ラットに及ぼす塩化ジフェニールの影響

九州歯科大学歯科薬物学教室(指導:吉村泰治教授)

黒木 賀代子・伊藤 嘉子・村上 雄次

(昭和45年3月20日受理)

THE TOXICANT EFFECT OF CHLORINATED DIPHENYL COMPOUND
UPON RAT

By

Kayoko KUROKI, Yoshiko ITOH, Yuji MURAKAMI

Department of Dental Pharmacology (Director: Prof. Taiji YOSHIMURA)

Kyushu Dental College, Kitakyushu, Japan

Because of the fact that chlorinated diphenyl compounds were originally developed as heat-exchanging medium for exclusive use in some processes of chemical industry, it is no wonder that there lacks any information with regard to its biological effect, much less with regard to human toxicity.

The present study was undertaken to examine the possible toxic effect of one of such compounds marketed under the name of Kanechlor when it was administered to rats orally for 10 to 20 days period in doses ranging from 2,500 ppm to 10,000 ppm in 0.5 ml of solution per day.

The results were summarized as follows.

1. The drug did not cause any one case of death among the total of 102 animals tested.
2. The animals failed to gain weight and showed poor appearance of hair and dullness of mobility.
3. The sucklings from mother rats given to compound likewise showed similar morbid symptoms reflecting contamination of breast milk with the compound.

緒 言

有機塩素剤の一種である塩化ジフェニール(商品名カネクロール)は本来化学工業における優れた熱媒体として開発され、使用されてきた物質である。したがって、熱媒体としての諸性質については検討されたが²⁾、人体に対する毒性についての関心は非常に薄かった。僅かながら、塩化ジフェニールを工業的に取扱う場合の労災基準として、空気中における許容量0.5~1 ppmという規定がある。しかし、その場合も、実際に中毒を起すのはこの数十倍ないし数百倍であろうと推定されている。

われわれは、この物質が経口的に摂取された場合にいかなる毒性を現わすかを調べるため、ラットを用いて下記のごとき実験を行なった。

成体ラットを用いた実験では、塩化ジフェニールを経口投与した場合に現われる種々の作用の観察と性別による差異を検討した。仔ラットを用いた実験では、発育成長に及ぼす影響を調べた。また、授乳ラットを用いた実験では、出産直後より塩化ジフェニールを経口投与した母ラットの観察と平行してその母ラットの母乳だけを摂取して成長している仔ラットに現われる影響を調べたことを目的とした。二、三の知見を得たので報告する。

実 験 方 法

1. 使用動物

実験にはラット(Wistar-King)を用いた。

1) 塩化ジフェニールを直接経口投与する実験には下記

のものを用いた。

①成体ラット（平均体重 232.5g, 生後 50～60日目の雌雄）

②仔ラット（平均体重22.5g, 生後14日目の雌雄）

2) 塩化ジフェニールを授乳ラットに経口投与して、その仔ラットへの影響を調べる実験には出産（第二回目）直後の母ラットで産仔数が6～13匹のものを選んで用いた。

2. 動物の飼育

実験に用いた動物はすべて約 20°C の室温において固型飼料（オリエンタルMF）と水を自由に与えて飼育した。

また、実験動物はこれらの条件下に少くとも一週間飼育して全く異常の認められないものだけを用いた。

ただし、仔ラットの場合は生後21日まで同腹仔と共にその母ラットの飼育箱にて母乳によって飼育し、離乳後は、固型飼料（オリエンタルMF）と水を与えた。

3. 実験に供した薬物

塩化ジフェニール（商品名カネクロール 400²⁾）は北九州市小倉保健所より提供されたものを使用した。

4. 薬物投与方法および用量

塩化ジフェニール溶液の調製には、溶媒としてゴマ油（第七改正日本薬局方品）を用いて濃度を 2,500 ppm, 5,000 ppm, 10,000 ppmの3種とした。

投与方法は上記の如く調製した薬物をピペットを用いて口腔内に注入し、自発的にえん下せしめた。注入した時期は、摂食活動の著しくない午後1時より4時までに行なった⁴⁾。

