

内閣府食品安全委員会事務局
平成23年度食品安全確保総合調査

ポジティブリスト制度施行に伴う暫定基準の設定された
農薬、動物用医薬品及び飼料添加物に係る
食品健康影響評価に関する調査報告書

オルトフェニルフェノール

平成24年1月

株式会社三菱化学テクノロジー

はじめに

食品安全委員会では、ポジティブリスト制度導入に伴い、暫定基準の設定された農薬、動物用医薬品及び飼料添加物(以下「農薬等」という。)について、海外のリスク評価機関等で実施された評価結果を活用し、順次食品健康影響評価を行っているところである。

本報告書はこの内、オルトフェニルフェノールについて、国際的な評価機関である FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議(以下「JMPR」という。)の評価書の翻訳を行うとともに、評価に必要な情報について整理し、取りまとめたものである。

平成 24 年 1 月

株式会社三菱化学テクニサーチ

目 次

オルトフェニルフェノール

1. 調査の目的	5
2. 作業の概要	5
2.1. 調査対象物質	5
2.2. 評価書の翻訳	7
2.2.1. 評価書	7
2.3. 翻訳の整理	7
3. 評価書和訳	7
3.1 Jmpr(1969年)	9
3.2 Jmpr(1985年)	31
3.3 Jmpr(1999年)	59

海外のリスク評価機関における農薬の評価結果に関する調査 報告書

オルトフェニルフェノール

1. 調査の目的

食品衛生法の一部を改正する法律(平成15年法律第55号)の施行に伴い、いわゆるポジティブリスト制度が、平成18年5月29日に導入された。本施行に伴い、農薬、動物用医薬品及び飼料添加物(以下「農薬等」という。)758物質に暫定基準が設定され、食品安全委員会では、これらの物質について、海外のリスク評価機関等で実施された評価結果を活用し、順次食品健康影響評価を行っているところである。

本調査は、国際的な評価機関である JMPR (FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議) 及び JECFA (FAO/WHO 合同残留添加物専門家会議) と最新の評価を行っている EFSA (欧州食品安全委員会) の評価書が、我が国での評価を行う上で有益性が高いため、今後評価を行うべき農薬のうち、JMPR 及び JECFA と EFSA の双方の評価を比較できるものについて、双方の評価書の翻訳を行うとともに評価に必要な情報について整理し、評価書ごとに毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめたものである。

2. 作業の概要

本調査では JMPR 及び JECFA と EFSA における評価書の翻訳及び整理を以下のように実施した。

2.1. 調査対象物質

本調査全体では、ポジティブリスト制度施行に伴う暫定基準が設定された農薬等の 758 物質のうち、表1に示した 38 物質を調査対象とした。本報告書では、これらのうちオルトフェニルフェノールの調査について報告した。

表 1 調査対象の農薬等

番号	物質名	主な用途
1	5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン (アルベンダゾール)	動物薬・寄生虫駆除剤
2	イソメタミジウム	動物薬・寄生虫駆除剤
3	エトキシキン	農薬/飼料添加物・成長調整剤・抗酸化剤
4	オイゲノール	動物薬・麻酔薬
5	オルトフェニルフェノール	農薬・殺菌剤
6	カルバドックス(キノキサリン-2-カルボン酸含む)	動物薬・合成抗菌剤
7	キントゼン(PCNB)	農薬・殺菌剤
8	クロサンテル	動物薬・寄生虫駆除剤
9	クロルプロマジン	動物薬・鎮静剤
10	酢酸トレンボロン	動物薬・ホルモン剤
11	サラフロキサシン	動物薬・合成抗菌剤
12	ジェチルスチルベストロール(DES)	動物薬・ホルモン剤
13	ジクラズリル	動物薬・寄生虫駆除剤
14	シクロキシジム	農薬・除草剤
15	ジブチルヒドロキシトルエン	飼料添加物・抗酸化剤
16	ジメトリダゾール	動物薬・寄生虫駆除・抗原虫剤
17	スペクチノマイシン	動物薬・抗生物質
18	スルファジミジン	動物薬・合成抗菌剤
19	ゼラノール	動物薬・ホルモン剤
20	デキサメタゾン	動物薬・ホルモン剤
21	テクナゼン	農薬・殺菌剤・成長調整剤
22	ドジン	農薬・殺菌剤

番号	物質名	主な用途
23	トリクラベンダゾール	動物薬・寄生虫駆除剤
24	トリベヌロンメチル	農薬・除草剤
25	ナイカルバジン	動物薬/飼料添加物・合成抗菌剤・寄生虫駆除剤
26	ネオマイシン	動物薬・抗生物質
27	バシトラシン	動物薬/飼料添加物・抗生物質
28	ビオレスメリン	農薬・殺虫剤
29	ピペロニルブトキシド	農薬/動物薬・共力剤
30	ブチルヒドロキシアニソール	飼料添加物・抗酸化剤
31	フルアズロン	動物薬・ダニ駆除剤
32	フルメリン	農薬/動物薬・殺虫剤
33	ブロモプロピレート	農薬・ダニ駆除剤
34	ポリミキシンB	動物薬・抗生物質
35	マレイン酸ヒドラジン	農薬・除草剤・成長調整剤
36	メロニダゾール	動物薬・寄生虫駆除剤・抗原虫剤
37	モキシデクチン	動物薬・寄生虫駆除剤
38	ロニダゾール	動物薬・寄生虫駆除剤・抗原虫剤

2.2. 評価書の翻訳

2.2.1. 評価書

オルトフェニルフェノールに関して、これまでに食品安全委員会にて収集を行っている JMPR と EFSA における評価書の指定部分の翻訳を行った。各評価書等を表 2 に示した。

表 2 調査対象の評価書

機関	発行年	タイトル
JMPR	1969	169. Phenylphenol, 2- (FAO/PL:1969/M/17/1)
JMPR	1985	729. Phenylphenol, 2- and its sodium salt (Pesticide residues in food: 1985 evaluations Part II Toxicology)
JMPR	1999	Pesticide residues in food -- 1999

2.3. 翻訳の整理

評価書の翻訳について、評価書ごとに以下のように整理した。

- JMPR の評価書について、評価書ごとに見出しを整理し、原文の目次を作成した。
- 翻訳の見出し部分に原文の該当ページを記載した。
- JMPR 及び EFSA の評価書ごとに毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめた。

3. 評価書訳

以下に評価書の指定箇所全訳を、評価書ごとに掲載した。

オルトフェニルフェノール 評価書和訳と情報整理

JMPR: 1970

ウェブサイト:<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v069pr25.htm>

オルトフェニルフェノール 評価書和訳と情報整理 JMPR (1970) 目次

化学名 (原文 p.1)	16
同義語 (原文 p.1)	16
構造式 (原文 p.1)	16
その他の関連する化学的性状 (原文 p.1)	17
純度 (原文 p.1)	17
一日摂取許容量に関する評価 (原文 p.2)	17
生化学的特徴(原文 p.2)	18
吸収、分布及び排泄 (原文 p.2)	18
毒性試験(原文 p.2)	18
発がん性に関する特殊試験 (原文 p.2)	18
急性毒性 (原文 p.3)	18
短期試験(原文 p.3)	19
イヌ (原文 p.3)	19
ラット (原文 p.3)	19
長期試験(原文 p.3)	19
ラット (原文 p.3)	19
ヒトでの所見 (原文 p.3)	20
コメント (原文 p.4)	20
毒性学的評価 (原文 p.4)	20
食品中の残留物及びその評価(原文 p.4)	20
使用目的 (原文 p.4)	20
作物残留試験から得られた残留物 (原文 p.5)	21
残留物の運命	23
商業及び消費における食品中の残留物に関する証拠(原文 p.7)	23
残留物の分析法 (原文 p.7)	23
評価 (原文 p.8)	25
追加の作業又は情報 (原文 p.9)	27
要望 (原文 p.9)	27
文献	27
2-フェニルフェノールの毒性試験と結果の概要 (評価書:JMPR 1970)	28
略称	29

原文 目次

原文ページ

2-フェニルフェノールとそのナトリウム塩	1
同一性	1
化学名	1
同義語	1
構造式	1
その他の関連する化学的性状	1
純度	1
一日摂取許容量に関する評価	2
生化学的特徴	2
吸収、分布及び排泄	2
毒性試験	2
発がん性に関する特殊試験	2
急性毒性	3
短期試験	3
イヌ	3
ラット	3
長期試験	3
ラット	3
ヒトでの所見	3
コメント	4
毒性学的評価	4
毒性学的に有意な影響を引き起こさない用量	4
ヒトに関する一日摂取許容量の推定	4
食品中の残留物及びその評価	4
使用目的	4
収穫前処理	
収穫後処理	
作物残留試験から得られた残留物	5
残留物の運命	
商業及び消費における食品中の残留物に関する証拠	7
残留物の分析法	7
各国の許容値	
評価	8
許容値、暫定許容値又は実際の残留基準に関する勧告	
追加の作業又は情報	9
要望	9

文献.....

2-PHENYLPHENOL AND ITS SODIUM SALT	1
IDENTITY	1
Chemical names	1
Synonyms	1
Structural formulae	1
Other relevant chemical properties	1
Purity	1
EVALUATION FOR ACCEPTABLE DAILY INTAKE	2
BIOCHEMICAL ASPECTS	2
Absorption, distribution and excretion	2
TOXICOLOGICAL STUDIES	2
Special studies on carcinogenicity	2
Acute toxicity	3
Short-term studies	3
Dog	3
Rat	3
Long-term studies	3
Rat	3
OBSERVATION IN MAN	3
COMMENT	4
TOXICOLOGICAL EVALUATION	4
Level causing no significant toxicological effect	4
ESTIMATE OF ACCEPTABLE DAILY INTAKE FOR MAN	4
RESIDUES IN FOOD AND THEIR EVALUATION	4
USE PATTERN	4
Pre-harvest treatments	
Post-harvest treatments	
RESIDUES RESULTING FROM SUPERVISED TRIALS	5
FATE OF RESIDUES	
Evidence of residues in food in commerce or at consumption	7
METHODS OF RESIDUE ANALYSIS	7
NATIONAL TOLERANCES	
APPRAISAL	8
RECOMMENDATIONS FOR TOLERANCES, TEMPORARY TOLERANCES OR PRACTICAL RESIDUE LIMITS	
FURTHER WORK OR INFORMATION	9

DESIRABLE9
REFERENCES.....

1969 食品中に存在する農薬残留物に関する評価

モノグラフ

FAO 及び WHO による共同発行

この文書の内容は、FAO 専門作業部会及び農薬に関する WHO 専門家グループによる合同会議(1969年12月8-15日、ローマで開催)における審議の結果である。

国際連合食糧農業機関

世界保健機関

ローマ、1970年

2-フェニルフェノールとそのナトリウム塩

同一性

化学名 (原文 p.1)

2-フェニルフェノール(2-phenylphenol); 2-フェニルフェノール・ナトリウム(sodium 2-phenylphenate)

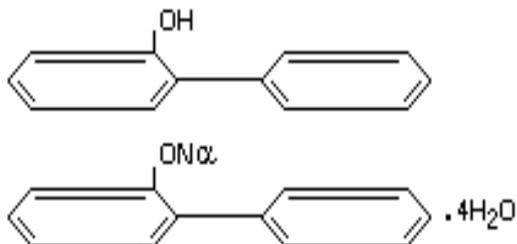
同義語 (原文 p.1)

遊離フェノールに関しては; o-ヒドロキシジフェニル(o-hydroxydiphenyl) *

*原文のこの箇所には記載されていないが、他で言及されていることから、以下を追加できる。

o-フェニルフェノール(o-phenyl phenol)、オルトフェニルフェノール、OPP; o-フェニルフェノール・ナトリウム(sodium o-phenylphenate)、オルトフェニルフェノール・ナトリウム

構造式 (原文 p.1)



その他の関連する化学的性状 (原文 p.1)

遊離フェノールは、白色、結晶性、流動的粉末で、分子量は、170.2 である。軽度の 石炭酸臭(phenolic odour)を有する。水 1mL に、0.1 g 未満が溶解する。エタノールには、良く溶け、脂肪及び油には、溶解する。また、遊離フェノールは、ワックス製剤に分散又は溶解する。

ナトリウム塩は、淡黄色の固体である。分子量は、264.3 である。水及びエタノールに、極めて良く溶け、油には、ほとんど溶けない。水溶液として使用される。

純度 (原文 p.1)

両化合物の純度に関する規格は、欧州経済共同体によって公開されている(E.E.C., 1967):

E231 2-フェニルフェノール

融点	56 - 58° C
含有量	99%以上
ビフェニルエーテル(biphenylether)	0.3%以下
p-フェニルフェノール(p-phenylphenol)	0.1%以下
アルファ-ナフトール(alpha-naphthol)	0.01%以下
灰化後の硫酸塩	0.05%以下

E232 2-フェニルフェノール・ナトリウム(o-フェニルフェノールナトリウム;sodium orthophenylphenate)

融点(ナトリウム塩の酸性化によって生成した 2-フェニルフェノールを再結晶化しないで、硫酸上で乾燥した沈殿物)

融点	56-58° C
pH (2%水溶液)	pH 11.1-11.8 の間になければならない。
含有量	95%以上(C ₁₂ H ₉ ONa.4H ₂ O)
ビフェニルエーテル(biphenylether)	0.3%以下
p-フェニルフェノール(p-phenylphenol)	0.1%以下
x-ナフトール(x-naphthol)	0.01%以下

一日摂取許容量に関する評価 (原文 p.2)

本化合物に関して、入手可能であった生物学的データについては、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議によって評価された。o-フェニルフェノール・ナトリウム(sodium orthophenylphenate)と題するモノグラフは、本会議の第 6 回報告書(FAO/WHO, 1962)に含まれている。限定的ではあるが、最近入手できた追加の情報と併

せて審議されたデータについて、要約は、以下に記載されている。

生化学的特徴(原文 p.2)

吸収、分布及び排泄 (原文 p.2)

ラットに、2年間、2-フェニルフェノールを経口投与した後、その組織を調べて見ると、本化合物は、ほとんど蓄積する傾向がないことが分かった。本化合物を検出可能である量を含む唯一の器官は、腎臓であった。すなわち、20000 ppm 及び 2000 ppm を含む飼料を混餌投与されたラットの腎臓には、それぞれ、平均 220 mg/kg 組織及び約 10 mg/kg 組織を含有していた(Hodge et al., 1952)。

2-フェニルフェノールをウサギに投与すると、グルクロン酸と高度に抱合化する。しかし、この種では、エーテル硫酸に変換されるかどうかは知られていない。グルクロニドは、ウサギの尿から分離され、トリアセチルメチルエステル(triacetylmethyl ester)に変換することによって、性質が調べられた(Williams, 1959 ; Dodgson et al., 1948 ; Kamil et al., 1951)。

2-フェニルフェノールをラットに経口投与すると、部分的に、2,5-ジヒドロキシビフェニル(2,5-dihydroxybiphenyl)に変換され、2-フェニルフェノールのように、グルクロニド及びエーテル硫酸として、尿に排泄される。投与 48 時間までの 2-フェニルフェノールの全排泄量は、2-フェニルフェノール及び 2,5-ジヒドロキシフェノール(2,5-dihydroxyphenol)の抱合体として、約 70%に達した(Ernst, 1965)。

毒性試験(原文 p.2)

発がん性に関する特殊試験 (原文 p.2)

2 種類の交雑系マウス(一群雄雌各 18 匹)は、18 ヶ月間、2-フェニルフェノールを経口投与された。すなわち、マウスは、7 日齢から 4 週齢までは、100 mg/kg の用量で、強制経口投与された。その後は、対応する量として、280 ppm になるように飼料に添加され、混餌投与された。その結果、腫瘍の発生頻度に有意差はなかった(Innes et al., 1969)。

急性毒性 (原文 p.3)

動物	経路	LD50 mg/kg 体重	文献
ラット	経口	2700-3000(約)	MacIntosh, 1945 Hodge et al., 1952
ネコ	経口	500(約)	MacIntosh, 1945

短期試験(原文 p.3)

イヌ (原文 p.3)

イヌ(2頭)に、2-フェニルフェノールを 1000 mg/kg 体重の用量で、毎日、混餌投与した予備試験では、1ヶ月以内に、すべての動物は死亡した。次に、イヌ(一群 2匹)は、2-フェニルフェノールを、0、20、200 及び 500mg/kg 体重の用量で、1年間、毎日、混餌投与された。その結果、2-フェニルフェノールの投与に関する影響は、観察されなかった。また、血液学的検査値、尿糖及び蛋白質、臓器重量及び種々の組織における組織病理学的所見は、正常範囲と異なっていなかった(Hodge et al., 1952)。

ラット (原文 p.3)

ラット(一群雄 15匹)は、0、2、20 又は 200 mg/kg 体重の用量で、32日間、毎日、混餌投与された。その結果、2-フェニルフェノールの投与に起因する毒性所見は見られなかった。また、すべての投与群における平均成長率及びヘモグロビン濃度及び白血球数は、対照群と同程度であった(MacIntosh, 1945)。

ラット(一群雄雌各 5匹)は、0、50、100、200 及び 500 mg/kg 体重の用量で、週 5日、6ヶ月間、胃ゾンデを用いて、経口投与された。その結果、観察された唯一の異常は、500 mg/kg 体重投与群における肝臓重量及び腎臓重量の軽微な増加であった(Hodge et al., 1952)。

ラット(一群雄雌各 12匹)は、2-フェニルフェノールの 0、1000、3000、10000 又は 20000 ppm を含む飼料を用いて、3ヶ月間、混餌投与された。その結果、対照群及び投与群の死亡率に有意差はなかった。また、10000 及び 20000 ppm 投与群における特定のラットには、有意ではない肝臓、腎臓及び脾臓重量の増加が見られた。しかし、組織変化は、観察されなかった(Hodge et al., 1952)。

長期試験(原文 p.3)

ラット (原文 p.3)

ラット(一群雄雌各 25匹)は、2-フェニルフェノールを 0、200、2000 及び 20000 ppm 含有する飼料を用いて、2年間、混餌投与された。その結果、成長、死亡率、肉眼的所見、血液学、尿糖及び蛋白質、臓器重量、2-フェニルフェノールの組織含有量及び種々の組織における組織病理学的所見から判断されるように、200 及び 2000 ppm 群では、対照群と比較するとき、有害作用は示されなかった。一方、2-フェニルフェノールの 20000 ppm 群では、幾つかの点で、対照群と異なっていた。すなわち、わずかな成長抑制及び組織学的な腎臓所見(顕著な尿細管拡張)がみられ、また、腎臓組織には 2-フェニルフェノールが少量存在していた(Hodge et al., 1952)。

ヒトでの所見 (原文 p.3)

ゴマ油に溶解した 2-フェニルフェノールの 5%溶液及びナトリウム塩の 0.1%水溶液を用いて、被験者 200 人で試験したとき、皮膚一次刺激性のみならず皮膚感作性を引き起こすことはなかった。一方、ナトリウム塩の 0.5%水溶液は、わずかに刺激性を有し、1%及び 5%水溶液は、明らかに刺激性を示した(Hodge et al., 1952)。

コメント (原文 p.4)

ラットにおける短期及び長期試験は、2-フェニルフェノールに関する評価のための基礎として、理解するには十分である。一方、イヌの試験は、適切であるとは見なされなかった。加えて、代謝に関する試験は不完全であり、生殖に関する試験は見あたらない。しかしながら、本会議は、FAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会がその第 6 報告書の中で設定した以前の一 日摂取許容量を再確認するためには、毒性試験は適切であったことを認めた(FAO/WHO, 1962)。

毒性学的評価 (原文 p.4)

毒性学的に有意な影響を引き起こさない用量

イヌ: 500 mg/kg 体重/日

ラット: 2000 ppm(飼料中)、100 mg/kg 体重/日相当

ヒトに関する一日摂取許容量の推定

0-1.0 mg/kg 体重(以前の ADI- FAO/WHO, 1962 に基づく)

食品中の残留物及びその評価(原文 p.4)

使用目的 (原文 p.4)

収穫前処理

英国では、腐爛病(canker)の管理のために、休眠中のりんごの木に塗布適用が承認されている。

収穫後処理

2-フェニルフェノールは、全般的な抗菌活性を有することから、多くの国で、40 年以上にわたって、広範に使用されてきた。また、その広範囲な殺菌作用及び静真菌作用、並びに商業的に入手し易いことから、広く用いられている。2-フェニルフェノールは、家庭用消毒剤、繊維及び金属工業で使用される油-水乳剤(oil-water

emulsions)の防腐剤として、使用される。同様に、貯蔵及び輸送中における腐敗と黴による損失を防ぐために、果物及び野菜の収穫後の処理剤として使用される。また、ナトリウム塩は、果物及び野菜の収穫後の処理剤と同様に、蛋白質基材及びその他の接着剤の防腐剤として使用される。

米国における主要な製剤:

2-フェニルフェノール:5%液体;98%水和剤;2%ワックス。

ワックス製剤は、2段階の分別及び洗浄設備を備えた商業的な塗布装置によって、適用される。これらの装置は、関係する作物のために、使用、製剤の効力、槽の中の浸漬時間及びモニタリング技術について、特別に設計されている。その理由は、作物に損傷を与えることなく、有効性のための処理基準を確実に維持することである。ワックスの効力は、製剤により異なっている。例えば、人参 0.5%、柑橘類 0.8%、きゅうり 2.5%、ネクタリン 0.2%、桃 0.2%、ピーマン* 2.5%、プラム 2%、トマト 2.5%。浸漬用の 5%液体は、果物や野菜のための木箱、圃場用箱、蓋付大型かご、輸送箱及び木製容器のために用いられる(U.S.D.A., 1967)。

*peppers については、本文の後半で、peppers (bell)として記載されていることから、peppers 及び peppers (bell)は、すべてピーマンとした。

o-フェニルフェノール・ナトリウム(sodium o-phenylphenate):97%水和剤、溶液 1.5%から 40%までの溶液、0.7%から 2%までのワックス乳剤。

使用される溶液の効力については、果物又は野菜を保護し、植物に有害な反応を避けるために、関係する作物及び浸漬時間に応じて変化する。

浸漬時間は、数秒から数分間まで変化するが、正確に処方される。そして、モニタリングは、各製剤及び作物ごとに必要である。実施例を次に示す。りんご 0.45% - 1.4%溶液、バナナ 2%(頭冠部の茎部切断面に適用、果物及び皮に残留物なし)、カンタロープ(cantaloups) 1.5%、人参 0.1%、さくらんぼ 1%(湿潤剤とともに)、柑橘類 0.5% (ワックス乳剤を水で 3%に希釈、アルカリ性のヘキサミンを追加)、きゅうり 1-2%、ネクタリン 1%、桃 0.05-0.6%、梨 0.23-1.45%、ピーマン 1%、パイナップル 1.25%(ワックス中 1%)、プラム 0.1%、さつまいも 0.37-0.5%溶液又は 0.7%ワックス乳剤、トマト 1% (U.S.D.A., 1967)。

これらの使用目的については、米国のみから入手可能であった。

作物残留試験から得られた残留物 (原文 p.5)

上記のように、これらの化合物に関する用途技術は、特定の温度、pH などにおいて、正確な処理時間を要求する商業条件の下で開発されてきた。例えば、処理時間は、10 秒のような短時間(りんご及び梨)から 15-18 分(桃)に及ぶ可能性がある。これらの試験条件に関するデータは、米国の数カ所から収集されたが、公開されていない。これらのデータは、ダウ・ケミカル社によって収集され、その全容が、FAO に提出された(Dow, 1969)。

幾つかの抄録雑誌を精査して見ると、この課題に関係している文献については、米国以外の他の国々からは、公開されていないことが分かった。両化合物については、柑橘類を輸出している幾つかの国々によって使用されていることが、知られている。しかしながら、どの国が判明されていないばかりでなく、使用目的、使用技術又は米国以外の国から提供された作物残留試験から得られた残留物に関するデータについても確認されていない。

米国における試験結果は、表 1 及び表 2 に纏められている(Dow, 1969)。

表 1 2-フェニルフェノールに関する作物残留試験から得られた残留物

TABLE 1

果物又は野菜	2-フェニルフェノール (ワックス中の%) *	o-フェニルフェノール 残留物の範囲(ppm) 未洗浄
人参	0.5	17.0
きゅうり	0.5-2	4.2-5.6
胡椒	2	0.1-1.0
プラム	2	2.5-12.8
さつまいも	1	4.0-5.7
トマト	2-3	0.1-7.7

*濃度は、作物及び又は接触時間によって変化する。

表 2 o-フェニルフェノール・ナトリウムに関する作物残留試験から得られた残留物

果物又は野菜	o-フェニルフェノール・ナ トリウム(水中の%) *	o-フェニルフェノール残留物の範囲(ppm) 洗浄済み	未洗浄
りんご	0.42-0.77	0.2-14.0	
カンタロープ	1.5		
食用部分			1.0-6.0
果物全体			42.0-117.0
人参	0.1		2.8-11.0
さくらんぼ	0.65-1.08	0.3-2	
柑橘類	2.0	5.5-9.3	
きゅうり	1.0	1.3-7.7	
ネクタリン	0.75-1.2	0.4-1.4	
桃	0.1-0.12		9.0-15.0
梨	0.4-0.99	1.0-25.0	1.0-22.0
ピーマン	1.0	4.2-7.1	
パイナップル	1.25	3.8-7.1	
プラム	0.4	0.8-1.3	
さつまいも	0.5-1.0	0.5-11.0	1.7-3.4
トマト	0.9	0.5-1.4	

*濃度は、作物及び又は接触時間によって変化する。

残留物の運命

o-フェニルフェノール・ナトリウム(0.1%)で処理、貯蔵された人参を、商業的な方法で缶詰にする前に、蒸気又は摩擦により表皮剥離すると、製品化された缶詰には、残留物は、含まれていなかった。カンタロープ(cantaloups)では、残留物は、大部分、食用に適さない部分に存在している(果物全体では、42.0-117 ppm、食用部分では、2.8-11.0 ppm) (Dow, 1969)。オレンジの皮に含まれる OPP 残留物の値は、品種ごとにわずかに異なっている。シャムーティオレンジ(Shamoute oranges)の皮では、5.9-23 ppm;バレンシアオレンジの皮(Valencias)では、8.8 and 21.3 ppm;グレープフルーツの皮では、7.0-26.1 ppm;レモンの皮では、5.4-15.6 ppm の範囲で変化した。柑橘類の果肉にある OPP 量は、非常に少ない。多くの場合、検出されなかったが、高濃度を含有する皮では、OPP 残留物は、果肉中に、微量から 0.4 ppm までが見いだされた(Rajzman and Apfelbaum, 1968)。

残留物の性質に関して、化学的変換の可能性については、情報を入手できていない。今日までの残留物に関するすべての分析法は、2-フェニルフェノールとして、残留物を表現することに依存している。

商業及び消費における食品中の残留物に関する証拠(原文 p.7)

商業における食品中の残留物含有量に関する情報は、稀有である。公開されている中では、1 論文のみが、この主題に関わっている(Rajzman and Apfelbaum, 1968)。イスラエルにある 22 の食品加工工場処理された柑橘類の果実は、収集、サンプリングされて分析された。果実全体での残留物濃度は、1.8-8.3 ppm の範囲であった。また、5 ppm 未満の残留物を含有するサンプルは、全体の 80%であった。著者は、調べられたサンプル数が少ないことを考慮すれば、結果の最大値である 8.3 ppm は、記載された方法で処理された柑橘類に生じ得る最大値として、見なすべきではないと結論している。

消費の際に、食品中に存在する残留物に関する情報は、入手できていない。ワックス処理された果実及び野菜にある残留物は、ほとんど損失しないと推測することが可能である。収穫後施用によるワックス処理であることから、ワックス処理されて消費者に達した食品中に存在する残留物量は、作物残留試験の結果として報告されたものと同様に見なすことが可能である。水性製剤で処理された食品中には、おそらく、これらの値よりも、わずかに低い濃度で残存していることが推測される。

残留物の分析法(原文 p.7)

2-フェニルフェノールに関する残留物を定量するために、最も頻繁に、比色分析法が提案されてきた。すなわち、オレンジ及びマーマレードにおける残留物を定量する場合、水蒸気蒸留抽出法(steam-distillation extraction)及び酸-アルカリ処理により精製した後、ジアゾ化スルファニル酸(diazotized sulphanilic acid)とのカップリングが用いられた(Tomkins and Isherwood, 1945)。また、様々なフェノール系防黴剤の定量に関しては、アミノフェナゾン法(aminophenazone procedure)が提案された(Gottlieb and Marsh, 1946)。この方法については、共同研究が行われた。そして、りんご、西洋梨及び柑橘類における 2-フェニルフェノール残留物の定

量に応用されて、その結果が報告された(Schiffman, 1957)。また、オレンジにも、この方法が使用された(Hayward and Grierson, 1960)。一方、果物における残留物に関して、欧州経済共同体(Communauté Economique Européenne)により、同様な方法が公式に推奨された(van Elslande, 1967)。現在のところ、この方法は、規制目的に相当であると考えられている。改良された水蒸気蒸留抽出装置(steam-distillation extraction)について、報告されている(Leinbach and Brekke, 1961)。すなわち、Leinbach と Brekke は、キイチゴ、イチゴ、プルーン、ローガンベリー及びイチジクのピュア及びオレンジジュースにある残留物に関して、インドフェノール(indophenol)比色分析法を使用した。2-フェニルフェノールに硫酸チタン(titanium sulphate)を反応させることで得られた着色は(Caulfield and Robinson, 1953)、残留物の分析に関する感度としては、十分に高くない。そこで、果物中にある 2-フェニルフェノールに関しては、 <0.1 mg の感度を有する分光蛍光分析法により、果物 1 個を用いる試験法が提案された(Cotta-Ramusino and Stacchini, 1966)。また、柑橘類の果物に関する定期検査においては、ビフェニル及び 2-フェニルフェノールを測定する方法が報告された(Gunther et al., 1963)。この方法では、p-ニトロフルオロボレート(p-nitrofluoroborate)とカップリングした後で、2-フェニルフェノールを比色分析法で定量することによって、 $0.5 - 10$ ppm の範囲で、 $89 - 100\%$ の回収率が得られた。

利用可能なクロマトグラフィー法は、ガスクロマトグラフィー法による濃縮オレンジジュースの検査であり、試料 1 mL で、 $1 - 10$ ppm の範囲に適用が可能である(Thomas, 1960)。同様に、レモンのビフェニル及び 2-フェニルフェノール残留物を検出するために、薄層クロマトグラフィー法が利用できる(Chioffi, 1965)。

また、Dean and Stark 装置により、シクロヘキサンで抽出した後で、水素炎イオン化検出器を装備したガスクロマトグラフィーを用いて、ビフェニル及び 2-フェニルフェノールを分離、定量する方法が用いられた(Mestres and Chave, 1965)。これらのクロマトグラフィー法は、規制の手続きに利用するために、開発、評価されるべきである。

各国の許容値

国	作物	許容値(ppm) (2-フェニルフェノールとして)
カナダ	さくらんぼ, ネクタリン	5
	柑橘類, きゅうり	10
	ピーマン, パイナップル	
	トマト	
	さつまいも	15
	人参, 桃, プラム	20
	りんご, 梨	25
	カンタローブ	125
E.E.C.	柑橘類	12
オランダ	柑橘類	10
英国	柑橘類	70
	りんご, 梨, パイナップル	10
	メロン	125
米国	さくらんぼ, ネクタリン	5
	柑橘類, シトロン, きゅうり, グレー プフルーツ	10
	キンカン, レモン, ライムオレンジ	
	ピーマン, パイナップル, タンジェ ロ	
	タンジェリン, トマト	
	さつまいも	15
	人参, 桃, プラム(新鮮プルーン)	20
	りんご, 梨	25
	カンタローブ	125
	(食用部分については、10 ppm を 超えない)	

評価 (原文 p.8)

2-フェニルフェノールの抗菌特性は、多くの国々で、40年以上にわたって、利用されてきた。2-フェニルフェノールの殺菌及び防黴特性に関する広いスペクトル及び商業的可用性により、殺菌剤として、広範囲にわたって、利用されてきた。また、収穫後に使用する殺菌剤としての近年の用途に加えて、家庭用消毒薬、繊維及び金属工業における油-水乳剤(oil-water emulsions)の防腐剤として、使用されてきた。同様に、ナトリウム塩は、水性塗料及び接着剤の防腐剤として使用されている。

遊離フェノール*は、出荷及び貯蔵における保護剤として、ワックス製剤で、果物及び野菜の収穫後処理に使用される。また、ナトリウム塩は、水に溶解させて、果物及び野菜の収穫後の洗浄に使用される。同様に、遊離フェノールは、収穫のための容器、出荷及び貯蔵施設、果物を取り扱う機械類及び出荷用コンテナを処理するために利用されている。

* 原文の tree phenol は、free phenol として訳した。

作物残留試験から得られた残留物に関するデータについては、米国における利用技術及びダウ・ケミカル社によって製造された 2 種類の製品のみに基づいている。これらは、工業所有権を有する化合物であり、多くの国で、幾つかの企業によって、製造されている。米国以外の他の国における使用目的又は用途技術に関する情報は、提供されなかった。

両化合物からの残留物は、2-フェニルフェノールとして表現される。保護槽のなかで、個々の果物や野菜を浸漬及び洗浄する極めて特異な方法が開発された。すなわち、浸漬時間は、りんご及び桃では、10 秒ほどの短い時間から、例えば、柑橘類では 6 分まで変化するように、注意深く処方されている。また、処理の条件を正確に維持するためには、熟練した技術及び洗浄液のモニタリングが必要とされる。従って、残留物量は、使用された剤型、処理技術及び果物又は野菜自身によって変化する。米国における作物残留試験は、商業的な規模で、野菜及び果物を取り扱う数種類の施設で実施された。その結果、残留物の濃度(ppm)は、以下のようであった。りんご 0.2-14、カンタロープ(果物全体) 42-117、人参 2.8-17(処理により、皮は*除去された)、さくらんぼ 0.3-2、柑橘類 5.5-9.3、きゅうり 1.3-7.7、ネクタリン 0.4-1.4、桃 9-15、梨 1-22、ピーマン 4.2-7.1、パイナップル 3.8-7.1、プラム 0.8-12.8、さつまいも 0.5-5.7、トマト 0.5-7.7。処理条件及び接触時間が変化すると、おそらく、わずかに高い残留物濃度を生ずる可能性がある。

*原文の carrots 2.8-17 (removed by processing)は、carrots 2.8-17 (peel removed by processing)として訳した。

残留物に関する分析法は、入手可能であり、共同研究によって、評価されるべきである。(これは、重大事項とは見なされていない)。一般的に、すべての方法は、4-アミノアンチピリン(4-aminoantipyrine)とカップリングさせた後に、比色分析法によって、水溶液から抽出された残留物の 2-フェニルフェノール含有量を定量することに基づいている。

果物及び野菜の消費における残留物に関する情報は入手できていない。しかしながら、両化合物には、収穫後の用途があるので、残留物濃度は、既に説明された範囲の平均値にあると仮定したとしても、推測は公正であると考えられる。

許容値についての勧告を提案することに関しては、処理技術は極めて重要である。そのため、浸漬時間、槽の pH 及びこの技術に関するその他の要因の誤差についても、若干のゆとりが与えられるべきである。

許容値、暫定許容値又は実際の残留基準に関する勧告

さくらんぼ, ネクタリン	3)	
)	
柑橘類, きゅうり, ピーマン)	
パイナップル, トマト	10)	
)	
さつまいも	15)	
)	
りんご, プラム(新鮮プルーン)	15)	ppm (2-フェニルフェノールとして)
)	
人参, 桃	20)	
)	
梨	25)	
)	
カンタロープ (果物全体)	120)	
)	
カンタロープ (食用部分)	10)	

追加の作業又は情報 (原文 p.9)

要望 (原文 p.9)

1. 実験動物における生殖試験。
2. 実験動物及びヒトにおける代謝試験。
3. より多くの動物数を用いる長期試験。
4. 商業目的のために、移動している農産品における残留物量に関するデータ。
5. 消費の際に、食品中に存在する残留物に関するデータ。
6. クロマトグラフィーを用いる分析法に関する共同研究の結果。

