

2-ニトロフェノールに関する情報は極めて限られている。胃管強制によって200~330 mg/kg 体重を単回投与されたウサギで、適用量の大部分(80%を超える)が24時間以内に尿に排泄された。約71%がグルクロン酸と抱合し、約11%が硫酸抱合したのに対して、約3%はアミノフェノールに還元された (Robinson et al., 1951)。

2-ニトロフェノールに対する皮膚浸透がいくつかの *in vitro* (試験管内)実験で明らかにされた (Huq et al., 1986; Jetzer et al., 1986; Ohkura et al., 1990)。

情報は限られているが、生物体内での2-ニトロフェノールの生物濃縮は迅速な代謝と排泄により予期されない。

7.2 4-ニトロフェノール

数種の試験動物(ラット、マウス、イヌ、ウサギ)に4-ニトロフェノールを経口、経皮、静脈内、または腹腔内投与すると、適用量の大部分(最高95%)が24~48時間以内に尿中にグルクロン酸抱合体および硫酸抱合体として排泄されていた。極少量が糞便中(約1%)または未変化の4-ニトロフェノール(約2~7%)として排泄されていた。グルクロン酸抱合体と硫酸抱合体の割合は、動物種、性および用量に依存していることが明らかにされていた。4-ニトロフェノールが低投与量のときは硫酸抱合体が優位を占めるが、高投与量のときはグルクロン酸抱合体の割合が増大する (Robinson et al., 1951; Gessner & Hamada, 1970; Machida et al., 1982; Rush et al., 1983; Snodgrass, 1983; Tremaine et al., 1984; Meerman et al., 1987)。経口投与後にウサギで示されたように、4-ニトロフェノールはグルクロン酸抱合と硫酸化のみならず、4-アミノフェノールへの還元を受ける。投与量の最大で14%が尿中にアミノ化合物として検出されていた (Robinson et al., 1951)。マウスに腹腔内投与後に、4-ニトロフェニルグルコシドが4-ニトロフェノールの僅かな代謝物(投与量の約1~2%)として同定された (Gessner & Hamada, 1970)。

4-ニトロフェノールの場合、実験動物のエタノール前処置(チトクロムP-450の誘導)が肝ミクロソーム水酸化の著明な増大をもたらした。その後形成された4-ニトロカテコールがグルク

ロン酸抱合と硫酸の経路で 4-ニトロフェノールと競合した (Reinke & Moyer, 1985; Koop, 1986; McCoy & Koop, 1988; Koop & Laethem, 1992)。

非閉塞条件での皮膚吸収に関する特殊検査が、ウサギとイヌで 7 日以内に適用した¹⁴C-4-ニトロフェノールの約 35%と 11%がそれぞれ皮膚摂取されることを明らかにした。4-ニトロフェノールに対する皮膚浸透もいくつかの *in vitro* 実験で明らかにされた (Huq et al., 1986; Jetzer et al., 1986; Ohkura et al., 1990)。

4-ニトロフェノールの生物濃縮は、その迅速な代謝と排泄により予期されない。

8. 実験哺乳類動物および *in vitro* (試験管内)試験系への影響

8.1 単回暴露

2-ニトロフェノールの場合、経口LD₅₀はラットで 2,830~5,376 mg/kg体重 (BASF AG, 1970; Vasilenko et al., 1976; Vernot et al., 1977; Koerdel et al., 1981)であり、マウスでは 1,300~2,080 mg/kg体重である (Vasilenko et al., 1976; Vernot et al., 1977)。経口暴露による臨床症状は非特異的であり、呼吸困難、歩行失調、震え、傾眠、無気力、痙攣が見られた。いくつかの試験で行われた肉眼的検査が高用量ラットで肝臓と腎臓のうっ血、および胃の潰瘍を明らかにした。被験物質で飽和した空気に対して 20°Cで 8 時間 (それ以上の情報はない)、ラットを吸入暴露しても死亡および毒性徴候をもたらさなかった (BASF AG, 1970)。限度試験で、ラットに対する経皮LD₅₀は 5,000 mg/kg体重よりも大きかった (Koerdel et al., 1981)。ネコ (投与群当たり 2 匹)で、2-ニトロフェノールの経口適用 (50、100、250 mg/kg体重; 対照はなし)によってメトヘモグロビン形成の用量依存的増大 (それぞれ、6、44、57%)をもたらした¹。250 mg/kg体重を投与された 1 匹が死亡した。2-ニトロフェノールの 50%水溶液のウサギへの皮膚適用 (用量は不明、暴露時間は背部に 1 分から 20 時間または耳介に 20 時間)ではメトヘモグロビン形成が認められなかった (BASF AG, 1970)。

