

## 除草剤クロルプロファムによる 溶血性貧血と脾臓における病理学的変化の可逆性

藤谷知子<sup>\*</sup>, 多田幸恵<sup>\*</sup>, 矢野範男<sup>\*</sup>, 湯澤勝廣<sup>\*</sup>,  
長澤明道<sup>\*</sup>, 小縣昭夫<sup>\*</sup>

### Reversibility of Hemolytic Anemia and Pathological Changes in Spleen by Sub-acute Dietary Administration of Chlorpropham

Tomoko FUJITANI<sup>\*</sup>, Yukie TADA<sup>\*</sup>, Norio YANO<sup>\*</sup>, Kastuhiro YUZAWA<sup>\*</sup>,  
Akemichi NAGASAWA<sup>\*</sup> and Akio OGATA<sup>\*</sup>

Administration of Chlorpropham at 600 or more ppm of dietary level for 13 weeks dose-dependently induced methemoglobinemia, hemolytic anemia and accompanied pathological changes in spleen, liver and kidney of male F344 rats. Rats were given standard (0 ppm) diet after 13 weeks administration of Chlorpropham, and the recovery of hematological and pathological changes was observed for 10 weeks. The hematological changes, congestion of red pulp with lymphoid atrophy in spleen, and/or increased hematopoiesis in spleen, liver and bone marrow were almost diminished within 10 weeks recovery period. The hemosiderin deposition in spleen and kidney, and fibrosis in spleen of treated rats were persistent, although the severity of changes was reduced during 10 weeks recovery period. The reversibility of hematological changes and persistence of hemosiderin deposition and fibrosis in spleen suggested the significance of secondary splenotoxicity rather than the primary hemotoxicity of Chlorpropham.

**Keywords :** クロルプロファム chlorpropham , 溶血性貧血 hemolytic anemia , 脾臓毒性 splenotoxicity ,  
ヘモジデリン沈着 hemosiderin deposition , 脾臓の線維化 splenic fibrosis , 可逆性 reversibility

### 緒 論

クロルプロファム [Isopropyl-n-(3-chlororophenyl) carbamate]は、馬鈴薯の貯蔵や輸送中の品質維持のために、発芽抑制剤として用いられる<sup>1-5)</sup>。クロルプロファムはまた、農業用の除草剤としても用いられ、クロルプロファムを撒布した畑で育成されたレタスから検出された<sup>6)</sup>。日本では、食品におけるクロルプロファムの許容量は、馬鈴薯で 50 ppm, その他の農産物で 0.05 から 0.50 ppm で、一日許容摂取量は、0.1 mg/kg 体重である。

クロルプロファムは、植物細胞<sup>7)</sup>に対すると同様に、哺乳類由来細胞<sup>8)</sup>に対しても細胞分裂阻害作用を有し、マウスにおける催奇形性<sup>9)</sup>と発達異常及び行動異常<sup>10,11)</sup>が報告されている。クロルプロファムの急性毒性は比較的低く、経口半数致死量 LD<sub>50</sub>は、Wistar ラット<sup>12)</sup>で 6.0 g/kg 体重、F344 ラット<sup>13)</sup>で 3.3 から 4.5 g/kg 体重、ICR マウス<sup>13)</sup>で 3.7 から 4.5 g/kg 体重である。ラットを用いた亜慢性 (13 週間) 経餌投与試験<sup>14,15)</sup>では、投与 (7500, 15000 及び 30000 ppm) 群の雌雄に、メトヘモグロビン血症、貧血及

び著しい脾臓の腫大が見られ、骨髓、肝臓、腎臓及び胸腺の病理組織学的検査からクロルプロファムが溶血性貧血を引き起こすことが示された。次に、亜慢性 (13 週間) 投与期間中の経時変化を観察した実験<sup>16,17)</sup>では、クロルプロファムの影響のうち、血液性状の変化 (メトヘモグロビン血症と貧血)、傷害された赤血球を取り込んだ事による脾臓の変化 (腫大、うっ血すなわち多量の赤血球の滞留)、及び、貧血症状に対する生理学的反応 (骨髓の造血亢進、脾臓・肝臓における髓外造血) 等は投与初期から見られ、投与期間の長さによって、その重篤度は変わらなかった。しかし、傷害された赤血球の分解処理により生ずるヘモジデリン沈着 (脾臓・肝臓・腎臓) 及び脾臓の線維化は、投与期間が長くなるにつれてその重篤度が増し、クロルプロファムの毒性を考慮するうえで、血液性状の変化よりもヘモジデリン沈着及び脾臓の線維化が重要であることが示唆された。一方、マウスを用いた亜慢性 (13 週間) 経餌投与試験<sup>18,19)</sup>では、クロルプロファムは、雌雄のマウスに著しいメトヘモグロビン血症と脾臓及び肝臓の腫大を引き起こ

\* 東京都健康安全研究センター環境保健部病理研究科 169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,  
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

