

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

試験番号：0366

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

アリルクロリドのマウスを用いた吸入によるがん原性試験

試験目的

アリルクロリドをマウスに 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

アリルクロリドのマウスを用いた
吸入によるがん原性試験報告書

試験番号：0366

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	14
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	15
Ⅲ-8 病理学的検査	
Ⅲ-8-1 剖検	15
Ⅲ-8-2 臓器重量	15
Ⅲ-8-3 病理組織学的検査	16
Ⅲ-8-4 死因	18

Ⅳ 考察及びまとめ

Ⅳ-1 腫瘍性及び腫瘍関連病変	19
Ⅳ-2 非腫瘍性病変	21
Ⅳ-3 他文献との比較等	21

V	結論	23
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	24
VII	文献	25

要約

アリルクロリドのがん原性を検索する目的でマウス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Crj:BDF₁マウスを用い、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50 ppm、100 ppm、200 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、雌雄とも200 ppm群で低下し、特に、200 ppm群の雄は97週までに全動物が死亡した。病理学的にみた死因は尿閉が多かった。また、雄の全投与群、雌の100 ppm以上の群に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、雌雄ともハーダー腺の腺腫の発生増加が認められた。ハーダー腺の腺腫が有意な発生増加を示した濃度は、雌雄とも100 ppm以上であった。なお、肺の細気管支－肺胞上皮腺腫の発生増加が雌雄にみられたが、アリルクロリドとの関連は不明確であると考えた。

非腫瘍性病変としては、雄の鼻腔に嗅上皮のエオジン好性変化の発生増加が50 ppm群と100 ppm群に認められた。

以上のようにCrj:BDF₁マウス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、雌雄ともハーダー腺の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雌雄マウスに対するがん原性を示唆する証拠であると考察された。

また、雄の全投与群、雌の100 ppm以上の群に失調性歩行または麻痺性歩行がみられた。

アリルクロリドのがん原性試験における主な腫瘍発生（マウス：雄）

	投 与 濃 度 (ppm)		0	50	100	200	ペトー 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	ハーダー腺	腺腫	3	4	14*	8	↑↑	
	肺	細気管支 - 肺胞上皮腺腫	4	13*	11*	3	↑↑	
	脾臓	血管腫	3	1	1	0		
	肝臓	肝細胞腺腫	7	9	4	1		
悪性腫瘍	肺	細気管支 - 肺胞上皮癌	3	4	2	0		
	リンパ節	悪性リンパ腫	7	7	5	1		
	肝臓	肝細胞癌	6	6	4	1		
	肺	細気管支 - 肺胞上皮腺腫 /細気管支 - 肺胞上皮癌	7	17*	13	3	↑	

アリルクロリドのがん原性試験における主な腫瘍発生（マウス：雌）

	投 与 濃 度 (ppm)		0	50	100	200	ペトー 検 定	コ克蘭 アミテー ジ検定
	検 査 動 物 数		50	50	49	50		
良性腫瘍	ハーダー腺	腺腫	0	4	8**	9**	↑↑	↑↑
	肺	細気管支 - 肺胞上皮腺腫	0	3	6*	5*	↑↑	↑
	肝臓	肝細胞腺腫	2	2	3	0		
	下垂体	腺腫	8	5	2	1		
	卵巣	血管腫	3	2	0	2		
	子宮	内膜間質性ポリープ	4	1	0	1		
悪性腫瘍	肺	細気管支 - 肺胞上皮癌	1	1	1	0		
	リンパ節	悪性リンパ腫	17	19	17	16		
	脾臓	悪性リンパ腫	5	2	1	2		
	肝臓	肝細胞癌	3	1	0	1		
	子宮	組織球性肉腫	7	13	9	8		
	乳腺	腺癌	1	2	3	0		
	骨	骨肉種	0	3	0	0		
	肺	細気管支 - 肺胞上皮腺腫 /細気管支 - 肺胞上皮癌	1	4	7*	5	↑↑	

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

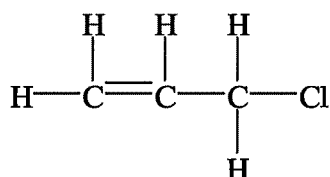
I-1-1 名称等

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 11 月 19 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 11 月 15 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 Crj:BDF₁ マウス (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からの理由から、Crj:BDF₁ マウスとした。

