

アリルクロリドのラットを用いた
吸入による13週間毒性試験報告書

試験番号：0340

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 13 週間毒性試験報告書

試験番号：0340

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 投与濃度及びその設定理由	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	6
II-3-5	血液生化学的検査	7
II-3-6	尿検査	7
II-3-7	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	7
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	10
III-1-4	摂餌量	11
III-2 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査		
III-2-1	血液学的検査	11
III-2-2	血液生化学的検査	11
III-2-3	尿検査	12
III-3 病理学的検査		
III-3-1	剖検	12
III-3-2	臓器重量	12
III-3-3	病理組織学的検査	13
IV	考察及びまとめ	14
V	文献	16

TABLES

- TABLE 1 EXPERIMENTAL DESIGN AND MATERIALS AND METHODS IN THE 13-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE
- TABLE 2 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES OF MALE RATS IN THE 13-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE
- TABLE 3 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES OF FEMALE RATS IN THE 13-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE
- TABLE 4 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF MALE RATS IN THE 13-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE
- TABLE 5 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF FEMALE RATS IN THE 13-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 13-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE

FIGURE 3 BODY WEIGHT CHANGES OF FEMALE RATS IN THE 13-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE

FIGURE 4 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF MALE RATS IN THE 13-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE

FIGURE 5 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF FEMALE RATS IN THE 13-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE

APPENDIXES

- APPENDIX A 1 CLINICAL OBSERVATION : SUMMARY, RAT : MALE
(13-WEEK STUDY)
- APPENDIX A 2 CLINICAL OBSERVATION : SUMMARY, RAT : FEMALE
(13-WEEK STUDY)
- APPENDIX B 1 BODY WEIGHT CHANGES : SUMMARY, RAT : MALE
(13-WEEK STUDY)
- APPENDIX B 2 BODY WEIGHT CHANGES : SUMMARY, RAT : FEMALE
(13-WEEK STUDY)
- APPENDIX C 1 FOOD CONSUMPTION CHANGES : SUMMARY, RAT : MALE
(13-WEEK STUDY)
- APPENDIX C 2 FOOD CONSUMPTION CHANGES : SUMMARY, RAT : FEMALE
(13-WEEK STUDY)
- APPENDIX D 1 HEMATOLOGY : SUMMARY, RAT : MALE (13-WEEK STUDY)
- APPENDIX D 2 HEMATOLOGY : SUMMARY, RAT : FEMALE (13-WEEK STUDY)
- APPENDIX E 1 BIOCHEMISTRY : SUMMARY, RAT : MALE
(13-WEEK STUDY)
- APPENDIX E 2 BIOCHEMISTRY : SUMMARY, RAT : FEMALE
(13-WEEK STUDY)
- APPENDIX F 1 URINALYSIS : SUMMARY, RAT : MALE (13-WEEK STUDY)
- APPENDIX F 2 URINALYSIS : SUMMARY, RAT : FEMALE (13-WEEK STUDY)

APPENDIXES (CONTINUED)

- APPENDIX G 1 GROSS FINDINGS : SUMMARY, RAT : MALE :
DEAD AND MORIBUND ANIMALS (13-WEEK STUDY)
- APPENDIX G 2 GROSS FINDINGS : SUMMARY, RAT : MALE :
SACRIFICED ANIMALS (13-WEEK STUDY)
- APPENDIX G 3 GROSS FINDINGS : SUMMARY, RAT : FEMALE :
DEAD AND MORIBUND ANIMALS (13-WEEK STUDY)
- APPENDIX G 4 GROSS FINDINGS : SUMMARY, RAT : FEMALE :
SACRIFICED ANIMALS (13-WEEK STUDY)
- APPENDIX H 1 ORGAN WEIGHT, ABSOLUTE : SUMMARY, RAT : MALE
(13-WEEK STUDY)
- APPENDIX H 2 ORGAN WEIGHT, ABSOLUTE : SUMMARY, RAT : FEMALE
(13-WEEK STUDY)
- APPENDIX I 1 ORGAN WEIGHT, RELATIVE : SUMMARY, RAT : MALE
(13-WEEK STUDY)
- APPENDIX I 2 ORGAN WEIGHT, RELATIVE : SUMMARY, RAT : FEMALE
(13-WEEK STUDY)
- APPENDIX J 1 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :
SUMMARY, RAT : MALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS
(13-WEEK STUDY)
- APPENDIX J 2 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :
SUMMARY, RAT : MALE : SACRIFICED ANIMALS
(13-WEEK STUDY)
- APPENDIX J 3 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :
SUMMARY, RAT : FEMALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS
(13-WEEK STUDY)
- APPENDIX J 4 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :
SUMMARY, RAT : FEMALE : SACRIFICED ANIMALS
(13-WEEK STUDY)

