

1,2-ジ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：0458

CAS No. 78-87-5

2006年3月29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

1,2-ジ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

1,2-ジ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、基発第 144 号「がん原性試験による調査の基準」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「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

1,2-ジ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：0458

本文

## 本文目次

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

II-3 観察・検査項目及び方法	8
II-3-1 動物の生死及び一般状態の観察	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
(1) 剖検	9
(2) 臓器重量	9
(3) 病理組織学的検査	10
II-4 数値処理と統計方法	10
II-4-1 数値の取り扱いと表示	10
II-4-2 統計処理	10
III 試験成績	12
III-1 生死状況	12
III-2 一般状態	12
III-3 体重	12
III-4 摂餌量	13
III-5 血液学的検査	13
III-6 血液生化学的検査	13
III-7 尿検査	13
III-8 病理学的検査	14
III-8-1 剖検	14
III-8-2 臓器重量	14
III-8-3 病理組織学的検査	14
III-8-4 死因	17
IV 考察及びまとめ	18
IV-1 生存率、一般状態、体重、摂餌量	18
IV-2 腫瘍性及び腫瘍関連病変	18
IV-3 非腫瘍性病変	19
IV-4 量-反応関係	19

IV-5 他文献との比較等	19
V 結論	21
VI 文献	22

## 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 B6D2F1/Crlj (旧 Crj:BDF1) マウスを用いた吸入による 2 年間 (104 週間) の試験を実施した。

本試験は、被験物質投与群 3 群と対照群 1 群の計 4 群の構成で、各群雌雄とも 50 匹とし、合計 400 匹を用いた。被験物質の投与は、1,2-ジクロロプロパンを 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 32、80 及び 200 ppm (公比 2.5) とした。観察、検査として、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。

1,2-ジクロロプロパンの暴露の結果、動物の生存率及び体重には 1,2-ジクロロプロパンの影響はみられなかった。

腫瘍性病変として、雄のハーダー腺の腫瘍、雌の肺腫瘍の発生増加が認められた。

雄では、ハーダー腺の腺腫の発生増加が認められた。雌では、肺の細気管支-肺胞上皮癌と細気管支-肺胞上皮腺腫を合わせた肺腫瘍の発生増加が認められた。発生増加がみられた濃度は、雄のハーダー腺の腺腫、雌の肺腫瘍とも 200 ppm であった。

非腫瘍性病変として、鼻腔 (嗅上皮の萎縮、嗅上皮と粘膜下腺の呼吸上皮化生) と腎臓 (重量増加、尿細管の好塩基性変化及び皮質への鉱質沈着) に変化がみられた。

以上のように、B6D2F1/Crlj マウスを用いて 1,2-ジクロロプロパンの 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。

雄にハーダー腺の腺腫の発生増加が認められ、雄マウスに対するがん原性を示唆する証拠である。また、雌に細気管支-肺胞上皮癌を含む肺腫瘍の発生増加が認められ、雌マウスに対するがん原性を示す証拠である。

## 1,2-ジ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	32	80	200	Peto 検定	Cochran-Armitage 検定
	検査動物数		50	50	49	50		
良性腫瘍	ハーダー腺 腺腫		1	2	3	6	↑	↑

## 1,2-ジ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	32	80	200	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		1	4	4	4		
悪性腫瘍	肺 細気管支-肺胞上皮癌		1	1	1	4	↑	
	肺 細気管支-肺胞上皮腺腫 +細気管支-肺胞上皮癌		2	4	5	8 *	↑	↑

\*:  $p \leq 0.05$  で有意 (Fisher 検定)↑:  $p \leq 0.05$  で有意增加 (Peto, Cochran-Armitage 検定)

## I 試験材料

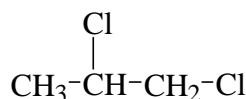
### I-1 被験物質の性状等

#### I-1-1 名称等

名 称 : 1,2-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 構造式、示性式及び分子量（文献 1）

