

部分翻訳

European Union
Risk Assessment Report
Alkanes, C₁₀₋₁₃, chloro
CAS No: 85535-84-8
1st Priority List, Volume 81, 2008/ Volume 4, 1999

欧州連合
リスク評価書 (Volume 81, 2008/ Volume 4, 1999)
アルカン類, C₁₀₋₁₃, chloro

Institute for Health and Consumer Protection
European Chemicals Bureau
Existing Substances

European Union
Risk Assessment Report

CAS No.: 85535-84-8 EINECS No.: 287-476-5

alkanes, C₁₀₋₁₃, chloro

CCCC(Cl)C(Cl)C(Cl)C

(m = 10-13,
n = 1-13)

1st Priority List
Volume: 4

EUROPEAN COMMISSION
JOINT RESEARCH CENTRE
EUR 19010 EN

国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部
2011年3月

本部分翻訳文書は、Alkanes, C₁₀₋₁₃, chloroに関するEU Risk Assessment Reportの第4章「ヒト健康」のうち、第4.1.2項「影響評価：有害性の特定および用量反応関係」を翻訳したものである。原文（評価書全文）は、

http://ecb.jrc.ec.europa.eu/documents/Existing-Chemicals/RISK_ASSESSMENT/REPORT/sccpreport010.pdf

を参照のこと。

4.1.2 影響評価：有害性の特定および用量反応関係

4.1.2.1 トキシコキネティクス、代謝および分布

4.1.2.1.1 動物試験

in vivo 試験

吸入

入手試験データなし。

経口投与

吸収、分布、及び排泄については、塩素化の程度が異なる3種類のC₁₂パラフィン、すなわちモノクロロドデカン (MCDD、塩素化率 17.4%)、ポリクロロドデカン I (PCDD I、塩素化率 55.9%) 及びポリクロロドデカン II (PCDD II、塩素化率 68.5%) を用いた試験で検討されており、それぞれ1群1~4匹のマウスに投与された (Darnerud *et al.*, 1982)。この試験の第1部では、末端標識した¹⁴C PCDD IまたはIIを脂肪乳剤として1群4匹のマウスに強制経口投与した (第1部ではMCDDは検討されなかった)。PCDD I投与12時間後に、投与された放射能の62%が回収され、そのうち呼気中二酸化炭素 (CO₂) として33%、尿中では29%であった。さらに5%が糞中に回収された。塩素化率の高いPCDD IIでは、12時間以内の回収率は投与された放射能のわずか12%であり、そのうち呼気中CO₂は8%、尿中は4%であった。さらに21%が糞中に回収された。

この試験の第2部では、放射能標識した上記3種類の塩素化パラフィンの分布について検討しており、被験物質あたり1または2匹のマウス群を用いて全身オートラジオグラフィ

一法により行われた。上記のとおり投与 24 時間後には、代謝活性が高い、もしくは細胞増殖率が高い組織中（腸粘膜、骨髄、褐色脂肪、唾液腺、および胸腺など）に、放射能が明らかに認められた。PCDD II 処置動物では、肝臓に最も多くの放射能が認められた。著者らによる X 線画像の定性的評価から、塩素化の程度の増加に伴って放射能蓄積が明らかに増加することが示された。しかしながら、定量的評価は実施されていない。

未発表の試験において、10 または 625 mg/kg/日の C₁₀₋₁₂、58%塩素化パラフィンが 1 群雌雄各 18 匹のラットに 13 週間にわたり連日混餌投与された（未発表引用文献 73, 1984）。13 週間後、前 13 週間の連日投与量と同用量の ¹⁴C-放射能標識 C₁₀₋₁₂（標識部位の記述なし）、58%塩素化パラフィンが全ラットに単回強制経口投与された。また、塩素化パラフィン未処置の雌雄ラット各 18 匹の別の群が用意され、10 または 625 mg/kg/日の放射能標識 C₁₀₋₁₃、58%塩素化パラフィンが単回投与された。12 時間または 7 日間にわたり動物群から尿、糞、及び CO₂ が採取された。他の群は、組織分布試験実施時点まで 24 または 48 時間、あるいは 28 または 90 日間飼育された。また、全血検体も 12、24、48 時間、及び 7 日後に採取された。

全体として、性別、用量レベル、または投与条件による差異は、排泄に関してはほとんど認められなかった。放射能の主要排泄経路は糞中排泄であり、投与された放射能の 54~66% が 7 日間で回収された。回収された放射能の大部分は、塩素化パラフィン未処置動物では 3~4 日間以内、13 週間にわたる塩素化パラフィン前処置動物では 2 日間で回収された。投与された放射能の約 14% が 7 日間で尿中に回収され、呼気中 CO₂ としては 1%未満であった。血中濃度は用量に比例し、7 日後の減少率は同程度であった。また、組織中濃度も投与量に比例し、投与条件にかかわらず同程度であったことから、投与された放射能の吸収、分布、及び排泄の動態は試験された用量範囲にわたって基本的に線形性を示し、前処置は動態に有意な影響を及ぼさないことが示唆された。放射能の初期最高濃度は肝臓、腎臓、脂肪組織、及び卵巣で認められた。血液を含む全組織中放射能濃度は、前処置動物の方が未処置動物より低い傾向が認められたが、これらの差は雄では 7 日目までに、雌では 28 日目までに基本的に消失した。全般的な排泄速度は脂肪組織でやや低いことが示された。

4.1.2.6 項でさらに詳細に概要を示しているが、1 件の 90 日間試験及び 2 件の 14 日間試験において、300 mg/kg/日以上 C₁₀₋₁₂、58%塩素化パラフィンの経口投与（強制経口投与または混餌投与）後に、肝ミクロソームのチトクロム P450 及びアミノピリン脱メチル化酵素の活性、並びにタンパク質濃度（Lowry 法による）が統計学的に有意に増加することが示された（未発表引用文献 72, 1983 ; 73, 1984 ; 75, 1981）。

経皮投与

短鎖塩素化パラフィンの経皮吸収に関する試験データは得られていない。しかし、より長鎖の塩素化パラフィンに関して、経皮吸収は極めて少量であることが示されている。14C-標識 C₁₈ (塩素化率 50~53%)、及び C₂₈ (塩素化率 47%) 塩素化パラフィンをラットの背部皮膚に塗布した場合、96 時間後に排泄物と呼気、及び体組織中に回収された放射能から、塗布した放射能標識塩素化パラフィンのそれぞれ 0.7%及び 0.1%が吸収されることが示された (Yang *et al.*, 1987)。短鎖塩素化パラフィンの経皮吸収は長鎖の塩素化パラフィンより多い可能性があるが、それでもなお少量であろう。

非経口投与

塩素化の程度の異なる 3 種類 (塩素化率 17.4%、55.9%、68.5%) の 14C-標識 C₁₂ パラフィンがマウスに静脈内投与された (Darnerud *et al.*, 1982)。その結果から、尿中排泄及び呼気中 CO₂ としての排泄は、塩素化の程度に反比例することが示された。4~24 時間後の放射能分布は、経口投与試験でみられた分布と同様であった。その後、17.4%及び 55.9% 塩素化パラフィンを投与した群では、副腎皮質及び生殖腺 (4~12 日後)、並びに中枢神経系 (30~60 日後) が選択的に標識された (しかし、68.5%塩素化パラフィン投与群では明らかでなかった)。

P450 誘導薬及び阻害薬を前投与されたマウスへ別々の 4 種類の放射能標識 C₁₂ 塩素化パラフィンが静脈内投与され、チトクロム P450 による塩素化パラフィンの酸化について検証された (Darnerud, 1984)。

P450 誘導薬は呼気中 14CO₂ 濃度に対してほとんど影響を及ぼさなかったが、阻害薬は収集される 14CO₂ を 84%まで減少させた。また、塩素化の程度が高いパラフィンほど阻害薬の効果が増すことが示された。

in vitro 試験

C₁₀₋₁₃、49%または 71%塩素化パラフィン (0 または 1000 mg/kg/日) が雄ラットに 4 日間にわたり腹腔内投与され、その後、プールされた肝ミクロソームのチトクロム P450 濃度が測定された (Nilsen and Toftgard, 1981)。RLvMc P450₅₄ の増加 (49%および 71%塩素化パラフィンでそれぞれ 43%および 87%) および RLvMc P450₅₀ の増加 (両パラフィンで 74%) が認められた。ミクロソーム RLvMc P450₅₅ 濃度に増加は認められなかった。全体として、高塩素化パラフィンでは総ミクロソーム P450 の 25%の増加が認められたが、低

塩素化パラフィンではわずか8%の増加であった。

同研究者グループによる同一プロトコルを用いたもう1件の試験では、C₁₀₋₁₃、59%塩素化パラフィンも含めて検討された (Nilsen *et al.*, 1981)。49%、59%、および71%塩素化パラフィン投与により、総 P450 がそれぞれ18%、33%、および29%増加した。

1000 mg/kg/日の C₁₀₋₁₃、70%塩素化パラフィンを5日間にわたり腹腔内投与された雄ラットで、ミクロソーム P450、エポキシド加水分解酵素、およびグルタチオン S-トランスフェラーゼの活性はそれぞれ13%、94~230%、および140%増加することが示されている (Meijer *et al.*, 1981)。加水分解酵素及びトランスフェラーゼが塩素化パラフィンの代謝に関与している可能性は低く、これらの酵素の活性増加は酵素誘導に起因すると考えられる。

上記試験では、短鎖塩素化パラフィンの代謝物の同定は試みられていない。

4.1.2.1.2 ヒトにおける試験

ヒトにおける短鎖塩素化パラフィンのトキシコキネティクスに関して得られた唯一の情報 は、ヒト皮膚を用いた *in vitro* 試験によるものである (Scott, 1989 ; 未発表引用文献 108, 1985)。この試験では、切削油に溶解した C₁₀₋₁₃、56%塩素化パラフィン (Cereclor 56L) をヒト表皮膜 12 検体に 56 時間にわたり接触させた。吸収された物質の検出を容易にするために、未発表引用文献によれば、検体は 58%まで塩素化した ¹⁴C 標識ウンデカンと混合された。皮膚の提供元は報告されていない。23~54 時間で定常状態吸収に達したが、吸収速度は極めて遅く、0.04 µg/cm²/時間であった。56 時間の皮膚接触持続期間中の吸収量は適用量の 0.01%未満であった。

4.1.2.1.3 トキシコキネティクスの要約

一般に、短鎖塩素化パラフィンのトキシコキネティクスに関する情報は非常に限られており、さまざまな鎖長および塩素化度のものに関する情報は揃っていない。動物における吸入または経皮曝露後の、これらの物質のトキシコキネティクスに関する情報は得られていない。しかし、より長鎖の塩素化パラフィンに関する物理化学的特性および情報から、経皮吸収は極めて少ないと予想されている。

経口曝露に関しては、短鎖塩素化パラフィンについて限られた試験の情報のみ得られており、経口投与後に顕著な吸収 (投与量の最大約 60%) が認められている。1 件の試験において、塩素化状態の低い短鎖塩素化パラフィンほど吸収が大きいことが示されている。経

口投与後、吸収された塩素化パラフィンは、代謝活性が高い、ないしは細胞増殖率の高い組織に選択的に分布することが示されている。塩素化パラフィンの代謝物の同定は試みられていないが、チトクロム P450 による CO₂ への酸化が確認されている。塩素化パラフィンないしはそれらの代謝物は、呼気、尿、及び糞中に排泄され、12 時間で投与量の最大約 60%が呼気及び尿中に排泄される。

ヒトにおける短鎖塩素化パラフィンのトキシコキネティクスに関する唯一の情報は *in vitro* 試験から得られたものであり、皮膚検体における吸収は極めて少量であることが示されている。

4.1.2.2 急性毒性

4.1.2.2.1 動物における試験

吸入

3300 mg/m³ の C₁₂、59%塩素化パラフィン (Chlorowax 500C) の 1 時間にわたる曝露を受けたラットにおいて、毒性の徴候は認められなかった (Howard *et al.*, 1975)。この情報は、業界との個人的な情報交換に由来する古い概説の中で言及されたものである。この試験に関する元データの特定、またはさらなる情報を見出すことは不可能である。

