

2-ブロモ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：0877

CAS No. 75-26-3

2019年11月19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
試験目的
試験法
GLP 対応
拡散防止措置及び動物福祉
厚生労働省担当課
試験施設及び運営管理者
試験日程
試験関係者一覧
試資料の保管
試験責任者（最終報告書作成者）の署名、捺印及び日付
陳述書
信頼性保証証明書
本文
TABLES	A ~ Q 2
FIGURES	1 ~ 6
PHOTOGRAPHS	1 ~ 18
APPENDICES	1-1 ~ 3

標題

2-プロモ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

2-プロモプロパン(被験物質番号 1072)をラットに 104 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「がん原性試験による調査の基準」(平成 9 年 3 月 11 日労働省労働基準局長基発第 144 号)に準拠し、OECD 化学品テストガイドライン 451(発癌性試験 2009 年 9 月 7 日採択)を参考にして実施した。

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 12 年 12 月 25 日労働省告示第 120 号)に準拠し(文献 1)、OECD GLP(1997 年 11 月 26 日採択)に準じて実施した。

拡散防止措置及び動物福祉

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、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 0144)。

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	2016年 8月 10日
動物導入日	2016年 8月 24日
群分け日	2016年 9月 7日
被験物質投与開始日	2016年 9月 8日
被験物質投与終了日	2018年 9月 5日
定期解剖日	2018年 9月 6、7、10、11、12日
試験終了日	2019年 11月 19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	(試験管理部)
		笠井 辰也	(試験管理部)
		平井 繁行	(試験管理部)
		大西 誠	(試験管理部)
動物管理	:	竹内 哲也	(試験管理部)
		三角 恭平	(試験管理部)
病理検査	:	相磯 成敏	(病理検査部)
		梅田 ゆみ	(病理検査部)
		妹尾 英樹	(病理検査部)
		齋藤美佐江	(病理検査部)
		高信 健司	(病理検査部)
		近藤ひとみ	(病理検査部)
データ処理及び統計	:	峯 多加志	(試験管理部)
		伊川 直樹	(試験管理部)


試資料の保管

試験計画書、標本、生データ、被験物質、記録文書、最終報告書、信頼性保証証明書、その他本試験に係る試資料は、試資料保管施設に保管する。なお、被験物質は 50 g を保管した。

保管期間は、最終報告書提出後、原則として 10 年間とする。なお、この期間にあっても標本については品質が評価に耐え得る期間保管する。

試験責任者（最終報告書作成者）の署名、捺印及び日付

試験管理部

齋藤新 
2019 年 11 月 19 日

陳 述 書

試験名：2-ブロモプロパンのラットを用いた吸入によるがん原性試験

本試験は、試験計画書に基づき、また、「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。

本報告書はその試験結果に基づいてまとめられたものに相違ありません。

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

試験責任者 齋藤新 印
2019年11月19日

運営管理者 菅野丸 印
2019年11月19日

信頼性保証証明書

標 題 2-ブロモプロパンのラットを用いた吸入によるがん原性試験

試験番号 0877

被験物質の名称 2-ブロモプロパン


本試験は試験計画書に従って実施され、生データが最終報告書に正確に反映していることを証明いたします。

日 付 2019年11月19日

信頼性保証責任者

所 属 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

職 名 信頼性保証主管

氏 名 江川 寛明 

2-ブロモ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：0877

本文

本文目次

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

- 2 - 5	飼育条件	8
(1)	飼育環境	8
(2)	飼料	9
(3)	飲水	9
- 3	観察・検査項目及び方法	9
- 3 - 1	動物の生死及び一般状態の観察	9
- 3 - 2	体重測定	10
- 3 - 3	摂餌量測定	10
- 3 - 4	尿検査	10
- 3 - 5	血液学的検査	10
- 3 - 6	血液生化学的検査	10
- 3 - 7	病理学的検査	11
(1)	肉眼的観察	11
(2)	臓器重量	11
(3)	臓器の採取保存	11
(4)	病理組織学的検査	11
- 4	数値処理と統計方法	11
- 4 - 1	数値の取り扱いと表示	11
- 4 - 2	統計処理	12
	試験成績	13
- 1	生存率	13
- 2	一般状態	13
- 3	体重	14
- 4	摂餌量	14
- 5	尿検査	15
- 6	血液学的検査	15
- 7	血液生化学的検査	15
- 8	病理学的検査	15
- 8 - 1	肉眼的観察	15
- 8 - 2	臓器重量	17
- 8 - 3	病理組織学的検査	17
- 8 - 4	死因	24

考察及びまとめ	26
- 1 生存率、一般状態、体重、摂餌量	26
- 2 腫瘍性病変及び腫瘍関連病変	27
- 3 その他の影響	29
結論	29
文献	30
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	32

要約

2-プロモプロパンのがん原性を検索する目的でF344/DuCr1Cr1j 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、2-プロモプロパンを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。

2-プロモプロパンの暴露の結果、雌雄の投与群の生存率が低下し、そのほとんどは腫瘍による死亡であった。特に600 ppm群では85週までに全ての動物が死亡した。一般状態では、外部腫瘍が投与群で増加し、雄では口周囲、耳根部、胸部、腹部、背側前、背側後にみられ、それに伴い貧血、痲疲、不整呼吸がみられた。雌では頸部、胸部、腹部、背側前、外陰部に外部腫瘍がみられ、それに伴い、外陰汚染、貧血、不整呼吸がみられた。体重では、雌雄の600 ppm群で投与初期より増加の抑制、低下がみられた。

病理組織学的検査の結果、雄では全ての投与群に、雌では200 ppm以上の群に腫瘍の発生増加がみられた。雄では耳道腺腫瘍として、悪性外耳道腺腫瘍の発生は全ての暴露群で増加した。皮膚/付属器腫瘍として、基底細胞癌、皮脂腺腺腫の発生は、600 ppm群で増加した。消化管腫瘍として小腸の腺癌が600 ppm群で、大腸の腺癌が200 ppm以上の群で増加し、甲状腺の濾胞状腺腫が200 ppm群で増加した。さらに皮下の線維腫が200 ppm群で、リンパ節の悪性リンパ腫が600 ppm群で増加した。また、包皮腺、肺、胃、脾臓、脳及び脾臓の腫瘍が増加傾向を示した。雌では乳腺の線維腺腫が200 ppm群で、腺癌が200 ppm以上の群で増加した。また、膣の扁平上皮乳頭腫が200 ppm群で増加し、さらに脾臓の単核球性白血病が200 ppm群で増加した。耳道腺、陰核腺、皮膚、大腸、脾臓、子宮及び皮下の腫瘍が増加傾向を示した。

以上のように、F344/DuCr1Cr1j ラットを用いて、2-プロモプロパンの2年間(104週間)にわたる吸入によるがん原性試験を実施した結果、以下の結論を得た。

雌雄とも多くの腫瘍で発生増加が示されたことから、雌雄ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠(clear evidence of carcinogenic activity)が得られたと結論された。

