

アリルクロリドのラットを用いた
吸入による2週間毒性試験報告書

試験番号：0332

CAS No. 107-05-1

2000年2月17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

アリルクロリドのラットを用いた
吸入による2週間毒性試験報告書

試験番号：0332

本 文

本文目次

	頁
要旨	1
I 試験材料	
I-1 被験物質の性状等	
I-1-1 名称と別名	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・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、投与方法及び投与期間	4
II-1-2 投与濃度	4
II-1-3 被験物質の発生方法と濃度調整	4
II-1-4 被験物質の濃度測定	4
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	5
II-2-3 飼育条件	5

II-3	観察・検査項目及び方法	
II-3-1	動物の一般状態の観察	6
II-3-2	体重測定	6
II-3-3	摂餌量測定	6
II-3-4	血液学的検査	7
II-3-5	血液生化学的検査	7
II-3-6	病理学的検査	7
II-4	数値処理と統計学的方法	
II-4-1	数値の取り扱いと表示	8
II-4-2	母数の取り扱い	8
II-4-3	統計方法	8
II-5	試資料の保管	9
III	試験成績	
III-1	動物の状態観察	
III-1-1	生死状況	10
III-1-2	一般状態	10
III-1-3	体重	11
III-1-4	摂餌量	11
III-2	血液学的検査・血液生化学的検査	
III-2-1	血液学的検査	12
III-2-2	血液生化学的検査	12
III-3	病理学的検査	
III-3-1	剖検	13
III-3-2	臓器重量	13
III-3-3	病理組織学的検査	13
IV	考察及びまとめ	15
V	文献	17

TABLES

- TABLE 1 EXPERIMENTAL DESIGN AND MATERIALS AND METHODS IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE
- TABLE 2 CLINICAL OBSERVATION DURING AND AFTER EXPOSURE OF MALE RATS IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE
- TABLE 3 CLINICAL OBSERVATION DURING AND AFTER EXPOSURE OF FEMALE RATS IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE
- TABLE 4 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES OF MALE RATS IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE
- TABLE 5 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES OF FEMALE RATS IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE
- TABLE 6 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF MALE RATS IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE
- TABLE 7 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF FEMALE RATS IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE

FIGURES

FIGURE 1 ALLYL CHLORIDE VAPOR GENERATION SYSTEM AND INHALATION SYSTEM

FIGURE 2 BODY WEIGHT CHANGES OF MALE RATS IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE

FIGURE 3 BODY WEIGHT CHANGES OF FEMALE RATS IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE

APPENDIXES

- APPENDIX A 1 CLINICAL OBSERVATION : SUMMARY, RAT : MALE
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX A 2 CLINICAL OBSERVATION : SUMMARY, RAT : FEMALE
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX B 1 BODY WEIGHT CHANGES : SUMMARY, RAT : MALE
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX B 2 BODY WEIGHT CHANGES : SUMMARY, RAT : FEMALE
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX C 1 FOOD CONSUMPTION CHANGES : SUMMARY, RAT : MALE
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX C 2 FOOD CONSUMPTION CHANGES : SUMMARY, RAT : FEMALE
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX D 1 HEMATOLOGY : SUMMARY, RAT : MALE (2-WEEK STUDY)
- APPENDIX D 2 HEMATOLOGY : SUMMARY, RAT : FEMALE (2-WEEK STUDY)
- APPENDIX E 1 BIOCHEMISTRY : SUMMARY, RAT : MALE (2-WEEK STUDY)
- APPENDIX E 2 BIOCHEMISTRY : SUMMARY, RAT : FEMALE (2-WEEK STUDY)
- APPENDIX F 1 GROSS FINDINGS : SUMMARY, RAT : MALE :
DEAD AND MORIBUND ANIMALS (2-WEEK STUDY)
- APPENDIX F 2 GROSS FINDINGS : SUMMARY, RAT : MALE :
SACRIFICED ANIMALS (2-WEEK STUDY)
- APPENDIX F 3 GROSS FINDINGS : SUMMARY, RAT : FEMALE :
DEAD AND MORIBUND ANIMALS (2-WEEK STUDY)
- APPENDIX F 4 GROSS FINDINGS : SUMMARY, RAT : FEMALE :
SACRIFICED ANIMALS (2-WEEK STUDY)

