

3-アミノベンゼンスルホン酸のラット
における急性経口毒性試験報告書

株式会社化合物安全性研究所

目 次

	頁
表題・試験番号	2
要 約 -----	3
緒 言 -----	4
材料及び方法 -----	4
成 績 -----	8
考 察 -----	9
参 考 文 献 -----	10
Figures and tables -----	別添

表 題 3-アミノベンゼンスルホン酸のラットにおける急性経口毒性試験

試験番号 SR-9235

要 約

3-アミノベンゼンスルホン酸（既存化学物質番号 121471）の 500、1000及び 2000mg/kg を5週齢の Crj:CD(SD) 系雌雄ラットに経口単回投与し、その毒性を試験し、以下の知見が得られた。

1. 死亡例は雌雄ともに認められず、LD₅₀値は 2000mg/kg以上と推察された。
2. 500mg/kg以上の群の雌雄で、軟便あるいは下痢が投与日あるいは投与後1日に、黄色尿が投与日に認められた。
3. 体重推移、剖検及び病理組織学的検査では、雌雄ともに3-アミノベンゼンスルホン酸投与による影響は認められなかった。

添 言

3-アミノベンゼンスルホン酸（既存化学物質番号 121471）をラットに経口単回投与し、死亡状況、一般状態などを観察し、その毒性を試験したので、その成績を報告する。

なお、本試験は「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設に関する基準」（昭和59年3月31日環保業第39号、薬発第229号、59基局第85号通達）並びに「OECD優良試験所指針C（81）30 最終別添2」に従い、試験方法は「新規化学物質に係る試験の方法について」（昭和49年7月13日環保業第5号環境庁企画調整局長、薬発第615号厚生省薬務局長、49基局第392号通商産業省基礎産業局連名通知）及び OECD テストガイドラインに準拠した。

材料及び方法

1. 被験物質

被験物質は、より提供された3-アミノベンゼンスルホン酸（既存化学物質番号 121471、以下、ABSと略す。Lot番号： 純度：98.6%）である（試験成績書、平成4年8月4日付）。被験物質は、水に溶けにくく、無臭の白ないし薄い灰色の粉末であり、密閉容器に入れ、湿気、直射日光を避け冷暗所に保存した。なお、被験物質の品質は平成5年5月まで保証されている。

被験物質の調製は、用時に次の通り行った。被験物質を精秤し、5、10及び20w/v%となるように0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム溶液（以下、0.5% CMC-Na溶液と略す。日本薬局方 CMC-Na：Lot No. 0X13及び1X04，丸石製薬株式会社、日本薬局方精製水：Lot No. 204066，ヤクハン製薬株式会社）で懸濁した。なお、ABSの調製液について、5、10及び20%懸濁液が規定の濃度であり均一であることが三和化学工業株式会社により確認されている（分析結果書、平成4年8月28日、9月2日付）。

2. 試験動物

生後4週齢の Crj:CD (SD) 系の SPF ラット (雄: 26匹, 体重範囲 81~93g, 雌: 26匹, 体重範囲 68~82g) を、1992年8月5日に日本チャールス・リバー株式会社より受け入れ、7日間の馴化飼育を行った。馴化期間中、一般状態観察を1日1回、体重測定を2回実施し、順調な発育を示した動物を試験に用いた。

3. 飼育環境条件

動物の飼育は、温度 $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、換気回数 10~15回/時間及び照明時間 12時間 (午前8時から午後8時まで点灯) に設定されたバリアシステムの飼育室 (132号室) において、ブラケット式金属製金網床ケージ (260W×380D×180H, mm) を用いて行った。ケージ当たりの収容匹数は、群分け前は5匹以内、群分け後は3匹以内とした。ケージの交換は群分け時に1回行った。

飼育室内の清掃は1日2回、床の清拭消毒は1日1回の頻度で行った。なお、消毒には塩素系消毒薬 (ヤクラックス、ヤクハン製薬株式会社) 及びヨウ素系消毒薬 (ダイヤモンド、旭硝子株式会社) を1週間単位で交互に使用した。

