

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

試験番号 : 0436

CAS No. 78-87-5

2003年12月26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 13 週間毒性試験

## 試験目的

1,2 - ジ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、1,2 - ジ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, 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

試験番号：0436

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	6
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	8
II-3-3	摂餌量測定	8
II-3-4	尿検査	8
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	9
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	10
II-4-3	統計方法	10
III	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	12
III-5	尿検査	12
III-6	血液学的検査	12
III-7	血液生化学的検査	13
III-8	病理学的検査	
III-8-1	剖検	13
III-8-2	臓器重量	14
III-8-3	病理組織学的検査	14
IV	考察及びまとめ	16
V	文献	20

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 : LDL5937  
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。

なお、それらの結果は、APPENDIX K1 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、被験物質は投与期間中、安定であることを確認した。

なお、それらの結果は、APPENDIX K2 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:BDF<sub>1</sub> 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感受性が知られていることからの理由から、Crj:BDF<sub>1</sub> 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 (導入時体重範囲、雄:14.0~18.7g、雌:12.2~16.6g)、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 60 匹 (群構成時体重範囲、雄:21.1~24.9g、雌:17.8~20.4g) 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（祝祭日は暴露なし）で 13 週間とし、計 62 回の暴露を行った。

#### II-1-4 投与濃度

400 ppm、300 ppm、200 ppm、100 ppm 及び 50 ppm の 5 段階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を決定するため 13 週間とした。

投与濃度は 2 週間の予備試験（試験番号 0425）の結果（文献 4）をもとに決定した。2 週間試験は 2000 ppm、1000 ppm、500 ppm、250 ppm 及び 125 ppm（公比 2）の濃度で行った。その結果、500 ppm 以上の群では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、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、13 週間試験の投与濃度は、400 ppm、300 ppm、200 ppm、100 ppm 及び 50 ppm 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 L1 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 0.1%以内、変動係数（標準偏差／平均値×100%）は 0.8%以内であり、高い精度でチャンバー内の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 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	50 ppm 群	10 匹 (1101~1110)	10 匹 (2101~2110)
2	100 ppm 群	10 匹 (1201~1210)	10 匹 (2201~2210)
3	200 ppm 群	10 匹 (1301~1310)	10 匹 (2301~2310)
4	300 ppm 群	10 匹 (1401~1410)	10 匹 (2401~2410)
5	400 ppm 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、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 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（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次頁に示した。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 L2 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、動物の健康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℃ (22.7±0.0℃)	21±2℃ (21.0±0.1℃)	20～24℃	
湿度	55±15% (48±1%)	55±15% (58±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 匹当り (mm)	W112 D212 H120	—	W95 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- $\gamma$ 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、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。

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後、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

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、検疫及び馴化期間中は検疫開始日（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、投与期間中は週 1 回、暴露開始前に行った。

### II-3-2 体重測定

全動物について、検疫及び馴化期間中は検疫開始日（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、投与期間中は週1回、暴露開始前に行った。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 尿検査

投与期間の最終週に採尿可能な動物から、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 M1 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

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し、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX M1 に示した。なお、検査対象動物は解剖日前日夕方より絶食させた。

【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-3-6 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 M1 に示した。なお、検査対象動物は解剖日前日夕方より絶食させた。

【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、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、光学顕微鏡で病理組織学的に検査した。

皮膚、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、骨髄（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。

チャンバー内の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 M2 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 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、測定した動物数を母数とした。

尿検査は投与最終週に行い、採尿した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を対象とし、検査動物数または測定動物数を母数とした。

剖検は、全動物数を母数とした。

病理組織学的検査は、欠損臓器を除いた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等を基準として 1~4 にグレード分けし、 $\chi^2$  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。

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。

## 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、その投与濃度を決定するため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、Crj:BDF<sub>1</sub> 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、1,2 - ジクロロプロパンの投与濃度は、400 ppm、300 ppm、200 ppm、100 ppm 及び 50 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 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、尿検査を行い、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投与の結果、400 ppm 群の雄 6 匹、雌 1 匹、300 ppm 群の雄 2 匹が死亡した。死亡動物の剖検観察では、肝臓や胸腺に変化がみられた。病理組織学的検査では、肝臓、心臓、鼻腔、リンパ節、胸腺、脾臓、骨髄、下垂体、副腎、肺、胃及び精巣に変化が観察された。死亡動物の多くは、肝臓と心臓の病変が重度から中等度を示し、肝臓と心臓の傷害が死因になったと推定された。