APPENDIXES (CONTINUED)

- APPENDIX G 1 ORGAN WEIGHT, ABSOLUTE : SUMMARY, RAT : MALE
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX G 2 ORGAN WEIGHT, ABSOLUTE : SUMMARY, RAT : FEMALE
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX H 1 ORGAN WEIGHT, RELATIVE : SUMMARY, RAT : MALE
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX H 2 ORGAN WEIGHT, RELATIVE : SUMMARY, RAT : FEMALE
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX I 1 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :
SUMMARY, RAT : MALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX I 2 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :
SUMMARY, RAT : MALE : SACRIFICED ANIMALS
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX I 3 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :
SUMMARY, RAT : FEMALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX I 4 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :
SUMMARY, RAT : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS
(2-WEEK STUDY)
- APPENDIX J 1 IDENTITY OF ALLYL CHLORIDE IN THE 2-WEEK
INHALATION STUDY
- APPENDIX J 2 STABILITY OF ALLYL CHLORIDE IN THE 2-WEEK
INHALATION STUDY
- APPENDIX K 1 CONCENTRATION OF ALLYL CHLORIDE IN THE INHALATION
CHAMBER OF THE 2-WEEK INHALATION STUDY
- APPENDIX K 2 ENVIRONMENTAL CONDITIONS OF INHALATION CHAMBER
IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE

APPENDIXES (CONTINUED)

- APPENDIX L 1 METHODS FOR HEMATOLOGY AND BIOCHEMISTRY IN THE
2-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE
- APPENDIX L 2 UNITS AND DECIMAL PLACE FOR HEMATOLOGY AND
BIOCHEMISTRY IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF
ALLYL CHLORIDE

要旨

全身暴露によるアリルクロリドのがん原性を調べる試験の予備試験として、アリルクロリドを F344/DuCrj(Fischer)ラットに 2 週間全身暴露しその生態影響を検索した。

本試験は、雌雄各群 10 匹のラットを用いて、アリルクロリド投与群 5 群、対照群 1 群の 6 群構成で行った。投与濃度は、1000ppm、500ppm、250ppm、125ppm 及び 62.5ppm とした。投与は、所定の濃度のアリルクロリドを含む空気に 1 日 6 時間、1 週 5 日間、2 週間（計 10 回）暴露することにより行った。観察及び検査項目は、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、剖検観察、臓器重量の測定及び病理組織学的検査とした。

1000ppm 群では、雌雄ともに投与初日から自発運動量の減少、音反射の低下、流涙、肛門周囲の汚染等がみられ、投与 3 日目から 13 日目にかけて全例が死亡した。剖検観察では、雄には膀胱に尿の多量貯留や腺胃に潰瘍がみられ、雌には気管への泡沫液の貯留、胸水、肺に赤色斑がみられた。病理組織学的検査では、雌雄とも呼吸器系（鼻腔、気管、肺）に壊死や浮腫、胸腺に萎縮、腺胃に糜爛、肝臓及び腎臓に壊死がみられ、その他雄で精巣に精原細胞壊死、精巣上体に精上皮系細胞の残屑が認められた。

500ppm 群でも雌雄ともに、投与初日の暴露中から自発運動量の減少、音反射の低下が観察されたが、3 日目以降は雌雄とも一般状態の観察で著変はみられなかった。体重測定では、雌雄とも体重増加の抑制がみられた。血液学的検査では、雌雄に貧血と炎症性の変化が示唆された。臓器重量の測定では、雌雄に腎臓の重量増加、雄に肺の重量増加、雌に肝臓の重量増加と脳重量低下がみられた。病理組織学的検査では、雌雄とも呼吸器系に炎症が認められ、雄では精巣上体に精上皮系細胞の残屑も認められた。

250ppm 以下の群では、腎臓の重量増加が 250ppm 群の雌雄及び 125ppm 群の雄でみられた以外に、アリルクロリドの暴露によると思われる毒性所見は観察されなかった。

