

飼料中 HBCD 濃度から換算した摂取量の確認

1. 背景・目的

OECD のラットを用いた試験や厚生労働省医薬品の反復投与毒性試験ガイドライン等では、個体別の摂餌量に基づいて被験物質の摂取量を調整し、摂取量（例えば mg/kg/day）が一定に維持されるように厳密に管理されている。一方、これまでに実施された全 5 試験を始め鳥類繁殖毒性試験では、飼料中濃度を管理するだけで用量を設定するような試験デザインになっているため、摂餌量の個体差によって HBCD の摂取量に違いが生じることから、これが結果に影響している可能性がある。そこで、ニホンウズラの HBCD 摂取量について、ばらつきの程度を確認した。

2. 確認方法

(1) 全体的な流れ

- ✓ 事業者が実施した 20 週鳥類繁殖毒性試験（試験 3）及び試験 3 と同一の被験物質を用いて実施した 6 週鳥類繁殖毒性試験（試験 4）の各投与群単位で、摂餌量の最大値、最小値及び平均値の推移を週ごとに整理する¹。
- ✓ 式 1 を用いて、飼料中の HBCD 濃度データ、ケージごと摂餌量及びケージあたりの体重²から、ラットやマウスと同じく単位体重あたり摂取量（mg/kg/day）を算出し、週ごとに投与量の変動を確認する。

$$\text{ケージあたり摂取量(mg/kg/day)} = \frac{\text{摂餌量 (g/ケージ/週)} \times \text{飼料中濃度(ppm)}}{\text{体重 (g/ケージ)} \times 7 \text{ (日/週)}} \quad \dots \text{(式 1)}$$

(2) 摂取量への換算方法及び体重の設定方法

①試験 3 について

< 摂取量の算出 >

試験 3 の報告書によると、飼料調整を行った日時は平成 23 年 3 月 31 日（第 1 回調整）、平成 23 年 5 月 16 日（第 2 回調整）及び平成 23 年 7 月 14 日（第 3 回調整）である（表 5 参照）。しかしながら、調整した飼料をそれぞれ第何週から第何週の期間に用いたかどうかまでは記載がなかったため、第 1 回調整飼料は第 1 週から第 6 週、第 2 回調整飼料は第 6 週から第 14 週、第 3 回調整飼料は第 14 週から第 20 週に用いられたと仮定し、餌中濃度を決定した（図 6 参照）。

< 体重の算出 >

¹ 摂餌量はケージ単位で測定されたデータであり、個体別の摂餌量を明らかにすることはできない。

² 体重は個体別に測定しているが、測定時期は事業者 6 週試験では投与開始前と投与後の計 2 回、事業者 20 週試験では投与開始前、第 9 週、投与終了時の計 3 回のみのため、各週で体重を把握することはできない。したがって、摂餌量はケージの合計値、体重は投与期間の平均値を用いることとする。

HBCD 摂取量算出時に必要となる体重の設定方法は、図 6 の通り、投与前と 9 週目の体重の平均を 9 週目まで、9 週目と試験終了時の体重の平均を 9 週目～試験終了時まで用いた。

表 5 試験 3 で用いられた飼料の濃度分析結果

投与群	第 1 回調整飼料 (ppm)	第 2 回調整飼料 (ppm)	第 3 回調整飼料 (ppm)
1ppm	1.16	1.03	1.17
5ppm	5.40	5.22	5.35
25ppm	28.60	26.6	22.9
125ppm	138.67	137	108
625ppm	650.33	621	506

