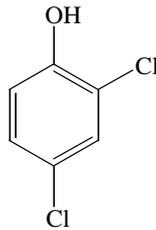


## 2,4-ジクロロフェノールの有害性評価 [2,4-Dichlorophenol, CAS No. 120-83-2]

名称： 2,4-ジクロロフェノール (2,4-DCP)  
別名： 4-ヒドロキシ-1,3-ジクロロベンゼン、2,4-DCP  
分子式：  $C_6H_4Cl_2O$   
分子量： 163.0  
構造式：



外觀： 無色、白色あるいは僅かに黄色の結晶<sup>1)</sup>  
融点： 45<sup>1)</sup>  
沸点： 210.0<sup>1)</sup>  
比重：  $d_{25}^{60} = 1.383$ <sup>1)</sup>  
蒸気圧： 16 Pa (25 )<sup>1)</sup>  
分配係数：  $\text{Log Pow} = 3.06$  (計算値)<sup>1)</sup>  
分解性： 加水分解性 報告なし  
生分解性 難分解 (BOD = 0%、4 週間)<sup>2)</sup>  
溶解性： 水 4.5 g/l (20 )<sup>1)</sup>  
有機溶媒 四塩化炭素、エタノール、ベンゼン、エチルエーテル、  
アルカリ水溶液に可溶<sup>1)</sup>  
製造量等：平成 13 年度 製造、輸入実態なし<sup>3)</sup>  
用途： 染料及び除草剤の合成中間体<sup>1)</sup>  
適用法令： 水道法、海洋汚染防止法

<sup>1)</sup> HSDB, 2001; <sup>2)</sup> 通商産業公報, 1982; <sup>3)</sup> 経済産業省, 2003

## 1. 有害性調査結果

### 1) ヒトの健康に関する情報

2,4-ジクロロフェノール (2,4-DCP) (量、純度不明)を含む高温蒸気を浴びた男性労働者が、暴露直後に、意識を失い死亡した報告がある(EPA, 2000)。

ほぼ 100%の 2,4-DCP の溶融飛沫を右大腿部から右腕(体表の 10%以下)に皮膚暴露し、20 分以内に癲癇様発作を起こし、その後死亡した労働者の報告があり、血中、尿中、胆汁中にはそれぞれ、24.3、5.3、18.7 mg/L、更に胃内容物に 1.2 mg/L の 2,4-DCP が検出されている (Kintz et al., 1992)。同年、英国の化学工場でも、水蒸気とともに噴出した 2,4-DCP(量、純度不明)を顔と首に浴びた労働者が 20 分後に死亡した報告がある(EPA, 2000)。

2,4-DCP(量、純度不明)を含む高温蒸気を浴びた男性労働者が、意識不明に陥り、1 時間後に死亡した 1998 年の報告がある。皮膚汚染箇所は、前腕、膝、大腿部、顔であり、血中、尿中にはそれぞれ 13.1、6.2 mg/L の 2,4-DCP が検出されている(EPA, 2000)。

これらの事例より、2,4-DCP の溶融物あるいは加熱物では、直ちに洗浄しなければ、急速に経皮吸収されヒトの致死量に至る。特に溶融物の場合は、体表の 1%の暴露でも死亡する事が判明したため、米国 EPA は OSHA と共に 2,4-DCP の CANPR(Cheical Advisory and Notice of Potential Risk)を警告している (EPA, 2000)。

慢性影響としては、米国の 2,4-DCP 及び 2,4,5-トリクロロフェノール製造プラントで、29 例の塩素ざ瘡(クロロアクネ)、11 例のポルフィリン症が報告されている(Bleiberg et al, 1964)が、これらの症例はトリクロロフェノール類及び不純物であるダイオキシン類によるものと考えられている(German Chemical Society, 1988)。

### 2) 内分泌系及び生殖系への影響

#### (1)レセプター結合に関する *in vitro* 試験結果 (付表-1)

2,4-DCP は受容体結合試験ではヒトやウシのエストロゲン受容体 (ER)に対して  $5 \times 10^{-5}$ M の濃度まで結合性を示さない(Kramer et al., 1999; CERL, 2001)。酵母ツーハイブリットアッセイにおいて、2,4-DCP はエストロゲン応答配列(ERE)依存的に遺伝子の転写活性化を起こす(E2 の 1/130,000) (Nishihara et al., 2000)。MCF-7 細胞 (ヒト乳ガン細胞) の増殖性試験において、濃度依存的な細胞増殖がみられている (Jones et al., 1998)。一方、ヒトプロゲステロン遺伝子を導入した酵母を用いたレポーター遺伝子アッセイにおいて、2,4-DCP のアゴニスト及びアンタゴニスト作用はみられていない (Tran et al., 1996)。また、組換え培養細胞を用いたレポーター遺伝子アッセイでは 2,4-DCP は  $10^{-11}$ - $10^{-5}$ M の濃度範囲で ERE 依存的な遺伝子の転写活性化を起こさない (CERL, 2001a)。

2,4-DCP はヒトアンドロゲン受容体に対する結合試験で結合性はみられていない (CERL, 2003)。また、ヒトアンドロゲン受容体のレポーター遺伝子アッセイの一過性発現系、並びにヒトアンドロゲン受容体のレポーター遺伝子アッセイの安定形質転換株でのアゴニスト検出系及びアンタゴニスト検出系のいずれにおいても遺伝子の転写活性化は示していない (CERL, 2003)。

## (2)ほ乳動物の内分泌系及び生殖系に及ぼす影響(付表-2,3)

エストロゲン作用あるいは抗エストロゲン作用を検出するスクリーニング手法である子宮増殖アッセイ(OECDガイドライン案に準拠)において、エストロゲン作用を検出するため、8週齢の卵巣摘出 Wistar Hannover ラットに 2,4-DCP 0、100、200、400 mg/kg/day を3日間経口投与した実験、さらに抗エストロゲン作用を検出するための、2,4-DCP 0、100、200、400 mg/kg/day を経口投与し、同時に17 $\beta$ -エチニルエストラジオールを0.5  $\mu$ g/kg/day の用量で皮下投与した実験で、いずれの試験においても子宮重量に影響はみられていない(CERI, 2001b)。

また、アンドロゲン作用あるいは抗アンドロゲン作用を検出するスクリーニング手法であるハーシュバガーアッセイ(OECDガイドライン案に準拠)において、アンドロゲン作用を検出するため、8週齢の去勢した Wistar Hannover ラットに 2,4-DCP 0、50、100、200 mg/kg/day を10日間経口投与した実験、さらに抗アンドロゲン作用を検出するため、2,4-DCP 0、50、100、200 mg/kg/day を経口投与し、同時にプロピオン酸テストステロンを0.4 mg/kg/day の用量で皮下投与した実験で、いずれの群でも副生殖器官の重量に影響はみられていない(CERI, 2001b)。

雌の C57BL/6 及び AKR マウス(6匹/母動物/群)に 2,4-DCP 74 mg/kg (DMSO に溶解)をそれぞれ妊娠 6-14 日及び 6-15 日に皮下投与し、C57BL/6 マウスは妊娠 18 日に、AKR マウスは妊娠 19 日に帝王切開した結果、C57BL/6 マウスでは胎仔に死亡率の増加、AKR マウスでは母動物に肝臓相対重量の減少、胎仔に体重の減少、胎仔 40 例中 4 例の四肢の過伸展(無処理対照群: 6/251 例、DMSO 処理群: 1/229 例)及び嚢胞腎(1 例)、短肢(2 例)、指頭形成障害(1 例)が報告されている(NTIS, 1968a)。

