メタリルクロライドのラットを用いた
吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：0269

CAS　Ｎｏ．563－47－3

平成10年6月30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を用いた
吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：0269

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　被験物質の特性・同一性・安定性
Ⅰ－3－1　特性・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 5
Ⅱ－1－2　投与濃度 5
Ⅱ－1－3　被験物質の発生方法と濃度調整 5
Ⅱ－1－4　被験物質濃度の測定 5

Ⅱ－2　動物管理
Ⅱ－2－1　各群の使用動物数 6
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 7
II－３－６　尿検査 8
II－３－７　病理学的検査 8

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 9
II－４－３　統計方法 9

II－５　試資料の保管 10

III　試験成績

III－１　動物の状態観察
III－１－１　生死状況 11
III－１－２　一般状態 11
III－１－３　体重 11
III－１－４　摂餌量 12

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 12
III－２－２　血液生化学的検査 12
III－２－３　尿検査 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

III－４　死因 14

IV　考察及びまとめ

IV－１　生死状況、死因、一般状態、体重、摂餌量 15
IV－２　腫瘍性病変 15

Ⅳ－３　非腫瘍性病変 15
Ⅳ－４　その他 16

Ⅴ　結論 17

Ⅵ　文献 18

要約

メタリルクロライド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)の試験を実施した。

試験にはF344/DuCrj(Fischer)ラットを用い、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各50匹(合計400匹)を使用した。投与はメタリルクロライドを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に50ppm、100ppm、200ppmとした。また、観察、検査項目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。

投与の結果、最終計測週(104週)における生存率は対照群に比べ雄は投与濃度に対応して高濃度群ほど低値、雌は投与群で高値であったが、雄、雌ともに被験物質の投与による影響とは考えなかった。雄の100ppmと200ppm群、雌の200ppm群に体重増加のわずかな抑制がみられた。病理組織学的検査では雄に甲状腺の濾胞状腺腫のわずかな発生増加が認められ、メタリルクロライドの投与による影響を否定できなかった。非腫瘍性病変としては、鼻腔の嗅上皮のエオジン好性変化が雌雄ともに全投与群で投与濃度に対応した発生例数の増加と程度の増強を示し、被験物質の投与により鼻腔の加齢性変化が促進されたと考えられた。また、腎臓の加齢性病変である慢性腎症の発生は雌の100ppm以上の群で抑制された。

以上より、雄に甲状腺の濾胞状腺腫のわずかな発生増加が認められ、メタリルクロライドの投与による影響を否定できず、この結果はがん原性の可能性を示唆するものの不確実な証拠であると考えた。雌にはメタリルクロライドの投与による腫瘍の発生増加を示す証拠は認められなかった。

メタリルクロライド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	50	100	200	ペトー	コクランアミテージ
	検査動物数		50	50	50	50	検定	検定
良性腫瘍	皮下組織	線維腫	1	3	4	3		
	肺	細気管支ー肺胞上皮腺腫	1	3	4	1		
	膵臓	島細胞腺腫	4	3	2	0		
	下垂体	腺腫	23	11	16	13		
	甲状腺	Ｃ－細胞腺腫	6	5	2	6		
		濾胞状腺腫	2	0	2	6	↑↑	↑
	副腎	褐色細胞腫	4	4	9	2		
	精巣	間細胞腫	44	47	49	47		
	乳腺	腺腫	0	0	3	0		
	包皮腺	腺腫	0	1	4	1		
悪性腫瘍	脾臓	単核球性白血病	5	2	2	4		
	甲状腺	濾胞状腺癌	2	4	1	4		
	副腎	悪性褐色細胞腫	0	2	0	3		
	腹膜	中皮腫	1	1	1	3		
	甲状腺	（濾胞状腺腫/腺癌）	4	4	3	10	↑↑	↑

