

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）

（H29-化学-一般-004）

分担研究報告書

化学物質のハザード評価に関する研究

研究分担者：

高須 伸二（国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター病理部・主任研究官）

小川 久美子（国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター病理部・部長）

研究要旨

これまでに本研究事業において室内に存在する可能性がある化学物質1698種の名称、性状、用途、毒性情報、感作性情報を網羅的に収集した「室内環境中の化学物質リスト1698」を開発した。しかしながら、未だ毒性情報を欠く化学物質もあり、懸念が高い物質から検討していく必要がある。(5-ethyl-2-methyl-2-oxido-1,3,2-dioxaphosphorinan-5-yl)methyl methyl methylphosphonate (PMMMP)は難燃化を目的に使用されている化学物質であり、実際に室内環境中から検出されることから、ヒトへの影響の可能性が懸念されている。しかしながら、その毒性評価はあまりされていない。昨年度はラットを用いて推定されるヒトばく露量を考慮したPMMMPの1週間反復投与毒性試験を実施した。今年度は、より高い用量での生体影響を検討する目的で、マウスを用いたPMMMPの反復投与毒性試験を実施した。6週齢の雄性CD1マウス各群5匹に生理食塩水に溶解したPMMMPを0、100、300又は1000 mg/kg/dayの用量で4週間強制経口投与した。その結果、投与期間中の死亡動物はみられず、一般状態の変化も認められなかった。器官重量を測定した結果、300 mg/kg/day以上のPMMMP投与群において副腎重量の有意な高値が認められたが、病理組織学的な変化は認められなかったことから毒性学的意義の乏しい変化であると考えた。血清生化学的検査の結果、300 mg/kg/day以上の投与群において無機リンの有意な高値が認められたが、カルシウムの変動を伴う変化でなく、関連する臓器において病理組織学的変化が認められなかったことから毒性影響ではないと判断した。雄性CD1マウスに1000 mg/kg/dayのPMMMPを4週間反復投与しても毒性影響は観察されなかったことから、本実験条件下におけるPMMMPのNOAELは雄で1000 mg/kg/day以上と判断した。

A．研究目的

室内汚染の問題は、室内空気質ガイドラインの作成によりその一部が解決されたが、

室内環境中に存在する化学物質は多種多様であり、建材や家具等から発生する未規制の化学物質の問題が残されている。本研究では、実際に室内環境中に存在する可能性のある化学物質の情報をもとに、その化学

物質のハザード評価を行うことを目的とする。

これまでに、本研究事業において室内に存在する可能性のある化学物質1698種の名称、性状、用途、毒性情報、感作性情報を網羅的に収集した「室内環境中の化学物質リスト1698」を開発した。そして、臭素系難燃剤であるdecabromodiphenyl etherおよびtris-(2,3-dibromopropyl) isocyanurateのげっ歯類を用いたハザード評価を行い、それぞれの毒性情報を提供した。しかしながら、未だばく露情報や毒性情報などを欠く化学物質もあり、懸念が高い物質からより詳細な毒性情報を収集していく必要がある。

(5-ethyl-2-methyl-2-oxido-1,3,2-dioxaphosphorinan-5-yl)methyl methyl methylphosphonate (PMMMP)は難燃化を目的に使用されている化学物質であり、実際に室内環境中からも検出されることから、ヒトへの影響が懸念されている。しかしながら、その毒性評価はあまりされていない。

昨年度までに、ラットを用いて推定されるヒトばく露量を考慮したPMMMPの1週間反復投与毒性試験を実施した結果、本実験条件下でのPMMMP投与による顕著な影響は認められなかった。しかしながら、より高用量での生体影響に関しては不明であった。従って、今年度はラットに比較して個体の小さいマウスを用いて、より高い用量でのPMMMPの反復投与毒性試験を実施した。

B．研究方法

6週齢の雄性CD1マウス各群5匹に生理食塩水に溶解したPMMMP(不純物としてBis[(5

-ethyl-2-methyl-2-oxido-1,3,2-dioxaphosphorinan-5-yl) methyl] methyl methylphosphonate、CAS No. 42595-45-9を20%含有)を100、300又は1000 mg/kg/dayの用量で1日1回4週間強制経口投与した。PMMMP投与量は、1000 mg/kg/dayを最高用量とする1週間の用量設定試験から設定した。対照群には生理食塩水を投与した。実験期間中は一般状態を観察するとともに、体重、摂餌量及び摂水量を週1回測定した。投与終了後、麻酔下にて採血し、血清生化学的検査を実施した。剖検時に全身諸器官・組織を摘出し、脳、肺、心臓、胸腺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣に関しては重量の測定を行った。摘出した全身諸器官・組織については定法に従い病理組織学的検査を実施した。

