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13週間毒性試験(混水試験)報告書

試験番号：０３５１

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 13 週間毒性試験(混水試験)報告書

試験番号：０３５１

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　尿検査 …… 8
Ⅱ－3－8　病理学的検査 …… 8
(1) 剖検 …… 8
(2) 臓器重量 …… 9
(3) 病理組織学的検査 …… 9

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 …… 10
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 …… 12
Ⅲ－7　血液学的検査 …… 13
Ⅲ－8　血液生化学的検査 …… 13
Ⅲ－9　尿検査 …… 13
Ⅲ－10　病理学的検査 …… 13
Ⅲ－10－1　剖検 …… 13
Ⅲ－10－2　臓器重量 …… 14
Ⅲ－10－3　病理組織学的検査 …… 14

Ⅳ　考察及びまとめ …… 16

Ⅴ　文献 …… 21

要　約

o-フェニレンジアミン二塩酸塩のがん原性を検索する目的でF344/DuCrj (Fischer) ラットを用いて経口投与による2年間（104週間）のがん原性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13週間試験を実施した。投与はo-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10匹とし、被験物質投与群5群と対照群1群の計6群構成で行った。投与濃度は、雌雄とも250 ppm、500 ppm、1000 ppm、2000 ppm及び3000 ppmとした。観察、検査として、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、尿検査、剖検、臓器重量の測定及び病理組織学的検査を行った。

被験物質の投与により、雌の3000 ppm群では、2匹の死亡がみられたが、その他の投与群では、死亡はみられなかった。

3000 ppm群では、雌雄とも摂水量と摂餌量の低下がみられ、特に、雌の摂水量低下は顕著であった。体重も投与期間を通して増加の抑制がみられた。被験物質投与による影響は、血液系（雌雄とも血液学的パラメータの変化）、腎臓（雌雄とも乳頭の変性と尿素窒素の増加、雄で腎臓の好酸体の程度の低下）、鼻腔（雌雄とも嗅上皮の壊死と嗅腺の管拡張）、膀胱（雄で移行上皮の単純過形成と結節状過形成）、ハーダー腺（雌雄とも炎症）に認められた。

2000 ppm群では、雌雄とも摂水量と摂餌量の低下がみられ、体重増加の抑制も投与期間を通して認められた。血液系、腎臓、鼻腔、膀胱、ハーダー腺への影響が認められた。

1000 ppm群では、雌雄とも摂水量の低下と軽度の摂餌量の低下がみられ、体重増加の抑制が認められたが、比較的軽度であった。また、ハーダー腺への影響が雄に認められた。

500 ppm群では、雌雄とも摂水量の低下傾向と雌で体重増加の軽度の抑制が認められた。

250 ppm群では、被験物質投与によると考えられる変化は認められなかった。

以上のように、血液系、腎臓、鼻腔及び膀胱への影響は2000 ppm以上の群で、ハーダー腺（炎症）への影響は雄の1000ppm以上の群で認められた。従って、無毒性量（NOAEL）は、雄のハーダー腺（炎症）への影響をエンドポイントとして、500 ppm（雄：0.025～0.049 g/kg/day）であると考えられた。

以上の結果を考慮し、o-フェニレンジアミン二塩酸塩のがん原性試験の投与濃度は、雄では2000 ppmを最高用量とし、以下、1000 ppm、500 ppm（公比2）に設定した。雌では、1000 ppmを最高用量とし、以下、500 ppm、250 ppm（公比2）に設定した。

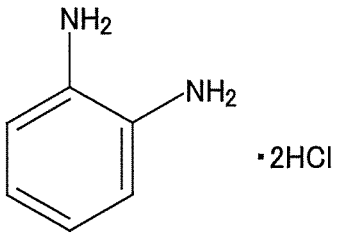
Ⅰ　試験材料

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）



$NH_2C_6H_4NH_2 \cdot 2HCl$

分　子　量　：181.08

Ⅰ－1－3　物理化学的性状等（文献 1）

外　　観　：赤褐色結晶性粉末（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：WTE0491
製　造　元：和光純薬工業（株）
グ レ ー ド：和光一級
純　　度：100.0%（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o-フェニレンジアミン二塩酸塩について、マス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o-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 M 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o-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o-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 M 2に示した。

