

1-ブロモ-3-クロロプロパンのラットを  
用いた吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：0417

CAS No. 109 - 70 - 6

2005年3月25日

中 央 労 働 災 害 防 止 協 会  
日本バイオアッセイ研究センター

## 標題

1 - プロモ - 3 - クロロプロパンのラットを用いた吸入によるがん原性試験

## 試験目的

1 - プロモ - 3 - クロロプロパンをラットに 104 週間全身暴露し、がん原性を検索した。

## 試験法

本試験は平成 9 年 3 月 11 日付け、労働省基発第 144 号「がん原性試験による調査の基準について」及び OECD 化学品テストガイドライン 451（発癌性試験 1981 年 5 月 12 日採択）に準じて実施した。

## GLP 対応

本試験は、昭和 63 年 9 月 1 日付け、労働省告示第 76 号「労働安全衛生法に基づく試験施設等が具備すべき基準（安衛法 GLP）」（一部改正。平成 12 年 3 月 29 日付け、労働省告示第 13 号）に準拠し、OECD GLP（1997 年 11 月 26 日採択）に準じて実施した。

## 試験委託者

厚生労働省労働基準局安全衛生部化学物質対策課  
東京都千代田区霞ヶ関 1 - 2 - 2

## 試験施設及び運営管理者

中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター  
副所長 山本 静護  
神奈川県秦野市平沢 2445

1-ブロモ-3-クロロプロパンのラットを用いた  
吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：0417

本 文

## 本文目次

	頁
要約	1
 I 試験材料	
I-1 被験物質の性状等	
I-1-1 名称等	4
I-1-2 構造式、示性式及び分子量	4
I-1-3 物理化学的性状等	4
I-2 被験物質の使用ロット等	4
I-3 被験物質の特性・同一性、安定性	
I-3-1 特性・同一性	5
I-3-2 安定性	5
I-4 試験動物	5
 II 試験方法	
II-1 投与	
II-1-1 投与経路	6
II-1-2 被験物質の投与方法	6
II-1-3 投与期間	6
II-1-4 投与濃度	6
II-1-5 投与方法、投与期間及び投与濃度の設定理由	6
II-1-6 被験物質の発生方法と濃度調整	7
II-1-7 被験物質の濃度測定	7
II-2 動物管理	
II-2-1 各群の使用動物数	7
II-2-2 群分け及び個体識別方法	8
II-2-3 飼育条件	8

## Ⅱ-3 観察・検査項目及び方法

Ⅱ-3-1 動物の生死及び一般状態の観察	9
Ⅱ-3-2 体重測定	9
Ⅱ-3-3 摂餌量測定	10
Ⅱ-3-4 血液学的検査	10
Ⅱ-3-5 血液生化学的検査	10
Ⅱ-3-6 尿検査	10
Ⅱ-3-7 病理学的検査	10

## Ⅱ-4 数値処理と統計方法

Ⅱ-4-1 数値の取り扱いと表示	11
Ⅱ-4-2 母数の取り扱い	11
Ⅱ-4-3 統計方法	12

## Ⅲ 試験成績

Ⅲ-1 生死状況	13
Ⅲ-2 一般状態	13
Ⅲ-3 体重	13
Ⅲ-4 摂餌量	14
Ⅲ-5 血液学的検査	14
Ⅲ-6 血液生化学的検査	14
Ⅲ-7 尿検査	15
Ⅲ-8 病理学的検査	15
Ⅲ-8-1 剖検	15
Ⅲ-8-2 臓器重量	15
Ⅲ-8-3 病理組織学的検査	16
Ⅲ-8-4 死因	20

## Ⅳ 考察及びまとめ

Ⅳ-1 生存率、一般状態、体重、摂餌量	21
Ⅳ-2 腫瘍性及び腫瘍関連病変	21
Ⅳ-3 非腫瘍性病変	22
Ⅳ-4 量-反応関係	23
Ⅳ-5 他文献との比較等	24

V	結論	25
VI	文献	26



## 要約

1-プロモ-3-クロロプロパンのがん原性を検索する目的でラットを用いた吸入による2年間(104週間)の試験を実施した。

試験にはF344/DuCrj(Fischer)ラットを用い、被験物質投与群3群と対照群1群の計4群の構成で、各群雌雄各50匹(合計400匹)を使用した。投与は1-プロモ-3-クロロプロパンを1日6時間、1週5日間、104週間、動物に全身暴露することにより行った。投与濃度は雌雄とも25、100及び400ppmとした。また、観察、検査項目として一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査を行った。

腫瘍性病変として、雌雄とも肝細胞癌、肝細胞腺腫、肝臓の血管肉腫、肺の細気管支-肺胞上皮腺腫、皮膚/付属器官の毛嚢上皮腫の発生増加が認められ、さらに、雄では大腸の腺腫と腺癌、雌では大腸の腺腫の発生増加が認められた。また、前腫瘍性病変としては、肝臓で雌雄に明細胞性小増殖巣、好酸性小増殖巣、雄に好塩基性小増殖巣の発生が増加した。

非腫瘍性病変としては、鼻腔(呼吸上皮の炎症と扁平上皮化生、鼻腺の呼吸上皮化生、嗅上皮の萎縮と壊死、嗅上皮の呼吸上皮化生)と腎臓(慢性腎症)の病変の発生増加がみられた。

以上のように、F344/DuCrj(Fischer)ラットを用いて1-プロモ-3-クロロプロパンの2年間(104週間)にわたる吸入によるがん原性試験を行った結果、以下の結論を得た。

雄では、肝細胞癌と肝細胞腺腫の発生増加が認められ、雄ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠であると考えられた。また、細気管支-肺胞上皮腺腫、大腸の腺腫と腺癌、皮膚/付属器官の毛嚢上皮腫、肝臓の血管肉腫の発生増加もみられた。

雌では、肝細胞癌、肝細胞腺腫及び肝臓の血管肉腫の発生増加が認められ、雌ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠であると考えられた。また、細気管支-肺胞上皮腺腫、大腸の腺腫、皮膚/付属器官の毛嚢上皮腫の発生増加もみられた。

## 1 - ブロモ - 3 - クロロプロパンのがん原性試験における主な腫瘍発生 (ラット 雄)

	投 与 濃 度 (ppm)		0	25	100	400	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
	検査動物数		50	50	50	50		
良 性 腫 瘍	皮膚/付属器官	毛嚢上皮腫	0	1	0	3	↑	↑
		皮脂腺腺腫	1	0	3	0		
	皮下組織	線維腫	1	7	3	1		
		細気管支-肺胞上皮腺腫	2	1	1	7	↑↑	↑↑
	大腸	腺腫	0	0	0	3	↑↑	↑↑
	肝臓	肝細胞腺腫	1	1	2	10 **	↑↑	↑↑
	脾臓	島細胞腺腫	3	3	2	0		
	下垂体	腺腫	8	6	7	4		
	甲状腺	C-細胞腺腫	8	4	4	3		
	副腎	褐色細胞腫	3	3	3	2		
	精巣	間細胞腫	45	39	39	42		
	包皮腺	腺腫	2	1	2	4		
悪 性 腫 瘍	肺	細気管支-肺胞上皮癌	0	2	0	0		
	脾臓	単核球性白血病	3	3	4	4		
	大腸	腺癌	0	0	0	1		
	肝臓	肝細胞癌	0	0	1	6 *	↑↑	↑↑
		血管肉腫	1	0	0	2		
	甲状腺	C-細胞癌	0	3	0	1		
	副腎	褐色細胞腫：悪性	3	1	0	0		
	腹膜	中皮腫	0	2	7	1		
	肺	細気管支-肺胞上皮腺腫 + 細気管支-肺胞上皮癌	2	3	1	7	↑	↑
	大腸	腺腫+腺癌	0	0	0	4	↑↑	↑↑
	肝臓	肝細胞腺腫+肝細胞癌	1	1	3	15 **	↑↑	↑↑

