

1-プロモ-3-クロロプロバンのマウスを用いた
吸入による 13 週間毒性試験報告書

試験番号：0398

CAS No. 109-70-6

2002年12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 13 週間毒性試験

試験目的

1-ブロモ-3-クロロプロパンの吸入によるがん原性試験の投与濃度を決定する予備試験として、1-ブロモ-3-クロロプロパンをマウスに 13 週間全身暴露し、その生体影響を検索した。

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。

試験法

本試験は OECD 化学品テストガイドライン 413（亜慢性吸入毒性：90 日試験）1981 年 5 月 12 日採択）を参考に実施した。

試験委託者

厚生労働省労働基準局安全衛生部化学物質調査課
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
所長 松島 泰次郎
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 13 週間毒性試験報告書

試験番号：0398

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 構造式及び分子量	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 投与期間及び暴露回数	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	尿検査	7
II-3-5	血液学的検査	8
II-3-6	血液生化学的検査	8
II-3-7	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
	試験成績	
III-1	生死状況	11
III-2	一般状態	11
III-3	体重	11
III-4	摂餌量	11
III-5	尿検査	11
III-6	血液学的検査	12
III-7	血液生化学的検査	12
III-8	病理学的検査	
III-8-1	剖検	12
III-8-2	臓器重量	12
III-8-3	病理組織学的検査	13
IV	考察及びまとめ	14
V	文献	17

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)の試験を実施するにあたり、その投与濃度を決定するために本試験(13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10匹)に分け、投与群の1-ブロモ-3-クロロプロパンの濃度は、400ppm、200ppm、100ppm、50ppm及び25ppm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)で13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、投与期間最終週に尿検査を行った。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。

1-ブロモ-3-クロロプロパンの投与の結果、動物の死亡はみられず、一般状態の観察でも投与の影響は認められなかったが、400ppm群の雌雄及び200ppm群と100ppm群の雄で軽度ながら体重増加の抑制がみられた。

尿検査では、400ppm群と200ppm群の雌雄でケトン体の陽性例の増加とpHの低下がみられ、また、400ppm群の雄で蛋白陽性例の増加がみられた。

血液学的検査では400ppm群の雌雄で貧血の傾向が認められ、血液生化学的検査では400ppm群から100ppm群までの雌で総コレステロールの増加がみられた。

定期解剖時の剖検観察では変化はみられなかった。

臓器重量の測定では、400ppm群の雌で腎臓の重量増加と脾臓の重量低下がみられた。

病理組織学的検査では鼻腔、鼻咽頭及び胃に変化が認められた。

鼻腔では400ppm群の雌雄で、呼吸上皮のエオジン好性変化の発生増加と過形成、嗅上皮のエオジン好性変化の発生増加、剥離、萎縮がみられ、さらに、400ppm群の雌では嗅上皮の呼吸上皮化生がみられた。

鼻咽頭では400ppm群の雌雄にエオジン好性変化の発生増加がみられた。

胃では前胃の過形成(400ppm群から100ppm群までの雌雄、50ppm群の雌)、糜爛(400ppm群と200ppm群の雌雄、100ppm群の雌)、炎症性細胞浸潤(400ppm群と200ppm群の雌雄、100ppm群の雌)及び浮腫(400ppm群の雌雄、200ppm群の雌)が認められた。

以上の結果より、本試験条件下における1-ブロモ-3-クロロプロパンの最小毒性量は雄は100ppm、雌は50ppm、最大無毒性量は雄は50ppm、雌は25ppmと考えられた。また、マウスを用いたがん原性試験の投与濃度は最高濃度を400ppmとし、以下、100ppm、25ppm(公比4)と決定した。