その他に唯一得られた情報は、50%塩素化短鎖パラフィン (Cereclor 50HS) に関する非常に手短な未発表報告であり、具体的な炭素鎖長を特定することはできない (未発表引用文献 55, 1974)。48 g/m³ のパラフィン蒸気の 1 時間にわたる曝露を受けたラットにおいて、軽微な眼及び鼻への刺激性が明らかに認められた。曝露後の回復は明らかであり「速やかに」認められた。その他の詳細は得られていない。全体として、短鎖塩素化パラフィン単回吸入による影響に関する情報はほとんど得られていない。非常に高濃度への曝露後に軽微な局所刺激作用が認められる可能性が示されている。

経口投与

0.8~13.6 g/kg の C₁₂パラフィン (塩素化率 60%) を強制経口投与されたラット 10 匹の群で、死亡は認められなかった (NTP, 1986)。投与後、動物は不活発状態および運動失調を示し、投与後 2~6 日間に下痢が認められた。しかし、その他の被験物質関連毒性の明らかな徴候は認められなかった。肉眼解剖学的検討は実施されなかった。

40～70%塩素化された C₁₀₋₁₃ パラフィンに関して、未発表の試験がいくつか実施されている（未発表引用文献 52, 1969; 55, 1974; 57, 1966; 59, 1968; 60, 1973; 61, 1965; 62, 1971; 64, 1974）。これらの全試験において、1 群雌雄各 3 匹のラットに、様々な添加剤とともに最大 5%のエポキシ系安定剤を含有する最大用量 4～13 g/kg の範囲の塩素化パラフィンが強制経口投与された。処置後 7 日間、ラットの観察が行われ、肉眼解剖学的検討が実施された。1 試験を除き、死亡は認められなかった。その死亡例は、13 g/kg の 63%塩素化パラフィンを投与された 1 匹のラットであった（未発表試験 64, 1974）。また、その試験では、瀕死および生存動物における毒性の徴候はより重度であり、昏睡、努力性呼吸、および振戦などがみられた。大部分の試験において、毒性の徴候は試験した最低用量である約 2 g/kg から認められ、立毛、尿失禁、および嗜眠などであった。回復が報告された例では、通常 7 日目までに回復している。肉眼解剖学的検討から、脾臓における「ストレスのわずかな徴候」（50%塩素化パラフィンによる、未発表引用文献 59, 1968）、肝臓における軽微な脂肪変性を伴う斑点もしくは褪色、並びに胃の炎症（69%及び 40%塩素化パラフィンによる、未発表引用文献 61, 1965; 57, 1966）が認められた。全体として、試験された塩素化パラフィンの単回投与後の経口毒性は非常に低く、観察された影響の強度および性質は、塩素化の程度に左右されなかった。

これらの試験の一部もしくはすべてについてが、ある公表された論文中で概説されているが、41～50%、51～60%、または 61～70%塩素化された C₁₀₋₁₃ パラフィンの、ラットへの 10 g/kg までの単回経口投与による死亡は報告されていない（Birtley *et al.*, 1980）。毒性の徴候は上記のとおりであるが、投与 14 日後に肝巣状壊死および腎皮質の内側の細胞のいくつかに混濁腫脹が認められたことも報告されている。これらの重症度は論じられていない。

1 件の未発表の試験で、ラットにおける LD₅₀ 値は 8.2 g/kg であることが報告された。しかし、パラフィンの炭素鎖長および塩素化の程度はいまだ特定されていない（未発表引用文献 34, 1966）。

1.6～27 g/kg の C₁₂、60%塩素化パラフィンを強制経口投与された 1 群 10 匹のマウスにおいて、死亡は認められなかった（NTP, 1986）。投与後、動物は不活発状態および運動失調を示し、投与後 2～6 日において立毛を呈した。

経皮投与

短い報告であるが、明らかに適切に実施された未発表の試験において、2.5 mL/kg（約 2.8 g/kg）の無希釈 C₁₀₋₁₃、52%塩素化パラフィンが 1 群 3 匹のラットに投与された（未発表引

用文献 62, 1971)。被験物質は、塗布され密封包帯法により 24 時間保持された。軽微な紅斑及び軽微な落屑が、それぞれ 3 日目および 7 日目に認められたが、全身毒性の徴候は認められなかった。

C₁₂ 塩素化パラフィン (Chlorowax 500C、塩素化率 59%) を投与されたウサギにおける LD₅₀ 値が 10 mL/kg (約 13.5 g/kg) であることが報告された。この情報は、業界との個人的な情報交換に由来する古い概説の中で言及されたものである。この試験に関する元データの特定、またはさらなる情報を見出すことは不可能である (Howard *et al.*, 1975)。

4.1.2.2.2 ヒトにおける試験

入手情報なし。

4.1.2.2.3 単回曝露試験の要約

ヒトにおける短鎖塩素化パラフィンへの急性曝露による影響に関する情報は得られていない。しかし、動物試験から得られた限定的な情報から、短鎖塩素化パラフィンの急性毒性は非常に低いことが明らかに示された。3300 mg/m³ の蒸気またはエアロゾルへの 1 時間の曝露、または 2.8 g/kg の経皮投与により、ラットに毒性は認められなかったが、ラットでは 13 g/kg まで、マウスでは 27 g/kg までの経口投与により、全身毒性のいくつかの徴候が認められた。裏付けはないが、ウサギに経皮投与した場合の LD₅₀ は約 13 g/kg という高い値であることが報告された。影響の性質および程度は、塩素化の程度に左右されなかった。

4.1.2.3 刺激性

4.1.2.3.1 動物における試験

皮膚

未発表だが適切に報告されている 2 件の皮膚刺激試験があり、それらは最新の基準に従って実施されている。1 つの試験では、無希釈 C₁₀₋₁₃、59% 塩素化パラフィン 0.5 mL が、3 羽のウサギの剪毛皮膚に塗布され、半閉塞包帯法により 4 時間保持された (未発表引用文献 48, 1986)。塩素化パラフィン除去後 72 時間までの間、刺激の徴候に関して皮膚の評価が行われた。試験期間を通して刺激の徴候は認められなかった。

もう1つの試験では、上記の手順で C₁₀₋₁₃、70%塩素化パラフィン 0.5 mL の検討が行われた（未発表引用文献 49, 1983）。1羽のウサギで 48 および 72 時間後に明確な紅斑（0~4 の評点中でグレード 2）が認められた。その他 2羽のウサギに「わずかに目に見える」紅斑（グレード 1）が認められた。2羽のウサギに 24 時間にわたり非常に軽微な浮腫（グレード 1）が認められた。7日目までに、刺激の全徴候は完全に消失した。

また、その他いくつかの未発表の試験でも短鎖塩素化パラフィンについて検討されたが、最新のプロトコールに従って実施されたものではないためあまり適切ではなく、多くは短報のみである。全試験がラットを用いて実施されている。大部分の試験で、塩素化パラフィンが 0.1 もしくは 0.2 mL 剪毛皮膚へ塗布され 24 時間閉塞包帯で保持される処置が 6 回行われた。処置期間の間に 24 時間の無処置期間が設けられた。塩素化パラフィン試料は通常無希釈とされたが、低率のエポキシ系安定剤ないしは各種添加剤を含有していた。

2 つの試験において、C₁₀₋₁₃、70%塩素化パラフィンの検討が行われている。新しい方の試験では、0.1%もしくは 2%のベンゾイルペルオキシド開始剤を含有する塩素化パラフィンの反復塗布が行われたが、試験期間を通して刺激の徴候は認められなかった（未発表引用文献 64, 1974）。古い方の試験では、添加剤（0.1%シュウ酸または 0.05%ベンゾトリアゾール）を含むまたは含まない、1%または 2%のエポキシ化植物油安定剤を含有する塩素化パラフィンが用いられた（未発表引用文献 61, 1965）。添加剤を含有する塩素化パラフィン塗布後、非常に軽度~軽度の落屑のみが認められた。この反応は、偶発的、一時的で一貫性がないと評価された。これらの反応が認められるまでの塗布回数については記述されていない。

さらに別の 2 件の試験において、最大 3%のエポキシ大豆油安定剤または他の詳細不明の添加剤を含有する、3 種類の C₁₀₋₁₃、63%塩素化パラフィンの影響について検討された（未発表引用文献 64, 1974 ; 60, 1965）。全 3 種類のパラフィンにおいて通常 2~4 回の塗布後に紅斑が認められたが、1 回のみ塗布後に動物の 1/3 に紅斑が認められた例もあった。反応の重症度は記述されていない。また、3 もしくは 4 回塗布後に落屑も認められ、塗布回数の増加に伴って重症度が増加した。古い方の試験（0.7%エポキシカルボン酸塩安定剤が用いられた）では、4 回目の塗布後の落屑は重度と評価され、そこで試験は終了された。

48%、50%、52%、または 55%塩素化された C₁₀₋₁₃ パラフィンを用いて、いくつかの試験が実施された（未発表引用文献 52, 1969 ; 58, 1967 ; 59, 1968 ; 62, 1971 ; 64, 1974）。大部分の試験において、0.2%もしくは 2%のエポキシ系安定剤を含有するパラフィンが用いられた。そのうち 1 件の試験では、0.2%エポキシステアリン酸オクチル安定剤を含有する 48%または 55%塩素化パラフィンが用いられたが、試験期間を通して刺激の徴候は認められなかった（未発表引用文献 52, 1969）。その他の試験の結果は上記のとおりであり、通常、

2回目または3回目の塗布後に軽微～軽度の紅斑及び軽度の落屑が認められた。1件の試験では、2%エポキシ化オレイン酸オクチル安定剤を含有する52%塩素化パラフィンの検討が行われ、1回目の塗布後に紅斑が認められたが、反応の重症度は論じられていない（未発表引用文献 59, 1968）。5件中4件の試験で、この反応はさらなる塗布により悪化しないことが示されたが、1件の試験（詳細不明の添加剤を含有する52%塩素化パラフィンの検討）では、2回目の塗布後に認められた軽微な紅斑が、3回目の塗布後に軽微な壊死を伴う高度な紅斑に悪化し、試験は終了された（未発表引用文献 62, 1971）。

1%エポキシ大豆油安定剤を含有するC₁₀₋₁₃、40%塩素化パラフィンを、不特定量2回塗布した後に軽微な落屑、3回塗布した後に軽度の紅斑が認められた（未発表引用文献 57, 1966）。この症状は、小さい散在性潰瘍が発現して試験終了に至るまでの残りの塗布期間を通して持続した。

上記試験のいくつかまたは全てについて、公表された報告書中に詳細ではないが概説されている（Birtley *et al.*, 1980）。

また、49%および60%塩素化された、2種類のC₁₀₋₁₁塩素化パラフィンの皮膚刺激の可能性を検討するため、ラットを用いた2件の未発表の試験が実施されている（未発表引用文献 53, 1980 ; 54, 1982）。単回塗布試験も実施されたことを除き、プロトコールは上記のとおりであった。高塩素化パラフィン単回塗布後に刺激の徴候は認められなかったが、低塩素化パラフィン塗布後3～6時間に、軽微な落屑が6匹中2匹のラットで認められた。上記のとおり、双方の塩素化パラフィンの反復塗布後に軽微な紅斑ないしは軽微な落屑が認められたが、いずれの試験でもこのような徴候が最初に認められた時点については報告されていない。

さらに、ウサギを用いた2試験が実施されており、非常に短い未発表の要約中で報告されている（未発表引用文献 50, 1975 ; 51, 1975）。C₁₀₋₁₃、61%塩素化パラフィンおよび炭素鎖長が特定されていない50%塩素化短鎖パラフィン（Cereclor 50HS）が、傷のない皮膚および擦過した皮膚に閉塞法により単回塗布された後、軽度または軽度～中等度の皮膚刺激を生じた。「さまざまな程度の紅斑が72時間持続した」と記述されている。その他の情報は得られていない。

上述した試験と対照的に、別の2件の未発表の試験では、より重篤な所見が報告されている。これらのうち1件の試験についての非常に簡単な要約では、炭素鎖長が特定されていない50%塩素化短鎖パラフィン（Cereclor 50HS）の閉塞法による反復塗布により、ラットの皮膚に、紅斑、落屑、肥厚、ひび割れ、および痂皮を伴うやや重度の刺激が認められたことが報告されている（未発表引用文献 55, 1974）。もう1件の試験では、被験物質を塗

