

アリルアルコールの rasH2 マウスを用いた
吸入による中期発がん性試験報告書

試験番号：0926

CAS No. 107-18-6

2021年 6月 16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
試験目的
試験法
GLP 対応
拡散防止措置及び動物福祉
厚生労働省担当課
試験施設及び運営管理者
試験日程
試験関係者一覧
試資料の保管
試験責任者（最終報告書作成者）の署名、捺印及び日付
陳述書
信頼性保証証明書
本文
TABLES	A 1 ~ Q 2
FIGURES	1 ~ 7
PHOTOGRAPHS	1 ~ 10
APPENDICES	1-1 ~ 14-2

（ APPENDIX 4-1 ~ 14-2（個体表）は、報告書添付の CD に収録）

標題

アリルアルコールの rasH2 マウスを用いた吸入による中期発がん性試験

試験目的

アリルアルコールを遺伝子改変マウス (rasH2 マウス) に 26 週間全身暴露 (経気道投与) し、その発がん性を検索した。本試験は、厚生労働省からの交付金事業として実施した。

試験法

本試験は「遺伝子改変動物を用いたがん原性試験による調査の基準」(平成 28 年度第 3 回発がん性評価ワーキンググループ:2017 年 3 月 1 日厚生労働省)に準拠して実施した。

GLP 対応

本試験は、「労働安全衛生規則第 34 条の 3 第 2 項の規定に基づき試験施設等が具備すべき基準 (安衛法 GLP)」(昭和 63 年 9 月 1 日労働省告示第 76 号、最終改正 平成 28 年 4 月 18 日厚生労働省告示第 208 号)に準拠し、OECD GLP(1997 年 11 月 26 日採択)を参考にして実施した。

拡散防止措置及び動物福祉

本試験は、「日本バイオアッセイ研究センターにおける遺伝子組換え生物使用実験安全管理規程」(平成 26 年 9 月 3 日制定、最終改正平成 28 年 4 月 1 日)及び「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)、「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)を遵守した。

また、本試験は、日本バイオアッセイ研究センターの遺伝子組換え生物使用実験安全委員会 (承認番号 2019-01) 及び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 0246)。

厚生労働省担当課

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 rasH2 マウスを用いた
吸入による中期発がん性試験報告書

試験番号：0926

本文

本文目次

	頁
要約	1
試験材料	3
-1 被験物質の性状等	3
-1-1 名称等	3
-1-2 構造式及び分子量	3
-1-3 物理化学的性状等	3
-2 使用被験物質等	3
-2-1 使用被験物質	3
-2-2 被験物質の製造量等	3
-2-3 被験物質の主な用途	4
-2-4 許容濃度等	4
-3 被験物質の特性	4
-3-1 同一性	4
-3-2 安定性	4
-4 試験動物	5
試験方法	5
-1 投与	5
-1-1 投与経路	5
-1-2 被験物質の投与方法	5
-1-3 投与期間	5
-1-4 投与濃度	5
-1-5 投与経路、投与期間及び投与濃度の設定理由	5
-1-6 被験物質の発生方法と濃度調整	6
-1-7 被験物質濃度の測定	7
-2 動物管理	7
-2-1 群の構成及び各群の使用動物数	7
-2-2 群分け方法、個体識別方法、動物飼育室、他試験及び 異種動物との区別	7
-2-3 飼育条件	8

(1) 飼育環境	8
(2) 飼料	8
(3) 飲水	9
－3 観察・検査項目及び方法	9
－3－1 動物の生死及び一般状態の観察	9
－3－2 体重測定	9
－3－3 摂餌量測定	9
－3－4 尿検査	9
－3－5 血液学的検査	9
－3－6 血液生化学的検査	10
－3－7 病理学的検査	10
(1) 肉眼的観察	10
(2) 臓器重量	10
(3) 病理組織学的検査	10
－3－8 病理ピアレビュー	10
－4 数値処理と統計方法	11
－4－1 数値の取扱いと表示	11
－4－2 統計処理	11
試験成績	12
－1 生死状況	12
－2 一般状態	12
－3 体重	12
－4 摂餌量	13
－5 尿検査	13
－6 血液学的検査	13
－7 血液生化学的検査	14
－8 病理学的検査	14
－8－1 肉眼的観察	14
－8－2 臓器重量	14
－8－3 病理組織学的検査	15
－8－4 死因	17

考察及びまとめ	18
-1 生存率、一般状態、体重、摂餌量	18
-2 腫瘍性病変及び腫瘍関連病変	18
-3 その他の影響	19
結論	20
文献	21
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	23

要 約

アリルアルコールの発がん性を検索する目的で、遺伝子改変マウス (**rasH2** マウス) を用いた 26 週間全身暴露 (経気道投与) による中期発がん性試験を行った。

対照群 1 群、被験物質投与群 3 群の計 4 群 (各群雌雄 25 匹) を設け、投与濃度は、雌雄とも 0 (対照群)、0.15、0.5 及び 1.5 ppm (体積比 v/v) (1.5 ppm 群は投与開始から 3 回目まで投与濃度 1 ppm) とした。投与は 1 日 6 時間、1 週 5 日間の全身暴露による経気道投与で 26 週間 (27 週目-4 日まで) 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、尿検査、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。

動物の最終生存率及び一般状態に、投与による影響は雌雄とも認められなかった。体重及び摂餌量は、雄の 1.5 ppm 群で投与期間を通して、雌でも投与期間の多くの週で有意な低値がみられた。なお、最終計測日の 1.5 ppm 群の体重は、対照群に対して雄 83 %、雌 93 % であった。

腫瘍性病変及び腫瘍関連病変として、雄では 0.5 ppm 群の肺に細気管支-肺胞上皮癌及び細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生が有意な増加を示し、当センターで過去に実施した試験の対照群の発生 (ヒストリカルコントロールデータ) の範囲を超えた。また、有意差を示さないが 0.15 ppm 群と 0.5 ppm 群の細気管支-肺胞上皮腺腫の発生もヒストリカルコントロールデータの範囲を大きく超えた。さらに、0.5 ppm 群の肝細胞腺腫の発生は有意差を示さないもののヒストリカルコントロールデータの範囲を超えた。これらの結果から、雄 **rasH2** マウスの肺及び肝臓における腫瘍の発生増加は発がん性を示す明らかな証拠と判断した。なお、鼻腔では腫瘍の発生は認められなかったが、前腫瘍性病変と考えられる移行上皮過形成が、0.5 ppm 群と 1.5 ppm 群で全匹に認められた。

