

28日間反復投与毒性試験

Table 1. Hematology of rats treated with *p*-tert-octylphenol for 28 days and after a 14-day recovery period

Sex	Dose level	28Days				Recovery		
		0mg/kg	15mg/kg	70mg/kg	300mg/kg	0mg/kg	300mg/kg	
Male	No. of animals	6	6	6	6	6	6	
	RBC ($10^6/\text{mm}^3$)	781±47.5	806±31.7	830±19.2	829±41.8	880±38.7	867±39.8	
	Hematocrit (%)	42.2±0.93	41.5±1.14	41.7±0.82	41.3±1.78	44.1±0.38	42.8±1.13*	
	Hemoglobin (g/dl)	14.3±0.82	14.8±0.62	14.8±0.13	14.9±0.83	15.6±0.51	15.5±0.59	
	Reticulocyte ($\%_{100}$)	36±11.2	35±9.8	39±10.1	33±11.1	29±5.8	39±11.9	
	MCV (μm^3)	54.1±3.13	51.5±1.16	50.2±1.85*	49.8±2.18**	50.2±2.53	49.3±1.34	
	MCH (pg)	18.4±0.95	18.4±0.41	17.9±0.46	18.0±0.72	17.7±0.50	17.9±0.53	
	MCHC (%)	34.0±1.56	35.6±0.63*	35.5±0.74	36.1±1.29**	35.3±1.20	36.3±0.52	
	Platelet ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	118.0±17.78	129.6±17.11	126.3±19.06	129.1±13.04	133.5±9.71	132.1±8.50	
	PT (sec)	13.1±0.55	13.1±0.62	13.2±0.52	12.7±0.77	13.7±0.17	13.5±0.42	
	APTT (sec)	17.3±1.25	17.1±1.09	16.3±0.70	17.1±0.75	17.7±1.39	16.6±0.86	
	WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	112±27.4	133±27.6	108±12.6	103±4.1	102±14.2	95±30.9	
	Differential leukocyte counts (%)							
	Lymphocytes	93±3.4	96±1.9	94±3.4	90±3.1	90±4.5	92±3.4	
	Neutrophils							
	segmented	3±1.0	2±1.8	4±3.0	5±2.4	5±1.5	6±3.8	
	band	0±0.4	0±0.0	0±0.0	0±0.4	0±0.4	0±0.0	
	Eosinophils	0±0.4	0±0.5	0±0.5	1±0.8	1±1.4	0±0.4*	
	Basophils	0±0.0	0±0.0	0±0.0	0±0.0	0±0.0	0±0.0	
	Monocytes	4±2.0	2±1.2*	3±1.0	4±1.2	4±2.5	2±1.5	
Female	No. of animals	6	6	6	6	6	6	
	RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	844±27.9	835±21.8	842±13.0	810±51.9	836±10.5	823±51.5	
	Hematocrit (%)	42.1±1.36	42.1±0.58	42.8±1.25	40.4±1.07*	42.2±1.13	40.8±1.60	
	Hemoglobin (g/dl)	15.1±0.43	15.5±0.47	15.2±0.51	14.4±0.79	15.3±0.41	14.6±0.72	
	Reticulocyte ($\%_{100}$)	31±5.7	30±5.6	31±3.6	24±4.7	31±5.0	31±8.3	
	MCV (μm^3)	49.9±1.99	50.4±0.95	50.9±0.92	50.0±1.86	50.4±1.19	49.5±1.40	
	MCH (pg)	17.9±0.48	18.6±0.53*	18.1±0.50	17.8±0.27	18.2±0.45	17.8±0.44	
	MCHC (%)	35.8±1.86	36.8±0.84	35.6±1.18	35.7±1.04	36.2±0.77	35.8±0.49	
	Platelet ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	114.7±15.10	121.6±9.72	125.0±7.08	117.8±14.50	120.9±10.30	133.2±8.84	
	PT (sec)	14.3±0.12	14.3±0.24	14.1±0.38	14.6±0.36	13.4±0.67	13.3±0.86	
	APTT (sec)	16.1±1.21	15.9±0.74	15.8±1.15	14.6±0.97	15.7±1.58	16.3±1.17	
	WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	87±25.5	96±29.5	105±25.9	91±28.1	83±23.3	69±11.8	
	Differential leukocyte counts (%)							
	Lymphocytes	95±1.9	95±3.4	97±1.2	93±6.8	94±3.3	96±2.2	
	Neutrophils							
	segmented	3±1.9	3±2.9	2±0.4	4±4.9	4±3.2	2±1.6	
	band	0±0.0	0±0.0	0±0.0	0±0.4	0±0.0	0±0.4	
	Eosinophils	0±0.0	0±0.5	0±0.4	1±0.8	1±0.5	1±1.2	
	Basophils	0±0.0	0±0.0	0±0.0	0±0.0	0±0.0	0±0.0	
	Monocytes	3±1.8	3±1.2	1±1.2	3±2.4	2±1.5	2±0.8	

Values are expressed as Mean±S.D.

