

1, 2 - ジクロロプロパンのマウスを用いた
吸 入 に よ る 2 週 間 毒 性 試 験 報 告 書

試験番号：0425

CAS No. 78-87-5

2003年12月2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

1, 2 - ジクロロプロパンのマウスを用いた
吸 入 に よ る 2 週 間 毒 性 試 験 報 告 書

試験番号：0425

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	2
I - 1 - 2 示性式及び分子量	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	2
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	4
II - 1 - 2 被験物質の投与方法	4
II - 1 - 3 投与期間	4
II - 1 - 4 投与濃度	4
II - 1 - 5 投与方法、投与期間及び投与濃度の設定理由	4
II - 1 - 6 被験物質の発生方法と濃度調整	5
II - 1 - 7 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	6
II - 2 - 3 飼育条件	6

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	7
II -3-2 体重測定	7
II -3-3 摂餌量測定	7
II -3-4 血液学的検査	7
II -3-5 血液生化学的検査	8
II -3-6 病理学的検査	8
II -4 数値処理と統計方法	
II -4-1 数値の取り扱いと表示	9
II -4-2 母数の取り扱い	9
II -4-3 統計方法	9
III 試験成績	
III -1 生死状況	10
III -2 一般状態	10
III -3 体重	10
III -4 摂餌量	11
III -5 血液学的検査	11
III -6 血液生化学的検査	11
III -7 病理学的検査	
III -7-1 剖検	11
III -7-2 臓器重量	12
III -7-3 病理組織学的検査	12
IV 考察及びまとめ	14
V 文献	17

要約

1,2 - ジ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）の試験を実施するにあたり、その予備試験である 13 週間試験の投与濃度を決定するために本試験（2 週間試験）を実施した。

本試験は、Crj:BDF₁マウスを投与群 5 群、対照群 1 群の計 6 群（各群雌雄各 5 匹）に分け、投与群の 1,2 - ジクロロプロパンの濃度は、2000 ppm、1000 ppm、500 ppm、250 ppm 及び 125 ppm とした。投与期間は 1 日 6 時間、1 週 5 日間の投与（全身暴露による経気道投与）で 2 週間とし、投与期間中、生死及び一般状態の観察、体重、摂餌量の測定を行い、投与期間終了後、動物を解剖し、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検観察、臓器重量の測定及び病理組織学的検査を行った。また、投与期間中の死亡動物についても剖検観察及び病理組織学的検査を行った。

1,2 - ジクロロプロパンの暴露の結果、500 ppm 以上の群の雄全動物、1000 ppm 以上の群の雌全動物及び 500 ppm 群の雌 4 匹が死亡した。死亡動物の剖検観察では、500 ppm 群の雌で 1 匹に肝臓の小葉像の明瞭化がみられただけであった。病理組織学的検査では、各群の雌雄に肝臓の小葉中心性の変性と鼻腔の嗅上皮の剥離がみられ、雄に肺の出血がみられた。さらに、500 ppm 群の雌の死亡例では、肝臓に小葉中心性の変性に加えて、脂肪変性、壞死、鉛質沈着が観察された。

500 ppm 群の生存動物（雌 1 匹）は、投与期間 2 週目に摂餌量の減少とともに体重が減少し、最終日に円背位及び立毛がみられた。血液学的検査では貧血の傾向がみられた。剖検観察では、胸腺の萎縮、腺胃の潰瘍及び肝臓の黄色班がみられ、臓器重量測定では肝臓の重量増加と胸腺の重量低下がみられた。病理組織学的検査では肝臓に鉛質沈着、鼻腔に嗅上皮の配列不整と萎縮、胸腺に核崩壊がみられた。

250 ppm 以下の群では雌雄ともに死亡はみられず、一般状態の観察でも変化はみられなかった。血液学的検査では 250 ppm 群の雌で貧血の傾向がみられ、血液生化学的検査では 250 ppm 群の雌雄で総コレステロールの増加が認められた。剖検観察では変化がみられなかつたが、臓器重量測定では 250 ppm 群の雌雄に肝臓の重量増加が認められた。病理組織学的検査では、250 ppm 群で鼻腔（雌雄）と肝臓（雄）への影響が認められた。鼻腔には雌雄とも嗅上皮の萎縮と配列不整がみられ、他に呼吸上皮化生や出血（雄）もみられた。雄では肝臓に肉芽形成がみられた。125 ppm 群は雌雄とも暴露による変化を認めなかつた。