構 造 式 :



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 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 : WAH4634 (2002/10/25～2003/5/12)  
 PKP5800 (2003/5/13～2004/3/2)  
 CER5780 (2004/3/3～2004/7/13)  
 CEM1032 (2004/7/14～2004/10/21)

製造元： 和光純薬工業(株)  
 グレード： 和光特級  
 純度： 99.5～99.6% (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) を用いて測定し、また、赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計 (Shimadzu FTIR-8200PC) を用いて測定し、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 1,2-ジクロロプロパンであることを確認した。

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 5890A) を用いて測定し、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、使用期間中の被験物質は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 B6D2F1/Crlj (旧 Crj:BDF1) マウス (SPF) の雌雄を使用した。

雌雄各 227 匹を 4 週齢で導入し、検疫、馴化を各 1 週間実施した後、発育順調で一般状態に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 200 匹（群構成時体重範囲、雄：21.3～25.1g、雌：17.5～20.9g）を選別し、試験に用いた。

なお、B6D2F1/Crlj 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被験物質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。

#### II-1-3 投与期間

投与期間は、1日6時間、原則として1週5日の暴露で104週間とし、計489回の暴露を行った。

#### II-1-4 投与濃度

投与濃度は、32、80及び200 ppm の3段階（公比2.5）に設定した。なお、対照群は清浄空気による換気のみとした。

#### II-1-5 投与経路、投与期間及び投与濃度の設定理由

投与経路は被験物質を生産、使用する作業環境における労働者への主な暴露経路に合わせ、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による調査の基準（安衛法）（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0436）の結果（文献6）をもとに決定した。13週間試験は50、100、200、300及び400 ppm の濃度で行った。その結果、400 ppm 群の雌雄、300 ppm 群の雄で死亡がみられた。200 ppm 群では死亡はみられず、雄で体重増加の抑制と貧血傾向がみられ、病理組織学的検査では雌雄に前胃の過形成がみられた。しかし、雄の体重増加の抑制（最終体重：対照群の94%）及び貧血は軽度であり、前胃の過形成も程度は軽度で雌雄の各1匹にみられただけであった。従って、200 ppm は、2年間の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はなく、がん原性試験における最

大耐量であると考えた。また、13週間試験では最低濃度の50 ppm群の雄でも貧血傾向が認められていることから、がん原性試験の最低濃度は50 ppm未満が望ましいと考えた。以上のことから、がん原性試験は雌雄とも最高濃度を200 ppmとし、以下80 ppm、32 ppm(公比2.5)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)の発生容器内の被験物質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。この被験物質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被験物質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被験物質の吸入チャンバーへの供給量を調節した。

## II-1-7 被験物質濃度の測定

吸入チャンバー内の被験物質濃度は、自動サンプリング装置付ガスクロマトグラフ(Shimadzu GC-14B)により、暴露開始前から暴露終了後まで15分ごとに測定した。

濃度測定結果をTABLE 1に示した。各投与群の被験物質濃度は、その平均値と設定濃度の差((平均値-設定濃度)/設定濃度×100)が0.3%以内、変動係数(標準偏差/平均値×100)が0.6%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。

## 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。

群名称	動物数(動物番号)	
	雄	雌
対照群	50匹(1001~1050)	50匹(2001~2050)
32 ppm群	50匹(1101~1150)	50匹(2101~2150)
80 ppm群	50匹(1201~1250)	50匹(2201~2250)
200 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、一般状態及び体重の推移に異常を認めなかった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）。

動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間では尾に油性マーカーによる色素塗布、投与期間では耳パンチにより行った。また、ケージには個体識別番号を記したラベルを付した。

なお、動物はバリア区域内の独立した室（503 室）に収容し、室の扉に試験番号、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