雌では、有意差を示さないものの 0.5 ppm 群の肺にみられた細気管支-肺胞上皮腺腫の発生は、ヒストリカルコントロールデータの範囲を超えた。また、鼻腔では、1.5 ppm 群にヒストリカルコントロールデータに発生がない極めて稀な腫瘍である乳頭腫が 1 匹発生し、鼻腔乳頭腫の前腫瘍性病変である移行上皮過形成が 0.5 ppm 群と 1.5 ppm 群で高率に発生した。これらの結果から、雌の **rasH2** マウスの肺の細気管支-肺胞上皮腺腫の発生及び鼻腔の乳頭腫の発生は発がん性を示す不確実な証拠と判断した。

非腫瘍性病変は鼻腔に認められ、前述した移行上皮の過形成のほかに、雌雄で嗅上皮の呼吸上皮化生 (1.5 ppm 群)、雄で嗅上皮の萎縮 (1.5 ppm 群) が増加した。さらに、雌では嗅上皮の萎縮 (0.5 ppm 及び 1.5 ppm 群) と滲出液 (1.5 ppm 群) を少数例に認めた。

以上より、遺伝子改変マウス (**rasH2** マウス) を用いたアリルアルコールの 26 週間の吸入による中期発がん性試験を行った結果、雄マウスに対する発がん性を示す明らかな証拠 (clear evidence of carcinogenic activity) と雌マウスに対する発がん性を示す不確実な証拠 (equivocal evidence of carcinogenic activity) が得られたと結論した。

アリルアルコールの中期発がん性試験における腫瘍発生 (rasH2 マウス 雄)

投与濃度 (ppm)		0	0.15	0.5	1.5	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
検査動物数		25	25	25	25		
肺	細気管支-肺胞上皮腺腫(A)	2	6	6	3		
	細気管支-肺胞上皮癌 [#] (B)	0	1	5 *	0		
	A+B	2	7	9 *	3		
肝臓	肝細胞腺腫	1	0	5	1		
ハート腺	腺腫	0	1	0	0		
リンパ節	悪性リンパ腫 [#]	0	0	0	1		
脾臓	血管腫	2	1	0	0		
	血管肉腫 [#]	0	1	0	0		
肺	血管腫	1	0	0	0		
唾液腺	血管腫	1	0	0	0		
筋肉	血管腫	1	0	0	0		
胸膜	血管肉腫 [#]	1	0	0	0		

アリルアルコールの中期発がん性試験における腫瘍発生 (rasH2 マウス 雌)

投与濃度 (ppm)		0	0.15	0.5	1.5	Peto 検定	Cochran- Armitage 検定
検査動物数		25	25	25	25		
皮膚/付属器	扁平上皮乳頭腫	0	1	0	1		
鼻腔	乳頭腫	0	0	0	1		
肺	細気管支-肺胞上皮腺腫(A)	1	0	4	1		
	細気管支-肺胞上皮癌 [#] (B)	1	0	1	2		
	A+B	2	0	5	3		
胃	扁平上皮乳頭腫	1	1	0	1		
ハート腺	腺腫	1	1	2	0		
脾臓	血管腫	3	3	3	0		
	血管肉腫 [#]	1	0	0	0		
肝臓	血管腫	1	0	0	0		
筋肉	血管腫	0	0	0	1		
胸膜	血管肉腫 [#]	0	1	0	0		
子宮	子宮内膜間質性肉腫 [#]	1	0	0	0		

上段：上皮系腫瘍 下段：非上皮系腫瘍

#：悪性腫瘍

*：p 0.05 で有意

**：p 0.01 で有意

(Fisher 検定)

↑：p 0.05 で有意増加

↑↑：p 0.01 で有意増加

(Peto, Cochran-Armitage 検定)

↓：p 0.05 で有意減少

↓↓：p 0.01 で有意減少

(Cochran-Armitage 検定)

試験材料

-1 被験物質の性状等

-1-1 名称等

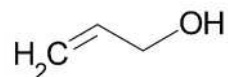
名 称 : アリルアルコール (Allyl alcohol)

別 名 : 2-プロペン-1-オール

CAS No. : 107-18-6

-1-2 構造式及び分子量 (文献 1、2)

構 造 式 :

分 子 式 : C_3H_6O

分 子 量 : 58.08

-1-3 物理化学的性状等 (文献 1、2)

性 状 : 無色の液体

比 重 : 0.8520 (4/20)

沸 点 : 96.9

蒸 気 圧 : 17.3 mmHg (20)

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

-2 使用被験物質等

-2-1 使用被験物質

製 造 元 : 富士フイルム和光純薬 (株)

規 格 : 和光特級

純 度 : 100.0% (富士フイルム和光純薬(株)検査成績データ)

ロット番号 : KCP6460

-2-2 被験物質の製造量等

経済産業省の「一般化学物質等の製造・輸入数量」においては、製造輸入業者が2社以下であるため届け出はあるものの非公表とされている (文献 3)。また、経済産業省、環境省による「令和元年度 PRTR データの概要－化学物質の排出量・移動量の集計結果－」にお

いては、大気への排出量が **1,876 kg/年**、主に産業廃棄物としての移動量が **23,338 kg/年**とされている（文献 4）。

－2－3 被験物質の主な用途

アリルグリシジルエーテル・エピクロロヒドリン合成原料、ジアリルフタレート樹脂合成原料、医薬品・香料・難燃化剤合成原料（文献 5）

－2－4 許容濃度等

管理濃度：未設定

日本産業衛生学会：許容濃度 **1 ppm (2.4 mg/m³)**（文献 6）

米国産業衛生専門家会議 (ACGIH)：**0.5 ppm (1.2 mg/m³) TWA**

発がん性分類 **A4 (Not Classifiable as a Human Carcinogen)**（文献 7）

国際がん研究機関 (IARC)：未設定

ドイツ科学振興協会 (DFG) **MAK Value**：発がん性分類 **Category 3**（文献 8, 9）

－3 被験物質の特性

－3－1 同一性

被験物質の同一性は、被験物質のマススペクトルを質量分析計(アジレントテクノロジー(株) **5973N**)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、被験物質のマススペクトルは文献値（文献 10）と同じ分子イオンピーク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。

－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(株) **7890A**)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。

－4 試験動物

動物は、日本クレア（株）（富士生育場）の CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic(tg/wt) マウス（**rasH2** マウス）の雌雄を使用した。

雌雄各 **103** 匹を **6** 週齢で導入し、検疫は導入日を含む **7** 日間、検疫終了後動物を吸入試験室に設置されている吸入チャンバー内に移動し、馴化を **7** 日間実施した。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 **100** 匹（群分け時体重範囲、雄：**22.4**～**28.2 g**、雌：**17.9**～**23.3 g**）を試験に用いた。

遺伝子改変動物を用いる中期発がん性試験に **rasH2** マウスを選択した理由は、中期発がん性試験としての有用性が検証されていることによる（文献 **11**）。