飼料は固型飼料 (CRF-1、オリエンタル酵母工業株式会社) を金属製給餌器を用いて、飲料水は水道水 (札幌市水道水) を自動給水装置を用いて、それぞれ自由に摂取させた。給餌器の交換は群分け時に1回、自動給水装置の水抜きは週1回の頻度で実施した。

飼料の分析及び検査は財団法人日本食品分析センターで実施 (分析試験成績書: 第 45060421-001号) し、各混入物質について当社 SOP の許容範囲内であることを確認した。飲料水の水質検査は株式会社福田水文センターで実施 (水質検査結果書: 第 04512号) し、当社 SOPの水質基準の範囲内であることを確認した。

4. 試験群の設定、群分け及び個体識別

本試験の投与量設定のために実施した限界試験 (Appendix) では、ABS の2000、1000及び 500mg/kg群、0.5%CMC-Na溶液を投与する対照群の計4群を設定し、1群当たり雌雄各5匹のラットに投与した。投与後5日間の観察において雌雄ともに 2000mg/kg投与により死亡が認められなかったため、限界試験の観察期間を投与後14日まで延長し、本試験の成績とした (Table 1)。

動物数は、1群当たり雌雄各5匹とした。群分けは、馴化飼育の最終日 (投与前日) に各群の体重が均一になるように体重別層化無作為抽出法により行った。

動物の識別は、群分け時に油性フェルトペンを用いて尾部に行った。ケージには性別毎に色分けしたカードに試験番号、試験群及び動物番号を明記して標示した。

5. 投与経路及び投与方法

投与経路は、被験物質が人体に経口的に曝露される可能性があることから、経口投与とした。投与は、動物を約17～19時間絶食させた後、胃ゾンデを用いて強制的に胃内に1回行った。投与容量は、体重1kg当たり10mlとして投与日に測定した体重に基づいて算出した。

投与時の週齢は雌雄ともに5週齢で、その平均体重（体重範囲）は雄で122.7g（114～126g）、雌で101.3g（92～109g）であった。投与時刻は午前10時から午前12時の間であった。

6. 観察、測定及び検査項目

(1) 一般状態観察

全例について、投与日は投与後6時間までは頻繁に、投与後1日以降は1日1回以上の頻度で投与後14日まで観察した。

(2) 体重測定

全例について、投与日を0日と起算し、0、1、3、5、7、10及び14日に電子天秤（ザルトリウス 1407MP8-1、カールツァイス株式会社）を用いて測定した。

(3) 剖検

全生存例について投与後14日に、体外表を観察した後、エーテル麻酔下で放血致死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。また、次の器官・組織を10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。

肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳（大脳、小脳）、胃（前胃、腺胃）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸及び直腸

(4) 病理組織学的検査

雌雄各群2例の固定・保存した器官・組織について、パラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し、鏡検した。

7. 統計処理

死亡率を算出した。

体重値について、Bartlettの検定法によって分散を検定した。その結果、等分散 ($p > 0.05$) を示した項目については一元配置分散分析法によって解析し、有意な場合 ($p < 0.10$)、Dunnett の検定法により対照群と ABS投与群との比較を行った。一方、不等分散 ($p < 0.05$) を示した項目については Kruskal-Wallis 法により解析し、有意な場合 ($p < 0.10$)、Mann-Whitney のU-検定法により対照群と ABS投与群との比較を行った。なお、対照群との検定については、危険率5%以下を統計学的に有意とした。

成 績

1. 死亡状況及びLD₅₀値

死亡状況及びLD₅₀値を Table 2 に示した。

雌雄ともに、いずれの群においても死亡は認められず、LD₅₀値は 2000mg/kg以上と推察された。

2. 一般状態観察

一般状態観察の成績を Table 3、INDIVIDUAL DATA 1-1-1~1-2-4に示した。

投与日に認められた症状は次の通りであった。投与後約 1.5~3時間に受皿上に黄色尿が 500mg/kg 群の雌雄各1ケージ、1000及び 2000mg/kg群の雌雄各全ケージに、投与後約 2.5時間に受皿上に軟便が 500mg/kg 群の雌1ケージに、投与後約 5.5時間に軟便が 1000mg/kg群の雌1例に、投与後約 5.5時間以降に下痢が 1000mg/kg群の雌3例、2000mg/kg群の雌雄全例に、投与後約7時間に粘液便が 2000mg/kg群の雌1例に認められた。また、肛門周囲の被毛汚染が下痢とともに 1000mg/kg群の雌2例及び 2000mg/kg群の雄全例雌3例に認められた。