Significantly different from control group; * :P<0.05, ** :P<0.01.

その他、片側腎臓の腎盂腔の拡張が投与終了時解剖動物の300 mg/kg群の雌に1例、脾臓のろ胞の集合による直径5mm大の結節形成が回復期間終了時解剖動物の対照群の雄に1例認められたが、その発現状況から偶発病変と判断した。

11. 病理組織学的検査 (Table 6)

腎臓において被験物質投与に起因する変化が300mg/kg群で認められた。即ち、尿細管の再生像が投与終了時解剖動物の雄の全例および雌の5例で認められた。病変は皮質に限局し、腫大および好塩基性変化した再生上皮より成る近位尿細管が散在性に認められた。再生尿細管には有糸分裂像も散見された。このうちの雌の1例では病変は皮質から髓質に向かって帯状に拡がり、尿細管の拡張、その腔内への上皮の脱落と好中球の浸潤、間質における組

織球、リンパ球および好中球などの浸潤を伴っていた。回復期間終了時解剖動物では間質の軽度の線維化を伴う散在性の軽度の再生性変化が雌雄の各1例に認められた。

その他、腎臓の尿細管上皮内の硝子滴の出現が投与終了時および回復期間終了時解剖動物の雄の各群で高頻度に認められたが、群間で程度の差はなかった。各群の少数例に肝臓の微小肉芽腫、腎臓の皮髓境界部間質における石灰沈着、限局性炎症性変化、硝子円柱およびのう胞が散見された。また肉眼所見に対応する変化として脾臓のリンパ球の結節性過形成および片側性の腎盂腔の拡張が認められた。これらは用量相関性を欠く変化であり、ラットを用いた毒性試験ではしばしば自然発生病変として認められることから、被験物質投与とは無関係と考えられる。

Table 2. Clinical chemistry of rats treated with p-tert-octylphenol for 28 days and after a 14-day recovery period

