

2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸のラットを用いる 28日間反復経口投与毒性試験

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 2-Amino-5-methylbenzenesulfonic acid in Rats

要約

赤色顔料の合成原料に用いられている既存化学物質2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸の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)、100、300および1000 mg/kg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群は投与期間終了後屠殺群、2群は対照および1000 mg/kgの14日間回復群とした。

動物の一般状態、体重および摂餌量においては、被験物質の投与による影響は認められなかった。尿検査および血液学検査では、尿比重の増加、尿pHの低下および主にリンパ球の減少による白血球数の減少が、1000 mg/kg群の雄に認められた。血液生化学検査では、いずれも1000 mg/kg群で、総コレステロールの減少が雄に、GPTの増加および血糖の減少が雌に認められた。剖検では、軽度な盲腸の拡張が、1000 mg/kg群の雌雄各1匹に認められた。器官重量および病理組織学検査においては、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。これら被験物質の投与による変化は、回復群においては認められず、可逆的であることが確認された。

以上の結果から、2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸のラットへの28日間反復経口投与により、軽度な臨床病理学的変化が認められた。無影響量は、雌雄とも300 mg/kg/dayと推定された。

方法

1. 被験物質

2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸は、分子量187.22、融点300℃以上の水および有機溶媒に溶けにくい微黄白色の粉末で、赤色顔料の合成原料に用いられている。試験には、三星化学工業(株)製造のもの(ロット番号4231、純度99.96%)を入手し、冷暗(4℃)条件下で密栓保管し、使用した。投与液は、これを局方ゴマ油(宮澤薬品)に懸濁して調製し、使用時まで冷所遮光下で密栓保管した。被験物質の原体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. 使用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8日、雌は9日間検疫・馴化飼育し、5週齢(雄168-183 g、雌138-162 g)で、1群雌

雄各6匹として試験に用いた。ラットは、温度 $22 \pm 3^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、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]および水を自由摂取させた。

3. 投与量および投与方法

2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸のラットへの単回経口投与における LD_{50} 値は、12000 mg/kgと報告されている¹⁾。投与量設定試験として、ラットを1群雌雄各4匹とし、0、100、250、500、1000および2000 mg/kg/day用量を14日間反復経口投与した。一般状態、体重、摂餌量、尿検査、血液学検査、血液生化学検査および器官重量において、被験物質の毒性を示唆する変化は認められなかった。剖検においては、盲腸の拡張が2000 mg/kg群の雌雄全例に認められた。したがって、本試験における投与量は、1000 mg/kg/dayを高用量とし、以下300および100 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、1000 mg/kg/dayおよび対照の14日間回復群を設けた。投与は、胃ゾンア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。対照群には局方ゴマ油を同様に投与した。

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、毎週1回(雄は投与5、12、19、26日および投与終了後5、12日、雌は投与4、11、16、23日および投与終了後4、11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22日および投与終了後13日、雌は投与26あるいは27日および投与終了後12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)、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

イステックス、マイルス・三共㈱) 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)を検査した。

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。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㈱、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、また塗抹標本を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㈱、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)、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㈱、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

採血に続いて剖検し、脳、心臓、胸腺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣、精巣上部、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1000 mg/kg群では脳、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、精巣上部、精囊、前立腺、卵巣、子宮、陰、膀胱、リンパ節(頸部リンパ節・腸間膜リンパ節)、脊髄(頸膨大部・腰膨大部)、坐骨神経、骨髄を検査した。また、100 mg/kg群の雌で胸腺重量に変化が認められたので、雌の胸腺については、100および300 mg/kg群も検査した。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

各群の雌雄とも、投与および回復期間を通じて、一般状態の変化および死亡は認められなかった。

2. 体重(Fig. 1)

被験物質投与各群の体重は、雌雄とも対照群と類似した推移を示し、体重増加量においても、対照群と比べ、有意な差は認められなかった。

3. 摂餌量

被験物質投与各群の摂餌量は、雌雄とも対照群に比べ、有意な差は認められなかった。

4. 尿所見(Table 1, 2)

有意な比重の増加およびpHの低下が、1000 mg/kg群の雄に認められた。1000 mg/kg群の回復群においては、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 3, 4)

白血球数の有意な減少が、1000 mg/kg群の雄に認められた。白血球数の減少は、白血球百分率からみて、主にリンパ球の減少によるものであった。1000 mg/kg群の回復群においては、白血球数に有意な変化は認められなかった。

6. 血液生化学所見(Table 5, 6)

いずれも1000 mg/kg群で、総コレステロールの有意な減少が雄に、GPTの有意な増加が雌に認められた。さらに、血糖の有意な減少が100および1000 mg/kg群の雌に認められた。血糖の減少は300 mg/kg群では認められず、用量相関性に欠ける所見であったが、1000 mg/kg群の値は対照群と比べ明らかに低値であった。1000 mg/kgの回復群においては、このような変化は認められず、いずれも回復していた。投与期間終了後の検査で認められた変化とは別の検査項目に有意な変化が認められたが、当研究所の背景データからみて、正常範囲内の軽度な変動であった。

