

与8日と投与15日から最終投与日まで体重の有意な低値が認められた。1000 mg/kg群の雌では、対照群と比べて有意な差ではないが、投与25日頃から最終投与日まで体重増加抑制傾向がみられた。

回復期間中には、1000 mg/kg群の雄では対照群と比べて回復1日から回復14日まで体重の有意な低値がみられた。1000 mg/kg群の雌では、対照群と比べて有意な差ではないが、回復期間を通して体重の低値傾向がみられた。

3. 摂餌量

投与期間中には、各投与群の雌雄とも対照群とほぼ同様の摂餌量であり、いずれの測定日とも有意差はみられなかった。

回復期間中には、1000 mg/kg群の雌雄では対照群とほぼ同様の摂餌量であり、いずれの測定日とも有意差はみられなかった。

4. 摂水量

投与期間中には、100 mg/kg以下の群の雄および300 mg/kg以下の群の雌では対照群とほぼ同様の摂水量であり、いずれの測定日とも有意差はみられなかった。300 mg/kg群の雌では、対照群と比べて投与17および24日に摂水量の有意な高値がみられた。1000 mg/kg群の雄では、対照群と比べて投与10日から投与24日まで摂水量の有意な高値がみられた。1000 mg/kg群の雌では、対照群と比べて投与3、17および24日に摂水量の有意な高値が認められた。

回復期間中には、1000 mg/kg群の雄では回復3日に摂水量の高値傾向がみられた。1000 mg/kg群の雌では、対照群と比べて回復3および10日に摂水量の有意な高値が認められた。

5. 尿検査

投与期間終了前には、300 mg/kg以下の群の雌雄では対照群と比べて尿量および比重に有意差はみられなかった。1000 mg/kg群の雌雄では、対照群と比べて尿量の有意な高値がみられた。なお、色調、pH、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲンおよび沈渣は、各投与群の雌雄とも対照群とほぼ同程度であった。

回復期間終了前には、尿量および尿比重は1000 mg/kg群の雌雄とも対照群と比べて有意差はみられなかった。また、色調、pH、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲンおよび沈渣は、1000 mg/kg群の雌雄とも対照群とほぼ同程度であった。

6. 血液学検査 (Table 1, 2)

投与期間終了時には、100 mg/kg群の雄で対照群と比べて好酸球率の有意な高値がみられたが、投与量に依存した変化ではなかった。なお、300 mg/kg以下の群の雌雄では、対照群と比べてその他の測定項目に有意差はみられなかった。1000 mg/kg群の雄では、対照群と比べて

ヘモグロビン量の有意な高値がみられた。1000 mg/kg群の雌では、対照群と比べて血小板数の有意な低値がみられた。

回復期間終了時には、1000 mg/kg群の雄では対照群と比べていずれの測定項目とも有意差はみられなかった。1000 mg/kg群の雌では、対照群と比べて活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮がみられた。

7. 血液生化学検査 (Table 3, 4)

投与期間終了時には、30 mg/kg群の雄および100 mg/kg以下の群の雌では対照群と比べていずれの測定項目とも有意差はみられなかった。300 mg/kg以上の群の雄では対照群と比べてアルブミン率、A/G比およびKの有意な高値、 α_1 -グロブリン率の有意な低値、1000 mg/kg群の雄では総ビリルビンおよびNaの有意な低値がみられた。その他に100 mg/kg群の雄では、対照群と比べてGOTの有意な低値がみられたが、投与量に依存した変化ではなかった。また、300 mg/kg群の雄では、対照群と比べて総蛋白およびブドウ糖の有意な低値がみられたが、投与量に依存した変化ではなかった。300 mg/kg以上の群の雌では対照群と比べて総コレステロールの有意な高値、1000 mg/kg群の雌ではGPTおよび α_2 -グロブリン率の有意な高値、 α_1 -グロブリン率、 α_3 -グロブリン率および総ビリルビンの有意な低値がみられた。

回復期間終了時には、1000 mg/kg群の雄では対照群と比べていずれの測定項目とも有意差はみられなかった。1000 mg/kg群の雌では、対照群と比べて尿素窒素の有意な高値がみられた。

8. 剖検

投与期間終了時および回復期間終了時には、いずれの群の雌雄とも異常はみられなかった。

9. 器官重量 (Table 5, 6)

投与期間終了時には、100 mg/kg以下の群の雌雄では対照群と比べていずれの器官重量とも有意差はみられなかった。300 mg/kg以上の群の雄では対照群に比べて腎臓の相対重量の有意な高値、1000 mg/kg群の雄では肝臓の相対重量の有意な高値、腎臓の絶対重量の有意な高値、有意差はないが肝臓の絶対重量の高値傾向がみられた。その他には、1000 mg/kg群の雄で対照群と比べて脾臓の絶対重量の有意な低値、脳、精巣および精巣上体の相対重量の有意な高値がみられたが、絶対重量と相対重量で一定方向の変動ではないもの、もしくは軽度の差であるものであった。300 mg/kg以上の群の雌では、対照群に比べて肝臓の絶対・相対重量の有意な高値、1000 mg/kg群の雌では腎臓の相対重量の有意な高値、有意差はないが腎臓の絶対重量の高値傾向がみられた。その他には、1000 mg/kg群の雌で対照群と比べ脳の相対重量の有意な高値がみられたが、軽度な差であった。

回復期間終了時には、1000 mg/kg群の雄では対照群と比べて脳、脾臓および精巣の相対重量の有意な高値が

Table 1 Hematological examination of male rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of 1, 2, 4-trimethylbenzene