生存動物では、一般状態の観察で投与期間の 1 週目に瘦削や立毛が少数例にみられた。また、投与濃度に対応した体重増加の抑制が 200 ppm 以上の群の雄で認められた。

血液学的検査では、貧血の傾向が全投与群の雄と 300 ppm 以上の群の雌でみられ、血小板数の増加が 300 ppm 以上の群の雄と 400 ppm 群の雌でみられた。

血液生化学的検査では、A/G 比とリン脂質の増加が 300 ppm 以上の群の雌雄で、総ビリルビン、GOT、GPT、LDH の増加が 400 ppm 群の雌雄でみられた。また、ALP の増加が 300 ppm 以上の群の雄で、カリウムの増加が 400 ppm 群の雄で、総コレステロールの増加が 300 ppm 以上の群の雌で、トリグリセライドの増加が 400 ppm 群の雌で、クロールの減少が 400 ppm 群の雌でみられた。尿検査では、ケトン体の陽性例の増加が 300 ppm 以上の群の雌でみられた。

剖検観察では、前胃の肥厚が 300 ppm 以上の群の雌雄にみられ、臓器重量では、肝臓の重量増加が 300 ppm 以上の群の雌雄で、脾臓の重量増加が 400 ppm 群の雌雄で、腎臓の重量増加が 400 ppm 群の雄で認められた。病理組織学的検査では、肝臓、心臓、脾臓、骨髄、鼻腔及び胃に暴露による影響が 300 ppm 以上の群の雌雄で認められたが、200 ppm 群では雌雄の少数例の胃に変化がみられただけで、100 ppm 以下の群では変化は認められなかった。

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 13 週間吸入暴露による最小毒性量 (LOAEL) は、血液系への影響をエンドポイントとして 50 ppm であると考えられた。また、吸入による 2 年間のがん原性試験の最大耐量を 200 ppm と推定し、がん原性試験の投与濃度は、200 ppm を最高濃度とし、以下 80 ppm、32 ppm (公比 2.5) と決定した。

### 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。

##### <雄>

400 ppm 群で投与期間の 1 週目に 6 匹、300 ppm 群で投与期間の 1 週目と 2 週目に各 1 匹、計 2 匹死亡した。他の群には死亡はみられなかった。

##### <雌>

400 ppm 群で投与期間の 11 週目に 1 匹が死亡した。他の群には死亡はみられなかった。

#### Ⅲ-2 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A1, A2 に示した。

##### <雄>

死亡動物では、ほとんどの動物で一般状態の変化を確認できなかったが、瘦削と立毛が投与期間の 2 週目に死亡した 300 ppm 群の 1 匹にみられた。

生存動物では、投与期間の 1 週目に瘦削と立毛が 200 ppm 群で 1 匹にみられたが、投与期間の 2 週目以降は、被験物質の暴露の影響と思われる変化はみられなかった。

##### <雌>

死亡動物では、一般状態の変化を確認できなかった。

生存動物では、投与期間の 1 週目に瘦削が 300 ppm 以上の群で各 2 匹に、立毛が 400 ppm 群で 2 匹にみられたが、投与期間の 2 週目以降は、被験物質の暴露の影響と思われる変化はみられなかった。

#### 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。

##### <雄>

200 ppm 以上の群で、投与濃度に対応した体重増加の抑制が認められた。

なお、死亡動物の体重は、死亡発見時まで減少した。

##### <雌>

各投与群の体重に変化はみられなかった。



### Ⅲ-4 摂餌量

摂餌量（1日1匹あたり）を TABLE 3, 4 及び APPENDIX C1, C2 に示した。

<雄>

投与期間の1週目に200 ppm以上の群で摂餌量が低値であった。しかし、投与期間の2週目以降は各投与群とも対照群と同様な値であった。

<雌>

投与期間の1週目に300 ppm以上の群で摂餌量が低値であった。しかし、投与期間の2週目以降は各投与群とも対照群と同様な値であった。

### Ⅲ-5 尿検査

検査の結果を TABLE 5 及び APPENDIX D1, D2 に示した。

<雄>

被験物質の暴露の影響と思われる変化はみられなかった。

<雌>

ケトン体の陽性例の増加が300 ppm以上の群でみられた。

その他、蛋白の変化が300 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。

### Ⅲ-6 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE 6, 7 及び APPENDIX E1, E2 に示した。

<雄>

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の減少が全投与群でみられ、全投与群で貧血の傾向が認められた。これら赤血球数等の変化により、MCV、MCH、MCHCの値が変化した。また、血小板数の増加が300 ppm以上の群でみられた。さらに、分葉核好中球比の増加とリンパ球比の減少が400 ppm群でみられた。