Sex	Dose level	28Days				Recovery	
		0mg/kg	15mg/kg	70mg/kg	300mg/kg	0mg/kg	300mg/kg
Male	No. of animals	6	6	6	6	6	6
	GOT (IU/l)	93±15.4	107±13.5	88±4.0	104±19.1	92±12.6	91±26.2
	GPT (IU/l)	32±3.5	32±3.9	33±3.4	38±5.9	31±2.9	29±4.6
	γ-GTP (IU/l)	0±0.0	0±0.0	0±0.0	0±0.0	0±0.4	1±0.5
	ALP (IU/l)	532±144.1	567±162.3	553±109.4	476±88.7	521±39.5	440±92.8
	Urea nitrogen (mg/dl)	16.8±1.31	16.2±1.60	16.2±2.22	16.0±2.51	17.5±2.34	19.0±1.61
	Creatinine (mg/dl)	0.5±0.06	0.5±0.04	0.5±0.00	0.5±0.04	0.5±0.08	0.5±0.05
	Glucose (mg/dl)	186±12.5	176±8.2	178±16.1	174±9.7	171±13.1	169±5.3
	Total chol. (mg/dl)	66±10.8	58±3.3	70±9.5	63±8.7	60±7.1	64±10.7
	Triglyceride (mg/dl)	102±71.1	72±47.2	110±97.7	44±10.2	128±73.1	127±30.5
	Total protein (g/dl)	5.93±0.336	5.87±0.217	6.05±0.200	5.74±0.246	6.43±0.287	6.33±0.189
	Albumin (g/dl)	3.76±0.107	3.77±0.126	3.76±0.059	3.58±0.120*	3.82±0.077	3.83±0.116
	A/G ratio	1.75±0.169	1.80±0.109	1.65±0.135	1.66±0.100	1.47±0.100	1.54±0.069
	Ca (mg/dl)	9.7±0.21	9.8±0.25	9.7±0.18	9.6±0.26	9.9±0.15	9.8±0.31
	Inorganic phos. (mg/dl)	9.2±0.38	9.3±0.51	9.3±0.41	9.3±0.51	8.7±0.30	8.9±0.43
	Na (meq/l)	142±0.5	143±0.8	143±0.5	144±1.0*	143±0.6	144±0.8
	K (meq/l)	4.3±0.12	4.4±0.25	4.4±0.23	4.4±0.21	4.7±0.13	4.5±0.09*
Cl (meq/l)	102±1.2	102±0.6	103±1.2	102±0.4	103±1.9	103±0.5	
Female	No. of animals	6	6	6	6	6	6
	GOT (IU/l)	83±7.3	90±10.4	79±13.4	89±18.0	91±6.4	83±10.2
	GPT (IU/l)	29±4.0	24±4.3	22±1.2*	29±5.5	38±6.0	30±8.1
	γ-GTP (IU/l)	0±0.0	0±0.0	0±0.0	0±0.0	0±0.5	0±0.0
	ALP (IU/l)	362±119.0	311±67.8	260±41.0	455±90.8	251±78.5	299±83.0
	Urea nitrogen (mg/dl)	14.0±1.21	13.9±1.26	12.9±1.91	21.3±3.81*	20.3±4.22	20.7±2.56
	Creatinine (mg/dl)	0.5±0.05	0.5±0.05	0.5±0.05	0.6±0.08	0.5±0.08	0.5±0.05
	Glucose (g/dl)	181±20.7	170±20.4	175±5.5	163±5.8	185±34.9	179±19.9
	Total chol. (mg/dl)	59±5.7	57±8.9	59±9.1	45±8.4*	65±12.1	70±13.8
	Triglyceride (mg/dl)	26±3.7	28±7.5	31±6.6	67±31.8**	60±41.8	39±14.8
	Total protein (g/dl)	5.89±0.155	6.43±0.283**	6.17±0.162	5.96±0.353	6.79±0.422	6.71±0.302
	Albumin (g/dl)	3.86±0.139	4.14±0.197*	3.91±0.090	3.66±0.243	4.12±0.239	4.08±0.149
	A/G ratio	1.90±0.087	1.83±0.165	1.73±0.074*	1.58±0.051**	1.55±0.093	1.56±0.098
	Ca (mg/dl)	9.3±0.26	9.6±0.11	9.4±0.29	9.6±0.34	9.9±0.21	10.0±0.29
	Inorganic phos. (mg/dl)	8.3±0.46	8.2±0.46	7.7±0.60	8.7±0.62	8.5±0.58	8.4±0.98
	Na (meq/l)	141±1.0	142±0.5	141±1.0	144±1.4**	142±0.8	142±1.5
	K (meq/l)	4.3±0.36	4.3±0.24	4.3±0.21	4.2±0.21	4.8±0.50	4.9±0.60
Cl (meq/l)	104±0.9	103±1.5	103±1.6	105±1.9	103±1.0	104±0.8	

Values are expressed as Mean±S.D.
Significantly different from control group; * :P<0.05, **:P<0.01.

Table 3. Urinalysis of rats treated with p-tert-octylphenol for 28 days and after a 14-day recovery period

Sex	Dose level	28 Days				Recovery	
		0mg/kg	15mg/kg	70mg/kg	300mg/kg	0mg/kg	300mg/kg
Male	No. of animals examined	12	5	6	12	6	6
	Specific gravity	1.064±0.0230	1.070±0.0064	1.081±0.0127	1.029±0.0115**	1.055±0.0112	1.060±0.0177
	Volume (ml/day)	9.8±4.01	6.5±1.08	7.4±1.42	19.5±8.70*	12.9±3.22	13.2±4.39
	Na (meq)	1.43±0.223	1.08±0.226	1.38±0.174	0.61±0.228**	1.41±0.239	1.40±0.360
	K (meq)	2.83±0.425	2.25±0.275*	2.83±0.243	2.10±0.334**	3.50±0.542	3.76±0.430
	Cl (meq)	1.37±0.219	1.05±0.204*	1.47±0.130	0.51±0.138**	1.33±0.193	1.47±0.146
Female	No. of animals examined	12	6	6	12	6	6
	Specific gravity	1.072±0.0155	1.070±0.0177	1.069±0.0216	1.022±0.0111**	1.054±0.0127	1.052±0.0280
	Volume (ml/day)	5.7±2.07	5.9±2.47	5.4±3.08	20.5±15.05**	10.9±3.47	13.0±8.39
	Na (meq)	0.81±0.329	0.75±0.163	0.83±0.362	0.27±0.113**	1.13±0.200	1.14±0.201
	K (meq)	1.77±0.517	1.76±0.275	1.51±0.649	1.18±0.521	2.62±0.496	2.50±0.361
	Cl (meq)	0.75±0.239	0.78±0.078	0.73±0.260	0.03±0.173**	1.03±0.184	1.06±0.171

Values are expressed as Mean±S.D.
Significantly different from control group; * :P<0.05, **:P<0.01.

