

Title	Azoxybenzeneの毒性
Sub Title	The toxicity of azoxybenzene
Author	中村, 悦郎(Nakamura, Etsuro) 木村, 都(Kimura, Miyako) 加藤, 礼子(Kato, Reiko) 野田, 文子(Noda, Fumiko)
Publisher	共立薬科大学
Publication year	1976
Jtitle	共立薬科大学研究年報 (The annual report of the Kyoritsu College of Pharmacy). No.21 (1976.) ,p.25- 47
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	原報
Genre	Technical Report
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000021-0025

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Azoxybenzene の毒性

中村悦郎, 木村都, 加藤礼子, 野田文子

The toxicity of Azoxybenzene

ETSURO NAKAMURA, MIYAKO KIMURA, REIKO KATO and FUMIKO NODA

This paper will present the data about the toxicity of azoxybenzene (AZ).

When AZ was given *p. o.* to rats and mice, the LD₅₀s were more than 700 and 500mg/kg respectively and no sexual difference was recognized.

The remarkable symptoms were the icteritious skin, methemoglobinemia, and decreasing of hemoglobin concentration and of the counts of red blood cell as well as platelets.

The most prominent findings of the gross discernable toxicities in the organs were the swelling of the spleen and liver, and atrophy of the testis and epididymis. The histopathological findings are also described.

諸 言

Azoxybenzene は以前にはダニに対する殺虫性, 殺卵性を利用して農薬として果実などに使用されていたが, 現在では主として有機化合物の合成材料として用いられている。

本化合物の毒性については僅かに経口投与による LD₅₀ がラットで 620 mg/kg, 家兔で 1.09 ml/kg であるという報告¹⁾があるのみで, 慢性毒性, 次代への影響などについては報告をみない。

本化合物に長期間接触した場合の毒性および催奇性を知り, 安全量を推察するための基礎実験としてラットおよびマウスにおける急性毒性並びに亜急性毒性を観察した。

実験方法

I 急性毒性

室温 22±1°C, 湿度55%の空調室で固型餌料(日本クレア, CE-2)および水を与えて飼育した健康な6週令の Wistar 系雌雄ラットおよび5週令の ddN 系雌雄マウスを用い, いずれも1群10匹とした。

実験に用いた azoxybenzene (AZ) は純度95%で, 水に不溶, 融点 35~35.5°C の黄褐色の結晶性物質であり, Fig. 1 に示す如き化学構造を有する。

AZ を 0.01% Tween 80 を含む 2% アラビアゴム液に懸濁, 超音波処理(10kHz, 5分間)した液を 38~40°C の温水中に保ちながら, 胃ゾンデを用いて, 動物を絶食させた2時間後に経口

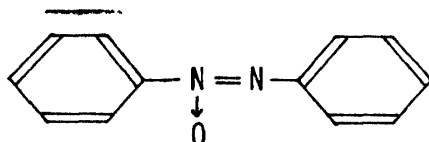


Fig. 1 Structural formula of azoxybenzene

No. 21 (1976)

投与した。

投与量はラットでは公比 1.14 で各用量とも体重 100g 当り 0.5 ml, マウスでは公比 1.3 で体重 10g 当り 0.2 ml とした。

投与当日は投与 4 時間後まで, 翌日から 7 日間毎日症状観察並びに体重測定を行い, Litchfield-Wilcoxon²⁾の方法によって投与 7 日目における LD₅₀ を算出した。

死亡例および最終判定まで生存した全例について, 肉眼的に剖検を行った。

また別のラットを用いて, AZ 600, 780 mg/kg を 1 回投与した 3 日目の末梢血についてメトヘモグロビン (Met. Hb) (Evelyn-Malloy の変法) を測定した。

II 亜急性毒性

健康な 6 週令の Wistar 系ラットの雌雄各 10 匹と ddN 系マウスの雌雄各 20 匹を 1 群とし, 温度 22±1°C, 湿度 55% の空調室にて 5 匹を 1 ケージに入れ飼育した。なお, AZ 0.5% 添加餌投与群 (0.5% 群と略す, 以下同様) では雄性ラット 5 匹, 雌雄マウス各 10 匹を用いた。実験期間は 14 週間とした。

AZ 投与は餌料中に AZ を 0.005, 0.02, 0.1, 0.5% の割に配合した固型餌料 (日本クレア製造) を, 対照群は AZ 無添加の固型餌料 (日本クレア, CE-2) を 1 日 1 匹当り, ラットは 20g, マウスは 6g ずつ与え, 自由に摂取させた。水は 1 ケージ 5 匹に対し, 1 日当りラットは 250 ml, マウスは 100 ml 与えた。

体重は週 2 回, 餌料残量は週 3 回, 水消費量は週 1 回測定し, 餌消費量より, AZ 摂取量と, 食餌効率を算出した。

実験終了数日前に動物を尿尿分離採取用ケージに移して 24 時間尿を採取し, 尿量測定後, 試験紙法 (日本エームス社) によって, pH, 蛋白, 糖, ケトン体, 潜血, ビリルビン, ウロビリノーゲンの半定量および炎光法 (平沼製) によって Na⁺, K⁺ の定量を行った。マウスは数匹 (生存数によるが原則として 4 匹) の尿をまとめて 1 検体とした。

同時期に尾静脈血について赤血球数 (RBC), 白血球数 (WBC) (Coulter counter 法, Coulter Electronics Inc.), および血小板数 (Fonio 法), 白血球百分比 (May-Gimsa 染色法) の算定, ヘマトクリット値 (Ht) (Electronic hematometer, 富永製), ヘモグロビン値 (Hb) (シアンメトヘモグロビン法), 並びに血糖値 (Refractancemeter, エームス社) を測定した。

実験開始後 15 週目にネブタール麻酔 (ラットは 0.03, マウスは 0.05 mg/kg を腹腔内投与) 下に股動脈より全採血後, 全臓器について肉眼的に精査し, 下垂体, 甲状腺, 胸腺, 心, 肝, 脾, 腎, 副腎, 性生殖器の各重量を秤量, これらと胃, 小腸, 脾, 大動脈, 大腿骨骨髓, 膀胱について組織標本 (ホルマリン固定, パラフィン包埋, ヘマトキシリン・エオシン染色) を作製し, 組織学的検査を行った。採血後の血液はラットでは直ちに一部を Met. Hb の測定に使用, 残りは血清を分離した。なお, マウスでは尿検査と同じく数匹分をプールして 1 検体とした。血清について GOT, GPT (Reitman-Frankel 法³⁾), LDH (Cabaud-Wroblewski 法⁴⁾), アルカリ性フォスファターゼ (AL-P) (Phosphatabs, Warnerchilcott Lab.) の各酵素活性, 蛋白 (屈折計法, アタゴ製), 総コレステロール (Zak-Henly の変法), および Na⁺, K⁺ を測定した。BSP 値は原則として各群 3 匹, 死亡例の多い群では 2 匹を用い, ブロムサルファレン静注後 30 分の値で示した。なお, BSP 投与動物は血清生化学的検査および組織学的検査から除外した。またマウスについては血液量の制約により Met. Hb 測定, BSP 試験は行わなかった。

実験結果

I 急性毒性

1. 体重変化並びに一般症状

AZ 1回投与後の体重変化を、Fig. 2, 3 に、死亡経過を Table 1 に示す。

体重はラットでは全投与群で第2日目まで減少し、低用量(462, 526mg/kg)群ではその後回復に向ったが、780 mg/kg 以上の高用量群では4~5日目まで減少し、6~7日目にやや回復の傾向を示した。マウスの体重はいずれの群においても第1日目には減少傾向を示したが、その後は徐々に回復する群、4~5日までなお減少する群とがあったが、投与量との関連はみられなかった。

ラットおよびマウスのいずれの群においても第1日目には体重の減少を来し、衰弱するも死には至らなかった。用量の高い群ほど早い時期(2~3日目)に、低用量群では遅れて(4~6日目に)死亡する傾向にあった(Table 1)。

ラットでは 684 mg/kg 以上の高用量群においても昏睡、反射の異常、歩行困難、痙攣、呼吸の異常、下痢、挙尾などの症状は観察されず、体皮の黄疸色、立毛、被毛の光沢消失、紅彩の黒色化、不透明化、帯褐色尿および下腹部体毛の汚染が AZ 用量に応じて例数、程度ともに強く現われ、腹臥あるいは横臥の姿勢をとり、死の転機をとったものは脱力状態を示したが、回復例では以上の症状は5~6日目より徐々に軽快した。

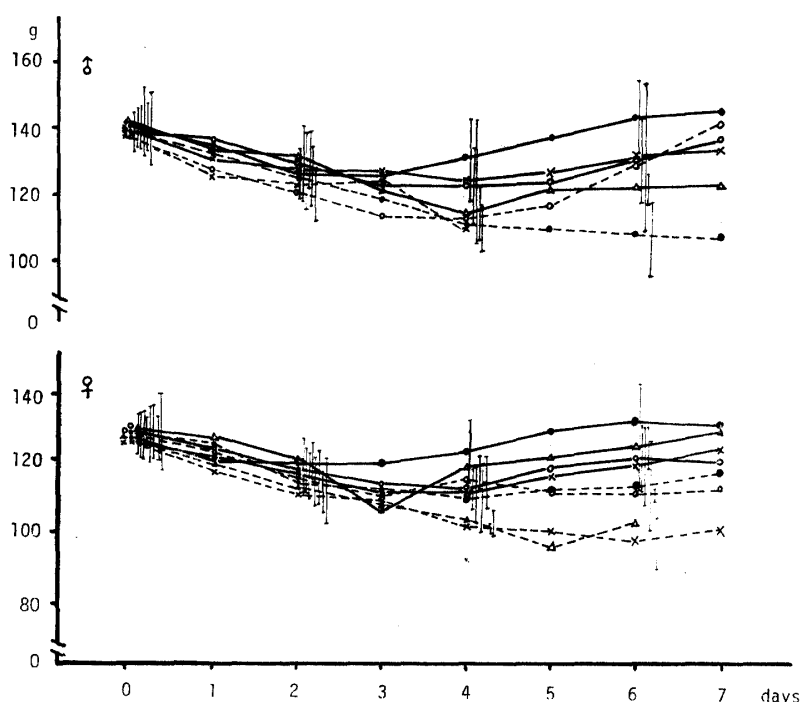


Fig. 2 The body weight in rats administrated azoxybenzene orally
 ●—● : 462 mg/kg ○—○ : 526 mg/kg ×—× : 600 mg/kg
 △—△ : 684 " ●---● : 780 " ○---○ : 889 "
 ×---× : 1014 " △---△ : 1156 "

