

原 著

Studies on Six Months on Chronic Toxicity of ALTOSID Technical in Rats. Koichi NAGANO, Kazuya KAWANO, Tsuneco OTSUKA, Masayuki OKABE, Eiko SHIBAOKA and Hiroshi NISHINO (Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd. Kagasuno 463-10, Kawauchi-cho, Tokushima 771-01)

Received Nov. 19, 1976. *Botyu-Kagaku*, 42, 63, 1977. (with English Summary 74)

8. アルトシッド原体のラットにおける6カ月間慢性毒性試験 永野耕一, 河野一弥, 大塚恒夫, 岡部政行, 柴岡栄子, 西野広 (大塚製薬株式会社徳島工場第3研究所) 51. 11. 19受理

アルトシッドの6カ月間慢性毒性試験を SPF の Sprague-Dawley ラット (日本クレア) の雌雄動物を用いて行なった。本検体の飼料中濃度を 0, 80, 400, 2000 及び 10000ppm の5段階に設定し、動物に投与した。実験期間中、雌雄の 10000ppm 群では明らかな体重増加抑制、摂餌量の低下がみられたが、食餌効率の低下はなかった。2000ppm 群では、雌に死亡例が1例あったが、薬物投与による特異的な変化は軽度であった。病理組織学的検索では、2000ppm 以上の濃度群に肝臓の実質細胞の退行性変化がみられ、用量あるいは生化学的検査成績とも関連が認められた。これらの検査成績にもとづいて、最大無作用量は、6カ月間摂食後で飼料中 400 ppm, 体重換算 20mg/kg/day であった。

はじめに

従来の有機合成農薬の広範囲の使用は、農業の生産性を著しく高めた反面、人畜への中毒、益虫・天敵の殺滅、さらに農作物への残留など環境汚染を含め社会的な問題を引き起している。そこで選択性のある新しい低毒性害虫防除剤の開発が急務とされている。

この目的のために作られた昆虫ホルモン系害虫防除剤は、哺乳動物と昆虫における生理・生化学的相違を利用した新規殺虫剤の一つであり、昆虫に特有な変態を制御しているホルモンの攪乱させることにより防除効果をあげようとするものである。

アルトシッドは米国ゾエコン社で合成された幼若ホルモン類似化合物で、強力な幼若ホルモン活性を有するといわれている¹⁾。さらに哺乳類に対して特異な薬理作用を有していない²⁾。

本研究はアルトシッドの殺虫剤としての開発における哺乳類に対する安全性評価の一環として実施されたものである。

供 試 検 体

アルトシッド原体は米国のゾエコン社から提供されたものであり (Lot. No. 060054)、純度94.7%で常温では油状を呈している。化学名及び構造式は下記に示す通りである。

実 験 方 法

実験動物に SPF の Sprague-Dawley ラット (日本

クレア) を供した。実験開始時、生後7週齢の雌雄動物を各群24匹ずつ総計120匹用いた。動物は1ケージに2匹飼いとし、餌と水を自由に摂取させた。飼育環境はバリアシステムとし、室温 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 、相対湿度 $50 \pm 5\%$ 、照明を5時から19時までの14時間とした。

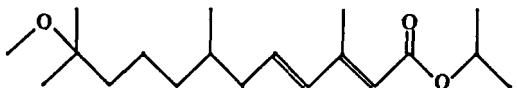
検体混合飼料は 120°C 30分間滅菌した繁殖用オリエンタル粉末飼料にオリーブ油に検体を5%になるように混入して作成し、それぞれの群に25週間与えた。検体濃度は、亜急性毒性試験の成績を参考として、0, 80, 400, 2000 及び 10000ppm に設定した。

体重、摂餌量及び摂水量は週に1回ないし2回測定した。最終投与日に新鮮尿を用いて尿検査を行なった。翌日、動物はエーテル麻酔下で血液学的検査のために尾静脈より採血し、さらに生化学的検査のために開腹して後大静脈より採血後屠殺した。肉眼的病理観察後、臓器は重量を秤量し、10%中性ホルマリン液に固定した。

尿検査にはラブスティクス試験紙 (日本エームス社) を用いて、pH、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体及び潜血の検査を行なった。

血液学的検査には、赤血球、白血球及び血小板数 (TOA-Microcell counter)、ヘマトクリット値 (超

Isopropyl-11-methoxy-3,7,11-trimethyl-2,4-dodecadienoate



M.W. 310

Table 1. Changes in average body weight for rats fed various dietary levels of ALTOSID technical for 6 months

Sex and Treatment		Body weight (grams)																									Total gain	
		Initial	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Week of study	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23		24
Male	0 ppm	214	276	308	337	368	403	424	442	447	461	471	481	498	508	519	528	537	548	559	553	560	572	578	588	579	596	382
		13	14	13	18	19	21	22	24	27	26	26	31	32	29	31	33	34	35	33	39	42	42	40	39	25	40	37
	80	216	278	311	341	365	407	425	442	456	467	475	488	510	506	514	519	528	538	555	559	566	575	572	579	586	603	387
		12	14	16	16	25	22	22	28	26	24	21	23	27	22	23	26	35	27	28	32	33	34	34	35	38	36	42
	400	217	282	285	335	365	417	439	439	449	459	471	481	495	499	508	507	506	520	536	542	548	551	556	565	574	580	363
		11	14	14	14	16	18	22	22	22	27	29	36	44	51	59	64	73	69	66	62	64	63	66	67	67	71	79
	2000	216	276	275	324	353	386	392	409	425	444	450	459	483	485	495	498	505	516	519	521	528	534	537	543	540	555	339
		12	18	28	23	25	29	26	28	35	33	35	34	41	39	46	48	50	52	60	63	57	61	59	72	74	71	66
10000	215	265	279	310	327	361	376	393	393	413	410	432	445	451	452	456	469	472	485	490	496	501	502	511	513	523	308	
	12	11	12	12	18	15	16	12	13	13	18	16	16	16	14	16	14	15	24	18	21	23	27	24	24	29	36	
Female	0 ppm	159	182	196	209	219	231	235	244	248	256	260	270	270	284	288	288	301	302	308	310	310	304	311	314	320	325	166
		7	9	10	13	15	14	13	14	14	16	17	17	18	21	21	22	19	21	23	27	27	24	23	31	33	34	33
	80	160	182	190	210	223	238	246	257	263	272	277	284	289	283	288	288	295	297	304	304	309	313	312	313	318	319	159
		10	12	12	14	16	17	16	20	21	26	27	31	31	30	30	29	30	30	31	35	34	36	37	42	40	42	38
	400	162	187	196	212	224	237	244	251	259	268	264	278	283	282	286	287	291	289	303	301	305	302	307	313	318	318	156
		8	9	10	12	13	14	13	15	17	18	20	19	21	21	23	20	22	36	26	27	29	38	40	37	37	41	39
	2000	164	184	195	212	223	232	242	247	256	261	260	269	273	266	268	264	277	286	290	292	295	299	298	302	302	303	139
		9	10	11	11	12	12	14	18	16	14	16	15	17	21	29	44	11	22	21	22	21	22	20	22	23	24	16
10000	163	175	184	193	208	216	224	229	232	237	237	246	248	250	251	251	251	260	265	265	267	268	268	270	273	273	110	
	13	15	15	10	15	15	15	14	16	16	16	16	20	20	19	20	19	18	21	19	20	21	20	21	21	23	18	