文献

2-フェニルフェノールの毒性試験と結果の概要（評価書:JMPR 1970）

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
急性毒性(経口)	ラット	-	LD50:2700-3000 mg/kg 体重
急性毒性(経口)	ネコ	-	LD50:500 mg/kg 体重
短期試験(経口, 32 日間)	ラット(雄)	0, 2, 20, 200 mg/kg	毒性影響なし
短期試験(混餌, 3ヶ月間)	ラット(雄雌)	0, 1000, 3000, 10000, 20000 ppm	>=10000:肝臓, 腎臓重量の増加(有意差なし)
短期試験(経口, 6ヶ月間)	ラット(雄雌)	0, 50, 100, 200, 500 mg/kg	500:肝臓, 腎臓重量の増加(軽微)
短期試験(経口, 1年間)	イヌ	0, 20, 200, 500, (1000) mg/kg 体重	毒性影響なし 1000:全例死亡(1ヶ月以内)
長期試験(混餌, 2年間)	ラット(雄雌)	0, 200, 2000, 20000 ppm	20000:成長抑制, 尿細管拡張
皮膚刺激性	ヒト	5%溶液	皮膚刺激性なし
皮膚刺激性	ヒト	0.1, 0.5, 1, 5%水溶液(ナトリウム塩)	>=1:皮膚刺激性あり 0.5:わずかに皮膚刺激性あり 0.1:皮膚刺激性なし
眼刺激性			該当する試験なし
皮膚感作性	ヒト	5%溶液	皮膚感作性なし
皮膚感作性	ヒト	0.1%水溶液(ナトリウム塩)	皮膚感作性なし
発がん性試験(経口/混餌, 18ヶ月間)	マウス(雄雌)	100 mg/kg 体重(7日-4週齢) 280 ppm (5週齢以降), 混餌	発がん性なし
2年間慢性毒性/発がん性			該当する試験なし
生殖毒性			該当する試験なし
発生毒性			該当する試験なし
変異原性:復帰突然変異			該当する試験なし
変異原性:小核試験			該当する試験なし
その他			該当する試験なし
ADI			0 - 1.0 mg/kg 体重 (FAO/WHO, 1962)

略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
FAO	Food and Agriculture Organization	国際連合食糧農業機関
WHO	World Health Organization	世界保健機関
JMPR	Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues	FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議
OPP	o-Phenyl phenol	o-フェニルフェノール
E.E.C.	Communauté Economique Européene	欧州経済共同体
LD50	50% Lethal Dose	半数致死量

2-フェニルフェノール 評価書和訳と情報整理

JMPR: 1985

ウェブサイト:<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v85pr14.htm>

2-フェニルフェノール 評価書和訳と情報整理 JMPR (1985) 目次

説明 (原文 p.1)	36
一日摂取許容量に関する評価 (原文 p.1)	36
生物学的データ (原文 p.1)	36
生化学的性状 (原文 p.1)	36
吸収、分布及び排泄 (原文 p.1)	37
生体内変換 (原文 p.2)	37
酵素及びその他の生化学パラメーターに対する影響 (原文 p.3)	39
毒性試験 (原文 p.4)	40
催奇形性に関する特殊試験 (原文 p.4)	40
発がん性に関する特殊試験 (原文 p.4)	41
マウス(原文 p.4)	41
ラット (原文 p.5)	42
コメント (原文 p.12)	52
毒性評価 (原文 p.13)	53
要望 (原文 p.13)	53
2-フェニルフェノールの毒性試験と結果の概要 (評価書:JMPR 1985)	54
略称	57

原文 目次

	原文ページ
説明 (原文 p.1)	1
一日摂取許容量に関する評価 (原文 p.1)	1
生物学的データ (原文 p.1)	1
生化学的性状 (原文 p.1)	1
吸収、分布及び排泄 (原文 p.1)	1
生体内変換 (原文 p.2)	2
酵素及びその他の生化学パラメーターに対する影響 (原文 p.3)	3
毒性試験 (原文 p.4)	4
催奇形性に関する特殊試験 (原文 p.4)	4
発がん性に関する特殊試験 (原文 p.4)	4
マウス(原文 p.4)	4
OPP(原文 p.4)	4
SOPP (原文 p.5)	5
ラット (原文 p.5)	5
OPP (原文 p.5)	5
SOPP (原文 p.6)	6
変異原性に関する特殊試験 (原文 p.11)	11
OPP (原文 p.11)	11
SOPP (原文 p.11)	11
OPP 及び SOPP に関して、可能性のある代謝物(原文 p.12)	12
コメント (原文 p.12)	12
毒性評価 (原文 p.13)	13
毒性影響を引き起こさない用量	13
ヒトに関する暫定一日摂取許容量の推定	13
追加の作業又は要求される情報(1989 年までに、又はそれよりも早期に)	13
要望 (原文 p.13)	13
文献	13

2-PHENYLPHENOL AND ITS SODIUM SALT

Content	Page
EXPLANATION	1
EVALUATION FOR ACCEPTABLE DAILY INTAKE	1
BIOLOGICAL DATA	1
Biochemical aspects	1
Absorption, distribution and excretion	1
Biotransformation	2
Effects on enzymes and other biochemical parameters	3
Toxicological studies	4
Special studies on teratogenicity	4
Special studies on carcinogenicity	4
Mouse	4
OPP	4
SOPP	5
Rat	5
OPP	5
SOPP	6
Special studies on mutagenicity	11
OPP	11
SOPP	11
Possible metabolites of OPP and SOPP	12
COMMENTS	12
TOXICOLOGICAL EVALUATION	13
LEVEL CAUSING NO TOXICOLOGICAL EFFECT	13
ESTIMATE OF TEMPORARY ACCEPTABLE DAILY INTAKE FOR MAN	13
FURTHER WORK OR INFORMATION REQUIRED (by 1989 or earlier)	13
DESIRED	13
REFERENCES	13

2-フェニルフェノールとそのナトリウム塩

説明（原文 p.1）

2-フェニルフェノール(OPP)及びそのナトリウム塩(SOPP)の毒性については、1969年及び1983年(付属書 1, FAO/WHO, 1970a, 1984)に開催された以前の合同会議で、審議された。1969年(付属書 1, FAO/WHO, 1970b)の合同会議により、毒性学的観点から、モノグラフは、作成された。1983年の会議の直前に、入手可能になった生化学、催奇形性、発がん性及び変異原性に関するデータから構成される新しい情報について、会議において評価された。しかしながら、その時点では、最近、提出されたデータを見直しているモノグラフの補遺は、完成していなかった。

1983年のJMPRでは、毒性学的評価の目的のために、OPPとSOPPは、同等と見なすべきであり、ともに扱われるべきであることに同意がなされた。その理由は、SOPPを使用すると、結果として、農産物におけるOPP残留物を生ずることになるからである。さらに、SOPPは、ラットの膀胱発がん物質であることが証明された。OPPに関して入手できたデータは、SOPPよりも少なかったが、ラットにおける造腫瘍性には、類似のパターンが認められた。OPP及びSOPPに関する既存の一日摂取許容量(ADI)は、暫定一日摂取許容量(ADI)に変更された。そして、同時に、会議の懸念を反映するため、安全係数は、100から5000まで増加した。その上、将来、適切な評価ができるようにするために、追加の情報は、1985年までに、本会議に提出されることが求められた。要求された追加の毒性情報は以下を含む：

1. 多世代生殖試験の進捗状況に関する情報。
2. 膀胱癌の誘発に感受性のあることが知られているラットの系統(F344以外)における発がん性/慢性毒性試験の進捗状況に関する情報。
3. 発がん性に関する長期試験で試験された動物の系統における代謝、薬物動態及びその他の関連する試験(必要に応じて)。
4. 他の動物種及び系統における追加の代謝及び薬物動態試験。

このモノグラフの補遺は、1985年に提出された追加情報とともに、以前(1983年)に提出されたデータについても審査している。

一日摂取許容量に関する評価（原文 p.1）

生物学的データ（原文 p.1）

生化学的性状（原文 p.1）

吸収、分布及び排泄 (原文 p.1)

^{14}C -2-フェニルフェノール又は ^{14}C -2-フェニルフェノール・ナトリウム塩を、500 mg/kg 体重の用量で、ラット(一群雄4匹)に、単回、経口投与した後、尿及び糞中の放射能は、96時間まで観察された。両化合物に関して、尿中及び糞中に、それぞれ、投与された放射能の約90-95%及び5-6%が回収された。大部分の放射能は、24時間以内に回収された。従って、両化合物は、ほとんど完全かつ迅速に、吸収、代謝され、そして、排泄された。

予備実験では、呼気に放射能は検出されなかった。そこで、ラット(一群雄4匹)に、1.3% 2-フェニルフェノール又は2% ナトリウム塩を、2週間、給餌することによって、あらかじめ条件付けを行ってから、以前のように、 ^{14}C -2-フェニルフェノール又は ^{14}C -2-フェニルフェノール・ナトリウム塩を投与すると、尿中及び及び糞中の排泄パターンは、本質的に、変化しなかった(Reitz et al., 1983)。

雄ラットに、 ^{14}C -2-フェニルフェノール・ナトリウム塩を、単回投与すると、放射能は、胆汁排泄されることが示された。このことから、代謝物の腸肝循環が示唆された。 ^{14}C -2-フェニルフェノール又は ^{14}C -2-フェニルフェノール・ナトリウム塩を単回投与すると、多数の器官及び組織(膀胱を含めて)には、有意な量の放射能は、保持されなかった。このことは、可溶化させた器官及び組織を、液体シンチレーションカウンター及び全身オートラジオグラフィーを用いて、測定することによって証明された(Yamaha et al., 1983)。

生体内変換 (原文 p.2)

2-フェニルフェノール・ナトリウム塩を2%の濃度で混合した飼料を、136日間、混餌投与したラット(雄雌各5匹)の尿中の主要な代謝物は、2-フェニルフェノール及び2,5-ジヒドロキシビフェニル(2,5-dihydroxybiphenyl)のグルクロニド抱合体であることが同定された。同様に、微量の2,5-ジキノンビフェニル(2,5-diquinonebiphenyl)が、暫定的に、同定された。排泄されたフェノール性代謝物の内、非抱合型は1%のみであった。それ以外の代謝物は、認められなかった。混餌投与の後、24時間での回収率は、雄及び雌について、それぞれ、55%及び40%であった、尿中代謝物の割合には、性差のあることが示された。すなわち、24時間の尿サンプルでは、雄は、雌ラットに比べて、抱合型2-フェニルフェノール及び抱合型2,5-ジヒドロキシビフェニルについて、それぞれ、1.8倍及び7倍の代謝物を排泄した。しかし、この試験では、なぜ、尿から2-フェニルフェノール硫酸エステルが同定されない理由についての説明はなされなかった。投与後24時間サンプルにおける回収率は、投与量のわずか40-55%であった。この結果から、同定はされなかったが、硫酸エステルが存在していた可能性が示唆される(Nakao et al., 1983)。

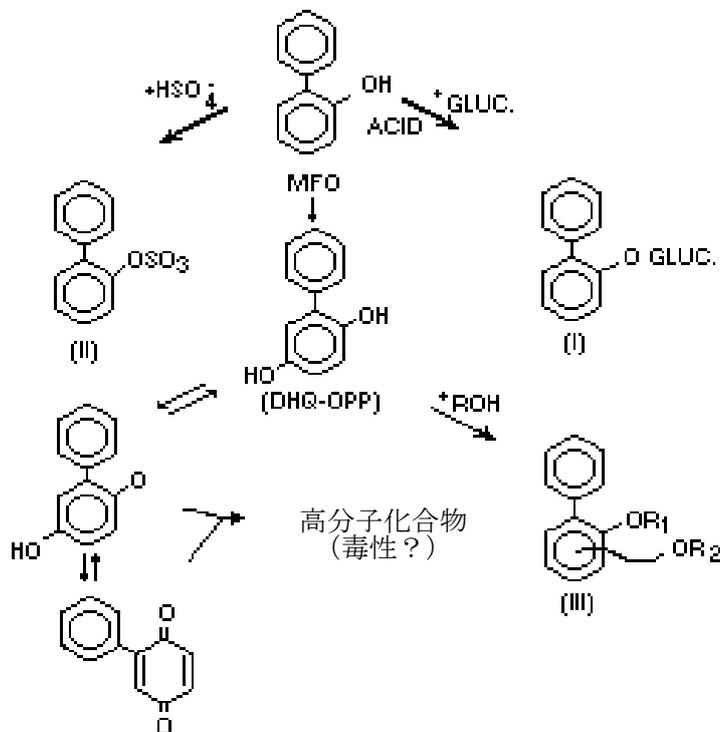
ラット(一群雄4匹)は、 ^{14}C -2-フェニルフェノール又は ^{14}C -2-フェニルフェノール・ナトリウム塩を、5、50又は5000 mg/kg 体重の用量で、単回、経口投与された。そして、尿中代謝物は、同定、定量された。その結果、両化合物に関して、5及び50 mg/kg 体重では、主要な代謝物は、2-フェニルフェノールのグルクロニド及び硫酸エステル抱合体であった。また、非抱合型の2-フェニルフェノール及び2,5-ジヒドロキシビフェニルは、尿中から回収された総放射能の2%未満であった。両化合物に関しては、ほとんど同一のHPLCクロマトグラムが得られた。一方、両化合物に関しては、500 mg/kg 体重においては、低用量で同定された代

謝物に加えて、新規代謝物が同定された。この代謝物は、尿中総放射能の 1-2% が検出限界である低用量のレベルでは、存在していなかった。500 mg/kg 体重においては、新規代謝物は、尿中総放射能の 20-30% を占めたが、おそらく、グルクロニド及び又は硫酸基を有する抱合型ジヒドロキシビフェニル分子であると考えられた。この代謝物の生成は、明らかに、用量依存性があるように思われた。

著者らは、新規代謝物は、通常のグルクロニド及び硫酸エステル抱合経路が飽和した結果として、高用量でのみ生成する可能性に関する仮説を立てた。*in vitro* 試験で、¹⁴C-2-フェニルフェノールを精製したマイクロゾームとともに、抱合化する基質のない条件下でインキュベートすると、2,5-ジヒドロキシビフェニルとクロマトグラフィーする多量の物質が生成した。代謝物の同定及び用量依存性試験に基づき、雄ラットにおけるこれらの化合物の代謝物に関する仮説上の図式は、図1のように提案されている。セミキノン及びキノンは、これらの研究からは、同定されなかった。しかし、それらの化合物の生成は、ベンゼンに関する類似した研究に基づいて推測された(Reitz et al., 1983)。

成熟イヌ及びネコは、¹⁴C-2-フェニルフェノール・ナトリウム塩(¹⁴C-OPP)を、3 g/kg 体重までの用量で、単回、経口投与された。その結果、血漿中の放射能濃度は、イヌがネコよりも高かった。同様に、イヌは、ネコよりも3倍高い放射能を代謝し、尿中に排泄した。尿中代謝物は、未変化のOPP、グルクロニド抱合体、硫酸抱合体及びフェノール(フェニルフェノール結合の開裂に引き続いたベンゼン環の水酸化により生ずる)であった。フェノール代謝物は、OPPにおける両方の環の部分から生じた(Oehme and Smith, 1972)。

図. 1. 雄ラットの代謝経路に関する仮説



MFO = Mixed Function Oxidase
(from Reitz et al., 1983)

^{14}C -2-フェニルフェノールの 3.7 mg を、体重に関係なく、一日おきに、25 回、経口投与した成熟及び未成熟イヌ及びネコ(雄雌各 3 頭)から、1 週間ごとに、尿が採取された。1 回あたりの平均的投与量は、成熟及び未成熟イヌに関しては、それぞれ、0.27 及び 2.03 mg/kg 体重であり、成熟及び未成熟ネコに関しては、それぞれ、1.16 及び 2.04 mg/kg 体重であった。両動物種における尿中の主要生成物は、未変化の 2-フェニルフェノールであり、イヌ及びネコの尿中放射能では、それぞれ、68-90%及び 95-98%を占めた。また、イヌはネコに比べて、はるかに多く、2-フェニルフェノールのグルクロニド及び硫酸エステル抱合体を排泄した。また、未成熟イヌは、成熟イヌよりも 4 倍も多いグルクロニド抱合体を排泄した。一方、両動物種に関して、年齢差は、硫酸エステル抱合体の排泄率に影響を与えなかった(Savides and Oehme, 1980)。

酵素及びその他の生化学パラメーターに対する影響 (原文 p.3)

^{14}C -2-フェニルフェノール又は ^{14}C -2-フェニルフェノール・ナトリウム塩を、500 mg/kg 体重の用量で、投与したラット(雄 8 匹)から集められたサンプルを用いて、*in vivo*における膀胱 DNA との共有結合が、決定された。どちらの化合物に関しても、投与後 16 時間で摘出された膀胱から、単離、精製された DNA では、放射能の増加は、観察されなかった。検出限界は、1 アルキル化/ 10^6 ヌクレオチド未満であった。繰り返し実験では、同一の結果が得られた(Reitz et al., 1983)。

2-フェニルフェノール・ナトリウム塩代謝物の高分子への結合については、NADPH 再生系、及び蛋白質受容体として働く牛血清アルブミンの存在下で、精製した雄ラット肝臓マイクロゾームと ^{14}C -2-フェニルフェノール・ナトリウム塩を、*in vitro* で、インキュベートすることによって調べられた。蛋白質に対する放射能の高分子結合は、活性マイクロゾームと NADP の両者に依存して、観察された。同様に、*in vivo*において、肝臓、腎臓及び膀胱の高分子と 2-フェニルフェノール及び 2-フェニルフェノール・ナトリウム塩の代謝物との結合は、雄ラットを用いて調べられた。すなわち、ラット(一群雄 4 匹)は、 ^{14}C -標識化合物を、50、100、200 又は 500 mg/kg 体重の用量で、単回経口投与された。高分子結合を測定するために、組織は、投与の 16-18 時間後に摘出された。そして、組織の高分子結合は、ナノモル(結合物質)/mg 蛋白質として決定された。その結果、高分子結合量は、投与した用量と直線関係にはなかった。一方、2-フェニルフェノール・ナトリウム塩の 200 mg/kg 体重以上の用量においては、各組織に、不均衡な増加が観察された。また、2-フェニルフェノールの 200-500 mg/kg 体重の用量においては、肝臓及び膀胱に、同様な増加が認められた。観察された不均衡な増加からは、高分子に対する代謝物の結合は、これらの用量において、実質的に増加していることが示唆された(Reitz et al., 1984)。

SOPP は、0(対照)及び 2%の用量で、ラット(雄雌、4 週齢、F344)に、136 日間、混餌投与された。尿は、定期的に採取された。投与 136 日に、ラットは、と殺され、血液サンプルは採取された。また、肝臓及び腎臓は摘出された。環状ヌクレオチド量(c-AMP 及び c-GMP)は、尿、血漿、肝臓及び腎臓で測定された。同様に、肝臓及び腎臓におけるアデニル酸シクラーゼ活性(adenylate cyclase activity)も測定された。SOPP を投与された雄ラットでは、尿及び血漿中の c-GMP 濃度は増加したにも関わらず、反対に、c-AMP 濃度は減少した。ところが、SOPP を投与された雌ラットでは、混餌投与の最初の 3 日間、c-AMP が減少したことを除いて、同様な変化は観察されなかった。また、肝臓と腎臓中の c-AMP 及び c-GMP 濃度に変化はなかった。雄ラットにおける尿中 c-AMP の減少は、おそらく、肝臓及び腎臓のアデニル酸シクラーゼ活性

(adenylate cyclase activity)が減少した結果であった。同様なアデニル酸シクラーゼ活性の変化は、SOPP を投与された雌ラットの肝臓にも認められたが、腎臓では見られなかった。動物の性差に関連した環状ヌクレオチド濃度の変化は、性差に関連した食餌性 SOPP による膀胱腫瘍の誘発性に関係していることが仮定された(Nakagawa, et al., 1984)。

毒性試験 (原文 p.4)

催奇形性に関する特殊試験 (原文 p.4)

妊娠ラット(一群 18-20 匹、妊娠 6-15 日目、Wistar)は、OPP(純度 99.7%)を、毎日、強制経口投与された。投与量は、0、150、300 又は 600 mg/kg 体重であった。同様に、1200 mg/kg 体重の投与量で、11 匹が追加されたが、この用量は致死的事実であることが判明した。その結果、対照群又は 150 mg/kg 体重投与群のラットには、有害所見は観察されなかった。一方、300 mg/kg 体重以上の投与群におけるラットには、用量に依存した運動失調及び平均体重増加の減少が観察された。すべての生存ラットは、妊娠 20 日にと殺され、子宮内容物は検査された。胎児は、肉眼的に検査された。骨格検査には、アリザリンレッド S(Alizarin red S)を用いた技術が、そして、内臓検査には、ウィルソンの改良法(modified method of Wilson)が使用された。着床率、生存胎児数及び吸収数、胎仔体重の平均値に関しては、150 及び 300 mg/kg 体重投与群においては、対照群と同等であった。一方、600 mg/kg 体重投与群においては、胎児吸収は増加したが、胎児体重は減少した。少数の胎児異常所見が、すべての投与群で観察されたが、試験物質との関連性は、認められなかった。従って、この試験においては、OPP の催奇形性は、陰性であった(Kaneda et al., 1978)。

OPPは、妊娠ラット(一群25-27匹、妊娠6-15日目)に、100、300又は700 mg/kg 体重の用量で、毎日、強制経口投与された。また、溶媒対照群として、35匹の妊娠ラットが供試された。母動物は、妊娠21日にと殺され、帝王切開により、胎児は摘出された。すべての胎児について、体重測定、性別判定がなされ、外部及び骨格検査が行われた。また、軟組織については、胎児のおよそ1/3が検査された。

投与の手違いから、高用量群のラット1匹が死亡した。また、700 mg/kg 体重投与群の妊娠ラットは、投与の最初の4日間(妊娠6-9日)、対照群に比べ、有意に体重が減少した。同群では、摂餌量についても、同様に、妊娠9-11日から、有意に減少した。さらに、剖検から、肝臓重量(相対重量ではない)が有意に減少していることが分かった。母動物あたりの着床率、平均同腹児数、吸収率、胎児体重又は頭殿長の測定に関して、2-フェニルフェノールの影響は認められなかった。

300 mg/kg 体重投与群の胎児1匹においては、重篤な奇形(尾の発育不全、仙骨及び尾椎の欠失)が認められた。その他の重要な奇形については、どの胎児においても認められなかった。また、700 mg/kg 体重投与群では、胸骨分節(sternebrae)の骨化遅延及び非骨化の増加が観察された。この投与群において

は、頭蓋骨における孔(foramina) (小さな穴)及び頭蓋骨における骨島(bony islands)もわずかに増加した。単独で重篤な奇形を除いて、これらの影響のすべては、軽度の骨格変異であると見なされた。2-フェニルフェノールに起因すると考えられる胚又は胎児発生への毒性影響は、観察されなかった。著者らは、OPPは、700 mg/kg 体重を含む用量までは、ラットにおいて、胚・胎児毒性又は催奇形性を有しないと結論した(John et al., 1981)。

発がん性に関する特殊試験 (原文 p.4)

マウス(原文 p.4)

OPP

OPPは、完全皮膚発がん物質であるか又は2段階発がんイニシエーション/プロモーションにおける、プロモーターの可能性があるかどうかを決定するために、マウスを用いる皮膚塗布試験が実施された。マウス(一群雄雌各 50 匹、Swiss CD-1)は、OPP 55.5 mg (アセトン 0.1 mL 中) の用量で、1 週間に 3 回、2 年間、マウス背部の肩甲骨間部に経皮投与された(OPP 群)。第二試験群のマウス(一群雄雌各 50 匹)は、7,12-ジメチルベンゾ(a)アントラセン(7,12-dimethylbenz(a)anthracene, DMBA)を、0.05 mg (アセトン 0.1 mL 中) の用量で、マウス背部にあらかじめ単回経皮投与されたことを除き、同様に投与された(DMBA/OPP 投与群)。DMBA は、皮膚発がんのイニシエーターとして知られている。また、追加の動物(一群雄雌各 50 匹)は、以下の対照群として用いられた。すなわち、溶媒のアセトンのみを経皮投与する溶媒対照群(アセトン投与群);DMBA を単回経皮適用した後、アセトンのみを経皮投与するイニシエーター対照群(DMBA/アセトン投与群);及び DMBA で単回投与した後、12-o-テトラデカノイルホルボル-13-アセテート(12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate 又は TPA) を経皮投与する陽性対照群(DMBA/TPA 投与群)である。皮膚発がんのプロモーターとして知られている TPA は、0.005 mg(アセトン 0.1 mL 中)の用量で、週 3 回、2 年間、経皮投与された。

その結果、OPP又はDMBA/OPPを投与されたマウスの平均体重及び生存率は、それぞれの陰性対照群のデータと概ね同様であった。DMBA/TPA投与群においては、生存率は、かなり低下した。適用部位における腫瘍性皮膚病変の発生頻度に関して、イニシエーター対照群のDMBA/アセトン投与群(15/100)とDMBA/TPA投与群(52/100)を比較すると、DMBA/TPA投与群においては、腫瘍性皮膚病変(扁平上皮乳頭腫/癌、角化棘細胞腫、基底細胞腫瘍/癌) (squamous cell papillomas/carcinomas, keratocanthomas, basal cell tumours/carcinomas)の発生頻度が明らかに増加した。また、DMBA/TPA投与群においては、腫瘍までの時間は、かなり短縮された。同様な腫瘍性皮膚病変は、DMBA/OPP投与群(17/100) においても観察されたが、DMBA/アセトン対照群(15/100)と腫瘍発生頻度は、同等であった。OPP投与群においては、腫瘍性皮膚病変は、観察されなかった。以上から、著者は、OPPのみを単独投与又はDMBAによるイニシエーションに引き続いてプロモーターとしてのOPPを投与して

も、Swiss CD-1マウス(雄又は雌)に、発がん性の証拠はないと結論した(Luster, 1985)。

SOPP (原文 p.5)

SOPP は、0、0.5、1 又は 2%の濃度で飼料に混合し、B6C3F1 マウス(一群雄雌各 50 匹) (Charles River, Japan)に、96 週間、混餌投与された。マウスは、投与 96 週間の終わりから、8 週間の追加期間の間、対照飼料を与えられた。最高用量群の雄のみ、生存率は、わずかに減少した。

最高用量群(2%)の雄及び雌、1%及び0.5%群の雌では、体重減少が認められた。また、0.5%、1%及び2%群の雌においては、アルカリホスファターゼ活性の増加が認められた。いずれのマウスにおいても、膀胱結石は、観察されなかった。SOPPを投与されたいずれのマウスにおいても、膀胱腫瘍は発生しなかった。また、SOPPに起因する広範な腎臓損傷は観察されなかった。以上の結果から、著者らは、SOPPは、96週間、混餌投与されたとき、2%の用量までは、雄又は雌マウスに投与に関係したと考えられる腫瘍発生頻度(どんな種類の腫瘍であっても)の増加を誘発することはないと結論した(Hagiwara et al., 1984; Ito, 1983a)。

ラット (原文 p.5)

OPP (原文 p.5)

OPP は、F344 ラット(一群雄 14 匹) (Charles-River, Japan)に、2%の用量で、32 週間、混餌投与された。その結果、投与されたいずれのラットにおいて、過形成、乳頭腫又は癌は、観察されなかった。また、別のラットを、0.05% N-ブチル-N-(4-ヒドロキシブチル)ニトロソアミン(N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine; BBN)で、あらかじめ投与した場合においても、BBN のみを投与したラットを超えて、膀胱病変の発生頻度を有意に増加させることはなかった(Fukushima et al., 1983)。

OPPは、F344ラット(一群雄28匹) (Charles-River, Japan)に、2%の用量で、64週間、混餌投与された。その結果、1匹において乳頭状/結節性(PN)過形成(papillary/nodular (PN) hyperplasia) (結石はない)が見られたが、乳頭腫又は膀胱癌は、観察されなかった。ラット6匹において、単純な膀胱上皮過形成を伴った小結石が認められた。あらかじめBBNを投与された別のラットにおいては、膀胱病変の発生頻度を、BBNのみを投与されたラットより有意に増加させることはなかった。

別の実験においては、OPP は、F344 ラット(雄)に、2%までの用量で、12 週間、混餌投与された。投与された動物には、尿路結石又は腫瘍は観察されなかった(Ito, 1983b)。

OPP は、F344 ラット(雄 30 匹) (Charles-River, Wilmington, MA)に、2%までの用量で、90 日間まで、混餌投与された。動物は、3、7、30 及び 65 日に中間と殺された。試験最終日の 90 日まで、生存できたラットは、7 匹であり、その時点でと殺された。

動物に観察された腎臓病変は、以下のようである。限局性腎皮質嚢胞(focal cortical cysts)、有意に減少した尿比重(65 及び 90 日)、軽度の血尿、腎皮質の限局性尿細管虚脱(focal tubular collapse)及び萎縮(atrophy)、及び嚢胞変性(cystic degeneration)(65 及び 90 日)。投与に関係した膀胱病変は観察されなかった(Reitz et al., 1983)。

OPP は、F344 ラット(雄) (Charles-River, Japan)に、0(対照)、0.625%、1.25%又は2.5%(モルベースで、2.5% OPP は、約 4%SOPOP と当量)の用量で、91 週間、混餌投与された。生存率及び尿路上皮系(urothelial system)の非腫瘍性病変については、表 1 を参照。

表 1. 2-フェニルフェノールを混餌投与された雄ラットにおける生存率及び尿路上皮系の非腫瘍性病変

用量(飼料中の%)	投与動物数	生存(91 週間)	腎臓(炎症性病変)	膀胱(過形成)
0	24	23/24 (96%)		0/24 (0%)
0.625	20	18/20 (90%)		0/20 (0%)*
1.25	24	17/24 (71%)	3/24 (13%)	0/24 (0%)
2.5	23	15/23 (65%)	23/23 (100%)	7/23 (30%)

*おそらく 2/20 (10%)(報告との相違)

表 2 で示されたように、OPP は、1.25%以上の用量における実験では、膀胱腫瘍(乳頭腫及び移行上皮癌)の発生頻度の増加を誘発した(Hiraga & Fujii, 1984; Hiraga, 1983a)。

SOPOP (原文 p.6)

SOPOP は、F344 ラット(雄雌各 9-10 匹) (Charles-River, Japan)に、4%までの用量で、13 週間、混餌投与された。試験期間中に、動物の死亡例はなかった。表 3 において、下に示されているように、雄ラット及び雌ラットでは、膀胱腫瘍が認められた。しかし、この実験では、膀胱結石は、観察されなかった。

表 2. 2-フェニルフェノールを投与されたラットにおける尿路上皮系の腫瘍性病変

用量(飼料中の%)	膀胱		
	乳頭腫 (1)	移行上皮癌(2)	全新生物
0	0/24	0/24	0/24 (0%)
0.625	0/20	0/20	0/20 (0%)
1.25	3/24(3)	20/24(5)	23/24* (96%)
2.5	2/23(4)	2/23(6)	4/23 (17%)(7)

*p < 0.001

(1) 65 週間で最初の乳頭腫(1.25%群)。

(2) 82 週間で最初の癌腫(1.25%群)。

(3) ラットの 1/3 匹は結石保有。

(4) ラットの 2/2 匹は結石保有。

(5) ラットの 16/20 匹は結石保有。

(6) ラットの 1/2 匹は結石保有。

(7) 2.5%群における追加のラット 5 匹は、結石を保有したが癌腫はなく、6 匹は、結石及び過形成のみを保有した。

第二回実験では、SOPP は、F344 ラット(一群雄 20-21 匹)に、4%までの用量で、91 週間、混餌投与された(表 4)。

著者らの結論は、以下のものであった。すなわち、雄のF344ラットに、SOPPを1%以上の用量で、13週間又は91日間、混餌投与すると、膀胱腫瘍(乳頭腫及び移行上皮癌)の発生頻度の増加が誘発された。同様に、91日間の試験においては、腎臓の移行上皮癌が、0.5%以上の用量で観察された。SOPPは、また、雌のF344ラットに、4%の用量で、13週間、混餌投与されたとき、膀胱腫瘍(乳頭腫のみ)の発生頻度の増加が誘発された(Hiraga & Fujii, 1981)。

表 3. 2-フェニルフェノール・ナトリウム塩を13週間投与されたラットにおける膀胱新生物

用量(飼料中の%)	乳頭腫	膀胱	
		移行上皮癌	全新生物
<u>雄</u>			
0	0/10	0/10	0/10 (0%)
0.125	0/10	0/10	0/10 (0%)
0.25	0/10	0/10	0/10 (0%)
0.5	0/9	0/9	0/9 (0%)
1.0	1/10	0/10	1/10 (10%)
2.0	4/10	5/10	9/10 (90%)
4.0(1)	0/10	1/10	1/10 (10%)
<u>雌</u>			
0	0/10	0/10	0/10 (0%)
0.125	0/9	0/9	0/9 (0%)
0.25	0/9	0/9	0/9 (0%)
0.5	0/9	0/9	0/9 (0%)
1.0	0/10	0/10	0/10 (0%)
2.0	0/10	0/10	0/10 (0%)
4.0(2)	2/10	0/10	2/10 (20%)

(1) この群のラット 6 匹に中度の腎盂腎炎(pyelonephritis)。

(2) この群のラット 1 匹に軽度の腎盂腎炎。

表 4. 2-フェニルフェノール・ナトリウム塩を91週間投与されたラットにおける尿路上皮系の腫瘍性病変

用量 (飼料中の%)	投与された動物数(すべて雄)	生存率 (91週間)	移行上皮癌		
			膀胱(1)	腎臓(2)	合計(3)
0	20	18/20 (90%)	0/20	0/20	0/20 (0%)
0.125	20	18/20 (90%)	0/20	0/20	0/20 (0%)
0.25	20	19/20 (95%)	0/20	0/20	0/20 (0%)
0.5	21	18/21 (86%)	0/21	1/21	1/21 (5%)
1.0	21	18/21 (86%)	6/21	1/21	7/21 (33%)
2.0(4)	21	12/21 (57%)	19/21(6)	1/21	20/21 (95%)
4.0(5)	20	14/20 (70%)	8/20	13/20	17/20 (85%)

(1) 膀胱腫瘍を保有するラット 8 匹に膀胱結石が観察された。

(2) 79 週間で最初の腎臓腫瘍。

(3) 尿路上皮系に新生物を保有する動物の総数

(4) この群のラット 4 匹に腎盂腎炎。

(5) この群のラット 20 匹に腎盂腎炎。

(6) 新生物の1匹は癌肉腫。

SOPPは、F344ラット(雄雌)(Charles-River, Japan)に、2%までの用量で、104週間、混餌投与された。次に、ラットは、2週間の延長期間の間、対照飼料を与えられた後、検査のためにと殺された(106-週間試験と称される)。生存率、非腫瘍性病変及び腫瘍性病変に関しては、表 5、表 6及び表 7を参照。

表 5. 2-フェニルフェノール・ナトリウム塩を投与されたラットの生存率(106-週間試験)

用量(飼料中の%)	投与された動物数		生存率(104 週間)
	雄	雌	
0	50	50	> 50%
0.5	50	> 50%	
0.7	50	> 50%	
1.0	50	> 50%	
2.0	50	10/50 (20%)(1)	

(1) 膀胱腫瘍が、大部分、この群における生存率の減少の原因となっている。

表 6. 2-フェニルフェノール・ナトリウム塩を投与されたラットにおける尿路上皮系の非腫瘍性病変(106-週間試験)

用量(飼料中の%)	腎臓(1) (炎症性病変)	膀胱(過形成)
<u>雄</u>		
0	0/50 (0%)	0/50 (0%)
0.7	1/50 (2%)	0/50 (0%)
2.0	5/50 (10%)*	1/50 (2%)
<u>雌</u>		
0	0/50 (0%)	0/50 (0%)
0.5	3/50 (6%)	1/50 (2%)
1.0	20/50 (40%)**	4/50 (8%)

p < 0.05

** p < 0.001

(1) 加齢に関連した病変以外の腎臓病変(すなわち、慢性腎症)。

表 7. 2-フェニルフェノール・ナトリウム塩を投与されたラットにおける尿路上皮系の腫瘍性病変
(106-週間試験)

用量 (飼料中の%)	乳頭腫	膀胱 移行上皮癌	全新生物
雄			
0	0/50	0/50	0/50 (0%)
0.7(1)	0/50	2/50	2/50 (4%)
2.0(2)	1/50	46/50	47/50 (94%)*
雌			
0	0/50	0/50	0/50 (0%)
0.5	1/50	0/50	1/50 (2%)
1.0	3/50	1/50	4/50 (8%)

*p < 0.001, 40 週間で最初の腫瘍 (移行上皮癌)。

(1) ラットの 2/50 (4%)匹は結石保有。

(2) この群では、3 匹の腎臓腫瘍が観察された。(乳頭腫 1 匹、移行上皮癌 2 匹)

ラットの 27/50 (54%)匹は結石保有。

この 106-週間試験においては、SOPP は、雄ラットに、0.7%以上の用量において、膀胱腫瘍(乳頭腫及び又は移行上皮癌)の発生頻度の増加を誘発した。結石を保有するすべてのラットには、膀胱腫瘍が認められた。結石の存在が、膀胱では、腫瘍形成を増悪させる可能性がある。

同様に、2%又は 4%の SOPP を与えられた雄ラットでは、膀胱腫瘍の発生頻度は、腎臓病変の発生頻度と負の相関の可能性があるとされる。この点に関しては、既に記述された研究が参考になる。すなわち、SOPP を投与した 91 週間試験(Hiraga and Fujii, 1981)及び OPP を投与した 91 週間試験(Hiraga and Fujii, 1984)においては、同様の結果が得られた。腎臓における重篤な病変は、雄ラットにおける膀胱腫瘍の形成を、何らかの形で、阻害するかも知れない可能性がある(Hiraga, 1983b)。

第二回実験においては、SOPP は、雄及び雌の F344 ラットに、2%までの用量で、104 週間、混餌投与された。それから、動物は、死亡又は瀕死状態になるまで、対照飼料を与えられ、その時点で、と殺された(生涯試験と称される)。生存率については、表 8 を参照。

表 8. 2-フェニルフェノール・ナトリウム塩を投与されたラットにおける生存率(生涯試験)

用量(飼料中の%)	投与された動物数		生存率(104 週間)
	雄	雌	
0	25	25	> 50%
0.25	25	25	> 50%
0.5	-	25	> 50%
0.7	25	-	> 50%
1.0	-	25	> 50%
2.0	25	-	6/25(25%)(1)

(1)おそらく、膀胱腫瘍がこの群における生存率減少の原因である。(104 週間).

