

アリルクロリ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：0365

CAS No. 107-05-1

2003年10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

## 標題

アリルクロリドのラットを用いた吸入によるがん原性試験

## 試験目的

アリルクロリドをラットに 104 週間全身暴露し、がん原性を検索する。

## GLP 対応

本試験は、昭和 63 年 9 月 1 日付け、労働省告示第 76 号「労働安全衛生法に基づく試験施設等が具備すべき基準（安衛法 GLP）」（一部改正。平成 12 年 3 月 29 日付け、労働省告示第 13 号）に準拠し、OECD GLP（1997 年 11 月 26 日採択）に準じて実施した。

## 試験法

本試験は平成 9 年 3 月 11 日付け、基発第 144 号「がん原性試験による調査の基準について」及び OECD 化学品テストガイドライン 451（発癌性試験 1981 年 5 月 12 日採択）に準じて実施した。

## 試験委託者

厚生労働省労働基準局安全衛生部化学物質調査課  
東京都千代田区霞ヶ関 1-2-2

## 試験施設及び運営管理者

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  
所長 松島 泰次郎  
神奈川県秦野市平沢 2445

アリルクロリ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：0365

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 名称等	3
I-1-2 構造式及び分子量	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	3
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	5
II-1-2 被験物質の投与方法	5
II-1-3 投与期間	5
II-1-4 投与濃度	5
II-1-5 投与方法、投与期間及び投与濃度の設定理由	5
II-1-6 被験物質の発生方法と濃度調整	6
II-1-7 被験物質の濃度測定	6
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	7
II-2-3 飼育条件	7

## Ⅱ-3 観察・検査項目及び方法

Ⅱ-3-1 動物の生死及び一般状態の観察	8
Ⅱ-3-2 体重測定	9
Ⅱ-3-3 摂餌量測定	9
Ⅱ-3-4 尿検査	9
Ⅱ-3-5 血液学的検査	9
Ⅱ-3-6 血液生化学的検査	9
Ⅱ-3-7 病理学的検査	10

## Ⅱ-4 数値処理と統計方法

Ⅱ-4-1 数値の取り扱いと表示	10
Ⅱ-4-2 母数の取り扱い	11
Ⅱ-4-3 統計方法	11

## Ⅲ 試験成績

Ⅲ-1 生死状況	13
Ⅲ-2 一般状態	13
Ⅲ-3 体重	13
Ⅲ-4 摂餌量	14
Ⅲ-5 血液学的検査	14
Ⅲ-6 血液生化学的検査	14
Ⅲ-7 尿検査	14
Ⅲ-8 病理学的検査	
Ⅲ-8-1 剖検	14
Ⅲ-8-2 臓器重量	15
Ⅲ-8-3 病理組織学的検査	15
Ⅲ-8-4 死因	19

## Ⅳ 考察及びまとめ

Ⅳ-1 腫瘍性及び腫瘍関連病変	20
Ⅳ-2 非腫瘍性病変	22
Ⅳ-3 他文献との比較等	23

V	結論	25
VI	試験の信頼性に影響を及ぼした事態及び試験計画書に従わなかったこと	26
VII	文献	27



## 要約

アリルクロリ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。投与はアリルクロリドを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25 ppm、50 ppm、100 ppm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。

生存率は雄の100 ppm群で低下した。投与群の体重には変化がみられなかったが、雌雄とも100 ppm群で失調性歩行または麻痺性歩行がみられた。

腫瘍性病変としては、雄の膀胱の移行上皮癌及び甲状腺の濾胞状腺腫の発生増加がみられた。これらの腫瘍の発生増加が認められた濃度は100 ppmであった。なお、肺の細気管支－肺泡上皮腺腫、皮膚の角化棘細胞腫、乳腺の線維腺腫及び腹膜の中皮腫にも発生増加がみられたが、アリルクロリドとの関連は不明確であった。雌にはアリルクロリドの暴露によると考えられる腫瘍の発生増加が認められなかった。

非腫瘍性病変としては、雄の腎臓、鼻腔、舌及び脾臓、雌の腎臓及びハーダー腺に変化がみられた。雄の腎臓には慢性腎症の程度の増強が50 ppm以上の群、腎盂に尿路上皮の過形成の増加が100 ppm群にみられ、また、近位尿細管の上皮細胞に核の増大が50 ppm以上の群、好酸滴の出現が全投与群で、それぞれ少数例にみられた。雄の鼻腔には、嗅上皮のエオジン好性変化の程度の増強が全投与群でみられた。雌の腎臓には近位尿細管の上皮細胞に核の増大と好酸滴の出現が全投与群でみられた。その他、雄の投与群には脾臓の線維症と舌の動脈炎の発生が投与濃度に対応して増加した。また、雌の100 ppm群にはハーダー腺のリンパ球浸潤の発生増加が認められた。

以上のように、F344/DuCrj(Fischer) ラットを用いてアリルクロリドの吸入による2年間（104週間）のがん原性試験を行った結果、雄では、膀胱に移行上皮癌の発生増加が認められ、この腫瘍の発生増加はアリルクロリドの雄ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠であると考察された。また、甲状腺に濾胞状腺腫の発生増加が認められ、この腫瘍の発生増加はアリルクロリドの雄ラットに対するがん原性を示唆する証拠であると考察された。雌には、アリルクロリドの暴露によると考えられる腫瘍の発生増加が認められなかった。

また、雌雄とも失調性歩行または麻痺性歩行が100 ppm群にみられた。

## アリルクロリ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	25	50	100	ベト一 検 定	コ克蘭 アミテー ジ検定
	検 査 動 物 数		50	50	50	50		
良性腫瘍	膀胱	移行上皮乳頭腫	2	0	0	2		
	甲状腺	濾胞状腺腫	1	2	2	4 a)	↑	
		C-細胞腺腫	14	12	15	7 a)		
	肺	細気管支 - 肺胞上皮腺腫	5	0	4	8	↑	
	皮膚	角化棘細胞腫	1	0	2	4	↑	↑
		扁平上皮乳頭腫	0	1	1	1		
	乳腺	線維腺腫	0	0	3	3	↑	↑
		腺腫	2	0	0	2		
	皮下	線維腫	2	5	1	4		
	脾臓	脾島腺腫	2	5	4	1		
	下垂体	腺腫	15	17	13	17		
	副腎	褐色細胞腫	6	5	9	8		
	精巣	間細胞腫	38	47	45	43		
悪性腫瘍	膀胱	移行上皮癌	0	1	0	5*	↑↑	↑↑
	甲状腺	濾胞状腺癌	0	1	2	2 a)		
		C-細胞癌	0	1	0	3 a)	↑	↑
	肺	細気管支 - 肺胞上皮癌	0	1	2	1		
	皮膚	扁平上皮癌	0	0	2	0		
	腹膜	中皮腫	0	1	4	4	↑↑	↑
	脾臓	単核球性白血病	6	11	10	9		
	甲状腺	濾胞状腺腫/濾胞状腺癌	1	3	4	5 a)	↑	
	肺	細気管支 - 肺胞上皮腺腫/ 細気管支 - 肺胞上皮癌	5	1	6	9	↑	

