

既存化学物質の人健康影響に関する情報

資料3-2-2

(平成18年10月27日 3省合同審議会)

Cas No.	自報公示番号	物質名称	急性	28日	Repro Tox	簡易	Ames	染色体	小核	評価文書	頁
121-47-1	3-1971	3-アミノベンゼンスルホン酸	○	○			○	○			1
526-78-3	2-1167	2,3-ジプロモコハク酸	○	○			○	○			25
7756-94-7	2-32	トリイソブチレン	○	○			○	○			40
7299-99-2	2-642、 2-649、 2-661	ペンタエリスリトールテトラ(2-エチルヘキサノアート)	○		○		○	○			61
13936-21-5	4-687	2-ペンチルアントラキノン		○			○	○			88
41267-43-0	5-4870	C.I.フルオレセントブライナー271	○		○		○	○			109
691-37-2	2-222-31	4-メチル-1-ペンテン	○		○		○	○			141
99-71-8	3-503	4-(1-メチルプロピル)フェノール		○			○	○			170
105-05-5	3-13	1,4-ジエチルベンゼン	○		○		○	○			189
24800-44-0	2-430	トリプロピレングリコール	○		○		○	○			209
26967-76-0	2-2534	リン酸トリス(p-クメニル)	○	○			○	○			229
4130-42-1	3-540	パーフルオロオクタン酸アンモニウム塩	企業内情報								

3-アミノベンゼンスルホン酸のラットを用いる単回経口投与毒性試験

Single Dose Oral Toxicity Test of 3-Aminobenzenesulfonic acid in Rats

要約

3-アミノベンゼンスルホン酸 (CAS No.121-47-1) の 500, 1000および2000mg/kgをラットに経口単回投与し、その毒性について試験を実施して、以下の知見を得た。

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。一般状態では、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が、体重推移、剖検および病理組織学的検査では、雌雄ともに被験物質投与による影響は認められなかった。

方法

1. 動物および飼育条件

生後4週齢のCrj:CD (SD) 系のSPFラットを、日本チャールス・リバーより受け入れ、7日間の馴化飼育後、順調な発育を示した動物を試験に用いた。

動物は、温度23±3℃、湿度55±10%、換気回数10～15回/時間および照明時間午前8時～午後8時に設定された飼育室において、ブラケット式金属製金網床ケージに収容して飼育した。飼料は固型飼料 (CRF-1、オリエンタル酵母工業) を、飲料水は水道水をそれぞれ自由摂取させた。飼料の混入物質および飲料水の水質について検査を実施し、異常のみられないことを確認した。

2. 被験物質

3-アミノベンゼンスルホン酸 (Lot No.: 20060, 純度: 98.6%, 製造者: 三和化学工業) は、染料の製造過程の中間体で、水に溶けにくい無臭の白ないし薄い灰色の粉末である。被験物質は試験実施期間中の品質が保証されており、密閉容器にいれ、湿気、直射日光を避けて冷暗所に保管した。投与液は、被験物質濃度が5, 10および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、日本薬局方 CMC-Na, 丸石製薬; 日本薬局方精製水, ヤクハン製薬) で懸濁して用時調製した。

3. 試験群の設定

本試験の用量設定試験では、2000, 1000および500mg/kg, 0.5%CMC-Na溶液 (対照) をラットに投与し、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、用量設定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。なお、1群の動物数は雌雄各5匹とし、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群分けした。

4. 投与方法

投与経路は経口とし、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、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。

5. 観察、測定および検査項目

(1) 一般状態観察および体重測定

一般状態は、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。体重は、投与日、投与後1, 3, 5, 7, 10および14日に測定した。

(2) 剖検および病理組織学的検査

全例について投与後14日にエーテル麻酔下で放血致死させ、剖検した。病理組織学的検査は、各群の雌雄各2例の肝臓、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、結腸および直腸について、10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、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て実施した。

6. 統計処理

死亡率を算出した。体重についてBartlettの検定法によって分散を検定した。その結果、等分散 ($P>0.05$) を示した場合は一元配置分散分析法によって解析し、有意な場合 ($P<0.10$) には、Dunnettの検定法により対照群と被験物質投与群との比較を行った。不等分散 ($P<0.05$) を示した場合はKruskal-Wallis法により解析し、有意な場合 ($P<0.10$) には、Mann-WhitneyのU-検定法により対照群と被験物質投与群との比較を行った。なお、対照群との検定は危険率5%以下を統計学的に有意とした。

結果

1. 死亡状況およびLD₅₀値

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

投与日には500mg/kg以上の群の雌雄に黄色尿がみられ、さらに軟便、下痢便あるいは粘液便が500mg/kg以上の群の雌および2000mg/kg群の雄に認められ、また、これに付随して肛門周囲の被毛汚染が1000mg/kg以上の群の雌および2000mg/kg群の雄に認められた。投与後1日に

は、軟便が500mg/kg以上の群の雌雄に、下痢便が1000mg/kg以上の群の雌雄に認められたのみであり、投与後2日以降には症状は認められなかった。

3. 体重 (Table 1, 2)

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. 剖検および病理組織学的検査

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。

Table 1 Body weight changes of male rats dosed with 3-aminobenzenesulfonic acid in the single dose oral toxicity test

Group (mg/kg)	No. of animals	Day after administration						
		0	1	3	5	7	10	14
0	5	121.4 ^a	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
500	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
1000	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
2000	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 ± S.D., and expressed in gram.

Table 2 Body weight changes of female rats treated with 3-aminobenzenesulfonic acid in the single dose oral toxicity test

Group (mg/kg)	No. of animals	Day after administration						
		0	1	3	5	7	10	14
0	5	99.8 ^a	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
500	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
1000	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
2000	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 ± S.D., and expressed in gram.

考察

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2000mg/kg群の雄および500mg/kg以上の群の雌で投与日あるいは投与後1日に認められた。本被験物質の14日間反復経口投与試験では、1000mg/kg群において投与期間中（非絶食）に軟便・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、本試験における軟便・下痢は絶食下での被験物質投与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、体重低下なども認められなかった。他に、正常尿を色濃くした程度の黄色尿が、投与日に500mg/kg以上の群の雌雄で認められた。しかし、剖検や腎臓の病理組織学的検査では形態的異常は認められず、また、同様の所見の認められた本被験物質の300および1000mg/kgの14日間反復投与においても、尿定性および尿量に変化は認められていないことから、黄色尿は被験物質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。剖検および病理組織学的検査では、被験物質投与による影響は認められなかった。

連絡先

試験責任者：釜田 悟
試験担当者：八幡昭子，常見邦順，
小林裕幸，岡澤平一
（株）化合物安全性研究所
〒004 北海道札幌市豊平区真栄363番24号
Tel 011-885-5031 Fax 011-885-5313

Correspondence

Authors : Satoru Kamada (Study director),
Akiko Yahata, Kuninori Tsunemi,
Hiroyuki Kobayashi, Heiichi Okazawa
Safety Research Institute for Chemical
Compounds Co., Ltd.
363-24 Shin-ei, Toyohira-ku, Sapporo,
Hokkaido, 004, Japan
Tel +81-11-885-5031 Fax +81-11-885-5313

3-アミノベンゼンスルホン酸のラットを用いる28日間反復経口投与毒性試験

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3-Aminobenzenesulfonic acid in Rats

要約

3-アミノベンゼンスルホン酸 (CAS No.121-47-1) の100, 300および1000mg/kg/dayをラットに28日間経口反復投与し、その毒性および回復性について試験を実施し、以下の知見を得た。

飲水量の増加が1000mg/kg群の雄で投与期間の後期に、また、尿pHの低下が1000mg/kg群の雌雄に認められたが、これらの変化は14日間の休薬により消失し、回復性があることが確認された。その他に一般状態観察、体重推移、摂餌量、血液学的検査、血液化学的検査、器官重量、剖検および病理組織学的検査では、被験物質投与による影響は認められなかった。以上のことから、本試験における3-アミノベンゼンスルホン酸投与による無影響量 (NOEL) は雌雄ともに300mg/kg/dayであると考えられた。

方法

1. 動物および飼育条件

生後4週齢のCrj:CD (SD) 系のSPFラットを、日本チャールス・リバーより受け入れ、雄8日間雌9日間馴化飼育した後、順調な発育を示し、眼底に異常のみられない動物を試験に用いた。

動物は、温度 $23 \pm 3^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、換気回数10~15回/時間および照明時間午前8時~午後8時に設定された飼育室において、ブラケット式金属製金網床ケージに収容して飼育した。飼料は固型飼料 (CRF-1, オリエンタル酵母工業) を、飲料水は水道水を、それぞれ自由摂取させた。飼料の混入物質および飲料水の水質について検査を実施し、異常のみられないことを確認した。

2. 被験物質

3-アミノベンゼンスルホン酸 (Lot No.: 20060, 純度: 98.6%, 製造者: 三和化学工業) は染料の製造過程の中間体で、水に溶けにくい無臭の白ないし薄い灰色の粉末である。被験物質は試験実施期間中の品質が保証されており、密閉容器にいれ、湿気、直射日光を避けて冷暗所に保管した。投与液は、被験物質濃度が1, 3および10w/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, 日本薬局方CMC-Na, 丸石製薬; 日本薬局方精製水, ヤクハン製薬) で懸濁して用時調製した。

3. 試験群の設定

本試験の用量設定試験 (14日間反復経口投与試験) の結果、高用量である1000mg/kg群で飲水量の増加が認められ、300および100mg/kg群で異常は認められなかったことから、本試験では投与期間の延長を考慮して1000mg/kg/dayを高用量とし、以下、公比約3で300および100mg/kg/day, さらに0.5%CMC-Na溶液を投与する対照群を設け、計4群とした。

