メタリルクロライドのラット及びマウスを用いた
吸 入 に よ る が ん 原 性 予 備 試 験 報 告 書

試験番号

2 週間試験：ラット/0195；マウス/0196
13 週間試験：ラット/0208；マウス/0209

CAS　Ｎｏ．563－47－3

平成 8 年 1 月 31 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

メタリルクロライドのラット及びマウスを用いた吸入によるがん原性予備試験報告書

試験番号

2 週間試験：ラット/0195；マウス/0196

13 週間試験：ラット/0208；マウス/0209

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 3
Ⅰ－1－2　構造式、示性式、分子量 3
Ⅰ－1－3　物理化学的性状等 3

Ⅰ－2　被験物質の使用ロット等 4

Ⅰ－3　被験物質の同一性・安定性
Ⅰ－3－1　同一性 4
Ⅰ－3－2　安定性 4

Ⅰ－4　試験動物 4

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 6
Ⅱ－1－2　投与濃度 6
Ⅱ－1－3　被験物質の発生方法と濃度調整 6
Ⅱ－1－4　被験物質の濃度測定 7

Ⅱ－2　動物管理

Ⅱ－2－1　各群の使用動物数 7
Ⅱ－2－2　群分け及び個体識別方法 7
Ⅱ－2－3　飼育条件 8

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 8
Ⅱ－3－2　体重測定 8
Ⅱ－3－3　摂餌量測定 8
Ⅱ－3－4　血液学的検査 9
Ⅱ－3－5　血液生化学的検査 9
Ⅱ－3－6　尿検査 9
Ⅱ－3－7　病理学的検査 9

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 10
Ⅱ－4－2　母数の取り扱いと表示 11
Ⅱ－4－3　統計方法 11

Ⅱ－５　試資料の保管 11

Ⅲ　試験成績

Ⅲ－１　ラットを用いた試験

Ⅲ－１－１　2週間試験（試験番号：０１９５）
1　動物の状態観察 12
2　血液学的検査・血液生化学的検査 13
3　病理学的検査 13

Ⅲ－１－２　13週間試験（試験番号：０２０８）
1　動物の状態観察 15
2　血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査 16
3　病理学的検査 16

Ⅲ－２　マウスを用いた試験

Ⅲ－２－１　2週間試験（試験番号：０１９６）
1　動物の状態観察 19
2　血液学的検査・血液生化学的検査 20
3　病理学的検査 20

Ⅲ－２－２　13週間試験（試験番号：０２０９）
1　動物の状態観察 22
2　血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査 23
3　病理学的検査 23

Ⅳ　考察及びまとめ 25

Ⅴ　文献 33

TABLES

TABLE 1 EXPERIMENTAL DESIGN AND MATERIALS AND METHODS IN THE INHALATION STUDIES OF METHALLYL CHLORIDE

TABLE 2 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE RAT (TWO-WEEK STUDY)

TABLE 3 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE RAT (TWO-WEEK STUDY)

TABLE 4 FOOD CONSUMPTION IN MALE RAT(TWO-WEEK STUDY)

TABLE 5 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE RAT(TWO-WEEK STUDY)

TABLE 6 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE RAT (THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 7 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE RAT (THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 8 FOOD CONSUMPTION IN MALE RAT(THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 9 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE RAT(THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 10 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE MOUSE (TWO-WEEK STUDY)

TABLE 11 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE MOUSE (TWO-WEEK STUDY)

TABLE 12 FOOD CONSUMPTION IN MALE MOUSE(TWO-WEEK STUDY)

TABLE 13 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE(TWO-WEEK STUDY)

TABLE 14 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN MALE MOUSE (THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 15 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES IN FEMALE MOUSE (THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 16 FOOD CONSUMPTION IN MALE MOUSE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

TABLE 17 FOOD CONSUMPTION IN FEMALE MOUSE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURES

FIGURE 1 METHALLYL CHLORIDE VAPOR GENERATION SYSTEM AND INHALATION SYSTEM

FIGURE 2 BODY WEIGHT CHANGES:RAT:MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 3 BODY WEIGHT CHANGES:RAT:FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 4 FOOD CONSUMPTION:RAT:MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 5 FOOD CONSUMPTION:RAT:FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 6 BODY WEIGHT CHANGES:MOUSE:MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 7 BODY WEIGHT CHANGES:MOUSE:FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 8 FOOD CONSUMPTION:MOUSE:MALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

FIGURE 9 FOOD CONSUMPTION:MOUSE:FEMALE(THIRTEEN-WEEK STUDY)

APPENDIXES

APPENDIX A 1-1 CLINICAL OBSERVATION (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX A 1-2 CLINICAL OBSERVATION (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX A 1-3 CLINICAL OBSERVATION (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX A 1-4 CLINICAL OBSERVATION (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX A 2-1 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX A 2-2 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX A 2-3 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX A 2-4 BODY WEIGHT CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX A 3-1 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX A 3-2 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX A 3-3 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX A 3-4 FOOD CONSUMPTION CHANGES (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX A 4-1 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX A 4-2 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX A 4-3 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX A 4-4 HEMATOLOGY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX A 5-1 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX A 5-2 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX A 5-3 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX A 5-4 BIOCHEMISTRY (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX A 6-1 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX A 6-2 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX A 6-3 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX A 6-4 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX A 6-5 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX A 6-6 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX A 6-7 GROSS FINDINGS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX A 7-1 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX A 7-2 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX A 7-3 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX A 7-4 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX A 7-5 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX A 7-6 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX A 7-7 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX A 7-8 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (TWO-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX A 8-1 IDENTITY AND PURITY OF METHALLYL CHLORIDE (TWO-WEEK STUDIES)

APPENDIX A 8-2 STABILITY OF METHALLYL CHLORIDE (TWO-WEEK STUDIES)

APPENDIX A 9-1 CONCENTRATION OF METHALLYL CHLORIDE IN INHALATION CHAMBER
(TWO-WEEK STUDIES)

APPENDIX A 9-2 ENVIRONMENT OF INHALATION CHAMBER
(TWO-WEEK STUDIES)

APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX B 1-1 CLINICAL OBSERVATION (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX B 1-2 CLINICAL OBSERVATION (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX B 2-1 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX B 2-2 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX B 2-3 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX B 2-4 BODY WEIGHT CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX B 3-1 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX B 3-2 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX B 3-3 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX B 3-4 FOOD CONSUMPTION CHANGES (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX B 4-1 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX B 4-2 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX B 4-3 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX B 4-4 HEMATOLOGY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX B 5-1 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX B 5-2 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX B 5-3 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX B 5-4 BIOCHEMISTRY (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX B 6-1 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE

APPENDIX B 6-2 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE

APPENDIX B 6-3 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE

APPENDIX B 6-4 URINALYSIS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE

APPENDIX B 7-1 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 7-2 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 7-3 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX B 7-4 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX B 7-5 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 7-6 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 7-7 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX B 7-8 GROSS FINDINGS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX B 8-1 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),ABSOLUTE
RAT:MALE

