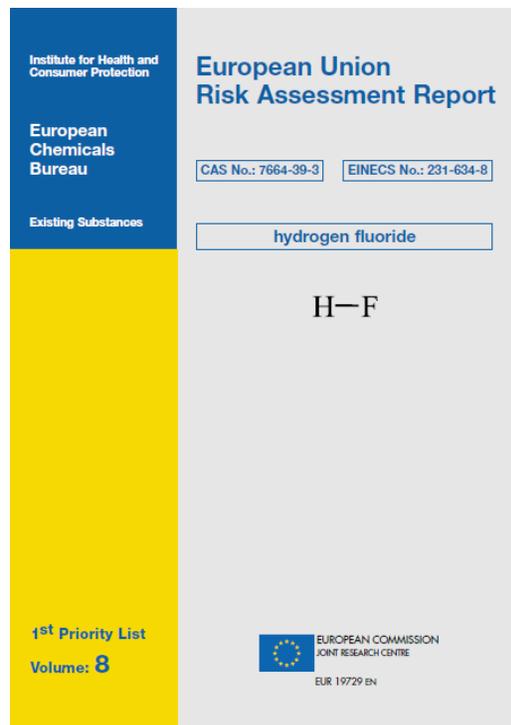


部分翻訳



欧州連合
リスク評価書 (Volume 8, 2001)
フッ化水素



国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部

2018年11月

本部分翻訳文書は、hydrogen fluoride (CAS No: 7664-39-3)に関するEU Risk Assessment Report, (Vol. 8, 2001)の第4章「ヒト健康」のうち、第4.1.2項「影響評価：有害性の特定および用量反応関係」を翻訳したものである。原文（評価書全文）は、<https://echa.europa.eu/documents/10162/be5a5363-654a-4efd-beae-1abdf730245b>を参照のこと。

4.1.2 影響評価

4.1.2.1 トキシコキネティクス、代謝および分布

本章では、無機フッ化物への曝露ではなく、主としてフッ化水素への曝露に関連する有害性を扱う。フッ化物やフッ化水素の動態的側面を目的とした研究では、通常、イオン選択的電極、または付随的に水素炎イオン検出型ガスクロマトグラフィーのような非常に高度なシステムが用いられるが、これらによって最終的に検出されるのは常にFイオンである点に留意する必要がある。これらの方法はいずれも、検出されたフッ化物の元の資料の性質を識別することはできない。

フッ化物の動態については広範囲にレビューされている（例えばWHO 1984; Thiessen 1988）。

全ての無機フッ化物の吸収は、受動的なプロセスであると考えられる。どのような由来の無機フッ化物でも、まずはフッ化水素分子（非イオン性すなわち非荷電）として生体膜輸送されると考えられる。生理的なpH条件下（血液、組織間液、粘液）では、遊離フッ化物（従ってタンパクや脂質と結合していない）は主としてフッ化物イオン（F⁻）として存在する；全遊離フッ化物濃度のわずか0.01%が、イオン型と平衡状態にあるフッ化水素分子として存在する（Anonymus 1996）。吸収された無機フッ化物の運命および作用は、フッ化物の由来には影響を受けない（Thiessen 1988）。

吸収

吸入

ラットの頭部のみにフッ化水素ガスを曝露した実験では、吸入したフッ化水素用量の99%以上は肺には到達しないが、上気道粘膜を通して速やかに吸収されることが示された。ラットに曝露したフッ化水素の濃度と血漿中のフッ化物濃度との間には直線関係が認められた。上気道におけるフッ化水素の実質的な吸収は、気管内チューブを介して吸入空気のフッ化水素含有量を分析する実験により決定された (Morris, Smith 1982)。フッ化物の吸入摂取はヒトとウサギでも認められている (Dinman 1976; Kirk-Othmer 1980; Largent 1960)。例えば、 $1.16\sim 3.9\text{ mg/m}^3$ のフッ化水素を15~30日間吸入したヒトボランティアは、曝露期間全体にわたって、平均日量で $3.44\sim 19.9\text{ mg}$ のFを尿中に排泄した。Lund *et al.*は、 $0.2\sim 5.2\text{ mg/m}^3$ の範囲の一定濃度のフッ化水素をヒトボランティアに1時間曝露した。 0.7 mg/m^3 以上で曝露と血漿中フッ化物濃度増加の間に直線関係が認められた。最大血漿中濃度 (約 $18\sim 80\text{ ng/mL}$) は曝露開始60~120分後に認められた (Lund *et al.* 1997)。

皮膚

液体フッ化水素によるFのヒトの経皮吸収については、Burke *et al.* (1973) により報告されている。事故により5 gのフッ化水素に曝露されたヒトでは、事故後最初の3日間で404 mgのFが尿中に排泄された (Burke *et al.* 1973)。報告されたデータでは経皮曝露によるフッ化水素の吸収率は数値化できなかった。

2%のフッ化水素水溶液 (閉塞下で 2 mL/kg b.w.) に1または4時間経皮曝露したラットでは、曝露1時間後には血清中のフッ化物濃度は対照 (0.25 mg/L) と比べて3~6倍 ($0.78\sim 1.42\text{ mg/L}$) 増加した。血清濃度は暴露時間と共に増加したが、96時間後にはほぼ正常値レベルまで低下した (Derenlanko *et al.* 1985)。

経口

フッ化水素の経口吸収については検討されていない。しかしながら、フッ化物の消化管からの吸収は迅速なため、フッ化水素は経口投与により迅速に吸収されると考えられている (Wallace-Durbin 1954; Van Asten *et al.* 1996)。フッ化物の経口投与による吸収は、カルシウム、マグネシウム、特にアルミニウムのようなフッ化物結合性陽イオンの存在 (CEPA 1993; Janssen 1989; WHO 1984) やフッ化物の製剤 (例えば医薬品製剤、Van Asten *et al.* 1996) に依存する。

分布

吸収後のフッ化物は血液中に運ばれる。血中のフッ化物濃度の75%は血漿中に存在し、残りは赤血球と結合している。血漿中のフッ化物の約50%は有機分子と結合して、主としてペルフルオロ脂肪酸（WHO 1984）として非イオン性の形で存在する。

フッ化物は特定の組織に蓄積することなく全ての軟組織に分布する。また胎盤を透過し、胎児に到達する可能性がある。骨および歯でフッ化物が補足され、水酸基との置換によりミネラル構造に取り込まれる。吸収されたフッ化物の約半分は骨の構造に沈着する。また一方、若者と高齢者ではフッ化物の骨への取り込みは中間年齢層よりも高い。血漿および骨のフッ化物濃度は曝露濃度に直接相関することが示されている（Morris, Smith 1982; WHO 1984; NTP 1990; Maurer *et al.* 1990; Maurer *et al.* 1993）。

排泄

フッ化物の主要排泄経路は尿を介して行われる。動物およびヒトでは、糸球体濾過により尿中に排泄され、その後、特に尿の酸性度が減少した場合に尿細管でフッ化水素として再吸収される。マイナーな排泄経路としては糞便、唾液（経口摂取後の部分的な再吸収）および汗を介するものがある。母乳を介する排泄は、関連する排泄経路ではない（Thiessen 1988）。

ヒト血漿中の半減期は2～9時間であることが報告されている（WHO 1984）。軟組織のフッ化物濃度は血漿濃度と平衡状態にあるので、これらの組織の半減期は同様であることが推測できる。曝露中止により、骨中のフッ化物は放出され体内から排泄される。ヒトでは骨中フッ化物の半減期は8～20年の範囲であることが報告されている（WHO 1984）。

結論

吸入されたフッ化水素ガスは上気道でほぼ完全に吸収される。経皮を介した吸収の程度は特定できない。無機物由来のフッ化物は全てフッ化水素として吸収され、F⁻あるいは有機結合のフッ化物として体内循環する。このイオンの体内分布および排泄経路は、体内に入った経路に依存しない。フッ化水素に経口、吸入あるいは経皮曝露後は、フッ化物は体の全ての組織で認めら

れる。骨組織に補足され、吸収されたフッ化物は、その約半分が沈着する。排泄の主な経路は尿である。ヒトでは血漿中の半減期は2～9時間であり、骨の半減期は8～20年である。

備考

曝露したフッ化水素の形態が最終的に体内循環するフッ化物の総量に影響する可能性はあるが、体内循環するフッ化物の形態は曝露したフッ化物の種類に依存しない（例えばVan Asten *et al.* 1996）。フッ化水素による全身影響のデータが不足している場合、吸入以外の曝露経路であっても、無機フッ化物を用いた実験結果を用いて補完できる可能性がある。基本セットで必要なフッ化水素のデータがない場合、他の無機フッ化物の毒性データをフッ化水素のハザードアセスメントだけに使用することがある。

4.1.2.2 急性毒性

動物での研究

異なる種での吸入および経皮曝露によるいくつかの研究が実施されている。フッ化水素の吸入曝露に最も関連性がある研究を**Table 4.6** に要約した。

Table 4.6 Acute inhalatory toxicity of Hydrgen Fluoride

Species	Protocol ¹	Results
mouse	other	1 hr LC ₅₀ : 279 mg HF/m ³ (Wohlslagel <i>et al.</i> 1976)
rat	other; GLP	1 hr LC ₅₀ : 1828-1909 mg HF/m ³ (Valentine 1990)
rat	other	1 hr LC ₅₀ : 1069 mg HF/m ³ (Rosenholtz <i>et al.</i> 1963)
rat	other	1 hr LC ₅₀ : 792 mg HF/m ³ (Vernot <i>et al.</i> 1977; MacEwan and Vernot 1976)
rat	other	1 hr LC ₅₀ : 1138 mg HF/m ³ (Wohlslagel <i>et al.</i> 1976)
guinea pig	other	15 min LC ₅₀ : 3540 mg HF/m ³ (Rosenholtz <i>et al.</i> 1963)
rhesus monkey	other	60 min LC ₅₀ : 1470 mg/m ³ (Damer KI <i>et al.</i> 1972)

¹For details see HEDSET

フッ化水素の1時間吸入後のLC₅₀はマウスでは約279 mg/m³ (Wohlslagel *et al.* 1976)、ラットでは約817～1,900 mg/m³ (Valentine 1990; Rosenholtz *et al.* 1963; Wohlslagel *et al.* 1976; Vernot *et al.* 1977; MacEwan and Vernot 1976) である。マウス試験での毒性症状としては、眼および粘膜の炎

症、角膜混濁、皮膚紅斑ならびに呼吸困難であり、肺水腫および出血が剖検時に認められた。ラットでは、上気道の重度の損傷、呼吸困難、眼漏および鼻汁、角膜混濁、ならびに体重減少が認められた。また、皮膚の腐食（鼻顔と耳の壊死病変）が一般的に認められた。病理学検査では、肺の鬱血、肺胞内浮腫および胸腺の出血も認められた。モルモットでは、眼および鼻の炎症、体重減少および呼吸困難が毒性症状として認められたが、病理組織学的検査は実施されていない (Rosenholtz *et al.* 1963)。アカゲザルの60分間曝露後のLC₅₀は1,470 mg/m³とされたが、詳細は報告されていない (Darmer *et al.* 1972)。

ラットでは曝露部位の損傷の他に、経皮曝露により自発呼吸および自発運動の減少、振戦、協調運動障害、正向反射の消失、ならびに死亡が認められた。血液検査では、皮膚からのFの取り込みの結果として、血清カルシウム濃度の顕著な減少および甲状腺ホルモンの増加が認められた。同時に、低ナトリウム血症、高カリウム血症、血清リンの増加、徐脈を伴う血清アルカリフォスファターゼの減少が認められた。フッ化水素により皮膚の全表面積のわずか1.7%が熱傷を受けるとフッ化物中毒が起こり、カルシウムや他の電解質の恒常性が影響を受けると著者は述べている。50%フッ化水素溶液（約900 mg/kg b.w.）0.5 mL をラットの皮膚に5分間曝露すると致死率は80%であった (Kono *et al.* 1982; Kono *et al.* 1988)。

ヒトのデータ

フッ化水素の曝露事故により死亡が発生している。これらのケースでは、皮膚曝露に続いてフッ化水素ガスの吸入曝露が起こっている。これらの研究では重度の皮膚障害、上気道と肺の損傷が報告されている (Kleinfeld 1965; Irving Sax 1984)。血中フッ化物濃度は、フッ化物の致死的な経口摂取時の濃度に例敵することが指摘された (Greendyke, Hodge 1964)。

