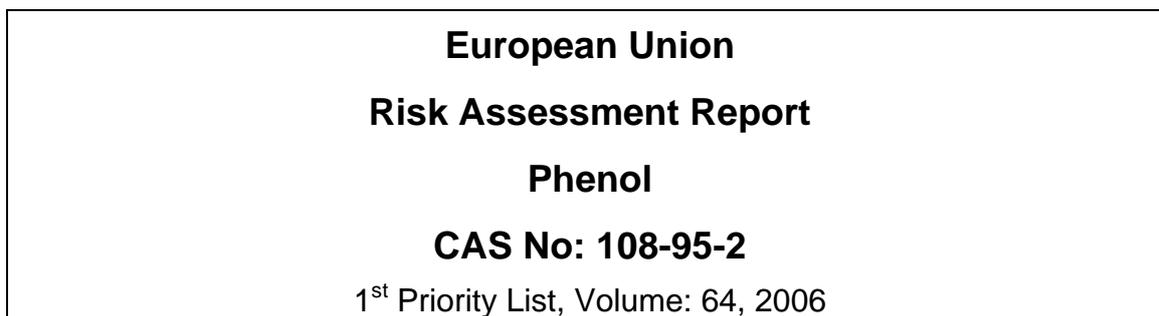
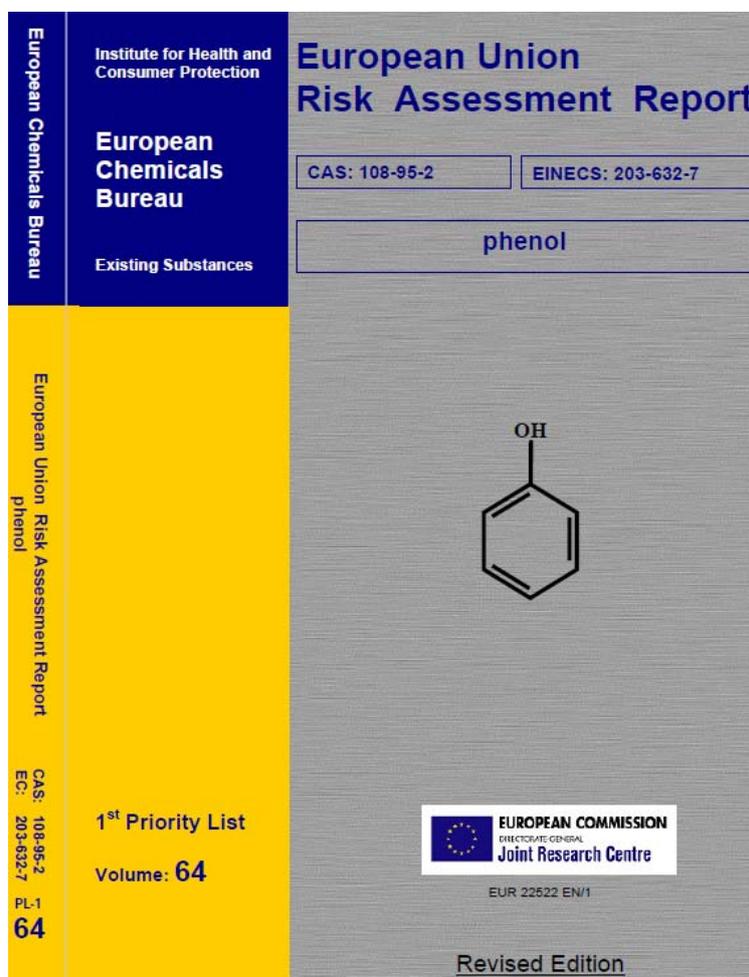


部分翻訳



欧州連合
リスク評価書 (Volume 64, 2006)
フェノール



国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部
2008年3月

本部分訳文書は、Phenol (CAS No: 108-95-2)に関する EU Risk Assessment Report (Vol. 64, 2006)の第4章「ヒト健康」のうち、第4.1.2項「影響評価：有害性の特定および用量(濃度)-反応(影響)評価」を翻訳したものである。原文(評価書全文)は、http://ecb.jrc.it/DOCUMENTS/Existing-Chemicals/RISK_ASSESSMENT/REPORT/phenolreport060.pdfを参照ください。

4.1.2 影響評価：有害性の特定および用量(濃度)－反応(影響)評価

4.1.2.1 トキシコキネティクス、代謝及び分布

4.1.2.1.1 吸収及び分布

フェノールは消化管、呼吸器及び皮膚からよく吸収される。

25 mg/kgの¹⁴C-フェノールをラット、ヒツジ及びブタに経口投与したとき、8時間後の吸収率はそれぞれ90、85及び84%であった (Kao et al., 1979)。

ラット (3-4例) に0.03 mg/kgの¹⁴C-フェノールを経口、経皮、気管内及び静脈内投与した。フェノールの吸収は良好であった。いずれの投与経路でも投与後72時間までに回収された¹⁴C-フェノールの75 - 95%は尿中にみられた。72時間までの¹⁴C-フェノールの尿中回収率は経皮投与の場合が最も少なかった(総回収量のおよそ75%)。経口投与の場合は、総回収量のおよそ85%が4時間までに尿中で検出された。尿中排泄は基本的には12時間までに終了した。経皮投与の場合は、4時間までの尿中排泄は投与量の40%のみ、12時間までは70%であり、24時間までにほとんど終了した(～75%)。72時間後に皮膚で検出された放射活性は1.6%であった。経皮投与の場合は尿中におよそ75%、糞中に3%が排泄された (Hughes and Hall, 1995)。

単離した組織を用いた実験では、フェノールの肺からの吸収は急速(およそ10分後に最大血清中濃度)で効率的(およそ53%)であることが報告されている (Hogg et al., 1981)。

ボランティアに6 - 20 mg/m³のフェノールを吸入させたとき(経皮吸収を除く)、それぞれのボランティアは暴露したフェノールの60 - 88%を吸収した。上記の濃度のフェノールに暴露したグループの12名の平均値には有意な差はなかった。保持率は最初のおよそ80%から8時間後のおよそ70%に低下した (Piotrowski, 1971)。

*In vitro*の実験において4 µg/cm²のフェノールを経皮投与したとき、ラットではおよそ26%、ヒトではおよそ19%が吸収された(Hotchkiss et al., 1991)。皮膚透過性はフェノール溶液の温度の上昇(10 - 37°C)に伴い増加した (Jetzer et al., 1988)。

吸収されたフェノールは組織に速やかに分布する。

ラットに207 mg/kgの¹⁴C-フェノールを経口投与したとき、組織中の総放射活性が0.5時間後にピークを示した。肝臓、脾臓、腎臓及び副腎中の濃度の血清濃度に対する比率はすべての測定ポイントで1より大きく、甲状腺及び肺ではほとんどの測定ポイントで1より大きかった。血清中に存在するフェノールのほぼ半分は抱合体であった (Liao and Oehme, 1981)。

¹⁴C-フェノールを雌雄のF344ラットに対して、(1) 1.5、15、150 mg/kgの強制経口投与、(2) 5,000 ppm の飲料水での投与又は(3) 25 ppmの濃度での6時間吸入暴露をそれぞれ単回又は反復処理 (8日間) した。¹⁴C-フェノールを単回強制経口投与した雄ラットの投与後1 - 3分の血中遊離フェノール濃度 (対代謝物) は、投与量が1.5 mg/kgの場合は0.02µg/g 血液、150 mg/kgの場合は46.4µg/g 血液であった。血中からの¹⁴C-フェノールのクリアランスは、1.5及び150 mg/kg投与の両者で速やかなものであり、消失半減期はそれぞれ8及び12分であった。150 mg/kgの投与後24時間では、放射活性の濃度は肝臓、腎臓及び脳を含むすべての組織で0.024%以下であり、卵巣及び精巣では0.003%以下であった。反復経口投与及び反復飲料水投与では放射活性の濃度は低く (骨で0.0005%以下)、吸入暴露でも同じように低かった (骨で0.004%以下) (Dow, 1994)。

Hughes and Hall (1995) も、ラットに対する0.03 mg/kgの¹⁴C-フェノールの経口及び経皮投与で同じ結果を得ている。経口投与後72時間におけるフェノールの体内残留量は少なかった (回収量の1-2%)。経口又は経皮投与では大腸中に最高の放射活性が認められた (組織1g当たり投与量のそれぞれ0.02%及び0.07%)。肝臓 (0.003%)、肺 (0.002%)、腎臓 (0.006%) のような比較的大きな組織でもその量は少なかった。

4.1.2.1.2 代謝

すべての投与経路及び動物種において、フェノールはほとんど硫酸又はグルクロン酸抱合体に代謝される。

17種の哺乳動物に20 - 50 mg/kgのフェノールを強制経口投与した比較試験において、24時間後の尿中に明らかに異なる代謝物が認められた。ネコではフェノールの抱合体は硫酸抱合体のみで、ブタではグルクロン酸抱合体のみであった。肉食動物では投与量の13 - 32%が、またげっ歯類では投与量の3-28%がヒドロキノン抱合体であった (Capel et al., 1972)。

フェノールの代謝は大部分が肝臓、消化管及び腎臓で行われる (Cassidy and Houston, 1980; Houston and Cassidy, 1982)。ラットでは5 mg/kg以上の投与で肝酵素の代謝能が飽和し、肝臓外の組織とくに消化管における代謝が亢進した (Cassidy and Houston, 1984)。

雌雄のマウスに1.4 - 21.2 mg/kgの¹⁴C-フェノールを静脈内投与し、その時の尿中代謝物と

同じ量を強制経口投与した雄マウスの尿中代謝物を比較することで、フェノールの腸管の初回通過による代謝を検討した。尿中の主要な代謝物はフェノールの硫酸抱合体、フェノールのグルクロン酸抱合体及びヒドロキノンのグルクロン酸抱合体であった。一方、低投与量では硫酸抱合がフェノールの主要な排泄経路であり、投与量が増加すると硫酸抱合が減少してグルクロン酸抱合が増加する。雄マウスの尿中における硫酸化/グルクロン酸化の比は、1.4 - 21.2 mg/kgの投与量で3.3から1.2に減少した。雄マウスは雌に比べて、フェノールの酸化抱合体の排泄の割合が常に高かった。静脈内投与に比べて経口投与では、フェノールのグルクロン酸抱合体の尿中排泄の割合が有意に高く（38% vs 17%）、ヒドロキノンの割合は有意に低かった（8% vs 17%）。ヒドロキノンの硫酸抱合体及びヒドロキノンのメルカプトール酸抱合体のようなフェノールのその他の代謝物の排泄が、静脈内投与の場合に経口投与よりも有意に高かった（11% vs 1%）（Kenyon et al., 1995）。

Hughes and Hall（1995）は、フェノールをラットに4種の投与経路（経口、経皮、気管内及び静脈内投与）で暴露した後は硫酸又はグルクロン酸抱合体に代謝されることを報告している。暴露後4及び8時間では投与経路にかかわらず硫酸抱合体がグルクロン酸抱合体より多く排泄される（Koster et al., 1981）。

ラットを用いたいくつかの投与経路による別の実験でも同じような結果が得られている（Dow, 1994）。投与量及び投与経路にかかわらず、フェノールの尿中代謝物は主にフェノール自身の硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体であった。しかし、グルクロン酸抱合体の硫酸抱合体に対する比率は用量に依存した。すなわち、フェノールの投与量が低いときは尿中では硫酸抱合体がグルクロン酸抱合体より優位であった。フェノールの用量が増加すると、硫酸抱合反応が飽和してグルクロン酸抱合が優位になってくる。低用量の反復投与でもこの比率は変わらない。なお、尿中の放射活性の一部（総回収放射活性の2 - 4%）は未特定の代謝物であった（Dow, 1994）。

高用量のフェノールを投与したときの硫酸抱合の飽和は、肝臓の3-phosphoadenine-5-phosphosulfate (PAPS)の利用率の減少によるもの、すなわち利用可能な硫酸塩の量による制限に基づくものと思われる（Kim et al., 1995）。

ヒトに0.01 mg/kgのフェノールを経口投与したとき、24時間後には投与したフェノールの77%が尿中にフェノールの硫酸抱合体として、16%がグルクロン酸抱合体として排泄された。ヒト及びラットではヒドロキノンの抱合体は痕跡程度にしか認められなかった（Capel et al., 1972）。

ヒトに対する経皮投与で吸収されたフェノールが抱合によって代謝されることは知られていない。

フェノールを*in vitro*で種々の組織標本とインキュベートしたとき、フェノールとタンパク及びDNAとの共有結合が認められた（Subrahmanyam and O'Brian, 1985; Reddy et al., 1990;）

Kolachana et al., 1993)。しかし、Reddy et al. (1990)は、75 mg/kgのフェノール又は150 mg/kgのフェノール/ヒドロキノン(1:1)混合物をラットに経口投与した試験では、ラットの組織(骨髄、Zymbal腺、肝臓、脾臓)のDNAとの*in vivo*での結合は認めていない。

フェノールはベンゼンの酸化による代謝物である。しかし、ベンゼンによる骨髄毒性や血液毒性はフェノールの経口投与では一般に認められていない。特定の部位における基質を競合する様々な酵素の微妙な相互作用、それらの酵素の肝臓内の分布及び動物種ごとの血液灌流の相対的な比率の結果としてベンゼン代謝物の生成量が決まる。Schlosser et al.

(1995)は、フェノールとベンゼンの毒性の違いに対する説明として、フェノールを投与したときは血流の上流部でほとんどが抱合化されるために、肝臓小葉中心で酸化されるフェノールの量が非常に少ないためと結論している。ベンゼンの投与ではフェノールが小葉中心で生成するために、その後の酸化的な代謝の基質として利用されることになる。

4.1.2.1.3 排泄

ヒト及び動物ではフェノール代謝物の主要な排泄経路は尿中である。

高用量(300 mg/kg)のフェノールを経口投与したウサギでは、投与量のおよそ半分が尿中に未変化体として排泄された。糞中には投与量の1%以下が排泄され、少量が呼気から排出された(Deichmann, 1944)。

種々の動物を用いた比較試験で、24時間の尿中への¹⁴Cの排泄は、サルにおける31%からラットの90%及びヒトの95%までの範囲であったことをCapel et al. (1972)が報告している。

尿管カニューレを行ったラットの十二指腸内に12.5又は50 mg/kgの¹⁴C-フェノールを投与したとき、放射活性が速やかに排泄されることが報告されている。すなわち、投与した¹⁴C-フェノールの77%が最初の2時間に尿中に排泄された。25 mg/kgのフェノールを経口投与したとき、8時間までに投与量の96%が尿中に排泄され、90%はフェノールの代謝物(フェノールのグルクロン酸抱合体が38.1%、フェノールの硫酸抱合体が49.7%、ヒドロキノンのグルクロン酸抱合体が2.1%、ヒドロキノンの硫酸抱合体が0.9%)であった。糞中排泄は0.5%以下であった。放射活性の24時間の排泄は、ヒツジ、ブタ及びラットでそれぞれ87%、86%及び97%であった(Kao et al., 1979)。

ラットにおけるフェノールの尿中排泄プロフィールは、静脈内投与、経口投与及び気管内投与した動物の間で類似していた(72時間までの回収量はおよそ95%)。72時間までに尿中に排泄される総放射活性が最少であった投与経路は経皮投与であった(投与量のおよそ75%)。フェノールに由来する放射活性の糞中排泄は尿中排泄に比べて明らかに少なかった(すべての投与経路とも72時間でおよそ2-3%) (Hughes and Hall, 1995)。

同様の成績がラットを用いた別の実験でも得られている(Dow, 1994)。すべての投与経

路で放射活性の尿中への排泄は速やかであった（24時間で94%以上）。糞中への放射活性の排泄は0.8 - 3.3%であった。高用量を強制経口投与した雌ラットの尿中（放射活性の1.3%）、及び吸入暴露した雄ラットの尿中（2.7%）で未抱合のフェノールが少量検出された。

ボランティアをフェノール（5-25 mg/m³）に8時間経皮及び吸入暴露したとき、消失半減期は3.5時間と推定された。吸収された量のほぼ100%が暴露開始後24時間までに排泄された（Piotrowski, 1971）。

結論

フェノールは消化管、呼吸器及び皮膚からよく吸収される。経口投与したときの吸収率は高く、25 mg/kgの投与後8時間の吸収率はラット、ヒツジ及びブタでそれぞれ90、85及び84%であった。6 - 20 mg/m³の濃度のフェノールに吸入暴露したボランティアでは60 - 88%が吸収された。ラットに経皮投与したときには、投与量の40%が4時間までに、70%が12時間までに尿中に排泄され、排泄は24時間までに終了した（75%）。フェノールは速やかに組織中に分布する。またフェノールは硫酸及びグルクロン酸抱合体に代謝される。尿中に排泄される硫酸抱合体/グルクロン酸抱合体の比率は動物種及び投与量に依存するが、ラット及びマウスに高用量を投与した場合には硫酸抱合の飽和がみられる。ネコではフェノールのグルクロン酸抱合は少なく、硫酸抱合のみが認められた。ヒトとラットでは少量のヒドロキノン抱合体が検出された。代謝は主に肝臓、消化管及び腎臓で行われる。どのような暴露経路でもヒト及び動物でのフェノール代謝物の主な排泄経路は尿中である。

リスクアセスメントとして、フェノールの吸収率は経口投与及び吸入暴露では100%、経皮暴露では80%と推定された。

4.1.2.2 急性毒性

4.1.2.2.1 動物を用いた試験

Bruce et al. (1987) は、ヒト及び実験動物における急性中毒症状は投与経路にかかわらず類似していると報告している。致死濃度のフェノールに暴露されたときの主な症状は筋脱力、痙攣及び昏睡である。動物で経皮及び経口投与のLD₅₀値が文献に報告されており、種感受性により10倍もの違いがあり、ネコが最も感受性が高く、モルモットが最も抵抗性が高かった。文献ではLD₅₀が報告されていないが、ラットを236 ppm (900 mg/m³) のフェノールに8時間暴露しても死亡はなく、眼及び鼻の炎症、協調運動の消失、振戦及び虚脱が認められたことが報告されている。フェノールに対する臭覚識別閾（100%が反応）は0.05 ppmであるが、それよりずっと低い濃度で毒性が生ずることが報告されている。したがって、この物質は吸入暴露に対する警告を必要とする特性を持っている。フェノールの投与後数分以内に毒性所見が発現することが示すように、暴露の経路にかかわらず吸収は速やかである。

経口投与による急性毒性

国際的なガイドラインと同等な方法で実施したWistarラットを用いたフェノール（Merck社製試薬グレード）の経口投与急性毒性試験では、LD₅₀は340 - 530 mg/kgであった。この場合、フェノールの2、5、10及び20%水溶液を1群5 - 15例（雌雄は同数）のラットに強制経口投与した。2、5及び10%溶液の投与では同程度の毒性が認められ、LD₅₀はそれぞれで0.53、0.53及び0.54 g/kgあった。20%エマルジョンの投与の場合はやや毒性が強く、LD₅₀は0.34 g/kgであった。死亡例はすべて5 - 150分に発現した。認められた症状は、体温の変動、心拍数及び呼吸数の減少、心拍及び呼吸の不規則及び減弱、瞳孔の最初は収縮、後には拡張であった。流涎、顕著な呼吸困難、振戦及び痙攣、嗜眠及び昏睡も報告されている（Deichmann and Witherup, 1944）。

国際的なガイドラインと同等な試験で行ったマウスに対するフェノール（純度は不明）の経口投与（対照は媒体のオリーブ油）では、LD₅₀はおよそ300 mg/kgであった。致死率は、300 mg/kgでは5/10、400及び500 mg/kgではそれぞれ8/10、600 mg/kgでは6/10、700 mg/kgでは10/10であり、死亡例は投与後7日までに認められた。症状としては、投与直後の興奮、数分以内の振戦及び痙攣が認められた（von Oettingen and Sharpless, 1946）。

濃度の異なるフェノール水溶液を用いて毒性を比較した試験では、ウサギに対する経口投与のLD₅₀は620 mg/kg以下と推定された。この試験では、1群1 - 10例のウサギ（雌雄は同数）に融解したフェノールの結晶（Merck社の試薬グレード）、又は2、5、10、20、50、75及び90%のフェノール水溶液及びエマルジョンを単回投与（0.28、0.42、0.62及び0.94 g/kg）した。フェノールの濃度に関係なく経口投与の毒性はほとんど同じであった。死亡例は0.62 g/kg又は0.42 g/kgで同じように認められたが、0.28 g/kgでは認められなかった。認められた症状は、体温の変動、心拍数及び呼吸数の減少、心拍及び呼吸の不規則及び減弱、瞳孔の最初は収縮、後には拡張であった。流涎、顕著な呼吸困難、振戦及び痙攣、嗜眠及び昏睡も認められている（Deichmann and Witherup, 1944）。

FHSA（1961年8月12日付）に従った雄のアルビノラットを用いた試験では、フェノール（純度データなし）水溶液の4用量を1群5例のラットに経口投与し、投与後14日間の致死率から求めたLD₅₀は650 mg/kg（95%信頼区間は490 - 860 mg/kg）であった。そのときの致死率は、200及び398 mg/kgでは0/5、795 mg/kgでは4/5、1,580 mg/kgでは5/5であり、すべてが投与した日に死亡した。それらの死亡例の剖検では胃及び腸に充血及び拡張が認められた。ほとんどの生存例の体重増加は対照群に比べて明らかに低いものであった。また、生存例の剖検では肉眼的な異常は認められなかった（Flickinger, 1976）。

