

Toxicological Studies on a New Pyrethroid: Kikuthrin (part I). Studies on Insecticide V.
 Michio NAKANISHI, Toshihiko MUKAI, Masaya TAKEUCHI, Masanobu EDANAGA. (Research
 Laboratories, Yoshitomi Pharmaceutical Industries, Ltd., Yoshitomi-cho, Fukuoka, Japan)
 Received July 3, 1970, *Botyu-Kagaku* 35, 103, 1970.

14. キクスリンの毒性研究 (その I) 殺虫剤に関する研究 第5報¹⁾ 中西美智夫, 向井俊彦, 竹内雅也, 枝長正修 (吉富製薬株式会社研究所, 吉富町, 福岡県) 45. 7. 3 受理

Kikuthrin に関する以下の毒性試験を, Allethrin との比較のもとに実施した: マウスおよびラットによる急性毒性試験, 家兎による点眼および皮膚刺激試験, モルモットによる皮膚感作試験, ラットによる慢性毒性試験およびマウスによる吸入毒性試験.

結果は以下のとおりであった. 1) 経口投与による LD_{50} はマウスで約 8g/kg, ラットでは 14g/kg 以上であった. 2) 点眼試験および皮膚刺激試験では明らかな障害は見られなかった. 3) 皮膚感作試験では直接作用を除き, Kikuthrin が抗原性を有しないことが示された. 4) 慢性毒性試験により Kikuthrin の 4000mg/kg/day の高投与量に拘らず, 死亡および重篤な障害は認められなかった. 5) Allethrin または Kikuthrin (1g/m³ 以上の濃度) の吸入により数例のマウス肺に気管支肺炎および軽度の変性が見られた.

著者らは Kikuthrin の急性毒性試験, 点眼試験, 皮膚刺激試験, 皮膚感作試験, 慢性毒性試験および吸入毒性試験を一部 Allethrin との比較のもとに実施した.

実験材料および方法

被検化合物

Kikuthrin²⁾: 工業用規格原体, 純度 92% 以上
 B. H. T. 1% 添加

Allethrin: 住友化学工業株式会社製
 純度 90%

実験方法

1. 急性毒性試験

体重 20~25g の dd 系マウス (1群10匹) および体重 95~120g の Wistar King 系ラット (1群8匹) を使用し, Kikuthrin 原液を経口, 皮下および経皮投与した.

経口および皮下投与は, 2ml/100gb. w. を最大容量として原液の他に 1% tween-80 液による懸濁液の投与もあわせて行ない, 供試検体性状の毒性に与える影響も観察した. 経皮投与は, マウスでは 4cm×4cm, ラットでは 10cm×7cm, いずれも背部を剃毛し, 1時間放置後検体原液を 5g/kg の割合で塗布した. なお, 経皮投与のみ, Allethrin との比較のもとに実施した.

いずれの投与方法の場合にも観察期間を7日間とし, その算定は Litchfield Wilcoxon 法 (1949)³⁾ に従った.

2. 点眼試験

Kikuthrin および Allethrin の各オリーブ油溶液を体重 2.5~5.0kg の雌雄家兎眼球に滴下した. 先ず検体は両検体共, 50%および10%濃度のものを調製し, 各群3匹ずつの家兎を用い, 対照としてオリーブ油投与群 (6匹), 無処置群 (6匹) を使用した. なお点眼容量は, 各液共 0.1ml とした.

検体滴下後の所見は無処置群家兎との比較のもとに, 角膜について混濁, 反射, 結膜について充血, 出血, 腫張, 流涙, 眼脂, 反射, 虹彩に対して充血, 出血, 腫張等の有無を調べ, 眼瞼については閉鎖するか否かを調べた. 観察時間は点眼後, それぞれ10分, 30分, 1時間, 2時間, 24時間とした.

3. 皮膚刺激試験

体重 2.0~4.0kg の雌雄家兎背部を動物用電気バリカンを用いて約 10cm×25cm の広さに剃毛し, 1時間放置後, 所定の被検液を剃毛部に均一に塗布した.

実験群は, Kikuthrin および Allethrin の原液塗布群 (0.5ml/匹), 20% オリーブ油溶液塗布群 (2.5ml/匹) の4群に対し, 各群4匹 (雌雄各2匹) の家兎を使用し, 他にオリーブ油; 2ml/匹塗布群および剃毛のみ実施群に対し, 8匹 (雌雄各4匹) ずつの家兎を使用した.

観察は塗布後3時間目迄は, 家兎用保定箱中に保定し, 以後は金網ケージに1匹ずつ放置し, 塗布後 24, 48, 72 時間目に剃毛のみ実施群の家兎との比較を行なった.

検査項目として, 塗布部の発赤, 腫張, 熱感, 痂皮形成その他の皮膚の変化の有無および一般症状を観察した.

4. 皮膚感作試験

体重 300~350g の雄性モルモット背部を剃毛し、 $\frac{1}{4}$ 皮下用注射針を用いて被検液を皮内投与した。被検液はオリーブ油溶液とし、5%Kikuthrin 投与群、5% Allethrin 投与群および対照としてオリーブ油投与群の3群を設定し、1群7匹ずつのモルモットを使用した。

検体投与の詳細は感作注射として各群共に第1回：0.05ml/匹、第2回~第10回：0.1ml/匹を隔日皮内投与し、最終投与後2週間放置して後、誘発注射として0.05ml/匹の皮内投与を行なった。

投与部皮膚の変化および症状の変化の観察は感作注射期間および誘発注射後3日間に亘り実施し一部の動物について誘発注射の24時間後および3日後に背部皮膚の病理組織学的検索を行なった。

なお、追加実験として Kikuthrin の皮内投与による直接作用を検索することを目的として5%Kikuthrin: 0.1ml/匹1回投与後24時間および48時間目に各2匹ずつのモルモットについて、投与部皮膚の病理組織学的検索をも実施した。

5. 慢性毒性試験

体重 80~95g の Wistar-King 系雄性ラットに対し、日曜を除く毎日、1日1回、12週間にわたり、胃ゾンデにより経口投与を行なった。

実験群は Kikuthrin: 4000, 2000, 1000, 500, 250 mg/kg/day, Allethrin: 1000, 500, 250 mg/kg/day の各投与群と対照群との9群を設定した。被検液性状は Kikuthrin: 4000mg/kg/day 群のみ原液を 0.4ml/100g b. w. 投与し、他の投与群には1% tween-80 による懸濁液をおのおの0.4ml/100g b. w. となるように調製し、対照群には1% tween-80 液: 0.4ml/100g b. w. の投与を行なった。また、使用動物数は各群共10匹ずつとした。