4-ニトロフェノールの経口LD₅₀はラットで 220~620 mg/kg体重の範囲 (BASF AG, 1969; Vasilenko et al., 1976; Hoechst AG, 1977a; Vernot et al., 1977; Andrae et al., 1981)であり、

マウスでは 380~470 mg/kg体重の範囲 (Vasilenko et al., 1976; Vernot et al., 1977)である。ラットでの経口暴露後の臨床症状は非特異的であり、頻呼吸と痙攣が見られ、そしていくつかの試験で行われた肉眼的検査が肺の暗赤斑を伴う灰色化を明らかにした。4,700 mg/m³ (粉末として適用[ナトリウム塩]; 粒子の大きさは不明) で4時間単回暴露 (頭部のみ)したラットで死亡例は認められなかった。6匹のラット中4匹で、暴露終了時に角膜混濁が認められ、この混濁は14日間の観察期間中持続した。1,510 mg/m³に暴露された2匹の追加ラットにおいて、メトヘモグロビン濃度は対照と比べて変わりがなかった。4,700 mg/m³に暴露後のメトヘモグロビン濃度の定量は行われなかった (Smith et al., 1988)。ラットでのもう1件の吸入試験 (被験物質で飽和した空気に対して 20°Cで8時間; それ以上の情報は得られていない) で、死亡例と毒性徴候は見られなかった (BASF AG, 1969)。ラットおよびモルモットの場合の経皮 LD₅₀は 1,000 mg/kg体重以上である (Hoechst AG, 1977b; Eastman Kodak Co., 1980; Andrae et al., 1981)。2-ニトロフェノールと対照的に、4-ニトロフェノールを 100、200 または 500 mg/kg体重用量で経口投与したがメトヘモグロビンの形成はネコ (投与群当たり 2匹) で認められなかった。死亡率はそれぞれ 0/2、1/2、2/2 であった (BASF AG, 1969)。

1メトヘモグロビン形成は 8.8 節で極めて詳細に論じられる。

8.2 刺激作用および感作

OECD ガイドライン 404 および 405 に相当する試験から、2-ニトロフェノールは皮膚に対して軽度の刺激性があるが、眼に対しては刺激性がない (評点は不明) との結論を下すことができる。OECD ガイドライン 406 に相当するモルモットを用いる Buehler テストで、2-ニトロフェノールは皮膚感作作用を示さなかった (Koerdel et al., 1981)。

米国食品医薬品局 (FDA) のガイドラインに沿って行われた試験では、非溶解の 4-ニトロフェノールは皮膚に対して軽度の刺激性があった (評点 2/8) (Hoechst AG, 1977c)。しかしながら、OECD ガイドライン 404 に相当するもう一つの試験では、非溶解の 4-ニトロフェノールは皮膚刺激性を示さなかった (評点 0/4) (Andrae et al., 1981)。10%溶液として眼に適用された 4-ニトロフェノールは FDA ガイドラインに沿って行われた試験で軽度の刺激性があった (評点不明; Hoechst AG, 1977c)。非溶解の 4-ニトロフェノールによる結果は FDA のガイドライン

に沿って行われた試験で強い刺激性（評点不明；Hoechst AG, 1977c）または OECD ガイドライン 405 に相当する試験で軽度の刺激性があった（評点 1-2/4；Andrae et al., 1981）。

OECD ガイドライン 406 に相当するモルモットの強化テストで、皮膚感作が 20 匹中 5 匹で認められた（Andrae et al., 1981）。

2-ニトロフェノールおよび4-ニトロフェノールに対する呼吸器管感作に関するデータは文献で見当たらなかった。

8.3 短期暴露

8.3.1 経口暴露

ラットにおける 2-ニトロフェノールの影響が OECD ガイドライン 407（5 匹/性/投与群；経口強制投与 1 日量が 0、22、67 または 200 mg/kg 体重）の 28 日間試験で調べられた。飼料摂取が高用量雄および中・高用量雌で低下し、最終体重がすべての投与ラットで有意とは言えないが低下した。肝臓と腎臓の絶対重量が中用量ラットで低下し、精巣の相対重量が低・中用量雌で増加、高用量雌では減少した。すべての投与ラットで、副腎の相対・絶対重量が増加した。主要な器官と組織の血液検査、臨床生化学検査、組織病理学的検査は、対照に比べて、被験物質に関連した何らの毒作用徴候を示さなかった（Koerdel et al., 1981）。不十分な文書化およびすべての暴露ラットで示された僅かな影響（副腎重量）だけがあったという言う事実のために、信頼できる NO(A)EL を推定できない。

