

考 察

HBCD を 0、150、1500 および 15000 ppm (F0 雄 ; 0、10.2、101、1008 mg/kg/day : F0 雌 ; 0、14.0、141、1363 mg/kg/day : F1 雄 ; 0、11.4、115、1142 mg/kg/day : F1 雌 ; 0、14.3、138、1363 mg/kg/day 相当) の濃度で基礎飼料に混合して、1 群当たり雌雄各 24 匹の Cr1:CD(SD) ラットに 2 世代にわたって摂取させ、親動物の繁殖能力と児動物の発生・発育に及ぼす影響を検討した。

1. 親動物について

一般状態では、対照群を含む各群の F0 および F1 雌雄に外傷や腫瘍などの所見がみられたが、いずれも自然発生する種類であり発生頻度も低かったことから、HBCD 投与に関連する変化とは考えられなかった。死亡または安楽死させた動物は、1500 ppm 群で F1 雄 2 例、15000 ppm 群で F0 雄 2 例および F0 雌 2 例であった。これらのうち、1500 ppm 群の F1 雄 1 例と 15000 ppm 群の F0 雄 1 例では、一般状態の変化はなかったが剖検において胸水および腹水貯留、肝臓肥大または暗赤色化等が観察された。15000 ppm 群の F0 雌 2 例については、1 例は胸腺リンパ腫、他の 1 例は難産による死亡であった。しかし、これらは単一の発現であり世代間の一貫性もみられないことから、HBCD 投与と関連のない変化と考えられた。その他、1500 ppm 群の F1 雄 1 例と 15000 ppm 群の F0 雄 1 例の死亡はケージ内事故に起因するものであった。

体重、体重増加量および摂餌量については、15000 ppm 群において HBCD 投与に関連すると考えられる抑制が認められ、F0 世代では雌の妊娠 0-14 日の体重増加量に、F1 世代では雌雄とも投与期間中に有意な低値がみられた。なお、F0 雄または雌においてこれらの項目に被験物質投与群で有意な高値または高値傾向がみられたが、高値であること、また F1 世代で同様の変化がみられないことから毒性学的な意味はないと考えられた。また、150 ppm 群では F1 雄の投与第 7 週の摂餌量に有意な低値がみられたが、一時的発現であり、1500 ppm 群で有意な差はみられていないことから偶発的な変動と考えられた。

親動物の繁殖能力に関する指標では、F0 世代において、妊娠期間に 1500 ppm 群で有意な延長、精巣上体の精子数に 150 ppm 群で有意な低値、精子頭部の振幅 (ALH) に 15000 ppm 群で有意な高値がみられたが、用量相関性あるいは世代間の一貫性に欠けることから HBCD 投与と関連のない変化と考えられた。その他の項目には、F0 および F1 世代のいずれの被験物質投与群においても HBCD 投与に関連する変化は認められなかった。

F1 雌雄の性成熟に関する身体発育分化には、いずれの被験物質投与群においても HBCD 投与に関連する変化は認められなかった。

F1 雌雄の自発運動量には被験物質投与群と対照群の間で有意な差はみられなかった。水迷路試験では、F1 雄の 1500 および 15000 ppm 群で試行 3 日目の目標地点への到達時間の有意な短縮および 15000 ppm 群で同日の過誤回数の有意な低値がみられたが、到達時間の短縮あるいは過

誤回数減少であることから毒性学的な意味のない変化と考えられた。

血液学的検査では、150 ppm 群の F0 雌で桿状核好中球および分葉核好中球の割合が有意に低下し、リンパ球の割合が有意に増加したが、用量相関性あるいは世代間の一貫性に欠けることから HBCD 投与と関連のない変化と考えられた。

血液化学的検査の結果、1500 ppm 群の F0 雄ならびに 15000 ppm 群の F0 雌雄および F1 雄で総蛋白およびグロブリン量が有意に増加し、HBCD 投与に関連する変化と考えられた。総蛋白の増加については、アルブミン量に変化がなかったこと、白血球数や白血球百分比に変化がみられなかったこと、肝臓重量に高値がみられたことから、 γ -グロブリン以外のグロブリンの増加による可能性が考えられた。なお、150 ppm 群の F0 雌で総蛋白およびグロブリン量の有意な増加がみられたが、用量相関性がみられないことから毒性学的意味はないと考えられた。

ホルモンレベルについては、T4 濃度に 15000 ppm 群で F0 雌雄および F1 雌において低値傾向または有意な低値がみられた。TSH 濃度は 1500 および 15000 ppm 群の雌において、F0 および F1 世代とも有意な高値がみられた。T4 濃度の低値については、先に実施された 90 日間反復投与毒性試験において雄で 100 mg/kg/day 以上、雌で 300 mg/kg/day 以上の用量で低下が認められている¹⁴⁾ことから、HBCD 投与に関連する変化と考えられた。TSH 濃度の高値については、T4 濃度が低下したことによるネガティブフィードバック機構の働きによると考えられた。また、T3 濃度に変化がみられないことから、末梢での T4 から T3 への転換は正常に行われたものと推測された。その他に、1500 ppm 群において FSH 濃度に F0 雄で有意な低値、DHT 濃度に F1 雄で有意な高値、15000 ppm 群では FSH 濃度に F0 雌で有意な高値がみられたが、用量相関性あるいは世代間の一貫性に欠けることからいずれも HBCD 投与と関連のない変化と考えられた。また、150 ppm 群の F0 雌で TSH 濃度の有意な高値がみられたが、T4 濃度の低下もなく世代間の一貫性に欠けることから毒性学的に意味のない変化と考えられた。

剖検では、15000 ppm 群の F1 雄で腎盂拡張の発生頻度が有意に増加した。しかし、その発生は全例片側性であり、この系統のラットにしばしば観察される種類の所見であることから毒性学的意味はないと考えられた。その他の所見は、いずれも発生頻度が低く対照群の動物にも通常認められる種類の変化であり HBCD 投与との関連性はないと考えられた。

器官重量については、肝臓の絶対重量および相対重量に、1500 ppm 群では F0 雄で、15000 ppm 群では F0 および F1 雌雄で有意な高値がみられた。甲状腺では 15000 ppm 群においてのみ F0 および F1 雌雄とも絶対重量および相対重量に有意な高値または高値傾向がみられた。しかし、肝臓の病理組織学的検査では HBCD 投与と関連すると考えられる変化は認められなかった。一方、甲状腺の病理組織学的検査では、濾胞の小型化の発生頻度が 1500 ppm 群の F0 雌雄および F1 雌で、15000 ppm 群の F0 および F1 雌雄とも対照群と比較して有意に増加した。また、有意な発生頻度ではなかったが濾胞細胞の肥大が、1500 ppm 群では F0 雌雄に、15000 ppm 群では F0 雄に観察された。これらの病理学的変化は、T4 濃度の低値および TSH 濃度の高値とともに HBCD 投与

に関連する変化と考えられ、甲状腺はHBCDの標的器官であることが示唆された。なお、150 ppm群のF1雌で甲状腺の濾胞の小型化が1例観察されたが、単一の発生であることと関連する他の項目に変化がみられていないことから、HBCD投与との関連性はないものと考えられた。離乳児の甲状腺についても病理組織学的検査を行ったが、変化は何も観察されなかった。その他に、いくつかの器官重量に統計学的に有意な差がみられたが、用量相関性あるいは世代間の一貫性に欠けることからHBCD投与と関連のない変化と考えられた。

