

1,3-ビス(アミノメチル)ベンゼンのラットを用いる28日間反復経口投与毒性試験

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 1,3-Bis(aminomethyl)benzene in Rats

要約

エポキシ樹脂硬化剤, X繊維, ポリウレタン, 有機合成などに使用されている既存化学物質1,3-ビス(アミノメチル)ベンゼンの反復投与毒性試験を, SD系[C₁:CD(SD)]ラットを用い, 0(対照), 10, 40, 150および600 mg/kg/day用量の28日間経口投与により実施した。動物数は1群雌雄各6匹とし, 7群を設け, 5群は投与終了後屠殺群, 2群は対照および600 mg/kgの14日間回復群とした。

10, 40および150 mg/kg群では, 被験物質の投与に起因する変化は認められなかった。600 mg/kg群では, 流涎, 自発運動の低下, 立毛, 腹部膨満などの症状が雌雄に, 摂餌量の減少および体重増加の抑制が雄に認められ, 雄の1匹および雌の4匹が死亡した。さらに, 胃の前胃部粘膜に潰瘍および角化亢進を伴う上皮の過形成, 骨髄に顆粒球系増血細胞の増加, 副腎に皮質細胞の肥大・空胞化, 盲腸の拡張が雌雄に, 白血球好中球比, 尿タンパクおよび血清無機リンの増加, 血色素量およびヘマトクリット値の減少, プロトンポンプ時間の延長, 活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮が雄に, トリグリセライドの増加が雌に認められた。回復群においては, 前胃部粘膜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, 1,3-ビス(アミノメチル)ベンゼンのラットに対する主な反復投与毒性は, 投与経路である胃粘膜に対する障害であった。また, 無影響量は, 150 mg/kg/dayと推定された。

方法

1. 被験物質

被験物質1,3-ビス(アミノメチル)ベンゼンは分子量136.22, 融点14°C, 蒸気圧 1.6×10^{-3} mmHg (25°C)の水に溶け易い無色透明の液体で, 三菱瓦斯化学(株)(東京)で製造されたもの(ロット番号30817, 純度99.8%)を入手し, 室温暗所で密栓保管した。投与液は, 局法精製水(共栄製薬)に溶解して調製し, 使用時まで冷蔵条件下で密栓保管した。被験物質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. 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[C₁:CD(SD)]ラットを12~13日間検疫・馴化飼育し, 5週齢(雄

173-188 g, 雌139-162 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時~18時)に設定された飼育室で, 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

1,3-ビス(アミノメチル)ベンゼンのラットへの単回経口投与におけるLD₅₀は, 930 mg/kgと報告されている。投与量設定試験を, ラットを1群雌雄各3匹とし, 0, 30, 80, 200および500 mg/kg用量の14日間経口投与により実施した。500 mg/kg群で, 摂餌量の減少および体重増加の抑制が雌に認められた。しかし, 一般状態, 剖検所見および主要器官の重量に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, より明らかな毒性影響の発現が予測される600 mg/kgを最高用量とし, 以下150, 40, 10 mg/kgの4用量および対照を設定した。試験群は, 以上の5群の他に, 600 mg/kgおよび対照の14日間回復群を設けた。投与は, 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。対照群には局法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, 投与期間中においては毎日投与直前に, 回復期間中は週1回測定した。摂餌量は, ケージごとに週1回, 24時間の消費量を測定した。

3) 尿検査

投与25日および投与終了後11日に腰背部を刺激して強制排尿させ, 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, マイルス・三共(株), マルティスティックス]および外観を検査した。

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(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(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, トリグリセリド, 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), アルカリフォスファターゼ(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(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

採血に続いて剖検し, 脳, 肝臓, 腎臓, 副腎および精巣/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, 対照および600 mg/kg群では心臓, 肝臓, 脾臓, 腎臓, 副腎, 骨髄, 胃, 腸(十二指腸・空腸・回腸・盲腸・結腸・直腸), 胸腺を, 10, 40, 150 mg/kg群および回復群は600 mg/kg群で変化の認められた副腎, 胃, 骨髄について, 常法に従いパラフィン切片を作製し, ヘマトキシリン・エオジン(H-E)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あるいはScheffé(群の大きさが異なる場合)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

10, 40および150 mg/kg群においては, 全ての観察および検査項目で, 被験物質の投与に起因する変化は認められなかった。

1. 一般状態および死亡

投与期間の概ね後半において, 600 mg/kg群の各12匹中, 流涎が雄10匹, 雌8匹, 自発運動低下が雄3匹, 雌7匹, 立毛が雄1匹, 雌6匹, 腹部膨満が雄1匹に認められ,

