

M-1252



最終報告書

試験名：4-アミノフェノールのマウスを用いた小核試験

試験番号：M-1252

試験施設

株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所
〒412-0039 静岡県御殿場市かまど 1284

試験委託者

厚生労働省医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室
〒100-8916 東京都千代田区霞ヶ関 1-2-2

株式会社ボゾリサーチセンター
〒156-0042 東京都世田谷区羽根木 1-3-11

2. 目次

1.	GLP陳述書	2
2.	目次	3
3.	試験実施概要	6
3.1	試験計画書	6
3.2	試験目的	6
3.3	試験委託者	6
3.4	試験受託者	6
3.5	試験実施施設	6
3.6	試験日程	6
3.7	試験責任者	7
3.8	試験担当者	7
3.9	試験従事者	7
3.10	試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因	7
3.11	資料保存	7
3.12	試験責任者の署名又は記名・なつ印	8
4.	要約	9
5.	緒言	10
6.	試験材料及び方法	11
6.1	被験物質、媒体及び陽性対照物質	11
6.1.1	被験物質	11
6.1.2	媒体	11
6.1.3	陽性対照物質	12
6.2	媒体、被験物質及び陽性対照物質の調製	12
6.2.1	媒体の調製	12
6.2.2	被験液の調製	12
6.2.3	陽性対照物質の調製	14
6.3	試験動物種及び系統の選択理由	14
6.4	試験動物	14
6.5	飼育条件	14
6.6	飼料、飲料水及び床敷中の混入物質	14
6.7	動物の識別及びケージへの表示	15
6.8	群分け	15
6.9	投与経路、投与方法及びそれらの選択理由	15
6.10	投与量及びその設定根拠並びに群構成	15
6.10.1	予備試験	15
6.10.2	本試験	16

6.11	観察及び検査の方法	17
6.11.1	一般状態の観察	17
6.11.2	体重測定	17
6.11.3	骨髓塗抹標本の作製	17
6.11.4	骨髓塗抹標本の観察	17
6.11.5	観察結果の判定	18
7.	試験結果	19
7.1	予備試験	19
7.1.1	一般状態	19
7.1.2	体重	19
7.1.3	骨髓塗抹標本の観察結果	19
7.2	本試験	19
7.2.1	一般状態	19
7.2.2	体重	19
7.2.3	骨髓塗抹標本の観察結果	20
8.	考察	21
9.	参考文献	22

4. 要約

4-アミノフェノールの染色体異常誘発能の有無を検討するため、Crlj:CD1(ICR)系(SPF)マウスを用いた小核試験を実施した。

4-アミノフェノールの 125、250 及び 500 mg/kg を経口投与し、投与後約 24 時間に骨髓塗抹標本を作製した。また、陰性対照として 0.5 w/v%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液、陽性対照としてマイトマイシン C の 1 mg/kg を投与する群を設定した。

その結果、各被験物質投与群の小核を有する幼若赤血球の出現頻度は、陰性対照群と比較して統計学的に有意な増加を示し、用量依存的な増加も認められた。また、各被験物質投与群における全赤血球 200 個中に占める幼若赤血球の出現頻度は、陰性対照群と比較して、統計学的に有意な減少を示したことから、骨髓細胞の増殖抑制作用を有すると判断された。

なお、陰性対照群と陽性対照群の小核を有する幼若赤血球の出現頻度は当社の背景データの Mean \pm 3S.D.の範囲内であったことから、試験は適切に実施されたものと考えられた。

以上の結果から、4-アミノフェノールは本試験条件下で Crlj:CD1(ICR)系(SPF)マウスの骨髓において、染色体異常誘発能有すると判定した。

5. 緒言

本試験は、厚生労働省医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室からの委託により、株式会社ボゾリサーチセンターで実施した。なお、試験は以下の基準を遵守して行った。

Good Laboratory Practice (GLP)

- 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」
(平成 15 年 11 月 21 日：薬食発第 1121003 号、平成 15・11・17 製局第 3 号、環
保企発第 031121004 号、平成 17 年 4 月 1 日最終改正)
- 「OECD Principles of Good Laboratory Practice」
(OECD 理事会：1997 年 11 月 26 日)

毒性試験法ガイドライン

- 「新規化学物質等に係る試験の方法について」
(平成 15 年 11 月 21 日；薬食発第 1121002 号、平成 15・11・13 製局第 2 号、環
保企発第 031121002 号、平成 17 年 4 月 1 日最終改正)
- 「OECD Guidelines for Testing of Chemicals 474」
(OECD 理事会：1997 年 7 月 21 日)