Ⅰ－4　試験動物

動物は、o-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75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60匹（投与開始時体重範囲、雄：116～129g、雌：94～104g）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

1998 年 2 月 23 日より 1998 年 5 月 26 日及び 27 日までの 13 週間とし、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 250 ppm、500 ppm、1000 ppm、2000 ppm 及び 3000 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の群を設けた。

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、がん原性試験の投与濃度を決定するために 13 週間とした。（文献 3）

投与濃度は本試験に先立って実施した 2 週間試験（文献 4）の結果をもとに決定した。2 週間試験では被験物質を 6000 ppm、4000 ppm、2000 ppm、1000 ppm、500 ppm の濃度で飲水に添加し、投与した。試験の結果、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の低下、摂餌量の低下及び体重の低下、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 群で雄は 2 匹、雌は全 5 匹、4000 ppm 群で雌は 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。

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、97.6～102%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 M 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（3000 ppm）及び最低濃度（250 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 3000 ppm で 97.0%、250 ppm で 94.8%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 M 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10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	10匹（1001～1010）	対　照　群	10匹（2001～2010）
250 ppm群	10匹（1101～1110）	250 ppm群	10匹（2101～2110）
500 ppm群	10匹（1201～1210）	500 ppm群	10匹（2201～2210）
1000 ppm群	10匹（1301～1310）	1000 ppm群	10匹（2301～2310）
2000 ppm群	10匹（1401～1410）	2000 ppm群	10匹（2401～2410）
3000 ppm群	10匹（1501～1510）	3000 ppm群	10匹（2501～2510）

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匹づつ割り当て、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5）。

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、また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区別した。

Ⅱ－2－3　飼育条件

動物は、全飼育期間を通して、設定温度23±2℃（実測値（平均±標準偏差）22.9±0.2℃）、設定湿度55±10%（実測値（平均±標準偏差）57±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、ケージ交換は2週間毎に実施した。

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-γ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、自動給水装置で自由摂取させた。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）から分析データを使用ロット毎に入手し、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）の分析データを使用ロット毎に入手し、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、毎日 1 回生死及び瀕死の確認を行い、一般状態の詳細な観察は毎週 1 回実施した。

Ⅱ－3－2　体重測定

全動物について、毎週 1 回（投与開始直前及び各週 7 日目）体重を測定した。なお、動物の死亡発見時と切迫屠殺時及び定期解剖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 1 回、給水量と残水量を測定し、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、給餌量と残餌量を測定し、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

定期解剖時まで生存した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、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。

なお、検査対象動物は解剖日前日より（18時間以上）絶食させた。

検査項目：赤血球数、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 N 1に示した。

Ⅱ－3－6　血液生化学的検査

定期解剖時まで生存した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。

なお、検査対象動物は解剖日前日より絶食（18時間以上）させた。

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、トリグリセライド、リン脂質、GOT、GPT、LDH、ALP、γ-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 N 1に示した。

Ⅱ－3－7　尿検査

投与最終週に採尿可能な全動物について新鮮尿を採取し、尿検査を行った。

検査項目：pH、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン

検査方法はAPPENDIX N 1に示した。

Ⅱ－3－8　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、骨髄、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。この値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。

o-フェニレンジアミン二塩酸塩の体重 kg 当たりの一日摂取量は、摂水量に *o*-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 O 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。

尿検査は、投与最終週まで生存した動物を対象に行い、検査数を母数とした。

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。

病理組織学的検査のうち非腫瘍性病変については、対照群と各投与群間で χ^2 検定を行った。検定は所見のみられなかった動物をグレード 0 として分類し各グレード毎の動物の度数分布により行った。また、尿検査についても対照群と各投与群間との χ^2 検定を行った。

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、全ての群に死亡はみられなかった。

雌では、3000 ppm 群で 1 及び 2 週目に各 1 匹、計 2 匹の死亡がみられた。2000 ppm 以下の投与群では死亡はみられなかった。

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、3000 ppm 群で鼻血性分泌物が 1、2 週目に 1 匹みられ、尿による外陰部周囲の汚染が 3 週目に 7 匹観察され、以降投与期間終了まで、1～5 匹に観察された。1000 ppm 群では、尿による外陰部周囲の汚染が 3 週目以降、全投与期間を通して 1 匹にみられ、赤色尿が 5～8 週目に 1 匹にみられた。