二人のヒトボランティアに対し、フッ化水素を数分間あるいはそれ以下の時間曝露することにより、26 mg/m³の濃度では鼻や眼に軽度のヒリヒリ感および気道の刺激が認められた。50 mg/m³では結膜および鼻粘膜に著しい刺激が、100 mg/m³では、著しい刺激があった結膜および粘膜部分の皮膚に痛みが認められた。呼吸器系の重度の損傷が他の研究でも報告されている (Machle *et al.* 1934)。

結論

フッ化水素の1時間吸入曝露によるLC₅₀は、マウスでは約280 mg/m³、ラットでは817～1,900 mg/m³であった。経口および経皮曝露のLD₅₀は得られていない。フッ化水素の吸入および経皮曝露により眼および気道上皮に重度の損傷を、また皮膚に損傷を起こす可能性がある。全身性のFはカルシウムや他の電解質の恒常性を乱し、心不整脈を起こす。

ヒトでは、液体または気体のフッ化水素のいずれに経皮曝露しても重度の皮膚障害を起こす。フッ化水素の経皮曝露により、致死に至る全身性（心臓性）の作用を受けることがある。吸入曝露は気道に損傷を起こす可能性がある。

EU ガイドラインでは、フッ化水素は非常に毒性が強い（T⁺）と分類されている。

R-phrases 26/27/28：吸入、皮膚曝露あるいは飲み込んだ場合、非常に毒性が強い

OECDやEUガイドラインに従った試験は実施されていないが、提出された研究は急性毒性を適切に評価することができる十分な質を有していると報告者は考えている。

4.1.2.3 刺激性

動物での研究

皮膚

70%のフッ化水素溶液50 μLを60秒間、剃毛したラットの皮膚に曝露すると、皮膚に重度の損傷（紅斑、浮腫、水疱形成および皮膚筋接合部までの凝固壊死）が認められた。この損傷はその後35～56日で治癒した（Bracken *et al.* 1985）。

フッ化水素の2%水溶液2 mL/kg b.w.（約40 mg/kg b.w.）を剃毛したウサギの背部皮膚に1または4時間閉塞曝露すると重度の皮膚変化を生じる。2%溶液の1分間曝露では皮膚の障害は認められなかった。0.01、0.1、0.5または2%のフッ化水素水溶液2 mL/kgを同様の条件で5～60分間曝露すると、フッ化水素の接触に関連すると考えられる皮膚障害が全てに認められた。しかしながら、曝露範囲の下端の用量では用量－反応関係はかなり弱かった。また、最高曝露濃度（1または4

時間) では臓器重量の測定および組織学的検査が実施された。唯一認められた作用として、対照群と比べて精巣重量の減少(40%)が4時間曝露において認められた(観察時間: 曝露後96時間)。精巣重量の減少は顕微鏡下での顕著な変化を伴っていなかった(Derenlanko *et al.* 1985)。

フッ化水素の皮膚刺激性および腐食性については、OECDガイドライン404に従い実施されている。5%溶液5 mLを洗浄後のウサギの皮膚に半閉塞パッチで4時間曝露すると、曝露24時間後に著しい痂皮形成および下層組織の破壊が生じた。損傷はその後14日以内は回復しなかった。損傷は2/3の動物でドレイズスコア4とされた(Bayer AG 1990)。

0.13または1.06%のフッ化水素0.5 mLをウサギの皮膚に半閉塞条件下で4時間曝露したが、腐食性も刺激性も認められなかった(Thyssen and Lorke 1980)。

眼

眼刺激性については、0.13または1.06%のフッ化水素溶液(Thyssen and Lorke 1980)、または0.5~20%のフッ化水素溶液(McCulley *et al.* 1983)をウサギの眼に投与した2つの試験で検討されている。1.06%フッ化水素水溶液100 μ Lでは角膜混濁、虹彩炎、結膜の浮腫および充血が認められたが、0.13%では認められなかった(Thyssen and Lorke 1980)。20%溶液(量は不明)では即時かつ広範な眼損傷が認められた(McCulley *et al.* 1983)。

吸入

ASTM E981によるAlarie試験(感覚刺激性試験、Schorsch 1995)では、1群4例からなる6群のマウスに30、80、170、180、190 または250 mg/m^3 のフッ化水素を30分間、鼻と口のみにも曝露した。呼吸速度の時間的経過から、 RD_{50} (RD: 呼吸抑制)は110 mg/m^3 と算出された。報告書にはいくつか矛盾点があるが、試験はGLPに従って実施されたことが報告されている。

別のAlarie試験(ICI 1990)では、マウスに78~172 ppmのフッ化水素ガスを吸入曝露した結果、 RD_{50} は151 ppm(123 mg/m^3)と算出された。しかし、この試験の完全な報告書はなかった。

ヒトでのデータ

フッ化水素に曝露された患者では、体表面積の約2.5%にⅡ～Ⅲ度の皮膚熱傷が認められ、その血漿中フッ化物濃度は300 µg/100 mL未満であった。また、曝露後3日以内は可逆性の心電図変化が報告された (Burke et al. 1973)。

皮膚を介してフッ化水素に接触した患者では、重度の痛みは曝露後短時間で現れるが、皮膚熱傷は曝露後数日間を経て進行する。これらの熱傷は、紅斑の後に白っぽく変色し、その後組織の急速な破壊と壊死が起こる。フッ化水素による傷害の治癒は非常に遅い傾向にある (Moeschlin 1980; Irving Sax 1984)。Van de Laar *et al.* (1994) は、壁やタイル、金属表面や自動車のクリーニングなど、通常の職業環境での様々な活動に関わる19件のヒトの症例を報告している。洗浄剤は35～350 g/Lのフッ化水素を含有しており、ほとんどの場合、皮膚との接触は手と指であった。また、症状は上記で報告されたものと同様のものであった。2つの低含量フッ化水素 (35および48 g/L) 洗浄剤は他の酸 (リン酸や硝酸) を含んでいたが、3番目の低含量フッ化水素製剤は単一製剤 (50 g/L) であった。しかしながら、フッ化水素の接触に関連した症状は全てのケースで認められた (Van de Laar *et al.* 1994)。

Lund *et al.* (1997) は、0.2～0.6 mg/m³ (n=9)、0.7～2.4 mg/m³ (n=7)および2.5～5.2 mg/m³ (n=7)の範囲の一定濃度のフッ化水素を、ヒトボランティアに1時間曝露した。アンケート調査により以下の症状について調査した：眼および上気道 (掻痒および痛み) および上気道 (胸部圧迫、痛み、痰唾、咳および喘鳴)。肺機能については、ヨーロッパの標準法に従い肺活量計を用いて1秒間における強制呼吸気量 (FEV₁) を測定する強制肺活量 (FVC) により決定した。2.5 mg/m³以上のフッ化水素濃度では上気道 (鼻および喉) の症状スコアが増加した。下部気道の症状スコア (胸部圧迫、痛み、咳、痰唾および喘鳴) の有意な増加は認められなかった。肺機能パラメーター (FVCおよびFEV₁) はフッ化水素曝露と用量関係がなかった (Lund *et al.* 1997)。ほとんどの症状は曝露後4時間で消失した。

結論

フッ化水素を皮膚または眼に曝露すると、たとえ低濃度でも重度の障害を引き起こす。EUガイドラインによれば、フッ化水素は腐食物 (C) と分類されている；R-phrase：R35：重大な熱傷を引き起こす。OECDガイドラインによる皮膚刺激性試験が1つ実施されているが、OECDやEU

ガイドラインに従った眼刺激性試験は実施されていない。しかしながら、提出されたデータセットは、フッ化水素の皮膚および眼の刺激性や腐食性を適切に評価できる十分な質を有していると報告者は考えている。110~123 mg/m³の濃度のフッ化水素をマウスに曝露すると、50%の呼吸抑制を起こす。この曝露濃度の範囲は2つのAlarie試験から得られたものである。

フッ化水素をヒトの皮膚に曝露すると、動物と同様にⅡ~Ⅲ度の熱傷を引き起こす。曝露直後に激しい痛みがあり、これらの熱傷の治癒は非常に遅い傾向にある。フッ化水素の皮膚曝露により心電図の変化が報告されたが、それらは曝露後3日以内は可逆的であった。Largent *et al.*は、平均フッ化水素濃度が1.16 mg/m³という低い濃度で眼、皮膚および鼻粘膜に刺激性があることを報告している(4.1.2.6: ヒトでのデータを参照)。ヒトボランティアでの研究では、2.5 mg/m³以上で1時間の曝露後に、上気道の症状(搔痒、痛み)が増加することをLund *et al.* (1997)が報告している。

備考

4.1.2.2「急性毒性」で記載された試験において、皮膚に対する重度の損傷はフッ化水素の経皮曝露でも起こることに注意すべきである。同様に、吸入曝露での広範な損傷は、気道、特に鼻粘膜に認められる。これらの試験では、フッ化水素溶液を眼に直接投与後に観察されたものと同様の眼の損傷が認められた。

ヒトでは約5 gの無水フッ化水素は体表面積の約2.5%の皮膚にⅡ~Ⅲ度の熱傷を引き起こし、血漿中のフッ化物濃度は300 µg/100 mL未満であるが、それらは致死的な全身性中毒を起こすのに十分に高いと考えられた (Burke *et al.* 1973)。

フッ化水素の眼に対する作用を、フッ化ナトリウム、フッ化カリウムあるいは塩化水素(8%フッ化水素と同じpH)の同等の溶液と比較すると、フッ化水素による眼の熱傷の重症度はpHとF⁻イオンの毒性の両方によるものであることが示された。眼に対する最初の損傷はフッ化水素の酸性によるものであり、F⁻イオンが組織の深層部に浸透し、そこでFが重度の障害を起こす (McCulley *et al.* 1983)。皮膚損傷においても同様なメカニズムと考えられる (Derenlanko *et al.* 1985)。

4.1.2.4 腐食性

フッ化水素の腐食性については「4.1.2.3: 刺激性」ですでに論じた。

結論

フッ化水素は皮膚および眼に対して腐食性があると結論される。分類については「4.1.2.3 : 刺激性」を参照。

4.1.2.5 感作性

フッ化水素の感作性に関して、動物でもヒトでも利用できる研究はない。

結論

感作性試験は基本セットの必須要件にも関わらず提出されていない。比較的低い濃度でのみ皮膚感作性の評価が可能であるという主張がされてきたが、ヒトでの実際の経験では感作の兆候は示されなかった。しかしながら、そのような経験は感作性がないことを示すのには一般的に不適切であり、データは入手できないが、報告者も感作性試験を実施する必要性がないことには合意している。フッ化水素およびFの物理化学的性質は、この物質が感作性を持たないと想定することが妥当であることを示している。

さらに、オランダの法律および国際ガイドラインは、被験物質の腐食作用によって極度の苦痛や痛みを引き起こし、死亡の併発や人道的理由から屠殺の可能性があるような実験は行わないよう勧告している。加えて、腐食性を持つ物質により誘発されるような肉眼的病変は、被験動物の生理学的状態や他の生物学的な活性に影響を与えることが、一般的に認められている。

4.1.2.6 反復投与毒性

吸入試験のみが利用可能である。

動物データ

最も信頼できる試験の結果を **Table 4.7** に要約した。

Table 4.7 Repeated dose toxicity

Repeated dose toxicity	Species	Protocol	Results
Inhalatory	Rat	other: concentrations of 0 and 1 mg HF/m ³ ; 6 hr/d; daily for 1 month	at 1 mg/m ³ changes in dental enamel, airways; formation of irregular shaped bone cavities (Sadilova <i>et al.</i> 1974)
	Rat	like OECD 413; GLP; concentrations of 0, 0.082, 0.816 and 8.16 mg HF/m ³ ; 6 hr/d; 5 d/wk; 91 days	nominal NOAEL 0.816 mg/m ³ (actual value 0.72 mg/m ³) clinical (incl. dental malocclusions) and haematological signs including death and body and organ weight changes at 8.16 mg/m ³ . (Placke and Griffin 1991)

