2-ブロモ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：0834

CAS No. 75-26-3

2014 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

目次

標題 …… i

試験目的 …… i

試験法 …… i

動物福祉 …… i

試験委託者 …… i

試験施設及び運営管理者 …… i

試験日程 …… ii

試験関係者一覧 …… ii

試資料の保管 …… iii

試験責任者（最終報告書作成者）の署名、捺印及び日付 …… iii

陳述書 …… iv

本文 …… v

TABLES　A～K 4

FIGURES　1～2

APPENDICES　1-1～3

標題

2-ブロモプロパンのラットを用いた吸入による2週間毒性試験

試験目的

2-ブロモプロパンの吸入によるがん原性試験の投与濃度決定試験（13週間試験）の予備試験として、2-ブロモプロパンをラットに2週間全身暴露（経気道投与）して、その生体影響を検索した。

試験法

本試験はOECD化学品テストガイドライン412（亜急性吸入毒性：28日試験　2009年9月7日採択）を参考にして実施した。

動物福祉

本試験は「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」(平成18年4月28日環境省告示第88号、最終改正平成25年8月30日環境省告示第84号)、「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」(平成18年6月1日厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知)及び「日本バイオアッセイ研究センターにおける動物実験等に関する規程」(平成24年4月25日規程第17号、最終改正平成25年3月28日規程第12号)を遵守した。また、本試験は日本バイオアッセイ研究センターの動物実験委員会で審査された(承認番号0064)。

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
東京都千代田区霞が関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　福島　昭治
神奈川県秦野市平沢2445

2-ブロモ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：0834

本文

本文目次

頁

要約 …… 1

Ⅰ　試験材料 …… 2

Ⅰ－1　被験物質の性状等 …… 2
　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 …… 3
　Ⅰ－3－1　同一性 …… 3
　Ⅰ－3－2　安定性 …… 3
Ⅰ－4　試験動物 …… 3

Ⅱ　試験方法 …… 4

Ⅱ－1　投与 …… 4
　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　投与経路、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　被験物質濃度の測定 …… 5
Ⅱ－2　動物管理 …… 5
　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
　　(1) 飼育環境 …… 6
　　(2) 飼料 …… 7
　　(3) 飲水 …… 7

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 …… 8
Ⅱ－3－5　血液生化学的検査 …… 8
Ⅱ－3－6　病理学的検査 …… 9
(1) 肉眼的観察 …… 9
(2) 臓器重量 …… 9
(3) 臓器の採取保存 …… 9
(4) 病理組織学的検査 …… 9
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 …… 11

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　血液学的検査 …… 12
Ⅲ－6　血液生化学的検査 …… 13
Ⅲ－7　病理学的検査 …… 13
Ⅲ－7－1　肉眼的観察 …… 13
Ⅲ－7－2　臓器重量 …… 13
Ⅲ－7－3　病理組織学的検査 …… 14

Ⅳ　考察及びまとめ …… 16

Ⅳ－1　用量－反応関係 …… 16
Ⅳ－2　13 週間試験の濃度決定 …… 18

Ⅴ　文献 …… 19

Ⅵ　予見することのできなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかったこと …… 20

要約

2-ブロモプロパンのがん原性試験の投与濃度決定試験（13 週間試験）の予備試験として、その生体影響を検索する目的でF344/DuCrlCrlj ラットを用いた吸入による 2 週間の試験を実施した。

本試験は、被験物質投与群 4 群と対照群 1 群の計 5 群の構成で、各群雌雄とも 5 匹とし、合計 50 匹を用いた。被験物質の投与は、2-ブロモプロパンを 1 日 6 時間、1 週 5 日間で 2 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 0（対照群）、300、1000、3000 及び 10000 ppm（v/v）とした。観察、検査として、生死確認、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、解剖時の肉眼的観察、臓器重量の測定及び病理組織学的検査を行った。

2-ブロモプロパンの暴露の結果、投与群に死亡はみられなかったが、一般状態の観察で投与期間の 2 週目に、10000 ppm 群の雌雄に自発運動量減少、失調性歩行、痩削、眼血性及び鼻血性分泌物、円背位、衰弱、不整呼吸、体温低下等がみられ、動物の状態が悪化した。雌の 1 匹は瀕死状態となり切迫屠殺した。3000 ppm 以下の群では変化はみられなかった。