2-プロモ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	67	200	600	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
検査動物数		50	50	50	50		
耳道腺	外耳道腺腫瘍：良性(A)	0	0	1	2		
	外耳道腺腫瘍：悪性#(B)	0	5 *	6 *	23 **	↑↑	↑↑
皮膚	A+B	0	5 *	7 **	25 **	↑↑	↑↑
	扁平上皮乳頭腫(C)	1	0	1	2		
	基底細胞腫(D)	0	0	2	3	↑↑	↑
	角化棘細胞腫(E)	4	5	7	6	↑↑	
	皮脂腺腺腫(F)	0	1	2	10 **	↑↑	↑↑
	扁平上皮癌#(G)	0	1	0	1		
	基底細胞癌#(H)	0	0	0	12 **	↑↑	↑↑
	C+D+E+F+G+H	5	6	9	22 **	↑↑	↑↑
包皮腺	腺腫(I)	0	0	1	4	↑↑	↑↑
	腺癌#(J)	0	1	0	0		
肺	I+J	0	1	1	4	↑↑	↑
	細気管支-肺胞上皮腺腫(K)	3	7	5	7	↑↑	
	細気管支-肺胞上皮癌#(L)	1	3	1	2		
胃	扁平上皮癌#(M)	0	0	0	1		
	K+L+M	4	8	6	9	↑↑	
	扁平上皮乳頭腫(N)	0	0	1	4	↑↑	↑↑
小腸	扁平上皮癌#(O)	0	0	0	1		
	N+O	0	0	1	5 *	↑↑	↑↑
	腺癌#	0	0	2	7 **	↑↑	↑↑
大腸	腺腫(P)	0	0	1	3	↑↑	↑
	腺癌#(Q)	0	1	6 *	8 **	↑↑	↑↑
	P+Q	0	1	7 **	11 **	↑↑	↑↑
膵臓	島細胞腺腫(R)	3	2	5	1	↑	
	島細胞癌#(S)	0	1	2	0		
甲状腺	R+S	3	3	7	1	↑↑	
	濾胞状腺腫(T)	0	1	5 *	2	↑↑	
	濾胞状腺癌#(U)	0	3	1	0		
	T+U	0	4	6 *	2	↑↑	
皮下	血管腫	0	0	3	1	↑↑	
	線維腫(V)	7	5	15 *	5	↑↑	
	線維肉腫#(W)	0	0	1	0		
脳	V+W	7	5	16 *	5	↑↑	
	膠腫#	0	2	4	2	↑↑	
リパ°節	悪性リンパ腫#	1	0	3	7 *	↑↑	↑↑
脾臓	単核球性白血病#	10	7	16	4	↑↑	

#:悪性腫瘍

上段：上皮系腫瘍 下段：非上皮系腫瘍

*: p 0.05 で有意増加

↑: p 0.05 で有意増加

↓: p 0.05 で有意減少

** : p 0.01 で有意増加

↑↑ : p 0.01 で有意増加

↓↓ : p 0.01 で有意減少

(Fisher 検定)

(Peto, Cochran-Armitage 検定)

(Cochran-Armitage 検定)

2-プロモ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	67	200	600	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
検査動物数		50	50	50	50		
乳腺	腺腫(A)	1	0	5	0	↑↑	
	線維腺腫(B)	2	4	13 **	1	↑↑	
	腺癌#(C)	0	2	5 *	48 **	↑↑	↑↑
	腺扁平上皮癌#(D) A+B+C+D	0	0	1	0		
耳道腺	外耳道腺腫瘍：良性(E)	3	6	21 **	48 **	↑↑	↑↑
	外耳道腺腫瘍：悪性#(F) E+F	0	0	0	1		
		0	1	1	4	↑↑	↑
陰核腺	腺腫(G)	0	1	1	4	↑↑	↑
	扁平上皮乳頭腫(H)	1	1	4	4	↑	
	腺癌#(I) G+H+I	0	0	0	1		
皮膚	扁平上皮乳頭腫(J)	1	1	5	6	↑↑	↑
	毛嚢上皮腫(K)	2	0	0	4	↑↑	
	基底細胞腫(L)	1	0	0	0		
	角化棘細胞腫(M)	0	0	0	1		
	扁平上皮癌#(N) J+K+L+M+N	1	0	1	0		
	扁平上皮乳頭腫(O)	4	0	1	5	↑↑	
	扁平上皮癌#(P) O+P	1	2	7 *	4	↑↑	
大腸	腺腫(Q)	0	0	2	2		
	腺癌#(R) Q+R	0	0	0	2		
		0	0	2	4	↑↑	↑↑
膵臓	島細胞腺腫(S)	1	0	4	0	↑	
	島細胞腺癌#(T) S+T	0	1	0	0		
子宮	腺腫(U)	1	1	4	0	↑	
	腺癌#(V)	1	0	1	2		
	U+V	2	0	1	4	↑↑	
皮下	線維腫(W)	2	1	4	0	↑	
	線維肉腫#(X) W+X	0	0	1	2		
子宮	子宮内膜間質性ポリープ	2	1	5	2	↑↑	
脾臓	単核球性白血病#	9	4	11	8	↑	
		2	6	10 *	1	↑↑	

#:悪性腫瘍

上段：上皮系腫瘍 下段：非上皮系腫瘍

*: p 0.05 で有意増加

** : p 0.01 で有意増加

(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)

． 試験材料

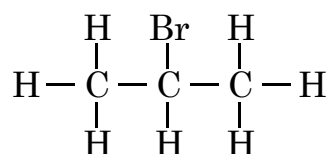
- 1 被験物質の性状等

- 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

- 1 - 2 構造式及び分子量 (文献 1、2)

構 造 式 :



分 子 量 : 122.99

- 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

- 2 使用被験物質等

- 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 : 99.7%以上 (和光純薬工業(株)検査成績データ)
 ロット番号 : KPJ3861、ECF5364、TWK6355

- 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）。

- 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）

- 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) 生殖毒性分類第 1 群（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

- 3 被験物質の特性

- 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-プ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。

- 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。

- 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）の F344/DuCr1Cr1j ラット（SPF）の雌雄を使用した。

雌雄各 220 匹を 4 週齢で導入し、検疫を 7 日間、馴化を 8 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 200 匹（群分け時体重範囲、雄：112～133g、雌：90～105 g）を試験に用いた。

なお、がん原性試験に F344/DuCr1Cr1j 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。

・ 試験方法

- 1 投与

- 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。

- 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。

- 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、日曜日及び祝祭日は暴露しない）で、2016 年 9 月 8 日～2018 年 9 月 5 日までの 104 週間とした。

- 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。

- 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 7）及び OECD 化学品テストガイドライン 451（発癌性試験）（文献 8）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 0845）の結果をもとに決定した。13 週間試験は 0（対照群）、100、300、1000、2000 及び 3000 ppm の濃度で行った。その結果、3000 ppm 群で動物の死亡がみられた。1000 ppm 以上の群では、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、臓器重量等に暴露の影響がみられた。また、病理組織学的検査では雌雄の鼻腔、骨髄、胸腺、脾臓、精巣、骨等に変化がみられた。1000 ppm 群の

最終体重は対照群に対し雄92%、雌91%であったが、白血球数の減少が著しく、定期解剖時の値は対照群に対し雄46%、雌51%であった。従って、1000 ppmはがん原性試験の最高濃度としては高すぎると考えられた。300 ppm群は雄で精巣と精巣上体に重量の低下及び病理組織学的変化がみられ、雌で血小板の減少がみられた。しかし、300 ppm群でみられた病理組織学的変化の多くは軽度で動物の生存に影響するものではなかった。従って、がん原性試験の最高濃度は1000 ppmと300 ppmの中間が妥当と考えられた。また、中間濃度は精巣への影響を指標とし300 ppmと100 ppmの中間の濃度、最低濃度は、100 ppm群で精巣と精巣上体に影響がみられたことから、100 ppm以下が望ましいと考えられた。