布し 24 時間閉塞による処置を 1 回行った後に、軽微な紅斑及び落屑が生じたことが報告されている（未発表引用文献 54, 1982）。3 回目の処置後、中等度の落屑および「広範囲の擦過」を伴う皮内浮腫が認められ、試験は終了された。しかし、被験物質が塩素化パラフィンまたは塩素化パラフィン製剤に用いられた溶媒であったかについては不明確である。全体として、被験物質の特定が不確実であることから、証拠の重要性を考慮すると、検討中の塩素化パラフィンによる皮膚刺激の可能性を評価する際、これらの試験はいずれも信頼できないと考えられる。

眼

公表された試験において、C₁₀₋₁₃、40～63%塩素化パラフィンによる眼刺激の可能性が報告されている（Birtley *et al.*, 1980 年）が、未公表の同様の試験からさらに詳細な情報が得られている。2 件の試験において、2.5%または 2%の異なる 2 種類の添加剤あるいは 0.7%エポキシ系安定剤を含有する、異なる 3 種類の C₁₀₋₁₃、63%塩素化パラフィンの検討が行われた（未発表引用文献 64, 1974 ; 62, 1973）。両試験とも最新のプロトコールに従って実施され、パラフィン 0.1 mL もしくは「1 滴」のいずれかが、1 群 3 羽のウサギの一方の結膜嚢に点眼された。全 3 種類の製剤に関して同様の結果が報告され、初期疼痛は「ほとんどなし」（6 段階評価で 2）であった。いくらかの分泌物を伴う結膜の発赤および浮腫（エポキシ系安定剤を含有する製剤でのみ認められた）により示される、軽微な刺激（8 段階評価で 3）が 24 時間持続した。また、上記と同様の手法で 1 滴点眼により、特定されていない添加剤または 1%エポキシ系安定剤を含有する 52%または 40%塩素化パラフィンについて検討されている（未発表引用文献 62, 1971 ; 57, 1966）。52%塩素化パラフィン点眼により、即時の軽微な刺激の後に軽微な結膜発赤が認められ、上記と同様 24 時間持続した。40%塩素化パラフィンでは、点眼 1 時間後に軽度の充血が認められたが、24 時間後には影響はみられなかった。

C₁₂、59%塩素化パラフィン（Chlorowax 500C）の単回点眼により、明らかに、6 羽中 4 羽のウサギの眼に軽度の発赤が引き起こされた（Howard *et al.*, 1975）。しかし、この情報は、業界との個人的な情報交換に由来する古い概説の中で言及されたものである。この試験に関する元データの特定、またはさらなる情報を見出すことは不可能である。

別の 2 種類の塩素化パラフィン（Cereclor 50HS、Hoechst 64 flussig）に関しても同様の結果が得られたが、これらの短鎖パラフィンの炭素鎖長ないしは塩素化率は同定されていない（未発表引用文献 55, 1974 ; 43, 1966）。ほとんど情報は得られていないが、古い試験により、観察された反応の重症度は、1 日 5 回までの塩素化パラフィン点眼処置に伴って増加していかなかったことが明らかに示されている。

4.1.2.3.2 ヒトにおける試験

C₁₀₋₁₃、50%または63%塩素化パラフィンが、26人の被験者の上腕外側に塗布され閉塞包帯法で保持された（未発表引用文献113, 1975）。塗布された被験物質は24時間後に除去され、その1時間後に、相互に無関係である2名の評価者による皮膚反応の評価が行われた。2回目の塗布が行われ、さらに24時間保持した後に反応が評価された。軽度の紅斑および乾燥（24および50時間時点の平均スコアは4段階評価でそれぞれ2および1未満）が認められ、流動パラフィンを塗布された対照群のスコアと同程度であった。

個人的な情報交換で得られた業界情報の概説として、C₁₂塩素化パラフィン（59%塩素化）が、200人の男女被験者の皮膚に塗布しても、局所刺激を引き起こさなかったことが報告されている（Howard *et al.*, 1975）。曝露期間及びパラフィン塗布量は不明である。

眼刺激を引き起こす可能性に関する情報は得られていない。

4.1.2.3.3 刺激性の要約

ヒトにおける限られた情報から、短鎖塩素化パラフィンは皮膚刺激を引き起こさないことが示されている。この見解は、動物における試験から得られた情報により支持されている。2件の適切に実施された動物における皮膚刺激試験から、C₁₀₋₁₃、59%および70%塩素化パラフィンが引き起こす皮膚刺激は、強くとも僅かである可能性が示されている。いくつかの未発表の試験から、短鎖塩素化パラフィンの反復塗布後、より顕著な刺激が発現する可能性が示されている。これは、鎖長及び塩素化の程度に左右されないことが確認されており、おそらく脱脂作用に起因すると考えられる。

塩素化パラフィンが眼刺激を引き起こす可能性に関するヒトにおける情報は得られていない。しかし、動物試験の情報から、ウサギにおいてC₁₀₋₁₃、40~63%塩素化パラフィンが軽度の眼刺激のみを引き起こすことが示されている。

4.1.2.4 腐食性

4.1.2.3 項の動物およびヒトにおける試験から、短鎖塩素化パラフィンは皮膚や眼に対する腐食性を示さないことが示されている。

4.1.2.5 感作性

4.1.2.5.1 動物試験

最新のプロトコールに従い、適切な誘導条件を用いて適切に実施された 3 件の未発表の試験データが入手できている。

1 件の試験では、Magnusson と Kligman の方法を用いて、モルモットにおける C₁₀₋₁₃ パラフィン（塩素化率は推定約 50%）の皮膚感作性の可能性が評価された（未発表引用文献 67, 1988）。1%安定剤（Edenol B74）を含有するパラフィンが使用された。無希釈塩素化パラフィンを投与した場合、投与 24 時間後に、20 匹中 2 匹の被験動物に顕著な瀰漫性発赤が認められ、20 匹中 1 匹に軽微な発赤および乾燥が認められた。1 週間後、同じ動物に 50% 塩素化パラフィンを投与した場合には、皮膚反応は認められなかった。対照群に皮膚反応は認められなかった。この結果は、試験に供したパラフィンは皮膚感作性を誘導しなかったことを示している。

他の 2 件の試験でも、モルモットにおける C₁₀₋₁₃、56%塩素化パラフィンの皮膚感作性の可能性を評価するために、Magnusson と Kligman の方法が用いられた。古い方の試験では、1%のエポキシド類の安定剤（Edenol D81）および 1%トリス-ノニルフェニルホスファイトを含有する塩素化パラフィンが用いられた（未発表引用文献 66, 1983）。無希釈塩素化パラフィンを投与した場合、投与 24 時間後に、20 匹中 1 匹の被験動物に「やっと認知できる」紅斑が認められ、72 時間後に 20 例中 1 例の被験動物および 10 例中 1 例の対照動物に「明確な」紅斑および「軽微な」浮腫が認められた。したがって、この結果は、試験に供したパラフィンは皮膚感作性を誘導しなかったことを示している。

3 件目の試験では、異なるエポキシド類の安定剤（Rutapox CY 160）および 1%トリス-ノニルフェニルホスファイトを含有する C₁₀₋₁₃、56%塩素化パラフィンが用いられた（未発表引用文献 65, 1984）。無希釈塩素化パラフィンを投与した場合、20 匹中 5 匹の被験動物に「明確な」紅斑、他の 2 匹に「軽微な、やっと認知できる」紅斑が認められた。対照動物はいずれも皮膚反応の徴候を示さなかった。初回投与の 2 週間後に 2 回目の投与が行われた。この際は、20 匹中 4 匹の被験動物に「明確な」紅斑、他の 4 匹に「軽微な、やっと認知できる」紅斑および軽微な浮腫が認められた。著者らは、被験物質は感作物質であると結論付けた。しかし、明らかな反応が認められたのは被験群の 30%未満であったこと、またエポキシド類の安定剤が感作反応の発現に関与した可能性を考慮すると、この試験が、C₁₀₋₁₃、56%塩素化パラフィンを皮膚感作物質に分類すべき証拠として十分とは考えられない。

他に 3 件の、類似しているが最新ではないプロトコールが用いられた未発表の試験について、簡単に報告されている。1 件目の試験では、無希釈 C₁₀₋₁₃、52%塩素化パラフィンが、6 匹のモルモットの耳に 3 日間連続塗布された（未発表引用文献 62, 1971）。4 日後、動物の耳介外側皮膚に無希釈パラフィンを塗布して惹起したところ、軽微な紅斑が認められた。しかし、反応が認められた被験動物数は記述されていない。また、惹起時に 4 匹の対照動物にも軽微な紅斑が認められたことが記述されている。詳細は不明であるが、この試験において、供試したパラフィンは感作反応を引き起こさなかったことは明らかである。著者らは、このパラフィンは「刺激物だが強力な感作物質ではない」と見なした。この表現は、同じと思われるプロトコールを用いて 50%塩素化パラフィンを検討した他の試験の未発表の要約でも使われていた（未発表引用文献 55, 1974）。供試された短鎖パラフィン（Cereclor 50HS）の炭素鎖長などの詳細は示されていない。入手できた唯一の情報は、被験物質は「強力な感作物質ではない」と述べられた結論である。この表現を使用したことを考慮すると、皮膚感作性に関してこの試験から何らかの結論を導き出すことはできないと考えられる。

耳介外側皮膚面塗布プロトコールが用いられた 3 つ目の未発表の試験において、10%までの C₁₀₋₁₃、50%塩素化パラフィンでの惹起の際に、紅斑の徴候は全く認められなかった（未発表引用文献 59, 1968）。しかし、惹起に使用した濃度は皮膚感作性を厳密に検討するために十分であったかはこの報告書に示されていない。したがって、この試験から何らかの結論を導き出すことはできないと考えられる。

動物において短鎖塩素化パラフィンが呼吸器感作性を引き起こす可能性に関する情報は得られていない。

4.1.2.5.2 ヒトにおける試験

C₁₂塩素化パラフィン（塩素化率 59%）の経皮投与を受けた被験者において、アレルギー反応は認められなかったという報告が、個人的情報交換で得た情報として総説で引用されている（Howard *et al.*, 1975）。さらなる詳細情報は得られていない。

切削冷却液剤に関する古い試験において、134 人の非曝露被雇用者と 75 人の曝露被雇用者に、塩素化パラフィン等の切削液の各種成分に関するパッチテストが行われた（Menter *et al.*, 1975）。著者ら自身がこの試験は十分厳密なものではなかったと述べているが、どの成分についても陽性反応は認められなかった。

より最近の試験において、職業上の切削油の曝露を受け、落屑性湿疹に罹患した 4 人の被雇用者に施行されたパッチテストで、塩素化パラフィン成分に対する陽性皮膚反応が認め

られたことが報告されている (English *et al.*, 1986)。しかし、この論文では、この反応は、塩素化パラフィンよりもむしろ切削油中の添加剤に起因すると結論されている。

呼吸器感作性に関する情報は、得られていない。

4.1.2.5.3 感作性の要約

ヒトにおける皮膚感作性に関する限られた情報からは、何らかの結論を導き出すことはできないと考えられる。しかし、これらの物質の広範な使用にもかかわらず皮膚感作性に関する報告がないことは、短鎖塩素化パラフィンが皮膚感作物質である可能性がないことを示唆している。この結論は、C₁₀₋₁₃、50%および56%塩素化パラフィンについて動物を用いて適切に実施された2件の皮膚感作性試験で、陰性の結果が得られていることにより裏付けられている。炭素鎖長あるいは塩素化度の高低による作用の差異に関するデータは得られていないが、感作性についての作用があるとは予測されていない。

呼吸器感作性に関するヒトまたは動物における試験からの直接的情報は得られていない。しかし、これらの産業上重要な物質の広範な使用を考慮すると、何ら報告がないことにより、短鎖塩素化パラフィンが呼吸器感作物質ではないことが示唆される。それらが非反応性の性質でありまた皮膚感作性を持たないことが、この見解をさらに裏付けている。

4.1.2.6 反復投与毒性

4.1.2.6.1 動物における試験

吸入

入手試験データなし。

経口投与

ラットにおける試験

1群雌雄各5匹のラットに、16日間にわたる試験期間中の計12日、0、469、938、1875、3750、または7500 mg/kg/日のC₁₂、60%塩素化パラフィンが強制経口投与された (NTP, 1986)。最高用量の動物群で3匹の死亡が認められた。最高用量を投与された全動物に下痢が認められ、雄ラットでは22%、雌ラットでは14%の体重増加の抑制が認められた。3750

mg/kg/日で投与された雄ラットでは15%の体重増加の抑制が認められた。469 mg/kg/日で投与された雌ラットを除き、各用量群の3~5匹の動物に肝腫大が認められたが、腫大の程度は論じられていない。組織学的検査は実施されなかった。肝腫大は、異物代謝またはペルオキシソーム増殖への需要に対する生理学的反応によるものと思われるが、いずれもヒトに重大な健康上の悪影響を及ぼすものではないと考えられる（毒性の機序に関する試験についての章を参照）。その他の毒性の徴候は、1875 mg/kg/日を上回る用量で認められた。

