

アリルクロリドのマウスを用いた  
吸入による2週間毒性試験報告書

試験番号：0333

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

アリルクロリドのマウスを用いた  
吸入による2週間毒性試験報告書

試験番号：0333

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	11
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	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 2-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE
- TABLE 2 CLINICAL OBSERVATION DURING AND AFTER EXPOSURE OF MALE MICE IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE
- TABLE 3 CLINICAL OBSERVATION DURING AND AFTER EXPOSURE OF FEMALE MICE IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE
- TABLE 4 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES OF MALE MICE IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE
- TABLE 5 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES OF FEMALE MICE IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE
- TABLE 6 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF MALE MICE IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE
- TABLE 7 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF FEMALE MICE 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 MICE IN THE 2-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE

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

## APPENDIXES

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

## APPENDIXES (CONTINUED)

- APPENDIX G 1 ORGAN WEIGHT, ABSOLUTE : SUMMARY, MOUSE : MALE  
( 2-WEEK STUDY )
- APPENDIX G 2 ORGAN WEIGHT, ABSOLUTE : SUMMARY, MOUSE : FEMALE  
( 2-WEEK STUDY )
- APPENDIX H 1 ORGAN WEIGHT, RELATIVE : SUMMARY, MOUSE : MALE  
( 2-WEEK STUDY )
- APPENDIX H 2 ORGAN WEIGHT, RELATIVE : SUMMARY, MOUSE : FEMALE  
( 2-WEEK STUDY )
- APPENDIX I 1 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :  
SUMMARY, MOUSE : MALE : DEAD AND MORIBUND ANIMALS  
( 2-WEEK STUDY )
- APPENDIX I 2 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :  
SUMMARY, MOUSE : MALE : SACRIFICED ANIMALS  
( 2-WEEK STUDY )
- APPENDIX I 3 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :  
SUMMARY, MOUSE : FEMALE : DEAD AND MORIBUND  
ANIMALS ( 2-WEEK STUDY )
- APPENDIX I 4 HISTOLOGICAL FINDINGS : NON-NEOPLASTIC LESIONS :  
SUMMARY, MOUSE : 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 Crj:BDF<sub>1</sub> マウスに 2 週間全身暴露し、その生体影響を検索した。

本試験は、雌雄各群 10 匹のマウス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。暴露濃度は、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、臓器重量の測定及び病理組織学的検査とした。

1000ppm 群は、雌雄とも投与初日の暴露中から軟便または下痢、うずくまりを伴った自発運動量の減少がみられ暴露後にも軟便または下痢、軽度の肛門周囲の汚染がみられた。2 日目の暴露前には、雄の全例が死亡し、雌も 6 日目までに全例が死亡した。病理組織学的検査では、雌雄とも肺に鬱血、浮腫及び出血、胸腺に核崩壊、脾臓に鬱血と核崩壊が認められ、その他、雌には鼻腔に嗅上皮の壊死、胸腺に萎縮、脾臓に萎縮、腎臓に近位尿細管の壊死も認められた。

500ppm 群でも、雌雄とも投与初日の暴露中から軟便または下痢がみられ、暴露後には軟便または下痢、軽度の肛門周囲の汚染がみられた。雄は 2 日目から死亡がみられ 10 日目までに全例が死亡し、雌は 9 日目から 10 日目にかけて全例が死亡した。剖検観察では、雄の 1 例に腎臓の白色点、雌の 1 例に肺の赤色化がみられた。病理組織学的検査では、雌雄とも鼻腔に嗅上皮の壊死、肺に鬱血、胸腺に萎縮、脾臓に髄外造血が認められ、この他、雄では肺に出血、胸腺に核崩壊、脾臓に鬱血、核崩壊及び萎縮、心臓に壊死、前胃に過形成、腎臓に近位尿細管の壊死、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、雌でも肺に浮腫が認められた。