※ 第 1 回調整飼料は、飼料混合機内の上部、中部及び下部から採取した試料を n=3 で分析した結果の平均値。

※ 第 2 回調整飼料及び第 3 回調整飼料は、飼料混合機内の上部、中部及び下部から採取した試料を n=1 で分析した結果の平均値。

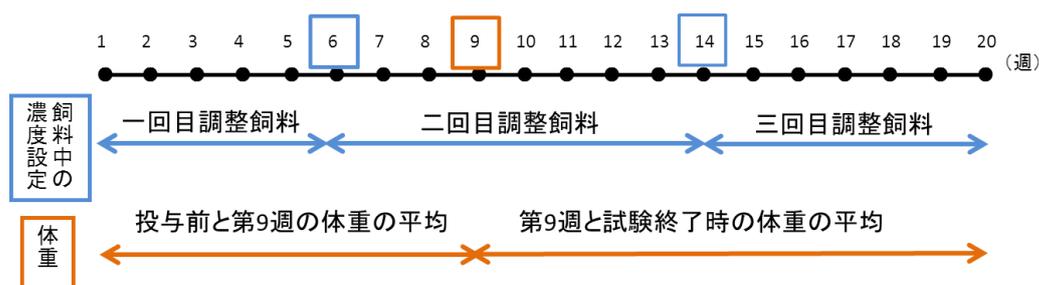


図 6 試験 3 の摂取量計算時に用いた飼料中濃度及び体重の設定

②試験 4 について

< 摂餌量の算出 >

試験 4 では、20 週試験のように飼料中濃度の測定結果が報告書に記載されていないため、摂取量計算には設定用量 (1ppm、5ppm、25ppm 及び 125ppm) をそのまま用いた。

< 体重の算出 >

投与期間における体重は、投与前体重と試験終了後体重の平均値を期間によらず一定の値と仮定して用いることとする。

3. 確認結果

(1) ケージ毎の摂餌量及びその推移

試験 3 と試験 4 におけるニホンウズラの摂餌量の比較結果を図 7 に示す。具体的には、対照群・各投与群の各週における平均摂餌量 (Average) の推移、対照群・各投与群の各週における最大値と最小値の差 (Max-Min) の推移をそれぞれ示した。

①試験3について

試験3の各群の摂餌量の差 (Max-Min) を見ると、各投与群 (特に顕著なのは 5ppm 群) の7週目、25ppm 群の8週目から11週目まで、625ppm 群の3週目の Max-Min は対照群の Max-Min に比べて大きい。一方、125ppm 群は、投与期間を通じて摂餌量の Max-Min が、他群に比べて小さい傾向が見られた。なお、摂餌量の Max-Min には用量との相関がみられるが、高用量群の方が摂餌量が少なくなる傾向は、一般的な毒性試験においても見られる現象である。

試験3の平均摂餌量については、全投与群において、1週目から7週目まで一定又はやや減少し、7週目から10週目まで増加し、その後は一定となる傾向が見られた。また、5ppm 群は投与期間を通じて、他投与群よりも平均摂餌量が多い傾向が見られた。