簡潔に報告された未発表の試験において、連続14日間にわたり、1群10匹の雄ラットに0または約5000 mg/kg/日のC₁₀₋₁₃、52%塩素化パラフィンが、1群10匹の雌ラットに0または約2500 mg/kg/日の同パラフィンが強制経口投与された（未発表引用文献62, 1971）。試験期間中、投与を受けた全動物に軽微な立毛が認められ、雌ラットに「軽微な」失禁が認められた。投与を受けた雄ラット1匹が、9回目の投与後に死亡した。尿検査の結果、対照群と比較して変化はみられなかった。軽微な貧血および血液凝固能低下の徴候が、投与を受けた雌雄ラットに認められた。最終投与の24時間後に殺処分された動物に、明らかに滑面小胞体の増殖に関連した、顕著な肝細胞腫大が認められた。最終投与の7日後に殺処分された動物（例数不明）にも、24時間後と類似しているがそれほど顕著でない肝臓の変化が認められた。また、3匹の雄および1匹の雌ラットに軽微な脾造血の増加が認められた。さらなる詳細は得られていない。

1群雌雄各5匹のラットに、0、30、100、300、1000、または3000 mg/kg/日のC₁₀₋₁₂、58%塩素化パラフィンが14日間にわたり連日強制経口投与された（未発表引用文献75, 1981）。投与に関連した死亡は認められなかった。3000 mg/kg/日を投与された雌雄のラットに、努力性呼吸、自発運動の低下、涙液の分泌過剰、および鼻・口・肛門性器部の周囲の汚れが認められた。また、1000 mg/kg/日を投与された動物の1匹にも努力性呼吸が認められたが、これは毒性学的意味を持つものではないと考えられた。最高用量群の動物に体重増加の抑制（雄：15%、雌：20%）、および摂餌量の減少（雄：13%、雌：20%）が認められたが、体重増加の抑制は雌ラットのみ統計学的に有意であった。血液学的検査および生化学的検査は実施されなかった。試験終了時に、絶対的および相対的肝重量において、用量依存性の統計学的に有意な増加が、100 mg/kg/日（雄のみ：20%増加）、300 mg/kg/日（20~40%増加）、1000 mg/kg/日（50~80%増加）、3000 mg/kg/日（60~150%増加）を投与された雌雄ラットに認められた。また、最高用量群の動物で、相対および絶対重量の減少が、胸腺（50%以上減少）および卵巣（35%以上減少）において認められた。甲状腺の評価は行われなかった。1000 mg/kg/日以上を投与群で軽度の瀰漫性肝細胞肥大が認められ、300 mg/kg/日以上を投与された雌ラットで肝ミクロソーム酵素活性（アミノピリン脱メチル化酵素）の用量依存性の増加が認められた。また、最高用量群の雌ラットで、ミクロソームタンパク含量の増加が認められた。病理組織学的な肝臓の変化および代謝酵素活性の変化は、異物代謝およびペルオキシソーム増殖によるものと考えられる。その他の毒性の徴候

は、1000 mg/kg/日を上回る用量で認められた。

また、1群雌雄各5匹のラットに、0、900、2700、9100、または27300 ppmのC₁₀₋₁₂、58%塩素化パラフィンが14日間にわたり混餌投与された（未発表引用文献72, 1983）。これらの食餌中濃度は、1日用量0、100、300、1000、または3000 mg/kg/日に相当するように算出された。投与期間を通して、死亡および毒性の臨床的徴候は認められなかった。最高用量群の動物において、特に試験の最初の週に、体重および摂餌量の顕著な減少（14日目までに約50%）が認められた。血液学的検査および生化学的検査はおそらく実施されていない。絶対および相対肝重量における統計学的に有意な増加が、全投与群で認められた（100 mg/kg/日：約20%、300 mg/kg/日：50%、1000 mg/kg/日：110%、3000 mg/kg/日：150～240%）。また、肝細胞肥大の発現率および程度の増加が、全投与群で認められた。肝酵素試験においても、全投与群で活性またはミクロソームレベルの用量依存性の上昇が認められ、300 mg/kg/日以上を投与された雌ラットでタンパク含量、アミノピリン脱メチル化酵素、およびチトクロムP450の統計学的に有意な増加が認められた。雄ラットでも1000 mg/kg/日以上を投与した群で、チトクロムP450の統計学的に有意な増加が認められた。1000および3000 mg/kg/日を投与された動物で心筋萎縮が認められたが、著者らは、これは、少なくとも最高用量群の動物では体重減少に関連していると考えている。また、この作用は他の試験では報告されていないことから、塩素化パラフィンに関連した毒性学的意味はないと考えられる。また、最高用量群の動物における脾臓、胸腺、および精巣の萎縮も摂餌量の減少により派生したものと考えられた。甲状腺の評価は行われなかった。上記のとおり、病理組織学的な肝臓の変化および酵素活性の増加は、異物代謝およびペルオキシソーム増殖によるものと考えられる。その他の毒性の徴候は、1000 mg/kg/日を上回る用量で認められた。

13週間の試験において、1群雌雄各10匹のラットに、0、313、625、1250、2500、または5000 mg/kg/日のC₁₂、60%塩素化パラフィンが1日1回、週5日間連日強制経口投与された（NTP、1986）。死亡は認められなかった。5000または2500 mg/kg/日を投与された雄ラットに、軽微な体重増加の抑制（12～11%減少）が認められた。血液学的検査および生化学的検査はおそらく実施されていない。雌雄ラットにおいて、相対肝重量の用量依存性の増加（313、625、1250、2500、および5000 mg/kg/日でそれぞれ約25、38、55、100、100%）が認められた。この増加は全用量レベルにおいて統計学的に有意であった。最高用量群の全動物および2500 mg/kg/日を投与されたラットの1例に肝細胞肥大が認められた。また、最高用量群の全雄ラットおよび3匹の雌ラットに腎症が認められたが、これは対照群の雄ラット10匹中8匹にも認められた。しかし、影響の重症度は、塩素化パラフィンを投与された雄ラットの方が高度であった。腎所見の解釈は困難である。甲状腺、胸腺、心臓、脾臓などの臓器も調べられたが、変化は認められなかった。肝重量の増加は、異物代謝およびペルオキシソーム増殖を反映するものである。その他の毒性の徴候は、1250

mg/kg/日を上回る用量で認められた。

公表された総説 (Serrone *et al.*, 1987) で概説されている、適切に実施された未発表の試験において、雌雄ラットの群に、0、10、100、または 625 mg/kg/日の C₁₀₋₁₂、58%塩素化パラフィンが 90 日間にわたり混餌投与された (未発表引用文献 73, 1984)。投与期間を通して、死亡および毒性の臨床的徴候は認められなかった。最高用量群の雄ラットにおいて、軽微な体重増加の抑制が認められた (試験終了時、対照群より 9%減少)。最高用量群の雌雄ラットに、1 日平均摂水量の減少 (それぞれ 11%および 20%)、並びにこれに対応する尿量の減少および尿比重の増加が認められた。また、最高用量群における尿中総タンパク (最大 13%) およびコレステロール (最大 54%) の統計学的に有意な増加、最高用量群および中間用量群の動物におけるブドウ糖値 (最大 20%) の統計学的に有意な増加も認められた。血液学的パラメータに変化は認められなかった。投与を受けた雄ラットにおいて、肝タンパク含量の用量依存性の軽微な増加が認められ、それに対応するチトクロム P450 およびアミノピリン脱メチル化酵素の増加が、特に最高用量群の雄ラットでみられた。雌ラットでは、酵素濃度または活性に変化は認められなかった。100 mg/kg/日群および 625 mg/kg/日群で相対および絶対肝重量 (20%、140%) と相対および絶対腎重量 (10%、30%) の、625 mg/kg/日群で相対および絶対甲状腺重量 (約 32%) の統計学的に有意な増加が認められた。最高用量群の雌雄ラットで認められた顕微鏡検査所見は、肝細胞肥大、軽度の腎炎 (雄のみ)、腎尿細管の褐色色素沈着 (雌のみ)、および甲状腺肥大などであった。これらの肝臓、腎臓、および甲状腺の変化は、中間用量群の雄ラットにも認められた。腎臓の変化の毒性学的意味は疑わしく、上記のとおり、肝重量の変化、病理組織学的変化および酵素の変化は異物代謝およびペルオキシソーム増殖によるものであり、ヒトにおける毒性学的意味はないと考えられる。同様に、甲状腺で認められた影響もヒトにおける意味はないと考えられる (毒性の機序に関する試験の章を参照)。その他の毒性の徴候は、100 mg/kg/日を上回る用量で認められた。

上記の総説ではまた、0、10、100、または 625 mg/kg/日の C₁₀₋₁₂、58%塩素化パラフィンが、雌雄ラットの群に 90 日間にわたり強制経口投与された試験について、簡潔に報告している (Serrone *et al.*, 1987)。この試験の所見は混餌投与試験と同様であり、試験期間を通して死亡および毒性の臨床的徴候は認められなかった。最高用量群の雄ラットに軽微な体重増加の抑制および摂水量の変化がみられた。中間用量群および高用量群のラットにおける肝重量および腎重量の増加、並びに高用量群における甲状腺重量の増加が報告されている。これらの変化に関する定量的な詳細は報告されていない。顕微鏡検査所見は、中間用量群および高用量群のラットにおける肝細胞肥大、並びに中間用量群 (雄のみ) および高用量群における甲状腺肥大および過形成などであった。中間用量群および高用量群の雄ラットの腎臓において軽微～軽度の腎炎が高い発現率で認められ、高用量群の雌ラットで腎尿細管の色素沈着の亢進が認められた。さらなる詳細は得られていない。

不十分に実施された2年間の試験(4.1.2.8項で要約)において、6ヵ月間、12ヵ月間、または2年間にわたり312または625 mg/kg/日のC₁₂、60%塩素化パラフィンをラットに強制経口投与した場合、肝臓、腎臓、甲状腺、および胃が標的臓器となることが特定された(NTP, 1986)。

マウスにおける試験

1群雌雄各5匹のマウスに16日にわたる期間中の計12日間、0、938、1875、3750、7500、または15000 mg/kg/日のC₁₂塩素化パラフィン(塩素化率60%)が、強制経口投与された(NTP, 1986)。供試被験物質の容量が大きくなるため、最高2用量の被験物質は、5時間間隔で2回に分けて投与された。3750、7500、または15000 mg/kg/日を投与された全マウス、並びに1875 mg/kg/日を投与されたマウスの10匹中6匹が、試験終了前に死亡した。最小用量群の雌マウスを除き、塩素化パラフィンを投与された全動物に下痢が認められた。試験終了時まで生存した投与動物に肝腫大が認められた。組織学的検査は実施されなかった。

この試験に引き続き、13週間の試験が実施された(NTP, 1986)。13週間にわたり、1群雌雄各10匹のマウスに、コーン油を溶媒とする0、125、250、500、1000、または2000 mg/kg/日の被験物質が、1日1回週5日間強制経口投与された。被験物質に関連した死亡は認められなかったが、強制経口投与の過誤により各群に数匹の死亡が認められた。最高用量群の雄マウスにおいて、試験終了時までには体重増加の抑制(13%減少)が認められた。相対肝重量に用量依存性の増加(250、500、1000、2000 mg/kg/日でそれぞれ約17%、40%、80%、160%)が認められ、250 mg/kg/日以上で統計学的に有意であった。また、250 mg/kg/日以上で認められた肝細胞肥大の発現率も用量に伴って増加したが、これらの影響の程度は報告されていない。500 mg/kg/日以上で肝細胞巣状壊死が認められたが、重症度は論じられていない。甲状腺においては特に変化は認められなかった。肝臓への影響の根本をなす主たる過程は、異物代謝およびペルオキシソーム増殖であると思われる。その他の毒性の徴候は、1000 mg/kg/日を上回る用量で認められた。