250ppm 群では、雌雄ともに死亡例はみられなかった。血液学的検査で雌雄ともに貧血が示唆され、臓器重量で雄は胸腺に低値が示された。病理組織学的検査では雄に著変はみられなかったが、雌では前胃に糜爛と過形成がみられた。

125ppm 以下の群では、125ppm 群の雄に臓器重量で胸腺に実重量と体重比の低値が示された以外に著変はみられなかった。

以上をまとめると、500ppm 群以上では全例死亡した。250ppm 群では雌雄とも死亡は認められなかったものの、血液学的検査で貧血が示唆された。また、雌のみではあるが前胃に糜爛と過形成がみられた。よって、13 週間試験では暴露回数の増加により 200ppm 群でも上記の 250ppm 群で観察された変化はみられると判断し、投与濃度は 200ppm を最高濃度として以下 100ppm、50ppm、25ppm 及び 12.5ppm（公比 2）とした。

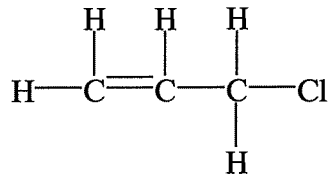
I 試験材料

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 Crj:BDF<sub>1</sub> マウス(SPF)の雌雄を使用した。

雌雄それぞれ 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: 21.2~24.1g、雌: 17.3~19.6g)を選別して試験に供した。

なお、Crj:BDF<sub>1</sub> 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

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(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 : 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 : 95W×116D×120H mm)、投期間中は 1 ケージ当り 1 匹の単飼 (ステンレス製 5 連型網ケージ : 100W×116D×120H 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- $\gamma$ 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3及び5.5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3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、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。

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

全動物についてを剖検観察を行った。

##### 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匹もしくは3匹の動物について 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

チャンパ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

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。

## 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 群の雄は、投与期間の 2 日目 (1w-2d) に、雌は 6 日目 (1w-6d) までに全例死亡した。

500ppm 群は、雌雄とも投与期間の 10 日目 (2w-3d) までに全例死亡した。

その他の群には、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) 及び暴露後に観察した一般状態の結果を TABLE 2, 3 に示した。

暴露開始約 3 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 5 時間半後には 500ppm 以上の投与群の動物に軟便または下痢がみられ、1000ppm 群ではうずくまりを伴った自発運動量の減少もみられた。暴露後の観察では、250ppm 群以上の動物に軟便または下痢がみられ、500ppm 以上の群では軽度の肛門周囲の汚染もみられた。

###### <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 2 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、1000ppm 群の雄が全例死亡し、雌は 4 例死亡した。雌の 2 例に自発運動量の減少、立毛及び体温低下がみられた。500ppm 群では、雄の 2 例が死亡した。3 例に自発運動量の減少と体温低下がみられ、このうち 2 例には立毛もみられた。雌には特記すべき所見はみられなかった。1000ppm 群の雌と 500ppm 群の雄には、死亡した動物、毒性所見のみられた動物、何ら所見のみられなかった動物が混在していた。暴露後の観察では、1000ppm 群の雌で前述の 2 例の死亡がみられた。残る 4 例には、自発運動量の減少、体温低下、立毛が観察され、1 例には血尿もみられた。500ppm 群では、雄に自発運動量の減少、立毛、体温低下がみられたが、雌には特記すべき所見はみられなかった。

4 日目(1w-4d)の観察では、1000ppm 群の雌で 2 例の死亡 (3 日目(1w-3d)に 1 例死亡し合計 9 例死亡) が確認された。残る 1 例には不整呼吸、振戦がみられたが、この動物も 6 日目 (1w-6d) に死亡した。500ppm 群の雄は、2 例死亡 (3 日目に 3 例死亡し合計 7 例

死亡)し、残る3例のうち、2例には自発運動量の減少と血尿と思われる赤色尿がみられ、1例には症状はみられなかった。

7日目(1w-7d)の観察では、500ppm群の雄の1例に自発運動量の減少と立毛がみられたが、この動物は9日目(2w-2d)の暴露後に死亡(5日目(1w-5d)に1例死亡し合計9例死亡)した。残る1例も10日目(2w-3d)の暴露前に死亡した。一方、これまで所見のみられなかった500ppm群の雌にも、9日目から死亡(2例死亡)がみられるようになり10日目には全例が死亡した。