以上の結果から、1,2 - ジクロロプロパンのマウスに対する 2 週間吸入投与による無毒性量（NOAEL）は、鼻腔と肝臓への影響をエンドポイントとして 125 ppm と考えられた。また、マウスを用いた 13 週間吸入試験の投与濃度は、400 ppm を最高濃度とし、以下 300 ppm、200 ppm、100 ppm、50 ppm と決定した。

I 試験材料

I-1 被験物質の性状等

I-1-1 名称等

名 称 : 1,2 - ジクロロプロパン (1,2 - Dichloropropane)
 別 名 : 塩化プロピレン、プロピレンジクロライド、二塩化プロピレン
 CAS No. : 78-87-5

I-1-2 示性式及び分子量 (文献 1)

示 性 式 : $\text{CH}_3\text{CHClCH}_2\text{Cl}$
 分 子 量 : 112.99

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 : 96.4°C
 蒸 気 圧 : 53.3mmHg (25°C)
 比 重 : 1.159 (25°C)
 溶 解 性 : 水に難溶、エタノール、エーテルに易溶
 保存条件 : 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 : LDR4974
 製 造 元 : 和光純薬工業株式会社
 グ レ 一 ド : 和光特級
 純 度 : 95%以上 (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、その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）と同じ波長にピークが認められ、被験物質は 1,2 - ジクロロプロパンであることを確認した。

なお、それらの結果は、APPENDIX J1 に示した。

I -3-2 安定性

被験物質の安定性は、投与開始前及び投与終了後にそのガスクロマトグラムをガスクロマトグラフ (Hewlett Packard 5890A) 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、測定結果に差はみられず、投与期間中の被験物質は安定であることを確認した。

なお、それらの結果は、APPENDIX J2 に示した。

I -4 試験動物

動物は、1,2 - ジクロロプロパンのがん原性試験で使用する動物種及び系統に合わせ、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。なお、がん原性試験で使用する動物は、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の理由から、Crj:BDF₁ マウスと決定している。

マウス雌雄各 37 匹を生後 4 週齢で導入し (導入時体重範囲、雄:15.3～20.4g、雌:13.2～16.8g)、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 30 匹 (群構成時体重範囲、雄:21.7～25.1g、雌:18.2～20.4g) を選別し、試験に用いた。

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 1,2 - ジ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 日の暴露で 2 週間とした。

II-1-4 投与濃度

2000 ppm、1000 ppm、500 ppm、250 ppm 及び 125 ppm の 5 段階（公比 2）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。

投与期間はがん原性試験の投与濃度決定試験（13 週間試験）に使用する投与濃度を決定するため 2 週間とした。

投与濃度は文献を参考に決定した。すなわち、Heppel ら（1946 年）は、1,2 - ジクロロプロパンのマウスの 2 時間暴露での LCL₀ 値は 1000 ppm であると報告した（文献 4）。Nitschke ら（1983 年）は 300 ppm、100 ppm、30 ppm の濃度で 2 週間吸入試験を行った（文献 5）。その結果、動物の死亡はみられず、体重の変化もみられなかったが、病理組織学的検査で 300 ppm 群に肝臓の軽度な変化及び 300 ppm と 100 ppm 群に鼻腔の嗅上皮の変化が観察されたと報告した。これらの報告をもとに、当センターの試験条件下における 2 週間吸入試験の致死濃度を確認することも考慮し、最高濃度を 2000 ppm とし、以下、1000 ppm、500 ppm、250 ppm 及び 125 ppm の 5 段階（公比 2）とした。

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（柴田科学株式会社 特注）の発生容器内の 1,2 - ジ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 1,2 - ジクロロプロパンの蒸気を循環式恒温槽で一定温度に冷却した。次に、清浄空気（希釈空気）と混合して、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 1,2 - ジクロロプロパン濃度はガスクロマトグラフにより監視し、その濃度データをもとに設定濃度になるように 1,2 - ジ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 1,2 - ジクロロプロパンの濃度は、自動サンプリング装置付のガスクロマトグラフ（Shimadzu GC-14B）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 K1 に示した。各投与群の 1,2 - ジクロロプロパン濃度は、その平均値と設定濃度の差は 1.1% 以内、変動係数（標準偏差／平均値 × 100%）は 0.5% 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。

