

合成界面活性剤の慢性毒性及び催奇性に関する研究

遠藤 立一 古井戸 良雄 浪江 健二
 (埼玉県立衛生短期大学)
 山本 法 蓮沼 広子 上田 喜一
 (埼玉県立衛生短期大学) (埼玉県立衛生短期大学) (昭和大学)

1 研究の概要

本研究は、合成洗剤の主要成分である直鎖型アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム(以下LAS)の慢性的及び世代的影响を総合的に吟味する目的で開始された。研究は1977年12月に着手し、1979年3月をもって終了した。

研究の基本構想は、LAS影響の基本像にアプローチするための慢性毒性試験を主体とし、さらに世代的影响を観察するための、催奇性試験及び四世代までの繁殖試験を併行的に配置した。LAS濃度に関しては、現実的にフィードバック可能な程度とし、食品衛生法の規程に準拠し0.1%とした。なお、毒性検討の主たる判断基準は病理学的観察に置き、生化学的、血液学的検索を平行的観察手段として用いた。また、これらの基本的な研究の進行と平行して、LASの生体内消長について、¹⁴C-LASを用いた検討も併せて行った。

2 慢性毒性試験

本実験の最長観察期間は26カ月(1976年12月~1979年2月)とした。その間、3カ月、6カ月、12カ月、18カ月、24カ月、26カ月の各時点にて動物をと殺し、経時的に毒性を検した。

(1) 実験方法

試料として使用した精製された直鎖型アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム(以下LAS)の分析値は表1に示すとおりである。

投与法は長期飼育であること、および繁殖試験と同一の投与条件とするため、繁殖に支障を来さないよう配慮し自由飲用を拒否せぬ量であること、および食品衛生法で定める洗浄剤の使用時の基準(界面活性剤として0.1%以下)を考慮し0.1%とした。(試料としたLASの

表1 試料の分析値

項目	分析値
揮発分(水)	61.20%
界面活性剤純分(N _a -LAS)	38.74%
アルコール不溶分(硫酸ナトリウム)	0.01%
未反応油分(アルキルベンゼン)	0.05%

注) 1. 23ロットの平均値
 2. N_a-LASの平均分子量=348

選定、投与量については、都公害研保健部との協議の上決定した)

動物は4週令のウィスター系ラット(日本クレア, SPF)雄99匹、雌99匹を使用。購入後1週間予備飼育後実験を開始した。実験期間は最長2年2カ月とし、各観察時期および動物数は表2に示すとおりである。

表2 慢性毒性試験実験経過

	実験群				対照群			
	♂		♀		♂		♀	
	と殺数	死亡数	と殺数	死亡数	と殺数	死亡数	と殺数	死亡数
実験開始時の匹数	62		62		37		37	
3カ月	12	0	12	1	12	0	12	0
6カ月	10	0	10	0	5	0	5	0
12カ月	10	1	9	2	5	1	5	0
18カ月	5	1	5	7	3	2	3	2
24~26カ月	19	4	14	2	8	1	9	1
計	56	6	50	12	33	4	34	3

飼育は室温21±1℃, 湿度40~60%, オールフ

レッシュ方式の条件下で、金網ケージを使用し、1ケージに4～5匹（成長の程度で動物数を調整）を飼育した。飼料（日本クレア，CE-7）は自由摂取とし、体重測定は週単位に行った。

ア 病理学的検査

と殺後、肉眼的に各臓器を観察し異常の有無にかかわらず、肝、腎、心、脾、肺、脳、下垂体、胸腺、副腎、生殖器、副生殖器（以上の臓器は重量を測定）胃、十二指腸、脾、甲状腺、膀胱を摘出し組織標本を作成し検索した。

イ 生化学的検査

剖検時採取（直接心臓より採血）した血液より血清を分離（2500rpm, 15分）し、次の各項目について検査を行った。

検査項目：GOT, GPT, アルカリフォスファターゼ, LAP, コレステロール, ビリルビン, 尿素窒素（以上RaBA-Systemによる測定）, 総タンパク（ビュレット法による測定）, A/G比（セルロースアセテート膜による電気泳動）。

ウ 血液学的検査

剖検時採取（直接心臓より採血）した血液を用い、次の各項目につき検査を行った。なお抗凝固剤はアングロット/E T（日本商事）を用いた。

検査項目：赤血球数, 白血球数（視算法Bürker-Zürk氏型計算板による測定）, ヘモグロビン濃度（RaBA-Systemによる測定）, ヘマトクリット値（マイクロヘマトクリット法）。

(2) 成績概要及び小括

0.1% L A S の連続飲用による毒性を最長26カ月まで飼育し、病理学的, 生化学的, 血液学的に検討した。

全実験期間を通じて実験群及び対照群における飲水量に有意差はなく, L A S 添加による拒否反応はみられなかった。また, 最終観察時期までに25例（実験群18例対照群7例）が死亡した。これらを飼育期間別にみると全死亡例の約3/4が12カ月以降に死亡している。死亡例のうち死後変化のいちじるしい4例を除き, 病理学的に検索した結果, 下垂体腫瘍（14例）乳腺腫瘍（2例）リンパ性白血病（2例）脳腫瘍（1例）皮下腫瘍（1例）水腎症（1例）と診断され, 病理学的判断から, L A S 毒性による死亡とは考えられなかった。その他, 一般的な生育状況（飼料摂取状況, 便の性状, 皮毛, 挙動等）に異常はみられず, 体重増加状況からも, L A S 投与に対し, 特異的な所見はみられなかった。これら

