

Organophosphorus Insecticides and Environment. Junshi Miyamoto (Research Department, Pesticide Division, Sumitomo Chemical Co. Ltd., Osaka).

有機リン殺虫剤と環境保全 (1) 宮本純之 (住友化学工業株式会社農薬事業部研究部)

I はじめに

統計の示すところによると、1969年の世界人口は約35億5千万であり、年率1.9%で増加している。この人口増加率が続かぎり、約36年後には世界人口は倍増して70億に達し、地球はこの膨大な人口をかかえて21世紀を迎えることになる。さらに年率1.7%として計算するならば、約650年後の将来には地球上の陸地1平方フィート、約30cm²平方に人間一人という勘定になり、地球上は立錐の余地を残すのみとなる (Princeton University 人口研究所長 Dr. A. コール)¹⁾。この人口爆発はまことに恐るべきもので、人類の将来に暗い影を投げかけ、数多くの解決すべき問題を提起している。その第一のものはこの増大していく人口に対し十分な食糧を供給できるかどうかであって、全人口の5/7が住んでいる開発途上国で、FAOが正常な栄養水準としている1人1日あたり2,400カロリー、蛋白70gを確保するためには、人口の増加を考慮すれば1985年まで年率4%の食糧増産を必要とする²⁾。これが可能であるかどうかはにわかに判断できないが、現在これらの国々の人口の70%が栄養失調か栄養不足の状態にある (毎日約1万人がそれらが原因となって疾病で死亡している—クソン大統領1969年7月、人口に関する教書) 以上、全世界的にみれば少しでも早く多量の食糧確保を可能とする方策を案出しなければならない。

農業生産性の向上にあたって第二次世界大戦後化学農薬が果たしてきた役割については、ここで強調する必要はもはやないと思われる (たとえば昭和37年の統計をとってみても農薬による病虫害防除、除草剤の使用による労働時間の節約による利益は約2,034~3,156億円と見積られ、これは農業収益約1兆3,000億円の約1/5に相当している。一方、防除に要した全費用は約430億円である³⁾。全世界における農薬の生産高は有効成分換算約50万トン (1968年)⁴⁾とされており、米国だけををとってみても1975年には生産額は約30億ドルに達すると推定されている⁵⁾。このように大量の農薬を使用しているにもかかわらず1967年の調査によれば全世界の生産量に比較して、ワタで17.7%、米では実に38.7%、ムギ類で5%、トウモロコシでは約22%、野菜、シュガービート、パレイショでそれぞれ10%前後、サトウキビでは約40%が虫害のみによって失なわれた

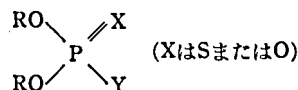
といわれている⁶⁾。したがって、全世界的に農薬を効果的に使用できれば冒頭に述べた世界の食糧問題は一挙に解決できると期待される。

以上の農業用の用途のみでなく合成殺虫剤が公衆衛生面で果たしてきた役割もまたきわめて大きい。WHOのマラリア絶滅計画におけるDDTの使用はこの一例であって、DDTの使用中止によるマラリアの蔓延に較べればDDTの環境汚染は二次的な重要性しかもたないとの論もあるくらいである。

けれども、合成農薬の有用性にもかかわらずまた他方でDDT, BHCをはじめとするいわゆる残留性農薬による環境汚染の危険性についても今やわれわれは十分な注意を払う必要があり、農薬の不適正な使用による環境の破壊や人体に及ぼす悪影響を未然に防止することがますます必要な時点にわれわれは到達している。わが国をはじめいくつかの国々でDDT, BHC、環状ジエン化合物などの有機塩素化合物が農薬としての使用を禁止され、もしくは厳しく制限された現在、われわれは有機リン化合物を主要な一つの柱として新しい病虫害防除体系を確立する必要に迫られている。有機リン化合物は果して人体にとって有機塩素化合物よりもより安全であろうか、また有機リン化合物は環境を汚染することなしに必要な病虫害防除を可能とすることがあるか。ここでは有機リン農薬と総称されている各種の化合物のうちから代表的な殺虫剤をいくつか選び、その哺乳動物における代謝、毒性、植物を含む自然環境下における消長を概観し、その安全性について考察してみたい⁷⁾。

II 哺乳動物における代謝

農薬として実用されている有機リン化合物は一部のものを除いて



の一般式で書きあらわすことができる。これらの化合物は種々の経路で動物の体内にとり入れられると、動物のもつ多くの酵素系の作用をうけ、最終的には解毒、

*1. 有機リン化合物のうちいくつかは殺菌、除草作用をもっているが、ここでは殺虫剤を中心に扱うことにする。

排泄されるが、R, X, Y の構造如何によって動物組織への分布、酵素系による作用のうけ方がすべてとなり、これらの総合されたものがそれぞれの化合物の示す毒性の大小となって現われると考えられる。したがって動物体内における化合物の挙動を明らかにしておくことは、当該化合物による毒性発現の機構を考察するのに必要であり、また代謝の様相如何によって毒性研究の方向を決定しなければならない。動物における代謝の研究が化合物の毒性、安全性を評価するにあたって検討すべきもっとも基礎的な項目の一つである所以はここにある。以下に、いくつかの例をとり有機リン化合物の哺乳動物（とくにことわらない限り動物と記す）における吸収、分布、排泄、代謝経路を概括する。

Trichlorfon (Dipterex)^{*2} は数少ない phosphonate タイプの化合物の一つであるが、それ自身ではコリンエステラーゼ阻害作用をほとんどたず、弱酸性～弱アルカリ性の生理的 pH 条件下で容易に脱塩酸と転位をおこしてコリンエステラーゼの阻害剤である Dichlorvos (DDVP) に変化する^{5,6)}。乳牛に与えた ³²P-trichlorfon はすみやかに分解され尿中に水溶性の分解産物が排泄され、またミルク中には投与した量の0.2%しか分泌されず desmethyltrichlorfon および dimethylphosphoric acid が見出される^{7,8)}。犬では静脈注射した trichlorfon の約55%に相当する trichloroethanol glucuronide が尿中に排泄されてくるが⁹⁾、兎の尿中にはこの化合物は見出されず、リンと塩素を1:2で含む glucuronide (おそらく desmethyl dichlorvos の glucuronide) が分離された¹⁰⁾。小ブタに trichlorfon を皮下注射すると血液中に dichlorvos が検出され、また2つの methyl 基を ¹⁴C で標識した場合には24時間以内に ¹⁴C の60%が呼気、尿中に排泄され、¹⁴CO₂ と ¹⁴C-formate がその半を占めていた¹¹⁾。ラットに ³²P-trichlorfon を腹腔内投与すると、48時間で尿中にその75～85%が見出され、この ³²P は mono-, di-methyl phosphoric acid および未同定化合物の3つに分たれ¹²⁾、またラット尿中からはごく少量の desmethyltrichlorfon, desmethyldichlorvos (投与量の1%程度)のほかPを含んだ抱合体 (trichlorfon の glucuronide?) が見出されている¹³⁾。乳牛の血漿は *in vitro* に trichlorfon から dichlorvos, desmethyltrichlorfon, dimethylphosphoric acid を与え¹⁴⁾、また ¹⁴C-trichlorfon はラット脳ホモジネートで monodesmethyl 体, didesmethyl 体, monomethylphosphate に変化する¹⁵⁾。

Butonate は各種の哺乳動物中で dimethylphosph-

oric acid を生成し、*in vitro* に血液中で少量の脱メチル体の存在が報告されている¹⁷⁾。P-C結合は一般に酵素的加水分解をうけにくいとされているが (たとえば butonate→trichlorfon→dichlorvos→dimethylphosphoric acid の経路も否定できない)、これらの結果からみると、trichlorfon, butonate 分子中の P-C結合の開裂がある種の動物ではおこっている可能性がある。

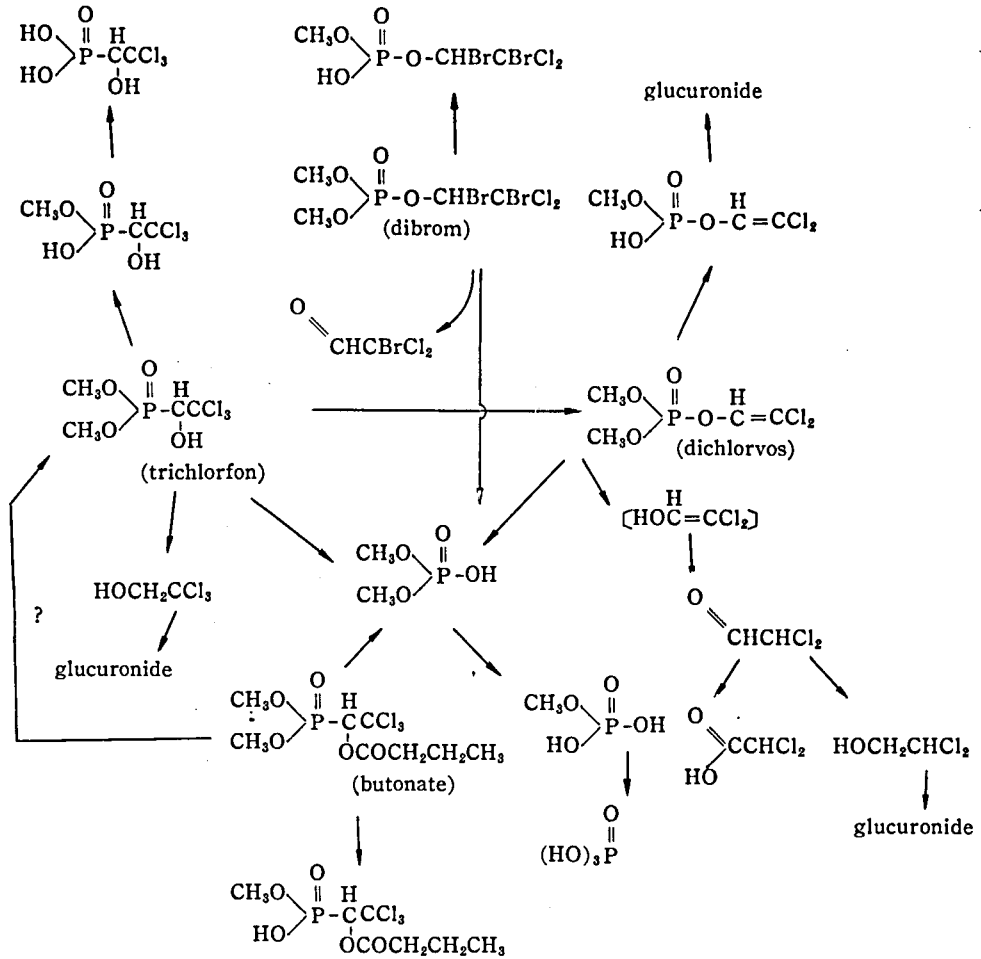
Dichlorvos (DDVP) は¹⁸⁻²⁰⁾、ラット、兎の肝、腎、脾、副腎のホモジネートで主として (50～80%) dimethylphosphoric acid に分解され、のこりは desmethyldichlorvos, monomethylphosphate, 無機リンであり、血漿中ではほとんど dimethylphosphoric acid のみになる。ラット肝臓の supernatant fraction は dichlorvos を dichloroacetaldehyde, および少量の dichloroacetic acid に変え、前者はアルコール脱水素酵素によって dichloroethanol に還元され、さらにその glucuronide となる。このような経路は *in vivo* にもラット、牛、山羊で見出されている。経皮的に乳牛に dichlorvos を与えると、ミルク中の含量は最高で1 ppm、6～8時間後には0.005 ppmに低下した¹⁹⁾。

さらに乳牛に経口投与した ³²P-dibrom の血中における消長は dichlorvos とほとんど同じであり、尿中には ³²P-代謝産物として排泄され、それらは無機リン, mono-, dimethylphosphoric acid, desmethyldichlorvos, dichlorvos, dichloroacetaldehyde, dichlorobromoacetaldehyde と推定されている^{20,21)}。

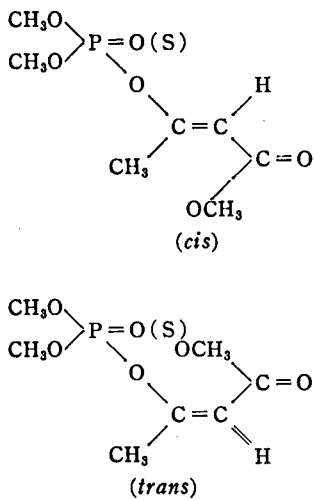
以上の一連の化合物、すなわち trichlorfon, butonate, dichlorvos, dibrom の動物における推定代謝経路を図示すると第1図のようである。

³²P で標識した mevinphos (phosdrin) を乳牛に経口投与すると血中の ³²P の濃度は2～4時間で最高となり、24時間後には放射能はほとんど検出されなくなる。一方3日間で投与量の77% (尿に約50%, 糞中に約25%) が排泄され、その半は12時間ですでに尿中に見出されている。尿中からは dimethylphosphoric acid が証明され、糞中には加水分解物のみが見出された²²⁾。mevinphos を乳牛、山羊、ヒトの血漿と孵置すると dimethylphosphoric acid が生成する²³⁾。マウス肝ホモジネートは還元型グルタチオンの存在下で *cis*-mevinphos からは desmethyl 体と S-methylglutathione を生成するのに対し、*trans* 体からは dimethylphosphoric acid を生じ^{23,24)}、*cis*, *trans* 体では体内における代謝に相違があることを予想させる。このような差異は *thio*-mevinphos でさらに顕著である。すなわち *cis* 体 (マウス経口 LD₅₀ 43mg/kg) はマウス肝臓切片で容易に酸化され oxygen analog (P=S

