

4- アミノフェノールのラットを用いた強制経口投与による肝中期発がん性試験

日本バイオアッセイ研究センター

1 被験物質

1.1 名称等

名称	: 4- アミノフェノール (別名 <i>p</i> -アミノフェノール、4-ヒドロキシアニリン)
製造元	: 東京化成工業 (株)
CAS No.	: 123-30-8
ロット番号	: NSEEC
含量	: 100.0%
分子量	: 109.13

1.2 物理化学的性状等

外観及び性状	: 白色～うすい赤みの黄色 結晶～粉末
融点	: 187°C
溶解性	: 15.7 g/L (20°C 水)

1.3 製造・輸入量及び用途

製造・輸入量	: 1,000 t (平成 27 年度)
用途	: 医薬中間体 (アセトアミノフェン・解熱鎮痛剤)、硫化染料の中間体、 ゴム用老化防止剤、毛皮用酸化染料、写真現像薬

1.4 有害性情報

急性毒性	: LD50 : 671 mg/kg (ラット経口)
刺激性	: ウサギの眼と皮膚に軽度の刺激性
遺伝毒性	: エームス試験 : 陽性、染色体異常試験 : 陽性
発がん性	: 証拠なし
特定標的臓器毒性	: 腎臓

2 目的

F344/DuCrjラットを用いた肝中期発がん性試験 (伊東法) を用いて、4- アミノフェノールの肝臓に対するプロモーション作用の有無を検索した。

3 方法

試験は、被験物質投与群 3 群、媒体対照群及び陽性対照群の計 5 群の構成で、各群 22 匹の F344 ラット (雄 6 週齢) を用いて行った。起始物質として *N*-ニトロソジエチルアミン (DEN) 200 mg/kg を腹腔内へ投与した後、第 3 週目より 6 週間、オリブ油に混和させた被験物質を 0 (媒体対照群)、50、100 及び 200 mg/kg/day の用量で、また、陽性対照群にはフェノバルビタールナトリウムを 25

mg/kg/day の用量で、毎日 1 回、強制経口投与した。DEN 処置後、第 3 週目の終わりには肝臓の 2/3 を切除する手術を行った。動物は投与終了日の翌日に安楽死させ、肝臓の前腫瘍性病変である胎盤型 Glutathione S-transferase (GST-P) 陽性細胞巢 (直径 0.2 mm 以上) の数及び面積を計測し、肝臓単位面積当たりの陽性細胞巢の数及び面積を算出することでプロモーション作用の有無を評価した。

4 投与量設定の理由

被験物質の投与量は、以下に示す用量設定試験の結果を基に決定した。用量設定試験は、急性 (3 回投与) 試験、3 週間反復投与試験及び部分肝切除した動物を用いる 2 週間反復投与試験を実施した。

急性 (3 回投与) 試験は、被験物質投与量を 250、500、1000 mg/kg に設定して雄の F344 ラット 3 匹に 8 週齢から毎日、最大 3 日間、強制経口投与した。その結果、1000 mg/kg では 2 回投与で 2 匹が死亡、500 mg/kg では 3 回の投与終了後 5 日目に 1 匹が死亡、250 mg/kg では投与の影響は認められなかった。

急性 (3 回投与) 試験の結果を基に、3 週間反復投与試験では、6 週齢で *N*-ニトロソジエチルアミン (DEN) を腹腔内単回投与 (200 mg/kg) し、被験物質投与量を 0 (媒体対照、オリーブ油)、30、60、125 及び 250 mg/kg に設定して、雄の F344 ラットに 8 週齢から毎日、3 週間、被験物質を強制経口投与して投与終了翌日に剖検した。その結果、250 mg/kg に軽微な体重増加抑制がみられたが、一般状態、臓器重量、血液学及び血液生化学検査所見に変化は認められなかった。病理組織検査の結果 125 mg/kg 及び 250 mg/kg で腎臓の尿細管上皮に軽度の変性・壊死及び再生が認められた。

これらの用量設定試験の結果を基に、本試験の高用量を最終決定する目的で、部分肝切除した動物を用いる 2 週間反復投与試験を実施した。被験物質投与量は 0 (媒体対照、オリーブ油)、200、300 及び 400 mg/kg とし、9 週齢で部分肝切除した雄の F344 ラットに、部分肝切除翌日から毎日、2 週間、被験物質を強制経口投与した。その結果、300 mg/kg 及び 400 mg/kg では投与数日以内に数匹が死亡したことから投与を中止した。剖検の結果、死亡動物には肉眼的に腎臓の肥大及び腎皮質領域の白色斑がみられ、病理組織学検査で重度の尿細管壊死が確認された。200 mg/kg では、一般状態や体重に影響はなかったが肝臓と腎臓重量の軽微な増加が認められた。

以上の結果から、125 mg/kg 以上の投与で腎臓に対する軽度の毒性影響がみられ、300 mg/kg では部分肝切除後の投与で死亡がみられたことから、本試験に用いる高用量は、動物にわずかな毒性兆候がみられるが、動物が 6 週間の投与に耐え得る用量として、200 mg/kg が適切であると判断した。したがって、本試験では、高用量を 200 mg/kg に設定し、公比 2 で除して中用量を 100 mg/kg、低用量を 50 mg/kg とした。