(倫理面への配慮)

本試験は「国立医薬品食品衛生研究所動物実験の適正な実施に関する規定」に基づき、動物実験計画書を作成し、国立医薬品食品衛生研究所動物実験委員会による審査を受けた後、実施した。

C．研究結果

実験期間中、何れの群においても死亡動物は認められず、一般状態の変化も認められなかった。実験期間中の体重推移及び最終体重について、PMMMP投与群と対照群間に有意な変化は見られなかった。また、摂餌量並びに摂水量に顕著な変化は認められなかった (Figure 1)。

投与終了後の器官重量を測定した結果、100 mg/kg/day以上の投与群において、副腎

絶対重量の有意な高値が認められた。また、300 mg/kg/day以上の投与群において、副腎相対重量の有意な高値が認められた。副腎以外の器官重量に有意な変化は認められなかった (Table 1)。

血清生化学的検査の結果、300 mg/kg/day以上の投与群において、無機リンの有意な高値が認められた。また、300 mg/kg/day投与群のアルブミン/グロブリン比及び100 mg/kg/day投与群のグルコースも対照群に比して有意な高値を示した (Table 2)。病理組織学的検査の結果、対照群のハーパー腺においてごく軽度の炎症細胞浸潤が1例、1000 mg/kg/day 投与群の腎臓において嚢胞が1例認められたが、それぞれの発生率に有意な変化は認められなかった。

D . 考察

PMMMPはカーテン等の難燃化を目的として使用される難燃剤の1つであり、実際に室内環境中からも検出されていることから、ヒトへの影響の可能性が懸念されている。しかしながら、十分な毒性評価はなされていない。このことから、本研究ではPMMMPのハザード評価に資するデータの取得を目的に、マウスを用いたPMMMPの4週間反復投与試験を実施した。

その結果、投与期間中には死亡動物はみられず、一般状態の変化も認められなかった。投与終了時の器官重量測定の結果、300 mg/kg/day以上のPMMMP投与群において絶対及び相対副腎重量の有意な高値が認められたものの、これらは病理組織学的変化を伴うものではなく、程度も軽度であったことから毒性学的意義の乏しい変化であ

ると考えた。

血清生化学的検査の結果、300 mg/kg/day以上の投与群において無機リンの有意な高値が認められた。しかしながら、この変化はカルシウムの変動を伴う変化でなく、腎臓、骨、上皮小体などリン代謝に関連する臓器において病理組織学的変化が認められなかったことから、毒性学的に意義の乏しい変化であると考えた。その他、100 mg/kg/day投与群におけるグルコース及び300 mg/kg/day投与群におけるアルブミン/グロブリン比の高値が認められたが、それぞれ明確な用量相関性は認められなかったことから偶発的な変化であると考えられた。

病理組織学的検査の結果、対照群のハーパー腺におけるごく軽度の炎症細胞浸潤及び1000 mg/kg/day 投与群の腎臓における嚢胞が1ずつ例認められたが、発生率に統計学的有意差はなく、散発的な発生であったことから、被験物質投与に起因する変化ではないと考えた。

以上の結果から、雄性CD1マウスに1000 mg/kg/dayのPMMMPを4週間反復投与しても毒性影響は観察されなかった。従って、本試験におけるPMMMPのNOAELは雄で1000 mg/kg/day以上と判断した。

E . 結論

本研究ではPMMMPのハザード評価に資するデータの取得を目的に、雄CD1マウスにPMMMP を100、300又は1000 mg/kg/dayの用量で4週間強制経口投与した。その結果、毒性影響は観察されなかった。以上から、本試験におけるPMMMPのNOAELは雄で1000 mg/kg/day以上と判断した。