Table 4. Absolute and relative organ weights of rats treated with *p*-tert-octylphenol for 28 days and after a 14-day recovery period

Sex	Dose level	28 Days				Recovery		
		0mg/kg	15mg/kg	70mg/kg	300mg/kg	0mg/kg	300mg/kg	
Male	No. of animals examined	6	6	6	6	6	6	
	Body weight (g)	363±24.3	345±7.8	354±25.8	325±13.1**	422±26.9	405±36.3	
	Absolute organ weight							
	Brain (g)	1.98±0.041	1.97±0.080	2.01±0.074	2.01±0.124	2.06±0.048	2.05±0.073	
	Liver (g)	14.89±1.940	13.70±0.799	15.31±2.204	14.52±1.354	16.34±2.407	15.56±2.093	
	Kidneys (g)	2.67±0.138	2.55±0.209	2.71±0.148	2.78±0.276	3.03±0.266	2.99±0.406	
	Adrenals (mg)	51.5±2.44	51.5±5.12	45.2±3.86	48.7±6.10	56.1±6.63	60.5±9.83	
	Testes (g)	2.97±0.251	2.89±0.087	2.91±0.162	3.02±0.172	3.25±0.291	3.23±0.157	
	Relative organ weight							
	Brain (g%)	0.55±0.027	0.57±0.017	0.57±0.029	0.62±0.026**	0.49±0.030	0.51±0.035	
	Liver (g%)	4.10±0.306	3.97±0.263	4.31±0.362	4.46±0.273	3.86±0.348	3.83±0.238	
	Kidneys (g%)	0.73±0.023	0.74±0.059	0.77±0.039	0.86±0.076**	0.72±0.035	0.74±0.065	
	Adrenals (mg%)	14.2±0.87	15.0±1.70	12.9±1.18	15.0±1.94	13.3±0.94	15.0±2.06	
Testes (g%)	0.82±0.033	0.84±0.029	0.83±0.100	0.93±0.060**	0.77±0.071	0.80±0.069		
Female	No. of animals examined	6	6	6	6	6	6	
	Body weight (g)	239±23.3	234±15.6	230±15.2	231±21.5	266±24.3	246±30.3	
	Absolute organ weight							
	Brain (g)	1.89±0.105	1.93±0.056	1.92±0.031	1.89±0.106	1.92±0.063	1.91±0.062	
	Liver (g)	8.57±1.023	8.35±0.600	8.52±0.730	9.44±0.822	9.20±0.747	8.90±1.609	
	Kidneys (g)	1.87±0.260	1.73±0.056	1.73±0.124	2.08±0.164	1.81±0.050	1.85±0.218	
	Adrenals (mg)	65.0±7.74	64.7±6.56	64.7±12.30	56.5±3.33	66.3±3.10	69.2±6.12	
	Ovaries (mg)	88.0±9.07	86.7±8.94	92.4±13.27	90.7±13.64	98.1±13.01	94.3±11.97	
	Relative organ weight							
	Brain (g%)	0.79±0.041	0.83±0.059	0.84±0.068	0.82±0.055	0.73±0.066	0.78±0.102	
	Liver (g%)	3.59±0.181	3.58±0.139	3.70±0.147	4.10±0.268**	3.47±0.131	3.59±0.287	
	Kidneys (g%)	0.78±0.051	0.74±0.032	0.75±0.049	0.90±0.045**	0.69±0.048	0.76±0.029*	
	Adrenals (mg%)	27.3±1.52	27.6±1.44	28.5±7.12	24.6±1.59	25.1±2.04	28.3±2.42*	
Ovaries (mg%)	37.0±3.68	37.1±3.02	40.6±8.59	39.3±3.25	37.1±5.05	38.4±2.73		

Values are expressed as Mean±S.D.

Significantly different from control group; * :P<0.05, ** :P<0.01.