7. 剖検所見

盲腸の内容物貯留による軽度な拡張が、1000 mg/kg群の雌雄各1匹に認められた。1000 mg/kgの回復群には、盲腸に変化は認められなかった。

8. 器官重量(Table 7, 8)

胸腺の絶対および相対重量の有意な減少が100 mg/kg群の雌に、脾臓の相対重量のみの有意な増加が被験物質

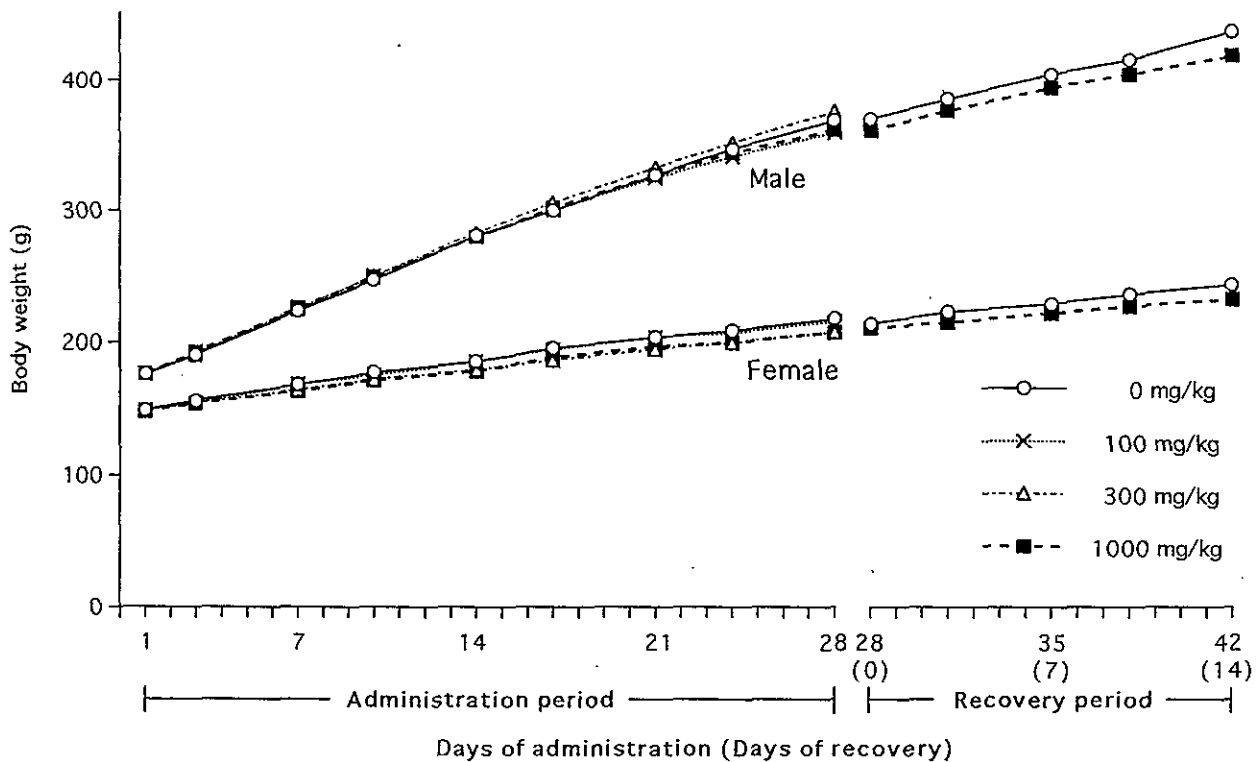


Fig. 1 Body weight changes of rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

投与各群の雌に認められたが、両器官とも用量相関的な変化ではなかった。

9. 病理組織学所見

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。肺、肝臓、脾臓、腎臓および前立腺に軽度な変化が対照群および1000 mg/kg群に認められたが、散発的、かつ、用量相関性が認められず、偶発的な変化と判断される所見であった。

考察

2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸の類縁化合物のラットを用いた28日間反復経口投与毒性試験で、2-アミノ-5-クロロ-4-メチルベンゼンスルホン酸は明らかな毒性影響を示さず²⁾、3-アミノベンゼンスルホン酸は1000 mg/kgで軽度な尿性状の変化が認められた³⁾、と報告されている。

今回実施した2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸の28日間反復経口投与毒性試験においては、動物の一般状態、体重および摂餌量において、被験物質の投与による影響は認められなかった。

尿検査、血液学検査、血液生化学検査においては、いずれも1000 mg/kg群で、尿比重の増加、尿pHの低下、白血球数および総コレステロールの減少が雌に、GPTの増加、血糖の減少が雌に認められた。

尿比重の変化は、腎臓における尿の濃縮機能の障害がうたがわれる減少性の変化ではなく、尿pHの低下につ

いても、アシドーシスの徴候が認められないことから、おそらく被験物質が酸性物質であることによる単純な変化と考えられる。いずれにしても、他の検査において、これらの尿所見と関連する変化は認められず、毒性学的意義は小さいものと判断される。

白血球数の減少については、主にリンパ球の減少によるものであった。用量相関的な変化ではなかったが、100 mg/kg群の雌で胸腺重量の減少が認められ、リンパ系組織に対し何らかの影響を有する可能性も考えられた。しかし、骨髄造血細胞および胸腺、リンパ節、脾臓等のリンパ系組織には病理組織学的に異常は認められなかった。また、白血球数の減少の程度も、軽度なものであった。