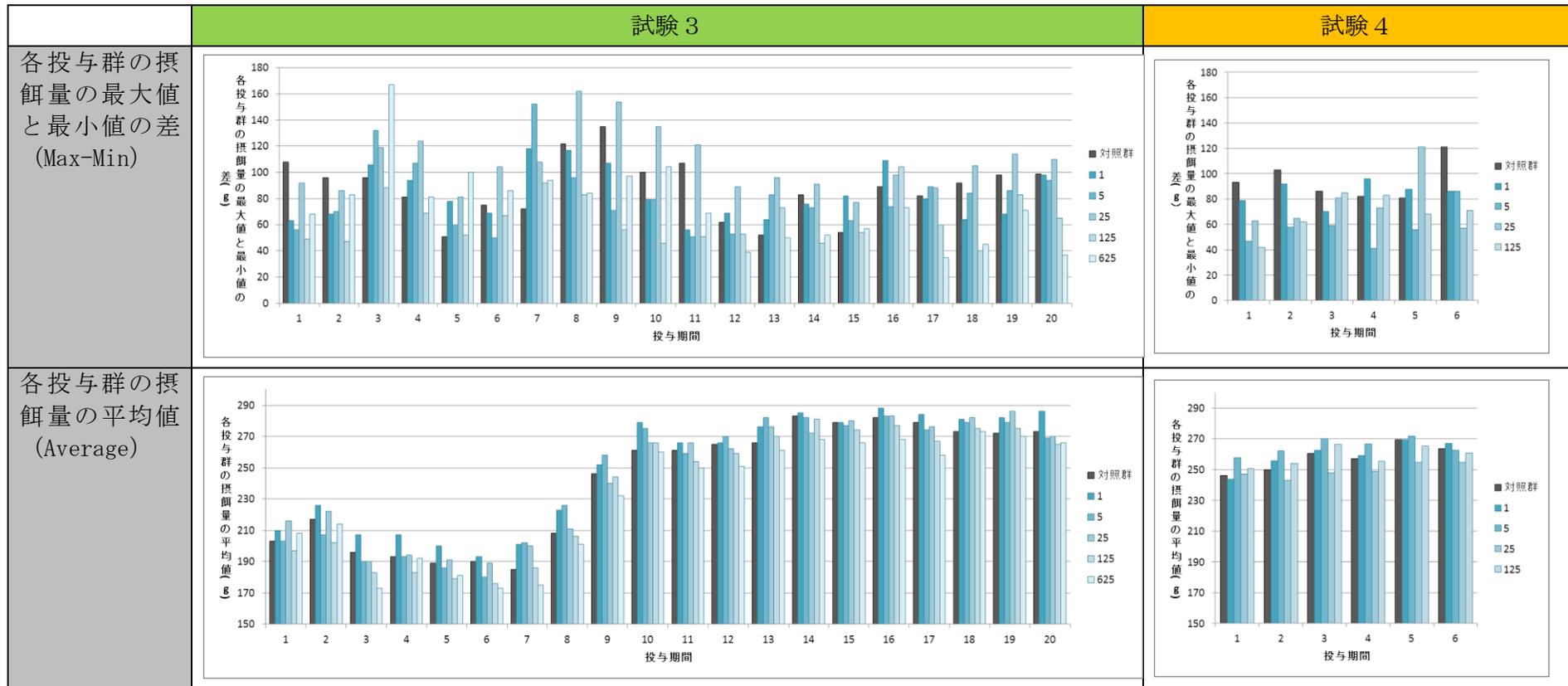
試験3の平均摂餌量と Max-Min で特徴的なのは、625ppm 群の3週目であり、平均摂餌量が約 170g であるのに対して、摂餌量の Max-Min が約 160g であり、個体差が大きく現れている。

②試験4について

試験4の各群の摂餌量の Max-Min は、1ppm 群の4週目、25ppm 群の5週目を除いて、全体的に対照群に比べて摂餌量の Max-Min が小さい傾向が見られた。特に 5ppm 群は、投与期間の全週を通じて摂餌量の Max-Min が他群に比べて小さい傾向が見られた。

試験4の平均摂餌量については、投与期間で大きな変化は見られなかった。

図7 試験3と試験4における摂餌量 (Max-Min 及び Average の推移)



(2) ケージ毎の体重及びその推移

試験3と試験4におけるニホンウズラの体重を推定・比較した結果を図8に示す。

①試験3について

試験3の各群の体重の差（最大値と最小値の差；Max-Min）を見ると、全投与群で9週目の体重のMax-Minが大きく、また、投与期間前は25ppm群以外の全ての投与群で、9週目及び試験終了時は全ての投与群で、対照群よりも体重のMax-Minが大きい傾向が見られた。特に、試験終了時の5ppm群及び125ppm群は、体重のMax-Minが他群に比べて顕著に大きかった。