投与期間中は症状観察、体重測定、飼料摂取量および水摂取量の測定を行ない、投与期間終了時に以下の諸検査を行なった。

血液検査 Cyanmethemoglobin 法⁹⁾による hemoglobin 量(g/dl)、毛細管超遠心法¹⁰⁾による hematocrit 値(%)を、セルカウンター(東亜特殊電機、ミクロセルカウンター cc-1001)を用いて赤血球数を、また鏡検により白血球数を測定し、血液塗抹標本1枚当たり無作為に200個の白血球を類別に計測し、構成白血球百分率を算出した。構成比率が低い eosin 嗜好性白血球および単球は平均値のみを示し、中性嗜好性白血球およびリンパ球では平均値と分散を示した。

血清の生化学的検査および機能検査 屈折法¹¹⁾(エルマ、臨床屈折計 A-405A)による血清蛋白(Protein, g/dl)、ウレアーゼ法¹²⁾による血清尿素窒素値(Urea-N, mg/dl)、炎光分光法(炎光分光光度計, Evans,

EEL-Flamephotometer, Mark II)により血清ナトリウムならびにカリウム濃度(1l中のミリグラム当量; mEq/l)、Reitman-Frankel 法¹³⁾による血清トランスアミナーゼ活性(glutamic-oxalacetic transaminase: GOT, および glutamic-pyruvic transaminase: GPT, 共に Karmen Unit)、Kind-King 法¹⁴⁾による血清アルカリホスファターゼ活性(Alk-Phos; King-Armstrong Unit, K-A unit)を測定した。肝機能検査として15分間負荷血中停滯率測定による indocyaninegreen (ICG) 排泄試験¹⁵⁾、腎機能検査として30分間負荷血中停滯率測定による phenolsulfonphthalein (PSP) 排泄試験を実施した。

尿検査 24時間尿について、尿量(ml)、試験紙法(日本エームス, Labstix)により尿潜血反応、尿糖、尿 pH を、スルホサリチル酸光電比色法により尿蛋白(mg/dl)を、また炎光分光法により尿中ナトリウムおよびカリウム濃度(mEq/l)を測定した。

臓器重量測定 肝臓、腎臓、心臓、脾臓、副腎、甲状腺、睪丸の湿重量を測定し、各ラットの体重100g 当りの相対臓器重量で示した。

病理組織学的検査 肝臓、腎臓、心臓、脾臓、肺臓、副腎、甲状腺、胃、腸、膀胱、脳、睪丸、リンパ節を10%中性ホルマリン液により固定し、パラフィン包埋、薄切切片とし、Hematoxylin-eosin (H. E) 染色を行なった。また一部については Azan, Sudan III, PAS, Berlin Blue の各染色を実施した。

6. 吸入毒性試験

吸入設備は、圧力ポンプ(イワキ・エアーポンプ: AP-112 および AP-220)、流量計(金門製作所製、ガスメーター: H3型)、噴霧器(耳鼻喉科用ネブライザー)および吸入箱からなり、それぞれの部品は内径8mm のビニール管で接続した。吸入箱は厚さ3mm の透明ビニール板を用いて縦、横、高さがそれぞれ30cm の箱を作り、これにマウスの頭部を箱内に入れるための穴8個と別に噴霧気体の導入および排出のための穴2個をあけたものである。実験には以上の設備を5組使用した。動物は体重20~23g の ICR-JCL、雌性マウス(日本クレア)を使用し、送風する空気中に混入させる検体の種類およびその濃度により下記の5つの実験群を設け、各群にはそれぞれ8匹ずつのマウスを用いた。即ち、Kikuthrin: 3,1 および 0.3g/m³ 群、Allethrin: 3g/m³ 群および空気のみ送風する対照群の5群を準備した。

なお、吸入箱内に送りこむ噴霧気体の検体濃度は、連結ビニール管の一部をスクリュウcockの調節を加減して行なった。噴霧気体の吸入は1日に4時間ずつ日曜を除き4週間にわたり実施した。

検査項目として、吸入実験期間中に症状観察、体重測

定を行ない、吸入期間終了後に動物を放血屠殺し、主要臓器の重量を測定した後、肺、気管、眼球、肝、脾、腎、心、肺、副腎、胃、腸について10%中性ホルマリン液により固定、パラフィン包埋、薄切、Hematoxylin-eosin 染色を施した。

実 験 成 績

1. 急性毒性試験

(1) 経口投与 マウスに対し Kikuthrin 原液を 14, 10, 7, 5g/kg の 4 群に投与した結果、軽度の自発運動低下を示した後、1 時間経過時頃より反射亢進をともなった軽度の興奮性を示し、7g/kg 以上の投与群のマウスの一部が間代性痙攣をおこして 24 時間以内に死亡した。5g/kg 投与群に死亡例は見られなかった。これらの症状は 24 時間経過時にはほぼ消退したが、軟便ないし下痢便の排泄が 48 時間後にも認められた。

さらに、Kikuthrin の tween 80 懸濁液を 10, 7, 5 g/kg の 3 群に投与したが、原液投与群とはほぼ同様の反応を示した。

ラットでは、Kikuthrin 原液の 20g/kg 投与により約半数が死亡、14g/kg 投与により雌雄各 2 例が死亡し、10g/kg 投与群に死亡は見られなかった。症状および死に到る時間はマウスの場合とほぼ同様であった。

Tween-80 懸濁液のラットに対する投与により、10 g/kg 投与群の少数例が死亡し、懸濁により致死作用の軽度の増強が認められた。しかし、7g/kg 投与群に死亡する例は見られなかった。

なお、解剖所見上の異常は、マウス、ラットともに認められなかった。

(2) 皮下投与 20g/kg 投与により、マウス、ラットともに反射亢進を伴った軽度の興奮性を示し、24 時間以内に 1 例または 2 例の死亡例が見られた、14g/kg および 10g/kg 投与群にはマウス、ラットともに注口すべき症状は見られず、死亡例も認められなかった。