検定結果については生物学的意義を考慮して記載した。

\*:  $p \leq 0.05$  で有意

↑:  $p \leq 0.05$  で有意増加

↓:  $p \leq 0.05$  で有意減少

\*\* :  $p \leq 0.01$  で有意

↑↑:  $p \leq 0.01$  で有意増加

↓↓:  $p \leq 0.01$  で有意減少

(Fisher 検定)

(Peto, Cochran-Armitage 検定)

(Cochran-Armitage 検定)



## 1-プロモ-3-クロロプロパンのがん原性試験における主な腫瘍発生 (ラット 雌)

	投 与 濃 度 (ppm)		0	25	100	400	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
	検査動物数		50	50	50	50		
良 性 腫 瘍	皮膚/付属器官	毛嚢上皮腫	0	0	1	2		
	肺	細気管支-肺胞上皮腺腫	1	0	1	5	↑↑	↑↑
	大腸	腺腫	0	0	0	2		
	肝臓	肝細胞腺腫	1	0	2	32 **	↑↑	↑↑
		血管腫	0	0	0	1		
	下垂体	腺腫	9	9	9	6		
	甲状腺	C-細胞腺腫	6	7	7	5		
	子宮	子宮内膜間質性ポリープ	7	6	7	7		
	乳腺	線維腺腫	6	9	10	3		
	陰核腺	腺腫	1	3	4	3		
悪 性 腫 瘍	脾臓	単核球性白血病	5	3	5	13 *	↑↑	↑↑
	肝臓	肝細胞癌	0	0	0	38 **	↑↑	↑↑
		血管肉腫	0	0	0	6 *	↑↑	↑↑
	肝臓	肝細胞腺腫+肝細胞癌	1	0	2	43 **	↑↑	↑↑
		血管腫+血管肉腫	0	0	0	7 **	↑↑	↑↑

検定結果については生物学的意義を考慮して記載した。

\*:  $p \leq 0.05$  で有意

↑:  $p \leq 0.05$  で有意増加

↓:  $p \leq 0.05$  で有意減少

\*\* :  $p \leq 0.01$  で有意

↑↑:  $p \leq 0.01$  で有意増加

↓↓:  $p \leq 0.01$  で有意減少

(Fisher 検定)

(Peto, Cochran-Armitage 検定)

(Cochran-Armitage 検定)

## I 試験材料

## I-1 被験物質の性状等

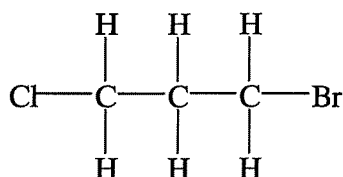
## I-1-1 名称等

名 称：1-ブロモ-3-クロロプロパン (1-Bromo-3-chloropropane)

CAS No. : 109 - 70 - 6

## I-1-2 構造式、示性式及び分子量 (文献 1)

構 造 式：



示 性 式：ClCH<sub>2</sub> CH<sub>2</sub> CH<sub>2</sub>Br

分 子 量：157.44

## I-1-3 物理化学的性状等 (文献 1)

性 状：無色透明の液体

沸 点：143.3℃

融 点：-58.90℃

比 重：1.5969 (20℃/4℃)

溶 解 性：水に難溶 (2240mg/L, 25℃)、メタノール、エーテルに可溶

保管条件：室温で暗所に保管

## I-2 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号：SEJ4084 (2000年 11月 6日～2001年 9月 27日)

LDK4248 (2001年 9月 28日～2002年 7月 8日)

WAN5724 (2002年 7月 9日～2002年 11月 1日)

製 造 元：和光純薬工業(株)

グ レ ー ド：特級

純 度：99.8～99.9% (和光純薬工業(株) 検査成績書データ)

### I-3 被験物質の特性・同一性、安定性

#### I-3-1 特性・同一性

被験物質の同一性は、ロットごとにマススペクトルを質量分析計（Hitachi M-80B）により測定し、また、赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計（Shimadzu FTIR-8200PC）により測定し、それぞれの文献値と比較することにより確認した。

その結果、被験物質のマススペクトルは文献値（文献 2）と同じ分子イオン及びフラグメントピークを示し、また、赤外吸収スペクトルも文献値（文献 3）と同じ波数にピークが認められ、被験物質は 1-ブロモ-3-クロロプロパンであることを確認した。

また、試験に使用した 1-ブロモ-3-クロロプロパン中には、不純物として 1,2-エポキシブタンが確認され、その含有量は 0.041~0.045%であった。

それらの結果は APPENDIX A 1 に示した。

#### I-3-2 安定性

被験物質の安定性は、ロットごとに使用開始前及び使用終了後にガスクロマトグラムをガスクロマトグラフ（Hewlett Packard HP5890A）により測定し、それぞれのデータを比較することにより確認した。

その結果、各ロットとも使用開始前と使用終了後の測定結果に差はみられず、被験物質は使用期間中、安定であることを確認した。

それらの結果は APPENDIX A 2 に示した。

### I-4 試験動物

動物は、日本チャールス・リバー(株)（厚木飼育センター：神奈川県厚木市下古沢 795）の F344/DuCrj(Fischer)ラット(SPF)の雌雄を使用した。

ラット雌雄各 240 匹を生後 4 週齢で導入し（導入時体重範囲、雄:43~60g、雌:39~56g）、各 1 週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で異常を認めない動物から、体重値の中央値に近い雌雄各 200 匹（群構成時体重範囲、雄:103~121g、雌:85~97g）を選別し、試験に用いた。

なお、F344/DuCrj(Fischer)ラット(SPF)を選択した理由は、遺伝的に安定していること、腫瘍の自然発生率が低いこと、過去に多くのがん原性試験に用いたデータがあり、化学物質による腫瘍発生の感受性が知られていることによる。

## Ⅱ 試験方法

### Ⅱ-1 投与

#### Ⅱ-1-1 投与経路

投与経路は全身暴露による経気道投与とした。

#### Ⅱ-1-2 被験物質の投与方法

投与は、試験動物を収容した吸入チャンバー内に、設定濃度に調整した 1-ブロモ-3-クロロプロパンを含む空気を送り込み、動物に全身暴露することにより行った。なお、対照群は新鮮空気による換気のみとした。

#### Ⅱ-1-3 投与期間

投与期間は 1 日 6 時間、1 週 5 日の暴露（祝祭日は暴露なし）で 104 週間とし、計 492 回の暴露を行った。

#### Ⅱ-1-4 投与濃度

400、100 及び 25 ppm の 3 段階（公比 4）の投与濃度を設定した。

#### Ⅱ-1-5 投与方法、投与期間及び投与濃度の設定理由

投与方法は労働環境における暴露経路に合わせ、全身暴露による経気道投与とした。

投与期間は安衛法ガイドラインがん原性試験による調査の基準（文献 4）及び OECD 化学品テストガイドライン 451（発癌性試験）（文献 5）に従い、2 年間（104 週間）とした。

投与濃度は 13 週間試験（試験番号 0397）の結果（文献 6）をもとに決定した。13 週間試験は 400、200、100、50 及び 25 ppm の濃度で行った。その結果、400 ppm 群で体重増加の抑制及び血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、臓器重量、病理組織学的検査で変化がみられたが、これらの変化は多くが軽度なもので、その内容及び程度からがん原性試験においても、動物の生存率に大きな影響を及ぼすものでないと考えられた。また、低濃度群では、50 ppm 群に肝臓重量の増加と軽度な病理組織学的変化がみられたが、25 ppm 群では 1-ブロモ-3-クロロプロパンの影響がみられないことから、がん原性試験の最低濃度は 25 ppm が妥当と考えた。以上の結果から、ラットを用いたがん原性試験の投与濃度は雌雄とも 400 ppm を最高濃度とし、以下、100、25 ppm（公比 4）と決定した。

