

生体試料中の臭素化難燃剤テトラブロモビスフェノール A の簡易分析

藤谷 知子*, 多田 幸恵*, 高橋 博*, 矢野 範男*, 久保 喜一*,
安藤 弘*, 湯澤 勝廣*, 長澤 明道*, 小縣 昭夫*, 上村 尚**

Simple Analysis of the Brominated Flame-retardant, Tetrabromobisphenol A, in Mice Tissues

Tomoko FUJITANI, Yukie TADA, Hiroshi TAKAHASHI, Norio YANO, Yoshikazu KUBO,
Hiroshi ANDOH, Katsuhiko YUZAWA, Akemichi NAGASAWA, Akio OGATA and Hisashi KAMIMURA

Tetrabromobisphenol A (TBBPA), a brominated flame-retardant, has been widely detected in the environment, wildlife, and human plasma, and is now under consideration for adverse effects using experimental animals by embryonal, fetal, and neonatal exposure in our laboratory. In order to determine the maternal-fetal distribution of TBBPA, simple methods of sample preparation from tissues or body fluids, and HPLC analysis were investigated. Using a reverse-phase analytical column, a two isocratic step system with mobile phase A (80 % methanol, 1 mmol/L ammonium acetate) from 0 to 15 min for separation of TBBPA and mobile phase B (100 % methanol) from 15 to 22 min for column washing, a flow rate of 0.8 ml/min, and detection at 295 nm, TBBPA concentrations could be quantitatively determined with a lower limit of 1.0 ng. Supernatant from homogenates of tissues in methanol were suitable for HPLC analysis, with a detection limit of 0.02 µg/g tissue wet weight. For the detection of TBBPA in blood, diethyl ether extraction was suitable.

Keywords : 臭素化難燃剤 brominated flame-retardant, テトラブロモビスフェノール A tetrabromobisphenol A, 液クロ分析 HPLC analysis, 生体内分布 distribution, 胎盤通過 placental transfer, 母乳への分泌 milk excretion, マウス mice

緒 言

テトラブロモビスフェノール A [CAS No 79-94-7; 2,2-bis(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)-propane, 以後 TBBPA と略す] は, 難燃剤として, プラスチック製品や繊維製品に使われる. 2002 年の年間生産量は, 世界で 130,000 トン以上, そのうち 86% がアジアで使われている¹⁾.

TBBPA は, 下水処理場の汚泥²⁾, 埋立地からの滲出水³⁾ や河川や河口付近の底質土^{4, 5)} から検出され, 河口付近に生息する巻貝やヒトデなどの無脊椎動物, 魚類, 海鳥, 海洋哺乳類から検出される^{5, 6)} など, 広く環境を汚染していることが報告されている. 電化製品の廃棄物処理場やコンピューター室のような職場環境においても, 埃や空気中から TBBPA が検出されている⁷⁻⁹⁾. 人の血清中からも検出され⁹⁻¹²⁾, 職業暴露と食物暴露の両方が示唆されている.

TBBPA の生体への影響については, 試験管内試験で, 内分泌攪乱作用¹³⁻¹⁷⁾, 免疫抑制作用¹⁸⁾, 神経伝達の阻害¹⁹⁾ が, 動物による試験で, 鳥卵の致死毒性²⁰⁾, 出生直後の仔ラットでの腎毒性²¹⁾ などが報告されている. しかし, TBBPA の生体内分布, 胎盤通過, 母乳分泌については,

人, 家畜, 実験動物のいずれにおいても, ほとんどわかっていない. そこで, 実験動物を用いた生体内分布試験に先立って, 生体試料 (各種臓器や生体液) 中の TBBPA を簡便に測定する方法を検討した.

材料と方法

1. 試薬

酢酸アンモニウムと分析標準用 TBBPA は和光純薬から, n-ヘキサン, アセトン, HPLC 用メタノールは関東化学から購入した. 動物に投与した TBBPA は東京化成工業製 (純度 > 98%) を, 懸濁用剤として日本薬局方オリーブオイルを用いた.