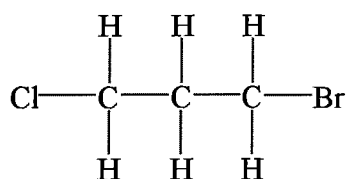
I 試験材料

I-1 被験物質の性状等

I-1-1 名称等

名 称 : 1-ブロモ-3-クロロプロパン
 別 名 : 3-ブロモ-1-クロロプロパン、3-ブロモプロピル クロライド、
 ω -クロロブロモプロパン、トリメチレン クロロブロマイド
 IUPAC名 : 1-ブロモ-3-クロロプロパン (1-Bromo-3-chloropropane)
 CAS No. : 109-70-6

I-1-2 構造式及び分子量 (文献 1)



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°C/4°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 : CKK 5616
 製 造 元 : 和光純薬工業株式会社
 グ レ ー ド : 特級
 純 度 : 98%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

被験物質の同一性はそのマススペクトルを質量分析装置(株式会社 日立製作所 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(株式会社 島津製作所 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-ブロモ-3-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(ヒューレットパッカード社 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、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-ブロモ-3-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)(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からの理由から、Crj:BDF₁マウスと決定している。

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、それぞれ体重の中央値に近い雌雄各 60 匹(群構成時体重範囲、雄:21.5~24.7g、雌:18.0~20.5g)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

投与は試験動物を收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 投与期間及び暴露回数

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13週間とし、計60回、暴露を行った。

II-1-4 投与濃度

400ppm、200ppm、100ppm、50ppm及び25ppm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労働者への本被験物質の暴露経路に合わせ、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を決定するための予備試験として13週間とした。

投与濃度は2週間の予備試験（試験番号0380）の結果（文献4）をもとに決定した。すなわち、2週間試験では50~800ppm（公比2）の濃度で試験を行ったが、800ppm群では雄は5匹中4匹が死亡し、雌は5匹全例が死亡した。400ppm群は体重増加の抑制（雄）がみられ、組織学的検査で前胃に過形成（雌雄）と潰瘍（雌）がみられたが、いずれも軽度な変化であり、雌雄とも重篤な症状や所見は認められなかった。この結果より、13週間試験の最高濃度を400ppmとし、最低濃度を25ppm（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-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）と混合して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-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のガスクロマトグラフ（株式会社 島津製作所 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-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は 0.8%以内、変動係数（標準偏差／平均値×100%）は 1.6%以内であり、それぞれ設定濃度を満足するものであった。

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。

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	10 匹（1001～1010）	10 匹（2001～2010）
1	25ppm 群	10 匹（1101～1110）	10 匹（2101～2110）
2	50ppm 群	10 匹（1201～1210）	10 匹（2201～2210）
3	100ppm 群	10 匹（1301～1310）	10 匹（2301～2310）
4	200ppm 群	10 匹（1401～1410）	10 匹（2401～2410）
5	400ppm 群	10 匹（1501～1510）	10 匹（2501～2510）

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5)

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、動物はバリア区域内の独立した室にそれぞれ収容し、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すべて設定条件の範囲内であった。

	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℃ (22.9±0.1℃)	21±2℃ (21.2±0.2℃)	20~24℃	
湿度	55±15% (55±1%)	55±15% (60±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~-15mmAq	
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連ケージ	—	ステンレス製 6連ケージ	ステンレス製 5連ケージ
ケージ寸法 1匹当り(mm)	W112 D212 H120	—	W95 D116 H120	W100 D116 H120

飼料は飼育全期間を通して、オリエンタル酵母工業(株)の CRF-1 固型飼料 (30KGy- 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、定期解剖日前日の夕方からは給餌しなかった。

飲料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 729-5) 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比較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 動物の一般状態の観察

全動物について、生死の確認を毎日 1 回行った。また、一般状態の詳細観察は、検疫及び馴化期間は導入時、馴化開始時及び群構成時に行い、投与期間は毎週 1 回、暴露開始前に行った。

II-3-2 体重測定

検疫及び馴化期間は、全動物について導入時、馴化開始時及び群構成時に体重測定を行い、投与期間は全動物について毎週 1 回、暴露開始前に体重測定を行った。また、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 尿検査