この実験では、どのラットにおいても、膀胱過形成は、観察されなかった。雄及び雌ラットに認められた膀胱新生物は、表 9に示される。

表 9. 2-フェニルフェノール・ナトリウム塩を投与されたラットにおける尿路上皮系の腫瘍性病変 (生涯試験)

用量(飼料中の%)	乳頭腫	膀胱	
		移行上皮癌	全新生物
<u>雄</u>			
0	0/25	0/25	0/25 (0%)
0.25	0/25	0/25	0/25 (0%)
0.7	2/25	1/25	3/25 (12%)
2.0(1)	2/25	21/25	23/25 (92%)*
<u>雌</u>			
0	0/25	0/25	0/25 (0%)
0.25	0/25	0/25	0/25 (0%)
0.5	0/25	0/25	0/25 (0%)
1.0(2)	1/25	1/25	2/25 (8%)

*p < 0.001; 54 週間で最初の腫瘍(移行上皮癌)

(1) ラットの 8/25 (32%)匹は結石保有。

(2) ラットの 1/25 (4%)匹は結石保有。

この生涯試験においては、SOPPは、雄及び雌では、それぞれ、0.7%以上及び0.5%を超える用量で、膀胱腫瘍(乳頭腫及び移行上皮癌)の発生頻度の増加を誘発した。膀胱腫瘍は、0.25%の用量では、雄及び雌のどちらにも観察されなかった(表 9)。結石のあるすべてのラットは、膀胱腫瘍を保有した(Hiraga, 1983b)。

SOPP は、F344 ラット(Charles-River, Japan)の雄(一群 29 匹及び一群 15 匹)に、2%の用量で、32 週間、混餌投与された。報告された膀胱病変は、表 10 に示される。

Table 10. 2-フェニルフェノール・ナトリウム塩を 2.0%の用量で、32 週間、混餌投与されたラットにおける膀胱病変

有効ラット数	膀胱				
	単純過形成	PN 過形成	乳頭腫	癌	新生物合計
29	29/29	25/29	5/29	0/29	5/29 (17%)
15	13/15	14/15	2/15	1/15	3/15 (20%)

0.01%の BBN であらかじめ投与された追加のラットにおいては、単純過形成及び乳頭状/結節状過形成(PN)過形成の発生頻度が有意に増加したが、BBN のみで処理されたラットの発生頻度を超えて、乳頭腫又は癌の発生頻度を増加させることはなかった。一方、0.05%の BBN であらかじめ投与された追加のラットにおいては、PN 過形成、乳頭腫及び癌の発生頻度は、BBN のみで処理されたラットの発生頻度を超えて有意に増加した(Fukushima et al., 1983)。

SOPP は、F344 ラット(一群雄 28 匹)(Charles-River, Japan)に、2%の用量で、64 週間、混餌投与された。その結果、ラット 1 匹の膀胱内に、小結石の形成が認められた。SOPP は、膀胱に、単純過形成、PN 過形成(19/28, 68%)、乳頭腫(5/28, 18%)及び癌(6/28, 21%)を誘発した。また、BBN で前投与を施した追加のラットでは、BBN 単独で投与した場合よりも、PN 過形成($p < 0.05$)、乳頭腫(非有意)及び癌(非有意)の発生頻度が増加した。

別の実験においては、SOPP は、0、0.25%、0.5%、1%又は 2%の用量で、104 週間、雄 F344 ラットに、混餌投与された。それぞれの投与群の動物は、4、8、12、24、36 及び 104 週間に、定期的に、と殺、検査された。SOPP を投与されたどのラットの膀胱にも、結石形成は認められなかった。また、2%群では、4 週間以上で、単純過形成が、そして、36 週間以上で、PN 過形成が認められた(104 週間ではすべてのラット)。一方、2% SOPP を混餌投与されたラットには、104 週間で、膀胱の乳頭腫(2/5, 40%)及び癌(2/5, 40%)が認められた。一方、1% 投与群では、36 週間以上で、単純過形成のみが認められた(Ito, 1983b)。

コンカナバリン A を用いた膀胱上皮細胞の凝集活性を指標とする短期試験によって、**p-フェニルフェノール***、**o-フェニルフェノール(OPP)**、**o-フェニルフェノール・ナトリウム塩・四水和物(SOPP)**及び幾つかのビフェニル誘導体のラットに対する膀胱発がん性が調べられた。その結果、1%及び 2% OPP、又は、1%及び 2% SOPP で投与後、1 週間では、凝集活性の増加が認められ、これらの化合物に関する膀胱発がん性が示唆された。しかしながら、**p-フェニルフェノール***又は、ビフェニル誘導体を 2%含有する飼料を用いて、混餌投与されたラットにおいては、そのような凝集活性の増加は、観察されなかった。

*原文は **phi-Phenylphenol** であるが、**p-Phenylphenol** として訳した。

SOPP を用いた *in vivo* 発がん性試験が実施された。表 11 に示されるように、SOPP を 2%含有する飼料を用いて、混餌投与されたフィッシャー(Fisher)ラット(Charles-River, Japan)においては、50 週間で、14/34 匹に膀胱癌の形成が認められた(Honma et al., 1983)。

表 11. 2-フェニルフェノール・ナトリウム塩を投与されたラットにおける尿路上皮系の腫瘍性病変

用量(飼料中の%)	乳頭腫	膀胱	
		移行上皮癌	全新生物(1)
0	0/11	0/11	0/11 (0%)
2.0(2)	19/36**	14/36*	33/36 (92%)**

* $p < 0.05$

** $p < 0.01$

(1) 対照群及び投与群のいずれのラットに、結石は認められなかった。

(2) 31/36 匹のラットは、膀胱に PN 過形成*を保有した。さらに、3/36 匹及び 9/36 匹のラットは、腎盂に、それぞれ、乳頭腫及び PN 過形成を保有した

*原文は *hykperplasia* であるが、*hyperplasia* として訳した。

SOPP は、F344 ラット(一群雄 30 匹) (Charles-River, Wilmington, MA)に、2%の用量で、90 日間、混餌投与された。中間と殺は、3、7、14、30 及び 65 日で実施された。最終と殺の 90 日まで生存できた動物は、一群 7 匹であった。

これらのラットに認められた膀胱病理学的所見は、以下のとおりである:投与 3 日に開始された上皮における有糸分裂の増加、投与 14 日に開始された上皮の肥厚(すなわち、単純過形成)。膀胱には、いかなる種類の腫瘍も、認められなかった(Reitz et al., 1983)。

変異原性に関する特殊試験 (原文 p.11)

OPP (原文 p.11)

ネズミチフス菌株のTA92、TA1535、TA100、TA1537、TA94及びTA98を用いたエームス(Ames)試験においては、雄フィッシャーラットの肝臓から調製された代謝活性化の存在及び非存在下で、一様に、陰性の結果であった。培養チャイニーズハムスター線維芽細胞を用いた染色体異常試験においては、代謝活性化の存在及び非存在下で、明白な結果は得られなかった (Ishidate et al., 1983)。

また、ネズミチフス菌株のTA1537、TA98及びTA100を用いたエームス(Ames)試験においては、雄ラットから調製された代謝活性化の存在及び非存在下で、陰性であった。しかし、菌株TA1535は、代謝活性化の非存在下で、弱い陽性を示したが、代謝活性化の存在下では、陰性であった。マウスリンフォーマ assay (mouse lymphoma assay) (L5178Y/TK+/-)は、代謝活性化の存在及び非存在下で、弱い陽性を示した。チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた染色体異常試験においては、代謝活性化の存在及び非存在

下で、陰性であった。チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた姉妹染色分体交換試験においては、代謝活性化の非存在下で、弱い陽性であったが、代謝活性化の存在下では、陰性であった。キイロシヨウジョウバエを用いる伴性劣性致死試験は、陰性であった(Luster, 1985)。

優性致死試験においては、OPP(純度 99.7%)は、10 週齢の雄 C3H マウスに、0(対照)、100 又は 500 mg/kg/日の用量で、5 日間、毎日、強制経口投与された。各投与群の動物数は、15 匹であった。別に、陽性対照群として、15 匹の雄マウスは、エチルメタンサルホン酸塩(EMS, ethylmethanesulfonate)を、300 mg/kg の用量で、単回、腹腔内投与された。投与直後に、引き続いて、各雄マウスを、未投与の未経産マウス(2 匹)と、7 日間、交配させた。7 日の終わりに、雌マウスは、別の 2 匹の雌マウスによって、置き換えられた。交換処置は、合計 6 週間、繰り返された。すべての雌マウスは、妊娠 12-13 日にと殺され、黄体、着床、生存胚及び早期胚死亡又は後期胚死亡に関する数値が記録された。次に、誘発された優性致死突然変異の出現頻度が算出された。対照群及び投与群に関する成績は、各 7-日期間について、比較された。陽性対照群では、1、2、3 及び 6 週間で、早期胚死亡の出現頻度が増加した。OPP を投与されたマウスに関しては、対照群における成績との間で、有害な差は、検出されなかった。従って、この試験においては、OPP 投与による優性致死突然変異の誘発は、なかった(Kaneda et al., 1978)。

SOPP (原文 p.11)

ネズミチフス菌株のTA98及びTA100を用いたエームス(Ames)試験においては、雄フィッシャーラットの肝臓から調製された代謝活性化の存在及び非存在下で、陰性であった。培養チャイニーズハムスター線維芽細胞を用いた染色体異常試験においては、代謝活性化の存在及び非存在下で、明白な結果は得られなかった (Ishidate et al., 1983)。

また、ネズミチフス菌株のTA98、TA100、TA1535、TA1537及びTA1538を用いたエームス(Ames)試験においては、代謝活性化の存在及び非存在下で、陰性であった。初代培養肝細胞を用いた不定期DNA合成試験は、陰性であった(Reitz et al., 1983)。

OPP 及び SOPP に関して、可能性のある代謝物(原文 p.12)

OPP及びSOPPに関して、可能性のある代謝物である2,5-ジヒドロキシビフェニル(2,5-dihydroxybiphenyl)及び2-フェニル-1,4-ベンゾキノン(2-phenyl-1,4-benzoquinone)は、エームス(Ames)のネズミチフス菌株であるTA98、TA100及びTA1537を用いて、試験された。両化合物は、雄フィッシャーラットの肝臓から調製された代謝活性化の存在及び非存在下で、陰性の結果であった。また、両化合物は、培養チャイニーズハムスター線維芽細胞を用いた染色体異常試験において、代謝活性化の存在及び非存在下で、陰性の結果であった(Ishidate et al., 1983)。

コメント (原文 p.12)

試験物質としてOPPを用いたラットにおける2世代生殖試験のための試験法を、受け取った。(Rao, 1985)。これは、追加情報の要求に応じて提案されたものである。しかし、F344以外のラット種における新規発がん性/慢性毒性試験の進捗に関する情報について、受け取ることはなかった。一方、新しい代謝及び薬物動態に関するかなりの量のデータを受け取った。しかしながら、これらのデータは、発がん作用を、可能な生化学的メカニズムに基づいて解明するためには、非常に限定的であった。

OPP及びSOPPに関するIARCモノグラフは、1983年に刊行された(IARC, 1983)。この文書は、OPP及びSOPPに関する化学的及び物理学的データ、用途、及び存在について、要約している。また、このモノグラフは、1983年に先立って入手できたヒトの発がんリスクに関する生物学的データについても、同様に、評価している。

2-フェニルフェノール・ナトリウム塩(SOPP)に関する最近の発がん性試験においては、F344 ラットに、1及び2%の用量で、混餌投与された場合、雄では、膀胱の癌腫及び腎盂におけるある種の癌腫の発生頻度が、統計学的に有意に、増加していることが報告された。同様に、雌では、1%の用量で、膀胱新生物は増加したが、雄に比べて、その発生頻度は低かった。雄ラット及び雌ラットにおいては、同様な腫瘍は、より低用量(0.5%及び0.7%)でも、観察された。これらの腫瘍の発生頻度は、統計学的に、有意ではなかったが、このラットの系統における腫瘍の希少性及び対照群では所見がないことから、生物学的に投与に関係しているものと見なされた。ラットの膀胱における結石と腫瘍の間に、因果関係があるようには思われなかった。よって、SOPP は、F344 ラットの尿路上皮に対する発がん物質であると決定された。

2-フェニルフェノール(OPP)に関して、入手できた発がん性試験の数は、SOPP に比べると、より少なかったが、最近のある証拠から、OPP は、1.25%及び2.5%で混餌投与された場合、同様に、雄 F344 ラットの膀胱発がん物質である可能性が示唆されている。しかしながら、雄又は雌のウイスター(Wistar)ラットを用いたもう一つの初期の試験においては、類似した反応は、証明されなかった。従って、OPP の発がん性に関して、決定的な結論を下すために、試験は十分には実施されていない。

OPP と SOPP に関するマウスを用いた発がん性試験において、発癌性作用に関しては、陰性であった。OPP に関する試験の場合、腫瘍発現を認めるためには、あまりに低用量であった可能性がある。

OPP 及び SOPP に関する細菌を用いた変異原性試験においては、圧倒的に陰性であった。しかしながら、単独の実験例では、ときどき、弱い陽性の結果が認められた。哺乳類培養細胞を用いた試験においては、陰性及び陽性の結果が混合していた。また、幾つかのアッセイにおいては、陰性及び弱い陽性反応の両方が報告された。一方、*in vivo* における試験は、一様に陰性の結果であった。

in vitro 及び *in vivo* における一連の生化学実験において、OPP/SOPP に関する代謝経路は、高用量でのみ変化した。このことは、長期試験において、同様な用量で発生する尿路上皮腫瘍に関係するか、も

しくは、原因となる可能性を示唆している。この推論は、現時点では、もっともらしいと思われるが、事実として、認められる前には、かなり直接的な実験的証拠が必要になると考えられる。

試験物質として OPP を用いたラットの催奇形性試験において、催奇形性作用に関しては、陰性の結果であった。

OPP 及び SOPP の発癌性について、当会議は、OPP 及び SOPP に対して予測された低用量における食餌性暴露に対する発がん性試験結果を比較した。この比較検討及びその他の情報に基づき、当会議は、1989 年まで、OPP/SOPP に関する暫定一日摂取許容量(ADI)を延長することに同意した。

毒性評価（原文 p.13）

毒性影響を引き起こさない用量

ラット:2000 ppm(飼料中)、100 mg/kg 体重相当

イヌ:500 mg/kg 体重/日

ヒトに関する暫定一日摂取許容量の推定

0-0.02 mg/kg 体重

追加の作業又は要求される情報(1989年までに、又はそれよりも早期に)

1. 多世代生殖試験。
2. 膀胱癌の誘発に感受性が知られているラットの系統における発がん性/慢性毒性試験(F344 以外の系統)。
3. 必要に応じて、発がん性に関する長期試験で使用された動物の系統における代謝、薬物動態及びその他の関連する試験(動物種、性別及び投与量の差異を考慮することも含める)。
4. OPP 又は SOPP に恒常的に暴露される産業労働者及びその他における OPP の尿中排泄及び又はその代謝物に関する定性的及び定量モニタリングデータ。
5. OPP 及び又は SOPP の尿中代謝物に関する変異原性試験。

要望（原文 p.13）

ヒトにおける追加の所見

文献

2-フェニルフェノールの毒性試験と結果の概要（評価書:JMPR 1985）

試験の種類	供試動物等	投与量	結 果
急性毒性			該当する試験なし
皮膚刺激性			該当する試験なし
眼刺激性			該当する試験なし
皮膚感作性			該当する試験なし
90日間亜急性毒性			該当する試験なし
長期毒性			該当する試験なし
発がん性(皮膚塗布, 2年間)	マウス(雄雌)	(OPP) 55.5 mg/マウス, 3回/週	発がん性なし
発がん性(経口, 混餌, 96週間)	マウス(雄雌)	(SOPP) 0, 0.5, 1, 2%	2:(雄・雌) 体重減少 1:(雌) 体重減少 0.5:(雌) 体重減少 >=0.5:(雌) アルカリホスファターゼ活性増加 腫瘍発生なし
発がん性(経口, 混餌, 12週間)	ラット(雄)	(OPP) 2%	尿路結石及び腫瘍発生なし
発がん性(経口, 混餌, 90日間)	ラット(雄)	(OPP) 2%	限局性腎皮質嚢胞, 尿比重減少, 軽度の血尿, 腎皮質の限局性尿細管虚脱, 萎縮, 嚢胞変性膀胱病変なし
発がん性(経口, 混餌, 32週間)	ラット(雄)	(OPP) 2%	膀胱上皮過形成, 乳頭腫及び癌発生なし
発がん性(経口, 混餌, 64週間)	ラット(雄)	(OPP) 2%	膀胱上皮過形成を伴った小結石 乳頭腫及び膀胱癌発生なし
発がん性(経口, 混餌, 91週間)	ラット(雄)	(OPP) 0, 0.625, 1.25, 2.5%	2.5:腎臓炎症性病変, 膀胱過形成, 膀胱腫瘍(乳頭腫・移行上皮癌) 1.25:腎臓炎症性病変, 膀胱腫瘍(乳頭腫・移行上皮癌)
発がん性(経口, 混餌, 13週間)	ラット(雄雌)	(SOPP) 0, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4%	4:(雌) 膀胱腫瘍(乳頭腫) >=1:(雄) 膀胱腫瘍(乳頭腫・移行上皮癌) >=0.5:(雄) 腎臓移行上皮癌
発がん性(経口, 混餌, 90日間)	ラット(雄)	(SOPP) 0, 2.0%	膀胱上皮の有糸分裂増加, 単純過形成 膀胱腫瘍なし
発がん性(経口, 混餌, 50週間)	ラット	(SOPP) 0, 2.0%	膀胱病変(乳頭腫, 移行上皮癌, PN 過形成) 腎盂病変(乳頭腫, PN 過形成)
発がん性(経口, 混餌, 104週間)	ラット(雄雌)	(SOPP) (雄) 0, 0.7, 2.0% (雌) 0, 0.5, 1.0%	2.0:(雄) 膀胱腫瘍(乳頭腫・移行上皮癌) 0.7:(雄) 膀胱腫瘍(移行上皮癌) 1.0:(雌) 膀胱腫瘍(乳頭腫・移行上皮癌) 0.5:(雌) 膀胱腫瘍(乳頭腫)
発がん性(経口, 混餌, 104週間)	ラット(雄雌)	(SOPP) (雄) 0, 0.25, 0.7, 2.0% (雌) 0, 0.25, 0.5, 1.0%	2.0:(雄) 膀胱腫瘍(乳頭腫・移行上皮癌) 0.7:(雄) 膀胱腫瘍(乳頭腫・移行上皮癌) 1.0:(雌) 膀胱腫瘍(乳頭腫・移行上皮癌)

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
発がん性(経口, 混餌, 32週間)	ラット(雄)	(SOPP) 0, 2.0%	膀胱病変(単純過形成, PN 過形成, 乳頭腫, 癌)
発がん性(経口, 混餌, 64週間)	ラット(雄)	(SOPP) 0, 2.0%	膀胱病変(単純過形成, PN 過形成, 乳頭腫, 癌) 膀胱結石
発がん性(経口, 混餌, 104週間)	ラット(雄)	(SOPP) 0, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0%	2:膀胱病変(単純過形成, PN 過形成, 乳頭腫, 癌) 1:膀胱病変(単純過形成) 膀胱結石なし
生殖・発生毒性			該当する試験なし
催奇形性(強制経口)	ラット(妊娠 6-15日)	(OPP)0, 150, 300, 600, 1200 mg/kg 体重/日	1200:(母動物)致死 600:(母動物)吸収増加 (児動物)体重減少 >=300:(母動物)運動失調, 体重増加減少 催奇形性なし
催奇形性(強制経口)	ラット(妊娠 6-15日)	(OPP)0, 100, 300, 700 mg/kg 体重/日	700:(母動物)体重, 摂餌量減少, 肝臓重量減少 NOAEL(児動物)=700 mg/kg 体重/日 催奇形性なし
変異原性: 復帰突然変異(in vitro)	ネズミチフス菌 (TA92, TA1535, TA100, TA1537, TA94, TA98)	(OPP)-	陰性(+/- S9)
変異原性: エームス試験(in vitro)	ネズミチフス菌 (TA1535, TA1537, TA98, TA100)	(OPP)-	TA1537, TA98, TA100: 陰性(+/- S9) TA1535: 弱い陽性(- S9) TA1535: 陰性(+S9)
変異原性: マウスリンフォーマアッセイ(in vitro)	マウスリンフォーマ (L5178Y/TK+/-)	(OPP)-	弱い陽性(+/- S9)
変異原性: 染色体異常(in vitro)	チャイニーズハムスター繊維芽細胞	(OPP)-	不明(+/- S9)
変異原性: 染色体異常(in vitro)	チャイニーズハムスター卵巣細胞	(OPP)-	陰性(+/- S9)
変異原性: 姉妹染色分体交換(in vitro)	チャイニーズハムスター卵巣細胞	(OPP)-	弱い陽性(- S9) 陰性(+ S9)
変異原性: 伴性劣性致死(in vivo)	キイロ ショウジョウバエ	(OPP)-	陰性

試験の種類	供試動物等	投与量	結 果
変異原性:優性致死(in vivo)	マウス(雄)	(OPP)0, 100, 500 mg/kg/日	陰性
変異原性:エームス試験(in vitro)	ネズミチフス菌(TA98, TA100)	(SOPP)-	陰性(+/- S9)
変異原性:エームス試験(in vitro)	ネズミチフス菌(TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538)	(SOPP)-	陰性(+/- S9)
変異原性:染色体異常(in vitro)	チャイニーズハムスター繊維芽細胞	(SOPP)-	不明(+/- S9)
変異原性:不定期 DNA 合成(in vitro)	-	(SOPP)-	陰性
その他:膀胱発がん性に関する短期試験(経口, 混餌)	ラット	(OPP)1, 2%	膀胱上皮細胞の凝集活性増加(投与後 1 週間)(コンカナバリン A による)
その他:膀胱発がん性に関する短期試験(経口, 混餌)	ラット	(SOPP)1, 2%	膀胱上皮細胞の凝集活性増加(処理後 1 週間)(コンカナバリン A による)
暫定一日摂取許容量			0-0.02 mg/kg 体重(推定値)

略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
BBN	(N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine	N-ブチル-N-(4-ヒドロキシブチル)ニトロソアミン
EMS	Ethylmethane sulfonate	エチルメタンスルホン酸塩
FAO	Food and Agriculture Organization	国連食糧農業機関
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography	高速液体クロマトグラフィー
IARC	International Agency for Research on Cancer	国際癌研究機構
JMPR	Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues	FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議
OPP	2-Phenylphenol	2-フェニルフェノール
PN hyperplasia	Papillary-nodular (PN) hyperplasia	乳頭状ないし結節状過形成 (PN 過形成)
SOPP	Sodium 2-phenylphenate	2-フェニルフェノール・ナトリウム塩
WHO	World Health Organization	世界保健機関

2-フェニルフェノール 評価書和訳と情報整理

JMPR: 1999

ウェブサイト:<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v99pr08.htm>

2-フェニルフェノール 評価書和訳と情報整理 JMPR (1999) 目次

説明 (原文 p.1).....	67
一日摂取許容量に関する評価 (原文 p.1)	67
1. 生化学的性状 (原文 p.1).....	67
(a)吸収、分布及び排泄 (原文 p.1).....	67
(b)生体内変換(原文 p.2)	69
(c)酵素及びその他の生化学パラメータに対する影響 (原文 p.4).....	72
2-フェニルフェノール (原文 p.4)	72
2-フェニルフェノール ナトリウム (原文 p.5)	74
2. 毒性試験 (原文 p.5).....	75
(a)急性毒性 (原文 p.5)	75
(b)短期毒性試験 (原文 p.6)	75
2-フェニルフェノール (原文 p.6).....	75
ラット (原文 p.6)	75
モルモット (原文 p.6)	77
ウサギ (原文 p.7)	77
イヌ (原文 p.7)	78
2-フェニルフェノール ナトリウム(原文 p.7)	78
マウス (原文 p.7).....	78
ラット (原文 p.7).....	79
モルモット (原文 p.8)	79
ウサギ (原文 p.8).....	79
(c)毒性及び発がん性に関する長期試験 (原文 p.8)	80
2-フェニルフェノール (原文 p.8).....	80
マウス (原文 p.8)	80
ラット (原文 p.9).....	81
2-フェニルフェノール ナトリウム (原文 p.9)	82
マウス (原文 p.9)	82
ラット (原文 p.9).....	82
(d)遺伝毒性 (原文 p.10)	83
(e) 生殖毒性 (原文 p.13).....	90
(i)多世代生殖毒性 (原文 p.13)	90
2-フェニルフェノール (原文 p.13).....	90
ラット (原文 p.13)	90
(ii)発生毒性 (原文 p.14)	92
2-フェニルフェノール及び 2-フェニルフェノール ナトリウム (原文 p.14).....	92
マウス (原文 p.14).....	92

2-フェニルフェノール (原文 p.14).....	93
ラット (原文 p.14)	93
ウサギ (原文 p.15)	94
3. ヒトにおける所見 (原文 p.23)	108
コメント (原文 p.23)	109
毒性評価 (原文 p.24).....	111
2-フェニルフェノールの毒性試験と結果の概要 (評価書:JMPR 1999)	115
略称.....	121

原文 目次

原文ページ

毒性学的評価	1
2-フェニルフェノールとそのナトリウム塩	1
説明 (原文 p.1)	1
一日摂取許容量に関する評価	1
1. 生化学的性状	1
(a) 吸収、分布及び排泄	1
(b) 生体内変換	2
(c) 酵素及びその他の生化学パラメータに対する影響	4
2-フェニルフェノール	4
2-フェニルフェノール ナトリウム	5
2. 毒性試験	5
(a) 急性毒性	5
(b) 短期毒性試験	6
2-フェニルフェノール	6
ラット	6
モルモット	6
ウサギ	7
イヌ	7
2-フェニルフェノール ナトリウム	7
マウス	7
ラット	7
モルモット	8
ウサギ	8
(c) 毒性及び発がん性に関する長期試験	8
2-フェニルフェノール	8
マウス	8
ラット	9
2-フェニルフェノール ナトリウム	9
マウス	9
ラット	9
(d) 遺伝毒性	10
2-フェニルフェノール	10
2-フェニルフェノール ナトリウム	11
フェニルヒドロキノン	
フェニルベンゾキノン	

(e) 生殖毒性	13
(i) 多世代生殖毒性	13
2-フェニルフェノール	13
ラット	13
(ii) 発生毒性	14
2-フェニルフェノール及び2-フェニルフェノール ナトリウム	14
マウス	14
2-フェニルフェノール	14
ラット	14
ウサギ	15
(f) 特殊試験: ラット膀胱における発がん性メカニズム	15
3. ヒトにおける所見	23
コメント	23
毒性評価	24
文献	

Toxicological evaluations	1
2-PHENYLPHENOL AND ITS SODIUM SALT	1
Explanation	1
Evaluation for Acceptable Daily Intake	1
1. Biochemical aspects	1
(a) Absorption, distribution, and excretion	1
(b) Biotransformation	2
(c) Effects on enzymes and other biochemical parameters	4
<i>2-Phenylphenol</i>	4
<i>Sodium 2-phenylphenol</i>	5
2. Toxicological studies	5
(a) Acute toxicity	5
(b) Short-term studies of toxicity	6
<i>2-Phenylphenol</i>	6
<i>Rats</i>	6
<i>Guinea-pigs</i>	6
<i>Rabbits</i>	7
<i>Dogs</i>	7
<i>Sodium 2-phenylphenol</i>	7
<i>Mice</i>	7
<i>Rats</i>	7

<i>Guinea pigs</i>	8
Rabbits	8
(c) Long-term studies of toxicity and carcinogen	8
<i>2-Phenylphenol</i>	8
<i>Mice</i>	8
<i>Rats</i>	9
<i>Sodium 2-phenylphenol</i>	9
<i>Mice</i>	9
<i>Rats</i>	9
(d) Genotoxicity	10
<i>2-Phenylphenol</i>	10
<i>Sodium 2-phenylphenol</i>	11
<i>Phenylhydroquinone</i>	
<i>Phenylbenzoquinone</i>	
(e) Reproductive toxicity	13
(i) Multigeneration reproductive toxicity	13
<i>2-Phenylphenol</i>	13
<i>Rats</i>	13
(ii) Developmental toxicity	14
<i>2-Phenylphenol and sodium 2-phenylphenol</i>	14
<i>Mice</i>	14
<i>2-Phenylphenol</i>	14
<i>Rats</i>	14
Rabbits	15
(f) Special studies: Mechanisms of carcinogenicity in rat urinary bladder	15
3. Observations in humans	23
Comments	23
Toxicological Evaluation	24
References	

食品中に存在する農薬残留物—1999

国際化学物質安全性計画(IPCS)の支援のもとで、FAOとWHOによる共催。

毒性学的評価

食品及び環境中の残留農薬に関するFAOパネル及び残留農薬に関するWHOコア評価グループによる合同会議

ローマ、1999年9月20-29日

2-フェニルフェノールとそのナトリウム塩

第一稿は、Jens-Jorgen Larsenによって作成された。

食品安全性・毒性研究所(Institute of Food Safety and Toxicology)

農水省(Ministry of Food, Agriculture and Fisheries)、ソーボー(Soborg)、デンマーク

説明

一日摂取許容量

生化学的性状

吸収、分布、及び排泄

生体内変換

酵素及びその他の生化学的パラメータに対する影響

毒性試験

急性毒性

短期毒性試験

長期毒性及び発がん性試験

遺伝毒性

生殖毒性

多世代生殖毒性

発生毒性

特殊試験: ラット膀胱における発がん性メカニズム

ヒトにおける所見

コメント

毒性評価

文献

説明 (原文 p.1)

2-フェニルフェノール及びそのナトリウム塩は、1969、1983、1985、1989及び1990年の合同会議(付属文書 1、文献 12、40、44、56、及び 59)によって評価された。1983年に割り当てられた暫定一日摂取許容量 (temporary ADI) の0-0.02 mg/kg 体重は、1985年に、さらに、1989年に延長された。そして、1990年に、一日摂取許容量(ADI) の0-0.02 mg/kg 体重が設定された。その会議以来、生化学的性状、生体内変換、酵素及びその他の生化学的パラメータに対する影響、急性毒性、短期毒性、長期毒性、遺伝毒性、生殖毒性、皮膚及び眼刺激性及び皮膚感作性及びラット膀胱における発がん作用のメカニズムに関する試験が、入手可能になった。国際残留農薬部会における定期的なレビュープログラムの中で、今回の会議によって、当該化合物について、見直しが行われた。

2-フェニルフェノール ナトリウム塩に関する毒性データは、一日摂取許容量(ADI)を設定するために用いられなかった。その理由は、ナトリウム塩は、速やかに、2-フェニルフェノールに解離するためである。しかしながら、これらのデータは、検討する価値があるものと考えられ、従って、本レビューに含まれている。

一日摂取許容量に関する評価 (原文 p.1)

1. 生化学的性状 (原文 p.1)

(a) 吸収、分布及び排泄 (原文 p.1)

ラット(一群雄 4 匹、Fischer 344)は、 $[^{14}\text{C}]$ 2-フェニルフェノール(純度、99.8%;比活性、19 mCi/mmol)又は $[^{14}\text{C}]$ 2-フェニルフェノール ナトリウム(純度、98.7%)を、500 mg/kg 体重の用量で、単回、強制経口投与された。そして、動物は、直ちに、ガラス製の代謝ケージに移された。両化合物について、投与された標識放射能の約 90-95%及び 5-6%は、最初の 24 時間に、それぞれ、尿中及び糞中に、大部分、回収された。投与された 2 種類の化合物群における尿中への排泄速度は、実質的に同一であった。一方、第二回実験においては、動物は、標識化合物の単回経口投与の前に 2 週間、2-フェニルフェノールの 13000 ppm 又はナトリウム塩(等モル量)の 20000 ppm を含有している飼料を混餌投与された。動物は、依然として、標識放射能の大部分を尿中(88-94%)に及び少量を糞中(3-5%)に排泄した。ナトリウム塩は、2-フェニルフェノールよりも、幾分、速やかに排泄されるように思われたが、前処理によって、標識放射能の体内動態が、大きく影響されることはなかった(Reitz et al., 1983)。

ラット(一群雄4匹、Fischer 344)は、 $[^{14}\text{C}]$ 2-フェニルフェノール(純度、不明;比活性、1.6 mCi/mmol)又は $[^{14}\text{C}]$ 2-フェニルフェノール ナトリウム(純度、不明;比活性、1.6 mCi/mmol)を、それぞれ、160 mg/kg 体重又は250 mg/kg 体重(等モル量)の用量で、単回、強制経口投与された。

動物は、投与前に、一晚、投与後は、6時間絶食された。尿及び糞サンプルは、7日間、毎日、採取された。試験された2化合物群間における排泄パターンに、有意な差異は、認められず、投与24時間以内に、投与した用量の82-98%及びわずか2-5%が、それぞれ、尿中及び糞中に回収された。また、胆管挿管を装着されたラット(雄2匹)は、放射能標識されたナトリウム塩を、250 mg/kg 体重の用量で、単回、経口投与された後、胆汁は、3日間、採取された。標識放射能の胆汁中への排泄は、投与後、最初の1時間以内に開始され、3-6時間以内にピークを達した。そして、3日間の回収期間で回収された約1/4量の排泄を、8時間までに完了した。著者らは、これらの結果について、次のように、説明した。すなわち、2-フェニルフェノールの代謝物は、腸間から速やかに吸収され、腸肝循環することが示唆される。

2-フェニルフェノールの投与後、1及び7日及びナトリウム塩の投与後、1、3及び7日に検査された器官及び組織における分布パターンには、ほとんど、差異が認められなかった。膀胱を含めて、臓器及び組織には、ほとんど標識放射能は保持されなかった (Yamaha et al., 1983; Sato et al., 1988)。

[¹²C/¹³C/¹⁴C]2-フェニルフェノール(純度、99.5%;比活性、48 mCi/mmol)を用いた比較実験においては、標識化合物は、マウス(雄10匹、B6C3 F₁)に、15又は800 mg/kg 体重の用量で、及びラット(雄雌各10匹、Fischer 3444)に、27又は28 mg/kg 体重の用量で、単回、経口投与された。一方、標識化合物は、ボランティア(男性6人)の前腕に、8時間、約6 ug/kg 体重の用量で、経皮投与された。標識化合物は、マウスにおいては、よく吸収され、48時間にわたり、採取された尿では、2用量について、それぞれ、84%及び98%が回収された。ラットにおいても、同様に、吸収は良好で、排泄は速やかであり、24時間以内に、雄及び雌の尿中には、それぞれ、投与量の89及び86%が認められた。同様に、2-フェニルフェノールは、ボランティアにおいても、速やかに、排泄され、吸収量の99%が、暴露後、最初の48時間以内に採取された尿中に認められた(Bartels et al., 1998)。

