

Nerland & Pierce (Nerland and Pierce 1990)は、雄のSprague-DawleyラットにHQを腹腔内投与した結果、尿中からメルカプツール酸抱合体 [*N*-acetyl-*S*-(2,5-dihydroxyphenol)-L-cysteine]が検出されたことを報告している。 γ -Glutamyltranspeptidase (γ -GTP)阻害剤であるAT-125を前投与したSprague-Dawleyラット (雄)にHQを腹腔内投与した結果、胆汁中から、モノ、ジ及びトリグルタチオン抱合体類やメルカプツール酸抱合体が検出された (Hill et al. 1993)。投与量の4%以上が胆汁中及び尿中からグルタチオン抱合体もしくはメルカプツール酸抱合体として検出されており、毒性の高い1,4-benzoquinone代謝物が相当量形成されたと考えられる。

雄のF344ラットに1.8 mmol/kgの ^{14}C HQを単回強制経口投与した結果、24時間以内に投与量の56%が尿中排泄された (Lau et al. 1996)。尿中から検出された未変化体は投与量の2%未満であり、同定された代謝物は、グルクロン酸抱合体 (21%)、硫酸抱合体 (15%)及びメルカプツール酸抱合体 (13%)であった。1.8 mmol/kgのHQを14日間投与し、15日目に1.8 mmol/kgの ^{14}C HQを単回経口投与した結果、より早い排泄が認められた (24時間尿中排泄量: 77%)。反復投与により、グルクロン酸抱合体及びメルカプツール酸抱合体の生成量がそれぞれ2倍及び1.4倍に増加したが、硫酸抱合体の排泄率に変化はみられなかった。HQを経口投与したF344ラットの胆汁中からはモノ、ジ、トリグルタチオン抱合体が検出された。

Eastman Kodak Companyは、1980年代に、HQの体内動態に関する多くの試験をFischer344ラット及びビーグル犬を用いて行っている (Cosmetic Ingredient Review 2009; English and Deisinger 2005)。経口及び経皮投与試験結果の概要を以下に示す。

Fischer344ラットに5~350 mg/kgの ^{14}C HQを単回強制経口投与した結果、投与後24時間以内に投与量の80%以上が尿中に排泄され、1~5%が糞中に排泄された。尿中からは、主としてグルクロン酸抱合体 (投与量の43~49%)及び硫酸抱合体 (19~36%)が検出された。少量の未変化体 (0.25~3.0%)、メルカプツール酸抱合体 (<4.7%)及び1,4-benzoquinone (<0.9%)も検出された。組織中の放射能濃度は肝臓が最も高く、次いで小腸及び腎臓が高かった。血中放射能濃度は投与後30分以内にピークに達し、その後急速に低下した。血中放射能の低下は二相性であり、平均半減期はそれぞれ14.8及び626分と算出された (50 mg/kg投与群の雄)。50 mg/kg投与群の血中放射能濃度には性差は見られなかったが、350 mg/kg投与群では投与後3時間の雌の血中濃度は雄と比べて約25%高かった。Fischer344ラットに25 mg/kgの非放射性HQを14日間強制経口投与し、15日目に25 mg/kgの ^{14}C HQを強制経口投与した試験では、25 mg/kgの ^{14}C HQを単回強制経口投与した群と概ね同様な結果が得られ、反復投与による尿中排泄量や抱合体生成量の増加は見られなかった。50 mg/kgの ^{14}C HQを単回強制経口投与した雄ラットの血漿限外濾過液からはHQの抱合体、主としてグルクロン酸抱合体が検出された他、HQ未投与動物からは検出されない、電気化学的に活性な物質が少なくとも4種検出された。血漿限外濾過液中の未変化体は血漿限外濾過液中の総放射能の1%未満であった。

Fischer344ラットの背部剃毛部位にリング (外径2.9cm、内径1.6cm、高さ0.3cm)を固定し、

25もしくは150 mg/kgの[U-¹⁴C]HQ (5.4%水溶液)を入れ、24時間閉塞適用した結果、168時間後までに適用量の7.8%から12.8%が尿中に排泄された。チャンパー洗浄液からは、3.8~8.9%が検出された。糞中や経皮曝露部位から検出された放射能はわずかで、2.6~12.8%がカーカス及びその他の組織から回収された。暴露部位 (24時間後)から回収された放射能の平均値は61~71%であったが、個体レベルでは23.1~98.5%とばらつきが大きかった。著者らは、この個体差は、HQ水溶液を皮膚の上に封じ込める際のばらつきを反映しているものだと述べている。この技術的な問題により、Cosmetic Ingredient Review Expert panelは、HQの安全性評価を実施する際の議論の対象からこの経皮試験を除外した (Cosmetic Ingredient Review 2009)。

ビーグル犬 (雄)の胸部を剃毛し、吸収セルを取り付け、4.5 g/Lの[¹⁴C]HQ (生理食塩溶液)を15 mL入れて60分間閉塞暴露させたところ、血中から測定可能な[¹⁴C]HQ (<0.025 µg/mL)は検出されず、尿中排泄量も低かった。雄のビーグル犬に1もしくは10 mg/kgの[U-¹⁴C]HQを静脈内投与した結果、投与4時間後には投与量の7~8%が血中から検出されたが、投与24時間後には血中放射能は投与量の約1%まで低下した。投与後24時間に、明確な吸収、分布及び排出相が認められ、α相及びβ相の平均半減期は、1 mg/kg投与群ではそれぞれ1.3時間及び7.2時間、10 mg/kg投与群では1.0時間及び8.0時間と算出された。投与後24時間の尿中累積排泄量は、1 mg/kg投与群では26%、10 mg/kg投与群では60%であり、ほとんどが投与後4時間以内に排泄された。投与後48時間の糞中排泄量は1 mg/kg投与群では4.6%、10 mg/kg投与群では2.5%であった。1 mg/kg投与群では、投与24時間後に、投与量の10.4%が皮膚から検出され、肝臓からは0.6%、小腸からは0.5%が検出された。これらの経皮投与試験及び静脈内投与試験の48時間排泄データから、平均経皮吸収率はおよそ0.15 nmol/cm²/min (1.1 µg/cm²/h)と算出された。

6名の男性の皮膚 (額、16 cm²)に4種類の2% (w/w) [¹⁴C]HQ溶液 [水: 26.8% (w/w)、アスコルビン酸: 0.2% (w/w)、エタノール: 67.5~71.0% (w/w)] 100 µLを適用し、24時間暴露させた (Bucks et al. 1988)。溶液1及び3には、3.0% (w/w)の日焼け防止剤 [4-(dimethylamino)benzoic acidの2-ethylhexyl ester]を、溶液1及び2には0.5% (w/w)の浸透促進剤 [1-dodecylazacycloheptan-2-one]を添加した (溶液4にはいずれも添加せず)。尿中排泄量 (5日間)からHQの経皮吸収率を算出した結果、それぞれ35 ± 17% (溶液1)、66 ± 13% (溶液2)、26 ± 14% (溶液3)、57 ± 11% (溶液4)となった。

HQを非閉塞塗布した後のバイオアベイラビリティを明らかにするために、14名の健康な男性を対象に3種の試験が行われた (Wester et al. 1998)。最初に、6名の額 (25 cm²)に[¹⁴C]HQクリーム (HQ2.5 mg含有)を塗布し、次の日に洗い流したところ、24時間以内に投与量の37.0±9.8%、4日以内に45.3±11.2%が尿中に排泄された。主要な尿中代謝物は、グルクロン酸抱合体であり、少量の硫酸抱合体と未変化体も検出された。次に、4名の前腕腹側 (1 cm² x 5か所)に[¹⁴C]HQ (HQ0.1 mg含有)を塗布し、0、1、3、6及び24時間後に洗浄 (5回)したところ、それぞれ82.3±8.1%、67.5±25.3%、54.8±18.0%、53.6±17.3%、15.0±4.5%を除去することがで

きた。テープストリップ (10回)を行った結果、それぞれ $1.2\pm 0.4\%$ 、 $5.4\pm 2.5\%$ 、 $8.6\pm 4.5\%$ 、 $15.8\pm 4.2\%$ 、 $6.6\pm 2.1\%$ を除去することができた。最後に、4名の左前腕 (25 cm^2)に $[^{14}\text{C}]$ HQクリーム (HQ2.5 mg含有)を塗布し、0.5、1、4及び8時間後に適用部位から出る静脈及び反対側の腕の同じ部位から血液を採取した結果、4時間後には適用部位と反対側の血中濃度は同じ濃度になった。血漿中濃度は4時間後にピークに達し、8時間後までに $8.0\pm 4.1\%$ が尿中に排泄された。