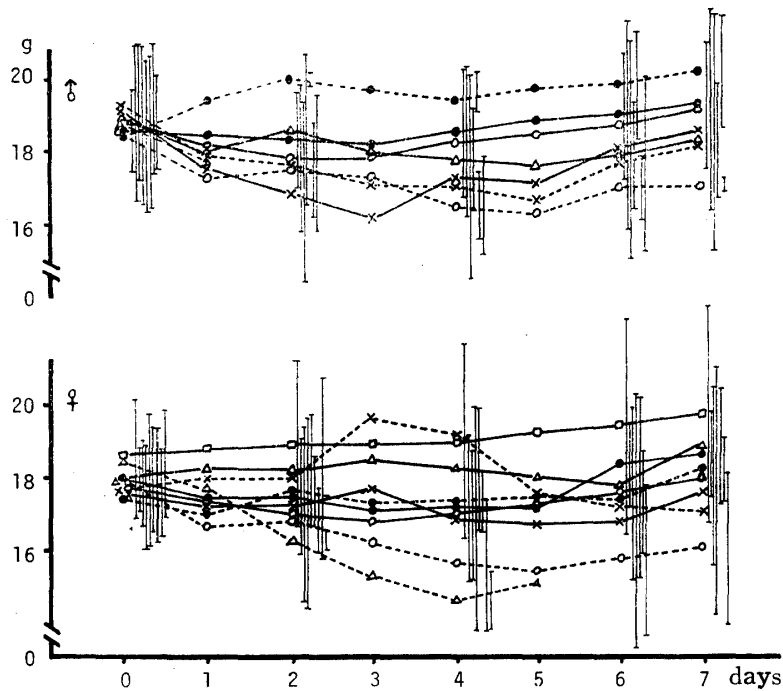


Fig. 3 The body weight in mice administrated azoxybenzene orally
 □—□ : 210mg/kg ●—● : 273mg/kg ○—○ : 355mg/kg
 ×—× : 462mg/kg △—△ : 600mg/kg ●—● : 780mg/kg
 ○—○ : 1014mg/kg ×—× : 1318mg/kg △—△ : 1713mg/kg

マウスでは 462 mg/kg 以上の群で投与30~60分後から自発運動の減少, 歩行困難, 間代性痙攣, 振せん, 呼吸浅表が AZ 投与量に応じて強く現われ, 次第に腹臥または横臥し, 脱力状態, 昏睡に陥った動物は死の転機をとった。2日目以降の死亡例あるいは回復例においては軽度の体皮の黄疸色, 紅彩の黒色化, 閉眼, 立毛が観察された。

600, 526 mg/kg 群のラットには投与当日に軽度の自発運動の減少, 2~3日目に立毛, 被毛光沢消失が全例に, 尾が淡黄色を呈するのが約半数例に認められた以外異常症状はみられなかった。死亡例は閉眼, 腹臥の姿勢をとり, 次第に衰弱したが, 生存例では4日目位より回復に向った。

ラットの 462 mg/kg 群, マウスの 355 mg/kg 以下の各群では投与1~2時間後から僅かに自発運動が減少し, 躊躇の姿勢を示した以外は何ら異常症状は観察されなかった。

ラットの餌消費量は全ての群において1~2日目には減少し, その後回復乃至増加したが, 減少, 増加の程度はほぼAZ用量に平行した (Fig. 4)。

2. LD₅₀

AZ 経口投与7日目の死亡動物数から Litchfield-Wilcoxon 法によって算出した LD₅₀ とその95%信頼限界はラットの雄 700 (634~774), 雌 735 (671~805), マウスの雄 520 (413~655), 雌 515 (390~680) mg/kg であった。AZ はラットよりマウスに対し, より強い毒性を示したが, 雌雄による差は認められなかった (Table 2)。

Teable 1 Cumulative mortality of rats and mice in acute toxicity of azoxybenzene

Animal	Sex	Dose mg/kg	No.	Day								
				0	1	2	3	4	5	6	7	
Rats	Male	462	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		562	10	0	0	0	0	0	0	0	1	1
		600	10	0	0	0	1	1	2	2	2	2
		684	10	0	0	2	3	4	5	5	5	5
		780	10	0	0	2	3	3	5	5	6	6
		889	10	0	0	2	4	5	7	9	9	9
		1014	10	0	0	7	9	9	10	10	10	10
	Female	462	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		526	10	0	0	0	0	0	1	1	1	1
		600	10	0	0	0	0	1	2	2	2	2
		684	10	0	0	1	1	2	2	2	2	2
		780	10	0	0	2	6	7	7	7	7	7
		889	10	0	0	1	3	7	7	7	7	8
		1014	10	0	0	4	6	7	8	8	8	8
1156	10	0	0	3	6	7	8	9	10	10		
Mice	Male	273	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		355	10	0	0	1	2	2	2	2	2	2
		462	10	0	3	3	4	4	4	5	5	5
		600	10	0	4	7	7	7	7	7	7	7
		780	10	0	4	8	8	8	8	8	8	8
		1014	10	0	5	7	7	7	7	8	8	8
		1318	10	0	4	4	4	6	7	8	9	9
	1713	10	0	7	10	10	10	10	10	10	10	
	Female	210	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		273	10	0	1	1	1	1	1	2	2	2
		355	10	0	1	3	3	4	4	4	4	4
		462	10	0	1	2	4	4	4	4	5	5
		600	10	0	2	3	4	4	4	4	5	5
		780	10	0	3	5	5	5	5	5	6	6
1014		10	0	3	7	7	7	7	7	7	7	
1318	10	0	8	8	9	9	9	9	9	9		
1713	10	0	8	8	8	8	8	9	10	10		

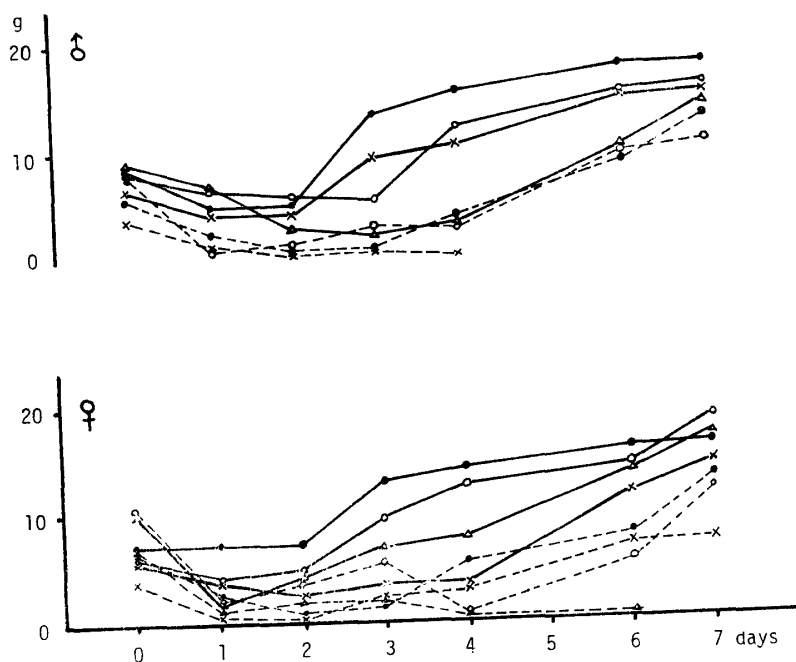


Fig. 4 Food consumption in rats administrated azoxybenzene orally
 ●—● : 462mg/kg ○—○ : 526mg/kg ×—× : 600mg/kg
 △—△ : 684mg/kg ●---● : 780mg/kg ○---○ : 889mg/kg
 ×---× : 1014mg/kg △---△ : 1156mg/kg

Table 2 Acute toxicity of azoxybenzene (P. O.)

Sex	LD ₅₀ (mg/kg)	
	Rats	Mice
Male	700 (634 ~ 774)	520 (413 ~ 655)
Female	735 (671 ~ 805)	515 (390 ~ 680)

LD₅₀ was calculated by Litchfield-Wilcoxon's method.
 () : 95% confidence limits

3. 解剖所見

ラットにおいて肺の充血乃至うっ血が最低用量 462 mg/kg 群で軽度 (±~+) ながら観察され、その他の群の生存解剖例にも中等度 (+~++) の変化がみられた。780 mg/kg 以上の各群の死亡例の約半数例に血液が褐色を呈しているのが観察され、またこの各群中 3~5 例に肉豆蔻肝が、2~3 例に胸腺の出血斑がみられた。胃あるいは小腸に充血の認められた動物もあったが、用量あるいは雌雄による差はなかった。睪丸の充血が 684, 780mg/kg 群の各 1 例に認められた (Table 3)。

Table 3 Gross observations in rats administered orally azoxybenzene

Dose (mg/kg)	462		526		600		684		780		889		1014		1156	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Tissue																
Number of rats (death)	10 (0)	10 (0)	10 (1)	10 (1)	10 (2)	10 (2)	10 (5)	10 (2)	10 (8)	10 (7)	10 (9)	10 (8)	10 (10)	10 (8)	10 (10)	10 (10)
Lung : Hyperemia or Congestion	7	6	4	4 (1)	3 (1)	5 (2)	4 (2)	5 (1)	4 (2)	3 (2)	5 (4)	5 (4)	5 (5)	2 (1)	—	2 (2)
Blood : Brownish	(1) (3)(4) (3)(5) (5)(5) — (5)															
Liver : Nutmeggy	(1) (4)(3) (5)(3) — (5)															
Thymus : Bleeding	1 (3) (2)(3) — (2)															
Stomach, Intestine : Hyperemia	1	(1) (1) (2) —														
Testis : Hyperemia	(1) (1) —															

マウスにおける解剖所見はラットとほぼ同様であった。600 mg/kg 以上の各群で肉豆蔻肝、肺、胃および小腸に充血が2乃至4例みられたが、用量と頻度あるいは程度は必ずしも平行しなかった。

4. メトヘモグロビンの検出

別のラットを用いて AZ 600 または 780mg/kg を1回経口投与し、その3日後に末梢血中の Met. Hb 量を測定して無処置正常ラットと比較した結果、AZ 投与によって Met. Hb 量は著明に増加した (Table 4)。

Table 4 Methemoglobin (%) in rats on 3rd day after azoxybenzene was administered orally (Mean ± S. D.)

