

***o*-フェニレンジアミン二塩酸塩のラットを用いた  
経口投与による2週間毒性試験(混水試験)報告書**

**試験番号：0336**

**CAS No. 615-28-1**

**2003年2月25日**

**中央労働災害防止協会  
日本バイオアッセイ研究センター**

***o*-フェニレンジアミン二塩酸塩のラットを用いた  
経口投与による 2 週間毒性試験(混水試験)報告書**

試験番号：0336

本 文

# 本文目次

	頁
要約 .....	1
I 試験材料 .....	2
I-1 被験物質の性状等 .....	2
I-1-1 名称等 .....	2
I-1-2 構造式、示性式、分子量 .....	2
I-1-3 物理化学的性状等 .....	2
I-2 被験物質の使用ロット等 .....	2
I-3 被験物質の特性・同一性、安定性 .....	3
I-3-1 特性・同一性 .....	3
I-3-2 安定性 .....	3
I-4 試験動物 .....	3
II 試験方法 .....	4
II-1 投与 .....	4
II-1-1 投与経路 .....	4
II-1-2 投与方法 .....	4
II-1-3 投与期間 .....	4
II-1-4 投与濃度 .....	4
II-1-5 投与方法、投与期間及び投与濃度の設定理由 .....	4
II-1-6 被験物質混合飲水の調製方法 .....	5
II-1-7 調製時における被験物質混合飲水中の被験物質の濃度 .....	5
II-1-8 被験物質混合飲水中の被験物質の安定性 .....	5
II-1-9 被験物質の摂取量 .....	5
II-2 動物管理 .....	6
II-2-1 各群の使用動物数 .....	6
II-2-2 群分け及び個体識別方法 .....	6
II-2-3 飼育条件 .....	6

Ⅱ-3 観察・検査項目及び方法	7
Ⅱ-3-1 動物の一般状態の観察	7
Ⅱ-3-2 体重測定	7
Ⅱ-3-3 摂水量測定	7
Ⅱ-3-4 摂餌量測定	7
Ⅱ-3-5 血液学的検査	8
Ⅱ-3-6 血液生化学的検査	8
Ⅱ-3-7 病理学的検査	8
(1) 剖検	8
(2) 臓器重量	8
(3) 病理組織学的検査	8
Ⅱ-4 数値処理と統計学的方法	9
Ⅱ-4-1 数値の取り扱いと表示	9
Ⅱ-4-2 母数の取り扱い	9
Ⅱ-4-3 統計方法	10
Ⅲ 試験成績	11
Ⅲ-1 生死状況	11
Ⅲ-2 一般状態	11
Ⅲ-3 体重	11
Ⅲ-4 摂水量	12
Ⅲ-5 摂餌量	12
Ⅲ-6 被験物質摂取量	13
Ⅲ-7 血液学的検査	13
Ⅲ-8 血液生化学的検査	13
Ⅲ-9 病理学的検査	14
Ⅲ-9-1 剖検	14
Ⅲ-9-2 臓器重量	14
Ⅲ-9-3 病理組織学的検査	15
Ⅳ 考察及びまとめ	16
Ⅴ 文献	21

## 要約

$\alpha$ -フェニレンジアミン二塩酸塩（被験物質）のF344/DuCrj（Fischer）ラットを用いた経口投与による2年間（104週間）のがん原性試験のための予備試験である13週間試験を実施するに当たり、その投与濃度を決定するために2週間試験を実施した。投与は、被験物質を各投与濃度に調製した飲水の自由摂取で行った。1群当たりの動物数は雌雄各5匹とし、被験物質投与群を5群、対照群を1群の計6群構成で行った。投与濃度は、雌雄とも6000 ppm、4000 ppm、2000 ppm、1000 ppm、500 ppmとした。観察、検査項目として、一般状態の観察、体重・摂水量・摂餌量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、臓器重量の測定及び病理組織学的検査を行った。

試験の結果、6000 ppm群で雄に2匹、雌に全5匹、4000 ppm群で雌に1匹の死亡が認められた。6000 ppm群では、主として著しい摂水量、摂餌量の減少、体重減少に伴った消耗性変化、それに加えて被験物質投与による毒性影響が認められた。被験物質投与の影響は、腎臓（雄に乳頭壊死、尿素窒素の増加）、肝臓（雌雄とも単細胞壊死、雄の生存動物に血液生化学的パラメータの変化）、精巣（精巣の精原細胞壊死、精巣上体の精上皮系細胞の残屑の出現）、鼻腔（雌雄ともに嗅上皮の壊死）、血液系/造血器（雄：骨髓のうっ血と造血低下、血小板数と網赤血球比の減少、プロトロンビン時間の延長傾向、雌：骨髓の造血低下）に認められた。4000 ppm群でも、顕著な摂水量、摂餌量の減少、体重の増加抑制に伴う消耗性変化、それに加えて腎臓、肝臓、精巣、鼻腔、血液系/造血器に被験物質投与による毒性影響が認められたものの、6000 ppmよりは程度が軽減した。2000 ppmでは一般状態、剖検とも投与の影響と考えられる所見は認められなかったが、摂水量の減少（雄：52～71%、雌：41～56%）が認められた。また、腎臓（雌の腎臓重量の増加、乳頭壊死）と肝臓（雄にリン脂質の増加）に被験物質の影響が認められた。1000 ppm群と500 ppm群では摂水量の低値が雌雄にみられるのみであった。

$\alpha$ -フェニレンジアミン二塩酸塩の2週間混水投与による無毒性量（NOAEL）は、肝臓と腎臓への影響をエンドポイントとして1000 ppm（雄：0.082～0.098、雌：0.082～0.101 g/kg body weight/day）と考えられた。

以上の試験結果より、 $\alpha$ -フェニレンジアミン二塩酸塩の13週間混水投与のラットの投与濃度を、雌雄とも最高用量を3000 ppmとし、以下2000 ppmより公比 2で1000 ppm、500 ppm、250 ppmに設定した。



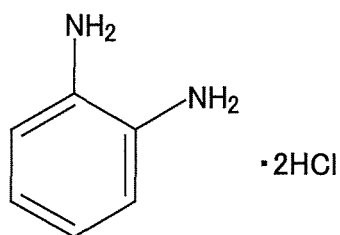
## I 試験材料

### I-1 被験物質の性状等

#### I-1-1 名称等

名 称 : *o*-フェニレンジアミン二塩酸塩 (*o*-Phenylenediamine dihydrochloride)  
IUPAC名 : 1,2-ベンゼンジアミン二塩酸塩  
別 名 : 二塩酸 *o*-フェニレンジアミン  
CAS.No. : 615-28-1

#### I-1-2 構造式、示性式、分子量 (文献 1)



分 子 量 : 181.08

#### I-1-3 物理化学的性状等 (文献 1)

外 観 : 淡紅色結晶性粉末 (和光純薬工業 (株) 検査成績書データ)  
融 点 : 258℃  
溶 解 性 : 水に可溶  
保 存 条 件 : 冷蔵で暗所に保存