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 5 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 使用動物数（動物番号）	雌 使用動物数（動物番号）
0	対照群	5 匹 (1001～1005)	5 匹 (2001～2005)
1	125 ppm 群	5 匹 (1101～1105)	5 匹 (2101～2105)
2	250 ppm 群	5 匹 (1201～1205)	5 匹 (2201～2205)
3	500 ppm 群	5 匹 (1301～1305)	5 匹 (2301～2305)
4	1000 ppm 群	5 匹 (1401～1405)	5 匹 (2401～2405)
5	2000 ppm 群	5 匹 (1501～1505)	5 匹 (2501～2505)

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6）。

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-6 空調エリア）内の独立した室（604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 K2 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、動物の状態に影響を与えるような変化は認められなかった。

	検疫室 (605室)	吸入試験室 (604室)	吸入チャンバー内	
			馴化期間	投与期間
温度	23±2°C (23.1±0.1°C)	21±2°C (20.9±0.2°C)	20~24°C	
湿度	55±15% (51±1%)	55±15% (59±2%)	30~70%	
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	
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匹当たり（mm）	W112 D212 H120	—	W 95 D116 H120	W100 D116 H120

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（30KGy- γ 線照射滅菌飼料）を全飼育期間を通して、固型飼料給餌器により自由摂取させた。ただし、暴露中及び定期解剖日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。ただし、暴露中は給水しなかった。

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。

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

動物の生死確認は、検疫及び馴化期間は毎日 1 回行い、投与期間は暴露を行った日には暴露前と暴露後の 2 回、暴露を行わなかった土曜日と日曜日には午前中に 1 回行った。

一般状態の詳細観察は、検疫及び馴化期間は検疫開始日（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、投与期間は 2、4、7、11、14 日目の暴露開始前に行つた。

II-3-2 体重測定

検疫及び馴化期間は検疫開始日（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、投与期間は 2、4、7、11、14 日目の暴露開始前に行つた。また、死亡動物及び定期解剖動物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、週 1 回、給餌量及び残餌量を測定し、その値から摂餌量を算出した。

II-3-4 血液学的検査

定期解剖時に生存している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つた。検査方法は APPENDIX L1 に示した。なお、検査対象動物は解剖日前日夕方より絶

食(18時間以上)させた。

[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、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度、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る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 L1 に示した。なお、検査対象動物は解剖日前日夕方より絶食(18時間以上)させた。

[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 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

定期解剖の全動物について下記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。

胸腺、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、ヘマトキシリソ・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。

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、胰臓、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、腔、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）

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。

チャンバー内被験物質濃度については ppm を単位として、小数点以下第 3 位まで計測し、小数点以下第 2 位を四捨五入し、小数点以下第 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、表示した。

摂餌量については 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 日あた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、血液生化学的検査は APPENDIX L2 に示した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。

血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量の測定は、定期解剖時まで生存した全動物を対象とし計測を行った。欠測となったデータについては母数から除いた。

剖検と病理組織学的検査は、全動物数を母数とした。

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、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、各検定は 5% の有意水準で両側検定を行い、最終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。

III 試験成績

III-1 生死状況

動物の生死状況を TABLE 1, 2 に示した。

250 ppm 以下の群では動物の死亡はみられなかったが、500 ppm 以上の群の雄全動物、1000 ppm 以上の群の雌全動物及び 500 ppm 群の雌 4 匹が死亡した。

雌雄別にみると、雄は 2000 ppm 群の全動物、1000 ppm 群の 5 匹中 4 匹が投与初日に死亡し、1000 ppm 群の 1 匹と 500 ppm 群の全動物が投与期間 2 日目（暴露前）に死亡が確認された。

雌は 1000 ppm 以上の群の全動物が投与期間の 2 日目（暴露前）に死亡が確認され、500 ppm 群は投与期間の 3 日目に 3 匹、9 日目に 1 匹、計 4 匹が死亡した。

III-2 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A1 に示した。

500 ppm 以上の群の雄及び 1000 ppm 以上の群の雌は、投与初日の暴露により、翌日（投与期間 2 日目）の詳細観察時までに全動物が死亡したため、一般状態の変化は確認できなかった。