雌では、3000 ppm 群の死亡動物では、尿による外陰部周囲の汚染、鼻血性分泌物、糞小粒及び糞少量が観察され、死に至った。3000 ppm 群の生存動物では、鼻血性分泌物が 1、2 週目に全動物にみられ、尿による外陰部周囲の汚染は投与期間を通じて全動物に観察された。また、円背位が 7～11 週目に 1 匹、糞小粒が 9～11 週目に 1～2 匹にみられた。2000 ppm 群では 3 週目より尿による外陰部周囲の汚染が 4 匹みられ、以降投与期間終了まで、4～7 匹に観察された。

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、2000 ppm 以上の群で、全投与期間にわたり体重の低値が認められた。1000 ppm 群では、5 週目以降低値が認められた。500 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（13 週 7 日）における各投与群の体重は、対照群と比較して、3000 ppm 群：78%、2000 ppm 群：86%、1000 ppm 群：92%、500 ppm 群：98%、250 ppm 群：100%であった。

雌では、1000 ppm 以上の群で、全投与期間にわたり、体重の低値が認められた。500 ppm 群では、4、5、9～13 週目に低値が認められた。250 ppm 群では、12 週目に低値が認められた。なお、最終計測日（13 週 7 日）における各投与群の体重は、対照群と比較して、3000 ppm 群：67%、2000 ppm 群：81%、1000 ppm 群：89%、500 ppm 群：93%、250 ppm 群：96%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。

雌雄とも1000 ppm以上の群で、全投与期間にわたり、摂水量の低値がみられた。500 ppm群では、雌雄とも投与期間を通して低値傾向であった。なお、全投与期間における各群の摂水量は、対照群と比較して、雄では、3000 ppm群：57～79%、2000 ppm群：69～75%、1000 ppm群：80～87%、500 ppm群：84～92%、250 ppm群：96～103%、雌では、3000 ppm群：26～50%、2000 ppm群：38～66%、1000 ppm群：43～74%、500 ppm群：55～95%、250 ppm群：75～112%の範囲にあった。

Ⅲ－5　摂餌量

摂餌量をTABLE 5, 6、FIGURE 5, 6、APPENDIX D 1, 2 に示した。

雄では、2000 ppm以上の群で、全投与期間にわたり、摂餌量の低値あるいは低値傾向がみられた。1000 ppm群と500 ppm群では、投与初期にわずかな低値がみられた。250 ppm群では、対照群との間に差はみられなかった。

雌では1000 ppm以上の群で、全投与期間にわたり、摂餌量の低値がみられた。500 ppm及び250 ppm群で投与期間終期にわずかな低値がみられた。なお、全投与期間における各群の摂餌量は、対照群に対して、雄では、3000 ppm群：66～94%、2000 ppm群：80～93%、1000 ppm群：90～96%、500 ppm群：94～99%、250 ppm群：97～101%、雌では、3000 ppm群：40～81%、2000 ppm群：74～89%、1000 ppm群：86～96%、500 ppm群：91～100%、250 ppm群：92～103%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被験物質一日摂取量をAPPENDIX E 1,2 に示した。

雄では、ほぼ設定濃度に対応した被験物質摂取量を示したが、雌では、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(g/kg body weight/day) は、雄では、3000 ppm群：0.143～0.238、2000 ppm群：0.091～0.180、1000 ppm群：0.050～0.098、500 ppm群：0.025～0.049、250 ppm群：0.014～0.028、雌では、3000 ppm群：0.145～0.278、2000 ppm群：0.117～0.191、1000 ppm群：0.062～0.102、500 ppm群：0.035～0.064、250 ppm群：0.022～0.033 の範囲にあった。

Ⅲ－7　血液学的検査

血液学的検査の結果をTABLE 7, 8、APPENDIX F 1, 2 に示した。

雄では、2000 ppm 以上の群でMCV、MCH の増加、赤血球数、ヘマトクリット値の減少が認められた。

雌では、2000 ppm 以上の群でMCV、MCH の増加、血小板数の減少、プロトロンビン時間の延長が認められ、3000 ppm 群で赤血球数の減少、異型リンパ球比の増加がみられた。

Ⅲ－8　血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果をTABLE 9, 10、APPENDIX G 1, 2 に示した。