血液生化学的影響については、主に肝機能に対する影響がうたがわれる所見であった。しかし、肝臓を含む全身諸器官に、被験物質の投与に起因する病理組織学的な変化は認められなかった。また血液生化学的变化の程度も、軽度なものであった。

剖検で、盲腸の拡張が1000 mg/kg群に認められた。この盲腸の拡張は、軽度、かつ、雌雄各1匹の発現であったが、投与量設定試験において、2000 mg/kg群の雌雄全例に認められていることから、被験物質の投与に起因するものと判断された。

盲腸の拡張は、げっ歯類への抗菌性物質投与時に一般的に認められ、腸内細菌叢の変化によるものと考えられている⁴⁾。本試験で認められた盲腸の拡張の発現機序は不明であるが、下痢などの消化管症状や発育に対する影響を伴っておらず、生体に対する影響としては軽度なも

Table 1 Urinary examination of male rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

| Administration period | Dose (mg/kg) | No. of animals | Color | | | Cloudy | | Specific gravity | pH | | | | | Protein | | | Glucose | | | Ketone body | | | Occult blood | | | Urobilinogen 0.1 l |
|-----------------------|--------------|----------------|-------|----|---|--------|---|----------------------------|----|-----|-----|-----|-----------------|---------|-----|---|---------|-----|---|-------------|---|---|--------------|---|---|--------------------|
| | | | C | PY | Y | PB | - | | + | 6.0 | 6.5 | 7.0 | 7.5 | 8.0 | 8.5 | - | ± | +++ | - | ± | - | ± | +++ | - | ± | |
| Administration period | 0 | 12 | 8 | 4 | | 8 | 4 | 1.037 ± 0.014 ^a | 3 | 3 | 6 | | | 3 | 8 | 1 | 12 | 3 | 7 | 2 | 8 | 4 | 12 | | | |
| | 100 | 6 | 3 | 3 | | 3 | 3 | 1.044 ± 0.014 | 3 | 1 | 1 | 1 | | 1 | 4 | 1 | 6 | 2 | 2 | 2 | 6 | 6 | | | | |
| | 300 | 6 | | 6 | | 2 | 4 | 1.046 ± 0.017 | 1 | 2 | 1 | 2 | | 1 | 4 | 1 | 6 | 1 | 2 | 3 | 5 | 1 | 6 | | | |
| | 1000 | 12 | 7 | 4 | 1 | 7 | 5 | 1.057 ± 0.019 [*] | 2 | 4 | 4 | 1 | 1 ^{**} | | 9 | 3 | 12 | 8 | 1 | 3 | 9 | 3 | 12 | | | |
| Recovery period | 0 | 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 4 | 1.045 ± 0.015 | 1 | 1 | 2 | 2 | | 1 | 4 | 1 | 6 | 4 | 2 | 6 | 6 | 6 | | | | |
| | 1000 | 6 | 1 | 5 | | 4 | 2 | 1.047 ± 0.006 | 1 | 2 | 3 | | | 5 | 1 | 6 | 3 | 3 | 6 | 6 | 6 | 6 | | | | |

a) : Mean ± S.D.

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

Color: C(colorless), PY(pale yellow), Y(yellow), PB(pale brown); Cloudy: -(negligible), +(cloudy); Protein: -(negligible), ±(15-30 mg/dl), +(30 mg/dl), ++ (100 mg/dl); Glucose: -(negligible), ±(0.1 g/dl); Ketone body: -(negligible), ±(5 mg/dl), +(15 mg/dl), ++ (40 mg/dl); Occult blood: -(negligible), ±(trace), +(slight); Urobilinogen: Ehrlich unit/dl; Bilirubin: -(negligible), +(slight)

b) : -(not observed), +(a few in some fields), ++ (a few in all fields), +++ (many in all fields)

Crystal: Mg(ammonium magnesium phosphate), Ca(calcium phosphate), Ams(amorphous); Epithelial cells: Sq(squamous), R(round), S(spindle); Casts: G(granule), H(hyaline), W(waxy)

Table 2 Urinary examination of female rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