したが、貧血は観察されなかった。マウスにおいては、傷害された赤血球の取り込みおよび分解処理の能力がラットと異なるために、脾臓毒性よりも血液毒性が強く発現したと考えられた。また、脾臓の病理組織学的変化がマウスよりもラットで顕著であったことから、慢性毒性試験はラットで行うのが好ましいと考えられた。しかし、ラットにおける亜慢性（13週間）経餌投与試験<sup>14,15)</sup>でクロルプロファムの最低濃度（7500 ppm）群にも血液性状の変化及び病理組織学的変化が見られたことから、慢性毒性を行うに先駆けて亜慢性（13週間）経餌投与での無作用量（No-Observed-Adverse-Effect Level: NOAEL）を求める必要があり、今回の13週間の経餌投与は、最低投与濃度を前回の10分の1以下の600 ppmとした。また、亜慢性（13週間）経餌投与による血液性状の変化と病理組織学的変化の可逆性を確認することも重要であると考えられた。そこで、13週間の経餌投与後、標準飼料に切り替えて10週間まで、血液性状の変化および病理組織学的変化の回復を経時的に観察した。

#### 材料と方法

##### 1. 被検物質

クロルプロファム（Lot no.1432；純度 99.7 %以上、メタクロロアニリンは HPLC で検出されず）は、保土ヶ谷化学工業（東京）から購入した。常温で非結晶性の固形であるクロルプロファムは、そのままでは、餌の中に均一に混合・分散させることが困難であるため、45～50℃に加熱して液化し、同じく45～50℃に加熱した粉末標準飼料 CE-2（日本クレア社；東京）に加え、冷めないうちに良く混和したのち、固形飼料とした。

##### 2. 動物と飼育条件

雄のフィッシャーラット（F344/DuCrj）を、チャールズリパー・ジャパンから4週齢で購入し、ステンレス製ケージに1匹ずつ収容し、室温 23-25℃、相対湿度 50-60 %、照明 12 時間/日の飼育室で、固形標準飼料 CE-2 で1週間の予備飼育後に実験に用いた。

##### 3. 投与実験

ラットを4群（各25匹）に分け、クロルプロファムを0、600、3000、15000 ppm 含む実験飼料を与えた。13週間の投与期間中、毎週、全ラットの体重および各群10匹の摂

餌量を測定した。化合物摂取量は、摂餌量および餌中の化合物濃度から算出した。投与期間の終わりに、各群の25匹を体重の有意差のない5グループ（各5匹）に分け、回復期間の0週（投与終了時）および1、2、4、10週に各群の1グループずつを解剖した。

##### 4. 解剖

エーテル麻酔下で、頸静脈から EDTA 血とヘパリン血を採取した後、脾臓、肝臓、腎臓および大腿骨を摘出した。脾臓、肝臓および腎臓の重量を測定した。

##### 5. 血液学的検査

EDTA 血で、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、白血球数および血小板数を測定し、平均血球容積、平均血球ヘモグロビン量、平均血球ヘモグロビン濃度を算出した（自動血球計数装置 Sysmex E-4000；東亜医用電子 KK）。ヘパリン血で、Harrison の方法<sup>20)</sup>を用いてメトヘモグロビンを測定し、総ヘモグロビン中のメトヘモグロビンの比率（%）で表した。

##### 6. 病理組織学的検査

中性緩衝ホルマリン液で固定した脾臓、肝臓、腎臓および大腿骨を、定法に従いパラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジンおよびベルリンブルーで染色し、顕微鏡観察した。

##### 7. 統計解析

対照群と投与群の間の差を、Scheffe の多重比較検定<sup>21)</sup>で解析した。

#### 結 果

##### 1. 摂餌量・化合物摂取量・体重変化

投与期間および回復期間を通して、対照（0 ppm）群と比べて、クロルプロファム 600、3000 及び 15000 ppm 群のいずれの群も、体重、実摂餌量（g/day/匹）および相対摂餌量（g/day/kg 体重）に有意な差は認められなかった（表 1）。化合物摂取量も、あわせて表 1 に示した。

##### 2. 臓器重量（図 1）

投与終了時（回復 0 週）、クロルプロファム 3000 および 15000 ppm 群の脾臓の実重量（g）と相対重量（g/100 g 体

表 1. 体重および投与期間中の摂餌量と化合物摂取量

クロルプロファム濃度(ppm)	体重 (g)			摂餌量		化合物摂取量 (mg/kg 体重/日)
	投与0週	回復0週	回復12週	(g/1匹/日)	(g/kg 体重/日)	
0	92±4	254±29	188±23	13.0±1.4	75.1±2.1	
600	91±4	255±36	284±35	13.3±1.3	75.5±2.2	45±1
3000	92±5	262±26	306±27	13.7±0.9	76.6±3.6	230±11
15000	92±4	251±27	285±48	13.9±0.7	77.6±5.8	1164±87

数値は、各群10匹の平均値±標準偏差。

重)が対照群より有意に重かった。脾臓重量の増加は、投与終了後に軽減され、投与終了の1週後にはクロルプロファミン 3000 ppm 群の脾臓実重量が、また、投与終了の2週後には同群の相対重量も対照群との有意差は認められなくなった。しかし、クロルプロファミン 15000 ppm 群においては、投与終了の10週後まで、対象群との有意差が認められた。また、投与終了時にクロルプロファミン 3000 および 15000 ppm 群に認められた脾臓表面の凹凸(肉眼所見)は、投与終了の10週後まで、ほとんど軽減されることなく認められた。

投与終了時(回復0週)、クロルプロファミン 15000 ppm 群の肝臓の実重量(g)と相対重量(g/100 g 体重)が対照群より有意に重かった。肝臓重量の増加は、投与終了後に軽減され、投与終了の1週後には肝臓重量の有意差は認められなくなった。