マウス雌雄各 227 匹を生後 4 週齢で導入し (導入時体重範囲、雄:14.6~19.5g、雌:13.5~17.5g)、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:21.1~24.3g、雌:17.6~20.7g) 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

50 ppm、100 ppm 及び 200 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0341）の結果（文献6）をもとに決定した。13週間試験は12.5 ppm、25 ppm、50 ppm、100 ppm 及び 200 ppm（公比2）の5段階の濃度で行った。その結果、投与群に動物の死亡はみられず、体重の変化もみられなかった。200 ppm群では、貧血の傾向と病理組織学的検査で前胃に過形成が認められた。前胃の変化は、その内容、程度からがん原性試験においても、動物の生存率に大きな影響を及ぼすものではないと考えられた。これらの結果より、200 ppm をがん原性試験の最高濃度とし、以下 100 ppm、50 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、清浄空気のバ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、清浄空気で希釈した。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（（平均値－設定濃度）／設定濃度×100%）は 0.2%以内、変動係数（標準偏差／平均値×100%）は 0.4%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 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	50 ppm 群	50 匹（1101-1150）	50 匹（2101-2150）
2	100 ppm 群	50 匹（1201-1250）	50 匹（2201-2250）
3	200 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（511 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 (511 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:22.7±0.2℃)	21±2℃ (21.8±0.4℃)	23±2℃	
湿度	55±15% (A:55±1%) (B:49±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 (511 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	単飼	—	単飼	単飼
ケージの材質・ 形状	ステンレス製 2 連網ケージ	—	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 1 匹当り (mm)	W112 D212 H120	—	W 95 D116 H120	W100 D116 H120

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(30KG γ -線照射滅菌飼料、LOT No. 980709, 980810, 980904, 981014, 981105, 981209, 990109, 990203, 990309, 990406, 990511, 990603, 990708, 990806, 991006, 991105, 991203, 000113, 000208, 000302, 000405, 000509, 000602, 000705, 000802, 000906)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（ウロラブ 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、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、 γ -GTP、CPK、

尿素窒素、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、卵巣、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、胆嚢、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)、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、小数点以下第 1 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、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 χ^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 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 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、直接死因に係わっていた腫瘍

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。なお、雌の 100 ppm 群の 1 匹（動物番号 0366-2231）は投与の 26 週目に事故により死亡したため、有効動物数から除いた。

最終計測週（104 週）における生存数（生存率）は、雄では対照群：35 匹(70.0%)、50 ppm 群：35 匹(70.0%)、100 ppm 群：33 匹(66.0%)、200 ppm 群：0 匹(0%)であった。雌では、対照群：27 匹(54.0%)、50 ppm 群：26 匹(52.0%)、100 ppm 群：25 匹(51.0%)、200 ppm 群：6 匹(12.0%)であった。

雄では、200 ppm 群が投与 97 週までに全動物が死亡し、生存率の低下がみられた。

雌でも対照群に比べ、200 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：4 匹、50 ppm 群：5 匹、100 ppm 群：9 匹、200 ppm 群：2 匹、雌では対照群：5 匹、50 ppm 群：12 匹、100 ppm 群：6 匹、200 ppm 群：8 匹であった。

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：12 匹、50 ppm 群：9 匹、100 ppm 群：7 匹、200 ppm 群：7 匹、雌では対照群：17 匹、50 ppm 群：13 匹、100 ppm 群：15 匹、200 ppm 群：9 匹であった。

外部腫瘍及び内部腫瘍の発生には、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、雌雄とも投与群では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 44 週以降、雌は 27 週以降にみられ、104 週までに失調性歩行は、雄では 100 ppm 群：2 匹、200 ppm 群：27 匹、雌では 100 ppm 群：4 匹、200 ppm 群：42 匹にみられた。麻痺性歩行は、雄では 50 ppm 群と 200 ppm 群：各 1 匹、雌では 100 ppm 群：1 匹、200 ppm 群：5 匹にみられた。また、汚染あるいは尿による外陰部の汚染が雌雄の 200 ppm 群で多くの例に、腹部の糜爛が雄の 100 ppm 以上の群で数例にみられた。