雌の F344 ラット(34 匹/群)を用い、妊娠 6-15 日に 2,4-DCP(純度 99.2%) 0、200、375、750 mg/kg/day(コーン油)を強制経口投与し、妊娠 20 日に帝王切開した実験において、200 mg/kg/day 以上の投与群で、母動物に体重増加の抑制、泌尿生殖器周囲の被毛の黄色着色が観察されている。375 mg/kg/day 以上の群の母動物に、眼、鼻、口の周辺に血様物質の付着、腹部脱毛、ラッセル音、750 mg/kg/day 群の母動物で死亡(4/34 例)が観察され、750 mg/kg/day 群の胎仔に、体重低値、胸骨分節、椎弓の骨化の遅延が認められている。2,4-DCP による催奇形性は観察されず、母動物への 750 mg/kg/day 投与群で母動物毒性による二次的な仔の発育遅延があると結論づけられている(Rodwell et al., 1989)。

3 週齢の雌 SD ラットに 2,4-DCP(純度 99%)0、3、30、300 ppm (0、0.5、5、50 mg/kg/day 相当)を飲水投与し、13 週齢で無処置の雄と交配させた後、出産まで投与を継続した実験で、仔を 6 週齢まで観察した結果、30 ppm 投与群の仔に離乳期までの生存率の低下、300 ppm 投与群で新生仔数の減少、6 週齢時の仔の脾臓、肝臓重量の増加が観察されている(Exon et al., 1984; Exon & Koller, 1985)。

雌雄の Wistar Hannover ラットに 2,4-DCP を 0、500、2,000、8,000 ppm (雄: 0、33.4、134、543 mg/kg/day 相当、雌: 0、49.1、194、768 mg/kg/day 相当) の濃度で混餌投与した 2 世代生殖毒性試験で、親動物への影響として 2,000 ppm で F<sub>0</sub> 雌親動物に摂餌量の有意

な低下が、F<sub>0</sub> 及び F<sub>1</sub> 雌親動物で体重増加量の有意な低値が認められたが、雄においては投与に関連する変化は認められなかった。8,000 ppm では F<sub>0</sub> 及び F<sub>1</sub> 雌雄親動物に下腹部被毛の汚染が高頻度に観察され、F<sub>0</sub> 及び F<sub>1</sub> 雄親動物の腎臓の相対重量に有意な高値が観察され、F<sub>0</sub> 雄親動物では腎盂拡張の出現率も有意に高かった。雌雄の親動物の体重、体重増加量及び摂餌量は F<sub>0</sub> 雄親動物を除いていずれも試験期間を通じて有意に低かった。親動物の繁殖と仔動物の発育に対する影響としては、8,000 ppm で雌雄の F<sub>1</sub> 哺育仔で体重の低値及び眼瞼開裂の明らかな遅延が認められた。また F<sub>1</sub> 雌離乳仔では子宮絶対重量の有意な増加が、F<sub>1</sub> 雌親動物では性成熟の僅かな早期化、着床数の有意な低下及び出産仔数の僅かな低下が観察され、これらの動物から得られた F<sub>2</sub> 哺育仔についても、哺育期間中における低体重、発育遅延及び雌離乳仔における子宮重量の増加が F<sub>1</sub> 哺育仔と同様に観察された。2,000 ppm では 8,000 ppm でみられた F<sub>1</sub> 雌離乳仔の子宮重量の僅かな増加と、F<sub>1</sub> 雌親動物における腔開口日齢、着床数及び出産仔数の僅かな低下が観察されたが、F<sub>1</sub> 雌離乳仔の子宮重量を除いては統計学的な有意差を伴わないごく僅かな変化であった。親動物の全身影響に関する NOAEL は 500 ppm (雄: 33.4 mg/kg/day、雌: 49.1 mg/kg/day)、親動物の繁殖と仔動物の発生・発育に及ぼす影響に関する NOAEL は 2,000 ppm (雄: 134 mg/kg/day、雌: 194 mg/kg/day) と結論されている (経済産業省, 2003)。

*in vitro* 受精試験結果を付表-3 に示した。過排卵処理をした 6-8 週齢の雌 CB<sub>6</sub>F<sub>1</sub> マウスから得た卵子と受胎能力の明らかな CD-1 雄マウスから得た精子を、DCP 0、0.1、0.3、1.0 mM を添加した培地で体外受精させた試験では、2,5-、3,4-、3,5-DCP には精子の運動性低下と卵子への侵入率の低下がみられたが、2,4-DCP では、いずれの影響も認められていない。また、2,4-DCP 0、50、150、500 mg/kg/day を 90 日間、飲水投与した雄の CD-1 マウスから得られた精子と 2,4-DCP の投与を行わず過排卵処理により得られた卵子を培地中で受精させた実験では、投与による影響はなかったとされている。同様の試験法による 2,5-、3,4-、3,5-DCP の影響に関しては報告されていない (Seyler et al., 1984)。

### 3) 一般毒性に関する情報

#### (1) 急性毒性 (表-1) (German Chemical Society, 1988; EHC, 1989; NTIS, 1968b)

マウス、ラット及びウサギにおける各投与経路での LD<sub>50</sub> 及び LC<sub>50</sub> 値を表-1 に記載する。ラットでの急性影響としては、自発運動の消失、歩行失調、唾液分泌を含む中枢神経系への影響及び線維性収縮を伴う筋緊張があるが、病理組織学的変化は認められないと報告されている (German Chemical Society, 1988)。

表-1 急性毒性試験結果\*

	マウス	ラット	ウサギ	モルモット
経口 LD <sub>50</sub>	1,300-1600 mg/kg <sup>1)</sup>	580-4,000 mg/kg* <sup>2)</sup> 47 mg/kg <sup>3)</sup>	-	-
吸入 LC <sub>50</sub>	-	-	-	-
経皮 LD <sub>50</sub>	-	-	> 2,000 mg/kg <sup>3)</sup>	-

	マウス	ラット	ウサギ	モルモット
腹腔内 LD <sub>50</sub>	150 mg/kg <sup>1)</sup>	430 mg/kg <sup>2)</sup>	-	-
皮下注射 LD <sub>50</sub>	-	1,730 mg/kg <sup>2)</sup>	-	-
経口 LDLo	-	-	-	-
経皮 LDLo	-	-	-	-

\*：報告により幅がある。

1) German Chemical Society, 1988、 2) EHC, 1989、 3) NTIS, 1968b (溶融 2,4-DCP 使用)

## (2) 反復投与毒性 (付表-4)

B6C3F<sub>1</sub> マウス(10 匹/性/群)に、2,4-DCP (純度 99%以上)を 0、2,500、5,000、10,000、20,000、40,000 ppm で 13 週間混餌投与した結果、10,000 ppm 以上の雌雄の投与群に粗毛、同群の雄に肝臓の多核肝細胞発現、20,000 ppm 投与群に体重増加の抑制、摂餌量の減少、同群の雄全例に細胞の壊死、40,000 ppm 投与群に 3 週間以内に全例死亡、尿細管上皮の壊死が確認されている (US.NTP, 1989)。

ddN マウス (7 匹/雄/群) に 2,4-DCP を 0、0.02、0.05、0.1、0.2%(保存飼料中の含有量分析に基づき上 3 用量のみ算出; 45、100、230 mg/kg/day 相当)で 6 ヶ月間混餌投与した実験で、230 mg/kg/day 相当投与群に、肝臓相対重量の減少、1 例に肝細胞腫張、2 例に間質小円形細胞浸潤、2 例に副腎の皮質ひ薄化が観察されている。この結果から著者は NOEL を 100 mg/kg/day と推定している (小林ら, 1972)。

