

ジクロロメタンのラットを用いた
吸入による 13 週間毒性試験報告書

試験番号 : 0257

CAS No. 75 - 09 - 2

平成 12 年 3 月 22 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

ジクロロメタンのラットを用いた
吸入による 13 週間毒性試験報告書

試験番号 : 0257

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

II-3 観察・検査項目及び方法

II-3-1 動物の一般状態の観察	6
II-3-2 体重測定	6
II-3-3 摂餌量測定	6
II-3-4 血液学的検査	6
II-3-5 血液生化学的検査	7
II-3-6 尿検査	7
II-3-7 病理学的検査	7

II-4 数値処理と統計学的方法

II-4-1 数値の取り扱いと表示	7
II-4-2 母数の取り扱い	8
II-4-3 統計方法	8

II-5 試資料の保管

III 試験成績

III-1 動物の状態観察

III-1-1 生死状況	9
III-1-2 一般状態	9
III-1-3 体重	9
III-1-4 摂餌量	9

III-2 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査

III-2-1 血液学的検査	10
III-2-2 血液生化学的検査	10
III-2-3 尿検査	10

III-3 病理学的検査

III-3-1 剖検	11
III-3-2 臓器重量	11
III-3-3 病理組織学的検査	11

IV 考察及びまとめ

V 文献

TABLES

- TABLE 1 EXPERIMENTAL DESIGN AND MATERIALS AND METHODS IN THE
13-WEEK INHALATION STUDY DICHLOROMETANE
- TABLE 2 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES OF
MALE RATS IN THE 13-WEEK INHALATION STUDY OF
DICHLOROMETHANE
- TABLE 3 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES OF
FEMALE RATS IN THE 13-WEEK INHALATION STUDY OF
DICHLOROMETHANE
- TABLE 4 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF MALE RATS IN THE 13-WEEK
INHALATION STUDY OF DICHLOROMETHANE
- TABLE 5 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF FEMALE RATS IN
THE 13-WEEK INHALATION STUDY OF DICHLOROMETHANE

FIGURES

FIGURE 1 DICHLOROMETANE VAPOR GENERATION SYSTEM AND
INHALATION SYSTEM

FIGURE 2 BODY WEIGHT CHANGES OF MALE RATS IN THE 13-WEEK
INHALATION STUDY OF DICHLOROMETHANE

FIGURE 3 BODY WEIGHT CHANGES OF FEMALE RATS IN THE 13-WEEK
INHALATION STUDY OF DICHLOROMETHANE

FIGURE 4 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF MALE RATS IN
THE 13-WEEK INHALATION STUDY OF DICHLOROMETHANE

FIGURE 5 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF FEMALE RATS IN
THE 13-WEEK INHALATION STUDY OF DICHLOROMETHANE

APPENDIXES

APPENDIX A 1 BODY WEIGHT CHANGES : SUMMARY, RAT : MALE
(13-WEEK STUDY)

APPENDIX A 2 BODY WEIGHT CHANGES : SUMMARY, RAT : FEMALE
(13-WEEK STUDY)

APPENDIX B 1 FOOD CONSUMPTION CHANGES : SUMMARY, RAT : MALE
(13-WEEK STUDY)

APPENDIX B 2 FOOD CONSUMPTION CHANGES : SUMMARY, RAT : FEMALE
(13-WEEK STUDY)

APPENDIX C 1 HEMATOLOGY : SUMMARY, RAT : MALE (13-WEEK STUDY)

APPENDIX C 2 HEMATOLOGY : SUMMARY, RAT : FEMALE (13-WEEK STUDY)

APPENDIX D 1 BIOCHEMISTRY : SUMMARY, RAT : MALE (13-WEEK STUDY)

APPENDIX D 2 BIOCHEMISTRY : SUMMARY, RAT : FEMALE
(13-WEEK STUDY)

APPENDIX E 1 URINALYSIS : SUMMARY, RAT : MALE (13-WEEK STUDY)