動物の福祉

- 「動物の愛護及び管理に関する法律」
(昭和 48 年 10 月 1 日法律第 105 号、平成 11 年 12 月 22 日及び平成 17 年 6 月
22 日一部改正)
- 「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 4 月 28 日環境省告示第 88 号)
- 「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」
(日本学術会議 平成 18 年 6 月 1 日)

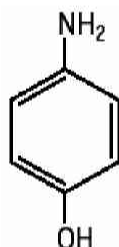
6. 試験材料及び方法

6.1 被験物質、媒体及び陽性対照物質

6.1.1 被験物質

被験物質 4-アミノフェノールは、より入手した。当試験に使用
した被験物質のロット番号、性状等は次の通りである。（添付資料 1）

名称 : 4-アミノフェノール
p-アミノフェノール
p-Aminophenol
CAS 番号 : 123-30-8
構造式又は示性式 :



C_6H_7NO

ロット番号 :
純度 : 99.9%
性状 : 僅微褐色結晶性粉末
融点 : 186.8°C
分子量 : 109.14
安定性 : 動物試験終了後に被験物質を製造業者で分析し安定であることを確認した（添付資料 2）。
保存方法 : 冷暗所（実測値：3～7°C）、密栓
保存場所 : 御殿場研究所 被験物質保存室及び第 1 研究棟
被験物質調製室

動物試験終了後、残量の一部を製造業者に返却し、安定性確認後すべてを廃棄した。

6.1.2 媒体

名称 : カルボキシメチルセルロースナトリウム
（以下 CMC-Na と記す。）
ロット番号 : 4Y01（予備試験、本試験）
規格 : 日本薬局方
製造元 : 丸石製薬株式会社

M-1252

保存方法 : 室温
保存場所 : 御殿場研究所 第1研究棟被験物質調製室
選択理由 : 本被験物質は水に難溶であるため、均一な懸濁状態が得られる CMC-Na を選択した。

6.1.3 陽性対照物質

名称 : マイトマイシン C (以下、MMC と略す)
ロット番号 : 473AEJ
規格 : 日抗基注射用
力価 : 2 mg/vial
メーカー : 協和醗酵工業株式会社
保存方法 : 室温、遮光
保存場所 : 御殿場研究所 第1研究棟発癌性物質室温保存庫
選択理由 : MMC は小核試験に広く用いられ、背景データが豊富であり「毒性試験法ガイドライン」に従って選択した。

6.2 媒体、被験物質及び陽性対照物質の調製

6.2.1 媒体の調製

6.2.1.1 調製方法

CMC-Na を注射用水〔株式会社大塚製薬工場、ロット番号：6A80（予備試験）、6A93（本試験）〕に溶解し、0.5 w/v% CMC-Na 水溶液とした。

6.2.1.2 調製頻度及び保存方法

予備試験及び本試験ともに、冷蔵庫内に保存した（保存実測温度：予備試験 3～4℃、本試験 4～5℃）。なお、調製後 5 日以内（使用期限：調製後 8 日間）に使用した。

6.2.2 被験液の調製

6.2.2.1 調製方法

被験物質を 0.5 w/v% CMC-Na 水溶液に懸濁して所定濃度とする。

6.2.2.2 保存方法

用時調製とし、調製後 6 時間以内に使用した。

6.2.2.3 安定性及び均一性

本被験物質の 1 mg/mL 懸濁液（媒体：0.5 w/v% CMC-Na 水溶液）については室温で 6 時間の安定性及び均一性が確認され、200 mg/mL 懸濁液（媒体：0.5 w/v% CMC-Na 水溶液）については、室温で 24 時間の安定性及び均一性が確認された（株式会社ボゾリサーチセンター：試験番号：A-1974）。（添付資料 3）

6.2.2.4 被験液の濃度・均一性確認

本試験に使用した被験液の濃度及び均一性を確認した結果、いずれの測定対象物質とも濃度の割合は 99.8～103.2% で表示値±10%以内であり、均一性 (CV) も 1.2～3.2% で値は 10%以内であり問題はなかった (添付資料 4)。分析方法の概略は次の通りである (詳細は添付資料 5)。