F1雌の原始卵胞数において、1500および15000 ppm群で有意な低値がみられHBCD投与に関連した変化であることが示唆されたが、繁殖成績に変化がみられなかった。その他にHBCD投与と関連すると考えられる病理組織学的変化は認められなかった。

2. 児動物について

一般状態では、15000 ppm群のF2雌雄で生後5-21日における死亡の発生頻度に有意な高値がみられた。生存率でも15000 ppm群のF2児の生後4日および21日において有意な低値がみられ、HBCD投与に関連する変化と考えられた。また、1500 ppm群のF2雄で生後5-21日における死亡の発生頻度に有意な高値がみられたが、F2雌では同じ変化はみられなかったことと生存率に差がなかったことから偶発的な変動と考えられた。その他の所見は、いずれも発生頻度が低く世代間の一貫性もみられないことからHBCD投与との関連性はないと考えられた。150 ppm群のF1およびF2児の生存率には変化はみられなかった。

哺育期間中の児動物の体重は、15000 ppm群においてF1およびF2児でHBCD投与に関連すると考えられる増加抑制が認められ、F1雄の生後21日に、F2雄の生後7日、14日および21日に、F2雌の生後4日、7日、14日および21日に、有意な低値がみられた。また、1500 ppm群でF1雌の生後0日に有意な高値がみられたが、用量相関性がないことから偶発的な変動と考えられた。

F1およびF2児の産児数および肛門生殖突起間距離では、いずれの被験物質投与群においても対照群との間で有意な差はみられなかった。反射反応性検査では、空中正向反射の成功率に15000 ppm群のF2雌において有意な低値がみられ、体重増加抑制に起因する変化と考えられた。また、正向反射の反応時間が15000 ppm群のF1雄で対照群と比較して有意に短縮したが、短縮であることから毒性学的に意味のない変化と考えられた。性比では、1500 ppm群のF1児に有意な低値がみられたが、用量相関性がないことから偶発的な変動と考えられた。

哺育児の発育分化では、耳介開展および切歯萌出の完成率にHBCD投与に関連すると考えられる変化はみられなかったが、眼瞼開裂の完成率に1500 ppm群のF2雌および15000 ppm群のF2雌雄で有意な低値が認められ、体重増加抑制に起因する遅延と考えられた。また、同項目では1500 ppm群のF1雌雄で有意な高値がみられたが、用量相関性がないことからHBCD投与との関連性はないと考えられた。

哺育途中で死亡した児、生後4日に選抜されなかった児および離乳児の剖検では、15000 ppm群において腎盂拡張の発生頻度がF1雄離乳児で有意に増加したが、F2雄離乳児に同じ変化はみられなかったことから毒性学的な意味はないと考えられた。その他の所見は、いずれも発生頻度が低くHBCD投与との関連性はないと考えられた。

離乳児の器官重量では、肝臓にHBCD投与に関連すると考えられる増加が認められ、1500 ppm群ではF1雌雄およびF2雄に、15000 ppm群ではF1およびF2雌雄とも絶対重量または相対重量に有意な高値がみられた。しかし、肝臓の病理組織学的検査ではHBCD投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。その他に精巣では、F1雄において150 ppm群で絶対重量および相対重量に、1500および15000 ppm群で相対重量に有意な高値がみられたが、F2雄で同じ変化がみられなかったことから偶発的な変動と考えられた。150 ppm群のF2雄の腎臓重量およびF2雌の卵巣重量の変化は、用量相関性がないことからHBCD投与と関連のない変動と考えられた。また、15000 ppm群においてF1およびF2雌雄にみられたその他の器官重量の変化は、剖検日の体重の低値に関連した変化と考えられた。

以上の結果から、HBCDを2世代にわたってラットに投与した場合、本試験条件下における無毒性量は150 ppm (10.2 mg/kg/day相当) であると考えられる。

参考文献

- 1) National Research Council. Hexabromocyclododecane. In: Toxicological Risks of Selected Flame-Retardant Chemicals. Washington, D.C., National Academy Press, pp. 53-71. 2000.
- 2) MacGregor JA, Nixon WB. Hexabromocyclododecane (HBCD): Determination of n-Octanol/Water Partition Coefficient. Wildlife International LTD 439C-104. Arlington, VA, Brominated Flame Retardant Industry Panel, Chemical Manufacturers Association. 1997.
- 3) Lyman WJ. Handbook of Chemical Property Estimation Methods. Washington, D.C., American Chemical Society. 1990.
- 4) National Research Council. Decabromodiphenyl oxide. In: Toxicological Risks of Selected Flame-Retardant Chemicals. Washington, D.C., National Academy Press, pp. 72-98. 2000.
- 5) Chengelis C. A 28-day repeated dose oral toxicity study of HBCD in rats. Study No. WIL-186004. WIL Research Laboratories, Inc., Ashland, OH. 1996.
- 6) Murai T, Kawasaki H, Kanoh S. Studies on the toxicity of insecticides and food additives in pregnant rats, fetal toxicity of hexabromocyclododecane. Pharmacometrics 29:981-986. 1985.
- 7) Stump DG. A dose range-finding prenatal developmental toxicity study of Hexabromocyclododecane (HBCD) in Rats. WIL-186008, BFRIP 02 WIL-02 HBCD. Arlington, VA, Brominated Flame Retardant Industry Panel, Chemical Manufacturers Association. 1999.
- 8) Eriksson J, Jakobsson E, Marsh G, Bergman A. Photo decomposition of brominated diphenylethers in methanol/water [Abstract]. Presented at the Second International Workshop on Brominated Flame Retardants. 2001.
- 9) Reistad T, Mariussen E, Fonnum F. The effect of brominated flame retardants on cell death and free radical formation in cerebellar granule cells. Organohalogen Compounds 57:391-394. 2002.
- 10) Mariussen E, Fonnum F. The effect of pentabromodiphenyl ether, hexabromocyclododecane and tetrabromobisphenol-A on dopamine uptake into rat brain synaptosomes. Organohalogen Compounds 57:395-399. 2002.
- 11) Chengelis C. An oral (gavage) 90 day toxicity study of HBCD in rats. Study No. WIL-186012. WIL Research Laboratories, Inc., Ashland, Ohio. 2001.
- 12) Biel WC. Early age differences in maze performance in the albino rat. J Genet Psychol. 56:439-453. 1940.