APPENDIX B 8-2 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),ABSOLUTE
RAT:FEMALE

APPENDIX B 8-3 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),ABSOLUTE
MOUSE:MALE

APPENDIX B 8-4 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),ABSOLUTE
MOUSE:FEMALE

APPENDIX B 9-1 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),RELATIVE
RAT:MALE

APPENDIX B 9-2 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),RELATIVE
RAT:FEMALE

APPENDIX B 9-3 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),RELATIVE
MOUSE:MALE

APPENDIX B 9-4 ORGAN WEIGHT (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY),RELATIVE
MOUSE:FEMALE

APPENDIX B 10-1 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 10-2 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 10-3 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX B 10-4 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
RAT:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX B 10-5 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 10-6 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:SACRIFICED ANIMALS

APPENDIX B 10-7 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:MALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIX B 10-8 HISTOLOGICAL FINDINGS:NON-NEOPLASTIC LESIONS (THIRTEEN-WEEK STUDY:SUMMARY)
MOUSE:FEMALE:DEAD AND MORIBUND ANIMALS

APPENDIXES (CONTINUED)

APPENDIX B 11-1 IDENTITY AND PURITY OF METHALLYL CHLORIDE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

APPENDIX B 11-2 STABILITY OF METHALLYL CHLORIDE (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

APPENDIX B 12-1 CONCENTRATION OF METHALLYL CHLORIDE IN INHALATION CHAMBER (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

APPENDIX B 12-2 ENVIRONMENT OF INHALATION CHAMBER (THIRTEEN-WEEK STUDIES)

APPENDIX C 1 METHODS FOR HEMATOLOGY,BIOCHEMISTRY AND URINALYSIS

APPENDIX C 2 UNITS AND DECIMAL PLACE FOR HEMATOLOGY AND BIOCHEMISTRY

要旨

メタリルクロライドのがん原性を検索する目的でF344/DuCrj(Fischer)ラットとCrj:BDF$_1$マウス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たり、その投与濃度を設定するために本予備試験（2週間試験、13週間試験）を実施した。

2週間試験及び13週間試験はラット、マウスとも各群雌雄10匹で被験物質投与群5群、対照群1群の6群構成で行った。投与濃度は2週間試験ではラット、マウスの雌雄とも810ppm、270ppm、90ppm、30ppm及び10ppm、13週間試験ではラット、マウスの雌雄とも500ppm、250ppm、125ppm、63ppm及び31ppmとした。投与はメタリルクロライドを含む空気を所定の濃度で1日6時間、1週5日間、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（13週間試験）、剖検、臓器重量測定（13週間試験）及び病理組織学的検査とした。

ラットを用いた2週間試験の結果

1）　810ppm群の雌雄とも投与期間中に全例死亡した。

2）　270ppm群の雄が摂餌量と体重で低値を示したが、その他の検査項目では投与による影響を認めなかった。

以上のことから、ラットの13週間試験の投与濃度は雌雄とも最高濃度を500ppmとし、以下250ppm、125ppm、63ppm、31ppm（公比2）とした。

ラットを用いた13週間試験の結果

1）　500ppm群で雌雄ともに投与期間中に死亡がみられ、また病理組織学的検査で腎臓障害の発生が示された。

2）　250ppm群で雌雄ともに体重増加の抑制（投与終了時、対照群に対し雄91％、雌97％）及び腎臓と肝臓の体重比の増加が認められたが、これらの変化は、動物の生存に直接的に影響を与えるとは考えられなかった。また、ラットは長期飼育によって慢性腎症が自然発生し、腎臓への作用を有する化学物質の投与は慢性腎症を増強させることが知られている。本試験では、250ppm群の腎臓で体重比の重量が高値を示したので、2年間の試験では慢性腎症を増強させる可能性があると考えられた。そこで慢性腎症の生存率への影響を考慮して高濃度は250ppmよりやや低く設定すべきであると考えた。

以上のことから、ラットのがん原性試験の投与濃度は雌雄とも高濃度を200ppmとし、以下100ppm、50ppm（公比2）とした。

マウスを用いた2週間試験の結果

1）　810ppm群で投与期間中に雄は全例死亡、雌は7例が死亡した。

2）　270ppm群で雌雄ともに血液学的検査、血液生化学的検査、病理組織学的検査で被験物質の投与による影響がみられたが、動物の生存に影響を与える変化とは考えられなかった。

以上のことから、マウスの13週間試験の投与濃度は雌雄とも最高濃度を500ppmとし、以下250ppm、125ppm、63ppm、31ppm（公比2）とした。

マウスを用いた13週間試験の結果

1）　500ppm群では雌雄ともに投与期間中に死亡がみられた。

2）　125ppm群と250ppm群で雌雄ともに体重増加の抑制と前胃粘膜上皮の過形成等の変化が認められた。しかし、これらの病理組織学的変化は動物の生存に影響を与える変化とは考えられなかった。また、これらの群の体重増加の抑制は、雄でのみみられ、その程度は10％であった。したがって、雌雄とも250ppm以下の暴露濃度は、2年間の試験に耐えられる濃度であると考えられた。また、ＮＴＰで行ったがん原性試験の報告では、メタリルクロライドの強制経口投与によってマウスとラットの前胃に過形成とともに腫瘍が発生したとされている。本試験で認められた前胃粘膜上皮の過形成が扁平上皮癌へと移行する可能性を確認するためには最高濃度を125ppmから250ppmの間に設定する必要があると考えられた。

以上のことから、マウスのがん原性試験の投与濃度は雌雄ともにラットと同様に高濃度を200ppmとし、以下100ppm、50ppm（公比2）とした。

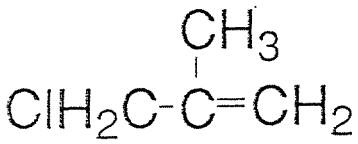
Ⅰ　試験材料

Ⅰ－1　被験物質の性状等

Ⅰ－1－1　名称と別名

名　　称：メタリルクロライド(Methallyl chloride)
別　　名：3-ｸﾛﾛ-2-ﾒﾁﾙ-1-ﾌﾟﾛﾍﾟﾝ(3-Chloro-2-methyl-1-propene)
　　塩化ｲｿﾌﾞﾃﾆﾙ
　　2-ﾒﾁﾙｱﾘﾙｸﾛﾗｲﾄﾞ
CAS.No.：563-47-3

Ⅰ－1－2　構造式、示性式、分子量



C_4H_7Cl（分子量：90.55）

Ⅰ－1－3　物理化学的性状等

性　　状：不快臭をもつ揮発性の無色透明な液体
沸　　点：71～72℃
融　　点：＜-80℃
比　　重：0.917(20℃)
蒸 気 圧：1.427mmHg(20℃)
溶 解 性：水に0.1wt％溶解、各種有機溶剤に可溶
保存条件：室温、遮光条件下で気密容器に保存