B6C3F<sub>1</sub> マウス(50 匹/性/群)に 2,4-DCP を濃度 0、5,000、10,000 ppm (雄:0、800、1,300 mg/kg/day、雌:0、430、820 mg/kg/day)で 2 年間混餌投与した結果、10,000 ppm 投与群に体重増加の抑制、摂餌量の減少、更に雄で投与量に伴う多核肝細胞発現 (対照群: 11/50、5,000 ppm 投与群: 33/49、10,000 ppm 投与群: 42/48)が観察されている(US.NTP, 1989)。

F344 ラット(5 匹/性/群)に 2,4-DCP を濃度 0、200、1,000、5,000、20,000 ppm (0、20、101、493、1,782 mg/kg/day 相当)を 4 週間混餌投与した実験 (OECD TG407) で、20,000 ppm の雌雄に体重増加の抑制、-GTP 活性の亢進と血液凝固時間の延長が認められている。(German Chemical Society, 1996)

F344 ラット(10 匹/性/群)に、2,4-DCP (純度は 99%以上)を濃度、0、2,500、5,000、10,000、20,000、40,000 ppm で 13 週間混餌投与した結果、10,000 ppm 以上の雌、20,000 ppm 以上の雄で骨髄萎縮、赤血球、骨髄球の減少、20,000 ppm の雌雄で体重増加抑制、40,000 ppm の雌雄で円背姿勢、粗毛、雄で摂餌量の減少が観察されている(US.NTP, 1989) また、本実験における雄、雌の NOEL はそれぞれ 10,000 ppm (1,000 mg/kg/day 相当)、5,000 ppm (500 mg/kg/day 相当)と推定している (German Chemical Society, 1996)。

F344 ラットの雄に 2,4-DCP (純度は 99%以上)を濃度 0、5,000、10,000 ppm (0、210、440 mg/kg/day 相当)、雌に 0、2,500、5,000ppm (0、120、250 mg/kg/day 相当)で 2 年間混餌投与した結果、生存率への影響は認められなかったが、高用量群の雌雄で体重増加の抑制が観察されている。また、雄の投与群で呼吸上皮のびまん性変性の増加傾向 (対照群: 25/45、5,000ppm 投与群: 38/48、10,000 ppm 投与群: 42/46)が観察されている (US.NTP, 1989)。

3週齢のSD雌ラット(10匹/群)に2,4-DCPを濃度0、3、30、300ppm(0、0.5、5、50mg/kg/day相当)で飲水投与し、13週齢で無処置の雄と交配させ、母動物に離乳期まで投与を行い、仔については3週齢で離乳させた後も15週齢から18週齢まで飲水投与した結果、300ppm投与群の仔に脾臓、肝臓重量の増加、血液学的所見では、赤血球、ヘモグロビン量の増加が観察された(Exon et al., 1985)。以上の結果より、米国EPAはNOELを3ppm(0.5mg/kg/day相当)、NOAELを30ppm(5mg/kg/day相当)としている(IRIS, 1988)。

WHOは、マウスを用いた混餌投与による6ヶ月間試験の結果、肝臓重量変化が観察されない投与量であるNOEL100mg/kg/day(小林ら,1972)を、試験期間等の不確実係数500で除した200µg/kg/dayをヒトに対するTDI値としている(EHC,1989)。

#### 4) 変異原性・遺伝毒性及び発がん性に関する情報

##### (1) 変異原性・遺伝毒性(表-2)

ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験では陰性であるが、マウスリンパ腫L5178細胞を用いた試験及びCHO細胞を用いた姉妹染色分体交換試験に陽性が報告され、CHO細胞を用いた染色体異常試験では陽性、陰性いずれの結果も報告されている(Hilliard et al., 1998; US.NTP, 1981, 1989)。また、代謝活性系を適用しないチャイニーズハムスターV79細胞を用いた突然変異試験で、2,4-DCPはV79細胞に対して細胞毒性があり、6-チオグアニン耐性細胞の顕著な増加は認められていないと報告されている(Jansson & Jansson, 1986)。

SDラット肝初代培養細胞を用いた二本鎖DNA切断試験でも陽性が報告されている(Elia et al., 1994)。

*in vivo* 試験の報告はない。

表-2 変異原性・遺伝毒性試験結果

試験方法		試験条件	結果*	文献
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	ネズミチフス菌 TA98、TA1535、TA100、TA1537 S9(-) 500、1,000µg/plate	-	<u>German Chemical Society</u> , 1988
		ネズミチフス菌 TA98、TA100、TA1535、TA1537 ラットS9(+/-) 3.3-333µg/plate	-	US.NTP, 1989
		ネズミチフス菌TA98、TA 100、TA1537 ハムスターS9(+/-) 3.3-333µg/plate	-	US.NTP, 1989
		ネズミチフス菌 TA98、TA100、TA1537、TA1535 S9(-) 3.3-333µg/plate	-	US.NTP, 1989
		ネズミチフス菌 TA98、TA100、YG1021、YG1024、YG1026、YG1029 S9(+) 100µg/plate	-	Tanaka, et al. 1996
	遺伝子突然変異試験	チャイニーズハムスターV79細胞(6-TG耐性) S9(-) 12.5-50 mg/L	-	Jansson et al., 1986
	マウスリンパ腫細胞試験	マウスリンパ腫L5178Y細胞 S9(-) 10-60 mg/L	+	US.NTP, 1989
染色体異常試験	CHO細胞 S9(+/-) S9(-): 40.2-75 mg/L S9(+): 100.5-176 mg/L	-	US.NTP, 1988	

試験方法	試験条件	結果*	文献
	CHO細胞 S9(+/-) S9-: 75 mg/L S9+: 150 mg/L	-	Anderson et al., 1990
	CHO細胞 S9(+/-) S9-: 0.8-1.4 mM S9+: 0.6-1.0 mM	+	Hilliard et al., 1998
	ヒトリンパ芽球細胞 TK6 細胞 S9(-) 0.8-1.2 mM	-	
	CHO細胞 S9(-) 1.2 mM、1.4 mM	+	Galloway et al., 1998
姉妹染色分体交換試験	CHO細胞 S9(+/-) S9-: 0.167-12.6 mg/L S9+: 99.7-160 mg/L	+	US.NTP, 1989
染色体の異数性試験	チャイニーズハムスター V79 細胞 500μmol/L	+	Onfelt, 1987
不定期 DNA 合成試験	ラット肝細胞 50-1,000 mmol/mL	-	Probst, et al., 1981
二本鎖 DNA 切断試験	SDラット肝初代培養細胞、0.2-0.8 mM	+	Elia et al., 1994

\* - : 陰性 + : 陽性

## (2) 発がん性 (表-3 付表-5,-6)

8 週齢の B6C3F<sub>1</sub> マウス(50 匹/性/群)に 2,4-DCP(純度は 99%以上)0、5,000、10,000 ppm (雄:0、800、1,300 mg/kg/day 相当、雌:0、430、820 mg/g/day 相当)を 2 年間混餌投与した実験で、10,000 ppm 投与群の雌に体重増加の抑制、雄に投与量に伴う顕著な多核肝細胞発現率の上昇(対照群: 11/50、5,000 ppm 投与群: 33/49、10,000 ppm 投与群: 42/48 例)が観察されている。また、投与群の雌で悪性リンパ腫の発現率の低下(対照群: 12/50、5,000 ppm 投与群: 6/50、10,000 ppm 投与群: 4/50)が認められたが、この系統の背景データ範囲内の発現頻度であることから、投与による影響ではないと結論されている。雄の 10,000 ppm 投与群の 1 例(1/50)で、この系統で一般的ではない前胃の扁平上皮細胞癌が認められている(対照群: 8%)が、2,4-DCP による前胃の過形成発現の亢進が観察されていないので、発がん性の証拠はなかったと結論づけている(US.NTP, 1989)。

