

テトラヒドロチオフェン-1,1-ジオキシドのラットを用いる 単回経口投与毒性試験

Single Dose Oral Toxicity Test of Tetrahydrothiophene 1,1-dioxide in Rats

要約

水および芳香族炭化水素との親和性が高いことから、工業的に溶媒として広く用いられている既存化学物質テトラヒドロチオフェン-1,1-ジオキシドの単回経口投与毒性試験を、SD系[Crj:CD(SD)]ラットを1群雌雄各5匹とし、0(対照)、892、1204、1626、2195、2963および4000mg/kg(公比1.35)用量で投与した。死亡は、投与後1~6時間に認められた。中毒症状として、自発運動の低下、痙攣、眼瞼下垂、流涎、立毛、紅涙、下腹部の尿による汚染が認められた。死亡動物の多くは、痙攣を呈した後、呼吸が微弱となって死亡した。生存動物の症状は、投与翌日~2日には回復した。体重は、投与翌日に増加抑制あるいは減少したが、症状が回復した3日には回復ないし回復傾向が認められた。剖検においては、死亡動物で、腺胃粘膜に黒色点散在が認められた。LD₅₀値(95%信頼限界)は、雄で2006(1783~2256)mg/kg、雌で2130(1844~2460)mg/kgであった。

方法

1. 被験物質

テトラヒドロチオフェン-1,1-ジオキシドは、分子量120.16、融点27.4~27.8℃、沸点287℃、蒸気圧14.53 mmHg(150℃)、比重1.265(30/20℃)の無色透明の液体で、水や芳香族炭化水素に溶けやすい。試験には、新日本理化株式会社(大阪)製造のもの(Lot No.0007、純度95%、不純物として水5%を含む)を入手し、これを投与直前に純度換算で所定の投与用量になるような濃度に局方精製水(共栄製薬)に溶解して投与液とした。

2. 使用動物および飼育条件

日本チャールス・リバー(株)より購入したSD系[Crj:CD(SD)]雌雄ラットを5日間馴化・検疫飼育し、5週齢(雄122~138 g、雌107~120 g)で、1群雌雄各5匹として用いた。ラットは、温度22±3℃、湿度55±10%、換気回数10回以上/時、照明12時間(6~18時)に設定された飼育室で、金網ケージに2~3匹ずつ雌雄別に収容し、固型飼料〔日本農産工業(株)製、ラボMRストック〕と水は自由摂取させた。ただし、投与前日午後5時から投与後3時間まで除餌し、水のみを与えた。

3. 投与量および投与方法

投与量設定試験として、雌雄ラットに744、1041、

1458、2041、2857および4000 mg/kg用量を単回経口投与した結果、死亡率(死亡動物数/供試動物数)は、各々雄が0/3、0/3、1/3、1/3、2/3および3/3、雌が0/3、0/3、0/3、1/3、3/3および3/3であった。そこで、本試験の用量は、雌雄とも0、892、1204、1626、2195、2963および4000 mg/kg(公比1.35)に設定した。投与方法は、投与液量を体重1kg当たり10 mlとし、テフロン製胃ゾンデを装着した注射筒を用いて強制的に動物の胃内に単回経口投与した。対照群には溶媒として用いた精製水を同様に投与した。

4. 観察事項

観察期間は投与後14日間とし、その間に一般状態の観察と生死の確認を投与日は頻回に、その後は、少なくとも1日1回行った。体重は、投与直前(投与0日)、投与後1、3、7および14日に、また死亡動物については発見日にも測定した。剖検は、死亡動物は発見後速やかに、生存動物は観察期間終了後エーテル麻酔死させて行った。LD₅₀値は、投与後14日間の観察期間終了時における死亡率を基に、Van der Waerden法を用いて算出した。

結果

1. 死亡率およびLD₅₀値(Table 1)

死亡は、雌雄とも2195 mg/kg以上の用量群で、投与後1~6時間に認められた。LD₅₀値(95%信頼限界)は、雄で2006(1783~2256)mg/kg、雌で2130(1844~2460)mg/kgであった。

2. 中毒症状および体重

中毒症状としては、雌雄とも1204 mg/kg以上の用量群で、自発運動の低下が投与後15~30分から全例に認められ、1626 mg/kg以上の用量群で、痙攣が30分~6時間に用量依存的に認められた。さらに、眼瞼下垂、流涎、立毛、紅涙が雌雄に、下腹部の尿による汚染が雌に、いずれも散発的に認められた。死亡の多くは、痙攣を呈した後、呼吸が次第に微弱となって死亡した。生存動物の症状は、投与後1時間から回復傾向が認められ、2日には回復した。体重は、投与翌日(1日)に対照群に比べ増加抑制が雌雄とも892および1204 mg/kg群でみられ、1626 mg/kg以上の用量群で投与前に比べ減少した。しかし、3日には体重は増加に転じ、以後順調な増加が認められた。

Table 1 Mortality and LD₅₀ values of rats treated with tetrahydrothiophene 1,1-dioxide in the single dose oral toxicity test

Sex	Dose (mg/kg)	No. of animals	Days after administration								Mortality ^{a)}	LD ₅₀ (mg/kg) [95%Confidence limit]	
			Day	0			1	2	3	4			5~14
				~1	~3	~6 hr.							
Male	0	5	0 ^{b)}	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	2006 [1783-2256]
	892	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	1204	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	1626	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	2195	5	0	0	4	0	0	0	0	0	0	4/5	
	2963	5	0	0	5	0	0	0	0	0	0	5/5	
	4000	5	0	3	2	0	0	0	0	0	0	5/5	
Female	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	2130 [1844-2460]
	892	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	1204	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	1626	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	2195	5	0	0	3	0	0	0	0	0	0	3/5	
	2963	5	0	1	4	0	0	0	0	0	0	5/5	
	4000	5	0	4	1	0	0	0	0	0	0	5/5	

a: Number of animals died/Number of animals examined

b: Number of animals died

3. 剖検

死亡動物の腺胃粘膜に、黒色点の散在が雄では用量依存的に、雌では少数例に認められた。生存動物の器官には、異常は認められなかった。

考察

テトラヒドロチオフェン-1,1-ジオキシドの急性毒性について、Brownら¹⁾は、ラットにおける経口LD₅₀値が2100 mg/kgで、中毒症状として痙攣が認められ、死亡は投与後24時間以内、多くは3時間までに認められたと報告している。本試験においても、LD₅₀値は雄で2006 mg/kg、雌で2130 mg/kg、特徴的な中毒症状は痙攣で、死亡は投与後6時間までに認められた。これらは、Brownらの報告と類似する結果であった。急性中毒症状としての痙攣は、本被験物質の類縁化合物²⁾あるいはチオフェン³⁾にも認められており、これらに共通した症状と考えられる。

