

1 - ブロモブタ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：0480

CAS No. 109-65-9

2004年9月27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

1 - ブロモブタ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：0480

本文

## 本文目次

	頁
要約	1
I 試験材料	
I-1 被験物質の性状等	
I-1-1 名称等	2
I-1-2 構造式、示性式及び分子量	2
I-1-3 物理化学的性状等	2
I-2 被験物質の使用ロット等	2
I-3 被験物質の特性・同一性、安定性	
I-3-1 特性・同一性	3
I-3-2 安定性	3
I-4 試験動物	3
II 試験方法	
II-1 投与	
II-1-1 投与経路	4
II-1-2 被験物質の投与方法	4
II-1-3 投与期間	4
II-1-4 投与濃度	4
II-1-5 投与方法、投与期間及び投与濃度の設定理由	4
II-1-6 被験物質の発生方法と濃度調整	5
II-1-7 被験物質の濃度測定	5
II-2 動物管理	
II-2-1 各群の使用動物数	5
II-2-2 群分け及び個体識別方法	6
II-2-3 飼育条件	6

II-3	観察・検査項目及び方法	
II-3-1	動物の生死及び一般状態の観察	7
II-3-2	体重測定	7
II-3-3	摂餌量測定	7
II-3-4	血液学的検査	7
II-3-5	血液生化学的検査	8
II-3-6	病理学的検査	8
II-4	数値処理と統計方法	
II-4-1	数値の取り扱いと表示	9
II-4-2	母数の取り扱い	9
II-4-3	統計方法	9
III	試験成績	
III-1	生死状況	10
III-2	一般状態	10
III-3	体重	11
III-4	摂餌量	11
III-5	血液学的検査	11
III-6	血液生化学的検査	11
III-7	病理学的検査	
III-7-1	剖検	12
III-7-2	臓器重量	13
III-7-3	病理組織学的検査	13
IV	考察及びまとめ	15
V	文献	18

## 要約

1 - ブロモブタンのがん原性を検索する目的で、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、F344/DuCrj(Fischer)ラットを投与群 5 群、対照群 1 群の計 6 群 (各群雌雄各 5 匹) に分け、1 - ブロモブタンの投与濃度は、8000、4000、2000、1000 及び 500 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、剖検観察、臓器重量の測定及び病理組織学的検査を行った。また、投与期間中の死亡動物についても剖検観察及び病理組織学的検査を行った。

1 - ブロモブタンの暴露の結果、2000 ppm 以上の群の雌雄の全動物が死亡した。1000 ppm 以下の群には死亡はみられなかった。

死亡動物では、一般状態の観察で自発運動量の減少、立毛、不整呼吸、横臥、円背位、瘦削等がみられた。病理組織学的検査では、8000 ppm 群は雌雄とも肺に変化がみられた。4000 ppm 群では、雌雄とも肺、鼻腔、心臓、肝臓及び副腎に変化がみられた。2000 ppm 群では、雌雄とも多くの動物で肺、鼻腔、胸腺、脾臓及び脳に変化がみられ、その他、骨髄、精巣、胃、心臓、肝臓、膀胱にも変化がみられた。各群の死亡動物には、肺の病変が共通して認められた。

1000 ppm 以下の群の生存動物では、一般状態の変化はみられなかったが、体重増加の抑制が 1000 ppm 群の雄にみられた。血液学的検査では、雄で赤血球数、ヘマトクリット値、MCHC、血小板数、白血球数、雌で網赤血球比に変化がみられた。血液生化学的検査では、雌雄で総コレステロール、ナトリウム、クロール、カルシウム、雄で総蛋白、アルブミン、トリグリセライド、リン脂質、雌でグルコースに変化がみられた。

生存動物の剖検観察では、雌雄ともに 1 - ブロモブタンの影響と思われる所見は認められなかった。臓器重量では、肝臓と腎臓の重量増加が 1000 ppm 群と 500 ppm 群の雌雄に、心臓の重量増加が 1000 ppm 群の雌雄と 500 ppm 群の雄に、副腎の重量増加が 1000 ppm 群の雌雄と 500 ppm 群の雌にみられた。さらに、胸腺の重量低下が 1000 ppm 群の雌雄と 500 ppm 群の雌に、脾臓の重量低下が 1000 ppm 群の雌に認められた。病理組織学的検査では、1000 ppm 群、500 ppm 群とも、雌雄に鼻腔の変化がみられたが、他の臓器には 1 - ブロモブタンの影響と思われる変化は認められなかった。

以上のように、本試験では最低投与群の 500 ppm 群においても、肝臓、腎臓、心臓、副腎、胸腺の重量への影響及び鼻腔への病理組織学的な影響が認められた。また、以上の結果から、吸入による 13 週間試験の投与濃度は、雌雄とも 1000 ppm を最高濃度とし、以下、500、250、125、63 ppm (公比 2) と決定した。