以上の結果、500ppm 群で暴露による死亡はみられなかったものの、体重増加の抑制、貧血及び呼吸器系の炎症等が観察された。これらの所見のうち、呼吸器系の炎症は 13 週間試験により暴露回数が増加した場合、1000ppm 群で死因となった呼吸器系の壊死や浮腫に発展する可能性が高いと考えられた。よって、13 週間試験の暴露濃度は、500ppm よりも低い 400ppm を上限とし以下 200ppm、100ppm、50ppm 及び 25ppm（公比 2）とした。

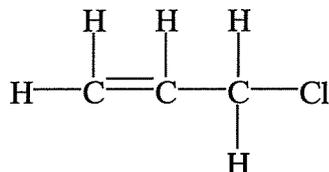
I 試験材料

I-1 被験物質の性状等

I-1-1 名称と別名

名 称 : アリルクロリド(Allyl chloride)
別 名 : 3-クロロ-1-プロペン
IUPAC名 : 3-クロロ-1-プロペン (3-Chloro-1-propene)
CAS No. : 107-05-1

I-1-2 構造式及び分子量



分 子 量 : 76.53

I-1-3 物理化学的性状等

性 状 : 無色透明の液体
沸 点 : 44~45°C
融 点 : -134.5°C
比 重 : 0.939 (20°C)
蒸 気 圧 : 295.5mmHg (20°C)
溶 解 性 : 水に難溶 (0.36 g/100m L水、20°C)
保存条件 : 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 : SKL4453
製 造 元 : 和光純薬工業株式会社
グ レ ー ド : 和光特級
純 度 : 98%以上

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及び赤外吸収スペクトルを測定し、それぞれの文献値(文献 1, 2)と比較することにより確認した。なお、それらの結果は、APPENDIX J1 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、その赤外吸収スペクトル及びガスクロマトグラムを測定し、それぞれのデータを比較することにより確認した。なお、それらの結果は、APPENDIX J2 に示した。

I-4 試験動物

動物は日本チャールス・リバー(株) (神奈川県厚木市下古沢 795 番地) の F344/DuCrj(Fischer)ラット(SPF)の雌雄を使用した。

雄 75 匹、雌 74 匹を生後 4 週齢で導入し、各 1 週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で異常を認めなかった動物から、それぞれ体重値の中央値に近い雌雄各 60 匹(群構成時体重範囲は、雄:108~123g、雌:87~98g)を選別して試験に供した。

なお、F344/DuCrj(Fischer)ラットを選択した理由は、がん原性試験で使用する動物種及び系統に合わせたことによる。

II 試験方法

試験計画、材料及び方法等の概要を TABLE 1 に示した。

II-1 投与

II-1-1 投与経路、投与方法及び投与期間

投与経路は全身暴露による経気道投与とした。吸入チャンバー内に設定濃度に調整したアリルクロリドを含む空気を送り込み、6時間/日、5日/週、2週間(計10回)、試験動物に全身暴露することにより投与した。なお、対照群は換気のみとした。

II-1-2 投与濃度

雌雄ともに最高濃度を 1000ppm に設定し、以下 500ppm、250ppm、125ppm 及び 62.5ppm (公比 2) とした。

II-1-3 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。発生容器内のアリルクロリドを循環式恒温層で加熱しながら、清浄空気のパブリングにより蒸発させた。次にこのアリルクロリド蒸気を循環式恒温槽で一定温度に冷却後、清浄空気希釈し再加熱した後、流量計を用いて一定量を吸入チャンバーのラインミキサーに供給した。暴露中は、吸入チャンバー内のアリルクロリド濃度をガスクロマトグラフにより監視しながら、設定濃度になるように吸入チャンバーへの供給流量を調節した。

II-1-4 被験物質の濃度測定

吸入チャンバー内のアリルクロリドの濃度は、自動サンプリング装置付ガスクロマトグラフを用い、暴露開始前から暴露終了後まで 15 分毎に測定した。APPENDIX K1 に測定結果を示した。