考察

p-tert-オクチルフェノールを15、70および300 mg/kgの用量で雌雄のSD系ラットに28日間反復経口投与し、現れる生体の機能および形態の変化を観察した。また、14日間の回復期間を設け、現れた変化の回復性を検討した。

300 mg/kg群において流涎、飲水量の増加、体重増加抑制が認められた。また、血液生化学的検査、尿検査および器官重量においても被験物質投与に起因すると考えられる変化が認められた。さらに病理学的検査においては腎臓に尿管上皮の障害が認められた。70 mg/kg群においても流涎など毒性徴候が観察された。

腎臓の尿管でみられた形態変化は変性や脱落に対する再生性増殖を示唆する上皮の腫大や好塩基性変化であり、被験物質は尿管上皮に対して障害性を有するものと考えられる。雌の1例にみられた間質の炎症性細胞浸潤は尿管に対する障害性がより強く、基底膜を越えて間質にまで波及したことを表している。また、回復期間終了後の2例にみられた尿管周囲の線維化も同様に障害が間質に及んだことを意味するが、一定の炎症性過程を経た修復の像と理解される。回復期間終了後の多くの例ではこのような所見は観察されなかったことから、被験物質の影響が尿管上皮だけにとどまった場合には2週間の回復期間を設けることによって完全に回復することが示された。

300 mg/kg群の雌雄で尿量の増加とともに尿中電解質の減少が認められた。通常、尿量の増加に伴い尿中電解質は増加あるいは変化しないことが多い。そこで本試験とは別に雌ラットに300 mg/kgの用量で28日間投与し尿の変化を調べたところ（以下補足試験）、被験物質投与後6時間までに多量の尿と電解質が排泄されていることが判明した。本試験で得られた尿は投与後7時間以降のものであったことから、投与後の電解質排泄に対して代償的に再吸収が亢進し、その結果尿中電解質が減少したと考えられる。

一方、腎臓の近位尿管で障害が認められたため、補足試験にて尿中酵素（N-Acetyl-β-D-glucosaminidase）を測定したが、明らかな尿量増加を認めたにもかかわらず、尿中酵素の変化は明確でなかった。このことから、尿量の増加は尿管障害に直接起因するものではなく、被験物質の利尿作用によるものである可能性が示唆される。

300 mg/kg群の雌で肝臓重量に軽度の増加がみられたが、病理組織学的変化はなかった。雌で認められた血中総コレステロールおよびトリグリセライド等の脂質の変化は本所見と関連したものである可能性が考えられる。しかしながら、いずれもわずかな変化であり、毒性学的重要性は少ないものと考えられる。

被験物質に起因する変化は、回復期間終了後には消失あ

Table 5. Total incidence of macroscopic findings of rats treated with p-tert-octylphenol for 28 days and after a 14-day recovery period

Organ	Fate	Sex	28 Days								Recovery			
			Male				Female				Male		Female	
	Dose level(mg/kg)		0	15	70	300	0	15	70	300	0	300	0	300
Findings	No. of animals		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Kidneys														
	Grayish patch		0	0	0	1	0	0	0	2	0	1	0	0
	Pyelectasis		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Spleen														
	Nodule composed of lymph follicles		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

No abnormalities were observed in the other organs.

Table 6. Total incidence of microscopic findings of rats treated with p-tert-octylphenol for 28 days and after a 14-day recovery period

Organ	Fate	Sex	28 Days								Recovery			
			Male				Female				Male		Female	
	Dose level(mg/kg)		0	15	70	300	0	15	70	300	0	300	0	300
Findings	No. of animals		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Kidneys														
	Regeneration of the renal tubule	(slight)	0	0	0	6	0	0	0	4	0	1	0	1
		(moderate)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	Calcification		0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
	Cyst		1	0	0	0	1	1	2	0	1	1	0	1
	Focal inflammatory change		0	1	0	1	0	1	0	0	0	2	0	0
	Hyaline cast		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Hyaline droplets in the tubular epithelium		6	6	6	5	0	0	0	0	5	4	0	0
	Pyelectasis		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Spleen														
	Nodular lymphoid hyperplasia		0	*	*	0	0	*	*	0	*	*	1/1 ¹⁾	*
Liver														
	Microgranuloma		3	*	*	0	0	*	*	1	*	*	*	*
Heart														
			ND	*	*	ND	ND	*	*	ND	*	*	*	*
Adrenals														
			ND	*	*	ND	ND	*	*	ND	*	*	*	*

* ; Not examined.

1) ; Number of animals with lesion / number of animals examined.

ND ; No abnormalities were observed.

