

1,2-ジクロロプロパンのラットを用いた
吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：0457

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ラット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ラットに 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ラットを用いた
吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：0457

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	7
II-2-1 各群の使用動物数	7
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	9
II-3-3	摂餌量測定	9
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	10
(1)	剖検	10
(2)	臓器重量	10
(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	11
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	18
IV	考察及びまとめ	19
IV-1	生存率、一般状態、体重、摂餌量	19
IV-2	腫瘍性及び腫瘍関連病変	19
IV-3	非腫瘍性病変	20
IV-4	量-反応関係	20

IV-5 他文献との比較等	20
V 結論	22
VI 文献	23

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 F344/DuCr1Cr1j (旧 F344/DuCrj) ラット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 80、200 及び 500 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、動物の生存率には、雌雄とも 1,2-ジクロロプロパンの影響はみられなかった。体重は、雄の投与群では軽度ではあるが、投与濃度に対応して対照群より低値であり、500 ppm 群の最終体重は対照群の 89%であった。雌では、200 ppm 群は投与 22 週まで、500 ppm 群は 22 週まで及び 78 週以降、対照群に比べやや低値であり、500 ppm 群の最終体重は対照群の 92%であった。

腫瘍性病変として、雌雄とも鼻腔に腫瘍の発生増加が認められた。

雌雄とも扁平上皮乳頭腫の発生増加が認められ、これに加えて、雄では腺腫と腺表皮腫の発生もみられた。鼻腔腫瘍が発生した濃度は、雄は 200 ppm 以上、雌は 500 ppm であった。

また、鼻腔の呼吸上皮 (炎症、扁平上皮化生、扁平上皮過形成、移行上皮過形成、杯細胞増生)、嗅上皮 (萎縮、呼吸上皮化生、固有層の硬化)、粘膜下腺 (過形成) 及び甲介 (癒着) に投与による病変の発生がみられた。

以上のように、F344/DuCr1Cr1j ラットを用いて、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。

雌雄に鼻腔腫瘍 (扁平上皮乳頭腫、腺腫、腺表皮腫) の発生増加が認められ、雌雄ラット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 (ラット 雄)

	投与濃度 (ppm)		0	80	200	500	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
	検査動物数		50	50	50	50		
良性 腫瘍	鼻腔	扁平上皮乳頭腫	0	0	2	14 **	↑↑	↑↑
		腺腫	0	0	1	1		
		腺表皮腫	0	0	0	1		
	鼻腔	扁平上皮乳頭腫+腺腫 +腺表皮腫	0	0	3	15 **	↑↑	↑↑

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 (ラット 雌)

	投与濃度 (ppm)		0	80	200	500	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
	検査動物数		50	50	50	50		
良性 腫瘍	鼻腔	扁平上皮乳頭腫	0	0	0	9 **	↑↑	↑↑

** : $p \leq 0.01$ で有意 (Fisher 検定)

↑↑ : $p \leq 0.01$ で有意増加 (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

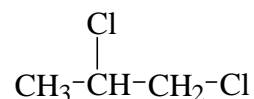
名 称： 1,2-ジクロロプロパン (1,2-Dichloropropane)

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℃

蒸 気 圧： 53.3mmHg (25℃)

比 重： 1.159 (25℃)

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： LDL5937 (2002/10/2~2002/10/21)

WAH4634 (2002/10/22~2003/5/12)

PKP5800 (2003/5/13~2004/3/2)

CER5780 (2004/3/3~2004/7/13)

CEM1032 (2004/7/14~2004/9/28)

製 造 元： 和光純薬工業(株)
グ レ ー ド： 和光特級
純 度： 99.5～99.7%（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 F344/DuCrIj (旧 F344/DuCrj) ラット (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：113～132g、雌：91～103g）を選別し、試験に用いた。

