

アリルクロリドのマウスを用いた
吸入による 13 週間毒性試験報告書

試験番号 : 0341

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 13 週間毒性試験報告書

試験番号：0341

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	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	10
III-1-4	摂餌量	10
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	11
III-3	病理学的検査	
III-3-1	剖検	11
III-3-2	臓器重量	12
III-3-3	病理組織学的検査	12
IV	考察及びまとめ	13
V	文献	15

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 MICE IN THE 13-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE
- TABLE 3 SURVIVAL ANIMAL NUMBERS AND BODY WEIGHT CHANGES OF FEMALE MICE IN THE 13-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE
- TABLE 4 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF MALE MICE IN THE 13-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE
- TABLE 5 FOOD CONSUMPTION CHANGES OF FEMALE MICE 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 MICE IN THE 13-WEEK INHALATION STUDY OF ALLYL CHLORIDE

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

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

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

APPENDIXES

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

APPENDIXES (CONTINUED)

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

APPENDIXES (CONTINUED)

- 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 INHALATION 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

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:BDF₁ マウスに 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。投与濃度は 200ppm、100ppm、50ppm、25ppm 及び 12.5ppm 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、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。

200ppm 群では、雌雄に軽度な貧血が示唆された。雌雄の前胃に過形成の発生増加がみられた。雄は、これ以外にも脾臓にヘモジデリン沈着が認められた。雌では、心臓の実重量の低値、鼻腔に呼吸上皮のエオジン好性変化の発生増加、脾臓にヘモジデリン沈着の程度の増強が認められ少数例に鼻咽頭のエオジン好性変化と前胃の糜爛がみられた。

100ppm 群では、雌雄の少数例に前胃の過形成がみられた。

50ppm 群では、雌の少数例に前胃の過形成がみられた。

25ppm 以下の群では、雌雄ともに特記すべき所見はみられなかった。

以上、200ppm 群では雌雄とも死亡はみられず、病理組織学的検査で雌雄の前胃に過形成の発生増加及び雌の少数例に前胃の糜爛が認められた以外に大きな変化はみられなかった。がん原性試験の実施にあたり投与回数が増加した場合でも、前胃の過形成により動物の寿命は損なわれないことと、過形成が腫瘍に移行しうる可能性を考慮し、アリルクロリドのがん原性の暴露濃度は 200ppm を最高濃度とし以下 100ppm、50ppm (公比 2) とした。

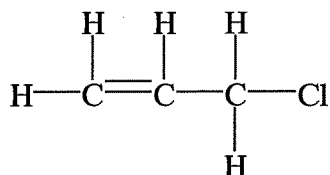
I 試験材料

I-1 被験物質の性状等

I-1-1 名称と別名

名 称 : 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 : 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 Crj:BDF₁ マウス(SPF)の雌雄を使用した。

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:20.3~23.6g、雌:17.2~19.9g)を選別して試験に供した。

なお、Crj:BDF₁ 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、61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 200ppm に設定し、以下 100ppm、50ppm、25ppm 及び 12.5ppm（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、500ppm 群以上で全例の動物が死亡した。250ppm 群では雌雄とも死亡は認められなかったものの、血液学的変化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。これらのことから、13 週間試験では暴露回数の増加により、200ppm 以下でも上記の変化がみられると判断し、投与濃度は 200ppm を最高濃度とし以下公比 2 で設定した。（試験番号：0333 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の温度に冷却後、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、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	12.5 ppm群	10匹 (1101~1110)	10匹 (2101~2110)
2	25 ppm群	10匹 (1201~1210)	10匹 (2201~2210)
3	50 ppm群	10匹 (1301~1310)	10匹 (2301~2310)
4	100 ppm群	10匹 (1401~1410)	10匹 (2401~2410)
5	200 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 ケージ当たり 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 ケージ当たり 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 ケージ当たり 1 匹の単飼 (ステンレス製 5 連型網ケ-

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- 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

投与最終週までに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

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

生死状況を APPENDIX A1,A2 に示した。

50ppm 群の雄の 1 例が投与期間の 4 週目に死亡したが、死因はマウスに自然発生する水腎症であった。これ以外に動物の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 A1,A2 に示した。

投与期間最終日(13w-7d)の観察で 100ppm 及び 25ppm 群の雄と 200ppm 群の雌の各々 1 例に内部腫瘍がみられた。これらは、いずれも水腎症による腎臓の腫大であった。これらを含め投与群の動物に、アシルクロリドの投与によると考えられる一般状態の変化は観察されなかった。

III-1-3 体重

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

投与期間中期に 50ppm 及び 25ppm 群の雄で、統計学的に有意な低値が数回示され体重増加の鈍化がみられたが、その後は順調な体重増加を示し、投与期間最終日の測定では対照群との間に有意差はみられなかった。雄のその他の投与群及び雌の投与群には、投与期間を通して順調な体重増加がみられ、対照群との間に有意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。