2. HPLC 分析

Ronen ら²²⁾, および Berger ら²³⁾ の方法を参考にした. 逆相分析カラムは, TSK-Gel ODS-80_{TM} (250×4 mm; TOSOH, 東京) および Inertsil ODS-3 (5 µm, 250×4 mm; GL Science, 東京) を, 溶出液はメタノールと 1 mmol/L 酢酸アンモニウム緩衝液の濃度勾配を, 流速 0.8 mL/分で検

* 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, Shinjyuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

** 東京都健康安全研究センター環境保健部

討した。検出器は紫外吸光度計 (UV 8020; TOSOH, 東京) を用い、クロマトグラムのピーク面積の算出はクロマトパック CR6-A (島津製作所, 京都) を用いた。

3. サンプル調整—1

1) Takahashi ら²⁴⁾ のビスフェノール A の分析法を参考にした。マウス肝臓に既知量の TBBPA を添加して、アセトンで 5%(w/v) ホモジネートとし、遠心分離した上清アセトン層 1 容量を窒素ガス気流下で蒸散せしめ、残渣に純水 1 容量を加えて溶解した。これに 1 容量の n-ヘキサンを加えて振とう機で 15 分間振とうし、n-ヘキサン層を分離する。これを 3 回くりかえし、合わせた n-ヘキサン層を窒素ガス気流下で蒸散せしめ、残渣をメタノールに溶解して HPLC で分析した。

2) マウス肝臓に既知量の TBBPA を添加して、重量の 4 倍容量のメタノールを加えて直ちに、20%(w/v) ホモジネートとし、3,000 rpm, 15 分遠心して上清を HPLC サンプルとした。

4. 投与実験

ICR マウス (Crj:CD-1, 日本チャールスリバー) を、雄は 1 匹/ケージ、雌は 5 匹/ケージに収容し、水と餌 (日本クレア製 CE-2) を自由に摂取させた。8 から 11 週齢で雌雄を 1:1 で一夜同居させ、翌朝、膣栓の認められた雌を妊娠 0 日とした。

1) 妊娠 15 日の母マウスに、オリーブオイルに懸濁した TBBPA 1,600 mg/kg 体重 (10 ml/kg 体重) を投与し、1, 3, 6 および 24 時間後に、各 3 匹をエーテル麻酔下で解剖した。子宮を切開し、26 ゲージの針をつけた注射筒で羊水を吸引採取した後、胎盤、胎児および羊膜を子宮から取り出して、それぞれを母マウスごとにまとめて重量を測定した。

2) 出産後 7 日目の母マウスに、オリーブオイルに懸濁した TBBPA 1,600 mg/kg 体重 (10 ml/kg 体重) を投与し、3, 6 および 24 時間後に、授乳仔マウス各 3 匹をエーテル麻酔下で解剖し、胃の内容物 (ヨーグルト状の凝集物)、肝臓と腎臓を採取した。これらのサンプルは測定まで -20°C で保存した。胎盤、胎児と羊膜、および、仔マウスの胃の内容物、肝臓と腎臓は、サンプル調整の項の 2) の方法で処理し、HPLC サンプルとした。羊水は等量のメタノールと混和したのち、10,000 rpm, 15 分遠心して上清を HPLC サンプルとした。

5. サンプル調整—2

投与実験で、TBBPA が実際に胎児、羊膜、羊水から検出されることがわかったので、母体における TBBPA の分布、特に、血中濃度を測定する必要が生じた。そこで、血中 TBBPA 分析のサンプル調整法を検討した。用いたマウス全血は、大腿静脈を切開して EDTA 処理した採血管に採取した。

1) マウス全血に既知量の TBBPA を添加して、容量の 4 倍容量のメタノールを加えて直ちに、20%(w/v) ホモジネートとし、3,000 rpm, 15 分遠心して上清を HPLC サンプルとした。

2) マウス全血 100 μ L に既知量の TBBPA を添加して、等量の純水を加えて溶血せしめ、2 mL のジエチルエーテルを加えて振とう機で 15 分間振とうし、ジエチルエーテル層を分離する。これを 3 回くりかえし、合わせたジエチルエーテル層を室温で蒸散せしめ、残渣をメタノールに溶解して HPLC で分析した。