## II-1-6 被験物質の発生方法と濃度調整

被験物質の発生方法は FIGURE 1 に示した。被験物質供給装置（柴田科学(株) 特注）の発生容器内の 1-ブロモ-3-クロロプロパンを循環式恒温槽で加熱しながら、清浄空気のバブリングにより蒸発させた。この 1-ブロモ-3-クロロプロパンの蒸気を清浄空気（搬送空気）と混合し、さらに循環式恒温槽で一定温度に冷却、再加熱し、一定濃度にした後、流量計を用いて一定量を吸入チャンバー上部のラインミキサーに供給した。

吸入チャンバー内の 1-ブロモ-3-クロロプロパン濃度はガスクロマトグラフで監視し、その濃度データをもとに設定濃度になるように 1-ブロモ-3-クロロプロパンの吸入チャンバーへの供給量を調節した。

## II-1-7 被験物質の濃度測定

吸入チャンバー内の 1-ブロモ-3-クロロプロパンの濃度は、自動サンプリング装置付ガスクロマトグラフ（Shimadzu GC-9A）により、暴露開始前から暴露終了後まで 15 分毎に測定した。

濃度測定結果を APPENDIX B 1 に示した。各投与群の 1-ブロモ-3-クロロプロパン濃度は、その平均値と設定濃度の差（ $(\text{平均値} - \text{設定濃度}) / \text{設定濃度} \times 100\%$ ）が 0.8%以内、変動係数（ $\text{標準偏差} / \text{平均値} \times 100\%$ ）が 1.6%以内であり、高い精度でチャンバー内濃度が管理されていることが示された。

なお、被験物質の不純物である 1,2-エポキシブタンは、吸入チャンバー内からは検出されなかった。

## II-2 動物管理

### II-2-1 各群の使用動物数

投与群 3 群及び対照群 1 群の計 4 群を設け、各群雌雄各 50 匹の動物を用いた。

各群の使用動物数と動物番号

群番号	群名称	雄	雌
		使用動物数（動物番号）	使用動物数（動物番号）
0	対 照 群	50 匹 (1001-1050)	50 匹 (2001-2050)
1	25 ppm 群	50 匹 (1101-1150)	50 匹 (2101-2150)
2	100 ppm 群	50 匹 (1201-1250)	50 匹 (2201-2250)
3	400 ppm 群	50 匹 (1301-1350)	50 匹 (2301-2350)

## Ⅱ-2-2 群分け及び個体識別方法

供試動物の各群への割り当ては、発育順調で異常を認めない動物を体重の重い順より各群に1匹ずつ割り当て、二巡目からは各群の動物の体重の合計を比較して小さい群より順に体重の重い動物を割り当てることにより、群間の体重の偏りを小さくする群分け方法（適正層別方式）により実施した（文献 7）。

試験期間中の動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間は色素塗布により、投与期間は耳パンチにより行い、また、全期間を通してケージにも個体識別番号を付した。

なお、動物はバリア区域（AC-7 空調エリア）内の独立した室（501 室）に収容し、飼育室に試験番号、動物種及び動物番号を表示し、他の試験及び異種動物と区別した。

## Ⅱ-2-3 飼育条件

動物は検疫室で1週間の検疫飼育を行った後、吸入チャンバー内に移動し、馴化を開始した。馴化期間も1週間とし、投与開始日の前日に群構成を行った。投与期間中は吸入チャンバー内で飼育した。

検疫室、吸入試験室及び吸入チャンバー内の環境条件及び使用した動物ケージを下表に示した。検疫室、吸入試験室の温度、湿度については測定値（平均値±標準偏差）を（ ）内に記した。また、吸入チャンバー内環境の計測結果を APPENDIX B 2 に示した。検疫室、吸入試験室及び吸入チャンバー内の環境は、動物の健康状態に影響を与えるような変化は認められなかった。

飼 育 環 境 条 件

	検疫室 (517 室 : A) (518 室 : B)	吸入試験室 (501 室)	吸入チャンバー内	
			馴化期間	投与期間
温度	23±2℃ (A:22.8±0.1℃) (B:22.9±0.1℃)	22±2℃ (21.6±0.4℃)	23±2℃	
湿度	55±15% (A:54±1%) (B:53±1%)	—	55±15%	
明暗サイクル	12 時間点灯 (8 : 00～20 : 00) / 12 時間消灯 (20 : 00～8 : 00)			
換気回数	15～17 回／時		飼育中 : 12±1 回／時 暴露中 : 6±0.5 回／時	
圧力	—	—	0～－15 ×10Pa	

## 使 用 ケ ー ジ

	検疫室 (517、518 室)	吸入試験室 (501 室)	吸入チャンバー内	
			馴化期間	投与期間
ケージへの動物 の収容方法	群飼 (5 匹)	—	単飼	単飼
ケージの材質・ 形状	ステンレス製 群飼ケージ	—	ステンレス製 6 連網ケージ	ステンレス製 5 連網ケージ
ケージ寸法 (mm)	W340 D294 H176	—	W125 D216 H176	W150 D216 H176

飼料は全飼育期間を通して、オリエンタル酵母工業(株)千葉工場（千葉県千葉市美浜区新港 8-2）の CRF-1 固型飼料（30KGy- $\gamma$ 線照射滅菌飼料）を固型飼料給餌器により自由摂取させた。ただし、定期解剖日の前日の夕方からは給餌しなかった。

飲水は全飼育期間を通して、市水（秦野市水道局供給）をフィルターろ過した後、紫外線照射し、自動給水装置により自由摂取させた。

なお、試験に使用した飼料の栄養成分についてはオリエンタル酵母工業(株)から自社分析データを使用ロットごとに入手し、保管した。飼料中の夾雑物については(財)日本食品分析センター（東京都渋谷区元代々木町 52-1）の分析データを使用ロットごとに入手し、また、飲水については(財)食品薬品安全センター秦野研究所（神奈川県秦野市落合 729-5）に 3 ヶ月ごとに分析を委託し、それぞれ試験計画書に規定した許容基準と照合して異常のないことを確認した後、その記録を保管した。

## Ⅱ-3 観察・検査項目及び方法

## Ⅱ-3-1 動物の生死及び一般状態の観察

動物の生死及び瀕死の確認を毎日 1 回行った。また、一般状態の詳細観察は、検疫及び馴化期間中は検疫開始日（導入時）、検疫終了・馴化開始日及び馴化最終日（群構成時）に行い、投与期間中は週 1 回、暴露開始前に行った。

## Ⅱ-3-2 体重測定

体重測定は、検疫及び馴化期間中は検疫開始日（導入時）、検疫終了・馴化開始日及び馴化最終日（群構成時）に行い、投与期間中は、投与開始後 14 週間は週 1 回、それ以降は 4 週に 1 回（104 週にも測定）を行った。また、動物の死亡発見、切迫屠殺及び定期解剖の搬出時にも体重を測定した。



### Ⅱ-3-3 摂餌量測定

全動物について、投与開始後 14 週間は週 1 回、それ以降は 4 週に 1 回（104 週にも測定）給餌量及び残餌量を測定し、その差を給餌日数で除した値を 1 日当りの摂餌量とした。

### Ⅱ-3-4 血液学的検査

定期解剖時に生存していた採血可能な動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈より、EDTA-2 カリウム入り採血管に採血した血液を用いて、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX Q に示した。

検査項目：赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積（MCV）、平均赤血球ヘモグロビン量（MCH）、平均赤血球ヘモグロビン濃度（MCHC）、血小板数、白血球数、白血球分類

### Ⅱ-3-5 血液生化学的検査

定期解剖時に生存していた採血可能な動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈より、ヘパリンリチウム入り採血管に採血した血液を遠心分離し、得られた血漿を用いて、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX Q に示した。

検査項目：総蛋白、アルブミン、A/G 比、総ビリルビン、グルコース、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、GOT、GPT、LDH、ALP、 $\gamma$ -GTP、CPK、尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、無機リン

