

ジフェニルアミンのラットを用いた
経口投与による2週間毒性試験（混餌試験）報告書

試験番号：0651

CAS No. 122-39-4

2007年8月31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

標題

ジフェニルアミンのラットを用いた経口投与による 2 週間毒性試験(混餌試験)

試験目的

ジフェニルアミンの経口投与によるがん原性試験の投与濃度決定試験(13 週間試験)の予備試験として、ジフェニルアミンをラットに 2 週間経口(混餌)投与して、その生体影響を検索した。

試験法

本試験は OECD 化学品テストガイドライン 407 (げっ歯類における 28 日間反復経口投与毒性試験 1995 年 7 月 27 日採択)を参考にして実施した。

試験委託者

厚生労働省労働基準局安全衛生部化学物質対策課
東京都千代田区霞ヶ関 1-2-2

試験施設及び運営管理者

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
副所長 長野 嘉介
神奈川県秦野市平沢 2445

試験日程

試験開始日	2006 年 7 月 31 日
動物導入日	2006 年 8 月 3 日
群構成日	2006 年 8 月 17 日
被験物質投与開始日	2006 年 8 月 17 日
被験物質投与終了日	2006 年 8 月 31 日
定期解剖日	2006 年 8 月 31 日
試験終了日	2007 年 8 月 31 日

ジフェニルアミンのラットを用いた
経口投与による2週間毒性試験（混餌試験）報告書

試験番号：0651

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 構造式及び分子量	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 被験物質の投与方法	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 被験物質混合飼料の調製方法	5
II-1-7 調製時における被験物質混合飼料中の被験物質の濃度及び均一性 ..	5
II-1-8 被験物質混合飼料中の被験物質の安定性	5
II-1-9 被験物質の摂取量	6
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	7
(1) 飼育環境	7
(2) 飼料	7
(3) 飲水	7

Ⅱ-3 観察・検査項目及び方法	8
Ⅱ-3-1 動物の生死及び一般状態の観察	8
Ⅱ-3-2 体重測定	8
Ⅱ-3-3 摂餌量測定	8
Ⅱ-3-4 血液学的検査	8
Ⅱ-3-5 血液生化学的検査	8
Ⅱ-3-6 尿検査	9
Ⅱ-3-7 病理学的検査	9
(1) 剖検	9
(2) 臓器重量	9
(3) 臓器の採取保存	9
(4) 病理組織学的検査	9
Ⅱ-4 数値処理と統計方法	10
Ⅱ-4-1 数値の取り扱いと表示	10
Ⅱ-4-2 統計処理	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 摂餌量	12
Ⅲ-5 被験物質摂取量	12
Ⅲ-6 血液学的検査	13
Ⅲ-7 血液生化学的検査	13
Ⅲ-8 尿検査	14
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	17
Ⅳ-1 用量-反応関係	17
Ⅳ-2 他の文献との比較	18
Ⅳ-3 13週間試験の濃度決定	19

V	予見することのできなかつた試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態 及び試験計画書に従わなかつたこと	20
VI	文献	21

要約

ジフェニルアミンの F344/DuCr1Cr1j 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。被験物質の投与は、ジフェニルアミンを混合した粉末飼料を自由摂取させることにより行った。1 群当たりの動物数は雌雄各 5 匹とし、被験物質投与群 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 1600、4000、7000、10000 及び 25000 ppm (重量比 w/w) とした。観察、検査として、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査を行った。

ジフェニルアミンの投与の結果、25000 ppm 群の雄 1 匹、雌 2 匹が死亡した。一般状態の観察では、立毛と糞少量等の症状が雌雄の 25000 ppm 群にみられ、動物の状態悪化が示された。体重は、雌雄の 25000 ppm 群に減少が、雄の 10000 ppm 群にも軽度の増加抑制がみられた。摂餌量は、雄の 25000 ppm 群に全投与期間を通した低値がみられた。血液系への影響として、赤血球数、ヘモグロビン濃度等の低値とメトヘモグロビン濃度の高値が雌雄とも最低濃度群からみられ、メトヘモグロビン血症と考えられる貧血を示した。また、貧血に関連した変化として、網赤血球比の高値、総ビリルビンの高値、脾臓の重量の高値、髄外造血、赤血球充満、ヘモジデリン沈着が雌雄にみられた。なお、LDH の高値が雄の 10000 ppm 以上の群と雌の 25000 ppm 群でみられ、LDH の高値は肝細胞への傷害のみならず赤血球傷害を反映すると考えられた。肝臓への影響として、ALT の高値が雌雄の 25000 ppm 群、AST の高値傾向が雌の 25000 ppm 群にみられた。病理組織学的には肝臓の単細胞壊死が雌雄の 25000 ppm 群にみられ、肝細胞に対する被験物質の傷害性が示された。また、肝臓重量の高値が雄の 25000 ppm を除く雌雄の全投与群に、小葉中心性肝細胞肥大が雄の全投与群と雌の 10000 ppm 以上の群にみられた。腎臓への影響として、腎臓重量の高値が雄の 25000 ppm を除く雌雄の 4000 ppm 以上の群に、尿素窒素の高値が雄の 4000 ppm 以上と雌の 10000 ppm 以上の群にみられた。病理組織学的には尿細管壊死が雌雄の 25000 ppm 群 (死亡動物のみ) に、乳頭壊死が雌の 25000 ppm 群にみられた。