<雌>

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の減少が300 ppm以上の群でみられ、300 ppm以上の群で貧血の傾向が認められた。これら赤血球数等の変化により、MCV、MCH、MCHCの値が変化した。また、血小板数の増加が400 ppm群でみられた。

### Ⅲ-7 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE 8, 9 及び APPENDIX F1, F2 に示した。

<雄>

A/G 比とリン脂質の増加が 300 ppm 以上の群で、総ビリルビンの増加が 400 ppm 群でみられた。酵素系では、ALP の増加が 300 ppm 以上の群でみられた。また、GOT、GPT、LDH の増加が 400 ppm 群でみられた。なお、CPK に高値を示した動物が 400 ppm 群で 1 匹みられた。電解質では、カリウムの増加が 400 ppm 群でみられた。

その他、総蛋白、グルコース、トリグリセライド、リン脂質 (100 ppm 群)、カルシウム、無機リンで変化がみられたが、いずれも投与濃度に対応した変化ではなかった。

<雌>

A/G 比、総コレステロール、リン脂質の増加が 300 ppm 以上の群で、総ビリルビン、トリグリセライドの増加が 400 ppm 群でみられた。酵素系では、GOT、GPT、LDH の増加が 400 ppm 群でみられた。特に、同群ではこの 3 項目に極めて高い値を示した動物が 1 匹みられた。また、CPK に高値を示した動物が 400 ppm 群で 4 匹みられた。電解質では、クロールの減少が 400 ppm 群でみられた。

その他、尿素窒素の変化が 300 ppm 以上の群でみられたが、低下性の変化であり、毒性学的意義は不明であった。

### Ⅲ-8 病理学的検査

#### Ⅲ-8-1 剖検

剖検所見を APPENDIX G1~G4 に示した。

<雄>

400 ppm 群の死亡動物 (6 匹) は、肝臓に色調の淡色化が 5 匹に、小葉構造の明瞭化が 4 匹に、胸腺の萎縮が 1 匹にみられた。

300 ppm 群の死亡動物 (2 匹) には、肝臓の色調の淡色化及び小葉構造の明瞭化、胸腺の萎縮が 1 匹にみられた。

生存動物では、400 ppm 群 (4 匹) で前胃の肥厚が全動物にみられ、300 ppm 群 (8 匹) では前胃の肥厚が 2 匹に、肝臓の黒色斑が 1 匹にみられた。200 ppm 以下の群には被験物質の影響と思われる所見は認められなかった。

<雌>

400 ppm 群の死亡動物 (1 匹) は、肝臓に白色斑がみられた。

生存動物では、400 ppm 群 (9 匹) で前胃の肥厚が全動物に、肝臓の白色斑が 1 匹にみられた。300 ppm 群では前胃の肥厚が 2 匹にみられた。200 ppm 以下の群には被験物質の影

響と思われる所見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 TABLE 10, 11 及び APPENDIX H1, H2 (実重量)、APPENDIX I1, I2 (体重比) に示した。

<雄>

肝臓の実重量と体重比の高値が 300 ppm 以上の群で、腎臓と脾臓の実重量と体重比の高値が 400 ppm 群でみられ、300 ppm 以上の群の肝臓及び 400 ppm 群の腎臓と脾臓の重量増加が認められた。

また、腎臓の体重比の高値が 100 ppm 群から 300 ppm 群までにみられたが、それらの実重量は対照群と同程度であり、これらの変化が解剖時体重の低値によるものか、被験物質の直接的な影響かは不明であった。その他、精巣、心臓、肺、脳で、それぞれ体重比の高値がみられたが、それらは解剖時体重の低値によると考えられるもの、あるいは投与濃度に対応しない変化であった。

<雌>

肝臓の実重量と体重比の高値が 300 ppm 以上の群で、脾臓の実重量と体重比の高値が 400 ppm 群でみられ、300 ppm 以上の群の肝臓及び 400 ppm 群の脾臓の重量増加が認められた。

