Linear Alkylbenzene Sulfonate の妊娠ラット, 胎仔ならびに新生仔に及ぼす影響

(昭和 50 年 10 月 7 日受理)

千葉 昭 二* 塩 原 正 一*
今 堀 彰* 北 川 富 雄*

Effects of Linear Alkylbenzene Sulfonate on Dam, Foetus, and New Born Rat

Shoji TIBA, Shoichi SHIOBARA, Akira IMAHORI and Tomio KITAGAWA

(Department of Public Health, Juntendo University School of
Medicine: 2-1 Hongo, Bunkyo-ku Tokyo)

Linear alkylbenzene sulfonate (LAS) was administered to pregnant rats in order to examine the embryotoxic and teratogenic effects.

Administration of LAS to rats during pregnancy did not give remarkable effects in groups feeded with 0.1 and 1.0% LAS diet.

No significant difference was found in external and internal abnormalities of the fetuses between the administered and control groups.

No deleterious effects were observed on delivery and lactation as well as on development of new-born until 5 weeks after parturition.

Skeletal abnormalities, to be due to LAS administration, were not observed in all groups.

The results of this study suggest that there was no conclusive evidence of teratogenic effects, assumed due to LAS administration, even in 1.0% LAS diet group.

(Received October 7, 1975)

緒 言

1965年頃から生分解率の高い直鎖型のアルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム (LAS) が、合成洗剤の主流を占めるようになったが、その使用量の増加とともに、LAS の安全性に関しても注目されるようになった。

著者¹⁾は、2年間にわたる慢性毒性試験によって、その毒性の少ないことを確かめた。近年に至り、LAS の催奇性作用についても、内外の研究報告が数多く発表され、繁殖性試験ならびに実験奇型学的試験の立場から検討がされている。繁殖性試験については、Bornman ら²⁾が、0.01%水溶液としてラットに投与し、親、子、孫の3世代にわたり観察、Buehler ら³⁾は 0.5% 食餌をラットに投与し、親、子、孫、ひ孫の4世代にわたり観察して、その結果いずれも奇形の発生を認めていない。実験奇型学的試験についても、Palmer ら⁴⁾が、ラットその他の

動物に胃ゾンデによる投与を妊娠6日より15ないし16日目まで続けた結果、催奇形性を認めていない。

また LAS を実験動物に皮膚塗布した催奇形性試験についても、梶田ら⁵⁾のほか、多くの実験報告がなされている。

そこで、胃ゾンデの強制投与による機械的刺激をさけ、実験報告の少ない、生体に入る機会の多い食餌に混入する方法によって、LAS を妊娠ラットに妊娠期間中、与えることにより、母体、胎仔、ならびに新生仔に及ぼす影響について検討したので報告する。

実験方法

LAS 検体は40.68%の水溶液を用い、実験動物としては、SD-JCL ラット (体重 230 g 前後) 生後12週令以上のものを用い、雌はすべて未経産のものを使用した。

雌雄動物は1夜同居交配させ、翌朝、膈垢中に精子を認めたものを妊娠0日とし、妊娠動物を対照群と検体投与群とに分け、その後の実験に当てた。

* 順天堂大学医学部：文京区本郷 2-1

検体の投与は、食餌に混入して与えた。すなわち、LAS をそれぞれ0, 0.1, 1.0%の割合で含有する CA1 固型飼料（日本クレア製）を作り、妊娠0日より20日目まで自由に摂取させた。その他の期間は普通飼料（CE2）を与えた。

胎仔への影響を観察するため、ラットの各群16匹中10匹は、妊娠21日目にクロロホルムガスにてと殺、その胎仔を摘出し、摘出胎仔の外形ならびに臓器の肉眼的観察後、骨格標本となし、他の育成仔は、生後35日間のは育を行い、生態観察の後、病理学的検索を行った。骨格標本では、頭骨、頸椎、胸椎、肋骨、腰椎、仙椎、腸骨、坐骨、上腕、前腕、中手骨、大腿骨、脛骨、腓骨、中足骨、尾椎、胸骨体に分けて検討した。

実験結果

妊娠中に LAS を食餌に混入した際、主として胎仔に及ぼす検体の影響を観察する実験では、各群とも10匹ずつ用いた。また妊娠期間中の LAS 投与の新生仔に及ぼす影響を観察した実験では、対照群では5匹、投与群では各々6匹を用いた。