6.2.2.5 分析方法の概略

1) 測定実測試料の調製

以下の表に従い、測定試料をマグネチックスターラーでじゅうぶんに攪拌しながら、各測定試料から無作為に n=1 で採取した。HPLC 移動相で希釈して測定実測試料とした。

測定試料 (mg/mL)	1次希釈		2次希釈		希釈率
	採取量 (mL)	定容量 (mL)	採取量 (mL)	定容量 (mL)	
12.5	1	25	1	25	625
25	1	25	1	50	1250
50	1	50	1	50	2500

2) HPLC システム (Waters Corporation)

HPLC	:	2695 セパレーションモジュール
検出器	:	2487 デュアルλ UV/VIS 検出器
データ処理装置	:	Empower

3) HPLC 条件

カラム	:	Inertsil ODS-3 (5 μm、4.6 mmI.D.×150 mm、ジーエルサイエンス株式会社)
移動相	:	メタノール/精製水 (1:9、v/v)
流速	:	1 mL/min
検出	:	UV (測定波長 225 nm)
試料注入量	:	20 μL

4) 測定値の算出

標準試料溶液を HPLC へ 3 回連続注入して 4-アミノフェノールのピーク面積値の平均値 (Qs) を求めた。別に測定実測試料を HPLC へ 1 回注入して、4-アミノフェノールのピーク面積値 (Qt) を求め、以下の式により測定試料中の 4-アミノフェノール濃度を求めた。

$$\text{被験液中 4-アミノフェノール濃度 (mg/mL)} = \frac{Q_t}{Q_s} \times A \times F \times \frac{1}{1000}$$

- Qt : 測定実測試料の 4-アミノフェノールのピーク面積値
Qs : 標準試料溶液の 4-アミノフェノールの平均ピーク面積値
A : 標準試料溶液中の 4-アミノフェノール濃度 (μg/mL)
F : 希釈率

6.2.3 陽性対照物質の調製

用時に、MMCの 0.1 mg/mL水溶液を調製した。すなわち、MMC (2 mg/vial) 1 瓶を注射用水^{注1} 5 mLで溶解した後、2 mLを採取して、生理食塩液^{注2}を 6 mL加えて 8 mLとした。

^{注1} : 日本薬局方 (株式会社大塚製薬工場、ロット番号 : 6A93)

^{注2} : 日本薬局方 (株式会社大塚製薬工場、ロット番号 : 6C00)

6.3 試験動物種及び系統の選択理由

マウスは小核試験に広く用いられており、この試験に使用される系統のマウスは特性がよく知られ、背景資料が豊富であることから選択した。

6.4 試験動物

ICR系SPFマウス [CrIj:CD1(ICR)、日本チャールス・リバー株式会社、厚木飼育センター] を7週齢で、予備試験用として雌雄各 48 匹^{注3}、本試験用として雄 42 匹^{注4}を購入した。動物の入荷日を1日と数え、予備試験は7日間、本試験は8日間検疫・馴化飼育した。検疫・馴化飼育期間中には体重測定 (入荷日、検疫終了日及び群分け日) 及び体外表、栄養状態、行動などの一般状態の観察をし、その結果をもとに異常のない動物 (予備試験は雌雄各 36 匹、本試験は雄 30 匹) を選択し、8週齢で試験に供した。試験系から除外された動物数は、予備試験が雌雄各 12 匹、本試験は雄 12 匹であった。

^{注3} : 試験計画書に従い注文匹数は雌雄各 46 匹であったが、実際には雌雄各 48 匹が納入された。

^{注4} : 試験計画書に従い注文匹数は雄 40 匹であったが、実際には雄 42 匹が納入された。

6.5 飼育条件

動物は温度 (予備試験 20~25°C、本試験 21~25°C)、相対湿度 (予備試験 41~54%、本試験 42~59%)、換気回数1時間当たり 10~15 回、照明1日 12 時間 (07:00~19:00) の飼育室 (飼育室番号 : 予備試験 108 号室、本試験 110 号室) でプラスチックケージ (W 155 × D 245 × H 150mm : 日本クレア株式会社) に1匹ずつ収容し、固形飼料 CRF-1 [オリエンタル酵母工業株式会社、ロット番号 : 060606 (予備試験)、060706 (本試験)] 及び飲料水 (御殿場市営水道水 : 給水瓶使用) を自由に摂取させ飼育した。