1.6 µg/m³ のフッ化水素を 1 日 5 時間で 3 ヶ月間ラットに曝露した結果、肝臓、心臓あるいは胃に組織学および組織化学的变化が認められた。しかし、これらの変化は適切に報告されておらず、そのため特に定量的側面に関しては解釈不能である。従って、この試験はフッ化水素の全体的な影響評価に対しては考慮されない。

様々な月齢の雌ラットに、1 mg/m³ のフッ化水素を 1 日 6 時間で 1 ヶ月間曝露した結果、歯のエナメル質に損傷が認められた。この作用は、特に若齢動物および 17.6～18.6 ヶ月齢の動物に認められた。若齢動物の呼吸器官には気管支粘膜の萎縮および局所浮腫が認められ、より高齢の動物の気道には気管支周囲の過形成が認められた。12 ヶ月齢の動物には骨空洞の異形成が認められた (Sadilova *et al.* 1974)。他の組織については評価していない。

この試験 (Placke *et al.* 1990) は、本試験 (Placke and Griffin 1991) のための用量設定試験として、GLP 基準に従い実施された。雌雄ラットに 0, 0.816, 8.16, 20.4, 53.0 および 82 mg/m³ のフッ化水素 (実測値 : 0, 0.816, 7.06, 17.78, 53.04 および 93 mg/m³) を 1 日 6 時間で 14 日間曝露した。その結果、20.4 mg/m³ 以上の群の全ての雌動物が死亡し、また 53.0 mg/m³ 以上の群の全ての雄動物が死亡した (Placke *et al.* 1990)。これより低い用量群では死亡は認められなかった。0.816 mg/m³ 以上の群で体重変化や絶対・相対臓器重量 (肝臓、心臓、腎臓、肺) の変化が、また臨床症状として不快症状および鼻粘膜や眼粘膜の炎症が報告された。皮膚の痂皮形成、眼の混濁および振戦も観察された。

OECD 413 ガイドラインに類似し GLP 基準で実施された 91 日間投与の亜慢性毒性試験 (Placke and Griffin 1991) では、雌雄ラット (1 群 20 例) に 0、0.082、0.816 および 8.16 mg/m³ (実測値 : 0、0.098、0.72 および 7.52 mg/m³) のフッ化水素を 1 日 6 時間で週 5 日間曝露した。

観察には、臨床症状、体重、臓器重量 (肝臓、腎臓、精巣、卵巣、副腎、心臓、脾臓、脳および肺)、血液学、血液生化学、ならびに精密な病理組織学検査が含まれた。用量設定試験とは対照的に、8.16 mg/m³ 群で死亡 (5 例の雄および 1 例の雌) が観察された。この群の臨床症状としては、眼および鼻から赤色分泌物、立毛、脱毛および円背位 (猫背の姿勢) が認められた。体重は抑制され、9 例の雄および 2 例の雌に歯の不正咬合が認められた。分葉核好中球の増加が雄の高用量群で認められた。高用量群の雄で血小板の増加が認められた。雄の中用量および高用量群でリンパ球数が減少し、また、高用量群の雌雄で赤血球数が抑制された。血液生化学的検査では、雄の高用量群で血清グルコースの低下が認められた。さらに、血清アルブミン (高用量群の雌雄)、および A/G 比 (中用量および高用量の雄) の低下、ならびに高用量群の雌雄で K⁺ および P の増加が認められた。高用量群で、腎臓、肝臓、肺、精巣、脾臓、脳、心臓および副腎の相対臓器重量が増加した。病理組織学的な変化は認められなかった。血清 A/G 比およびリンパ球の減少が中用量群の雄で認められたが、生物学的な意義を持つには小さ過ぎるため副作用とは考え難かった。以上の結果から、この試験での NOAEL は 0.72 mg/m³ (実測値) である。

ヒトのデータ

ボランティア研究

5 人のヒトボランティアにフッ化水素ガスを 1 日 6 時間、0.9~2 ppm (0.74~1.64 mg/m³) の範囲の濃度で 15 日間、2.7~8.1 ppm (2.21~6.64 mg/m³) の範囲の濃度で 50 日間にわたって曝露した (Largent *et al.* 1960)。各個人はそれぞれの曝露スケジュール (時間および濃度) に従いフッ化水素に曝露された。全身的な作用は全く認められなかったが、眼や顔面皮膚に軽微の刺痛、および鼻粘膜の炎症といったある種の不快症状が報告された。フッ化水素濃度が 2 ppm (1.64 mg/m³) 以下では、その他の作用は全く認められなかった。3.39 ppm (10 日間の平均濃度 : 2.78 mg/m³) より高い濃度では、紅斑および顔面皮膚の表層上皮の落屑が認められた。不快症状は

曝露中止後に消失したが、皮膚の発赤は短期間だが持続した (Largent *et al.* 1960)。

この研究の結果は他の雑誌 (Largent *et al.* 1961) でも論じられており、平均濃度 1.42 ppm が目立つ作用のでない許容濃度であると報告されている。これら 2 つの報告書 (Largent *et al.* 1960; 1961) はいくらか矛盾していることから、安全性の観点からは、最小曝露濃度 (0.74~1.64 mg/m³; 平均 1.16 mg/m³=1.42 ppm) でも若干の作用が依然認められると見なされた。

疫学的データ

キネティクスセクション (4.1.2.1 参照) で論じたように、全身性の毒性に関してはフッ化水素と他の無機フッ化物は同等と考えられることから、ここではフッ化水素に関連した研究およびフッ化ナトリウムの疫学的研究の概要を報告する。

フッ化水素への曝露

平均濃度 1.03 ppm (0.82 mg/m³) のフッ化水素の職業曝露では肺機能の変化は認められず、また、2.5 mg/m³ 以下の濃度のフッ化水素に曝露された労働者には呼吸器疾患の増加も観察されなかった。しかしながら、フッ化水素 4.3 ppm (3.5 mg/m³) 以下の濃度の曝露で、骨密度のわずかな増加を誘発した (ACGIH 1984)。

フッ化物 (F や他のフッ素を含む物質、その中でもフッ化水素) を経口曝露あるいは吸入曝露したことにより起こる骨格フッ素沈着症に関する多くの疫学研究がレビューされている (CEPA 1993; ATSDR 1993)。ヒトでの早期 (前臨床) 症状は骨量の増加である。散発的疼痛および関節硬直、慢性的関節疼痛、海綿骨の骨硬化症、靭帯の石灰化が第 1 期および第 2 期の臨床症状であり、第 3 期では関節運動の制限、骨格の変形、靭帯の強石灰化、筋肉疲労および神経学的欠損が現れる (CEPA 1993; ATSDR 1993)。

フッ化物による骨硬化症のわずかな増加が、2.5 mg/m³ (期間補正值: 600 µg/m³; 体重 70 kg の成人に 170 µg/kg b.w./d を投与した値に相当) で曝露された労働者に認められた (Hodge and Smith 1970, Hodge and Smith 1977 cited in Slooff *et al.* 1988)。

Chan-Yueng *et al.* (1983)は、アルミニウム製錬所で働く 2,066 人の労働者の健康影響を調べた。コホート群としては、高用量および中間用量曝露の精錬釜で作業する労働者だけでなく、低用量曝露対照群およびその他の労働者の群で構成した。各群におけるフッ化物微粒子およびガスへの曝露、ならびに尿中フッ化物について測定した。各群における労働者数および曝露濃度を下表に示した。

Table 4.8 Exposure levels to workers

Group	Number exposed	Average total airborne fluoride (mg/m ³)	Average gaseous fluoride (mg/m ³)	Average particulate fluoride (mg/m ³)
controls	880	0.053	0.015	0.038
potroom/high	570	0.48	0.20	0.28
potroom/medium	332	0.12	0.057	0.062
miscellaneous	284	0.46	0.054	0.41

さらに、鉄道修理作業労働者 372 人からなる外部対照群についても調査した。検査項目としては、筋骨格系の愁訴および手術歴、脊椎および仙腸の関節検査、骨盤の X 線検査、尿中フッ化物および血中ヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球数、総ビリルビン、アルカリフォスファターゼ、sASAT、総タンパク、BUN、クレアチニン、Ca²⁺およびリン酸が含まれた。骨格フッ素沈着の明確な兆候は、0.48 mg F/m³ (0.2 mg/m³ の F ガスおよび 0.28 mg/m³ のフッ化物粉塵) までの濃度で 10 年以内の曝露 (期間補正值 : 114.2 μg/m³ ; 33 μg/kg b.w./d と同等) では認められなかった。関連する血液生化学パラメーターは、肝臓および腎臓に対する作用は示さなかった。ヘモグロビンとヘマトクリットおよびカルシウムが (統計学的に) 有意に変化したが、その変化は生物学的な正常範囲内であった。血清カルシウムの増加 (投与群 9.71 ± 0.44 mg%Ca²⁺、対照群 9.62 ± 0.42 mg%Ca²⁺) が最高用量群で認められたが、リン酸では認められなかった。それぞれの血液パラメーターの変化は、曝露とはほぼ無関係であると考えられた。従って、0.48 mg/m³ (合計) のフッ化物を 10 年間まで曝露された労働者には、骨格フッ素沈着、あるいは腎臓、肝臓または血液学的作用の明確な兆候はないと結論された。

上記研究 (Chan-Yeung *et al.* , 1983) と同様、同じアルミニウム製錬所での平行研究では、Chan-Yeung *et al.* (1983) は精錬釜室での作業と呼吸能力の関係について報告している。以下の呼吸パラメーターについて調査した : FEV₁⁵、FVC、FEF_{25-75%}、胸部 X 線および胸部症状 (咳、痰、喘鳴、呼吸困難、慢性気管支炎)。

調査結果は喫煙習慣、年齢および雇用期間により補正した。コホート群は、高曝露群（精錬釜室での作業時間が50%以上、n=495）、中間曝露群（精錬釜室での作業時間が50%以下、n=302）、および対照群（事務および鑄造作業、n=713）とした。製錬所の空気については、個人の採取装置により次表に示す混入物質を分析した。

Table 4.9 Concentrations of air contaminants in an aluminium smelter
(data taken from Chan-Yueng et al. 1983)

Air contaminant	Potroom workers	Control workers
Particulate matter	3.55 ± 2.26 (n=22)*	1.45 ± 5.11 (n=33)
Fluoride		
total	0.48 ± 0.35 (n=1157)	0.05 ± 0.12 (n=102)
gaseous	0.20 ± 0.17	0.02 ± 0.03
particulate	0.28 ± 0.03	0.04 ± 0.1
Carbon monoxide	11.43 ± 5.49 (n=47)	6.23 ± 2.95 (n=45)
Sulfur dioxide	2.15 ± 1.66 (n=121)	0.54 ± 0.74 (n=29)
Benzo-[a]-pyrene	3.49 ± 7.11 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (n=69)	0.16 ± 0.29 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (n=4)

*Values are mean ± standard deviation of n samples. Units are mg/m³ unless stated otherwise

高曝露群の労働者は、FEV₁およびFEF_{25-75%}がそれぞれ2%および5%の有意水準で統計学的有意に減少した。また、高曝露群の咳および喘鳴の発現頻度が、対照群に比較してそれぞれ7%増加し、統計学的に有意であった。FVCは変化がなかった。中間曝露群では対照群と比較して統計学的に有意な変化はなかった。作業シフトの前後で呼吸パラメーターを比較すると、対照

⁵FEV₁=1秒間努力呼気容量、FVC=努力性肺活量、FEF_{25-75%}=最大中間努力呼気流量

群と高曝露群ともに同様の減少を示した。ほとんどの胸部レントゲン写真は正常であった。全てのグループで、作業に関連した異常（例えば、既往肺結核症の兆候）は認められなかった。

精錬釜室の作業労働者は、同時にいくつかの気道刺激物質に曝露されているので、上記変化の原因について明確な結論を出すことは出来ない。可能性として、これらの作用は、検出された

