

農薬評価書

アシフルオルフェン

2010年7月

食品安全委員会

目次

	頁
○ 審議の経緯.....	3
○ 食品安全委員会委員名簿.....	3
○ 食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿.....	3
○ 要約.....	5
I. 評価対象農薬の概要.....	6
1. 用途.....	6
2. 有効成分の一般名.....	6
3. 化学名.....	6
4. 分子式.....	6
5. 分子量.....	6
6. 構造式.....	6
7. 開発の経緯.....	6
II. 安全性に係る試験の概要.....	7
1. 動物体内運命試験.....	7
(1) ラット.....	7
(2) ラット及びマウス.....	9
(3) 反芻動物及び家禽.....	10
2. 植物体内運命試験.....	10
(1) 稲.....	10
(2) らっかせい.....	10
(3) だいず.....	10
3. 土壌中運命試験.....	10
(1) 好氣的及び嫌氣的土壌中運命試験.....	10
(2) 土壌吸着試験.....	11
4. 水中運命試験.....	11
(1) 加水分解試験.....	11
(2) 水中光分解試験.....	11
5. 土壌残留試験.....	11
6. 作物残留試験.....	11
7. 一般薬理試験.....	11
8. 急性毒性試験.....	11
9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験.....	12
10. 亜急性毒性試験.....	12
(1) 90日間亜急性毒性試験(ラット).....	12

(2) 90日間亜急性毒性試験(マウス)	13
(3) 21日間亜急性経皮毒性試験(ウサギ)	14
1 1. 慢性毒性試験及び発がん性試験	14
(1) 2年間慢性毒性試験(ラット)	14
(2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験(ラット)	14
(3) 2年間慢性毒性試験(イヌ) ①	15
(4) 2年間慢性毒性試験(イヌ) ②	15
(5) 18カ月間発がん性試験(マウス)	16
(6) 2年間発がん性試験(マウス)	17
1 2. 生殖発生毒性試験	17
(1) 2世代繁殖試験(ラット)	17
(2) 3世代繁殖試験(ラット)	18
(3) 発生毒性試験(ラット)	18
(4) 発生毒性試験(ウサギ) ①	19
(5) 発生毒性試験(ウサギ) ②	19
1 3. 遺伝毒性試験	19
1 4. その他の試験	20
(1) マウス肝におけるペルオキシソーム誘導試験	20
(2) マウス肝における細胞増殖活性(S期反応)試験	21
(3) マウス肝における酵素誘導試験	21
Ⅲ. 食品健康影響評価	22
・別紙1: 代謝物/分解物略称	27
・別紙2: 検査値等略称	28
・参照	29

<審議の経緯>

2005年	11月	29日	残留農薬基準告示（参照1）
2008年	3月	11日	厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第0311001号）、関係書類の接受（参照2～10）
2008年	3月	13日	第230回食品安全委員会（要請事項説明）
2009年	8月	26日	第26回農薬専門調査会確認評価第一部会
2010年	3月	16日	第61回農薬専門調査会幹事会
2010年	4月	28日	第330回食品安全委員会（報告）
2010年	4月	28日	より5月27日まで 国民からの御意見・情報の募集
2010年	6月	28日	第63回農薬専門調査会幹事会
2010年	7月	26日	農薬専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告
2010年	7月	29日	第342回食品安全委員会（報告） （同日付け厚生労働大臣へ通知）

<食品安全委員会委員名簿>

(2009年6月30日まで)	(2009年7月1日から)
見上 彪（委員長）	小泉直子（委員長）
小泉直子（委員長代理）	見上 彪（委員長代理*）
長尾 拓	長尾 拓
野村一正	野村一正
畑江敬子	畑江敬子
廣瀬雅雄	廣瀬雅雄
本間清一	村田容常

*：2009年7月9日から

<食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿>

(2008年3月31日まで)

鈴木勝士（座長）	三枝順三	布柴達男
林 真（座長代理）	佐々木有	根岸友恵
赤池昭紀	代田真理子	平塚 明
石井康雄	高木篤也	藤本成明
泉 啓介	玉井郁巳	細川正清
上路雅子	田村廣人	松本清司
臼井健二	津田修治	柳井徳磨
江馬 眞	津田洋幸	山崎浩史
大澤貫寿	出川雅邦	山手丈至
太田敏博	長尾哲二	與語靖洋

大谷 浩
小澤正吾
小林裕子

中澤憲一
納屋聖人
西川秋佳

吉田 緑
若栗 忍

(2010年3月31日まで)

鈴木勝士 (座長)
林 真 (座長代理)
相磯成敏
赤池昭紀
石井康雄
泉 啓介
今井田克己
上路雅子
臼井健二
太田敏博
大谷 浩
小澤正吾
川合是彰
小林裕子
三枝順三***

佐々木有
代田眞理子
高木篤也
玉井郁巳
田村廣人
津田修治
津田洋幸
長尾哲二
中澤憲一*
永田 清
納屋聖人
西川秋佳
布柴達男
根岸友恵
根本信雄

平塚 明
藤本成明
細川正清
堀本政夫
松本清司
本間正充
柳井徳磨
山崎浩史
山手丈至
與語靖洋
義澤克彦**
吉田 緑
若栗 忍

* : 2009年1月19日まで

** : 2009年4月10日から

*** : 2009年4月28日から

(2010年4月1日から)

納屋聖人 (座長)
林 真 (座長代理)
相磯成敏
赤池昭紀
石井康雄
泉 啓介
上路雅子
臼井健二
太田敏博
小澤正吾
川合是彰
川口博明
小林裕子
三枝順三
佐々木有

代田眞理子
高木篤也
玉井郁巳
田村廣人
津田修治
津田洋幸
長尾哲二
永田 清
長野嘉介
西川秋佳
布柴達男
根岸友恵
根本信雄
八田稔久
平塚 明

福井義浩
藤本成明
細川正清
堀本政夫
本間正充
松本清司
柳井徳磨
山崎浩史
山手丈至
與語靖洋
義澤克彦
吉田 緑
若栗 忍

要 約

ジフェニルエーテル系除草剤「アシフルオルフェンナトリウム塩」(CAS No. 62476-59-9) は、ポジティブリスト制度導入に伴う暫定基準が設定されており、米国及び豪州が行った評価を基に食品健康影響評価を実施した。

評価に用いた試験成績は、動物体内運命(ラット、マウス、反芻動物及び家禽)、植物体内運命(稲、らっかせい及びだいず)、亜急性毒性(ラット、マウス及びウサギ)、慢性毒性(ラット及びイヌ)、慢性毒性/発がん性併合(ラット)、発がん性(マウス)、2及び3世代繁殖(ラット)、発生毒性(ラット及びウサギ)、遺伝毒性試験等の成績である。

試験結果から、アシフルオルフェンナトリウム塩投与による影響は、主に肝臓(肝細胞肥大等)、腎臓(腎重量増加、腎炎等)、胃(潰瘍)及び血液(貧血)に認められた。催奇形性、繁殖能に対する影響及び生体において問題となる遺伝毒性は認められなかった。発がん性試験において、雌雄マウスで肝腫瘍及び前胃乳頭腫の発生頻度増加が認められたが、発生機序は遺伝毒性メカニズムとは考え難く、本剤の評価にあたり閾値を設定することは可能であると考えられた。

各試験で得られた無毒性量のうち最小値は、マウスを用いた2年間発がん性試験における1.0 mg/kg 体重/日であったので、これを根拠として、安全係数100で除した0.01 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量(ADI)と設定した。