APPENDIX E 2 URINALYSIS : SUMMARY, RAT : FEMALE (13-WEEK STUDY)

APPENDIX F 1 GROSS FINDINGS : SUMMARY, RAT : MALE :
SACRIFICED ANIMALS (13-WEEK STUDY)

APPENDIX F 2 GROSS FINDINGS : SUMMARY, RAT : FEMALE :
SACRIFICED ANIMALS (13-WEEK STUDY)

APPENDIX G 1 ORGAN WEIGHT, ABSOLUTE : SUMMARY, RAT : MALE
(13-WEEK STUDY)

APPENDIX G 2 ORGAN WEIGHT, ABSOLUTE : SUMMARY, RAT : FEMALE
(13-WEEK STUDY)

APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX H 1 ORGAN WEIGHT, RELATIVE : SUMMARY, RAT : MALE
(13-WEEK STUDY)

APPENDIX H 2 ORGAN WEIGHT, RELATIVE : SUMMARY, RAT : FEMALE
(13-WEEK STUDY)

APPENDIX I 1 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :
SUMMARY, RAT : MALE : SACRIFICED ANIMALS
(13-WEEK STUDY)

APPENDIX I 2 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :
SUMMARY, RAT : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS
(13-WEEK STUDY)

APPENDIX J1 IDENTITY OF DICHLOROMETHANE IN THE 13-WEEK
INHALATION STUDY

APPENDIX J 2 STABILITY OF DICHLOROMETHANE IN THE 13-WEEK
INHALATION STUDY

APPENDIX K 1 CONCENTRATION OF DICHLOROMETHANE IN THE
INHALATION CHAMBER OF THE 13-WEEK
INHALATION STUDY

APPENDIX K 2 ENVIRONMENTAL CONDITIONS OF INHALATION CHAMBER
IN THE 13-WEEK INHALATION STUDY OF
DICHLOROMETHANE

APPENDIX L 1 METHODS FOR HEMATOLOGY, BIOCHEMISTRY AND
URINALYSIS IN THE 13-WEEK INHALTION STUDY OF
DICHLOROMETHANE

APPENDIX L 2 UNITS AND DECIMAL PLACE FOR HEMATOLOGY AND
BIOCHEMISTRY IN THE 13-WEEK INHALTION STUDY OF
DICHLOROMETHANE

要約

ジクロロメタンの F344/DuCrj (Fischer) ラットを用いた吸入による 2 年間 (104 週) のがん原性試験を実施するのに先だって、その投与濃度を設定する目的で 13 週間の予備試験を実施した。

試験は被験物質投与群 5 群、対照群 1 群の 6 群構成で、各群雌雄 10 匹の動物を用いて行った。投与濃度は雌雄共通の 8000ppm、4000ppm、2000ppm、1000ppm、500ppm とした。投与はジクロロメタンを含む空気を所定の濃度で 1 日 6 時間、1 週 5 日間、13 週間の全身暴露で行った。観察・検査項目は、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とした。

その結果、全動物に死亡はみられなかった。8000ppm 群では雌雄ともに体重の増加抑制 (最終体重は雄：対照群の 71%、雌：対照群の 88%)、雌の肝重量の増加を認めた他、病理組織学的検査で雄の腎臓に好酸体の発生率の減少を認めた。

4000ppm 群では雌雄とも体重に軽度の増加抑制 (最終体重は雄：対照群の 93%、雌：対照群の 92%) を認めたが、摂餌量、臓器重量、尿検査、剖検、及び病理組織学的検査では対照群と顕著な差を認めなかった。

2000ppm 以下の群では体重、摂餌量、臓器重量、尿検査、剖検及び病理組織学的検査で対照群と顕著な差を認めなかった。

なお、1000ppm 以上の群で血液学的検査及び血液生化学的検査に若干の変化を認めたが剖検と病理組織学的検査に対応する変化がなく、動物の生存に影響を与えるような重篤な毒性徴候を示唆するものではないと考えた。