群分けは、投与開始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。1群の動物数は、対照群および1000mg/kg群で雌雄各14匹, 100および300mg/kg群で雌雄各7匹とし、そのうち対照群および1000mg/kg群の雌雄各7匹を14日間の回復性試験に割りあてた。

4. 投与方法

投与経路は経口とし、投与は胃ゾンデを用いて強制的に胃内に行い、1日1回連続28回行った。また、回復性試験の日数は14日間とした。投与容量は、体重1kg当たり10mlとして投与日に最も近い日に測定した体重に基づいて算出した。投与は5週齢から開始し、平均体重 (体重範囲) は雄で151.4g (142~161g), 雌で134.7g (126~145g) であった。

5. 観察、測定および検査項目

(1) 一般状態観察、体重、摂餌量および飲水量測定

一般状態は、1日1回以上の頻度で観察した。体重は、投与1日 (投与前), 投与2, 7, 14, 21および28日, 回復1, 2, 7および14日および剖検日に測定した。摂餌量および飲水量測定は、剖検日を除いて体重測定と同じ日に測定した。

(2) 尿検査

投与25~26日および回復11~12日に代謝ケージに収容して非絶食下で採尿を行った。約3時間の蓄尿についてpH, 蛋白, 糖, ケトン体および潜血反応 (以上, 試験紙マルティスティックス; マイルス・三共), 沈渣 (鏡検) を検査し、21時間蓄尿について尿量を測定した。

(3) 剖検および器官重量測定

投与期間および回復期間終了の翌日に、エーテル麻酔下で採血後、放血致死させ、剖検した。器官重量は脳, 下垂体, 甲状腺, 肺, 心臓, 肝臓, 腎臓, 脾臓, 副腎, 精巣および卵巣について測定し、器官体重重量比を算出した。

(4) 血液学的検査

剖検時に雄の全例について約16時間絶食した後、エーテル麻酔下で大腿静脈より採血し、無処理血液を用いて凝固時間（流体粘度変化による空気圧測定法：グライナー社製 マイクロコアグロメーター）を、EDTA・2Kで処理した血液を用いて赤血球数、平均赤血球容積、血小板数、白血球数（以上、電気抵抗法）、血色素量（シアノンメトヘモグロビン法）、ヘマトクリット値（RBC, MCVより算出）、平均赤血球ヘモグロビン量（RBC, Hbより算出）、平均赤血球ヘモグロビン濃度（Ht, Hbより算出）、（以上、コールターカウンター T660型）、網赤血球率（Brecher法）、白血球型別百分率（鏡検）を測定した。さらに、腹部大動脈より採血し、クエン酸ナトリウムで処理した後、3000rpmで10分間遠心分離して得られた血漿を用いてプロトロンビン時間（トロンボプラスチン法）および活性化部分トロンボプラスチン時間（エラジン酸法）（以上、AMELUNG KC-10A パクスターKK）を測定した。

(5) 血液化学的検査

剖検時に雄の全例について、血液学的検査のための採血後、腹部大動脈より採血し3000rpmで10分間遠心分離して得られた血清を用いてGOT、GPT（以上、IFCC法）、 γ -GTP（包接L- γ -グルタミル-p-ニトロアニリド基質法）、アルカリフォスファターゼ（ベッセイ・ローリー法）、乳酸脱水素酵素（ロプレスキューラー・ラ・デュー法）、コリンエステラーゼ（ヨウ化ブチリルチオコリン基質法）、血糖（ヘキソキナーゼ法）、総コレステロール、リン脂質（以上、酵素法）、トリグリセリド（遊離グリセロール法）、総ビリルビン（アズビルビン法）、尿素窒素（ウレアーゼ・インドフェノール法）、クレアチニン（ヤッフエ法）、カルシウム（OCPC法）、無機リン（フィスケ・サバロー法）、総蛋白（ビウレット法）、アルブミン（BCG法）、A/G比（TP, Alpより算出）、（以上、日立7150形自動分析装置）；カリウム、ナトリウム（以上、蛍光法：コーニング480型蛍光光度計）、クロール（電気滴定法：平沼CL-6M型クロライドカウンター）、蛋白分画（電気泳動法）を測定した。

(6) 病理組織学的検査

肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳（大脳・小脳）、下垂体、副腎、甲状腺、上皮小体、胸腺、腸間膜リンパ節、膵臓、舌、下顎リンパ節、顎下腺、舌下腺、耳下腺、乳腺、皮膚、胸骨および大腿骨（骨髄を含む）、脊髄（頸部）、骨格筋（外側広筋）、胸部大動脈、喉頭、気管、気管支、食道、胃（前胃・腺胃）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、卵巣、子宮、陰、坐骨神経および異常所見部位について10%中性緩衝ホルマリン液で、眼球およびハーダー腺をデビッドソン液で固定し、パラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色あるいは1000mg/kg群の異常所見例2例の肝臓または腎臓について、エラスチカ・ワンギーソン染色標本を作製し、鏡検した。

6. 統計処理

各種検査の数量的項目は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 ($P<0.10$) には、Dunnnettの検定法（各試料の大きさが違う場合は有効反復数を用いた）により対照群と被験物質投与群との比較を行った。不等分散 ($P<0.05$) を示した項目および尿検査の定性的項目はKruskal-Wallis法により解析し、有意な場合 ($P<0.10$) には、Mann-WhitneyのU-検定法により対照群と被験物質投与群との比較を行った。なお、対照群との検定は危険率5%以下を統計学的に有意とした。

結果

1. 一般状態、体重 (Table 1, 2) および摂餌量

雌雄ともに被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

Table 1 Body weight changes of male rats treated orally with 3-aminobenzenesulfonic acid for 28 days and a recovery period for 14 days

Group (mg/kg)	No. of animals	Day of administration					
		1	2	7	14	21	28
0	14	151.3 ^a	160.7	204.5	264.4	323.4	363.1
		±4.2	±4.0	±6.4	±13.0	±19.9	±28.2
100	7	151.9	160.3	205.1	269.1	331.9	373.9
		±4.9	±5.6	±8.6	±13.5	±18.4	±18.1
300	7	153.1	161.9	206.1	267.9	328.6	366.9
		±3.4	±5.2	±7.4	±11.0	±16.5	±16.9
1000	14	150.5	159.6	204.2	266.6	327.9	366.5
		±4.5	±5.1	±6.9	±14.2	±24.5	±26.6

Group (mg/kg)	No. of animals	Day of recovery			
		1	2	7	14
0	7	375.9	386.4	419.4	460.0
		±33.6	±35.4	±41.2	±46.1
1000	7	360.1	369.3	395.0	429.0
		±18.5	±20.1	±21.7	±22.7

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

Table 2 Body weight changes of female rats treated orally with 3-aminobenzenesulfonic acid for 28 days and a recovery period for 14 days

Group (mg/kg)	No. of animals	Day of administration					
		1	2	7	14	21	28
0	14	134.1 ^a	139.2	158.0	181.1	201.3	218.4
		±5.0	±5.8	±7.8	±8.6	±11.2	±13.7
100	7	134.3	139.1	157.0	180.7	200.6	216.1
		±6.4	±8.5	±8.7	±9.5	±11.9	±12.3
300	7	135.6	140.6	157.3	180.0	197.6	211.7
		±5.7	±7.3	±12.9	±17.0	±21.0	±23.3
1000	14	135.0	140.0	156.2	176.4	193.4	208.9
		±5.7	±7.5	±10.1	±12.3	±14.5	±15.5

Group (mg/kg)	No. of animals	Day of recovery			
		1	2	7	14
0	7	220.6	223.7	235.9	248.4
		±13.2	±13.8	±14.7	±18.1
1000	7	209.3	210.7	219.4	230.7
		±15.3	±17.3	±20.1	±16.6

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

28日間反復投与毒性試験

2. 飲水量 (Table 3, 4)

1000mg/kg群の雄で投与期間の後期に飲水量の増加がみられ、投与14および21日に有意差が認められた。

Table 3 Water consumption of male rats treated orally with 3-aminobenzenesulfonic acid for 28 days and a recovery period for 14 days

Group (mg/kg)	No. of animals	Day of administration					
		1	2	7	14	21	28
0	14	25.4 *	25.9	30.2	34.9	36.8	35.8
		±3.3	±2.7	±3.5	±5.5	±8.3	±7.3
100	7	26.6	26.1	32.3	38.0	39.9	39.7
		±3.6	±2.5	±3.4	±3.7	±2.5	±3.3
300	7	26.7	26.3	31.4	36.0	36.6	33.3
		±1.4	±2.7	±3.3	±3.4	±4.0	±3.4
1000	14	27.1	28.2	32.9	41.5**	43.3*	40.6
		±3.7	±3.6	±4.1	±6.1	±7.9	±4.9

Group (mg/kg)	No. of animals	Day of recovery			
		1	2	7	14
0	7	42.7	39.7	43.6	43.4
		±5.9	±7.3	±9.4	±11.2
1000	7	39.6	39.4	41.3	38.9
		±4.4	±6.0	±6.2	±6.3

a: Values are means ± S.D., and expressed in gram/day.

*: Differs from control, P<0.05.

** : Differs from control, P<0.01.

Table 4 Water consumption of female rats treated orally with 3-aminobenzenesulfonic acid for 28 days and a recovery period for 14 days

Group (mg/kg)	No. of animals	Day of administration					
		1	2	7	14	21	28
0	14	22.0 *	20.9	20.8	23.1	21.4	22.3
		±2.4	±2.5	±3.4	±3.8	±3.7	±5.0
100	7	22.7	21.7	21.9	26.7	22.1	26.1
		±3.1	±3.5	±3.5	±4.7	±3.9	±4.1
300	7	23.3	21.7	20.3	24.1	21.3	23.1
		±3.7	±2.5	±5.3	±5.1	±7.8	±5.8
1000	14	24.4	23.5	21.4	24.6	19.9	23.7
		±3.1	±4.3	±3.8	±5.0	±5.7	±4.3

Group (mg/kg)	No. of animals	Day of recovery			
		1	2	7	14
0	7	21.3	23.0	26.7	27.9
		±3.7	±2.5	±4.6	±3.8
1000	7	18.9	19.6	27.6	26.7
		±2.5	±3.6	±3.0	±3.5

a: Values are means ± S.D., and expressed in gram/day.