2年間の試験(4.1.2.8項に要約)において、2年間にわたり125または250 mg/kg/日のC₁₂、60%塩素化パラフィンをマウスに強制経口投与した場合、肝臓、腎臓、および甲状腺が標的臓器となることが特定された(NTP, 1986)。

経皮投与

標準的な経皮投与試験のデータは得られていない。報告内容が不十分なある皮膚刺激試験において、ラットの剪毛背部に塩素化パラフィン(塩素化率 41～50%、51～60%、61～70%) 0.1 mL を塗布し 24 時間閉塞包帯法で保持する処置を最大 6 回、隔日実施したが、全身毒性の徴候は認められなかった (Birtley *et al.*, 1980)。供試動物数および曝露回数は不明確である。

4.1.2.6.2 ヒトにおける試験

様々な適用分野で広く使用されているが、短鎖塩素化パラフィン単独の影響に関する情報は得られていない。

4.1.2.6.3 毒性の機序に関する試験

動物において認められた毒性作用に関して考え得る機序について検討するために企図された多くの試験が、ヒトとの関連性を確認する上で有用である。

ラットにおける試験

雄ラットに 14 日間にわたり、0、10、50、100、250、500、または 1000 mg/kg/日の C₁₀₋₁₃、58%または 56%塩素化パラフィンを強制経口投与した後の、肝臓における影響の評価が行われた (Wyatt *et al.*, 1993)。肝臓は摘出・秤量・ホモジナイズされ、ペルオキシソーム増殖のマーカーであるペルオキシソーム脂肪酸β-酸化の分析が行われた。58%塩素化パラフィン投与により、絶対および相対肝重量に用量依存性の増加 (28～60%) が認められ、この増加は 250 mg/kg/日以上で統計学的に有意であった。また、酸化酵素活性も 250 mg/kg/日以上で統計学的に有意な増加を示し、最高用量ではほぼ 3 倍の増加に達した。56%塩素化パラフィン投与により、絶対および相対肝重量に用量依存性の増加 (20～77%) が認められ、この増加は 100 mg/kg/日以上で統計学的に有意であった。また、酸化酵素活性もやはり 250 mg/kg/日以上で統計学的に有意な増加を示し、最高用量ではほぼ 3 倍の増加に達した。

さらに、この試験の最高用量群の動物を用いて、血液検体中の甲状腺刺激ホルモン (TSH)、総 T₃、総 T₄、遊離 T₃、遊離 T₄ を分析することにより、甲状腺に対する影響の評価も行われた。T₄ 排泄に関与する肝酵素であるウリジン二リン酸グルクロノシル (UDPG) -トラン

スフェラーゼについて、肝ミクロソーム中の活性を測定した。両塩素化パラフィンの投与により、遊離 T₄ および総 T₄ 濃度は 30~40% 減少し、肝ミクロソームの UDPG-トランスフェラーゼ活性および血漿中 TSH 濃度は 2 倍の増加が認められた。T₃ 濃度に変化は認められなかった。

同様の試験において、雌雄ラットに対して、0、15、29、57、または 91 日間にわたり、0、313、625、または 1000 mg/kg/日の 58% 塩素化パラフィンが強制経口投与された (Elcombe *et al.*, 1994)。肝臓、甲状腺、および腎臓の組織学的検討が行われ、上記のとおり血液検体中の総 T₄、遊離 T₄、TSH、および肝ホモジネート中の UDPG-トランスフェラーゼ活性の測定が行われた。29 日目および 91 日目の殺処分の 7 日前に、ブロモデオキシウリジンを含むミニポンプが動物の皮下に埋め込まれた。313 および 625 mg/kg/日の用量で、相対肝重量に統計学的に有意な増加（それぞれ約 50% および 75%）が認められた。この増加は最初の殺処分（15 日）時に認められ、その後の殺処分時までにさらに増加し続けることはなかった（絶対肝重量については報告されていない）。また、15 日目以降、313 および 625 mg/kg/日の用量で、ペルオキシソームによる β-酸化に用量依存性の統計学的に有意な増加が認められたが、相対肝重量と同様に、その後の殺処分時までに増加し続けることはなかった。最高用量群の動物では、一見したところ、肝重量および β-酸化の記録が行われていない。肝ペルオキシソーム増殖も超微細構造的に証明されたと述べられているが、詳細は示されていない。

また、15 日目以降、313 および 625 mg/kg/日の用量で、UDPG-トランスフェラーゼ活性も少なくとも 150% の用量依存性の統計学的に有意な増加を示した。肝重量および β-酸化と同様に、その後の殺処分時に向けて UDPG-トランスフェラーゼ活性のさらなる増加が持続することはなかった。1000 mg/kg/日において、全測定時点で、血漿中総 T₄ および遊離 T₄ 濃度の統計学的に有意な減少（約 50% まで）が認められた。血漿中総 T₄ および遊離 T₄ 濃度の減少は 625 および 313 mg/kg/日の用量でも認められたが、この減少は必ずしも統計学的に有意ではなかった（概して 15 日目および 57 日目にのみ有意）。1000 mg/kg/日において、8~15 日目まで、血漿中 TSH の「顕著な」増加が認められ、その後の測定時点においては統計学的には有意ではない増加が認められた。また、313 mg/kg/日以上用量において、全測定時点で甲状腺濾胞細胞肥大、56 日目および 91 日目に過形成が認められたが、さらなる詳細は示されていない。さらに、313 mg/kg/日以上用量において、91 日目に甲状腺細胞における複製 DNA 合成の統計学的に有意な亢進が認められた。

313 および 625 mg/kg/日で投与された雄ラットにおいて、15 日目以降、腎尿管好酸球増加症が認められ、その症状は経時的に強くなっていった。29 日目以降、雄ラットに、初期は単巢性、その後は多巢性の好塩基球増加症が認められ、その例数が増えていった。雌ラットでは腎臓への影響は認められなかった。免疫細胞化学的方法では硝子滴形成を裏付け

られなかったが（私信, ICI, 1995）、そこでの反応はこの雄ラットに特異的な現象を示唆するものであった。

雌雄ラットに、0 または 1000 mg/kg/日の C₁₀₋₁₃、56%もしくは 58%塩素化パラフィンが 14 日間強制経口投与された（Elcombe *et al.*, 1995）。肝臓の顕微鏡検査の結果から、肝細胞肥大、ペルオキシソームおよび滑面小胞体の増殖が示された。形態計測学的解析から、両塩素化パラフィン投与群で「顕著な」ペルオキシソーム増殖が確認され、ペルオキシソーム体積密度の統計学的に有意な増加が認められた。絶対肝重量は報告されていない。相対肝重量および総チトクロム P450 濃度は対照群と比較して 2 倍以上増加し、ペルオキシソームによる β -酸化は 3~8 倍の増加を示したが、この影響は雄ラットの方で大きかった。

他の 2 試験において、1、2、4、7、15、または 28 日間にわたり、0 もしくは 1000 mg/kg/日の C₁₀₋₁₃、58%塩素化パラフィンを雌雄ラットに強制経口投与した場合の肝臓および甲状腺における初期の変化について検討された（ICI 草稿 1 および 2）。組織病理学的検査の結果、1 日目に肝細胞好酸球増加症、その後、小葉中心性及び汎小葉性肥大が認められたが、これはペルオキシソーム数の増加によるものと考えられる。検出された最初の生化学的変化は、雄ラットでは 2 日目、雌ラットでは 4 日目における肝ペルオキシソーム β -酸化の統計学的に有意な増加であり、雄ラットでは 7 日目（約 3 倍増加）、雌ラットでは 15 日目（約 9 倍増加）に最大に達した。これに伴って、絶対および相対肝重量の漸増が認められ、雄ラットでは 2 日目、雌ラットでは 4 日目以降（2 日目に約 10%、4 日目に約 60%の増加）、小さいながら統計学的に有意であった。雌雄ラットで 4 日目に甲状腺濾胞細胞肥大が認められ、時間と共に増大した。雄ラットにおいて、肝 UDPG-トランスフェラーゼ活性は、2 日目以降、対照群より一貫して高かったが、4 日目まででは統計学的に有意ではなかった。雌ラットにおける活性は、4~15 日目に統計学的に有意ではないが小さい増加を示した。遊離 T₄ および総 T₄ 濃度は、雌雄ラットで 1 日目から試験期間を通して最大約 50%減少した。試験の最初の 4 日間、雄ラットで血漿中遊離 T₃ および総 T₃ 濃度の約 30%の減少が認められた。雌ラットでは T₃ 濃度は測定されなかった。UDPG-トランスフェラーゼ活性の変化前に発現が認められた T₄ 濃度の変化は、使用された各分析法の感度の影響である可能性がある。試験期間を通して、TSH 濃度は雌雄ラットで増加したが、この増加は必ずしも統計学的に有意ではなかった。

報告内容が不十分な腹腔内投与試験において、ラットに 0 もしくは 1000 mg/kg/日の用量で、1、4 日目あるいは 1、4、6 日目に、C₁₀₋₁₃、49%、59%、または 71%塩素化パラフィンが投与された（Nilsen *et al.*, 1981）。全 3 種類の塩素化パラフィンについて、肝細胞細胞質の脂肪滴の発生およびサイズの増加が認められた。また、49%塩素化パラフィン投与により、5 日目および 7 日目に肝細胞サイズの 20~30%の増加、滑面小胞体の増殖、ミトコンドリア数の「中等度」の増加、ペルオキシソームのサイズおよび数量の増加がもたらされた。

供試した高塩素化パラフィンでは、ペルオキシソーム増殖を含むこれらの影響が認められなかったのか、あるいはこのような影響を評価しなかったのかについて、不明である。

マウスにおける試験

雄マウスに14日間にわたり、0、10、50、100、250、500、または1000 mg/kg/日のC₁₀₋₁₃、58%もしくは56%塩素化パラフィンを強制経口投与した後の、肝臓における影響の評価が行われた (Wyatt *et al.*, 1993)。肝臓は摘出・秤量・ホモジナイズされ、ペルオキシソームによる脂肪酸β-酸化の分析が行われた。58%塩素化パラフィン投与により、絶対および相対肝重量に用量依存性の増加が認められ、これらの増加(23~89%)はそれぞれ500 mg/kg/日以上、250 mg/kg/日以上で統計学的に有意であった。当該酸化酵素の活性は、250 mg/kg/日以上で統計学的に有意な増加を示したが、100 mg/kg/日では対照値の67%増という統計学的に有意ではない増加が認められた。酸化酵素活性の増加は最高用量では7倍に達した。56%塩素化パラフィン投与により、絶対および相対肝重量に用量依存性の増加が認められ、これらの増加(26~85%)は100 mg/kg/日以上で統計学的に有意であった。酸化酵素活性は250 mg/kg/日以上で統計学的に有意な増加を示し、最高用量では10倍の増加に達した。

雌雄マウスに、0または1000 mg/kg/日の用量でC₁₀₋₁₃、56%もしくは58%塩素化パラフィンが14日間強制経口投与された (Elcombe *et al.*, 1995)。肝臓の顕微鏡検査の結果から、肝細胞肥大、滑面小胞体、およびペルオキシソームの増殖が示された。形態計測学的解析から、両塩素化パラフィン投与群で「顕著な」ペルオキシソーム増殖が確認され、ペルオキシソーム体積密度の統計学的に有意な増加が認められた。対照群と比較して、相対肝重量および総チトクロム P450 濃度は40~80%増加した。絶対肝重量は報告されていない。ペルオキシソームによるβ-酸化は、4~6倍の亢進を示した。

モルモットにおける試験

雄モルモットに、0、500、または1000 mg/kg/日の58%塩素化パラフィンが14日間強制経口投与された (Elcombe *et al.*, 1994)。肝臓および甲状腺の組織学的評価が行われ、前述と同様、血液検体中の総チロキシン、遊離チロキシン、およびTSHの分析が行われた。甲状腺の恒常性に対する影響(すなわち、甲状腺ホルモンの変化)は認められず、肝ペルオキシソーム増殖または腎臓の変化の徴候は認められなかった。肝重量は報告されていない。

雄モルモットに、0または1000 mg/kg/日のC₁₀₋₁₃、56%もしくは58%塩素化パラフィンが14日間強制経口投与された (Elcombe *et al.*, 1995)。肝臓の電子顕微鏡検査の結果、投与

に関連した変化は認められなかった。また、形態計測の結果、ペルオキシソーム増殖の徴候は認められなかった。絶対肝重量は報告されていない。相対肝重量は36~50%の増加を示したが、総チトクロム P450 濃度またはペルオキシソームによるβ-酸化に変化は認められなかった。