a): 検査動物数49、他は上段に表記の動物数と同じ

## アリルクロリ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	25	50	100	ベト一 検 定	コ克蘭 アミテー ジ検定
	検 査 動 物 数		50	50	50	50		
良性腫瘍	肺	細気管支 - 肺胞上皮腺腫	1	2	0	3		
	下垂体	腺腫	15	14	17	15		
	甲状腺	C-細胞腺腫	6	9	10	9		
	子宮	内膜間質性ポリープ	9	11	8	4		
	乳腺	線維腺腫	4	6	11	8		
	包皮腺	腺腫	1	1	1	3		
悪性腫瘍	脾臓	単核球性白血病	11	10	9	9		
	子宮	内膜間質性肉腫	2	0	3	3		
	乳腺	腺癌	0	3	1	0		

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（ベト、コ克蘭アミテージ検定）



## I 試験材料

### I-1 被験物質の性状等

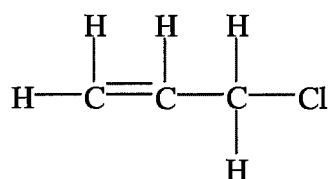
#### I-1-1 名称等

名 称：アリルクロリド (Allyl Chloride)

別 名：3-クロロ-1-プロペン、3-クロロプロピレン

CAS No. : 107-05-1

#### I-1-2 構造式及び分子量 (文献 1)



分 子 量 : 76.53

#### I-1-3 物理化学的性状等 (文献 1)

性 状：無色透明の液体

沸 点：44～45℃

比 重：0.938 (20℃/4℃)

溶 解 性：水に難溶 (0.36 g/100mL 水、20℃)

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 (1998 年 10 月 20 日～1999 年 1 月 26 日)

PAK5623 (1999 年 1 月 27 日～1999 年 10 月 26 日)

CKJ5754 (1999 年 10 月 27 日～2000 年 8 月 4 日)

SEK5898 (2000 年 8 月 7 日～2000 年 9 月 7 日)

SER4744 (2000 年 9 月 8 日～2000 年 10 月 16 日)

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 (和光純薬工業 (株) 検査成績書データ)

### 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、ロットごとにマススペクトルを質量分析計（Hitachi M-80B）により測定し、また、赤外吸収スペクトルを赤外分光光度計（Shimadzu FTIR-8200PC）により測定し、それぞれの文献値と比較することにより確認した。

その結果、被験物質のマススペクトルは文献値（文献 2）と同じ分子イオン及びフラグメントピークを示し、また、赤外吸収スペクトルも文献値（文献 3）と同じ波長にピークが認められ、被験物質はアリルクロリドであることを確認した。

なお、それらの結果は APPENDIX O 1 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ガスクロマトグラムをガスクロマトグラフ（Hewlett Packard 6890）により測定し、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、測定結果に差はみられず、使用期間中の被験物質はそれぞれ安定であることを確認した。

なお、それらの結果は APPENDIX O 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)（厚木飼育センター：神奈川県厚木市下古沢 795）の F344/DuCrj(Fischer)ラット(SPF)の雌雄を使用した。なお、動物は遺伝的に安定していること、腫瘍の自然発生率が低いこと、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の理由から F344/DuCrj(Fischer)ラットとした。

ラット雌雄各 227 匹を生後 4 週齢で導入し（導入時体重範囲、雄:49～62g、雌:44～56g）、各 1 週間の検疫、馴化を経た後、発育順調で異常を認めない動物から、体重値の中央値に近い雌雄各 200 匹（群構成時体重範囲、雄:107～126g、雌:85～98g）を選別し、試験に用いた。

## 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アリルクロリド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。なお、対照群は新鮮空気による換気のみとした。

#### Ⅱ-1-3 投与期間

投与期間は1日6時間、1週5日の暴露（祝祭日は暴露なし）で104週間とし、計488回の暴露を行った。

#### Ⅱ-1-4 投与濃度

25 ppm、50 ppm 及び 100 ppm の3段階（公比2）の投与濃度を設定した。

#### Ⅱ-1-5 投与方法、投与期間及び投与濃度の設定理由

投与方法は、労働環境における暴露経路に合わせ、全身暴露による経気道投与とした。

投与期間は、安衛法ガイドラインがん原性試験による調査の基準（文献4）及び OECD 化学品テストガイドライン 451（発癌性試験）（文献5）に従い、24ヶ月（104週間）とした。

投与濃度は13週間試験（試験番号0340）の結果（文献6）をもとに決定した。13週間試験は、25 ppm、50 ppm、100 ppm、200 ppm 及び 400 ppm（公比2）の5段階の濃度で行った。その結果、400 ppm 群で気管支肺炎により動物が死亡した。200 ppm 以下の群では死亡はみられず、体重の変化もみられなかったが、200 ppm 群では気管支肺炎が観察された。この所見はがん原性試験においては、動物の生存率に影響を及ぼす因子になりうるものと考えられた。100 ppm 以下の群では、腎臓及び鼻腔に軽度な変化がみられたものの、生死にかかわるような所見はみられなかった。これらの結果より、100 ppm をがん原性試

験の最高濃度とし、以下 50 ppm、25 ppm（公比 2）とした。

#### Ⅱ-1-6 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。被験物質供給装置（柴田科学株式会社 特注）の発生容器内のアリルクロリドを循環式恒温槽で一定温度に保温しながら、清浄空気のパブリングにより蒸発させた。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し、清浄空気希釈した。さらに、再加温し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上部のラインミキサーに供給した。

吸入チャンバー内のアリルクロリド濃度はガスクロマトグラフにより監視し、その濃度データをもとに、設定濃度になるようにアリルクロリド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（Shimadzu GC-14A）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 APPENDIX P 1 に示した。各投与群のアリルクロリド濃度は、その平均値と設定濃度の差（ $(\text{平均値} - \text{設定濃度}) / \text{設定濃度} \times 100\%$ ）及び変動係数（ $\text{標準偏差} / \text{平均値} \times 100\%$ ）とも 0.4%以下であり、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 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。

各群の使用動物数と動物番号

群番号	群名称	雄	雌
		使用動物数（動物番号）	使用動物数（動物番号）
0	対 照 群	50 匹（1001-1050）	50 匹（2001-2050）
1	25 ppm 群	50 匹（1101-1150）	50 匹（2101-2150）
2	50 ppm 群	50 匹（1201-1250）	50 匹（2201-2250）
3	100 ppm 群	50 匹（1301-1350）	50 匹（2301-2350）

