

アリルアルコールのラットを用いた吸入による2週間毒性試験報告書

試験番号：0885

CAS No. 107-18-6

2017年12月22日

独立行政法人 労働者健康安全機構
日本バイオアッセイ研究センター

目次

標題	i
試験目的	i
試験法	i
動物福祉	i
試験委託者	i
試験施設及び運営管理者	ii
試験日程	ii
試験関係者一覧	ii
試資料の保管	iii
試験責任者（最終報告書作成者）の署名、捺印及び日付	iii
陳述書	iv
本文	v
TABLES	A~K4	
FIGURES	1~2	
APPENDICES	1-1~3	

標題

アリルアルコールのラットを用いた吸入による 2 週間毒性試験

試験目的

本試験は、アリルアルコール（被験物質番号 1143）のラットを用いた吸入による 13 週間毒性試験（がん原性試験の濃度設定試験）の濃度設定を目的として実施した。

試験法

本試験は OECD 化学品ガイドライン 412（亜急性吸入毒性試験：28 日試験 2009 年 9 月 7 日採択）（文献 1）を参考に実施した。

動物福祉

本試験は「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」（平成 18 年 4 月 28 日環境省告示第 88 号、最終改正平成 25 年 8 月 30 日環境省告示第 84 号）、「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」（平成 18 年 6 月 1 日厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知、最終改正平成 27 年 2 月 20 日厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知）及び「日本バイオアッセイ研究センターにおける動物実験等に関する規程」（平成 24 年 4 月 25 日制定、最終改正平成 28 年 4 月 1 日）を遵守して行った。また、本試験は日本バイオアッセイ研究センターの動物実験委員会で審査された（承認番号 0162）。

試験委託者

厚生労働省労働基準局安全衛生部化学物質対策課
東京都千代田区霞が関 1-2-2

アリルアルコールのラットを用いた吸入による 2 週間毒性試験報告書

試験番号：0885

本文

本文目次

	頁
要約	1
I 試験材料	2
I-1 被験物質の性状等	2
I-1-1 名称等	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	3
I-3-1 同一性	3
I-3-2 安定性	3
I-4 試験動物	3
II 試験方法	4
II-1 投与	4
II-1-1 投与経路	4
II-1-2 被験物質の投与方法	4
II-1-3 投与期間	4
II-1-4 投与濃度	4
II-1-5 投与経路及び投与濃度の設定理由	4
II-1-6 被験物質の発生方法と濃度調整	5
II-1-7 被験物質濃度の測定	5
II-2 動物管理	5
II-2-1 各群の使用動物数	5
II-2-2 群分け方法	6
II-2-3 動物の個体識別方法	6
II-2-4 使用飼育室、他試験及び異種動物との区別	6
II-2-5 飼育条件	6
(1) 飼育環境	6
(2) 飼料	7
(3) 飲水	7

II-3	観察・検査項目及び方法	7
II-3-1	動物の生死及び一般状態の観察	7
II-3-2	体重測定	7
II-3-3	摂餌量測定	8
II-3-4	血液学的検査	8
II-3-5	血液生化学的検査	8
II-3-6	病理学的検査	8
	(1) 肉眼的観察	8
	(2) 臓器重量	8
	(3) 臓器の採取保存	9
	(4) 病理組織学的検査	9
II-4	数値処理と統計方法	9
II-4-1	数値の取り扱いと表示	9
II-4-2	統計処理	9
III	試験成績	11
III-1	生死状況	11
III-2	一般状態	11
III-3	体重	11
III-4	摂餌量	12
III-5	血液学的検査	12
III-6	血液生化学的検査	12
III-7	病理学的検査	13
	III-7-1 肉眼的観察	13
	III-7-2 臓器重量	13
	III-7-3 病理組織学的検査	13
IV	考察及びまとめ	17
IV-1	用量-反応関係	17
IV-2	13週間試験の濃度決定	18
V	文献	20

VI 予見することのできなかつた試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかつたこと21

要約

アリルアルコールの F344/DuCr1Cr1j ラットを用いた吸入による 13 週間毒性試験（がん原性試験の濃度設定試験）の濃度設定を目的として、本試験（2 週間試験）を実施した。

本試験は、被験物質投与群 5 群と対照群 1 群の計 6 群の構成で、各群雌雄とも 5 匹とし、合計 60 匹を用いた。被験物質の投与は、アリルアルコールを 1 日 6 時間、1 週 5 日間で 2 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 0（対照群）、6.3、12.5、25、50 及び 100 ppm とした。観察、検査として、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、解剖時の肉眼的観察、臓器重量測定及び病理組織学的検査を行った。

