

3-アミノフェノールのマウスを用いた
経口投与によるがん原性試験（混水試験）報告書

試験番号：0712

CAS No. 591-27-5

2012年7月31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
GLP 対応	i
動物福祉	i
試験委託者	i
試験施設及び運営管理者	ii
試験日程	ii
試験関係者一覧	ii
試資料の保管	iv
試験責任者（最終報告書作成者）の署名、捺印及び日付	iv
陳述書	v
信頼性保証証明書	vi
本文	vii
TABLES	A 1～S 2	
FIGURES	1～8	
PHOTOGRAPHS	1～4	
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がん原性試験（混水試験）

試験目的

3-アミノフェノールをマウスに 104 週間経口（混水）投与し、がん原性を検索した。

試験法

本試験は、平成 9 年 3 月 11 日付け、基発第 144 号「がん原性試験による調査の基準」に準拠し、OECD 化学品テストガイドライン 451（発癌性試験 1981 年 5 月 12 日採択）に準じて実施した。

GLP 対応

本試験は、昭和 63 年 9 月 1 日付け、労働省告示第 76 号「試験施設等が具備すべき基準（安衛法 GLP）」（一部改正。平成 12 年 3 月 29 日付け、労働省告示第 13 号）に準拠し、OECD GLP（1997 年 11 月 26 日採択）に準じて実施した。

動物福祉

本試験は、平成 18 年 4 月 28 日付け、環境省告示第 88 号「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」、平成 18 年 6 月 1 日付け、厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」及び平成 18 年 11 月 27 日付け、日本バイオアッセイ研究センター制定「動物実験に関する指針」を遵守した。また、本試験計画書は日本バイオアッセイ研究センターの動物実験委員会で承認された。

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
東京都千代田区霞が関 1-2-2

3-アミノフェノールのマウスを用いた
経口投与によるがん原性試験（混水試験）報告書

試験番号：0712

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	尿検査	10
Ⅱ-3-8	病理学的検査	10
	(1) 剖検	10
	(2) 臓器重量	10
	(3) 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	13
Ⅲ-1	生死状況	13
Ⅲ-2	一般状態	13
Ⅲ-3	体重	13
Ⅲ-4	摂餌量	14
Ⅲ-5	摂水量	14
Ⅲ-6	被験物質摂取量	15
Ⅲ-7	血液学的検査	15
Ⅲ-8	血液生化学的検査	15
Ⅲ-9	尿検査	16
Ⅲ-10	病理学的検査	16
	Ⅲ-10-1 剖検	16
	Ⅲ-10-2 臓器重量	16
	Ⅲ-10-3 病理組織学的検査	16
	Ⅲ-10-4 死因	18

IV	考察及びまとめ	19
IV-1	生存率、一般状態、体重、摂餌量、摂水量、被験物質摂取量	19
IV-2	腫瘍性及び腫瘍関連病変	19
IV-3	その他の影響	20
IV-4	無毒性量 (NOAEL)	21
IV-5	他文献との比較等	21
V	結論	23
VI	文献	24
VII	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	26

要約

3-アミノフェノールのがん原性を検索する目的で B6D2F1/Crlj マウスを用いた混水経口投与による 2 年間 (104 週間) の試験を実施した。

本試験は、被験物質投与群 3 群と対照群 1 群の計 4 群の構成で、雌雄各群とも 50 匹とし、合計 400 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 (対照群)、625、1250 及び 2500 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、尿検査、剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査を行った。

試験の結果、全投与群で生存率の低下は雌雄とも認められなかった。一般状態の観察では、被験物質の代謝物によると考えられる褐色尿が雌雄の 1250 ppm 以上の群に認められた。体重の低値が、雌雄の 2500 ppm 群で投与期間を通して、雄の 1250 ppm 群では投与期間中期に認められた。また、雌の 1250 ppm 群でも低値が散見された。摂餌量は、雄の 2500 ppm 群で投与期間を通して低値が認められた。また、雌の 2500 ppm 群と 1250 ppm 群では投与期間中低値が散見された。摂水量は、雌雄の 2500 ppm 群で投与期間を通して低値が認められた。また、雌雄の 1250 ppm 群と雌の 625 ppm 群でも投与期間の多くの週で低値が、雄の 625 ppm 群の投与初期に低値がみられた。

主な腫瘍性病変を付表 1, 2 に示す。雌雄とも腫瘍の発生増加及び腫瘍関連病変の発生増加は認められなかった。

腫瘍以外の影響として、血液/造血系では、血液学的検査で雌雄の 2500 ppm 群でメトヘモグロビン濃度の高値が認められ、雌の 2500 ppm 群では赤血球数とヘモグロビン濃度が低値を示した。また、雄の 1250 ppm 以上の群で MCV の高値、雄の 2500 ppm 群で MCH の高値、雌の 1250 ppm 以上の群で MCHC の低値もみられた。さらに、雄の 2500 ppm 群と雌の 1250 ppm 以上の群で網赤血球比の高値がみられた。病理組織学的には、脾臓でヘモジデリン沈着の発生率の増加と程度の増強が雌雄の 1250 ppm 以上の群に認められ、髄外造血の発生が雌雄の 2500 ppm 群で増加した。肝臓と甲状腺の濾胞上皮細胞では、褐色色素沈着の発生増加が雌雄の 2500 ppm で認められた。