## 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、発育順調で異常を認めない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 7）。

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行い、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（AC-7 空調エリア）内の独立した室（512 室）に収容し、飼育室に試験番号、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

動物は検疫室で 1 週間の検疫飼育を行った後、吸入チャンバー内に移動し、馴化を開始した。馴化期間も 1 週間とし、投与開始日の前日に群構成を行った。投与期間中は吸入チャンバー内で飼育した。

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動物ケージを下表に示した。検疫室、吸入試験室の温度、湿度については測定値（平均値±標準偏差）を（ ）内に記した。また、吸入チャンバー内環境の計測結果は APPENDIX P 2 に示した。検疫室、吸入試験室及び吸入チャンバー内の環境は、動物の状態に影響を与えるような変化は認められなかった。

飼 育 環 境 条 件

	検疫室 (517 室 : A) (518 室 : B)	吸入試験室 (512 室)	吸入チャンバー内	
			馴化期間	投与期間
温度	23±2℃ (A:22.4±0.1℃) (B:22.6±0.1℃)	22±2℃ (21.5±0.4℃)	23±2℃	
湿度	55±15% (A:58±1%) (B:52±1%)	—	55±15%	
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		12±1 回/時	
圧力	—	—	0～－15mmAq	

## 使 用 ケ ー ジ

	検疫室 (517、518 室)	吸入試験室 (512 室)	吸入チャンバー内	
			馴化期間	投与期間
ケージへの動物 の収容方法	群飼 (5 匹)	—	単飼	単飼
ケージの材質・ 形状	ステンレス製 群飼ケージ	—	ステンレス製 6 連網ケージ	ステンレス製 5 連網ケージ
ケージ寸法	W340 D294 H176	—	W125 D216 H176	W150 D216 H176

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(30KGy- $\gamma$ 線照射滅菌飼料、LOT No. 980709, 980810, 980904, 981014, 981105, 981209, 990109, 990203, 990309, 990406, 990511, 990603, 990806, 991006, 991105, 991203, 000113, 000208, 000302, 000405, 000509, 000602, 000705, 000802, 000906, 001004, 001006, 001012)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。ただし、定期解剖日の前日の夕方からは給餌しなかった。

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、試験に使用した飼料の栄養成分についてはオリエンタル酵母工業(株)から自社分析データを使用ロットごとに入手し、保管した。飼料中の夾雑物については(財)日本食品分析センター(東京都渋谷区元代々木町 52-1)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秦野研究所(神奈川県秦野市落合 729-5)に3ヶ月毎に分析を委託し、それぞれ試験計画書に規定した許容基準と照合して異常のないことを確認した後、保管した。

## Ⅱ-3 観察・検査項目及び方法

## Ⅱ-3-1 動物の生死及び一般状態の観察

全動物について、生死及び瀕死の確認を毎日1回行った。また、一般状態の詳細観察は、検疫及び馴化期間は検疫開始日(導入時)、検疫終了・馴化開始日及び馴化最終日(群構成時)に行い、投与期間は週1回、暴露開始前に行った。



### Ⅱ-3-2 体重測定

全動物について、検疫及び馴化期間は検疫開始日（導入時）、検疫終了・馴化開始日及び馴化最終日（群構成時）に行い、投与期間は、投与開始後 14 週間は週 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。また、動物の死亡発見、切迫屠殺及び定期解剖の搬出時にも体重（搬出時体重）を測定した。

### Ⅱ-3-3 摂餌量測定

全動物について、投与開始後 14 週間は週 1 回、それ以降は 4 週に 1 回（104 週にも測定）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 尿検査

投与 104 週まで生存した動物について新鮮尿を採取し、尿試験紙（マルティ スティックス、バイエル社製）を用いて、下記の項目について検査を行った。

【検査項目】 pH、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン

### Ⅱ-3-5 血液学的検査

定期解剖時に生存している採血可能な動物について、剖検直前にエーテル麻酔下で腹大動脈より EDTA-2 カリウム入り採血管に採血した血液を用いて、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX Q に示した。なお、検査対象動物は解剖日前日夕方より絶食(18 時間以上)させた。

【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、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度、血小板数、白血球数、白血球分類

### Ⅱ-3-6 血液生化学的検査

定期解剖時に生存している採血可能な動物について、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、下記の項目について検査を行った。検査方法は APPENDIX Q に示した。なお、検査対象動物は解剖日前日夕方より絶食(18 時間以上)させた。

【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、GOT、GPT、LDH、ALP、 $\gamma$ -GTP、CPK、

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-3-7 病理学的検査

### 1 剖検

全動物について肉眼的に観察を行った。

### 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した各臓器の湿重量(実重量)を測定した。また、各臓器の湿重量の定期解剖時の体重に対する百分率(臓器重量体重比)も算出した。

副腎、精巣、卵巢、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、脳

### 3 病理組織学的検査

全動物について下記に示した器官、組織を 10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液にて固定し、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。

皮膚、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺、骨髓(大腿骨)、リンパ節(腋窩、腹壁等)、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、脾臓、腎臓、膀胱、下垂体、甲状腺、上皮小体、副腎、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、卵巢、子宮、膣、乳腺、脳、脊髓、末梢神経(坐骨神経)、眼球、ハーダー腺、筋肉、骨(大腿骨)、その他、肉眼的に変化のみられた器官、組織

## Ⅱ-4 数値処理と統計方法

### Ⅱ-4-1 数値の取り扱いと表示

各数値データは計測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については ppm を単位として、小数点以下 3 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、整数値の 1 の位まで計測し、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 日あ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、血液生化学的検査は APPENDIX Q に示した単位と精度により表示した。

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。

尿検査は、投与 104 週まで生存した動物を対象に行い、検査ができた動物数を母数とした。

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。

剖検と病理組織学的検査は、全動物数を母数とした。ただし、病理組織学的検査データ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原則として、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。

病理組織学的検査のうち非腫瘍性病変については、対照群と各投与群間で  $\chi^2$  検定を行った。検定は所見のみられなかった動物をグレード 0 として分類し各グレード毎の動物の度数分布により行った。また、尿検査についても対照群と各投与群間との  $\chi^2$  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 8）、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（注）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。

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。

各検定は 5% の有意水準で両側検定（Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定は片側検定）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った。

注： Peto 検定に用いるコンテキスト

- 0： 定期解剖動物にみつかった腫瘍
- 1： 死亡／瀕死動物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／瀕死動物にみつかった腫瘍で、直接死因に係っていた腫瘍

### Ⅲ 試験成績

#### Ⅲ-1 生死状況

投与期間中における群別の生存状況を TABLE 1, 2 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、雄では対照群：38 匹(76.0%)、25 ppm 群：33 匹(66.0%)、50 ppm 群：40 匹(80.0%)、100 ppm 群：24 匹(48.0%)であった。雌では対照群：40 匹(80.0%)、25 ppm 群：34 匹(68.0%)、50 ppm 群：34 匹(68.0%)、100 ppm 群：34 匹(68.0%)であった。