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 10 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	0 ppm群(対照群)	10匹 (1001~1010)	10匹 (2001~2010)
1	62.5 ppm群	10匹 (1101~1110)	10匹 (2101~2110)
2	125 ppm群	10匹 (1201~1210)	10匹 (2201~2210)
3	250 ppm群	10匹 (1301~1310)	10匹 (2301~2310)
4	500 ppm群	10匹 (1401~1410)	10匹 (2401~2410)
5	1000 ppm群	10匹 (1501~1510)	10匹 (2501~2510)

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、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である適正層別方式により実施した (文献 3)。

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識別し、また、ケージにも個体識別番号を付した。なお、他の試験との区別は、バリア区域内の独立した室にそれぞれ収容し、各室に試験番号、動物種及び動物番号を表示することにより行った。

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、馴化期間及び投与期間中は吸入チャンバー内で飼育した。使用した検疫室、吸入チャンバー室及び吸入チャンバー内の環境条件を TABLE 1 に示し、吸入チャンバー内環境の計測結果を APPENDIX K2 に示した。

検疫室、吸入チャンバー室及び吸入チャンバー内の飼育環境は、すべて設定条件の範囲内であった。

検疫中間期中は 1 ケージ当り 1 匹の単飼(ステンレス製 2 連型網ケージ: 170W×294D×176H mm)、馴化期間中は 1 ケージ当り 1 匹の単飼(ステンレス製 6 連型網ケージ: 125W×216D×176H mm)、投与期間中は 1 ケージ当り 1 匹の単飼 (ステンレス製 5 連型網ケージ: 150W×216D×176H mm)の条件下で飼育した。

飼料は、オリエンタル酵母工業(株)製(千葉工場: 千葉県千葉市美浜区新港 8-2)の CRF-1

固型飼料(3Mrad- γ 線照射滅菌飼料)を飼育全期間を通して固型飼料給餌器により自由摂取させた。ただし、定期解剖日前日の夕方からは給餌は行わなかった。飼料中の栄養成分については成分分析結果をオリエンタル酵母工業(株)から入手し、夾雑物については日本食品分析センターのデータを入手した。

また、飲料水は飼育全期間を通して、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、自動給水により自由摂取させた。飲料水は(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)に依頼して、水道法に準拠した項目について分析した。

飼料の夾雑物及び飲料水については、すべての項目で試験計画書に規定した許容基準の範囲内であった。

II-3 観察・検査項目及び方法

II-3-1 動物の一般状態の観察

動物の生死確認は、検疫及び馴化期間には毎日1回、投与期間中は暴露を行った日は2回、暴露を行わなかった日(土曜日と日曜日)は1回とした。また、一般状態の詳細観察は、検疫及び馴化期間には、導入時、馴化開始時及び群構成時に実施し、投与期間中は、投与期間の2日(1w-2d)、4日(1w-4d)、7日(1w-7d)、10日(2w-3d)、14日(2w-7d)の暴露開始前に行い、コンピュータに入力した。さらに、投与初日(1w-1d)は、暴露中(吸入チャンバーの窓越しに暴露開始約1、3及び6時間後)と暴露終了後、2日から4日までは暴露終了後に一般状態を詳細観察し、症状観察記録に記録した。

なお、投与期間の5日以降は暴露によると考えられる一般状態の変化及び死亡過程等が明らかとなったので暴露終了後の詳細観察は行わなかった。

II-3-2 体重測定

検疫及び馴化期間には、導入時、馴化開始時及び群構成時に全動物について実施し、投与期間中は、投与期間の2日、4日、7日、10日、14日の暴露開始前に生存していた全動物の体重を測定した。

なお、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

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

動物を解剖日前日より絶食(18時間以上)させ、定期解剖時まで生存した動物のうち、1群当り雌雄各5匹について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈より、EDTA-2K入り採血管及びクエン酸ナトリウム入り採血管に採血した血液を用いて血液学的検査を行った。

検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX L1 に示した。

II-3-5 血液生化学的検査

動物を解剖日前日より絶食(18時間以上)させ、定期解剖時まで生存した動物について、1群当り雌雄各5匹について、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血液生化学的検査を行った。