雄では、リン脂質の増加とナトリウムの減少が1000 ppm 以上の群で、尿素窒素の増加、アルブミンの減少及びGPT の低下が2000 ppm 以上の群で、総蛋白の減少が3000 ppm 群でそれぞれ認められた。その他、2000 ppm 群で総コレステロールの増加が見られた。

雌では、総蛋白、総コレステロール、リン脂質の減少が 500 ppm 以上の群で、尿素窒素の増加、アルブミンの減少が2000 ppm 以上の群で、GOT、ALP の上昇、クロールの増加、カルシウムの減少が3000 ppm 群でそれぞれ認められた。その他、ナトリウムの減少が1000 ppm 群と2000 ppm 群で見られた。

Ⅲ－9　尿検査

投与期間最終週に行った尿検査の結果をTABLE 11, 12、APPENDIX H 1, 2 に示した。

雄では、被験物質投与による影響は認められなかった。

雌では、ケトン体の陽性度の増加が2000 ppm 以上の群で、pH の低下が3000 ppm 群で認められた。

Ⅲ－10　病理学的検査

Ⅲ－10－1　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 Ⅰ 1, 2 に、死亡動物があった雌については、定期解剖動物の剖検所見をAPPENDIX Ⅰ 3 に、死亡動物の剖検所見をAPPENDIX Ⅰ 4 に示した。

雄では、1000 ppm 群を除く対照群や投与群で、肝臓のヘルニアが1～2 匹、また、1000

ppm 群に水腎症が 1 匹、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（3000 ppm 群 2 匹）では、胸腺の萎縮と腺胃の糜爛がみられた。定期解剖動物では、250 ppm 群を除く投与群と対照群で肝臓のヘルニアが 1～3 匹観察されたが、被験物質投与による影響とは考えなかった。

Ⅲ－10－2　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 TABLE 13, 14、APPENDIX J 1, 2（実重量）、K 1, 2（体重比）に示した。

雄では、3000 ppm 群は解剖時体重が低く、胸腺、精巣、心臓、肺、腎臓、脾臓及び脳で実重量の低値がみられ、精巣、心臓、肺、腎臓、肝臓及び脳で体重比の高値が認められた。

2000ppm 群では、胸腺、心臓、肺、脾臓及び脳で実重量の低値がみられ、精巣、肺、腎臓、肝臓及び脳で体重比の高値が認められた。

1000 ppm 群では、肺で実重量の低値がみられ、腎臓と肝臓で体重比の高値が認められた。

雌では、3000 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、副腎、肺、腎臓、肝臓及び脳で体重比の高値が、胸腺と卵巣で低値が認められた。

2000 ppm 群では、腎臓以外の全臓器で実重量の低値がみられ、肺、腎臓、肝臓及び脳で体重比の高値が認められた。

1000 ppm 群では、胸腺、心臓、肺、脾臓及び肝臓で実重量の低値がみられ、腎臓と脳で体重比の高値が認められた。

500 ppm 群では、胸腺と肺で実重量の低値が認められた。

Ⅲ－10－3　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 TABLE 15, 16、APPENDIX L 1, 2 に、死亡動物があった雌については、定期解剖動物の病理組織学的所見（非腫瘍性病変）を APPENDIX L 3 に、死亡動物の病理組織学的所見（非腫瘍性病変）を APPENDIX L 4 に示した。

＜雄＞

3000ppm 群では、鼻腔に嗅腺の管拡張（7 匹）の発生増加と腎臓の好酸体（軽度 8 匹、中等度 1 匹（対照群：軽度 2 匹、中等度 8 匹））の程度の低下が認められた。また、鼻腔に嗅上皮の壊死（1 匹）、腎臓に乳頭の変性（2 匹）、膀胱に移行上皮の単純過形成（3 匹）と結節状過形成（2 匹）、ハーダー腺に炎症（5 匹、対照群：1 匹）の発生がみられた。