なお、F344/DuCrIj ラット (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、80、200及び500 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0435）の結果（文献6）をもとに決定した。13週間試験は125、250、500、1000及び2000 ppmの濃度で行った。その結果、2000 ppm群で雌が1匹死亡した。1000 ppm以下の群では死亡がみられなかったが、500 ppm以上の群の雄及び1000 ppm以上の群の雌で体重増加の抑制がみられ、500 ppm以上の群の雌雄で貧血の傾向がみられた。病理組織学的検査では、1000 ppm以上の群で肝臓、副腎、500 ppm以上の群で骨髄、250 ppm以上の群で脾臓、全投与群で鼻腔に変化がみられた。これらの結果より、1000 ppm群は雄の体重増加の抑制（最終体重：対照群の84%）が大き

く、がん原性試験の最高濃度としては高すぎると思われた。500 ppm 群では体重増加の抑制（雄）及び貧血傾向がみられ、鼻腔、脾臓、骨髄に病理組織学的変化がみられたが、雄の体重増加の抑制（最終体重：対照群の 92%）及び貧血は軽度であり、鼻腔と脾臓等の所見自体は直接、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、500 ppm が 2 年間のがん原性試験における最大耐量であると考えた。がん原性試験の最低濃度は、125 ppm 群においても鼻腔の変化が認められることから、125 ppm 未満で現在の許容濃度 75 ppm（ACGIH-TLV,TWA）を考慮した濃度設定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 500 ppm とし、以下 200 ppm、80 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-14A）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（ $(\text{平均値} - \text{設定濃度}) / \text{設定濃度} \times 100$ ）が 0.3 %以内、変動係数（標準偏差 / 平均値 $\times 100$ ）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)
80 ppm 群	50 匹 (1101~1150)	50 匹 (2101~2150)
200 ppm 群	50 匹 (1201~1250)	50 匹 (2201~2250)
500 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 (504 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 (504 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 ; $22.8 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 、518 室 ; $22.9 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ >
 吸入試験室 ; $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ < 504 室 ; $21.6 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ >
 吸入チャンバー内 ; $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$

湿度 : 検疫室 ; 55±15% < 517 室 ; 51±1%、518 室 ; 49±1% >
 吸入チャンバー内 ; 55±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±1 回/時
 圧力 : 吸入チャンバー内 ; 0~-15×10Pa
 ケージへの動物の収容方法 : 検疫期間 ; 群飼 (5 匹)、馴化・投与期間 ; 単飼
 ケージの材質・形状・寸法等 :
 検疫期間 ; ステンレス製群飼網ケージ (340(W)×294(D)×176(H) mm/5 匹)
 馴化期間 ; ステンレス製 6 連網ケージ (125(W)×216(D)×176(H) mm/匹)
 投与期間 ; ステンレス製 5 連網ケージ (150(W)×216(D)×176(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- 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、定期解剖前日の夕方からは飼料を摂取させなかった。

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使用ロットごとに入手し、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、 γ -GTP、CK、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 尿検査

投与 103 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（マルティステイックス、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、ビリルビン、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、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）、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、整数値の 1 の位まで測定し、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、 χ^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 χ^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、確かでない腫瘍
- 3：多分 4 だと思うが、確かでない腫瘍
- 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：40 匹（80%）、80 ppm 群：39 匹（78%）、200 ppm 群：41 匹（82%）、500 ppm 群：36 匹（72%）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：37 匹（74%）、80 ppm 群：41 匹（82%）、200 ppm 群：38 匹（76%）、500 ppm 群：32 匹（64%）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。

—雄—

外部腫瘍が投与群にやや多く（対照群 2 匹、80 ppm 群 10 匹、200 ppm 群 10 匹、500 ppm 群 8 匹）みられた。

—雌—

外部腫瘍が 500 ppm 群にやや多く（対照群 4 匹、80 ppm 群 7 匹、200 ppm 群 6 匹、500 ppm 群 10 匹）みられた。

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—

投与群の体重は、対照群に対し、80 ppm 群：94～98%、200 ppm 群：92～95%、500 ppm 群：88～94%で推移し、軽度ではあるが投与濃度に対応して対照群より低値であった。