6.6 飼料、飲料水及び床敷中の混入物質

飼料、飲料水及び床敷中の混入物質については、飼料は使用したロットごとに分析したデータを、床敷は 2006 年 8 月に分析したデータを財団法人日本食品分析センターか

らそれぞれ入手し、飲料水については、水道法に準拠した水質の分析を東芝機械環境センター株式会社に定期的（年4回）に依頼し、試験期間を保証するデータを入手し、それぞれ異常のないことを確認して、その写しを保存した。

6.7 動物の識別及びケージへの表示

- 小動物用耳標 : 予備試験では367～462、本試験では601～642の番号が刻印された耳標を入荷時に装着した。
- 動物番号 : 群分け後は群ごとに1から始まる番号をつけた。予備試験では、100の位は群、10の位は性（雄は0番、雌は1番）、1の位は個体番号とした。本試験では、投与量ごと（陰性対照群、低、中、高用量群及び陽性対照群の順）に4桁の番号をつけた。本試験の場合、1000の位は群、100の位は性（雄は0番）、10と1の位は個体番号とした。各飼育ケージに用量（群）ごとに色分けしたケージラベルを付け、試験番号、投与経路、投与量、性、動物番号、耳標番号及び骨髄採取日を明記した。

6.8 群分け

動物は、検疫・馴化期間中、異常がみられなかった個体を使用した。群分け当日（投与日）の体重により層別化し、各群の平均体重ができるだけ均等になるよう各群を構成した。使用した動物の投与日における体重範囲は、予備試験が雄32.2～35.5g、雌24.6～28.1g、本試験が雄32.3～35.9gであった。個体の割付けはコンピュータを用いたブロック配置法及び無作為抽出法の組合せ（ブロック配置法で必要な群を構成し、試験群及び群内の個体番号を無作為に割り当てる）により行った。また、投与日における動物の週齢は8週齢であった。群分け後の余剰動物は、予備試験及び本試験とも動物試験終了日にエーテル深麻酔下で安楽死させた。

6.9 投与経路、投与方法及びそれらの選択理由

毒性試験法ガイドラインに準じ、投与経路は経口とした。投与容量は10 mL/kg 体重とし、マウスにフレキシブル胃ゾンデを用いて投与した。個体ごとの投与液量は投与日の体重を基準に算出した。陰性対照群には媒体を同様に投与した。陽性対照群にはマウス骨髄細胞に小核の誘発が報告されているMMCを25Gの注射針を用いて腹腔内に1回投与した。投与容量は10 mL/kg 体重とした。

6.10 投与量及びその設定根拠並びに群構成

6.10.1 予備試験

予備試験における最高用量を毒性試験法ガイドラインで定める最高用量である

2000 mg/kg とし、以下公比 2 で除し、1000、500、250 mg/kg を設定した。骨髄採取時間は投与後約 24、48 及び 72 時間とし、該当する各 3 匹より、大腿骨骨髄細胞を採取し塗抹標本を作製後観察した。群構成表を表 1 に示す。

表 1. 予備試験群構成表

群	投与量 (mg/kg)	濃度 (mg/mL)	投与 容量 (mL/kg)	性	骨髄採取時間					
					投与後約 24 時間群		投与後約 48 時間群		投与後約 72 時間群	
					動物数	動物番号	動物数	動物番号	動物数	動物番号
低用量	250	25	10	雄	3	101~103	3	104~106	3	107~109
				雌	3	111~113	3	114~116	3	117~119
中用量	500	50	10	雄	3	201~203	3	204~206	3	207~209
				雌	3	211~213	3	214~216	3	217~219
高用量	1000	100	10	雄	3	301~303	3	304~306	3	307~309
				雌	3	311~313	3	314~316	3	317~319
最高用量	2000	200	10	雄	3	401~403	3	404~406	3	407~409
				雌	3	411~413	3	414~416	3	417~419

6.10.2 本試験

被験物質の投与量及び骨髄採取時期は予備試験の結果を基に以下のように決定した。

投与量は、雌雄マウスに 250、500、1000 及び 2000 mg/kg を単回投与した結果、投与翌日までに、1000 mg/kg 投与群の雄 8/9 例、雌 7/9 例、2000mg/kg 投与群の雄 8/9 例、雌 7/9 例の死亡が確認された。一般状態の変化としては、投与後約 2 時間に 500mg/kg 投与群の雌、1000 mg/kg 投与の雌雄、2000 mg/kg 投与群の雌で、チアノーゼが散見され、橙褐色尿が各投与群において投与翌日までに生存例のほぼ全例に確認された。体重では、250 及び 500 mg/kg 投与群の雌雄、1000 及び 2000 mg/kg 投与群の雌で投与後 2 日目まで増加抑制または減少傾向がみられた。また、幼若赤血球数については、各投与群の雌雄で投与後約 48 時間まで減少傾向がみられた。