文献

- 1) V. K. H. Brown, L. W. Ferrigan, D. E. Stevenson, *Brit. J. Industr. Med.*, **23**, 302(1966).
- 2) W. M. Alexander, B. E. Abreu, L. C. Weaver, H. E. Faith, J. W. Newberne, *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **CXIX**, No.3-4, 423(1959).
- 3) M. M. Smith, S. T. Reid, *J. Med. Pharmaceut. Chem.*, **6**, 507(1959).

連絡先

試験責任者：山本 謙

試験担当者：伊藤雅也、藩栗緒

(財)畜産生物科学安全研究所

〒229-11 神奈川県相模原市橋本台3-7-11

Tel 0427-62-2775 Fax 0427-62-7979

Correspondence

Authors: Yuzuru Yamamoto (Study director)

Masaya Ito, Cleo Pan

Research Institute for Animal Science in

Biochemistry and Toxicology

3-7-11 Hashimotodai, Sagami-hara-shi, Kanagawa,
229-11, Japan

Tel +81-427-62-2775 Fax +81-427-62-7979

テトラヒドロチオフェン-1,1-ジオキシドの ラットを用いる28日間反復経口投与毒性試験

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of Tetrahydrothiophene 1,1-dioxide in Rats

要約

工業的に溶媒として広く用いられている既存化学物質テトラヒドロチオフェン-1,1-ジオキシドの28日間反復経口投与毒性試験を、SD系[Crj:CD(SD)]ラットを用い、0(対照)、60、200および700 mg/kg/day用量の投与により実施した。動物数は1群雌雄各6匹とし、6群を設け、4群はそれぞれ0、60、200および700 mg/kg/dayを投与し、投与期間終了時に屠殺した。2群は0(対照)および700 mg/kgの14日間回復群とした。

一過性の自発運動低下が、投与初期に700 mg/kg群の雌に認められた。体重増加の抑制および摂餌量の減少が、700 mg/kg群の雌雄に認められた。尿および血液学検査では、被験物質の投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。血液生化学検査では、700 mg/kg群の雄に有意なコリンエステラーゼおよび総ビリルビンの増加、塩素の減少が、また雌にGPTの増加、グルコースの減少が認められた。病理学検査では、腎臓の近位尿管上皮における硝子滴および好酸体の増加が200および700 mg/kg群の雄に認められ、700 mg/kg群の雄の腎臓相対重量は有意に増加した。700 mg/kg群の雌で、脾臓の絶対重量の有意な減少が認められたが、組織学的には異常は認められなかった。回復群においては、腎臓の変化は回復傾向を示し、その他の変化はいずれも回復した。

以上の結果から、テトラヒドロチオフェン-1,1-ジオキシドのラットへの28日間反復投与により、腎臓の病理学的変化および主に肝機能への影響が示唆される血液生化学的变化などが認められた。無影響量は雄で60 mg/kg/day、雌で200 mg/kg/dayと推定された。

方法

1. 被験物質

テトラヒドロチオフェン-1,1-ジオキシドは、分子量120.16、融点27.4~27.8℃で、水および芳香族炭化水素に極めて溶け易く、水を3~5%添加された無色透明の液体である。試験には、新日本理化(株)製造のもの〔ロット番号0007、純度95%、不純物として水5%を含む〕を入手し、冷暗(4℃)条件下で密栓保管し、使用した。投与液は、被験物質を純度換算で所定の投与用量になるような濃度に局方精製水(共栄製薬)に溶解して調製し、使用時まで冷所(4℃)遮光下で密栓保管した。被験物質の原液および投与液中の被験物質は、安定であることを

確認した。

2. 供試動物および飼育条件

日本チャールス・リバー(株)より搬入したSD系[Crj:CD(SD)]ラットを、雄は5日、雌は6日間検疫・馴化飼育し、5週齢(雄146-157 g、雌126-140 g)で、1群雌雄各6匹として試験に用いた。ラットは、温度22±3℃、湿度55±10%、換気回数10回以上/時、照明12時間(6-18時)に設定した飼育室で、金網ケージに個別に収容し、固型飼料〔日本農産工業(株)、ラボMRストック〕および水を自由に摂取させた。

3. 投与量および投与方法

テトラヒドロチオフェン-1,1-ジオキシドのラットにおける急性経口LD₅₀値は、2100 mg/kgと報告されている。投与量設定試験は、5週齢のSD系ラットを1群雌雄各4匹とし、0、50、100、250、500あるいは1000 mg/kg/day用量の14日間反復経口投与により実施した。体重増加の抑制、摂餌量の減少および尿pHの上昇傾向が、500 mg/kg以上の雌雄に認められた。1000 mg/kgでは、投与5日頃まで初期体重を下回って推移し、雄の1匹は死亡した。さらに、雌雄にヘマトクリット値の増加が、雌に血清GOT、GPTの増加が、雄に総ビリルビンの増加およびカリウムの減少がそれぞれ認められた。剖検および器官重量においては、変化は認められなかった。したがって、本試験における投与量は、明らかな毒性影響の発現が予想される700 mg/kg/dayを最高用量とし、以下200および60 mg/kg/dayの3用量および対照を設定した。試験群は、以上の4群の他に、700 mg/kg/dayおよび対照の14日間回復群を設けた。投与は、テフロン製胃ゾンデを装着した注射筒を用いて、投与液を1日1回、28日間にわたって経口投与した。投与液量は、体重100 g当たり0.5 mlとした。対照群には溶媒として用いた局方精製水を同様に投与した。