Tween-80 懸濁液の 10g/kg 投与により死亡する動物はなかった。

解剖所見上の異常はマウス、ラットともに認められなかった。

(3) 経皮投与 5g/kg 以上塗布した場合には、検液が流失することが知られたので、5g/kg を最大投与量とした。マウスでは Kikuthrin の 5g/kg 塗布により 3~5 分後に鳴き声を発し、反射亢進をともなった軽度の興奮性を示し、極く少数（雄：16 匹中 1 匹、雌：16 匹中 2 匹）が死亡し、2g/kg 塗布群に死亡例は見られなかった。

対照として加えた Allethrin 塗布群は、5g/kg 塗布により約半数、2g/kg 塗布により雄：16 匹中 6 匹、雌：

16 匹中 2 匹が死亡した。

ラットでは Kikuthrin, Allethrin とともに、僅かに興奮性を示したが、死亡例は認められなかった。

解剖所見上の異常はマウス、ラットともに認められなかった。

各投与経路による Kikuthrin の LD₅₀ を第 1 表にまとめた。

Table 1. Acute toxicity of Kikuthrin in mice and rats.

Species	Route	LD ₅₀ (g/kg)	
		male	female
Mouse	p. o.	8.2 (6.6~10.1)	8.4 (6.9~11.6)
	s. c.	>20	>20
	p. c.	> 5	> 5
Rat	p. o.	>14	>14
	s. c.	>20	>20
	p. c.	≥ 5	≥ 5

2. 点眼試験

オリーブ油点眼群、Kikuthrin および Allethrin のオリーブ油溶液点眼群のいずれの群にも一部の家兎に点眼後 10 分および 30 分時に眼瞼閉鎖および結膜の軽度の充血が見られ、2 時間後には眼脂が認められた。

流涙が点眼の 30 分後に Allethrin の 50% 液群、10% 液群および Kikuthrin の 50% 液群のいずれも一部の例に見られたが、2 時間後には、Allethrin の 50% 液群に認められたのみであった。

結膜の腫脹がオリーブ油投与群および Kikuthrin の各 1 例のみに見られた。

角膜の変化、結膜の出血および反射異常、虹彩の変化は実験全体を通じて認められなかった。

3. 皮膚刺激試験

Kikuthrin, Allethrin およびオリーブ油の各塗布により家兎背部（塗布部）は、塗布後 24 時間目迄油状の湿潤状態を示したが、48 時間経過時以後には、ほぼ乾燥状態となった。塗布部位の皮膚にはいずれの群にも、いずれの観察時期にも発赤、腫脹、熱感等の炎症性変化は見られず、かつ、検体塗布群とオリーブ油塗布群との間に差異は認められなかった。

また、いずれの群の家兎にも異常の症状は見られなかった。

4. 皮膚感作試験

(1) 感作注射期間および放置期間の所見

モルモットの皮内投与部（膨隆部）には、オリーブ油投与群を含めて一般に、僅かに桃色調を示す例が散見された。

Kikuthrin 投与群には第 3 回注射後第 10 回注射迄に

5例に粟粒大ないし米粒大の痂皮形成を生じたが、これらはおのおの、発生後数日以内に修復した。

(2) 誘発注射後の所見

オリブ油投与群, Allethrin 投与群には感作注射後に見られたと同様の膨隆部の桃色調が認められた。

Kikuthrin 投与群は1例のみに誘発注射後16時間以内に注射部位の軽度の膨隆(約2cm×2cm)および約4cm 離れた部分の発赤が認められた。

(3) 病理組織学的所見(投与部位)

追加実験として5% Kikuthrin; 0.1ml/匹を1回皮下投与後, 24および48時間目に屠殺したモルモットの投与部の組織所見では, 皮下組織の浮腫および軽度のリンパ球, 単核球浸潤, 真皮の単核球浸潤が認められた。

誘発注射後の所見では, オリブ油投与群には特に異常なく, Allethrin 投与群には皮下組織に軽度のリンパ球および単核球の浸潤が見られた。Kikuthrin 投与群には前記1回投与後の所見と同様に浮腫およびリンパ球, 単核球の浸潤の他, 痂皮形成, 出血, 結合組織細胞の増生等の所見が認められたが, 形質細胞の浸潤あるいは高度のリンパ球浸潤は見られず, Kikuthrin の頻回投与による直接作用としての組織所見を示した。

5. 慢性毒性試験

(1) 症状および死亡率 Allethrin; 1000mg/kg/day 投与群のラットは1回投与により半数が死亡したので, 2日目に残りのラットを屠殺解剖した。その他の群には異常の症状は見られず, Kikuthrin の 500 および 1000mg/kg/day 投与群の各1例のみに投与の失敗による死亡が見られた他, 死亡例はなかった。

(2) 体重の変化 Kikuthrin 12週間投与によるラットの成長曲線は第1図に示すように対照群と各投与群との間に殆んど差が認められなかった。

(3) 飼料摂取量 投与期間中のラットの1日当たり, 体重 100g 当りの飼料摂取量平均値は対照群と各投与群との間には殆んど差が認められなかった。

(4) 水摂取量 ラットの1日当たり, 体重 100g 当りの水摂取量は Allethrin 500 mg/kg/day 投与群に投与期間全体を通じて軽度の上昇が見られる他は特に薬物投与によると思われる変化は認められなかった。

(5) 血液検査 投与期間終了時のラットの血液検査の結果は第2表に示すように, hemoglobin 量 hematocrit 値, 赤血球数, 白血球数, 白血球分布の各測定値においては, 特に異常値は認められなかった。

(6) 生化学的検査 ラット血清による生化学的検査の結果は第3表に示す通りであり, Allethrin; 500 および 250mg/kg/day 投与群に alkaline phosphatase 値の軽度の低下および血清蛋白値の増加が見られた。

なお, 血清酵素活性 (GOT および GPT), 血清尿素窒素 (Urea-N), 血清電解質 (ナトリウムおよびカリウム), indocyanine green (ICG) および PSP 排泄試験において異常は認められなかった。

(7) 尿検査 投与期間終了時のラットの尿検査の結果は第4表に示すように尿潜血反応陽性が Kikuthrin; 4000, 1000 および 250mg/kg/day 投与群に1例ずつ見られた。なお, 尿量, 尿蛋白, 尿糖, 尿 pH, 尿中電解質 (ナトリウムおよびカリウム) の各測定値においては薬物投与の影響を示す変化は認められなかった。