1) 胎仔摘出実験

a) 妊娠母体に及ぼす影響

LAS を各種濃度に含有する食餌で妊娠ラットを飼育した場合の体重の推移は Table 1 に示したように、

LAS 投与群と対照群との間には差を認めず、順調な体重増加が観察された。

0.1% 投与群では、むしろ対照群よりも順調な体重の増加がみられた。この間、下痢などの胃腸症状を含め、自発運動その他の生態観察にも異常症状を認めず、死亡例もなかった。

食餌摂取量は、各群に差を認めず、1日当たり24~26 g 前後であった。食餌効率を求めたところ、1.0%群は、対照群の90%とわずかながら低い値を示した。

これら妊娠ラットを21日目にと殺して得られた成績を Table 2 に示した。まず、胎仔を含む子宮重量は対照群では 70 g, LAS 投与群では、対照群との間にほとんど差を認め得なかった。また卵巣の検査により黄体数を求めたところ、各群とも対照群と差がなく、14.3であった。胎仔摘出後の子宮内壁の検査より求めた着床数ならびに着床率の間にも同様に LAS 投与による対照群との差はなく、各々12.6および88.1%であった。このことから LAS 1.0%投与群以下では、着床の阻害は起らないことを認め得た。また、胎盤重量の対照群は 0.57 g で他の投与群との差も認められず、その遺残物も、LAS 1.0%群に1例認めただけであった。

また母体の臓器には、特に記すべき所見のみられるものはなかった。

Table 1. Effect of Dietary LAS Administration on Body Weight Changes and Food Consumption in Pregnant Rats

Concn. of LAS (%)	No. of rats	Days of pregnancy					Food intake (g/day)	Food efficiency
		0	5	10	15	20		
0	10	235±7.5	249±7.9 (6.0)	263±10.5 (11.9)	303±10.1 (28.9)	351±12.1 (49.4)	24.2	24.0
0.1	10	241±7.1	257±7.6 (6.6)	279±8.2 (15.8)	315±9.1 (30.7)	383±10.7 (58.9)	26.4	26.9
1.0	10	243±6.2	252±6.9 (3.7)	269±6.8 (10.7)	300±7.0 (23.5)	356±8.6 (46.5)	26.2	21.6

Numerals in parentheses indicate gain ratio (%) of body weight to 0 day values

* As grams of weight gained per 100 g of food eaten.

Table 2. Effect of Dietary LAS Administration on Pregnant Rats

Concn. of LAS (%)	0	0.1	1.0
No. of rats	10	10	10
Uterus weight (g)	69.9±3.7	73.2±5.3	70.6±4.2
No. of corpora lutea	14.3±1.1	14.3±1.1	14.3±0.5
No. of implantation	12.6±0.7	12.6±1.1	12.6±0.9
Placenta weight (g)	0.57±0.01	0.62±0.01	0.58±0.01
Retention	0	0	1 (0.8)
Rate of nidation (%)	88.1	88.1	88.1

Numerals in parentheses indicate the ratio (%) to total implants.

b) 胎仔に及ぼす影響

Table 3 に示したように、妊娠21日目に母体各群10匹ずつより得られた胎仔のうち、生存数は LAS 0.1% 群では対照群と同数で125例あり、1.0%群でも121例とわずかに少ない程度であった。総着床数に対する比率でも投与群は、対照群と大差を認めなかった。また摘出時に測定した胎仔体重、体長、および尾長の値は、対照群に比して各群ともほとんど差を認めなかった。

また死亡胎仔数は、1.0% 群で2例認められたが、剖検時浸軟胎仔とされたものであった。外形奇形の検査では、1.0% 群に1例内臓脱が出現したが、有意差はなかった。

これらの結果から、母体に LAS 1.0% 投与群で、対照群に比べてわずかながら胎仔の死亡増加傾向がみられたが、有意ではなく、本実験の投与量では、胎仔の発育抑制や死亡に著しい影響は認め得なかった。