### Ⅱ-3-6 尿検査

投与 104 週まで生存した動物から新鮮尿を採取し、尿試験紙（マルティ スティックス、バイエル社製）を用いて、下記の項目について検査を行った。

検査項目：pH、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン

### Ⅱ-3-7 病理学的検査

#### 1 剖検

全動物について肉眼的に観察を行った。

#### 2 臓器重量

定期解剖時まで生存した動物について次頁に示した各臓器の湿重量（実重量）を測定した。

また、各臓器の湿重量の定期解剖時の体重に対する百分率（臓器重量体重比）を算出した。

副腎、精巣、卵巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳

### 3 病理組織学的検査

全動物について下記に示した器官、組織を 10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液にて固定し、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色し、光学顕微鏡で病理組織学的に検査した。

皮膚、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、骨髓（大腿骨）、リンパ節（腋窩、腹壁等）、胸腺、脾臓、心臓、舌、唾液腺、食道、胃、小腸（十二指腸を含む）、大腸、肝臓、膵臓、腎臓、膀胱、下垂体、甲状腺、上皮小体、副腎、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、卵巣、子宮、膣、乳腺、脳、脊髄、末梢神経（坐骨神経）、眼球、ハーダー腺、筋肉、骨（大腿骨）、肉眼的に変化のみられた器官及び組織

## II-4 数値処理と統計方法

### II-4-1 数値の取り扱いと表示

各数値データは計測機器の精度に合わせて表示した。

吸入チャンバー内の被験物質濃度は ppm を単位として、小数点以下 3 位まで計測し、小数点以下第 2 位を四捨五入して小数点以下第 1 位までを表示した。

体重は g を単位とし、整数値の 1 の位まで計測し、表示した。

摂餌量は g を単位とし、給餌量及び残餌量を小数点以下第 1 位まで計測し、給餌量値から残餌量値を減じて摂餌量とした。この値を計測期間の日数で除し 1 日当りの平均摂餌量を算出し、小数点以下第 2 位を四捨五入して小数点以下第 1 位までを表示した。

臓器実重量は g を単位とし、小数点以下第 3 位まで計測し、表示した。臓器重量体重比は臓器実重量値を解剖時体重で除し、パーセント単位で小数点以下第 4 位を四捨五入して小数点以下第 3 位までを表示した。

血液学的検査、血液生化学的検査は APPENDIX Q に示した単位と精度により表示した。

なお、各数値データの平均値及び標準偏差は上記に示した桁数と同様になるよう四捨五入して表示した。

### II-4-2 母数の取り扱い

体重及び摂餌量は、各計測時に生存していた全動物を対象に計測し、計測した動物数を母数とした。

尿検査は、投与 104 週まで生存した動物を対象に行い、採尿した動物数を母数とした。

血液学的検査、血液生化学的検査及び臓器重量の計測は、定期解剖時まで生存した全動物を

対象とし、検査動物数または計測動物数を母数とした。

剖検は全動物数を母数とした。

病理組織学的検査は臓器別に検査不能臓器数を除いたものを母数とした。

## II-4-3 統計方法

体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査及び臓器重量の測定値は、まず Bartlett 法により等分散の予備検定を行い、その結果が等分散の場合には一元配置分散分析を行い、群間に有意差が認められた場合は Dunnett の多重比較により平均値の検定を行った。また、分散の等しくない場合には各群を通して測定値を順位化して、Kruskal-Wallis の順位検定を行い、群間に有意差が認められた場合には Dunnett 型の多重比較を行った。

病理組織学的検査のうち非腫瘍性病変については、所見のみられなかった動物をグレード 0、所見のみられた動物は、その所見の程度及び範囲などを基準として 1～4 にグレード分けし、 $\chi^2$  検定を行った。また、尿検査についても  $\chi^2$  検定を行った。

腫瘍性病変については、各臓器の腫瘍ごとに、各群ごとの総担癌臓器数について、Peto 検定（文献 8）、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定を行った。また Peto 検定は病理組織学的検査時に付与されたコンテックス(注)を用いて、死亡率法（コンテックス 3, 4 を付与された腫瘍についての検定）、有病率法（コンテックス 0, 1, 2 を付与された腫瘍についての検定）、死亡率法＋有病率法（コンテックス 0～4 の総計で検定）を行った。

各群雌雄ごとに検査数が 2 以下の項目については検定より除外した。

各検定は 5% の有意水準で両側検定（Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定は片側検定）を行い、検定結果を表示する場合には 5% 及び 1% の有意水準の表示を行った。

注：Peto 検定に用いるコンテックス

- 0：定期解剖動物にみつかった腫瘍
- 1：死亡／瀕死動物にみつかった腫瘍で、直接死因に関係しない腫瘍
- 2：多分 1 だと思うが、確かでない腫瘍
- 3：多分 4 だと思うが、確かでない腫瘍
- 4：死亡／瀕死動物にみつかった腫瘍で、直接死因に係わっていた腫瘍

### Ⅲ 試験成績

#### Ⅲ-1 生死状況

投与期間中における群別の生存状況を TABLE 1, 2 及び FIGURE 2, 3 に示した。

最終計測週（104 週）における生存数（生存率）は、雄では対照群：40 匹（80.0%）、25 ppm 群：35 匹（70.0%）、100 ppm 群：38 匹（76.0%）、400 ppm 群：30 匹（60.0%）であった。雌では対照群：38 匹（76.0%）、25 ppm 群：45 匹（90.0%）、100 ppm 群：39 匹（78.0%）、400 ppm 群：26 匹（52.0%）であった。

雌雄とも 400 ppm 群の生存率がやや低値であった。

#### Ⅲ-2 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX C 1, 2 に、外部腫瘍と内部腫瘍の発生動物数（一般状態の観察時に腫瘍を視診または触診できた数）を TABLE 3, 4 に示した。

投与期間を通しての外部腫瘍の発生動物数は、雄では対照群：11 匹、25 ppm 群：17 匹、100 ppm 群：12 匹、400 ppm 群：7 匹、雌では対照群：10 匹、25 ppm 群：9 匹、100 ppm 群：12 匹、400 ppm 群：14 匹であった。

投与期間を通しての内部腫瘍の発生動物数は、雄では対照群：3 匹、25 ppm 群：2 匹、100 ppm 群：0 匹、400 ppm 群：0 匹、雌では対照群：2 匹、25 ppm 群：0 匹、100 ppm 群：2 匹、400 ppm 群：5 匹であった。

雌雄とも外部腫瘍及び内部腫瘍の発生数には、被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。その他の一般状態でも、被験物質の影響と思われる所見はみられなかった。

#### Ⅲ-3 体重

投与期間中における群別の体重推移を TABLE 1, 2、FIGURE 4, 5 及び APPENDIX D 1, 2 に示した。

雄では、400 ppm 群が投与期間を通じ、対照群に比べ低値であった。

雌では、400 ppm 群が投与期間の後半、対照群に比べ低値であった。なお、100 ppm 群は投与期間の後半、対照群に比べやや高値であったが、被験物質との関連は不明であった。

最終計測時（104 週）の体重は、対照群に対して、雄では 25 ppm 群：99%、100 ppm 群：101%、400 ppm 群：75%、雌では 25 ppm 群：103%、100 ppm 群：108%、400 ppm 群：80%であった。

### Ⅲ-4 摂餌量

投与期間中における群別の摂餌量（1日1匹当りの摂餌量）をTABLE 5, 6, FIGURE 6, 7及びAPPENDIX E 1, 2に示した。

雄は各投与群とも、対照群と同様な値で推移した。

雌では、400 ppm群でやや高値であったが、被験物質との関連は不明であった。

### Ⅲ-5 血液学的検査

定期解剖時に行った血液学的検査の結果をTABLE 7, 8及びAPPENDIX F 1, 2に示した。

雄では被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。なお、MCHの減少が400 ppm群でみられたが、赤血球数等に変化はみられなかった。また、血小板数の増加が100 ppm群でみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