Ⅰ－2　被験物質の使用ロット等

使用ロット番号：2 週 間 試 験　LKG 5978
　　13 週 間 試 験　LKG 5978
製　造　元：和光純薬工業株式会社
純　　度：99.9%以上

Ⅰ－3　被験物質の同一性・安定性

Ⅰ－3－1　同一性

2週間試験及び13週間試験とも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。それらの結果は、2週間試験は APPENDIX A 8-1、13週間試験は APPENDIX B 11-1に示した。

Ⅰ－3－2　安定性

2週間試験及び13週間試験とも被験物質の安定性は、投与開始前及び投与終了後に、赤外吸収スペクトル及びガスクロマトグラフを測定し、それぞれのデータを比較することにより確認した。それらの結果は、2週間試験は APPENDIX A 8-2、13週間試験は APPENDIX B 11-2に示した。

Ⅰ－4　試験動物

動物は2週間試験及び13週間試験ともに日本チャールス・リバー（株）の F344/DuCrj(Fischer)ラット(SPF)及びCrj:BDF$_1$マウス(SPF)の雌雄を使用した。

2週間試験では、ラット雌雄各75匹、マウス雌雄各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、体重値の中央値に近い雌雄各60匹(投与開始時体重範囲、ラット雄：115～136g、雌：95～112g/マウス雄：21.3～24.3g、雌：17.6～20.6g)を選別し、試験に供した。

13週間試験では、ラット雌雄各75匹、マウス雌雄各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、体重値の中央値に近い雌雄各60匹(投与開始時体重範囲、ラット雄：109～127g、雌：92～103g/マウス雄：20.7～24.7g、雌：17.0～19.6g)を選別

し、試験に供した。

なお、F344/DuCrj(Fischer)ラット及びCrj:BDF$_1$マウスを選択した理由は、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

2週間試験及び13週間試験とも、投与経路は全身暴露による経気道投与とした。すなわち吸入チャンバー内に設定濃度に調整したメタリルクロライドを含む空気を送り込み、試験動物に全身暴露する事により投与した。なお、対照群の動物には新鮮空気のみを暴露した。

各試験における投与期間及び暴露回数は以下の通りである。

2週間試験・・・・6時間/日，5日/週，10回/2週間
13週間試験・・・・6時間/日，5日/週（祝祭日を除く）
ラット：61回/13週間
マウス：63回/13週間

Ⅱ－1－2　投与濃度

2週間試験

ラット及びマウスの雌雄ともに最高濃度を810ppmに設定し、それ以下270ppm、90ppm、30ppm、10ppm（公比3）とした。

13週間試験

ラット及びマウスの雌雄ともに最高濃度を500ppmに設定し、それ以下250ppm、125ppm、63ppm、31ppm（公比2、小数点以下第1の位を四捨五入）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 に示す通り、発生容器内のメタリルクロライド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。このメタリルクロライド蒸気を循環式恒温槽で冷却、再加熱し、

新鮮空気と混合して一定濃度に調整した後、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。次に、吸入チャンバー内のメタリルクロライ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

各試験における吸入チャンバー内のメタリルクロライ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、全群について暴露開始前から暴露終了後まで15分毎に測定した。

各試験とも投与濃度の平均値は設定濃度を満足する結果を示した。

2週間試験は APPENDIX A 9-1 、13週間試験は APPENDIX B 12-1 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

2週間試験及び13週間試験とも投与群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。

Ⅱ－２－２　群分け及び個体識別方法

供試動物の各投与群への割り当ては、動物を体重の重い順より各群に1匹づつ割り当て、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（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においては色素塗布により、投与期間において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2週間試験及び13週間試験とも、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。各試験で使用した検疫室、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、各試験の吸入チャンバー内環境の計測結果を2週間試験は APPENDIX A 9-2 に、13週間試験は APPENDIX B 12-2 に示した。各試験とも吸入チャンバー内環境はすべて設定条件の範囲内であった。

各試験の検疫期間中は1ケージ当り1匹の単飼(ステンレス製2連型網ケージ、ラット：170W×294D×176H mm、マウス：112W×212D×120H 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、ラット：125W×216D×176H mm、マウス：95W×116D×120H 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連網ケージ、ラット：150W×216D×176H mm、マウス：100W×116D×120H mm)の条件下で飼育した。なお、ケージは2週間毎に交換した。

飼料は、オリエンタル酵母工業(株)のCRF-1固型飼料(3Mrad=30KGy－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。また、飲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、紫外線滅菌し、自動給水により自由摂取させた。なお、2週間試験ではメタリルクロライド暴露中の給餌、給水はしなかった。

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

2週間試験及び13週間試験とも毎日2回、動物の一般状態の観察を行った。

Ⅱ－３－２　体重測定

2週間試験では、0日目(投与開始直前)、1日目(1週1日)、7日目(1週7日)及び14日目(2週7日)に、13週間試験では週1回、体重を測定した。

Ⅱ－３－３　摂餌量測定

2週間試験及び13週間試験とも週1回、摂餌量を個体別に測定した。

Ⅱ－３－４　血液学的検査

2週間試験及び13週間試験とも定期解剖時まで生存した動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈より、EDTA-2K入り採血管に採血した血液を用いて血液学的検査を行った。

なお、13週間試験の検査対象動物は解剖日前日より絶食(18時間以上)させた。

検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX C 1 に示した。

Ⅱ－３－５　血液生化学的検査

2週間試験及び13週間試験とも定期解剖時まで生存した動物について、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、13週間試験の検査対象動物は解剖前日より絶食(18時間以上)させた。

検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX C 1 に示した。

Ⅱ－３－６　尿検査

13週間試験の投与最終週に新鮮尿を採取し、尿検査を行った。

検査項目は TABLE 1、検査方法は APPENDIX C 1 に示した。

Ⅱ－３－７　病理学的検査

1　剖検

2週間試験及び13週間試験とも解剖時に全動物について肉眼的に観察を行った。

2　臓器重量

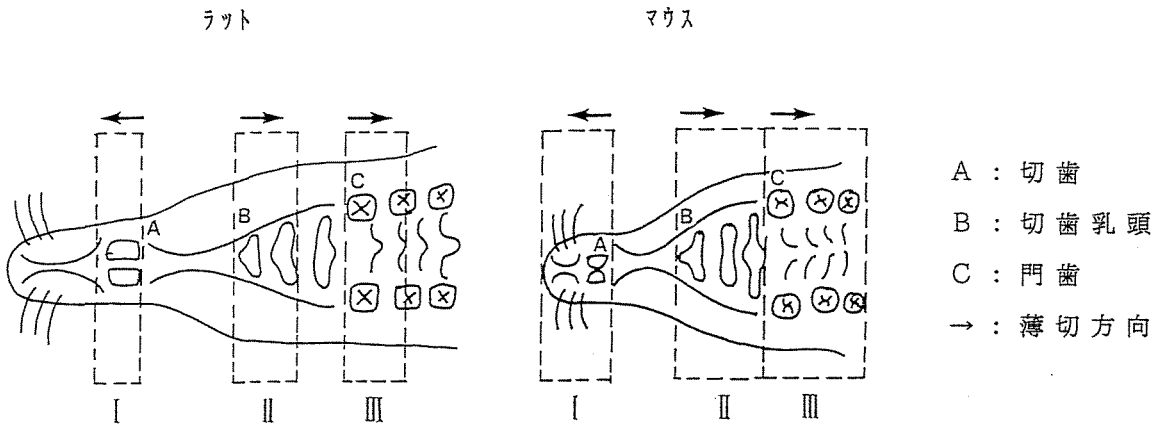
13週間試験の定期解剖時まで生存した動物について TABLE 1 に示した臓器の湿重量を測定した。また、湿重量の体重比、すなわち、定期解剖時の体重に対する百分率を算出した。