Test period	Termination of administration period					Termination of recovery period	
	0	30	100	300	1000	0	1000
Dose (mg/kg)							
Number of males	10	10	10	10	10	5	5
RBC ($10^6/\text{mm}^3$)	784.5 ± 36.6	784.2 ± 33.6	778.5 ± 24.3	777.4 ± 29.3	799.4 ± 23.1	840.8 ± 30.2	845.8 ± 13.1
Hemoglobin (g/dl)	14.84 ± 0.54	14.90 ± 0.72	14.91 ± 0.30	14.85 ± 0.44	15.59 ± 0.46**	15.22 ± 0.28	15.20 ± 0.33
Hematocrit (%)	45.26 ± 2.14	45.17 ± 1.91	45.01 ± 0.83	45.30 ± 1.09	47.18 ± 1.44	45.24 ± 0.82	45.22 ± 1.27
MCV (μm^3)	57.72 ± 2.01	57.62 ± 1.23	57.85 ± 1.49	58.31 ± 1.83	59.04 ± 1.33	53.84 ± 1.14	53.48 ± 1.96
MCH (pg)	18.93 ± 0.58	19.02 ± 0.37	19.18 ± 0.36	19.12 ± 0.60	19.52 ± 0.58	18.14 ± 0.39	17.98 ± 0.36
MCHC (g/dl)	32.80 ± 0.65	32.99 ± 0.50	33.12 ± 0.42	32.79 ± 0.78	33.06 ± 0.48	33.64 ± 0.44	33.62 ± 0.79
Platelet ($10^4/\text{mm}^3$)	133.39 ± 14.75	132.32 ± 14.00	126.61 ± 15.08	120.83 ± 14.28	121.29 ± 8.96	120.44 ± 13.75	108.08 ± 4.51
Reticulocyte (%)	27.3 ± 3.7	27.9 ± 5.4	26.0 ± 5.1	28.9 ± 6.7	26.5 ± 5.7	28.6 ± 1.5	27.4 ± 6.9
PT (sec.)	14.65 ± 1.54	16.20 ± 2.57	16.89 ± 1.91	14.80 ± 2.59	14.86 ± 2.08	14.40 ± 1.80	16.46 ± 1.63
APTT (sec.)	27.23 ± 2.24	28.58 ± 2.77	29.27 ± 2.46	27.60 ± 3.67	29.61 ± 2.72	24.88 ± 2.65	26.12 ± 1.17
WBC ($10^2/\text{mm}^3$)	56.0 ± 8.8	56.0 ± 14.7	50.6 ± 13.2	52.9 ± 10.0	60.4 ± 18.4	69.4 ± 14.7	84.4 ± 16.6
Differential leukocyte (%)							
Lymphocyte	92.3 ± 3.2	93.2 ± 2.8	92.6 ± 3.3	93.4 ± 2.8	92.7 ± 3.2	95.8 ± 1.1	94.6 ± 3.0
Neutrophil	7.3 ± 3.4	6.6 ± 2.7	6.3 ± 3.1	5.9 ± 2.9	6.6 ± 3.1	3.6 ± 1.1	5.0 ± 2.8
Eosinophil	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.3	0.6 ± 0.5*	0.1 ± 0.3	0.3 ± 0.5	0.4 ± 0.5	0.0 ± 0.0
Basophil	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 ± 0.0
Monocyte	0.3 ± 0.5	0.1 ± 0.3	0.5 ± 0.7	0.6 ± 0.7	0.4 ± 0.5	0.2 ± 0.4	0.4 ± 0.5

Each value shows mean ± S.D.

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

Table 2 Hematological examination of female rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of 1, 2, 4-trimethylbenzene

Test period	Termination of administration period					Termination of recovery period	
	0	30	100	300	1000	0	1000
Dose (mg/kg)							
Number of females	10	10	10	10	10	5	5
RBC ($10^6/\text{mm}^3$)	751.9 ± 32.3	743.4 ± 35.3	757.5 ± 22.9	743.7 ± 20.4	749.9 ± 34.6	798.2 ± 14.3	797.8 ± 21.1
Hemoglobin (g/dl)	14.38 ± 0.52	14.32 ± 0.53	14.23 ± 0.49	14.35 ± 0.33	14.48 ± 0.68	14.90 ± 0.16	14.80 ± 0.60
Hematocrit (%)	42.9 ± 1.29	42.69 ± 1.35	42.42 ± 1.32	42.85 ± 0.68	43.36 ± 1.66	43.70 ± 0.53	43.12 ± 1.50
MCV (μm^3)	57.13 ± 1.55	57.47 ± 1.76	56.00 ± 0.85	57.66 ± 1.49	57.86 ± 1.46	54.76 ± 1.57	54.04 ± 0.92
MCH (pg)	19.15 ± 0.50	19.27 ± 0.62	18.79 ± 0.29	19.29 ± 0.56	19.32 ± 0.50	18.64 ± 0.44	18.58 ± 0.41
MCHC (g/dl)	33.51 ± 0.62	33.55 ± 0.73	33.54 ± 0.18	33.49 ± 0.72	33.39 ± 0.46	34.06 ± 0.28	34.32 ± 0.26
Platelet ($10^4/\text{mm}^3$)	108.49 ± 34.49	110.96 ± 6.58	116.72 ± 14.92	102.56 ± 11.95	91.62 ± 11.58**	121.82 ± 8.76	123.66 ± 20.92
Reticulocyte (%)	25.9 ± 4.9	24.3 ± 4.4	25.4 ± 6.4	26.6 ± 5.9	24.4 ± 3.2	24.8 ± 2.8	31.2 ± 8.7
PT (sec.)	12.61 ± 0.46	12.62 ± 0.32	12.17 ± 0.36	12.52 ± 0.23	12.36 ± 0.54	12.60 ± 0.23	12.48 ± 0.50
APTT (sec.)	19.84 ± 1.46	20.27 ± 1.65	20.65 ± 1.79	20.39 ± 0.89	20.78 ± 1.63	21.50 ± 0.80	19.78 ± 1.22*
WBC ($10^2/\text{mm}^3$)	45.6 ± 14.4	41.4 ± 10.5	47.7 ± 11.3	42.2 ± 9.7	52.3 ± 20.0	66.0 ± 15.3	58.6 ± 18.4
Differential leukocyte (%)							
Lymphocyte	94.0 ± 3.4	93.2 ± 4.7	95.0 ± 2.0	93.5 ± 2.8	93.5 ± 3.3	95.8 ± 1.6	95.2 ± 1.9
Neutrophil	5.4 ± 2.8	6.1 ± 4.1	4.5 ± 2.0	5.9 ± 2.3	5.9 ± 3.1	3.8 ± 1.3	3.6 ± 1.1
Eosinophil	0.3 ± 0.5	0.4 ± 0.5	0.2 ± 0.4	0.4 ± 0.5	0.3 ± 0.5	0.2 ± 0.4	0.8 ± 0.8
Basophil	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 ± 0.0
Monocyte	0.3 ± 0.5	0.3 ± 0.5	0.3 ± 0.5	0.2 ± 0.4	0.3 ± 0.5	0.2 ± 0.4	0.4 ± 0.5

Each value shows mean ± S.D.