Two-generation reproductive toxicity study in rats with 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (SR04222)

Figures

- 1 Outline of the two-generation reproductive toxicity study in rats with 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCD) (SR04222)
- 2 Body weights of F0 parental male rats in the two-generation reproductive toxicity study with 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCD) (SR04222)
- 3 Body weights of F1 parental male rats in the two-generation reproductive toxicity study with 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCD) (SR04222)
- 4 Body weights of F0 parental female rats in the two-generation reproductive toxicity study with 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCD) (SR04222)
- 5 Body weights of F1 parental female rats in the two-generation reproductive toxicity study with 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCD) (SR04222)
- 6 Food consumption of F0 parental male rats in the two-generation reproductive toxicity study with 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCD) (SR04222)
- 7 Food consumption of F1 parental male rats in the two-generation reproductive toxicity study with 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCD) (SR04222)
- 8 Food consumption of F0 parental female rats in the two-generation reproductive toxicity study with 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCD) (SR04222)
- 9 Food consumption of F1 parental female rats in the two-generation reproductive toxicity study with 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCD) (SR04222)
- 10 Body weights of F1 rat pups in the two-generation reproductive toxicity study with 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCD) (SR04222)
- 11 Body weights of F2 rat pups in the two-generation reproductive toxicity study with 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCD) (SR04222)

F0 generation

F1 generation

Treatment week

- Quarantine and acclimatization
- Assignment for F0 parental animals:
24 males and 24 females per dose level
- 1 F0 dosing begins
- Pre-mating growth period
- 9 Determination of estrous cycles
- 11 F0 breeding begins
 - Mating
 - Gestation
 - Parturition
 - Lactation
 - Physical and functional development of F1 pups
 - Standardization of litter sizes
 - Measurement of anogenital distance
- 15 F0 male dosing end
 - Serum hormone concentrations
 - Hematological and blood chemical examination
 - Sperm motility, count and morphology
 - Gross necropsy
 - Organ weight, Histopathology
- 17 Weaning of F1 offspring
 - Gross necropsy, Organ weight
 - Histopathology
- F0 female dosing end
 - Serum hormone concentrations
 - Hematological and blood chemical examination
 - Gross necropsy
 - Organ weight, Histopathology

Treatment week

- Selection for F1 parental animals:
24 males and 24 females per dose level
- 1 F1 dosing begins
- Pre-mating growth period
 - Sexual development
 - Locomotor activity count
 - Learning tests
- 9 Determination of estrous cycles
- 11 F1 breeding begins
 - Mating
 - Gestation
 - Parturition
 - Lactation
 - Physical and functional development of F2 pups
 - Standardization of litter sizes
 - Measurement of anogenital distance
- 15 F1 male dosing end
 - Serum hormone concentrations
 - Hematological and blood chemical examination
 - Sperm motility, count and morphology
 - Gross necropsy
 - Organ weight, Histopathology
- 17 Weaning of F2 offspring
 - Gross necropsy, Organ weight
 - Histopathology
- F1 female dosing end
 - Serum hormone concentrations
 - Hematological and blood chemical examination
 - Gross necropsy
 - Organ weight, Histopathology

Figure 1 Outline of the two-generation reproductive toxicity study in rats with 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCD) (SR04222)

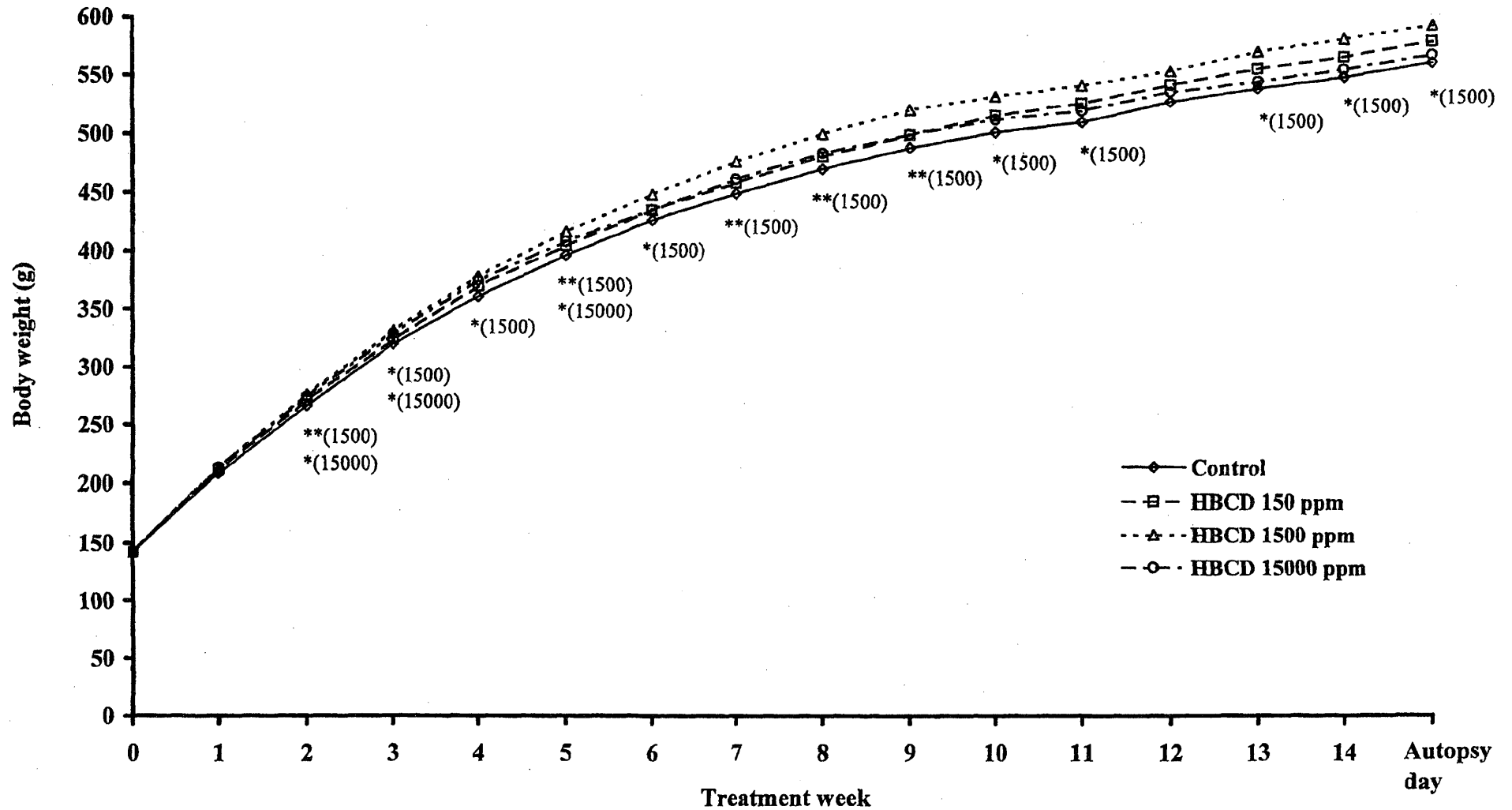


Figure 2 Body weights of F0 parental male rats in the two-generation reproductive toxicity study with 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCD) (SR04222)

*: Significantly different from the control at $p \leq 0.05$.