検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX L1 に示した。

II-3-6 病理学的検査

1 剖検

全動物を肉眼的に観察した。

2 臓器重量

定期解剖時まで生存した動物のうち、1群当り雌雄各5匹について TABLE 1 に示した臓器の湿重量(実重量)を測定した。また、定期解剖時の体重に対する百分率(体重比)を算出した。

3 病理組織学的検査

各群雌雄それぞれ2例もしくは3例の動物について TABLE 1 に示した臓器を10%中性リン酸緩衝ホルマリン液にて固定し、さらに鼻腔と大腿骨は5%ギ酸で脱灰後パラフィン包埋し、ヘマトキシリン・エオジン染色組織標本を作製し、光学顕微鏡にて病理組織学的に検査した。なお、鼻腔は切歯の後端(レベルI)、切歯乳頭(レベルII)、第一臼歯の前端(レベルIII)の3ヶ所で切り出し(横断)、検査した(文献4)。

II-4 数値処理と統計学的方法

II-4-1 数値の取り扱いと表示

チャンバー内被験物質濃度については ppm を単位として、小数点以下第 4 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。

体重については g を単位とし、小数点以下第 1 位まで計測し、小数点以下第 1 位を四捨五入して整数値で表示した。

摂餌量については 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。

臓器実重量については g を単位とし、小数点以下第 3 位まで計測し、表示した。臓器重量体重比について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、血液生化学的検査については APPENDIX L2 に示した精度により表示した。A/G 比はアルブミン/(総蛋白-アルブミン)による計算で求め、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。

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

体重及び摂餌量については各計測時に生存している全動物を対象に計測し、欠損となったデータについては母数から除いた。

血液学的検査、血液生化学的検査、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、1 群当り雌雄各 5 匹について計測を行った。欠損となったデータについては母数から除いた。

剖検と病理組織学的検査は、各群の有効動物数（供試動物数から事故等の理由ではずされた動物を除いた動物数）または有効臓器数（供試臓器数から欠損臓器を除いた臓器数）を母数とした。

II-4-3 統計方法

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。なお、予備検定については 5%の有意水準で両側検定を行い、最終検定では 5%及び 1%で両側検定を行った。

II-5 試資料の保管

試験計画書、標本、生データ、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資料は日本バイオアッセイ研究センターの標準操作手順書に従って、試資料保管施設に保管する。保管期間は最終報告書提出後 5 年間とする。なお、標本については品質が評価に耐え得る期間保管する。

III 試験成績

III-1 動物の状態観察

III-1-1 生死状況

1000ppm 群の全例が死亡した。雄は、投与期間の 13 日目 (2w-6d) までに、雌は 4 日目 (1w-4d) までに死亡した。

500ppm 以下の群には、死亡はみられなかった。

III-1-2 一般状態

<投与初日> (暴露中及び暴露終了後)

暴露中 (チャンバーの窓越し観察) 及び暴露後の一般状態の観察結果を TABLE 2, 3 に示した。

暴露開始約 1 時間後の観察では、各投与群の動物に特記すべき所見はみられなかったが、約 3 時間後には 1000ppm と 500ppm 群の雌雄にうずくまりを伴った自発運動量の減少、音反射の低下がみられるようになり、1000ppm 群の雌雄には、流涙 (軽度) も観察された。これらは暴露終了直前まで観察され、1000ppm 群の方が 500ppm 群より重度であった。

暴露終了後の観察では、1000ppm 群の雌雄に流涙、肛門周囲の汚染 (軟便または下痢便) がみられ、500ppm 群の雌雄にも軽度の流涙の痕跡、肛門周囲の汚染 (やや軟便) がみられた。

250ppm 以下の群の動物には、特記すべき所見はみられなかった。

<投与期間中>

観察日の暴露開始前に詳細観察した一般状態の結果を APPENDIX A1, A2 に示した。また、暴露後 (投与期間 4 日目まで) に観察した一般状態の結果を TABLE 2, 3 に示した。

投与期間 2 日目 (1w-2d、以下投与期間は略す) の暴露前の観察では、各投与群の動物に特記すべき所見はみられなかった。同日の暴露後には、1000ppm 群の雌雄に流涙、肛門周囲の汚染 (軟便または下痢便)、立毛、鼻血性分泌物がみられた。500ppm 群の雌雄にはごく軽度の流涙がみられた。