の事実から0.1% L A S は, 一般的な生育過程に反映するような毒性は無いと判断される。

各観察時期における病理学的検索の結果, 3カ月までの時期では殆んど病変はみとめられない。6カ月時にみられた肝の病変のうち細胞の粗鬆化, 萎縮, 変性脂肪化は一応毒性変化として考えることはできる。しかしもし, このような肝における病変がL A S の毒性によるものとしたら, 少なくとも6カ月以後の各観察時期を通じて出現し, また実験群における発生頻度が高いはずである。さらに病理学的にみて, 慢性的にL A S 毒性が加わるとしたら壊死にいたるような病変の増悪像が長期観察時に出現しても良いと考えられる。しかし, 今回の結果からは, これらの事実は得られていない。従って肝にみられた前記の病変をL A S の毒性によるものとするのは本実験の結果からは早計と思われる。また今回の観察でとくに12カ月以後には腎の円柱, 胆管増生, 下垂体腫瘍等の病変が出現し, その発生頻度も経時的に増加がみられた。これらの病変は病理学的にみて, 多くの文献記載の病変像と一致しており, いわゆる老令性の病変と考えられた。さらに, このような老令性の変化は出現頻度からみても実験群に特発する傾向はみられなかった。また, 時期的にみても実験群に早期に出現する傾向は殆んどみとめられず, L A S 投与による早老性効果も観察されなかった。以上のように今回の0.1% L A S 長期飲用実験から病理学的にはその毒性を指摘するような明確な所見は得られなかった。

生化学的検査の結果を総合的にみると, 6カ月以降に実験群は対照群に比してGOT, GPT, ビリルビン等の項目で有意に高い値が観察された。また, GOT, GPTが一般的にみて, 実験群が高値を示す結果も得られている。このような事実立つとL A S が何らかの肝への影響を与えているであろうことが推察される。しかし, 今回の検討はあくまでも対照群に対する相対評価であり, また現在, ラットにおける生化学的検査データは文献的にも比較的多く公表されているが, 未だ多くの点で必ずしも絶対的とはいえない点が多いことも考慮する必要がある。従って, 人体例におけるようないわゆる正常値との比較といった検討の方法が採用出来ない現時点で, 果して相対評価のみの結果から結論をみちびくことには疑義がある。また, すでに述べた病理学的検索の結果も併せ考えるとき, 今回の生化学的検査の結果はデータの

提示にとどめ置くべき段階と考える。

血液学的検査の結果については、実験、対照両群とも特に差はみられず、今回の投与濃度に関してはL A Sの影響は全くみられなかった。

以上、0.1% L A Sの慢性毒性試験の結果から、病理学的及び生化学的に2~3の疑点は残るが、総合的にみて毒性を確認することは出来なかった。

3 繁殖試験

1977年2月に開始した本実験は最終的に四世代までの観察を行うことが出来た。

(1) 実験方法

ア 使用動物

4週令のウィスター系ラット(日本クレア, S P F)雄20匹, 雌20匹を親(P₀)として使用。購入後一週間の予備飼育後実験を開始した。

イ 飼育法および飼育環境

ケージは箱型プラスチックケージを使用し、床敷には木屑(購入後、乾熱滅菌して使用)を用い、1ケージに5匹(成長の程度で匹数を調整)ずつ飼育した。また体重は週一回測定した。

飼育環境は慢性毒性試験と同様とし、さらに長期の繁殖試験であることを考慮し、強制換気式(陽圧)の感染飼育ドラフト内に前記ケージを格納し飼育した。照明は人工照明とし、照明時間は一定(14時間、5時~19時)にした。

飼料は繁殖用固型飼料(日本クレア, C A - 1)を全期間自由摂取させた。

ウ 試料・投与量および投与方法

慢性毒性試験と同様とした。なお投与の対象は雌とした。

エ 繁殖方法

10週令を越した雌について連日午前中に膣垢像を観察し、規則正しい性周期(4日周期)を2回以上くりかえした動物について、その膣垢像が発情前期像を呈した日の夕刻、雄と同居させた。交配は雄:雌=1:1とした。交尾の確認は夜間同居の翌朝、雌を観察し膣栓を形成しているか、膣垢中に精子の存在をもって行い、その日を妊娠0日とした。妊娠0日、7日、14日、20日に体重を測定した。妊娠18日には分娩のため個別ケージに移した。

繁殖試験に係る観察項目は表3に示すとおりである。出生数が8匹以上の場合は、新生仔数を8匹に淘汰し、以後の哺育試験を行った。新生仔は生後7日、14日、21日体重を測定し、21日令で離乳させることにした。淘汰した新生仔は軟X線撮影後、メタノール固定し骨染色を行い、骨の奇形の有無を検した。