体重は、雌雄ともに 10000 ppm 群で減少、3000 ppm 群で増加抑制が認められ（最終体重は対照群に対し、雄の 10000 ppm 群：48 %、3000 ppm 群：87 %、雌の 10000 ppm 群：55 %、3000 ppm 群：92 %）、摂餌量も雌雄ともに 3000 ppm 以上の群で低値であった。

血液学的検査では、雌雄ともに 3000 ppm 以上の群で血小板数、網赤血球比、白血球数の低値、10000 ppm 群で赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の低値がみられ、血液生化学検査では、10000 ppm 群で雌雄に AST、ALT、尿素窒素が極めて高い動物がみられた。

病理学的検査の肉眼的観察では、雌雄の 3000 ppm 以上の群で胸腺（萎縮）、10000 ppm 群で腺胃（赤色班）、雄の 10000 ppm 群で精巣（赤色、赤色班）、精巣上体（赤色班）、雌の 10000 ppm 群で肝臓（白色班）、脳（赤色班）に所見がみられ、臓器重量では、胸腺の重量低下が雄の 3000 ppm 以上の群と雌の 1000 ppm 以上の群、脾臓の重量低下が雌雄の 3000 ppm 以上の群、副腎の重量増加が雌雄の 10000 ppm 群でみられ、さらに、精巣の重量低下が雄の 1000 ppm 以上の群でみられた。

病理組織学的検査では、10000 ppm 群の雌雄に鼻腔の移行上皮、呼吸上皮及び嗅上皮の再生、嗅上皮の壊死、鼻涙管の扁平上皮過形成、腺胃の出血、肝臓の中心性壊死、雄で精巣の出血及び精原細胞壊死、精巣上体の精子減少と精上皮系細胞の残屑、雌で喉頭及び気管の上皮の再生、肺の鬱血と血管周囲の浮腫、卵巣の萎縮がみられた。これらの変化は、雌では 10000 ppm 群のみであったが、雄では鼻腔の変化が 3000 ppm 群まで、精巣上体の変化は、最低投与群の 300 ppm 群まで認められた。

以上の結果より、13 週間試験の投与濃度は雌雄とも 3000 ppm を最高濃度として、以下、2000、1000、300 及び 100 ppm と決定した。

Ⅰ　試験材料

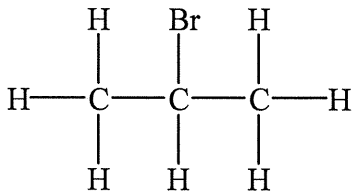
Ⅰ－1　被験物質の性状等

Ⅰ－1－1　名称等

名　　称　：　2-ブロモプロパン（2-Bromopropane）
別　　名　：　臭化イソプロピル
ＣＡＳ　Ｎｏ．　：　75-26-3

Ⅰ－1－2　構造式及び分子量（文献 1、2）

構　造　式　：



分　子　量　：　122.99

Ⅰ－1－3　物理化学的性状等（文献 1、2）

性　　状　：　無色透明な液体
比　　重　：　1.3097（20/4℃）
沸　　点　：　59.4℃
蒸　気　圧　：　236.3 mmHg（25℃）
溶　解　性　：　水に微溶、エタノール、エーテル、ベンゼン、クロロホルムに可溶
保管条件　：　室温、暗所に保管

Ⅰ－2　被験物質の使用ロット等

製　造　元　：　和光純薬工業（株）
規　　格　：　和光一級
純　　度　：　99.7 %（和光純薬工業（株）検査成績データ）
ロット番号　：　KPQ4811

Ⅰ－3　被験物質の特性

Ⅰ－3－1　同一性

被験物質の同一性は、被験物質のマススペクトルを質量分析計（(株) 日立製作所 M-80B）にて測定した。その測定値を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 3）と同じフラグメントピークを示し、被験物質は 2-ブロモプロパンであることを確認した。

それらの結果は APPENDIX 1- 1 に示す。

Ⅰ－3－2　安定性

被験物質の安定性は、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（アジレントテクノロジーズ（株）　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、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 1-2 に示す。

Ⅰ－4　試験動物

動物は、2-ブロモ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）の F344/DuCrlCrlj ラット（SPF）の雌雄を使用した。

雌雄各 28 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 25 匹（群構成時体重範囲、雄：109～122g、雌：91～101 g）を選別し、試験に用いた。