その結果、一般状態の観察では投与の初期に、被験物質の刺激による鼻腔を中心とした症状が 50 ppm 以上の群で特に激しく（鼻血性分泌物、異常鼻音、これに加え 100 ppm 群では呼吸困難）、雌の 100 ppm 群では投与の 2 日目に 1 匹を切迫屠殺した。これらの症状は投与終了時には雄の 12.5 ppm 以下と雌の 25 ppm 以下の群ではほとんどが消失した。体重値は投与の前半では雄の 25 ppm 以上の群と雌の全投与群で低値を示したが、雄の 25 ppm 群と雌の 12.5 ppm 以下の群は回復した。摂餌量は、一週目では雄の 12.5 ppm 以上の群と雌の全投与群で低値を示したが、雄の 100 ppm 群以外は回復した。解剖時の肉眼的観察では、切迫屠殺動物に小腸と大腸にガス貯留が観察され、これらは気道の閉塞又は狭窄時の口呼吸による 2 次的な変化と考えられた。病理組織学的検索では、雌雄の鼻腔、喉頭、気管に投与による影響がみられた。鼻腔では、呼吸上皮の炎症と扁平上皮化生が全投与群で認められ、呼吸上皮の壊死と嗅上皮の空胞変性が 12.5 ppm 以上の群、呼吸上皮の潰瘍、嗅上皮の萎縮、壊死及び再生、扁平上皮の壊死が 25 ppm 以上の群、喉頭の炎症が 50 ppm 以上の群、嗅上皮の炎症と鼻腔内の滲出液、喉頭の扁平上皮化生、気管の炎症が 100 ppm で認められた。これらの病変の程度は軽度から重度であり、濃度に対応して傷害性変化の程度は増強した。特に 50 ppm 以上の群では、重度の炎症や中等度の壊死、潰瘍が認められ、暴露期間を延長することでさらに重篤化すると考えた。従って、13 週間試験の投与濃度は 25 ppm を最高濃度として、以下、12.5、6.3、3.1 及び 1.6 ppm と決定した。

I 試験材料

I-1 被験物質の性状等

I-1-1 名称等

名 称 : アリルアルコール (Allyl alcohol)
別 名 : 2-プロペン-1-オール
C A S N o . : 107-18-6

I-1-2 構造式及び分子量 (文献 2)

構 造 式 : $\text{H}_2\text{C}=\text{CH}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{OH}$
分 子 式 : $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$
分 子 量 : 58.08

I-1-3 物理化学的性状等 (文献 2)

性 状 : 無色液体
比 重 : 0.8520 (4/20°C)
沸 点 : 96.9°C
蒸 気 圧 : 17.3 mmHg (20°C)
溶 解 性 : アルコール、エーテル、クロロホルムに可溶
保 管 条 件 : 室温、暗所に保管

I-2 被験物質の使用ロット等

製 造 元 : 和光純薬工業(株)
規 格 : 和光特級
純 度 : 100.0% (和光純薬工業(株)検査成績データ)
ロ ッ ト 番 号 : TWR6089

I-3 被験物質の特性

I-3-1 同一性

被験物質の同一性は、被験物質のマスペクトルを質量分析計（(株)日立製作所 M-80B）にて測定し、この測定値を文献値と比較することにより確認した。

その結果、被験物質のマスペクトルは文献値（文献 3）と同じ擬分子イオン及びフラグメントピークを示し、被験物質はアリルアルコールであることを確認した。

それらの結果は APPENDIX 1-1 に示す。

I-3-2 安定性

被験物質の安定性は、使用開始前及び使用終了後にガスクロマトグラムをガスクロマトグラフ（アジレントテクノロジーズ(株) 5890A）を用いて測定し、それぞれのデータを比較することにより確認した。

その結果、使用開始前と使用終了後の測定結果に差はみられず、使用期間中の被験物質は安定であることを確認した。

それらの結果は APPENDIX 1-2 に示す。

I-4 試験動物

動物は、アリルアルコールのがん原性試験で使用する動物種及び系統に合わせ、日本チャールス・リバー(株)（厚木飼育センター）の F344/DuCrjCrj ラット（SPF）の雌雄を使用した。

雌雄各 32 匹を 4 週齢で導入し、検疫を 7 日間、馴化を 7 日間実施した後、発育順調で一般状態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 30 匹（群構成時体重範囲、雄：105～119 g、雌：83～94 g）を選別し、試験に用いた。

なお、がん原性試験に F344/DuCrjCrj ラット（SPF）を選択した理由は、遺伝的に安定していること、過去に多くのがん原性試験に用いたデータがあり、化学物質による腫瘍発生の感受性が知られていることによる。