雄1匹および雌4匹は死亡(投与15~19日)した。回復期間においては, 異常は認められなかった。

2. 体重(Fig. 1)および摂餌量

投与期間において, 600 mg/kg群の雄の体重は, 投与2日から増加抑制の傾向を示し, 投与の経過につれて対照群との差は拡大する傾向にあり, 4日以降, 7日を除いて, 有意差が認められた。しかし, 回復期間においては, 回復傾向を示した。摂餌量についても, 600 mg/kgの雄は, 投与期間中対照群を下回って推移し, 投与4週では有意に少なかった。回復期間では, 対照群との差は認められなかった。

3. 尿所見

雄の尿タンパクは, 対照群で多くは+(30 mg/dl)であったのに対し, 600 mg/kg群では多くが++(100 mg/dl)となり, 有意に増加した。回復群では, 各検査項目に有意な変化は認められなかった。

4. 血液学所見(Table 1, 2)

有意な血色素量およびヘマトクリット値の減少, プロトロンビン時間の延長, 活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮, 白血球百分率における分節核好中球比の増加およびリンパ球比の減少が600 mg/kg群の雄に認められた。600 mg/kg群の雌においても, 統計学的有意差は認められなかったものの, ヘマトクリット値の減少傾向および主に好中球の増加による白血球数の増加傾向が認められた。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. 血液生化学所見(Table 3, 4)

有意な総タンパクの減少および無機リンの増加が600 mg/kg群の雄に, トリグリセリドの増加が600 mg/kg群の雌に認められた。回復群においては, これらの変化は認められなかった。しかし, 投与期間終了後屠殺動物でみられた変化とは別に有意な総コレステロールおよびA/G比の増加ならびに塩素の減少が雄に, アルブミンの減少が雌に認められた。

6. 剖検所見

600 mg/kg群で, 前胃部の肥厚および潰瘍, ならびに盲腸の内容物増量による拡張が雌雄全例に, 副腎の肥大が雌の半数に認められた。投与期間中に死亡した600 mg/kg群の雄1匹および雌4匹では, 前胃部に生存例と類似した変化が認められたほか, 腺胃にも粘膜の赤色化および潰瘍が認められ, 胃および腸はガスが貯留して拡張していた。さらに, 雌では盲腸粘膜に赤色斑, 副腎の赤色化, 胸腺および脾臓の萎縮などを認める例があった。回復群においても, 前胃部壁の肥厚がほぼ全例に認められたが, 投与期間終了後屠殺動物に比べて軽度な変化であった。

7. 器官重量(Table 5, 6)

600 mg/kg群において、雄副腎の相対重量ならびに雌副腎の絶対および相対重量は有意に増加した。なお、同群の雄において、体重増加の抑制に伴い、肝臓の絶対重量の有意な減少および脳の相対重量の有意な増加が認められたが、肝臓の相対重量あるいは脳の絶対重量には、対照群と比べて差は認められなかった。回復群においては、各器官の重量に、有意な変化は認められなかった。

8. 病理組織学所見(Table 7, 8)

被験物質の投与に起因する変化が、胃、副腎および骨髄に認められた。胃では、600 mg/kg群の生存した雄6匹と雌4匹の全例において、前胃部粘膜に筋層から漿膜に達する深い潰瘍が形成され、粘膜下織には炎症性変化が、また周辺部粘膜には重層扁平上皮の過形成および角化亢進による肥厚が認められた。腺胃部粘膜には、雌雄各1匹にびらんが認められたのみで、前胃部の変化に比べて軽度であった。副腎では、600 mg/kg群において、皮質特に束状帯細胞の空胞化が雌雄各1匹、肥大が雌の2匹に認められた。骨髄では、600 mg/kg群において、顆粒球系造血細胞の軽度な増加が雄の4匹と雌の2匹に認められた。

600 mg/kgでみられた雄1匹と雌4匹の死亡動物においては、投与期間終了後屠殺動物で認められた変化に加えて、諸器官にうっ血性あるいは萎縮性的変化が認められた。さらに、胃の腺胃部粘膜にも壊死、びらん、潰瘍が認められた。雌では十二指腸粘膜上皮の空胞化、盲腸粘膜の充血、腎臓遠位尿管の拡張、副腎皮質細胞の変

性・壊死などの変化を示す例がみられた。回復群においては、投与期間終了後屠殺動物に認められた変化は回復あるいは回復傾向を示し、胃では多くの例で粘膜欠損は認められず、粘膜下織における線維化および粘膜の軽度肥厚のみが認められた。副腎および骨髄では、異常は認められなかった。

考察および結論

1,3-ビス(アミノメチル)ベンゼンのラットへの反復経口投与において、認められた主な毒性変化は、胃粘膜の障害であった。

10, 40および150 mg/kg群では、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。

600 mg/kg群においては、流涎、自発運動低下、立毛、腹部膨満などの症状が雌雄に、摂餌量の減少および体重増加の抑制が雄に認められ、各12匹中雄の1匹および雌の4匹は死亡した。生存および死亡動物に共通して、高度の胃障害が認められた。