2000 ppm 群では、腎臓の好酸体（軽度 8 匹、中等度 2 匹）の程度の低下が認められた。

また、鼻腔に嗅腺の管拡張（1 匹）、腎臓に乳頭の変性（1 匹）、膀胱に移行上皮の単純過形成（2 匹）、ハーダー腺に炎症（4 匹）の発生がみられた。

1000 ppm 群では、ハーダー腺に炎症（4 匹）の発生がみられた。

500ppm 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。

＜雌＞

死亡動物（3000 ppm 群 2 匹）：胸腺の萎縮と骨髄のうっ血が各 2 匹に認められた。

定期解剖動物：3000 ppm 群では、鼻腔に嗅上皮の壊死（6 匹）、腎臓に乳頭の変性（6 匹）、ハーダー腺の炎症（8 匹、対照群：4 匹）が認められた。なお、鼻腔に嗅腺の管拡張（3 匹）の発生がみられた。

2000 ppm 群では、腎臓に乳頭の変性（5 匹）の発生増加が認められた。また、鼻腔に嗅上皮の壊死（1 匹）、ハーダー腺の炎症（7 匹）がみられた。

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。

なお、対照群で腎芽腫が 1 匹に認められた。

Ⅳ　考察及びまとめ

o-フェニレンジアミン二塩酸塩のがん原性を検索する目的でF344/DuCrj (Fischer) ラットを用いて経口投与による2年間（104週間）のがん原性試験を実施するに当たり、その投与濃度を検索するために13週間試験を実施した。投与はo-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。被験物質投与群5群と対照群1群の計6群構成で、雌雄とも各群10匹の動物を用いた。投与濃度は、雌雄とも250 ppm、500 ppm、1000 ppm、2000 ppm及び3000 ppmとした。

(1) 用量－反応関係

3000 ppm群では、雌で1週目と2週目に計2匹の動物が死亡した。この死亡した2匹については、摂餌量や摂水量の低下に伴って、動物の衰弱状態を示す一般状態の変化（尿による外陰部周囲の汚染、糞小粒、糞少量等）、剖検観察で胸腺の萎縮と腺胃の糜爛、病理組織学的検査では、胸腺の萎縮と骨髄のうっ血が観察され、動物の衰弱による死亡と推察された。

定期解剖まで生存した動物でも、雌雄とも摂水量と摂餌量の低下がみられ、特に、雌の摂水量低下は顕著であった。体重も投与期間を通して増加の抑制（最終計測時に対照群に対し、雄78%、雌67%）がみられた。摂水量と摂餌量の減少、体重増加の抑制に伴った変化として、一般状態では、雌雄とも尿による外陰部周囲の汚染、糞小粒、糞少量等が観察され、多くの臓器で実重量の低値がみられた。また、雌雄とも血漿中の総蛋白とアルブミン、雌では総コレステロールとリン脂質も減少し、摂餌量の低下による低栄養状態と推察された。血液系への影響として、雌雄とも赤血球数の減少、MCVとMCHの増加、雄でヘマトクリット値の減少、雌でプロトロンビン時間の延長と血小板数の減少が認められた。腎臓への影響として、腎臓に乳頭の変性（雄2匹、雌6匹）がみられ、雌雄とも尿素窒素が増加した。なお、雄では、腎臓の好酸体の程度の低下が認められた。鼻腔への影響として、嗅上皮の壊死（雄1匹、雌6匹）と嗅腺の管拡張（雄7匹、雌3匹）が認められた。膀胱への影響として、雄で移行上皮の単純過形成（3匹）と結節状過形成（2匹）が認められた。ハーダー腺への影響として、炎症（雄5匹、雌8匹）が認められた。なお、雄では血漿中のリン脂質が増加し、肝臓への影響が示唆されたが、剖検や病理組織学的検査では、肝臓に被験物質投与によると考えられる影響は認められなかった。

2000 ppm群では、雌雄とも摂水量と摂餌量の低下がみられ、体重増加の抑制（対照群に対し、雄86%、雌81%）も投与期間を通して認められた。一般状態では、雌で尿による外陰部周囲の汚染が観察され、雌雄とも多くの臓器で実重量の低値がみられた。また、雌雄ともアルブミン、雌では総蛋白、総コレステロール、リン脂質も減少し、雄ではリン脂質の増加がみられた。血液系への影響として、雌雄ともMCVとMCHの増加、雄で赤血球数とヘマトクリット値の減少、雌でプロトロンビン時間の延長と血小板数の減少が認められた。