なお、がん原性試験に F344/DuCrlCrlj ラット（SPF）を選択した理由は、遺伝的に安定していること、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、1週5日の暴露で2週間とし、計10回の暴露を行った。
ただし、10000 ppm群（雌雄）は、暴露最終日に状態悪化のため、暴露を行わなかったので、9回の暴露となった。

Ⅱ－1－4　投与濃度

投与濃度は、雌雄ともに300、1000、3000及び10000 ppm（体積比 v/v）の4段階（公比約3）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、がん原性試験の投与濃度を決定する13週間試験の投与濃度を決定するため、週5日の暴露で2週間とした。

投与時間はOECD化学品テストガイドライン412（文献4）に従い1日6時間とした。

投与濃度は、以前に当センターで実施した2-ブロモプロパンのSprague-Dawleyラットを用いた吸入毒性試験とIchihara等のWistarラットを用いた吸入毒性試験（文献5）の結果により決定した。当センターでの急性試験（投与濃度：300、1000、3000、10000及び30000 ppm）の結果、30000 ppmの雌雄全匹（各5匹）が6時間の吸入暴露中に死亡し、10000 ppmの雌で投与翌日に軽度の体重減少がみられたが、以降回復した。Ichihara等は

雄（各 9 匹）を用いて 9 週間連続反復吸入暴露（300、1000、3000 ppm（8 時間 /日））を行い、3000 ppm では 9-10 回暴露で瀕死状態となり暴露を中止した（文献 5）。また、当センターで実施した 2-ブロモプロパンの Sprague-Dawley ラットを用いた 14 日間吸入毒性試験（投与濃度：125、250、500、1000 及び 2000 ppm）の結果、雄の 1000 ppm と 2000 ppm に精巣への影響がみられたが、雌雄の体重等に影響は認められなかった。反復投与毒性／生殖発生毒性併合試験（投与濃度：125、250、500 及び 1000 ppm）では、雄には 250 ppm 以上から精巣への影響が認められ、雌雄の 1000 ppm で白血球数と血小板数の減少がみられた。雌雄の体重に影響は認められなかった（文献 6）。以上から、10 回の暴露を行う本試験の最高濃度は、雌雄ともに 1 回の暴露で体重の減少がみられた 10000 ppm が適切と考え、3000 ppm を次の濃度とした。以下、1000 及び 300 ppm に設定した。

Ⅱ－1－6　被験物質の発生方法と濃度調整

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後、清浄空気（希釈空気）と混合しながら、循環式恒温槽で一定温度に再加熱し、一定濃度にして、一定量を各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（（株）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 TABLE A に示す。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 0.7 %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 4 群及び対照群 1 群の計 5 群を設け、1 群当たり雌雄各 5 匹の動物を用いた。

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	300 ppm群	5匹 (1101～1105)	5匹 (2101～2105)
2	1000 ppm群	5匹 (1201～1205)	5匹 (2201～2205)
3	3000 ppm群	5匹 (1301～1305)	5匹 (2301～2305)
4	10000 ppm群	5匹 (1401～1405)	5匹 (2401～2405)

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い動物から体重の中央値に近い雌雄各25匹を選別し、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）。群分けは、被験物質投与開始日の前日（2014年3月11日）に行った。

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（検疫605室、馴化・投与601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（605室）で、馴化期間及び投与期間中は、吸入試験室（601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。検疫室及び吸入試験室の温度、湿度は実測値（平均値±標準偏差）を＜　＞内に、吸入チャンバー内環境の測定結果はAPPENDIX 2に示す。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±2℃　＜605室；23.2±0.0℃＞
　　吸入試験室；21±2℃　＜601室；21.5±0.2℃＞
　　吸入チャンバー内；20～24℃
湿　　度　：　検疫室；55±15%　＜605室；54±1%＞
　　吸入試験室；55±15%　＜601室；58±1%＞

吸入チャンバー内；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　：　検　疫　室；15～17 回／時

吸入試験室；15～17 回／時

吸入チャンバー内　；12 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　：　個別飼育

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（170(W) ×294(D) ×176(H)　mm/匹）

馴化・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）（千葉工場製造）の CR-LPF 固型（30kGy-γ線照射滅菌飼料）を自由摂取させた。ただし、10000 ppm 群を除く、他の群は定期解剖前日の夕方からは絶食させた。