対照群と比較して、雄の 100 ppm 群で生存率の低下がみられた。

#### Ⅲ-2 一般状態

一般状態の観察結果を APPENDIX A 1, 2 に、外部腫瘍と内部腫瘍の発生動物数（一般状態の観察時に腫瘍を視診または触診できた数）を TABLE 3, 4、失調性歩行と麻痺性歩行の発生動物数を TABLE 5, 6 に示した。

投与期間を通しての外部腫瘍の発生動物数は、雄では対照群：9 匹、25 ppm 群：8 匹、50 ppm 群：15 匹、100 ppm 群：15 匹、雌では対照群：5 匹、25 ppm 群：9 匹、50 ppm 群：8 匹、100 ppm 群：13 匹であり、対照群と比較して雄の 50 ppm 以上の群と雌の 100 ppm 群で外部腫瘍の発生がやや多かった。

投与期間を通しての内部腫瘍の発生動物数は、雄では対照群：0 匹、25 ppm 群：6 匹、50 ppm 群：1 匹、100 ppm 群：4 匹、雌では対照群：6 匹、25 ppm 群：7 匹、50 ppm 群：8 匹、100 ppm 群：1 匹であった。内部腫瘍の発生は、被験物質の影響と思われる発生数の変化はみられなかった。

その他の一般状態では、雌雄とも 100 ppm 群で失調性歩行または麻痺性歩行がみられた。これらの歩行異常は、雄は投与 91 週以降、雌は 76 週以降にみられ、104 週までに失調性歩行は雄 13 匹、雌 4 匹、麻痺性歩行は雄 3 匹、雌 1 匹にみられた。

#### Ⅲ-3 体重

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

投与期間を通じて、雌雄の各投与群とも対照群と同様な値で推移した。

最終計測時（104 週）の体重は、対照群に対して、雄では 25 ppm 群：98%、50 ppm 群：99%、100 ppm 群：96%、雌では 25 ppm 群：103%、50 ppm 群：100%、100 ppm 群：98%であった。

### Ⅲ-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 7, 8、FIGURE 6, 7 及び APPENDIX C 1, 2 に示した。

雄の 100 ppm 群は投与期間の後半、対照群に比べ高値であったが、被験物質との関連は不明であった。他の投与群は雌雄とも対照群と同様な値であった。

### Ⅲ-5 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。

雌雄の 100 ppm 群で赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の減少及び血小板数の増加がみられ、雌雄の 100 ppm 群で貧血の傾向が認められた。

その他、雄の 25 ppm 群で赤血球数、ヘモグロビン濃度の減少がみられたが、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

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、全投与群でアルブミンと A/G 比の減少、50 ppm 以上の群で総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、尿素窒素の増加がみられ、また、100 ppm 群ではクレアチニン、カリウム、カルシウム、無機リンの増加及びクロールの減少がみられた。

雌の投与群では、被験物質の暴露の影響と思われる変化はみられなかった。

### Ⅲ-7 尿検査

投与 104 週に行った尿検査の結果を APPENDIX F 1, 2 に示した。

雄では、50 ppm 以上の群で蛋白の陽性度の増加がみられた。

雌では、100 ppm 群で pH の低下がみられた。

### Ⅲ-8 病理学的検査

#### Ⅲ-8-1 剖検

解剖時に観察された剖検所見を APPENDIX G 1~6 に示した。

雄では、腎臓の顆粒状変化、皮下腫瘤、脾臓の腫大、腹膜の結節の発生がほぼ投与濃度に対応して増加した。



雌では、被験物質の暴露によって発生が増加した所見はみられなかった。

### Ⅲ-8-2 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 9, 10 及び APPENDIX H 1, 2, I 1, 2 に示した。

雄では、全投与群で肺、腎臓、脾臓、肝臓の実重量と体重比の高値が認められた。また、100 ppm 群で副腎と心臓の実重量と体重比の高値が認められた。その他、100 ppm 群で脳の実重量の低値がみられたが、体重比に変化がなく、被験物質の暴露の影響かは不明であった。また、50 ppm 群の精巣で変化がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

雌では、全投与群で腎臓の実重量と体重比の高値が認められた。その他、25 ppm 群と 100 ppm 群で肺の実重量と体重比の高値がみられたが、50 ppm 群では変化がみられず、これらの変化は被験物質の暴露の影響かは不明であった。また、100 ppm 群で脳の実重量の低値がみられたが、体重比に変化がなく、被験物質の暴露の影響かは不明であった。

### Ⅲ-8-3 病理組織学的検査

主な腫瘍性病変と非腫瘍性病変の発生数を TABLE 11, 12 に示した。また、非腫瘍性病変を APPENDIX J 1~6 に示した。腫瘍性病変の結果は、担腫瘍動物数と腫瘍数を APPENDIX K 1, 2 に、腫瘍の種類別の発生数を APPENDIX L 1, 2 に、統計解析（Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定）の結果を TABLE 13 及び APPENDIX M 1, 2 に、転移性病変を APPENDIX N 1~6 に示した。本試験でみられた腫瘍の日本バイオアッセイ研究センターにおけるヒストリカルコントロールデータ（発生匹数/総匹数と平均発生率(%)、試験毎の発生率（最小%~最大%））を雌雄別にそれぞれ TABLE 15, 16 に示した。さらに、観察された所見の代表例を PHOTOGRAPH 1~6 に示した。

#### 1. 腫瘍性病変

腫瘍の発生増加が雄の膀胱、甲状腺、肺、皮膚、乳腺及び腹膜にみられた。

—雄—

#### <膀胱>

移行上皮癌の発生（対照群：0.0%、25 ppm 群：2.0%、50 ppm 群：0.0%、100 ppm 群：10.0%）は Peto 検定（有病率法、死亡率法+有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 100 ppm 群に発生増加が認められた。移行上皮癌は当センターのヒストリカルコントロールデータではこれまで観察されていない。

なお、移行上皮乳頭腫の発生（対照群：4.0%、25 ppm 群：0.0%、50 ppm 群：0.0%、

100 ppm 群：4.0%)には増加がみられなかった。

#### <甲状腺>

濾胞状腺腫の発生（対照群：2.0%、25 ppm 群：4.0%、50 ppm 群：4.0%、100 ppm 群：8.2%）は Peto 検定（有病率法）で増加傾向を示した。また、100 ppm 群の発生率は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲を越えていた。

一方、濾胞状腺癌の発生（対照群：0.0%、25 ppm 群：2.0%、50 ppm 群：4.0%、100 ppm 群：4.1%）は、各群とも当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲内であった。