APPENDIXES (CONTINUED)

- APPENDIX K 1 IDENTITY OF ALLYL CHLORIDE IN THE 13-WEEK
INHALATION STUDY
- APPENDIX K 2 STABILITY OF ALLYL CHLORIDE IN THE 13-WEEK
INHALATION STUDY
- APPENDIX L 1 CONCENTRATION OF ALLYL CHLORIDE IN THE INHALATION
CHAMBER OF THE 13-WEEK INHALATION STUDY
- APPENDIX L 2 ENVIRONMENTAL CONDITIONS OF INHALATION CHAMBER
IN THE 13-WEEK IN HALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE
- APPENDIX M 1 METHODS FOR HEMATOLOGY, BIOCHEMISTRY AND
URINALYSIS IN THE 13-WEEK INHALTION STUDY OF ALLYL
CHLORIDE
- APPENDIX M 2 UNITS AND DECIMARL PLACE FOR HEMATOLOGY AND
BIOCHEMISTRY IN THE 13-WEEK INHALTION 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 13 週間全身暴露して、その生体影響を検索した。

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、400ppm、200ppm、100ppm、50ppm 及び 25ppm 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、13 週間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、尿検査、剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査とした。

400ppm 群は、5 週目から 6 週目にかけて全例死亡した。剖検観察では、雌雄ともに肺の赤色斑、退縮不全及び膀胱に尿多量貯留がみられた。病理組織学的検査では雌雄とも鼻腔に血栓、杯細胞増生、喉頭と気管に上皮の過形成、肺に気管支肺炎、細菌の出現及び餌と思われる異物沈着、胸腺の萎縮、肝臓の鬱血等が認められた。死因は雌雄とも気管支肺炎と考えられ、程度は重度から超重度であった。200ppm 以下の投与群では、雌雄ともに死亡はみられなかった。200ppm 群では、剖検観察で雌雄ともに肺に褐色斑がみられた。臓器重量の測定では、雌雄ともに腎臓の重量増加がみられ、雄には肺と肝臓の重量増加もみられた。血液学的検査では、雌雄ともに軽度な貧血が示唆された。病理組織学的検査では、雌雄ともに鼻腔の嗅上皮にエオジン好性変化の発生増加及び腎臓の近位尿細管に核増大の発生増加が認められ、さらに少数例の肺に気管支肺炎及び異物沈着がみられた。また、この他にも雄では腎臓に好酸体の発現増加及び鼻腔に嗅上皮の壊死、雌では腎臓に好酸滴の発生増加も認められた。100ppm 群では、雌雄ともに腎臓の重量の高値がみられた。雄は腎臓に好酸体の発現増加が認められ、雌は腎臓に近位尿細管の核増大と好酸滴の発生増加が認められた。50ppm 群では、雄に腎臓の重量の高値（雌は実重量の高値）、雄の少数例に鼻腔の嗅上皮にエオジン好性変化、雌で鼻腔の嗅上皮にエオジン好性変化の発生増加、腎臓の近位尿細管に好酸滴の発生増加が認められた。25ppm 群では、雄の少数例に鼻腔の嗅上皮にエオジン好性変化、雌に鼻腔の嗅上皮にエオジン好性変化の発生増加が認められた。

以上のことから、200ppm 群では、雌雄ともに死亡はみられなかったが、少数例に肺の気管支肺炎がみられ、これらの変化はがん原性試験として暴露回数が増加した場合、動物の生存率に影響を及ぼす因子になりうると考えられた。したがって、アリルクロリドのがん原性試験の暴露濃度は 100ppm を最高濃度とし以下 50ppm、25ppm（公比 2）とした。