なお継代には初回交配で得た動物を当てた。

(2) 実験成績

ア 繁殖成績

各世代の繁殖成績は表3に示すとおりである。

受胎率は四世代(F₄P₄)の実験群で90%を示した以外は100%を記録した。分娩率については、親(P₀)の対照群90%、三世代(F₃P₃)の実験群80%、四世代(F₄P₄)の対照群90%とそれぞれ100%以下の値を示した。受胎は確認したが、分娩しなかったこれらの例については連日の観察において流産の徴候は全く見られず偽妊娠と考えられた。

哺乳率は親(P₀)の対照群が最も低率(64.7%)で、その他100%以下を示した群としては、親(P₀)一、二世代(F₁P₁, F₂P₂)の各実験群、二世代(F₂P₂)四世代(F₄P₄)の各対照群があげられる。しかしいずれの世代でも実験、対照両群間に有意の差はみとめられない。なお、哺乳率の悪い雌については2nd litterで再検討したが、すべての例において100%の哺乳率を示した。

哺育率に関しては親(P₀)の実験群が86.4%と最も低率を示したが、全体的に良好な成績(98~100%)が得られ、また実験、対照群間に有意差はみとめられなかった。なお、哺育中死亡した出生仔については、肉眼及び骨標本による観察を行ったが奇形はみとめられなかった。

妊娠期間は多くは22日で、少数例が21日であった。分娩仔数は最低が三匹で、二世代(F₂P₂)の実験群に1例みられた。最高は16匹で、二世代(F₂P₂)の対照群、三世代(F₃P₃)の対照及び実験群にそれぞれ1例ずつ計3例にみられた。各世代間には多少の変動はあるが、同世代の実験、対照両群間ではきわめて類似した数値を示し、総合的にみて差はみとめられなかった。

性比に関しては、全体的にやや雌の数が多傾向があるが、各世代間及び実験、対照両群間に特異的傾向はみとめられなかった。

表 3 繁殖試験成績

	受胎率	分娩率	哺乳率	哺育率	妊娠期間	分娩仔数	性比(♂/♀)
親 (P ₀)	実験群	10/10 (100.0%)	59/67 (88.1%)	51/59 (86.4%)	21.6 ± 0.2	1.09 ± 0.9 n=9	42/56 (0.75)
	対照群	10/10 (100.0%)	44/68 (64.7%)	44/44 (100.0%)	21.7 ± 0.1	1.07 ± 0.9 n=9	41/55 (0.75)
一代 (F ₁ P ₁)	実験群	10/10 (100.0%)	64/80 (80.0%)	63/64 (98.4%)	21.5 ± 0.2	1.23 ± 0.6	69/54 (1.28)
	対照群	10/10 (100.0%)	80/80 (100.0%)	79/80 (98.8%)	21.4 ± 0.2	1.26 ± 0.9	62/64 (0.97)
二代 (F ₂ P ₂)	実験群	10/10 (100.0%)	67/75 (89.3%)	67/67 (100.0%)	21.5 ± 0.2	1.08 ± 1.1 n=9	50/47 (1.06)
	対照群	10/10 (100.0%)	69/77 (89.6%)	68/69 (98.6%)	21.7 ± 0.2	1.08 ± 0.9	53/55 (0.96)
三代 (F ₃ P ₃)	実験群	10/10 (100.0%)	8/10 (80.0%)	64/64 (100.0%)	21.5 ± 0.2	1.33 ± 0.6 n=8	50/56 (0.89)
	対照群	10/10 (100.0%)	10/10 (100.0%)	79/79 (100.0%)	21.6 ± 0.2	1.20 ± 0.8	64/56 (1.14)
四世代 (F ₄ P ₄)	実験群	9/10 (90.0%)	9/9 (100.0%)	69/69 (100.0%)	21.7 ± 0.2	1.08 ± 0.8 n=9	42/55 (0.76)
	対照群	10/10 (100.0%)	9/10 (90.0%)	68/69 (98.6%)	21.6 ± 0.2	1.06 ± 0.9 n=9	48/47 (1.02)

受胎率 = (妊娠の確認された雌ラット / 交尾した雌ラット) × 100

分娩率 = (胎仔の分娩が確認された雌ラット / 妊娠の確認された雌ラット) × 100

妊娠期間 = 産垢に精子が確認された日を妊娠0日とし、分娩を確認された日までの期間。

哺乳率 = (生後4日の生存仔数 / 最高8匹に淘汰後の生後1日の生存仔数) × 100

哺育率 = (哺乳時の生存仔数 / 生後4日の生存仔数) × 100

イ 各世代仔の観察

各世代仔については親一匹当りの乳仔数を最高8匹に淘汰調整し、以後3カ月(12週)間生育状況を観察した(発育試験)。発育試験の経過中、離乳時(21日)に実験群では雄10匹、雌20匹を、対照群では雌雄とも各20匹を無作為抽出し、以後の発育試験に供し、他は殺処分した。殺処分した動物は慢性毒性試験における方法に準じ、病理学的に検討した。3カ月(12週)の全発育試験の終了時には、継代に使用する動物(雌は各群15匹ずつ、雄は対照群のみから15匹をそれぞれ無作為抽出した)を除き殺処分し、慢性毒性試験と同様の方法で病理学的検査を主体に検討した。