(8) 病理解剖学的所見 投与期間終了後のラットを放血致死させ, 肉眼的観察および主要臓器の重量を測定した。

解剖所見上, Kikuthrin 投与群におのおの1例ないし2例ずつ左右甲状腺の大小不同が認められ, Kikuthrin の 1000 mg/kg/day 以上の投与群および

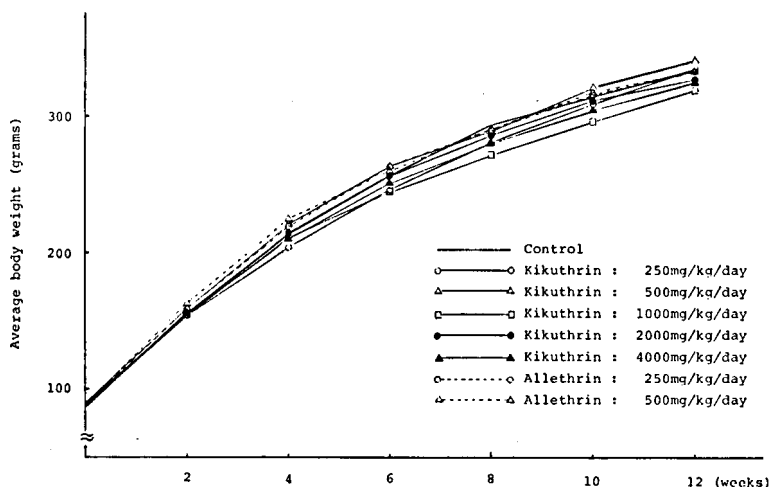


Fig. 1. Growth curve of rats treated with Kikuthrin and Allethrin.

Allethrin 投与群におのおの1ないし3例の胃出血が見られた。その他、特に薬物投与の影響を示す変化は認められなかった。

主要臓器の体重比重量は第5表に示す通りであり、肝および甲状腺重量の増加が薬物投与群全体に見られ、

その程度は Kikuthrin 投与ラットに較べ Allethrin 投与ラットで強いことが知られた。腎重量に関しては Allethrin; 500mg/kg/day 投与群のみに軽度の増加が見られた。その他の臓器には特に異常は認められなかった。

Table 2. Hematological finding of rats treated with Kikuthrin and Allethrin for 12 weeks.

Drug	Dose (mg/kg) p. o.	No. of rats	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	Erythrocyte ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Leucocyte ($\times 10^2/\text{mm}^3$)	Differential count (%) of leucocyte			
							Eos. ^{a)}	Neut. ^{b)}	Lymph. ^{c)}	Mono. ^{d)}
Control (M.C.)		10	14.0 ± 2.5	41.7 ± 2.9	618.7 ± 69.2	118.3 ± 24.3	1.1	17.2 ± 3.6	80.7 ± 3.4	1.1
	250	10	13.9 ± 1.7	41.8 ± 3.1	627.6 ± 66.7	118.6 ± 26.6	0.8	20.3 ± 5.6	77.7 ± 5.9	1.3
	500	9	13.3 ± 1.2	40.7 ± 3.7	634.4 ± 88.9	99.6 ± 27.7	0.9	19.3 ± 6.0	78.4 ± 6.7	1.3
	1000	9	13.4 ± 1.5	39.4 ± 3.4	594.3 ± 68.1	135.5 ± 33.9	1.2	14.9 ± 4.4	83.0 ± 4.6	0.9
	2000	10	13.4 ± 1.6	41.2 ± 2.3	605.1 ± 93.4	112.2 ± 30.9	1.1	18.8 ± 3.7	78.5 ± 3.9	1.6
Kikuthrin	4000	10	12.6 ± 1.5	40.7 ± 3.6	606.7 ± 78.7	122.8 ± 46.0	1.6	16.8 ± 6.0	80.3 ± 6.2	1.3
	250	10	13.0 ± 1.8	41.9 ± 3.2	605.9 ± 81.9	122.2 ± 15.0	0.7	17.5 ± 4.1	80.7 ± 4.5	1.2
	500	10	12.4 ± 1.7	39.2 ± 4.9	608.3 ± 58.1	124.9 ± 24.1	0.6	16.6 ± 5.0	81.7 ± 4.8	1.1

Mean $\pm$ S. D. ** : Significant difference from the control group ($p < 0.01$).

a) Eos.; Eosinophilic leucocyte. c) Lymph.; Lymphocyte.

b) Neut.; Neutrophilic leucocyte. d) Mono.; Monocyte.

Table 3. Biochemical examination of rats treated with Kikuthrin and Allethrin for 12 weeks.

Drug	Dose (mg/kg) p. o.	No. of rats	Concentration in serum				Enzyme activity in serum			Function test	
			Protein (g/dl)	Urea-N (mg/dl)	Sodium (mEq/l)	Potassium (mEq/l)	GOT unit	GPT unit	Alk. phos. K. -A. unit	ICG (15min) (%)	PSP (30min) (%)
Control (M.C.)		10	7.0 ± 0.2	20.4 ± 4.0	129.6 ± 5.3	3.7 ± 0.4	100.6 ± 27.0	37.5 ± 25.1	17.4 ± 2.2	9.0 ± 2.9	20.2 ± 9.5
	250	10	7.0 ± 0.2	18.3 ± 3.3	134.0 ± 1.6	4.1 ± 0.3	90.6 ± 9.3	28.7 ± 3.7	16.9 ± 2.4	7.9 ± 3.1	15.7 ± 3.1
	500	9	7.0 ± 0.2	19.8 ± 2.4	133.0 ± 2.9	4.0 ± 0.2	85.4 ± 11.0	28.3 ± 6.6	15.8 ± 1.9	9.3 ± 0.6	19.3 ± 2.9
	1000	9	7.2 ± 0.4	20.7 ± 1.5	133.6 ± 1.9	4.0 ± 0.5	90.2 ± 17.7	32.0 ± 11.1	17.2 ± 4.0	7.1 ± 3.6	22.4 ± 6.5
	2000	10	7.3 ± 0.3	19.0 ± 2.7	132.0 ± 3.3	4.2 ± 0.4	84.9 ± 16.6	29.4 ± 9.7	15.0 ± 2.8	8.8 ± 2.4	21.7 ± 3.1
Kikuthrin	4000	10	7.2 ± 0.1	18.6 ± 1.4	133.3 ± 1.9	4.1 ± 0.3	92.3 ± 13.3	28.2 ± 2.7	14.9 ± 2.4	10.6 ± 4.2	22.3 ± 3.7
	250	10	7.4** ± 0.2	18.2 ± 3.2	133.5 ± 2.6	4.1 ± 0.5	83.2 ± 18.8	29.1 ± 8.4	14.9** ± 1.6	7.5 ± 2.2	20.8 ± 3.5
	500	10	7.5** ± 0.3	20.1 ± 2.1	132.8 ± 3.4	4.2 ± 0.4	82.3 ± 9.9	31.6 ± 10.1	13.3** ± 2.4	7.5 ± 3.7	19.6 ± 2.2

Mean $\pm$ S. D. ** : Significant difference from the control group ($p < 0.01$).