II 試験方法

II-1 投与

II-1-1 投与経路

投与経路は全身暴露による経気道投与とした。

II-1-2 被験物質の投与方法

投与は、試験動物を収容した吸入チャンバー内に、設定濃度に調整した被験物質を含む空気を送り込み、動物に全身暴露することにより行った。

II-1-3 投与期間

投与期間は、1日6時間、1週5日の暴露で2週間とし、計10回の暴露を行った。

II-1-4 投与濃度

投与濃度は雌雄ともに、6.3、12.5、25、50及び100 ppm（体積比 v/v）の5段階（公比2）に設定した。なお、対照群は清浄空気による換気のみとした。

II-1-5 投与経路及び投与濃度の設定理由

投与経路は、被験物質を生産、使用する作業環境における労働者への主な暴露経路に合わせ、全身暴露による経気道投与とした。

投与濃度は文献（文献4）情報を参考に設定した。ラットの吸入LC₅₀値は、165 ppm（4時間、Long-Evans・雄）と報告されている。吸入による反復投与毒性試験として、ラット（Long-Evans・雄各10匹）に3回に分けて1、2、5、20 ppm、40、60 ppm、100、150 ppmのアリルアルコールをそれぞれ7時間/日、5日/週、計60回吸入暴露させた結果、150 ppm群では10回の暴露で全匹死亡した。100 ppm群では46日までに6匹の死亡（生存していた4匹は事故死亡、暴露は56回で終了）、60 ppm群では4回の暴露で1匹が死亡している。体重値では20 ppm以上の群で増加に抑制がみられている。

以上の情報をもとに、動物の生死を含めた吸入毒性情報を得るため、本試験の投与濃度は100 ppmを最高濃度とし、以下50、25、12.5、6.3 ppm（公比2）に設定した。

II-1-6 被験物質の発生方法と濃度調整

被験物質供給装置（柴田科学(株)特注）の発生容器内の被験物質を循環式恒温槽で加熱しながら、清浄空気のパブリングにより蒸発させた。この被験物質の蒸気を循環式恒温槽で一定温度に冷却した後、清浄空気（希釈空気）と混合しながら再加熱し、一定濃度にした後、流量計を用いて一定量を各吸入チャンバー上部のラインミキサーに供給した。

吸入チャンバー内の被験物質濃度はガスクロマトグラフで監視し、その濃度データをもとに設定濃度になるように被験物質の吸入チャンバーへの供給量を調節した。

II-1-7 被験物質濃度の測定

吸入チャンバー内の被験物質濃度は、自動サンプリング装置付ガスクロマトグラフ（(株)島津製作所 GC-14B）により、暴露開始前から暴露終了後まで 15 分毎に測定した。

濃度測定結果を TABLE A に示す。各投与群の被験物質濃度は、その平均値と設定濃度の差（ $(\text{平均値} - \text{設定濃度}) / \text{設定濃度} \times 100$ ）が 0.4 %以内、変動係数（標準偏差 / 平均値 $\times 100$ ）が 0.8 %以内であり、高い精度でチャンバー内濃度が管理されていることが示された。

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、各群雌雄各 5 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	対照群	5 匹 (1001~1005)	5 匹 (2001~2005)
1	6.3 ppm群	5 匹 (1101~1105)	5 匹 (2101~2105)
2	12.5 ppm群	5 匹 (1201~1205)	5 匹 (2201~2205)
3	25 ppm群	5 匹 (1301~1305)	5 匹 (2301~2305)
4	50 ppm群	5 匹 (1401~1405)	5 匹 (2401~2405)
5	100 ppm群	5 匹 (1501~1505)	5 匹 (2501~2505)

II-2-2 群分け方法

群分けは、検疫・馴化の結果、一般状態及び体重の推移等に異常を認めない動物を用いて、体重の中央値に近い雌雄各 30 匹を選別し、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。

群分けにより除外された動物は、投与開始までの試験動物の事故等に対応するために待機飼育させ、投与開始を確認後、本試験系から除外した。

II-2-3 動物の個体識別方法

動物の個体識別は、油性マーカーにより尾に色素塗布をすることで行った。また、ケージには個体識別番号を記したラベルを付した。

II-2-4 使用飼育室、他試験及び異種動物との区別

動物はバリア区域内の独立した室（検疫室：605室、吸入試験室：601室）に収容し、室の扉に試験番号、動物種及び動物番号を表示し、他試験及び異種動物と区別した。

II-2-5 飼育条件

(1) 飼育環境

検疫期間中は検疫室（605 室）で、馴化期間及び投与期間中は、吸入試験室（601 室）の吸入チャンバー内で動物を飼育した。

検疫室、吸入試験室及び吸入チャンバー内の環境条件及び使用したケージを以下に示した。検疫室、吸入試験室の温度、湿度は実測値（平均値±標準偏差）を<>内に、また、吸入チャンバー内環境の測定結果は APPENDIX 2 に示す。検疫室、吸入試験室及び吸入チャンバー内の環境には、動物の健康状態に影響を与えるような大きな変化は認められなかった。

温 度	:	検疫室； $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$	<605 室； $22.3 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ >
		吸入試験室； $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$	<601 室； $21.4 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ >
		吸入チャンバー内；	20～24℃
湿 度	:	検疫室； $55 \pm 15\%$	<605 室； $55 \pm 1\%$ >
		吸入試験室； $55 \pm 15\%$	<601 室； $55 \pm 1\%$ >
		吸入チャンバー内；	30～70%