3 日目 (1w-3d) の暴露前の観察では、1000ppm 群の雌で 1 例の死亡が確認された。暴露後には、さらに雌の 5 例が死亡した。雌の残りの 4 例には、これまで観察された所見に加え、腹臥、衰弱、不整呼吸、深呼吸、体温低下、黒褐色便等の所見もみられた。1000ppm 群の雄には暴露後に立毛、軟便または下痢、鼻血性分泌物、自発運動量の減少がみられた。

4 日目 (1w-4d) の暴露前の観察では、1000ppm 群の雌で 2 例の死亡 (前日と合わせ 8 例

死亡)が確認され、残る2例には、腹臥、自発運動量の減少、不整呼吸、深呼吸、立毛、体温低下がみられた。暴露後には1000ppm群の雌の全例が死亡した。同群の雄も、暴露前の観察で全例に立毛、9例に円背位、1例に振戦、自発運動量の減少、不整呼吸が観察された。暴露後には、全例に立毛、円背位、鼻血性分泌物、軟便または下痢、肛門周囲の汚染が観察され、暴露前の観察で多くの所見がみられた1例には、これらの他に過敏、不整呼吸、振戦、流涎も観察された。

5日目(1w-5d)の観察では、1000ppm群の雄で2例の死亡が確認された。

7日目(1w-7d)の観察では、1000ppm群の雄の全例(8例)に立毛、円背位がみられ、内2例に外陰部の汚染あるいは自発運動量の減少がみられた。

その後、1000ppm群の雄は、10日目(2w-3d)までに6例(8日目1例、9日目2例、10日目に1例死亡)死亡した。10日目の観察では全例(4例)に立毛、円背位、自発運動量の減少がみられた。11日目(2w-4d)の観察では1例の死亡が確認され、2例にも呼吸緩徐、自発運動量減少、体温低下がみられ危篤状態と判断して切迫屠殺処分をした。残る1例も13日目(2w-6d)に死亡が確認され、1000ppm群の雄も全例が死亡した。

500ppm群の動物には、3日目から投与期間終了日まで特記すべき所見は観察されず、250ppm以下の群の動物には、投与期間中に特記すべき変化はみられなかった。

III-1-3 体重

体重の推移をTABLE 4, 5, FIGURE 2, 3, 及び APPENDIX B1, B2 に示した。

1000ppm群の雌雄とも、死亡時まで体重の減少がみられた。

500ppm群では、雄は投与期間中、対照群よりも低値を示し、4, 14日目には有意な低値もみられ体重増加の抑制が認められた。雌は、2, 4日目に有意な低値がみられた。

他の投与群では125ppm群の雄が14日目の測定で有意な高値を示した以外、特に変化はみられなかった。

なお、1000ppm群の雄で7日目の値が4日目より僅かに増加したが、これは、5, 6日目(土、日曜日)に暴露を行わなかったため、いくらか動物の状態が回復したと考えられた。

III-1-4 摂餌量

摂餌量(1日1匹当たり)をTABLE 6, 7 及び APPENDIX C1, C2 に示した。

1000ppm群の雄は、7日目の測定で対照群と比べ有意な低値を示した。雌は、7日目の測定までに全例が死亡したので評価から除外した。

500ppm以下の投与群では、雄は7日目の測定で全群が対照群と比べて有意な高値を示し、14日目の測定でも全群が対照群より高値(250ppm、125ppm群で有意)であった。

雌は7日目の測定で全群が対照群と比べて有意な低下を示したが、14日目の測定では全群が対照群より高値(500ppm、125ppm及び62.5ppm群で有意)であった。特に、500ppm群の雄の体重は対照群よりも低値であったが、摂餌量は対照群よりも増加を示していた。暴露による影響で餌を摂取しているにもかかわらず体重の増加が抑制されたのか、あるいは餌のこぼしが増大しみかけ上の摂餌量が増加したのかは不明であった。

III-2 血液学的検査・血液生化学的検査

III-2-1 血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX D1, D2 に示した。

500ppm 群では雌雄とも赤血球数、ヘモグロビン濃度の減少及び血小板数、白血球数の増加(雌は白血球数の増加傾向)がみられ、さらに雄ではヘマトクリット値も減少した。