500 ppm 群の雌は投与期間の 3 日目に 3 匹が死亡したが、投与期間 2 日目の観察においては、そのうちの 2 匹に横臥、自発運動量減少、呼吸緩除及び体温低下がみられた。しかし、3 日目に死亡したもう 1 匹及び 9 日目に死亡した 1 匹には、観察時に特記すべき所見はみられなかった。また、500 ppm 群の雌の生存動物 1 匹には、14 日目の観察で円背位及び立毛がみられた。

250 ppm 以下の群及び対照群には、一般状態に特記すべき所見はみられなかった。

III-3 体重

体重の推移を TABLE 1, 2、FIGURE 2, 3 及び APPENDIX B1, B2 に示した。

500 ppm 以上の群の死亡動物の死亡発見時体重は、1 匹を除いて投与前より減少した。

500 ppm 群の雌の生存動物 1 匹の体重は、投与期間 2 日目は減少し、その後増加したが、投与期間 2 週目は減少した。

250 ppm 群では雌雄とも投与期間 2 日目に体重が減少したが、その後は増加し最終体重は対照群と同程度となった。

125 ppm 群では、雄は投与期間 7 日目、雌は投与期間 2、7 日目に体重が減少した。雌は 10 日目以降、体重は順調に増加し最終体重は対照群と同程度となった。雄は 10 日目以降も

あまり体重増加がみられず、最終体重は対照群の 95% であったが、投与濃度に対応した変化ではなく、被験物質との関連は不明であった。

III-4 摂餌量

摂餌量を TABLE 3, 4 及び APPENDIX C1, C2 に示した。(500 ppm 以上の群の雄及び 1000 ppm 以上の群の雌は、全動物が投与期間 2 日目までに死亡したためデータなし。) 250 ppm 以下の群では、摂餌量に変化はみられなかった。

なお、500 ppm 群の雌の生存動物 1 匹は、投与期間 1 週目は対照群と同程度であったが、2 週目は低値であった。

III-5 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX D1, D2 に示した。(500 ppm 以上の群の雄及び 1000 ppm 以上の群の雌は、全動物が途中死亡したためデータなし。)

対照群に比べ、250 ppm 群の雌では赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及び MCHC の減少がみられ、貧血の傾向が認められた。他の投与群では、変化を示した検査項目はみられなかった。

なお、500 ppm 群の雌の生存動物 1 匹は、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値が、それぞれ対照群の 80%、77%、78% と低く、貧血の傾向がみられた。

III-6 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX E1, E2 に示した。(500 ppm 以上の群の雄及び 1000 ppm 以上の群の雌は、全動物が途中死亡したためデータなし。)

対照群に比べ、250 ppm 群の雌雄で総コレステロールの増加がみられた。

その他、尿素窒素、GOT 及び ALP で変化がみられたが、いずれも低下性の変化であり、毒性学的意義は不明であった。

なお、500 ppm 群の雌の生存動物 1 匹は、総コレステロール、GOT、GPT、LDH、CPK、尿素窒素の値が高く、グルコース、トリグリセライド、ALP の値が低かった。

III-7 病理学的検査

III-7-1 剖検

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX F2 (途中死亡)、APPENDIX F1, F3 (定期

解剖) に示した。

1000 ppm 以上の群の死亡動物は、雌雄とも特記すべき変化を認めなかつた。500 ppm 群の死亡動物では、雌の 1 匹に肝臓の小葉像の明瞭化が認められた。

生存動物(定期解剖動物)では、500 ppm 群で唯一生存した雌に、胸腺の萎縮、腺胃の潰瘍及び肝臓の黄色班が認められた。

250 ppm 以下の群には特記すべき変化を認めなかつた。

III-7-2 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。(500 ppm 以上の群の雄及び 1000 ppm 以上の群の雌は、全動物が途中死亡したためデータなし。)

対照群に比べ、250 ppm 群の雌雄で肝臓に実重量と体重比の高値がみられ、肝臓の重量増加が認められた。

その他、125 ppm 群で雄の脳の実重量、雌の胸腺の実重量、体重比に変化がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかつた。

なお、500 ppm 群の雌の生存動物 1 匹は、肝臓及び胸腺の実重量が、それぞれ対照群の 129% 及び 7% となり、肝臓の重量増加と胸腺の重量低下がみられた。

III-7-3 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を APPENDIX I1, I3 (途中死亡)、APPENDIX I2, I4 (定期解剖) に示した。