3. 尿検査 (Table 5, 6)

投与期間最終週では1000mg/kg群の雌雄で尿pHの低下が認められた。回復期間最終週では1000mg/kg群の雌で尿量の減少が認められた。

Table 5 Urinary findings of male rats treated orally with 3-aminobenzenesulfonic acid for 28 days and a recovery period for 14 days

Final week of the administration period

Group (mg/kg)	No. of animals	pH						Pro		Glu	Ket	Occult blood
		6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	±	+	-	-	-
0	14	0 ^a	0	0	2	5	7	11	3	14	14	14
100	7	0	0	1	1	3	2	7	0	7	7	7
300	7	0	0	0	4	1	2	6	1	7	7	7
1000	14	[4	6	2	0	0	2]**	5	9	14	14	14

Urinary sediments

Group (mg/kg)	No. of animals	RBC	WBC	Epithelial cell				Small round	Others	U-Vol ml/21hr
				Squamous	Round	±	-			
0	14	14	14	13	1	14	14	14	18.43 ^b ±5.93	
100	7	7	7	7	0	7	7	7	20.79 ±3.74	
300	7	7	7	6	1	7	7	7	17.36 ±4.22	
1000	14	14	14	12	2	14	14	14	18.00 ±5.10	

Final week of the recovery period

Group (mg/kg)	No. of animals	pH					Pro		Glu	Ket	Occult blood
		7.0	7.5	8.0	8.5	±	+	++	-	-	-
0	7	1	3	1	2	1	5	1	7	7	7
1000	7	0	3	1	3	2	5	0	7	7	7

Urinary sediments

Group (mg/kg)	No. of animals	RBC	WBC	Epithelial cell			Small round	Others	U-Vol ml/21hr
				Squamous	Round	±			
0	7	7	7	7	7	7	7	18.57 ±5.10	
1000	7	7	7	7	7	7	7	14.07 ±4.73	

a: Values are no. of animals with findings.

b: Values are means ± S.D.

** : Differs from control, P<0.01.

28日間反復投与毒性試験

Table 6 Urinary findings of female rats treated orally with 3-aminobenzenesulfonic acid for 28 days and a recovery period for 14 days

Final week of the administration period

Group (mg/kg)	No. of animals	pH						Pro		Glu	Ket	Occult blood
		6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	-	-	-
0	14	0 ^a	3	1	1	4	5	9	5	14	14	14
100	7	0	0	2	3	1	1	4	3	7	7	7
300	7	0	2	3	0	1	1	4	3	7	7	7
1000	14	[11	3	0	0	0	0]**	4	10	14	14	14

Urinary sediments

Group (mg/kg)	No. of animals	RBC	WBC	Epithelial cell			Others	U-Vol ml/21hr
				Squamous	Round	Small round		
0	14	14	14	13	1	14	14	12.18 ^b ±3.38
100	7	7	7	7	0	7	7	11.83 ±2.86
300	7	7	7	6	1	7	7	11.29 ±8.05
1000	14	14	14	13	1	14	14	10.18 ±4.66

Final week of the recovery period

Group (mg/kg)	No. of animals	pH						Pro		Glu	Ket	Occult blood	
		6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	-	-	-	
0	7	0	1	2	1	1	2	0	5	2	7	7	7
1000	7	1	4	0	1	0	1	1	6	0	7	7	7

Urinary sediments

Group (mg/kg)	No. of animals	RBC	WBC	Epithelial cell			Others	U-Vol ml/21hr				
				Squamous	Round	Small round						
0	7	7	6	1	6	1	7	7	0	0	7	13.07 ±4.23
1000	7	7	7	0	5	2	7	6	0	1	7	8.50* ±3.42

a: Values are no. of animals with findings.

b: Values are means ± S.D.

*: Differs from control, P<0.05.

** : Differs from control, P<0.01.

4. 血液学的検査および血液化学的検査検査
(Table 7~10)

雌雄ともに被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

Table 7 Biochemical findings of male rats treated orally with 3-aminobenzenesulfonic acid for 28 days

Group (mg/kg)	No. of animals	TP g/dl	Alb g/dl	A/G	Protein fraction (%)					GOT IU/l
					Alb	Globulin				
						α_1	α_2	β	γ	
0	7	5.79 ^a	2.47	0.744	51.66	19.76	6.20	15.41	6.97	125.6
		±0.15	±0.05	±0.040	±0.63	±1.13	±0.66	±0.96	±0.66	±16.0
100	7	5.71	2.40	0.721	51.74	19.93	6.43	15.47	6.43	126.1
		±0.15	±0.06	±0.045	±2.18	±1.81	±0.73	±1.43	±0.36	±21.8
300	7	5.79	2.46	0.736	52.04	18.86	6.29	15.69	7.13	117.0
		±0.33	±0.17	±0.064	±0.95	±1.44	±0.72	±0.81	±1.24	±17.1
1000	7	5.80	2.44	0.723	50.89	20.20	6.63	15.41	6.87	119.9
		±0.17	±0.13	±0.048	±2.10	±2.05	±0.88	±1.13	±0.75	±15.2

Group (mg/kg)	No. of animals	GPT IU/l	ALP IU/l	LDH IU/l	γ -GTP IU/l	T-Bil mg/dl	Glu mg/dl	T-Cho mg/dl	TG mg/dl	BUN mg/dl
0	7	30.0	466.9	2968.1	1.07	0.10	144.9	64.1	52.7	18.66
		±6.4	±106.8	±649.7	±0.13	±0.00	±11.9	±7.8	±14.3	±2.74
100	7	28.3	461.9	2824.1	1.77	0.10	141.9	61.3	67.1	16.34
		±2.9	±63.9	±1128.2	±0.31	±0.00	±18.5	±10.4	±25.5	±1.34
300	7	24.9	421.1	2638.0	1.73	0.10	144.3	63.4	56.4	16.06*
		±3.2	±137.5	±703.6	±0.38	±0.00	±10.3	±11.5	±28.0	±1.63
1000	7	28.6	385.1	2746.4	1.44	0.10	133.7	68.0	64.7	16.79
		±2.8	±40.6	±816.1	±0.26	±0.00	±17.8	±7.5	±35.0	±1.08

Group (mg/kg)	No. of animals	Crea mg/dl	Na mEq/l	K mEq/l	Cl mEq/l	Ca mg/dl	P mg/dl
0	7	0.49	143.57	4.587	104.3	9.61	8.76
		±0.04	±0.93	±0.186	±1.5	±0.20	±0.41
100	7	0.47	144.00	4.539	104.1	9.66	8.37
		±0.05	±1.22	±0.261	±1.2	±0.16	±0.46
300	7	0.47	143.50	4.410	104.4	9.61	8.43
		±0.05	±1.15	±0.262	±1.5	±0.22	±0.39
1000	7	0.47	143.07	4.601	103.4	9.74	8.51
		±0.05	±1.46	±0.159	±1.0	±0.26	±0.29

a: Values are means ± S.D.

*: Differs from control, P<0.05.

Table 8 Biochemical findings of female rats treated orally with 3-aminobenzenesulfonic acid for 28 days

Group (mg/kg)	No. of animals	TP g/dl	Alb g/dl	A/G	Protein fraction (%)				GOT IU/l	
					Alb	Globulin				
						α_1	α_2	β		γ
0	7	5.91 ^a ±0.21	2.53 ±0.19	0.741 ±0.064	53.00 ±1.37	16.96 ±0.72	5.66 ±0.76	15.33 ±1.02	9.06 ±1.23	123.9 ±18.1
100	7	5.94 ±0.15	2.57 ±0.08	0.759 ±0.028	53.26 ±1.32	17.11 ±0.69	5.97 ±1.19	15.17 ±0.76	8.49 ±1.12	117.9 ±11.7
300	7	6.13 ±0.33	2.70 ±0.20	0.784 ±0.068	53.81 ±2.26	17.29 ±1.37	5.54 ±0.62	15.13 ±0.96	8.23 ±1.06	122.4 ±23.6
1000	7	5.84 ±0.17	2.54 ±0.10	0.764 ±0.033	53.76 ±1.24	17.31 ±1.14	5.79 ±0.84	15.20 ±0.39	7.94 ±1.32	126.7 ±43.5

Group (mg/kg)	No. of animals	GPT IU/l	ALP IU/l	LDH IU/l	γ -GTP IU/l	T-Bil mg/dl	Glu mg/dl	T-Cho mg/dl	TG mg/dl	BUN mg/dl
0	7	26.6 ±3.0	270.0 ±79.9	2696.6 ±791.4	1.61 ±0.32	0.10 ±0.00	120.0 ±18.0	60.0 ±9.7	17.4 ±8.4	20.63 ±1.69
100	7	27.4 ±5.4	253.6 ±52.2	2536.9 ±386.1	1.49 ±0.53	0.10 ±0.00	109.6 ±11.1	73.7 ±16.1	21.9 ±5.6	20.63 ±2.34
300	7	25.7 ±4.0	231.6 ±72.6	2775.6 ±948.1	1.34 ±0.60	0.10 ±0.00	115.3 ±10.4	62.0 ±8.1	20.9 ±7.3	21.80 ±2.18
1000	7	32.4 ±27.7	275.4 ±76.2	2485.6 ±603.9	1.56 ±0.40	0.10 ±0.00	115.7 ±14.9	67.0 ±16.0	23.7 ±11.6	20.61 ±1.62

Group (mg/kg)	No. of animals	Crea mg/dl	Na mEq/l	K mEq/l	Cl mEq/l	Ca mg/dl	P mg/dl
0	7	0.59 ±0.07	143.14 ±0.63	4.277 ±0.246	107.9 ±1.3	9.66 ±0.21	7.49 ±0.47
100	7	0.54 ±0.08	143.43 ±0.45	4.306 ±0.161	108.4 ±1.3	9.63 ±0.16	7.61 ±0.48
300	7	0.61 ±0.04	143.21 ±0.91	4.331 ±0.201	107.4 ±1.4	9.67 ±0.28	6.99 ±0.25
1000	7	0.56 ±0.05	143.07 ±1.27	4.260 ±0.256	108.0 ±1.2	9.49 ±0.21	7.30 ±0.61

a: Values are means ± S.D.