| Administration period | Dose (mg/kg) | No. of animals | Color | | | Cloudy | | Specific gravity | pH | | | | | Protein | | | Glucose | | | Ketone body | | | Occult blood | | | Urobilinogen 0.1 l |
|-----------------------|--------------|----------------|-------|----|---|--------|---------------|----------------------------|----|-----|-----|-----|-----|---------|-----|-----|---------|----|-----|-------------|----|----|--------------|-----|---|--------------------|
| | | | C | PY | Y | PB | - | | + | 5.5 | 6.0 | 6.5 | 7.0 | 7.5 | 8.0 | 8.5 | - | ± | +++ | - | ± | - | ± | +++ | - | |
| Administration period | 0 | 12 | 5 | 5 | 2 | 4 | 8 | 1.067 ± 0.019 ^a | 4 | 2 | 1 | 1 | 4 | | 3 | 8 | 1 | 12 | 5 | 7 | 10 | 2 | 12 | | | |
| | 100 | 6 | 4 | 1 | 1 | 4 | 2 | 1.068 ± 0.008 | 2 | 3 | 1 | | | 1 | 2 | 3 | 6 | 1 | 5 | 6 | 6 | 6 | | | | |
| | 300 | 6 | 3 | 3 | | 3 | 3 | 1.059 ± 0.018 | 3 | 2 | 1 | | | 2 | 3 | 1 | 6 | 3 | 3 | 6 | 6 | 6 | | | | |
| | 1000 | 12 | 5 | 7 | | 10 | 2 | 1.074 ± 0.029 | 3 | 5 | 2 | | 2 | 1 | 1 | 4 | 6 | 12 | 8 | 4 | 12 | 12 | | | | |
| Recovery period | 0 | 6 | 1 | 2 | 3 | 6 | 1.068 ± 0.025 | 2 | 2 | 1 | 1 | | 1 | 4 | 1 | 6 | 5 | 1 | 6 | 6 | 6 | | | | | |
| | 1000 | 6 | 1 | 4 | 1 | 5 | 1 | 1.056 ± 0.016 | 3 | 1 | 1 | 1 | | 2 | 3 | 1 | 6 | 5 | 1 | 6 | 6 | | | | | |

a) : Mean ± S.D.

Color: C(colorless), PY(pale yellow), Y(yellow), PB(pale brown); Cloudy: -(negligible), +(cloudy); Protein: -(negligible), ±(15-30 mg/dl), +(30 mg/dl), ++ (100 mg/dl); Glucose: -(negligible), ±(0.1 g/dl); Ketone body: -(negligible), ±(5 mg/dl), +(15 mg/dl), ++ (40 mg/dl); Occult blood: -(negligible), ±(trace), +(slight); Urobilinogen: Ehrlich unit/dl; Bilirubin: -(negligible), +(slight)

b) : -(not observed), +(a few in some fields), ++ (a few in all fields), +++ (many in all fields)

Crystal: Mg(ammonium magnesium phosphate), Ca(calcium phosphate), Ams(amorphous); Epithelial cells: Sq(squamous), R(round), S(spindle); Casts: G(granule), H(hyaline), W(waxy)

Table 3 Hematological examination of male rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

| Dose level (mg/kg) | After administration period | | | | After recovery period | |
|------------------------------------|-----------------------------|------------|------------|------------|-----------------------|------------|
| | 0 | 100 | 300 | 1000 | 0 | 1000 |
| No. of animals | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| Erythrocyte ($10^4/\text{mm}^3$) | 761 ± 29 | 775 ± 35 | 755 ± 36 | 787 ± 35 | 817 ± 30 | 829 ± 26 |
| Hematocrit (%) | 45.0 ± 0.9 | 44.8 ± 1.3 | 44.3 ± 1.7 | 45.5 ± 1.9 | 45.6 ± 1.4 | 44.6 ± 1.3 |
| Hemoglobin (g/dl) | 15.4 ± 0.3 | 15.6 ± 0.4 | 15.4 ± 0.4 | 15.6 ± 0.6 | 15.5 ± 0.5 | 15.3 ± 0.6 |
| Reticulocyte (%) | 42 ± 15 | 29 ± 4 | 35 ± 7 | 29 ± 9 | 31 ± 5 | 34 ± 5 |
| Leukocyte ($10^2/\text{mm}^3$) | 76 ± 16 | 67 ± 9 | 73 ± 26 | 49 ± 11* | 88 ± 28 | 85 ± 17 |
| Differential count (%) | | | | | | |
| Lymphocyte | 89 ± 2 | 85 ± 4 | 84 ± 7 | 82 ± 3 | 91 ± 3 | 89 ± 1 |
| Neutrophil band | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 |
| segmented | 10 ± 3 | 14 ± 4 | 14 ± 6 | 16 ± 4 | 8 ± 3 | 9 ± 2 |
| Eosinophil | 1 ± 1 | 0 ± 0 | 1 ± 1 | 1 ± 1 | 0 ± 1 | 1 ± 1 |
| Basophil | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 |
| Monocyte | 1 ± 1 | 1 ± 1 | 2 ± 1 | 1 ± 0 | 1 ± 1 | 1 ± 1 |
| Platelet ($10^4/\text{mm}^3$) | 154 ± 21 | 140 ± 14 | 158 ± 16 | 149 ± 12 | 141 ± 16 | 146 ± 9 |
| PT (sec) | 12.7 ± 0.4 | 13.1 ± 0.4 | 12.9 ± 0.3 | 13.1 ± 0.2 | 12.6 ± 0.3 | 12.6 ± 0.3 |
| APTT (sec) | 16.8 ± 0.9 | 17.1 ± 0.9 | 17.0 ± 0.9 | 17.8 ± 0.8 | 18.5 ± 1.0 | 18.6 ± 1.1 |

Values are expressed as Mean ± S.D.

