

1-ブロモ-3-クロロプロパンのマウスを
用いた吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：0418

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 - ブロモ - 3 - クロロプロパンのマウスを用いた吸入によるがん原性試験

試験目的

1 - ブロモ - 3 - クロロプロパンをマウスに 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-クロロプロパンのマウスを用いた
吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：0418

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	14
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	23

V	結論	25
VI	文献	26

要約

1 - ブロモ - 3 - クロロプロパンのがん原性を検索する目的でマウス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 Crj:BDF₁ マウスを用い、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 - ブロモ - 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 400 ppm 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、雄では細気管支－肺胞上皮癌、細気管支－肺胞上皮腺腫、肺の腺扁平上皮癌と扁平上皮癌、前胃の扁平上皮乳頭腫、ハーダー腺の腺腫の発生増加が認められた。雌では細気管支－肺胞上皮癌、細気管支－肺胞上皮腺腫、前胃の扁平上皮乳頭腫と扁平上皮癌、ハーダー腺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、雌雄に細気管支－肺胞上皮増生と前胃の扁平上皮過形成、雄にハーダー腺の過形成がみられた。

非腫瘍性病変としては、鼻腔 (嗅上皮の呼吸上皮化生、萎縮、エオジン好性変化、滲出物の出現、嗅腺の呼吸上皮化生) と鼻咽頭 (上皮のエオジン好性変化、滲出物の出現) に病変の発生増加がみられ、また、血液系への影響もみられた。

以上のように、Crj:BDF₁ マウスを用いて 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。

雌雄とも、細気管支－肺胞上皮癌と細気管支－肺胞上皮腺腫の発生増加が認められ、雌雄マウス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、雄では前胃の扁平上皮乳頭腫、ハーダー腺の腺腫、肺の腺扁平上皮癌と扁平上皮癌、雌では前胃の扁平上皮乳頭腫と扁平上皮癌、ハーダー腺の腺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 (マウス 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	肺	細気管支-肺胞上皮腺腫	5	21 **	20 **	26 **	↑↑	↑↑
	胃	扁平上皮乳頭腫	1	1	2	8 *	↑↑	↑↑
	肝臓	肝細胞腺腫	4	10	8	14 **	↑↑	↑
	ハート腺	腺腫	4	4	4	13 *	↑↑	↑↑
悪 性 腫 瘍	肺	細気管支-肺胞上皮癌	3	29 **	26 **	26 **	↑	↑
		腺扁平上皮癌	0	0	0	1		
		扁平上皮癌	0	0	1	0		
	リンパ節	悪性リンパ腫	3	4	4	2		
	脾臓	悪性リンパ腫	5	1	0	5		
	肝臓	肝細胞癌	3	5	3	3		
		肝芽腫	0	0	1	1		
		組織球性肉腫	1	3	3	3		
	肺	細気管支-肺胞上皮腺腫 + 細気管支-肺胞上皮癌 + 腺扁平上皮癌 + 扁平 上皮癌	8	35 **	35 **	39 **	↑↑	↑↑

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

** : $p \leq 0.01$ で有意

(Fisher 検定)

↑: $p \leq 0.05$ で有意増加

↑↑: $p \leq 0.01$ で有意増加

(Peto, Cochran-Armitage 検定)

↓: $p \leq 0.05$ で有意減少

↓↓: $p \leq 0.01$ で有意減少

(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 (マウス 雌)

投 与 濃 度 (ppm)			0	25	100	400	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
検査動物数			50	49	50	50		
良 性 腫 瘍	肺	細気管支-肺胞上皮腺腫	2	19 **	25 **	30 **	↑↑	↑↑
	胃	扁平上皮乳頭腫	0	0	1	8 **	↑↑	↑↑
	肝臓	肝細胞腺腫	2	3	1	2		
		血管腫	1	0	7	2		
	ハート腺	腺腫	3	0	2	14 **	↑↑	↑↑
	下垂体	腺腫	9	7	2 *	2 *a)		↓
悪 性 腫 瘍	肺	細気管支-肺胞上皮癌	2	12 **	20 **	13 **		
	リンパ節	悪性リンパ腫	7	10	7	5		
	脾臓	悪性リンパ腫	12	13	5	8		
	胃	扁平上皮癌	0	1	0	1		
	肝臓	肝細胞癌	1	1	1	4		
	子宮	組織球性肉腫	5	12	14	11		
	肺	細気管支-肺胞上皮腺腫 + 細気管支-肺胞上皮癌	4	23 **	33 **	38 **	↑↑	↑↑
	胃	扁平上皮乳頭腫 + 扁平上皮癌	0	1	1	9 **	↑↑	↑↑

a) : 検査動物数 49、他は上段に表示の検査動物数と同じ

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: $p \leq 0.01$ で有意

(Fisher 検定)