投与終了時(回復0週)、クロルプロファミン 15000 ppm

群の腎臓の相対重量(g/100 g 体重)が対照群より有意に重かった。腎臓の相対重量の増加は、投与終了後に軽減され、投与終了の1週後には腎臓の相対重量の有意差は認められなくなった。

3. 血液性状の変化(図2)

投与終了時(回復0週)、クロルプロファミン 15000 ppm 群のメトヘモグロビン値が対照群より有意に高かった。メトヘモグロビン値の上昇は、投与終了後に著しく軽減された。投与終了の2および4週後にはクロルプロファミン 3000 および 15000 ppm 群におけるメトヘモグロビン値が対照群より有意に高かったが、投与終了の10週間後にはメトヘモグロビン値の有意差は認められなくなった。

投与終了時(回復0週)、クロルプロファミン 3000 および 15000 ppm 群の赤血球数が対照群より有意に低かった。また、クロルプロファミン 600, 3000 及び 15000 ppm 群の

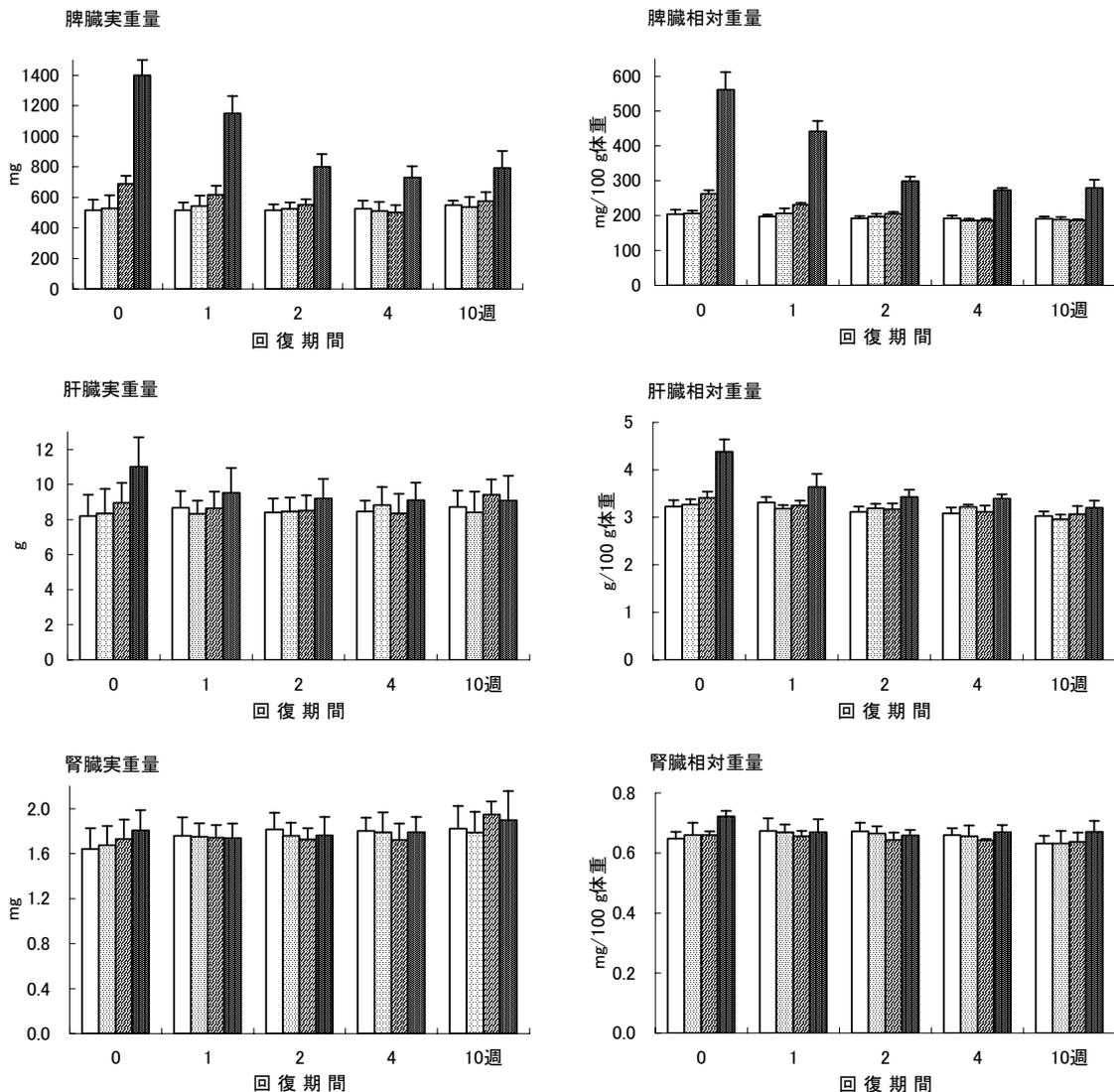
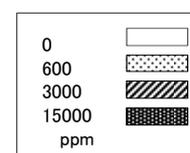


図1. クロルプロファミンの13週間経餌投与による脾臓・肝臓・腎臓の重量変化とその回復期間とバーは、各群5匹の平均値と標準偏差を示す。ただし、回復10週の3000 ppm群は、4匹の平均値と標準偏差。\* あるいは \*\* は、対照群(0 ppm)との有意差(p<0.05 あるいは p<0.01)を示す。