## I 試験材料

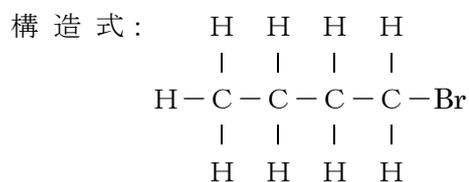
## I-1 被験物質の性状等

## I-1-1 名称等

名 称 : 1 - ブロモブタン (1 - Bromobutane)

CAS No. : 109 - 65 - 9

## I-1-2 構造式、示性式及び分子量 (文献 1)



示性式 :  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{Br}$

分子量 : 137.03

## 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 : 101.3°C

蒸気圧 : 41.97mmHg (25°C)

比 重 : 1.2686 (25°C/4°C)

溶解性 : 水に不溶、アルコール、エーテル、アセトン、クロロホルムに可溶

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 : ASQ0017

製 造 元 : 和光純薬工業(株)

グ レ ー ド : 和光精製品

純 度 : 99.8% (和光純薬工業(株) 検査成績書データ)

### I-3 被験物質の特性・同一性、安定性

#### I-3-1 特性・同一性

被験物質の同一性は、そのマススペクトルを質量分析計 (Hitachi M-80B) により測定し、また、赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計 (Shimadzu FTIR-8200PC) により測定し、それぞれの文献値と比較することにより確認した。

その結果、被験物質のマススペクトルは文献値 (文献 2) と同じ分子イオン及びフラグメントピークを示し、また、赤外吸収スペクトルも文献値 (文献 3) と同じ波数にピークが認められ、被験物質は 1-ブロモブタンであることを確認した。

なお、それらの結果は、APPENDIX A1 に示した。

#### I-3-2 安定性

被験物質の安定性は、投与開始前及び投与終了後にそのガスクロマトグラムをガスクロマトグラフ (Hewlett Packard 5890A) により測定し、それぞれのデータを比較することにより確認した。

その結果、測定結果に差はみられず、被験物質は投与期間中、安定であることを確認した。

なお、それらの結果は、APPENDIX A2 に示した。

### I-4 試験動物

動物は、1-ブロモブタンのがん原性試験で使用する動物種及び系統に合わせ、日本チャールス・リバー(株)(厚木飼育センター:神奈川県厚木市下古沢 795)の F344/DuCrj (Fischer) ラット(SPF)の雌雄を使用した。なお、がん原性試験で使用する動物は、遺伝的に安定していること、腫瘍の自然発生率が低いこと、過去に多くのがん原性試験に用いたデータがあり、化学物質による腫瘍発生の感受性が知られていることからの理由から、F344/DuCrj(Fischer)ラットと決定している。

ラット雌雄各 37 匹を生後 4 週齢で導入し (導入時体重範囲、雄:55~64g、雌:48~57g)、各 1 週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で異常を認めない動物から、体重値の中央値に近い雌雄各 30 匹 (群構成時体重範囲、雄:110~127g、雌:90~100g) を選別し、試験に用いた。

## II 試験方法

### II-1 投与

#### II-1-1 投与経路

投与経路は全身暴露による経気道投与とした。

#### II-1-2 被験物質の投与方法

投与は、試験動物を収容した吸入チャンバー内に、設定濃度に調整した 1-ブロモブタンを含む空気を送り込み、動物に全身暴露することにより行った。なお、対照群は新鮮空気による換気のみとした。

#### II-1-3 投与期間

投与期間は 1 日 6 時間、1 週 5 日の暴露で 2 週間とした。

#### II-1-4 投与濃度

8000、4000、2000、1000 及び 500 ppm の 5 段階（公比 2）の投与濃度を設定した。

#### II-1-5 投与方法、投与期間及び投与濃度の設定理由

投与方法は労働環境における暴露経路に合わせ、全身暴露による経気道投与とした。

投与期間はがん原性試験の投与濃度決定試験（13 週間試験）に使用する投与濃度を決定するため 2 週間とした。

投与濃度は以下のように決定した。1-ブロモブタンのラットを用いた吸入による試験について文献検索を行ったが、信頼性の高い試験データは得られなかった。そこで、本試験で使用する吸入試験システムで、飼育環境条件（湿度 30～70%）を満たしながら濃度制御できる最高濃度 8000 ppm を雌雄とも最高濃度とし、以下、4000、2000、1000 及び 500 ppm（公比 2）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 1-ブロモブタンを循環式恒温槽で加熱しながら、清浄空気のバブリングにより蒸発させた。この 1-ブロモブタンの蒸気を清浄空気（搬送空気）と混合し、さらに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、流量計を用いて一定量を吸入チャンバー上部のラインミキサーに供給した。