雌では、血小板数の増加が400 ppm群でみられた。また、白血球数に変化がみられた。白血病を発生した動物を除いた白血球数の値（平均±標準偏差、単位  $10^3/\mu\text{L}$ ）は、対照群： $2.50 \pm 0.84$ 、25 ppm群： $2.90 \pm 1.41$ 、100 ppm群： $2.70 \pm 1.09$ 、400 ppm群： $5.19 \pm 2.10$ となり、400 ppm群で白血球数の増加がみられた。その他、MCV、MCH、MCHCの減少が400 ppm群でみられたが、赤血球数等に変化はみられなかった。

### Ⅲ-6 血液生化学的検査

定期解剖時に行った血液生化学的検査の結果をTABLE 9, 10及びAPPENDIX G 1, 2に示した。

雄では、A/G比の減少、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、尿素窒素の増加が100 ppm以上の群でみられた。また、アルブミンの減少、 $\gamma$ -GTPとクロールの増加が400 ppm群でみられた。その他、GPTの減少、カルシウムの増加が100 ppm群で、カリウムの減少が25 ppm群でみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。また、ALP、CPKに変化がみられたが、いずれも低下性の変化であった。

雌では、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質の増加が全投与群でみられた。また、A/G比の減少が100 ppm以上の群で、アルブミン、グルコースの減少及び総ビリルビン、GOT、GPT、LDH、ALP、 $\gamma$ -GTP、尿素窒素、クロール、カルシウムの増加が400 ppm群でみられた。その他、ALP（25、100 ppm群）とクレアチニンに変化がみられたが、いずれも低下性の変化であった。

### Ⅲ-7 尿検査

投与 104 週に行った尿検査の結果を TABLE 11, 12 及び APPENDIX H 1, 2 に示した。

雌雄とも、蛋白陽性度の増加が 100 ppm 以上の群で、pH の低下が 400 ppm 群でみられた。

### Ⅲ-8 病理学的検査

#### Ⅲ-8-1 剖検

剖検所見を APPENDIX I 1~6 に示した。

雄では肝臓、肺、大腸の結節の発生及び腎臓の顆粒状変化が増加した。

肝臓の結節は、対照群で 2 匹、25 ppm 群で 1 匹、100 ppm 群で 5 匹、400 ppm 群で 9 匹にみられた。肺の結節は、対照群で 2 匹、25 ppm 群で 3 匹、100 ppm 群で 1 匹、400 ppm 群で 7 匹にみられた。大腸の結節は 400 ppm 群にのみ 4 匹みられた。また、腎臓の顆粒状変化は、対照群で 8 匹、25 ppm 群で 4 匹、100 ppm 群で 14 匹、400 ppm 群で 20 匹にみられた。

雌では肝臓の結節の発生の増加と腹腔の出血がみられた。

肝臓の結節は、対照群で 1 匹、25 ppm 群で 0 匹、100 ppm 群で 2 匹、400 ppm 群で 41 匹にみられた。また、腹腔の出血が 400 ppm 群で 7 匹にみられた。

#### Ⅲ-8-2 臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量と体重比を TABLE 13, 14 及び APPENDIX J 1, 2, K 1, 2 に示した。

雄では、肝臓の実重量と体重比の高値が 100 ppm 以上の群でみられた。また、腎臓の体重比の高値が 100 ppm 以上の群で、実重量の高値が 100 ppm 群でみられた。400 ppm 群の腎臓の実重量も対照群に比べ僅かであるが高値であり、また、同群の解剖時体重が低値であったことを考え、400 ppm 群の腎臓も実質的には増加していると考えられた。さらに、副腎の実重量と体重比の低値が 400 ppm 群にみられた。その他、400 ppm 群では、心臓、肺、脳の実重量の低値、精巣、心臓、肺、脾臓及び脳の体重比の高値がみられたが、これらの変化は 400 ppm 群の解剖時体重の低値によるものと思われる。

雌では、肝臓の実重量と体重比の高値が 100 ppm 以上の群でみられた。また、肺及び腎臓の実重量と体重比の高値が 400 ppm 群にみられた。その他、400 ppm 群では、卵巣、脳の実重量の低値、副腎、心臓、脾臓及び脳の体重比の高値がみられたが、これらの変化は 400 ppm 群の解剖時体重の低値によるものと思われる。また、腎臓の実重量の高値、脳の体重比の低値が 100 ppm 群でみられた。しかし、腎臓の体重比は対照群と同様であり、実重量の高値が被験物質の影響かは不明であった。脳の実重量も対照群と同様であり、体重比の低値は解剖時体重の高値によるものと思われた。

### Ⅲ-8-3 病理組織学的検査

主な腫瘍性病変と非腫瘍性病変の発生数を TABLE 15～18 に示した。また、非腫瘍性病変を APPENDIX L 1～6 に示した。腫瘍性病変の結果は、担腫瘍動物数と腫瘍数の結果を APPENDIX M 1, 2 に、腫瘍の種類別の発生数を APPENDIX N 1, 2 に、統計解析（Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定）の結果を APPENDIX O 1, 2 に、転移性病変を APPENDIX P 1～6 に示した。また、本試験でみられた腫瘍について、日本バイオアッセイ研究センターにおけるヒストリカルコントロールデータ（試験ごとの発生率（最小%～最大%）と平均発生率(%）、発生匹数/総匹数）を雌雄別にそれぞれ TABLE 20 と 21 に示した。

－雄－

#### 1) 腫瘍性病変

##### <肝臓>

肝細胞癌の発生は、Peto 検定（死亡率法、有病率法、有病率法＋死亡率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 400 ppm 群に増加がみられた。肝細胞癌の 400 ppm 群における発生(6 匹、12%) は、ヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 0%～最大 2%、平均発生率 0.3%）を超えた。また、肝細胞腺腫の発生は Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 400 ppm 群に増加がみられた。肝細胞腺腫の 400 ppm 群における発生(10 匹、20%) は、ヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 0%～最大 8%、平均発生率 1.7%）を超えた。従って、肝細胞癌と肝細胞腺腫の発生増加は被験物質の暴露によるものと考えられた。さらに、肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生は、Peto 検定（死亡率法、有病率法、有病率法＋死亡率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、かつ Fisher 検定で 400 ppm 群に増加がみられた。

肝細胞癌と肝細胞腺腫は基本構造を逸脱した肝細胞の増生であり、肝細胞癌では肝細胞索が 4 層を超えて増生するのが特徴で、管状を呈する腫瘍組織が血管洞内に増生する像もみられた。

また、肝細胞癌の肺への転移が 400 ppm 群の 2 匹に観察された。

血管肉腫が 400 ppm 群に 2 匹(4%)認められた。この腫瘍の発生は統計的有意差を示さなかった。従前のヒストリカルコントロールデータの総匹数 1749 匹では、この腫瘍は観察されなかったが、本試験では対照群に 1 匹認められた。しかし、400 ppm 群の血管肉腫の発生率は、従前のヒストリカルコントロールデータの範囲はもとより、本試験の対照群を含めたヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 0%～最大 2%、平均発生率 0.06%）も超えたことから、この腫瘍の発生は被験物質の暴露によるものと判断した。

##### <肺>

細気管支－肺胞上皮腺腫の発生は、Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。400 ppm 群における腺腫発生（7 匹、14%）は、ヒストリカルコンロー



ルデータの範囲（最小 0%～最大 10%、平均発生率 3.5%）を超えており、この腫瘍の発生増加は被験物質の暴露によるものと考えられた。また、細気管支－肺胞上皮癌と細気管支－肺胞上皮腺腫を合わせた発生は、Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。

#### <大腸>

腺腫の発生は、Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。大腸の腺腫は 400 ppm 群に 3 匹(6%)認められた。また、腺癌が 400 ppm 群に 1 匹みられた。これらの腫瘍はヒストリカルコントロールデータでは発生のみられていない稀な腫瘍であり、被験物質の暴露により発生したと考えられた。腺腫と腺癌を合わせた発生は、Peto 検定（有病率法、有病率法＋死亡率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。腺腫の組織像は、管状の粘膜上皮組織が増生し内腔側にポリープ状に突出する像を特徴としており、腺癌では粘膜固有層や粘膜下組織への浸潤がみられた。