さらに OECD ガイドライン 407 での評価のために行われた 28 日間試験で、Sprague-Dawley ラット（10 匹/性/投与群）が 4-ニトロフェノールの 1 日経口投与量として 0、70、210 または 630 mg/kg 体重を胃管強制で与えられた。投与後、自発運動の抑制（約 2 時間続いた）が中・高用量ラットで見られた。中用量ラットで、10 匹中 1 匹が死亡した。高用量の雄と雌で、死亡率はそれぞれ 4/10 と 6/10 であった（中毒に関する特定の徴候は示されていなかった）。最低用量群で、肉眼的検査が 7 例の肝の退色を明らかにし、組織病理学的検査は 14 例の緻密に分散した脂肪変性を明らかにした。また、肝の限局的脂肪変性が中用量ラットの 13/20 で観察されたが、高用量では観察されなかった。しかし、緻密に分散した脂肪変性は対照ラットの 6/20

でも見られたことに注意が必要である。高用量の雄の 4/10 (雌では認められない) で水症性の肝細胞腫脹が認められ、そして試験の終了前に死亡した高用量ラットの全例が肝の血管うっ血を示していた。白血球数の僅かな増加が 210 と 630 mg/kg 体重の用量投与の雌雄で見られ、その増加は高用量の雌では有意であった。高用量の雄で、アラニン・アミノトランスフェラーゼ (ALAT) 活性が有意に増大した。高用量ラットでのその他の被験物質に関連した影響には、ネフローゼの増加 (2 匹の雄と 5 匹の雌)、精巣萎縮と精子形成阻害 (それぞれ 1 匹と 2 匹の雄) および卵巣の腺濾閉鎖症 (4 匹の雌) があった (Andrae et al., 1981)。肝臓における明確ではない影響のために、NO(A)EL を推定できない。

8.3.2 吸入曝露

8.3.2.1 2-ニトロフェノール

Sprague-Dawleyラット (15 匹/性/群) で、2-ニトロフェノール蒸気を 4 週間にわたり、0、5、30、60 mg/m³ (「全身」曝露; 蒸気を発生させるために、溶かした 2-ニトロフェノールが使用された) の濃度で 6 時間/日、5 日間/週、曝露させたが死亡例は認められなかった。高用量の全ラットの上顎甲介と鼻甲介に沿った上皮の扁平上皮化生以外は、臨床並びに組織病理学的検査で一貫性がある曝露関連性の影響が見られなかった。11 回目の曝露後に測定されたメトヘモグロビン値が低用量ラットの場合だけで増大したが (雄: 1.0、2.3、1.8、1.6%; 雌: 2.0、4.1、2.1、1.1%)、試験終了時では対照値以内であった (Hazleton Lab., 1984)。

8.3.2.2 4-ニトロフェノール

雄の白色 CrI:CD^Rラット (10 匹/群) で、4-ニトロフェノールの粉末を 2 週間に渡って 0、340、2,470 mg/m³ (ナトリウム塩として適用; 「頭部のみ」曝露、空気動学的粒径 [MMAD] は 4.6~7.5 μm) の濃度で、6 時間/日、5 日間/週、曝露させたが死亡例は認められなかった。この 2 種の濃度で刺激性の徴候が生じた (それ以上に明確には特定されない)。340 と 2,470 mg/m³ に曝露後に、黒っぽい尿、蛋白尿、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (ASAT) 値の上昇およびメトヘモグロビン値の用量依存的増大が観察された。これらの影響は 14 日間の回復期間後でも未だ明らかであった。しかし、メトヘモグロビン値は高用量ラットのうちの 2/5 だけがその時未だ上昇していた。メトヘモグロビン値は 10 回目の曝露後に 0.2、0.87 および 1.53%