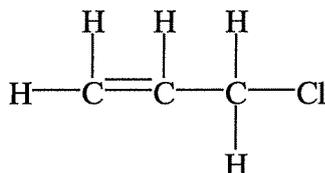
I 試験材料

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、WTK5293
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、それらの結果については、APPENDIX K1 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、それらの結果については、APPENDIX K2 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。

ラット雌雄各 75 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:108~121g、雌:92~102g)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、60日/13週間(祝祭日を除く)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 投与濃度及びその設定理由

雌雄ともに最高濃度を 400ppm に設定し、以下 200ppm、100ppm、50ppm 及び 25ppm (公比 2) とした。

投与濃度の設定理由：1000ppm、500ppm、250ppm、125ppm 及び 62.5ppm の濃度で 2 週間の予備試験を行った結果、1000ppm 群では全例が死亡した。500ppm 群では暴露による死亡はみられなかったが、呼吸器系に炎症が認められた。500ppm の濃度で 13 週間試験に移行した場合には、暴露回数の増加により死亡する可能性が高いと判断し 500ppm よりも低い 400ppm を最高濃度とした。(試験番号：0332 参照)

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測定、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て濃度調整を行った。

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、APPENDIX L1 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	25 ppm群	10匹 (1101~1110)	10匹 (2101~2110)
2	50 ppm群	10匹 (1201~1210)	10匹 (2201~2210)
3	100 ppm群	10匹 (1301~1310)	10匹 (2301~2310)
4	200 ppm群	10匹 (1401~1410)	10匹 (2401~2410)
5	400 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 に示した。また、吸入チャンバー内環境の計測結果を APPENDIX L2 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。

検疫中期間中は 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、毎日1回行った。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、毎週1回暴露開始前に行った。

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、毎週1回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全動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈より、EDTA-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。なお、麻酔死、または採血手技のミスにより採血できなかった動物は母数より除いた。

検査項目はTABLE 1、検査方法はAPPENDIX M1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全動物について、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血液生化学的検査を行った。なお、麻酔死、または採血手技のミスにより採血できなかった動物は母数より除いた。

検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX M1 に示した。

II-3-6 尿検査

投与最終週にまで生存した動物について、新鮮尿を採取し尿検査を行った。

検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX M1 に示した。

II-3-7 病理学的検査

1 剖検観察

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全動物について 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

全動物の 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、欠測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について検査し、欠損となったデータについては母数から除いた。

尿検査は投与最終週に行い、検査数を母数とした。

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

本試験で得られた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。

病理組織学的検査については、所見のみられなかった動物をグレード0として χ^2 検定を行った。また、尿検査についても χ^2 検定を行った。なお χ^2 検定は対照群と各投与群間との検定であり、最終検定では5%及び1%で両側検定を行った。また、各群雌雄毎に検査数が2以下の項目については検定より除外した。

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試資料保管施設に保管し、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

生死状況を APPENDIX A 1, A2 に示した

400ppm 群で 5 週目から死亡がみられはじめ、同週の詳細観察日 (5w-7d) までに雄で 2 例、雌で 5 例死亡し 6 週目には雌雄の全例が死亡した。その他の投与群及び対照群に死亡はみられなかった。

III-1-2 一般状態

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 A 1, A2 に示した。

投与期間の 4 週目までは、全群の動物に症状は観察されなかった。しかし、400ppm 群の 5 週目の観察で、生存していた雄の全例 (8 例) に立毛、不整呼吸、異常呼吸音、流涎、円背位、尿による外陰部の汚染 (黄色)、鼻口周囲の汚染 (赤褐色) がみられた。生存していた雌にも 5 例中 4 例 (1 例には症状はなし) に異常呼吸音、不整呼吸、円背位がみられ、この内 3 例には汚染、さらに 3 例中 2 例には立毛もみられ、1 例にはこのほかに尿による外陰部の汚染 (黄色) と流涎もみられた。