以上の結果からがん原性試験の濃度設定を 4000ppm を最高濃度として以下、2000ppm、1000ppm、0ppm (公比 2) とした。

I 試験材料

I-1 被験物質の性状等

I-1-1 名称と別名

名 称 : ジクロロメタン(Dichloromethane)

別 名 : 二塩化メチレン

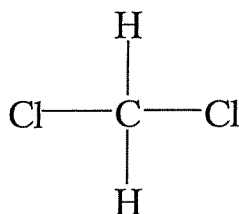
塩化メチレン

メチレンクロライド

メチレンジクロライド

CAS.No. : 75-09-2

I-1-2 構造式、示性式、分子量



CH_2Cl_2 (分子量 : 84.93)

I-1-3 物理化学的性状等

性 状 : 揮発性の無色透明な液体

沸 点 : 39.95°C

凝固点 : -96.8°C

比 重 : 1.3255(20°C)

蒸気圧 : 440mmHg(25°C)

溶解性 : 水に微溶、エタノール、エーテルに易溶

保存条件 : 室温、遮光条件下で気密容器に保存

I - 2 被験物質の使用ロット等

使用ロット番号：APR 5259、APR 5260

製 造 元：和光純薬工業株式会社

純 度：99.9%以上

I - 3 被験物質の特性・同一性、安定性

I - 3 - 1 特性・同一性

被験物質の同一性の確認は各ロット毎の被験物質のマススペクトル及び赤外吸収スペクトルを測定し、ジクロロメタンの文献値と比較することにより行った。

その結果、マススペクトルでは文献値（文献 1）と同じ分子イオン及びフラグメントピークが認められ、また赤外吸収スペクトルでも文献値（文献 2）と同じ波数にピークが認められたことからジクロロメタンであることを確認した。

測定結果については、APPENDIX J1 に示した。

I - 3 - 2 安定性

被験物質の安定性は使用開始前及び使用終了後に、赤外吸収スペクトル及びガスクロマトグラムを測定し、それぞれのデータを比較することにより行った。

その結果、それぞれの測定結果に差はみられず、投与期間中のジクロロメタンは安定であった。

測定結果については、APPENDIX J2 に示した。

I - 4 試験動物

動物は日本チャールス・リバー（株）（神奈川県厚木市下古沢 795 番地）から購入した F344/DuCrj(Fischer)ラット(SPF)の雌雄を使用した。

雌雄各 75 匹を生後 4 週齢で導入し、各 1 週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で異常を認めなかった動物から、それぞれ体重値の中央値に近い雌雄各 60 匹(群構成時体重範囲、雄:108~131g、雌:93~106g)を選別して試験に供した。

なお、F344/DuCrj(Fischer)ラットを選択した理由は、がん原性試験で使用する動物種及び系統に合わせたことによる。

II 試験方法

試験計画、材料及び方法等の概要を TABLE 1 に示した。

II-1 投与

II-1-1 投与経路、投与方法及び投与期間

投与経路は全身暴露による経気道投与とした。吸入チャンバー内に設定濃度に調整したジクロロメタンを含む新鮮空気を送り込み、6時間/日、5日間/週、13週間（祝祭日を除く）、試験動物に全身暴露した。投与期間中の暴露回数は63回であった。なお、対照群には新鮮空気のみを送気した。

II-1-2 投与濃度及びその設定理由

投与濃度は雌雄ともに最高濃度を8000ppmに設定し、それ以下4000ppm、2000ppm、1000ppm、500ppm（公比2）とした。

投与濃度は2週間投与試験の結果に基づき設定した。すなわち、2週間投与試験（文献4）は、6週齢のF344/DuCrj（Fischer）ラット120匹を5投与群と1対照群（各群雌雄各10匹）に分け、ジクロロメタン投与群の濃度を16000ppm、8000ppm、4000ppm、2000ppm、1000ppmとし、各群1日6時間、1週5日間、2週間、全身暴露して行った。

