

- 17) A. B. Dawson: *Stain Technol.*, 1, 123 (1926)  
 18) H. Morita *et al.*: *Cong. Anom.*, 27, 147 (1987)  
 19) 村上氏ら：“出生前の医学—先天異常の基礎と臨床—”, p. 276 (1968), 医学書院  
 20) 池田高良：医学のあゆみ, 103, 933 (1977)

## ジベンジルトルエンの胎仔発生に及ぼす影響

黒崎美保・川島邦夫・中浦慎介・田中 悟  
 S. DJAJALAKSANA・高仲 正

## Effects of dibenzyltoluene on fetal developments of rats

Tomiyasu KUROSAKI, Kunio KAWASHIMA, Shinsuke NAKAURA, Satoru TANAKA,  
 Srikanthi DJAJALAKSANA and Akira TAKANAKA

Dibenzyltoluene was given to pregnant rats by oral intubation during days 7 to 17 of gestation at dose levels of 100, 300 and 1000 mg/kg/day, and its teratogenic effect was examined in the fetuses.

Suppressions in maternal food consumption and body weight or piloerection were observed in the 1000 mg/kg group. Moreover, a significant decrease in fetal body weight was observed in the 1000 mg/kg group. There was no evidence of an increase in malformations attributable to the treatment with dibenzyltoluene in any of the dose levels examined.

It is concluded that dibenzyltoluene has no teratogenic effect in rats, although toxic signs were observed in treated dams and fetuses at 1000 mg/kg/day.

(Received May 31, 1988)

われわれは、既存化学物質の安全性に関する研究の一環として、催奇形性について検討している。これまでに Tris(2,3-dibromopropyl) phosphate<sup>1)</sup>, Tris(1,3-dichloroisopropyl) phosphate<sup>2)</sup>, Zinc diethyl-dithiocarbamate<sup>3)</sup>, クロルデン<sup>4)</sup>, ヘプタクロル<sup>5)</sup>などの成績をそれぞれ報告した。

今回は、化学工業で広く熱媒体として使用されているジベンジルトルエンを妊娠ラットに投与し、胎仔発生に及ぼす影響について検索したのでその成績を報告する。

ジベンジルトルエンは既存化学物質であるが(分類番号4, コード番号682), 催奇形性に関する報告はない。

## 実験方法

ジベンジルトルエンはヒュルス社(西独)の製品を用いた。ジベンジルトルエンは水にほとんど溶けないのでゴマ油(日本薬局方)で50%溶液を調製して投与した。投与量は、妊娠ラットを用いた予備試験の成績に基づいて、妊娠母体に体重の増加抑制が観察された1000 mg/kgを最高用量とし、以下300 mg/kgおよび100 mg/kgの3段階とした。

動物はウィスター系ラット(日本ラット, 雄14週齢,

雌12~13週齢)を用いた。動物飼育室は温度 25±1℃, 相対湿度 55±5%, 換気回数15回/hr., 明暗交代12時間(明期 6:00~18:00)とした。

妊娠ラットを得るために、未妊娠雌を雄と終夜同居させた。翌朝産卵中に精子が認められた雌ラットを妊娠したものとして実験に供し、この日を妊娠0日として起算した。

妊娠ラットはアルミ製ケージ(夏目製作所製)に1匹ずつ収容し、固形飼料(オリエンタル酵母, MF)および水道水を自由に摂取させた。

各群20匹の妊娠ラットに胎仔の器官形成期を含む妊娠7~17日まで、ジベンジルトルエンの1000 mg/2 ml/kg, 300 mg/0.6 ml/kg および 100 mg/0.2 ml/kg 用量を毎日1回胃ゾンデを用いて強制経口投与した。なお、対照群の妊娠ラットにはゴマ油2 ml/kgを同様に経口投与した。