であり、14日間の回復期間後に0.2、0.13および0.7%であった。赤血球、ヘモグロビン、ヘマトクリット値は暴露期間中低下したが、14日間の回復期間後に上昇した。投与ラットでは、暴露期間中および14日間の回復期間中に尿量が用量依存的に減少した。高用量ラットでは、絶対脾臓重量が暴露10日後に対照よりも有意に低く、回復期間の終了時には対照に比べて、脾臓と肺臓の絶対・相対重量が有意に低かった。著者等の言うところによれば、器管重量変化の生物学的意味合いは対応する病理学的影響が現れていないから不明である (Smith et al., 1988)。

2回目の試行 (0、30または130 mg/m³に暴露; MMAD 4.0~4.8 μm) で、両暴露濃度はやはり有意な刺激性徴候をもたらした (それ以上に明確には特定されない)。メトヘモグロビン貧血、14日間の回復期間内で可逆的であった影響は130 mg/m³のときだけに見られた。メトヘモグロビン値は10回目の暴露後に0.5、0.3および1.5%であり、14日間の回復期間後に0.4、0.5および0.2%であった。肉眼的並びに組織病理学的検査で何れの投与群においても有害影響は見られなかった。これらの結果から、この試験の著者等はNO(A)ELを30 mg/m³と決定した (Smith et al., 1988)。

Sprague-Dawleyラット群 (15匹/性) が4-ニトロフェノールの粉末を4週間に渡って0、1、5、30 mg/m³ (「全身」暴露; MMAD 5.2~6.7 μm) の濃度で、6時間/日、5日間/週、暴露された。暴露による死亡は起こらず、そして血液または臨床生化学の値、肉眼的検査、病理組織、体重または器官重量の点に関して暴露に関係した影響は認められなかった。高用量ラットで、一側性および両側性のびまん性前部水晶体嚢白内障が観察された。暴露2週間後に測定されたメトヘモグロビン値は大きな変動を示し、数匹の非暴露対照で異常に高い(>3%)のものもあった。しかしながら、群全体のメトヘモグロビン値は雄では有意だが雌では有意ではなかった (雄: 0.8、0.5、2.2、1.1%; 雌: 1.3、1.1、2.0、1.0%) が、5 mg/m³の濃度で増加した (Hazleton Lab., 1983)。したがって、局所的影響 (白内障) には5 mg/m³のNO(A)ELを導くことができるのに対して、全身的影響 (メトヘモグロビン形成) の場合のNO(A)ELはもっと低いかもしれない。

8.3.3 皮膚曝露

短期の皮膚曝露に関するデータは文献で見当たらなかった。

8.4 長期暴露

文献では、亜慢性と慢性試験は4-ニトロフェノールの場合だけに入手できる。

8.4.1 亜慢性暴露

Sprague-Dawley ラット (20 匹/性/用量群) での 13 週間の胃管強制投与試験において、4-ニトロフェノールの 0、25、70 または 140 mg/kg 体重の用量が水溶液で 5 日/週投与され、70 と 140 mg/kg 体重の投与ラットで早死が見られた (70 mg/kg 体重で雄 1 匹・雌 1 匹および 140 mg/kg 体重で雄 15 匹・雌 6 匹)。これらの死亡ラットでは通常、投与直後に、悪い血色、緩慢な挙動、虚脱、喘鳴、呼吸困難を含む臨床症状が先行して現れた。これらのラットの組織病理学的検査は、肺、肝、腎、副腎皮質、脳下垂体の軽微～中等度のうっ血を明らかにした。生存ラットでは、対照ラットと比べた投与関連の変化は報告されていなかった。メトヘモグロビン値の変化については、信頼できない分析法であったため (7 週目に対照でおよそ 13%)、説明をすることができない (Hazleton Lab., 1989)。したがって、この試験からは暫定的な NO(A)EL (肝、腎、肺の変化) としての 25 mg/kg 体重のみしか引き出せない。メトヘモグロビン形成に基づく NO(A)EL は多分もっと低いであろう。

Swiss-Webster マウスへの 4-ニトロフェノールの皮膚適用 (10 匹/性/用量群 ; 13 週間に渡って週に 3 回、0、22、44、88、175、350 mg/kg 体重の用量をアセトンに溶かして暴露) が、 ≥ 175 mg/kg 体重の用量で皮膚刺激・炎症と壊死ばかりでなく用量依存性の死亡率をもたらした¹。