3　病理組織学的検査

2週間試験では各群雌雄の2例の動物の臓器を、13週間試験では全動物の臓器を10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液にて固定後、TABLE 1 に示した臓器及び肉眼的に変化のみられた組織を、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色し、光学顕微鏡にて病理組織学

的に検査した。なお、鼻腔については下記のとおり、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ヵ所で切り出し(横断)、検査した。

＜切り出し位置＞



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

体重についてはgを単位とし、ラットでは小数点以下第1位を四捨五入して整数値で、マウスでは小数点以下第2位を四捨五入して小数点以下第1位までを表示した。

摂餌量についてはgを単位とし、計測期間を通しての摂餌量を小数点以下第1位まで計測し、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 C 2 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、各数値データにおいて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　母数の取り扱いと表示

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。

臓器重量、血液学的検査、血液生化学的検査は、定期解剖時まで生存した動物を対象とし、欠測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(供試動物数より事故等の理由で外された動物数を減じた動物数)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。

病理組織学的検査のうち13週間試験は非腫瘍性病変について、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、被験物質、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10年間とする。

Ⅲ　試験成績

Ⅲ－１　ラットを用いた試験

Ⅲ－１－１　2週間試験　(試験番号:０１９５)

１　動物の状態観察

（１）生死状況

雌雄とも810ppm群にのみ死亡が観察された。

雄は投与開始後8日目まで（投与開始後2日目:3例，3日目:4例，5日目:1例，8日目:2例）に全例死亡した。

雌は、投与開始後3日目まで（投与開始後2日目:3例，3日目:7例）に全例死亡した。

（２）一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1-1, A 1-2 に示した。

全例死亡した810ppm群の雌雄にのみ一般状態の変化が観察された。

雄は投与開始後2日目の観察で、全例（7例）に自発運動量の減少がみられた。3日目には生存動物が3例となり1例に振戦と立毛がみられた。この動物は4日目に立毛、眼混濁（角膜混濁）、異常呼吸（不整呼吸）が観察され、5日目に死亡が確認された。残る2例も4日目に眼混濁（角膜混濁）がみられたが、5日目からは特に所見はみられず8日目に2例とも死亡した。

雌も投与開始後2日目の観察で、全例（7例）に自発運動量の減少がみられた。さらに、2例に腹臥と異常呼吸（不整呼吸）もみられ、このうちの1例に体温低下も観察された。3日目に全例死亡した。

（３）体重

体重の推移を TABLE 2, 3 及び APPENDIX A 2-1, A 2-2 に示した。

雄は270ppm群と810ppm群が投与開始後1日目の測定で、対照群と比較して統計学的に有意な低値を示した。270ppm群はその後の測定（7日目，14日目）で順調な体重の増加がみられたが投与期間を通して対照群より低値であった。

雌は810ppm群が投与開始後1日目の測定で、対照群と比較して統計学的に有意な低値を示した。また、270ppm群で全例、90ppm群で数例、投与前より体重は減少したが、その後（7日目，14日目）は順調な体重増加を示した。

（４）摂餌量

摂餌量(1日1匹当たり)を TABLE 4, 5 及び APPENDIX A 3-1, A 3-2 に示した。

810ppm群は検定から除外した。

雄の270ppm群が投与開始後7日目の測定で、対照群と比較して統計学的に有意な低値を示した。統計学的有意差はみられなかったが、投与期間終了時の測定でも対照群より低値であり、前述した270ppm群の体重の低値は摂餌量の低値に伴う変化と考えられた。雄の他の投与群及び雌の投与群は、対照群との間に統計学的に有意な差はみられなかった。

２　血液学的検査・血液生化学的検査

（１）血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX A 4-1, A 4-2 に示した。

雌雄とも特記すべき変化はみられなかった。

（２）血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX A 5-1, A 5-2 に示した。

雄の10ppm群で総コレステロールに統計学的に有意な低下がみられたが、投与濃度と対応した変化でないため被験物質の影響とは考えられなかった。

雌には特記すべき変化はみられなかった。

３　病理学的検査

（１）剖検

解剖時に観察された剖検所見をAPPENDIX A 6-1～A 6-3 に示した。

＜死亡例＞

雄は、少数例に肺の赤色化や退縮不全、胸腺の赤色斑、腎臓の腫大、膀胱の赤色化がみられた。

雌は、少数例に肺の赤色化や赤色斑、胸腺の赤色斑、腺胃の赤色斑や赤色点が観察され、6例に胸水の貯留がみられた。

＜生存例＞

雌雄とも投与群に特徴的な所見あるいは対照群と比較して顕著に高い発生を示した所見は認められなかった。

（２）病理組織学的検査

各群の雌雄各2匹（810ppm群：雄3例）の病理組織学的所見を APPENDIX A 7-1～A 7-4 に示した。

＜死亡例＞

雌雄に、肝臓の中心性壊死、腎臓の近位尿細管壊死と近位尿細管鉱質沈着及び肺の出血が観察された。これらに加えて、雄に鼻腔の嗅上皮の萎縮と胸腺の出血、雌に腺胃の糜爛がみられた。

＜生存例＞

雌雄とも投与群に特徴的な所見あるいは対照群と比較して顕著に高い発生を示した所見はみられなかった。

Ⅲ－1－2　13週間試験　(試験番号:0208)

1　動物の状態観察

(1) 生死状況

雌雄とも500ppm群にのみ死亡が観察された。

雄は、投与期間中期(6週:1例, 7週:2例)と後期(13週:1例)に合わせて4例の死亡がみられた。

雌は、投与期間中期(6週:1例)と後期(13週:1例)に合わせて2例の死亡がみられた。

(2) 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX B 1-1, B 1-2 に示した。

雄は投与期間の6週目に死亡した500ppm群の1例に、5週目の観察で自発運動量の減少、麻痺性歩行、尿による外陰部周囲の汚染、異常呼吸(不整呼吸)がみられた。他の動物に、特記すべき所見はみられなかった。