試験方法

－1 投与

－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。

－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。

－1－3 投与期間

全動物において、投与期間は **1** 日 **6** 時間、**1** 週 **5** 日の暴露（土、日曜日は暴露なし）で、**2019** 年 **5** 月 **24** 日～**2019** 年 **11** 月 **25** 日までの **26** 週間（最終投与は **27** 週-**4** 日）とした。

－1－4 投与濃度

投与濃度は、**0.15**、**0.5** 及び **1.5 ppm**（体積比 v/v）の **3** 段階に設定した。なお、**1.5 ppm** 群に関しては、アリルアルコールの刺激に動物を馴化させるため、投与開始から **3** 日間（**3** 回暴露）は **1 ppm** とし、**4** 日目（**4** 回目暴露）から設定濃度である **1.5 ppm** を投与した。なお、対照群は清浄空気による換気のみとした。

－1－5 投与経路、投与期間及び投与濃度の設定理由

アリルアルコールは、平成 **27** 年度第 **4** 回有害性評価小検討会（**2015** 年 **12** 月 **24** 日）及び平成 **27** 年度第 **2** 回化学物質のリスク評価検討会（**2016** 年 **2** 月 **19** 日）において吸入による長期発がん性試験の対象物質として選定された。

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。

投与期間は、「遺伝子改変動物を用いたがん原性試験による調査の基準」に準拠して 26 週間とした（文献 12）。

投与時間は OECD 化学品テストガイドライン 451（文献 13）を参考に 1 日 6 時間とした。

投与濃度は、雌雄の *rasH2* マウス（non-Tg）を用いた 6 週間の反復投与毒性試験（試験番号 0903、文献 14）結果をもとに決定した。アリルアルコールを 6 週間、0（対照群）、1、2、4 及び 8 ppm（体積比 v/v）の濃度（2 ppm 以上の群は、アリルアルコールの刺激に馴化させるために、それぞれの設定濃度まで段階的に投与濃度を上げた）で暴露した結果、動物の死亡は認められず、一般状態の変化も観察されなかった。2 ppm 以上の群で対照群に比べて体重増加の抑制、あるいは体重の低下がみられ、雌雄の 8 ppm 群では最終体重が群分け時体重よりも低下していた。4 ppm 群でも雄の体重はほとんど増加していなかった。最終体重は、雄で 1 ppm 群：95 %、2 ppm 群：88 %、4 ppm 群：82 %、8 ppm 群：81 %、雌では、1 ppm 群：100 %、2 ppm 群：93 %、4 ppm 群：89 %、8 ppm 群：84 %であった。摂餌量でも 2 ppm 以上の群で対照群に比べて低値であった。臓器重量では体重増加の抑制が原因と思われる変化が実重量、体重比ともにみられ、胸腺には刺激によるストレスと思われる変化があった。尿検査では差はみられなかった。血液学的検査、血液生化学的検査には多くのパラメータで変化がみられたが、対応する病理組織所見は認められず、毒性学的意義は不明であった。病理組織学的検索では、雌雄の鼻腔に投与による影響（呼吸上皮領域の炎症、呼吸上皮の壊死、再生と扁平上皮化生及び嗅上皮の壊死）がみられたが、これらの変化は動物の生存に影響する変化ではなかった。

以上の結果から、2 ppm 以上の濃度では中期発がん性試験で投与期間を延長した場合、摂餌量の低値からみても体重増加の抑制がさらに強くなる可能性が高いと思われた。一方、1 ppm 群では体重の抑制がわずかであった。したがって、体重の結果を基準に 2 ppm と 1 ppm の間の 1.5 ppm を最高濃度とし、以下、0.5、0.15 ppm を設定した。

－1－6 被験物質の発生方法と濃度調整

アリルアルコールの発生方法と吸入試験暴露システムを FIGURE 1 に示す。

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、清浄空気のバ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。

－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-2014A）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（（平均値－設定濃度）／設定濃度×100）が 2 %以内、変動係数（標準偏差／平均値×100）が 2 %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。

－2 動物管理

－2－1 群の構成及び各群の使用動物数

対照群 1 群、被験物質投与群 3 群の計 4 群を設け、1 群当たり雌雄各 25 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 使用動物数(動物番号)	雌 使用動物数(動物番号)
0	対照群	25 匹 (1001 ~ 1025)	25 匹 (2001 ~ 2025)
1	0.15 ppm 群	25 匹 (1101 ~ 1125)	25 匹 (2101 ~ 2125)
2	0.5 ppm 群	25 匹 (1201 ~ 1225)	25 匹 (2201 ~ 2225)
3	1.5 ppm 群	25 匹 (1301 ~ 1325)	25 匹 (2301 ~ 2325)

－2－2 群分け方法、個体識別方法、動物飼育室、他試験及び異種動物との区別

供試動物の各群への割り当ては、一般状態及び体重の推移に異常を認めなかった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 15）。

動物の個体識別は、検疫期間及び馴化期間では尾に油性マーカによる色素塗布、投与期間では耳パンチにより行った。また、ケージには個体識別番号を記したラベルを付した。

なお、動物はバリア区域内の独立した室（検疫室：517・518 室、吸入試験室：503 室）に収容し、室の扉に試験番号、試験動物、飼育期間及び遺伝子改変動物飼育中を表示し、他試験及び異種動物と区別した。

－2－3 飼育条件

(1) 飼育環境

検疫期間中は検疫室(517・518室)、馴化期間及び投与期間中は、吸入試験室(503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、並びに使用したケージ等を以下に示した。検疫室の温湿度及び吸入試験室の温度は実測値(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 ± 2	
							< 517室: 23.3 ± 0.3 、 518室: 22.7 ± 0.1 >	
			吸	入	試	験	室	;
							21 ± 3 < 503室: 22.1 ± 0.4 >	
			吸	入	チ	ャ	ン	バ
			ー	内	;		23 ± 2	
湿	度	:	検	疫	室	;	$55 \pm 15 \%$	
							< 517室: $54 \pm 1 \%$ 、 518室: $53 \pm 1 \%$ >	
			吸	入	チ	ャ	ン	バ
			ー	内	;		$50 \pm 20 \%$	
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	:	検	疫	室	;
							$15 \sim 17$	回
							/	時
							吸	入
							試	験
							室	;
							$7 \sim 9$	回
							/	時
							吸	入
							チ	ャ
							ン	バ
							ー	内
							;	12 ± 1
							回	/
							時	
圧	力	:	吸	入	チ	ャ	ン	バ
			ー	内	;		$0 \sim -15 \times 10$	Pa
ケ	ー	ジ	へ	の	動	物	の	収
			容	方	法	:	個	別
			飼	育				
ケ	ー	ジ	の	材	質	・	形	状
			・	寸	法	等	:	
							検	疫
							期	間
							;	ス
							テ	ン
							レ	ス
							製	2
							連	網
							ケ	ー
							ジ	(
							112(W)	×
							212(D)	×
							120(H)	mm/匹)
							馴	化
							・	投
							与	期
							間	;
							ス	テ
							ン	レ
							ス	製
							5	連
							網	ケ
							ー	ジ
							(100(W)
							×	116(D)
							×	120(H)
							mm/匹)	
飼	育	器	材	(ラ	ッ	ク	、
							ケ	ー
							ジ	、
							餌	箱
							、	給
							水	ノ
							ズ	ル
							、	作
							業	台
							車	等)
							の	滅
							菌	:
							オ	ー
							ト	ク
							レ	ー
							ブ	滅
							菌	(
							約	120
							、	15
							分	以
							上)	