Table 9 Biochemical findings of male rats treated orally with 3-aminobenzenesulfonic acid for 28 days and a recovery period for 14 days

Group (mg/kg)	No. of animals	TP g/dl	Alb g/dl	A/G	Protein fraction (%)					GOT IU/l
					Alb	Globulin				
						α_1	α_2	β	γ	
0	7	5.79 ^a ±0.20	2.34 ±0.10	0.674 ±0.030	51.24 ±1.51	19.24 ±2.30	6.59 ±1.19	16.69 ±1.63	6.24 ±1.22	115.6 ±12.5
1000	7	5.83 ±0.13	2.33 ±0.11	0.661 ±0.053	49.91 ±2.05	20.46 ±1.82	6.14 ±0.67	16.91 ±1.13	6.57 ±1.14	113.3 ±21.7

Group (mg/kg)	No. of animals	GPT IU/l	ALP IU/l	LDH IU/l	γ -GTP IU/l	T-Bil mg/dl	Glu mg/dl	T-Cho mg/dl	TG mg/dl	BUN mg/dl
0	7	30.9 ±6.2	385.1 ±77.6	2576.3 ±651.4	1.23 ±0.45	0.10 ±0.00	160.3 ±15.8	67.4 ±14.2	84.3 ±43.5	16.69 ±2.41
1000	7	27.4 ±3.5	387.0 ±73.1	2288.9 ±993.3	1.27 ±0.21	0.10 ±0.00	149.7 ±15.1	57.0 ±13.0	64.1 ±33.7	16.73 ±1.57

Group (mg/kg)	No. of animals	Crea mg/dl	Na mEq/l	K mEq/l	Cl mEq/l	Ca mg/dl	P mg/dl
0	7	0.50 ±0.00	142.86 ±0.90	4.476 ±0.188	104.3 ±0.8	9.61 ±0.17	8.03 ±0.35
1000	7	0.49 ±0.04	143.07 ±1.06	4.483 ±0.260	104.7 ±1.0	9.59 ±0.21	7.81 ±0.47

a: Values are means \pm S.D

Table 10 Biochemical findings of female rats treated orally with 3-aminobenzenesulfonic acid for 28 days and a recovery period for 14 days

Group (mg/kg)	No. of animals	TP g/dl	Alb g/dl	A/G	Protein fraction (%)					GOT IU/l
					Alb	Globulin				
						α_1	α_2	β	γ	
0	7	6.06 ^a ±0.27	2.57 ±0.18	0.733 ±0.037	52.47 ±1.27	17.84 ±1.55	7.06 ±0.90	15.36 ±1.11	7.27 ±1.21	121.7 ±31.5
1000	7	5.94 ±0.26	2.49 ±0.12	0.714 ±0.035	52.64 ±1.40	18.01 ±1.37	7.41 ±0.93	14.41 ±0.74	7.51 ±0.34	119.3 ±27.6

Group (mg/kg)	No. of animals	GPT IU/l	ALP IU/l	LDH IU/l	γ -GTP IU/l	T-Bil mg/dl	Glu mg/dl	T-Cho mg/dl	TG mg/dl	BUN mg/dl
0	7	32.4 ±16.0	198.6 ±43.0	2568.9 ±1057.1	1.31 ±0.55	0.10 ±0.00	135.6 ±18.5	66.7 ±12.1	23.0 ±9.8	19.44 ±2.89
1000	7	24.7 ±1.7	211.0 ±51.2	2517.7 ±1246.9	1.67 ±0.38	0.10 ±0.00	128.0 ±22.6	60.6 ±8.8	13.0 ±2.9	20.03 ±1.95

Group (mg/kg)	No. of animals	Crea mg/dl	Na mEq/l	K mEq/l	Cl mEq/l	Ca mg/dl	P mg/dl
0	7	0.59 ±0.07	142.93 ±1.79	4.259 ±0.337	107.6 ±1.1	9.41 ±0.32	5.90 ±1.22
1000	7	0.59 ±0.07	143.57 ±1.27	4.341 ±0.365	108.7* ±0.5	9.21 ±0.27	5.87 ±0.81

a: Values are means \pm S.D.*: Differs from control, $P < 0.05$.

5. 器官重量, 剖検および病理組織学的検査
(Table 11, 12)

雌雄ともに被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

Table 11 Summary of histopathological findings of rats treated orally with 3-aminobenzenesulfonic acid for 28 days

Item	Grade ^a	3-Aminobenzenesulfonic acid (mg/kg)							
		Male				Female			
		0	100	300	1000	0	100	300	1000
No. of animals examined		7	7	7	7	7	7	7	7
Liver :									
Focal congestion	+	0 ^b	0	1	0	0	0	0	0
Dilation of blood vessels with congestion	+	0	0	0	0	0	0	0	1
Kidney (right) :									
Hyaline droplet deposition in tubular epithelium	+	1	1	0	2	0	0	0	0
Eosinophilic body deposition in tubular epithelium	+	1	0	0	1	0	0	0	0
Simple cyst	+	1	0	0	0	0	0	0	0
Urinary cast	+	0	0	1	0	0	0	1	0
Dilation of renal pelvis	+	0	1	0	0	0	0	0	0
Focal regeneration of tubular epithelium	+	0	0	1	2	0	0	0	0
Kidney (left) :									
Hyaline droplet deposition in tubular epithelium	+	1	0	0	2	0	0	0	0
Eosinophilic body deposition in tubular epithelium	+	1	0	0	1	0	0	0	0
Urinary cast	+	1	0	0	0	0	0	0	0
Focal regeneration of tubular epithelium	+	0	0	1	1	0	0	0	0
Lung :									
Focal fibrous adhesion to parietal pleura	+	0	0	0	0	0	0	0	1
Pancreas :									
Focal atrophy of acinar cells	+	0	1	0	0	0	0	0	0
Prostate :									
Interstitial infiltration of cells, mainly lymphocytes	+	0	0	0	1	- ^c	-	-	-

There were no abnormal findings in the spleen, heart, cerebrum, cerebellum, spinal cord, sciatic nerve, eyeball, Harder's gland, pituitary gland, thyroid, parathyroid, thymus, submandibular lymph node, mesenteric lymph node, adrenal, submandibular gland, sublingual gland, parotid gland, larynx, trachea, bronchus, aorta, tongue, esophagus, forestomach, glandular stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon, rectum, femur, sternum, mammary gland, skin, skeletal muscle, urinary bladder, testis, epididymis, seminal vesicle, ovary, uterus and vagina.

a: + = slight change.

b: Values are no. of animals with findings.

c: - = blank value.

Table 12 Summary of histopathological findings of female rats treated orally with 3-aminobenzenesulfonic acid for 28 days and a recovery period for 14 days

Item	Grade ^a	3-Aminobenzenesulfonic acid (mg/kg)			
		Male		Female	
		0	1000	0	1000
No. of animals examined		7	7	7	7
Kidney (right):					
Hyaline droplet deposition in tubular epithelium	+	4 ^b	1	0	0
Eosinophilic body deposition in tubular epithelium	+	3	1	0	0
Kidney (left):					
Hyaline droplet deposition in tubular epithelium	+	2	3	0	0
Eosinophilic body deposition in tubular epithelium	+	1	2	0	0
Lung:					
Calcium deposition in blood-vessel wall	+	1	3	0	1
Hyaline thrombus	+	0	0	1	0
Adrenal (right):					
Hyaline thrombus	+	1	0	0	0

There were no abnormal findings in the liver, spleen, heart, cerebrum, cerebellum, spinal cord, sciatic nerve, eyeball, Harder's gland, pituitary gland, thyroid, parathyroid, thymus, submandibular lymph node, mesenteric lymph node, pancreas, submandibular gland, sublingual gland, parotid gland, larynx, trachea, bronchus, aorta, tongue, esophagus, forestomach, glandular stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon, rectum, femur, sternum, mammary gland, skin, skeletal muscle, urinary bladder, testis, epididymis, prostate, seminal vesicle, ovary, uterus and vagina.

a: += slight change.

b: Values are no. of animals with findings.