吸入チャンバー内の 1-ブロモブタン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 1-ブロモブタンの吸入チャンバーへの供給量を調節した。

## II-1-7 被験物質の濃度測定

吸入チャンバー内の 1-ブロモブタンの濃度は、自動サンプリング装置付のガスクロマトグラフ（Shimadzu GC-14A）により、暴露開始前から暴露終了後まで 15 分毎に測定した。

濃度測定結果を APPENDIX B1 に示した。各投与群の 1-ブロモブタン濃度は、その平均値と設定濃度の差が 0.4%以内、変動係数（標準偏差／平均値×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 5 群及び対照群 1 群の計 6 群を設け、各群雌雄各 5 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	動物数 (動物番号)	
		雄	雌
0	対 照 群	5 匹 (1001~1005)	5 匹 (2001~2005)
1	500 ppm 群	5 匹 (1101~1105)	5 匹 (2101~2105)
2	1000 ppm 群	5 匹 (1201~1205)	5 匹 (2201~2205)
3	2000 ppm 群	5 匹 (1301~1305)	5 匹 (2301~2305)
4	4000 ppm 群	5 匹 (1401~1405)	5 匹 (2401~2405)
5	8000 ppm 群	5 匹 (1501~1505)	5 匹 (2501~2505)

## II-2-2 群分け及び個体識別方法

供試動物の各群への割り当ては、発育順調で異常を認めない動物を体重の重い順より各群に1匹ずつ割り当て、二巡目からは各群の動物の体重の合計を比較して小さい群より順に体重の重い動物を割り当てることにより、群間の体重の偏りを小さくする群分け方法（層別体重平均法：適正層別方式）により実施した（文献4）。

試験期間中の動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間は色素塗布により、投与期間は耳パンチにより行い、またケージにも個体識別番号を付した。

なお、動物はバリア区域（AC-6 空調エリア）内の独立した室（604室）に収容し、飼育室に試験番号、動物種及び動物番号を表示し、他の試験及び異種動物と区別した。

## II-2-3 飼育条件

動物は検疫室で1週間の検疫飼育を行った後、吸入チャンバー内に移動し、馴化を開始した。馴化期間も1週間とし、投与開始日の前日に群構成を行った。投与期間中は吸入チャンバー内で飼育した。検疫室、吸入試験室及び吸入チャンバー内の環境条件及び使用した動物ケージを下表に示した。検疫室、吸入試験室の温度、湿度については測定値（平均値±標準偏差）を（）内に記した。また、吸入チャンバー内環境の計測結果を APPENDIX B2 に示した。検疫室、吸入試験室及び吸入チャンバー内の環境は、動物の健康状態に影響を与えるような変化は認められなかった。

	検疫室 (606 室)	吸入試験室 (604 室)	吸入チャンバー内	
			馴化期間	投与期間
温度	23±2℃ (22.9±0.1℃)	21±2℃ (21.3±0.3℃)	20~24℃	
湿度	55±15% (54±1%)	55±15% (60±2%)	30~70%	
明暗サイクル	12 時間点灯 (8 : 00~20 : 00) / 12 時間消灯 (20 : 00~8 : 00)			
換気回数	15~17 回/時		12±1 回/時	
圧力	—	—	0~-15 ×10Pa	
ケージへの動物 の収容方法	単飼	—	単飼	単飼
ケージの材質・ 形状	ステンレス製 2 連網ケージ	—	ステンレス製 6 連網ケージ	ステンレス製 5 連網ケージ
ケージ寸法 1 匹当り (mm)	W170 D294 H176	—	W125 D216 H176	W150 D216 H176

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- $\gamma$ 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、暴露中及び定期解剖日前日の夕方からは給餌しなかった。

飲水は全飼育期間を通して、市水（秦野市水道局供給）をフィルターろ過した後、紫外線照射し、自動給水装置により自由摂取させた。ただし、暴露中は給水しなかった。

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）の分析データを入手し、また、飲水については(財)食品薬品安全センター秦野研究所（神奈川県秦野市落合 729-5）に分析を委託し、それぞれ試験計画書に規定した許容基準と照合して異常のないことを確認した後、保管した。

## II-3 観察・検査項目及び方法

### II-3-1 動物の生死及び一般状態の観察

動物の生死の確認は、検疫及び馴化期間中は毎日 1 回行い、投与期間中は暴露を行った日には暴露前と暴露後の 2 回、暴露を行わなかった土曜日と日曜日には午前中に 1 回行った。

一般状態の詳細観察は、検疫及び馴化期間中は検疫開始日（導入時）、検疫終了・馴化開始日及び馴化最終日（群構成時）に行い、投与期間中は 1 日目の暴露後及び 2、4、7、10、14 日目の暴露開始前に行った。