200ppm 群の雌雄、100ppm 群の雌雄、50ppm 群の雌及び 12.5ppm 群の雄に投与期間中に 1~2 回、統計学的有意差が示されたが、これらはいずれも投与濃度と関連した変化ではなかった。50ppm 群の雄、25ppm 群の雌雄、12.5ppm 群の雌には対照群と比較して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 群の雌雄に赤血球数の減少とM C Vの増加がみられた。その他、雄にヘモグロビン濃度及びM C H Cの減少がみられ、雌雄に軽度な貧血が示唆された。また、50ppm 及び 12.5ppm 群で血小板数の減少がみられたが、これらは投与濃度と対応した変化ではなかった。

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 群の雌雄にC P K活性の低下がみられ、雌に総蛋白及びアルブミンの減少、A L P活性の低下がみられた。また、100ppm から 25ppm 群の雄にトリグリセライドの減少、25ppm 群の雄にG P T活性の上昇がみられたが、いずれも投与濃度と対応した変化ではなかった。

III-2-3 尿検査

尿検査の結果を APPENDIX F1,F2 に示した。

雌雄とも、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 (投与期間途中死亡)、G2,G3 (定期解剖) に示した。

投与各群の雌雄に、投与群に特徴的な所見、あるいは投与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

APPENDIX H1,H2 (実重量)、I1,I2 (体重比) に示した。

200ppm 群の雌に心臓の実重量の低値が認められた。その他、50ppm 群の雄で副腎の実重量と体重比に低値が示されたが、この変化は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

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

200ppm 群の雌雄で前胃に過形成の発生増加がみられた。その他、雄に脾臓にヘモジデリン沈着、雌に鼻腔の呼吸上皮にエオジン好性変化の発生増加、脾臓にヘモジデリン沈着の程度の増強がみられた。また、統計学的に有意差はみられなかったが、雌に鼻咽頭のエオジン好性変化と前胃の糜爛がそれぞれ 3 例と 1 例にみられた。

100ppm 群では、統計学的な有意差は示されなかったが、前胃の過形成が雄で 1 例、雌で 4 例にみられた。

50ppm 群では、雄に特記すべき所見は認められなかったが、雌では前胃の過形成が 1 例に認められた。

25ppm 以下の群では、雌雄とも特記すべき所見は認められなかった。

IV 考察及びまとめ

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:BDF₁ マウスに 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。投与濃度は 200ppm、100ppm、50ppm、25ppm 及び 12.5ppm 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、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。

投与各群にアリルクロリドの投与による死亡はみられず、一般状態の観察、体重、摂餌量、血液生化学的検査及び尿検査では各投与群に特記すべき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た。病理組織学的検査で雌雄の前胃に過形成の発生増加がみられた。その他、雄は脾臓にヘモジデリン沈着、雌は心臓の実重量の低値、鼻腔に呼吸上皮のエオジン好性変化の発生増加、脾臓にヘモジデリン沈着の程度の増強が認められた。また、雌では少数例に鼻咽頭のエオジン好性変化と前胃の糜爛がみられた。

100ppm 群では、雌雄の少数例に前胃の過形成がみられた。

50ppm 群では、雌の少数例に前胃の過形成がみられた。

25ppm 以下の群では、雌雄ともに特記すべき所見はみられなかった。

以上のように本試験では 200ppm 群から 50ppm 群まで前胃に過形成の発生が認められ、200ppm 群では雌雄ともに前胃に過形成の発生増加が認められた。

アリルクロリドの投与と関連したマウスの前胃における腫瘍の発生については、NCI で強制経口投与によるがん原性試験がなされている (文献 5)。これによれば、前胃の肥厚及び角化が投与群の雌雄に、前胃の扁平上皮癌が低投与群の雌雄に、前胃の扁平上皮乳頭腫が高投与群の雌に認められたと報告している。NCI の評価は、雌雄とも腫瘍の発生率の増加については統計学的な有意差はみられなかった (特に雄は高投与群での高い死亡率と早期死亡動物が多い) が、アリルクロリドの強制経口投与によりマウスの前胃に良性及び悪性腫瘍の発生増加が示唆されたと結論している。

また、アリルクロリドと類似した構造を持つメタリルクロライド(メチルアリルクロリド)の BDF₁ マウスを用いた吸入による 13 週間試験 (文献 6) 及びがん原性試験 (文献 7) の結果から、前胃の過形成が扁平上皮癌及び扁平上皮乳頭腫の発生と関連していることが示唆されている。

以上、200ppm 群では雌雄とも死亡はみられず、病理組織学的検査で雌雄の前胃に過形成の発生増加及び雌の少数例に前胃の糜爛が認められた以外に大きな変化はみられなかった。がん原性試験の実施にあたり投与回数が増加した場合でも、前胃の過形成により動物

の寿命は損なわれないことと、過形成が腫瘍に移行しうる可能性を考慮し、アリルクロリドのがん原性の暴露濃度は 200ppm を最高濃度とし以下 100ppm、50ppm (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. National Cancer Institute. (1978)
Bioassay of Allyl Chloride for Possible Carcinogenicity
NCI-CG-TR-73
National Institutes of Health, Bethesda, Maryland 20014
6. 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
7. 日本バイオアッセイ研究センター (1998)
メタリルクロライドのマウスを用いた吸入によるがん原性試験報告書
日本バイオアッセイ研究センター, 神奈川