濾胞状腺腫と濾胞状腺癌を合わせた発生（対照群：2.0%、25 ppm 群：6.0%、50 ppm 群：8.0%、100 ppm 群：10.2%）の検定は、濾胞状腺腫だけの検定と同様な結果であった。また、100 ppm 群の発生率は、濾胞状腺腫と濾胞状腺癌を合わせたヒストリカルコントロールデータの範囲を越えていた。

なお、C-細胞癌の発生（対照群：0.0%、25 ppm 群：2.0%、50 ppm 群：0.0%、100 ppm 群：6.1%）も Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示したが、各群の発生率は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲内であった。

#### <肺>

細気管支-肺胞上皮腺腫の発生（対照群：10.0%、25 ppm 群：0.0%、50 ppm 群：8.0%、100 ppm 群：16.0%）は Peto 検定（有病率法）で増加傾向を示した。各群の発生率を当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲と比較すると、100 ppm 群は上限を越える値であったが、対照群の発生率も上限をやや越える値であった。

なお、細気管支-肺胞上皮癌の発生には群間の差がみられず、気管支-肺胞上皮腺腫と気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生（対照群：10.0%、25 ppm 群：2.0%、50 ppm 群：12.0%、100 ppm 群：18.0%）の検定は、細気管支-肺胞上皮腺腫だけの検定と同様な結果であった。

#### <皮膚>

角化棘細胞腫の発生（対照群：2.0%、25 ppm 群：0.0%、50 ppm 群：4.0%、100 ppm 群：8.0%）は Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。これらの群の発生率を当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲と比較すると、100 ppm 群は上限に相当する値であった。

なお、扁平上皮乳頭腫と扁平上皮癌の発生には群間に差がみられず、角化棘細胞腫に扁平上皮乳頭腫あるいは扁平上皮癌を加えた検定は角化棘細胞腫だけの検定と同様な結果であった。

### ＜乳腺＞

線維腺腫の発生（対照群：0.0%、25 ppm 群：0.0%、50 ppm 群：6.0%、100 ppm 群：6.0%）は Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。これらの群の発生率を当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲と比較すると、50 ppm 以上の群は上限に相当する値であった。

### ＜腹膜＞

中皮腫の発生（対照群：0.0%、25 ppm 群：2.0%、50 ppm 群：8.0%、100 ppm 群：8.0%）は Peto 検定（有病率法、死亡率法+有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示した。これらの群の発生率を当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲と比較すると、50 ppm 以上の群は上限に相当する値であった。

### ＜下垂体＞

腺腫の発生（対照群：30.0%、25 ppm 群：34.0%、50 ppm 群：26.0%、100 ppm 群：34.0%）は Peto 検定（死亡率法）で増加傾向を示した。しかし、その発生率は各投与群とも当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲内であり、暴露による発生増加とは言えなかった。

その他、25 ppm 群の精巣の間細胞腫の発生に統計学的な有意差が示されたが、投与濃度に対応した変化でなかった。

### －雌－

各腫瘍とも有意な増加を認めなかった。

なお、肺の細気管支－肺胞上皮腺腫の発生（対照群：2.0%、25 ppm 群：4.0%、50 ppm 群：0.0%、100 ppm 群：6.0%）が対照群に比べ 100 ppm 群に多くみられたが、細気管支－肺胞上皮腺腫及び細気管支－肺胞上皮癌とも発生率は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲内であり、暴露による影響とは言えなかった。また、50 ppm 群の乳腺の線維腺腫の発生に統計学的な有意差が示されたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

## 2. 非腫瘍性病変

腫瘍以外の病変の発生増加が雄の腎臓、膀胱、鼻腔、脾臓及び舌、雌の腎臓及びハート一腺にみられた。

—雄—

### <腎臓>

慢性腎症の程度の増強、腎盂に尿路上皮の過形成、近位尿細管上皮細胞に核の増大と好酸滴の出現を認めた。

慢性腎症は 50 ppm 以上の群で重度ないし超重度としたものが過半数を占め、程度の増強が認められた。尿路上皮の過形成の発生増加が 100 ppm 群に認められた。また、近位尿細管の上皮細胞には、核の増大が 50 ppm 以上の群、細胞質内への好酸滴（ヘマトキシリン・エオジン染色で淡赤色～橙色に染まる滴状物）の出現が全投与群で少数の動物（25 ppm 群:1 匹、50 ppm 群:4 匹、100 ppm 群:3 匹）に観察された。

### <膀胱>

100 ppm 群では、膀胱の表面を覆う移行上皮に、単純過形成が 5 匹、巢状過形成が 1 匹、扁平上皮化生が 3 匹で観察された。

他の群では、単純過形成が対照群の 1 匹と 25 ppm 群の 2 匹にみられた。

### <鼻腔>

嗅上皮のエオジン好性変化は全投与群で程度の増強が認められた。一方、これらの投与群では鉾質沈着の発生匹数が減少した。

なお、呼吸上皮のエオジン好性変化と鼻腺の呼吸上皮化生の発生が 25 ppm 群で増加したが投与濃度との対応はなかった。

### <舌>

動脈炎の発生が投与濃度に対応して増加した。

### <脾臓>

線維症の発生が投与濃度に対応して増加した。

その他、肝臓の胆管過形成と膵臓の萎縮の発生に統計学的な有意差が示されたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

他の器官、組織には被験物質の暴露に関連した変化を認めなかった。

－雌－

＜腎臓＞

近位尿細管上皮細胞における核の増大と好酸滴の出現の発生増加を全投与群で認められた。

＜ハーダー腺＞

リンパ球浸潤の発生増加が 100 ppm 群で認められた。

なお、鼻涙管の炎症の発生が 100 ppm 群で減少していた。その他、鼻腔の鉤質沈着、嗅上皮と呼吸上皮のエオジン好性変化、脾臓の髄外造血、副腎の紫斑症様変化及び子宮の嚢胞状内膜過形成の発生に統計学的な有意差が示されたが、投与濃度に対応した変化ではなかった。

他の器官、組織には被験物質の暴露に関連した変化を認めなかった。

### Ⅲ－8－4 死因

病理学的にみた死亡／瀕死の原因を TABLE 14 に示した。

雄で生存率の低下がみられた 100 ppm 群の死因は、慢性腎症、白血病及び下垂体腫瘍が対照群に比べ、やや多かった。

慢性腎症は病理組織学的検査で示されたように、50 ppm 群から病変の程度が強くなっており、慢性腎症が死因となった動物は 50 ppm 群では認められなかったが、100 ppm 群では 6 匹に増加した。対照群で慢性腎症を死因としたものはなかった。また、100 ppm 群では白血病と下垂体腫瘍が死因となったものが、それぞれ 5 匹ずつ認められた。