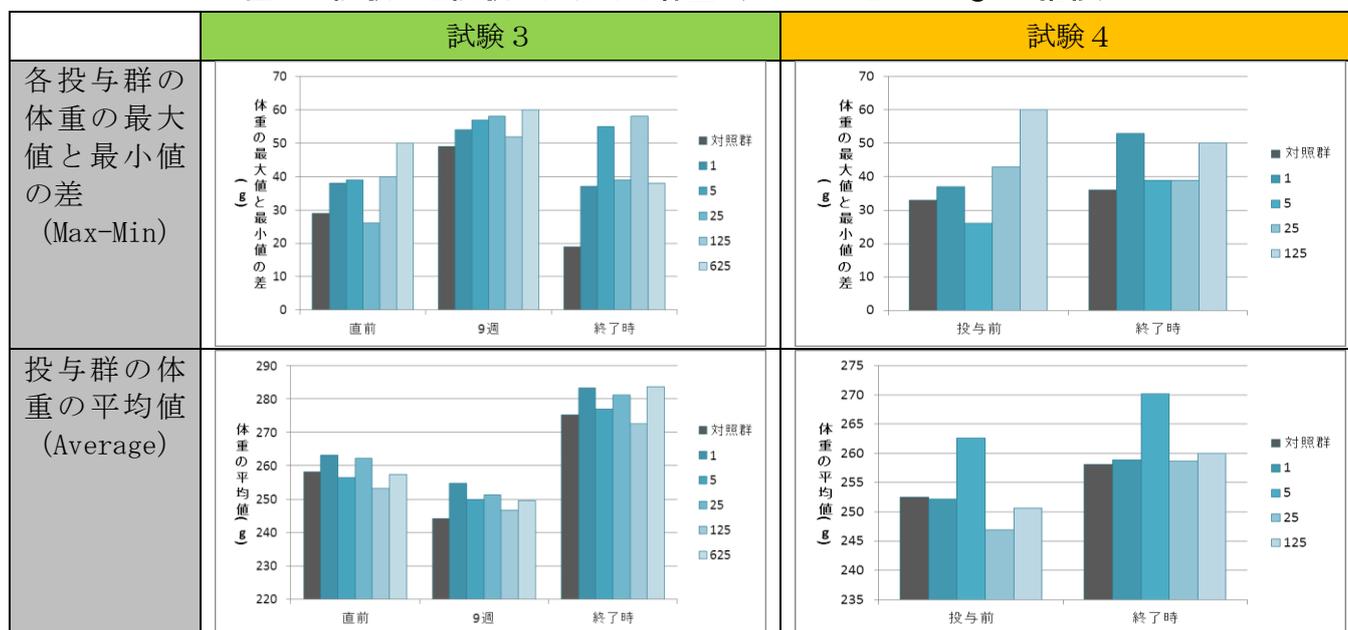
試験3の各群の平均体重の推移を見ると、全投与群で9週目において投与期間前よりも体重が減り、試験終了時における体重が増加している傾向が見られた。また、1ppm群、25ppm群、625ppm群は試験期間を通じて他群よりも平均体重が大きい傾向が見られた。

②試験4について

試験4の各群のMax-Minを見ると、125ppm群で投与試験前、1ppm投与群及び125ppm投与群で試験終了時に、それぞれ体重のMax-Minが大きかった。

試験4の各群の平均体重の推移を見ると、5ppm群の平均体重が大きかった。

図8 試験3と試験4における体重（Max-MinとAverageの推移）



(3) 投与期間における HBCD 摂取量のばらつき

上記(1)、(2)に基づいて算出した試験3と試験4のHBCD摂取量のばらつきを比較・考察した結果を図9に示す。なお、前述の通り、HBCD摂取量は次式で算出した。

$$\text{ケージあたり HBCD 摂取量(mg/kg/day)} = \frac{\text{摂餌量 (g/ケージ/週)} \times \text{飼料中濃度(ppm)}}{\text{体重 (g/ケージ)} \times 7 \text{ (日/週)}} \dots \text{(式 1)}$$

また、図9には、HBCDの平均1日摂取量を平均体重で割った数値を「理論値」と仮に名づけて赤線で追記した。当該数値には、それぞれの試験報告書に掲載されている数値を用いた。当該数値と各投与群、各週、各ケージでHBCD摂取量のばらつきを考察した。

①試験3について

1ppm群及び5ppm群は投与期間とともにHBCD摂取量が増加した。一方、25ppm群、125ppm群及び625ppm群は、第8週から第14週にかけてHBCD摂取量が多く、その後は減少して一定に推移した。