I. 評価対象農薬の概要

1. 用途

除草剤

2. 有効成分の一般名

和名：アシフルオルフェンナトリウム塩

英名：acifluorfen-sodium (ISO名)

3. 化学名

IUPAC

和名：ソディウム 5-(2-クロロ- α,α,α -トリフルオロ-*p*-トリルオキシ)-2-ニトロベンゾエート

英名：sodium 5-(2-chloro- α,α,α -trifluoro-*p*-tolylloxy)-2-nitrobenzoate

CAS (No. 62476-59-9)

和名：ソディウム 5-[2-クロロ-4-(トリフルオロメチル)フェノキシ]-2-ニトロベンゾエート

英名：sodium 5-[2-chloro-4-(trifluoromethyl)phenoxy]-2-nitrobenzoate

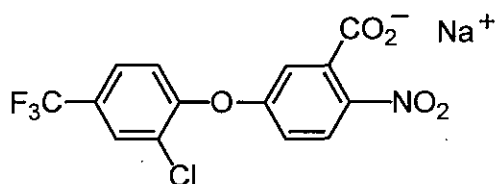
4. 分子式

$C_{14}H_6ClF_3NNaO_5$

5. 分子量

383.6

6. 構造式



7. 開発の経緯

アシフルオルフェンは、モービル・ケミカル社（現バイエルクロップサイエンス社）及びローム&ハース社により開発されたジフェニルエーテル系除草剤である。プロトポルフィリノーゲンオキシダーゼ（Protox）阻害剤であり、茎葉及び根から吸収されるが、体内移行はほとんどない選択性接触型除草剤である。

1980年に米国で初回農薬登録されている。国内での登録はなく、ポジティブリスト制度導入に伴う暫定基準値が設定されている。

なお、基準値はアシフルオルフェンとして設定されているが、各種試験はアシフルオルフェンナトリウム塩を用いて実施されている。

II. 安全性に係る試験の概要

米国及び豪州が行った評価を基に、毒性に関する主な科学的知見を整理した。(参照 2~9)

各種運命試験[II. 1~4]は、アシフルオルフェンナトリウム塩のフェニル基の炭素(位置不明)を¹⁴C又は¹³Cで標識したもの(以下「¹⁴C-アシフルオルフェン」又は「¹³C-アシフルオルフェン」という。)を用いて実施された。代謝物/分解物略称及び検査値等略称は別紙1及び2に示されている。

1. 動物体内運命試験

(1) ラット

Fischer ラット(一群雌雄各5~6匹)に、(i) ¹⁴C-アシフルオルフェン又は¹³C-アシフルオルフェンを、17~18 mg/kg 体重(以下[1. (1)]において「低用量」という。)又は116~117 mg/kg 体重(以下[1. (1)]において「高用量」という。)で単回経口投与、(ii) 非標識のアシフルオルフェンナトリウム塩を10~12 mg/kg 体重/日で14日間反復経口投与した後、¹⁴C-アシフルオルフェン又は¹³C-アシフルオルフェンを同用量で単回経口投与、(iii) ¹⁴C-アシフルオルフェン又は¹³C-アシフルオルフェンを8~14 mg/kg 体重で単回静脈内投与して、動物体内運命試験が実施された。

① 吸収

a. 血中濃度推移

各投与群における血中放射能濃度推移は表1及び2に示されている。

低用量の単回経口投与群及び反復投与群の $T_{1/2}$ は、いずれも雌の方が雄よりも短かったが、高用量の単回経口投与群では雌雄に差は認められなかった。(参照3)

表1 血中放射能濃度推移①

投与条件	単回経口				反復経口	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
投与量 (mg/kg 体重)	16.5	17	116	117	11.5	10.3
T_{max} (時間)	2.9	1.4	4.6	5.4	1.7	0.5
C_{max} (μ g/mL)	30	34	210	270	27	15
$T_{1/2}$ (β 相) (時間)	8.5	3.6	6.5	6.2	9.3	4.4

表2 血中放射能濃度推移②

投与条件	単回経口				反復経口		単回静脈内	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
投与量 (mg/kg 体重)	16.8	17.9	116	117	11.3	10.7	13.8	8.3
全身クリアランス (mL/hr)	5.3	13.8	5.8	4.1	7.4	18.3	6.7	12.8
AUC (% Dose-hr)	151	71.5	139	195	178	44.5	188	74.1
$T_{1/2}$ (β 相) (時間)	8.3	3.4	6.5	5.9	9.2	4.0	8.3	3.7
分布容積 (mL)	61.2	67.9	53.3	33.3	97.4	106	81.5	65.9

b. 吸収率

経口及び静脈内投与後の尿中排泄量の比較から推定された腸管吸収率は、高用量単回投与群の雄で 76%、雌で 70~90%、低用量反復投与群の雄で 92~95%、雌で 81%であった。(参照 3)

② 分布

各投与群の投与 96 時間後における主要臓器及び組織の残留放射能は表 3 に示されている。

投与 4 時間後において、胃腸管(胃、大腸及び小腸)、肝臓及び腎臓中の放射能濃度は有意に高かったが、経時的に減衰した。いずれの投与群においても臓器・組織中への蓄積性は認められなかった。(参照 3)

表 3 投与 96 時間後における主要臓器及び組織の残留放射能 (%TAR)

投与条件	性別	投与量 (mg/kg 体重)	投与 96 時間後
単回 経口	雄	16.8	大腸 (1.13)、腎臓 (0.12)、小腸 (0.1)、その他 (0.1 未満)
	雌	17.9	大腸 (0.7)、小腸 (0.1)、その他 (0.1 未満)
	雄	116	大腸 (1.26)、小腸 (0.46)、肝臓 (0.14)、その他 (0.1 未満)
	雌	117	肝臓 (1.08)、大腸 (1.02)、小腸 (0.33)、その他 (0.1 未満)
反復 経口	雄	11.3	大腸 (1.4)、小腸 (0.96)、肝臓 (0.29)、胃 (0.13)、腎臓 (0.11)、その他 (0.1 未満)
	雌	10.7	肝臓 (0.26)、大腸 (0.21)、その他 (0.1 未満)
静脈内	雄	13.8	大腸 (1.3)、小腸 (0.28)、肝臓 (0.18)、その他 (0.1 未満)
	雌	8.3	すべて (0.1 未満)

③ 代謝

尿及び糞中代謝物は表 4 に示されている。

尿中の主要代謝物は B であり、他に C が少量認められた。糞中の主要代謝物は、腸内細菌によって代謝されたと考えられる C であった。その他に B 及び D が検出された。

血中及び胆汁中の主要代謝物はいずれも B (血中で回収放射能の 95~98%、胆汁中で 93%) であり、他に C が少量 (血中で 10~15%、胆汁中で 2~3%) 検出された。(参照 2、3)

表4 尿及び糞中代謝物（回収放射能に対する%）

投与条件		単回経口				反復経口		静脈内	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
投与量 (mg/kg 体重)		16.8	17.9	116	117	11.3	10.7	13.8	8.3
尿	B	98.3	98.3	97.4	97.3	94.7	97.5	93.3	97.2
	C	0.1	0.8	0.9	1.6	0.9	1.3	0.6	1.0
糞	B	5.7	13.6	12.5	6.1	12.3	18.4	3.8	12.2
	C	59.0	58.5	64.0	71.2	69.9	62.7	82.7	66.3
	D	3.5	5.0	1.6	3.5	4.3	1.0	0.9	3.3
	未同定代謝物 1	4.6	5.1	4.5	2.8	2.6	3.4	2.2	3.9
	未同定代謝物 2	3.7	3.1	3.0	2.4	3.7	5.4	2.9	4.2