雄の F344/N ラットに 2,4-DCP(純度は 99%以上)を 0、5,000、10,000 ppm (0、210、440 mg/kg/day 相当)、雌の F344/N ラットに 0、2,500、5,000 ppm (0、120、250 mg/kg/day 相当)で 2 年間混餌投与した結果、雄の投与群で単核細胞白血病の発現頻度の低下(対照群: 62%、5,000ppm 投与群: 34%、10,000ppm 投与群: 34%)がみられたが、無処置の雄の背景データにおける発現率(36.3%)とほぼ同程度であることから、2,4-DCP 投与とは無関係としている(US.NTP, 1989)。

なお、2,4-DCP の発がん性はいずれの国際機関等においても評価されていないが、2,4,6-トリクロロフェノールは、US.EPA、US.NTP、EU でそれぞれ B2、R、カテゴリー 3 に分類されている。また、生体内で代謝されて 2,4-DCP になる 2,4-D (2,4-ジクロロフェノキシ酢酸) (EHC, 1989)は、ポリクロロフェノール類及びそのナトリウム塩類(混合暴露)に含まれ、これらの混合物の暴露は 1977 年に IARC でグループ 2B に分類されている。

Sutter マウス(8-12 週齢)に、0.3%の DMBA (ジメチルベンズアントラセン) 25μL (DMBA; 75μg)を 1 週間背部に経皮投与した後、20%の 2,4-DCP 25μL (5 mg/匹相当)を週

2回、15-24週間背部に経皮投与した実験で、15週目で13/27例(48%)に、24週目で12/16例(75%)に投与部位の乳頭腫が認められていることから(24週目の対照群:3/27例(11%))、プロモーション作用があると報告している(付表-6)。また、24週目で1例に塗布部の皮膚癌が確認されている(Boutwell & Bosch, 1959)。

3週齢のSD雌ラットに2,4-DCPを0、3、30、300ppmで飲水投与し、13週齢で交配させ、妊娠14-21日目に連日、イニシエーターとしてENU(エチルニトロソ尿素)の前駆体となるEU(エチル尿素)0.150%と二酸化窒素1ppmを2,4-DCPとともに飲水投与し、離乳仔に、更に飲水投与を行った実験と飲水投与を行わなかった実験、母動物にイニシエーターのみを妊娠14-21日目に連日飲水投与し、新生仔に0、3、30、300ppmの2,4-DCPを飲水投与し、さらに2,4-DCPのプロモーション作用を調べるため、イニシエーターのみを投与した対照群と比較した実験で、ENUイニシエーターに対する2,4-DCPのプロモーション作用は認められていない(Exon & Koller, 1985)。

表-3 国際機関等での発がん性評価

機関	分類	分類基準	出典
US.EPA	-	発がん性について評価されていない。	IRIS, 2002
EU	-	発がん性について評価されていない。	ECB, 2000
US.NTP	-	発がん性について評価されていない。	US.NTP, 2000
IARC	-	発がん性について評価されていない。	IARC, 2001
ACGIH	-	発がん性について評価されていない。	ACGIH, 2001
日本産業衛生学会	-	発がん性について評価されていない。	日本産業衛生学会, 2001

##### 5) 免疫系への影響(付表-7)

3週齢のSD雌ラット(10匹/群)に2,4-DCPを濃度0、3、30、300ppm(0、0.5、5、50mg/kg/day相当)で飲水投与し、13週齢で無処置の雄と交配させ、母動物に分娩まで投与を行い、仔を6週齢まで飼育した実験、母動物に分娩期を通じ離乳期まで投与を行い、仔に3週齢で離乳させた後も15週齢から18週齢まで飲水投与を行った実験で、実験の300ppm投与群の仔に脾臓重量の増加は認められたが、免疫機能に影響は認められなかった。実験の30ppm以上の投与群の仔に、DTH(遅延型過敏反応)応答の抑制、細胞性免疫の抑制が観察され、300ppm投与群の仔に脾臓、肝臓重量の増加、抗KLH抗体レベルの亢進が認められた。(Exon et al., 1984)。

F344ラット(5匹/性/群)に2,4-DCPを濃度0、200、1,000、5,000、20,000ppm(0、20、101、493、1,782mg/kg/day相当)で4週間混餌投与した実験(OECD TG 407)では、20,000ppmでIgGとIgMの若干の減少が認められている。(German Chemical Society, 1996)。

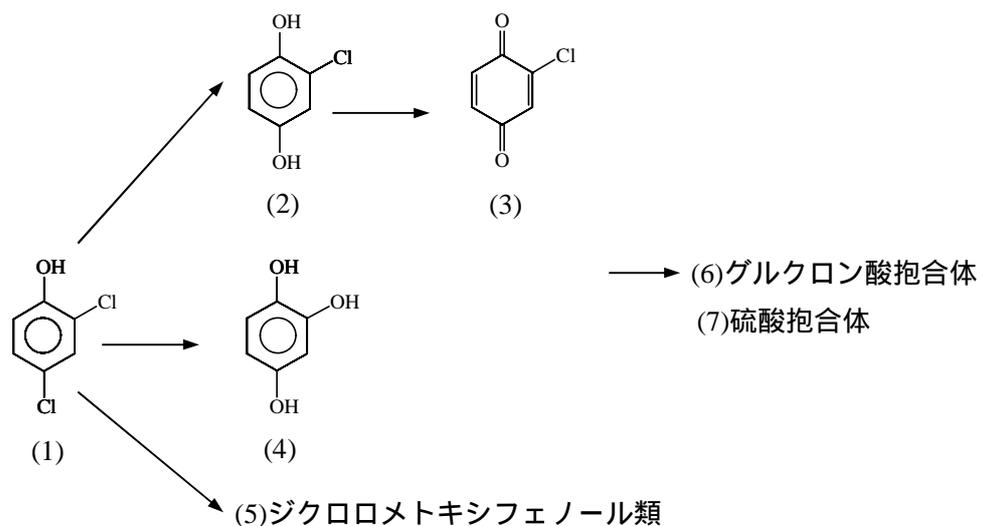
##### 6) 生体内運命

2,4-DCPは消化管、皮膚、呼吸器から比較的速やかに吸収される(IARC, 1986)。

SD ラット(雄:250-300g)に 10 mg/kg を単回静脈内注射した結果、グルクロン酸抱合体またはその他の抱合体(物質名無記載)に急速に代謝される。2,4-DCP 及びその代謝物(物質名無記載)の脳、肝臓、腎臓及び血漿中における半減期は、4-30 分である。また、10-15 分以内には脳、肝臓、腎臓及び血漿中では 2,4-DCP とその抱合体(物質名無記載)が、脂肪組織中では 2,4-DCP のみが検出されている。また、投与 1 時間後に全投与量の 76% が腎臓で検出され、腎臓で最高濃度 17.7 mg/kg(器官重量)が検出されている (Somani & Khalique, 1982)。

単離したラットの肝臓で 2,4-DCP の代謝を検討した実験で、グルクロン酸抱合されるか、ジクロロメトキシフェノール類に代謝されるとの報告がある (図 1) (Somani & Khalique, 1982)。ヒトのチトクロム P450 3A4 による 2,4-DCP の *in vitro* の代謝実験で薄層クロマトグラフィーにより、2-クロロ-1,4-ヒドロキシキノン、2-クロロ-1,4-ベンゾキノン、1,2,4-ヒドロキシベンゼンが検出されている (図 1) (Mehmood et al., 1997)。