投与期間の最終週に採尿可能な全動物について、新鮮尿を採取し、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。

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-3-5 血液学的検査

動物を定期解剖日前日夕方より絶食(18時間以上)させ、定期解剖時に全動物について、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 L1 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、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-3-6 血液生化学的検査

動物を定期解剖日前日夕方より絶食(18時間以上)させ、定期解剖時に全動物について、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。

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-3-7 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液にて固定後、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、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、膣、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 数値処理と統計学的方法

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 4 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、血液生化学的検査については 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。

尿検査は投与最終週に行い、全動物数を母数とした。

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について検査を行い、欠損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。

病理組織学的検査のうち非腫瘍性病変については、対照群と各投与群間で χ^2 検定を行った。検定は所見のみられなかった動物をグレード 0 として分類し、各グレード毎の動物の度数分布により行った。また、尿検査についても対照群と各投与群間との χ^2 検定を行った。

なお、各検定は 5% の有意水準で両側検定を行い、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。

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。

投与期間を通じて各群とも動物の死亡はみられなかった。

Ⅲ-2 一般状態

投与期間を通じて各群とも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 A1, A2 に示した。

400ppm 群の雄は投与期間を通じて、200ppm 群及び 100ppm 群の雄は投与 6 週以降、それぞれ対照群に比べ有意に低値となり、400ppm 群、200ppm 群及び 100ppm 群の雄で体重増加の抑制が認められた。また、400ppm 群の雌でもほぼ投与期間を通じて、対照群に比べ有意に低値となり、体重増加の抑制が認められた。

Ⅲ-4 摂餌量

摂餌量 (1 日 1 匹あたり) を TABLE 3, 4 及び APPENDIX B1, B2 に示した。

400ppm 群の雌雄の摂餌量が対照群に比べやや低値であった。

また、100ppm、50ppm 及び 25ppm 群の雌では、しばしば摂餌量が有意な高値となったが、これらの変化と被験物質との関連は不明であった。

Ⅲ-5 尿検査

投与期間の最終週に行った尿検査の結果を APPENDIX C1, C2 に示した。

ケトン体の陽性例の増加が 400ppm 群と 200ppm 群の雌雄 (雄は有意に増加) に、pH の低下が 400ppm 群と 200ppm 群の雌雄 (200ppm 群の雄は有意に低下) にみられた。また、蛋白陽性例の有意な増加が 400ppm 群の雄にみられた。

Ⅲ－6 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX D1, D2 に示した。

400ppm 群では対照群に比べ、雌雄で赤血球数、雄でヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の有意な減少がみられ、また、雌雄で MCV と MCH の有意な増加、雄で MCHC の有意な減少がみられた。白血球分類では、400ppm 群、雌でリンパ球比の有意な減少がみられた。

Ⅲ－7 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。

対照群に比べ、総コレステロールの有意な増加が 400ppm 群から 100ppm 群までの雌にみられた。また、尿素窒素の有意な減少が 400ppm 群の雌にみられた。

その他、トリグリセライド、GOT 活性、CPK 活性で変化がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

なお、クロールの増加が 400ppm 群から 100ppm 群までの投与群にみられたが、これはクロールの測定で使用した電極（イオン選択電極法）が被験物質由来の臭素イオンの影響を受け、投与群の測定値が高値になったものと思われる。（文献 6）