薬物の用量および投与期間は次の通りである。

	動物群	塩化ジフェニールの濃度	用 量	投与期間
実験1	成体ラット	10,000ppm	1日1回 0.5ml	16日間
実験2	仔ラット	2,500ppm	1日1回 0.5ml	10日間
		5,000ppm	1日1回 0.5ml	10日間
実験3	授乳ラット	10,000ppm	1日1回 0.5ml	20日間

5. 使用動物数

本実験における使用動物数は102匹であるがその内訳は次の通りである。

1) 成体ラットに対する経口投与実験では、雄2匹、雌2匹の計4匹を1群とした。

2) 仔ラットに対する経口投与実験では母ラットA,

B, Cの仔ラットの中から雌雄各一匹ずつをとり合計6匹となしこれを一群とした。

3) 授乳ラットに対する経口投与実験には出産直後の母ラット6匹を用いて実験した。

また、上記3)の実験に用いている母ラットの母乳を摂取して成長している仔ラットも実験観察の対象とした。

この実験の母ラットの産仔数は次の通りである。

対 照 群	母ラットD	産 仔 数	7 匹
	母ラットE	産 仔 数	13 匹
塩化ジフェニール投与群	母ラットF	産 仔 数	12 匹
	母ラットG	産 仔 数	9 匹
	母ラットH	産 仔 数	9 匹
ゴマ油（単味）投与群	母ラットI	産 仔 数	6 匹

6. 観察事項

1) 一般居動

動物の一般居動変化について投与後数時間の観察を毎日反復した。また、体重測定時および夜間における居動観察も行ない合わせて検討した。

2) 体重

個々の動物について隔日的に体重測定を行ない、投与開始日における体重との差、すなわち投与開始後の体重変化量を求めた。これより各投与群における平均値を求め比較に供した。