ウサギに投与された 2,4-DCP は、主にグルクロン酸抱合体として排泄されるが、一部(16%以下)は硫酸抱合体となる報告もある(HSDB)。なお、ウシでは 24 時間以内に混餌投与された 2,4-DCP(20 g/頭)の全量が排泄されたという報告がある (HSDB,2001)。



- (1) 2,4-ジクロロフェノール (2,4-DCP)
- (2) 2-クロロ-1,4-ヒドロキシキノン
- (3) 2-クロロ-1,4-ベンゾキノン
- (4) 1,2,4-ヒドロキシベンゼン

図 1 2,4-ジクロロフェノールの代謝経路

## 2. 現時点での有害性評価

ヒトの内分泌系、生殖器系に及ぼす影響に関する報告はない。

本物質の内分泌系への影響を調べるための実験において、本物質はエストロゲン受容体

及びアンドロゲン受容体に対する結合性はみられず、レポーター遺伝子アッセイにおいてもエストロゲン受容体及びアンドロゲン受容体を介した遺伝子転写活性を示さないという報告がある。一方、酵母ツーハイブリッドアッセイにおいて E2 の 1/130,000 程度の弱いエストロゲン受容体を介した転写活性を示すとの報告と、ヒト乳がん細胞増殖アッセイで弱い細胞増殖を示すことが報告されている。いずれにせよ、*in vivo* 試験の子宮増殖アッセイ及びハーシュバーガーアッセイが陰性であったことから、性ホルモン受容体を介する内分泌かく乱作用を有する可能性は低いと考えられる。

また、本物質の生殖系に及ぼす影響に関する試験において、同腹仔数の減少や仔の臓器重量の増加など母動物毒性による胎仔への影響あるいは、胎仔毒性があるとする報告がある。ラットを用いた 2 世代生殖毒性試験の結果、生殖能力及び仔動物への影響は主に雌親動物、雌仔動物にみられている。最高投与量である 8,000 ppm (雄: 543 mg/kg/day、雌: 768 mg/kg/day) で雌親動物に性成熟の早期化、着床数の有意な低下及び出産仔数の有意な低下がみられ、雌雄の仔動物で発育遅延、雌仔動物で子宮重量の有意な増加がみられており、比較的高用量で生殖能力及び仔動物への影響があるものと考えられる。

なお、本物質の有害性に関連する情報として、溶融あるいは高温の 2,4-DCP の皮膚暴露を受けると、ヒトが死亡することがあると警告されている。動物実験では、経口反復投与毒性試験において、特に肝臓への影響、造血系及び免疫系への影響が認められている。変異原性試験では、細菌を用いた復帰突然変異試験系で陰性であるが、他の試験系では陽性の報告も多い。発がん性に関しては、国際機関では評価がされていない。

### 3. リスク評価等今後必要な対応

本物質については、性ホルモン受容体を介する内分泌かく乱作用を有する可能性は低いものと考えられるが、多世代にわたる繁殖能力及び仔の発達への影響については、比較的高用量 (雄: 543 mg/kg/day、雌: 768 mg/kg/day) で親動物及び仔動物への影響がみられ生殖・発生毒性として次世代への影響が認められた。

現時点では製造・輸入実態が無いため緊急対応の必要はないと考えるが、今後、製造・輸入が生じた場合にはその他の有害性情報調査の必要性について検討する。

なお、環境省では平成 15 年度第 1 回内分泌攪乱化学物質問題検討会において、「げっ歯類を用いた 1 世代試験」および「試験管内 (*in vitro*) 試験」結果等を取りまとめており、哺乳類を用いた人健康への内分泌攪乱作用に関する試験結果としては既報告で影響が報告されている最高用量 (400 mg/kg/day) においてのみ一般毒性が認められたが、低用量 (文献情報等により得られた人推定曝露量を考慮した比較的低用量) では明らかな内分泌かく乱作用は認められなかったとしている。ただし、現時点では内分泌かく乱作用との関連は明らかではないものの低用量で有意差のある変化が認められており今後、健康リスク初期評価を行なう際に、活用する予定であるとしている。

参考文献 (文献検索時期 : 2003 年 2 月<sup>1)</sup>)

- ACGIH (2001) American Conference of Governmental Industrial Hygienists. Documentation of the threshold limit values and biological exposure indices. Seventh Edition, Cincinnati, Ohio, 200.
- Anderson, B.E., Zeiger, E., Shelby, M.D., Resnick, M.A., Gulati, D.K., Ivett, J.L., and Loveday, K.S. (1990) Chromosome aberration and sister chromatid exchange test results with 42 chemicals. *Environ. Mol. Mutagen.*, 16 (Suppl. 18), 55-137.
- Bleiberg, J., Wallen, M., Brodtkin, R., and Applebaum, I.L. (1964) Industrially acquired porphyria. *Arch. Dermatol.*, 89, 793-797.
- Boutwell, R.K., and Bosch, D.K. (1959) The tumor-promoting action of phenol and related compounds for mouse skin. *Cancer Res.*, 19, 413-424.
- ECB (2000) Council Directive 67/548/EEC on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions relating to the classification, packaging and labeling of dangerous substances : ANNEX I (<http://ecb.jrc.it/>).
- EHC (1989) Chlorophenols Other Than Pentachlorophenol. Environmental Health Criteria (EHC) 93, IPCS.
- Elia, M.C., Storer, R.D., McKelvey, T.W., Kraynak, A.R., Barnum, J.E., Harmon, L.S., Deluca, J.G., and Nichols, W.W. (1994) Rapid DNA degradation in primary rat hepatocyte treated with diverse cytotoxic chemicals: analysis by pulsed field gel electrophoresis and implications for alkaline elution assays. *Environ. Mol. Mutagen.*, 24, 181-191.
- Exon, J.H., Henningsen, G.M., Osborne, C.C., and Koller, L.D. (1984) Toxicologic, pathologic, and immunotoxic effects of 2,4-dichlorophenol in rats. *J. Toxicol. Environ. Health*, 14, 723-730.
- Exon, J.H., and Koller, L.D. (1985) Toxicity of 2-chlorophenol, 2,4-dichlorophenol and 2,4,6-trichlorophenol. pp307-330. in *Water Chlorination: Chemistry, Environmental Impact and Health Effect*, Jolly et al., Ed., 5.
- Galloway, S.M., Miller, J.E., Armstrong, M.J., Bean, C.L., Skopek, T.R., and Nichols, W.W. (1998) DNA synthesis inhibition as an indirect mechanism of chromosome aberrations: comparison of DNA-reactive and non-DNA-reactive clastogens. *Mutat. Res.*, 400, 169-186.
- German Chemical Society(1988) 2,4-Dichlorophenol. BUA Report 31.
- German Chemical Society(1998) BUA Report 193 Supplementary Reports.
- Hazardous Substances Data Bank (HSDB), U.S. National Library of Medicine (2001).
- Hilliard, C.A., Armstrong, M.J., Bradt, C.I., Hill, R.B., Greenwood, S., and Galloway, S.M. (1998) Chromosome aberrations *in vitro* related to cytotoxicity of nonmutagenic chemicals and metabolic poisons. *Environ. Mol. Mutagen.*, 31, 316-326.
- IARC (2001) IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. ホームページ上 (<http://www.iarc.fr>) の最新リスト
- IRIS (2002) Integrated Risk Information System, National Library of Medicine,

<sup>1)</sup> データベースの検索を 2003 年 2 月に実施した。新たなデータを入手した際には文献を更新した。

(<http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?IRIS>).