### (1) 飼育環境

検疫期間中は検疫室（517・518 室）で、馴化期間及び投与期間中は、吸入試験室（503 室）の吸入チャンバー内で動物を飼育した。

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ケージを以下に示した。検疫室、吸入試験室の温度、湿度は実測値（平均値±標準偏差）を < > 内に、また、吸入チャンバー内環境の測定結果は APPENDIX B 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には、動物の健康状態に影響を与えるような大きな変化は認められなかった。

温 度 : 検疫室 ;  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$  <517 室 ;  $23.0 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 、518 室 ;  $22.9 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ >

吸入試験室 ;  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$  <503 室 ;  $21.8 \pm 0.4^{\circ}\text{C}$ >

吸入チャンバー内 ;  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$

湿 度 : 検疫室 ;  $55 \pm 15\%$  <517 室 ;  $50 \pm 1\%$ 、518 室 ;  $49 \pm 1\%$ >

吸入チャンバー内 ;  $55 \pm 15\%$

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 : 検疫室・吸入試験室 ; 15～17 回／時

吸入チャンバー内 ;  $12 \pm 1$  回／時

圧 力 : 吸入チャンバー内 ;  $0 \sim -15 \times 10\text{Pa}$

ケージへの動物の収容方法 : 単飼

ケージの材質・形状・寸法等 :

検疫期間 ; ステンレス製 2 連網ケージ (112(W)×212(D)×120(H) mm/匹)

馴化期間 ; ステンレス製 6 連網ケージ (95(W)×116(D)×120(H) mm/匹)

投与期間 ; ステンレス製 5 連網ケージ (100(W)×116(D)×120(H) mm/匹)

## (2) 飼料

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、定期解剖前日の夕方からは飼料を摂取させなかつた。

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。飼料中の夾雜物については(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、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、保管した。

## (3) 飲水

飲水は、全飼育期間を通して、市水（神奈川県秦野市水道局供給）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、飲水は、試験施設として実施している定期サンプリングによる飲水を(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）に依頼して、水道法を参考にして規定した項目について分析し、結果を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、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、また、一般状態の詳細な観察は週 1 回行った。

### II-3-2 体重測定

体重測定は、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）行った。また、動物の死亡発見時、切迫屠殺時及び定期解剖動物の搬出時にも体重（搬出時体重）を測定した。

### II-3-3 摂餌量測定

摂餌量は、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）給餌量及び残餌量を測定し、その値から 1 匹 1 日当たりの摂餌量を算出した。

## 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、AST、ALT、LDH、ALP、 $\gamma$ -GTP、CK、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 週の検査時まで生存した動物から、新鮮尿を採取し、尿試験紙（ウロラブステイックス、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、下記に示した臓器の湿重量（臓器実重量）を測定した。また、各臓器の湿重量の搬出時体重に対する百分率（臓器重量体重比）を算出した。

測定臓器：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、組織を摘出し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で固定後、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。

検査器官・組織：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、精囊、前立腺、卵巣、子宮、脛、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

各数値データは測定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、小数点以下第 3 位まで測定し、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 位まで測定し、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 位まで測定し、給餌量値から残餌量値を減じて摂餌量とした。この値を測定期間の日数で除し、1 日当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。

臓器実重量は g を単位とし、小数点以下第 3 位まで測定し、表示した。臓器重量体重比は臓器実重量値を搬出時体重で除し、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 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を行い表示した。

### II-4-2 統計処理

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

病理組織学的検査は、臓器ごとに検査不能臓器を除いた臓器数、その他の検査及び測定は、実施できた動物数を検査（測定）数とした。

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。

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にしてグレード 1~4 に分け、 $\chi^2$  検定を行った。また、尿検査についても対照群と各投与群間との  $\chi^2$  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、各群ごとの総担腫瘍臓器数について、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。

各検定は 5% の有意水準で、Peto 検定、Fisher 検定は片側検定、その他の検定は両側検定を行い、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、確かにない腫瘍
- 3：多分 4 だと思うが、確かにない腫瘍
- 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