妊娠ラットは毎日一般状態を観察し、体重および摂食量を測定した。すべての妊娠ラットは妊娠20日目にエーテル麻酔下で帝王切開して子宮を摘出し、黄体数、着床数、死亡胎仔数および生存胎仔数を調べた。生存胎仔については外表異常の検査を行い、性比を調べ体重を測定した。各母体当たり約1/3の生存胎仔につい

てはブアン液で約2週間固定したのち、頭部および腹部については Wilson の粗大切片法<sup>10)</sup>で、胸部については西村の顯微解剖法<sup>11)</sup>で内部器官の異常の検査を行った。残り約2/3の生存胎仔については90%エタノール液で固定したのち、Dawsonの方法<sup>12)</sup>にしたがってアリザリン赤染色骨格標本を作製し、骨格系の異常の検査を行った。なお、腰椎肋骨については、第13肋骨の1/2以上の長さを有するものを「extra」、それより短いものを「痕跡状」と判定し、それぞれの発生頻度を調べた。

実験成績は母体を評価の単位として、 $\chi^2$ -検定(着床率)、t-検定(母ラットの体重、摂餌量、黄体数、着床数、胎仔数、胎仔体重)および順位和検定(胎仔の死亡率、性比、異常発生率、骨化数)を用い、危険率5%および1%の水準で対照群と比較した。なお、t-

検定では等分散の場合には Student の方法を、不等分散の場合には Aspin-Welch の方法を用いた。

## 実験成績

### 1. 妊娠母体に及ぼす影響

#### 1) 一般症状

100および300 mg/kg 群では、全観察期間を通して一般状態に変化は認められなかった。1000 mg/kg 群では投与開始6日後(妊娠13日目)から散発的な立毛が1~2例観察されたが、死亡例は認められず、投与開始10日後(妊娠17日目)頃には消失した。

#### 2) 摂餌量

妊娠期間中における各群母ラットの平均摂餌量の推移を Fig. 1 に示した。100および300 mg/kg 群は対照群と比較して有意な差を示さなかった。1000 mg/

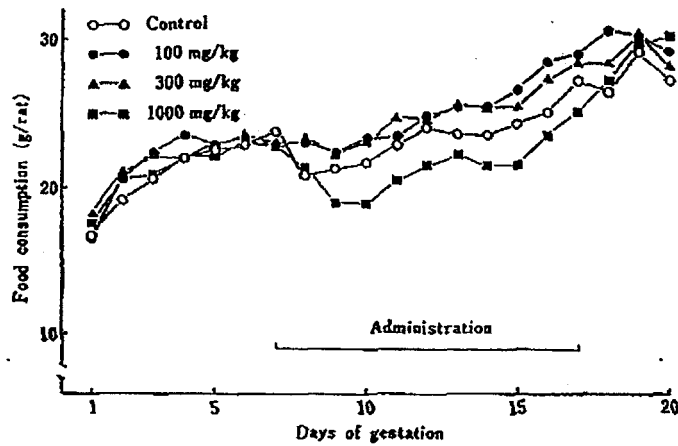


Fig. 1. Effect of oral administration of dibenzyltoluene on food consumption of pregnant rats.

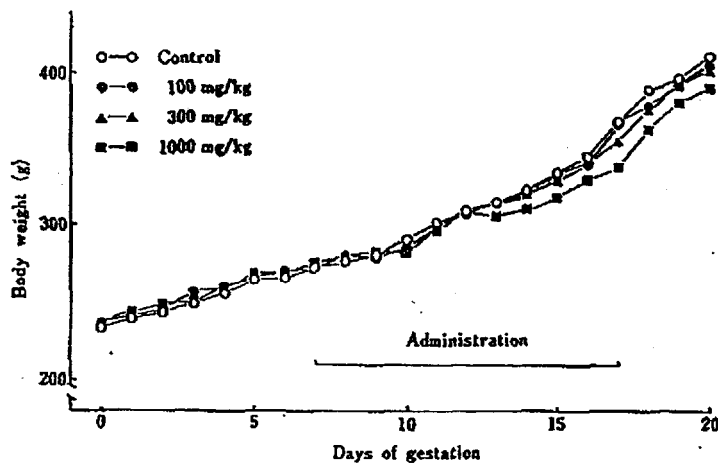


Fig. 2. Effect of oral administration of dibenzyltoluene on body weight gain of pregnant rats.