すなわち、胃の前胃部には剖検で潰瘍の形成および壁の肥厚が認められ、壁の肥厚は病理組織学的には潰瘍の形成に伴う粘膜下織の炎症反応ならびに胃障害に対する反応性増殖と解せられる重層扁平上皮の過形成や角化亢進によるものであった。さらに、死亡動物の胃には、前胃部に加えて腺胃部にも粘膜の壊死、びらん、潰瘍が認められ、胃障害が主な死亡原因であることが確認された。

600 mg/kg群の雌雄あるいはそのいずれかに認められた軽度な貧血所見、好中球の増加および骨髄における顆粒

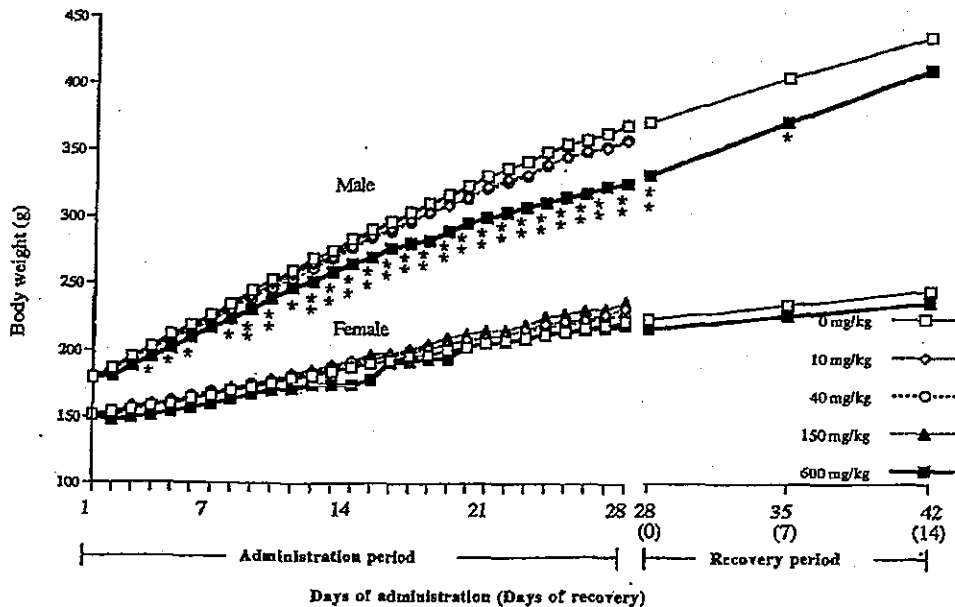


Fig. 1 Body weight changes in rats treated with 1,3-(aminomethyl)benzene in the 28-day repeat dose oral toxicity test
Significantly different from control group(*:p<0.05, **:p<0.01)

Table 1. Hematology in male rats after the oral administration of 1,3-bis(aminomethyl)benzene for 28 days and a recovery period for 14 days

Dose level(mg/kg)	After administration period					After recovery period	
	0	15	40	150	600	0	600
No. of animals	6	6	6	6	6	6	5
Erythrocyte($10^6/\text{mm}^3$)	767 ± 38	765 ± 39	764 ± 31	748 ± 50	712 ± 36	807 ± 26	777 ± 20
Hematocrit(%)	43.1 ± 1.5	43.7 ± 1.6	42.9 ± 1.3	41.8 ± 1.5	40.1 ± 1.9*	43.6 ± 1.1	42.3 ± 1.3
Hemoglobin(g/dl)	15.1 ± 0.7	15.2 ± 0.7	15.2 ± 0.5	14.6 ± 0.5	14.1 ± 0.7*	15.4 ± 0.7	14.6 ± 0.5
MCV(fl)	56 ± 1	58 ± 2	56 ± 1	56 ± 2	57 ± 1	54 ± 1	54 ± 2
MCH(pg)	19.6 ± 0.3	19.9 ± 0.7	19.9 ± 0.4	19.6 ± 0.8	19.8 ± 0.5	19.1 ± 0.5	18.8 ± 0.8
MCHC(%)	35.0 ± 0.7	34.8 ± 0.6	35.4 ± 0.8	35.0 ± 0.3	35.1 ± 0.7	35.3 ± 0.7	34.6 ± 0.3
Reticulocyte(%)	39 ± 8	40 ± 4	39 ± 4	53 ± 10**	42 ± 5	32 ± 8	38 ± 8
Leukocyte($10^3/\text{mm}^3$)	66 ± 9	74 ± 17	67 ± 20	58 ± 23	61 ± 24	77 ± 20	70 ± 16
Differential count(%)							
Lymphocyte	87.0 ± 3.8	86.5 ± 4.5	86.3 ± 2.4	84.8 ± 4.7	73.3 ± 9.0*	88.3 ± 4.1	89.2 ± 4.9
Neutrophil band segmented	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.4	0.0 ± 0.0
Eosinophil	11.7 ± 3.2	11.7 ± 3.7	12.5 ± 2.9	13.7 ± 4.0	25.3 ± 8.9*	9.3 ± 2.8	10.0 ± 5.3
Basophil	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.4	0.5 ± 0.8	0.5 ± 0.5	0.2 ± 0.4	1.2 ± 1.2	0.2 ± 0.4
Monocyte	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Platelet($10^4/\text{mm}^3$)	1.3 ± 1.2	1.7 ± 1.2	0.7 ± 0.8	1.0 ± 1.3	1.2 ± 0.8	1.0 ± 1.1	0.6 ± 0.5
PT(sec)	147 ± 9	149 ± 21	134 ± 12	144 ± 13	160 ± 18	142 ± 11	154 ± 22
APTT(sec)	13.4 ± 0.2	13.7 ± 0.2	13.6 ± 0.3	13.3 ± 0.3	14.0 ± 0.3**	12.5 ± 0.2	12.7 ± 0.5
APTT(sec)	18.4 ± 1.2	18.7 ± 0.9	17.9 ± 1.0	18.6 ± 1.4	16.8 ± 0.6*	18.1 ± 1.8	18.3 ± 1.5

