有機リン殺虫剤 Phosvel のニワトリ脂肪組織内 蓄積と遅発性神経毒性

Accumulation of Organophosphorus Pesticide "Phosvel" in
Adipose Tissue of Hens and Its Delayed Neurotoxicity

福島県立医科大学公衆衛生学教室

紺 野 信 弘

Nobuhiro Konno

Department of Public Health, Fukushima Medical College, Fukushima

Phosvel is an organophosphorus pesticide that produces a delayed neurotoxic effect in hens. Residues of Phosvel have been reported to be present in adipose tissue of birds up to 21~28 days following a single oral dose of 250 mg/kg. We here describe accumulation of the pesticide in the fatty tissue of hens given a single, daily administrations of small doses.

Hens (22 months old) were given a single oral dose of 5, 10 or 20 mg/kg b.w. of Phosvel daily, and were killed 24 hours after test periods of 7, 14, 21 or 28 days. Three birds that developed signs of paralysis died 3 days before the final dose (28 days).

The concentraion of Phosvel in the fat of hens given 5 mg/kg and 10 mg/kg increased during the first 21 days, but fell slightly by the termination of the experiment at day 28. Phosvel storage in the fat of birds given 20 mg/kg was relatively stable up to 14 days of administration, but increased sharply thereafter. At day 25, the Phosvel concentration in the fat reached a maximum. The level of Phosvel in the fat was proportional to the amount of the daily dose. Three birds given 10 mg/kg showed signs of ataxia after the 19th~26th dose and paralysis after the 20th~28th dose. Six hens given 20 mg/kg showed signs of ataxia after the 17th~20th dose and paralysis after the 21st~26th dose.

The results clearly show that Phosvel accumulated in the adipose tissue of hens after continuous exposure and that delayed neurotoxicity in hens was produced following the daily oral administration of 10~20 mg/kg.

I. 緒 言

少数の有機リン化合物に遅発性神経毒性が見られることは、1930年に米国で起きた Tri-ortho-cresyl phosphate (TOCP) による偶発的な事故以来知られている¹⁾。有機リン殺虫剤 Phosvel (Leptophos) もまたそのような化合物の1種であることが、1971年にエジプトで起きた水牛の斃死事故を契機として知られるようになった²⁾。Abou-Donia ら³⁾がニワトリを用いて、Phosvel にも TOCP 様毒性があることを明らかにしたのが文献として最初の報告である。そして著者ら⁴⁾もこの特異的な神経毒性についてはすでに追試して確認している。現在までに、殺虫剤の中でこの種の毒性が確認されたのは、Mipafox と Phosvel だけである。Mipafox⁵⁾ は英国で起

きた工場労働者の事故を機会に知られるようになったが、その後ただちに製造と使用が禁止になったと言われている。従って殺虫剤として広く使用されたのは、Phosvel が最初の例と考えられる。

一方遅発性神経毒性の生化学的作用機序に関しては、いまだ定説はない。しかし連続投与⁶⁾、分割投与⁷⁾による毒性発現の成績から、Phosvel には蓄積効果のあることが示唆された。従来、有機リン剤は生体内では速やかに分解、排泄されるものと考えられてきた。しかし Davies ら⁸⁾は有機リン殺虫剤 Dichlofenthion (VC-13) が人の体脂肪に長期間残留していたと述べており、さらに同論文の中で理化学的性質からみれば Phosvel もまた脂肪組織に残留する可能性があると報告している。これに示唆されて著者ら^{9~12)}は経口投与された Phosvel がニワトリ

Phosvel

O-(4-bromo-2,5-dichlorophenyl)
O-methyl phenylphosphonothioate

Fig. 1 Chemical structure of Phosvel

の脂肪組織に速やかに移行し、かつ残留することを証明し、Davies らの指摘が正しかったことを明らかにした。

さらに今回は、少量の Phosvel をニワトリに連続投与した場合の、脂肪組織内への蓄積量と、神経障害発現との関係について検討を加えた成績を以下に報告する。

II. 実験材料および実験方法

1. 試薬

市販の Phosvel 乳剤 (原体34%含有) に4倍量のmethanolを加え、1晩放置し Phosvel 結晶 (Fig. 1) を析出させた。結晶の純度は gas chromatography の結果、Phosvel 標準品 (工業用原体) 換算で96%であった。petroleum ether, n-hexane, acetonitrile, ethyl ether, は市販の“残留農薬試験用”を用いた。Florisil PR (Floridin 社製) は 130°C で24時間活性化後使用した。gas chromatography 用の column 充填剤はガスクロ工業社より購入した。