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

Table 4 Hematological examination of female rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

| Dose level (mg/kg) | After administration period | | | | After recovery period | |
|------------------------------------|-----------------------------|------------|------------|------------|-----------------------|------------|
| | 0 | 100 | 300 | 1000 | 0 | 1000 |
| No. of animals | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| Erythrocyte ($10^4/\text{mm}^3$) | 766 ± 29 | 769 ± 34 | 775 ± 42 | 772 ± 25 | 819 ± 30 | 803 ± 1 |
| Hematocrit (%) | 43.1 ± 0.4 | 43.1 ± 1.2 | 43.4 ± 1.8 | 43.7 ± 0.9 | 44.7 ± 1.7 | 43.6 ± 0.9 |
| Hemoglobin (g/dl) | 15.0 ± 0.2 | 15.1 ± 0.6 | 15.2 ± 0.7 | 15.4 ± 0.3 | 15.4 ± 0.6 | 15.2 ± 0.4 |
| Reticulocyte (%) | 26 ± 7 | 28 ± 7 | 26 ± 6 | 24 ± 7 | 32 ± 7 | 28 ± 8 |
| Leukocyte ($10^2/\text{mm}^3$) | 41 ± 7 | 39 ± 13 | 49 ± 19 | 43 ± 7 | 45 ± 21 | 51 ± 18 |
| Differential count (%) | | | | | | |
| Lymphocyte | 88 ± 6 | 88 ± 3 | 88 ± 5 | 86 ± 3 | 88 ± 5 | 86 ± 7 |
| Neutrophil band | 0 ± 0 | 0 ± 1 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 |
| segmented | 11 ± 6 | 11 ± 2 | 11 ± 5 | 13 ± 3 | 11 ± 5 | 14 ± 7 |
| Eosinophil | 1 ± 1 | 1 ± 1 | 1 ± 2 | 0 ± 1 | 0 ± 0 | 1 ± 1 |
| Basophil | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 |
| Monocyte | 1 ± 1 | 1 ± 1 | 0 ± 0 | 0 ± 1 | 1 ± 1 | 0 ± 0 |
| Platelet ($10^4/\text{mm}^3$) | 145 ± 17 | 140 ± 17 | 136 ± 13 | 138 ± 5 | 146 ± 12 | 140 ± 21 |
| PT (sec) | 12.8 ± 0.5 | 13.0 ± 0.4 | 12.9 ± 0.2 | 13.0 ± 0.4 | 13.0 ± 0.3 | 13.2 ± 0.3 |
| APTT (sec) | 16.0 ± 0.8 | 16.5 ± 0.6 | 16.5 ± 1.0 | 16.8 ± 1.0 | 16.5 ± 0.4 | 17.0 ± 0.7 |

Values are expressed as Mean ± S.D.

Table 5 Blood chemical examination of male rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

| Dose level (mg/kg) | After administration period | | | | After recovery period | |
|----------------------|-----------------------------|-------------|-------------|-------------|-----------------------|-------------|
| | 0 | 100 | 300 | 1000 | 0 | 1000 |
| No. of animals | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| GOT(IU/l) | 61 ± 6 | 59 ± 6 | 63 ± 5 | 59 ± 2 | 58 ± 9 | 61 ± 6 |
| GPT(IU/l) | 32 ± 6 | 27 ± 3 | 31 ± 3 | 30 ± 6 | 26 ± 5 | 33 ± 6 |
| γ-GTP(IU/l) | 0.19 ± 0.12 | 0.24 ± 0.15 | 0.35 ± 0.14 | 0.36 ± 0.21 | 0.29 ± 0.31 | 0.28 ± 0.19 |
| ALP(IU/l) | 428 ± 50 | 399 ± 70 | 506 ± 77 | 441 ± 77 | 270 ± 32 | 332 ± 57* |
| T.protein(g/dl) | 6.03 ± 0.12 | 6.10 ± 0.22 | 6.30 ± 0.22 | 6.14 ± 0.09 | 6.34 ± 0.15 | 6.32 ± 0.20 |
| Albumin(g/dl) | 2.96 ± 0.16 | 3.05 ± 0.12 | 3.04 ± 0.13 | 2.99 ± 0.12 | 2.98 ± 0.09 | 2.95 ± 0.15 |
| A/G ratio | 0.97 ± 0.09 | 1.00 ± 0.04 | 0.93 ± 0.07 | 0.95 ± 0.07 | 0.89 ± 0.06 | 0.88 ± 0.09 |
| T.cholesterol(mg/dl) | 90 ± 10 | 77 ± 9 | 85 ± 9 | 74 ± 10* | 101 ± 14 | 91 ± 10 |
| Triglyceride(mg/dl) | 83 ± 44 | 80 ± 29 | 87 ± 28 | 50 ± 15 | 125 ± 36 | 76 ± 33* |
| Glucose(mg/dl) | 138 ± 11 | 145 ± 11 | 148 ± 16 | 137 ± 10 | 174 ± 19 | 161 ± 17 |
| T.bilirubin(mg/dl) | 0.34 ± 0.04 | 0.35 ± 0.04 | 0.34 ± 0.03 | 0.32 ± 0.02 | 0.26 ± 0.02 | 0.28 ± 0.02 |
| Urea nitrogen(mg/dl) | 15.1 ± 1.9 | 14.7 ± 1.8 | 15.9 ± 2.2 | 14.9 ± 1.3 | 17.1 ± 2.0 | 18.0 ± 1.4 |
| Creatinine(mg/dl) | 0.51 ± 0.02 | 0.52 ± 0.04 | 0.56 ± 0.06 | 0.52 ± 0.04 | 0.61 ± 0.03 | 0.61 ± 0.09 |
| Ca(mg/dl) | 10.0 ± 0.5 | 10.1 ± 0.3 | 10.0 ± 0.2 | 9.8 ± 0.2 | 10.1 ± 0.3 | 9.9 ± 0.3 |
| I.phosphorus(mg/dl) | 7.7 ± 0.8 | 7.5 ± 0.7 | 7.5 ± 0.3 | 7.3 ± 0.3 | 8.0 ± 0.9 | 7.6 ± 0.3 |
| Na(mEq/l) | 141 ± 1 | 143 ± 0 | 142 ± 1 | 142 ± 1 | 141 ± 1 | 141 ± 1 |
| K(mEq/l) | 4.73 ± 0.13 | 4.39 ± 0.27 | 4.65 ± 0.31 | 4.58 ± 0.13 | 4.53 ± 0.35 | 4.41 ± 0.19 |
| Cl(mEq/l) | 103 ± 1 | 104 ± 1 | 104 ± 2 | 105 ± 1 | 104 ± 2 | 105 ± 1 |