以上の結果より、ジフェニルアミンの 13 週間試験の投与濃度は、血液系、肝臓、腎臓等への影響がみられるものの体重への影響が軽度であった 10000 ppm (投与終了時体重は対照群に対し、雄: 88%、雌: 94%) を最高投与濃度とし、以下、4000、1600、640 及び 256 ppm (公比 2.5) とした。

I 試験材料

I-1 被験物質の性状等

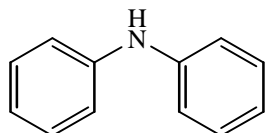
I-1-1 名称等

名 称： ジフェニルアミン (Diphenylamine)

CAS No. : 122-39-4

I-1-2 構造式及び分子量 (文献 1)

構 造 式 :



分 子 量 : 169.23

I-1-3 物理化学的性状等 (文献 1)

性 状 : 無色あるいは灰色結晶で芳香がある

比 重 : 1.159

融 点 : 52.85°C

溶 解 性 : 水にやや溶け、アルコール、エーテルに可溶

保 管 条 件 : 冷蔵暗所

I-2 被験物質の使用ロット等

製 造 元 : 和光純薬工業(株)

グ レ ー ド : 試薬特級

純 度 : 99.6% (和光純薬工業(株) 検査成績書データ)

使用ロット番号 : SDH5697

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、マススペクトルを質量分析計 (Agilent Technologies 5973N) を用いて測定し、また、赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計 (Shimadzu FTIR-8200PC) を用いて測定し、それぞれの文献値と比較することにより確認した。

その結果、被験物質のマススペクトルは、文献値 (文献 2) と同じ分子イオン及び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 3) と同じ波数にピークが認められ、被験物質はジフェニルアミンであることを確認した。

それらの結果は APPENDIX A 1 に示した。

I-3-2 安定性

被験物質の安定性は、使用開始前及び使用終了後にクロマトグラムを高速液体クロマトグラフ (Shimadzu LC-10) を用いて測定し、それぞれのデータを比較することにより確認した。

その結果、使用開始前と使用終了後の測定結果に差はみられず、使用期間中の被験物質は安定であったことを確認した。

それらの結果は APPENDIX A 2 に示した。

I-4 試験動物

動物は、ジフェニルアミン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：神奈川県厚木市下古沢 795) の F344/DuCrIj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、検疫、馴化を各 1 週間実施した後、発育順調で一般状態に異常を認めなかった動物から、体重値の中央値に近い雌雄各 30 匹 (投与開始時体重範囲、雄：121～134g、雌：94～106g) を選別し、試験に用いた。

なお、がん原性試験に F344/DuCrIj ラット (SPF) を選択した理由は、遺伝的に安定していること、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による。

II 試験方法

II-1 投与

II-1-1 投与経路

投与経路は経口投与とした。

II-1-2 被験物質の投与方法

投与は、被験物質を粉末飼料に添加し、設定濃度に調製した被験物質混合飼料を粉末飼料用給餌器に充填し、動物に自由摂取させた。なお、被験物質混合飼料の交換は 7 日毎に実施した。

II-1-3 投与期間

投与期間は 2 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

投与濃度は、1600、4000、7000、10000 及び 25000 ppm（重量比 w/w）の 5 段階に設定した。なお、対照群として粉末飼料のみの群を設けた。

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、かつ、水に難溶であるため混餌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決定試験（13 週間毒性試験）の投与濃度を決定するために 2 週間とした。

2 週間試験の投与濃度は予備試験の結果及び文献を参考に決定した。予備試験では、6 週齢の F344/DuCrIjCrIj ラット（雌雄とも各群 1~2 匹）を用い、100、2000、10000、50000 ppm(w/w) の濃度で 14 日間の混餌投与を行った。その結果、50000 ppm 群は雌雄ともすべての動物が投与中期（雄：7 日目、雌：7 日と 9 日目）に死亡した。10000 ppm 群は一般状態の観察で雄の 10 日目に糞小粒、雌の 3 日目と 7 日目に糞小粒と立毛が認められたが、投与終了時にはこれらの所見は消失した。また、雌雄とも体重増加の抑制が認められ、投与終了時（14 日目）の体重は、対照群に対し雄：80%、雌：90%であった。摂餌量は、投与初期（0~3 日）に低値を示した。2000 ppm 群と 100 ppm 群では著変は認められなかった。

従って、2週間の投与に耐える最高投与濃度は、50000 ppm 未満、10000 ppm 以上の範囲にあると考えた。ジフェニルアミンの文献では、ラットにジフェニルアミンを 25000 ppm の濃度で1年間混餌投与した報告があり（文献4）、25000 ppm の濃度でも2週間の投与に十分耐えることが予測された。

以上より、2週間試験の投与濃度は、雌雄とも 25000 ppm(w/w) を最高投与濃度とし、以下、10000、4000 及び 1600 ppm (公比 2.5) に設定した。さらに、10000 ppm と 4000 ppm の間の影響を把握するため 7000 ppm を加えた。

II-1-6 被験物質混合飼料の調製方法

粉末飼料（オリエンタル酵母工業(株)製 CRF-1）と被験物質を粉末飼料混合機（関東混合機工業(株)製スパイラルミキサーCS-20 あるいは HP20M）で攪拌混合し、25000 ppm と 10000 ppm の被験物質混合飼料を調製した。この 25000 ppm 被験物質混合飼料を更に粉末飼料と攪拌混合し、7000、4000 及び 1600 ppm の被験物質混合飼料を調製した。試験における濃度の表示は ppm (w/w) とした。また、被験物質混合飼料の調製は、投与開始前日(2006年8月16日)に行い、1週分をラット用餌箱に充填して翌日より動物に与えた。残余は、各濃度毎にビニール袋に小分け密封し、翌週まで冷蔵で保管した。