いずれの群も、投与終了の1週後に、赤血球数が対照群より有意に低かった。赤血球数の減少は、その後緩やかに軽減し、投与終了の10週間後には赤血球数の有意差は認められなくなった。

投与終了時(回復0週), クロルプロファム 600, 3000 及び 15000 ppm 群のいずれの群も、ヘモグロビン濃度が対照群より有意に低かった。投与終了の1週後に、まだ、クロルプロファム 600, 3000 及び 15000 ppm 群のいずれの群も有意に低かったが、その後速やかに軽減され、投与終了の10週間後にはヘモグロビン濃度の有意差は認められなくなった。

投与終了時(回復0週), クロルプロファム 600, 3000 及び 15000 ppm 群のいずれの群も、ヘマトクリット値が対

照群より有意に低かった。投与終了の1週後に、まだ、クロルプロファム 3000 及び 15000 ppm 群で有意に低かったが、その後速やかに軽減され、投与終了の2週間後にはヘマトクリット値の有意な低下は認められなくなった。投与終了の4週間後に、クロルプロファム 3000 及び 15000 ppm 群のヘマトクリット値が対照群より有意に高かったが、投与終了の10週間後にはヘマトクリット値の有意差は認められなくなった。

投与終了時(回復0週), クロルプロファム 3000 及び 15000 ppm 群の平均血球容積が対照群より有意に高かった。投与終了の1および2週後に、まだクロルプロファム 3000 及び 15000 ppm 群で有意に高かったが、投与終了の4週間後には平均血球容積の有意差は認められなくなった。

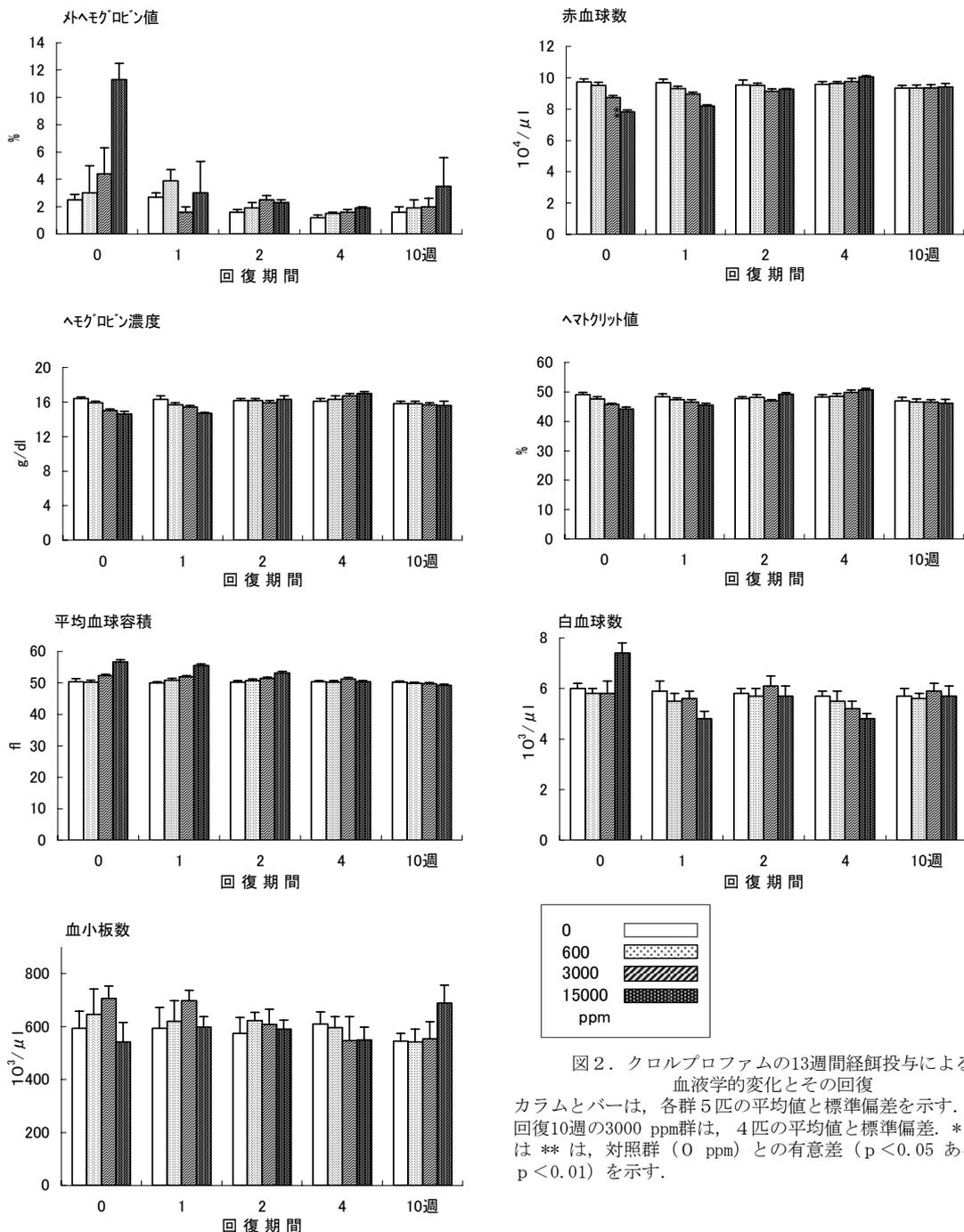


図2. クロルプロファムの13週間経餌投与による血液学的変化とその回復  
 カラムとバーは、各群5匹の平均値と標準偏差を示す。ただし、回復10週の3000 ppm群は、4匹の平均値と標準偏差。\* あるいは \*\* は、対照群(0 ppm)との有意差(p < 0.05 あるいは p < 0.01)を示す。