結 果

1. HPLC 分析法

1) 紫外外部検出波長

メタノール: 酢酸アンモニウム緩衝液系における紫外外部検出の最適波長を検討した。80%(v/v) メタノール、1 mmol/L 酢酸アンモニウムの均一送液で、検出器の波長を 210 nm から 350 nm まで変えて、TBBPA 標準液のクロマトグラムを比較したところ、295 nm が最も感度が高かった。

2) カラム条件

分析カラムは、方法の項に示した二種のカラムにおいて、80%(v/v) メタノール、1 mmol/L 酢酸アンモニウムの均等送液での TBBPA の保持時間は 12 分 (TSK-Gel ODS-80_{TM}) から 14 分 (Inertsil ODS-3) で、感度はほぼ同程度であった。室温の変動によるベースラインの変動や保持時間の変動を避けるため、カラムオープンを用いて、カラム温度を 35°C に保つと、それぞれのカラムの保持時間は、9 分から 11 分であった。

3) 溶出条件

メタノール濃度勾配の検討を行った。メタノールの直線濃度勾配法は、295 nm での紫外外部検出ではベースラインの変動が激しく、10 分間に 10%(v/v) 程度の勾配でも、目標の TBBPA のピークがベースライン変動に隠れて、全く検出されなかった。そこで、直線濃度勾配による分析は適当ではないと判断し、濃度段階法を検討した。第一段階は 80%(v/v) メタノール、1 mmol/L 酢酸アンモニウムの 15 分間 (分析開始から 0-15 分) で、この間に TBBPA を分析する。続いて、第二段階は 100% メタノールの 7 分間 (分析開始から 15-22 分) で、この間に、生体からの妨害物質を洗い流す。第三段階は再び 80%(v/v) メタノール、1 mmol/L 酢酸アンモニウムの 8 分間 (分析開始から 22-30 分) で、カラム内を分析開始可能な状態に戻す。この濃度段階法による TBBPA の注入量とピーク面積による定量線を Fig. 1 に示した。定量線は直線 ($R^2=0.9998$) で、TBBPA の各濃度段階の CV 値の平均は 1.1%、定量限界は 1.0 ng であった。

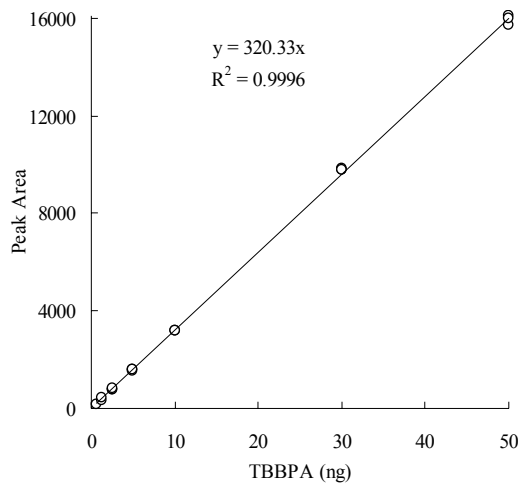


Fig.1. Calibration curve of Tetrabromobisphenol A

Using a reversed-phase analytical column (Inertsil ODS-3 or TSK-Gel ODS-80_{TM}, 25 x 6 mm), two steps isocratic system of mobile phase A (80 % methanol, 1 mM Ammonium Acetate) from 0 to 15 min for separation of TBBPA and mobile phase B (100 % methanol) from 15 to 22 min for washing, flow rate 0.8 ml/min and detection at 295 nm, TBBPA could be quantitatively determined from 1.0 ng, with 1.1%CV.

