

2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 (2,4-D)



[CAS No. 94-75-7]

許容濃度 2 mg/m³ (皮)

生殖毒性分類 第2群

別名 2,4-D, ヘドナール, ウィード-B-ゴーン

1. 物理化学的性質

純粋な2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 (以下, 2,4-D) は不燃性で, 白色の結晶または粉末である。分子量221.04, 比重1.416 (25°C), 融点138-141°C, 沸点160°C (53.3 Pa), 蒸気圧 1.87×10^{-5} Pa (25°C), ほとんど水に溶けないが (677 mg/l (25°C)), アルコールには可溶で, ベンゼンや DMSO にやや溶ける。解離定数 pK_a 2.73, オクタノール/水分分配係数 $\text{Log}K_{ow} = 2.81$, 換算係数 $1 \text{ mg/m}^3 = 0.11 \text{ ppm}$; $1 \text{ ppm} = 9.04 \text{ mg/m}^3$ (25°C, 1気圧)。強い酸化剤との接触は火災や爆発の原因となり, 火気中で有毒なガスおよび蒸気 (塩化水素など) を放出する¹⁻⁴⁾。

また2,4-D は製造過程で塩素化ダイオキシン類およびフラン類で汚染されることがある。なお1987年に検査された8種類の2,4-D生成物のうち2つは, 定量下限 (0.1ppb) 以上の2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ-p-ダイオキシン (TCDD) を含み, 3つは定量下限 (0.5 ppb) 以上の1,2,3,7,8-ペンタクロロジベンゾ-p-ダイオキシン (PCDD) を含んでいた。しかし1987年以降, 2,4-Dの製造過程が変更され, その後の検査では検知可能な濃度のTCDD および/またはPCDDは検出されなかった¹⁾。つまり1987年以降の製造過程変更により汚染レベルは大幅に減少したが, 2,4-D製剤にダイオキシン汚染が全くないとは言いきれない¹⁾。

2,4-Dはクロロフェノキシファミリーに属しており, 除草剤, 殺菌剤および植物成長調節剤として分類される。

2,4-Dは主に選択的な発芽後除草剤として, 果物・野菜作物を含む, 様々な食物の生産の場や牧草地等の飼料用地における広葉雑草種を防ぐために使用される。酸性型に加えて, 乳剤, 顆粒状の可溶性濃縮物/固体, 水分散性の顆粒, および水和剤を含む様々な製剤タイプがあるため, 異なる溶解度の2,4-D塩やエステルが数多く存在する。また他の除草剤や農薬製剤と混合, 併用することもある¹⁾。

2. 吸収, 代謝, 分布, 蓄積, 排泄, 吸収の主な経路

吸入によってどの程度吸収されるかのデータはない。

2,4-Dを静脈内曝露すると, 吸収されたうちの100%近くが親化合物のまま, 半減期13時間で5日間にわたって尿中に排泄される⁵⁾。

5 mg/kgの経口投与後, 基本的に全ての2,4-Dが消化管

から吸収された。吸収された2,4-Dの血漿中の半減期は11.6時間, 尿における半減期は17.7時間であり, 尿中では2,4-Dのまま (82.3%) と2,4-D結合体 (12.8%) として排泄された。Sauerhoff et al.の研究においては, 反復経口投与後, 体内に蓄積する可能性はほとんどなく, 約3日間で定常状態濃度に達すると推定されている⁶⁾。同じ用量と経路を用いた同様の研究において, より長い血漿半減期 (33時間) も測定された⁷⁾。また, ヒト血漿半減期および腎クリアランスはラットおよびマウスのそれと類似しているが, イヌのものとは異なることが示されている⁸⁾。

ヒトの手背に10 mg (0.1-0.13 mg/kg) 塗布すると, 2,4-Dは半減期 39.5 ± 8.1 時間で6日間にわたって尿中に排泄された⁹⁾。被験者の手または前腕に塗布された2,4-Dあるいは2,4-Dジメチルアミン塩の経皮吸収に関する5つの研究を再検討したところ, 平均吸収は塗布量の5.7% ($\pm 3.4\%$) と算出された。これら5つの研究は1974年から1998年にかけて発表されたもので, この吸収量はラットやウサギなど他の動物種で測定されたものの約1/2~1/4以下である。ヒトの手や前腕における平均吸収量をある労働者曝露モニタリングデータに適用すると, 3つの独立したバイオモニタリング研究と一致する結果が得られ, 更に実験室で収集されたヒト経皮吸収データの有効性も裏付けられた¹⁰⁾。

また除草剤散布者の職業曝露研究では, 多数の異なる作業方法や散布機器での曝露量を評価している。これらの研究によると, 曝露の主なルートは経皮吸収であると示されている^{11,12)}。1回の除草剤散布において, 2,4-Dジメチルアミン塩の曝露分布 (exposure distribution) は呼吸域で1%未満, 手の皮膚で80~90%, 体の残りの部分で10~20%だった。なおこの曝露分布は, 長袖の防護服と帽子を着用した除草剤散布者を対象とした調査による¹¹⁾。

3. ヒトに対する影響

3.1 急性毒性

平均経口致死量は300 mg/kgを超えるが, それよりも少ない用量で死に至る事もある¹³⁾。胃腸, 心血管, 末梢および中枢神経毒性, ならびに筋障害の前兆や症状を含む, 広範囲の臨床的特徴が観察されている。