Dose mg/kg	♂		♀	
	Cases	Methemoglobin %	Cases	Methemoglobin %
Cont.	2	1.64 ± 0.51	1	1.87
600	1	21.63	1	25.23
780	2	24.57 ± 0.47	2	26.84 ± 4.25

II 亜急性毒性

1. 体重変化

0.5および0.1%群では特にラットにおいて投与初期より著明な体重増加の抑制がみられた。

0.02%群は雄性マウスのみ3~5週目に体重増加の有意の抑制を示したが、11週頃より対照群とほぼ同じ体重になった。その他の群ではいずれも対照群とほぼ同様の体重変化であった (Fig. 5)。

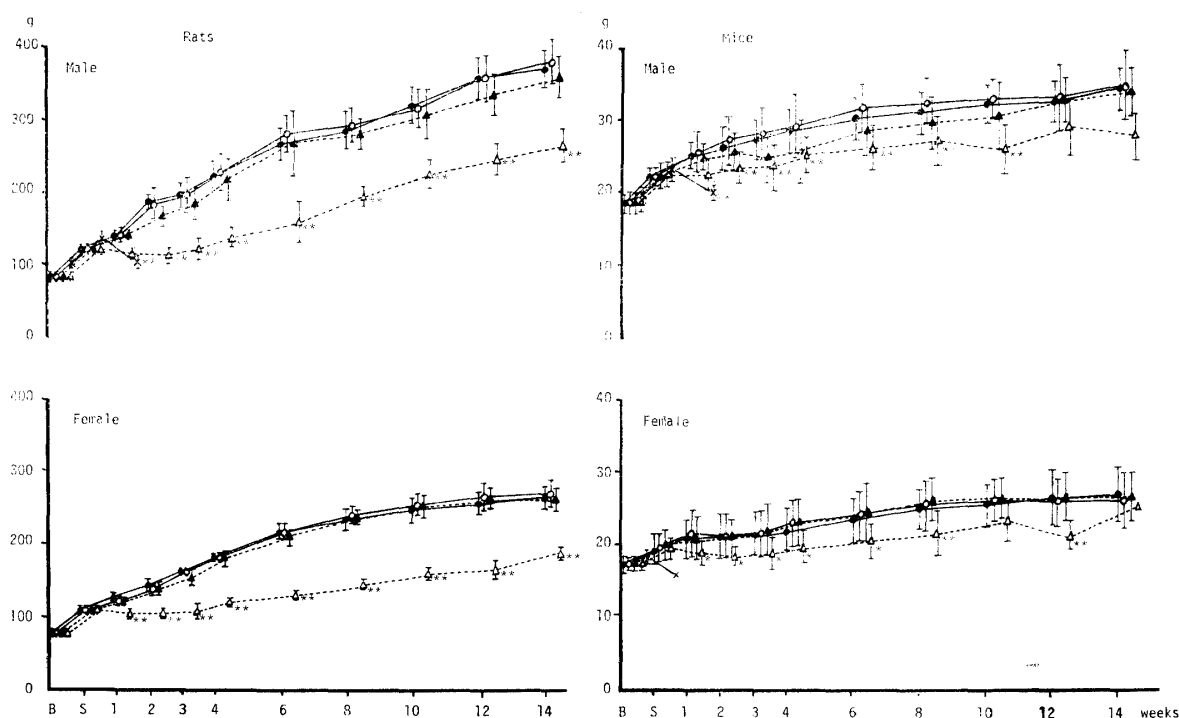


Fig. 5 Body weight in rats and mice fed on the food containing azoxybenzene (Mean \pm S.D.)
 B: before S: start ●—●: control ○—○: 0.005% ▲—▲: 0.02%
 △—△: 0.1% ×—×: 0.5% *: Significantly different from control ($p < 0.05$)
 **: Significantly different from control ($p < 0.01$)

2. 餌および水消費量, AZ 摂取量並びに食餌効率

雄ラット, 雌雄マウスの0.5%群は実験開始直後から AZ 餌を嫌い, 殆んど摂取せず, いずれも1~2週以内に死亡した。0.1%群のラットの餌消費量は全期間を通じて対照群に比し少なく, 特に実験初期において著明であった。0.1%群のマウス, 0.02, 0.005%群のラットおよびマウスでは対照群との間に差は認められなかった (Fig. 6)。

餌消費量より算出した AZ 摂取量を Table 5 に示した。AZ の1匹当りの1日摂取量はラットではいずれの群においても実験の経過とともに増加の傾向を示し, その増加割合は雄性0.1%群で最も高かった。しかし, マウスではこの傾向は雄性0.1%群においてのみ認められ, 雌性0.05%群ではむしろ減少した。AZ の総摂取量はラットおよびマウスのいずれの群においても1匹当りでは雄の方が雌より7~27%高いが, 体重kg当りの量ではマウスの0.1%群以外は雌の方が5~16%高かった。0.005, 0.02, 0.1%の各群の飼料へのAZ添加量の比は1:4:20であるが, 1匹当りのAZ総摂取量の比はラットでは雄1:3.9:14.3, 雌1:4.3:14.7, マウスでは雄1:3.8:19.0, 雌1:4.4:20.1であり, 特にラット0.1%群において雌雄とも低かったが, kg体重当りではマウス雄0.1%群の約20%の比の増加を除き, 各群間の比は10%以内の変動でほぼ添加量の比を示した。

体重増加(g)を餌摂取量(g)で除して求めた食餌効率はいずれの群においても下降型曲線を示した。0.005, 0.02%群ではラット, マウスともに対照群とほぼ同様の变化であった。0.1%群では体重増加が強く抑制されたため, 食餌効率の著しい減少を来し, その程度は初期に特に強く

Table 5 Azoxybenzene taken in a animal (mg/a body)

Animal	Sex	Dose %	Week										Ratio	C		
			1	2	3	4	6	8	10	12	14	g/kg		Ratio		
Rats	♂	0.005	A	0.75	0.74	0.96	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1	0.25	1	
			B	5.22	10.4	17.1	24.1	38.1	52.1	66.1	80.1	94.1				
		0.02	A	2.78	2.86	2.90	3.76	3.99	4.00	4.00	4.00	4.00	3.9	1.05	4.2	
			B	19.4	39.5	59.8	86.1	142	198	254	310	366				
	0.1	A	9.4	9.3	8.9	11.0	12.3	13.9	16.5	16.7	17.5	14.3	5.18	20.7		
		B	65.8	131	193	270	443	637	868	1102	1349					
	0.5	A	3.98											(0.37)		
		B	27.9													
♀	0.005	A	0.62	0.69	0.80	0.82	0.80	0.82	0.79	0.78	0.67	1	0.28	1		
		B	4.31	9.10	14.7	20.4	31.7	43.1	54.1	64.9	74.2					
	0.02	A	2.60	2.62	2.92	3.50	3.41	3.51	3.63	3.34	2.93	4.3	1.22	4.4		
		B	18.2	36.5	57.0	81.5	129	179	229	276	317					
	0.1	A	9.2	9.2	9.5	10.1	10.5	11.5	11.9	11.8	13.2	14.7	5.89	21.0		
		B	64.4	129	195	266	413	574	740	905	1090					
Mice	♂	0.005	A	0.20	0.20	0.19	0.18	0.20	0.22	0.23	0.23	0.23	1	0.61	1	
			B	1.40	2.83	4.17	5.42	8.20	11.3	14.5	17.8	21.0				
		0.02	A	0.74	0.75	0.68	0.64	0.73	0.88	0.85	0.87	0.93	3.8	2.33	3.8	
			B	5.16	10.4	15.2	19.7	30.0	42.2	54.1	66.2	79.3				
	0.1	A	2.86	3.36	3.86	3.79	3.72	4.21	4.10	4.72	4.71	19.0	14.5	23.8		
		B	20.1	43.6	70.7	97.2	149	208	266	332	398					
	0.5	A	8.1											(2.5)		
		B	48.5													
♀	0.005	A	0.19	0.14	0.14	0.15	0.16	0.16	0.19	0.19	0.18	1	0.64	1		
		B	1.32	2.34	3.31	4.39	6.63	8.81	11.4	14.1	16.7					
	0.02	A	0.72	0.62	0.65	0.69	0.71	0.71	0.86	0.85	0.83	4.4	2.72	4.3		
		B	5.05	9.37	13.7	18.7	28.7	38.7	50.7	62.6	74.2					
	0.1	A	3.14	3.60	3.41	3.38	3.60	3.47	3.89	3.14	3.13	20.1	12.8	20.0		
		B	22.0	47.3	71.2	94.9	145	194	248	292	336					
0.5	A	5.6											(2.53)			
	B	39.5														

A : mg/day in a week

B : the sum total mg/ a body

C : the sum total g/kg body weight

後期にはやや回復傾向が見られた (Fig. 7)。

水消費量はラットでは対照に比し、雄0.1%群の6~10週に著明な、0.2%群の2~6週に若干の低値を示した。ラットの0.005%群およびマウスのAZ投与全群では対照群との間に一定の関係は認められなかった (Fig. 8)。