### 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及び500ppm群の全例が、死亡するまで体重は減少した。

250ppm群では雌雄とも順調な増加を示し、雌は10日目及び14日目に有意な高値を示した。同群の雌は、摂餌量の増加も観察されていることから、摂餌量の増加と対応した体重増加と考えられた。

125ppm以下の群では、125ppm及び62.5ppm群の雄で投与期間中対照群よりも若干の低値を示した、これらの低値とアリルクロリドの暴露との関連は不明であった。雌は投与期間を通して順調な増加を示した。

### 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及び500ppm群は評価から除外した。

250ppm群では、雄が7日目の測定で対照群と比べて有意な低値を示したが、14日目の測定では対照群より有意な高値を示した。雌は、14日目(2w-7d)の測定で対照群より有意な高値を示した。

その他の投与群には、対照群との間に大きな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

### 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。

250ppm群の雌雄にMCVの増加及び赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、MCHCの減少がみられ、アリルクロリドの暴露による貧血が示唆された。この他にも、雌では血小板数の増加も示された。

その他の投与群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。

250ppm 群の雌雄に総ビリルビンの増加、アルブミン及び尿素窒素の減少がみられ、さらに雌ではコレステロールの増加、総蛋白、A/G比及びクロールの減少、ALP活性の低下がみられた。

125ppm 群の雌にカリウム、アルブミン、A/G比及びクロールの減少、ALP活性の低下がみられた。雄に著変はみられなかった。

62.5ppm 群の雌にカリウム、アルブミン及びA/G比の減少がみられた。雄に著変はみられなかった。

250ppm 群でみられた総ビリルビン及びコレステロールの増加、カリウム、クロール及びアルブミンの減少はアシルクロリドの暴露による腎臓等への影響と思われたが、病理組織学的検査で腎臓に変化が認めらず、これらの変化と投与との関連は明確ではなかった。

### III-3 病理学的検査

#### III-3-1 剖検観察

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、500ppm 群) >

1000ppm 群では、雄に著変はみられなかった。雌は 1 例に肺の赤色化がみられた。

500ppm 群では、雄の 1 例の腎臓に白色点がみられ、雌の 1 例に肺の赤色化がみられた。

<定期解剖例>

雌雄とも、投与群に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。

250ppm 群の雄に胸腺の実重量と体重比の低値及び肺の実重量の高値がみられ、雌には腎臓の体重比の高値がみられた。

125ppm 群では、雄で胸腺の実重量と体重比の低値がみられた。

なお、125ppm 群の雄に脳の体重比の高値、また、62.5ppm 群の雌に腎臓の体重比の高値が示されたが、いずれも暴露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

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 (500ppm 群、1000ppm 群) >

1000ppm 群では、雄で肺に鬱血 (2/2 例)、浮腫 (1/2 例) 及び出血 (1/2 例)、胸腺に核崩壊 (1/2 例)、脾臓に鬱血と核崩壊 (2/2 例) がみられ、雌は鼻腔に嗅上皮の壊死 (3/3 例)、肺に鬱血、浮腫及び出血 (1/3 例)、胸腺に核崩壊 (2/3 例) と萎縮 (1/3 例)、脾臓に鬱血 (1/3 例)、核崩壊 (2/3 例) 及び萎縮 (1/3 例)、また腎臓に近位尿細管の壊死 (3/3 例) が認められた。