2) 育成実験

妊娠中の LAS 含有食餌投与のラット母体に及ぼす影

響は、胎仔摘出実験にみられたと同様に、各群の間に差異はなく、順調な体重増加を示し、下痢などの胃腸症状、自発運動その他、異常症状を示さなかった。

Table 4 に示したように、各群ラットの妊娠期間は22日で、LAS 投与が妊娠の維持と持続に影響を与えとは考えられなかった。新生仔数では1.0%群が8.3匹と低い値を示し、5週間ほ育を行った後の生存例数からは育率を計算したが、1.0% 群では78.3%と対照群との間に、わずかながら有意の差を認めた。しかし、Table 5 に示したように生後35日までの LAS 投与各群母体より得られた新生仔の体重増加傾向では、対照群と大差なく、むしろほ育3週までは、1.0% 群が高率を示しており、これらの結果から、LAS の妊娠ラットへの投与は、分べんその後のほ乳と新生仔の育成に特に著しい影響を及ぼすとは考えられなかった。

生後35日に新生仔全例について、触覚、痛覚、視聴覚、回転棒を用いる平衡感覚、傾斜ガラス板を用いての筋強直や、まひの有無についての定性的機能検査を行っ

Table 3. Effect of Dietary LAS on Embryonic Development in Rats

Concn. of LAS (%)	0	0.1	1.0
No. of dams	10	10	10
Live fetuses			
Litter size			
Total	125 (100.0)	125 (100.0)	121 (98.4)
Average	12.5±0.7	12.5±1.1	12.1±0.9
Body weight (g)	3.65±0.03	3.76±0.04	3.78±0.03
Body length (cm)	3.62±0.02	3.56±0.02	3.64±0.02
Tail length (cm)	1.41±0.01	1.40±0.01	1.48±0.01
Dead fetuses			
No. of dead litters	0	0	2 (1.6)
No. of resorbed	0	0	2
No. of dead	0	0	0
No. of malformed	0	0	1

Numerals in parentheses indicate the ratio (%) to total implants.

Table 4. Effect of Dietary LAS Administration during Pregnancy on Weaning of Rats

Concn. of LAS (%)	0	0.1	1.0
No. of dams	5	6	6
Duration of pregnancy (day)	22.2±0.5	21.7±0.2	22.2±0.4
Litter size			
New born	9.2±1.5	9.8±1.2	8.3±1.2
Weaned	9.2±1.5	9.3±1.1	6.5±2.7
Male	4.6±0.9	6.0±1.2	2.8±0.7
Female	4.6±0.7	3.3±0.6	3.7±0.8
Weaning rate (%)	100.0	94.9	78.3

Table 5. Effect of Dietary LAS Administration during Pregnancy on Body Weight Change in Weaning Rats

Concn. of LAS (%)	Days after delivery						
	5	10	15	20	25	30	35
0	12.3±0.3	20.5±0.6 (16.7)	30.3±0.8 (24.6)	42.3±1.5 (34.4)	63.9±1.7 (52.0)	91.1±3.1 (74.1)	121.8±3.8 (99.0)
0.1	11.1±0.2	18.8±0.5 (16.9)	26.9±0.6 (24.2)	38.5±0.9 (34.7)	57.1±1.4 (51.4)	80.4±1.6 (72.4)	100.0±2.9 (90.1)
1.0	11.9±0.2	18.9±0.7 (15.9)	30.0±1.3 (25.2)	42.2±1.8 (35.5)	61.2±2.5 (51.4)	86.8±3.4 (72.9)	111.7±4.0 (93.9)

Numerals in parentheses indicate gain ratio (%) of body weight to 5 day values.

Table 6. Effect of Dietary LAS on Organ Weights of Male and Female Offspring in Rats

No. of dams	Concn. of LAS in diet (%)					
	0		0.1		1.0	
	5		6		6	
No. of offspring examined	Male	Female	Male	Female	Male	Female
	23	23	36	20	17	22
Body weight	128.4±5.24	111.5±5.26	102.9±3.92	94.6±4.07	119.2±6.36	105.9±4.77
Brain	1.57±0.09	1.51±0.11	1.51±0.18	1.49±0.11	1.61±0.18	1.50±0.13
Heart	0.63±0.11	0.56±0.13	0.56±0.11	0.47±0.06	0.59±0.14	0.53±0.09
Lung	0.95±0.14	0.89±0.22	0.97±0.18	0.79±0.09	0.89±0.15	0.81±0.14
Liver	6.99±1.37	5.96±1.42	5.51±1.07	5.29±0.53	6.04±1.37	5.37±1.08
Spleen	0.68±0.19	0.51±0.17	0.48±0.14	0.44±0.08	0.51±0.08	0.45±0.07
Kidney	1.49±0.26	1.26±0.31	1.27±0.20	1.11±0.09	1.32±0.31	1.13±0.23
Adrenal*	37.87±9.32	39.74±15.10	28.21±6.80	30.45±5.09	25.41±10.00	27.32±6.80
Testis	1.17±0.23		1.10±0.17		1.06±0.21	
Uterus		0.22±0.09		0.22±0.11		0.22±0.09
Ovary*		59.91±19.98		51.55±15.26		55.82±17.26