### I-2 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号 : WTM0491

製 造 元 : 和光純薬工業 (株)

グ レ ー ド : 和光一級

純 度 : 100.2% (和光純薬工業 (株) 検査成績書データ)

### I-3 被験物質の特性・同一性、安定性

#### I-3-1 特性・同一性

被験物質の同一性は、使用した  $\alpha$ -フェニレンジアミン二塩酸塩について、マスペクトルを質量分析計 (Hitachi M-80B) により測定し、また赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計 (Shimadzu FTIR-8200PC) により測定した。

その結果、被験物質のマスペクトルは、計算値と同一の、2 個の塩化水素分子が解離した分子に相当するフラグメントピークを示し、また、赤外吸収スペクトルも文献値 (文献 2) と同じ波長にピークを示すことが認められ、被験物質は  $\alpha$ -フェニレンジアミン二塩酸塩であることを確認した。

それらの結果については、APPENDIX L 1 に示した。

#### I-3-2 安定性

被験物質の安定性の確認は、使用した  $\alpha$ -フェニレンジアミン二塩酸塩について、使用開始前及び使用終了後に、赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計 (Shimadzu FTIR-8200PC) 及びクロマトグラムを高速液体クロマトグラフ (Hewlett Packard 1090) により測定し、使用開始前と使用終了後のデータを比較することにより行った。

その結果、使用開始前後の測定結果に差はみられず、投与期間中の  $\alpha$ -フェニレンジアミン二塩酸塩は安定であることを確認した。

それらの結果については、APPENDIX L 2 に示した。

### I-4 試験動物

動物は、 $\alpha$ -フェニレンジアミン二塩酸塩のがん原性試験で使用する動物種及び系統に合わせ、日本チャールス・リバー (株) (厚木飼育センター：神奈川県厚木市古沢 795 番地) より購入した F344/DuCrj (Fischer) ラット (SPF) の雌雄を使用した。

雌雄各 37 匹を 4 週齢で導入し、各 1 週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で異常を認めない動物から、体重の中央値に近い雌雄各 30 匹 (投与開始時体重範囲、雄：117～131g、雌：92～105g) を選別し、試験に供した。

なお、がん原性試験で使用する動物は、遺伝的に安定していること、腫瘍の自然発生率が低いこと、過去に多くのがん原性試験に用いたデータがあり、化学物質による腫瘍発生の感受性が知られていることの等の理由から F344/DuCrj (Fischer) ラットを使用することが決定している。当試験はがん原性試験の予備試験であるため、F344/DuCrj (Fischer) ラットを使用した。

## Ⅱ 試験方法

### Ⅱ-1 投与

#### Ⅱ-1-1 投与経路

経口投与

#### Ⅱ-1-2 投与方法

被験物質を飲水に溶解し、設定濃度に調製した被験物質混合飲水を褐色ガラス製給水瓶に充填し、動物に自由摂取させた。

#### Ⅱ-1-3 投与期間

1997年9月12日より1997年9月26日までの2週間（14日間）とし、定期解剖直前まで連続投与した。

#### Ⅱ-1-4 投与濃度

雌雄とも500 ppm、1000 ppm、2000 ppm、4000 ppm 及び 6000 ppm の5段階の投与濃度を設定した。なお、対照群として飲水のみを設けた。

#### Ⅱ-1-5 投与方法、投与期間及び投与濃度の設定理由

被験物質は常温で固体であり、水に可溶であるため、混水による経口投与とした。

投与期間は、がん原性試験の予備試験である13週間試験に使用する投与濃度を決定するために2週間（14日間）とした。

2週間試験における経口（混水）投与濃度は、 $\alpha$ -フェニレンジアミン（フリーベース）のLD<sub>50</sub>値（文献3）を参考にし、さらに、試験に先立って実施した検討試験（試験番号4134）の結果を参考にして決定した。すなわち、LD<sub>50</sub>値（510 mg/kg）に相当する被験物質が1日当たりの飲水摂取量に含まれる濃度を算出し、この濃度を最高用量として設定した。検討試験では、4000 ppm、1333 ppm、444 ppm の被験物質を混合した飲水をラットに雌雄各2匹ずつ2週間投与した。その結果、4000 ppm 群の雌雄で体重が投与開始より減少し、摂水量も対照群の55～38%と抑制されたが、解剖時の剖検所見に異常はみられなかった。その他の群では投与による顕著な影響は認められなかった。したがって、最高投与濃度は、4000 ppm より高い6000 ppm とし、以下4000 ppm より公比2で2000 ppm、1000 ppm、500 ppm を設定した。



## Ⅱ－１－６ 被験物質混合飲水の調製方法

市水をフィルターろ過し、紫外線照射し、脱イオンした水（以下、脱イオン水という）を更にフィルターろ過した飲水に被験物質を加え、マグネチックスターラ（池田理化(株)製 1S 3GL 型）を用いて各設定濃度になるように被験物質を溶解した。なお、濃度の表示は、ppm（重量対重量比）とした。また、調製頻度は給水瓶の交換頻度に合わせて、毎週２回とした。

## Ⅱ－１－７ 調製時における被験物質混合飲水の被験物質の濃度

被験物質混合飲水中における被験物質の濃度は、各濃度毎に調製容器内から３点サンプリングし、クロマトグラムを高速液体クロマトグラフ（Hewlett Packard 1090）を用いて分析し、確認した。

その結果、各群の調製濃度は、設定濃度に対し、95.3～98.0%の範囲にあり、ほぼ設定濃度どおりに調製された。

その結果を APPENDIX L 3 に示した。

## Ⅱ－１－８ 被験物質混合飲水中の被験物質の安定性

被験物質混合飲水中における被験物質の投与状態での安定性は、試験に先立ち最高濃度（6000 ppm）及び最低濃度（500 ppm）について調製時及び調製後４日目に高速液体クロマトグラフ（Hewlett Packard 1090）を用いて分析し、それぞれの測定結果を比較することにより、確認した。

その結果、調製時の濃度を 100%とした場合に、４日目には、6000 ppm で 101%、500 ppm で 100%であった。給水期間中における、飲水中の被験物質の安定性は良好に維持されていた。

その結果について、APPENDIX L 4 に示した。

## Ⅱ－１－９ 被験物質の摂取量

体重、摂水量及び設定濃度より被験物質の体重 kg 当たりの一日摂取量（g/kg body weight/day）を算出した。

## Ⅱ-2 動物管理

### Ⅱ-2-1 各群の使用動物数

投与群 5 群及び対照群 1 群の計 6 群を設け、雌雄各群 5 匹の動物を用いた。

雄		雌	
群名称	使用動物数（動物番号）	群名称	使用動物数（動物番号）
対 照 群	5 匹（1001～1005）	対 照 群	5 匹（2001～2005）
500 ppm 群	5 匹（1101～1105）	500 ppm 群	5 匹（2101～2105）
1000 ppm 群	5 匹（1201～1205）	1000 ppm 群	5 匹（2201～2205）
2000 ppm 群	5 匹（1301～1305）	2000 ppm 群	5 匹（2301～2305）
4000 ppm 群	5 匹（1401～1405）	4000 ppm 群	5 匹（2401～2405）
6000 ppm 群	5 匹（1501～1505）	6000 ppm 群	5 匹（2501～2505）