#### <皮膚／付属器官>

毛嚢上皮腫の発生は、Peto 検定（有病率法＋死亡率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。400 ppm 群における毛嚢上皮腫の発生(3 匹、6%)は、ヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 0%～最大 4%、平均発生率 0.8%）を超えており、この腫瘍の発生増加は被験物質の暴露によるものと考えられた。組織像は毛根に類似した組織が結節状に増生する像を特徴としていた。

その他、皮下の線維腫と腹膜の中皮腫の発生に对照群と投与群の間で統計的有意差が示されたが、投与濃度に対応した変化ではないことから暴露による影響ではないと判断した。

## 2) 非腫瘍性病変

#### <肝臓>

明細胞性小増殖巣の発生が 100 ppm 以上の群で増加した。また、好酸性小増殖巣と好塩基性小増殖巣の発生が 400 ppm 群で増加した。

#### <肺>

細気管支－肺胞上皮増生の発生が、僅かではあるが投与濃度に対応して増加する傾向があった。発生数は 25 ppm 群に 1 匹、100 ppm 群に 2 匹、400 ppm 群に 3 匹で、对照群では認められなかった。

#### <鼻腔>

呼吸上皮、鼻腺及び嗅上皮に病変の発生が観察された。

呼吸上皮には炎症の発生増加が全投与群、扁平上皮化生の発生増加が 400 ppm 群に認められた。炎症は、上皮内と粘膜固有層への炎症細胞浸潤の出現を主とした像であり、呼吸上皮の移行上皮部から線毛上皮部にかけて観察された。扁平上皮化生は呼吸上皮が扁平上皮に置き換わった像である。これらの病変は主に鼻腔先端（第 1 レベル）にみられ、程度の弱いものでは移行上皮のみに、強いものでは呼吸上皮まで広がる傾向にあった。なお、移行上皮には

異型的過形成、すなわち異型化（核の不整化）を伴う上皮の厚さの増加が、400 ppm 群の 4 匹にみられた。

鼻腺には、呼吸上皮化生の発生が投与濃度に対応して程度が強くなる傾向にあったが、対照群との差は軽度であった。この所見は呼吸上皮下に存在する鼻腺の腺上皮が呼吸上皮に置き換わる変化であり、鼻腔中央部（第 2 レベル）の鼻腺にみられた。

嗅上皮には萎縮、壊死及び呼吸上皮化生の発生増加が 400 ppm 群に認められた。

#### <脾臓>

ヘモジデリン沈着は、投与濃度が高い群ほど重度の沈着を有する動物が多くなった。

#### <腎臓>

慢性腎症は統計的有意差を示さなかったが、投与濃度が高い群ほど重度の病変を有する動物が多い傾向にあった。

その他、心臓の心筋線維症、甲状腺の C 細胞増性、眼球の網膜萎縮の発生に対照群と投与群の間で統計的有意差が示されたが、投与濃度に対応した変化ではないことから暴露による影響ではないと判断した。

#### －雌－

##### 1) 腫瘍性病変

#### <肝臓>

肝細胞癌の発生は、Peto 検定（死亡率法、有病率法、有病率法＋死亡率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 400 ppm 群に増加がみられた。肝細胞癌の 400 ppm 群における発生(38 匹、76%) は、ヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 0%～最大 2%、平均発生率 0.1%）を超えた。肝細胞腺腫の発生は、Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 400 ppm 群に増加がみられた。肝細胞腺腫の 400 ppm 群における発生（32 匹、64%）は、ヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 0%～最大 6%、平均発生率 1.3%）を超えた。従って、肝細胞癌と肝細胞腺腫の発生増加は被験物質の暴露によるものと考えられた。なお、肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生は、Peto 検定（死亡率法、有病率法、有病率法＋死亡率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 400 ppm 群に増加がみられた。

血管肉腫の発生は、Peto 検定（死亡率法、有病率法＋死亡率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 400 ppm 群に増加がみられた。血管肉腫の 400 ppm 群における発生(6 匹、12%) は、ヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 0%～最大 2%、平均発生率 0.1%）を超えており、この腫瘍の発生増加は被験物質の暴露によるものと考えられた。また、血管腫と血管肉腫を合わせた発生は、Peto 検定（死亡率法、有病率法＋死亡率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 400 ppm 群に増加がみられた。

肝細胞癌と血管肉腫は他臓器への転移が認められた。肝細胞癌の転移は 400 ppm 群の 13

匹に観察され、主な転移先の臓器は肺であったが、副腎への転移も 1 匹に認められた。血管肉腫の転移は 400 ppm 群の 2 匹に観察され、転移先の臓器は肺であった。

#### <肺>

細気管支－肺胞上皮腺腫の発生は、Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。400 ppm 群における腺腫発生（5 匹、10%）は、ヒストリカルコントロールデータの範囲内（最小 0%～最大 10%、平均発生率 1.9%）であるが、雄にも同種の腫瘍の発生増加があることを勘案し、雌の細気管支－肺胞上皮腺腫の発生増加も被験物質の暴露によるものと考えられた。

#### <大腸>

大腸の腺腫が 400 ppm 群に 2 匹(4%)認められた。この腫瘍の発生は統計的有意差を示さなかったが、ヒストリカルコントロールデータでは観察されていない、稀な腫瘍の発生であり、被験物質の暴露により発生したと考えられた。

#### <皮膚／付属器官>

毛嚢上皮腫の発生が 100 ppm 群に 1 匹(2%)、400 ppm 群に 2 匹(4%)認められた。この腫瘍の発生は統計的有意差を示さなかったが、400 ppm 群における毛嚢上皮腫の発生率は、ヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 0%～最大 2%、平均発生率 0.2%）を超えており、被験物質の暴露により発生したと考えられた。

#### <脾臓>

単核球性白血病の発生は Peto 検定（死亡率法、有病率法、有病率法+死亡率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 400 ppm 群に増加がみられた。しかし、単核球性白血病の 400 ppm 群における発生（13 匹、26%）は、ヒストリカルコントロールデータの範囲内（最小 2%～最大 26%、平均発生率 13.1%）であった。従って、単核球性白血病の発生は被験物質の暴露によるものでないと判断した。

### 2) 非腫瘍性病変

#### <肝臓>

明細胞性小増殖巣と好酸性小増殖巣の発生が 400 ppm 群で増加した。また、胆管増性の発生が 100 ppm 以上の群で増加した。

#### <鼻腔>

呼吸上皮、鼻腺及び嗅上皮に病変の発生が観察された。

呼吸上皮には炎症と扁平上皮化生の発生増加が 400 ppm 群に認められた。なお、移行上皮の異型的過形成が、100 ppm 群の 1 匹と 400 ppm 群の 2 匹にみられた。

鼻腺には呼吸上皮化生の発生増加が 100 ppm 以上の群に認められた。

嗅上皮には萎縮と壊死の発生増加が 400 ppm 群に認められた。

#### <腎臓>

慢性腎症は投与濃度が高い群ほど重度の病変を有する動物が多くなった。

#### <骨髓>

造血亢進が 400 ppm 群で増加した。

その他、肝臓の好塩基性小増殖巣、鼻腔の嗅上皮のエオジン好性変化及び脾臓のヘモジデリン沈着の発生減少が 400 ppm 群で、肝臓の肉芽形成の発生減少が 100 ppm 以上の群でみられた。

なお、鼻腔の嗅上皮のエオジン好性変化（25 ppm 群）及び呼吸上皮のエオジン好性変化（100 ppm 群）の発生に対照群と投与群の間で統計的有意差が示されたが、投与濃度に対応した変化ではないことから暴露による影響ではないと判断した。

