

ジフェニルアミンの経口投与によるがん原性試験結果

日本バイオアッセイ研究センター

1 被験物質について

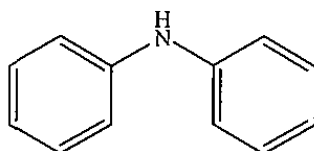
1-1 名称等

名称：ジフェニルアミン (Diphenylamine)

CAS No. : 122-39-4

1-2 構造式及び分子量 (文献1)

構造式：



分子量：169.23

1-3 物理化学的性状 (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℃

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：冷蔵で暗所に保管

1-4 用途 (文献1)

有機ゴム薬品、染料（酸性及び硫化系及びセリトン染料）、火薬安定剤、塩素系溶剤の安定剤、医薬品

1-5 生産量、製造業者、輸入業者 (文献1)

生産量：約 2,500 t (2009年、推定)

製造業者：精工化学、大内新興化学工業 (自家消費)

輸入業者：白石カルシウム、ランクセス、中間物商事

1-6 許容濃度等 (文献1、2)

管理濃度：なし

日本産業衛生学会：なし

ACGIH：10 mg/m³ (TWA)

IARC：なし

労働安全衛生法：労働安全衛生施行令施行令第 18 条の 2（名称等を通知すべき危険物及び有害物）、変異原性が認められた既存化学物質

1-7 変異原性

変異原性ネズミチフス菌 TA100、TA1535、TA97、TA98を用いた復帰突然変異試験では、代謝活性化の有無にかかわらず陰性との報告がある（文献 3）。

日本バイオアッセイ研究センターで実施したチャイニーズハムスター肺線維芽細胞（CHL/IU細胞）を用いた染色体異常試験では、代謝活性化の有無にかかわらず陽性（D₂₀値：0.042 mg/mL）との報告がある（文献 4）。

2 目的

ジフェニルアミンのがん原性を検索する目的でラットとマウスを用いた経口（混餌）による長期試験を実施した。

3 方法

試験は、ラット（F344/DuCrj）とマウス（B6D2F1/Crj）を用い、被験物質投与群 3 群と対照群 1 群の計 4 群の構成で、雌雄各群とも 50 匹、合計ラット 400 匹、マウス 400 匹を使用した。

被験物質の投与は、ジフェニルアミン混合した粉末飼料を 104 週間（2 年間）、動物に自由摂取させることにより行った。投与濃度は、ラットは雌雄とも 250、1000 及び 4000 ppm（公比 4）とした。マウスは雌雄とも 250、1000 及び 4000 ppm（重量比 w/w）（公比 4）、とした。観察、検査として、一般状態の観察、体重、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。

4 結果

4-1 ラット

ラットでは、試験の結果、雌雄とも投与群の生存率は対照群と同様であった（図 1）。一般状態の観察では、被験物質の代謝物によると考えられる褐色尿が雌雄の 4000 ppm 群に、尿による外陰部周囲の被毛の着色が雄の 4000 ppm 群と雌の全投与群に認められた。

体重の低値が、雄の 4000 ppm 群と雌の全投与群に投与期間を通して、また、雄の 1000 ppm 群の投与初期のみに認められた（図 2）。摂餌量の低値が、雄の 1000 ppm 群の投与初期と 4000 ppm 群のほぼ全投与期間を通して、雌の 1000 ppm 群と 4000 ppm 群の投与開始から 78 週にかけて認められた。

腫瘍性病変を表 1, 2 に示す。雄では脾臓に血管肉腫、並びに血管腫と血管肉腫を合わせた発生の増加傾向 (Peto検定と Cochran-Armitage検定) が認められた。また、雄では皮下組織と脾臓を含む全臓器に血管肉腫の発生の増加傾向 (Peto検定と Cochran-Armitage検定) がみられ、血管腫と血管肉腫を合わせた発生の増加 (Fisher検定) した。雌では子宮の腺癌、並びに腺腫と腺癌を合わせた発生の増加傾向 (Peto検定と Cochran-Armitage検定) が認められた。