### Ⅱ-2-2 群分け及び個体識別方法

供試動物の各群への割り当ては、発育順調で、異常を認めない動物を体重の重い順より各群に 1 匹ずつ割り当て、二巡目からは各群の動物の体重の合計を比較して小さい群より順に体重の重い動物を割り当てることにより群間の体重の偏りを小さくする群分け方法（適正層別方式）により実施した（文献 4）。

試験期間中の動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間においては色素塗布により、投与期間においては耳パンチにより識別した。また、全飼育期間を通じて、ケージにも個体識別番号を付した。

なお、動物は検疫期間を含む全飼育期間、バリア区域（AC-1 空調エリア）内の独立した室（雌雄とも 101 室）に収容し、飼育室に試験番号、動物種及び動物番号を表示し、他試験及び異種動物との区別を行った。

### Ⅱ-2-3 飼育条件

動物は、全飼育期間を通して、設定温度  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ （実測値（平均  $\pm$  標準偏差） $23.1 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ ）、設定湿度  $55 \pm 10\%$ （実測値（平均  $\pm$  標準偏差） $56 \pm 1\%$ ）、明暗サイクル：12 時間点灯（8:00～20:00）／12 時間消灯（20:00～8:00）、換気回数 15～17 回／時に設定した環境下で飼育した。全飼育期間を通じて、動物の状態に影響を与えるような環境変化は認められなかった。

動物は単飼ケージ（ステンレス製二連網ケージ、W170×D294×H176 mm）に収容した。

飼料は、オリエンタル酵母工業（株）千葉工場（千葉県千葉市美浜区新港 8-2）の CRF-1 固型飼料（30KGy- $\gamma$ 線照射滅菌飼料）を使用し、全飼育期間を通して固型飼料給餌器により自由摂取させた。

飲水は、検疫期間中は市水（秦野市水道局供給）をフィルターろ過した後紫外線照射し、自動給水装置により自由摂取させた。馴化期間中は脱イオン水を給水瓶により自由摂取させた。投与期間中は所定の濃度に調製した被験物質混合飲水を給水瓶により自由摂取させた。また対照群については馴化期間と同様に脱イオン水のみを与えた。なお、給水瓶交換は週 2 回行った。

なお、試験に使用した飼料の栄養成分についてはオリエンタル酵母工業（株）から分析データを入手し、保管した。飼料中の夾雑物については（財）日本食品分析センター（東京都渋谷区元代々木町 52 番 1 号）の分析データを入手し、また、飲水については（財）食品薬品安全センター秦野研究所（神奈川県秦野市落合 729-5）に分析を委託し、それぞれ試験計画書に規定した許容基準と照合して異常のないことを確認した。

## Ⅱ-3 観察・検査項目及び方法

### Ⅱ-3-1 動物の一般状態の観察

全動物について、生死及び瀕死の確認を毎日 1 回行い、動物の一般状態の詳細な観察は導入時、群構成時、及び投与開始後 1 日目（1 週 1 日）、3 日目（1 週 3 日）、7 日目（1 週 7 日）、10 日目（2 週 3 日）及び 14 日目（2 週 7 日）に実施した。

### Ⅱ-3-2 体重測定

全動物について、投与開始直前（群構成時）、投与開始後 1 日目（1 週 1 日）、3 日目（1 週 3 日）、7 日目（1 週 7 日）、10 日目（2 週 3 日）及び 14 日目（2 週 7 日）に体重を測定した。なお、死亡動物の搬出時にも体重を測定した。

### Ⅱ-3-3 摂水量測定

全動物について、週に 2 回、給水量（0、3、7、10 日目）、残水量（3、7、10、14 日目）を測定し、その差を給水日数で除し、一日当りの摂水量を算出した。

### Ⅱ-3-4 摂餌量測定

全動物について、週に 1 回、給餌量（0、7 日目）、残餌量（7、14 日目）を測定し、その差を給餌日数で除し、一日当りの摂餌量を算出した。

### Ⅱ-3-5 血液学的検査

定期解剖時に採血可能な動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈より EDTA-2 カリウム入り採血管、ヘパリンリチウム入り採血管（下記※印検査項目）及びクエン酸ナトリウム入り採血管（下記\*印検査項目）に採血し、検査を行った。

検査項目：赤血球数、ヘモグロビン濃度、※メトヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積（MCV）、平均赤血球ヘモグロビン量（MCH）、平均赤血球ヘモグロビン濃度（MCHC）、血小板数、網赤血球比、\*プロトロンビン時間、\*活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）、白血球数、白血球分類

検査方法は APPENDIX M 1 に示した。

## Ⅱ-3-6 血液生化学的検査

定期解剖時に採血可能な動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈よりヘパリンリチウム入り採血管に採血し、遠心分離して得られた血漿を用いて検査を行った。

検査項目：総蛋白、アルブミン、A/G 比、総ビリルビン、グルコース、総コレステロール、リン脂質、GOT、GPT、LDH、 $\gamma$ -GTP、CPK、尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、無機リン

検査方法は APPENDIX M 1 に示した。

## Ⅱ-3-7 病理学的検査

### (1) 剖検

全動物について肉眼的に観察を行った。

### (2) 臓器重量

定期解剖時まで生存した全動物について、以下に示した臓器の湿重量（臓器実重量）を測定した。また、湿重量の体重比（臓器重量体重比）、すなわち、定期解剖時の体重に対する百分率を算出した。

胸腺、副腎、精巣、卵巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳

### (3) 病理組織学的検査

全動物の臓器を 10% 中性リン酸緩衝ホルマリン溶液にて固定後、以下に示した臓器を、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色し、光学顕微鏡にて病理組織学的に検査した。

皮膚、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、骨髓、リンパ節、胸腺、脾臓、心臓、舌、唾液腺、食道、胃、小腸（十二指腸を含む）、大腸、肝臓、膵臓、腎臓、膀胱、下垂体、甲状腺、上皮

小体、副腎、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、卵巣、子宮、膣、乳腺、脳、脊髄、末梢神経、眼球、ハーダー腺、筋肉、骨

## Ⅱ-4 数値処理と統計学的方法

### Ⅱ-4-1 数値の取り扱いと表示

数値データは計測機器の精度に合わせて表示した。

体重については g を単位とし、整数値の 1 の位まで計測し、表示した。

摂餌量については g を単位とし、給餌量、残餌量を小数点以下第 1 位まで計測した。この差を計測期間の日数で除し、1 日当りの平均摂餌量を算出し、小数点以下第 2 位を四捨五入して小数点以下第 1 位までを表示した。