Table 4. Urine analysis of rats treated with Kikuthrin and Allethrin for 12 weeks.

Drug	Dose (mg/kg) p.o.	No. of rats	Volume (ml)	Occult blood	Protein (mg/dl)	Glucose	pH	Sodium (mEq/l)	Potassium (mEq/l)
Control (M.C.)		10	6.3 ±2.2	0	561.6 ±271.3	0	6.5	118.9 ± 44.4	308.7 ± 90.7
Kikuthrin	250	10	8.4 ±2.3	1	388.3 ±124.7	0	6.5	93.6 ± 14.4	240.3 ± 39.9
	500	9	9.0 ±4.7	0	362.4 ±248.9	0	6.5	107.2 ± 63.5	237.6 ±104.3
	1000	9	7.6 ±2.0	1	635.7 ±197.9	0	6.5	117.0 ± 45.8	303.1 ± 61.0
	2000	10	8.1 ±2.0	0	468.1 ±170.9	0	6.5	100.0 ± 46.9	213.2 ± 85.9
	4000	10	8.0 ±2.2	1	515.5 ± 89.7	0	6.5	111.2 ± 27.9	255.9 ± 54.0
Allethrin	250	10	6.8 ±1.8	0	736.6 ±225.7	0	6.5	104.0 ± 53.3	278.6 ± 46.7
	500	10	7.3 ±2.8	0	758.7 ±241.5	0	6.5	111.5 ± 48.4	283.6 ± 74.0

Mean±S. D.. **: Significant difference from the control group ($p<0.01$).

Table 5. Relative organ weight of rats treated with Kikuthrin and Allethrin for 12 weeks.

Drug	Dose (mg/kg) p.o.	No. of rats	Wet weight (g) of organ/100g of body weight						
			Liver	Heart	Spleen	Kidneys	Adrenals	Gonads	Thyroid
Control (M.C.)		10	2.74 ±0.20	0.28 ±0.02	0.14 ±0.04	0.60 ±0.06	0.016 ±0.003	0.87 ±0.10	0.0046 ±0.0007
Kikuthrin	250	10	3.34** ±0.29	0.31 ±0.04	0.14 ±0.02	0.65 ±0.07	0.018 ±0.003	0.93 ±0.12	0.0062** ±0.0012
	500	9	3.43** ±0.46	0.29 ±0.02	0.14 ±0.02	0.64 ±0.07	0.017 ±0.003	0.82 ±0.08	0.0053 ±0.0006
	1000	9	3.79** ±0.17	0.28 ±0.02	0.15 ±0.02	0.64 ±0.05	0.016 ±0.002	0.88 ±0.13	0.0064** ±0.0011
	2000	10	4.07** ±0.28	0.28 ±0.02	0.14 ±0.02	0.64 ±0.03	0.016 ±0.001	0.89 ±0.08	0.0067** ±0.0011
	4000	10	3.86** ±0.22	0.30 ±0.02	0.15 ±0.03	0.65 ±0.02	0.017 ±0.002	0.90 ±0.08	0.0062** ±0.0009
Allethrin	250	10	3.61** ±0.20	0.29 ±0.02	0.13 ±0.02	0.65 ±0.04	0.016 ±0.002	0.86 ±0.08	0.0070** ±0.0010
	500	10	4.41** ±0.20	0.29 ±0.03	0.14 ±0.02	0.68** ±0.04	0.018 ±0.003	0.87 ±0.12	0.0070** ±0.0011

Mean±S. D.. **: Significant difference from the control group ($p<0.01$).

(9) 病理組織学的所見

肝 巣状壊死、類洞および Glisson 氏鞘の細胞浸潤、肝細胞の空胞形成、うっ血の所見が薬物投与量に相関なく、いずれも極く少数例に散見されたが、薬物投与の影響を示す変化は認められなかった。

腎 尿管上皮変性および尿管基底膜の肥厚が Kikuthrin; 500mg/kg/day 投与群を除いた各群に 1~2例に見られ、他に細胞浸潤が Kikuthrin; 2000mg/kg/day, 4000mg/kg/day 投与群および Allethrin;

250, 500mg/kg/day 投与群に 1例ずつ、うっ血が Kikuthrin; 500mg/kg/day 投与群に 1例認められた。尿管変性と基底膜の肥厚は同部位のもので 1~3個の尿管に出現し、Azan 染色で細胞質は淡染し、基底膜は緑色にやや濃染肥厚し、尿管は萎縮気味であったが、程度および頻度は対照群と同様だった。

脾 全投与群に hemosiderin 沈着を 3~5 例、うっ血が Kikuthrin; 250mg/kg/day 投与群に 2例、Kikuthrin, Allethrin; 500mg/kg/day 投与群に 1例

ずつ見られた。

心 心筋変性が Kikuthrin; 250mg/kg/day 投与群に 1 例, 心筋内小出血巣が Kikuthrin; 500mg/kg/day 投与群に 1 例見られたが, 出血周囲には変性, 炎症性反応は見られなかった。うっ血が Allethrin; 500 mg/kg/day 投与群に 1 例認められた。

肺 Kikuthrin, Allethrin; 500mg/kg/day 投与群に気管支炎が 1 例ずつ認められた他に肺胞壁の肥厚, うっ血, 血管周囲細胞浸潤が投与量と相関なく散見された。