*2. 化合物の名称、化学名は末尾にまとめた。

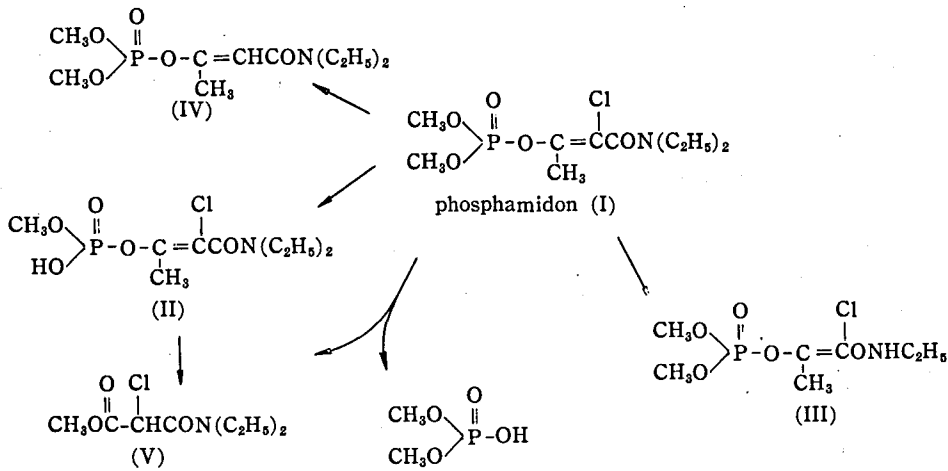


第1図 trichlorfon, butonate, dichlorvos, dibrom の代謝経路

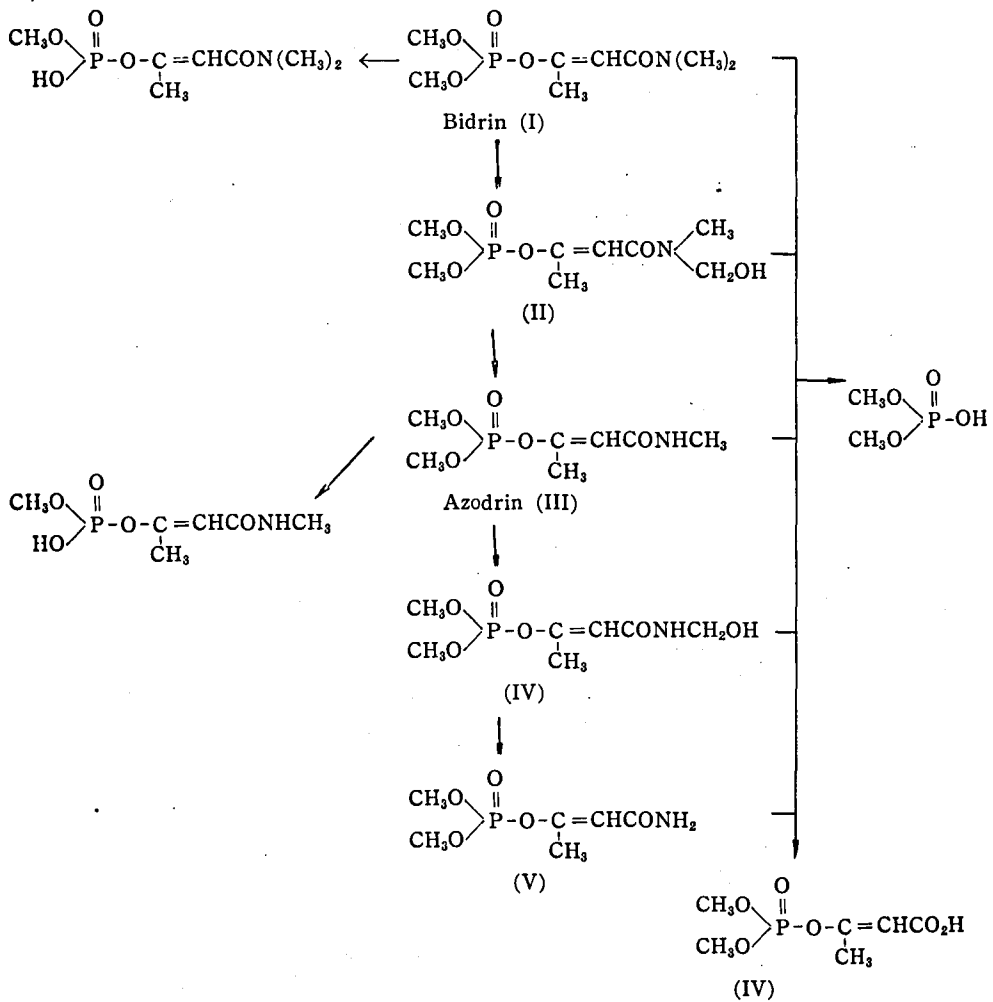


→P=O) になるのに対し, *trans*体 (LD₅₀ 930 mg/kg) は oxygen analog に変らず, この活性化速度の差が毒性の差になっていると推定される²⁶⁾.

これに対し phosphamidon の *cis*, *trans* 体の biological half-life は同程度にみじかくラットに ³²P 標識 *cis*, *trans* 体を腹腔内投与し 4 日にわたって尿, 糞を集めてみるといずれの isomer もその約60%が24時間以内に尿中に排泄され, 少量の *O*-desmethyl 体と無機リンのほかはそのほとんどが dimethylphosphoric acid であった²⁶⁾. またラット, 山羊に ³²P-もしくは *N*, *N*-α-diethylamide-¹⁴C で標識した phosphamidon を経口投与すると dimethylphosphoric acid 以外に 9 個の代謝産物が現出され, そのうちには *N*-desethylphosphamidon (III), deschlorophosphamidon amide (IV), α-chloro-*N*, *N*-diethylacetoacetamide (V) などが証明された. またミルク中には



第2図 phosphamidon の代謝経路



第3図 Bidrin, Azodrin の代謝経路

desethyl体を除く他の代謝産物が検出されたが、最高でも $<0.02\text{ppm}$ であった²⁷⁾。以上の同定されたもののほかその構造からみて phosphamidon からは分子中の *N*-ethyl 基の部分酸化物の生成が予想され、これらが未同定のものの中に含まれているのであろう。

phosphamidon と似た構造をもつ Bidrin® は代謝産物中の Azodrin® もまた農薬として使用されている特異な例である。³²P-Bidrin をラットに腹腔内投与すると²⁸⁾、24時間以内に83%が排泄され、hydroxymethyl bidrin (II), *N*-methyl bidrin analog (III) (Azodrin) などの酸化生成物や、*O*-desmethyl bidrin, bidrin acid (VI), dimethyl-, monomethylphosphoric acid などが検出された。ラットに ³²P-Bidrin を経口投与した場合には^{29,30)}63~71%の ³²P が48時間以内に (大半は6時間までに) 尿中に見出され、II, Azodrin の *N*-hydroxymethylamide analog (IV) が見出され、また ³²P-Azodrin からは IV, 非置換アミド (V), VI のほかは *O*-desmethylazodrin, dimethylphosphoric acid が主な代謝産物であった。犬、マウス、ラット、兎、山羊などではこのような代謝産

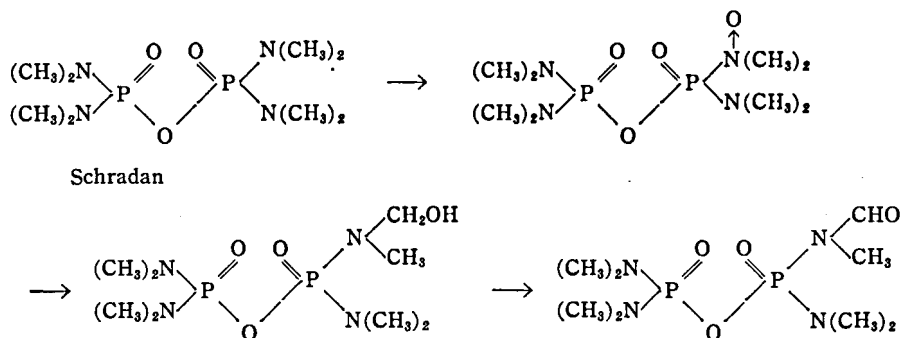
物の割合や代謝速度がことなるようであって、山羊に ³²P- もしくは *N*-methyl-¹⁴C-Bidrin を経口投与すると尿中に多量の放射能が見出されるが Bidrin, Azodrin, IV, V はごくわずかである。ミルク中での ³²P のうち有機溶媒可溶のものは Azodrin のみであり、痕跡量の II, V 以外は *N,N*-dimethylacetoacetamide, *N*-methylacetoacetamide, 3-hydroxy *N,N*-dimethylbutyramide などは存在せず、大半の ¹⁴C は未同定である²⁹⁾。このような代謝産物のうちには、生理活性を保持しているものもある²⁹⁾ (第1表)。

Schradan (OMPA) もまた動物体内で *N*-CH₃ の酸化を受けることが知られている。Schradan 自身はコリンエステラーゼ阻害作用をもたず、動物体内でコリンエステラーゼの強い阻害剤に変わることが知られており^{31,32)}、以下に示すように *N*-oxide を生成し、ついで *N*-methylol, *N*-formyl 体を経て代謝されると推定されている³³⁻³⁵⁾。

Dimethoate は、ラットで oxygen analog, dimethoate acid (*S*-acetic acid analog), *O*-desmethyl-dimethoate, dimethylphosphorodithioate, dimeth-

第1表 Bidrin および代謝産物の生理活性

	pI_{50} (家 蠅 コリンエステラーゼ) mol. ccnc.	LD_{50} (マウス) mg/kg	LD_{50} (家 蠅) mg/kg
$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{O} \quad \text{O} \\ \diagdown \quad \parallel \\ \text{P} - \text{O} - \text{C} = \text{CHCON}(\text{CH}_3)_2 \\ \diagup \quad \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3\text{O} \end{array}$ (Bidrin)	7.2	14	38
II $\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \diagup \\ -\text{N} \\ \diagdown \\ \text{CH}_3 \end{array}$	7.0	18	14
III (Azodrin) $-\text{NHCH}_3$	6.8	8	6.4
IV $-\text{NHCH}_2\text{OH}$	6.9	12	30
V $-\text{NH}_2$	6.5	3	1.0

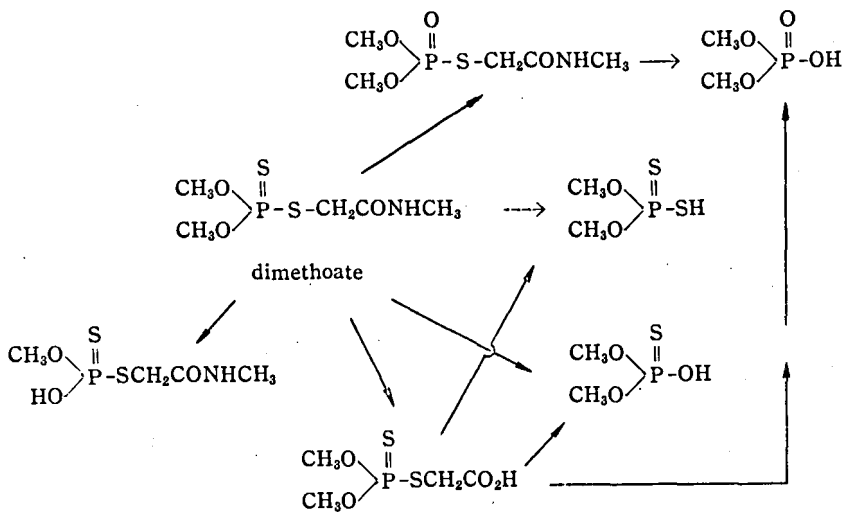


第4図 Schradan の代謝経路

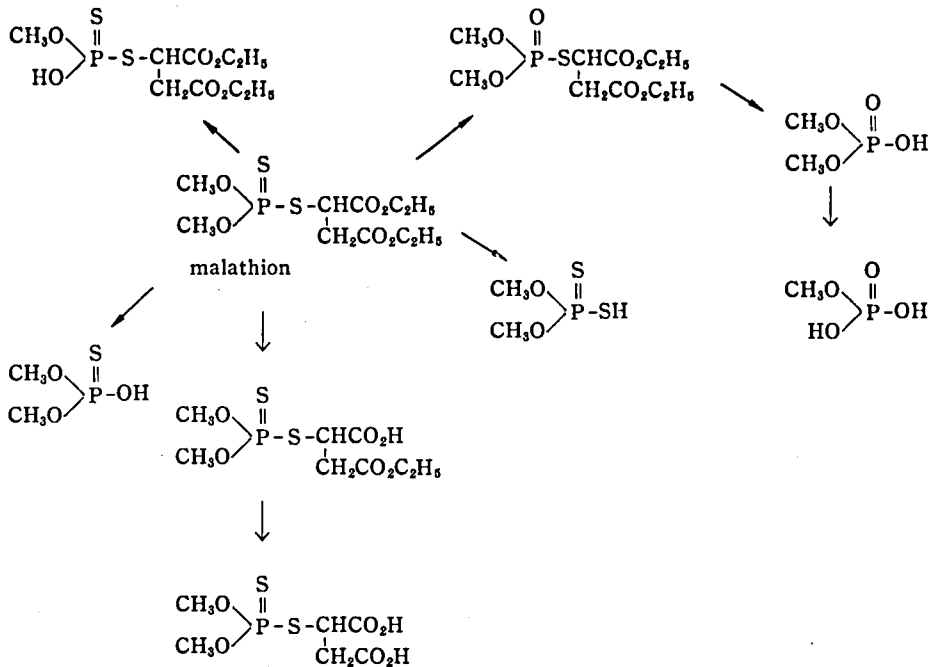
ylphosphorothioate, dimethylphosphoric acid などに代謝され、また dimethoate acid を与えると dimethylphosphorodithioate, dimethylphosphorothioate, dimethylphosphoric acid を生ずることが、多くの研究の結果明らかになっている³⁷⁻⁴¹⁾。牛においても dimethoate の代謝産物として尿中から dimethoate acid, *O*-desmethyldimethoate, dimethylphosphoric acid, dimethylphosphorodithioic acid, dimethylphosphorothioic acid が見だされており、34の組織のうち肝、腎、などに³²P, および dimethoate がもっとも多く含まれていた^{38,42)}。同じような結果は羊についてもえられており⁴³⁾、また乳牛に経皮的に与えると血中には dimethoate 以外に, oxygen analog (dimethoxon), dimethoate acid, *O*-desmethyl dimethoate などが見られ、ミルク中には少量の dimethoxon, dimethylphosphoro(di)thioate, およびおそらく *O*-desmethyl 体と思われる化合物が検出されている⁴⁴⁾。in vitro にはラットの肝ホモジネートは至適 pH 8 で dimethoate を分解し、生成物は dimethylphosphorothioic acid がもっとも多く、次いで dimethylphosphorodithioic acid, desmethyldimethoate であり、少量の dimethoate acid も検出されている⁴⁵⁾。ラットでは他の組織に比べ肝臓がもっとも分解能が高く、各動物種間では、肝臓の dimethoate 分解作用は兎>羊>犬>ラット>牛>モルモット>マウス>豚の順であって、この順序は dimethoate の毒性のつよさとよく一致する⁴⁶⁾。また羊では amidase 活性がつよく分解物は100% dimethoate acid であるのに対し、モルモットでは dimethylphosphorodithioic acid が100%であり、しかも羊、ラットの amidase