4. 観察および検査項目

1) 一般状態観察

投与および回復期間中毎日、生死および外観、行動等を観察した。

2) 体重および摂餌量測定

体重は、投与1日(投与初日の投与直前)、3日およびその後は週2回、3あるいは4日ごと、ならびに屠殺日に測定した。摂餌量は、ケージごとに週1回(雄は投与3、

10, 17, 24日および投与終了後3, 10日, 雌は投与2, 9, 16, 23日および投与終了後2, 9日), 翌日までの24時間の飼料消費量を測定した。

3) 尿検査

雄は投与23日および投与終了後11日, 雌は投与24あるいは27日および投与終了後10日に, ラットを代謝ケージに約3時間収容して採尿し, 外観の観察, 比重の測定 [屈折計, エルマ光学(株)], pH, 潜血, タンパク, 糖, ケトン体, ビリルビン, ウロビリノーゲン [以上, マルティステックス, マイルス・三共(株)] および沈渣 (URI-CEL液で染色, ケンブリッジケミカルプロダクト社)の検査を行った。

4) 血液学検査

供試血液の採取は, 投与期間および回復期間終了翌日における屠殺剖検時に行った。動物は採血前日の午後5時より除餌し, 水のみを給与した。腹大動脈から採取した血液は3分割し, その一部はEDTA-2Kで凝固防止処理し, 多項目自動血球計数装置 [東亜医用電子(株), E-4000] により, 赤血球数(電気抵抗検出方式), 血色素量(ラウリル硫酸ナトリウム-ヘモグロビン法), ヘマトクリット値(パルス検出方式), 平均赤血球容積, 平均赤血球血色素量, 平均赤血球血色素濃度(以上, 計算値), 白血球数および血小板数(以上, 電気抵抗検出方式)を, また塗抹標本作製して網状赤血球数(Brilliant cresyl blue染色)および白血球百分率(May-Giemsa染色)を測定した。さらに一部は3.8%クエン酸ナトリウム液で処理して血漿を得, 血液凝固自動測定装置(アメルング社, KC-10A)により, プロトロンビン時間(Quick一段法)および活性化部分トロンボプラスチン時間(エラジン酸活性化法)を測定した。

5) 血液生化学検査

採取した血液の一部から血清を分離し, 生化学自動分析装置 [日本電子(株), JCA-VX-1000型クリナライザー] により, 総タンパク(Biuret法), アルブミン(BCG), A/G比(計算値), 血糖, トリグリセライド, 総コレステロール(以上, 酵素法), 総ビリルビン(Jendrassik法), 尿素窒素(Urease-UV法), クレアチニン(Jaffé法), GOT, GPT, γ -GTP(以上, SSCC法), アルカリホスファターゼ(GSCC法), コリンエステラーゼ(BTC-DTNB法), カルシウム(OCPC法)および無機リン(酵素法)を, 電解質自動分析装置 [東亜電波工業(株), NAKL-1] により, ナトリウム, カリウムおよび塩素を測定した。

6) 病理学検査

所定の投与期間あるいは回復期間終了翌日の採血に続いて放血屠殺し, 剖検した。また, 脳, 心臓, 胸腺, 肝臓, 腎臓, 脾臓, 副腎, 精巣, 精巣上体, 卵巣を秤量した。病理組織学検査は, 採取した器官を10%中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定後, 対照群および700 mg/kg群では脳, 脊髄, 下垂体, 眼球, 甲状腺(上皮小体を含

む), 胸腺, 心臓, 気管, 肺, 肝臓, 腎臓, 脾臓, 副腎, 胃, 小腸(十二指腸・空腸・回腸), 大腸(盲腸・結腸・直腸), 膵臓, 精巣, 精巣上体, 精囊, 前立腺, 卵巣, 子宮, 膣, 膀胱, リンパ節(頸部リンパ節, 腸間膜リンパ節), 坐骨神経, 骨髄について, 60および200 mg/kg群ならびに回復群では, 毒性影響がうかがわれた雄の腎臓を, さらに回復群については器官重量に変化の認められた雌の肝臓, 脾臓, 胸腺および血液検査で変化が認められたため雌雄の骨髄を検査した。検査は, 常法によりパラフィン切片を作製し, ヘマトキシリン・エオジン染色を施して鏡検した。

5. 統計処理

得られた平均値あるいは頻度について, Dunnettの多重比較検定を行った。ただし, 回復群については, t検定およびU検定を行った。

結果

1. 一般状態および死亡

一般状態の変化について, 自発運動の低下が700 mg/kg群で雌の12匹中3匹に認められた。これらの自発運動の低下は, いずれも投与3日のみに認められ一過性の変化であった。死亡は認められなかった。

2. 体重(Fig. 1)

700 mg/kgの体重は対照群を下回って推移し, 雄は投与期間を通じて, 雌は投与開始後14日までの体重に有意差が認められた。回復期間においては, 700 mg/kgの回復群の体重増加量は雌雄とも対照群を上回り, 有意に低値を示した雄の体重も, 回復期間終了時には対照群との間に有意差は認められなくなった。

3. 摂餌量(Fig. 2)

摂餌量の有意な減少が, 700 mg/kg群で雄は投与1~3週, 雌は投与1週に認められた。700 mg/kgの回復群の摂餌量は, 対照群に比べて, 雄では差がなく, 雌では投与終了後1週に有意に増加した。

4. 尿所見

投与および回復期間中の検査で, 被験物質投与各群の雌雄とも, 各検査項目に有意な変化は, 認められなかった。

5. 血液学所見(Table 1, 2)