死後発見された動物では、多くの例に鼻口周囲の汚染 (赤褐色) と外陰部の汚染 (黄色) が観察された。

その他の投与群及び対照群に特記すべき症状はみられなかった。

III-1-3 体重

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

全例死亡した 400ppm 群の雌雄で、体重増加の抑制と減少がみられた。雄は、5 週間の測定のうち、4 週目以外で対照群よりも有意な低値を示し、体重増加の抑制がみられた。5 週目の測定では、生存動物は 8 例となり全例の体重が 4 週目より減少 (群平均で 41g 減少) した。雌は、4 週目までは順調な体重増加を示していたが、5 週目の測定では生存動物は 5 例となり、全例が 4 週目より減少 (群平均で 28g 減少) した。

他の投与群では、体重は順調に増加し対照群と比較して有意な差はみられなかった。

III-1-4 摂餌量

摂餌量(1日1匹当たり)を TABLE 4, 5 及び APPENDIX C1, C2 に示した。

全例死亡した 400ppm 群で雄は 2 週目と 4 週目に、雌は 2 週目と 3 週目に統計学的に有意な増加がみられたが、5 週目の測定では雌雄ともに極端な摂餌量の低値がみられた。

200ppm 以下の群では、雄の 50ppm 群が 6 週目と 7 週目に、25ppm 群が 6 週目に、有意な低値を示した。また雌の 100ppm 群が 1 週目に、200ppm から 50ppm までの群が 2 週目に有意な増加を示したが、それ以外の週では対照群と比べて統計学的有意差はみられなかった。

III-2 血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査

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。

200ppm 群の雄で血小板数、網赤血球比及び白血球数の増加、ヘモグロビン濃度、MCH 及び分葉核好中球比の減少が認められた。200ppm 群の雌では、MCV、血小板数及び白血球数の増加、赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の減少が認められ、200ppm 群の雌雄にアリルクロリドの暴露によると考えられる貧血が示唆された。また、25ppm 群の雌で網赤血球比の減少が認められたが、この変化は暴露濃度に対応したものでなかった。

他の投与群には特記すべき変化は認められなかった。

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。

200ppm 群の雄で、総蛋白及びアルブミンの増加、CPK 活性の低下が認められ、雌で総コレステロール、トリグリセライド及びリン脂質の増加、総蛋白の減少が認められた。

なお、雄の 2 例にALP 及び γ -GTP 活性の上昇、尿素窒素、クレアチニン、カリウム及び無機リンの増加がみられたため、これらの検査値の平均が上昇または増加を示した。これら 2 例の変化は、アリルクロリドの暴露による腎臓及び肝胆道系への影響を示すものと考えられた。

その他、100ppm 群の雄でCPK 活性の低下と 50ppm 群の雄でALP 活性の低下が認められたが、他の投与群には特記すべき変化は認められなかった。

III-2-3 尿検査

尿検査の結果を APPENDIX F1, F2 に示した。

50ppm 群の雄でケトン体の陽性例の減少がみられた。

他の投与群には特記すべき変化は認められなかった。

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 G1,G3 (投与期間途中死亡)、G2,G4 (定期解剖) に示した。

<投与期間途中死亡例 (400ppm 群) >

雌雄ともに、肺に赤色斑 (雄: 10/10 例、雌: 9/10 例)、退縮不全 (雄: 7/10 例、雌: 6/10 例) 及び膀胱に尿の多量貯留 (雄: 9/10 例、雌: 5/10 例) がみられ、この他、雌では、胸腺の萎縮 (2/10 例) がみられた。

<定期解剖例>

200ppm 群の雌雄で肺に褐色斑 (雄 1/10 例、雌 2/10 例) がみられた。

他の投与群に死亡はみられなかった。

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 H1,H2 (実重量)、I1,I2 (体重比) に示した。

200ppm 群の雌雄で腎臓の実重量と体重比の高値、脳の実重量の低値が認められた。その他、雄で肺と肝臓の実重量と体重比の高値、脾臓に体重比の高値及び精巣に実重量の低値が認められた。

100ppm 群では、雌雄とも腎臓の実重量と体重比の高値がみられた。

50ppm 群では、雄で腎臓の実重量と体重比の高値、雌で腎臓の実重量の高値がみられた。

25ppm 群では、雌雄とも特記すべき変化はみられなかった。

III-3-3 病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を APPENDIX J1,J3 (投与期間途中死亡)、J2,J4 (定期解剖) に示した。