** : Significantly different from the control at $p \leq 0.01$.

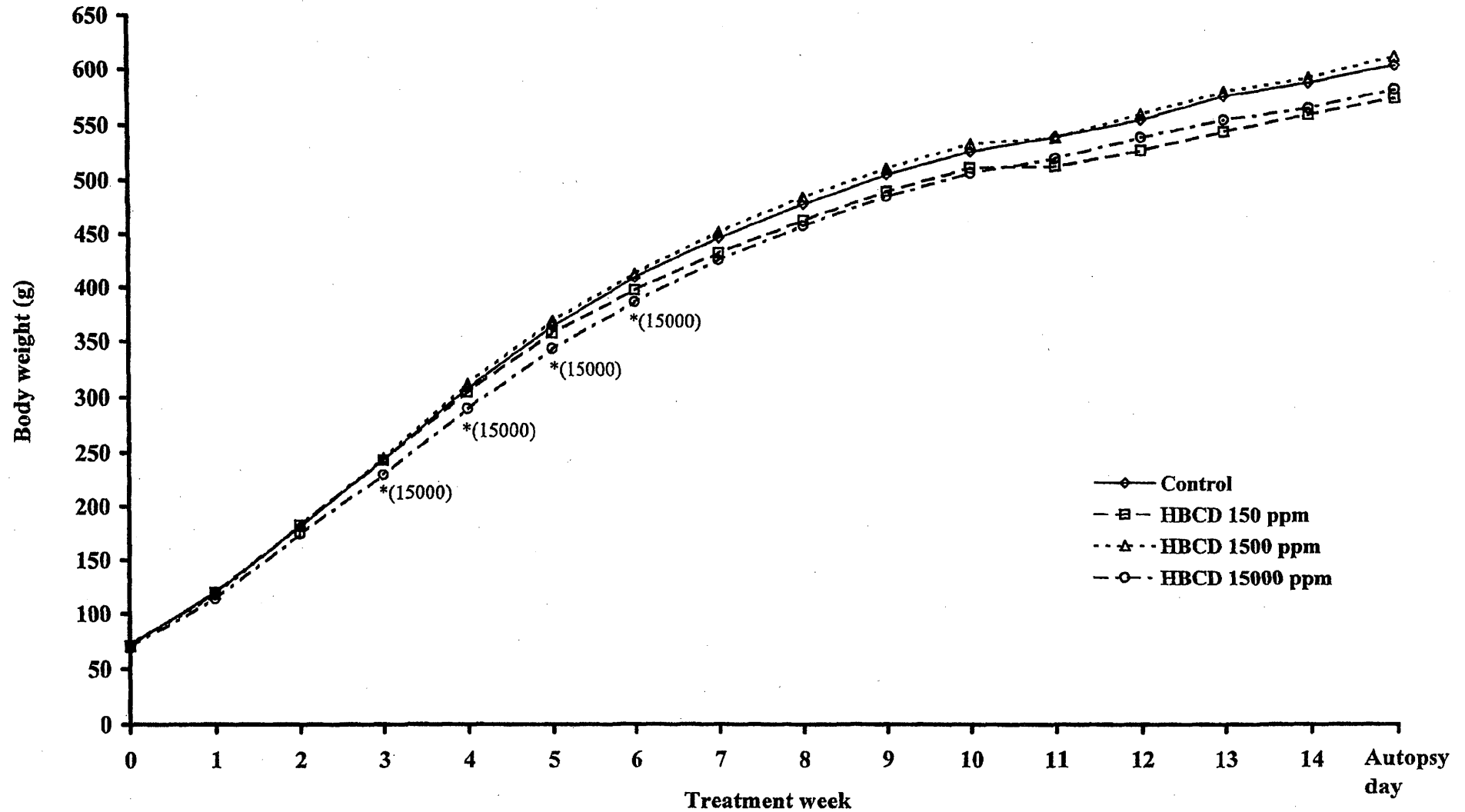


Figure 3 Body weights of F1 parental male rats in the two-generation reproductive toxicity study with 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCD) (SR04222)

*: Significantly different from the control at $p \leq 0.05$.

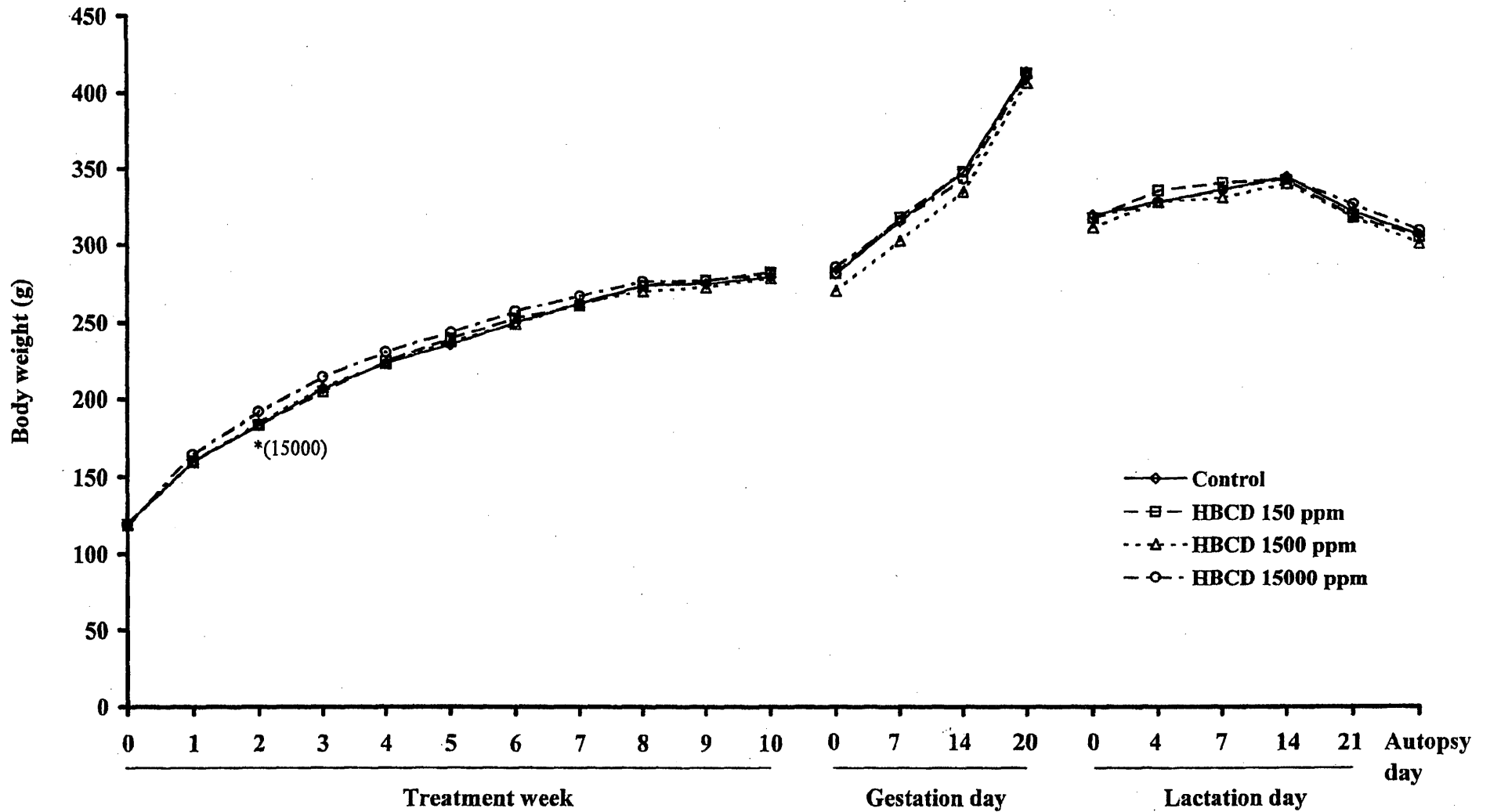


Figure 4 Body weights of F0 parental female rats in the two-generation reproductive toxicity study with 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCD) (SR04222)

*: Significantly different from the control at $p \leq 0.05$.