生死状況を TABLE 2, 3、FIGURE 2, 3 及び APPENDIX C 1, 2 に示した。

##### －雄－

投与群の生存率に被験物質の影響はみられなかった。

各群の 104 週における生存動物数（生存率）は、対照群：32 匹（64%）、32 ppm 群：33 匹（66%）、80 ppm 群：33 匹（66%）、200 ppm 群：41 匹（82%）であった。

##### －雌－

投与群の生存率に被験物質の影響はみられなかった。

各群の 104 週における生存動物数（生存率）は、対照群：29 匹（58%）、32 ppm 群：28 匹（56%）、80 ppm 群：26 匹（52%）、200 ppm 群：30 匹（60%）であった。

#### III-2 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX C 1, 2 に示した。

##### －雌雄－

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 2, 3、FIGURE 4, 5 及び APPENDIX D 1, 2 に示した。

##### －雄－

変化はみられなかった。

最終計測日（104 週）の各投与群の体重は、対照群に対して 32 ppm 群：110%、80 ppm 群：107%、200 ppm 群：102% であった。

##### －雌－

変化はみられなかった。

最終計測日（104 週）の各投与群の体重は、対照群に対して 32 ppm 群：104%、80 ppm 群：106%、200 ppm 群：101% であった。

### III-4 摂餌量

摂餌量を TABLE 4, 5、FIGURE 6, 7 及び APPENDIX E 1, 2 に示した。

#### －雌雄－

変化はみられなかった。

### III-5 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE 6, 7 と APPENDIX F 1, 2 に示した。

#### －雄－

MCHC の減少が 80 ppm 以上の群でみられた。

#### －雌－

MCV の増加及び MCHC の減少が 200 ppm 群でみられた。

### III-6 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE 8, 9 と APPENDIX G 1, 2 に示した。

#### －雄－

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

なお、尿素窒素の変化が全投与群にみられたが、低下性の変化であった。また、カリウムの増加が 80 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－

A/G 比の増加が 200 ppm 群でみられた。

### III-7 尿検査

尿検査の結果を TABLE 10 と APPENDIX H 1, 2 に示した。

#### －雄－

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

なお、蛋白陽性例の減少が 32 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－

変化はみられなかった。

### 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－

肺と脾臓の結節の発生が増加した。肺の結節は、対照群が 6 匹であったのに対し、32 ppm 群で 17 匹、80 ppm 群で 16 匹、200 ppm 群で 16 匹にみられた。脾臓の結節は、対照群には発生がなく、32 ppm 群で 2 匹、80 ppm 群で 4 匹、200 ppm 群で 8 匹にみられた。

##### －雌－

肺の結節の発生が増加した。肺の結節は、対照群が 2 匹であったのに対し、32 ppm 群で 4 匹、80 ppm 群で 4 匹、200 ppm 群で 6 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 11 と APPENDIX J 1, 2、APPENDIX K 1, 2 に示した。

##### －雄－

腎臓の実重量の高値が全投与群で、体重比の高値が 200 ppm 群でみられ、有意差はみられないものの、80 ppm 群の体重比も対照群より高値であった。また、脾臓の実重量の高値が 200 ppm 群でみられた。脾臓では対照群に実重量で極めて高い値を示す動物が 1 匹おり、平均値は 200 ppm 群より対照群が高値であったが、200 ppm 群の脾臓の実重量は統計的には有意な高値であった。さらに、対照群の当該動物を除くと、200 ppm 群の脾臓の体重比も対照群より高値であった。

その他、精巢の体重比の低値が 32 ppm 群と 80 ppm 群で、脳の体重比の低値が 32 ppm 群でみられたが、それぞれ投与濃度との対応がみられず、これらの変化は両群の搬出時体重の高値によるものと思われる。

##### －雌－

変化はみられなかった。

#### 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 12~15 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 16 と 17 に示した。

－雄－

1) 腫瘍性病変

<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た。また、200 ppm 群における腺腫の発生（6 匹、12%）は当センターの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 4.9%）を超えていた。従って、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。

