

**p-ジクロロベンゼンのラット及びマウスを用いた
吸入によるがん原性予備試験報告書**

試験番号

2 週 間 : ラット/0113 ; マウス/0114

1 3 週 間 : ラット/0132 ; マウス/0133

CAS No. 106 - 46 - 7

平成7年3月31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

p-ジクロロベンゼンのラット及びマウスを用いた
吸入によるがん原性予備試験報告書

試験番号

2 週 間 : ラット/0113 ; マウス/0114

13 週 間 : ラット/0132 ; マウス/0133

本 文

目 次	頁
要 旨	1
I 試 験 材 料	
I - 1 被 験 物 質 の 性 状 等	
I - 1 - 1 名 称 と 別 名	3
I - 1 - 2 構 造 式、分 子 量	3
I - 1 - 3 物 理 化 学 的 性 状 等	3
I - 2 被 験 物 質 の 使 用 ロ ッ ト 等	4
I - 3 被 験 物 質 の 同 一 性・安 定 性	
I - 3 - 1 同 一 性	4
I - 3 - 2 安 定 性	4
I - 4 試 験 動 物	4
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	6
II - 1 - 2 投 与 濃 度	6
II - 1 - 3 被 験 物 質 の 発 生 方 法 と 濃 度 調 整	6
II - 1 - 4 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	7
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 一 般 状 態 の 観 察	8
II - 3 - 2 体 重 測 定	8
II - 3 - 3 摂 餌 量 測 定	8
II - 3 - 4 血 液 学 的 検 査	9
II - 3 - 5 血 液 生 化 学 的 検 査	9
II - 3 - 6 尿 検 査	9
II - 3 - 7 病 理 学 的 検 査	9
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	10
II - 4 - 2 母 数 の 取 り 扱 い と 表 示	11
II - 4 - 3 統 計 方 法	11

Ⅱ - 5	試資料の保管	11
Ⅲ	試験成績	
Ⅲ - 1	ラットを用いた試験	
Ⅲ - 1 - 1	2週間試験 (試験番号: 0 1 1 3)	
1	動物の状態観察	12
2	血液学的検査・血液生化学的検査	12
3	病理学的検査	13
Ⅲ - 1 - 2	13週間試験 (試験番号: 0 1 3 2)	
1	動物の状態観察	14
2	血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査	14
3	病理学的検査	15
Ⅲ - 2	マウスを用いた試験	
Ⅲ - 2 - 1	2週間試験 (試験番号: 0 1 1 4)	
1	動物の状態観察	17
2	血液学的検査・血液生化学的検査	17
3	病理学的検査	18
Ⅲ - 2 - 2	13週間試験 (試験番号: 0 1 3 3)	
1	動物の状態観察	19
2	血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査	19
3	病理学的検査	20
Ⅳ	考察及びまとめ	22
Ⅴ	文献	26

TABLES

- TABLE 1 EXPERIMENTAL DESIGN AND MATERIALS AND METHODS
IN THE INHALATION STUDIES OF p-DICHLOROBENZENE
- TABLE 2 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE RAT
(TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 3 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE RAT
(TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 4 FOOD CONSUMPTION IN MALE RAT(TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 5 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE RAT(TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 6 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE RAT
(THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 7 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE RAT
(THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 8 FOOD CONSUMPTION IN MALE RAT(THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 9 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE RAT(THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 10 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE MOUSE
(TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 11 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE MOUSE
(TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 12 FOOD CONSUMPTION IN MALE MOUSE(TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 13 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE(TWO-WEEK STUDY)
- TABLE 14 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE MOUSE
(THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 15 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE MOUSE
(THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 16 FOOD CONSUMPTION IN MALE MOUSE(THIRTEEN-WEEK STUDY)
- TABLE 17 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

F I G U R E S

FIGURE 1 p-DICHLOROBENZENE VAPOR GENERATION SYSTEM AND INHALATION SYSTEM

FIGURE 2 BODY WEIGHT CHANGES:RAT:MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 3 BODY WEIGHT CHANGES:RAT:FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 4 FOOD CONSUMPTION:RAT:MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 5 FOOD CONSUMPTION:RAT:FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 6 BODY WEIGHT CHANGES:MOUSE:MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 7 BODY WEIGHT CHANGES:MOUSE:FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 8 FOOD CONSUMPTION:MOUSE:MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 9 FOOD CONSUMPTION:MOUSE:FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

A P P E N D I X E S

APPENDIX A 1-1 CLINICAL OBSERVATION (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX A 1-2 CLINICAL OBSERVATION (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX A 1-3 CLINICAL OBSERVATION (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX A 1-4 CLINICAL OBSERVATION (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX A 2-1 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

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

APPENDIX A 2-3 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX A 2-4 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX A 3-1 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX A 3-2 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX A 3-3 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX A 3-4 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX A 4-1 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX A 4-2 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX A 4-3 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX A 4-4 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX A 5-1 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX A 5-2 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX A 5-3 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX A 5-4 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX A 6-1 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:ALL ANIMALS

APPENDIX A 6-2 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE:ALL ANIMALS

APPENDIX A 6-3 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:ALL ANIMALS

APPENDIX A 6-4 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:ALL ANIMALS

APPENDIX A 7-1 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:ALL ANIMALS

APPENDIX A 7-2 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:ALL ANIMALS

APPENDIX A 7-3 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:ALL ANIMALS

APPENDIX A 8-1 IDENTITY OF p-DICHLOROBENZENE (TWO-WEEK STUDIES)

APPENDIX A 8-2 STABILITY OF p-DICHLOROBENZENE (TWO-WEEK STUDIES)

APPENDIX A 9-1 CONCENTRATION OF p-DICHLOROBENZENE IN INHALATION CHAMBER
(TWO-WEEK STUDIES)

APPENDIX A 9-2 ENVIRONMENT OF INHALATION CHAMBER
(TWO-WEEK STUDIES)

A P P E N D I X E S (CONTINUED)