生理学的薬物動態 (PBPK)モデル

HQに関する最初のPBPKモデルは、雄のSprague-DawleyラットとF344ラットにおける体内動態の違いを調べるために開発された (Corley et al. 2000)。このモデルでは、腎臓影響に最も密接に関連している用量尺度として、グルタチオン経路を介したすべてのHQの流れをシミュレートした。結果から、F344ラットはSDラットよりも多くのグルタチオン代謝物を生成することが示唆された。その後、Poetら (2004)(Poet et al. 2004)は、F344ラット及びヒトの肝細胞を用いた*in vitro*代謝試験を行い、グルタチオン抱合経路に含まれる多くのステップについて算出した速度定数を用いてモデルの最適化を行った。さらに、最近、Poetら (2010)(Poet et al. 2010)は、投与経路-経路及び動物種間外挿を可能にするために、HQのグルクロン酸抱合体に関する記述を拡張し、経皮曝露に関する記述を追加して、HQのPBPKモデルの改良を行っている。ラットの皮膚透過係数は、*in vivo*経皮曝露試験における代謝物の尿中総排泄量から求め、この値とヒト及びラットの*in vitro*皮膚透過試験のデータを用いてヒトの皮膚透過係数を算出した。このモデルにより、ヒトが5%HQ水溶液に両手を2時間浸した後の多置換グルタチオン抱合体類の血中濃度-時間曲線下面積 (AUC)はNOEL相当量 (20 mg/kg)のHQを経口投与したラットよりも桁違いに低い (およそ10万分の1)と予測された。

2. 反復投与毒性

経口投与試験

F344/Nラット及びB6C3F₁マウスに25、50、100、200もしくは400 mg/kgのHQを13週間 (5日/週)強制経口投与した (Kari et al. 1992; NTP 1989)。ラットでは200 mg/kg以上の投与群で嗜眠、振戦や痙攣が観察され、400 mg/kg投与群のすべての動物と200 mg/kg投与群の雌3/10例が死亡した。剖検時には、50 mg/kg以上の投与群の雄の体重が低値を示した。すべての投与群の雄の肝重量が低下し、雌では50 mg/kg以上の投与群の肝重量が増加した。200 mg/kg投与群では前胃の炎症や上皮過形成が認められ、100 mg/kg以上の投与群では腎皮質の尿細管細胞変性を特徴とした中毒性腎症が観察された。マウスでは、すべてのHQ投与群の雄及び100 mg/kg以上の投与群の雌に嗜眠が観察され、200 mg/kg以上の投与群では振戦、400 mg/kg投与群では痙攣も観察された。投与期間終了時までには400 mg/kg投与群の雄8/10例及び雌8/10例と200 mg/kg投与群の雄2/10例が死亡した。すべての投与群の雄及び200 mg/kg以上の投与群の雌の相対肝重量が高値を示し、200 mg/kg以上の投与群では、前胃に潰瘍、炎症および

上皮過形成が観察された。

F344/Nラットに25もしくは50 mg/kgのHQを103週間 (5日/週)強制経口投与した結果、両投与群の雄の体重が低値を示し、50 mg/kg投与群の雄では腎臓及び肝臓の相対重量が高値を示した (Kari et al. 1992; NTP 1989)。病理組織学検査の結果、対照群を含むすべての群で、尿細管上皮の変性及び再生、一部の尿細管の萎縮や拡張、尿細管基底膜内の硝子円柱、糸球体硬化症、間質の線維化、慢性炎症を特徴とする腎症が観察され、50 mg/kg投与群の雄で観察された腎症は、対照群と比較してより重篤であった。雄では、進行性の腎疾患で観察される、腎盂の移行上皮の過形成や腎皮質の嚢胞が増加し、高用量群の2/55例に尿細管過形成が観察された (腫瘍性病変については「4. 発がん性」参照)。

B6C3F₁マウスに50もしくは100 mg/kgのHQを103週間(5日/週)強制経口投与した結果、両投与群の雄及び高用量群の雌の相対肝重量が増加した (Kari et al. 1992; NTP 1989)。雄の肝臓では、核の大小不同 (対照群: 0/55, 50 mg/kg投与群: 2/54, 100 mg/kg投与群: 12/55)、合体体変性 (5/55, 3/54, 25/55)や好塩基性病巣 (2/55, 5/54, 11/55)が観察された。雌雄ともに、甲状腺では濾胞細胞過形成の増加 (雄: 5/55, 15/53, 19/54, 雌: 13/55, 47/55, 45/55)が認められた。(腫瘍性病変は「4. 発がん性」参照)

F344ラット及びB6C3F₁マウスに0.8%のHQをそれぞれ104週間及び96週間混餌投与した結果、雌雄のラット及び雌マウスに体重増加抑制が見られた (Shibata et al. 1991)。ラットでは、相対腎重量が増加し、雄では相対肝重量の増加もみられた。雌雄ともに慢性腎症の重篤度が増加したがその発現頻度や重篤度は雄の方がより顕著であった。雄では腎乳頭の上皮過形成 (対照群: 2/30, HQ投与群: 11/30)や尿細管過形成 (1/30, 30/30)の発現頻度も増加した。マウスでは、肝臓及び腎臓の相対重量が増加した。雄では、尿細管過形成 (対照群: 0/28, HQ投与群: 9/30)の発現頻度が増加し、肝臓では、小葉中心性肝細胞肥大 (0/28, 26/30)及び変異細胞巣 (4/28, 14/30)が増加した。雌雄ともに、前胃の扁平細胞過形成 (雄: 1/28, 11/30, 雌: 3/29, 14/30)が増加した。HQの平均摂取量は、雄ラットでは351 mg/kg/day、雌ラットでは368 mg/kg/day、雄マウスでは1046 mg/kg/day、雌マウスでは1486 mg/kg/dayと算出された。(腫瘍性病変は「4. 発がん性」参照)

Sprague-Dawleyラットに20、64及び200 mg/kg/dayのHQを13週間 (5日/週)強制経口投与し、神経行動及び腎臓への影響を調べた結果、64及び200 mg/kg投与群において振戦と活動低下が認められNOAELは20 mg/kg/dayであった (Topping et al. 2007)。機能観察バッテリー (FOB)では、200 mg/kg投与群において、ホームケージ内の活動性の低下、ホームケージから取り出す際の活動性低下、自発運動量の低下が認められた。脳神経系及び腎臓にHQ投与に関連した病理組織学的変化は観察されなかった。

雄のFischer 344ラットに2.5、25もしくは50 mg/kgのHQを6週間 (1回/1日、5日/週)強制経口投与したところ、高用量群では、alanine aminopeptidase、N-acetylglucosaminidase、alkaline phosphatase、 γ -GTP及び糖の尿中排出量が増加した (English et al. 1994b)。腎臓では尿細管の変性/再生性病巣や間質性炎症が増加し、近位尿細管の増殖細胞 [Bromodeoxyuridine (BrdU)

標識]の割合が増加した。同じ方法で投与を行ったF344ラットの雌及びSprague-Dawleyラットの雄の腎臓の病理所見やBrdU標識率に影響は見られなかった。

雄のFischer 344ラットに0.8%のHQを8週間混餌投与した投与した結果、前胃の上皮に過形成やDNA合成 (BrdU標識率)の誘導は認められなかった (Shibata et al. 1990)。幽門粘膜に、細胞増殖、DNA合成の増加やpepsinogen-isozyme-1変異腫瘍性病巣の増加は観察されなかった。Syrian goldenハムスターに0.5%のHQを20週間混餌投与した試験でも、前胃の過形成や乳頭腫様の変化は引き起こされなかった (Hirose et al. 1986)。

経皮投与試験

F344/Nラット及びB6C3F₁マウスにそれぞれ240~3840 mg/kg及び300~4800 mg/kgのHQ (溶媒: 95%エタノール)を14日に渡って12回経皮適用 (肩甲部分の剃毛部位)した (NTP 1989)。高用量群では、15~30分間隔で二回に分けて適用した。その結果、死亡は認められず、体重増加量にも有意な変化は見られなかった。ラット及びマウス共に、最高用量群では、皮膚及び毛に結晶 (crystal)が観察された。

F344ラットの背部 (4 x 6 cm)に2、3.5及び5%のHQ (水中油型エマルジョンクリーム)を13週間 (6時間/日、5日/週)閉塞適用した結果、濃度依存的な紅斑が観察された (David et al. 1998)。適用部位では皮膚の褐変、褐色斑や鱗状皮膚が観察され、高濃度群で発現頻度が増加したが、外因性組織褐変症は観察されなかった。尿検査では、5%投与群の雌の浸透圧が高値を示したが、BUNやクレアチニンレベルに変化はなかった。5%投与群の雄では、血清中タンパク、ALT及びSDH活性が軽度増加した。3.5及び5%投与群の雌の腎臓では、内帯/外帯の遠位尿細管の細胞のBrdU標識率が軽度増加したが、雄ではこのような変化は見られなかった。投与に関連した病理組織学的変化は観察されなかった。2、3.5及び5%投与群の平均適用量は、雄では29.5、51.9及び73.9 mg/kg/day、雌では43.8、77.0及び109.6 mg/kg/dayと算出された。