なお、試験に使用した飼料中の栄養成分と夾雑物については、オリエンタル酵母工業（株）から分析データを使用ロットごとに入手し、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、自動給水ノズルから自由摂取させた。

なお、飲水の水質については、試験施設として 3 ヶ月ごとに実施している水質検査（（財）食品薬品安全センター秦野研究所に依頼）で、建築物衛生法施行規則第 4 条に基づく水質基準に適合していることを確認し、その記録を保管した。

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

一般状態の詳細な観察は、投与期間の 2、4、7、10 及び 14 日目の吸入暴露前（非暴露日は午前中）に、全動物について行った。その他の日は、吸入暴露前（非暴露日は午前中）に 1 回、ケージ越しに生死を観察した。瀕死状態の動物は、速やかに安楽死させた。

Ⅱ－3－2　体重測定

全動物について、投与期間の 2、4、7、10 及び 14 日目の吸入暴露前（非暴露日は午前中）に体重測定を行った。また、定期解剖日には絶食後の体重（搬出時体重）を測定した。
ただし、10000 ppm 群（雌雄）は状態悪化が認められ、さらなる悪化が見込まれるため、暴露最終日（定期解剖日前日）の絶食を行わず体重（搬出時体重）を測定した。
瀕死状態の動物は、飼育室からの搬出時に体重を測定した。

Ⅱ－3－3　摂餌量測定

週 1 回、全動物について、給餌量及び残餌量を測定し、その値から 1 匹の 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、剖検直前にイソフルラン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 3 に示す。
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、網赤血球比、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、剖検直前にイソフルラン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 3 に示す。
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　病理学的検査

(1) 肉眼的観察

全動物について肉眼的に観察を行った。なお、定期解剖動物及び瀕死による切迫屠殺動物はイソフルラン麻酔下で腹大動脈より採血後、放血し安楽死させた。安楽死させた後、速やかに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ている全動物について、下記に示す臓器の湿重量（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：胸腺、副腎、精巣、精巣上体、卵巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳

(3) 臓器の採取保存

全動物について、下記の器官・組織を摘出し、精巣と精巣上体はブアン液で、その他の器官・組織は10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で固定した。

皮膚、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺（左肺に固定液を注入する）、骨髄（大腿骨）、リンパ節（腋窩、鼠径等）、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、腟、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

(4) 病理組織学的検査

全動物について、下記の器官、組織を切り出し、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い、光学顕微鏡により検査した。

なお、鼻腔については切歯の後端（レベル１）、切歯乳頭（レベル2）、第一臼歯の前端（レベル3）の３ヶ所（文献8）で切り出し（横断）、検査した。

鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、肝臓、腎臓、精巣、精巣上体、卵巣、脳

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 3 に示した単位と桁数により表示した。

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。

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

生死状況をTABLE B 1, B 2に示す。

－雄－

動物の死亡はみられなかった。

－雌－

10000 ppm 群の1匹を投与期間最終日の2週の7日目に瀕死状態により切迫屠殺した。

Ⅲ－2　一般状態

一般状態の観察結果をTABLE C 1, C 2に示す。

－雄－

10000 ppm 群で投与期間の2週の3日目に全動物に自発運動量減少、失調性歩行、痩削、眼血性及び鼻血性分泌物がみられ、3匹に流涙が認められた。また、投与期間最終日の2週の7日目に全動物に円背位、衰弱、痩削、眼血性及び鼻血性分泌物、不整呼吸、体温低下がみられ、4匹に流涙、3匹に尿による外陰部周囲の汚染が認められた。

3000 ppm 以下の群では投与期間を通じて、異常所見は認められなかった。

－雌－

10000 ppm 群で投与期間の2週の3日目に全動物に自発運動量減少、失調性歩行、痩削、鼻血性分泌物がみられ、4匹に眼血性分泌物、3匹に尿による外陰部周囲の汚染、1匹に流涙が認められた。また、投与期間最終日の2週の7日目には全動物に円背位、衰弱、痩削、尿による外陰部周囲の汚染、流涙、鼻血性分泌物、不整呼吸、体温低下がみられ、3匹に眼血性分泌物が認められた。同群の1匹は、特に状態が悪く、瀕死状態となったため切迫屠殺した。

3000 ppm 以下の群では投与期間を通じて、異常所見は認められなかった。

Ⅲ－3　体重

体重の推移をTABLE D 1～D 4及びFIGURE 1, 2に示す。

－雄－

10000 ppm 群で体重の減少、3000 ppm 群で増加抑制が認められた。

投与群の最終体重は対照群に対し、300 ppm 群：101 %、1000 ppm 群：98 %、3000 ppm 群：87 %、10000 ppm 群：48 %であった。

－雌－

10000 ppm 群で体重の減少、3000 ppm 群で増加抑制が認められた。

投与群の最終体重は対照群に対し、300 ppm 群：100 %、1000 ppm 群：102 %、3000 ppm 群：92 %、10000 ppm 群：55 %であった。

Ⅲ－4　摂餌量

摂餌量を TABLE E 1～E 4 に示す。

－雄－

3000 ppm 以上の群で低値であった。

なお、各群の 1 日当たりの平均摂餌量は、対照群：15.6 g、300 ppm 群：16.1 g、1000 ppm 群：15.8 g、3000 ppm 群：13.8 g、10000 ppm 群：7.1 g であった。

－雌－

10000 ppm 群で低値、3000 ppm 群でやや低値であった。

なお、各群の 1 日当たりの平均摂餌量は、対照群：12.3 g、300 ppm 群：12.6 g、1000 ppm 群：13.1 g、3000 ppm 群：11.0 g、10000 ppm 群：6.6 g であった。

Ⅲ－5　血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE F 1, F 2 に示す。10000 ppm 群の検査動物数は雄 4 匹（他 1 匹は採血不可）、雌 1 匹（他 2 匹は血液凝固、1 匹は採血不可）。従って、10000 ppm 群の雌は、検定から除外した。

－雄－

血小板数、白血球数、好中球比の低値、リンパ球比の高値が 3000 ppm 以上の群に、赤血球数、ヘマトクリット値、MCV の低値、MCHC の高値が 10000 ppm 群にみられた。また、有意差はないものの 3000 ppm 以上の群の網赤血球比、10000 ppm 群のヘモグロビン濃度も低値であった。

その他、MCH の高値が 3000 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－

血小板数、網赤血球比、白血球数、単球比の低値が 3000 ppm 群にみられた。また、検査できた 10000 ppm 群の 1 匹は、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血小板数、網赤血球比、白血球数が低値であった。

Ⅲ－6　血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果をTABLE G 1, G 2に示す。10000 ppm群の雌雄は定期解剖前の絶食を行わなかったため、検定から除外した。なお、10000 ppm群の検査動物数は雄3匹（他1匹は検体不足、1匹は採血不可）、雌2匹（他1匹は検体不足、1匹は採血不可）。

－雄－

クロールの高値が300から3000 ppm群に、ALTの低値が1000及び3000 ppm群に、トリグリセライド、ALPの低値、カリウムの高値が3000 ppm群にみられた。また、検査できた10000 ppm群の3匹中の2匹はAST、ALT、尿素窒素が高値であり、1匹はLDHも高値であった。

－雌－

ALPの低値が1000及び3000 ppm群に、総ビリルビン、グルコース、総コレステロール及びカリウムの高値、AST及びALTの低値が3000 ppm群にみられた。また、検査できた10000 ppm群の2匹はAST、ALT、尿素窒素が高値であり、1匹はLDH、CKも高値であった。

Ⅲ－7　病理学的検査

Ⅲ－7－1　肉眼的観察

肉眼的所見をTABLE H 1～ H 4に示す。

－雄－

3000及び10000 ppm群で胸腺の萎縮が全動物（5匹）、10000 ppm群で腺胃の赤色班が全動物（5匹）、精巣の赤色が2匹、赤色班が3匹、精巣上体の赤色班が2匹に認められた。

－雌－

10000 ppm群の瀕死状態による切迫屠殺動物1匹に腺胃の赤色班、肝臓の白色班、脳の赤色班が認められた。

定期解剖動物では、10000 ppm群で胸腺の萎縮が全動物（4匹）、腺胃の赤色班が全動物（4匹）、3000 ppm群で胸腺の萎縮が全動物（5匹）に認められた。

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TABLE I 1, I 2とJ 1, J 2に示す。なお、10000 ppm群の雌雄は定期解剖前の絶食を行わなかったため、検定から除外した。