摂水量については g を単位とし、給水量、残水量を小数点以下第 1 位まで計測した。この差を計測期間の日数で除し、1 日当りの平均摂水量を算出し、小数点以下第 2 位を四捨五入して小数点以下第 1 位までを表示した。

$\alpha$ -フェニレンジアミン二塩酸塩の体重 kg 当たり一日摂取量は、摂水量に  $\alpha$ -フェニレンジアミン二塩酸塩の設定濃度を乗じ、体重で除した値を g/kg body weight/day を単位として小数点以下第 4 位を四捨五入して小数点以下第 3 位まで表示した。

臓器実重量については g を単位とし、小数点以下第 3 位まで計測し、表示した。臓器重量体重比については臓器実重量値を解剖時体重で除し、パーセント単位で小数点以下第 4 位を四捨五入し、小数点以下第 3 位までを表示した。

血液学的検査、血液生化学的検査については APPENDIX N 1 に示した単位と精度により表示した。

なお、各数値データにおいての平均値及び標準偏差は上記に示した桁数と同様になるよう四捨五入を行い表示した。

### Ⅱ-4-2 母数の取り扱い

体重、摂餌量、摂水量については、各計測時に生存している全動物を対象に計測し、欠測となったデータについては母数より除いた。

臓器重量、血液学的検査、血液生化学的検査は、定期解剖時まで生存した動物を対象とし、欠測となったデータについては母数より除いた。

剖検データは、各群の有効動物数（供試動物より事故等の理由で外された動物数を減じた動物数）を母数とした。

病理組織学的検査データは臓器別に検査不能臓器数を除いたものを母数とした。

### Ⅱ-4-3 統計方法

本試験で得られた測定値は原則として、対照群を基準群として、まず Bartlett 法により等分散の予備検定を行い、その結果が等分散の場合には一元配置分散分析を行い、群間に有意差が認められた場合は Dunnett の多重比較により平均値の検定を行った。また、分散の等しくない場合には各群を通して測定値を順位化して、Kruskal-Wallis の順位検定を行い、群間に有意差が認められた場合には Dunnett (型) の多重比較を行った。

各検定は 5% の有意水準で両側検定を行い、検定結果を表示する場合には 5% 及び 1% の有意水準の表示を行った。



### Ⅲ 試験成績

#### Ⅲ-1 生死状況

生死状況を TABLE 1, 2、APPENDIX A 1, 2 に示した。

雄では、6000 ppm 群で投与開始後 12 日目（2 週 5 日）より死亡がみられ、投与終了時の生存動物は 3 匹であった。

雌では、6000 ppm 群で投与開始後 8 日目（2 週 1 日）より死亡がみられ、投与終了日までに全動物が死亡した。4000 ppm 群では 14 日目（2 週 7 日）に 1 匹が死亡し、投与終了時の生存数は 4 匹であった。

雄の 4000 ppm 以下の群と雌の 2000 ppm 以下の群では死亡動物は認められなかった。

#### Ⅲ-2 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1, 2 に示した。

雄では、6000 ppm 群で 7 日目（1 週 7 日）より立毛、糞少量が全動物に、尿による外陰部周囲の汚染及び鼻血性分泌物が少数の動物に、10 日目（2 週 3 日）より鼻血性分泌物及び糞小粒が全動物に認められた。4000 ppm 群では、7 日目（1 週 7 日）より 1 匹に立毛がみられ、10 日目（2 週 3 日）より 4 匹に認められた。2000 ppm 以下の群では所見は認められなかった。

雌では、6000 ppm 群では 7 日目（1 週 7 日）に立毛、糞少量、尿による外陰部周囲の汚染が全動物に、鼻血性分泌物が少数の動物に認められた。4000 ppm 群では、7 日目（1 週 7 日）より立毛が全動物に、尿による外陰部周囲の汚染が 2～4 匹に認められ、10 日目（2 週 3 日）より糞小粒、糞少量及び鼻血性分泌物が 1～4 匹に認められた。

2000 ppm 以下の群では特記すべき所見は認められなかった。

#### Ⅲ-3 体重

体重の推移を TABLE 1, 2、FIGURE 1, 2、APPENDIX B 1, 2 に示した。

雄では、6000 ppm 群は投与期間を通して体重の減少が認められた。4000 ppm 群では、7 日目（1 週 7 日）まで減少し、それ以降は増加したものの、対照群と比較して有意な低値であり、投与開始時の体重まで回復しなかった。2000 ppm 群では 1 日目（1 週 1 日）で体重が減少し、それ以降は増加に転じたものの、対照群と比較して有意な低値であった。1000 ppm 以下の群では、対照群との間に有意な差は認められなかった。最終計測日（2 週 7 日）における各投与群の体重は、対照群と比較して、6000 ppm 群：39%（生存動物数：3 匹）、4000 ppm 群：65%、2000 ppm 群：88%、1000 ppm 群：96%、500 ppm 群：97%であった。

雌では、6000 ppm 群で投与期間を通じて体重の減少が認められた。4000 ppm 群では、10

日目まで体重減少が認められたが、14 日目には増加に転じたものの対照群と比較して低値であり、投与開始時の体重まで回復しなかった。2000 ppm 群では3 日目まで体重の減少が認められたが、それ以降は増加した。1000 ppm 以下の群では、対照群との間に差は認められなかった。なお、最終計測日（2 週 7 日）における各投与群の体重は、対照群と比較して、雌では 4000 ppm 群：68%（生存動物数：4 匹）、2000 ppm 群：94%、1000 ppm 群：100%、500 ppm 群：101%であった。

#### Ⅲ－4 摂水量

摂水量を TABLE 3, 4、FIGURE 3, 4、APPENDIX C 1, 2 に示した。

雌雄の全投与群で、全投与期間を通して、投与濃度に対応した摂水量の低値が認められた。投与期間中の投与群の摂水量は、対照群に対し、雄では、6000 ppm 群：13～16%、4000 ppm 群：22～58%、2000 ppm 群：52～71%、1000 ppm 群：73～81%、500 ppm 群：84～91%、雌では、6000 ppm 群：14～17%（14 日目は全動物死亡のため計測なし）、4000 ppm 群：18～34%、2000 ppm 群：41～56%、1000 ppm 群：59～68%、500 ppm 群：76～84%の範囲にあった。

#### Ⅲ－5 摂餌量

摂餌量を TABLE 5, 6、APPENDIX D 1, 2 に示した。

雄では、2000 ppm 以上の群で、全投与期間を通して、投与濃度に対応した摂餌量の低値が認められた。また、1000 ppm 群でも 7 日目に低値が認められた。500 ppm 群では、対照群と同様な摂餌量を示した。投与期間中の投与群の摂餌量は、対照群に対して、6000 ppm 群：32%、4000 ppm 群：50～60%、2000 ppm 群：79～83%、1000 ppm 群：88～91%、500 ppm 群：95～99%の範囲にあった。

