

最終報告書

APFHx のラットを用いた 7 日間反復経口投与予備毒性試験

(試験番号 : B060991)

2006 年 10 月 25 日

株式会社三菱化学安全科学研究所

1. 目次

1. 目次	2
2. 表題	3
3. 試験責任者署名	6
4. 要約	7
5. 材料および方法	8
5.1 被験物質	8
5.2 媒体	8
5.3 試験動物	8
5.4 動物飼育	10
5.5 投与	12
5.6 投与液の調製	13
5.7 群構成	13
5.8 観察・測定項目	14
5.9 統計学的解析	14
5.10 コンピュータシステムの使用	15
6. 結果	16
6.1 一般状態	16
6.2 体重	16
6.3 器官重量	16
6.4 病理解剖検査	16
7. 考察および結論	16
Table 1 Clinical Sign - Summary	17
Table 2 Body Weight	18
Table 3 Organ Weight	19
Table 4 Relative Organ Weight	20
Table 5 Necropsy Findings	21
Appendix 1 Clinical Sign	22

最終頁： 25

2. 試験実施概要

2.1 表題

APFHx のラットを用いた 7 日間反復経口投与予備毒性試験

2.2 試験番号

B060991

2.3 試験目的

APFHx をラットに 7 日間毎日反復経口投与した後に肝臓重量を測定し, 今後行われるトキシコゲノミクス試験の用量設定の参考にする.

2.4 適用ガイドライン

なし

2.5 適用 GLP

なし

2.6 試験委託者

ダイキン工業株式会社

大阪府摂津市西一津屋 1-1

2.7 試験受託者

株式会社三菱化学安全科学研究所

東京都港区芝二丁目 1 番 30 号

2.8 試験施設

株式会社三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所

茨城県神栖市砂山 14 番地

2.9 試験責任者

株式会社三菱化学安全科学研究所
鹿島研究所 毒性第1研究部

2.10 試験従事者

(動物入荷, 検疫, 馴化, 群分け, 個体識別)

(投与液調製)

(投与)

(一般状態観察, 体重測定)

(器官重量測定, 剖検)

2.11 試験日程

試験開始	2006年7月4日
動物入荷	2006年7月5日
投与開始	2006年7月12日
解剖	2006年7月19日
試験終了	2006年10月25日

2.12 保存

次項に示す試験関係資料を鹿島研究所の資料保存室に保存する。保存期間はトキシコゲノミクス試験 (B060900) の最終報告書作成後 5 年間とし, 以後の保存は試験委託者と協議の上, 決定する。

2.13 保存する資料

- (1) 試験計画書
- (2) 被験物質に関する資料
- (3) 使用動物に関する資料
- (4) 試験結果に関する資料
- (5) 通信記録等の記録文書
- (6) 最終報告書



3. 試験責任者署名

試験委託者：ダイキン工業株式会社

表 題：APFHx のラットを用いた 7 日間反復経口投与予備毒性試験

試験番号：B060991

試験責任者：2006年 10月 25日

株式会社三菱化学安全科学研究所
鹿島研究所 毒性第 1 研究部

4. 要約

APFHx を 0, 1.5, 15 および 150 mg/kg の用量 (Perfluorohexanoic acid ammonium salt として) で F344/DuCrI Crj ラット (1 用量群当たり雄 3 匹を使用) に 7 日間反復経口投与し, その影響について検討した.

その結果, 一般状態, 体重, 器官重量 (肝臓重量) および剖検において, いずれの動物にも被験物質投与に起因すると考えられる異常は認められなかった.

従って, 本試験条件下において APFHx による明らかな変化は認められなかった.

5. 材料および方法

5.1 被験物質

5.1.1 名称

APFHx

5.1.2 化学名

Perfluorohexanoic acid ammonium salt (47.5 mass%水溶液)

投与用量および投与液の濃度は、perfluorohexanoic acid ammonium salt としての数値で示した（換算係数：2.11）.

5.1.3 提供者

ダイキン工業株式会社

5.1.4 ロット番号

060427

5.1.5 保存条件

室温（許容範囲：10～30℃，実測値：18.5～24.6℃）

5.2 媒体

5.2.1 名称

精製水（注射用水，株式会社大塚製薬工場，ロット番号 6C98）

5.3 試験動物

5.3.1 動物種

ラット

5.3.2 系統

F344/DuCrIjCrIj

5.3.3 試験系選択理由

今後行われるトキシコゲノミクス試験で使用予定である。

5.3.4 微生物レベル

SPF

5.3.5 購入先

日本チャールス・リバー株式会社

5.3.6 購入動物数

雄 18 匹

5.3.7 検疫・馴化

検疫期間（動物入荷～検疫終了）は 5 日間とした。この間、全例について一般状態を 1 日 1 回観察し、健康状態が良好であることを確認するとともに、動物入荷時および検疫終了時に体重を測定し、順調に推移していることを確認した。その後も馴化を継続し、全例について一般状態を 1 日 1 回観察して、いずれの動物にも異常がないことを確認した。