④ 排泄

a. 尿及び糞中排泄

投与後 96 時間における尿及び糞中排泄率は表 5 に示されている。

排泄は速やかであり、投与後 96 時間で大部分の放射能が尿及び糞中から回収された。（参照 2、3）

表 5 投与後 96 時間における尿及び糞中排泄率 (%TAR)

投与条件		単回経口				反復経口		静脈内	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
投与量 (mg/kg 体重)		16.8	17.9	116	117	11.3	10.7	13.8	8.3
尿		50.3	82.3	47.8	59.8	58.0	68.8	46.5	65.6
糞		20.8	9.2	40.7	22.6	29.2	11.6	36.0	5.2
組織		3.1	1.0	1.9	2.5	3.1	0.6	1.9	0.1
合計		74.2	92.5	90.4	84.9	90.3	81.0	84.4	70.9

b. 胆汁中排泄

低用量の静脈内投与群において、胆汁中排泄試験が実施された。

投与後 24 時間で、雄では 29%TAR、雌では 28%TAR が胆汁中に排泄された。（参照 3）

(2) ラット及びマウス

非標識のアシフルオルフェンナトリウム塩を、SD ラット(雌 2 匹)に 54 mg/kg 体重/日で、ICR マウスに 1.5 mg/kg 体重/日 (雌 2 匹) 又は 54 mg/kg 体重/日 (雌雄各 2 匹) でそれぞれ 28 日間混餌投与し、投与開始 14 及び 28 日後に ¹⁴C-アシフルオルフェンをそれぞれ反復投与と同用量で強制経口投与して動物体内運命試験が実施された。

強制経口投与された ¹⁴C-アシフルオルフェンは、投与後 2~3 日で 90%TAR 以上が尿及び糞中に排泄された。尿中排泄量は 37~83%TAR、糞中排泄量は 34.6~65.1%TAR であった。

主要代謝物は B (33~91%TAR) であり、糞中では C (11~38%TAR) の他、B 及び C の抱合体 (6~35%TAR) が検出された。（参照 2、3）

(3) 反芻動物及び家禽

反芻動物及び家禽を用いた動物体内運命試験が実施され、反芻動物の組織及び乳汁における主要代謝物は B、C、E 及びこれらの抱合体、家禽における主要代謝物は B、E 及び F であった。(参照 4)

2. 植物体内運命試験

(1) 稲

稲 (品種不明) に、最大使用量の 1.7 倍量の ^{14}C -アシフルオルフェンを処理して植物体内運命試験が実施された。

稲試料中の総残留放射能 (TRR) は、穀粒で 0.027 mg/kg、わらで 1.9~2.0 mg/kg、もみ殻で 0.16 mg/kg であった。穀粒における主要代謝物は C (68%TRR) であった。代謝物 B が穀粒で 31%TRR、わらで 72%TRR、もみ殻で 5~7%TRR 検出され、その他に G がわらで 6%TRR 検出された。(参照 4、7)

(2) らっかせい

らっかせい (品種不明) に、最大使用量の 1.1 倍量の ^{14}C -アシフルオルフェンを処理して植物体内運命試験が実施された。

らっかせい試料中の総残留放射能は、子実で 0.18 mg/kg、茎葉 (fodder) で 1.9 mg/kg、殻で 0.72 mg/kg であった。主要代謝物は B であり、子実で 4.9%TRR、茎葉で 13%TRR、殻で 11%TRR 検出された。殻では 2 種類の抱合体 H 及び I がそれぞれ 26 及び 6.4%TRR 検出された。その他に多数の極性代謝物が 10%TRR 以下で存在した。(参照 4、7)

(3) だいず

だいず (品種不明) に、最大使用量の 1.7 倍量の ^{14}C -アシフルオルフェンを処理して植物体内運命試験が実施された。

だいず試料中の総残留放射能は、種子で 0.48 mg/kg、茎葉 (fodder) で 27 mg/kg、葉 (forage) で 28~33 mg/kg であった。主要代謝物は B であり、種子で 8.9%TRR、茎葉で 27%TRR、葉で 58~83%TRR 検出された。その他に、種子では 2 種類の抱合体 H 及び I がそれぞれ 12 及び 6.4%TRR、葉では J が 0.4%TRR、E が 0.2%TRR 検出された。(参照 4、7)

3. 土壌中運命試験

(1) 好氣的及び嫌氣的土壌中運命試験

アシフルオルフェンナトリウム塩の推定半減期は、好氣的土壌で 30 日~6 カ月、嫌氣的土壌で 28 日未満であった。好氣的土壌中の主要分解物は B (処理 0 日で 90%TAR、処理 6 カ月後で 43%TAR) であり、微量分解物として C 及び J が検出された。B の土壌移行性は高く、結合能は低かった。pH 3.5 超の土壌中では B はほとんど吸着せずに陰イオンとして存在し、土壌中の有機炭素含有量の増加に伴って吸着量は増加した。土壌の温度及び水分含有量による土壌中微生物の活性の変化が、B の分解に影響を及ぼすものと考えられた。嫌氣的土壌中の主要分解物は C であった。微量分解物として D 及び J が検出され、水相の主要分解物は E であった。(参照 4、8)

(2) 土壌吸着試験

海外において、4種類の土壌（砂土、砂質壤土、壤土及び埴土）を用いた土壌吸着試験が実施された。

Freundlich の吸着係数 K_{ads} は 0.148～3.1、有機炭素含有率により補正した吸着係数 K_{oc} は 50.2～199 であった。（参照 8）

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験

アシフルオルフェンナトリウム塩は加水分解に安定であった。好気的水中における推定半減期は 117 日であった。（参照 4）

(2) 水中光分解試験

リン酸緩衝液（pH 7）又は重炭酸塩緩衝液（pH 8.3）に、 ^{14}C -アシフルオルフェンを 4～102 mg/L となるように添加して水中光分解試験が実施された。

推定半減期は、pH 7 で 21.7～99.9 時間、pH 8.3 で 298～352 時間であった。（参照 8）

5. 土壌残留試験

土壌残留試験については、参照した資料に記載がなかった。

6. 作物残留試験

国内において作物残留試験は実施されていない。

豪州において、さやいんげんを用いて実施された作物残留試験（112 又は 168 g ai/ha、14 日間隔で 2～3 回処理）では、処理 28～42 日後に収穫した子実中のアシフルオルフェンの残留値はすべて定量限界未満（<0.01 mg/kg）であった。

米国で実施されただいずを用いた試験（280 g ai/ha、15 日以上の間隔で 2 回散布）においても、収穫時（処理 50 日後）の残留値は定量限界未満（親化合物：<0.01 mg/kg、個々の代謝物：<0.02 mg/kg）であった。さらに、登録された使用量の 10 倍量を処理しただいず及び 4 倍量を処理したらっかせいにおける残留値は、0.17～0.25 mg/kg の範囲にあった。だいず加工品（粗びき粉、外皮、スープストック、原油、加工油）では検出されなかった。（参照 9）

7. 一般薬理試験

一般薬理試験については、参照した資料に記載がなかった。

8. 急性毒性試験

アシフルオルフェンナトリウム塩（原体）のラット、イヌ及びウサギを用いた急性毒性試験が実施された。結果は表 6 に示されている。（参照 2、9）

表6 急性毒性試験概要（原体）

投与経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)
経口	ラット	1,540
	マウス	1,370
	ウサギ	1,600
	イヌ	186
経皮	ウサギ	>2,000
吸入	ラット	LC ₅₀ (mg/L)
		>6.9