メタリルクロライド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	50	100	200	ペトー	コクランアミテージ
	検査動物数		50	50	50	50	検定	検定
良性腫瘍	下垂体	腺腫	27	27	23	21		
	甲状腺	Ｃ－細胞腺腫	4	4	4	3a)		
	副腎	褐色細胞腫	1	0	3	1		
	子宮	内膜間質性ポリープ	7	6	13	7		
	乳腺	線維腺腫	8	9	11	4		
	陰核腺	腺腫	0	1	4	1		
悪性腫瘍	脾臓	単核球性白血病	4	6	5	3		
	副腎	悪性褐色細胞腫	3	0	0	1		

a)：検査動物数　49、他は上段に表示の動物数と同じ

検定結果については生物学的意義を考慮して記載した。

＊：有意水準5%以下で有意　　＊＊：有意水準1%以下で有意（フィッシャー検定）

↑：有意水準5%以下で有意増加　　↑↑：有意水準1%以下で有意増加（ペトー、コクランアミテージ検定）

↓：有意水準5%以下で有意減少　　↓↓：有意水準1%以下で有意減少（コクランアミテージ検定）

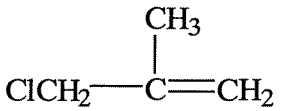
Ⅰ　試験材料

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(2-Methallyl chloride)
別　　名：3-Chloro-2-methylpropene　　Isobutenyl chloride
Methyl allyl chloride　　3-Chloro-2-methyl-1-propene
β- methallyl chloride　　2-Methyl-2-propenyl chloride
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の液体
沸　　点　：71～72℃
融　　点　：＜－80℃
比　　重　：0.926～0.930(20/20℃)
蒸 気 圧　：101.7mmHg(20℃)
溶 解 性　：水には難溶、各種有機溶剤に可溶
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：LKG5978（1994年 6月 9日～1994年11月 9日）
CAK4434（1994年11月10日～1995年 8月 9日）
SKK4584（1995年 8月10日～1996年 6月 5日）
製　造　元：和光純薬工業株式会社
グ レ ー ド：和光一級
純　　度：95%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

被験物質の特性・同一性は、ロットごとにマススペクトル、赤外吸収スペクトルの測定を実施した。測定した被験物質のマススペクトル及び赤外吸収スペクトルはそれぞれの文献値（文献1，2）と比較し、被験物質の特性・同一性を確認した。なお、それらの結果について、APPENDIX 01 に示した。

Ⅰ－3－2　安定性

被験物質の安定性は、ロットごとに使用開始前及び使用終了後に赤外吸収スペクトルの測定及びガスクロマトグラフ分析を実施し、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 0 2 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。

雌雄各 248 匹を生後４週齢で導入し、各１週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で一般状態の観察所見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(投与開始時体重範囲、雄:110～126g、雌:90～102g)を選別し、試験に供した。

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。すなわち吸入チャンバー内で試験動物に設定濃度に調整したメタリルクロライドを全身暴露することにより投与した。投与期間は104週間とし、1日6時間、1週5日間(祝祭日を除く)、暴露を行った。なお、対照群の動物には新鮮空気のみを暴露した。

投与期間中の総暴露回数は104週間で488回であった。

II－1－2　投与濃度

投与濃度は2週間試験（試験番号：0195）及び13週間試験（試験番号：0208）の結果をもとに雌雄とも50ppm、100ppm、200ppmに設定した。（文献3）

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。まず、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（30℃）しながら、清浄空気のバブリングにより蒸発させた。次に、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。最終的には、吸入チャンバー内のメタリルクロライドの濃度をガスクロマトグラフにより監視しながら、吸入チャンバーへの供給流量を調節することにより、チャンバー内濃度を設定濃度に調整した。

II－1－4　被験物質濃度の測定

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、暴露開始前から暴露終了後まで15分毎に測定した。測定結果を APPENDIX P 1 に示した。

各投与群における被験物質濃度の測定結果(平均値±標準偏差)は、50ppm 群：50.0±0.4ppm、100ppm群：100.4±0.5ppm、200ppm群：199.7±1.0ppmであり、各投与群ともに設定濃度に近似した値であった。

II－2　動物管理

II－2－1　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、各群、雌雄各50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(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においては色素塗布し、またケージにも個体識別番号を付けた。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、動物はバリア区域内の独立した室に収容し、各室に試験番号、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

馴化期間及び投与期間中は、動物を吸入チャンバー内で飼育した。吸入チャンバー内の環境条件を TABLE 1 に、その計測結果を APPENDIX P 2 にそれぞれ示した。また、検疫室(検疫期間)及び吸入チャンバー室(馴化期間及び投与期間)の室内環境条件は、温度23±2℃、湿度55±10%、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/時であった。

また、検疫期間中は1ケージ当たり5匹の群飼(ステンレス製網ケージ、340W×294D×176H mm)、馴化期間中(ステンレス製六連ケージ、125W×216D×176H mm)、投与期間中(ステンレス製五連ケージ150W×216D×176H mm)ともに単飼とした。