Vales are expressed as Mean ± S.D.

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

Table 6 Blood chemical examination of female rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

| Dose level (mg/kg) | After administration period | | | | After recovery period | |
|----------------------|-----------------------------|-------------|-------------|-------------|-----------------------|--------------|
| | 0 | 100 | 300 | 1000 | 0 | 1000 |
| No. of animals | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| GOT(IU/l) | 57 ± 7 | 60 ± 4 | 62 ± 5 | 66 ± 10 | 65 ± 9 | 65 ± 12 |
| GPT(IU/l) | 24 ± 4 | 27 ± 2 | 24 ± 5 | 32 ± 5** | 25 ± 4 | 26 ± 6 |
| γ-GTP(IU/l) | 0.41 ± 0.27 | 0.20 ± 0.14 | 0.25 ± 0.19 | 0.33 ± 0.28 | 0.46 ± 0.43 | 0.31 ± 0.28 |
| ALP(IU/l) | 237 ± 82 | 280 ± 50 | 271 ± 53 | 225 ± 62 | 202 ± 30 | 189 ± 36 |
| T.protein(g/dl) | 6.47 ± 0.29 | 6.31 ± 0.19 | 6.31 ± 0.20 | 6.51 ± 0.18 | 6.59 ± 0.25 | 6.65 ± 0.23 |
| Albumin(g/dl) | 3.27 ± 0.27 | 3.23 ± 0.13 | 3.22 ± 0.14 | 3.19 ± 0.11 | 3.39 ± 0.27 | 3.36 ± 0.30 |
| A/G ratio | 1.02 ± 0.10 | 1.05 ± 0.05 | 1.05 ± 0.06 | 0.96 ± 0.08 | 1.07 ± 0.15 | 1.03 ± 0.13 |
| T.cholesterol(mg/dl) | 101 ± 20 | 80 ± 9 | 84 ± 14 | 86 ± 24 | 111 ± 19 | 92 ± 18 |
| Triglyceride(mg/dl) | 51 ± 37 | 43 ± 11 | 59 ± 24 | 36 ± 12 | 51 ± 24 | 52 ± 15 |
| Glucose(mg/dl) | 138 ± 6 | 121 ± 14* | 126 ± 11 | 116 ± 9** | 137 ± 15 | 130 ± 11 |
| T.bilirubin(mg/dl) | 0.24 ± 0.04 | 0.24 ± 0.03 | 0.23 ± 0.03 | 0.23 ± 0.03 | 0.29 ± 0.04 | 0.24 ± 0.03* |
| Urea nitrogen(mg/dl) | 17.0 ± 1.6 | 19.0 ± 2.7 | 17.3 ± 1.4 | 17.4 ± 2.6 | 20.5 ± 1.7 | 20.8 ± 1.4 |
| Creatinine(mg/dl) | 0.58 ± 0.05 | 0.57 ± 0.04 | 0.57 ± 0.04 | 0.56 ± 0.04 | 0.64 ± 0.06 | 0.62 ± 0.07 |
| Ca(mg/dl) | 10.2 ± 0.4 | 10.1 ± 0.2 | 9.9 ± 0.2 | 10.1 ± 0.3 | 10.0 ± 0.4 | 10.2 ± 0.1 |
| I.phosphorus(mg/dl) | 6.6 ± 0.7 | 6.6 ± 0.6 | 6.0 ± 0.4 | 6.3 ± 0.6 | 6.0 ± 0.9 | 5.8 ± 0.8 |
| Na(mEq/l) | 142 ± 1 | 142 ± 1 | 142 ± 1 | 142 ± 0 | 142 ± 1 | 142 ± 1 |
| K(mEq/l) | 4.27 ± 0.26 | 4.30 ± 0.23 | 4.38 ± 0.31 | 4.33 ± 0.19 | 4.39 ± 0.11 | 4.31 ± 0.25 |
| Cl(mEq/l) | 107 ± 2 | 107 ± 2 | 108 ± 1 | 108 ± 2 | 107 ± 2 | 107 ± 2 |

Vales are expressed as Mean ± S.D.