雌では、6000 ppm 群の投与期間前期（7 日目）（投与期間後期は全動物死亡のため計測なし）、4000 ppm 群の全投与期間、2000 ppm 群の投与期間前期（7 日目）に低値が認められた。1000 ppm 以下の群では、対照群と同様な摂餌量を示した。投与期間中の投与群の摂餌量は、対照群に対して、6000 ppm 群：29%（14 日目は全動物死亡のため計測なし）、4000 ppm 群：42～63%、2000 ppm 群：77～90%、1000 ppm 群：91%、500 ppm 群：96～100%の範囲にあった。

### Ⅲ-6 被験物質摂取量

体重、摂水量及び設定濃度より算出した体重 kg 当たりの被験物質一日摂取量 (g/kg body weight/day) を APPENDIX E 1, 2 に示した。

雌雄とも摂水量の低下に伴い、設定濃度に対応した被験物質摂取量を示さなかった。被験物質一日摂取量は、雄で 6000 ppm 群 : 0.128~0.219、4000 ppm 群 : 0.144~0.373、2000 ppm 群 : 0.150~0.173、1000 ppm 群 : 0.082~0.098、500 ppm 群 : 0.045~0.055、雌では、6000 ppm 群 : 0.191~0.238 (14 日目は全動物死亡のため測定なし)、4000 ppm 群 : 0.132~0.273、2000 ppm 群 : 0.136~0.177、1000 ppm 群 : 0.082~0.101、500 ppm 群 : 0.055~0.061 の範囲にあり、特に、雄の 6000 ppm 群では、4000 ppm 群よりも低い摂取量であった。

### Ⅲ-7 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX F 1, 2 に示した。

雌の 6000 ppm 群では、全動物が死亡したため検査はできなかった。

雄では、6000 ppm 群で赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の増加、並びに血小板数と網赤血球比の減少が認められた。また、分葉核好中球比の増加、白血球数とリンパ球比の減少がみられ、1 匹凝血形成があったため検定できなかったが、プロトロンビン時間と活性化部分トロンボプラスチン時間の延長傾向がみられた。赤血球数とヘモグロビン濃度の増加、血小板数と網赤血球比の減少は 4000ppm 以上の群で認められた。また、MCHC の増加が 4000 ppm 群でみられた。

雌では、4000 ppm 群で赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の増加、プロトロンビン時間の延長、並びに MCV、血小板数及び網赤血球比の減少が認められた。血小板数の減少は 2000 ppm 以上の群で認められた。

なお、メトヘモグロビン濃度は雌雄とも変化がみられなかった。

### Ⅲ-8 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX G 1, 2 に示した。

雌の 6000 ppm 群では、全動物が死亡したため検査はできなかった。

雄では、6000 ppm 群で総ビリルビン、尿素窒素及びクロールの増加、並びにアルブミンとカルシウムの減少が認められた。また、統計学的有意差は示されなかったが、GOT、GPT、LDH、CPK の上昇、ナトリウムの増加、グルコースの減少がみられた。総ビリルビンと尿素窒素の増加、カルシウムの減少は、4000 ppm 以上の群で認められた。また、総コレステロールの増加が 4000 ppm 群で、リン脂質の増加が 2000 ppm 群と 4000 ppm 群でみられた。

雌では、4000 ppm 群で総ビリルビン、リン脂質、尿素窒素及びクロールの増加、GOT と GPT の上昇、並びにアルブミン、A/G 比、グルコース及びカルシウムの減少が認められた。

また、総ビリルビンの増加が 500 ppm 群でもみられた。

### Ⅲ-9 病理学的検査

#### Ⅲ-9-1 剖検

死亡動物及び定期解剖動物を合わせた全動物の剖検所見を APPENDIX H 1, 2 に、定期解剖動物の剖検所見を APPENDIX H 3, 4 に、死亡動物の剖検所見を APPENDIX H 5, 6 に示した。

雄の死亡動物（6000 ppm 群 2 匹）では、胸腺の萎縮が 1 匹にみられた。定期解剖動物では、6000 ppm 群で胸腺の萎縮が 3 匹にみられた。その他、投与群で胸腺の赤色斑や肝臓のヘルニアが観察されたが、被験物質投与による影響とは考えなかった。

雌の死亡動物（6000 ppm 群 5 匹、4000 ppm 群 1 匹）では、6000 ppm 群で胸腺の萎縮と皮下の乾燥が各 1 匹に、4000 ppm 群で胸腺の萎縮が 1 匹にみられた。定期解剖動物では、投与群で肝臓のヘルニアが観察されたが、被験物質投与による影響とは考えなかった。

#### Ⅲ-9-2 臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量と体重比を APPENDIX I 1, 2（実重量）、J 1, 2（体重比）に示した。なお、定期解剖時の生存数は、雄の 6000 ppm 群で 3 匹、雌の 4000 ppm 群で 4 匹であったため、その数を検査数とした。雌の 6000 ppm 群では、全匹が死亡したため、臓器重量測定は実施しなかった。

雄では、6000 ppm 群は解剖時体重が顕著に低く、副腎以外の全臓器で実重量の低値がみられ、体重比では、副腎、心臓、肺、腎臓及び脳で高値が、胸腺、脾臓及び肝臓で低値が認められた。

4000 ppm 群でも解剖時体重が低く、副腎と精巣以外の臓器で実重量の低値がみられ、体重比では、副腎、精巣、肺、腎臓及び脳で高値が、胸腺と脾臓で低値が認められた。

2000 ppm 群では、胸腺、肺及び脾臓で実重量の低値が、副腎、腎臓及び脳で体重比の高値が認められた。

1000 ppm 群では、脳で実重量が低値を示した。

雌では、4000 ppm 群は解剖時体重が顕著に低く、全臓器で実重量の低値がみられ、体重比では、肺、腎臓及び脳で高値が、胸腺と脾臓で低値が認められた。

2000 ppm 群では、腎臓で実重量と体重比の高値、副腎と脾臓で実重量の低値がみられ、脾臓で体重比の低値が認められた。

1000 ppm 群では、副腎で実重量と体重比の低値、腎臓で体重比の高値が認められた。

## Ⅲ－9－3 病理組織学的検査

死亡動物及び定期解剖動物を合わせた全動物の病理組織学的所見を APPENDIX K 1, 2 に、定期解剖動物の病理組織学的所見を APPENDIX K 3, 4 に、死亡動物の病理組織学的所見を APPENDIX K 5, 6 に示した。

## &lt;雄&gt;

死亡動物（6000 ppm 群 2 匹）：

6000 ppm 群では、鼻腔の嗅上皮の壊死（1 匹）、肺の出血（2 匹）、胸腺の萎縮（2 匹）、骨髄のうっ血（2 匹）と造血低下（2 匹）、肝臓の単細胞壊死（2 匹）、腎臓の乳頭壊死（1 匹）、精巣の精原細胞壊死（2 匹）及び精巣上体の精上皮系細胞の残屑の出現（2 匹）が認められた。