雌では、特記すべき死因は認められなかった。

#### IV 考察及びまとめ

アリルクロリドのラットを用いた2年間の吸入試験（投与濃度：25 ppm、50 ppm、100 ppm）の結果、雌雄とも100 ppm群の動物に失調性歩行または麻痺性歩行がみられた。生存率は雄の100 ppm群で低下した。死因としては、慢性腎症、白血病及び下垂体腫瘍がやや多かった。体重は、雌雄各投与群ともに、投与期間を通して対照群と同じ値で推移し、最終計測時の体重減少は対照群に比べて4%以下であった。腫瘍の発生は、雄の膀胱、甲状腺、肺、皮膚、乳腺及び腹膜に発生増加が認められた。また、非腫瘍性病変の発生は、雄の腎臓、鼻腔、舌及び脾臓、雌の腎臓及びハーダー腺にみられた。

##### IV-1 腫瘍性及び腫瘍関連病変

雄の膀胱、甲状腺、肺、皮膚、乳腺及び腹膜に腫瘍の発生増加が認められた。雌には投与に関連した腫瘍の発生増加が認められなかった。

##### <膀胱腫瘍>

雄に移行上皮癌の発生増加がみられた。

移行上皮癌の発生（対照群：0.0%、25 ppm群：2.0%、50 ppm群：0.0%、100 ppm群：10.0%）は増加傾向を示し、発生率の増加が100 ppm群に認められた。移行上皮癌は当センターのヒストリカルコントロールデータ（1398匹）ではこれまで発生のみられていない稀な腫瘍である。従って、この移行上皮癌の発生増加は暴露によるものと考察される。移行上皮癌は悪性腫瘍に分類される腫瘍であり（文献9）、この腫瘍の増加はアリルクロリドの雄ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠と考えられる。

なお、良性腫瘍である移行上皮乳頭腫の発生には増加がみられなかった。しかし、100 ppmでは膀胱の移行上皮に過形成の発生が数例（単純過形成5匹、巣状過形成1匹）で観察された。これらの移行上皮の過形成は移行上皮由来の腫瘍の前腫瘍性病変と考えられている変化であり（文献10）、アリルクロリドの暴露による移行上皮癌の発生増加に関連した所見と推察される。

##### <甲状腺腫瘍>

雄に濾胞状腺腫の発生増加がみられた。

濾胞状腺腫の発生（対照群：2.0%、25 ppm群：4.0%、50 ppm群：4.0%、100 ppm群：8.2%）に増加傾向が認められた。また、100 ppm群の発生率は当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲（平均0.9%、試験単位の発生率は最小0%、最大4%）を越えていた。従って、雄の濾胞状腺腫の発生増加は暴露によるものと考察した。しかし、悪性腫瘍である濾胞状腺癌の発生は、各群とも当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲内であり、発生増加は示されなかった。濾胞状腺腫は良性腫瘍に分類される腫瘍で



あり（文献 11）、この腫瘍の増加はアリルクロリドの雄ラットに対するがん原性を示唆する証拠と考えられる。

#### <肺腫瘍>

雄に細気管支－肺胞上皮腺腫の発生増加がみられた。

細気管支－肺胞上皮腺腫の発生（対照群：10.0%、25 ppm 群：0.0%、50 ppm 群：8.0%、100 ppm 群：16.0%）に増加傾向が示された。各群の発生率を当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲（平均 3.1%、試験単位の発生率は最小 0%、最大 8%）と比較すると、100 ppm 群は上限を越える値であった。しかし、対照群の発生率も上限をやや越える値であり、投与群の細気管支－肺胞上皮腺腫の発生増加が暴露によるものとは断定できなかった。従って、雄にみられた細気管支－肺胞上皮腺腫の発生増加とアリルクロリドとの関連は不明確であると考えた。

#### <皮膚腫瘍>

雄に角化棘細胞腫の発生増加がみられた。

角化棘細胞腫の発生（対照群：2.0%、25 ppm 群：0.0%、50 ppm 群：4.0%、100 ppm 群：8.0%）に増加傾向が示された。しかし、投与群の発生率を当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲（平均 3.2%、試験単位の発生率は最小 0%、最大 8%）と比較すると、最も発生が多かった 100 ppm 群でもその発生率は上限に相当する値であり、投与群の角化棘細胞腫の発生増加が暴露によるものとは断定できなかった。従って、雄にみられた角化棘細胞腫の発生増加とアリルクロリドとの関連は不明確であると考えた。

#### <乳腺腫瘍>

雄に線維腺腫の発生増加がみられた。

線維腺腫の発生（対照群：0.0%、25 ppm 群：0.0%、50 ppm 群：6.0%、100 ppm 群：6.0%）に増加傾向が示された。しかし、投与群の発生率を当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲（平均 2.1%、試験単位の発生率は最小 0%、最大 6%）と比較すると、発生が多かった 50 ppm 以上の群でもその発生率は上限に相当する値であり、投与群の線維腺腫の発生増加が暴露によるものとは断定できなかった。従って、雄にみられた線維腺腫の発生増加とアリルクロリドとの関連は不明確であると考えた。

#### <腹膜腫瘍>

雄に中皮腫の発生増加がみられた。

中皮腫の発生（対照群：0.0%、25 ppm 群：2.0%、50 ppm 群：8.0%、100 ppm 群：8.0%）に増加傾向が示された。しかし、投与群の発生率を当センターのヒストリカルコントロールデータの範囲（平均 2.7%、試験単位の発生率は最小 0%、最大 8%）と比較すると、発生

が多かった 50 ppm 以上の群でもその発生率は上限に相当する値であり、投与群の中皮腫の発生増加が暴露によるものとは断定できなかった。従って、雄にみられた中皮腫の発生増加とアリルクロリドとの関連は不明確であると考えた。

以上のように、アリルクロリドの暴露によって、雄の膀胱に移行上皮癌の発生増加が認められ、この腫瘍の発生増加はアリルクロリドの雄ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠であると考察された。また、雄の甲状腺に濾胞状腺腫の発生増加がみられ、この腫瘍の発生増加はアリルクロリドの雄ラットに対するがん原性を示唆する証拠であると考察された。膀胱の移行上皮癌と甲状腺の濾胞状腺腫の発生増加が認められた濃度は 100 ppm であった。なお、肺の細気管支-肺胞上皮腺腫、皮膚の角化棘細胞腫、乳腺の線維腺腫及び腹膜の中皮腫に発生増加がみられたが、アリルクロリドとの関連は不明確であると考えた。

雌にはアリルクロリドの暴露によると考えられる腫瘍の発生増加が認められなかった。

#### IV-2 非腫瘍性病変

一般状態の観察で、雌雄とも 100 ppm 群において失調性歩行または麻痺性歩行がみられた。これらの歩行異常は、雄は投与 91 週以降、雌は 76 週以降にみられた。当センターで本試験と同時に実施したアリルクロリドのマウスを用いたがん原性試験においても、雌雄とも同様な失調性歩行と麻痺性歩行がみられている（文献 12）。しかし、本試験で実施した病理組織学的検査では、神経系の組織（脳、脊髄、坐骨神経）に歩行異常に対応した変化を検出できなかった。