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

Table 7 Absolute and relative organ weights of male rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

| Dose level (mg/kg) | After administration period | | | | After recovery period | |
|--------------------|-----------------------------|--------------|--------------|--------------|-----------------------|--------------|
| | 0 | 100 | 300 | 1000 | 0 | 1000 |
| No. of animals | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 5 |
| Body weight (g) | 340 ± 18 | 333 ± 14 | 346 ± 13 | 335 ± 26 | 399 ± 41 | 386 ± 22 |
| Absolute weight | | | | | | |
| Brain (g) | 1.98 ± 0.08 | 2.00 ± 0.08 | 1.96 ± 0.07 | 2.02 ± 0.08 | 2.05 ± 0.10 | 2.01 ± 0.09 |
| Liver (g) | 10.44 ± 1.11 | 10.23 ± 0.88 | 10.95 ± 0.76 | 9.89 ± 1.51 | 12.01 ± 1.71 | 11.42 ± 1.11 |
| Kidneys (g) | 2.48 ± 0.14 | 2.36 ± 0.11 | 2.58 ± 0.25 | 2.51 ± 0.31 | 2.66 ± 0.29 | 2.67 ± 0.34 |
| Spleen (g) | 0.69 ± 0.09 | 0.65 ± 0.10 | 0.67 ± 0.04 | 0.65 ± 0.12 | 0.71 ± 0.08 | 0.76 ± 0.11 |
| Heart (g) | 1.21 ± 0.08 | 1.12 ± 0.11 | 1.21 ± 0.08 | 1.12 ± 0.10 | 1.41 ± 0.17 | 1.24 ± 0.09 |
| Thymus (g) | 0.61 ± 0.07 | 0.51 ± 0.07 | 0.64 ± 0.12 | 0.57 ± 0.14 | 0.49 ± 0.08 | 0.47 ± 0.04 |
| Adrenals (mg) | 53.7 ± 7.1 | 53.5 ± 2.8 | 53.5 ± 5.8 | 56.8 ± 8.9 | 57.6 ± 6.7 | 51.1 ± 7.1 |
| Testes (g) | 3.03 ± 0.18 | 3.27 ± 0.32 | 3.22 ± 0.20 | 3.23 ± 0.21 | 3.22 ± 0.18 | 3.11 ± 0.41 |
| Epididymides (g) | 0.87 ± 0.15 | 0.90 ± 0.13 | 0.87 ± 0.14 | 0.87 ± 0.10 | 1.11 ± 0.09 | 1.08 ± 0.18 |
| Relative weight | | | | | | |
| Brain (g%) | 0.58 ± 0.03 | 0.60 ± 0.03 | 0.57 ± 0.03 | 0.61 ± 0.05 | 0.52 ± 0.04 | 0.52 ± 0.04 |
| Liver (g%) | 3.06 ± 0.18 | 3.07 ± 0.15 | 3.17 ± 0.20 | 2.94 ± 0.24 | 3.00 ± 0.15 | 2.95 ± 0.18 |
| Kidneys (g%) | 0.73 ± 0.04 | 0.71 ± 0.01 | 0.75 ± 0.06 | 0.75 ± 0.07 | 0.67 ± 0.02 | 0.69 ± 0.07 |
| Spleen (g%) | 0.20 ± 0.02 | 0.20 ± 0.03 | 0.19 ± 0.01 | 0.19 ± 0.03 | 0.18 ± 0.01 | 0.20 ± 0.03 |
| Heart (g%) | 0.36 ± 0.02 | 0.34 ± 0.02 | 0.35 ± 0.02 | 0.33 ± 0.02 | 0.36 ± 0.07 | 0.32 ± 0.02 |
| Thymus (g%) | 0.18 ± 0.02 | 0.16 ± 0.03 | 0.19 ± 0.03 | 0.17 ± 0.03 | 0.13 ± 0.03 | 0.12 ± 0.02 |
| Adrenals (mg%) | 15.79 ± 1.90 | 16.08 ± 1.03 | 15.54 ± 2.07 | 17.03 ± 2.71 | 14.50 ± 1.50 | 13.28 ± 1.93 |
| Testes (g%) | 0.89 ± 0.08 | 0.98 ± 0.11 | 0.93 ± 0.07 | 0.97 ± 0.10 | 0.82 ± 0.10 | 0.81 ± 0.10 |
| Epididymides (g%) | 0.26 ± 0.05 | 0.27 ± 0.04 | 0.25 ± 0.04 | 0.26 ± 0.03 | 0.28 ± 0.04 | 0.28 ± 0.05 |

Values are expressed as Mean ± S.D.