II-1-7 調製時における被験物質混合飼料中の被験物質の濃度及び均一性

被験物質混合飼料中の被験物質の濃度及び均一性は、初回調製時に各投与濃度毎に調製容器内の被験物質混合飼料を7点サンプリングし、高速液体クロマトグラフ（Shimadzu LC-10）を用いて測定し、確認した。

その結果、各群の平均調製濃度は、設定濃度に対して 98.7~103%の範囲にあった。均一性は、各群ともばらつきが少なかった。従って、被験物質混合飼料中の被験物質は、設定濃度に対してほぼ正確に調製されたことを確認した。

その結果を濃度については APPENDIX A 3、均一性については APPENDIX A 4 に示した。

II-1-8 被験物質混合飼料中の被験物質の安定性

被験物質混合飼料中の被験物質の安定性は、試験開始前に、最低投与濃度の 1600 ppm と最高投与濃度の 25000 ppm の被験物質混合飼料で確認した。1600 ppm と 25000 ppm の被験物質混合飼料をラット用餌箱に充填し、動物飼育室内で室温保管（8日間）したものと、ビニール袋詰めにして密封し、冷蔵保管（8日間）したものについて、調製時と保管期間後の被験物質濃度を、高速液体クロマトグラフ（Shimadzu LC-10）を用いて測定し、それぞ

れの濃度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、室温保管（8 日間）では、1600 ppm : 101%、25000 ppm : 105%、冷蔵保管（8 日間）で 1600 ppm : 106%、25000 ppm : 107% であり、給餌期間中における被験物質混合飼料中の被験物質は安定であった。

その結果を APPENDIX A 5 に示した。

II-1-9 被験物質の摂取量

体重、摂餌量及び設定濃度より被験物質の体重 kg 当たりの 1 日摂取量 (mg/kg body weight per 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、各群雌雄各 5 匹の動物を用いた。

群名称	動物数（動物番号）	
	雄	雌
対照群	5 匹 (1001~1005)	5 匹 (2001~2005)
1600 ppm 群	5 匹 (1101~1105)	5 匹 (2101~2105)
4000 ppm 群	5 匹 (1201~1205)	5 匹 (2201~2205)
7000 ppm 群	5 匹 (1301~1305)	5 匹 (2301~2305)
10000 ppm 群	5 匹 (1401~1405)	5 匹 (2401~2405)
25000 ppm 群	5 匹 (1501~1505)	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、一般状態及び体重の推移に異常を認めなかった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 5）。

動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間では尾に油性マーカーによる色素塗布、投与期間では耳パンチにより行った。また、ケージには個体識別番号を記したラベルを付した。

なお、動物はバリア区域内の独立した室（雌雄とも 208 室）に収容し、室の扉に試験番号、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

(1) 飼育環境

動物は、飼育期間を通して以下の環境で飼育した。飼育室の温度、湿度は実測値（平均値±標準偏差）を<>内に記した。飼育室内の環境には、動物の健康状態に影響を与えるような大きな変化は認められなかった。

温度 : $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ < $23.5 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ >

湿度 : $55 \pm 15\%$ < $52 \pm 1\%$ >

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

ケージへの動物の収容方法 : 単飼

ケージの材質・形状・寸法等 :

ステンレス製 2 連網ケージ (170(W)×294(D)×176(H) mm/匹)

(2) 飼料

飼料は、全飼育期間を通して、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 (30KGy- γ 線照射滅菌飼料) 固型または粉末飼料を使用した。検疫期間については固型飼料を固型飼料給餌器により自由摂取させた。馴化期間については CRF-1 粉末飼料を粉末飼料給餌器により自由摂取させた。投与期間は、各投与群には所定の濃度に CRF-1 粉末飼料を用いて調製した被験物質混合飼料を、対照群には CRF-1 粉末飼料のみを粉末飼料給餌器により自由摂取させた。

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)から自社分析データを使用ロットごとに入手し、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 52-1) の分析データを使用ロットごとに入手し、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、保管した。

(3) 飲水

飲水は、全飼育期間を通して、市水 (神奈川県秦野市水道局供給) 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。

なお、飲水は、試験施設として実施している定期サンプリングによる飲水を(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) に依頼して、水道法を参考にして規定した項目について分析し、結果を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、保管した。

II-3 観察・検査項目及び方法

II-3-1 動物の生死及び一般状態の観察

動物の生死及び瀕死の確認を毎日 1 回行った。また、一般状態の詳細な観察は、投与開始後 4 (1 週 4 日)、7 (1 週 7 日)、11 (2 週 4 日)、14 (2 週 7 日) 日目に行った。

II-3-2 体重測定

体重測定は、投与開始後 4 (1 週 4 日)、7 (1 週 7 日)、11 (2 週 4 日)、14 (2 週 7 日) 日目に行った。また、動物の死亡発見時及び切迫屠殺動物の搬出時にも体重(搬出時体重)を測定した。

II-3-3 摂餌量測定

摂餌量は体重測定に合わせ毎週 2 回、給餌量、残餌量及び餌こぼし量を測定し、その値から 1 匹 1 日当たりの摂餌量を算出した。

II-3-4 血液学的検査

定期解剖時に生存してい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及びヘパリンリチウム入り採血管(下記※印検査項目)に採血した血液を用いて、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX M に示した。

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、※メトヘモグロビン濃度、白血球数

II-3-5 血液生化学的検査

定期解剖時に生存してい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た血液を遠心分離し、得られた血漿を用いて、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX M に示した。