甲状腺 薬物投与群に投与量に比例してコロイドの減少(淡明化)が見られ Kikuthrin; 4000mg/kg/day, Allethrin; 250, 500mg/kg/day に濾胞上皮の乳頭状突起がみられ, 突起は時に小濾胞と思われる形をしており, 上皮細胞は高い傾向を示した。まれに上皮細胞内に空胞および PAS 強陽性顆粒が出現した。これら

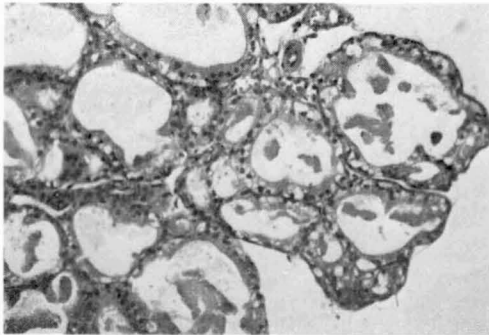


Fig. 2. Thyroid gland from male rat treated with 250 mg/kg/day of Allethrin orally for 12 weeks showing the decrease of colloidal substance and papillary changes of epithelium. H. E. stain.

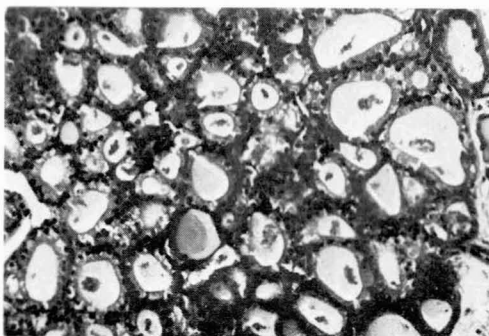


Fig. 3. Thyroid gland from male rat treated with 4000 mg/kg/day of Kikuthrin orally for 12 weeks showing the decrease of colloidal substance and hypertrophy of epithelial cells. H. E. stain.

の所見は Kikuthrin; 4000mg/kg/day よりむしろ Allethrin; 250, 500mg/kg/day の方が強い傾向を示した。

その他 その他の諸臓器(副腎, 脾臓, 脳, 胃, 腸, 睪丸, リンパ節, 胸腺)において薬物の影響と思われる変化はみられなかった。

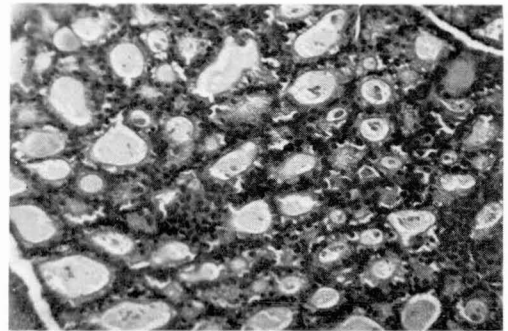


Fig. 4. Thyroid gland from male rat treated with 2000 mg/kg/day of Kikuthrin orally for 12 weeks showing normal figure. H. E. stain.

6. 吸入毒性試験

(1) 症状および体重の変化 吸入毒性試験の第 1 日より最終日迄, 吸入処置後に全ての群の動物に眼脂を認めた。Allethrin (3g/m³) 吸入群および Kikuthrin (3g/m³) 吸入群のマウスに第 3 週目より軽度の行動性低下を示す例を散見したが, その他に異常の症状を認めなかった。

吸入試験期間中の各群のマウスの平均体重の変動は, 第 5 図に示す通りであり, 特に体重の減少を示す群は見られなかった。

なお, 全期間を通して, 死亡例は全く認められなかった。

(2) 病理解剖学的所見 吸入試験期間終了後の動物を放血屠殺し, 主要臓器の肉眼的観察を行なった結果, 肺に以下の所見が見られ, 他の臓器に異常は認められなかった。

対照群 異常なし

Kikuthrin 0.3g/m³ 吸入群

極く軽度の肺充血; 1 例

Kikuthrin 1g/m³ 吸入群

限局性肺炎様所見; 4 例

Kikuthrin 3g/m³ 吸入群

限局性肺炎様所見; 2 例

軽度の肺充血; 2 例

Allethrin 3g/m³ 吸入群

限局性肺炎様所見; 4 例

なお、主要臓器の体重比重量は第6表に示す通りであり、Kikuthrin の $1\text{g}/\text{m}^3$ 吸入群に肝重量の増加および副腎重量の減少が見られた他に異常は認められなかった。

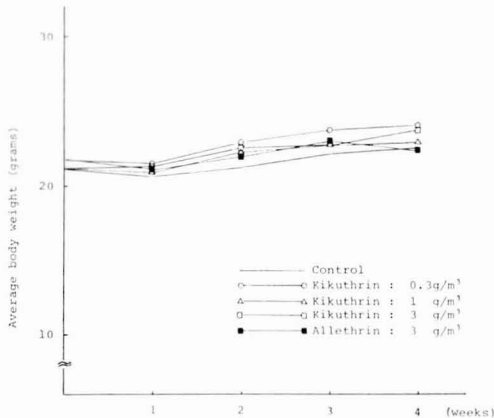


Fig. 5. Growth curve of mice on inhalation toxicity study.

(3) 病理組織学的所見

肺の組織所見

対照群 気管支上皮の剝離（第6図）および限局性の肺胞壁の肥厚が1例ずつ認められた。

Kikuthrin; $0.3\text{g}/\text{m}^3$ 吸入群 気管支上皮の剝離が1例に、限局性の気管支および血管周囲のリンパ球浸潤が3例に見られた。（第7図）

Kikuthrin; $1\text{g}/\text{m}^3$ 吸入群 気管支肺炎の所見が4例に認められた。これらの例は気管支内および周囲の好中球浸潤により気管支上皮の変性および剝離を伴ない、一部の例ではリンパ球および単核球の浸潤と混在していた。しかし、肺胞は殆んどが正常の組織像を示しており、前記の変化は気管支およびその極く周辺に

限局して認められた。

Kikuthrin; $3\text{g}/\text{m}^3$ 吸入群 好中球の浸潤を伴った気管支肺炎の所見は1例のみに見られ、随伴して気管支上皮の変性、剝離、増生およびリンパ球、単核球の浸潤、一部の肺胞上皮の膨化等の所見が認められた。（第8図）その他の例には一部に気管支周囲のリンパ球および単核球浸潤、軽度の間質の増生が見られた他、気管支上皮の変性および剝離と限局性の肺胞上皮の膨化とが各1例のみに認められた。これらの変化は、いずれも限局性であり、殆んどの肺胞は正常であった。