3. 遺伝毒性

HQの遺伝毒性に関する*in vitro*試験の結果を表1に示す。HQは、変異原性試験で一般的に使用されている*Salmonella typhimurium*菌株にSOS反応や突然変異の増加を引き起こさなかった。しかし、酸化的変異原物質に感受性の高いTA104株には変異原性を示した。TA104で認められた変異原性は、superoxide dismutase (SOD)及びcatalaseによりほぼ完全に阻害されたことから、活性酸素種の関与が示唆された (Hakura et al. 1996)。

表1. Hydroquinone (HQ)の*in vitro*遺伝毒性

試験系	結果 ^a	濃度 ^b	参考文献
遺伝子突然変異試験			
<i>Salmonella typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537	-/-	333	(Haworth et al. 1983)
<i>Salmonella typhimurium</i> TA97, TA98, TA100	-/-	125	(Sakai et al. 1985)
<i>Salmonella typhimurium</i> TA100, TA98, TA2637, TA102, TA104	+/- (TA104) -/- (その他の株)	NG	(Hakura et al. 1996)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> MP1	+/NT	1320	(Fahrig 1984)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> YAS3001, AYU9100, AYU9200, NUN1100, RD301, AYU402, TAK2001 (canavanine抵抗性)	-/NT	5506	(Shiga et al. 2012)
マウスリンパ腫L5178Y細胞 (<i>tk</i> 遺伝子)	+/NT	2.5	(McGregor et al. 1988a; McGregor et al. 1988b)
シリアンハムスター胚細胞 (<i>hprt</i> 遺伝子)	+/NT	1.1	(Tsutsui et al. 1997)
シリアンハムスター胚細胞 (ouabain抵抗性)	+/NT	1.1	(Tsutsui et al. 1997)
染色体異常試験			
シリアンハムスター胚細胞	+/NT	3.3	(Tsutsui et al. 1997)
チャイニーズハムスター卵巣 (CHO)細胞	-/+	450	(Galloway et al. 1987)
チャイニーズハムスター肺由来細胞 (V79)	+/? ^c	8.81	(do Ceu Silva et al. 2003)
チャイニーズハムスター細胞 (DON:Wg3h, LUC2) (異数性)	+/NT (DON:Wg3h) -/NT (LUC2)	10 5	(Warr et al. 1993)
ヒトリンパ球 (FISH)	+/NT	11	(Eastmond et al. 1994)
ヒトリンパ球 (多色FISH)	+/NT	8.3	(Eastmond et al. 1994)
ヒトリンパ芽球細胞 (TK6)	+/NT	1.1	(Ji et al. 2009)
ヒトリンパ芽球細胞 (TK6) (FISH)	+/NT	NG	(Ji et al. 2010)
小核試験			
チャイニーズハムスター胎仔肺細胞 (CL-1)	+/NT	1	(Antoccia et al. 1991)
チャイニーズハムスター肺由来細胞 (V79)	(+)/NT	31.6	(Seelbach et al. 1993)
チャイニーズハムスター肺由来細胞 (V79)	- ^d /NT	15.4	(Dobo and Eastmond 1994)
チャイニーズハムスター肺由来細胞 (V79, XEM2, SD1)	+/NT	2.8	(Ellard and Parry 1993)
ヒトリンパ球	+/NT	2.8	(Yager et al. 1990)
ヒトリンパ球	+/NT	8.2	(Robertson et al. 1991)
ヒトリンパ球	??	1	(Van Hummelen and Kirsch-Volders 1992)
ヒトリンパ球	(+) ^e /NT	20	(Ferguson et al. 1993)
ヒトリンパ球	-/+	50	(Vian et al. 1995)
ヒトリンパ球	- / NT	50	(Andreoli et al. 1999)
ヒトリンパ球	+ / NT	4.4	(Silva Mdo et al. 2004)
ヒトリンパ球	+ / NT	5.5	(Peng et al. 2012)
ヒト肝がん由来HepG2細胞	+ / NT	1.38	(Luo et al. 2008)
姉妹染色分体交換試験			
チャイニーズハムスター卵巣 (CHO)細胞	+/+	0.5	(Galloway et al. 1987)
シリアンハムスター胚細胞	+/NT	0.11	(Tsutsui et al. 1997)

試験系	結果 ^a	濃度 ^b	参考文献
ヒトリンパ球	+/NT	4.4	(Morimoto and Wolff 1980)
ヒトリンパ球	+/+	110	(Morimoto et al. 1983)
ヒトリンパ球	+/NT	6	(Erexson et al. 1985)
ヒトリンパ球	?/NT	4.4	(Knadle 1985)
ヒトリンパ球	+/NT	8.81	(Silva Mdo et al. 2004)
DNA鎖切断試験			
マウスリンパ種細胞 (LY-S) (アルカリ溶出法)	-/NT	11	(Pellack-Walker and Blumer 1986)
ラット肝細胞 (アルカリ溶出法)	+/NT	33	(Walles 1992)
ヒトリンパ球 (コメットアッセイ)	+ / NT	1.0	(Andreoli et al. 1999)
ヒト白血球 (全血サンプルにHQを添加, コメットアッセイ)	-/NT	500	(Andreoli et al. 1999)
ヒトリンパ球 (コメットアッセイ)	?/+	11	(Anderson et al. 1995)
ヒトリンパ球 (コメットアッセイ)	+/NT	16.5	(Peng et al. 2012)
ヒト肝がん由来HepG2細胞 (コメットアッセイ)	+ / NT	0.69	(Luo et al. 2008)
ヒト前骨髄性白血病細胞 (HL-60) (パルスフィールド電気泳動法)	+ / NT	1.1	(Hiraku and Kawanishi 1996)
その他の試験			
<i>Salmonella typhimurium</i> TA1535/pSK1002 [SOS試験 (<i>umu</i>)]	-/-	3300	(Nakamura et al. 1987)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> MP1 (遺伝子変換)	+/NT	1320	(Fahrig 1984)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> MP1 (有糸分裂組み換えによるホモ接合もしくは遺伝子変換)	-/NT	1320	(Fahrig 1984)
シリアンハムスター胚細胞 (細胞形質転換、クロームアッセイ)	+/NT	0.33	(Tsutsui et al. 1997)

+: 陽性, (+): 弱陽性, -: 陰性, ?: 判定できない, NT: 未実施, NG: 不明

FISH: 蛍光*in-situ*ハイブリダイゼーション

a: 代謝活性化系非存在下 / 代謝活性化系存在下

b: 最低影響濃度もしくは最高無影響濃度 (µg/mL)

c: 代謝活性化系の非存在下では、HQの染色体異常誘発性はpHに依存していた。つまり、pHが7.4及び8.0では染色体異常が引き起こされたが、pH6.0では引き起こされなかった。S9 mixの添加により、HQの染色体異常誘発性は有意に減少した (pH 7.4)。

d: Arachidonic acid添加条件下では小核細胞は増加した。

e: 核に対する小核サイズの比の有意な変化は見られなかった。

哺乳類培養細胞を用いた試験では、遺伝子突然変異、染色体異常、小核、姉妹染色分体交換やDNA鎖切断が引き起こされたことが報告されている。チャイニーズハムスターの肺細胞 (V79)を用いた試験では、SODやS9mix添加によるHQの染色体異常誘発能の低下が認められた (do Ceu Silva et al. 2003)。チャイニーズハムスターの胎児の肺細胞を用いた小核試験では、陽性結果が得られたが、染色体消失を示すCREST陽性小核の増加は見られなかった。V79細胞を用いた小核試験では、2つの陽性結果と、1つの陰性結果が得られた。Dobo & Eastmond (Dobo and Eastmond 1994)らによる試験では、arachidonic acidの存在下のみで、CREST陰性小核 (染色体切断を示す)とCREST陽性小核、両方が増加した。Catalaseは、HQによるCREST陰性小核の形成を阻害し、グルタチオンはHQによるCREST陽性及び陰性小核の形成両方を阻害した。シリアンハムスターの胚細胞を用いた細胞形質転換試験では、陽性結果が得られた。