### II-3-2 体重測定

体重測定は、検疫及び馴化期間中は検疫開始日（導入時）、検疫終了・馴化開始日及び馴化最終日（群構成時）に行い、投与期間中は 2、4、7、10、14 日目の暴露開始前に行った。また、死亡動物及び定期解剖動物の搬出時にも体重を測定した。

### II-3-3 摂餌量測定

全動物について、週 1 回、給餌量及び残餌量を測定し、その値から摂餌量を算出した。

### II-3-4 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及びクエン酸ナトリウム入り採血管（下記\*印検査項目）に採血した。EDTA-2 カリウム入り採血管の血液は全血を用いて、クエン酸ナトリウム

入り採血管の血液は、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 L 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、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度、血小板数、網赤血球比、プロトロンビン時間\*、活性化部分トロンボプラスチン時間\*、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 L 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、GOT、GPT、LDH、ALP、 $\gamma$ -GTP、CPK、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 剖検

全動物について肉眼的に観察を行った。

#### 2 臓器重量

定期解剖動物について下記に示した各臓器の湿重量（実重量）を測定した。また、各臓器の湿重量の定期解剖時の体重に対する百分率（臓器重量体重比）を算出した。

胸腺、副腎、精巣、卵巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳

#### 3 病理組織学的検査

全動物について下記に示した器官、組織を 10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液にて固定し、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色し、光学顕微鏡で病理組織学的に検査した。

皮膚、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、骨髄（大腿骨）、リンパ節（腋窩、腹壁等）、胸腺、脾臓、心臓、舌、唾液腺、食道、胃、小腸（十二指腸を含む）、大腸、肝臓、膵臓、腎臓、膀胱、下垂体、甲状腺、上皮小体、副腎、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、卵巣、子宮、膣、乳腺、脳、脊髄、末梢神経（坐骨神経）、眼球、ハーダー腺、筋肉、骨（大腿骨）

## II-4 数値処理と統計方法

### II-4-1 数値の取り扱いと表示

各数値データは計測機器の精度に合わせて表示した。

チャンバー内の被験物質濃度は、ppm を単位として、小数点以下第 3 位まで計測し、小数点以下第 2 位を四捨五入し、小数点以下第 1 位までを表示した。

体重は、g を単位とし、整数値の 1 の位まで計測し、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 位まで計測し、給餌量値から残餌量値を減じて摂餌量とした。この値を計測期間の日数で除し 1 日当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 位まで計測し、表示した。臓器重量体重比は、臓器実重量値を解剖時体重で除し、パーセント単位で小数点以下第 4 位を四捨五入し、小数点以下第 3 位までを表示した。

血液学的検査、血液生化学的検査は APPENDIX L に示した単位と精度により表示した。

なお、各数値データの平均値及び標準偏差は上記に示した桁数と同様になるよう四捨五入を行い表示した。

### II-4-2 母数の取り扱い

体重及び摂餌量は、各計測時に生存していた全動物を対象に計測し、測定した動物数を母数とした。

血液学的検査、血液生化学的検査及び臓器重量の測定は、定期解剖時まで生存した全動物を対象とし、検査動物数または測定動物数を母数とした。

剖検は全動物数を母数とした。

病理組織学的検査は臓器別に検査不能臓器数を除いたものを母数とした。

### II-4-3 統計方法

体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査及び臓器重量の測定値は、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。

なお、予備検定は 5% の有意水準で、最終検定は 5% 及び 1% の有意水準で両側検定を行った。

### Ⅲ 試験成績

#### Ⅲ-1 生死状況

動物の生死状況を TABLE 1, 2 に示した。

##### <雄>

2000 ppm 以上の群の全動物が、投与期間の 2 週の 2 日目までに死亡した。

8000 ppm 群は 1 週の 1 日目の暴露後に、4000 ppm 群は 1 週の 2 日目の暴露開始前に、それぞれ全動物の死亡が確認された。2000 ppm 群は 1 週の 7 日目に 1 匹、2 週の 1 日目と 2 日目に各 2 匹が死亡した。

他の群には死亡はみられなかった。

##### <雌>

2000 ppm 以上の群の全動物が、投与期間の 2 週の 3 日目までに死亡した。

8000 ppm 群は 1 週の 1 日目の暴露後に、4000 ppm 群は 1 週の 2 日目の暴露開始前に、それぞれ全動物の死亡が確認された。2000 ppm 群は 2 週の 1 日目に 3 匹、2 週の 2 日目と 3 日目に各 1 匹が死亡した。