空気汚染物質の複合作用によるものかもしれない。

フッ化ナトリウムへの曝露

Riggs *et al.* (1990) は、閉経後骨粗しょう症の女性について、無作為プラセボ比較二重盲検臨床試験を行った。1日当たり平均 0.48 mg F/kg b.w.をフッ化ナトリウムとして4年間経口投与した結果、非脊椎骨の骨折率の増加および皮質骨密度の減少が認められた。しかしながら、海綿骨（網状骨）密度の増加は認められたが、脊椎骨骨折の有意でない減少傾向が認められたに過ぎなかった。投与された女性は、非投与の女性より有意に多くの副作用（胃の不快感、下肢の痛み）を報告した。この試験は適切に実施されていたが、この試験がフッ化物の経口摂取によるフッ素中毒のリスクを全面的に示すことにはならないだろう。なぜなら、非骨粗しょう症のヒトとは、骨およびカルシウムの恒常性、ならびにフッ化物に対する感受性が異なる可能性があるからである。

CEPA (1993) では、飲水摂取によるフッ化物の作用を調査した様々な生態学的研究を引用している。この報告書によれば、1日当たり 15 mg（体重 70 kg の成人で 215 µg/kg b.w.）以上を長期間摂取したヒトで、重度の骨格フッ素沈着症が報告されている。1つの症例では、8 mg/L のフッ化物が含まれる水を 37 年間飲水した結果、フッ化物による骨変化が誘発されたが臨床症状は認められなかった。4 mg/L（推定 1日当たり 72 µg/kg b.w.）のフッ化物を含む飲料水に曝露された地域では、各種の骨折の相対リスクが、1 mg/L を摂取している「非曝露」対照地域と比べて 2.2～2.7 であった (Sowers *et al.* 1986)。しかしながら、後者の研究に関して、この地域の飲料水のカルシウム濃度は対照地域の 25% であることから、高濃度のフッ化物地域の曝露は恐らく過小評価されていると CEPA (1993) は記述している。

他の側面

一定レベルのフッ化物消費に関する数多くの研究が米国およびヨーロッパでされており、特に幼少時からの継続使用は、歯または歯周組織の外観に好ましくない影響を与えることなく、永久歯および乳歯をう蝕から保護することが示されている。フッ化物は、通常飲料水にフッ素添加（約 1 mg F/L）あるいはフッ化物配合歯磨剤として提供される (Wagner *et al.* 1993)。

フッ化物は、骨の他の成分が既に定常状態に達した後でも石灰化構造に沈着し続ける。当該となる大量のイオンを投与した後でさえ、主要な成分（カルシウム、リン、マグネシウム、炭酸塩、クエン酸塩）は幼児期に最大濃度に達し、その後は基本的に変化しない。一方、1.0~4 mg/Lの濃度のフッ化物を飲料水として摂取すると、骨のフッ化物は10倍増加する。骨の石灰化には、骨およびコラーゲンの主要有機基質でのカルシウムおよびリンの初期沈着における核形成プロセスが先行して起こり、ハイドロキシアパタイトまたは $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ と一般的に呼ばれる鉱物相を形成する。石灰化構造におけるアパタイト（リン石灰）の水酸基は、部分的または完全に、フッ化物により同一構造的に置き換わる。ハイドロキシアパタイトとフルオロアパタイトの混晶は、このようにして出来ると考えられる（Wagner *et al.* 1993）。

結論

フッ化水素の入手可能な動物試験データセットにより、亜慢性反復吸入曝露試験のNOAELが導かれた。他の投与経路では、フッ化水素について利用可能な適切な試験はない。反復吸入曝露によるNOAELの概要は、 0.72 mg/m^3 （実測値）のフッ化水素を1日6時間、週5日間で91日間雌雄ラットに曝露したGLP試験から得られた。この曝露では有害作用は認められなかった。次の用量では、死亡、組織の炎症、歯の異形、血液学および生物学的変化、ならびにいくつかの臓器重量の変化が認められた。

動物同様、ヒトでもフッ化物の長期摂取により、骨格フッ素沈着症が経口摂取でも吸入曝露でも認められた。

骨に対する作用は、一般環境よりも明らかに高い濃度の空中浮遊無機フッ化物に曝露された、アルミニウム工場の作業者に関する研究の一部で報告された。アルミニウム製錬所作業者を含む入手可能な研究から集めたデータの考察に基づいて、Hodge and Smith（1970）は、空気中のフッ化物が 2.5 mg/m^3 以上の濃度で作業者が曝露されると、フッ化物による骨硬化症の発生が増加すると結論した。さらにアルミニウム製錬所作業者に関する最近のコホート研究では、 0.48 mg/m^3 （ 0.2 mg/m^3 のガスおよび 0.28 mg/m^3 の粉塵）のフッ化物に10年間曝露されても、骨格フッ素沈着、あるいは腎臓、肝臓や血液学的作用に関する明白な兆候は認められなかった。同じアルミニウム工場での平行研究で、同一曝露濃度で気道の炎症が認められたが、（フッ化水素よりも）他の気道刺激物によるものと考えられた。

1.16 mg/m³のフッ化水素に1日6時間曝露されたヒトでは、眼や顔面皮膚に軽微の刺痛、および鼻粘膜の軽微な炎症といったある種の不快症状が報告された。この濃度が吸入曝露でのLOAELと考えられる。

有益な作用

フッ化物は、歯牙発生および骨格の発達に役割を果たす必須栄養素であるという兆候はあるが、決定的な証拠はまだない。フッ化物が必須要素かどうかの質問には十分に答えられていない。なぜなら、十分に低い濃度のフッ化物の食品の開発は、食品成分中のフッ化物の広範な存在に妨げられているからである。フッ化物の必須性については、低濃度フッ化物食品が利用可能な場合にのみ決定することができる (Slooff *et al.* 1988, WHO 1984; National Academy of Sciences 1971)。

低濃度のフッ化物を摂取することにより有益な作用（特に小児における虫歯の防止）が認められている。一方、フッ化物の過剰摂取は、歯のフッ素症（歯の病変）および骨フッ素症（骨の構造変化）を引き起こす可能性がある (Slooff *et al.* 1988)。

備考

疫学的研究（生態学的研究やコホート研究）の多くは、栄養や他の経路を介するフッ化物の実際の曝露において限定的な洞察を提供し、また交絡因子（例えば、他物質による曝露の干渉、肉体労働の程度）は一般的に特徴付けが不十分であることに留意する必要がある。臨床研究は、副作用よりもフッ化物の有益な作用に焦点を当てている (CEPA 1993 を参照)。

4.1.2.7 変異原性

フッ化水素については限られた数の遺伝毒性試験が利用可能である (Table 4.10 参照)。

Table 4.10 Genotoxicity of Hydrogen Fluoride

Genetic toxicity		Species/system	Protocol	Results
4.1.2.7	<i>In vitro</i> gene mutations (Ames)	Salmonella typhimurium	other ¹ ; GLP	negative; with and without S9 (Bayer AG 1987)
	<i>In vivo</i> cytogenic effects	rat	other ¹	positive increase in chromosomal aberrations (predominantly hyperploidy) (Voroshilin <i>et al.</i> 1975)
	dominant lethality	mouse	other ¹	inconclusive; improperly reported (Voroshilin <i>et al.</i> 1975)
	SLRL test	Drosophila melanogaster	other ¹	reduced fertility in F1 after HF-exposure of F0; inconclusive (Gerdes <i>et al.</i> 1971; Gerdes 1970; Gerdes 1971)
	RL test	Drosophila melanogaster	other ¹	reduced viability of F2 homozygous for chromosome II after HF-exposure of F0; inconclusive (Mohamed 1971)

¹See HEDSET for full description of the protocol

In vitro 試験

フッ化水素については、GLP 基準に従った Ames 試験で陰性であった (Bayer AG 1987)。

In vivo 試験

フッ化水素については、染色体異常試験 (Voroshilin *et al.* 1975; Zeiger *et al.* 1994) と遺伝的欠損を指標とする *in vivo* 試験が実施されている。ラットを用いた染色体異常試験では、特に加齢動物で陽性であった (Voroshilin *et al.* 1975)。フッ化水素は高二倍体を誘発することが示されたが、欠失は認められなかった。マウスを用いた優性致死試験では、試験方法と結果の記載が不十分なため、解釈が出来なかった (Voroshilin *et al.* 1975)。

フッ化水素は、キイロショウジョウバエに伴性劣性致死突然変異を誘発することが示されたが、試験は適切な報告がされておらず、また、有意性は評価されていなかった (Gerdes *et al.* 1971; Gerdes 1970; Gerdes 1971)。

別の試験では、キイロショウジョウバエ F2 の、第 2 染色体がホモ接合体の生存性がフッ化水素により減少することが報告されたが、この結果を遺伝毒性の観点から解釈することはできない (Mohamed 1971)。

フッ化水素の遺伝毒性のデータセットは限られている。それ故、この物質について遺伝毒性に関する結論に達するのは難しい。しかしながら、毒性試験において、*in vivo* あるいは *in vitro* にかかわらず、その標的にはフッ化水素は F⁻（一部は有機結合して）としてのみ到達するので、例えばフッ化ナトリウムのような他の無機フッ化物は、フッ化水素にも適用可能なフッ化物の遺伝毒性に関する洞察を提供してくれる。これについては、フッ化物のキネティクスとセクションで既に記載した (4.1.2.1 参照)。フッ化ナトリウムについての代表的ないくつかの変異原性試験を **Table 4.11** に要約した。

Table 4.11 Genotoxicity of Sodium Fluoride

Genetic toxicity		Species/system	Protocol ¹	Results
<i>In vitro</i>	gene mutations (Ames)	Salmonella typhimurium	other	negative; with and without S9 (NTP 1990)
	gene mutations	Mouse lymphoma assay	other	positive; with and without S9 (NTP 1990)
	SCE-test	CHO-cells	other	positive; with and without S9 (NTP 1990)
	UDS-test	human oral keratinocytes	other	positive; without activation (Tsutsui <i>et al.</i> 1984)
	UDS-test	human fibroblasts	other	positive; without activation (Tsutsui <i>et al.</i> 1984)
	chromosomal aberrations	human fibroblasts	other	positive; without activation (Tsutsui <i>et al.</i> 1984)
	chromosomal aberrations	CHO-cells	other	positive; with and without S9 (NTP 1990)
	chromosomal aberrations	CHO-cells	other	positive; with and without S9 (Aardema <i>et al.</i> 1989)
	chromosome aberrations	bone marrow cells	other	positive; without activation (Khalil 1995)
	chromosome aberrations	human fibroblasts	other	negative; without activation (Tsutsui <i>et al.</i> 1995)
<i>In vivo</i>				
	cytogenetic effects	mouse	other	negative for micronuclei in erythrocytes and for chromosome aberrations in bone marrow (Zeiger <i>et al.</i> 1994)

¹For "other" see details in HEDSET

In vitro 試験

フッ化ナトリウムのAmes試験において、フッ化物イオンは遺伝子突然変異誘発作用を示さなかった (NTP 1990)。

真核細胞を用いる *in vitro* 試験ではフッ化ナトリウムは遺伝子突然変異 (NTP 1990) および染色体異常誘発作用を示し (NTP 1990; Tsutsui *et al.* 1984; Aardema *et al.* 1989; Aardema *et al.* 1989; Khalil 1995)、さらに姉妹染色分体交換試験 (NTP 1990) およびDNA修復試験でも陽性であった (Tsutsui *et al.* 1984a; Tsutsui *et al.* 1984b)。一方、ヒト線維芽細胞を用いる染色体異常試験では陰性であった (Tsutsui *et al.* 1995)。4つの試験 (Tsutsui *et al.* 1984; Aardema *et al.* 1989; Aardema

et al. 1989; Khalil 1995) では、染色体異常の型が情報として提供された。特にギャップ、切断および欠失が認められた。

In vivo 試験

適切に実施された染色体異常試験において、Zeiger *et al.* (1994) は、フッ化ナトリウムをマウスに 1 あるいは 6 週間飲水投与した。200 および 400 mg/L 群では体重増加抑制が認められ、さらに 400 mg/L 群では多数の動物も死亡した。赤血球および他の骨髄細胞について小核あるいは染色体異常について調べた。フッ化物による染色体異常誘発の兆候は認められなかった。

Jackson *et al.* (1994) は、1 日 23 mg のフッ素を含む治療を平均約 18 ヶ月間受けた骨粗しょう症の婦人の症例対照研究において、姉妹染色分体交換の頻度は増加しなかったことを報告している。