↑: $p \leq 0.05$ で有意増加↑↑: $p \leq 0.01$ で有意増加

(Peto, Cochran-Armitage 検定)

↓: $p \leq 0.05$ で有意減少↓↓: $p \leq 0.01$ で有意減少

(Cochran-Armitage 検定)

I 試験材料

I-1 被験物質の性状等

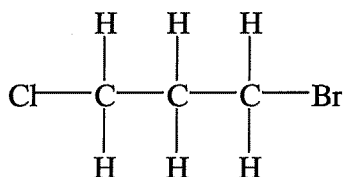
I-1-1 名称等

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 : $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$

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°C

融 点 : -58.90°C

比 重 : $1.5969 (20^\circ\text{C}/4^\circ\text{C})$

溶 解 性 : 水に難溶 (2240mg/L , 25°C)、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 30 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 28 日)

製 造 元 : 和光純薬工業(株)

グ レ ー ド : 特級

純 度 : $99.8 \sim 99.9\%$ (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 Crj:BDF₁ マウス(SPF)の雌雄を使用した。

マウス雌雄各 227 匹を生後 4 週齢で導入し（導入時体重範囲、雄:13.3~20.5g、雌:12.5~17.1g）、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:21.4~24.8g、雌:17.0~20.2g）を選別し、試験に用いた。

なお、Crj:BDF₁ マウス(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 493 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 0398）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、尿検査、臓器重量、病理組織学的検査で変化がみられたが、病理組織学的検査でみられた鼻腔、鼻咽頭のエオジン好性変化と前胃の過形成以外の変化はいずれも軽度であった。比較的程度の強かった鼻腔、鼻咽頭のエオジン好性変化と前胃の過形成もがん原性試験において、動物の生存率に大きな影響を及ぼすものではないと考えられた。また、低濃度群では、50 ppm 群まで軽度ながら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はみられなかった。従って、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 1.2%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（502 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 (502 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:22.8±0.2℃)	22±2℃ (21.8±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		12±1 回/時	
圧力	—	—	0~-15 ×10Pa	

使 用 ケ ー ジ

	検疫室 (517、518 室)	吸入試験室 (502 室)	吸入チャンパー内	
			馴化期間	投与期間
ケージへの動物 の収容方法	単飼	—	単飼	単飼
ケージの材質・ 形状	ステンレス製 2 連網ケージ	—	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 1 匹当り (mm)	W112 D212 H120	—	W95 D116 H120	W100 D116 H120

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（30KGγ-γ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、 γ -GTP、CPK、尿素窒素、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（ウロラプ 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、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、胆嚢、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、陰、乳腺、脳、脊髄、末梢神経（坐骨神経）、眼球、ハート腺、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、小数点以下第 1 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、各群の有効動物数（供試動物より事故等の理由で除外された動物数を減じた動物数）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、 χ^2 検定を行った。また、尿検査についても χ^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。なお、雌の 25 ppm 群で、投与期間 20 週目に 1 匹（動物番号 2131）が事故死亡したため、同群の有効動物数は 49 匹となった。

最終計測週（104 週）における生存数（生存率）は、雄では対照群：38 匹（76.0%）、25 ppm 群：33 匹（66.0%）、100 ppm 群：37 匹（74.0%）、400 ppm 群：36 匹（72.0%）であった。雌では対照群：30 匹（60.0%）、25 ppm 群：24 匹（49.0%）、100 ppm 群：32 匹（64.0%）、400 ppm 群：33 匹（66.0%）であった。