投与終了の 10 週間後に、クロルプロファミン 15000 ppm 群の平均血球容積が対照群より有意に低かった。

投与終了時(回復 0 週), クロルプロファミン 600, 3000 及び 15000 ppm 群のいずれの群においても、白血球数および血小板数は、対照群と有意差は認められなかった。

投与終了時(回復 0 週), クロルプロファミン 15000 ppm 群で、赤血球大小不同症および赤血球多染性が軽微に認められたが、投与終了後に速やかに消失した。投与終了時(回復 0 週)および回復期において、白血球および血小板には形態学的な変化は認められなかった。

表 2. 投与終了時から回復期間中の病理学的変化

			回復期間 (週)					
			0	1	2	4	10	
脾臓	赤脾髓うつ血	CIPC(ppm)						
		600	+	4	3	0	0	1
		3000	+	0	5	5	2	3
			++	5	0	0	0	0
		15000	+	0	0	0	2	4
			++	0	5	3	0	1
		+++	5	0	0	0	0	
	リンパ鞘萎縮	600	+	4	1	0	0	0
		3000	+	5	2	2	0	0
		15000	+	0	0	5	2	5
			++	5	5	0	0	0
	髄外造血増加	600	+	2	5	0	0	0
3000		+	5	5	0	0	0	
15000		+	1	5	0	0	0	
		++	4	0	0	0	0	
ヘンジゲリン沈着	0	+	5	5	5	5	5	
	600	+	1	3	0	2	3	
		++	4	2	5	3	2	
	3000	+	0	0	0	1	0	
		++	5	5	5	4	4	
	15000	+	0	0	0	0	2	
	++	5	5	5	5	3		
線維化	600	+	1	3	3	4	2	
	3000	+	5	2	5	5	3	
	15000	+	0	0	0	0	2	
		++	5	5	5	5	3	
骨髓	造血細胞過形成	3000	+	4	3	2	1	1
		15000	+	0	0	3	2	4
			++	2	2	2	2	0
			+++	3	3	0	0	0
肝臓	肝細胞腫大	15000	+	5	0	0	0	0
	好酸性細胞質	3000	+	3	0	0	0	0
		15000	+	5	0	0	0	0
	るい洞拡張	15000	+	4	0	0	0	0
	肝細胞壊死	0	+	0	1	0	0	0
		3000	+	2	0	0	0	0
		15000	+	5	1	0	0	0
	髄外造血	3000	+	2	0	0	0	0
		15000	+	5	1	0	0	0
	ヘンジゲリン沈着	3000	+	3	0	0	0	0
		15000	+	3	5	5	3	0
		++	2	0	0	0	0	
腎臓	ヘンジゲリン沈着	600	+	1	0	0	0	0
		3000	+	3	0	0	0	0
		15000	+	4	3	4	4	2

数値は、各群 5 匹中で、対照群と比べて変化のあった各所見の観察された匹数。ただし 10 週の 3000ppm 群においては、4 匹中の匹数。  
所見の程度：+=軽微，++=やや顕著，+++=顕著。

#### 4. 病理組織学的変化 (表 2) (写真 1)

投与終了時 (回復 0 週), クロルプロファミン 600, 3000 及び 15000 ppm 群の脾臓に, 赤脾髄への赤血球の滞留, リンパ鞘の萎縮, 髄外造血の増加, ヘモジデリン沈着の増加及び線維化が, 用量相関性に認められた。これらの病理所見のうち, 赤血球の滞留, リンパ鞘の萎縮及び髄外造血の増加は, 投与終了後に軽減され, 投与終了の 10 週間後には, 軽微に認められる程度であった。これに対して, ヘモジデリン沈着の増加及び線維化は, 回復期間中に徐々に軽減されるにとどまり, 投与終了の 10 週間後にも, 対象群と比べて明瞭なヘモジデリン沈着及び線維化が全ての投与群で用量相関性に認められた。

投与終了時 (回復 0 週), クロルプロファミン 3000 及び 15000 ppm 群の骨髄に, 造血細胞の過形成が用量相関性に認められた。この所見は, 投与終了後に軽減し, 投与終了の 10 週間後には, 軽微に認められる程度であった。

投与終了時 (回復 0 週), クロルプロファミン 15000 ppm 群の肝臓に, 細胞質の好塩基性顆粒増加を伴った肝細胞腫大, 累洞の拡張および肝細胞の壊死が認められた。また, クロルプロファミン 3000 及び 15000 ppm 群の肝臓に, 髄外造血が用量相関性に認められた。これらの所見は, 投与終了後に軽減し, 投与終了の 10 週間後には, 軽微に認められる程度であった。

投与終了時 (回復 0 週), クロルプロファミン 600, 3000 及び 15000 ppm 群の腎臓の尿細管に, ヘモジデリン沈着が用量相関性に認められた。この所見は, 投与終了後に軽減したが, 投与終了の 10 週間後にもまだ, クロルプロファミン 3000 及び 15000 ppm 群に認められた。