ボランティア(男性6人、年齢19-27歳、体重58-98 kg)の前腕に、[¹³C/¹⁴C]2-フェニルフェノールの0.4%イソプロパノール溶液100 uLを、約6 ug/kg 及び42 uCiの用量で、8時間、経皮投与された。血液、尿及び便試料は、5日間、何度も採取された。同様に、血液サンプルは、経皮暴露の間、採取された。すべての被検者において、暴露を開始した最初の2時間以内に、血液中に、高濃度の標識放射能が観察された、このことは、標識化合物が、速やかに吸収されたことを示唆している。暴露期間の終点における消失速度は、かなり速やかであり、暴露終了の2日後に採取された静脈血サンプル中には、ほとんど、標識放射能は存在していなかった。2-フェニルフェノールの投与量の約43%は、吸収され、約58%は、綿球、皮膚洗浄液、ガーゼ及び保護用の覆いの中に回収された。吸収された化合物の大部分(99%)は、尿中に排泄された。そして、糞中への排泄は、副経路(5日間で1%)によることが示された。投与された標識放射能の平均0.04%は、適用部位を被っているテープ断片に見いだされたことから、皮膚の表面層には、蓄積されないことが示唆された(Selim, 1996)。

血漿中濃度は、投与の4時間以内にピークに達し、それから急速に低下して、吸収した投与量のほとんどすべては、24時間以内に、尿中に排泄された。これらボランティアにおける[¹⁴C] 2-フェニルフェノールのクリアランス及び吸収の薬物動態を説明するために、1-コンパートメントモデルが用いられた。適用された投与量の約43%は、皮膚から吸収され、平均吸収半減期は10時間であった。一旦、吸収されると、腎クリアランスは、速や

かであり、平均消失半減期は、0.8 時間であった。各ボランティアにおける^[14C] 2-フェニルフェノールの薬物動態は、全体的に、類似しており、モデルパラメータと実験データの一致は良好であった。尿中に速やかに排泄されることから、ヒトが、2-フェニルフェノールに繰り返し暴露されても、ヒトの体内に蓄積する可能性は低いことが示された(Timchalk, 1996)。

(b) 生体内変換(原文 p.2)

マウス(一群雄 10 匹、B6C3 F₁)は、^[14C]2-フェニルフェノール(比活性、48 mCi/mmol)を、25 又は 1000 mg/kg 体重の用量で、単回、経口投与された。また、動物は、非標識化合物(純度、99.5%)を、1000 mg/kg 体重の用量で、5 日間、毎日、投与された後、標識化合物を、1000 mg/kg 体重の用量で、単回、経口投与された。そして、すべての動物は、投与の 48 時間後にと殺された。また、比較のために、ラット(2 つの一群雄雌各 2 匹の投与群、Fischer 344)は、標識化合物を、25 又は 125 mg/kg 体重の用量で、単回、経口投与され、投与の 24 時間後にと殺された。マウスにおける^[14C]2-フェニルフェノールの排泄は、速やかで且つ迅速であり、投与後 12-24 時間で完了した。尿中及び糞中における標識放射能の回収率は、それぞれ、74-98%及び 6-13%であり、1%未満が、組織及び屠体中に回収された。マウス及びラットの尿中からは、8 種類の代謝物が検出された。しかし、代謝物の分布には、動物の種差、ラットの性差又はマウスにおける単回又は反復投与による大きな差異は、見られなかった。一方、125 mg/kg 体重の用量を、単回、投与された雌ラットの尿からのみ、少量の遊離 2-フェニルフェノール(0.4%)が検出された。同定された尿中の主要な 4 種類の代謝物は、以下のようである。すなわち、フェニルヒドロキノングルクロニド(phenylhydroquinone glucuronide)、フェニルヒドロキノン硫酸(phenylhydroquinone sulfate)、2-フェニルフェノール硫酸(2-phenylphenol sulfate)及び 2-フェニルフェノールグルクロニド(2-phenylphenol glucuronide)。これらの代謝物は、マウス及びラットにおいて、回収された投与量のそれぞれ、約 98%及び約 102%を占めていた。さらに、ラットの尿から、回収された投与量の約 2.7%を占めた代謝物は、暫定的に、2,4'-ジヒドロキシビフェニル(2,4'-dihydroxybiphenyl)の硫酸抱合体として同定された。雄マウスの代謝物に関しては、定性的に差異は認められなかった。しかしながら、2-フェニルフェノールのグルクロン酸抱合化及び硫酸化の程度において、用量依存的及び定量的な差異が観察された。マウスに、25 mg/kg 体重の用量で、単回、投与した後、主要な尿中代謝物は、硫酸抱合体であり、回収された標識放射能の 56%を占めたが、グルクロニドは、29%であった。一方、1000mg/kg 体重の用量で、単回又は反復投与した後の主要な代謝物は、グルクロニドであり、尿中の標識放射能の 48-60%を占めたが、硫酸抱合体は、20-27%であった。ラットに、25 mg/kg 体重の用量で、単回、経口投与すると、2-フェニルフェノール硫酸(2-phenylphenol sulfate)が、主要な代謝物であり、回収された標識放射能の 91%を占めたが、グルクロニドは 7%のみであった。フェニルヒドロキノングルクロニド(phenylhydroquinone glucuronide)及びフェニルヒドロキノン硫酸(phenylhydroquinone sulfate)の生成に関しては、副代謝経路を意味しており、マウス及びラットにおいては、標識放射能のそれぞれ、11-23%及び 2-7%を占めた。マウスに、2-フェニルフェノールを、25 又は 1000 mg/kg 体重の用量で、単回、経口投与すると、抱合化の程度に、用量依存性は見られなかった。著者らは、2-フェニルフェノールは、マウスにおいては、完全に代謝され、主として、硫酸及びグルクロニド抱合体として、速やかに尿中に排泄されると結論した。マウス及びラットにおける代謝の程度は、定性的には、同程度であったが、定量的には、抱合化の程度に、差異が認められた(McNett et al., 1997)。

前述したように、Bartels らの比較実験においては、2-フェニルフェノールの硫酸化は、3 種類のすべての動物種で、低用量における主要な代謝経路であることが分かった(Bartels et al., 1998)。すなわち、15 mg/kg 体重を投与された雄マウス、28 mg/kg 体重を投与された雄ラット及び 0.006 mg/kg 体重を投与されたボランティア(男)において、それぞれ、尿中の標識放射能の 57%、82%及び 69%を占めた。グルクロニドについても、同様に、3 種類のすべての動物種で、これらの低用量において、尿中の全代謝物のそれぞれ、29、7 及び 4%を示すことが分かった。フェニルヒドロキノン(phenylhydroquinone)の抱合体は、マウス、ラット及びヒトにおいて、それぞれ、投与量の 12、5 及び 15%を占めた。どの動物種においても、遊離 2-フェニルフェノールは、ほとんど認められず、遊離フェニルヒドロキノン(phenylhydroquinone)又は遊離フェニルベンゾキノン(phenylbenzoquinone)に関しては、0.1-0.6%の検出限界では、どの動物種においても、認められなかった。また、新規代謝物の 2,4'-ジヒドロキシビフェニル(2,4'-dihydroxybiphenyl)の硫酸抱合体は、ラット及びヒトの場合、低用量においては、それぞれ、投与量の 3 及び 13%を占めていることが確認された。一方、親化合物の 2-フェニルフェノールの抱合体においては、用量依存的に変換することが、マウスにおいて認められ、800 mg/kg 体重の高用量を投与した後では、硫酸化経路の飽和が示唆された。マウスにおいては、フェニルヒドロキノン(phenylhydroquinone)の総量は、用量依存的に増加することが観察された。

ラット(雄雌各 5 匹、Fischer 344)に、2-フェニルフェノール ナトリウム(純度不明)を、20000 ppm の用量で、136 日間、混餌投与した場合、尿から同定された主要な代謝物は、2-フェニルフェノール及び 2,5-ジヒドロキシビフェニルのグルクロニド抱合体であった。同様に、微量のフェニル-1,4-ベンゾキノン(phenyl-1,4-benzoquinone)についても、暫定的に、同定された。非抱合型フェノール性代謝物は、排泄されたフェノール性代謝物の 1%のみであり、その他の代謝物は、確認されなかった。混餌投与の後、24 時間までに、雄及び雌においては、それぞれ、投与量の 55%及び 40%が回収された。尿中代謝物の割合に関して、性差が認められた。すなわち、24-時間サンプルでは、雄ラットは、雌ラットに比較すると、抱合型の 2-フェニルフェノールについては、1.8 倍、抱合型の 2,5-ジヒドロキシビフェニルについては、7 倍を超えて、尿中に排泄した。この試験では、尿中から 2-フェニルフェノールの硫酸エステルを見出すことができなかったが、それに関する説明はなかった。また、投与量の 40-55%しか回収されなかったことについては、それがまだ存在している可能性もあるが、確認はされなかった(Nakao et al., 1983)。

[¹⁴C]2-フェニルフェノール(純度、99.8%;比活性、19 mCi /mmol/ L)又は[¹⁴C]2-フェニルフェノール ナトリウム(純度、98.7%;比活性、19 mCi /mmol/ L)は、ラット(一群雄 4 匹)に、5、50 又は 500 mg/kg 体重の用量で、単回、経口投与された。そして、尿中代謝物は、同定、定量された。両化合物に関して、2 低用量における主要な代謝物は、2-フェニルフェノールのグルクロニド及び硫酸エステル抱合体であった。そして、非抱合型の 2-フェニルフェノール及び 2,5-ジヒドロキシビフェニル(2,5-dihydroxybiphenyl)に関しては、尿中から回収された総標識放射能の 2%未満(検出限界 1-2%)を占めていた。また、両化合物に関しては、ほとんど同一の高速液体クロマトグラムが得られた。投与量が 500 mg/kg 体重では、両化合物について、追加の代謝物が同定された。それは、尿中の標識放射能の 20-30%を占め、おそらく、グルクロニド及び又は硫酸基を有した抱合型のジヒドロキシビフェニル分子であると考えられた。そこで、著者らは、以下のような仮説を立てた。すなわち、この代謝物は、通常のグルクロニド及び硫酸エステル抱合体経路が飽和する結果として、高用量においてのみ形成される。ちなみに、抱合化基質の非存在下で、精製したマイクロゾームと *in vitro* で、[¹⁴C]2-フェニルフェノールとインキュ

バージョンすると、2,5-ジヒドロキシビフェニル(2,5-dihydroxybiphenyl)とクロマトグラフィーする多量の物質が生成した。これらの実験では、セミキノン及びキンは確認されなかった。しかし、これらの化合物の生成に関しては、ベンゼンについての類似した実験結果に基づいて提案された(Reitz et al., 1983)。

2-フェニルフェノール(純度、99.5%)を、0、800、4000、8000 又は 12500 ppm 含んだ飼料をラット(雄、Fischer 344)に与えた混餌投与による13週間毒性試験においては、試験終了時に、尿路上皮のDNAが単離された。そして、³²P-ポストラベルアッセイ法(postlabelling assay)を用いて、2-フェニルフェノールの共有結合性付加物について調べられた。同様に、試験終了時に、一晩中、動物から採取されたサンプルを用いて、2-フェニルフェノール代謝物の濃度について、測定された。2-フェニルフェノール及び水酸化代謝物である2,5-フェニルヒドロキノン(2,5-phenylhydroquinone)のグルクロニド及び硫酸抱合体は、主要な代謝物であることが分かった。また、すべてのサンプルにおける主要な抱合体は、硫酸化を伴っていた。この代謝物の生成は、8000 ppm で飽和するように思われた。一方、残っている3代謝物の抱合体濃度は、高用量まで、用量依存的に増加した。微量の遊離2-フェニルフェノール及びフェニルヒドロキノン(phenylhydroquinone)は、すべての用量で観察された。遊離フェニルヒドロキンは、測定された総代謝物の0.6-1.5%であった。クレアチニン濃度は、すべての試験群において、同程度であった(Bartels & McNett, 1996)。

成熟ネコ及びイヌは、¹⁴C-2-フェニルフェノール ナトリウム(純度及び比活性の記載なし)を3 g/kg 体重以下の用量で、単回、経口投与された。血漿中の放射能標識体濃度は、イヌはネコよりも高く、イヌはネコよりも、尿中に3倍多く放射能標識体を代謝、排泄した。尿中の代謝物は、未変化の2-フェニルフェノール、グルクロニド及び硫酸抱合体、ならびに、フェニルフェノール結合の開裂及びフェニル環の水酸化により生成されたフェノール性代謝物であった。フェノール性代謝物は、2-フェニルフェノールの両方のフェニル環部分から生成した(Oehme & Smith, 1972)。

[¹⁴C]2-フェニルフェノールを、成熟イヌ(雄雌各3頭、beagle)、未成熟イヌ(雄雌各3頭、beagle)、成熟ネコ(雄雌各3頭、家猫)及び未成熟ネコ(雄雌各3頭、家猫)に、それぞれ、0.3 mg/kg 体重/日、2 mg/kg 体重/日、1.2 mg/kg 体重/日及び2 mg/kg 体重/日の用量で、2日ごとに、8週間、単回、経口投与の後、尿サンプルは、毎週、採取された。尿中に排泄された主要な生成物は、未変化の2-フェニルフェノールであり、イヌ及び猫において、それぞれ、標識放射能の70-90%及び95-98%を示した。イヌは、ネコよりも、有意に多くのグルクロニド及び硫酸エステル抱合2-フェニルフェノールを排泄した。一方、未成熟イヌは、成熟イヌの4倍多く、グルクロニド抱合体を排泄した。年齢差は、どちらの動物種においても、硫酸エステル抱合体の排泄速度に影響を及ぼさなかった(Savides&Oehme, 1980)。

前述したように、ボランティアに、2-フェニルフェノールの経皮処置を施した実験においては、吸収された投与量の99%は、主として、極性の抱合体又は水酸化代謝物として尿中に排泄された(Selim, 1996)。主要な尿中代謝物は、硫酸抱合体であり、吸収された投与量の68%を占めた。すなわち、グルクロン酸との抱合は、3%だけであった。フェノール又はフェニル環の水酸化に引き続いた抱合化も、同様に、有意であり、フェニルヒドロキノングルクロニド(phenylhydroquinone glucuronide)及び2,4-ジヒドロキシビフェニル硫酸

*(2,4-dihydroxybiphenyl sulfate)は、それぞれ、吸収された投与量の14%及び12%を示した。代謝を受けて

いない微量の親化合物(吸収された投与量の 0.5%)は、投与直後に採取されたサンプルだけから検出された。遊離フェニルヒドロキノン又はフェニルヒドロキノン-硫酸は、尿中には認められなかった(Bartels et al., 1997 ; Timchalk et al., 1998)

* 原文では 2,4 α -dihydroxybiphenyl sulfateとしているが、2,4-dihydroxybiphenyl sulfateとして訳した。

提案されたげっ歯類及びヒトにおける2-フェニルフェノールに関する代謝経路は、図1に示される。

(c) 酵素及びその他の生化学パラメータに対する影響 (原文 p.4)

2-フェニルフェノール (原文 p.4)

2-フェニルフェノールは、マイクロゾームのシトクロムP450酵素によって、2,5-ジヒドロキシビフェニル(フェニルヒドロキノン)に変換された。用いられた補助因子(cofactor)に依存して、マイクロゾーム酵素は、代謝物の酸化及び又は還元のいずれかを触媒した。

フェニルヒドロキンは、クメンヒドロペルオキシド-支援酵素(cumene hydroperoxide-supported enzymes)によって、フェニル-1,4-ベンゾキノンに酸化された。そして、この化合物は、シトクロム P450 還元酵素によって、フェニルヒドロキノンに還元された。この実験から、シトクロム P450-触媒による 2-フェニルフェノールの酸化還元循環に関する直接的な証拠が示された。この酸化還元循環は、2-フェニルフェノールによる膀胱がん誘発において、役割を演じている可能性がある(Roy, 1990)。

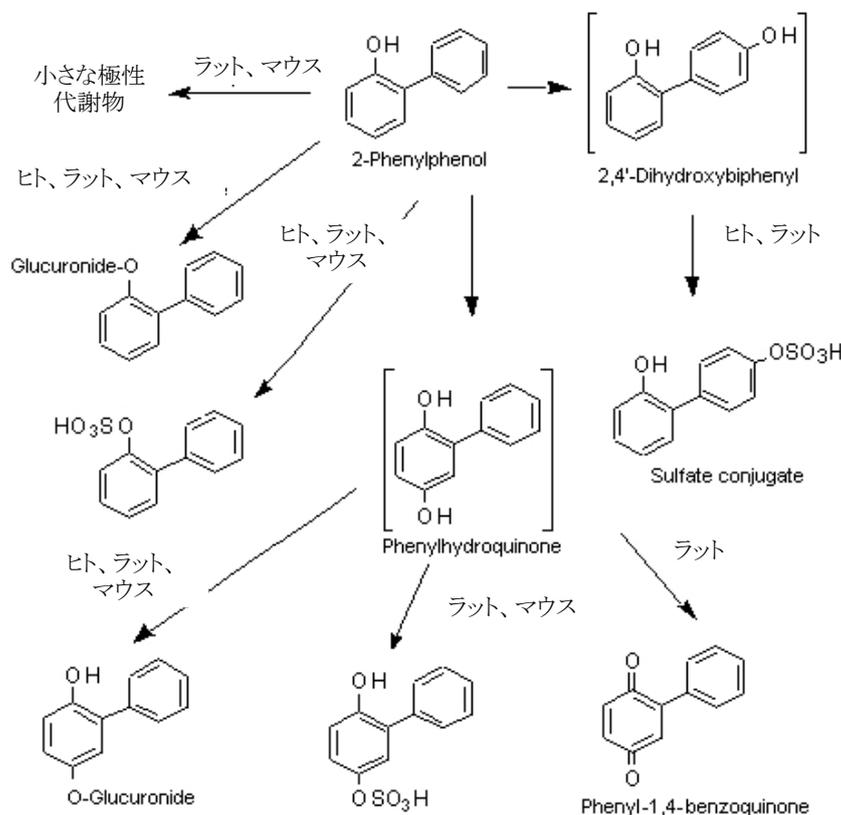


図 1 マウス、ラット及びヒトにおける2-フェニルフェノールに関する代謝経路の提案

(Bartels et al., 1998から)

アラキドン酸及び過酸化水素の存在下で、2-フェニルフェノール代謝物のプロスタグランジン(H)合成酵素(prostaglandin (H) synthase)によるフェニルヒドロキノンへの活性化が調べられた。この実験は、以下の仮説を実証するために行われた。すなわち、ラットの膀胱移行上皮及び腎髄質乳頭におけるプロスタグランジン合成酵素は、膀胱及び腎臓において、代謝物を反応性中間体に活性化している原因となっている。フェニルヒドロキノン、プロスタグランジン合成酵素(prostaglandin synthase)のペルオキシダーゼ活性(oxidase activity)及びワサビペルオキシダーゼ(horseradish peroxidase)及びミエロペルオキシダーゼ(myeloperoxidase)のような他のペルオキシダーゼによって、代謝されることが分かった。この結果から、フェニルヒドロキノンの過酸化代謝は、ラットにおける膀胱及び腎臓がんの発生に、役割を演じている可能性が示唆された(Kolachana et al., 1991)。

フェニルヒドロキノンの非酵素的酸化における pH の影響、フェニルヒドロキノンの自動酸化におけるフェニルベンゾキノン及び酸素濃度の影響、ならびにフェニルベンゾキノンの非酵素的フェニルヒドロキノンへの変換に関する実験から、フェニルヒドロキノンの酸化速度と pH の範囲が 6.3-7.6 の間には、曲線関係が見いだされた。フェニルベンゾキノン、フェニルヒドロキノンの自動酸化の間に、0.92±0.02 の収率で生成した。この結果は、フェニルヒドロキノンから生成する反応性代謝物は、pH-非依存性(すなわち、酸素-依存性)及び pH-依存性の両経路を含み、フェニルベンゾキノンの存在は、pH-依存性のフェニルヒドロキノンの自動酸化速度を促進することを示唆している。著者らは、フェニルヒドロキノン・セミキノンのイオン化が、pH-依存性経路において、反応性化合物の生成に関する重要な過程であることを提案した。また、著者らは、提案した反応経路と 2-フェニルフェノールによるラットの膀胱病変の誘発の間には、良い相関があることを見出した。従って、尿中の遊離フェニルヒドロキノンの pH-依存性自動酸化は、2-フェニルフェノール及び 2-フェニルフェノール ナトリウムのラット膀胱における腫瘍形成作用の原因となっている可能性がある(Kwok&Eastmond, 1997)。

マウス(一群雌 8 匹、B6C3F₁)は、2-フェニルフェノール(純度、>98%)を、0、1、10 又は 200 mg/kg 体重/日の用量で、2 週間(1 週間あたり 5 日間)、強制経口投与された。一方、別のマウスは、陽性対照として、シクロホスファミドを、45 mg/kg 体重の用量で、4 日間、腹腔内投与された。体重、肝臓、脾臓、腎臓及び胸腺の各臓器重量について記録された。そして、組織病理学的検査のために、標本が作製された。血液学及び臨床化学検査が行われた。また、以下について、検査された。すなわち、骨髄細胞密度及びコロニー形成、リンパ増殖性応答、遅延性過敏反応、免疫グロブリン、抗体、リステリア・モノサイトゲネス(*Listeria monocytogenes*)惹起に対する反応、ならびに腫瘍感受性。処置動物の死亡例は見られず、毒性所見も認められなかった。組織病理学的検査では、いずれの組織においても、有意な病変はなかった。胸腺重量及び脾臓の相対重量は、200 mg/kg 体重/日で、わずかに増加した。軽度な血液学的所見は、用量-反応関係を示さず、正常な生物学的変動の範囲内であった。また、200 mg/kg 体重/日を投与されたマウスには、血清コレステロール濃度のわずかな増加及び対応したトリグリセリド濃度の減少が見られた。血清中のアラニンアミノトランスフェラーゼ活性及び総蛋白質には、影響は見られなかった。一方、アルブミン:グロブリン比は、高用量で、わずかに減少した。骨髄細胞密度、リンパ増殖性応答、免疫機能及び宿主感受性に、変化はなかった。対照的に、シクロホスファミドを投与

された動物においては、顕著な変化が認められた。以上から、著者らは、2-フェニルフェノールは、相対的に、高用量においても、免疫機能又は宿主感受性を変化させることはなかったと結論した (Luster et al., 1981)。

2-フェニルフェノール ナトリウム (原文 p.5)

2-フェニルフェノール ナトリウム代謝物と高分子の結合について、*in vitro* で、調べられた。すなわち、¹⁴C] 2-フェニルフェノール ナトリウム(比活性、19 mCi/mmol)は、NADPH 再生系及び蛋白質受容体として機能する牛血清アルブミンの存在下で、雄ラットから精製された肝臓マイクロゾームとともに、インキュベーションされた。その結果、観察された蛋白質に対する標識放射能の高分子結合は、活性マイクロゾームとNADPの両方の存在に依存した。次に、2-フェニルフェノール及びそのナトリウム塩の代謝物と肝臓、腎臓及び膀胱の高分子と *in vivo* における結合を調べるために、ラット(一群雄 4 匹)は、¹⁴C-標識化合物を、50、100、200 又は 500 mg/kg 体重の用量で、単回、経口投与された。そして、高分子結合を測定するために、投与の 16-18 時間後に、組織は摘出された。高分子結合は、蛋白質のミグラムあたり結合物質のナノモルとして、決定された。結合の程度と投与量の間、直線関係はなかった。2-フェニルフェノール ナトリウムの投与量が 200 mg/kg 体重以上の場合は、それぞれの組織において、不均衡な結合量の増加が見られた。同様に、2-フェニルフェノールの投与量が 200-500 mg/kg 体重の場合は、肝臓及び膀胱において、結合量は不均衡に増加した (Reitz et al., 1984)。

ラット(雄雌、4週齢、Fischer 344)は、2-フェニルフェノール ナトリウム(純度不明)を、20000 ppmの用量で、136日間、混餌投与された。尿は、定期的に採取された。投与終了時に、ラットはと殺された。血液サンプルは、採取され、肝臓及び腎臓は、摘出された。環状ヌクレオチド(c-AMP 及び c-GMP)量は、尿、血漿、肝臓及び腎臓で測定された。同様に、アデニル酸シクラーゼ活性(adenylate cyclase activity)は、肝臓及び腎臓で測定された。雄ラットにおいては、尿中及び血漿中のc-AMP濃度は低下したが、c-GMP濃度は増加した。一方、雌ラットにおいては、c-AMP濃度は混餌投与の最初の3日間のみ低下した。肝臓及び腎臓のc-AMP 及び c-GMP濃度に変化はなかった。雄ラットにおける尿のc-AMPの減少は、おそらく、肝臓及び腎臓中のアデニル酸シクラーゼ活性が減少した結果であった。同様なアデニル酸シクラーゼ活性の変化は、2-フェニルフェノール ナトリウムを投与された雌ラットの肝臓で認められたが、腎臓では認められなかった。動物の性に関係した環状ヌクレオチド濃度の変化は、2-フェニルフェノール ナトリウムによる性依存性の膀胱腫瘍の誘発に関連していると仮定された(Nakagawa et al., 1984)。

2-フェニルフェノール ナトリウムを、20000 ppm の用量で、20 週間、混餌投与されたラット(雌雄、Fischer 344 Du Crj)においては、尿のガンマ-グルタミルトランスぺプチターゼ(gamma-glutamyl transpeptidase)活性は、投与の開始直後に減少し、試験期間を通じて、低値であった。腎臓ホモジネートにおけるこの酵素及びアルカリホスファターゼ(alkaline phosphatase)活性は、投与 20 週では、対照値の約 80%にまで低下していることが分かった。一方、グルコース-6-ホスフェート・デヒドロゲナーゼ(glucose-6phosphate dehydrogenase)活性は有意に増加したが、Na/K-ATP アーゼ(Na/K-ATPase)活性に変化はなかった。しかし、肝臓ホモジネートにおいては、ガンマ-グルタミルトランスぺプチターゼ活性は、約 8 倍に増加し、グルコース-6-ホスフェート・デヒドロゲナーゼ活性は有意に増加した。一方、アルカリホスファターゼ及び Na/K-ATP アーゼ活性は、対照値と

比べ、有意差はなかった。また、処置ラットにおける肝臓のグルタチオン濃度は、有意に低下した(Nagai & Nakao, 1984)。

2. 毒性試験 (原文 p.5)

(a) 急性毒性 (原文 p.5)

2-フェニルフェノール及びそのナトリウム塩の急性毒性試験に関する結果は、表1に纏められる。毒性に関する臨床所見は、概して、非特異的であった。

表 1. 2-フェニルフェノール及びそのナトリウム塩に関する急性毒性

種	性	経路	LD ₅₀ (mg/kg 体重) 又は LC ₅₀ (mg/L)	文献
<i>2-フェニルフェノール</i>				
マウス	雄	経口	1200	Taniguchi et al. (1981)
	雌		1100	
マウス	雄	経口	3500	Tayama et al. (1983, 1984)
	雌		3200	
ラット	雄	経口	2600	Tayama et al. (1980)
	雌		2900	
ラット	雄	経口	2800	Gilbert & Crissman (1994)
	雌		2800	
ラット	雄及び雌	吸入 (4 時間)	> 36	Landry et al. (1992)
ウサギ	雄及び雌	経皮	> 5000	Carreon & New (1981)
<i>2-フェニルフェノール ナトリウム</i>				
マウス	雄	経口	900	Ogata et al. (1979)
	雌		800	
ラット	雄	経口	1700	Taniguchi et al. (1981)
	雌		1600	
ラット	雄	経口	1100	Tayama et al. (1979)
	雌		1100	
ラット	雄	経口	850	Gilbert & Stebbins (1994)
	雌		590	

(b) 短期毒性試験 (原文 p.6)

2-フェニルフェノール (原文 p.6)

ラット (原文 p.6)

ラット(雄 30 匹、Fischer 344、Charles River)は、2-フェニルフェノール(純度、99.8%)を、20000 ppm(1000 mg/kg 体重/日相当)の用量で、90 日間、混餌投与された。中間と殺は、3、7、30 及び 65 日で実施された。90 日まで生存できたラットは、各用量について、7 匹であり、動物はその時点で、と殺された。摂餌量及び体重は、最初の 1 週間以内に顕著に減少し、試験期間を通じて、低値であった。これらのラットに観察された腎臓病変は、以下を含む。すなわち、限局性皮質嚢胞、有意に減少した尿比重(65 及び 90 日)、軽度の血尿、限局性尿細管虚脱及び皮質萎縮ならびに嚢胞変性(65 及び 90 日)。一方、投与に関係した膀胱病変は、観察されなかった。体重は、唯一試験された用量で減少したため、無毒性量(NOAEL)は、確認できなかった(Reitz et al., 1983)。

ラット(一群雄雌各 10 匹、Fischer 344)は、2-フェニルフェノール(純度不明)を、0、1300、3100、6300、13000 又は 25000 ppm(雄:0、180、390、760、1700 及び 2800 mg/kg 体重/日、雌:0、200、410、800、1700 及び 3000 mg/kg 体重/日相当)の用量で、12 週間、混餌投与された。体重及び体重増加は、25000 ppm では、雄雌ともに、顕著に、抑制された。一方、13000 ppm では、雄に、軽度の抑制(14%)が見られた。投与に関係した有意な影響は、9 及び 13 週で実施された尿分析では、認められなかった。血液学的及び血液化学的検査値は、最高用量における雄及び雌ラットのヘモグロビン濃度のわずかな低下を除き、概ね、正常であった。この用量においては、雄ラットでは、多くの臓器の絶対及び相対重量が、有意に減少した。無毒性量(NOAEL)は、13000 ppm における体重及び体重増加抑制に基づいて、6300 ppm (760 mg/kg 体重/日相当)であった(Iguchi et al., 1984)。

ラット(一群雄雌各 5 匹、Fischer 344)は、2-フェニルフェノール(純度、99.8%)を、0、100、500 又は 1000 mg/kg 体重/日の用量で、毎日 1 回、5 日/週間、合計 15 回適用で 21 日間、経皮投与された。動物あたりに適用された投与量は、個々の動物の体重に基づいて、1 週間ごとに調整された。また、経皮投与は、動物の背中への剃毛皮膚、5×5 cm 領域に適用された。そして、吸収性のない綿帯で覆ってから、伸縮ラップでその部位に保持され、粘着性テープで固定された。ラップ及び綿帯は、少なくとも処置の 6 時間後に除去された。そして、残留している試験物質を除去するために、適用部位は、湿ったガーゼパッドで拭き取られた。対照動物についても、同様に処置された。すべての動物は、投与開始前の 2 日間、ラップに対して馴化させた。動物は、少なくとも、毎日、観察された。そして、1 週間ごとに、詳細な臨床検査を受けた。適用部位の皮膚は、それぞれの週の最終投与日及び剖検の前日に、ラップの除去後に検査された。体重は、毎週測定された。そして、摂餌量及び飼料効率、毎週計算された。尿は、19 日に分析された。ラットは、剖検の前及び血液学的及び血清臨床化学的パラメータが検査されたときは、一晚絶食された。すべての動物は、肉眼的病理学的変化について、検査された。そして、特定の臓器については、計量されて、組織は保存された。特定の組織及び対照群ならびに高用量群の動物におけるすべての肉眼的病変に関しては、組織学的に検査された。どの用量においても、動物の死亡例はなかった。雄及び雌の 500 及び 1000 mg/kg 体重/日投与群では、適用部位に、皮膚刺激性を示す投与に関係した影響が観察された。雌ラットは雄に比べて、わずかに感受性が高いように見えたが、病変部の重篤度は、両性において、暴露期間及び用量とともに増悪した。刺激性に関する影響は、落屑から皮膚亀裂に及んだ。体重及び摂餌量は、影響されなかった。また、検査された血液学的、臨床化学及び尿パラメータには、投与に関係し

た有意な影響は見られなかった。肝臓又は腎臓においても、投与に関連した変化は、見られなかった(Zempel & Szabo, 1993)。

モルモット (原文 p.6)

2-フェニルフェノールの皮膚感作性については、モルモット(雄10匹、アルビノ、Hartley)を用いた改良ビューラー法(modified Buehler method)によって評価された。動物は、3週間の誘導期間の間、0.4 g の2-フェニルフェノール(純度、99.9%)を用いて、3回経皮適用された。最終誘導の2週間後に、0.4 gの化合物を用いて、惹起された。試験部位の状態は、惹起の約24及び48 時間後に評価された。その結果、紅斑又は浮腫は、どの動物においても見られなかった。以上の結果から、著者は、2-フェニルフェノールは、遅延型接触過敏症を引き起こさなかったと結論した(Berdasco, 1991)。

モルモット(雄 10 匹、アルビノ、Hartley)は、投与前日に、剃毛された。そして、0.20mLの蒸留水で湿らせた0.4 g の2-フェニルフェノール(純度、99.9%)を用いて、3 週間の誘導期間の間、3 回経皮適用された。最終誘導の適用2週間後に、動物は、2-フェニルフェノールの7.5%水懸濁液、0.4 mLを用いて、6時間、別の部位に惹起された。同様に、誘導処置を受けなかった5匹の動物については、0.4 mL の7.5%水懸濁液を用いて、経皮適用された。試験部位の状態は、惹起の約 24 及び 48 時間後に評価された。その結果、紅斑は見られなかった。そして、誘導処置を受けなかったいずれの動物においても、刺激性は認められなかった。動物の健康状態は良好で、試験期間の間、体重が増加した。以上の結果から、著者は、2-フェニルフェノールは、遅延型接触過敏症を引き起こさなかったと結論した(Gilbert, 1994b)。

ウサギ (原文 p.7)

2-フェニルフェノール(純度、99.9%)の皮膚一次刺激性については、ウサギ(雄雌各 3 匹、New Zealand white)を用いて、調べられた。すなわち、動物は、蒸留水 0.3 mL で湿らせた2-フェニルフェノールの0.5 mLを用いて、剃毛した背中上の傷のない皮膚区画 10×10 cm に、4 時間、皮膚適用された。パッチ除去後、30 分及び 24、48 及び 72 時間及び 7、8、9、10、11、14 及び 15 日に、適用部位における紅斑及び浮腫に関する評点の判定が行われた。動物の体重は、処置日及び試験最終日に測定された。試験物質の除去の30分(1/6匹)及び24時間(2/6匹)に、適用部位に、ごく軽度な紅斑が認められた。処置後、30分の観察では、4匹のウサギに、軽度から重度の痂皮形成が認められ、残りの試験期間中持続した。4匹の動物には、処置の30分以内に、適用部位に薬傷を生じた。薬傷は、やがて、痂皮を形成し、試験終了までに、癬痕に変化した。また、4匹のウサギには、試験物質の除去後、30分及び24時間に、適用部位に、ごく軽度から重度の浮腫が認められた。そして、3匹の動物には、除去後、48及び72時間に、適用部位に、軽度から重度の浮腫が認められた。体重に影響は見られなかった(Gilbert, 1994a)。

2-フェニルフェノール(純度不明)の0.1 gをウサギ(6匹、New Zealand white)の右眼に滴下すると、投与の24、48及び72 時間及び7日後では、すべての動物に、中等度の角膜傷害、虹彩炎及び中等度から重度の結膜発赤及び結膜浮腫を引き起こした(Norris, 1971)。

イヌ（原文 p.7）

2-フェニルフェノール(純度、99.8%)の嗜好性及び毒性評価に関する試験では、イヌ(雄雌、beagle)は、幾つかの投与方法を用いて処置された。嗜好性に関する試験では、イヌ(雌 1 頭)は、2-フェニルフェノールを含有する飼料により、300 mg/kg 体重/日の用量で、5 日間、混餌投与された。また、毒性評価に関する試験では、イヌ(雄 2 頭及び雌 3 頭/群)は、ラッカセイ油に溶解した溶液として、300-1000 mg/kg 体重/日の用量で、9 日間まで、胃挿管又は 400-700 mg/kg 体重/日の用量で、1-2 日間、カプセルを用いて、経口投与された。一方、4 週間の試験においては、イヌ(雄雌各 2 頭/群)は、ラッカセイ油に溶解した溶液として、0、100、200 又は 300 mg/kg 体重/日の用量で、5 日/週間で、胃挿管を用いて、経口投与された。また、1 年間の試験においては、イヌ(雄雌各 4 頭/群)は、ラッカセイ油に溶解した 2-フェニルフェノール溶液として、0、30、100 又は 300 mg/kg 体重/日の用量で、5 日/週間、1 年間、胃挿管により経口投与された。動物は、臨床所見に関しては、毎日、調べられた。そして、体重、摂餌量、血液学、尿及び臨床化学パラメータ、臓器重量、眼科学に関する検査項目、肉眼的及び組織病理学所見について、検査された。