は microsome に含まれていると報告されている⁴⁶⁾。ヒト肝臓のホモジネートにおいても amidase による分解経路が存在し、11の肝臓試料のうち8例までについてこの経路による分解がほぼ50~100%を占めた⁴⁷⁾。

Malathion の動物における分解は carboxyesterase, phosphatase タイプ反応によって行なわれる⁴⁸⁻⁵³⁾。たとえば malathion を与えた乳牛の尿中からは malathion monoacid が主な代謝産物として証明され、malathion diacid は時間の経過とともに次第にふえてくる。その他に desmethylmalathion も見だされる。一方糞中には malaaxon, dimethylphosphorothioic acid, dimethylphosphoric acid などが存在する。犬、ラットでは血中で malaaxon が検出され、尿中へは malathion-monoacid, -diacid や monomethylphosphoric acid, dimethylphosphoric acid, dimethylphosphorothioic acid となって排泄される、ethyl-1, 2-¹⁴C malathion をラットに与えるとその83%の¹⁴C が24時間以内に尿中に見出され¹⁴CO₂ は非常に少なく、また各組織や血液中の¹⁴C 濃度は低い⁵⁴⁾。malathion を経口投与した際の尿中代謝産物に占める malathion monoacid, diacid の比率は、それぞれ、牛で63%, 17%, ラットで12%, 48%, 犬で40%, 12%であって carboxyesterase による経路が主であることが明らかである。各種の esterase のうち horse serum cholinesterase, pancreatic lipase は malathion を余り分解せず、ラット肝の aliesterase は malathion を monoacid に分解する^{55,56)}。ここで生じた malathion monoacid は, *O*, *O*-dimethyl *S*-(1-carboxy-2-carboethoxy)ethyl phosphorodithioate (α-mono acid) であることがラット尿より精製し



第5図 Dimethoate の代謝経路



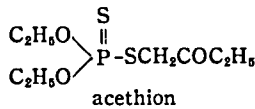
第6図 Malathion の代謝経路

た mono acid の NMR スペクトルから確認されている⁵⁷⁾。ヒトの肝ホモジネートでも carboxyesterase タイプの分解が中心で他の分解様式、たとえば脱メチル化は5%、P-S、S-Cの開裂はそれぞれ1, 0.5%程度である⁵⁸⁾。

Acethion も malathion と同じく carboxyesterase による分解を主としてうけると

$$\begin{array}{c} \text{C}_2\text{H}_5\text{O} \\ \text{C}_2\text{H}_5\text{O} \end{array} \text{P} \begin{array}{c} \text{S} \\ \parallel \\ \text{S-CH}_2\text{COC}_2\text{H}_5 \end{array}$$

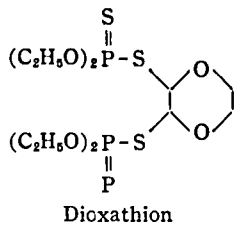
acethion



考えられる。マウス肝ホモジネートで acethion は acethion acid に変り、他には少量の diethylphosphorodithioic acid, *O*-desethyl 体を与えるのみであり、マウスに注射した acethion の ^{32}P の 77~88% は 0.5 時間でクロロフォルム不溶性に変わっていた³⁹⁾。

Malathion, dimethoate の例でみられるように phosphorodithioate の加水分解は P-S, S-C 結合の双方で行なわれる。同様に dioxathion も、牛に経口、経皮的に与えたとすみやかに分解され血中濃度は 12 時間以内に最高となり尿中に分解物として排泄されてくるが、ラット尿中でも ^{32}P のほとんどが分解産物であって, diethylphosphorothioate が 83

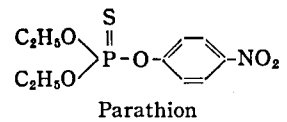
Dioxathion



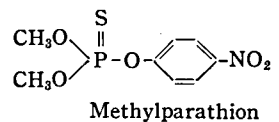
%を占め, diethylphosphorodithioate は11%, diethylphosphate は6%であった^{60, 61)}.

Parathion および methylparathion はわが国では急性毒性がつよいめすでに使用を禁止されているが、低廉であり、殺虫スペクトルも広くその効力が卓越していることなどの理由で米国をはじめ諸外国では依然として使用されている。これらの化合物は代表的な有機リン化合物としてその研究例は枚挙にいとまがなく、現在でも学問的には一つの標準化合物たる位置を失っていない。

Parathion



主として ^{32}P -para-
thion, -methylparat-
hion を用いたラット
マウス, モルモット,



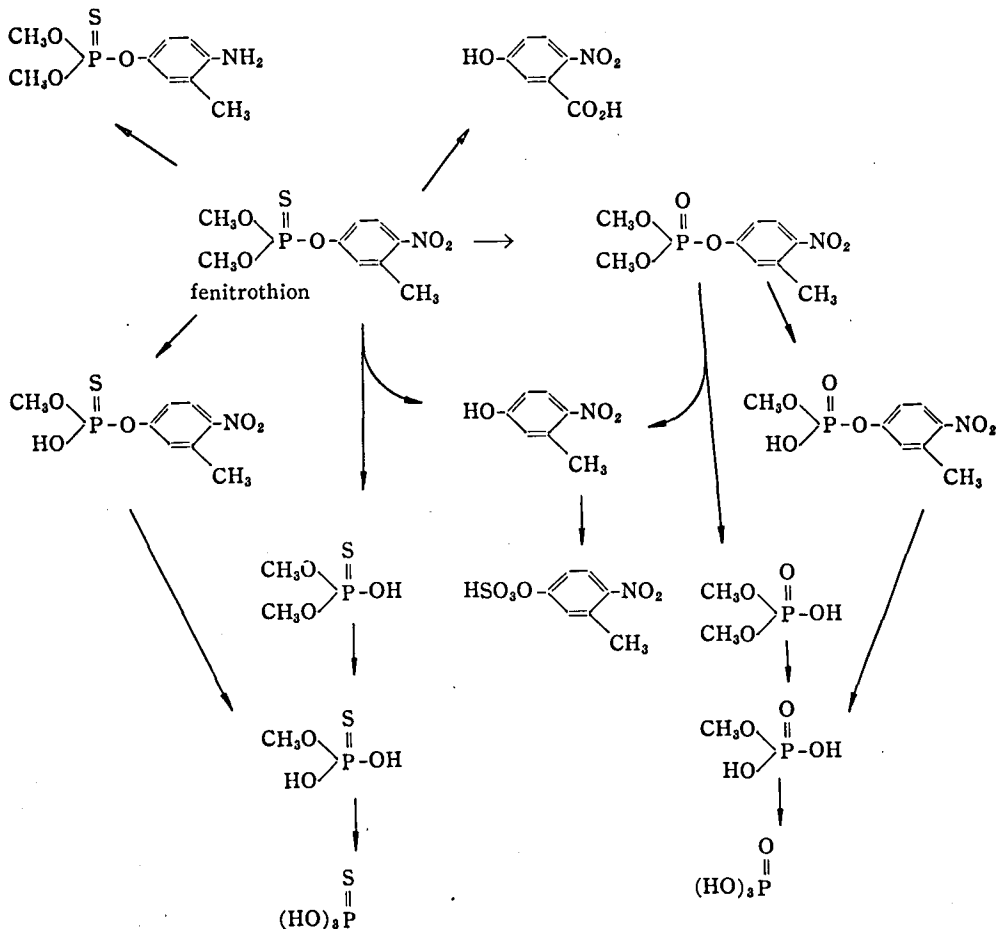
兎、ヒトなどでの *in vivo* における実験によると^{82-84,86)} これらの化合物はすみやかに体内に吸収され、その一部は oxygen analog に変化するが, parathions, oxons いずれもまた急速に分解され ³²P は事実上完全に、主として尿に排泄される。尿中には parathions, oxons 類は見出されず, *p*-nitrophenol, desethyl (desmethyl) 体, diethyl (dimethyl) phosphorothioic acid, diethyl (dimethyl) phosphoric acid などが証明され

ている。また *in vitro* においても parathion(methylparathion) は肝臓などのホモジネートで、とくに NADPH_2 と O_2 の共存下において oxygen analog を生成し^{78, 85)}、またはほぼ同じ条件下で *p*-nitrophenol と diethyl(dimethyl)phosphoric acid に開裂する。血清や肝臓などには paraoxon 類を加水分解する酵素が含まれており^{86, 90)}、また肝臓よりえた supernatant fraction はグルタチオン共存下に methylparathion を脱メチル化する^{85, 91, 92)}。Parathion を牛の rumen fluid と孵置すると、paraoxon, aminoparathion, aminoparaoxon の生成がみとめられ、また牛では尿中に *p*-aminophenol の抱合体が見出されている^{93, 95)}。Parathion, EPN は *in vitro* にラット、マウス、モルモットの nitroreductase によって amino analog に還元され、この酵素活性のつよさは肝>腎>脾>心>肺>血球>血漿=0 の順である。また中間体として

nitroso, hydroxylamino 体が推定されるが、これらの存在は確認されていない⁹⁶⁾。*in vivo* には上に述べたように parathion や EPN の amino analog への還元は反芻動物を除いてほとんどおこらないと考えられる。

Methylparathion の *p*-nitro 基を *p*-cyano 基で置換した Cyanox[®]- ^{14}C もまたラットに経口投与するとすみやかに体内へ吸収され、ほぼ3日間で ^{14}C の90%は尿中へ、10%は糞中へ排泄され、 $^{14}\text{CO}_2$ の放出はない。体

内では Cyanox から Cyanoxon が生成しており尿中代謝産物は desmethylcyanox (尿中 ^{14}C の23%), desmethylcyanoxon (12%) *p*-cyanophenol (25%) およびその硫酸抱合体(40%)であり *p*-cyanophenyl-



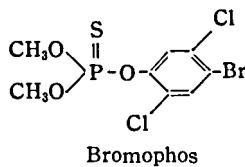
第7図 Fenitrothion の代謝経路

glucuronide は見出されなかった⁹⁷⁾。

Fenitrothion (Sumithion[®]) を ³²P で標識してラット、モルモット、マウスに経口投与すると ³²P は腸管からすみやかに吸収され体内に分布するが、3～4日後にはほぼ完全に排泄され、その大半は尿に見出される。尿中には desmethylfenitrothion, desmethylfenitrooxon, dimethylphosphorothioic acid, dimethylphosphoric acid, monomethylphosphorothioic acid, monomethylphosphoric acid, 無機リンなどがみとめられる^{72,74,76,98)}。ラット、モルモットでは *in vivo* に fenitrooxon の生成が証明され⁷⁴⁾、フェノール側成分としては *p*-nitroresol およびその硫酸抱合体が主であるが、それ以外に少量の 3-carboxy-4-nitrophenol がみとめられる^{99,100)}。 *in vitro* にも上に述べた代謝産物の多くの生成を証明することができる^{71,85,90-92)}。

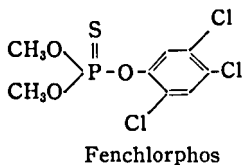
Fenitrothion も他の多くの有機リン化合物と同じく体内に蓄積しない。ラットに3カ月にわたって 250 ppm の fenitrothion 含有飼料を与えたのちも、脳、肝、腎、筋肉、脂肪に残留はみとめられず¹⁰¹⁾、fenitrothion 散布後の牧草地に放牧した牛の脂肪、肉中には痕跡量の fenitrothion が、また7日間にわたって fenitrothion を継続投与した乳牛よりのミルク中には最高 0.003 ppm の fenitrothion, aminofenitrothion が一時的に見出されたのみであった^{102,103)}。ミルク中の aminofenitrothion は parathion の場合と同様 rumen 中の微生物による還元によって生成したものと考えられる。

Bromophos (³²P-, フェノール側 ³H-) もまたラットの腸管からよく吸収、分解され、24時間で排泄はほぼ終了し、³²P の大半、³H のほとんどすべてが尿に見出される。組織への蓄積はない。フ



ェノール部分は尿、糞中に sulfate-, glucuronide-conjugate として存在し、尿中にはその他に、無機リン、dimethylphosphoric acid, desmethylbromophos, dichlorobromophenol, 2個の未同定物質 (うち1個は ³²P と ³H を含む) が見出される。尿中には bromophos, bromoxon, desmethylbromoxon は検出されなかった¹⁰⁴⁾。

Fenchlorphos (Ronn-el) をラット、牛に与えると投与後すみやかに排泄され、牛の尿中からは desmethyl 体が見出される。牛に7日間にわたって Fenchlorphos を 18mg/kg