ヒトの細胞を用いた *in vitro* 試験では、染色体異常、小核、姉妹染色分体交換及びDNA鎖切断が引き起こされた。ヒトのリンパ芽球 TK6 細胞を用いた試験では、染色体の構造及び数的異常に加え、DNAの低メチル化も引き起こされた (Ji et al. 2010; Liu et al. 2012)。HepG2 細胞を用いた小核試験では、HQ暴露による 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG)及び活性化酸素種の増加とグルタチオンの減少が認められた (Luo et al. 2008)。Silva ら (Silva Mdo et al. 2004)は、ヒトリンパ球におけるHQの遺伝毒性と glutathione S-transferases (GSTs)多型との関連性を調査し、GSTM1を欠損しているヒトの小核形成頻度は、欠損していないヒトと比べて高いことを示した。一方、姉妹染色分体交換頻度とGSTs多型との間には関連性は見られなかった。

*In vivo*遺伝毒性試験の結果を表2に示す。マウスを用いた複数の試験で、骨髄に小核及び染色体異常が引き起こされており、そのうち一つの試験では姉妹染色分体交換が引き起こされなかったことが報告された。HQを投与したマウスの骨髄では、高倍数体及び染色体消失 (動原体陽性小核)が認められたが、倍数体はみつからなかった。マウスの脾細胞では小核が観察され、精母細胞や精原細胞では染色体異常及び高倍数体が観察された。マウスのスポットテストやラットを用いた優勢致死試験では陰性結果が得られており、*Drosophila melanogaster*では、伴性劣性致死突然変異を引き起こされなかった。

表2. Hydroquinone (HQ)の*in vivo*遺伝毒性

試験系	結果	投与量 ^a	参考文献
染色体異常試験			
Swiss CD-1マウス (骨髄)	+	80 (ip x 1)	(Marrazzini et al. 1994a)
CD-1マウス (骨髄) (多色FISH)	+	60 (ip x 3)	(Chen and Eastmond 1995)
(102/E1 x C3H/E1)F ₁ マウス (骨髄)	+	75 (ip x 1)	(Xu and Adler 1990)
(102/E1 x C3H/E1)F ₁ マウス (精母細胞)	+	40 (ip x 1)	(Ciranni and Adler 1991)
(102/E1 x C3H/E1)F ₁ マウス (精原細胞)	+	40 (ip x 1)	(Ciranni and Adler 1991)
(C57BL/Cnc x C3H/Cnc)F ₁ マウス (骨髄, 異数性)	+	80 (ip x 1)	(Pacchierotti et al. 1991)
(C57BL/Cnc x C3H/Cnc)F ₁ マウス (精母細胞, 異数性)	+	80 (ip x 1)	(Leopardi et al. 1993)
小核試験			
(101/E1 x C3H/E1)F ₁ マウス (骨髄)	+	50 (ip x 1)	(Adler and Kliesch 1990)
(101/E1 x C3H/E1)F ₁ マウス (骨髄)	+	15 (ip x 3)	(Adler and Kliesch 1990)
(102/E1 x C3H/E1)F ₁ マウス (骨髄)	+	50 (ip x 1)	(Adler et al. 1991)
(102/E1 x C3H/E1)F ₁ マウス (骨髄)	+	100 (ip x 1)	(Miller et al. 1991)
(C57BL/Cnc x C3H/Cnc)F ₁ マウス (骨髄)	+	40 (ip x 1)	(Pacchierotti et al. 1991)
NMRI マウス (骨髄)	+	50 (sc x 6)	(Tunek et al. 1982)
Swiss CD-1 マウス (骨髄)	+	80 (ip x 1)	(Ciranni et al. 1988)
Swiss CD-1 マウス (骨髄)	(+)	80 (po x 1)	(Ciranni et al. 1988)
Swiss CD-1 マウス (骨髄)	(+)	60 (ip x 1)	(Barale et al. 1990)
Swiss CD-1 マウス (骨髄)	+	20 (ip x 1)	(Marrazzini et al. 1994b)
Swiss CD-1 マウス (骨髄)	+	80 (ip x 1)	(Marrazzini et al. 1994a)
CD-1 マウス (骨髄)	+	60 (ip x 3)	(Chen and Eastmond 1995)
Male Swiss albino マウス (骨髄)	+	6.25 (ip x 1)	(Jagetia and Aruna 1997)
Male Swiss albino マウス (脾細胞)	+	0.5 (ip x 6)	(Jagetia et al. 2001)
姉妹染色分体交換試験			
(C57BL/Cnc x C3H/Cnc)F ₁ マウス (骨髄)	-	120 (ip x 1)	(Pacchierotti et al. 1991)
優性致死試験			
ラット	-	300 (po x 10週)	(DeCaprio 1999)
マウススポット試験			
C57BL/6JHan マウス	-	110 (ip, 妊娠10日)	(Gocke et al. 1983)
伴性劣性致死試験			
<i>Drosophila melanogaster</i>	?	28000 ppm (feed)	(Foureman et al. 1994)
<i>Drosophila melanogaster</i>	-	1500 ppm (inj x 1)	(Foureman et al. 1994)

+: 陽性, (+): 弱陽性, -: 陰性, ?: 判定できない

a: 最低影響量もしくは最高無影響量 (mg/kg/day)

inj: 注射, ip: 腹腔内投与, sc: 皮下投与

FISH: 蛍光*in-situ*ハイブリダイゼーション

HQは、*in vitro*試験において、ラットのZymbal腺、マウスの骨髄、ヒトの骨髄細胞や骨髄性白血病細胞 (HL-60)のDNAに結合することが報告されている (Levay and Bodell 1996; Levay et al. 1991; Levay et al. 1993; Pathak et al. 1995; Reddy et al. 1990)。HL-60細胞では、過酸化水素やcumene hydroperoxideの添加によりDNA付加体形成が増加した。Peroxidase欠損型のリンパ芽球細胞株であるU-937及びRaji細胞ではDNA付加体は形成されなかった。仔牛の胸腺のDNAやシステインへの結合も認められており、この作用は酸化 (prostaglandin H synthetaseもしくはcumene hydroperoxide)により促進され、インドメタシンにより阻害された (Kalf et al. 1990; Schlosser et al. 1990)。一方で、ラットに経口投与した*in vivo*試験では、Zymbal腺、肝臓、脾臓や腎臓のDNAへの結合は認められなかった (English et al. 1994a; Reddy et al. 1990)。

4. 発がん性

国際がん研究機関 (IARC)では、実験動物ではHQの発がん性に関する限られた証拠があるものの、ヒトにおけるHQの発がん性に関する証拠は不十分であることから、HQをグループ3 (人に対して発がん性があるとは判断できない)に分類している (IARC 1999)。

NTPによって実施された上述の103週間試験では、肝臓、腎臓及び造血系に腫瘍性変化が観察された (Kari et al. 1992; NTP 1989)。F344/Nラット [25もしくは50 mg/kgのHQを強制経口投与 (5日/週)]では、低用量の雄4/55例及び高用量群の雄8/55例に尿細管腺腫が観察され、雌では単核球性白血病の発現頻度が増加した (対照群: 9/55、低用量群: 15/55、高用量群: 22/55)。著者らは、対照群で観察された白血病の発現頻度 (16%)が、ヒストリカルコントロール [溶媒 (水)対照群(強制経口投与) : 25%±15%]と比較して低かったと述べている。Hardら (Hard et al. 1997)は、雄ラットの腎臓の病理所見を再解析した結果、重篤な慢性進行性腎症の領域で異型尿細管過形成 (対照群: 0/44、低用量群: 2/49、高用量群: 11/51)及び腺腫 (0/44、3/49、7/51)が観察されたと報告している。さらに、慢性進行性腎症の領域には新たな尿細管の増殖と考えられる所見が見られ、通常は認められない複雑な尿細管への発展も認められた。

B6C3F₁マウス [50もしくは100 mg/kg/dayを強制経口投与 (5日/週)]の雌では、両投与群で肝細胞腫瘍 (主に腺腫)の発現頻度が増加し (3/55, 16/55, 13/55)し、甲状腺の濾胞細胞腫瘍も軽度が増加した (3/55, 5/55, 7/55、高用量群の1/55例のみ濾胞細胞がん、他は濾胞細胞腺腫)。雄マウスでは、肝細胞腺腫が増加した (9/55, 21/54, 20/55)が、肝細胞癌が減少した (13/55, 11/54, 7/55)ため、肝細胞腫瘍 (肝細胞腺腫もしくは肝細胞癌)の発現頻度に有意な変化は見られなかった。

F344ラット及びB6C3F₁マウスに0.8%のHQをそれぞれ104週及び96週間混餌投与した試験では、雄ラット3/30例に腎細胞腺腫が観察された (Shibata et al. 1991)。雄マウスでは、肝細胞腺腫 (対照群: 6/28, HQ投与群: 14/30)が増加した。

イニシエーター・プロモーター作用

雄のマウス (albino, 'S' strain)の皮膚に6.7%のHQ (アセトン溶液)を単回適用し、3週間後から0.5%のクロトン油 (アセトン溶液, 0.3 mL) 0.3 mLを18週間 (1回/週)適用した試験では、皮膚がんのイニシエーター作用は認められなかった (Roe and Salaman 1955)。