定期解剖動物：

6000 ppm 群で鼻腔の嗅上皮の壊死（3 匹）、肺の出血（2 匹）、胸腺の萎縮（3 匹）、骨髄のうっ血（2 匹）と造血低下（3 匹）、肝臓の単細胞壊死（2 匹）、腎臓の乳頭壊死（1 匹）、精巣の精原細胞壊死（2 匹）及び精巣上体の精上皮系細胞の残屑の出現（3 匹）が認められた。

4000 ppm 群では、鼻腔の嗅上皮の萎縮（2 匹）と壊死（3 匹）、骨髄の造血低下（4 匹）、胸腺の萎縮（3 匹）、腎臓の乳頭壊死（3 匹）が認められた。

2000 ppm 以下の群では、被験物質投与による影響は認められなかった。

## &lt;雌&gt;

死亡動物（6000 ppm 群 5 匹、4000 ppm 群 1 匹）：

6000 ppm 群では、鼻腔の嗅上皮の壊死（3 匹）、骨髄のうっ血（5 匹）と造血低下（5 匹）、胸腺の萎縮（1 匹）、肝臓の単細胞壊死（4 匹）が認められた。

4000 ppm 群では、鼻腔の嗅上皮の壊死、骨髄のうっ血と造血低下、胸腺の萎縮、肝臓の単細胞壊死が認められた。

定期解剖動物：

4000 ppm 群では、鼻腔の嗅上皮の壊死（1 匹）、骨髄の造血低下（4 匹）、胸腺の萎縮（1 匹）、腎臓の乳頭壊死（4 匹）、ハーダー腺の炎症（3 匹）が認められた。

2000 ppm 群では、腎臓の乳頭壊死とハーダー腺の炎症が各 1 匹で認められた。

1000 ppm 以下の群では、被験物質投与による影響は認められなかった。

#### IV 考察及びまとめ

$\alpha$ -フェニレンジアミン二塩酸塩の F344/DuCrj(Fischer)ラットを用いた経口投与による 2 年間 (104 週間) のがん原性試験の予備試験である 13 週間試験を実施するに当たり、その投与濃度を決定するために 2 週間試験を実施した。投与は、 $\alpha$ -フェニレンジアミン二塩酸塩を各投与濃度に調製した飲水の自由摂取で行った。1 群当たりの動物数は雌雄各 5 匹とし、被験物質投与群を 5 群、対照群を 1 群の 6 群構成で試験を行った。投与用量は、雌雄とも 500, 1000, 2000, 4000, 6000 ppm に設定した。

##### (1) 用量－反応関係

2 週間投与の結果、6000 ppm 群では、雄で 2 匹、雌で全動物の死亡が認められた。雌雄ともに顕著な摂餌量の減少 (雄：32%、雌：29%) と顕著な体重減少が認められ、さらに、雄の生存動物にも立毛、糞小粒、糞少量、鼻血性分泌物、尿による外陰部周囲の汚染と多くの症状が観察された。雄の生存動物ではアルブミン、グルコースの減少等の低栄養状態を示唆する変化が認められた。消耗状態を示唆する変化として、死亡動物、定期解剖動物ともに剖検で雌雄に胸腺の萎縮が認められた。

被験物質の忌避によると考えられる顕著な摂水量の減少 (対照群に対して 雄：13～16%、雌：14～17%) が認められ、それに起因すると考えられる変化として、雄の生存動物では血液濃縮様変化 (赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度の増加)、雌の死亡動物 1 匹に皮下の乾燥が認められた。

肝臓、腎臓、精巣、鼻腔、造血器に被験物質の毒性影響が認められた。肝臓への影響として、雌雄とも単細胞壊死、雄の生存例に総ビリルビンの増加、GOT 及び GPT の上昇傾向がみられた。腎臓への影響として、雄の死亡動物、定期解剖動物ともに腎臓の乳頭壊死、生存動物に尿素窒素の増加がみられた。精巣への影響として、精巣の精原細胞壊死、精巣上体の精上皮系細胞の残屑の出現等の変化がみられた。鼻腔への影響として、雌雄ともに嗅上皮の壊死が認められた。血液系/造血器への影響として、雌雄ともに骨髓のうっ血と造血低下、雄の定期解剖動物では、血小板数と網赤血球比の減少及びプロトロンビン時間の延長傾向が認められたが、この変化は造血機能の低下によるものと考えられ、病理組織学的検査の骨髓のうっ血と造血低下に対応していた。また、雄には CPK の上昇がみられた。その他、雄の死亡動物、定期解剖動物とも、肺の出血が認められた。

4000 ppm 群では雌に 1 匹の死亡が認められた。顕著な摂餌量の減少 (雄：50～60%、雌：42～63%)、顕著な体重低下が認められ、投与期間後期で増加に転じたものの、最終計測日には対照群に対して、雄では 65%、雌では 68%と低値であった。雄では立毛が、雌では立毛、糞小粒、尿による外陰部周囲の汚染がほとんどの動物に認められた。低栄養状態を示唆する変化として、アルブミン、A/G 比、グルコースの減少が雌に認められた。消耗状態を示唆する変化として、死亡動物の雌に剖検で胸腺の萎縮が認められた。

雌雄とも顕著な摂水量の減少 (雄：22～58%、雌：18～34%) が認められ、摂水量の低下が原因と考えられる血液濃縮様変化 (赤血球数とヘモグロビン濃度の増加) が雌雄に認められた。



それに加えて、鼻腔の嗅上皮の萎縮が雄のみに、鼻腔の嗅上皮の壊死が雌雄に、骨髓の造血低下及び網赤血球比と血小板数の減少が雌雄に、腎臓の乳頭壊死が雌雄に、尿素窒素の増加が雌雄に、腎臓重量の増加が雌に認められた。また、病理組織学的な変化はみられなかったが、リン脂質、総ビリルビン、雄に総コレステロールの増加、GOT と GPT の上昇が雌に認められ、肝臓への影響が示唆された。

2000 ppm 群では、死亡動物は認められず、一般状態、剖検とも投与の影響と考えられる所見は認められなかったが、摂水量の減少（雄：52～71%、雌：41～56%）が認められた。しかし、摂餌量の減少（雄：79～83%、雌：77～90%）はわずかであり、体重増加の抑制も最終計測時には対照群に対して雄は 88%、雌は 94%とわずかであった。腎臓への影響を示唆する変化として、雌に腎臓の実重量と体重比の増加、乳頭壊死が認められた。肝臓への影響を示唆する変化として、雄にリン脂質の増加が認められた。

1000 ppm 群では、摂水量の低値がみられた。その他、雄に脳の実重量の低値、雌に副腎の実重量と体重比の低値が認められたが、わずかな変化であり、被験物質の毒性影響によるものであるかは不明であった。