雌雄とも被験物質の影響と思われる生存率の変化はみられなかった。

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：4 匹、25 ppm 群：1 匹、100 ppm 群：3 匹、400 ppm 群：6 匹、雌では対照群：6 匹、25 ppm 群：0 匹、100 ppm 群：3 匹、400 ppm 群：6 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：12 匹、25 ppm 群：9 匹、100 ppm 群：7 匹、400 ppm 群：7 匹、雌では対照群：11 匹、25 ppm 群：23 匹、100 ppm 群：14 匹、400 ppm 群：16 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は、眼球の突出及び角膜の混濁が雌の 400 ppm 群でやや多かった。

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 群は投与期間を通じ、対照群に比べ低値であった。また、100 ppm 群は投与期間の後半、対照群に比べやや低値であった。

雌では、400 ppm 群は投与期間の後半、対照群に比べ低値であった。

最終計測時（104 週）の体重は、対照群に対して、雄では 25 ppm 群：97%、100 ppm 群：90%、400 ppm 群：85%、雌では 25 ppm 群：101%、100 ppm 群：96%、400 ppm 群：89% 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。

雌雄とも400 ppm群は投与期間の後半、対照群に比べやや低値であった。

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、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血小板数の減少及びMCVの増加とMCHCの減少が400 ppm群でみられた。また、白血球分類で6分類（リンパ球、単球、好酸球、好塩基球、分葉核好中球、杆状核好中球）以外の血球比の増加が400 ppm群でみられた。400 ppm群では、異型リンパ球の出現をみた動物がやや多かった。その他、MCHCの減少が100 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、MCV、MCH、好酸球比の減少が25 ppm群にみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

雌では、血小板数の減少が100 ppm以上の群でみられた。その他、MCVの増加が100 ppm以上の群で、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、クロールの増加が100 ppm以上の群でみられた。また、A/G比、ALP、 γ -GTPの増加、総コレステロール、リン脂質の減少が400 ppm群でみられた。その他、GPTの増加が全投与群でみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。また、尿素窒素に変化がみられたが低下性の変化であった。

雌では、A/G比の増加が100 ppm以上の群で、クロールの増加が400 ppm群でみられた。その他、総蛋白の減少が100 ppm群にみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。また、CPKに変化がみられたが、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。

雄では、pHの低下とケトン体の陽性例の増加が100 ppm以上の群で、蛋白陽性度の増加が400 ppm群でみられた。

雌では、蛋白陽性度及びケトン体の陽性例の増加が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、肺、前胃、肝臓の結節及びハーダー腺の腫大や結節の発生が投与群で増加した。

肺の結節は、対照群で 5 匹、25 ppm 群で 32 匹、100 ppm 群で 29 匹、400 ppm 群で 34 匹にみられ、胸腔出血が 25 ppm 群で 1 匹、400 ppm 群で 4 匹にみられた。前胃の結節は、対照群で 1 匹、25 ppm 群で 2 匹、100 ppm 群で 1 匹、400 ppm 群で 8 匹にみられた。肝臓の結節は、対照群で 12 匹、25 ppm 群で 22 匹、100 ppm 群で 18 匹、400 ppm 群で 17 匹にみられた。また、ハーダー腺の腫大と結節を合わせた発生は、対照群で 3 匹、25 ppm 群で 3 匹、100 ppm 群で 2 匹、400 ppm 群で 9 匹であった。

雌では、肺、前胃、子宮、肝臓の結節及びハーダー腺の腫大や結節の発生が投与群で増加した。

肺の結節は、対照群で 4 匹、25 ppm 群で 15 匹、100 ppm 群で 25 匹、400 ppm 群で 23 匹にみられた。前胃の結節は、対照群で 2 匹、25 ppm 群で 0 匹、100 ppm 群で 2 匹、400 ppm 群で 9 匹にみられた。子宮の結節は、対照群で 6 匹、25 ppm 群で 15 匹、100 ppm 群で 14 匹、400 ppm 群で 10 匹にみられた。肝臓の結節は、対照群で 5 匹、25 ppm 群で 7 匹、100 ppm 群で 9 匹、400 ppm 群で 14 匹にみられた。また、ハーダー腺の腫大と結節を合わせた発生は、対照群で 3 匹、25 ppm 群で 0 匹、100 ppm 群で 2 匹、400 ppm 群で 13 匹であった。