以上、B6D2F1/Crlj マウスを用いて、3-アミノフェノールの 2 年間 (104 週間) にわたる混水経口投与によるがん原性試験を行った結果、雌雄とも腫瘍の発生増加は認められず、3-アミノフェノールのマウスに対するがん原性はなかった。

なお、2 年間の混水経口投与における無毒性量 (NOAEL) は、血液/造血系への影響をエンドポイントとして雌雄とも 625 ppm (雄: 64 mg/kg 体重/日、雌: 81 mg/kg 体重/日) であると考えられた。

付表 1 3-アミノフェノールのがん原性試験における主な腫瘍発生 (マウス 雄)

投与濃度 (ppm)			0	625	1250	2500	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
検査動物数			50	50	50	50		
良性 腫瘍	肺	細気管支 - 肺胞上皮腺腫	6	2	3	6		
	脾臓	血管腫	1	3	1	1		
	肝臓	血管腫	2	3	3	1		
	肝臓	肝細胞腺腫	16	8	9	1 **		↓↓
	ハーダー腺	腺腫	2	3	4	0		
悪性 腫瘍	肺	細気管支 - 肺胞上皮癌	10	9	2 *	3 *		↓
	リンパ節	悪性リンパ腫	7	4	9	6		
	肝臓	組織球性肉腫	6	2	4	1		
	肝臓	肝細胞癌	7	6	5	2		
	肺	細気管支 - 肺胞上皮腺腫 + 細気管支 - 肺胞上皮癌	16	10	5 **	9		
	肝臓	肝細胞腺腫 + 肝細胞癌	21	13	12 *	3 **		↓↓

付表 2 3-アミノフェノールのがん原性試験における主な腫瘍発生 (マウス 雌)

投与濃度 (ppm)			0	625	1250	2500	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
検査動物数			50	50	50	50		
良性 腫瘍	肺	細気管支 - 肺胞上皮腺腫	2	3	1	1		
	肝臓	血管腫	1	1	1	3		
	肝臓	肝細胞腺腫	4	6	4	5		
	下垂体	腺腫	4	9	6	7		
	卵巣	乳頭状腺腫	1	0	4	1		
	子宮	子宮内膜間質性ポリープ	3	2	2	2		
	ハーダー腺	腺腫	1	0	4	3		
	悪性 腫瘍	肺	細気管支 - 肺胞上皮癌	1	4	1	2	
リンパ節		悪性リンパ腫	18	17	21	10		
肝臓		組織球性肉腫	2	3	0	1		
子宮		組織球性肉腫	16	14	12	12	↑ ^a	
乳腺		腺癌	0	1	0	3	↑	↑
乳腺		腺扁平上皮癌	0	1	0	1		
乳腺	腺癌 + 腺扁平上皮癌	0	2	0	4	↑	↑	

a : Peto 検定の有病率法のみ有意

* : $p \leq 0.05$ で有意** : $p \leq 0.01$ で有意

(Fisher 検定)

↑ : $p \leq 0.05$ で有意増加↑↑ : $p \leq 0.01$ で有意増加

(Peto, Cochran-Armitage 検定)

↓ : $p \leq 0.05$ で有意減少↓↓ : $p \leq 0.01$ で有意減少

(Cochran-Armitage 検定)

I 試験材料

I-1 被験物質の性状等

I-1-1 名称等

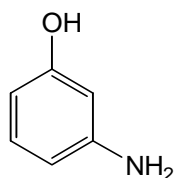
名 称： 3-アミノフェノール (3-Aminophenol)

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 : 2.6 g/100 g 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

使用ロット番号 : WKE2284 (2008年 7月 24日~2009年 11月 13日)

CDQ4568 (2009年 11月 13日~2010年 7月 30日)

製 造 元 : 和光純薬工業(株)

グ レ ー ド : 和光一級

純 度 : WKE2284 : 99.7%

CDQ4568 : 99.8%

(和光純薬工業(株) 検査成績書データ)

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、ロットごとにマススペクトルを質量分析計（アジレントテクノロジー 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（(株)島津製作所 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 に示す。

I-3-2 安定性

被験物質の安定性は、ロットごとに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（(株)島津製作所 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 に示す。

I-4 試験動物

動物は、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 227 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 200 匹（群構成時体重範囲、雄：22.8～25.7g、雌：18.7～21.7g）を選別し、試験に用いた。

なお、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104週間とし、さらに、それぞれの動物の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、625、1250及び2500 ppm（重量比 w/w）の3段階（公比2）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、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、がん原性試験による調査の基準（安衛法）（文献4）及びOECD化学剤テストガイドライン451（発癌性試験）（文献5）に従い、2年間（104週間）とした。

投与濃度は、13週間毒性試験（試験番号0693）の結果（文献6）をもとに設定した。13週間試験は、B6D2F1/Crlj マウスの雌雄に、0、313、625、1250、2500及び5000 ppm（w/w）の濃度の被験物質混合飲水を自由摂取させることによって行った。