投与後1日には、受皿上に軟便が 500mg/kg群の雄1ケージ雌全ケージ、1000mg/kg群の雄1ケージ雌全ケージ、2000mg/kg群の雌雄全ケージに、受皿上に下痢便が 1000mg/kg群の雄1ケージ雌全ケージ、2000mg/kg群の雌雄全ケージに認められた。

投与後2日以降には症状は認められなかった。

3. 体重推移

体重推移を Figure1, 2、Table 4, 5、INDIVIDUAL DATA 2-1-1~2-2-4に示した。

雌雄ともに、いずれの群においても対照群とほぼ同じ体重推移を示した。

4. 剖検

剖検の成績を Table 6、INDIVIDUAL DATA 3-1-1~3-2-4に示した。

雌雄ともに、いずれの群においても異常は認められなかった。

5. 病理組織学的検査

病理組織学的検査の成績を Table 7、INDIVIDUAL DATA 4に示した。

雌雄ともに、いずれの群においても異常は認められなかった。

考 察

ABSの 500、1000及び 2000mg/kgを5週齢の Crj:CD (SD) 系雌雄ラットに経口単回投与し、その毒性を試験した。

死亡例は雌雄ともにいずれの群においても認められず、LD₅₀値は 2000mg/kg以上と推察された。

軟便あるいは下痢が 500mg/kg 以上の群の雌雄で投与日あるいは投与後1日に認められた。ABSの 14日間反復経口投与試験¹⁾では、1000mg/kg 群において投与期間中(非絶食)に軟便や下痢は認められなかったが、剖検前絶食の翌日に雄の2例で軟便が認められたことから、本試験では絶食下で ABSを投与したことに起因するものと考えられた。なお、同症状は投与後2日以降は認められず、体重など全身に悪影響を及ぼすものではなかった。他に黄色尿が投与日に 500mg/kg 以上の群の雌雄で認められた。同所見は、正常尿を色濃くした程度のものであり、ABSの 300及び 1000mg/kgの 14日間反復投与¹⁾においても軽微に認められたものの、尿定性及び尿量に変化は認められなかった。また、剖検や腎臓の病理組織学的検査では黄色尿が認められた例に形態的異常は認められなかった。これらのことから、黄色尿は ABSの排泄に起因する可能性も考えられ、毒性学的には重要な変化とは考えられなかった。

体重推移、剖検及び病理組織学的検査では、ABS投与による影響は認められなかった。

参考文献

- 1) 3-アミノベンゼンスルホン酸のラットにおける14日間反復投与経口毒性試験(SR-9236).

Figures

Figure 1. Body weight changes of male rats in the acute oral toxicity study of ABS

Figure 2. Body weight changes of female rats in the acute oral toxicity study of ABS

Tables

Table 1. Experimental design for the acute oral toxicity study of ABS in rats

Table 2. Mortality and LD₅₀ values of rats in the acute oral toxicity study of ABS

Table 3. General appearance of rats in the acute oral toxicity study of ABS

Table 4. Body weight changes of male rats in the acute oral toxicity study of ABS

Table 5. Body weight changes of female rats in the acute oral toxicity study of ABS

Table 6. Gross findings of rats in the acute oral toxicity study of ABS

Table 7. Histopathological findings of rats in the acute oral toxicity study of ABS