飼料は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(3Mrad=30KGy-γ線照射滅菌飼料)を全飼育期間を通して、固型飼料給餌器により自由摂取させた。

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。

なお、飼料の栄養成分についてはオリエンタル酵母工業(株)の自社分析データを、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番1号)の分析データを使用ロットごとに入手し、また飲水については(財)食品薬品安全センター(神奈川県秦

野市落合 729-5) の分析データを３ヶ月に１回入手し、それぞれ異常のないことを確認した。

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

毎日１回、動物の生死及び瀕死動物を確認した。さらに、一般状態の観察を全動物について週１回行った。

II－３－２　体重測定

投与開始１週目は２回、その後 14 週間までは週１回、それ以降は４週に１回（104 週にも測定）、体重を測定した。なお、動物の死亡発見時、切迫屠殺時及び定期解剖の搬出時にも体重を測定した。

II－３－３　摂餌量測定

投与開始後 14 週間は週に１回、それ以降は４週に１回（104 週にも測定）、摂餌量を個体別に測定した。

II－３－４　血液学的検査

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、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 Q 1 に示した。

II－３－５　血液生化学的検査

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、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 Q 1 に示した。

II－３－６　尿検査

投与期間後期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 Q 1 に示した。

II－３－７　病理学的検査

（１）剖検

全動物について肉眼観察により剖検した。

（２）臓器重量

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がみられた組織を、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、鼻腔については切歯の後端（第１レベル）、切歯乳頭（第２レベル）、第一臼歯の前端（第３レベル）の３ヶ所で切り出し（横断）、検査した。

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、小数点以下４位までを測定し、小数点以下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、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 Q 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

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より除いた。

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より除いた。

尿検査は、投与最終週まで生存した動物を対象に行い、検査数を母数とした。

剖検と病理組織学的検査データは、各群の有効動物数(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)を母数とした。ただし、腫瘍性病変については臓器別に、検査不能臓器をもつ動物数を除いたものを母数とした。

II－４－３　統計方法

病理組織学的検査及び尿検査以外の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。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。

尿検査についてはχ^2検定を行った。

また、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として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、各群ごとの総担癌臓器数について、Peto 検定(文献 5)、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定を行った。また Peto 検定は病理組織学的検査時に付与されたコンテックス(下記(注)参照)を用いて死亡率法(コンテックス 3，4 を付与された腫瘍についての検定)、有病率法(コンテックス 0，1，2 を付与された腫瘍についての検定)、死亡率法＋有病率法(コンテックス 0～4 の総計で検定)を行った。

χ^2検定と Fisher 検定は対照群と各投与群間の検定を行った。

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。

(注) Peto 検定に用いるコンテックス
０：定期解剖例にみつかった腫瘍
１：死亡/瀕死例にみつかった腫瘍で、直接死因に関係しない腫瘍
２：多分１だと思うが、確かでない腫瘍
３：多分４だと思うが、確かでない腫瘍
４：死亡/瀕死例にみつかった腫瘍で、直接死因に係わっていた腫瘍

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する。保管期間は最終報告書提出後５年間とする。

Ⅲ　試験成績

Ⅲ－１　動物の状態観察

Ⅲ－１－１　生死状況

投与期間中における群別の生存状況を TABLE 2, 3 及び FIGURE 2, 3 に示した。

最終計測週(104 週)における生存数(生存率)は、対照群に比べ雄は投与濃度に対応して高濃度群ほど低値であったが、雌は投与群で高値であった。各群の生存数(生存率)は、雄の対照群：39/50 例(78.0%)、50ppm 群：35/50 例(70.0%)、100ppm 群：33/50 例(66.0%)、200ppm 群：30/50 例(60.0%)、雌の対照群：38/50 例(76.0%)、50ppm 群：40/50 例(80.0%)、100ppm 群：45/50 例(90.0%)、200ppm 群：44/50 例(88.0%)であった。

Ⅲ－１－２　一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1, 2 に、内部腫瘤、外部腫瘤の発生動物数を TABLE 4, 5 に示した。