さらに、フッ化物については様々な他の変異原性試験の結果がレビューされている (Li *et al.* 1988)。これらの著者は、*in vitro* 試験および *in vivo* 試験の陽性および陰性結果について論じ、フッ化物の遺伝毒性については確実な記述ができないと結論した。より最近では、Zeiger *et al.* (1993) は新旧の論文データを再評価し、*in vivo* での遺伝毒性に関する情報は最終結論を得るには不十分であると結論している。さらに、多くの *in vivo* 試験において、分裂後期細胞では陽性の細胞遺伝学的作用が得られたが、分裂中期細胞では陰性結果が得られたことに言及している。彼ら (Zeiger *et al.* 1993) の意見では、作用の基礎となるメカニズムならびに *in vitro* 試験における F⁻と DNA あるいは DNA 関連タンパク、酵素や他の細胞系システムとの相互作用の状況に関する情報が特に必要であるとしている。*In vitro* 試験系における遺伝毒性作用は 4.5 mg F/L 以上の濃度で認められ、それはヒト血漿の定常状態濃度より遙かに高く、また F⁻には直接的に DNA と相互作用する能力はないことが主張された (Janssen and Knaap 1994)。

結論

フッ化水素およびフッ化ナトリウムは微生物試験系では共に陰性の結果を示した。真核細胞を用いた *in vitro* の試験系ではフッ化ナトリウムは、4.5 mg F/L 以上の濃度で SCE (姉妹染色分体交換)、UDS (不定期 DNA 合成) および染色体異常を誘発した。フッ化水素については遺伝毒

性に関する4つの *in vivo* 試験が利用できる。しかしながら、これら4つの試験は報告が不十分だったり、妥当性が検証されてない試験系だったりで結論が導き出せない。トキシコキネティクスの類似性から、フッ化ナトリウムで適正に実施された *in vivo* 試験が利用できることから、フッ化水素の追加 *in vivo* 変異原性試験は必要ない。この試験で、フッ化物はマウスに染色体異常を誘発しないことが示された。後期分裂細胞で *in vivo* 試験が陽性であったが、これは間接的な作用の可能性が示唆された。Fは、DNA 付加体の前提条件である DNA との共有結合の可能性が低いことから、*in vitro* 試験で認められた DNA 損傷作用はフッ化物の DNA に対する直接作用によるものではないと考えられる。無機フッ化物は *in vivo* で染色体異常を誘発しないと結論される。

備考

CEPA (1993) はフッ化物の遺伝毒性データは矛盾していることを認めているが、生理的な経路（すなわち経口）で適切に投与された場合は遺伝毒性を示さないとしている。吸入曝露に関するデータは無いが、フッ化物は DNA と直接的に相互作用しないことから、吸入曝露した場合も遺伝毒性を示さない結論できる。

4.1.2.8 発がん性

フッ化水素の発がん性試験は利用できない⁶。フッ化水素の発がん性試験では、可能な標的には（部分的に有機的に結合した）Fとしてのみ到達する。そのため、フッ化ナトリウムのような

⁶IARC (1992) では無機強酸のミストの発がん性について評価している。いくつかの職業曝露研究から、硫酸を含む強酸のミストがヒトに対して発がん性があると考えするのに十分な証拠が利用可能であると結論した。フッ化水素はこの評価には含まれていない。フッ化水素は強酸ではなく（ $pK_a=3.5$ ；硫酸および塩酸の pK_a 値は0以下である）、また IARC は塩酸の発がん性は、動物およびヒトでの十分な証拠がないので分類できないと結論していることに留意すべきである。このように、IARC の評価からはフッ化水素の発がん性については結論が導き出せない。

他の無機フッ化物の試験は、フッ化物の（全身的な）発がん性に対する洞察が一般的に提供可能であり、フッ化水素の発がん性に関しても同様である。これについてはフッ化物のキネティクスのセクションで扱った (4.1.2.1 参照)。フッ化ナトリウムについては4つの発がん性試験が

利用可能である。

動物のデータ

マウス

0、25、100 または 175 mg/L のフッ化ナトリウムを、マウスに 2 年間毎日飲水投与した (NTP 1990)。この濃度は 1 日当りの平均用量に換算すると、雌では 0、1.27、5.11 および 8.50 mg F/kg b.w.、雄では 0、1.08、4.34 および 7.55 mg F/kg b.w. に相当した。餌には 8.66 mg F/kg (1.23 mg/kg b.w./d に相当) が含まれていた。観察には、臨床状態、体重および臓器重量 (中間屠殺時における肝臓、腎臓および脳)、尿検査、血液学、(限定的) 臨床化学、および精密な病理組織学的検査が含まれていた。対照群を含む全ての群で、用量に依存した歯の変色および斑点形成が認められ、曝露群では高頻度かつ早期に認められた。175 mg/L 群で歯の咬耗が増加した；雄の方が雌より僅かに目立っていた。175 mg/L 群の雄で歯の象牙質の形成不全が有意に増加した。他の非腫瘍性病変は認められなかった。幾つかの腫瘍性病変 (リンパ腫、肝細胞がん、ハーダー腺腺腫、下垂体腺腫) が認められたが、これらの病変は無処理群にも認められ、また生物学的な意義はないものであった (NTP 1990)。

毒性と発がん性を組み合わせた摂餌試験では、Maurer *et al.* (1993) は、0、4.0、10 および 25 mg/kg b.w./d のフッ化ナトリウム (それぞれ 0、1.79、4.4 および 11.17 mg F/kg b.w./d に相当) を 2 年間マウスに投与した。低用量フッ化物混入飼料により、動物は 1 日当たり 0.45 mg F/kg b.w. を摂取した。観察には、臨床状態、体重および (広範な) 臓器重量、および (広範な) 病理組織学的検査が含まれていた。AO (Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen) 財団の分類による骨折類、摩耗および変色に分類される成歯の変化が 4 mg/kg 以上で用量に依存して認められ、それらはエナメル芽細胞の異形成、嚢胞性過形成、変性および空胞形成を伴っていた。10 mg/kg 以上でいろいろな骨格奇形 (海綿骨の緻密化、骨硬化症、骨化過剰症) が認められた。10 および 25 mg/kg 群の雌雄に、時として関節炎を伴う膝関節の骨化あるいは石化が認められた。軟組織の病変は、予想したが報告されなかった。歯および骨の病変はフッ化物曝露に関係していると考えられた。相対臓器・組織重量 (精巣を含む) の変化は見られなかったが、定量的データは提供されていない。特に高用量群では、高密度のレトロウイルス粒子が見られる良性の骨腫の頻度が増加した。レトロウイルス感染がこれらの腫瘍の発生を増強した可能性があることから、筆者は骨腫

の発生に関してはこの試験では結論がでないとした (Maurer *et al.* 1993)。

ラット

ラットに、0、25、100 または 175 mg/L のフッ化ナトリウムを 2 年間毎日飲水投与した (NTP 1990)。これらの濃度は、日々の平均投与量として雌では 0、0.59、2.48 および 4.29 mg F/kg b.w.、また雄では 0、0.50、2.35 および 3.89 mg F/kg b.w. に相当した。餌には 8.66 mg F/kg (0.43 mg/kg b.w./d に相当) が含まれていた。観察には、臨床状態、体重および臓器重量 (中間屠殺時における肝臓、腎臓および脳)、尿検査、血液学、(限定的) 臨床化学、および精密な病理組織学的検査が含まれていた。25 mg/L 群より歯の白化変色および斑点形成の増加が認められた。100 mg/L 以上の群では、これらの変色は歯の摩耗、変形および不正咬合を伴っていた。雄の 25 mg/L 以上、および雌の 100 mg/L 以上の群で歯の形成異常、ならびにエナメル芽細胞および象牙芽細胞の変性が認められた。これらの作用は雄に顕著であった。175 mg/L 群の雌で骨硬化症の増加が認められた。骨肉腫が、0、25、100 および 175 mg/L 群の雄で、それぞれ 0/80、0/51、1/50 および 3/80 例認められた。雌では骨肉腫は報告されていない。フッ化ナトリウムの発がん性に関しては不明確であると筆者は考えている。他の腫瘍性病変は認められなかった；投与に関連した他の病変はなかった (NTP 1990)。

毒性と発がん性を組み合わせた試験で、Maurer *et al.* (1990) は 0、4.0、10 および 25 mg/kg b.w./d のフッ化ナトリウム (それぞれ 0、1.81、4.52 および 11.24 mg F/kg b.w./d に相当) をラットに 2 年間曝露した。低用量フッ化物混入飼料により、動物は 1 日当たり 0.16 mg F/kg b.w. を摂取した。観察には、臨床症状、体重および (広範な) 臓器重量および (広範な) 病理組織学的検査、(非特定の) 臨床化学検査、および (非特定の) 尿検査が含まれていた。全群で用量に関連した歯の異常 (エナメル芽細胞形成異常およびエナメル質形成不全) が認められた。10 および 25 mg/kg 群で歯の破砕および不正咬合が増加した。雌は雄と同様に敏感だった。骨膜下骨化過形成が、特に 10 mg/kg 以上の雄の頭蓋骨で認められた。雌ではこの作用はあまり顕著ではなかった。10 mg/kg 以上の群では、胃の相対および絶対重量が有意に増加した。腺上皮の単核細胞浸潤が、4 mg/kg 以上の雄および 10 mg/kg 以上の雌で認められた。腺性粘膜の慢性的炎症および再生が 10 mg/kg 以上の雄で認められた。この作用は雌では 4 mg/kg 以上、および 25 mg/kg でそれぞれ認められた。他の 24 種類の組織 (精巣を含む) では病変は報告されなかったが、定量的データは提供されなかった。一部の動物で、骨の腫瘍性病変 (肉腫、骨肉腫、脊索腫、軟骨腫)

が認められたが、これらの病変は偶発的であり、またその発現は全ての群にランダムに分布していた。対照群の1例の雄の胃に乳頭腫が認められた。他の軟組織腫瘍は詳細には報告されていないが、「ラットの性に関わらず、フッ化物の毒性発現箇所およびその他の箇所において、フッ化物が前がん病変およびがん病変の発生率を変化させたという証拠はない」ことが記述されている (Maurer *et al.* 1990)。

ヒトのデータ

疫学的データに基づき、IARC (1982) は、フッ化物の経口摂取によるヒト発がん性に関する証拠は不十分であると結論した。ヒトでのフッ化物の経口曝露 (フッ化物添加飲料水) とがん死亡率との関係について、多数の研究機関が生態学的研究をレビューしている。フッ化物添加飲料水の消費とがんによる死亡率増加の関連性については確かな証拠はないことが確認されている (CEPA 1993; Janssen and Knaap 1994)。US-EPA はフッ化物の疫学データをレビューしたが、利用できる全ての研究では他の物質にも同時に曝露されていることから、フッ化物の吸入曝露による発がん性については結論できないとしている (Thiessen 1988)。

結論

フッ化水素の発がん性試験は利用できない⁷。フッ化ナトリウムは、フッ化水素の発がん性、特に全体的な腫瘍発生に関する洞察を提供してくれるだろう。フッ化ナトリウムについて4つの動物試験、すなわちフッ化ナトリウムをラットおよびマウスに飲水投与した2つの試験、ならびにラットおよびマウスに混餌投与した2つの試験が実施されている。

ラットの飲水投与試験において、雄ラットに骨肉腫の疑わしい症状が観察され、摂餌試験では

⁷IARC (1992) は強酸のミストの発がん性を評価している。この IARC の評価から、フッ化水素吸入の発がん性に関して結論できないとしている。

明確なフッ化物中毒の症状が認められたが、発がん性に関しては陰性であった。またマウス飲水投与試験でも陰性であった。マウス摂餌試験ではレトロウイルスの存在が良性骨腫の成長を (共) 誘発している可能性があり、それがこの試験の解釈を妨げていることで混乱している。

摂餌試験 (Maurer *et al.* 1990; Maurer *et al.* 1993) では骨肉腫の症状は認められなかったが、摂餌試験における骨のフッ化物濃度は、飲水投与試験より高かった (NTP 1990)。さらに、骨腫は、真性骨腫瘍というより過形成を連想させると考えられている。利用できるデータからは、フッ化物は動物の発がん物質ではないことを示唆するのに十分であると結論できる。