吸入による急性毒性

動物を用いた吸入による急性毒性のデータはみあたらない。

カテコール水、レゾルシノール水及びフェノール水のエアゾールの急性毒性について、同じような空気中濃度で検討されている。これらの物質を蒸留水に溶解し、その溶液からD18 Dautrebandeエアゾール発生器を用いて30 psiでエアゾールを発生させた。この圧力でD18から発生するエアゾールの直径は 1μ またはそれ以下である。これらの物質の空気中濃度をおよそ $2,000\text{ mg/m}^3$ に調整した。空気中濃度はエアゾール発生後の溶液の減少量を用いて求めた。すなわち、その減少した容量に含まれる各物質の重量と、エアゾールチャンバー内でエアゾールを発生するために用いた空气の総容量から空気中濃度を算出した。体重が87 - 126 gの雌Harlan-Wistarアルビノラット6例をフェノール（純度のデータなし）水溶液（8%）のエアゾールに8時間暴露した。目標フェノール空気中濃度は 900 mg/m^3 であった。次の症状が暴露中に認められた。すなわち、4時間以内に眼及び鼻の炎症及び筋肉の痙攣を伴うわずかな協調運動の消失、8時間以内の振戦及び1例の虚脱であったが、死亡は認められなかった。これらのラットは暴露の翌日には正常であった。暴露後14日間観察したが、体重は正常に増加し、剖検でもエアゾールの暴露による異常は認められなかった（Flickinger, 1976）。

Alarie (1966) が開発したSwiss OF1雄マウスを用いた感覚刺激試験において、フェノール（高純度）の RD_{50} （感覚刺激の指標とされる50%呼吸数抑制濃度）は166 ppmと推定された。注入器を用いて被験物質を加熱して気化させる方法と被験物質に通気して泡立てで蒸気を発生させる二つの方法を用いて、吸入装置の試験用気体を調製した。呼吸数の減少を1群6例のマウスを用いて測定した。穴あきのラテックスダムに頭部を通した上で動物を個別に全身プレチスモグラフに入れた。暴露中はプレチスモグラフを暴露チャンバー内に挿入し、動物の頭部を吸入装置中に露出させた。プレチスモグラフ内のマウスの呼吸に伴う圧力の変化に反応する圧力トランスデューサーに6個のプレチスモグラフを接続した。得られたシグナルを増幅して6チャンネルのオシログラフ上に表示させた。最初に室内の空気をマウスに吸入させて対照レベルを求めた。記録は暴露の10分前から連続的に行い、予め規定した刺激性物質濃度に安定した小区画内に直ちにマウスを入れて、およそ5分間暴露した。暴露中の呼吸数の減少及び最大減少率を対照の値から算出した。種々の濃度における呼吸数の最大減少率を刺激性物質の暴露濃度の対数に対してプロットして、濃度と反応の相関性を求めた。この相関性から、フェノールの50%呼吸数抑制濃度である RD_{50} が166 ppmであると推定され、17 ppmが不快ではあるが耐容できる濃度、2 ppmが最少作用量又は無作用量であった（de Ceaurriz et al., 1981）。

経皮投与による急性毒性

国際ガイドラインに相当する雌のAlderley Park Wistarラットを用いた試験では、経皮投与での LD_{50} は660 - 707 mg/kgであった（被験物質処置後7日で終了した観察期間を除いて）：1群5例のラットを用い、剃毛した背部に融解したフェノール（研究用試薬、水浴中で融解するまで加温し、その後はおよそ 40°C に維持）を閉塞塗布した（用量は1.0、0.5、0.25 または0.1 mL/kg）。24時間後に覆いを除去し、皮膚を中性洗剤で洗浄した。2回目の試験では非閉

塞法で実施したために処置部分はカバーせず、首の周りに硬いプラスチックの襟を装着して処置部を保護した。この試験での用量は1.0、0.75、0.3及び0.1 mL/kgであり、同様に24時間後に皮膚を洗浄した。フェノールの水溶液、2 - 5%セトリミド溶液、変性アルコール溶液及びオリーブ油溶液の経皮毒性を非閉塞法で検討した。全例を7日間観察し、その後に屠殺して剖検した。腎臓及び皮膚について病理組織学的検査を行った。閉塞法及び非閉塞法とも融解フェノールのLD₅₀は0.625 mL/kg (660 - 707 mg/kg) であった。全例に類似した一般症状が認められた。すなわち、投与後5 - 10分に強度な筋振戦が認められ、明らかな筋攣縮を伴い、さらに意識消失及び虚脱を伴う全身の痙攣も認められた。投与後45 - 90分に用量に依存した著しいヘモグロビン尿が認められた。閉塞法では、1 mLを処置したラット全例及び0.5 mLを処置したラット2例が4時間以内に死亡し、非閉塞法では、1 mL及び0.75 mLを処置した動物すべてが24時間以内に死亡した。しかし、その他には死亡は認められなかった。すべての動物で著しい皮膚の損傷、すなわち即時に浮腫が発現し、次いで4時間以内に壊死、24時間の変色及びその周囲の紅斑が認められた。フェノール中毒による急性期の死亡例の剖検では腎臓のうっ血が認められ、膀胱は血液を含む液体で膨張していた。病理組織学的検査では、腎臓の遠位尿細管、髄質及び乳頭部の尿細管にヘマチン円柱が認められた。皮膚では、細胞内のヒアリンの出現、細胞間プロセスの消失及び細胞間隙の好酸性残屑を示す広範囲な表皮の壊死が認められた。真皮に広範囲な表層壊死も認められ、それはヘマトキシリン・エオジン (HE) で紫色に染色されるために凝固壊死と思われた。フェノールの皮膚に対する作用の強さは媒体及び濃度に影響された。最も強い毒性を示す混合物は必ずしも最高濃度のフェノールを含む溶液ではなかった。すべての濃度においてフェノール水溶液がその他の溶液より強い毒性を示した。毒性の違いに対する説明の1つとして、フェノールは凝固壊死を惹起するものの浸透速度はかなり遅いため、表皮及び真皮上層に残存したフェノールの除去に要する時間が異なることによる可能性があげられる (Corning and Hayes, 1970)。

フェノール (純度のデータなし) を雄のアルビノウサギの擦過した皮膚及び無傷の皮膚に最長24時間塗布した試験 (1961年8月12日のFHSAにしたがった方法) で、暴露後14日間の死亡率から求めた経皮投与によるLD₅₀は850 mg/kg (95%信頼区間は600-1,200 mg/kg) と推定された。252 mg/kg (媒体は水、密封の方法に関するデータなし) 及び500 mg/kgを1群4例の雄ウサギの皮膚に塗布したとき、死亡は認められなかった。1,000 mg/kgの塗布では3/4、2,000 mg/kgの塗布では全例が投与した日に死亡した。すべてのウサギで皮膚の壊死が認められた。処置後14日間生存したほとんどのウサギでは体重増加率が対照群よりも明らかに低かった。それらの動物の剖検では異常は認められなかった (Flickinger, 1976)。

4.1.2.2.2 ヒトにおける知見

NIOSH (DHEW/NIOSH, 1976) は、ヒトのフェノール暴露に関する経験を公表している。皮膚に接触した液体フェノールの血液中への移行は早い。様々な事例報告から、職業上暴露された多くの人で記録された症状が報告されている。これらの症状から、ショック、衰弱、昏睡、痙攣、チアノーゼ、内臓の傷害及び死亡等の重篤な症状に急速に進展する可能

性もある。フェノールを80 - 100%含む溶液、エマルジョン又は試料に5 - 30分間皮膚が触れた場合は死に至ることが報告されている。

フェノールの皮膚吸収、蒸気の吸入又は経口摂取による中毒例が報告されている (Kania, 1981)。暴露の主要な経路は皮膚である。蒸気は吸入と同じ吸収効率で素早く皮膚に浸透する。皮膚の上にこぼしたフェノール溶液の吸収は非常に早いと思われ、30分から数時間以内に衰弱から死亡に至る。64 inch²の面積の皮膚からのフェノールの吸収による死亡も報告されている。死に至るまでの時間が長い場合は、腎臓、肝臓、膵臓及び脾臓の傷害及び肺の浮腫が発現する。これらの所見の発現は早く、多くの場合フェノールを皮膚にこぼしてから15 - 20分以内に発現する。フェノールが接触した皮膚には最初はしわの寄った白色変色が認められるが、フェノールの局所麻酔作用により傷みを感じることはない。その後患部は褐色に変化し、次いで壊疽になる。暴露が長時間になると暗色素の沈着 (組織褐変症) になる。フェノールの蒸気は肺からもよく吸収される。フェノールの吸入で呼吸困難、咳、チアノーゼ及び肺水腫が生ずる。わずかな量のフェノールの経口摂取でも口及び食道の強度なやけど及び腹痛が生ずる。顔や口腔における壊死部分では、最初は白色、後に褐色に変わる斑点が特徴的である。

47歳の男性が90%のフェノールを左の足及び靴の上にこぼした (全表面積の3%)。4.5時間後に精神錯乱、めまい、脱力感、低血圧、心室期外収縮、心房細動、暗緑色尿及び暴露部位の突っ張り感のある腫脹、暗青色変色、痛覚麻痺及び感覚麻痺が発現した。フェノールの最高血中濃度は21.6 µg/mLであり、致死量と思われた。尿中のフェノール及びその抱合体を合計した最高濃度は13,416 mg/gクレアチニンであり、顕著な吸収を示唆していた。消失半減期は13.9時間であると報告されている (Bentur et al., 1998)。

ヒトにおけるフェノールの経口毒性については、140 - 290 mg/kgの低い用量でも死に至ることが報告されている (Bruce et al., 1987)。

Tanaka et al. (1998) は、27歳の男子学生がフェノールを含むDNA抽出物の廃液の経口摂取で死亡し、次の日に実験室で発見された事故を報告している。病理解剖において、体表面が灰色を呈しており、右腕から両足にかけての広範な皮膚が暗褐色化して、その周囲の一部に化学火傷が認められた。火傷した部分のいたるところに疱疹も認められた。口唇、口腔粘膜及び中咽頭、喉頭、食道及び胃壁の暗褐色化及び炎症も認められた。病理組織学的検査では、肺の炎症性変化、腎の間質性浮腫及び尿細管出血、膵臓及び副腎の間質性出血が認められた。

Litton and Trinidadは、顔のケミカルピーリングの様々な合併症及び発生頻度に関して検討する中で、アメリカ形成外科学会 (US plastic surgeons) にアンケートを送り、回収した結果を報告している。アンケートに回答した794人の形成外科医のうち588人 (74%) は顔のピーリングの目的でおよそ50%のフェノール溶液を使用していた (50%のフェノールを含む油/水エマルジョン)。これらの溶液による顔のピーリングでは、形成外科医の87%は全身合

併症を認めなかった。局所的な異常色素沈着が最も一般的な局所合併症として認められ、形成外科医の21%は皮膚のピーリング後に皮膚の癒痕化をしばしば認めることを報告している。形成外科医の13%は、頻脈を伴う心臓の合併症が最も多い所見であることを指摘している (Litton and Trinidad, 1981)。

結論

ヒト及び実験動物における急性毒性の一般症状は暴露経路に関わらず類似している。フェノールによる急性症状が数分以内に発現するという事実が示すように、吸収は早い。ヒトにおけるフェノールの経口毒性としては、140 - 290 mg/kgのような低い用量で死に至ることが報告されている (Bruce et al., 1987)。ヒトの皮膚にフェノール溶液をこぼしたときの吸収も非常に早く、虚脱状態を示して30分から数時間以内に死に至ると思われる。64 inch²の広さの皮膚から吸収されたフェノールで死亡したという報告もある (Kania, 1981)。実験動物における経皮及び経口投与によるLD₅₀が報告されている。すなわち、ラットの経口投与では340 mg/kg (Deichmann and Witherup, 1944)、マウスではおよそ300 mg/kg (von Oettingen and Sharpless, 1946)、ウサギでは620 mg/kg以下である (Deichmann and Witherup, 1944)。また、経皮投与によるLD₅₀は雌ラットで660 - 707 mg/kgである (Corning and Hayes, 1970)。吸入によるLC₅₀の文献報告はない。しかし、236 ppm (900 mg/m³) もの高い濃度に8時間暴露したラットでは、眼及び鼻の炎症、協調運動の消失、振戦及び虚脱が認められたが死亡は認められないことが報告されている。過去 (1871年以降) に発生した労働中のフェノール暴露事故に基づき、フェノールは“有毒 (toxic)”物質に分類され、“R 23/24/25 (吸入、皮膚に接触又は飲み込むと有毒)”と表示されている。

4.1.2.3 刺激性

4.1.2.3.1 動物実験

皮膚刺激性

フェノールは非常に腐食性が高いために皮膚刺激性のデータはない。

眼刺激性

雄のアルビノウサギ (数は不明) の眼に0.1 gのフェノール (純度不明) を滴下したとき、結膜の炎症、角膜の不透明化及び著しい不快症状が認められた。処置後24時間の検査では、結膜炎、虹彩炎、虹彩の大部分を閉塞する角膜混濁及び角膜表面の全体にわたる角膜潰瘍が認められた。観察期間中に眼の状態に明らかな回復は認められず、14日目までに、処置したすべての眼で円錐角膜及びパンヌス形成も認められた (Flickinger, 1976)。

国際ガイドラインに類似した眼刺激性試験において、少なくとも1群6例として2群のウサ

ギの眼を5%のフェノール水溶液（試薬グレード）で暴露した。一つの群では0.1 mLを処置し、30秒後に300 mLの水道水で2分間洗浄した。別の群には同じように0.1 mLを処置したが洗浄しなかった。フェノールを処置したすべてのウサギの眼で角膜混濁が認められた。処置後に洗浄することで回復の促進が認められた。この洗浄方法ではパンヌス形成を示す例が多かったが、いくつかの例では角膜混濁の程度と持続時間の減少が認められた（Murphy et al., 1982）。

4.1.2.3.2 ヒトにおける知見

ヒトにおける局所刺激性に関するデータはない。

結論

フェノールは著しい化学火傷を惹起し、1%程度の希釈溶液でもときには皮膚の壊死も惹起する（Kania, 1981）。5%水溶液の処置で生じたウサギの眼の刺激性は、7日後でも回復は認められなかった（Murphy et al., 1982）。以上のように、フェノール溶液による局所刺激性に関するデータを正確に評価することはできない。

4.1.2.4 腐食性

4.1.2.4.1 動物実験

動物における皮膚刺激性/腐食性試験のデータはない。

皮膚の汚染除去法を検討することを目的に1群雌雄各5例のラットを用いて実施した試験で、非希釈（融解した）フェノールの非閉塞法による1分間処理で中等度から重篤な化学火傷が生じた。雌雄各5例のラットを1 mL/kgの分析用試薬のフェノール（phenol AR）（水浴中45°Cで融解した液体として使用）で正確に1分間処置した。処置後処置部分に45秒間いくつかの溶媒をスプレーして洗浄した。水による洗浄では死亡は認められなかったが、血尿、痙攣及び中等度の火傷は認められた。PEG 300による洗浄では血尿及び痙攣は認められなかったが、極軽度の火傷が認められた。1分の処置後にフェノールを拭取った場合は、死亡はなかったが血尿、痙攣及び著しい火傷が認められた（Brown et al., 1975）。

生理食塩液で湿潤させた0.5 gのフェノール（純度不明）をウサギ（動物数不明）の腹部皮膚の無傷及び擦過した部分に最長24時間接触させたとき、無傷の皮膚に壊死が認められた。この結果から、一次刺激物質ではなく“腐食性”物質として分類された。なお、この試験に関するこれ以上の情報はない（Flickinger, 1976）。

1928年に実施された試験では、希釈したにもかかわらずフェノールをウサギの眼に処置した場合は著しい化学火傷が認められた。フェノール（純度不明）の87%水溶液の処置で眼

の完全な損傷が認められた。フェノールを10秒又はそれ以上接触させておき、その後水で洗淨したときに、処置した眼の60%では角膜が透明であった。フェノールの50%グリシン溶液で眼を処置して洗淨しなかった場合は、角膜の著しい不透明化が認められた。10秒又はそれ以上のフェノール処置後になんらかの洗淨処置を行った眼の30%では、3 - 4日以内に透明な角膜が認められた (Cosgrove and Hubbard, 1928)。

4.1.2.4.2 ヒトにおける知見

皮膚にフェノールが接触した場合、最初にしわの寄った白色変色が生じ、このときはフェノールの局所麻酔作用により痛みを感じることなく、その後褐色になり、次いで壊疽に変わる。10%の溶液で常に腐食が生じ、1%の希釈液でもときには皮膚の壊死が生ずる。高濃度の溶液は眼に対して著しい刺激性を示し、結膜の浮腫及び角膜の白色化及び感覚麻痺となり、ときには失明する。局所反応には暴露したフェノールの容量よりも濃度が重要な因子である (Kania, 1981)。

1871年以降石炭酸による指の壊疽の例がしばしば報告されている。傷害を受けた指は治癒しない場合が多く、切断された。Abrahamは18歳の男子実験助手の例を報告している (Abraham, 1972)。この助手は自宅で化学実験を行っていて、偶然にフェノールの結晶（純度不明）が右の親指に入っていた手袋をはめていた。痛みや不快感はなかった。実験が終了して手袋をはずしたときに、右の親指の指腹部全体が真っ白になっており、完全に感覚がなくなっていたが、水疱の形成はなかった。事故後およそ41時間に形成外科で受診した。そのときの検査では、親指の指腹部の皮膚の大部分が真っ黒になっており、傷害部分の表面は乾燥して硬化していた。しかし、指の動きは完全なままであり、爪床の色は正常で、押したときの色の变化も正常であった。傷害を受けた親指の基部は腫大しておらず、その親指の基部及び手のその他の部分及び上肢の血流は正常であった。傷害後26日には明確な線状の境界が形成され、皮膚の全層喪失はあったが、指腹の線維性脂肪組織の大部分は生存していた。骨、関節包又は腱への影響はなかった。上腕の内側面から採取して薄い中間層の皮膚移植片を皮膚欠損部にメッシュネット上で横方向に移植した結果、10日後にその親指が完全に治癒し、さらに2ヵ月後には皮膚移植した親指指腹部全体の感覚が正常になった。

結論

皮膚にフェノールが接触した場合、最初にしわの寄った白色変色が生じ、このときはフェノールの局所麻酔作用により痛みを感じることはない。フェノールで著しい化学火傷が発現し、ときには1%の希釈液でも皮膚の壊死が生ずる (Kania, 1981)。ウサギの眼でみられたフェノールの5%水溶液による刺激性は7日間の観察でも回復がみられなかった (Murphy et al., 1982)。以上のように、フェノール溶液による局所刺激性に関するデータを正確に評価することはできなかった。

既存分類では、R-フレーズとして“火傷をきたす (R 34)”とした。

4.1.2.5 感作性

4.1.2.5.1 動物実験

Buehler試験の変法を用いた試験において、雌のアルビノモルモット10例に次のようにフェノール（純度99.9%）を処置した。すなわち、感作としてフェノールの10%白色ワセリン混合物を皮膚に48時間塗布した。これを1週間に3回、2週間繰り返した。最終感作の2週間後にフェノールの1%及び0.1%濃度を白色ワセリンに混合して惹起した。惹起時の暴露時間は48時間であった。いずれの動物にも陽性反応は認められなかった。この試験では対照群は設けなかった（Itoh, 1982）。

マウス耳介腫脹試験（MESA）において、15例の雌Balb/cマウスに対して試験0及び2日に5%フェノールを右側耳介の両側に塗布し、試験2日に0.05 mLの完全フロイントアジュバントを肩の部分に皮下投与した。試験9日に左側耳介の厚さを測定し、その直後にその耳介の両側に5%フェノールを塗布した。その塗布の24時間後（試験10日）にも同じ操作を実施した。このフェノール塗布による耳の厚さに対する影響はなく、フェノールは皮膚感作性をもたないことが示唆された。この試験ではフェノールの純度と媒体についての記載はなかった（Descotes, 1988）。

4.1.2.5.2 ヒトにおける知見

フェノールによるアレルギー性接触皮膚炎は知られていない。解剖学の授業において、学生45人にフェノールを暴露したが、暴露前及び暴露後4週間にフェノールに対する特異的なIg-E反応は認められなかった（これ以上の暴露に関する詳細の記載はない；Wantke et al., 1996）。

結論

モルモット（Buehler試験の変法、Itoh 1982）及びマウス（MESA、Descotes 1988）で実施した試験ではフェノールによる皮膚感作性の反応は認められなかった。また、ヒトでもフェノールによるアレルギー性接触皮膚炎は知られていない。したがって、R43とする分類表示は適当ではない。

4.1.2.6 反復投与毒性

4.1.2.6.1 動物実験

現状では、標準的な28日間反復投与毒性試験の最小限の要求を満たすように実施された

フェノールに関する反復投与毒性試験はない。

しかしながら、米国NIH (NIH, 1980) が行った発がん性試験を、EC規制 793/93/EECの要求のために条件付きながら有効な試験として評価した。さらに数種類の動物種（ラット、マウス、ウサギ及びモルモット）における経口、吸入、経皮、皮下及び腹腔内投与における短期（数日間）の反復投与から亜慢性投与（90日）までの様々な試験を、フェノールの作用の一貫性を探索する情報源として評価した。それらの試験から、標的臓器又は器官は中枢神経系、骨髄（造血系及び間質細胞機能）、免疫系、肝臓、肺、腎臓、心臓及び皮膚と考えられた。

経口投与試験

NIHの試験（1980）では、1群雌雄各50例のF344ラット及びB6C3F1マウスに、フェノールを2,500又は5,000 ppmの濃度に混入した飲料水で103週間投与した（フェノールの摂取量はラットでは200及び450 mg/kg/day、マウスでは281及び375 mg/kg/dayに相当）。この実験では、一般状態の観察（1日2回）、触診（1週間に1回）、平均体重及び摂餌量（2週間毎、12週以降は1月に1回）、摂水量（1週間に1回）の測定を実施した。瀕死例及び生存例は剖検し、主要な臓器及び組織（> 28）並びに肉眼的な病変部について肉眼観察及び病理組織学的検査を行った。ラット及びマウスともに生存率にフェノール投与の影響は認められなかった。フェノール投与の動物では体重の減少（ラットの高用量群、マウスの両群）、摂水量の減少（ラット及びマウスともに雌雄の両用量群で、ラットでは-10及び-20%、マウスでは-25及び-40～-50%）が認められた。非腫瘍性病変に関しては投与の影響は認められなかった。血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査は実施していないために、この標準的な試験法からは欠落している部分の項目にフェノールに起因する局所又は全身毒性が含まれている可能性がある。体重増加率の減少は摂水量の減少に起因することから、本試験における無毒性量（NOAEL）はラットでは450 mg/kg/day、マウスでは375 mg/kg/dayであった。他の試験ではフェノールの標的臓器とされているが、ラットでは雌雄とも心臓、肝臓及び免疫系（脾臓、胸腺、リンパ節、脳）にフェノール投与の影響は認められなかった。フェノール投与群のラットの腎臓でみられた慢性炎症の発生頻度は対照群よりも高かった（雄ラットの対照群、低用量群及び高用量群ではそれぞれ74%、74%及び96%、雌ラットではそれぞれ14%、26%及び56%）。しかし、これはラットでは自然発生率の高い変化であること、またこの試験では病理組織学的変化に強さの評価がないことから、この所見の毒性学的意義には疑問が残っていると思われる。マウスでは、標的臓器といわれている臓器に用量に依存した病変の発生率の増加は認められなかった。