F . 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

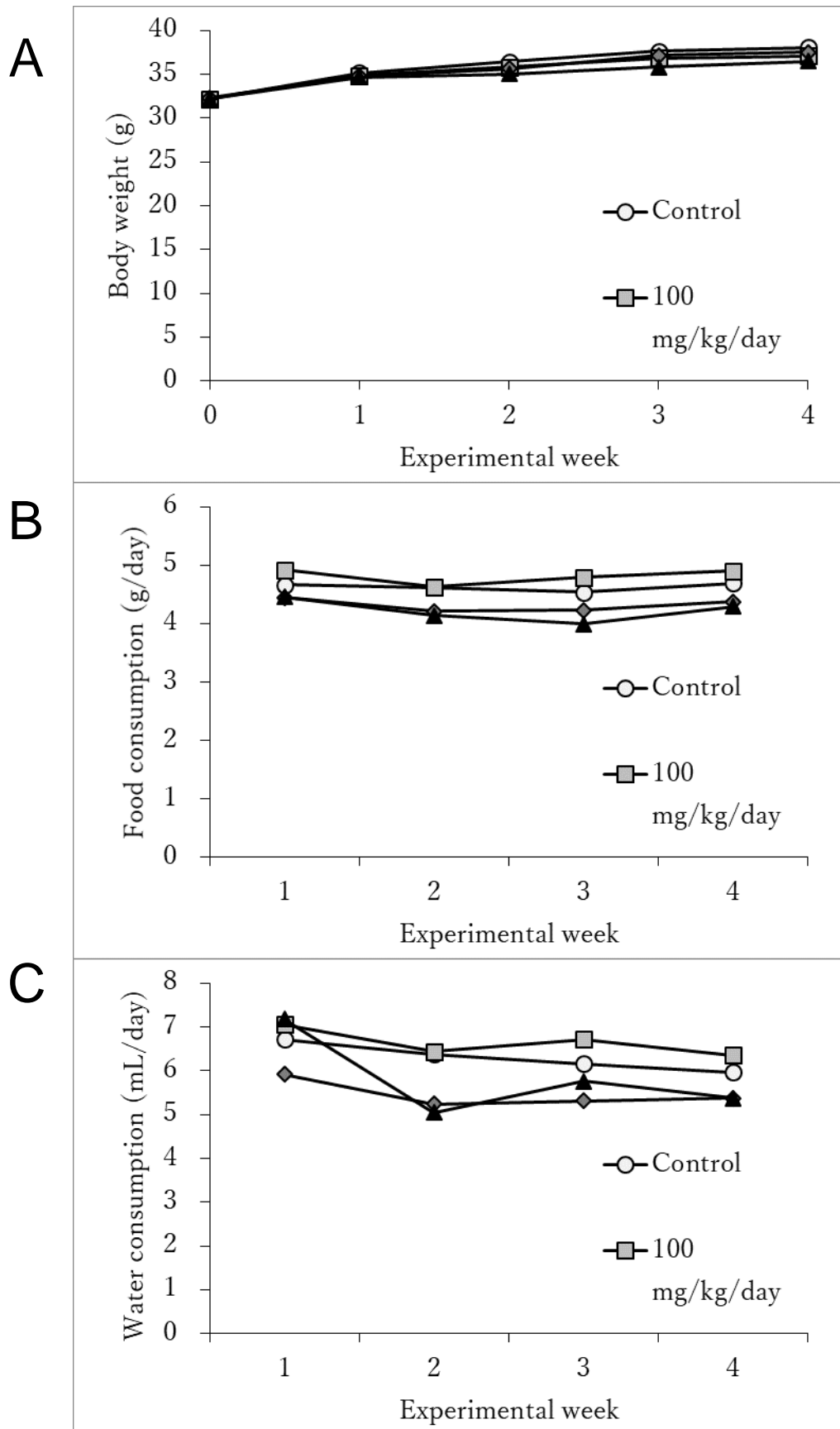


Figure 1. Body weights (A), food consumption (B) and water consumption (C) of male CD1 mice treated with PMMMP for 4 weeks.

Table 1. Final body weight and organ weight data for male CD1 mice treated with PMMMP for 4 weeks.