2. サンプル調整方法

材料と方法の3. サンプル調整-1-1)に記した, アセトンによるホモジネート調整とn-ヘキサンによる抽出法は, 手技が煩雑で, 有機溶媒の蒸散に時間がかかるうえ, 調整されたサンプルのクロマトグラム上に多くの妨害ピークがあった. メタノールホモジネート法では, サンプル調整直後には, 妨害ピークがなく良好に見えたが, 時間の経過とともに, 数多くの妨害ピークが現れた. これらの妨害ピークは, メタノールホモジネートの遠心分離後 30分から 1 時間以内に, 上清を沈殿物から分離すると出現しなかった. 以後, サンプル調整はメタノールホモジネート法で, 遠心分離後 30 分以内に上清を分取することとした. この方法による肝臓からの TBBPA の添加回収率は 67.5 %, 定量限界は臓器 1g中 0.02 µg, 平均 CV 値は 11.9%であった.

授乳仔マウスの胃の内容物からの, メタノールホモジネート法における添加回収率は79.4% で, 定量限界は 1g中 0.4 µg, 平均 CV 値は 11.6% であった.

全血からの, メタノールホモジネート法における定量限界は 1 ml 中 10 µg と非常に高く使用に耐えないことがわかった. これに比べ, ジエチルエーテル抽出法における添加回収率は 92.7%, 定量限界は 1 ml 中 0.02 µg, 平均 CV 値は 11.3% であった. (Table 1.)

Table 1. Recovery of TBBPA from tissues

	extraction by	recovery(%)	CV(%)	detection limit
Liver	methanol	67.5±6.7	11.9	0.02 µg/g
Milk	methanol	79.4±5.5	11.6	0.4 µg/g
Blood	ether	92.7±6.9	11.3	0.02 µg/ml

In recovery, values are mean±SD for 5 point of concentration above detection limit.

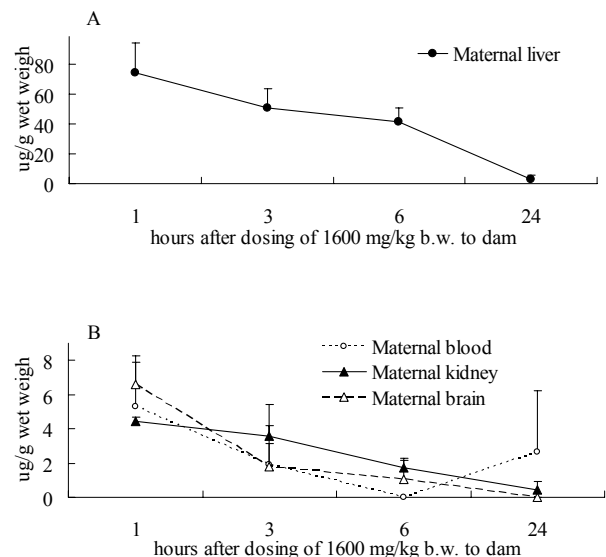


Fig.2 Distribution of TBBPA in dam.

Dams on day 15 of gestation were given 1600 mg TBBPA/kg b.w. by gavage, and 1, 3, 6 and 24 hours after dosing, the levels of TBBPA in blood, liver, kidney and brain of dams were determined. Each point and bar presents mean and SD for 3 dams.

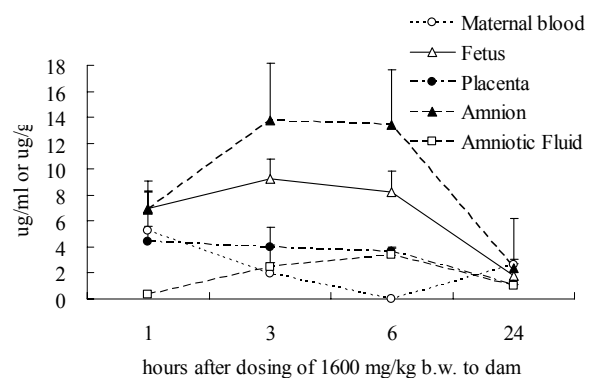


Fig.3 Maternal-fetal distribution of TBBPA.

Dams on day 15 of gestation were given 1600 mg TBBPA/kg b.w. by gavage, and 1, 3, 6 and 24 hours after dosing, the levels of TBBPA in fetus, placenta, amnion and amniotic fluid of each dams were determined. Each point and bar presents mean and SD for 3 dams.