kg 群では投与開始3日後(妊娠9日目)から摂餌量の低下が観察されたが、投与終了後ただちに对照群の水準まで回復した。

3) 体重

妊娠期間中における各群母ラットの平均体重の推移を Fig. 2 に示した。100 および 300 mg/kg 群は对照群と同様な体重推移を示したが、1000 mg/kg 群では投与開始7日後(妊娠13日目)から体重の増加抑制が観察され、投与終了後も对照群の水準まで回復しなかった。

4) 黄体数、着床数および着床率

妊娠20日目の各群母ラットの黄体数、着床数および着床率を Table 1 に示した。平均黄体数の有意な減少が1000 mg/kg 群に認められた以外、黄体数、着床数および着床率には对照群とジベンジルトルエン投与

群との間に有意差は認められなかった。

2. 胎仔に及ぼす影響

1) 生存胎仔数、性比、体重および死亡率

Table 2 に示したように平均胎仔数、性比および胎仔死亡率ともに対照群とジベンジルトルエン投与群との間に有意差は認められなかった。しかし、有意な胎仔体重の低下が1000 mg/kg 群の雌雄に認められた。

2) 外表検査成績

膈疝ヘルニアの胎仔が对照群に1例観察された。内反手、曲尾および短尾をともなった胎仔が1000 mg/kg 群に1例観察されたが、その発生率は低く对照群との間に有意差は認められなかった (Table 2)。

3) 内部器官検査成績

胎仔の内部器官の検査成績を Table 3 に示した。腎盂の拡張が对照群に1例、300 mg/kg 群に2例、

Table 1. Effect of oral administration of dibenzyltoluene on pregnant rats on the reproductive parameters

| Dose (mg/kg)                          | 0                   | 100                 | 300                 | 1000                 |
|---------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| No. of dams                           | 20                  | 20                  | 20                  | 20                   |
| No. of dams with live fetuses         | 20                  | 20                  | 20                  | 20                   |
| No. of corpora lutea<br>(mean ± S.D.) | 299<br>(14.9 ± 2.2) | 280<br>(14.0 ± 2.5) | 288<br>(14.4 ± 1.9) | 274<br>(13.7 ± 1.5)* |
| No. of implants<br>(mean ± S.D.)      | 251<br>(12.5 ± 2.9) | 235<br>(11.7 ± 3.1) | 259<br>(12.9 ± 1.5) | 252<br>(12.6 ± 1.5)  |
| Implantation ratio (%)                | 84.8                | 83.7                | 91.0                | 92.3                 |

Implantation ratio(%) is expressed as the average of the incidence in each litter.  
\*: P < 0.05

Table 2. Effect of oral administration of dibenzyltoluene to pregnant rats on the fetal developments

| Dose (mg/kg)                               | 0                   | 100                 | 300                 | 1000                |
|--|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| No. of dams                                | 20                  | 20                  | 20                  | 20                  |
| No. of implants                            | 251                 | 235                 | 259                 | 252                 |
| No. of live fetuses<br>(mean ± S.D.)       | 243<br>(12.1 ± 3.0) | 223<br>(11.1 ± 3.1) | 246<br>(12.3 ± 1.6) | 240<br>(12.0 ± 1.6) |
| Sex ratio (male/female)                    | 124/119             | 104/119             | 129/117             | 122/118             |
| Body weight (g)                            |                     |                     |                     |                     |
| male (mean ± S.D.)                         | 4.1 ± 0.3           | 4.0 ± 0.3           | 4.0 ± 0.3           | 3.8 ± 0.4 *         |
| female (mean ± S.D.)                       | 3.9 ± 0.2           | 3.8 ± 0.2           | 3.8 ± 0.2           | 3.6 ± 0.4 *         |
| No. of dead implants                       | 8                   | 12                  | 13                  | 12                  |
| Early death                                | 8                   | 11                  | 11                  | 12                  |
| Late death                                 | 0                   | 1                   | 2                   | 0                   |
| Mortality (%)                              | 4.1                 | 5.5                 | 5.0                 | 4.5                 |
| No. of fetuses with external malformations | 1(1.7)*             | 0                   | 0                   | 1(0.5) *            |