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、肺の体重比の高値が全投与群でみられ、有意差はみられないものの肺の実重量も全投与群で高値であった。また、肝臓の体重比の高値が全投与群でみられ、有意差はみられないものの 25 ppm 群と 400 ppm 群の肝臓の実重量も対照群に比べ高値であった。これらの変化は、肺と肝臓の腫瘍の増加に起因すると思われるが、詳細は後述するが肝臓の腫瘍の発生は被験物質の影響とは判断しなかった。その他、精巣、心臓、脾臓、脳の実重量の低値が 400 ppm 群で、腎臓と脳の体重比の高値が 100 ppm 以上の群で、心臓の体重比の高値が 400 ppm 群でみられたが、これらの変化は 100 ppm 以上の群の解剖時体重の低値によるものと思われる。なお、400 ppm 群の腎臓の実重量は高値であったが、水腎症の動物を除くと対照群と同様の値であった。

雌では、肺の実重量の高値が全投与群で、体重比の高値が 100 ppm 以上の群でみられた。また、有意差はみられないものの 25 ppm 群の肺の体重比も対照群より高値であった。肺の変化は雄同様、腫瘍の増加に起因すると思われる。その他、腎臓の体重比の変化が 100 ppm 以上の群でみられたが、水腎症の動物を除くとその実重量は対照群と同様の値であり、被験物質の影響かは不明であった。また、脳の実重量の低値が 100 ppm 以上の群で、心臓の実重量の低値が 400 ppm 群でみられたが、これらの変化は解剖時体重の低値によるものと思われる。

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

<肺>

細気管支－肺胞上皮癌の発生は、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、Fisher 検定で全投与群に増加がみられた。細気管支－肺胞上皮癌の 25 ppm 群、100 ppm 群及び 400 ppm 群における発生（29 匹、58%、26 匹、52%、26 匹、52%）は、ヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 0%～最大 24%、平均発生率 10.8%）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。

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、Fisher 検定で全投与群に増加がみられた。細気管支－肺胞上皮腺腫の 25 ppm 群、100 ppm 群及び 400 ppm 群における発生（21 匹、42%、20 匹、40%、26 匹、52%）は、ヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 2%～最大 18%、平均発生率 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。

また、腺扁平上皮癌が 400 ppm 群の 1 匹、扁平上皮癌が 100 ppm 群の 1 匹に発生した。肺の腺扁平上皮癌と扁平上皮癌は、ヒストリカルコントロールデータで発生が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。

なお、細気管支－肺胞上皮腺腫と細気管支－肺胞上皮癌を合わせた発生ならびに、細気管支－肺胞上皮腺腫、細気管支－肺胞上皮癌、腺扁平上皮癌及び扁平上皮癌を合わせた発生は、ともに 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、Fisher 検定で全投与群に増加がみられた。

細気管支－肺胞上皮癌は他臓器への転移が 400 ppm 群の 3 匹に認められ、転移先の臓器はリンパ節、心臓、腎臓、胸膜、縦隔及び腹膜であった。

<胃>

前胃の扁平上皮乳頭腫の発生は、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。前胃の扁平上皮乳頭腫の 100 ppm 群と 400 ppm 群における発生（2 匹、4%、8 匹、16%）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、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。扁平上皮乳頭腫の組織像は、血管を含む結合組織に裏うちされた扁平上皮が内腔に向かって手指状に増殖する形態であった。

<ハーダー腺>

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。400 ppm 群における腺腫の発生（13 匹、26%）は、ヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 0%～最大 10%、平均発生率 4.6%）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。腺腫は、腺房組織が周囲組織を圧排して増生する組織像を呈し、増生した腺房組織は内腔への乳頭状の突出が顕著にみられた。

<肝臓>

肝細胞腺腫の発生は、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、Fisher 検定で 400 ppm 群に増加がみられた。しかし、肝細胞腺腫の 25 ppm 群、100 ppm 群及び 400 ppm 群における発生（10 匹、20%、8 匹、16%、14 匹、28%）は、ヒストリカルコントロールデータの範囲内（最小 4%～最大 34%、平均発生率 18.2%）にあった。従って、肝細胞腺腫の発生は被験物質の暴露によるものでないと判断した。