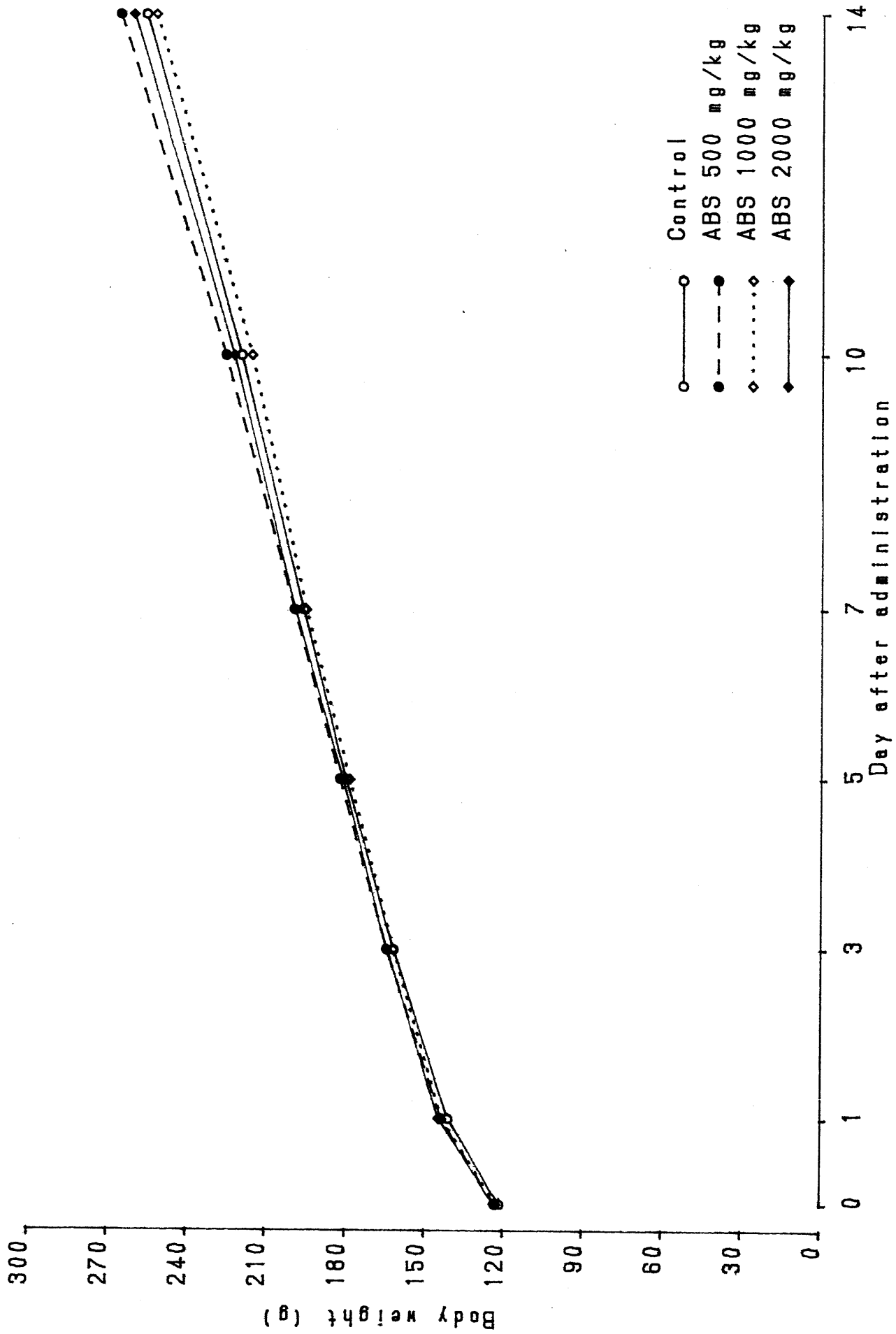


Figure 1. Body weight changes of male rats in the acute oral toxicity study of ABS