Fetal mortality is expressed as the average of the incidence in each litter.

\* : Ophthalmocoele ; \* : anax vara, short and kinky tail

Occurrence rate(%) in parenthesis is the average of the incidence in each litter.

\*: P < 0.05

1000 mg/kg 群に1例観察された。左側臍動脈が対照群に2例, 100 mg/kg 群と 300 mg/kg 群にそれぞれ1例, 大動脈弓部欠損および左側鎖骨下動脈の分枝異常が1000 mg/kg 群にそれぞれ1例ずつ観察された。しかし, いずれの異常の発生率とも対照群との間に有意差は認められなかった。

#### 4) 骨格検査成績

骨格検査成績を Table 4 に示した。

##### a) 骨格奇形

骨格奇形として肋骨の癒合, 頸骨の欠損および橈骨の形成不全を併した胎仔が 1000 mg/kg 群に1例観

察された。しかし, 発生率は低く対照群との間に有意差は認められなかった。

##### b) 骨格変異

種々の骨格変異が対照群を含む各群に認められた。それらの種類と発生率は次の通りであった。頸椎肋骨の胎仔が対照群, 100および300 mg/kg 群にそれぞれ1例, 頸椎弓の異常(変形)の胎仔が1000 mg/kg 群に1例, 胸椎体の異常(変形, 分離)の胎仔が対照群を含む各群に2~25例, 胸骨核の異常(変形, 分離, 欠損)の胎仔が対照群を含む各群に55~75例観察された。しかし, 対照群に比べてこれらの骨格変異の発生

Table 3. Effect of oral administration of dibenzyltoluene to pregnant rats on the internal organ developments of the fetuses

| Dose (mg/kg)                          | 0      | 100    | 300    | 1000   |
|---------------------------------------|--------|--------|--------|--------|
| No. of dams                           | 20     | 20     | 20     | 20     |
| No. of fetuses examined               | 86     | 85     | 90     | 87     |
| Dilatation of renal pelvis            | 1(1.0) | 0      | 2(2.9) | 1(1.0) |
| Left umbilical artery                 | 2(2.7) | 1(1.0) | 1(1.7) | 0      |
| Absence of the aortic arch            | 0      | 0      | 0      | 1(1.3) |
| Bifurcation of left subclavian artery | 0      | 0      | 0      | 1(0.8) |

Occurrence rate (%) in parenthesis is the average of incidence in each litter.

Table 4. Effect of oral administration of dibenzyltoluene on pregnant rats on the skeletal developments of the fetuses