雌は13週目に死亡した500ppm群の1例に、8週目から12週目まで尿によると思われる腹部及び外陰部周囲の汚染がみられた。また、63ppm群の1例に10週目から投与期間終了時まで眼混濁がみられたが投与による影響とは考えられなかった。他の動物に、特記すべき所見はみられなかった。

(3) 体重

体重の推移を TABLE 6, 7 、FIGURE 2, 3 及び APPENDIX B 2-1, B 2-2 に示した。

雄は500ppm群が1週目から、250ppm群が4週目から投与期間終了時まで対照群と比較して統計学的に有意な低値を示し、両群で体重増加の抑制が認められた。なお、250ppm群の投与終了時の体重は対照群に対して91%であった。

雌は500ppm群が投与期間を通して有意な低値を示し、体重増加の抑制が認められた。また、250ppm群でも統計学的有意差はみられなかったものの投与期間を通して対照群より低値を示した。なお、250ppm群の投与終了時の体重は対照群に対して97%であった。

(4) 摂餌量

摂餌量(1日1匹当り)を TABLE 8, 9 、FIGURE 4, 5 及び APPENDIX B 3-1, B 3-2 に示した。

雄の500ppm群が投与期間の、2、4週目を除いた各週で対照群と比較して統計学的に有意な低値を示した。また、他の投与群でも4週目以降に対

照群よりも低値を示した週が散見された。

雌は500ppm群が1週目と12週目で対照群と比較して有意な低値を示し、有意差はみられなかったものの6週目以降は毎週、対照群よりも低値であった。他の投与群に特記すべき変化はみられなかった。

2　血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査

（1）血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX B 4-1, B 4-2 に示した。

雄は500ppm群で赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の有意な減少、ＭＣＶとＭＣＨの有意な増加が認められた。

また、雄の500ppm群で分葉核好中球比の有意な増加とリンパ球比の有意な減少が認められた。

雌は500ppm群で赤血球数、ヘモグロビン濃度及びＭＣＨＣの有意な減少、ＭＣＶの有意な増加が認められた。

（2）血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX B 5-1, B 5-2 に示した。

雄は250ppm以上の群でカリウムの有意な増加、500ppm群でアルブミン、Ａ／Ｇ比、総コレステロール及びリン脂質の有意な増加、グルコースとトリグリセライドの有意な減少、ＡＬＰ活性の有意な低下が認められた。

雌は500ppm群で総蛋白、アルブミン、Ａ／Ｇ比及びカリウムの有意な増加、γ－ＧＴＰ活性の有意な上昇が認められた。

その他、雄で総蛋白、クロールに変化がみられたが、いずれも投与濃度に対応したものではなかった。

（3）尿検査

尿検査の結果を APPENDIX B 6-1, B 6-2 に示した。

雄でｐＨ値に変化がみられたが、投与濃度に対応したものではなかった。

3　病理学的検査

（1）剖検

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX B 7-1～B 7-4 に示した。

＜死亡例＞

500ppm群の雄に前胃の潰瘍、腹水及び多量の尿の貯留による膀胱の拡張が観察された。雌では胸腺の萎縮がみられた。

＜生存例＞

500ppm群の雌雄とも、腺胃の潰瘍が観察された。その他には投与群に特徴的な所見あるいは対照群と比較して顕著に高い発生を示した所見はみられなかった。

（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 B 8-1, B 8-2（実重量）、APPENDIX B 9-1, B 9-2 （体重比）に示した。

雄では、125ppm群に実重量で胸腺の低値と腎臓の高値、ならびに体重比で腎臓と肝臓の高値が認められた。250ppm群では解剖時体重の低値とともに、実重量で胸腺、副腎、肺及び脳の低値ならびに腎臓の高値、また体重比で腎臓、脾臓及び肝臓の高値が認められた。500ppm群では解剖時体重の低値とともに、実重量で胸腺、副腎、精巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓及び脳の低値、また体重比で胸腺の低値ならびに副腎、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓及び脳の高値が認められた。

これらの雄の変化の中で、腎臓、脾臓及び肝臓の体重比の増加は、被験物質の直接的な影響の可能性を示唆するものと考えられた。また、胸腺の実重量と体重比の低下は、全身状態の不良に伴う変化と考えられた。なお、250ppm以上の群にみられた副腎、精巣、心臓、肺及び脳の変化は、体重増加の抑制に伴った相対的な変化と考えられた。

雌では、250ppm群に体重比で腎臓と肝臓の高値が認められた。500ppm群では解剖時体重の低値とともに、実重量で胸腺、卵巣、心臓、肺、脾臓及び脳の低値ならびに腎臓と肝臓の高値、また体重比で胸腺の低値ならびに副腎、心臓、肺、腎臓、肝臓及び脳の高値が認められた。

これらの雌の変化の中で、腎臓と肝臓の実重量や体重比の増加は、被験物質の直接的な影響の可能性を示唆するものと考えられた。また、胸腺の実重量と体重比の低下は、全身状態の不良に伴う変化と考えられた。なお、500ppm群にみられた副腎、卵巣、心臓、肺、脾臓及び脳の変化は、体重増加の抑制に伴った相対的な変化と考えられた。

（３）病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を APPENDIX B 10-1～B 10-4 に示した。

＜死亡例＞

雌雄ともに500ppm群で、腎臓の近位尿細管壊死と肺の鬱血が観察された。これに加えて雄に鼻腔の嗅上皮の変性、前胃粘膜上皮の過形成と潰瘍、肝臓の小葉中心性肝細胞壊死、精巣の精原細胞壊死及び小脳顆粒層細胞の巣状変性が認められた。

＜生存例＞

雌雄ともに500ppm群で、鼻腔に嗅上皮の変性、脾臓のヘモジデリン沈着の増量、前胃粘膜上皮の過形成、腺胃の糜爛、肝臓の小葉中心性肝細胞変性、小脳顆粒層細胞の巣状変性及び腎臓の糸球体硬化と近位尿細管直部の好塩基性の増加が観察された。これに加えて雄に腎臓の好酸体の減少と精巣の精原細胞壊死、また、雌に腎臓の好塩基性変化が認められた。250ppm以下の群では、対照群と比較して顕著に高い発生を示した所見はみられなかった。

Ⅲ－２　マウスを用いた試験

Ⅲ－２－１　2週間試験　（試験番号：０１９６）

１　動物の状態観察

（１）生死状況

雌雄とも810ppm群にのみ死亡が観察された。

雄は投与開始後1日目までに全例死亡した。

雌は投与開始後3日目まで（投与開始後1日目：1例，2日目：3例，3日目：3例）に7例の死亡がみられた。

（２）一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1-3, A 1-4 に示した。

雄は30ppm群の1例に立毛が投与開始後7日目から投与終了日までみられた。しかし、この所見は投与濃度に対応した変化ではなく、投与による影響とは考えられなかった。

雌は810ppm群で死亡した動物のうち6例に投与開始後1日目の観察で自発運動量の減少が観察された。2日目にはこれに加え全例（3例）に、異常呼吸（不整呼吸、呼吸緩徐）、体温低下がみられ、2例には腹臥も加わった。生存した3例のうち2例には投与期間中に特に所見はみられなかった。残る1例は、投与開始後1日目の観察で自発運動量の減少、2日目に自発運動量の減少、異常呼吸（不整呼吸）、体温低下がみられたが、3日目に体温低下は消失し、4日目以降は、特に所見はみられなかった。