その結果、16000ppmは雌雄とも全例が死亡したが、8000ppm以下の群については死亡はなかった。8000ppm群では雌雄ともに体重の増加抑制（最終体重は雌雄とも対照群の88%）を認めたほか、血液学的検査で雌雄ともにプロトロンビン時間の延長、雌に白血球百分率の変動（分葉核好中球比の増加とリンパ球比の減少）を認めた。4000ppm以下の群では雌雄とも体重、摂餌量、一般状態、病理学的検査で対照群との差を認めなかった。

II-1-3 被験物質の発生方法と濃度調整

被験物質の発生方法をFIGURE 1に示した。まず、発生容器内のジクロロメタンを循環式恒温層で加熱（25℃）しながら、清浄空気のパブリングにより蒸発させた。次に、このジクロロメタン蒸気を循環式恒温槽で一定温度（16℃）に冷却、再加熱（25℃）し、新鮮空気と混合して一定濃度に調整した後、流量計を用いて一定量を吸入チャンバーのラインミキサーに供給した。最終的には、吸入チャンバー内のジクロロメタン濃度をガスクロマトグラフにより測定・監視しながら、吸入チャンバーへの供給流量を調節することにより、チャンバー内濃度を設定濃度に調整した。

II-1-4 被験物質の濃度測定

吸入チャンバー内のジクロロメタ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を用い、暴露開始前から暴露終了後まで15分毎に測定した。

測定結果については、APPENDIX K1に示した。

各投与群における被験物質濃度の測定結果（平均値±標準偏差）は、500ppm 群:502.5±1.3ppm、1000ppm 群:1003.1±3.6ppm、2000ppm 群:2004.3±6.3ppm、4000ppm 群:3993.8±13.2ppm、8000ppm 群:8007.6±9.7ppmであった。

II-2 動物管理

II-2-1 各群の使用動物数

投与群5群及び対照群1群の計6群を設け、各群雌雄各10匹の動物を用いた。

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、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3）。

試験期間中の動物の個体識別は、検疫及び馴化期間においては色素塗布により、投与期間においては耳パンチにより識別した。なお、全飼育期間を通してケージにも個体識別番号を付した。

なお、動物はバリア区域内の独立した室に収容し、室扉には試験番号、動物種及び動物番号を表示し、他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（606室）で1週間の検疫飼育を行った後、馴化及び投与期間中は吸入チャンバー室（604室）に設置した吸入チャンバー内で飼育した。試験に使用した検疫室、吸入チャンバー室及び吸入チャンバー内の環境条件をTABLE 1に示した。

投与期間の吸入チャンバー内の飼育環境は、温度23±2℃、湿度55±15%、換気回数12±1回/時、圧力0～-15mmAqに、吸入チャンバーが設置されている飼育室の飼育環境は温度23±2℃、湿度55±10%、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/時に設定した。その結果、吸入チャンバー内環境はすべて設

定条件の範囲内であった。また、投与期間中の吸入チャンバー内環境の計測結果については、APPENDIX K2 に示した。

検疫期間中は 1 ケージ当り 1 匹の単飼(ステンレス製 2 連型網ケージ、170W×294D×176H mm)、馴化期間中は 1 ケージ当り 1 匹の単飼(ステンレス製 6 連型網ケージ、125W×216D×176H mm)、投与期間中は 1 ケージ当り 1 匹の単飼(ステンレス製 5 連網ケージ、150W×216D×176Hmm)の条件下で飼育した。なお、ケージは 2 週間毎に交換した。

飼料は、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(3Mrad=30K Gy- γ 線照射滅菌飼料)を飼育全期間を通して固型飼料給餌器により自由摂取させた。また、飲水は飼育全期間を通して、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、自動給水により自由摂取させた。

なお、飼料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 番 1 号)の分析データを使用ロットごとに入手し、飲料水については(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 729-1)に 3 ヶ月毎に分析を委託し、それぞれ試験計画書に規定した許容基準の範囲内であることを確認した。