なお、脾臓の悪性リンパ腫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。

2) 非腫瘍性病変

<鼻腔>

嗅上皮と腺組織に病変の発生が観察された。

嗅上皮には、呼吸上皮化生、萎縮及びエオジン好性変化の発生増加が 400 ppm 群で認められた。嗅上皮の呼吸上皮化生は嗅上皮が呼吸上皮に置き換わった所見、萎縮は嗅細胞の数の減少により嗅上皮の高さが低くなった所見、エオジン好性変化は細胞質内にエオジンに染まる物質が出現する像であった。なお、統計的有意差は示されないが、400 ppm 群で鼻腔への滲出物の出現が 3 匹に認められた。

嗅上皮下に存在する腺組織にも、呼吸上皮化生の発生増加が 400 ppm 群で認められた。

＜鼻咽頭＞

上皮のエオジン好性変化の発生増加が 400 ppm 群で認められた。

＜肺＞

細気管支－肺胞上皮増生の発生増加が全投与群で認められた。細気管支－肺胞上皮増生は細気管支上皮が増生するタイプであった。

＜胃＞

前胃の扁平上皮過形成の発生増加が 400 ppm 群で認められた。

＜ハーダー腺＞

過形成が統計的有意差は示されないが、400 ppm 群で 4 匹に認められた。

その他、腺胃の過形成の発生減少が 400 ppm 群にみられた。

なお、副腎皮質細胞の増生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

＜肺＞

細気管支－肺胞上皮癌の発生は、Fisher 検定で全投与群に増加がみられた。細気管支－肺胞上皮癌の 25 ppm 群、100 ppm 群及び 400 ppm 群における発生（12 匹、24%、20 匹、40%、13 匹、26%）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 2.9%）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。

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、Fisher 検定で全投与群に増加がみられた。細気管支－肺胞上皮腺腫の 25 ppm 群、100 ppm 群及び 400 ppm 群における発生（19 匹、39%、25 匹、50%、30 匹、60%）は、ヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 0%～最大 10%、平均発生率 3.6%）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。

なお、細気管支－肺胞上皮腺腫と細気管支－肺胞上皮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、Fisher 検定で全投与群に増加がみられた。

＜胃＞

前胃の扁平上皮乳頭腫の発生は、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。前胃の扁平上皮乳頭腫の 400 ppm 群における発生（8 匹、16%）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、前胃の扁平上皮癌が、25 ppm 群と 400 ppm 群の各 1 匹に発生した。発生数はヒストリカルコントロールデータの範囲内であるが、発生が稀な腫瘍であり、被験物質の暴露により発生した可能性があると考えられた。

なお、扁平上皮乳頭腫と扁平上皮癌を合わせた発生は、Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 400 ppm 群に増加がみられた。

<ハーダー腺>

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。400 ppm 群における腺腫の発生（14 匹、28%）は、ヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 0%～最大 12%、平均発生率 3.1%）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。

その他、下垂体の腺腫の発生減少がみられた。

なお、肝臓の血管腫、子宮の組織球性肉腫及び全臓器の血管腫と組織球性肉腫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。

2) 非腫瘍性病変

<鼻腔>

嗅上皮と腺組織に病変の発生が観察された。

嗅上皮には、呼吸上皮化生、萎縮、エオジン好性変化及び鼻腔内への滲出物の出現の発生増加が 400 ppm 群で認められた。

嗅上皮下に存在する腺組織にも、呼吸上皮化生の発生増加が 400 ppm 群で認められた。

<鼻咽頭>

上皮のエオジン好性変化の発生増加が 100 ppm 以上の群、鼻咽頭腔内への滲出物の出現の発生増加が 400 ppm 群で認められた。

<肺>

細気管支－肺胞上皮増生の発生増加が全投与群で認められた。細気管支－肺胞上皮増生は細気管支上皮が増生するタイプであった。

<胃>

前胃の扁平上皮過形成の発生増加が 100 ppm 以上の群で認められた。

<ハーダー腺>

過形成が統計的有意差は示されないが、100 ppm 群の 2 匹に認められた。

その他、腺胃の過形成の発生減少が 400 ppm 群、脳の鉍質沈着の発生減少が 25 ppm 群と 400 ppm 群にみられた。

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。

雄では肺の腫瘍による死亡が投与群に多くみられた。肺の腫瘍による死亡は対照群にはなかったが、25 ppm 群では 6 匹、100 ppm 群では 1 匹、400 ppm 群では 4 匹であった。

雌では特記すべき死因は認められなかった。

IV 考察及びまとめ

1 - ブロモ - 3 - クロロプロパンのマウスを用いた2年間の全身暴露による吸入試験（投与濃度：25 ppm, 100 ppm, 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

