

5-フッ化プロパノール (2,2,3,3,3-pentafluoro-1-propanol, 5FP) のラットを用いた経口投与による催奇形性試験

宇佐見 誠[#]・酒見和枝・紅林秀雄・大野泰雄

Teratogenicity study of 2,2,3,3,3-pentafluoro-1-propanol (5FP) in rats by oral administration

Makoto Usami[#], Kazue Sakemi, Hideo Kurebayashi, Yasuo Ohno

Teratogenicity of 2,2,3,3,3-pentafluoro-1-propanol (5FP), an alternative cleaning agent for chlorofluorocarbon, was examined in rats. 5FP was diluted with sesame oil and given to pregnant rats (Crj: Wistar) by gavage once a day from day 7 to 17 of pregnancy at doses of 0, 250, 500 and 1000 mg/kg/day. The pregnant rats were sacrificed on day 20 of pregnancy and their fetuses were examined for malformation. In the pregnant rats, 5FP caused wheezing, salivation, ptosis, reduced body weight gain and reduced food consumption at 500 and 1000 mg/kg/day. In the fetuses, 5FP reduced body weight, increased the incidences of skeletal variations and retarded the ossification at 1000 mg/kg/day, but did not increase the incidences of malformations. It was concluded from these results that 5FP has no teratogenicity in rats when given by gavage. The no-observed-adverse-effect level was 500 mg/kg/day for rat fetuses, and 250 mg/kg/day for pregnant rats.

Keywords: 2,2,3,3,3-pentafluoro-1-propanol, cleaning agent, Wistar rat, teratogenicity

緒言

5-フッ化プロパノール (2,2,3,3,3-pentafluoro-1-propanol, 5FP) は、電子部品等の精密洗浄に使用される特定フロンであるCFC-113の代替物質のひとつとして有望視される洗浄液である¹⁾。含フッ素アルコール系化合物である5FPは、塩素を含まないので、フロンとは異なり成層圏オゾン層を破壊しないと考えられている。また、不燃性であること、沸点が80℃と高いため揮発ロスが少なく回収しやすいこと等の利点を持つ。しかし、ABS樹脂およびポリカーボネイト樹脂を溶解すること等の欠点、並びに安全性の確認等、広く使用されるための問題が残されている。本試験では、5FPの安全性評価の一環として、催奇形性についてラットを用いて調べた。

材料および方法

1. 被験物質

5FPはダイキン工業株式会社より入手した。性状は無色透明の液体で、添付資料による純度は99.3%であった。

5FPのCAS登録番号は422-05-9で、分子量は150.0である。

2. 試験系

ウイスター系ラット (日本チャールスリバー, Crj: Wistar) の雌 (9週齢) および雄 (11週齢) を用いた。未経産の雌を雄と終夜同居させ、翌朝産卵中に精子が認められたものを妊娠ラットとして試験に供し、解剖順に各群20匹目までの妊娠が確認された動物のデータを試験成績として用いた。妊娠日の起算は精子確認日を妊娠0日とした。

3. 飼育条件

妊娠動物は、試験期間をとおしてアルミ製ケージで個別飼いし、固形飼料 (オリエンル酵母, MF) および水道水を自由に摂取させた。動物飼育室内の環境は、温度25±2℃, 相対湿度55±5%, 換気回数15回/時間, 明暗交代12時間 (明期6:00~18:00) とした。

4. 用量および群構成

5FP投与群として250, 500 および 1000 mg/kg/day の3用量を設定し、対照群を加えて計4群とした。1群の動物数は25匹とした。

5. 投与方法

ゴマ油 (日本薬局方, 宮澤薬品, ロット番号: JG30) で希釈した被験物質を、妊娠7日の体重に基づいて妊娠7~

[#] To whom correspondence should be addressed:

Makoto Usami; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-1141 ext. 342; Fax: 03-3707-6950; E-mail: usami@nihs.go.jp

17日の11日間、1日1回、胃ゾンデを用いて妊娠ラットに強制経口投与した。被験物質溶液の濃度は、投与量がいずれの用量においても5 ml/kgとした。対照群にはゴマ油5 ml/kgを同様に経口投与した。

6. 観察方法

妊娠動物の一般状態、体重および餌重量を試験期間中毎日、観察または測定した。妊娠20日に妊娠動物を屠殺し、黄体数、着床数および胚・胎児死亡を調べた。生存胎児については、外表の異常および性別を調べ、体重および胎盤重量を測定した。各妊娠動物の約3分の2の生存胎児についてAlizarin red S染色骨格標本を作成し骨格を観察した²⁾。残り約3分の1の生存胎児については内部器官を観察した。内部器官の観察には、頭部および腹部については粗大切片法³⁾を、胸部については顕微解剖法⁴⁾を用いた。