疫学的データに基づいて、IARC (1982) は、フッ化物の経口摂取によるヒト発がん性の証拠は不十分であると結論した。最近の研究 (CEPA 1993; Janssen and Knaap 1994 に記載) でも、飲料水によるフッ化物の摂取とがん死亡率との関係について何ら証拠を示せなかった。US-EPA は、フッ化物の疫学的データをレビューして、利用できる全ての試験でヒトは他の物質にも同時に曝露されていることから、吸入曝露によるフッ化物の発がん性については何ら結論が得られないとしている。

備考

生殖器官の形態に影響が見られた動物発がん性試験はなかったことを特記しておく。

4.1.2.9 生殖毒性

フッ化水素に関して利用できる生殖試験はない。しかしながら、生殖に対する作用は全身的なものであり、フッ化水素は、フッ化水素やフッ化ナトリウムとしてではなく、フリー体のイオンあるいは有機物と結合したフッ化物としてのみ全身を循環する。これについてはフッ化物のキネティクスのセクションで扱っている (4.1.2.1.を参照)。そのため、フッ化物の生殖毒性に対する洞察を提供するフッ化ナトリウムのデータは、フッ化水素の生殖毒性に関する洞察も提供可能である。

動物のデータ

フッ化ナトリウムの生殖毒性、および発生毒性／催奇形性に関する研究を **Table 4.12** に要約する。

Table 4.12 Reproductive and developmental toxicity

Reproduction & developmental toxicity		Species	Protocol	Results
4.1.2.9	A: fertility studies oral	mouse	Other; dose levels 0, 10, 20 mg NaF/kg b.w. for 30days	LOAEL; 10 mg NaF/kg b.w. (~4.52 mg F/kg b.w.); Reversible decreased sperm motility and sperm count and infertility. Abnormal sperm morphology. (Chinoy and Sequeira 1992) LOAEL; 10 mg NaF/kg b.w. (~4.52 mg F/kg b.w.); Reversible histological changes in testis, epididymis and vas deferens. (Chinoy and Sequeira 1989)
		rat	Other; dose levels 0, 100, 200 mg F/kg diet for 60 days	LOAEL: 100 mg F/kg; (~5 mg F/kg b.w./d) dental fluorotic lesions, changes in seminiferous tubules. decreased serum testosterone levels n.s, trend in decreased average litter size, (Araibi <i>et al</i> 1989)
		rat	Other; dose levels: 0, 5 and 10 mg NaF/kg b.w. /d for 30 days.	LOAEL : 5 mg/kg b.w./d (~2.26 mg F/kg b.w.) reduction of fertility, decreased sperm counts and motility, biochemical changes in testes, epididymis and prostate. (Chinoy <i>et al</i> 1991)
		rabbit	Other; dose level 0, 20 and 40 mg NaF/kg b.w./d for 30 days	LOAEL: 20 mg NaF/kg b.w./d (9 mg F/kg b.w.); count, biochemical, morphological, numerical and motility changes in sperm cells. Irreversible loss of fertility. (Chinoy <i>et al</i> . 1992)
	B: generation studies	rat	Similar to OECD 416; dose level 0, 25, 100, 175 and 250 mg NaF/l.	NOAEL: 250 mg NaF/l; highest dose tested estimated to be about 10 mg F/kg b.w./d in adults. (Collins <i>et al</i> . 2001a, 2001b)
		rat	Other; dose level 0, 25, 100, 175 and 250 mg NaF/l.	NOAEL: 250 mg NaF/l; highest dose tested estimated to be about 10 mg F/kg b.w./d in adults. (Sprando <i>et al</i> . 1997, 1998; sub-study of Collins <i>et al</i> . 2001a, 2001b with special attention for male fertility)
		rat	Other; dose level 0, 25, 100, 175 and 250 mg NaF/l.	NOAEL: 250 mg NaF/l; highest dose tested estimated to be about 10 mg F/kg b.w./d in adults. (Sprando <i>et al</i> . 1997)
	C: embryo- and fetotoxicity/ teratogenicity studies	rat	Similar to OECD-414; 0, 50, 150 and 300 mg NaF/l drinking water from days 6 - 15 of gestation.	NOAEL for maternal effects: 150 mg NaF/l (~ 8.4 mg F/kg b.w./d). NOAEL for developmental effects: 300 mg NaF/l (~12.3 mg F/kg b.w./d) (Heindel <i>et al</i> . 1996)
		rat	Similar to OECD-414; 0, 10, 25, 100, 175 and 250 mg NaF/l drinking water daily throughout gestation	NOAEL for maternal toxicity and developmental effects: 175 mg NaF/l (~11.12 mg F/kg b.w./d) (Collins <i>et al</i> . 1995)
		rabbit	Similar to OECD-414; 0, 100, 200, and 400 mg NaF/l drinking water daily from days 6 - 19 of gestation	NOAEL for maternal effects: 200 mg NaF/l (~ 8.2 mg F/kg b.w./d). NOAEL for developmental effects: 400 mg NaF/l (~13.2 mg F/kg b.w./d) (Heindel <i>et al</i> . 1996)

雄の生殖能力に対する作用

Chinoy *et al.* (1989, 1991, 1992, 1992) は、フッ化物の生殖機能障害に関して、マウス、ラット

およびウサギの精巣に対する作用を検討した。これらの研究では、対照飼料中の F の含量については記載されていない。

フッ化ナトリウムの 0、10 および 20 mg/kg b.w. (約 4.52 または 9.05 mg F/kg b.w.相当) を雄の Swiss マウスに 30 日間摂餌投与した。観察には雄の全ての生殖器官の形態および組織サイトメトリー、精子細胞の電子顕微鏡的評価、ならびに妊孕性試験が含まれていた。精子の運動性および数、精子 (精上皮細胞の高さの減少)、精巣上体 (上皮細胞の高さの減少および精子細胞の欠如あるいは減少)、ならびに輸精管の組織構造に可逆的な変化が認められた。精子細胞の頭部、中片部および尾部に損傷 (deflagellation) を含む異常が認められた。精囊および前立腺に影響は認められなかった。妊孕性試験においては妊孕性の可逆的な消失が認められた。これらの試験におけるフッ化ナトリウムの LOAEL は 10 mg/kg b.w./d (約 4.52 mg F/kg b.w./d) であった (Chinoy and Sequeira 1992; Chinoy and Sequeira 1989)。

0、5 または 10 mg/kg b.w. のフッ化ナトリウムをラットに 30 日間経口投与した。精子の運動性および数の減少を伴う妊孕性の障害が両投与群で認められた。精巣のコハク酸脱水素酵素は両投与群で低下した。精巣上体頭部および尾部の ATP-ase 濃度およびシアル酸濃度は、投与群の動物で低下した。10 mg/kg 群で、腹側前立腺の酸性ホスファターゼおよびタンパクが増加した。この研究におけるフッ化ナトリウムの LOAEL は 5 mg/kg b.w. (約 2.26 mg F/kg b.w.) であった (Chinoy *et al.* 1991)。

フッ化ナトリウムの 0、20 および 40 mg/kg b.w./d をウサギに 30 日間混餌投与し、その後無処置の雌と交配した。サテライト群として、フッ化ナトリウムの 40 mg/kg b.w./d を 30 日間投与し、その後 1 ヶ月間は薬物投与しなかった。30 日間投与後、全ての投与群で体重が減少した。妊孕性の完全な消失が 40 mg/kg 群で、また 20 mg/kg 群では 70% の低下が認められた。これらは、両投与群ともに精子の数および運動性の減少を伴っていた。精液の ATP-ase、コハク酸脱水素酵素、総タンパク Na^+ および K^+ 濃度の減少が両投与群で認められた。回復期間後もこれらのパラメーターは正常値に戻らなかった。この研究における LOAEL は 20 mg/kg b.w./d (約 9.05 mg F/kg b.w./d) であった (Chinoy *et al.* 1992)。

Araibi *et al.* (1989) は、フッ化物 (フッ化ナトリウムとして) の 0、100 および 200 mg/kg の濃度の飼料を雄ラットに 60 日間投与した。血清テストステロン濃度、精巣組織学的検査および雄

の妊孕性について試験の最後に調べた。精細管周囲膜の肥厚および精子管中の精子数の有意な減少が 200 mg/kg 群で見られ、また精細管の平均直径は両投与群共に減少した。最高投与群では妊娠雌数の減少および新生児数の減少が認められ、また同腹児数の減少傾向が両投与群で認められた。200 mg/kg 群では血清テストステロン濃度が減少した。著者は、飼料中のフッ化物濃度を遊離フッ素イオンとして測定したのか、フッ化ナトリウムとして測定したのかについて明らかにしていない。投与量が F を指すと仮定すると、この研究における LOAEL は 100 mg F/kg 飼料 (約 5 mg F/kg b.w./d) と考えられる。この研究の報告は不十分であり、対照飼料のフッ素濃度は記載されていない。

Shusheela and Kumar (1991) は、0 または 10 mg/kg b.w./d のフッ化ナトリウムを雄ウサギに 18 または 29 ヶ月間投与した。18 ヶ月後に各群 7 例を、また 29 ヶ月後に残り 3 例の動物を屠殺した。精巣、精巣上部頭部および輸精管について光学顕微鏡および電子顕微鏡で調べた。29 ヶ月後には、精細管の精原細胞は損傷・変性し、精子が全く無かった。18 ヶ月後および 29 ヶ月後の精巣上部および輸精管では上皮層細胞に対する作用が認められた。対照飼料のフッ素含有量は記載されていなかった。18 ヶ月 (7 例の動物) までは何の作用も認められず、18 から 29 ヶ月 (3 例の動物で測定) の間に精子形成が停止したとは考え難い。使用動物数が少ないことと変化の時間的パターンから、この所見には信頼性を付与できない。

上記繁殖能試験を踏まえて、US-FDA はフッ化ナトリウムの精巣内投与による作用を調べた (Sprando *et al.* 1996)。試験計画は適切であった。生理食塩液に溶解したフッ化ナトリウム (0、50、175 または 250 mg/L [訳注：原典では ppm と表記され、評価書原文の $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ は誤記載と思われる]) を左側精巣内に単回投与 (50 μL) した。この濃度は、精巣当り 0、0.71、3.1 および 3.53 mg F/g に相当する。右側精巣は無処置対照とした。投与後 24 時間、1、2 および 3 週目に組織を採取した。飼料中フッ化物含量のデータの記載は無かった。著者によれば、最高用量でのフッ化物の曝露は、通常状態の 100 倍以上であった。

観察には、精巣および精巣上部重量、間質組織、精細管、セルトリ細胞、生殖細胞、精子形成および減数分裂の多様な形態学的側面を含んでいた。観察された作用としては機械的損傷および偶発的な白血球浸潤が見られただけであり、これらはフッ化物曝露によるものではなく、投与そのものによる作用であった。精巣の形態および精子形成に対するその他の作用は認められなかった。この試験は、フッ化物の精巣組織への直接投与は、精巣の形態や精子の質に顕著な

作用を及ぼさないことを示唆しているが、試験結果からフッ化ナトリウムを経口摂取した場合の安全性の解釈はできない。なぜなら精巣への直接投与から経口投与の外挿は不可能だからである。

世代試験

2 世代試験においては、フッ化ナトリウムの 0、50、100 あるいは 200 mg F/L を雌マウスに飲水投与し無処理の雄と交配した。対照飼料には 0.1~0.3 mg F/kg が含まれていた。対照群では、連続する同腹で同腹児数の累進的減少が両世代で認められた。最高用量群では曝露 6 週目までに雌の 50% が死亡し、17 週目までには全ての雌が死亡した。100 mg/L 群では、10 週間で 9 つの同腹児が生まれたのみであった。試験は限定的な計画で実施されたが、フッ化物無添加飲料水で低フッ化物含有の対照飼料よりも、50 mg F/L (約 7.5 mg F/kg b.w./d) の方が生殖能力を維持するのに適していることが示唆された (Messer *et al.* 1973)。