#### Ⅲ-8-4 死因

病理学的にみた死亡／瀕死の原因を TABLE 19 に示した。

雄では、肝臓腫瘍による死亡は対照群にみられなかったが、400 ppm 群の 3 匹が肝臓腫瘍により死亡した。

雌では、肝臓腫瘍による死亡は対照群にみられなかったが、400 ppm 群の 8 匹が肝臓腫瘍により死亡した。また、白血病による死亡は対照群では 3 匹であったが、25 ppm 群の 1 匹、100 ppm 群の 3 匹、400 ppm 群の 8 匹が白血病により死亡した。

#### IV 考察及びまとめ

1 - ブロモ - 3 - クロロプロパンのラットを用いた 2 年間の全身暴露による吸入試験（投与濃度：25、100 及び 400 ppm）によって、腫瘍性病変、腫瘍関連病変と非腫瘍性病変及びこれらの病変を反映する諸々の指標の変化が認められた。

##### IV-1 生存率、一般状態、体重、摂餌量

生存率は、雌雄とも 400 ppm 群が対照群に比べやや低値であった。

体重は、雄は 400 ppm 群が投与期間を通じ、雌は 400 ppm 群が投与期間の後半、対照群に比べ低値であった。

一般状態及び摂餌量には 1 - ブロモ - 3 - クロロプロパンの影響と思われる変化はみられなかった。

##### IV-2 腫瘍性及び腫瘍関連病変

雌雄とも、肝臓、肺、大腸及び皮膚／付属器官に腫瘍の発生増加がみられた。

###### <肝臓腫瘍>

雄では、肝細胞癌と肝細胞腺腫の発生増加が認められた。肝細胞癌は肝細胞腺腫が悪性化した腫瘍であり、400 ppm 群で発生した肝細胞癌は肺への転移がみられた。従って、肝細胞癌と肝細胞腺腫の発生増加は雄ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠と考えられた。また、雄の 400 ppm 群の 2 匹にみられた血管肉腫は、ヒストリカルコントロールデータの範囲を超えており、かつ、雌にも同じ血管肉腫の発生増加が認められることから、雄ラットに対するがん原性を示唆する証拠と考えられた。

雌では、肝細胞癌、肝細胞腺腫及び血管肉腫の発生増加が認められた。肝細胞癌と血管肉腫は悪性腫瘍に分類される腫瘍であり、400 ppm 群で発生した肝細胞癌と血管肉腫は他臓器（主に肺）への転移がみられた。従って、肝細胞癌、肝細胞腺腫及び血管肉腫の発生増加は、雌ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠と考えられた。

雄では、明細胞性小増殖巣、好酸性小増殖巣及び好塩基性小増殖巣、雌で明細胞性小増殖巣と好酸性小増殖巣の発生が増加した。これらの所見は肝細胞腺腫や肝細胞癌の前腫瘍性病変とされている変化である（文献 9）。発生増加がみられた濃度は肝細胞腫瘍の発生が増加した 400 ppm が主であったが、雄の明細胞性小増殖巣は 100 ppm まで発生増加が認められた。

###### <肺腫瘍>

雄では、細気管支－肺胞上皮腺腫の発生増加が認められた。細気管支－肺胞上皮腺腫は良性腫瘍であり、悪性腫瘍の発生増加は認められなかった。従って、細気管支－肺胞上皮腺腫の発

生増加は雄ラットに対するがん原性を示す証拠と考えられた。

雌でも、細気管支－肺胞上皮腺腫の発生増加が認められた。この腫瘍の 400 ppm 群における発生率は、ヒストリカルコントロールデータの範囲内であるが、雄にも同種の腫瘍の発生増加があることを勘案し、細気管支－肺胞上皮腺腫の発生増加は雌ラットに対するがん原性を示唆する証拠と考えられた。

また、細気管支－肺胞上皮腺腫の前腫瘍性病変である細気管支－肺胞上皮増生が（文献 10）、雄の投与群で僅かではあるが増加する傾向がみられた。しかし、これらの病変以外には、1-ブロモ-3-クロロプロパンの肺への影響は認められなかった。

#### <大腸腫瘍>

雄では、腺腫が 400 ppm 群の 3 匹に認められた。また、腺腫が悪性化した腺癌が 400 ppm 群の 1 匹にみられた。これらの腫瘍はヒストリカルコントロールデータでは発生のみされていない稀な腫瘍である。主に発生増加した腺腫は良性腫瘍であり、悪性腫瘍である腺癌の発生数は少ないことから、これらの腫瘍の発生増加は雄ラットに対するがん原性を示す証拠と考えられた。

雌では、400 ppm 群の 2 匹に腺腫の発生がみられた。この腫瘍は、ヒストリカルコントロールデータでは発生のみされていない稀な腫瘍である。しかし、発生数が少ないことから、腺腫の発生増加は雌ラットに対するがん原性を示唆する証拠と考えられた。

#### <皮膚／付属器官腫瘍>

雄では、毛嚢上皮腫の発生が増加を示した。毛嚢上皮腫は良性腫瘍であり、また、発生数が少ないことから、その発生増加は雄ラットに対するがん原性を示唆する証拠と考えられた。

雌では、毛嚢上皮腫の発生が 100 ppm 群の 1 匹と 400 ppm 群の 2 匹にみられた。この腫瘍の 400 ppm 群における発生率はヒストリカルコントロールデータの範囲を超えており、雄にも同種の腫瘍の発生増加がみられたことから、その発生は雌ラットに対するがん原性を示唆する証拠と考えられた。

### IV-3 非腫瘍性病変

雄に肝臓と鼻腔、雌に肝臓、鼻腔及び腎臓への影響がみられた。

肝臓では重量の増加が雌雄にみられた。また、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質及びγ-GTP の増加が雌雄に、GOT、GPT、LDH 及び ALP の増加が雌に認められた。GOT、GPT、LDH 及び ALP は逸脱酵素であり、肝臓腫瘍が多発した雌の 400 ppm 群に増加が認められたことから、肝臓腫瘍の発生に伴う変化の可能性はある。これに対し、総コレステロール、トリグリセライド及びリン脂質の増加は、雄の 100 ppm 以上の群と雌の全投与群、また、肝臓重量の増加は雌雄の 100 ppm 以上の群にみられ、肝臓には腫瘍発生以外の影響が、より低濃度

で起きていたと考えられた。

鼻腔には、雌雄とも呼吸上皮の炎症と扁平上皮化生、鼻腺の呼吸上皮化生、嗅上皮の萎縮と壊死の発生増加がみられ、嗅上皮の呼吸上皮化生の発生増加が雄にのみ認められた。これらの変化は刺激性を有する化学物質の吸入により発生する所見であり（文献 11,12）、1-ブロモ-3-クロロプロパンの軽度な刺激性により上部気道に傷害が発生したことを示している。また、病変の発生増加した濃度は主に 400 ppm であったが、呼吸上皮の炎症は雄の全投与群、鼻腺の呼吸上皮化生は雌の 100 ppm 以上の群に発生増加がみられた。本試験に先立ち実施した 13 週間試験でも上部気道への影響がみられた。すなわち、鼻腔に呼吸上皮の杯細胞増生と過形成及び嗅上皮の剥離と配列不整、鼻咽頭に杯細胞増生が観察され、鼻腔と鼻咽頭にみられた杯細胞増生は 50 ppm の濃度でも発生が増加していたが、25 ppm では上部気道への影響が認められなかった（文献 6）。本試験では上部気道への影響が認められる濃度は最低濃度である 25 ppm であり、13 週間の吸入に比較するとより低濃度まで影響があったと考えられた。しかし、25 ppm 群で観察された傷害の程度は軽度であった。類似化学物質である 1,2-ジブロモ-3-クロロプロパンは、ラットに吸入暴露した実験で鼻腔腫瘍が発生することが報告されている（文献 13）。しかし、本試験では移行上皮に異型的過形成の発生が数匹に観察されたが、鼻腔腫瘍の発生増加はなかった。