考察

飲水量の増加が1000mg/kg群の雄で投与期間の後期に認められた。同様の变化は本被験物質の1000mg/kgを14日間反復投与した雄にも認められ、被験物質投与による影響と考えられた。しかしながら、本試験では、投与28日の飲水量および投与期間最終週の尿量に有意な差が認められないほど軽微なものであり、また、行動にも異常は認められなかった。

尿pHの低下が1000mg/kg群の雌雄で認められ、また、その値は被験物質投与群で用量依存的な傾向がみられた。この原因として、被験物質投与液が酸性であること(1%水溶液でpH2.4)から被験物質あるいはその代謝物が尿中に排泄され尿pHを低下させた可能性が考えられた。なお、本試験における尿pH値は試験施設の背景データ(雌雄ともにpH6.0~8.5)の範囲内の変動であり、尿定性および尿量、泌尿器系に被験物質投与による影響は認められないことから、泌尿器系に対し障害性を有する変化ではないものと考えられた。上述の投与期間中に認められた変化はいずれも14日間の休薬により消失し、回復性があることが確認された。他に、回復期間終了時に1000mg/kg群の雌で尿量の減少が認められたが、投与期間中に同様な変化はみられないことから、この変化は同時期の体重や飲水量の低値に起因するものであり、被験物質投与との関連はないものと考えられた。

その他に一般状態、体重推移、摂餌量、血液学的検査、血液化学的検査、器官重量、剖検および病理組織学的検査では被験物質投与による影響は認められなかった。

以上より、本試験における3-アミノベンゼンスルホン酸投与による無影響量(NOEL)は雌雄ともに300mg/kg/dayであると考えられた。

連絡先

試験責任者: 釜田 悟

試験担当者: 八幡昭子, 常見邦順,
小林裕幸, 長谷淳一,
岡澤平一

(株)化合物安全性研究所

〒004 北海道札幌市豊平区真栄363番24号

Tel 011-885-5031 Fax 011-885-5313

Correspondence

Authors: Satoru Kamada (Study director),
Akiko Yahata, Kuninori Tsunemi,
Hiroyuki Kobayashi,
Jyun-ichi Nagaya, Heiichi Okazawa,

Safety Research Institute for Chemical
Compounds Co., Ltd.

363-24 Shin-ei, Toyohira-ku, Sapporo,
Hokkaido, 004, Japan

Tel +81-11-885-5031 Fax +81-11-885-5313

3-アミノベンゼンスルホン酸の細菌を用いる 復帰突然変異試験

Reverse Mutation Test of 3-Aminobenzenesulfonic acid on Bacteria

要約

既存化学物質安全性点検に係る毒性調査事業の一環として、難分解性既存化学物質の1つである、3-アミノベンゼンスルホン酸について、細菌を用いる復帰突然変異試験をプレート法により実施した。

検定菌として、*Salmonella typhimurium* TA100, TA1535, TA98, TA1537 および *Escherichia coli* WP2 *uvr* A を用い、直接法および代謝活性化法のいずれも、用量設定試験は 50~5000 µg/プレート、本試験では 312.5~5000 µg/プレートの用量で試験を実施した。

その結果、2回の本試験とも、用いた5種類の検定菌について、いずれの用量でも復帰変異コロニー数の増加が認められなかったことから、3-アミノベンゼンスルホン酸は、用いた試験系において変異原性を有しない(陰性)と判定された。

方法

[検定菌]

Salmonella typhimurium TA100
Salmonella typhimurium TA1535
Escherichia coli WP2 *uvr* A
Salmonella typhimurium TA98
Salmonella typhimurium TA1537

S. typhimurium の4菌株は1975年10月31日にアメリカ合衆国、カリフォルニア大学の B.N. Ames 博士から分与を受けた。

E. coli WP2 *uvr* A 株は1979年5月9日に国立遺伝学研究所の賀田恒夫博士から分与を受けた。

検定菌は、-80℃以下で凍結保存した。

試験に際して、ニュートリエントブロス No. 2 (Oxoid) を入れたL字型試験管に菌種を接種し、37℃、約10~12時間往復振とう培養したものを検定菌液とした。

[被験物質]

3-アミノベンゼンスルホン酸 (CAS No 121-47-1) は、分子量 173.20 の白ないし薄い灰色の粉末である。純度 98.6% のもの (不純物としてスルファニル酸0.3%を含む、ロット番号: 20060, 三和化学工業(株)製造) を(社)日本化学工業協会から供与された。被験物質は、使用時まで密閉容器に入れ、湿気をさけて冷暗所に保管した。被験物質は、この状態で1年間安定であることが製造者によって確認されている。

3-アミノベンゼンスルホン酸は、ジメチルスルホキシド (以下 DMSO と略; ロット番号: TWP5445 および APQ5428, 和光純薬工業(株)) を用いて 50 mg/ml になるように調製した後、同溶媒で更に公比2ないし3で希

釈したものを、速やかに試験に用いた。なお、調製にあたって、純度換算は行わなかった。

森野研究所において3-アミノベンゼンスルホン酸の DMSO 溶液中での安定性試験を行った。本試験における最高濃度 (50 mg/ml) および最低濃度 (3mg/ml) の2濃度について、室温遮光条件下で実施した。その結果、調製後4時間における各3サンプルの平均含量は、初期値 (0時間) の平均に対して、いずれも 101% であった。

また、本試験に用いた調製検体について、含量測定試験を行った結果、50 mg/ml 溶液の含量は既定濃度に対し、99.5~100%、3.125 mg/ml 溶液は、99.9~102% であった。

以上の結果から、3-アミノベンゼンスルホン酸は DMSO 溶液中では安定であり、また調製液中の被験物質の含量は所定の値の範囲内にあることが確認された。

[陽性対照物質]

用いた陽性対照物質およびその溶媒は以下のとおりである。

AF-2 : フリルフラマイド (上野製薬(株))
 SA : アジ化ナトリウム (和光純薬工業(株))
 9-AA : 9-アミノアクリジン (Sigma Chem.Co.)
 2-AA : 2-アミノアントラセン (和光純薬工業(株))

AF-2, 2-AA は DMSO (和光純薬工業(株)) に溶解したものを、-20℃で凍結保存し、用時解凍した。9-AA は DMSO に、SA は蒸留水に溶解して速やかに試験に用いた。

[培地および S9 混液の組成]

1) トップアガー (TA菌株用)

下記の水溶液 (A) および (B) を容量比 10:1 の割合で混合した。

(A) バクトアガー (Difco)	0.6%
塩化ナトリウム	0.5%
(B)* L-ヒスチジン	0.5 mM
ピチオン	0.5 mM

* : WP2 用には、0.5 mM L-トリプトファン水溶液を用いた。

2) 合成培地

培地は、日清製粉(株)(株)製の最少寒天培地を用いた。なお、培地1lあたりの組成は下記のとおりである。

硫酸マグネシウム7水和物	0.2 g
クエン酸-1水和物	2 g
リン酸水素二カリウム	10 g
リン酸水素アンモニウムナトリウム 4水和物	3.5 g
グルコース	20 g
バクトアガー (Difco)	15 g

径 90 mm のシャーレ1枚あたり 30 ml を流して固めてある。

3) S9 混液 (1 ml 中下記成分を含む)

S9**	0.1 ml
NADH	4 μmol
塩化マグネシウム	8 μmol
NADPH	4 μmol
塩化カリウム	33 μmol
0.2M リン酸緩衝液(pH 7.4)	0.5 ml
グルコース・6リン酸	5 μmol

** : 7週齢の Sprague-Dawley 系雄ラットをフェノバルビタール(PB)および5,6-ベンゾフラボン(BF)の併用投与で酵素誘導して作製した S9 (キッコマン(株))を用いた。

〔試験方法〕

プレート法を用いて、直接法および代謝活性化法によって試験を行った。

小試験管中にトッパアガー2ml, 被験物質調製液 0.1 ml, リン酸緩衝液 0.5 ml (代謝活性化試験においては S9 混液 0.5 ml), 検定菌液 0.1 ml を混合したのち合成培地平板上に流して固めた。また、対照群として被験物質調製液の代わりに DMSO, または数種の陽性対照物質溶液を用いた。各検定菌ごとの陽性対照物質の名称および用量は Table に示した。培養は 37°C で 48 時間行い、生じた変異コロニー数を算定し、それぞれその平均値と標準偏差を求めた。抗菌性の有無については、肉眼的あるいは実体顕微鏡下で、寒天表面の菌膜の状態から判断した。

〔判定基準〕

用いた5種の検定菌のうち、1種以上の検定菌の直接法あるいは代謝活性化法において、被験物質を含有する平板上における復帰変異コロニー数が、陰性対照のそれに比べて2倍以上に増加し、かつ、その増加に再現性あるいは用量依存性が認められた場合に、当該被験物質は本試験系において変異原性を有する(陽性)と判定することとした。

結果および考察

〔用量設定試験〕

3-アミノベンゼンスルホン酸について、50~5000 μg/プレートの範囲で、公比を約3とし、試験を実施したところ、すべての検定菌の直接法あるいは代謝活性化法のいずれにおいても、抗菌性は認められなかった。

以上の結果から、本試験における最高用量を直接法、代謝活性化法ともに、すべての検定菌において、5000 μg/プレートとし公比2で、5用量を設定することとした。

〔本試験〕

結果を Table 1, 2 に示した。3-アミノベンゼンスルホン酸について 312.5~5000 μg/プレートの範囲で試験を実施した。2回の試験を通して、1回目の TA1537 の代謝活性化法の 625 μg/プレートにおいて陰性対照の2倍となったほかは、用いた5種類の検定菌の直接法、代謝活性化法のいずれにおいても、陰性対照の2倍以上となる変異コロニー数の増加は認められなかった。TA1537 の代謝活性化法については、再現性試験を実施することとした。

〔再現性試験〕

TA1537 の代謝活性化法については、再現性試験を実施した。結果を Table 3 に示したが、いずれの用量においても陰性対照の2倍以上となる変異コロニーの増加は認められなかった。本試験および再現性試験の結果から、TA1537 の代謝活性化法についても陰性であると判定した。

以上の結果に基づき、3-アミノベンゼンスルホン酸は、用いた試験系において変異原性を有しないもの(陰性)と判定した。

文献

- (1) D.M. Maron, and B.N. Ames, *Mutation Research*, 113, 173-215 (1983).
- (2) M.H.L. Green, "Handbook of Mutagenicity Test Procedures," (B. J. Kilbey, M. Legator, W. Nichols and C. Ramel eds.) Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford, 1984, 161-187.