13週間試験の結果、全ての投与群に死亡はみられなかった。5000 ppm群では、雄に体重増加の抑制（最終体重値は対照群に対し89%）、雌雄に摂水量の減少、血液学的検査でメトヘモグロビン濃度の増加と貧血を示すパラメータの変化が認められた。また、病理組織学的検査でも貧血に関連した変化が雌雄の脾臓にみられた。腎臓には、実重量と体重比の高値が雌に、尿蛋白の陽性度の増加が雌雄にみられ、腎臓への影響が示唆された。また、肝臓

にはクッパー細胞への褐色色素の沈着と肝臓重量体重比の高値が雌雄にみられた。2500 ppm 群では、血液学的検査及び病理組織学的検査で貧血及びそれに関連した変化が雌雄にみられ、腎臓への影響を示唆する変化（腎臓重量体重比の高値と尿蛋白の陽性度の増加）が雌に、肝臓には褐色色素の沈着と肝臓重量体重比の高値が雌雄にみられた。1250 ppm 以下の群では、血液系への影響が雌雄の 1250 ppm まで、軽度の肝臓重量体重比の高値が雌の 625 ppm 群までみられた。

以上の結果から、5000 ppm 群では、体重増加の抑制（雄 89%）、貧血、腎臓及び肝臓への影響を示唆する変化がみられることから、この濃度での 2 年間の長期投与を行った場合、動物の生存率の低下が懸念され、がん原性試験の最高濃度としてはやや高いと考えられた。一方、2500 ppm 群では、5000 ppm 群とほぼ同様の変化がみられたものの、その程度は減弱し、体重増加の抑制は 10%以内であることから、がん原性試験の最高濃度は 2500 ppm が適切であると考えた。

従って、がん原性試験の投与濃度は、雌雄とも 2500 ppm を最高濃度とし、以下 1250 及び 625 ppm（公比 2）と決定した。

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、初回調製時及び 3 ヶ月ごとに、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（(株)島津製作所 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 94.7～106%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 に示す。

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、13 週間毒性試験（試験番号 0693）において、100 ppm と 7500 ppm の被験物質混合飲水で確認した。100 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（(株)島津製作所 LC-10）を用いて測定し

た。調製時と保管期間後の被験物質濃度を比較した結果、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 に示す。

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 当りの 1 日摂取量 (mg/kg 体重/日) 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 3 群及び対照群 1 群の計 4 群を設け、各群雌雄各 50 匹の動物を用いた。

群名称	動物数 (動物番号)	
	雄	雌
対照群	50 匹 (1001~1050)	50 匹 (2001~2050)
625 ppm 群	50 匹 (1101~1150)	50 匹 (2101~2150)
1250 ppm 群	50 匹 (1201~1250)	50 匹 (2201~2250)
2500 ppm 群	50 匹 (1301~1350)	50 匹 (2301~2350)

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い動物から体重の中央値に近い雌雄各 200 匹を選別し、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 7)。

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 (雄: 102 室、雌: 103 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、全飼育期間を通して以下の環境で飼育した。各飼育室の温度、湿度は実測値（平均値±標準偏差）を< >内に記した。各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±2℃ <102 室 : 22.9±0.3℃、103 室 : 22.9±0.4℃>

湿 度 : 55±15% <102 室 : 55±2%、103 室 : 54±2%>

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 (30kGy-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。ただし、定期解剖前日の夕方からは飼料を摂取させなかった。

なお、試験に使用した飼料中の栄養成分と夾雑物についてはオリエンタル酵母工業(株)から分析データを使用ロットごとに入手し、保管した。また、飼料中の夾雑物は本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、また、一般状態の詳細な観察は週1回行った。

II-3-2 体重測定

体重測定は、投与開始後14週間は週1回、それ以降は4週に1回(104週にも測定)行った。また、動物の死亡発見時、切迫屠殺時及び定期解剖動物の搬出時にも体重(搬出時体重)を測定した。

II-3-3 摂餌量測定

摂餌量は、投与開始後14週間は週1回、それ以降は4週に1回(104週にも測定)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、投与開始後14週間は週1回、それ以降は4週に1回(104週にも測定)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に示す。

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、白血球分類

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 に示す。

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、トリグリセライド、リン脂質、AST、ALT、LDH、ALP、 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 尿検査

投与 104 週の検査時まで生存した動物から新鮮尿を採取し、尿試験紙（ウロラブスティックス、シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス社）を用いて、下記の項目について検査を行った。

検査項目：pH、蛋白、グルコース、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲン

II-3-8 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：副腎、精巣、卵巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳

(3) 病理組織学的検査

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後、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色し、光学顕微鏡で病理組織学的に検査した。

検査器官・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

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 体重/日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 に示した単位と桁数により表示した。

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。

病理組織学的検査のうち非腫瘍性病変については、所見のみられなかった動物をグレード 0、所見のみられた動物は、その所見の程度及び範囲などを基準にしてグレード 1~4 に分け、 χ^2 検定を行った。また、尿検査についても対照群と各投与群間との χ^2 検定を行った。