3) 眼所見

眼脂分泌、眼瞼、結膜および角膜の状態、開眼の状態を観察した。

4) 皮膚所見

皮膚および爪の変形、変色、皮疹の有無、発毛、毛の状態を観察した。

5) 外性生殖器所見

異常の有無、発育程度を比較した。

6) 歯牙の発育、歯肉の異状の有無をみた。

以上の観察事項のうち、3)～6)については、実体顕微鏡を用いて、毎日観察した。また、眼所見および口腔所見については専門医に検診を依頼した。

実 験 成 績

1. 一般居動

（実験1）成体ラットに10,000 ppm塩化ジフェニールを投与した場合

投与開始後2～3日目より運動性が鈍化した。この変化は夜間における観察において特に著しかった。また外

的刺戟に対する反応が僅かに弱くなったが、飼料および水の摂取量にはほとんど差がみられなかった。雌雄ラットの間に居動変化の差異は認められなかった。

(実験2) 仔ラットに2,500 ppm および5,000 ppm 塩化ジフェニールを投与した場合

いずれの投与群においても居動に関して異状は認められなかった。

(実験3) 授乳ラットに10,000 ppm 塩化ジフェニールおよびゴマ油を投与した場合

塩化ジフェニールを投与した授乳ラットおよびその母乳を摂取している仔ラットには、居動に関して異状は認められなかった。

なお、溶媒として用いたゴマ油投与群においては居動変化は全く認められなかった。

2. 体重

(実験1) 成体ラットに10,000 ppm 塩化ジフェニールを投与した場合

投与開始後の体重増加量を(表1)および(図1,

(表1) 成体ラットに1,000 ppm 塩化ジフェニールを投与した場合の体重増加量

経過日数		3	5	8	10	12	14	16
♂	対照群 平均値 (a')	18.5	29.0	42.5	52.5	61.0	68.0	78.0
	塩化ジフェニール投与群 平均値 (b')	10.5	24.0	30.5	37.0	42.0	42.5	48.5
	$\frac{b'}{a'} \times 100$ (%)	56.8	82.8	71.8	70.5	68.9	62.5	62.2
♀	対照群 平均値 (a'')	14.5	24.5	31.5	36.0	43.0	42.0	48.5
	塩化ジフェニール投与群 平均値 (b'')	8.0	11.5	14.0	14.0	17.0	18.5	20.5
	$\frac{b''}{a''} \times 100$ (%)	55.2	46.9	44.4	38.9	39.5	44.0	42.3
♂ + ♀	対照群 平均値 (a)	16.5	26.7	37.0	44.2	52.0	55.0	63.2
	塩化ジフェニール投与群 平均値 (b)	9.2	17.7	22.2	25.2	29.5	30.5	34.5
	$\frac{b}{a} \times 100$ (%)	55.8	66.3	60.0	57.0	56.7	55.5	54.6

図1 成体ラット (♂+♀) の体重変化

図2 成体ラット (♂) の体重変化

図3 成体ラット（♀）の体重変化

2, 3) に示した. 経過日数と共に投与群と対照群の体重増加量の差は大きくなる傾向を示し, 投与開始後16日目には投与群は対照群の54.6%となった. これを雌雄別に見ると雄ラットでは62.2% 雌ラットでは42.3%である.

(実験2) 仔ラットに2,500 ppm および5,000 ppm 塩化ジフェニールを投与した場合

投与開始後の体重増加量は(表2) および(図4)に

図4 仔ラットの体重変化

示した. 塩化ジフェニール投与群では, 6~7日目より影響が現われはじめた. 投与開始後10日目の体重増加量を対照群に比較すると, 2,500 ppm投与群では71.1%, 5,000ppm投与群では68.0%であった.

(表2) 仔ラットに 2,500 ppm 及び 5,000 ppm 塩化ジフェニールを投与した場合の体重増加量

投 与 開 始 後 日 数		3	5	6	8	10
対 照 群	平 均 値 (a)	3.0	6.3	9.1	13.4	19.4
	平 均 値 (b)	3.2	6.8	9.8	11.1	13.8
2,500 ppm 塩化ジフェニール投与群	$\frac{b}{a} \times 100 (\%)$	106.7	107.9	107.7	82.8	71.1
	平 均 値 (c)	3.6	6.3	8.2	8.8	13.2
5,000 ppm 塩化ジフェニール投与群	$\frac{c}{a} \times 100 (\%)$	120.0	100.0	90.1	65.7	68.0

(表3) 授乳ラットに 10,000 ppm 塩化ジフェニールを投与した場合の体重増加量

経 過 日 数	2	4	6	8	10	12	14
対 照 群 平 均 値 (a)	1.3	4.8	8.5	13.3	19.5	19.5	19.7
塩化ジフェニール投与群平均値 (b)	0	0.4	1.2	4.5	7.0	7.0	5.0
$\frac{b}{a} \times 100 (\%)$	0	8.3	14.1	68.8	35.9	35.9	25.4

図5 授乳ラットの体重変化

(表4) 10,000 ppm 塩化ジフェニールを投与したラットの母乳で育つ仔ラットの体重増加量

経過日数	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
対照群 平均値 (a)	0.8	3.1	6.0	9.0	12.7	16.3	19.5	22.5	24.9	30.8
塩化ジフェニール投与群 平均値 (b)	0.5	2.1	4.2	6.5	8.8	11.1	13.2	15.2	17.1	19.6
$\frac{b}{a} \times 100$ (%)	62.5	67.7	70.0	72.2	69.3	68.1	67.7	67.6	68.7	63.6

図6 授乳ラットに塩化ジフェニールを投与した場合の仔ラットの体重変化

(実験3) 授乳ラットに10,000 ppm塩化ジフェニールおよびゴマ油(単味)を投与した場合

出産日より塩化ジフェニールを投与した母ラットの体重増加量を(表3)および(図5)に示した。投与群においては体重増加が少なく、投与開始後10日目からは体重の減少がみられた。