APPENDIX B 1-1 CLINICAL OBSERVATION (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX B 1-2 CLINICAL OBSERVATION (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX B 1-3 CLINICAL OBSERVATION (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX B 1-4 CLINICAL OBSERVATION (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX B 2-1 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX B 2-2 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX B 2-3 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX B 2-4 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX B 3-1 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX B 3-2 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX B 3-3 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX B 3-4 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX B 4-1 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX B 4-2 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX B 4-3 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX B 4-4 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

A P P E N D I X E S (CONTINUED)

- APPENDIX B 5-1 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE
- APPENDIX B 5-2 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE
- APPENDIX B 5-3 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE
- APPENDIX B 5-4 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX B 6-1 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE
- APPENDIX B 6-2 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE
- APPENDIX B 6-3 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE
- APPENDIX B 6-4 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE
- APPENDIX B 7-1 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:ALL ANIMALS
- APPENDIX B 7-2 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE:ALL ANIMALS
- APPENDIX B 7-3 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:ALL ANIMALS
- APPENDIX B 7-4 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:ALL ANIMALS
- APPENDIX B 8-1 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),ABSOLUTE
RAT:MALE
- APPENDIX B 8-2 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),ABSOLUTE
RAT:FEMALE
- APPENDIX B 8-3 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),ABSOLUTE
MOUSE:MALE
- APPENDIX B 8-4 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),ABSOLUTE
MOUSE:FEMALE

APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX B 9-1 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY), RELATIVE
RAT:MALE

APPENDIX B 9-2 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY), RELATIVE
RAT:FEMALE

APPENDIX B 9-3 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY), RELATIVE
MOUSE:MALE

APPENDIX B 9-4 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY), RELATIVE
MOUSE:FEMALE

APPENDIX B 10-1 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:ALL ANIMALS

APPENDIX B 10-2 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE:ALL ANIMALS

APPENDIX B 10-3 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:ALL ANIMALS

APPENDIX B 10-4 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:ALL ANIMALS

APPENDIX B 11-1 IDENTITY OF p-DICHLOROBENZENE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

APPENDIX B 11-2 STABILITY OF p-DICHLOROBENZENE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

APPENDIX B 12-1 CONCENTRATION OF p-DICHLOROBENZENE IN INHALATION CHAMBER
(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

APPENDIX B 12-2 ENVIRONMENT OF INHALATION CHAMBER
(THIRTEEN-WEEK STUDIES)

APPENDIX C 1 METHODS FOR HEMATOLOGY, BIOCHEMISTRY AND URINALSYS

APPENDIX C 2 UNITS AND DECIMAL PLACE FOR HEMATOLOGY AND BIOCHEMISTRY

要旨

p-ジクロロベンゼンのがん原性を検索する目的でF344/DuCrj(Fischer)ラットとCrj:BDF₁マウスを用いた吸入による2年間(104週間)の試験を実施するに当たり、その投与濃度を設定するために本予備試験(2週間試験、13週間試験)を実施した。

2週間試験及び13週間試験はラット、マウスとも被験物質投与群:5群、対照群1群の6群構成で行った。投与濃度は2週間試験ではラット、マウスの雌雄とも600ppm、400ppm、270ppm、180ppm、120ppm、13週間試験ではラット、マウスの雌雄とも600ppm、270ppm、120ppm、55ppm、25ppmとした。投与はp-ジクロロベンゼンを1日6時間で1週5日間の全身暴露することにより行った。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(13週間試験)、剖検、臓器重量測定(13週間試験)及び病理組織学的検査とした。

ラットを用いた2週間試験の結果、最高用量の600ppm群では雄で体重増加の抑制と腎臓の近位尿細管に好酸体がみられ、また、雌雄ともに血液学的検査及び血液生化学的検査の一部に変化がみられた。しかし、これらはすべて重篤なものではなかった。また、最低用量の120ppm群でも軽度ではあるが、雄の腎臓の近位尿細管に好酸体がみられ、雌ではヘモグロビン濃度が減少した。これらの結果より、ラットの13週間試験の投与濃度は雌雄とも最高用量を600ppmとし、以下270、120、55、25ppm(公比約2.2)とした。

ラットを用いた13週間試験の結果、雄の120ppm以上の群で赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の減少等の貧血様の症状がみられた。また、雄の120ppm以上の群、雌の600ppm群及び270ppm群で肝重量が増加し、雌雄の600ppm群では小葉中心性に肝細胞の肥大がみられた。さらに雄の600ppm群及び270ppm群では腎臓の重量増加、近位尿細管の壊死及び顆粒状円柱の形成がみられ、近位尿細管の好酸体の出現も増強した。雌では600ppm群で腎臓の実重量が増加した。また、血液生化学的検査でもp-ジクロロベンゼンの肝臓及び腎臓への影響を示唆する多くのパラメーターの変化がみられた。これらの結果から、がん原性試験の最大耐量は病理組織学的に雌雄の肝臓と雄の腎臓にp-ジクロロベンゼンの影響がみられた600ppmと雄の腎臓に変化がみられた270ppmの間が適当であると判断した。また中用量及び低用量は現行許容濃度を考慮して設定した。すなわち、ラットのがん原性試験の投与濃度は雌雄とも高用量を300ppmとし、以下75、20ppmとした。

マウスを用いた2週間試験の結果、最高用量の600ppm群では血液生化学的検査で多くのパラメーターに変化がみられ、肝臓及び腎臓へのp-ジクロロベンゼンの影響が考えられた。また、病理学的検査では肝臓の腫大及び

小葉中心性の肝細胞の肥大がみられたが軽度な変化であった。最低用量の120ppm群では雌で総コレステロール及びA/G比に変化がみられた。これらの結果より、マウスの13週間試験の投与濃度は雌雄とも最高用量を600ppmとし、以下270、120、55、25ppm（公比約2.2）とした。