最終計測日（104 週）の各投与群の体重は、対照群に対して 80 ppm 群：97%、200 ppm 群：93%、500 ppm 群：89%であった。

—雌—

200 ppm 群は投与 22 週まで、500 ppm 群は 22 週まで及び 78 週以降、対照群に比べやや低値であった。

最終計測日（104 週）の各投与群の体重は、対照群に対して 80 ppm 群：94%、200 ppm

群：100%、500 ppm 群：92%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。

—雄—

80 ppm 群は投与 3 週まで、200 ppm 群と 500 ppm 群は 26 週まで、対照群に比べやや低値であった。

—雌—

各投与群とも、投与開始週は低値であったが、2 週以降は被験物質の影響と思われる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—

白血球数の減少が 500 ppm 群でみられた。

—雌—

赤血球数、MCHC の減少、MCV の増加が 500 ppm 群でみられた。また好酸球比の減少が 200 ppm 以上の群でみられた。

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—

カリウムの増加が 500 ppm 群でみられた。

—雌—

γ -GTP の増加が 500 ppm 群でみられた。

その他、尿素窒素の増加が 80 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-7 尿検査

尿検査の結果を APPENDIX H 1, 2 に示した。

—雌雄—

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—

皮下の腫瘍の発生が増加した。皮下腫瘍は、対照群が3匹であったのに対し80 ppm 群で6匹、200 ppm 群で9匹、500 ppm 群で6匹にみられた。

—雌—

皮下の腫瘍の発生が増加した。皮下腫瘍は、対照群が3匹であったのに対し80 ppm 群で9匹、200 ppm 群で5匹、500 ppm 群で12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 10, 11 と APPENDIX J 1, 2、APPENDIX K 1, 2 に示した。

—雄—

精巣の実重量と体重比の高値が500 ppm 群でみられた。また、腎臓の体重比の高値が全投与群でみられた。

その他、脾臓、肝臓、脳の実重量の低値、脳の体重比の高値が200 ppm 以上の群で、また、肺の実重量の低値、心臓、肺の体重比の高値が500 ppm 群でみられたが、これらの変化は200 ppm 以上の群の搬出時体重の低値によるものと思われる。

—雌—

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

なお、脳の実重量の低値が全投与群でみられたが、体重比には各投与群とも有意な変化はみられず、被験物質の影響が不明であった。また、500 ppm 群では副腎、卵巣、心臓、肺、腎臓、肝臓の体重比の高値がみられたが、これらの変化は同群の搬出時体重の低値によるものと思われる。

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

<鼻腔>

扁平上皮乳頭腫の発生増加がみられた。また、少数例ではあるが腺腫と腺表皮腫の発生もみられた。

扁平上皮乳頭腫の発生は、Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 500 ppm 群（14 匹、28%）に増加がみられ、また、200 ppm 群でも 2 匹（4%）の発生があった。この腫瘍は当センターのヒストリカルコントロールデータではこれまで観察されていない稀な腫瘍である。従って、扁平上皮乳頭腫の 200 ppm 群と 500 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。扁平上皮乳頭腫は、鼻腔前方の呼吸上皮領域及び鼻腔後方の嗅上皮領域の主に背側に発生し、角化に乏しい扁平上皮様の腫瘍組織が鼻腔の内腔側あるいは粘膜下に増生する像を呈していた。また、200 ppm 群の 2 匹と 500 ppm 群の 7 匹は腫瘍組織内に腺様組織を伴っていた。

腺腫は 200 ppm 群と 500 ppm 群の各 1 匹（2%）、腺表皮腫は 500 ppm 群の 1 匹（2%）に発生がみられた。当センターのヒストリカルコントロールデータでは、腺腫の平均発生率は 0.1%（最小 0%～最大 2%）、腺表皮腫はこれまで観察されていない腫瘍であり、両腫瘍とも発生の稀な腫瘍である。従って、腺腫と腺表皮腫の発生も被験物質の暴露によるものと考えられた。腺腫は扁平上皮乳頭腫と同様に鼻腔前方の呼吸上皮領域と鼻腔後方の嗅上皮領域の背側に発生し、腫瘍組織は大小の管腔を形成する腺組織からなっていた。腺表皮腫は腺組織と重層扁平上皮の増生がみられる腫瘍であった。これらの組織像から、本試験でみられた扁平上皮乳頭腫、腺腫及び腺表皮腫は一連の腫瘍であると考えられた。扁平上皮乳頭腫、腺腫及び腺表皮腫を合わせた発生は、Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 500 ppm 群に増加がみられた。

