

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、PMMMPの毒性評価はほとんどされていない。本研究ではPMMMPのハザード評価に資するための情報を得る目的で、昨年度までにマウスを用いたPMMMPの反復投与毒性試験を実施した。雄性CD1マウスにPMMMPを0、100、300または1000 mg/kg体重/日の用量で4週間強制経口投与した結果、わずかな相対副腎重量の増加以外に顕著な変化は認めなかった。本年度は、PMMMPのより詳細な生体影響を明らかにする目的で、同一実験条件下における骨髓小核試験を追加検討した。6週齢の雄性CD1マウス各群5匹にPMMMPを100、300または1000 mg/kg体重/日の用量で1日1回4週間強制経口投与した。投与終了後、大腿骨より骨髓を採取し骨髓小核試験を実施した。その結果、何れの用量においてもPMMMP投与群の小核出現頻度に有意な変化は認められなかったことから、PMMMPは小核誘発性は示さないと考えられた。

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。そして、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。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 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、ヒトへのばく露が懸念されている。しかしながら、PMMMPの毒性情報に関しては、ほとんど報告されていない。

我々は昨年度までに、PMMMPのハザード評価に資するための毒性情報を得る目的で、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マウスにPMMMPを0、100、300または1000 mg/kg 体重/日の用量で4週間強制経口投与し、体重、器官重量測定、血清生化学的検査並びに病理組織学的検査を実施した結果、わずかな相対副腎重量の増加以外に顕著な変化は認めなかった。本年度は、PMMMPのより詳細な生体影響を明らかにする目的で、同一実験条件下における血液学的検査及び骨髓小核試験を追加検討した。

## 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CAS No. 42595-45-9を20%含有）を100、300または1000 mg/kg 体重/日の用量で1日1回4週間強制経口投与した。PMMMPの投与量は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、4週間反復投与毒性試験と同一の用量とした。対照群には生理食塩水を投与し、陽性対照群にはethyl methanesulfonate (EMS)を100 mg/kg 体重の用量で1日1回28日間強制経口投与した。投与終了後、麻酔下にて採血し、血液学的検査を、並びに大腿骨より骨髓を採取し骨髓小核試験を実施した。

（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、実施する。

## C．研究結果

骨髓小核試験の結果、陽性対照であるEMSを投与した群の小核出現頻度は、対照群に比較して有意に上昇した。一方、PMMMP投与群における小核出現頻度は、何れの用量においても統計学的に有意な差は認められなかった。また、何れの群においても全赤血球に占める幼若赤血球の割合の低下は認められなかった（Figure 1）。

血液学的検査の結果、1000 mg/kg/day投与群において、血小板数の有意な高値が認められた（Table 1）。

## D．考察

昨年度までに検討したPMMMPの一般毒性の検討に加えて、本年度はより詳細な生体影響を検討する目的で同一実験条件下における血液学的検査及び骨髓小核試験を追加検討した。

骨髓小核試験を実施した結果、陽性対照であるEMS投与群では小核出現頻度の上昇が認められたものの、PMMMP投与群では何れの用量においても有意な変化は認められなかったことから、PMMMPは小核誘発性を示さない可能性が示された。

血液学的検査の結果、1000 mg/kg/day投与群において、血小板数の有意な高値が認められた。しかしながら、同一実験条件下における病理組織学的検査では、骨髓などの造血器官において毒性変化は認められておらず、出血等の変化も認められていないことから、この変化の毒性学的意義は低いものと考えた。

## E．結論

雄性 CD1 マウスに 1000 mg/kg/day の PMMMP を 4 週間反復投与し、骨髄小核試験を実施した結果、PMMMP 投与群では何れの用量においても有意な変化は認められなかったことから、PMMMP は小核誘発性は示さないと考えられた。

#### F . 研究発表

##### 1 . 論文発表

なし

##### 2 . 学会発表

Takasu S, Tohnai M, Ishii Y, Kijima A, Ogawa K, Umemura T. A 28-day repeated oral dose toxicity study of 5-ethyl-2-

methyl-2-oxido-1,3,2-dioxaphosphinan-5-yl)methyl methyl methylphosphonate in mice. 55th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2019), 2019, Helsinki, Finland.