ロ 発育試験

生後1日(淘汰調整後の乳仔)以降、離乳時(生後21日)までの間に死亡した乳仔数($F_1 \sim F_4$)は76匹(死亡率12.9%)である。これらの死亡乳仔を世代的にみると一世代仔(F_1)が最も多く四世代仔(F_4)が最も少ない。また、実験、対照両群を比較すると、二世代仔(F_2)では実験群における死亡が多いが、一世代仔(F_1)、三世代仔(F_3)、四世代仔(F_4)では逆のパターンを示し総体的($F_1 \sim F_4$)には大きな差はみられない。乳仔死亡の時期については、生後2日目に総死亡数の84.2%(64匹)が死んでおり、以後5日目に13.6%(11匹)8日目に1.2%(1匹)と8日目までに死亡例のすべてがみとめられた。つぎに乳仔を死亡させた親についてみると総計14匹(実験群6匹、対照群8匹)で、初代の親(P_0)に多くみられ、四世代仔(F_4)の親(F_3P_3)が1匹と最も少ない。なお、死亡した乳仔については肉眼的及び骨標本の観察から奇形、形成異常は全く観察されず、また5日以内に死亡した乳仔は、肉眼的(透視的)にみて胃内に乳汁が観察されなかった。また、哺育中の乳仔のすべてを死亡させた親の乳腺は萎縮しており、親の授乳拒否により乳仔を死亡させたものと考えられた。これらの親については既に述べたように2nd litterでは100%の哺育率を示した。

離乳時に殺処分した動物を対象に行った病理学的検査では、何等異常と考えられる所見は得られなかった。

離乳後3カ月までの観察過程では、1例の死亡例もなく、摂食、飲水、皮毛、排便、挙動等、何等外見的異常をみとめず、順調に生育した。

以上の各世代仔の発育状況を体重の推移でみると、各

世代仔とも類似したカーブを描くが、やや四世代仔(F_4)の実験群の雄の体重増加が低いのが目立つが、有意差を認める程ではなかった。

なお、各世代仔の性成熟の一つの指標とされている膈開口日令に関しては、各世代仔間及び実験、対照両群間に差はみとめられなかった。

(イ) 病理学的所見

離乳時の観察では肉眼的検索後、肝、腎、心、脾につき組織学的に検査を行ったが、何等異常を認めなかった。

3カ月時の観察では慢性毒性試験と同様の方法で検索した。解剖時に測定した臓器重量については、各世代仔及び実験、対照両群間で多少の変動はあるがほぼ類似した値を示す。

病理学的にみると、世代的及び実験、対照両群との比較において、特異的と考えられる病変は観察されなかった。

また、継代に使用した動物についても4~17カ月経過後、殺処分し病理学的に検索した。その結果、病変の種類は慢性毒性で観察されたものと殆んど一致し、特異的な病変はみられなかった。各病変についても同一観察時期で実験、対照両群間に差はみられなかった。しかし、慢性毒性試験の結果に比し、腎の肉柱、肺動脈枝の肥厚の発生頻度が高いのが目立った。

(3) 小括

繁殖成績に関しては各観察項目とも世代的及び実験、対照両群間にも有意の差はみとめられなかった。とくに世代が経過するにつれ傾向的に増悪するような観察項目は全くみとめられなかった。

各世代仔の観察の結果、早期の死亡は一応先天的原因が考えられるが、肉眼的、軟X線撮影及び骨標本の観察から奇形成或いは形成異常は全くみとめられなかった。また、乳仔を死亡させた親14例のうち8例は出産仔すべてを死亡させており、いずれも乳腺は萎縮している事実から、死因は親の授乳拒否によるものと考えられた。他の死亡例についても既に述べたように奇形等の先天的原因による死亡と判断される事実は全く観察されなかった。これらの結果を踏まえ乳仔を死亡させた親については2nd litterにて再検したが、いずれも100%の哺育率を示した。従って、死亡乳仔の原因の親の哺育技術の未熟に主たる原因があったと考えるのが妥当であろう。

離乳後3カ月までの生育過程の観察では、1例の死亡例もみられず、体重増加、外見等、特記すべき結果はみとめられなかった。また、性成熟の過程についても指標として使用した膈開口の日令でみる限りL A Sの影響を示唆する事実はみとめられなかった。

離乳時及び3カ月時に世代仔を病理学的に検索したが、臓器重量で多少の変動はみられたが、組織学的にそれを裏づける所見は得られなかった。総体的にみて病理学的に繁殖成績に反映するであろう所見及び世代的経過で増悪するような所見はみとめられなかった。

また、繁殖に使用した動物についても4~17カ月間観察したが、特記すべき病変はみとめられなかった。

以上の結果から、今回の実験濃度に関し、四世代までの観察経過でL A S毒性の世代的影響を示唆するような所見は得られなかった。

4 催奇性試験

催奇性に関する検討は、ウサギ、ラットの2種動物を対象に実施した。投与した精製L A S及び濃度、投与方法は慢性毒性試験と同一とした。

動物は、ウサギについてはニュージーランド白種(日本クレア)雌45匹、雄15匹、ラットについてはウィスター系(日本クレア, S P F)雌60匹、雄20匹を使用した。実験は最終的にウサギで33匹(実験群22匹、対照群11匹)ラットで60匹(実験群40匹、対照群20匹)よりデータを得た。