被験物質投与各群の雄の平均赤血球血色素濃度は, 対照群と比べて全般的にやや低値を示し, 統計学的に有意差が認められた。しかし, 変化傾向が用量依存的でなく, 赤血球数, 血色素量およびヘマトクリット値にも, 有意な変化は認められなかった。700 mg/kgの回復群においては, 雄に有意な白血球数の増加が, 雌に有意な赤血球数の減少および平均赤血球容積の増加が認められた。白血球の百分率には変化は認められなかった。

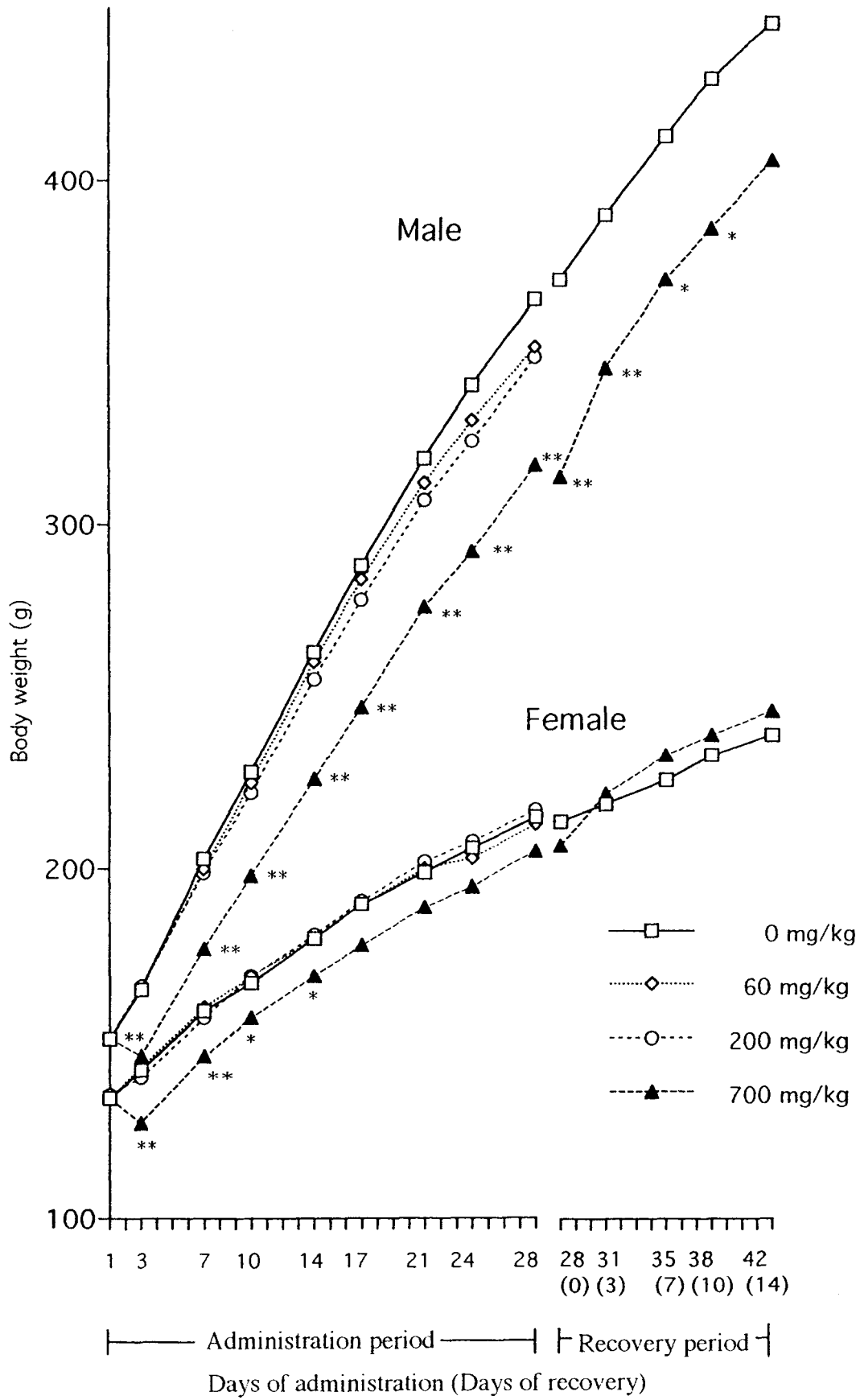


Fig. 1 Body weight changes of rats treated orally with tetrahydrothiophene 1, 1-dioxide in the 28-day repeat dose toxicity test

Significantly different from control group (*:p<0.05; **:p<0.01)