Allelethrin; $3\text{g}/\text{m}^3$ 吸入群 5例に気管支肺炎の組織像が見られ、それらの所見は好中球浸潤と同時に気管支上皮の変性、剝離およびリンパ球浸潤を示し、一部の例には間質の増生、肺胞上皮の膨化、単核球浸潤、肺胞壁の肥厚、肺胞上皮の膨化およびうっ血水腫が見られた。（第9図）これらの所見は概ね気管支周辺に限局して認められた。

気管の組織所見

対照群のマウスには、軽度の粘膜上皮細胞の変性お

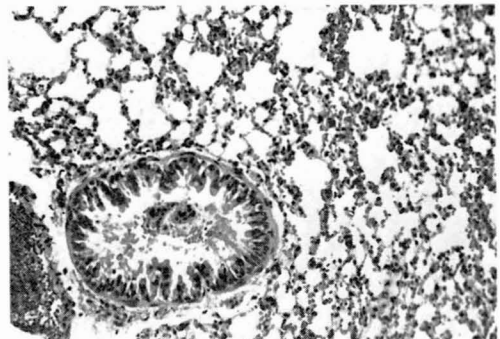


Fig. 6. Mouse lung of control group of inhalation toxicity study showing desquamation of epithels and erythrocytes in bronchus. H. E. stain.

Table 6. Relative organ weight of mice on inharation toxicity study.

Drug	Concentration of drug (g/m^3)	No. of mice	Wet weight (g) of organ/100g of body weight				
			Liver	Heart	Spleen	Kidneys	Adrenals
Control		8	5.6 ± 0.3	0.51 ± 0.04	0.35 ± 0.08	1.5 ± 0.1	0.047 ± 0.005
	0.3	8	5.9 ± 0.4	0.52 ± 0.02	0.43 ± 0.17	1.5 ± 0.2	0.040 ± 0.007
Kikuthrin	1	8	6.2** ± 0.3	0.49 ± 0.05	0.34 ± 0.06	1.5 ± 0.1	0.039** ± 0.006
	3	8	6.0 ± 0.3	0.50 ± 0.02	0.38 ± 0.06	1.4 ± 0.1	0.043 ± 0.004
Allelethrin	3	8	5.8 ± 0.3	0.49 ± 0.03	0.36 ± 0.05	1.4 ± 0.1	0.040 ± 0.006

Mean $\pm$ S. D. . ** : Significant difference from the control group ($p < 0.01$)

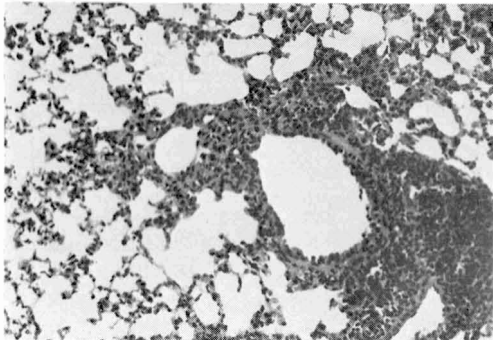


Fig. 7. Lung of mouse inhaled with Kikuthrin ($0.3\text{g}/\text{m}^3$) showing cell infiltration around the bronchus. H. E. stain.

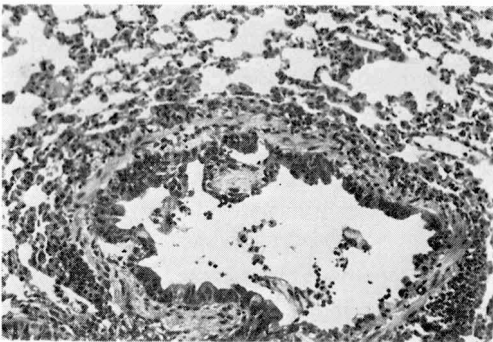


Fig. 8. Lung of mouse inhaled with Kikuthrin ($3\text{g}/\text{m}^3$) showing degeneration and hyperplasia of bronchial epithelial cells. H. E. stain.

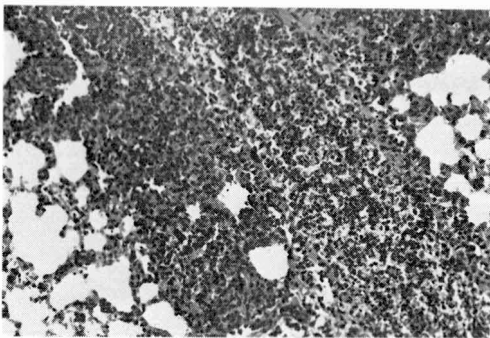


Fig. 9. Lung of mouse inhaled with Allethrin ($3\text{g}/\text{m}^3$) showing the bronchopneumonia. H. E. stain.

および粘膜下のリンパ球浸潤が1例のみに見られた。検体吸入群には、粘膜上皮細胞の変性例数の増加する傾向が見られ、また上皮細胞間および粘膜下にリンパ球の他、一部好中球の浸潤が認められた。しかし、これらの変化はいずれも軽度であり、1例 (Allethrin 吸

入群)を除き、粘膜上皮の脱落も見られなかった。

その他の臓器の組織所見

肝細胞核濃縮、腎・尿管上皮の核濃縮および尿管柱等の所見が散見されたが、肝、腎の他、眼球、脾、心、肺、副腎、胃、腸の各臓器に検体吸入の影響を意味する所見は認められなかった。

総括ならびに考察

急性毒性試験の結果、Kikuthrinの原液投与による LD_{50} は、マウス経口投与で $8.2\text{g}/\text{kg}$ (雄) および $8.4\text{g}/\text{kg}$ (雌)、ラット経口投与では $14\text{g}/\text{kg}$ 以上であり、皮下投与ではマウス、ラットともに $20\text{g}/\text{kg}$ 以上であった。

また、経皮投与では塗布可能最大量 ($5\text{g}/\text{kg}$) でラットに死亡例は見られず、マウスの少数例のみが死亡した。

Kikuthrinのtween 80懸濁液投与の場合には、ラット経口投与例のみに致死作用の増強が軽度見られた。

毒性の程度の基準として大森¹²⁾はラット経口投与で $\text{LD}_{50} > 15\text{g}/\text{kg}$ を「無毒」、 $\text{LD}_{50} > 5\text{g}/\text{kg}$ を「低毒性」と記載しており、これを引用するなら、Kikuthrinは「無毒」に近い「低毒性」を有することが示された。