一般状態では、雌雄ともに被験物質の投与によると思われる特記所見は認められなかった。

外部腫瘤及び内部腫瘤の発生動物数も雌雄ともに濃度に対応した変化を認めなかった。投与期間を通しての外部腫瘤の発生動物数は雄では対照群：12/50 例、50ppm 群：12/50 例、100ppm 群：18/50 例、200ppm 群：11/50 例、雌では対照群：11/50 例、50ppm 群：8/50 例、100ppm 群：14/50 例、200ppm 群：8/50 例であり、内部腫瘤の発生動物数は、雄では対照群：3/50 例、50ppm 群：3/50 例、100ppm 群：1/50 例、200ppm 群：4/50 例、雌では対照群：5/50 例、50ppm 群：4/50 例、100ppm 群：1/50 例、200ppm 群：5/50 例であった。

Ⅲ－１－３　体重

投与期間中における群別の体重推移を TABLE 2, 3、FIGURE 4, 5 及び APPENDIX B 1, 2 に示した。

雄では 100ppm 以上の群で、投与濃度に対応した体重増加の抑制がみられ、100ppm 群に 10 週から 78 週、200ppm 群にほぼ投与期間を通して対照群と比較して有意な低値が認められた。

雌では 200ppm 群で体重増加の抑制がみられ、４週から 94 週まで対照群と比較して有意な低値が認められた。100ppm 群では対照群との間に有意な差は認められず、50ppm 群では 58 週から 94 週まで散発的に有意な高値が認められた。

Ⅲ－１－４　摂餌量

投与期間中における群別の摂餌量(１日１匹当たりの摂餌量)を TABLE 6, 7、FIGURE 6, 7 及び APPENDIX C 1, 2 に示した。

雄では 200ppm 群に１週から 66 週までほとんどの週で摂餌量の減少が認められたが、その後対照群と近似した値となった。50ppm 群及び 100ppm 群は１週から 54 週まで散発的に統計的有意差がみられたが、対照群に近い値で推移した。雌では各投与群に１から 70 週まで散発的に摂餌量の減少が認められた。

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

定期解剖時に行った血液学的検査の結果を APPENDIX D 1, 2 に示した。

雄では、100ppm 以上の群にＭＣＶの減少、200ppm 群に赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、ＭＣＨＣ、単球比の増加が認められた。

雌では、各投与群とも対照群との間に有意な変化を認めなかった。

Ⅲ－２－２　血液生化学的検査

定期解剖時に行った血液生化学的検査の結果を APPENDIX E 1,2 に示した。

雄では、全投与群に総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、尿素窒素、カルシウム及び無機リンの増加、並びにクロールの減少が認められた。これに加えて 200ppm 群にはＧＰＴとＬＤＨの上昇、及びＣＰＫの低下も認められた。

雌では 100ppm 以上の群に、Ａ/Ｇ比と無機リンの増加、及びリン脂質の減少が認められた。これに加えて 200ppm 群にはトリグリセライドとＣＰＫの低下も認められた。

その他、雄のＡ/Ｇ比、総ビリルビン、γ－ＧＴＰ、クレアチニン及びカリウム、雌のアルブミン及び総コレステロールに投与群と対照群の間に有意な差がみられたが投与濃度に対応した変化ではなかった。

Ⅲ－２－３　尿検査

投与期間最終週に行った尿検査の結果を APPENDIX F 1, 2 に示した。

雄では、100ppm 群に潜血の陽性例の増加が認められたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

雌では 100ppm 以上の群に蛋白の陽性度の減少が認められた。

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 G 1～6 に示した。

雌雄ともに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。なお雌の 100ppm 以上の群では腎臓が顆粒状を呈する動物が投与濃度に対応して減少した（対照群：17/50、50ppm 群：16/50、100ppm 群：8/50、200ppm 群：4/50）。

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 H 1, 2、I 1, 2 に示した。

雄では肝臓に実重量の高値が 50ppm 以上の群、体重比の高値が 100ppm 以上の群で、精巣に実重量の高値が 200ppm 群、体重比の高値が 100ppm 以上の群で、脳に実重量の低値が 100ppm 以上の群で、腎臓に体重比の高値が 100ppm 以上の群に認められた。

雌では腎臓に実重量の低値が 100ppm 以上の群、体重比の低値が 50ppm 以上の群で、脳に実重量の低値が 200ppm 群に認められた。

その他、統計学的に、雄の 100ppm 群の腎臓の実重量、脾臓の体重比、雌の 100ppm 群の肝臓と 50ppm 群の脳の体重比に有意な差が示されたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