(1) ウサギにおける催奇性試験(写真1参照)

雄については6カ月令の未交配の成熟動物を購入し、全実験過程を通じ交配に使用した。(最終月令14カ月)雌は5カ月令の未経産の動物を各実験時期毎に購入し、予備飼育期間(1週間以上)を経過後実験に供した。

ア 飼育法及び環境

動物は個別に金属ゲージで飼育した。飼育は室温22±1℃、湿度60%、オールフレッシュ方式の環境下で行った。照明は特に人工照明について配慮しなかった。飼料は繁殖用固型飼料(日本クレア, C R-1)を全実験期間自由摂取させた。

イ 試料・投与濃度及び投与方法

慢性毒性試験と同様とした。なお、投与の対象は雌とした。

ウ 実験方法

予備飼育後、連日(午前中)雌を観察し、発情の有無を検した。雌の発情徴候の確認は外陰部の腫脹の程度及び色調によって行った。交配の確認は、雄の交尾行動後の特有な挙動及び交尾直後の雌の膈垢像における精子の確認をもって行った。完全に交配が確認された場合、妊娠0日とし、直ちに雌雄を別居させた。

実験群においては、妊娠0日~5日迄は飲水は水道水を与え、妊娠6日以後18日迄の間は0.1%L A Sを飲用させた。以後、妊娠19日から30日迄は再び水道水を供し、妊娠30日をもって殺処分した。対照群については、妊娠0日から30日迄水道水を飲用させ、実験群と同様に妊娠30日をもって殺処分した。なお、体重測定は、妊娠0日、14日、21日、30日にそれぞれ実施した。

殺処分は空気塞栓によって行い、直ちに解剖し、黄体、吸収胚、死亡仔及び生存仔数等を検し(表4参照)胎仔については、肉眼的及び軟X線、骨格標本により奇形の有無を調べた。

なお、殺処分した親については、慢性毒性試験における方法に準じて病理学的に検索した。

エ 成績

(1) 母体への影響

使用動物数は妊娠成立の段階で実験の対象としたのは実験群20匹、対照群10匹であった。

母体体重の推移をみると実験群が若干体重の伸びが悪いが有意差を示すほどではなかった。

妊娠30日目に母獣を殺処分し生存仔数、着床痕、吸収胚、死亡胎仔等について検索した結果は表4に示すとおりである。この表にみるように、全例に生存をみとめ、その平均生存数、平均生存体重とも実験、対照両群に差はみとめられなかった。その他、平均妊娠黄体数、平均着床痕数、着床率についても両群間に差はみとめられなかった。死亡仔については着床痕及び無定形の胚塊が認められた場合早期死亡仔とし、頭部、四肢の認められた場合を後期死亡仔とした。その結果は表4に示すとおり早期死亡仔の頻度は対照群の方がやや高率であるが、後期死亡仔に関しては実験群にのみ1例観察された。しかし、総体的な胎仔死亡率でみると、対照群の方が実験群より有意差はないが高率を示した。

なお、母獣に対し、と殺時に肝、腎、心、脾について病理組織学的に検索したが、特記するような病変はみと

められなかった。

以上のように、母獣を主体とした観察項目に関し、L A S 影響を明示する所見は得られなかった。

表4 [ウサギ]

観察項目		実験群	対照群
使用動物数		22	11
交尾成立雌数 (交配率)		21 (95.5%)	10 (90.9%)
死亡雌数		1	0
妊娠成立雌数 (妊娠率)		20 (95.2%)	10 (100.0%)
L A S 摂取量(妊娠 6~18日1匹当り)		3.03g	—
生仔の認められた 母体数		20	10
生仔の認められた母体の観察	平均妊娠黄体数	9.4±0.4	8.8±0.5
	平均着床痕数	8.7±0.4	8.3±0.5
	着床率	90.9% (170/187)	94.3% (83/88)
	死胎仔 度(%)	早期 (4/170)	4.8% (4/83)
		後期 (1/170)	— (0/83)
	胎仔死亡率	2.9% (5/170)	4.8% (4/83)
	平均生仔数 (匹数)	8.2±0.4 (164)	7.9±0.4 (79)
	性比(♂/♀)	1.16 (88/76)	1.08 (41/38)
	平均生仔体重(g)	4.78±0.52	4.78±1.00

- 死亡雌数=交尾後、と殺時まで死亡したもの。
- 妊娠成立雌数=検索の際、着床のあとが認められるもの。
- 妊娠率=(妊娠成立雌数/交尾成立雌数)×100
- 着床率=(着床痕数/妊娠黄体数)×100
- 早期死胎仔頻度=着床痕および無定形の胚塊の認められるもの。

(イ) 胎仔に対する影響

胎仔に対する影響については、母獣を殺処分した後、子宮より取り出した生仔を対象に直ちに体重の測定、性の判別、口腔を含む外表の異常の有無を検索し、ついて

軟X線撮影、骨標本により骨格観察及び化骨進行度を検した。

外表観察の結果(口腔を含む)は両群とも1例の異常もみだされなかった。

骨格の観察に際しては、軟X線撮影、骨標本の両者を併用して行った。脊椎数については、実験、対照両群間に差はみとめられず、骨格奇形も全くみとめられなかった。また、骨格変異として13肋骨短小、13肋骨片側欠損、仙椎前椎骨数異常が観察されたが、それぞれの発生頻度からみて実験群特異性はみとめられなかった。骨標本による化骨進行度の観察では蝶形骨翼状突起化骨遅延、口蓋突起化骨遅延について実験群の発生頻度が有意に高率であった。