0.1%の*N*-nitroso-bis(2-hydroxypropyl)amineを2週間飲水投与した雄のFischer 344/Du Crjラットに0.8%のHQを30週間混餌投与した結果、イニシエーター単独投与群では、甲状腺、肺、膀胱及び腎臓の腫瘍が低頻度で観察されたが、HQ投与による発現頻度の増加は認められなかった (Hasegawa et al. 1990)。HQ単独投与群では、肺及び甲状腺に腫瘍は引き起こされなかった。

雄のFischer 344ラットに25 mg/kgの*N*-nitrosomethyl-*n*-amylamineを6回腹腔内投与して上部消化管発がんをイニシエートし、1週間後から0.8%のHQを49週間混餌投与した結果、4/12例に食道がんが観察され (イニシエーター単独投与群: 0/11)、その数は0 (イニシエーター単独群)から0.33 腫瘍/ラットに増加した (Yamaguchi et al. 1989)。

雄のFischer 344ラットに150 mg/kgの*N*-methyl-*N*-nitro-*N*-nitrosoguanidineを強制経口投与して前胃発がんをイニシエートし、1週間後から0.8%のHQを51週間混餌投与した (Hirose et al. 1989)。HQ単独投与群では前胃の病変は引き起こされず、イニシエーターの投与による前胃もしくは腺胃病変の増加はみられなかった。

雄のSprague-Dawleyラットの肝臓を部分的に切除し、300 mg/kgの*N*-nitrosodiethylamineを腹腔内投与して肝発癌をイニシエートした (Stenius et al. 1989)。1週間後から100もしくは200 mg/kgのHQを6週間混餌投与した結果、 γ -GTP陽性病巣の数が低用量群では0.08/cm²から0.68/cm²に、高用量群では0.34/cm²に増加した。HQ単独投与群では γ -GTP陽性病巣は引き起こされなかった。次に、同様にラットに肝発癌をイニシエートし、1 mg/kgのHQを7週間 (5日/週)強制経口投与した結果、HQ投与による γ -GTP陽性病巣の増加は見られなかったが、その平均面積は 1.00×10^{-4} cm²から 1.30×10^{-4} cm²に、体積は、 1.49×10^{-4} cm³から 3.12×10^{-4} cm³に増加した。

雄のFischer 344ラットに0.05%の*N*-nitrosobutyl-*N*-(4-hydroxybutyl)amineを2週間飲水投与し、1週間後に尿管結紮して膀胱発がんをイニシエートした (Miyata et al. 1985)。0.2%のHQを22週間混餌投与し、24週目に剖検した結果、HQ投与による膀胱病変の増加は認められなかった。

0.05%の*N*-nitrosobutyl-*N*-(4-hydroxybutyl)amineを4週間飲水投与し、膀胱発がんをイニシエートした雄のFischer 344に0.8%のHQを36週間混餌投与した (Kurata et al. 1990)。イニシエーター単独投与群では膀胱腫瘍が観察されたが、HQ投与による発現頻度の増加は認められなかった。HQ単独投与群では、膀胱がんの増加は認められなかった。

雄のWistar/Crjラットに、0.1%の*N*-nitrosoethyl-*N*-hydroxyethylamineを3週間飲水投与して肝臓及び腎臓の発がんをイニシエートした (Okazaki et al. 1993)。1週間後から0.8%のHQを36週間混餌投与した結果、腎臓では、腎細胞腫瘍が2.58/ラット

(*N*-nitrosoethyl-*N*-hydroxyethylamine単独投与群)から5.22/ラットに増加し、微小腺腫も0.94/ラットから2.77/ラットに増加した。HQ単独投与群では、肝臓及び腎臓に前がん性及び腫瘍性病変は引き起こされなかった。

70 mg/kgの*N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amineを2回皮下投与して膵臓発がんをイニシエートした雌のSyrian goldenハムスターに1.5%のHQを16週間混餌投与した結果、膵臓病変が減少した (Maruyama et al. 1991)。HQ単独投与群では、膵臓及び肝臓の腫瘍性病変は引き起こされなかった。

腎腫瘍発生メカニズム

雄のF344ラットで観察された尿細管細胞腫瘍の発生メカニズムは明確にはなっていないものの、HQもしくはその代謝物が腎臓に作用して、慢性進行性腎症を悪化させた結果、腫瘍性病変が生じた可能性が考えられている (Cosmetic Ingredient Review 2009)。

HQは数種のグルタチオン抱合体に代謝される。Lauら (Lau et al. 1988)は、種々のグルタチオン抱合体をSprague-Dawleyラット (雄)に静脈内投与した結果、近位尿細管細胞の壊死が観察され、中でも2,3,5-tris(glutathione-S-yl)HQ (TGHQ)の腎毒性が最も強かったことを報告している。F344ラットに7.5 $\mu\text{mol/kg}$ のTGHQを静脈内投与した結果、血中及び尿中の腎臓損傷マーカーや腎臓の細胞増殖率 (BrU取り込み)が増加した (Lau et al. 1996)。病理組織学的検査の結果、TGHQはHQと同様に近位尿細管細胞に選択的に毒性影響を及ぼすことが明らかになった。結節性硬化症2 (Tsc-2)腫瘍抑制遺伝子に胚性突然変異をもつため、腎臓腫瘍発生に高い感受性を示すEkerラット (雄)に2.5 $\mu\text{mol/kg}$ のTGHQを4か月間腹腔内投与した結果、腎臓のBrdU取り込み量が増加し、拡張尿細管周囲の線維化を特徴とする前癌病変が観察された (Lau et al. 2001)。続けて3.5 $\mu\text{mol/kg}$ のTGHQを6か月間投与した結果、好塩基性異形成、腺腫、腎細胞がんが増加した。腎細胞腫瘍の多くは、TGHQによる急性腎障害の領域に観察され、前癌病変部位に野生型Tsc-2遺伝子の欠損が認められた。

HQのグルタチオン代謝物は近位尿細管で再吸収され、 γ -glutamyl transferase [もしくは γ -glutamyl transpeptidase (γ -GTP)]により代謝される可能性がある。その代謝物は、活性酸素種を生成するか、細胞内標的 (タンパクやDNA)に共有結合するかもしれない。実際に、200 mg/kgのHQを単回経口投与したSprague-Dawleyラット(雄)では、malonaldehydeの尿中排泄量が3倍に増加したこと (Stenius et al. 1989)、また、11 mg/kgのHQを単回腹腔内投与したSprague-Dawleyラット(雄)では8-hydroxyguanineの尿中排泄量が増加したこと (Suzuki et al. 1995)が報告されている。一方、HQを投与したF344ラットの腎臓では、DNA付加体 (^{32}P ポストラベル法)は観察されておらず (English et al. 1994a)、DNAはHQの標的分子ではないと示唆される。F344ラットにHQを強制経口投与もしくは腹腔内投与した試験では、血液、肝臓、腎臓等のタンパクへの結合が認められたものの、腎臓のタンパク付加体レベルは雄より雌の方が高かった (Boatman et al. 2000a, b)。

慢性進行性腎症は、F344ラットやSprague-Dawleyラットを含む数種のラットで、加齢に

伴って起きる自然発生の腎臓障害である (Hard et al. 1997; McGregor 2007)。通常は、雌よりも雄ラットで起こりやすく、その発症頻度や重篤度は去勢、ホルモン状態、カロリー摂取量により影響を受けることが示されており、タンパクの過剰摂取が原因因子であると考えられている (Haschek and Rousseaux 1998; Seely et al. 2002)。HQの発がん性への慢性進行性腎症の影響は不明であるが、慢性進行性腎症の重篤度と腫瘍反応率の増加には関連性があるようである (Seely et al. 2002)。腎毒性性のグルタチオン抱合体に関連した細胞増殖の増加は、酸化的DNA損傷に対する細胞の感受性を高め、その後、腫瘍形成イニシエーションやプロモーションを引き起こす可能性がある。

これに対して、CIRレビュー(Cosmetic Ingredient Review 2009)では、ラットで観察される慢性進行性腎症は、ヒトでは対応する過程が無いことからヒトへの外挿性には疑問があり、さらに、NTP試験において慢性進行性腎症と尿細管細胞腫瘍の間に正の相関関係が認められたとしても、重篤な慢性進行性腎症であるにもかかわらず尿細管細胞腫瘍を発生しない動物が多くいることから、ラットにおける慢性進行性腎症の存在及び重篤度のみでは尿細管細胞腫瘍を完全に説明出来ない。従って、同様のメカニズムによる腎臓腫瘍がヒトで発現する可能性は低いと考えられると結論している。