その他、肺の体重比の高値が 100 ppm 群でみられたが、投与濃度に対応しない変化であった。また、脳の実重量の低値が 400 ppm 群でみられたが、体重比は対照群と同程度であり、被験物質の直接的な影響かは不明であった。なお、腎臓の実重量または体重比の統計学的有意差が 300 ppm 以上の群でみられたが、変化の程度が少なく、実質的には同群の腎臓に重量変化はないと判断した。

### Ⅲ-8-3 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を TABLE 12～15 及び APPENDIX J1～J4 に示した。

肝臓、心臓、脾臓、骨髄、鼻腔及び胃に被験物質の暴露の影響と考えられる所見が観察された。また、死亡動物には胸腺、リンパ節、下垂体、副腎、肺及び精巣にも所見がみられた。

<雄>

[400 ppm 群]

死亡動物は、肝臓に小葉中心性の空胞変性、脂肪変性、壊死及び鉍質沈着、心臓にすり硝子状変化、リンパ節に核崩壊、胸腺に核崩壊と萎縮、脾臓に萎縮、鼻腔に嗅上皮の剥離と呼吸上皮化生、骨髄、下垂体、副腎及び肺に鬱血、精巣に精原細胞壊死がみられた。

生存動物では、肝臓に小葉中心性の肝細胞の腫脹、空胞変性、鉍質沈着及び壊死がみられた。心臓には、すり硝子状変化が認められた。脾臓にはヘモジデリン沈着、髄外造血の亢進

及び巨核球の増加がみられた。骨髄には造血亢進がみられた。鼻腔には嗅上皮の壊死、萎縮及び呼吸上皮化生がみられた。また、胃には前胃の過形成がみられた。なお、腎臓では近位尿細管の空胞化の発生に減少がみられた。

[300 ppm 群]

死亡動物は、肝臓に小葉中心性の脂肪変性と壊死、心臓にすり硝子状変化、リンパ節と脾臓に萎縮、胸腺に核崩壊と萎縮、鼻腔に嗅上皮の壊死と萎縮、骨髄、下垂体、副腎及び肺に鬱血がみられた。

生存動物では、肝臓に小葉中心性の肝細胞の腫脹がみられた。心臓には、すり硝子状変化が認められた。脾臓には髓外造血の亢進と巨核球の増加がみられた。骨髄には造血亢進がみられた。鼻腔には嗅上皮の壊死、萎縮及び呼吸上皮化生がみられた。また、胃には前胃の過形成がみられた。

[200 ppm 群]

胃に前胃の過形成がみられた。

[100 ppm 群及 50 ppm 群]

被験物質の影響と考えられる変化は認められなかった。

<雌>

[400 ppm 群]

死亡動物は、肝臓に小葉中心性の空胞変性と鉍質沈着、心臓にすり硝子状変化と鉍質沈着、脾臓にヘモジデリン沈着と髓外造血の亢進、骨髄に造血亢進、鼻腔に嗅上皮の壊死と萎縮、肺に鬱血、胃に前胃の過形成と異物性炎症がみられた。

生存動物では、肝臓に小葉中心性の肝細胞の腫脹、鉍質沈着及び壊死がみられた。心臓には、すり硝子状変化と鉍質沈着が認められた。脾臓にはヘモジデリン沈着、髓外造血の亢進及び巨核球の増加がみられた。骨髄には造血亢進がみられた。鼻腔には嗅上皮の壊死、萎縮及び呼吸上皮化生がみられた。また、胃には前胃の過形成と異物性炎症がみられた。

[300 ppm 群]

肝臓に小葉中心性の肝細胞の腫脹がみられた。心臓には、すり硝子状変化が認められた。脾臓には髓外造血の亢進と巨核球の増加がみられた。骨髄には造血亢進がみられた。鼻腔には嗅上皮の壊死、萎縮及び呼吸上皮化生がみられた。また、胃には前胃の過形成がみられた。

[200 ppm 群]

胃に前胃の過形成がみられた。

[100 ppm 群及 50 ppm 群]

被験物質の影響と考えられる変化は認められなかった。

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:BDF<sub>1</sub> 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、1,2 - ジクロロプロパンの投与濃度は、400 ppm、300 ppm、200 ppm、100 ppm 及び 50 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 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、尿検査を行い、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-反応関係