¹ Gulf South Research Institute、日付なし ; それ以上の情報はない ; NTP (1993)からの引用結果

8.4.2 慢性暴露と発がん性

Swiss-Webster マウスを用いた長期試験 (50 匹/性/用量群) で、アセトンに溶かした 4-ニト

ロフェノールが肩甲間の皮膚に、用量 0、40、80 または 160 mg/kg 体重、3 日/週、78 週間の投与条件で適用された。試験終了時に、生存率が雄の場合に 29/60、17/60、26/60、24/60 で、雌の場合は 35/60、26/60、33/60、27/60 であった。60 週以降の死亡率の増大は全身性アミロイド症（アミロイド症の重篤度は投与マウスと対照マウスと同様であった）と二次性腎不全が原因であった。投与マウスの最終平均体重は対照マウスと同様であった。4-ニトロフェノールの経皮投与との関係では、被験物質に関連した腫瘍性または非腫瘍性作用はなく、また、雄または雌マウスにおいて 4-ニトロフェノールの発がん性の証拠はないと NTP (1993) は述べていた。

もう 1 件の試験はいくつかの手法上の欠陥（皮膚のみが試験され、暴露は僅かに 12 週間）があったが、31 匹の雌の Sutter マウスに 2-ニトロフェノールまたは 4-ニトロフェノールのジオキサン中 20% 溶液を皮膚に適用（溶液 25 μ L を週に 2 回）して皮膚腫瘍を認めなかった (Boutwell & Bosch, 1959)。

8.5 遺伝毒性と関連エンドポイント

2-ニトロフェノールおよび 4-ニトロフェノールの入手できる *in vitro* と *in vivo* の遺伝毒性試験を表 3 に要約している。

表 3 *in vitro* と *in vivo* での 2-ニトロフェノールおよび 4-ニトロフェノールの遺伝毒性

種族 (試験系)	エンドポイント	濃度範囲	結果		注釈	出典
			代謝活性化なし	代謝活性化あり		
2-ニトロフェノール (<i>in vitro</i> 試験)						
Δ フェージ DNA	DNA 切断誘発	35 mg	—	0		Yamada et al (1987)
枯草菌 H17、M45	組換え試験	0.01~0.5 mg/プレート	—	0		Shimizu & Yano (1986)

ネズミチフス菌 TA1535、TA1537	復帰突然変異	0.003~2.5 mg/プレート	-	-		Koerdel et al. (1981); Haworth et al. (1983); Shimizu & Yano (1986)
ネズミチフス菌 TA1538	復帰突然変異	0.01~2.5 mg/プレート	-	-		Koerdel et al. (1981); Shimizu & Yano (1986)
ネズミチフス菌 TA98、TA100	復帰突然変異	0.0007~5 mg/プレート	-	-	また、Suzuki ら (1983) はノルハルマン存在下で両菌株を試験して、やはり陰性結果を出していた。	Chiu et al. (1978); Koerdel et al. (1981); Haworth et al. (1983); Suzuki et al. (1983); Shimizu & Yano (1986); Kawai et al. (1987); Dellarco & Prival (1989); Massey et al. (1994)
2-ニトロフェノール (in vivo 試験)						
キロシヨウジョ ウバエ	SLRL 試験	混餌(400、500 ppm) または注射(2,500、 5,000 ppm)	-			Foureman et al. (1994)
4-ニトロフェノール (in vitro 試験)						
λ ファージ DNA	DNA 切断誘発	35 mg	-	0		Yamada et al. (1987)
枯草菌 H17、M45	組換え試験	0.01~5 mg/プレート	+	0	0.5 mg/プレート で陽性	Shimizu & Yano (1986)
大腸菌 WP2uvrA	遺伝子突然変	0.001~2.5 mg/プレート	-	-		Hoechst AG