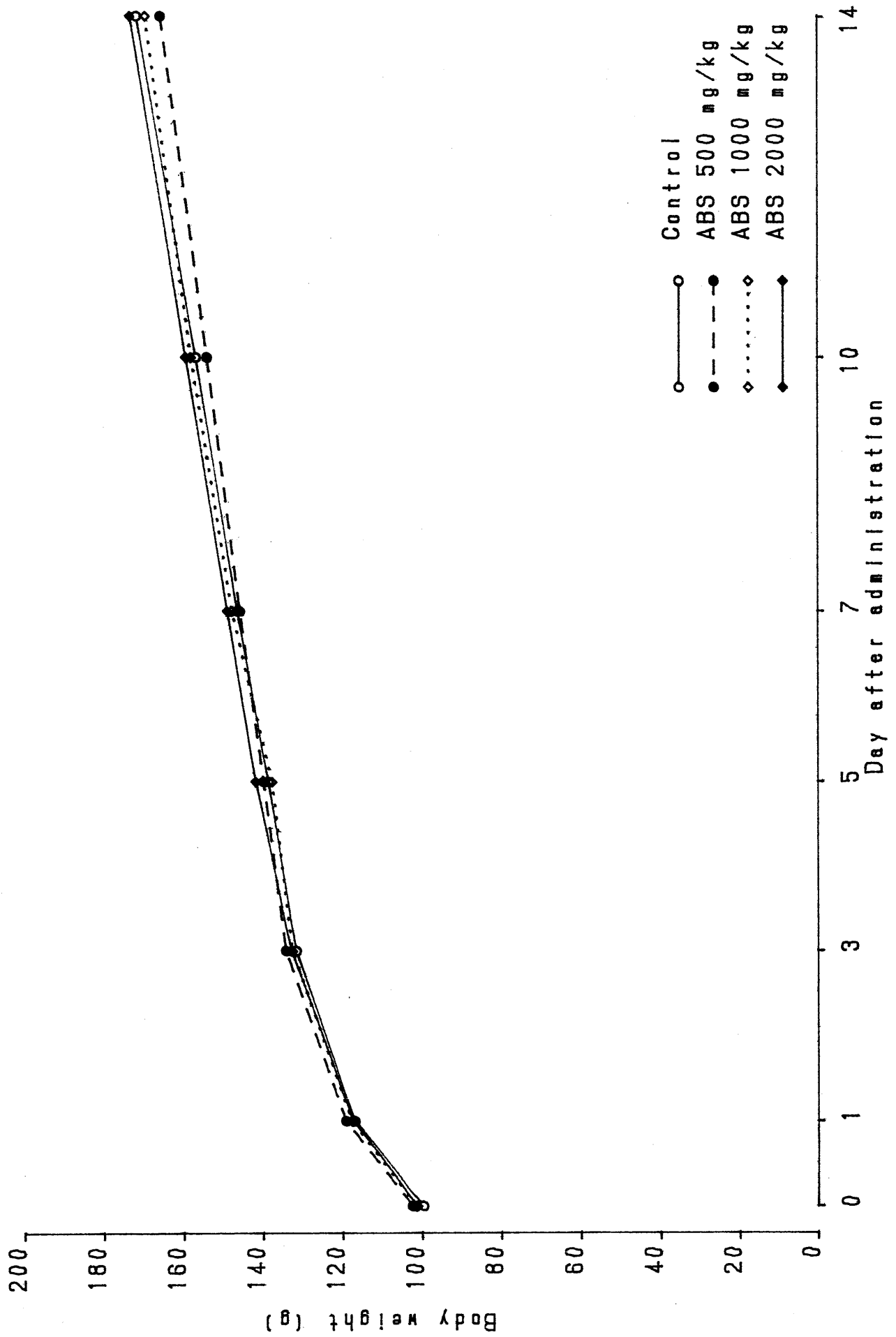


Figure 2. Body weight changes of female rats in the acute oral toxicity study of ABS

Table 1. Experimental design for the acute oral toxicity study of ABS in rats

Sex	Group	Concentration of ABS (w/v %)	Volume (ml/kg)	No. of animals ^a
	^b			
	Control	0	10	5
	^c			
Male	ABS 500 mg/kg	5	10	5
	ABS 1000 mg/kg	10	10	5
	ABS 2000 mg/kg	20	10	5
	^b			
	Control	0	10	5
	ABS 500 mg/kg	5	10	5
	ABS 1000 mg/kg	10	10	5
	ABS 2000 mg/kg	20	10	5

a: Crj:CD(SD) rats were dosed orally at the age of 5 weeks.

b: Control was 0.5% carboxymethylcellulose sodium dissolved in purified water.

c: ABS was suspended in control solution.