病理組織学的検査では非腫瘍性病変として、雄の腎臓、鼻腔、舌及び脾臓、雌の腎臓及びハーダー腺に変化がみられた。

雄の腎臓には慢性腎症の程度の増強が 50 ppm 以上の群、腎盂に尿路上皮の過形成の増加が 100 ppm 群に認められた。雄では、生化学的検査で 50 ppm 以上の群で尿素窒素の増加、100 ppm 群でクレアチニン、カリウム、カルシウム、無機リンの増加及びクロールの減少がみられ、また、50 ppm 以上の群では尿蛋白の陽性度の増加がみられており、これらの変化は腎臓の病理組織学的変化に対応した変化と考えられた。雌の腎臓には近位尿細管の上皮細胞に核の増大と好酸滴の出現が全投与群で認められた。雄でも近位尿細管上皮細胞の核の増大が 50 ppm 以上の群、好酸滴の出現が全投与群にそれぞれ数例みられたが、雌に比較して発生数が少なかった。本試験の予備試験である 2 週間試験では、致死濃度の 1000 ppm で腎臓に雌雄とも近位尿細管の壊死、雄に近位尿細管上皮細胞の核の増大が観察されている（文献 13）。また、同じく予備試験である 13 週間試験では、雄の腎臓に好酸体の増加、近位尿細管上皮細胞の核の増大及び乳頭部の鉍質沈着、雌の腎臓に近位尿細管上皮細胞の核の増大と好酸滴の出現がみられ、腎臓への影響は雄の 50 ppm 以上、雌の 25 ppm 以上の

群で認められている（文献 6）。2 年間の本試験でも上記したように腎臓への影響が観察されたが、影響が認められた濃度は 13 週間試験とほぼ同様な濃度であった。

鼻腔には、嗅上皮のエオジン好性変化の程度の増強が雄の全投与群で認められた。2 週間試験では雌雄とも 1000 ppm の濃度で嗅上皮に壊死がみられている（文献 13）。また、13 週間試験では、雌雄とも嗅上皮のエオジン好性変化が 25 ppm 以上の群で観察されている（文献 6）。2 年間の本試験では、雄には 13 週間試験と同様に 25 ppm まで嗅上皮の変化がみられたが、雌には投与によると考えられる鼻腔の変化が認められなかった。

その他、雄の投与群には脾臓の線維症と舌の動脈炎の発生が投与濃度に対応して増加した。また、雌の 100 ppm 群にはハーダー腺のリンパ球浸潤の発生増加が認められた。

なお、13 週間試験では肺に気管支肺炎の発生が 200 ppm の濃度で発生していたが（文献 6）、2 年間の本試験では最高濃度の 100 ppm の濃度でも肺に炎症性の変化が認められなかった。

#### IV-3 他文献との比較等

① がん原性：アリルクロリドの吸入経路による長期実験は報告がみられなかったが、強制経口投与（78 週間投与）による長期実験が国立がん研究所（米国 NCI）で実施され、報告されている（文献 14）。

NCI では、Osborne-Mendel ラットの雄に 70 mg/kg/day、140mg/kg/day、雌に 55 mg/kg/day、110 mg/kg/day の投与量で、5 日/週の強制経口投与を行ったが、毒性影響が強く途中で濃度を下げて実験を継続している。最終的な投与量は時間加重平均で雄は 57 mg/kg/day、77 mg/kg/day、雌は 55 mg/kg/day、73 mg/kg/day であった。投与の結果、投与に関連した腫瘍発生率の増加はみられなかったと報告している。

本試験では、アリルクロリドの吸入暴露によって、雄の膀胱に移行上皮癌及び甲状腺に濾胞状腺腫の発生増加がみられた。しかし、雌にはアリルクロリドによると考えられる腫瘍の発生増加が認められなかった。

② げっ歯類甲状腺濾胞状腫瘍のリスクアセスメントへの適用：米国環境保護庁(US.EPA)による甲状腺の濾胞細胞腫瘍の評価（文献 15）は、1) げっ歯類に甲状腺腫瘍を発生させる化学物質は人の甲状腺に対してもがん原性があると考えられる、2) 特別なデータがない限り、人とげっ歯類の感受性は同等と考える（げっ歯類は人より感受性が高い。しかし、人でも子供は成人より感受性が高い可能性がある。両者を差し引きして、同等とした。）、3) 量－反応関係に高用量から zero 用量まで直線性があると仮定してリスク評価を行う、4) 甲状腺ホルモンの変化による非腫瘍性の障害についても人に起こりえると仮定する。本試験の結果は人の甲状腺に対してもアリルクロリドががん原性を示す可能性を示すものとする。しかし、甲状腺腫瘍の発生増加が認められた投与濃度は最高濃度の 100ppm で

あった。

③ 神経毒性:永野らは、ラットに 100 ppm のアリルクロリドを 34 週間吸入暴露すると、四肢の脱力（伸展した後肢を通常的位置に戻すことができない）、後肢開脚幅の延長、尾部の感覚神経及び運動神経の刺激電動速度の低下、神経活動電位の低下がみられ、また、ラットに 2 mol/kg/day の濃度で 3 ヶ月間皮下投与すると、開脚姿勢、尾部の感覚神経及び運動神経の刺激電動速度の低下、脊髄重量の減少がみられ、軸策ではニューロフィラメントの蓄積が示唆されたと報告している（文献 16、17）。本試験でみられた歩行異常もアリルクロリドの神経系への影響によるものと思われる。

④ 変異原性：日本バイオアッセイ研究センターで実施した委託研究（文献 18）によれば、アリルクロリドの微生物を用いる変異原性試験は、ネズミチフス菌の 4 菌株（TA98、TA 100、TA1535、TA1537）及び大腸菌 1 菌株（WP2uvrA/pKM101）を用いて、プレインキュベーション法で代謝活性化による場合及びよらない場合について実施された。その結果、TA 100、TA1535 では代謝活性化によらない場合においてのみ陽性を示し、WP2uvrA/pKM101 では代謝活性化の有無に係わらず両方の条件で陽性を示した。また、日本バイオアッセイ研究センターで実施した委託研究（文献 19）によれば、アリルクロリドのほ乳類培養細胞（CHL）を用いる染色体異常試験は、+S9 処理（S9 添加 6 時間処理）、-S9 処理（S9 無添加 6 時間処理）、24 時間処理（S9 無添加）、48 時間処理（S9 無添加）について実施された。その結果、全ての処理法で構造異常を有する細胞の出現頻度が 10%以上を示し、48 時間処理については倍数体を有する細胞の出現頻度も 10%以上を示しており、アリルクロリドの染色体異常（構造異常、数的異常）の誘発性は陽性であった。アリルクロリドは微生物（ネズミチフス菌及び大腸菌）及びほ乳類培養細胞で変異原性を示した。