遠心毛細管法), ヘモグロビン濃度 (Cyan methemoglobin) 及び白血球百分率 (May grönwald Giemsa 塗抹標本) を検索した。

生化学的検査には生化学自動分析装置 (日本電子 JCA-N6C4R) を用いて, 血漿中の GOT, GPT, LDH, 血糖, 総ビリルビン, アルカリフォスファターゼ, 総コレステロール, 総蛋白質, A/G比を, さらに手法で Na, K (炎光法), Ca (OCPC 法), 無機リン (Fiske-Subbrow 法), Cl (Shales-shales 法) 及び尿素窒素 (ユニグラフ) を測定した。

脳, 下垂体, 甲状腺, 心臓, 肺, 胸腺, 肝臓, 腎臓, 脾臓, 副腎, 生殖腺及び大腿三頭筋の重量を測定した。病理組織学的検査は上記の臓器に加え, 脾臓, 胃, 腸, 口腔腺, 眼球, 副生殖腺及び大腿骨と胸骨の骨髓について行なった。なお固定した臓器はパラフィン包埋, 薄切し切片作製後ヘマトキシリン・エオジン染色を行なった。

数値は平均値と標準偏差で示し, 各濃度群と対照群との比較は一元配置による分散分析法を用いて行ない, 有意差を 5% と 1% の危険率で示した。

実 験 結 果

1. 一般症状及び死亡率

2000ppm 群の雌に投与開始後16週目に1例死亡例を認めた。この動物は投与開始後12週目まで他の動物と同様な成長曲線を示したが, 13, 14週と著しい体重減少がみられ, 15週目に元に回復後死亡したが, 同一ケージ内に飼育していた動物に友食いされ, その詳細は不明であった。その他各濃度群の動物では一般症状に特に異常を認めなかった。

2. 体重変化

体重の変化を Table 1 及び Fig. 1 に示した。10000ppm 群では雌雄共に全期間に渡って著明な体重増加抑制がみられ, 実験期間中の体重増加の割合は雄で対照群の約 80%, 雌で約 65% と少なかった。2000 ppm 群でも軽度の体重増加抑制の傾向を示したが, それ以下の濃度群では対照群とほぼ同様な値を示した。

3. 飼料摂取量及び薬物摂取量

1日1匹あたりの摂餌量と実験期間中の総摂餌量を Table 2 に示した。各投与群の1日1匹あたりの摂餌量は雌雄いずれも実験期間中はほぼ一定で, 雄約 20g, 雌約 15 gであった。1匹あたりの総摂餌量は 80ppm 群では対照群とほぼ同量であったが, それ以上の濃度群では投与濃度が高くなるほど少ない傾向があった。

1日の体重 1kg あたりの薬物摂取量と実験期間中の1匹あたりの総薬物摂取量を Table 3 に示した。雌雄共にいずれの投与群でも薬物摂取量は投与後1週目が一番多く, それ以降漸次減少の傾向があった。実

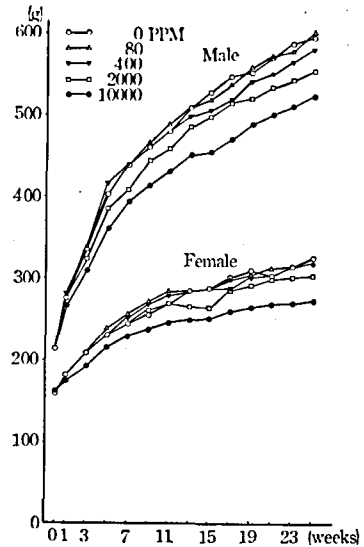


Fig. 1. Changes in body weight for rats fed various dietary levels of ALTOSID technical for 6 months.

験期間中の平均薬物摂取量は 80, 400, 2000 及び 10000 ppm 群で, それぞれ雄 3.8, 18.2, 92.9 及び 485.5mg/kg/day, 雌 4.6, 22.8, 111.6 及び 556.7mg/kg/day であった。さらに各投与群の1匹あたりの総薬物摂取量はそれぞれ雄 0.31, 1.44, 7.07 及び 34.80g で, 雌 0.21, 1.05, 4.95 及び 22.90g であった。

4. 食餌効率

餌 1g に対する体重増加度から食餌効率を求め, Table 4 に示した。雌雄共に各濃度群とも食餌効率は多少バラツキがみられたが, 実験開始直後高く, 漸次減少の傾向があった。しかしながら, いずれの投与群においても, 対照群とほぼ同様な食餌効率を示した。

5. 飲水量

1日1匹あたりの飲水量を Table 5 に示した。雌雄共に各濃度群の飲水量は実験期間中多少バラツキがみられたがほぼ一定であり, 各投与群間に著しい差はなかった。