腫瘍以外の影響として、血液/造血系では、血液学的検査でメトヘモグロビンの高値が、雄の 1000 ppm以上の群と雌の全投与群に認められた。メトヘモグロビンの増加によると考えられる貧血が、雄は 4000 ppm群に、雌は 1000 ppm以上の群に認められた。また、血液学的検査及び血液生化学的検査で貧血に関連した種々の変化が投与群に認められた。なお、脾臓には、重量の高値、赤血球充満、髄外造血 (雄のみ)、ヘモジデリン沈着 (雄のみ)、被膜の線維性組織の増生、血管拡張及び巣状の線維化 (雌のみ) が認められた。その他、肝臓への影響として、肝臓の重量の高値が雌雄の 1000 ppm以上の群に、肝細胞の中心性肥大が雌雄の 4000 ppm群に、肝臓の逸脱系酵素の高値が雌雄とも投与群にみられた。腎臓への影響として、腎臓重量の高値が雄の 1000 ppm以上の群に、慢性腎症の程度の増強が雄 4000 ppm群に、近位尿細管の褐色色素沈着が雌雄 4000 ppm群に、腎盂の鉍質沈着が雄 4000 ppm群と雌 1000 ppm以上の群に、また、血漿中の尿素窒素の高値が雌雄とも 4000 ppm群に認められた。

2年間の混餌経口投与における無毒性量 (NOAEL) は、雄では血液/造血系及び肝臓への影響、雌では血液/造血系への影響をエンドポイントとして、雄は 250 ppm (12mg/kg体重/日) であり、雌では NOAELは求められず、最低毒性量 (LOAEL) が 250 ppm (15 mg/kg体重/日) であると考えられた。

4-2 マウス

マウスでは、試験の結果、雄では 4000 ppm群に尿閉による顕著な生存率低下がみられた。雌では 4000 ppm群の生存率は投与終了時には対照群を上回った (図 3)。一般状態の観察では、被験物質の代謝物によると考えられる褐色尿が雌雄の 4000 ppm群に認められた。

体重の低値が、雄の 4000 ppm群で全投与期間を通して、雌では 4000 ppm群で投与開始後 18週以降に認められた (図 4)。雌雄とも投与群の摂餌量は対照群と同様の推移を示した。なお、雄の4000 ppm群では、尿閉による顕著な生存率低下がみられること及び顕著な体重増加抑制がみられることから、雄の投与濃度 4000 ppmは最大耐量 (MTD) を超えていると考えられた。

腫瘍性病変を表 3, 4 に示す。雄では脾臓に血管腫と血管肉腫を合わせた発生増加 (Fisher検定) が 1000 ppm群に認められた。雄の皮下組織、骨髄、脾臓、肝臓及び心臓を含む全臓器における血管腫の発生は、増加傾向 (Peto検定) が認められ、血管腫、並

びに血管腫と血管肉腫を合わせた発生は 1000 ppm群で増加（Fisher検定）した。雌では腫瘍の発生増加は認められなかった。

腫瘍以外の影響として、血液／造血系では、血液学的検査でメトヘモグロビンの高値が雌雄の全投与群に認められた。メトヘモグロビンの増加によると考えられる貧血が、雌雄とも全投与群に認められた。また、血液学的検査及び血液生化学的検査で貧血に関連した種々の変化が投与群に認められた。なお、骨髄には造血亢進が認められた。脾臓には重量の高値、ヘモジデリン沈着、髄外造血、赤血球充満が認められた。ヘモジデリン沈着は肝臓と腎臓にも認められた。その他、肝臓への影響として、肝細胞の中心性肥大が雌雄の 4000 ppm群で増加した。泌尿器系への影響として、雄の 4000 ppm群に尿閉が観察され、血漿中の尿素窒素の高値が雌の 4000 ppm群に、腎臓重量の増加が雌の 1000 ppm以上の群に、腎盂腎炎が雄の4000 ppm群に認められた。病理組織学的検査では膀胱の拡張と硝子滴変性、尿道の炎症が認められた。肺では、尿毒症性肺炎が雄 4000 ppm群に、肺静脈の変性が雌雄 4000 ppm群にみられた。

2年間の混餌経口投与により、雌雄とも最低投与濃度の 250 ppm群で血液／造血系への影響がみられた。従って、最低毒性量（LOAEL）は250 ppm（雄：29 mg/kg体重/日、雌：36 mg/kg体重/日）であると考えられた。

5 まとめ

ラットでは、雄では脾臓の血管系腫瘍の発生の増加傾向、並びに脾臓と皮下組織を含む全臓器の血管系腫瘍の発生増加、雌では子宮に腺癌の発生の増加傾向が認められた。これらの結果から、ジフェニルアミンのラットに対するがん原性が示された。