他の群には死亡はみられなかった。

#### Ⅲ-2 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX C1, C2 に示した。

##### <雄>

8000 ppm 群は、初日の暴露終了後に全動物の死亡が確認されたため、詳細観察による一般状態の変化は確認できなかった。4000 ppm 群は、初日の暴露終了後に自発運動量の減少、立毛、不整呼吸が全動物にみられ、2 日目の暴露開始前に死亡が確認された。2000 ppm 群は初日の暴露終了後には一般状態の変化はみられなかったが、1 週の 4 日目と 7 日目に、多くの動物に自発運動量の減少、横臥、円背位、瘦削、立毛、不整呼吸、少数の動物に汚染（全身）、瀕呼吸、呼吸緩徐がみられ、2 週の 2 日目までに全動物が死亡した。

1000 ppm 以下の群では、一般状態の変化はみられなかった。

##### <雌>

8000 ppm 群は、初日の暴露終了後に全動物の死亡が確認されたため、詳細観察による一般状態の変化は確認できなかった。4000 ppm 群は、初日の暴露終了後に自発運動量の減少、立毛、不整呼吸が全動物にみられ、2 日目の暴露開始前に死亡が確認された。2000 ppm 群は初日の暴露終了後には一般状態の変化はみられなかったが、1 週の 7 日目に不整呼吸（4 匹）がみられ、その後、2 週の 3 日目までに全動物が死亡した。

1000 ppm 以下の群では、一般状態の変化はみられなかった。

### Ⅲ-3 体重

体重の推移を TABLE 1, 2、FIGURE 2, 3 及び APPENDIX D1, D2 に示した。

<雄>

生存動物では 1000 ppm 群で体重増加の抑制が認められた。

<雌>

生存動物では被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

### Ⅲ-4 摂餌量

摂餌量(1日1匹当り)を TABLE 3, 4 及び APPENDIX E1, E2 に示した。(雌雄の 4000 ppm 以上の群は、投与期間の 1 週の 2 日目までに全動物が死亡したためにデータなし。)

<雄>

2000 ppm 群の 1 週目の摂餌量が低値であった。また、1000 ppm 群と 500 ppm 群の 1 週目の摂餌量がやや低値であった。

<雌>

2000 ppm 群の 1 週目の摂餌量がやや低値であった。

### Ⅲ-5 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE 5, 6 及び APPENDIX F1, F2 に示した。(雌雄の 2000 ppm 以上の群は、全動物が途中死亡したためにデータなし。)

<雄>

赤血球数とヘマトクリット値の増加が 1000 ppm 群で、MCHC の減少が 1000 ppm 群と 500 ppm 群でみられた。また、血小板数と白血球数の増加が 1000 ppm 群と 500 ppm 群でみられた。

その他、活性化部分トロンボプラスチン時間の変化が 1000 ppm 群でみられたが、時間の短縮であり、毒性学的意義は不明であった。

<雌>

網赤血球比の増加が 1000 ppm 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 7, 8 及び APPENDIX G1, G2 に示した。(雌雄の 2000 ppm 以上の群は、全動物が途中死亡したためにデータなし。)

#### <雄>

総蛋白の増加が 1000 ppm 群と 500 ppm 群で、アルブミンの増加が 1000 ppm 群でみられた。また、総コレステロール、トリグリセライド及びリン脂質の減少が 1000 ppm 群と 500 ppm 群でみられた。電解質では、ナトリウムの減少が 1000 ppm 群で、クロールとカルシウムの増加が 1000 ppm 群と 500 ppm 群でみられた。

その他、GOT の増加が 500 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。また、ALP、CPK 及び尿素窒素に変化がみられたが、いずれも低下性の変化であり、毒性学的意義は不明であった。

#### <雌>

グルコースの増加及び総コレステロールの減少が 1000 ppm 群でみられた。電解質では、ナトリウムの減少及びクロールとカルシウムの増加が 1000 ppm 群でみられた。

その他、GOT、GPT、ALP、CPK 及び尿素窒素に変化がみられたが、いずれも低下性の変化であり、毒性学的意義は不明であった。

### Ⅲ-7 病理学的検査

#### Ⅲ-7-1 剖検

剖検所見を APPENDIX H1～H4 に示した。

#### <雄>

8000 ppm 群（死亡動物）では、肺の赤色斑（3 匹）がみられた。

4000 ppm 群（死亡動物）では、透明な胸水の貯留（5 匹）がみられた。

2000 ppm 群（死亡動物）では、胸腺の萎縮（4 匹）と赤色化（3 匹）、膀胱への褐色尿の貯留（2 匹）、肺の赤色斑（1 匹）、腺胃の黒色斑（1 匹）及び盲腸へのガス貯留（1 匹）がみられた。