フェノールの経口投与（飲料水に溶かして）による2世代生殖毒性試験の一環として、雄のSprague-Dawleyラットにおける免疫毒性のスクリーニング及び臨床病理学的検査が行われた（IITRI, 1999, セクション4.1.2.9 – 生殖毒性参照）。臨床病理学的検査及び免疫能検査の前に0、200、1,000又は5,000 ppmのフェノール溶液（およそ0、15、71及び301 mg/kg/day）を雄ラットに少なくとも13週間投与した。臨床病理学的検査に用いた少なく

とも1群8-9例のラットを、その後に抗体産生細胞（AFC）アッセイにも用いた。別の5例のラットをAFCアッセイの陽性対照群とした。陽性対照群にはAFCアッセイの前にシクロフォスファミド（20 mg/kg/day）を4日間腹腔内投与した。AFCアッセイ用のすべてのラットにAFCアッセイの4日前におよそ2 - 108個のヒツジ赤血球（SRBC）を静脈内投与した。陽性対照群では、通常の飲料水を与えた対照群に比べてAFC及び脾臓の細胞充実性の明らかな減少が認められた。フェノール投与群では、対照群に比べて脾臓重量、脾臓細胞充実性（脾臓当たりの細胞数）及びAFC（脾臓当たり又は106個の細胞当たりの抗体産生プラズマ細胞数）に明らかな差は認められなかった。

—血液生化学的検査では、血中尿素窒素（BUN）の明らかな増加が13週間投与した高用量群で認められた。その他の血液生化学的パラメータ（クレアチニンも含む）及び血液学的パラメータにフェノール投与に関連する変化は認められなかった。

—5,000 ppm（301 mg/kg/day）までのフェノールを少なくとも13週間投与したラットでは、T細胞依存液性応答反応にはAFCアッセイで認められたような明らかな変化は認められなかった。5,000 ppm投与群でみられたBUNの増加以外は血液生化学的及び血液学的パラメータに変化は認められなかった。BUN及びクレアチニンの増加は著しい腎機能障害を意味する。そのため、このふたつのパラメータは感度が低い。本試験のこの部分に関しては腎尿細管の形態学的変化に関するデータはない。すべての投与群でクレアチニン濃度が正常であったことから、BUNの増加の生物学的意義は極めて小さいものか、又は不明なものと思われる。これらの結果からNOAELを5,000 ppm（301 mg/kg/day）とすることは適切と思われる。

—CD-1マウス（1群雄5例）にフェノール（試薬グレード、不純物については不明）を飲料水に溶かして28日間投与したとき、95.2 mg/L（濃度分析の値）の溶液の投与（33.6 mg/kg/dayに相当）で赤血球数の著しい減少（-54%）及びヘマトクリットの減少（-8%）が認められた。低用量群（4.7 mg/L、1.8 mg/kg/dayに相当）及び中用量群（19.5 mg/L、6.2 mg/kg/dayに相当）でも赤血球数の明らかな減少（それぞれ-32%及び-35%）が認められ、用量に依存した変化であった。高用量群の免疫機能の検査では、B細胞及びT細胞マイトジェンに対するリンパ球増殖反応の減少及び混合リンパ球培養でのリンパ球増殖反応の減少が認められた。中用量群（19.5 mg/L、6.2 mg/kg/dayに相当）及び高用量群（95.2 mg/L、33.6 mg/kg/dayに相当）では、T細胞依存抗原（ヒツジ赤血球）に対する抗体産生の抑制が、IgM抗体ブランク産生細胞数及び血清抗体価を測定することで認められた。すべての投与群で、摂餌量、摂水量、体重増加量、白血球（総数及び分画）、脾臓細胞充実性に変化は認められず、肝臓、腎臓、脾臓、胸腺、肺、心臓及び脳の肉眼観察でも変化は認められなかった。脾臓、腎臓、胸腺及び肝臓重量にも変化は報告されていない（データなし）。神経化学的検査では、すべてのフェノール投与群の脳のいくつかの領域で神経伝達物質レベルの減少が認められた。主要なノルエピネフィリン含有領域である視床下部では、19.5及び95.2 mg/L投与群でノルエピネフィリン濃度がそれぞれ29 及び40%に減少した。一方、4.7、19.5及び95.2 mg/L投与群の線条体ではドーパミン濃度がそれぞれ21、26及び35%に減

少した。視床下部、延髄、中脳及び線条体における5-ヒドロキシトリプタミンの濃度の減少も認められた。モノアミン代謝物のレベルの減少が視床下部（5-ヒドロキシインドール酢酸）、中脳（バニリルマンデル酸）、線条体（バニリルマンデル酸及びジヒドロキシフェニル酢酸）、皮質（バニリルマンデル酸）及び小脳（ジヒドロキシフェニル酢酸）で認められた（Hsieh et al., 1992）。

—77日齢のF344ラットにフェノールを14日間経口投与して臓器への毒性を検討した（Berman et al., 1995 ; Moser et al., 1995 ; MacPhail et al., 1995）。フェノール（分析グレード、純度は> 99%）の投与量は0、4、12、40及び120 mg/kgであり、脱イオン水に溶解して1群雌8例のラットに14日間毎日強制経口投与した。肝臓、腎臓、脾臓及び胸腺をHE染色して顕微鏡観察を行った。高用量群の全例が途中で死亡した（試験1、2、3、4、8及び11日に各1例、試験6日に2例、臓器毒性に関するデータなし）。20 mg/kg群で14%の体重減少がみられたが、この群では組織の検査は行われていない。40 mg/kg群では雌1例に肝細胞の空胞変性、2例に脾臓又は胸腺に壊死又は萎縮（これ以上の詳細は不明）、3例に尿管壊死、蛋白円柱及び乳頭出血が認められた。12 mg/kg群では1例に脾臓又は胸腺に萎縮の壊死（正確な報告ではない）が認められた。この14日間経口投与試験におけるNOAELは4 mg/kg/dayと推定された。この試験では血液学的及び血液生化学的検査並びに臓器重量測定は行われているが、その結果は記載されていない。神経行動学的検査では、120 mg/kg群で試験4日に瞳孔反応の阻害及び試験9及び15日に自発運動の有意ではないわずかな減少が認められた。40 mg/kg群で試験15日に立ち上がり行動の増加が認められた。

吸入試験

—気道に対する作用を検討することに特化したフェノールの14日間吸入毒性試験（CMA, 1998a）がF344ラットを用いて行われている（1群雌雄各20例）。目標濃度を0（空気対照）、0.5、5.0及び25 ppm（1 ppm \approx 0.00385 mg/L）として、フェノール蒸気に対する鼻部暴露を10回（1週間に5日、1日6時間）行った。10回の暴露後に1群雌雄各10例を剖検し、残りを14日間の回復後に剖検した。個々の動物について生死（暴露前及び暴露後30分）及び一般状態（暴露中及びケージサイドで1日2回）の観察を行った。体重を試験開始前に2回、暴露の直前、暴露期間中は毎週1回、及び剖検の前に測定した。摂餌量を暴露前及び暴露期間とも毎週1回測定した。血液学的及び血液生化学的検査のための採血を暴露終了時及び回復期間終了時の剖検前に行った。剖検時には全例について肉眼観察を行った。病理組織学的検査は、暴露終了時及び回復期間終了時に対照群及び高用量群の肝臓、腎臓及び呼吸器系組織（主気管支を含む肺、気管、喉頭、咽頭及び鼻甲介の4箇所）について実施した。実験条件はOECDガイドライン412の14日間吸入試験のデザインに似ているが、病理組織学的検査に供した臓器の数は少なく、Annex V, B.8の方法に比べて試験期間は28日ではなくて14日である。

—実際の暴露濃度をチャンバー毎に1日6回HPLCで測定し、その平均値は0.00、0.52 \pm 0.078、4.9 \pm 0.57及び25 \pm 2.2 ppmであった。この試験では、暴露終了時及び回復期間終了時とも

に一般状態、体重変化、摂餌量、臨床病理学的検査、臓器重量、肉眼所見及び病理組織学的検査に対照群との差は認められなかった。この実験条件では、25 ppmまでのフェノールの吸入による気道やその他の臓器及び組織への影響は認められなかった（局所及び全身に対するNOAECは ≈ 0.09625 mg/L）。

—ラット（12-13月齢、系統及び動物数の記載なし）を用いた0.1 mg/Lのフェノールの14日間吸入試験（1日の暴露時間の記載なし）において、平衡感覚機能障害を伴う運動障害が認められた（Dalin and Kristoffersson, 1974）。試験1日には運動量の増加、試験3及び4日には平衡障害及び歩行リズム障害を伴う運動障害、不安定な座位、毛づくろい行動の抑制が認められた。この症状は試験5日には消失したが、その後はさらに鈍重になった。暴露の前後に実施した傾斜板法による平衡及び運動神経に対するCNS作用の検査では、フェノールの暴露後に滑落角度の明らかな減少が認められた。血清肝酵素（LDH、ASAT、ALAT、GLDH）の増加から肝障害が示唆された。さらに、血清カリウム及びマグネシウムのレベルの増加もみられた。しかし、この試験は検査・測定項目が不十分であった（剖検、臓器重量及び病理組織学的検査のデータなし）。

—亜慢性吸入試験（すべての動物種で1週5日間、1日7時間の暴露）では、0.1 - 0.2 mg/Lの濃度の暴露で6例のウサギ及び12例のモルモットに気管支肺炎、及び心筋、肝臓及び腎臓の退行性細胞変性が認められたが、15例のラットでは病理学的変化は認められなかった。ウサギに対しては88日間に63日暴露を行った。肝臓の変化では小葉中心性壊死が特徴的であり、炎症性滲出液はほとんどなかった。心臓に筋束の壊死、間質の線維化及び炎症性細胞浸潤を伴う心筋の変性が認められた。腎臓では、慢性の尿細管腫大及び顆粒状物質の細胞片円柱、巢状皮質尿細管変性、尿細管の萎縮及び拡張、糸状体変性/硬化及び間質の線維化が認められた。モルモットは最も感受性が高く、3-5回の暴露で運動量の低下及び後四半身の麻痺が認められた。モルモットでは、心筋の変性及び炎症、化膿性気管支肺炎及び肝臓と腎臓の類似した障害が報告されている。モルモットでは、28日間の暴露期間中20日間の暴露以降に呼吸障害及び5例の死亡のために、暴露量を途中で制限する必要があった。ラットでは、74日間で53日間の暴露では一般状態の変化や形態学的変化は認められなかった。この試験ではフェノールの純度、体重変化、血液学的及び血液生化学的所見、臓器重量の結果及び病理組織学的検査を行った組織のリストに関するデータが欠落しているために、試験の妥当性に問題がある。ウサギ及びモルモットのデータは、化膿性気管支肺炎が感染症によるものと思われるために、信憑性が低いと考えられる。その他の組織の障害はこれに関連していると思われるが、別の試験（Deichmann et al., 1944）の結果と一致しており、フェノール投与の関与を完全に排除することはできない。

経皮投与試験

—1.18 - 7.12%のフェノール水溶液を18日間反復経皮投与したウサギでは、3.56%以上の濃度で表皮の角化亢進及び潰瘍とともに振戦 (>2.37%) が認められた。1群4例として1.18、2.37、3.56、4.75、5.93及び7.12%のフェノールで1日5時間、1週間に5日間処理した。4.75%まで

は4例中2例のウサギでは閉塞塗布とした。腹部を剃毛し、10 x 15 cmの区域に最初は5 mL、その後は2 mLの溶液で20分ごとに塗布した。したがって、1日の総塗布容量は33 mLであり、体重を3 kgと仮定すると7.12%溶液の塗布ではフェノールの投与量は783 mg/kg/dayに相当する。5.93及び7.12%の処理で中等度の全身毒性の徴候（詳細は不明）が認められ、7.12%群で1例が6回の暴露後に死亡した（Deichmann et al., 1950）。その他のデータの記載はなく、各種の検査や剖検所見の記載もない。毒性に関する情報は少ないが、全身毒性のNOAELは1.18% (130 mg/kg/day)、皮膚に対する局所作用のNOAELは2.37% (260 mg/kg/day)と推定された。この試験では試験デザインが極端に限られたものであり、使用した動物数も少なかったことから、データの信頼性は高くはないが、他に経皮投与による適切な試験データがないことからこのデータを示した。

その他の投与経路による試験

— マウスに200 mg/kg/dayのフェノールを4日間腹腔内投与し、処理動物から採取した骨髄間質細胞と未処理動物の骨髄細胞を共培養した場合、顆粒球/単球の前駆細胞の*in vitro*造血を支援する骨髄間質細胞の機能抑制が認められた（Gaido and Wierda, 1985）。

— マウスに50 mg/kg/dayを6日間皮下投与した*in vivo*試験では、骨髄中の顆粒球形成幹細胞濃度の減少がみられた（Tunek et al., 1981）。

— Bolcsak and Nerland（1983）はフェノールによる赤血球産生の抑制を認めた。雄のSwiss-Websterマウスにコーンオイルに溶解したフェノール0.5 mL（245 mg/kgに相当）を皮下投与したとき、投与後48時間で増殖している赤血球への鉄の取り込みが抑制された。雌のSwissアルビノマウスに低用量（25-100 mg/kg）のフェノールを腹腔内投与したときは、赤血球への鉄の取り込みに明らかな抑制は認められなかった。

— しかし、フェノールをその代謝物であるハイドロキノン又はカテコールとともに投与したとき、赤血球ヘモグロビンへの⁵⁹Feの取り込みの減少が認められ、それは単純な相加効果よりは大きな変化であった（Guy et al., 1990）。

— フェノールの腎近位尿細管に及ぼす直接的な毒性が、0.1、1.0及び5.0%のフェノール溶液のラット腎循環中への直接的な注入によって認められている（Coan et al., 1982）。

— 35例の雄ラットに2.5%及び5%のフェノール水溶液又はグリセロール溶液を直腸膀胱窩に注入し、3週間後に膀胱を切除した。フェノール処理したラットではアセチルコリンエステラーゼ含有神経線維の密度が20%減少していることを認めた（Parkhouse et al., 1987）。フェノール水溶液投与群では投与後1分以内に一過性の痙攣も認められた。

特殊な神経毒性試験

—最近実施されたフェノール (> 99%) の神経毒性に関する試験では (CMA, 1998b)、1群雌雄各15例のSprague-Dawleyラットに、0、200、1,000及び5,000 ppm (≈0.77、3.85又は19.25 mg/mL) の濃度でフェノールを飲料水に混入して、13週間投与した。試験1、7及び13週に行った投与液中のフェノール濃度の分析の結果は許容範囲内 (±10%) のものであった。フェノールの平均摂取量は、雄では0、18、83及び308 mg/kg/day、雌では0、25、107及び360 mg/kg/dayであった。投与期間終了後に4週間の回復期間を設けた。試験期間中体重及び摂餌量を1週間毎に測定し、摂水量及び一般状態を毎日記録した。試験開始前、試験4、8及び13週、回復期間の17週にそれぞれ1回、機能観察総合評価法 (FOB) によるテスト及び運動能力評価テストを行った。13週間の投与後に各群雌雄各5例に全身灌流を行い、対照群及び5,000 ppm投与群のラットで神経病理学的検査を行った。トリミングの前に脳の重量、長さ及び冠状面の最大幅を測定した。パラフィン包埋ブロックから脳 (6レベル) 及び脊髄 (頸部及び腰部) のHE染色標本を作製した。坐骨、腓腹及び脛骨神経 (縦断及び横断面) 及び中枢神経系 (ガッセル神経節、後根及び前根、頸部及び腰部の根神経節) のエポキシ樹脂包埋切片をトルイジンブルー染色した。その他の組織は保存したのみで顕微鏡観察は行わなかった。残りのラットは回復期間終了時に屠殺し、各群雌雄各5例では全身灌流を行い (検査せず)、それぞれの群のその他の動物では肉眼的に病理観察を行った。血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査は行わなかった。

5,000 ppm群の雌1例は一般状態が悪化したために試験14日に安楽死させた。この動物では、脱水症、円背位/背骨の隆起、衰弱、協調性のない運動、振戦、運動量低下、蒼白、部分的閉眼、体温低下、糞量減少及び身づくろいの減少/被毛の汚れが認められた。その他には試験途中での死亡や安楽死はなかった。5,000 ppm群の雌雄のラットでは投与期間の主に最初の3週間に、脱水症、円背位/背骨の隆起、衰弱、運動量低下、糞量減少、被毛の汚れ、振戦、蒼白及び部分的閉眼が認められ、雌では体温低下も認められた。脱水症は5,000 ppm群の雄7例及び雌9例に、1,000 ppm群の雌雄各2例に試験1週目の終わり頃に発現した。さらに5,000 ppm群の雄1例、雌6例に円背位/背骨の隆起が認められた。

5,000 ppm群の雄の平均体重は試験8 - 57日でわずかに低く、試験64日から投与終了の試験92日までには有意に低かった。5,000 ppm群の雌の平均体重は試験8日から投与終了の試験92日までには有意に低かった。回復期間には雌雄両者に著明な体重増加がみられ、この期間には5,000 ppm群の雄の平均体重には対照群との差は認められなかった。5,000 ppm群の雌の平均体重については、回復期間の試験99日には対照群より有意に低かったが、その後、差は認められなくなった。200及び1,000 ppm群の雌雄の体重にはいずれの時点でも対照群との差は認められなかった。

5,000 ppm群の雄の平均摂餌量は、試験1 - 8、43 - 50及び71 - 85日には有意に低く、その他の期間には有意ではないが低かった。5,000 ppm群の雌の平均摂餌量については、試験15 - 22日にわずかに低く、それ以外の投与期間では有意に低かった。5,000 ppm群の摂餌量は

回復期間中に顕著に改善され、この期間はわずか又は有意に高い摂餌量が認められた。200及び1,000 ppm群の雌雄ではいずれの時期にも摂餌量の有意な減少は認められなかった。しかし、1,000 ppm群の雌は投与期間中わずかに低い値を示した。飼料効率に関するデータは報告されていない。

5,000 ppm群の平均摂水量は、試験52 - 53日に雌でわずかな減少であった以外は雌雄とも投与期間中有意に減少した。回復期間開始直後から摂水量の著しい改善がみられ、この群の1日平均摂水量はわずか又は有意に高いものであった。投与期間中1,000 ppm群の雌雄の摂水量では、全般的にはわずかな又はときには有意な減少がみられたが、回復期間中の値は対照群とほぼ同じであった。200 ppm群の雌雄の摂水量には試験期間中有意な減少は認められなかった。

投与期間中及び回復期間中に実施したFOBによる検査では、試験13週の検査で1,000及び5,000 ppm群の雄に体温の有意な低下が認められた以外は、定性的（ケージ内の観察、ケージからの出しやすさ、オープンフィールド観察、平面及び検査台上でのハンドリング観察）にも定量的（握力、後肢開脚幅）にも神経毒性学的変化は認められなかった。著者は、この体温のデータは背景データの範囲内であり、その他にもFOBの所見は認められないことと合わせて、神経毒性は認められないと結論している。しかし、我々はこの結論は適切ではないと考える。一般に、試験に組み込んだ対照群の値が異常であることが明らかである場合を除いて、そのデータの妥当性は高い。この場合は対照群の値は異常ではない。試験13週における体温の低下は用量に依存しており、試験8週の時点で雄にはすでに体温低下の傾向が認められている。しかも、回復後は正常に戻っている。したがって、体温の低下は投与に起因した変化であることを否定することはできない。

投与期間中（試験4、8及び13週）及び回復期間中（試験17週）、いずれの投与群でも雄の平均運動量には有意な差は認められなかった。運動能力評価テストの結果、5,000 ppm群の雌で試験4及び8週に、1,000及び5,000 ppm群の雌では回復期間の試験17週でも総群平均運動量に有意な減少が認められた。一方、1,000及び5,000 ppm群の雌の試験13週の総群平均運動量は有意に高かった。著者は、これらの変化は摂水量及び摂餌量の減少による二次的なものであり、摂水量及び摂餌量の減少した場合に通常認められ、加えてFOBの所見が認められないことから、神経毒性学的には意義はないと考えている。しかし、一般に運動量の変化は摂水量及び摂餌量の減少とは関連しない（Gerber and O-Shaugnessy, 1986）ために、この考え方の妥当性は疑問である。さらに、1,000 ppm群の摂水量の減少はわずかであり、摂餌量は正常であった。これとは反対に、摂餌量及び摂水量の減少が運動量の減少によって生ずる可能性がある。しかし、フェノールを投与した雄では運動量に有意な変化が認められなかったことから、この可能性を支持するものではなかった。以上のように、運動量と摂水量の関連は明らかにできなかった。同じように、試験13週における運動量の増加との食い違いについても説明できなかった。しかし、その他の実験でフェノールの神経毒性が知られているために、フェノールが関連した運動量の減少という可能性は排除できない。