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

Table 3 Blood chemical examination of male rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of 1, 2, 4-trimethylbenzene

Test period	Termination of administration period					Termination of recovery period	
	0	30	100	300	1000	0	1000
Dose (mg/kg)							
Number of males	10	10	10	10	10	5	5
GOT (IU/l)	84.13 ± 23.46	72.69 ± 6.90	64.47 ± 7.23**	73.87 ± 12.77	69.07 ± 10.12	67.92 ± 5.06	66.38 ± 7.41
GPT (IU/l)	27.21 ± 11.18	21.63 ± 2.88	22.27 ± 4.39	23.24 ± 3.58	24.23 ± 3.29	24.44 ± 1.40	25.46 ± 3.34
ALP (IU/l)	171.29 ± 16.15	181.03 ± 28.69	187.27 ± 24.46	191.57 ± 17.38	191.19 ± 31.87	133.68 ± 18.20	143.60 ± 14.97
γ-GTP (IU/l)	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
T-protein (g/dl)	5.33 ± 0.16	5.29 ± 0.23	5.17 ± 0.25	5.04 ± 0.22**	5.20 ± 0.14	5.36 ± 0.09	5.26 ± 0.27
Albumin (g/dl)	3.013 ± 0.152	3.028 ± 0.071	2.965 ± 0.148	2.945 ± 0.095	3.090 ± 0.083	2.944 ± 0.045	2.926 ± 0.170
Protein fraction (%)							
Albumin	56.51 ± 1.54	57.30 ± 1.93	57.35 ± 1.81	58.45 ± 1.87*	59.45 ± 1.29**	54.94 ± 0.86	55.62 ± 2.25
α ₁ -globulin	20.11 ± 1.20	19.04 ± 1.99	18.88 ± 1.66	17.63 ± 1.57**	16.86 ± 1.50**	20.50 ± 1.20	19.64 ± 2.23
α ₂ -globulin	5.88 ± 0.48	5.97 ± 0.54	6.02 ± 0.36	6.02 ± 0.47	6.34 ± 0.69	5.76 ± 0.27	5.74 ± 0.63
α ₃ -globulin	5.32 ± 0.83	5.34 ± 0.35	5.36 ± 0.38	5.16 ± 0.40	4.97 ± 0.45	5.74 ± 0.61	5.96 ± 0.36
β-globulin	10.18 ± 0.53	10.35 ± 0.51	10.27 ± 0.77	10.57 ± 0.57	10.25 ± 0.70	10.60 ± 0.41	10.84 ± 0.21
γ-globulin	2.00 ± 0.37	2.00 ± 0.48	2.12 ± 0.53	2.17 ± 0.54	2.13 ± 0.68	2.46 ± 0.38	2.20 ± 0.63
A/G ratio	1.301 ± 0.085	1.346 ± 0.111	1.350 ± 0.098	1.411 ± 0.108*	1.469 ± 0.079**	1.220 ± 0.041	1.258 ± 0.116
T-bilirubin (mg/dl)	0.055 ± 0.010	0.054 ± 0.011	0.047 ± 0.008	0.053 ± 0.011	0.042 ± 0.009*	0.068 ± 0.015	0.064 ± 0.011
BUN (mg/dl)	12.51 ± 1.99	13.49 ± 2.40	12.01 ± 2.60	13.01 ± 2.53	12.95 ± 2.80	18.02 ± 2.14	15.04 ± 2.21
Creatinine (mg/dl)	0.458 ± 0.033	0.451 ± 0.032	0.442 ± 0.037	0.439 ± 0.021	0.423 ± 0.037	0.566 ± 0.046	0.518 ± 0.018
Glucose (mg/dl)	119.85 ± 7.98	118.76 ± 12.23	108.53 ± 12.36	107.45 ± 9.11*	112.35 ± 10.37	126.44 ± 13.79	123.48 ± 8.37
T-cholesterol (mg/dl)	48.11 ± 9.53	46.61 ± 6.85	50.87 ± 8.90	47.65 ± 6.01	49.88 ± 8.47	49.72 ± 5.67	43.38 ± 9.14
Triglyceride (mg/dl)	35.41 ± 15.64	29.05 ± 7.92	34.55 ± 14.45	27.72 ± 7.94	23.42 ± 5.59	38.36 ± 6.56	44.06 ± 21.19
Na (mEq/l)	146.16 ± 1.08	146.03 ± 1.55	146.29 ± 0.76	145.26 ± 1.37	144.75 ± 0.96*	144.12 ± 1.21	144.68 ± 0.88
K (mEq/l)	4.365 ± 0.286	4.432 ± 0.256	4.433 ± 0.160	4.668 ± 0.251*	4.772 ± 0.285**	4.604 ± 0.183	4.432 ± 0.167
Cl (mEq/l)	105.82 ± 1.35	106.16 ± 1.53	106.00 ± 1.10	105.86 ± 0.70	104.69 ± 1.02	104.48 ± 1.14	105.10 ± 0.73
Ca (mg/dl)	10.43 ± 0.23	10.34 ± 0.23	10.28 ± 0.20	10.16 ± 0.27	10.26 ± 0.22	9.66 ± 0.11	9.72 ± 0.33
I-phosphate (mg/dl)	8.21 ± 0.85	8.54 ± 0.47	8.43 ± 0.65	8.54 ± 0.69	8.21 ± 0.44	7.46 ± 0.54	7.68 ± 0.43

Each value shows mean ± S.D.