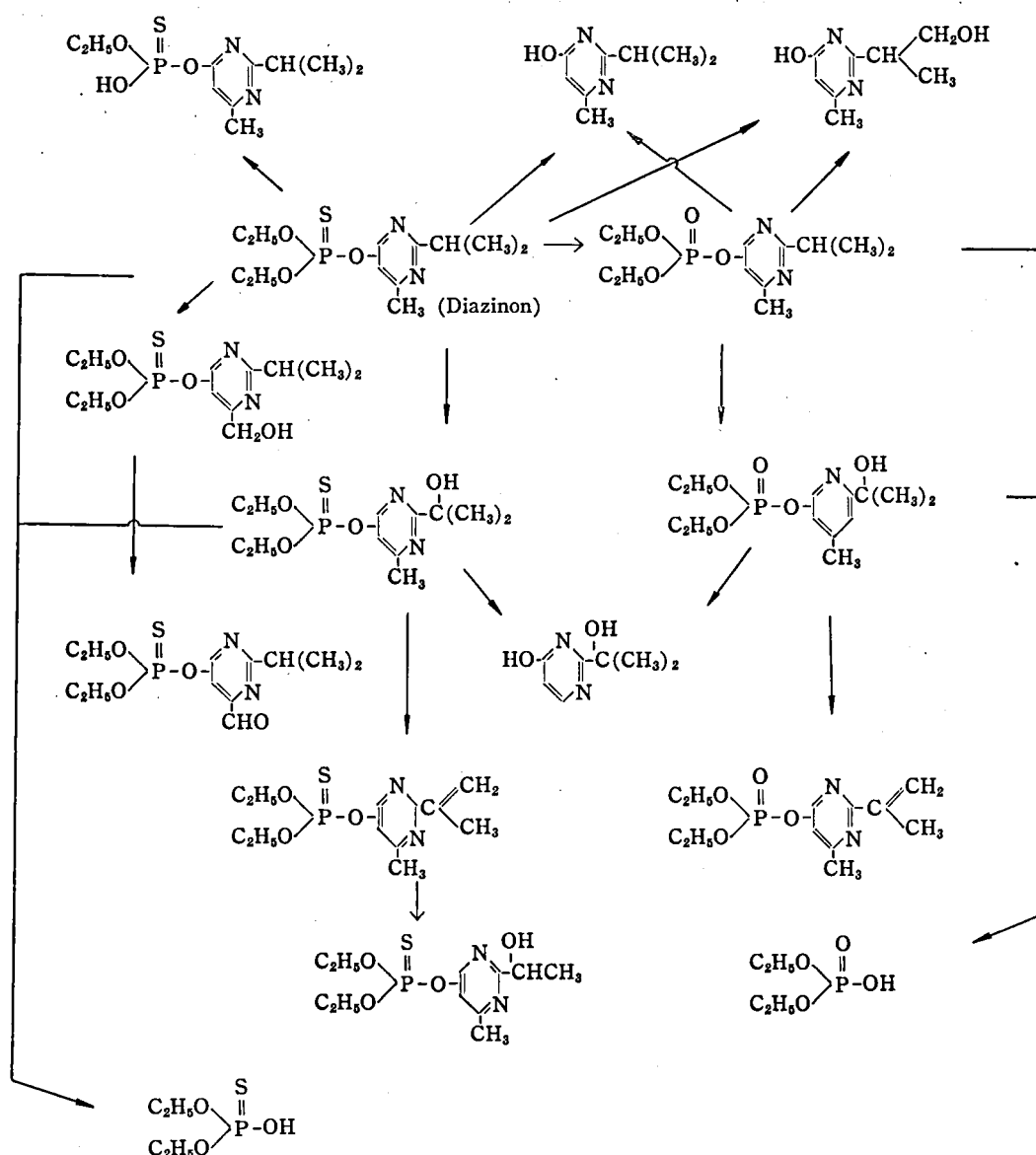


/day の割合で与えても、投与終了3日後には血中濃度は 0.01～0.05 ppm に低下した¹⁰⁵⁾。

Dursban を乳牛に経口投与すると糞中には未分解の dursban が検出されるが、尿、ミルク中には存在せず、尿中での代謝産物は diethylphosphorothioic acid, diethylphosphoric acid であった¹⁰⁶⁾。また牛に3回噴霧すると脂肪中には最高 2 ppm の dursban および痕跡量の oxygen analog が見出されるがいずれも経時的に減少する¹⁰⁷⁾。ラットに ³⁶Cl-dursban を経口投与すると、放射能の90%は尿中に排泄され (18時間で66%, 50時間で88%), のこりは糞に見出され、³⁶Cl の half life は臓器で10～16時間、脂肪ではややおそく62時間であった。尿中には 3, 5, 6-trichloro-2-pyridylphosphate (75～80%), 3, 5, 6-trichloro-2-pyridinol (15～20%) が存在し、他に痕跡量の dursban が検出された¹⁰⁸⁾。

Diazinon-³²P を牛に経口投与すると吸収はすみやかであり、36時間までに ³²P の74%が尿中に排泄され¹⁰⁹⁾、diethylphosphoric acid, 無機リンがみとめられた。また diazinon を噴霧した乳牛のミルク中には12時間後で 0.28 ppm, 3日後には 0.03 ppm の残留がみとめられた¹¹⁰⁾。ラットに pyrimidine ring-¹⁴C, もしくは ethoxy-¹⁴C diazinon を経口投与すると前者では12時間で、後者では7時間で $\frac{1}{2}$ が (168時間では90～98%) 排泄され、うち65～80%は尿中に回収され、ethoxy-¹⁴C も呼気中にはわずか (<6%) しか放出されない。糞中にもみわずかに diazinon が検出され、尿中の4つの代謝産物のうち、2-isopropyl-4-methyl-6-hydroxypyrimidine および isopropyl の1級および3級炭素の水酸化物が同定され、この3者で投与量の70%を占めていた¹¹¹⁾。またラット肝 microsome は O₂, NADPH₂ 存在下で diazinon から diazoxon と diethylphosphorothioate を生ずる¹¹²⁾。マウスでも diazinon は diazoxon を与え³⁹⁾、また ³²P および pyrimidine-3-¹⁴C 標識 diazinon はマウスの尿中にクロロホルム可溶で P-O-C (pyrimidine) 結合を保有し、pyrimidine 側鎖アルキルの酸化された数多くの代謝産物として排泄されてくる。これらのうちphosphate タイプのものは diazoxon に近いコリンエステラーゼ阻害作用を示す¹¹³⁾。

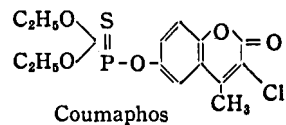
Imidan を牛に経皮的に与えると7日間でその9.6%が排泄され、大半 (8%) は尿に見出される。主な代謝産物は phthalamic acid, phthalic acid であり、benzoic acid の存在も推定された¹¹⁴⁾。ラットでは投与量の79%が尿中に、19%が糞中に排泄され、約2.6%が (phthalimide-carbonyl-¹⁴C の) 組織中に残って

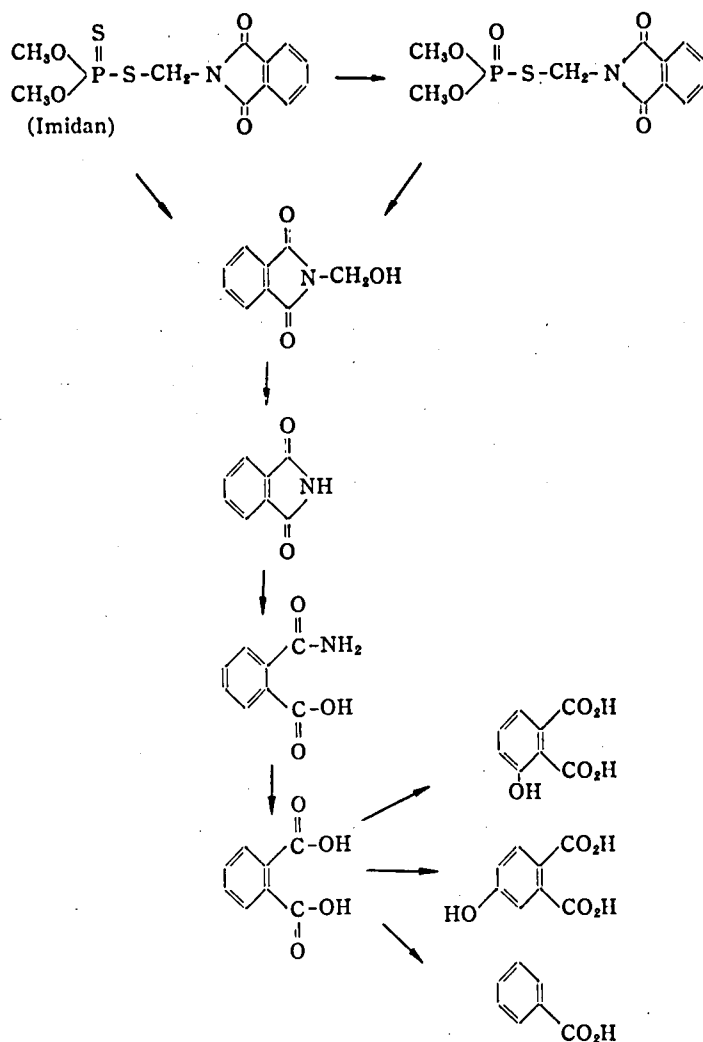


第8図 Diazinon の代謝経路

いた¹¹⁸⁾。ラットの尿中代謝産物のうち98%は benzene /H₂O の分配で水層にのこり, phthalic acid, phthalamic acid¹¹⁹⁾ のほかに 8 個の未同定の化合物がみいだされた。一方 benzene 中には imidoxon, *N*-hydroxymethylphthalimide, phthalimide が存在し、両層の代謝産物は酸性加水分解で phthalic acid, 3-および 4-hydroxyphthalic acid を与えた。糞中には imidan, imidoxon が見出され、糞の水層を加水分解するとすべての代謝産物は phthalamic acid に変わった¹¹⁶⁾。

Coumaphos (Coral) を経口的にラットに与えると ^{32}P の尿中への排泄は早く、糞中には ^{32}P は比較的少ない^{117,118)}。尿、糞中の ^{32}P はほとんど水溶性であるがごくわずかながら Coumaphos および oxygen analog がみいださる。尿中では diethylphosphorothioic acid が大半を占め、のこりは diethylphosphoric acid, monoethylphosphoric acid および少量の desethyl-

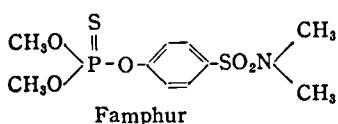




第9図 Imidan の代謝経路

coumaphos, desethyloxycoumaphos からなっていた。乳牛、牛、山羊に coumaphos を経皮的に与えると、血中組織内の濃度は低く、ミルク中にはまれに痕跡量の coumaphos および oxygen analog が見出され、尿中の³²Pのほとんどは水溶性の化合物であった¹¹⁹⁻¹²¹⁾。乳牛の糞中には脱 Cl 体が少量検出された¹²²⁾。

Famphur を ring-³H で標識してマウスに与えると Famphur 以外に famoxon, *N*-desmethylfamphur



が見出され、羊、山羊でも ³H-famphur から famo-

oxon のほかに、*O*-desmethyl 体、*O*, *N*-bis desmethyl 体、2種類の glucuronide、*p*-hydroxybenzenesulfonic acid およびおそらく mono-, di-methylsulfamoylphenylsulfate の生成がみとめられた。またラットでの主な代謝産物は dimethylsulfamoylphenylglucuronide であり、ほかに *O*, *N*-bis desmethylfamphur, methylsulfamoylphenylglucuronide, *p*-hydroxybenzenesulfonic acid などが存在した^{123,124)}。したがって Famphur においても *O*-脱メチル、*N*-脱メチル化や脱アミノ反応がおこっていると推定される。

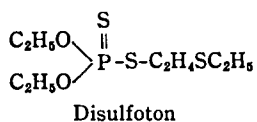
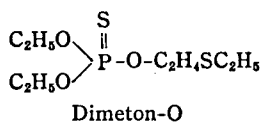
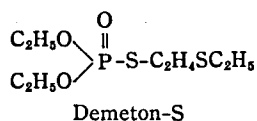
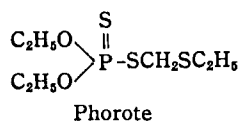
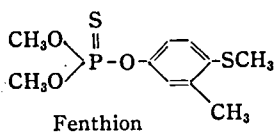
Fenthion (Baycid®) を ³²P で標識して乳牛に経皮的に、もしくは筋肉注射によって与えると、尿中には oxygen analog のほかに、fenthion および oxygen

analog それぞれの sulfoxide, sulfone が 見出しされ、また dimethylphosphorothioic acid, dimethylphosphoric acid, desmethylfenthion も検出された。糞の中にも同じような化合物が見出されている。食用に供する各組織中にもこれらの残留がみつめられたが、うち dimethylphosphorothioic acid が主な分解産物であった¹²⁶⁾。

³²P-fenthion をラットに与えた場合にも dimethylphosphorothioic acid, dimethylphosphoric acid が尿、糞中の主要な分解産物であるが、尿、糞のクロロフォルム抽出液 (³²P として 1~4%) 中には、fenthion のほかに、fenthion, oxygen analog それぞれの sulfoxide, sulfone が検出されている¹²⁶⁾。

このようなチオエーテルの酸化は、phorate, demeton, disulfoton などの場合にもみられる。

Phorate (Thimet)-³²P をラットに経口投与すると、³²P の尿、糞への排泄は投与量によってことなるが、2 日間の尿中では diethylphosphorothioic acid が 80% を占め、ついで diethylphosphoric acid (17%)、のこりは diethylphosphorodithioic acid であった。ラット肝臓切片では *in vitro* に phorate から phorate および phoratoxon の sulfoxide, sulfone の生成がみつめられ、加水分解物はほとん



どない¹²⁷⁾。また乳牛に ³²P-phorate を経口投与すると、尿中には最初 diethylphosphorothioic acid が排泄され、ついで diethylphosphoric acid が増加してくるが、diethylphosphorodithioic acid もいくらか認められる。糞中に投与後初期にみられる酸化物は主として phorate の sulfoxide, sulfone である¹²⁷⁾。

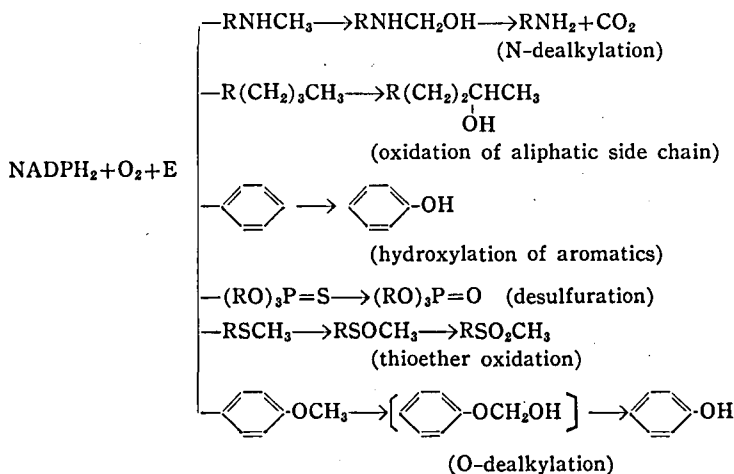
Disulfoton (Di-syston) をラットに腹腔内投与し肝臓中を検べてみると、disulfoton sulfoxide, sulfone, oxygen analog の sulfoxide, sulfone などが見出される。これに対し尿中には加水分解物のみが存在していた¹²⁸⁾。