また、塩化ジフェニールを投与した母ラットの母乳を摂取している仔ラットにおける体重増加量を調べた結果は、(表4)および(図6)の如くである。投与群の仔ラットは対照群の仔ラットに比べて体重増加が少なく、出産日より離乳前日の20日目において前者は後者の63.6%となっている。外見的にも投与群の仔ラットは明らかに体格が劣っている。

なお、ゴマ油を投与した授乳ラットおよびその母乳で成長した仔ラットの体重増加は対照群よりもわずかに良好であった。

3. 眼所見

(実験1), (実験2), (実験3)のいずれにおいても

眼脂分泌、眼瞼、結膜および角膜の異状は認められなかった。

4. 皮膚所見

(実験1) 成体ラットに10,000 ppm塩化ジフェニールを投与した場合

投与開始後、2～3日間を経過すると立毛が目立ち、毛の光沢がなくなった。その他の変化は認められなかった。

(実験2) 仔ラットに2,500 ppmおよび5,000 ppm塩化ジフェニールを投与した場合

2,500 ppm 投与群および5,000 ppm 投与群のいずれにおいても同程度の立毛が起り、体毛の光沢が失われ、黄色味を帯びてきた。

(実験3) 授乳ラットに10,000 ppm塩化ジフェニールおよびゴマ油を投与した場合

塩化ジフェニール投与群およびゴマ油投与群のいずれにおいても皮膚所見に関し母ラットには変化が認められなかった。

塩化ジフェニール投与群の仔ラットは発毛の状態が悪く、特にその影響は腹部の発毛に対して強く現われた。また、耳殻周辺には太く短い毛がまばらに生えた。

ゴマ油投与群の仔ラットにおいては皮膚所見に関し、異状は認められなかった。

以上のごとく（実験1）、（実験2）、（実験3）において体毛に対する塩化ジフェニールの影響は明らかに認められたが、その他の皮膚所見に変化は認められなかった。

5. 外性生殖器所見

成体ラットおよび授乳ラットにおける外性生殖器の異状は認められなかった。

仔ラットの外性生殖器の発育状態も対照群にほぼ一致しており、異状は認められなかった。

6. 口腔所見

成体ラット、授乳ラットおよび仔ラットにおいて歯牙の着色、歯肉および口腔粘膜の異状は認められなかった。また、仔ラットの歯牙発育に関しても変化は認められなかった。

7. 致死効果

2,500 ppm, 5,000 ppm, 10,000 ppm 塩化ジフェニール投与群およびゴマ油投与群のいずれにおいても致死例をみなかった。

考 察

有機塩素剤の一種である塩化ジフェニール（商品名カネクロール）は食品化学工業において熱媒体として使用されているが、この物質を急性中毒を起さしめない用量で一定期間経口投与した場合、その毒性を調べることが本実験の目的であった。そのため2,500 ppm, 5,000 ppm, および10,000 ppm 塩化ジフェニール溶液の0.5 ml/day を10ないし20日間ラットに経口投与して実験を行なった。この量を換算すると、成体ラットには約25 mg/kg, 仔ラットには25~125mg/kg, 授乳ラットには約20mg/kg, を1日量として投与したことになる。

これらの用量を10ないし20日間毎日経口投与した結果、全く致死例をみなかった。したがって、これは種々の中毒症状の観察を行なうには好都合な条件であったと言える。

各実験を通じて、一般居動、体重、眼所見、皮膚所見、外性生殖器所見、口腔所見の六項目をみた。

まず、塩化ジフェニールをラットに直接経口投与した結果について考えるに、一般居動の観察では、成体ラットにおいては、投与開始後2ないし3日目より運動性の

低下がみられた。これは特に夜間の活動期においては特に著しかった。しかし、仔ラットおよび授乳ラットにおいては、ほとんど変化は認められなかった。

体重の変化については、（実験1）、（実験2）、（実験3）において、投与開始日における体重と、投与開始後の体重との差を体重変化量として対照群と比較した。その結果、成体ラット、仔ラット、授乳ラットのいずれの場合においても、明らかに体重増加が抑制されたことがわかった。