7. 統計学的方法

妊娠動物または一腹を標本の単位とした。対照群と5FP投与群との差の有意性の検定には、度数データについてはFisher直接確立法を用いた。計量データについては、Bartlettの等分散検定により群間で分散に差がないことを調べた後、分散分析またはKruskal-Wallisの検定およびDunnnett法を用いた。群間で分散に差が認められた計量データおよび計数データについては、Kruskal-Wallisの検定およびDunnnett法を用いた。

結 果

1. 妊娠ラットに及ぼす影響

1.1. 一般状態

いずれの群にも死亡動物は認められなかった。対照群および250 mg群では一般状態の変化は認められなかったが、500および1000 mg群では投与期間中に喘鳴、流涎および眼瞼下垂が観察された (Table 1)。これらの症状は、500 mg群では12例に妊娠11日から17日まで、1000 mg群で

は全例に妊娠7日から17日まで認められた。500および1000 mgのいずれの投与群においても、流涎および眼瞼下垂は投与10分後から発現し、4時間後には消失する一過性の変化であった。

1.2. 体重および摂餌量

体重には、対照群と5FP投与群との間に有意差は認められなかったが、妊娠7日の体重を基準とする投与期間中の体重増加量には、500および1000 mg群において妊娠9、10および11日に対照群に比べて有意な減少が認められた (Table 2)。

摂餌量は、妊娠9日に500および1000 mg群において対照群に比べて有意な減少が認められた (Table 2)。

2. 胎児に及ぼす影響

2.1. 生存胎児数、性比、胎児体重および胚・胎児死亡
胎児体重が1000 mg群で対照群に比べて有意に減少した (Table 3)。黄体数、着床数、着床率、生存胎児数、性比および胚・胎児死亡率には、対照群と5FP投与群との間に有意差は認められなかった。

2.2. 胎児外表

各5FP投与群において2匹の胎児に奇形が認められたが、対照群と比較して発生率に有意な増加は認められなかった (Table 4)。

2.3. 胎児骨格

胎児骨格には奇形は認められなかった (Table 5)。骨格変異は、250および500 mg群では対照群と比較して有意な変化は認められなかったが、1000 mg群では骨格変異を有する胎児の総発生率が有意に増加した。腰肋を有する胎児の発生率が有意に増加したが、過剰肋骨を有する胎児の発生率には有意な変化はなかった。また、仙尾椎骨および中手骨の骨化核数が有意に減少し化骨遅延を起していることを示した。250 mg群における中手骨の骨化核数の有意な

Table 1. Clinical signs of pregnant rats treated with 5FP

	Dose (mg/kg/day)			
	0 (control)	250	500	1000
No. of rats	20	20	20	20
No. of dead rats	0	0	0	0
No. of rats with toxic signs ^a	0	0	16 (80%)**	20 (100%)**
Salivation	0	0	12 (60%)**	20 (100%)**
Ptosis	0	0	10 (50%)**	18 (90%)**
Wheezing	0	0	8 (40%)**	18 (90%)**

a, Incidence is shown in the parentheses. **, Significantly different from the control group (p<0.01).

Table 2. Body weight, body weight gain and food consumption of pregnant rats treated with 5FP