500 ppm 群では、摂水量の低値が雌雄にわずかながら認められたが、その他、対照群と比べ顕著に高い発生率を示した所見は認められなかった。

以上のように、 $\alpha$ -フェニレンジアミン二塩酸塩の 2 週間の混水投与によって、高用量群では摂水量、摂餌量の減少、体重低下及び体重増加の抑制に伴った消耗性変化がみられ、6000 ppm 群で雄に 2 匹、雌は全匹、4000 ppm 群で雌に 1 匹の死亡が認められた。摂水量の減少は雌雄の全投与群に投与濃度に対応して認められ、摂餌量の減少は雌雄の 2000 ppm 以上の群で、体重低下及び体重増加の抑制は、雌雄の 2000 ppm 以上の群で認められた。血液の濃縮に伴うと考えられる変化及び低栄養状態を示唆する変化が雌雄の 4000 ppm 群と雄の 6000 ppm 群に認められた。それに加えて、被験物質の毒性影響が、腎臓、肝臓、血液系/造血器、鼻腔、精巣に認められた。本試験でこれらの毒性影響がみられた最低用量は 1) 腎臓への影響は、雌に腎臓の実重量、体重比の増加、乳頭壊死が認められた 2000 ppm、2) 肝臓への影響は、雄にリン脂質の増加が認められた 2000 ppm、3) 血液系/造血器の影響は、雌雄に骨髓の造血低下及び網赤血球比と血小板数の減少が認められた 4000 ppm、4) 鼻腔への影響は、雄に嗅上皮の萎縮と雌雄に嗅上皮の壊死が認められた 4000 ppm、5) 精巣への影響は、精巣の精原細胞壊死、精巣上体の精上皮系細胞の残屑等の変化がみられた 6000 ppm であった。

## (2) 無毒性量 (NOAEL) について

上記の結果より、 $\alpha$ -フェニレンジアミン二塩酸塩の 2 週間混水投与による無毒性量は、肝臓と腎臓への影響をエンドポイントとして 1000 ppm（雄：0.082～0.098、雌：0.082～0.101 g/kg body weight/day）と考えられた。

## (3) 他の文献との比較

① *o*-フェニレンジアミンの急性毒性

*o*-フェニレンジアミン二塩酸塩のラットにおける腹腔内投与によるLD<sub>50</sub>値は290 mg/kg (文献 9)、*o*-フェニレンジアミンのラットにおける経口投与によるLD<sub>50</sub>値は660~1284 mg/kg、腹腔内投与によるLD<sub>50</sub>値は516 mg/kgと報告されている (文献 6)。

また、急性毒性の症状は一般状態の悪化、呼吸の抑制、振戦、痙攣、流涎、興奮がみられ、肝臓の黄色化、脾臓と腎臓の青色化が認められ、ラットに約10 mg/kgの腹腔内投与を行なうと10.8%のメトヘモグロビンができると報告されている (文献 10)。

急性毒性は *p*-フェニレンジアミンよりも毒性が低いと考えられている。

② *o*-フェニレンジアミンの職業性暴露限界

*o*-フェニレンジアミンは及びその二塩酸塩は、染毛剤、顔料、染料、写真現像剤、農薬や防錆剤の中間体として使用されている。1999年の産業衛生学会の許容濃度等の勧告では、*o*-フェニレンジアミンで問題とすべき有害性は肝腫瘍の発症と感作性であるとして、1997年に提案した*p*-フェニレンジアミンの許容濃度 (文献 5) を参考に、0.1 mg/m<sup>3</sup>、皮膚感作性物質第1群の暫定値が提案された (文献 6)。1999年の許容濃度等の勧告では、化学構造が類似した*m*-フェニレンジアミンも、許容濃度0.1 mg/m<sup>3</sup>、皮膚感作性物質第1群と勧告された (文献 6)。ACGIHはTLV-TWA 0.1 mg/m<sup>3</sup>、発がん性の分類はA3 (Confirmed animal carcinogen with unknown relevance to humans) と勧告されている (文献 7)。ドイツでは、*o*-フェニレンジアミンは感作性物質、催腫瘍性 (Category 3B) に分類され、MAK 値は提案されていない (文献 8)。

この0.1 mg/m<sup>3</sup>の値は、60 kgの体重の労働者が職場で1日8時間の労働時間に10 m<sup>3</sup>の空気を吸い、かつ、肺内吸収率を100%と仮定して、1日当たりの *o*-フェニレンジアミン摂取量を計算すると、0.016 mg/kg体重に相当し、二塩酸塩としては0.026 mg/kg体重に相当する。

③ *m*-フェニレンジアミンと*p*-フェニレンジアミンの急性毒性

*m*-フェニレンジアミン二塩酸塩のラットにおける腹腔内投与によるLD<sub>50</sub>値は325 mg/kg (文献 9)、皮下投与によるLD<sub>50</sub>値は600 mg/kgと報告されている (文献 6)。また、*m*-フェニレンジアミンのラットにおける経口投与によるLD<sub>50</sub>値は650 mg/kg、腹腔内投与によるLD<sub>50</sub>値は283 mg/kgと報告されており、*m*-フェニレンジアミンの急性毒性は、*o*-フェニレンジアミンと同様に、*p*-フェニレンジアミンよりも毒性が低いと考えられている (文献 6)。

*p*-フェニレンジアミンのラットにおける経口投与によるLD<sub>50</sub>値は80 mg/kgである (文献 5)。また、急性毒性の症状は嗜眠、流涎、流涙、立毛、運動失調、振戦、呼吸の不整、頻脈、体温の低下であり、心筋と横隔膜に細胞壊死が認められたと報告されている (文献 5)。

#### ④ 日本バイオアッセイ研究センターの*m*-フェニレンジアミン二塩酸塩の毒性・がん原性試験結果

##### ④-1. 急性毒性

F344ラット雌雄に*m*-フェニレンジアミン二塩酸塩を1回強制経口投与（96 mg/kg、163 mg/kg、277 mg/kg、471 mg/kg、800 mg/kg）した結果、雄は277 mg/kg以上、雌は163 mg/kg以上で死亡がみられ、死亡動物には腎臓に近位尿細管の壊死と蛋白円柱の出現、肺にうっ血や浮腫、脾臓、胸腺及びリンパ節に核崩壊、副腎に出血、鼻腔上皮に変性が認められたが、2週間の生存動物には投与に起因した変化はみられなかった（文献 11）。

##### ④-2. 2週間投与による毒性

F344ラット雌雄に*m*-フェニレンジアミン二塩酸塩を飲水に混ぜ、2週間投与（278 ppm、833 ppm、2500 ppm、7500 ppm、22500 ppm）した結果、雄は7500 ppm以上、雌は2500 ppm以上の群で死亡がみられ、雄の2500 ppm以上、雌の833 ppm以上の群では死亡動物、生存動物とも、肝臓に萎縮や単細胞壊死、色素沈着、脾臓、胸腺及びリンパ節に萎縮、副腎に出血、骨髓にうっ血と減形成が認められた（文献 11）。