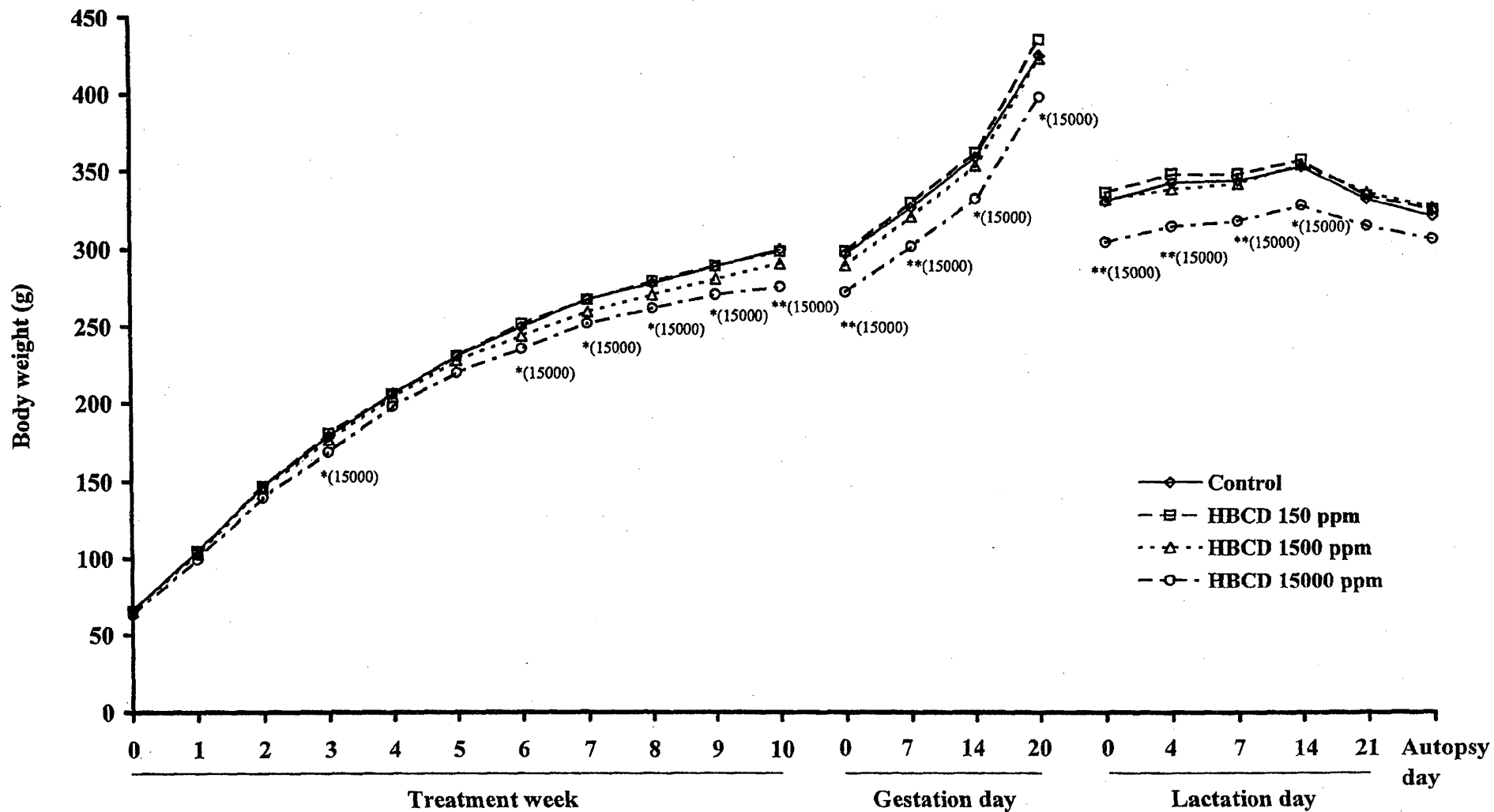


Figure 5 Body weights of F1 parental female rats in the two-generation reproductive toxicity study with 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCD) (SR04222)

*: Significantly different from the control at $p \leq 0.05$.