3 世代試験においては、第 1 世代の雌マウスに 0 および 2 mg F/kg の飼料 (フッ化ナトリウムとして 0 および 0.3 mg F/kg b.w./d) を摂餌投与し、無処理の雄と交配した。第 2、第 3 世代の雌には、0、2 および 100 mg F/kg の飼料を摂餌投与した。対照飼料のフッ化物含有量は 0.5 mg F/kg 以下であった。関連する観察としては、発育、生殖反応、同腹児数、児の体重、死産の頻度が含まれていた。生殖に関して薬物に関連した作用は認められなかった。フッ化物の生殖毒性に関しては、本研究のプロトコールは不完全と考えられ、腎感染症の発生が本試験の感受性を妨げた可能性がある。従って、この試験は全体的な評価には考慮されない (Tao and Suttie 1976)。

Aulerich *et al.* (1987) はフッ化ナトリウムとして 0、33、60、108、194 または 350 mg/kg F/kg (0、8、15、27、5 また 90 mg F/kg b.w. に相当) を添加した飼料を、1 群 6 例の雌雄ミンクに 4.5 ヶ月~1 年間摂餌投与した。4.5 ヶ月後に各群 5 例の雄を屠殺し、高用量群動物の頭蓋骨の脆弱性について調べた。更に 3.5 ヶ月後に、雌はそれぞれの用量群の雄と交配した。対照群と低用量群の妊娠率はそれぞれ 80% および 50% であったが、他の投与群の妊娠率は 100% であった。平均同腹児数、出生時の児の平均体重および発育に関して、薬物に関連する影響は認められなかったが、分娩後 6 ヶ月目に高用量群で児の生存性の低下 (14% まで低下) が認められた。雌動物は 382 日目まで飼育したが、高用量群ではその後に 1 例の雌が生存しただけであった。他の投与群の生存性については、フッ化物曝露の影響は認められなかった。高用量群の多数の

雌に矢状稜の肥大あるいは変形が認められた。108 mg/kg 群で血清アルカリフォスファターゼが増加し、194 mg/kg 群では著しい増加が認められた。(350 mg/kg 群の生き残った 1 例の雌でもアルカリフォスファターゼの増加が認められた)。尿中フッ化物は全ての投与群で増加し、骨のフッ化物は 60 mg/kg 以上で増加した(両パラメーター共に用量依存性が認められた)。194 および 350 mg/kg 群の児に、歯の斑点形成、犬歯の崩壊および顎骨腫が認められた (Aulerich *et al.* 1987)。全体的な NOAEL を導出するには本試験は不完全であると考えられた。

US-FDA はフッ化ナトリウムの飲水投与によるラット 2 世代試験を実施している。この試験の結果は 4 つの異なる論文で公表されており、うち 2 つについては Collins *et al.* (2001a, 2001b) によりこの種の試験の従来の評価項目に着目しており、残り 2 つについては Sprando *et al.* (1997, 1998) によりこの 2 世代試験で使用した雄の生殖器官の機能の特別調査結果に着目している。これら 4 つの論文について以下に年代順に論ずる。

ラット 2 世代試験では、フッ化ナトリウムを 0 (<0.2)、25、100、175 および 250 mg/L の濃度で飲水投与した (Sprando *et al.*, 1997)。報告された成熟 P0 雄の平均体重と 1 日当りの飲水量 50 mL から換算すると、これらの濃度は 0、1.1、4.4、7.5 および 10 mg F/kg b.w./d に相当する。飼料中のフッ化物濃度は 7.95 mg F/kg (0.4 mg/kg b.w./d に相当) であった。22 日齢の P0 雌雄ラット (Sprague-Dawley ラット、12 例/性/群) にフッ化物を 14 週間投与し (交配前 10 週間、交配期間 3 週間、交配後 1 週間)、妊娠雌には授乳期間終了まで投与した。F1 世代は親と同じ投与群中に残置した。F1 動物は、妊娠期間中は子宮内で、保育期間中は授乳を介して、また離乳後は約 14 週間飲水を介して F を投与された。雄ラット (P0 および F1) は以下のパラメーターについてモニターした：精巣重量および組織学的検査 (ライディッヒ細胞の形態、間質細胞集団の構成、精細管の形態、セルトリ細胞の形態、精子細胞の成長)、均質化耐性精子細胞数、精子生成および生成率 (精巣組織のグラム当り)、二次生殖器官重量、血清 LH、FSH およびテストステロン濃度、体重、肝臓、脾臓および副腎重量。投与群と対照群あるいは P0 と F1 の間で、各種臓器重量に統計学的な差異が単発的に認められた。これらの差異は投与に関連したものではなく、また毒性に関連した作用を示すものでもなかった。精巣の組織学的検査でも異常は認められなかった。この試験において、雄の生殖器官および生殖細胞に対するフッ化ナトリウムの NOAEL は 250 mg/L であり、これは 10 mg F/kg b.w./d に相当する。

追加論文 (Sprando *et al.*, 1998) では、F1 雄 (5 例/群) の精巣組織の電子顕微鏡による形態計測

の分析結果について記載している。動物は上記と同じ実験から得たものである。

フッ化ナトリウム投与の 0、25、100、175 および 250 mg/L 群における精巣全容積に占める精細管の割合は、それぞれ 89%、87%、88%、88% および 88% であり、また、間質腔の占める割合は 9.3%、11.2%、10.2%、9.8% および 9.9% であった。精細管の絶対容積、間質腔、ライディッシュ細胞、血管境界層、リンパ液スペース、マクロファージ、管腔あるいは管の絶対長および絶対表面積、管横断面当りのセルトリ細胞の核小体数、細精管の平均直径、精上皮の平均高に関して、対照群とフッ化ナトリウム投与群との間に統計学的な有意差は認められなかった。フッ化ナトリウム 175 および 250 ppm 投与群ではリンパ性内皮の絶対体積およびその割合が、また 100 ppm 群では精巣嚢が、それぞれ統計学的に有意な減少が認められた。この所見の意義については、現時点では明らかになっていない。全体として、本実験で使用された用量のフッ化ナトリウム曝露から得られた定量的情報からは、ラットの精巣構造あるいは精子形成に悪影響を及ぼさないことが示唆された。

交配プロトコールおよび処理は OECD 416 ガイドラインに従い、GLP 基準で実施されたランダム化デザインによる 2 世代試験が、Collins *et al.* (2001a) により報告された。P 世代として雌雄各 48 例のラット (CD CRL:CD-BR 系) にフッ化ナトリウムの 0 (<0.2 mg F/L)、25、100、175 または 250 mg/L を飲水投与した。動物は低フッ化物含有飼料 (7.95 mg F/kg) で飼育した。

P 動物は交配前 10 週間投与し、その後同一投与群内で交配 (1:1) し、膣栓の存在または連続する 3 週間で妊娠が確認されるまで交配を続けた。交配終了後、P 雄動物は雄の生殖器系への影響を調べるフォローアップ試験を行った (Sprando *et al.* (1997, 1998) を参照)。妊娠 20 日目に各群 8 例の雌を屠殺した。これらの母動物および胎児は別の試験として検査した (Collins *et al.* 2001b)。残りの母動物は分娩させた。出生後 4 日目に各群の児が 10 例になるようランダム化法により間引いた。F1 動物はそれぞれの投与群内で保育し、出生後 21 日目に雌雄各 36 例の F1 動物をランダムに選抜し飼育を継続した。これら F1 動物は更に 10 週間飼育した後、P 動物と同じ方法で交配した。妊娠 20 日目に F1 雌は屠殺し、母動物、受胎能力および胎児について検査した。

以下の観察を行った：

- ・ 摂餌量および摂水量、臨床症状、F1 動物の成長および発達

- ・病理：各群 10 例の雌雄動物（P、F1 離乳児、F1 成熟動物）について肉眼的病変、14 組織（雄の生殖器官および卵巣）の臓器重量、全ての動物の 41 組織の病理組織学的検査、さらに対照群および最高用量群での追加 17 組織の病理組織学的検査
- ・生殖能力：妊娠日数、同腹児数、ならびに交配、妊娠、受胎および生存児の生存に関する各種指数。なお、胚／胎児毒性に関する指標および胎児の成長（骨格および内臓）に対する影響については別報で報告されている（Collins *et al.* 2001b）。

投与量に関連した臨床症状の作用は認められなかった。交配前の 10 週間間に、最高用量群の P 雄動物の摂餌量が対照群に比べて統計学的に有意に減少した。F1 雌動物の摂餌量に負の用量相関傾向が観察されたが、統計学的な有意性はなかった。同一期間において、P および F1 雌雄動物の摂水量が対照群に比べて少なく、味の低下による飲料水の減少が起きた可能性がある。P 雌雄動物は体重増加に負の用量相関傾向が認められたが、250 mg/L 群の雄の体重増加の減少だけが統計学的有意であった。F1 動物には体重の影響は認められなかった。検討した全ての臓器で、絶対および相対臓器重量に影響はなかった。

フッ化ナトリウムの 100、175 および 250 mg/L 群の F1 雌雄動物で、歯の軽度の白化現象が用量相関的かつ統計学的有意に認められたが、25 mg/mL 群では認められなかった。歯の着色および斑点形成は認められなかった。250 mg/L 群で、P および F1 の全成熟雌雄動物、ならびに F1 離乳児のうち 8 例の雌および 10 例の雄に顕著な成長線（象牙質およびエナメル質の好塩基性ライン）の発達が認められた。同一投与群で、歯髓腔における象牙質の沈着が雌雄各 1 例の P 動物と 4 例の F1 雄に認められた。前胃の限局隆起部の角化亢進が、100 mg/L 群の P 動物の 1 例の雄および 3 例の雌に、175 mg/L 群の 1 例の P 雄に、250 mg/L 群の 1 例の P 雄に、ならびに 250 mg/L 群の F1 動物の雌雄各 2 例に認められた

生殖能力および児の生存性に関する以下の指標には何の影響も認められなかった：交配率、妊娠率、交配期間、および F1 については、着床数、同腹児数、1 腹当りの死産児数、児の生存性および授乳率。また、矮小児は対照群および投与群にランダムに存在していた。

発生毒性を調べるために、各群 8 例の妊娠 P 動物を屠殺し、胎児について肉眼的検査をした（Collins *et al.* 2001b）。各投与群 29～34 例の妊娠 F1 動物を屠殺し、胎児の骨格異常および内臓異常について広範囲に調べた。

8例のP母動物にもF1母動物にも妊娠期間中に毒性症状は認められなかった。100 mg/L以上の群のP母動物とF1母動物で、平均摂水量の減少が認められ、250 mg/L群のP母動物および175および250 mg/L群のF1母動物では統計学的有意が認められた。全ての投与群の両世代において摂餌量の減少が認められたが、用量反応関係はなかった。妊娠期間中の体重増加あるいは妊娠子宮重量に用量反応関係は認められなかった。

PおよびF1世代共に、雌の生殖能力パラメータ、あるいは胚毒性や胎児毒性を示すパラメータに影響は認められなかった。胎児体重および体長に変化はなかった。両世代の児の肉眼的な外部奇形は認められなかった。

骨格異常の検査において、F1母動物の児について胸骨変異は認められなかった。250 mg/L群で、舌骨の骨化の遅延の増加が全児数を基準とした解析では認められたが、同腹児数を基準とした解析では認められなかった。他の骨格要素のいずれにおいても、フッ化ナトリウム投与による骨化遅延の兆候は認められなかった。不可逆性の構造的変化は、骨格でも軟組織でも認められなかった。

この研究 (Collins *et al.* 2001a, 2001b) から、ラットに最高 250 mg/L までのフッ化ナトリウムを飲水投与しても、生殖能力には影響がないと結論できる。P および F1 動物の用量レベル (mg/kg b.w./d で表示) はほぼ等しく、摂水量および体重を基準に換算すると、250 mg/L は雄では 10.7 mg F/kg b.w./d、非妊娠雌では 12.5 mg F/kg b.w./d に相当する。この研究における発生毒性の NOAEL は、フッ化ナトリウム 250 mg/L の飲水投与であり、それは P 世代では 11.7 mg F/kg b.w./d、F1 世代では 12.7 mg F/kg b.w./d に相当する (妊娠期間を代表する用量レベル)。

胚、胎児および発生毒性

フッ化物の各種の塩の投与による動態と毒性に関するより詳細な研究の一部として、妊娠ラットにフッ化ナトリウムの0、51、124および200 mg/kgの飼料 (0、1.13、2.74および4.41 mg F/kg b.w./dに相当) を妊娠1~20日目に摂餌投与した。同腹当りの生存胎児数、胎児体重、胎盤重量および吸収胚を含む生殖に関連する観察を行った。作用は全く認められなかった。この試験では胎児に関して適切な検査がされてないので、フッ化物の生殖毒性評価に関しては不十分であ