この他、統計的有意差を示さなかったが、鼻腔神経上皮腫が 80 ppm 群に 2 匹（4%）、200 ppm 群に 1 匹（2%）発生した。この腫瘍は、当センターのヒストリカルコントロールデータではこれまで観察されていない稀な腫瘍である。しかし、高濃度群に発生がみられず、用量—反応関係が認められないことから、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かった。

<皮下>

線維腫の発生は、Peto 検定（死亡率法）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、有意な発生増加は中間濃度群のみであり、また、その発生（200 ppm 群：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内（最小

2%～最大 20%、平均発生率 7.7%) であることから、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はなかった。

<甲状腺>

濾胞状腺腫の発生は、Peto 検定（有病率法）で増加傾向を示した。また、濾胞状腺腫と濾胞状腺癌を合わせた発生は、Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。500 ppm 群における濾胞状腺腫の発生（3 匹、6%）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 4%、平均発生率 0.8%）を超えていた。しかし、濾胞状腺腫と濾胞状腺癌を合わせた発生（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 2.6%）であったことから、濾胞状腺腫の発生増加と被験物質の暴露との関連は明らかではなかった。

その他、脾臓の脾島細胞腫の発生は、Fisher 検定で 200 ppm 群に減少がみられたが、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考えた。

2) 非腫瘍性病変

<鼻腔>

呼吸上皮、嗅上皮及び粘膜下腺に病変の発生が観察された。

呼吸上皮には、炎症、扁平上皮化生、移行上皮過形成及び杯細胞増生の発生増加が全投与群で認められた。また、扁平上皮過形成の発生増加が 200 ppm 以上の群で認められた。呼吸上皮の炎症は好中球を主体とした炎症性細胞浸潤であり、呼吸上皮とその下層の粘膜固有層にかけて観察された。扁平上皮化生は呼吸上皮が扁平上皮に置き換わった変化であり、さらに、扁平上皮化生した上皮の厚さが 5 層以上のものを扁平上皮過形成と診断した。また移行上皮の過形成は上皮細胞の数の増加により厚さが増した所見であり、この所見は扁平上皮から呼吸上皮に移行する移行部の上皮に認められた。

嗅上皮には、萎縮と呼吸上皮化生の発生増加が全投与群で認められ、固有層の硬化が 200 ppm 以上の群で認められた。嗅上皮の萎縮は嗅細胞の数の減少により上皮の厚さが減少する変化であった。呼吸上皮化生は嗅上皮が呼吸上皮に置き換わる変化であり、萎縮の程度が強い部分に観察された。

粘膜下に存在する腺の過形成が全投与群で認められた。腺の過形成は、管腔を形成する腺組織の増生であり、呼吸上皮下と嗅上皮下の腺組織のいずれにも観察された。また、少数例であるが、甲介の癒着が 200 ppm 以上の群にみられ、発生部位は嗅上皮の分布する篩骨甲介であった。

その他、嗅上皮と呼吸上皮のエオジン好性変化は全投与群で減少が認められた。

その他の臓器では、肝臓の胆管増生が 500 ppm 群で有意な減少を示した。

—雌—

1) 腫瘍性病変

<鼻腔>

扁平上皮乳頭腫の発生増加がみられた。

扁平上皮乳頭腫の発生は、Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 500 ppm 群に増加がみられた。この腫瘍は当センターのヒストリカルコントロールデータではこれまで観察されていない稀な腫瘍である。従って、扁平上皮乳頭腫の 500 ppm 群における発生（9 匹、18%）は被験物質の暴露によるものと考えられた。扁平上皮乳頭腫の組織像は雄と同様であり、5 匹は腫瘍組織内に腺様組織を伴っていた。

<乳腺>

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、腺腫と線維腺腫を合わせた発生は、Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。しかし、500 ppm 群における腺腫の発生（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 20%、平均発生率 11.2%）であり、腺腫と線維腺腫を合計した発生（9 匹、18%）もヒストリカルコントロールデータの範囲内（最小 4%～最大 24%、平均発生率 14.1%）であったことから、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かった。