Values are expressed as Mean ± S.D.

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

Table 2. Hematology in female rats after the oral administration of 1,3-bis(aminomethyl)benzene for 28 days and a recovery period for 14 days

Dose level(mg/kg)	After administration period					After recovery period	
	0	15	40	150	600	0	600
No. of animals	6	6	6	6	4	6	4
Erythrocyte($10^6/\text{mm}^3$)	738 ± 34	751 ± 16	756 ± 40	728 ± 33	723 ± 19	784 ± 19	801 ± 56
Hematocrit(%)	41.4 ± 1.2	41.4 ± 0.9	42.1 ± 1.1	40.6 ± 1.4	39.6 ± 1.3	42.4 ± 1.0	43.8 ± 2.4
Hemoglobin(g/dl)	14.8 ± 0.6	14.8 ± 0.6	15.2 ± 0.5	14.5 ± 0.7	14.2 ± 0.4	15.3 ± 0.5	15.7 ± 0.9
MCV(fl)	56 ± 2	55 ± 0	56 ± 2	56 ± 1	55 ± 2	54 ± 1	55 ± 1
MCH(pg)	20.0 ± 0.6	19.8 ± 0.6	20.1 ± 0.4	19.9 ± 0.3	19.6 ± 0.6	19.5 ± 0.4	19.7 ± 0.5
MCHC(%)	35.6 ± 0.5	35.9 ± 0.8	36.0 ± 0.4	35.6 ± 0.5	35.8 ± 0.3	36.0 ± 0.3	35.9 ± 0.3
Reticulocyte(%)	25 ± 8	30 ± 8	25 ± 3	25 ± 8	27 ± 6	30 ± 5	27 ± 5
Leukocyte($10^3/\text{mm}^3$)	45 ± 15	41 ± 12	48 ± 15	40 ± 10	69 ± 33	52 ± 7	54 ± 19
Differential count(%)							
Lymphocyte	86.5 ± 5.5	90.3 ± 5.4	90.8 ± 4.0	86.8 ± 5.1	67.8 ± 17.3	92.0 ± 2.2	90.0 ± 2.9
Neutrophil band segmented	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Eosinophil	11.0 ± 5.0	7.7 ± 3.8	8.0 ± 4.3	11.3 ± 5.2	30.3 ± 18.0	6.8 ± 1.7	8.5 ± 4.1
Basophil	1.2 ± 1.0	0.8 ± 0.8	0.5 ± 0.8	0.5 ± 0.5	0.5 ± 1.0	0.8 ± 0.8	0.8 ± 0.5
Monocyte	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Platelet($10^4/\text{mm}^3$)	1.0 ± 0.6	1.2 ± 1.3	0.7 ± 0.8	1.3 ± 2.0	1.5 ± 0.6	0.3 ± 0.5	0.8 ± 1.5
PT(sec)	144 ± 20	145 ± 10	136 ± 9	137 ± 14	163 ± 19	137 ± 12	140 ± 40
APTT(sec)	13.1 ± 0.4	12.8 ± 0.3	13.2 ± 0.2	13.5 ± 0.3	13.2 ± 1.1	13.1 ± 0.4	13.3 ± 0.4
APTT(sec)	16.7 ± 1.1	15.8 ± 0.8	15.9 ± 1.1	16.0 ± 0.9	17.1 ± 1.2	16.9 ± 0.9	16.0 ± 0.6

Values are expressed as Mean ± S.D.