マウスを用いた13週間試験の結果、病理学的検査で肝臓及び腎臓にp-ジクロロベンゼンの影響が認められた。まず、雄の全投与群で肝臓の体重比が高値を示し、600ppm群では実重量も増加した。雌では600ppm群及び270ppm群で肝重量が増加した。病理組織学的には雄の600ppm群、270ppm群及び雌の600ppm群で肝臓に異型を伴う肝細胞の肥大がみられ、雄の600ppm群では巣状壊死もみられた。腎臓においては病理組織学的な変化はみられなかったが、雄の600ppm群及び270ppm群で腎臓の体重比が高値を示し、雌の600ppm群では腎臓の実重量が増加した。また、血液生化学的検査及び尿検査でもp-ジクロロベンゼンの肝臓及び腎臓への影響を示唆する多くのパラメーターの変化がみられた。これらの結果から、がん原性試験の最大耐量は雌雄ともに病理組織学的にp-ジクロロベンゼンの肝臓への影響が顕著にみられた600ppmと雄の肝臓にだけ病理組織学的な変化がみられた270ppmの間が適当であると判断した。また中用量及び低用量はラットと同様に現行の許容濃度を考慮して設定した。すなわち、マウスのがん原性試験の投与濃度は雌雄とも高用量を300ppmとし、以下75、20ppmとした。

I 試験材料

I - 1 被験物質の性状等

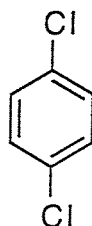
I - 1 - 1 名称と別名

名 称 : p-ジクロロベンゼン(p-Dichlorobenzene)

別 名 : 1, 4-ジクロロベンゼン(1,4-Dichlorobenzene),
para-chlorophenyl chloride

CAS.No. : 106-46-7

I - 1 - 2 構造式、示性式、分子量



$C_6H_4Cl_2$ (分子量 : 147.01)

I - 1 - 3 物理化学的性状等

性 状 : 白色結晶、昇華性、特有の強い刺激性の臭気

沸 点 : 173~174℃

融 点 : 53.5℃(α型), 54℃(β型)

比 重 : 1.458(20.5℃)

蒸 気 圧 : 0.64mmHg(20℃)

溶 解 性 : 水には不溶、アルコール、クロロホルム、ベンゼン、エーテル、二硫化炭素に可溶

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：2 週 間 試 験 PDH 0373

1 3 週 間 試 験 CTJ 0580

製 造 元：和光純薬工業株式会社

純 度：99.9%以上

I - 3 被験物質の同一性・安定性

I - 3 - 1 同一性

2週間試験及び13週間試験とも被験物質の同一性は、そのマスペクトル及び赤外吸収スペクトルを測定し、それぞれの理論値及び文献値（文献 1）と比較することにより確認した。なお、それらの結果について、2週間試験は APPENDIX A 8-1、13週間試験は APPENDIX B 11-1に示した。

I - 3 - 2 安定性

2週間試験及び13週間試験とも被験物質の安定性は、投与開始前及びその投与終了後に、その赤外吸収スペクトル及びガスクロマトグラフを測定し、それぞれのデータを比較することにより確認した。なお、それらの結果について、2週間試験は APPENDIX A 8-2、13週間試験は APPENDIX B 11-2に示した。

I - 4 試験動物

動物は2週間試験及び13週間試験ともに日本チャールス・リバー（株）のF344/DuCrj(Fischer)ラット(SPF)及びCrj:BDF₁マウス(SPF)の雌雄を使用した。

2週間試験では、ラット雌雄各75匹、マウス雌雄各74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、体重値の中央値に近い雌雄各60匹(投与開始時体重範囲、ラット雄：122～138g、雌：94～106g/マウス雄：21.5～24.9g、雌：18.1～20.4g)を選別し、試験に供した。

13週間試験では、ラットの雄75匹雌73匹、マウス雌雄各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、体重値の中央値に近い雌雄各60匹(投与開始時体重範囲、ラット

雄:121~135g、雌:94~106g/マウス雄:20.3~25.0g、雌:16.5~20.0g)を選別し、試験に供した。

なお、F344/DuCrj(Fischer)ラット及びCrj:BDF₁マウスを選択した理由は、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

2週間試験及び13週間試験とも、投与経路は全身暴露による経気道投与とした。すなわち吸入チャンバー内に設定濃度に調整したp-ジクロロベンゼンを送り込み、試験動物に全身暴露する事により投与した。なお、対照群の動物には新鮮空気のみを暴露した。

各試験における投与期間及び暴露回数は以下の通りである。

2週間試験・・・・・・6時間/日, 5日/週, 10回/2週間
13週間試験・・・・・・6時間/日, 5日/週 (祝祭日を除く)
ラット：61回/13週間
マウス：62回/13週間

II - 1 - 2 投与濃度

2週間試験

ラット及びマウスの雌雄ともに最高用量を600ppmに設定し、それ以下400ppm、270ppm、180ppm、120ppm (公比約1.5) とした。

13週間試験

ラット及びマウスの雌雄ともに最高用量を600ppmに設定し、それ以下270ppm、120ppm、55ppm、25ppm (公比約2.2) とした。

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は FIGURE 1 に示す通り、発生容器内のp-ジクロロベンゼン (結晶) をマントルヒーターで加熱・液化後、清浄空気のバブリングにより蒸発させた。このp-ジクロロベンゼン蒸気を循環式恒温槽で加熱し一定濃度に調節した後、流量計を用いて一定量を各吸入チャンバ

一のラインミキサーに供給した。次に、各吸入チャンバー内の p-ジクロロベンゼン濃度はガスクロマトグラフによる測定値を監視しながら、設定濃度になるように p-ジクロロベンゼン蒸気の吸入チャンバーへの供給量を調整し維持した。

II-1-4 被験物質の濃度測定

各試験における吸入チャンバー内の p-ジクロロベンゼ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、全群について暴露開始前から暴露終了後まで15分毎に測定した。