注) いずれも系統、性別及び匹数不明

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

ウサギ（系統不明）を用いた眼刺激性試験及び皮膚刺激性試験が実施された。その結果、ウサギの眼に対して強い刺激性が、皮膚に対して中等度の刺激性が認められた。

モルモット（系統不明）を用いた皮膚感作性試験が実施され、結果は陰性であった。（参照 2、9）

10. 亜急性毒性試験

(1) 90日間亜急性毒性試験（ラット）

Fischer ラット（一群雌雄各 30 匹）を用いた混餌（原体：0、20、80、320、1,250、2,500 及び 5,000 ppm）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 7 に示されている。

本試験において、1,250 ppm 以上投与群の雌雄で肝細胞肥大等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 320 ppm (32 mg/kg 体重/日) であると考えられた。（参照 2、3、9）

表7 90日間亜急性毒性試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
5,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・摂餌量減少 ・カルシウム減少 ・TP、Alb、及びGlob減少 ・肝臓：肝細胞増殖活性上昇 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・RBC及びHb減少 ・肝臓：肝細胞増殖活性上昇、単細胞壊死
2,500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・Hb減少 ・リン増加 ・ALP及びALT増加 ・BUN増加 ・尿中ウロビリノーゲン増加 ・肝臓：単細胞壊死、卵円形細胞増生又は胆管増生 	<ul style="list-style-type: none"> ・BUN、Cre増加 ・尿中ウロビリノーゲン増加 ・肝絶対及び比重量¹増加
1,250 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・RBC及びHt減少 ・肝絶対及び比重量増加 ・腎絶対及び比重量増加 ・肝細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・尿中亜硝酸塩増加 ・肝細胞肥大
320 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(2) 90日間亜急性毒性試験（マウス）

B6C3F1 マウス（一群雌雄各 30 匹）を用いた混餌（原体：0、20、80、320、1,250、2,500 及び 5,000 ppm）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 8 に示されている。

本試験において、1,250 ppm 以上投与群の雌雄で肝臓の脂肪浸潤等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 320 ppm (48 mg/kg 体重/日) であると考えられた。

(参照 2、3)

表8 90日間亜急性毒性試験（マウス）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
5,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・WBC減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・WBC減少
2,500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・MCV減少 ・ALT及びALP増加 ・肝臓：肝細胞肥大、肝細胞増殖活性上昇、単細胞壊死、卵円形細胞増生 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・MCV減少 ・網状赤血球増加 ・ALT及びALP増加 ・Glu減少 ・肝臓：肝細胞肥大、肝細胞増殖活性上昇、単細胞壊死、卵円形細胞増生
1,250 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・Glu減少 ・肝絶対及び比重量増加 ・肝臓：脂肪浸潤 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝絶対及び比重量増加 ・肝臓：脂肪浸潤
320 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

¹ 体重比重量を比重量という（以下同じ）。

(3) 21日間亜急性経皮毒性試験 (ウサギ)

NZW ウサギ (正常皮膚：一群雌雄各 5 匹、擦過傷皮膚：一群雌雄各 5 匹) を用いた経皮 (原体：0、100、300 及び 1,000 mg/kg 体重/日、6 時間/日、5 日/週) 投与による 21 日間亜急性経皮毒性試験が実施された。

1,000 mg/kg 体重/日投与群では、投与開始 8 日までに 20 匹中 19 匹が死亡又は切迫と殺された。これらの動物では呼吸困難、流涎、運動失調、振戦等の症状が観察されたが、共通した病理組織学的所見は認められず、これらの死亡は急性毒性によるものと考えられた。他の投与群の動物では一般毒性症状は認められなかった。

皮膚刺激性はすべての投与群で認められ、投与部位に出血、褪色、痂皮形成等が観察された。

本試験において、1,000 mg/kg 体重/日投与群で死亡が認められ、全投与群で皮膚刺激性が認められたので、一般毒性に対する無毒性量は 300 mg/kg 体重/日、皮膚刺激性に対する無毒性量は 100 mg/kg 体重/日未満であると考えられた。(参照 2、3)

1.1. 慢性毒性試験及び発がん性試験

(1) 2年間慢性毒性試験 (ラット)

ラット (系統及び匹数不明) を用いた混餌 (原体、雄：0、0.22、1.2、7.1 及び 51 mg/kg 体重/日、雌：0、0.29、1.6、9.6 及び 60 mg/kg 体重/日) 投与による 2 年間慢性毒性試験が実施された。なお、最低用量群の投与量は、投与 33 週以降、雄では 0.22 mg/kg 体重/日から 40 mg/kg 体重/日に、雌では 0.29 mg/kg 体重/日から 58 mg/kg 体重/日に引き上げられ、最高用量群については投与 3 カ月で試験終了とされた。

本試験において、60 mg/kg 体重/日投与群の雌で RBC 及び Ht 減少が、40 mg/kg 体重/日投与群の雄で肝細胞肥大が認められたので、無毒性量は雄で 7.1 mg/kg 体重/日、雌で 9.6 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 9)

(2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)

Fischer ラット (一群雌雄各 73 匹) を用いた混餌 (原体：0、25、150、500、2,500 及び 5,000 ppm) 投与による 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 9 に示されている。

5,000 ppm 投与群の死亡動物には、腎乳頭壊死を伴う慢性腎盂腎炎、肝臓の好酸性細胞増加、胃潰瘍、精巣萎縮等が認められた。

150 及び 500 ppm 投与群の雄で心筋病変 (心筋変性及び心筋線維症) の発生頻度が有意に増加したが、2,500 ppm 投与群では有意差はみられなかった。本病変は加齢性変化であると考えられた。

本試験において、2,500 ppm 以上投与群の雌雄で肝比重量増加、体重増加抑制等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 500 ppm (25 mg/kg 体重/日) であると考えられた。発がん性は認められなかった。(参照 2、3)

表9 2年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
5,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡 (65/65) ・RBC、Ht 及び Hb 減少 ・TP 減少 ・Cre 及び ALP 増加 ・腎臓褪色 ・肝臓：褪色、好酸性細胞増加 ・胃潰瘍 ・精巣萎縮 	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡 (61/65) ・Glu 及び TP 減少 ・BUN 及び Cre 増加 ・胃潰瘍
2,500 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・Glu、TG 及び Glob 減少 ・BUN 増加 ・肝絶対及び比重量増加 ・脾臓重量減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・TG 及び Glob 減少 ・ALP 増加 ・肝比重量増加 ・心臓重量減少 ・腎臓：腎盂拡張、結石、腎炎/腎盂腎炎 ・肝臓：好酸性細胞増加
500 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(3) 2年間慢性毒性試験（イヌ）①

ビーグル犬（一群雌雄各 8 匹）を用いた混餌（原体：0、20、300 及び 4,500 ppm）投与による 2 年間慢性毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 10 に示されている。

本試験において、4,500 ppm 投与群の雌雄で肝絶対及び比重量増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 300 ppm（7.5 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 2）

表 10 2年間慢性毒性試験（イヌ）①で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
4,500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・肝絶対及び比重量増加 ・腎絶対及び比重量増加 ・RBC、Hb、Ht 及び Chol 減少 ・WBC 増加 ・尿量増加 ・Cre 減少 ・PLT 及び LDH 増加 ・尿比重増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・肝絶対及び比重量増加 ・腎絶対及び比重量増加 ・RBC、Hb、Ht 及び Chol 減少 ・WBC 増加 ・尿量増加 ・カルシウム及び Alb 減少 ・肝臓：うっ血、褐色色素沈着、脂肪化、炎症
300 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(4) 2年間慢性毒性試験（イヌ）②