<肺>

細気管支-肺胞上皮腺腫の発生は、Fisher 検定で 32 ppm 群に増加が示された。また、32 ppm 群（14 匹、28%）及び 200 ppm 群（12 匹、24%）の発生は、いずれも当センターの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 8.3%）を超えていた。

細気管支-肺胞上皮癌の発生は、各投与群とも対照群との間に統計的有意差が示されず、また、当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲内であった。

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、Fisher 検定で 32 ppm 群（18 匹、36%）と 200 ppm 群（18 匹、36%）に増加が示され、これらの群の発生は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲（最小 2%～最大 30%、平均発生率 18.8%）を超えていた。

しかし、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定では、細気管支-肺胞上皮腺腫の発生、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とも増加傾向は認められず、投与濃度に対応した変化ではないと考えられた。従って、細気管支-肺胞上皮腺腫の発生増加と被験物質の暴露との関連は明らかでないと判断した。

<脾臓>

血管肉腫の発生は、Fisher 検定で 200 ppm 群に増加が示された。しかし、200 ppm 群の発生（5 匹、10%）は当センターの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 2.9%）であった。また、血管腫と血管肉腫を合わせた発生は、Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 200 ppm 群に増加がみられた。しかし、200 ppm 群の発生（6 匹、12%）は、当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲内（最小 0%～最大 14%、平均発生率 8.6%）であった。従って、血管肉腫の発生増加と被験物質の暴露との関連は明らかでなかった。

血管腫と血管肉腫の鑑別診断は、腫瘍性血管内皮の明らかな細胞異型あるいは多層性増殖を指標にした。本試験で脾臓に発生した血管肉腫の細胞異型は比較的穏やかで、かつ、他臓器への転移を起こしたと判断した例は1匹（肝臓への転移）だけであった。

その他、肝臓の組織球性肉腫の発生は、Fisher検定で80 ppm群に増加がみられたが、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

### <腎臓>

好塩基性変化と皮質への鉱質沈着が全投与群で増加した。

好塩基性変化は、皮質の尿細管に、①染色性が好塩基性となる、②核細胞質比が大きい、③核の不規則な配列といった所見がみられ、尿細管の再生所見として診断したものである。この所見は対照群では尿細管一本単位で現れることができたが、投与群では複数の尿細管にわたる病巣を形成していた。

皮質への鉱質沈着は、主として尿細管の管腔内にみられた。

### <鼻腔>

嗅上皮の萎縮が80 ppm以上の群で増加した。変化の程度はいずれの動物も軽度であった。

なお、嗅上皮のエオジン好性変化の発生に統計的な有意差が示されたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

－雌－

## 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+死亡率法）で増加傾向を示した。しかし、200 ppm群におけるこの腫瘍の発生（4匹、8%）は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲内（最小0%～最大8%、平均発生率2.9%）であった。

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200 ppm群に増加がみられた。また、200 ppm群の発生（8匹、16%）は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲（最小0%～最大14%、平均発生率6.7%）を超えていた。従って、これらの肺腫瘍の200 ppm群における発生は被験物質の暴露によるものと考えられた。

本試験で発生した細気管支-肺胞上皮癌は、他臓器への転移もなく、細胞異型は比較的穏やかであったが、腫瘍性増殖による肺胞構造の破壊像が認められることから癌と診断した。しかし、その破壊像は腫瘍組織の一部に認められただけであった。

## 2) 非腫瘍性病変

## &lt;鼻腔&gt;

嗅上皮と粘膜下腺に病変の発生が観察された。

嗅上皮には、呼吸上皮化生の発生増加が 200 ppm 群で認められた。また、萎縮の増加が 80 ppm 群で認められ、統計的な有意差はなかったが、200 ppm 群の発生も対照群より多かった。

粘膜下腺には、呼吸上皮化生の発生増加が 200 ppm 群で認められた。

なお、呼吸上皮と嗅上皮のエオジン好性変化の発生に統計的な有意差が示されたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。また、200 ppm 群に発生増加が認められた嗅上皮の呼吸上皮化生は、32 ppm 群では発生が減少した。