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

Table 4 Blood chemical examination of female rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of 1, 2, 4-trimethylbenzene

Test period	Termination of administration period					Termination of recovery period	
	0	30	100	300	1000	0	1000
Dose (mg/kg)							
Number of males	10	10	10	10	10	5	5
GOT (IU/l)	66.22 ± 14.48	67.93 ± 9.11	61.33 ± 6.43	60.08 ± 9.32	61.33 ± 8.27	52.74 ± 4.26	47.70 ± 4.77
GPT (IU/l)	17.71 ± 2.87	18.15 ± 1.76	17.44 ± 2.19	17.87 ± 2.82	21.91 ± 1.98**	19.78 ± 3.03	16.96 ± 1.04
ALP (IU/l)	101.37 ± 12.49	97.41 ± 12.26	98.22 ± 15.08	94.68 ± 20.76	114.67 ± 19.38	71.48 ± 12.21	71.78 ± 11.18
γ-GTP (IU/l)	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
T-protein (g/dl)	5.55 ± 0.23	5.44 ± 0.38	5.52 ± 0.40	5.25 ± 0.29	5.48 ± 0.43	5.84 ± 0.27	5.44 ± 0.34
Albumin (g/dl)	3.349 ± 0.197	3.236 ± 0.296	3.358 ± 0.327	3.181 ± 0.260	3.395 ± 0.311	3.380 ± 0.257	3.176 ± 0.125
Protein fraction (%)							
Albumin	60.31 ± 1.94	59.45 ± 2.31	60.76 ± 2.36	60.55 ± 2.24	61.94 ± 1.79	57.82 ± 1.88	58.48 ± 1.59
α ₁ -globulin	16.36 ± 1.43	16.47 ± 1.60	16.86 ± 1.43	15.61 ± 1.56	13.91 ± 1.85**	19.66 ± 1.09	19.76 ± 1.39
α ₂ -globulin	4.63 ± 0.54	5.22 ± 0.79	4.66 ± 0.58	5.40 ± 0.79	5.80 ± 1.13**	4.06 ± 0.26	3.86 ± 0.57
α ₃ -globulin	5.24 ± 0.63	4.95 ± 0.62	4.80 ± 0.82	4.80 ± 0.54	4.21 ± 0.43**	5.40 ± 0.47	5.12 ± 0.57
β-globulin	10.05 ± 0.76	10.73 ± 0.83	9.61 ± 0.82	10.53 ± 0.97	10.80 ± 0.66	9.78 ± 0.93	9.80 ± 0.61
γ-globulin	3.41 ± 0.87	3.18 ± 0.71	3.31 ± 0.47	3.11 ± 0.95	3.34 ± 0.59	3.28 ± 0.53	2.98 ± 0.54
A/G ratio	1.524 ± 0.115	1.474 ± 0.148	1.557 ± 0.153	1.540 ± 0.143	1.633 ± 0.123	1.372 ± 0.111	1.410 ± 0.093
T-bilirubin (mg/dl)	0.075 ± 0.017	0.069 ± 0.016	0.064 ± 0.014	0.058 ± 0.008	0.049 ± 0.007**	0.080 ± 0.020	0.076 ± 0.005
BUN (mg/dl)	14.83 ± 2.05	14.21 ± 1.24	13.71 ± 2.53	13.85 ± 2.82	13.15 ± 2.48	16.42 ± 1.05	18.32 ± 0.95*
Creatinine (mg/dl)	0.488 ± 0.034	0.487 ± 0.030	0.487 ± 0.016	0.492 ± 0.029	0.475 ± 0.033	0.532 ± 0.020	0.512 ± 0.022
Glucose (mg/dl)	130.27 ± 15.68	125.77 ± 10.84	125.21 ± 9.79	120.96 ± 11.34	136.80 ± 13.35	130.76 ± 8.50	130.50 ± 9.64
T-cholesterol (mg/dl)	51.90 ± 9.00	58.59 ± 12.47	54.34 ± 10.88	66.84 ± 12.67*	75.94 ± 9.59**	55.82 ± 12.86	64.24 ± 7.93
Triglyceride (mg/dl)	24.25 ± 8.90	20.99 ± 6.18	23.57 ± 11.94	19.43 ± 7.80	21.53 ± 4.00	25.46 ± 5.96	26.12 ± 5.02
Na (mEq/l)	144.01 ± 1.56	144.11 ± 0.39	144.15 ± 1.36	143.31 ± 1.32	143.04 ± 1.41	143.56 ± 0.42	143.82 ± 1.19
K (mEq/l)	4.338 ± 0.403	4.349 ± 0.217	4.241 ± 0.087	4.242 ± 0.273	4.328 ± 0.239	3.616 ± 0.092	3.570 ± 0.223
Cl (mEq/l)	106.67 ± 1.68	107.04 ± 1.16	105.74 ± 1.23	105.80 ± 0.86	105.62 ± 1.48	106.50 ± 0.92	105.62 ± 1.52
Ca (mg/dl)	9.84 ± 0.33	9.81 ± 0.19	10.00 ± 0.29	9.90 ± 0.24	9.90 ± 0.31	10.46 ± 0.18	10.34 ± 0.21
I-phosphate (mg/dl)	6.40 ± 0.95	6.55 ± 0.75	6.81 ± 0.80	6.67 ± 0.51	6.61 ± 0.56	5.20 ± 0.64	5.86 ± 0.29

Each value shows mean ± S.D.