以上のことから、がん原性試験の投与濃度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。

- 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）と混合しながら再加熱し、一定濃度にした後、流量計を用い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。

- 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0.4%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。

- 2 動物管理

- 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50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	50匹 (1001~1050)	50匹 (2001~2050)
1	67 ppm 群	50匹 (1101~1150)	50匹 (2101~2150)
2	200 ppm 群	50匹 (1201~1250)	50匹 (2201~2250)
3	600 ppm 群	50匹 (1301~1350)	50匹 (2301~2350)

- 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（2016年9月7日）に体重の中央値に近い雌雄各200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9)。

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、試験から除外する。

- 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。

- 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605・606室、馴化・投与501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。

- 2 - 5 飼育条件

(1) 飼育環境

検疫期間中は検疫室（雄：605室、雌：606室）、馴化期間及び投与期間中は、吸入試験室（501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。

速やかに安楽死させた。

- 3 - 2 体重測定

全動物について、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) 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。

死亡及び瀕死の動物は、飼育室からの搬出時に体重を測定した。

- 3 - 3 摂餌量測定

全動物について、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。

- 3 - 4 尿検査

投与期間終期まで生存していた採尿可能な動物から、新鮮尿を採取し、尿試験紙(マルティスティックス、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、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン

- 3 - 5 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、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、網赤血球比、白血球数、白血球分類

- 3 - 6 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、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。検査方法は APPENDIX 3 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

- 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。

(2) 臓器重量

定期解剖時まで生存していた動物について、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：副腎、精巣、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、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)、胸骨(骨髄を含む)、大腿骨(骨髄を含む)、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、膣、乳腺、脳、脊髄、末梢神経(坐骨神経)、眼球、ハーダー腺、筋肉、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。

皮膚、鼻腔(3箇所を横断)、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、胸骨(骨髄を含む)、大腿骨(骨髄を含む)、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、膣、乳腺、脳、脊髄、末梢神経(坐骨神経)、眼球、ハーダー腺、筋肉、肉眼的に変化のみられた器官及び組織

- 4 数値処理と統計方法

- 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、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、給餌量値が

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。

- 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 10）、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定を行った。

各群雌雄ごとに検査数が 2 以下の項目については検定より除外した。

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。

試験成績

- 1 生存率

生存率を TABLE B 1, 2 及び FIGURE 1, 2 に示した。

- 雄 -

67 ppm 群と 200 ppm 群は対照群と比べ生存率が低かった。600 ppm 群では 85 週までにすべての動物が死亡した。

各群の 104 週における生存動物数 (生存率) は、対照群 : 38 匹 (76%)、67 ppm 群 : 31 匹 (62%)、200 ppm 群 : 19 匹 (38%)、600 ppm 群 : 0 匹 (0%) であった。

- 雌 -

67 ppm 群と 200 ppm 群は対照群と比べ生存率が低かった。600 ppm 群では 85 週までにすべての動物が死亡した。

各群の 104 週における生存動物数 (生存率) は、対照群 : 43 匹 (86%)、67 ppm 群 : 36 匹 (72%)、200 ppm 群 : 25 匹 (50%)、600 ppm 群 : 0 匹 (0%) であった。

- 2 一般状態

一般状態の観察結果を TABLE C 1, 2 に示した。

- 雄 -

外部腫瘍がみられた。外部腫瘍は対照群に 17 匹、67 ppm 群に 23 匹、200 ppm 群に 27 匹、600 ppm 群に 37 匹に観察され、その部位は口周囲 (対照群 : 1 匹、67 ppm 群 : 1 匹、200 ppm 群 : 3 匹、600 ppm 群 : 4 匹)、耳根部 (対照群 : 0 匹、67 ppm 群 : 4 匹、200 ppm 群 : 6 匹、600 ppm 群 : 22 匹)、胸部 (対照群 : 2 匹、67 ppm 群 : 2 匹、200 ppm 群 : 5 匹、600 ppm 群 : 2 匹)、腹部 (対照群 : 4 匹、67 ppm 群 : 10 匹、200 ppm 群 : 6 匹、600 ppm 群 : 7 匹)、背側前 (対照群 : 4 匹、67 ppm 群 : 3 匹、200 ppm 群 : 8 匹、600 ppm 群 : 17 匹)、背側後 (対照群 : 2 匹、67 ppm 群 : 2 匹、200 ppm 群 : 10 匹、600 ppm 群 : 15 匹) 等であった。また、腫瘍に伴い痂皮形成 (対照群 : 0 匹、67 ppm 群 : 0 匹、200 ppm 群 : 1 匹、600 ppm 群 : 7 匹)、貧血 (対照群 : 8 匹、67 ppm 群 : 4 匹、200 ppm 群 : 11 匹、600 ppm 群 : 23 匹)、不整呼吸 (対照群 : 8 匹、67 ppm 群 : 9 匹、200 ppm 群 : 11 匹、600 ppm 群 : 9 匹) などがみられた。

- 雌 -

外部腫瘍がみられた。外部腫瘍は対照群に 12 匹、67 ppm 群に 11 匹、200 ppm 群に 26 匹、600 ppm 群に 48 匹に観察され、その部位は頸部 (対照群 : 1 匹、67 ppm 群 : 0 匹、200 ppm 群 : 2 匹、600 ppm 群 : 5 匹)、胸部 (対照群 : 4 匹、67 ppm 群 : 3 匹、200 ppm 群 : 13 匹、600 ppm 群 : 31 匹)、腹部 (対照群 : 2 匹、67 ppm 群 : 6 匹、200 ppm 群 :

7 匹、600 ppm 群：9 匹)、背側前(対照群：1 匹、67 ppm 群：0 匹、200 ppm 群：1 匹、600 ppm 群：12 匹)、外陰部(対照群：3 匹、67 ppm 群：3 匹、200 ppm 群：7 匹、600 ppm 群：8 匹)等であった。また、腫瘤に伴い外陰汚染(対照群：2 匹、67 ppm 群：1 匹、200 ppm 群：4 匹、600 ppm 群：4 匹)、貧血(対照群：8 匹、67 ppm 群：7 匹、200 ppm 群：16 匹、600 ppm 群：23 匹)、不整呼吸(対照群：7 匹、67 ppm 群：4 匹、200 ppm 群：6 匹、600 ppm 群：11 匹)などがみられた。

- 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 群では投与期間中、対照群と差はみられなかった。200 ppm 群では投与期間の中期に体重増加の抑制がみられた週があった。600 ppm 群では投与の 4 週目から体重増加の抑制が継続してみられ、42 週からは前週と比して低下もみられるようになり、62 週以降は最終測定週の 82 週まで低下した。

最終計測日の各投与群の体重は、対照群に対して 67 ppm 群(104 週)：101%、200 ppm 群(104 週)：99%、600 ppm 群(82 週)：69%であった。

- 雌 -

67 ppm 群と 200 ppm 群では投与期間中、対照群と差はみられなかった。600 ppm 群では投与の 5 週目から体重増加の抑制が継続してみられ、58 週からは前週と比して低下もみられるようになり、74 週以降は最終測定週の 82 週まで低下した。

最終計測日の各投与群の体重は、対照群に対して 67 ppm 群(104 週)：99%、200 ppm 群(104 週)：103%、600 ppm 群(82 週)：72%であった。