試験14週及び回復期間終了時（試験18週）では、いずれの群でも雌雄ともに脳重量に有意な差は認められなかった。1,000及び5,000 ppm群の雄では脳の幅が有意に大きかったが、この所見の意義は不明であった。フェノールの投与によると考えられる中枢及び末梢神経組織の肉眼的及び病理組織学的変化は認められなかった。途中で死亡した雌では、脾臓及び胸腺の小型化、胃粘膜の暗色化及び複数の臓器（副腎、腎臓、肝臓、下垂体）の変色が認められた。

ラットにおける神経毒性に関するNOAELは200 ppm（雄では18 mg/kg/day、雌では25 mg/kg/day）であった。

一雄のSprague-Dawleyラット（300±50 g）にフェノールを単回腹腔内投与した試験で、70 µmol（≈0.313 mg/kg）及びそれ以上で用量に依存した脳障害の所見が認められた（Windus-Podehl et al., 1983）。1群3 - 6例の雄ラットに70、180、200、420、480、540及び600 µmolのフェノール（生理食塩液に溶解しpHを7.4に調整）を単回腹腔内投与し、全身運動、体位制御、肢の制御、筋緊張及び外部刺激に対する反応を観察した。600 µmolの投与で5分以内にすべてのラットが昏睡状態になり、20 - 60分後に回復するかまたは死亡した。540 µmolでは50%のラットに昏睡が発現した。480 µmolでは昏睡は認められなかったが、四肢の震えが認められた。420 µmol未満の投与では全身運動のわずかな減少、後肢の制御の消失及び四肢の震えが認められた。その後肢の制御の消失は180 µmolのような少量でも発現し、四肢の震えは70 µmolでも認められた。この四肢の震えは70 - 200 µmolの間で用量に依存して強まった。

一11例のカニクイザル又は赤毛サルの腰髄硬膜外に3%又は6%のフェノールの0.5 mLを単回、あるいは3%のフェノールの0.5 mLを3回投与して病理組織学的変化を検討した（Katz et al., 1995）。5例には投与せず、また別の5例にはX線造影剤を硬膜外に投与した。最終投与後2週間で動物を屠殺し、脊髓及び胸腰部神経根を摘出してカルノフスキー液で固定した。それらの組織切片を常法通りにHE染色又はミエリン染色し、一部の切片を抗グリア細胞繊維性酸性蛋白抗体（GFAP）又はCD68（マクロファージマーカー）を用いて免疫ペルオキシダーゼ法で染色した。6%のフェノールを投与した1例のサルでは、運動失調及び重篤な両足の弛緩性麻痺がみられ、投与後3日に死亡した。その他のサルでもフェノールの投与後に運動麻痺又は後肢の麻痺が認められた。フェノールを投与したサルにみられた軸索腫脹、髄鞘の変性、炎症性細胞浸潤及び神経束の傷害は、腰部及び胸部の後部神経根及びわずかながら前部神経根の神経線維の変性として特徴的であり、数例では頸部又は仙骨部分にも認められた。顕著な空胞変性及び神経膠症とともに同様の多巣性又は融合性の病変も脊髄に認められた。その病変の強さは、3%フェノールの単回投与、3%フェノールの反復投与、6%フェノールの単回投与の順に高くなった。認められた一般症状は多くの神経毒性を有する物質でよく知られているものであり、その程度は組織学的な変化とは関連しなかった。

—5%フェノール生理食塩液溶液の0.01又は0.015 mLをラットの坐骨神経に直接単回投与したとき、投与直後に歩行異常を示す運動機能の持続的な消失が認められた (Burkel and McPhee, 1970)。その症状はその後の8週で徐々に回復し、14週以降には認められなくなった。合計29例のラットを投与後10分、1時間、1日、1、2、4、8及び14週に連続的に屠殺し、トルイジンブルー染色した切片を光学顕微鏡及び電子顕微鏡で観察した。投与後10分から1日では、投与部位付近で出血及び血管閉塞が顕著であった。軸索のウォラー変性及び髄鞘の崩壊が投与後1週間で最も広がった。その他には筋萎縮及び神経内膜線維症が認められた。ほとんどの神経線維は投与後14週までに再生した。

—さらに最近行われた別の試験では、フェノールによる末梢神経における非選択的な神経融解が認められている (Westerlund et al., 1999)。7%フェノール水溶液0.01 - 0.02 mLを成熟Sprague-Dawley雄ラット (1群16例) の坐骨神経内又は坐骨神経周囲に投与した。リドカイン又は生理食塩液を投与して対照とした。臨床観察では筋肉機能スコアによる評価を2、4、7日、及び2、4、8週に盲検法で行った。投与後1、2、4及び8週に組織標本を採取し、光学顕微鏡及び電子顕微鏡下で神経融解の程度を評価した。フェノール投与群では、著しい筋肉機能障害 (中等度から重度の不全麻痺ないし完全麻痺、重度の足底屈) が麻酔覚醒直後に認められて4週間持続し、神経内投与した群では試験の全期間中高いスコアであった。8週後でもそれぞれのラットにはわずかな麻痺が認められた。神経内及び神経周囲投与群では中等度から重度の腓腹筋の萎縮が2週間以内に発現し、4週後も残存した。神経内投与した1例では萎縮は試験終了の8週間まで持続した。発赤 (神経周囲投与群に投与後1週にみられた) 又は発赤と被毛の乱れのような栄養性の皮膚の変化が神経内投与したほとんどのラットに2週間後に認められた。フェノール水溶液の神経内及び神経周囲投与により、投与部位の断面部に完全な神経内膜の損傷が認められた。軸索の再生は神経周囲投与群では1週間後に、神経内投与群では2週間後に始まった。

—42例のネコの67本の伏在神経について、0.1、0.25、0.5、0.75、1、1.5、2、2.5、3及び5%フェノール溶液の*in vivo*での灌流による急性作用を、灌流中及び灌流後10 - 30分に電気生理学的な手法のみ、電気生理学的な手法と組織学的/電子顕微鏡的手法との組み合わせ、又は組織学的/電子顕微鏡的手法のみで検討した (Schaumburg et al., 1970)。0.25%又はそれ以上の濃度のフェノールの灌流で、灌流後1-2分に活動電位が低下し、ほとんどベースラインまで達するものであった。そのインパルスは生理食塩液の灌流後には正常値まで回復した。1%のフェノールの投与では、活動電位の完全な消失が2分以内にみられ、生理食塩液の灌流による回復は遅く、しかも不完全であった。灌流後3-4週に屠殺して行った電子顕微鏡の観察では、0.5%フェノールの30分間の灌流又はそれより高濃度のフェノールでの短い灌流時間で神経線維のウォラー変性、脱髄及び再ミエリン化が認められた。

—200 mg/kg のフェノール (≥99%) を6例のラットに1週間間隔で2回皮下投与した。その6例中2例では、仙髄及び低部脊髄における脊髄後根又は脊髄前根のニューロパシー的な障害が認められた。一方、対照群の10例ではいずれの脊髄レベルでも影響は認められなかった (Veronesi et al., 1986)。

4.1.2.6.2 ヒトにおける知見

フェノールに経口、吸入又は経皮的に反復暴露されたヒトでは、粘膜刺激、下痢、暗色尿、衰弱、筋肉痛、食欲減退、体重減少及び肝障害が認められ、一般状態の悪化を来たすことが報告されている（Baker et al., 1978; Merliss, 1972）。

- －1974年7月16日に発生した100%フェノールの37,900 Lの漏出事故では、Southern Wisconsinの農村部の井戸の汚染を引き起こした。数家族がその漏出事故後数週間その井戸水を飲んだ（Baker et al., 1978）。下痢、口の痛み、暗色尿及び口の熱傷を特徴とする症状が汚染された水を飲んだ17人で報告されている。彼らの1日摂取量はおよそ10–240 mg/人/日（0.14 - 3.42 mg/kg/日）であった。フェノール汚染水を飲んだヒトの全身の検査が事故のおおよそ7ヶ月後に行われた。
- －ある会社で13.5年間純粋なフェノール、クレゾール及びキシレノールを取り扱っていた検査技師に関するケースレポートがある（Merliss, 1972）。彼は1日に数回フェノールの99%溶液の蒸留を行っており、フェノール蒸気に暴露された上にズボンにフェノールをこぼした。彼の健康状態は徐々に悪化し、食欲減退、体重減少、暗色尿、筋肉痛を示した。数ヶ月仕事を休むことでゆっくりと回復に向かったが、脱力感、筋肉のうずき及び痛みは持続した。仕事に復帰した後すぐに症状が再発した。医学的には、衰弱、肥大肝、暗色尿及び肝酵素活性の上昇と診断された。
- －あるケースレポートでは、背痛及び胸痛を示した41歳の女性に、37週間及び18週間の2回のシリーズで毎週1回デキストロスを25%、グリセロールを25%及びフェノールを2.5%含む水溶液10 mLを0.5%リドカイン溶液10 mLと混合して筋肉内注射した（Kilburn, 1994）。投与後患者は著しい倦怠感、胸部の痛み及び熱傷、目まい、浮遊感及び傾眠、記憶障害、集中不能及び情緒不安定を呈した。
- －Spiller et al.（1993）は、高濃度のフェノール消毒液（フェノールの濃度は26%まで）に対するすべての暴露事故に関する5年間のレトロスペクティブレビューを行い、ある地方の毒物管理センターに報告している。96件中16件でフォローアップが行われておらず、80件について評価が行われた。被害者の年齢の範囲は1歳から78歳までであり、平均は10歳で、5歳未満が75%であった。60件が経口のみ暴露、7件が経皮のみ暴露、12件が経口及び経皮の暴露、1件が吸入暴露であった。52件については病院で診察されている。11件（すべてが経口暴露）では何らかの中樞神経系抑制が認められた。9人の被害者に嗜眠が発現し（発現時間は15分から1時間で平均は20分）、嗜眠の発現から1時間以内に無反応の状態に進行した。昏睡が2人に認められた（摂取量に関する情報なし）。経口的に暴露された17人及び経皮的に暴露された5人にやけどが認められた。心血管系の合併症は認められなかった。経口的に暴露された5人では尿の色が暗緑/黒色に明らかに変化した。乏尿症や無尿症は認められなかった。被害者全員が完全に回復した。暴露状況としては、経口

暴露では2 - 90 mLの消毒液の摂取（フェノールとして520 mg - 23.4 g）であった。影響がみられなかった最大暴露量は30 mL（フェノールとして8.8 g）であり、影響がみられた最少暴露量は5 mL（フェノールとして1.3 g）であった。

ー 20人の労働者（平均暴露期間は 13.5 ± 6.55 年）から空腹時の血液サンプルを、作業する週の最後の労働日の作業シフトの最後の時点で採取した。その工場の報告によれば、その労働者はワックス、オイル及び不純物を含む蒸留液から芳香物質の抽出作業中に、時間加重平均濃度が5.4 ppm (0.021 mg/L) のフェノールのみ暴露されていたものである（暴露に関するこれ以上の情報なし）。採取した血液について血液学的及び血液生化学的検査（トランスアミナーゼ、総蛋白、プロトロンビン時間、出血時間、血液凝固時間、空腹時血糖、血清クレアチニン、銅、亜鉛、鉄、マグネシウム、カルシウム及び血液像）が行われた（Shamy et al., 1994）。尿分析ではフェノール、馬尿酸及びメチルエチルケトンについて測定した（報告なし）。暴露の影響を、フェノール、ベンゼン、トルエン及びメチルエチルケトンで複合暴露された32人の労働者（報告なし）、及び類似した世代の30人の対照と比較して評価した。フェノールのみ暴露された労働者では、対照群と比較してALAT、ASAT及び血液凝固時間が高く、血清クレアチニンが低かった。また、フェノールのみ暴露された労働者では対照群と比較してヘモグロビン、ヘマトクリット、色素指数、MCH、MCV、好塩基球、好中球の有意な高値、単球の低値が認められた。さらに、この労働者にはMg、Mn及びCaの有意な高値も認められた。フェノールのみ暴露された労働者における尿中フェノール濃度 (68.60 ± 47.06 mg/g クレアチニン) は、非暴露対照群の背景値 (11.54 ± 4.7 mg/g クレアチニン) に比較して有意に高かった。この試験の弱点は、記録した時間と持続時間に関するデータ、個別の暴露データ、暴露量の範囲及び1日の暴露時間の記載が欠落していることである。また、暴露量の測定の方法（作業スペースなのか個人についての測定なのか）に関する情報もない。一方、この試験の強みは、フェノールのみ暴露された労働者で尿中フェノール濃度の増加を確認していて、それによって外部からのフェノール暴露が証明されたことである。

Table 4.11 Mean levels of serum and hematological findings

Test parameters	Exposed workers (n=20)		Control subjects (n=30)	
	Mean	SD	Mean	SD
Serum				
ALAT (U/ml)	24.50*	4.11	15.81	14.92
ASAT (U/ml)	27.06**	716.87	14.71	10.70
Creatinine (mg/dl)	0.85**	0.20	0.99	0.20
Clotting time (min)	6.13**	0.82	4.06	0.46

* p < 0.05,

** p < 0.01 significant against control group

ー 1920年以降フェノールは、くも膜下腔内、硬膜外、神経内、神経周囲又は筋肉内注射による局所麻酔剤として、又は慢性疼痛や痙攣の緩和の目的で医療行為に用いられるように

なった (Wood, 1978を参照のこと)。フェノール溶液は、濃度及び投与スケジュールによってはタンパク凝固や壊死を惹起し、結果として遠心性神経線維及び求心性神経線維の非選択的神経融解及び神経周囲の血管障害を来たす。

その他の情報：In vitro試験の結果

その他のいくつかのin vitro試験で神経系、骨髄、免疫系及び肺に及ぼす影響が検討されている。

—成熟ネコの腓腹神経切片をフェノール溶液に暴露したとき、低濃度 (0.05 - 0.125%) ではA-及びC-線維における神経伝達の可逆的ブロック、高濃度 (0.6 - 1%) ではC-線維における持続性神経伝達が認められた (Dodt et al., 1983)。

—フェノールは 1×10^{-4} Mの高濃度のin vitroでマウスの骨髄間質細胞に毒性を示した (Gaido and Wierda, 1984)。

—精製した腹腔マクロファージにおいて、RNA合成がフェノールへの暴露で阻害された。このことは、骨髄間質細胞と造血幹細胞の連携に必要なタンパク成長因子の遊離の減少を示唆するものと説明されている (Post et al., 1986)。

—0.2-1.9 mM (IC₅₀) のフェノールと48時間培養したとき、3種類の白血病細胞株 (ヒト、ラット、マウス) の細胞生存率は対照の50%であった (Ruchaud et al., 1992)。

— Fan et al. (1989) は、マウスの脾臓細胞を用いたin vitro試験において、フェノールが 1×10^{-7} ~ 5×10^{-5} Mの濃度でナチュラルキラー細胞の活性を阻害したことを報告している。

—白血球の遊走に及ぼすフェノールの阻害作用が、モルモットの腹腔好中球を用いた遊走能試験で認められている (Azuma et al., 1986)。

—In vitroでの蒸気を用いた試験 (vapour model) で、フェノールはラットの肺上皮細胞から得た細胞株に細胞毒性を示した (Zamora et al., 1983)。

—ラットの歯の髓質細胞 (RPC-C2A) の培養系において、フェノールによる用量に依存した細胞毒性の増加が1 - 10 mMの濃度で認められた (Kasugai et al., 1991)。

—フェノールは8%以上の濃度でイヌから単離した腰部分節動脈のリングの収縮を惹起した (Brown and Ororie, 1994)。

—潰瘍性大腸炎の患者及び健常者から得た結腸上皮細胞をフェノールと24時間培養したとき、フェノールは1.25 mM以上の濃度で結腸上皮細胞に毒性を示した (Pedersen et al., 2002)。

4.1.2.6.3 反復投与毒性の要約

一般状態及び死亡に関する所見

ラットにフェノールを14日間強制経口投与したとき、120 mg/kg/dayを投与した8例の雌ラットすべてで最初の11日間に体重の減少及び死亡が認められた (Berman et al., 1995, Moser et al., 1995, MacPhail et al., 1995)。フェノールを飲料水に5,000 ppmの濃度に混ぜて投与したとき (360 mg/kg/day)、雌ラット1例が試験14日に死亡した (CMA, 1998b)。モルモットを0.1 - 0.2 mg/Lのフェノール蒸気に暴露したとき、吸入暴露後20日で呼吸困難及び死亡が認められ、試験の中止に至った (Deichmann et al., 1944)。ウサギに7.12%フェノール水溶液 (83 mg/kg/day) の塗布を6回行ったとき、1例に途中死亡が認められた (Deichmann et al., 1950)。これに比べて、200及び450 mg/kg/dayのフェノールに暴露したF344ラット、及び281及び375 mg/kg/dayに暴露したB6C3F1マウスの生存率は、103週の試験終了時において対照群の生存率とほとんど同じであった (NIH, 1980)。

神経系

暴露データの質には限界があるが、ヒトが長期間経口的、経皮的又は吸入経路でフェノールに暴露されたとき神経系に悪影響をもたらすことが知られている。自発運動の減少、筋脱力、筋肉痛及び認知能の障害がケースレポートで報告されている (Merliss, 1972; Kilburn, 1994)。

実験動物をフェノールに経皮、経口又は吸入暴露させたとき、様々な症状を呈した。神経行動学的テストの結果から、フェノールへの反復暴露で中枢及び末梢神経系が影響を受けることが示されている。実験動物では、筋肉振戦 (ウサギ、経皮、18回の暴露、 $\geq 2.37\%$ フェノール、 ≈ 260 mg/kg/day、Deichmann et al., 1950、ラット 13週間、308 mg/kg/day、CMA, 1998b)、一過性の非協調運動及び平衡感覚異常 (ラット、吸入、14日間、0.1 mg/L、Dalin and Kristoffersson, 1974、ラット、308 mg/kg/day、CMA, 1998b)、体温低下 (雄ラット、13週間、83 mg/kg/day、CMA, 1998b)、眼瞼下垂 (ラット、13週間、308 mg/kg/day、CMA, 1998b)、瞳孔反射の低下 (ラット、14日間、平均120 mg/kg/day、Berman et al., 1995、Moser et al., 1995、MacPhail et al., 1995)、自発運動の減少 (雌ラット、13週間、107 mg/kg/day、CMA, 1998b)、ラット、14日間、平均120 mg/kg/day、Berman et al., 1995、Moser et al., 1995、MacPhail et al., 1995)、立ち上がり行動の増加 (ラット、14日間、40 mg/kg/day、Berman et al., 1995、Moser et al., 1995、MacPhail et al., 1995) 及び自発運動の初期は増加及びその後は緩慢な動き (ラット、吸入、14日間、0.1 mg/L、Dalin and Kristoffersson, 1974)、自発運動の減少及び後肢麻痺 (モルモット、3-5回の吸入暴露、0.1 - 0.2 mg/L、Deichmann et al., 1944) が報告されている。2.5又は5%フェノール水溶液の直腸膀胱窩内投与で一過性の痙攣が認められた

(Parkhouse et al., 1987)。マウスを用いた2世代試験で認められた一般症状ではフェノールの別の神経毒性が示されている。200 mg/kg/day以上のフェノール水溶液を妊娠6 - 15日に経

口投与した妊娠CDマウス全例では振戦が主な症状であった。それに続く催奇形性試験では、70及び140 mg/kg/dayの投与で最初の投与日に振戦が同じ系統の母マウスに認められた。280 mg/kg/dayではその振戦は妊娠6 - 15日の投与の期間中ずっとみられ、重篤な運動失調と関連するものであった（Jones-Price et al., 1983b、病理組織学的検査は実施されていない）。

CMA (1998b) の試験で雄ラットに認められた体温の低下は種特異的又は性特異的な変化ではないと思われた。筋攣縮及び振戦以外の症状として、50 - 300 mg/kgのフェノールを腹腔内投与した雌雄のマウスに持続する体温調節障害が用量に依存して認められ、最大の体温低下は投与後1 - 2時間でみられた5°Cであった（用量選択試験、Dow Chemical, 2001、セクション4.1.2.7参照のこと）。マウスでは、雌が雄よりも感受性が高く、200 mg/kgの用量では24時間後でも回復が遅く、300 mg/kgでは投与後48時間でも正常な体温に戻っていなかった。

症状が一定しないのは、フェノールが神経系の特定の部位又は構造に作用するものではないことを示唆している。

上記のほとんどの試験の質には限界があることに関連して、いくつかの所見は、最近提出されたラットを用いた13週間投与試験で確認されている（CMA, 1998b）。神経機能及び神経行動に及ぼすフェノールの影響はラットを用いたこの試験で十分に研究されており、フェノールの投与に関連した体温低下（ $\geq 1,000$ ppm、83 mg/kg/day）及び有意ではない自発運動の変化（雌のみ、 $\geq 1,000$ ppm、83 mg/kg/day）がフェノール処理したほとんどの動物で認められた。最大用量群（5,000 ppm、雄及び雌でおよそ308及び360 mg/kg/day）の雌の数例でのみ円背位、非協調性運動、振戦、活動低下、眼瞼下垂及び体温低下のような異常行動又は症状が認められた。これらの所見は形態学的な変化を伴わず、末梢及び中枢神経系に変化は認められなかった。しかし、神経系における形態学的な変化を検出する試験法は、HE染色及びトルイジン染色に限られていた。特異的で感受性の高い方法（例えば、GFAP免疫組織学的方法、PTAH、鍍銀染色法）を使用していないために、変化を検出できなかったことは変化がなかったことを意味するものではない。さらなる解析には中枢及び末梢神経系に関する広範な試験が必要である。

サル、ラット及びネコを用いた高用量のフェノールの神経内又は硬膜外への単回又は反復投与試験ではフェノールの明らかな神経毒性が認められ、運動失調、歩行異常及び（後）肢麻痺を伴う神経伝達の障害、軸索変性、脊髄（とくに神経根部分）及び末梢神経の脱髄が認められた（Katz et al., 1995、Burkel and McPhee, 1970、Schaumburg et al., 1970）。神経伝達に及ぼす障害作用は末梢神経の切片を用いた*in vitro*試験でも確認されている（Dodt et al., 1983）。これらの動物試験の成績及び治療目的での使用における薬物効果と副作用効果に関する成績からは、有害性の分類を行うことはできない。それは、その投与経路が労働者や使用者の暴露条件としては不適切であるためである。