マウスでは、雄では脾臓、並びに脾臓及び肝臓等を含む全臓器に血管系腫瘍の発生増加が認められ、ジフェニルアミンの雄マウスに対するがん原性が示された。雌マウスでは腫瘍の発生増加は認められず、がん原性は示されなかった。

表1 ジフェニルアミンのがん原性試験における主な腫瘍発生 (ラット 雄)

		投与濃度 (ppm)	0	250	1000	4000	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
		検査動物数	50	50	50	50		
良性 腫瘍	皮膚/付属器官 皮下組織	角化棘細胞腫	3	3	5	2		
		線維腫	2	11 **	3	2		
		血管腫	0	0	0	1		
	膵臓	島細胞腺腫	6	3	2	0 *		↓
		脾臓	血管腫	0	1	0	0	
	下垂体	腺腫	17	19	11	8 *		↓
	甲状腺	C-細胞腺腫	11	10	12	13		
	副腎	褐色細胞腫	4	8	4	4		
	精巣	間細胞腫	37	40	46 *	46 *	↑	↑
悪性 腫瘍	皮下組織	線維肉腫	0	2	0	1		
		血管肉腫	0	0	0	1		
	脾臓	血管肉腫	0	0	0	3	↑↑	↑↑
		単核球性白血病	5	3	2	1		
脾臓	血管腫+血管肉腫	0	1	0	3	↑	↑	
皮下組織	線維腫+線維肉腫	2	13 **	3	3			
全臓器 ^{a)}	血管腫	0	1	0	1			
	血管肉腫	0	0	0	4	↑↑	↑↑	
	血管腫+血管肉腫 ^{b)}	0	1	0	5 *			

a : 皮下組織と脾臓を合わせた部位を全臓器と表現した。

b : 全臓器に対する血管腫+血管肉腫の Peto 検定と Cochran Armitage 検定は行っていない。

表2 ジフェニルアミンのがん原性試験における主な腫瘍発生 (ラット 雌)

		投与濃度 (ppm)	0	250	1000	4000	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
		検査動物数	50	50	50	50		
良性 腫瘍	下垂体	腺腫	11	13	12	16		
	甲状腺	C-細胞腺腫	7	9	7	5		
	子宮	子宮内膜間質性ポリープ	5	2	6	7		
		腺腫	0	1	0	0		
	乳腺	線維腺腫	8	11	7	2 *		↓
悪性 腫瘍	脾臓	血管肉腫	0	0	0	1		
		単核球性白血病	3	2	0	5	↑	
	下垂体	腺癌	2	1	4	0		
	子宮	腺癌	1	0	0	4	↑↑	↑↑
子宮	腺腫+腺癌	1	1	0	4	↑	↑	

* : $p \leq 0.05$ で有意

↑ : $p \leq 0.05$ で有意増加

↓ : $p \leq 0.05$ で有意減少

** : $p \leq 0.01$ で有意

↑↑ : $p \leq 0.01$ で有意増加

↓↓ : $p \leq 0.01$ で有意減少

(Fisher 検定)

(Peto, Cochran-Armitage 検定)

(Cochran-Armitage 検定)

表3 ジフェニルアミンのがん原性試験における主な腫瘍発生 (マウス 雄)

		投与濃度 (ppm)	0	250	1000	4000	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
		検査動物数	50 ^{a)}	50	50	50		
良性 腫瘍	皮下組織	血管腫	0	0	1	0		
	肺	細気管支-肺胞上皮腺腫	5	4	7	4		
	骨髄	血管腫	0	0	0	1		
	脾臓	血管腫	1	0	6	2		
	肝臓	血管腫	2	2	5	3	↑	
	肝臓	肝細胞腺腫	9	14	10	2*		↓↓
	ハーダー腺	腺腫	4	2	1	1		
悪性 腫瘍	肺	細気管支-肺胞上皮癌	5	6	8	1		
	リンパ節	悪性リンパ腫	6	4	3	2		
	脾臓	血管肉腫	0	0	3	1		
	心臓	血管肉腫	0	1	0	0		
	肝臓	組織球性肉腫	5	1	1	1		
	肝臓	肝細胞癌	7	15*	5	2		↓↓
	血管肉腫	0	1	2	1			
	精巣上体	組織球性肉腫	1	1	3	1		
	脾臓	血管腫+血管肉腫	1	0	9**	3		
	肝臓	血管腫+血管肉腫	2	3	7	4	↑	
	全臓器 ^{b)}	血管腫	3	2	10*	6	↑	
		血管肉腫	0	1	4	1		
		血管腫+血管肉腫 ^{c)}	3	3	14**	6		

a: 対照群のハーダー腺の検査動物数は49

b: 脾臓、肝臓、皮下組織、骨髄及び心臓を合わせた部位を全臓器と表現した。

c: 全臓器に対する血管腫+血管肉腫のPeto検定とCochran Armitage検定は行っていない。

表4 ジフェニルアミンのがん原性試験における主な腫瘍発生 (マウス 雌)