したがって、本試験における投与量は、死亡例がみられず骨髄細胞増殖抑制の毒性兆候が現れた 500 mg/kg を高用量とし、以下公比 2 で除して、250 及び 125 mg/kg の 3 用量を設定した。これに媒体を投与する陰性対照群及び MMC を投与する陽性対照群を加え、計 5 群とした。1 群当りの動物数は 6 匹とした。

骨髄採取時期は、各投与群の雌雄で明白な小核誘発頻度の上昇が認められた投与後約 24 時間とした。また、毒性発現及び小核誘発頻度に明らかな性差が見られなかったため、雄のみで実施した。

なお、MMC の投与量は小核の誘発が報告されている 1 mg/kg とし、投与後約 24 時間に骨髄を採取した。群構成表を表 2 に示す。

表 2. 本試験群構成表

群	投与量 (mg/kg)	濃 度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	性	動物数	動物番号	骨髄採取時間 (投与後)
陰性対照群	0	0	10	雄	6	1001～1006	約 24 時間
低用量群	125	12.5	10	雄	6	2001～2006	約 24 時間
中用量群	250	25	10	雄	6	3001～3006	約 24 時間
高用量群	500	50	10	雄	6	4001～4006	約 24 時間
陽性対照群	1 [*]	0.1 [*]	10	雄	6	5001～5006	約 24 時間

^{*}MMCの投与量及び濃度を示す。

6.11 観察及び検査の方法

6.11.1 一般状態の観察

予備試験及び本試験とも、各群の投与前、投与直後、投与後約 2 時間、また、投与翌日から骨髄採取終了日までは 1 日 1 回、体外表、栄養状態、行動及び排泄物などの一般状態を観察した。

6.11.2 体重測定

予備試験では、投与日と投与翌日から骨髄採取終了日まで、8:58～11:11 に測定した。本試験では、投与日と投与翌日の骨髄採取日まで、9:10～10:44 に測定した。

6.11.3 骨髄塗抹標本の作製

小核の観察のための標本を、Schmidの方法^{1,2)}に従って作製した。すなわち、投与後所定の時間に該当するマウスを頸椎脱臼により安楽死させ、両側の大腿骨を摘出した。その後 1 mL ディスポーザブル注射筒と 23G 注射針を用いて、約 0.1～0.2 mL の牛胎児血清〔GIBCO BRL、ロット番号：1299355（予備試験、本試験）〕で骨髄細胞を遠心管に洗い出した。次に、この注射筒及び注射針を用いて骨髄細胞と牛胎児血清を混和して細胞をほぐし、1000 rpm で 5 分間遠心分離（トミー工業株式会社、卓上多本架遠心機 LC-220）し、上清を捨て、沈殿物をミキサーでよく混和しスライドグラスに塗抹した（塗抹標本は 1 匹につき左右大腿骨から各 1 枚を作製）。塗抹した標本は風乾させ、メタノール〔和光純薬工業株式会社、ロット番号：EWQ0288（予備試験、本試験）〕で 3 分間固定した後、再び風乾した。なお、標本の作製に際しては、動物番号と試料番号の対照表を作成し、標本には試験番号・ステージ・試料番号・試験の種類及び作製日を明記したラベルを付けた。

6.11.4 骨髄塗抹標本の観察

観察は盲検法で行うため試料番号をもとに、塗抹状態の良好な 1 枚を選択した。骨髄塗抹標本のアクリジンオレンジ蛍光染色及び観察は、Hayashiらの方法^{3,4)}に従った。予め 40 µg/mL アクリジンオレンジ水溶液を少量滴下したカバーグラスに骨髄塗抹標本を載せた。波長 490 nm 付近の励起光、観察用フィルターとして 515 nm 以上の波長を透過するものを備えた蛍光顕微鏡（システム生物顕微鏡：オリンパス光学工業株式