500ppm 群では、雄で鼻腔に嗅上皮の壊死 (2/3 例)、肺に鬱血 (1/3 例) や出血 (1/3 例)、胸腺に核崩壊 (2/2 例) と萎縮 (1/2 例)、脾臓に鬱血、核崩壊、萎縮及び髓外造血 (1/3 例)、心臓に壊死 (1/3 例)、胃に前胃の過形成 (1/3 例)、腎臓に近位尿細管の壊死 (2/3 例)、精巣に精原細胞壊死 (2/3 例)、精巣上体に精上皮系細胞の残屑 (2/3 例) が認められた。雌では、鼻腔に嗅上皮の壊死 (2/2 例)、肺に鬱血と浮腫 (1/2 例)、胸腺に萎縮 (1/1 例)、脾臓に髓外造血 (2/2 例) が認められた。

#### <定期解剖例>

250ppm 群では、雄に特徴的な所見、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が、雌では、1 例に前胃の糜爛と過形成がみられた。

125ppm 以下の群については雌雄とも著変はみられなかった。

#### 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 Crj:BDF<sub>1</sub> マウスに 2 週間全身暴露し、その生体影響を検索した。

本試験は、雌雄各群 10 匹のマウス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。暴露濃度は、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、臓器重量の測定及び病理組織学的検査とした。

1000ppm 群では、雌雄とも投与初日の暴露中から軟便または下痢、うずくまりを伴った自発運動量の減少がみられ、暴露後にも軟便または下痢、軽度の肛門周囲の汚染がみられた。2 日目の暴露前には、雄の全例が死亡し雌は 4 例が死亡した。その後、雌は 6 日目までに全例が死亡した。死亡に至る経緯として、自発運動量の減少、体温低下等が観察され、一部の動物には血尿、不整呼吸、振戦等もみられた。剖検観察では、雄に著変はみられなかったが、雌は 1 例に肺の赤色化がみられた。病理組織学的検査では、雌雄とも肺に鬱血、浮腫及び出血、胸腺に核崩壊、脾臓に鬱血と核崩壊が認められ、その他、雌には鼻腔に嗅上皮の壊死、胸腺に萎縮、脾臓に萎縮、腎臓に近位尿細管の壊死も認められた。

500ppm 群でも、雌雄ともに投与初日の暴露中から軟便または下痢がみられ、暴露後には軟便または下痢、軽度の肛門周囲の汚染がみられた。2 日目の暴露前には、雄の 2 例が死亡し、10 日目までに全例が死亡した。死亡に至る経緯として、自発運動量の減少、体温低下等がみられ、血尿と思われる赤色尿のみられた例もあった。雌は、投与初日に症状が観察されたのみであったが、9 日目から死亡（2 例死亡）がみられるようになり 10 日目には全例が死亡した。剖検観察では、雄の 1 例に腎臓の白色点、雌の 1 例に肺の赤色化がみられた。病理組織学的検査では、雌雄とも鼻腔に嗅上皮の壊死、肺に鬱血、胸腺に萎縮、脾臓に髄外造血が認められ、この他、雄では肺に出血、胸腺に核崩壊、脾臓に鬱血、核崩壊及び萎縮、心臓に壊死、前胃に過形成、腎臓に近位尿細管の壊死、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、雌でも、肺に浮腫が認められた。

250ppm 群では、雌雄ともに死亡例はみられなかった。血液学的検査で雌雄ともに赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及び MCHC の減少がみられ貧血が示唆された。臓器重量で雄は胸腺に実重量と体重比の低値、肺に実重量の高値が示され、雌では、腎臓に体重比の高値が示された。病理組織学的検査では雄に著変はみられなかったが、雌では前胃に糜爛と過形成がみられた。

125ppm 以下の群では雌雄ともに死亡例はみられず、125ppm 群の雄に胸腺の実重量と体重比の低値が示された以外は、著変はみられなかった。

以上をまとめると、500ppm 群以上の投与群の動物が全例死亡した。250ppm 群では雌

雄とも死亡は認められなかったものの、血液学的検査で貧血が示唆された。また、臓器重量の変化と雌のみではあるが前胃に糜爛と過形成がみられた。

よって、13週間試験では暴露回数の増加により200ppmでも上記の250ppm群で観察された変化はみられると判断し、投与濃度は200ppmを最高濃度として以下100ppm、50ppm、25ppm及び12.5ppm（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