簡潔に報告された試験において、モルモットに、0、500、または1000 mg/kg/日のC₁₀₋₁₃、58%塩素化パラフィンが14日間強制経口投与された（ICI 草稿3）。この試験は前述の試験（私信, ICI, 1995）の一部を成している。試験終了時に、両用量において体重増加の統計学的に有意な抑制（約12%）が認められた。絶対肝重量に変化は認められなかったが、相対肝重量に統計学的に有意な増加（両用量とも約18%）が認められた。投与動物の肝臓で、用量依存性のグリコーゲン減少が認められた。肝臓、甲状腺、もしくは腎臓にその他の組織学的変化は認められなかった。血漿中T₃、T₄、TSH濃度に変化は認められなかった。

機序に関する試験の全般的評価

これらの機序に関する試験の結果から、短鎖塩素化パラフィンはラットおよびマウスにおいてペルオキシソーム増殖を引き起こし、おそらくこれがいくつかの長期曝露試験で認められた肝障害の根底をなしていると思われる。ペルオキシソーム増殖は、顕微鏡検査、形態計測学的解析、およびマーカー酵素活性により確認された。ラットおよびマウスを用いた14日間の試験の結果から、ペルオキシソーム増殖に関する無影響量は100 mg/kg/日であることが示された。この作用に関する閾値はラットとマウスで同程度であったが、マウスでは用量増加に伴うペルオキシソーム増殖の大幅な増加が認められた。このような作用に対して非感受性であることが知られているモルモットを用いた試験では、ペルオキシソーム増殖は認められなかった。同様に、ヒトも、ペルオキシソーム増殖因子の作用に対して非感受性であることが認められている（Bentley *et al.*, 1993、Ashby *et al.*, 1994）。したがって、ラットおよびマウスを用いた試験で認められた肝障害は、ヒトの健康にとって重要ではないと結論付けることができる。ペルオキシソーム増殖発現量未満の用量における肝臓に対する唯一の影響は、小さいながら統計学的に有意な肝重量の増加である。このような増加は、おそらく異物代謝の増加を反映しており、毒性学的意味はないと考えられる。

短鎖塩素化パラフィンはまた、ラットおよびマウスの甲状腺に対する影響を引き起こしたが、モルモットでは影響は認められなかった。上記で考察した肝酵素およびホルモンに関する試験の結果から、これらの影響は負のフィードバック機構を介した甲状腺の刺激に起因すると考えられる。この連鎖は肝臓への影響、すなわちUDPG-トランスフェラーゼの増加に端を発する。UDPG-トランスフェラーゼ活性は、T₄排泄の増加およびその結果としての血漿中T₄濃度の減少をもたらす。血漿中T₄濃度の減少により下垂体TSH遊離の増加が

引き起こされ、これが今度は甲状腺による T₄ 産生の代償性増加の引き金となる。T₄ は持続的に排泄され甲状腺が刺激されることから、甲状腺の活性増加により最終的に肥大および過形成に至り、その結果として甲状腺腫瘍が発生しやすくなる傾向が導かれる。

UDPG-トランスフェラーゼ活性の増加は、ペルオキシソーム増殖の直接的な結果によるもの、あるいはペルオキシソーム増殖発現と同様の機序により始動する可能性がある。しかし、得られた証拠からは、この 2 つが関連しているかどうかは不明であるが、モルモットを用いた試験では、ペルオキシソーム増殖および甲状腺への影響（血漿中 T₄ および TSH 濃度の変化など）は、1000 mg/kg/日の高用量においても認められなかった。

さらに、げっ歯類は、ヒトにと異なり、T₄ と非常に高い親和性を有する T₄ 結合グロブリンを保有しないため、特に甲状腺における変化の影響を受けやすいことが示唆されている (Dohler *et al.*, 1979)。げっ歯類には他の結合タンパクが存在しているが、その結合効率は T₄ 結合グロブリンよりかなり低い。げっ歯類では T₄ 結合グロブリンが存在しないため、より多くの遊離 T₄ が代謝に利用され、このため体内から排泄される。これは UDPG-トランスフェラーゼ活性の増加により促進されるであろう。したがって、ヒトは、上記試験でラットおよびマウスに認められた、血漿中 T₄ 濃度の変化およびそれに続く甲状腺刺激の影響を受けにくいと考えられる。全体として、上記に示された考え得る機序、観察された肝臓への影響との明らかな関連性、およびヒトとラットとでの T₄ 結合の差を考慮すると、ラットおよびマウスの甲状腺で認められた影響が、ヒトの健康にとって重要である可能性は低いと考えられる。

4.1.2.6.4 反復曝露試験の要約

ヒトにおける短鎖塩素化パラフィンの反復曝露による影響に関する情報は得られていない。動物を用いた標準的な吸入または経皮投与試験についての情報は得られていないが、短鎖塩素化パラフィン、経皮曝露後にわずかな全身毒性を及ぼす可能性がある。情報が得られた経口投与による動物試験はすべて、52~60%塩素化された短鎖パラフィンを用いて実施されている。したがって、塩素化の程度の違いにより毒性が変化するかについて、データから直接見出すことはできない。

ラットおよびマウスを用いた経口投与試験において、肝臓および甲状腺が標的臓器として特定された。肝重量の小さな増加は異物代謝に対する反応に起因する可能性があり、毒性的意味はないと考えられる。肝重量のより大きな増加および肝細胞肥大は、ペルオキシソーム増殖を反映していることが示されている。ヒトはペルオキシソーム増殖に対する感受性を示さないことから、そのような肝臓への影響はヒトの健康とは関連がないと考えら

れる (Bentley *et al.*, 1993, Ashby *et al.*, 1994)。甲状腺重量の増加および濾胞細胞肥大は、T₄ 排泄の増加および血漿中濃度の減少により始動する、負のフィードバック機構を介した甲状腺刺激に起因することが示されている。T₄ 減少は、ペルオキシソーム増殖に関連すると考えられる肝酵素 (UDPG-トランスフェラーゼ) 活性の増加によるものである。また、ヒトとげっ歯類との T₄-グロブリン結合特性の差異が認められており、その結果、ヒトでは血漿中 T₄ 濃度減少への感受性が小さく、したがって甲状腺刺激の影響が導かれにくい。全体として、ラットおよびマウスで認められた甲状腺への影響が、ヒトの健康と関連がある可能性は低いと考えられる。

体重増加の抑制および腎重量の増加などのその他の毒性の徴候が、ラットを用いたいくつかの 14 日間もしくは 90 日間の試験において、100 mg/kg/日を上回る用量で認められた。一般的な毒性の徴候が、マウスを用いた 90 日間の試験において、1000 mg/kg/日を上回る用量で認められた。したがって、ヒトの健康にとって重要であると考えられる影響に関する NOAEL は、ラットでは 100 mg/kg/日、マウスでは 1000 mg/kg/日であることが示された。

4.1.2.7 変異原性

4.1.2.7.1 *in vitro* 試験

細菌試験

適切に実施された未発表の試験において、C₁₂、57%塩素化パラフィンは、Aroclor-誘導ラット肝 S9 の有無にかかわらず、ネズミチフス菌 TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 株、および大腸菌 WP2uvrA 株において復帰変異株の増加を引き起こさなかった (未発表引用文献 86, 1988)。塩素化パラフィンについて最大 5000 µg/プレートまで試験が行われた。

また、ネズミチフス菌 TA97、TA98、TA100、TA1535 株を用いた Ames 試験において、Aroclor-誘導ラットまたはハムスター肝 S9 添加および無添加の条件下で、やや高度に塩素化 (60%) された C₁₂ パラフィンについて最大 3333 µg/プレートまで試験を行った場合も、陰性の結果が得られた (NTP, 1986)。この試験では、20 分間のプレインキュベーション期間が設けられていた。しかし、細胞毒性は認められず、沈殿は報告されなかった。最大濃度をさらに増加 (最大 5000 µg/プレート) させることができたと考えられる。

同様に、C₁₀₋₁₃、50%塩素化パラフィンは、Aroclor-誘導ラット肝 S9 の有無にかかわらず、ネズミチフス菌 TA98、TA100、TA1535、TA1538 株において 2500 µg/プレートまで試験したが、復帰変異株の増加を引き起こさなかった (Birtley *et al.*, 1980 ; 未発表試験 89)。

上記と同じく、細胞毒性は認められず、沈殿は報告されなかった。したがって、最大濃度の増加が可能であったと考えられる。

また、他の 2 件の未発表の Ames 試験においても陰性の結果が示された。しかし、これらの報告は、結果報告に過ぎず、試験の詳細は示されていないため、その信頼性は不明である（未発表引用文献 90, 1989 ; 94, 1977）。

未発表の 1 試験において陽性の所見が報告されている（未発表引用文献 85, 1986）。1%エポキシ系安定剤を含有する C₁₀₋₁₃、50%塩素化パラフィンについて、最大 10000 µg/プレートまで、Aroclor-誘導ラット肝 S9 添加もしくは無添加の条件下で、ネズミチフス菌 TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 株、および大腸菌 WP2uvrA 株を用いて試験が行われた。毒性は認められなかった。S9 添加条件下の TA100 株、並びに非活性化条件下の TA100 および TA98 株で、復帰変異株数の用量依存性の増加が認められた（500 µg/プレート以上）。しかし、活性化条件下での TA100 株における増加はわずか 2 倍未満であり、非活性化条件下での TA98 株における増加はわずか 2 倍であった。また、エポキシ系安定剤が復帰変異株の増加に関与した可能性を無視することはできない。全体として、この試験から確固たる結論を導き出すことはできない。

哺乳類細胞を用いた試験

哺乳類細胞を用いた標準的な細胞遺伝学的試験データは得られていない。最新のプロトコールに従って適切に実施された、チャイニーズハムスターV79 細胞を用いた遺伝子突然変異（HPRT）試験の結果が得られている（未発表引用文献 92, 1987）。細胞毒性濃度に至るまで試験した場合、C₁₀₋₁₃、56%塩素化パラフィンは、Aroclor-誘導ラット肝代謝活性化もしくは非活性化条件下で、突然変異コロニー数の有意で再現性のある増加を引き起こさなかった。

変異原性試験ではないが、BHK21/C13 細胞を用いた 2 件の細胞形質転換試験の結果を、便宜上ここで概説する。1つ目の試験では、細胞を Aroclor-誘導ラット肝代謝活性化条件下で、細胞毒性濃度までの C₁₀₋₁₃、56%塩素化パラフィンで処置した（Birtley *et al.*, 1980 ; 未発表引用文献 95, 1981 ; 94, 1977）。細胞形質転換頻度の増加は認められなかった。代謝活性化混合物無添加での試験は実施されなかった。

対照的に、もう 1 つの試験では、細胞を C₁₂、58%塩素化パラフィン（Chlorowax 500C）で処置した場合、Aroclor-誘導ラット肝代謝活性化混合物の有無にかかわらず、形質転換頻度の増加が認められた（未発表引用文献 96, 1982）。細胞毒性および無毒性濃度の双方で、

形質転換頻度の大幅な増加（5～1000倍）が認められた。この作用と、*in vivo*における塩素化パラフィンの腫瘍化能（下記参照）との関連性は不明である。

4.1.2.7.2 *in vivo* 試験

ラット骨髄細胞染色体異常に関する試験において、C₁₀₋₁₂、58%塩素化パラフィンの検討が行われた（未発表引用文献 97, 1982 ; Serrone *et al.*, 1987）。1群8匹の雄ラットに、0、250、750、および2500 mg/kg/日の塩素化パラフィンが、5日間連日強制経口投与された。中間用量群で体重減少が認められ、最高用量群で7匹の死亡が認められた。6日目に検体採取が行われ、動物1匹あたり100分裂中期像の分析が行われた。250および750 mg/kg/日群、並びに2500 mg/kg/日群の生存動物1匹において、ギャップを除き、染色体異常の頻度の増加は認められなかった。染色体ギャップの発現率は評価されなかった。また、その他の時間の検体採取は行われなかった。細胞毒性は評価されなかったため、被験物質が標的組織に到達したかについての直接的測定結果はない。しかし、これらパラフィンのトキシコキネティクスを考慮すると経口経路による十分な吸収が示唆され、得られている限られた分布データは骨髄への分布を示している。したがって、この試験において、被験物質の相当量が標的組織に到達したと結論付けることは妥当であろう。