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。

雄は、200 ppm 群が投与 97 週までに全動物が死亡したが、対照群に比べ投与期間の後半、体重は低値となった。100 ppm 群は投与期間の終盤にやや低値であった。50 ppm 群は対照群と同様な値で推移した。

雌では、対照群に比べ 200 ppm 群は投与期間の後半、低値であった。また、100 ppm 群は投与期間の前半から、50 ppm 群は投与期間の後半、やや低値であった。

最終計測時 (104 週) の体重は、対照群に対して、雄では 50 ppm 群 : 97%、100 ppm 群 : 92%、雌では 50 ppm 群 : 95%、100 ppm 群 : 94%、200 ppm 群 : 87% 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。

対照群に比べ、投与期間の後半、雄の 200 ppm 群は低値、雌の 200 ppm 群はやや低値であった。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。(雄の 200 ppm 群は、全動物が途中死亡したためデータなし。)

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-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。(雄の 200 ppm 群は、全動物が途中死亡したためデータなし。)

雌では、100 ppm 以上の群でトリグリセライドの減少、200 ppm 群で総蛋白の減少及び尿素窒素の増加がみられた。

その他、雄の投与群で ALP、CPK、雌の投与群で GPT、CPK に変化がみられたが、いずれも低下性の変化で毒性学的意義は不明であった。また、雌の 50 ppm 群の尿素窒素の平均値が高値であったが、これは同群に値の高い動物が 2 匹おり、そのために平均値が高値となった。

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。(雄の 200 ppm 群は、投与 97 週までに全動物が途中死亡したためデータなし。)

雄の 100 ppm 群で pH 値の低下がみられた。

雌では、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-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 及び PHOTOGRAPH 1 に示した。

雄は、失調性歩行または麻痺性歩行がみられた 100 ppm 以上の群の死亡／瀕死動物の膀胱に多量の尿貯留が認められた。さらに、下腹部の皮膚には肥厚や糜爛がみられた。また、ハーダー腺に腫大や結節を認める動物が、100 ppm 以上の群に多くみられた(対照群 2 匹、50 ppm 群 4 匹、100 ppm 群 10 匹、200 ppm 群 9 匹)。なお、50 ppm 群は肺の結節の発生が他の群より多かったが、投与濃度との対応はみられなかった。

雌でも失調性歩行または麻痺性歩行がみられた 100 ppm 以上の群の死亡／瀕死動物の膀胱に多量の尿貯留が認められた。また、ハーダー腺に腫大や結節を認める動物が投与群に多くみられた(対照群 0 匹、50 ppm 群 3 匹、100 ppm 群 5 匹、200 ppm 群 6 匹)。

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。(雄の 200 ppm 群は、全動物が途中死亡したためデータなし。)

雄では、50 ppm 群と 100 ppm 群で肺と腎臓に体重比の高値がみられ、50 ppm 群の肺と腎臓の実重量も対照群より高値であったが、投与濃度との対応が不明確で、被験物質による影響については不明であった。

雌では、全投与群で肺の体重比の高値がみられ、各群の実重量も対照群よりやや高値であったが、投与濃度との対応が不明確であり、被験物質による影響については不明であった。また、100 ppm 以上の群に心臓の実重量の低値、200 ppm 群に脳の実重量の低値、腎臓の体重比の高値がみられたが、これらは両群の解剖時体重の低下によるものと思われた。

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 13,14 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 16, 17 に示した。さらに、観察された所見の代表例を PHOTOGRAPH 2, 3 に示した。

なお、雌の 100 ppm 群の 1 匹は事故により死亡したため、この群の検査動物数は 49 匹であった。

1. 腫瘍性病変

腫瘍の発生増加が雄雌ともハーダー腺と肺にみられた。

—雄—

<ハーダー腺>

腺腫の発生 (対照群: 6.0%、50 ppm 群: 8.0%、100 ppm 群: 28.0%、200 ppm 群: 16.0%) は Peto 検定 (有病率法) 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。また、100 ppm 以上の群における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。

<肺>

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: 8.0%、50 ppm 群: 26.0%、100 ppm 群: 22.0%、200 ppm 群: 6.0%) は Peto 検定 (有病率法) で増加傾向を示し、Fisher 検定で 50 ppm 群と 100 ppm 群に発生増加が認められた。また、50 ppm 群と 100 ppm 群における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。