各試験とも投与濃度の平均値は設定濃度を満足する結果を示した。

2週間試験は APPENDIX A 9-1、13週間試験は APPENDIX B 12-1 に測定結果を示した。

II-2 動物管理

II-2-1 各群の使用動物数

2週間試験及び13週間試験とも投与群5群及び対照群1群の計6群を設け、雌雄各群10匹の動物を用いた。

II-2-2 群分け及び個体識別方法

供試動物の各投与群への割り当ては、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 2）

試験期間中の動物の個体識別は、検疫期間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、またケージにも個体識別番号を付した。

なお、他の試験との区別は、バリア区域内の独立した室にそれぞれ収容し、各室に試験番号、動物種及び動物番号を表示することにより行った。

II - 2 - 3 飼育条件

動物は2週間試験及び13週間試験とも、検疫室で1週間の検疫飼育を行った後、馴化期間及び投与期間中は吸入チャンバー内で飼育した。各試験で使用了検疫室、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。また、各試験の吸入チャンバー内の計測結果を2週間試験は APPENDIX A 9-2 に、13週間試験は APPENDIX B 12-2 に示した。各試験とも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。

各試験の検疫期間中は1ケージ当り1匹の単飼(ステンレス製2連型網ケージ、ラット：170W×294D×176H mm、マウス：112W×212D×120H 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、ラット：125W×216D×176H mm、マウス：95W×116D×120H 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、ラット：150W×216D×176H mm、マウス：100W×116D×120H mm)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)のCRF-1固型飼料(3Mrad=30KGy- 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、紫外線滅菌し、自動給水により自由摂取させた。なお、2週間試験ではp-ジクロロベンゼン暴露中の給餌、給水はしなかった。

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

2週間試験では毎日2回、13週試験では毎日1回、動物の一般状態の観察を行った。

II - 3 - 2 体重測定

2週間試験では、0日目(投与開始直前)、1日目(1週1日)、7日目(1週7日)、及び14日目(2週7日)に、13週間試験では週1回、体重を測定した。

II - 3 - 3 摂餌量測定

2週間試験及び13週間試験とも週1回、摂餌量を個体別に測定した。

Ⅱ－３－４ 血液学的検査

2週間試験及び13週間試験とも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。

なお、検査対象動物は解剖日前日より(18時間以上)絶食させた。

検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX C 1 に示した。

Ⅱ－３－５ 血液生化学的検査

2週間試験及び13週間試験とも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 C 1 に示した。

Ⅱ－３－６ 尿検査

13週間試験の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 C 1 に示した。

Ⅱ－３－７ 病理学的検査

1 剖検

2週間試験及び13週間試験とも解剖時に全動物について肉眼的に観察を行った。

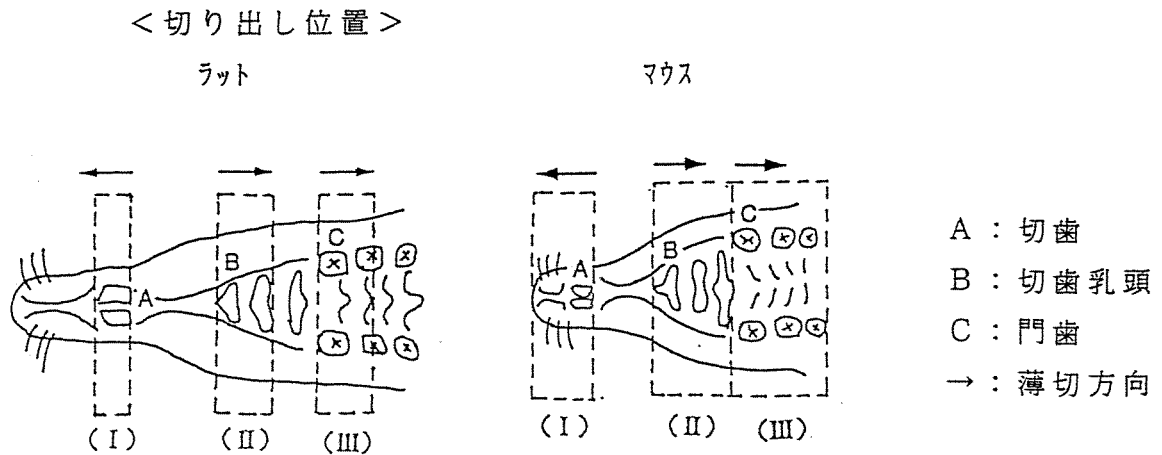
2 臓器重量

13週間試験の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を測定した。また、湿重量の体重比、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

2週間試験では雌雄各群の2例の動物の臓器を、13週間試験では全動物の臓器を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。なお、鼻腔については下記のとおり、切歯の後端(レベルⅠ)、切歯乳頭(レベルⅡ)、第一臼歯の前端(レベルⅢ)の3ヵ所で切

り出し(横断)、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

体重についてはgを単位とし、ラットでは小数点以下第1位を四捨五入して整数値で、マウスでは小数点以下第2位を四捨五入して小数点以下第1位までを表示した。

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 C 2 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 母数の取り扱いと表示

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、欠測となったデータについては母数から除いた。

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、各群の有効動物数(供試動物数より事故等の理由で外された動物数を減じた動物数)を母数とした。

Ⅱ－４－３ 統計方法

本試験で得られた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13週間試験は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。また、各群雌雄毎に検査数が2以下の項目については検定より除外した。

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 ラットを用いた試験

Ⅲ-1-1 2週間試験 (試験番号: 0113)

1 動物の状態観察

(1) 生死状況

動物の死亡はみられなかった。

(2) 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1-1, A 1-2 に示した。

投与群では流涙、眼脂、軟便、脱毛及び尿による外陰部周囲の汚染が数例散見されたが、いずれも発生例が少ないことから被験物質の影響とは考えられなかった。

(3) 体重

体重の推移を TABLE 2, 3 及び APPENDIX A 2-1, A 2-2 に示した。

雄の600ppm群は投与後7日目(1週7日)で対照群と比較して有意な低値を示した。この群の体重は投与後1日目(1週1日)と最終計測日(2週7日)においても、有意差はみられないものの対照群に比べ低値であり、軽度であるが体重増加に抑制が認められた。これは後述する摂餌量の減少と対応した変化であった。