2. 実験動物および投与方法

雌成鶏 (22月齢) 単冠白色 Leghorn 種, 40羽を用いた。体重は 1.95 ± 0.23 kg (平均±標準偏差) であった。実験開始前1週間観察して異常のないことを確めた後に処理を開始した。水 (水道水) と餌 (市販の成鶏用配合飼料) は処理前、処理後とも自由に摂取させた。全鶏を cage で各々個別に飼育した。

前述のようにして調製した結晶 Phosvel を salad 油に溶かし3群にわけたニワトリにそれぞれ 5 mg/kg b. w. 10 mg/kg. 20 mg/kg の割合で胃チューブを用いて連日経口1回投与した。各群12羽とし7日, 14日, 21日, 28日の1週間毎に最終投与後24時間目に各3羽ずつ屠殺することとした。しかし実験終了前に3羽斃死した。対照群4羽とし, 2羽は無処理のまま実験開始時に, 残りの2羽は salad 油のみを連日経口投与して29日目に, それぞれ屠殺した。体重は週に2度定期的に, また屠殺直前にも測定した。症状観察は毎日行った。特に異常が疑わ

れたニワトリについては cage の外に出して観察してその障害程度を判定した。大網脂肪を採取し, 分析時まで -20°C で保存した。

3. 脂肪組織中 Phosvel の分析法

Fig. 2 Procedure for analyzing Phosvel

Table 1 Gas chromatography conditions

Model; Hitachi 163
Column; Glass, 3 mm×2 m
Liquid phase; 5% OV-1
Support; Chromosorb WAW (80/100)
Column temp.; 250°C
Injector temp.; 300°C
Detector temp.; notch 7
Carrier gas; Nitrogen 80 ml/min
Hydrogen flow rate; 140 ml/min
Oxygen flow rate; 20 ml/min
Detector; FPD
Optical filter; P (526 nm)

脂肪組織 5 g に pet. ether を加えて抽出した。遠心分離後、沈澱には再び pet. ether を加え抽出を 2 回繰り返した。pet. ether 抽出液の溶媒を K-D 濃縮器で除去した後、得られた脂肪を秤量した。この脂肪を pet. ether 抽出性脂肪とし、Phosvel の含有量は、この抽出性脂肪当りで計算した。さらに供試脂肪組織重量 (湿重量) に対する抽出性脂肪重量の割合を求め、脂肪含有率 (%) とした。得られた抽出性脂肪は n-hexane に溶かし、液一液分配を行い、Florisil column chromatography によって clean-up した。溶出液は 3-5 ml に濃縮し、gas chromatography によって Phosvel を定量した。脂肪組織からの Phosvel の抽出および clean-up については flow sheet として Fig. 2 にまとめた。gas chromatography の条件は Table 1 に示したとおりである。なお対照鶏の脂肪組織を用いて行った添加回収率試験の結果、平均回収率は 85% であった。また抽出性脂肪当りの Phosvel の最少検出量 (back ground noise の 10 倍) は 0.05 ppm であった。

Ⅲ. 結 果

1. 体重変化

各鶏の実験開始時の体重と実験終了時 (屠殺あるいは斃死時) の体重および Phosvel の投与期間を Table 2 に示した。実験開始時の体重の単位は kg であり、終了時の体重は開始時の体重に対する百分率で表わした。Group A-D は 5 mg/kg 投与群、Group E-H は 10 mg/kg 投与群、Group I-L は 20 mg/kg 投与群である。Group H の 1 羽と Group L の 2 羽は実験期間中に麻痺が発症し、投与終了前に症状が悪化して斃死した。これらの 3 羽以外のニワトリは 7 回、14 回、21 回、28 回連続投与後 24 時間目に屠殺した。5 mg/kg 群では Group A と C

Table 2 Body weight of control hens and of hens given a daily single oral dose of Phosvel