これに対し、細気管支-肺胞上皮癌の発生 (対照群: 6.0%、50 ppm 群: 8.0%、100 ppm 群: 4.0%、200 ppm 群: 0.0%) は対照群と投与群の間に差がみられなかった。

細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生 (対照群: 14.0%、50 ppm 群: 34.0%、100 ppm 群: 26.0%、200 ppm 群: 6.0%) も Peto 検定 (有病率法、死亡率法+有病率法) で増加傾向を示し、Fisher 検定で 50 ppm 群に発生増加が認められた。しかし、最も発生率が高い 50 ppm 群の発生率でも当センターのヒストリカルコントロールデータの上限に相当する値であった。

なお、動物が早期に死亡した 200 ppm 群では、リンパ節の悪性リンパ腫、肝臓の肝細胞腺腫と肝細胞癌の発生、脾臓の血管腫と血管肉腫を合わせた発生、全臓器を合わせた血管腫と悪性リンパ腫の発生が減少していた。

－雌－

<ハーダー腺>

腺腫の発生（対照群：0.0%、50 ppm 群：8.0%、100 ppm 群：16.3%、200 ppm 群：18.0%）は Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 100 ppm 以上の群に発生増加が認められた。また、100 ppm 以上の群における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。

<肺>

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：0.0%、50 ppm 群：6.0%、100 ppm 群：12.2%、200 ppm 群：10.0%）は Peto 検定（有病率法）と Cochran-Armitage 検定で増加傾向を示し、Fisher 検定で 100 ppm 以上の群に発生増加が認められた。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 群は上限をやや越える値、200 ppm 群は上限に相当する値であった。

これに対し、細気管支－肺胞上皮癌の発生（対照群：2.0%、50 ppm 群：2.0%、100 ppm 群：2.0%、200 ppm 群：0.0%）は対照群と投与群の間に差がみられなかった。

細気管支－肺胞上皮腺腫と細気管支－肺胞上皮癌を合わせた発生（対照群：2.0%、50 ppm 群：8.0%、100 ppm 群：14.3%、200 ppm 群：10.0%）も Peto 検定（有病率法、死亡率法＋有病率法）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。しかし、最も発生率が高い 100 ppm 群の発生率でも当センターのヒストリカルコントロールデータの上限に相当する値であった。

なお、100 ppm 群及び動物が早期に死亡した 200 ppm 群では、下垂体の腺腫の発生が減少していた。

2. 非腫瘍性病変

腫瘍以外の病変の発生増加が雄の肺、鼻腔、皮膚、骨髄及び脾臓にみられた。

－雄－

<肺>

細気管支－肺胞上皮増生の発生増加が 100 ppm 群に認められた。

<鼻腔>

嗅上皮のエオジン好性変化の発生増加が 50 ppm 群と 100 ppm 群に認められた。

<皮膚>

剖検所見で 100 ppm 以上の群の動物にみられた下腹部皮膚の肥厚部位に炎症を認めた。

<骨髄>

顆粒球造血の亢進が 200 ppm 群で増加した。

<脾臓>

髄外造血の亢進が 200 ppm 群で増加した。

その他、ハーダー腺の過形成が 50 ppm 群と 100 ppm 群の各 3 匹、200 ppm 群の 1 匹にみられた。

なお、動物が早期に死亡した 200 ppm 群では、脾臓の濾胞過形成と肝臓の肉芽形成の発生が減少していた。その他、腎臓の皮質の鉍質沈着の発生が 50 ppm 群に有意差が示されたが、投与濃度との対応はなかった。

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—

発生増加が認められた所見はなかった。

ただし、腫瘍の発生増加がみられた肺とハーダー腺については、肺の細気管支—肺胞上皮増生が全投与群に各 1 匹、また、ハーダー腺の過形成が 100 ppm 群の 1 匹にみられた。

なお、動物が早期に死亡した 200 ppm 群では、鼻腔嗅上皮のエオジン好性変化、肝臓の肉芽形成、腎臓の乳頭部の鉍質沈着の発生が減少していた。

Ⅲ-8-4 死因

病理学的にみた死亡／瀕死の原因を TABLE 15 に示した。

投与群は、雌雄ともに尿閉による死亡が増加した。特に、200 ppm 群では、雄の死亡／瀕死動物 50 匹の内 42 匹、雌の死亡／瀕死動物 44 匹の内 17 匹の死因が尿閉であった。