300 mg/kg 体重/日の用量で、5 日間、混餌又は胃挿管による経口投与においては、2-フェニルフェノールの不味と相関した体重及び摂餌量の減少が認められた。また、胃挿管によりゼラチン・カプセル又はラッカセイ油で投与した場合は、400 mg/kg 体重/日以上で、及び胃挿管による 4 週間試験の場合は、200 mg/kg 体重/日以上で、繰り返し嘔吐が見られた。用量に関係した嘔吐は、1 年間、2-フェニルフェノールを投与された動物においても見られた。頻繁な嘔吐及び胃内容物の大量排出は、300 mg/kg 体重/日の用量とより低用量を比べると、全般的に、300 mg/kg 体重/日の用量で見られた。嘔吐により、効果的に、胃内に保持できる投与量が制限されたが、一方では、嘔吐の程度により、1 年間に渡って、動物の健康が損なわれるようには見えなかった。反応は、中枢神経系の反応よりはむしろ上部消化管粘膜内層における局所的又は、一過性の応答として分類された。その結果、以下の項目について、悪影響は、認められなかった。すなわち、体重、摂餌量、血液学、尿、臨床化学又は眼科学に関する検査項目、臓器重量又はすべてのイヌの広範囲な組織における肉眼的又は組織学的所見。唯一の死亡例(雄 2 頭)は、1 年間試験における高用量で見られた。すなわち、投与開始から約 4.5 ヶ月間後、動物は、肺に試験溶液が不用意に堆積した後で死亡した。無毒性量(NOEL)は、300 mg/kg 体重/日であった(Cosse et al., 1990)。

2-フェニルフェノール ナトリウム(原文 p.7)

マウス（原文 p.7）

マウス(一群雄雌各 10 匹、B6C3 F₁)は、2-フェニルフェノール ナトリウム四水和物(純度不明)を、0、2500、5000、10000、20000 又は 40000 ppm(0、270、550、1100、2200 及び 4400 mg/kg 体重/日相当)の用量で、13 週間、混餌投与された。その結果、10000 又は 20000 ppm を混餌投与された雄において、又は 40000 ppm を混餌投与された雄雌において、体重増加は、有意に抑制された。尿分析では、最高用量において、

pH の増加及び比重の減少が見られた。一方、10000、20000 又は 40000 ppm を混餌投与された動物における肝臓の相対重量は、対照群に比べると、有意に増加したが、投与に関係した組織病理学的所見は認められなかった。また、4、8 及び 13 週に、対照群(雄雌各 3 匹)及び 20000 ppm(雄雌各 3 匹)の膀胱上皮に関する光学及び走査電子顕微鏡検査が行われた。その結果、検査されたどの時間においても、投与マウスの膀胱上皮の所見に異常は認められなかった。無毒性量(NOEL)は、10000 ppm における体重増加の抑制及び肝臓の相対重量の増加に基づいて、5000 ppm(550 mg/kg 体重/日相当)であった(Shibata et al., 1985)。

ラット (原文 p.7)

ラット(一群雄30匹、Fischer 344)は、2-フェニルフェノール ナトリウム(純度、98.7%)を、20000 ppmの用量で、90日間、混餌投与された。中間と殺は、3、7、14、30及び65日に実施された。90日まで生存できたラットは、一群7匹のみであり、その時点で、動物はと殺された。膀胱上皮に認められた病変は、3日に開始した細胞分裂の増加及び14日に開始した肥厚(すなわち、単純過形成)であった。膀胱に腫瘍は、認められなかった。試験された唯一の用量である20000 ppmにおいて、膀胱病変は観察されなかったことから、無毒性量(NOEL)は、確認できなかった(Reitz et al., 1983)。

ラット(一群雄雌各 10 匹、Fischer 344)は、2-フェニルフェノール ナトリウム(純度、>95%)を、0、1250、2500、5000、10000、20000 又は 40000 ppm(雄:0、85、180、350、710、1400 及び 2500 mg/kg 体重/日相当及び雌:0、87、180、350、690、1300 及び 2400 mg/kg 体重/日相当)の用量で、13 週間、混餌投与された。ラットの全身状態における変化は、毎日、観察された。また、体重測定は、1 週間ごとに、摂餌量及び飲水量は、1 週間おきに 3 日間、測定された。動物の死亡は、試験の期間中、発生しなかった。体重増加は、5000 ppm 以上の用量で、15-17%の減少が認められた。雄ラットに発生した膀胱腫瘍は、10000、20000 及び 40000 ppm で、それぞれ、1/10、9/10(5 匹の移行上皮がん)及び 1/10 の発生頻度であった。腎盂腎炎は、40000 ppm におけるラット 6 匹に認められた。雌ラットでは、腫瘍は、20000 及び 40000 ppm で、それぞれ、0/10 及び 2/10(乳頭腫のみ)の発生頻度であった。この実験においては、膀胱結石は、観察されなかった。無毒性量(NOEL)は、5000 ppm における体重増加抑制に基づいて、2500 ppm (180 mg/kg 体重/日相当)であった(Iguchi et al., 1979; Hiraga & Fujii, 1981)。

モルモット (原文 p.8)

モルモット(雄 10 匹、アルビノ、Hartley)は、2-フェニルフェノール ナトリウム(純度 99.1%)の蒸留水懸濁液 0.4 mL を用いて、3 週間の誘導期間に、剃毛皮膚に経皮適用された。最終投与の 2 週間後に、動物は、惹起のために、2-フェニルフェノール ナトリウムの 0.1%蒸留水溶液 0.4 mL を、別の部位に適用された。その結果、試験部位に紅斑は見られなかった。試験期間の間、動物の体重は増加した。以上の結果から、著者は、2-フェニルフェノール ナトリウムは、遅延型接触過敏症を引き起こさなかったと結論した(Gilbert, 1994c)。

ウサギ (原文 p.8)

2-フェニルフェノール ナトリウムを蒸留水で1:200に希釈した水溶液を用いて、ウサギ(6匹、系統不明)の眼に滴下された。動物(3匹)には、一過性で、軽度の結膜反応が観察された。著者らは、化合物は、眼に対して、軽度刺激性を有すると結論した(Davies & Liggett, 1973)。

(c) 毒性及び発がん性に関する長期試験 (原文 p.8)

2-フェニルフェノール (原文 p.8)

マウス (原文 p.8)

マウス(一群雄雌各 50 匹、B6C3 F₁)は、2-フェニルフェノール(純度、99.9%)を添加した飼料(濃度不明)を、0、250、500 又は 1000 mg/kg 体重/日の用量で、2 年間、混餌投与された。サテライト群(一群雄雌各 10 匹)は、12 ヶ月間、混餌投与された後、剖検された。すべてのマウスは、毒性所見について、少なくとも毎日 1 回、観察された、また、詳細な臨床検査は、1 週間に 1 回、試験期間中実施された。体重及び摂飼量は、最初の 13 週間は毎週、その後は、毎月記録された。飼料は、1 週間ごとに又は 1 週間おきに、調製された。飼料中の 2-フェニルフェノール濃度は、各群に求められている投与量を維持するために、それぞれの群における群平均体重及び摂飼量に従って、調整された。臨床所見及び死亡率は、投与により影響されなかった。しかし、250 mg/kg 体重/日投与群の雄を除き、すべての投与群において、体重(6-20%)及び体重増加(10-38%)は、減少した。

12 ヶ月及び 24 ヶ月で剖検されたマウスにおいては、血液学、臨床化学及び尿パラメータに、矛盾なく標的臓器の毒性を示す有意な変化は認められなかった。一方、副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、精巣及び脾臓における重量変化は、統計学的に有意であったが、顕著な体重減少のために交絡が起こった。しかしながら、すべての用量において、肝臓の絶対及び又は相対重量は、一致して増加したことから、投与に関係した影響が示唆された。剖検における肉眼的病理所見から、雄の 12 ヶ月での高用量及び 24 ヶ月での中間及び高用量においては、肝臓に腫瘍又は結節を有するマウスの数が、わずかに増加したことが認められた。12 ヶ月及び 24 ヶ月におけるマウスの肝臓の顕微鏡検査から、すべての用量において、投与に関係した影響が明らかになった。すなわち、肝細胞の細胞質は、均質に染色されたことから、肝臓酵素の誘導が示唆された。しかし、変性又は壊死に関する証拠は、認められなかった。顕微鏡下における変化は、用量依存的であり、代謝的要求に対する適応に関連した変化に類似していた。また、100*及び 500 mg/kg 体重/日の雄では、肝細胞における好酸性病巣の発生頻度が増加した。

*後述の文から 250 であるとも考えられるが、原文とおりにした(原著確認の必要があると思われる。)

12 ヶ月で剖検された 1000 mg/kg 体重/日投与群の雄では、肝細胞腺腫(hepatocellular adenoma)の発生頻度がわずかに増加した。24 ヶ月では、肝細胞腺腫を有する雄の数は、500(n = 40)及び 1000(n = 41) mg/kg 体重/日で、統計学的に有意に増加した。対照群における発生頻度は 27/50 匹であった。また、肝細胞がんの変異型(肝芽細胞腫) (hepatoblastoma)は、すべての投与群の雄において、低い発生頻度で観察された。すなわち、肝芽細胞腫の発生頻度は、0(対照)、250、500 及び 1000 mg/kg 体重/日では、それぞれ、0/50

匹、2/50匹、6/50匹及び3/50匹であった。しかし、すべての投与群において、肝細胞がんの発生頻度に、有意な増加は認められなかった。同様に、雄マウスにおいては、肝芽細胞腫及び肝細胞がんの合計発生頻度は、有意に増加しなかった。雄マウスの肝臓においては、顕微鏡的には、腫瘍性の一次変化が認められた。この変化は、適応性に見えたが、終局的には、肝細胞腺腫に発達した。その他の組織における腫瘍の発生頻度は、統計学的には、有意に増加しなかった。雌マウスの肝臓においても、顕微鏡的に、同様の適応性変化が見られたが、いずれも肝芽細胞腫ではなかった。また、どの組織においても、統計学的には、腫瘍の発生頻度に有意な増加はなかった。対照群と比較すると、投与群においては、顕微鏡的に、病変の発生頻度の減少が認められた。すなわち、雄では、副腎、腎臓、肺、口腔組織、膵臓、末梢神経、脾臓及び精巣に、及び雌では、腎臓、肺及び鼻腔組織に、発生頻度の減少が認められた。これらの所見は、2-フェニルフェノールに対する一次応答ではなく、マウスの正常変動及び体重の減少を反映するものと見なされた。毒性に関する無毒性量(NOEL)は、確認できなかった。発がんに関する無毒性量(NOEL)は、500 mg/kg 体重/日における肝細胞腺腫の発生頻度の増加に基づいて、250 mg/kg 体重/日であった(Quast & McGuirk, 1995)。

ラット (原文 p.9)

ラット(雄20-24匹、Fischer 344, Charles River)は、2-フェニルフェノール(純度、98%)を、0、6300、13000又は25000 ppm(0、320、650及び1300 mg/kg 体重/日相当)の用量で、91週間、混餌投与された。各4群の動物における生存率は、それぞれ96、90、71及び65%であった。試験期間に死亡したラットにおける膀胱腫瘍の発生頻度は、対照群、6300、13 000、25000 ppmで、それぞれ、0/1匹、0/2匹、7/7匹及び0/8匹であった。また、投与された三つの投与群におけるラットの膀胱病変は、それぞれ、10%、96%及び48%であった。膀胱乳頭腫及び移行上皮がんの発生頻度は、13000 ppm及び25 000 ppmにおいて、それぞれ、23/24匹及び4/23匹であった。試験された全投与群において、膀胱病変が認められたことから、無毒性量(NOEL)は、確認できなかった(Hiraga, 1983a; Hiraga & Fujii, 1984)。

ラット(一群雄雌各 70-75 匹、Fischer 344, Charles River)は、2-フェニルフェノール(純度、99.5%)を、0、800、4000 又は 8000/10000 ppm(雄:0、39、200 及び 400 mg/kg 体重/日相当及び雌:0、49、240 及び 650 mg/kg 体重/日相当)の用量で、2 年間、混餌投与された。投与 1 年間の中間と殺は、一群雄雌各 20 匹のサテライト群で、投与 2 年間の最終と殺は、残りの一群雄雌各 50 匹で実施された。動物は、毎日、観察され、毒性に関する臨床所見は、1 週間ごとに検査された。各動物の体重は、1 週間に 1 回及び臓器:体重比を算出するために、剖検の直前に測定された。摂餌量は、1 週間ごとに、測定された。血液及び夜間の尿サンプルに関しては、2 年後にと殺を予定された群において、生存している各雄雌について、最初の 20 匹から、3、6、12、18 及び 24 ヶ月に、採取された。剖検に際しては、どの動物にも、死亡例又は瀕死動物はなかった。生存動物は、試験期間の終了時点で、すべてと殺された。

その結果、4000 ppm の雄雌、8000 ppm の雄及び 10000 ppm の雌において、体重増加抑制が認められ、それぞれ、5%、11%及び 11%であった。摂餌量は、すべての動物群において、影響は見られなかった。軽微な臨床及び肉眼的所見には、以下の発生頻度の増加があった。すなわち、2-フェニルフェノールの 8000 ppm を投与された雄ラットにおける異常な着色尿、着色尿及び赤い着色尿及び 4000 又は 10 000 ppm を投

与された雌ラットにおける着色尿及び褐色の着色尿。雄の 8000 ppm における血尿の発生頻度の増加を除いて、眼科学、血液学、臨床化学又は尿パラメータには、投与に関係した変化はなかった。死亡率は、8000 ppm における雄で、わずかに増加した。肉眼的病理検査から、4000 ppm で 2 年間、又は 8000 ppm で 1 年間又は 2 年間、混餌投与された雄における膀胱腫瘤の発生頻度の増加、ならびに 10000 ppm を 2 年間混餌投与された雌における腎臓の陥凹領域及び異常な質感の発生頻度の増加が認められた。組織病理学的検査から、4000 又は 8000 ppm で、1 年間又は 2 年間、混餌投与された雄の膀胱において、膀胱過形成及び移行上皮がんが認められた。発生頻度の増加は、8000 ppm では、統計学的に有意であり、4000 ppm では、統計学的に有意かどうかははっきりしなかった。毒性に関する無毒性量(NOEL)は、体重増加の減少及びすべての用量における膀胱過形成に基づいて、800 ppm(39 mg/kg 体重/日相当)であった。発がん性に関する無毒性量(NOEL)は、800 ppm(39 mg/kg 体重/日相当)であった(Wahle & Christenson, 1996)。

2-フェニルフェノール ナトリウム (原文 p.9)

マウス (原文 p.9)

マウス(一群雄雌各 50 匹、B6C3 F₁、Charles River)は、2-フェニルフェノール ナトリウム(純度、97%)を、0、5000、10000 又は 20000 ppm (雄:0、590、1400 及び 3000 mg/kg 体重/日及び雌:0、780、1500 及び 3100 mg/kg 体重/日相当)の用量で、96 週間、混餌投与された。その後、マウスは、8 週間の追加期間の間、対照飼料を与えられた。雄の高用量群における生存率は、わずかに減少した。雄及び雌の 20000 ppm 群、及び雌の 5000 及び 10000 ppm 群で、体重減少が見られた。そして、雌の 5000、10000 及び 20000 ppm 群では、アルカリホスファターゼ活性が増加した。膀胱結石、腫瘍又は、広範な腎臓障害は、どのマウスにおいても観察されなかった。発がん性に関する無毒性量(NOEL)は、試験された最高用量である 20000 ppm(3000 mg/kg 体重/日相当)であった(Ito, 1983a ; Hagiwara et al., 1984)。

ラット (原文 p.9)

ラット(雄雌各 20-21 匹、Fischer 344)は、2-フェニルフェノール ナトリウム四水和(純度、95%超)を、0、1250、2500、5000、10000、20000 又は 40000 ppm(0、70、140、270、550、1100 又は 2200 mg/kg 体重/日相当)の用量で、91 週間、混餌投与された。ラットの全身状態における変化は、毎日、観察された。その結果、試験された 7 群の動物における生存率は、それぞれ、90、90、95、90、90、57 及び 71%であった。膀胱乳頭腫及び移行上皮がんの発生頻度の増加は、5000、10000、20000 又は 40000 ppm において、それぞれ、1/21 匹、7/21 匹、20/21 匹、及び 17/20 匹であった。同様に、5000 ppm 以上において、腎臓では移行上皮がんが観察された。無毒性量(NOEL)は、膀胱腫瘍の発生頻度の増加に基づいて、2500 ppm(270 mg/kg 体重/日相当)であった(Hiraga & Fujii, 1981)。

ラット(一群雄雌各 50 匹、Fischer 344、Fischer 344/DuCrj)は、2-フェニルフェノール ナトリウム(純度、95.5%)を、雄では、0、7000 又は 20000 ppm 及び*雌では、0、5000 又は 10000 の用量で、104 週間、混餌投与された。

その後、動物は、対照飼料で、2週間飼育された。第二回試験においては、ラット(一群雄雌各25匹)は、2-フェニルフェノール ナトリウムを、雄では、0、2500、7000又は20000 ppm(0、95、270及び770 mg/kg 体重/日相当)及び雌では、0、2500、5000又は10000 ppm(0、110、220及び470 mg/kg 体重/日相当)の用量で、104週間、混餌投与された。その後、動物は、対照飼料で、生涯飼育された。

*原文では、orであるがandとして訳した。0, 7000, or 20 000 ppm (males) ~~or~~ and 0, 5000, or 10 000 (females) of sodium 2-phenylphenol

第一回試験及び第一回試験における104週間での生存率は、雄の場合、20000 ppmでは、それぞれ、20%及び24%であった。一方、その他の動物群では、生存率は、50%超であった。

第一回試験において、膀胱腫瘍は、雄の場合、7000 及び 20000 ppm では、それぞれ、2/50 匹及び 47/50 匹であった。また、雌の場合、5000 及び 10000 ppm では、それぞれ、1/50 匹及び 4/50 匹で認められた。第二回試験においては、膀胱の腫瘍発生頻度は、雄の場合、7000 及び 20000 ppm では、それぞれ、3/25 匹及び 23/25 匹であった。また、雌の場合、10000 ppm では、2/25 匹で認められた。一方、第一回試験では、移行上皮がんは、7000 ppm における雄の 2/2 匹で、20000 ppm における雄の 46/47 匹で、及び 10000 ppm における雌の 1/4 匹で認められた。第二回試験においては、がんは、7000 ppm における雄の 1/3 匹で、20000 ppm における雄の 21/23 匹で、及び 10000 ppm における雌の 1/2 匹で認められた。従って、膀胱腫瘍の発生頻度は、用量依存的であった。無毒性量(NOAEL)は、すべての用量における膀胱腫瘍に基づいて、2500 ppm (95 mg/kg 体重/日相当)であった(Hiraga, 1983b; Fujii & Hiraga, 1985)。

国際がん研究機構(IARC)によって召集された作業部会は、以下のように、発がん性を分類した。すなわち、2-フェニルフェノール ナトリウムは、人に対して発がん性がある可能性がある。そして、2-フェニルフェノールは、人に対する発がん性については分類できない(IARC, 1987, 1999)。

(d) 遺伝毒性 (原文 p.10)

2-フェニルフェノール、2-フェニルフェノール ナトリウム及び代謝物であるフェニルヒドロキノン(phenylhydroquinone)及びフェニルベンゾキノン(phenylbenzoquinone)の遺伝毒性に関する試験結果は、表 2のように纏められる。

*in vivo*における膀胱DNAへの共有結合性については、以下のようにして決定された。すなわち、ラット(雄8匹)は、 $[^{14}\text{C}]$ 2-フェニルフェノール(純度、99.8%)又は $[^{14}\text{C}]$ 2-フェニルフェノール ナトリウム(純度、98.7%)を500 mg/kg 体重の用量で、投与された。次に、ラットから集められたサンプルを分析した結果、どちらの化合物を投与した場合においても、16時間後に摘出された膀胱のDNAには、標識放射能は検出されなかった。検出限界は、 10^6 ヌクレオチドあたり1アルキル化未満であった。第二回の実験においても、同一の結果が得られた(Reitz et al., 1983)。

2-フェニルフェノール及びその代謝物であるフェニルヒドロキノン(phenylhydroquinone)及びフェニルベンゾキノン(phenylbenzoquinone)とDNAとの反応は、配列決定法(sequencing technique)及び紫外・可視分光法(ultraviolet-visible spectroscopy)及び電子スピン共鳴分光法(electron spin resonance spectroscopy)を用いて、調べられた。フェニルヒドロキンは、Cu(II)の存在下で、広範なDNA損傷を生じさせた。カタラーゼ(catalase)、メチオニン(methionine)及びメチオナル(methional)は、DNA損傷を完全に抑制したが、マンニトール(mannitol)、ギ酸ナトリウム(sodium formate)、エタノール(ethanol)、t-ブチルアルコール(tert-butyl alcohol)及びスーパーオキシドジスムターゼ(superoxide dismutase)は、抑制しなかった。フェニルヒドロキノン+ Cu(II)は、しばしば、チミン(thymine)やグアニン残基(guanine residues)に、ピペリジン不安定性部位を誘導した。ところが、フェニルヒドロキノンに、Fe(III)、Mn(II)、Co(II)、Ni(II)、Zn(II)、Cd(II)又はPb(II)を添加すると、DNA損傷を誘発しなかった。また、この代謝物は、Cu(II)の存在下で、ペルオキシドを加えると、DNA損傷を誘発した。そして、Cu(II)は、フェニルヒドロキノンのキノンへの自動酸化を加速した。電子スピン共鳴分光法は、セミキノンラジカルが、自動酸化における中間体であることを明らかにした。カタラーゼは、Cu(II)による加速を阻害しなかった。スーパーオキシドジスムターゼは、フェニルヒドロキノンの自動酸化及びセミキノンラジカル生成に関する初速度の両方を促進した。また、電子スピン共鳴法を用いた捕捉実験により、Fe(III)の添加によって、フェニルヒドロキノンが自動酸化する過程で、ヒドロキシルラジカルが生成することが示された。一方、Cu(II)を添加すると、ヒドロキシルラジカルの生成は、極めて、わずかであった(Inoue et al., 1990)。これらの結果から、フェニルヒドロキノン+ Cu(II)によって誘導されたDNA損傷は、ヒドロキシルフリーラジカル以外の活性種によるものであることが示唆される (Inoue et al., 1990)。

表2. 2-フェニルフェノール、2-フェニルフェノール ナトリウム及び代謝物のフェニルヒドロキノン及びフェニルベンゾキノン¹の遺伝毒性に関する試験結果

評価項目	試験対象	濃度	純度(%)	結果	文献
2-フェニルフェノール(原文 p.10)					
<i>in vitro</i>					
DNA 鎖切断	大腸菌プラスミド	10 ⁻⁶ -10 ⁻² mol/L	> 99	陰性 - S9	Nagai et al. (1990)
DNA ³² P-ポストラベル法	ラット肝 DNA	100 umol/L	NR	陽性 + S9 陰性 - S9	Pathak & Roy (1992)
DNA 結合	子牛胸腺 DNA	40 mmol/L	> 99	陽性 + S9 陰性 - S9	Ushiyama et al. (1992)
遺伝子突然変異	枯草菌 H17, M45	NR	NR	陰性 陰性 - S9	Shirasu et al. (1978)
遺伝子突然変異	ネズミチフス菌 TA92, TA1535, TA100, TA1537, TA94, TA98	10 -1000 ug/プレート	NR	陰性 + S9 陰性 - S9	Ishidate et al. (1983)
遺伝子突然変異	大腸菌 WP2 hcr	NR	NR	陰性 + S9	Shirasu et al. (1978)
遺伝子突然変異	ネズミチフス菌 TA100, TA1535, TA1537, TA98	3-200 ug/プレート	> 99	陰性 + S9 弱い陽性 - S9*	National Toxicology Program (1986)
遺伝子突然変異	マウス リンフォーマ(L5178Y)細胞, Tk 遺伝子座	0.3-60 ug/mL	> 99	陽性 + S9 陽性 - S9	National Toxicology Program (1986)
遺伝子突然変異	ヒト Rsa 細胞, 修復欠損, HPRT 遺伝子座	1-30 ug/mL	NR	陽性	Suzuki et al. (1985)
染色体異常	CHO-K1 細胞	50-175 ug/mL	> 99	陽性 - S9	Tayama-Nawai et al. (1984)
染色体異常	CHO 線維芽細胞	12-125 ug/mL	NR	弱い陽性 + S9	Ishidate et al. (1983)

弱い陽性 - S9

染色体異常	CHO-K1 細胞	60-90 ug/mL	> 99	陰性 + S9 陰性 - S9	National Toxicology Program (1986)
染色体異常	CHO-K1 細胞	25-175 ug/mL	> 99	陽性 + S9 陰性 - S9	Tayama et al. (1989)
染色体異常	CHO-K1 細胞	100-200 ug/mL	> 99	陽性 + S9 システイン 又はグルタチオンにより阻害	Tayama & Nakagawa (1991)
宿主経路 遺伝子突然 変異	ネズミチフス菌 G46 200 又は 600 (雄 JCL-ICR マウス mg/kg 体重, 経口 5 日間 において)		NR	陰性	Shirasu et al. (1978)

in vivo

伴性劣性致死 突然変異	キイロショウ ジョウバエ	250 ppm 飼料中 3 日間又は注射 500 ppm	> 99	陰性	National Toxicology Program (1986)
DNA 結合	雄ラット膀胱	500 mg/kg 体重 経口	99	陰性	Reitz et al. (1983)
DNA ³² P-ポストラベル法	雄ラット膀胱	60-940 mg/kg 体重/日 及び 940 mg/kg 体重/日	> 99	陽性	Christenson et al. (1996a)
染色体異常	雄ラット骨髄	800 mg/kg 体重 5 日間又は ≤ 4000 mg/kg 体重, 単回経口投与	NR	陰性	Shirasu et al. (1978)
優性致死 突然変異	雄マウス	100 又は 500 mg/kg 体重/日 5 日間	> 99	陰性	Kaneda et al. (1978)
優性致死 突然変異	雄マウス	100 又は 500 mg/kg 体重/日 5 日間	NR	陰性	Shirasu et al. (1978)

2-フェニルフェノール ナトリウム(原文 p.11)

in vitro

遺伝子突然 変異	ネズミチフス菌 TA100, TA98	50-5000 ug/プレート	NR	陰性 + S9 陰性 - S9	Ishidate et al. (1983)
-------------	------------------------	--------------------	----	--------------------	------------------------

遺伝子突然変異	ネズミチフス菌 TA100, TA98, TA1535, TA1537, TA1538	0.025-250 ug/プレート	99	陰性 + S9 陰性 - S9	Reitz et al.(1983)
不定期 DNA** 合成	雄ラット 初代培養肝細胞	10 ⁻⁷ -10 ⁻⁴ mol/L	99	陰性	Reitz et al.(1983)
<i>in vivo</i>					
DNA ³² P-ポストラベル法	雄ラット膀胱	飼料中 2% 13 週間	> 99	陽性	Ushiyama et al.(1992)
DNA ³² P-ポストラベル法	マウス皮膚	10 又は 20 mg/動物, 経皮	97	陽性	Pathak & Roy(1993)
フェニルヒドロキノン					
<i>in vitro</i>					
DNA 鎖切断	大腸菌プラスミド	10 ⁻⁶ -10 ⁻² mol/L	> 99	陽性	Nagai et al. (1990)
DNA ³² P-ポストラベル法	ラット肝臓 DNA	100 umol/L	NR	陽性 + S9 陰性 - S9	Pathak & Roy(1992)
DNA 結合	子牛胸腺 DNA	40 mmol/L	>99	陽性 - S9	Ushiyama et al.(1992)
遺伝子突然変異	V79 CH 肺 繊維芽細胞, Hprt 遺伝子座 ±アラキドン酸	6 -125 umol/L		陰性	Lambert & Eastmond (1994)
染色体異常	CHO 繊維芽細胞 株化細胞	1-25 ug/mL	NR	陰性 + S9 陰性 - S9	Ishidate et al. (1983)
染色体異常	CHO-K1 細胞	5-150 ug/mL	> 98	陽性 + S9 陰性- S9	Tayama et al. (1989)
染色体異常	CHO-K1 細胞	0.3-30 umol/L	> 98	陽性, システイン 又はグルタチオンにより阻害	Tayama & Nakagawa (1991)
姉妹染色 分体交換	CHO-K1 細胞	5-150 ug/mL	> 98	陽性 + S9 陽性 - S9	Tayama et al. (1989)
姉妹染色	CHO-K1 細胞	0.3-30 umol/L	> 98	陽性,	Tayama & Nakagawa

分体交換					システイン 又はグルタチオンにより阻害	(1991)
小核形成	V79 CH 肺 繊維芽細胞 ±アラキドン酸	6-125 umol/L	NR	陽性 + S9 陰性 - S9		Lambert & Eastmond (1994)
<i>in vivo</i>						
DNA 損傷	雄ラット膀胱	0.0005-0.1% 注射	99%	陰性		Morimoto et al. (1989)
DNA ³² P-ポストラベル法	マウス皮膚		NR	陽性		Pathak & Roy (1993)
フェニルベンゾキノ						
<i>in vitro</i>						
DNA 鎖切断	大腸菌プラスミド	10 ⁻⁶ -10 ⁻² mol/L	> 99	陰性		Nagai et al.(1990)
DNA 結合	子牛胸腺 DNA	40 mmol/L	>99	陽性 - S9		Ushiyama et al.(1992)
遺伝子突然 変異	ネズミチフス菌 TA100, TA2637, TA98	0.05-1000 ug/プレート	NR	陰性 PBQ*** 陰性 PBQ***		Ishidate et al.(1983)
遺伝子突然 変異	V79 CH 肺 繊維芽細胞, Hprt 遺伝子座 ±アラキドン酸	6-125 umol/L	NR	陰性		Lambert & Eastmond (1994)
染色体異常	CHO 繊維芽細胞 株化細胞	1-25 ug/mL	NR	陰性 + S9 陰性 - S9		Ishidate et al. (1983)
小核形成	V79 CH 肺 繊維芽細胞 ±アラキドン酸	6-125 umol/L	NR	陰性		Lambert & Eastmond (1994)
<i>in vivo</i>						
DNA 損傷	雄ラット膀胱	0.0005-0.1% 注射	99%	陰性		Morimoto et al.(1989)

*原文+ S9 とされているが、一行上に+ S9のデータがあることから、- S9であると思われる。(原著の確認が必要)

**原文の Uncheduledは、Unscheduled として訳した。

***原文のPBQは間違いとも思われるが、原文のままとした。

HL-60細胞は、2-フェニルフェノール代謝物である2-フェニルヒドロキノン及び2-フェニルベンゾキノンで処理された。次に、HL-60細胞におけるDNA付加体の生成を調べるために、³²P-ポストラベル法が用いられた。細胞を、25-500 μmol/Lの2-フェニルヒドロキノンを、8時間、処理すると、1種類の主要付加体及び3種類の副付加体が生成され、相対的な付加体分布は、それぞれ、80、10、6及び4%であった。相対的な付加体頻度は、0.26-2.3 付加体/10⁷ スクレオチドであった。また、細胞を、25-250 μmol/Lの2-フェニルベンゾキノンを、2時間、処理すると、修飾DNA量及び付加体分布は、同程度であった。一方、精製された子牛胸腺DNAを2-フェニルベンゾキノンと反応させると、1種類の付加体が生成されたが、HL-60細胞で生成された主要付加体と一致しなかった。これらの結果は、両方の代謝物から、DNA付加体が形成されることが可能であることを示している。従って、ペルオキシダーゼによる2-フェニルフェノールの活性化は、その発がん性の一因となっている可能性がある(Horvath et al., 1992)。

DNA に対する共有結合に関する同様な実験において、フェニルベンゾキノンと DNA の反応生成物を³²P-ポストラベル法を用いて解析すると、4 種類の主要付加体及び数種類の付加体が生成することが明らかとなった。同様に、デオキシグアノシン 3'-ホスフェート(deoxyguanosine 3'-phosphate)と化学反応させると、4 種類の主要付加体が生成された。これらの付加体は、安定な主要付加体であるフェニルベンゾキノン-DNA とクロマトグラフィーにおける移動度は、同一であることが示された。DNA よりもデオキシグアノシン 3'-ホスフェート(deoxyguanosine 3'-phosphate)を用いると、より完全に共有結合されることが分かった。また、ミクロゾーム及び NADPH 又はクメンヒドロペルオキシド(cumene hydroperoxide)の存在下で、2-フェニルフェノール又はフェニルヒドロキノンと DNA を反応させると、同様に、4 種類の主要付加体が生成した。そして、知られているシトクロム P450 の阻害剤により、付加体の生成は、劇的に減少した。これらの付加体とフェニルベンゾキノンと反応したデオキシグアノシン 3'-ホスフェート及び DNA に認められた付加体とは、クロマトグラフィーにおける移動度は同一であった。これまで述べたように、2-フェニルフェノールとフェニルヒドロキノンの両化合物は、ミクロゾームのシトクロム P450 活性化系の存在下で、DNA と共有結合が可能である。そして、フェニルベンゾキノン、2-フェニルフェノールの DNA-結合性代謝物の 1 つである(Pathak & Roy, 1992)。

皮膚において、2-フェニルフェノール ナトリウムによって誘発された化学発がんのプロモーションに関する生化学的メカニズムを解明するために、この化合物と皮膚 DNA の共有結合による修飾反応が、³²P-ポストラベル法を用いて調べられた。2-フェニルフェノール ナトリウム又はフェニルヒドロキノンにマウス(CD-1)の皮膚の局所に適用すると、明確な 4 種類の主要付加体及び数種類の副付加体が皮膚 DNA に生成した。皮膚 DNA における総共有結合量は、2-フェニルフェノール ナトリウムの 10 mg 及び 20 mg で処置すると、それぞれ、0.31 fmol/ug DNA 及び 0.62 fmol/ug DNA であった。DNA 付加体は、未処置の動物の皮膚 DNA には観察されなかった。シトクロム P450 の阻害剤であるアルファ-ナフチルイソチオシアネート(α -naphthylisothiocyanate)又はプロスタグランジン合成阻害剤であるインドメタシン(indomethacin)で、マウスを前処理すると、DNA 付加体の生成量は減少した。また、DNA と 2-フェニルフェノール又はフェニルヒドロキノンとを、*in vitro* で、シトクロム P450 又はプロスタグランジン合成酵素活性化系の存在下で、インキュベーションすると、4 種類の主要付加体が生成した。*in vivo* における付加体と *in vitro* において、これらの酵素系の存在下で観察された付加体に関しては、クロマトグラフィーにおける移動度のパターンは、類似しているように見えた。同様に、フェニルベンゾキノンと DNA 又はデオキシグアノシン一リン酸(deoxyguanosine monophosphate)との化学反応により、4 種類の

主要付加体及び数種類の副付加体が生成した。生成した4種類の主要付加体は、*in vitro* 及び *in vivo* で生成した4種類の主要付加体と、クロマトグラフィーにおける移動度は同一であった。これらの結果は、以下のように要約される。すなわち、2-フェニルフェノール及びフェニルヒドロキノン、DNAと共有結合することが可能である。そして、2-フェニルフェノールのDNA-結合性代謝物の1つは、フェニルベンゾキノンである可能性がある(Pathak & Roy, 1993)。

(e) 生殖毒性 (原文 p.13)

(i) 多世代生殖毒性 (原文 p.13)

2-フェニルフェノール (原文 p.13)

ラット (原文 p.13)