- 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 14 週目に摂餌量の高値がみられた。200 ppm 群では 13 週まで、断続的に摂餌量の高値がみられ、66 週には低値がみられた。600 ppm 群では 14 週以降、最終測定週の 82 週まで連続して低値であった。

- 雌 -

67 ppm 群で投与期間を通して摂餌量の高値が散見された。200 ppm 群では 2 週から 4 週まで連続して、8 週以降は摂餌量の高値が散見された。600 ppm 群では 3 週まで連続して摂餌量の高値がみられ、42 週には低値がみられた。

- 5 尿検査

尿検査の結果を TABLE F 1, 2 に示した。なお、600 ppm 群は 85 週で全匹死亡のため検査は行われなかった。

- 雄 -

67 ppm 群と 200 ppm 群には、被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

- 雌 -

67 ppm 群で蛋白の陽性度の増強がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

- 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。なお、600 ppm 群は 85 週で全匹死亡のため検査は行われなかった。

- 雄 -

67 ppm 群と 200 ppm 群には、被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

- 雌 -

200 ppm 群で MCV、MCH 及び網赤血球比の高値がみられた。

- 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。なお、600 ppm 群は 85 週で全匹死亡のため検査は行われなかった。

- 雄 -

67 ppm 群と 200 ppm 群でクロールの高値がみられた。

- 雌 -

200 ppm 群でクレアチニンの低値とクロールの高値がみられた。

- 8 病理学的検査

- 8 - 1 肉眼的観察

解剖時の肉眼的観察結果を TABLE I 1, 2 に示した。

外部腫瘍として観察されたものは、肉眼病理学的には、耳道腺腫瘍、皮膚腫瘍、皮膚付属器官、皮下腫瘍、乳腺腫瘍と考えられた。

- 雄 -

耳道腺の結節（直径約 6 cm まで）が対照群 0 匹に対して 67 ppm 群 5 匹、200 ppm 群 6 匹、600 ppm 群 26 匹に認められた。皮膚/付属器の結節（直径約 3 cm まで）が対照群 2 匹に対して 67 ppm 群と 200 ppm 群 4 匹、600 ppm 群 14 匹に認められた。乳腺の結節（直径約 13 cm まで）が対照群 3 匹に対して 67 ppm 群 4 匹、200 ppm 群 9 匹、600 ppm 群 2 匹に認められた。皮下の腫瘤（直径約 12 cm まで）が対照群 9 匹に対して 67 ppm 群 8 匹、200 ppm 群 15 匹、600 ppm 群 19 匹に認められた。肺の結節が対照群 2 匹に対して 67 ppm 群 6 匹、200 ppm 群と 600 ppm 群に 4 匹、白色斑が対照群 4 匹に対して 67 ppm 群 5 匹、200 ppm 群 2 匹、600 ppm 群 10 匹、赤色斑が対照群 0 匹に対して 67 ppm 群 3 匹、200 ppm 群 5 匹、600 ppm 群 2 匹に認められた。胃の前胃の結節が対照群 0 匹に対して 67 ppm 群 1 匹、200 ppm 群 0 匹、600 ppm 群 8 匹、前胃の潰瘍が対照群 0 匹に対して 67 ppm 群 0 匹、200 ppm 群 4 匹、600 ppm 群 1 匹に認められた。小腸の結節が対照群 1 匹に対して 67 ppm 群 0 匹、200 ppm 群 3 匹、600 ppm 群 5 匹に認められた。大腸の結節が対照群 1 匹に対して 67 ppm 群 2 匹、200 ppm 群 6 匹、600 ppm 群 7 匹に認められた。リンパ節の腫大が対照群 2 匹に対して 67 ppm 群と 200 ppm 群 5 匹、600 ppm 群 8 匹に認められた。脾臓の腫大が対照群 16 匹に対して 67 ppm 群 9 匹、200 ppm 群と 600 ppm 群 21 匹に認められた。舌の結節が対照群 0 匹に対して 67 ppm 群 0 匹、200 ppm 群 4 匹、600 ppm 群 5 匹に認められた。肝臓の腫大が対照群 5 匹に対して 67 ppm 群 4 匹、200 ppm 群 12 匹、600 ppm 群 2 匹に認められ、粗（表面粗造）が対照群 9 匹に対して 67 ppm 群 4 匹、200 ppm 群 15 匹、600 ppm 群 2 匹に認められた。精巢の小（小型化）が対照群 0 匹に対して 67 ppm 群 0 匹、200 ppm 群 1 匹、600 ppm 群 5 匹に認められ、結節が対照群 39 匹に対して 67 ppm 群 35 匹、200 ppm 群 30 匹、600 ppm 群 0 匹に認められた。また、腹水が対照群 0 匹に対して 67 ppm 群 0 匹、200 ppm 群 3 匹、600 ppm 群 0 匹に認められた。全身の貧血様が対照群 4 匹に対して 67 ppm 群 1 匹、200 ppm 群 4 匹、600 ppm 群 10 匹に認められた。

- 雌 -

乳腺の結節（直径約 11 cm まで）が対照群 6 匹に対して 67 ppm 群 3 匹、200 ppm 群 17 匹、600 ppm 群 33 匹に認められた。耳道腺（直径約 2 cm まで）の結節が対照群 0 匹に対して 67 ppm 群 1 匹、200 ppm 群 1 匹、600 ppm 群 5 匹に認められた。皮下の腫瘤（直径約 12 cm まで）が対照群 1 匹に対して 67 ppm 群 6 匹、200 ppm 群 11 匹、600 ppm 群 18 匹に認められた。脾臓の腫大が対照群 6 匹に対して 67 ppm 群 11 匹、200 ppm 群 16 匹、600 ppm 群 22 匹に認められた。肝臓の粗（表面粗造）が対照群 4 匹に対して 67 ppm 群 5 匹、200 ppm 群 10 匹、600 ppm 群 1 匹に認められた。子宮の結節が対照群 6 匹に対して 67 ppm 群 2 匹、200 ppm 群 12 匹、600 ppm 群 5 匹に認められた。リンパ節の腫大が対照群 1 匹に対して 67 ppm 群 0 匹、200 ppm 群 2 匹、600 ppm 群 5 匹に認められた。肺の赤色斑が対照群 0 匹に対して 67 ppm 群 4 匹、200 ppm 群 3 匹、600 ppm 群 1 匹に認められた。肝

臓の結節が対照群 0 匹に対して 67 ppm 群 3 匹、200 ppm 群 1 匹、600 ppm 群 0 匹に認められた。全身の貧血様が対照群 2 匹に対して 67 ppm 群 4 匹、200 ppm 群 6 匹、600 ppm 群 9 匹に認められた。

- 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 に示した。なお、600 ppm 群は 85 週で全匹死亡のため測定は行われなかった。

- 雄 -

200 ppm 群で脳に実重量の低値が認められたが、体重比では差を認めなかった。

- 雌 -

200 ppm 群で腎臓と脾臓に実重量の高値と、脳に実重量の低値が認められたが、体重比では差を認めなかった。

- 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、腫瘍の期間別の発生数を TABLE N 1, 2 に示した。また、転移性病変は TABLE O 1, 2、非腫瘍性病変は TABLE P 1, 2 に示した。さらに、病理組織所見の代表例を PHOTOGRAPH 1~18 に示した。