その他、子宮の子宮内膜間質性ポリープの発生が 200 ppm 群と 500 ppm 群、脾臓の単核球性白血病の発生が 500 ppm 群で有意に減少した。

2) 非腫瘍性病変

<鼻腔>

呼吸上皮、嗅上皮及び粘膜下腺に病変の発生が観察された。

呼吸上皮には炎症、扁平上皮化生及び移行上皮過形成の発生増加が全投与群、杯細胞増生が 200 ppm 以上の群で認められた。また、扁平上皮過形成の発生増加が 500 ppm 群で認められた。

嗅上皮には萎縮、呼吸上皮化生及び固有層の硬化が全投与群で認められた。

嗅上皮と呼吸上皮の粘膜下に存在する腺の過形成が全投与群で認められた。

また、少数例であるが、甲介の癒着が 200 ppm 以上の群にみられた。

その他、嗅上皮と呼吸上皮のエオジン好性変化は全投与群で減少が認められた。

なお、肝臓の肉芽形成と膵臓の萎縮の発生が投与群と対照群の間に有意差を示したが、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。

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、500 ppm 群の 2 匹が鼻腔病変により死亡した。

雌では、特定の死因による死亡の増加はなかった。

IV 考察及びまとめ

1,2-ジクロロプロパンのラットを用いた 2 年間の全身暴露による吸入試験（投与濃度：80、200 及び 500 ppm）によって、腫瘍性病変、腫瘍関連病変及び非腫瘍性病変が認められた。

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。

一般状態の観察では、雌雄とも外部腫瘍が投与群にやや多くみられた。

体重は、雄の投与群では軽度ではあるが、投与濃度に対応して対照群より低値であり、500 ppm 群の最終体重は対照群の 89%であった。雌の体重は、200 ppm 群では投与 22 週まで、500 ppm 群では 22 週まで及び 78 週以降、対照群に比べやや低値であり、500 ppm 群の最終体重は対照群の 92%であった。

摂餌量は、雄では 80 ppm 群は投与 3 週まで、200 ppm 群と 500 ppm 群は 26 週まで、対照群に比べやや低値であった。雌では各投与群とも投与開始週は低値であったが、2 週以降は被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

IV-2 腫瘍性及び腫瘍関連病変

雌雄とも鼻腔に腫瘍の発生増加が認められ、それに関連した病変が認められた。

雌雄とも扁平上皮乳頭腫の発生増加が認められ、これに加えて、雄では腺腫と腺表皮腫の発生もみられた。これらの鼻腔腫瘍は上皮由来の良性腫瘍である。従って、これらの鼻腔腫瘍（扁平上皮乳頭腫、腺腫及び腺表皮腫）の発生増加は雌雄ラットに対するがん原性を示す証拠であると考えられた。鼻腔腫瘍が発生した濃度は、雄では 200 ppm 以上、雌では 500 ppm であった。

鼻腔腫瘍の発生した部位は、呼吸上皮の分布する領域と嗅上皮の分布する領域であり、これらの部位に腫瘍を構成する組織に類似した組織の増生がみられた。すなわち、移行上皮の過形成は、扁平上皮乳頭腫を構成する腫瘍組織と類似した組織の増生であった。また、腺の過形成は、呼吸上皮と嗅上皮の粘膜下における管腔を形成する腺組織の増生であり、腺腫を構成する腫瘍組織と類似した組織の増生であった。従って、これらの鼻腔病変は鼻腔腫瘍の前段階の変化と推察され、それぞれ扁平上皮乳頭腫と腺腫に移行する可能性がある変化と考えた。

IV-3 非腫瘍性病変

腫瘍及び腫瘍に関連した病変以外の変化が雌雄とも鼻腔の呼吸上皮と嗅上皮にみられた。

呼吸上皮には、雄では、炎症、扁平上皮化生及び杯細胞増生が 80 ppm 以上、扁平上皮過形成が 200 ppm 以上の濃度で増加した。雌では、炎症と扁平上皮化生が 80 ppm 以上、杯細胞増生が 200 ppm 以上、扁平上皮過形成が 500 ppm の濃度で増加した。また、嗅上皮には、雄では、萎縮と呼吸上皮化生が 80 ppm 以上、固有層の硬化が 200 ppm 以上の濃度で増加した。雌では、萎縮、呼吸上皮化生及び固有層の硬化が 80 ppm 以上の濃度で増加した。その他、甲介の癒着が雌雄とも 200 ppm 以上の濃度でみられた。呼吸上皮と嗅上皮にみられたこれらの病変は鼻腔上皮の傷害及び傷害に対する修復性的変化であり（文献 9）、腫瘍の発生がみられる濃度より低濃度の暴露でも鼻腔への影響があることを示している。