大量の経皮曝露は潜伏期後に胃腸の炎症を引き起こし, 続いて感覚-運動末梢神経の混合障害を引き起こすことが報告されている。胃腸および末梢神経筋の症状は, 経皮曝露の有無にかかわらず, 職業吸入曝露後にも発生している。しかし少なくともここ20年間で, クロロフェノキシ除草剤の皮膚または吸入曝露による急性毒性や死亡は報告されていない^{14,15)}。ただしBradberry et al.は, 2,4-Dを含む除草剤が過失によって目に飛び散り3週間ほど症状が出た事例を報告したが, この虹彩炎が2,4-D

に起因するか、除草剤の他の含有物に起因するかは不明とした¹⁵⁾。観察された影響が他の特定されていない同時曝露の薬剤によるものではなく、2,4-D に曝露された結果とは考えにくいと結論を下した。

1956年の報告において、2,4-D の野外散布時に報告された症状は、咽頭や胸部における灼熱感、衰弱、食欲および体重の減少、加えて軽度のアルブミン尿症がある¹⁶⁾。

3.2 慢性毒性／発がん性

Coggon et al. はフェノキシ除草剤と関連するクロロフェノールとダイオキシンの発がん性を調べるため、化学製造業で1963年から1985年にかけて曝露した英国人グループ (2,239名) を、フォローアップ研究を含めて1987年まで調査した。その結果、非ホジキンリンパ腫の増加が観察されたが、軟部肉腫は増加しなかった¹⁷⁾。一方、フェノキシ除草剤製造業で1947年から1993年にかけて曝露したデンマーク人グループ (2,119名) では、軟部肉腫は増加したが、非ホジキンリンパ腫は増加しなかった¹⁸⁾。

また2,4-D の製造施設で1947年から1994年にかけて曝露された米国人グループ (1,567名) は、職種、場所、曝露期間、作業記録から曝露を評価された。非ホジキンリンパ腫や軟部肉腫において、健康な米国人男性と比較して死亡率の増加はなく、2,4-D 曝露と悪性腫瘍による死亡率との関連は証明できなかった¹⁹⁾。

1980年に国際がん研究機関 (IARC) は、フェノキシ除草剤を製造・使用する12ヶ国の人々を対象とした国際コホート研究を行った。IARC コホートに登録された26,976名は、フェノキシ除草剤やクロロフェノールを製造または散布する企業に雇用されていた。塩素化ダイオキシン類による曝露がなければ、フェノキシ除草剤の製造・使用従事者に、全ての新生物、非ホジキンリンパ腫、肺癌による死亡リスクは増加しなかった。唯一上昇したのが軟部肉腫による死亡リスクであったが、SMR1.35 (95% CI: 0.16-4.88) と有意ではなかった²⁰⁾。

なおこれらの研究は、曝露濃度に関する情報がなく、また1987年以降の製造過程変更前の2,4-D も含まれている。

3.3 生殖毒性

生殖ホルモンの変化は、1年間に5日以上2,4-D 製剤に曝露した男性除草剤散布者24名で検討された。1回目の採血採尿は散布ピークの終わりの早朝になされ、2回目の採血は次の散布シーズンが始まる6週間前にまでに実施した。血清中黄体形成ホルモンレベル (LH) は、散布期間中に増加し、散布期間が終わるとコントロールレベルに戻った。散布期間中のLHは尿中の2,4-D濃度と相関していた。一方、卵胞刺激ホルモン・遊離テストステロン・総テストステロンは尿中の2,4-D濃度と相関していなかったが、散布期間後の総テストステロン濃度は尿中の2,4-D濃度と相関していた²¹⁾。

4. 動物に対する影響

4.1 急性毒性

2,4-D (およびその種々のアミン塩およびエステル) は、比較的弱い急性毒性を示す。4時間曝露後のラットの吸入LC₅₀は、試験した最高濃度である1.79 mg/lで死亡が発生しなかったため、決定できなかった¹⁾。ラットにおいて体重1 kg 当たり320~726 mgの2,4-Dの経口LD₅₀値が報告され、雄の方でわずかに感受性が高い²²⁻²⁴⁾。他の経口LD₅₀値も報告され、イヌは100 mg/kg、マウスは318~347 mg/kg、ウサギは800 mg/kg だった^{23,25)}。

経皮LD₅₀値はラットで1,500 mg/kg²³⁾と報告され、ウサギの場合は1,400 mg/kg²³⁾そして2,000 mg/kgを超える値が報告されている²²⁾。アミン塩は激しい眼の刺激物となるが、エステル化合物は刺激物ではない。2,4-Dおよびその化合物は皮膚刺激物ではなく、皮膚感作物質でもない¹⁾。2日間または4週間以上マウスの耳に2,4-Dを皮膚塗布しても、遅延型過敏症は観察されなかった²⁶⁾。

ラットを用いた急性神経毒性試験 (0, 15, 75, 250 mg/kgの用量を強制投与) が実施された。NOAELは15 mg/kgとされたが、著者らは75 mg/kgで見られた影響 (1匹の雌における歩行のわずかな変化) は不確かであることを記述している。250 mg/kgでは協調運動失調、歩行異常および自発運動量の減少があった²⁴⁾。