6. 尿検査

尿検査成績を Table 6 に示した。ブドウ糖, 潜血反応は全て陰性であった。pH は全例 5 から 8 の範囲内に入っていたが, 各濃度群で明らかな傾向はみられなかった。ケトン体が雄では 400ppm 群に12例中に1例, 2000ppm 群に4例, 10000ppm 群に1例, 雌では 10000ppm 群にのみ3例みられた。蛋白質は雄で + から ++++, 雌で + から ++ の範囲内を示し, 雄の方が全般的に高い傾向があったが, 投与濃度による明らかな傾向はなかった。

7. 血液学的検査

血液学的検査成績を Table 7 に示した。雌雄共に各投与群の赤血球数、白血球数、血小板数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度及び白血球百分率に明らかな傾向もなく、また対照群との間に有意の変化のある項目は認められなかった。

8. 生化学的検査

生化学的検査成績を Table 8 に示した。各投与群で対照群との間に有意の変化を認めた項目は、雄では低値を示した 80ppm 群のナトリウム及び 2000ppm 群の血糖と高値を示した 10000ppm 群のアルカリフォスファターゼであり、雌では低値を示した 2000ppm と 10000ppm 群のトリグリセライドのみであった。投与濃度の上昇に伴ない高値を示す傾向にあった項目は、雄で A/G 比、アルカリフォスファターゼ、無機リン、雌で総コレステロールであった。逆に低値を示したものに、雄のトリグリセライドと総蛋白質、雌では LDH とトリグリセライドがあった。なお、GOT, GPT, LDH などにおいて、雄が雌に比べ各群に少数例ずつ、高値を示す個体がありバラツキが大きかった。

9. 解剖所見

10000ppm 群では腹腔内の脂肪組織が少なく、肝臓に軽度の腫脹があったが、その他に著変を認めなかった。その他の群では特に異常と思われる所見は得られなかった。

10. 臓器重量

臓器の湿重量とその体重比を Table 9 および 10 に示した。

雌雄共に 10000ppm 群では、体重増加抑制があったため、多くの臓器湿重量は対照群に比べ幾分低値を示した。しかしながら、雌雄共に脳の湿重量はほぼ対照群と同値を示し、また雄の肝臓及び腎臓、雌の肝臓と下垂体は対照群に比し高い値を示した。これらのうち、対照群との間に有意の変化があったのは雌の肝臓のみであった。その他の群では湿重量に著しい変化はなかった。

体重比において、有意の変化がみられたのは 10000ppm 群のみであった。すなわち、雄の脳、肝臓、腎臓及び精巣と雌の脳、下垂体及び肝臓がそれぞれ高値を示した。

11. 病理組織学的所見

全例の病理組織学的検索の結果、本検体投与により、雌雄共に肝臓の実質細胞に退行性変化を、また雄のみに腎臓尿管の荒廃をみたが、他の臓器には雌雄共に特異的变化をなら認めなかった。

肝臓の変化は、80ppm 群では全く認められなかったが、400ppm 群では極く軽微な変化を示すものが数

例あり、2000ppm 群ではほぼ全例に軽度の変化がみられた。10000ppm 群の変化は顕著で、肝細胞のびまん性の混濁腫脹、肝細胞索の配列不明瞭化を認めた。

雄の腎臓では、尿管管腔の拡張、上皮細胞丈の減少、細胞質内可染物質の減少、核の腫大などの変化が少数の尿管に局限してみられた。このような変化は 400ppm と 2000ppm 群に 12 例中 2 例ずつ、10000ppm 群に 5 例認められた。

本検体の投与濃度と関係なく、対照群を含む各群に数多くみられた変化に、肝臓の肉芽様の小細胞浸潤、雄では間質性心筋炎及び腎臓間質にリンパ球様細胞浸潤、雌では腎臓のカルシウム沈着などがあった。

考察及び評価

検索に用いたラットは生後 7 週齢から 32 週齢の成長期であったが、この時期のラットの摂餌量は雌雄共にほぼ一定で、しかも雄の方が雌よりも多い摂餌を示した。この結果は Everitt⁹⁾、Wang¹⁰⁾ のものと良く一致した。実験期間中の体重増加と総摂餌量は投与濃度が高くなるほど少ない傾向にあったが、各濃度群の食餌効率是对照群とほぼ同様で、強い中毒性の変化はないと推測される。

10000ppm 群では雌雄とも著明な体重増加抑制がみられ、実験期間中の体重増加量は対照群に比し、雄で約 20%、雌で約 35% 少なかった。このために、多くの臓器の湿重量は対照群に比べやや低い値を示し、体重比では高い値を示した。しかし雄の肝臓及び腎臓と雌の下垂体及び肝臓は湿重量、体重比共に高い値を示した。

肝臓と腎臓の重量増加について考察してみると、異物を餌に混ぜ与えた場合、多くのもので肝臓と腎臓の重量増加を起すことは良く知られている。また Walter¹¹⁾ は離乳後の心臓、腎臓及び肝臓の重量は各々の仕事量によって変化し、また腎臓の重量増加がある時には通常肝臓の重量増加を伴うことを報じている。したがって本実験の 10000ppm 群の肝臓及び腎臓の重量増加はアルトシッド投与に特異的な変化ではなく、10000ppm という高用量の過重による各組織の重量増加であると思われる。

下垂体の重量増加については、本臓器のホルモン支配を受けている副腎、卵巣などに著明な重量あるいは組織学的変化がみられないことからさして重要な意味を持つものとは考え難い。

病理組織学的検査では、本検体投与により腎臓では雄にのみ軽度の尿管の変性があったが、特に注目すべき病変はなかった。しかし肝臓では 2000ppm 以上の濃度群では雌雄共ほぼ全例に肝実質細胞に退行性変化があり、投与濃度と相関がみられた。すなわち 1000

Table 2. Average food consumption by sex and treatment for rats fed various dietary levels of ALTOSID technical for 6 months.