- 雄 -

1) 腫瘍性病変

- 上皮系腫瘍 -

< 耳道腺 >

外耳道腺腫瘍：悪性の発生は、対照群で 0 匹 (0%)、67 ppm 群で 5 匹 (10%)、200 ppm 群で 6 匹 (12%)、600 ppm 群で 23 匹 (46%) に認められ、67 ppm 群、200 ppm 群及び 600 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定 (死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法) と Cochran-Armitage 検定で有意な増加を示した。また、外耳道腺腫瘍：良性の発生が、200 ppm 群で 1 匹 (2%)、600 ppm 群で 2 匹 (4%) に認められたことから、外耳道腺腫瘍：悪性と外耳道腺腫瘍：良性を合わせた発生は、対照群で 0 匹 (0%)、67 ppm 群で 5 匹 (10%)、200 ppm 群で 7 匹 (14%)、600 ppm 群で 25 匹 (50%) に認められ、67 ppm 群、200 ppm 群及び 600 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定 (死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法) と Cochran-Armitage 検定で有意な増加を示した。

<皮膚/付属器官>

皮脂腺腺腫の発生は、対照群で0匹(0%)、67 ppm群で1匹(2%)、200 ppm群で2匹(4%)、600 ppm群で10匹(20%)に認められ、600 ppm群でFisher検定で有意な増加を示し、Peto検定(有病率法)とCochran-Armitage検定で有意な増加を示した。また、基底細胞癌の発生は、対照群、67 ppm群及び200 ppm群で0匹(0%)、600 ppm群で12匹(24%)に認められ、600 ppm群でFisher検定で有意な増加を示し、Peto検定(死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法)とCochran-Armitage検定で有意な増加を示した。さらに、基底細胞腫の発生は、対照群と67 ppm群で0匹(0%)、200 ppm群で2匹(4%)、600 ppm群で3匹(6%)に認められ、Peto検定(死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法)とCochran-Armitage検定で有意な増加を示した。また、角化棘細胞腫は、対照群で4匹(8%)、67 ppm群で5匹(10%)、200 ppm群で7匹(14%)、600 ppm群で6匹(12%)に認められ、Peto検定(有病率法)で有意な増加を示した。上に示した皮脂腺腺腫、基底細胞癌、基底細胞腫及び角化棘細胞腫に扁平上皮癌と扁平上皮乳頭腫を合わせた発生は、対照群で5匹(10%)、67 ppm群で6匹(12%)、200 ppm群で9匹(18%)、600 ppm群で22匹(44%)に認められ、600 ppm群でFisher検定で有意な増加を示し、Peto検定(死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法)とCochran-Armitage検定で有意な増加を示した。

<包皮腺>

腺腫の発生は、対照群と67 ppm群で0匹(0%)、200 ppm群で1匹(2%)、600 ppm群で4匹(8%)に認められ、Peto検定(死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法)とCochran-Armitage検定で有意な増加を示した。

<肺>

細気管支-肺胞上皮腺腫の発生は、対照群で3匹(6%)、67 ppm群で7匹(14%)、200 ppm群で5匹(10%)、600 ppm群で7匹(14%)に認められ、Peto検定(有病率法)で有意な増加を示した。また、細気管支-肺胞上皮癌が対照群で1匹(2%)、67 ppm群で3匹(6%)、200 ppm群で1匹(2%)、600 ppm群で2匹(4%)、扁平上皮癌が600 ppm群で1匹(2%)に認められたことから、細気管支-肺胞上皮腺腫、扁平上皮癌及び細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生は、対照群で4匹(8%)、67 ppm群で8匹(16%)、200 ppm群で6匹(12%)、600 ppm群で9匹(18%)に認められ、Peto検定(死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法)で有意な増加を示した。

<胃>

扁平上皮乳頭腫の発生は、対照群と67 ppm群で0匹(0%)、200 ppm群で1匹(2%)、600 ppm群で4匹(8%)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。また、扁平上皮癌の発生が、600 ppm 群で 1 匹 (2%) に認められたことから、扁平上皮乳頭腫と扁平上皮癌を合わせた発生は、対照群と 67 ppm 群で 0 匹 (0%)、200 ppm 群で 1 匹 (2%)、600 ppm 群で 5 匹 (10%) に認められ、600 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で有意な増加を示した。

< 小腸 >

腺癌の発生は、対照群と 67 ppm 群で 0 匹 (0%)、200 ppm 群で 2 匹 (4%)、600 ppm 群で 7 匹 (14%) に認められ、600 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定 (死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法) と Cochran-Armitage 検定で有意な増加を示した。

< 大腸 >

腺腫の発生は、対照群と 67 ppm 群で 0 匹 (0%)、200 ppm 群で 1 匹 (2%)、600 ppm 群で 3 匹 (6%) 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。また、腺癌の発生は、対照群で 0 匹 (0%)、67 ppm 群で 1 匹 (2%)、200 ppm 群で 6 匹 (12%)、600 ppm 群で 8 匹 (16%) に認められ、200 ppm 群と 600 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、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、腺腫と腺癌を合わせた発生は、対照群で 0 匹 (0%)、67 ppm 群で 1 匹 (2%)、200 ppm 群で 7 匹 (14%)、600 ppm 群で 11 匹 (22%) に認められ、200 ppm 群と 600 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定 (有病率法) と Cochran-Armitage 検定で有意な増加を示した。

< 膵臓 >

島細胞腺腫の発生は、対照群で 3 匹 (6%)、67 ppm 群で 2 匹 (4%)、200 ppm 群で 5 匹 (10%)、600 ppm 群で 1 匹 (2%) に認められ、Peto 検定 (有病率法) で有意な増加を示した。また、島細胞腺癌の発生が 67 ppm 群で 1 匹 (2%)、200 ppm 群で 2 匹 (4%) に認められたことから、島細胞腺腫と島細胞腺癌を合わせた発生は、対照群と 67 ppm 群で 3 匹 (6%)、200 ppm 群で 7 匹 (14%)、600 ppm 群で 1 匹 (2%) に認められ、Peto 検定 (有病率法、死亡率法+有病率法) で有意な増加を示した。

< 甲状腺 >

濾胞状腺腫の発生は、対照群で 0 匹 (0%)、67 ppm 群で 1 匹 (2%)、200 ppm 群で 5 匹 (10%)、600 ppm 群で 2 匹 (4%) に認められ、200 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定 (有病率法) で有意な増加を示した。また、濾胞状腺癌が 67 ppm 群で 3 匹 (6%)、200 ppm 群で 1 匹 (2%) に認められ、濾胞状腺腫と濾胞状腺癌を合わ

せた発生は、対照群で 0 匹 (0%)、67 ppm 群で 4 匹 (8%)、200 ppm 群で 6 匹 (12%)、600 ppm 群で 2 匹 (4%) に認められ、200 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定 (有病率法) で有意な増加を示した。

- 非上皮系腫瘍 -

< 皮下 >

線維腫の発生は、対照群で 7 匹 (14%)、67 ppm 群で 5 匹 (10%)、200 ppm 群で 15 匹 (30%)、600 ppm 群で 5 匹 (10%) に認められ、200 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定 (死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法) で有意な増加を示した。また、線維肉腫の発生が、200 ppm 群で 1 匹 (2%) に認められ、線維腫と線維肉腫を合わせた発生は、対照群で 7 匹 (14%)、67 ppm 群で 5 匹 (10%)、200 ppm 群で 16 匹 (32%)、600 ppm 群で 5 匹 (10%) に認められ、200 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定 (死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法) で有意な増加を示した。さらに、血管腫の発生は、対照群と 67 ppm 群で 0 匹 (0%)、200 ppm 群で 3 匹 (6%)、600 ppm 群で 1 匹 (2%) に認められ、Peto 検定 (有病率法) で有意な増加を示した。