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、AST、ALT、LDH、 γ -GTP、CK、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

II-3-6 尿検査

投与 13 日目（2 週 6 日）の検査時まで生存した動物から新鮮尿を採取し、尿試験紙（マルティスティックス、バイエル社製）を用いて、下記の項目について検査を行った。

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

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動物について、下記に示した臓器の湿重量（臓器実重量）を測定した。また、各臓器の湿重量の搬出時体重に対する百分率（臓器重量体重比）を算出した。

測定臓器：胸腺、副腎、精巣、卵巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳

(3) 臓器の採取保存

全動物について下記に示した器官、組織を摘出し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で固定した。

皮膚、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、骨髓（大腿骨）、リンパ節（腋窩、腹壁等）、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、精囊、前立腺、卵巣、子宮、膣、乳腺、脳、脊髄、末梢神経（坐骨神経）、眼球、ハーダー腺、筋肉、骨（大腿骨）、肉眼的に変化のみられた器官及び組織

(4) 病理組織学的検査

全動物について下記に示した器官、組織を切り出し、パラフィン包埋を行った。肝臓、腎臓及び脾臓については、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い、光学顕微鏡で病理組織学的に検査した。

脾臓、心臓、食道、胃、肝臓、腎臓、副腎、膀胱、胸腺、肉眼的に変化のみられた器官及び組織

II-4 数値処理と統計方法

II-4-1 数値の取り扱いと表示

各数値データは測定機器の精度に合わせて表示した。

体重は g を単位とし、整数値の 1 の位まで測定し、表示した。

摂餌量は g を単位とし、給餌量、残餌量及び餌こぼし量を小数点以下第 1 位まで測定し、給餌量値から残餌量値及び餌こぼし量を減じて摂餌量とした。この値を測定期間の日数で除し、1 日当た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。

被験物質の体重 kg 当たりの 1 日摂取量は、摂餌量に被験物質の設定濃度を乗じ、体重で除した値を、mg/kg body weight per day を単位として小数点以下第 1 位を四捨五入し、整数値の 1 の位までを表示した。

臓器実重量は g を単位とし、小数点以下第 3 位まで測定し、表示した。臓器重量体重比は臓器実重量値を搬出時体重で除し、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、血液生化学的検査は APPENDIX M に示した単位と精度により表示した。

なお、各数値データ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 統計処理

各群の有効動物数は、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とした。

病理組織学的検査は、臓器ごとに検査不能臓器を除いた臓器数、その他の検査及び測定は、実施できた動物数を検査（測定）数とした。

体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査及び臓器重量の測定値は、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 と APPENDIX B 1, 2 に示した。

—雄—

25000 ppm 群では 5 日目に 1 匹の動物が死亡した。10000 ppm 以下の群では動物の死亡はみられなかった。

—雌—

25000 ppm 群では 6 日目に 2 匹の動物が死亡した。10000 ppm 以下の群では動物の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 B 1, 2 に示した。

—雄—

25000 ppm 群では立毛、糞小粒、糞少量が認められ、死亡動物では、自発運動量の減少と円背位もみられた。10000 ppm 群では 4 日目のみに立毛が認められた。7000 ppm 以下の投与群では、一般状態の変化はみられなかった。

—雌—

25000 ppm 群では立毛、糞小粒、糞少量が認められ、1 匹には尿による外陰部周囲の汚染もみられた。死亡動物の症状もほぼ同様であった。10000 ppm 群では 4 日目のみ 1 匹に立毛が認められた。7000 ppm 以下の投与群では、一般状態の変化はみられなかった。

Ⅲ-3 体重

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

—雄—

25000 ppm 群と 10000 ppm 群では、4 日目の体重は投与開始時より減少し、その後増加に転じたが、投与期間を通して体重の低値が認められた。7000 ppm 群でも 7 日目以降低値であった。4000 ppm 以下の投与群では、対照群とほぼ同様の推移を示した。

なお、最終計測日における各投与群の体重は、対照群に対して、1600 ppm 群：99%、4000 ppm 群：95%、7000 ppm 群：93%、10000 ppm 群：88%、25000 ppm 群：61%であった。

—雌—

25000 ppm 群と 10000 ppm 群では、4 日目の体重は投与開始時より減少し、その後増加に転じたが、25000 ppm 群では投与期間を通して、10000 ppm 群では 4 日目から 11 日目

に体重の低値が認められた。7000 ppm 以下の投与群では対照群とほぼ同様の推移を示した。

なお、最終計測日における各投与群の体重は、対照群に対して、1600 ppm 群：98%、4000 ppm 群：95%、7000 ppm 群：94%、10000 ppm 群：94%、25000 ppm 群：69%であった。

Ⅲ-4 摂餌量

摂餌量を TABLE 3, 4、FIGURE 3, 4 及び APPENDIX D 1, 2 に示した。

—雄—

25000 ppm 群では全投与期間にわたり、摂餌量の低値が認められた。10000、7000 及び 4000 ppm 群では 4 日目のみに摂餌量の低値が認められた。1600 ppm 群では対照群とほぼ同様の推移を示した。

全投与期間における各群の平均一日摂餌量（対照群に対する相対比）は、対照群：13.7 g、1600 ppm 群：13.5 g (99%)、4000 ppm 群：13.0 g (95%)、7000 ppm 群：12.3 g (90%)、10000 ppm 群：11.8 g (86%)、25000 ppm 群：8.0 g (58%) であった。