Ⅲ－8 病理学的検査

Ⅲ－8－1 剖検

定期解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX F1, F2 に示した。

各投与群とも被験物質の投与に関連すると思われる変化は認められなかった。

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

対照群に比べ、400ppm 群の雌では腎臓の実重量、体重比の有意な高値、脾臓の実重量、体重比の有意な低値がみられ、腎臓の重量増加と脾臓の重量低下が認められた。

また、胸腺（400ppm 群と 200ppm 群の雄）、脾臓（400ppm 群の雄）の実重量の有意な低値、肝臓（400ppm 群から 50ppm 群までの雄及び 400ppm 群の雌）、肺及び脳（400ppm 群から 100ppm 群までの雄）、腎臓（400ppm 群と 100ppm 群の雄）、精巣（100ppm 群の雄）の体重比の有意な高値がそれぞれみられたが、各投与群の雄及び 400ppm 群の雌の解剖時体重は対照群より低く（400ppm 群から 100ppm 群までの雄は有意な低値）、これらの変化は

体重増加抑制に伴う変化と思われる。

Ⅲ－８－３ 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。

鼻腔

呼吸上皮のエオジン好性変化の発生増加と過形成、嗅上皮のエオジン好性変化の発生増加、剥離、萎縮及び呼吸上皮化生が投与群に認められた。

呼吸上皮のエオジン好性変化の発生増加は 400ppm 群にみられ (雄: 400ppm 群 3 例、100ppm 群 1 例、雌: 400ppm 群全例、200ppm 群 2 例、100ppm 群 2 例、50ppm 群 3 例、25ppm 群 1 例、対照群 2 例)、その程度は 400ppm 群、雄は軽度であったが、雌は 10 例中、6 例が軽度、4 例が中等度であった。なお、200ppm 以下の群は各例とも軽度であった。また、400ppm 群の呼吸上皮には軽度な過形成が雄 6 例、雌 4 例に観察された。

嗅上皮でもエオジン好性変化の発生増加が 400ppm 群でみられ (雄: 400ppm 群 9 例、雌: 400ppm 群全例、200ppm 群 1 例、50ppm 群 2 例)、その程度は 400ppm 群、雄は軽度であったが、雌は 10 例中、4 例が軽度、6 例が中等度であった。200ppm 以下の群の雌は各例とも軽度であった。また、400ppm 群の嗅上皮には、剥離が雌雄各 3 例 (軽度)、萎縮が雄 6 例 (軽度)、雌 5 例 (軽度 4 例、中等度 1 例)、呼吸上皮化生が雌 1 例 (軽度) でみられた。

鼻咽頭

エオジン好性変化の発生増加が 400ppm 群にみられた (雄: 400ppm 群 4 例、100ppm 群 1 例、雌: 400ppm 群全例、200ppm 群 1 例、50ppm 群 2 例)。その程度は 400ppm 群の雌 1 例が中等度であったが、他は各例とも軽度であった。

胃

前胃の過形成、糜爛、炎症性細胞浸潤及び浮腫が投与群に認められた。

過形成は投与群の多くの動物にみられた。雌雄別にみると、雄では 400ppm 群の全例 (軽度 1 例、中等度 5 例、重度 4 例)、200ppm 群の 8 例 (軽度 6 例、中等度 2 例)、100ppm 群の 6 例 (軽度) に発生した。雌では 400ppm 群の全例 (軽度 3 例、中等度 3 例、重度 4 例)、200ppm 群の 9 例 (軽度 4 例、中等度 5 例)、100ppm 群の 9 例 (軽度 7 例、中等度 2 例) 及び 50ppm 群の 1 例 (軽度) に発生した。

また、糜爛は 400ppm 群の雌雄各 4 例、200ppm 群の雌雄各 1 例、100ppm 群の雌 1 例に、炎症性細胞浸潤は 400ppm 群の雄 6 例、雌 9 例、200ppm 群の雄 2 例、雌 3 例、100ppm 群の雌 1 例に、浮腫は 400ppm 群の雄 2 例、雌 3 例、200ppm 群の雌 1 例に、それぞれ観察された。これらの所見の程度は各例とも軽度であった。

IV 考察及びまとめ

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、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、その予備試験として本試験(13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10匹)を設け、1-ブロモ-3-クロロプロパンの投与濃度は、400ppm、200ppm、100ppm、50ppm及び25ppm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)で13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、投与期間最終週に尿検査を行った。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。