その他の雌雄の各群は順調に体重が増加した。

(4) 摂餌量

摂餌量(1日1匹当たり)を TABLE 4, 5 及び APPENDIX A 3-1, A 3-2 に示した。

雌雄の600ppm群で投与1週目で有意な低値がみられ、摂餌量の減少が認められた。雄の600ppm群はこの摂餌量の減少に伴い体重増加が抑制されたが、雌は摂餌量の減少の程度が少なく、体重値に影響しなかったと思われた。

2 血液学的検査・血液生化学的検査

(1) 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX A 4-1, A 4-2 に示した。

雄では600ppm群及び400ppm群でヘモグロビン濃度の有意な減少がみられた。また、600ppm群で血小板数の有意な増加がみられた。

雌では全投与群でヘモグロビン濃度の有意な減少がみられた。

その他、雌の600ppm群及び180ppm群でMCVの有意な減少がみられた。

が、投与量と対応した変化ではないため被験物質の影響とは考えられなかった。

(2) 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX A 5-1, A 5-2 に示した。

雄では600ppm群及び400ppm群で総コレステロールの有意な増加、さらに600ppm群でアルブミンの有意な増加がみられた。

雌では180ppm以上の群で総コレステロールの有意な増加がみられた。

その他、雄の600ppm群及び270ppm群でクロールの有意な減少がみられ、雌の180ppm群でクロールの有意な増加がみられたが、これらは投与量と対応した変化ではないため被験物質の影響とは考えられなかった。

3 病理学的検査

(1) 剖検

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX A 6-1, A 6-2 に示した。

投与群では肝臓のヘルニア、胸腺の赤血斑、子宮の内腔拡張がみられたが、これらは投与量に対応した変化ではなく、少数例であるため被験物質の影響とは考えられなかった。

(2) 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を APPENDIX A 7-1 に示した。

雄では120ppm以上の群で腎臓の近位尿細管に好酸体を認め、この変化は270ppm以上の群でより強く現れていた。

雌では著変はみられなかった。

Ⅲ - 1 - 2 13週間試験 (試験番号: 0 1 3 2)

1 動物の状態観察

(1) 生死状況

動物の死亡はみられなかった。

(2) 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX B 1-1, B 1-2 に示した。

投与群の雄では立毛、眼球突出、眼混濁（角膜混濁、前眼房の混濁）及び足底部床擦れがみられ、雌では立毛、脱毛、尿による外陰部周囲の汚染、流涙、眼脂、眼血性分泌物及び眼混濁（角膜混濁、前眼房の混濁）がみられたが、これらは発生例が少ないか、或いは投与量と対応していないため、いずれも被験物質の影響とは考えられなかった。

(3) 体重

体重の推移を TABLE 6, 7、FIGURE 2, 3 及び APPENDIX B 2-1, B 2-2 に示した。

雄の600ppm群で投与1週目（1週7日）に対照群に比べて有意な低値がみられ、また、雌の600ppm群でも投与1週目（1週7日）は有意差はみられないものの対照群に比べて低値であった。これらは後述する摂餌量の減少に対応したものであったが、投与2週目以降は600ppm群の体重は雌雄とも順調に増加した。

その他の雌雄の各群は順調に増加した。

(4) 摂餌量

摂餌量(1日1匹当り)を TABLE 8, 9、FIGURE 4, 5 及び APPENDIX B 3-1, B 3-2 に示した。

雌雄の600ppm群は投与1週目で有意な低値がみられ、摂餌量の減少が認められた。また、雄の600ppm群で投与9週目以降で有意な高値がみられ、摂餌量の増加が認められたが、前述した体重の変化と対応せず被験物質との関係は不明であった。

2 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査

(1) 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX B 4-1, B 4-2 に示した。

雄では120ppm以上の群で赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の有意な減少がみられた。さらに600ppm群でMCV及びMCHの有意な減少、血小板数の有意な増加がみられた。

雌では600ppm群でヘモグロビン濃度の有意な減少がみられた。

(2) 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX B 5-1, B 5-2 に示した。

雄では600ppm群及び270ppm群で総コレステロール、カルシウム及びリン脂質の有意な増加がみられ、GPT活性及びALP活性の有意な低下がみられた。さらに600ppm群では総蛋白、アルブミン、尿素窒素及びクレアチニンの有意な増加、トリグリセライド及びクロールの有意な減少、GOT活性の有意な低下がみられた。

雌では600ppm群及び270ppm群でアルブミンの有意な増加がみられた。さらに600ppm群で総蛋白、総コレステロール及びリン脂質の有意な増加、GOT活性の有意な低下、クロールの有意な減少がみられた。

(3) 尿検査

尿検査の結果を APPENDIX B 6-1, B 6-2 に示した。

雄は著変はみられなかった。

雌の55ppm以上の群でpHの有意な上昇がみられた。

3 病理学的検査

(1) 剖検

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX B 7-1, B 7-2 に示した。

投与群では肺の結節、赤色斑、肝臓のヘルニア、胸腺の赤色点／斑、子宮の内腔拡張及び卵巣の液貯留が少数例みられたが、これらは、投与量に対応した変化ではなく、また少数例であるため被験物質の影響とは考えられなかった。

(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 B 8-1, B 8-2 (実重量)、APPENDIX B 9-1, B 9-2 (体重比) に示した。

実重量では、雄の600ppm群及び270ppm群で腎臓、120ppm以上の群で肝臓、600ppm群で脾臓の有意な高値がみられた。雌は600ppm群、270ppm群及び55ppm群で肝臓、さらに600ppm群で腎臓の有意な高値がみられた。

体重比では、雄の600ppm群及び270ppm群で腎臓、120ppm以上の群で肝臓、600ppm群で脾臓の有意な高値がみられた。雌は600ppm群及び270ppm群で肝臓、さらに600ppm群で腎臓の有意な高値がみられた。