—雌—

4000 ppm から 10000 ppm 群では 4 日目のみに、25000 ppm 群では 11 日目まで、摂餌量の低値が認められた。1600 ppm 群では対照群とほぼ同様の推移を示した。

全投与期間における各群の平均一日摂餌量（対照群に対する相対比）は、対照群：10.2 g (100%)、1600 ppm 群：9.9 g (97%)、4000 ppm 群：9.3 g (91%)、7000 ppm 群：8.9 g (87%)、10000 ppm 群：8.6 g (84%)、25000 ppm 群：7.7 g (75%) であった。

Ⅲ-5 被験物質摂取量

体重、摂餌量及び設定濃度より算出した被験物質摂取量を APPENDIX E 1, 2 に示した。

—雄—

各投与群の 1 日当たりの被験物質摂取量 (mg/kg body weight per day) は、1600 ppm 群：122～140 (平均：131)、4000 ppm 群：313～349 (平均：327)、7000 ppm 群：509～614 (平均：564)、10000 ppm 群：649～936 (平均：808)、25000 ppm 群：1184～2256 (平均：1884) の範囲にあった。各投与群の平均被験物質摂取量の比率は、ほぼ設定濃度比と同様の値を示した。

—雌—

各投与群の 1 日当たりの被験物質摂取量 (mg/kg body weight per day) は、1600 ppm 群：126～142 (平均：135)、4000 ppm 群：316～353 (平均：330)、7000 ppm 群：525～619 (平均：565)、10000 ppm 群：662～922 (平均：790)、25000 ppm 群：1039～2874 (平均：2345) の範囲にあった。各投与群の平均被験物質摂取量の比率は、25000 ppm 群で設定濃度比よりやや高い値を示した。

Ⅲ-6 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE 5, 6 と APPENDIX F 1, 2 に示した。

—雄—

赤血球数とヘモグロビン濃度の低値、並びに網赤血球比の高値が全投与群で、MCV、MCH 及びメトヘモグロビン濃度の高値、並びに MCHC の低値が 4000 ppm 以上の群で認められた。また、ヘマトクリット値の低値が 10000 ppm 以外の全投与群で認められた。その他、血小板数の高値が 1600 ppm 群と 4000 ppm 群で、白血球数の高値が 4000 ppm 群から 10000 ppm 群でみられた。なお、統計学的には有意でないものの、1600 ppm 群のメトヘモグロビン濃度も高値傾向であった。

—雌—

赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値、並びに MCV、MCH 及び網赤血球比の高値が全投与群で、メトヘモグロビン濃度の高値と MCHC の低値が 4000 ppm 以上の群で認められた。その他、白血球数の高値が 4000 ppm 群と 10000 ppm 群でみられた。なお、統計学的には有意でないものの、1600 ppm 群のメトヘモグロビン濃度も高値傾向であった。

Ⅲ-7 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE 7, 8 と APPENDIX G 1, 2 に示した。

—雄—

総蛋白とアルブミンの高値が全投与群で、A/G 比、総ビリルビン及び尿素窒素の高値が 4000 ppm 以上の群で、総コレステロールとリン脂質の高値、並びにグルコースの低値が 7000 ppm 以上の群で、LDH の高値が 10000 ppm 以上の群で、ALT、カリウム及びカルシウムの高値が 25000 ppm 群で認められた。

—雌—

総蛋白、アルブミン、A/G 比及び総ビリルビンの高値が全投与群で、総コレステロールの高値が 7000 ppm 以上の群で、リン脂質と尿素窒素の高値が 10000 ppm 以上の群で、ALT、LDH、カリウム及びカルシウムの高値、並びにグルコースの低値が 25000 ppm 群で認められた。なお、総コレステロールとリン脂質は 1600 ppm 群では低値を示した。また、統計学的には有意でないものの、25000 ppm 群で AST が高値傾向であった。

Ⅲ-8 尿検査

尿検査の結果を TABLE 9, 10 と APPENDIX H 1, 2 に示した。

なお、ケトン体とビリルビンの検査において、雌雄とも 4000 ppm 以上の投与群では、被験物質もしくはその代謝物によると考えられる尿の着色のため、ケトン体とビリルビンが測定不能となり、データが欠測となった。

—雄—

pH の低下傾向と蛋白の陽性度の減少傾向が 25000 ppm 群で認められた。

—雌—

pH の低下傾向が 25000 ppm 群で認められた。

Ⅲ-9 病理学的検査

Ⅲ-9-1 剖検

剖検所見を APPENDIX I 1~4 に示した。

—雄—

25000 ppm 群の死亡動物（1 匹）では、胸腺の萎縮と膀胱の赤色尿貯留が認められた。25000 ppm 群の生存動物及び 10000 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。

—雌—

25000 ppm 群の死亡動物（2 匹）では、胸腺の萎縮と膀胱の赤色尿貯留が、生存動物の 1 匹で胸腺の萎縮が認められた。10000 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。

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 TABLE 11, 12 と APPENDIX J 1, 2、APPENDIX K 1, 2 に示した。

—雄—

胸腺の実重量の低値が 10000 ppm 以上の群で、体重比の低値が 25000 ppm 群で認められた。

脾臓の実重量と体重比の高値が全投与群で認められた。

肝臓の実重量の高値が 1600 ppm から 10000 ppm 群で、体重比の高値が全投与群で認められた。

腎臓の実重量の低値が 25000 ppm 群で、体重比の高値が 4000 ppm 以上の群で認められた。

その他、10000 ppm 群あるいは 25000 ppm 群で、副腎、精巣、心臓、肺及び脳で実重量や体重比に変化がみられたが、10000 ppm 群と 25000 ppm 群の搬出時体重は低く、これらの臓器重量の変化は、搬出時体重の低値に関連した変化と考えた。