Table 8 Absolute and relative organ weights of female rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

| Dose level (mg/kg) | After administration period | | | | After recovery period | |
|--------------------|-----------------------------|---------------|---------------|---------------|-----------------------|--------------|
| | 0 | 100 | 300 | 1000 | 0 | 1000 |
| No. of animals | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 5 |
| Body weight (g) | 205 ± 16 | 200 ± 16 | 192 ± 13 | 191 ± 15 | 218 ± 15 | 214 ± 16 |
| Absolute weight | | | | | | |
| Brain (g) | 1.78 ± 0.08 | 1.84 ± 0.09 | 1.85 ± 0.07 | 1.80 ± 0.03 | 1.82 ± 0.10 | 1.86 ± 0.07 |
| Liver (g) | 6.33 ± 0.89 | 5.86 ± 0.50 | 5.75 ± 0.57 | 5.49 ± 0.73 | 5.98 ± 0.60 | 5.91 ± 0.55 |
| Kidneys (g) | 1.55 ± 0.12 | 1.49 ± 0.21 | 1.50 ± 0.14 | 1.52 ± 0.17 | 1.58 ± 0.13 | 1.51 ± 0.06 |
| Spleen (g) | 0.40 ± 0.06 | 0.43 ± 0.04 | 0.43 ± 0.03 | 0.43 ± 0.05 | 0.47 ± 0.05 | 0.47 ± 0.04 |
| Heart (g) | 0.80 ± 0.05 | 0.75 ± 0.05 | 0.74 ± 0.05 | 0.75 ± 0.10 | 0.80 ± 0.07 | 0.79 ± 0.04 |
| Thymus (g) | 0.50 ± 0.08 | 0.37 ± 0.05* | 0.47 ± 0.09 | 0.43 ± 0.04 | 0.37 ± 0.10 | 0.33 ± 0.06 |
| Adrenals (mg) | 57.3 ± 7.0 | 60.2 ± 10.8 | 64.7 ± 11.5 | 55.2 ± 8.3 | 56.1 ± 5.7 | 58.2 ± 6.6 |
| Ovaries (g) | 78.6 ± 5.4 | 77.1 ± 11.1 | 83.8 ± 10.5 | 83.8 ± 20.2 | 78.0 ± 13.7 | 78.2 ± 14.6 |
| Relative weight | | | | | | |
| Brain (g%) | 0.88 ± 0.06 | 0.92 ± 0.08 | 0.96 ± 0.05 | 0.95 ± 0.08 | 0.83 ± 0.04 | 0.88 ± 0.06 |
| Liver (g%) | 3.09 ± 0.25 | 2.94 ± 0.15 | 2.99 ± 0.14 | 2.86 ± 0.19 | 2.74 ± 0.25 | 2.77 ± 0.05 |
| Kidneys (g%) | 0.76 ± 0.04 | 0.74 ± 0.06 | 0.78 ± 0.06 | 0.80 ± 0.04 | 0.72 ± 0.06 | 0.71 ± 0.07 |
| Spleen (g%) | 0.19 ± 0.02 | 0.22 ± 0.02* | 0.23 ± 0.01** | 0.22 ± 0.01** | 0.22 ± 0.03 | 0.22 ± 0.02 |
| Heart (g%) | 0.39 ± 0.01 | 0.38 ± 0.03 | 0.38 ± 0.02 | 0.39 ± 0.03 | 0.37 ± 0.03 | 0.37 ± 0.02 |
| Thymus (g%) | 0.24 ± 0.02 | 0.19 ± 0.02** | 0.24 ± 0.04 | 0.23 ± 0.02 | 0.17 ± 0.04 | 0.16 ± 0.02 |
| Adrenals (mg%) | 28.00 ± 2.67 | 29.95 ± 3.39 | 33.70 ± 5.51 | 28.82 ± 3.76 | 25.64 ± 1.46 | 27.24 ± 2.32 |
| Ovaries (g%) | 38.4 ± 1.4 | 38.8 ± 6.2 | 43.6 ± 2.6 | 43.8 ± 9.8 | 35.6 ± 5.3 | 36.9 ± 7.9 |

Values are expressed as Mean ± S.D.

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

のと考えられる。

このような、投与期間終了後屠殺動物で認められた変化は、回復期間終了後屠殺動物には認められず、可逆的な変化であることが確認された。

以上の結果から、2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸のラットへの28日間反復投与により、主な毒性影響として、いずれも軽度な白血球数の減少および主に肝機能に対する影響が示唆される血液生化学的变化が発現し、尿性状および盲腸に対する影響も認められた。無影響量は、300 mg/kg/dayと推定された。

文献

- 1) Registry of toxic effects of chemical substances, 1981-1982.
- 2) 井上博之, 化学物質毒性試験報告, 1, 339 (1994).
- 3) 釜田悟, 化学物質毒性試験報告, 2, 379 (1995).
- 4) 小野寺威, “毒性試験法講座15-医薬品,” 福田英臣, 秋本健, 坂口孝編, 地人書館, 東京, 1990, pp.37-38.

連絡先

試験責任者：伊藤義彦
試験担当者：山本譲, 下平裕二, 赤木博,
福田苗美, 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: Yoshihiko Ito (Study director)
Yuzuru Yamamoto, Yuuji Shimodaira,
Hiroshi Akagi, Naemi Fukuda, Cleo Pan
Research Institute for Animal Science in
Biochemistry and Toxicology
3-7-11 Hashimotodai, Sagamihara-shi, Kanagawa,
229-11, Japan
Tel +81-427-62-2775 Fax +81-427-62-7979