	異	ト				(1980)
大腸菌 K-12 (Pol A1+/Pol1-)、WP2 (WP2、WP2uvrA、WP67、CM611、CM571)	遺伝子突然変異	0.125~2 mg/プレート	-	0		Rashid & Mumma (1986)
大腸菌 Q13	DNA-細胞-結合試験	7または 70 mg	+	+	70 mg で陽性	Kubinski et al. (1981)
酵母菌 ade 2, trp 5	有糸分裂遺伝子変換	2.9 mg/mL	(+)	0		Fahrig (1974)
ネズミチフス菌 TA1535/pSK 1002	DNA 損傷 (umu 試験)	最高濃度 0.75 mg/mL	-	-		Nakamura et al. (1987)
ネズミチフス菌 TA1538	復帰突然変異	0.001~2.5 mg/プレート	+	-	≥0.1 mg/プレートで陽性	Hoechst AG (1980)
ネズミチフス菌 TA1538	復帰突然変異	0.01~5 mg/プレート	-	-		Andrae et al. (1981); Shimizu & Yano (1986)
ネズミチフス菌 TA1538, TA1978	復帰突然変異	0.125~2 mg/プレート	-	0		Rashid & Mumma (1986)
ネズミチフス菌 TA98, TA100	復帰突然変異	0.0007~5 mg/プレート	-	-	また、Suzuki ら (1983) はノルハルマン存在下で両菌株を試験して、やはり陰性結果を出していた	McCann et al. (1975); Hoechst AG (1980); Andrae et al. (1981); Haworth et al. (1983); Suzuki et al. (1983); Shimizu & Yano (1986); Kawai et al.

						(1987); Dellarco & Prival (1989); Massey et al. (1994)
ネズミチフス菌 TA1535, TA1537	復帰突然変異	0.001~5 mg/プレート	-	-		McCann et al. (1975); Hoechst AG (1980); Andrae et al. (1981); Haworth et al. (1983); Shimizu & Yano (1986)
ラット肝細胞	DNA 損傷 (アルカリ溶出)	42~417 mg	(+)	0	≥97 mgで弱い陽性	Storer et al. (1996)
ラット肝細胞	DNA 修復	4.2~417 mg	-	0		Andrae et al. (1981)
チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞	染色体異常	S9 mix がないとき : 0.1~0.5 mg/mL S9 mix があるとき : 1.25~2 mg/mL	-	+		NTP (1993)
チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞	姉妹染色分体交換	S9 mix がないとき : 0.00017~0.025 mg/mL S9 mix があるとき : 0.05~1.5 mg/mL	-	-		NTP (1993)
マウスリンパ腫試験L5178Y TK ⁺ 細胞	正突然変異	S9 mix がないとき : 0.7~1.5 mg/mL S9 mix があるとき : 0.0001~0.03 mg/mL	-	-		Oberly et al. (1984)
マウスリンパ腫試験	正突然変異	0.06~0.78 mg/mL	0	-		Amacher &

験L5178Y TK ⁺ 細胞						Tumer (1982)
ラット肝細胞	不定期 DNA 合成	0.00007~0.14mg/mL	-	0		Probst et al. (1981)
ヒトリンパ球	染色体異常	記載なし	+		代謝活性化に関するデータはない;有効性を判定できない(評価するには文書化および試験計画が不十分)。最小陽性濃度: 1.4 mg/mL	Huang et al. (1996)
ヒトリンパ球	染色体異常	0.001~0.3 mg/mL	+		代謝活性化に関するデータはない;有効性を判定できない(評価するには文書化および試験計画が不十分)	Huang et al. (1995)
ヒト線維芽細胞 (WI-38)	DNA 修復	0.14~139 mg	+		代謝活性化に関するデータはない;有効性を判定できない(評価するには文書化および試験計画が不十分)。≥13.9 mgで陽性	Poirier et al. (1975)
4-ニトロフェノール (in vivo 試験)						
NMRI マウス	宿主経路試験	単回皮下注射	-		腹腔内へ菌を注	Buselmaier et al.

	(試験菌ネズミ チフス菌 G 46 および霊菌 a21 Leu ^r)	75 mg/kg 体重			射後、直ちに被験 物質を適用；試験 時間 3 時間	(1972)
キイロショウジョ ウバエ	SLRL 試験	混餌(1,000、2,500、 6,000、7,500 ppm)ま たは注射(1,000、1,500 ppm)				Zimmering et al. (1985); Foureman et al. (1994)

+-、陰性； +、陽性； (+)、弱い陽性； 0、試験されなかった。

2-ニトロフェノールはいくつかの限られた細菌試験で変異原性を示さなかった。入手できるデータから、2-ニトロフェノールの変異原性に関する結論を引き出すことはできない。

4-ニトロフェノールの場合、哺乳類細胞における染色体異常の *in vitro* 試験で陽性結果が得られていた。しかしながら、NTP (1993)により公表された 1 件のよく考証された試験は別として、他の入手できる試験は十分な報告ではなかった。