4.2 亜急性毒性

生殖毒性試験の目的で行われた研究において、90 mg/kgの2,4-Dで13日間処置した20匹の妊娠ウサギのうち2匹は、運動失調、運動活性低下、筋強直、衰弱、横臥、立ち直り反射の障害/喪失、触ると皮膚が冷たい等の神経毒性の臨床徴候を示した²⁷⁾。

4.3 亜慢性毒性

2,4-Dにおける反復投与吸入曝露データは入手可能なデータはない¹⁾。経口毒性に関してはGorzinski et al. がFischer 344 (F344) ラットを用いた、いずれもTCDDは検出限界1ppb以下の精製品 (純度100%) または工業グレード (純度97.3%) の2,4-Dの13週間混餌試験 (0, 15, 60, 100, 150 mg/kg 体重/日になるように飼料中に添加) が実施した。LOAELは、腎臓への影響 (雄の相対的な腎臓重量の増加、雌の尿細管のわずかな変化) から15 mg/kg/dayであった。投与量の増加に伴い、影響は増強した。腎臓の組織学的検査では、近位尿細管に退行性変化が示された。より高い用量レベルでは、肝細胞の腫脹が生じ、体重増加が減少し、そして雌はチロキシンレベルを減少させた。また神経毒性の兆候は認められず、中枢神経系および末梢神経系に組織学的変化がみられなかった²²⁾ 1987年出版。

続いてF344ラットを用いた、0, 1, 15, 100, 300 mg/kg 体重/日の投与量になるように飼料中の工業グレード (純度96.4%) の2,4-Dの濃度を調整した13週間

の混餌試験が行われた²⁸⁾。NOAELは15 mg/kgであり、先行研究²²⁾でこの用量で見られた腎臓の影響は再現しなかった。100 mg/kg以上で観察された影響は、雌では300 mg/kgで白内障が見られたことを除いて、Gorzinski et al.の肝細胞の腫脹、体重増加の減少等の結果と一致した²⁸⁾1996年出版。

National Toxicology Program (NTP) が実施した雄のラット、マウスおよびハムスターを用いた3ヶ月間投与試験²⁹⁾ 2001年出版においては、ラットについては2,500 ppmまで、マウスでは1,680 ppmまで、ハムスターでは5,000 ppmまでの濃度の2,4-D (純度記載なし) を添加した飼料が与えられた。用量依存性病変は、ラットの83 ppm以上およびマウスの1,680 ppmの群において尿細管の過形成が認められたが、ハムスターでは認められなかった。この病変は、先行研究^{22, 28)}で観察された影響と形態学的に類似していた。この病変のラットにおけるNOAELの17 ppmを体重/日で換算すると1 mg/kg体重/日であった。

Charles et al. はビーグル犬を用いて0, 0.5, 1, 3.75, 7.5 mg/kg 体重/日の投与量になるように工業グレード2,4-D (純度96.7%) が添加された飼料の13週間投与試験を行った。体重増加の減少および精巣重量の減少傾向があった。NOAELは1 mg/kg 体重/日であった。いくつかの臨床生化学検査所見においてわずかな変化があったが、これらはいずれの組織学的病変にも相関しなかった³⁰⁾1996年出版。

4.4 慢性毒性/発がん性

慢性毒性については以下の研究があり、F344ラットは、0, 1, 5, 15, 45 mg/kg 体重/日の投与量になるように2,4-D (純度記載なし) が添加された飼料を104週間投与された。NOAELは、5 mg/kg 体重/日の雌および15 mg/kg 体重/日の雄での腎臓の絶対および相対重量の増加に基づいて1 mg/kg 体重/日とされた。甲状腺/副甲状腺重量は、15 mg/kg 体重/日では顕著に増加したが45 mg/kg 体重/日では有意に増加せず、また血清T4レベルは、45 mg/kg 体重/日 (雌のみ) を除いて低下せず、甲状腺には2,4-D投与に関連する組織病理学的所見はなかった。45 mg/kg 体重/日で腎臓には組織学的に尿細管色素沈着、乳頭部石灰沈着、移行上皮過形成等がみられた。雄は45 mg/kg 体重/日で対照群に比べ星状膠細胞腫の統計的に有意な増加を示した³¹⁾ 1992年出版、試験完了は1986年。

引き続き行われた研究³²⁾において、F344ラットは0, 5, 75, 150 mg/kg 体重/日の投与量になるように2,4-D (純度96.4%) が添加された飼料を104週間摂取した。先行研究^{31, 32)}で雌の5 mg/kgで認められた腎臓への影響は再現されなかった。NOAELは、以前の研究で報告されたこの研究では75 mg/kgで観察された甲状腺および腎臓

所見に基づいて5 mg/kgとされた。この研究では、以前の亜慢性試験²⁸⁾でより高用量(300 mg/kg/日)で認められた眼の影響が150 mg/kg/日の用量で見られた。体重増加抑制に基づいて、雄ラットの最大耐用量(MTD)は150 mg/kg、雌は75 mg/kgであると判断されるが、高用量動物において生存率への影響は認められず、また発癌性も示されなかった。星状膠細胞腫の増加³¹⁾も見られなかった。