Compound administration (week)		Food consumption (grams/rat/day)																									Total grams/rat	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	Mean	
Sex and treatment																												
Male	0 ppm	21.9	22.7	22.4	22.3	18.8	21.4	21.3	21.2	20.8	19.3	19.6	21.3	21.0	20.7	19.0	21.2	19.5	22.8	21.6	26.7	22.6	20.4	21.0	20.3	20.2	21.2	3746.5
	80	23.2	23.8	24.1	23.1	22.5	21.6	22.2	21.1	22.5	21.9	21.7	22.3	21.6	16.6	20.2	17.5	21.0	21.9	22.4	22.3	21.1	20.7	21.4	21.6	21.6	21.6	3822.8
	400	22.7	20.8	18.3	21.4	21.2	21.2	21.2	20.2	20.0	19.4	19.2	20.1	20.3	20.9	18.7	18.8	20.7	21.2	20.4	19.9	19.8	19.8	19.8	20.8	19.5	20.3	3598.6
	2000	22.0	17.8	21.0	21.3	20.7	19.9	20.1	20.1	20.2	20.4	18.3	20.4	19.7	19.8	19.7	20.0	19.3	20.2	21.0	19.8	18.8	19.2	19.6	18.4	19.8	20.0	3534.4
	10000	19.6	19.5	22.9	19.2	19.3	20.0	20.4	19.6	18.6	17.8	18.5	17.7	19.5	19.8	20.1	20.2	19.5	23.5	19.9	19.4	19.4	19.2	19.5	19.3	18.6	19.7	3479.5
Female	0 ppm	17.7	16.7	15.1	15.9	16.2	15.3	15.2	14.6	15.3	15.8	15.2	14.8	14.2	14.7	14.6	14.5	14.7	14.8	15.5	15.1	13.7	14.7	14.9	16.0	14.7	15.2	2675.3
	80	17.5	17.1	14.9	16.9	15.7	15.0	16.5	13.7	15.1	15.4	14.9	14.0	14.5	14.4	13.9	15.5	14.6	15.2	14.9	14.8	14.7	14.2	14.7	13.7	15.2	15.1	2655.8
	400	17.2	15.7	15.8	15.8	15.0	15.0	15.3	14.6	14.8	14.1	14.5	13.7	14.7	14.2	14.3	14.4	15.0	15.6	14.4	13.9	13.6	14.3	16.3	14.6	14.8	14.8	2612.7
	2000	18.3	15.2	16.5	14.4	14.2	15.1	14.3	14.0	13.5	13.8	14.4	13.0	13.7	13.3	13.7	14.1	14.1	13.9	12.8	12.2	12.6	12.7	14.3	14.8	13.2	14.0	2472.6
	10000	14.6	13.9	14.5	13.6	13.0	14.4	12.8	12.7	12.2	12.2	13.0	11.6	13.2	12.6	12.7	13.1	13.3	13.1	12.9	12.6	12.7	13.0	12.6	12.4	13.1	13.0	2289.8

Table 3. Average compound intakes by sex and treatment for rats fed various dietary levels of ALTOSID technical for 6 months.

		Compound intake (mg/kg/day)																									Total intake		
Sex and Treatment		Week of study																									Mean (grams/rat)		
Male	0 ppm	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	
	80	8	7	6	5	5	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3.8	0.31
	400	36	29	24	25	22	20	19	18	18	17	16	17	16	17	15	15	16	16	15	15	15	14	14	15	14	18.2	1.44	
	2000	179	129	140	126	112	102	100	96	93	91	81	87	81	81	79	80	76	78	81	76	71	72	73	68	72	92.9	7.07	
	10000	817	717	778	603	561	543	531	499	462	433	439	404	435	439	443	437	415	491	408	394	389	383	385	377	359	485.5	34.80	
Female	0 ppm	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	
	80	8	7	6	6	5	5	5	4	5	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4.6	0.21
	400	39	33	31	29	26	25	25	23	23	21	21	20	21	20	20	20	21	21	19	18	18	19	21	19	19	22.8	1.05	
	2000	210	160	162	132	125	127	117	111	104	106	109	96	102	100	103	104	100	97	88	83	86	85	95	98	87	111.6	4.95	
	10000	864	774	769	678	613	655	565	551	520	515	538	470	530	503	506	522	521	499	487	474	475	485	468	457	480	556.7	22.90	

Table 4. Average food efficiency by sex and treatment for rats fed various dietary levels of ALTOSID technical 6 months.

		Food efficiency($\frac{\text{increased body weight(g)}}{\text{food intake (g)}}$)																									
		Week of study																									
Sex and Treatment		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	Mean
Male	0 ppm	0.35	0.28	0.22	0.39	0.19	0.14	0.12	0.03	0.10	0.06	0.13	0.09	0.07	0.07	0.12	0.07	0.07	0.07	0.04	0.04	0.08	0.04	0.07	0.06	0.08	0.10
	80	0.33	0.28	0.21	0.15	0.19	0.12	0.11	0.09	0.07	0.05	0.15	0.11	0.03	0.06	0.06	0.09	0.06	0.11	0.03	0.02	0.06	0.02	0.05	0.05	0.08	0.10
	400	0.35	0.03	0.46	0.20	0.24	0.15	0	0.07	0.25	0.08	0.13	0.08	0.03	0.05	0.01	0.01	0.08	0.11	0.04	0.04	0.02	0.04	0.06	0.06	0.03	0.10
	2000	0.34	0.01	0.39	0.19	0.16	0.04	0.12	0.11	0.13	0.04	0.12	0.13	0.01	0.06	0.04	0.06	0.07	0.02	0.02	0.05	0.05	0.02	0.04	0.02	0.08	0.11
	10000	0.32	0.14	0.23	0.13	0.18	0.11	0.12	0	0.15	0.02	0.30	0.07	0.04	0.01	0.05	0.11	0.02	0.08	0.04	0.04	0.04	0.01	0.07	0.01	0.05	0.09
Female	0 ppm	0.19	0.17	0.14	0.08	0.08	0.04	0.08	0.04	0.07	0.04	0.08	0	0.16	0.03	0	0.03	0.01	0.06	0.02	0	-0.06	0.08	0.03	0.05	0.04	0.06
	80	0.18	0.09	0.22	0.10	0.11	0.08	0.10	0.06	0.09	0.05	0.06	0.06	0.07	0.04	0	0.06	0.02	0.07	0	0.05	0.03	0.01	0.01	0.05	0.01	0.06
	400	0.21	0.11	0.17	0.09	0.10	0.07	0.07	0.08	0.09	0.04	0.12	0.06	0.01	0.04	0.01	0.04	0.02	0.04	0.02	0.04	0.03	0.06	0.05	0.05	0	0.06
	2000	0.16	0.14	0.17	0.10	0.07	0.09	0.05	0.09	0.05	0.01	0.08	0.05	0.09	0.02	0.05	0.13	0.02	0.04	0.02	0.04	0.04	0.04	0.01	0.04	0	0.01
	10000	0.12	0.13	0.10	0.14	0.07	0.08	0.06	0.03	0.06	0	0.09	0.03	0.03	0.01	0	0	0.10	0.05	0	0.02	0.01	0	0.02	0.03	0	0.05