以上のように、L A S の胎仔への影響を検索した結果、化骨遅延の頻度が実験群に高率にみられた以外は特に指摘する事実はみとめられなかった。

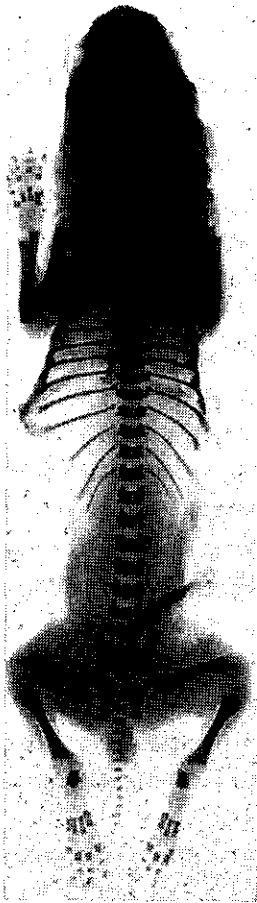
付) 実験終了後、交配に使用した雄について病理組織学的に肝、腎、心、脾、生殖器を対象に検索したが、特記すべき所見は得られなかった。

(2) ラットにおける催奇性試験(写真2参照)

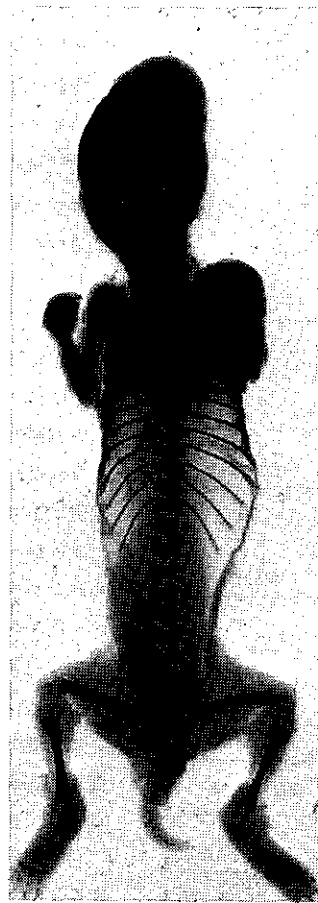
10週令のウィスター系ラット(SPF)雌60匹及び13週令の雄20匹を対象に実験を行った。雄については全実験過程を通じ交配に使用した(最終週令17週)。雌は購入後1週間予備飼育後実験に供した。(方法は繁殖試験と同様)また、飼育法及び環境条件は繁殖試験と同様とした。ただし、体重測定は妊娠0日、7日、14日、20日に行った。

ア 実験方法

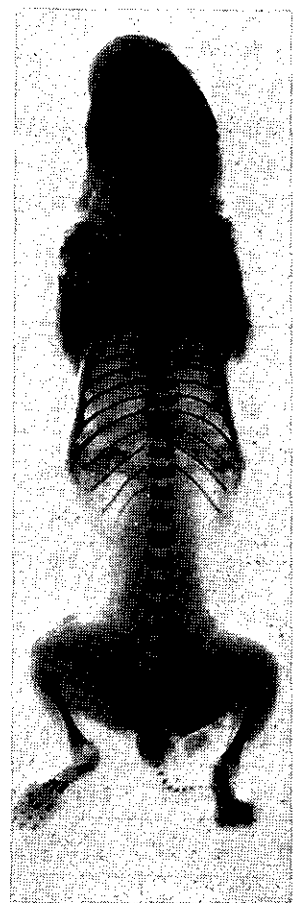
妊娠の確認された実験群の雌は0.1% L A S を妊娠6~15日まで自由摂取させた。(試料の調整、投与方法等は慢性毒性試験と同様とした)妊娠20日に達した雌はと殺し、直ちに開腹して子宮を開き、黄体、吸収胚、着床痕等を記録した。生仔については子宮から摘出後、直ちに体重の測定、性の判別を行い、また、口腔を含む外表の異常の有無を検索した。1匹の母獣よりの生仔が10匹以上である場合、10匹を軟X線撮影後、骨標本作成に供し、残りはWilson法の変法により内部器管の観察を行った。また、染色はFaherty 他の方法によることとしクリスタル紫を用いた。



正 常



13 肋骨短小

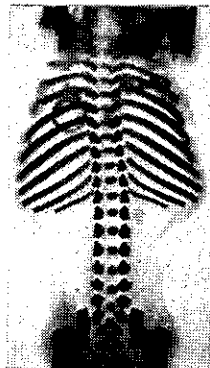


13 肋骨片側欠損

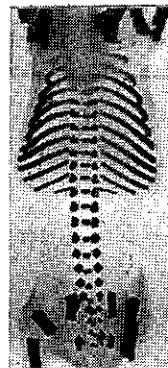
写真1 ウサギ胎仔の軟X線写真



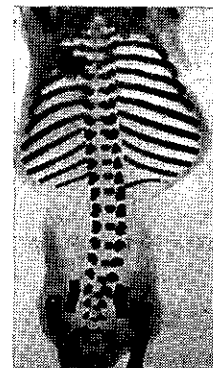
正 常



正常な肋骨



14 肋骨短小



13, 14 肋骨片側欠損

写真2 ラット胎仔の軟X線写真

イ 成績 (表5参照)