連絡先

試験責任者: 澁谷 徹;
 試験担当者: 加藤基恵, 坂本京子, 石原尚古,
 川上久美子, 松本容彦,
 北嶋美似子
 (財)食品薬品安全センター秦野研究所
 〒257 神奈川県秦野市落合 729-5
 Tel 0463-82-4751 Fax 0463-82-9627

Correspondence

Authors: Tohru Shibuya (Study director)
 Motoe Katoh, Kyoko Sakamoto,
 Naoko Ishihara, Kumiko Kawakami,
 Yasuhiko Matsuki, Miiko Kitashima
 Hatano Research Institute, Food and Drug Safety
 Center
 729-5 Ochiai, Hadano-shi, Kanagawa, 257, Japan
 Tel +81-463-82-4751 Fax +81-463-82-9627

Table 1 Results of reverse mutation test (I) of 3-aminobenzenesulfonic acid ** on bacteria

With (+) or without (-) S9 Mix	Test substance dose (μ g/plate)	Number of revertants (number of colonies / plate, Mean \pm S.D.)														
		Base - pair substitution type									Frameshift type					
		TA100			TA1535			WP2uvrA			TA98			TA1537		
S9Mix (-)	0	120	156	140	15	10	6	13	22	23	26	25	23	11	6	8
		(139 \pm 18.0)			(10 \pm 4.5)			(19 \pm 5.5)			(25 \pm 1.5)			(8 \pm 2.5)		
	312.5	134	146	113	11	19	15	19	17	16	23	16	37	7	6	6
		(131 \pm 16.7)			(15 \pm 4.0)			(17 \pm 1.5)			(25 \pm 10.7)			(6 \pm 0.6)		
	625	142	101	124	12	14	16	19	16	20	31	31	25	11	9	7
		(122 \pm 20.6)			(14 \pm 2.0)			(18 \pm 2.1)			(29 \pm 3.5)			(9 \pm 2.0)		
	1250	135	131	106	16	13	18	26	22	14	24	30	23	13	4	8
		(124 \pm 15.7)			(16 \pm 2.5)			(21 \pm 6.1)			(26 \pm 3.8)			(8 \pm 4.5)		
2500	139	146	116	16	18	12	21	19	15	36	21	24	6	9	8	
	(134 \pm 15.7)			(15 \pm 3.1)			(18 \pm 3.1)			(27 \pm 7.9)			(8 \pm 1.5)			
5000	131	123	131	7	9	19	20	26	17	17	27	38	6	8	8	
	(128 \pm 4.6)			(12 \pm 6.4)			(21 \pm 4.6)			(27 \pm 10.5)			(7 \pm 1.2)			
S9Mix (+)	0	131	128	180	17	17	14	22	15	19	49	38	34	12	7	6
		(146 \pm 29.2)			(16 \pm 1.7)			(19 \pm 3.5)			(40 \pm 7.8)			(8 \pm 3.2)		
	312.5	165	175	155	14	6	11	32	23	30	57	47	51	13	18	11
		(165 \pm 10.0)			(10 \pm 4.0)			(28 \pm 4.7)			(52 \pm 5.0)			(14 \pm 3.6)		
	625	134	163	163	13	9	12	25	26	31	49	53	50	28	8	11
		(153 \pm 16.7)			(11 \pm 2.1)			(27 \pm 3.2)			(51 \pm 2.1)			(16 \pm 10.8)		
	1250	155	138	156	12	10	20	24	23	20	37	48	53	9	14	7
		(150 \pm 10.1)			(14 \pm 5.3)			(22 \pm 2.1)			(46 \pm 8.2)			(10 \pm 3.6)		
2500	152	144	116	13	18	17	19	22	21	31	45	53	11	17	10	
	(137 \pm 18.9)			(16 \pm 2.6)			(21 \pm 1.5)			(43 \pm 11.1)			(13 \pm 3.8)			
5000 #	121	144	126	12	13	14	26	31	26	52	49	36	6	14	9	
	(130 \pm 12.1)			(13 \pm 1.0)			(28 \pm 2.9)			(46 \pm 8.5)			(10 \pm 4.0)			
Positive control S9 Mix (-)	Chemical	AF2			SA			AF2			AF2			9AA		
	Dose (μ g/plate)	0.01			0.5			0.01			0.1			80		
Positive control S9 Mix (+)	Chemical	2AA			2AA			2AA			2AA			2AA		
	Dose (μ g/plate)	1			2			10			0.5			2		
Positive control S9 Mix (+)	Number of colonies / plate	938	827	882	183	188	212	912	958	957	381	360	393	298	276	276
		(882 \pm 55.5)			(194 \pm 15.5)			(942 \pm 26.3)			(378 \pm 16.7)			(283 \pm 12.7)		

AF2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, SA: Sodium azide, 9AA: 9-Aminoacridine, 2AA: 2-Aminoanthracene

#: Precipitant was observed on the surface of agar plates.

**: Purity was 98.6% and sulfanyl acid (0.3%) was contained as impurity.

Table 2 Results of reverse mutation test (II) of 3-aminobenzenesulfonic acid ** on bacteria

With (+) or without (-) S9 Mix	Test substance dose (μ g /plate)	Number of revertants (number of colonies / plate, Mean \pm S.D.)														
		Base - pair substitution type									Frameshift type					
		TA100			TA1535			WP2avr A			TA98			TA1537		
S9Mix (-)	0	132	118	115	27	18	10	15	29	28	23	26	30	9	3	7
		(122 \pm 9.1)			(18 \pm 8.5)			(24 \pm 7.8)			(26 \pm 3.5)			(6 \pm 3.1)		
	312.5	135	131	116	15	13	8	34	24	17	18	19	24	12	7	10
		(127 \pm 10.0)			(12 \pm 3.6)			(25 \pm 8.5)			(20 \pm 3.2)			(10 \pm 2.5)		
	625	129	145	124	15	12	12	21	22	27	26	17	18	4	3	9
		(133 \pm 11.0)			(13 \pm 1.7)			(23 \pm 3.2)			(20 \pm 4.9)			(5 \pm 3.2)		
S9Mix (+)	1250	132	138	114	16	18	9	22	14	19	26	15	18	9	11	6
		(128 \pm 12.5)			(14 \pm 4.7)			(18 \pm 4.0)			(20 \pm 5.7)			(9 \pm 2.5)		
	2500	146	103	126	18	17	13	22	24	24	32	23	20	8	2	2
		(125 \pm 21.5)			(16 \pm 2.6)			(23 \pm 1.2)			(25 \pm 6.2)			(4 \pm 3.5)		
	5000	116	131	96	10	12	14	27	21	22	23	18	27	11	1	9
		(114 \pm 17.6)			(12 \pm 2.0)			(23 \pm 3.2)			(23 \pm 4.5)			(7 \pm 5.3)		
S9Mix (+)	0	120	147	114	15	18	15	21	24	32	31	26	39	12	10	9
		(127 \pm 17.6)			(16 \pm 1.7)			(26 \pm 5.7)			(32 \pm 6.6)			(10 \pm 1.5)		
	312.5	114	136	154	20	18	19	21	15	24	39	37	32	15	17	20
		(135 \pm 20.0)			(19 \pm 1.0)			(20 \pm 4.5)			(36 \pm 3.6)			(17 \pm 2.5)		
	625	136	124	164	15	14	15	32	26	27	25	28	38	11	11	12
		(141 \pm 20.5)			(15 \pm 0.6)			(28 \pm 3.2)			(30 \pm 6.8)			(11 \pm 0.6)		
S9Mix (+)	1250	125	134	138	18	13	11	32	21	27	30	36	29	17	10	9
		(132 \pm 6.7)			(14 \pm 3.6)			(27 \pm 5.5)			(32 \pm 3.8)			(12 \pm 4.4)		
	2500	136	125	135	21	14	14	29	22	21	38	36	26	14	14	13
		(132 \pm 6.1)			(16 \pm 4.0)			(24 \pm 4.4)			(33 \pm 6.4)			(14 \pm 0.6)		
	5000 #	151	126	137	13	14	17	21	23	29	34	38	35	17	18	13
		(138 \pm 12.5)			(15 \pm 2.1)			(24 \pm 4.2)			(36 \pm 2.1)			(16 \pm 2.6)		
Positive control	Chemical	AF2			SA			AF2			AF2			9AA		
	Dose (μ g /plate)	0.01			0.5			0.01			0.1			80		
S9 Mix (-)	Number of colonies / plate	306	535	507	147	148	154	155	166	164	774	824	787	2303	2406	2413
		(516 \pm 16.5)			(150 \pm 3.8)			(162 \pm 5.9)			(795 \pm 25.9)			(2374 \pm 61.6)		
Positive control	Chemical	2AA			2AA			2AA			2AA			2AA		
	Dose (μ g /plate)	1			2			10			0.5			2		
S9 Mix (+)	Number of colonies / plate	866	875	884	270	254	292	1025	1045	1065	392	376	406	278	263	273
		(875 \pm 9.0)			(272 \pm 19.1)			(1045 \pm 20.0)			(391 \pm 15.0)			(271 \pm 7.6)		

AF2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, SA: Sodium azide, 9AA: 9-Aminoacridine, 2AA: 2-Aminoanthracene

#: Precipitant was observed on the surface of agar plates.