< 脳 >

膠腫 (悪性星細胞膠腫) の発生は、対照群で 0 匹 (0%)、67 ppm 群で 2 匹 (4%)、200 ppm 群で 4 匹 (8%)、600 ppm 群で 2 匹 (4%) に認められ、Peto 検定 (死亡率法、死亡率法+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、対照群で 1 匹 (2%)、67 ppm 群で 0 匹 (0%)、200 ppm 群で 3 匹 (6%)、600 ppm 群で 7 匹 (14%) に認められ、600 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定 (死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法) と Cochran-Armitage 検定で有意な増加を示した。

< 脾臓 >

単核球性白血病の発生は、対照群で 10 匹 (20%)、67 ppm 群で 7 匹 (14%)、200 ppm 群で 16 匹 (32%)、600 ppm 群で 4 匹 (8%) に認められ、Peto 検定 (死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法) で有意な増加を示した。

2) 非腫瘍性病変

< 肺 >

細気管支-肺胞上皮過形成の発生匹数の増加が 600 ppm 群で認められた。

<舌>

扁平上皮過形成の発生匹数の増加が 600 ppm 群で認められた。

<脾臓>

髄外造血の発生匹数の増加が 600 ppm 群で認められた。

<精巣>

萎縮の発生匹数の増加が 600 ppm 群で認められた。

<眼>

角膜炎の発生匹数の増加が 600 ppm 群で認められた。

<鼻腔>

嗅上皮のエオジン好性変化の程度の増強が 200 ppm 群で認められた。

鼻腔の呼吸上皮の炎症、肝臓の胆管過形成及び腎臓の慢性腎症が 200 ppm 以上の群、肝臓の好酸性小増殖巣と下垂体の前葉の過形成が 600 ppm 群で減少した。前立腺の過形成が 67 ppm 群と 600 ppm 群で変化が認められたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

- 雌 -

1) 腫瘍性病変

- 上皮系腫瘍 -

<乳腺>

腺腫の発生は、対照群で 1 匹(2%)、67 ppm 群で 0 匹(0%)、200 ppm 群で 5 匹(10%)、600 ppm 群で 0 匹(0%)に認められ、Peto 検定(有病率法)で有意な増加を示した。また、線維腺腫の発生は、対照群で 2 匹(4%)、67 ppm 群で 4 匹(8%)、200 ppm 群で 13 匹(26%)、600 ppm 群で 1 匹(2%)に認められ、200 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定(死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法)で有意な増加を示した。さらに、腺癌の発生は、対照群で 0 匹(0%)、67 ppm 群で 2 匹(4%)、200 ppm 群で 5 匹(10%)、600 ppm 群で 48 匹(96%)に認められ、200 ppm 群と 600 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定(死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法)と Cochran-Armitage 検定で有意な増加を示した。これに加え、腺扁平上皮癌の発生が 200 ppm 群で 1 匹(2%)に認められたことから、腺腫、線維腺腫、腺癌及び腺扁平上皮癌を合わせた発生は、対照群で 3 匹(6%)、67 ppm 群で 6 匹(12%)、200 ppm 群で 21 匹(42%)、600 ppm 群で 48 匹(96%)に認められ、200 ppm 群と 600 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定(死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法)と Cochran-Armitage

検定で有意な増加を示した。

< 耳道腺 >

外耳道腺腫瘍：悪性の発生は、対照群 0 匹(0%)、67 ppm 群と 200 ppm 群で 1 匹(2%)、600 ppm 群で 4 匹(8%)に認められ、Peto 検定(死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法)と Cochran-Armitage 検定で有意な増加を示した。また、外耳道腺腫瘍：良性の発生は、600 ppm 群で 1 匹(2%)に認められた。

< 陰核腺 >

腺腫の発生は、対照群と 67 ppm 群で 1 匹(2%)、200 ppm 群と 600 ppm 群で 4 匹(8%)に認められ、Peto 検定(有病率法、死亡率法+有病率法)で有意な増加を示した。また、扁平上皮乳頭腫が 600 ppm 群で 1 匹(2%)、腺癌が 200 ppm 群と 600 ppm 群で 1 匹(2%)に認められたことから、腺腫、扁平上皮乳頭腫及び腺癌を合わせた発生は、対照群と 67 ppm 群で 1 匹(2%)、200 ppm 群で 5 匹(10%)、600 ppm 群で 6 匹(12%)に認められ、Peto 検定(有病率法、死亡率法+有病率法)と Cochran-Armitage 検定で有意な増加を示した。

< 皮膚/付属器官 >

扁平上皮乳頭腫の発生は、対照群で 2 匹(4%)、67 ppm 群と 200 ppm 群で 0 匹(0%)、600 ppm 群で 4 匹(8%)に認められ、Peto 検定(有病率法)で有意な増加を示した。また、毛嚢上皮腫が対照群で 1 匹(2%)、基底細胞腫が 600 ppm 群で 1 匹(2%)、角化棘細胞腫が対照群で 1 匹(2%)、扁平上皮癌が 200 ppm 群で 1 匹(2%)に認められたことから、扁平上皮乳頭腫、毛嚢上皮腫、基底細胞腫、角化棘細胞腫及び扁平上皮癌を合わせた発生は、対照群で 4 匹(8%)、67 ppm 群で 0 匹(0%)、200 ppm 群で 1 匹(2%)、600 ppm 群で 5 匹(10%)に認められ、Peto 検定(有病率法、死亡率法+有病率法)で有意な増加を示した。

< 膣 >

扁平上皮乳頭腫の発生は、対照群で 1 匹(2%)、67 ppm 群で 2 匹(4%)、200 ppm 群で 7 匹(14%)、600 ppm 群で 4 匹(8%)に認められ、200 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定(有病率法)で有意な増加を示した。また、扁平上皮癌の発生が 200 ppm 群で 1 匹(2%)に認められたことから、扁平上皮乳頭腫と扁平上皮癌を合わせた発生は、対照群で 1 匹(2%)、67 ppm 群で 2 匹(4%)、200 ppm 群で 8 匹(16%)、600 ppm 群で 4 匹(8%)に認められ、200 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定(有病率法)で有意な増加を示した。

<大腸>

腺腫の発生が 200 ppm 群と 600 ppm 群で 2 匹(4%)に、腺癌が 600 ppm 群で 2 匹(4%)に認められたことから、腺腫と腺癌を合わせた発生は、対照群と 67 ppm 群で 0 匹(0%)、200 ppm 群で 2 匹(4%)、600 ppm 群で 4 匹(8%)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。

<膵臓>

島細胞腺腫の発生は、対照群で 1 匹(2%)、67 ppm 群で 0 匹(0%)、200 ppm 群で 4 匹(8%)、600 ppm 群で 0 匹(0%)に認められ、Peto 検定(有病率法)で有意な増加を示した。また、島細胞腺癌が 67 ppm 群で 1 匹(2%)に認められた。