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

Table 5 Absolute and relative organ weights of male rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of 1, 2, 4-trimethylbenzene

Test period	Termination of administration period					Termination of recovery period	
	0	30	100	300	1000	0	1000
Dose (mg/kg)							
Number of males	10	10	10	10	10	5	5
Body weight (g)	323.0 ± 25.5	324.9 ± 40.5	320.5 ± 16.2	320.8 ± 18.5	289.2 ± 22.2*	385.8 ± 34.0	337.0 ± 14.6*
Brain (g)	1.916 ± 0.069	1.915 ± 0.051	1.881 ± 0.056	1.912 ± 0.074	1.891 ± 0.065	1.932 ± 0.025	1.946 ± 0.050
(g%)	0.595 ± 0.036	0.597 ± 0.074	0.588 ± 0.023	0.598 ± 0.043	0.656 ± 0.044*	0.504 ± 0.046	0.580 ± 0.040*
Thymus (g)	0.546 ± 0.084	0.486 ± 0.058	0.476 ± 0.098	0.516 ± 0.093	0.484 ± 0.125	0.550 ± 0.107	0.418 ± 0.088
(g%)	0.169 ± 0.023	0.153 ± 0.023	0.147 ± 0.028	0.162 ± 0.025	0.167 ± 0.037	0.142 ± 0.023	0.126 ± 0.027
Heart (g)	1.121 ± 0.124	1.186 ± 0.122	1.172 ± 0.083	1.150 ± 0.089	1.056 ± 0.146	1.226 ± 0.049	1.196 ± 0.087
(g%)	0.348 ± 0.032	0.366 ± 0.025	0.365 ± 0.018	0.357 ± 0.027	0.364 ± 0.027	0.318 ± 0.024	0.358 ± 0.038
Liver (g)	9.440 ± 1.025	9.567 ± 1.529	9.578 ± 0.777	9.842 ± 0.681	10.571 ± 0.803	10.370 ± 1.251	9.808 ± 1.120
(g%)	2.918 ± 0.144	2.937 ± 0.141	2.986 ± 0.126	3.066 ± 0.048	3.658 ± 0.132**	2.686 ± 0.175	2.902 ± 0.235
Spleen (g)	0.614 ± 0.078	0.592 ± 0.099	0.571 ± 0.049	0.626 ± 0.110	0.506 ± 0.091*	0.650 ± 0.066	0.644 ± 0.030
(g%)	0.189 ± 0.020	0.184 ± 0.026	0.179 ± 0.014	0.196 ± 0.037	0.172 ± 0.021	0.170 ± 0.010	0.190 ± 0.012*
Kidneys (g)	2.391 ± 0.181	2.374 ± 0.264	2.414 ± 0.175	2.590 ± 0.137	2.638 ± 0.255*	2.646 ± 0.091	2.594 ± 0.228
(g%)	0.742 ± 0.047	0.732 ± 0.057	0.753 ± 0.041	0.809 ± 0.040*	0.915 ± 0.064**	0.690 ± 0.060	0.772 ± 0.075
Adrenals (mg)	51.96 ± 9.95	56.20 ± 4.11	49.81 ± 5.52	50.30 ± 5.97	50.81 ± 8.33	54.44 ± 5.89	47.58 ± 4.96
(mg%)	16.09 ± 2.83	17.50 ± 2.34	15.54 ± 1.47	15.80 ± 2.51	17.65 ± 3.19	14.18 ± 1.68	14.14 ± 1.71
Testes (g)	3.051 ± 0.144	3.054 ± 0.217	3.037 ± 0.146	3.006 ± 0.195	3.036 ± 0.193	3.074 ± 0.170	3.198 ± 0.156
(g%)	0.948 ± 0.065	0.953 ± 0.138	0.948 ± 0.038	0.938 ± 0.071	1.055 ± 0.085*	0.802 ± 0.089	0.952 ± 0.090*
Epididymides (g)	0.736 ± 0.050	0.743 ± 0.043	0.757 ± 0.070	0.756 ± 0.038	0.745 ± 0.041	1.014 ± 0.061	0.974 ± 0.047
(g%)	0.231 ± 0.025	0.231 ± 0.028	0.237 ± 0.018	0.236 ± 0.013	0.259 ± 0.017*	0.264 ± 0.030	0.290 ± 0.020

Each value shows mean ± S.D.

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

Table 6 Absolute and relative organ weights of female rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of 1, 2, 4-trimethylbenzene