** : Purity was 98.6% and sulfanyl acid (0.3%) was contained as impurity.

Table 3 Results of reverse mutation test (III) of 3-aminobenzenesulfonic acid ** on bacteria

With (+) or without (-) S9 Mix	Test substance dose (μ g/plate)	Number of revertants (number of colonies / plate, Mean \pm S.D.)					
		Base - pair substitution type			Frameshift type		
		TA100	TA1535	WP2uvr A	TA98	TA1537	
S9Mix (-)							
S9Mix (+)	0					13 13 8 (11 \pm 2.9)	
	312.5					9 14 9 (11 \pm 2.9)	
	625					14 15 12 (14 \pm 1.5)	
	1250					14 16 10 (13 \pm 3.1)	
	2500					12 21 16 (16 \pm 4.5)	
	5000					11 10 15 (12 \pm 2.6)	
Positive control S9 Mix (-)	Chemical						
	Dose (μ g/plate)						
Positive control S9 Mix (+)	Chemical					2AA	
	Dose (μ g/plate)					2	
	Number of colonies / plate					166 213 176 (185 \pm 24.8)	

2AA: 2-Aminoanthracene

** : Purity was 98.6% and sulfanyl acid (0.3%) was contained as impurity.

3-アミノベンゼンスルホン酸の 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

In Vitro Chromosomal Aberration Test of 3-Aminobenzenesulfonic acid on Cultured Chinese Hamster Cells

要約

OECD既存化学物質安全性点検に係る毒性調査事業の一環として、3-アミノベンゼンスルホン酸の培養細胞に及ぼす細胞遺伝学的影響を評価するため、チャイニーズ・ハムスター培養細胞 (CHL/1U, 以下CHLと略す) を用いて試験管内染色体異常試験を実施した。

染色体異常試験に用いる濃度を決定するため、細胞増殖抑制試験を行ったところ、直接法における約50%の増殖抑制を示す濃度は1.70 mg/ml、代謝活性化法のS9mix存在下および非存在下では、それぞれ4.4 mg/mlおよび4.0 mg/mlであった。従って染色体異常試験において、直接法では1.70 mg/ml、代謝活性化法では4.4 mg/mlの処理濃度を高濃度とし、それぞれその1/2の濃度を中濃度、1/4の濃度を低濃度として設定した。

直接法により、CHL細胞を24時間および48時間処理した結果、細胞毒性のため染色体分析ができなかった最高処理濃度群 (1.70 mg/ml) を除いたすべての処理群において、染色体の構造異常および倍数性細胞の誘発作用は認められなかった。一方、代謝活性化法においては、S9mix存在下および非存在下の最高処理濃度群 (4.4 mg/ml) および中濃度群 (2.2 mg/ml) では、細胞毒性のため染色体分析ができなかった。そこで、最高処理濃度を1.65 mg/mlとし、さらに低い濃度群を設定して追加試験を実施した結果、S9mix存在下の低濃度群 (0.41 mg/ml) および中濃度群 (0.83 mg/ml) で、観察した細胞のそれぞれ6.5%および17%に染色体の構造異常 (gapを含む) が観察され、陽性の結果が得られた。誘発された染色体異常の要因に関しては、被験物質を添加すると培養液が黄色化することからpHの低下による影響も示唆された。

以上の結果より3-アミノベンゼンスルホン酸は、上記の試験条件下で、試験管内のCHL細胞に染色体異常を誘発すると結論した。

材料および方法

1. 使用した細胞

リサーチ・リソースバンク (JCRB) から入手 (1988年2月, 入手時: 継代4代) したチャイニーズ・ハムスター由来のCHL細胞を、解凍後継代10代以内で試験に用いた。

2. 培養液の調製

培養には、牛胎児血清 (FCS: JRH BIOSCIENCES, ロット番号: 1C2073) を10%添加したイーグルMEM培養液を用いた。

3. 培養条件

2×10^4 個のCHL細胞を、培養液5 mlを入れたディッシュ (径6 cm, Corning) に播き、37°CのCO₂ インキュベーター (5% CO₂) 内で培養した。

直接法では、細胞播種3日目に被験物質を加え、24時間および48時間処理した。また、代謝活性化法では、細胞播種3日目にS9mixの存在下および非存在下で6時間処理し、処理終了後新鮮な培養液でさらに18時間培養した。

4. 被験物質

3-アミノベンゼンスルホン酸 (CAS No.: 121-47-1, ロット番号: 20060, 東洋化成工業(株)製造, (社)日本化学工業協会提供) は白ないし薄い灰色の粉末で、水、ジメチルスルホキシドおよびアセトンに不溶の物質である。アゾ色素の製造過程で得られる物質であり、分子式C₆H₇NO₂S, 分子量173.20の物質で、純度は98.6% (不純物としてスルファニル酸を0.3%) である。原体は、冷暗所に保存の場合は安定 (保証期間1年) であり、溶媒中 (0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液) での安定性試験では、4.25~44.0 mg/mlの濃度範囲で4時間は安定であった。

5. 被験物質の調製

被験物質の調製は、使用のつど行った。溶媒は0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム (ナカライテスク(株), ロット番号: M9G8053) 水溶液を用いた。原体を溶媒に懸濁して原液を調製し、ついで原液を溶媒で順次希釈して所定の濃度の被験物質調製液を作製した。被験物質調製液は、すべての試験において培養液の10% (v/v) になるように加えた。染色体異常試験の直接法および代謝活性化法に用いた高濃度群と低濃度群の調製液の濃度は、すべて許容範囲内 (平均含量が添加量の85%以上) の値であった。

6. 細胞増殖抑制試験による処理濃度の決定

染色体異常試験に用いる被験物質の処理濃度を決定するため、被験物質の細胞増殖に及ぼす影響を調べた。被験物質のCHL細胞に対する増殖抑制作用は、単層培養細胞密度計 (Monocellater, オリジナル光学工業(株)) を用いて各群の増殖度を計測し、被験物質処理群の溶媒対照群に対する細胞増殖の比をもって指標とした。

その結果、3-アミノベンゼンスルホン酸の約50%の増殖抑制を示す濃度を、50%をはさむ2濃度の値より算出したところ、直接法では1.70 mg/mlであった。また、代謝活性化法のS9mix存在下および非存在下における約50%の増殖抑制を示す濃度は、それぞれ4.4 mg/mlおよび4.0 mg/mlであった (Fig. 1)。

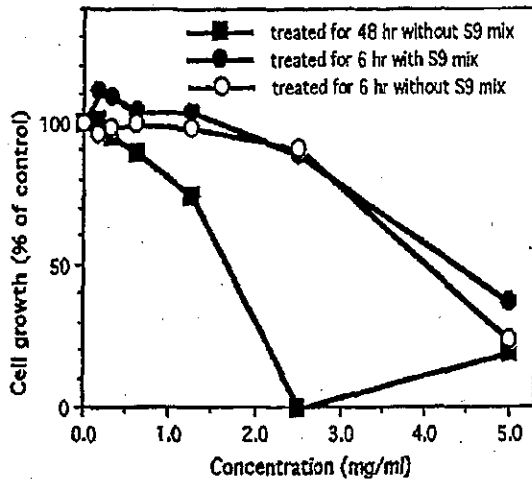


Fig. 1 Growth inhibition of CHL cells treated with 3-aminobenzene-sulfonic acid

7. 実験群の設定

細胞増殖抑制試験の結果より、染色体異常試験で用いる被験物質の高濃度群を、直接法では1.70 mg/ml、代謝活性化法では4.4 mg/ml (追加試験では1.65 mg/ml) とし、それぞれ高濃度群の1/2の濃度を中濃度、1/4の濃度を低濃度とした。

8. 染色体標本作製法

培養終了の2時間前に、コルセミドを最終濃度が約0.1 μg/ml になるように培養液に加えた。染色体標本の作製は常法に従って行った。スライド標本は各シャーレにつき6枚作製した。作製した標本を、3%ギムザ溶液で約10分間染色した。

9. 染色体分析

作製したスライド標本のうち、1つのディッシュから得られた異なるスライドを、複数の観察者がそれぞれ処理条件が分からないようにコード化した状態で分析した。染色体の分析は、日本環境変異原学会、哺乳動物試験 (MMS) 分科会¹⁾ による分類法に基づいて行い、染色体型あるいは染色分体型のギャップ、切断、交換などの構造異常の有無と倍数性細胞 (polyploid) の有無について観察した。また構造異常については1群200個、倍数性細胞については1群800個の分裂中期細胞を分析した。

10. 記録と判定

無処理対照、溶媒および陽性対照群と被験物質処理群についての分析結果は、観察した細胞数、構造異常の種類と数、倍数性細胞の数について集計し、各群の値を記録用紙に記入した。染色体異常を有する細胞の出現頻度について、フィッシャーの exact probability test 法により、溶媒対照群と被験物質処理群間および溶媒対照群と陽性対照群の有意差検定を行った。被験物質の染色体異常誘発性についての判定は、石館ら²⁾ の判定基準に従い、染色体異常を有する細胞の頻度が5%未満を陰性、5%以上10%未満を疑陽性、10%以上を陽性とした。

結果および考察

直接法による染色体分析の結果を Table 1 に示した。3-アミノベンゼンスルホン酸を加えて24時間および48時間処理した結果、細胞毒性のため分析できなかった高濃度群 (1.70 mg/ml) を除いたすべての処理群で、染色体の構造異常および倍数性細胞の出現頻度に有意な増加は認められなかった。

代謝活性化法による染色体分析の結果を Table 2 に示した。3-アミノベンゼンスルホン酸を加えてS9mix存在下および非存在下で6時間処理した最高処理濃度群 (4.4 mg/ml) および中濃度群 (2.2 mg/ml) では、細胞毒性のため染色体分析ができなかった。そこで、さらに低い濃度群を設定し、追加試験を実施した (Table 3)。その結果、S9mix存在下の低濃度群 (0.41 mg/ml) および中濃度群 (0.83 mg/ml) で、それぞれ観察した細胞の6.5%および17%に染色体の構造異常 (gapを含む) が誘発され、陽性の結果が得られた。