5.3.8 投与開始時週齢

5 週齢

5.3.9 投与開始時体重

体重範囲は 98～110 g であり、個々の体重が平均体重±20%の範囲内であることを確認した。

5.3.10 群分け

投与開始前日に体重層別化無作為抽出法により、各群の平均体重がほぼ均一になるように群分けした。

5.3.11 動物の識別

尾に油性ペンで標識して個体識別した。

ケージには、群分け前は、試験番号、ケージ番号、検疫・馴化期間中の動物番号、動物種、系統および性別を記載したラベルを、群分け後は、試験番号、群名（用量）、動物番号、動物種、系統および性別を記載したラベルを付けた。

5.3.12 余剰動物の処理

余剰動物は、投与開始日の翌日に試験系から除外し、安楽死させた。

5.4 動物飼育

5.4.1 飼育室

ラット・マウス飼育室（6126 室）

5.4.2 飼育環境

5.4.2.1 湿度

実測値：21.7～22.8℃，許容範囲：19.0～25.0℃

5.4.2.2 相対湿度

実測値：51.4～59.9%，許容範囲：35.0～75.0%

5.4.2.3 換気

約 10～30 回/時，オールフレッシュエアー供給

5.4.2.4 照明時間

12 時間/日（7:00-19:00）

5.4.3 飼育器材

5.4.3.1 ケージ

オートクレーブ滅菌したポリカーボネート製ケージ（265W×426D×200H mm, トキワ科学器械株式会社）と給餌機能付きステンレス製蓋（トキワ科学器械株式会社）を使用し、群分け日に交換した。

5.4.3.2 給水

オートクレーブ滅菌したポリカーボネート製給水瓶（500 mL, トキワ科学器械株式会社）を使用し、ケージ交換時に交換した。

5.4.3.3 架台

オートクレーブ滅菌したステンレス製架台（ホルマリン消毒したPVC製スライド扉付，排気方式：1方向気流背面排気型，東洋理工株式会社）を使用した。

5.4.4 床敷

5.4.4.1 種類

オートクレーブ滅菌した実験動物用床敷（ベータチップ，日本チャールス・リバー株式会社）を使用し、ケージ交換時に交換した。

5.4.4.2 汚染物質の確認

財団法人日本食品分析センターで実施した分析結果を供給者から定期的に入手し、残留農薬等の汚染物質の濃度が標準操作手順書の基準に適合していることを確認した。

5.4.5 飼料

5.4.5.1 種類

オートクレーブ滅菌した実験動物用固型飼料（CRF-1，オリエンタル酵母工業株式会社）

5.4.5.2 給餌法

自由摂取とした。飼料はケージ交換時に交換した。

5.4.5.3 汚染物質の確認

使用したロットについて、飼料供給業者が財団法人日本食品分析センターに委託して分析した残留農薬等の汚染物質濃度が、標準操作手順書の基準に適合していることを確認した。

5.4.6 飲用水

5.4.6.1 種類

5μm フィルター濾過後、紫外線照射した水道水

5.4.6.2 給水法

自由摂取とし、給水瓶交換時に交換した。

5.4.6.3 分析

株式会社ダイヤ分析センターに依頼して水質検査を年2回の頻度で実施し、標準操作手順書の基準に適合していることを確認した。

5.4.7 収容動物数

1匹/ケージ

5.5 投与

5.5.1 経路・方法

経口（強制経口投与）。ラット用胃ゾンデを装着したディスポーザブルシリンジを用いて投与した。

5.5.2 回数・期間

1日1回（午前中）、7日間

5.5.3 用量

1.5, 15 および 150 mg/kg の 3 用量を設定した。また、媒体（精製水）のみを投与する対照群（0 mg/kg）を設定した。

5.5.4 投与液量

10 mL/kg とし、至近日に測定した体重に基づいて各個体の投与液量を算出した。

5.6 投与液の調製

5.6.1 頻度

投与開始前日に 1 回調製した。

5.6.2 方法

調製は紫外線カット白色照明下で実施した。まず、被験物質の 1.58253 g を秤取し、媒体（精製水）を加えて 50 mL に定容して高用量群に用いる投与液（perfluorohexanoic acid ammonium salt ととして 15 mg/mL）とした。続いて 15 mg/mL 液から 5 mL を分取し、媒体を加えて 50 mL に定容して中用量群に用いる投与液（1.5 mg/mL）とした。さらに 1.5 mg/mL 液から 5 mL を分取し、媒体を加えて 50 mL に定容して低用量群に用いる投与液（0.15 mg/mL）とした。投与液は投与日ごとに褐色ガラス瓶に分注し、最終投与日まで最長 7 日間、冷蔵・暗所条件下（実測値：1.9～6.1℃，許容範囲：1～10℃）で保存した。