<子宮>

腺腫の発生が対照群で 1 匹(2%)、600 ppm 群で 2 匹(4%)、腺癌の発生が対照群で 1 匹(2%)、200 ppm 群で 1 匹(2%)、600 ppm 群で 2 匹(4%)に認められたことから、腺腫と腺癌を合わせた発生は、対照群で 2 匹(4%)、67 ppm 群で 0 匹(0%)、200 ppm 群で 1 匹(2%)、600 ppm 群で 4 匹(8%)に認められ、Peto 検定(有病率法)で有意な増加を示した。

- 非上皮系腫瘍 -

<皮下>

線維腫の発生は、対照群で 2 匹(4%)、67 ppm 群で 1 匹(2%)、200 ppm 群で 4 匹(8%)、600 ppm 群で 0 匹(0%)に認められ、Peto 検定(有病率法)で有意な増加を示した。また、線維肉腫の発生が 200 ppm 群で 1 匹(2%)、600 ppm 群で 2 匹(4%)に認められたことから、線維腫と線維肉腫を合わせた発生は、対照群で 2 匹(4%)、67 ppm 群で 1 匹(2%)、200 ppm 群で 5 匹(10%)、600 ppm 群で 2 匹(4%)に認められ、Peto 検定(死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法)で有意な増加を示した。

<子宮>

子宮内膜間質性ポリープの発生は、対照群で 9 匹(18%)、67 ppm 群で 4 匹(8%)、200 ppm 群で 11 匹(22%)、600 ppm 群で 8 匹(16%)に認められ、Peto 検定(有病率法、死亡率法+有病率法)で有意な増加を示した。

<脾臓>

単核球性白血病の発生は、対照群で 2 匹(4%)、67 ppm 群で 6 匹(12%)、200 ppm 群で 10 匹(20%)、600 ppm 群で 1 匹(2%)に認められ、200 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定(死亡率法、有病率法、死亡率法+有病率法)で有意な増加を示

した。

なお、下垂体の腺腫が Peto 検定 (死亡率法+有病率法) で増加傾向を示したが、600 ppm 群の発生が Fisher 検定で有意な減少、Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。また、腺腫と腺癌を合わせた発生でも、Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。

2) 非腫瘍性病変

< 肺 >

炎症細胞浸潤の発生匹数の増加が 600 ppm 群で認められた。

< 骨髄 >

造血亢進の発生匹数の増加が 200 ppm 以上の群で認められた。

< 脾臓 >

髓外造血の発生匹数のと程度の増強が 200 ppm 以上の群で認められた。

< 胃 >

前胃の潰瘍の発生匹数の増加が 200 ppm 以上の群で認められた。

< 副腎 >

髓外造血の発生匹数の増加が 600 ppm 群で認められた。

< 膣 >

過形成の発生匹数の増加が 200 ppm 群で認められた。

鼻腔の鉍質沈着、呼吸上皮の炎症、呼吸上皮と嗅上皮のエオジン好性変化、肝臓の好酸性小増殖巣と好塩基性小増殖巣、腎臓の慢性腎症、下垂体前葉の過形成、甲状腺の C-細胞過形成が 600 ppm 群、副腎の血管拡張が 200 ppm 以上の群で減少ないし減弱した。

- 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 -

600 ppm 群では耳道腺腫瘍、皮膚/付属器の腫瘍及び白血病を死因とする動物が多く、200 ppm 群では白血病を死因とする動物が多く認められた。

耳道腺腫瘍を死因とした動物数は、対照群 : 0 匹、67 ppm 群 : 4 匹、200 ppm 群 : 3 匹、

600 ppm 群：18 匹であった。白血病を死因とした動物数は、対照群：6 匹、67 ppm 群：4 匹、200 ppm 群：11 匹、600 ppm 群：10 匹であった。皮膚/付属器の腫瘍を死因とした動物数は、対照群、67 ppm 群及び 200 ppm 群：0 匹、600 ppm 群：8 匹であった。皮下組織の腫瘍を死因とした動物数は、対照群：2 匹、67 ppm 群：0 匹、200 ppm 群：6 匹、600 ppm 群：3 匹であった。

- 雌 -

200 ppm 以上の群では、乳腺腫瘍を死因とする動物が多く、67 ppm 群と 200 ppm 群では、白血病を死因とする動物が多く認められた。

乳腺腫瘍を死因とした動物数は、対照群：0 匹、67 ppm 群：1 匹、200 ppm 群：7 匹、600 ppm 群：46 匹であった。白血病を死因とした動物数は、対照群：0 匹、67 ppm 群：5 匹、200 ppm 群：6 匹、600 ppm 群：1 匹であった。

考察及びまとめ

2-プロモプロパンのラットを用いた 104 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、投与群に腫瘍の増加による生存率の低下がみられ、600 ppm 群では 85 週で全匹が死亡した。腫瘍は雌雄の耳道腺、皮膚/付属組織、大腸、皮下、包皮腺/陰核腺、脾臓、膵臓(内分泌)、雄の胃、リンパ節、甲状腺、小腸、肺及び脳、雌の乳腺、子宮及び腔に腫瘍の発生増加がみられた。雌雄とも多臓器にわたって腫瘍の発生増加が認められ、これらは被験物質の投与の影響と判断できる。特に、雄の耳道腺、皮膚/付属組織、消化管(胃、小腸、大腸)、リンパ節、皮下組織及び甲状腺、雌の乳腺、脾臓及び腔に悪性腫瘍を含む顕著な発生増加がみられた。

- 1 生存率、一般状態、体重、摂餌量

2-プロモプロパンの暴露により雌雄の投与群の生存率が低下した。雌雄の 600 ppm 群では切迫屠殺あるいは死後発見で、85 週までにすべての動物が死亡した。一般状態は雌雄で外部腫瘍がみられた。雄の外部腫瘍は対照群に 17 匹、67 ppm 群に 23 匹、200 ppm 群に 27 匹、600 ppm 群に 37 匹に観察され、その部位は耳根部、背側前、背側後、腹部、胸部、口周囲等にみられた。またそれに伴い貧血、痲疲、不整呼吸などがみられた。腫瘍のある動物が最初に観察されたのは 37 週だった。雌の外部腫瘍は対照群に 12 匹、67 ppm 群に 11 匹、200 ppm 群に 26 匹、600 ppm 群に 48 匹に観察され、その部位は胸部、背側前、腹部、外陰部、頸部等にみられた。それに伴い外陰汚染、貧血、不整呼吸などがみられた。腫瘍のある動物が最初に観察されたのは 24 週だった。なお、雄での死後発見は対照群に 4 匹、67 ppm 群に 3 匹、200 ppm 群に 4 匹、600 ppm 群に 3 匹、切迫屠殺は対照群に 8 匹、67 ppm 群に 16 匹、200 ppm 群に 27 匹、600 ppm 群に 47 匹、雌での死後発見は対照群に 2 匹、67 ppm 群に 6 匹、200 ppm 群に 4 匹、600 ppm 群に 6 匹、切迫屠殺は対照群に 5 匹、67 ppm 群に 8 匹、200 ppm 群に 21 匹、600 ppm 群に 44 匹であった。

体重は、雄の 200 ppm 群では投与期間の中期に体重増加の抑制がみられた週があった。600 ppm 群では投与の 4 週目から体重増加の抑制、あるいは前週と比して低下もみられ、62 週以降は最終測定週の 82 週まで低下した。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。600 ppm 群では投与の 5 週目から体重増加の抑制、あるいは前週と比して低下もみられ、74 週以降は最終測定週の 82 週まで低下した。