Ⅲ－３－３　病理組織学的検査

非腫瘍性病変の結果を APPENDIX J 1～6 に示した。腫瘍性病変の結果は APPENDIX K 1, 2 に担腫瘍動物数と腫瘍数、APPENDIX L 1, 2 に腫瘍の種類別の発生数、APPENDIX M 1, 2 に統計解析(Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定)、APPENDIX N 1～6 に転移性病変について示した。

－主な腫瘍性病変－

雄の甲状腺腫瘍の結果を TABLE 8 に示した。

＜甲状腺＞

雄の濾胞状腺腫の発生(対照群：2/50 例、50ppm 群：0/50 例、100ppm 群：2/50 例、200ppm 群：6/50 例）は Peto 検定(有病率法)と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。

なお濾胞状腺腫と濾胞状腺癌を合わせた発生（対照群：4/50 例、50ppm 群：4/50 例、100ppm 群：3/50 例、200ppm 群：10/50 例）も Peto 検定(有病率法)と Cochran-Armitage 検定で増

加傾向を認めた。

－その他の腫瘍性病変－

下記の腫瘍性病変の発生は統計学的に有意差を示したが、被験物質の投与による影響とは考えられなかった。

＜膵臓＞

雄の膵島腺腫の発生（対照群：4/50 例、50ppm 群：3/50 例、100ppm 群：2/50 例、200ppm 群：0/50 例）は Cochran-Armitage 検定で減少傾向を示した。しかし、この腫瘍の発生は各投与群ともヒストリカルコントロールデータ（膵島腺腫：平均：1.6%、試験単位での発生率：0～8%）（文献 6）の範囲内であった。

＜副腎＞

雄の悪性褐色細胞腫の発生（対照群：0/50 例、50ppm 群：2/50 例、100ppm 群：0/50 例、200ppm 群：3/50 例）は Peto 検定(有病率法、有病率法＋死亡率法)で増加傾向を示した。しかし、この腫瘍の発生率は各投与群ともヒストリカルコントロールデータ（文献 6）の試験単位での発生率の上限（悪性褐色細胞腫：平均：2.0%、試験単位での発生率：0～8%）を超えていなかった。

雌についてはいずれの腫瘍性病変の発生も統計学的に有意な差を示さなかった。

－非腫瘍性病変－

主な非腫瘍性病変の結果を TABLE 9 に示した。

＜鼻腔＞

嗅上皮のエオジン好性変化が雄、雌ともに全ての投与群で発生例数の増加と程度の増強を示した。

＜腎臓＞

慢性腎症が雌の 100ppm 以上の群で発生例数の減少と程度の減弱を示した。

－その他の非腫瘍性病変－

下記の非腫瘍性病変の発生は統計学的に対照群と投与群の間に有意な差が示されたが、被験物質の投与による影響とは考えられなかった。

＜鼻腔＞

異物性鼻炎が雄の 50ppm 群で有意な増加を示した。しかし投与濃度と対応しないため被験物質による影響とは考えられなかった。

Ⅲ－４　死因

病理学的にみた死亡／瀕死の原因を TABLE 10 に示した。

雌雄とも各投与群と対照群の間に顕著な差を認めなかった。

Ⅳ　考察及びまとめ

Ⅳ－1　生死状況、死因、一般状態、体重、摂餌量

最終計測週(104 週)における生存数は、対照群に比べ雄は投与濃度に対応して高濃度ほど低値であり、雌は雄とは反対に投与濃度に対応して高濃度ほど高値であった。しかし被験物質の影響と考えられる特徴的な死因は認められず、これらの生存数の差は被験物質の投与による影響とは考えられなかった。また一般状態の観察でも被験物質の投与によると思われる特徴的な所見はみられなかった。

体重は、雄の 100ppm 群で 10 週から 78 週、200ppm 群で投与期間を通じて、雌の 200ppm 群で 4 週から 94 週まで体重増加のわずかな抑制がみられた。