5.7 群構成

群名	濃度 (mg/mL)	動物数	動物番号
対 照 *1	0	雄 3 匹	10101 - 10103
1.5 mg/kg	0.15	雄 3 匹	10201 - 10203
15 mg/kg	1.5	雄 3 匹	10301 - 10303
150 mg/kg	15	雄 3 匹	10401 - 10403

*1, 媒体を投与

投与用量および投与液の濃度は、perfluorohexanoic acid ammonium salt としての数値を示す。

5.8 観察・測定項目

下記の項目を検査した。なお、日と週の表記は投与開始日を第1日とした。

5.8.1 一般状態

投与期間は1日2回（投与前，投与後約30分）観察した。剖検の日は午前中に1回観察した。

5.8.2 体重

第1, 4 および 8 日に，電子天秤（PB3002-S，メトラー・トレド社）を用いて測定した。

5.8.3 病理学的検査

5.8.3.1 器官重量

解剖時に，電子天秤（AG204，メトラー・トレド社）を用いて全例の肝臓重量を測定した。また，解剖日の体重を基にして相対重量（対体重比）を算出した。

5.8.3.2 病理解剖検査

第8日の観察終了後に，全例について非絶食下でペントバルビタールナトリウム（ネンブタール，大日本住友製薬株式会社）を腹腔内投与して麻酔し，腹大動脈を切断・放血して安楽死させ，剖検した。

5.9 統計学的解析

体重，肝臓の絶対および相対重量について，多重比較検定法で統計学的有意性を解析した。すなわち Bartlett 法による分散の均一性を調べ，分散が等しい場合は一元配置分散分析，分散が等しくない場合は Kruskal-Wallis の検定を行った。それらの結果，群間に有意差が認められた場合は Dunnett 法（分散が等しい場合）あるいは Steel 法（分散が等しくない場合）の多重比較検定によって対照群との間で平均値の差の検定を行った。

Bartlett 法，一元配置分散分析および Kruskal-Wallis の検定の有意水準は5%，その他の検定は1および5%とした。各種検定は，安全性試験システム（MiTOX，三

井造船システム技研株式会社) を用いて解析した。一般状態観察および病理解剖検査の結果については、統計学的解析を実施しなかった。

5.10 コンピュータシステムの使用

以下に示す生データの収集、算出および集計には安全性試験システム (MiTOX, 三井造船システム技研株式会社) を使用した。当該システムのコンピュータプロトコールにはデータ収集範囲、データ収集の日程等を登録した。コンピュータシステムのプロトコール番号として B060991_ (アンダーバーは空白) を用いた。

使用項目： 体重、群分け、投与液量算出、一般状態、器官重量、病理解剖検査

6. 結果

6.1 一般状態

一般状態観察の結果を Table 1 に示す.

実験期間を通じて、いずれの動物にも異常は認められなかった.

6.2 体重

体重データを Table 2 に示す.

実験期間を通じて、いずれの動物においても順調に推移した.

6.3 器官重量

肝臓重量および対体重比データを Table 3 および 4 に示す.

いずれの用量群においても、被験物質投与の影響は認められなかった.

6.4 病理解剖検査

病理解剖検査結果を Table 5 に示す.

いずれの動物にも、異常は認められなかった.

7. 考察および結論

APFHx を 0, 1.5, 15 および 150 mg/kg の用量 (Perfluorohexanoic acid ammonium salt として) で F344/DuCrI Crj ラットに 7 日間反復経口投与し、その影響について検討した.

その結果、一般状態、体重、器官重量 (肝臓重量) および剖検において、いずれの動物にも被験物質投与に起因すると考えられる異常は認められなかった.

従って、本試験条件下において APFHx による明らかな変化は認められなかった.