会社 BX40、ユニバーサル落射蛍光装置：オリンパス株式会社 BX-FLA) を用いて、総合倍率 600 倍で観察した。1 個体当たり全赤血球 200 個中の幼若赤血球 (以下、PCE と略す) と正染性赤血球を計数し、同時に PCE 2000 個中の小核を有する幼若赤血球 (以下、MNPCE と略す) を計数した。

6.11.5 観察結果の判定

結果は以下についてまとめた。

1 個体について、2000 個の PCE に対する MNPCE 数とその出現頻度 (%)、全赤血球 200 個中の PCE 数とその出現頻度 (%) を求めた。

また、群ごとに MNPCE 数とその出現頻度 (%)、PCE 数とその出現頻度 (%) について平均値と標準偏差を算出し、各出現頻度 (%) については最大値と最小値も算出した。

本試験では更に、小核の出現頻度に対する有意性の判定は、陰性対照群と陽性対照群の MNPCE の出現率が当社の背景データの Mean \pm 3S.D.内であることを確認した後、陰性対照群と被験物質投与群とを比較し、2 項分布に基づく Kastenbaum & Bowman の検定⁵⁾ (片側、 $p \leq 0.05$) 並びに Cochran Armitage の傾向検定⁶⁾ (両側、 $p \leq 0.05$ 、0.01) を行った。PCE の出現頻度については、陰性対照群と各被験物質投与群との間で F 検定⁷⁾ で等分散性 (片側、 $P < 0.05$) を調べ、分散が等しかったため Student の t 検定⁷⁾ (両側、 $p < 0.05$ 、0.01) を行った。

また、陽性対照群については、MNPCE の出現頻度 (%) を陰性対照群と比較し、2 項分布に基づく Kastenbaum & Bowman の検定 (片側、 $p \leq 0.05$) を行った。更に PCE の出現頻度についても、陰性対照群との間で F 検定で等分散性 (片側、 $p < 0.05$) を調べ、分散が等しかったため Student の t 検定 (両側、 $p < 0.05$ 、0.01) を行った。

M-1252

7. 試験結果

7.1 予備試験

4-アミノフェノールの 250、500、1000 及び 2000 mg/kg を投与した。

7.1.1 一般状態

結果を Appendix 1-1 及び 1-2 に示した。

雌雄マウスに 250、500、1000 及び 2000 mg/kg を単回投与した結果、投与翌日までに、1000mg/kg 投与群の雄 8/9 例、雌 7/9 例、2000mg/kg 投与群の雄 8/9 例、雌 7/9 例の死亡が確認された。一般状態の変化としては、投与後約 2 時間に 500mg/kg 投与群の雌、1000mg/kg 投与の雌雄、2000mg/kg 投与群の雌で、チアノーゼが散見され、橙褐色尿が各投与群において投与翌日までに生存例のほぼ全例に確認された。

7.1.2 体重

結果を Appendix 2-1 及び 2-2 に示した。

250 及び 500mg/kg 投与群の雌雄、1000 及び 2000mg/kg 投与群の雌で投与後 2 日目まで増加抑制または減少傾向がみられた。

7.1.3 骨髄塗抹標本の観察結果

結果を Appendix 3-1～3-6 にそれぞれ示した。

投与後約 24、48 及び 72 時間に骨髄を採取し観察した結果、各被験物質投与群では MNPCE の出現頻度は、投与後約 24 時間に雌雄で明白な小核誘発頻度の上昇が認められた。また、各被験物質投与群における全赤血球 200 個中に占める PCE の出現頻度は、雌雄で投与後約 48 時間まで減少傾向がみられた。

7.2 本試験

4-アミノフェノールの 125、250 及び 500 mg/kg、陰性対照として 0.5 w/v%CMC-Na 水溶液、陽性対照として MMC の 1 mg/kg を投与した。

7.2.1 一般状態

個体別の結果を Appendix 4 に、総括を Table 1 にそれぞれ示した。

各被験物質投与群において、橙褐色尿が投与翌日までに全例に確認された。

7.2.2 体重

個体別の結果を Appendix 5 に、総括を Table 2 にそれぞれ示した。

各投与群において、投与翌日に増加抑制または減少傾向がみられた。

7.2.3 骨髓塗抹標本の観察結果

個体別の結果を Appendix 6 に、総括を Table 3 にそれぞれ示した。

被験物質投与群では MNPCE の出現頻度が 125 mg/kg 投与群で 1.08 ± 0.20 %、250 mg/kg 投与群で 1.14 ± 0.39 %、500 mg/kg 投与群で 1.10 ± 0.14 %を示した。これらの値を陰性対照群の 0.10 ± 0.04 %と比較した結果、いずれの投与群も統計学的に有意 ($p \leq 0.05$) な増加を示し、用量依存的 ($p \leq 0.01$) な増加も認められた。