Group	Dose (mg/kg)	Period of dosage (days)	No. of hens	Body weight	
				Initial (kg)	Final (% of initial wt.)
A	5	7	3	1.90±0.16 ^a	85.5±12.4
B	5	14	3	1.88±0.27	95.3±19.9
C	5	21	3	1.93±0.45	83.4±9.2
D	5	28	3	1.74±0.28	89.6±13.7
E	10	7	3	2.01±0.25	95.2±8.3
F	10	14	3	2.05±0.22	89.0±8.6
G	10	21	3	1.84±0.14	81.0±16.8
H	10	28	3	1.95±0.11	69.6±23.9 ^b
I	20	7	3	1.91±0.08	77.0±10.1
J	20	14	3	1.94±0.40	80.2±14.5
K	20	21	3	2.11±0.21	76.3±14.0
L	20	28	3	2.06±0.35	65.4±7.0 ^b
Control A	salad oil	28	2	1.95±0.11	95.4±10.1
Control B	0	0	2	1.95±0.05	100.0±0.0

a: Mean±S.D., b: Including the final weight of one or two hens on day 25

の実験終了時の体重が 85.5%, 83.4% と若干減少したが、28 日間投与した Group D では 89.6% であり、はっきりした減少傾向は認められなかった。10 mg/kg 群では Group E と F の終了時の体重が 95.2%, 89.0% とほぼ投与開始時の体重に近い値を示した。しかし 3 週間以上投与を続けた Group G と Group H では減少傾向が明らかであった。20 mg/kg を投与した Group I, Group J, Group K, Group L の体重は 65.4~80.2% にまで著明に減少した。salad 油のみを 28 日間投与した対照鶏 (Control A) の体重は 95.4% であり、実験開始時体重とあまり変らなかった。

2. Phosvel の脂肪組織への蓄積

5 mg/kg 連続投与鶏の脂肪組織中 Phosvel 濃度を Table 3 に示した。なお Table 3 の No. 1, 2, 3 のニワトリは、Table 2 では Group A に相当する。同様に Table 3 の No. 4, 5, 6 は Table 2 では Group B に相当するものであり、以下の番号のニワトリについても全く同じである。Phosvel の投与期間は 7 日、14 日、21 日、28 日である。体脂肪中 Phosvel 濃度 (ppm) は pet. ether 抽出性脂肪当りで計算した。また脂肪組織に占める抽出性脂肪の割合は百分率で示した。Phosvel 濃度は 7 日間連続投与の場合 0.73~1.30 ppm (平均 0.94 ppm)

Table 3 Concentration of Phosvel in adipose tissue of hens after a daily single oral dose of 5 mg/kg

Group	Hen No.	Period of dosage (days)	Total dose (mg/kg)	Phosvel conc. (ppm) ^a	Percent of pet. ether extractable fat
A	1	7	35	0.73	86.7
	2	7	35	0.80	87.1
	3	7	35	1.30	88.2
B	4	14	70	0.73	87.4
	5	14	70	0.91	87.5
	6	14	70	0.92	89.9
C	7	21	105	1.39	88.0
	8	21	105	2.39	84.8
	9	21	105	2.37	86.9
D	10	28	140	1.36	89.0
	11	28	140	0.73	66.4
	12	28	140	1.58	71.0
	Cont. 1	28 ^b	salad oil	n. d. ^c	88.0
	Cont. 2	28	salad oil	n. d.	83.7
	Cont. 3	0	—	n. d.	83.5
	Cont. 4	0	—	n. d.	85.2

a: Pet. ether extractable fat basis

b: Control hens treated with salad oil alone

c: n.d., not detected

であり、14日間投与でも 0.73～0.92 ppm (0.85 ppm) とほぼ等しい値を示した。3週間投与では 1.39～2.39 ppm (2.05 ppm) になり、平均濃度で2倍に増加した。しかし4週間投与では 0.73～1.58 ppm (1.22 ppm) になり3週間投与に比べわずかに減少した。対照鶏からは Phosvel は検出されなかった。pet. ether 抽出性脂肪の脂肪組織に対する割合は No. 11 の 66.4% と No. 12 の 71.0%を除けば、80%台の値になる。

Table 4 には 10 mg/kg 連続投与鶏の脂肪組織中 Phosvel 濃度を示した。7日間投与で、1.63～2.38 ppm (2.12 ppm)、14日間投与では 1.91～2.67 ppm (2.37 ppm) である。3週間投与を続けると 2.86～6.00 ppm (4.17 ppm) に増加した。しかし投与期間を4週間に延長しても 2.29～4.72 ppm (3.51 ppm) と Phosvel の蓄積増加は認められなかった。No. 22 は最終回投与 (28回) を待たず、麻痺が進行し25日目 (25回終了後) に死亡した。体脂肪の消耗が激しくこのニワトリからは分析可能な量の組織を採取できなかった。抽出性脂肪は 49.4～88.7% とばらつきが認められた。

Table 4 Concentration of Phosvel in adipose tissue of hens after a daily single oral dose of 10 mg/kg