Numerals in the table indicate average weight±S.E. in g and *indicate weight in mg.

たが、いずれも対照群のラット同様に異常を認めなかった。

生後36日に新生仔全例をクロロホルムガスでと殺し、内臓の形態異常につき検討した。Table 6 に体重、臓器重量の変化を示した。生後5週間の新生仔では、各群とも雌雄間に体重の差は認めにくく、各臓器重量の各群の間に著しい差がみられず、LAS の妊娠中の母体への投与がその新生仔の発育と臓器重量に影響を及ぼすと考えられる結果は得られなかった。

臓器の所見としては、各群に共通してみられた肺炎、肺膿瘍の所見以外に、肉眼的に異常を認めず、LAS による奇形発現は認めがたいとの結果を得た。さらに組織学的検索を行ったが、肺の気管支炎、肺炎像と肝における胆管周囲の小円形細胞浸潤などの所見が、対照群を含

めて各群に認められたほかは、特記すべき変化はなかった。

3) 骨格所見

摘出胎仔の外形観察を終えた後、高濃度(95~99%)アルコールで7日間固定し、Dawson 氏法⁹⁾による骨格透明標本を作成して骨格の観察を行った。その結果をTable 7 に示してある。

頸肋は対照群と0.1%群に1例ずつ認められた。胸骨体については、典型的な形として第2、第5が比較的小さく染まるが、この部分の欠損、変形などの変化を認めることが多く、このような所見のみられたものを算定した結果である。中手骨では、左右とも3個が多く、中足骨では、左右とも4個で、3個のものは1例も認めなかった。尾椎では表にみられるように化骨数では3個が最

Table 7. Effect of Dietary LAS on Skeletal Development in Fetal Rats

Concn. of LAS in diet (%)	0	0.1	1.0
No. of dams	10	10	10
No. of fetuses	125	125	121
No. of fetuses examined	123	121	117
No. of fetuses with anomalies			
Cervical vertebrae	0	0	0
Thoracic vertebrae	0	0	0
Lumbar vertebrae	0	0	0
Rib	0	0	0
Cervical rib	1	1	0
Thoracic extremity			
Humerus	0	0	0
Radius	0	0	0
Ulna	0	0	0
Pelvic extremity			
Ilium	0	0	0
Ischium	0	0	0
Femur	0	0	0
Tibia	0	0	0
Fibula	0	0	0
No. of fetuses with lacked or deformed sternebrae	99(80)	82(68)	85(73)
No. of metacarpus			
Left 3	85(69)	86(71)	82(70)
4	38(31)	35(29)	35(30)
Right 3	85(69)	86(71)	82(70)
4	38(31)	39(29)	35(30)
No. of metatarsus			
Left 3	0	0	0
4	123(100)	121(100)	117(100)
Right 3	0	0	0
4	123(100)	121(100)	117(100)
No. of coccygeal vertebrae			
1	5(4.1)	2(1.7)	0
2	24(19.5)	43(35.5)	25(21.4)
3	80(65.0)	73(60.3)	70(59.8)
4	12(9.8)	3(12.5)	22(18.8)
5	2(1.6)	0	0
6	0	0	0
No. of fetuses with 14 ribs	13(10.6)	3(2.5)	13(11.1)

Numerals in parenthese indicate the ratio (%) to the fetuses examined.