| Dose (mg/kg)                       | 0        | 100      | 300      | 1000        |
|------------------------------------|----------|----------|----------|-------------|
| No. of dams                        | 20       | 20       | 20       | 20          |
| No. of fetuses examined            | 157      | 138      | 156      | 153         |
| Malformation                       |          |          |          |             |
| Fusion of ribs                     | 0        | 0        | 0        | 1(0.7)*     |
| Absence of tibia                   | 0        | 0        | 0        | 1(0.7)*     |
| Hypoplasia of radius               | 0        | 0        | 0        | 1(0.7)*     |
| Variation                          |          |          |          |             |
| Cervical ribs                      | 1(0.6)   | 1(0.7)   | 1(0.7)   | 0           |
| Varied cervical arches             | 0        | 0        | 0        | 1(1.0)      |
| Varied thoracic centra             | 4(2.6)   | 2(1.3)   | 3(2.0)   | 25(17.3)    |
| Varied sternbrae                   | 55(34.6) | 55(39.4) | 60(37.3) | 75(49.2)    |
| Lumbar ribs                        | 31(19.0) | 14(9.2)  | 17(10.9) | 69(46.5) ** |
| rudimentary                        | 31(19.0) | 14(9.2)  | 17(10.9) | 65(44.2) ** |
| extra                              | 0        | 0        | 0        | 4(2.0)      |
| Varied lumbar centra               | 0        | 0        | 0        | 3(2.1)      |
| Varied sacral arch                 | 0        | 0        | 0        | 1(0.7)*     |
| Varied caudal arch                 | 0        | 0        | 0        | 1(0.7)*     |
| 27-presacral vertebrae             | 0        | 0        | 0        | 8(6.3)      |
| Deformity of humerus               | 0        | 0        | 0        | 1(0.7)*     |
| Ossification state(average number) |          |          |          |             |
| Metacarpus                         | 7.9      | 7.9      | 7.8      | 7.8         |
| Metatarsus                         | 8.0      | 8.0      | 8.0      | 8.0         |
| Sacro-caudal vertebrae             | 7.9      | 8.0      | 7.8      | 8.2         |

Occurrence rate (%) in parenthesis is the average of incidence in each litter.

\* :accompanied with fusion of 4th sacral arch and 1st caudal arch, absence of tibia, hypoplasia of radius and deformity of humerus.

\*\* :p<0.01

率に有意差は認められなかった。腰椎肋骨（痕跡状を含む）を有する胎仔が対照群を含む各群に14～69例観察され、1000 mg/kg 群の発生率（46.5%）は対照群に比べ有意に高かった。また、腰椎体の異常（変形）の胎仔が1000 mg/kg 群に3例、仙椎前の椎骨数が27個の胎仔が1000 mg/kg 群に8例、仙椎弓と尾椎弓の異常（癒合）の胎仔および上腕骨の異常（変形）の胎仔がそれぞれ1例観察された。しかし、発生率に有意差は認められなかった。

#### ④) 骨化状態

骨化状態については中手骨、中足骨および仙・尾椎骨の骨数を調べて判定したが、いずれの骨数においても対照群とジベンジルトルエン投与群との間に有意差は認められなかった。

## 考 察

妊娠ラットにジベンジルトルエンを経口投与した場合、1000 mg/kg 群では立毛、摂餌量の減少および体重増加の抑制が認められ、1000 mg/kg 用量は妊娠ラットに対して中毒量であることが明らかにされた。

1000 mg/kg 群において平均黄体数の低下が観察されたが、ジベンジルトルエンは卵の着床後に投与されており、ジベンジルトルエンの投与に起因した変化とは考え難い。

胎仔に対する影響として1000 mg/kg 群では雌雄ともに有意な胎仔体重の低下が認められた。1000 mg/kg は妊娠ラットに対して摂餌量の減少を示す用量であったこと、および妊娠中の母体の摂餌量の低下や低栄養は胎仔の発育に悪影響を及ぼすことから<sup>9,10)</sup>、この胎仔体重の低下は母体に対する毒性影響のために二次的に胎仔の発育が抑制されたものと考えられる。

ジベンジルトルエンを投与した妊娠ラットから得られた胎仔に内反手、曲尾および短尾の複合奇形が1例観察された。しかし、これらは自然発生的にも観察される異常であり<sup>11,12)</sup>、発現率も低くジベンジルトルエン投与の影響とは考えられない。

内部器官の異常として腎盂の拡張が300および1000 mg/kg 群に、左側臍動脈が100および300 mg/kg 群に、大動脈弓部欠損および左側鎖骨下動脈の分岐異常が1000 mg/kg 群に観察された。しかし、これらの異常はいずれも自然発生的に観察される種類<sup>11,12)</sup>であったこと、および発生率にも有意差はなかったことから、ジベンジルトルエン投与の影響とは考えられない。