<投与期間途中死亡例 (400ppm 群) >

雄では鼻腔に血栓、杯細胞増生、嗅上皮の壊死及び異物沈着、喉頭と気管に上皮の過形成、肺に気管支肺炎、細菌の出現及び異物沈着、胸腺に萎縮、肝臓に鬱血、腎臓に好酸体、乳頭の鉍質沈着及び近位尿細管の核増大、精巣に精原細胞壊死、精巣上体に精上皮系細胞の残屑及び前立腺に炎症がみられた。

雌では鼻腔に血栓、杯細胞増生、呼吸上皮と嗅上皮の壊死、異物沈着及び好中球を含む滲出物の出現、喉頭と気管に上皮の過形成、肺に気管支肺炎、細菌の出現及び異物沈着、胸腺に萎縮と核崩壊、肝臓に鬱血、腎臓に乳頭の鉍質沈着及び尿細管壊死、脳に巣状壊死と細菌の出現がみられた。

これらの所見の中で、雌雄とも気管支肺炎の程度は重度から超重度であり、この変化が死因と考えられた。

<定期解剖例>

200ppm 群では、雌雄ともに鼻腔に嗅上皮のエオジン好性変化の発生増加、腎臓に近位尿細管の核増大の発生増加が認められ、この他に雄は腎臓に好酸体の発現増加、雌では好酸滴の発生増加が認められた。また、雌雄の少数例に軽度な肺の気管支肺炎と異物沈着がみられ、雄では鼻腔に嗅上皮の壊死もみられた。

100ppm 群では、雄は腎臓に好酸体の発現増加が認められた。また、統計学的有意差は示されなかったが、腎臓に近位尿細管の核増大がみられ、少数例に鼻腔に嗅上皮のエオジン好性変化がみられた。雌では、腎臓に近位尿細管の核増大と好酸滴の発生増加が認められ、統計学的有意差は示されなかったが、鼻腔に嗅上皮のエオジン好性変化の増加がみられた。

50ppm 群では、雄は少数例に鼻腔に嗅上皮のエオジン好性変化がみられ、雌では、鼻腔に嗅上皮のエオジン好性変化の発生増加、腎臓に近位尿細管の好酸滴の発生増加が認められた。

25ppm 群では、雄は少数例に鼻腔に嗅上皮のエオジン好性変化がみられた。雌では、鼻腔に嗅上皮のエオジン好性変化の発生増加が認められ、また、統計学的には有意差を示さないが、腎臓に近位尿細管の好酸滴の発生増加がみられた。

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 13 週間全身暴露して、その生体影響を検索した。

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、400ppm、200ppm、100ppm、50ppm 及び 25ppm 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、13 週間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、尿検査、剖検、臓器重量の測定及び病理組織学的検査とした。

400ppm 群では、投与期間の 4 週目までは動物に特記すべき症状は観察されなかったが、5 週目から雌雄の動物に死亡がみられはじめ 6 週目には全例が死亡した。5 週目の観察で、生存していた雄の全例 (8 例) に立毛、不整呼吸、異常呼吸音、流涎、円背位、尿による外陰部の汚染 (黄色)、鼻口周囲の汚染 (赤褐色) がみられた。雌にも生存していた 5 例中 4 例に異常呼吸音、不整呼吸、円背位がみられ、これらのほかに汚染、立毛、尿による外陰部の汚染 (黄色)、流涎がみられた例もあった。死後発見された動物では、多くの例に鼻口周囲の汚染 (赤褐色) と外陰部の汚染 (黄色) が観察された。5 週目まで生存していた雌雄には体重増加の抑制がみられ、特に 5 週目には雌雄の全例の体重が、前週と比較して極端に減少 (雄の平均で 41 g 減、雌で 28 g 減) した。摂餌量は、雌雄とも 5 週目には体重の減少と関連した極端な低値がみられた。400ppm 群での 5 週目から 6 週目にかけての動物の急激な状態変化とこれに続く死亡は、極端な摂食量の減少を伴うことから、アリルクロリドの代謝に関するグルタチオンの細胞内濃度の減少との関連性が疑われるが詳細は不明である (文献 5、6)。剖検観察では、雌雄ともに肺の赤色斑と退縮不全及び膀胱への尿の多量貯留がみられ、その他、雌では胸腺の萎縮 (2/10 例) もみられた。病理組織学的検査では雌雄とも鼻腔に血栓、杯細胞増生、喉頭と気管に上皮の過形成、肺に気管支肺炎、細菌の出現及び餌と思われる異物沈着、胸腺に萎縮、肝臓に鬱血、雄で嗅上皮の壊死及び異物沈着、腎臓に好酸体、乳頭の鉍質沈着及び近位尿細管の核増大、精巣に精原細胞壊死、精巣上体に精上皮系細胞の残屑、前立腺に炎症が認められた。雌では、呼吸上皮と嗅上皮の壊死、異物沈着及び好中球を含む滲出物の出現、胸腺に萎縮と核崩壊、腎臓に乳頭の鉍質沈着及び尿細管壊死、脳に巣状壊死と細菌の出現が認められた。死因は雌雄とも気管支肺炎と考えられ、程度は重度から超重度であった。また、これらの変化のなかでも脳の巣状壊死は稀な所見であった。