㊦ 母体への影響

妊娠成立の段階では実験群40匹, 対照群19匹が実験の対象として用いられた。

母体体重の推移は実験, 対照両群間に差はみとめられなかった。

表5 (ラット)

観 察 項 目		実 験 群	対 照 群	
使用動物数		40	20	
交尾成立雌数 (交配率)		40 (100%)	20 (100%)	
死亡雌数		0	1	
妊娠成立雌数 (妊娠率)		40 (100%)	19 (95.0%)	
LAS摂取量(妊娠 6~15日1匹当り)		383.3 mg	—	
生仔の認められた 母体数		40	19	
生 仔 の 認 め ら れ た 母 体 の 観 察	平均妊娠黄体数	14.8±0.3	14.0±0.3	
	平均着床痕数	13.9±0.3	12.9±0.4	
	着床率	93.9% (555/592)	91.7% (244/266)	
	死 亡 胎 仔 率 (%)	早期	3.8% (21/555)	2.9% (7/244)
		後期	— (0/555)	— (0/244)
	平均生仔数 (匹数)	13.4±0.3 (534)	12.5±0.4 (237)	
	性比(♂/♀)	0.98 (264/270)	0.93 (114/123)	
	平均生仔 体重(g)	♂	3.46±0.02	3.53±0.04
		♀	3.23±0.02	3.27±0.05

○交配率 = (交尾成立雌数 / 使用動物数) × 100

○体重増加率 = (妊娠30日の体重 / 妊娠0日の体重) × 100

○生仔の認められた母体数 = 1匹以上生仔を有した母体の数

○胎仔死亡率(全期間) = (死亡胎仔数 / 着床数) × 100

○後期死亡仔頻度 = 頭部・四肢の認められるもの

妊娠20日に剖検したが, 対象とした母獣は全て生仔

がみとめられた。また, 平均生仔数, 体重, 性比について検索したが実験群特異性は全くみとめられなかった。その他平均妊娠黄体数, 平均着床痕数, 着床率についても両群間に差はみとめられなかった。死亡仔については両群とも早期死亡仔(着床痕及び無定形の胚塊)のみみとめられた。死亡仔頻度ではやや実験群に高率であったが有意差はみとめられなかった。

なお, 母獣に対しては, と殺時に病理組織学的に検索したが特に指摘すべき所見はみられなかった。

㊦ 胎仔に対する影響

外表観察及び内部器管観察の結果, 奇形は1例もみとめられなかった。しかし, 内部器管の観察において, 実験群に1例側脳室の拡張を示すものがみいだされた。

軟X線, 骨格標本による観察から1例の奇形もみとめられなかった。骨格変異としては実験群に13肋骨短小が1例, 対照群にて腰肋(14肋骨)が5例, 13, 14肋骨片側欠損が1例みとめられたが実験群特異性を指摘することはできなかった。