家兎による点眼試験では、Kikuthrinの点眼により重篤な変化はみとめられず、一過性の流涙がみられたのみであった。

また、皮膚刺激試験では、Kikuthrin塗布による炎症性変化は全くみられず、モルモットによる皮膚感作試験においても、Kikuthrinが抗原性を有しないことが推察された。

慢性毒性試験では、Kikuthrin; $4000\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ の最高投与量群においても死亡例はなく、成長抑制も見られなかった。

Kikuthrin; $1000\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ 以上の投与群の一部に胃出血が見られたが、このような解剖所見は一般に対照群ラットにも散見され、また、組織学的に特に異常が認められないことより、重篤な障害とは思われない。臓器重量測定により肝臓および甲状腺重量の増加する傾向が見られたが、病理組織学所見上、肝には特に異常は見られず、甲状腺には濾胞新生様所見、上皮の再吸収様所見^{13,14,15)}が認められ、機能亢進状態を示唆する所見と思われる。少数例に散見された尿潜血反応陽性は最高投与量群には見られず、組織所見上、対応すべき変化も認められないことより、非特異的出現と考えられる。

マウスに対する吸入毒性試験の結果、Kikuthrinの $1\text{g}/\text{m}^3$ 以上の吸入群に気管支炎および気管支肺炎例の増加が見られ、高濃度のKikuthrin吸入が肺感染症に対する抵抗性の減退を促すことが示された。しかし

0.3g/m³吸入群には一部に気管支周囲のリンパ球浸潤が見られたのみであり、特に障害を意味する所見は認められなかった。

以上の各種の毒性試験における Kikuthrin と Allethrin の毒性の強弱を比較してみると、急性毒性試験において、マウス経皮投与により Allethrin が強い致死作用を示し、点眼試験でも Allethrin による流涙が強めに見られたが、皮膚刺激試験では両者とも、異常所見を生じなかった。しかし、皮膚感作試験では Kikuthrin のモルモット皮内投与による直接作用としての変化が Allethrin よりも強く見られた。

慢性毒性試験では Allethrin の 1000mg/kg が致死量であることが示され、Kikuthrin が明らかに低毒性であることが知られた。吸入毒性試験では Kikuthrin と Allethrin との間に特に異質の反応は見られなかった。

これらの全ての実験を通して、Kikuthrin は重篤な障害を示すことなく、一部の実験成績を除いて、Allethrin よりも明らかに低毒性であることが示された。

謝辞 本研究に終始協力した吉富製薬研究所の諸氏に感謝する。

文 献

- 1) 中西美智夫, 栗山経渡, 工藤 章: 防虫科学, 35, 96 (1970).
- 2) 中西美智夫, 向井俊彦: 特許公報, 昭45—7069.
- 3) Litchfield, J. T., F. Wilcoxon: *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, 96, 99 (1949).
- 4) Drabkin, D. L.: *Medical Physics.*, 2, 1072 (1950).
- 5) McGovern, J. J., A. R. Jones, and A. G. Steinberg: *New Engl. J. Med.*, 253, 308 (1955).
- 6) 藤井暢三: “生化学実験法定量篇” 第10版, 南山堂, 東京, (1956).

- 7) 北村元仕, 三上晃代: 臨床検査, 11, 897 (1967).
- 8) Reitman, S., S. Frankel: *Am. J. Clin. Pathol.*, 28, 56 (1957).
- 9) Kind, P. R. N., E. J. King: *J. Clin. Pathol.*, 7, 322 (1954).
- 10) 浪久利彦, 南部勝司, 金井卓也: 医学のあゆみ, 58, 69 (1966).
- 11) 奥田美千代, 長山千秋, 松浦善朗, 寄高常夫, 山本 誠: 臨床病理, 16, 86 (1968).
- 12) 大森義仁: 薬事新報, No. 423, 10.
- 13) Robertis, E.: *Amer. J. Anat.*, 68, 317 (1941).
- 14) Aron, M.: *Rev. Franc. Endocrin.*, 8, 472 (1930).
- 15) Grand, M.: *Anat. Rec.*, 46, 205 (1930).

Summary

Following toxicity studies were carried out on Kikuthrin in comparison with Allethrin: acute toxicity study on mice and rats, ophthalmomucous and skin irritation tests in rabbits, skin sensitization study in guinea-pigs, chronic toxicity study in rats and inhalation toxicity test in mice.

Results were as follows: 1) LD₅₀ of oral administration was about 8g/kg in mice and more than 14g/kg in rats. 2) Any apparent injury was not observed in ophthalmomucous and skin irritation tests. 3) No antigenic effect was observed when Kikuthrin was applied to the skin in the sensitization study. 4) Death and heavy injury were not observed even a high dosage of 4g/kg/day of Kikuthrin was orally administrated in the chronic toxicity study.

5) Bronchopneumonia and slight degenerations were found in lungs of several mice inhaled with Allethrin or Kikuthrin (more than 1g/m³ in concentration).

抄 録

イエバエの不妊剤としての硼素化合物

Boron Compounds as Chemosterilants for House flies A. B. Bořkovec J. A. Settepani, G. C. LaBrecque, R. L. Fye. *J. Econ Entomol.*, 62, 1472 (1969).

羽化直後のイエバエに供試化合物を fly food および砂糖水に混合して与え、産卵の有無、卵の孵化および蛹化率を測定する標準的な方法により、不妊効果の検定をした。その結果無機硼素化合物3種、硼酸エステルおよびアミド化合物8種、Boronic acid 類およ

びその誘導体53種、その他5種、合計69種の硼素化合物が雌雄共に0.025~5%投与した時に効力を示した。しかし雄のみに投与した時に効力を示した化合物は5種類であった。一般に多くの硼素化合物は容易に加水分解するので、ハエに取り込まれて不妊化効果を示す化合物は必ずしも最初に飼料に加えた化合物とは限らない。硼酸および Boronic acid 類の不妊化効果は、酸として与えるよりも、分解して酸となるような化合物として投与した時に増大する。投与薬剤の毒性は加水分解物のそれとは無関係である。(桑原保正)