** : Significantly different from the control at $p \leq 0.01$.

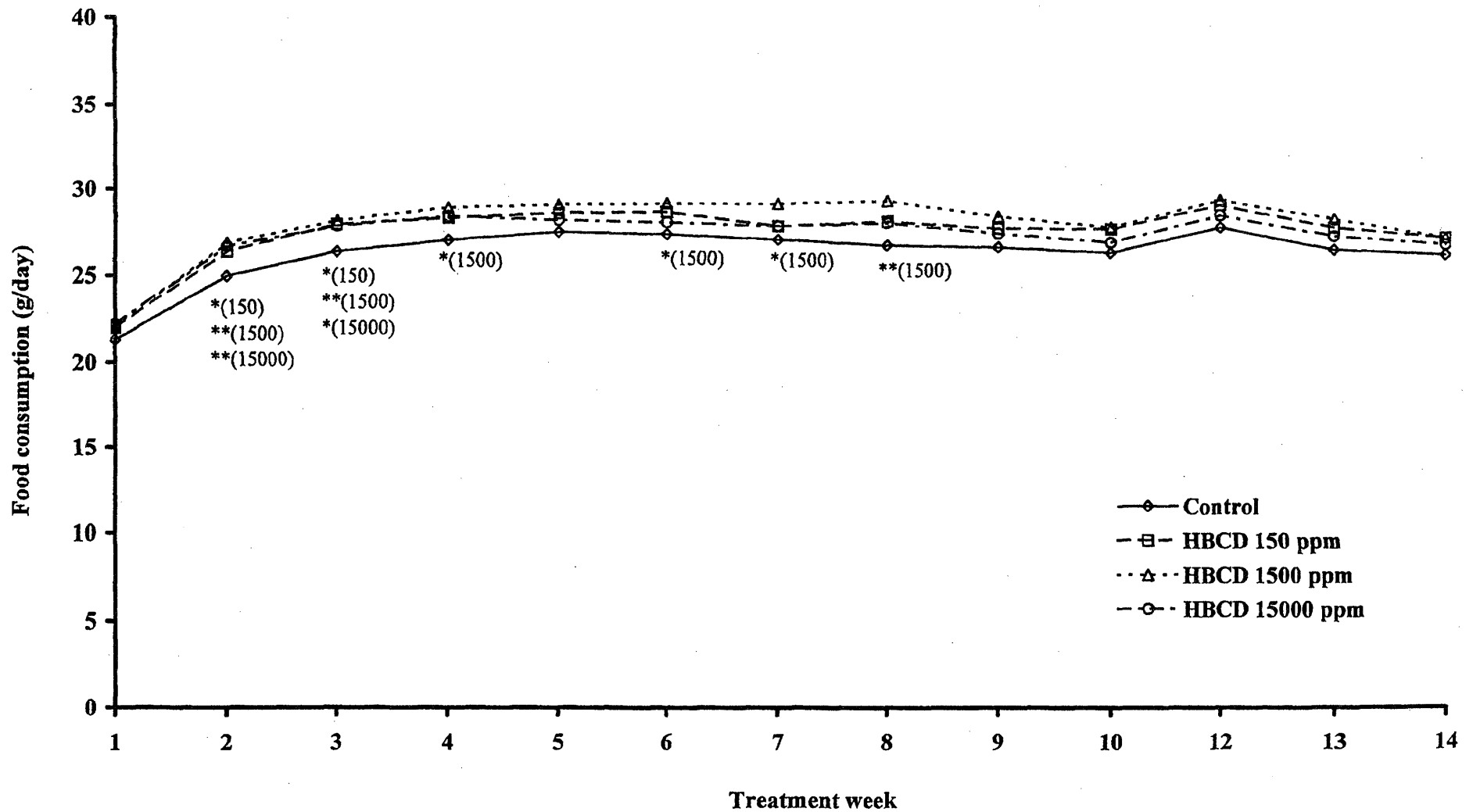


Figure 6 Food consumption of F0 parental male rats in the two-generation reproductive toxicity study with 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCD) (SR04222)

*: Significantly different from the control at $p \leq 0.05$.

** : Significantly different from the control at $p \leq 0.01$.

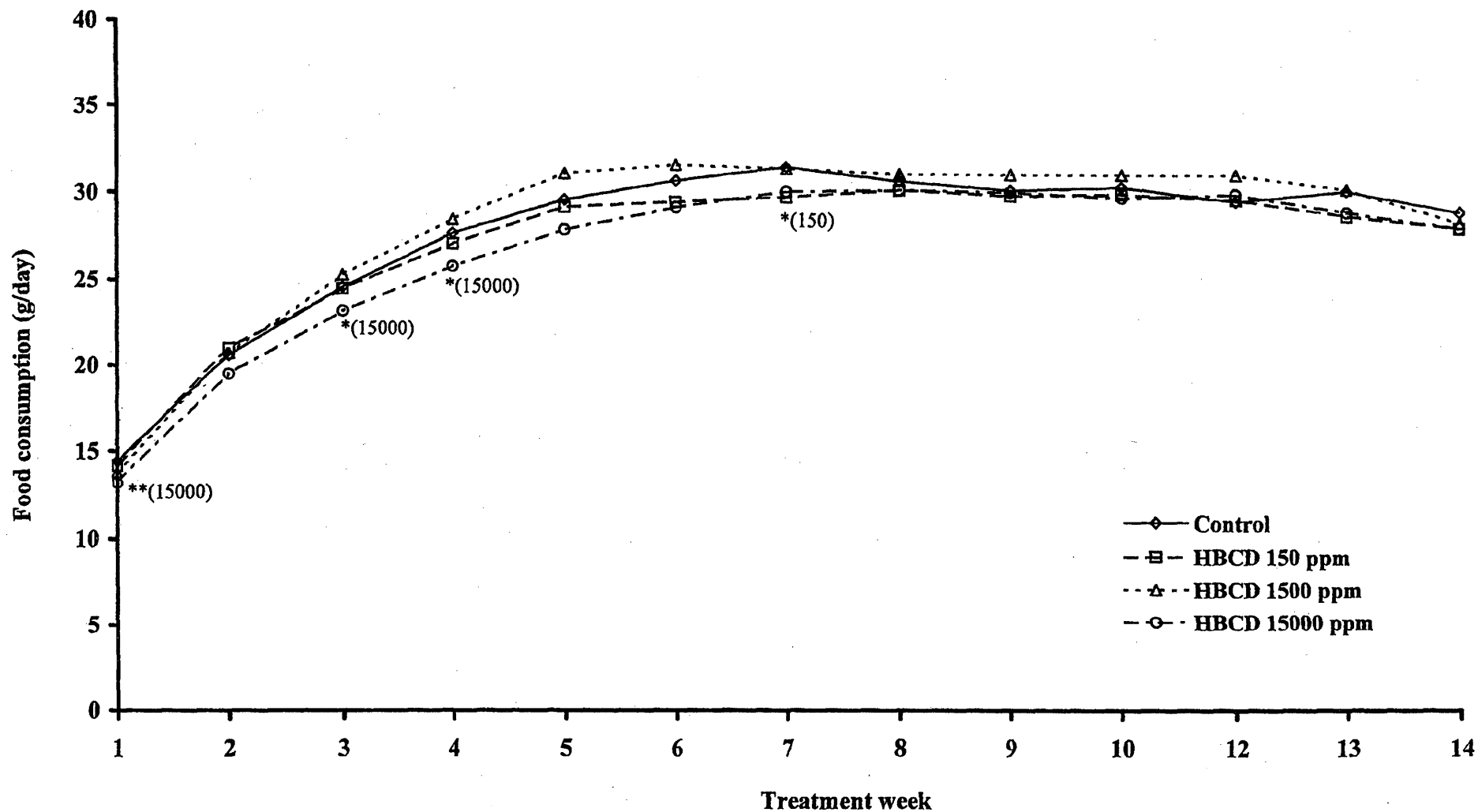


Figure 7 Food consumption of F1 parental male rats in the two-generation reproductive toxicity study with 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCD) (SR04222)

*: Significantly different from the control at $p \leq 0.05$.