イヌ（雌雄、犬種名及び匹数不明）を用いた混餌（原体：0、50、300 及び 5,400 ppm）投与による 2 年間慢性毒性試験が実施された。

5,400 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制、肝重量増加、雄で RBC、Ht 及び Hb 減少、WBC 増加、ALP 増加、T.Chol 減少、雌で ALT 増加、腎重量増加が認められた。また、同群では病理組織学的検査において肝臓（単核性炎症性細胞巣、

類洞細胞内褐色色素顆粒、単核性炎症性細胞浸潤)、腎臓(尿細管上皮褐色色素顆粒)、胆嚢(粘膜上皮過形成)並びに眼(桿体及び錐体細胞数の減少を伴う両側性の網膜萎縮)に病変が認められた。

本試験において、5,400 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制、肝重量増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 300 ppm (雄: 7.5 mg/kg 体重/日、雌: 8.6 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 9)

(5) 18 カ月間発がん性試験 (マウス)

B6C3F1 マウス (一群雌雄各 60 匹) 用いた混餌 (原体: 0、625、1,250 及び 2,500 ppm) 投与による 18 カ月間発がん性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 11 に、肝腫瘍及び前胃乳頭腫発生頻度は表 12 に示されている。

2,500 ppm 投与群の死亡動物には肝腫瘍が認められた。同群の雌雄で肝腫瘍及び前胃乳頭腫の発生頻度増加が認められた。

本試験において、625 ppm 以上投与群の雌雄で肝絶対及び比重量増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 625 ppm 未満 (雄: 119 mg/kg 体重/日未満、雌: 143 mg/kg 体重/日未満) であると考えられた。(参照 2、3、9)

(肝腫瘍の発生機序に関しては [14. (1)~(3)] を参照。)

表 11 18 カ月間発がん性試験 (マウス) で認められた毒性所見 (非腫瘍性変化)

投与群	雄	雌
2,500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡 (10/60) ・前胃の白色巣 ・胃潰瘍 	<ul style="list-style-type: none"> ・胃潰瘍 ・肝結節性病変
1,250 ppm 以上		<ul style="list-style-type: none"> ・前胃の白色巣
625 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・MCV 及び分葉核球数減少 ・Lym 及び RBC 増加 ・肝絶対及び比重量増加 ・肝結節性病変 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・分葉核球数減少 ・Lym 増加 ・肝絶対及び比重量増加

表 12 肝腫瘍及び前胃乳頭腫の発生頻度

性別		雄				雌			
投与群 (ppm)		0	625	1,250	2,500	0	625	1,250	2,500
肝臓	腺腫	8/58 \$\$	18/60*	12/56	25/59**	1/55 \$\$	5/59	4/57	19/58**
	癌	1/48 \$\$	3/50	4/46	15/44**	0/45 \$\$	1/47	1/44	5/46*
	腺腫又は癌	9/58 \$\$	21/60*	16/56	40/59**	1/55 \$\$	6/59	5/57	24/58**
前胃	乳頭腫	0/49 \$\$	0/46	0/43	4/40*	0/45 \$	3/48	4/44	6/45*

\$: p<0.05, \$\$: p<0.01 (Cochran-Armitage の傾向検定)

* : p<0.05, ** : p<0.01 (Fisher の直接確率計算法)

(6) 2年間発がん性試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 80 匹) を用いた混餌 (原体: 0、7.5、45 及び 270 ppm) 投与による 2 年間発がん性試験が実施された。なお、最高用量群の投与量は、投与 1~16 週までは 1.25 ppm、17 週以降 270 ppm に引き上げられた。

各投与群で認められた毒性所見は表 13 に、肝腫瘍発生頻度は表 14 に示されている。

270 ppm 投与群の雌で肝腫瘍の発生頻度増加が認められた。

本試験において、45 ppm 以上投与群の雌雄で ALP 及び AST 増加等、雌で ALT 増加が認められたので、無毒性量は雌雄で 7.5 ppm (雄: 1.0 mg/kg 体重/日、雌: 1.5 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 2、3、9)

表 13 2 年間発がん性試験 (マウス) で認められた毒性所見
(非腫瘍性変化)

投与群	雄	雌
270 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ ALT 増加 ・ 腎比重量増加 ・ 肝腫瘍、肝結節性病変* ・ 変異肝細胞巣 ・ 精細管変性 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 肝腫瘍、肝結節性病変*
45 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ ALP 及び AST 増加 ・ 肝絶対及び比重量増加 ・ 副腎髄質褐色色素変性 	<ul style="list-style-type: none"> ・ ALT 増加
7.5 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

注) *: 雌雄不明の毒性所見については雌雄両方に記載した。

表 14 肝腫瘍の発生頻度

性別	雄				雌			
	0	7.5	45	270	0	7.5	45	270
投与群 (ppm)								
腺腫のみ	9/79	3/69	14/80	12/70	5/80	2/69	4/80	11/66
癌のみ	8/79	12/69	11/80	8/70	1/80	2/69	0/80	3/66
腺腫及び癌の併発	2/79	3/69	3/80	7/70	1/80	1/69	0/80	1/66
合計	19/79	18/69	28/80	27/70	7/80	5/69	4/80	15/66*

*: p<0.05

1.2. 生殖発生毒性試験

(1) 2 世代繁殖試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 35 匹) を用いた混餌 (原体: 0、25、500 及び 2,500 ppm) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 15 に示されている。

本試験において、親動物では 2,500 ppm 投与群の P 及び F₁ 雄で体重増加抑制、500 ppm 以上投与群の P 及び F₁ 雌で腎臓髄質外層の尿細管拡張を主とする病理組織学的所見が認められ、児動物では 500 ppm 以上投与群の F₂ 児動物で生存率低下が認められたので、無毒性量は親動物の雄で 500 ppm [25 mg/kg 体重/日 (計算値²)]、雌で 25 ppm [1.25 mg/kg 体重/日 (計算値)]、児動物で 25 ppm [1.25

² 文献に基づく平均値から求めた検体摂取量 (参照 14) (以下同じ)。

mg/kg体重/日（計算値）] であると考えられた。繁殖能に対する影響は認められなかった。（参照 2）

表 15 2 世代繁殖試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	親：P、児：F ₁		親：F ₁ 、児：F ₂	
	雄	雌	雄	雌
親動物	2,500 ppm	・体重増加抑制	・体重増加抑制	・体重増加抑制 ・腎盂拡張 (水腎)
	500 ppm 以上	500 ppm 以下 毒性所見なし	・腎臓髄質外層 の尿細管拡張	500 ppm 以下 毒性所見なし
	25 ppm		毒性所見なし	・腎臓髄質外層 の尿細管拡張 毒性所見なし
児動物	2,500 ppm	・体重増加抑制 ・生存率低下		・体重増加抑制 ・腎盂拡張
	500 ppm 以上			・生存率低下
	25 ppm	毒性所見なし		毒性所見なし

(2) 3 世代繁殖試験（ラット）

ラット（系統及び匹数不明）を用いた混餌（原体：0、25、500 及び 2,500 ppm）投与による 3 世代繁殖試験が実施された。

本試験において、親動物では 2,500 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制（全世代）、摂餌量減少（F₁、F₂ 及び F₃）、雌で肝細胞の細胞質好酸性増加（F₁ 及び F₂）、腎症（F₁ 及び F₂）、水腎（F₂）が、児動物では 500 ppm 以上投与群で低体重（F₁、F₂ 及び F₃）、2,500 ppm 投与群で脾臓の髄外造血（F₂）、甲状腺 C 細胞過形成（F₃）が認められたので、無毒性量は親動物の雌雄で 500 ppm（125 mg/kg 体重/日）、児動物で 25 ppm（1.3 mg/kg 体重/日）であると考えられた。繁殖能に対する影響は認められなかった。（参照 9）