腎臓には、慢性腎症の発生増加が雌の全投与群でみられ、また、雌の 400 ppm 群では腎臓重量が増加した。雄は腎臓重量の増加が 100 ppm 以上の群でみられ、慢性腎症も重度の病変を有する動物が 100 ppm 以上の群で増える傾向がみられた。また、尿素窒素の増加が雄では 100 ppm 以上の群に、雌では 400 ppm 群に認められ、腎臓機能の障害も示唆された。13 週間試験でも、雌雄とも病理組織変化が認められなかったが、腎臓重量の増加が 200 ppm 以上の濃度でみられている（文献 6）。従って、1-ブロモ-3-クロロプロパンは腎臓へなんらかの影響があり、2 年間の吸入によりラットの加齢性病変である慢性腎症の発生が増強されたと考えられた。

#### IV-4 量-反応関係

腫瘍の発生増加は、雌雄とも肝臓腫瘍、肺腫瘍、大腸腫瘍及び皮膚／付属器官腫瘍にみられ、これらの腫瘍の発生増加が認められた濃度は 400 ppm であった。

腫瘍以外の影響は、雌雄とも肝臓、鼻腔及び腎臓にみられた。これらの影響が認められた濃度は、雄では鼻腔（呼吸上皮の炎症）への影響が 25 ppm 以上、肝臓（重量増加、総コレステロール、トリグリセライド及びリン脂質の増加）と腎臓（重量増加、尿素窒素の増加）への影響が 100 ppm 以上であった。雌は、肝臓（総コレステロール、トリグリセライド及びリン脂質の増加）と腎臓（慢性腎症）への影響が 25 ppm 以上、鼻腔（鼻腺の呼吸上皮化生）への影響が 100 ppm 以上であった。



## IV-5 他文献との比較等

① がん原性：1-プロモ-3-クロロプロパンについての報告はない。

類似化学物質である1,2-ジプロモ-3-クロロプロパン(1,2-DB-3-CP)については、吸入と経口投与による長期試験がNTPにより実施されている。

F344 ラットに工業グレード（微量のエピクロロヒドリンと1,2-ジプロモエタンを含む）の1,2-DB-3-CPを0.6 ppmまたは3 ppmの濃度で、6時間/日、5日/週、104週間吸入暴露（3 ppmは84週で屠殺）した実験では、鼻腔腫瘍が雌雄とも0.6 ppmと3 ppm群、舌腫瘍が雌雄の3 ppm群、副腎皮質腫瘍が雌の0.6 ppmと3 ppm群、鼻咽頭腫瘍が雌の3 ppm群、乳腺腫瘍が雌の0.6 ppm群で発生増加したと報告している（文献13）。

Osborne-Mendel ラットに工業グレードの1,2-DB-3-CPをコーン油に混ぜ、5日/週、高用量群は時間加重平均29mg/kg体重/日で雌雄とも64週間、低用量群は時間加重平均15mg/kg体重/日で雄は78週間、雌は73週間強制経口投与した実験では、前胃の腫瘍の発生増加が雌雄の低用量群と高用量群で認められ、雌では乳腺腫瘍の増加もみられたと報告している（文献14）。

② 変異原性：1-プロモ-3-クロロプロパンの微生物を用いる変異原性試験は、ネズミチフス菌の5菌株（TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538）及び大腸菌1菌株（WP2uvrA）を使用し、プレインキュベーション法でラット肝S9を用いた代謝活性化による場合とよらない場合について実施された。その結果、ネズミチフス菌TA1535を用いた代謝活性化による場合においてのみ陽性を示した（文献15）。

ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験は、チャイニーズハムスター培養細胞(CHL/IU)を使用し、4つの異なる処理法（+S9処理（S9添加6時間処理）、-S9処理（S9無添加6時間処理）、24時間処理（S9無添加）、48時間処理（S9無添加））で実施された。その結果、構造異常は+S9処理及び24時間処理で陽性となり、数的異常は24時間処理、48時間処理で陽性となった（文献16）。ラット肝S9を添加した+S9処理では、S9無添加の24時間及び48時間処理に比べて強い染色体異常誘発性を示した。

## V 結論

F344/DuCrj(Fischer) ラットを用いて 1 - ブロモ - 3 - クロロプロパンの 2 年間(104 週間)にわたる吸入によるがん原性試験を行った結果、以下の結論を得た。

雄では、肝細胞癌と肝細胞腺腫の発生増加が認められ、雄ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠であると考えられた。また、細気管支－肺胞上皮腺腫、大腸の腺腫と腺癌、皮膚／付属器官の毛嚢上皮腫、肝臓の血管肉腫の発生増加もみられた。

雌では、肝細胞癌、肝細胞腺腫及び肝臓の血管肉腫の発生増加が認められ、雌ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠であると考えられた。また、細気管支－肺胞上皮腺腫、大腸の腺腫、皮膚／付属器官の毛嚢上皮腫の発生増加もみられた。

## VI 文献

1. U.S. National Library of Medicine, Specialized Information Services 2004.  
1-Bromo-3-Chloropropane, Chemical/Physical Properties. Hazardous Substances Data Bank(HSDB). Available: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/f?.temp/~R5i4jd:1:FULL> [accessed 8 September 2004].
2. McLafferty FW, ed. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th ed.  
New York, NY : John Wiley and Sons.
3. 和光純薬工業(株). 1998. 1 - ブロモ - 3 - クロロプロパン, 赤外吸収スペクトル.
4. 労働省労働基準局長. 1997. がん原性試験による調査の基準について. 基発 第 144 号,  
平成 9 年 3 月 11 日
5. OECD. 1981. OECD Guideline for Testing of Chemicals 451 "Carcinogenicity Studies". Paris : Organisation for Economic Co-operation and Development.
6. 日本バイオアッセイ研究センター. 2002. 1 - ブロモ - 3 - クロロプロパンのラットを用いた吸入による 13 週間毒性試験報告書. 神奈川:中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター.
7. 阿部正信. 1986. 長期毒性試験に用いるラット、マウスの体重変化の解析による群分けの適正層別方式の確立. 薬理と治療 14:7285-7302.
8. Peto R, Pike MC, Day NE, Gray RG, Lee PN, Parish S, et al. 1980. Guidelines for simple, sensitive significance tests for carcinogenic effects in long-term animal experiments. In: Long-Term and Short-Term Screening Assays for Carcinogens: A Critical Appraisal. Lyon : IARC. IARC Monographs Suppl 2:311-426.
9. Bannasch P, Zerban H. 1994. Preneoplastic and neoplastic lesions of the rat liver. In: Pathology of Neoplasia and Preneoplasia in Rodents (Bannasch P, Gössner W, eds). Stuttgart: Schattauer, 18-63.

10. Dungworth DL, Ernst H, Nolte T, Mohr U. 1992. Nonneoplastic lesions in the lung. In: Pathology of the Aging Rat, Volume 1 (Mohr U, Dungworth DL, Capen CC, eds ). Washington, DC: International Life Sciences Institute Press, 143-160.
11. 伊東信行編著. 1994. 標的器官の毒性病理 (1) , 呼吸器系 A. 鼻腔, 最新毒性病理学, 中山書店, 東京, 85-95.
12. 長野嘉介. 2000. 各論 1 章, 上部気道, 毒性病理組織学, 日本毒性病理学会編, 日本毒性病理学会, 名古屋, 99-116.
13. National Toxicology Program. 1982. Carcinogenesis Bioassay of 1,2-Dibromo-3-chloropropane (CAS No.96-12-8) in F344 Rats and B6C3F<sub>1</sub> Mice (Inhalation Study). National Toxicology Program Technical Report Series No.206. Bethesda, MD: Public Health Services, NIH.
14. National Toxicology Program. 1978. Bioassay of Dibromochloropropane for Possible Carcinogenicity (CAS No.96-12-8). National Toxicology Program Technical Report Series No.28. Bethesda, MD: National Cancer Institute, NIH.
15. 日本バイオアッセイ研究センター. 1985. 既存化学物質に係る変異原性の評価に関する調査研究. 神奈川:中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター.
16. 日本バイオアッセイ研究センター. 1993. 既存化学物質に係る変異原性の評価に関する調査研究. 神奈川:中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター.