

2-ブロモプロパンの rasH2 マウスを用いた
吸入による中期がん原性試験報告書

試験番号：0886

CAS No. 75-26-3

2019年3月5日

独立行政法人 労働者健康安全機構
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
GLP 対応	i
拡散防止措置及び動物福祉	i
厚生労働省担当課	ii
試験施設及び運営管理者	ii
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
信頼性保証証明書	v
本文	vi
TABLES	A~Q2	
FIGURES	1~6	
PHOTOGRAPHS	1~6	
APPENDICES	1-1~3	

標題

2-ブロモプロパンの rasH2 マウスを用いた吸入による中期がん原性試験

試験目的

2-ブロモプロパンを rasH2 マウスに 26 週間全身暴露（経気道投与）し、そのがん原性を検索した。

試験法

本試験は「遺伝子改変動物を用いたがん原性試験による調査の基準」（平成 28 年度 3 月 1 日 厚生労働省発がん性評価ワーキンググループ：2017 年 3 月 1 日 厚生労働省）に準拠して実施した。

GLP 対応

本試験は、「労働安全衛生規則第 34 条の 3 第 2 項の規定に基づき試験施設等が具備すべき基準（安衛法 GLP）」（昭和 63 年 9 月 1 日労働省告示第 76 号、最終改正平成 28 年 4 月 18 日厚生労働省告示第 208 号）に準拠し、OECD GLP（1997 年 11 月 26 日採択）を参考にして実施した。

拡散防止措置及び動物福祉

本試験は、「日本バイオアッセイ研究センターにおける遺伝子組換え生物使用実験安全管理規程」（平成 26 年 9 月 3 日制定、最終改正平成 28 年 4 月 1 日）及び「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、最終改正平成 27 年 2 月 20 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 日制定、最終改正平成 28 年 4 月 1 日）を遵守して行った。

また、本試験は日本バイオアッセイ研究センターの遺伝子組換え生物使用実験安全委員会（承認番号 2016-02）及び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 0164）。

厚生労働省担当課

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

独立行政法人労働者健康安全機構
日本バイオアッセイ研究センター
所長 菅野 純
神奈川県秦野市平沢 2445

試験日程

試験開始日	2017年 3月 21日
動物導入日	2017年 3月 31日
群分け日	2017年 4月 10日
被験物質投与開始日	2017年 4月 11日
被験物質投与終了日	2017年 10月 9日
定期解剖日	2017年 10月 10、11、12、13日
試験終了日	2019年 3月 5日

試験関係者一覧

試験責任者	:	齋藤 新	(試験管理部)
被験物質の分析・ 投与・管理	:	西沢 共司 笠井 辰也 平井 繁行 大西 誠	(試験管理部) (試験管理部) (試験管理部) (試験管理部)
動物管理	:	竹内 哲也 三角 恭平	(試験管理部) (試験管理部)
病理検査	:	相磯 成敏 梅田 ゆみ 妹尾 英樹 齋藤美佐江 高信 健司 近藤ひとみ	(病理検査部) (病理検査部) (病理検査部) (病理検査部) (病理検査部) (病理検査部)

2-ブロモプロパンの rasH2 マウスを用いた
吸入による中期がん原性試験報告書

試験番号：0886

本文

本文目次

	頁
要約	1
I 試験材料	4
I-1 被験物質の性状等	4
I-1-1 名称等	4
I-1-2 構造式及び分子量	4
I-1-3 物理化学的性状等	4
I-2 被験物質等	4
I-2-1 使用被験物質	4
I-2-2 被験物質の製造量等	4
I-2-3 被験物質の主な用途	5
I-2-4 許容濃度等	5
I-3 被験物質の特性	5
I-3-1 同一性	5
I-3-2 安定性	5
I-4 試験動物	5
II 試験方法	7
II-1 投与	7
II-1-1 投与経路	7
II-1-2 被験物質の投与方法	7
II-1-3 投与期間	7
II-1-4 投与濃度	7
II-1-5 投与経路、投与期間及び投与濃度の設定理由	7
II-1-6 被験物質の発生方法と濃度調整	8
II-1-7 被験物質濃度の測定	8
II-2 動物管理	8
II-2-1 群の構成及び各群の使用動物数	8
II-2-2 群分け方法	9
II-2-3 動物の個体識別	9
II-2-4 動物飼育室、ならびに他試験及び異種動物との区別	9

II-2-5	飼育条件	9
(1)	飼育環境	9
(2)	飼料	10
(3)	飲水	10
II-3	観察・検査項目及び方法	10
II-3-1	動物の生死及び一般状態の観察	10
II-3-2	体重測定	10
II-3-3	摂餌量測定	11
II-3-4	尿検査	11
II-3-5	血液学的検査	11
II-3-6	血液生化学的検査	11
II-3-7	病理学的検査	11
(1)	肉眼的観察	11
(2)	臓器重量	11
(3)	病理組織学的検査	12
II-4	数値処理と統計方法	12
II-4-1	数値の取り扱いと表示	12
II-4-2	統計処理	12
III	試験成績	14
III-1	生死状況	14
III-2	一般状態	14
III-3	体重	14
III-4	摂餌量	15
III-5	尿検査	15
III-6	血液学的検査	15
III-7	血液生化学的検査	15
III-8	病理学的検査	16
III-8-1	肉眼的観察	16
III-8-2	臓器重量	16
III-8-3	病理組織学的検査	16
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	腫瘍性病変及び腫瘍関連病変	19
IV-3	その他の影響	21
V	結論	22
VI	文献	23
VII	予見することのできなかつ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つたこと	25

要約

2-ブロモプロパンのがん原性を検索する目的で rasH2 マウスを用いた吸入による中期がん原性試験を行った

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 25 匹とし、合計 200 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、26 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)、67、200 及び 600 ppm 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。

26 週間の試験の結果、雌の 600 ppm 群の生存率がやや低下した。雌雄とも一般状態には暴露の影響はみられなかった。体重は、雄の全投与群で対照群に対して軽度の体重増加の抑制がみられ、雌では 600 ppm 群では投与期間を通して体重増加の抑制、あるいは低値がみられた。

本試験は rasH2 マウスを用いた 26 週間がん原性試験の初回報告であり、rasH2 マウスの背景データを検索する目的で本試験に先立って実施された無処置対照群の 50 匹のデータのがん原性評価の参考とした。また、当施設内の背景データでは動物数が少なく、試験単位での詳細な発生の変動の判断が困難なことから、他施設のヒストリカルコントロールデータについてもがん原性評価の参考とした。

病理組織学的検査の結果、雄では細気管支-肺胞上皮癌は Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で有意な増加を示した。細気管支-肺胞上皮腺腫の発生は有意な増加は示さなかったが、細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生は Peto 検定 (有病率法) で有意な増加を示した。従って、肺の細気管支-肺胞上皮癌及び細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生は 2-ブロモプロパンの投与による影響と判断した。

雌では、細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生は、Peto 検定 (有病率法) で有意な増加を示した。従って、肺の細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生は 2-ブロモプロパンの投与による影響と判断した。さらに、全臓器 (リンパ節、胸腺) の悪性リンパ腫の発生は、Peto 検定 (死亡率法、死亡率法+有病率法) と Cochran -Armitage 検定で有意な増加を示し、被験物質の暴露による影響が考えられた。

血液学的検査では雌雄の 600 ppm 群に軽度の貧血がみられた。その他、血液生化学的検査、尿検査でも対照群に対して低値、あるいは高値を示した項目があったが、病理組織学的検査では関連すると思われる臓器に変化はみられなかった。また、肉眼的観察 (雄の精巣)、臓器重量 (雄の精巣及び雌の卵巣) 及び非腫瘍性病変では rasH2 マウスにも 2-ブロモプロパンの生殖器に対する影響がみられた。

以上の結果、雌雄の肺腫瘍 (雄の細気管支-肺胞上皮癌、雌雄の細気管支-肺胞上皮腺腫と

細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生)の増加が示されたことから、雌雄 rasH2 マウスに対するがん原性を示す証拠 (some evidence of carcinogenic activity) が得られたと結論された。

2-ブロモプロパンの中期がん原性試験における主な腫瘍発生 (rasH2 マウス 雄)

投与濃度 (ppm)		0	67	200	600	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
検査動物数		25	25	25	25		
肺	細気管支-肺胞上皮腺腫	3	3	2	5		
	細気管支-肺胞上皮癌 [#]	0	1	3	4	↑	↑
	細気管支-肺胞上皮腺腫 +細気管支-肺胞上皮癌 [#]	3	4	5	8	↑	
リンパ節	悪性リンパ腫 [#]	0	0	2	0		
胸腺	悪性リンパ腫 [#]	0	1	0	1		
全臓器	悪性リンパ腫 [#]	0	1	2	1		
脾臓	血管肉腫 [#]	1	1	2	2		
皮下組織	血管腫	0	0	0	1		
	血管肉腫 [#]	0	0	1	1		
	血管腫 + 血管肉腫 [#]	0	0	1	2	↑	
全臓器	血管腫	0	0	0	1		
	血管肉腫 [#]	1	1	3	3		
	血管腫 + 血管肉腫 [#]	1	1	3	4		

2-ブロモプロパンの中期がん原性試験における主な腫瘍発生 (rasH2 マウス 雌)

投与濃度 (ppm)		0	67	200	600	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
検査動物数		25	25	25	25		
肺	細気管支-肺胞上皮腺腫	2	1	5	4		
	細気管支-肺胞上皮癌 [#]	2	2	2	5		
	細気管支-肺胞上皮腺腫 +細気管支-肺胞上皮癌 [#]	4	3	7	8	↑	
リンパ節	悪性リンパ腫 [#]	0	0	0	2	↑	↑
胸腺	悪性リンパ腫 [#]	1	0	0	2		
全臓器	悪性リンパ腫 [#]	1	0	0	4	↑↑	↑↑
皮下組織	血管腫	0	1	0	0		
骨髄	血管腫	1	0	0	0		
鼻腔	血管肉腫 [#]	0	0	1	0		
脾臓	血管肉腫 [#]	1	3	1	0		
膣	血管肉腫 [#]	0	0	2	0		
全臓器	血管腫	1	1	0	0		
	血管肉腫 [#]	1	3	3	0		
	血管腫 + 血管肉腫 [#]	2	4	3	0		

上段：上皮系腫瘍 下段：非上皮系腫瘍

#：悪性腫瘍

*：p≤0.05 で有意

**：p≤0.01 で有意

(Fisher 検定)

↑：p≤0.05 で有意増加

↑↑：p≤0.01 で有意増加

(Peto, Cochran-Armitage 検定)

↓：p≤0.05 で有意減少

↓↓：p≤0.01 で有意減少

(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

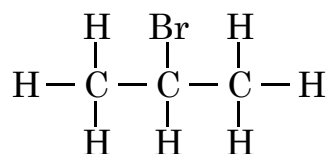
名 称 : 2-ブロモプロパン (2-Bromopropane)

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 °C)

沸 点 : 59.4 °C

蒸 気 圧 : 236.3 mmHg (25 °C)

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 使用被験物質等

I-2-1 使用被験物質

製 造 元 : 和光純薬工業(株)

規 格 : 和光一級

純 度 : 99.9 % (和光純薬工業(株)検査成績データ)

ロット番号 : TWQ6860

I-2-2 被験物質の製造量等

経済産業省の「一般化学物質等の製造・輸入数量」においては平成 28 年度実績は 1~1,000 トン未満とされているが、平成 23、26 年度実績においては 1,000~2,000 トン未満とされ

ている（文献 3）。また、経済産業省、環境省による「平成 28 年度 PRTR データの概要－化学物質の排出量・移動量の集計結果－」においては、大気への排出量が 3,308kg/年、主に産業廃棄物としての移動量が 13,904kg/年とされている（文献 4）。

I-2-3 被験物質の主な用途

医薬中間体、農薬中間体、感光剤中間体（文献 2）

I-2-4 許容濃度等

管理濃度：未設定

日本産業衛生学会：許容濃度 1 ppm (5mg/m³)（文献 5）

米国産業衛生専門家会議（ACGIH）：未設定

国際がん研究機関（IARC）：未設定

I-3 被験物質の特性

I-3-1 同一性

被験物質の同一性は、被験物質のマスペクトルを質量分析計（(株)日立製作所 M-80B）にて測定し、こ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、被験物質のマスペクトルは文献値（文献 6）と同じ分子イオンピーク及び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(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、日本クレア（株）（富士生育場）の Jic:CB6F1-Tg rasH2@Jcl（rasH2 マウス）マウスの雌雄を使用した。

雌雄各 105 匹を 6 週齢で導入し、検疫を 6 日間、馴化を 5 日間実施した後、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 100 匹（群分け時体重範囲、雄：21.5～27.2g、雌：17.8～21.6 g）を試験に用いた。

なお、中期がん原性試験に **rasH2** マウスを選択した理由は、発がん感受性が高く、継世的にも安定的であり再現性に優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

全動物において、投与期間は1日6時間、1週5日の暴露（原則として土、日曜日は暴露しない）で、2017年4月11日～2017年10月9日までの26週間とした。

II-1-4 投与濃度

投与濃度は、67、200及び600 ppm（体積比 v/v）の3段階に設定した。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、「遺伝子改変動物を用いたがん原性試験による調査の基準」に準拠して26週間とした。

投与時間はOECD化学品テストガイドライン451（文献7）を参考に1日6時間とした。

投与濃度はrasH2マウス（non-Tg）を用いた4週間試験（試験番号0846）の結果をもとに決定した。4週間試験は0（対照群）、100、300、1000及び3000 ppmの濃度で行った。その結果、3000 ppm群で雌雄に体重増加の抑制がみられ、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量、病理組織学的検査（骨髄、脾臓、胃、精巣、精巣上体、卵巣、胸腺）に暴露の影響がみられた。特に3000 ppm群の最終体重は対照群に対し雄86%、雌88%であり、摂餌量は投与期間を通じて低値であり、3000 ppmは中期がん性試験の最高濃度としては高すぎると考えられた。1000 ppm群では、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量、病理組織学的検査（胸腺、精巣、精巣上体）に暴露の影響がみられた。1000 ppm群の最終体重は対照群に対し雄91%、雌92%であったが、雌雄とも試験最終週（4週目）の体重には増加がみられず、中期がん性試験で投与期間が延長した場合、体重の抑制がさらに強くなる可能性が高いと思われた。従って、1000 ppmも中期がん性試験の最高濃

度としては高すぎると考えられた。300 ppm群では雌雄とも体重、病理組織学的検査等に暴露の影響がみられず、雄で精巣の重量低下と血小板数の低値がみられたのみであった。従って、中期がん原性試験の最高濃度は、1000 ppmと300 ppmの中間の濃度が妥当と考えられた。

以上のことから、中期がん原性試験は雌雄とも最高濃度を600 ppmとし、以下、公比3で200 ppm、67 ppm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清浄空気（搬送空気）と混合しながら、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、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2%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 群の構成及び各群の使用動物数

投与群3群及び対照群1群の計4群を設け、1群当たり雌雄各25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	25匹 (1001~1025)	25匹 (2001~2025)
1	67 ppm 群	25匹 (1101~1125)	25匹 (2101~2125)
2	200 ppm 群	25匹 (1201~1225)	25匹 (2201~2225)
3	600 ppm 群	25匹 (1301~1325)	25匹 (2301~2325)

II-2-2 群分け方法

検疫・馴化期間を通して一般状態及び体重の推移に異常を認めなかった動物から、被験物質投与開始日の前日(2017年4月10日)に体重の中央値に近い雌雄各100匹を選定した。群分けは、これらの選定し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で、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8)。

群分けにより除外された動物は、投与開始が確認されるまで飼育し、試験に使用する必要のなくなったことを確認後、他の実験(教育訓練等)に使用するか、使用しない場合は速やかに安楽死させた。

II-2-3 動物の個体識別

動物は、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をすることで、それ以降は、群分け時に耳パンチをすることで個体識別した。また、ケージには個体識別番号を記したラベルを付した。

II-2-4 動物飼育室、ならびに他試験及び異種動物との区別

動物はバリア区域内の独立した室(検疫517室、馴化・投与502室)に收容し、室の扉に試験番号、試験動物、飼育期間及び遺伝子改変動物飼育中を表示し、他試験及び異種動物と区別した。

II-2-5 飼育条件

(1) 飼育環境

検疫期間中は検疫室(517室)、馴化期間及び投与期間中は、吸入試験室(502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 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 ; $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ < 517室 : $23.1 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ >

吸入試験室 ; $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ < 502室 : $22.0 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ >

吸入チャンバー内 ; $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$

湿度 : 検疫室 ; $55 \pm 15\%$ < 502室 : $52.0 \pm 1\%$ >

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 ; 7~9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：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（112(W)×212(D)×120(H) mm/匹）

馴化・投与期間；ステンレス製5連網ケージ（100(W)×116(D)×120(H) mm/匹）

飼育機材（ラック、ケージ、餌箱、給水ノズル、作業台車等）の滅菌：オートクレーブ滅菌（約120℃、15分以上）

(2) 飼料

飼料は、オリエンタル酵母工業(株)千葉工場製造のCRF-1固型（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る。ただし、定期解剖前日の夕方からは絶食させた。

試験に使用する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)から分析データを入手し、確認した。

(3) 飲水

飲水は、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。

飲水の水質は、動物試験施設として定期的（年2回）に実施している水道水の検査において、水道法に定められている水質基準に適合していることを確認した。

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

全動物について、週1回、吸入暴露前の一般状態を詳細に観察した。その他の日は、暴露日は吸入暴露前に、非暴露日は1日1回生死及び瀕死を確認した。

II-3-2 体重測定

全動物について、投与開始後は週1回体重測定を行った。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。

死亡動物は、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

全動物について、投与開始後週 1 回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 尿検査

投与期間終期まで生存している採尿可能な動物から、新鮮尿を採取し、尿試験紙（ウロラブスティックス、シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス社）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、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、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-3-6 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、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、得られる血漿を用いて、下記の項目について検査を行った。

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、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) 肉眼的観察

全動物について肉眼的に病変の観察を行った。なお、定期解剖動物はイソフルラン麻酔下で採血後、腹大動脈を切断、放血することで安楽死させた。定期解剖は解剖を行う日ごとに、雌雄各群ほぼ同数となるよう動物番号の若い順より割り当てて実施した。

(2) 臓器重量

定期解剖時まで生存している動物について、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、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、検査により必要が認められた場合は特殊染色を行った。

皮膚、鼻腔（3箇所を横断）、鼻咽頭、喉頭、気管、肺及び気管支、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、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、胸骨）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、小数点以下第 1 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、Dunnnett 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、Dunnnett 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 9）、Cochran-Armitage 検定、Fisher 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。

Ⅲ 試験成績

Ⅲ-1 生死状況

生死状況を TABLE B 1, 2 及び FIGURE 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 26 週における生存動物数（生存率）は、対照群：25 匹（100%）、67 ppm 群：25 匹（100%）、200 ppm 群：21 匹（84%）、600 ppm 群：24 匹（96%）であった。

—雌—

600 ppm 群で生存率がやや低下した。

各群の 104 週における生存動物数（生存率）は、対照群：23 匹（92%）、67 ppm 群：24 匹（96%）、200 ppm 群：24 匹（96%）、600 ppm 群：19 匹（76%）であった。

Ⅲ-2 一般状態

一般状態の観察結果を TABLE C 1, 2 に示した。

—雌雄—

被験物質の影響と思われる所見はみられなかった。

Ⅲ-3 体重

体重の推移を TABLE D 1~4 及び FIGURE 3, 4 に示した。

—雄—

67 ppm 群で 23 週まで体重増加の抑制がみられ、それ以降も対照群に比べ体重はやや低値であった。200 ppm 以上の群では投与期間を通じて体重増加の抑制がみられた。

最終計測日（26 週）の各投与群の体重は、対照群に対して 67 ppm 群：98%、200 ppm 群：91%、600 ppm 群：91%であった。

—雌—

600 ppm 群では有意な差がみられない週があったが、投与期間を通して体重増加の抑制がみられた。

最終計測日（26 週）の各投与群の体重は、対照群に対して 67 ppm 群：102%、200 ppm 群：96%、600 ppm 群：94%であった。

Ⅲ-4 摂餌量

摂餌量を TABLE E 1~4 及び FIGURE 5, 6 に示した。

—雄—

67 ppm 群では投与 1 週目と 10 週以降、200 ppm 群でも 10 週以降、投与終了時までの断続的に摂餌量の低値がみられた。600 ppm 群では摂餌量の低値がみられた週がわずかにあった。

—雌—

67 ppm 群で投与初期と 12 週と 20 週で低値がみられた。600 ppm 群で投与の前半に摂餌量の低値が散見していた。

Ⅲ-5 尿検査

尿検査の結果を TABLE F 1, 2 に示した。

—雄—

pH の低値が 200 ppm 群で、蛋白の陽性度の低値が 600 ppm 群でみられた。

—雌—

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

Ⅲ-6 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE G 1, 2 に示した。

—雄—

MCV の高値と血小板数の低値が 200 ppm 以上の群で、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の低値、MCH の高値が 600 ppm 群でみられた。

—雌—

血小板数の低値が 200 ppm 以上の群で、赤血球数の低値、MCV と MCH の高値、白血球分類で好中球と単球の高値、リンパ球の低値が 600 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 H 1, 2 に示した。

—雄—

ALP の上昇が 600 ppm 群でみられた。

—雌—

グルコースの高値が 200 ppm 以上の群で、総蛋白と総ビリルビンの高値が 600 ppm 群で

みられた。

Ⅲ-8 病理学的検査

Ⅲ-8-1 肉眼的観察

解剖時の肉眼的観察結果を TABLE I 1, 2 に示す。

—雄—

精巣の小型化が対照群 0 匹に対して 200 ppm 群 1 匹、600 ppm 群 24 匹に認められた。

—雌—

肺の結節が対照群 2 匹に対して 67 ppm 群 1 匹、200 ppm 群 5 匹、600 ppm 群 4 匹に認められた。胸腺の腫大が対照群 0 匹に対して 600 ppm 群 2 匹に認められた。また、胸腔の胸水貯留が対照群 0 匹に対して 600 ppm 群 4 匹に認められた。

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 J 1, 2 と TABLE K 1, 2 に示す。

—雄—

精巣の実重量の低値が 67 ppm 以上の群、体重比の低値が 200 ppm 以上の群で、胸腺の実重量と体重比の低値が 600 ppm 群、肺と脾臓の体重比の高値が 600 ppm 群で認められた。

その他、200 ppm 以上の群で肝臓に実重量の低値と脳の体重比の高値、600 ppm 群で肝臓の体重比の高値が認められたが、解剖時体重の低値による影響と判断した。

—雌—

卵巣の実重量と体重比の低値が 67 ppm 以上の群、胸腺の実重量の低値が 200 ppm 以上の群と体重比の低値が 600 ppm 群、脾臓の実重量の低値が 600 ppm 群で認められた。

その他、600 ppm 群で脳の実重量の低値が認められたが、解剖時体重の低値による影響と判断した。なお、600 ppm 群の胸腺の平均値は、実重量・体重比とも大きいのが胸腺が極めて大きな個体があった影響である。

Ⅲ-8-3 病理組織学的検査

腫瘍性病変は、腫瘍の種類別の発生数を TABLE L 1, 2 に、統計解析 (Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定) の結果を TABLE M 1, 2 に、坦腫瘍動物数を TABLE N 1, 2 示す。また、転移性病変は TABLE O 1, 2 に、非腫瘍性病変は TABLE P 1, 2 に示す。さらに、病理組織所見の代表例を PHOTOGRAPH 1~6 に示す。

—雄—

1) 腫瘍性病変

<肺>

細気管支-肺胞上皮腺腫の発生は、対照群と 67 ppm 群で 3 匹 (12%)、200 ppm 群で 2 匹 (8%)、600 ppm 群で 5 匹 (20%) に認められた。また、細気管支-肺胞上皮癌は、対照群で 0 匹 (0%)、67 ppm 群で 1 匹 (4%)、200 ppm 群で 3 匹 (12%)、600 ppm 群で 4 匹 (16%) に認められ Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で有意な増加を示した。さらに、細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生は、対照群で 3 匹 (12%)、67 ppm 群で 4 匹 (16%)、200 ppm 群で 5 匹 (20%)、600 ppm 群で 8 匹 (32%) に認められ Peto 検定 (有病率法) で有意な増加を示した。

<皮下>

皮下の血管腫と血管肉腫を合わせた発生は、対照群と 67 ppm 群で 0 匹 (0%)、200 ppm 群で 1 匹 (4%)、600 ppm 群で 2 匹 (8%) に認められ、Peto 検定 (死亡率法+有病率法) で有意な増加を示した。しかしながら、全臓器の血管腫と血管肉腫を合わせた検定では増加の傾向があると思われるものの、Peto 検定では P 値 5%未満の有意差は示さなかった (Peto 検定、死亡率法+有病率法で P 値は 5.58%)。

坦腫瘍動物数は、対照群 4 匹 (16%) に対し、67 ppm 群で 6 匹 (24%)、200 ppm 群で 11 匹 (44%)、600 ppm 群で 16 匹 (64%) であった。

—雌—

1) 腫瘍性病変

<肺>

細気管支-肺胞上皮腺腫の発生は、対照群で 2 匹 (8%)、67 ppm 群で 1 匹 (4%)、200 ppm 群で 5 匹 (20%)、600 ppm 群で 4 匹 (16%) に認められ、また、細気管支-肺胞上皮癌は、対照群、67 ppm 群及び 200 ppm 群で 2 匹 (8%)、600 ppm 群で 5 匹 (20%) に認められた。さらに、細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生は、対照群で 4 匹 (16%)、67 ppm 群で 3 匹 (12%)、200 ppm 群で 7 匹 (28%)、600 ppm 群で 8 匹 (32%) に認められ Peto 検定 (有病率法) で有意な増加を示した。

<リンパ節>

悪性リンパ腫の発生は、対照群、67 ppm 群及び 200 ppm 群で 0 匹 (0%)、600 ppm 群で 2 匹 (8%) に認められ、Peto 検定 (死亡率法、死亡率法+有病率法) と Cochran-Armitage 検定で有意な増加を示した。

<全臓器>

悪性リンパ腫の発生は、リンパ節と胸腺に認められ、対照群で 1 匹 (4%)、67 ppm 群と 200 ppm 群で 0 匹 (0%)、600 ppm 群で 4 匹 (16%) に認められ、Peto 検定 (死亡

率法、死亡率法+有病率法) と Cochran-Armitage 検定で有意な増加を示した。

坦腫瘍動物数は、対照群 8 匹 (32 %) に対し、67 ppm 群で 7 匹 (28 %)、200 ppm 群で 10 匹 (40 %)、600 ppm 群で 11 匹 (44%) であった。

2) 非腫瘍性病変

—雄—

<精巣>

精原細胞の壊死の発生匹数の増加が 200 ppm 以上の群で認められ、その程度は 200 ppm 群では軽度～重度、600 ppm 群では重度であった。また、間細胞の過形成の増加が 600 ppm 群で認められ、その程度は重度であった。精原細胞の壊死は、精細管の精祖細胞から精子までの段階が認められなかったものを重度とした。間細胞の過形成は精原細胞の壊死が重度に認められた精細管の周囲に認められた。

<精巣上部>

精上皮系細胞の残屑の発生匹数の増加が 600 ppm 群で認められ、その程度は重度であった。精上皮系細胞の残屑は、多くが精巣の精細管の壊死に対応して認められた。

その他、鼻腔の呼吸上皮のエオジン好性変化の増加がみられたが、暴露濃度に対応した変化ではなかった。

—雌—

雌では投与による影響は認められなかった。

その他、鼻腔の粘膜下の腺の呼吸上皮化生の増加が 67 ppm 群でみられたが、暴露濃度に対応した変化ではなかった。

III-8-4 死因

病理学的にみた死亡／瀕死の原因を TABLE Q 1, 2 に示す。

—雄—

投与群に特定の病変あるいは腫瘍による死亡の増加はみられなかった。

—雌—

投与群に特定の病変あるいは腫瘍による死亡の増加はみられなかったが、白血病（リンパ節または胸腺の悪性リンパ腫）を死因とした動物数は、対照群：1 匹、67 ppm 群と 200 ppm 群：0 匹、600 ppm 群：3 匹であった。

IV 考察及びまとめ

2-ブロモプロパンのマウスを用いた 26 週間の全身暴露による吸入試験（投与濃度：0、67、200 及び 600 ppm）を行った結果、雌雄の肺腫瘍（雄では細気管支-肺胞上皮癌、細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生、雌では細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生）の発生に増加がみられ、雌では全臓器（リンパ節、胸腺）の悪性リンパ腫を合わせた発生に増加がみられた。

IV-1 生存率、一般状態、体重、摂餌量

雄の生存率に 2-ブロモプロパンの暴露による影響はみられなかった。雌の 600 ppm 群の生存率がやや低下し、死亡した 6 匹中 3 匹の死因は単核球性白血病（悪性リンパ腫）であった。雌雄とも一般状態には暴露の影響はみられなかった。

体重は、雄の全投与群で体重増加の抑制がみられ、200 ppm 以上の群では投与期間を通じて体重増加の抑制がみられた。雌では 600 ppm 群で投与期間を通して体重増加の抑制、あるいは低値がみられた。

摂餌量は、雄の 67 ppm 群と 200 ppm 群で投与の中期以降、断続的に摂餌量の低値がみられた。600 ppm 群では摂餌量の低値がみられた週があった。雌では、67 ppm 群で主に投与初期に、600 ppm 群で投与の前半に摂餌量の低値が散見された。

雌雄の 600 ppm 群で体重増加の抑制が投与期間を通してみられたが、摂餌量の低値が対応していないのは餌こぼしがあったためだと推測されたものの、その要因が 2-ブロモプロパンの暴露による影響であるかは不明であった。

IV-2 腫瘍性病変及び腫瘍関連病変

本試験は rasH2 マウスを用いた 26 週間がん原性試験の初回報告であり、当センターで行った対照群の蓄積したデータがなかったため、rasH2 マウスの背景データを取得する目的で、本試験に先立って実施された無処置対照群の 50 匹のデータをがん原性評価の参考とした。また、他施設のヒストリカルコントロールデータ（文献 10, 11, 12）もがん原性評価の参考とした。

雄では細気管支-肺胞上皮癌は Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で有意な増加を示した。細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生は Peto 検定（有病率法）で有意な増加を示した。従って、肺の細気管支-肺胞上皮癌及び細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生は 2-ブロモプロパンの投与による影響と判断した。

雄の細気管支-肺胞上皮癌の発生は、当センターで行われた rasH2 マウスの無処置動物 50 匹の試験で 2%（1/50 匹）であり、他施設のヒストリカルコントロールデータ（文献 10, 11, 12）では、試験単位での最大発生率が平均 2.4%、最大でも 6.7%であり、これらのデータと比較す

ると、本試験の 600 ppm 群の細気管支-肺胞上皮癌の発生 (4/25 匹、16%)はいずれの平均発生率より高く、試験単位での最大発生率を超えていた。従って、細気管支-肺胞上皮癌の発生はがん原性を示す証拠(some evidence of carcinogenic activity)と判断した。細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生は傾向検定で有意な増加を示し、特に 600 ppm 群での発生 (32%、8/25 匹) は当センターの rasH2 マウスの無処置動物 50 匹の試験 (6%、3/50 匹) より高かった。以上のことから、細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生増加はがん原性を示す証拠(some evidence of carcinogenic activity)と判断した。

皮下の血管腫と血管肉腫を合わせた発生は傾向検定で増加を示した。しかしながら、全臓器の血管腫と血管肉腫を合わせた発生では増加の傾向があると思われるものの、検定では P 値 5% 未満の有意差は示さなかった (Peto 検定、死亡率法+有病率法で P 値は 5.58%)。したがって、全臓器の血管系腫瘍の発生については、増加の可能性はあるが明らかでなかった。

雄の坦腫瘍動物数は、対照群 4 匹 (16%) に対し、67 ppm 群で 6 匹 (24%)、200 ppm 群で 11 匹 (44%)、600 ppm 群で 16 匹 (64%) であり、暴露濃度に対応した増加の傾向がみられた。

雌では、細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生は、Peto 検定 (有病率法) で有意な増加を示した。従って、肺の細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生は 2-ブロモプロパンの投与による影響と判断した。なお、細気管支-肺胞上皮腺腫の発生と細気管支-肺胞上皮癌の発生は、単独では有意な増加を示さなかった。細気管支-肺胞上皮癌の発生は、当センターで行われた rasH2 マウスの無処置動物 50 匹の試験では発生がなかった (0/50 匹)。他施設のヒストリカルコントロールデータ (文献 10, 11, 12) では、試験単位での最大発生率が平均 1.7%、最大でも 7.1%であり、試験単位での腫瘍発生の変動範囲を超えていた。従って、細気管支-肺胞上皮癌の発生は統計による差はみられなかったが、被験物質暴露による増加の可能性が考えられた。これに対し、本試験の細気管支-肺胞上皮腺腫の発生 (200 ppm 群 : 5 匹、20%、600 ppm 群 : 4 匹、16%) は、当センターで行われた rasH2 マウスの無処置動物 50 匹の試験の発生 2% (1/50 匹) であり、他施設のヒストリカルコントロールデータ (文献 10, 12) では試験単位での最大発生率が平均でも 8.4%、最大でも 24%であり、これらのデータを比較するとヒストリカルコントロールデータの変動の範囲にあった。細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生は傾向検定で有意な増加を示し、600 ppm 群の発生 (32%、8/25 匹) は、当センターで行われた rasH2 マウスの無処置動物 50 匹の試験 (4%、2/50 匹) より高かった。以上のことから、細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生増加は被験物質暴露の影響と考え、がん原性を示す証拠(some evidence of carcinogenic activity)と判断した。

さらに、全臓器 (リンパ節、胸腺) の悪性リンパ腫の発生は、Peto 検定 (死亡率法、死亡率法+有病率法) と Cochran -Armitage 検定で有意な増加を示し、被験物質の暴露による影響が考えられた。雌の全臓器 (リンパ節、胸腺) の悪性リンパ腫の発生は、当センターの無処置対

照群で発生がなく (0/50 匹)、本試験の 600 ppm 群の悪性リンパ腫の発生(4 匹、16%)は、他施設のヒストリカルコントロールデータ (文献 10, 11, 12) では、試験単位での最大発生率が 26.7%であったが平均は 3.4%であった。

IARC (文献 13) は、がん原性試験の最高投与濃度を、亜慢性試験の結果からある程度の毒性影響が起きることが推定される濃度であり、腫瘍発生の結果以外で動物の寿命の長さを短縮させず、対照群と比較して 10%以上の体重増加の抑制を引き起こす毒性兆候を惹起させないことが推定される濃度と定義した。米国国立がん研究所 (NCI) の小動物発がん性試験ガイドラインでは (文献 14)、小動物を用いるがん原性試験の最高投与濃度として、対照群と比較して 10%以下の体重抑制を引き起こす濃度で、かつ発がん性に関係する反応以外に、毒性的兆候、病理学的障害による死亡率の上昇を引き起こさないと推定される最高濃度、即ち、最大耐量 (Maximum Tolerated Dose (MTD)) を最高投与濃度として用いることと定義した。

本がん原性試験においては、最高濃度群の 600 ppm 群では雄の最終体重は対照群の 91%、雌は同 94%であり、精巣に 2-ブロモプロパンの毒性影響と考えられる病理組織学的変化がみられた。また、雌の生存率は 600 ppm 群でやや低値であったが、2-ブロモプロパンの暴露によると思われる特定の死因は認められなかった。雄でも投与群の生存率に暴露による低下はみられなかった。従って、最高濃度を 600 ppm とした本がん原性試験の投与濃度の設定は、上記の MTD に関する基準を満たし、適切であると判断した。

IV-3 その他の影響

血液学的検査では、雄で MCV の高値と血小板数の低値が 200 ppm 以上の群で、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の低値および MCH の高値が 600 ppm 群でみられ、雌の血小板数の低値が 200 ppm 以上の群で、赤血球数の低値、MCV と MCH の高値、白血球分類で好中球と単球の高値およびリンパ球の低値が 600 ppm 群でみられた。これらの変化のうち、雌雄の 600 ppm 群での赤血球数の低値、雄の同群のヘモグロビン濃度とヘマトクリット値の低値は軽度の貧血であることを示している。また、雌雄の 200 ppm 以上の群で血小板数の低値がみられている。Ichihara らが Wister ラットの雄を用い 1 日 8 時間、9 週間の吸入試験 (文献 17) を行い、血液学的検査で赤血球数の低値、血小板数の低値の報告があり、本試験と同様の結果が出ている。Ichihara らの試験で、2-ブロモプロパンの暴露により骨髄の巨核球の減少がみられたという報告もあり、本試験での病理組織学的検査では巨核球の減少は観察されなかったものの被験物質の暴露の影響であると考えた。血液生化学的検査では、雄で ALP の上昇が 600 ppm 群で、雌でグルコースの高値が 200 ppm 以上の群で、総蛋白と総ビリルビンの高値が 600 ppm 群でみられた。尿検査では、雄の pH の低値が 200 ppm 群で、総蛋白の低値が 600 ppm 群でみられた。しかし、血液生化学的検査あるいは尿検査でみられた変化に対応した病理組織学的変化はみられなかった。

肉眼的観察では、雄の 200ppm 以上の群で精巣の委縮 (200 ppm 群 : 1 匹、600ppm 群 : 24

匹)、雌の 600ppm 群で胸腺の腫大が 2 例にみられた。臓器重量では、雄の精巣の実重量の低値がすべての投与群で、体重比の低値が 200 ppm 以上の群で、雌の卵巣の実重量と体重比の低値がすべての投与群で低値を示した。さらに、病理組織学的検査では、精原細胞の壊死、間細胞の過形成、精巣上体で精上皮細胞の残層の発生が顕著にみられた。2-ブロモプロパンには強い生殖毒性がある（文献 15、16）ことが知られており、精巣の委縮、実重量および体重比の低値、雌の卵巣の実重量および体重比の低値は 2-ブロモプロパンの暴露の影響であると考えた。また、雌雄の 600 ppm 群で胸腺の実重量および体重比の低値がみられたが病理組織学的検査では、変化がみられなかった。

V 結論

2-ブロモプロパンの rasH2 マウスを用いた吸入による中期がん原性試験を行った結果、以下の結論を得た。

雌雄の腫瘍の発生増加が示されたことから、雌雄 rasH2 マウスに対するがん原性を示す証拠 (some evidence of carcinogenic activity) が得られたと結論された。

VI 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 2018/5/14]
- 2) 化学工業日報社. 2014. 2014 年版 16514 の化学商品. 東京: 化学工業日報社, 953-954.
- 3) 経済産業省、一般化学物質等の製造・輸入数量（平成 28 年度実績）
http://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/kasinhou/information/H28jissekimatom.html[accessed 2018/5/14]
- 4) 平成 28 年度 P R T R データの概要 — 化学物質の排出量・移動量の集計結果 —
経済産業省製造産業局化学物質管理課、環境省環境保健部環境安全課
平成 30 年 3 月
- 5) (社)日本産業衛生学会：許容濃度の暫定値の提案理由、産業衛生学雑誌 41 :142 (1999).
- 6) McLafferty F.W, ed. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th ed. New York, NY: John Wiley and Sons.
- 7) OECD. 2009. OECD Guideline for Testing of Chemicals 451: "Carcinogenicity Studies".Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development.
- 8) 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適正層別方式の確立. 薬理と治療 14: 7285-7302.
- 9) 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
- 10) Paranjpe, M. G., Elbekaei, R. H., Shah, S. A., Hickman, M., Wenk, M. L., & Zahalka, E. A. (2013).
Historical control data of spontaneous tumors in transgenic CByB6F1-Tg (HRAS) 2Jic (Tg. rasH2) mice. International journal of toxicology, 32(1), 48-57.

- 11) Nambiar, P. R., Turnquist, S. E., & Morton, D. (2012).
Spontaneous tumor incidence in rasH2 mice: review of internal data and published literature. *Toxicologic pathology*, 40(4), 614-623.
- 12) Takaoka, M., Sehata, S., Maejima, T., Imai, T., Tor, M., Satoh, H., ... & Ueda, M. (2003).
Interlaboratory comparison of short-term carcinogenicity studies using CB6F1-rasH2 transgenic mice. *Toxicologic pathology*, 31(2), 191-199.
- 13) Bannasch P, Griesemer RA, Anders F, Becker R, Cabral JR, Della Porta G, et al. 1986. Long-term assays for carcinogenicity in animals. In: Long-Term and Short-Term Assays for Carcinogens: A Critical Appraisal. (Montesano R, Bartsch H, Vainio H, Wilbourn J, Yamasaki H. eds.). Lyon: IARC. IARC Scientific Publications No. 83: 13-83.
- 14) Sontag JM, Page NP, Saffiotti U. 1976. Guidelines for carcinogene bioassay in small rodents. NCI-CG-TR-1. DHEW Publication No.(NIH)76-801. Bethesda,MD: National Cancer Institute. 13-15.
- 15) Ichihara G, Asaeda N, Kumazawa T, Tagawa Y, Mamijima M, et al. : Testicular and hematopoietic toxicity of 2-bromopropane, a substitute for ozone layer-depleting chlorofluorocarbons. *J Occup Health*. 39: 57-63 (1997).
- 16) Yu X, Kamijima M, Ichihara G, Li W, Kitoh J, et al. : 2-Bromopropane causes ovarian dysfunction by damaging primordial follicles and their oocytes in female rats. *Toxicol Appl Pharmacol*. 159: 185-193 (1999).

VII 予見することのできなかつ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つたこと

試験計画書に「試資料の保管 (SOP No. STR-001)」「試験計画書の変更 (SOP No. STR-003)」の記載漏れがあつたが報告書に記載したため、試験の信頼性に影響を及ぼすものではなかつた。