（３）体重

体重の推移を TABLE 10, 11 及び APPENDIX A 2-3, A 2-4 に示した。

雄の810ppm群は全例が1日目までに死亡したため検定から除外した。

雄の投与群は投与期間を通して順調に体重は増加した。

雌の810ppm群は投与開始後1日目は9例での検定、7日目と14日目は3例で検定を行った。投与期間を通して810ppm群は対照群と比較して統計学的に有意な低値を示した。他の投与群は投与期間を通して順調に体重は増加した。

（４）摂餌量

摂餌量(1日1匹当り)を TABLE 12, 13 及び APPENDIX A 3-3, A 3-4 に示した。

雄の810ppm群は検定から除外した。投与開始後7日目の測定で10ppm、

90ppm、270ppmが対照群と比較して統計学的に有意な低値を示したが、投与期間終了時は各投与群と対照群との間に統計学的に有意な差はみられなかった。

雌の810ppm群は3例で検定を行った。投与開始後7日目の測定で810ppm群が対照群と比較して統計学的に有意な低値を示したが、投与期間終了時には810ppm群を含めた投与群と対照群との間に統計学的に有意な差はみられなかった。

2　血液学的検査・血液生化学的検査

（1）血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX A 4-3, A 4-4 に示した。

雄は270ppm群で分葉核好中球比の有意な増加及びリンパ球比の有意な減少が認められた。

雌は810ppm群で赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の有意な減少が認められた。

その他、雄で血小板数、雌で好酸球比に変化がみられたが、いずれも投与濃度に対応したものではなかった。

（2）血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX A 5-3, A 5-4 に示した。

雄の270ppm群で総蛋白、アルブミン及び総コレステロールの有意な増加、尿素窒素とクロールの有意な減少が認められた。

雌は270ppm以上の群で総蛋白、アルブミン及び総コレステロールの有意な増加、尿素窒素の有意な減少、810ppm群でＧＰＴ活性の有意な上昇、無機リンの有意な増加、グルコースの有意な減少が認められた。

その他、雌でＧＯＴ活性、カリウムに変化がみられたが、投与濃度に対応したものではなかった。

3　病理学的検査

（1）剖検

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX A 6-4～A 6-7 に示した。

＜死亡例＞

雄は少数例に肺の赤色化や赤色斑が観察された。

＜生存例＞

雌雄とも投与群に特徴的な所見あるいは対照群と比較して顕著に高い発生を示した所見はみられなかった。

（２）病理組織学的検査

各群の雌雄各2匹（810ppm群：雌4匹）の病理組織学的所見を APPENDIX A 7-5～A 7-8 に示した。

＜死亡例＞

雄の810ppm群で腎臓の近位尿細管直部の混濁腫脹が認められた。

雌の810ppm群で鼻腔の嗅粘膜上皮剥離、肺の鬱血、肝臓の中心性核増大、副腎の出血及び心臓の壊死が認められた。

＜生存例＞

雌雄とも270ppm群で鼻腔の嗅粘膜上皮の萎縮や剥離が認められた。

雌の810ppm群で鼻腔の嗅粘膜上皮の萎縮や剥離に加えて、肝臓の中心性核増大、腎臓の好塩基性変化及び副腎の壊死が認められた。

Ⅲ－２－２　13週間試験　（試験番号：０２０９）

１　動物の状態観察

（１）生死状況

雌雄とも500ppm群にのみ死亡が観察された。

雄は、投与期間の1週目に全例死亡した。

雌も投与期間の2週目まで（1週：8例，2週：1例）に9例の死亡がみられた。

（２）一般状態

雌雄各群の動物に特記すべき所見はみられなかった。

（３）体重

体重の推移を TABLE 14，15、FIGURE 6，7 及び APPENDIX B 2-3，B 2-4 に示した。

雄は125ppm群で9週目以降、250ppm群で8週目（12週を除く）以降、投与期間終了まで対照群と比較して統計学的に有意な低値を示し、体重増加の抑制が認められた。投与終了時の体重は対照群に対して、両群とも90％であった。また、他の投与群は、順調な体重の増加がみられたが投与期間を通して対照群より低値であった。

雌は500ppm群の死亡をまぬがれた1例が1週目の測定で体重の減少を示したが、2週目以降は順調に体重は増加した。しかし、投与期間を通して対照群より低値であった。他の投与群は順調な体重増加を示した。

（４）摂餌量

摂餌量(1日1匹当り)を TABLE 16，17 、FIGURE 8，9 及び APPENDIX B 3-3，B 3-4 に示した。

雄は125ppm群が投与期間の1週目に、250ppm群が10週目に対照群と比較して統計学的に有意な低値を示した。また、これらの群には、有意差は認められなかったものの摂餌量の低値を示した週が散見された。

雌は250ppm群が投与期間を通して（4週目を除く）対照群と比較して統計学的に有意な低値を示した。また、31ppm群と125ppm群で対照群と比べて有意な低値を示した週が散見された。250ppm群の低値は、前述した体重値と対応した変化ではなく、この摂餌量の減少と被験物質の投与による関係は不明であった。

2　血液学的検査・血液生化学的検査・尿検査

（１）血液学的検査

血液学的検査の結果を APPENDIX B 4-3, B 4-4 に示した。

雌雄とも250ppm群で赤血球数の有意な減少、ＭＣＶの有意な増加、雌の250ppm群でヘモグロビン濃度の有意な減少が認められた。

その他、雄でＭＣＨに変化がみられたが、投与濃度に対応したものではなかった。

（２）血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を APPENDIX B 5-3, B 5-4 に示した。

雌の63ppm以上の群と雄の250ppm群で総コレステロールの有意な増加が認められ、雌の250ppm群でＧＯＴ及びＣＰＫ活性の有意な低下が認められた。

その他、雄で総蛋白、総コレステロール、カルシウムに変化がみられたが、いずれも投与濃度に対応したものではなかった。

（３）尿検査

尿検査の結果を APPENDIX B 6-3, B 6-4 に示した。

雄でケトン体、雌でｐＨ値に変化がみられたが、投与濃度に対応したものではなかった。

3　病理学的検査

（１）剖検

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX B 7-5～B 7-8 に示した。

＜死亡例＞

雄の500ppm群の少数例は肝臓が混濁を呈し、白色斑や赤色斑がみられ、肺の赤色化や精巣の萎縮も観察された。

雌は500ppm群の少数例に肝臓の白色斑が観察された。

＜生存例＞

雌雄の投与群に特徴的な所見あるいは対照群と比較して顕著に高い発生を示した所見はみられなかった。

（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 B 8-3, B 8-4（実重量）、APPENDIX B 9-3, B 9-4（体重比）に示した。