Table 5. Average water intakes by sex and treatment for rats fed various dietary levels of ALTOSID technical 6 months.

		Water intake (ml/rat/day)																								
		Week of study																								
Sex and Treatment		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Male	0 ppm	44.0	48.9	48.4	46.1	44.0	42.8	46.9	51.9	44.7	43.0	40.9	42.4	38.0	33.9	33.9	37.9	34.2	32.6	30.7	31.6	30.3	32.7	35.5	35.3	33.9
	80	46.4	47.5	48.6	46.0	46.5	41.2	44.0	45.5	48.5	47.6	40.2	40.3	38.1	42.2	38.7	36.8	37.8	34.5	33.5	34.4	34.9	34.7	37.0	36.8	36.5
	400	42.6	39.9	42.7	39.7	38.0	37.3	33.5	35.2	35.1	33.7	31.8	29.6	31.0	31.5	31.4	30.0	31.1	29.0	28.1	28.1	28.8	27.4	29.2	30.0	29.3
	2000	41.8	38.8	49.1	44.0	42.5	41.2	38.7	36.2	46.3	44.1	38.0	44.5	37.8	37.4	36.6	31.6	30.6	29.8	28.3	28.6	31.8	28.4	32.6	34.2	33.8
	10000	38.2	40.6	40.6	38.5	38.8	39.8	40.7	41.3	44.7	41.2	42.8	36.3	37.6	32.8	38.6	34.8	33.0	31.0	30.8	31.6	31.4	30.8	32.2	37.4	37.0
Female	0 ppm	35.9	34.7	35.7	36.6	36.0	40.8	39.4	40.8	43.7	42.6	42.5	39.5	37.7	40.3	45.8	44.3	44.6	42.3	41.8	46.2	42.9	41.4	43.4	46.9	41.1
	80	34.3	37.2	36.4	36.2	31.6	38.2	40.1	35.9	42.5	40.5	42.5	41.1	40.5	40.0	45.3	41.9	39.3	39.8	43.0	45.0	39.3	39.8	38.2	45.0	37.8
	400	38.2	37.7	36.7	38.3	33.0	40.5	41.0	41.5	33.2	39.7	39.0	35.9	44.6	30.8	45.8	42.2	40.1	37.9	42.7	42.4	39.3	38.3	47.3	48.9	41.3
	2000	32.5	35.2	32.1	30.9	29.9	32.5	32.0	33.8	34.5	30.7	31.6	29.0	31.8	35.2	35.5	31.1	32.6	36.3	32.7	26.5	28.7	29.2	33.3	34.0	36.4
	10000	30.3	33.6	26.4	32.3	31.9	33.2	31.7	30.8	30.3	26.3	30.4	29.6	37.8	32.6	46.9	38.2	30.7	34.9	32.7	33.0	30.1	32.3	32.6	36.5	31.7

Table 6. Urinalysis in rats treated with ALTOSID technical for 6 months.

Sex and Treatment	No. of animal	PH					Protein						Sugar		Ketone		Occult blood	
		5	6	7	8	9	-	+	+	++	+++	++++	-	+	-	+	-	+
Male																		
0 ppm	12	0 [#]	5	7	0	0	0	0	3	5	4	0	12	0	12	0	12	0
80	12	1	2	4	5	0	0	0	1	5	6	0	12	0	12	0	12	0
400	12	0	3	4	5	0	0	0	2	3	7	0	12	0	11	1	12	0
2000	12	1	6	3	2	0	0	0	1	8	3	0	12	0	8	4	12	0
10000	12	0	5	4	3	0	0	0	3	5	2	2	12	0	11	1	12	0
Female																		
0 ppm	12	0	6	5	1	0	0	0	10	2	0	0	12	0	12	0	12	0
80	12	0	10	1	1	0	0	1	8	2	1	0	12	0	12	0	12	0
400	12	0	7	4	1	0	0	4	6	2	0	0	12	0	12	0	12	0
2000	11	0	6	3	2	0	0	1	6	4	0	0	11	0	11	0	11	0
10000	12	0	7	2	3	0	0	4	6	2	0	0	12	0	9	3	12	0

#:Number of animal

Table 7. Hematological findings in rats treated with ALTOSID technical for 6 months.