主に肝臓、脾臓、鼻腔、肺(雄) 及び胸腺(雌) に変化がみられた。

[2000 ppm 群 (全動物死亡)]

雌雄の全動物に、肝臓の小葉中心性の変性と脾臓の鬱血がみられた。また、鼻腔の嗅上皮の剥離(雄 1 匹、雌 5 匹) と肺の出血(雄 2 匹) がみられた。その程度は、肝臓の小葉中心性の変性が軽度から中等度、肺の出血が中等度、他は軽度であった。

[1000 ppm 群 (全動物死亡)]

雌雄の全動物に、肝臓の小葉中心性の変性と脾臓の鬱血がみられた。また、鼻腔の嗅上皮の剥離(雄 4 匹、雌 5 匹) と肺の出血(雄 2 匹) がみられた。その程度は、肝臓の小葉中心性の変性が軽度から中等度、他は軽度であった。

[500 ppm 群 (雄全動物死亡、雌 4 匹死亡)]

雄では全動物に、肝臓の小葉中心性の変性、脾臓の鬱血、鼻腔の嗅上皮の剥離がみられ、また、肺の出血(1 匹) がみられた。その程度は、肝臓の小葉中心性の変性が軽度から中等度、他は軽度であった。

雌の死亡動物では、全4匹に肝臓の脂肪変性がみられ、その程度は軽度から中等度であった。また、肝臓に小葉中心性の変性（2匹：中等度）と壊死（1匹：中等度）及び鉱質沈着（1匹：軽度）が観察された。なお、剖検時に小葉像の明瞭化を認めた例は、病理組織学的には中等度の脂肪変性と小葉中心性の壊死が認められた動物であり、死亡した他の動物よりも組織学的变化が強く現れていた。また、鉱質沈着を認めた1匹は他の動物よりも1週間遅れて死亡した動物であり、沈着部位は小葉の中心帶であった。さらに、脾臓には鬱血（4匹）、鼻腔には嗅上皮の剥離（3匹）、胸腺には核崩壊（3匹）がみられ、その程度はいずれも軽度であった。

生存動物（雌1匹）には、肝臓の鉱質沈着、鼻腔の嗅上皮に配列不整と萎縮がみられ、その程度は中等度であった。また、軽度な変化ではあるが、胸腺の核崩壊、心臓の巢状壊死、前胃の角化亢進が認められた。

[250 ppm 群]

鼻腔には嗅上皮の配列不整（雄5匹、雌4匹）、萎縮（雄4匹、雌5匹）、呼吸上皮化生（雄1匹、雌3匹）、出血（雄1匹）がみられ、その程度は雌の萎縮が軽度から中等度、他は軽度であった。

また、雄では肝臓に散在性の肉芽形成が2匹にみられた。その程度は軽度であったが、対照群に自然発生するものより個々の病巣が大きく、病巣の数も多かった。

[125 ppm 群]

雌雄とも特記すべき所見を認めなかった。

その他の器官、組織については、被験物質の影響と考えられる変化は認められなかった。

IV 考察及びまとめ

1,2 - ジクロロプロパンのがん原性を検索する目的で 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あたり、その予備試験である 13 週間試験の前予備試験として本試験（2 週間試験）を実施した。

本試験は、投与群 5 群、対照群 1 群の計 6 群（各群雌雄各 5 匹）を設け、1,2 - ジクロロプロパンの投与濃度は、2000 ppm、1000 ppm、500 ppm、250 ppm 及び 125 ppm とした。投与期間は 1 日 6 時間、1 週 5 日間の投与（全身暴露による経気道投与）で 2 週間とし、投与期間中、生死及び一般状態の観察、体重、摂餌量の測定を行い、投与期間終了後、動物を解剖し血液学的検査、血液生化学的検査、剖検観察、臓器重量の測定及び病理組織学的検査を行った。また、投与期間中の死亡動物についても剖検観察及び病理組織学的検査を行った。

（1）用量一反応関係

1,2 - ジクロロプロパンの暴露の結果、500 ppm 以上の群の雄全動物、1000 ppm 以上の群の雌全動物及び 500 ppm 群の雌 4 匹が死亡した。500 ppm 以上の群の雄と 1000 ppm 以上の群の雌は 1 回の暴露で死亡したため、詳細観察による一般状態の変化は確認できなかったが、500 ppm 群の雌で投与期間 3 日目に死亡した動物に横臥、自発運動量減少、呼吸緩除及び体温低下がみられた。