その他、副腎の紡錐形細胞増生の発生が 200 ppm 群で有意な減少を示した。

なお、鼻咽頭のエオジン好性変化の発生に統計的な有意差が示されたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

## III-8-4 死因

病理学的にみた死亡／瀕死の原因を TABLE 18 に示した。

雄では、特定の死因による死亡の増加はなかった。

雌では、白血病による死亡が 32 ppm 群に多くみられたが、悪性リンパ腫の発生率には投与による増加がみられなかった。

## 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:32、80及び200 ppm)によって、腫瘍性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

生存率には、雌雄とも被験物質の影響はみられなかった。

また、一般状態には雌雄とも特記すべき所見はみられず、体重、摂餌量にも雌雄とも被験物質の影響はみられなかった。

### IV-2 腫瘍性病変

雄のハーダー腺、雌の肺に腫瘍の発生増加が認められた。

雄のハーダー腺に腺腫の発生増加が認められた。腺腫は良性腫瘍であり、また、増加の程度は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲をわずかに超える程度であることから、がん原性を示す証拠とするには不十分であった。従って、雄のハーダー腺における腺腫の発生増加は、がん原性を示唆する証拠と考えられた。発生増加がみられた濃度は200 ppmであった。

雌の肺に、細気管支-肺胞上皮癌の発生及び細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた肺腫瘍の発生増加が認められた。細気管支-肺胞上皮癌は悪性の腫瘍であり、この肺腫瘍の増加は悪性を含む腫瘍の増加であったが、がん原性を示す明らかな証拠とするには不十分と考えられた。すなわち、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ヒストリカルコントロールデータの範囲を超えたが、細気管支-肺胞上皮癌の発生はヒストリカルコントロールデータの範囲内であった。また、雌に発生した細気管支-肺胞上皮癌は、癌化した部位が広くないこと、腫瘍細胞に強い異型性を認めず、悪性腫瘍としては分化の程度が比較的良好と考えられること、他臓器への転移がみられないことから判断して悪性度は低いものと判断した。従って、雌の細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた肺腫瘍の発生増加は、がん原性を示す証拠と考えた。発生増加がみられた濃度は200 ppmであった。

なお、雄の肺腫瘍にも32 ppm群と200 ppm群で統計的に有意な発生増加がみられ、その発生はヒストリカルコントロールデータの範囲を超えていた。しかし、用量-反応関係が認められないため、この腫瘍の発生増加と被験物質の暴露との関連は明らかでないと判断した。

#### IV-3 非腫瘍性病変

鼻腔の変化が雌雄に、腎臓の変化が雄にみられた。

鼻腔の変化は、嗅上皮の萎縮が雌雄とも 80 ppm 以上の濃度でみられ、さらに、雌では嗅上皮と粘膜下腺の呼吸上皮化生が 200 ppm の濃度でみられた。嗅上皮の呼吸上皮化生は傷害を受たり欠損した嗅上皮が呼吸上皮に類似した多列線毛上皮に置き換えられる変化であり、嗅上皮の傷害に伴う変化である（文献 9）。本試験に先立ち実施した 13 週間試験でも鼻腔の嗅上皮への影響が雌雄とも 300 ppm 以上の濃度で認められており（文献 6）、本試験では 13 週間試験よりも低い濃度で鼻腔への影響が起きることが示された。

腎臓の変化は、重量増加、尿細管の好塩基性変化及び皮質への鉱質沈着が雄の 32 ppm 以上の濃度でみられた。尿細管の好塩基性変化は被験物質の暴露による尿細管の傷害と、それに続く尿細管の再生が起きたことを示唆している（文献 10）。皮質への鉱質沈着が尿細管の管腔内にみられたが、その病理発生の機序は不明であった。13 週間試験でも腎臓の重量増加が雄の 100 ppm 以上の濃度で認められたが、病理組織学的な変化は認められていなかった（文献 6）。本試験では 13 週間試験よりも低い濃度で腎臓への影響がみられ、病理組織学的な変化も起きることが示された。