マウスに19.5 mg/Lのフェノール（6.2 mg/kg/day）を28日間経口投与したとき、脳のいくつ

かの部位で神経伝達物質の濃度が減少した。

5,000 ppmまでのフェノール（雄では310 mg/kg/day、雌では350 mg/kg/day）を飲料水で摂取させたマウスを用いた2世代試験では、神経機能の障害に関連した異常な所見は認められなかった（IITRI, 1999、Ryan et al., 2001、神経機能に関するFOBや神経系の病理組織学的検査も実施されていない）。

骨髄 / 造血系

マウスにフェノールを飲料水で28日間摂取させたとき、19.5 mg/L (6.2 mg/kg/day) で貧血が認められ、用量に依存する赤血球数の減少が最少用量群 (4.7 mg/L = 1.8 mg/kg/day) から認められた (Hsieh et al., 1992)。マウスにフェノールを皮下投与したとき、高用量群 (245 mg/kg/day) で成熟過程の赤血球における鉄の取り込みの減少に基づく造血阻害作用が認められた。200 mg/kg/dayのフェノールを4日間腹腔内投与したマウスから採取した細胞では、顆粒球/単球の前駆細胞の造血をサポートする骨髄間質細胞の機能が抑制された (Gaido and Wierda, 1985)。In vitro試験では、フェノールの高濃度 (1×10^{-4} M) で骨髄間質細胞に対する細胞毒性が認められた (Gaido and Wierda, 1984)。マウスに50 mg/kg/dayのフェノールを皮下投与後6日目に、骨髄で顆粒球生成間質細胞集団の抑制が認められた (Tunek et al., 1981)。

フェノールをマウスに反復経口投与した試験 (Hsieh et al., 1992) では貧血が最も感受性の高い変化であり、経口投与のリスク解析における全体的なLOAEL (最少毒性量) を示すものと思われた。NIH (1980) のマウス及びラットを用いた試験では血液学的検査が行われていないこともあり、このことは他の試験では確認されていない。その他にはマウスで反復投与試験が行われていないために、フェノールの毒性に対するマウスの感受性が他の動物種よりも高いかどうかは不明である。

チャンバー内濃度が25 ppm (0.09625 mg/L) までのフェノールにラットを10日間暴露させたとき、フェノール投与に関連した赤血球パラメータに関する変化は認められなかった (CMA, 1998a)。0.1 mg/Lのフェノールに14日間暴露させたとき、7例のラットに有意ではないがわずかなヘマトクリット (-9.5%) 及びヘモグロビンの減少 (-4.2%) が認められた (Dalin and Kristoffersson, 1974)。しかし、この試験では検査した血液学的パラメータが不完全であり、その他の吸入暴露試験や経皮投与試験ではこれが行われていなかった。

免疫系

95.2 mg/Lのフェノールを飲料水で28日間摂取させたCD-1マウスで、T及びB細胞マイトジェンに対する反応のフェノール投与に起因する抑制作用が認められた。T細胞依存性液性免疫応答及び抗体価が、19.5 mg/L (6.2 mg/kg/day) 以上のフェノールで減少した (Hsieh et al., 1992)。一方、5,000 ppm (301 mg/kg/day) までのフェノールを飲料水で摂取させたラットでは、T細胞依存性液性免疫応答の変化は認められなかった (IITRI, 1999)。両試験とも脾

臓の細胞充実性にフェノールの影響はみられなかった。フェノールの14日間経口投与で、雌ラットの胸腺及び脾臓の萎縮性変化が12 mg/kg (8例中1例) 及び40 mg/kg (8例中2例) で認められた (Berman et al., 1995、Moser et al., 1995、MacPhail et al., 1995)。5,000 ppmの飲料水でフェノール (360 mg/kg/day) に暴露させた試験で、試験14日に死亡した動物に胸腺及び脾臓の小型化 (萎縮性変化が示唆される) が認められた (CMA, 1998b)。慢性毒性試験 (NIH, 1980) では、免疫系の器官 (ラット及びマウスの脾臓、リンパ節; マウスの骨髄) にフェノール投与に関連した病理組織学的変化は認められなかった。免疫系に関するパラメータや組織・器官について検討が行われなかったため、又はこれらの試験ではその記載が欠落しているために、吸入及び経皮投与による反復投与試験では免疫系に対する影響については触れられていない。

フェノールが*in vitro*でナチュラルキラー細胞の活性を阻害することが報告されている (Fan et al., 1989)。また、好中球の走化性がフェノールによって抑制されることも報告されている (Azuma et al., 1986)。

肝臓

ラットに40 mg/kg/dayのフェノールを14日間経口投与したとき、雌の1/8例に肝細胞の変性が認められた (Berman et al., 1995、Moser et al., 1995、MacPhail et al., 1995)。ラットに対する0.1 mg/Lのフェノール蒸気の14日間吸入暴露で肝酵素活性の上昇が認められたことから、肝障害が示唆された (Dalin and Kristoffersson, 1974)。肝毒性がみられた動物実験の成績は、フェノール暴露で肝腫大を示した労働者のケースレポート (Merliss, 1972) 又は肝臓トランスアミナーゼ活性の上昇がみられたコホート試験 (Shamy et al., 1994) と一致する。

肺

化膿性気管支肺炎がフェノールの吸入で発現することが報告されている (Deichmann et al., 1944) が、その所見の信頼性は低い。その試験でのSPFの状態が不明であるために、伝染性病原体によって惹起された可能性が十分に考えられる。一方、フェノール蒸気の*in vitro*における肺上皮細胞に対する細胞毒性が報告されている (Zamora et al., 1983)。

腎臓

0.1%以上の濃度のフェノール溶液を直接腎循環に注入したとき尿細管への毒性が認められた (Coan et al., 1982)。40 mg/kgのフェノールを14日間強制経口投与した雌ラットでは尿細管壊死及び乳頭部の出血が認められた (Berman et al., 1995、Moser et al., 1995、MacPhail et al., 1995)。さらに、モルモットに28日間及びウサギに88日間フェノールを吸入暴露させたとき、糸球体硬化症、間質性炎症及び線維症とともに尿細管変性が認められている (Deichmann et al., 1944)。フェノールを飲料水で慢性的に投与した試験では、腎臓の慢性炎症の増加という不明確な所見が認められている (NIH, 1980)。

心臓

ウサギ及びモルモットを0.1 - 0.2 mg/Lのフェノール蒸気に20日間暴露させた初期の試験では心筋の変性が認められている (Deichmann et al., 1944)。その他の反復投与試験では心臓への影響は報告されていないが、単回暴露での心臓毒性が報告されている (セクション 4.1.2.2参照)。

皮膚

1.18 - 7.12%のフェノール水溶液をウサギの皮膚に18日間反復塗布したとき (130 - 783 mg/kg/day)、表皮の角化亢進及び潰瘍が認められた (Deichmann et al., 1950)。

リスクアセスメントのために勧告する全体的なN(L)OAEL/N(L)OAEC :

経口投与

LOAELは1.8 mg/kg/day : マウスにおける亜急性毒性試験 (Hsieh et al., 1992)。

吸入暴露

LOAEC_{systemic}は0.021 mg/L : 労働者における時間加重平均暴露量 (Shamy et al., 1994)。

NOAEC_{local}は0.09625 mg/L : ラットにおける14日間投与試験 (CMA, 1998a)。

経皮投与

NOAEL_{systemic}は1.18% (≈130 mg/kg/day) : ウサギにおける18日間投与試験 (Deichmann et al., 1950)。

NOAEL_{local}は2.37% (≈260 mg/kg/day) : ウサギにおける18日間投与試験 (Deichmann et al., 1950)。

考察

以前及び最近の試験に基づくデータベース全体について、フェノール処理に起因した作用に関する反復投与毒性試験の結果は最終的には得心のいくものではないが、それを最も感受性の高い動物種において最少作用量で発現した有害作用とみなすことを推奨する。

フェノールに暴露された労働者において肝障害を示唆する肝酵素活性 (とくにALAT) の上昇及び血液凝固時間延長が認められたことから、慢性的な吸入暴露における全身作用のLOAECは0.021 mg/Lであると推定される (Shamy et al., 1994)。ラットを用いた14日間吸入試験では、気道に対する有害作用は認められなかった (CMA, 1998a)。このとき検討した最高濃度 (0.09625 mg/L) が気道に対する局所作用のNOAECと推定される。

経口投与によるN(L)OAEIを推定するためには、Hsieh et al. (1992) の飲料水による試験の所見がフェノール投与による最も感受性の高い有害作用と考えられた。それは、マウスに1.8 mg/kg/dayのフェノールを投与したときの赤血球数の有意な減少 (-32%) であり、LOAELに相当する。NIHの試験 (1980) は、試験デザインの公式な要求事項に関する規制には合致するが、フェノールの毒性を評価するのに適切なすべての感受性の高いパラメータが含まれているわけではない。しかし、Hsieh及び彼のグループが認めた所見は、マウス及びラットを用いた他の経口投与試験で確認されていない。検討したパラメータが異なり、標的臓器について記載がないことから、そのことの一部は説明可能である。しかし、血液毒性に関してはマウスが最も感受性が高いのかもしれない。なお、B6C3F1マウスでの長期のバイオアッセイ (NIH, 1980) では、長期間の貧血 (例えば脾腫、髄外及び髄内造血) の後に認められるはずの血液毒性を示唆する明確な所見が得られなかったため、この仮定は確定的なものではない。さらに、比較的低い濃度 (およそ0.1 mg/L) ではいずれの吸入試験でも血液毒性に関連する作用は認められていない。

同様に、T細胞依存性液性免疫応答についてもマウスのデータ (6.2 mg/kg/dayから抑制、Hsieh et al., 1992) とラットの試験 (301 mg/kg/dayまで影響なし、IITRI, 1999) で一致しない。これも動物種あるいは系統特異性に基づくものかもしれないが、新たなデータがない限り現状では不明である。

NIH (1980) の103週間投与試験によるNOAELと亜急性毒性試験 (Hsieh et al., 1992) によるLOAELの明らかな違い (両試験とも飲料水による投与) は、Hsiehの試験の血液毒性、神経機能及び免疫機能における検査パラメータの高感受性とNIH試験の測定パラメータが少ないこと (血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、脳以外の神経系組織に関する病理組織学的検査及び神経障害に関する検査がない) に起因していると思われる。したがって、NIHの試験のNOAELはリスクアセスメントには利用できない。

経口急性毒性試験でLD₅₀を求めるための用量と長期経口投与試験の用量がオーバーラップしているが、これはそれぞれ強制経口投与と飲料水による持続的な投与という暴露方法の違いによって説明できる。

初期の経皮投与試験のデータの弱点は推定されたNOAELの信頼性が低いことであり、より信頼性の高い他のデータがない場合にのみ採用すべきであろう。

コメント

フェノールに対する反復暴露の影響を比較すると、標的臓器、有害作用及びそれが発現する用量に多くの違いがあるように思われる。しかし、これは検査したパラメータの質と量の違いで説明できる。

造血系、神経系、腎臓、肝臓及び皮膚に及ぼすフェノールの毒性には一貫性が認められ

る。Deichmann et al. (1944) が報告している心筋の変性についてはさらに検討を要する。治療のためにフェノールを単回投与したときに生じた不整脈に関するケースレポート

(Morrison et al., 1991) は、心臓も標的臓器であるという根拠をさらに支持するものである。以上のように、実験動物における様々な投与経路によるフェノールの亜急性及び亜慢性投与試験では、いくつかの臓器や組織の機能及び形態に毒性所見を認めている。それらの試験はすべて、方法や文書化に質的な欠陥がみられたり、特殊な項目のみに着目したものであったが、記載されている作用はヒトの健康に対するリスクの予測に有効なものと考えられる。少なくとも、危険有害性の分類及び表示に利用される基準用量/濃度以下の用量で発現する次のような作用 (Table 4.12) は、有害性と分類してXn R 48と表示とするための根拠を示している。検討した用量や濃度は分類の基準用量以下であった。基準用量に達するような高い用量/濃度が使用されたという仮定の下では、毒性の増強が予測される。

Table 4.12 Summary of relevant toxic effects at or below the critical doses/concentrations which give need for R48 classification

Application route	Oral	Inhalation
Study duration	Subacute	subacute/subchronic
Critical dose for classification	≤150 mg/kg bw/day	≤ 0.75mg/l < 0.25 mg/l
Species		
Mouse	28 days/drinking water: RBC↓ ≥1.8 mg/kg bw/day hematocrit↓ ≥33.6 mg/kg bw/day brain neuro-transmitters↓ ≥1.8 mg/kg bw/day (Hsieh et al., 1992)	
Rat	14 days, gavage: premature deaths at 120 mg/kg delayed pupil response at 120 mg/kg bw/day liver and kidney degeneration at 40 mg/kg bw/day spleen/thymus atrophy and necrosis ≥ 12 mg/kg bw/day (Berman et al., 1995; Moser et al., 1995, MacPhail et al., 1995)	14 days motor disorders and impaired function of balance regulation at 0.1 mg/l (Dalin and Kristoffersson, 1974)
Rabbit		63 exposures during 88 days: degeneration of the myocard, liver and kidneys at 0.1-0.2 mg/l (Deichmann et al., 1944)
Guinea pig		20 exposures during 28 days: unscheduled deaths, decreased activity, paralysis, degeneration of the myocard, liver and kidneys at 0.1-0.2 mg/l (Deichmann et al., 1944)

R 48のガイダンス用量 (亜急性毒性試験で300 mg/kg/day) 以下である2.37% (260 mg/kg/day) 以上の濃度で発現した重要な全身作用である振戦に着目した場合、ウサギを用いた反復経皮投与試験のデータのみR48の基準に合致した。

まとめ

Table 4.12に示した毒性に基づき、フェノールは“有害 (harmful)”に分類し、“Xn”、Rフレーズ：“有害性：長期吸入、皮膚接触及び飲み込みによる重度健康障害の危険性”(R 48/20/21/22) と表示する。

4.1.2.7 変異原性

4.1.2.7.1 *In vitro*試験

細菌を用いる遺伝子突然変異試験及びカビ類を用いる試験 (Table 4.16)

*Salmonella typhimurium*を用いた遺伝子突然変異試験では、5,000 µg/plateまでの濃度でS-9 mixの存在下及び非存在下とも陰性であった (Gilbert et al., 1980, Haworth et al., 1983, Glatt et al., 1989)。標準的なプレートテスト及びプレインキュベーション法によるテストが行われた。S-9 mixの存在下では3,333 µg/plateまで、S-9 mixの非存在下では2,500 µg/plateまで毒性は認められなかったが、高濃度では弱い毒性が認められた。

Wild et al. (1980) 及びGocke et al. (1981) も、*Salmonella typhimurium*のTA 98株を用いた試験で100 µmol/plate (9.4 µg/plate) まで陰性であったことを報告している。通常のVogel-Bonner培地の代わりに特殊な培地 (ZML培地) を用いた場合は、TA 98株で弱い陽性の結果が認められ、最大の突然変異発現頻度は約2.5倍であった。著者はこの培地に依存した毒性について説明していない (Gocke et al., 1981)。

S-9 mixの非存在下のみで行った*Aspergillus nidulans*の2倍体株19の分生子を用いた試験の結果は陽性であった (Cebrelli et al., 1987)。15 mmol/L (1,411.6 µg/mL) の濃度で遺伝子への作用が認められ、著者はこの作用を染色体異常によるものと説明している。テストした最高濃度は20,000 µmol/L (1,882.2 µg/mL) であり、細胞毒性が認められた (生存率は57%)。

哺乳動物細胞を用いる試験 (Table 4.17 - 4.26)

V79細胞 (hprt遺伝子座 ; S-9 mix非存在下のみ)を用いた2つの哺乳動物細胞遺伝子突然変異試験が報告されている (Paschin and Bahitova, 1982, Glatt et al., 1989)。Paschin and Bahitova (1982) の試験では250及び500 µg/mLの濃度で弱い陽性反応が認められている。Glatt et al. (1989) の報告では、フェノールは細胞毒性を示す限界である4,000 µmol/L (376.4 µg/mL) まで陰性であった。

Tsutsui et al. (1997) は、SHE細胞 (hprt遺伝子座及びNa⁺/K⁺ 遺伝子座 ; S-9 mix非存在下のみ) を用いた遺伝子突然変異試験の結果は3.0-30 µmol/L (0.28-2.82 µg/mL) の濃度で陽性であったことを報告している。細胞毒性は認められていない。

二つのマウスリンフォーマ試験 (Wangenheim and Bolcsfoldi, 1988、McGregor et al., 1988) では、S-9 mix存在下で同じような弱い陽性反応が認められている。Wangenheim and Bolcsfoldi (1988) はS-9 mix存在下で弱い陽性反応を認め、一方McGregor et al. (1988) はS-9 mix存在下では1,800 µg/mLまでの濃度で陰性であったことを報告している。遺伝毒性は中等度から強度の細胞毒性と関連していた。

CHO細胞を用いた染色体異常試験では、S-9 mix存在下で2,000 µg/mL以上、又はS-9 mix非存在下で600 µg/mL以上で陽性であった (Ivett et al., 1989)。わずかな細胞毒性がS-9 mix存在下及び非存在下の最高濃度で認められた。Tsutsui et al. (1997) はSHE細胞を用いた染色体異常試験をS-9 mix非存在下のみで行い、100 µmol/L (9.4 µg/mL) までは陰性であることを報告している。細胞毒性は認められなかった。

異なる哺乳動物細胞を用いた3種の*in vitro*小核試験ではS-9 mix非存在下で陰性であった (Miller et al., 1995、Glatt et al., 1989、Yager et al., 1990)。Miller et al. (1995) のみはS-9 mix存在下で試験を行い、陽性であったことを報告している。全体的に、高濃度でわずかに細胞毒性が認められた。

SHE細胞を用いた異数性 (高倍数性及び低倍数性) 誘発試験では、100 µmol/L (9.4 µg/mL) までの濃度で陰性であった (Tsutsui et al., 1997)。この試験はS-9 mix非存在下でのみで行われ、細胞毒性は認められなかった。

ヒトリンパ球 (Morimoto et al., 1983) 及びCHO細胞 (Ivett et al., 1989) を用いたSCE (姉妹染色分体交換) 試験ではS-9 mix存在下で弱い陽性であった。異なる哺乳動物細胞を用いた試験では、S-9 mix非存在下で陰性 (Glatt et al., 1989、Jansson et al., 1986)、極わずかな/弱い陽性 (Morimoto and Wolff, 1980、Ivett et al., 1989)、明らかな陽性 (Erexson et al., 1985、Khalil and Odeh, 1994、Tsutsui et al., 1997) の結果が報告されている。

SHE細胞を用いたUDS試験 (S-9 mix非存在下のみ) では、1.0 µmol/L (0.09 µg/mL) 以上の濃度で陽性であった (Tsutsui et al., 1997)。細胞毒性に関するデータは記載されていない。

Garberg et al. (1988) はマウスリンフォーマ細胞 (L5178Y) におけるDNA鎖切断誘発試験を行い、S-9 mix存在下の1,500 µmol/L (141.2 µg/mL) 及び5,000 µmol/L (470.6 µg/mL) で陽性の結果を報告している。一方、S-9 mix非存在下では5,000 µmol/L (470.6 µg/mL) までの濃度で陰性であった (Garberg et al., 1988、Pellack-Walker and Blumer 1986)。S-9 mix存在下及び非存在下とも細胞毒性は認められなかった。

Kolachana et al. (1993) はHL60細胞を用いたDNA付加体形成試験をS-9 mix非存在下の100 µmol/L (9.41 µg/mL) のみで行い、陽性の結果を報告している。細胞毒性の記載はなかった。Subrahmanyam and O'Brien (1985) は、西洋ワサビペルオキシダーゼ及び過酸化水素

存在下で、放射能標識した ^{14}C -フェノールに由来する物質が単離した子牛胸腺 DNA に結合することを報告している。

Table 4.13 Overview on in vitro findings

Negative effects	Questionable effects	Positive effects
Mutation tests in vitro		
Bacterial gene mutations		Mammalian cell mutagenicity: tk locus, hprt locus, Na ⁺ /K ⁺ locus
Aneuploidy		Chromosomal aberrations
		Micronuclei
		Aspergillus test (chromosomal aberrations)
Indicator tests in vitro		
		SCE in mammalian cells
		UDS with SHE cells
		DNA strand breaks in mammalian cells and isolated DNA
		DNA adducts in mammalian cells

4.1.2.7.2 In vivo試験

マウス骨髄を用いた小核試験 (Table 4.27 - 4.29)

マウスに単回経口投与、単回腹腔内投与又は反復腹腔内投与した小核試験が報告されている。いずれの試験も使用した動物数は少なかった。一つの試験では1群6例、その他の試験では1群3 - 5例であった。これらのすべての試験で多染性骨髄赤血球を計数している。それぞれのin vivo小核試験の概要をTable 4.27 - 4.29に示した。

Table 4.14 General overview on micronucleus tests

Administration	Result (Dose in mg/kg)	Group size	Local cytotoxicity	LD ₅₀ (mg/kg bw)	Reference
1 - p.o.	Weakly pos. (at 265)	4	unclear	270 - 300 (see 4.1.2.2)	Ciranni et al., 1988a
	Weakly pos. (at 265)	4	drastic		Ciranni et al., 1988b
	Negative (at 250)	5	no data		Gad-El-Karim et al., 1985
	Negative (at 250)	5	no data		Gad-El-Karim et al., 1986
1 - i.p.	Positive (at 300)	6	extreme	180	McFee et al., 1991
	Positive (at 265)	4	extreme		Ciranni et al., 1988b
	Negative (up to 265)	3	no effect		Barale et al., 1990
	Weakly pos. (at 120)	3	no effect		Marrazzini et al., 1994
2 - i.p.	Negative (up to 188)	4	no data		Wild et al., 1980
3 - i.p.	Weakly pos. (at 90/180)	5	no effect		Shelby et al., 1993
	Weakly pos. (at 160)	5	no effect		Chen and Eastmond, 1995

単回経口投与による試験はLD₅₀に相当する用量のみで行われた。二つの試験では弱い陽性の結果となり、別の二つの試験では陰性であった (Table 4.27参照)。

Ciranni et al. (1988a及び1988b) は、Swiss CD-1マウスを用いて265 mg/kgのフェノールによる小核誘発における経時変化を検討する二つの試験を実施した。最大の反応は24時間のサンプルで認められた (2又は2.5倍)。一つの試験ではP/N比の顕著な減少が認められたが、他の試験では明らかな変化は認められなかった。両試験とも一般毒性に関するデータは示されていない。Gad-El-Karim (1985、1986) のグループは、Swiss CD-1マウスに250 mg/kgを投与した二つの試験を報告している。その試験の結果は明らかな陰性であり、局所又は一般毒性に関するデータは示されていない。

非常に高い用量である265 or 300 mg/kgの単回腹腔内投与で陽性の結果が認められたが、同時に顕著な細胞毒性も認められた (Table 4.28参照)。

McFee et al. (1991) は、300 mg/kgの投与で陽性の結果を報告している。二つの試験では小核保有細胞の増加がみられ、それは対照の4.8又は3.4倍の値であった。この二つの試験では顕著な細胞毒性も認められているが、一般毒性については記載がない。Ciranni et al.