5. 生殖発生毒性

CD Sprague-Dawleyラットに15～150 mg/kg/dayのHQを経口投与した2世代生殖毒性試験では、生殖パラメータ、児の体重、生存率、性比、病理検査の結果に、有害影響は見られなかった (Blacker et al. 1993)。

雄マウスに最高300 mg/kg/dayのHQを10週間 (5日/週)経口投与し、未投与雌マウスと交配させた優勢致死試験では、妊娠率、着床、児の生存率やその他の生殖パラメータに投与に関連した影響は観察されなかった (DeCaprio 1999)。

SDラットの妊娠6から19日にHQ (~810 mg/kg/day)を経皮投与した結果、催奇形性影響は観察されなかった (DeCaprio 1999)。

COBS-CD-(SD)BRラットの妊娠6日から15日に30、100もしくは300 mg/kg/dayのHQを強制経口投与した発生毒性試験では、高用量群で、母体重増加量及び胎児重量が軽度に低下した (Krasavage et al. 1992)。椎骨変異を持つ胎児の数が増加したが、個々の椎骨変異の発現頻度に有意な変化は見られなかった。その他に奇形や変異は引き起こされなかった。

New Zealand whiteウサギの妊娠6から18日に0,25,75,150 mg/kg/dayのHQを強制経口投与した結果、75 mg/kg/day 以上で母動物摂餌量の減少、150 mg/kg/day投与群で母体重増加量が減少した (Murphy et al. 1992)。150 mg/kg/day投与群では、軽微な骨格奇形 [椎骨/肋骨欠損、角張った舌弓(angulated hyoid arch)]及び小眼球症が増加したが、その発現頻度に統計学的に有意な差は認められなかった。NOAEL (報告ではNOELとされている) は母動物で25mg/kg/day, 発生毒性で75mg/kg/dayであった。

妊娠11日目のSprague-Dawleyラットに100、300、667もしくは1000 mg/kgのHQを強制経口

投与し出産させたところ、667及び1000 mg/kg投与群ではリッター重量の低下及び周産期死亡の増加が観察され、さらに、1000 mg/kg投与群ではリッターサイズが低下した (Kavlock 1990)。667及び1000 mg/kg投与群では母体重増加量の低下が認められた。

その他に、1950年代から1960年代に行われた試験では、比較的高用量のHQを投与したラットにおいて、性周期障害 (200 mg/kg/dayを14日間経口投与、10 mg/kg/dayを11日間皮下投与)、精子形成障害及び妊娠率の低下 (100 mg/kg/dayを51日間皮下投与)、胎児吸収率の増加 (500 mgを混餌投与)が認められたことが報告されている (DeCaprio 1999)。

6. ヒトの健康への影響

HQのもっともよく知られている用途の一つに写真現像があり、写真処理業者は過去にたびたびHQに暴露されていた可能性がある。写真処理業者の発がんリスクを調べた研究がいくつかあるが、ここでは、対象とする労働者がHQに実際に暴露されたことを示す情報がある報告のみを示す。

数十年にわたりHQが生成・使用されたテネシー (米国)の工場の879人の労働者を対象としたコホート死亡率研究が行われた (Pifer et al. 1995)。職歴簿を広範な産業衛生データに関連付け、HQへの累積曝露量を算出した。HQダストの平均濃度は $0.1\sim 6.0\text{ mg/m}^3$ で、工場の操業期間中はほとんど 2 mg/m^3 を超えていた。平均雇用期間は13.7年で、最初の曝露からの平均追跡期間は26.8年であった。テネシーの一般住民及びHQに暴露されていない職業集団 (同じ会社のニューヨーク州の工場)との比較により、このコホートに関する相対危険度 [標準化死亡比 (SMRs)]が算出された。すべての死因を含めた場合のSMR ($n = 168$)及びすべての癌に関するSMR ($n = 33$)は100より有意に低かった。腫瘍発生部位特異的なSMRのほとんどは100をはるかに下回っていたが、観察値が3を超えたのは、結腸 ($n = 5$)及び肺 ($n = 14$)のみであった。特定の死因に関する用量反応分析では、意義のある傾向や不均一性は明らかにならなかった。

1933年から1942年までに出生し、1974年以降にデンマークの石版工組合に登録された837名の石版工 (デンマーク人)を対象としたコホート発生率研究では、1989年にコホートメンバーにアンケートが送付され、職業暴露に関する情報収集が行われた (Nielsen et al. 1996)。620名の労働者から有効な回答が得られた。コホートメンバーの約4分の1が写真現像のために定期的にHQを用いて仕事をしていただけだと回答した。コホート全体を1974年から1989年のデンマークの癌登録簿と関連させ、デンマークの一般住民と比較することで相対リスク [標準化罹患比 (SIRs)]を算出した。その結果、24の癌が登録されており、SIRは0.9となった。皮膚以外には観察値が3を超える腫瘍発生部位はなかった。5例に悪性黒色腫が発症し (SIR: 3.4, 95%信頼区間: 1.2-7.5)、このうち2例がHQに暴露されたと報告された。

HQは、毛髪染料のcouplerとして使用されている (Cosmetic Ingredient Review 2009)。これまでに毛髪染料と疾病との関連性を調べた多くの疫学研究が報告されている。IARCの作業グループは、これらの情報をレビューした上で、美容師及び理容師の職業暴露に関しては

「発がん性に関する証拠は限られている」、毛髪着色剤の個人的な使用に関しては「発がん性に関する証拠が不十分である」と結論した (IARC 2010)。毛髪染料に関する疫学研究では、毛髪染料中の個々の成分の安全性は言及されていない。

少なくとも1-2%のHQを含むクリームの使用したアジア、ラテンアメリカ及びアフリカ系の人々において、外因性組織褐変症が引き起こされたことが報告されている (Cosmetic Ingredient Review 2009; Gandhi et al. 2012; Mishra et al. 2012; Ribas et al. 2010)。HQを含む美白製品の長期使用 (6ヵ月以上)が関連しており、HQのtyrosinaseやhomogentistic acid oxidaseへの影響によって色素沈着が引き起こされた可能性が考えられる。

7. その他の毒性関連情報

HQはbenzeneの肝代謝物であり、血液によって骨髄に運ばれる (Cosmetic Ingredient Review 2009)。Benzeneを投与した後は、骨髄から高濃度のHQ及びその他の代謝物が持続的に検出されることから、HQは、benzeneの毒性発現に関与している可能性が示唆されている。

Benzeneは、ヒトにおける既知の発がん物質であり、白血病や再生不良性貧血を引き起こす。Benzeneの代謝物である、HQ、カテコール及びフェノールは、エンドポイントによっては、相乗作用を示すが、個々の化合物の毒性は必ずしも類似していない (Barale et al. 1990; IARC 1999; Kalf et al. 1990; NTP 1989; Robertson et al. 1991; Smith et al. 1989; Subrahmanyam et al. 1990)。Benzeneは、ヒトにおいて、白血病や再生不良性貧血を引き起こすが、職業的にHQに暴露されたヒトでは発がん反応は認められなかった (DeCaprio 1999; IARC 1999)。同じ動物種に同じ経路で投与を行ったNTPの発がん性試験では、benzeneは雌雄のマウス及びラットの多臓器に腫瘍を引き起こしたのに対し、HQは雄マウス以外では1か所の臓器のみに腫瘍性変化を引き起こし、観察された変化は動物種により異なっていた (NTP 1989)。これらのことから、benzeneの発がん過程においてHQがどのような役割を果たしているのかは不明である。

Benzeneの骨髄抑制及び白血病誘発作用のメカニズムを明らかにするために、HQの骨髄毒性や免疫毒性について多くの試験が行われている。以下に主な*in vivo*試験の結果を示す。

1970年以前に行われた研究では、高用量もしくは長期のHQ投与が血球や骨髄に影響を及ぼす可能性を示唆する結果が得られた (DeCaprio 1999)。1980年以降の報告として、マウスにHQ (平均摂取量: 16.9 mg/kg/day)を28日間飲水投与した試験では、赤血球数が減少したが、ヘマトクリットや骨髄のコロニー形成細胞の減少は見られなかった (Nakamura 1982)。ラットに10 mg/kg/dayのHQを6週間腹腔内投与した結果、赤血球数や骨髄の細胞密度が低下した (Rao et al. 1988)。NTPの103週間投与試験では、15か月間投与した後に血液学検査が行われ、50 mg/kg群の雌ラットのみ、赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の軽度の低下がみられた (NTP 1989)。上述の通り、雌ラットでは試験終了時に単核球性白血病の発現頻度が増加したが、雄ラットやマウスではこれらの影響は認められなかった。