その他に雄の270ppm群で脳の実重量の有意な高値がみられたが、投与量と対応した変化でないため、また、雄の600ppm群で胸腺の体重比の有意な低値がみられたが体重比だけの変化であるため、いずれも被験物質の影響とは考えられなかった。

(3) 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を APPENDIX B 10-1, B 10-2 に示した。

雄では600ppm群及び270ppm群で腎臓に近位尿細管の壊死及び顆粒状円柱の形成がみられ、この所見は270ppm群よりも600ppm群で明らかな程度の増強を示した。また、腎臓の近位尿細管の好酸体の出現も600ppm群及び270ppm群で増強した。600ppm群ではこれらの腎臓の変化に鉍質沈着が加わり、肝臓では小葉中心性に肝細胞の肥大がみられた。この小葉中心性の肝細胞の肥大は270ppm群でも少数例(3例)みられた。

雌では600ppm群の肝臓で小葉中心性に肝細胞の肥大が少数例(3例)みられた。

その他、雌の270ppm群でハーダー腺のリンパ球浸潤が多くみられたが、これは投与量と対応した変化ではないため被験物質の影響とは考えられなかった。

Ⅲ－２ マウスを用いた試験

Ⅲ－２－１ ２週間試験（試験番号：０１１４）

１ 動物の状態観察

（１）生死状況

動物の死亡はみられなかった。

（２）一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1-3, A 1-4 に示した。

雄の投与群で投与後３日目（１週３日）から投与終了日（２週６日）まで立毛がみられ、低投与群よりも高投与群のほうが発生例が多くみられた。その他120ppm群で脱毛がみられたが、発生例が少なく投与量とも対応していないため被験物質の影響とは考えられなかった。

雌の600ppm群で投与３日目（１週３日）から投与終了日（２週６日）まで立毛がみられた。その他、投与群では脱毛がみられたが、対照群でもみられたため被験物質の影響とは考えられなかった。

（３）体重

体重の推移を TABLE 10, 11 及び APPENDIX A 2-3, A 2-4 に示した。

雌雄各群とも順調に増加した。

（４）摂餌量

摂餌量（１日１匹当り）を TABLE 12, 13 及び APPENDIX A 3-3, A 3-4 に示した。

雄では600ppm群、270ppm群及び180ppm群で投与１週目に有意な低値がみられ、摂餌量の減少が認められたが、投与２週目では600ppm群で有意な高値を示し摂餌量の増加が認められた。

雌では270ppm以上の群で投与２週目に有意な高値がみられた。しかし、これらの変化は前述した体重の変化と対応せず、被験物質との関係は不明であった。

２ 血液学的検査・血液生化学的検査

（１）血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX A 4-3, A 4-4 に示した。

雄は著変がみられなかった。

雌では600ppm群及び400ppm群で血小板数の増加がみられた。

その他、雌の600ppm群で分葉核好中球比の増加がみられたが、他の項目で著変がみられなかったため被験物質の影響とは考えられなかった。

(2) 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX A 5-3, A 5-4 に示した。

雄では270ppm以上の群で総コレステロールの有意な増加がみられ、600ppm群及び400ppm群では、総蛋白、アルブミン及びカルシウムの有意な増加、GPT活性の有意な上昇がみられた。さらに600ppm群でGOT活性の有意な上昇及びクロールの有意な減少がみられた。

雌では全投与群で総コレステロールの有意な増加がみられ、270ppm以上の群で総蛋白の有意な増加、GPT活性の有意な上昇がみられた。さらに、600ppm群及び400ppm群でカルシウムの有意な増加、600ppm群でクロールの有意な減少がみられた。また、270ppm以上の群及び120ppm群でA/G比の有意な減少と、600ppm群及び270ppm群でアルブミンの有意な増加もみられた。

3 病理学的検査

(1) 剖検

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX A 6-3, A 6-4 に示した。

雌雄ともに、600ppm群の雄で9例、雌で全例に肝臓の腫大がみられた。

その他、投与群では脾臓の黒色斑がみられたが、例数が少なく、また、投与量と対応しないため被験物質の影響とは考えられなかった。

(2) 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を APPENDIX A 7-2, A 7-3 に示した。

雌雄とも600ppm群の肝臓で小葉中心性の肝細胞の肥大がみられた。

その他、雄では600ppm群で胸腺の嚢胞と脾臓の鬱血、600ppm群及び400ppm群で脾臓のメラニン沈着、270ppm群でリンパ節の出血、雌では180ppm群で鼻腔出血と肝臓に巣状壊死がみられた。これらの所見のうち、リンパ節の出血、鼻腔出血と肝臓の巣状壊死は、投与量と対応していないため、また脾臓のメラニン沈着は対照動物でもしばしばみられる所見であるため、それぞれ被験物質の影響とは考えられなかった。しかし、雄の600ppm群でみられた胸腺の嚢胞及び脾臓の鬱血と被験物質との関係は不明であった。

Ⅲ - 2 - 2 13週間試験 (試験番号: 0 1 3 3)

1 動物の状態観察

(1) 生死状況

動物の死亡はみられなかった。

(2) 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX B 1-3, B 1-4 に示した。

投与群の雄では円背位、癩癰、立毛、脱毛、尿による外陰部周囲の汚染、眼混濁（角膜混濁）、眼瞼閉鎖及び軟便がみられ、雌では立毛がみられたが、これらの所見は例数が少ないか、或いは投与量と対応していないため被験物質の影響とは考えられなかった。

(3) 体重

体重の推移を TABLE 14, 15, FIGURE 6, 7 及び APPENDIX B 2-3, B 2-4 に示した。

雄は順調に増加した。

雌の600ppm群は、投与後5週（5週7日）から投与終了週（13週7日）にかけて有意な高値が多くみられ、体重の増加が認められた。これは、後述する摂餌量の増加と対応していたが被験物質との関係は不明であった。また、55ppm群で投与後6週（6週7日）に有意な低値がみられたが、それ以降は特に対照群と差がなかったことから、被験物質の影響とは考えられなかった。