(1988b) は、経時変化を検討する試験で小核出現頻度の有意な増加を報告している。この試験における最大の増加は、265 mg/kgの投与後18時間のサンプルにおける5.0倍であった。全サンプリング時間にわたって明らかな細胞毒性が認められているが、一般毒性については記載がない。

低用量を単回腹腔内投与した二つの試験には、使用した動物数が少ない (3例のみ) という欠点がある。Barale et al. (1990) は、40 - 160 mg/kgの投与で陰性の結果を報告している。局所細胞毒性は認められず、一般毒性についての記載はない。Marrazzini et al. (1994) は、

最大用量の120 mg/kgで小核出現頻度のわずかな増加を報告している。それは陰性対照の1.7倍であった。細胞毒性は認められず、一般毒性についての記載はない。

188 mg/kgまでの用量の反復腹腔内投与で弱い陽性または陰性の結果が得られている (Table 4.29参照)。

雌雄のマウス (系統はNMRI) に対する47 - 188 mg/kgの2回腹腔内投与では陰性であった (Wild et al., 1980)。局所細胞毒性及び毒性所見についての記載はない。

雄マウス (系統はB6C3F1) に45 - 180 mg/kgを3回腹腔内投与したとき弱い陽性反応が認められた (Shelby et al., 1993)。二つの試験が行われた。一つの試験では180 mg/kgで小核出現頻度が2倍になった。別の試験では、90及び180 mg/kgで2倍以下の増加であった。両試験とも細胞毒性及び致死毒性は認められなかった。Chen and Eastmond (1995) は、雄マウス (系統はSwiss CD-1) に最高用量の160 mg/kgを3回腹腔内投与したとき弱い陽性反応が認めたと報告している。細胞毒性は認められなかったが、毒性所見についての情報は記載されていない。

*In vivo*小核試験における陽性反応の評価では、陽性の作用は毒性が生ずるような高用量のみにみられることが重要である。非常に高い濃度における小核発現のメカニズムに、低体温及び代謝の亢進が関与している可能性がある。毒性を生ずるような高用量における低体温とマウス骨髄多染性赤血球での小核発現の直接の関連を示す新しいデータがある (セクション4.1.2.6参照、Spencer et al., 2002、Dow Chemical Company, 2001)。さらに、高用量ではフェノールの通常の代謝経路である抱合反応が亢進してヒドロキノン及びその他の代謝物が生ずることも、小核試験における弱い陽性反応に対する説明として推定されている。したがって、高用量における小核の発現は閾値のある間接的な作用に基づくものと思われる。

げっ歯類の骨髄における染色体異常試験 (Table 4.30)

Thompson and Gibson (1984) は、フェノールを経口及び腹腔内投与した雌雄のラット (系統はSprague Dawley) の骨髄細胞における染色体異常試験の結果は陰性であったことを報告している。なお、この試験の最高用量はLD₅₀ (雄の経口投与では510 mg/kg、腹腔内投与では180 mg/kg、雌の経口投与では410 mg/kg、腹腔内投与では110 mg/kg) に相当するものであった。また、動物数は1群3例のみであり、1例当たりの検査した分裂中期の細胞数は30のみであった。

DNA鎖切断誘発試験 (Table 4.31)

Skare and Schrotel (1984) によれば、ラットに対するフェノールの7.9 - 79 mg/kgの腹腔内単回投与及び4.0 - 39.5 mg/kgの24時間間隔での5回腹腔内投与の両者で、精巢のDNAに鎖切

断は認められなかった。単回投与試験の最高用量はLD₀₁に相当し、LD₅₀の36%であった。

キイロショウジョウバエ試験 (Table 4.32)

Woodruff et al. (1985) は、2,000 ppmの摂取又は5,250 ppmを腹腔内投与したときのキイロショウジョウバエ（系統はCanton-S）を用いた伴性劣性致死試験の結果は陰性であったことを報告している。両試験で致死毒性が認められている。

DNA付加体形成試験 (Table 4.33)

雌のSprague-Dawleyラット（骨髄、肝臓、Zymbal腺；Reddy et al., 1990）及び雄のマウス（骨髄細胞における酸化的DNA損傷；Kolachana et al., 1993）において、フェノールはDNA付加体形成を誘発しなかった。Shufen et al. (1996)によれば、Aroclor誘導SDラットに75 mg/kgのフェノールを単回腹腔内投与したとき、DNA付加体形成が認められた。この報告書は中国語で書かれており、適切な評価はできない。

Table 4.15 Overview on *in vivo* findings

Negative effects	Questionable effects	Positive effects
Mutation tests <i>in vivo</i>		
Chromosomal aberrations in rats (bone marrow)		Weak induction of micronuclei in mice at highly toxic doses (bone marrow)
Drosophila (SLRL test)		
Indicator tests <i>in vivo</i>		
DNA strand-breaks in rats (testis)		
DNA adducts in rats (bone marrow, Zymbal gland, liver) and mice (bone marrow)		

結論

フェノールは細菌では遺伝子突然変異を誘発しなかった。哺乳類細胞の培養系においては、マウスリンフォーマ細胞アッセイや別の指標を利用した試験で染色体異常、小核の出現及び遺伝子突然変異（hprt遺伝子座；Na⁺/K⁺遺伝子座）の陽性反応が認められた。異数性誘発試験は陰性であった。

げっ歯類を用いた*in vivo*試験では、染色体異常試験、DNA鎖切断誘発試験及びDNA付加体形成試験はいずれも陰性であった。キイロショウジョウバエ試験も陰性であった。

*In vivo*の小核試験の結果は弱い陽性又は陰性であった。小核の出現頻度はLD₅₀に相当するような高い用量でも非常に低かった。高用量における小核の発現は間接的な作用によるも

のと思われる。

EU Classification and Labelling Working Groupは2001年にフェノールをカテゴリー3の突然変異誘発物質に分類することを決定した。

上記のような評価可能な結果に基づき、この分類は現在も有効であり、フェノールは体細胞に対する突然変異誘発物質と考えられる。高用量での小核試験の陽性反応がフェノール投与による低体温の二次的な作用によるものとするのはもっともらしい仮説ではあるが、データが不十分なため（抄録のみの報告、体温を維持することで低体温を予防した場合に小核の誘発を阻止できるかの確認試験の欠如）、このメカニズムに関して明確に結論できない。

さらに、吸入や経皮暴露の際に最初に接触する部位における突然変異原性のような別の疑問については、評価可能な*in vivo*遺伝毒性データを用いて説明することはできない。

Table 4.16 *In vitro* tests: Bacteria and *Aspergillus nidulans*

Test system	Concentration range		Result	Toxicity	Remarks	Reference
	with S-9 mix	without S-9 mix				
Gene mutation; Salm. typh. TA 1535, TA 1537		10-100 µg/plate	Negative	No toxic effects	Standard plate test	Gilbert et al., 1980
Gene mutation; Salm. typh. TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537	33-3,333 µg/plate	33-2,500 µg/plate	Negative	No toxic effects	Preincubation test	Haworth et al., 1983
Gene mutation; Salm. typh. TA 97, TA 98, TA 100, TA 102, TA 104, TA 1535	20-5,000 µg/plate	100-5,000 µg/plate	Negative	At high doses	Preincubation test	Glatt et al., 1989
Gene mutation; Salm. typh. TA 98	20-100 µmol/plate (1.88 - 9.4 µg/plate)	no data	Inconclusive	No data	Negative with normal medium; weak positive with uncommon ZML medium; standard plate test	Wild et al., 1980
Gene mutation; Salm. typh. TA 98	Up to 100 µmol/plate (up to 9.4 µg/plate)	Up to 100 µmol/plate (up to 9.4 µg/plate)	Inconclusive	No data	Negative with normal medium; weak positive with uncommon ZML medium; standard plate test	Gocke et al., 1981
<i>Aspergillus nidulans</i> diploid strain 19	Not done	5,000-20,000 µmol/l (470.5-1,882.0 µg/ml)	Positive	Effect only at 20,000 µmol/l = 57% survival	Positive (probably gross chromosomal aberrations) only at 15 mmol/l (1411.6 µg/ml)	Cebrelli et al., 1987

Table 4.17 *In vitro* tests: Mammalian cell gene mutations

Test system	Concentration range		Result	Description of result	Reference
	with S-9 mix	without S-9 mix			
Hprt locus, V79 cells	not done	25-500 µg/ml	weakly positive	treatment: 2 hours dose (µg/ml) MF* (x 10 ⁻⁶) survival of cells (%) neg.co. 12 25 12 99 50 12 99 100 18 98 250 28 90 500 45 50	Paschin and Bahitova, 1982
Hprt locus, V79 cells	not done	up to 4,000 µmol/l (376.4 µg/ml)	negative	treatment: 24h toxicity: tested up to the limit of toxicity	Glatt et al., 1989
Hprt locus, SHE cells	not done	3.0-30 µmol/l (0.28-2.82 µg/ml)	positive	treatment: 48h dose (µg/ml) MF* (x10 ⁻⁶) neg.co. < 1 0.28 1.3 0.94 2.0 2.82 23.0 toxicity: no toxic effects	Tsutsui et al., 1997

Na ⁺ /K ⁺ locus, SHE cells	not done	3.0-30 µmol/l (0.28-2.82 µg/ml)	positive	treatment: 48h dose (µg/ml) MF* (x10 ⁻⁶) neg.co. < 1 0.28 5.6 0.94 5.6 2.82 10.1 toxicity: no toxic effects	Tsutsui et al., 1997
--	----------	---------------------------------	----------	--	----------------------

*MF Mutation frequency

Table 4.18 *In vitro* tests: Mouse-lymphoma assays

Test system	Concentration range		Result	Description of result	Reference
	with S-9 mix	without S-9 mix			
mouse lymphoma assay (L5178Y cells; Tk-locus)	56-445 $\mu\text{mol/l}$ (5.2 - 41.8 $\mu\text{g/ml}$)	1,890-9,430 $\mu\text{mol/l}$ (177.9-877.4 $\mu\text{g/ml}$)	weakly positive	weakly positive effect with and without S-9 mix With S-9 mix: doses MF total ($\mu\text{g/ml}$) ($\times 10^{-6}$) growth(%) neg.co. 54 5.2 72 97 10.4 141 55 20.9 149 20 31.4 133 10 41.8 178 8 Without S-9 mix: doses MF total ($\mu\text{g/ml}$) ($\times 10^{-6}$) growth(%) neg.co. 109 177.9 140 81 354.8 238 40 532.7 241 20 709.6 280 8 847.4 309 5	Wangenheim and Bolcsfoldi, 1988

Mouse lymphoma assay (L5178Y cells; Tk-locus)	300-1,500 $\mu\text{g/ml}$	100-1,800 $\mu\text{g/ml}$	Weakly positive	Weakly positive effect only with S-9 mix with S-9 mix: doses MF total ($\mu\text{g/ml}$) ($\times 10^{-6}$) growth (%) 1.test 2.test 1.test 2.test neg.co. 28 51 300 81 14.0 600 58 147 13.5 17.5 900 45 177 12.5 15.5 1,200 43 169 9.5 14.5 1,500 57 5.5	McGregor et al., 1988
---	----------------------------	----------------------------	-----------------	--	-----------------------

Table 4.19 *In vitro* tests: Chromosomal aberrations

Test system	Concentration range		Result	Description of result	Reference																
	with S-9 mix	without S-9 mix																			
chromosomal aberrations; CHO cells	2,000 – 3,000 µg/ml	600 - 800 µg/ml	positive	<p>positive with and without S-9 mix</p> <p>with S-9 mix: treatment/ sampling: 2h / 2.5h dose-range aberrant cells (µg/ml) (%; excl. Gaps)</p> <table border="1"> <tr><td>neg.co.</td><td>2.0</td></tr> <tr><td>2,000</td><td>18.0</td></tr> <tr><td>2,500</td><td>14.0</td></tr> <tr><td>3,000</td><td>17.0</td></tr> </table> <p>without S-9 mix: treatment/sampling: 8h / 22.5h dose-range aberrant cells (µg/ml) (%; excl. Gaps)</p> <table border="1"> <tr><td>neg.co.</td><td>2.0</td></tr> <tr><td>600</td><td>4.0</td></tr> <tr><td>700</td><td>6.0</td></tr> <tr><td>800</td><td>7.0</td></tr> </table> <p>toxicity: no detailed data; "slight reduction in cell confluency" at the two top doses with and without S-9 mix</p>	neg.co.	2.0	2,000	18.0	2,500	14.0	3,000	17.0	neg.co.	2.0	600	4.0	700	6.0	800	7.0	Ivett et al., 1989
neg.co.	2.0																				
2,000	18.0																				
2,500	14.0																				
3,000	17.0																				
neg.co.	2.0																				
600	4.0																				
700	6.0																				
800	7.0																				
chromosomal aberrations; SHE cells	not done	3 - 100 µmol/l (0.28 - 9.4 µg/ml)	negative	<p>treatment/sampling: 24h/24h</p> <p>toxicity: no toxic effects</p>	Tsutsui et al., 1997																

Table 4.20 *In vitro* tests: Micronuclei

Test system	Concentration range		Result	Description of result	Reference
	with S-9 mix	without S-9 mix			
micronuclei, CHO cells	350 – 2,000 µg/ml	10 - 250 µg/ml	positive	positive with and without S-9 mix <u>with S-9 mix:</u> treatment/sampling: 3h / 48h dose micronucleated cells (%) (µg/ml) expt. A expt.B neg.co. 3.3 2.4 350 3.1 3.8 475 3.4 - 600 2.9 - 800 4.4 - 1,000 6.6 4.8 1,500 - 5.8 2,000 12.4 16.9 toxicity: at the top dose <u>without S-9 mix:</u> treatment/sampling: 48h / 48h dose micronucleated cells (%) (µg/ml) expt. A expt.B neg.co. 2.7 2.3 10 3.0 - 50 4.5 2.7 100 6.6 3.6 175 9.9 4.8 200 9.4 6.8 toxicity: at the two highest doses in experiment A	Miller et al., 1995
micronuclei, V79 cells	not done	4,000 µmol/l (376.4 µg/ml)	positive	treatment/sampling: 24h / 24h micronucleated cells (%) neg.co. 1.0 376.4 µg/ml 4.5 toxicity: no data	Glatt et al., 1989
micronuclei, human lymphocytes	not done	50 – 5,000 µmol/l (4.7 - 470.5 µg/ml)	weakly positive	treatment/sampling: 48h / 48h dose micronucleated (µg/ml) cells (%) neg.co. 0.6 4.7 0.7 23.5 1.2 47.0 1.5 70.6 1.9 94.0 1.6 188.2 2.0 470.5 1.6 toxicity: 26% reduction of cell viability at the highest tested dose	Yager et al., 1990

Table 4.21 *In vitro* tests: Aneuploidy

Test system	Concentration range		Result	Remarks	Reference
	with S-9 mix	without S-9 mix			
aneuploidy; SHE cells	not done	10 - 100 $\mu\text{mol/l}$ (0.94 - 9.4 $\mu\text{g/ml}$)	negative	treatment/sampling: 48 hours/48 hours toxicity: no toxic effects	Tsutsui et al., 1997

Table 4.22 *In vitro* tests: Sister chromatid exchanges (SCE)

Test system	Concentration range		Result	Description of result	Reference
	with S-9 mix	without S-9 mix			
human lymphocytes	3,000 µmol/l (282.3 µg/ml)	not done	weakly positive	SCE frequencies in dependence on various S-9 mix concentrations: at 10% S-9 mix concentration 14.0 SCE/cell (neg.co., 9.5 SCE/cell) toxicity: no data	Morimoto et al., 1983

human lymphocytes	not done	8.0 – 1,000 µmol/l (0.75 - 94.11 µg/ml)	marginal positive	<table border="1"> <thead> <tr> <th>doses (µg/ml)</th> <th>SCE/cell</th> <th>mitotic index (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>neg.co.</td> <td>7.1</td> <td></td> </tr> <tr> <td>0.75</td> <td>6.3</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>3.76</td> <td>6.9</td> <td>112</td> </tr> <tr> <td>18.80</td> <td>7.6</td> <td>115</td> </tr> <tr> <td>94.11</td> <td>9.8</td> <td>26.5</td> </tr> </tbody> </table>	doses (µg/ml)	SCE/cell	mitotic index (%)	neg.co.	7.1		0.75	6.3	100	3.76	6.9	112	18.80	7.6	115	94.11	9.8	26.5	Morimoto and Wolff, 1980						
doses (µg/ml)	SCE/cell	mitotic index (%)																											
neg.co.	7.1																												
0.75	6.3	100																											
3.76	6.9	112																											
18.80	7.6	115																											
94.11	9.8	26.5																											
human lymphocytes	not done	5.0 – 3,000 µmol/l (0.47 - 282.3 µg/ml)	positive	<table border="1"> <thead> <tr> <th>doses (µg/ml)</th> <th>SCE/cell</th> <th>mitotic index (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>neg.co.</td> <td>8.7</td> <td></td> </tr> <tr> <td>0.47</td> <td>10.5</td> <td>78.5</td> </tr> <tr> <td>4.70</td> <td>11.1</td> <td>65.9</td> </tr> <tr> <td>47.10</td> <td>13.5</td> <td>45.6</td> </tr> <tr> <td>65.90</td> <td>13.1</td> <td>40.9</td> </tr> <tr> <td>94.10</td> <td>16.6</td> <td>34.2</td> </tr> <tr> <td>282.30</td> <td>19.5</td> <td>3.3</td> </tr> </tbody> </table>	doses (µg/ml)	SCE/cell	mitotic index (%)	neg.co.	8.7		0.47	10.5	78.5	4.70	11.1	65.9	47.10	13.5	45.6	65.90	13.1	40.9	94.10	16.6	34.2	282.30	19.5	3.3	Erexson et al., 1985
doses (µg/ml)	SCE/cell	mitotic index (%)																											
neg.co.	8.7																												
0.47	10.5	78.5																											
4.70	11.1	65.9																											
47.10	13.5	45.6																											
65.90	13.1	40.9																											
94.10	16.6	34.2																											
282.30	19.5	3.3																											
human lymphocytes	not done	up to 2,000 µmol/l (up to 188.2 µg/ml)	negative	Toxicity: no data	Jansson et al., 1986																								
CHO cells	2,000 – 3,000 µg/ml	300 - 400 µg/ml	weakly positive	<p>Positive with and without S-9 mix</p> <p><u>with S-9 mix:</u></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>doses (µg/ml)</th> <th>SCE/cell</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>neg.co.</td> <td>10.4</td> </tr> <tr> <td>2,000</td> <td>10.4</td> </tr> <tr> <td>2,500</td> <td>11.6</td> </tr> <tr> <td>3,000</td> <td>12.7</td> </tr> </tbody> </table> <p><u>without S-9 mix:</u></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>doses (µg/ml)</th> <th>SCE's/cell</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>neg.co.</td> <td>10.1</td> </tr> <tr> <td>300</td> <td>13.3</td> </tr> <tr> <td>350</td> <td>14.3</td> </tr> <tr> <td>400</td> <td>13.9</td> </tr> </tbody> </table> <p>toxicity: with S-9 mix 3,500 µg/ml is total toxic</p>	doses (µg/ml)	SCE/cell	neg.co.	10.4	2,000	10.4	2,500	11.6	3,000	12.7	doses (µg/ml)	SCE's/cell	neg.co.	10.1	300	13.3	350	14.3	400	13.9	Ivett et al., 1989				
doses (µg/ml)	SCE/cell																												
neg.co.	10.4																												
2,000	10.4																												
2,500	11.6																												
3,000	12.7																												
doses (µg/ml)	SCE's/cell																												
neg.co.	10.1																												
300	13.3																												
350	14.3																												
400	13.9																												

Table 4.23 *In vitro* tests: Sister chromatid exchanges (SCE)

Test system	Concentration range		Result	Description of result	Reference
	with S-9 mix	without S-9 mix			
rat bone marrow cells	not done	1.0 – 1,000 $\mu\text{mol/l}$ (0.09 - 94.11 $\mu\text{g/ml}$)	positive	1. experiment: dose SCE/cell mitotic ($\mu\text{g/ml}$) index (%) neg.co. 4.1 0.09 4.5 59.0 0.94 5.8 53.7 9.41 7.2 55.5 94.11 8.7 32.0 2. experiment: dose SCE/cell mitotic ($\mu\text{g/ml}$) index (%) neg.co. 4.1 0.09 4.7 55.2 0.94 6.0 46.3 9.41 7.8 39.8 94.11 9.6 26.7	Khalil and Odeh, 1994
SHE cells	not done	10 – 3,000 $\mu\text{mol/l}$ (0.94 - 282.3 $\mu\text{g/ml}$)	positive	dose SCE/cell ($\mu\text{g/ml}$) neg.co. 8.4 0.94 8.8 9.41 9.8 28.20 9.6 94.10 11.2 282.3 13.8 toxicity: no data	Tsutsui et al., 1997
V79 cells	not done	up to 1,000 $\mu\text{mol/l}$ (94.1 $\mu\text{g/ml}$)	negative	toxicity: no data	Glatt et al., 1989