1000 ppm 以下の群には、被験物質の影響と思われる所見は認められなかった。

#### <雌>

8000 ppm 群（死亡動物）では、肺の赤色斑（5 匹）がみられた。

4000 ppm 群（死亡動物）では、透明な胸水の貯留（5 匹）、肺の赤色斑（1 匹）及び胸腺の赤色斑（1 匹）がみられた。

2000 ppm 群（死亡動物）では、胸腺の萎縮（1 匹）及び膀胱への褐色尿の貯留（1 匹）と膀胱の赤色斑（1 匹）がみられた。

1000 ppm 以下の群には、被験物質の影響と思われる所見は認められなかった。

### Ⅲ-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 9, 10 及び APPENDIX I1, I2 (実重量)、APPENDIX J1, J2 (体重比) に示した。(雌雄の 2000 ppm 以上の群は、全動物が途中死亡したためにデータなし。)

#### <雄>

肝臓と腎臓の実重量と体重比の高値が 1000 ppm 群と 500 ppm 群に認められた。また、心臓の実重量と体重比の高値が 1000 ppm 群、体重比の高値が 500 ppm 群にみられ、副腎の体重比の高値が 1000 ppm 群にみられた。これに対し、胸腺の実重量の低値が 1000 ppm 群に認められた。

その他、1000 ppm 群では脾臓と脳に実重量の低値、また、肺に体重比の高値がみられたが、この群の解剖時体重は対照群に比較して低値であることから、これらの変化は体重の低値に伴った変化であると考えられた。

#### <雌>

腎臓の実重量と体重比の高値が 1000 ppm 群と 500 ppm 群に認められた。また、肝臓の実重量と体重比の高値が 1000 ppm 群、実重量の高値が 500 ppm 群に、副腎の実重量と体重比の高値が 1000 ppm 群、体重比の高値が 500 ppm 群にみられた。さらに、心臓の実重量と体重比の高値が 1000 ppm 群にみられた。これに対し、胸腺の実重量と体重比の低値が 1000 ppm 群と 500 ppm 群、脾臓の実重量と体重比の低値が 1000 ppm 群に認められた。

### Ⅲ-7-3 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を TABLE 11～14 及び APPENDIX K1～K4 に示した。

#### <雄>

##### [8000 ppm 群]

肺に鬱血、肺胞腔の浮腫（肺胞腔内への漏出液の貯留）及び血管周囲の浮腫が全動物に認められ、さらに、肺の出血も 2 匹にみられた。

##### [4000 ppm 群]

肺に肺胞腔と血管周囲の浮腫が全動物に認められた。また、鼻腔に嗅上皮の壊死、肝臓に中心性の壊死が全動物にみられ、その程度は多くの動物が重度であった。心臓には出血が全動物で認められ、出血の発生部位は左心室の心内膜下であった。その他、副腎の出血が 1 匹にみられた。

##### [2000 ppm 群]

肺に血管周囲の浮腫が全動物に認められ、鬱血と肺胞腔の浮腫も 1 匹にみられた。また、鼻腔の嗅上皮には萎縮が全動物に認められ、壊死と配列不整が 4 匹に認められた。嗅上皮の壊死は嗅細胞の核の濃縮や崩壊、萎縮は嗅細胞の数の減少、配列不整は嗅細胞が環状に配列

する像がみられる所見であった。また、骨髄の鬱血が 4 匹に、胸腺と脾臓の萎縮が全動物に、胸腺の鬱血が 3 匹にみられた。精巣には精原細胞壊死が全動物に認められ、これに伴って、精巣上体に精子の減少と精上皮系細胞の残屑の出現がみられた。小脳では顆粒細胞の変性が全動物で観察された。顆粒細胞の変性は小脳の顆粒層の顆粒細胞に核の濃縮や崩壊像が出現する所見であり、その程度は中等度から重度であった。その他、前胃の糜爛が 1 匹にみられた。

[1000 ppm 群]

鼻腔の嗅上皮に軽度な配列不整が全動物に認められ、嗅上皮の萎縮も 1 匹にみられた。

[500 ppm 群]

鼻腔の嗅上皮に軽度な配列不整が 4 匹に認められた。

<雌>

[8000 ppm 群]

肺に鬱血と血管周囲の浮腫が全動物に認められ、肺胞腔の浮腫が 3 匹に、出血が 1 匹にみられた。

[4000 ppm 群]

肺に肺胞腔と血管周囲の浮腫が全動物に認められた。また、鼻腔の嗅上皮の壊死、心臓の出血が全動物にみられた。肝臓には空胞変性が全動物に認められ、中心性の壊死も 1 匹にみられた。肝臓の空胞変性は肝細胞の細胞質内に微小な空胞が出現する所見であり、この所見は小葉全体の肝細胞に観察された。副腎には出血が 3 匹に観察された。その他、胸腺の鬱血が 1 匹に観察された。

[2000 ppm 群]