本試験に先立ち実施した 13 週間試験でも鼻腔への影響は認められており、嗅上皮の萎縮が最低濃度の 125 ppm 以上、嗅上皮の呼吸上皮化生が 250 ppm 以上の群で発生していた（文献 6）。本試験では鼻腔の嗅上皮への影響は最低濃度である 80 ppm までみられており、13 週間試験よりも低濃度で鼻腔への影響があることが示された。

IV-4 量-反応関係

腫瘍の発生増加は、雌雄とも鼻腔にみられた。鼻腔腫瘍の発生がみられた濃度は、雄では 200 ppm 以上（扁平上皮乳頭腫、腺腫）、雌では 500 ppm（扁平上皮乳頭腫）であった。

腫瘍以外の影響も雌雄とも鼻腔にみられた。これらの影響が認められた濃度は、雌雄とも 80 ppm 以上（雄：呼吸上皮の炎症、扁平上皮化生、移行上皮過形成及び杯細胞増生、嗅上皮の萎縮と呼吸上皮化生、粘膜下腺の過形成、雌：呼吸上皮の炎症、扁平上皮化生及び移行上皮過形成、嗅上皮の萎縮、呼吸上皮化生及び固有層の硬化、粘膜下腺の過形成）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 10）。

F344/N ラット（雌雄、各群 50 匹）に、1,2-ジクロロプロパンを雄は 0、62、125 mg/kg・bw、雌は 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、雄では投与群に腫瘍の発生増加はみられなかった。雌では 250 mg/kg 群で乳腺の腺癌のわずかな増加（対照群：1/50、125 mg/kg 群：2/50、250 mg/kg 群：5/50）がみられたが、同群の生存率が低く、体重増加が抑制されたために、equivocal evidence と結論付けられた。

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 11)。

③ 代謝：1,2-ジクロロプロパンはヒト CYP2E1 により酸化的に活性化され、グルタチオン抱合体として検出されたと報告されている (文献 12)。また、¹⁴C でラベルした 1,2-ジクロロプロパンを雌雄の F344 ラットに経口投与あるいは吸入暴露した実験によれば、経口あるいは吸入暴露した後、すぐに吸収、代謝、排泄が生じた。投与ルート及び性に関わらず主な排泄経路は尿 (37~65%) と呼気 (18~40%) であった。尿中の主な代謝物は、*N*-アセチル-*S*-(2-ヒドロキシプロピル)-*L*-システイン、*N*-アセチル-*S*-(2-オキシプロピル)-*L*-システイン、*N*-アセチル-*S*-(1-カルボキシエチル)-*L*-システインであった。呼気中の有機物の大部分 (61~87%) は 1,2-ジクロロプロパンであった (文献 13)。

V 結論

F344/DuCr1Cr1j ラットを用いて、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。

雌雄に鼻腔腫瘍（扁平上皮乳頭腫、腺腫、腺表皮腫）の発生増加が認められ、雌雄ラット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ラット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. 伊東信行編著. 1994. 標的器官の毒性病理 (1) , 呼吸器系 A. 鼻腔. 最新毒性病理学. 東京:中山書店, 85-95.
10. 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.

11. 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.
12. Guengerich FP, Kim DH, Iwasaki M. 1991. Role of human cytochrome P-450 IIE1 in the oxidation of many low molecular weight cancer suspects. *Chem Res Toxicol* 4:168-179.
13. Timchalk C, Dryzga MD, Smith FA, Bartels MJ. 1991. Disposition and metabolism of [¹⁴C]1,2-dichloropropane following oral and inhalation exposure in Fischer 344 rats. *Toxicol* 68: 291-306.