Table 4.24 *In vitro* tests: Unscheduled DNA synthesis (UDS)

Test system	Concentration range		Result	Remarks	Reference
	with S-9 mix	without S-9 mix			
SHE cells	not done	1.0 - 100 $\mu\text{mol/l}$ (0.09 - 9.41 $\mu\text{g/ml}$)	positive	dose-dependent increase of UDS from 1.0 μmol upwards toxicity: no data	Tsutsui et al., 1997

Table 4.25 *In vitro* tests: DNA strand breaks

Test system	Concentration range		Result	Remarks	Reference
	with S-9 mix	without S-9 mix			
alkaline elution technique; mouse lymphoma cells (L5178Y)	150 – 5,000 $\mu\text{mol/l}$ (14.11 - 470.6 $\mu\text{g/ml}$)	150 – 5,000 mmol/l (14.11 - 470.6 $\mu\text{g/ml}$)	positive	positive only with S-9 mix at 1,500 and 5,000 $\mu\text{mol/l}$ toxicity: no toxic effects	Garberg et al., 1988
alkaline elution technique; mouse lymphoma cells (L5178Y)	not done	1,000 $\mu\text{mol/l}$ (94.11 $\mu\text{g/ml}$)	negative	toxicity: no toxic effects	Pellack-Walker and Blumer, 1986

Table 4.26 *In vitro* tests: DNA adducts

Test system	Concentration range		Result	Remarks	Reference																
	with S-9 mix	without S-9 mix																			
phenol extraction procedure; HL60 cells (human leukaemia cell line)	not done	100 μmol (9.41 $\mu\text{g/ml}$)	positive	oxidative DNA damage toxicity: no data	Kolachana et al., 1993																
liquid scintillation counting of ^{14}C ; isolated calf thymus DNA	not done	100 - 200 $\mu\text{mol/l}$ (9.41 - 18.8 $\mu\text{g/ml}$)	positive	positive at both tested doses; binding in the presence of horseradish peroxidase and hydrogen peroxide	Subrahman-yam and O'Brien, 1985																
chromosomal aberrations; CHO cells	2,000 - 3,000 $\mu\text{g/ml}$	600 - 800 $\mu\text{g/ml}$	positive	<p>positive with and without S-9 mix</p> <p>with S-9 mix: treatment/ sampling: 2h / 2.5h dose-range aberrant cells ($\mu\text{g/ml}$) (%; excl. Gaps)</p> <table> <tr><td>neg.co.</td><td>2.0</td></tr> <tr><td>2,000</td><td>18.0</td></tr> <tr><td>2,500</td><td>14.0</td></tr> <tr><td>3,000</td><td>17.0</td></tr> </table> <p>without S-9 mix: treatment/sampling: 8h / 22.5h dose-range aberrant cells ($\mu\text{g/ml}$) (%; excl. Gaps)</p> <table> <tr><td>neg.co.</td><td>2.0</td></tr> <tr><td>600</td><td>4.0</td></tr> <tr><td>700</td><td>6.0</td></tr> <tr><td>800</td><td>7.0</td></tr> </table> <p>toxicity: no detailed data; "slight reduction in cell confluency" at the two top doses with and without S-9 mix</p>	neg.co.	2.0	2,000	18.0	2,500	14.0	3,000	17.0	neg.co.	2.0	600	4.0	700	6.0	800	7.0	Ivett et al., 1989
neg.co.	2.0																				
2,000	18.0																				
2,500	14.0																				
3,000	17.0																				
neg.co.	2.0																				
600	4.0																				
700	6.0																				
800	7.0																				
chromosomal aberrations; SHE cells	not done	3 - 100 $\mu\text{mol/l}$ (0.28 - 9.4 $\mu\text{g/ml}$)	negative	treatment/sampling: 24h / 24h toxicity: no toxic effects	Tsutsui et al., 1997																

Table 4.27 *In vivo* tests: Bone marrow micronucleus tests with mice after single oral administration

Test system	Dose (mg/kg bw)	Exposure regimen	Sampling time	Result	Local cytotoxicity	General toxicity	Remarks	Reference
Swiss CD-1 mice; bone marrow erythrocytes	265	1 · p.o.	15 to 40 hours	weakly positive	unclear effect on P/N ratio	no data	time(h) MN cells (%) 0 0.20 15 0.38(s) 18 0.40(s) 24 0.50(s) 30 0.31 36 0.28 40 0.34 use of 4 pregnant females per group	Ciranni et al., 1988a
Swiss CD-1 mice; bone marrow erythrocytes	265	1 · p.o.	18 to 48 hours	weakly positive	drastic depression of P/N ratio at all sampling times (up to 0.4)	no data	time(h) MN cells (%) 0 ca. 0.15* 18 ca. 0.25* 24 ca. 0.30* 42 ca. 0.15* 48 ca. 0.25* (* estimated from columns given in a figure) 4 animals per group; gender not given	Ciranni et al., 1988b
Swiss CD-1 mice; bone marrow erythrocytes	250	1 · p.o.	30 hours	negative	no data	no data	5 males	Gad-El-Karim et al., 1985
Swiss CD-1 mice; bone marrow erythrocytes	250	1 · p.o.	30 hours	negative	no data	no data	5 males	Gad-El-Karim et al., 1986

Table 4.28 *In vivo* tests: Bone marrow micronucleus tests with mice after single i.p. administration

Test system	Dose (mg/kg bw)	Exposure regimen	Sampling time	Result	Local cytotoxicity	General toxicity	Remarks	Reference
B6C3F1 mice; bone marrow erythrocytes	300	1 · i.p.	26 hours	positive	extreme depression of P/N ratio (0.16 and 0.24)	no data	dose MN cells (mg/kg) (%) 1.expt. 2.expt. 0 0.23 0.33 300 1.10 1.14 6 males per group	McFee et al., 1991
Swiss CD-1 mice; bone marrow erythrocytes	265	1 · i.p.	18 to 48 hours	positive	extreme depression of P/N ratio ranging from 0.2 to 0.3	no data	time(h) MN cells (%) 0 ca. 0.15* 18 ca. 0.75* 24 ca. 0.45* 42 ca. 0.20* 48 ca. 0.10* (* estimated from columns given in a figure) 4 animals per group; gender not given	Ciranni et al., 1988b
Swiss CD-1 mice; bone marrow erythrocytes	40 – 160	1 · i.p.	18 hours	negative	no effect on P/N ratio	no data	3 animals per group; gender not given	Barale et al., 1990
Swiss CD-1 mice; bone marrow erythrocytes	40 – 120	1 · i.p.	18 hours	weakly positive	no effect on P/N ratio	no data	dose MN cells (mg/kg) (%) 0 0.163 40 0.186 80 0.215 120 0.282(s) 3 males	Marrazzini et al., 1994

Table 4.29 *In vivo* tests: Bone marrow micronucleus tests with mice after multiple i.p. administration

Test system	Dose (mg/kg bw)	Exposure regimen	Sampling Time	Result	Local cytotoxicity	General toxicity	Remarks	Reference
NMR1 mice; bone marrow erythrocytes	47 – 188	2 · i.p. at 24-hour interval	6 hours after last treatment	negative	no data	no data	2 males and 2 females per group	Wild et al., 1980 (see also Gocke et al., 1981)
B6C3F1 mice; bone marrow erythrocytes	45 – 180	3 · i.p. at 24-hour intervals	24 hours after last treatment	weakly positive	no effects on P/N ratio	no lethal effects	dose MN cells (%) 1.expt. 2.expt. 0 0.24 0.26 45 0.24 0.29 90 0.24 0.40(s) 180 0.53(s) 0.43(s) 5 males per group	Shelby et al., 1993
Swiss CD-1 mice; bone marrow erythrocytes	50 – 160	3 · i.p. at 24-hour intervals	24 hours after last treatment	weakly positive	no effect on P/N ratio	no data	according to a figure an increased frequency was obtained at 3 · 160 mg/kg; no details; no statistics; the authors conclude a weak to moderate; 5 males per group	Chen and Eastmond, 1995

Table 4.30 *In vivo* tests: Rodent bone marrow chromosomal aberration test

Test system	Dose (mg/kg bw)	Exposure regimen	Sampling time	Result	Local cytotoxicity	General toxicity	Remarks	Reference
Sprague-Dawley rats; bone marrow cells	450 - 510 (males)	1 · p.o.	20 hours	negative	no clear effect	LD ₅₀ = 510 mg/kg	only 30 mitoses / animal were scored 3 males and 3 female per group	Thompson and Gibson, 1984
	300 - 410 (females)	1 · p.o.	20 hours	negative	no clear effect	LD ₅₀ = 410 mg/kg		
	80 - 180 (males)	1 · i.p.	20 hours	negative	effect at the top dose	LD ₅₀ = 180 mg/kg		
	72 - 110 (females)	1 · i.p.	20 hours	negative	effect at the top dose	LD ₅₀ = 110 mg/kg		

Table 4.31 *In vivo* tests: DNA strand breaks in testes

Test system	Dose (mg/kg bw)	Exposure regimen	Sampling Time	Result	General toxicity	Remarks	Reference
DNA strand breaks; Sprague-Dawley rats	7.9 - 79	1 · i.p.	2, 6 and 24 hours	negative	97 mg/kg = LD01	tested organ: testis one animal for each dose level and time point alkaline elution/ fluorometric assay	Skare and Schrotel, 1984
	4.0 - 39.5	5 · i.p. with 24-hour intervals	2 hours after last injection	negative			

Table 4.32 *In vivo* tests: *Drosophila melanogaster*

Test system	Exposure	Result	General toxicity	Reference
Sex-linked recessive lethal test; Canton-S males	Feeding 2,000 ppm (diet) for 3 days	Negative	30% mortality	Woodruff et al., 1985
	1 · injection of 5,250 ppm 24 - 48 hours before mating	Negative	6% mortality	

Table 4.33 *In vivo* tests: DNA adducts

Test system	Dose (mg/kg bw)	Exposure regimen	Sampling time	Result	General toxicity	Remarks	Reference
32P-postlabeling; Sprague-Dawley rats	75	4 · p.o. with 24-hour intervals	24 hours after last dosing	negative	no data	Tested organs: bone marrow, zymbal gland, liver 4 females	Reddy et al., 1990
phenol extraction; B6C3F1 mice	75	1 · i.p.	1 h	negative	no data	no oxidative DNA damage in bone marrow cells 3 males	Kolachana et al., 1993

4.1.2.8 がん原性

2,500及び5,000 ppmのフェノール水溶液を飲料水としてF344ラット及びB6C3F1マウスに経口摂取させた103週間がん原性試験（ラットでは200及び450 mg/kg/day、マウスで281及び375 mg/kg/day）において、雌雄ともにフェノールによるがん原性は認められなかった。使用したフェノール3バッチ中1バッチの純度は98%以上であった。最終的な体重増加量はラットの高用量及びマウスの両用量で減少した。摂水量はラット及びマウスとも両用量で減少した（ラットで-10及び-20%、マウスで-25及び-40～-50%）。摂餌量及び死亡率に影響は認められなかった。フェノールの投与に関連する炎症性、退行性及び増殖性病変もラット及びマウスの両方で認められなかった。白血病又はリンパ腫、褐色細胞腫及びC-細胞腫瘍の頻度が雄ラットの2,500 ppm投与群で有意に増加した（以下を参照）。この腫瘍発生頻度の増加は低用量群にのみ認められ、高用量群には認められなかった。このため、この系統のラットではフェノール投与との関連は明らかにできなかった。一方マウスではフェノール投与と関連する腫瘍の発現は認められなかった（NIH, 1980）。

Table 4.34 Tumours in male rats (NIH, 1980)

Tumours in male rats	Control group	2,500 ppm Phenol	5,000 ppm Phenol
Leukaemia or malignant lymphoma	18/50	31/50	25/50
Pheochromocytomas	13/50	22/50	9/50
C-cell adenomas	4/50	2/50	0/50
C-cell carcinomas	0/50	5/49	1/50

一 FVB/Nマウス又はそのv-Ha-ras遺伝子をもったトランスジェニックTG.ACマウスに対するフェノールの中期経皮投与では皮膚腫瘍の増加は認められなかったが、発毛阻害及び慢性皮膚炎が認められた。クリップした背部の皮膚に3 mgのフェノールを1週間に2回20週間投与した（Spalding et al., 1993, Tennant et al., 1995）。プロモーター・イニシエーターモデルの試験でフェノールをICH/Ha Swissマウスの皮膚に塗布した場合、7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) によるイニシエーションで皮膚腫瘍の増加（雌20例中乳頭腫3例、扁平上皮癌1例）が認められた（Van Duuren et al., 1968）。初期の別の腫瘍プロモーション試験（Boutwell and Bosch, 1959）では、若齢成熟マウス（系統はSutter and Holtzman）でフェノールの強い腫瘍プロモーション活性が認められている。1群23例のマウスに75µgのDMBAベンゼン溶液で前処置し、次いでフェノールの10%ベンゼン溶液（ベンゼンの濃度についてはデータなし）を1週間に2回塗布した。対照群にはDMBAのみ又はイニシエーション処理なしでフェノールを投与した。フェノール投与の最初の6週間に多くのマウスの皮膚に創傷及び過形成が認められた。また、塗布部位には脱毛及び発毛阻害が認められた。イニシエーション処置後13週でフェノール投与マウスの95%に乳頭腫、73%に癌が認められた。DMBAのみを処置したマウスでは42週の時点で4%に乳頭腫がみられたのみであった。フェノールのみを投与したマウスでは72週で36%に乳頭腫がみられ、58週で線維肉腫が1例に認められた。2番目の試験ではフェノール濃度が10%でDMBAによ

るイニシエーションがあってもなくても同じような発生頻度の皮膚腫瘍が認められたが、低濃度のフェノール（5%）では中等度のプロモーション活性を持つことが示された。イニシエーション処置なしで5%フェノールを処置した場合は、雌30例中1例のみに乳頭腫がみられた。この濃度ではその他の障害は認められなかった。マウスの皮膚にフェノールとbenzo[a]pyreneを同時投与した場合、その発がん補助作用は認められなかった（Van Duuren et al., 1971）。

細胞増殖試験

ー 2%フェノール水溶液を飲料水で4週間投与した5例の雄F344ラットの腺胃及び食道の粘膜において、BrdUの単回投与による取り込みで測定した細胞増殖の密度及び標識指数の両者には、対照群に比べて有意な増加は認められなかった（Kawabe et al., 1994）。

4.1.2.8.1 ヒトにおける知見

ー 化学物質に直接接触する器官、すなわち舌、口、咽頭、鼻、副鼻腔、喉頭、喉頭蓋、気管及び肺に由来する腫瘍と診断された呼吸器腫瘍の男性患者57例に関するケースコントロール研究（Kauppinen et al., 1986）では、およそ90%は肺及び気管の腫瘍であった。この知見は、1944年から1965年の間に少なくとも1年間パーティクルボード工場、合板工場、製材所又はホルムアルデヒド含有接着剤工場で働き、1981年まで追跡調査できた3805人の男性集団に基づくものであるが、同じ集団から各症例あたり3倍の対照者（呼吸器腫瘍のない男性171人）を選択した。それぞれの工場における作業履歴と作業中暴露のマトリックスによって暴露量の比較を行った。喫煙について調整したフェノール暴露に対する相対的なリスクは増加した（潜伏期間に対する対応がない場合はOD（オッズ）4.0、12例、 $p < 0.05$ 、10年の潜伏期間に対する対応がある場合はOD 2.9、7例、 $p < 0.05$ ）。木材粉塵中でのフェノールに対する相対的なリスクは潜伏期間に対する対応がない場合にのみ増加した（OD 4.1、9例、 $p < 0.05$ 、喫煙について調整）。フェノール暴露期間の長さに伴う相対的なリスクの増加は認められなかったが、木材粉塵中でのフェノール暴露の期間に対しては増加した。著者は、フェノールのODは農薬に対する暴露によって複雑になることに注目している。フェノールと農薬に暴露された労働者を除外した場合は、オッズ比は有意差のないレベルまで低下した。

分類及び表示

発がん性に関するEUの基準を用いると分類及び表現の必要はなく、追加の試験の必要もない。

要約及び結論

ラット及びマウスを用いた経口投与による長期試験では、フェノールの発がん作用は認

められなかった。トランスジェニックモデルマウスを用いた中期試験でも、フェノール処置に関連した増殖反応は認められなかった。フェノールはマウスにおける皮膚腫瘍バイオアッセイでプロモーターとしての活性を示した。フェノールの10%ベンゼン溶液の長期皮膚塗布で弱い発がん性が認められた（イニシエーションなしの場合）が、フェノール処置との関連は低いと思われた。被験溶液の刺激性は強く、発がん性のベンゼンを含んでいたためである。一方、*in vivo*の変異原性試験では弱い陽性というデータであったことや、フェノールの代謝物のヒドロキノンが発がん性の可能性がある物質（カテゴリー3）に分類されていることのように、考慮すべき懸念もある。しかし、長期試験では発がん性を示す所見はみられなかったことから、その懸念の意義は小さいと考えられる。以上のように、フェノールは動物に対して発がん性はないと考えられる。

ヒトにおいてフェノール暴露と腫瘍発生率の増加の関連を示すデータはない。フェノールに暴露された呼吸器腫瘍患者のケースコントロール研究からリスクレベルについての確実な結論を導くことはできなかった。

4.1.2.9.1 生殖発生毒性試験

4.1.2.9.1 動物試験

受胎能への影響

フェノールの生殖行動及び受胎能に及ぼす影響について、2世代生殖発生毒性試験（飲料水に混入して投与）をGLPにしたがって実施し（IITRI, 1999; Ryan et al., 2001）、併せて雄における免疫毒性のスクリーニング並びに血液毒性及び臨床病理に関する検討も行った（セクション4.1.2.6参照）。1群雌雄各30例のSprague-Dawleyラット（P0親世代）に交配前10週間、交配期間（2週間）、妊娠期間及び授乳期間を通して屠殺までフェノール（純度の記載なし）を0、200、1,000及び5,000 ppmの濃度に溶かした飲料水で投与した（平均1日摂取量は雄/雌で14.7/20.0、70.9/93.0及び301.0/320.5 mg/kg/day）。さらに、P0の雄動物を免疫学的、血液学的及び血液生化学的検査に使用した。生後22日の離乳時に一部の児動物（少なくとも1腹雌雄各1例）を次世代の繁殖に使用し、交配前の11週間、交配期間（2週間）、妊娠期間及び授乳期間に親動物と同じ濃度のフェノール溶液を摂取させた（F1の平均1日摂取量は雄/雌で13.5/20.9、69.8/93.8及び319.1/379.4 mg/kg/day）。F2の児動物にはフェノールを意図的には投与しなかった。F1の雄親動物を交配後に屠殺し、F1の雌親動物及びすべての児動物（F2世代）は離乳時（生後22日）に屠殺した。両世代の児動物（F1/F2）では出産後4日にランダムに1腹雌雄各4例に間引きした。

親動物で交配及び生殖行動の検査を行った。親動物の生死を毎日、一般状態を1週間に1回観察した。また、摂餌量及び摂水量を1週間に1回測定した。P0及びF1世代の親動物の体重を1週間に1回測定し、母動物の妊娠期間では妊娠0、7、14及び20日に測定した。母動物及び児動物とも体重を出生後0、4、7、14及び21日に測定し、児動物については腹ごと及び

群ごとに平均体重を算出した。授乳期間の児動物以外のすべての動物で体重増加量も算出した。児動物の生存率は、当該日の生存児動物数を出生時の生存児動物数で割ることにより算出した。出生日にすべての児動物の外形観察を行った。さらに、一部の児動物（F1世代）について膣開口（雌について出生後28 - 45日）及び包皮分離（雄について出生後35 - 55日）を観察した。

P0及びF1世代の少なくとも1群雌雄各20例のラットを剖検し（主要な器官の重量測定を含む）、最高用量群及び対照群の雌雄の生殖器について病理組織学的検査を行った。P0及びF1世代の雌について、交配前の3週間及び交配が確認されるまでの交配期間に性周期を観察した。さらに、剖検の2 - 4日前及び剖検日にもそれぞれの雌について性周期を観察した。

P0及びF1世代の雄について、精子の運動性及び形態並びに精巣上体の精子数を最高用量群及び対照群の少なくとも20例について観察した。P0及びF1世代の均質化抵抗性精巣精子細胞について、最高用量群及び対照群の少なくとも20例について採取日に観察し、中用量群については凍結保存した標本で観察した。

雌雄の親動物及び妊娠及び授乳期間の母動物ではフェノールの投与に関連した死亡は認められなかった。雌児動物（F1世代）で離乳直後に26例中3例に死亡が認められたが、その動物は摂水しなかったことから、その死亡は飲料水中のフェノールに順応できなかったためと考えられた。一般状態としては、対照群に比べてフェノール投与群では鼠頸部被毛の変色又は湿潤及び鼻又は眼の周囲の赤色化がわずかに高頻度で認められた。

P0及びF1世代の高用量群の雄親で試験期間中（交配前及び交配後）平均摂水量が有意に減少した。P0世代の高用量群の雄親で試験期間中（交配前及び交配後）平均摂餌量が有意に減少した。P0世代では交配前3週間以上及び交配後に、F1世代では試験期間中に、高用量群の雄親の平均体重に有意な減少が認められた。雌でも同様な変化が認められた。平均摂水量は、P0及びF1世代の高用量群の雌親でも試験期間中（交配前、妊娠期間、授乳期間及び授乳後）有意に減少した。平均摂餌量についても、P0及びF1世代の高用量群の雌親で交配前の最初の1週間、P0世代ではさらに授乳期間中にも有意に減少した。平均体重についても、P0及びF1世代の高用量群の雌親で試験期間中（交配前、妊娠期間、授乳期間及び授乳後）有意に（ $p \leq 0.05$ ）減少し、授乳期間には体重減少の兆候も認められた。低及び中用量群では上記の所見は認められなかった。5,000 ppmのフェノールを投与した群の体重に及ぼす全体的な作用は摂水量の減少に起因するものと思われた。さらに、その摂水量の減少は飲料水中のフェノールの臭いに対する忌避によるものと思われた。