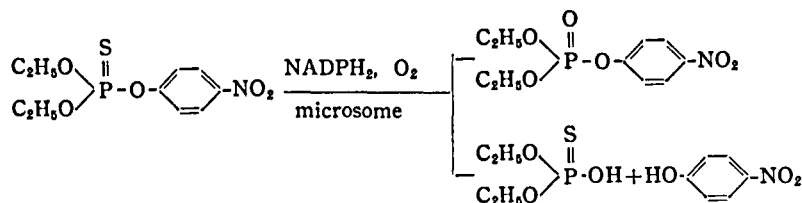
Demeton (Systox) もマウス体内で 2-ethylthioether 部分が sulfoxide, sulfone へ酸化されることが知られている¹²⁹⁾。以上のような sulfoxide, sulfone は多かれ少なかれ生理活性を有している。

このように見てくると、動物体内にとり入れられた有機リン化合物はさきわめて短時間に体外に排泄され、特定の組織に長く貯留することはないと考えてよい。また有機リン化合物の動物体内における代謝経路はいくつかの類型に大別することができることが知られる。その一つは他の多くの化合物の場合と同様種々のタイプの酸化反応であって、この反応は、たとえば肝臓 microsome に含まれるいわゆる薬物代謝酵素によっていとなまれる。この薬物代謝酵素系は mixed function oxidase の一種であり、P-450 とよばれる特殊な hemoprotein を含み、NADPH₂ と O₂ の存在下に次の諸反応を触媒する¹³⁰⁻¹³³⁾。

すでに述べた有機リン化合物の代謝経路のうち mixed function oxidase によって触媒されることが明らかなもの、もしくはそのように推定されるものを要約すれば次のようである。

N-dealkylation ; Bidrin, Azodrin, Schradan, Famphur など





side chain oxidation ; Diazinon, Fenitrothion など

hydroxylation of aromatics ; Imidan など
desulfuration ; すべての phosphorothioate から
の oxygen analog の生成

thioether oxidation ; Fenthion, Phorate, Disulfoton, Demeton など

O-dealkylation ; O, O-diethyl 体から desethyl 体の生成

(O, O-dimethyl 体の脱メチル反応を除く)

これ以外に, mixed function oxidase によっていとなまれる興味深い反応は, phosphorothioate の開裂による diethylphosphorothioic acid, dimethylphosphorothioic acid の生成である。かつてこの反応はある種の phosphatase によって触媒されていると考えられていたが, 現在ではこの見かけ加水分解的な開裂を触媒する酵素は肝(主として)の microsome に存在し, NADPH₂ と O₂ を要求することが明らかにされている^{81-85, 112}。

Dahm ら¹³⁴ は phenobarbital, 3-methylcholanthrene などラットに与えて薬物代謝酵素を誘起し, KH₂PO₄ でこの酵素を可溶化したのちカラムクロマトグラフィー, 硫酸分割で40~50倍まで精製したが, 各精製 step で oxygen analog の生成/phosphorothioate の分解の比は変らなかったと述べている。けれども Yamamoto ら¹³⁵ の ¹⁸O₂ を用いた実験によればこの両反応における O₂ の関与の仕方は異なっているようである。

これに対し phosphorate の加水分解による diethylphosphoric acid, dimethylphosphoric acid の生成は加水分解的に行なわれる。この酵素は phosphotriesterase とよばれるべきであろうが, 血清中には少なくとも2種類の aliesterase が存在し^{86, 87} (*p*-nitrophenyl acetate を基質とする), うち A-esterase とよばれる酵素は paraoxon を分解して *p*-nitrophenol を生成するのに対し, B-esterase は低濃度の paraoxon で阻害される。血清中の A-esterase 活性は兎でいちろしく高く, ついでフェレット>羊>ラット>モルモット>山羊>ヒト>馬>マウスの順であるが⁸⁷, この酵素は血清中のみでなく他の組織にも存

在する。たとえばラットでは肝>脾>血清>腎>心>筋の順となる⁸⁷。ラット肝には paraoxon を分解する酵素が4種含まれていると報告されており⁸⁸, 各組織の phosphotriesterase については一層の検討が必要であろうと考えられる。

O-dealkylation のうち脱メチル反応はラット, マウスなどの肝臓 supernatant fraction に含まれる酵素によって触媒されており脱離したメチル基は還元型 glutathione に転移され, S-methylglutathione を生成することが明らかになっている^{23, 24, 89, 91, 92, 98}。すでに述べた *in vivo* における多くの desmethyl 体の生成はほとんどすべてこの酵素によって触媒されているとみなされる。これに対し, O, O-diethyl 型の化合物からの desethyl 体の生成は, 上述した glutathione への転移反応ではなく, むしろ microsome にある mixed function oxidase によると考えた方がよく, この際エチル基はアセトアルデヒドとして遊離される¹³⁶。

このようにして各化合物は生体内であるいは活性化され, または解毒される。このような metabolic attack の大小によって決定される活性型の体内における寿命の長短が, 活性型それ自身のもつ *in vivo* におけるコリンエステラーゼとの相互作用の大小と相俟って最終的に有機リン化合物の毒性の大小を大きく支配することになるのである。

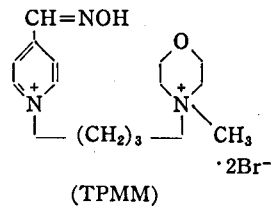
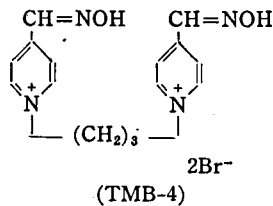
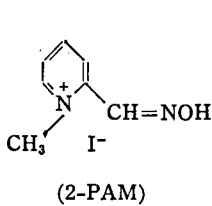
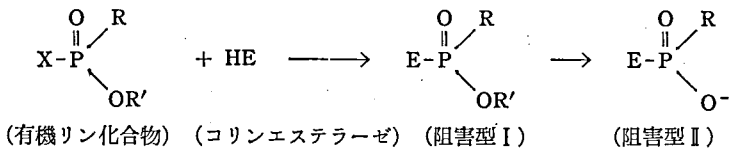
III 有機リン化合物の毒性

1. 中毒機構

有機リン化合物による中毒の機構は比較的明らかにされている。すなわち体内にとり入れられた有機リン化合物はいわゆるコリン作能性神経系の末端接合部(シナプス)より分泌されたアセチルコリンを分解するコリンエステラーゼに結合し, この酵素の正常な働きを阻害する作用を有しているコリンエステラーゼ(cholinesterase)には脊椎動物の中樞神経灰白質, 自律神経節, 赤血球や昆虫頭部に存在しアセチルコリンエステラーゼ, 特異的コリンエステラーゼ, true cholinesterase などとよばれ, 上に述べたような生理作用を示すものと, 中樞神経灰白質, 心筋, 肝, 血漿などに含まれ, その生理的意義が必ずしも明らかでない

pseudo-cholinesterase とに大別される。有機リン化合物が体内でこれらの酵素の作用を抑えると、アセチルコリンの蓄積を来し、ムスカリン様の副交感神経症状たとえば縮瞳、胃、小腸の運動昂進、膀胱括約筋の弛緩、発汗、ニコチン様の筋症状（れん縮、けいれ

ん、筋麻痺）、一部の交感神経症状（血圧上昇、頻脈）、中枢神経症状（頭痛、めまい、重症になるにつれ意識混濁、言語障害、昏睡）が現われ、動物は呼吸中枢麻痺で死亡する。有機リン化合物によるコリンエステラーゼ阻害を模式的に書けば、



ここで生じたリン酸化された酵素 I の一部は徐々に加水分解されて正常な活性をもつ酵素 (HE) を再生する。しかしこの再生は比較的ゆっくり行なわれるのが普通であり、通常数日～十数日を要する。PAM, TMB-4, TPMM などの化合物は I の脱リン酸を促進する化合物であって、これらの化合物によってコリンエステラーゼは再賦活され、動物は中毒から回復する。PAM などが有機リン中毒の治療薬として用いられる理由は PAM のこの作用による。けれどもリン酸化された酵素 I はまた他方でさらに脱アルキル化を受け阻害型 II になる。この速度はアルキル基のタイプ (R') や R に依存した組織、コリンエステラーゼの種類によってまちまちであるが、II はもはや PAM によって再賦活を受けにくい。臨床的には PAM 以外に、アセチルコリンに拮抗するアトロピンも有機リン中毒の治療に用いられる。

有機リン化合物はコリンエステラーゼ阻害作用をもつ以外にトリアセチン、トリブチリン、酢酸フェニールなどを加水分解するアリエステラーゼのある種のものや、キモトリプシン、トリプシンなどの蛋白分解酵素の阻害剤でもある。また上記の中毒機構は、急性のかつ典型的なものであって、とくに長期間大量の有機リン化合物に接触した場合には生体のこうむる二次、三次的影響も無視するわけにはいかないであろう。

この節に関する詳細については他の綜説、成書を参照されたい¹³⁷⁻¹⁴²⁾。

ところですでに述べたように phosphorothioate は動物体内で酸化的に脱イオウ化され phosphorate (oxygen analog) を生成するが、*in vitro* においては精

製した phosphorothioate のコリンエステラーゼ阻害作用は phosphorate のそれに比し通常 1,000～10,000 倍弱く、中毒症状を併せ考えるならば、phosphorothioate による中毒は動物体内において生成した phosphorate によって惹き起されるとみなしてよい。

2. 急性毒性

有機リン化合物との接触によって急性的に生ずる中毒の危険性の大小をはかる尺度として動物実験による急性値が用いられる。毒性値 (通常 LD₅₀, mg/kg で示す) は動物の種類、その系統、性、年令、実験環境、実験条件、試料の純度などによってさまざまであり、毒性値をそのまま比較することは余り意味をもたない。また農薬の製造や散布に従事する作業者の安全のためには LD₅₀ よりもむしろ LD₁、最小致死量 (minimum lethal dose) や最大耐量 (maximum tolerated dose) の方を重視すべきであり、また経口毒性とならんで経皮毒性や吸入毒性の強さを知ることがのぞましい。第 2 表にはほぼ同一の条件で試験された各種有機リン化合物のラットに対する経口、経皮毒性の値を掲げておく¹⁴³⁾。またラット以外の動物に対する急性経口毒性値を主として WHO/FAO joint meeting の報告書¹⁴⁴⁻¹⁴⁹⁾からひろってみる (第 3 表)。

第 2, 3 表に示されるように有機リン化合物の毒性は TEPP のように著しく強いものから malathion, bromophos, Abate のように比較的弱いものまでである。また有機リン化合物は腸管から比較的容易に吸収されるものが多いので、一般には経口毒性の方が経皮毒性よりも強く表われる。また吸入毒性についてはこれまで余り多く検討されていないが、今後はさらに多

第2表 有機リン化合物のラットにおける急性経口、経皮毒性値*

化 合 物	経		口		経		皮	
	LD ₅₀ , mg/kg		LD ₅₀ , mg/kg		LD ₅₀ , mg/kg		LD ₅₀ , mg/kg	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
TEPP	1.1	—	0.6	—	2.4	—	1.7	—
Phorate	2.3	1.1	1.0	0.5	6.2	2.5	2.0	1.7
Mevinphos	6.1	3.7	3.4	1.5	4.7	4.2	3.4	1.7
Demeton	6.2	2.5	3.0	1.6	14	8.2	5.4	6.6
Thionazin	6.4	3.5	3.0	1.8	17	11	5.0	4.3
Disulfoton	6.8	2.3	3.4	0.7	15	6.0	8.5	2.6
Schradan	9.1	42	6.3	15	15	44	6.3	1.7
Azinphosmethyl	13	11	6.8	6.0	220	220	94	94
Parathion	13	3.6	5.4	2.2	21	6.8	2.6	3.0
Methylparathion	14	24	5.3	12	67	67	49	46
Chlorfenvinphos	15	13	5.0	8.0	31	30	20	13
Azodrin	17	20	12	9.8	126	112	83	66
Bidrin	21	16	8.2	9.3	43	42	22	23
Phosphamidon	24	24	6.6	6.6	143	107	55	38
Carbophenothion	30	10	12	1.9	54	27	18	12
EPN	36	7.7	19	4.0	230	25	74	11
Coumaphos	41	16	19	11	860	—	520	—
Dioxathion	43	23	23	11	235	63	72	22
Oxydemetonmethyl	47	52	24	26	173	158	90	120
Ethion	65	27	27	16	245	62	100	34
Dichlorvos	80	56	32	26	107	75	53	24
Methyltrithion	98	120	40	57	215	190	108	85
Diazinon**	108	76	51	41	200	—	75	—
Diazinon	250	285	160	200	900	455	285	205
Ciodrin	110	74	55	42	375	202	200	130
Imidan	113	160	68	88	>2,000	1,550	—	70
Dursban	155	82	68	38	202	—	118	—
Fenthion	215	245	95	115	330	330	120	120
Dimethoate	215	245	120	120	610	610	250	200
DEF	233	150	117	66	360	168	154	58
Dibrom	250	—	130	—	800	—	200	—
Phostox	350	265	177	160	480	500	290	370
Dicaptan	400	330	222	150	790	1,250	235	360
Trichlorfon	630	500	360	210	>2,000	>2,000	—	—
Cruformate	635	460	175	1,300	>5,000	>5,000	—	—
Fenitrothion	740	570	310	220	300~400	300~400	—	—
Chlorthion	880	980	720	570	1,500~ 4,500	4,100	—	2,020
Menazon	1,020	1,450	520	615	>2,000	>2,000	—	—
Gardona	1,100	1,115	290	660	>4,000	>4,000	—	—
Fenchlorphos	1,250	2,630	175	1,300	>5,000	>5,000	—	—
Malathion	1,375	1,000	785	480	>4,444	>4,444	—	—
Merphos	1,475	910	610	215	690	615	355	460
Bromophos	1,600	1,730	630	700	>5,000	>5,000	—	—
Abate	8,600	13,000	3,250	5,500	>4,000	>4,000	—	—