ラット(一群 35 匹、アルビノ、Sprague-Dawley、試験開始時 9 週齢)は、工業用 2-フェニルフェノール(純度、99.4-99.5%)を、200-10000 ppm (0、36、120 及び 460 mg/kg 体重/日相当)の用量で、2世代の間、混餌投与された。投与量は、交配前期間の間、体重変化に従って調節された。そして、同様に、児動物の過剰投与を避けるために、授乳期間の間、投与量は、調節された。しかし、この投与は、後に不要と見なされた。高用量群における F₁雌 2 匹及び F_{2a} 児動物 12 匹は、貧毛症に関する遺伝率の検査のために、試験から除外された。F₁ 世代の親動物(F₀)は、投与群に無作為に割り当てられた。同腹児の交配を防ぐために、F_{1b} 児動物の系統確認が行われた。F₂ 世代を作出するために、F_{1b} 児動物(雄 132 匹、雌 134 匹)が無作為に選別された。そして、同腹児あたり雄雌各 1 匹以上の児動物は、投与群あたりラット 35 組に分割され、親動物(F₁)として用いられた。また、対照群は、雄 27 匹及び雌 29 匹から構成された。発情周期は、膣垢検査によって調べられた。動物は、毎日検査され、出生統計パラメータ及び及び児動物の体重が、定期的に観察された。また、同腹児は、必要時、児動物数を 8 匹に調節された。と殺時には、標準的な観察及び広範囲にわたる尿路の組織学的検査が実施された。

その結果、以下について、投与による影響は認められなかった。すなわち、臨床所見、妊娠期間又は授乳期間の体重増加及び検査されたいずれの生殖パラメータ。一方、成熟動物及び児動物に関する組織学的検査から、生殖器官において、有意な変化が認められた。また、460 mg/kg 体重/日投与群におけるF₀及びF₁成熟動物は、投与に関係した体重減少が認められたが、摂餌量の減少とは明らかに関係していなかった。また、F_{1b}、F_{2a}及びF_{2b}児動物は、授乳14日及び又は21日に、統計学的に有意な体重減少が認められた。しかし、授乳期間の第1週には、体重減少は認められなかった。この結果から、児動物の発達には、影響がなかったことが示唆された。F₀及びF₁世代の雄においては、腎臓の相対重量は、用量依存的に増加した。しかし、腎臓以外の臓器重量には、変化は見られなかった。また、120及び460 mg/kg 体重/日*の雄ラットでは、尿路結石の発生頻度が増加した。膀胱には、移行上皮過形成が認められた。報告では、移行上皮過形成について、以下のように定義されている。すなわち、正常な膀胱は、1又は2細胞(扁平細胞)の厚さであるのに対して、膨張した膀胱においては、少なくとも3から4細胞(立方細胞)の厚さを有する領域(巣状又はびまん性)。単純形態測定法による

定量化から、120及び460 mg/kg 体重/日におけるF₀雄及び雌、ならびに457 mg/kg 体重/日におけるF₁雄において、動物の膀胱に、化合物に関係した影響が示唆された。ラット4匹に、尿路の新生物が認められた。すなわち、125 mg/kg 体重/日投与群のラットにおける膀胱腫瘍1匹及び尿管腫瘍1匹、ならびに457 mg/kg 体重/日投与群のラットにおける膀胱腫瘍2匹が認められた。以上の結果から、生殖毒性に関する無毒性量 (NOAEL)は、460 mg/kg 体重/日であった。また、発がん性に関する無毒性量は、36 mg/kg 体重/日であった(Eigenberg, 1990)。

*用量の記載に矛盾があるが、原報を確認できないため、そのままにした。(p35:120→125 mg/kg, 460→457mg/kg)

同様の試験において、ラット(一群 30 匹、CD Sprague-Dawley)は、工業用 2-フェニルフェノール(純度、99.5-100%)を、200-10000 ppm(0、17、92 及び 460 mg/kg 体重/日相当)の濃度で含有する飼料を用いて、2 世代の間、混餌投与された。投与量は、交配前期間の間、体重変化に従って調節された。F₀ 及び F₁ 成熟動物は、試験期間を通じて、混餌投与された。投与は、F₀ 及び F₁ 成熟動物に関しては、それぞれ、7 週齢及び離乳時に開始された。そして、投与は、F₁ 親動物の F_{1b} 同腹児の最後の離乳約 2 週間後に開始されてから、交配の前まで、10 週間、続けられた。F₀ 成熟動物は、F_{1a} 及び F_{1b} 同腹児を産出するために交配された。そして、無作為に選択された F_{1b} 児動物からなる F₁ 成熟動物は、F_{2a} 及び F_{2b} 同腹児を産出するために交配された。2-フェニルフェノールの影響に関して、成熟動物は、試験期間の間、以下の項目について評価された。体重、摂餌量、臨床所見、発情周期、交配、受胎能、妊娠期間及び同腹児数について調べられた。また、児動物は、性比、生存率、体重増加及び臨床所見について評価された。肉眼的病理所見は、すべての成熟動物及び児動物について、生殖器、脳下垂体、尿管が付着した腎臓及び膀胱に関して、実施された。そして、すべての F₀ 及び F₁ 成熟動物の肉眼的病変については、組織病理学的に評価された。

その結果、460 mg/kg 体重/日投与群においては、F₀雄及び雌ならびにF₁雄に、着色尿が観察された。また、剖検時には、F₁雄(成熟動物)及び腎不全で死亡したF₀雄1匹に、膀胱結石が観察された。また、この用量においては、授乳期間中に雌の摂餌量の増加、児動物の体重減少及び試験終了時におけるF₀及びF₁(成熟雄及び成熟雌)の体重減少が認められた。腎臓の組織病理学的検査からは、F₀及びF₁雄において、腎盂に残屑、慢性活動性炎症及び重篤度の増大した背景病変が明らかになった。さらに、F₀及びF₁雄においては、膀胱の移行上皮過形成(単純、結節状又は乳頭状)、結石、膀胱の慢性炎症及び尿管拡張ならびに尿管肥厚が認められた。この用量のF₁雄2匹においては、幾つかの組織に悪性リンパ腫が認められた。また、92 mg/kg 体重/日投与群の雌1匹には、腎芽細胞腫が認められた。高用量群のF₀雄1匹及び対照群のF₁雌1匹には、下垂体腺腫が認められた。これらの病変のすべては、投与に付帯した所見であると見なされた。成熟動物の生殖パラメータに、投与に関係した影響はなかった。そして、同腹児数、性比、死産した児動物数、児動物の生存率又は臨床所見に、影響はなかった。また、児動物の肉眼的病変及び成熟動物の臓器重量に投与に関係した影響はなかった。F_{1a}世代に関しては、対照群、17、92及び460 mg/kg 体重/日投与群における平均生児出生率(標準誤差)は、それぞれ、98(0.91)、99(0.77)、98(1.3)及び98(0.85)であった。また、F_{1b}世代に関しては、対照群、17、92及び460 mg/kg 体重/日投与群について、それぞれ、98(0.85)、98(1.5)、99(0.71)及び99(0.63)であった。F_{2a}世代に関しては、対照群、17、92及び460 mg/kg 体重/日投与群について、99(0.84)、98(1.0)、97(1.4)及び100(0.38)であった。同様に、F_{2b}世代に関しては、対照群、17、92及び460 mg/kg 体重/日投与

群について、それぞれ、97(1.2)、99 (0.78)、96 (1.9)及び99 (0.46)であった。群間における差は、統計学的に有意ではなかった。以上から、生殖毒性に関する無毒性量(NOAEL)は、試験された最高用量の460 mg/kg 体重/日であった。全身毒性及び発生毒性に関する無毒性量(NOAEL)は、体重減少及び腎臓、膀胱及び尿管における形態学的病変及び児動物の体重減少に基づいて、92 mg/kg 体重/日であった(Eigenberg, 1995)。

(ii) 発生毒性 (原文 p.14)

2-フェニルフェノール及び2-フェニルフェノール ナトリウム (原文 p.14)

マウス (原文 p.14)

マウス(一群妊娠20-21匹、JCL-ICR)は、2-フェニルフェノール(純度不明)を、0、1500、1700又は2100 mg/kg 体重/日の用量で、又は2-フェニルフェノール ナトリウム(純度不明)を、100、200又は400 mg/kg 体重/日の用量で、妊娠7-15日の間、強制経口投与された。動物の体重は、毎日、測定された。そして、全身状態におけるどんな変化についても、注意深く観察された。妊娠18日に、母動物はと殺された。そして、子宮は切開され、着床痕数、早期及び後期死亡胎児数及び生存胎児数について、測定された。また、生存胎児の体重測定、性別判定及び外部異常の観察が行われた。各卵巣における黄体数の測定及び主要臓器について重量測定が行われた。そして、肉眼的に異常を有するかどうかを決定するために検査された。

2-フェニルフェノールに関しては、1700及び2100 mg/kg 体重/日投与群において、体重増加は減少した。一方、1500、1700又は2100 mg/kg 体重/日の用量では、それぞれ、4匹、7匹及び16匹の母動物に、死亡が観察された。また、確認された生存母動物の妊娠率は、0、1500、1700又は2100 mg/kg 体重/日では、それぞれ、20/21匹、14/17匹、14/14匹及び5/5匹であった。着床については、妊娠18日のと殺時に、開腹によって確認された。これらのマウスに関して、剖検で認められた有意な変化は、1700及び2100 mg/kg 体重/日における心臓重量の減少、そして、1500及び1700 mg/kg 体重/日における肝臓重量の有意な増加及び2100 mg/kg 体重/日で認められた増加傾向のみであった。生存胎児は、すべての妊娠母動物に認められた。2-フェニルフェノールを投与された三つの投与群のすべてにおいて、雄及び雌の胎児の体重は、有意に減少した。そして、体重減少は、雄においては、用量-依存的であった。胎児には、特異な外部又は内部奇形又は異常は認められなかった。そして、胎児に認められた骨格異常については、発達遅延と一致した。以上から、母動物毒性又は胎児毒性に関して、無毒性量(NOAEL)は、同定できなかった。発生毒性に関する無毒性量(NOAEL)は、試験された最高用量の2100 mg/kg 体重/日であった。

2-フェニルフェノール ナトリウムに関しては、母動物における体重増加は、すべての用量において、統計学的に有意に、用量-依存的に減少した。母動物の死亡は、200 mg/kg 体重/日投与群で4匹及び400 mg/kg 体重/日投与群で16匹であった。妊娠18日における母動物の剖検では、異常は見られなかった。一方、400 mg/kg 体重/日投与群の動物では、肝臓、心臓及び脾臓重量は、有意に減少した。ところが、200 mg/kg 体重/日投与群では、母動物の肺重量は増加した。また、200 mg/kg 体重/日投与群では、母動物の平均着床数

及び平均生存胎児数は低下した。以上から、無毒性量(NOEL)は、母動物毒性に関しては、同定できなかった。胎児毒性に関しては、無毒性量(NOEL)は、100 mg/kg 体重/日及び発生毒性に関しては、試験された最高用量の400 mg/kg 体重/日であった(Ogata et al., 1978)。

2-フェニルフェノール (原文 p.14)

ラット (原文 p.14)

ラット(一群18-20匹、妊娠6-15日、Wistar)は、2-フェニルフェノール(純度、99.7%)を、0、150、300又は600 mg/kg 体重/日の用量で、強制経口投与された。また、追加のラット(11匹)には、1200 mg/kg 体重/日を投与されたが、この用量は致死的であることが分かった。その結果、対照群又は150 mg/kg 体重/日においては、毒性所見は観察されなかった。一方、300 mg/kg 体重/日以上投与群においては、用量-依存的な運動失調及び平均体重増加の減少が認められた。生存したすべてのラットは、妊娠20日にと殺され、子宮内容物の検査が行われた。胎児は肉眼的に検査された。また、骨格及び内臓は、それぞれ、アリザリンレッド S(Alizarin red S)及び改良ウィルソン法(modified Wilson method)によって、検査された。その結果、150及び300 mg/kg 体重/日投与群の動物における平均着床痕、生存胎児、吸収及び胎児体重に関する平均値は、対照群と同程度であった。しかし、600 mg/kg 体重/日投与群では、胎児吸収数は増加し、胎児体重は減少した。すべての投与群において、幾つかの胎児異常が観察されたが、これらは、投与に関係しているとは見なされなかった。以上から、母動物毒性及び胎児毒性に関する無毒性量(NOEL)は、それぞれ、150及び300 mg/kg 体重/日であった。また、発生毒性に関する無毒性量(NOEL)は、試験された最高用量の600 mg/kg 体重/日であった(Kaneda et al., 1978)。

同様の試験において、ラット(一群25-35匹、妊娠6-15日)は、2-フェニルフェノール(純度、99.7%)を、0、100、300又は700 mg/kg 体重/日の用量で、強制経口投与された。動物は、妊娠21日にと殺され、胎児は外科的に摘出された。すべての胎児について、体重測定、性別判定が行われ、肉眼的に外部及び骨格が検査された。そして、胎児の約3分の1は、軟組織について検査された。高用量においては、ラット1匹の死亡が見られたが、投与による事故の結果であった。その結果、700 mg/kg 体重/日投与群の妊娠ラットにおいては、投与の最初の4日間(妊娠6-9日)、対照群に比べると、有意な体重減少が認められた。そして、妊娠9-11日の摂餌量は、有意に減少した。剖検においては、肝臓重量(肝臓:体重比ではない)は有意に減少した。母動物あたりの着床痕数、平均同腹胎児数、胎児吸収率、又は胎児体重もしくは頭殿長に対する影響は見られなかった。一方、300 mg/kg 体重/日投与群における胎児1匹には、唯一の重篤な外表奇形、すなわち、尾の形成不全、仙椎及び尾椎の欠損が認められた。また、700 mg/kg 体重/日投与群では、胸骨分節における骨化遅延に関する発生頻度の増加及び非骨化胸骨分節が認められた。同群においては、頭蓋骨の孔(foramina)及び骨島(bony islands)の発生頻度が、わずかに増加した。2-phenylphenolに関係があると見なされる胚又は胎児発生に関する毒性影響は観察されなかった。以上から、母動物毒性に関する無毒性量(NOEL)は、300 mg/kg 体重/日であった。胎児毒性及び発生毒性に関する無毒性量(NOEL)は、試験された最高用量の700 mg/kg 体重/日であった(John et al., 1981)。

ウサギ (原文 p.15)

用量設定試験においては、非妊娠ウサギ(一群2匹、New Zealand white)は、トウモロコシ油に溶解した2-フェニルフェノール(純度、99.8%)を、0、100、500又は1000 mg/kg 体重/日の用量で、13日間連続して、反復投与された。そして、試験終了日の後に、肉眼的剖検が行われた。動物は、臨床所見、体重、体重増加、腎臓及び肝臓重量及び肉眼的の外観について、検査された。最高用量の1000 mg/kg 体重/日投与群のウサギは、摂餌が停止したように思われ、投与7日の体重は、24%減少した。また、同群のウサギ1匹は、投与8日に死亡した。そして、投与10日に、ウサギ1匹は、無食欲に続発した病変又は非特異的病変による瀕死状態のためにと殺された。また、500 mg/kg 体重/日投与群のウサギには、わずかな体重増加の減少が見られた。その他のすべてのウサギには、他に投与に関係した影響は認められず、試験終了まで生存した。低用量の100 mg/kg 体重/日投与群では、投与期間を通じて、影響は認められなかった。

第二回試験においては、人工受精された雌(一群7匹)は、トウモロコシ油に溶解した2-フェニルフェノール(純度、99.8%)を、0、250、500又は750 mg/kg 体重/日の用量で、妊娠7-19日の間、強制経口投与された。動物は、臨床所見、体重及び体重増加について、観察された。すべての生存動物は、妊娠20日にと殺された。そして、肝臓及び腎臓重量における変化ならびに肉眼的の病理所見について調べられた。子宮及び卵巣に関しては、着床、吸収及び黄体について調べられた。そして、肝臓、腎臓及び胃に関しては、組織学的に検査された。その結果、母動物のすべての用量において、用量-依存的に毒性所見が認められた。すなわち、250、500及び750 mg/kg 体重/日投与群のウサギにおいて、それぞれ、1匹、2匹及び6匹が死亡した。用量依存的に、以下の影響が観察された。すなわち、胃の出血、ガス性膨満及び糜爛に関する発生頻度の増加、胃腸管における柔らかい摂取物及び摂取物の減少、体重及び体重増加の減少、腎臓の絶対及び相対平均重量の増加、ならびに腎尿細管変性及び炎症に関する発生頻度及び又は重篤度の増加が認められた。最高用量の750 mg/kg 体重/日投与群においては、生殖、胚又は胎児パラメータに関して、投与に関係した影響が観察された。

第三回試験においては、人工受精された成熟雌ウサギ(一群16-24匹、New Zealand white)は、トウモロコシ油に溶解した2-フェニルフェノール(純度、99.8%)を、0、25、100又は250 mg/kg 体重/日の用量で、妊娠7-19日の間、強制経口投与された。動物は、臨床所見、体重及び体重増加について観察された。妊娠28日に、すべての生存ウサギはと殺、剖検された。そして、肝臓、腎臓及び妊娠子宮の重量ならびに黄体、着床、吸収、生存及び死亡胎児の数について、記録された。すべての胎児は、子宮から摘出され、体重、性別及び外部、内臓及び骨格変化について、検査された。すべての動物の腎臓は、組織学的に調べられた。最高用量群の250 mg/kg 体重/日投与群においては、母動物毒性が認められた。すなわち、投与に関係した死亡(13%)、肉眼的病理学的変化(胃粘膜の潰瘍及び出血、腸管内における溶血した血液ならびに摂取物の減少)及び病理組織学的変化(腎尿細管変性及び炎症)が認められた。一方、25又は100 mg/kg 体重/日投与群においては、母動物に関する有意な影響は観察されなかった。そして、どの用量においても、胚又は胎児に関する毒性影響は認められなかった。以上の結果から、母動物毒性、胎児毒性及び発生毒性に関する全体的な無毒性量(NOEL)は、それぞれ、100、500及び試験された最高用量の750 mg/kg 体重/日であった(Zablony et al., 1991)。

(f) 特殊試験: ラット膀胱における発がん性メカニズム(原文 p.15)

2-フェニルフェノールが、二段階イニシエーション及びプロモーションプロセスに関する完全皮膚発がん物質又はプロモーターであるかどうかを決定する実験において、0.1 mLのアセトンに溶解した2-フェニルフェノール(55.5 mg)は、マウス(一群雄雌各 50 匹、Swiss CD-1)の肩甲間部に、1 週間に 3 回、2 年間、皮膚投与された(第一群)。第二群においては、マウス(一群雄雌各 50 匹)は、第一群と同様に投与された。ただし、動物の背部皮膚は、7,12-ジメチルベンズ[a]アントラセン(7,12-dimethylbenz[a]anthracene:DMBA)を 0.05 mg(アセトン 0.1 mL 中)の用量で、単回前投与された。DMBA は、皮膚がんのイニシエーターであることが知られている。さらに、追加されたマウス(一群雄雌各 50 匹)は、以下の対照群として使用された。すなわち、アセトンのみを投与されたアセトン溶媒対照群、DMBA を単回投与し、その後アセトンのみを投与した対照群及び DMBA で単回投与し、その後、12-O-テトラデカニルホルボール 13-酢酸(12-O-tetradecanylphorbol 13-acetate:TPA)を 0.005 mg(アセトン 0.1 mL 中)の用量で、1 週間に 3 回、2 年間、投与した陽性対照群が設けられた。TPA は、皮膚がんのプロモーターであることが知られている。

2-フェニルフェノール又はDMBAプラス2-フェニルフェノールを投与されたマウスの平均体重及び生存率は、おおむね、それぞれの陰性対照群の値と同程度であった。しかし、DMBAプラスTPA投与群におけるマウスの生存率は、実質的に低下した。また、この投与群では、適用の部位における扁平上皮乳頭腫及び扁平上皮がん、角化棘細胞腫及び基底細胞がんの発生頻度(52/100)は、DMBAプラスアセトン群(15/100)に比較すると、明らかに増加した。同様に、DMBAプラスTPA投与群においては、腫瘍発生までの期間は、実質的に短くなった。同様な腫瘍性皮膚病変は、DMBAプラスアセトン投与群(17/100)においても観察されたが、その発生頻度は、対照群(15/100)と同程度であった。腫瘍性皮膚病変は、2-フェニルフェノール投与群においては、観察されなかった。以上の結果から、著者は、2-フェニルフェノールは、単独では発がん性又はプロモーターとして作用しないと結論した(Luster, 1986)。

膀胱における2-フェニルフェノール(純度、98%)及び2-フェニルフェノール ナトリウム(純度、97%)のプロモーター作用は、N-ニトロブチル-N-(4-ヒドロキシブチル)アミン(N-nitrosobutyl-N-(4-hydroxybutyl)amine:NBHBA)でイニシエーションされたラット(雄、Fischer 344)を用いて調べられた。ラット(一群 30 匹)は、以下のような投与群から構成された。すなわち、0.01%NBHBA を含む飲水で 4 週間、その後、2-フェニルフェノール ナトリウムを 20000 ppm 含む飼料(1000 mg/kg 体重/日)で 32 週間の投与群、NBHBA で 4 週間、その後、無処理の飼料で 32 週間の投与群、又は、NBHBA を含まない飲水で 4 週間、その後、2-フェニルフェノール ナトリウムを 20000 ppm 含む飼料で 32 週間の投与群。別の実験(第二回)では、ラット(一群雄 30 匹)は、以下のような投与群から構成された。すなわち、0.05%NBHBA を含む飲水で 4 週間、その後、2-フェニルフェノール ナトリウム又は2-フェニルフェノールを 20000 ppm 含む飼料で 32 週間の投与群、NBHBA なしで 4 週間、その後、2-フェニルフェノール ナトリウム(15 匹)又は2-フェニルフェノール(15 匹)を 20000 ppm 含む飼料で 32 週間の投与群。さらに、第三回の実験では、ラット(一群 15 匹)は、2-フェニルフェノール ナトリウム又は2-フェニルフェノールを 0、20000 ppm 含む飼料で、混餌投与された。尿サンプルは、27、29 及び 32 日に、強制的に排尿させたラットから採取された。

2-フェニルフェノール ナトリウムを 20000 ppm の用量で混餌投与の場合、100 ppm(0.01%)の NBHBA を前投与された雄ラットにおいては、膀胱基底膜 10 cm あたりの前がん性病変(乳頭状又は結節状過形成)の発生頻度及び数に有意な増加が認められた。そして、500 ppm(0.05%)の NBHBA を前投与された動物群においては、膀胱の乳頭腫及びがん腫の発生頻度及び数に増加が認められた。さらに、イニシエーションなしに、2-フェニルフェノール ナトリウム単独を投与すると、乳頭状また結節状過形成及び乳頭腫ならびにがん腫を誘発した。

対照的に、イニシエーションの後で、2-フェニルフェノールを混餌投与すると、NBHBA単独の場合を超えて、膀胱病変の発生頻度がわずかに増加したが、影響は、統計学的に有意ではなかった。2-フェニルフェノール単独では、膀胱腫瘍は、誘発されなかった。以上の結果から、著者らは、以下のように結論した。すなわち、2-フェニルフェノール ナトリウムは、発がん促進作用を有し、ラット膀胱における完全発がん物質である可能性がある。一方、2-フェニルフェノールは、そのような影響を有さなかった。ナトリウム塩は、尿pHを上昇させることから、著者らは、以下のように推測した。すなわち、2-フェニルフェノール ナトリウムの場合、その活性代謝物は、2-フェニルフェノールよりも高濃度で、膀胱に到達する。また、著者らは、2-フェニルフェノール ナトリウムは、非遺伝子的なメカニズムによって作用する発がん性物質であることを示唆した(Fukushima et al., 1983)。

ラット(雄 28 匹、Fischer 344)は、2-フェニルフェノール ナトリウム(純度不明)を、20000 ppm の濃度で含有する飼料を用いて、64 週間、混餌投与された。2-フェニルフェノール ナトリウムを投与されたラット 1 匹は、膀胱に小結石を保有していた。そして、ナトリウム塩は、膀胱に、乳頭状又は結節状過形成(19/28)、乳頭腫(5/28)及びがん腫(6/28)を誘発した。しかし、2-フェニルフェノールには、そのような誘発作用はなかった。NBHBA で前投与した追加のラットにおいては、NBHBA 単独を投与されたラットよりも、乳頭状又は結節状過形成($p < 0.05$)、乳頭腫(有意でない)及びがん腫(有意でない)の発生頻度が増加した。また、別の実験では、2-フェニルフェノール又は 2-フェニルフェノール ナトリウムは、ラット(雄 5-9 匹、Fischer 344)に、2500、5000、10000 又は 20000 ppm の濃度で、104 週間まで、混餌投与された。各群の動物は、4、8、12、24、36 及び 104 週間にと殺され、検査された。2-フェニルフェノール ナトリウムを投与されたラットの膀胱には、結石形成は認められなかった。また、20000 ppm を投与された動物には、4 週間から、膀胱の単純過形成(5/5 匹)、36 週間から、乳頭状又は結節状過形成(5/5 匹)、及び 104 週から、乳頭腫(2/5 匹)及びがん腫(2/5 匹)が、観察された。2-フェニルフェノール ナトリウムを投与された 10000 ppm 群においては、36 週間から単純過形成のみが認められた。2-フェニルフェノール単独では、膀胱腫瘍を引き起こすことはなかった。そして、NBHBA によって誘発された膀胱病変を増悪させなかった(Ito, 1983b)。

ラットの膀胱発がんに関する短期試験においては、2-フェニルフェノール又は 2-フェニルフェノール ナトリウム(純度不明)の 10000 又は 20000 ppm の濃度で、1 週間投与した後では、コンカナバリン A による膀胱上皮細胞の凝集性が増加した。この結果から、両化合物は、膀胱がんを引き起こすことが示唆される。そのような凝集性の増加は、rho-フェニルフェノール*又はビフェニル誘導体を 20000 ppm で、混餌投与されたラットにおいては、観察されなかった。

* 原文の rho-phenylphenol は物質の確認ができなかった。para-phenylphenol の誤記と考えられるが、原文のまま訳した。

一方、2-フェニルフェノール ナトリウムを20000 ppm含有する飼料で、50週間、混餌投与されたラット(雄、Fisher)においては、膀胱乳頭腫(19/36匹)及び膀胱がん(14/36匹)の発症が認められた(Honma et al., 1983)。

2-フェニルフェノール又は2-フェニルフェノール ナトリウム(いずれも純度不明)を20000 ppmもしくはビフェニルを5000 ppmの濃度で含有する飼料を用いて、ラット(雄20匹、Fischer 344)に、最長24週間まで、混餌投与された。DNA合成量における変化及び腎乳頭ならびに腎盂の形態は、光学顕微鏡及び走査電子顕微鏡により記録された。2-フェニルフェノール及びそのナトリウム塩に関しては、4週までに、腎乳頭及び腎盂の両方におけるDNA合成の増加ならびに細胞表面における明白な形態学的変化が認められた。光学顕微鏡により連続的に観察すると、2-フェニルフェノールを混餌投与された動物においては、4週から、腎臓乳頭壊死が、その後、16週(1/5匹)及び24週(3/5匹)では、再生性過形成が認められた。しかし、腎盂には、変化はなかった。また、2-フェニルフェノール ナトリウムを混餌投与された動物においても、腎臓乳頭に同様な変化が生じた。そして、腎盂には、同様に、過形成(2/5匹)が認められた。ビフェニルを混餌投与されたラットにおいては、腎臓の増殖反応は、明らかではなかった。以上の結果から、著者らは、次のように結論した。すなわち、2-フェニルフェノール ナトリウムによって、腎盂上皮に生じた増殖反応は、この化合物によって、膀胱に誘導された増殖反応と同様であった(Shibata et al., 1989a)。

2-フェニルフェノール及び2-フェニルフェノール ナトリウムの発がん性に関するアスコルビン酸(ascorbic acid)、サッカリン(saccharin)及び馬尿酸(hippuric acid)の相互作用による影響について、ラット(一群雄20匹、Fischer 344)を用いて調べられた。2-フェニルフェノール(純度、99.5%)又は2-フェニルフェノール ナトリウムを20000 ppm(1000 mg/kg 体重/日相当)の濃度で含有する飼料を用いて、動物に、24週間、混餌投与された。また、投与は、以下の化合物の存在下(50000 ppm)又は非存在下で行われた。すなわち、アスコルビン酸(ascorbic acid)、アスコルビン酸ナトリウム(sodium ascorbate)、サッカリン酸(acid saccharin)、サッカリンナトリウム(sodium saccharin)、馬尿酸(hippuric acid)又は馬尿酸ナトリウム(sodium hippurate)。その結果、前述のナトリウム塩及び又は2-フェニルフェノール ナトリウムを混餌投与されたすべての動物において、尿中ナトリウム濃度は増加した。また、2-フェニルフェノール ナトリウム、アスコルビン酸ナトリウム又はサッカリンナトリウムを投与された動物において、尿pHは上昇した。そして、2-フェニルフェノール ナトリウム、アスコルビン酸ナトリウム又は馬尿酸ナトリウムを投与された動物において、浸透圧は低下した。結局、2-フェニルフェノールは、浸透圧を低下させたが、尿pH又はナトリウム濃度に影響を及ぼさなかった。2-フェニルフェノール ナトリウムを投与されたラットの膀胱においては、組織病理学的に、8、16及び24週で、上皮肥厚(上皮層の厚さ、4-8個の細胞)及び16及び24週で、乳頭及び結節の変化が認められた。その他のナトリウム塩による投与は、8及び16週で、軽度から中等度過形成を誘発したが、乳頭及び結節の変化は認められなかった。また、上述した変化は、24週までに退縮した。尿pH及びナトリウムが上昇したことに起因する複合作用により、2-フェニルフェノール ナトリウムの影響が促進された。一方、馬尿酸ナトリウム(sodium hippurate)は、pHではなく、尿ナトリウムを上昇させたが、影響はなかった(Fukushima et al., 1989)。

基本的に同様な試験において、ラット(一群雄31匹、Fischer 344)は、炭酸水素ナトリウム(NaHCO_3)又は

塩化アンモニウム(NH_4Cl)を、それぞれ、尿pHを上昇又は低下させる目的のために投与された。次に、2-フェニルフェノール又は2-フェニルフェノール ナトリウムを、それぞれ、12500 ppm(625 mg/kg 体重/日相当)又は20000 ppm(1000 mg/kg 体重/日相当)の用量で投与された。その結果、2-フェニルフェノール、2-フェニルフェノールプラス炭酸水素ナトリウム又は2-フェニルフェノール ナトリウムを投与された動物においては、膀胱上皮の過形成が認められた。また、塩化アンモニウムとともに2-フェニルフェノール ナトリウムを投与された動物においては、有意な影響は見られなかった。一方、2-フェニルフェノール(12/31)、2-フェニルフェノール ナトリウム(22/31)及び2-フェニルフェノールプラス炭酸水素ナトリウム(20/31)を投与された動物においては、腫瘍の発生頻度は、有意に増加した。しかし、2-フェニルフェノール ナトリウムプラス塩化アンモニウムを投与された動物においては、数匹のラット(3/31匹)のみに腫瘍が認められた。従って、2-フェニルフェノールの発がん性は、アルカリ性尿によって促進された。しかし、2-フェニルフェノール ナトリウムの発がん性は、酸性尿によって阻害された(Fujii et al., 1987)。

尿パラメータにおける変化、特に、電解質濃度及びpH、DNA合成ならびに膀胱上皮の形態学的変化について、ラットを用いて調べられた。すなわち、ラット(Fischer 344)は、ナトリウム、カリウム、マグネシウム及びカルシウムなど種々の炭酸塩を30000 ppmの濃度で含む飼料を、50000 ppmのL-アスコルビン酸の存在下又は非存在下で、4又は8週間、混餌投与された。そして、尿を酸性化するために10000 ppmの塩化アンモニウムによる投与及び50000 ppmのアスコルビン酸ナトリウムと塩化アンモニウムの併用投与に関する影響についても、同様に、調べられた。その結果、炭酸水素ナトリウム(NaHCO_3)、炭酸カリウム(K_2CO_3)、アスコルビン酸(ascorbic acid)プラス炭酸水素ナトリウム、アスコルビン酸(ascorbic acid)プラス炭酸カリウム又はアスコルビン酸ナトリウム(sodium ascorbate)の投与群においては、尿pHは、有意に上昇した。一方、アスコルビン酸又は塩化アンモニウムのみの投与群においては、尿pHは、有意に低下した。尿の電解質又はアスコルビン酸の含有量が増加したが、これは、対応する投与方法と関係していた。炭酸水素ナトリウム、炭酸カリウム、アスコルビン酸プラス炭酸水素ナトリウム、アスコルビン酸プラス炭酸カリウム又はアスコルビン酸ナトリウムを投与された動物群においては、膀胱上皮のDNA合成が増加した。さらに、DNA合成を増加させたすべての投与においても、膀胱上皮に何らかの形態学的変化を誘発した。炭酸水素ナトリウム又は炭酸カリウムとともにアスコルビン酸を投与すると、いずれかの塩を単独で投与した場合より多くの変化が誘発された。対照的に、アスコルビン酸ナトリウムを投与されたラットにおいては、塩化アンモニウムを同時に投与することによって、膀胱上皮の反応性は減少した。これらの結果から、以下の結論が示唆された。すなわち、種々の塩基を投与した後では、ラットの膀胱上皮におけるDNA合成量及び又は形態学的変化の程度は、尿中の Na^+ 又は K^+ 及び又はpHの変化ならびにアスコルビン酸の存在に依存している(Shibata et al., 1989b)。

ラット膀胱における2-フェニルフェノール及び2-フェニルフェノール ナトリウムの発がん性に関する尿pH及び Na^+ 濃度の役割については、以下の2回の実験により調べられた。最初の実験においては、ラット(一群雄36匹、Fischer 344)は、2-フェニルフェノール ナトリウム 20000 ppm(1000 mg/kg 体重/日相当)、2-フェニルフェノール 12500 ppm(625 mg/kg 体重/日相当)、炭酸水素ナトリウム 6400 ppm、2-フェニルフェノール 12500 ppm プラス炭酸水素ナトリウム 6400 ppm、2-フェニルフェノール 12500 ppm プラス炭酸水素ナトリウム 3200 ppm 又は2-フェニルフェノール 12500 ppm プラス炭酸水素ナトリウム 1600 ppm を含有する飼料を用いて、104週間、混餌投与された。体重は、14週までは、毎週、その後は、毎月、測定された。摂餌量は、1週間

あたり連続 2 日間、ケージごとに測定された。尿サンプルは、1 群あたりラット 4-6 匹を用いて、強制排尿により、採取された。そして、尿 pH については、2 年間の試験の間に、10 回、測定された。また、尿中電解質の測定に関しては、58、80 及び 96 週において、午前中 4 時間、飼料又は給水なしに、1 群あたりラット 3-4 匹を金属製の代謝ケージで個別飼育することによって行われた。生存したすべての動物は、実験終了時にと殺された。そして、剖検時に、異常所見について、肉眼的に注意深く検査された。組織学的検査のために、肝臓、腎臓及び肉眼的に病変を有する組織は、摘出、固定された。また、剖検については、試験期間中に、死亡又は瀕死状態になってと殺されたすべての動物について実施された。

すべての投与群において、試験期間中、体重増加は減少した。しかし、炭酸水素ナトリウムのみ 6400 ppm を投与された動物においては、体重増加の減少は試験後半になって発生し、減少量も少なかった。投与群においては、膀胱の絶対及び相対重量は、対照群に比べると有意に増加した。特に、2-フェニルフェノールプラス炭酸水素ナトリウム 6400 ppm を投与されたラットにおいては、有意に増加した。また、すべての投与群において、腎臓及び肝臓の相対重量は、対照群に比べると有意に増加した。104 週におけるラットの生存率は、2-フェニルフェノール ナトリウム投与群、それ以外の投与群及び対照群では、それぞれ、58%、68-84% 及び 73% であった。2-フェニルフェノールプラス炭酸水素ナトリウム 3200 又は 1600 ppm を混餌投与されたラットに比べると、2-フェニルフェノール ナトリウム又は 2-フェニルフェノールプラス炭酸水素ナトリウム 6400 ppm を混餌投与されたラットの膀胱には、肉眼的に、より多くの腫瘍が認められた。そして、2-フェニルフェノールを単独で混餌投与されたラット又は対照群のラットには、腫瘍は認められなかった。また、腫瘍に関係した結石形成は、どの投与群においても見られなかった。膀胱病変は、単純過形成、乳頭状又は結節状過形成、乳頭腫及びがんに分類された。2-フェニルフェノール ナトリウム混餌投与群又は 2-フェニルフェノールプラス炭酸水素ナトリウム 6400 ppm 混餌投与群のラットにおける膀胱がんの発生頻度は、対照群に比べると有意に高かった。