る (Theuner *et al* 1971)。

別の研究で、妊娠ラット (20例/群) にフッ化ナトリウムの0または30 mg/L (約0または3.36 mg F/kg b.w./dに相当) を妊娠6~15日に投与し、妊娠20日目に屠殺した。30、40および50 mg/Lを投与した予備試験において、30 mg/Lでは母動物毒性が認められなかったことが報告されている。観察には、母動物体重、胎児生存性の確認、性、肉眼的な奇形、吸収胚、黄体、胎児の病理組織学的検査および骨格奇形が含まれていた。先天性奇形 (あざ、胸骨および頭蓋骨の骨化欠損) および矮小児の増加が認められた。組織学的検査では正常であることが報告されたが、技術および組織についての詳細については記載がなかった。この試験におけるLOAELは30 mg/L (約3.36 mg F/kg b.w./d) とされた (Larez *et al* 1980)。この研究報告は不適切であり、また母動物毒性が間接的な方法で測定されていた (予備試験で母動物体重に変化がなかったとしている)。また「あざ (斑状出血)」という用語で示された作用との関連性は評価できない。

Collins *et al.* (1995) はフッ化ナトリウムのラット経口発生毒性について、OECD 414ガイドラインと同様の試験方法で検討した。フッ化ナトリウムを0、10、25、100、175および250 mg/Lの濃度で含有する飲料水 (超純水) を妊娠期間中毎日飲水投与した。1群33~37例の雌を無処理の雄と交配させた。実質的な投与量は、0、0.63、1.76、7.06、11.12および11.35 mg F/kg b.w./dであった。全ての動物は7.95 mg F/kgを含む低フッ化物飼料で飼育し、結果として約0.6 F mg/kg b.w./dを追加摂取したことになった。

観察には、母動物毒性 (行動および歯の斑点を含む臨床症状、摂餌量、摂水量、体重) および胎児の毒性 (生存および死亡胎児数、着床数、吸収杯数、黄体数、性、体重、外部検査、骨格奇形および軟組織異常) が含まれていた。

母動物に毒性臨床症状は見られなかったが、最も高い2つの用量で摂水量の減少が、また最高用量で摂餌量の減少が認められた。250 mg/Lの母動物で体重増加が抑制された。最高用量で、母動物当りの黄体数および着床数の僅かな減少が認められたが、これはフッ化物の作用ではなかった。胎児の成長の遅延の兆候は認められなかった。最高用量で骨格変異を有する胎児数の、限定的だが統計学的に有意な増加が認められた。作用の見られた同腹の数には有意な増加はなかった。従って、250 mg/Lまでの用量のフッ化物に起因する生殖および発生毒性についてはこの研究では明らかにならなかった。なお、この用量で母動物毒性が観察された。この研究にお

いて、母動物毒性および発生毒性のNOAELは11.12 mg F/kg b.w./dである (Collins *et al.* 1995)。

NTPによる別の研究では、OECD 414ガイドラインと同様、フッ化ナトリウムをウサギとラットに飲水投与した。

1群26例の雌ラットに脱イオン水に溶解したフッ化ナトリウムの0 (≤ 0.6)、50、150または300 mg/Lを妊娠6～15日に飲水投与した。飼料は約12.4 mg/kg (平均値)のフッ化物を含有していた。飲水摂取しフッ化物の実質量は ≤ 0.3 、3.0、8.4および12.3 mg F/kg b.w./dであった。飼料中のフッ化物は、結果として1.0 mg F/kg b.w./dの追加曝露となった。最高用量は、フッ化ナトリウム溶液の味の低下に起因する摂水量減少による脱水作用を回避しつつ、母動物にいくらかの毒性が発現することを目的とした。観察には、母体毒性 (臨床症状、体重増加、摂水量、摂餌量、肝臓および腎臓重量) および児に対する毒性 (同腹児数、黄体、着床、吸収胚、後期死亡、生存胎児、胎児体重、性比、ならびに外部、骨格および軟組織異常) が含まれていた。

母動物に対する唯一有意な作用は、高用量群の投与期間中における摂水量の減少であった。胚、胎児あるいは発生に対する毒性の兆候は認められなかった。従って、この研究における胎児発生毒性のNOAELは最高用量の12.3 mg F/kg b.w./dに等しい (Heindel *et al.* 1996)。

同一研究の報告書 (Heindel *et al.* 1996) では、1群26例のウサギにフッ化ナトリウムの0 (≤ 0.6)、100、200または400 mg/Lを妊娠6～19日の間飲水投与した結果が記載されている。飲料水による曝露は ≤ 0.1 、4.7、8.2および13.2 mg F/kg b.w./dであり、飼料による曝露の0.8 mg F/kg b.w./dが合計のフッ化物摂取量に加わる。ラットと同様観察には、母体毒性 (臨床症状、体重増加、摂水量、摂餌量、肝臓および腎臓重量) および児に対する毒性 (同腹児数、黄体、着床、吸収胚、後期死亡、生存胎児、胎児体重、性比、ならびに外部、骨格および軟組織異常) が含まれていた。最高用量の母動物で、投与期間中の摂水量の減少および妊娠6～8日目で摂餌量の減少があり、その結果これらの日々の間は体重が可逆的に減少した。他の母体毒性は認められなかった。子宮および児の検査では、胚、胎児あるいは発生に対する毒性の兆候は認められなかった。そのため、この研究における生殖毒性のNOAELは最高用量の13.2 mg F/kg b.w./dである。

抄録のみが報告されている予備的な試験において、フッ化ナトリウムの0または15 mg/kg (約0または6.79 mg F/kg b.w.)をラットの妊娠7～14日または14～20日に腹腔内投与し、その結

果、骨格異常および胸骨分節の化骨遅延と第 14 肋骨増加を伴う胸椎が認められた。これらの異常は主として 14～20 日投与の群で認められた。母体毒性は認められなかった。適切な評価のためには報告書全体が必要である (Horvath 1989)。

フッ化ナトリウムを妊娠ラットの妊娠 10～18 日に腹腔内あるいは皮下投与した。、多少の用量関係が、胎盤壊死および死亡胎児の増加に認められた。最小用量 (1 mg/kg b.w./d : 0.45 mg F/kg b.w./d に相当) でもこの作用は発現し、これはフッ化ナトリウムの皮下投与よりも腹腔内投与の方が顕著であった。最大 9 mg F/kg b.w./d の用量までは顎顔面の奇形は認められなかった。他の作用については検討されなかった (Deveto *et al.* 1972)。

Collins *et al.* (2001a, 2001b ; 世代試験の項を参照) による 2 世代試験より、飲料水中のフッ化ナトリウム 250 mg/L (試験した最高用量) が、発生毒性の NOAEL として誘導される。

ヒトでのデータ

飲料水中のフッ化物によるヒトの生殖能力への影響に関する研究は、飲料水中のフッ化物濃度の増加に伴い総出生率 (1,000 人の女性当りの出生数で算出) が低下することが示された (Freni 1994)。しかしながら、この疫学的研究は人口レベルで実施されており、フッ化物曝露と出生率低下の因果関係については示されなかった。フッ化物摂取と生物学的現象の関係には、考慮されていない非常に多くの交絡因子が関与している可能性がある。この研究から NOAEL を導くのは不適切である。

結論

フッ化水素に関して、生殖、発生あるいは胚／胎児に対する毒性に関する特定のデータは報告されていない。しかしながら、これらの作用は全身的であり、似たような動態および動力学を示すことから、フッ化ナトリウムのデータはフッ化水素の生殖毒性を洞察するのに使うことができる。フッ化物の生殖毒性に関するヒトのデータは確定的ではない。反復投与毒性および生殖毒性試験から入手可能な情報は、フッ化物曝露に関連した女性の生殖の危険性を示していない。いくつかの研究において、フッ化物の経口曝露は精巣組織を損傷し雄の妊孕性を低下させる可能性を示している。これらの作用の LOAEL は 2.26 mg F/kg b.w./d であった。F (フッ化ナ

トリウムとして) を直接ラット精巣に投与した研究では、薬物に関連した作用は認められなかった。最近実施された高品質の 2 世代試験 (US-FDA) では、雄の生殖器官に対する作用に特に焦点を当てているが、フッ化ナトリウムの 250 mg/L (約 10 mg F/kg b.w./d に相当) の曝露では精巣に対する影響は認められなかった。

利用可能な長期試験の結果、精巣内投与後の精巣に対する F の作用を調べる試験および US-FDA による 2 世代試験の結果は、F が精巣組織を損傷する可能性を否定するものである。

全体的な NOAEL/LOAEL を確立するためには、以下の留意事項を考慮する。

- ・生殖能力に対する作用が報告されている全ての動物試験において、NOAEL は見いだせなかった。これはある未知の混入物の結果である可能性が排除できない。
- ・これらの研究では、用量レベルは一般にバックランドの曝露より低いが、飼料や飲料水の濃度は明確には決定されていない。従って、結果との関連性は非常に疑わしい。
- ・これらの研究は、試験デザインおよび技術的実現が非常に限定されており、US-FDA で実施された試験に比べると質的に劣っており、それゆえ証拠としての重要性はかなり低い。それとは対照的に、US-FDA 試験は最新の基準に従って技術的にも良好に実施されており、最高限度用量が用いられ、バックランドのフッ化物曝露も十分に記載されている。
- ・皮膚刺激性試験 (Derelanko *et al.* 1985) において、精巣重量の減少 (40%) が、2% のフッ化水素 (約 40 mg/kg b.w.) を閉塞下で 4 時間曝露後 (観察時間: 曝露後 96 時間) に認められたが顕微鏡検査による有意な変化はなかった。一方、皮膚障害はフッ化水素の 0.01 % (0.2 mg/kg b.w.) で既に認められた。
- ・フッ化水素のラット 90 日間吸入毒性試験において、最高曝露用量 (7.52 mg/m³) までは生殖器官に対して特異的な作用は認められなかった。なおこの用量は、全身曝露用量の約 0.856 mg F/kg b.w./d に相当する⁸。
- ・NTP (1990) によるラットおよびマウスを用いたフッ化ナトリウムの飲水投与による発がん

性試験では、生殖器官の重量は計測していない。しかしながら、病理組織学的検査において精巣および卵巣には影響が認められなかった。マウスを用いたフッ化ナトリウムの摂餌投与発がん性試験 (Maurer *et al.* 1993) では、生殖器官の臓器重量に変化はなかったが、病理組織学的検査データは得られなかった。ラットを用いた同一の試験 (Maurer *et al.* 1990) では、生殖器官の臓器重量の変化も組織学的変化も認められなかった (4.1.2.8 参照)。これらの研究のいずれにおいても、精子特性が評価されたことは記述されていない。

結果として、US-FDA による 2 世代試験 (250 mg NaF/L: 約 10 mg F/kg b.w./d に相当) での NOAEL は、生殖能力に対する作用の NOAEL として用いられる。

胚毒性および発生毒性に関する利用可能な研究ではいくつかの胚毒性が観察された。OECD 414 ガイドラインに類似した 3 つの試験からは、フッ化ナトリウムの母体毒性および発生に対する作用の NOAEL は 11.12 mg F/kg b.w./d であることが確立され、更に OECD 416 ガイドラインに準拠した 2 世代試験で確認された。この 2 世代試験において、観察された母体毒性は、あるとしても軽度の歯の白色化、および象牙質およびエナメル質構造の変化、次いで上部消化管の角質化亢進に限定された。

⁸ 以下のように算出した： $0.856 \text{ mg/kg bw/d} = \text{Cair} \cdot t / 24 \cdot d / 7 \cdot \text{Rr} / \text{bw}$ 、 $\text{Cair} = 7.52 \text{ mg/m}^3$ 、 $t =$ 暴露時間/日、 $d =$ 曝露日数/週、 $\text{Rr} =$ 呼吸速度 $= 0.223 \text{ m}^3/\text{d}$ 、 $\text{bw} =$ 体重 $= 0.35 \text{ kg}$

なお、この計算は吸入のバイオアベイラビリティが 100% と仮定している。