1,2 - ジクロロプロパンの投与の結果、投与期間の 2 週目までに 400 ppm 群の雄 6 匹、300 ppm 群の雄 2 匹が死亡した。また、投与期間の 11 週目に 400 ppm 群の雌 1 匹が死亡した。他の群には死亡はみられなかった。

死亡動物では、ほとんどの動物で一般状態の変化を確認できなかったが、瘦削と立毛が投与期間の 2 週目に死亡した 300 ppm 群の雄にみられた。また、投与期間の 2 週目までに死亡した雄の体重は、死亡発見時まで減少した。

死亡動物の病理学的検査では、400 ppm 群の死亡動物には、剖検で雄に肝臓の色調の淡色化と小葉構造の明瞭化、胸腺の萎縮、雌に肝臓の白色斑が観察された。病理組織学的検査では、肝臓、心臓及び鼻腔の変化が多くの死亡動物にみられた。肝臓には小葉中心性の空胞変性や脂肪変性、壊死、鉍質沈着、心臓にはすり硝子状変化や鉍質沈着が認められた。また、鼻腔の嗅上皮には、雄に剥離と呼吸上皮化生、雌に壊死と萎縮がみられたが、その程度は軽度であった。その他、雄ではリンパ節に核崩壊、胸腺に核崩壊と萎縮、脾臓に萎縮、骨髄、下垂体、副腎及び肺に鬱血、精巣に精原細胞壊死が観察された。雌では脾臓にヘモジデリン沈着と髓外造血の亢進、骨髄に造血亢進、肺に鬱血、胃に前胃の過形成と異物性炎症が観察された。

300 ppm 群の死亡動物には、剖検で肝臓の色調の淡色化や小葉構造の明瞭化、胸腺の萎縮が観察され、病理組織学的検査では、400 ppm 群の死亡動物と同様に、肝臓に小葉中心性の壊死や脂肪変性、心臓にすり硝子状変化、鼻腔の嗅上皮に壊死と萎縮がみられ、また、胸腺に核崩壊と萎縮、リンパ節及び脾臓に萎縮、骨髄、下垂体、副腎及び肺に鬱血が認められた。

投与期間の 1 週目に死亡した 400 ppm 群の雄 6 匹と 300 ppm 群の雄 1 匹は、肝臓と心臓の病変が重度から中等度を示し、肝臓と心臓の傷害が死因になったと推定される。しかし、400 ppm 群の雌 1 匹 (11 週目死亡) と 300 ppm 群の雄 1 匹 (2 週目死亡) については、肝

臓と心臓の傷害の程度が軽度であり、特に 400 ppm 群の雌は他の臓器の変化も軽度なものが多く、これらの動物の死因は特定できなかった。

生存動物では、一般状態の観察で投与期間の 1 週目に瘦削や立毛が 200 ppm 群の雄及び 300 ppm 以上の群の雌にそれぞれ少数例みられたが、投与期間の 2 週目以降は、1,2 - ジクロロプロパンの暴露の影響と思われる変化はみられなかった。また、投与濃度に対応した体重増加の抑制が 200 ppm 以上の群の雄で認められた。

血液学的検査では、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の減少が全投与群の雄と 300 ppm 以上の群の雌でみられ、貧血の傾向が認められた。また、血小板数の増加が 300 ppm 以上の群の雄と 400 ppm 群の雌でみられたが、この変化は貧血に対する反応性変化と考えられる（文献 6）。さらに、分葉核好中球比の増加とリンパ球比の減少が 400 ppm 群の雄でみられた。

血液生化学的検査では、A/G 比とリン脂質の増加が 300 ppm 以上の群の雌雄で、総ビリルビンの増加が 400 ppm 群の雌雄でみられた。また、総コレステロールの増加が 300 ppm 以上の群の雌で、トリグリセライドの増加が 400 ppm 群の雌でみられた。リン脂質、総コレステロール及びトリグリセライドの変化は、1,2 - ジクロロプロパンの脂質代謝への影響を示唆するものと思われる。酵素系では、GOT、GPT、LDH の増加が 400 ppm 群の雌雄でみられた。また、ALP の増加が 300 ppm 以上の群の雄でみられた。なお、CPK に高値を示した動物が 400 ppm 群の数例にみられた。電解質では、カリウムの増加が 400 ppm 群の雄、クロールの減少が 400 ppm 群の雌でみられた。