腫瘍性病変については、各臓器の腫瘍ごとに、各群ごとの担腫瘍動物数について、Peto 検定（文献 8）、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定を行った。また Peto 検定は病理組織学的検査時に付与されたコンテックス(注)を用いて、死亡率法（コンテックス 3, 4 を付与された腫瘍についての検定）、有病率法（コンテックス 0, 1, 2 を付与された腫瘍についての検定）、死亡率法+有病率法（コンテックス 0~4 の総計で検定）を行った。

各群雌雄ごとに検査数が 2 以下の項目については、検定より除外した。

各検定は 5%の有意水準で、Peto 検定、Fisher 検定は片側検定、その他の検定は両側検定を行い、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。

注：Peto 検定に用いるコンテックス

0：定期解剖動物にみつかった腫瘍

1：死亡／瀕死動物にみつかった腫瘍で、直接死因に関係しない腫瘍

2：多分 1 だと思いが、確かでない腫瘍

3：多分 4 だと思いが、確かでない腫瘍

4：死亡／瀕死動物にみつかった腫瘍で、直接死因に係わっていた腫瘍

Ⅲ 試験成績

Ⅲ-1 生死状況

生死状況を TABLE A 1, 2 及び FIGURE 1, 2 に示す。

—雄—

対照群に比べ、各投与群に生存率の低下は認められなかったが、2500 ppm 群の生存率は対照群と比較して高値であった。

各群の 104 週における生存動物数（生存率）は、対照群：24 匹（48%）、625 ppm 群：32 匹（64%）、1250 ppm 群：31 匹（62%）、2500 ppm 群：39 匹（78%）であった。

—雌—

対照群に比べ、各投与群に生存率の低下は認められなかったが、2500 ppm 群の生存率は対照群と比較して高値であった。

各群の 104 週における生存動物数（生存率）は、対照群：24 匹（48%）、625 ppm 群：21 匹（42%）、1250 ppm 群：33 匹（66%）、2500 ppm 群：38 匹（76%）であった。

Ⅲ-2 一般状態

一般状態の観察結果を TABLE B 1, 2 に示す。

—雌雄—

1250 ppm 以上の群では、褐色尿が投与期間を通して全動物に認められた。625 ppm 群では、被験物質投与と関連があると考えられる所見は認められなかった。

Ⅲ-3 体重

体重の推移を TABLE C 1~4 及び FIGURE 3, 4 に示す。

—雄—

2500 ppm 群では、投与期間を通して体重の低値が認められた。1250 ppm 群では、投与 34 週目から 66 週目にかけて低値が認められた。625 ppm 群では、対照群とほぼ同様の推移を示した。

なお、最終計測日（104 週）の各投与群の体重は、対照群に対して、625 ppm 群：97%、1250 ppm 群：94%、2500 ppm 群：87%であった。

—雌—

2500 ppm 群では、投与期間を通して体重の低値が認められた。1250 ppm 群では、低値が散見された。625 ppm 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（104 週）の各投与群の体重は、対照群に対して、625 ppm 群：93%、

1250 ppm 群 : 93%、2500 ppm 群 : 82%であった。

Ⅲ-4 摂餌量

摂餌量を TABLE D 1~4 及び FIGURE 5, 6 に示す。

—雄—

2500 ppm 群では、投与期間を通して摂餌量の低値が認められた。1250 ppm 群と 625 ppm 群では投与期間中低値が散見されたが、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 : 4.4g、625 ppm 群 : 4.3g (98%)、1250 ppm 群 : 4.3g (98%)、2500 ppm 群 : 4.2g (95%) であった。

—雌—

2500 ppm 群と 1250 ppm 群では、投与期間中低値が散見された。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餌量（対照群に対する相対比）は、対照群 : 3.9g、625 ppm 群 : 3.9g (100%)、1250 ppm 群 : 3.8g (97%)、2500 ppm 群 : 3.8g (97%) であった。

Ⅲ-5 摂水量

摂水量を TABLE E 1~4 及び FIGURE 7, 8 に示す。

—雄—

2500 ppm 群では、投与期間を通して摂水量の低値が認められた。1250 ppm 群でも投与期間の多くの週で摂水量の低値がみられた。625 ppm 群では、投与初期に摂水量の低値がみられた。

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 : 4.1g、625 ppm 群 : 3.9g (95%)、1250 ppm 群 : 3.7g (90%)、2500 ppm 群 : 3.2g (78%) であった。

—雌—

2500 ppm 群では、投与期間を通して摂水量の低値が認められた。1250 ppm 群と 625 ppm 群では、投与期間の多くの週で摂水量の低値がみられた。

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 : 4.1g、625 ppm 群 : 3.7g (90%)、1250 ppm 群 : 3.6g (88%)、2500 ppm 群 : 3.1g (76%) 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 に示す。