3. 投与実験

Fig.2 に示すように, TBBPA 1,600 mg/kg 体重を投与した妊娠 15 日の母マウスでは, 投与後 1 時間で血液・腎臓・脳内に TBBPA が検出された. 血中 TBBPA 濃度は,

時間とともに低下し、24 時間後に再び上昇した。肝臓・腎臓・脳の TBBPA 濃度は、投与後 1 時間が最も高く、3, 6, 24 時間で低下した。また、肝臓中の TBBPA 濃度は、血液・腎臓・脳の 10 倍以上高かった。

TBBPA 1,600 mg/kg 体重を投与した妊娠 15 日の母マウスから採取した胎児、羊膜、胎盤、羊水中の TBBPA 濃度を、母体血中濃度とともに、Fig.3 に示した。投与後 1 時間から、すべてのサンプルに TBBPA が検出され、投与後 3 および 6 時間でさらに高くなった。投与後 24 時間では濃度は低下したものの、胎盤の 2 サンプルを除くすべてのサンプルで検出された。胎児と羊膜の TBBPA 濃度は、投与後 1 から 24 時間後まで、母体血中濃度よりも高かった。

TBBPA 1,600 mg/kg 体重を投与した出産 7 日目の母マウスが授乳していた仔マウスの胃の内容物中の TBBPA 濃度を Table 2 に示した。投与後 3 時間ですでに、仔マウスの胃の内容物から TBBPA が検出され、6 時間後にやや上昇したが、24 時間後では検出されなかった。仔マウスの肝臓および腎臓には、いずれの時間でも TBBPA は検出されなかった。

Table 2. Concentration of TBBPA in milk

3 hours after dosing	6.77 ± 4.18
6 hours after dosing	8.89 ± 4.55
24 hours after dosing	not detected (µg/g)

Dam on post natal day 7 was given 1600 mg TBBPA/kg b.w. and, 3, 6 and 24 hours after dosing, TBBPA level of milk in stomach, liver and kidney of 3 pups were determined. Values are mean±SD for 3 pups. TBBPA was not detected in the liver and kidney of pups.

考 察

環境水、野生物や人血清のような試料中の TBBPA を分析した例では、様々な抽出濃縮精製過程と精密測定機器を駆使している¹⁻¹²⁾。それらの方法に比べると、本実験での生体試料からの検出限界は高い。しかし、実験動物を用いる生体内分布試験においては、まず、投与後の時間軸にそった複数の観測点が必要であり、また、投与量を数段階設定する必要もあり、さらに、数種の臓器中の濃度を測定する。そのような多数の試料の分析のためには、簡便で安価で迅速な試料調整方法が求められ、本実験の結果はおおむねその要求を満たしたと思われる。

Meerts ら²⁶⁾ および Haak ら²⁷⁾ は、ラットに投与した¹⁴C-TBBPA は、投与後 48 時間までに 80% が、72 時間までに 92% が糞中に排泄され、各種臓器への蓄積性はないと結論している。母マウスへの投与 24 時間後には、胎児、胎盤、羊膜、羊水や、授乳仔マウスの胃の内容物における濃度が低下していたという本実験の結果は、ラットにおける結果と矛盾しない。しかし、¹⁴C-TBBPA を用いたラットでの実験は、その間の母体内分布や胎児への移行は

検討していない。外界から生体に侵入する化合物の生体影響を検討する際には、その化合物の生体での残留性と同時に、生体内での最高到達濃度も重要である²⁸⁻³²⁾。本実験では、母マウスに投与した TBBPA が、数時間後には胎盤を通過して胎児に移行し、その濃度は 24 時間後にみられるより 4 倍以上であった。しかも、母体血中や胎盤よりも胎児でその濃度が高いことから、TBBPA の胎盤通過については、母体の TBBPA 摂取後数時間の母体-胎児間の動向を詳しく検討する必要があると思われる。また、TBBPA は、生後 7 日の仔マウスの胃の内容物からも検出された。この時期の仔マウスは、餌を自分で摂取することはなく、母乳のみで育っている。胃の内容物はすなわち母マウスの母乳であり、母マウスが摂取した TBBPA が母乳に分泌（排泄）されていたことを示している。