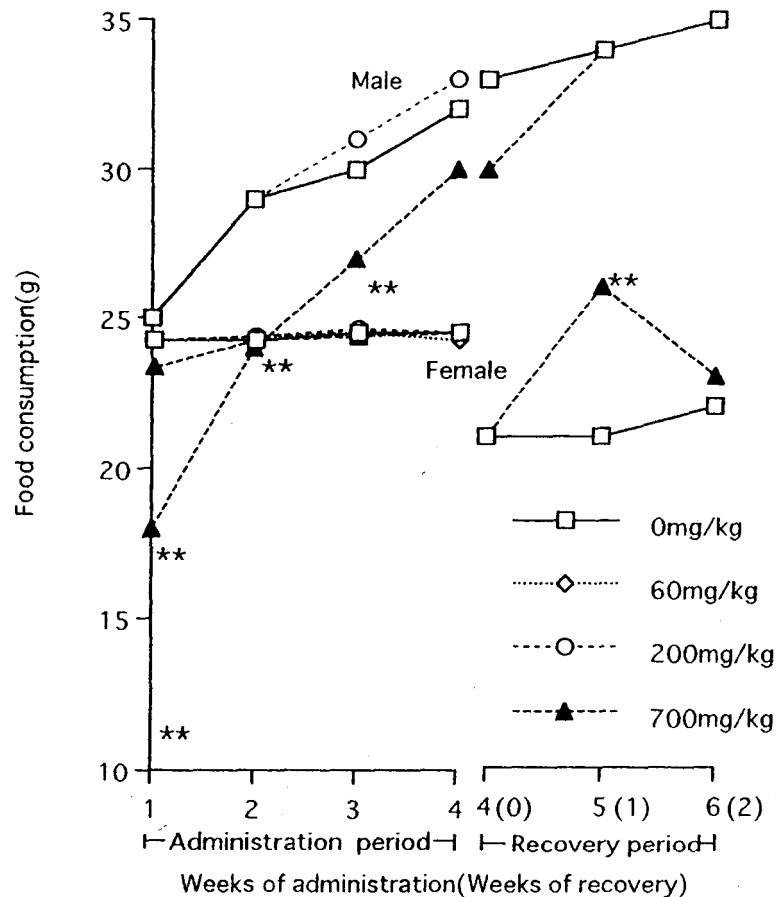


Fig. 2 Food consumption of rats treated orally with tetrahydrothiophene 1, 1-dioxide in the 28-day repeat dose toxicity test

Significantly different from control group (**:p<0.01)

Table 1 Hematological examination in male rats after the oral administration of tetrahydrothiophene 1,1-dioxide for 28 days and a recovery period for 14 days

Dose level (mg/kg)	After administration period				After recovery period	
	0	60	200	700	0	700
No. of animals	6	6	6	6	6	6
Erythrocyte (10 ⁴ /mm ³)	765 ± 32	763 ± 43	763 ± 29	772 ± 22	784 ± 58	800 ± 49
Hemoglobin (g/dl)	15.6 ± 0.4	15.4 ± 0.5	15.0 ± 0.4	15.8 ± 0.6	15.5 ± 0.7	15.9 ± 0.6
Hematocrit (%)	45.0 ± 1.8	45.4 ± 1.8	44.8 ± 1.2	47.1 ± 1.5	45.0 ± 1.9	46.1 ± 2.1
MCV (fl)	59 ± 3	60 ± 3	59 ± 2	61 ± 2	58 ± 2	58 ± 2
MCH (pg)	20.4 ± 0.9	20.2 ± 1.1	19.7 ± 0.6	20.5 ± 0.8	19.8 ± 0.7	19.9 ± 0.9
MCHC (%)	34.6 ± 0.8	33.8 ± 0.4*	33.5 ± 0.2**	33.6 ± 0.4**	34.3 ± 0.5	34.5 ± 0.8
Reticulocyte (%)	39 ± 10	38 ± 11	43 ± 9	28 ± 6	35 ± 10	37 ± 11
PT (sec)	12.5 ± 0.3	12.7 ± 0.2	12.7 ± 0.1	12.8 ± 0.1	12.6 ± 0.2	12.9 ± 0.3
APTT (sec)	17.2 ± 1.0	17.7 ± 0.3	16.6 ± 1.1	16.7 ± 1.2	17.5 ± 1.3	17.0 ± 1.1
Leukocyte (10 ² /mm ³)	60 ± 16	58 ± 19	58 ± 13	64 ± 7	76 ± 19	104 ± 22*
Platelet (10 ⁴ /mm ³)	149 ± 17	148 ± 8	154 ± 11	154 ± 19	158 ± 19	147 ± 18

Values are expressed as Mean ± S.D.

Significantly different from control group (*:p<0.05, **:p<0.01)

Table 2 Hematological examination in female rats after the oral administration of tetrahydrothiophene 1,1-dioxide for 28 days and a recovery period for 14 days

Dose level (mg/kg)	After administration period				After recovery period	
	0	60	200	700	0	700
No. of animals	6	6	6	6	6	6
Erythrocyte ($10^4/\text{mm}^3$)	773 \pm 21	778 \pm 32	752 \pm 23	778 \pm 42	817 \pm 16	781 \pm 21**
Hemoglobin (g/dl)	15.1 \pm 0.4	15.6 \pm 0.5	14.8 \pm 0.7	15.2 \pm 0.9	15.5 \pm 0.5	15.3 \pm 0.5
Hematocrit (%)	43.9 \pm 1.0	44.6 \pm 1.3	43.0 \pm 1.5	44.9 \pm 2.5	44.9 \pm 0.9	44.4 \pm 1.2
MCV (fl)	57 \pm 2	57 \pm 2	57 \pm 1	58 \pm 1	55 \pm 1	57 \pm 1**
MCH (pg)	19.5 \pm 0.6	20.0 \pm 0.6	19.7 \pm 0.8	19.6 \pm 0.3	19.0 \pm 0.6	19.6 \pm 0.4
MCHC (%)	34.4 \pm 0.4	34.9 \pm 0.4	34.4 \pm 0.7	33.9 \pm 0.6	34.6 \pm 0.7	34.5 \pm 0.3
Reticulocyte (%)	33 \pm 10	27 \pm 5	28 \pm 8	31 \pm 10	27 \pm 6	26 \pm 6
PT (sec)	13.1 \pm 0.3	13.0 \pm 0.1	13.1 \pm 0.3	13.1 \pm 0.5	12.9 \pm 0.2	12.7 \pm 0.2
APTT (sec)	16.0 \pm 0.6	16.0 \pm 1.1	15.9 \pm 0.9	15.1 \pm 1.1	16.2 \pm 0.8	15.8 \pm 0.2
Leukocyte ($10^2/\text{mm}^3$)	49 \pm 12	41 \pm 12	38 \pm 12	36 \pm 15	49 \pm 14	69 \pm 22
Platelet ($10^4/\text{mm}^3$)	149 \pm 23	150 \pm 20	150 \pm 22	142 \pm 15	149 \pm 13	147 \pm 15

Values are expressed as Mean \pm S.D.