3. 一般症状および死亡率

ラット、マウスともに同様の症状が観察されたが、マウスにおいてはラットより早い時期から

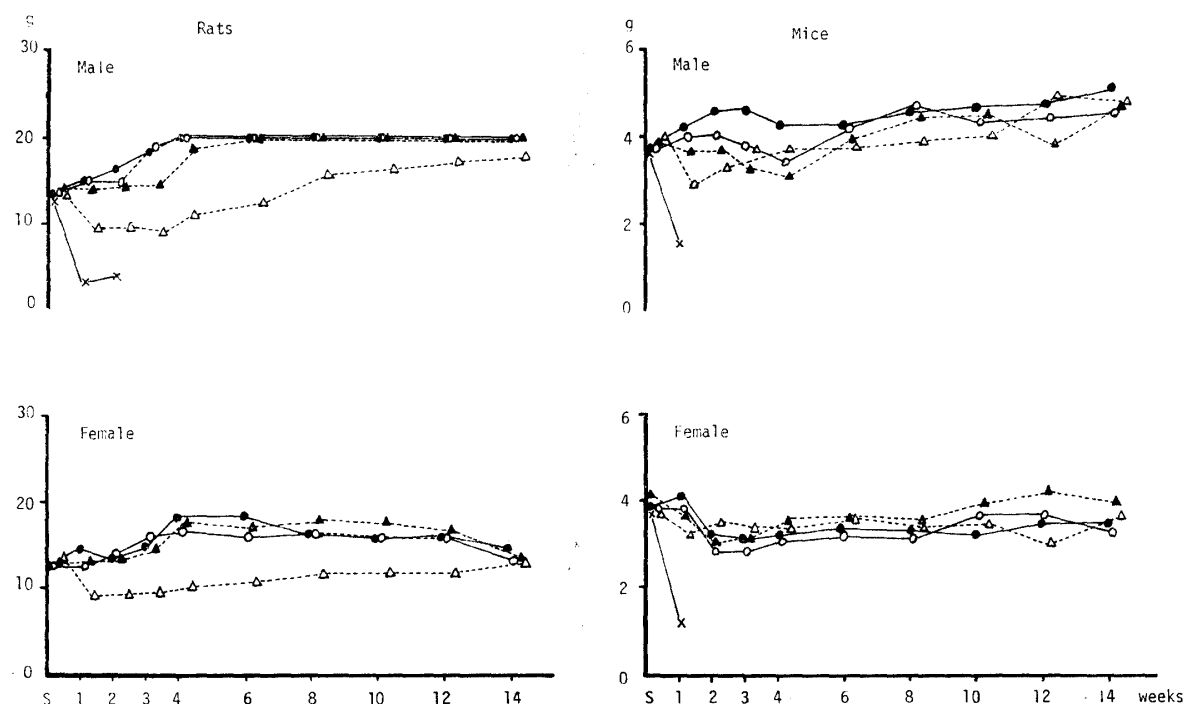


Fig. 6 Food consumptions in rats and mice fed on the food containing azoxybenzene (Mean)

S : start ●—● : control ○—○ : 0.005 % ▲—▲ : 0.02 % △—△ : 0.1 %
 ×—× : 0.5 %

より顕著に現われ、死亡率も高かった。0.5%群ではラットおよびマウスの全例に立毛、光沢消失、体皮の黄色化、紅彩の黒色化がみられ、餌をほとんど摂取せず、脱力状態となって、ラットは6~10日、マウスは6~8日以内に死亡した。0.1%群では雌雄ラットの全例に実験開始2週目頃より立毛、光沢消失がみられ、雄5、雌4例が2~5週に集中して死亡した。生存例では6週目頃に至り体毛の汚染、体皮の黄色化がみられ動作が緩慢となった。また雌雄各1例に軽度の頭部脱毛が観察された。0.1%群のマウスでは立毛、光沢消失、体毛汚染が1週目より現われ、6週頃より閉眼、体皮の黄色化(5例)がみられ、蹲踞の姿勢をとり、この時期より脱力状態となって死亡例(雄13、雌17例)が頻発した。更に尿が橙色を帯びるのがラット、マウスともに観察された。0.02%群ではラットの雄1例が5週目に、マウスの雄5例が3~11週の間、雌7例が1~7週の間死亡したが、ラットの1例と実験初期に死亡した雌マウスの4例には肺炎所見が認められた。その他のラットでは特に異常症状は観察されず、マウスでも軽い立毛、光沢消失、体毛汚染が雌雄各2例にみられたのみであった。0.005%群においてはラット、マウスともに異常症状は観察されなかった。なお、マウス対照群の死亡1例は肺炎によるものであった (Table 6)。

4. 尿検査所見

尿の色はラットおよびマウスの0.1%群で橙褐色を呈した。その他の所見を Table 7 に示す。ラット、マウスのいずれの AZ 投与群も尿量、pH は対照群との間に有意差はなく、蛋白、ウロビリノーゲン値にも異常を認めなかった。また糖、ケトン体、潜血反応、ビリルビンはいずれも陰性であった。尿中 Na^+ 、 K^+ および Na/K 比については群によって若干の増減があったが、

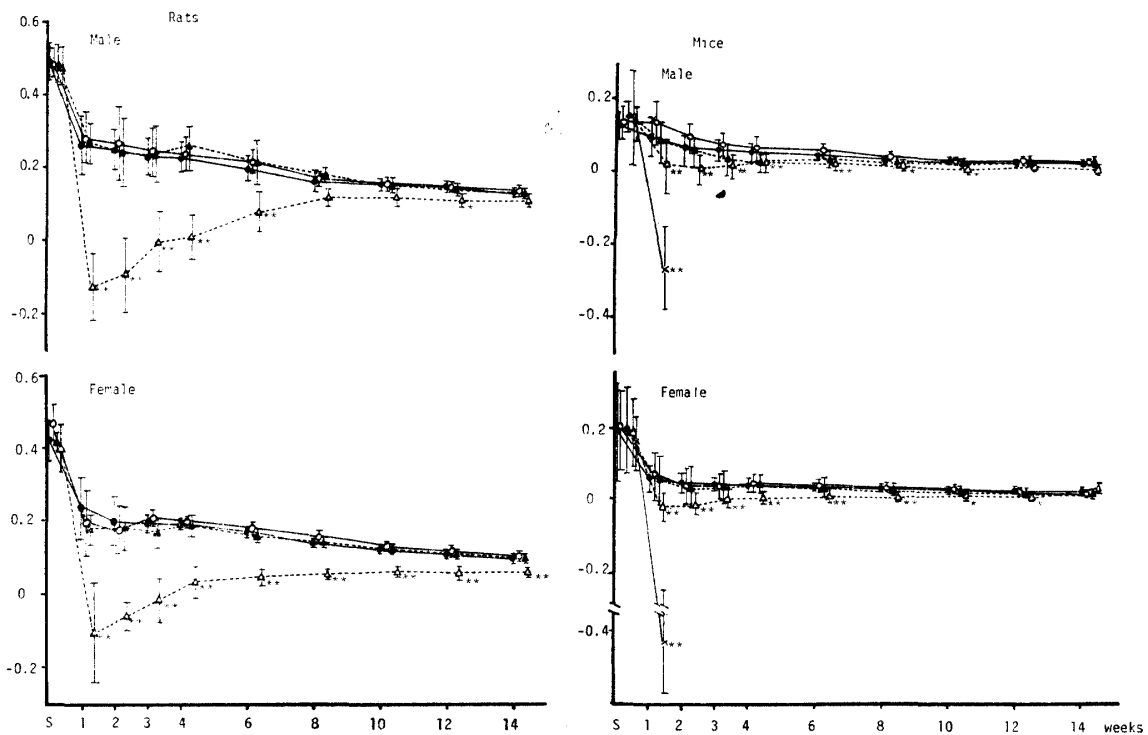


Fig. 7 Food efficiency in rats and mice fed on the food containing azoxybenzene
 ●—● : control ○—○ : 0.005% ▲---▲ : 0.02% △—△ : 0.1%
 ×—× : 0.5% S : start * : Significantly different from control ($p < 0.05$)
 ** : significantly different from control ($p < 0.01$)

AZ 用量との関連は特に認められず、また餌摂取量の影響も考えられ、AZ による変動とは認め難い。

5. 血液学的所見

ラットの血液学的所見はAZ投与群に Ht, Hb, RBC, 血小板の減少乃至減少傾向が認められ、その程度は雌の方が大きく、0.005% 群においても対照群に比し有意の差であった。マウスの雄性群ではラットとほぼ同様の変化がみられたが、雌性群では RBC, 血小板において 0.005 および 0.02% 群で増加が、0.1% 群では有意の減少が認められた。

WBC はラット、マウスともに AZ 投与群で用量に平行した増加傾向を示し、雄ラットの 0.005, 0.02%, 雄マウスの 0.02% 群で有意差を示した。

白血球百分率はいずれの群においてもほぼ正常範囲内にあった。

Met. Hb はラットについてのみ測定したが、AZ 投与群で用量に伴った著明な増加が認められた (Table 8)。

6. 生化学的所見

血液、血清についての生化学的検査結果は Table 9 に示す通りである。

血糖はラット、マウスのいずれの AZ 投与群も対照群との間に差を認めなかったが、血清蛋白は雌雄ラットにおいて AZ 投与量に平行して減少する傾向がみられた。血清中総コレステロール値は雌雄ラット、雄マウスの AZ 投与群で対照群より高く、雄ラット 0.005% 群と雄マウス 0.1% 群において有意差が認められた。

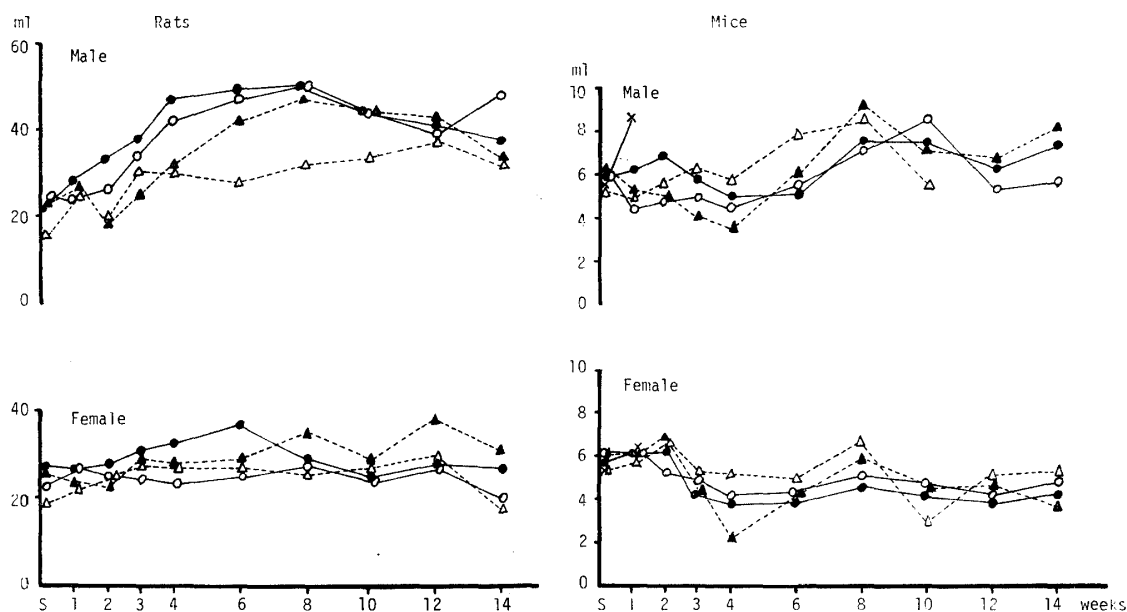


Fig. 8 Water consumptions in rats and mice fed on the food containing azoxybenzene (Mean)