尿検査では、ケトン体の陽性例の増加が 300 ppm 以上の群の雌でみられた。

剖検観察では、前胃の肥厚が 300 ppm 以上の群の雌雄にみられ、これらの動物では病理組織学的検査で前胃に過形成や異物性炎症がみられた。また、肝臓の白色斑が 400 ppm 群の雌 1 匹に、肝臓の黒色斑が 300 ppm 群の雄 1 匹にみられた。200 ppm 以下の群には 1,2 - ジクロロプロパンの暴露の影響と思われる所見は認められなかった。

臓器重量では、肝臓の重量増加が 300 ppm 以上の群の雌雄で、脾臓の重量増加が 400 ppm 群の雌雄で認められた。また、腎臓の重量増加が 400 ppm 群の雄で認められた。

病理組織学的検査では、400 ppm 群には雌雄とも肝臓、心臓、脾臓、骨髄、鼻腔及び胃に暴露による影響が観察された。肝臓には雌雄とも多くの動物に小葉中心性の肝細胞の腫脹と鉍質沈着がみられ、雄の数例には小葉中心性の空胞変性や壊死も認められた。鉍質沈着はカルシウムの沈着であり、四塩化炭素やガラクトサミンの投与でも肝細胞の壊死に伴ってカルシウムの蓄積が起きることが知られている（文献 7）。400 ppm 群の生存動物では、空胞変性や壊死が認められた動物は少ないものの、多くの動物に鉍質沈着がみられることから、多くの動物で肝臓の傷害性変化が起きていたと考えられる。また、血液生化学的検査でも、肝細胞の傷害を示すパラメータである GOT、GPT あるいは LDH の高値が認められた。一方、小葉中心性の肝細胞の腫脹も雌雄の多くの動物に認められた。小葉中心性の肝細胞の腫脹はチトクローム P-450 等の薬物代謝酵素の誘導に伴って観察される所見である（文献 8）。

心臓にはすり硝子状変化が雌雄に、鉍質沈着が雌に観察され、生存動物にも心臓の傷害が起きていたことが示された。また、血液生化学的検査でも心臓や筋肉の傷害を示すパラメータである CPK（文献 9）に高値を示した動物がみられた。

脾臓には、ヘモジデリン沈着が認められ、破壊された赤血球の脾臓での処理の亢進が起きていることが示唆された。これに対し、脾臓の髄外造血と骨髄の造血には亢進が認められており、貧血に対する修復性の造血反応の亢進が起きていたと推察された。また、脾臓には巨核球の増加が認められた。巨核球は血小板を作る造血細胞であり、巨核球の増加は髄外造血の増加と同様に造血亢進を示唆する所見である。これらの所見から、血液学的検査で示された貧血の傾向は、赤血球造血の抑制ではなく、赤血球の溶血や脆弱化による脾臓での破壊の促進によるものと推察される。また、血小板数の増加は造血の亢進に伴う変化であると考えられる。なお、血液生化学的検査でみられた総ビリルビンの増加も赤血球の溶血や脾臓での破壊の促進に伴う変化と考えられるが、肝臓には 1,2 - ジクロロプロパンの暴露による傷害がみられることから、ビリルビンの排泄の抑制による可能性もある（文献 8）。

鼻腔には、雌雄とも嗅上皮に壊死、萎縮及び呼吸上皮化生が認められ、1,2 - ジクロロプロパンの吸入により嗅上皮に傷害が起きることが示されたが、その程度は軽度であった。

胃には前胃の過形成や異物性炎症がみられた。1,2 - ジクロロプロパンは刺激性を有することが報告されている（文献 10）。また、吸入暴露された化学物質は、鼻腔を含む上部気道の粘液に沈着し、粘液の輸送によって嚥下され、胃に達することにより、吸入暴露によって前胃に過形成等が発生することが報告されている（文献 11）。本試験で観察された前胃の肥厚、過形成、異物性炎症は、この嚥下作用で前胃に輸送された 1,2-ジクロロプロパンによる持続的な刺激によって引き起こされたと考えられる。