II-3 観察・検査項目及び方法

II-3-1 動物の一般状態の観察

暴露休止中に動物の一般状態観察を毎週 1 回、動物の生死確認を毎日 2 回行った。

II-3-2 体重測定

全動物の体重を、週 1 回、測定した。

II-3-3 摂餌量測定

週 1 回、摂餌量を測定した。

II-3-4 血液学的検査

定期解剖時まで生存した動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈より、EDTA-2K 入り採血管に採血した血液を用いて血液学的検査を行った。

検査対象動物は解剖日前日より絶食(18 時間以上)させた。

検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX L1 に示した。

II-3-5 血液生化学的検査

定期解剖時まで生存した動物について、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血液生化学的検査を行った。なお、検査対象動物は解剖前日より絶食(18時間以上)させた。

検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX L1 に示した。

II-3-6 尿検査

投与最終週に新鮮尿を採取し、尿検査を行った。

検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX L1 に示した。

II-3-7 病理学的検査

1 剖検

解剖時に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 TABLE 1 に示した臓器の湿重量(実重量)を測定した。また、実重量の体重比、すなわち、定期解剖時の体重に対する百分率を算出した。

3 病理組織学的検査

全動物の臓器を 10% 中性リン酸緩衝ホルマリン溶液にて固定後、TABLE 1 に示した臓器及び肉眼的に変化のみられた組織を、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色し、光学顕微鏡にて病理組織学的に検査した。

II-4 数値処理と統計学的方法

II-4-1 数値の取り扱いと表示

チャンバー内被験物質濃度については ppm を単位とし、小数点以下 4 位までを計測し、小数点以下 2 位を四捨五入して小数点以下 1 位までを表示した。

体重については g を単位とし、小数点以下第 1 位まで計測し、四捨五入して整数値で表示した。

摂餌量については g を単位とし、計測期間を通しての摂餌量を小数点以下第 1 位まで計測し、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。

臓器実重量については g を単位とし、小数点以下第 3 位まで計測し、表示した。臓器重量体重比について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、小数点以下第 3 位までを表示した。

血液学的検査、血液生化学的検査については APPENDIX L2 に示した精度により表示した。A/G 比はアルブミン/(総蛋白-アルブミン)による計算で求め、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。

なお、各数値データにおいて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を行い表示した。

II-4-2 母数の取り扱い

体重及び摂餌量については、各計測時に生存している全動物を対象に計測した。

臓器重量、血液学的検査、血液生化学的検査は、定期解剖時まで生存した動物を対象とし、欠測となったデータについては母数から除いた。

尿検査は、投与最終週に行い、検査数を母数とした。

剖検と病理組織学的検査は、定期解剖動物数を母数とした。

II-4-3 統計方法

測定値は対照群を基準群として、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。なお、予備検定については 5% の有意水準で両側検定を行い、最終検定では 5% 及び 1% で両側検定を行った。

病理組織学的検査のうち非腫瘍性病変について、所見のみられなかった動物をグレード 0 として 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。なお χ^2 検定は対照群と各投与群間との検定であり、最終検定では 5% 及び 1% で両側検定を行った。

II-5 試資料の保管

試験計画書、標本、生データ、記録文書、最終報告書、信頼性保証証明書、被験物質、その他本試験に係る資料は日本バイオアッセイ研究センターの標準操作手順書に従って、試資料保管施設に保管する。保管期間は最終報告書提出後 10 年間とする。

Ⅲ 試験成績

Ⅲ－１ 動物の状態観察

Ⅲ－１－１ 生死状況

投与群、対照群ともに試験途中で死亡した例はなかった。

Ⅲ－１－２ 一般状態

一般状態の観察では投与群に特徴的な所見を認めなかった。

Ⅲ－１－３ 体重

体重の推移を TABLE 2, 3、FIGURE 2, 3 及び APPENDIX A1, A2 に示した。

雌雄とも 8000ppm 群は投与 1 週に体重の増加がなく雄は対照群の 83%、雌は 87%であった。その後、2 週から徐々に増加を認めたが、体重増加の度合いが対照群よりも低かった。このため雄は対照群の 70%～83%、雌は対照群の 83%～88%で推移し、最終計測週では雌雄それぞれ対照群の 71%、88%であった。4000ppm 群は雌雄とも体重増加に軽度の抑制が示され、最終計測日で雄は対照群の 93%、雌は対照群の 92%であった。2000ppm 以下の群では雌雄とも対照群と差を認めなかった。