IV 考察及びまとめ

アリルクロリドのマウスを用いた2年間の吸入試験（投与濃度：50 ppm、100 ppm、200 ppm）の結果、雄の全投与群、雌の100 ppm以上の群に失調性歩行または麻痺性歩行がみられた。生存率は、雌雄とも200 ppm群で低下し、特に200 ppm群の雄は97週までに全動物が死亡した。病理学的にみた死因は尿閉が多かった。雌雄各投与群の最終計測時の体重は、対照群に比べて、100 ppm以下の群では8%以下の減少、200 ppm群の雌では13%の減少を示した。腫瘍の発生は、雌雄ともハーダー腺の腺腫と肺の細気管支－肺胞上皮腺腫の発生増加が認められた。また、非腫瘍性病変については、雄に鼻腔の嗅上皮のエオジン好性変化の発生増加がみられた。

IV-1 腫瘍性及び腫瘍関連病変

雌雄ともハーダー腺と肺に腫瘍の発生増加が認められた。

<ハーダー腺腫瘍>

雌雄とも腺腫の発生増加がみられた。

雌雄とも腺腫の発生（雄：対照群；6.0%、50 ppm群；8.0%、100 ppm群；28.0%、200 ppm群；16.0%、雌：対照群；0.0%、50 ppm群；8.0%、100 ppm群；16.3%、200 ppm群；18.0%）は増加傾向を示し、発生率の増加が100 ppm以上の群に認められた。100 ppm以上の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（雄：平均4.3%、試験単位の発生率は最小0%、最大10%、雌：平均3.1%、試験単位の発生率は最小0%、最大12%）を越えていた。特に雌雄とも200 ppm群は動物が早期に死亡していたにも関わらず、ヒストリカルコントロールデータの範囲を越える発生増加が認められた。従って、雌雄とも腺腫の発生増加は暴露によるものと考察した。しかし、悪性腫瘍である腺癌の発生は各群とも認められなかった。

腺腫は良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雌雄マウスに対するがん原性を示唆する証拠と考えられる。

腺腫の前腫瘍性病変である過形成の発生については、雌雄とも投与群の少数の動物（雄：50 ppm群と100 ppm群；各3匹、200 ppm群；1匹、雌：100 ppm群；1匹）にのみ認められた。

なお、本試験の予備試験として行った2週間試験（最高濃度1000 ppm）と13週間試験（最高濃度200 ppm）では、ハーダー腺に暴露による影響は認められなかった（文献6, 10）。

<肺腫瘍>

雌雄とも細気管支－肺胞上皮腺腫の発生増加がみられた。

雄の細気管支－肺胞上皮腺腫の発生（対照群：8.0%、50 ppm群：26.0%、100 ppm群：

22.0%、200 ppm 群：6.0%）は増加傾向を示し、発生率の増加が 50 ppm 群と 100 ppm 群に認められた。50 ppm 群と 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における細気管支－肺胞上皮腺腫の範囲（平均 7.4%、試験単位の発生率は最小 2%、最大 18%）を越えていた。しかし、悪性腫瘍である細気管支－肺胞上皮癌の発生（対照群：6.0%、50 ppm 群：8.0%、100 ppm 群：4.0%、200 ppm 群：0.0%）は対照群と投与群の間に差がみられず、細気管支－肺胞上皮腺腫と細気管支－肺胞上皮癌を合わせた発生率は、最も発生率が高い 50 ppm 群（34.0%）でもヒストリカルコントロールデータ（平均 18.5%、試験単位の発生率は最小 2%、最大 34%）の上限に相当する値であった。

雌の細気管支－肺胞上皮腺腫の発生（対照群：0.0%、50 ppm 群：6.0%、100 ppm 群：12.2%、200 ppm 群：10.0%）も増加傾向を示し、発生率の増加が 100 ppm 以上の群に認められた。しかし、100 ppm 以上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（平均 3.9%、試験単位の発生率は最小 0%、最大 10%）と比較すると、100 ppm 群は上限をやや越える値、200 ppm 群は上限に相当する値であった。また、悪性腫瘍である細気管支－肺胞上皮癌の発生（対照群：2.0%、50 ppm 群：2.0%、100 ppm 群：2.0%、200 ppm 群：0.0%）は対照群と投与群の間に差がみられず、細気管支－肺胞上皮腺腫と細気管支－肺胞上皮癌を合わせた発生率は、最も発生率が高い 100 ppm 群（14.3%）でもヒストリカルコントロールデータ（平均 6.8%、試験単位の発生率は最小 0%、最大 14%）の上限に相当する値であった。