もう一方の実験においては、ラット(一群 5 匹)は、最初の実験のように、試験物質を補われた飼料を用いて、と殺前までの 8 週間、混餌投与された。尿中電解質及び pH については、2、4、6 及び 8 週に、そして、浸透圧は、4 及び 8 週に測定された。すべての動物は、8 週でと殺されたが、どの投与群においても、肉眼的に、結石は観察されなかった。走査型電子顕微鏡を使用して、膀胱の内腔表面を調べると、特に、2-フェニルフェノール ナトリウム又は 2-フェニルフェノールプラス炭酸水素ナトリウム 6400 ppm 混餌投与群のラットにおいて、種々の変化が明らかになった。以上の結果から、著者らは、2-フェニルフェノール ナトリウムの飼料中濃度が 20000 ppm の場合、雄ラットの膀胱に、発がん性を有すると結論した。一方、2-フェニルフェノールは、乳頭状又は結節状過形成を低い発生頻度で誘発したが、発がん性を有しなかった(Fukushima et al., 1989)。

各種の動物に、2-フェニルフェノール ナトリウム(純度不明)を 20000 ppm 含有する飼料を混餌投与することによって、膀胱病変の誘導に関する動物種差について調べられた。用いられた動物種(一群雄各 30 匹)は、以下のとおりである。ラット(Fischer 344)、マウス(B6C3 F₁)、シリアンゴールデンハムスター(Syrian golden)及びモルモット(Hartley)。体重及び摂餌量は、定期的に測定された。各投与群から 5 匹の動物は、4、8、12、24、36 及び 48 週に、そして、対照群から 5 匹の動物は、12 及び 48 週に、と殺された。尿量、pH、浸透圧及び顕微鏡像の測定のために、すべての動物から尿は、12 及び 48 週に、代謝ケージを用いて、4 時間採取された。摂餌量については、投与群及び非投与群の間で異なることはなかった。しかし、2-フェニルフェノール ナトリウ

ムの混餌投与に係る発育遅延が、特に、試験の最初の8週間において、認められた。また、肝臓の絶対重量については、投与群及び非投与群の間で同様であったが、相対重量については、すべての動物種において、わずかに増加した。膀胱における形態学的変化は、ラットにおいてのみ、顕著であった。すなわち、4週で単純過形成を示し、48週まで、発生頻度及び密度が増加した。乳頭状及び結節状過形成として分類される病変は、投与36週から、ラットに観察されたが、乳頭腫は認められなかった。走査電子顕微鏡による観察では、ラットのみ多形性微絨毛が認められ、時間の経過とともに、評点が増加した。その他の動物種に関しては、24及び48週でのマウスにおけるわずかな影響を除いて、増殖を示唆する変化は観察されなかった。ラットにおいては、尿pHは、わずかに増加した。一方、48週でのマウスを除き、その他の動物種における背景値は、通常、高値を示した。浸透圧については、2-フェニルフェノール ナトリウムの投与による影響を受けなかった。しかし、結晶形成がラット及びモルモットに見られた。そして、ラットにおいては、時間の経過とともに、わずかに増加した。以上の結果から、著者らは、以下のように結論した。すなわち、2-フェニルフェノール ナトリウムは、ラットの膀胱発がん物質である可能性があるが、マウス、モルモット又はハムスターの膀胱発がん物質である可能性はない (Hasegawa et al., 1990a)。

2-フェニルフェノール(純度、>99%)及び2-フェニルフェノール ナトリウム(純度、>99%)の投与に係るラットの膀胱発がん性に関する性差について調べられた。すなわち、ラット(一群雄雌各5又は6匹、Fischer 344)は、2-フェニルフェノール 12500 ppm(625 mg/kg 体重/日相当)、2-フェニルフェノール ナトリウム 20000 ppm(1000 mg/kg 体重/日相当)、炭酸水素ナトリウム 30000 ppm、塩化アンモニウム 10000 ppm、2-フェニルフェノールプラス炭酸水素ナトリウム、2-フェニルフェノール ナトリウムプラス塩化アンモニウムを含有する飼料を用いて、8週間、混餌投与された。体重、摂餌量及び飲水量は、毎週、測定された。新鮮尿サンプルは、8週に、すべてのラットから、強制排尿により、採取された。そして、尿pH及び浸透圧が、検査された。試験最後の週に、ラットは、飼料又は給水のない金属製の代謝ケージに移された、そして、代謝物の分析及び決定に十分な尿を集めるために、連続した3日間、7:00-13:00時まで、尿サンプルは、採取された。しかし、2-フェニルフェノール投与群又は2-フェニルフェノール ナトリウム投与群から集められた尿サンプルのみが、検査に用いられた。

実験が終了する前までには、動物の死亡例はなかった。そして、投与群間では、摂餌量に有意差はなかった。2-フェニルフェノール又は2-フェニルフェノール ナトリウムを投与された雄及び雌ラットのすべての投与群において、8週で体重は有意に低下した。すべての投与群において、尿pHは、未投与の雄に認められた7.0及び未処置の雌に認められた6.8から、有意に異なった値を示した。ただし、2-フェニルフェノール ナトリウムのみの投与群においては、尿pHは、対照群と同程度であった。炭酸水素ナトリウムのみの投与群は、最高のpH値を示した。炭酸水素ナトリウム投与群の後に、2-フェニルフェノールプラス炭酸水素ナトリウム投与群が続いた。一方、2-フェニルフェノールのみの投与群、2-フェニルフェノール ナトリウムプラス塩化アンモニウム投与群又は塩化アンモニウムのみの投与群に関しては、対照群よりも低いpH値を示した。対照群及び塩化アンモニウム投与群を除き、すべての投与群において、Na⁺濃度は、雌に比較して、雄はより高値を示した。2-フェニルフェノール ナトリウムのみの投与群において、雄のNa⁺濃度は、対照群よりもわずかに増加した。しかし、雌は増加しなかった。Na⁺濃度に関する塩化アンモニウムの抑制作用は、雌において、あまり明白ではなかった。尿中からは、非抱合型代謝物のみが確認された。2-フェニルフェノールのみの投与群においては、雄雌いずれの動物にも、尿路上皮の過形成性変化は認められなかった。一方、等モル用量の2-フェニルフェノール ナトリウム投与群にお

いては、雄ラットのみ、軽度の乳頭状及び結節状過形成又は単純過形成が誘発された。雌雄の間で応答性の違いの基になっているメカニズムに関しては、次のような推論が考えられる。すなわち、他の種類の抱合体型の排泄及びサッカリンナトリウム(sodium saccharin)を摂取したラットの尿に見出されたケイ酸塩結晶(silicate crystals)のような微結晶の生成などが可能性のあるメカニズムであるかも知れない(Hasegawa et al., 1991)。

2-フェニルフェノールの尿路上皮細胞に対する生理作用及びDNA付加体が生成する可能性に関して、ラットを用いて、調べられた。最初の実験においては、ラット(雄、Fischer 344)は、2-フェニルフェノール(純度、99.5%)を、0、1000、4000又は12500 ppmの用量で、13週間、混餌投与された。その結果、尿路結石(urinary calculi)、微結晶尿(microcrystalluria)又はリン酸カルシウム含有沈殿物(calcium phosphate-containing precipitate)に関する証拠は得られなかった。しかし、最高用量量においては、尿路上皮の細胞毒性及び過形成が認められた。第二回目の実験においては、ラットは、0、800、4000、8000又は12500 ppmの用量で、13週間、混餌投与された。その結果、尿pHは、すべての投与群で、pH7を超えた。最高用量群では、尿量が増加した。そして、浸透圧及びクレアチニンならびにその他の溶質濃度は、結果として減少した。また、2-フェニルフェノール代謝物の総量については、尿中排泄量は増加した。代謝物の大部分は、2-フェニルフェノール及びフェニルヒドロキノンならびに遊離2-フェニルフェノールの抱合体であった。そして、代謝物は、それぞれの用量において、2%未満を占めた。尿路上皮毒性及び過形成は、8000及び12500 ppm群でのみで発生した。尿路上皮においては、2-フェニルフェノール・DNA付加体は、どの用量においても、検出されなかった。わずかなパーセントを占める非抱合型代謝物及びDNA付加体が検出されなかったことから、2-フェニルフェノールは、化合物自体又はその代謝物がDNAに直接結合することなく、細胞毒性及び過形成を誘発することによって、雄ラットにおいて、膀胱発がん物質として作用することが示唆される(Smith et al., 1998)。

雌ラットの膀胱における2-フェニルフェノール ナトリウム及びその代謝物の発がん性については、雌ラットに、膀胱内注入をすることによって調べられた。すなわち、ラット(一群雌9匹、6週齢、Fischer 344)は、2-フェニルフェノール ナトリウム(純度、99%超)、フェニルベンゾキノン(phenylbenzoquinone) (純度、99%超)又はフェニルヒドロキノン(純度、99%超)の0.1%生理食塩水溶液の0.2 mLを尿道に、カテーテルを用いて、1回、2回又は4回、投与された。

2-フェニルフェノール ナトリウム、フェニルベンゾキノン及びフェニルヒドロキノンの各溶液のpH値は、それぞれ、pH11、6.5及び6.4であった。対照群には、生理食塩水又は水酸化ナトリウム水溶液(pH 11)が投与された。動物は、自発的な排尿を避けるために、投与の間と投与の後、さらに10分間、エーテルを用いて、浅麻酔下で維持された。そして、最終投与の24時間後、4日及び7日後に、各群から2匹あるいは3匹の動物は、エーテル麻酔下でと殺された。その結果、生理食塩水、フェニルベンゾキノン又はフェニルヒドロキノンの単回注入の24時間後にと殺されたラットの組織病理学的所見では、尿路上皮細胞の腫大及び空胞化が認められた。2-フェニルフェノール ナトリウム又は水酸化ナトリウムのアルカリ性水溶液を投与されたラットの膀胱上皮には、上皮組織及び粘膜下組織の軽度の浮腫及び炎症性細胞浸潤に付随した軽微な過形成が認められた。フェニルベンゾキノン投与された7日後に、と殺されたラットにおいては、中等度の上皮過形成が見られた。この代謝物を用いて、2又は4回、投与されたラットにおいては、過形成性変化に関する評点は、注入の回数及び最終投与と死亡

までの時間に明白に依存した。フェニルベンゾキノンの4回注入投与を受けて、最終投与の4日後にと殺されたラットにおいては、顕著な上皮過形成が認められ、乳頭状及び又は結節状過形成として分類された。しかし、がんは誘発されなかった。別の実験においては、ラット(一群雌20匹)は、5週間の期間中、1週間あたり2回投与されたことを除き、同様に投与された。そして、一部のラットは、6週から、プロモーション投与として、5%サッカリンナトリウム(sodium saccharin)で補った基礎飼料により、31週間、混餌投与された。一方、残りのラットは、この期間中、基礎飼料により、維持された。また、別の動物群には、陽性対照として、500 ppmのNBHBAを4週間投与された。それから、さらに、50000 ppmのサッカリンナトリウムが投与された。体重及び摂餌量は、定期的に測定された。陽性対照群における組織病理学的所見は以下のものであった。すなわち、ラット2匹の乳頭腫、ラット9匹の乳頭状及び又は結節状過形成及びラット11匹の単純過形成。対照的に、2-フェニルフェノール ナトリウム又はその代謝物を用いて、最初に投与した後に、サッカリンナトリウムでプロモーションさせたラットにおいては、過形成性変化は、認められなかった。ただし、フェニルベンゾキノンを投与された9匹のラットには、乳頭状及び又は結節状過形成及び又は単純過形成が認められた。膀胱の粘膜下組織におけるリンパ濾胞の形成に関しては、特に、フェニルベンゾキノンの投与群及び陽性対照群で認められた。以上から、著者らは以下のように結論した。すなわち、2-フェニルフェノール ナトリウムによって、誘発された膀胱発がんにおいて、フェニルベンゾキノンは、重要な役割を演じている(Hasegawa et al., 1990b)。

ラット膀胱における2-フェニルフェノール(純度不明)及び2-フェニルフェノール ナトリウム(純度不明)の発がん性に関する一連の実験が実施された。最初の実験においては、ラット(一群雄10匹、Fischer 344)は、2-フェニルフェノール ナトリウムを0、2500、5000、10000又は20000 ppmの濃度で含有する飼料を用いて、36週間、混餌投与された。ラットは、毎日観察され、体重は、定期的に測定された。その結果、20000 ppmで、体重増加は抑制された。肉眼的には、結石又は粘膜腫瘍は認められなかったが、組織学的に解析すると、20000 ppm群のラットにおいては、単純過形成(10/10匹)及び乳頭状又は結節状過形成(4/10匹)が認められて、膀胱病変の発生頻度が、統計学的に有意に増加していることが明らかになった。また、10000 ppm群のラットにおいては、単純過形成(1/10匹)が認められた。

第二回目の実験においては、ラット(一群雄5匹)は、2-フェニルフェノール又は2-フェニルフェノール ナトリウムを20000 ppm含有する飼料を用いて、4週間、混餌投与された。体重測定は、最終投与で実施された。その時点では、両方の処置群において、平均体重の抑制が見られた。すなわち、2-フェニルフェノール投与群及び2-フェニルフェノール ナトリウム投与群における平均体重は、それぞれ、対照群の86%及び96%に抑制された。と殺の1時間前に、各ラットは、5-ブロモ-2'-デオキシウリジン(BrdU)を100 mg/kg 体重の用量で、腹腔内投与された。そして、上皮細胞の増殖活性を調べるために、膀胱は、抗BrdU抗体を用いて、免疫組織化学的に染色された。膀胱上皮細胞1000個あたりBrdUを取り込んだ細胞数は、光学顕微鏡を用いて、計数された。そして、パーセント標識細胞として表された。2-フェニルフェノール ナトリウムを混餌投与されたラットにおいては、尿pHが上昇した。そして、膀胱上皮細胞は、広範囲にBrdUで標識され、DNA合成の増加が示唆された。一方、2-フェニルフェノールを混餌投与されたラットにおいても、同様に、BrdU-標識の増加傾向が示されて、弱いながらも、膀胱上皮細胞の増殖が示唆された。

第三回目の実験においては、ラット(一群雄5匹、Fischer 344)は、炭酸水素ナトリウム6400 ppm、2-フェニ

ルフェノール13000 ppm、2-フェニルフェノール13000 ppmプラス炭酸水素ナトリウム1600、3200又は6400 ppm、又は、2-フェニルフェノール ナトリウム20000 ppmを含有する飼料を用いて、8週間、混餌投与された。その結果、8週の尿pHは、以下の各投与群において、有意に増加した。すなわち、炭酸水素ナトリウムのみ、2-フェニルフェノールプラス炭酸水素ナトリウム3200又は6400 ppm、又は、2-フェニルフェノール ナトリウムの混餌投与群。また、尿中Na⁺濃度は、以下の各投与群において、有意に増加した。すなわち、2、4、6及び8週における2-フェニルフェノール ナトリウム投与群及び8週における炭酸水素ナトリウムのみ投与群又は2-フェニルフェノールプラス炭酸水素ナトリウム3200又は6400 ppm投与群。そして、8週においては、すべての投与群から得られた蓄尿サンプルは、対照群と比べると、尿量は、有意な増加又は増加傾向及び浸透圧は、有意な低下が認められた。膀胱の検査は、走査型電子顕微鏡によって行われた。その結果、対照群及び炭酸水素ナトリウムのみ投与群においては、膀胱の上皮表面は正常であった。そして、表面は、網様で微少突起を有する一様な形状の多角形細胞から構成されていた。また、投与動物においては、膀胱上皮の最外層にある細胞は、舗装状で玉石構造を呈した。そして、高倍率下では、これらの細胞表面に、多形性の微絨毛、短く均一な微絨毛及び縄状又は葉状の微少突起が観察された。これらの変化は、主として、2-フェニルフェノール ナトリウム又は2-フェニルフェノールプラス炭酸水素ナトリウム6400 ppmを混餌投与されたラットに観察された。また、変化の程度及び出現頻度は、2-フェニルフェノールとともに投与された炭酸水素ナトリウムの濃度と相関していた。

第四回目の実験においては、ラット(一群雄 30-31 匹、Fischer 344)は、2-フェニルフェノール ナトリウム 20000 ppm、2-フェニルフェノール 13000 ppm 又は 2-フェニルフェノール 13000 ppm プラス炭酸水素ナトリウム 1600、3200 又は 6400 ppm を含有する飼料を用いて、104 週間、混餌投与された。動物は、毎日、死亡の有無について観察された。体重及び摂餌量は、定期的に測定された。電解質の測定のために、4時間蓄尿サンプルは、各用量あたり 3 又は 4 匹ラットから、58、80 及び 96 週に採取された。その結果、尿 pH は、以下の投与群において、有意に上昇した。すなわち、2-フェニルフェノール ナトリウム投与群、2-フェニルフェノールのみ投与群、2-フェニルフェノールプラス炭酸水素ナトリウム 3200 又は 6400 ppm 投与群又は炭酸水素ナトリウム 6400 ppm のみの投与群。尿中 Na⁺濃度は、以下の各投与群において、有意に増加した。すなわち、2-フェニルフェノール ナトリウム、2-フェニルフェノールプラス炭酸水素ナトリウム 6400 ppm 又は炭酸水素ナトリウム 6400 ppm のみの混餌投与群。一方、2-フェニルフェノール ナトリウム又は 2-フェニルフェノールプラス炭酸水素ナトリウム 6400 ppm を混餌投与された動物群においては、差異は見られなかった。膀胱腫瘍は、2-フェニルフェノールのみ投与群を除き、すべての投与群において認められた。そして、2-フェニルフェノール ナトリウム及び 2-フェニルフェノールプラス炭酸水素ナトリウム 6400 ppm 投与群において、最も高い出現頻度を示した。結石の存在については、確認できなかった。膀胱上皮に関する組織学的検査から、単純過形成、乳頭状又は結節状過形成、乳頭腫及びがんの存在が明らかになった。ラットにおけるがんの発生率は、以下のようであった。2-フェニルフェノール ナトリウム(41%)、2-フェニルフェノールプラス炭酸水素ナトリウム 6400 ppm(31%) 及び炭酸水素ナトリウム 6400 ppm のみ。これらの結果から、2-フェニルフェノール ナトリウム 20000 ppm の投与は、雄ラットにおいては、発がん性を有することが確認された。一方、同一モル濃度の 2-フェニルフェノールでは、乳頭腫又はがんはなかった。すなわち、2-フェニルフェノールは、低い発生頻度で、乳頭状又は結節状過形成のみを引き起こしたが、乳頭腫又はがんを発生しなかった。しかし、2-フェニルフェノールとともに炭酸水素ナトリウムを投与すると、がんを引き起こした。そして、がんは、炭酸水素ナトリウム濃度に相関して発生した。また、炭酸水素ナトリウムの投与は、尿 pH 及び Na⁺濃度を増加させた(Inoue, 1993)。

2-フェニルフェノール及びその代謝物によるラット(雌雄、Fischer 344)の膀胱上皮におけるDNA損傷の誘導については、膀胱内注入の後、アルカリ溶出アッセイにより調べられた。フェニルベンゾキノン、0.05-0.1%で、動物のいずれの性においても、弱いDNA-損傷活性を有している。一方、2-フェニルフェノール及びフェニルヒドロキノン、同一用量では、その作用を有していない。組織病理学的検査から、雄ラットにおいて、0.1% フェニルベンゾキノンの注入の5日後では、びまん性で中等度の単純過形成の存在が明らかになった。また、病変は、粘膜下浸潤、小円形細胞及び軽度浮腫と関係していた。0.1% フェニルヒドロキノン注入されたラットの膀胱における唯一の変化は、上皮細胞の軽度腫大及び又は空胞化であった。そして、0.1% 2-フェニルフェノールを投与されたラットの膀胱は、正常であった(Morimoto et al., 1989)。

尿中フェニルベンゾキノンと膀胱上皮における DNA 損傷の間の相関関係を検討するために、ラット(一群 5-10 匹、Fischer 344)は、2-フェニルフェノール ナトリウムを 0、2500、5000、10000 又は 20000 ppm(0、250、500、1000 及び 2000 mg/kg 体重/日相当)の濃度で含有する飼料を用いて、5ヶ月まで、混餌投与された。その結果、3-5ヶ月間、10000 又は 20000 ppm を混餌投与された雄ラットの上皮においては、軽度ではあるが用量依存的な DNA 損傷が認められた。また、3ヶ月における DNA 損傷に関する用量-反応関係をプロットすると、2-フェニルフェノール ナトリウムは、5000 ppm の閾値を有することが示された。試験の5ヶ月後に、雄及び雌から採取された24時間蓄尿サンプルにおける非抱合型の2-フェニルフェノール、フェニルヒドロキノン及びフェニルベンゾキノンの量は、2-フェニルフェノール ナトリウムの飼料中濃度と良好な相関を示した。また、5000 ppm を投与された雄ラットの尿及び20000 ppm を投与された雌ラットの尿における遊離代謝物の総量は、同様であった。遊離代謝物は、2-フェニルフェノール ナトリウムの5000 ppm、10000 ppm 及び20000 ppm を投与された雄ラットにおける総平均摂餌量のそれぞれ、0.3%、0.8%及び1%に相当した。2-フェニルフェノール ナトリウムの20000 ppm を投与された雄ラットの尿中における遊離フェニルヒドロキノンの平均濃度は、5000 ppm を投与された雄又は20000 ppm を投与された雌に比べて、有意に高かった。フェニルヒドロキノンに比べると、フェニルベンゾキノンの濃度は、はるかに低かった。この理由として、フェニルベンゾキノンの添加尿からは、添加量の10%のみしか回収されなかったことから、この代謝物が尿中の求核基と反応する可能性が示唆される。以上の結果から、著者らは、次のように結論した。すなわち、フェニルベンゾキノン、2-フェニルフェノール及び2-フェニルフェノール ナトリウムによって誘発される膀胱腫瘍のイニシエーションにおける反応性化合物である(Morimoto et al., 1989)。

大腸菌プラスミドから得られたpUC18DNAと2-フェニルフェノール及びその代謝物との相互作用について、*in vitro*において、調べられた。混合機能オキシダーゼによって、2-フェニルフェノールから生成された主要な代謝物は、フェニルヒドロキノンであった。この結果から、以前の報告が確認された。すなわち、グルクロニド抱合型フェニルヒドロキノンは、2-フェニルフェノールを混餌投与されたラットの膀胱における主要な生成物であった。pUC18DNAがフェニルヒドロキノンとともにインキュベートされると、DNA鎖の切断が観察された。ところが、2-フェニルフェノール及びフェニルベンゾキノンに関しては、ほとんど検出できないほどのDNA切断しか認められなかった。フェニルヒドロキノンによるDNA切断は、スーパーオキシドジスムターゼ、カタラーゼ及び幾つかの酸素ラジカル スカベンジャーによって阻害されることから、水溶液中のフェニルヒドロキノンが酸化する過程で生じた酸素ラジカルが、DNA切断に関与していることが示唆された。一般的には、グアニン残基と反応するよ

うに考えられる。そして、反応は、特定の残基を有するグアニンに限定されなかったことから、ホットスポットを有さないことが示唆された(Nagai et al., 1990)。

2-フェニルフェノール、フェニルヒドロキノン又はフェニルベンゾキノンで処理された子牛胸腺DNAにおける8-ヒドロキシデオキシグアノシン(8-hydroxydeoxyguanosine)の生成に関して、*in vitro*において、調べられた。8-ヒドロキシデオキシグアノシン残基の含有量は、濃度依存的に、フェニルヒドロキノンで処理されたDNAにおいて増加した。一方、フェニルベンゾキノンほとんど作用がなく、そして、2-フェニルフェノールには、全く作用がなかった。フェニルヒドロキノンによる8-ヒドロキシデオキシグアノシンの生成は、酸素ラジカル スカベンジャーによって抑制された。そして、塩化第一銅(CuCl)又は塩化第二銅(CuCl₂)の添加によって促進された。このように、フェニルヒドロキノンが酸化する過程で生成されたヒドロキシルラジカルは、DNAにおける8-ヒドロキシデオキシグアノシンの生成に寄与している。そして、銅イオンは、酸化的DNA損傷を促進した。銅イオンは、*in vitro*において、フェニルヒドロキノン-誘発DNA切断を非常に加速したが、フェニルヒドロキノンの存在なしにはDNA切断に何ら作用を有さなかった。これとは対照的に、フェニルヒドロキノンの存在下及び非存在下において、塩化第一鉄(FeCl₂)を添加すると、DNAは切断された。以上から、膀胱DNAにおける8-ヒドロキシデオキシグアノシンの生成は、2-フェニルフェノールによって誘発された発がんにおける一連の事象の1つである可能性がある(Nagai et al., 1995)。

2-フェニルフェノール及びその代謝物の潜在的な肝毒性及び腎毒性に関する選択的ガンマ-グルタミルシステイン合成酵素(*gamma*-glutamylcysteine synthetase)阻害剤、ブチオニンスルホキシミン(*buthionine sulfoximine*)の作用について、ラット(雄4匹、Fischer 344/DuCrj)を用いて、調べられた。動物は、ブチオニンスルホキシミンを、0又は900 mg/kg 体重の用量で腹腔内注射された。そして、その1時間後に、2-フェニルフェノール、フェニルヒドロキノン又はフェニルベンゾキノン、0、700又は1400 mg/kg 体重の用量で、単回経口投与された。ラットは、6及び24時間後にと殺された。そして、アラニン及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性及び尿素窒素を測定するために、血清は採取された。肝臓及び腎臓は、摘出され、重量が測定された。また、肝臓及び腎臓のグルタチオンについても、測定された。

その結果、血清中のアミノトランスフェラーゼ活性の増加を伴った小葉中心性肝細胞の壊死によって示されたように、2-フェニルフェノールは、急性肝細胞障害を引き起こした。ブチオニンスルホキシミンによりあらかじめ投与すると、2-フェニルフェノールの肝及び腎毒性を増強したことから、肝臓及び腎臓は、その高用量における標的臓器であることが示唆された。2-フェニルフェノールは、投与の6時間後まで、肝臓及び腎臓のグルタチオンを枯渇させた。そして、この作用は、ブチオニンスルホキシミンによる前処理によって促進された。2-フェニルフェノールを700 mg/kg 体重の用量で投与されたラットよりも、1400 mg/kg 体重で投与されたラットにおいて、両臓器におけるグルタチオン濃度の回復は、より緩慢であった。この結果から、2-フェニルフェノールによって引き起こされた肝及び腎障害とグルタチオン枯渇が長引いたことの間には関係があること、そして、間接的に、肝臓に作用することが示唆された。フェニルベンゾキノン1400 mg/kg 体重で投与されたラットの75%は、24時間以内に死亡した。フェニルベンゾキノン700mg/kg 体重又はフェニルヒドロキノン1400 mg/kg 体重で投与されたラットにおいては、アラニンアミノトランスフェラーゼ活性は、有意に増加した。両群におけるアラニンアミノトランスフェラーゼ活性は、2-フェニルフェノール1400 mg/kg 体重の用量で投与されたラットの約2倍であ

った。フェニルベンゾキノン 700mg/kg 体重で投与されたラットにおいては、以下の所見が観察された。すなわち、肝臓重量のわずかな減少、核の凝縮、門脈周辺の肝細胞の好酸性変性、腎臓の相対重量の増加、軽度の腎乳頭壊死、尿細管の拡張、血清尿素窒素濃度の上昇。そして、フェニルヒドロキノン 1400 mg/kg 体重で投与されたラットにおいては、腎臓の相対重量は増加した。これらの結果から、フェニルベンゾキノン 700mg/kg 、フェニルヒドロキノン 1400 mg/kg は、肝臓及び腎臓に対して、より毒性を有することが示唆された(Nakagawa & Tayama, 1988)。

ラット肝臓におけるグルタチオンと2-フェニルフェノールの抱合化に関する*in vitro*及び*in vivo*の実験では、NADPH再生系において、 $[^{14}\text{C}]2$ -フェニルフェノールから生じた放射能標識は、非可逆的に、肝臓マイクロゾームの高分子に結合した。そして、システイン及びグルタチオンによって、結合は阻害された。 $[^{14}\text{C}]2$ -フェニルフェノールとグルタチオンがマイクロゾームのNADPH再生系において、インキュベートされると、インキュベーション混合物の水相から導かれた放射性標識体は、水溶性の合成フェニルヒドロキノン-グルタチオン抱合体と同様であった。そして、フェニルヒドロキノン-グルタチオン抱合体は、フェニルベンゾキノンとグルタチオンの間で、非酵素的反応によって生成した。フェニルヒドロキノン-グルタチオンは、2-フェニルフェノール 1000 mg/kg 体重の用量で、ラットに経口投与した後に、胆汁中にある微量な抱合体として排泄された。そして、6時間にわたる累積胆汁中の抱合体排泄量は、投与量の約4%であった。この結果から、2-フェニルフェノールの反応性中間体は、グルタチオンと付加体を形成して、水溶性の抱合体を生成することが示された。反応性中間体は、おそらく、フェニルヒドロキノンに由来するフェニルベンゾキノンである。グルタチオンは、細胞を傷害から保護するので、2-フェニルフェノールを高用量で投与することによって引き起こされた急性肝障害は、おそらく、細胞のグルタチオンを枯渇させる活性中間体(フェニルベンゾキノン)の生成と関係している(Nakagawa & Tayama, 1989)。

代謝と2-フェニルフェノールの細胞毒性の関係については、ラットの遊離肝細胞を用いて、調べられた。2-フェニルフェノールを細胞に高濃度で添加すると、用量依存的に毒性を示し、最高用量の 1.0 mmol/L で細胞死を起こした。肝細胞をSKF-525Aの非毒性用量である $5\text{ }\mu\text{mol/L}$ で前処理すると、2-フェニルフェノール(0.5 - 1.0 mmol/L)の細胞毒性は増強され、その結果、代謝は阻害された。さらに、低濃度(0.5 又は 0.75 mmol/L)においては、2-フェニルフェノールは、フェニルヒドロキノンに、その後、連続的に、グルタチオン抱合体へと変換された。両方の代謝物の濃度、特に、抱合体の濃度は、2-フェニルフェノール 1.0 mmol/L のみで又はSKF-525Aとともに処理された肝細胞では非常に低かった。2-フェニルフェノール(0.5 mmol/L)によって誘発された細胞毒性は、継続的に細胞グルタチオンを枯渇させるマレイン酸ジエチル(diethylmaleate)の 1.25 mmol/L を添加することによって、増強された。対照的に、 0.5 mmol/L のフェニルヒドロキノンによって誘発された細胞毒性は、 5 mmol/L のジチオトレイトール(dithiothreitol)、システイン(cysteine)、N-アセチル-L-システイン(N-acetyl-L-cysteine)又はアスコルビン酸(ascorbic acid)を、肝細胞に添加することによって、有意に抑制された。また、グルタチオン、蛋白質チオール類及びATPの損失も同様に抑制された。これらの結果から、2-フェニルフェノール 1.0 mmol/L における急性の細胞毒性は、直接作用であり、細胞グルタチオンが長期間、枯渇したために、低濃度における2-フェニルフェノール代謝物の細胞毒性が増強された結果であることが示唆された。そして、フェニルヒドロキノンの細胞毒性は、システイン、グルタチオン又はアスコルビン酸の添加によって、有意に抑制された(Nakagawa et al., 1992)。

ラット(一群雄22匹、CDF (Fischer 344)/BR)は、2-フェニルフェノール(純度、99.5%)を0、800、4000、8000又は12 5000 ppm(0、56、280、560及び920 mg/kg 体重/日相当)の濃度で含有する飼料を用いて、13週間、混餌投与された。そして、代謝物及び尿特性を測定するために、それぞれ、12-13週及び13-14週の期間、尿は採取された。別に、³²P-ポストラベリング法(³²P-postlabelling)により、尿路上皮を解析するために、1群当たり12匹の動物は、14週にと殺されて、膀胱は摘出された。また、と殺された動物の内、1群当たり10匹の動物は、組織病理学的評価のために、光学顕微鏡及び走査電子顕微鏡ならびに標識細胞指数(labeling index)の測定に供された。その結果、8000及び12500 ppm投与群における体重増加は、約10%抑制された。しかし、試験されたすべての投与群において、摂餌量に影響は見られなかった。組織学的検査から、8000及び12500 ppm投与群においては、膀胱の有意な変化とともに、尿路上皮の単純過形成が認められた。すべての投与群において、主要な抱合体は、硫酸抱合体であったが、主要な尿中代謝物は、2-フェニルフェノールのグルクロニド及び硫酸抱合体及び水酸化された代謝物であるフェニルヒドロキノンであった。そして、すべての投与群において、微量の遊離2-フェニルフェノール及びフェニルヒドロキノンが認められた。遊離フェニルヒドロキロンは、測定された全代謝物の0.6-1.5%を構成した。また、8000及び12500 ppmでは、膀胱上皮の標識細胞指数(labeling index)の増加が観察された。³²P-ポストラベリング法により尿路上皮DNAを検索したところ、2-フェニルフェノール-DNA付加体の形成に関する証拠は得られなかった。

以上の結果から、著者らは、以下のような結論を導いた。すなわち、膀胱上皮の過形成反応は、8000及び12500 ppmの2-フェニルフェノールに暴露された後に、出現する。2-フェニルフェノールは、これらの用量において、雄ラットの膀胱に対して、明確に発がん性を示すが、その理由は、軽度の細胞毒性及びその結果として生じた再生性過形成によるものである。さらに、細胞分裂活性(標識細胞指数)が増加していること及び尿中にある微量の遊離フェニルヒドロキノンの存在ならびに膀胱上皮におけるDNA付加体が欠如していることから、2-フェニルフェノールに暴露した雄ラットにおける膀胱発がんには、おそらく、膀胱上皮に対する、間接的で、用量依存的な細胞毒性作用が介在していることが示唆される。そして、2-フェニルフェノールの細胞毒性作用は、再生性過形成を、さらに、その結果としての腫瘍形成をもたらした。すなわち、2-フェニルフェノールは、化合物自体の代謝活性化によって、2-フェニルフェノール-DNA付加体を形成可能な反応性代謝物に導くことよりも、むしろ、遺伝子外の起源(epigenetic origin)によって、腫瘍が形成される (Christenson et al., 1996a)。

ラット(一群雄20-30匹、CDF(Fischer344)/BR)は、2-フェニルフェノール(純度、99.9%)を0、1000、4000又は12500 ppm(0、54、220又は680 mg/kg 体重/日相当)の濃度で含有する飼料を用いて、13週間、混餌投与された。対照群及び高用量群の動物には、4週間の回復期間が設けられた。化学物質の分析及び電子顕微鏡による評価のために、経時的に、尿の採取が行われた。そして、組織化学的評価のために、4、13及び17週の期間に、回復群の動物はと殺され、膀胱が摘出された。また、と殺された動物は、組織病理学的評価のために、光学顕微鏡及び電子顕微鏡ならびに標識細胞指数(labeling index)の測定に供された。

その結果、体重増加は、12500 ppm群のラットのみ減少した。そして、摂餌量は、すべての用量で、影響は見られなかった。1週間ごとの臨床所見からは、4000及び12500 ppm群においては、着色尿の発生頻度に増加が見られた。また、投与動物の尿沈渣には、異常沈殿物又は結晶は、認められなかった。尿路上皮の過形成は、13週間の後、12500 ppm群においてのみ観察された。そして、投与の影響は、4週間、対照飼料で動物

を維持すると消失した。2-フェニルフェノールで、4及び13週間、暴露すると、12500 ppm群のラットの膀胱には、壊死巣が観察された。そして、13週間では、膀胱には、再生性過形成の証拠が認められた。高用量群の動物には、4及び13週間で、膀胱の標識細胞指数(labeling index)の増加が見られたが、4週間の回復期間の後、対照値に戻った。この結果から、尿路上皮における増殖性変化の可逆性が確認された。この実験結果から、以下のような作用機序が示唆される。すなわち、2-フェニルフェノールは、尿路上皮に対する細胞毒性作用を伴うメカニズムによって作用する。そして、この作用により、再生的で可逆的な過形成を生ずる結果となる。しかしながら、異常な結晶尿(crystalluria)又はカルシウムリン酸塩含有非結晶性沈殿物(calcium phosphate-containing amorphous precipitate)に関するどちらの証拠も見いだされていないことから、細胞毒性の起源については、いまだ、明らかになっていない(Christenson et al. 1996b)。