また、上記の塩素化パラフィンに関する生殖細胞変異原性試験も実施された（未発表試験 99, 1983 ; Serrone *et al.*, 1987）。1群15匹の雄ラットに、0、250、750、および2000 mg/kg/日の塩素化パラフィンを5日間連続強制経口投与した場合の優性致死について評価された。最終投与の2日後、雄ラットは5日間2匹の雌ラットとつがいにさせ、2日間の休養後に別の2匹の雌ラットとつがいにさせ、最終的に各雄ラットは20匹の雌ラットとつがいにされた。雄ラット導入の15日後に雌ラットの子宮検査を実施した。投与期間中、最高用量群の雄ラットに軽微な体重減少、中間用量群の雄ラットに軽微な体重増加の抑制が認められた。それ以降の残りの試験期間は、平均体重は同程度であった。生存胎仔、死胚、早期吸収胚、着床前損失胚の数もしくは位置に差は認められなかった。

4.1.2.7.3 ヒトにおける試験

入手情報なし。

4.1.2.7.4 変異原性の要約

この範疇にさまざまな鎖長および塩素化度化合物があることを特に考慮すると、当該物質

の遺伝毒性に関して得られたデータは比較的少ない。しかし、細菌試験における限られた情報から、これらの試験系において短鎖の 50～60%塩素化パラフィンに変異原性を示さないことが示されている。標準的な *in vitro* 細胞遺伝学的試験データは得られていないが、C₁₀₋₁₃、56%塩素化パラフィンに関する遺伝子突然変異試験の結果は陰性であった。2 件の適切に実施された *in vivo* 試験の結果から、短鎖塩素化パラフィンは、体細胞（骨髄細胞）または生殖細胞に対して変異原性を示さないことが示唆されている。

全体として、入手データおよび当該物質が一般に非反応性であることから、短鎖塩素化パラフィン（グループとして）は、変異原性を示さないことが示唆される。

4.1.2.8 癌原性

4.1.2.8.1 動物における試験

吸入

入手試験データなし。

経口投与

ラットにおける試験

生存率が低く不十分に実施された試験において、1 群雌雄各 50 匹の F344/N ラットに、コーン油を溶媒とする 0、312、または 625 mg/kg/日の C₁₂、60%塩素化パラフィンが、104 週間にわたり週 5 日間強制経口投与された（NTP, 1986）。さらに別の 1 群雌雄各 20 匹のラットを、同時進行の 6 ヶ月間および 12 ヶ月間の試験用に、各投与群に対して供試した（これら短い期間の試験では限定的な病理学的検査が実施された）。2 年間の試験においては、全動物が毎日観察され、少なくとも月 1 回、体重が測定された。全動物に関して、死亡時、切迫殺処分後または試験終了時に、過度に自己融解していたり食殺されていたりしない限り、剖検および十分な組織病理学的検査が実施された。

6 ヶ月間および 12 ヶ月間試験の終了時、高用量群の雄ラットに軽微な体重増加の抑制（12% 減少）が認められた。絶対および相対肝重量の統計学的に有意な用量依存性の増加（最大 124%）が、6 および 12 ヶ月後で認められた。この作用は雌ラットの方が大きかったが、いずれの性別においても、12 ヶ月後が 6 ヶ月後よりも大きな増加を示すということはない。肝重量の増加に伴ない肝細胞肥大が認められた。また、絶対および相対腎重量の統

計学的に有意な用量依存性の増加 (24~46%) が、6 および 12 ヶ月後で認められた。肝臓と同様に、12 ヶ月後が 6 ヶ月後よりも大きな増加を示すということにはなかった。また、腎臓では、尿細管障害および間質性炎症の発現率および重症度の用量依存性の増大 (対照群および低用量群では極微~軽度、最高用量群では軽度~中等度) が認められた。腎症については、雄ラットの方が雌ラットよりも高度であることが認められた。その他の変化は認められなかった。

2 年間の試験では、投与を受けた雄ラットの 89 週を超える生存率は非常に低く、試験終了時に生存していた雄ラットは、対照群では 50 匹中 27 匹、低用量群では 50 匹中 6 匹、高用量群では 50 匹中 3 匹であった。雌ラットの生存率は妥当なものであり、その割合はそれぞれ 50 匹中 34 匹、50 匹中 23 匹、50 匹中 29 匹であった。最高用量群の雄ラットの平均体重は、37 週後に対照群より 10%以上少なく、試験終了時には 23%少なかった。他のすべての体重測定値は、対照群と同程度であった。一般症状の観察から、約 90 週目まで被験物質投与に関連した変化は認められなかったが、両被験物質投与群の雌雄ラットに活動性低下、眼球および肌の褪色、衰弱、および呼吸異常などの非特異的な毒性の徴候が認められた。また、高用量群雌ラットの数匹に、肝腫大に起因すると思われる腹部の膨満または硬化が認められた。

被験物質投与ラットで特定の腫瘍数の有意な増加が認められた。低用量群の雄ラットで、肝細胞癌について軽微だが統計学的に有意な増加が認められた。試験終了時に生存していた雄ラットにおける発現割合は、対照群では 27 匹中 0 匹、低用量群では 6 匹中 2 匹 (33%)、高用量群では 3 匹中 0 匹であった。全体的な割合、すなわち生存期間にかかわらず試験された全雄ラットでの発現割合は、それぞれ 50 匹中 0 匹、50 匹中 3 匹 (6%)、48 匹中 2 匹 (4%) であった。雌ラットにおける全体的な割合は、それぞれ 50 匹中 0 匹、50 匹中 1 匹 (2%)、50 匹中 1 匹 (2%) であった。また、雌雄ラットで肝腫瘍結節の発生割合について統計学的に有意な増加が認められ、雄ラットにおける発生割合は、雄対照群では 50 匹中 0 匹、雄低用量群では 50 匹中 10 匹 (20%)、雄高用量群では 48 匹中 16 匹 (33%)、雌ラットではそれぞれ 50 匹中 0 匹、50 匹中 4 匹 (8%)、50 匹中 7 匹 (14%) と報告された。

低用量群の雌ラットで、甲状腺濾胞細胞腺腫の統計学的に有意な増加が認められた (対照群 : 50 匹中 0 匹、低用量群 : 50 匹中 6 匹 [12%]、高用量群 : 50 匹中 3 匹 [6%])。一方、高用量群の雌ラットでは、濾胞細胞癌の統計学的に有意ではない増加が認められた (対照群 : 50 匹中 0 匹、低用量群 : 50 匹中 0 匹、高用量群 : 50 匹中 3 匹 [6%])。対照群を含む全雄ラット群においては、発症割合は 50 匹中 3 匹 (6%) であった。濾胞細胞腺腫および濾胞細胞癌の背景(historical)発症割合(施設内データおよび全 NTP 試験のデータによる)は、それぞれ 0.8%および 0.4%である。

低用量群の雄ラットで、腎尿細管細胞腺腫の統計学的に有意な増加が認められた。試験終了時に生存していた雄ラットの最終的な発症割合は、対照群では 27 匹中 0 匹、低用量群では 6 匹中 2 匹 (33%)、高用量群では 3 匹中 0 匹であった。全体的な割合は、それぞれ 50 匹中 0 匹、50 匹中 7 匹 (14%)、49 匹中 3 匹 (6%) であった。また、低用量群の雄ラット 50 匹中 2 匹 (4%) に腺癌が認められたが、対照群または高用量群では認められなかった。雌ラットで、腎腫瘍の用量依存性の増加は認められなかった。

雄ラットではまた、単核細胞白血病の増加も認められた。最終的な発症割合は、対照群では 27 匹中 3 匹 (11%)、低用量群では 6 匹中 2 匹 (33%)、高用量群では 3 匹中 0 匹であり、全体的な発症割合は、それぞれ 50 匹中 7 匹 (14%)、50 匹中 12 匹 (24%)、50 匹中 14 匹 (28%) であった。雌ラットにおける発症割合は、対照群では 50 匹中 11 匹 (22%)、低用量群では 50 匹中 22 匹 (44%)、高用量群では 50 匹中 16 匹 (32%) であった。雄ラットの低い生存率および雌ラットの全群における高い発症割合を考慮すると、この結果の傾向に有意性は認められない。

高用量群の雄ラットではさらに、前胃の扁平上皮細胞乳頭腫の発症割合について軽微な増加が認められた (対照群 : 50 匹中 0 匹、低用量群 : 50 匹中 0 匹、高用量群 : 49 匹中 2 匹、既存対照値は示されていない)。おそらく、反復強制経口投与による慢性的な刺激の影響であると考えられる。また、高用量群の雄において膵腺房細胞癌が増加した (対照群 : 50 匹中 0 匹、低用量群 : 50 匹中 0 匹、高用量群 : 49 匹中 2 匹[4%]、既存対照値 : 0.2%)。被験物質投与群の雄ラットでは腺房腺腫の増加も認められた (対照群 : 50 匹中 11 匹[22%]、低用量群 : 50 匹中 22 匹[44%]、高用量群 : 49 匹中 15 匹[31%]、既存対照値 : 4.2%)。対照群における変則的に高い発症割合および得られた結果の傾向を考慮すると、これらの結果に有意性は認められない。

非腫瘍性的変化は、主として肝臓、腎臓、および胃において認められた。極微～軽微の壊死、限局性細胞変性、極微な肥大、および肉眼的に認められる血管拡張が、被験物質を投与した両群の肝臓で認められた。肝重量は報告されていない。低用量群 (49 匹中 26 匹) および高用量群 (50 匹中 27 匹) の雄ラットにおいて、腎皮質に多発性嚢胞が認められたが、対照群では認められなかった。雌ラットにおいて、腎症の発症割合が増加した (対照群 : 50 匹中 33 匹、低用量群 : 50 匹中 50 匹、高用量群 : 50 匹中 48 匹)。被験物質投与群の雄ラットでは増加は認められなかったが、腎症の重症度は、対照群よりも被験物質投与群の雄ラットの方が高度であると判定された。腎重量は報告されていない。また、雄ラットにおいて、腎尿細管細胞過形成の発症割合について用量依存性の増加が認められた (対照群 : 50 匹中 1 匹、低用量群 : 50 匹中 9 匹、高用量群 : 49 匹中 12 匹)。腺胃の浮腫およびびらん、並びに前胃の潰瘍、炎症、上皮過形成、および角化亢進が、雄ラットで用量依存的に認められた。また、被験物質投与群の雄ラットにおいて、上皮小体過形成および線維性骨

異栄養症も認められた。

全体として、この試験は質的に良くないため、肝臓、甲状腺、および腎臓における有意な発癌性のデータは、確定的なものではなく、示唆的なものであった。

マウスにおける試験

1 群雌雄各 50 匹の B6C3F₁ マウスに、コーン油を溶媒とする 0、125、または 250 mg/kg/日の C₁₂、60%塩素化パラフィンが、104 週間にわたり週 5 日間強制経口投与された (NTP, 1986)。全動物の観察が毎日行われ、少なくとも月 1 回、体重が測定された。全動物に関して、死亡時、切迫殺処分後、または試験終了時に、過度に自己融解していたり食殺されたりしなければ、剖検および十分な組織病理学的検査が実施された。

100 週間後、高用量群の雌マウスの生存率は、対照群より有意に低かった。試験終了時の生存率は、対照群では 50 匹中 35 匹、低用量群では 50 匹中 31 匹、高用量群では 50 匹中 25 匹であった。雄マウスにおける生存率は、それぞれ 50 匹中 34 匹、50 匹中 30 匹、50 匹中 30 匹であった。概して、この試験の生存率は妥当な値であった。被験物質投与群と対照群の平均体重に、有意な差はみられなかった。86 週目を超えると、活動性低下、背骨突出および呼吸異常などの被験物質投与に関連した臨床症状が、両被験物質投与群の雌雄マウスで認められた。