雄は125ppm群で腎臓の実重量の低値がみられた。また、250ppm群で脾臓の実重量の低値がみられた。

雌は125ppm群で脾臓の体重比の低値がみられた。また、250ppm群で心臓と脾臓の実重量と体重比の低値がみられた。

（３）病理組織学的検査

病理組織学的検査の結果を APPENDIX B 10-5～B 10-8 に示した。

＜死亡例＞

雌雄とも500ppm群で肺の鬱血と肝臓の小葉中心性肝細胞壊死が認められた。これに加え、雄は肝臓の肉芽形成と精巣の精原細胞壊死、雌は前胃粘膜上皮の過形成が認められた。

＜生存例＞

雌雄とも125ppm群で前胃粘膜上皮の過形成、雄に腎臓の近位尿細管上皮空胞化の消失が認められた。250ppm群でも雌雄に前胃粘膜上皮の過形成、雄に腎臓の近位尿細管上皮空胞化の消失がみられた。雌の500ppm群で前胃粘膜上皮の過形成と潰瘍が認められた。

Ⅳ　考察及びまとめ

Ⅳ－1　ラットの2週間試験のまとめと13週間試験の濃度設定

＜2週間試験＞

1）10ppm群、30ppm群、90ppm群

雌雄ともに一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査で投与による影響は認められなかった。

2）270ppm群

雄の摂餌量が投与期間を通して対照群より低値を示し、これによると考えられる体重の低値もみられた。その他の検査では投与による影響は認められなかった。

雌は、投与による影響は認められなかった。

3）810ppm群

雌雄とも自発運動量の減少、振戦、立毛及び異常呼吸（不整呼吸）が観察され、全例とも試験終了前に死亡した。剖検所見で、雌の死亡例に胸水の貯留がみられた。主な死因は雌雄とも腎臓にみられた近位尿細管壊死であった。

これらの結果から13週間試験の投与濃度を考えると

1）　810ppm群は雌雄とも投与期間中に全例死亡したため、最高濃度は810ppm以下に設定する。

2）　270ppm群は雄の摂餌量と体重が低値を示したが、その他の検査項目には投与による影響は認められなかった。

以上の2点を考慮して最高濃度を500ppmとし、以下、250ppm、125ppm、63ppm、31ppm（公比2）とした。

Ⅳ－2　ラットの13週間試験のまとめとがん原性試験の濃度設定

＜13週間試験＞

1．雄

1）31ppm群と63ppm群

一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査で投与による影響は認められなかった。

2）125ppm群

臓器重量の測定で腎臓と肝臓の体重比が増加を示したが、他の検査で投与による影響は認められなかった。

3）250ppm群

体重増加の抑制（投与終了時、対照群に対し91％）に伴った臓器重量の相対的な変化がみられ、腎臓、脾臓及び肝臓の体重比の増加が認められた。これらは、被験物質の直接的な影響の可能性を示唆するものと考えられた。血液生化学的検査でカリウムの有意な増加が認められた。しかし、その他の検査では投与による影響は認められなかった。

4）500ppm群

投与期間中に4例の死亡がみられ、死亡例に自発運動量の減少、麻痺性歩行、尿による外陰部周囲の汚染、異常呼吸（不整呼吸）が観察された。死亡例は病理組織学的検査で鼻腔の嗅上皮の変性、肺の鬱血、脾臓のヘモジデリン沈着の増量、前胃粘膜上皮の過形成、肝臓の小葉中心性肝細胞壊死、腎臓の近位尿細管壊死、精巣の精原細胞壊死及び小脳顆粒細胞層の巣状変性が認められた。

生存例は、摂餌量の低値とともに、体重増加の抑制が観察された。体重増加の抑制に伴った臓器重量の相対的な変化がみられた。これに加えて腎臓と肝臓の実重量と体重比の増加が示され、これらは被験物質の直接的な影響の可能性を示唆するものと考えられた。病理組織学的検査で腎臓の糸球体硬化、近位尿細管直部の好塩基性の増加及び好酸体減少、肝臓の小葉中心性肝細胞変性、鼻腔の嗅上皮の変性、脾臓のヘモジデリン沈着の増量、前胃粘膜上皮の過形成、腺胃の糜爛、精巣の精原細胞壊

死ならびに小脳顆粒層細胞の巣状変性が認められた。血液学的検査で赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の減少、ＭＣＶとＭＣＨの増加、血液生化学的検査でカリウム、アルブミン、Ａ／Ｇ比、総コレステロール及びリン脂質の増加、グルコース、トリグリセライド及びＡＬＰ活性の低下が認められた。

２．雌

１）31ppm群、63ppm群、125ppm群

一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査で投与による影響は認められなかった。

２）250ppm群

統計学的に有意な差はみられなかったものの、体重が投与期間を通して対照群より低値を示し、体重増加の軽度な抑制（投与終了時、対照群に対して97％）がみられた。臓器重量で腎臓と肝臓の体重比の増加がみられ、これらは被験物質の直接的な影響の可能性を示唆するものと考えられた。しかし、その他の検査では投与による影響は認められなかった。

３）500ppm群

投与期間中に2例の死亡がみられ、死亡例に尿によると思われる腹部及び外陰部周囲の汚染が観察された。死亡例は病理組織学的検査で、腎臓の近位尿細管壊死と肺の鬱血が認められた。

生存例は摂餌量の低値とともに体重増加の抑制が認められた。体重増加の抑制に伴った臓器重量の相対的な変化がみられた。これに加えて腎臓と肝臓の実重量と体重比の増加が示され、これらは被験物質の直接的な影響の可能性を示唆するものと考えられた。病理組織学的検査で腎臓の糸球体硬化、近位尿細管直部の好塩基性の増加及び好塩基性変化、肝臓の小葉中心性肝細胞変性、鼻腔の嗅上皮の変性、脾臓のヘモジデリン沈着の増量、前胃粘膜上皮の過形成、腺胃の糜爛、ならびに小脳顆粒層細胞の巣状変性が認められた。血液学的検査で赤血球数、ヘモグロビン濃度、ＭＣＨＣの減少、ＭＣＶの増加、血液生化学的検査で総蛋白、アルブミン、Ａ／Ｇ比、カリウム、γ－ＧＴＰの増加が認められた。

これらの結果からがん原性試験の投与濃度を考えると

1） 500ppm群の雌雄に投与期間中に死亡がみられたため、がん原性試験の高濃度は500ppm以下にする。

2） 250ppm群は雌雄とも、体重増加の抑制及び腎臓と肝臓の体重比における増加がみられた。これらは、被験物質の直接的な影響の可能性を示唆するものと考えられたが、これらの変化は、動物の生存に直接的に影響を与えるとは考えられなかった。