### 考 察

#### 1. 投与終了時の所見

クロルプロファミンの 13 週間の経口投与は, 全ての投与群 (クロルプロファミン 600 ppm 以上) で用量に相関して溶血性貧血を引き起こした。脾臓は老化や傷害で不用になった赤血球を血流から取り込み分解処理する機能を有し, 分解処理された赤血球のヘモグロビンの残渣がヘモジデリンである。つまり, 投与群のラットに見られた, 赤脾髄への多量の赤血球の滞留やヘモジデリンの沈着の増加は, 傷害された赤血球が脾臓に取り込まれてさかんに分解処理されていることを示している。骨髄における造血細胞の過形成と, 脾臓および肝臓に見られた髄外造血 (の増加) は, クロルプロファミン投与による赤血球減少への生理的反応であろう。これらの結果は, クロルプロファミンがまず赤血球に影響を及ぼしている事を示している。

多くのアニリン系の化合物が, クロルプロファミンと同様にメトヘモグロビン血症と溶血性貧血を引き起こすと報告されており, その主な原因物質は, 代謝物である N-水酸化アニリンあるいは N-水酸化クロロアニリンであると推察されている<sup>20,22-24</sup>。クロルプロファミンは構造式の中にメタ

クロロアニリンを有し, ラット体内で水解されてメタクロロアニリンを生じる<sup>25,26</sup>。したがって, クロルプロファミンの血液毒性は, アニリン系化合物と同じ作用機序によると考えられる<sup>16,17</sup>。

前回の亜慢性 (13 週間) 毒性試験<sup>14,15</sup>において, 全てのクロルプロファミン投与群 (7500 から 30000 ppm) で血液毒性が見られた。そこで今回は, より低濃度の群を設定して投与実験を行ったが, 予想に反して, 最低濃度 (クロルプロファミン 600 ppm) の投与群においてもヘモグロビン濃度の有意な低下や脾臓の病理組織学的変化が見られ, 13 週間のクロルプロファミン経口投与での最大無作用量 (NOAEL) を明らかにすることが出来なかった。

#### 2. 投与終了後の回復

投与終了時に投与群に見られた血液性状の変化は投与終了後に速やかに回復した。投与終了の 4 週間後に, 投与群の赤血球数, ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値が対照群より高まったが, 血液像に異常は認められず, 投与による貧血とそれに対応する造血亢進のアンバランスからくる一過性の赤血球増加と考えられる。投与終了の 10 週間後には, 平均血球容積を除く全ての血液学的検査項目が対照群と有意差がなくなった。クロルプロファミンの亜慢性 (13 週間) 経口投与による血液性状の変化は, 投与終了後に回復可能であると示唆された。肝臓および腎臓の重量の増加, あるいは肝臓の病理学的変化も, 投与終了後に速やかに消失した。脾臓の腫大および赤血球の滞留は, 投与終了後緩やかに回復した。投与の終了に伴い, クロルプロファミンによる赤血球の傷害がなくなり, 赤血球の取り込み・分解処理が正常レベルに戻ったと考えられる。骨髄, 脾臓および肝臓に見られた造血亢進も, 投与終了後に消失した。

#### 3. 回復困難な所見

一方, 脾臓および腎臓におけるヘモジデリン沈着と脾臓における線維化は, 容易には回復しなかった。クロルプロファミン亜慢性 (13 週間) 経口投与の血液性状の変化, 血清生化学的变化および病理組織学的変化を投与 2 週から 13 週まで経時的に観察した実験<sup>16,17</sup>においても, 血液性状の変化と血清生化学的变化は 2 週から 13 週まであまり変化がなかったのに対し, 病理組織学的変化のうちヘモジデリン沈着と脾臓の線維化は投与期間中に漸次的に顕著になっていった。クロルプロファミンの血液毒性が, 代謝物である N-水酸化クロロアニリンによると推察されると先に述べたが, N-水酸化アニリンの投与でメトヘモグロビン血症と貧血を引き起こされたラットにおいても, ヘモジデリン沈着と脾臓の線維化が漸次的に顕著になる現象が報告されている<sup>22</sup>。また, このような機序で発現したヘモジデリン沈着と脾臓の線維化が, 投与の終了後に容易には回復しないという事<sup>27</sup>も今回のクロルプロファミンの結果と良く一致している。マクロファージへのヘモジデリンの過剰な沈着

はマクロファージの崩壊を招き、鉄イオンや毒性物質と(あるいは)その代謝物が脾臓内に放出されると考えられている<sup>28)</sup>。Khanらは、アニリン投与によるヘモジデリン沈着と同時に脾臓の酸化ストレスが高まる事を証明し、脾臓の線維化は鉄イオンの触媒作用で生じたフリーラジカルによる酸化ストレスが原因であると推察している<sup>29,30)</sup>。クロルプロファムの13週間の投与における、脾臓のヘモジデリン沈着と線維化が漸次的に顕著になり、また回復が困難であったことから、クロルプロファムの長期摂取は、より顕著なヘモジデリン沈着と線維化を引き起こすことが予想