投与群ごとに摂取量のばらつきを見ると、125ppm群及び625ppm群は比較的摂取量のばらつきが小さい。また、5ppm群も第3週・第4週では、最も多く摂取したケージと、最も少なく摂取したケージの差が大きいものの、全体としては平均値の±10%の範囲で推移している。一方、1ppm群は、第8週までの期間は、平均摂取量の±10%の範囲より摂取量が多いケージや摂取量が少ないケージが多く、群内でのHBCD摂取量のばらつきが大きいと考えられた。また、25ppm群は第8週から第13週にかけて、最も多く摂取したケージと、最も少なく摂取したケージの差が大きい傾向が見られた。

②試験4について

試験4では、実際に試験に用いた飼料中濃度の測定結果が得られていないため、HBCD摂取量計算には設定用量(1ppm、5ppm、25ppm及び125ppm)を用いた。そのため、摂餌量と体重のばらつきが、そのままHBCD摂取量のばらつきとなっている。各試験について、投与群ごとに摂取量のばらつきを見ると、5ppm群と125ppm群は、ほぼ平均摂取量の±10%の範囲に収まり、また投与期間の平均摂取量もほぼ一定値であるため、群内でのHBCD摂取量のばらつきが小さいと考えられた。一方、1ppm投与群では、投与期間を通じて平均摂取量の±10%の範囲よりも多く摂取したケージが2つあり、また、平均摂取量の±10%の範囲よりも少ない摂取量であったケージが3つあった。そのため1ppm群の約半数のケージは、平均摂取量の±10%の範囲に収まらないケージが群内の半数近くあり、摂取量の差が大きいと考えられた。