生存率は雌雄とも変化はみられなかった。

一般状態では眼球の突出及び角膜の混濁が雌の400 ppm群でやや多かった。

体重は、雄では400 ppm群が投与期間を通じ低値であった。また、100 ppm群は投与期間の後半、やや低値であった。雌では400 ppm群が投与期間の後半、低値であった。

摂餌量は雌雄とも400 ppm群が投与期間の後半、やや低値であった。

IV-2 腫瘍性及び腫瘍関連病変

雌雄とも、肺、胃及びハーダー腺に腫瘍の発生増加がみられた。

<肺腫瘍>

雌雄とも、細気管支－肺胞上皮癌と細気管支－肺胞上皮腺腫の発生増加が認められた。細気管支－肺胞上皮癌は、細気管支－肺胞上皮腺腫が悪性化した腫瘍であり、他臓器（リンパ節、心臓、腎臓、胸膜、縦隔及び腹膜）への転移が雄の400 ppm群に認められた。従って、細気管支－肺胞上皮癌と細気管支－肺胞上皮腺腫の発生増加は、雌雄マウスに対するがん原性を示す明らかな証拠と考えられた。

雄の400 ppm群の1匹に腺扁平上皮癌、100 ppm群の1匹に扁平上皮癌の発生がみられた。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る。

また、雌雄ともに細気管支－肺胞上皮腺腫や細気管支－肺胞上皮癌の前腫瘍性病変である細気管支－肺胞上皮増生（文献9）の発生増加が全投与群で認められた。本試験で観察された細気管支－肺胞上皮増生の組織像は、細気管支上皮の増生を主としたタイプが多かった。雌雄の投与群にみられた肺の重量増加は、肺腫瘍に起因するものと考えられた。

<胃腫瘍>

雄は、前胃の扁平上皮乳頭腫の発生増加が認められた。扁平上皮乳頭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、扁平上皮乳頭腫の発生増加は、雄マウスに対するがん原性を示す証拠と考えられた。

雌でも、前胃の扁平上皮乳頭腫の発生増加が認められた。また、扁平上皮乳頭腫が悪性化し

た腫瘍である(文献 10) 扁平上皮癌が 25 ppm 群と 400 ppm 群の各 1 匹にみられた。しかし、悪性腫瘍の発生数が少ないことから、扁平上皮乳頭腫と扁平上皮癌の発生増加は、雌マウスに対するがん原性を示す証拠と考えられた。

また、前胃の扁平上皮乳頭腫の前腫瘍性病変である扁平上皮過形成(文献 10)の発生増加が、雄の 400 ppm 群及び雌の 100 ppm 以上の群でみられた。この病変は前胃の粘膜である扁平上皮の細胞が増え、細胞層が厚くなる所見であり、1-プロモ-3-クロロプロパンの 13 週間試験においても雌雄 100 ppm 以上の群でみられており(文献 6)、この変化が 2 年間の暴露で腫瘍の発生につながったと考えられた。

1-プロモ-3-クロロプロパンの吸入暴露によって前胃に腫瘍が発生したことは、経気道的に吸入され、鼻腔等の気道に吸着した 1-プロモ-3-クロロプロパンが、粘液線毛機構による異物排泄機能によって口腔を経て胃に運ばれ、前胃の粘膜を長期間にわたって刺激することによって腫瘍が誘発されたことを示唆する(文献 11)。

＜ハーダー腺腫瘍＞

雌雄とも、腺腫の発生増加が認められた。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、腺腫の発生増加は雌雄のマウスに対するがん原性を示す証拠と考えられた。

前腫瘍性病変としては、雄の 400 ppm 群に過形成が数匹みられた。

IV-3 非腫瘍性病変

雌雄とも鼻腔、鼻咽頭及び血液系への影響がみられた。

鼻腔には、雌雄とも 400 ppm 群で嗅上皮に呼吸上皮化生、萎縮、エオジン好性変化の発生増加がみられ、雌では、鼻腔内への滲出物の出現もみられた。また、雌雄の 400 ppm 群で鼻腔の嗅上皮下に存在する腺組織にも、呼吸上皮化生の発生増加がみられた。