	Dose (mg/kg/day)			
	0 (control)	250	500	1000
Body Weight (g) ^a				
Day 0	268.9 ± 12.3	268.8 ± 13.0	266.8 ± 14.9	268.9 ± 14.2
Day 7	306.3 ± 15.2	307.0 ± 16.9	306.1 ± 16.2	306.0 ± 17.5
Day 12	331.1 ± 18.7	329.4 ± 18.2	326.4 ± 18.8	327.0 ± 19.1
Day 17	381.5 ± 23.8	380.5 ± 20.6	375.0 ± 22.9	376.2 ± 21.8
Day 20	433.4 ± 27.9	431.2 ± 23.0	428.3 ± 27.2	425.4 ± 23.8
Body weight gain during dosing period (g) ^a				
Days 7-9	8.2 ± 3.7	5.9 ± 2.8	1.0 ± 4.4**	0.7 ± 4.4**
Days 7-11	19.7 ± 6.1	17.7 ± 4.4	13.6 ± 4.9**	14.4 ± 7.1**
Days 7-13	31.4 ± 7.9	29.6 ± 4.9	26.6 ± 5.5	26.6 ± 7.8
Days 7-15	45.3 ± 9.4	44.1 ± 9.8	41.6 ± 7.3	44.4 ± 7.6
Days 7-17	75.2 ± 11.9	73.6 ± 8.6	69.0 ± 9.2	70.2 ± 9.2
Food consumption (g/day) ^a				
Days 0-1	20.5 ± 2.1	20.6 ± 2.9	20.7 ± 3.2	19.8 ± 2.9
Days 6-7	24.7 ± 2.8	24.7 ± 2.9	25.0 ± 2.6	25.5 ± 2.7
Days 8-9	21.7 ± 3.2	21.4 ± 2.6	18.3 ± 2.7**	17.0 ± 2.9**
Days 11-12	21.6 ± 3.8	24.1 ± 13.5	21.0 ± 3.0	19.8 ± 3.4
Days 16-17	24.5 ± 3.5	26.0 ± 9.5	23.3 ± 3.4	24.3 ± 3.7
Days 19-20	24.5 ± 3.7	24.3 ± 4.2	26.4 ± 2.9	28.1 ± 2.7

a, Mean ± S.D. is shown. **, Significantly different from the control group (p<0.01).

Table 3. Fetal growth in pregnant rats treated with 5FP

	Dose (mg/kg/day)			
	0 (control)	250	500	1000
No. of litters	20	20	20	20
No. of corpora lutea ^a	17.5 ± 1.2	17.1 ± 1.9	17.5 ± 1.6	17.6 ± 1.9
No. of implants. ^a	16.2 ± 1.6	16.4 ± 2.0	16.0 ± 2.6	16.6 ± 1.9
Implantation rate (%) ^a	92.7 ± 8.4	96.0 ± 6.3	91.8 ± 14.5	94.2 ± 5.4
No. of live fetuses ^a	15.5 ± 1.9	15.6 ± 2.1	14.8 ± 2.6	15.7 ± 2.0
Sex ratio (male/female)	1.13	1.06	1.09	1.00
Fetal weight (g) ^a				
Male	3.88 ± 0.18	3.83 ± 0.21	3.82 ± 0.22	3.40 ± 0.25**
Female	3.70 ± 0.16	3.64 ± 0.22	3.67 ± 0.18	3.22 ± 0.23**
No. of dead implants	14	16	23	17
Early death	13	16	23	16
Late death	1	0	0	1
Mortality (%) ^a	4.5 ± 4.5	4.9 ± 5.2	7.0 ± 7.5	5.1 ± 5.5

a, Mean ± S.D. is shown. **, Significantly different from the control group (p<0.01).

減少は、他の骨化核数および 500 mg 群においては有意な減少が認められないことから、被験物質投与によるものではない偶発的な変化と考えられる。

2.4. 胎児内部器官

対照群に、1匹の胎児に心血管系および肺分葉異常の奇形が認められた。また、いずれの群においても2～8匹の胎児に小奇形が認められたが、対照群と5FP投与群には発

生率に有意差は認められなかった (Table 6)。

考 察

本試験の結果から、5FPにはラットにおける経口投与では催奇形性は認められないと考えられる。5FPは妊娠動物に体重増加抑制、摂餌量減少、喘鳴、流涎および眼瞼下垂等の毒性徴候を起こす投与量においても、胎児の奇形発生

Table 4. External malformations in the fetuses from pregnant rats treated with 5FP

	Dose (mg/kg/day)			
	0 (control)	250	500	1000
No. of litters	20	20	20	20
No. of fetuses examined	309	312	296	314
No. of litters with malformed fetus ^a	0 (0.00%)	2 (10.0%)	1 (5.00%)	2(10.0%)
No. of fetuses with malformation ^b	0 (0.00%)	2 (0.61%)	2 (0.72%)	2(0.65%)
Omphalocele	0 (0.00%)	2 (0.61%)	0 (0.00%)	1(0.33%)
Anal atresia	0 (0.00%)	1 (0.32%)	1 (0.36%)	0(0.00%)
Anury	0 (0.00%)	1 (0.32%)	0 (0.00%)	1(0.33%)
Kinky tail	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	1(0.32%)
Vestigeal tail	0 (0.00%)	0 (0.00%)	2 (0.72%)	0(0.00%)

a, Incidence is shown in the parentheses. b, Total number and mean incidence are shown.