摂餌量は、雄の 600 ppm 群で投与の初期より摂餌量の低値がみられた。雌では、67 ppm 群と 200 ppm 群で摂餌量の高値が散見された。

雌雄の 600 ppm 群で体重増加の抑制あるいは低下がみられたが、摂餌量の低値が対応していなかった要因は餌こぼしがあったと推測された。その要因は 2-プ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。

- 2 腫瘍性病変及び腫瘍関連病変 (文献 11, 12)

雄

耳道腺では、悪性外耳道腺腫瘍の発生及び外耳道腺腫瘍の悪性と良性を合わせた発生は、全ての暴露群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。外耳道腺腫瘍による死亡・瀕死例は、67 ppm 以上の群にみられ、600 ppm 群に多く認められた。

皮膚/付属器では、基底細胞癌の発生は、600 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。また、良性腫瘍である皮脂腺腺腫の発生も 600 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、基底細胞腫が Peto 検定と Cochran-Armitage 検定、角化棘細胞腫が Peto 検定で増加傾向を示した。さらに、悪性腫瘍の扁平上皮癌の発生は投与群のみに認められた。皮脂腺腺腫、基底細胞癌、基底細胞腫、角化棘細胞腫、扁平上皮癌及び扁平上皮乳頭腫を合わせた発生は、600 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。皮膚/付属器の腫瘍による死亡・瀕死例は、600 ppm 群に多く認められた。

包皮腺では、腺腫の発生は Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。

肺では、細気管支-肺胞上皮腺腫の発生と、細気管支-肺胞上皮腺腫、細気管支-肺胞上皮腺腫及び扁平上皮癌を合わせた発生は Peto 検定で増加傾向を示した。

消化管等では、前胃の扁平上皮乳頭腫の発生は Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、扁平上皮癌の発生が 600 ppm 群にのみ認められた。また、扁平上皮乳頭腫と扁平上皮癌を合わせた発生は 600 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。小腸では、腺癌の発生は 600 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。大腸では、腺癌の発生は 200 ppm 以上の群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。さらに、腺腫の発生も 200 ppm 以上の群に認められ、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。

膵臓(内分泌)では、島細胞腺腫の発生及び島細胞腺腫と島細胞癌を合わせた発生は Peto 検定で増加傾向を示した。

甲状腺では、濾胞状腺腫の発生は 200 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定で増加傾向を示した。また、濾胞状腺癌の発生が 67 ppm と 200 ppm 群に認められた。さらに、濾胞状腺腫と濾胞状腺癌を合わせた発生は、200 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定で増加傾向を示した。

皮下組織では、線維腫の発生は 200 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定で増加傾向を示した。また、血管腫の発生が Peto 検定で増加傾向を示した。

脳では、膠腫の発生は Peto 検定で増加傾向を示した。

リンパ節の悪性リンパ腫の発生は 600 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。

脾臓の単核球性白血病の発生は Peto 検定で増加傾向を示した。

以上、耳道腺、皮膚/付属器官、包皮腺、肺、消化管（胃、小腸、大腸）、膵臓（内分泌）、甲状腺、皮下、脳、リンパ節及び脾臓に悪性腫瘍を含む腫瘍の発生増加がみられ、これらの発生は雄ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠と考えられた。

雌

乳腺では、腺癌の発生は、200 ppm 以上の群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。また、良性腫瘍である線維腺腫の発生は、200 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定で増加傾向を示した。これに加え、腺腫の発生は、Peto 検定で増加傾向を示した。乳腺腫瘍が死因となる例は、200 ppm 以上の群に多く認められた。

耳道腺では、外耳道腺腫瘍：悪性及び外耳道腺腫瘍：良性と外耳道腺腫瘍：悪性を合わせた発生は Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。

陰核腺では、腺腫、扁平上皮乳頭腫及び腺癌を合わせた発生は Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。

皮膚では、扁平上皮乳頭腫の発生は Peto 検定で増加傾向を示した。

膣では、扁平上皮乳頭腫の発生は 200 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定で増加傾向を示した。

大腸では、腺腫と腺癌を合わせた発生は Peto 検定と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。

膵臓（内分泌）では、島細胞腺腫の発生は Peto 検定で増加傾向を示した。

子宮では、腺腫と腺癌を合わせた発生及び子宮内膜間質性ポリープは Peto 検定で増加傾向を示した。

皮下では、線維腫の発生及び線維腫と線維肉腫を合わせた発生は Peto 検定で増加傾向を示した。

脾臓の単核球性白血病の発生は、200 ppm 群で Fisher 検定で有意な増加を示し、Peto 検定で増加傾向を示した。白血病が死因となる例は、67 ppm 群と 200 ppm 群に多く認められた。

以上、乳腺、耳道腺、陰核腺、皮膚、膣、大腸、膵臓、子宮、皮下及び脾臓に悪性腫瘍を含む腫瘍の発生増加がみられ、これらの発生は雌ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠と考えられた。

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（文献 14）では、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。

本がん原性試験に関しては、最高濃度群の 600 ppm 群では雄では 41 週、雌では 36 週より腫瘍による死亡がみられ、85 週で全匹死亡しているが、死亡は雄：48 匹、雌：50 匹であった。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。

- 3 その他の影響

血液学的検査では、雌の 200 ppm 群で MCV、MCH 及び網赤血球比の高値がみられ、脾臓で髄外造血が起こっていることから貧血傾向がうかがえた。

雄では、精巣の萎縮が 200 ppm 群のほとんどの例に認められ、自然発生で好発する間細胞腫の発生は減少ないし減少傾向を示した。精巣の萎縮は当センターで実施したラットの 13 週間試験（文献 15）でも認められており、長期間暴露でも継続して認められる変化と考えた。2-プロモプロパンは生殖毒性があることが報告されている（文献 16,17）。また、脾臓の髄外造血の増加が 600 ppm 群に認められ、腫瘍等による出血に関連した変化と考えた。さらに、眼の角膜炎の増加が 600 ppm 群に認められた。

雌では、骨髄の造血と脾臓の髄外造血の増加が 200 ppm 以上の群、副腎の髄外造血の増加が 600 ppm 群に認められ、腫瘍等による出血に関連した変化と考えた。また、前胃の潰瘍が 200 ppm 以上の群、肺の炎症性細胞浸潤が 600 ppm 群で増加した。

結論

2-プロモプロパンのラットを用いた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。

雌雄の腫瘍の発生増加が示されたことから、雌雄ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠（clear evidence of carcinogenic activity）が得られたと結論された。

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/H28jisseki-matome.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) 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.
- 8) Organisation for Economic Co-operation and Development.(OECD). 2009.OECD
Guideline for Testing of Chemicals 451: "Carcinogenicity Studies".Paris
- 9) 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.
- 10) 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
- 11) 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: 34-36.
- 12) Haseman JK. 1985. Issues in carcinogenicity testing: dose selection. *Fundam Appl Toxicol* 5: 66-78.
 - 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) 日本バイオアッセー研究センター. 2016. 2-プロモプロパンのラットを用いた吸入による13週間試験報告書. 神奈川: 中央労働災害防止協会. 日本バイオアッセー研究センター.
 - 16) 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).
 - 17) 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).

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

計画書では被験物質のロット番号を ECF5364 としたが、試験では、KPJ3861、ECF5364、TWK6355 の順に使用した。使用したロットに関しては、和光純薬工業の検査成績データ、同一性、安定性分析に関しても 2-プロモプロパンであることが証明された。従つて試験の信頼性に影響を及ぼすことではない。