週 1 回、全動物について、給餌量及び残餌量を測定し、その値から 1 匹 1 日当たりの摂餌量を算出した。

II-3-4 血液学的検査

定期解剖時に生存していた動物について、イソフルラン麻酔下で腹大動脈から EDTA-2 カリウム入り採血管に採血し、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX 3 に示す。

検査項目：赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)、血小板数、網赤血球比、白血球数、白血球分類

II-3-5 血液生化学的検査

定期解剖時に生存していた動物について、イソフルラン麻酔下で腹大動脈からヘパリンリチウム入り採血管に採血し、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX 3 に示す。

検査項目：総蛋白、アルブミン、A/G 比、総ビリルビン、グルコース、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、AST、ALT、LDH、ALP、 γ -GTP、CK、尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、無機リン

II-3-6 病理学的検査

(1) 肉眼的観察

全動物について全身の肉眼的観察を行った。なお、定期解剖時まで生存していた動物及び切迫屠殺動物は、イソフルラン麻酔下で放血することにより安楽死させた。

(2) 臓器重量

定期解剖時まで生存した動物について、下記に示す臓器の湿重量（臓器実重量）を測定した。また、各臓器の湿重量の搬出時体重に対する百分率（臓器重量体重比）を算出した。

測定臓器：胸腺、副腎、精巣、卵巣、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳

(3) 臓器の採取保存

全動物について、下記の器官、組織を摘出し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で固定した。

皮膚、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺（左肺に固定液を注入する）、骨髄（大腿骨）、リンパ節（腋窩、鼠径等）、胸腺、脾臓、心臓、舌、唾液腺、食道、胃、小腸（十二指腸を含む）、大腸、肝臓、膵臓、腎臓、膀胱、下垂体、甲状腺、上皮小体、副腎、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、卵巣、子宮、膣、乳腺、脳、脊髄、末梢神経（坐骨神経）、眼球、ハーダー腺、筋肉、骨（大腿骨）、肉眼的に変化のみられた器官及び組織

(4) 病理組織学的検査

全動物について、下記の器官、組織を切り出し、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い、光学顕微鏡により検査した。

鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、肝臓、腎臓

II-4 数値処理と統計方法

II-4-1 数値の取り扱いと表示

各数値データは、測定機器の精度に合わせて表示した。

吸入チャンバー内の被験物質濃度は ppm を単位として、小数点以下第 3 位まで測定し、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。

体重は、g を単位とし、整数値の 1 の位まで測定し、表示した。

摂餌量は、g を単位とし、給餌量及び残餌量を小数点以下第 1 位まで測定し、給餌量値から残餌量値を減じて摂餌量とした。この値を測定期間の日数で除し、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。

臓器実重量は、g を単位とし、小数点以下第 3 位まで測定し、表示した。臓器重量体重比は、臓器実重量値を搬出時体重で除し、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。

血液学的検査及び血液生化学的検査は、APPENDIX 3 に示す単位と桁数により表示した。

なお、各数値データの平均値及び標準偏差は、上記に示す桁数と同様になるよう四捨五入を行い表示した。

II-4-2 統計処理

各群の有効動物数は、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とする。

病理組織学的検査は、臓器ごとに検査不能臓器を除いた臓器数、その他の検査及び測定は、実施できた動物数を検査（測定）数とする。

体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査及び臓器重量の測定値は、対照群を基準群として各投与群との間でまず F 検定を行い、分散が等しい場合は Student の t 検定を、分散が等しくない場合には Aspin-Welch の t 検定を行う。

尿検査については対照群と各投与群との間で χ^2 検定を行う。

病理組織学的検査の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、所見のみられた動物は、その所見の程度及び範囲などを基準にしてグレード 1~4 に分け、 χ^2 検定を行う。

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する。

各検定は 5%の有意水準で両側検定を行い、検定結果を表示する場合には 5%及び 1%の有意水準の表示を行う。

Ⅲ 試験成績

Ⅲ-1 生死状況

生死状況を TABLE B 1, 2 に示す。

—雄—

各群とも動物の死亡はみられなかった。

—雌—

100 ppm 群で瀕死により 1 匹 (1 週-2 日) を切迫屠殺した。

50 ppm 以下の群では死亡はみられなかった。

Ⅲ-2 一般状態

一般状態の観察結果を TABLE C 1, 2 に示す。

—雄—

異常鼻音が 50 ppm 以上の群でほぼ投与期間を通じてみられ、25 ppm 以下の群でも投与期間中に散見された。また、投与 1 週の前半を中心に、流涙が 12.5 ppm 以上の群、鼻血性分泌物、流涎が 25 ppm 以上の群、呼吸困難が 50 ppm 以上の群、自発運動量減少、立毛が 100 ppm 群にみられた。