(2) 飼料

飼料は、オリエンタル酵母工業(株)製造のCRF-1固型(30kGy-γ線照射滅菌飼料)を固型飼料給餌器により自由摂取させた。ただし、定期解剖前日の夕方からは絶食させた。

試験に使用した飼料中の栄養成分と夾雑物については、オリエンタル酵母工業(株)から分析データを入手し、確認後保管した。

(3) 飲水

飲水は、市水(神奈川県秦野市水道局供給)をフィルターろ過した後、紫外線照射し、自動給水ノズルから自由摂取させた。

飲水の水質は、動物試験施設として定期的(年2回)に実施している水道水の検査において、水道法に定められている水質基準に適合していることを確認した。

－3 観察・検査項目及び方法

－3-1 動物の生死及び一般状態の観察

全動物について、週1回、吸入暴露前の一般状態を詳細に観察した。その他の日は、暴露日は吸入暴露前に、非暴露日は1日1回生死及び瀕死を確認した。なお、瀕死状態の動物は、速やかに安楽死させた。

－3-2 体重測定

全動物について、週1回、投与前に体重測定を行った。また、定期解剖日には絶食後の体重(搬出時体重)を測定した。

死亡及び瀕死状態の動物は、飼育室からの搬出時に体重を測定した。

－3-3 摂餌量測定

全動物について、週1回、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。

－3-4 尿検査

投与最終週に生存した動物のうち自然排尿した動物の新鮮尿について、尿試験紙(ウロラプスティックス、シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス社)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

－3-5 血液学的検査

定期解剖時に生存していた全動物について、イソフルラン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 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

－3－6 血液生化学的検査

定期解剖時に生存していた全動物について、イソフルラン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 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、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、無機リン

－3－7 病理学的検査

(1) 肉眼的観察

全動物について肉眼的に病変の観察を行った。なお、定期解剖動物はイソフルラン麻酔下で採血後、腹大動脈を切断、放血することで安楽死させた。

(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：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、組織を摘出し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で固定後、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、光学顕微鏡で病理組織学的に検査した。

なお、鼻腔については切歯の後端（レベル1）、切歯乳頭（レベル2）、第一臼歯の前端（レベル3）の3ヶ所（文献16）で切り出し（横断）、検査した。

検査器官・組織：皮膚、鼻腔、鼻咽頭、喉頭、気管、肺及び気管支、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、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（胸骨、大腿骨）、肉眼的に変化のみられた器官及び組織

－3－8 病理ピアレビュー

病理組織診断の最終化後に外部専門家4名による病理ピアレビューを実施し、肺と鼻腔の腫瘍性病変及び非腫瘍性病変について確認を行った。

その結果、雄1.5 ppm群の鼻腔良性腫瘍（乳頭腫）の1例を移行上皮の過形成に変更した。

－4 数値処理と統計方法

－4－1 数値の取扱いと表示

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 4 位まで測定し、小数点以下第 3 位を四捨五入して小数点以下第 2 位までを表示した。

体重は g を単位とし、小数点以下第 1 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、血液生化学的検査は APPENDIX 3 に示した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、上記に示した桁数と同様になるよう四捨五入を行い表示した。

－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した。

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）数とした。

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、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、Dunnnett 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、Dunnnett 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、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 検定を行った。また、尿検査についても対照群と各投与群との 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、各群ごとの総担腫瘍臓器数について、Peto 検定（文献 17）、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定を行った。

各検定は 5% の有意水準で、Peto 検定、Fisher 検定は片側検定、その他の検定は両側検定を行い、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った。

試験成績

－1 生死状況

生死状況を TABLE B 1, 2、生存率のグラフを FIGURE 2, 3 に示す。

－雄－

被験物質投与による生存率への影響は認められなかった。

各群の投与最終日における生存動物数（生存率）は、対照群：24 匹（96 %）、0.15 ppm 群：24 匹（96 %）、0.5 ppm 群：25 匹（100 %）、1.5 ppm 群：24 匹（96 %）であった。

－雌－

被験物質投与による生存率への影響は認められなかった。

各群の投与最終日における生存動物数（生存率）は、対照群：25 匹（100 %）、0.15 ppm 群：24 匹（96 %）、0.5 ppm 群：25 匹（100 %）、1.5 ppm 群：25 匹（100 %）であった。

－2 一般状態

一般状態の観察結果を TABLE C 1, 2 に示す。個体表は APPENDIX 4-1, 4-2 に示す。（一般状態の詳細観察は週 1 回のため、TABLE 及び APPENDIX は 26 週-7 日目まで表示）

－雌雄－

被験物質投与に関連した特徴的な所見あるいは異常所見は認められなかった。

－3 体重

体重の推移を TABLE D 1～4 及び FIGURE 4, 5 に示す。個体表は APPENDIX 5-1, 5-2 に示す。（体重測定は週 1 回のため、TABLE、FIGURE 及び APPENDIX は 26 週-7 日目まで表示）

－雄－

1.5 ppm 群では、投与期間を通して有意な低値が認められ、体重増加の抑制が示された。

最終計測日（26 週）の各投与群の体重は、対照群に対して 0.15 ppm 群：98 %、0.5 ppm 群：97 %、1.5 ppm 群：83 %であった。

－雌－

1.5 ppm 群では、投与期間の多くの週で有意な低値が認められ、体重増加の抑制が示された。

最終計測日（26 週）の各投与群の体重は、対照群に対して 0.15 ppm 群：102 %、0.5 ppm 群：99 %、1.5 ppm 群：93 %であった。

－4 摂餌量

摂餌量を TABLE E 1～4 及び FIGURE 6, 7 に示す。個体表は APPENDIX 6-1, 6-2 に示す。(摂餌量測定は週 1 回のため、TABLE、FIGURE 及び APPENDIX は 26 週-7 日目まで表示)

