

1, 2 - ジクロロプロパンのラットを用いた  
吸入による2週間毒性試験報告書

試験番号：0424

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ラットを用いた  
吸入による2週間毒性試験報告書

試験番号：0424

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	10
III-5	血液学的検査	10
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	11
III-7-3	病理組織学的検査	12
IV	考察及びまとめ	13
V	文献	16

## 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、ラット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、F344/DuCrj(Fischer)ラットを投与群 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。

1,2 - ジクロロプロパンの暴露の結果、各投与群に死亡はみられず、一般状態の観察でも特記すべき所見はみられなかった。しかし、500 ppm 以上の群の雌雄で体重増加の抑制がみられた。

血液学的検査では 1000 ppm 以上の群の雌雄で貧血の傾向がみられた。

血液生化学的検査では、投与群に総蛋白、アルブミン、総ビリルビン、トリグリセライド、リン脂質、カルシウム、カリウムの増加、クロールの減少がみられた。

剖検観察では特記すべき所見は認められなかった。

臓器重量の測定では、肝臓の重量増加が 250 ppm 以上の群の雌及び 500 ppm 以上の群の雄に認められた。また、脾臓の重量増加が 1000 ppm 以上の群の雄及び 2000 ppm 群の雌、胸腺の重量低下が 2000 ppm 群の雄でみられた。

病理組織学的検査では、鼻腔、脾臓及び骨髄に変化が認められた。

鼻腔には、全投与群の雌雄に嗅上皮の萎縮、呼吸上皮化生及び篩骨甲介の肥厚がみられ、また、嗅上皮の配列不整が 1000 ppm 以上の群の雌雄に認められた。さらに、脾臓に髄外造血亢進が 1000 ppm 以上の群の雌雄、骨髄の造血低下が 2000 ppm 群の雄に認められた。

以上の結果から、1,2 - ジクロロプロパンのラットに対する 2 週間吸入投与による最小毒性量 (LOAEL) は、鼻腔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、ラットを用いた 13 週間吸入試験の投与濃度は、2000 ppm を最高濃度とし、以下 1000 ppm、500 ppm、250 ppm、125ppm (公比 2) 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 ー 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 I1 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 I2 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 F344/DuCrj (Fischer)ラット(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原因から、F344/DuCrj(Fischer)ラットと決定している。

ラット雌雄各 37 匹を生後 4 週齢で導入し (導入時体重範囲、雄:56~62g、雌:51~58g)、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:115~127g、雌:91~100g) 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、Pozzani ら（1959 年）は、1,2 - ジクロロプロパンのラットの 8 時間暴露での LC<sub>50</sub> 値は 14.0mg/L（3000 ppm/22°C）であると報告した（文献 4）。また、Nitschke ら（1983 年）は、1000 ppm、300 ppm、100 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なかったが、全投与群で体重の有意な低下が認められた。血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査では変化はみられなかったが、病理組織学的検査では、全投与群で鼻腔の嗅上皮に変性がみられた。これらの報告をもとに、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 J1 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）に收容し、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 J2 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 (606 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℃ (23.0±0.1℃)	21±2℃ (20.9±0.2℃)	20~24℃	
湿度	55±15% (51±2%)	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~-15 ×10Pa	
ケージへの動物 の收容方法	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 匹当り (mm)	W170 D294 H176	—	W125 D216 H176	W150 D216 H176

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- $\gamma$ 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力し、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）の分析データを入力し、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、検査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、検査及び馴化期間は検査開始日（導入時）、検査終了・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った。

### II-3-2 体重測定

検査及び馴化期間は検査開始日（導入時）、検査終了・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 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及びクエン酸ナトリウム入り採血管（下記\*印検査項目）に採血した。EDTA-2 カリウム入り採血管の血液は全血を用いて、クエン酸ナトリウム入り

採血管の血液は、遠心分離し得られる血漿を用いて、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX K1 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、網赤血球比、プロトロンビン時間\*、活性化部分トロンボプラスチン時間\*、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 K1 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、 $\gamma$ -GTP、CPK、尿素窒素、クレアチニン、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

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、膵臓、腎臓、膀胱、下垂体、甲状腺、上皮小体、副腎、精巣、精巣上体、精囊、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、整数値の 1 の位まで計測し、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 K2 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、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。