(3) 発生毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌 25 匹）の妊娠 6～19 日に強制経口（原体：0、20、90 及び 180 mg/kg 体重/日、溶媒：2%CMC 水溶液）投与して、発生毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 16 に示されている。

母動物においては、90 mg/kg 体重/日以上投与群で流涎及び立毛がみられ、180 mg/kg 体重/日投与群で尿による腹部被毛の汚れ、異常呼吸音、運動低下、色素涙等の症状がみられ、妊娠 13 日以降は体重が低下し、3 匹が死亡した。胎児においては、90 mg/kg 体重/日以上投与群で低体重並びに骨化遅延（上後頭骨、胸椎又は胸骨分節）又は内臓変異（側脳室又は腎盂の軽度拡張、皮下又は腹腔内出血等）等の変異が増加し、180 mg/kg 体重/日投与群では吸収胚の増加、低体重がみられたが、いずれの投与群においても奇形は認められなかった。

本試験において、90 mg/kg 体重/日以上投与群の母動物で流涎及び立毛が、胎児で低体重等が認められたので、無毒性量は母動物及び胎児で 20 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 2、3、9）

表 16 発生毒性試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	母動物	胎児
180 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡（3例） ・尿による腹部被毛の汚れ、異常呼吸音、自発運動量減少、色素涙 ・体重増加抑制 	<ul style="list-style-type: none"> ・吸収胚増加
90 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> ・流涎及び立毛 	<ul style="list-style-type: none"> ・低体重 ・骨化遅延又は内臓変異を有する胎児数増加
20 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし

(4) 発生毒性試験（ウサギ）①

NZW ウサギ（一群雌 16 匹）の妊娠 6～29 日に強制経口（原体：0、3、12 及び 36 mg/kg 体重/日）投与して、発生毒性試験が実施された。

本試験において、いずれの投与群の母動物及び胎児にも毒性所見は認められなかったため、無毒性量は母動物及び胎児で本試験の最高用量 36 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。（参照 2）

(5) 発生毒性試験（ウサギ）②

NZW ウサギ（一群雌 15 匹）の妊娠 7～19 日に強制経口（原体：0、20、60 及び 180 mg/kg 体重/日、溶媒：蒸留水）投与して、発生毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 17 に示されている。

本試験において、60 mg/kg 体重/日以上投与群の母動物で食欲不振、抑うつ等の臨床症状が、180 mg/kg 体重/日投与群の胎児で全胚吸収が認められたため、無毒性量は母動物で 20 mg/kg 体重/日、胎児で 60 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。（参照 2）

表 17 発生毒性試験（ウサギ）②で認められた毒性所見

投与群	母動物	胎児
180 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡（11例） ・チアノーゼ及び削瘦 ・体重増加抑制 	<ul style="list-style-type: none"> ・全胚吸収
60 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> ・食欲不振、抑うつ及び呼吸困難 	60 mg/kg 体重/日以下 毒性所見なし
20 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	

1.3. 遺伝毒性試験

アシフルオルフェンナトリウム塩（原体）の細菌を用いた復帰突然変異試験、出芽酵母を用いた体細胞組換え試験、マウスリンフォーマ細胞及びチャイニーズハムスター卵巣由来細胞（CHO 細胞）を用いた前進突然変異試験、ラット初代培養肝細胞を用いた UDS 試験、ラットを用いた *in vivo* 染色体異常試験、ラット及びショウジョウバエを用いた優性致死試験、ショウジョウバエを用いた体細胞突然変異試験（white-ivory system）、Y 染色体欠失試験及び染色体異常試験（bithorax テスト）が実施された。

結果は表 18 に示されている。細菌、出芽酵母及びショウジョウバエを用いた

試験の一部で陽性の結果が得られたが、細菌を用いた試験では再現性はみられなかった。哺乳動物を用いた試験系では *in vitro* 及び *in vivo* のいずれにおいても結果は陰性であったことから、生体において問題となる遺伝毒性はないものと考えられた。(参照 2、3、5、6)

表 18 遺伝毒性試験概要 (原体)

試験	対象	処理濃度・投与量	結果	
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537 株)	50~5,000 µg/プレート (+/-S9)	TA100(+S9) で弱陽性 ¹⁾
		<i>S. typhimurium</i> 詳細不明	詳細不明	TA100 で 陰性
		<i>S. typhimurium</i> 詳細不明	詳細不明	陰性
		<i>S. typhimurium</i> 詳細不明	詳細不明	陰性
	体細胞 組換え試験	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (D5)	0.03~15 mg/プレート (+/-S9)	(-S9)で 陽性 ²⁾
	前進突然 変異試験	マウスリンフォーマ細胞 (TK ⁺ 座)	18~128 µg/mL (+S9) 25~387 µg/mL (-S9)	陰性
		CHO 細胞 (HPRT 座)	325~450 µg/mL (+S9) 450~650 µg/mL (-S9)	陰性
UDS 試験	ラット初代培養肝細胞	0.1~50 µg/mL	陰性	
<i>in vivo</i>	染色体異常 試験	SD ラット (骨髄細胞) (一群雄 6 匹)	0、0.37、1.11、1.37 mg/kg 体重/日 (5 日間強制経口投与)	陰性
	優性致死 試験	SD ラット (一群雄 10 匹)	0、80、360、800 mg/kg 体重/日 (5 日間強制経口投与)	陰性
		ショウジョウバエ (雄)	1.5%、24 時間	陽性
	体細胞突然 変異試験	ショウジョウバエ (雄) (white-ivory system)	1.5%、2 時間	陰性
	伴性劣勢 致死試験	ショウジョウバエ (雄)	1.5%、24 時間	陰性
	Biothorax test	ショウジョウバエ (雄)	1.5%、24 時間	陰性
Y 染色体 欠失試験	ショウジョウバエ (雄)	1.5%、24 時間	陽性	

注) +/- S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

¹⁾ : 4,000~5,000 µg/プレート(+S9)で復帰変異コロニー数が 1.5~1.8 倍に増加

²⁾ : 0.75~2.25 mg/プレート(-S9)で体細胞組換え頻度が用量相関的に増加

14. その他の試験

(1) マウス肝におけるペルオキシゾーム誘導試験

B6C3F1 マウス (一群雌雄各 5 匹) に、アシフルオルフェンナトリウム塩を 4 週間混餌 (原体 : 0、350、1,740、及び 5,210 ppm) 投与して、肝のペルオキシゾーム誘導試験が実施された。

光学顕微鏡観察では、最高用量投与群の雌雄で肝小葉中心部におけるペルオキ

シゾームの増加が、電子顕微鏡観察では、350 ppm 以上投与群でペルオキシゾームの数及び大きさの用量相関性のある増加が認められたことから、アシフルオルフェンナトリウム塩は弱いペルオキシゾーム増殖剤であることが示唆された。(参照 5)

(2) マウス肝における細胞増殖活性 (S 期反応) 試験

B6C3F1 マウス (一群雌雄各 8 匹) に、アシフルオルフェンナトリウム塩を 3 日間、1 週間又は 2 週間混餌 (原体 : 0、350、1,740、及び 5,210 ppm) 投与して、肝の細胞増殖活性 (S 期反応) 試験が実施された。と殺 1 週間前に、BrdU を容れた浸透圧ミニポンプが皮下に埋植された。