—雌—

胸腺の実重量の低値の低値と体重比の低値傾向が 25000 ppm 群で認められた。なお、10000 ppm 群では体重比が高値が認められた。

脾臓と肝臓の実重量と体重比の高値が全投与群で認められた。

腎臓の体重比の高値が 4000 ppm 以上の群で認められた。

副腎の実重量の低値が 7000 ppm 以上の群、体重比の低値が 7000 ppm 群と 10000 ppm 群で認められた。

卵巣の実重量と体重比の低値が 10000 ppm 群と 25000 ppm 群で認められた。

その他、10000 ppm 群あるいは 25000 ppm 群で、心臓、肺及び脳で実重量や体重比に変化がみられたが、25000 ppm 群の搬出時体重は低く、これらの臓器重量の変化は、搬出時体重の低値に関連した変化と考えた。

Ⅲ-9-3 病理組織学的検査

非腫瘍性病変及びそれらの発生数を TABLE 13~16 と APPENDIX L 1~4 に示した。

—雄—

<死亡動物>

[25000 ppm 群 : 1 匹]

脾臓に萎縮（中等度）と赤血球充満（軽度）、腎臓には尿細管壊死（中等度）が認められた。

<定期解剖動物>

[25000 ppm 群 : 4 匹]

脾臓に髓外造血（中等度 4 匹）、赤血球充満（中等度 4 匹）及びヘモジデリン沈着（軽度 1 匹、中等度 3 匹）が認められた。

肝臓には単細胞壊死（軽度 1 匹、中等度 1 匹）と小葉中心性肝細胞肥大（中等度 4 匹）が認められた。

[10000 ppm 群 : 5 匹]

脾臓に髓外造血（中等度 5 匹）、赤血球充満（中等度 5 匹）及びヘモジデリン沈着（軽度 5 匹）が認められた。

肝臓には小葉中心性肝細胞肥大（軽度 5 匹）が認められた。

[7000 ppm 群 : 5 匹]

脾臓に髓外造血（中等度 5 匹）、赤血球充満（中等度 5 匹）及びヘモジデリン沈着（軽度 4 匹）が認められた。

肝臓には小葉中心性肝細胞肥大（軽度 5 匹）が認められた。

[4000 ppm 群：5 匹]

脾臓に髓外造血（中等度 5 匹）と赤血球充満（中等度 5 匹）が認められた。

肝臓には小葉中心性肝細胞肥大（軽度 4 匹）が認められた。

[1600 ppm 群：5 匹]

脾臓に髓外造血（軽度 5 匹）と赤血球充満（軽度 5 匹）が認められた。

肝臓には小葉中心性肝細胞肥大（軽度 2 匹）が認められた。

—雌—

<死亡動物>

[25000 ppm 群：2 匹]

脾臓に萎縮（中等度 2 匹）、腎臓には尿細管壊死（中等度 2 匹）、肝臓には小葉中心性肝細胞壊死（軽度 2 匹）が認められた。

<定期解剖動物>

[25000 ppm 群：3 匹]

脾臓に髓外造血（中等度 3 匹）、赤血球充満（中等度 3 匹）及びヘモジデリン沈着（中等度 3 匹）が認められた。

腎臓には乳頭壊死（軽度 1 匹）が認められた。

肝臓には単細胞壊死（軽度 3 匹）と小葉中心性肝細胞肥大（中等度 3 匹）が認められた。

[10000 ppm 群：5 匹]

脾臓に髓外造血（中等度 5 匹）、赤血球充満（中等度 5 匹）及びヘモジデリン沈着（軽度 2 匹、中等度 3 匹）が認められた。

肝臓には小葉中心性肝細胞肥大（軽度 4 匹）が認められた。

[7000 ppm 群：5 匹]

脾臓に髓外造血（中等度 5 匹）、赤血球充満（中等度 5 匹）及びヘモジデリン沈着（軽度 5 匹）が認められた。

[4000 ppm 群：5 匹]

脾臓に髓外造血（軽度 1 匹、中等度 4 匹）、赤血球充満（中等度 5 匹）及びヘモジデリン沈着（軽度 5 匹）が認められた。

[1600 ppm 群：5 匹]

脾臓に髓外造血（軽度 4 匹）と赤血球充満（軽度 4 匹）が認められた。

IV 考察及びまとめ

ジフェニルアミンの F344/DuCr1Cr1j 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。被験物質の投与は、ジフェニルアミンを混合した粉末飼料を自由摂取させることにより行った。1 群当たりの動物数は雌雄各 5 匹とし、被験物質投与群 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 1600、4000、7000、10000 及び 25000 ppm (w/w) とした。観察、検査として、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査を行った。

IV-1 用量-反応関係

ジフェニルアミンの投与の結果、最高投与群の 25000 ppm 群に雄 1 匹、雌 2 匹の死亡が認められた。一般状態の観察では、雌雄 25000 ppm 群で立毛、糞少量、糞小粒、自発運動量の減少と円背位 (雄のみ)、尿による外陰部周囲の汚染 (雌のみ) が認められ、動物の状態悪化が示された。雌雄 10000 ppm 群でも 4 日目に立毛がみられたが、その後回復した。体重は、雌雄の 25000 ppm 群に減少が、雄の 10000 ppm 群にも軽度の増加抑制がみられた。投与終了時の体重は、対照群に対して、雄は 1600 ppm 群 : 99%、4000 ppm 群 : 95%、7000 ppm 群 : 93%、10000 ppm 群 : 88%、25000 ppm 群 : 61%、雌は 1600 ppm 群 : 98%、4000 ppm 群 : 95%、7000 ppm 群 : 94%、10000 ppm 群 : 94%、25000 ppm 群 : 69% であった。摂餌量は、雄の 25000 ppm 群に全投与期間を通じた低値がみられた。