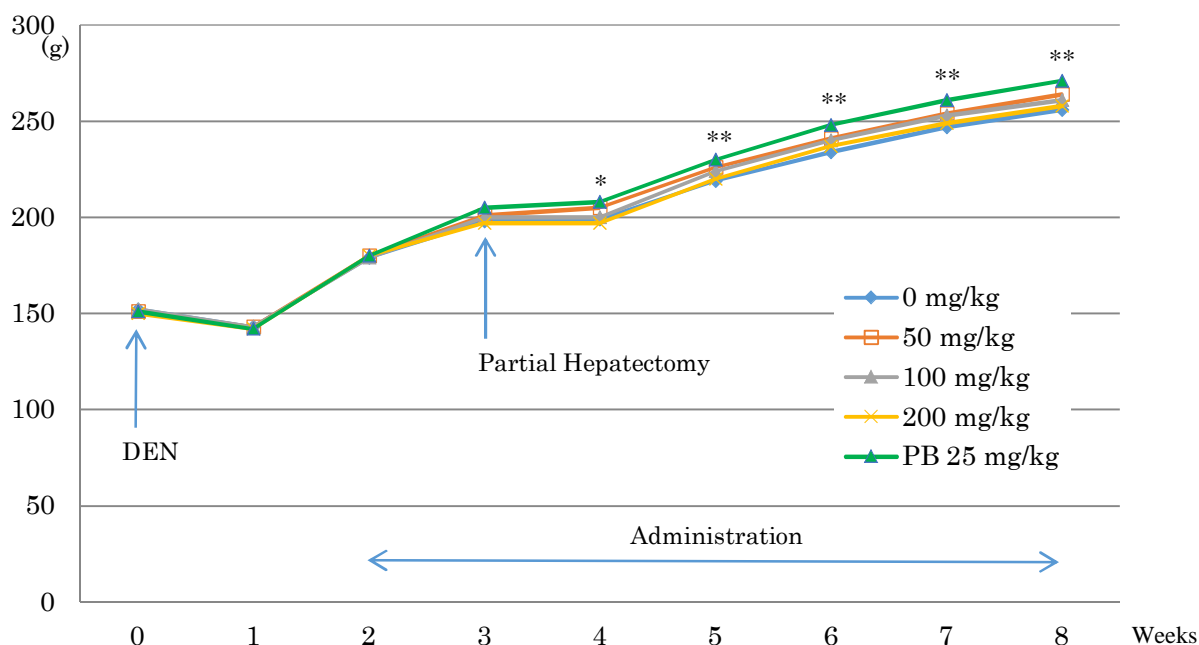
5 結果

200 mg/kg 群に一時的な摂餌量の減少がみられたが、被験物質投与に起因する一般状態所見や体重の変化は観察されなかった。肝臓重量については、50 mg/kg 以上の群で絶対重量、100 mg/kg 以上の群で相対重量の増加がみられた。また、腎臓重量については、200 mg/kg 群で絶対重量と相対重量の増加が認められた。病理組織学的検査では 200 mg/kg 群に腎臓の尿細管の単純過形成と尿細管壊死が観察されたが、肝臓に毒性病変は認められなかった。肝臓の GST-P 陽性細胞巢は、200 mg/kg 群で単位面積当たりの数及び面積が減少したが、これは肝臓重量増加による相対的な減少であると判断した。

陽性対照群では、媒体対照群に比較して体重、摂餌量、肝臓重量（絶対重量、相対重量）及び腎臓重量（絶対重量、相対重量）は増加した。また、肝臓の GST-P 陽性細胞巢については単位面積当たりの数、面積が増加したことから肝臓に対する発がんプロモーション作用は陽性であることを確認した。

6 結論

4-アミノフェノールは、本試験条件下では肝臓に対する発がんプロモーション作用を示さないと結論した。



*, **: Significantly different from control group at $p < 0.05$, 0.01 , respectively.

図1 4-アミノフェノールの肝中期発がん性試験における体重推移

表1 4-アミノフェノールの肝中期発がん性試験における肝臓重量結果

投与量 (mg/kg/day)	有効 動物数	剖検時体重 ^a (g)	肝臓絶対重量 (g)	肝臓相対重量 (%)
0	19	245 ± 10	5.881 ± 0.273	2.402 ± 0.073
50	20	253 ± 14	6.179 ± 0.556*	2.436 ± 0.116
100	18	250 ± 9	6.318 ± 0.396**	2.528 ± 0.090**
200	19	244 ± 15	6.565 ± 0.572**	2.686 ± 0.126**
PB 25	21	259 ± 18**	7.892 ± 0.748**	3.045 ± 0.109**

^a : The value presented were obtained after the animals were fasted overnight.

* : Significantly different from control group at p<0.05.

** : Significantly different from control group at p<0.01.

表2 4-アミノフェノールの肝中期発がん性試験における免疫組織化学的検査結果

投与量 (mg/kg/day)	有効 動物数	GST-P 陽性細胞巢	
		陽性細胞巢数 (no./cm ²)	陽性細胞巢面積 (mm ² /cm ²)
0	19	4.131 ± 1.715	0.390 ± 0.214
50	20	4.174 ± 1.464	0.359 ± 0.172
100	18	3.395 ± 1.422	0.300 ± 0.169
200	19	2.513 ± 1.224**	0.200 ± 0.109**
PB 25	21	8.337 ± 2.292**	0.835 ± 0.345**

** : Significantly different from control group at p<0.01.