—雄—

各投与群の被験物質摂取量 (mg/kg 体重/日) は、625 ppm 群 : 47~103、1250 ppm 群 : 92~173、2500 ppm 群 : 172~283 の範囲にあった。また、各投与群における全投与期間を通しての平均被験物質摂取量 (mg/kg 体重/日) は、625 ppm 群 : 64、1250 ppm 群 : 120、2500 ppm 群 : 217 であった。全投与期間にわたって平均した各投与群の被験物質摂取量の比率は、625 ppm 群の被験物質摂取量に対して、1250 ppm 群で 1.9 倍、2500 ppm 群で 3.4 倍であり、2500 ppm 群の被験物質摂取量は設定濃度比 (公比 2) よりやや低い値を示した。

—雌—

各投与群の被験物質摂取量 (mg/kg 体重/日) は、625 ppm 群 : 60~123、1250 ppm 群 : 118~225、2500 ppm 群 : 216~360 の範囲にあった。また、各投与群における全投与期間を通しての平均被験物質摂取量 (mg/kg 体重/日) は、625 ppm 群 : 81、1250 ppm 群 : 162、2500 ppm 群 : 289 であった。全投与期間にわたって平均した各投与群の被験物質摂取量の比率は、625 ppm 群の被験物質摂取量に対して、1250 ppm 群で 2.0 倍、2500 ppm 群で 3.6 倍であり、2500 ppm 群の被験物質摂取量は設定濃度比 (公比 2) よりやや低い値を示した。

Ⅲ-7 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE G 1, 2 に示す。

—雄—

MCV の高値が 1250 ppm 以上の群に、MCH、網赤血球比、メトヘモグロビン濃度の高値、並びに白血球数の低値が 2500 ppm 群に認められた。

—雌—

MCHC の低値と網赤血球比の高値が 1250 ppm 以上の群に、メトヘモグロビン濃度の高値、並びに赤血球数とヘモグロビン濃度の低値が 2500 ppm 群に認められた。

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 に示す。

—雄—

総蛋白の低値が全投与群に認められた。

—雌—

総コレステロールとリン脂質の高値が 1250 ppm 以上の群に、総ビリルビンの高値が 2500 ppm 群に認められた。

Ⅲ-9 尿検査

尿検査の結果を TABLE I 1, 2 に示す。

—雄—

pH の低下と蛋白の陽性度の増加が 1250 ppm 以上の群に、ケトン体の陽性例の増加が 2500 ppm 群に認められた。

—雌—

pH の上昇が 625 ppm 群にみられたが投与濃度に対応した変化ではなかった。

Ⅲ-10 病理学的検査

Ⅲ-10-1 剖検

剖検所見を TABLE J 1~6 に示す。

—雌雄—

被験物質投与によると思われる所見の増加は認められなかった。

Ⅲ-10-2 臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量と体重比を TABLE K 1, 2 と TABLE L 1, 2 に示す。

—雄—

2500 ppm 群で、腎臓と脳の体重比に変化がみられたが、2500 ppm 群の搬出時体重は対照群と比較して低値であり、これらの臓器重量の変化は体重の低値に関連したものと考えられた。

—雌—

2500 ppm 群で、副腎、腎臓及び脳の実重量や体重比に変化がみられたが、2500 ppm 群の搬出時体重は対照群と比較して低値であり、これらの臓器重量の変化は体重の低値に関連したものと考えられた。

Ⅲ-10-3 病理組織学的検査

検査結果のうち非腫瘍性病変を TABLE M 1~6 に示す。腫瘍性病変の結果は、担腫瘍動物数と腫瘍数の結果を TABLE N 1, 2 に、腫瘍の種類別の発生数を TABLE O 1, 2 に、統計解析 (Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定) の結果を TABLE P 1, 2 に、転移性病変を TABLE Q 1, 2 に示す。また、腫瘍のうち統計学的に有意差が認められた腫瘍について、日本バイオアッセイ研究センターにおけるヒストリカルコントロールデータ (検査

総匹数と腫瘍発生匹数、試験ごとの平均発生率 (%) と発生率 (最小%～最大%)) を TABLE R に示す。また、病理組織学的所見の代表例を写真 1～4 に示す。

—雄—

1) 腫瘍性病変

被験物質の投与による腫瘍の発生増加はみられなかった。

肺の細気管支—肺胞上皮癌の発生が、Fisher 検定で 1250 ppm 以上の群に統計的に有意な減少を示し、Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。また、細気管支—肺胞上皮腺腫と細気管支—肺胞上皮癌を合わせた発生が、Fisher 検定で 1250 ppm 群に統計的に有意な減少を示した。

肝臓の肝細胞腺腫の発生が、Fisher 検定で 2500 ppm 群に統計的に有意な減少を示し、Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。また、肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生が、Fisher 検定で 1250 ppm 以上の群に統計的に有意な減少を示し、Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。

2) 非腫瘍性病変

<脾臓>

ヘモジデリン沈着が 1250 ppm 以上の群で発生が増加し、その程度も増強した。また、髄外造血の発生は、統計学的に有意でないものの、2500 ppm 群における発生はやや多かった。