される。クロルプロファムの毒性においては、直接引き起こされる血液毒性よりも、二次的に引き起こされるヘモジデリン沈着と脾臓の線維化が重要であることが示唆された。アニリン、p-クロロアニリン及びその他のアニリン化合物は慢性投与でラットの脾臓に種々の肉腫を形成し、それらの肉腫は、線維化や顕著なヘモジデリン沈着のある部位から起きていると認められている<sup>31,32)</sup>。それゆえに、脾臓の線維化と皮膜の過形成(肥厚)は、前癌的变化であるとみなされている<sup>33,34)</sup>。クロルプロファムの長期(慢性)摂取がより顕著なヘモジデリン沈着や線維化を引き起こし、脾

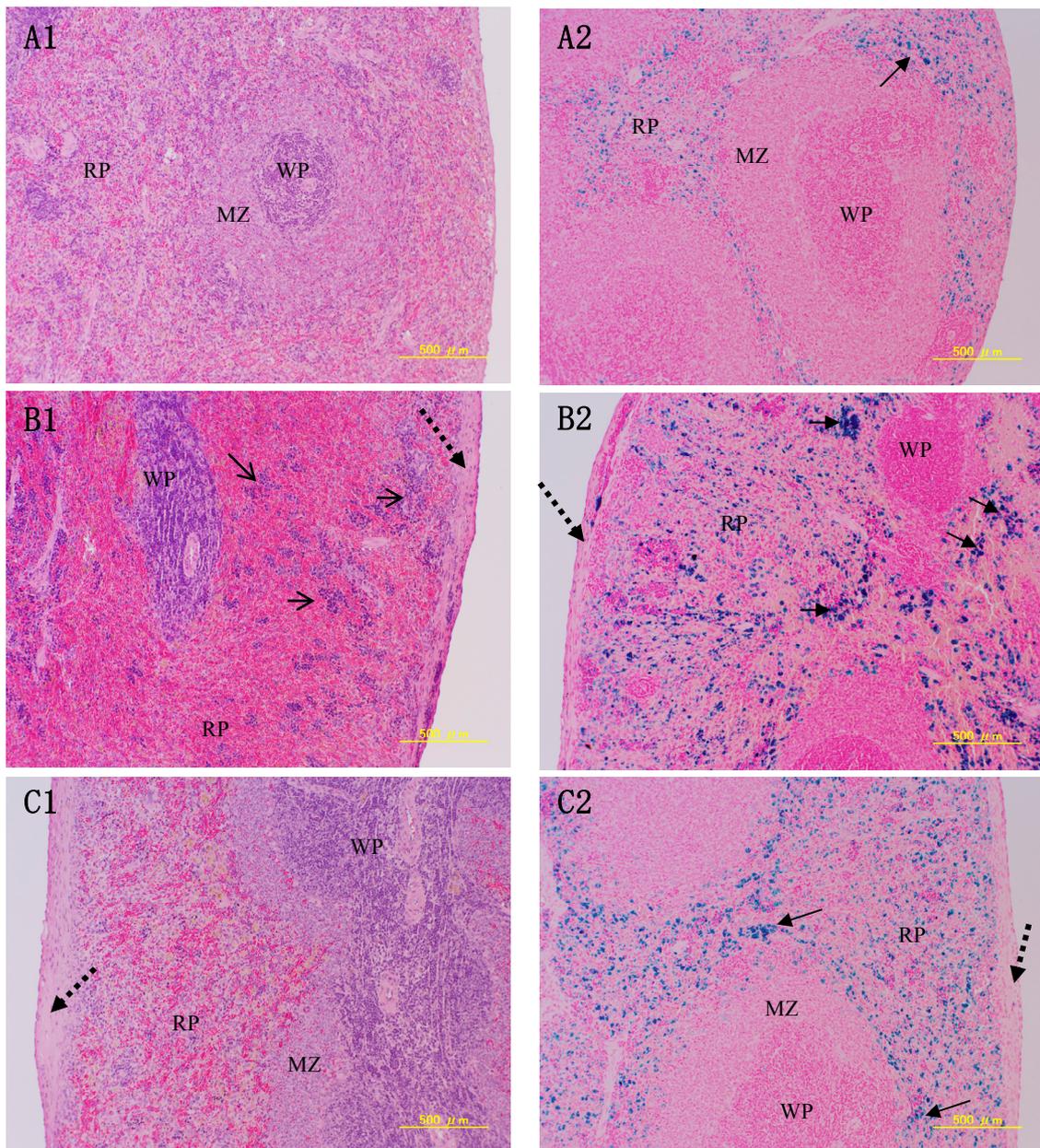


写真 1. クロルプロファム 0 (A) あるいは 15000 (B, C) ppm を摂取したラットの脾臓。回復0週(投与終了時)、対照(0 ppm)群(A1, A2)に比べて、15000 ppm 群(B1, B2)では、赤脾髄(Red Pulp: RP)に赤血球が多数累積し、リンパ鞘(White Pulp: WP)が萎縮、辺縁帯(Marginal Zone: MZ)が不明瞭になり、髄外造血(→)の増加、ヘモジデリンの沈着(青く染まった粒 →)、及び、線維化(.....▶)が著しい。回復10週(C1, C2)でも、線維化とヘモジデリンの沈着は消失しなかった。

A1, B1, C1: H & E 染色

A2, B2, C2: ベルリンブルー染色

臓の肉腫に至る可能性が考えられる。また、今回の試験で可逆的な変化が主症状であった 600 あるいは 3000 ppm の低投与群においても、長期の摂取により上記の様な脾臓の不可逆的变化を引き起こす可能性もある。クロルプロファミの亜慢性(13週間)経口投与試験から今回の回復実験までの一連の結果は、クロルプロファミの慢性毒性試験を実施する必要性を強く示唆している。