- Jansson, K., and Jansson, V. (1986) Inability of chlorophenols to induce 6-thioguanine-resistant mutants in V79 Chinese hamster cells. *Mutat. Res.*, 171, 165-168.
- Jones, P.A., Baker, V.A., Irwin, A.J.E., and Earl, L.K. (1998) Interpretation of the *in vitro* proliferation response of MCF-7 cells to potential oestrogens and non-oestrogenic substances. *Toxicol. in Vitro*, 12, 373-382.
- Kintz, P., Tracqui, A., and Mangin, P. (1992) Accidental death caused by the absorption of 2,4-dichlorophenol through the skin. *Arch. Toxicol.*, 66, 298-299.
- Kramer, V.J., and Giesy, J.P. (1999) Specific binding of hydroxylated polychlorinated biphenyl metabolites and other substances to bovine calf uterine estrogen receptor: structure-binding relationships. *Sci. Total Environ.*, 233, 141-161.
- Mehmood, Z., Kelly, D.E., and Kelly, S.L. (1997) Cytochrome P450 3A4 mediated metabolism of 2,4-dichlorophenol. *Chemosphere*, 34, 2281-2291.
- Nishihara, T., Nishikawa, J., Kanayama, T., Dakeyama, F., Saito, K., Imagawa, M., Takatori, S., Kitagawa, Y., Hori, S., and Utsumi, H. (2000) Estrogenic activities of 517 chemicals by yeast two-hybrid assay. *J. Health Sci.*, 46, 282-298.  
Revised edition: [http://jhs.pharm.or.jp/46\(4\)/46\(4\)p282.pdf](http://jhs.pharm.or.jp/46(4)/46(4)p282.pdf)
- NTIS National Technical Information Service (1968a) Evaluation of carcinogenic, teratogenic and mutagenic activities of selected pesticides and industrial chemicals. , PB-223 160.
- NTIS National Technical Information Service (1968b) OTS0534822.
- Onfelt, A. (1987) Spindle disturbances in mammalian cells: . Toxicity, c-mitosis and aneuploidy with 22 different compounds. Specific and unspecific mechanisms. *Mutat. Res.*, 182, 135-154.
- Rodwell, E.D., Wilson, R.D., Nemeč, M.D., and Mercieca, M.D. (1984) A teratology study in Fisher 344 rats with 2,4-dichlorophenol. *Toxicologist*, 4, 167.
- Rodwell, D.E., Wilson, R.D., Nemeč, M.D., and Mercieca, M.D. (1989) Teratogenic assessment of 2,4-dichlorophenol in Fisher 344 rats. *Fund. Appl. Toxicol.*, 13, 635-640.
- Seyler, D.E., East, J.M., Condie, L.W., and Borzelleca, J.F. (1984) The use of *in vitro* methods for assessing reproductive toxicity. Dichlorophenols. *Toxicol. Lett.*, 20, 309-315.
- Somani, S.M., and Khalique, A. (1982) Distribution and metabolism of 2,4-dichlorophenol in rats. *J. Toxicol. Environ. Health*, 9, 889-897.
- Somani, S.M., Smart, T., and Khalique, A. (1984) Metabolism of 2,4-dichlorophenol by isolated perfused rat liver. *J. Toxicol. Environ. Health*, 13, 787-798.
- Tanaka, Y., Iwasaki, H., and Kitamori, S. (1996) Biodegradation of herbicide chlornitrofen (CNP) and mutagenicity of its degradation products. *Water Sci. Technol.*, 34, 15-20.
- Tran, D.Q., Klotz, D.M., Ladlie, B.L., Ide, C.F., McLachlan, J.A., and Arnold, S.F. (1996) Inhibition of progesterone receptor activity in yeast by synthetic chemicals. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 229, 518-523.
- US.EPA (2000) Chemical Advisory and Notice of Potential Risk: Skin exposure to molten

2,4-dichlorophenol can cause rapid death. February 15.

US.NTP (1989) Toxicology and carcinogenesis studies of 2,4-dichlorophenol in F344/N rats and BC3F1 mice. (Feed Studies). Technical Report Series 353.

US.NTP (2000) U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Toxicology Program, 9th Report on Carcinogens.

CERI (化学物質評価研究機構) (2001a) 平成 12 年度経済産業省環境対応技術開発等委託調査研究、環境ホルモン効果に関する評価・試験法開発報告書。

CERI (化学物質評価研究機構) (2001b) 平成 11 年度新エネルギー・産業技術総合開発機構委託業務化学物質の内分泌攪乱効果に関する評価及び試験法の開発報告書。

CERI (化学物質評価研究機構) (2003) 平成 14 年度経済産業省環境対応技術開発等委託調査研究、環境ホルモン効果に関する評価・試験法開発報告書。

経済産業省 (2003) 「二世世代繁殖毒性試験報告書」。

小林主一、樋田晋、川村弘徳、長田漢珣、福田武史、川口和美 (1972) 2, 4-Dichlorophenol のマウスによる慢性毒性. 東邦医会誌, 19, 356-362.

通商産業公報 (1982).

経済産業省 (2003) 平成 13 年度既存化学物質の製造・輸入量に関する実態調査.

日本産業衛生学会 (2001) 許容濃度等の勧告, 産業衛生学雑誌, 43, 95-119.

付表-1 レセプター結合に関する *in vitro* 試験結果

項目	試験方法及び条件	結果	結論	文献
ER に対する結合試験	方法： $^3\text{H}$ -E2をリガンドとした競合結合試験 受容体：ウシ子宮ホモジネートER	IC50値： $>5 \times 10^{-5}\text{M}$ (E2： $6.89 \times 10^{-9}\text{M}$ )	結合性を示さない	Kramer et al., 1999
	方法：ヒト ERに対する結合試験(組換えER リガンドドメイン)	IC50値： $>10^{-4}\text{M}$ (E2： $1.2 \times 10^{-9}\text{M}$ )	結合性を示さない	CERI, 2001a
酵母ツーハイブリッドアッセイ	細胞：Gal4 DNA結合ドメイン/ラットERリガンド結合ドメイン遺伝子、Gal4活性化ドメイン/コアクチベータTIF2遺伝子及び $\beta$ -ガラクトシターゼレポーター遺伝子を導入した酵母	REC10： $4 \times 10^{-5}\text{M}$ (E2： $3 \times 10^{-10}\text{M}$ )	ERを介する転写活性化を示す (E2の1/130,000)	Nishihara et al., 2000
組換え酵母を用いたレポーター遺伝子アッセイ	細胞：ヒトプロゲステロン受容体遺伝子と $\beta$ -ガラクトシターゼレポーター遺伝子を導入した酵母 暴露濃度： $1.0 \times 10^{-6}\text{M}$ (2,4-DCP)、 $1.0 \times 10^{-8}\text{M}$ (プロゲステロン) $1.0 \times 10^{-6}\text{M}$ (2,4-DCP) + $1.0 \times 10^{-8}\text{M}$ (プロゲステロン) 暴露期間：12時間	$10^{-6}\text{M}$ 2,4-DCPの暴露では有意な活性は検出されなかった。また、 $1.0 \times 10^{-8}\text{M}$ プロゲステロンと $10^{-6}\text{M}$ 2,4-DCPの同時暴露では、プロゲステロンの活性には影響しなかった。	プロゲステロン受容体を介する転写活性化を示さない	Tran et al., 1996
組換え培養細胞を用いたレポーター遺伝子アッセイ	細胞：ヒトER発現遺伝子及びER応答配列を導入したHeLa細胞 暴露濃度： $10^{-11} - 10^{-5}\text{M}$	$10^{-11} - 10^{-5}\text{M}$ の範囲でアゴニスト活性は陰性 (E2：PC50： $<10^{-11}\text{M}$ )	ERを介する転写活性化を示さない	CERI, 2001a
ヒト乳ガン細胞増殖アッセイ	細胞：ヒト乳ガン細胞 (MCF-7) 暴露濃度： $10^{-9} - 10^{-4}\text{M}$ (2,4-DCP) $10^{-14} - 10^{-11}\text{M}$ (E2) 暴露期間：6日間	$10^{-9} - 10^{-4}\text{M}$ の範囲で暴露量に依存して弱い細胞増殖活性を検出 ( $10^{-14}\text{M}$ から $10^{-11}\text{M}$ の範囲でE2の暴露に依存して活性を検出)	細胞増殖活性を示す	Jones et al., 1998
AR に対する結合試験	方法：ヒト ARに対する結合試験(組換えヒトARリガンドドメイン)	RBA：-	AR結合性を示さない	CERI, 2003
組換え培養細胞を用いたレポーター遺伝子アッセイ	一過性発現系(アゴニスト活性) 細胞：ヒトAR発現遺伝子及びAR応答配列を導入したCV-1細胞 暴露濃度： $10^{-11} - 10^{-5}\text{M}$	$10^{-11} - 10^{-5}\text{M}$ の範囲で陰性	ARを介する転写活性化を示さない	CERI, 2003
	安定形質転換株(アゴニスト活性、アンタゴニスト活性) 細胞：ヒトAR発現遺伝子及びAR応答配列を導入したCHO-K1細胞 暴露濃度： $10^{-11} - 10^{-6}\text{M}$ (2,4-DCP) $5 \times 10^{-10}\text{M}$ (DHT)	アゴニスト作用： $10^{-11} - 10^{-6}\text{M}$ の範囲で陰性  アンタゴニスト作用： $10^{-11} - 10^{-6}\text{M}$ の範囲で $5 \times 10^{-10}\text{M}$ のDHTのアゴニスト作用を抑制しない	ARを介する転写活性化を示さない	CERI, 2003