Significantly different from control group (**:p<0.01)

Table 3 Blood chemical examination in male rats after the oral administration of tetrahydrothiophene 1,1-dioxide for 28 days and a recovery period for 14 days

Dose level (mg/kg)	After administration period				After recovery period	
	0	60	200	700	0	700
No. of animals	6	6	6	6	6	6
GOT (IU/l)	62 \pm 5	60 \pm 6	63 \pm 7	70 \pm 7	61 \pm 8	63 \pm 11
GPT (IU/l)	28 \pm 5	28 \pm 6	27 \pm 3	33 \pm 5	31 \pm 6	36 \pm 9
ALP (IU/l)	462 \pm 44	500 \pm 150	486 \pm 102	524 \pm 132	329 \pm 82	370 \pm 95
γ -GTP (IU/l)	0.50 \pm 0.52	0.49 \pm 0.59	0.50 \pm 0.31	0.26 \pm 0.24	0.23 \pm 0.25	0.40 \pm 0.20
ChE (IU/l)	25 \pm 9	20 \pm 6	26 \pm 4	40 \pm 12*	51 \pm 22	45 \pm 23
T.protein (g/dl)	6.33 \pm 0.22	6.12 \pm 0.12	6.07 \pm 0.13*	6.35 \pm 0.13	6.29 \pm 0.34	6.09 \pm 0.14
Albumin (g/dl)	3.11 \pm 0.12	2.94 \pm 0.14	3.03 \pm 0.13	3.25 \pm 0.19	3.04 \pm 0.12	2.94 \pm 0.14
A/G ratio	0.97 \pm 0.05	0.93 \pm 0.09	1.00 \pm 0.12	1.05 \pm 0.10	0.94 \pm 0.08	0.93 \pm 0.07
T.cholesterol (mg/dl)	95 \pm 13	83 \pm 16	100 \pm 26	102 \pm 11	98 \pm 15	92 \pm 19
Triglyceride (mg/dl)	80 \pm 25	71 \pm 13	86 \pm 17	110 \pm 32	90 \pm 32	63 \pm 16
Glucose (mg/dl)	134 \pm 11	142 \pm 24	138 \pm 9	130 \pm 18	157 \pm 12	143 \pm 8*
T.bilirubin (mg/dl)	0.35 \pm 0.05	0.35 \pm 0.05	0.40 \pm 0.05	0.45 \pm 0.03**	0.28 \pm 0.02	0.30 \pm 0.05
Urea nitrogen (mg/dl)	15.4 \pm 1.9	16.3 \pm 1.5	17.8 \pm 2.5	16.6 \pm 2.5	18.7 \pm 1.6	18.8 \pm 2.5
Creatinine (mg/dl)	0.51 \pm 0.07	0.47 \pm 0.06	0.50 \pm 0.05	0.49 \pm 0.04	0.63 \pm 0.03	0.57 \pm 0.04*
Ca (mg/dl)	10.2 \pm 0.1	10.0 \pm 0.4	9.9 \pm 0.1	10.2 \pm 0.3	10.0 \pm 0.2	10.2 \pm 0.2
I. phosphorus (mg/dl)	8.5 \pm 0.4	8.7 \pm 0.2	8.5 \pm 0.6	8.3 \pm 0.3	7.5 \pm 0.5	8.1 \pm 0.6
Na (mEq/l)	142 \pm 1	142 \pm 1	141 \pm 0	142 \pm 1	142 \pm 1	142 \pm 1
K (mEq/l)	4.42 \pm 0.17	4.30 \pm 0.29	4.48 \pm 0.36	4.18 \pm 0.17	4.39 \pm 0.19	4.62 \pm 0.22
Cl (mEq/l)	104 \pm 0	104 \pm 1	104 \pm 1	102 \pm 1**	103 \pm 2	103 \pm 1

Values are expressed as Mean \pm S.D.

Significantly different from control group (*:p<0.05;**p<0.01)

6. 血液生化学所見 (Table 3, 4)

700 mg/kg群で、雄に有意なコリンエステラーゼおよび総ビリルビンの増加、塩素の減少が、雌に有意なGPTの増加、グルコースの減少が認められた。なお、

200 mg/kg群で、雄に有意な総タンパクの減少が、雌に有意なトリグリセライドの増加が認められたが、用量相関的な変化ではなかった。700 mg/kgの回復群においては、雄に有意なグルコースおよびクレアチニンの減少が

Table 4 Blood chemical examination in female rats after the oral administration of tetrahydrothiophene 1,1-dioxide for 28 day and a recovery period for 14 days

Dose level (mg/kg)	After administration period				After recovery period	
	0	60	200	700	0	700
No. of animals	6	6	6	6	6	6
GOT (IU/l)	67 ± 8	64 ± 6	61 ± 7	74 ± 12	65 ± 6	59 ± 7
GPT (IU/l)	24 ± 5	24 ± 4	23 ± 4	35 ± 6**	27 ± 6	29 ± 6
ALP (IU/l)	300 ± 75	268 ± 55	246 ± 48	306 ± 80	236 ± 50	204 ± 38
γ-GTP (IU/l)	0.32 ± 0.33	0.27 ± 0.28	0.44 ± 0.17	0.69 ± 0.39	0.37 ± 0.28	0.51 ± 0.48
ChE (IU/l)	304 ± 175	296 ± 106	281 ± 60	294 ± 41	292 ± 89	263 ± 47
T.protein (g/dl)	6.26 ± 0.36	6.49 ± 0.26	6.41 ± 0.16	6.36 ± 0.15	6.60 ± 0.29	6.62 ± 0.12
Albumin (g/dl)	3.23 ± 0.19	3.47 ± 0.15	3.31 ± 0.16	3.35 ± 0.15	3.42 ± 0.28	3.43 ± 0.13
A/G ratio	1.07 ± 0.06	1.15 ± 0.06	1.08 ± 0.13	1.11 ± 0.08	1.08 ± 0.10	1.08 ± 0.06
T.cholesterol (mg/dl)	97 ± 14	93 ± 9	97 ± 14	109 ± 35	92 ± 3	95 ± 19
Triglyceride (mg/dl)	26 ± 4	38 ± 12	44 ± 12*	32 ± 12	46 ± 15	61 ± 19
Glucose (mg/dl)	130 ± 15	117 ± 13	124 ± 10	110 ± 4*	139 ± 13	125 ± 10
T.bilirubin (mg/dl)	0.21 ± 0.01	0.22 ± 0.02	0.22 ± 0.02	0.24 ± 0.03	0.29 ± 0.05	0.28 ± 0.02
Urea nitrogen (mg/dl)	18.6 ± 2.6	18.5 ± 1.6	16.9 ± 2.8	19.0 ± 3.7	21.2 ± 3.3	19.6 ± 2.9
Creatinine (mg/dl)	0.54 ± 0.05	0.55 ± 0.04	0.53 ± 0.02	0.53 ± 0.04	0.65 ± 0.10	0.61 ± 0.05
Ca (mg/dl)	10.0 ± 0.2	10.2 ± 0.3	10.1 ± 0.1	9.9 ± 0.2	10.2 ± 0.3	10.2 ± 0.2
I. phosphorus (mg/dl)	7.7 ± 0.5	8.3 ± 0.9	7.2 ± 0.4	8.2 ± 0.8	7.3 ± 0.7	7.6 ± 0.5
Na (mEq/l)	141 ± 1	141 ± 1	141 ± 0	142 ± 1	141 ± 1	141 ± 1
K (mEq/l)	4.26 ± 0.21	4.29 ± 0.23	4.24 ± 0.17	4.18 ± 0.19	4.42 ± 0.29	4.47 ± 0.18
Cl (mEq/l)	106 ± 1	106 ± 1	106 ± 2	106 ± 1	105 ± 2	105 ± 1