Table 3 Blood chemistry in male rats after the oral administration of 1,3-bis(aminomethyl)benzene for 28 days and a recovery period for 14 days

Dose level(mg/kg)	After administration period					After recovery period	
	0	15	40	150	600	0	600
No. of animals	6	6	6	6	6	6	5
GOT(IU/l)	62 ± 13	65 ± 6	62 ± 6	57 ± 5	67 ± 13	61 ± 5	60 ± 7
GPT(IU/l)	29 ± 6	33 ± 8	32 ± 4	28 ± 3	29 ± 8	35 ± 3	32 ± 4
γ-GTP(IU/l)	0.14 ± 0.14	0.35 ± 0.18	0.45 ± 0.52	0.51 ± 0.65	0.42 ± 0.53	0.46 ± 0.34	0.19 ± 0.11
ALP(IU/l)	339 ± 75	372 ± 56	412 ± 65	402 ± 94	297 ± 83	311 ± 63	349 ± 39
T.protein(g/dl)	6.06 ± 0.10	6.11 ± 0.18	5.98 ± 0.12	6.00 ± 0.24	5.74 ± 0.16**	6.36 ± 0.19	6.30 ± 0.05
Albumin(g/dl)	2.95 ± 0.10	2.91 ± 0.17	2.99 ± 0.17	3.00 ± 0.20	2.90 ± 0.14	3.02 ± 0.13	3.10 ± 0.07
A/G ratio	0.95 ± 0.07	0.91 ± 0.11	1.00 ± 0.10	1.00 ± 0.07	1.03 ± 0.12	0.91 ± 0.03	0.97 ± 0.04*
T.cholesterol(mg/dl)	92 ± 24	75 ± 8	68 ± 10	82 ± 16	79 ± 14	80 ± 4	98 ± 7**
Triglyceride(mg/dl)	90 ± 30	67 ± 24	103 ± 59	98 ± 41	64 ± 19	99 ± 19	75 ± 22
Glucose(mg/dl)	143 ± 6	137 ± 20	146 ± 16	149 ± 13	132 ± 21	166 ± 14	157 ± 13
T.bilirubin(mg/dl)	0.35 ± 0.02	0.34 ± 0.06	0.35 ± 0.06	0.36 ± 0.04	0.35 ± 0.05	0.40 ± 0.05	0.41 ± 0.03
Urea nitrogen(mg/dl)	14.0 ± 2.0	14.6 ± 1.4	14.2 ± 1.3	17.3 ± 1.4**	13.9 ± 1.1	18.3 ± 1.8	18.3 ± 1.8
Creatinine(mg/dl)	0.53 ± 0.05	0.55 ± 0.04	0.53 ± 0.06	0.56 ± 0.06	0.54 ± 0.06	0.59 ± 0.07	0.60 ± 0.03
Ca(mEq/l)	10.3 ± 0.4	10.3 ± 0.5	10.2 ± 0.3	10.2 ± 0.3	10.4 ± 0.4	10.0 ± 0.2	10.0 ± 0.3
I phosphorus(mg/dl)	7.6 ± 0.5	7.7 ± 0.7	7.5 ± 0.5	7.9 ± 0.5	8.5 ± 0.5*	7.4 ± 0.5	7.8 ± 0.4
Na(mEq/l)	140 ± 1	141 ± 1	140 ± 1	141 ± 1	140 ± 1	141 ± 1	140 ± 1
K(mEq/l)	4.54 ± 0.22	4.48 ± 0.12	4.40 ± 0.24	4.31 ± 0.14	4.25 ± 0.16	4.56 ± 0.31	4.71 ± 0.25
Cl(mEq/l)	102 ± 1	103 ± 1	102 ± 2	102 ± 1	103 ± 1	103 ± 1	101 ± 1**

Values are expressed as Mean ± S.D.

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

Table 4 Blood chemistry in female rats after the oral administration of 1,3-bis(aminomethyl)benzene for 28 days and a recovery period for 14 days