Sex and Treatment	Erythrocyte ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	Leucocyte ($\times 10^2/\text{mm}^3$)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Hematocrit (%)	Hemoglobin (g/dl)	Differential leucocyte count (%)						
						Basophil	Eosinophil	Neutrophil Stab. Seg.	Lymphocyte Large Small	Monocyte		
Male												
0 ppm	791 ±34	129 ±24	24.3 ±12.0	48.1 ±3.1	14.4 ±0.8	0 ±0	2.3 ±2.6	1.1 ±1.4	9.7 ±5.6	81.2 ±1.8	4.5 ±6.2	1.3 ±1.2
80	766 ±38	123 ±21	27.8 ±8.8	47.3 ±1.6	14.3 ±1.4	0 ±0	1.8 ±1.5	0.5 ±1.2	12.4 ±6.1	81.0 ±8.6	2.9 ±4.8	1.4 ±1.2
400	777 ±68	149 ±77	30.4 ±16.0	46.1 ±2.7	13.7 ±1.6	0.2 ±0.6	2.5 ±2.9	1.5 ±2.5	15.4 ±13.4	76.5 ±15.3	2.2 ±3.4	1.7 ±2.3
2000	782 ±28	113 ±17	25.4 ±9.7	46.6 ±1.7	14.1 ±0.9	0 ±0	2.1 ±1.7	1.7 ±1.4	16.0 ±10.1	76.8 ±10.6	2.3 ±5.2	1.1 ±1.2
10000	778 ±38	121 ±25	24.5 ±11.7	47.7 ±3.4	14.3 ±0.9	0 ±0	1.3 ±1.1	1.9 ±1.4	15.4 ±8.1	78.2 ±8.6	1.4 ±2.3	1.8 ±1.5
Female												
0 ppm	723 ±33	80 ±20	36.1 ±16.0	46.1 ±3.1	13.7 ±0.7	0 ±0	2.3 ±1.5	0.3 ±0.5	8.5 ±4.0	86.6 ±5.3	0.8 ±2.0	1.6 ±1.0
80	727 ±40	84 ±13	37.1 ±14.8	45.7 ±2.4	13.5 ±0.7	0 ±0	1.1 ±1.2	0.4 ±0.8	9.4 ±5.2	87.4 ±6.3	0.5 ±1.7	1.1 ±0.9
400	734 ±33	82 ±19	40.7 ±9.9	46.0 ±2.6	13.9 ±0.5	0 ±0	1.7 ±1.4	0.9 ±0.9	8.8 ±4.1	86.8 ±4.9	0.8 ±1.5	0.9 ±1.0
2000	731 ±36	70 ±18	45.0 ±18.6	45.2 ±2.9	13.4 ±0.9	0 ±0	0.7 ±1.3	0.5 ±0.7	7.5 ±3.6	89.5 ±5.3	0.5 ±0.7	1.3 ±1.6
10000	751 ±36	91 ±34	29.6 ±11.1	46.0 ±2.8	13.8 ±0.6	0 ±0	1.4 ±2.5	0.8 ±1.1	10.2 ±14.4	86.2 ±14.9	0.3 ±0.7	1.0 ±1.3

Table 8. Group average blood serum levels of various biochemical parameters by sex and treatment for rats fed various dietary levels of ALTOSID technical for 6 months.

Sex and Treatment	GOT IU/ml	GPT IU/ml	LDH IU/ml	T.G.L mg/dl	Glu mg/dl	T.Bili mg/dl	AL-P King A unit	T.Cho mg/dl	T.Pro g/dl	A/G	Na mEq/l	K mEq/l	Ca mg/dl	Ino-P mg/dl	Cl mEq/l	BUN mg/dl
Male																
0 ppm	65.9 ±29.6	22.3 ±11.6	353.3 ±198.9	70.4 ±26.2	184.3 ±17.0	0.14 ±0.04	10.5 ±3.5	171.7 ±20.7	6.4 ±0.3	0.90 ±0.08	161.5 ±4.2	3.9 ±0.3	10.1 ±0.5	5.7 ±0.5	101.2 ±1.9	20 ±2
80	71.0 ±49.3	29.5 ±24.0	310.2 ±135.1	76.8 ±34.1	176.9 ±16.7	0.13 ±0.04	10.2 ±1.2	173.9 ±33.2	6.3 ±0.2	0.90 ±0.06	145.5* ±4.4	3.6 ±0.2	10.9 ±3.3	5.6 ±0.9	101.5 ±2.0	18 ±3
400	63.1 ±33.7	22.0 ±8.8	282.2 ±106.5	70.5 ±31.7	175.3 ±18.9	0.14 ±0.04	12.2 ±3.1	178.1 ±35.0	6.2 ±0.3	0.90 ±0.16	150.3 ±6.8	3.7 ±0.3	9.6 ±0.5	5.9 ±1.0	100.4 ±2.6	19 ±1
2000	49.4 ±9.0	16.5 ±4.7	296.4 ±122.5	47.3 ±19.2	161.7* ±22.2	0.14 ±0.05	11.1 ±4.1	165.0 ±22.0	6.3 ±0.1	0.97 ±0.14	149.9 ±5.7	3.8 ±0.4	9.8 ±0.4	5.9 ±0.5	102.3 ±2.2	19 ±2
10000	74.5 ±79.4	43.4 ±70.7	316.4 ±116.8	38.8 ±26.9	174.0 ±21.9	0.14 ±0.04	14.7* ±3.4	178.5 ±39.2	6.1 ±0.4	0.99 ±0.06	148.1 ±3.4	3.7 ±0.2	9.6 ±0.8	6.4 ±0.6	102.1 ±2.1	20 ±4
Female																
0 ppm	49.6 ±35.6	18.4 ±8.7	136.9 ±61.9	46.1 ±21.1	149.7 ±12.0	0.18 ±0.04	7.1 ±2.9	192.5 ±27.6	7.1 ±0.3	0.90 ±0.07	139.8 ±1.7	2.9 ±0.2	10.5 ±0.7	4.3 ±0.6	98.9 ±2.7	19 ±2
80	71.1 ±43.6	28.8 ±21.2	128.1 ±67.3	34.8 ±13.2	152.5 ±14.4	0.17 ±0.03	5.8 ±3.0	190.5 ±29.3	7.1 ±0.4	0.92 ±0.06	140.5 ±2.1	2.8 ±0.3	11.0 ±0.8	4.5 ±0.7	100.9 ±2.4	17 ±4
400	48.1 ±17.6	19.5 ±9.7	125.7 ±56.0	33.3 ±13.0	152.9 ±19.8	0.17 ±0.05	5.3 ±2.1	192.4 ±30.2	7.0 ±0.5	0.92 ±0.05	139.2 ±2.5	2.9 ±0.2	10.7 ±0.5	4.2 ±0.6	99.6 ±1.9	19 ±4
2000	34.3 ±5.8	14.4 ±3.4	115.6 ±66.6	27.2* ±13.7	157.3 ±16.2	0.19 ±0.08	7.1 ±2.2	199.3 ±26.7	7.3 ±0.3	0.94 ±0.07	139.3 ±2.8	3.0 ±0.2	10.7 ±0.5	4.3 ±1.0	100.9 ±2.2	19 ±2
10000	37.1 ±7.9	16.0 ±6.4	101.1 ±20.3	20.6** ±3.4	153.4 ±13.4	0.17 ±0.03	7.9 ±3.0	204.1 ±21.2	7.3 ±0.3	0.89 ±0.15	138.3 ±1.3	2.8 ±0.2	10.6 ±0.3	4.5 ±0.8	99.5 ±2.3	20 ±3