－雄－

精巣の実重量と体重比の低値が 1000 及び 3000 ppm 群に、胸腺と脾臓の実重量と体重比の低値が 3000 ppm 群にみられた。また、検定を除外した 10000 ppm 群（4 匹）では、搬出時体重の低値に伴い、副腎を除く各臓器の実重量は低値であったが、胸腺、精巣、脾臓は体重比も低値であった。副腎は実重量が対照群と同等の値で体重比は高値であった。

なお、3000 ppm 群では、搬出時体重の低値による変化と考えられる実重量の低値や体重比の高値が心臓、肺、腎臓、肝臓、脳にみられた。また、1000 ppm 群では脳の実重量が低値であったが、体重比では変化がみられなかった。

－雌－

胸腺の実重量と体重比の低値が 1000 及び 3000 ppm 群に、脾臓の実重量と体重比の低値が 3000 ppm 群にみられた。また、検定を除外した 10000 ppm 群（3 匹）では、搬出時体重の低値に伴い、副腎を除く各臓器の実重量は低値であったが、胸腺、脾臓は体重比も低値であった。副腎は実重量、体重比とも高値であった。

なお、3000 ppm 群では心臓の実重量の低値、肺、腎臓、脳の体重比の高値がみられたが、搬出時体重の低値による変化と考えられた。

Ⅲ－7－3　病理組織学的検査

病理組織学的検査は、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、肝臓、腎臓、精巣、精巣上体、卵巣及び脳について行い、その結果を TABLE K 1～ K 4 に示す。

－雄－

[10000 ppm 群]

鼻腔では、移行上皮の過形成が 1 匹（軽度）、移行上皮と呼吸上皮の再生が各 5 匹（軽度）、嗅上皮の再生が 2 匹（軽度）、嗅上皮の壊死が 4 匹（軽度）、腺胃の出血が 5 匹（軽度 1、中等度 4）、肝臓の中心性壊死が 4 匹（軽度 2、中等度 2）、精巣の出血が 5 匹（軽度 2、重度 3）、精原細胞壊死が 5 匹（重度）、精巣上体管内の精子減少が 5 匹（重度）、精上皮系細胞の残屑が 5 匹（軽度 2、中等度 3）、鼻涙管の扁平上皮過形成が 5 匹（軽度 2、中等度 3）にみられた。

[3000 ppm 群]

鼻腔では、呼吸上皮の扁平上皮化生が 1 匹（軽度）、移行上皮と呼吸上皮の再生が各 4 匹（軽度）、精巣上体管内の精子減少が 1 匹（軽度）、精上皮系細胞の残屑が 5 匹（軽度）にみられた。

[1000 ppm 群]

精巣上体管内では精子減少が 1 匹（軽度）、精上皮系細胞の残屑が 5 匹（軽度）にみられた。

[300 ppm 群]

精巣上体管内では精上皮系細胞の残屑が 2 匹（軽度）にみられた。

－雌－

[10000 ppm 群：瀕死状態による切迫屠殺動物 1 匹]

鼻腔では、移行上皮、呼吸上皮及び嗅上皮の再生（軽度）、喉頭の上皮の再生（軽度）、腺胃の出血（中等度）、肝臓の中心性壊死（重度）、卵巣の萎縮 （軽度）、鼻涙管の扁平上皮過形成（中等度）がみられた。

[10000 ppm 群：生存動物 4 匹]

鼻腔では、呼吸上皮の扁平上皮化生が 1 匹（軽度）、移行上皮、呼吸上皮及び嗅上皮の再生が各 4 匹（軽度）、嗅上皮の壊死が 2 匹（軽度）、喉頭の上皮の再生が 2 匹（軽度）、気管の上皮の再生が 1 匹（軽度）、肺の鬱血が 1 匹（軽度）、血管周囲の浮腫が 1 匹（軽度）、腺胃の出血が 4 匹（軽度 2、中等度 2）、肝臓の中心性壊死が 4 匹（中等度 2、重度 2）、卵巣の萎縮が 4 匹（軽度）、鼻涙管の扁平上皮過形成が 4 匹（軽度 2、中等度 2）にみられた。

[3000 ppm 群、1000 ppm 群、300 ppm 群]

被験物質投与による影響はみられなかった。

Ⅳ　考察及びまとめ

2-ブロモプロパンのがん原性を検索する目的で、F344/DuCrlCrlj 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当たり、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の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 4 群、対照群 1 群の計 5 群（各群雌雄各 5 匹）を設け、2-ブロモプロパンの投与濃度は、0（対照群）、300、1000、3000、及び 10000 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（計 10 回）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、肉眼的観察、臓器重量の測定及び病理組織学的検査を行った。また、投与期間中の切迫屠殺動物についても肉眼的観察、病理組織学的検査を行った。なお、10000 ppm 群は投与最終日に動物の状態の悪化により、暴露を中止したため、投与回数は 9 回となった。