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。  
各群とも動物の死亡はみられなかった。

#### Ⅲ-2 一般状態

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。

500 ppm 以上の群の雌雄では、投与期間の 4 日目まで、体重は投与開始前よりも低値となった。7 日目以降は体重は増加したが、投与期間を通じてそれぞれ対照群より低値あるいはやや低値を示し、500 ppm 以上の群の雌雄で体重増加の抑制がみられた。

250 ppm 群の雌雄でも、投与期間の 2 日目に体重が僅かに減少したが、その後は順調に増加し、7 日目以降は対照群と同様な値となった。

125 ppm 群及び対照群は雌雄ともに、投与期間を通じて体重は順調に増加した。

#### 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。

投与期間 1 週目は 250 ppm 以上の群の雄及び 500 ppm 以上の群の雌で、投与期間 2 週目は 2000 ppm 群の雌雄で、摂餌量が低値であった。

#### Ⅲ-5 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX C1, C2 に示した。

対照群に比べ、1000 ppm 以上の群の雌と 2000 ppm 群の雄で、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、MCHC の減少及び網赤血球比の増加がみられた。また、1000 ppm 群の雄でも、ヘモグロビン濃度の減少と網赤血球比の増加がみられ、1000 ppm 以上の群の雌雄で貧血の傾向がみられた。さらに、500 ppm 群では、雄でヘモグロビン濃度、雌で MCHC がやや低値であった。MCHC の減少は個々の赤血球のヘモグロビン濃度の減少を表しており、また、雌雄とも網赤血球比が対照群よりやや高値であることから、これらのデータも 500

ppm 群の雌雄における貧血の傾向を示唆するものとも考えられるが、変化が僅かであり、本試験結果からは判断できなかった。

### Ⅲ-6 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。

対照群と比べ、500 ppm 以上の群の雄及び 2000 ppm 群の雌で総蛋白とアルブミンの増加がみられた。また、2000 ppm 群の雄で総ビリルビン、1000 ppm 以上の群の雌でトリグリセライド、500 ppm 以上の群の雌でリン脂質の増加がみられた。電解質では 1000 ppm 以上の群の雌雄でカルシウム、2000 ppm 群の雌雄でカリウムの増加、2000 ppm 群の雌でクロールの減少がみられた。

なお、GPT が全投与群、ALP が 500 ppm 以上の群、GOT が 1000 ppm 以上の群で、それぞれ低下がみられた。これらの変化は被験物質の暴露に関連するものと思われるが、低下性の変化であり、毒性学的意義は不明であった。また、総コレステロールの値に変化がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

### Ⅲ-7 病理学的検査

#### Ⅲ-7-1 剖検

定期解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX E1, E2 に示した。

被験物質の暴露の影響と思われる所見はみられなかった。

#### 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 F1, F2(実重量)、APPENDIX G1, G2(体重比) に示した。

肝臓では、対照群に比べ 250 ppm 以上の群の雌及び 1000 ppm 群の雄で実重量と体重比の高値がみられた。また、2000 ppm 群と 500 ppm 群の雄でも肝臓の体重比の高値がみられ、実重量も対照群よりやや高値であった。従って、250 ppm 以上の群の雌及び 500 ppm 以上の群の雄で肝臓重量の増加が認められた。特に 2000 ppm 群の雄は解剖時体重が低値であったが、肝臓の実重量は対照群に比べやや高値であり、実質的には重量が増加していると判断した。

また、2000 ppm 群の雌雄で脾臓の実重量と体重比の高値及び 1000 ppm 群の雄で脾臓の体重比の高値がみられ、実重量も対照群よりやや高値であり、1000 ppm 以上の群の雄及び 2000 ppm 群の雌で脾臓の重量増加が認められた。さらに、2000 ppm 群の雄では胸腺の実

重量と体重比の低値がみられ、胸腺の重量低下が認められた。

腎臓では、500 ppm 以上の群の雌雄で体重比の高値がみられた。しかし、投与群の腎臓の実重量をみると、雄では、1000 ppm 群の値は対照群よりやや高値であったが、2000 ppm 群の値は対照群よりやや低値であった。雌では、2000 ppm 群と 1000 ppm 群の解剖時体重（平均値）は同値であったが、腎臓の実重量は 1000 ppm 群のほうが 2000 ppm 群より高値であった。これらのことから、500 ppm 以上の群の雌雄では、被験物質の影響による腎臓の重量増加の可能性はあるものの、本試験結果からは明らかではなかった。