一方、本試験と並行して実施された5種類の検定菌を用いる復帰突然変異試験では、直接法、代謝活性化法のいずれの試験においても変異原活性は認められなかった。

細胞を用いる本実験では、3-アミノベンゼンスルホン酸を培養液に加えると培養液の色が黄色に変化することから、追加試験の代謝活性化法と同一条件で、処理直後と処理終了時のpHを測定した。その結果、S9mix非存在下における処理直後の低濃度および中濃度のpHは、5.83~6.53であり、処理終了後では6.61~6.94であった。また、S9mix存在下における処理直後の低濃度および中濃度のpHは、5.78~6.26であり、処理終了後では6.18~6.52であった。従って、本実験で誘発された染色体異常に関しては、3-アミノベンゼンスルホン酸添加による培地の酸性化による可能性と、3-アミノベンゼンスルホン酸それ自身によるDNA傷害作用に起因する可能性の2通りが考えられる。

Table 1 Chromosome analysis of Chinese hamster cells (CHL) continuously treated with 3-aminobenzenesulfonic acid ** without S9 mix

Group	Concentration (mg/ml)	Time of exposure (hr)	No. of cells analysed	No. of structural aberrations							total	Others ³⁾	No. of cells with aberrations			Polyploid ⁴⁾ (%)	Judgement ⁵⁾	
				gap	ctb	cte	csb	cse	f	mul ²⁾			TAG (%)	TA (%)	SA		NA	
Control			200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0.00			
Solvent ¹⁾ 0		24	200	1	1	0	0	0	0	0	2	0	2 (1.0)	1 (0.5)	0.00			
ABS 0.43		24	200	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1 (0.5)	1 (0.5)	0.13	-	-	
ABS 0.85		24	200	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1 (0.5)	1 (0.5)	0.13	-	-	
ABS 1.70		24	0													Tox	Tox	
MC 0.00005		24	200	4	30	101	4	1	5	0	145	3	100 *(50)	97 *(48.5)	0.13	+	-	
Solvent ¹⁾ 0		48	200	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1 (0.5)	1 (0.5)	0.25			
ABS 0.43		48	200	1	0	1	0	0	0	0	2	0	2 (1.0)	1 (0.5)	0.13	-	-	
ABS 0.85		48	200	1	1	0	0	0	0	0	2	1	2 (1.0)	1 (0.5)	0.63	-	-	
ABS 1.70		48	1													Tox	Tox	
MC 0.00005		48	200	7	45	133	5	11	12	40	253	24	114 *(57.0)	110 *(55.0)	0.50	+	-	

Abbreviations : gap : chromatid gap and chromosome gap, ctb : chromatid break, cte : chromatid exchange, csb : chromosome break, cse : chromosome exchange (dicentric and ring etc.), f : acentric fragment (chromatid type), mul : multiple aberrations, TAG : total no. of cells with aberrations, TA : total no. of cells with aberrations except gap, SA : structural aberration, NA : numerical aberration, MC : mitomycin C. 1) 0.5% carboxymethylcellulose sodium was used as solvent. 2) More than ten aberrations in a cell were scored as 10. 3) Others, such as attenuation and premature chromosome condensation, were excluded from the no. of structural aberrations. 4) Eight hundred cells were analysed in each group. 5) Judgement was done on the basis of the criteria of Ishidate et al. (1987). * : Significantly different from solvent control at $p < 0.05$. ** : Purity was 98.6%, and sulfanilic acid (0.3%) was contained as impurity.

Table 2 Chromosome analysis of Chinese hamster cells (CHL) treated with 3-aminobenzenesulfonic acid ** with and without S9 mix

Group	Concentration (mg/ml)	S9 mix	Time of exposure (hr)	No. of cells analysed	No. of structural aberrations							total	Others ³⁾	No. of cells with aberrations			Polyploid ⁴⁾ (%)	Judgement ⁵⁾	
					gap	ctb	cte	csb	cse	f	mul ²⁾			TAG (%)	TA (%)	SA		NA	
Control				200	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0.00				
Solvent ¹⁾ 0		-	6-(18)	200	0	0	0	1	0	0	1	0	1 (0.5)	1 (0.5)	0.25				
ABS 1.1		-	6-(18)	200	1	1	1	0	0	1	4	1	2 (1.0)	2 (1.0)	0.00	-	-		
ABS 2.2		-	6-(18)	0												Tox	Tox		
ABS 4.4		-	6-(18)	0												Tox	Tox		
CPA 0.005		-	6-(18)	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0.00	-	-		
Solvent ¹⁾ 0		+	6-(18)	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0.13				
ABS 1.1		+	6-(18)	200	0	3	2	0	0	0	5	2	5 *(2.5)	5 *(2.5)	0.25	-	-		
ABS 2.2		+	6-(18)	0												Tox	Tox		
ABS 4.4		+	6-(18)	0												Tox	Tox		
CPA 0.005		+	6-(18)	200	9	127	306	1	1	8	160	612	0	173 *(86.5)	172 *(86.0)	0.13	+	-	

Abbreviations : gap : chromatid gap and chromosome gap, ctb : chromatid break, cte : chromatid exchange, csb : chromosome break, cse : chromosome exchange (dicentric and ring etc.), f : acentric fragment (chromatid type), mul : multiple aberrations, TAG : total no. of cells with aberrations, TA : total no. of cells with aberrations except gap, SA : structural aberration, NA : numerical aberration, CPA : cyclophosphamide.

1) 0.5% carboxymethylcellulose sodium was used as solvent. 2) More than ten aberrations in a cell were scored as 10. 3) Others, such as attenuation and premature chromosome condensation, were excluded from the no. of structural aberrations. 4) Eight hundred cells were analysed in each group. 5) Judgement was done on the basis of the criteria of Ishidate et al. (1987). * : Significantly different from solvent control at $p < 0.05$. ** : Purity was 98.6%, and sulfanilic acid (0.3%) was contained as impurity.

Table 3 Chromosome analysis of Chinese hamster cells (CHL) treated with 3-aminobenzenesulfonic acid** with and without S9 mix

Group	Concentration (mg/ml)	S9 mix	Time of exposure (hr)	No. of cells analysed	No. of structural aberrations								Others ³⁾	No. of cells with aberrations			Polyploid ⁴⁾ (%)	Judgement ⁵⁾	
					gap	ctb	cte	csb	cse	f	mul ²⁾	total		TAG	(%)	TA		(%)	SA
Solvent ¹⁾	0	-	6-(18)	200	0	1	0	0	1	0	0	2	1	2 (1.0)	2 (1.0)	0.38	-	-	
ABS	0.41	-	6-(18)	200	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0 (0.0)	0 (0.0)	0.25	-	-	
ABS	0.83	-	6-(18)	200	0	3	0	0	0	0	0	3	0	3 (1.5)	3 (1.5)	0.63	-	-	
ABS	1.65	-	6-(18)	0													Tox	Tox	
CPA	0.005	-	6-(18)	200	0	1	1	0	0	0	0	2	0	2 (1.0)	2 (1.0)	0.25	-	-	
Solvent ¹⁾	0	+	6-(18)	200	2	1	1	0	0	0	0	4	1	4 (2.0)	2 (1.0)	0.50			
ABS	0.41	+	6-(18)	200	3	8	6	0	0	0	0	17	0	13 *(6.5)	10 *(5.0)	1.88 *	±	-	
ABS	0.83	+	6-(18)	200	3	47	27	0	0	1	10	88	0	34 *(17.0)	33 *(16.5)	0.75	+	-	
ABS	1.65	+	6-(18)	0													Tox	Tox	
CPA	0.005	+	6-(18)	200	17	132	292	1	2	10	310	764	2	170 *(85.0)	169 *(84.5)	0.25	+	-	

Abbreviations : gap : chromatid gap and chromosome gap, ctb : chromatid break, cte : chromatid exchange, csb : chromosome break, cse : chromosome exchange (dicentric and ring etc.), f : acentric fragment (chromatid type), mul : multiple aberrations, TAG : total no. of cells with aberrations, TA : total no. of cells with aberrations except gap, SA : structural aberration, NA : numerical aberration, CPA : cyclophosphamide, Tox : toxicity. 1) 0.5% carboxymethylcellulose sodium was used as solvent. 2) More than ten aberrations in a cell were scored as 10. 3) Others, such as attenuation and premature chromosome condensation, were excluded from the no. of structural aberrations. 4) Eight hundred cells were analysed in each group. 5) Judgement was done on the basis of the criteria of Ishidate et al. (1987). * : Significantly different from solvent control at p<0.05. ** : Purity was 98.6%, and sulfanilic acid (0.3%) was contained as impurity.

文献

- 1) 日本環境変異原学会・哺乳動物試験分科会編, "化学物質による染色体異常アトラス," 朝倉書店, 1988.
- 2) 石館 基 監修, "〈改訂〉染色体異常試験データ集," エル・アイ・シー社, 1987.

連絡先

試験責任者 : 田中憲徳
 試験担当者 : 山影康次, 佐々木澄志,
 若栗 忍, 日下部博一,
 橋本恵子
 (財)食品薬品安全センター 秦野研究所
 〒257 神奈川県秦野市落合729-5
 Tel 0463-82-4751 Fax 0463-82-9627

Correspondence

Authors : Noriho Tanaka (Study director)
 Kohji Yamakage, Kiyoshi Sasaki,
 Shinobu Wakuri,
 Hirokazu Kusakabe, Keiko Hashimoto
 Hatano Research Institute, Food and Drug Safety
 Center
 729-5 Ochiai, Hadano, Kanagawa, 257, Japan
 Tel +81-463-82-4751 Fax +81-463-82-9627