死亡動物の剖検観察では、500 ppm 群の雌の 1 匹に肝臓の小葉像の明瞭化がみられただけであったが、病理組織学的検査では、肝臓、鼻腔及び肺に 1,2 - ジクロロプロパンの暴露の影響がみられた。肝臓の変化は小葉中心性の変性、鼻腔の変化は嗅上皮の剥離であった。肺には雄の一部の動物に出血がみられた。さらに、500 ppm 群の雌の死亡動物では、多くの動物に肝臓の小葉中心性の変性に加えて、脂肪変性がみられた。また、変性が観察された小葉中心帯には少数例ではあるが壊死や鉱質沈着が観察され、死亡時期の延長、すなわち投与期間が長くなることにより、肝細胞への傷害が変性から壊死に進行する例があることが示された。その他、死亡動物には脾臓に鬱血がみられたが、これは動物の死亡に伴う所見と推察される。また、500 ppm 群の雌の死亡動物では、胸腺に軽度な核崩壊が観察されたが、これは動物の消耗に伴う所見と考えられる。動物の死因については、鼻腔の傷害は軽度、肝臓の傷害も軽度ないし中等度であることから、これらの変化が死因になったとは言えず、他の原因により動物が死亡したと考えられる。

500 ppm 群の生存動物（雌 1 匹）は、投与期間 2 日目に体重が減少し、その後、増加したもの、投与期間 2 週目は摂餌量の減少とともに体重が減少し、最終日に一般状態の観察で円背位及び立毛がみられた。血液学的検査では貧血の傾向がみられた。

剖検観察では、胸腺の萎縮、腺胃の潰瘍及び肝臓の黄色班がみられ、臓器重量測定で肝臓の重量増加と胸腺の重量低下が認められた。病理組織学的検査では肝臓に鉱質沈着、鼻腔の嗅上皮に配列不整と萎縮、胸腺に核崩壊がみられた。なお、心臓に巢状壊死、前胃に角化亢

進が認められたが、この動物にのみ観察された所見であり、これらの臓器に対する 1,2 - ジクロロプロパンの毒性を示す証拠とは言えなかった。

250 ppm 以下の群では雌雄ともに死亡はみられず、一般状態の観察でも変化はみられなかった。体重測定では、両群で投与期間の 2 日目や 7 日目に体重の減少がみられたが、125 ppm 群の雄以外は最終体重は対照群と同程度となった。125 ppm 群の雄の最終体重は対照群の 95% でやや低値であったが、摂餌量にはほとんど変化はみられず、また、投与濃度に対応した変化ではなく、この体重の変化と 1,2 - ジクロロプロパンとの関連は不明であった。血液学的検査では 250 ppm 群の雌で貧血の傾向がみられた。血液生化学的検査では 250 ppm 群の雌雄で総コレステロールの増加がみられた。

250 ppm 以下の群の病理検査では、剖検観察に変化がみられなかつたが、臓器重量測定では、250 ppm 群の雌雄に肝臓の重量増加が認められた。病理組織学的検査では、250 ppm 群で鼻腔（雌雄）と肝臓（雄）への影響が認められた。鼻腔への影響は雌雄とも嗅上皮にみられ、その変化は主に配列不整と萎縮であり、他に呼吸上皮化生や出血（雄）も伴っていた。嗅上皮の配列不整と萎縮は 500 ppm 群の生存動物にもみられたが、配列不整は傷害を受けた嗅上皮が修復する過程でみられる所見であり（文献 7）、嗅上皮の傷害（萎縮）と同時に傷害に対する修復も行なわれていることを示唆している。また、嗅上皮の呼吸上皮化生は、元の嗅上皮への修復が間に合わないため欠損部を呼吸上皮が補填している像であり（文献 7）、嗅上皮の傷害に対し不完全な再生が行なわれていることを示している。雄では肝臓に肉芽形成がみられた。この所見は、2 匹のみにみられた変化であり程度も軽度であったが、対照群に自然発生するものと形態的に異なること、また、高濃度群の死亡動物に肝臓の変化が観察されていることから、1,2 - ジクロロプロパンによる影響と考えられる。

125 ppm 群の病理組織学的検査では、雌雄とも暴露による変化を認めなかつた。

(2) 無毒性量 (NOAEL) ／最小毒性量 (LOAEL)