#### 謝 辞

予備実験を遂行した共立薬科大学薬学部の池田幸子さん、本実験の遂行を助めてくださった同大学毒性学教授の木村都先生に感謝いたします。

#### 参 考 文 献

- 1) Vojinovic, V., Peric, Z., Neskovic, N.: *Zast. Bilja*, **36**, 209-214, 1985.
- 2) Gartrell, M.J., Craun, J.C., Podrebarac, D.S. *et al.*: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **68**, 842-861, 1985a.
- 3) Gartrell, M.J., Craun, J.C., Podrebarac, D.S. *et al.*: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **68**, 862-875, 1985b.
- 4) Worobey, B.L., Sun, W.-F.: *Chemosphere*, **16**, 1457-1462, 1987.
- 5) Beernaert, H., Hucorne, P.: *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **193**, 433-435, 1991.
- 6) Rouchaud, J., Moons, C., Benoit, F. *et al.*: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **38**, 240-246, 1987.
- 7) Hoffman, J.C. and Mullins, J.M.: *IN VITRO TOXICOLOGY*, **9**, 61-65, 1996.
- 8) Hoffman, J.C. and Vaughn, K.C.: *Protoplasm*, **179**, 16-25, 1994.
- 9) Tanaka, T., Fujitani, T., Takahashi, O., *et al.*: *Reproductive Toxicology*, **11**, 697-701, 1997.
- 10) Tanaka, T.: *Toxicology and Industrial Health*, **13**, 715-726, 1997.
- 11) Tanaka, T.: *Food Additives and Contaminants*, **16**, 173-180, 1999.
- 12) Caporiccio, B., Tounamille, J., Michel, R.: *Comptes Rendus Societe de Biologie.*, **175**, 496-500, 1981.
- 13) 樺島順一郎, 市川久次: 東京衛研年報, **44**, 288-293, 1993.
- 14) Fujitani, T., Tada, Y., Noguchi, A.T. *et al.*: *Toxicology*, **123**, 111-124, 1997.
- 15) 藤谷知子, 多田幸恵, 野口アパレシータ千歳, 他: 東京衛研年報, **49**, 245-254, 1998.
- 16) Fujitani, T., Tada, Y., Noguchi, A.T., *et al.*: *Food and Chemical Toxicology*, **39**, 253-259, 2001.
- 17) 藤谷知子, 多田幸恵, 野口アパレシータ千歳, 他: 東京衛研年報, **53**, 268-273, 2002.
- 18) Fujitani T., Tada Y., Fujii, A., *et al.*: *Food and Chemical Toxicology*, **38**, 617-625, 2000.
- 19) 藤谷知子, 多田幸恵, 藤井亜矢, 他: 東京衛研年報, **51**, 286-291, 2000.
- 20) Harrison, J.H.Jr., Jollow, D.J.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **238**, 1045-1054, 1986.
- 21) Gad, S.C., Weil, C.S.: *Statistics for toxicologists*, Wallace Hayes (Ed), *Principles and Methods of Toxicology*, 273-320, 1982, Raven Press, New York.
- 22) Khan, M.F., Kaphalia, B.S., Boor, P.J., *et al.*: *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **24**, 368-374, 1993.
- 23) Wang, S.W., Chu, C.H., Hsu, J.D. *et al.*: *Food and Chemical Toxicology*, **31**, 285-295, 1993.
- 24) McMillan, D.C., McRae, T.A., Hinson, J.S.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **105**, 503-507, 1990.
- 25) Grunow, W., Boehme, C., Budczies, B.: *Food and Cosmetical Toxicology*, **8**, 277-288, 1970.
- 26) Bobik, A., Holder, G.M., Ryan, A.J.: *Food and Cosmetical Toxicology*, **10**, 163-170, 1972.
- 27) Khan, M.F., Boor, P.J., Kaphalia, B.S., *et al.*: *Fundamental and Applied Toxicology*, **25**, 224-232, 1995.
- 28) Stefanski, S.A., Elwell, M.R., Stromberg, P.C.: Spleen, Boorman, G.A., Eustis, S.L., Elwell, M.R. *et al.*, (Eds), *Pathology of the Fischer Rat Reference and Atlas*, 369-393, 1990, Academic Press, San Diego.
- 29) Khan, M.F., Boor, P.J., Gu, Y. *et al.*: *Fundamental and Applied Toxicology*, **35**, 22-30, 1997.
- 30) Khan, M.F., Green, S.M., Ansari, G.A.S. *et al.*: *Toxicological Sciences*, **42**, 64-71, 1998.
- 31) Goodman, D.G., Ward, J.M., Reichardt, W.D.: *Journal of the National Cancer Institute*, **73**, 265-273, 1984.
- 32) Weinberger, M.A., Albert, R.H., Montgomery, S.B.: *Journal of the National Cancer Institute*, **75**, 681-690, 1985.
- 33) Ward, J.M., Reznik, G., Garner, F.M.: *Vet. Pathol.*, **17**, 200-205, 1980.
- 34) Bus, J.S., Popp, J.A.: *Food and Chemical Toxicology*, **25**, 619-626, 1987.