その他、雄で脳の実重量の低値、体重比の高値及び副腎、精巣、心臓、肺の体重比の高値がみられたが、これらの変化は解剖時体重の低値によるものと考えられた。

### III-7-3 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を APPENDIX H1, H2 に示した。

鼻腔、脾臓、骨髄に被験物質の暴露の影響が認められた。

鼻腔では、嗅上皮に萎縮が全投与群の全動物（500 ppm 以上の群は重度、250 ppm 群は中等度から軽度、125 ppm 群は軽度）、呼吸上皮化生が全投与群のほぼ全動物（2000 ppm 群は中等度から軽度、他の群は軽度）、配列不整が 1000 ppm 以上の群の全動物（軽度）に認められた。また、鼻腔の篩骨甲介には、肥厚が全投与群のほぼ全動物（軽度）、癒着が 2000 ppm 群の雌 1 匹（軽度）に認められた。

脾臓には、髄外造血亢進が 2000 ppm 群の雄 5 匹、雌 4 匹及び 1000 ppm 群の雌雄各 1 匹（軽度）に認められ、骨髄では造血低下が 2000 ppm 群の雄 3 匹（軽度）に認められた。

その他の器官、組織については、重量に変化のみられた肝臓、胸腺を含め、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 F344/DuCrj(Fischer)ラット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。

##### (1) 用量-反応関係

1,2 - ジクロロプロパンの暴露の結果、各投与群に動物の死亡はみられず、一般状態の観察でも特記すべき所見はみられなかったが、500 ppm 以上の群の雌雄で体重増加の抑制がみられた。

血液学的検査では 1000 ppm 以上の群の雌雄において、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及び網赤血球比等に変化がみられ、貧血の傾向が認められた。

血液生化学的検査では、投与群に総蛋白とアルブミン (500 ppm 以上の群の雄、2000 ppm 群の雌)、総ビリルビン (2000 ppm 群の雄)、トリグリセライド (1000 ppm 以上の群の雌)、リン脂質 (500 ppm 以上の群の雌) の増加がみられた。総蛋白、アルブミン及び脂質系の変化は、1,2 - ジクロロプロパンの蛋白質及び脂質の生合成や代謝への影響を示唆するものと思われる。総ビリルビンの増加は 1000 ppm 以上の群で貧血の傾向がみられていることから、肝や胆道機能の関連よりも、赤血球の崩壊や溶血を示唆する変化と思われる。電解質ではカルシウム (1000 ppm 以上の群の雌雄)、カリウム (2000 ppm 群の雌雄) の増加、クロール (2000 ppm 群の雌) の減少がみられた。臓器重量の測定では、腎臓の変化は確認できなかったが、カリウムとクロールの変化は腎機能の変化を示唆するものと思われ、カルシウムの増加はアルブミンの増加に関連する変化と思われる。

病理学的検査のうち、剖検観察では特記すべき所見は認められなかった。

臓器重量の測定では、肝臓の重量増加が 250 ppm 以上の群の雌及び 500 ppm 以上の群の雄に認められた。また、脾臓の重量増加が 1000 ppm 以上の群の雄及び 2000 ppm 群の雌に認められ、この変化は脾臓の病理組織学的変化 (髓外造血亢進) に対応した変化と考えられた。さらに、胸腺の重量低下が 2000 ppm 群の雄でみられ、この変化は体重低下に伴う消耗性の変化と考えられた。