5,210 ppm 投与群の雌雄で、用量相関性のある肝絶対及び比重量増加及び汎小葉性肝細胞肥大が認められた。肝細胞肥大は雄で顕著であり、投与 1 週間後にピークに達した。投与 2 週間後には、最高用量群の雄で単細胞壊死及びアポトーシス細胞の増加が観察された。また、全投与群の雌雄の肝臓において、用量相関性のある有意な BrdU の取り込みが認められた。(参照 5)

(3) マウス肝における酵素誘導試験

B6C3F1 マウス (一群雌雄各 10 匹) に、アシフルオルフェンナトリウム塩を 4 週間混餌 (原体 : 0、350、1,740、及び 5,210 ppm) 投与して、肝の酵素誘導試験が実施された。

350 ppm 以上投与群の雌雄で、ペルオキシゾームの脂肪酸代謝に関与するシアン非感受性パルミトイル CoA オキシダーゼ (PALCoA) 活性の用量相関性のある有意な増加 (雄で 58~576%、雌で 3~707%増加) が認められた。最高用量群では、PALCoA 活性の増加とともに GSH 濃度が減少した (雄で 9%、雌で 15%減少)。(参照 5)

Ⅲ. 食品健康影響評価

農薬「アシフルオルフェン」はポジティブリスト制度導入に伴う暫定基準が設定されており、米国及び豪州が行った評価を基に食品健康影響評価を実施した。

^{14}C 又は ^{13}C で標識したアシフルオルフェンナトリウム塩のラットを用いた動物体内運命試験の結果、経口投与されたアシフルオルフェンナトリウム塩の腸管吸収率は、低用量で 81~95%、高用量で 70~90%であった。臓器及び組織中への蓄積性は認められなかった。血中、尿中及び胆汁中の主要代謝物は B (回収放射能の 90%以上) であり、糞中の主要代謝物は腸内細菌によって代謝されたと考えられる C (59~83%) であった。主要排泄経路は尿中 (47~82% TAR) 及び糞中 (5~41% TAR) であった。

^{14}C で標識したアシフルオルフェンナトリウム塩の稲、らっかせい及びだいずを用いた植物体内運命試験の結果、植物体における主要代謝物は B、C 及び数種類の抱合体であった。

各種毒性試験結果から、アシフルオルフェンナトリウム塩投与による影響は、主に肝臓 (肝細胞肥大等)、腎臓 (腎重量増加、腎炎等)、胃 (潰瘍) 及び血液 (貧血) に認められた。催奇形性、繁殖能に対する影響及び生体において問題となる遺伝毒性は認められなかった。

発がん性試験において、雌雄マウスで肝腫瘍及び前胃乳頭腫の発生頻度増加が認められた。肝腫瘍の発生機序検討試験では、マウスの肝臓においてペルオキシゾームの増加、BrdU の有意な取り込み及び PALCoA 活性増加が認められた。前胃乳頭腫については、本剤がウサギの眼及び皮膚に対して刺激性を有すること、ラット及びマウスで胃潰瘍が認められていることから、本剤の刺激性作用に起因した腫瘍である可能性が高いと考えられた。

以上のことから、マウスにみられたこれらの腫瘍の発生機序は遺伝毒性メカニズムとは考え難く、評価にあたり閾値を設定することは可能であると考えられた。

各種試験結果から、食品の暴露評価対象物質をアシフルオルフェンナトリウム塩 (親化合物)、代謝物 B 及び C と設定した。

各評価機関の評価結果及び各試験における無毒性量等は表 19 に示されている。

食品安全委員会は、各試験で得られた無毒性量のうち最小値がマウスを用いた 2 年間発がん性試験における 1.0 mg/kg 体重/日であったので、これを根拠として、安全係数 100 で除した 0.01 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量 (ADI) と設定した。

ADI	0.01 mg/kg 体重/日
(ADI 設定根拠資料)	発がん性試験
(動物種)	マウス
(期間)	2 年間
(投与方法)	混餌
(無毒性量)	1.0 mg/kg 体重/日
(安全係数)	100

暴露量については、当評価結果を踏まえて暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。

表 19 各評価機関の評価結果及び各試験における無毒性量の比較

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日) ¹⁾		
			米国	豪州 ²⁾	食品安全委員会
ラット	90日間 亜急性 毒性試験	0, 20, 80, 320, 1,250, 2,500, 5,000ppm	32	雄：24 雌：30	雌雄：32
		0, 2, 8, 32, 125, 250, 500 [雄：0, 15, 6.1, 24, 93, 192, 402 雌：0, 1.8, 7.4, 30, 119, 237, 442] ³⁾	RBC 及び Ht 減 少、肝絶対及び比 重量増加等	肝重量増加等	雌雄：肝細胞肥大 等
	2年間 慢性毒性 試験	雄：0, 0.22/40*, 12, 7.1, 51 雌：0, 0.29/58*, 1.6, 9.6, 60	/	9.6 雄：肝細胞肥大 雌：RBC 及び Ht 減少	雄：7.1 雌：9.6 雄：肝細胞肥大 雌：RBC 及び Ht 減少
	2年間 慢性毒性/ 発がん性併 合試験	0, 25, 150, 500, 2,500, 5,000ppm ----- 0, 125, 75, 25, 125, 250 [雄：0, 1.2, 6.9, 23, 123, 268 雌：0, 1.5, 8.8, 30, 154, 297] ³⁾	25 体重増加抑制、肝 絶対及び比重量 増加等 (発がん性は認め られない)	雄：1.2 雌：1.5 雄：心筋変性及び 心筋線維症 雌：胆管線維症 (発がん性は認め られない)	雌雄：25 雌雄：肝比重量増 加、体重増加抑制 等 (発がん性は認め られない)
2世代 繁殖試験	0, 25, 500, 2,500ppm ----- 0, 125, 25, 125 [雄：0, 1.6, 31, 158 雌：0, 1.9, 37, 189] ³⁾	親動物：1.25 児動物：1.25 繁殖能：125 親動物：腎髄質外 層の尿細管拡張 児動物：生存率低 下 (繁殖能に対す る影響は認めら れない)	親動物：1.9 児動物：59 親動物：腎髄質外 層の尿細管拡張 児動物：低体重、 腎盂拡張 (繁殖能に対す る影響は認めら れない)	親動物 雄：25 雌：1.25 児動物：1.25 親動物 雄：体重増加抑制 雌：腎髄質外層の 尿細管拡張 児動物：生存率低 下 (繁殖能に対す る影響は認めら れない)	
	3世代	0, 25, 500, 2,500ppm	/	親動物：125	親動物：125

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日) 1)		
			米国	豪州 2)	食品安全委員会
	繁殖試験	0、13、25、125	/	児動物：1.3 親動物：体重増加抑制、摂餌量減少等 児動物：低体重 (繁殖能に対する影響は認められない)	児動物：1.3 親動物：体重増加抑制、摂餌量減少等 児動物：低体重 (繁殖能に対する影響は認められない)
	発生毒性試験	0、20、90、180	母動物：20 胎児：20 母動物：流涎及び立毛 胎児：低体重等 (催奇形性は認められない)	母動物：20 胎児：20 母動物：臨床所見、体重増加抑制 胎児：低体重等 (催奇形性は認められない)	母動物：20 胎児：20 母動物：流涎及び立毛 胎児：低体重等 (催奇形性は認められない)
マウス	90日間 亜急性 毒性試験	0、20、80、320、1,250、2,500、5,000 ppm	48	雄：49.7 雌：64.8	雌雄：48
		0、3、12、48、188、375、750 [雄：0、3.4、13.5、49.7、213、509、1,200 雌：0、4.1、15.5、64.8、267、620、1,270]③	肝臓の脂肪浸潤	肝重量増加等	雌雄：肝臓の脂肪浸潤等
	18カ月間 発がん性 試験	0、625、1,250、2,500 ppm 雄：0、119、259、655 雌：0、143、313、711	肝絶対及び比重 量増加等 (雌雄で肝腫瘍、前 胃乳頭腫の発生 頻度増加)	体重増加抑制、肝 腫瘍 (雌雄で肝腫瘍、前 胃乳頭腫の発生 頻度増加)	雌雄：— 雌雄：肝絶対及び 比重量増加等 (雌雄で肝腫瘍、前 胃乳頭腫の発生頻 度増加)
	2年間	0、7.5、45、270** ppm	6.75	雄：1.0	雄：1.0