500ppm 群の雌雄にアシルクロリドの暴露による貧血と炎症性の変化が示唆された。

250ppm 群では雄でヘモグロビン濃度が減少した。雌に著変はみられなかった。

III-2-2 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX E1, E2 に示した。

500ppm 群では雌雄に総コレステロール、リン脂質の増加と尿素窒素の減少、ALP活性の低下がみられた。この他、雄に総蛋白の増加、雌にトリグリセライドの増加及びCPK活性の低下がみられた。

250ppm 群では雌雄にALP活性の低下がみられ、雌には尿素窒素の減少がみられた。

500ppm 群の雌雄に脂質及び蛋白系の検査項目で増加が示され、これらの変化は後述する肝臓の重量増加と関連したものと考えられた。しかし、250ppm 群でもみられたALP活性と尿素窒素の変化はいずれも減少方向であり、これらの変化とアシルクロリドの暴露との関連は不明であった。

III-3 病理学的検査

III-3-1 剖検

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX F1, F3 (投与期間途中死亡)、F2, F4 (定期解剖) に示した。

<投与期間途中死亡例 (1000ppm 群) >

雄では、膀胱に尿の多量貯留 (5/10 例) 及び腺胃に潰瘍 (2/10 例) がみられた。

雌では、気管に泡沫液の貯留 (2/10 例)、胸水 (2/10 例) 及び肺に赤色斑 (1/10 例) がみられた。

<定期解剖例>

500ppm 群の雄では肺に赤色斑 (1/10 例) がみられたが、他の投与群の雌雄には特徴的な所見、あるいは暴露濃度に対応した顕著な発生増加を示す所見はみられなかった。

III-3-2 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 APPENDIX G1, G2 (実重量)、H1, H2 (体重比) に示した。

500ppm 群の雄では、肺と腎臓の実重量と体重比の高値、肝臓の体重比の高値、精巣の実重量の低値が認められた。雌には、肺、腎臓及び肝臓の実重量と体重比の高値ならびに脳の実重量と体重比の低値が認められた。

250ppm 群の雄では、腎臓の実重量と体重比の高値、肝臓の体重比の高値がみられた。雌には腎臓の実重量と体重比の高値がみられた。

125ppm 群の雄では、腎臓の実重量と体重比の高値がみられた。雌には、腎臓の実重量の高値と脳の体重比の低値がみられたが、脳の変化は暴露濃度に対応したものではなかった。

III-3-3 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を APPENDIX I1,I3 (投与期間途中死亡)、I2,I4 (定期解剖) に示した。

<投与期間途中死亡例 (1000ppm 群) >

雄では、鼻腔に嗅上皮の壊死と萎縮 (3/3 例)、気管に上皮の壊死 (1/3 例)、肺に浮腫 (2/3 例)、胸腺に萎縮 (3/3 例)、腺胃に糜爛 (1/3 例)、肝臓に巣状壊死 (1/3 例)、腎臓に近位尿細管の壊死、再生及び核増大 (3/3 例)、精巣に精原細胞壊死 (3/3 例)、精巣上体に精上皮系細胞の残屑 (3/3 例) がみられた。

雌では、鼻腔に嗅上皮の壊死 (3/3 例)、肺に浮腫 (1/3 例)、胸腺に核崩壊 (3/3 例)、腺胃に糜爛 (1/3 例)、腎臓に近位尿細管の壊死 (3/3 例) がみられた。

<定期解剖例>

500ppm 群の雄では、鼻腔に呼吸上皮の炎症 (1/2 例)、肺に炎症 (1/2 例)、精巣上体に精上皮系細胞の残屑 (1/2 例) がみられた。雌では、肺に炎症 (1/2 例) がみられた。

250ppm 群の雄では、腎臓に好酸体が認められたが、雌では著変は認められなかった。

125ppm 以下の群では、雄は 62.5ppm 群まで腎臓に好酸体が認められた。雌では著変は認められなかった。

IV 考察及びまとめ

全身暴露によるアリルクロリドのがん原性を調べる試験の予備試験として、アリルクロリドを F344/DuCrj(Fischer)ラットに 2 週間全身暴露しその生態影響を検索した。