4-ニトロフェノールはすべての細菌試験ではないが、いくつかの細菌試験で変異原性を示したが、他の試験（すなわち、細菌を用いる宿主経路試験、マウス・リンフォーマ試験、不定期 DNA 合成試験[明らかに *in vitro*]、姉妹染色分体交換試験、ショウジョウバエでの伴性劣性致死[SLRL]試験）では陰性結果であった。哺乳類における *in vivo* の変異原性試験が行われな限り、4-ニトロフェノールの変異原性が *in vivo* で発現するか否かを結論することはできない。

8.6 生殖発生毒性

8.6.1 生殖毒性

Angerhofer (1985)によって行われたSprague-Dawleyラットの雌 24 匹と雄 12 匹よりなる群での確かな 2 世代試験では、エタノールに溶解された 4-ニトロフェノールが 0、50、100、250 mg/kg 体重/日の用量で経皮により 5 日/週適用された。F₀世代は交配前の 140 日間暴露された。F₀雌への投与は飼育、妊娠および授乳の全期間に渡って続けられた。次いで、F₁世代の雌 26

匹と雄 13 匹よりなる群がF₀ラットの場合と同じ方法で 168 日間暴露された。雌は再び飼育、妊娠および授乳の全期間に渡って暴露された。投与ラットにおける皮膚刺激の用量相関性の症状（紅斑、剥がれ、かさぶた、ひび割れ）以外に、肉眼的・組織病理学的検査は有意な有害作用の徴候を示さなかった。繁殖力、妊娠、生育性および授乳に関する計算された指数は対照の場合と変わらなかった。F₀世代における体重に対する精巣比は影響を受けず、精巣に組織学的病変は観察されなかった。ラットの 28 日間試験（8.3.1 節を参照）で、精巣萎縮と精子形成の抑制が 630 mg/kg体重の用量で経口投与した数匹のラットに観察されたが、210 mg/kg体重では観察されなかった。

8.6.2 発生毒性

8.6.2.1 2-ニトロフェノール

Charles River COBS® CD®ラットを用いた用量設定試験（5 匹の母獣/群；妊娠 6 日から 15 日に胃管強制によって 0、50、125、250、500、1,000 mg/kg体重の用量を適用；20 日目に子宮検査）で、500 と 1,000 mg/kg体重の用量レベルは母体毒性徴候（処置の早期に一過性ではあるが用量関連性の体重増加率の低下）を引き起こした。1 匹の高用量ラットが死亡したが、死因は確定できなかった。その他の臨床所見には、 ≥ 250 mg/kg体重で黒っぽい尿および ≥ 125 mg/kg体重で被毛の黄染色（鼻、口、肛門性器の部位の）があった。解剖所見は生物学的に重要な差異を生存母獣で提示しなかった。最高用量レベルの 1,000 mg/kg体重で、群の平均着床後胚損失（対照の 8.2%に対して 13.8%）と平均早期再吸収胚（対照の 1.2 に対して 2.3）の僅かではあるが統計的に有意な増大（既存対照とも比較して）が見られた。生存胎児数、着床数、黄体数には影響が認められなかった（International Research and Developmental Corporation, 1983）。

8.6.2.2 4-ニトロフェノール

下記に示す両試験では、催奇形性作用に対する新生児の完全な検査は行われていなかった。さらに、これらの試験の限界（すなわち、一投与群のみの使用または混合物への暴露）のために、信頼できる NO(A)EL を引き出せない。

Booth ら (1983)により行われた試験で、50 匹の雌の CD-1 マウス群が、妊娠 7~14 日に 4-ニトロフェノールを 1 日経口用量として 400 mg/kg 体重を胃管強制投与された。妊娠マウス (n = 36)の生存率は対照の 100%に対して 81%であり、投与マウスでは母体体重増加の減少を示した。生殖指標 (生存分娩数と生存妊娠数の比) に変化は認められなかった。一腹当たりの生存胎児の平均数が僅かに増大したが、4-ニトロフェノールは肉眼的異常をもたらさなかった。

Kavlock (1990)はSprague-Dawleyラットで 4-ニトロフェノールの発生毒性を検討した。4-ニトロフェノール (水、Tween 20、プロピレン・グリコール、エタノールの混液[4:4:1:1]に溶解) が 12~13 匹ラットの群に胃管強制によって、妊娠 11 日目に 0、100、333、667、1,000 mg/kg 体重の用量を投与された。母体毒性に関するエンドポイントには、毒性徴候、死亡率、体重増加率、および離乳時の子宮内着床痕数があった。出生児では、生育性、出生後 1~6 日の体重、明白な奇形、出産時の死亡が記録された。母獣では、 ≥ 667 mg/kg体重の用量レベルで死亡率が増大した。 ≥ 333 mg/kg体重の用量レベルで、出生後 1 日と 6 日の同腹児サイズは有意とは言えないが減少した。