Vales are expressed as Mean ± S.D.

Significantly different from control group (*:p<0.05;**p<0.01)

認められた。しかし、投与期間終了時屠殺動物で認められた変化は認められなかった。

7. 剖検所見

腎臓の軽度な腫大が、700 mg/kg群の雄6匹中2匹に認められた。回復群の剖検においては、異常は認められなかった。

8. 器官重量 (Table 5, 6)

700 mg/kg群で、雄は腎臓の絶対重量が増加傾向を示し、相対重量は有意に増加した。また、雌では、脾臓の絶対重量が有意に減少し、相対重量も減少傾向を示した。なお、700 mg/kg群の雄で、脳および心臓は絶対重量に変化が認められなかったが、相対重量は有意に増加した。700 mg/kgの回復群においては、雌で脾臓の絶対および相対重量、胸腺の絶対重量ならびに脾臓の相対重量の有意な増加が認められた。しかし、投与期間終了時屠殺動物で認められた変化は認められなかった。

9. 病理組織学所見 (Table 7, 8)

投与期間終了時屠殺動物の検査において、被験物質の投与に起因すると考えられる変化が、雄の腎臓に認められた。すなわち、腎臓の近位尿管上皮において、硝子滴の増加および好酸体の出現が200および700 mg/kg群で認められた。また、好塩基性尿管の目立つ例が700 mg/kg群で増加する傾向にあった。さらに、遠位尿管の軽度な拡張が、200および700 mg/kg群の各1匹に認められた。雌の腎臓、ならびに器官重量で変化の認め

られた雄の脳、心臓および雌の脾臓を含むその他の器官には、被験物質投与との関連性がみられる変化は認められなかった。700 mg/kgの回復群においては、投与期間終了時屠殺動物の雄で認められた腎臓の変化は明らかに軽減あるいは消失し、回復傾向が認められた。器官重量に変化のみられた雌の肝臓、脾臓および胸腺には、被験物質投与の影響と考えられる変化は認められなかった。また、700 mg/kgの回復群の雌雄の骨髄にも異常は認められなかった。以上の所見の他にも、投与期間終了時屠殺動物および回復期間終了時屠殺動物において、検査した各器官に変化が認められたが、いずれも散発的で用量依存性はみられず、自然発生病変と考えられる所見であった。

考察

テトラヒドロチオフェン-1,1-ジオキシドの毒性について、ラットにおける急性経口LD₅₀値は2100 mg/kgと報告¹⁾されており、当研究所で実施した急性経口毒性試験においても、雄で2006 mg/kg、雌で2130 mg/kgと類似した結果が得られている²⁾。皮膚刺激性および感作性は、認められないことが報告³⁾されている。反復投与毒性に関しては、ラット、モルモット、イヌおよびサルに29～95日間吸入させたAndersenら³⁾の報告があり、毒性変化として、被験物質の直接的な影響による肺の炎症性変化が各動物種で発現したほか、モルモットでは肝細胞の空胞化および肝機能障害を示唆する血液生化学的変化が認められている。

Table 5 Absolute and relative organ weights in male rats after the oral administration of tetrahydrothiophene 1,1-dioxide for 28 days and a recovery period for 14 days