B6C3F1マウスは0, 1, 15, 45 mg/kg 体重/日の投与量になるように2,4-D (純度記載なし) が添加された飼料を104週間摂取した。発がん性は示されず、NOAELは15 mg/kgでの雄マウスの腎臓近位尿細管への影響(近位尿細管細胞の空胞化)に基づいて1 mg/kgであった³¹⁾。引き続き行われた研究³²⁾において、雄のB6C3F1マウスは0, 5, 62.5, 125 mg/kg 体重/日、雌は0, 5, 150, 300 mg/kg 体重/日の投与量になるように工業グレード2,4-D (純度96.4%) が添加された飼料を104週間摂取した。NOAELは、雄の62.5 mg/kg 体重/日での腎臓近位尿細管への影響(近位尿細管細胞の空胞化)に基づいて5 mg/kgであった。MTDは、雄は125 mg/kg 体重/日、雌は300 mg/kg 体重/日であると判断されるが、生存率は影響を受けず、また発がん性は認められなかった。雌雄とも最高用量レベルでは、腎臓重量が増加した。

ビーグル犬を用いて、0, 1, 5, 10 mg/kg 体重/日の投与量になるよう工業グレード2,4-D (純度96.7%) が添加された飼料の1年間投与試験が実施された。高用量群は体重減少が認められたため第8週に投与量を7.5 mg/kg/日に下げた。NOAELは5 mg/kg/日で観察された体重増加の減少傾向により1 mg/kg 体重/日とされた³⁰⁾ 1996年出版。

4.5 遺伝毒性

様々な遺伝毒性試験で観察される結果は矛盾しており、試験方法の差や試験物質の組成が原因となっている可能性がある^{33, 34)}。

2,4-Dは代謝活性化の有無に関わらずネズミチフス菌を用いたエームズアッセイで陰性であり³⁵⁾、またチャイニーズハムスター卵巣細胞株(CHO/HGPRT 特定遺伝子座)を用いた*in vitro* 前進突然変異アッセイにおいても代謝活性化の有無に関わらず陰性であった³⁶⁾。

2,4-Dによる染色体異常について陰性を示した*in vitro* 試験は、代謝活性化の有無に関わらずラットリンパ球³⁶⁾、およびヒトリンパ球に関するいくつかの研究を含んでいる^{21, 34)}。陰性を示した*in vivo* 試験には、マウス優性致死試験³⁷⁾やマウス細胞遺伝学試験³⁸⁾が含まれる。染色体異常について陽性の*in vitro* 試験には、植物を用いた細胞遺伝学的試験³⁹⁾やヒトリンパ球に関するいくつかの研究が含まれる³³⁾。陽性の*in vivo* 試験には、マウス細胞遺伝学的試験⁴⁰⁾、および曝露後数ヶ月のコントロールレベルに

低下した除草剤散布者における第7染色体再編成の頻度増加が含まれる²¹⁾.

キイロシヨウジョウバエに幼虫期間からそれ以降ずっと2,4-Dを投与した染色体不分離試験では、染色体数的異常は観察されなかった⁴¹⁾.

姉妹染色分体交換頻度は、マウスの骨髄および精原細胞において純粋な2,4-D曝露で増加したが²⁵⁾、ニワトリ胚において、純粋な2,4-Dでは増加せず、市販製剤の曝露で増加した⁴²⁾。有糸分裂遺伝子組換え頻度は、キイロシヨウジョウバエの翅毛スポットテストでは増加したが、他の試験では増加しなかった⁴³⁾。2,4-Dは培養ヒト細胞(SV-40 transformed human fibroblast cell line VA-4)において予定外のDNA合成を誘発すると報告されたが⁴⁴⁾、ラット肝細胞では*in vitro*でも*in vivo*でも誘導されなかった³⁵⁾。

ヒト肝癌細胞(HepG2 cells obtained from American Type Culture Collection)では、用量依存性の細胞周期反応速度の変化があり、最高用量(16 mM)では細胞毒性を有していた⁴⁵⁾。2,4-Dは、ニワトリ胚で細胞周期反応速度における用量依存的な遅れおよび有糸分裂指数に対する顕著な阻害効果を誘導したが⁴²⁾、マウス骨髄では誘導されなかった²⁵⁾。ヒトリンパ球培養細胞では、市販の2,4-D製剤(純粋な2,4-Dではない)は、より低用量(0.005及び0.3 mM)でのみ複製指数がほんのわずかに有意に増加した。より高用量では、市販製剤と純粋な2,4-Dの両方が有糸分裂指数の減少を引き起こした³⁴⁾。市販の2,4-D製剤を3ヶ月間使用した農薬散布者のリンパ球は、複製指数で統計的に有意な増加を示したが、曝露前および曝露後の小核頻度は増加しなかった⁴⁶⁾。

4.6 生殖毒性

雌雄F344ラットに2,4-Dを0, 5, 20, 80 mg/kg/day(2,4-D相当量)の用量で混餌投与より二世代生殖毒性試験が実施された。投与は雌雄(F0)の交配前105日間からF1動物(F1a:離乳時解剖, F1b:離乳後飼育, 交配), F2動物(F2a:離乳時解剖, F2b:離乳後飼育)において、交配, 妊娠, 授乳の各期間を通して同じ用量で40週間継続された。80 mg/kg投与されたF1世代では、強い毒性により投与が中止された。その結果、親動物では80 mg/kgのF0雌雄に体重増加の抑制, F0雌に妊娠期間の延長がみられ, 20 mg/kg以上のF0雄およびF1雄に腎限局性髄質尿管変性が認められた。児動物では20 mg/kg以上のF1b哺育児に低体重がみられ, 80 mg/kgではF1a哺育児の低体重, F1b哺育児では生存率が低下し, 死産児数の減少, 生存児数の減少が認められた。しかしながら、全世代で生殖能に対する影響は雌雄ともにみられなかった⁴⁷⁾。