** : Significantly different from the control at $p \leq 0.01$.

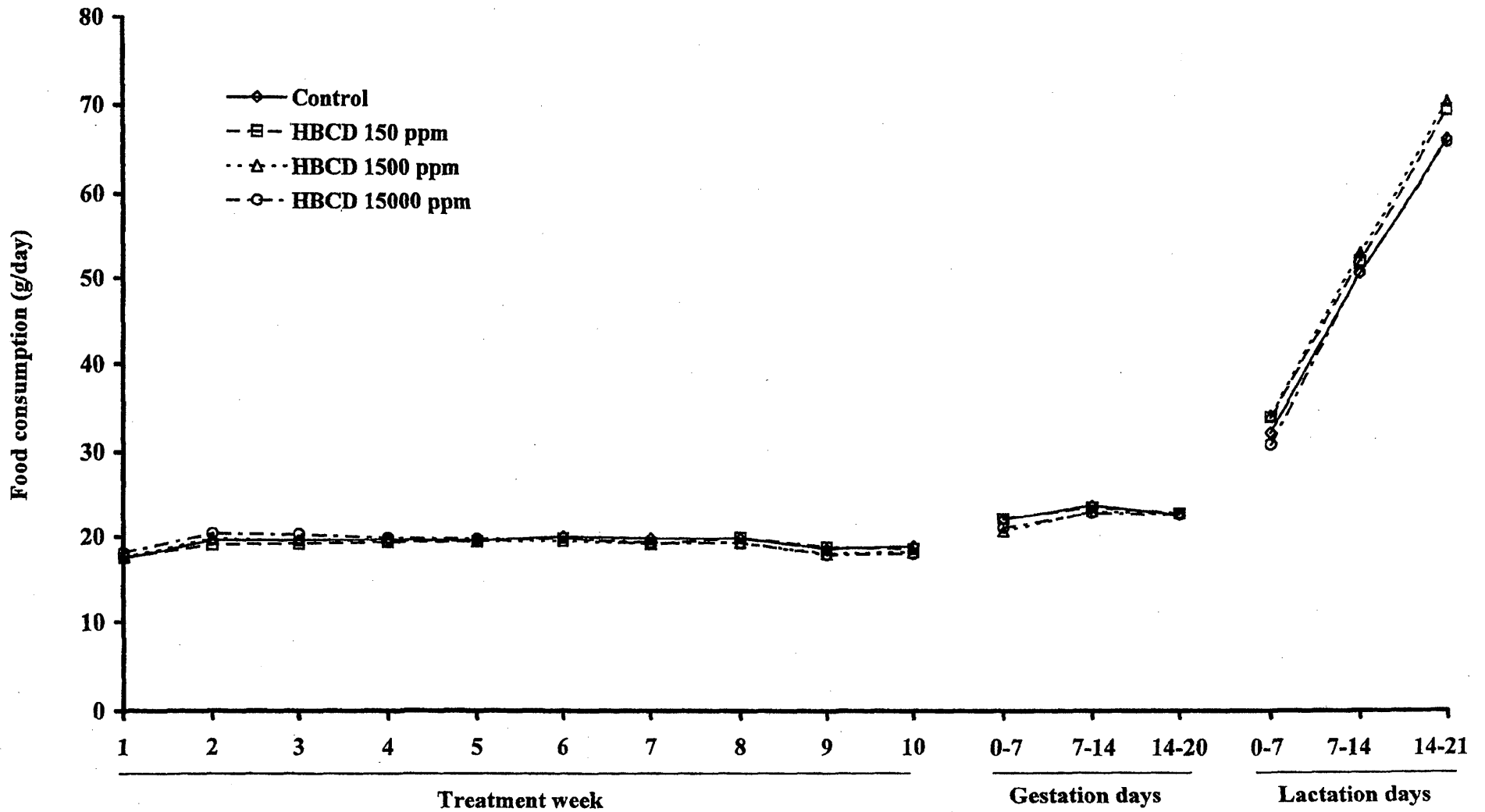


Figure 8 Food consumption of F0 parental female rats in the two-generation reproductive toxicity study with 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCD) (SR04222)

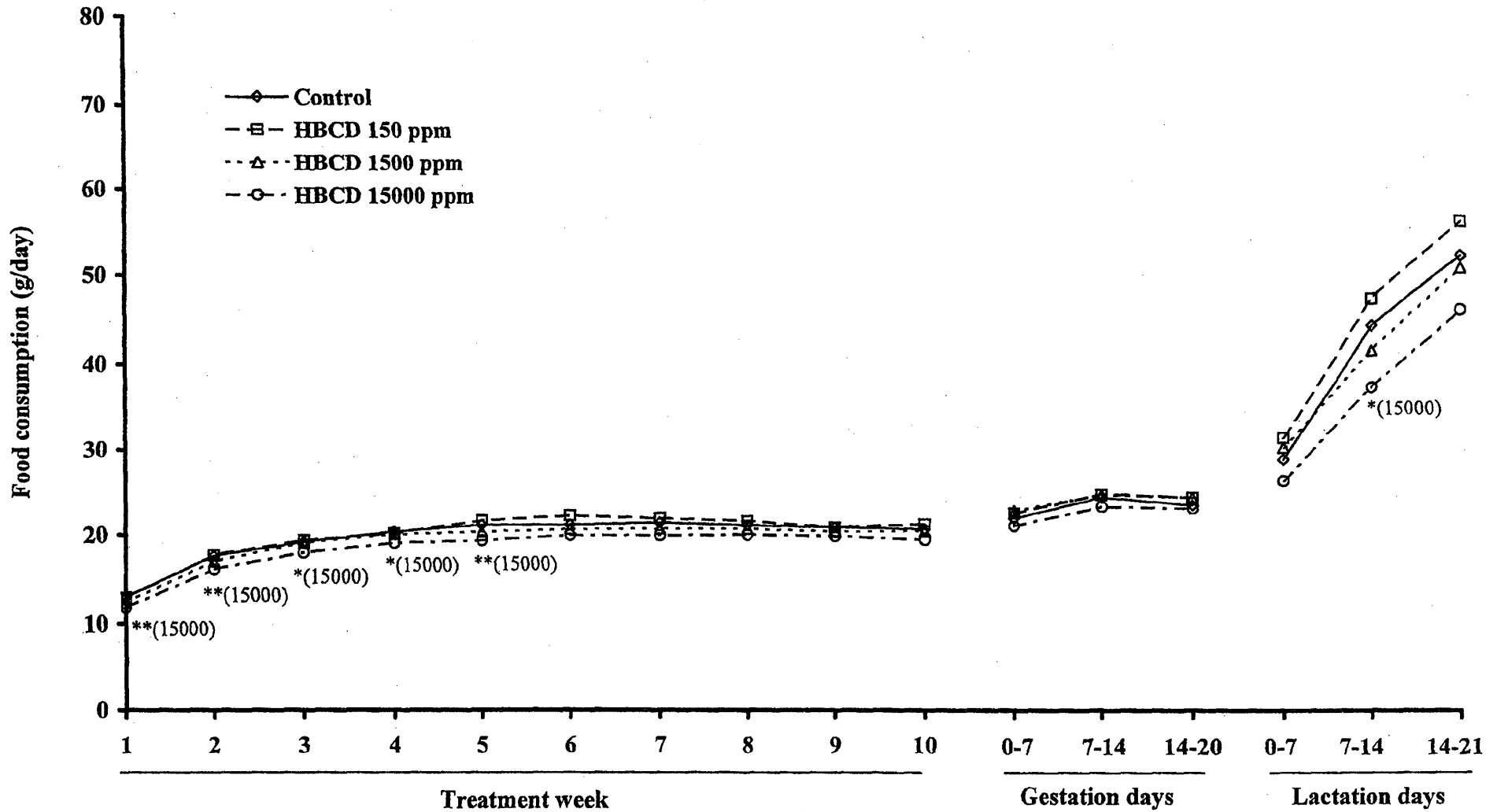


Figure 9 Food consumption of F1 parental female rats in the two-generation reproductive toxicity study with 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCD) (SR04222)

*: Significantly different from the control at $p \leq 0.05$.