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日) ¹⁾		
			米国	豪州 ²⁾	食品安全委員会
	発がん性 試験	0、1.13、6.75、40.5 [雄:0、10、64、39 雌:0、15、64、39] ³⁾	肝絶対及び比重量増加等 (雌で肝腫瘍発生頻度増加)	雌: 1.5 ALT、AST 及び ALP 増加、肝重量増加、副腎変性、肝臓の増殖性変化等	雌: 1.5 雄: ALP 及び AST 増加等 雌: ALT 増加 (雌で肝腫瘍発生頻度増加)
ウサギ	発生毒性 試験①	0、3、12、36	母動物: 36 胎児: 36 母動物: 毒性所見なし 胎児: 毒性所見なし (催奇形性は認められない)	12 胎児: 低体重 (催奇形性は認められない)	母動物: 36 胎児: 36 母動物: 毒性所見なし 胎児: 毒性所見なし (催奇形性は認められない)
	発生毒性 試験②	0、20、60、180	母動物: 20 胎児: 60 母動物: 食欲不振、抑うつ等 胎児: 全胚吸収 (催奇形性は認められない)	母動物: 60 胎児: 60 母動物の死亡、体重増加抑制、臨床所見及び全胚吸収 (催奇形性は認められない)	母動物: 20 胎児: 60 母動物: 食欲不振、抑うつ等 胎児: 全胚吸収 (催奇形性は認められない)
イヌ	2年間 慢性毒性 試験①	0、20、300、4500 ppm ----- 0、0.5、7.5、113 [雄:0、0.52、7.3、121 雌:0、0.51、8.3、154] ³⁾	7.5 肝絶対及び比重量増加等	雄: 0.52 雌: 8.3 雄: 尿量増加 雌: 肝重量増加等	雌雄: 7.5 雌雄: 肝絶対及び比重量増加等
	2年間 慢性毒性 試験②	0、50、300、5,400 ppm ----- 雄:0、14、75、118 雌:0、13、86、114	/	雄: 7.5 雌: 8.6 体重増加抑制、肝重量増加等	雄: 7.5 雌: 8.6 雌雄: 体重増加抑制、肝重量増加等
ADI (cRfD)			NOAEL: 1.25 UF: 100 cRfD: 0.013	NOEL: 1.0 (マウス) NOEL: 12 (ラット) SF: 100	NOAEL: 1.0 SF: 100 ADI: 0.01

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日) ¹⁾		
			米国	豪州 ²⁾	食品安全委員会
				ADI : 0.01	
	ADI (cRfD) 設定根拠資料		ラット2世代 繁殖試験	<ul style="list-style-type: none"> ・マウス2年間 発がん性試験 ・ラット2年間慢性毒 性/発がん性併合試 験 	マウス2年間 発がん性試験

/: 試験記載なし。

—: 無毒性量は設定できなかった。

NOAEL: 無毒性量 NOEL: 無影響量 LOAEL: 最小毒性量 LOEL: 最小影響量

SF: 安全係数 UF: 不確実係数 ADI: 一日摂取許容量 cRfD: 慢性参照用量

1): 無毒性量欄には、最小毒性量で認められた主な毒性所見を記した。

2): 豪州ではすべて無影響量が示されている。

3): 豪州資料に記載されている検体摂取量。

*: 投与33週以降、用量が雄雌それぞれ40及び58 mg/kg 体重/日に引き上げられた。

** : 投与1~16週までは1.25 ppm、17週以降、270 ppmに引き上げられた。

<別紙 1 : 代謝物/分解物略称>

記号	名称 (略称)	化学名
B	acifluorfen	5-[2-chloro-4-(trifluoromethyl)phenoxy]-2-nitrobenzoic acid
C	acifluorfen amine	5-[2-chloro-4-(trifluoromethyl)phenoxy]-2-aminobenzoic acid
D	acifluorfen acetamide	<i>N</i> -acetyl 5-[2-chloro-4-(trifluoromethyl)phenoxy]-2-aminobenzoic acid
E	descarboxy acifluorfen	
F	acifluorfen methyl ester	methyl 5-[2-chloro-4-(trifluoromethyl)phenoxy]-2-nitrobenzoate
G		2-chloro-4-trifluoromethylphenol
H	抱合体	3-carboxy-4-nitrophenyl thio- β -D-glucopyranoside
I	抱合体	S-(3-carboxy-4-nitrophenyl)-cysteine
J	denitro acifluorfen	

<別紙 2 : 検査値等略称>

略称	名称
ai	有効成分量
Alb	アルブミン
ALP	アルカリホスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)]
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT))]
AUC	薬物濃度曲線下面積
BrdU	5-ブromo-2'-デオキシウリジン
BUN	血液尿素窒素
Chol	コレステロール
C _{max}	最高濃度
CMC	カルボキシメチルセルロース
Cre	クレアチニン
Glob	グロブリン
Glu	グルコース (血糖)
GSH	還元型グルタチオン
Hb	ヘモグロビン (血色素量)
Ht	ヘマトクリット値
LC ₅₀	半数致死濃度
LD ₅₀	半数致死量
LDH	乳酸脱水素酵素
Lym	リンパ球数
MCV	平均赤血球容積
PALCoA	シアン非感受性パルミトイル CoA オキシダーゼ
PLT	血小板数
RBC	赤血球数
T _{1/2}	消失半減期
TAR	総投与 (処理) 放射能
T.Chol	総コレステロール
TG	トリグリセリド
T _{max}	最高濃度到達時間
TP	総蛋白質
UDS	不定期 DNA 合成
WBC	白血球数

<参照>

- 1 食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）の一部を改正する件（平成 17 年 11 月 29 日付け厚生労働省告示第 499 号）
- 2 US EPA : Acifluorfen : Toxicology Chapter for RED. (1999)
- 3 US EPA : Data Evaluation Records (1998、1999)
- 4 US EPA : SODIUM ACIFLUORFEN. HED Chapter for the Reregistration Eligibility Decision Document. (2002)
- 5 US EPA : Mechanism of Toxicity SARC Second Report:Acifluorfen. (2003)
- 6 US EPA : Acifluorfen : Review of Mutagenicity Studies. (1999)
- 7 US EPA : Sodium Acifluorfen: Revised Product and Residue Chemistry Chapters of the Reregistration Eligibility Decision (2001)
- 8 US EPA : Reregistration of sodium acifluorfen for uses on soybeans, peanuts and rice (2000)
- 9 Australia APVMA : Residues Monograph and Toxicology Evaluation Reports for Acifluorfen. (1979~2005)
- 10 食品健康影響評価について（平成 20 年 3 月 11 日付け厚生労働省発食安第 0311001 号）
- 11 INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY : Environmental Health Criteria 104 : Principle for the Toxicological Assessment of Pesticide Residues in Food (1990)