腎臓への影響として、腎臓に乳頭の変性（雄 1 匹、雌 5 匹）がみられ、雌雄とも尿素窒素が増加した。なお、雄では、腎臓の好酸体の程度の低下が認められた。鼻腔への影響として、雄で嗅腺の管拡張、雌で嗅上皮の壊死が各 1 匹でみられた。膀胱への影響として、雄で移行上皮の単純過形成（2 匹）がみられた。ハーダー腺への影響として、炎症（雄 4 匹、雌 7 匹）がみられた。

1000 ppm 群では、雌雄とも摂水量の低下と軽度の摂餌量の低下がみられ、体重増加の抑制（雄 92%、雌 89%）が認められたが比較的軽度であった。臓器重量は、雄では肺に、雌では胸腺、心臓、肺、脾臓及び肝臓に実重量の低値がみられた。また、雌では、血漿中の総蛋白、総コレステロール及びリン脂質の軽度の減少がみられたが、雄ではリン脂質が増加した。ハーダー腺への影響として、雄で炎症が 4 匹にみられた。

500 ppm 群では、雌雄とも摂水量の低下傾向と雌で体重増加の軽度の抑制が認められた。臓器重量では、雌で胸腺と肺に実重量の低値がみられた。また、雌では、血漿中の総蛋白、総コレステロール及びリン脂質の軽度の減少がみられた。

250 ppm 群では、被験物質投与によると考えられる変化は雌雄とも認められなかった。

以上のように、*o*-フェニレンジアミン二塩酸塩の 13 週間の混水投与によって、雌雄とも摂水量と摂餌量が低下し、体重増加の抑制が、雄で 1000 ppm、雌で 500 ppm 以上の群で認められた。また、血液系、腎臓、鼻腔、膀胱及びハーダー腺に、被験物質投与による影響が認められた。本試験でこれらの毒性影響がみられた最低用量は、雄では、1）血液系への影響は、赤血球数とヘマトクリット値の減少、MCV と MCH の増加が認められた 2000 ppm、2）腎臓への影響は、乳頭の変性（1 匹）と腎臓の好酸体の程度の低下が認められた 2000 ppm、3）鼻腔への影響は、嗅腺の管拡張（1 匹）が認められた 2000 ppm、4）膀胱への影響は、移行上皮の単純過形成（2 匹）が認めらた 2000 ppm、5）ハーダー腺への影響は、炎症（4 匹）がみられた 1000 ppm であった。

雌では、1）血液系への影響は、MCV と MCH の増加、プロトロンビン時間の延長と血小板数の減少が認められた 2000 ppm、2）腎臓への影響は、乳頭の変性（5 匹）が認められた 2000 ppm、3）鼻腔への影響は、嗅上皮の壊死（1 匹）が認められた 2000 ppm、4）ハーダー腺への影響は、炎症（7 匹）がみられた 2000 ppm であった。

（2）無毒性量（NOAEL）

上記の結果より、*o*-フェニレンジアミン二塩酸塩の 13 週間混水投与による無毒性量は、雄のハーダー腺への影響をエンドポイントとして、500 ppm（雄：0.025～0.049 g/kg/day）であると考えられた。

(3) 他の文献との比較

① *o*-フェニレンジアミンの亜急性毒性

1%*o*-フェニレンジアミンと 1.5%*m*-フェニレンジアミンを含有する毛染め剤を過酸化水素と混合してウサギに塗布した試験では、13 週間の塗布によりメトヘモグロビンが約 2 倍高くなった以外は変化が認められなかったと報告された（文献 7）。また、*o*-フェニレンジアミンの皮膚・粘膜への刺激性、感作性については、軽度な皮膚刺激性と中等度の眼刺激性を有するとされているが、感作性や皮膚刺激性についての十分な情報がない（文献 7）。

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 6）を参考に、0.1 mg/ m^3、皮膚感作性物質第 1 群の暫定値が提案された（文献 7）。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^3、皮膚感作性物質第 1 群と勧告された（文献 7）。ACGIH は TLV-TWA 0.1 mg/m^3、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 8）。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 9）。