S : start ●—● : control ○—○ : 0.005 %
 ▲---▲ : 0.02 % △---△ : 0.1 % ×—× : 0.5 %

血清 GOT, GPT, LDH, AL-P はラットではいずれの群にも異常な値は認められなかったが、マウスでは雄性0.1%群で有意の増加が認められた。

ラットの血清 Na^+ 量は雌雄とも増加を、 K^+ 量は雄 0.1%, 雌 0.005, 0.02%群で有意の増加を示したが、 Na^+/K^+ 比は上昇 (雄 0.005%群), あるいは低下 (雌 0.02%群) し、AZ 投与量と関連ある変化は見られなかった。マウスについても若干の増減がみられたが、AZ 投与量との関連は認められなかった。

7. 病理解剖学的所見並びに臓器重量

解剖時の肉眼的観察では肺のうっ血, 軽度の赤色肝変がラット, マウスの全群に1~4例宛みられたが, 対照群 (ラット雄3, 雌2, マウス雌1例) にも同程度の所見があり, 薬物摂取と関連あるものではない。

肝についてはラットでは脂肪沈着が雄0.02%群の1例に観察されたのみであるが, マウスでは雄0.005%群, 雌0.02%群に各々1, 2例および0.1%群の死亡した雌雄各4例にみられた。

脾の腫大が AZ 投与のラット, マウスの全例に観察され, その程度は AZ 投与量に比例し, ラットの0.1%群ではその長さが5 cmに達するものもあった。

脳, 心, 大動脈, 胸腺, 睪, 胃, 腸管, 膀胱, 下垂体, 甲状腺, 副腎, 性腺, 副性器などの臓器には特に異常な所見は認められなかった。

臓器重量測定の結果, ラットの雄0.005%群を除いたすべての群で AZ の高用量群になるに従い, 脾臓の絶対重量, 比体重々量の増加がみられ, 0.1%群では対照群に対しマウス雄で約2倍, ラット, マウスの雌では4~6倍であった。肝重量およびその比体重々量も AZ 投与の全群で AZ 用量にほぼ平行して増加した。心については絶対重量でラットの雄の0.005, 0.02, 0.1%,

Table 6 Distribution of the death in animals fed on the food containing azoxybenzene

Animal	Sex	Dose %	No. of animal	Week											Total
				S	1	2	3	4	6	8	10	12	14		
Rats	Male	Cont.	10												0
		0.005	10												0
		0.02	10					1*							1
		0.1	10			3	2			1					6
	0.5	5	1	4										5	
	Cont.	10												0	
	0.005	10												0	
	0.02	10												0	
Female	0.1	10		1	1			2				1		5	
	Cont.	20			1*									1	
Mice	Male	0.005	20	1*					1*				1°	3	
		0.02	20				1	2		1	1		5		
		0.1	20		1					2	9*2	1	13		
		0.5	10	10									10		
		Cont.	20											0	
	Female	0.005	20		1*							1	1	3	
		0.02	20	2*	2*	1*		1	1					7	
		0.1	20				1	1*	6*	2	6*2	3*		19	
		0.5	10	10										10	
		Cont.	20											0	

S : start

* : Pneumonia * 2 : means two animals died.

° : Accidental death

雌の0.1%群で有意の増加を認めたが、他のラットおよびマウスの各群では対照群との間に差は認められなかった。腎重量では雌ラットの、0.02、0.1%群で有意の増加を認めたのみであるが、その比体重々量は雌雄ラットの0.02、0.1%群およびマウス雌の0.1%群で有意の増加を示した。

下垂体、甲状腺、胸腺、副腎、性腺、副性器については雌マウスの0.1%群で生存例が1例のみであったが、いずれも著明に減少した。その他の群では下垂体は雌ラット0.1%群で増加、胸腺は雌マウス0.02%群で減少、睪丸はラット0.02%群で増加、0.1%群では逆に減少、副睪丸はラットおよびマウスの0.1%群で減少、前立腺ならびに子宮もラット0.1%群で減少が絶対重量、比体重々量ともに認められ、いずれも対照群に比し有意の差であった。また甲状腺はすべてのAZ投与群で増加傾向を、副腎およびラットの卵巣は高用量群で特に比体重々量の増加を示した (Table 10~11)。

死亡例における臓器重量は死亡時の日令、体重が異なるため正確な比較は困難であるけれども、実験のごく初期 (1~8日) に全例が死亡した0.5%群では脾、肝重量はやや大きい程度であったが、死亡時の比体重々量は高い値を示し、実験の中期以降 (17~94日) に死亡した0.1%

Table 7 Urinalysis in rats and mice fed on the food containing azoxybenzene

Animal	Sex	Dose %	Cases	Volume ml/body	pH	Protein ±±±	Glucose -△	Ketone body -△	Occult blood -△	Bilirubin -△	Urobilinogen E. U./dl	Na ⁺ mEq/day	K ⁺ mEq/day	Na ⁺ /K ⁺
Rats	Male	Cont.	10	10.4±3.1	6.6±0.7	5 5	10	10	10	10	0.1±0	1.48±0.57	2.36±0.62	0.62±0.14
		0.005	10	12.3±3.4	7.8±0.4	6 4	10	10	10	10	0.1±0	1.13±0.29	2.38±0.58	0.47±0.04**
		0.02	9	12.5±1.6	7.7±0.5	5 4	9	9	9	9	0.1±0	1.30±0.48	2.10±0.74	0.62±0.05
		0.1	4	8.7±2.2	7.3±0.4	4	4	4	4	4	0.1±0	0.62±0.28*	2.19±0.72	0.27±0.04**
Rats	Female	Cont.	10	6.1±1.5	6.7±0.6	3 7	10	10	10	10	0.1±0	0.77±0.25	1.43±0.35	0.53±0.09
		0.005	10	6.8±2.5	6.7±0.6	6 4	10	10	10	10	0.1±0	0.88±0.15	1.95±0.48*	0.47±0.10
		0.02	10	8.5±2.3	7.3±0.9	7 3	10	10	10	10	0.1±0	0.65±0.22	1.21±0.43	0.54±0.07
		0.1	6	7.7±1.5	7.8±0.4	4 2	6	6	6	6	0.3±0.3	0.59±0.15	1.67±0.43	0.32±0.05**
Mice	Male	Cont.	4	1.1±0.7	6.5±0.5	4	4	4	4	4	0.1±0	0.32±0.09	0.83±0.01	0.39±0.10
		0.005	3	0.7±0.1	6.3±0.5	3	3	3	3	3	0.1±0	0.50±0.03	1.00±0.10	0.51±0.03
		0.02	4	0.4±0.1	6.3±0.4	4	4	4	4	4	0.1±0	0.31±0.07	0.50±0.16*	0.66±0.18
		0.1	2	0.9±0.4	6.0±0	2	2	2	2	2	0.1±0	0.44±0	0.45±0	0.78±0
Mice	Female	Cont.	4	0.5±0.3	7.8±0.4	4	4	4	4	4	0.1±0	0.29±0.12	0.47±0.25	0.67±0.15
		0.005	4	0.7±0.4	6.5±0.5	2 2	4	4	4	4	0.1±0	0.30±0.14	0.57±0.34	0.61±0.33
		0.02	4	0.6±0.2	6.4±0.5	4	4	4	4	4	0.1±0	0.19±0.14	0.39±0.10	0.69±0.33
		0.1	2	0.5±0	7.0±1.0	2	2	2	2	2	0.1±0	0.07±0.02	0.15±0.01	0.50±0.13

* : Significantly different from control (p < 0.05).

** : " " (p < 0.01).

Pooled urine from 3-5 mice was used for one case.

△ : Positive cases were not found.

Table 8 Hematological findings in rats and mice fed on the food containing azoxybenzene (Mean \pm S. D.)