雄のNMRIマウスに80 mg/kgのHQを1回/1日、6日間皮下投与した結果、骨髄の顆粒球の密

度が減少した (Tunek et al. 1981)。同様にして50 mg/kgのHQを投与したマウスではこのような影響は認められなかった。C57BL/6マウスに100 mg/kgのHQを2日間 (1回/日)皮下もしくは静脈内投与した結果、脾臓及び骨髄の細胞密度が低下した (Wierda and Irons 1982)。一方、100 mg/kgのHQを1日2回反復腹腔内投与した雄のB6C3F1マウスの骨髄では、3日後に細胞密度が軽度に低下したが、12及び36日後には骨髄細胞密度の変化は認められなかった (Eastmond et al. 1987)。C57BL6マウスに75 mg/kgのHQを11日間 (2回/日)腹腔内投与した試験では、骨髄の細胞密度の減少は見られなかったものの、骨髄の顆粒球-マクロファージコロニー形成細胞 (GM-CFC)が増加した (Henschler et al. 1996)。雄のC57BL/6Jマウスに、25もしくは50 mg/kgの用量で1日2回、2日間腹腔内投与した試験では、骨髄芽球の顆粒球への分化の誘導と骨髄球段階での成熟の障害が認められた (Hazel et al. 1996)。

HQを皮下 (1.2~1.3 mmol/kg)もしくは腹腔内投与 (25~100 mg/kg)したマウスでは、赤血球への鉄の取り込み量が減少した (Bolcsak and Nerland 1983; Guy et al. 1990; Guy et al. 1991; Snyder et al. 1989)。

100 mg/kgのHQを2回/1日、3日間静脈内もしくは腹腔内投与したC57BL/6マウスでは、脾臓及び骨髄細胞のマイトジェンに対する増殖反応やポリクローナルプラーク形成反応が抑制された (Wierda and Irons 1982)。

雄のSwissマウスを12.5~50 ppmのHQに5日間 (1時間/日)暴露させたところ、LPS刺激による肺胞腔への好中球及び単核球の移行が抑制された (Ribeiro et al. 2011; Shimada et al. 2012b)。同じ方法で、0.04 ppmのHQに暴露した雄のSwissマウスでは、methacolineに対する気管の過敏性が増強した (Shimada et al. 2012a)。

8. まとめ

ハイドロキノン (HQ) 含有製品の皮膚適用により、HQは体内に吸収されることから、化粧品について一般に評価される皮膚刺激性等の局所作用のみでなく、反復投与毒性や生殖毒性及び発がん性についても評価を行う必要がある。これまでの報告からHQについては、生殖発生毒性の懸念は低い、動物試験で発がん性の懸念が示されている。しかし、雄ラットで報告された腎尿細管腺腫の発がんメカニズムのヒトへの外挿性は低いと想定されており、さらに、ヒトにおいては評価に値する報告例はないことから、IARCではグループ3に分類されている。一方、遺伝毒性試験では、*in vitro*試験系においては、マウスリンフォーマ試験、染色体異常試験、小核試験等において、*in vivo*試験系では染色体異常試験、小核試験等で陽性の結果が得られている。一方、復帰突然変異試験では、酸化的変異原物質に感受性の高いTA104株でのみ陽性の報告があるが、この結果については活性酸素種の関与が示唆されており、*in vivo*における遺伝子突然変異誘発性の有無については検討されていない。最も低用量で認められた毒性所見は、ラット103週間経口投与試験において、25mg/kg (週5日投与) で認められた腎障害及び腎尿細管腺腫発現頻度の増加であった。

9. 参考文献

- Adler, I.D. and Kliesch, U. (1990) Comparison of single and multiple treatment regimens in the mouse bone marrow micronucleus assay for hydroquinone (HQ) and cyclophosphamide (CP). *Mutat Res* 234, 115-123.
- Adler, I.D., Kliesch, U., van Hummelen, P. and Kirsch-Volders, M. (1991) Mouse micronucleus tests with known and suspect spindle poisons: results from two laboratories. *Mutagenesis* 6, 47-53.
- Anderson, D., Yu, T.W. and Schmezer, P. (1995) An investigation of the DNA-damaging ability of benzene and its metabolites in human lymphocytes, using the comet assay. *Environ Mol Mutagen* 26, 305-314.
- Andreoli, C., Rossi, S., Leopardi, P. and Crebelli, R. (1999) DNA damage by hydroquinone in human white blood cells: analysis by alkaline single-cell gel electrophoresis. *Mutat Res* 438, 37-45.
- Antoccia, A., Degrassi, F., Battistoni, A., Ciliutti, P. and Tanzarella, C. (1991) In vitro micronucleus test with kinetochore staining: evaluation of test performance. *Mutagenesis* 6, 319-324.
- Barale, R., Marrazzini, A., Betti, C., Vangelisti, V., Loprieno, N. and Barrai, I. (1990) Genotoxicity of two metabolites of benzene: phenol and hydroquinone show strong synergistic effects in vivo. *Mutat Res* 244, 15-20.
- Barber, E.D., Hill, T. and Schum, D.B. (1995) The percutaneous absorption of hydroquinone (HQ) through rat and human skin in vitro. *Toxicol Lett* 80, 167-172.
- Blacker, A.M., Schroeder, R.E., English, J.C., Murphy, S.J., Krasavage, W.J. and Simon, G.S. (1993) A two-generation reproduction study with hydroquinone in rats. *Fundam Appl Toxicol* 21, 420-424.
- Boatman, R.J., English, J.C., Perry, L.G. and Fiorica, L.A. (2000a) Covalent protein adducts of hydroquinone in tissues from rats: identification and quantitation of sulfhydryl-bound forms. *Chem Res Toxicol* 13, 853-860.
- Boatman, R.J., English, J.C., Perry, L.G. and Fiorica, L.A. (2000b) Covalent protein adducts of hydroquinone in tissues from rats: quantitation of sulfhydryl-bound forms following single gavage or intraperitoneal administration or repetitive gavage administration. *Chem Res Toxicol* 13, 861-872.
- Bolcsak, L.E. and Nerland, D.E. (1983) Inhibition of erythropoiesis by benzene and benzene metabolites. *Toxicol Appl Pharmacol* 69, 363-368.
- Bucks, D.A., McMaster, J.R., Guy, R.H. and Maibach, H.I. (1988) Percutaneous absorption of hydroquinone in humans: effect of 1-dodecylazacycloheptan-2-one (azone) and the 2-ethylhexyl ester of 4-(dimethylamino)benzoic acid (Escalol 507). *J Toxicol Environ Health* 24, 279-289.
- Chen, H. and Eastmond, D.A. (1995) Synergistic increase in chromosomal breakage within the euchromatin induced by an interaction of the benzene metabolites phenol and hydroquinone in mice. *Carcinogenesis* 16, 1963-1969.
- Ciranni, R. and Adler, I.D. (1991) Clastogenic effects of hydroquinone: induction of chromosomal aberrations in mouse germ cells. *Mutat Res* 263, 223-229.

Ciranni, R., Barale, R., Ghelardini, G. and Loprieno, N. (1988) Benzene and the genotoxicity of its metabolites. II. The effect of the route of administration on the micronuclei and bone marrow depression in mouse bone marrow cells. *Mutat Res* 209, 23-28.

Corley, R.A., English, J.C., Hill, T.S., Fiorica, L.A. and Morgott, D.A. (2000) Development of a physiologically based pharmacokinetic model for hydroquinone. *Toxicol Appl Pharmacol* 165, 163-174.

Cosmetic Ingredient Review. (2009) Final Report of the Cosmetic Ingredient Review Expert Panel - Amended Safety Assessment of Hydroquinone as Used in Cosmetics, October 1, 2009.

David, R.M., English, J.C., Totman, L.C., Moyer, C. and O'Donoghue, J.L. (1998) Lack of nephrotoxicity and renal cell proliferation following subchronic dermal application of a hydroquinone cream. *Food Chem Toxicol* 36, 609-616.

DeCaprio, A.P. (1999) The toxicology of hydroquinone--relevance to occupational and environmental exposure. *Crit Rev Toxicol* 29, 283-330.

Divincenzo, G.D., Hamilton, M.L., Reynolds, R.C. and Ziegler, D.A. (1984) Metabolic fate and disposition of [¹⁴C]hydroquinone given orally to Sprague-Dawley rats 要確認. *Toxicology* 33, 9-18.

do Ceu Silva, M., Gaspar, J., Duarte Silva, I., Leao, D. and Rueff, J. (2003) Mechanisms of induction of chromosomal aberrations by hydroquinone in V79 cells. *Mutagenesis* 18, 491-496.

Dobo, K.L. and Eastmond, D.A. (1994) Role of oxygen radicals in the chromosomal loss and breakage induced by the quinone-forming compounds, hydroquinone and tert-butylhydroquinone. *Environ Mol Mutagen* 24, 293-300.