		投与濃度 (ppm)	0	250	1000	4000	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
		検査動物数	50	50	50	50		
良性 腫瘍	肺	細気管支-肺胞上皮腺腫	1	3	1	2		
	肝臓	肝細胞腺腫	4	4	3	0		↓
	下垂体	腺腫	2	0	5	4		
	ハーダー腺	腺腫	0	3	1	2		
悪性 腫瘍	リンパ節	悪性リンパ腫	18	20	17	15		
	脾臓	悪性リンパ腫	0	3	1	0		
	肝臓	組織球性肉腫	4	0	1	1		
		血管肉腫	1	1	2	3		
	子宮	組織球性肉腫	8	7	17*	12		

*: $p \leq 0.05$ で有意

** : $p \leq 0.01$ で有意

(Fisher 検定)

↑: $p \leq 0.05$ で有意増加

↑↑: $p \leq 0.01$ で有意増加

(Peto, Cochran-Armitage 検定)

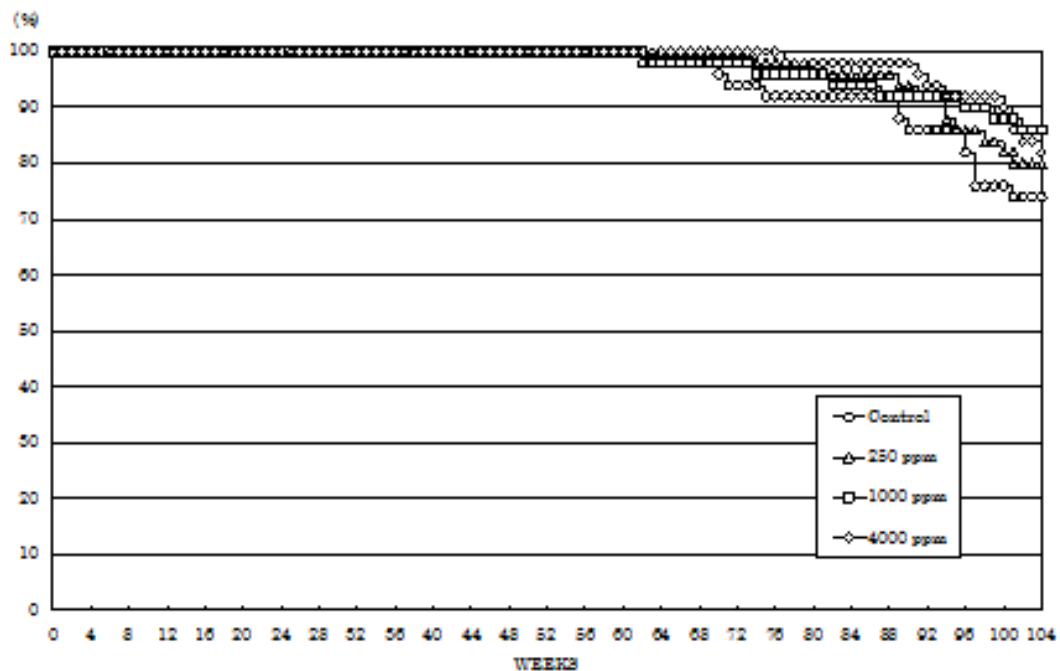
↓: $p \leq 0.05$ で有意減少

↓↓: $p \leq 0.01$ で有意減少

(Cochran-Armitage 検定)

図1 ジフェニルアミンのラットを用いたがん原性試験における生存率

(雄)



(雌)