300 ppm 群では、雌雄とも肝臓、心臓、脾臓、骨髄、鼻腔及び胃に暴露による影響が観察された。肝臓には小葉中心性の肝細胞の腫脹が多く動物に観察されたが、壊死や鉍質沈着等の傷害性の変化は認められなかった。心臓には、400 ppm 群と同様にすり硝子状変化が雌雄に観察され、この投与濃度でも心臓への影響がみられた。脾臓には、ヘモジデリンの沈着は認められなかったが、髄外造血の亢進と巨核球の増加がみられ、骨髄には造血の亢進が観察された。この群でも貧血傾向が認められることから、脾臓でのヘモジデリンの沈着は認められないものの、赤血球に対する影響はこの投与濃度でもあり、貧血に対する修復性の造血反応の亢進が起きていたと考えられる。また、400 ppm 群と同様に鼻腔の嗅上皮に壊死、萎縮及び呼吸上皮化生、胃には前胃の過形成が認められた。

200 ppm 群では、雌雄の各 1 匹に前胃の過形成がみられただけであった。100 ppm 以下の群では病理組織学的検査に 1,2 - ジクロロプロパンの暴露による影響は認められなかった。

## (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マウスへの 13 週間吸入暴露により、最低投与群の 50 ppm 群を含む全投与群の雄に貧血の傾向が認められた。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 13 週間吸入暴露による最小毒性量 (LOAEL) は、血液系への影響をエンドポイントとして 50 ppm であると考えられた。

### (3) 他文献との比較

Nitschke らは、B6C3F<sub>1</sub> マウスに 150、50、15 ppm の濃度の 1,2 - ジクロロプロパンを、6 時間/1 日、5 日間/週で 13 週間、暴露し、一般状態の観察、体重測定、血液及び血液生化学的検査、尿検査、病理組織学的検査を実施した (文献 12)。その結果、すべての検査項目で著変はなく、1,2 - ジクロロプロパンの暴露による影響は認められなかった。

本試験では、100 ppm 以下の群では動物の死亡はみられず、一般状態、体重値、摂餌量、血液生化学的検査、尿検査、病理学的検査には変化はみられなかったが、血液学的検査では貧血の傾向が 100 ppm と 50 ppm 群の雄に認められた。

### (4) がん原性試験の濃度決定

本試験の結果より、がん原性試験の投与濃度を以下のように設定した。

本試験では 300 ppm 以上の群で動物の死亡がみられた。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察した。また、50 ppm 群の雄で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、がん原性試験は最高濃度を 200 ppm とし、以下 80 ppm、32 ppm (公比 2.5) と決定した。



## V 文献

1. U.S. National Library of Medicine, Specialized Information Services 2002. 1,2-Dichloropropane, Chemical/Physical Properties. Hazardous Substances Data Bank(HSDB). Available: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/f?./temp/BAA1Qaifr:1:cpp>[accessed 8 January 2003].
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. 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 2 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.
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 : 7285-7302.
6. 宮地勇人. 2002. 血液細胞アトラス-2, 写真と検査データでみる血液細胞の実践的読み方 (東海大学医学部附属病院臨床検査科血液検査室 編). 東京 : 東海大学出版会, 13-14.
7. Plaa GL, Hewitt WR. 1989. Detection and evaluation of chemically induced liver injury. In: Principles and Methods of Toxicology, 2nd ed (Hayes AW, ed). New York, NY : Raven Press, 599-628.
8. Popp JA, Cattley RC. 1991. Hepatobiliary system. In: Handbook of Toxicologic Pathology (Haschek WM, Rousseaux CG, eds). San Diego, CA : Academic Press, 279-314.
9. Suber RL. 1989. Clinical pathology for toxicologists. In: Principles and Methods of Toxicology, 2nd ed (Hayes AW, ed). New York, NY : Raven Press, 485-519.

10. Torkelson TR, Rowe VK. 1981. Halogenated aliphatic hydrocarbons containing chlorine, bromine and iodine. In: Patty's Industrial Hygiene and Toxicology. 3rd revised ed (Clayton GD, Clayton FE, eds) . Vol 2B. New York, NY : John Wiley and Sons, 3529-3532.
11. Katagiri,T, Takeuchi T, Mine T, Noguchi T, Nishizawa T, Yamamoto S, et al. 2000. Chronic inhalation toxicity and carcinogenicity studies of 3-chloro-2-methylpropene in BDF1 mice. Industr Health 38: 309-318.
12. U.S. EPA. 2003. 1,2-Dichloropropane (CASRN 78-87-5). Integrated Risk Information System. Available: <http://www.epa.gov/iris/subst/0601.htm> [accessed 8 January 2003].