雌雄CrI:CD(SD)ラットに2,4-Dを0, 100, 300, 800(雄), 600(雌)ppm(雄0, 6, 17, 45 mg/kg/day, 雌0, 7, 21, 40 mg/kg/day相当量)の濃度で混

餌投与により拡張一世代生殖毒性試験が実施された。投与は雌雄の交配前4週間から交配期間(最長2週間)後, 雄は7週間, 雌は妊娠, 授乳期間(6週間)を通し, 離乳後の児動物は離乳後19週間まで継続した。離乳児は異なるエンドポイントコホート(全身毒性, 生殖毒性, 発生神経毒性(DNT), 発生免疫毒性(DIT)および内分泌毒性)に分けて評価された。その結果, 全身毒性として, 最高用量において体重減少が雌親と児動物にみられ, 軽度の腎臓毒性(近位尿管の変性)が雄親と児動物にみられた。腎臓毒性には世代間に若干の差異があり, 著者らは児動物における2,4-Dの摂取量の増加に起因するとしている。内分泌に関連した影響として, 軽度の甲状腺ホルモンの変化およびそれと一致する病理組織が最高用量の母動物のみに観察された。生殖毒性, 発生神経毒性, あるいは発生免疫毒性に有害な影響を示さなかった。NOAELは, 全身毒性に基づいて, 雄(17 mg/kg/day)および雌(21 mg/kg/day)であった⁴⁸⁾。

雌CDラットには0, 8, 25, 75 mg/kgの2,4-Dを妊娠6-15日に強制経口投与し, 雌NZWウサギには0, 10, 30, 90 mg/kgの2,4-Dを妊娠6-18日または7-19日に強制経口投与した。ラットおよびウサギともに2,4-D投与による母体毒性は認められなかった。また, 胚および胎児への影響はなく, 催奇形性作用も誘発されなかった。しかしながら, 本試験では2,4-Dの各種塩およびエステルの発生毒性試験が同様に実施され, 高用量で母体毒性および催奇形性作用が認められたことから, 生殖毒性のNOAELは30 mg/kg(2,4-D相当量)であった²⁷⁾。

雌CD-1マウスに市販の2,4-D製剤(2,4-Dアミン塩)を0, 0.02, 0.1, 1%(0, 8.5, 37, 370 mg/kg 2,4-D相当量)の濃度で妊娠6-16日に混水投与し, 自然分娩後, 児動物は生後7週まで免疫機能が評価された。母動物に2,4-D投与による影響は見られなかった。児動物では37 mg/kg以上で体重減少が雌雄ともに認められ, 腎重量の減少が雌でみられた。370 mg/kgでは各種の細胞性免疫機能の測定値の減少が認められたことから, 生殖毒性のNOAELは8.5 mg/kg(2,4-D相当量)であった⁴⁹⁾。

分娩したWistarラットに100 mg/kg/dayの2,4-Dを16日間(分娩後9-25日)および6日間(分娩後9-15日), 1日1回腹腔内投与した結果, 新生児の急激なミエリン形成期(分娩後15-25日)での母動物への2,4-Dの投与は, 母乳を通して曝露された2,4-Dにより新生児の脳のミエリン不足と発育過程の中樞神経系の脆弱性が示された⁵⁰⁾。

分娩したWistarラットに70 mg/kgまたは100 mg/kgの2,4-Dを分娩後7または12日-17または25日の間, 48時間ごとに皮内注射した結果, 母動物への高用量, 長期間投与は, 母乳を通してばく露された2,4-Dにより新生児の体重と脳重量および脳内蛋白とDNAレベルの低下

がみられ、中枢神経系の発達の遅延が示唆された。一方、ガングリオシド (GM₁, GD_{1a}, GD_{1b}, GT_{1b}) が低下したことから、脳は適応反応を示す生物学的指標になりうるとした⁵¹⁾。

雌 Wistar ラットに 2,4-D を 70 mg/kg/day の用量で混餌により妊娠16日～生後23日までの投与、または児動物に離乳後90日まで投与し、児動物への影響を神経毒性学的な試験で評価された。その結果、正向反射や背地走性に行動異常、常同行動 (過剰な毛づくろい、垂直性の頭振)、オープンフィールド内での多動を伴い、発育の遅延が誘発された。成熟した雌雄動物では移動行動および立ち上がり行動の減少、雄では過剰な毛づくろいが観察された。一方、これらの動物ではセロトニン症候群行動、カタレプシー、右側旋回優位が発現した。行動異常には可逆的、不可逆的なものがあり、投与後のみにみられたものもあった⁵²⁾。

5. 許容濃度の提案

ヒトの健康影響情報は不十分である。

2,4-D の主な標的臓器は腎臓である。2つのげっ歯類を用いた長期混餌試験により同定された慢性曝露による腎臓重量増加と腎近位尿細管細胞の変性に基つき NOAEL : 1 mg/kg が算出された^{31,32)}。一方、生殖、経皮、および神経毒性の影響を含むその他の転帰は、それほど鋭敏ではなかった。また、イヌの NOAEL も 1mg/kg/day³⁰⁾であった。