摂餌量は、雄の 200ppm 群で投与期間の前期（1 週から 66 週まで）にのみ摂餌量の減少が認められた。

Ⅳ－2　腫瘍性病変

雄の甲状腺の濾胞状腺腫(対照群:2/50 例、50ppm 群:0/50 例、100ppm 群:2/50 例、200ppm 群:6/50 例)が Peto 検定(有病率法)と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。200ppm 群の発生率は当センターで行われた試験における対照群の最高発生率（4.0%）をわずかに超えており、本試験における甲状腺の濾胞状腺腫の発生増加が疑われた。なお、濾胞状腺腫と濾胞状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が濾胞状腺癌の発生（対照群：2/50 例，50ppm 群：4/50 例，100ppm 群：1/50 例，200ppm 群：4/50 例）には増加傾向が認められなかった。また、甲状腺の非腫瘍性病変に関しては結節性濾胞細胞過形成の発生（雄、対照群：1/50 例，50ppm 群：4/50 例，100ppm 群：2/50 例，200ppm 群：4/50 例）についても投与濃度に対応した増加はみられなかった。

以上、濾胞状腺癌の発生増加は認められないものの、わずかな濾胞状腺腫の発生増加があり、被験物質の影響を否定できなかった。よって、この結果は、がん原性の可能性を示唆するものの不確実な証拠（equivocal evidence）であると考えた。

雌では被験物質の投与による腫瘍の発生増加を認めなかった。

Ⅳ－3　非腫瘍性病変

鼻腔の嗅上皮のエオジン好性変化が雌雄ともに、全投与群で発生例数の増加と程度の増強を示した。嗅上皮のエオジン好性変化は、加齢性病変として報告されている所見であり（文献 7）、この発生例数の増加と程度の増強は被験物質の投与により鼻腔の加齢性変化が促進されたことを示唆する変化であった。これに対して、腎臓の加齢性病変である慢性

腎症の発生は雌の 100ppm 以上の群で発生例数の減少及び程度の減弱がみられ、被験物質の投与により発生が抑制されたと考えられた。

Ⅳ－4　その他

尿検査において雌の 100ppm 以上の群に蛋白の陽性度の減少が認められた。慢性腎症を持つラットでは糸球体からの蛋白（主にアルブミン）の濾過量が増加することが知られており（文献 8）、雌の 100ppm 以上の群では病理組織学的に慢性腎症の発生例数の減少と程度の減弱が示されていることから、この慢性腎症の抑制に伴ってこれらの群における尿の蛋白の陽性度が減少したものと考えられる。

血液学的検査、血液生化学的検査でもいくつかのパラメータに対照群と投与群の間に投与濃度に対応した変化があった。しかし、これらの変化はいずれもわずかな変化であり、病理組織学的検査でも関連する臓器に変化がみられなかったことから、被験物質との関係は不明であった。

V　結論

F344/DuCrj(Fischer)ラットを用いてメタリルクロライドの２年間(104 週間)にわたる吸入によるがん原性試験を行った結果より以下の結論を得た。

雄に甲状腺の濾胞状腺腫のわずかな発生増加が認められ、メタリルクロライドの投与による影響を否定できず、この結果はがん原性の可能性を示唆するものの不確実な証拠であると考えた。雌にはメタリルクロライドの投与による腫瘍の発生増加を示す証拠は認められなかった。

非腫瘍性病変としては、鼻腔の嗅上皮のエオジン好性変化が雄、雌ともに、全投与群で発生例数の増加と程度の増強を示し、被験物質の投与により鼻腔の加齢性変化が促進された。また、腎臓の加齢性病変である慢性腎症の発生が雌の 100ppm 以上の群で抑制された。

Ⅵ 文献

1. Heller, S. R. and Milne, G. W. A. (1978)
EPA/NIH Mass Spectral Data Base Vol. 1, pp 53
U. S. Government Printing Office, Washington.

2. 和光純薬工業からの提供資料(1987)

3. 日本バイオアッセイ研究センター (1996)
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
日本バイオアッセイ研究センター, 神奈川

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. Peto, R., Pike, M. C., Day, N. E., Gray, R. G., Lee, P. N., Parish, S., Peto, J., Richrds, S. and Wahrendorf, J. (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,
IARC Monographs, Suppl. 2, pp. 311-426, International Agency for Research on Cancer, Lyon.

6. 日本バイオアッセイ研究センター内部資料 (1984-1994)

7. Nagano K., Katagiri T., Aiso S., Senoh H., Sakura Y. and Takeuchi T.(1997)
Spontaneous lesions of nasal cavity in aging F344 rats and BDF1 mice.
Exp. Toxic. Pathol., 49, 97-104

8. Gray J.E. (1986)
Chronic progressive nephrosis, Rat.
In : Jonens T. C. ed. Urinary System. pp174-179
Springer-Verlag, New York.