も多く、次いで2個、4個の順であった。14肋骨の胎仔数では、対照群と1.0%群が多く同数例認め、0.1%群が少なかった。

以上、LAS 1.0%以下の投与では、変形や化骨進行度において対照群との間に有意の差を認めなかった。

考 察

著者¹⁾のLAS水溶液投与による急性毒性試験ならびに慢性毒性試験の結果から、LAS 0.1%濃度では、雄性ラットに2年間与えても中毒所見を認めることができなかった。妊娠ラットでは1.0% LAS添加飼料を与えて、その発育と催奇性を検討した。

いずれの群においてもLAS添加飼料の摂取量は平均して1日24~26gとなり、LAS摂取量は1.0%群で約780 mg/kgに相当し、LD₅₀の約1/3量連日投与したことになる。その結果、下痢を含めた胃腸症状、自発運動その他の異常症状も認めなかった。さらに、ラットの妊娠の成立とその維持および着床に影響もみられず、分べんまでの母体の死亡例もなかった。母体より21日目に摘出した胎仔の検査でも、生存例は1.0%群が他の群よりわずかに少なく、着床率においては対照群と著しい差はなかった。また、胎仔の発育状態も各群に差を認めなかった。遠藤ら⁷⁾は、催奇形性検定においてはlitter

effect が存在すると報告しているが、母獣単位での検定によっても有意差は認めなかった。

また、死亡胎仔数は1.0% 群で2例認められたが有意ではなかった。これらの結果から、本実験の投与量では胎仔の発育や死亡に著しい影響は認め得なかった。

外形奇形の検査では1.0% 投与群に1例の内臓脱が認められたが、村上⁸⁾、鈴木⁹⁾らは無処置動物の外形異常としてよくみられるものと報告しているように、特に有意のものとは考えにくい。

生後35日間の育生仔の観察でも、その発育に影響はみられず、摘出胎仔の骨格標本を観察した結果でも、14肋骨や脛肋などがみられたが、堀内¹⁰⁾もこれらの所見は、50%以上しばしばみられるもので解剖学的変異と考えられていると述べているとおり、特に有意とは認めにくい範囲のものであった。

以上より、本実験の範囲内では妊娠ラットへの LAS 投与により、母体の妊娠の成立、維持および分べんにわたる期間、ならびにその胎仔と新生仔の発育にも顕著な悪影響を与えず、催奇形作用も認められなかった。

総 括

SD-JCL 系の妊娠ラットに妊娠期間中、0, 0.1, 1.0% の割合に LAS を添加した CA1 固型飼料を摂取させ、妊娠母体、母体内の胎仔、および新生仔に及ぼす影響について検討し、次の結論を得た。

1) 妊娠成立と同時に LAS 添加飼料を投与したが、母体の発育、妊娠の維持、分べんに著しい影響はみられなかった。

2) 妊娠末期の胎仔および新生仔の35日間のは育実験でも、LAS 添加1.0%以下の投与では、発育障害や外形および内臓奇形などの影響はみられなかった。1.0% 群

の胎仔に1例の内臓脱がみられが、LAS 投与に由来する変化とは認めにくいものであった。

3) 骨格の観察や病理組織学的検査でも、母体および胎仔に LAS 投与に由来すると考えられる所見は見いだし得なかった。

これらの知見から、妊娠ラットへの LAS 食餌投与による、母体および胎仔に臓器障害や催奇形作用は、きわめて少ないものと推察された。

終わりに臨み、ご校閲を賜った小谷新太郎教授ならびにご指導下さった病理学教室高木俊孝助教授に深謝致します。

文 献

- 1) 千葉昭二：食衛誌. **13**, 509 (1972).
- 2) Bornman, G., Loeser, A.: Fetter-Seifen Anstrichmittel, **65**, 814 (1963).
- 3) Buehler, E.V., Newmann, E.A., King, W.R.: Toxicol. Appl. Pharmacol., **18**, 83 (1971).
- 4) Palmer, A.K., Readshaw, M.A., Neuff, A.M.: Toxicology., **3**, 91 (1975).
- 5) 榊田文八, 岡本暉公彦, 井上邦夫：食衛誌. **14**, 580 (1973).
- 6) Dawson, A. B.: "Note on the slaying of the skeleton of cleared specimens with alizarin red S." Stain Technol, **1**, 123 (1962).
- 7) 遠藤 晃, 島田隆道：日衛誌. **30**, 202 (1975).
- 8) 村上氏広, 亀山義郎："出生前の医学" p. 206 (1968) 医学書院.
- 9) 鈴木義雄：同上, p. 360 (1968) 医学書院.
- 10) 堀内茂友：薬理と治療, **2**, 6 (1974).