ラットにおいて、2,4-D は消化管から迅速かつ完全に吸収されるが、代謝はほとんどされず、腎臓において排泄される。この2,4-D の排泄機構は 50 mg/kg の用量で飽和し²²⁾、それ以下の連続的な曝露は、蓄積することなく安定した体内負荷量をもたらす^{8,53)}。ラットおよびヒトの薬物動態および代謝は同様のようである^{6,8,54)}。

げっ歯類の長期混餌試験における腎臓で見られた NOAEL 1 mg/kg/day を、体重 50 kg のヒトの 8 時間の作業シフト毎の呼吸量を 10 m³、呼吸器からの吸収率を 100% と想定し、ラットおよびヒトの薬物動態代謝は同様と考えられていることから、kinetics は 1、dynamics を 2.5 として換算すると、2 mg/m³ となる。よって、これらの影響を防ぐために、吸入粒子状物質として 2,4-D で 2 mg/m³ を許容濃度として提案する。経皮吸収の吸収における寄与が大きいと考えられるため、皮マークを付す。なお、吸入曝露を用いた長期投与動物試験は見つかっていない。

いくつかの遺伝毒性試験で影響が観察されたが矛盾点が多く、遺伝毒性があるとは認められない。ヒトの疫学的所見は発がんが認められず、最高用量でも発がん作用がないラットおよびマウスにおける長期混餌試験の結果と一致している。ラットにおいて低用量で見られた星状

膠細胞腫は後の研究では再現されなかった³²⁾。これまで発がん性分類第 2 群 B としてきたが、これらの情報を検討した結果、発がん性に関し分類に該当しないと変更する。

ラットの試験では、二世代生殖毒性試験によって児動物で低体重や生存率の低下が認められたこと、拡張一世代生殖毒性試験により児動物で軽度の腎臓毒性 (近位尿細管の変性) が認められたこと、経母乳曝露によって中枢神経系の発達の遅延が示唆されたことなど複数の試験で生殖への影響が報告されている。また、ヒトでは除草剤散布作業中の曝露で黄体形成ホルモンレベル (LH) が上昇することが報告されたことを考慮し、生殖毒性第 2 群とすることが適当と考えられる⁴⁷⁾。

6. 他機関の提案値

ACGIH : TLV-TWA 10 mg/m³ 吸入可能な物質。A4 ヒト発がん性物質として分類できない⁵⁵⁾。

DFG : MAK 2 mg/m³。カテゴリー II 全身に影響をあたえる物質⁵⁶⁾。

IARC : 2B と分類し、クロロフェノキシ除草剤のクラスが「ヒトに対する発がん性の限られた証拠」を有すると考えている⁵⁷⁻⁶¹⁾。

US EPA : グループ D の化学物質と分類する。すなわち、ヒト発がん性因子ではない¹⁾。またカナダ保健省でも、2,4-D はヒト発がん性因子ではないと分類⁶²⁾。

7. 勧告の履歴

2017年 (新設)

発がん性分類 第 2 群 B

2018年 (更新)

許容濃度 2 mg/m³ (皮)

生殖毒性分類 第 2 群

発がん性分類 第 2 群 B から削除

文 献

- 1) US EPA. Reregistration Eligibility Decision (RED) for 2,4-D Rpt No EPA 738-R-05-002 Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, US EPA, Washington, DC. 2005:3-4,7-9,15-22,51,82-84.
- 2) Lide DR. CRC Handbook of Chemistry & Physics, Internet Version. Taylor & Francis, Boca Raton, FL. 2005: 3.174,8.110,16.35.
- 3) US National Library of Medicine (US NLM). ChemIDplus (A Toxnet database) 2,4-D. National Library of Medicine. Available from: URL: <https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/name/2%2C4-d>
- 4) IPCS/INCHEM. 2,4-D. ICSC 0034. International Chemical Safety Card. Geneva: International Programme of Chemical