Test period	Termination of administration period					Termination of recovery period	
	0	30	100	300	1000	0	1000
Dose (mg/kg)							
Number of females	10	10	10	10	10	5	5
Body weight (g)	216.2 ± 18.9	217.7 ± 13.4	217.8 ± 14.0	211.5 ± 15.9	202.4 ± 12.2	239.2 ± 11.9	226.2 ± 8.8
Brain (g)	1.792 ± 0.068	1.814 ± 0.086	1.786 ± 0.060	1.790 ± 0.049	1.818 ± 0.051	1.834 ± 0.029	1.826 ± 0.039
(g%)	0.834 ± 0.072	0.835 ± 0.045	0.823 ± 0.052	0.851 ± 0.057	0.901 ± 0.058*	0.768 ± 0.051	0.806 ± 0.041
Thymus (g)	0.526 ± 0.097	0.539 ± 0.107	0.547 ± 0.074	0.510 ± 0.086	0.475 ± 0.066	0.476 ± 0.021	0.456 ± 0.028
(g%)	0.243 ± 0.037	0.246 ± 0.042	0.252 ± 0.039	0.240 ± 0.031	0.236 ± 0.038	0.200 ± 0.010	0.202 ± 0.015
Heart (g)	0.823 ± 0.101	0.794 ± 0.053	0.826 ± 0.089	0.772 ± 0.063	0.782 ± 0.082	0.870 ± 0.034	0.876 ± 0.113
(g%)	0.383 ± 0.068	0.365 ± 0.029	0.380 ± 0.024	0.366 ± 0.020	0.387 ± 0.031	0.364 ± 0.021	0.388 ± 0.052
Liver (g)	6.487 ± 0.726	6.539 ± 0.452	6.763 ± 0.571	7.367 ± 0.463*	9.019 ± 0.931**	6.908 ± 0.221	6.608 ± 0.315
(g%)	2.997 ± 0.178	3.004 ± 0.110	3.105 ± 0.161	3.491 ± 0.222**	4.448 ± 0.259**	2.892 ± 0.114	2.918 ± 0.042
Spleen (g)	0.480 ± 0.049	0.508 ± 0.073	0.470 ± 0.063	0.489 ± 0.067	0.416 ± 0.035	0.522 ± 0.101	0.476 ± 0.038
(g%)	0.224 ± 0.023	0.233 ± 0.032	0.217 ± 0.027	0.232 ± 0.027	0.207 ± 0.015	0.220 ± 0.049	0.212 ± 0.013
Kidneys (g)	1.667 ± 0.122	1.621 ± 0.114	1.669 ± 0.168	1.606 ± 0.090	1.722 ± 0.188	1.712 ± 0.090	1.682 ± 0.120
(g%)	0.774 ± 0.055	0.745 ± 0.052	0.767 ± 0.050	0.763 ± 0.043	0.849 ± 0.055**	0.716 ± 0.048	0.742 ± 0.030
Adrenals (mg)	64.41 ± 4.74	59.57 ± 3.46	63.28 ± 5.85	58.56 ± 7.72	66.97 ± 8.01	68.42 ± 9.86	69.40 ± 8.87
(mg%)	29.91 ± 2.47	27.43 ± 1.84	29.15 ± 3.25	27.91 ± 4.72	33.10 ± 3.31	28.50 ± 3.09	30.62 ± 3.10
Ovaries (mg)	85.84 ± 10.71	86.46 ± 9.81	87.67 ± 11.41	83.65 ± 13.93	78.76 ± 13.51	90.98 ± 11.48	87.88 ± 10.85
(mg%)	39.84 ± 4.74	39.69 ± 3.45	40.32 ± 5.06	39.61 ± 6.46	38.89 ± 6.07	38.14 ± 5.65	38.84 ± 4.33

Each value shows mean ± S.D.

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

Table 7 Histopathological examination of male rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of 1, 2, 4-trimethylbenzene

Test period	Termination of administration period					Termination of recovery period		
	Dose (mg/kg)	0	30	100	300	1000	0	1000
Number of males	10	10	10	10	10	5	5	
Finding	Grade	- ± + 2+ 3+	- ± + 2+ 3+	- ± + 2+ 3+	- ± + 2+ 3+	- ± + 2+ 3+	- ± + 2+ 3+	- ± + 2+ 3+
Liver								
Vacuolar degeneration of periportal hepatocytes		1 0 4 4 1	0 3 6 1 0	1 8 1 0 0*	4 5 1 0 0*	9 1 0 0 0*	4 1 0 0 0	2 3 0 0 0
Cell infiltration		10 0 0 0 0	10 0 0 0 0	9 1 0 0 0	10 0 0 0 0	10 0 0 0 0	5 0 0 0 0	5 0 0 0 0
Degeneration and necrosis of hepatocytes		10 0 0 0 0	10 0 0 0 0	9 1 0 0 0	10 0 0 0 0	10 0 0 0 0	5 0 0 0 0	5 0 0 0 0
Focal necrosis		10 0 0 0 0	10 0 0 0 0	10 0 0 0 0	10 0 0 0 0	10 0 0 0 0	5 0 0 0 0	4 1 0 0 0
Kidney								
Hyaline droplet degeneration		8 2 0 0 0	3 7 0 0 0	3 7 0 0 0	2 5 3 0 0*	0 2 7 1 0**	3 2 0 0 0	5 0 0 0 0
Basophilic change of urinary tubules		10 0 0 0 0	10 0 0 0 0	10 0 0 0 0	10 0 0 0 0	10 0 0 0 0	5 0 0 0 0	4 1 0 0 0

Grade of histopathological finding: -: No abnormality detected, ±: Slight, +: Mild, 2+: Moderate, 3+: Marked.
No remarkable changes were recognized in heart, spleen and adrenal of control group and 1000 mg/kg group.
Significantly different from control (*: p<0.05, **: p<0.01).

Table 8 Histopathological examination of female rats in 28-day repeat dose oral toxicity test of 1,2,4-trimethylbenzene

Test period	Termination of administration period					Termination of recovery period		
	Dose (mg/kg)	0	30	100	300	1000	0	1000
Number of males	10	10	10	10	10	5	5	
Finding	Grade	- ± + 2+ 3+	- ± + 2+ 3+	- ± + 2+ 3+	- ± + 2+ 3+	- ± + 2+ 3+	- ± + 2+ 3+	- ± + 2+ 3+
Liver								
Vacuolar degeneration of periportal hepatocytes		0 6 3 1 0	1 4 5 0 0	1 8 1 0 0	0 10 0 0 0	3 7 0 0 0*	1 4 0 0 0	3 2 0 0 0
Cell infiltration		10 0 0 0 0	10 0 0 0 0	10 0 0 0 0	9 1 0 0 0	10 0 0 0 0	5 0 0 0 0	5 0 0 0 0
Kidney								
Basophilic change of urinary tubules		10 0 0 0 0	/	/	/	9 1 0 0 0	5 0 0 0 0	5 0 0 0 0

Grade of histopathological finding: -: No abnormality detected, ±: Slight, +: Mild, 2+: Moderate, 3+: Marked.
No remarkable changes were recognized in heart, spleen and adrenal of control group and 1000 mg/kg group.
/: Not examined.
Significantly different from control (*: p<0.05).