—雌—

切迫屠殺した 100 ppm 群の 1 匹には、立毛、鼻血性分泌物、呼吸困難がみられた。異常鼻音が 100 ppm 群でほぼ投与期間を通じて、50 ppm 群では主に投与 1 週の前半と 2 週の後半にみられ、また、25 ppm 以下の群でも投与期間中に散見された。さらに、投与 1 週の前半を中心に、流涙、流涎が 12.5 ppm 以上の群、鼻血性分泌物が 50 ppm 以上の群、自発運動量減少、立毛、呼吸困難が 100 ppm 群にみられた。

Ⅲ-3 体重

体重の推移を TABLE D 1~4 及び FIGURE 1, 2 に示す。

—雄—

投与群の体重は、投与濃度に対応して低下し、1 週の 5 日または 7 日より増加に転じたが、50 ppm 以上の群は、投与期間を通じて対照群より有意に低値であった。

投与群の最終体重は対照群に対し、6.3 ppm 群 : 98 %、12.5 ppm 群 : 98 %、25 ppm 群 : 95 %、50 ppm 群 : 91 %、100 ppm 群 : 88 %であった。

—雌—

投与群の体重は、投与濃度に対応して低下し、1 週の 5 日または 7 日より増加に転じたが、

25 ppm 以上の群では、ほぼ投与期間を通じて対照群より有意に低値であった。

投与群の最終体重は対照群に対し、6.3 ppm 群：95 %、12.5 ppm 群：98 %、25 ppm 群：90 %、50 ppm 群：89 %、100 ppm 群：90 %であった。

Ⅲ-4 摂餌量

摂餌量を TABLE E 1~4 に示す。

—雄—

投与期間 1 週目は 12.5 ppm 以上の群で、投与濃度に対応して低値であったが、2 週目は回復し 100 ppm 群のみ低値であった。

—雌—

投与期間 1 週目は全投与群で、投与濃度に対応して低値であったが、2 週目は回復した。

Ⅲ-5 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE F 1, 2 に示す。

—雄—

血小板数の低値が 50 ppm 以上の群でみられた。また、白血球分類で 5 分類（好中球、リンパ球、単球、好酸球、好塩基球）以外のその他（other）に分類された血球比の高値が 50 ppm 以上の群、好酸球比の高値が 100 ppm 群にみられた。

—雌—

被験物質の影響と思われる変化はみられなかった。

なお、MCH、MCHC、血小板数、網赤血球比の低値、白血球分類で好酸球比の高値が投与群にみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

Ⅲ-6 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE G 1, 2 に示した。

—雄—

ALT の低値が 50 ppm 以上の群、A/G 比、尿素窒素、クレアチニン、アルブミンの低値、総コレステロール、リン脂質の高値が 100 ppm 群でみられた。

その他、総蛋白、アルブミン、AST の低値、総コレステロール、リン脂質の高値が投与群にみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

—雌—

アルブミンの低値が 50 ppm 以上の群、A/G 比、尿素窒素、クレアチニンの低値が 100 ppm 群でみられ、また、リン脂質、総コレステロール AST、CK、カリウムの高値が 100 ppm

群でみられた。

その他、グルコース、AST、ALT の高値、カルシウムの低値が投与群にみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

Ⅲ-7 病理学的検査

Ⅲ-7-1 肉眼的観察

解剖時の肉眼的所見を TABLE H1 に示す。

—雄—

被検物質の影響と思われる所見はみられなかった。

—雌—

100 ppm 群の切迫屠殺動物（1 匹）において、小腸及び大腸にガスの貯留がみられた。

その他、被検物質の影響と思われる所見はみられなかった。

Ⅲ-7-2 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 TABLE I 1, 2 と TABLE J 1, 2 に示す。

—雄—

実重量では、脾臓の低値が 50 ppm 以上の群、精巣と肝臓の低値が 100 ppm 群でみられた。

体重比では、腎臓と肝臓の高値が 12.5 ppm 以上の群、副腎、肺、脳の高値が 25 ppm 以上の群でみられた。

—雌—

実重量では、肝臓の低値が全投与群、脾臓の低値が 25 ppm 以上の群、胸腺の低値が 50 ppm 以上の群でみられた。その他、副腎、心臓、肺、腎臓、脳の高値が投与群にみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

体重比では、腎臓と脳の高値が 25 ppm 以上の群、副腎の高値が 100 ppm 群でみられた。その他、心臓、肺の高値、肝臓の低値が投与群にみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

Ⅲ-7-3 病理組織学的検査

病理組織学的検査は、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、肝臓、腎臓について行った。その結果を TABLE K 1~4 に示す。

—雄—

鼻腔と喉頭に被験物質の影響が観察された。

[100 ppm 群]