Dose level(mg/kg)	After administration period					After recovery period	
	0	15	40	150	600	0	600
No. of animals	6	6	6	6	4	6	4
GOT(IU/l)	63 ± 3	61 ± 7	61 ± 7	66 ± 2	67 ± 4	59 ± 7	56 ± 4
GPT(IU/l)	30 ± 4	26 ± 5	28 ± 5	28 ± 7	34 ± 8	29 ± 6	29 ± 2
γ-GTP(IU/l)	0.35 ± 0.27	0.31 ± 0.29	0.43 ± 0.34	0.55 ± 0.16	0.31 ± 0.23	0.44 ± 0.37	0.44 ± 0.30
ALP(IU/l)	223 ± 48	278 ± 74	233 ± 78	216 ± 46	231 ± 36	192 ± 29	181 ± 17
T.protein(g/dl)	6.27 ± 0.25	6.44 ± 0.23	6.26 ± 0.26	6.25 ± 0.36	5.73 ± 0.14	6.66 ± 1.29	6.32 ± 0.08
Albumin(g/dl)	3.34 ± 0.16	3.49 ± 0.29	3.29 ± 0.21	3.35 ± 0.26	2.90 ± 0.17	3.46 ± 0.07	3.30 ± 0.13*
A/G ratio	1.14 ± 0.05	1.19 ± 0.15	1.11 ± 0.08	1.16 ± 0.13	1.03 ± 0.09	1.08 ± 0.06	1.10 ± 0.08
T.cholesterol(mg/dl)	86 ± 20	87 ± 6	83 ± 7	71 ± 8	70 ± 15	84 ± 9	77 ± 12
Triglyceride(mg/dl)	30 ± 14	45 ± 17	40 ± 21	36 ± 7	77 ± 20**	54 ± 22	65 ± 19
Glucose(mg/dl)	126 ± 9	134 ± 10	128 ± 21	118 ± 14	103 ± 10	127 ± 11	128 ± 11
T.bilirubin(mg/dl)	0.30 ± 0.04	0.30 ± 0.01	0.27 ± 0.03	0.27 ± 0.03	0.25 ± 0.01	0.39 ± 0.05	0.40 ± 0.05
Urea nitrogen(mg/dl)	19.8 ± 3.2	16.9 ± 1.8	19.4 ± 3.3	19.6 ± 2.1	16.2 ± 1.8	20.0 ± 1.6	20.9 ± 1.3
Creatinine(mg/dl)	0.59 ± 0.09	0.54 ± 0.04	0.57 ± 0.05	0.58 ± 0.03	0.52 ± 0.05	0.61 ± 0.04	0.61 ± 0.04
Ca(mEq/l)	10.2 ± 0.3	10.2 ± 0.3	10.1 ± 0.3	10.1 ± 0.2	10.1 ± 0.1	10.2 ± 0.3	10.0 ± 0.3
I phosphorus(mg/dl)	7.2 ± 0.6	6.5 ± 0.7	6.7 ± 0.8	6.4 ± 0.6	7.8 ± 0.5	6.2 ± 0.6	5.9 ± 0.6
Na(mEq/l)	140 ± 1	140 ± 1	140 ± 0	140 ± 1	139 ± 1	140 ± 1	139 ± 1
K(mEq/l)	4.31 ± 0.14	4.34 ± 0.21	4.36 ± 0.25	4.27 ± 0.10	4.32 ± 0.15	4.57 ± 0.20	4.78 ± 0.07
Cl(mEq/l)	104 ± 1	104 ± 1	104 ± 1	104 ± 1	104 ± 2	103 ± 1	104 ± 1

Values are expressed as Mean ± S.D.

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

Table 5 Absolute and relative organ weights in male rats after the oral administration of 1,3-bis(aminomethyl)benzene for 28 days and a recovery period for 14 days

Dose level(mg/kg)	After administration period					After recovery period	
	0	15	40	150	600	0	600
No. of animals	6	6	6	6	6	6	5
Body weight(g)	335 ± 17	328 ± 14	326 ± 13	335 ± 22	285 ± 15**	400 ± 22	377 ± 27
Absolute weight							
Brain(g)	1.98 ± 0.09	1.95 ± 0.06	1.92 ± 0.07	1.91 ± 0.08	1.93 ± 0.07	2.01 ± 0.10	1.94 ± 0.06
Liver(g)	10.00 ± 0.54	9.54 ± 0.86	9.92 ± 0.86	10.03 ± 0.47	8.33 ± 0.44**	11.63 ± 0.99	11.31 ± 0.91
Kidneys(g)	2.53 ± 0.26	2.51 ± 0.10	2.54 ± 0.11	2.49 ± 0.08	2.30 ± 0.24	2.79 ± 0.29	2.61 ± 0.28
Adrenals(mg)	60.7 ± 10.6	52.2 ± 9.9	59.1 ± 10.0	62.0 ± 6.2	67.6 ± 9.6	56.9 ± 9.9	60.6 ± 11.8
Testes(g)	2.99 ± 0.21	2.98 ± 0.16	2.81 ± 0.44	3.06 ± 0.23	2.91 ± 0.20	3.15 ± 0.12	3.29 ± 0.26
Relative weight							
Brain(g%)	0.59 ± 0.03	0.60 ± 0.03	0.59 ± 0.03	0.57 ± 0.04	0.68 ± 0.03**	0.50 ± 0.03	0.52 ± 0.03
Liver(g%)	2.99 ± 0.09	2.91 ± 0.18	3.05 ± 0.20	3.00 ± 0.15	2.92 ± 0.12	2.91 ± 0.11	3.00 ± 0.11
Kidneys(g%)	0.76 ± 0.06	0.77 ± 0.02	0.78 ± 0.04	0.75 ± 0.06	0.80 ± 0.04	0.70 ± 0.06	0.69 ± 0.04
Adrenals(mg%)	18.19 ± 3.52	15.86 ± 2.40	18.23 ± 3.44	18.53 ± 2.01	23.85 ± 4.12*	14.27 ± 2.72	16.09 ± 2.90
Testes(g%)	0.89 ± 0.08	0.91 ± 0.03	0.86 ± 0.14	0.91 ± 0.05	1.02 ± 0.08	0.79 ± 0.06	0.88 ± 0.08

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 1,3-bis(aminomethyl)benzene for 28 days and a recovery period for 14 days

