

ICR 系マウスを用いた 28 日間反復投与試験による防炎加工剤 PMMMP の毒性影響

Toxicological effects of PMMMP, a flame retardant, in 28-day repeated dose study using male ICR mice

藤内 美佑紀^{1,2)}, 黒田 奈々美^{1,2)}, 菊池 玲実花^{1,2)}
指導教員 梅村隆志^{1,2)}, 研究協力者 高須伸二²⁾, 石井雄二²⁾

- 1) ヤマザキ動物看護大学 動物看護学部 動物看護学科 動物病理学研究室
- 2) 国立医薬品食品衛生研究所 病理部

現在主に使われているハロゲン系難燃剤の代替品として非ハロゲン系難燃剤がある。その一つ、リン系難燃剤 PMMMP の安全性データの収集を目的とした試験を実施した。予備試験では中間用量以上の肺重量に用量依存的な有意な減少と腎臓の退色が認められたため、本試験では中間・低用量を低く設定した。本試験では投与群の副腎重量に用量依存的な有意な増加がみられたが、その程度はわずかであり毒性影響とは考えなかった。今後は病理組織学的検索と血清生化学的検査結果を踏まえ、PMMMP の毒性プロファイルを明らかにする予定である。

キーワード ; PMMMP、防炎加工剤、毒性試験、リン系難燃剤

<目的>

現在、主な難燃剤にはハロゲン系の難燃剤が使用されている。ハロゲン系物質は難燃剤としての効果が最も高く、加熱すると分解してハロゲン活性ガスとなり、酸素と結びついて燃焼を抑制する。しかしながら、焼却時にダイオキシンをはじめとする有毒ガスの発生、腐食性や高い発煙性など環境問題が指摘され、PBD や PBDE など一部のハロゲン系難燃剤は使用が禁止となっている。それに伴い、非ハロゲン系難燃剤の需要が増えてきている。その一つ、リン系難燃剤はリン自体がリン酸塩として核酸を構成するなど生体内で利用されていることから、その安全性が高いと考えられており、安全性に関する報告はほとんどない。しかしながら、リン酸エステル難燃剤の中には弱いながらもコリンエステラーゼ阻害を起こす可能性を持つものがあることが分かっており、リン系難燃剤の安全性データの必要性が高まってきている。そこで今回、海外ではすでに使用実績はあるものの日本における使用は極めて限定的である (5-ethyl-2-methyl-2-oxido-1,3,2-dioxaphorinan-5-yl)methyl methyl phosphonate (PMMMP) の安全性データ収集を目的に、マウスを用いた 28 日間反復投与試験を実施して、PMMMP の毒性プロファイルを検索した。また、本試験に先立ち 7 日間の予備試験をおこなった。

<材料・試薬>

予備試験ならびに本試験

5 週齢の雄 ICR 系マウス 20 匹は日本チャールズ・リバー株式会社 (神奈川県) より購入、PMMMP は静

岡県立大学 三宅祐一先生より供与された。この難燃剤には CAS No.42595-45-9 という不純物が 20%混在している。生理食塩水は大塚製薬株式会社 (東京都) より、固定用ホルマリンは和光純薬工業株式会社 (大阪府) より購入した。

<方法>

予備試験:マウスを各群 5 匹ずつ 4 群に配し、Control 群、250 ml/kg 投与群、500 ml/kg 投与群、1000 ml/kg 投与群とした。投与量は OCDE のガイドラインのげっ歯類における 28 日間反復経口投与毒性試験に基づき、高用量を 1000 ml/kg とし、公比 2 で中間用量 500 ml/kg、低用量 250 ml/kg に設定した。毎朝、体重を測定し、それに基づいて溶媒である生理食塩水に被験物質を溶かし、安定性を考慮して、3 日おきに投与液を作製し、遮光して 4℃に冷蔵保存し、1 回/日、7 日間強制経口投与した。試験期間中、一般状態観察を連日実施し、体重は 0 日目、1 日目、2 日目、5 日目、6 日目、7 日目に計測した。剖検時には、イソフルラン麻酔下で腹大静脈採血し、臓器を摘出、肺、脾臓、肝臓、膵臓の重量を測定した。また、肉眼的に異常の見られた臓器はホルマリン固定を行い、常法にしたがってパラフィン切片を作成、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い、病理組織学的検査を実施した。体重、臓器重量は Dunnett の多重比較検定による統計学的処理を行った。

本試験:マウスを各群 5 匹ずつ 4 群に配し、Control 群、100 ml/kg 投与群、300 ml/kg 投与群、1000ml/kg 投与群とした。投与量は予備試験の結果を踏まえ、高用量を 1000 ml/kg とし、公比 3 で中間用量 300

ml/kg、低用量 100 ml/kg に設定した。毎朝、体重を測定し、それに基づいて溶媒である生理食塩水に被験物質を溶かし、安定性を考慮して、3 日おきに投与液を作製、遮光して 4℃に冷蔵保存し、1 回/日、28 日間強制経口投与した。試験期間中、一般状態観察を連日実施し、体重の測定を週 1 回行った。剖検時には、イソフルラン麻酔下で腹大静脈より採血し、血清生化学的検査を実施した。また、全臓器を摘出し、臓器重量を測定後、ホルマリン固定を行い、常法にしたがってパラフィン切片を作成、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い、病理組織学的検査を実施した。体重、臓器重量、血清生化学検査値は Dunnett の多重比較検定により統計学的処理を行った。

<結果>

予備試験：試験期間中の動物の一般状態について特記すべき変化は認められず、死亡動物も見られなかった。体重は群間に有意な差は認められなかった。臓器重量では、500ml/kg 投与群以上で肺の相対重量が統計学的に有意に減少したが、その他の臓器に有意な変化はみられなかった。肉眼的に 250ml/kg 投与群の 1 匹、500ml/kg 投与群の 3 匹、1000ml/kg 投与群の 2 匹のマウスに腎臓の退色がみられたが、病理組織学的な変化は認められなかった。

本試験：試験期間中の動物の一般状態について特記すべき変化は認められず、死亡動物も見られなかった。体重は群間に有意な差は認められなかった。臓器重量では、投与群の副腎の絶対重量に統計学的に有意な増加がみられたが、その他の臓器の重量には統計学的に有意な変化は見られなかった。肉眼的に 100 mg/kg 投与群の 1 匹に膀胱結石、300 mg/kg 投与群の 1 匹の腎臓に嚢胞がみられた。

<考察>

すべての投与群において一般状態の変化は見られなかったが、500ml/kg 投与以上の群で肺の相対重量が用量依存的に有意な減少がみられ、肉眼的に腎臓に退色がみられたことから、本試験の最高用量は 1000 mg/kg としたが、無影響量 (No adverse effect level; NOAEL) の探索を考慮して、公比 3 として、中間用量は 300 mg/kg、低用量 100 mg/kg に設定した。本試験では、すべての投与群において一般状態の変化は見られず、PMMMP 投与群において副腎の絶対重量が用量依存的な有意な増加がみられたが、その程度はわずかであり、毒性影響とは考えなかった。肉眼的には 100 mg/kg 投与群の 1 匹に膀胱結石、300 mg/kg 投与群の 1 匹の腎臓に嚢胞がみられたが、散発的な変化であり、用量依存性も認められなかったことから自然発生性の病変であると考えた。今後は病理組織学的検索と血清生化学検査結果を踏まえ、PMMMP の毒性プロファイルを明らかにする予定である。