病理組織学的検査では、鼻腔、脾臓及び骨髄に変化が認められた。

鼻腔には、最低濃度である 125 ppm 群まで投与濃度に対応した嗅上皮の萎縮がみられ、

500 ppm 以上の群では程度が重度であった。これに対し、呼吸上皮には暴露による影響が認められず、本試験では 1,2 - ジクロロプロパンの吸入により嗅上皮に限定された傷害が認められた。また、嗅上皮には呼吸上皮化生が 125 ppm 群まで、配列不整が 1000 ppm 群まで認められた。これらの所見は嗅上皮の傷害に対する修復性の変化であり（文献 7）、1,2 - ジクロロプロパンによる嗅上皮の傷害が、この修復過程と同時に進んでいたと考えられた。さらに、篩骨甲介の肥厚が 125 ppm 群まで認められた。篩骨甲介は嗅粘膜が分布する部位であり、1,2 - ジクロロプロパンによる影響が表面の嗅上皮だけではなく、粘膜下にまで及んでいたことを示唆する所見と推察された。なお、2000 ppm 群の雌 1 例には篩骨甲介の癒着も観察されており、この所見も嗅上皮や篩骨甲介の傷害に伴う変化と考えられた。

脾臓には、髄外造血の軽度な亢進が主に 2000 ppm 群でみられた。この所見は出血や溶血等による貧血に際して赤血球の減少を補うための変化である（文献 8）。本試験においても血液学的検査で貧血傾向が認められており、貧血に対する適応反応として起きた変化と考えられる。一方、2000 ppm 群の雄には骨髓に造血の低下が観察された。この変化は、1,2 - ジクロロプロパンが直接的に骨髓に傷害を与えた、あるいは、動物の消耗による二次的影響の二つの可能性が考えられるが、本試験結果では明らかではなかった。

なお、肝臓や腎臓には病理組織学的変化はみられなかった。

### (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ラットへの 2 週間吸入暴露により、病理組織学的検査で鼻腔、脾臓及び骨髓に変化がみられた。鼻腔への影響は雌雄とも本試験の最低濃度である 125 ppm 群を含む全投与群に認められた。また、脾臓の変化は 1000 ppm 以上の群にみられ、骨髓の変化は 2000 ppm 群にのみみられた。従って、本試験における 1,2 - ジクロロプロパンのラットに対する 2 週間吸入暴露による最小毒性量 (LOAEL) は、鼻腔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。しかし、この最小毒性量は、鼻腔への傷害が明確に認められる濃度であった。

### (3) 他文献との比較

Nitschke らは、F344 ラットに 1000、300、100 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なかったが、全投与群で体重の有意な低下が認められた。血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査では変化はみられなかったが、病理組織学的検査では、全投与群で鼻腔の嗅上皮に変性（1000 ppm 群は重度、300 ppm 群及び 100 ppm 群は軽度から中等度）がみられた。

本試験では、体重増加の抑制がみられたのは 500 ppm 以上の群であったが、1000 ppm 以上の群で貧血の傾向がみられ、500 ppm 以上の群で血液生化学的検査に変化がみられた。病理組織学的検査では、脾臓の変化が 1000 ppm 以上の群でみられ、鼻腔の変化（嗅上皮の萎縮、呼吸上皮化生及び篩骨甲介の肥厚）は、全投与群に認められた。

#### (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。

本試験では最高濃度の 2000 ppm 群で、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量及び病理組織学的検査に変化がみられたが、雄の体重増加の抑制及び病理組織学的検査でみられた雌雄の嗅上皮の萎縮以外の変化はいずれも軽度なものであった。また、2000 ppm 群の雄の最終体重（投与 2 週－7 日目）は対照群の 82%であったが、投与 2 週－4 日目の測定時からは対照群と同程度の体重増加がみられること、一般状態の観察では特記すべき所見がみられないこと、さらに、嗅上皮の萎縮の程度は雌雄とも重度であったが、その所見自体が直接、動物の生死に関わるものではないと考えられることから、13 週間試験においても 2000 ppm は動物が十分、耐え得る濃度と判断した。従って、ラットを用いた 13 週間吸入試験の投与濃度は 2000 ppm を最高濃度とし、以下 1000 ppm、500 ppm、250 ppm、125 ppm（公比 2）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 (6<sup>th</sup> 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. Pozzani,U.C., Weil,C.S. and Carpenter,C.P. (1959)  
The toxicological basis of threshold limit values : 5. The experimental inhalation  
of vapor mixtures by rats, with notes upon the relationship between single dose  
inhalation and single dose oral data.  
Ind. Hyg. J. 20:364-369
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

8. 神山隆一 (1987)

血液疾患と脾臓

現代病理学大系 18B ([血液・造血器Ⅱ] リンパ節、脾臓、網内系、胸腺)

pp. 251-264, 中山書店, 東京