* データーを経口 LD₅₀ (♂) の小さいものの順にならべかえ、若干の化合物を省いた。

** Diazinon は batch のことになったもの2つについて行なった。

第3表 2, 3の動物に対する有機リン化合物の急性経口毒性¹⁴⁴⁻¹⁴⁹⁾

化 合 物	経口 LD ₅₀ mg/kg				
	ラット	マウス	モルモット	ウサギ	犬
Azinphosmethyl	11~25	8(♂)	80	—	—
Chlorthion	1, 250	625~1, 100	—	—	—
Coumaphos	35(♂)	55	160(♂)	—	—
Cruformate	950(♂)	—	1, 100	490	>1, 000(♂)
Cyanox ¹⁵⁰⁾	580(♂)	820, 1, 250(♂)	—	—	—
Demeton	—	2.5~14(tech.)	—	—	—
	—	7.5~30(Demeton O)	—	—	—
	—	1.5~16.2(")	—	—	—
Dichlorvos	73	124	—	—	—
Diazinon	108(♂)	82(♂)	—	—	—
Dimethoate (pure)	500~600(♂)	60	550	500	—
Dioxathion	43(♂)	176(♂)	—	—	—
Ethion	65(♂)	69	—	—	—
Fenchlorphos	1, 740	2, 140(♀)	3, 140	640	>500
Fenthion ¹⁵¹⁾	313(♂)	150(♂)	260(♂)	150~175(♂)	—
Fenitrothion	570(♂)	1, 336(♂)	500(♂)	1, 850	>681 ¹⁵⁰⁾
Mevinphos	3.7~6.8	4.3~6.8	—	—	—
Malathion (99%)	3, 300~4, 060	4, 700~5, 843	—	—	—
	2, 700~3, 320	1, 400~1, 845	—	—	—
Methylparathion	14(♂)	32, 150	—	420, 1, 270	—
Parathion	5~30(♂)	6~25	9.3~32	10	3.5~5*
Phosphamidon	7~20	13	—	—	—
Salithion ¹⁵⁰⁾	82, 125(♂)	82(♂)	—	—	—
Surecide ¹⁵⁰⁾	71, 89(♂)	43, 55(♂)	—	—	—

* lethal dose

くのデータのつかさねが必要であらう。またこれらの動物のデータから人間に対する毒性のつよさを推定するのは困難なことが多いが、数種の動物に対して一様につよいものは人間に対しても強い毒性をもつと考えるべきであり、また動物に対して低毒性の化合物であるからといって接触の機会を不必要に多くもってよいというわけではない。人間に対する毒性については後に若干言及することにする。

3. 亜急性（短期）～慢性（長期）毒性

一つの化合物をある期間連続して与えた場合には急性毒性とはことなつた中毒症状を呈することがあり、また1回投与の際には見逃していた影響を観察できることもある。農薬のように農作物、酪農製品に残留して unintentional にかなり長期間にわたって人間に摂取されうる化合物の場合には長期間にわたる動物実験によって最大安全量を確認しておくことが必須である。とくに発癌性のような比較的晩発性の障害を当該化合物が惹きおこす可能性の有無を知るためには動物の一

生涯に近い期間にわたる摂食試験を行なう必要がある。このような観点から WHO をはじめ諸外国では、2種類（以上）の動物たとえばラットのごときげっ歯類と犬などの非げっ歯類を用いた、2年間にわたる摂食試験を要望しあるいは義務づけている。（もっとも犬の2年間にわたる試験は発癌性試験としては短かすぎるとして最近ではラット、マウス、ハムスターなどのげっ歯類の2種類を用いて2年間の摂食試験を行ない、犬については6カ月もしくは1年に期間を短縮しようとする考え方がでてきている）このような長期間にわたる試験の予備段階として、また一定期間の連続投与による毒性の蓄積効果をみるため1~3カ月にわたる実験を行なうことが多く、このような試験を短期（亜急性）毒性試験とよんでいる。（以上は単に経口投与の場合のみでなく経皮、吸入毒性についてもあてはまる考え方であり必要に応じてたとえば長期の吸入毒性試験を行なうこともある。）

第4表にいくつかの有機リン化合物の短期摂食毒性

第4表 有機リン化合物の摂食による短期毒性

化 合 物	動 物 種	期 間 (週)	無 量 ppm	響 量* mg/kg/day	文 献
Azinphosmethyl	ラット	9	< 5		148)
Azinphosmethyl	犬	12	20		148)
Chlorthion	ラット	17	<10		145)
Coumaphos	ラット	12	<10		148)
Coumaphos	犬	12	10		148)
Crufomate	ラット	12	30		152)
Crufomate	犬	10	125		152)
Cyanox	ラット	12	10		153)
Diazinon	ラット	16	5		154)
Demeton	ラット	16	1		155)
Demeton	犬	24		0.025	156)
Dioxathion	ラット	13	3		148)
Dioxathion	犬	12		0.075	157)
Ethion	ラット	13	10		148)
Ethion	犬	12		0.25	148)
Fenitrothion	ラット	12	32		101)
Fenitrothion	犬	12		2	150)
Malathion	ラット	8	100		158)
Methylparathion	犬	12	5		145)
Mevinphos	ラット	12	1.1~1.3		145)
Mevinphos	犬	14	1		159)
Mevinphos	牛			0.026	22)
Oxydemeton-methyl	犬	12	10		147)
Parathion	ラット	12	0.5		145)
Parathion	犬	24	< 1		145)
Phosphamidon	ラット	12	2		146)
Salithion	ラット	12	3		160)
Surecide	ラット	12	5		161)

* 飼料中の含量 ppm もしくは1日の摂取量 mg/体重 kg で表わす。

試験の結果を要約した。有機リン化合物のこのような試験の際にもっとも敏感に表われる影響はコリンエステラーゼの阻害であり第3表における無影響量 (no effect level) はコリンエステラーゼに対しても無影響な投与量である。

2年間にわたる長期の feeding test は念入りな予備実験にもとずいて慎重に行う必要があることはもちろんであるが、結果に誤りなきを期するため (個体差を最小にするため) 十分な動物数を用いて実験をスタートすることが大切である。たとえば犬の2年間の実験においては最近では各群♂6、♀6を用いるのが普通である。実験のすすめ方、検査項目などには目的により、また各研究者で若干の差異がみとめられるが、米国 FDA の guide line にもとづくラットの発癌性

を含む2年間の feeding test のデザインを参考までに以下に掲げる¹⁶²⁾。

1. 動物のグルーピング

		動 物 数	
グループ	1 (negative control)	♂ 60	♀ 60
	2 (positive control)	40	40
	3 (被検化合物投与群)	60	60
	4 (被検化合物投与群)	60	60
	5 (被検化合物投与群)	60	60
		♂ 280	♀ 280

飼料は

グループ No.1 ; 基礎飼料のみ

No.2 ; 既知の発癌性物質を含む

No.3 ; 低濃度の被検化合物を含む

No. 4; 最高許容量の $\frac{1}{2}$ の被検化合物を含む

No. 5; 最高許容量の被検化合物を含む

ここで最高許容量とは、8週間の予備実験によって動物の体重増加が対照群に比し20%減となるような化合物の濃度である。飼料は1週間に一度新たにつくりなおし、飼料、水は自由に摂取させる。

〔著者註〕 場合によってはもう1群ふやし、4つの化合物群でスタートするのがのぞましい。

2. 観 察 項 目

1) 各動物の体重、飼料摂取量は最初の26週間は週1回、次の26週は2週間に1回、その後は4週間に1回測定する。同じ間隔で各動物は触診によって腫瘍の有無を調べる。また外見、挙動、中毒症状の有無を毎日観察する。実験中死亡もしくは死亡寸前となったラットは解剖に付する。

2) 臨 床 検 査

対照群およびすべての実験群についても♂5、♀5をえらび次の検査を行なう。

グループ No. 1, No. 3

血液検査; 52週および104週において

ヘマトクリット、ヘモグロビン、赤血球、白血球、白血球分類

生化学検査; 同じく52週および104週において

血糖、尿素態窒素、血清蛋白 (電気泳動による蛋白分割を含む)、ビリルビン、アルブミン、Na, K, Cl, CO₂, GOT, GPT, アルカリホスファターゼ

尿検査; 同じく52週および104週において

pH, 比重, 糖, ケトン体, 蛋白, ビリルビン, 沈渣
グループ No. 2, No. 4, No. 5

血液検査; 上記に同じ。

〔著者註〕 これらのグループについても生化学検査、尿検査を行なうのがのぞましい。

3. 中 間 屠 殺

各群♂10、♀10を26週および52週に解剖する

4. 104週経過後生きのこった全動物を解剖する。

イ. 甲状腺、心臓、肝、脾、腎、副腎、睪丸を秤量する。

ロ. すべての組織にみとめられる腫瘍を秤量、計測し、外見を観察する。

ハ. 各動物から次の組織をとりだし10%中性ホルマリンに保存する。脳、脳下垂体、眼、胸部脊髓、肺、心、肝、食道、脾、腎、副腎、胃、膵、小腸、大腸、リンパ節、膀胱、睪丸、精巣、摂護腺 (子宮、卵巣) 皮膚、肋骨接合部、骨髓、神経 (筋肉つき) 腫瘍、その他の肉眼による病変部。動物体ののこりの部分も同様に保存する。

ニ. No. 1, No. 5 のすべての動物の上記摘出部分および他のグループの肝、腎および正常でない部分を病

理組織学的に観察する。

5. 有機リン化合物の場合は、0, 2, 4, 6, 8, 13, 26, 52, 78, 104週において♂5、♀5の (血液) コリンエステラーゼを測定する。

〔著者註〕 けっ歯類2年の試験は主として病理組織学的検索を行なうものであり、したがってコリンエステラーゼの測定は行なわないという考え方もある。

以上の試験によって被検化合物のラットに対する発癌性を含む悪影響の有無を検索することができる。マウス、ハムスターを用いる実験デザインも大要は同一である。ここで注意すべきは、もっとも重要な病理組織学的検索が十分行なえる動物組織についての経験豊富な練達の病理学者が世界的に不足していることであって、このような病理学者の協力がなければこの種の試験を成功裡に行なうことは不可能である。また実験に供するラットは生後4~6週のもので、2年後の生存率は60~70%であることを要する。

一般に1種もしくは2種の動物においてかなりの高濃度である化合物が腫瘍発生率を有意に増加させたとしても、その結果をただちに人間にあてはめることができるほどわれわれの知識が現在十分でない以上、このことからただちに低濃度でその化合物を人間が摂取した場合にも発癌するということはできないであろう。したがってこのような場合にはさらに動物種をかえた試験のみでなく、累代にわたる発癌性試験や、他化合物との相互作用の研究、種々の動物種における該化合物の代謝の比較研究などを通じて人間に対する影響をできるだけ詳しくすることが必要である。また実際面では人間に潜在的に発癌性をもつこのような化合物は、その使用禁止によってただちに公衆衛生に大きくマイナスとなり、さらに発癌性のないことが十分に明らかであるような化合物によって代替できない場合をのぞき使用をさしひかえるべきであろう。

なお動植物における代謝研究、ならびに食品の残留分析によって見出される代謝産物についてもその性質、残留量の大小によっては必要に応じここで記した長期の毒性試験や以下に述べる特殊な毒性試験研究を行なうべきは当然である。

さて、これまでに報告されている有機リン化合物の長期毒性試験の例は必ずしも多くなく、またすでに述べたデザインからみれば動物数、観察項目にやや欠けるものも見うけられるが、以下に若干の例を示すことにする。

Azinphosmethyl⁽¹⁴⁸⁾; ♂40、♀40のラットに2.5, 5, 20, 50 (最初の47週、ついで100 ppm) ppm の azinphosmethyl を2年間にわたって与えた。100ppm では流涎、尿路失禁、眼球突出、運動失調、筋のれん縮がみられたが、死亡率、摂食量、体重増加、尿検査、

血液検査などでは対照群と差はなかった。♂では ≥ 20 ppm で、♀では最高レベルのみで実験期間を通じて血漿、血球コリンエステラーゼの低下があり、5 ppm では、♀とも途中から活性の回復がみられた。脳コリンエステラーゼ活性の低下は、♂、♀とも最高レベルのみでみられた。病理組織学的には azinphosmethyl の肺瘍発生を疑わせる所見はなかった。

各群♂4、♀4よりなる犬4群に azinphosmethyl を含む飼料を2年にわたって与えた。最高の300 ppm では中毒症状、飼料摂取量の減少が観察された。血球コリンエステラーゼは20 ppm 群ではやや、また最低の5 ppm 群ではわずかに低下した。その他の点、血液検査、臨床検査、尿検査、臓器重量/体重の比、肉眼的顕微鏡的検索では異常がなかった。

Bromophos¹⁶³⁾ ; ♂、♀計10もしくは11匹を1群としてラットに87.5, 175, 350 mg/kg/day を2年にわたって与え、16, 20, 24カ月後に血球、血漿の、また24カ月後には脳、肝臓のコリンエステラーゼをも測定した。血漿、肝では3グループを通じて阻害はそれぞれ80%, 73~79%と投与量とほとんど関係なく、また血球では最低レベルで23%, 最高レベルで47%の阻害がみとめられた。脳では24カ月で62~79%の活性低下が観察された。25 mg/kg の一回投与で、bromophos は脳、血漿、血球コリンエステラーゼを20~30%阻害するところを見ると、ラットは bromophos の連続投与によく耐える。一方各群6~7匹の犬(♂、♀)に11.0, 43.75, 87.5, 175 mg/kg/day を2年間にわたって与えたところ投与量に比例してコリンエステラーゼはつよく阻害され、最低の投与量でも血漿、血球で約30%, 脳では約50%の阻害がみられた。

Chlorfenvinphos¹⁶⁴⁾ ; 生後28日の♂、♀ラット各30匹を1群として2年にわたって0, 10, 30, 100, 300 ppm の割合で1, 4, 13, 26, 52, 78, 104週にコリンエステラーゼ測定を行なった。100, 300 ppm では体重の増加抑制傾向がみられたが、経過中および最終時における血液、尿には異常なく、また臓器重量、各臓器に chlorfenvinphos によるとみられる悪影響はなかった。血漿、血球コリンエステラーゼは4~13週でもっとも強く阻害され、実験終了時に近づくにつれてやや回復がみられるが、最終的には♂では30 ppm 以上で、♀では10 ppm でも阻害がみとめられた。また犬に2年間にわたって30, 200, 1,000 ppm の割合で与え、0, 1, 4, 8, 12週ついで3カ月毎にコリンエステラーゼを測定したところ1,000 ppm 投与群の血球にのみ有意の活性低下があった。BSP 排泄テスト、GOT、アルカリホスファターゼ、血糖には異常なく、また臓器重量も対照群と変わらない。ラット、犬を通じて chlorfenvinphos による腫瘍発生の可能性はない。

Coumaphos¹⁶⁵⁾ ; ラット、犬いずれも2年間でコリンエステラーゼに影響のないレベルはそれぞれ5 ppm, 2 ppm であった。

Crufomate¹⁶⁶⁾ ; 犬2年間の投与で20 ppm ではコリンエステラーゼに変化なく、200 ppm では血漿、血球の酵素活性が若干低下する。ラットの脳コリンエステラーゼは1,000 ppm 2年の投与で38~50%低下するがそれ以下(100 ppm)では対照群と変らず、♂の血液コリンエステラーゼに対する no effect level は100 ppm (血漿)、40 ppm (血球)、♀ではそれぞれ40 ppm, 60 ppm であった。1,000 ppm では後肢筋肉の萎縮、坐骨神経のよわい変性、睪丸重量の減少がみられた。