** : Significantly different from the control at $p \leq 0.01$.

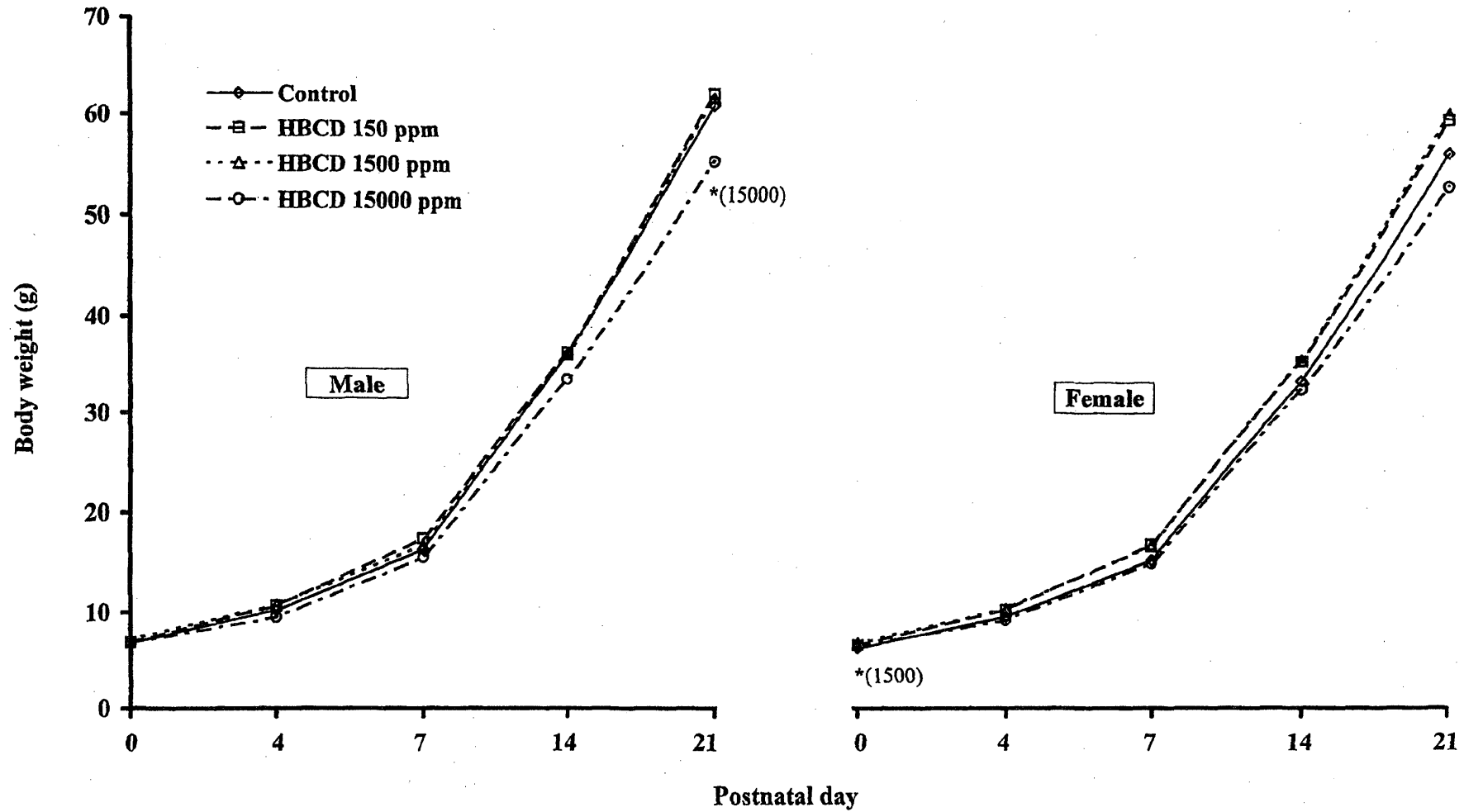


Figure 10 Body weights of F1 rat pups in the two-generation reproductive toxicity study with 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCD) (SR04222)

*: Significantly different from the control at $p \leq 0.05$.

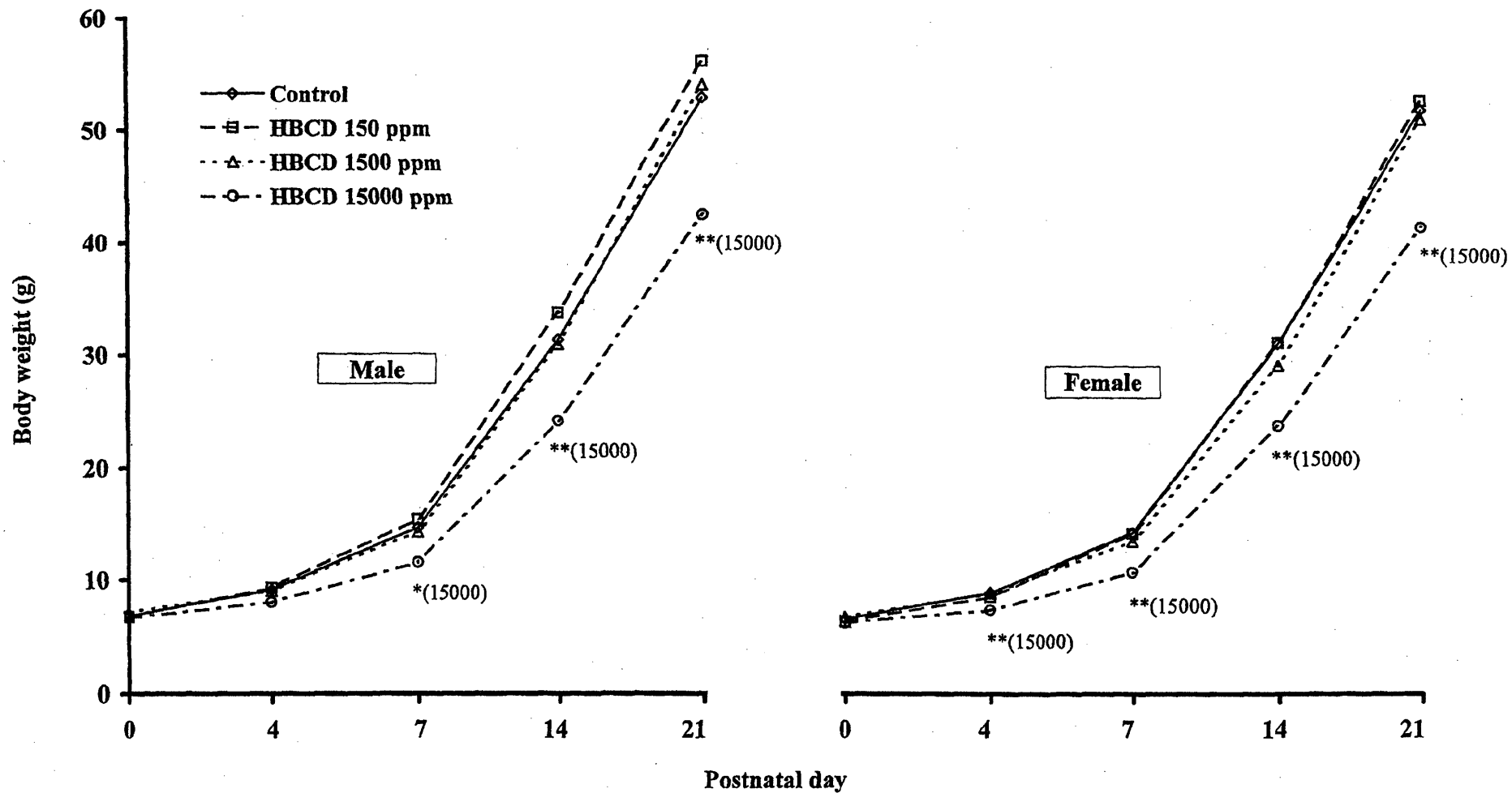


Figure 11 Body weights of F2 rat pups in the two-generation reproductive toxicity study with 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCD) (SR04222)

*: Significantly different from the control at $p \leq 0.05$.

** : Significantly different from the control at $p \leq 0.01$.