Ani- mal	Sex	Dose No. of ani- mal %	Ht %	Hb g/dl	RBC 10 ⁴ /mm ³	WBC 10 ² /mm ³	Thromb. 10 ³ /mm ³	Hemogram %			Met. Hb %				
								Seg. Lymph.	Stab.	Eosin.		Baso.	Mono.		
Rats															
		Cont.	10	45.4 \pm 2.5	16.2 \pm 1.4	655 \pm 80	117 \pm 21	328 \pm 68	42 \pm 6	53 \pm 6	2.0 \pm 1.0	1.5 \pm 0.5	0.2 \pm 0.4	1.3 \pm 0.5	2.5 \pm 0.8
	♂	0.005	10	44.0 \pm 2.2	15.1 \pm 0.6	571 \pm 139	139 \pm 13*	238 \pm 53**	41 \pm 9	54 \pm 9	2.0 \pm 1.0	1.2 \pm 0.4	0.2 \pm 0.4	1.2 \pm 0.9	6.7 \pm 0.7**
		0.02	9	41.1 \pm 1.6	15.1 \pm 0.7	418 \pm 66**	141 \pm 14*	187 \pm 42**	43 \pm 6	53 \pm 5	1.8 \pm 0.8	1.4 \pm 0.7	0.1 \pm 0.3	1.4 \pm 0.7	11.0 \pm 2.2**
		0.1	4	43.9 \pm 2.7	15.0 \pm 1.1	581 \pm 73	141 \pm 14	155 \pm 107**	43 \pm 5	54 \pm 4	2.5 \pm 1.0	1.5 \pm 0.5	0 \pm 0	1.3 \pm 0.4	19.4 \pm 4.2**
	♀	Cont.	10	46.0 \pm 1.7	16.1 \pm 0.3	773 \pm 52	109 \pm 25	401 \pm 81	48 \pm 8	47 \pm 8	2.0 \pm 1.0	1.5 \pm 0.9	0.3 \pm 0.6	1.3 \pm 0.6	2.9 \pm 0.9
		0.005	10	41.6 \pm 1.5**	13.6 \pm 0.8**	555 \pm 80**	116 \pm 26	257 \pm 115**	43 \pm 6	52 \pm 7	2.4 \pm 0.8	1.4 \pm 0.7	0.3 \pm 0.5	1.1 \pm 0.6	7.0 \pm 5.7**
		0.02	10	39.8 \pm 1.5**	14.7 \pm 0.7**	434 \pm 90**	135 \pm 50	117 \pm 56**	41 \pm 5	55 \pm 5	2.1 \pm 1.0	1.1 \pm 0.8	0.1 \pm 0.3	1.1 \pm 0.9	18.7 \pm 5.9**
		0.1	5	40.6 \pm 2.5**	14.1 \pm 0.7**	502 \pm 50**	133 \pm 21	194 \pm 60**	40 \pm 4	57 \pm 4	1.5 \pm 0.5	0.6 \pm 0.7	0 \pm 0	1.0 \pm 0.6	22.2 \pm 1.7**
Mice															
		Cont.	12	43.6 \pm 2.7	15.8 \pm 0.9	934 \pm 111	126 \pm 41	410 \pm 152	43 \pm 8	53 \pm 9	1.3 \pm 0.6	1.4 \pm 1.0	0.6 \pm 0.9	0.9 \pm 0.6	
	♂	0.005	12	42.8 \pm 3.7	15.6 \pm 0.5	843 \pm 119	144 \pm 33	280 \pm 98*	38 \pm 7	57 \pm 9	1.2 \pm 1.0	2.7 \pm 1.0	0.3 \pm 0.4	1.3 \pm 0.5	
		0.02	12	38.8 \pm 1.8**	17.6 \pm 1.1**	727 \pm 67**	179 \pm 41**	234 \pm 63**	40 \pm 3	54 \pm 3	1.3 \pm 0.6	2.6 \pm 1.4	0.3 \pm 0.4	1.4 \pm 1.0	
		0.1	6	39.1 \pm 3.5*	13.1 \pm 2.1**	788 \pm 131*	137 \pm 25	228 \pm 63*	51 \pm 8	43 \pm 9	2.3 \pm 0.7	2.0 \pm 0.6	0.8 \pm 0.7	1.3 \pm 0.7	
	♀	Cont.	12	43.9 \pm 1.7	16.2 \pm 0.6	785 \pm 166	139 \pm 25	230 \pm 99	50 \pm 9	46 \pm 11	1.3 \pm 0.7	0.9 \pm 0.3	0.2 \pm 0.4	1.0 \pm 0.6	
		0.005	12	44.0 \pm 3.1	16.0 \pm 1.3	973 \pm 175*	144 \pm 32	251 \pm 143	42 \pm 7	55 \pm 8	1.5 \pm 1.0	1.5 \pm 0.6	0.7 \pm 0.9	1.2 \pm 0.4	
		0.05	12	44.2 \pm 2.7	16.1 \pm 1.0	945 \pm 68**	148 \pm 32	372 \pm 122*	38 \pm 9	58 \pm 8	1.4 \pm 0.6	1.0 \pm 0.6	0.8 \pm 0.7	1.0 \pm 0	
		0.1	3	44.0 \pm 2.2	12.2 \pm 1.0**	526 \pm 19*	151 \pm 9	72 \pm 43*	51 \pm 6	2 \pm 2	1.0 \pm 0	0.7 \pm 0.5	0 \pm 0	1.0 \pm 0	

* : Significantly different from control (p < 0.05).
 ** : " " " (p < 0.01).

Table 9 Biochemical investigations on blood from rats fed on the food containing azoxybenzene (Mean \pm S. D.)

Animal	Sex	Dose %	Ca- s ^{ss}	Glucose mg/dl	Protein g/dl	Chole- sterol mg/dl	GOT Karm. U.	GPT Karm. U.	LDH Wrob. U.	AL-P Bodan. U.	Na ⁺ mEq/l	K ⁺ mEq/l	Na ⁺ /K ⁺	BSP Cases %	
Rats	♂	Cont.	7	104±20	6.0±0.4	37±4	111±27	37±6	425±115	9.1±1.4	114±13	4.5±0.6	25.5±1.5	3	3.8±0.5
		0.005	7	89±13	5.9±0.4	46±5**	107±20	37±8	520±177	11.0±2.0	123±10	4.1±0.7	30.9±5.3*	3	2.6±0.3*
		0.02	6	105±15	5.8±0.4	45±13	98±18	28±3	923±221	8.5±2.5	136±13*	4.9±0.5	27.6±2.1	3	2.0±0.1**
		0.1	2	96±9	5.6±0.4	48±12	106±44	43±13	313±133	9.5±1.5	158±10**	7.1±0.9**	22.4±1.5	2	3.2±0.1
	♀	Cont.	7	87±11	6.3±0.2	47±11	121±16	41±7	637±154	7.4±1.2	120±7	4.0±0.2	28.8±3.1	1	1.5
		0.005	7	95±10	6.5±0.3	57±17	99±37	32±8	563±220	8.0±1.5	126±11	5.3±1.2*	24.7±3.5	3	2.2±0.1
0.02		7	93±11	5.8±0.6	61±16	85±33	30±5	640±484	8.9±1.6	121±14	7.5±2.7*	18.3±7.1	3	1.6±0.3	
Mice	♂	0.1	3	87±8	5.5±0.4*	51±19	55±5	24±1	203±31	9.3±0.9	146±4*	4.9±1.6	32.5±9.1	2	2.3±0.1
		Cont.	5	119±22	5.5±0.5	49±9	113±18	50±9	519±144	6.0±0.6	94±11	4.6±0.9	21.2±3.7		
		0.005	4	120±34	5.3±0.6	57±10	116±18	51±12	683±300	5.3±0.4	97±8	7.6±1.3**	12.9±1.2**		
	♀	0.02	4	144±15	5.7±0.4	62±11	114±16	50±3	714±201	4.5±0.5	93±14	6.5±2.8	20.3±14.7		
		0.1	2	116±29	5.5±0.3	73±5*	162±20*	104±17**	1310±20**	7.5±0.5*	103	3.8	27.1		
		Cont.	5	120±36	6.2±0.5	62±10	124±9	52±1	571±88	5.7±0.5	105±11	3.7±0.7	28.4±3.0		
	0.005	4	120±24	6.4±0.5	71±16	105±14	43±10	550±69	6.0±0	102±12	3.5±0.9	29.3±3.1			
	0.02	4	96±18	6.4±0.4	53±7	126±13	42±6	307±12	5.0±0.7	127±12	3.9±0.4	33.0±1.3			
	0.1	1	150±61	4.5	—	107	52	1320	—	—	—	—			

* : Significantly different from control (p < 0.05).

** : " " " " (p < 0.01).

Pooled urine from 3-5 mice was used for one case.

Table 10 Organ weight in rats and mice fed on the food containing azoxybenzene (Mean ± S. D.)

Animal	Sex	Male											Female					
		Dose %			0.02			0.1			Cont.		0.005		0.02		0.1	
		No. of animal			10	15	19	10	15	19	10	15	20	10	17	13	5	
Rats	Hypophysis		10.9±1.1	10.4±2.0	9.7±1.7	10.3±2.0	13.9±1.1	15.4±1.6	14.4±2.7	9.1±1.0**								
	Right mg	9.2±3.0	9.9±3.9	8.7±2.6	9.3±1.3	6.9±1.9	8.2±1.9	8.4±1.2	8.2±1.9	6.9±2.7								
	Left mg	8.3±2.8	10.7±3.4	9.7±1.8	8.0±1.2	7.5±1.2	9.0±1.1	8.5±1.5	8.5±1.5	8.2±1.4								
	Thymus	0.28±0.05	0.30±0.08	0.26±0.09	0.22±0.04	0.28±0.07	0.27±0.06	0.28±0.07	0.28±0.07	0.29±0.08								
	Heart	1.14±0.07	1.23±0.13	1.18±0.09	1.21±0.27	0.83±0.05	0.87±0.07	0.84±0.07	0.84±0.07	0.93±0.14								
	Spleen	0.75±0.14	1.03±0.17**	2.07±0.41**	2.47±1.14**	0.54±0.06	0.78±0.09**	2.11±0.77**	2.11±0.77**	2.82±1.37**								
	Liver	11.7±1.3	12.9±1.8	12.1±1.1	12.8±1.6	8.5±1.3	9.1±1.0	10.1±1.1*	10.1±1.1*	10.4±1.5*								
	Kidney																	
	Right g	1.29±0.16	1.33±0.22	1.32±0.14	1.15±0.11	0.89±0.07	0.90±0.11	1.01±0.11*	1.01±0.11*	1.05±0.18*								
	Left g	1.29±0.15	1.31±0.20	1.29±0.13	1.18±0.07	0.86±0.06	0.89±0.10	0.98±0.11*	0.98±0.11*	1.01±0.15*								
	Adrenal G.																	
	Right mg	21.0±1.5	22.3±7.3	20.5±2.0	18.0±4.5	27.5±4.0	23.5±2.8	27.4±5.9	27.4±5.9	24.9±2.5								
	Left mg	21.5±4.2	24.5±7.8	21.0±2.1	22.5±1.8	29.9±4.6	28.4±4.4	29.6±6.6	29.6±6.6	33.1±6.7								
	Gonad																	
	Right g(mg)°	1.68±0.12	1.81±0.14	1.79±0.08	0.73±0.12**	1.68±0.12	1.81±0.14	1.79±0.08	1.68±0.12	33.1±6.7								
	Left g(mg)°	1.76±0.13	1.81±0.05	1.80±0.09	0.66±0.08**	39.5±5.3	41.1±6.8	39.5±8.1	41.1±6.8	41.9±5.8								
	Prostate, Uterus																	
Right g(mg)	0.49±0.13	0.47±0.09	0.40±0.11	0.25±0.10**	38.7±7.5	39.1±9.8	40.4±9.2	39.1±9.8	39.7±4.1									
Left g	0.55±0.04	0.61±0.04	0.60±0.04	0.27±0.02**	0.63±0.28	0.56±0.16	0.49±0.19	0.56±0.16	0.34±0.10*									
Epididymis																		
Left g	0.59±0.05	0.61±0.03	0.60±0.04	0.25±0.01**														
Mice	No. of Animal	19	15	15	7	20	17	13	1									
	Hypophysis	2.2±0.6	2.2±0.6	1.7±0.8	1.6±1.0	3.1±1.7	2.5±0.9	2.6±0.8	2.6±0.8	1.3								
	Thyroid G. Total	2.5±0.9	2.5±1.2	2.6±0.9	4.0±3.1	2.0±0.9	2.7±1.5	2.8±1.2	2.8±1.2	1.2								
	Thymus	27.5±12.8	20.3±7.7	24.0±10.7	23.0±6.4	44.7±13.3	37.4±12.8	33.9±8.7*	33.9±8.7*	31.5								
	Heart	143±22	140±27	136±24	152±34	118±17	120±18	120±15	120±15	121								
	Spleen	260±83	240±59	368±110**	452±146**	181±39	242±78**	473±144**	473±144**	825								
	Liver	1.44±0.22	1.53±0.33	1.71±0.23**	1.72±0.39*	1.28±0.19	1.50±0.28**	1.70±0.29**	1.70±0.29**	2.29								
	Kidney																	
	Right mg	235±33	232±44	216±32	242±67	166±25	172±28	182±36	182±36	179								
	Left mg	228±28	224±46	207±28	255±61	160±24	163±25	168±33	168±33	186								
	Adrenal G.																	
	Right mg	2.3±1.1	2.2±0.4	2.7±1.1	2.8±0.8	3.8±1.7	4.4±1.5	3.8±1.0	3.8±1.0	2.5								
	Left mg	2.5±1.0	2.2±0.5	2.7±1.4	3.1±1.0	4.1±1.4	4.1±1.7	4.2±1.3	4.2±1.3	3.5								
	Gonad																	
	Right mg	124±19	125±16	117±13	104±17	6.2±2.8	5.8±2.1	5.8±2.8	5.8±2.8	3.0								
	Left mg	117±18	120±15	112±15	103±18	5.5±2.7	5.5±1.7	6.4±3.0	6.4±3.0	3.0								
	Prostate, Uterus																	
	Right mg	15.8±4.2	15.1±3.5	17.8±7.9	11.4±6.0	89.0±54.4	89.7±53.8	73.9±51.0	73.9±51.0	24.5								
	Left mg	41.6±5.3	41.8±5.5	40.6±5.6	31.2±11.1**													
Epididymis																		
Left mg	41.1±5.1	42.6±5.5	38.0±6.4	30.2±8.3**														