鼻腔の呼吸上皮では、炎症（中等度～重度）、壊死（軽度～中等度）及び扁平上皮化生（中等度）がそれぞれ 5 匹、潰瘍（軽度）が 4 匹に認められた。また、嗅上皮では、萎縮（軽度～中等度）が 4 匹、壊死と空胞変性がそれぞれ 3 匹（いずれも軽度）、再生（軽度）が 5 匹に認められた。さらに、扁平上皮でも壊死（軽度）が 4 匹に認められた。呼吸上皮領域にみられた炎症は粘膜及び粘膜固有層への炎症性細胞浸潤と粘膜固有層の水腫性変化であった。呼吸上皮の扁平上皮化生は炎症性細胞浸潤を伴っており、正常な層状分化がみられない部位や、細胞異型が観察された。

喉頭では、炎症（軽度）が 5 匹、扁平上皮化生（軽度～中等度）が 4 匹に認められた。

なお、肺では、肉芽形成（軽度）が 1 匹に認められ、鼻腔の呼吸上皮が扁平上皮に化生したことによる 2 次的な影響と思われた。

[50 ppm 群]

鼻腔の呼吸上皮では、炎症（中等度～重度）、壊死（軽度）、扁平上皮化生（軽度～中等度）及び再生（軽度）がそれぞれ 5 匹、潰瘍（軽度）が 3 匹に認められた。また、嗅上皮では、萎縮（軽度）が 1 匹、壊死（軽度）が 3 匹、空胞変性（軽度）が 4 匹、再生（軽度）が 2 匹に認められ、扁平上皮でも壊死（軽度）が 5 匹に認められた。

喉頭では、炎症（軽度）が 1 匹に認められた。

[25 ppm 群]

鼻腔の呼吸上皮では、炎症（中等度）と扁平上皮化生（軽度）がそれぞれ 5 匹、壊死（軽度）が 4 匹、再生（軽度）が 3 匹、潰瘍（軽度）が 1 匹に認められた。また、嗅上皮では、壊死（軽度）が 1 匹、空胞変性（軽度）が 3 匹に認められ、扁平上皮でも壊死（軽度）が 3 匹に認められた。

なお、肺では、出血（軽度）が 1 匹に認められたが、投与濃度に対応しない変化であった。

[12.5 ppm 群]

鼻腔の呼吸上皮では、炎症（軽度）と壊死（軽度）がそれぞれ 5 匹、扁平上皮化生（軽度）と再生（軽度）がそれぞれ 4 匹に認められ、嗅上皮では空胞変性（軽度）が 2 匹に認められた。

[6.3 ppm 群]

鼻腔の呼吸上皮では、炎症（軽度）が 5 匹、扁平上皮化生（軽度）が 4 匹、再生（軽度）が 2 匹に認められた。

その他、肝臓のヘルニア、腎臓の好酸体や鉍質沈着が認められたが、これらは F344 ラッ

トに通常認められる変化であり、投与の影響とは判断しなかった。

—雌—

鼻腔、喉頭及び気管に被験物質の影響が観察された。

[100 ppm 群]

瀕死状態により切迫屠殺された 1 匹においては、鼻腔に呼吸上皮の炎症（中等度）と壊死（軽度）、嗅上皮の壊死（軽度）が認められ、鼻腔内には、好中球を含む滲出液（中等度）が認められた。また、喉頭では中等度、気管では軽度の炎症が認められた。

生存動物（4 匹）では、鼻腔の呼吸上皮の炎症（重度）、壊死（軽度～中等度）、扁平上皮化生（中等度）及び潰瘍（軽度～中等度）がそれぞれ 4 匹に認められた。また、嗅上皮では萎縮（軽度～中等度）が 4 匹、壊死と空胞変性がそれぞれ 1 匹（いずれも軽度）、炎症と再生がそれぞれ 3 匹（いずれも軽度）に認められ、扁平上皮でも壊死（軽度）が 4 匹に認められた。さらに、鼻腔内に好中球を含む滲出液（軽度）が 1 匹に認められた。

喉頭では、炎症（軽度）が 3 匹、扁平上皮化生（軽度）が 3 匹に認められた。

なお、肺に軽度の出血が 1 匹に認められたが、他に関連する変化はなく、偶発的な変化と思われた。

[50 ppm 群]

鼻腔の呼吸上皮では、炎症（軽度～中等度）と扁平上皮化生（軽度～中等度）がそれぞれ 5 匹、壊死（軽度～中等度）が 4 匹、再生（軽度）が 2 匹に認められ、嗅上皮では萎縮（軽度）が 4 匹、空胞変性（軽度）が 3 匹、壊死と再生がそれぞれ 1 匹（いずれも軽度）に認められた。また、扁平上皮でも壊死（軽度）が 3 匹に認められた。

[25 ppm 群]

鼻腔の呼吸上皮では、炎症（軽度～中等度）、扁平上皮化生（軽度）及び壊死（軽度）がそれぞれ 5 匹、再生（軽度）が 2 匹、潰瘍（軽度）が 3 匹に認められ、嗅上皮では、萎縮、壊死及び再生がそれぞれ 2 匹（いずれも軽度）、空胞変性（軽度）が 1 匹に認められた。また、扁平上皮でも、壊死（軽度）が 3 匹に認められた。