##### ④-3. 亜急性毒性

F344ラット雌雄に*m*-フェニレンジアミン二塩酸塩を飲水に混ぜ、13週間投与（62.5 ppm、125 ppm、250 ppm、500 ppm、1000 ppm）した結果、体重、摂水量、及び摂餌量の低値が雌雄とも500 ppm以上の群にみられ、これらの群には赤血球数の減少（雄のみ）、血漿の総蛋白やアルブミン、カルシウムの減少、尿中の蛋白とケトン体の増加、胸腺の重量低下、腎臓の軽度な乳頭壊死がみられ、また、腎臓の色素沈着（褐色、鉄染色陰性）が雄の500 ppm以上の群と雌の250 ppm以上の群に出現した。しかし、雄では250 ppm以下、雌では125 ppm以上の群には、中毒的障害は認められなかった（文献 10）。

##### ④-4. 104週間投与によるがん原性

F344ラット雌雄に*m*-フェニレンジアミン二塩酸塩を飲水に混ぜ、104週間投与（64 ppm、160 ppm、400 ppm）した結果、*m*-フェニレンジアミン二塩酸塩の投与にする腫瘍性病変は雌雄とも出現しなかったが、雌の400 ppm群で慢性腎症と鼻腔のエオジン好性変化の程度が強く出現し、発生数も高かった（文献 11）。

#### ⑤ *m*-フェニレンジアミンと*p*-フェニレンジアミンのヒトでの暴露と臨床報告との関連

##### ⑤-1. *m*-フェニレンジアミン

*m*-フェニレンジアミン曝露による排尿障害の臨床例が報告されている（文献 12）。5年から10年の曝露労働者に搔皮試験で感作（即時型アレルギー）が証明され、尿中に好酸球の増加があり、膀胱に粘膜の浮腫、腫脹、好酸球の浸潤があったとされた。

本試験でも*o*-フェニレンジアミンの2週間経口投与によりラットに腎臓に乳頭壊死が認められている。*m*-フェニレンジアミンの膀胱への影響と同様に*o*-フェニレンジアミンあるいはその代謝物の尿への排泄に伴う腎臓への傷害性の変化である可能性がある。

##### ⑤-2. *p*-フェニレンジアミン

一年以上にわたって毛染め剤を使用している200人に、皮膚のアレルギー（6.5%）、目のアレルギー（16%）、水晶体の異常（89%）、早期の老眼（7%）がみられたとする調査結果が

ある（文献 5）。*p*-フェニレンジアミンのヒトでの事故例では、コップ一杯の水で薄められた毛染め剤を誤飲した男性に呼吸困難、心窩部痛、顔から全身の浮腫が生じ、血中myoglobinの異常高値、筋生検で筋の壊死が証明され、腎不全で25日に死亡した。また、スプーン一杯程度を飲んだ女性は、CPKの高値を示したが、その後回復したと報告された（文献 5）。

本試験では、*o*-フェニレンジアミン二塩酸塩の2週間経口投与によりラットの雄（6000 ppm群）にCPKの高値が観察されている。本試験では病理組織学的には筋肉への変化が認められなかったが、このCPKの高値は、*o*-フェニレンジアミン二塩酸塩に筋肉への影響があることを示唆している可能性がある。

#### （4）13 週間試験の濃度決定

以上の試験結果より、*o*-フェニレンジアミン二塩酸塩の 13 週間混水投与のラットの投与濃度を以下のように設定した。6000 ppm 群と 4000 ppm 群では、飲水忌避によると思われる顕著な摂水量、摂餌量及び体重の減少、血液生化学的検査及び病理組織学的検査では被験物質の影響と考えられる変化が認められ、6000 ppm 群で雄に 2 匹、雌は全 5 匹、4000 ppm 群で雌に 1 匹の死亡が認められたことから、4000 ppm 以上の濃度を 13 週間連続投与することは適切でないと思われた。2000 ppm では、摂水量及び摂餌量の低下がみられたものの、体重増加の抑制率はごくわずかであり、他の検査でも腎臓及び肝臓への軽度の影響のみで、生死に影響を及ぼすようなものは認めなかったことから、4000 ppm 以下で 2000 ppm 以上の濃度が 13 週間試験における最高用量と考えた。また、500 ppm でも体重にはほとんど影響が認められないものの、摂水量に低値が認められた。従って、13 週間試験の投与濃度は、雌雄とも最高用量を 3000 ppm とし、以下 2000 ppm より公比 2 で 1000 ppm、500 ppm、250 ppm に設定した。

V 文献

1. <http://chemfinder.cambridgesoft.com>
2. 和光純薬工業（株）提供資料(1997)  
赤外吸収スペクトル
3. National Institute for Occupational Safety and Health (1997)  
Registry of Toxic Effects of Chemical Substances  
Accession number : SS7875000, *o*-Phenylenediamine  
NIOSH, Cincinnati, OH
4. 阿部正信 (1986)  
長期毒性試験に用いるラット、マウスの体重変化の解析による群分けの  
適正層別方式の確立  
薬理と治療, 14, 7285-7302
5. 日本産業衛生学会、許容濃度等の勧告（1997）産業衛生学雑誌、39、129-168
6. 日本産業衛生学会、許容濃度等の勧告（1999）産業衛生学雑誌、41、96-158
7. American Conference of Governmental Industrial Hygienist (ACGIH)(2002)  
Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents & Biological  
Exposure Indices, ACGIH, Cincinnati, OH
8. Deutsche Forschungsgemeinschaft (2002)  
List of MAK and BAT values 2002, *o*-Phenylenediamine  
p90 Wiley-VCH, Weinheim
9. Weisburger E.K., Russfield A.B., Homburger F., Weisburger J.H., Boger E., Van  
Dongen C.G. and Chu K.C. (1978)  
Testing of twenty-one environmental aromatic amines or derivatives for long-term  
toxicity or carcinogenicity  
J. Environ. Pathol. Toxicol. 2; 325 – 356
10. Watanabe T., Ishihara N. and Ikeda M. (1976)  
Toxicity of and biological monitoring for 1,3-diamino-2,4,6-trinitrobenzene and  
other nitro-amino derivatives of benzene and chlorobenzene  
Int. Arch. Occup. Environ. Health 37, 157 – 168

11. 日本バイオアッセイ研究センター (1988)  
メタフェニレンジアミン二塩酸塩のラット及びマウスを用いた経口によるがん原性試験  
結果報告書  
日本バイオアッセイ研究センター、神奈川
12. International Agency for Research on Cancer (IARC) (1978)  
para- Phenylenediamine (hydrochloride)  
In:IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man.  
Some Aromatic Amines and Related Nitro Compounds  
－Hair Dyes, Coloring Agents and Miscellaneous Industrial Chemicals  
Vol.16, pp111-124, IARC Lyon