種々のナトリウム塩を混餌投与されたラットを用いて、ラット膀胱上皮の細胞増殖の誘導に関する膀胱の拡張、尿pH及びNa⁺濃度の相対的重要性が調べられた。すなわち、5%炭酸水素ナトリウムを含有する飼料を混餌投与された雄ラットの膀胱上皮においては、複製細胞数が増加、拡張、尿pHの上昇及びNa⁺濃度の高値が認められた。同様に、*in vivo*において、機械的(雌)又は生理的(雄)な方法より、膀胱が拡張されると、細胞増殖が起こった。炭酸カルシウム(CaCO₃)を飼料中に混入すると、その他の因子を変化させることなしに、尿pHは上昇したが、細胞増殖を誘導しなかった。しかし、炭酸カルシウムと機械的又は生理的な投与を併用すると、細胞増殖は増加した。従って、原因因子として、尿pHの高値は、膀胱拡張に対しては、二次的な重要性を有するが、一旦拡張が起こると、細胞増殖を促進するように作用した。同様の所見は、Na⁺濃度に関しても認められた。以上の結果から、著者らは、以下のように結論した。すなわち、ナトリウム塩を高濃度で含有する飼料を混餌投与されたラットの膀胱において、膀胱の拡張は、上皮細胞の増殖のための必要条件である。そして、尿pH及びNa⁺濃度における変化によって、細胞増殖の程度が決定される(Shioya et al., 1994)。

3. ヒトにおける所見 (原文 p.23)

2-フェニルフェノールの毒性に関する初期の試験の一つにおいては、ヒトに対する2-フェニルフェノール及びそのナトリウム塩の暴露による皮膚刺激性及び感作性が評価された。そして、無作為に選ばれた男女各100人を対象として、試験は実施された。それぞれの被験者の背中の皮膚に、試験物質を含浸させたパッチで、直接、接触させてから、不浸透性フィルムで覆い、テープでしっかりとその場所に固定された。最初のパッチは、5日間、継続的に、皮膚に接触させてから、除去され、皮膚反応について、調べられた。第二回パッチは、最初のパッチを除去してから3週間後に、同様に適用され、48時間、皮膚と直接、接触させた。各被験者は、第二回パッチを除去後、直ちに、そして、3日及び8日後に、再度検査された。その結果、ゴマ油に溶解させた5% 2-フェニルフェノール溶液は、一次刺激性又は感作性を引き起こさなかった。しかし、2-フェニルフェノール ナトリウムは、5%又は1%水溶液として、適用された場合、有意に、刺激性を示した。また、0.5%溶液は、非常に軽度の、単純な刺激性を引き起こしたが、0.1%溶液は、刺激性及び感作性を引き起こさなかった (Hodge et al., 1952)。

コメント (原文 p.23)

2-フェニルフェノール及びそのナトリウム塩を、マウスとラットに経口投与すると、吸収は、速やかに且つ良好(95%)で、広範囲に分布する。同様に、排泄についても、これらの動物種においては、速やかに排泄され、ほとんど48 時間以内に完了する。そして、主として、尿中(およそ90%)及び糞中(およそ5%)に排泄される。また、標識放射能(1%未満)は、膀胱を含めた臓器及び組織中にほとんど保持されない。2-フェニルフェノールをヒトに経皮適用すると、適用した投与量の約43%は、皮膚から吸収され、約58%は皮膚洗浄液及び保護用の覆いに回収された。吸収された標識放射能の大部分は、尿(99%)から回収された。そして、糞からは、吸収量の1%しか回収されなかった。吸収及び排泄に関する半減期は、それぞれ、10 時間及び0.8 時間であった。標識放射能は、速やかに尿中に排泄されたことから、2-フェニルフェノールに繰り返し暴露されたヒトにおいては、体内に蓄積する可能性は低いことが示唆される。マウス、ラット及びヒトにおいては、試験された種々の用量で、両化合物に関する代謝プロファイルは、同様であった。主要な代謝経路は、2-フェニルフェノールの抱合化又はフェノール環の5位における水酸化、そして、引き続いて起こるグルクロニド又は硫酸との抱合化である。親化合物については、尿中に微量(0.4%)が検出された。そして、オレンジ及び梨に認められた残留物の約90%は、2-フェニルフェノール又はその抱合体であることから、植物における代謝プロファイルからは、毒性学的に、懸念は生じなかった。

2-フェニルフェノール及びそのナトリウム塩を、マウス及びラットに経口投与させた場合、急性毒性は弱く、LD₅₀は、600-3500 mg/kg 体重まで、広範囲にわたっている。2-フェニルフェノール及びナトリウム塩は、急性毒性に関して、世界保健機関(WHO)によって分類されていない。

2-フェニルフェノール及びそのナトリウム塩には、ウサギにおいて、重度の皮膚刺激性が認められた。同様に、ナトリウム塩には、ヒトにおいて、重度の皮膚刺激性が認められた。また、2-フェニルフェノールには、ウサギにおいて、眼刺激性が認められた。一方、ナトリウム塩には、中等度の眼刺激性が認められた。どちらの化学物質についても、モルモット又はヒトにおいて、遅延型接触過敏症を引き起こすことはなかった。

中期及び長期毒性試験では、雄及び雌ラットにおいて、2-フェニルフェノール及びナトリウム塩の両化合物に関する主要な標的臓器は、毒性学的に、膀胱と考えられた。すなわち、200 mg/kg 体重/日以上用量を投与された雄ラットの膀胱においては、両化合物に関して、過形成、乳頭腫及び移行上皮がんが認められた。投与開始から3 日では、細胞分裂の増加が観察された。そして、14 日では、肥厚化、すなわち、単純過形成が認められた。一方、雌ラットにおいては、過形成及び乳頭腫が観察された。しかし、雄に比べると、はるかに低い発生頻度であった。また、雄及び雌マウスにおいては、肝臓は、一次標的器官であった。2-フェニルフェノールの場合、500 mg/kg 体重/日以上用量で、肝臓の相対重量の増加及び肝細胞腺腫の発生頻度の増加が認められた。マウス及びラットにおいて、体重増加の抑制は、共通する所見であった。そして、90 日試験においては、2-フェニルフェノールに関する無毒性量(NOEL)は、ラット及びイヌにおいて、それぞれ、6300 ppm(760 mg/kg 体重/日相当)及び 300 mg/kg 体重/日(1 年間までの試験における最高用量)であった。ナトリウム塩に関する無毒性量(NOEL)は、マウス及びラットにおいて、それぞれ、5000 ppm(550 mg/kg 体重/日相当)及び 2500 ppm(180 mg/kg 体重/日相当)であった。また、ラットを用いた1 年間毒性試験においては、2-フェニ

ルフェノールに関する無毒性量(NOAE)は、800 ppm(39 mg/kg 体重/日相当)であった。マウス及びラットを用いた2年間発がん性試験においては、2-フェニルフェノールに関する無毒性量(NOAE)は、それぞれ、250 mg/kg 体重/日及び800 ppm(39 mg/kg 体重/日相当)であった。また、ナトリウム塩による2年間発がん性試験においては、発がん性に関する無毒性量(NOAE)は、マウス及びラットの場合、それぞれ、20000 ppm(3000 mg/kg 体重/日相当)及び2500 ppm(95 mg/kg 体重/日相当)であった。以上から、本会議においては、以下のように結論した。すなわち、2-フェニルフェノール及びそのナトリウム塩の両化合物は、雄ラットに発がん性を有する。そして、2-フェニルフェノールは、マウスに発がん性を有する。

2-フェニルフェノールの遺伝毒性活性に関しては、そのナトリウム塩に比べると、より広範囲に試験が実施された。その様な制限のもとで、2種類の化合物に関する結果は、同様であった。ところが、どちらかの化合物を投与されたラットにおいては、膀胱DNAとの共有結合に関するデータは、矛盾する結果となった。2-フェニルフェノールは、哺乳類培養細胞に染色体異常を誘発した。しかし、*in vivo*においては、陰性の結果が得られた。以上から、本会議は、2-フェニルフェノールの遺伝毒性作用に関しては、まだ、未解決の問題があると結論した。

雄ラットの膀胱に対する2-フェニルフェノール及びそのナトリウム塩の発がん性作用に関するメカニズムを解明するために、幾つかの実験が実施された。すなわち、どちらの化合物も、雌ラットに、膀胱発がん性を示さなかっただけでなく、同様に、マウス、モルモット又はハムスターの雄あるいは雌に、膀胱発がん性を示さなかったことによる。しかしながら、尿pH又はナトリウム濃度の上昇には、促進効果が認められたものの、明らかなメカニズムについては、まだ、分かっていない。雄ラットの膀胱発がんに関しては、ナトリウム塩を用いた実験からある程度の証拠が得られた。すなわち、初期炎症とそれに続く過形成が関与している可能性がある。さらに、³²P-ポストラベル法 (³²P-postlabelling)を用いると、雄ラットでは、2-フェニルフェノール及びそのナトリウム塩と膀胱DNAとの結合について、確認された実験があるもののそれ以外の実験では確認されなかった。また、代謝物であるフェニルヒドロキノン及びジヒドロキシビフェニルの遺伝毒性に関しては、親分子と同様であると見なされている。

以上から、本会議は、以下のように結論した。すなわち、2-フェニルフェノールに暴露された雄ラットに観察された膀胱腫瘍及び雄マウス観察された肝臓腫瘍に関しては、動物及び動物の性に特有なしきい値現象である。従って、2-フェニルフェノールは、ヒトに対して、発がん性のリスクを有する可能性は低い。この結論に関しては、本会議は、IARCが招集した作業部会による以下の分類について、認識していた。すなわち、2-フェニルフェノール・ナトリウム塩は、グループ2B(人に対して発がん性がある可能性がある)及び2-フェニルフェノールはグループ3(人に対する発がん性については分類できない)。しかしながら、本会議は、次の点にも留意した。すなわち、IARCの分類は、有害性の確認(hazard identification)に基づいており、リスク評価(risk assessment)に基づいていないこと、そして、さらに、毒性及び発がん性に関する公開された文献に限定されており、未公開の試験については、除外されている。

ラットを用いた生殖毒性に関する2世代試験においては、2-フェニルフェノールは、試験された最高用量である460 mg/kg体重/日においても、生殖毒性を有しなかった。発がんに関する全体的な無毒性量(NOAE)は、雄ラットにおいて、120 mg/kg体重/日以上用量で、膀胱腫瘍が認められたことから、92 mg/kg体重/日で

あった。

2-フェニルフェノール及びそのナトリウム塩に関するマウスを用いた発生毒性試験における無毒性量 (NOAEL)は、以下のようであった。すなわち2-フェニルフェノールに関する無毒性量は、母動物毒性及び胎児毒性については、1500 mg/kg体重/日(試験された最小用量)未満であった。また、催奇形性については、2100 mg/kg体重/日(試験された最高用量)であった。一方、ナトリウム塩に関する無毒性量は、母動物毒性、胎児毒性及び催奇形性については、それぞれ、100 mg/kg体重/日(試験された最小用量)未満、100 mg/kg体重/日及び400 mg/kg体重/日(試験された最高用量)であった。ラットを用いた発生毒性に関する2試験においては、2-フェニルフェノールに関する全体的な無毒性量(NOAEL)は、母動物毒性、胎児毒性及び催奇形性については、それぞれ、150 mg/kg体重/日、300 mg/kg体重/日及び700 mg/kg体重/日(試験された最高用量)であった。また、ウサギを用いた発生毒性に関する2試験においては、2-フェニルフェノールに関する全体的な無毒性量(NOAEL)は、母動物毒性、胎児毒性及び催奇形性については、それぞれ、100 mg/kg体重/日、500 mg/kg体重/日及び750 mg/kg体重/日(試験された最高用量)であった。

以上から、本会議では、2-フェニルフェノールの一日摂取許容量(ADI)として、0-0.4 mg/kg体重/日を設定した。一日摂取許容量の設定根拠は、以下に基づいた。すなわち、2年間毒性試験の無毒性量である39 mg/kg体重/日(体重増加の減少及び膀胱の過形成に基づき)及び雄ラットにおける膀胱発がん性ならびに100の安全係数。

また、本会議では、2-フェニルフェノールの急性毒性は低いことから、急性参照用量を設定する必要はないことを決定した。

毒性評価 (原文 p.24)

毒性影響を引き起こさない2-フェニルフェノールの用量

マウス:250 mg/kg 体重/日未満(発がん性に関する) (試験された最小用量;毒性及び発がん性に関する2年間試験)

1500 mg/kg 体重/日未満(試験された最小用量;発生毒性試験;母動物毒性)

2100 mg/kg 体重/日(試験された最高用量;発生毒性試験;催奇形性なし)

ラット:800 ppm(39 mg/kg 体重/日相当) (毒性及び発がん性に関する2年間試験)

460 mg/kg 体重/日(生殖毒性に関する2世代試験;生殖毒性なし;試験された最高用量)

92 mg/kg 体重/日(生殖毒性に関する2世代試験;発がん性)

150 mg/kg 体重/日(発生毒性試験;母動物毒性)

300 mg/kg 体重/日(発生毒性試験;発生毒性)

700 mg/kg 体重/日(発生毒性試験;催奇形性)

ウサギ:100 mg/kg 体重/日(発生毒性に関する2試験;母動物毒性)

500 mg/kg 体重/日(発生毒性に関する2試験;胎児毒性)

750 mg/kg 体重/日(発生毒性に関する2試験;催奇形性)

イヌ:750 mg/kg 体重/日(試験された最高用量;1年間毒性試験)

ヒトにおける一日摂取許容量の推定

0-0.4 mg/kg 体重

急性参照用量の推定

不必要

化合物の継続的評価のために、有用な情報を提供する可能性のある試験

1. 雄ラットにおける膀胱腫瘍のメカニズムに関する試験
2. ヒトにおける追加所見

食物経路又は非食物経路による2-フェニルフェノール(特に定めない限り)への暴露に関して、指針値の推定に関する毒性評価項目

哺乳動物における吸収、分布、排泄及び代謝

吸収速度及び吸収率	迅速(24時間)及び完全(95-100%)、マウス及びラット
経皮吸収	迅速及び良好(43%)、ヒト
分布	組織においては、低濃度(1%未満)、マウス及びラット
蓄積の可能性	蓄積しない、マウス、ラット及びヒト

排泄速度及び排泄率 動物における代謝	迅速(24 時間)及び完全(95-100%)、マウス、ラット及びヒト 2-フェニルフェノール及びフェニルヒドロキノンのグルクロニド及び硫酸塩、マウス及びラット
毒物学的に重要な化合物	2-フェニルフェノール(動物、植物及び環境)

急性毒性

ラット、LD ₅₀ 、経口	2800 mg/kg 体重
ウサギ、LD ₅₀ 、経皮	> 5000 mg/kg 体重
ウサギ、LC ₅₀ 、吸入(4 時間)	> 36 mg/m ³ 空気 (エアロゾル)
皮膚刺激性	2-フェニルフェノール及びそのナトリウム塩: 重度の皮膚刺激性 ウサギ
眼刺激性	2-フェニルフェノール: 眼刺激性、ウサギ ナトリウム塩: 軽度眼刺激性、ウサギ
皮膚感作性	2-フェニルフェノール及びそのナトリウム塩: 皮膚感作性なし、 モルモット及びヒト

短期毒性

標的臓器/重要な影響	体重減少、マウス及びラット、膀胱腫瘍、雄ラット
関連する最小経口毒性 NOAEL	300 mg/kg 体重/日、イヌ
関連する最小経皮毒性 NOAEL	NOAEL なし、1000 mg/kg 体重/日、試験された最高用量、ラット
関連する最小吸入毒性 NOAEL	試験されていない

遺伝毒性

解明されていない問題

長期毒性及び発がん性

標的臓器/重要な影響	膀胱、雄ラット 肝臓、雄及び雌マウス
関連する最小長期毒性 NOAEL	39 mg/kg 体重/日、雄ラット
発がん性	膀胱腫瘍、雄ラット 肝臓腫瘍、雄及び雌マウス

生殖毒性

生殖に関わる標的臓器/重要な影響	生殖毒性なし、ラット
関連する最小生殖毒性 NOAEL	460 mg/kg 体重/日、試験された最高用量、ラット
発生に関わる標的臓器/重要な影響	母動物の毒性用量における発生毒性、マウス

関連する最小発生毒性 NOAEL 300 mg/kg 体重/日、ウサギ

神経毒性/遅延神経毒性

発生・神経行動毒性の証拠なし、ラット
神経毒性又は神経病理の証拠なし、中期及び長期試験、マウス、ラット、
イヌ又は発生毒性試験、マウス、ラット及びウサギ

その他の毒性試験

医療データ 皮膚刺激性なし、2-フェニルフェノール
皮膚刺激性、ナトリウム塩

まとめ	値	試験	安全係数
一日摂取許容量(ADI)	0-0.4 mg/kg 体重	長期毒性試験 及び発がん性試験、ラット	100
急性参照用量の推定	不要		

文献

2-フェニルフェノールの毒性試験と結果の概要（評価書:JMPR 1999）

(2-フェニルフェノール ナトリウム、フェニルヒドロキノン及びフェニルベンゾキノンについては、それぞれ、Na塩、PHQ及びPBQと略す)

試験の種類	供試動物等	投与量	結 果
急性毒性(経口)	マウス	-	LD ₅₀ :1200 mg/kg 体重(雄) 1100 mg/kg 体重(雌)
急性毒性(経口)	マウス	-	LD ₅₀ :3500 mg/kg 体重(雄) 3200 mg/kg 体重(雌)
急性毒性(経口)	ラット	-	LD ₅₀ :2600 mg/kg 体重(雄) 2900 mg/kg 体重(雌)
急性毒性(経口)	ラット	-	LD ₅₀ :2800 mg/kg 体重(雄) 2800 mg/kg 体重(雌)
急性毒性(吸入)	ラット	-	LC ₅₀ (4 時間):> 36mg/L(雄) > 36mg/L(雌)
急性毒性(経皮)	ウサギ	-	LD ₅₀ :> 5000 mg/kg 体重(雄) > 5000 mg/kg 体重(雌)
急性毒性(経口)	マウス	(Na 塩)	LD ₅₀ :900 mg/kg 体重(雄) 800 mg/kg 体重(雌)
急性毒性(経口)	ラット	(Na 塩)	LD ₅₀ :1700 mg/kg 体重(雄) 1600 mg/kg 体重(雌)
急性毒性(経口)	ラット	(Na 塩)	LD ₅₀ :1100 mg/kg 体重(雄) 1100 mg/kg 体重(雌)
急性毒性(経口)	ラット	(Na 塩)	LD ₅₀ :850 mg/kg 体重(雄) 590 mg/kg 体重(雌)
短期試験(混餌, 90 日間)	ラット(雄)	20000 ppm(1000 mg/kg 体重/日)	摂餌量・体重減少, 腎臓病変(限局性皮質嚢胞, 限局性尿細管虚脱, 皮質萎縮, 嚢胞変性), 尿比重減少, 血尿
短期試験(混餌, 12 週間)	ラット (雄雌)	0, 1300, 3100, 6300, 13000, 25000 ppm(雄:0, 180, 390, 760, 170, 2800 mg/kg 体重/日, 雌:0, 200, 410, 800, 1700, 3000 mg/kg 体重/日)	25000:(雄雌) 体重・体重増加抑制, ヘモグロビン濃度減少, (雄) 臓器の絶対・相対重量減少 13000:(雄) 体重・体重増加抑制, NOAEL=6300 ppm(760 mg/kg 体重/日)
短期試験(経皮, 21 日間)	ラット (雄雌)	0, 100, 500, 1000 mg/kg 体重/日	1000, 500:(雄雌) 皮膚刺激性, 落屑, 皮膚亀裂
皮膚一次刺激性	ウサギ (雄雌)	0.5 mL	軽度-重度の浮腫, 痂皮, 癬痕
皮膚一次刺激性	ヒト (男女)	5%(ゴマ油中)	一次刺激性なし
眼刺激性	ウサギ	0.1 g	中等度角膜傷害・虹彩炎, 中等度-重度結膜発赤, 結膜浮腫
皮膚感作性	モルモット(雄)	0.4 g x 3 回, 誘導 0.4 g, 惹起	皮膚感作性なし
皮膚感作性	モルモット(雄)	0.4 g x 3 回, 誘導 7.5% 0.4 mL, 惹起	皮膚感作性なし

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
皮膚感作性	ヒト (男女)	5%(ゴマ油中)	皮膚感作性なし
皮膚一次刺激性	ヒト (男女)	(Na 塩) 0.1, 0.5%, 1, 5%水溶液	>=0.5:一次刺激性あり
眼刺激性	ウサギ	(Na 塩) 1:200 水溶液	軽度刺激性
皮膚感作性	モルモット(雄)	(Na 塩) 水懸濁液 0.4 mL, 誘導 0.1%水溶液0.4 mL, 惹起	皮膚感作性なし
皮膚感作性	ヒト (男女)	(Na 塩) 0.1, 0.5%, 1, 5%水溶液	0.1:皮膚感作性なし
短期試験(経口, 4 週間)	イヌ (雄雌)	0, 100, 200, 300 mg/kg 体重/日, 5日 /週間	>=200:嘔吐 毒性影響なし
短期試験(経口, 1 年間)	イヌ (雄雌)	0, 30, 100, 300 mg/kg 体重/日, 5日 /週間	300:嘔吐 毒性影響なし NOAEL=300
短期試験(混餌, 13 週間)	マウス (雄雌)	(Na 塩) 0, 2500, 5000, 10000, 20000, 40000 ppm(0, 270, 550, 1100, 2200, 4400 mg/kg 体重/日)	40000:(雄雌) 体重増加抑制, 尿 pH 上昇, 尿 比重減少 20000:(雄) 体重増加抑制 10000:(雄) 体重増加抑制 >=10000:肝臓相対重増加 NOAEL=5000 ppm(550 mg/kg 体重/日)
短期試験(混餌, 90 日間)	ラット(雄)	(Na 塩) 20000 ppm	20000:膀胱上皮の細胞分裂増加・肥厚(単純過 形成)
短期試験(混餌, 13 週間)	ラット (雄雌)	(Na 塩) 0, 1250, 2500, 5000, 10 000, 20000, 40 000 ppm(雄:0, 85, 180, 350, 710, 1400, 2500 mg/kg 体重/ 日, 雌:0, 87, 180, 350, 690, 1300, 2400 mg/kg 体重/ 日)	40000:腎盂腎炎, (雌) 膀胱腫瘍(乳頭腫) >=10000:(雄) 膀胱腫瘍 >=5000:体重増加減少 NOAEL=2500 ppm (180 mg/kg 体重/日)
長期毒性・発がん 性試験(混餌, 2年 間)	マウス (雄雌)	0, 250, 500, 1000 mg/kg 体重/日	>=500:(雄雌)体重・体重増加減少, (雄) 肝臓に 腫瘤/結節, 肝細胞腺腫 >=250:肝臓の絶対・相対重量増加, (雄) 肝細 胞の好酸性病巣 250:(雄)体重・体重増加減少 NOAEL=250 mg/kg 体重/日(発がん性)
長期毒性・発がん 性試験(混餌, 91 週間)	ラット(雄)	0, 6300, 13000, 25000 ppm(0, 320, 650, 1300 mg/kg 体重/日)	>=13000:膀胱乳頭腫, 移行上皮がん, >=6300:膀胱腫瘍

試験の種類	供試動物等	投与量	結 果
長期毒性・発がん性試験(混餌, 2年間)	ラット(雄雌)	0, 800, 4000, 8000/10000 ppm(雄:0, 39, 200, 400 mg/kg 体重/日, 雌:0, 49, 240, 650 mg/kg 体重/日)	10000:(雄雌) 着色尿, (雌) 腎臓陥凹領域・異常質感 8000:(雄) 着色尿, 血尿, (雌) 着色尿 >=4000:体重増加抑制, (雄) 膀胱腫瘍, 膀胱過形成・移行上皮がん 4000:(雌) 着色尿 NOAEL=800 ppm(39 mg/kg 体重/日)(毒性・発がん性)
長期毒性・発がん性試験(混餌, 96週間)	マウス(雄雌)	(Na 塩) 0, 5000, 10000, 20000 ppm(雄:0, 590, 1400, 3000 mg/kg 体重/日, 雌:0, 780, 1500, 3100 mg/kg 体重/日)	20000:(雄雌) 体重減少 >=5000:(雌) 体重減少, アルカリホスファターゼ活性増加 NOAEL=20000 ppm(3000 mg/kg 体重/日)(発がん性)
長期毒性・発がん性試験(混餌, 91週間)	ラット(雄雌)	(Na 塩) 0, 1250, 2500, 5000, 10000, 20000, 40000 ppm(0, 70, 140, 270, 550, 1100, 2200 mg/kg 体重/日)	>=5000:膀胱乳頭腫・移行上皮がん, 腎臓移行上皮がん NOAEL=2500 ppm(270 mg/kg 体重/日)
長期毒性・発がん性試験(混餌, 104週間)(第一回試験)	ラット(雄雌)	(Na 塩) 雄:0, 7000, 20000 ppm, 雌:0, 5000, 10000 ppm	10000:(雌) 膀胱腫瘍・移行上皮がん >=7000:(雄) 膀胱腫瘍・移行上皮がん >=5000:(雌) 膀胱腫瘍
長期毒性・発がん性試験(混餌, 104週間)(第二回試験)	ラット(雄雌)	(Na 塩) 雄:0, 2500, 7000, 20000 ppm(0, 95, 270, 770 mg/kg 体重/日), 雌:0, 2500, 5000, 10000 ppm(0, 110, 220, 470 mg/kg 体重/日)	10000:(雌) 膀胱移行上皮がん >=7000:(雄) 膀胱移行上皮がん(第一回及び第二回を合わせて) NOAEL=2500 ppm(95 mg/kg 体重/日)
in vitro:DNA 鎖切断	大腸菌プラスミド	10 ⁻⁶ -10 ⁻² mol/L	陰性 - S9
in vitro:DNA ³² P-ポストラベル	ラット肝 DNA	100 umol/L	陽性 + S9 陰性 - S9
in vitro:DNA 結合	子牛胸腺 DNA	40 mmol/L	陽性 + S9 陰性 - S9
in vitro:遺伝子突然変異	枯草菌 H17, M45	-	陰性

試験の種類	供試動物等	投与量	結 果
in vitro: 遺伝子突然変異	ネズミチフス菌 TA92, TA1535, TA100, TA1537, TA94, TA98	10-1000 ug/プレート	陰性 + S9 陰性 - S9
in vitro: 遺伝子突然変異	大腸菌 WP2 hcr	-	陰性 + S9
in vitro: 遺伝子突然変異	ネズミチフス菌 TA100, TA1535, TA1537, TA98	3-200 ug/プレート	陰性 + S9 弱い陽性 - S9
in vitro: 遺伝子突然変異	マウスリンフォーマ (L5178Y) 細胞, Tk 遺伝子座	0.3-60 ug/mL	陽性 + S9 陽性 - S9
in vitro: 遺伝子突然変異	ヒト Rsa 細胞, 修復欠損, HPRT 遺伝子座	1-30 ug/mL	陽性
in vitro: 染色体異常	CHO-K1 細胞	50-175 ug/mL	陽性 - S9
in vitro: 染色体異常	CHO 線維芽細胞	12-125 ug/mL	弱い陽性 + S9 弱い陽性 - S9
in vitro: 染色体異常	CHO-K1 細胞	60-90 ug/mL	陰性 + S9 陰性 - S9
in vitro: 染色体異常	CHO-K1 細胞	25-175 ug/mL	陽性 + S9 陰性 - S9
in vitro: 染色体異常	CHO-K1 細胞	100-200 ug/mL	陽性 + S9
in vitro: 宿主経路遺伝子突然変異	ネズミチフス菌 G46 -雄 JCL-ICR マウス	200, 600 mg/kg 体重, 経口 5 日間	陰性
in vivo: 伴性劣性致死突然変異	キイロショウジョウバエ	250 ppm 飼料中 3 日間又は注射 500 ppm	陰性
in vivo: DNA 結合	雄ラット膀胱	500 mg/kg 体重, 経口	陰性
in vivo: DNA ³² P-ポストラベル	雄ラット膀胱	60-940mg/kg 体重/日	陽性
in vivo: 染色体異常	雄ラット骨髄	800 mg/kg 体重 5 日間又は < 4000 mg/kg 体重, 単回経口投与	陰性

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
in vivo:優性致死突然変異	雄マウス	100 又は 500 mg/kg 体重/日, 5 日間	陰性
in vivo:優性致死突然変異	雄マウス	100 又は 500 mg/kg 体重/日, 5 日間	陰性
in vitro:遺伝子突然変異	ネズミチフス菌 TA100, TA98	(Na 塩) 50-5000ug/ プレート	陰性 + S9 陰性 - S9
in vitro:遺伝子突然変異	ネズミチフス菌 TA100, TA98, TA1535, TA1537, TA1538	(Na 塩) 0.025-250 ug/プレート	陰性 + S9 陰性 - S9
in vitro:不定期 DNA 合成	雄ラット初代培養肝細胞	(Na 塩) 10 ⁻⁷ -10 ⁻⁴ mol/L	陰性
in vivo:DNA ³² P-ポストラベル	雄ラット膀胱	(Na 塩) 飼料中 2%, 13 週間	陽性
in vivo:DNA ³² P-ポストラベル	マウス皮膚	(Na 塩) 10 又は 20 mg/動物, 経皮	陽性
in vitro:DNA 鎖切断	大腸菌プラスミド	(PHQ) 10 ⁻⁶ -10 ⁻² mol/L	陽性
in vitro:DNA ³² P-ポストラベル	ラット肝臓 DNA	(PHQ) 100 umol/L	陽性 + S9 陰性 - S9
in vitro:DNA 結合	子牛胸腺 DNA	(PHQ) 40 mmol/L	陽性 - S9
in vitro:遺伝子突然変異	V79 CH 肺繊維芽細胞, Hprt 遺伝子座	(PHQ)6 -125 umol/L ±アラキドン酸	陰性
in vitro:染色体異常	CHO 繊維芽細胞	(PHQ) 1-25 ug/mL	陰性 + S9 陰性 - S9
in vitro:染色体異常	CHO-K1 細胞	(PHQ)5-150 ug/mL	陽性 + S9 陰性 - S9
in vitro:染色体異常	CHO-K1 細胞	(PHQ) 0.3-30 umol/L	陽性
in vitro:姉妹染色分体交換	CHO-K1 細胞	(PHQ) 5-150 ug/mL	陽性 + S9 陽性 - S9
in vitro:姉妹染色分体交換	CHO-K1 細胞	(PHQ) 0.3-30	陽性
in vitro:小核形成	V79 CH 肺繊維芽細胞	(PHQ) 6-125 umol/L, ±アラキドン酸	陽性 + S9 陰性 - S9
in vivo:DNA 損傷	雄ラット膀胱	(PHQ)0.0005-0.1%, 注射	陰性
in vivo:DNA ³² P-ポストラベル	マウス皮膚	(PHQ) 100 umol/L	陽性 + S9 陰性 - S9
in vitro:DNA 鎖切断	大腸菌プラスミド	(PBQ)10 ⁻⁶ -10 ⁻² mol/L	陰性

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
in vitro:DNA 結合	子牛胸腺 DNA	(PBQ) 40 mmol/L	陽性 - S9
in vitro: 遺伝子突然変異	ネズミチフス菌 TA100, TA2637, TA 98	(PBQ) 0.05-1000 ug/プレート	陰性 + S9 陰性 - S9
in vitro: 遺伝子突然変異	V79 CH 肺繊維芽細胞, Hprt 遺伝子座, ±アラキドン酸	(PBQ) 6 -125 umol/L	陰性
in vitro: 染色体異常	CHO 繊維芽細胞, 株化細胞	(PBQ) 1-25 ug/mL	陰性 + S9 陰性 - S9
in vitro: 小核形成	V79 CH 肺繊維芽細胞, ±アラキドン酸	(PBQ) 6-125 umol/L	陰性
in vivo: DNA 損傷	雄ラット膀胱	(PBQ) 0.0005-0.1% 注射	陰性
生殖毒性(2世代, 混餌)	ラット (雄雌)	200-10000 ppm (0, 36, 120, 460 mg/kg 体重/日)	460:(F ₀ , F ₁ 成熟動物) 体重減少, (雄) 腎臓相対重量増加, (F _{1b} , F _{2a} , F _{2b} 児動物) 体重減少 ≥120:(F ₀ , F ₁ 成熟動物) (雄) 尿路結石, 膀胱移行上皮過形成, NOAEL=460 mg/kg 体重/日(生殖毒性) NOAEL=36 mg/kg 体重/日(発がん性)
生殖毒性(2世代, 混餌)	ラット (雄雌)	200-10000 ppm(0, 17, 92, 460 mg/kg 体重/日)	460:(F ₀ , F ₁ 成熟動物) 着色尿, 体重減少, (雄) 腎盂残屑, 慢性活動性炎症, 膀胱移行上皮過形成(単純, 結節状/乳頭状), 結石, 膀胱慢性炎症, 尿管拡張, 尿管肥厚, (F ₁ 雄) 悪性リンパ腫(児動物) 体重減少 NOAEL=460 mg/kg 体重/日(生殖毒性) NOAEL=92 mg/kg 体重/日(全身毒性・発生毒性)
発生毒性(妊娠 7-15 日, 強制経口)	マウス(雌)	0, 1500, 1700, 2100 mg/kg 体重/日	≥1700:(母動物) 体重増加減少, 心臓重量減少 ≥1500:(母動物) 死亡, 肝臓重量増加/増加傾向, (児動物) 体重減少 NOAEL=2100 mg/kg 体重/日(発生毒性)
発生毒性(妊娠 7-15 日, 強制経口)	マウス(雌)	(Na 塩) 0, 100, 200, 400 mg/kg 体重/日	≥200:(母動物) 死亡, 着床数低下 (児動物) 生存胎児数低下 ≥100:(母動物) 体重増加減少 NOAEL=100 mg/kg 体重/日(胎児毒性) NOAEL=400 mg/kg 体重/日(発生毒性)

試験の種類	供試動物等	投与量	結 果
発生毒性(妊娠 6-15 日, 強制経 口)	ラット(雌)	0, 150, 300, 600 mg/kg 体重/日	600:(児動物) 胎児吸収増加, 胎児体重減少 >=300:(母動物) 運動失調, 体重増加減少, NOAEL=150 mg/kg 体重/日(母動物毒性・胎 児毒性) NOAEL=600 mg/kg 体重/日(発生毒性)
発生毒性(妊娠 6-15 日, 強制経 口)	ラット(雌)	0, 100, 300, 700 mg/kg 体重/日	700:(母動物) 体重減少, 摂餌量減少, 肝臓重 量減少 NOAEL=300 mg/kg 体重/日(母動物毒性) NOAEL=700 mg/kg 体重/日(発生毒性・胎児 毒性)
発生毒性(妊娠 7-19 日, 強制経 口)	ウサギ(雌)	0, 250, 500, 750 mg/kg 体重/日	750:(母動物・児動物) 生殖・胚・胎児パラメータ に影響 >=250:(母動物) 死亡, 体重・体重増加減少, 胃腸管障害, 腎臓絶対・相対平均重量増加, 腎 尿細管変性・炎症
発生毒性(妊娠 7-19 日, 強制経 口)	ウサギ(雌)	0, 25, 100, 250 mg/kg 体重/日	250:(母動物) 死亡, 胃腸管障害, 腎尿細管変 性・炎症 (上記の試験と併せて) NOAEL=300 mg/kg 体重/日(母動物毒性) NOAEL=500 mg/kg 体重/日(胎児毒性) NOAEL=750 mg/kg 体重/日(発生毒性)
ADI			0-0.4 mg/kg 体重

略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
BrdU	5-bromo-2'-deoxyuridine	5-ブロモ-2'-デオキシウリジン
FAO	Food and Agriculture Organization	国際連合食糧農業機関
IPCS	International Programme on Chemical Safety	国際化学物質安全性計画
JMPR	Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues	FAO/WHO 合同残留農薬 専門家会議
LC ₅₀	50% Lethal Concentration	半数致死濃度
LD ₅₀	50% Lethal Dose	半数致死量
NBHBA	N-nitrosobutyl- N-(4-hydroxybutyl)amine	N-ニトロソブチル-N-(4-ヒドロ キシブチル)アミン
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level	無毒性量
NR	Not Reported	記載なし
S9	9000 × g Supernatant	9000 x g, (10 分)遠沈上清
WHO	World Health Organization	世界保健機関