<肝臓>

クッパー細胞への褐色色素沈着 (暗褐色) が 2500 ppm 群で増加した。

<甲状腺>

濾胞上皮細胞への褐色色素沈着 (暗褐色) が 2500 ppm 群で増加した。

—雌—

1) 腫瘍性病変

<乳腺>

腺癌の発生 (対照群: 0 匹, 0%、625 ppm 群: 1 匹, 2%、1250 ppm 群: 0 匹, 0%、2500 ppm 群: 3 匹, 6%) は、Peto 検定 (死亡率+有病率法) と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示したが、Fisher 検定では増加を示さなかった。また、625 ppm 群と 2500 ppm 群における発生は、当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲 (最小 0%～最大 8%、平均発生率 1.7%) 内であった。従って、腺癌の発生増加は被験物質投与によるものではないと判断した。なお、腺扁平上皮癌が 625 ppm と 2500 ppm 群に各 1 匹 (2%) に認められ、腺癌と腺扁平上皮癌を合わせた発生 (対照群: 0 匹, 0%、625 ppm 群: 2 匹, 4%、1250 ppm 群: 0 匹, 0%、2500 ppm 群: 4 匹, 8%) も Peto 検定 (有病率法、及び死亡率+有病率法)

と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示したが、Fisher 検定では増加を示さなかった。各投与群における腺癌と腺扁平上皮癌を合わせた発生も、ヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 0%～最大 8%、平均発生率 1.7%）内であったことから、腺癌と腺扁平上皮癌を合わせた発生についても被験物質投与によるものではないと判断した。

<子宮>

組織球性肉腫の発生（対照群：16 匹, 32%、625 ppm 群：14 匹, 28%、1250 ppm 群：12 匹, 24%、2500 ppm 群：12 匹, 24%）は、Peto 検定（有病率法）で増加傾向を示したが、死亡に関与した発生は減少の傾向にあり、組織球性肉腫の総発生数（死亡率＋有病率法）には変動がみられなかった。また、組織球性肉腫の発生は、いずれの群においても当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 10%～最大 34%、平均発生率 20.6%）内であった。従って、組織球性肉腫の発生増加は被験物質投与によるものではないと判断した。

2) 非腫瘍性病変

<脾臓>

ヘモジデリン沈着が 1250 ppm 以上の群で発生が増加し、その程度も増強した。また、髓外造血の発生が 2500 ppm 群で増加した。

<肝臓>

クッパー細胞への褐色色素沈着（暗褐色）が 2500 ppm 群で増加した。

<甲状腺>

濾胞上皮細胞への褐色色素沈着（暗褐色）が 2500 ppm 群で増加した。

その他、腎臓の硝子滴の発生減少が 2500 ppm 群にみられた。

III-10-4 死因

病理学的にみた死亡／瀕死の原因を TABLE S 1, 2 に示す。

—雌雄—

投与群に特定の病変あるいは腫瘍による死亡の増加はみられなかった。

IV 考察及びまとめ

3-アミノフェノールのマウスを用いた2年間の混水投与による経口試験(投与濃度:625、1250及び2500 ppm)によって、下記の結果を得た。

IV-1 生存率、一般状態、体重、摂餌量、摂水量、被験物質摂取量

全投与群で生存率の低下は雌雄とも認められなかったが、雌雄の2500 ppm群の生存率は対照群と比較して高値であった。一般状態の観察では、被験物質の代謝物によると考えられる褐色尿が雌雄の1250 ppm以上の群に認められた。体重の低値が、雌雄の2500 ppm群で投与期間を通して、雄の1250 ppm群では投与期間中期に認められた。また、雌の1250 ppm群でも低値が散見された。2500 ppm群と1250 ppm群の体重は対照群に対し、雄では2500 ppm群87%、1250 ppm群94%、雌では2500 ppm群82%、1250 ppm群93%であった。摂餌量は、雄の2500 ppm群で投与期間を通して低値が認められた。また、雌の2500 ppm群と1250 ppm群では投与期間中低値が散見された。摂水量は、雌雄の2500 ppm群で投与期間を通して低値が認められた。また、雌雄の1250 ppm群と雌の625 ppm群でも投与期間の多くの週で低値が、雄の625 ppm群の投与初期に低値がみられた。なお、雌雄の2500 ppm群で平均被験物質摂取量は設定濃度比よりやや低い値を示した。これは、摂水量の低値に起因したものであった。

IV-2 腫瘍性及び腫瘍関連病変

本がん原性試験では、雌雄とも3-アミノフェノールの混水経口投与による腫瘍の発生増加及び腫瘍関連病変の発生増加は認められなかった。

OECDテストガイドライン(文献5)では、がん原性試験の最高用量の設定に際しては、亜慢性毒性試験の結果より、腫瘍以外の原因で正常な寿命を変化させず、10%以下の体重増加の抑制等の最小限の毒性徴候を表すのに十分な用量であるべきであるとしている。即ち、最大耐量(Maximum Tolerated Dose, MTD)を選択することを定めている。また、労働省労働基準局長通達「がん原性試験による調査の基準」(文献4)でも、「最高用量は、腫瘍以外の原因で正常な寿命を変えることなく、かつ、最小限の毒性兆候を表すのに十分な用量とすること」と定めている。