鼻咽頭には、雄の 400 ppm 群及び雌の 100 ppm 以上の群で上皮にエオジン好性変化の発生増加がみられ、雌の 400 ppm 群で鼻咽頭腔内への滲出物の出現の発生増加がみられた。

以上の病変は、1-プロモ-3-クロロプロパンの 13 週間試験においても雌雄の 400 ppm 群の鼻腔(呼吸上皮の過形成及びエオジン好性変化、嗅上皮の萎縮、剥離及びエオジン好性変化)及び鼻咽頭(エオジン好性変化)に多くみられた(文献 6)。従って、2 年間の吸入による上部気道への影響は、13 週間試験と比較して病変の種類、発生する濃度とも顕著な増強がないと考えられた。また、このような鼻腔の呼吸上皮、嗅上皮及び鼻咽頭の上皮にみられた病変は 1-プロモ-3-クロロプロパンの暴露による刺激によって起こる反応性的変化であると考えられた(文献 12)。

血液系への影響として、雄は赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及び血小板数の減少が 400 ppm 群、雌は血小板数の減少が 100 ppm 以上の群に認められた。13 週間試験で

も 400 ppm 群の濃度で雄に赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の減少、雌に赤血球数の減少がみられており（文献 6）、2 年間の吸入による血液系への影響も 13 週間試験と比較して顕著な増強がないと考えられた。

IV-4 量-反応関係

腫瘍の発生増加は、雌雄とも肺腫瘍、前胃腫瘍及びハーダー腺腫瘍にみられ、これらの腫瘍の発生増加が認められた濃度は、雌雄とも肺腫瘍が 25 ppm 以上、前胃腫瘍とハーダー腺腫瘍が 400 ppm であった。

腫瘍以外の影響は、雌雄とも肺、前胃、鼻腔、鼻咽頭及び血液系にみられた。これらの影響が認められた濃度は、雄では肺（細気管支-肺胞上皮増生）への影響が 25 ppm 以上、前胃（扁平上皮過形成）、鼻腔（嗅上皮の呼吸上皮化生、萎縮及びエオジン好性変化、嗅腺の呼吸上皮化生）、鼻咽頭（エオジン好性変化）及び血液系（赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血小板数の減少）への影響が 400 ppm であった。雌は、肺（細気管支-肺胞上皮増生）への影響が 25 ppm 以上、前胃（扁平上皮過形成）、鼻咽頭（エオジン好性変化）及び血液系（血小板数の減少）への影響が 100 ppm 以上、鼻腔（嗅上皮の呼吸上皮化生、萎縮、エオジン好性変化及び滲出物の出現、嗅腺の呼吸上皮化生）への影響が 400 ppm 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。

B6C3F₁ マウスに工業グレード（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 76 週で屠殺）した実験では、鼻腔腫瘍が雄の 3 ppm 群及び雌の 0.6 ppm と 3 ppm 群、肺腫瘍が雌雄の 3 ppm 群で発生増加したと報告している（文献 13）。

B6C3F₁ マウスに工業グレードの 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で雄 219、雌 209 mg/kg 体重/日で雌雄とも 47 週間、低用量群は時間加重平均で雄 114、雌 110 mg/kg 体重/日で雄は 59 または 60 週間、雌は 60 週間強制経口投与した実験では、前胃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/TU) 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

Crj:BDF₁ マウスを用いて 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。

雌雄とも、細気管支－肺胞上皮癌と細気管支－肺胞上皮腺腫の発生増加が認められ、雌雄マウス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、雄では前胃の扁平上皮乳頭腫、ハーダー腺の腺腫、肺の腺扁平上皮癌と扁平上皮癌、雌では前胃の扁平上皮乳頭腫と扁平上皮癌、ハーダー腺の腺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 - クロロプロパンのマウス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. 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.
10. 真鍋淳, 松沼尚史, 高橋道人, 立松正衛, 西川秋佳. 2000. 各論 4 章, 消化管, 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, 153-178.

11. Haschek WM, Witschi HR. 1991. Respiratory system. In: Handbook of Toxicologic Pathology (Haschek WM, Rousseaux CG, eds). San Diego, CA:Academic Press, 761-827.
12. 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.
13. National Toxicology Program. 1982. Carcinogenesis Bioassay of 1,2-Dibromo-3-chloropropane (CAS No.96-12-8) in F344 Rats and B6C3F₁ 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.