3） ラットの長期飼育によって慢性腎症が自然発生し、腎臓への作用を有する化学物質の投与は慢性腎症を増強させることが知られている。本試験では、雌雄ともに500ppmの投与濃度で腎障害が示され、本被験物質のメタリルクロライドは腎臓への作用を有する化学物質であると考えられた。また、250ppmでも腎臓の体重比が高値を示すことから、がん原性試験での慢性腎症への影響を考慮し高濃度は250ppmより低い濃度に設定すべきと考えられた。

以上の3点により雌雄とも高濃度を200ppmとして、以下100ppm、50ppm（公比2）とした。

Ⅳ－３　マウスの2週間試験のまとめと13週間試験の濃度設定

＜2週間試験＞

１）10ppm群、30ppm群、90ppm群

雌雄ともに一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査で投与による影響は認められなかった。

２）270ppm群

血液学的検査で雄に分葉核好中球比の増加及びリンパ球比の減少、血液生化学的検査で雌雄ともに総蛋白、アルブミン及び総コレステロールの増加、尿素窒素やクロールの減少が認められた。病理組織学的検査で鼻腔の嗅粘膜上皮に萎縮や剥離が観察された。

３）810ppm群

雄は投与開始後1日目までに全例が死亡し、病理組織学的検査で腎臓の近位尿細管直部の混濁腫脹が観察された。

雌は自発運動量の減少、異常呼吸（不整呼吸、呼吸緩徐）、体温低下が観察され、7例が試験終了前に死亡した。また、投与期間を通して体重の低値がみられた。血液学的検査で赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の減少、血液生化学的検査で総蛋白、アルブミン、総コレステロール、ＧＰＴ活性及び無機リンの増加、尿素窒素とグルコースの減少が認められた。

病理組織学的検査では死亡例と定期解剖例ともに鼻腔の嗅粘膜上皮剥離、肝臓の中心性核増大等の変化が観察された。

これらの結果から13週間試験の投与濃度を考えると、

１）　810ppm群で投与期間中に雄は全例、雌は7例死亡したため、最高濃度は810ppm以下に設定する。

２）　270ppm群で雌雄ともに血液学的検査、血液生化学検査、病理組織学的検査で投与による影響がみられた。しかし、動物の生存に直接的に影響を与える変化とは考えられなかった。

以上の2点を考慮して最高濃度を500ppmとして、以下250ppm、125ppm、63ppm、31ppm（公比2）とした。

Ⅳ－4　マウスの13週間試験のまとめとがん原性試験の濃度設定

＜13週間試験＞

1．雄

1）31ppm群、63ppm群

一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査で投与による影響は認められなかった。

2）125ppm群

体重増加の抑制がみられ、投与終了時の体重は対照群に対して90％であった。病理組織学的検査で、前胃粘膜上皮の過形成と腎臓の近位尿細管上皮空胞化の消失が認められた。これらのうち、前胃粘膜上皮の過形成は被験物質による直接の障害と考えられ、近位尿細管上皮空胞化の消失も被験物質の投与による影響の可能性を示唆するものと考えられた。

3）250ppm群

体重増加の抑制がみられ、投与終了時の体重は対照群に対して90％であった。血液学的検査では赤血球数の減少、ＭＣＶの増加、血液生化学的検査では総コレステロールの増加が認められた。

病理組織学的検査で前胃粘膜上皮の過形成と腎臓の近位尿細管上皮空胞化の消失が認められた。前胃粘膜上皮の過形成は被験物質による直接の障害と考えられ、また近位尿細管上皮空胞化の消失も被験物質の投与による影響の可能性を示唆するものと考えられた。

4）500ppm群

投与期間の1週目に全例死亡した。

死亡例では剖検所見で、肝臓が混濁を呈し、白色斑や赤色斑がみられ、肺の赤色化ならびに精巣の萎縮がみられ、病理組織学的検査で、肝臓の小葉中心性肝細胞壊死と肉芽形成、精巣の精原細胞壊死及び肺の鬱血が認められた。これらの変化は被験物質による直接の障害と考えられた。

2．雌

1）31ppm群

一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査で投与による影響は認められなかった。

2）63ppm群

血液生化学的検査で総コレステロールの増加が認められたが、他の検査では投与による影響は認められなかった。

3）125ppm群

血液生化学的検査で総コレステロールの増加が認められた。病理組織学的検査では前胃粘膜上皮の過形成が認められ、この変化は被験物質による直接の障害と考えられた。

4）250ppm群

血液学的検査で赤血球数、ヘモグロビン濃度の減少及びＭＣＶの増加、血液生化学的検査で総コレステロールの増加及びＧＯＴとＣＰＫ活性の低下が認められた。病理組織学的検査では前胃粘膜上皮の過形成が認められ、この変化は被験物質よる直接の障害と考えられた。

5）500ppm群

投与期間の2週目までに9例が死亡した。

死亡例では剖検観察で肝臓の白色斑がみられ、病理組織学的検査で肝臓の中心性壊死、肺の鬱血及び前胃粘膜上皮の過形成が認められた。

生存例では病理組織学的検査で前胃粘膜上皮の過形成と潰瘍が認められた。これらの変化は被験物質による直接の障害と考えられた。

これらの結果からがん原性試験の投与濃度を考えると、

1）　500ppm群は雌雄とも投与期間中に死亡がみられたため高濃度は500ppm以下にする。

2）　125ppm群と250ppm群は雌雄ともに被験物質の直接の障害と考えられる前胃粘膜上皮の過形成等の変化と体重増加の抑制が認められた。し

かし、これらの変化は動物の生存に直接的に影響を与えるものとは考えられず、また、両群での体重増加の抑制は、雄でのみみられ、その程度も10%であった。したがって、雌雄とも250ppm以下の暴露濃度は、2年間の試験に耐えられる濃度であると考えられた。

3) ＮＴＰで行ったメタリルクロライドの強制経口によるがん原性試験では（文献 5)、マウスとラットの前胃に過形成とともに腫瘍が発生したと報告されている。また過形成は、乳頭腫を経て扁平上皮癌へと移行する可能性があるといわれている。この変化を確認する意味でもがん原性試験の高濃度は、13週間試験で前胃粘膜上皮の過形成が認められた濃度である125ppmと250ppmの間に設定することが望ましいと考えられた。

以上の4点を考慮して雌雄ともにラットと同様に高濃度を200ppmとして以下100ppm、50ppm（公比2）とした。

V 文献

1. EPA/NIH Mass Spectral Data Base (1978)
V.1,pp53

2. 和光純薬工業からの提供資料(1987)

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. 中央労働災害防止協会(1991)
化学物質の危険・有害便覧
pp612, 中央労働災害防止協会, 東京

5. National Institutes of Health.(1986)
Toxicology and Carcinogenesis Studies of 3-Chloro-2-methyl propene in F344/N Rats and B6C3F$_1$ Mice.(Gavage Studies).
NTP Technical Report 300.
U.S.Department of Health and Human Services,Reserch Triangle Park.N.C.