ER: エストロゲン受容体; E2: 17 $\beta$ -エストラジオール; REC10:  $10^{-7}\text{M}$  E2による活性値の10%に相当する濃度; PC50: E2による最大活性値の50%に相当する濃度; IC50: E2による50%阻害に相当する濃度; AR: アンドロゲン受容体; DHT: ジヒドロテストステロン

付表-2 ほ乳動物の内分泌系及び生殖系に関する試験結果

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結果	文献
ラット (Wistar Hannover、雌) 6匹/群 卵巣摘出 ラット、6週齢で卵巣摘出 8週齢	強制経口 (子宮増殖アッセイ)	3日間投与、24時間後に子宮を摘出し重量を測定	0、100、200、400 mg/kg/day	子宮重量に影響なし	CERI, 2001b
			0、100、200、400 mg/kg + 17-エチニルエストラジオール 0.5 µg/kg/day皮下投与	子宮重量に影響なし	
ラット (Wistar Hannover、雄) 6週齢で去勢 8週齢	強制経口 (ハーシュバーガーアッセイ)	10日間最終投与終了約24時間後に解剖	0、50、100、200 mg/kg/day	副生殖器官の重量に影響なし	CERI, 2001b
			0、50、100、200 mg/kg/day + プロピオン酸テストステロン(TP) 0.4 mg/kg/day皮下投与	副生殖器官の重量に影響なし	
マウス (C57BL/6) 母動物：6匹/群	皮下 (DMSO)	妊娠 6-14 日 (妊娠 18 日に帝王切開)	0、74 mg/kg/day	母動物：影響なし	NTIS, 1968a
マウス (AKR) 母動物：6匹/群		妊娠 6-15 日 (妊娠 19 日に帝王切開)		胎仔：死亡率の増加	
				母動物：肝臓相対重量の減少	
				胎仔：体重の減少、四肢の過伸展(4/40例)、嚢胞腎(1/40例)、短肢(2/40例)、指頭形成障害(1/40例)	
ラット (F344) 母動物：34匹/群	強制経口 (コーン油)	妊娠 6-15 日 (妊娠 20 日に帝王切開)	0、200、375、750 mg/kg/day	母動物:200 mg/kg/day 以上の群で体重増加抑制、泌尿生殖器周囲の被毛の黄色着色 375 mg/kg/day 以上の群で眼、鼻、口周囲の血様物質付着、腹部脱毛、ラッセル音 750 mg/kg/day 群 死亡(4/34例) 胎仔:750 mg/kg/day 群 胎仔体重低値、胸骨分節、椎弓骨化遅延	Rodwell et al., 1989.
ラット (SD) 母動物：10匹/群	飲水	母動物：3週齢-出産	0、3、30、300 ppm (0、0.5、5、50 mg/kg/day 相当) (13週齢で無処理の雄と交配)	母動物：300 ppm 新生仔数の減少 仔(6週齢)：30 ppm 離乳期までの生存率の低下 300ppm 脾臓、肝臓重量の増加	Exon, et al., 1984, Exon & Koller, 1985

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結果	文献
ラット (Wistar Hannover、雌雄) (F0: 雌雄とも5週齢、F1: 雌雄とも3週齢) 24匹/性/群	混餌	2 世代生殖毒性試験  F <sub>0</sub> 雌雄は交配前10週間、交配期間(交配は最大2週間)、F <sub>0</sub> 雌は妊娠、出産、哺乳期を通じて投与、F <sub>1</sub> の離乳後剖検、F <sub>0</sub> 雄はF <sub>1</sub> の出産後剖検、F <sub>1</sub> はF <sub>0</sub> 世代と同様の暴露であるが、それに加えて母動物の経胎盤、経乳汁からの間接暴露の可能性はある	0、500、2,000、8,000 ppm (雄: 0、33.4、134、543 mg/kg/day 相当、雌: 0、49.1、194、768 mg/kg/day 相当)	親動物 F <sub>0</sub> 雄: 8,000 ppmで下腹部被毛汚染、腎臓相対重量の有意な高値、腎盂拡張の出現率の有意な高値 F <sub>0</sub> 雌: 2,000 ppm以上で摂餌量及び体重増加量の有意な低下 8,000 ppmで下腹部被毛汚染  F <sub>1</sub> 雄: 8,000 ppmで摂餌量及び体重増加量の有意な低下、下腹部被毛汚染、腎臓相対重量の有意な増加 F <sub>1</sub> 雌: 2,000 ppmで膈開口日齢、着床数及び出産仔数の僅かな低下(有意差なし) 2,000 ppm以上で体重増加量の有意な低値 8,000 ppmで摂餌量の有意な低下、下腹部被毛汚染、性成熟の僅かな早期化、着床数の有意な低下及び出産仔数の僅かな低下  仔動物 F <sub>1</sub> 雄: 8,000 ppmで体重の有意な低値、眼瞼開裂の有意な遅延 F <sub>1</sub> 雌: 2,000 ppmで子宮絶対重量の僅かな増加 8,000 ppmで体重の有意な低値、眼瞼開裂の有意な遅延、子宮絶対重量の有意な増加 F <sub>2</sub> 雄: 8,000 ppmで体重の有意な低値、眼瞼開裂の有意な遅延 F <sub>2</sub> 雌: 8,000 ppm で体重の有意な低値、眼瞼開裂の有意な遅延、子宮絶対重量の有意な増加  親動物の全身影響での NOAEL は 500 ppm (雄: 33.4 mg/kg/day、雌: 49.1 mg/kg/day) 親動物の生殖能に関する NOAEL は 2,000 ppm (雄: 134 mg/kg/day、雌: 194 mg/kg/day) 仔動物毒性の NOAEL は 2,000 ppm (雄: 134 mg/kg/day、雌: 194 mg/kg/day)	経済産業省, 2003