- Safety, World Health Organization. October 2005. Available from: URL: <http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/eics0033.htm>
- 5) Feldmann RJ, Maibach HI. Percutaneous penetration of some pesticides and herbicides in man. *Toxicol Appl Pharmacol* 1974;28(1):126–32.
 - 6) Sauerhoff MW, Braun WH, Blau GE, et al. The fate of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) following oral administration to man. *Toxicology* 1977;8(1):3–11.
 - 7) Kohli JD, Khanna RN, Gupta BN, et al. Absorption and excretion of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in man. *Xenobiotica* 1974;4(2):97–100.
 - 8) Timchalk C. Comparative inter-species pharmacokinetics of phenoxyacetic acid herbicides and related organic acids: evidence that the dog is not a relevant species for evaluation of human health risk. *Toxicology* 2004;200(1):1–19.
 - 9) Harris SA, Solomon KR. Percutaneous penetration of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 2,4-D dimethylamine salt in human volunteers. *J Toxicol Environ Health* 1992;36(3):233–40.
 - 10) Ross JH, Drive JH, Harris SA, et al. Dermal absorption of 2,4-D: a review of species differences. *Regul Toxicol Pharmacol* 2005;41(1): 82–91.
 - 11) Grover R, Cessna AJ, Muir NI, et al. Factors affecting the exposure of ground-rig applicators to 2,4-D dimethyl amine salt. *Arch Environ Contam Toxicol* 1986;15(6):677–86.
 - 12) Harris SA, Sass-Kortsak AM, Corey PN, et al. Development of models to predict dose of pesticides in professional turf applicators. *J Expo Anal Environ Epidemiol* 2002;12(2):130–44.
 - 13) Costa LG. Toxic effects of pesticides. In: Casarett and Doull's *Toxicology: The Basic Science of Poisons*, 7th ed. C Klaassen ed. McGraw-Hill, New York, NY. 2008: 883–930.
 - 14) Bradberry SM, Watt BE, Proudfoot AT, et al. Mechanisms of toxicity, clinical features, and management of acute chlorophenoxy herbicide poisoning: a review. *Clin Toxicol* 2000;38(2):111–22.
 - 15) Bradberry SM, Proudfoot AT, Vale JA. Poisoning due to chlorophenoxy herbicides. *Toxicol Rev* 2004;23(2):65–73.
 - 16) Anonymous. Queries and minor notes. *JAMA* 1956;162:1269.
 - 17) Coggon D, Pannett B, Winter P. Mortality and incidence of cancer at four factories making phenoxy herbicides. *Br J Ind Med* 1991;48(3):173–78.
 - 18) Lyng E. Cancer incidence in Danish phenoxy herbicide workers, 1947–1993. *Env Health Persp* 1998;106(S2):683–88.
 - 19) Burns CJ, Beard KK, Cartmill JB. Mortality in chemical workers potentially exposed to 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) 1945–94: an update. *Occup Environ Med* 2001;58(1):24–30.
 - 20) Kogevinas M, Becher H, Benn T, et al. Cancer mortality in workers exposed to phenoxy herbicides, chlorophenols, and dioxins: an expanded and updated international cohort study. *Am J Epidemiol* 1997;145(12):1061–75.
 - 21) Garry VF, Tarone RE, Kirsch IR, et al. Biomarker correlations of urinary 2,4-D levels in foresters: genomic instability and endocrine disruption. *Environ Health Perspect* 2001;109(5):495–500.
 - 22) Gorzinski SJ, Kociba RJ, Campbell RA, et al. Acute, pharmacokinetic, and subchronic toxicological studies of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Fundam Appl Toxicol* 1987;9(3):423–35.
 - 23) Lewis RJ Sr. *Sax's Dangerous Properties of Industrial Materials*, 11th ed, Vol 3. John Wiley & Sons, New York, NY. 2004.
 - 24) Mattsson JL, Charles JM, Yano BL, et al. Single-dose and chronic dietary neurotoxicity screening studies on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in rats. *Toxicol Sci* 1997;40(1):111–19.
 - 25) Madrigal-Bujaidar E, Hernandez-Ceruelos A, Chamorro G. Induction of sister-chromatid exchanges by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in somatic and germ cells of mice exposed in vivo. *Food Chem Toxicol* 2001;39(9):941–46.
 - 26) Cushman JR, Street JC. Allergic hypersensitivity to the herbicide 2,4-D in BALB/c Mice. *J Toxicol Environ Health* 1983;10(4):729–41.
 - 27) Charles JM, Hanley TR Jr, Wilson RD, et al. Developmental toxicity studies in rats and rabbits on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and its forms. *Toxicol Sci* 2001;60(1):121–31.
 - 28) Charles JM, Cunny HC, Wilson RD, et al. Comparative subchronic studies on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, amine, and ester in rats. *Fundam Appl Toxicol* 1996;33(2):161–65.
 - 29) Ozaki K, Mahler JF, Haseman JK, et al. Unique renal tubule changes induced in rats and mice by the Peroxisome proliferators 2,4-dichlorophenoxyacetic acid(2,4-D) and WY-14643. *Toxicol Pathol* 2001;29(4):440–50.
 - 30) Charles JM, Cunny HC, Dalgard OW, et al. Comparative subchronic and chronic dietary toxicity studies on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, amine, and ester in the dog. *Fundam Appl Toxicol* 1996;29(1):78–85.
 - 31) Munro IC, Carlo GL, Orr JC, et al. A comprehensive, integrated review and evaluation of the scientific evidence relating to the safety of the herbicide 2,4-D. *Int J Tox* 1992;11(5):559–664.
 - 32) Charles JM, Bond DM, Jeffries TK, et al.: Chronic dietary toxicity/oncogenicity studies on 2,4-dichlorophenoxy acetic acid in rodents. *Fundam Appl Toxicol* 1996;33(2):166–72.
 - 33) Burroughs B, Tarone R, Kesner JS, et al. Herbicides and adjuvants: an evolving view. *Toxicol Ind Health* 1999;15(1–2):159–67.
 - 34) Holland NT, Duramad P, Rothman N, et al. Micronucleus frequency and proliferation in human lymphocytes after exposure to herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in vitro and in vivo. *Mutat Res* 2002;521(1–2):165–78.
 - 35) Charles JM, Gunny HC, Wilson RD, et al.: Ames assays and unscheduled DNA synthesis assays on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and its derivatives. *Mutat Res* 1999;444(1):207–16.
 - 36) Gollapudi BB, Charles JM, Linscombe VA, et al. Evaluation of the genotoxicity of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and its derivatives in mammalian cell cultures. *Mutat Res* 1999;444(1):217–25.