Significant differences from 0 ppm are marked :*(P<0.05),**(P<0.01)

Table 9. Group average wet organ weight (grams or milligrams) by sex and treatment for rats fed various dietary levels of ALTOSID technical for 6 months.

Sex and Treatment	Body weight (g)	Brain (g)	Pituitary (mg)	Thyroid (mg)	Heart (g)	Lung (g)	Thymus (g)	Liver (g)	Kidneys (g)	Spleen (g)	Adrenals (mg)	Testes (g) Ovaries (mg)	Matriceps surae (g)
Male													
0 ppm	562 ±26	2.167 ±0.106	14.2 ±2.2	29.9 ±5.2	1.484 ±0.133	2.138 ±0.336	0.220 ±0.062	14.704 ±1.816	3.213 ±0.333	0.745 ±0.086	50.4 ±10.9	3.265 ±0.239	3.353 ±0.251
80	575 ±36	2.211 ±0.168	16.0 ±1.4	31.5 ±6.7	1.459 ±0.120	2.139 ±0.262	0.235 ±0.236	14.358 ±1.190	3.198 ±0.308	0.725 ±0.101	61.4 ±10.3	3.200 ±0.635	3.215 ±0.208
400	557 ±66	2.177 ±0.086	12.6 ±4.1	29.2 ±7.0	1.395 ±0.098	2.138 ±0.257	0.237 ±0.068	13.853 ±2.448	3.127 ±0.262	0.732 ±0.227	52.4 ±12.7	3.323 ±0.325	3.222 ±0.353
2000	510 ±35	2.120 ±0.135	15.0 ±4.0	29.9 ±6.8	1.352 ±0.150	2.015 ±0.417	0.156 ±0.042	13.344 ±2.580	2.965 ±0.401	0.670 ±0.082	52.7 ±11.0	3.397 ±0.188	3.127 ±0.212
10000	494** ±27	2.144 ±0.069	15.8 ±2.0	26.5 ±6.1	1.381 ±0.115	1.921 ±0.314	0.165 ±0.065	15.330 ±1.275	3.482 ±0.333	0.638 ±0.083	48.4 ±7.4	3.306 ±0.230	3.142 ±0.316
Female													
0 ppm	308 ±33	1.986 ±0.090	18.2 ±1.5	23.8 ±6.0	0.917 ±0.083	1.258 ±0.167	0.166 ±0.059	7.929 ±0.649	1.966 ±0.195	0.485 ±0.083	60.0 ±11.9	80.9 ±38.6	1.919 ±0.156
80	296 ±33	1.946 ±0.086	20.1 ±4.0	25.1 ±5.6	0.932 ±0.137	1.210 ±0.224	0.153 ±0.044	7.378 ±1.101	1.807 ±0.205	0.477 ±0.078	60.0 ±10.3	66.1 ±20.6	1.865 ±0.186
400	296 ±34	1.958 ±0.062	20.4 ±3.6	24.5 ±5.8	0.881 ±0.071	1.183 ±0.221	0.192 ±0.057	8.158 ±1.010	1.877 ±0.224	0.453 ±0.041	63.3 ±8.9	79.1 ±49.9	1.879 ±0.194
2000	290 ±21	1.956 ±0.075	21.4 ±7.4	23.3 ±6.0	0.843 ±0.093	1.139 ±0.170	0.151 ±0.064	7.674 ±0.937	1.841 ±0.250	0.399 ±0.057	53.9 ±10.1	56.6 ±15.3	1.841 ±0.196
10000	258** ±21	1.944 ±0.135	21.3 ±6.1	24.8 ±5.1	0.824 ±0.081	1.100 ±0.284	0.139 ±0.067	9.354* ±1.299	1.869 ±0.212	0.470 ±0.119	56.1 ±9.1	79.9 ±35.7	1.742 ±0.197

Significant differences from 0 ppm are marked :*(P<0.05),**(P<0.01)

Table 10. Group average organ weight ratios(grams or milligrams organ weight/100gram body weight)by sex and treatment for rats fed various dietary levels of ALTOSID technical for 6 months.