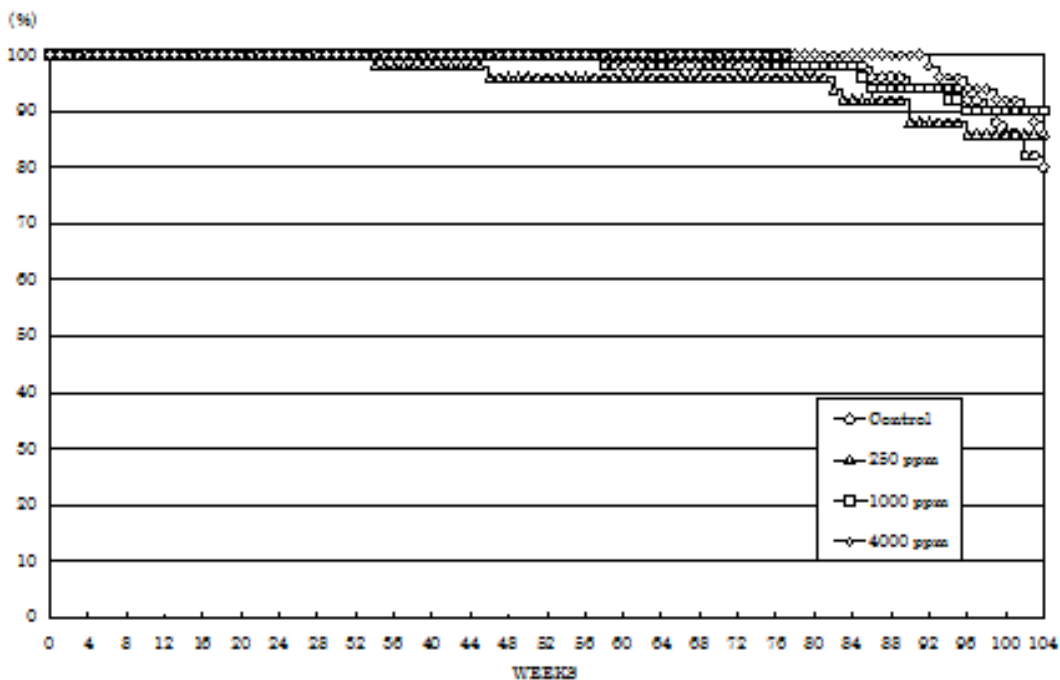
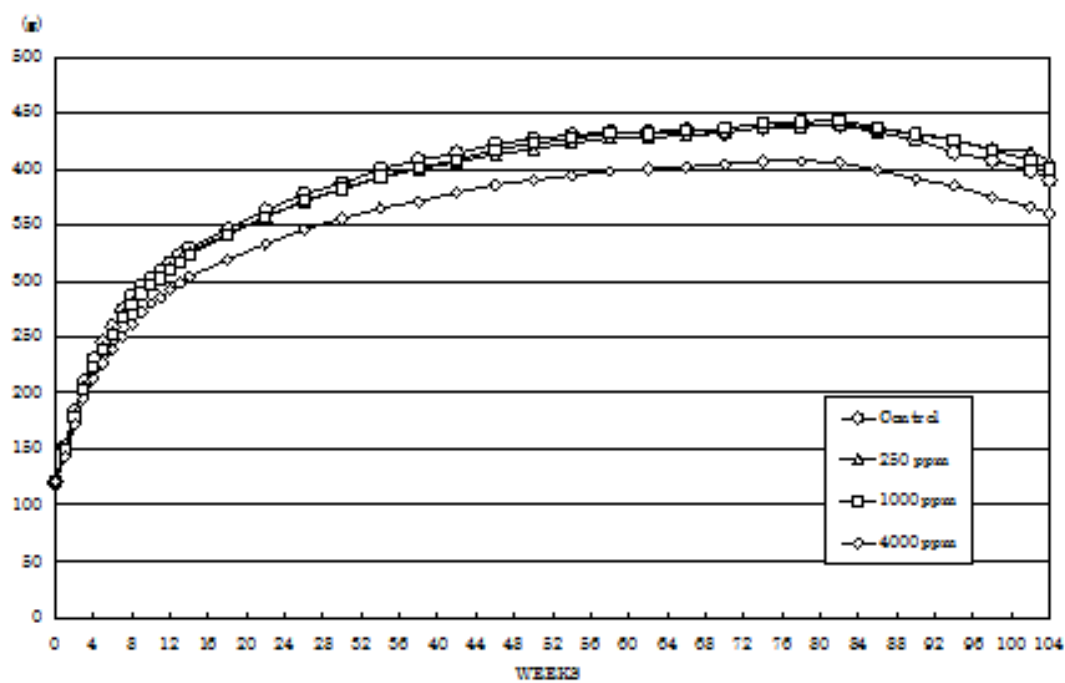


図2 ジフェニルアミンのラットを用いたがん原性試験における体重推移

(雄)



(雌)