細気管支－肺胞上皮の前腫瘍性病変である細気管支－肺胞上皮増生については、雄の 100 ppm 群に発生増加が認められた。雌では各投与群にそれぞれ 1 匹みられただけであった。

以上のように、細気管支－肺胞上皮腺腫は雌雄とも投与群に増加傾向がみられ、雄の 50 ppm 群と 100 ppm 群の発生率はヒストリカルコントロールデータの範囲を越えており、また、雄の 100 ppm 群に前腫瘍性病変の発生増加がみられることから、細気管支－肺胞上皮腺腫の発生増加は暴露による影響である可能性を否定できないと考える。しかし、細気管支－肺胞上皮腺腫にその悪性化した腫瘍である細気管支－肺胞上皮癌を加えた発生は、雌雄ともヒストリカルコントロールデータの上限に相当する値にとどまっていた。従って、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。

以上のように、アリルクロリドの暴露によって、雌雄ともハーダー腺の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雌雄マウスに対するがん原性を示唆する証拠であると考察された。ハーダー腺の腺腫が有意な発生増加を示した濃度は、雌雄とも 100 ppm 以上であった。

なお、肺の細気管支－肺胞上皮腺腫の発生増加が雌雄にみられたが、アリルクロリドとの関連は不明確であると考えた。

IV-2 非腫瘍性病変

一般状態の観察で、雄の全投与群、雌の 100 ppm 以上の群に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 44 週以降、雌は 27 週以降にみられ、特に 200 ppm 群に多くみられた。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ラット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 11）。また、歩行異常がみられた 100 ppm 以上の群の動物には、汚染あるいは尿による外陰部の汚染及び腹部の糜爛がみられ、多くの動物は尿閉により死亡した。剖検観察時には雌雄とも膀胱に多量の尿貯留が認められ、雄の下腹部の皮膚には肥厚や糜爛がみられた。この下腹部の皮膚には病理組織学的検査では炎症が認められた。また、雄の 200 ppm 群では、炎症に伴う変化として骨髓での顆粒球造血の亢進と脾臓の髄外造血の亢進が観察された。しかし、神経系の組織（脳、脊髄、坐骨神経）には、歩行異常に対応した病理組織学的変化を検出できなかった。

その他、雄の鼻腔に嗅上皮のエオジン好性変化の発生増加が 50 ppm 群と 100 ppm 群に認められた。本試験の予備試験である 2 週間試験では、500 ppm の暴露により嗅上皮に壊死がみられており（文献 10）、アリルクロリドの暴露が鼻腔の嗅上皮に影響を与えることを示す所見と考えられる。

2 週間試験では、腎臓に近位尿細管の壊死や精巣に精原細胞壊死がみられ（文献 10）、同じく予備試験である 13 週間試験では、前胃の過形成、脾臓のヘモジデリン沈着及び鼻腔の呼吸上皮や鼻咽頭のエオジン好性変化の増加が観察されていた（文献 6）。しかし、2 年間の本試験では、腎臓への影響を示唆する所見として、臓器重量で体重比の増加が雄の 50 ppm 以上の群と雌の 200 ppm 群、血液生化学的検査で尿素窒素の増加が雌の 200 ppm 群に認められたが、病理組織学的検査では、腎臓を含め、上記の臓器や組織にアリルクロリドの暴露による影響を示す所見は認められなかった。

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、経皮投与、腹腔内投与等によるがん原性試験が報告されている。国立がん研究所（米国 NCI）によれば、B6C3F1 マウスの雄に時間加重平均で 172、199 mg/kg/day、雌には同じく 129、258 mg/kg/day の用量のアリルクロリドを 5 日/週、78 週間（雄の高用量群は 48 週目で生存動物数が 10 匹となったため 56 週目で生存例を屠殺）強制経口投与した結果、雌雄の低用量群に前胃の扁平上皮癌がみられ、雌は前胃の乳頭腫が増加した。しかし、これら前胃の腫瘍には統計学的な有意差は示されなかったと報告している（文献 12）。Van Duuren らは、1 群 30 匹の Ha:ICR Swiss 雌マウスに、アリルクロリドを 1 匹あたり 31、94 mg の用量で 3 回/週、440-594 日間塗布した実験と、1 匹あたり 94 mg