雌雄マウスで肝細胞癌の発症割合に用量依存性の増加が認められたが、高用量群の雌マウスでのみ、この増加は統計学的に有意であった。雌マウスにおける全体的発症割合は、対照群では 50 匹中 3 匹 (6%)、低用量群では 50 匹中 4 匹 (8%)、高用量群では 50 匹中 9 匹 (18%) であった (施設内データおよび全 NTP 試験のデータに基づく、雌マウスの肝細胞癌の背景発症割合は 2~3%である)。雄マウスにおける全体的発症割合は、それぞれ 50 匹中 11 匹 (22%)、50 匹中 15 匹 (30%)、50 匹中 17 匹 (34%) であった (施設内データおよび全 NTP 試験のデータに基づく、雄マウスの肝細胞癌の背景発症割合は 22~27%である)。また、雌雄マウスの両方で、肝細胞腺腫の発症割合についても統計学的に有意な用量依存性の増加が認められた。雄マウスにおける全体的発症割合は、対照群では 50 匹中 11 匹 (22%)、低用量群では 50 匹中 20 匹 (40%)、高用量群では 50 匹中 29 匹 (58%) であった。雌マウスにおける全体的発症割合は、それぞれ 50 匹中 0 匹、50 匹中 18 匹 (36%)、50 匹中 22 匹 (44%) であった (施設内データおよび全 NTP 試験のデータに基づく、肝細胞腺腫の背景発症割合は、雄マウスで 12%、雌マウスで 4%である)。

雌マウスの甲状腺濾胞細胞腺腫の発症割合について、統計学的に有意な用量依存性の増加

が認められた。雌マウスにおける全体的発症割合は、対照群では 50 匹中 8 匹 (16%)、低用量群では 49 匹中 12 匹 (24%)、高用量群では 49 匹中 13 匹 (27%) であった。また、最高用量群の雌マウスで濾胞細胞癌の増加も認められた。発症割合は、対照群では 50 匹中 0 匹、低用量群では 49 匹中 0 匹、高用量群では 49 匹中 2 匹 (4%) であった (背景データに基づく対照雌マウスの濾胞細胞腺腫と濾胞細胞癌を合わせた発症割合は約 0.5% である)。雄マウスでは甲状腺腫瘍の発症割合の増加は認められなかった。

また、雌マウスで、ハーダー腺癌の統計学的に有意だが用量依存性ではない増加が認められた。雌マウスにおける全体的発症割合は、対照群では 50 匹中 1 匹 (2%)、低用量群では 50 匹中 6 匹 (12%)、高用量群では 50 匹中 2 匹 (4%) であった。背景データに基づく対照雌マウスのハーダー腺癌の発症割合は 1.9% である。このような影響は雄マウスでは認められなかった。これらの所見は、ヒトの健康に関して重要ではないと考えられる。

雄マウスで、肺胞細胞/細気管支癌の統計学的に有意な用量依存性の増加が認められた。雄マウスにおける全体的発症割合は、対照群では 50 匹中 0 匹、低用量群では 50 匹中 3 匹 (6%)、高用量群では 50 匹中 6 匹 (12%) であった。しかし、背景データに基づく対照雄マウスの肺胞細胞/細気管支癌の発症割合は 5.8% である。腺腫の増加は認められなかった。雌マウスでは肺腫瘍の発現割合の増加は認められなかった。この結果の傾向からは、ヒトの健康に対する重要性は認められない。

全群の甲状腺において、初期の過形成から内腔にまで延伸する多層化突出病変に至る、一連の濾胞細胞病変が認められた (全体的発症割合: 雌マウスで対照群 32%、低用量群 55%、高用量群 45%、雄マウスでそれぞれ 10%、12%、24%)。高用量群の雌マウスで、腎ネフローゼの発症割合の増加が認められた。肝臓に非腫瘍性病変は認められなかった。肝重量は記録されなかった。

この試験における最も重要な所見は、雌マウスの甲状腺と雌雄マウスの肝臓における癌および腺腫の発症割合の増加であった。

経皮投与

入手試験データなし。

4.1.2.8.2 ヒトにおける試験

入手情報なし。

4.1.2.8.3 技術部会および専門家による考察

以下に技術部会における考察を概説し、専門家による結論を示す。大括弧[]内の用語は要旨明瞭化のために追加したものである。

短鎖塩素化パラフィンの癌原性について、1996年10月1～3日、および1997年2月19～21日の技術部会において検討された。加盟諸国は、当該物質は遺伝毒性を示さないということに同意したが、認められた腫瘍の意義およびヒトへの関連性についてはさらなる同意を得ることができなかった。

癌原性、変異原性、生殖毒性分野専門家委員会 (The Commission Group of Specialised Experts in the fields of Carcinogenicity, Mutagenicity and Reprotoxicity) が1997年6月4～6日に開催された。専門家は、NTP 癌バイオアッセイは質的に良いものではなく、肺、膵臓、胃、ハーダー腺で認められた腫瘍、もしくは白血病のわずかに過剰な発症に意義はないと判断した。彼らは認められた腫瘍のうち、肝臓、甲状腺、および腎臓の腫瘍にのみ意義があると判断した。このうちの2つに関する機序が示唆されている [上述]。肝腫瘍に関するペルオキシソーム増殖および甲状腺に関するホルモン失調である。これらの機序は該専門家により認められた。

[専門家の考えでは] 腎腫瘍に関する妥当な機序は示唆されていない。α_{2u} グロブリンが関与している可能性があるが、試験においてそのタンパク濃度について有意性は示されなかった。その他の検証では慢性腎症が認められ、それが腫瘍発生の寄与因子である可能性が示されている。[専門家の考えでは] 雄ラットに特異的な事象と結論付けるには証拠がいまだ不十分であることから、ヒトにおける重要性を排除することはできない。

4.1.2.8.4 癌原性の要約

短鎖塩素化パラフィンの曝露を受けた可能性があるヒト集団を対象とした試験に関する情報は得られていない。動物における試験に関してのみ、C₁₂、60%塩素化パラフィンの影響についての検討データが得られている。

短鎖塩素化パラフィンは変異原性を示さない。げっ歯類を用いた癌原性試験において、供試した塩素化パラフィンは、数種類の腫瘍の発生率について毒性学的に有意な用量依存性の増加を引き起こした。マウスにおいて、肝臓と甲状腺の腺腫および癌の発症率について用量依存性の増加が認められた。ラットを用いた質的に良くない試験でも同様の影響が示された。これらの所見は、肝臓でのペルオキシソーム増殖に起因する慢性的組織障害、甲状腺での長期間のホルモン刺激が反映されたものである。根本をなすと思われる関連機序

(4.1.2.6. 反復投与毒性を参照のこと)を考慮すると、これらの癌原性所見はヒトの健康には無関係と思われる。また、雄ラットで、腎尿細管細胞腺腫の発症率の増加も認められた。これは、雌ラットや雌雄マウスでは認められなかった。硝子滴は直接的には認められなかったが、雄ラットでみられた結果の傾向は、雄ラット特異的な現象である、硝子滴形成に起因する腎障害に続発する腫瘍形成と合致している。これは、雄ラットの腎臓で認められた良性腫瘍がヒトの健康に関係している可能性のないことを示唆している。

技術部会および専門家による考察

加盟諸国間で、試験で認められた腫瘍の意義およびそのヒトへの関連性に関する同意は得られなかった。この問題は、その後、専門家に付託された。専門家の見解では、3種類の腫瘍のみ意義があると判断され、このうち2種類はヒトに関連性はないと判断された。彼らの見解では、腎腫瘍が雄ラットに特異的な事象と結論付けるには証拠が不十分であることから、ヒトにおける懸念を排除することはできないとされた。

結論

腎腫瘍発症の根本をなす機序に関する既存の証拠は確定的ではないと認識されている。短鎖塩素化パラフィンが遺伝毒性を示さないことから、腎臓における慢性毒性の発現に要する量よりも低い曝露量では、この標的臓器での腫瘍発症のリスクはないと考えられる。雄ラットでの腎毒性に関する NOAEL は 100 mg/kg/日であることがこれまでに特定されている。この値はリスク評価において利用されるであろう。

4.1.2.9 生殖毒性

4.1.2.9.1 動物における試験

受胎能に対する影響

受胎能に対する影響について特別に検討した試験データは得られていない。しかし、反復毒性試験で、雌ラットに 3000 mg/kg/日の C₁₀₋₁₂、58%塩素化パラフィンを 14 日間強制経口投与した後、相対および絶対卵巣重量についてそれぞれ 35%および 48%の減少が認められた（未発表引用文献 75, 1981）。また、この用量の投与により、体重増加の 20%抑制などのその他の毒性の徴候が認められ、卵巣に対する影響はこれに起因する可能性がある。1000 mg/kg/日の投与では卵巣に変化は認められなかった。

ラットおよびマウスに、それぞれ最大 5000 mg/kg/日および 2000 mg/kg/日の C₁₂、60%塩素化パラフィンが 13 週間投与した場合、精囊、前立腺、精巣、卵巣、または子宮に変化は認められなかった (NTP, 1986)。

発生試験

適切に実施された試験において、ラットに、0、100、500、または 2000 mg/kg/日の C₁₀₋₁₃、58%塩素化パラフィンが、妊娠 6～19 日目に強制経口投与された (未発表引用文献 102, 1982 ; Serrone *et al.*, 1987)。帝王切開が 20 日目に施術された。最高用量群の 25 匹の妊娠ラット中 8 匹が死亡した。その他の群では死亡は認められなかった。中間用量群および最高用量群の双方で、衰弱した外観、唾液分泌過多、および活動性低下などの、母体に対する一般的な毒性徴候が認められた。また、最高用量群の雌ラットでは体重増加の抑制 (35%) も認められた。2000 mg/kg/日群において、早期および後期胚吸収に起因する着床後死亡胚の統計学的に有意な増加、および母体あたりの生存可能な胎仔数の統計学的に有意な減少が認められた。さらに、2000 mg/kg/日群でのみ、15 匹中 3 匹の同腹仔において 19 匹の胎仔に無指症ないしは短指症が認められた。

500 mg/kg/日群では、発生に関するいずれのパラメータにも変化は認められなかった。100 mg/kg/日群では、母体または胎仔に対する影響は認められなかった。全体として、ラットにおける発生に対する影響は、母体に対して深刻な影響を引き起こした濃度でのみ認められた。

あまり適切に実施されなかったウサギを用いた試験において、1 群 16 羽の妊娠ウサギに、コーン油を溶媒とした 0、10、30、または 100 mg/kg/日の C₁₀₋₁₂、58%塩素化パラフィンが、妊娠 6～27 日目に強制経口投与された (未発表引用文献 100, 1983 ; Serrone *et al.*, 1987)。帝王切開が 28 日目に施術された。いずれの群においても母体死亡は認められず、毒性の徴候は認められなかった。いずれの用量レベルでも奇形は認められなかった。100 mg/kg/日投与群では 14 羽中 2 羽の妊娠ウサギに、30 mg/kg/日投与群では 15 羽中 1 羽の妊娠ウサギに、全同腹仔吸収が認められた。これは対照群または低用量群では認められなかった。この影響についての背景データに基づく対照での発生割合は、277 羽中 13 羽であり、被験物質投与群の 1 羽または 2 羽の母体で認められた全同腹仔吸収は、偶発的なものに過ぎない可能性が示唆された。したがって、これらの所見は、被験物質投与に関連した影響についての説得力のある証拠にはならないと考えられる。この試験において、母体毒性用量で発生に対する影響が引き起こされる可能性についての評価は行われなかった。

この試験の用量レベルは 2 件の用量設定試験に基づき設定された (未発表引用文献 103 および 104, 1982)。過剰な母体毒性や対照群を含む全群での例数の減少 (流産した、または

受胎しなかったウサギがいたため)、およびこれに付随した試験感度の低下により、これらの試験から何らかの結論を導き出すことはできない。

4.1.2.9.2 ヒトにおける試験

入手データなし。

4.1.2.9.3 生殖毒性の要約

受胎能に関して、ヒトにおける情報は得られておらず、また、そのような影響について特別に検討した動物試験データも得られていない。しかし、ラットおよびマウスに、それぞれ最大 5000 mg/kg/日および 2000 mg/kg/日の C₁₂、60%塩素化パラフィン¹を 13 週間投与した場合、生殖器に変化は認められなかった。

発生への影響に関してヒトにおける情報は得られていないものの、適切に実施されたラットを用いた試験で、C₁₀₋₁₃、58%塩素化パラフィン¹投与により、深刻な母体に対する影響も引き起こした用量（2000 mg/kg/日）において、発生への影響が認められた。しかし、低用量（500 mg/kg/日以下）では発生への影響は認められなかった。ウサギを用いた試験では発生への影響は認められなかったが、母体毒性用量の検討は行われなかった。

より塩素含量の高いもしくは低い短鎖塩素化パラフィンに関する情報は得られていない。