Diazinon ; 0.05 mg/kg/day を2年間サルに与えてもコリンエステラーゼに影響ないが、それ以上(>0.5 mg/kg/day)では投与量に相関して活性低下がある¹⁶⁶⁾。

ビーグル犬、ミニブタにそれぞれ0, 2.5, 5, 10, 20 mg/kg/day もしくは0, 1.25, 2.5, 10 mg/kg/day の diazinon を8カ月にわたって与えたところいずれも高い2つのレベルで cholinergic な症状が観察され、最高レベルでは30日以内に大半が死亡した。その骨髓球系/赤血球系の比はイスで100/1、ブタでは $\geq 3.4/1$ であった。血液検査では異常はなかったが対照に比し血清 amylase, lactic dehydrogenase, ornithine carbamyl transferase 活性の増大がみられ、試験終了後肉眼的には最高の2レベルで犬のいくらかに腸壁の肥厚が、ブタでは十二指腸の潰瘍、肝の硬化がみとめられた。病理組織学的には肝の硬度、腸管の出血が高レベルで頻度高く、また睪丸の萎縮がみうけられた¹⁶⁶⁾。

Dimethoate¹⁶⁵⁾ ; ラット(♂)に6~12カ月にわたって50 ppm を与えると血球コリンエステラーゼが低下するが、10 ppm では血漿、血球コリンエステラーゼに変化なく、また病理所見にも異常はない。

Dichlorvos¹⁶⁷⁾ ; ラット2年間の投与で、46.7 ppm ではやや血漿、血球コリンエステラーゼに阻害があるが、4.67 ppm では影響なく、脳コリンエステラーゼは234 ppm では阻害されていた。234 ppm では肝に空胞変性、脂肪変性、胆汁のうっ滞あり、46.7 ppm でもやや空胞変性がみられる。けれども血液像、尿、体重、肺瘍発生率などは234 ppm でも対照群と変らない。

Fenchlorphos ; ラットに50 mg/kg/day を2年間にわたって与えたところ外観、挙動、摂食量、臓器重量には悪影響はなかったが、病理組織学的には肝実質細胞に小葉中心性顆粒変性、壊死がみられ、腎尿細管上皮細胞の混濁腫脹変性、間質性腎炎がみとめられた。

5 mg/kg/day 以下では血球、脳コリンエステラーゼに異常なく血漿コリンエステラーゼに対する no effect level は各で 0.5 ppm, ♀ では 5 ppm であった¹⁶⁶⁾。

犬 2 年間の実験で、体重、摂食量、挙動、外観、臓器重量、肉眼的、顕微鏡的検索などに異常がみられないレベルは 10 mg/kg/day であるが、血漿、血球コリンエステラーゼにほとんど変化がないのは 1 mg/kg/day である¹⁴⁸⁾。

Fenthion; ラット (1 年), 犬 (1 年) とともに 5 ppm ではコリンエステラーゼの低下があり, 2 ppm では摂食量、体重、コリンエステラーゼに影響はなかった¹⁵¹⁾。

Malathion¹⁶⁷⁾; ラットに 2 年間 100 ppm の割合で与えたが、生存率、摂食量、成長、コリンエステラーゼにはほぼ影響なく、投与量が高くなると血球コリンエステラーゼは血漿、脳のそれに比しもっとも影響をうけやすい。すべてのレベルで (100, 1,000, 5,000 ppm) 顕微鏡的にも変化なし。

Parathion¹⁴⁵⁾; ラット (♂), 2 年にわたる 50, 100 ppm の投与で摂食量、死亡率、血液像、肉眼的、顕微鏡的観察などの点では対照と変らないが、100 ppm では中毒症状がみられ、わずかに成長がおそい。脳、肝、腎、肺、脂肪、血液に parathion は見出されない。

Trichlorfon¹⁵¹⁾; 1,000 ppm 2 年間の投与でラットの摂食量、体重増加、血液像、肝腎機能、死亡率、病理組織学的検索などに悪影響はみられないが、コリンエステラーゼに若干 (20%) の低下がみとめられる。

4. 次世代に及ぼす影響

人体にとり入れられた農薬が次世代に悪影響を及ぼさないことをたしかめておくことは一世代に及ぼす影響をしらべるための前節の試験以上に重要である。この目的のために行なわれる試験には次の 3 つがある。

- 1) 遺伝子変異性 (mutagenicity)
- 2) 催奇性 (teratology)
- 3) 累代繁殖 (multi-generation reproduction)

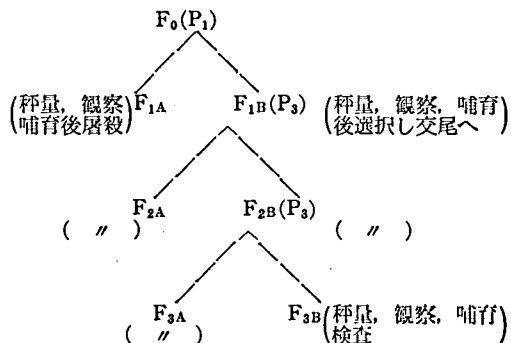
遺伝子に及ぼす化合物の直接的影響を明らかにする mutagenicity test の重要性は、遺伝学の進歩にともない最近強調されつつあり、化合物による突然変異のメカニズムの解析がすすむにつれて、農薬についてもこの試験を実施すべきだとの声がよく米国で高い。けれども農薬についてはこの試験はまだ余り行なわれておらず、実験方法についても意見の一致をみるに至った段階である。(詳細については文献を参照された^{168,169)})

化合物のもつ催奇性についてはサリドマイド以来議論が絶えないが、受胎後まもなく行なわれる器官の分化やその後の胎児の正常な発育に及ぼす影響をみる試験は農薬についても主としてラット、ウサギなどのけ

っ歯類について行なわれている。しかし特別な場合にはアカゲザルや短尾ザルを用いることもある¹⁷⁰⁾。

通常 2 化合物群を用いてこの試験はおこなわれるが^{162,171)}、投与量は 14~30 日の予備投与と実験で体重増加がわずかに抑制される薬量を最高レベルとし、下のレベルはその 1/2~1/3 とするが、場合によってはこの最高レベルで予備実験を行なったのち正式のレベルを決定する。本実験ではウサギの場合各群 ♀ 8~10 (ラットでは ♀ 20~25) を用い、交配を確認した日を 0 日として 6 日目から 18 日目まで (ラットでは 9 日目から 7 日間) 化合物を投与し (農薬の場合経口投与が多い) 妊娠 28 日目 (ラットでは 20 日目) に帝王切開で胎児をとりだす。着床数、胎児の生死 (再吸収された分も数える) をしらべ、胎児の計測、秤量をおこない、外見、骨格の異常を検索する。一部の妊娠動物については出産後の哺育率や新生児の発育を観察することもあるが、むしろこれは次の累代繁殖試験で明らかにする項目であろう。

累代繁殖試験は通常ラットを用いて大要次の方法で行なわれる¹⁶²⁾。生後約 100 日のラットについて 1 群 ♂ 10, ♀ 20 よりなる 4 群をもうけ長期毒性試験と同様 3 レベルの濃度に化合物を含んだ飼料を与え (他の 1



群は対照), F_{1A} をえたのちさらに飼育をつづけ F_{1B} を得る。 F_{1B} のうちから離乳後 ♂ 10, ♀ 20 をえらびほぼ 100 日飼育したのち交配させて得た F_{2A} をとり除き F_{2B} を得る。ふたたび F_{2B} から ♂ 10, ♀ 20 をえらんで同じように被検化合物を含む飼料で飼育し F_{3A} , F_{3B} を得る。 F_{1A} から F_{3B} に至るまですべて受胎数、腹仔の数、出産時の生死、その後の死亡、離乳した仔の数を記録し、また出産後 24 時間および離乳時の体重を測定する。もちろん仔の外見的異常はすべて記録する。さらに F_{1A} から F_{3A} に至る仔の約 1/3 は解剖に付する ($P_1 \sim P_3$ は通常解剖しない)。 F_{3B} は離乳時約 1/3 を解剖し、それぞれの動物につき 18 の組織の病理組織学的検索を行なう。結果はしばしば fertility index (受胎能力、妊娠数/交尾数) gestation index (懐胎能力、出産数/妊娠数) viability index (生存率

出産 1～5 日後における生存数/死産をのぞいた出産数), lactation index (哺育率, 離乳した仔の数/出産 1～5 日後の生存数) などの指標で表わす。かくてラットは 3 世代にわたって受胎してから次世代を生ずるまでたえず化合物に接触しているわけで, 前述の催奇性試験が胚, 胎児に及ぼす一時期の影響を見たのに対しこの試験では性行動から哺育に至るまでおよそ繁殖に及ぼす農薬のすべての影響が包括的に検討できるわけである。

さて手元にある文献の中から有機リン化合物の催奇性, 累代 (3 代) 繁殖試験の結果を 2, 3 えらんでみよう (とくにことわらない限り 3 世代繁殖試験である)

Azinphosmethyl¹⁴⁸⁾; 5, 10, 25, 50 ppm のレベルでラットについて行なったところ 50 ppm では毒性が著しく母親の死亡がみられ, また, 受胎能力, 腹仔数には影響はなかったが, 離乳時までの生存率が低かった。25 ppm 以下では対照群と変らない。

またウサギを用い 5, 25 ppm で催奇性をしらべたが, 化合物による悪影響はなかった。

Chlorfenvinphos¹⁴⁹⁾; ラットについて 0, 30, 100, 300 ppm のレベルで行なった。F₁ では 300, 100 ppm で, また F₂ では 30 ppm でも受胎能力が低下した。懐胎能力には影響はなかったが, 300, 100 ppm では出産後および哺育中に仔の死亡がみられた。

Coumaphos¹⁴⁸⁾; ラットに対し 25 ppm では悪影響はなかったが, 100 ppm では受胎能力が 50% に低下し, 出産仔の 15% しか 30 日間生存しなかった。

Cruformate¹⁵⁰⁾; 0, 10, 100 ppm のレベルで, すべての点でラットに対して悪影響はなかった。

Dichlorvos¹⁴⁷⁾; 0.1～500 ppm に至る 5 段階でラットについて行なったが悪影響はみられなかった。

Diazinon¹⁷³⁾; ハムスター (0.125, 0.25 mg/kg), ウサギ (7, 30 mg/kg) について催奇性をしらべたが化合物による悪影響はみられなかった。

Dioxathion¹⁴⁸⁾; 3, 10 ppm でラットに与えたが対照群との間に差異はなかった。

Ethion¹⁴⁸⁾; 0, 2, 30 ppm のレベルでラットについて行なったが異常はみられなかった。

Fenchlorphos¹⁴⁸⁾; 100, 300, 1,000 ppm でラットについて行なったところ 1,000 ppm のレベルで F_{1B}, F_{2B} 世代に生存率, 哺育率の低下がみられ, また平均体重が若干低かった。いずれのレベルでも血漿コリンエステラーゼの阻害があり, 血球コリンエステラーゼは 300, 1,000 ppm の場合に低下がみられた。

Fenthion¹⁵¹⁾; 3, 15, 75 ppm でラットについて行なった。75 ppm においてのみ F₀, F₁ で若干の体重減少をみとめたが, 他に異常はなかった。

Malathion¹⁷³⁾; ラットに 0, 100, 500, 2,500 ppm

の割合で与えた。2,500 ppm では世代が下るにつれて哺育率が若干低下した以外は malathion の影響はみとめられなかった。

Oxydemeton-methyl¹⁴⁷⁾; 0, 10, 25, 50 ppm のレベルでラットについて行なったところ 50 ppm では受胎能力, 出産数が低下した。25 ppm では影響はないようであり, 10 ppm では異常はなかった。

Phosphamidon¹⁴⁸⁾; 1, 7.5, 15 ppm でラットを用いて行なったところ, 15 ppm では哺育率, 仔の生存率にやや低下がみられた。

5. 農薬の相互作用

ある種の化合物はすでに前章で述べた有機リン化合物の代謝に関与する酵素系に影響を及ぼすことによってその代謝速度を変える。その結果このような 2 化合物が共存する場合には動物に対する毒性は相加的にはあられわれず, 増強 (potentiation) もしくは低下 (拮抗 antagonism) がみとめられる。このような 2 化合物の相互作用の古典的な例は EPN の存在による malathion の毒性の増強である。EPN (LD₅₀ 60mg/kg) と malathion (LD₅₀ 1,400mg/kg) とを混合してラットに経口的に与えてみるとその毒性は約 12 倍 (LD₅₀ 120mg/kg) に増強され, また cholinesterase も各化合物単独の場合に比しいちち強く阻害されていた¹⁷⁴⁾。この原因は malathion の分解にあずかる carboxyesterase (aliesterase) が EPN によって阻害されることにあり, 実際 EPN は *in vivo* に cholinesterase よりもはるかに強くラットの aliesterase を阻害する^{175,176)}。 *in vitro* における肝臓 aliesterase による malathion の carboxyester 結合加水分解の阻害は EPN 以外の数種の有機リン化合物においてもみとめられるが¹⁷⁷⁾。このような aliesterase (carboxyesterase) を強く阻害する化合物は malathion の共力剤になりうる。事実 aliesterase の inhibitor である TOCP (tri-*o*-cresyl phosphate) はラットにおいて malathion の LD₅₀ 値を 100 倍も小さくし¹⁷⁸⁾。またマウスでも EPN, TOCP は malathion や carboxamide group をもつ dimethoate の毒性を増強する¹⁷⁹⁾。

しかしながら多くの有機リン化合物の組合せのうち Dowco-109 に対する EPN もしくは TOCP¹⁷⁹⁾。 tri-chlorfon に対する azinphosmethyl¹⁸⁰⁾。 fenchlorphos に対する EPN, parathion, azinphosmethyl, demeton¹⁶⁶⁾ などの毒性増強効果はこれらの化合物の構造や代謝経路を考え合わせると上の機構では説明できない。たとえば EPN で前処置した動物では肺の蛋白への Sarin の結合量が減り¹⁸¹⁾。また TOCP で前処置したラットの肝における paraoxon の結合量が減り¹⁸²⁾。いずれの場合も Sarin, paraoxon の毒性が増強され