Ⅳ－1　用量－反応関係

2-ブロモプロパンの暴露の結果、投与群に動物の死亡はみられなかったが、一般状態の観察で 10000 ppm 群に所見がみられた。10000 ppm 群では、雌雄とも投与期間の 2 週の 3 日目に自発運動量減少、失調性歩行、痩削、眼血性及び鼻血性分泌物、流涙がみられた。さらに、2 週の 7 日目（暴露最終日）には、円背位、衰弱、尿による外陰部周囲の汚染、不整呼吸、体温低下がみられ、動物の状態が悪化した。雌の 1 匹は瀕死状態となり切迫屠殺した。3000 ppm 以下の群では、雌雄とも投与期間を通じて、異常所見は認められなかった。

体重は、雌雄ともに 10000 ppm 群で減少、3000 ppm 群で増加抑制が認められた。最終体重は対照群に対し、雄では 300 ppm 群：101 %、1000 ppm 群：98 %、3000 ppm 群：87 %、10000 ppm 群：48 %、雌では 300 ppm 群：100 %、1000 ppm 群：102 %、3000 ppm 群：92 %、10000 ppm 群：55 %であった。摂餌量も雌雄ともに 3000 ppm 以上の群で低値であった。

血液学的検査では、雌雄ともに 3000 ppm 以上の群で血小板数、網赤血球比、白血球数の低値、10000 ppm 群（雌は検査動物 1 匹）で赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の低値がみられ、3000 ppm 以上の濃度で 2-ブロモプロパンの血液系への影響が認められた。

血液生化学検査では、3000 ppm 以下の群で逸脱酵素や電解質等に変化がみられたが、明らかに毒性を示唆する変化や大きな変化はみられなかった。しかし、10000 ppm 群（検査動物：雄 3 匹、雌 2 匹）では、雌雄各 2 匹で AST、ALT、尿素窒素が極めて高値であった。AST、ALT の高値は病理組織学的検査でみられた肝臓の変化を反映したものと思われ、

尿素窒素の変化は高濃度の 2-ブロモプロパンの腎臓への影響を示唆するものと思われる。

病理学的検査の肉眼的観察では、雌雄の 3000 ppm 以上の群で胸腺の萎縮、10000 ppm 群で腺胃の赤色班がみられ、雄の 10000 ppm 群で精巣の赤色または赤色班、精巣上体の赤色班、雌の 10000 ppm 群（切迫屠殺動物）で肝臓の白色班、脳の赤色班がみられた。臓器重量では、胸腺の重量低下が雄の 3000 ppm 以上の群と雌の 1000 ppm 以上の群、脾臓の重量低下が雌雄の 3000 ppm 以上の群、副腎の重量増加が雌雄の 10000 ppm 群でみられ、さらに、精巣の重量低下が雄の 1000 ppm 以上の群でみられた。胸腺の萎縮や重量低下、脾臓の重量低下及び副腎の重量増加は、雄の 3000 ppm 以上の群と雌の 1000 ppm 以上の群で動物がストレス状態にあったことを示唆していると思われる。また、肉眼的観察では腺胃、精巣、精巣上体、肝臓、臓器重量では精巣に変化がみられているが、各臓器とも病理組織学的検査でも変化が認められている。

病理組織学的検査は、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、肝臓、腎臓、精巣、精巣上体、卵巣及び脳について行った。その結果、鼻腔を主とした呼吸気道、肺、鼻涙管、胃、肝臓、精巣、精巣上体、卵巣に 2-ブロモプロパンの暴露による影響がみられた。

10000 ppm 群では、雌雄に鼻腔の移行上皮、呼吸上皮及び嗅上皮の再生、嗅上皮の壊死等がみられ、雌では喉頭及び気管の上皮の再生、肺の鬱血と血管周囲の浮腫がみられた。また、雌雄に鼻涙管の扁平上皮過形成、腺胃の出血、肝臓の中心性壊死がみられ、さらに、雄では精巣の出血及び精原細胞壊死が認められ、精原細胞壊死に伴って精巣上体の管内の精子減少と精上皮系細胞の残屑の出現がみられた。雌では卵巣の萎縮がみられ、10000 ppm 群では雌雄ともに生殖器への影響が認められた。