血液系への影響として、貧血のパラメータである赤血球数、ヘモグロビン等の低値が雌雄の全投与群に認められた。また、雌雄とも投与群ではメトヘモグロビン濃度が高値であり、貧血の原因は被験物質によるメトヘモグロビン生成に起因した赤血球傷害であると考えられた。貧血に関連した変化として、網赤血球比の高値、脾臓の重量の高値、髄外造血及び赤血球充満が雌雄とも全投与群に、脾臓のヘモジデリン沈着が雄の 7000 ppm 以上と雌の 4000 ppm 以上の群に、総ビリルビンの高値が雄の 1600 ppm を除く雌雄の全投与群に認められた。なお、LDH の高値が雄の 10000 ppm 以上の群と雌の 25000 ppm 群に認められたが、LDH の高値は、肝細胞傷害及び赤血球傷害の 2 つの要因によると考えられた (文献 6,7,8)。

肝臓への影響として、ALT の高値が雌雄の 25000 ppm 群に、AST の高値傾向が雌の 25000 ppm 群にみられた。病理組織学的には肝臓の単細胞壊死が雌雄の 25000 ppm 群にみられ、肝細胞に対する被験物質の傷害性が示された。また、肝臓重量の高値が雄 25000 ppm 群を除く全ての投与群に、小葉中心性肝細胞肥大が雄の全投与群と雌の 10000 ppm 以上の群にみられた。その他、総蛋白、アルブミン、総コレステロール及びリン脂質等の高値が雌雄

の高濃度の投与群に認められた。このうち、総蛋白とアルブミンの高値は雌雄とも最低投与濃度の 1600 ppm 群までみられた。

腎臓への影響として、尿素窒素の高値が雄の 4000 ppm 以上と雌の 10000 ppm 以上の群に、腎臓重量(体重比)の高値が雌雄の 4000 ppm 以上の群にみられた。ただし、雄の 25000 ppm 群では腎臓の実重量の有意な低値がみられることから、同群の腎臓体重比の高値は搬出時体重の低値に関連した変化の可能性が考えられた。また、病理組織学的には腎臓の尿管壊死が雌雄の 25000 ppm 群(死亡動物のみ)に、乳頭壊死が雌の 25000 ppm 群に認められた。これらの腎臓の病理組織所見、尿素窒素の高値及び腎臓実重量の有意な低値から、高用量群において被験物質投与による腎臓傷害が示された。

その他、胸腺の萎縮(死亡動物のみ)、実重量の低値が雄の 10000 ppm 以上と雌の 25000 ppm 群、体重比の低値が雌雄の 25000 ppm 群、並びにグルコースの低値が雄の 7000 ppm 以上と雌の 25000 ppm 群に認められ、動物の消耗状態を示した。

以上のように、ジフェニルアミンの 2 週間混餌投与によって、血液系、肝臓、腎臓への影響が認められた。これらの被験物質投与の影響のうち、血液系(雌雄ともメトヘモグロビン濃度の増加、赤血球数の減少等の貧血を示すパラメータの変化、脾臓の重量増加、髄外造血亢進、赤血球充満)及び肝臓(雌雄とも重量増加、雄のみに小葉中心性肝細胞肥大)への影響は、最低投与濃度の 1600 ppm 群まで認められた。

IV-2 他の文献との比較

(1) 毒性

FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議 (FAO/WHO Joint Meeting on Pesticide Residues : JMPR) では、ジフェニルアミンの毒性評価資料を公表している(文献 9)。それによると、ラットに対するジフェニルアミンの経口投与による LD₅₀ 値は、雄 3000 mg/kg、雌 2700 mg/kg である。また、雌雄ラットの経口投与による LD₅₀ 値は 15000 mg/kg 以上とも記載されている。以上のジフェニルアミンのラットの LD₅₀ 値は、Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS)の急性毒性の区分(5段階)では区分 4 あるいは区分 5 に該当する(文献 10)。従って、ジフェニルアミンは比較的低毒性の物質であると推察される。

短期間の反復経口投与試験として、以下の報告がある。JMPR(文献 9)では、Krohmer による SD ラットを用いた 90 日間の混餌試験(未発表)を引用している。それによると、雌雄とも 0、150、1500、7500、15000 ppm の濃度でジフェニルアミンを混餌投与した結果、1500 ppm 以上の群で貧血及び貧血に関連した変化、並びに、肝臓重量の増加が、また、高濃度群では腎臓への影響も認められていて、NOAEL は一般状態、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量及び病理組織学的検査を指標として、150 ppm (12 mg/kg/day) としている。本試験では最低投与濃度の 1600 ppm (Krohmer の 1500 ppm と同程度の投与

濃度)で血液系及び肝臓への影響が、また、4000 ppm 以上の投与濃度で腎臓への影響も認められており、毒性のエンドポイントは Krohmer の報告と一致した。