[12.5 ppm 群]

鼻腔の呼吸上皮では壊死と再生がそれぞれ 5 匹（いずれも軽度）、炎症（軽度）が 4 匹、扁平上皮化生（軽度）が 3 匹に認められた。嗅上皮では空胞変性（軽度）が 1 匹に認められた。

[6.3 ppm 群]

鼻腔の呼吸上皮では、炎症（軽度）が 5 匹、扁平上皮化生と再生がそれぞれ 3 匹（いずれも軽度）に認められた。

その他、肝臓のヘルニアが対照群と投与群に認められたが、この変化は F344 ラットに通

常認められる変化であり、投与の影響とは判断しなかった。

IV 考察及びまとめ

アリルアルコールの F344/DuCr1Cr1j ラットを用いた吸入による 13 週間毒性試験（がん原性試験の濃度設定試験）の濃度設定を目的として、本試験（2 週間試験）を実施した。

本試験は、投与群 5 群、対照群 1 群の計 6 群（各群雌雄各 5 匹）を設け、アリルアルコールの投与濃度は、0（対照群）、6.3、12.5、25、50 及び 100 ppm とした。投与期間は 1 日 6 時間、1 週 5 日間の投与（全身暴露による経気道投与）で 2 週間とし、投与期間中、生死及び一般状態の観察、体重、摂餌量の測定を行い、投与期間終了後、動物を解剖し、血液学的検査、血液生化学的検査、肉眼的観察、臓器重量の測定及び病理組織学的検査を行った。また、投与期間中の切迫屠殺動物についても肉眼的観察及び病理組織学的検査を行った。

IV-1 用量-反応関係

アリルアルコールの暴露の結果、100 ppm 群で雌 1 匹が瀕死状態になり、切迫屠殺した。他の群に死亡はみられなかった。

一般状態の観察では、雌雄とも異常鼻音が 50 ppm 以上の群でほぼ投与期間を通じてみられ、25 ppm 以下の群でも投与期間中に散見された。また、雌雄とも投与 1 週の前半を中心に、投与群に流涙、鼻血性分泌物、流涎、自発運動量減少、立毛、呼吸困難がみられた。2 週目にはこれらの症状は消失した。

投与群の体重は、暴露により雌雄ともに投与濃度に対応して低下し、1 週の 5 日または 7 日より増加したが、雄の 50 ppm 以上の群、雌の 25 ppm 以上の群では、ほぼ投与期間を通じて対照群より有意に低値であった。投与群の最終体重は対照群に対し、雄の 6.3 ppm 群：98 %、12.5 ppm 群：98 %、25 ppm 群：95 %、50 ppm 群：91 %、100 ppm 群：88 %、雌の 6.3 ppm 群：95 %、12.5 ppm 群：98 %、25 ppm 群：90 %、50 ppm 群：89 %、100 ppm 群：90 %であった。

また、摂餌量は、投与 1 週目は雄の 12.5 ppm 以上の群と雌の全投与群で投与濃度に対応して低値であったが、2 週目は雄の 100 ppm 群を除いては回復した。

血液学的検査では、雄で血小板数の低値が 50 ppm 以上の群でみられた。また、白血球分類で 5 分類（好中球、リンパ球、単球、好酸球、好塩基球）以外のその他（other）に分類された血球比の高値が 50 ppm 以上の群、好酸球比の高値が 100 ppm 群にみられたが、対照群との差は僅かであった。

血液生化学的検査では、雌雄で A/G 比の低値が 100 ppm 群、アルブミンの低値が雄の 100 ppm 群と雌の 50 ppm 以上の群、雄で総コレステロールの高値、雌で CK、カリウムの高値、雌雄でリン脂質の高値が 100 ppm 群でみられた。また、雄で ALT（50 ppm 以上の群）、雌雄で尿素窒素、クレアチニン（100 ppm 群）に変化がみられたが、それぞれ低下性の変化であった。病理組織学的検査では投与群の腎臓、肝臓に上記の変化に関連する所見はみられな

かった。

病理学的検査の肉眼的観察では、切迫屠殺した 100 ppm 群の雌 1 匹において、小腸と大腸にガス貯留が観察され、これらは気道の閉塞又は狭窄時の口呼吸による 2 次的な変化と考えられた。その他、被検物質の影響と思われる所見はみられなかった。

臓器重量の測定では、雌雄とも投与群に多くの臓器で実重量の低値と体重比の高値がみられた。これらのうち、雌雄とも 25 ppm 以上の群の変化は動物の解剖時体重の低値によるものと思われる。なお、雄の 12.5 ppm 群でも腎臓と肝臓の体重比の高値、また、雌の 6.3 ppm 群と 12.5 ppm 群で肝臓の実重量と体重比の低値がみられたが、病理組織学的検査では雌雄とも投与群の腎臓と肝臓に変化はみられなかった。