付表-3 ほ乳動物の *in vitro* 受精試験結果

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結果	文献
マウス (雄:CD-1 雌: CB <sub>6</sub> F <sub>1</sub> )	飲水	90 日間	雄: 0、50、150、 500 mg/kg/day	精子の運動性及び体外受精 法での卵子への侵入率に影響なし	Seyler et al., 1984
	培地添加	-	0.1、0.3、1.0 mM (0.4 mL,培地に添加)	精子の運動性及び体外受精 法での卵子への侵入率に影響なし	

付表-4 反復投与毒性試験結果

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結果	文献
マウス (B6C3F <sub>1</sub> 、 雌雄) 10 匹/群	混餌	13 週間	0、2,500、5,000、10,000、20,000、 40,000 ppm	2,500 ppm 以上 雄に肝臓の 壊死 10,000 ppm 以上 粗毛、雄の 全例に多核肝細胞発現 20,000 ppm 体重増加の抑制 20,000 ppm 以上 摂餌量の 減少 40,000 ppm 全例死亡、尿細 管上皮の壊死(雄：8/9 例、雌： 3/10 例) NOEL 雌：10,000 ppm(1,500 mg/kg/day 相当)	US.NTP, 1989
マウス (ddN、雄) 7 匹/群	混餌	6 ヶ月間	0.02、0.05、0.1、0.2% (上 3 群 45、100、230 mg/kg/day 相当)	0.2% 相対肝臓重量の減少、 副腎の皮質ひ薄化(2 例)、肝 細胞腫脹(1 例)、肝臓内での 間質小円形細胞浸潤(2 例) NOEL=100 mg/kg/day	小林ら, 1972
マウス (B6C3F <sub>1</sub> 、 雌雄) 50 匹/群	混餌	2 年間	0、5,000、10,000 ppm (雄：800、1300 mg/kg/day 相当、 雌：430、820 mg/kg/day 相当)	10,000 ppm 体重増加の抑 制、摂餌量の減少 雄に投与量に伴う多核肝細 胞発現(対照群：11/50、投与 群：33/49、42/48)	US.NTP, 1989
ラット (F344、 雌雄) 5 匹/群	混餌	4 週間	0、200、1,000、5,000、20,000 ppm (0、20、101、493、1,782 mg/kg/day 相当)	20,000 ppm 体重増加の抑 制、-GTP 活性の亢進、血 液凝固時間の延長	German Chemical Society, 1996
ラット (F344、 雌雄) 10 匹/群	混餌	13 週間	0、2,500、5,000、10,000、20,000、 40,000 ppm	10,000 ppm 以上 雌で骨髄 萎縮、赤血球と骨髄球減少 20,000 ppm 以上 体重増加 抑制、雄で骨髄萎縮、赤血球 と骨髄球の減少 40,000 ppm 粗毛、円背姿勢、 雄で摂餌量の減少 NOEL 雄：10,000 ppm 雌：5,000 ppm	US.NTP, 1989
ラット (F344、 雌雄) 50 匹/群	混餌	2 年間	雄：0、5,000、10,000 ppm (0、210、440 mg/kg/day 相当) 雌：0、2,500、5000 ppm (0、120、250 mg/kg/day 相当)	5,000 ppm 以上 雄で呼吸上 皮のびまん性の変性の増加 (対照群：25/45 投与群：38/48、 42/46) 10,000 ppm 体重増加の抑制	
ラット (SD) 母動物： 10 匹/群	飲水	母 動 物：3 週 齢 - 授乳期 仔：3 週 齢 -(15-18 週 齢) まで	0、3、30、300 ppm (0、0.5、5、50 mg/kg/day 相当) (13 週 齢 で無処置の雄と交配)	仔：300 ppm 脾臓、肝臓重 量の増加、赤血球数、ヘモグ ロビン量の増加 NOEL=3 ppm (0.5 mg/kg/day 相当) NOAEL=30 ppm (5mg/kg/day 相当)	Exon & Koller, 1985

付表-5 発がん性試験の結果

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結果	文献
マウス (B6C3F1、雌雄) 50匹/群	混餌	2年間	0、5,000、10,000 ppm (雄:0、800、1300 mg/kg/day 相当、 雌:0、430、820 mg/kg/day 相当)	5,000 ppm 以上 雄で多核肝細胞発現 (対照群:11/50、5,000 ppm:33/49、10,000 ppm:42/48例) 10,000 ppm 雌で体重増加の抑制  発がん性の証拠なし	US.NTP, 1989
ラット (F344、雌雄) 50匹/群	混餌	2年間	雄:0、5,000、10,000 ppm (0、210、440 mg/kg 相当) 雌:0、2,500、5000 ppm (0、120、250 mg/kg 相当)	雌雄の高投与量で体重 増加の抑制 単核細胞白血病発現の 低下(対照群:62%、投 与群投与群:34%、背景 データ:36.3%) 発がん性の証拠なし	US.NTP, 1989

付表-6 プロモーター試験の結果

動物種	イニシエーター投与方法	投与方法	投与期間	試験方法	腫瘍発現	結果	文献
マウス (Sutter, 雌、8-12週齢)	0.3% DMBA* 25µL (75µg)を1週間経皮投与	経皮(背部皮膚)	15週	週2回、20% (25µL; 5 mg/animal 相当)	背部皮膚の乳頭腫 DMBA/Vehicle 群: 1/14 (7%)、 DMBA/2,4-DCP 群: 13/27 (48%)	プロモーション作用有り	Boutwell & Bosch, 1959
			24週		背部皮膚の乳頭腫 DMBA/Vehicle 群: 3/27 (11%)、 DMBA/2,4-DCP 群: 12/16 (75%)	プロモーション作用有り	
ラット (SD) 母動物:12-22匹/群 仔:48-60匹/群	妊娠 14-21日目に EU: 0.150% NO <sub>2</sub> : 1 ppm を飲水投与	飲水	母動物: 3週齢-出産	0、3、30、300 ppm (13週齢で無処理の雄と交配)	腫瘍発生率及び潜伏期間に影響なし	プロモーション作用なし	Exon & Koller, 1985
			仔: 3週齢から2年間		腫瘍発生率及び潜伏期間に影響なし	プロモーション作用なし	
			母動物: 3週齢-離乳仔: 3週齢から2年間		腫瘍発生率及び潜伏期間に影響なし	プロモーション作用なし	

\*: DMBA = 9,10-Dimethyl-1,2-benzanthracene

付表-7 免疫系への試験結果

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結果	文献
ラット (SD) 母動物： 10匹/群	飲水	母：3週齢- 出産(13週 齢で無処置 の雄と交 配) 仔：6週齢 まで観察 仔：3週齢 -(15から13 週齢)	0、3、30、300ppm (0、0.5、5、50mg/kg/day 相当)	仔： 300 ppm で脾臓重量の増加 免疫機能の有意差なし	Exon et al., 1984, Exon & Koller, 1985
				仔： 30 ppm 以上 DTH(遅延型 過敏反応) 応答の抑制、細 胞性免疫の抑制 300 ppm 脾臓、肝臓重量 の増加、抗 KLH 抗体レベ ルの亢進	
ラット (F344、 雌雄) 5匹/群	混餌	4週間	0、200、1,000、5,000、20,000 ppm (0、20、101、493、1,782 mg/kg/day 相当)	20,000 ppm IgG と IgM の 減少	German Chemical Society, 1996