フェノールの投与に関連した剖検所見は認められなかった。P0及びF1世代の高用量群の雌雄で臓器（脳、腎臓、肝臓、精巣、精巣上体）の相対重量にわずかな増加がみられたが、体重の明らかな減少に基づく二次的な変化と考えられた。病理組織学的検査ではいずれの臓器（腎臓、脾臓、肝臓、胸腺）にも病変は認められなかった。F1世代のフェノールを投与した全群で前立腺の絶対重量の有意な減少が認められたが（用量相関性なし）、P0世代

では認められなかった。F1世代のフェノールを投与した全群で子宮の絶対及び相対重量の有意な減少が認められたが（用量相関性なし）、これもP0世代では認められなかった。これらの臓器に病理組織的变化は認められず、生殖器及び副性器の病理組織学的検査でもフェノールの投与に関連した病変は認められなかった。

21日間の性周期の観察では、発情期の頻度の平均（3.8 - 4.7日）は両世代及び全群で類似するものであり、フェノール投与の影響は認められなかった。

P0世代では精巣精子数及び精子生産率に影響は認められなかった。F1世代では、対照群に比べて高用量群で精巣精子数及び精子生産率の有意な増加が認められたが、中用量群の精巣精子数には影響は認められなかった。この高用量群での変化は、体重減少に伴う二次的な変化である精巣絶対重量の減少に関連するものであり、フェノールの投与に関連するものではないと考えられた。精子の運動性及び形態には両世代ともフェノール投与の影響は認められなかった。

生殖能力にも影響は認められなかった。平均妊娠期間はおよそ22 - 22.5日であり、両世代の全群で同様であった。P0世代では交尾率（精子確認動物数/群）は対照群で97%であり、200、1,000及び5,000 ppm投与群ではそれぞれ100、97及び97%であった。またF1世代の交尾率は対照群で100%であり、200、1,000及び5,000 ppm投与群ではそれぞれ96、100及び100%であった。P0世代の受胎率（出産動物数/精子確認動物数）は対照群を含む全群で93%であった。F1世代の受胎率は対照群で84%、200、1,000及び5,000 ppm投与群ではそれぞれ92、92及び87%であった。

生後0日における1腹あたりの平均生存出生児数及び死産児数は、両世代とも全群で同様であった。しかし、体重増加抑制や体重減少のような母動物に対する明らかな毒性が認められた高用量群（5,000 ppm）では、児動物の生存率に両世代で影響が認められた。高用量群では、F1の児動物の生後4日の生存率は有意に減少し、間引き後では生後21日まで対照群、低用量群及び中用量群よりも低かった。F2世代の児動物の生後4日の生存率も有意に減少し、間引き後も同様であった。両世代とも、対照群、低用量群及び中用量群の平均児動物生存率は類似するものであった。両世代の児動物の腹ごとの平均体重は、高用量群（5,000 ppm）で生後0日から生後21日の離乳まで有意に減少した。対照群に比べて生後0日の減少はおよそ5 - 7%であったが、その後顕著になり、離乳時にはおよそ28 - 30%となった。上記のような児動物の体重への影響は低用量群及び中用量群では認められなかった。親動物に関してすでに示したように、フェノールの臭いに対する忌避が、高用量群（5,000 ppm）の体重に及ぼす影響が離乳前に大きくなった一因と思われる。すなわち、児動物は生後7 - 14日に水を飲み始めるためである。さらに、フェノールの臭いに対する忌避は児動物の摂水量の減少にも反映されており、これは親動物になっても持続し、低体重として認められた発育遅延となった。性成熟の指標に関する検査では、高用量群（5,000 ppm）の離乳後の児動物で膈開口及び包皮分離に3日の遅れが認められたが、そのような遅延は低用量群及び中用量群では認められなかった。膈開口及び包皮分離は体重と関連するため、高用量群の離乳後の

児動物で認められた膈開口及び包皮分離の遅延は発育遅延の結果と考えられる。

Heller and Purcell (1938) による初期の試験の報告は不十分であり、方法、データ及び結果の記載が欠落または不適切なために、評価には使用できない（動物飼育、繁殖、対照群、生殖障害及び母動物に対する毒性の評価に用いた方法の記載がない）。この試験では、ラット（系統及び数の記載なし）にフェノール（詳細の記載なし）を生涯にわたり飲水投与し、5,000 ppmまでの濃度で3世代の生殖に影響がなかったことを“正常な発育”、“一般状態は良好”又は“生殖に明らかな影響はない”というような結果にまとめている。同様に、フェノールの高濃度の飲料水（12,000 ppmまで）の結果も評価には使用できない。

また同じように、F344 ラット及びB6C3F1マウスを用いたがん原性試験の13週間試験（NIH, 1980）における受胎能に関連する結果も、報告書に詳細なデータがないために評価には使用できない。

要約及び結論

フェノールの生殖行動及び受胎能に及ぼす影響については2世代生殖発生毒性試験（飲料水で投与）で検討されている。摂水量の減少及びそれに伴う体重増加量または体重の減少が惹起される最高濃度である5,000 ppmでも、雌雄ともに生殖能及び受胎能への影響は認められなかった。しかし、P0及びF1世代とも、5,000 ppm投与群では授乳期間及び離乳前の腹ごとの生存率及び児動物の体重に減少が認められ、F2世代では1腹あたりの生存率でより顕著であった。さらに、母動物及び親動物に明らかな全身毒性が認められる用量で、児動物の発達障害が試験期間中F1（P0 progeny）（出生時の体重減少、身体発育及び性成熟の遅延を伴う離乳前後の体重増加の抑制）及びF2（F1 progeny）（出生時の体重、離乳前の体重増加抑制）に認められた。P0及びF1動物に摂水量、体重増加及び器官重量の減少が認められたことから、全身毒性のNOAELは1,000 ppmであり、これはフェノールの平均摂取量としては雄ではおよそ70 mg/kg、雌では93 mg/kgであった。このことは高用量群で認められた発達障害は一般状態の悪化に起因する二次的なものであることを示唆している。

発生毒性

最近の経口投与生殖発生毒性試験（Argus Research Laboratories, Inc., Protocol Number 916-011, Final Report 1997）では、1群25例のSprague Dawleyラットにフェノール（純度90%、USP）を水溶液として1日当たり60、120及び360 mg/kgの用量で妊娠6 - 15日に強制経口投与した。すなわち、0（媒体）、20、40及び120 mg/kgの用量を10 mL/kgの容量で1日3回強制経口投与した。対照群には逆浸透膜処理した水を投与した。母動物の生死を毎日少なくとも2回観察した。一般状態を、投与期間中は毎日2回目の投与後に、投与期間終了後（妊娠16 - 20日）は1日1回観察して記録した。体重を、妊娠0日、投与期間及び投与期間終了後は毎日測定した。妊娠0、6、9、12、16、18及び20日に摂餌量を測定した。妊娠20日に母動物を剖検し、黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胎児数、早期及び後期吸収胚数を観察した。胎児

の体重を測定し、性別の判定を行い、外形観察を行った。各腹のおよそ半分の胎児で内臓検査を、残りのおよそ半分の胎児で骨格検査を行った。360 mg/kg投与群で1例の死亡が妊娠11日に認められたが、それまで一般状態に異常は認められず、剖検でも異常は認められなかった。また、その動物の15例の胎児はその胎齢としては正常であった。高用量群（360 mg/kg）の母動物に唾液分泌過剰及び呼吸困難（呼吸促迫）の一般状態の変化が有意に認められた（ $p < 0.01$ ）。母動物の剖検では、いずれの投与群にもフェノールの投与に関連した変化は認められなかった。360 mg/kg投与群の母動物の体重は、全投与期間及び投与終了後の全期間に有意に減少した。投与期間中の平均体重増加量は、対照群では 64.0 ± 10.7 gであったのに比べこの投与群では 39.8 ± 9.5 gであり、減少がみられた。この母動物の体重増加抑制は持続し、妊娠6日から剖検までの間も有意に低く（ $p < 0.05$ 、対照群は 140.6 ± 16.7 g、360 mg/kg投与群は 117.8 ± 18.4 g）、回復しなかった。母動物の体重に及ぼす影響は120 mg/kg投与群でも認められ、投与期間中の体重増加量は対照群では 64.0 ± 10.7 gであったのに対し、120 mg/kg投与群では 56.8 ± 10.8 gであり有意に低かった（ $p < 0.01$ ）。しかし、投与期間終了後には有意差は認められなかった。投与期間中の母動物の平均摂餌量についてはわずかな減少がみられ、対照群に比べて360 mg/kg投与群では18%、120 mg/kg投与群では7%低かった。60 mg/kg投与群では体重及び摂餌量にフェノール投与の影響は認められなかった。

剖検時の観察では、妊娠率は60、120及び360 mg/kg投与群でそれぞれ95.8、100及び95.8%であり、対照群では92%であった。1腹あたりの平均黄体数、着床数、総胎児数、生存胎児数、早期及び後期吸収胚数、吸収胚の割合及び性比、吸収胚を持つ母動物数はいずれの群でも類似しており、有意な差は認められなかった。360 mg/kg投与群の胎児の平均体重は5.8%減少し、これはわずかではあったが有意なものであった（ $p < 0.05$ ）。60及び120 mg/kg投与群では胎児体重に影響は認められなかった。0、60、120及び360 mg/kg投与群でそれぞれ369、378、348及び365例の生存胎児について形態観察を行った。外形、内臓及び骨格検査で異常あるいは変異の増加は認められなかった。中足骨の1腹あたり胎児あたりの平均骨化部位数が360 mg/kg投与群で有意に減少した（ $p < 0.05$ ）のが唯一の変化であった。この変化は一般に胎児の発育遅延に伴うもので、可逆性の変化と考えられる。

本試験の結果から、投与期間中に120 mg/kg投与群の母動物の体重増加量に減少がみられたため、母動物に対するNOAELは60 mg/kg/day、360 mg/kg投与群に胎児の発育遅延がみられたことから、生殖発生毒性に対するNOAELは120 mg/kg/dayと推定された。

さらに、CD-1マウス及びCDラットを用いた二つのNTP催奇形性試験において、フェノールの母動物及び生殖発生に対する毒性が検討されている。

Swissアルビノ（CD-1）マウスを用いた試験（Jones-Price et al., 1983c）では、0、70、140及び280 mg/kgのフェノール（蒸留水に溶解）を10 mL/kgの容量で器官形成期（妊娠6 - 15日）に毎日強制経口投与した。

妊娠動物を用いた予備試験の結果に基づき、本試験では280 mg/kgを高用量群とし、この

用量では90%以上の生存率を維持しながら母動物又は胎児に何らかの毒性が認められることを期待した。1群あたり22 - 29例の妊娠動物を使用した。母動物について試験期間中体重増加と一般状態を観察した。屠殺時（妊娠17日）には母動物の肝臓及び妊娠子宮重量を測定し、着床数、吸収胎児数、後期死亡胎児数及び生存胎児数を測定した。生存胎児（214 - 308例/群）の体重を測定し、雌雄の判別及び外形検査を行った。内臓及び骨格検査も行った。本実験条件では、母動物に対する明らかな毒性は高用量（280 mg/kg）群で認められ、それは11%の死亡率、体重減少、体重増加の抑制及び一般状態の変化（振戦、運動失調など）であった。剖検時の観察におけるフェノール投与群の妊娠率はそれぞれ84%、84%及び71%であり、対照群では83%であった。高用量群にみられた口蓋裂以外に、出産前の死亡率や形態学的異常の頻度には用量に相関した変化は認められなかった。口蓋裂は、母動物に対するストレスがある条件下ではCD-1マウスでよくみられる1種の奇形である。280 mg/kg投与群では妊娠子宮重量及び腹あたりの平均胎児体重に有意な減少が認められた。

CDラットを用いた試験（Jones-Price et al., 1983b）では、0、30、60及び120 mg/kgのフェノール（蒸留水に溶解）を5 mL/kgの容量で器官形成期（妊娠6 - 15日）に毎日強制経口投与した。1群あたり20 - 22例の妊娠動物を使用した。試験期間中母動物の体重増加及び一般状態を観察した。母動物に対する毒性及び生殖発生に対する毒性（生存胎児数268 - 293例/群）の評価の方法はCD-1マウスの場合と同じであるが、検査は妊娠20日に行った。フェノールを投与した動物はすべて試験終了まで生存した。剖検時の妊娠率は95 - 100%であり、すべての群で同等であった。出産前の生存率はすべての群で100%であり、フェノールを投与した群の胎児に形態学的異常（奇形及び変異）の増加は認められなかった。吸収胚をもつ母動物の割合が低及び中用量群でわずかだが有意に増加したが、高用量群では認められなかった。高用量群では1腹あたりの平均胎児体重は対照群の93%であり、その差はわずかではあるが有意であった。しかし、この試験の重大な不備のために、この試験のデータ及び結果の解釈は不可能である。すなわち、母動物における体重減少（24時間に5 g以上）が妊娠6 - 13日にフェノール投与の全群でみられており、妊娠13日以前にいくつかのケージに餌がまったく供給されていなかったことを認めたと試験報告書に記載されている。さらに、この試験は再試験されており、動物の群分けに関しても不適切な記載が試験報告書で言及されているために、これ以上明確にすることは不可能である。このようにこの試験の結果の意義は限定的なものであり、したがってリスク解析の目的では利用できない。

毒性の様々な側面に対する総合的なバイオアッセイのバリデーション試験が最近行われ、フェノールの生殖発生毒性のスクリーニングがその他の9種の化合物とともに実施されている（Narotsky and Kavlock, 1995）。この試験では、15 - 20例の妊娠Fischer-344ラットに0、40及び53.3 mg/kgのフェノール（水溶液）を妊娠6 - 19日に毎日強制経口投与した。この“高”用量は、非妊娠雌動物を用いた反復投与（14日）試験の結果から、母動物に対するなんらかの明らかな毒性を期待して設定された。一方、“低”用量は“高”用量の75%である。この両投与量群では母動物の体重増加に影響は認められなかった。フェノール投与で呼吸の異常（呼吸困難、水泡音、異常発声）が認められた。この試験では他の化合物を投与した動物でも同じような所見や投与直後の偶発的な死亡も認められており、不適切な投与がその原

因のひとつと考えられる。フェノールの結果については、低用量群で15例中1例、高用量群では16例中2例の妊娠動物ですべての胚の吸収が認められ、このことから著者は高用量群では出産前の胚死亡のわずかだが有意な増加があると要約に記載している（詳細は記載されていない）。しかし、この3例の妊娠動物すべてで重篤な呼吸障害が認められている。重篤な呼吸障害がみられた高用量群の別の1例では周産期に多くの児動物の死亡が認められおり、生存した4例の児動物中2例で奇形（曲尾）が認められた。この試験で報告されているすべての生殖発生に関する変化はこの4例の妊娠動物でみられたものだけであり、これは母動物にみられた著しい障害による二次的な所見と思われる。一方、生後1又は6日の児動物の体重には変化は認められなかった。本知見及び、認められた生殖発生に及ぼす影響は一部の母動物に限定しているという観点から、この試験結果はリスク解析に利用できないと思われる。したがって、この試験データはCDラットにおける催奇形性試験の結果の確認としてのみ採用できるものである。ちなみに、そのCDラットにおける催奇形性試験から、生殖発生毒性に対するNOAELは60 mg/kg/dayであることが推定される。

要約及び結論

フェノールの母動物に対する毒性及び生殖発生毒性をラット及びマウスを用いた経口投与（強制投与）の催奇形性試験で評価した。

マウスを用いた試験では、生殖発生に及ぼす影響（平均胎児体重の減少、口蓋裂）が280 mg/kg/dayで認められ、この用量では明らかな母動物に対する毒性も認められた。この試験成績から、生殖発生毒性に対するNOAELは140 mg/kg/dayであり、母動物に対するNOAELも140 mg/kg/dayであった。

Argus Research Laboratories, Incが適切に実施したラットを用いた催奇形性試験において、胎児の発育遅延（平均胎児体重のわずかな低下、骨化のわずかな遅延）が360 mg/kg/dayの用量で認められ、この用量では明らかな母動物に対する毒性も認められた。120 mg/kg/dayではそのような生殖発生毒性は認められなかったが、母動物に体重増加抑制が認められた。この試験成績から、生殖発生毒性に対するNOAELは120 mg/kg/dayであり、母動物に対するNOAELは60 mg/kg/dayであった。

出生前、周産期及び出生後の胎児をフェノールに暴露したときの影響を評価するためには、ラットを用いた2世代試験の成績を検討しなければならない。この試験（妊娠期間及び授乳期間を通して胎児又は新生児を暴露）では、出生時の新生児体重のわずかな低下のような周産期の発育遅延が惹起され、児動物の周産期及び出生後死亡率の増加も認められた。また、出生後の発育遅延（体重増加量の低下、形態的発達及び性成熟の遅延）も認められた。これらの変化は5,000 ppmの濃度の飲料水投与で惹起されたものであり、母動物の1日摂取量は320 mg/kgであった。この用量では母動物にも明らかな全身毒性が認められた。1,000 ppmの濃度では母動物にも児動物にも変化は認められず、この用量での母動物の1日摂取量は93 mg/kgであった。この試験成績から、生殖発生毒性に対するNOAELは93 mg/kg/dayであ

り、母動物に対するNOAELも93 mg/kg/dayであった。

マウス及びラットを用いた催奇形性試験のデータから、フェノールは胎児毒性及び催奇形性を示さないことが推定された。

利用可能なデータの全体的な評価から、妊娠期間及び授乳期間におけるフェノールへの暴露では、胎児の発育遅延及び出生後の生存率や発育に対する影響が惹起されることが明らかとなった。しかし、これらの影響は母動物に毒性が認められる用量で惹起されたものである。したがって、胎児のわずかな発育遅延はフェノールの直接的な胎児毒性とは考えられない。

通常の催奇形性試験におけるフェノールの投与は器官形成期に行われているため、また試験全体を通して認められた特に懸念のある影響は胎児の発育及び周産期の行動であったことから、2世代試験 (IITRI, 1999、Ryan et al., 2001) のデータに基づいてフェノールの生殖発生に及ぼす影響のリスク解析を行うことが適切と思われる。このことから、フェノールの生殖発生に対するNOAELは93 mg/kg/dayと推定された。

その他の情報

フェノールについては*in vitro*でのラット全胚培養でも検討されている (Chapman et al., 1994)。いくつかの発育段階の胎児 (8 - 10体節) を数種類のフェノール濃度の培養液中でラット肝S9代謝活性化系の有無の条件下で30時間インキュベートした。S9 mixの非存在下では、1,600 μM までは異常形態形成又は発育及び発達に関するパラメータに有意な作用は認められなかった。S9 mix (Aroclor 1254誘導ラット由来) の存在下では、胎児の*in vitro*での発育及び発達に対する用量に依存した有意な影響が、10 μM のような低い濃度から認められた。この試験ではいくつかの酵素誘導剤について検討し、フェノバルビタールで誘導したラットのS9 mixで最大のフェノール代謝活性化作用が認められたことを報告している。さらに、この試験ではフェノールの代謝物であるヒドロキノン、ベンゾキノン、カテコール及び *t,t*-muconaldehydeの胎児毒性及び異常形態形成作用も検討されている。これらの化合物は代謝活性化系なしで有意な胎児毒性及び異常形態形成作用を示した。この4種の代謝物の中で *t,t*-muconaldehydeが最も強い活性を示し、50 μM のような低い濃度で胎児死亡率が100%であった。

4.1.2.9.2 ヒトにおける知見

利用可能なデータはない。

生殖発生毒性に対する要約及び結論

ヒトの生殖発生毒性に関するデータはない。

ラットを用いた2世代生殖発生毒性試験（飲料水で投与）で、フェノールの生殖行動及び受胎能に及ぼす影響が検討されている。平均1日摂取量が300 - 320 mg/kgに相当する最高濃度の投与で、摂水量の減少、及びその結果生じる臓器重量の減少を含む体重減少並びに体重増加抑制が惹起されたが、生殖能力及び受胎能については雌雄の両者に2世代にわたって影響は認められなかった。さらに、精子検査及び性周期にもフェノール投与の影響は認められなかった。この試験で認められた変化は、両世代とも、5,000 ppm投与群の離乳前にみられた新生児死亡率の増加及び体重増加抑制のみであった。5,000 ppm以下の濃度ではこのような変化は認められなかった。この試験成績から、最高濃度（飲料水中で5,000 ppm、平均1日摂取量は301 mg /kg（雄）又は320 mg /kg（雌））まで生殖能力及び受胎能に及ぼす影響は認められなかったと判断できる。以上のように、受胎能に関しては適切に試験されたと結論することができる。

フェノールの生殖発生毒性はマウス及びラットを用いた試験でも検討された。これらの試験ではフェノールに胎児毒性又は催奇形性は認められなかった。妊娠ラット又はマウスを妊娠期間（及び授乳期間）にフェノールに暴露したとき、周産期の発育遅延及び周産期又は出生後の生存率及び出生後の発育への影響が認められた。これらの変化は母動物に全身毒性が惹起される用量で認められたものであり、したがってこれは二次的な変化であってフェノールの直接的な胎児毒性によるものではないと考えられた。以上のように、利用可能な試験の評価から、フェノールのリスク解析における生殖発生毒性に対するNOAELは93 mg/kgであることを勧告する。この生殖発生毒性に対するNOAELは2世代試験の児動物の行動及び発達に関する観察に基づくものである。

投与経路を経皮又は吸入とした動物試験はない。

利用可能な動物試験の評価から、フェノールに特異的な生殖発生毒性は認められなかった。したがって、分類も表示も不要である。