8.7 免疫学のおよび神経学的影響

特に免疫学のおよび神経学的影響に関連するような試験は見当たらない。in vitro の試験から、4-ニトロフェノールは細胞性免疫反応のサプレッサーとして作用することが示唆されている (Pruett & Chambers, 1988)。しかしながら、生物学的意味合いは不明である。

8.8 メトヘモグロビン形成

2-ニトロフェノールおよび 4-ニトロフェノールによるメトヘモグロビン形成が、種々の動物種、投与経路、投与期間により試験されている。概要が表 4 に示されている。

表 4 2-ニトロフェノールおよび 4-ニトロフェノールによるメトヘモグロビン形成

種族 (系/数/用量/性)	投与経路	頻度/期間	用量	結果 (% metHb)	出典
2-ニトロフェノール					

ネコ 2匹 性は記載なし	経口	1回	50 mg/kg 体重	6		BASF AG (1970)
			100	44		
			250	57		
ウサギ						
匹数と性は記載なし		1回	50%水溶液	増加せず		BASF AG (1970)
4-ニトロフェノール						
ラット Sprague-Dawley 雄 15 匹・雌 15 匹	吸入	6 時間/日		<i>m</i>	<i>f</i>	Hazleton Lab. (1984)
		5 日間/週	0 mg/m ³	1.0	2.0	
		4 週間	5	2.3	4.1	
			30	1.8	2.1	
			60	1.6	1.1	
				暴露後 11 日目		
ネコ						
2匹 性は記載なし		1回	100 mg/kg 体重	増加せず		BASF AG (1969)
			200			
			500			
ラット						
Sprague-Dawley 雄 20 匹・雌 20 匹		5 日間/週 13 週間	0 mg/kg 体重	分析法が信頼できない(対照 で 13%)		Hazleton Lab. (1989)
			25			
			70			
			140			
ラット						
CrI:CD ^R 雄 10 匹		6 時間/日 5 日間/週 2 週間	0 mg/m ³	0.2	0.2	Smith et al. (1988)
			340	0.87	0.13	
			2470	1.53	0.7	
			暴露終了時と回復期の 14 日 後			

ラット CrI:CD ^R 雄 10 匹	吸入	6 時間/日	0 mg/m ³	0.5	0.4	Smith et al. (1988)
		5 日間/週	30	0.3	0.5	
		2 週間	130	1.5	0.2	
			暴露終了時と回復期の 14 日後			
ラット Sprague-Dawley 雄 15 匹・雌 15 匹	吸入	6 時間/日		<i>m</i>	<i>f</i>	Hazleton Lab. (1983)
		5 日間/週	0 mg/m ³	0.8	1.3	
		4 週間	1	0.5	1.1	
			5	2.2	2.0	
			30	1.1	1.0	
			暴露の 2 週間後、数匹の対照ラットで異常に高い値を示した			

使用した略記号：m=雄；f=雌；metHb=メトヘモグロビン

2-ニトロフェノールは、最も感受性が高い動物種のネコ (BASF AG, 1970)で、メトヘモグロビン形成を用量依存的に明らかにもたらしめている。試験された最小用量の 50 mg/kg体重がメトヘモグロビン濃度を上昇させていた。ラットにおける吸入実験で、5 mg/m³の暴露濃度でメトヘモグロビン濃度の上昇が認められたが、30 と 60 mg/m³の暴露濃度ではメトヘモグロビン濃度の上昇が少なかった(Hazleton Lab., 1984)。

対照的に、4-ニトロフェノールはネコで最大 500 mg/kg体重の濃度でもメトヘモグロビン形成を引き起こさなかった (BASF AG, 1969)。ラットにおいては、吸入実験の高濃度で、メトヘモグロビン形成能は非常に低いように思われた (2470 mg/m³で 1.5%)。結論として、4-ニトロフェノールはメトヘモグロビン形成を誘起するかもしれないが、その作用はかなり弱くて、明確な用量反応がないように見える。

9. ヒトへの影響