Sex and Treatment	Brain (g)	Pituitary (mg)	Thyroid (mg)	Heart (g)	Lung (g)	Thymus (g)	Liver (g)	Kidneys (g)	Spleen (g)	Adrenals (mg)	Testes (g) Ovaries (mg)	M. triceps surae (g)
Male												
0 ppm	0.38 ±0.03	2.5 ±0.3	5.2 ±0.8	0.26 ±0.02	0.37 ±0.04	0.03 ±0.01	2.57 ±0.19	0.56 ±0.04	0.13 ±0.01	8.7 ±2.0	0.57 ±0.04	0.63 ±0.16
80	0.38 ±0.04	2.7 ±0.3	5.4 ±1.1	0.25 ±0.01	0.37 ±0.05	0.04 ±0.04	2.49 ±0.17	0.55 ±0.04	0.12 ±0.01	10.7 ±2.0	0.58 ±0.07	0.56 ±0.04
400	0.39 ±0.05	2.3 ±0.8	5.3 ±1.3	0.25 ±0.03	0.38 ±0.06	0.04 ±0.01	2.44 ±0.23	0.56 ±0.05	0.13 ±0.06	9.2 ±4.1	0.59 ±0.08	0.58 ±0.07
2000	0.40 ±0.04	2.8 ±0.9	5.7 ±1.5	0.25 ±0.01	0.38 ±0.06	0.03 ±0.01	2.51 ±0.16	0.56 ±0.04	0.12 ±0.01	9.8 ±2.1	0.65 ±0.07	0.59 ±0.04
10000	0.43* ±0.02	3.2 ±0.4	5.3 ±1.2	0.28 ±0.02	0.38 ±0.06	0.03 ±0.01	3.10** ±0.19	0.70** ±0.06	0.12 ±0.01	10.2 ±1.4	0.67** ±0.06	0.63 ±0.06
Female												
0 ppm	0.65 ±0.08	5.9 ±0.7	7.7 ±1.8	0.29 ±0.02	0.41 ±0.04	0.05 ±0.02	2.58 ±0.24	0.64 ±0.08	0.15 ±0.03	19.3 ±4.2	25.7 ±10.3	0.62 ±0.07
80	0.66 ±0.07	6.8 ±1.6	8.5 ±1.8	0.31 ±0.04	0.40 ±0.06	0.05 ±0.01	2.49 ±0.28	0.61 ±0.05	0.16 ±0.01	20.5 ±3.9	22.3 ±6.3	0.63 ±0.05
400	0.66 ±0.08	6.9 ±1.0	8.2 ±1.8	0.30 ±0.04	0.40 ±0.09	0.06 ±0.01	2.78 ±0.47	0.63 ±0.09	0.15 ±0.01	19.8 ±4.7	27.8 ±15.3	0.63 ±0.07
2000	0.67 ±0.04	7.2 ±2.3	7.9 ±1.8	0.29 ±0.01	0.39 ±0.05	0.05 ±0.02	2.63 ±0.23	0.63 ±0.06	0.13 ±0.01	18.5 ±3.0	19.3 ±4.5	0.63 ±0.05
10000	0.75** ±0.07	8.3* ±2.6	9.6 ±1.8	0.32 ±0.02	0.42 ±0.09	0.05 ±0.02	3.63** ±0.45	0.72 ±0.06	0.18 ±0.04	24.0 ±8.9	31.0 ±14.2	0.67 ±0.06

Significant differences from 0 ppm are marked :*(P<0.01),**(P<0.01)

0ppm 群では著しい肝細胞のびまん性の腫大、混濁があったが強い壊死、脂肪変性あるいは線維化などの変化はなかった。このような肝細胞の腫大が中毒反応なのか、あるいは機能亢進によるものかの判定にはまだ多くの困難がある。しかし代表的な肝毒性薬物である四塩化炭素^{6,7)}、あるいは DDT^{8,9)} では脂肪沈着、壊死性の変化が強くみられる。一方、フェノバルビタールの場合には、均一な肝細胞の腫大があり、薬物代謝酵素などの増加も伴なうという^{6,9)}。本検体の組織学的所見はフェノバルビタールのものに良く似ているが、細胞内小器官あるいは薬物代謝酵素などの検索を行っていない。

また肝臓の腫大が機能亢進に基づくものなのか、あるいは中毒反応であるかの判定に、前者の場合には可逆的であることが重要である。著者らはこれまで回復試験 (10000ppm の飼料を3カ月間摂食後、1カ月間の投与中止) でこの肝臓の腫大は可逆的な変化であることを明らかにした。さらに組織学的には混濁腫脹という良性の可逆性のある変化であったことから、本検体による肝臓の変化は 10000ppm という過重に対する機能亢進によるものと考えられる。以上の結果より、本検体投与によって 2000ppm 以上の濃度群にはほぼ全例に肝臓実質細胞に退行性変化があり、特に 10000ppm 群では明らかな体重増加抑制、摂餌量の低下があったことから、最大無作用量、最少中毒量及び確実中毒量を次のように推定し、標的臓器を肝臓であるとした。

最大無作用量	400ppm
雄	18.2mg/kg/day, 1.4g/rat
雌	22.8mg/kg/day, 1.0g/rat
最少中毒量	2000ppm
雄	92.9mg/kg/day, 7.1g/rat
雌	111.6mg/kg/day, 4.9g/rat
確実中毒量	10000ppm
雄	485.5mg/kg/day, 34.8g/rat
雌	556.7mg/kg/day, 22.9g/rat

文 献

- 1) Diekman, J. D.: *Proceedings of a National*

Extension Insect Pest Management Workshop, Publ, Purdue Univ., 69 (1972).

- 2) 宇野敏行・西光子・藤田和美・松山隆司・藪内洋一: 応用薬理, 11, 293 (1976).
- 3) Everitt, A. V.: *Gerontologia*, 2, 21 (1958).
- 4) Wang, G. H.: *Amer. J. Physiol.*, 71, 729 (1925).
- 5) Walter, F. and T. Addis: *J. exp. Med.*, 69, 467 (1939).
- 6) Platt, D. S. and B. L. Cockrill: *Biochem. Pharmac.*, 16, 2257 (1967).
- 7) Platt, D. S. and B. L. Cockrill: *Biochem. Pharmac.*, 18, 445 (1969).
- 8) Kunz, W., F. Schaudé, W. Schmid and M. Siess: *Ibid.*, 15, 113 (1966).

Summary

Studies on six months chronic toxicity of ALTOSID technical, a new juvenile hormone-like compound, have been carried out on Sprague-Dawley rats (SPF) of both sexes. The compound was fed in the diet at dosage levels of 0, 80, 400, 2000 and 10000 ppm.

The rats at 10000 ppm dosage level showed a remarkable decrease in body weight gains and food consumption values obtained during the study, but their food efficiency comparable to the control rats. The rats at 2000 ppm dosage level, with the exception for the death of a female rat, showed a slight changes related to treatment. At histopathological examination, the liver of the animals at 2000 and 10000 ppm dosage levels showed hypertrophy of parenchymal cell which was considered to be correlated with data of biochemical observation. All other rats at the lower dosage levels appeared normal.

Based on these results, non-toxic effect level of ALTOSID technical was determined to be 400 ppm in food or 20mg/kg body weight/day in rat.