Dose level(mg/kg)	After administration period					After recovery period	
	0	15	40	150	600	0	600
No. of animals	6	6	6	6	4	6	4
Body weight(g)	204 ± 14	209 ± 18	207 ± 20	212 ± 16	198 ± 17	226 ± 15	215 ± 8
Absolute weight							
Brain(g)	1.83 ± 0.05	1.83 ± 0.05	1.81 ± 0.07	1.82 ± 0.06	1.76 ± 0.05	1.85 ± 0.04	1.82 ± 0.03
Liver(g)	5.88 ± 0.59	6.08 ± 0.60	5.79 ± 0.79	6.00 ± 0.57	6.08 ± 0.16	6.13 ± 0.51	5.92 ± 0.53
Kidneys(g)	1.63 ± 0.10	1.67 ± 0.14	1.69 ± 0.26	1.63 ± 0.06	1.72 ± 0.26	1.65 ± 0.17	1.60 ± 0.07
Adrenals(mg)	61.3 ± 7.0	62.6 ± 6.5	68.9 ± 9.4	70.2 ± 12.1	81.0 ± 15.0*	66.7 ± 10.9	64.3 ± 6.8
Ovaries(mg)	81.5 ± 12.5	77.9 ± 14.7	87.8 ± 12.1	85.6 ± 11.0	88.7 ± 21.5	82.2 ± 15.3	69.9 ± 8.1
Relative weight							
Brain(g%)	0.90 ± 0.06	0.88 ± 0.07	0.88 ± 0.09	0.86 ± 0.04	0.89 ± 0.09	0.82 ± 0.05	0.85 ± 0.02
Liver(g%)	2.88 ± 0.13	2.91 ± 0.18	2.80 ± 0.13	2.82 ± 0.08	3.09 ± 0.20	2.71 ± 0.07	2.75 ± 0.20
Kidneys(g%)	0.80 ± 0.08	0.80 ± 0.04	0.81 ± 0.05	0.77 ± 0.05	0.87 ± 0.11	0.73 ± 0.04	0.75 ± 0.02
Adrenals(mg%)	30.13 ± 3.39	30.05 ± 2.95	33.40 ± 3.65	33.16 ± 5.68	41.02 ± 7.62**	29.54 ± 4.93	29.93 ± 3.08
Ovaries(mg%)	40.0 ± 5.3	37.1 ± 5.1	42.4 ± 3.3	40.3 ± 4.1	45.2 ± 12.8	36.4 ± 7.1	32.6 ± 4.4

Values are expressed as Mean ± S.D.

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

Table 7 Incidence of histopathological findings in male rats after the oral administration of 1,3-bis(aminomethyl)benzene for 28 days and a recovery period for 14 days

Organ : Findings	Dose level (mg/kg) No. of animals	After administration period					After recovery period	
		0	10	40	150	600	0	600
Heart : Myocardial fibrosis		+	2	-	-	-	1(0)	-
Lung : Congestion and edema		+	-	-	-	-	1(1)	-
Liver : Congestion		+	0	-	-	-	0(1)	-
Stomach :								
Mucosal necrosis in non-glandular portion		+	0	0	0	0	0(1)	0
Ulceration in non-glandular portion		++	0	0	0	0	6(0)	0
Acanthosis with hyperkeratosis in non-glandular portion		+	0	0	0	0	0(0)	0
Submucosal inflammation in non-glandular portion		++	0	0	0	0	6(0)	0
Submucosal fibrosis in non-glandular portion		++	0	0	0	0	6(0)	0
Erosion/ulceration in glandular portion		+++	0	0	0	0	0(0)	0
Submucosal inflammation in glandular portion		+++	0	0	0	0	1(1)	0
Spleen : Atrophy		++	0	0	0	0	0(1)	0
Kidney :		+	0	-	-	-	0(1)	-
Congestion		+	0	-	-	-	0(1)	-
Focal tubular basophilic change		+	2	-	-	-	3(0)	-
Focal tubular dilatation with hyaline casts		+	2	-	-	-	0(0)	-
Eosinophilic bodies in proximal tubule		+	1	-	-	-	0(0)	-
Adrenal :								
Congestion		+	0	0	0	0	0(1)	0
Cortical cell vacuolization		+	0	0	0	0	1(0)	0
Bone marrow : Increased granulopoesis		+	0	0	0	0	4(0)	0

+ : Slight ; ++ : Moderate ; +++ : Marked ; - : Not examined

* : Animal supposed to be killed after a recovery period was found dead during the administration period

No abnormalities detected in the thymus and intestine from animals of control and 600 mg/kg groups.