－雄－

1.5 ppm 群では、投与期間を通して有意な低値が認められた。

投与期間を通しての 1 匹当たりの 1 日平均摂餌量は、対照群：4.7 g、0.15 ppm 群：4.6 g、0.5 ppm 群：4.5 g、1.5 ppm 群：4.1 g であった。

－雌－

1.5 ppm 群では、投与期間の多くの週で有意な低値が認められた。なお、0.5 ppm 群では摂餌量の高値を示す週が散見された。

投与期間を通しての 1 匹当たりの 1 日平均摂餌量は、対照群：4.4 g、0.15 ppm 群：4.5 g、0.5 ppm 群：4.6 g、1.5 ppm 群：4.0 g であった。

－5 尿検査

尿検査の結果を TABLE F 1, 2 に示す。個体表は APPENDIX 7-1, 7-2 に示す。

－雄－

0.15 ppm 群でケトン体の陽性例の有意な減少が認められたが、投与濃度に対応した変化ではなく、偶発的変動と判断した。

－雌－

被験物質投与の影響と考えられる変化はみられなかった。

－6 血液学的検査

血液学的検査の結果を TABLE G 1, 2 に示す。個体表は APPENDIX 8-1, 8-2 に示す。

－雄－

1.5 ppm 群でヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の有意な高値、並びに、白血球数の有意な低値が示されたが、軽度の変化であった。

－雌－

被験物質投与の影響と考えられる変化はみられなかった。

－7 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果を TABLE H 1, 2 に示す。個体表は APPENDIX 9-1, 9-2 に示す。

－雄－

1.5 ppm 群でグルコース、総コレステロール、トリグリセライド及びリン脂質の有意な低値がみられた。摂餌量の低下あるいは糖・脂質代謝への影響が示唆されるが、毒性学的意義については不明であった。

また、1.5 ppm 群で総ビリルビン、ALP 及びカリウムの高値がみられたが、軽度の変化であった。その他、0.5 ppm 群で総蛋白の低値がみられたが、投与濃度に対応した変化ではなく、偶発的変動と判断した。

－雌－

1.5 ppm 群でカリウムの有意な高値が認められたが、軽度の変化であった。

－8 病理学的検査

－8－1 肉眼的観察

解剖時の肉眼的観察結果を TABLE I 1, 2 に示す。個体表は APPENDIX 10-1, 10-2 に示す。

－雄－

後述する肺の腫瘍性病変の発生と関連した肉眼的観察所見として、肺の白色斑が対照群で 2 匹、0.15 ppm 群で 1 匹、0.5 ppm 群で 2 匹、1.5 ppm 群で 1 匹に認められた。また、肺の結節が対照群で 1 匹、0.15 ppm 群で 2 匹、0.5 ppm 群で 4 匹に認められた。

－雌－

後述する肺の腫瘍性病変の発生と関連した肉眼的観察所見として、肺の白色斑が 0.5 ppm 群で 3 匹に認められた。また、肺の結節が対照群で 2 匹、0.15 ppm 群と 0.5 ppm 群で各 1 匹、1.5 ppm 群で 3 匹に認められた。

－8－2 臓器重量

定期解剖時に測定した臓器の実重量を TABLE J 1, 2、体重比を TABLE K 1, 2 に示す。個体表は実重量を APPENDIX 11-1, 11-2、体重比を APPENDIX 12-1, 12-2 に示す。

－雄－

1.5 ppm 群で腎臓の実重量の低値と体重比の高値、心臓及び肝臓の実重量の低値、精巣、肺及び脳で体重比の高値が示されたが、1.5 ppm 群の解剖時体重は有意に低値であることからそれに起因したものと考えられた。

—雌—

1.5 ppm 群で肝臓の実重量と体重比の低値、心臓、腎臓及び脳の実重量の低値が示されたが、1.5 ppm 群の解剖時体重は低値であることからそれに起因したものと考えられた。

—8—3 病理組織学的検査

腫瘍性病変は、腫瘍の種類別の発生数を TABLE L 1, 2 に、統計解析(Peto 検定、Cochran-Armitage 検定、Fisher 検定)の結果を TABLE M 1, 2 に、本項で取り上げた腫瘍について、日本バイオアッセイ研究センターにおける rasH2 マウスのヒストリカルコントロールデータ(6 試験、雌雄各 150 匹)を TABLE N 1, 2 に示す。また、転移性病変は TABLE O (雄のみ)に、非腫瘍性病変は TABLE P 1, 2 に示す。病理組織所見の代表例を PHOTOGRAPH 1~10 に示す。なお、病理組織所見の個体表は APPENDIX 13-1, 13-2 に示す。

—雄—

1) 腫瘍性病変

<肺>

細気管支-肺胞上皮腺腫の発生は、対照群：2 匹(8%)、0.15 ppm 群：6 匹(24%)、0.5 ppm 群：6 匹(24%)、1.5 ppm 群：3 匹(12%)に認められた。細気管支-肺胞上皮癌の発生は、対照群：0 匹(0%)、0.15 ppm 群：1 匹(4%)、0.5 ppm 群：5 匹(20%)、1.5 ppm 群：0 匹(0%)に認められ、0.5 ppm 群は Fisher 検定で対照群と比較して有意な増加を示した。また、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は、対照群：2 匹(8%)、0.15 ppm 群：7 匹(28%)、0.5 ppm 群：9 匹(36%)、1.5 ppm 群：3 匹(12%)に認められ、0.5 ppm 群は Fisher 検定で対照群と比較して有意な増加を示した。一方、傾向検定(Peto 検定、Cochran-Armitage 検定)では 1.5 ppm 群の発生が低下したため有意差を認めなかった。

<肝臓>

肝細胞腺腫は、対照群：1 匹(4%)、0.15 ppm 群：0 匹(0%)、0.5 ppm 群：5 匹(20%)、1.5 ppm 群：1 匹(4%)に認められ、0.5 ppm 群で多くみられたが、統計学的に肝細胞腺腫の発生増加は示されなかった。また、肝細胞癌の発生もみられなかった。

2) 非腫瘍性病変

< 鼻腔 >

鼻腔の移行上皮(呼吸上皮と扁平上皮の移行部に存在する線毛のない呼吸上皮)では、過形成の発生匹数が **0.5 ppm** 群と **1.5 ppm** 群(各 25 匹:軽度から中等度)で有意に増加した。なお、対照群と **0.15 ppm** 群では発生はみられなかった。

嗅上皮では、呼吸上皮化生の発生匹数が **1.5 ppm** 群(9 匹:軽度から中等度)で有意に増加した。また、萎縮の発生匹数が **1.5 ppm** 群(7 匹:軽度)で有意に増加した。