るところをみると、共力剤となるこれらの有機リン化合物は *aliesterase* や他の非特異的 *esterase*, 蛋白に結合し、その結果もう 1 種類の有機リン化合物 (および *oxygen analog*) の体内における濃度を高めるのではないかと考えられる。

Malathion に対する上のような *potentiation* の例は比較的多いが (43 の有機リン化合物のうち 26)¹⁸³⁾, 他の有機リン化合物同志の組合わせでは少なく (たとえば 50 組合せのうち malathion の場合を含んで 4)¹⁸⁰⁾, また有機リン化合物と同じく *cholinesterase* の阻害剤である殺虫性カーバメイト化合物との間にも 1, 2 を除き増強作用はないようである^{148, 184)}。

もう一つのタイプの相互作用はある種の化合物による酵素の誘起的合成に関連している。有機塩素剤の一つである aldrin でラットを前処置すると parathion の毒性が低下し¹⁸⁵⁾, またマウスでも aldrin は有機リン化合物の毒性を低下させることが知られている (第 5 表)^{186, 187)}。

第 5 表 Aldrin 前処置による有機リン化合物のマウスに対する経口毒性の変化*

有機リン化合物	Aldrin 処置/対照 (LD ₅₀ で比較)
Parathion	5.7
Paraoxon	4.8
Physostigmine	2.4
Neostigmine	0.96
Schradan	0.96

死亡率 (%)		
	Aldrin 前処置	対 照
TEPP, 10mg/kg	0	95
DFP, 50mg/kg	10	66
EPN, 75mg/kg	0	50
Azinphosmethyl, 15mg/kg	15	85

* Aldrin (16mg/kg) 経口投与 4 日後に実験。

第 6 表 Chlorcyclizine 処理の効果¹⁸¹⁾

パラメーター	比 (chlorcyclizine/対照)
parathion の経口 LD ₅₀ 値	5.0
肝切片による parathion の活性化	2.0
肝 paraoxonase の活性	1.1
血漿 paraoxonase の活性	0.5
肝 triacetin esterase の活性	1.5
血漿 triacetin esterase の活性	1.6
血漿 TAME esterase の活性	2.0

Aldrin をはじめ DDT, BHC, chlordane, dieldrin などの有機塩素化合物が肝の *microsome* の薬物代謝系の酵素を誘起することが知られるにつれ¹⁸⁸⁾, 有機リン化合物の毒性低下をひきおこす有機塩素化合物の効果をこのような酵素の誘起的合成にむすびつけて考えようとする見方が表われてきた。けれどもすでに述べたように *mixed function oxidase* によって触媒される有機リン化合物の代謝経路のうち *phosphorothioate* の加水分解は解毒の方向に働くとしても, *phosphorothioate* の *phosphate* への酸化は毒性を増強するはずであり, したがって有機塩素剤による誘起が有機リン化合物の毒性を必然的に低下させるとは言えない。たとえば同じく *microsome oxidase* の *inducer* である 3-methylcholanthrene でラットを前処置すると *azinphosmethyl* の酸化酵素は 3 倍に増え, 毒性も 2 倍に増強される¹⁸⁹⁾。

Aldrin で前処置すると *microsome oxidase* 以外に肝の *paraoxonase* は 2 倍に増加するが, 他方血漿 *paraoxonase* は 1/2 に減少したと報告されており¹⁹⁰⁾, また第 6 表に示したようにマウスを *chlorcyclizine* で処理すると, *parathion* の毒性は 1/2 に減少したが, 肝, 血漿の *paraoxonase* は余り変らないかむしろ減少し, 他方その他の *esterase* 活性が増大した¹⁹¹⁾。それゆえ現在のところこれらの有機塩素系化合物による有機リン化合物の毒性値の変化は *microsome oxidase* のみならず他の酵素含量の増大およびその他の諸作用の複合として捉えるべきだと考えられる。

6. 神 経 毒 性

ある種の有機リン化合物はコリンエステラーゼ阻害作用以外に後肢の麻痺を主症状とする特殊な神経毒性を示す。この中毒の古典的な例としては 1930 年代に米国でおこった *Jamaica ginger paralysis* と 1959 年モロッコで *TOCP* 入りの潤滑油を食用としたため発生したものがあつた, いずれも一万人を超える中毒患者が出たと報告されている。*TOCP* 中毒の臨床症状は¹⁹²⁾, 前駆症状として 2~3 日悪心, 嘔吐, 腹痛, 下痢などの消化管症状がおこりそれがおさまって約 2 週間経してから両側性にまず足の筋肉にけいれん性の疼痛を訴え, しびれ感, ひりひりするような感じを覚え, 1~2 日経つと筋力低下, *foot drop*, 筋萎縮がみられるようになる。この症状は末梢ほどつよく中毒の重い場合には足のみでなく手にまで及ぶといわれている。病理組織学的には¹⁹²⁾, 四肢の末梢神経において末梢につよい変性がみとめられ, 脱髄と同時に軸索変性が多く観察されている。このようにこの種の毒性は有機リン化合物を摂取後約 2 週間を経て生ずるところから *delayed neurotoxicity* とよばれ, またミエリン鞘の脱落のあるところから *demyelination* とよばれている。

このようにこの神経毒性は有機リン化合物のコリンエステラーゼ阻害作用とは直接関係はないようで、事実 2-PAM、アトロピンを投与してもその発生を抑えることはできない。

Neurotoxicity は人、ニワトリをはじめ犬、ネコ、牛、サル、ブタ、ラットなど多くの動物種について発生させることができるが¹⁹³⁾、ニワトリがもっとも敏感であり、したがって手頃な実験動物である。これまで neurotoxicity が報告されている化合物には TOCP 以外に DFP, mipafox, TPEP (tri-*p*-ethylphenyl phosphate) などがあり、いずれも *in vivo* でコリンエステラーゼや他のエステラーゼを阻害するところからコリンエステラーゼ以外のある種のエステラーゼが neurotoxicity に関係ありとする説もあるが¹⁹³⁾ 現在のところその原因や中毒機構は不明である。

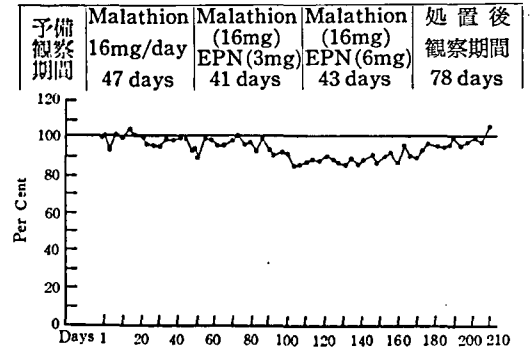
農薬として用いられている有機リン化合物のうち neurotoxicity をもたないことが示されている化合物は¹⁹⁴⁾ chlorthion, diazinon, dichlorvos, demeton, EPN (ただし oxoEPN は大量で生ずるといわれている¹⁹⁵⁾), crufomate¹⁴⁶⁾, Cyanox¹⁹⁶⁾, dioxathion¹⁴⁸⁾, ethion¹⁴⁹⁾, fenchlorphos¹⁴⁸⁾, fenitrothion¹⁴⁹⁾, Salithion^{197,198)}, dimethoate¹⁴⁷⁾ などであり、むしろ特殊な化学構造を有する有機リン化合物のみが delayed neurotoxicity をひきおこすと考えた方がよい。

7. 人間における観察

人間に対する有機リン化合物の影響は、たとえば誤って中毒した場合の経過を観察したり、また長期間有機リン化合物に継続して接触している製造、散布作業者の健康調査を行なうことによって知ることができる。このようにして得られた有機リン化合物の人体に対する影響については数多くの報告があるが¹⁹⁹⁻²⁰¹⁾、これらとは別にある場合には volunteer を募って一定の controlled condition のもとに有機リン化合物を継続して与え、人体に対する効果を知ることが外国では時折なされている。もとよりこの種の実験は決して手輕に行なうべきものでないことはもちろんであって、その結果が社会全体にとっていかに有用であろうとも、被検者に対してとりかえしのつかない持続的、不可逆的な影響を残す場合には決して行なうべきではない。また人体実験に先だって念入りの動物実験によって作用の様態、その及ぶ範囲を十分にしかめておくことが必要である²⁰²⁾。幸いにして有機リン化合物の場合にはその中毒機構が比較的明かであり、また血液のコリンエステラーゼ活性の変動がその作用のもっとも敏感な指標として用いられるところから比較的多くの実験例がある。このような人間に対する亜急性（2週間から場合によっては100日に及ぶ）経口投与実験によって無影響レベルをもとめておくことはすでに述べた

動物に対する長期毒性試験の結果にもまして食品中に残留する農薬の摂取許容量を知る手がかりを与えることになるであろう。

通常、実験は一定の予備観察期間（2～3週間）をとり、その間に各被検者のコリンエステラーゼ活性値



第10図 Malathion, malathion と EPN のヒト（含 5 人）血球コリンエステラーゼに対する影響（対照値=100%）¹⁹⁷⁾

第7表 有機リン化合物の動物における無影響量と ADI¹⁴⁵⁻¹⁴⁸⁾

化 合 物	動物に対する無影響量(mg/kg/day)	ADI (mg/kg/day)
Azinphosmethyl	—	0-0.0025
Coumaphos	ラット 0.25	0-0.0005
Coumaphos	犬 0.05	
Crufomate	ラット 1	0-0.1
Crufomate	犬 1	
Demeton	ラット 0.05	0-0.0025
Demeton	犬 0.025	
Diazinon	ラット 0.1	0-0.002
Diazinon	犬 0.02	
Diazinon	サル 0.05	
Dichlorvos	ラット 0.5	0-0.004
Dichlorvos	犬 0.37	
Dimethoate	ラット 0.4	0-0.02*
Dioxathion	ラット 0.15	0-0.0015
Dioxathion	犬 0.075	
Ethion	ラット 0.15	0-0.00125
Ethion	犬 0.125	
Fenchlorphos	ラット 1	0-0.01
Fenchlorphos	犬 0.5	
Malathion	ラット 5	0-0.02
Methylparathion	—	0-0.005
Phosphamidon	ラット 0.1	0-0.001
Phosphamidon	犬 0.5	

* 1966年には0.004であったが1967年に0.02に訂正された。

を測定したのち、その化合物にもっとも敏感な動物における亜急性の無影響量の $\frac{1}{10}$ ～ $\frac{1}{100}$ を与えることから始める。10日～2週間にわたって活性値が対照と変わらない場合には投与量を次第に増加し（通常2倍づつ）有意の影響が現われた場合（コリンエステラーゼ活性の約20%低下）には投与を中止し以後正常値に回復するまで観察を続行する（第10図に malathion について行なわれた例を示す）¹⁶⁷⁾。このような人体実験は経口投与のみではなく、人体に対する経皮毒性、吸入毒性を知る場合にも行ないうる。

ヒトに対する農薬の最大摂取許容量は、動物における長期毒性試験や上のような人体実験の結果えられた無影響量に一定の安全係数を掛けて求められる。安全係数は化合物の性質、動物実験の結果などによって異

なるが、一般には2年間の動物実験の場合には $\frac{1}{10}$ （種族差10倍、個体差10倍の積として考えられている）、人体実験の場合には $\frac{1}{100}$ （個体差を考慮して）の安全係数をとってヒトに対する1日最大摂取許容量（acceptable daily intake for man, ADI）を算出する。第7表に WHO/FAO で設定されたいくらかの有機リン化合物の動物に対する無影響量と ADI とをまとめておく。

これらの ADI はヒトが一生にわたって摂取しても人体に対して實際上何らの悪影響を及ぼさない化合物の最大量を意味し、この数字を基礎の一つとして食品中における残留許容量が決定されるわけである。

〔以下次号、文献および化合物の一般名は次号末尾に掲げる〕

抄 録

ナミハダニのフェロモン 1. 性フェロモン存在の証拠 Phormone Studies of the Twospotted Spider Mite. 1. Evidence of a sex phormone. W. W. CONE, L. M. McDONOUGH, J. C. MAITLEN, S. BURDAJEWICZ. *J. Econ. Entomol.*, 64, 355 (1971).

ナミハダニ *Tetranychus urticae* Koch, two spotted spider は多くの農作物、鑑賞用草花の重要な害虫である。ナミハダニの雄は、雌の休止期第2若虫 quiescent female deutonymphs に強く誘引され、雌の成虫が現われるまでその場にとどまり、そして交尾がおこなわれる。その際に次の3種の雄の行動が観察され、生物検定の指標ともなっている。1. 徘徊行動 (hovering behavior), 2. 保護行動 (guarding behavior), 3. 配偶行動 (mating behavior)。雄がこれらの行動をとることから、雌の休止期第2若虫は、雄に対し誘引作用を有する物質を生産しているのではないかと考えられた。そこでまず研究の第一段階として、第2若虫の生産する物質が、溶媒により抽出可能か、

また雄が適当な基質につけられた粗抽出物に対し反応するかどうかを調べた。

実験室内の生物検定では、雄は休止期第2若虫のエーテル粗抽出液 1.5 μ l (0.01匹/1ml) に誘引された。雄の誘引は抽出液濃度により変化し、最も強く誘引されたのは、1ml あたり休止期第2若虫1匹に相当する濃度で、それより濃度が高くても低くても、その誘引は低下した。

生物検定は湿った脱脂綿上に置かれたホップの葉の円盤上でおこなわれ、細かく磨砕された粉末 polyvinylpyrrolidone の湿ったかたまりが粗抽出物の基質として最もすぐれたものであった。雄の誘引度は粗抽出物処理区への反応百分率で表わし、無処理区への偶然誘引を補正した。雄の反応の平均値は、最も活性の高かった1匹/1ml 溶液 1.5 μ l に対して 37.2% (0～73.6%) であった。さらに綿密な生物検定法が、このナミハダニの誘引物質の同定には必要であろう。(山岡亮平)

昭和46年8月25日印刷 昭和46年8月31日発行

防虫科学 第36巻—III 定価 ¥ 500.

個人会員 年1000円 団体会員 年2000円 外国会員 年U.S.\$6

主 幹 武居三吉 編集者 石井象二郎

京都市左京区北白川 京都大学農学部

発行所 財団法人 防虫科学研究所

京都市左京区吉田本町 京都大学内
(振替口座・京都5899)

印刷所 昭和印刷

京都市下京区猪熊通七条下ル