肺に肺胞腔の浮腫が全動物に、血管周囲の浮腫が 4 匹に、鬱血が 3 匹に認められ、また、血栓も 1 匹にみられた。鼻腔の嗅上皮には壊死と萎縮が全動物に、配列不整が 3 匹に認められ、また、血栓も 1 匹にみられた。さらに、脾臓の萎縮が全動物に、胸腺の萎縮が 4 匹にみられた。脳は、小脳の顆粒層に顆粒細胞の変性が全動物で観察された。その他、骨髄の鬱血、心臓の出血、前胃の潰瘍、腺胃の糜爛、肝臓の中心性壊死、膀胱の出血が各 1 匹にみられた。

[1000 ppm 群、500 ppm 群]

鼻腔の嗅上皮に軽度な配列不整が全動物で認められた。

#### IV 考察及びまとめ

1 - ブロモブタンのがん原性を検索する目的で、F344/DuCrj(Fischer)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5群、対照群1群の計6群(各群雌雄各5匹)を設け、1 - ブロモブタンの投与濃度は、8000、4000、2000、1000及び500 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、剖検観察、臓器重量の測定及び病理組織学的検査を行った。また、投与期間中の死亡動物についても剖検観察及び病理組織学的検査を行った。

##### (1) 用量-反応関係

1 - ブロモブタンの暴露の結果、2000 ppm以上の群の雌雄の全動物が死亡した。4000 ppm以上の群は雌雄とも1回の暴露で死亡し、2000 ppm群は雌雄とも2週の3日目までに死亡した。1000 ppm以下の群には死亡はみられなかった。

死亡動物では、8000 ppm群は詳細観察による一般状態の変化は確認できなかったが、4000 ppm群は雌雄とも、初日の暴露終了後に自発運動量の減少、立毛、不整呼吸がみられた。2000 ppm群は、1週の4日目と7日目に、雄に自発運動量の減少、横臥、円背位、瘦削、立毛、不整呼吸、汚染(全身)、瀕呼吸、呼吸緩徐、雌に不整呼吸がみられた。

死亡動物の病理学的検査では、8000 ppm群は剖検時に肺の赤色斑が雌雄とも多くの動物に観察された。病理組織学的検査でも肺に鬱血及び肺胞腔と血管周囲の浮腫が多くの動物に認められ、一部の動物には出血もみられた。動物の死亡は、この濃度では他の臓器に変化が認められないことから、肺の変化が関与していると考えられる。

4000 ppm群の死亡動物には、剖検時に胸水が雌雄とも全動物に観察された。肺の赤色斑は雌の1匹に観察されたただけであった。病理組織学的検査では雌雄とも多くの動物に肺、鼻腔、心臓及び肝臓の変化を認めた。肺の変化は肺胞腔と血管周囲の浮腫、鼻腔の変化は嗅上皮の壊死、心臓の変化は出血であった。肝臓の変化は、雄では中心性の壊死であったのに対し、雌では空胞変性が全動物にみられ、中心性の壊死は1匹だけであった。その他、副腎の出血が雌雄の一部の動物に観察された。動物の死亡は、8000 ppm群と同様な肺の変化がみられることから肺への影響が関与していると考えられるが、雌雄とも多くの動物に心臓の出血がみられ、この変化も動物の死亡に関与していたと推察される。また、雄の肝臓の中心性壊死も多くの動物は重度であり、肝臓の傷害も死亡に関与していた可能性がある。

2000 ppm群の死亡動物には、剖検時に、雄は胸腺の萎縮や赤色化が多くの動物にみられ、膀胱への褐色尿の貯留、肺の赤色斑、腺胃の黒色斑及び盲腸へのガス貯留が一部の動物で観察された。雌では胸腺の萎縮、膀胱への褐色尿の貯留と赤色斑が少数の動物にみられただけ

であった。病理組織学的検査では肺、鼻腔、胸腺、脾臓及び脳の変化が雌雄とも多くの動物に認められた。また、雄では骨髄と精巣の変化も多くの動物に認められた。肺の変化は、雄では主に血管周囲の浮腫、雌では鬱血及び肺胞腔と血管周囲の浮腫であった。鼻腔には、雌雄とも嗅上皮に壊死、萎縮及び配列不整がみられた。胸腺と脾臓には雌雄とも萎縮が認められ、雄の胸腺は鬱血を伴っていた。脳は小脳顆粒層の顆粒細胞の変性が雌雄とも全動物で観察された。小脳の顆粒細胞の変性は、小脳顆粒層に存在する顆粒細胞に核の濃縮や崩壊が認められる所見であり、臭化メチルの吸入によってラットとマウスの小脳に発生する変化と同様の組織像を呈していた（文献 5）。骨髄には、鬱血が雄の多くの動物と雌の少数の動物にみられた。精巣には精原細胞壊死が認められ、これに伴って精巣上体に精子の減少と精上皮系細胞の残屑の出現がみられた。その他、前胃の糜爛が雄の少数の動物に、心臓の出血、前胃の潰瘍、腺胃の糜爛、肝臓の中心性壊死、膀胱の出血が雌の少数の動物に認められた。動物の死亡は、この濃度でも多くの動物に肺の変化がみられることから肺への影響が関与していると考えられる。