るいは回復傾向がみられることから、投与休止により回復性を示す変化と考えられる。

以上の結果から、本試験条件下におけるp-tert-オクチルフェノールの無影響量は雌雄とも15 mg/kgと考えられる。

連絡先：試験責任者 松浦郁夫

(株) 三菱化成安全科学研究所鹿島研究所

〒314-02 茨城県鹿島郡波崎町砂山 14

Tel 0479-46-2871 Fax 0479-46-2874

Correspondence : Matsuura, Ikuo

Mitsubishi-Kasei Institute of Toxicological and Environmental Sciences, Japan

14 Sunayama, Hasaki-machi, Kashima-gun, Ibaraki, 314-02, Japan

Tel 81-479-46-2871 Fax 81-479-46-2874

p-tert-オクチルフェノールの細菌を用いる復帰変異試験

Reverse Mutation Test of p-tert-Octylphenol on Bacteria

要約

p-tert-オクチルフェノールの変異原性の有無について、細菌を用いる復帰変異試験を実施することにより検討した。

検定菌として、*Salmonella typhimurium* TA100、TA1535、TA98、TA1537および*Escherichia coli* WP2 *uvrA*を用い、直接試験および代謝活性化試験のいずれも、用量設定試験は50~5000 µg/プレートの用量で試験を行ったが、すべての検定菌において抗菌性が認められた。抗菌性は*S. typhimurium* 4検定菌の直接試験において強く認められた。そのため、*S. typhimurium*の4検定菌について、TA100とTA98では20~200 µg/プレート、TA1535およびTA1537では10~100 µg/プレートの用量で直接試験のみについて再試験を実施したが、いずれの検定菌において

も抗菌性は強く認められた。

本試験は、*S. typhimurium*の4検定菌では直接試験を1.56~50 µg/プレート、代謝活性化試験を6.25~200 µg/プレートの用量で、WP2については直接試験および代謝活性化試験のいずれも125~2000 µg/プレートの用量で実施した。

その結果、2回の本試験ともに、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、p-tert-オクチルフェノールは、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。

緒言

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、日本が独自に選定した既存化学物質の一つである、p-tert-オクチルフェノールについて、細菌を用いる復帰変異試験をプレート法により実施した。

この試験は、サルモネラ(ネズミチフス菌)におけるヒスチジン要求性から非要求性への復帰変異¹⁾、ならびに大腸菌におけるトリプトファン要求性から非要求性への復帰変異²⁾を指標とした変異原の検出系である。

試験は、被験物質をそのまま検定菌に作用させる直接試験と、哺乳動物のもつ薬物代謝酵素(S9混液)によって産生される被験物質の代謝物の変異原性を試験する代謝活性化試験とからなっている。

本試験は、「新規化学物質に係る試験の方法について」(昭和62年3月31日、環保業第237号、薬発第306号、62基局第303号)およびOECD化学品試験法ガイドライン: 471、472に準拠し、化学物質GLP(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、改訂昭和63年11月18日、環企研第233号、衛生第38号、63基局第823号)に基づいて実施した。

方法

〔検定菌〕

Salmonella typhimurium TA100
Salmonella typhimurium TA1535
Escherichia coli WP2 *uvrA*
Salmonella typhimurium TA98
Salmonella typhimurium TA1537

Salmonella typhimurium TA100、*Salmonella typhimurium* TA1535、*Salmonella typhimurium* TA98、*Salmonella typhimurium* TA1537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。

Escherichia coli WP2 *uvrA*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、0.5%塩化ナトリウム添加ニュートリエントブロス(Difco)を入れたL字型試験管に種菌を接種し、37℃、10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〕

p-tert-オクチルフェノール(CAS No. 3780-50-5、p-tert-Octylphenol)は、分子量206.33、融点79~82℃、沸点175℃の白色結晶状固体である。純度97%以上のもの(ロット番号:C162、大日本インキ化学工業株式会社製造)を(社)日本化学工業協会から供与された。被験物質は、使用時まで室温で遮光して保存した。p-tert-オクチルフェノールは、ジメチルスルホキシド(ロット番号:DSL 5887、和光純薬工業(株))を用いて50あるいは20 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。

試験の開始に先立って、秦野研究所においてp-tert-オクチルフェノールの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(20 mg/ml)および最低濃度以下の濃度(12.5 µg/ml)について、室温遮光条件下で、実施した。その結果、調製後3時間における各3サンプルの平均含量は、それぞれ初期値(0時間)に対して、101および102%であった。これらの値は当研究所の標準操作手順書の基準(初回の測定平均値の90%以上)を満たしていた。

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、20 mg/ml溶液については、92.6~97.6%、15.6 µg/ml溶液については、103~104%の回収率が得られ