本がん原性試験の投与濃度は、II-1-5に示したように、13週間毒性試験(試験番号0693)の結果(文献6)をもとに決定した。13週間毒性試験は、0、313、625、1250、2500及び5000 ppmで実施し、その結果から、5000 ppm群では、体重増加の抑制(雄89%)、貧血、腎臓及び肝臓への影響を示唆する変化がみられることから、2年間の長期投与では動物の生存率の低下が懸念され、がん原性試験の最高濃度としては高いと考えられた。一方、2500 ppm群では、5000 ppm群とほぼ同様の変化がみられたものの、その程度は減弱し、

体重増加の抑制は10%以内であることから、がん原性試験の最高濃度は2500 ppmとした。

本試験の結果、生存率の低下は全投与群とも認められず、特定の病変あるいは腫瘍による死亡の増加はみられなかった。2500 ppm群の最終体重は、雄では対照群の87%、雌では82%であり、10%以上の増加抑制が認められた。しかし、10%以上の増加抑制が認められたのは、雄では投与30週目以降、雌では投与54週目以降であった。従って、最高用量である雌雄の2500 ppmは、本がん原性試験結果を評価する上で、問題となる用量ではないと判断した。

IV-3 その他の影響

3-アミノフェノールの混水経口投与により、雌雄とも血液/造血系、肝臓、甲状腺への影響が認められた。

血液/造血系への影響として、血液学的検査では雌雄の2500 ppm群でメトヘモグロビン濃度の高値が認められ、雌の2500 ppm群では赤血球数とヘモグロビン濃度が低値を示した。また、雄の1250 ppm以上の群でMCVの高値、雄の2500 ppm群でMCHの高値、雌の1250 ppm以上の群でMCHCの低値もみられた。さらに、雄の2500 ppm群と雌の1250 ppm以上の群で網赤血球比の高値がみられた。多くの芳香族ニトロ及びアミノ化合物のヒトへの暴露によって血液にメトヘモグロビンが形成され、この要因で貧血が発生することが報告されている（文献9、10）。また、3-アミノフェノールの位置異性体である2-アミノフェノール及び4-アミノフェノールについても、イヌ及びネコでメトヘモグロビンが形成される（文献10）。従って、上述の変化は、3-アミノフェノール投与によるメトヘモグロビン形成とそれによる貧血及び代償性反応によるものと考えられた。病理組織学的には、脾臓でヘモジデリン沈着の発生率の増加と程度の増強が雌雄の1250 ppm以上の群に認められ、髄外造血の発生が雌雄の2500 ppm群で増加した。なお、ヘモジデリンは脾臓に褐色の沈着物として認められ、沈着した色素を特定するために一部の動物の脾臓をベルリンブルー染色し、陽性（青色）であることにより確認した。ヘモジデリン沈着の発生増加は、3-アミノフェノール投与によって傷害を受けた赤血球に対する脾臓での処理の亢進を反映するものであり、髄外造血の増加は、赤血球破壊に伴う代償性変化と考えられる。13週間毒性試験（文献6）でも、メトヘモグロビン濃度と網赤血球比の高値が雌雄の1250 ppm以上の群で、赤血球数、ヘモグロビン濃度の低値が雄の2500 ppm以上の群と雌の5000 ppm群で認められた。本試験でも、各検査項目で影響を受けた濃度は異なるものの、2年間の長期投与により、13週間毒性試験と同濃度の1250 ppm以上の群で血液/造血系への影響が認められた。

肝臓への影響として、クッパー細胞内への褐色色素沈着の発生増加が雌雄の2500 ppmで認められた。褐色色素沈着は13週間毒性試験でも認められ、本試験と同様の染色性を示した。13週間毒性試験では、雌雄の5000 ppm群に認められ、長期間の投与により低用

量の 2500 ppm でも発生がみられた。なお、沈着した色素を特定するために一部の動物の肝臓を特殊染色し、クッパー細胞内の褐色色素はベルリンブルー染色陰性であることから、ヘモジデリン色素ではないと判断した。また、Schmorl 反応陽性（青緑色）、PAS 反応陽性（赤紫色）であり、脂質過酸化物であるリポフスチン（文献 11）と同様の染色性を示した。しかし、リポフスチン沈着は、通常ヘマトキシリン・エオジン染色で黄褐色を呈し（文献 11）、肝臓でみられた褐色色素沈着（暗褐色）とは異なる染色性を示した。従って、肝臓に沈着した色素を特定することはできなかった。その他、肝臓への影響を示唆する変化として、雌の 1250 ppm 以上の群で総コレステロールとリン脂質の高値が、雌の 2500 ppm 群で総ビリルビンの高値がみられた。

甲状腺への影響として、濾胞上皮細胞への褐色色素沈着の発生増加が雌雄の 2500 ppm で認められた。甲状腺に認められた褐色色素沈着は、13 週間毒性試験では認められなかった。従って、投与期間の延長により、褐色色素沈着は 13 週間投与ではみられなかった臓器まで発生がみられた。なお、沈着した色素を特定するために一部の動物の甲状腺を特殊染色し、甲状腺の褐色色素は、ベルリンブルー染色陰性、Schmorl 反応陽性（青緑色）、PAS 反応陽性（赤紫色）であり、肝臓にみられた褐色色素と同様の染色性を示した。