本実験の結果から、今後、胎児や新生児・乳児への生体影響の検討とともに、母体が摂取した TBBPA の母体-胎児間分布や母乳分泌（排泄）の詳しい調査も必要と思われる。

文 献

- 1) BSEF. Bromine Science and Environmental Forum, Brussels, Belgium. Data reported in Fact sheet, edition 2004 at <http://WWW.Bsef.org>
- 2) Öberg K., Warman K., Öberg T.: Distribution of brominated flame retardants in sewage sludge, *Chemosphere*, 2002, **48**, 805-809.
- 3) Osako M., Kim Y.J., Sakai S.: Leaching of brominated flame retardants in leachate from landfills in Japan, *Chemosphere*, 2004, **57**, 1571-9.
- 4) Watanabe I., Kashimoto T., Tatsukawa R.: Identification of the flame retardant tetrabromobisphenol-A in the river sediment and the mussel collected in Osaka, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1983, **31**, 48-52.
- 5) Morris S., Allchin C., Zegers B., et al.: Distribution and fate of HBCD and TBBPA brominated flame retardants in North sea estuaries and aquatic food webs, *Environ. Sci. Technol.*, 2004, **38**, 5497-5504.
- 6) Berger U., Herzke D., Sandanger T.M.: Two trace analytical methods for determination of hydroxylated PCB's and other halogenated phenolic compounds in eggs from Norwegian birds of prey, *Anal. Chem.*, 2004, **76**, 441-452.
- 7) Sinkkonen S., Paasivirta J., Lahtiperä M., et al.: Screening of halogenated aromatic compounds in some raw material lots for an aluminium recycling plant, *Environment International*, 2004, **30**, 363-366.
- 8) Sjödin A., Carlsson H., Thuresson K., et al.: Flame retardants in indoor air at an electronics recycling plant and at other work environments, *Environ. Sci. Technol.*, 2001, **35**, 448-454.
- 9) Thomsen C., Lundanes E., Becher G.: Brominated flame