* : Significantly different from control (p < 0.05).

** : " " " " " " (p < 0.01).

o : g for testis

(mg) for ovary

Table 11 Organ weight per body weight 100 g in rats and mice fed on the food containing azoxybenzene (mg, Mean±S. D.)

Animal	Organ	Sex		Male					Female						
		Dose %		0.005		0.02		0.1		0.005		0.02		0.1	
		No. of animal		Cont.	10	9	4	Cont.	10	10	10	10	10	5	
Rats	Hypophysis	Right	2.71±0.35	2.61±0.54	2.64±0.36	3.45±0.54	5.07±0.44	5.36±0.83	5.45±0.86	3.98±0.57**					
		Left	2.31±0.83	2.46±0.92	2.35±0.64	3.21±0.88	2.54±0.75	2.88±0.77	3.20±0.52	3.20±0.52	2.99±1.06				
	Thyroid G.	Right	2.08±0.68	2.66±0.74	2.66±0.56	2.74±0.52	2.75±0.57	3.14±0.41	3.24±0.66	3.57±0.58					
		Left	70.2±10.4	74.8±21.1	69.9±19.9	72.6±10.9	101.0±30.1	93.4±19.2	106.1±30.2	124.9±35.4					
	Thymus	Right	283±12	306±19**	323±23**	419±135*	303±12	300±24	320±29	407±55**					
		Left	185±26	258±35**	564±117**	892±494**	198±17	271±31**	840±863**	1234±609**					
	Spleen	Right	2.90±0.25	3.22±0.39	3.31±0.28**	4.27±0.23**	3.08±0.29	3.16±0.36	3.86±0.35**	4.54±0.61**					
		Left	321±20	332±41	359±29**	391±60**	325±23	313±34	384±41**	459±83**					
	Liver	Right	319±24	330±70	350±25*	399±47**	314±18	308±31	373±41**	440±75**					
		Left	5.23±0.47	5.62±2.03	5.64±0.86	6.31±2.24	10.05±1.63	8.23±1.56*	10.47±2.43	10.90±1.34					
	Kidney	Right	5.35±1.06	6.16±2.18	5.76±0.82	7.76±1.75*	10.88±1.67	9.86±1.55	11.32±2.72	14.31±2.03**					
		Left	419±27	454±46	488±29**	243±14**	14.41±1.79	14.31±2.56	15.14±3.43	18.23±1.82**					
Adrenal G.	Right	438±33	455±50	490±32**	222±26	14.11±2.74	13.53±3.13	15.44±3.65	17.33±1.85*						
	Left	123±33	117±24	107±25	81±27	234±114	197±70	181±65	149±43						
Gonad	Right	137±11	152±14	164±11**	92±10**										
	Left	147±11	152±13	163±14*	83±9**										
Prostate, Uterus	Right														
	Left														
Epididymis	Right														
	Left														
Mice	Hypophysis	Total	6.82±1.99	6.82±2.33	5.45±2.40	6.03±4.03	11.97±4.72	9.39±3.18	9.02±3.09	4.52					
		Right	7.72±2.43	7.65±3.31	8.29±2.77	15.09±11.04*	7.86±3.59	9.64±5.77	10.16±4.36	4.52					
	Thyroid G.	Right	84±39	64±26	77±35	80±19	170±44	143±44	120±15**	119					
		Left	434±60	429±52	442±81	551±118	450±50	463±56	432±41	457					
	Spleen	Right	787±238	744±181	1027±409**	1632±447**	690±146	944±325**	1688±466**	3113					
		Left	4.38±0.59	4.70±0.71	5.58±0.71**	6.18±0.83**	4.84±0.49	5.76±0.66**	6.05±0.62**	8.56					
	Liver	Right	713±85	713±100	696±108	862±140**	634±64	667±87	647±72	675					
		Left	692±74	623±95	668±102	926±208**	612±77	633±81	602±99	702					
	Kidney	Right	7.14±3.18	6.77±1.27	8.86±3.82	10.27±5.10	15.18±8.94	17.27±7.40	13.46±3.60	9.43					
		Left	7.53±3.03	6.89±1.48	8.73±4.61	10.92±3.69	16.10±6.63	16.10±7.69	15.11±4.76	13.20					
	Adrenal G.	Right	378±54	393±89	384±35	380±70	23.39±9.30	21.77±6.84	22.89±8.72	11.32					
		Left	357±57	381±88	367±40	376±56	20.59±10.36	20.89±6.10	22.40±8.72	11.32					
	Prostate, Uterus	Right	48.1±12.4	46.9±10.1	57.2±26.6	38.9±18.7	328±183	330±180	252±155	92					
		Left	126±16	131±26	132±19	111±27									
	Epididymis	Right	125±16	133±25	125±20	108±21*									
		Left													

* : Significantly different from control (p<0.05).

** : " " (p<0.01).

群ではラット、マウスともに著明な脾重量並びに若干の肝重量の増大が認められた。0.02%、0.005%群のマウスの死亡例における臓器重量には特に異常と思われる値はなかった。

8. 病理組織学的所見

組織学的観察の結果を Table 12, 13 に示した。マウスでは1群20匹中、生存、死亡の例数の比でアトラムダムに10匹を抜き出して行った。

ラットおよびマウスのAZ投与群の脾に洞うっ血がみとめられ、特に高用量(0.1%)群で強い所見が観察されたが、その出現頻度は投与量とは平行しなかった。汙胞の萎縮がラット雄の全群、雌の0.005、0.1%群、マウス雄の0.1%、雌の0.02、0.1%群にそれぞれ1~2例みられた。またマウスにおいては0.1%群の雄4例、雌5例に褐色々素沈着が、雌2例に細胞増加が観察された。

肝における異常所見はラットよりマウスで、また雌雄では雌において多く、その程度も大であった。実質あるいはグリソン氏鞘内への細胞浸潤がラット雌0.02%群の1例に、マウスでは雌0.1%群を除く全群に3~10例みられたが、その頻度、程度はマウス0.02%群で最も高かった。褐色々素沈着がラットの雄0.02%群、雌0.1%群の各2例、マウスの0.1%群雄6例、雌3例、0.02%群雌1例に観察された。その他の所見はラットでは雌雄0.02%、雌0.1%群にうっ血、脂肪沈着、好酸球の増加が1例ずつ散見されたにすぎないが、マウスでは広範囲あるいは局所的な細胞壊死が雌雄0.1%群(雄7、雌10例)に、肉芽形成が雌雄0.1%群各2例、雄0.02%群1例に、肝細胞の腫大が雄0.02%群3例に観察された。

心においては軽度の細胞壊死が0.1%雄性ラットおよびマウスに1例ずつ認められた。

腎では褐色々素沈着が0.1%群のラット(雄性4、雌性3例)およびマウス(雄性1例)にみられた。更にラットでは雄0.02%群の1例に中等度のうっ血を、雌0.1%群の2例に尿細管上皮細胞壊死を、マウスでは雌0.005%群の3例に細胞萎縮を、0.1%群の雌雄各4例、および雌0.02%群の2例に小円形細胞浸潤を観察した。

副腎においては脂肪顆粒の増加による腔胞化がラット雄0.1%群およびマウス雄0.005%群を除く各群にそれぞれ1~5例、細胞の癒合淡明化が雄性のラット0.1%群、マウス0.005、0.02%群に各々1~2例観察された。

甲状腺濾胞内コロイドの減少がラットでは雄0.02%以外の各群に1~2例、マウスでは雌0.1%群(1例)においてのみ認められた。

脾における所見はラットでは雌0.1%群の1例にランゲルハンス島細胞の腫大淡明化および小円形細胞浸潤がみとめられ、マウスでは0.02%群の雌1例並びに0.1%群の雄3例、雌1例に小円形細胞浸潤が認められた。