Table 5. Skeletal variations in the fetuses from pregnant rats treated with 5FP

	Dose (mg/kg/day)			
	0 (control)	250	500	1000
No. of litters	20	20	20	20
No. of fetuses examined	208	208	194	203
No. of fetuses with malformation ^a	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
No. of fetuses with variation ^a	32 (15.4%)	37 (17.8%)	30 (15.1%)	88 (43.3%)**
Hypoplastic supraoccipital	9 (4.81%)	6 (2.68%)	11 (6.02%)	23 (11.5%)
Cervical rib	1 (0.46%)	0 (0.00%)	1 (0.42%)	2 (1.06%)
Wavy rib	7 (3.74%)	1 (0.50%)	7 (3.79%)	18 (9.28%)
Deformed cervical vertebral arch	4 (2.34%)	1 (0.46%)	5 (2.63%)	4 (2.01%)
Deformed sternbrae	2 (1.17%)	5 (2.34%)	2 (0.92%)	6 (2.96%)
Deformed thoracic vertebral body	2 (1.01%)	2 (1.00%)	1 (0.56%)	7 (3.42%)
Lumbar rib	17 (7.81%)	22 (10.9%)	15 (7.62%)	54 (26.4%)**
Extra rib	2 (0.96%)	2 (0.92%)	0 (0.00%)	7 (3.51%)
Rudimentary rib	17 (7.35%)	21 (10.4%)	15 (7.62%)	52 (25.3%)**
No. of sacro-caudal vertebrae ^b	7.84 ± 0.38	7.75 ± 0.36	7.60 ± 0.48	7.13 ± 0.57**
No. of metacarpus ^b	7.22 ± 0.62	6.73 ± 0.51*	6.79 ± 0.73	6.38 ± 0.64**
No. of metatarsus ^b	7.99 ± 0.04	7.99 ± 0.04	7.98 ± 0.06	7.94 ± 0.20

a, Total number and mean incidence are shown. b, Mean ± S.D. is shown. *, Significantly different from the control group (p<0.05). **, Significantly different from the control group (p<0.01).

率を増加させなかった。また、胎児骨格検査において、腰肋の発生率の増加が認められたが、催奇形性の指標となりうると考えられている過剰肋骨⁵⁾の発生率には変化が認められないので、より高用量においても胎児奇形発生率が増加することはないと考えられる。

本試験条件下での5FPの妊娠ラットに対する無有害影響量は250 mg/kg/dayであると考えられる。これは、500および1000 mg 群では母動物に一般状態の変化、体重増加抑制および摂餌量減少等の毒性徴候が認められたが、250 mg 群では対照群と比較して有意な変化が認められないからである。

ラット胎児に対する無有害影響量は500 mg/kg/dayであると考えられる。これは、1000 mg 群では胎児に体重減少、骨格変異発生率の増加および化骨遅延等の毒性徴候が認められたが、250 および 500 mg 群では対照群と比較して被験物質投与による有意な変化が認められないからである。

文 献

- 1) 佐野・秋元・浦野・倉田・富永(編)：季刊化学総説 **11** フロンの環境化学と対策技術，学会出版センター，東京(1991)
- 2) Dawson, A. B.: *Stain Technol.*, **1**, 123 (1926)
- 3) Wilson, J. G.: in *Teratology principles and techniques* (eds. Wilson, J. G. and Warkany, J.) pp. 262, The University of Chicago Press, Chicago (1965)
- 4) 西村耕一：先天異常，**14**, 23 (1974)
- 5) 安田峯生，前田広由：先天異常，**13**, 25 (1973)

Tabl 6. Visceral malformations in the fetuses from pregnant rats treated with 5FP

	Dose (mg/kg/day)			
	0 (control)	250	500	1000
No. of litters	20	20	20	20
No. of fetuses examined	101	104	102	111
No. of litters with malformed fetus	2 (10.0%)	4 (20.0%)	3 (15.0%)	6 (30.0%)
No. of fetuses with malformation ^a	2 (2.00%)	5 (4.84%)	3 (3.50%)	8 (7.17%)
Thymic remnant in neck	1 (1.00%)	3 (2.84%)	3 (3.50%)	5 (4.34%)
Abnormal heart and great vessels	1 (1.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
Abnormal lung lobulation	1 (1.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
Dilatated renal pelvis	0 (0.00%)	1 (1.00%)	1 (1.00%)	2 (1.84%)
Left-sided umbilical artery	0 (0.00%)	1 (1.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)

a, Total number and mean incidence are shown.