Table 2. Mortality and LD₅₀ values of rats in the acute oral toxicity study of ABS

Sex	Group	Distribution of dead animals				LD ₅₀ value (mg/kg)
		0	1	a 2-14	b Mortality	
Male	Control	0	0	0	0/5	>2000
	ABS 500 mg/kg	0	0	0	0/5	
	ABS 1000 mg/kg	0	0	0	0/5	
	ABS 2000 mg/kg	0	0	0	0/5	
Female	Control	0	0	0	0/5	>2000
	ABS 500 mg/kg	0	0	0	0/5	
	ABS 1000 mg/kg	0	0	0	0/5	
	ABS 2000 mg/kg	0	0	0	0/5	

a: Day after administration.

b: No. of dead animals / no. of animals dosed.

Table 3. General appearance of rats in the acute oral toxicity study of ABS

Item	Male				Female			
	ABS (mg/kg)				ABS (mg/kg)			
	Control	500	1000	2000	Control	500	1000	2000
No. of animals examined	5[2]	5[2]	5[2]	5[2]	5[2]	5[2]	5[2]	5[2]
<Administration day>								
Yellow urine observed on the dirt tray	0	[1]	[2]	[2]	0	[1]	[2]	[2]
Soft feces on the dirt tray	0	0	0	0	0	[1]	0	0
Soft feces	0	0	0	0	0	0	1	0
Diarrhea	0	0	0	5	0	0	3	5
Mucous feces	0	0	0	0	0	0	0	1
Soiling of perianal hair	0	0	0	5	0	0	2	3
<Day 1 after administration>								
Soft feces observed on the dirt tray	0	[1]	[1]	[2]	0	[2]	[2]	[2]
Diarrhea observed on the dirt tray	0	0	[1]	[2]	0	0	[2]	[2]
<Days 2-14 after administration>								
Abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0

a: Values in brackets are no. of cages.

b: Values are no. of animals with findings.

c: Values in brackets are no. of cages with findings.

Table 4. Body weight changes of male rats in the acute oral toxicity study of ABS

Group	No. of animals	Day after administration						
		0	1	3	5	7	10	14
Control	5	121.4	141.0	162.0	180.0	196.0	219.6	255.8
		4.7	4.3	4.0	7.0	6.7	7.0	10.8
ABS 500 mg/kg	5	123.2	143.6	164.6	182.2	199.4	225.6	265.6
		2.2	2.6	4.9	6.9	7.0	9.3	9.9
ABS 1000 mg/kg	5	122.6	143.4	162.0	178.6	195.0	215.6	252.0
		2.3	2.5	3.7	5.4	6.4	10.3	13.7
ABS 2000 mg/kg	5	123.4	144.6	164.6	181.2	199.2	222.4	260.6
		1.3	2.3	4.7	4.5	5.7	7.3	9.2

a: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.

Table 5. Body weight changes of female rats in the acute oral toxicity study of ABS

Group	No. of animals	Day after administration						
		0	1	3	5	7	10	14
Control	5	99.8	117.0	131.6	138.6	146.4	156.8	171.6
		5.0	7.5	9.7	10.8	13.1	15.3	19.7
ABS 500 mg/kg	5	102.6	119.2	134.2	139.8	145.8	154.0	165.6
		4.0	4.1	5.3	4.5	6.5	5.7	9.4
ABS 1000 mg/kg	5	101.6	117.8	132.6	137.6	147.8	158.0	169.4
		4.6	4.1	4.4	5.6	5.6	5.7	6.6
ABS 2000 mg/kg	5	101.2	117.4	132.8	141.8	149.0	159.4	173.2
		4.3	6.3	5.4	5.7	5.4	6.5	5.1

a: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.

Table 6. Gross findings of rats in the acute oral toxicity study of ABS

Item	Male				Female			
	ABS (mg/kg)				ABS (mg/kg)			
	Control	500	1000	2000	Control	500	1000	2000
No. of animals examined	5	5	5	5	5	5	5	5
Abnormal findings	0 ^a	0	0	0	0	0	0	0

a: Values are no. of animals with findings.

Table 7. Histopathological findings of rats in the acute oral toxicity study of ABS

Item	Male			Female				
	ABS (mg/kg)			ABS (mg/kg)				
	Control	500	1000	2000	Control	500	1000	2000
No. of animals examined	2	2	2	2	2	2	2	2

There were no abnormal findings in the liver, kidney, spleen, heart, lung, cerebellum, cerebellum, forestomach, glandular stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon and rectum.