性腺ではマウスの雄0.1%群に精子形成能の低下する3例を認めたが、他の群およびラットにおいては異常所見を認めなかった。

下垂体、胸腺、胃、腸、大動脈、骨髄、リンパ、前立腺、副睪丸、子宮、膀胱においてはいずれのAZ投与群でも異常所見は認められなかった。

総括並びに考察

Azoxybenzene (AZ) のラットおよびマウスについての急性毒性並びに14週間に亘る亜急性毒性実験の結果は次のようであった。

I 急性毒性

LD₅₀ はラットでは雄性 700(634~774), 雌性 735(671~805)mg/kg, マウスでは雄性 520(413~655), 雌性 515(390~680) mg/kg で, ラットでは雄において雌よりもやや強い毒性を示したが, 雌雄による差があるとは認められない。動物種の違いによる毒性の差は明らかに認められ, ラットよりマウスにおいて強く現われた。

一般症状はラットでは反射の異常, 歩行困難, 痙攣, 呼吸の異常, 昏睡, 下痢などの重篤な症状は全く観察されなかった。684, 700 mg/kg で体皮の黄疸色, 立毛, 被毛の光沢消失, 紅彩の黒色化, 不透明化, 閉眼がみられた。これらの症状は889mg/kg 以上の投与群では一層著明に観察され, 更に尿が橙黄色を帯びた。

マウスにおいては 600 mg/kg 以上で自発運動の減少, 歩行困難, 軽度の間代性痙攣並びに振せん, 昏睡, 呼吸浅表などラットより重い症状を呈し, 紅彩の黒色化, 閉眼は頻度, 程度ともにラットより高くみられたが, 体皮の黄疸色はラットほど明瞭ではなかった。

ラットにおける肉眼的解剖所見は肺の充血乃至うっ血が全群に, 用量に平行して強く観察された。780mg/kg 以上の各群に血液が褐色を呈する例, 肝の脂肪沈着例がみられた。また胃, 小腸の充血が全群に散見され, 睪丸の充血が, 684, 780 mg/kg 群の各 1 例に認められた。マウスにおける解剖所見はラットとほぼ同様であった。

末梢血中のメトヘモグロビン量増加が AZ 600, 780mg/kg 投与 3 日目のラットで著明であった。

II 亜急性毒性試験

動物 1 匹当りの AZ 総摂取量はラットで 0.1%群雄1349, 雌1090, 0.02%群雄366, 雌317, 0.005%群雄94, 雌74mg, マウスでは同じく 398, 336; 79, 74; 21, 16.7mg であった。これらの摂取量をそれぞれの0.005%群を 1 とすると, 飼料への添加量比 1:4:20 に対し, ラット0.1%群においてのみ25%以上少なかった。しかし, これを体重 kg 当りでみた場合はラット 0.1%群を含め, いずれの群もこの比に近い値であったが, マウスはラットに比べ, 各群とも AZ 摂取量は 2 倍以上であった。

発育はラット, マウスともに0.1%以上の各群で明らかな抑制が認められ, 0.5%群とラット雄性0.1%群では投与初期に体重の減少がみられた。0.02, 0.005%群では対照群とほぼ同様の体重増加を示した。餌消費量も, 0.005, 0.02%群では対照群と同程度であったが, ラットの0.1%群, ラット, マウスの0.5%群では摂取量の著明な抑制乃至減少が認められ, 食餌効率も0.1%以上の各群で対照群との間に顕著な有意差を認め, 0.1%群ではラットにおいて著明であった。

一般症状はマウス, ラットは同種類の症状を呈したが, その程度, 頻度は黄疸症状以外はマウスの方が強く現われ, 死亡例数もマウスに多くみられた。0.5%群は全例が立毛, 体皮の黄疸色, 紅彩の黒色化を伴って 10 日以内に死亡した。0.1% 群では立毛, 光沢消失, 黄疸, 動作の緩慢化がほぼ全例にみられ, ラットは 2~5 週に雄 5, 雌 4 例が集中して死亡し, マウスは 6~12 週に雄 13, 雌 17 例が死亡した。0.02%群の死亡例はマウスで雄 5, 雌 7 例であったが, その中の雌 4 例とラット雄の 1 死亡例は諸所見から肺炎によるものと思われ, 一般症状も軽い立毛, 光沢消失以外には異常は認められなかった。0.005%群では全く異常症状は観察されなかった。

尿, 血液, 血清についての諸検査の結果では Ht 値, Hb 値, RBC, 血小板の減少乃至減少傾向がラット, マウスの AZ 投与の全群にみられ, 更にラットを用いた実験では Met. Hb の著しい増加を認めた。WBC, 血清総コレステロールは AZ 投与群で増加傾向がみられたが, 高用量群

で有意の差があるとは限らなかった。GOT, GPT, LDH, AL-P の活性上昇はマウス雄 0.1% 群においてのみ見られ、対照群に比し有意の差であった。尿および血清中の Na^+ , K^+ , Na^+/K^+ 比は群によって多少の増減があったが、これらの尿中排泄量は特に餌摂取の影響を受け易く、また AZ 投与量と関連ある変動は認められないので、薬物の直接的な影響とは考えられない。0.1% 群で尿が橙黄色を呈し、黄疸尿を疑わしめたが、ビリルビンは試験紙法で陰性 (0.2 mg/dl 以下) で、対照群と差はなく、尿量、尿中の糖、蛋白、ウロビリノーゲン、ケトン体、潜血、血中の糖、蛋白、血液像にも異常を認めなかった。また、ラットについて行った BSP 試験にも異常は認められなかった。

AZ 投与量と関連ある脾の腫大が肉眼的観察並びに重量測定によって認められ、肝でも重量、比体重々量ともに増加が認められた。睾丸および副睾丸における有意の減少がラット 0.1% 群において観察された。

死亡例における臓器重量は実験初期に死亡した 0.5% 群よりも、中期以降に死亡した 0.1% 群において脾、肝の重量増加がみられた。

組織切片の観察において、ラット、マウスともに 0.02%, 0.1% 群において脾、肝、腎、副腎での病変が認められた。その主な所見は、脾においてはうっ血、濾胞細胞の萎縮、褐色々素増加、肝においては細胞浸潤、星細胞に褐色々素沈着、腎においても尿細管上皮内への褐色々素の増量、副腎においてはストレスを思わせるリポド顆粒の増加 (腔胞化) であった。以上の他に肝にはマウスで広範囲あるいは局所的な細胞壊死と肉芽形成が、ラットで脂肪沈着が認められ、腎にはラットで尿細管上皮細胞壊死が観察された。その他の臓器ではラットの睪ラ氏島の細胞腫大、マウス精子形成能低下像がみられた。

以上の実験結果から、azoxybenzene の毒性は主として血液に作用し、Met. Hb 形成にあることが推察される。一般症状において黄疸症状が観察され、肝重量の増加はみられたが、尿あるいは血液検査、病理組織学的所見からは肝障害は比較的軽度であった。

急性毒性においてはラットよりマウスに強い毒性がみられたが、亜急性毒性においては種差は極く軽度であった。また性による差は LD_{50} の値では殆んどないが、亜急性毒性では症状、諸検査結果、死亡数いずれも雌の方に強く現われた。

謝辞：稿を終るに臨み、病理組織所見の検索について御指導をいただきました東京慈恵会医科大学病理組織学教室助教授鳥海純博士に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Smith H. F. Jr. *et al.* : Arch. Ind. Hyg. Occ. Med., **10**, 61 (1954)
- 2) Litchfield, J. T. and Wilcoxon, F. : J. Pharmacol. Exp. Therap., **96**, 99 (1949)
- 3) Reitman, S. and Frankel, S. : Am. J. Clin. Path., **28**, 56 (1957)
- 4) Cabaud, P. and Wroblewski, F. : *ibid.*, **30**, 234 (1958)

Table 12 Pathological investigations on rats fed on the food containing azoxybenzene

Sex			Male			Female		
Dose %			0.005	0.02	0.1	0.005	0.02	0.1
No. of animal			7	7	8	7	7	7
Spleen	sinus lienis congestion	+	2			4		
		++	5	5	1	2	7	
		+++		1	2			1
	follicular cell atrophy	+		4	2	1		1
		++		1	1			
Liver	small round cell infiltration pigment deposition	±					1	
		+		2				
		++						2
	congestion fat degeneration	+++		1				
		+					1	
		++						1
	increase of eosinophil	+++						1
		±					1	
		+					1	
++					1			
Kidney	congestion pigment deposition	++		1				
		+			3			
	necrocytosis of tubular epithelialis	+++			1			3
		+						1
		+++						1
Heart	necrocytosis	+		1				
Abrenal G.	increase of lipid granule (vacuolation)	+	3	2		1	1	2
		++	2	3			2	
		+++			1			
	cellular intention transrearency bleeding	+			1			
		+			1			
		++			1			
Pancreas	small round cell infiltration swelling & transrearency of L's cell	+						1
		++						1
Thyroid G.	decrease in colloid	+	1			1	2	2
		++			2		1	1

No Pathological findings in control animals.

Table 13 Pathological investigations on mice fed on the food containing azoxybenzene

Sex		Male			Female			
Dose %		0.005	0.02	0.1	0.005	0.02	0.1	
No. of animal		10	10	10	10	10	10	
Spleen	sinus lienis congestion	+	1			3		
		++		4			2	
	follicular cell atrophy	+				1	3	
	pigment deposition	+		2			4	
		++		2			1	
	increasing of cell	+					2	
Liver	small round cell infiltration	±	3	2		2	2	
		+		3	4	5	7	
		++		2			1	
	cellular swelling	±		1				
		+		3				
	granulomatosis	+		1	2			
		++						2
	diffuse necrocytosis	+			5			1
		++						2
		+++						4
	local necrocytosis	+		2	1	2	1	
		++					2	
	pigment deposition	+		6		1	1	
		++					2	
Kidney	small round cell infiltration	+			3		2	4
		++			1		1	
	atrophy	±				3		
	pigment deposition	++						1
Heart	necrocytosis	+		1				
Adrenal G.	cellular intention	+	1	2				
	transparency	+	1	2				
	vacuolation	+		3	1		3	1
		++			2	1		
Pancreas	small round cell infiltration	±			2			1
		+			1		1	
Thyroid	decrease in colloid	+						1
Gonad	hyospermatogenesis	+			3			

No pathological findings in control animals.