Ⅲ－１－４ 摂餌量

摂餌量(1 日 1 匹当り)を TABLE 4, 5、FIGURE 4, 5 及び APPENDIX B1, B2 に示した。

8000ppm 群は試験開始から 4 週までの試験初期に雄は対照群の 63%～76%、雌は 67%～89%と低値であったが、試験の進行とともに増加して最終計測週では雄は対照群の 96%、雌は対照群の 114%であった。4000ppm 以下の投与群は雌雄とも対照群の 90%以上で推移した。

Ⅲ-2 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査

Ⅲ-2-1 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX C1, C2 に示した。

雄は 4000ppm 以上の群で血小板数の増加、8000ppm 群で活性化トロンボプラスチン時間 (APTT) の短縮と白血球百分率の変動 (リンパ球比率の減少) を認めた。また、全ての投与群でヘモグロビン濃度の増加、1000ppm 以上の群で平均赤血球容積 (MCV) の増加、2000ppm 以上の群で平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH) の増加を認めたが、投与濃度との明瞭な対応はみられなかった。その他、4000ppm 群と 2000ppm 群のヘマトクリットも高値となった。

雌は 2000ppm 以上の群でプロトロンビン時間の延長、4000ppm 以上の群で血小板数の増加、8000ppm 群に APTT の延長と白血球百分率の変動 (分葉核好中球比の増加、リンパ球比の減少) を認めた。その他、8000ppm、2000ppm、1000ppm 群に MCV の高値と 2000ppm、1000ppm、500ppm 群にヘモグロビン濃度の高値を認めたが、投与濃度との対応はなかった。

Ⅲ-2-2 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX D1, D2 に示した。

雄は 8000ppm 群で総蛋白、グルコース、トリグリセライド、GOT の低値を認めた。このうち、トリグリセライドの低値は 4000ppm 群にも認められた。その他、1000ppm 群を除く投与群で総コレステロールとリン脂質の低値を認めたが、投与濃度との対応はなかった。

雌は 8000ppm 群で ALP の高値とリン脂質、総蛋白、アルブミン、総コレステロール、カルシウムの低値を認めた。このうち総蛋白とアルブミンの低値は 4000ppm 以上の群に、総コレステロールの低値は 1000ppm 以上の群に、リン脂質の低値は全投与群に認めた。その他、グルコースの低値を全投与群で、トリグリセライドの低値を 4000ppm 群で認め、A/G 比は 8000ppm で低値、2000ppm 群では高値となった。これらの変化には投与濃度との対応はなかった。

Ⅲ-2-3 尿検査

尿検査の結果を APPENDIX E1, E2 に示した。

雄の 4000ppm 群でケトン体陽性例の増加を認めたが、投与濃度との対応はなかった。

Ⅲ-3 病理学的検査

Ⅲ-3-1 剖検

剖検所見を APPENDIX F1, F2 に示した。

雌雄とも被験物質の投与の影響と考えられる所見はなかった。

Ⅲ-3-2 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 APPENDIX G1, G2 (実重量)、APPENDIX H1, H2 (体重比) に示した。

雄の 8000ppm 群は胸腺に実重量と体重比の低値を、精巣、心臓、肺、腎臓及び肝臓に実重量の低値と体重比の高値を認めた。また脾臓に実重量のみの低値を、副腎と脳に体重比のみの高値を認めた。4000ppm 群は心臓、肝臓及び脳に、2000ppm 群は脳にそれぞれ体重比のみの高値を認めた。なお、8000ppm 群の解剖時体重が対照群の 71%であったことから 8000ppm 群の胸腺重量の低値は全身状態の不良に起因した変化である可能性が強いと考えた。一方、8000ppm 群の副腎と脳、4000ppm 群の肝臓と脳、2000ppm 群の脳に示された体重比の高値は、それぞれ解剖時体重の低値に伴った相対的な変化であると考えた。