- 37) Epstein SS, Arnold E, Andrea J, et al. Detection of chemical mutagens by the dominant lethal assay in the mouse. *Toxicol Appl Pharmacol* 1972;23:288–325.
- 38) Charles JM, Gunny HC, Wilson RD, et al. In vivo micro nucleus assays on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and its derivatives. *Mutat Res* 1999;444(1):227–34.
- 39) Filkowski J, Besplug J, Burke P, et al. Genotoxicity of 2,4-D and dicamba revealed by transgenic *Arabidopsis thaliana* plants harboring recombination and point mutation markers. *Mutat Res* 2003;542(1–2):23–22.
- 40) Pilinskaya MA. Cytogenetic effect of the herbicide 2,4-D on human and animal chromosomes. *Tsitol Genet* 1974;8(3):202–6.
- 41) Magnusson J, Ramel C, Eriksson A. Mutagenic effects of chlorinated phenoxyacetic acids on *Drosophila melanogaster*. *Hereditas* 1977;87:121–23.
- 42) Arias E. Sister-chromatid exchange induction by the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in chick embryos. *Ecotoxicol Environ Saf* 2003;55(3):338–43.
- 43) Kaya B, Yanikoglu A, Marcos R. Genotoxicity studies on the phenoxyacetates 2,4-D and 4-CPA in the *Drosophila* wing spot test. *Teratog Carcinog Mutagen* 1999;19(4):305–12.
- 44) Ahmed FA, Hart RW, Lewis NJ. Pesticide induced DNA damage and its repair in cultured human cells. *Mutat Res* 1977;42:161–74.
- 45) Tuschl H, Schwab C. Cytotoxic effects of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in HepG2 cells. *Food Chem Toxicol* 2003;41(3):385–93.
- 46) Figgs LW, Holland NT, Rothman N, et al. Increased lymphocyte replicative index following 2,4-dichloro phenoxyacetic acid herbicide exposure. *Cancer Causes Control* 2000;11(4):373–80.
- 47) Rodwell, D.E. (1985) A dietary two-generation reproduction study in Fischer 344 rats with dichlorophenoxy acetic acid. Unpublished report No. WIL-81137 from WIL Research Laboratories, Inc., OH, USA. Submitted to WHO by Industry Task Force II on 2,4-D Research Data, Indianapolis, Indiana, USA. Cited in IPCS INCHEM 914. 2,4-DICHLOROPHENOXY-ACETIC ACID (2,4-D) <http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v96pr04.htm>
- 48) Marty MS, Neal BH, Zablony CL, et al. An F1-extended one-generation reproductive toxicity study in CrI: CD (SD) rats with 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Toxicol Sci* 2013;136(2):527–47.
- 49) Lee K, Johnson V, Blakley B. The effect of exposure to a commercial 2,4-D formulation during gestation on the immune response in CD-1 mice. *Toxicology* 2001;165(1):39–49.
- 50) Duffard R, Garcia G, Rosso S, et al. Central nervous system myelin deficit in rats exposed to 2,4-dichloro phenoxyacetic acid throughout lactation. *Neurotoxicol Teratol* 1996;18(6):691–96.
- 51) Rosso SB, Di Paolo OA, Evangelista de Duffard AM, et al. Effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on central nervous system of developmental rats. Associated changes in ganglioside pattern. *Brain Res* 1997;769(1):163–67.
- 52) Bortolozzi AA, Duffard RO, Evangelista de Duffard AM. Behavioral alterations induced in rats by a pre- and post-natal exposure to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Neurotoxicol Teratol* 1999;21(4):451–65.
- 53) Saghir SA, Mendrala AL, Bartels MJ, et al. Strategies to assess systemic exposure of chemicals in subchronic/chronic diet and drinking water studies *Toxicol Appl Pharmacol* 2006;211(3):245–60.
- 54) Griffin RJ, Godfrey VB, Kim Y-C, et al. Sex-dependent differences in the disposition of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid in Sprague-Dawley rats, B6C3F1 mice, and Syrian hamsters. *Drug Metab Dispos* 1997;25(9):1065–71.
- 55) ACGIH.2,4-D. Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents & Biological Exposure Indices with 7th Edition Documentation. 2018.
- 56) MAK. 2,4-Dichlorophenoxyessigsäure (2,4-D) (einschließlich Salze und Ester). Veröffentlicht in der Reihe Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, 54. Lieferung, Ausgabe 2013.
- 57) International Agency for Research on Cancer (IARC): Vol 15: Some Fumigants, the Herbicides 2,4-D and 2,4,5-T, Chlorinated Dibenzodioxins and Miscellaneous Industrial Chemicals. World Health Organization, Geneva. 1977.
- 58) International Agency for Research on Cancer (IARC): Vol 41: Some Halogenated Hydrocarbons and Pesticide Exposures. World Health Organization, Geneva. 1986.
- 59) International Agency for Research on Cancer (IARC): Suppl 7: Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs Volumes 1 to 42. World Health Organization, Geneva. 1987.
- 60) International Agency for Research on Cancer (IARC): Vol 71: Re-Evaluation of Some Organic Chemicals, Hydrazine and Hydrogen Peroxide. World Health Organization, Geneva. 1999.
- 61) International Agency for Research on Cancer (IARC): Vol 113: DDT, LINDANE, and 2,4-D. World Health Organization, Geneva. 2018.
- 62) Health Canada. Re-evaluation of the Lawn and Turf Uses of (2,4-dichlorophenoxy) acetic Acid [2,4-D]. Re evaluation Note REV2006–11. Alternative Strategies and Regulatory Affairs Division, Pest Management Regulatory Agency, Ottawa, Ontario, Canada. 2006:29.