200ppm 以下の群では、死亡はみられず、体重、摂餌量、一般状態の観察及び尿検査でアリルクロリドの暴露によると考えられる変化はみられなかった。

200ppm 群では、血液学的検査で雌雄に軽度な貧血が示唆され、血液生化学的検査で雄の 2 例に腎臓及び胆道系の影響を示唆する変化が認められた。剖検観察では、雌雄に肺の

褐色斑（雄：1例、雌：2例）がみられ、雌雄とも腎臓の重量の増加、雄に肺と肝臓の重量増加が示された。病理組織学的検査では、雌雄ともに、鼻腔に嗅上皮のエオジン好性変化の発生増加、腎臓に近位尿細管の核増大の発生増加が認められ、さらに、雄では腎臓に好酸体の発現増加、雌では腎臓に好酸滴の発生増加も認められた。また、雌雄の少数例に肺の気管支肺炎及び異物沈着がみられ、雄では鼻腔の嗅上皮の壊死も認められた。

100ppm 群では、雌雄とも剖検観察で著変はみられなかったが、雌雄ともに腎臓の重量の高値が示された。病理組織学的検査では、雄は腎臓に好酸体の発現増加が認められ、雌は腎臓に近位尿細管の核増大と好酸滴の発生増加が認められた。その他、統計学的有意差は示されなかったが、雌雄とも、鼻腔に嗅上皮のエオジン好性変化の発生増加、雄に近位尿細管の核増大も認められた。

50ppm 群では、雌雄とも剖検観察で著変はみられなかったが、雄で腎臓の重量の高値（雌は実重量の高値）がみられた。また、雄は少数例に鼻腔に嗅上皮のエオジン好性変化、雌は鼻腔に嗅上皮のエオジン好性変化の発生増加、腎臓に近位尿細管の好酸滴の発生増加が認められた。

25ppm 群では、雌雄とも剖検所見と臓器重量に著変はみられなかったが、雄の少数例に鼻腔に嗅上皮のエオジン好性変化が認められた。雌では、鼻腔に嗅上皮のエオジン好性変化の発生増加が認められ、また、統計学的有意差は示されなかったが、腎臓に近位尿細管の好酸滴の発生増加もみられた。

以上の結果より、200ppm 群では雌雄ともに死亡はみられなかったが、少数例の肺に気管支肺炎が認められた。この変化は投与が長期間にわたるがん原性試験では、暴露回数の増加により動物の生存率に影響を及ぼす因子になりうるものと考えられた。よって、がん原性試験のアリルクロリドの暴露濃度は 100ppm を最高濃度とし以下 50ppm、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
5. C.M.Kaye, J.J.Clapp, L.Young (1972)
The Metabolic Formation of Mercapturic Acids from Allyl Halides
Xenobiotica, Vol.2.No.2, pp.129-139
6. Ben M.DE Rooij, Jan N.M.Commandeur, ED J.Groot, et al. (1996)
Biotransformation of Allyl Chloride in the Rat
American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics
Vol.24.No.7, pp.765-772
7. 坂本幸哉・谷口直之・東 胤昭・木村 光 編 (1988)
グルタチオン研究のエポック
蛋白質 核酸 酵素 臨時増刊