各実験ごとに体重変化量については、対照群に対する薬物投与群の割合を求めていたが、その値を一括してグラフに表わしたものが（図7）である。図中、体重変化率とは、対照群の体重変化量を100とした時の各実験群の体重変化量である。したがってこのグラフにより、薬物投与による体重増加抑制の程度を各実験群の間で比較することができる。成体ラット、仔ラットおよび授乳ラットのうち、投与開始後直ちに強い影響の現われているのは出産直後の授乳ラットであった。これに比べて仔ラットでは、投与開始後4ないし6日目まで体重変化に関して影響は全く現われなかった。投与開始後10日間の体重変化を比較すると、どの実験群も体重増加は対照群の約70%にまで抑制されている。しかし雌ラットの場合の

図7 ラットに直接経口投与した場合の塩化ジフェニール投与群の体重変化

みは約40%となっており、より強く影響を受けていると考えられる。

皮膚所見については、実体顕微鏡を用いて皮膚の変色、皮疹の有無、爪の変形および変色、体毛の変化について観察を行なった。体毛の変化は、成体ラットおよび仔ラットに現われ、まず立毛が起り、体毛のつやが失われ、黄色を帯びてきた。この変化は投与開始後2ないし3日目より明らかとなった。その他の観察内容については変化はみられなかった。

眼所見、外性生殖器所見、口腔所見に関しては、いずれの実験においても変化は認められなかった。

以上のごとく 2,500 ppm ないし 10,000 ppm の塩化ジフェニールを経口投与した場合に明らかに認められた影響は、①運動性の低下 ②体重増加の抑制 ③体毛の変化であった。

また、授乳中の母ラットに塩化ジフェニールを投与した実験においてはその母乳を摂取している仔ラットについても同様の観察を行なったが、結果は次のとおりであった。

一般居動、眼所見、外性生殖器所見、口腔所見に関しては異状を認めなかった。しかし体重増加の抑制は、直接経口投与した仔ラットの場合と同程度に現われた。また、対照群の授乳ラットの仔に比べて発毛が遅れ、体格も劣り、発育状態が悪かった。

この差の原因として、授乳している母ラットの個体差や産仔数の差も挙げられると思うが、この実験結果より、消化器官より吸収された塩化ジフェニールが母乳中に分泌されてくることが疑われる。これを確かめるためには母乳中の塩化ジフェニールを化学的に証明する必要があると考える。

結 論

有機塩素剤塩化ジフェニールをラットに経口投与してその影響を検討した結果、次のような結論を得た。

2,500 ppm, 5,000 ppm および 10,000 ppm 塩化ジフェニールの 0.5ml/day を 10 ないし 20 日間ラットに経口投与した場合、

1. 実験に供したラット 102 匹中致死例はみられなかった。
2. ラットの体重増加が抑制され、体毛の異状、運動性の鈍化がみられた。
3. 眼所見、外性生殖器所見、口腔所見においては異状を認めなかった。

(本稿を終るにあたり、終始御懇篤なる御指導を賜った歯科薬物学教室吉村泰治教授、口腔病理学教室および病理学教室の諸先生、また臨床的見地より御助言を賜った第一口腔外科学教室平川正輝教授、外科学教室犬塚貞光教授、眼科専門医猪野新一郎先生に深謝の意を表わします。)

文 献

1. 桶口謙太郎；新皮膚学科学, 南山堂 (東京), (1968).
2. 鐘淵化学工業株式会社研究所；不燃性熱媒体カネクロール, 鐘淵化学工業 (大阪), (1965).
3. 食糧庁；植物油脂製造設備機械に関する資料, (1961).
4. 田辺堅三郎, 高折修二, 島本暉朗；5-n-Butyl-1-cyclo-hexyl-2, 4, 6-trioxoperhydropyrimidine (BCP) の毒性；日本薬理学雑誌, 63, 105—122, (1967).
5. 小山良修；動物実験手技, 215—236, 共同医書 (東京), (1958).