本試験は、雌雄各群 10 匹のラットを用いてアリルクロリド投与群 5 群、対照群 1 群の 6 群構成で行った。投与濃度は、1000ppm、500ppm、250ppm、125ppm 及び 62.5ppm とした。投与は、所定の濃度のアリルクロリドを含む空気に 1 日 6 時間、1 週 5 日間、2 週間（計 10 回）、全身暴露することにより行った。観察及び検査項目は、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、剖検観察、臓器重量の測定及び病理組織学的検査とした。

アリルクロリドの暴露によると考えられる毒性所見が 1000ppm 及び 500ppm 群でみられ、1000ppm 群は全例死亡した。

1000ppm 群では雌雄ともに、投与初日の暴露中から自発運動量の減少、音反射の低下が観察され暴露後にも流涙、肛門周囲の汚染がみられた。2 日目の暴露前には、全例の動物に特に所見はみられなかったが、暴露後には雌雄に流涙、肛門周囲の汚染、立毛、鼻血性分泌物がみられた。雌は、3 日目から死亡がみられ 4 日目には全例が死亡した。雄は、5 日目から死亡がみられ始め 13 日目には全例が死亡した。解剖時の肉眼的観察では、雄には膀胱に尿の多量貯留や腺胃に潰瘍がみられ、雌には気管への泡沫液の貯留、胸水、肺に赤色斑がみられた。病理組織学的検査では、雌雄とも呼吸器系（鼻腔、気管、肺）に壊死や浮腫、胸腺に萎縮、腺胃に糜爛、肝臓及び腎臓に壊死がみられ、雄ではこの他にも精巣に精原細胞壊死及び精巣上体に精上皮系細胞の残屑が認められた。

500ppm 群でも雌雄ともに、投与初日の暴露中から自発運動量の減少、音反射の低下が観察され、暴露後にも流涙の痕跡、肛門周囲の汚染がみられた。2 日目の暴露前には全例の動物に所見はみられなかったが、暴露後には雌雄にごく軽度の流涙がみられた。3 日目以降は、雌雄ともに一般状態の観察で著変はみられなかった。体重測定では、雌雄とも体重増加の抑制がみられた。血液学的検査では、雌雄にヘモグロビン濃度及び赤血球の減少、血小板数及び白血球数の増加（雌は白血球数の増加傾向）が示され、貧血と炎症性の変化が示唆された。また、血液生化学的検査では、雌雄に総コレステロールの増加、雄に総蛋白の増加、雌にトリグリセライド、リン脂質の増加がみられた。臓器重量の測定では、雌雄ともに腎臓の重量増加、雄で肺の重量増加、雌で肝臓の重量増加と脳の重量低下がみられた。病理組織学的検査では、雌雄とも呼吸器系に炎症、雄で精巣上体に精上皮系細胞の残屑が認められた。

250ppm 以下の群では、アリルクロリドの暴露によると思われる明らかな毒性所見はみられなかったが、腎臓の重量増加が 250ppm 群の雌雄に認められ、この変化は雄の 125ppm 群でもみられた。

以上の結果より、本試験では 500ppm 群で暴露による死亡はみられなかったものの、体

重増加の抑制、血液及び血液生化学的変化、呼吸器系の炎症等がみられた。これらの所見のうち、呼吸器系の炎症については、同濃度のままで 13 週間試験に以降した場合、暴露回数の増加により 1000ppm 群で死因となった呼吸器系の壊死や浮腫に発展し死亡する可能性が高いと判断した。

よって、13 週間試験の暴露濃度は、500ppm よりも低い 400ppm を上限とし以下 200ppm、100ppm、50ppm 及び 25ppm (公比 2) とした。

V 文献

1.EPA/NIH Mass Spectral Data Base (1978)

Vol.1, pp.16

2.和光純薬工業からの提供資料 (1995)

3.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

4.K.Nagano, et al. (1988)

Toxicologic Pathology of Upper Respiratory Tract

Journal of Toxicologic Pathology, 1, 115-127