化骨進行度については前肢手骨化骨遅延, 後肢趾骨化骨遅延が観察されたが, 両群間に発生頻度の差をみとめることはできなかった。

㊦ 交配に使用した雄については, 実験終了時に病理組織学的に検索したが, 特に指摘するような異常所見はみられなかった。

(3) 小括

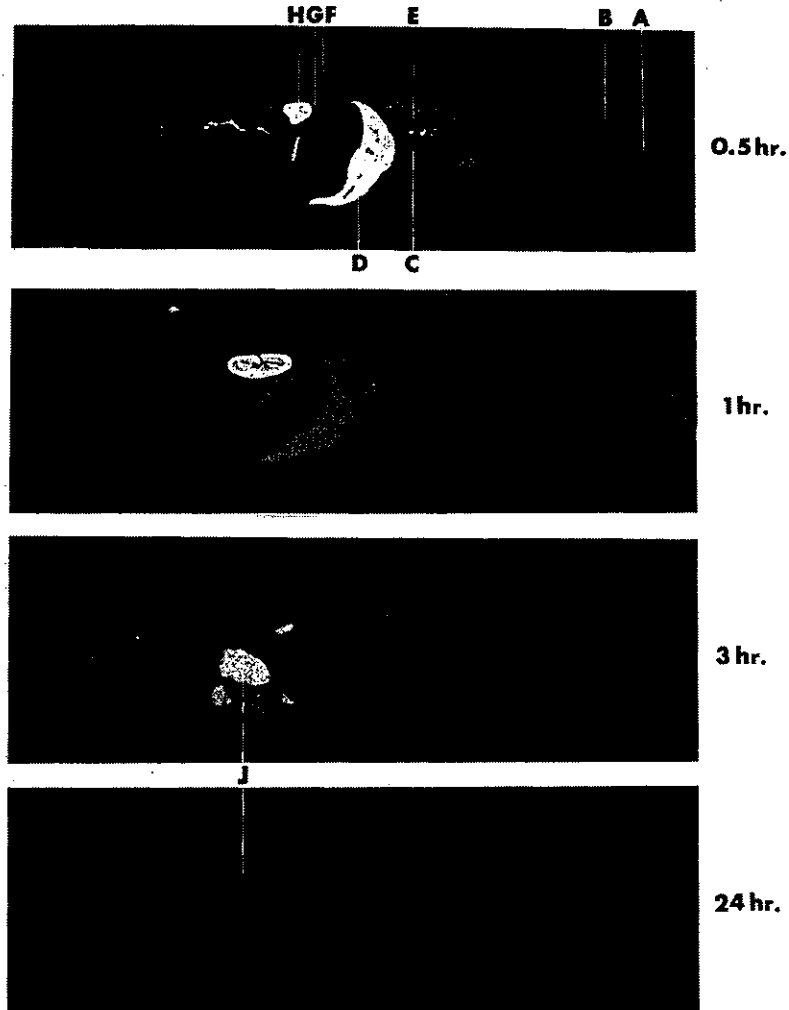
催奇性に関し二種動物(ウサギ, ラット)を対象に検討を加えたがいずれの動物においても奇形をみいだすことは出来なかった。しかし, 実験群と対照群との比較で, 実験群に目につく所見も2~3みとめられた。すなわち, ウサギの実験群に後期死亡仔が1例みとめられたこと, 蝶形骨翼状突起化骨遅延及び口蓋突起化骨遅延が高率にみられたこと, があげられる。しかし後期死亡仔については死亡原因は不明であり, 例数がきわめて少ないこと及び胎仔死亡率ではむしろ対照群の方が高率であること, また骨格の変異については, 一般に栄養その他の微妙な飼育条件で変異するともいわれ, 今回の結果をLASと直結する証左はない。従って現段階でその原因をLASのみに求めることは早計と思われる。

ラットについては, 殆んど実験, 対照両群に相違を指摘する事実はみられない。強いてあげるとすれば, 内部器管の観察でみられた側脳室の拡張がある。しかしこの

異常も1例のみであり、現時点ではLASの影響と断定するには説得力はきわめて弱いといわざるを得ない。

以上、今回の二種動物を対象とした0.1%LASによる催奇性試験の結果から少なくとも催奇性を指摘する事実はみだされなかった。

5 ラットにおける¹⁴C-LASの分布(写真3参照)
ラットの尾静脈より¹⁴C-LASを注入しLASの体内での消長及び分布について、経時的に全身オートラジオグラフィーによる観察(0.5, 1, 3, 6, 24, 48, 72時間)、血中濃度の測定(15, 30分, 1, 3, 24



A. Eye B. Brain C. Blood D. Liver E. Lung F. Spleen
G. Adrenal H. Kidney J. Intestinal contents

写真 3 ラット体内における¹⁴C-LASの分布の経時的变化

時間), 並びに1時間後の臓器分布について観察した。

その結果, 血中濃度の観察から, LASの消長は早く, 24時間後には殆んど消失すること, 及び臓器分布から腎, 肝, 心に多く分布することがみとめられた。(全身オートラジオグラフィーからも観察されている)

なお, 体外への排泄は, 24時間後の糞, 尿による観察から, その多くは尿によるものと推察された。

6 総括及び結語

慢性毒性試験の結果から, 肝に若干の毒性効果を示唆するような病変がみとめられ, またこれらの病変が経時的に進行した病変像にまで増悪しないことは, すでに述べた。これらの事実は, LAS毒性が今回の実験におけるような濃度では, きわめて弱く, いわゆる標的臓器に特異的病変を現わすような毒性がないことを示していると考えられる。この毒性の問題についてはLASそのものの毒性が弱いのか, 代謝が速く蓄積効果を示さないのかの二点が考えられる。この課題に関しては, 52年度の上田他の実験から代謝の速さによるものと一応考えるのが妥当であろう。一方, 慢性毒性試験の結果生殖器及び副生殖器に関し老令性の変化以外の病変はみとめられていない。このような慢性毒性試験における結果は或

る程度, 繁殖試験, 催奇性試験の成績にも反映していると考えられる。両試験において, LAS投与期間は慢性毒性試験に比し, はるかに短期間であり, LASの消長の速さを考えると, その成績からLAS毒性を示す結果を期待することは出来ないと思われる。また, すでに述べたように, LASが生殖器及び副生殖器に対する毒性効果のみとめられないことも, 投与期間の短さとともに繁殖成績, 催奇性試験の今回の結果として現われたと考えられる。さらに, LASが標的臓器の明確な特異的病変を示さないことは, もし, LASに催奇性がみとめられたとしても, 再現性のある特異的な奇形を得る可能性の弱いことが推察される。

以上のように, 今回の0.1%LAS投与による慢性毒性, 繁殖, 催奇性の各試験成績を総合的に考察し, 2~3の疑点は残すが, その毒性を肯定する明確な所見を得ることはできなかった。なお今後, LASの世代的観察(催奇性を含め)を行うとすれば, その消長の速さを考慮し, 生殖試験によることが, 効果的な結果が得られる思われた。また市販の合成洗剤の有害性をこの結果から判断するのは, その含有成分が多岐にわたるため, 困難な点が多いと考えられる。