⑤ 代謝：Kaye らは、雄ラットへのアリルクロリドの投与により尿からアリルメルカプツール酸、アリルメルカプツール酸のスルフォキシド体及び 3-ヒドロキシプロピルメルカプツール酸が検出され、また、胆汁中にはアリルグルタチオンと S-アリル-L-システインが検出されたと報告している（文献 20）。Rooij らは、アリルクロリドの腹腔内投与により尿中に主代謝物としてアリルメルカプツール酸（投与量の約 30%）が検出され、その他にも少量の 3-ヒドロキシプロピルメルカプツール酸が検出されたと報告している（文献 21）。

## V 結論

F344/DuCrj(Fischer) ラットを用いてアリルクロリドの吸入による2年間(104週間)のがん原性試験を行った結果、以下の結論を得た。

雄では、膀胱に移行上皮癌の発生増加が認められ、この腫瘍の発生増加はアリルクロリドの雄ラットに対するがん原性を示す明らかな証拠であると考察された。また、甲状腺に濾胞状腺腫の発生増加が認められ、この腫瘍の発生増加はアリルクロリドの雄ラットに対するがん原性を示唆する証拠であると考察された。なお、肺の細気管支-肺胞上皮腺腫、皮膚の角化棘細胞腫、乳腺の線維腺腫及び腹膜の中皮腫に発生増加がみられたが、アリルクロリドとの関連は不明確であると考えた。

雌には、アリルクロリドの暴露によると考えられる腫瘍の発生増加が認められなかった。

また、雌雄とも失調性歩行または麻痺性歩行が 100 ppm の暴露濃度でみられた。その他、雄では腎臓に慢性腎症の程度の増強、腎盂に尿路上皮の過形成の増加及び近位尿細管上皮細胞の核の増大と好酸滴の出現、鼻腔に嗅上皮のエオジン好性変化の程度の増強が認められた。雌には腎臓の近位尿細管上皮細胞に核の増大と好酸滴の出現が認められた。

## VI 試験の信頼性に影響を及ぼした事態及び試験計画書に従わなかったこと

試験計画書に規定されていた検査項目「臓器重量：胸腺」の測定を行わなかった。胸腺は加齢とともに退縮し、定期解剖時にはその重量を測定できなかった。これらの事態は、がん原性試験結果の評価に影響を及ぼすとは考えられない。

以上のことを含め、試験の信頼性に影響を及ぼす事態はなかった。



## VII 文献

1. National Library of Medicine (2003)  
Hazardous Substances Databank (HSDB) , (インターネット検索)  
NLM, Bethesda, MD
2. McLafferty, F. W. (1994)  
Wiley Registry of Mass Spectral Data (6<sup>th</sup> edition) , Entry Number 1989.  
John Wiley and Sons, Inc., New York, NY
3. 和光純薬工業からの提供資料 (1995)  
赤外吸収スペクトル
4. 労働省労働基準局長 (1997)  
がん原性試験による調査の基準について  
基発 第 144 号, 平成 9 年 3 月 11 日
5. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) (1981)  
OECD Guideline for Testing of Chemicals, 451, Carcinogenicity Studies.  
OECD, Paris
6. 日本バイオアッセイ研究センター (2000)  
アリルクロリドのラットを用いた吸入による 13 週間毒性試験報告書  
日本バイオアッセイ研究センター, 中央労働災害防止協会, 神奈川
7. 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
8. Peto,R., Pike,M.C., Day,N.E., Gray,R.G., Lee,P.N., Parish,S., Peto,J., Richards,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.
9. Mohr,U. (Editor) (1992)  
International Classification of Rodent Tumours. Part I : The Rat.  
3. Urinary System. IARC Scientific Publications No 122.  
International Agency for Research on Cancer, Lyon.
  10. Frith,C.H., Eighmy,J.J., Fukushima,S., Cohen,S.M., Squire,R.A. and Chandra,M.  
(1995)  
Proliferative lesions of the lower urinary tract in rats.  
In: Guides for Toxicologic Pathology. pp. 1-13, STP/ARP/AFIP, Washington, DC.
  11. Mohr,U. (Editor) (1994)  
International Classification of Rodent Tumours. Part I : The Rat.  
6. Endocrine System. IARC Scientific Publications No 122.  
International Agency for Research on Cancer, Lyon.
  12. 日本バイオアッセイ研究センター (2003)  
アリルクロリ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, 中央労働災害防止協会, 神奈川
  13. 日本バイオアッセイ研究センター (2000)  
アリルクロリドのラットを用いた吸入による 2 週間毒性試験報告書  
日本バイオアッセイ研究センター, 中央労働災害防止協会, 神奈川
  14. National Cancer Institute.  
Bioassay of Allyl Chloride for Possible Carcinogenicity, NCI-TR-073 (1978).  
U.S.Department of Health, Education, and Welfare. Bethesda, MD
  15. United States Environmental Protection Agency (US.EPA) (1998).  
Assessment of thyroid follicular tumors EPA/630/R-97/002, Washington,DC.

16. 永野恵, 等泰三, 二塚信 (1991).  
ラットにおける塩化アリルの神経毒性  
長期曝露における量・影響関係  
産業医学 (Jpn. J. Ind. Health) 33:73-80
  
17. Nagano,M., Yamamoto,H., Harada,K., Miyamoto,E. and Futatsuka,M.(1993).  
Comparative study of modification and degradation of neurofilament proteins  
in rats subchronically treated with allyl chloride, acrylamide, or  
2,5 - hexanedione.  
Environmental Research 63:229-240
  
18. 労働安全衛生に関する調査研究「既存化学物質に係る変異原性の評価に関する調査  
研究」, 平成 12 年度  
日本バイオアッセイ研究センター, 中央労働災害防止協会, 神奈川
  
19. 労働安全衛生に関する調査研究「既存化学物質に係る変異原性の評価に関する調査  
研究」, 平成 6 年度  
日本バイオアッセイ研究センター, 中央労働災害防止協会, 神奈川
  
20. Kaye,M., Clapp,J.J. and Young,L. (1972).  
The metabolic formation of mercapturic acids from allyl halides.  
Xenobiotica 2:129-139
  
21. De Rooij,B.M., Commandeur,J.N.M., Groot,E.J., Boogaard,P.J. and  
Vermeulen,N.P.E. (1983).  
Biotransformation of allyl chloride in the rat. Influence of inducers on  
the urinary metabolic profile.  
Drug Metabolism and Disposition 24: 765-772