(4) 摂餌量

摂餌量(1日1匹当り)を TABLE 16, 17、FIGURE 8, 9 及び APPENDIX B 3-3, B 3-4 に示した。

雄では投与期間中に投与各群で散発的に有意な高値及び低値がみられたが、体重値と対応せず被験物質の影響とは考えられなかった。

雌では600ppm群で投与期間中に有意な高値が多くの週にみられ、摂餌量の増加が認められた。

2 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査

(1) 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX B 4-3, B 4-4 に示した。

雄は著変はみられなかった。

雌の600ppm群でMCHの有意な増加がみられたが、それに関連する他の項目で著変がみられなかったため被験物質の影響とは考えられなかった。

(2) 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX B 5-3, B 5-4 に示した。

雄では600ppm群及び270ppm群でG P T活性の有意な上昇がみられ、さらに600ppm群で総蛋白、総コレステロール、尿素窒素の有意な増加、G O T活性の有意な上昇がみられた。

雌では600ppm群で総蛋白、総コレステロールの有意な増加、G P T活性の有意な上昇がみられた。さらに投与群でのトリグリセライドの増加傾向がみられた。

その他に、雄の25ppm群で無機リンの有意な増加がみられたが、これは投与量と対応していないため被験物質の影響とは考えられなかった。

(3) 尿検査

尿検査の結果を APPENDIX B 6-3, B 6-4 に示した。

雄の600ppm群でケトン体の陽性例の有意な減少がみられた。

雌は著変が認められなかった。

3 病理学的検査

(1) 剖検

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX B 7-3, B 7-4 に示した。

投与群では脾臓の赤色点／斑、黒色点／斑、肝臓の白色点／斑、肺の赤色点／斑及び卵巣の液貯留が数例にみられたが、これらの所見は投与量に対応したものではなく、また例数も少ないため被験物質の影響とは考えられなかった。

(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 B 8-3, B 8-4 (実重量)、APPENDIX B 9-3, B 9-4 (体重比)に示した。

実重量では雄の600ppm群で肝臓の有意な高値がみられた。雌では600ppm群及び270ppm群で肝臓、さらに600ppm群で腎臓の有意な高値がみられた。

体重比では雄の全投与群で肝臓、600ppm群及び270ppm群で腎臓の有意な高値がみられた。雌は600ppm群及び270ppm群で肝臓の有意な高値がみられた。

その他の投与群では、雄で脳、心臓及び精巣、雌で心臓の体重比に有意な高値がみられたが、投与量と対応した変化でないため被験物質の影響とは考えられなかった。

(3) 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を APPENDIX B 10-3, B 10-4 に示した。

雄では600ppm群及び270ppm群で肝臓に細胞異型を伴う肝細胞の肥大がみられた。さらに600ppm群では、この肝細胞の肥大の程度は重くなり、肝細胞の巣状壊死もみられた。

雌では600ppm群で肝臓に細胞異型を伴う肝細胞の肥大がみられた。

その他に、雄の600ppm群の腎臓で近位尿細管上皮の空胞化の減少がみられたが、これは生理的なものであり被験物質の影響とは考えられなかった。

IV 考察及びまとめ

ラット

<2週間試験>

ラットの2週間試験の結果、全投与群とも死亡例はみられなかった。最高用量の600ppm群の雄では摂餌量の減少に伴う体重増加の抑制がみられたが、軽度であった。血液学的検査及び血液生化学的検査では、雄の600ppm群及び400ppm群でヘモグロビン濃度の減少、総コレステロールの増加、さらに600ppm群で血小板数及びアルブミンの増加がみられ、雌では全投与群でヘモグロビン濃度の減少、180ppm以上の群で総コレステロールの増加がみられたが、これらの変化もすべて軽度であった。病理組織学的検査では雄の全投与群で腎臓の近位尿細管に好酸体がみられ、その出現は投与量に対応して、270ppm以上の群で強く現れていた。

これらの結果から13週間試験の投与濃度を考えると、2週間試験の最高用量の600ppm群では、雄で体重増加の抑制、摂餌量の減少、病理組織学的検査で腎臓の変化がみられ、また、雌雄ともに血液学的検査及び血液生化学的検査の一部に変化がみられた。しかし、これらはすべて軽度で重篤なものではないことから、13週間試験においても600ppmは動物が耐え得る濃度と考え、13週間試験の最高用量は600ppmとした。また、2週間試験の最低用量の120ppm群の雄では病理組織学的検査で腎臓に変化がみられ、雌ではヘモグロビン濃度の軽度な減少がみられたため、13週間試験の最低用量は2週間試験よりも低く設定することとし、120ppm群より低い群を2群設けた。すなわち、13週間試験の投与濃度は雌雄とも最高用量を600ppmとし、以下270、120、55、25ppm(公比約2.2)とした。

<13週間試験>

13週間試験の結果、全投与群とも死亡例はみられなかった。体重の推移をみると、雄の600ppm群で投与1週目に摂餌量の減少に伴った体重増加の抑制がみられたが、その後は順調に増加した。雌の600ppm群でも投与1週目に体重の低値がみられたが、その後は順調に増加した。血液学的検査では、雄の120ppm以上の群で赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の減少がみられ、さらに600ppm群でMCV及びMCHの減少、血小板数の増加がみられた。また、雌の600ppm群ではヘモグロビン濃度の減少がみられた。これらは貧血の病態を示すものであり、雄の600ppm群の脾臓の実重