その他、尿蛋白の陽性度の増加が雄の 1250 ppm 以上の群にみられ、腎臓への影響が示唆されたが、病理組織学的には変化はみられなかった。

IV-4 無毒性量 (NOAEL)

以上のように、本がん原性試験では、雌雄とも血液/造血系、肝臓、甲状腺への影響が認められた。その中で、最も低濃度まで認められた毒性変化は、血液/造血系への影響が雌雄とも 1250 ppm まで認められた。従って、本試験における 3-アミノフェノールのマウスに対する 2 年間混水経口投与による無毒性量 (NOAEL) は、血液/造血系への影響をエンドポイントとして雌雄とも 625 ppm (雄: 64 mg/kg 体重/日、雌: 81 mg/kg 体重/日) であると考えられた。

IV-5 他文献との比較等

(1) がん原性等

3-アミノフェノールのマウスを用いたがん原性試験または長期毒性試験の文献はなかった。また、IARC では 3-アミノフェノールのがん原性について評価を行っていない。

(2) 遺伝毒性

細菌を用いる復帰変異試験では、ネズミチフス菌 TA100、TA1535、TA98、TA1537 菌株及び大腸菌 WP2uvrA 菌株において、代謝活性化の有無 (S9 +/-) にかかわらず陰性の結

果を示した（文献 12）。また、TA98 では S9 (-/+) で陰性（文献 13）、TA98 では S9 (+) で陰性、TA100 では S9 (-/+) で陰性（文献 14）の報告がある。なお、ネズミチフス菌 TA100、TA1535、TA97、TA98 菌株を用いた試験では、TA98 のみで S9 (+) で陽性の報告がある（文献 15）。

チャイニーズ・ハムスター培養細胞（CHL/IU）を用いた染色体異常試験では、代謝活性化の有無にかかわらず構造異常（24 時間処理）が認められている（文献 16）。

V 結論

B6D2F1/Crlj マウスを用いて、3-アミノフェノールの 2 年間（104 週間）にわたる混水経口投与によるがん原性試験を行った結果、以下の結論を得た。

雌雄とも腫瘍の発生増加は認められず、3-アミノフェノールのマウスに対するがん原性はなかった。

VI 文献

1. 化学工業日報社. 2012. 16112 の化学商品. 東京: 化学工業日報社, 674.
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. 労働省労働基準局長. 1997. がん原性試験による調査の基準. 基発第 144 号, 平成 9 年 3 月 11 日.
5. OECD. 1981. OECD Guideline for Testing of Chemicals 451: "Carcinogenicity Studies", Paris : Organisation for Economic Co-operation and Development.
6. 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マウスを用いた経口投与による 13 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.
7. 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.
8. Peto R, Pike MC, Day NE, Gray RG, Lee PN, Parish S, et al. 1980. Guidelines for simple, sensitive significance tests for carcinogenic effects in long-term animal experiments. In: Long-Term and Short-Term Screening Assays for Carcinogens: A Critical Appraisal. Lyon: IARC. IARC Monographs Suppl 2:311-426.
9. 石津澄子. 1994. 芳香族ニトロ・アミノ化合物による中毒, 現代労働衛生ハンドブック (増補改訂第 2 版). 三浦豊彦 編. 神奈川: 労働科学研究所出版部. 855-860.
10. 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 Eds. Patty's Industrial Hygiene and Toxicology 4th Ed.) 内藤裕史, 横手規子 訳. 東京: 丸善株式会社. 2-13.

11. 伊東信行編著. 1994. 毒性病理学概論, B. 毒性発現のメカニズム. 最新毒性病理学. 東京: 中山書店, 9-21.
12. 化学物質点検推進連絡協議会. 2001. 3-アミノフェノールの細菌を用いる復帰変異試験. 化学物質毒性試験報告. 8: 704-708.
13. 渡辺徹志、楠本雅典、石原美代、奥村仁美、高瀬みか、脇坂博恵美、平山晃久. 1991. *m*-Phenylenediamine の過酸化水素処理物の変異原性におよぼす染毛剤成分の修飾効果. 衛生化学 37: 512-521.
14. Lovoie E, Tulley L, Fow E, Hoffmann D. 1979. Mutagenicity of aminophenyl and nitrophenyl ethers, sulfides, and disulfides. *Mutat Res* 67: 123-131.
15. Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K. 1988. Salmonella mutagenicity tests: IV. Results from the testing of 300 chemicals. *Environ Mol Mutagen* 11 Suppl 12: 1-158.
16. 化学物質点検推進連絡協議会. 2001. 3-アミノフェノールのチャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験. 化学物質毒性試験報告. 8: 709-712.

Ⅶ 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。

なお、試験計画書と異なつた部分及び追加検討した内容については、以下に記載した。

- ① 病理組織学的検査の診断確定のため、一部の動物の脾臓、肝臓及び甲状腺の病理組織標本について特殊染色（ベルリンブルー染色、Schmorl 染色、PAS 染色）を施し、追加検討した。
- ② 血液生化学的検査の AST、ALT、LDH、ALP、 γ -GTP、CK については、測定単位が IU/L から U/L に変更されたため、本報告書ではそれぞれ新単位を記載した。