また、各被験物質投与群の全赤血球 200 個中に占める PCE の出現頻度は、陰性対照群と比較して統計学的に有意 ($p < 0.05$ 、 0.01) な減少を示した。

さらに、陽性対照群の MNPCE の出現頻度である 1.91 ± 0.90 %は、陰性対照群と比べ統計学的に有意 ($p \leq 0.05$) な増加を示し、全赤血球 200 個中に占める PCE の出現頻度は、陰性対照群と比較して統計学的に有意 ($p < 0.05$) な減少を示さなかった。

また、陰性対照群及び陽性対照群の MNPCE の出現頻度は、当社の背景データの Mean \pm 3S.D.の範囲内であった。

Table 1
A micronucleus test of 4-Aminophenol in mice

Clinical signs

Group	Dose (mg/kg)	Clinical signs			
		Before administration	Immediately after administration	About 2 hours after administration	1 day after administration
Negative control	0	Number of animals	6	6	6
		No abnormalities	6	6	6
Low	125	Number of animals	6	6	6
		No abnormalities	6	6	2
		Orange brown urine	0	0	4
Middle	250	Number of animals	6	6	6
		No abnormalities	6	6	6
		Orange brown urine	0	0	0
High	500	Number of animals	6	6	6
		No abnormalities	6	6	6
		Orange brown urine	0	0	0
Positive control (Mitomycin C)	1	Number of animals	6	6	6
		No abnormalities	6	6	6

Table 2
A micronucleus test of 4-Aminophenol in mice

Body weight

Group	Dose (mg/kg)	N	Day of administration	1 day after administration
Negative control	0	Mean	33.7	33.8
		S.D.	1.0	0.9
Low	125	Mean	33.7	33.2
		S.D.	1.0	1.0
Middle	250	Mean	33.8	33.3
		S.D.	1.0	0.6
High	500	Mean	33.8	33.9
		S.D.	1.1	1.6
Positive control (Mitomycin C)	1	Mean	33.9	32.8
		S.D.	1.3	1.5

Unit : g

Table 3
A micronucleus test of 4-Aminophenol in mice

Observation of bone marrow smears (About 24 hours after administration)

Group	Dose (mg/kg)	No. of MNPCE in 2000 PCE	MNPCE(%) ^{a)}	No. of PCE in 200 erythrocytes	PCE(%) ^{b)}
Negative control	0	N	6	0.10 ± 0.04 0.05 / 0.15	114 ± 17 57.2 ± 8.7 44.5 / 71.5
		Mean±S.D.	2 ± 1		
		Min./Max.			
Low	125	N	6	1.08 ± 0.20 ^{c) d)} 0.70 / 1.25	88 ± 20 43.9 ± 9.9 ^{*e)} 31.0 / 54.5
		Mean±S.D.	22 ± 4		
		Min./Max.			
Middle	250	N	6	1.14 ± 0.39 ^{c) d)} 0.60 / 1.70	77 ± 20 38.7 ± 9.9 ^{**e)} 26.0 / 53.0
		Mean±S.D.	23 ± 8		
		Min./Max.			
High	500	N	6	1.10 ± 0.14 ^{c) d)} 0.90 / 1.25	68 ± 8 33.8 ± 3.9 ^{**e)} 29.5 / 39.5
		Mean±S.D.	22 ± 3		
		Min./Max.			
Positive control (Mitomycin C)	1	N	6	1.91 ± 0.90 ^{c)} 0.80 / 2.75	97 ± 12 48.7 ± 5.8 42.0 / 57.0
		Mean±S.D.	38 ± 18		
		Min./Max.			

a): Proportion(%) of micronucleated polychromatic erythrocytes (MNPCE) per 2000 polychromatic erythrocytes (PCE)

b): Proportion(%) of polychromatic erythrocytes (PCE, including MNPCE) per 200 erythrocytes

c): Statistically significant increase from the negative control value (Kastenbaum & Bowman's statistical table, P<0.05)

d): Dose-dependency by Cochran-Armitage test, P<0.01

e): Statistically significant difference from the negative control value (Student's t-test, *: P<0.05; **: P<0.01)