Eastmond, D.A., Rupa, D.S. and Hasegawa, L.S. (1994) Detection of hyperdiploidy and chromosome breakage in interphase human lymphocytes following exposure to the benzene metabolite hydroquinone using multicolor fluorescence in situ hybridization with DNA probes. *Mutat Res* 322, 9-20.

Eastmond, D.A., Smith, M.T. and Irons, R.D. (1987) An interaction of benzene metabolites reproduces the myelotoxicity observed with benzene exposure. *Toxicol Appl Pharmacol* 91, 85-95.

Ellard, S. and Parry, E.M. (1993) Induction of micronuclei in V79 Chinese hamster cells by hydroquinone and econazole nitrate. *Mutat Res* 287, 87-91.

English, J.C. and Deisinger, P.J. (2005) Metabolism and disposition of hydroquinone in Fischer 344 rats after oral or dermal administration. *Food Chem Toxicol* 43, 483-493.

English, J.C., Hill, T., O'Donoghue, J.L. and Reddy, M.V. (1994a) Measurement of nuclear DNA modification by ³²P-postlabeling in the kidneys of male and female Fischer 344 rats after multiple gavage doses of hydroquinone. *Fundam Appl Toxicol* 23, 391-396.

English, J.C., Perry, L.G., Vlaovic, M., Moyer, C. and O'Donoghue, J.L. (1994b) Measurement of cell proliferation in the kidneys of Fischer 344 and Sprague-Dawley rats after gavage administration of hydroquinone. *Fundam Appl Toxicol* 23, 397-406.

Erexson, G.L., Wilmer, J.L. and Kligerman, A.D. (1985) Sister chromatid exchange induction in human lymphocytes exposed to benzene and its metabolites in vitro. *Cancer Res* 45, 2471-2477.

- Eyer, P. (1991) Effects of superoxide dismutase on the autoxidation of 1,4-hydroquinone. *Chem Biol Interact* 80, 159-176.
- Fahrig, R. (1984) Genetic mode of action of cocarcinogens and tumor promoters in yeast and mice. *Mol Gen Genet* 194, 7-14.
- Ferguson, L.R., Morcombe, P. and Triggs, C.N. (1993) The size of cytokinesis-blocked micronuclei in human peripheral blood lymphocytes as a measure of aneuploidy induction by Set A compounds in the EEC trial. *Mutat Res* 287, 101-112.
- Foureman, P., Mason, J.M., Valencia, R. and Zimmering, S. (1994) Chemical mutagenesis testing in *Drosophila*. IX. Results of 50 coded compounds tested for the National Toxicology Program. *Environ Mol Mutagen* 23, 51-63.
- Galloway, S.M., Armstrong, M.J., Reuben, C., Colman, S., Brown, B., Cannon, C., Bloom, A.D., Nakamura, F., Ahmed, M., Duk, S. and et al. (1987) Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in Chinese hamster ovary cells: evaluations of 108 chemicals. *Environ Mol Mutagen* 10 Suppl 10, 1-175.
- Gandhi, V., Verma, P. and Naik, G. (2012) Exogenous ochronosis After Prolonged Use of Topical Hydroquinone (2%) in a 50-Year-Old Indian Female. *Indian J Dermatol* 57, 394-395.
- Gocke, E., Wild, D., Eckhardt, K. and King, M.T. (1983) Mutagenicity studies with the mouse spot test. *Mutat Res* 117, 201-212.
- Guy, R.L., Dimitriadis, E.A., Hu, P.D., Cooper, K.R. and Snyder, R. (1990) Interactive inhibition of erythroid ⁵⁹Fe utilization by benzene metabolites in female mice. *Chem Biol Interact* 74, 55-62.
- Guy, R.L., Hu, P., Witz, G., Goldstein, B.D. and Snyder, R. (1991) Depression of iron uptake into erythrocytes in mice by treatment with the combined benzene metabolites p-benzoquinone, muconaldehyde and hydroquinone. *J Appl Toxicol* 11, 443-446.
- Hakura, A., Tsutsui, Y., Mochida, H., Sugihara, Y., Mikami, T. and Sagami, F. (1996) Mutagenicity of dihydroxybenzenes and dihydroxynaphthalenes for Ames Salmonella tester strains. *Mutat Res* 371, 293-299.
- Hard, G.C., Whysner, J., English, J.C., Zang, E. and Williams, G.M. (1997) Relationship of hydroquinone-associated rat renal tumors with spontaneous chronic progressive nephropathy. *Toxicol Pathol* 25, 132-143.
- Haschek, W.M. and Rousseaux, C.G. (1998) *The Kidney. Fundamentals of Toxicologic Pathology*, Academic Press, New York, pp. 153-192.
- Hasegawa, R., Furukawa, F., Toyoda, K., Takahashi, M., Hayashi, Y., Hirose, M. and Ito, N. (1990) Inhibitory effects of antioxidants on N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine-induced lung carcinogenesis in rats. *Jpn J Cancer Res* 81, 871-877.
- Haworth, S., Lawlor, T., Mortelmans, K., Speck, W. and Zeiger, E. (1983) Salmonella mutagenicity test results for 250 chemicals. *Environ Mutagen* 5 Suppl 1, 1-142.

Hazel, B.A., O'Connor, A., Niculescu, R. and Kalf, G.F. (1996) Induction of granulocytic differentiation in a mouse model by benzene and hydroquinone. *Environ Health Perspect* 104 Suppl 6, 1257-1264.

Henschler, R., Glatt, H.R. and Heyworth, C.M. (1996) Hydroquinone stimulates granulocyte-macrophage progenitor cells in vitro and in vivo. *Environ Health Perspect* 104 Suppl 6, 1271-1274.

Hill, B.A., Kleiner, H.E., Ryan, E.A., Dulik, D.M., Monks, T.J. and Lau, S.S. (1993) Identification of multi-S-substituted conjugates of hydroquinone by HPLC-coulometric electrode array analysis and mass spectroscopy要確認. *Chem Res Toxicol* 6, 459-469.

Hiraku, Y. and Kawanishi, S. (1996) Oxidative DNA damage and apoptosis induced by benzene metabolites. *Cancer Res* 56, 5172-5178.

Hirose, M., Inoue, T., Asamoto, M., Tagawa, Y. and Ito, N. (1986) Comparison of the effects of 13 phenolic compounds in induction of proliferative lesions of the forestomach and increase in the labelling indices of the glandular stomach and urinary bladder epithelium of Syrian golden hamsters. *Carcinogenesis* 7, 1285-1289.

Hirose, M., Yamaguchi, S., Fukushima, S., Hasegawa, R., Takahashi, S. and Ito, N. (1989) Promotion by dihydroxybenzene derivatives of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced F344 rat forestomach and glandular stomach carcinogenesis. *Cancer Res* 49, 5143-5147.

IARC. (1999) Hydroquinone. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*, 71, 1-29.

IARC. (2010) Some aromatic amines, organic dyes and related exposures, Lyon, France.

Jagetia, G.C. and Aruna, R. (1997) Hydroquinone increases the frequency of micronuclei in a dose-dependent manner in mouse bone marrow. *Toxicol Lett* 93, 205-213.

Jagetia, G.C., Menon, K.S. and Jain, V. (2001) Genotoxic effect of hydroquinone on the cultured mouse spleenocytes. *Toxicol Lett* 121, 15-20.

Ji, Z., Zhang, L., Guo, W., McHale, C.M. and Smith, M.T. (2009) The benzene metabolite, hydroquinone and etoposide both induce endoreduplication in human lymphoblastoid TK6 cells. *Mutagenesis* 24, 367-372.

Ji, Z., Zhang, L., Peng, V., Ren, X., McHale, C.M. and Smith, M.T. (2010) A comparison of the cytogenetic alterations and global DNA hypomethylation induced by the benzene metabolite, hydroquinone, with those induced by melphalan and etoposide. *Leukemia* 24, 986-991.

Kalf, G., Shurina, R., Renz, J. and Schlosser, M. (1990) The role of hepatic metabolites of benzene in bone marrow peroxidase-mediated myelo- and genotoxicity. In: C.M. Witmer, R.R. Snyder, D.J. Jollow, G.F. Kalf, J.J. Kocsis and I.G. Sipes (Eds), *Biological Reactive Intermediates IV* Plenum Press, New York pp. 443-455.

Kari, F.W., Bucher, J., Eustis, S.L., Haseman, J.K. and Huff, J.E. (1992) Toxicity and carcinogenicity of hydroquinone in F344/N rats and B6C3F1 mice. *Food Chem Toxicol* 30, 737-747.

Kavlock, R.J. (1990) Structure-activity relationships in the developmental toxicity of substituted phenols: in vivo effects. *Teratology* 41, 43-59.