量及び体重比の高値も貧血が起因していると思われた。また、病理学的検査では肝臓及び腎臓に被験物質の影響が認められた。すなわち、雄の120 ppm以上の群では肝臓の実重量及び体重比の高値がみられ、病理組織学的検査では600ppm群で小葉中心性に肝細胞の肥大がみられた。雌では600ppm群及び270ppm群で肝臓の実重量、体重比の高値がみられ、600ppm群で小葉中心性に肝細胞の肥大がみられた。腎臓においては雄の600ppm群及び270ppm群で実重量及び体重比の高値がみられ、病理組織学的検査でも雄の600ppm群及び270ppm群で腎臓の近位尿細管の壊死、顆粒状円柱の形成がみられ、また、近位尿細管の好酸体の出現も増強した。雌では病理組織学的変化はみられなかったが600ppm群で腎臓の実重量及び体重比の高値がみられた。さらに、血液生化学的検査では、雄の600ppm群及び270ppm群で総コレステロール、カルシウム、リン脂質の増加、G P T活性及びA L P活性の低下がみられ、また、600ppm群では総蛋白、アルブミン、尿素窒素及びクレアチニンの増加、トリグリセライド及びクロールの減少、G O T活性の低下がみられた。雌では600ppm群及び270ppm群でアルブミンの増加がみられ、また、600ppm群で総蛋白、総コレステロール及びリン脂質の増加、G O T活性の低下、クロールの減少がみられた。これら血液生化学的検査の変化も被験物質の肝臓及び腎臓への影響を示唆するものと考えられた。

これらの結果から、がん原性試験の最大耐量は病理組織学的検査において、雌雄の肝臓と雄の腎臓に被験物質の影響がみられた600ppmと雄の腎臓に変化がみられた270ppmの間が適当であると判断した。また中用量及び低用量は、日本産業衛生学会及びA C G I Hの現行の許容濃度、50ppm（日本産業衛生学会）、75ppm（A C G I H）を考慮して設定した（文献 3）。すなわち、がん原性試験の投与濃度は雌雄とも高用量を300ppmとし、以下75、20ppmとした。

マウス

<2週間試験>

マウスの2週間試験の結果、全投与群とも死亡例はみられなかった。しかし、一般状態の観察では雄の全投与群で立毛がみられ、血液学的検査では雌の600ppm群及び400ppm群で血小板数の増加がみられた。これらは被験物質の影響と考えられたが、起因は不明であった。また、血液生化学的検査では雄の270ppm以上の群で総コレステロールの増加、600ppm群及び400ppm群で総蛋白、アルブミン、カルシウムの増加及びGPT活性の上昇、600ppm群でGOT活性の上昇及びクロールの減少がみられた。雌では全投与群で総コレステロールの増加、270ppm以上の群で総蛋白の増加及びGPT活性の上昇、600ppm群及び400ppm群でカルシウムの増加、600ppm群でクロールの減少、270ppm以上の群及び120ppm群でA/G比の減少、600ppm群及び270ppm群でアルブミンの増加がみられた。これら多くの変化は肝臓及び腎臓への被験物質の影響を示唆するものと考えられた。病理学的検査でも雌雄の600ppm群では剖検観察で肝臓の腫大、病理組織学的検査で肝臓の小葉中心性の肝細胞の肥大がみられ被験物質の肝臓への影響が認められた。

これらの結果から13週間試験の投与濃度を考えると、2週間試験の最高用量の600ppm群では血液生化学的検査で多くのパラメーターに変化がみられ、肝臓及び腎臓への被験物質の影響が考えられた。また、病理学的検査では肝臓の腫大及び病理組織学的変化がみられた。しかし、600ppm群の肝臓の病理組織学的変化は比較的軽度なものであり、体重及び摂餌量には変化がないことから、13週間試験においても600ppmは動物が耐え得る濃度と考え、13週間試験の最高用量は600ppmとした。また、2週間試験の最低用量の120ppm群では雌で総コレステロール及びA/G比に変化がみられたことから、13週間試験の最低用量は2週間試験よりも低く設定することとした。すなわち、13週間試験の投与濃度は雌雄とも最高用量を600ppmとし、以下270、120、55、25ppm（公比約2.2）とした。

<13週間試験>

13週間試験の結果、全投与群とも死亡例はみられず、一般状態、体重、摂餌量及び血液学的検査では被験物質の明かな影響はみられなかった。しかし、血液生化学的検査では雄の600ppm群及び270ppm群でGPT活性の上昇、600ppm群で総蛋白、総コレステロール、尿素窒素の増加及びGOT活性の上昇がみられた。雌では600ppm群で総蛋白、総コレステロールの増加

及びGPT活性の上昇がみられ、また、全投与群でトリグリセライドの増加がみられた。尿検査では雄の600ppm群でケトン体の陽性例の減少がみられた。これらの多くの変化は被験物質の肝臓及び腎臓への影響を示唆するものと考えられた。病理学的検査でも肝臓及び腎臓に被験物質の影響が認められた。まず、肝臓については雄の全投与群で肝臓の体重比の高値がみられ、600ppm群では肝臓の実重量の高値がみられた。病理組織学的検査でも雄の600ppm群及び270ppm群で肝臓に異型を伴う肝細胞の肥大がみられ、さらに600ppm群では肝細胞の肥大の程度は強くなり巣状壊死もみられた。雌では600ppm群及び270ppm群で肝臓の実重量、体重比の高値がみられ、病理組織学的検査では雄よりも程度は軽いが、600ppm群で異型を伴う肝細胞の肥大がみられた。腎臓においては病理組織学的な変化はみられなかったが、雄の600ppm群及び270ppm群で腎臓の体重比が高値を示し、雌の600ppm群で腎臓の実重量が高値を示した。

これらの結果から、がん原性試験の最大耐量は雌雄ともに病理組織学的に被験物質の肝臓への影響が顕著にみられた600ppmと雄の肝臓だけに病理組織学的な変化がみられた270ppmの間が適当であると判断した。また中用量及び低用量はラットと同様に現行の許容濃度（50ppm：日本産業衛生学会、75ppm：ACGIH）を考慮して設定した（文献 3）。すなわち、がん原性試験の投与濃度は雌雄とも高用量を300ppmとし、以下75、20ppmとした。

V 文献

1. William W. Simons (1978)
Sadtler Handbook of Infrared Spectra
pp106, Sadtler Research Laboratories, Inc.
2. 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
3. 中央労働災害防止協会 (1991)
化学物質の危険・有害便覧
pp698, 中央労働災害防止協会, 東京