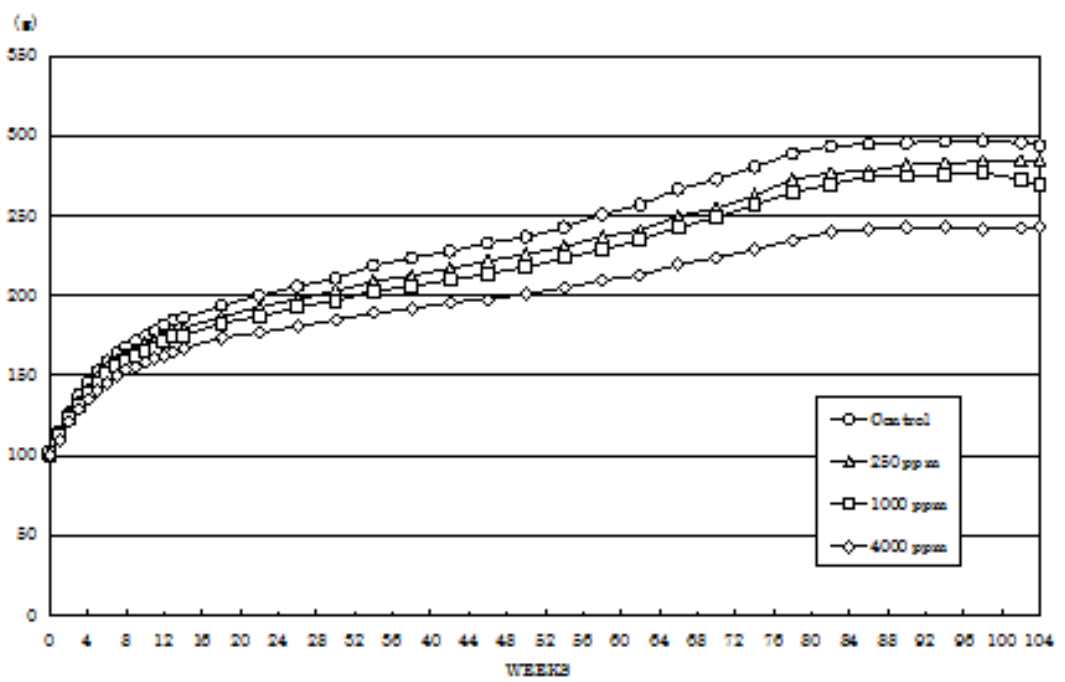
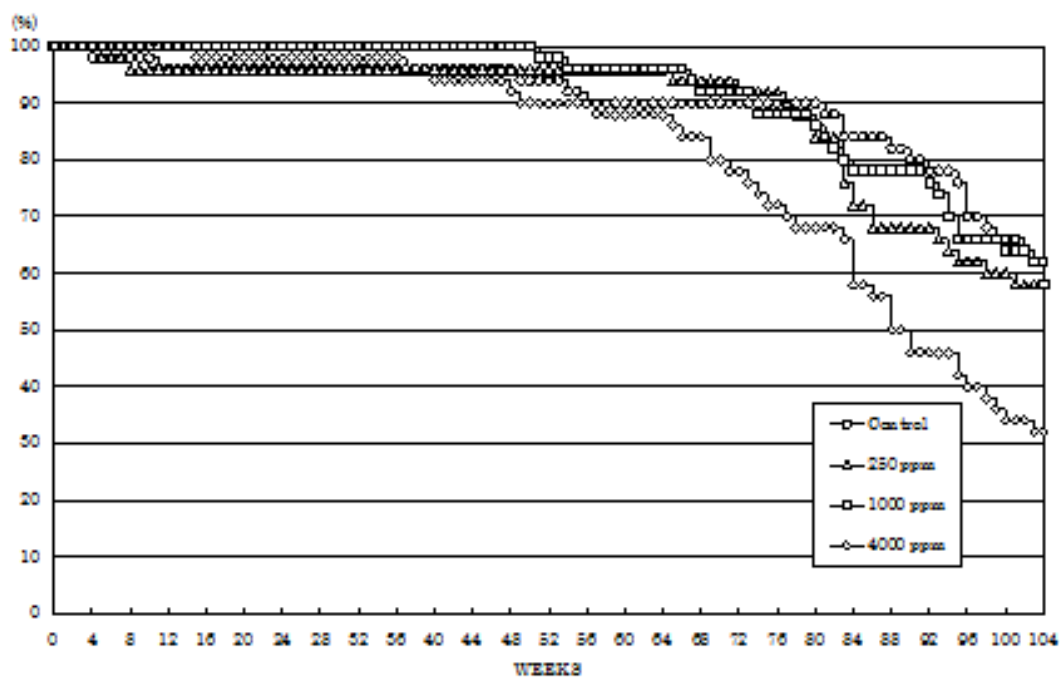