骨格奇形として肋骨の癒合、頸骨の欠損および橈骨の形成不全を合併した胎仔が1000 mg/kg 群に観察されたが、発生率に有意差は認められなかった。また、

この胎仔は外表検査において内反手、曲尾および短尾の複合奇形と判定されたもので、これら骨格異常が反映された結果と考えられた。骨格変異として頸椎肋骨、頸椎弓の異常、胸椎体の異常、胸骨核の異常、腰椎体の異常、仙椎前の椎骨数が27個の胎仔、上腕骨の異常、仙椎弓の異常および尾椎弓の異常が観察された。しかし、いずれの変異の発生率も対照群との間に有意差は認められなかった。これらの異常のうち上腕骨の異常、仙椎弓の異常および尾椎弓の異常は同一胎仔に観察され、この胎仔は外表検査で内反手、曲尾および短尾の複合奇形と判定されたものであった。一方サリナル酸などの催奇形因子を妊娠ラットに投与した場合、腰椎肋骨（extra）の発生頻度が増加する事が報告されている<sup>13,14)</sup>。本実験において1000 mg/kg 群で痕跡状を含めた腰椎肋骨の発生頻度が有意に増加した。しかし、痕跡状を除いた腰椎肋骨（extra）の発生頻度には対照群との間に有意差は認められず、ジベンジルトルエンの投与によってextraの発生頻度が特に高くなるという成績は得られなかった。

以上の成績からジベンジルトルエンには催奇形作用は無いものと考えられた。なお、母体および胎仔に対して300 mg/kg 用量は無影響量であった。

## ま と め

ジベンジルトルエンの100, 300 および 1000 mg/kg を妊娠ラットに胎仔の器官形成期を含む妊娠7日から17日目まで毎日1回強制経口投与し、妊娠の維持および胎仔発生に及ぼす影響を検索した。

1) 妊娠母体について、100および300 mg/kg 用量では一般症状、摂餌量および体重増加に特に変化は認められなかった。1000 mg/kg 用量では、立毛、摂餌量の減少および体重増加の抑制が認められた。

2) 妊娠20日目の胎仔について、100および300 mg/kg 用量では平均生存胎仔数、性比、胎仔体重および胎仔死亡率に有意な変化は認められなかったが、1000 mg/kg 用量で雌雄の胎仔体重の有意な低下が認められた。外表、内部器官および骨格の検査においてもジベンジルトルエン投与によると考えられる異常は観察されなかった。

以上、本実験条件下では、ジベンジルトルエン1000 mg/kg 用量は妊娠ラットに対して毒性影響量であったが、催奇形作用および胎仔致死作用は認められなかった。

## 文 献

- 1) 川島邦夫ら：衛生誌報，98，50（1980）

- 2) 田中 啓ら：衛生誌報, 99, 50 (1981)
- 3) 中浦根介ら：衛生誌報, 102, 55 (1984)
- 4) 宇佐見誠ら：衛生誌報, 104, 68 (1986)
- 5) 山口 恵ら：衛生誌報, 105, 33 (1987)
- 6) J. G. Wilson: "Teratology-Principles and techniques," edited by J. G. Wilson and J. Warkany, p. 262(1965), The University of Chicago Press, Chicago and London
- 7) 西村耕一：先天異常, 14, 23 (1974)
- 8) A. B. Dawson: *Stain Technol.*, 1, 123(1926)
- 9) 村上氏広ら："出生前の医学—先天異常の基礎と臨床—" p. 276 (1968), 医学書院
- 10) 池田高良：医学のあゆみ, 103, 933 (1977)
- 11) 亀山義郎ら：先天異常, 20, 25 (1980)
- 12) H. Morita *et al.*: *Cong. Anom.*, 27, 147(1987)
- 13) S. Tanaka *et al.*: *Cong. Anom.*, 13, 73(1973)
- 14) 安田峰生, 前田広由：先天異常, 13, 25 (1973)