Table 8 Incidence of histopathological findings in male rats after the oral administration of 1,3-bis(aminomethyl)benzene for 28 days and a recovery period for 14 days

Organ : Findings	Dose level (mg/kg) No. of animals	After administration period					After recovery period	
		0	10	40	150	600	0	600
Thymus : Atrophy		+++	0	0	0	0	0(4)	-
Liver : Congestion		+	0	-	-	-	0(4)	-
Hepatocellular fatty change		+	1	-	-	-	1(0)	-
Hepatocellular atrophy		+	0	-	-	-	0(1)	-
Stomach :								
Ulceration in non-glandular portion		++++	0	0	0	0	4(3)	0
Acanthosis with hyperkeratosis in non-glandular portion		+	0	0	0	0	0(1)	0
Submucosal inflammation in non-glandular portion		++	0	0	0	0	4(2)	0
Submucosal fibrosis in non-glandular portion		+++	0	0	0	0	4(3)	0
Mucosal necrosis in non-glandular and glandular portions		+++	0	0	0	0	0(0)	0
Erosion in glandular portion		+++	0	0	0	0	0(1)	0
Intestine :								
Epithelial vacuolization of duodenal mucosa		+	0	-	-	-	0(1)	-
Hyperemia of cecal mucosa		+	0	-	-	-	0(1)	-
Spleen : Atrophy		+++	0	-	-	-	0(4)	-
Kidney :								
Congestion		+	0	-	-	-	0(3)	-
Focal tubular basophilic change		+	3	-	-	-	2(0)	-
Distal tubular dilatation		+	0	-	-	-	0(2)	-
Adrenal :								
Congestion		+	0	0	0	0	0(2)	0
Cortical cell degeneration and necrosis		++	0	0	0	0	0(1)	0
Cortical cell vacuolization		+	0	0	0	0	1(0)	0
Hypertrophy of zone fasciculata		+	0	0	0	0	2(1)	0
Bone marrow : Increased granulopoesis		+	0	0	0	0	2(2)	0

+ : Slight ; ++ : Moderate ; +++ : Marked ; - : Not examined

* : Two animals supposed to be killed after the administration period and two after a recovery period were found dead or killed in extremis during the administration

No abnormalities detected in the heart from animals of control and 600 mg/kg groups.

球系造血細胞の増加傾向、血清総タンパクの減少についても、胃障害に伴う炎症や出血と関連した所見と考えられる。さらに、プロトロンビン時間の延長および活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮についても、血液凝固系に対して一定方向への影響でないものの、肝臓には異常が認められなかったことから、胃における出血や炎症と何らかな関連性を有するものと推察される。

また、一般状態の観察で腹部膨満がみられたが、これと対応する所見として、生存動物では内容物増量による盲腸の拡張が、死亡動物ではガス貯留による胃および腸の拡張が認められた。さらに、死亡動物では十二指腸粘膜に上皮の空胞化および盲腸粘膜に充血を示す例も認められ、消化管全般にわたる影響がうかがわれた。

600 mg/kg群の副腎重量は増加し、病理組織学的には皮質の主に束状帯において細胞の空胞化および肥大が認められた。これはおそらく、胃障害に伴うストレスの影響を反映した変化と推察される。

1,3-ビス(アミノメチル)ベンゼンは、眼や皮膚に対し強い刺激性を有する²⁾。したがって、経口投与における消化管、特に胃に対する障害は、本物質の局所刺激性によるものと考えられる。

なお、死亡動物に認められた各器官のうっ血および萎縮性変化については、生存動物には認められていないことから、1,3-ビス(アミノメチル)ベンゼンの直接的な影響を示唆する所見ではないと判断される。

以上の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では回復ないし回復傾向を示し、変化の可逆性が確認された。回復期間終了後屠殺動物の雌で、投与期間終了後屠殺動物では明らかでなかった血清アルブミンの減少が認められたが、これは胃障害の影響が時間的ズレを以て現れたものと推察された。

以上の変化に加えて、600 mg/kg群では、投与期間終了後屠殺動物で尿タンパクおよび血清無機リンの増加が雄に、トリグリセライドの増加が雌に、回復期間終了後屠殺動物で総コレステロールの増加および塩素の減少が雄に認められた。しかし、腎臓や肝臓には病理学的変化は認められず、また、いずれの変化も軽度なものであった。

以上の結果から、1,3-ビス(アミノメチル)ベンゼンのラットへの28日間反復経口投与において発現した主な毒性変化は胃粘膜の障害であった。無影響量は150 mg/kg/dayと推定された。

文献

- 1) O.H. Cincinnot, "Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices," 5th ed., American Conference of Governmental Industrial Hygienists, Inc., 1986.
- 2) J. Marhold, "Prchled Prumyslove Toxikologie; Organické Latky," Prague, Avicenum, 1986.

連絡先

試験責任者：伊藤義彦
 試験担当者：山本謙，赤木博，潘陳真真，
 杉本忠美，小沼敦子
 (財)畜産生物科学安全研究所
 〒229 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, Hiroshi Akagi,
 Shinshin Hanchin, Tadami Sugimot,
 Atuko Konuma
 Research Institute for Animal Science in Biochemistry
 and Toxicology
 Kanagawa, 229, Japan
 Tel +81-427-62-2775 Fax +81-427-62-7979