図3 ジフェニルアミンのマウスを用いたがん原性試験における生存率

(雄)



(雌)

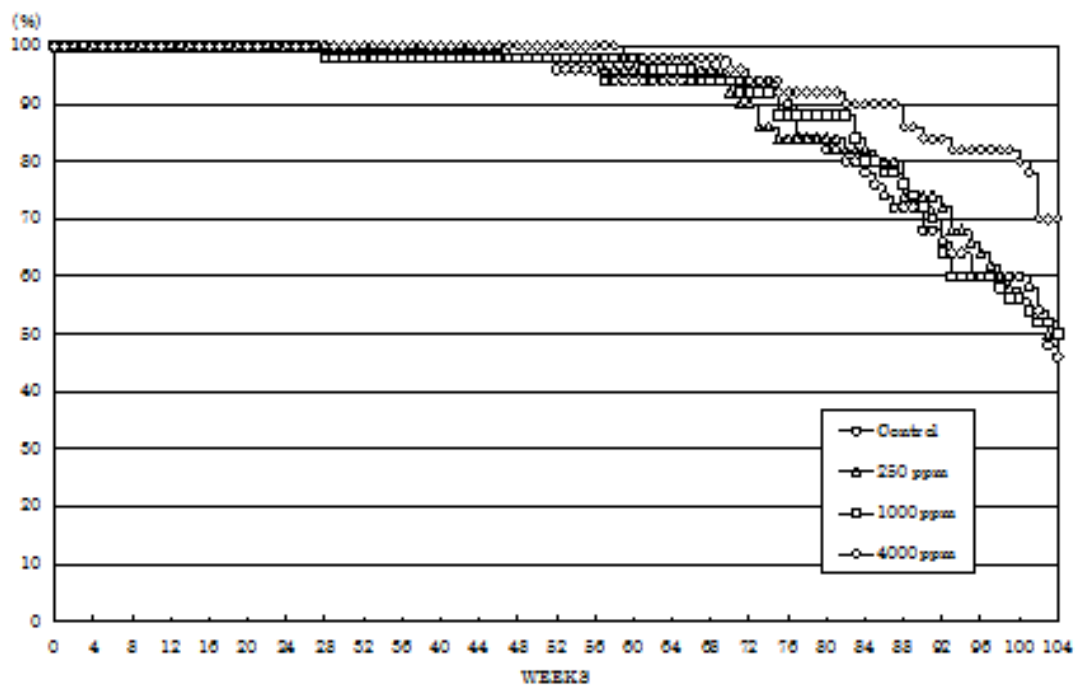
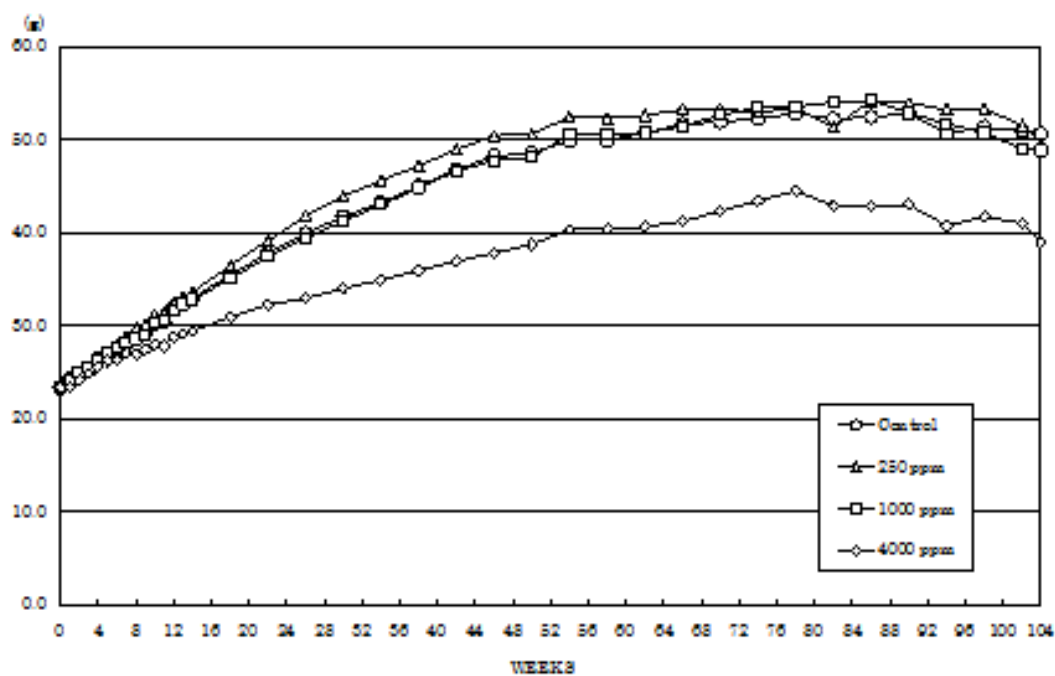
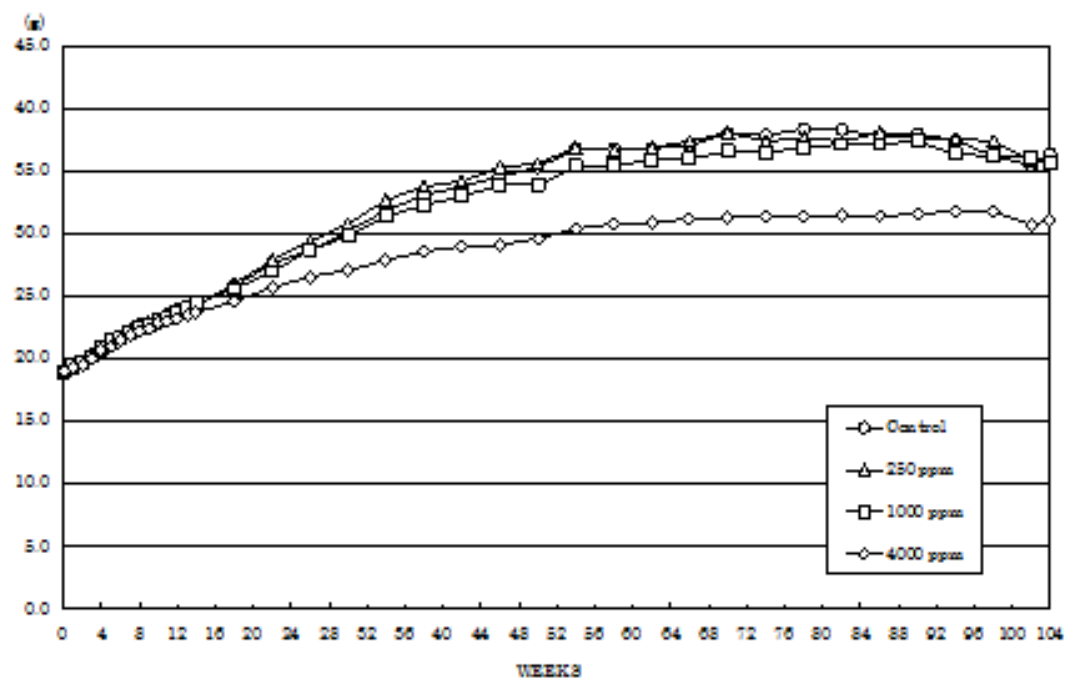


図4 ジフェニルアミンのマウスを用いたがん原性試験における体重推移

(雄)



(雌)



文献

1. 化学工業日報社 . 2011. 2011年版15911の化学商品 . 東京: 化学工業日報社 , 715.
2. 安全衛生情報センターモデルMSDS (ジフェニルアミン) Available:
<http://www.jaish.gr.jp>[accessed 05 October 2011].
3. NTPデータベース
[http://ntp-apps.niehs.nih.gov/ntp_tox/index.cfm?fuseaction=salmonella.salmonella
Data&endpointlist=SA&study%5Fno=127784&cas%5Fno=122%2D39%2D4&activ
etab=detail](http://ntp-apps.niehs.nih.gov/ntp_tox/index.cfm?fuseaction=salmonella.salmonella>Data&endpointlist=SA&study%5Fno=127784&cas%5Fno=122%2D39%2D4&activetab=detail) [accessed 2 August 2011].
4. 日本化学物質安全・情報センター編 . 2005. 労働安全衛生法有害性調査制度に基づく既存化学物質変異原性試験データ集 , 東京: 日本化学物質安全・情報センター , 補遺 3版.
249-250.