Dose level (mg/kg)	After administration period				After recovery period	
	0	60	200	700	0	700
No. of animals	6	6	6	6	6	6
Body weight (g)	323 ± 24	318 ± 14	314 ± 8	287 ± 18**	404 ± 37	370 ± 19
Absolute weight						
Brain (g)	1.99 ± 0.10	2.03 ± 0.07	2.00 ± 0.08	1.95 ± 0.04	2.08 ± 0.09	2.00 ± 0.06
Liver (g)	9.77 ± 0.72	9.70 ± 0.88	9.76 ± 0.37	9.23 ± 0.65	11.98 ± 1.62	10.56 ± 0.49
Kidneys (g)	2.47 ± 0.22	2.53 ± 0.14	2.48 ± 0.11	2.70 ± 0.30	2.69 ± 0.21	2.60 ± 0.27
Spleen (g)	0.68 ± 0.05	0.62 ± 0.07	0.62 ± 0.02	0.58 ± 0.10	0.77 ± 0.15	0.68 ± 0.09
Heart (g)	1.10 ± 0.11	1.11 ± 0.13	1.09 ± 0.05	1.10 ± 0.09	1.28 ± 0.12	1.25 ± 0.11
Thymus (g)	0.59 ± 0.12	0.54 ± 0.08	0.57 ± 0.10	0.55 ± 0.14	0.62 ± 0.08	0.60 ± 0.10
Adrenals (mg)	59.4 ± 10.7	56.8 ± 15.2	55.0 ± 6.5	51.1 ± 5.6	63.3 ± 16.8	59.6 ± 5.9
Testes (g)	3.24 ± 0.22	3.06 ± 0.27	3.07 ± 0.02	3.14 ± 0.22	3.29 ± 0.24	3.25 ± 0.23
Epididymides (g)	0.85 ± 0.04	0.85 ± 0.11	0.87 ± 0.07	0.78 ± 0.07	1.20 ± 0.10	1.12 ± 0.09
Relative weight						
Brain (g%)	0.62 ± 0.03	0.64 ± 0.03	0.64 ± 0.03	0.68 ± 0.05*	0.52 ± 0.04	0.54 ± 0.04
Liver (g%)	3.04 ± 0.22	3.05 ± 0.15	3.11 ± 0.10	3.22 ± 0.15	2.96 ± 0.23	2.86 ± 0.11
Kidneys (g%)	0.77 ± 0.04	0.80 ± 0.05	0.79 ± 0.05	0.94 ± 0.06**	0.67 ± 0.05	0.71 ± 0.08
Spleen (g%)	0.21 ± 0.02	0.20 ± 0.02	0.20 ± 0.01	0.20 ± 0.03	0.19 ± 0.03	0.18 ± 0.02
Heart (g%)	0.34 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.35 ± 0.01	0.39 ± 0.03*	0.32 ± 0.02	0.34 ± 0.03
Thymus (g%)	0.18 ± 0.04	0.17 ± 0.02	0.18 ± 0.03	0.19 ± 0.04	0.16 ± 0.02	0.17 ± 0.02
Adrenals (mg%)	18.48 ± 3.52	17.76 ± 4.02	17.56 ± 2.20	17.81 ± 1.76	15.51 ± 2.93	16.16 ± 1.69
Testes (g%)	1.01 ± 0.11	0.97 ± 0.09	0.98 ± 0.08	1.10 ± 0.10	0.82 ± 0.05	0.88 ± 0.09
Epididymides (g%)	0.27 ± 0.02	0.27 ± 0.03	0.28 ± 0.03	0.27 ± 0.02	0.30 ± 0.02	0.30 ± 0.02

Values are expressed as Mean ± S.D.

Significantly different from control group (*:p<0.05; **:p<0.01)

Table 6 Absolute and relative organ weights in female rats after the oral administration of tetrahydrothiophene 1,1-dioxide for 28 days and a recovery period for 14 days

Dose level (mg/kg)	After administration period				After recovery period	
	0	60	200	700	0	700
No. of animals	6	6	6	6	6	6
Body weight (g)	198 ± 7	196 ± 10	196 ± 15	187 ± 8	219 ± 29	224 ± 18
Absolute weight						
Brain (g)	1.82 ± 0.05	1.87 ± 0.04	1.83 ± 0.03	1.81 ± 0.05	1.84 ± 0.09	1.85 ± 0.05
Liver (g)	5.95 ± 0.32	5.81 ± 0.31	6.29 ± 0.96	5.64 ± 0.38	6.00 ± 0.84	6.69 ± 0.60
Kidneys (g)	1.61 ± 0.11	1.58 ± 0.12	1.63 ± 0.12	1.60 ± 0.13	1.58 ± 0.23	1.58 ± 0.08
Spleen (g)	0.48 ± 0.06	0.43 ± 0.05	0.44 ± 0.08	0.37 ± 0.03*	0.44 ± 0.06	0.53 ± 0.05*
Heart (g)	0.77 ± 0.03	0.74 ± 0.04	0.76 ± 0.07	0.73 ± 0.06	0.79 ± 0.09	0.84 ± 0.06
Thymus (g)	0.49 ± 0.11	0.46 ± 0.04	0.45 ± 0.04	0.51 ± 0.10	0.43 ± 0.04	0.49 ± 0.04*
Adrenals (mg)	62.9 ± 11.1	56.6 ± 5.6	68.3 ± 12.0	57.5 ± 4.3	63.8 ± 6.3	65.3 ± 9.6
Ovaries (mg)	88.9 ± 11.2	84.0 ± 7.9	84.4 ± 15.2	81.6 ± 9.5	81.1 ± 9.5	98.5 ± 18.5
Relative weight						
Brain (g%)	0.92 ± 0.05	0.96 ± 0.06	0.94 ± 0.07	0.97 ± 0.05	0.85 ± 0.08	0.83 ± 0.06
Liver (g%)	3.00 ± 0.18	2.97 ± 0.08	3.19 ± 0.27	3.01 ± 0.15	2.74 ± 0.15	2.98 ± 0.09**
Kidneys (g%)	0.82 ± 0.07	0.81 ± 0.07	0.83 ± 0.03	0.85 ± 0.07	0.72 ± 0.05	0.71 ± 0.04
Spleen (g%)	0.24 ± 0.03	0.22 ± 0.03	0.23 ± 0.05	0.20 ± 0.01	0.20 ± 0.02	0.24 ± 0.02*
Heart (g%)	0.39 ± 0.02	0.38 ± 0.03	0.39 ± 0.02	0.39 ± 0.02	0.36 ± 0.02	0.38 ± 0.03
Thymus (g%)	0.25 ± 0.05	0.23 ± 0.02	0.23 ± 0.03	0.27 ± 0.05	0.20 ± 0.03	0.22 ± 0.01
Adrenals (mg%)	31.86 ± 6.31	29.06 ± 3.70	34.56 ± 3.72	30.74 ± 2.49	29.52 ± 4.43	29.07 ± 2.65
Ovaries (mg%)	45.0 ± 6.8	43.0 ± 3.3	42.9 ± 6.2	43.6 ± 4.4	37.5 ± 5.5	43.9 ± 7.5

Values are expressed as Mean ± S.D.

Significantly different from control group (*:p<0.05; **:p<0.01)