その他、嗅上皮と呼吸上皮のエオジン好性変化の発生匹数の減少が **1.5 ppm** 群で認められた。

< 鼻咽頭 >

鼻咽頭の呼吸上皮でエオジン好性変化の発生匹数の減少が **1.5 ppm** 群で認められた。

— 雌 —

1) 腫瘍性病変

< 肺 >

細気管支-肺胞上皮腺腫の発生は、対照群 1 匹(4%)、**0.15 ppm** 群:0 匹(0%)、**0.5 ppm** 群:4 匹(16%)、**1.5 ppm** 群:1 匹(4%)に認められ、**0.5 ppm** 群で発生が多くみられたが、統計学的に有意な増加は示されなかった。また、細気管支-肺胞上皮癌の発生は、対照群:1 匹(4%)、**0.15 ppm** 群:0 匹(0%)、**0.5 ppm** 群:1 匹(4%)、**1.5 ppm** 群:2 匹(8%)に認められた。さらに、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は、対照群:2 匹(8%)、**0.15 ppm** 群:0 匹(0%)、**0.5 ppm** 群:5 匹(20%)、**1.5 ppm** 群:3 匹(12%)に認められ、**0.5 ppm** 群で発生が多くみられたが、Fisher 検定で対照群と比較し有意な増加はなく、傾向検定でも有意差はなかった。

< 鼻腔 >

乳頭腫の発生が **1.5 ppm** 群に 1 匹(4%)認められた。

2) 非腫瘍性病変

< 鼻腔 >

鼻腔の移行上皮では、過形成の発生匹数が **0.5 ppm** 群(19 匹:軽度から中等度)と **1.5 ppm** 群(23 匹:軽度から中等度)で有意に増加した。なお、対照群と **0.15 ppm** 群では発生はみられなかった。

嗅上皮では、呼吸上皮化生の発生匹数が **1.5 ppm** 群(6 匹:軽度から中等度)で有意に増加した。また、少数例であるが嗅上皮の萎縮が **0.5 ppm** 群(1 匹:軽度)と **1.5 ppm** 群(2 匹:軽度)に、滲出液が **1.5 ppm** 群(2 匹:中等度)にみられた。

その他、嗅上皮のエオジン好性変化の発生匹数の減少が **1.5 ppm** 群にみられた。

－8－4 死因

病理学的にみた死亡 / 瀕死の原因を TABLE Q 1, 2 に示す。個体表は APPENDIX 14-1, 14-2 に示す。

－雌雄－

投与群に特定の病変あるいは腫瘍による死亡の増加はみられなかった。

考察及びまとめ

アリルアルコールの発がん性を検索する目的で、遺伝子改変マウス (**rasH2** マウス) を用いた 26 週間全身暴露 (経気道投与) による中期発がん性試験を行った。

本試験は、対照群 1 群、被験物質投与群 3 群の計 4 群 (各群雌雄 25 匹) を設け、アリルアルコールの投与濃度は、雌雄とも 0 (対照群)、0.15、0.5 及び 1.5 ppm (体積比 v/v) (1.5 ppm 群は投与開始から 3 回目まで投与濃度 1 ppm) とした。投与は 1 日 6 時間、1 週 5 日間の全身暴露による経気道投与で 26 週間 (27 週目-4 日まで) 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、尿検査、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。

－1 生存率、一般状態、体重、摂餌量

動物の最終生存率及び一般状態に、アリルアルコール投与による影響は雌雄とも認められなかった。体重は雄の 1.5 ppm 群で投与期間を通して、雌でも投与期間の多くの週で有意な低値がみられ、最終計測日の 1.5 ppm 群の体重は、対照群に対して雄 83 %、雌 93 % であった。摂餌量は雄の 1.5 ppm 群では投与期間を通して、雌の 1.5 ppm 群でも多くの週で有意な低値がみられた。

－2 腫瘍性病変及び腫瘍関連病変

アリルアルコール投与による腫瘍の発生は、雌雄の肺、雄の肝臓及び雌の鼻腔にみられた。雄では、肺の細気管支-肺胞上皮癌及び細気管支-肺胞上皮腺腫と細気管支-肺胞上皮癌を合わせた発生が、0.5 ppm 群で対照群と比較して有意な増加 (Fisher 検定) を示した。また、有意差を示さないものの 0.15 ppm 群と 0.5 ppm 群の肺に細気管支-肺胞上皮腺腫の発生が多く認められた。当センターで過去に実施した雄 **rasH2** マウスの対照群の発生 (ヒストリカルコントロールデータ (6 試験、150 匹)) では、細気管支-肺胞上皮腺腫の発生率は平均 6.0 % (試験ごとの発生率: 最小 0 % ~ 最大 12 %) であり、細気管支-肺胞上皮癌の発生はなかった。また、本試験の対照群では、細気管支-肺胞上皮腺腫の発生が 2 匹 (8 %)、細気管支-肺胞上皮癌の発生はなかった。本試験における、0.5 ppm 群の細気管支-肺胞上皮癌の発生 (5 匹、20 %)、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 (9 匹、36 %)、0.15 ppm 群と 0.5 ppm 群の細気管支-肺胞上皮腺腫の発生 (各 6 匹: 24 %) は、ヒストリカルコントロールデータの範囲を大きく超えた。したがって、0.15 ppm 群と 0.5 ppm 群における肺腫瘍の発生は投与による影響であると判断した。しかしながら、高濃度の 1.5 ppm 群では肺腫瘍の発生増加はみられなかった。

雄の肝臓では、肝細胞腺腫の発生が 0.5 ppm 群に 5 匹 (20 %) 認められ、有意差は示さ

ないものの多く認められた。ヒストリカルコントロールデータでは、肝細胞腺腫の発生率は平均 0.7% (試験ごとの発生率: 0%~4%) であるが、0.5 ppm 群の発生は、ヒストリカルコントロールデータの範囲を大きく超えた。したがって、0.5 ppm 群における肝細胞腺腫の発生増加も投与による影響と考えられた。しかしながら、肺腫瘍と同様に高濃度の 1.5 ppm 群では肝臓腫瘍の発生増加はみられなかった。

雄の鼻腔では、鼻腔腫瘍の発生は認められなかったが、前腫瘍性病変と考えられる移行上皮過形成が対照群と 0.15 ppm 群に発生はなく、0.5 ppm 群と 1.5 ppm 群では全匹に発生が認められた。

以上の結果から、高濃度群 (1.5 ppm) における肺及び肝臓腫瘍の発生増加は認められなかったものの、雄 rasH2 マウスの肺及び肝臓における腫瘍の発生増加は発がん性を示す明らかな証拠 (clear evidence of carcinogenic activity) と判断した。