- retardants in plasma samples from three different occupational groups in Norway, *J. Environ. Monit.*, 2001, **3**, 366-370.
- 10) Thomsen C., Lundanes E., Becher G.: Brominated flame retardants in archived serum samples from Norway; A study on temporal trends and the role of age, *Environ. Sci. Technol.*, 2002, **36**, 1414-1418.
- 11) Jakobsson K., Thuresson K., Rylander L., *et al.*: Exposure to polybrominated diphenyl ethers and tetrabromobisphenol A among computer technicians, *Chemosphere*, 2002, **46**, 709-716.
- 12) Hayama T., Yoshida H., Onimaru S., *et al.*: Determination of tetrabromobisphenol A in human serum by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry, *J. Chromat. B*, 2004, **809**, 131-136.
- 13) Samuelson M., Olsen C., Holme J.A., *et al.*: Estrogen-like properties of brominated analogs of bisphenol A in the MCF-7 breast cancer cell line, *Cell Biol. Toxicol.*, 2001, **17**, 139-151.
- 14) Meerts I.A.T.M., Letcher R.J., Hoving S., *et al.*: *In vitro* estrogenicity of polybrominated diphenylethers, hydroxylated PBDEs, and polybrominated bisphenol A compounds, *Environmental Health Perspectives*, 2001, **109**, 399-407.
- 15) Olsen C.M., Meussen-Elholm E.T.M., Samuelson M., *et al.*: Effects of the environmental oestrogens bisphenol A, tetrachlorobisphenol A, tetrabromobisphenol A, 4-hydroxybiphenyl and 4'-dihydroxybiphenyl on oestrogen receptor binding, cell proliferation and regulation of oestrogen sensitive proteins in the human breast cancer cell line MCF-7, *Pharmacol. Toxicol.*, 2003, **92**, 180-188.
- 16) Meerts I.A.T.M., van Zanden J.J., Luijckx E.A.C., *et al.*: Potent competitive interactions of some brominated flame retardants and related compounds with human transthyretin *in vitro*, *Toxicol. Sci.*, 2000, **56**, 95-104.
- 17) Kitamura S., Jinno N., Ohta S., *et al.*: Thyroid hormonal activity of the flame retardants tetrabromobisphenol A and tetrachlorobisphenol A, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002, **293**, 554-559.
- 18) Pullen S., Boecker R., Tiegs G.: The flame retardants tetrabromobisphenol A and tetrabromobisphenol A-bisallylether suppress the induction of interleukin-2 receptor α chain (CD25) in murine splenocytes, *Toxicology*, 2003, **184**, 11-22.
- 19) Mariussen E., Fonnum F.: The effect of brominated retardants on neurotransmitter uptake into rat synaptosomes and vesicles, *Neurochem. Int.*, 2003, **43**, 533-542.
- 20) Berg C., Halldin K., Brunström B.: Effects of bisphenol A and tetrabromobisphenol A on sex organ development in quail and chicken embryos, *Environ. Toxicol. Chem.*, 2001, **20**, 2836-2840.
- 21) Fukuda N., Ito Y., Yamaguchi M., *et al.*: Unexpected nephrotoxicity induced by tetrabromobisphenol A in newborn rats, *Toxicol. Lett.*, 2004, **150**, 145-155.
- 22) Ronen Z., Abeliovich A.: Anaerobic-aerobic process for microbial degradation of tetrabromobisphenol A, *Appl. Environ. Microbiol.*, 2000, **66**, 2372-2377.
- 23) Berger U., Herzke D., Sandanger T.M.: Two trace analytical methods for determination of hydroxylated PCB's and other halogenated phenolic compounds in eggs from Norwegian birds of prey, *Anal. Chem.*, 2004, **76**, 441-452.
- 24) Berger U., Herzke D., Sandanger T.M.: Two trace analytical methods for determination of hydroxylated PCB's and other halogenated phenolic compounds in eggs from Norwegian birds of prey, *Anal. Chem.*, 2004, **76**, 441-452.
- 25) Takahashi O., Oishi S.: Disposition of orally administered 2,2-bis(4-hydroxyphenyl)propane (bisphenol A) in pregnant rats and the placental transfer to fetuses, *Environ. Health Perspectives*, 2000, **108**, 931-935.
- 26) Meerts I.A.T.M., Assink Y., Ceniijn P.H., *et al.*: Distribution of the flame retardant tetrabromobisphenol A in pregnant and fetal rats and effect on thyroid hormone homeostasis, *Organohalogen Compounds*, 1999, **40**, 375-378.
- 27) Haak H., Larsen G., Bergman Å., *et al.*: Metabolism, excretion and distribution of the flame retardant tetrabromobisphenol A in conventional and bile-duct cannulated rats, *Xenobiotica*, 2000, **30**, 881-890.
- 28) Yoneyama M., Ogata A., Fujii T., *et al.*: Absorption, distribution, excretion and placental transfer of Thiabendazole in pregnant mice: Effect of two kind of vehicle, *Ann. Rep. Tokyo Metro. Res. Lab. P. H.*, 1983, **34**, 337-342.
- 29) Yoneyama M., Ogata A., Fujii T. *et al.*: The maternal-foetal distribution of Thiabendazole administered in two different vehicles to pregnant mice, *Fd. Chem. Toxic.*, 1984, **22**, 731-735.
- 30) Ogata A., Fujitani T., Yoneyama M. *et al.*: Glutathione and cysteine enhance and diethylmaleate reduces Thiabendazole teratogenicity in mice, *Fd. Chem. Toxic.*, 1989, **27**, 117-123.
- 31) Tada Y., Yoneyama M., Fujitani T., *et al.*: Effects of Thiabendazole on the kidney of ICR mice and F344 rats, *Ann. Rep. Tokyo Metro. Res. Lab. P. H.*, 1990, **41**, 255-264.
- 32) Tada Y., Fujitani T., Yoneyama M.: Acute renal toxicity of Thiabendazole (TBZ) in ICR mice, *Fd. Chem. Toxic.*, 1992, **30**, 1021-1030.