のアリルクロリドを単回塗布した後、プロモーターのPMA (phorbol myristate acetate) 5 μ g を3回/週、生涯塗布した実験を行い、アリルクロリド単独投与では投与に関連した腫瘍の発生率の増加はみられなかったが、2段階試験では皮膚乳頭腫の発生率が有意に増加したと報告している(文献13)。Theissらは、アリルクロリドをAマウスの雌雄に50、122、245 mg/kg/dayの用量で3回/週、8週間腹腔内投与した結果、245 mg/kg/day群(雌雄合計)で肺腺腫の1匹当たり平均個数が有意に増加したと報告している(文献14)。本試験では、アリルクロリドの吸入暴露によって、雌雄ともハーダー腺の腺腫の発生増加が認められたが、悪性腫瘍の発生増加はみられず、本試験においてもアリルクロリドのマウスに対するがん原性を示す明らかな証拠は認められなかった。

② 神経毒性：アリルクロリドのマウスを用いた実験では、経口投与により末梢-中枢性の神経障害が惹起されることが明らかにされている。Heらは、マウスに300または500 mg/kgの用量のアリルクロリドを3回/週で2~17週間強制経口投与すると、500 mg/kg投与群で約1ヶ月後に後肢の脱力が認められ、病理組織学的検査では末梢神経の神経線維、神経根、脊髄の神経線維の変性が認められ、これらの変性は知覚神経よりも運動神経において著明であったと報告している(文献15、16)。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。

③ 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17)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、TA100、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、TA100、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18)によれば、アリルクロリドのは乳類培養細胞(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)及びは乳類培養細胞で変異原性を示した。

V 結論

Crl:BDF₁ マウス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。

雌雄ともハーダー腺の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雌雄マウス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、雌雄とも肺の細気管支－肺胞上皮腺腫の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。

また、雌雄とも投与群に失調性歩行または麻痺性歩行がみられた。その他、雄の鼻腔に嗅上皮のエオジン好性変化の発生増加が認められた。

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定期解剖日は、2000 年 11 月 16、17、20、21、22 日の 5 日間であったが、投与期間内の死亡、瀕死動物が多く、定期解剖動物が少なかったため、定期解剖を 2000 年 11 月 16、17、20 日の 3 日間に短縮して行った。

また、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 (6th 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)
アリルクロリドのマウス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. Krinke,G.,Fix,A.,Jacobs,M.,Render,J. and Weisse,I. (2001)
Eye and Harderian gland. In: International Classification of Rodent Tumors. The
Mouse. (Editor: Mohr,U.) pp.347-359,
International Agency for Research on Cancer, Springer, Berlin.
 10. 日本バイオアッセイ研究センター (2000)
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
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
 11. 日本バイオアッセイ研究センター (2003)
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
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
 12. National Cancer Institute.
Bioassay of Allyl Chloride for Possible Carcinogenicity, NCI-TR-073 (1978).
U.S.Department of Health, Education, and Welfare. Bethesda, MD
 13. Van Duuren,B.L., Goldschmidt,B.M., Loewengart,G., Smith,A.C., Melchionne,S.,
Seidman,I. and Roth,D. (1979).
Carcinogenicity of halogenated olefinic and aliphatic hydrocarbons in mice.
J.Natl. Cancer Inst. 63:1433-1439
 14. Theiss,J.C., Shimkin,M.B. and Poirier,L.A. (1979).
Induction of pulmonary adenomas in strain A mice by substituted
organohalides.
Cancer Research 39:391-395.
 15. He,F., Lu,B., Zhang,S., Dong,S., Yu,A. and Wang,B. (1985)
Chronic allyl chloride poisoning. An epidemiology, clinical, toxicological and
neuropathological study.
G. Ital. Med. Lav. 7: 5-15

16. He,F., Jacob,J.M. and Scaravilli, F. (1981)
The pathology of allyl chloride neurotoxicity in mice.
Acta. Neuropathol. (Berlin) 55:125-133
17. 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
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 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