1000 ppm 以下の群の生存動物では、一般状態の観察で 1-ブロモブタンの影響と思われる変化はみられなかったが、体重増加の抑制が 1000 ppm 群の雄に認められた。

生存動物の血液学的検査では、赤血球数とヘマトクリット値の増加が 1000 ppm 群の雄で、MCHC の減少及び血小板数と白血球数の増加が 1000 ppm 群と 500 ppm 群の雄でみられた。また、網赤血球比の増加が 1000 ppm 群の雌でみられた。

生存動物の血液生化学的検査では、総蛋白の増加が 1000 ppm 群と 500 ppm 群の雄で、アルブミンの増加が 1000 ppm 群の雄でみられた。また、グルコースの増加が 1000 ppm 群の雌で、総コレステロールの減少が 1000 ppm 群の雌雄で、トリグリセライド及びリン脂質の減少が 1000 ppm 群と 500 ppm 群の雄でみられた。電解質では、ナトリウムの減少が 1000 ppm 群の雌雄で、クロールとカルシウムの増加が 1000 ppm 群の雌雄と 500 ppm 群の雄でみられた。

生存動物の剖検観察では、雌雄ともに 1-ブロモブタンの影響と思われる所見は認められなかった。臓器重量では、肝臓と腎臓の重量増加が 1000 ppm 群と 500 ppm 群の雌雄に認められた。また、心臓の重量増加が 1000 ppm 群の雌雄と 500 ppm 群の雄に、副腎の重量増加が 1000 ppm 群の雌雄と 500 ppm 群の雌にみられた。さらに、胸腺の重量低下が 1000 ppm 群の雌雄と 500 ppm 群の雌に、脾臓の重量低下が 1000 ppm 群の雌に認められた。

生存動物の病理組織学的検査では、1000 ppm 群は鼻腔に変化がみられたが、他の臓器には 1-ブロモブタンの影響と考えられる変化は認められなかった。鼻腔の変化は、雌雄とも嗅上皮の配列不整であり、その程度は軽度であった。また、雄の 1 匹には嗅上皮の萎縮も認められた。嗅上皮の配列不整は傷害を受けた嗅上皮が修復する過程でみられる所見であり（文献 6）、この濃度でも嗅上皮の傷害が発生していたことを示唆している。

500 ppm 群では、雌雄とも鼻腔に軽度な嗅上皮の配列不整がみられたが、他の臓器には 1-ブロモブタンの影響と考えられる変化は認められなかった。

## (2) 無毒性量 (NOAEL) / 最小毒性量 (LOAEL)

以上のように、1-ブロモブタンのラットへの2週間吸入暴露により、2000 ppm以上の群で動物の死亡がみられた。1000 ppm以下の群では死亡はみられなかったが、500 ppm群でも、雌雄の肝臓と腎臓、雄の心臓及び雌の副腎と胸腺に重量の変化がみられ、また、病理組織学的検査では、雌雄とも鼻腔に軽度な嗅上皮の配列不整がみられた。従って、本試験では最低投与群の500 ppm群においても、肝臓、腎臓、心臓、副腎、胸腺の重量への影響及び鼻腔への病理組織学的な影響が認められた。

## (3) 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設定した。

本試験では、2000 ppm以上の群で動物の死亡がみられたが、1000 ppm以下の群では死亡がみられなかった。1000 ppm群では、雄で体重増加の抑制、雌雄で血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量、病理組織学的検査に変化がみられたが、雄の体重増加の抑制は対照群の10%未満であり、病理組織学的検査では雌雄とも鼻腔に軽度な変化がみられただけであった。これらの結果より、13週間試験の投与濃度は、雌雄とも1000 ppmを最高濃度とし、以下、500、250、125、63 ppm（公比2）と決定した。

## V 文献

1. U.S. National Library of Medicine, Specialized Information Services 2004. N-Butyl Bromide, Chemical/Physical Properties. Hazardous Substances Data Bank(HSDB). Available: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search> [accessed 9 June 2004].
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). 2003. 1 - ブロモブタン, 赤外吸収スペクトル.
4. 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.
5. Hurtt ME, Morgan KT, Working PK. 1987. Histopathology of acute toxic responses in selected tissues from rats exposed by inhalation to methyl bromide. *Fundam Appl Toxicol* 9: 352-365.
6. 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, 中山書店, 東京, 85-95.