1-ブロモ-3-クロロプロパンの投与の結果、動物の死亡はみられなかった。

一般状態の観察でも、1-ブロモ-3-クロロプロパンの投与の影響と思われる所見は認められなかったが、400ppm群の雌雄及び200ppm群と100ppm群の雄では、軽度ながら体重増加の抑制がみられた。また、400ppm群、雌雄の摂餌量がやや少なかった。

尿検査では、400ppm群と200ppm群の雌雄でケトン体の陽性例の増加とpHの低下がみられ、また、400ppm群の雄で蛋白陽性例の増加がみられた。これらの変化はいずれも軽度なものであるが、1-ブロモ-3-クロロプロパンの投与の影響と考えられる。

一般的には、食物(炭水化物)の摂取が不十分な時や糖質の代謝異常時には、代替エネルギー源として脂肪の分解が進み、その結果、ケトン体の産生が増加し、ひいては血中、尿中のケトン体が増加する。さらに生体内にケトン体等の有機酸が過度に増加すると、HCO₃⁻が消費されて、相対的にH⁺が増加し、尿中にもH⁺排泄増加が起き、尿pHが酸性になる(文献7)。これらのことから、本試験でみられたケトン体の陽性例の増加と尿pHの低下は、動物の体内でのケトン体の増加を示唆する変化と思われるが、1-ブロモ-3-クロロプロパンの投与による直接的な変化か、二次的な作用による変化かは不明である。

血液学的検査では、軽度ではあるが400ppm群の雄で赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の減少、雌で赤血球数の減少がみられ、400ppm群の雌雄で貧血の傾向が認められた。また、これらの変化に関連してMCV、MCH及びMCHCの値が変化した。白血球分類では400ppm群、雌でリンパ球比が減少したが、変化は少なく1-ブロモ-3-クロロプロパンとの関連は不明であった。

血液生化学的検査では、400ppm群から100ppm群までの雌で総コレステロールの増加がみられ、1-ブロモ-3-クロロプロパンの投与の影響と思われるが、他の脂質系の検査では変化がみられなかった。また、400ppm群、雌では尿素窒素に変化がみられたが、低下性の変化でありその毒性学的意義は不明であった。

定期解剖時の剖検観察では、1-ブロモ-3-クロロプロパンによると思われる変化はみられなかった。

臓器重量の測定では、400ppm 群の雌で腎臓の重量増加と脾臓の重量低下がみられた。また、投与群の雄では胸腺、脾臓の実重量、肝臓、肺、脳、腎臓及び精巣の体重比で、雌では肝臓の体重比でそれぞれ変化がみられたが、これらの変化は解剖時体重の低値に伴う変化と思われた。ただし、400ppm 群の雌雄の肝臓に関しては、その実重量は統計学的有意差はみられないものの対照群より高値であり、重量が増加している可能性も考えられる。

病理組織学的検査では鼻腔、鼻咽頭及び胃に変化が認められた。

鼻腔では 400ppm 群の雌雄で、呼吸上皮のエオジン好性変化の発生増加と過形成、嗅上皮のエオジン好性変化の発生増加、剥離、萎縮がみられ、さらに、400ppm 群の雌では嗅上皮の呼吸上皮化生がみられた。鼻咽頭でも 400ppm 群の雌雄にエオジン好性変化の発生増加がみられた。

これらの所見のうち、鼻腔の呼吸上皮、嗅上皮及び鼻咽頭でみられたエオジン好性変化は、いずれも雄より雌の方が例数が多く、その程度も雄は軽度であったのに対し、雌は軽度から中等度であった。他の鼻腔の所見は、嗅上皮の萎縮で雌 1 例が中等度であった以外は、いずれも軽度なものであった。