また、13 週間試験では雄で最低濃度の 50 ppm 群まで貧血傾向がみられた（文献 6）が、本試験では MCHC の減少が 80 ppm 以上の群の雄及び 200 ppm 群の雌でみられたのみで、赤血球数等には変化がみられなかった。

#### IV-4 量-反応関係

腫瘍の発生増加は、雄のハーダー腺と雌の肺にみられた。これらの腫瘍の発生増加が認められた濃度は、200 ppm であった。

腫瘍以外の影響は雄の腎臓と雌雄の鼻腔にみられた。雄の腎臓に影響が認められた濃度は、32 ppm 以上（重量増加、尿細管の好塩基性変化、皮質への鉱質沈着）であった。また、鼻腔への影響が認められた濃度は、雌雄とも 80 ppm 以上（嗅上皮の萎縮）であった。

#### IV-5 他文献との比較等

① がん原性：1,2-ジクロロプロパンの強制経口投与による長期試験が NTP により報告されている（文献 11）。

B6C3F1 マウス（雌雄、各群 50 匹）に、1,2-ジクロロプロパンを雌雄とも 0、125、250 mg/kg・bw の投与量で、1 日 1 回、週 5 日間で 103 週間、強制経口投与した。その結果、雌雄とも投与量に対応した肝細胞腺腫の発生増加がみられた（雄：対照群 7/50、125 mg/kg 群 10/50、250 mg/kg 群 17/50、雌：対照群 1/50、125 mg/kg 群 5/50、250 mg/kg 群 5/50）。また、肝

細胞癌が、雄では対照群 11/50、125 mg/kg 群 17/50、250 mg/kg 群 16/50、雌では対照群 1/50、125 mg/kg 群 3/50、250 mg/kg 群 4/50 に発生した。従って、雌雄マウスに対する 1,2-ジクロロプロパンのがん原性を some evidence と結論付けた。

② 変異原性：1,2-ジクロロプロパンの微生物を用いる変異原性試験は、6 種類のネズミチフス菌 (TA98, TA100, TA102, TA104, TA1535, TA1537) 及び 2 種類の大腸菌 (WP2*uvrA*, WP2*uvrA/pKM101*) を使用し、S9 代謝活性化による場合及びよらない場合で実施されている。その結果、使用した全ての菌株で陰性を示した（文献 12）。

## V 結論

B6D2F1/Crlj マウスを用いて 1,2-ジクロロプロパンの 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。

雄にハーダー腺の腺腫の発生増加が認められ、雄マウスに対するがん原性を示唆する証拠である。また、雌に細気管支-肺胞上皮癌を含む肺腫瘍の発生増加が認められ、雌マウスに対するがん原性を示す証拠である。

## VI 文献

1. U.S. National Library of Medicine, Specialized Information Services 2006. 1,2-Dichloropropane, Chemical/Physical Properties. Hazardous Substances Data Bank(HSDB). Available: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search> [accessed 28 February 2006].
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). 2001. 1,2-ジクロロプロパン, 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. 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. 2003. 1,2-ジ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. Herbert RA, Leininger JR. 1999. Nose, Larynx, and Trachea. In: Pathology of the Mouse, Reference and Atlas. Vienna: Cache River Press. 259-292.
10. 伊東信行編著. 1994. 標的器官の毒性病理 (2), 泌尿器系 C. 腎臓. 最新毒性病理学. 東京:中山書店, 193-209.

11. NTP. 1986. Toxicology and Carcinogenesis Studies of 1,2-Dichloropropane (Propylene Dichloride) (CAS No. 78-87-5) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies). Technical Report Series No.263. Research Triangle Park, NC: National Toxicology Program.
12. 日本バイオアッセイ研究センター. 1997. 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.