	Control	100 mg/kg/day	300 mg/kg/day	1000 mg/kg/day
Final body weights (g)	35.8 ± 1.9	35.7 ± 1.8	35.4 ± 2.3	34.7 ± 3.2
Organ weights				
Absolute weights (g)				
Brain	0.49 ± 0.03	0.50 ± 0.01	0.48 ± 0.02	0.48 ± 0.03
Lungs	0.18 ± 0.03	0.17 ± 0.02	0.19 ± 0.03	0.19 ± 0.02
Heart	0.17 ± 0.02	0.17 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.16 ± 0.02
Thymus	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.00
Liver	1.39 ± 0.14	1.48 ± 0.07	1.34 ± 0.11	1.30 ± 0.15
Kidneys	0.51 ± 0.07	0.47 ± 0.05	0.48 ± 0.08	0.51 ± 0.09
Spleen	0.10 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.09 ± 0.01
Adrenals	0.0030 ± 0.0005	0.0040 ± 0.0009 *	0.0043 ± 0.0006 *	0.0050 ± 0.0004 **
Testes	0.25 ± 0.03	0.22 ± 0.02	0.25 ± 0.04	0.23 ± 0.01
Relative weights (g/100g b.w.)				
Brain	1.36 ± 0.07	1.40 ± 0.09	1.35 ± 0.12	1.39 ± 0.10
Lungs	0.49 ± 0.08	0.48 ± 0.06	0.53 ± 0.06	0.56 ± 0.03
Heart	0.47 ± 0.05	0.49 ± 0.03	0.44 ± 0.02	0.45 ± 0.03
Thymus	0.12 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.10 ± 0.02
Liver	3.87 ± 0.32	4.14 ± 0.13	3.79 ± 0.18	3.75 ± 0.15
Kidneys	1.41 ± 0.16	1.32 ± 0.18	1.36 ± 0.20	1.46 ± 0.14
Spleen	0.27 ± 0.04	0.25 ± 0.03	0.23 ± 0.03	0.25 ± 0.02
Adrenals	0.0084 ± 0.0016	0.0113 ± 0.003	0.0122 ± 0.0019 *	0.0145 ± 0.0011 **
Testes	0.69 ± 0.04	0.25 ± 0.03	0.23 ± 0.03	0.25 ± 0.02

*, **: Values are significantly different from control at $p < 0.05$ and 0.01 , respectively.

Table 2. Serum biochemistry for male CD1 mice treated with PMMMP for 4 weeks.

Item		Control	100 mg/kg	300 mg/kg	1000 mg/kg
TP	(g/dL)	4.7 ± 0.2	4.5 ± 0.2	4.7 ± 0.3	4.6 ± 0.1
A/B		1.5 ± 0.0	1.5 ± 0.2	1.7 ± 0.2 *	1.6 ± 0.1
Alb	(g/dL)	2.8 ± 0.1	2.7 ± 0.2	3.0 ± 0.2	2.8 ± 0.1
T-Bil	(mg/dL)	0.132 ± 0.013	0.120 ± 0.016	0.122 ± 0.022	0.140 ± 0.014
Glu	(mg/dL)	111 ± 21	171 ± 31**	149 ± 33	134 ± 21
TG	(mg/dL)	54 ± 9	71 ± 24	78 ± 25	49 ± 12
T-cho	(mg/dL)	146 ± 29	127 ± 12	148 ± 21	144 ± 16
PL	(mg/dL)	236 ± 32	204 ± 17	233 ± 31	219 ± 20
BUN	(mg/dL)	30.5 ± 4.6	31.2 ± 5.8	29.1 ± 4.8	28.8 ± 2.3
CRN	(mg/dL)	0.10 ± 0.02	0.09 ± 0.02	0.10 ± 0.02	0.08 ± 0.03
Ca	(mg/dL)	9.1 ± 0.1	9.1 ± 0.2	9.3 ± 0.2	9.2 ± 0.4
P	(mg/dL)	5.7 ± 0.7	6.3 ± 0.5	7.4 ± 0.5**	7.5 ± 0.4**
Na	(mEq/dL)	152.6 ± 0.9	153.6 ± 0.9	151.2 ± 1.5	152.0 ± 0.7
K	(mEq/dL)	4.7 ± 0.1	4.2 ± 0.5	4.6 ± 0.4	5.1 ± 0.6
Cl	(mEq/dL)	110.6 ± 1.7	113.0 ± 1.6	110.0 ± 3.7	113.4 ± 1.8
AST	(IU/L)	51 ± 4	48 ± 5	48 ± 7	44 ± 3
ALT	(IU/L)	24 ± 5	22 ± 6	22 ± 5	23 ± 5
ALP	(IU/L)	216 ± 46	244 ± 38	260 ± 52	187 ± 29
γ-GT	(IU/L)	<3	<3	<3	<3

*, **: Values are significantly different from control at $p < 0.05$ and 0.01 , respectively.

TP, total protein; A/G, albumin/globulin ratio; Alb, albumin; T-Bil, total bilirubin; Glu, glucose; TG, triglyceride; T-Cho, total cholesterol; PL, phospho lipid; BUN, blood urea nitrogen; CRN, creatinine; Ca, calcium; P, inorganic phosphorus; Na, sodium; K, potassium; Cl, chloride; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; ALP, alkaline phosphatase; γ-GT, γ-glutamyl aminotransferase.