胃については前胃の過形成、糜爛、炎症性細胞浸潤及び浮腫が投与群に認められた。

過形成は 400ppm 群から 100ppm 群までの雌雄及び 50ppm 群の雌にみられ、その程度は、400ppm 群は軽度から重度、200ppm 群と 100ppm 群は軽度から中等度、50ppm 群は軽度であった。

また、糜爛と炎症性細胞浸潤は 400ppm 群と 200ppm 群の雌雄及び 100ppm 群の雌に、浮腫は 400ppm 群の雌雄と 200ppm 群の雌に、それぞれ観察された。これらの所見の程度は各例とも軽度であった。

これらの病理組織学的な所見は、1-ブロモ-3-クロロプロパンの吸入により鼻腔、鼻咽頭及び胃に刺激による変化が起きることを示唆する所見と考えられた。胃に対する障害は、経気道的に吸入され鼻腔等の気道に吸着した 1-ブロモ-3-クロロプロパンが、粘液繊毛機構による排泄機能によって口腔を経て胃に運ばれたことにより、引き起こされたものと考えられる。

25ppm 群では雌雄とも病理組織学的検査に著変を認めなかった。また、臓器重量に変化のみられた臓器にも病理組織学的な変化は認められなかった。

以上のように、本試験では 100ppm 群において、雄で前胃の過形成、雌で前胃の過形成、糜爛及び炎症性細胞浸潤がみられ、さらに 50ppm 群でも雌に前胃の過形成がみられた。しかし、25ppm 群では 1-ブロモ-3-クロロプロパンの影響は認められなかった。これらのことから、本試験条件下における 1-ブロモ-3-クロロプロパンの最小毒性量は雄は 100ppm、雌は 50ppm、最大無毒性量は雄は 50ppm、雌は 25ppm と考えられた。

また、がん原性試験の投与濃度については、最高投与群の 400ppm 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、臓器重量で変化がみられたが、これらの変化はいずれも軽度なものであった。400ppm 群の病理組織学的検査でも鼻腔、鼻咽頭及び胃に

変化が認められたが、鼻腔、鼻咽頭のエオジン好性変化と前胃の過形成以外の所見は程度が軽度であった。また、比較的程度の強かった鼻腔と鼻咽頭のエオジン好性変化は加齢により自然発生する所見（文献 8）、前胃の過形成は糜爛等の上皮の障害に伴って見られる増殖性の所見（文献 9）であり、これらの変化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、50ppm 群まで軽度ながら病理組織学的変化がみられたが、25ppm 群では 1-ブロモ-3-クロロプロパンの影響は認められなかった。従って、マウスを用いたがん原性試験の投与濃度は最高濃度を 400ppm とし、以下、100ppm、25ppm（公比 4）と決定した。

V 文献

1. National Library of Medicine (1997)
Hazardous Substances Databank (HSDB), (インターネット検索)
NLM, Maryland, USA
2. Fred W. McLafferty (1994)
Wiley Registry of Mass Spectral Data, 6th edition.
John Wiley and Sons Inc. (U.S.), Entry Number 41048
3. 和光純薬工業からの提供資料 (1998)
4. 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2週間毒性試験報告書
5. 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, pp. 7285-7302
6. 野上清信 (1993)
臨床化学実践マニュアル 日常検査における異常値への対応 1.電解質・無機成分検査と技術 増刊号 (編集 大久保昭行他), Vol.21, no.5, pp.46-47
7. 河合忠、浅野泰、伊藤喜久、島田勇 (1992)
尿検査 その知識と病態の考え方, pp.32-33, pp.46-47
(株) メディカル・ジャーナル社, 東京
8. 長野嘉介 (2000)
毒性病理組織学 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

9. Frantz JD, Betton G, Cartwright ME, Crissman JW, Macklin AW, Maronpot RR
(1991)
Proliferative Lesions of the Non-Glandular and Glandular Stomach in Rats, GI-3.
Guides for Toxicologic Pathology, pp.1-20,
STP/ARP/AFIP, Washington, DC.