雌では、統計学的有意差を示さないものの、0.5 ppm 群の肺に細気管支-肺胞上皮腺腫の発生が多く認められた。雌 rasH2 マウスのヒストリカルコントロールデータ (6 試験、150 匹) では、細気管支-肺胞上皮腺腫の発生率は平均 4.0% (試験ごとの発生率: 0%~12%) であり、本試験の 0.5 ppm 群の細気管支-肺胞上皮腺腫の発生 (4 匹、16%) は、ヒストリカルコントロールデータの範囲を超えた。0.5 ppm 群における細気管支-肺胞上皮腺腫の発生増加は投与による影響と考えられたが、雄と同様に高濃度の 1.5 ppm 群では肺腫瘍の発生は対照群と変わらなかった。

雌の鼻腔では、ヒストリカルコントロールデータに発生のない極めて稀な腫瘍である乳頭腫が 1.5 ppm 群の 1 匹に発生した。また、乳頭腫の前腫瘍性病変である移行上皮過形成が、対照群と 0.15 ppm 群に発生はなく、0.5 ppm 群と 1.5 ppm 群では高率に発生した (0.5 ppm 群: 19 匹、1.5 ppm 群: 23 匹)。鼻腔の移行上皮過形成は、特に鼻腔レベル 1 の移行上皮 (線毛のない呼吸上皮) に認められ、乳頭腫の発生部位に一致していた。したがって、雌でみられた鼻腔腫瘍の発生は 1 匹であるが投与の影響を否定できないと考えた。

以上の結果から、雌 rasH2 マウスの肺の細気管支-肺胞上皮腺腫の発生及び鼻腔の乳頭腫の発生は、発がん性を示す不確実な証拠 (equivocal evidence of carcinogenic activity) であると判断した。

－3 その他の影響

被験物質投与の影響は、雌雄の鼻腔に認められた。前述した移行上皮の過形成のほかに、雌雄で嗅上皮の呼吸上皮化生 (1.5 ppm 群)、雄で嗅上皮の萎縮 (1.5 ppm 群) が増加した。さらに、雌では嗅上皮の萎縮 (0.5 ppm 及び 1.5 ppm 群) と滲出液 (1.5 ppm 群) の発生が少数例に認められた。嗅上皮の呼吸上皮化生や萎縮は、鼻腔に対する傷害性やその修復を示す変化であり、鼻腔に対する傷害性の変化は、雌雄とも 0.5 ppm 以上の群で認められた。

結論

遺伝子改変マウス (**rasH2** マウス) を用いて、アリルアルコールの 26 週間の吸入による中期発がん性試験を行った結果、以下の結論を得た。

- 1) 雄 **rasH2** マウスに対する発がん性を示す明らかな証拠 (**clear evidence of carcinogenic activity**) が得られたと結論した。
- 2) 雌 **rasH2** マウスに対する発がん性を示す不確実な証拠 (**equivocal evidence of carcinogenic activity**) が得られたと結論した。

文献

- 1) **U.S. National Library of Medicine. Hazardous Substance Data Bank (HSDB). Accessed on 31 May 2021. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/source/hsdb/192>**
- 2) 化学工業日報社. 2013. 16313 の化学商品. 東京: 化学工業日報社, 418-419.
- 3) 経済産業省. 2021. 一般化学物質等の製造・輸入数量 (2019 年度実績) について (公表). Accessed on 26 April 2021.
https://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/kasinhou/files/information/volume/general/volume_general_2019FY.pdf
- 4) 環境省. 2021. 令和元年度 PRTR データの概要 - 化学物質の排出量・移動量の集計結果 -. Accessed on 26 April 2021.
https://www.env.go.jp/chemi/prtr/result/gaiyo_R01/5_shukeihyo_1.pdf
- 5) 製品評価技術基盤機構、化学物質評価研究機構、新エネルギー・産業技術開発機構. 2007. 化学物質の初期リスク評価書. No. 80 アリルアルコール.
- 6) 日本産業衛生学会. 1978. 許容濃度の提案理由書 アリルアルコール. 産業医学 20 188.
- 7) **American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). 2001. Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices. Cincinnati, OH : ACGIH.**
- 8) **Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG). 2001. Allyl alcohol. In: Occupational Toxicants. Critical Data Evaluation for MAK Values and Classification of Carcinogens. (Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area (Chairman:Henschler D. ed). Vol 15. Weinheim:VCH Verlag. DFG, 31-40.**
- 9) **Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG). 2020. List of MAK and BAT Values 2020. Permanent Senate Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area. DFG. Kennedyallee Bonn, Germany.**

- 10) McLafferty F.W, ed. 1994. **Wiley Registry of Mass Spectral Data**. 6th ed. New York, NY: John Wiley and Sons.
- 11) Robinson DE, MacDonald JS. 2001. **Background and framework for ILSI's collaborative evaluation program on alternative models for carcinogenicity assessment**. *Toxicol Pathol* 29 (Suppl.); 13-19.
- 12) 「遺伝子改変動物を用いたがん原性試験による調査の基準」 2017. 平成 28 年度第 3 回発がん性評価グループ（平成 29 年 3 月 1 日）資料.
- 13) Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). 2018. **OECD Guideline for Testing of Chemicals 451: "Carcinogenicity Studies"**. Adopted 25 June 2018. Paris: OECD.
- 14) 日本バイオアッセイ研究センター. 2019. **アリルアルコールの rasH2 マウス(non-Tg)を用いた吸入による反復投与毒性試験報告書**. 神奈川: 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.
- 15) 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適正層別方式の確立. *薬理と治療* 14: 7285-7302.
- 16) Nagano K, Katagiri T, Aiso S, Senoh H, Sakura Y, Takeuchi T. 1997. **Spontaneous lesions of nasal cavity in aging F344 rats and BDF1 mice**. *Exp Toxic Pathol*. 49: 97-104.
- 17) Peto R, Pike MC, Day NE, Gray RG, Lee PN, Parish S, et al. 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*. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC). IARC Monographs Suppl 2: 311-426.