みられたが、絶対重量と相対重量で一定方向の変動ではないもの、もしくは軽度の差であるものであった。1000 mg/kg 群の雌では、対照群と比べていずれの器官重量とも有意差はみられなかった。

10. 病理組織学的検査 (Table 7, 8)

投与期間終了時には、肝臓において門脈周囲の肝細胞の空胞変性が雄では対照群で9例、30 mg/kg 群で10例、100 mg/kg 群で9例、300 mg/kg 群で6例、1000 mg/kg 群で1例にみられ、投与量が増えるに従い出現例数は減少し、その程度も弱かった。この変化は、対照群と比べて100 mg/kg 以上の群で有意差が認められ、また、用量相関性も確認された。この変化は、雌では対照群で10例、30 mg/kg 群で9例、100 mg/kg 群で9例、300 mg/kg 群で10例、1000 mg/kg 群で7例にみられ、1000

mg/kg 群で有意差が認められた。なお、その他に、肝臓に認められた所見は、いずれも程度はごく軽度であり、かつ投与量に依存した変化ではなかった。腎臓において、尿細管の硝子滴変性が雄では対照群で2例、30 mg/kg 群で7例、100 mg/kg 群で7例、300 mg/kg 群で8例、1000 mg/kg 群で10例にみられた。また、300 mg/kg 以上の群では有意差が認められ、用量相関性も確認された。尿細管の好塩基性変化は、雌では1000 mg/kg 群で1例にみられた。その他には、対照群および1000 mg/kg 群の雌雄とも心臓、脾臓および副腎に異常はみられなかった。

回復期間終了時には、肝臓において門脈周囲の肝細胞の空胞変性が雄では対照群で1例、1000 mg/kg 群で3例にみられた。この変化は、雌では対照群で4例、1000 mg/kg 群で2例にみられた。なお、その他に、巣状壊死

が1000 mg/kg群の雄で1例にみられたのみであった。腎臓において、尿細管の硝子滴変性が対照群の雄で2例にみられた。尿細管の好塩基性変化は、1000 mg/kg群の雄で1例にみられた。

考察

1,2,4-トリメチルベンゼンを雌雄ラットに30, 100, 300および1000 mg/kgの投与量で1日1回、28日間反復経口投与し、その毒性について検討した。一部の動物については、14日間の回復期間を設けた。

死亡は、いずれの群にも発現しなかった。一般状態では、雌雄とも300 mg/kg以上の投与で投与直後に流涎がみられた。この流涎は、高濃度の検体投与でより顕著に認められていることから、1,2,4-トリメチルベンゼンの刺激により生じた可能性が考えられる。

体重は、雌雄とも1000 mg/kgの投与で増加抑制がみられ、この変化は回復期間中も継続して認められた。しかし、1000 mg/kgの投与でも摂餌量に影響はみられなかった。摂水量は、雄では300 mg/kg以上の投与で、雌では1000 mg/kgの投与で増加がみられ、この変化は回復期間中も継続して認められた。

尿検査では、雌雄とも1000 mg/kgの投与で摂水量の増加に伴う尿量の高値がみられたが、これらの変化は回復期間終了前には消失した。

血液学検査では、投与期間終了時に1000 mg/kg群の雄でヘモグロビン量の高値、雌で血小板数の低値、回復期間終了時には1000 mg/kg群の雌で活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮がみられた。しかし、これらの変化は、いずれも軽微なものであり、生理的変動の範囲内の変化であると考えられる。したがって、1,2,4-トリメチルベンゼンの1000 mg/kgを投与しても、血液学的検査の各項目に影響は及ぼさないと判断した。

血液生化学検査において、雄では投与期間終了時に300 mg/kg以上の群でアルブミン率、A/G比およびKの高値、 α_1 -グロブリン率の低値、1000 mg/kg群で総ビリルビンおよびNaの有意な低値がみられた。雌では、投与期間終了時に300 mg/kg以上の群で総コレステロールの高値、1000 mg/kg群でGPTおよび α_2 -グロブリン率の高値、 α_1 -グロブリン率、 α_3 -グロブリン率および総ビリルビンの低値がみられた。しかし、これらの変化はいずれも軽微であり、当社のほぼ同週齢ラットの集積データの範囲内の数値であることから、毒性学的意義はないと判断した。

剖検では、雌雄とも1000 mg/kgを投与しても1,2,4-トリメチルベンゼンによる影響はみられなかった。

器官重量については、雄では300 mg/kg以上の群で腎臓の相対重量の高値、1000 mg/kg群で肝臓の相対重量の高値と絶対重量の高値傾向、腎臓の絶対重量の高値がみられた。雌では、300 mg/kg以上の群で肝臓の絶対・相対重量の高値、1000 mg/kg群で腎臓の相対重量の高値と絶対重量の高値傾向がみられた。なお、類似化学物質である1,4-ジエチルベンゼンの反復投与においても、

肝臓および腎臓重量の増加が報告されている⁶⁾。したがって、1,2,4-トリメチルベンゼン投与により肝臓および腎臓重量に影響が生じると考えられる。なお、雌雄で認められたこれら器官の重量増加は回復期間終了時には消失した。

病理組織学的検査では、投与期間終了時に雄で腎臓に尿細管の硝子滴変性がみられた。この変化は、ラットの雄でしばしば観察される変化であるが、本試験では軽度以上の変化の出現例数が300 mg/kg以上の群で増加し、程度も増強されていることから、変化を増強する何らかの影響を受けたものと考えられる。しかし、この変化は可逆性のものであった。

肝臓では、投与期間終了時に雌雄で門脈周囲の肝細胞の空胞変性がみられ、特に対照群および30 mg/kg群で多く観察された。この変化は、コーンオイルを反復投与した場合によくみられている所見であり、100 mg/kg以上の群の雄と1000 mg/kg群の雌で軽微であった機序は不明であるが、毒性学的には問題のない変化と考えられる。なお、病理組織学的検査において、肝臓重量の増加と関連した所見が得られなかったこと、ならびに類似化学物質での結果から、重量増加は薬物代謝亢進に適應した変化と考えられる。

以上のことから、1,2,4-トリメチルベンゼンは肝臓および腎臓に影響を及ぼすことが示唆された。なお、雄では300 mg/kg以上の投与で流涎、摂水量の増加、腎臓重量の増加および腎臓に尿細管の硝子滴変性、1000 mg/kgの投与で体重増加の抑制、尿量の増加および肝臓重量の増加、雌では300 mg/kg以上の投与で流涎および肝臓重量の増加、1000 mg/kgの投与で体重増加の抑制、摂水量の増加、尿量の増加および腎臓重量の増加がみられたことから、当試験条件下における1,2,4-トリメチルベンゼンの28日間反復経口投与による毒性学的無影響量は雌雄とも100 mg/kg/dayと考えられる。

文献

- 1) 丸善石油(株)社内資料
- 2) 佐久間昭, “薬効評価—計画と解析 I, II,” 東大出版会, 東京, 1977, 1981.
- 3) C. W. Dunnett, *Biometrics*, 20, 482(1964).
- 4) H. Scheffé, *Biometrika*, 40, 87(1953).
- 5) W. H. Kruskal, W. A. Wallis, *J. Amer. Statist. Assoc.*, 47, 583(1952).
- 6) 萩田孝一ら, 化学物質毒性試験報告, 2, 37(1995).