#### G . 知的所有権の取得状況

##### 1. 特許取得

なし

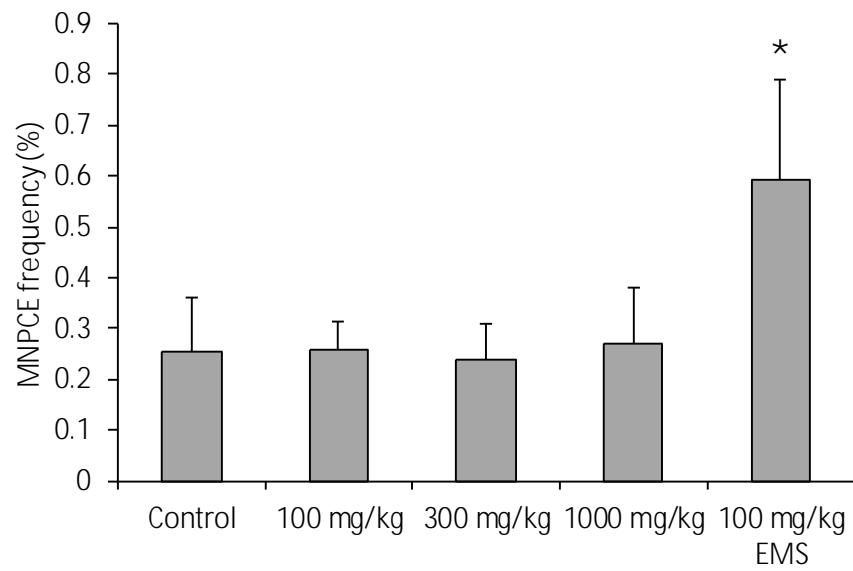
##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

(A)



(B)

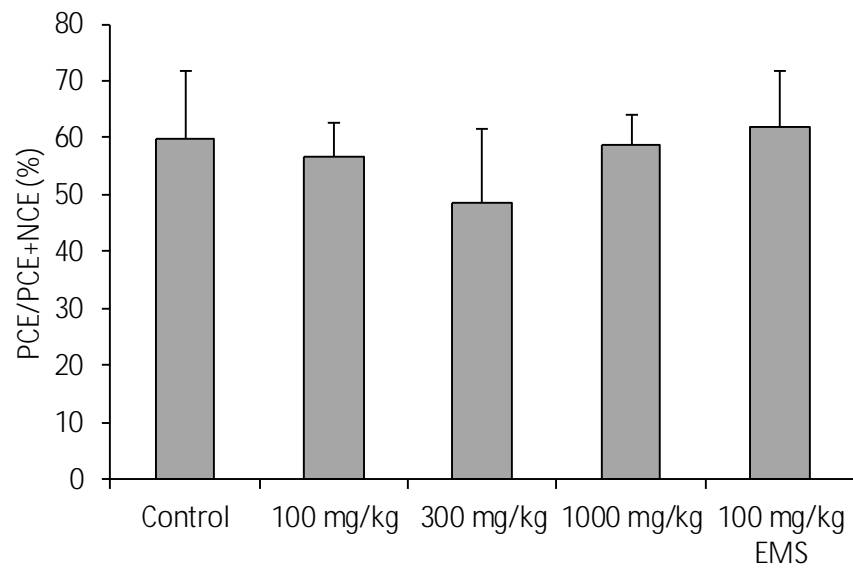


Figure 1. Bone marrow micronucleus assay in the mice treated with PMMMP or EMS. (A) Proportion of micronucleated polychromatic erythrocytes (MNPCE). (B) Ratio of polychromatic erythrocytes. NCE, normochromatic erythrocytes. Data represent the mean  $\pm$  S.D. \*\*, Significantly different from the control at  $p < 0.05$ .

Table 1. Blood test for male CD1 mice treated with PMMMP for 4 weeks.

Item		Control		100 mg/kg		300 mg/kg		1000 mg/kg	
RBC	(10 <sup>6</sup> /μL)	8.69	± 0.62	8.41	± 0.34	9.10	± 0.37	9.32	± 0.12
HGB	(g/dL)	14.2	± 1.3	13.2	± 0.5	14.3	± 0.5	14.8	± 0.3
HCT	(%)	43.6	± 3.9	40.8	± 1.1	44.4	± 1.4	45.3	± 0.8
MCV	(fL)	50.0	± 1.2	48.6	± 1.5	48.8	± 1.6	48.6	± 1.3
MCH	(pg)	16.3	± 0.6	15.7	± 0.5	15.7	± 0.5	15.8	± 0.2
MCHC	(g/dL)	32.5	± 0.6	32.4	± 0.7	32.2	± 0.7	32.6	± 1.1
PLT	(10 <sup>3</sup> /μL)	1018.8	± 86.7	1044.8	± 105.1	1103.0	± 56.9	1194.0	± 45.9 <sup>*</sup>
WBC	(10 <sup>3</sup> /μL)	4.43	± 1.85	3.57	± 0.99	3.45	± 0.81	3.04	± 0.46
Differential cell counts									
Neutrophils	(%)	20.7	± 3.2	25.1	± 4.9	23.9	± 9.0	24.4	± 2.3
Eosinophils	(%)	3.8	± 1.4	3.9	± 1.3	3.1	± 0.9	2.9	± 1.0
Basophils	(%)	0.2	± 0.3	0.3	± 0.3	0.2	± 0.2	0.1	± 0.2
Lymphocytes	(%)	75.0	± 3.6	70.4	± 5.9	72.4	± 8.3	72.3	± 3.4
Monocytes	(%)	0.4	± 0.1	0.3	± 0.1	0.3	± 0.2	0.3	± 0.3