、投与開始時と同程度の体重であった。また、雌雄ともに摂水量の低値と摂餌量の低値（投与初期）、血液学的検査で貧血を示す変化（赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の低値等）、また、貧血に関連した変化として、総ビリルビンの高値、脾臓重量の高値、脾臓と肝臓の髄外造血とヘモジデリン沈着が認められた。5000 ppm 群でも雄で軽度の体重増加抑制（雄 92%、雌 94%）がみられ、他の検査項目でも 7500 ppm 群と同様の変化がみられたが、その程度はいずれも減弱した。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、総ビリルビンの高値（雌雄）と脾臓の髄外造血（雌）が 1250 ppm までみられたただけであった。

以上のように、7500 ppm 群の最終体重は投与開始時から増加がなく、貧血の影響が強いことから、13 週間試験の投与濃度としては高すぎると考えられる。従って、13 週間試験の最高投与濃度は、体重抑制の影響が少なく、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、313 ppm の濃度を設定した。

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. 日本バイオアッセイ研究センター. 2008. 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. 神奈川: 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.

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。