病理組織学的検査は鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、肝臓及び腎臓について行った。その結果、雌雄の鼻腔と喉頭、及び雌の気管に被験物質の投与による影響がみられた。

鼻腔では、呼吸上皮の炎症と扁平上皮化生が全投与群で認められ、呼吸上皮の壊死と嗅上皮の空胞変性が 12.5 ppm 以上の群、呼吸上皮の潰瘍が 25 ppm 以上の群、嗅上皮の萎縮、壊死及び再生、扁平上皮の壊死が 25 ppm 以上の群、喉頭の炎症が 50 ppm 以上の群、嗅上皮の炎症と鼻腔内の滲出液、喉頭の扁平上皮化生と気管の炎症が 100 ppm 群で認められた。なお、呼吸上皮の再生が 6.3 から 50 ppm 群でみられ、100 ppm 群では認められなかったが、これは傷害した上皮のほとんどが扁平上皮に化生したためであった。呼吸上皮や嗅上皮の炎症、壊死、潰瘍、萎縮、空胞変性は傷害性変化であり、再生はその修復としてみられる。扁平上皮化生は強い傷害を受けた上皮の修復や刺激性物質の連続暴露による上皮の適応性反応として発生し、反応が過剰に起きると増殖性病変へと進展する可能性がある（文献 5）。本試験では、扁平上皮にも壊死が観察されることから、アリルアルコールの暴露は直接接触する鼻腔上皮に強い傷害を引き起こすものと考えられた。また、上記病変の程度は軽度から重度であり、濃度に対応して傷害性変化の程度は増強した。特に 50 ppm 以上の群では、重度の炎症や中等度の壊死、潰瘍が認められ、12.5 ppm 群と 6.5 ppm 群でみられた病変はいずれも軽度であった。

IV-2 13 週間試験の濃度決定

本試験の結果より、13 週間試験の投与濃度を以下のように決定した。

本試験では、一般状態の観察で投与の初期に被験物質の刺激による鼻腔を中心とした症状が、50 ppm 以上の群で特に激しく（鼻血性分泌物、異常鼻音、これに加え 100 ppm 群では呼吸困難）、雌の 100 ppm 群では投与の 2 日目に 1 匹を切迫屠殺した。これらの症状は投与終了時には雄の 12.5 ppm 以下と雌の 25 ppm 以下の群ではほとんどが消失した。体重値は投与の前半では雄の 25 ppm 以上の群と雌の全投与群で低値を示したが、雄の 25 ppm 群と雌の 12.5 ppm 以下の群は回復した。摂餌量は、投与 1 週目では雄の 12.5 ppm 以上の群と雌の全投与群で低値を示したが、雄の 100 ppm 群以外は回復した。解剖時の肉眼的観察では、

切迫屠殺動物に小腸と大腸にガス貯留が観察され、これらは気道の閉塞又は狭窄時の口呼吸による2次的な変化と考えられた。病理組織学的検索では、雌雄の鼻腔、喉頭、雌の気管に投与による影響がみられた。鼻腔では、呼吸上皮の炎症と扁平上皮化生が全投与群で認められ、呼吸上皮の壊死と嗅上皮の空胞変性が12.5 ppm以上の群、呼吸上皮の潰瘍、嗅上皮の萎縮、壊死及び再生、扁平上皮の壊死が25 ppm以上の群、喉頭の炎症が50 ppm以上の群、嗅上皮の炎症と鼻腔内の滲出液、喉頭の扁平上皮化生、気管の炎症が100 ppm群で認められた。これらの病変の程度は軽度から重度であり、濃度に対応して傷害性変化の程度は増強した。特に50 ppm以上の群では、重度の炎症や中等度の壊死、潰瘍が認められ、暴露期間を延長することでさらに重篤化すると考えた。従って、13週間試験の投与濃度は25 ppmを最高濃度として、以下、12.5、6.3、3.1及び1.6 ppmと決定した。

V 文献

- 1) OECD. 2009. OECD Guideline for The Testing of Chemicals 412: Subacute Inhalation Toxicity: 28-Day Study. Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development.
- 2) 共立出版株式会社. 1978. 化学大辞典 1. 東京: 共立出版株式会社, 347.
- 3) McLafferty FW, ed. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th ed. New York, NY: John Wiley and Sons.
- 4) Dunlap M.K, Kodama J.K, Welligton J.S, Anderson H.H and Hine C.H. 1958. The toxicity of allyl alcohol. I. Acute and Chronic Toxicity. *AMA Arch Ind. Health*, 18:303-311.
- 5) 長野嘉介. 2013. 標的器官の毒性病理, 鼻腔. 伊東毒性病理学. 高橋道人, 福島昭治編集. 東京: 丸善出版, 165-175.

VI 予見することのできなかつた試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかつたこと

試験計画書では、統計検定は **Dunnnett** を中心とした方法をとることとしていたが、本試験では 13 週間試験の濃度設定のための試験であることから、検出力をを高めるため **t** 検定を使用することとした。