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

(1) 解剖予定動物の未記載

最終解剖期間(4日間)の日内では、同性間の解剖動物数に偏りがなく各群同数となるよう動物を振り分けた解剖計画(動物配列表作成)を立てていたが、試験計画書に記載していなかつた。以下にその解剖計画を示す。

解剖日 (予定動物数)	対照群	0.15 ppm 群	0.5 ppm 群	1.5 ppm 群
2019年11月26日 (40匹)	1001~1005 2001~2005	1101~1105 2101~2105	1201~1205 2201~2205	1301~1305 2301~2305
2019年11月27日 (60匹)	1006~1015 2006~2010	1106~1115 2106~2110	1206~1215 2206~2210	1306~1315 2306~2310
2019年11月28日 (60匹)	1016~1020 2011~2020	1116~1120 2111~2120	1216~1220 2211~2220	1316~1320 2311~2320
2019年11月29日 (40匹)	1021~1025 2021~2025	1121~1125 2121~2125	1221~1225 2221~2225	1321~1325 2321~2325

(2) 使用被験物質のロット番号の変更

試験計画書の使用ロット番号は **APF2168** であったが、本試験ではロット番号 **KCP6460** を使用した。本試験と同時に実施していた、ラットを用いた吸入によるがん原性試験と同一ロット(**APF2168**)を使用する予定であったが、本試験の投与開始前に次ロット(**KCP6460**)が納品されたため、使用ロットを変更した。

本被験物質は、同一の試薬会社から購入した同一規格であることから、試験の信頼性に影響を及ぼすものではない。

(3) 被験物質の安定性分析に使用したガスクロマトグラフの機種の変更

試験計画書では、被験物質の安定性分析に使用するガスクロマトグラフの機種として、アジレントテクノロジー(株) **5890A** と記載したが、誤記載であり本試験ではアジレントテクノロジー(株) **7890A** を使用した。

本試験で使用した機種は、計画書に記載した機種と同等のものであり、分析条件は同様であることから、試験の信頼性に影響を及ぼすものではない。

(4) 吸入チャンバー内濃度データの欠落

濃度分析用データ処理装置(クロマトパック)の通信不良及び電気ノイズによる濃度検出のためデータ削除により、以下のデータ欠落となった。

短時間の欠落であることから、試験結果の評価に影響を及ぼすものではないと判断した。

逸脱日	データ欠落時間(吸入チャンバー番号)
2019年5月28日	濃度分析用データ処理装置の通信不良 15:30 (M2)、15:37 (M1, M3)、15:45 (M0, M2)、 15:52 (M1, M3)
2019年8月27日	電気ノイズによる濃度検出 17:15 (M0)

吸入チャンバー番号：M0(対照群)、M1(0.15 ppm群)、M2(0.5 ppm群)、M3(1.5 ppm群) 以下同様

(5) 動物飼育環境条件の逸脱及びデータ欠落

吸入チャンバー内環境データの欠落

馴化期間中、吸入実験用総合管理装置の誤操作により、吸入チャンバー内環境データが欠落となった。

短時間の欠落であることから、試験結果の評価に影響を及ぼすものではないと判断した。

逸脱日	時間	内容
2019年5月23日	9:20	M0~M3の温度、湿度、圧力、換気量

長期吸入試験装置の露点検出器の動作不良により、吸入チャンバー内湿度データが設定上限(70%)を超えた。また、測定レンジを外れたため湿度データの欠落が生じた。

2019年7月23日の朝の生死確認の際に異常動物は認められなかったことから、動物飼育環境条件の逸脱は試験結果の評価に影響を及ぼすものではないと判断した。

逸脱日	時間	内容
2019年7月23日	00:20~6:20	(湿度最大値) M0: 99.1%、M1: 98.9%、 M2: 98.9%、M3: 98.5%
	1:20~4:20	(湿度データ欠落) M1、M2、M3

大型台風接近による停電対応のため、全吸入チャンバーの扉を解放する対応により(2019年10月12日8:37~10月13日8:57)、吸入チャンバー内湿度データが設定上限(70%)を超えた。なお、当日は土、日曜日であったため被験物質投与の予定はなかった。

2019年10月13日の朝の生死確認の際に異常動物は認められなかったことから、動物飼育環境条件の逸脱は試験結果の評価に影響を及ぼすものではないと判断した。

逸脱日	時間	内容
2019年10月12日	9:20~20:20	(湿度最大値) M2: 72.4%、M3: 75.7%

電気設備点検（非常用回路への切換え及び全停電）による計画停電により、空調機（飼育室：503室）、吸入チャンバー給排気ファンを停止させたため、試験計画書で規定された飼育環境の設定範囲からの逸脱及びデータの欠落が発生した。

電気設備点検が終了し、空調機及び吸入チャンバー給排気ファンの運転開始後、動物の一般状態に異常のないことを確認した。動物飼育環境条件の逸脱は試験結果の評価に影響を及ぼすものではないと判断した。

< 飼育室（503室） >

逸脱日	時間	内容
2019年10月19日	9:18 ~ 16:18	空調機の停止により飼育室の換気回数が0回になった。

< 吸入チャンバー >

逸脱日	時間	内容
2019年10月19日	12:20 ~ 15:20	給排気ファンの停止により、換気量と圧力データの計測を停止したため、両データが欠落となった。
	11:20 ~ 15:20	全吸入チャンバーで湿度データが設定上限を超えた。 (湿度最大値) M0: 85.6 %、M1: 81.4 %、M2: 86.1 %、M3: 82.8 %

投与時間外の飼育作業中に、吸入チャンバー内湿度データの逸脱が不定期に発生した。以下に設定値並びに逸脱の最大値を示す。なお、チャンバー開閉時に圧力が陽圧になった期間があった。

短時間の逸脱であったことから、動物飼育環境条件の逸脱は試験結果の評価に影響を及ぼすものではないと判断した。

	設定値	測定値
湿度	50 ± 20 %	84.4 %

(6) 尿検査データの欠落

投与最終週に生存した動物から自然排尿した新鮮尿の検査を実施したが、以下の動物について尿採取ができず、データが欠落となった。なお、本欠落は試験計画書からの逸脱には該当しない。

尿検査データの欠落については、評価に必要な検査動物数（各群 20 匹以上）が確保されたことから、試験結果の評価に影響を及ぼすものではないと判断した。

検査日	データ欠落動物番号
2019年11月20日	1001, 1005, 1013, 1110, 1201, 1210, 1211, 1215, 1301, 1308, 1311, 1317, 2003, 2005, 2009, 2021, 2109, 2116, 2122, 2205, 2209, 2220, 2221, 2224, 2319, 2323

(7) 血液学的検査データの欠落

試験計画書では、定期解剖時に生存している全動物について血液学的検査を行うことになっていたが、以下の動物について血液凝固により血液学的検査を実施せず、データが欠落となった。

血液学的検査データの欠落については、評価に必要な検査動物数（各群 22 匹以上）が確保されたことから、試験結果の評価に影響を及ぼすものではないと判断した。

検査日	データ欠落動物番号
2019年11月27日	1007, 1114, 1211
2019年11月28日	2316

(8) 血液生化学的検査データの欠落

試験計画書では、定期解剖時に生存している全動物について血液生化学的検査を行うことになっていたが、以下の動物について採血ミスにより、血液生化学的検査を実施せず、データが欠落となった。

血液生化学的検査データの欠落については、評価に必要な検査動物数（各群 23 匹以上）が確保されたことから、試験結果の評価に影響を及ぼすものではないと判断した。

検査日	データ欠落動物番号
2019年11月28日	2219