連絡先

試験責任者: 古橋忠和
試験担当者: 長瀬孝彦, 藤村高志, 虫賀勇樹,
外山勝己, 牧野浩平, 木村 均
(株)日本バイオリサーチセンター 羽島研究所
〒501-62 岐阜県羽島市福寿町間島6-104
Tel 058-392-6222 Fax 058-392-1284

Correspondence

Authors: Tadakazu Furuhashi (Study director)
Takahiko Nagase, Takashi Fujimura,
Yuuki Mushiga, Katsumi Toyama,
Kohei Makino and Hitoshi Kimura
Nihon Bioresearch Inc. Hashima Laboratory
6-104, Majima, Fukuju-cho, Hashima, Gifu, 501-
62, Japan
Tel +81-58-392-6222 Fax +81-58-392-1284

要約

既存化学物質安全性調査事業の一環として、1,2,4-トリメチルベンゼンについて、細菌を用いる復帰突然変異試験をプレート法により実施し、陰性の結果を得た。

検定菌として、*Salmonella typhimurium* TA100, TA1535, TA98, TA1537および*Escherichia coli* WP2 *uvrA*の5菌株を用い、S9 mix無添加および添加の条件でプレート法により、用量設定試験を50~5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の用量で行ったところ、S9 mix無添加試験およびS9 mix添加試験において、すべての検定菌で強い抗菌性が認められた。また、TA1535のS9 mix無添加試験とTA1537のS9 mix添加試験では、本試験Iで抗菌性のない用量が4用量に達しなかったため、本試験の用量を下げた。したがって、本試験ではS9 mix無添加試験をTA100, TA1535, TA98およびTA1537は7.81~250 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 、WP2 *uvrA*は15.6~500 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の範囲で、S9 mix添加試験をTA1537は7.81~250 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 、TA100, TA1535およびWP2 *uvrA*は15.6~500 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 、TA98は31.3~1000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の範囲で用量を設定して実施した。

その結果、S9 mix無添加試験では、TA100, TA1535, TA98およびTA1537では125 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上、WP2 *uvrA*では、250 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上、S9 mix添加試験では、TA1537では125 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上、TA100およびTA1535では250 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上、TA98およびWP2 *uvrA*では、500 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上の用量で抗菌性が認められた。復帰変異コロニー数は、2回の本試験とも、用いた検定菌について、いずれの用量においても増加は認められなかったことから、1,2,4-トリメチルベンゼンは、用いた試験系において変異原性を有しない(陰性)と判定された。

方法

〔検定菌〕

Salmonella typhimurium TA100
Salmonella typhimurium TA1535
Escherichia coli WP2 *uvrA*
Salmonella typhimurium TA98
Salmonella typhimurium TA1537

*S. typhimurium*の4菌株²⁾は1975年10月31日にアメリカ合衆国、カリフォルニア大学のB. N. Ames博士から分与を受けた。

E. coli WP2 *uvrA*株³⁾は1979年5月9日に国立遺伝学研究所の賀田恒夫博士から分与を受けた。

検定菌は-80℃以下で凍結保存したものをを用い、試験に際して、ニュートリエントブロスNo. 2(Oxoid)を入れたし字型試験管に解凍した種菌を一定量接種し、37℃で10時間往復振とう培養したものを検定菌液とした。

〔被験物質〕

1,2,4-トリメチルベンゼン(CAS No. 95-63-6)は、分子量120.20の無色透明液体である。試験には、東洋合成工業(株)製〔ロット番号:H5-CH-11, 純度98.75%(不純物:不明)]を、(株)日本化学工業協会から供与され、使用時まで室温遮光保管して、使用した。

1,2,4-トリメチルベンゼンは、ジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解性がよいことから、DMSOに50, 10または2.5 mg/mlになるように溶解した後、同溶媒で公比約3ないし2で希釈し、速やかに試験に用いた。

試験の開始に先立って、1,2,4-トリメチルベンゼンのDMSO溶液中での安定性試験および含量測定試験を実施した。安定性試験においては、低濃度(78.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$)溶液は、本試験IIで調製したものについて、高濃度(60.0 mg/ml)溶液は、染色体異常試験で調製したものについて、室温遮光条件下で、安定性を調べた。その結果、調製4時間後における各濃度の平均含量は、それぞれ初期値(0時間)の平均値に対して、104および99.2%であった。また、含量測定試験を行った結果、調製液の濃度は、低濃度(78.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$)溶液は91.6%、高濃度(10.0 mg/ml溶液)は99.8%であった。

〔陽性対照物質〕

用いた陽性対照物質およびその溶媒は以下のとおりである。

AF2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (上野製薬(株))

SA : アジ化ナトリウム (和光純薬工業(株))

9AA : 9-アミノアクリジン (Sigma Chem. Co.)

2AA : 2-アミノアントラセン (和光純薬工業(株))

AF2, 2AAはDMSO(和光純薬工業(株))に溶解したものを-20℃で凍結保存し、用時解凍した。9AAはDMSOに、SAは純水に溶解し、速やかに試験に用いた。

〔培地およびS9 mixの組成〕

1) トップアガー

下記の水溶液(A)および(B)を容量比10:1の割合で混