吉田らの報告(文献 11)では、F344 ラットにジフェニルアミンを一日当たり 0、111、333、1000 mg/kg の投与量で 28 日間強制経口投与した試験で、脾臓、肝臓、腎臓の重量増加、腎臓の尿細管変性、貧血、前胃粘膜の過形成、骨髄の過形成がみられており、NOAEL を 111 mg/kg/day としている。本試験では、貧血及び貧血に関連した変化、並びに、肝臓、腎臓への影響が認められており、毒性のエンドポイントは吉田ら報告と一致した。

(2) 代謝

雌雄の SD ラットに ^{14}C -ジフェニルアミン (5 及び 750 mg/kg を単回、5 mg/kg/day を 14 日間反復投与)を強制経口投与して、尿、糞、ケージ洗浄液、胴体及び各器官の放射能を測定したところ、いずれの用量でも 70%以上が消化管から吸収され、主要排泄経路は尿中であり、単回・反復いずれの投与方法、用量の高低いずれでも組織への蓄積(残留)は少ないことが報告されている(文献 9)。また、同試験では、排泄物中の未変化体、代謝物を測定しており、単回投与、反復投与のいずれでも排泄物中の未変化体は少なく、速やかに代謝されることを示した。また、排泄物中の代謝は、ジフェニルアミンのフェノール環パラの部位の水酸化、及びそれに続く硫酸抱合及びグルクロン酸抱合であり、4-hydroxydiphenylamine、*O,N*-diglucuronide などの 12 種類の代謝物が同定された。

IV-3 13 週間試験の濃度決定

本試験の結果より、13 週間試験の投与濃度を以下の通り決定した。

25000 ppm 群では、体重増加の著しい抑制が認められ、投与開始後 5 日目に雄 1 匹、投与開始後 6 日目に雌 2 匹の死亡がみられた。10000 ppm 群では、摂餌量の低値がみられ、さらに、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量、病理組織学的検査では、血液系、肝臓、腎臓等への影響が認められた。また、雌雄とも体重増加の抑制がみられ、投与終了時では、対照群に比較して雄 88%、雌 94%であった。これらの被験物質投与の影響のうち、血液系(雌雄ともメトヘモグロビン濃度の増加、赤血球数の減少等の貧血を示すパラメータの変動、脾臓の重量増加、髄外造血亢進、赤血球充満)及び肝臓(雌雄とも重量増加、雄のみに小葉中心性肝細胞肥大)への影響は、最低投与濃度の 1600 ppm 群まで認められた。

従って、13 週間試験の最高投与濃度は、血液系、肝臓、腎臓等への影響がみられるものの体重増加の抑制が比較的少ない 10000 ppm (投与終了時体重は対照群に対し、雄: 88%、雌: 94%) が適当であると考えた。また、最低濃度の 1600 ppm でも被験物質投与の影響が認められたことから、13 週間試験では 1600 ppm 以下の投与濃度が必要であると考えられた。以上より、13 週間試験の投与濃度は、雌雄とも 10000 ppm を最高投与濃度とし、以下、4000、1600、640 及び 256 ppm (公比 2.5) とした。

V 予見することのできなかつた試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかつたこと

(1) 尿検査においてケトン体及びビリルビンは、被験物質もしくはその代謝物によると考えられる尿の着色のため、雌雄とも 4000 ppm 以上の群で判定が不能となり、データが欠測となった。

(2) 試験計画書では、血液学的検査においてメトヘモグロビン濃度の測定は実施項目になかつたが、メトヘモグロビン血症による貧血が疑われたことから、定期解剖日に生存していた採血可能な動物についてメトヘモグロビン濃度の測定を実施した。

(3) 試験計画書では、病理組織学的検査において肝臓は実施項目になかつたが、雌雄とも全投与群に肝臓の重量増加が認められたことから、全動物の肝臓について病理組織学的検査を実施した。

VI 文献

1. 化学工業日報社. 2006. 14906 の化学商品. 東京: 化学工業日報社, 705.
2. McLafferty FW, ed. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th ed. New York, NY: John Wiley and Sons.
3. 和光純薬工業(株). 2006. ジフェニルアミン, 赤外吸収スペクトル.
4. Kime SW Jr, McNamara JJ, Luse S, Farmer S, Silbert C, Bricker NS. 1962. Experimental polycystic renal disease in rats: Electron microscopy, function, and susceptibility to pyelonephritis. *J Lab Clin Med* 60: 64-78.
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. 金井泉. 1993. 乳酸脱水素酵素 (LDH) および LDH アイソエンザイム. 臨床検査法提要. (改定第 30 版) 東京: 金原出版, 662-670.
7. Suber RL. 1989. Lactate dehydrogenase(LDH). In: Principles and methods of toxicology. Chapter 16 Clinical pathology for toxicologists. (Hayes AW. eds.) New York: Raven Press, 511-512.
8. Plaa GL, Hewit WR. 1989. Other enzymes. In: Principles and methods of toxicology. Chapter 20 Detection and evaluation of chemically induced liver injury. (Hayes AW. eds.) New York: Raven Press, 605-606.
9. FAO/WHO Joint Meeting on Pesticide Residues. 1998. Diphenylamine (addendum). *JMPR Evaluations 1998 Part II Toxicological*, Vol 949.
<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v098pr07.htm> [accessed 2 August 2007].
10. Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS). 2007. Part 3 Health hazards.
http://www.unece.org/trans/danger/publi/ghs/ghs_rev01/English/03e_part3.pdf [accessed 27 August 2007].

11. 吉田順一, 下地尚史, 吉田京子, 高村直子, 畝山智香子, 矢沢るり, ら. 1989.

F344 ラットにおける diphenylamine の 28 日間反復投与毒性試験. 衛生試験所報告
107: 56-62.