この 0.1 mg/m^3 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^3 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亜急性毒性

m-フェニレンジアミンをラットに 90 日間、経口投与（2、6、18 mg/kg/day）した実験では、18 mg/kg の投与量で雌雄の肝臓と雌の腎臓に重量増加を認め、NOAELは 6 mg/kg/day であったとしている（文献 7）。また、*m*-フェニレンジアミンを飼料に混ぜ 6 週間飼育した実験では病理解剖で変化を認めなかったと報告されている（文献 7）。

p-フェニレンジアミンを飼料に混ぜ（681～3160 ppm）ラットに 7 週間与えた実験では毒性症状は認められなかったと報告されている（文献 6）。一方、*p*-フェニレンジアミンを飼料に混ぜ（0.05%、0.1%、0.2%、0.4%）ラット雌雄に 12 週間与えた実験では、用量依存的に体重の増加抑制、肝臓と腎臓の相対重量の増加があり、0.4%の濃度では脂肪変性が認められたと報告されている（文献 6）。*p*-フェニレンジアミンをウサギに経口的に 20 mg/kg、12 日～13 日、あるいは 10 mg/kg、90 日投与した実験では、心筋細胞に心筋の浮腫、心筋線維の膨化、細胞質の均質化、横紋の消失が認められている（文献 6）。1、2、3、4%の *o*-フェニレンジアミンを過酸化水素と混合してウサギに 1ml/kg の用量で、週 2 回、

13 週間の塗布した結果では、曝露に関連した所見は認められなかったと報告されている（文献 6）。

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. 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）。

④-2. *m*-フェニレンジアミンのがん原性

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 10）。

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 11）。5 年から 10 年の曝露労働者に掻皮試験で感作（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二塩酸塩の 13 週間経口投与によりラットに膀胱への変化（移行上皮の過形成）が認められており、この膀胱への影響は注目に値する。また、本試験で腎臓に乳頭壊死についても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

p-フェニレンジアミンは皮膚に刺激性を有し、眼球に接触することにより角膜損傷、経気道的に曝露すると気道を刺激するとされている。また、モルモットの皮膚に強い感作性があることが証明されている。また、ヒトに塗布（0.1%、1.0%）することにより感作が成立することが認められている。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 6）。

(3)　がん原性試験の濃度設定

13 週間試験の結果より、がん原性試験の投与濃度を以下のように設定した。

雄の 3000 ppm 群では、体重増加の抑制（抑制率 22%）、摂餌量と摂水量の著しい低下がみられ、被験物質投与による影響として、血液系、腎臓、鼻腔、膀胱及びハーダー腺に変化が認められた。3000 ppm を超える濃度での長期投与は、動物の生死に影響を及ぼすと判断した。2000 ppm 群では、摂水量と摂餌量の低下、体重増加の抑制（14%）がみられたが、比較的軽度であった。また、血液系、腎臓、鼻腔、膀胱及びハーダー腺への影響がみられたものの、被験物質の毒性により、動物の寿命に影響を及ぼす程度の変化ではないと考えられた。従って、2000 ppm をがん原性試験の最大耐量と考え、以下 1000 ppm、500 ppm の 3 段階（公比 2）の濃度を設定した。

雌では、3000 ppm 群では、2 匹の動物が死亡した。また、2000 ppm 群でも著しい摂水量と摂餌量の減少、体重増加の抑制（19%）がみられ、被験物質投与による影響として、血液系、腎臓、鼻腔及びハーダー腺に変化が認められた。2000 ppm を超える濃度での長期投与は、動物の生死に影響を及ぼすと判断した。1000ppm 群では、摂水量と摂餌量の低下、体重増加の抑制（11%）がみられたが、比較的軽度であった。また、臓器重量と血液生化学的検査で軽度の変化がみたれたものの、被験物質の毒性により、動物の寿命に影響を及ぼす程度の変化ではないと考えられた。従って、1000 ppm をがん原性試験の最大耐量と考え、以下 500 ppm、250 ppm の 3 段階（公比 2）の濃度を設定した。

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. Organization for Economic Co-operation and Development（OECD）（1981）
Guideline for Testing of Chemicals 408 for "Subchronic Oral Toxicity"
－Rodent: 90-day Study. Paris, OECD

4. 日本バイオアッセイ研究センター（2003）
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），日本バイオアッセイ研究センター，神奈川

5. 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

6. 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

7. 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

8. American Conference of Governmental Industrial Hygienist (ACGIH)(2002)
Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents & Biological Exposure Indices, ACGIH, Cincinnati,OH

9. Deutsche Forschungsgemeinschaft (2002)
List of MAK and BAT values 2002, *o*-Phenylenediamine
p90 Wiley-VCH, Weinheim

10. 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

11. 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