雌は 8000ppm 群で肝臓に実重量と体重比の高値、胸腺に実重量と体重比の低値を認めた。また心臓に実重量のみの低値を、副腎、肺、腎臓及び脳に体重比の高値を認めた。

これら 8000ppm 群で示された変化のうち、心臓の実重量の低値は 4000ppm 群にも認めた。8000ppm 群の雌は解剖時体重が対照群の 91%と有意に低かったにもかかわらず肝重量が対照群よりも高値となり、ジクロロメタン投与の影響が示唆された。一方、胸腺重量の低値は全身状態の不良に起因した可能性が高いと考えた。雌では、このほかに 4000ppm 群で肺と脾臓に体重比の高値を認めた。しかし、この群では剖検及び病理組病理組織学的検査で肺と脾臓に異常所見を認めなかったこと、解剖時体重が対照群の 93%と低値であったことから、4000ppm 群の肺と脾臓に認めた体重比の高値については、低体重に伴う変化であると考えた。

Ⅲ-3-3 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を APPENDIX I1, I2 に示した。

雄の腎臓で 8000ppm 群に好酸体の発生率の減少を認めた。

IV 考察及びまとめ

本試験は F344/Ducrl ラット雌雄各群 10 匹を使用して被験物質投与群 5 群、対照群 1 群の 6 群構成で行った。投与はジクロロメタンを含む空気（8000ppm、4000ppm、2000ppm、1000ppm、500ppm、0ppm）を 1 日 6 時間、1 週 5 日、13 週間吸入（全身曝露）させた。

雌雄ともに試験途中で死亡した例はなかった。8000ppm 群で雄の体重は対照群の 70%～83%、雌は 83%～88%で推移し、雌雄ともに体重増加に強い抑制を認めた。また、摂餌量でも試験開始から 4 週までは雄は対照群の 63%～76%、雌は対照群の 67%～89%と雌雄とも試験初期に於ける低値が示された。臓器重量で雌に肝重量の増加を認めたほか、病理組織学的には雄の腎臓に好酸体の発生率が減少した。

4000ppm 群の最終計測日の体重は雄で対照群の 93%、雌で対照群の 92%と雌雄とも体重増加に軽度の抑制が示された。また、血液学的検査で雄に血小板数の増加、雌にプロトロンビン時間の延長と血小板数の増加を認めた。血液生化学的検査で認めた雄のトリグリセライドの低値、雌の総蛋白、アルブミンの低値はこの群の軽度な体重増加抑制に関係したものと考えた。摂餌量、臓器重量、尿検査、剖検及び病理組織学的検査では雌雄とも対照群と比較して顕著な差を認めなかった。

2000ppm 以下の群では、体重、摂餌量、臓器重量、尿検査、剖検及び病理組織学的検査で雌雄ともに対照群と比較して顕著な差を認めなかった。血液生化学的検査で雌に総コレステロールの低値を 1000ppm 以上の群で、リン脂質の低値を全投与群に認めたが、これらの所見は動物の生存に影響を及ぼすような重篤な毒性徴候を示すものではないと考えた。

これらのことから、がん原性試験の最高暴露濃度は、8000ppm 付近では体重増加の抑制の点から無理があると考え、4000ppm を最高濃度とし、以下 2000ppm、1000ppm、0ppm（公比 2）とした。

V 文献

1. Heller, S. R. and Milne, G.W.A. (1978)
EPA/NIH Mass Spectral Data Base Vol.1,pp53.
U.S.Government Printing Office, Washington.
2. 和光純薬工業からの提供資料(1987).
3. 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.
4. 日本バイオアッセイ研究センター (2000)
ジクロロメタンのラットを用いた吸入による 2 週間毒性試験報告書