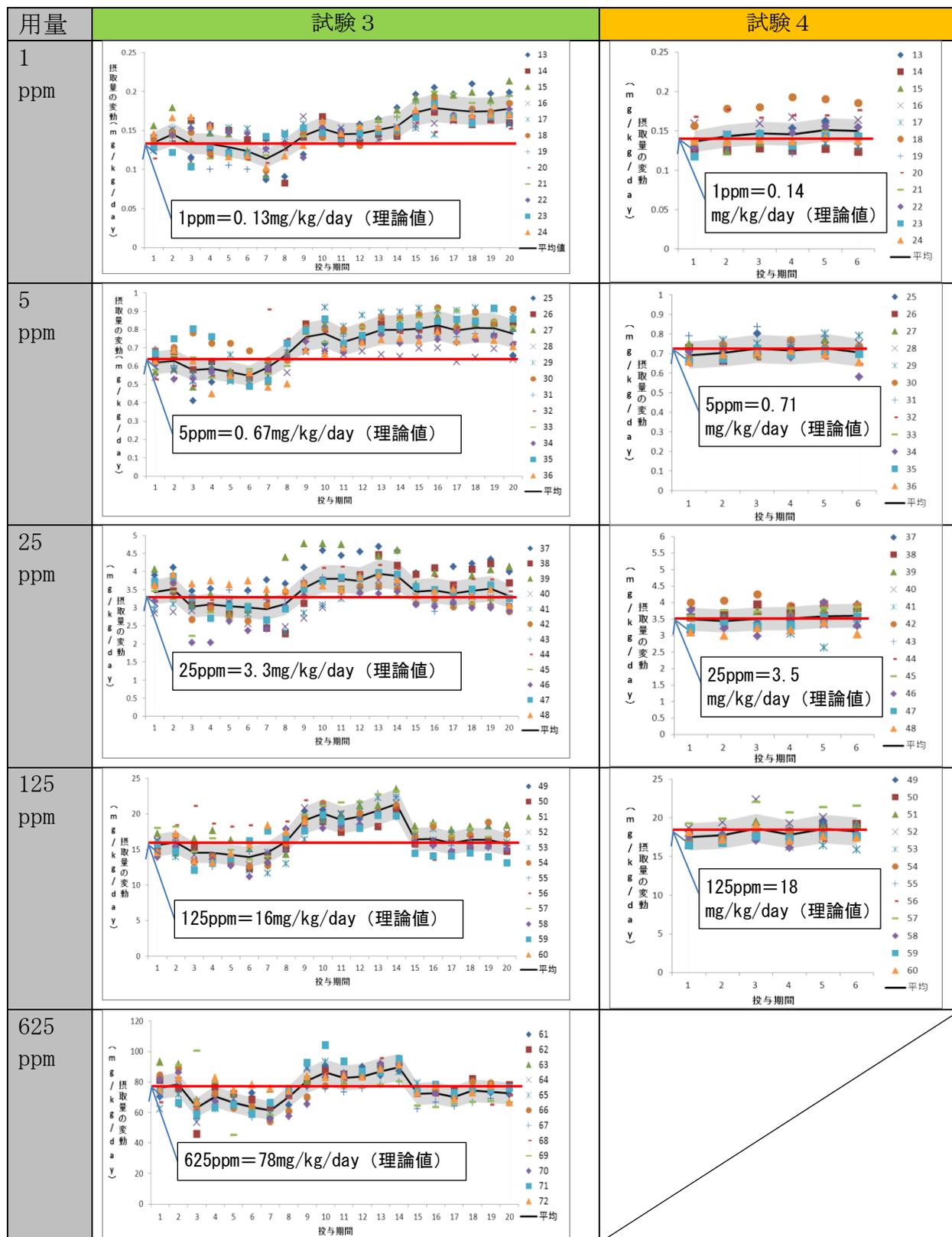
③週ごとに輪切りにした分析

週ごとに輪切りにして見てみると、投与群は同じでも、最大摂取量と最小摂取量の間が生じている差は小さくはないと考えられる。そこで、HBCD 摂取量の理論値と実際の摂取量との解離状況を把握するため、試験 3、試験 4 それぞれに対して理論値からの解離状況を整理した。その結果を、表 10 と表 11 にそれぞれ示す。当該結果より、理論値から外れた摂取量のケージが散見されたことが示唆された。

④経時的な変動の確認

最終的に平均をとれば理論値とほぼ同じ値となるが、経時的に摂取量を見ると、特に試験 3 では試験初期の HBCD 摂取量が少なく、後期において増加していることが確認された。

図9 試験3と試験4におけるHBCD摂取量の比較



※1 平均値より±10%の範囲をグレーで網掛けしている。

※2 試験4では、625ppm投与群を設定していない。

表 10 試験 3 における HBCD 摂取量の理論値と実際の値との解離

理論上の摂取量 (mg/kg/日)		実際の摂取量 (mg/kg/day)		理論上の摂取量と 実際の摂取量との解離 (%)
投与群の 設定濃度		最大値	最小値	
1ppm	0.13	0.21	0.08	-64%~36%
5ppm	0.67	0.92	0.41	-38%~39%
25ppm	3.3	4.8	2.0	-45%~38%
125ppm	16	24	11	-47%~30%
625ppm	78	104	45	-34%~42%

表 11 試験 4 における HBCD 摂取量の理論値と実際の量との解離

理論上の摂取量 (mg/kg/日)		実際の摂取量 (mg/kg/day)		理論上の摂取量と 実際の摂取量との解離 (%)
投与群の 設定濃度		最大値	最小値	
1ppm	0.14	0.19	0.12	-37%~16%
5ppm	0.71	0.83	0.58	-18%~18%
25ppm	3.5	4.3	2.6	-21%~25%
125ppm	18	22	16	-24%~12%

4. まとめ

各試験・各投与群で、体重や摂餌量にばらつきがあることが確認された。通常、OECD のラットを用いた試験では、一日当たりの被験物質の投与回数や用量の規定があり、全用量で投与容量を一定に保つことの重要性が記載されている。したがって、HBCD 摂取量（摂餌量、体重、飼料中濃度のばらつき）を小さくするような試験デザインを採用すべきと考えられる。

しかしながら、HBCD 摂取量のばらつきは試験を実施する上で注意すべきものであると考えられたが、これが NOEC の差の原因を解明する決定的な要因とは考えられなかった。