鼻腔、喉頭、気管、肺及び卵巣の変化は軽度であったが、鼻涙管、腺胃及び雄の肝臓の変化は軽度から中等度、雌の肝臓の変化は中等度から重度であった。また、精巣の変化は軽度から重度、精巣上体管内の精子減少は重度、精上皮系細胞の残屑の出現は軽度から中等度であった。

これらの変化は、雌では 10000 ppm 群のみに観察され、3000 ppm 以下の群では検索した器官、臓器に病理組織学的変化は認められなかったが、雄では鼻腔の変化（移行上皮と呼吸上皮の再生等）が 3000 ppm 群までみられ、精巣上体の変化（精巣上体管内の精上皮系細胞の残屑）は、最低投与群の 300 ppm 群まで認められた。

Ⅳ－2　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決定した。

本試験では、10000 ppm 群で雌雄とも体重が減少し（最終体重は対照群に対して雄 48%、雌 55%）、一般状態の観察では投与 2 週目に自発運動量減少、痩削、衰弱、不整呼吸、体温低下等がみられ、動物の状態が悪化した。そのうちの雌 1 匹を瀕死状態により切迫屠殺した。また、摂餌量の減少がみられ、解剖時の肉眼的観察、臓器重量及び病理組織学的検査に被験物質の影響が認められた。3000 ppm 群では、雌雄とも一般状態に変化はみられなかったが、体重増加の抑制（最終体重は対照群に対して雄 87%、雌 92%）と摂餌量の減少がみられた。また、血液学的検査、解剖時の肉眼的観察、臓器重量に被験物質の影響がみられ、病理組織学的検査では雄の鼻腔（移行上皮及び呼吸上皮の再生、呼吸上皮の扁平上皮化生）と精巣上体（精子の減少及び精上皮系細胞の残屑）に変化がみられたが、いずれも軽度の変化であった。1000、300 ppm 群では、病理組織学的検査で、雄の精巣上体に精上皮系細胞の残屑がみられたが、一般状態、体重、摂餌量等には被験物質による変化は認められなかった。これらのことから、13 週間試験の最高濃度は一般状態に変化がみられず、体重、摂餌量、病理組織学的検査等にそれぞれ軽度な変化が認められた 3000 ppm が適切と考えた。また、最低濃度は生殖器への影響がみられた 300 ppm より低い濃度が適当と考えた。なお、3000 ppm 群と 1000 ppm 群にみられた変化の差が大きかったため、中間濃度に 2000 ppm を設定した。

従って、13 週間試験の投与濃度は 3000 ppm を最高濃度として、以下、2000、1000、300 及び 100 ppm と決定した。

V 文献

1. U.S. National Library of Medicine. Hazardous Substance Data Bank (HSDB). Available: http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB [accessed 2014/11/05]

2. 化学工業日報社. 2014. 16514 の化学商品. 東京: 化学工業日報社, 953-954.

3. McLafferty FW, ed. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th ed. New York, NY: John Wiley and Sons.

4. OECD. 2009. OECD Guideline for The Testing of Chemicals 412: Subacute Inhalation Toxicity: 28-day Study. Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development.

5. Ichihara G, Asada N, Kumazawa T, Tagawa Y, Kamijima M, Yu X et al. 1997. Testicular and hematopoietic toxicity of 2-bromopropane, a substitute for ozone layer-depleting chlorofluorocarbons. J. Occup. Health. 39:57-63.

6. Takeuchi T, Okuda H, Arito H, Nagano K, Yamamoto S, Matsushima T. 2004. Developmental effects of inhalation exposure to 2-bromopropane in rats. Repro. Toxicol. 18:431-437.

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. Nagano K, Katagiri T, Aiso S, Senoh H, Sakura Y, Takeuchi T. 1997. Spontaneous lesions of nasal cavity in aging F344 rats and BDF1 mice. Exp Toxicol Pathol. 49:97-104.

VI　予見することのできなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかったこと

投与期間の2週の7日目（暴露最終日）に10000 ppm群は状態が悪化したため、雌雄とも最終日の暴露を行わなかった。また、さらなる状態悪化が見込まれたため、定期解剖前の絶食を行わなかった。