以上のように、1,2 - ジクロロプロパンのマウスへの 2 週間吸入暴露により、500 ppm 以上の群で動物の死亡がみられた。250 ppm 以下の群では死亡はみられなかつたが、250 ppm 群では、病理組織学的検査で鼻腔（雌雄）と肝臓（雄）に 1,2 - ジクロロプロパンの影響がみられた。125 ppm 群では雌雄ともに 1,2 - ジクロロプロパンの影響と考えられる変化はみられなかつた。従って、本試験における 1,2 - ジクロロプロパンのマウスに対する 2 週間吸入暴露による無毒性量 (NOAEL) は、鼻腔と肝臓への影響をエンドポイントとして 125 ppm であると考えられた。

(3) 他文献との比較

Nischke らは、B6C3F1 マウスに 300、100、30 ppm の濃度の 1,2 - ジクロロプロパンを、1 日 6 時間で 2 週間、暴露（計 9 回）した（文献 5）。その結果、動物の死亡はみられず、体重の変化も認められなかつた。しかし、病理学的検査で 300 ppm 群の雌雄に肝臓の軽度な

傷害が認められ、雌では肝重量が増加した。また、鼻腔の嗅上皮の変性が、300 ppm 群の雌雄（軽度から中等度）と 100 ppm 群の雌（軽度）に認められた。

本試験でも、250 ppm 以下の群では死亡はみられなかった。250 ppm 群では貧血の傾向（雌）、血漿の総コレステロールの増加（雌雄）、肝臓の重量増加（雌雄）及び鼻腔の嗅上皮（雌雄）と肝臓（雄）に病理組織学的変化がみられたが、125 ppm 群では鼻腔の変化はみられなかった。

(4) 13 週間試験の濃度決定

本試験の結果より、13 週間試験の投与濃度を以下のように設定した。

本試験では 500 ppm 以上の群でほぼ全例の動物が死亡したが、250 ppm 以下の群では死亡はみられなかった。250 ppm 群は貧血の傾向（雌）、血漿の総コレステロールの増加（雌雄）、肝臓の重量増加（雌雄）がみられ、鼻腔（雌雄）と肝臓（雄）に病理組織学的変化がみられた。しかし、鼻腔の変化（雌：嗅上皮の萎縮、中等度）1 例を除いて、いずれも軽度なもので重篤な変化はみられなかった。また、125 ppm 群は 1,2 - ジクロロプロパンの影響と考えられる変化はみられなかった。これらの結果より、マウスを用いた 13 週間試験の最高濃度は 500 ppm と 250 ppm の間の濃度が望ましいと考え、400 ppm を最高濃度とした。以下、公比 2 で 200 ppm、100 ppm、50 ppm と設定し、さらに 400 ppm と 200 ppm の中間の 300 ppm を設けることにより、最大耐量及び毒性のより細かな検索が行えると考えた。従って、マウスを用いた 13 週間試験の投与濃度は、400 ppm、300 ppm、200 ppm、100 ppm 及び 50 ppm と決定した。

V 文献

1. National Library of Medicine (2003)
Hazardous Substances Databank (HSDB) , (インターネット検索)
NLM, Bethesda, MD
2. McLafferty, F. W. (1994)
Wiley Registry of Mass Spectral Data (6th edition) , Entry Number 10229.
John Wiley and Sons, Inc., New York, NY
3. 和光純薬工業からの提供資料 (2001)
赤外吸収スペクトル
4. Heppel,L.A., Neal,P.A., Highman,B. and Porterfield,V.T. (1946)
Toxicology of 1,2-dichloropropane (propylene dichloride) . I . Studies on effects of daily inhalations.
J. Ind. Hyg. Toxicol. 28(1):1-8
5. Nitschke,K.D. and Johnson,K.A. (1983)
Propylene dichloride : One day and two week inhalation toxicity study in rats, mice, and rabbits.
Mammalian and Environmental Toxicology Research Laboratory, Health and Environmental Sciences, Dow Chemical Company, Midland, MI
In : Integrated Risk Information System (IRIS) , (インターネット検索)
U. S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.
6. 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
7. 長野嘉介 (2000)
毒性病理組織学、各論 1 章、上部気道、
日本毒性病理学会編, pp. 99-116, 日本毒性病理学会, 名古屋