Table 1 Clinical Sign - Summary

Male

Test Substance	Findings	Day																											
		Time		1		2		3		4		5		6		7		8											
Dose APFHx 0 mg/kg	Number of Animals	10	20	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
	No Abnormality	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
APFHx 1.5 mg/kg	Number of Animals	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
	No Abnormality	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
APFHx 15 mg/kg	Number of Animals	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
	No Abnormality	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
APFHx 150 mg/kg	Number of Animals	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
	No Abnormality	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	

Time 10 , before dosing; Time 20 , about 30 min after dosing

Table 2 Body Weight

Male

Test Substance Dose	Animal Number	Day	1	4	8	Unit : g
APFHx 0 mg/kg	10101		106	117	129	
	10102		107	120	134	
	10103		109	121	139	
	Mean		107.3	119.3	134.0	
	S.D.		1.5	2.1	5.0	
APFHx 1.5 mg/kg	n		3	3	3	
	10201		110	121	136	
	10202		106	120	135	
	10203		102	115	129	
	Mean		106.0	118.7	133.3	
APFHx 15 mg/kg	S.D.		4.0	3.2	3.8	
	n		3	3	3	
	10301		98	109	119	
	10302		106	118	133	
	10303		109	124	145	
APFHx 150 mg/kg	Mean		104.3	117.0	132.3	
	S.D.		5.7	7.5	13.0	
	n		3	3	3	
	10401		105	118	135	
	10402		109	120	136	
APFHx 150 mg/kg	10403		103	116	136	
	Mean		105.7	118.0	135.7	
	S.D.		3.1	2.0	0.6	
	n		3	3	3	

Table 3 Organ Weight

Male

Test Substance	Animal Number	Final Body Weight g	Liver g
APFHx 0 mg/kg	10101	129	5.59
	10102	134	5.80
	10103	139	5.87
	Mean	134.0	5.753
	S.D. n	5.0 3	0.146 3
APFHx 1.5 mg/kg	10201	136	5.62
	10202	135	5.70
	10203	129	5.44
	Mean	133.3	5.587
	S.D. n	3.8 3	0.133 3
APFHx 1.5 mg/kg	10301	119	5.02
	10302	133	5.51
	10303	145	6.15
	Mean	132.3	5.560
	S.D. n	13.0 3	0.567 3
APFHx 150 mg/kg	10401	135	5.79
	10402	136	6.22
	10403	136	6.07
	Mean	135.7	6.027
	S.D. n	0.6 3	0.218 3

Table 4 Relative Organ Weight Male

Test Substance	Animal Number	Final Body Weight g	Liver %
APFHx 0 mg/kg	10101	129	4.33
	10102	134	4.33
	10103	139	4.22
	Mean	134.0	4.293
	S.D. n	5.0 3	0.064 3
APFHx 1.5 mg/kg	10201	136	4.13
	10202	135	4.22
	10203	129	4.22
	Mean	133.3	4.190
	S.D. n	3.8 3	0.052 3
APFHx 15 mg/kg	10301	119	4.22
	10302	133	4.14
	10303	145	4.24
	Mean	132.3	4.200
	S.D. n	13.0 3	0.053 3
APFHx 150 mg/kg	10401	135	4.29
	10402	136	4.57
	10403	136	4.46
	Mean	135.7	4.440
	S.D. n	0.6 3	0.141 3

Table 5 Necropsy Findings Scheduled Sacrifice (Day 8)

Sex	Test Substance Dose	Male APFHx mg/kg	APFHx 1.5 mg/kg	APFHx 15 mg/kg	APFHx 150 mg/kg
Dose Unit					
Animal No.					
		1 1 1	1 1 1	1 1 1	1 1 1
		0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
		1 1 1	2 2 2	3 3 3	4 4 4
		0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
		1 2 3	1 2 3	1 2 3	1 2 3
Organ Findings	Abnormality	N N N	N N N	N N N	N N N
No abnormalities					

N, Finding absent

Appendix 1-1	Animal Number	Findings	Clinical Sign	APFHx		0 mg/kg		Male	
				Day 1	2	3	4	5	6
				Time 10	20	10	20	10	20
	10101	No Abnormality							
	10102	No Abnormality							
	10103	No Abnormality							
Time 10 , before dosing; Time 20 , about 30 min after dosing									

Appendix 1-2		Clinical Sign	APFHx		1.5 mg/kg		Male	
Animal Number	Findings		Day 1		2		3	
			Time	10	20	10	20	10
10201	No Abnormality							
10202	No Abnormality							
10203	No Abnormality							

Time 10 , before dosing; Time 20 , about 30 min after dosing

Appendix 1- 3	Clinical Sign	APFHx		15 mg/kg		Male	
		Day	1	2	3	4	8
Animal Number	Findings	Time	10	20	10	20	10
10301	No Abnormality						
10302	No Abnormality						
10303	No Abnormality						

Time 10 , before dosing; Time 20 , about 30 min after dosing

Appendix 1- 4		Clinical Sign	APFHx		150 mg/kg		Male	
Animal Number	Findings		Day 1		2		3	
			Time		10		20	
10401	No Abnormality							
10402	No Abnormality							
10403	No Abnormality							
Time 10 , before dosing; Time 20 , about 30 min after dosing								