Group	Hen No.	Period of dosage (days)	Total dose (mg/kg)	Phosvel conc. (ppm)	Percent of pet. ether extractable fat
E	13	7	70	1.63	83.6
	14	7	70	2.38	84.2
	15	7	70	2.34	88.7
F	16	14	140	2.67	60.3
	17	14	140	2.52	86.6
	18	14	140	1.91	87.5
G	19	21	210	3.64	49.4
	20	21	210	6.00	79.4
	21	21	210	2.86	83.0
H	22	25	250	n. e. ^a	n. e.
	23	28	280	2.29	68.8
	24	28	280	4.72	79.6

a: n.e., not estimated; body fat was depleted

Table 5 Concentration of Phosvel in adipose tissue of hens after a daily single oral dose of 20 mg/kg

Group	Hen No.	Period of dosage (days)	Total dose (mg/kg)	Phosvel conc. (ppm)	Percent of pet. ether extractable fat
I	25	7	140	1.44	22.2
	26	7	140	5.20	85.2
	27	7	140	3.03	56.5
J	28	14	280	2.30	73.2
	29	14	280	3.68	80.3
	30	14	280	4.61	57.6
K	31	21	420	8.45	76.4
	32	21	420	8.70	88.2
	33	21	420	5.00	82.2
L	34 ^a	25	500	9.77	85.1
	35 ^a	25	500	12.29	83.7
	36	28	560	n. e.	n. e.

a: Hens died on day 25

20 mg/kg 連続投与鶏の脂肪組織中濃度を Table 5 に示した。7日間投与で 1.44～3.03 ppm (3.22 ppm)、14日間では 2.30～4.61 ppm (3.53 ppm) であり、平均濃度はほぼ等しい。しかし3週間投与では 5.00～8.70 ppm (7.38 ppm) と2倍以上に増加した。なお No. 34 と No.

35は処理開始25日目に麻痺が進行して死亡した。これら

Fig. 3 Accumulation of Phosvel in the adipose tissue of hens

の脂肪組織中には 9.77 ppm および 12.29 ppm という高濃度の蓄積が認められた。No. 36 からは 10 mg/kg 投与群の No. 22 と同様に組織を採取できなかった。抽出性脂肪の脂肪組織に対する割合は22.2~88.2%でかなりのばらつきがあった。

Table 3, 4, 5 にもとづいて、脂肪組織中 Phosvel 濃度の経時の変化を表わしたのが (Fig. 3) である。各表の数値を平均値と標準誤差 (S.E.) で図示した。1 週間の連続投与の場合 Phosvel の平均濃度は 5 mg/kg 群で 0.94 ppm, 10 mg/kg 群で 2.12 ppm, そして 20 mg/kg 群では 3.22 ppm になる。投与開始の 1 週間後から 2 週間までは 3 投与群ともほぼ濃度が横ばいの傾向を示したが、2 週間から 3 週間にかけて Phosvel の蓄積は急激に増大した。5 mg/kg 群と 10 mg/kg 群では投与開始後 3 週で脂肪組織中の Phosvel 濃度がピークに達した。20 mg/kg 群の 25 日目の結果を除外すれば、各処理群とも類似の蓄積傾向を示している。同一投与期間における平均濃度をもとに、蓄積比 (5 mg/kg : 10 mg/kg : 20 mg/kg) を求めると 7 日目では 1.0 : 2.3 : 3.3, 14 日目では 1.0 : 2.8 : 4.2, 21 日目では 1.0 : 2.0 : 3.6 になる。

3. Phosvel 投与鶏の所見

Phosvel 連続投与後に見いだされた運動障害の程度と進行状況を Table 6 に示した。なお Table 6 のニワトリの番号と Table 4, 5 のニワトリの番号は一致しており、同一のニワトリを示すものである。処理期間中に対照群では異常がみられず、また 5 mg/kg 投与群でも処

Table 6 Degree and duration of neurotoxic signs observed in hens given a daily single oral dose of Phosvel

Treatment level	Group	Hen No.	Days after start of dosage													
			1~16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
10 mg/kg	G	19	0 ^a	0	0	0	0	1	S							
		20	0	0	0	1	2	2	S							
		21	0	0	0	0	0	0	S							
	H	22	0	0	0	1	2	2	2	2	2	D				
		23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	S
		24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	S
20 mg/kg	K	31	0	1	1	1	1	2	S							
		32	0	1	1	1	1	2	S							
		33	0	1	1	1	1	2	S							
	L	34	0	1	1	1	1	1	2	2	2	D				
		35	0	1	1	1	1	1	2	2	2	D				
		36	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	2	2	2	S

a: 0; no abnormality, 1; ataxia, 2; paralysis, S; sacrificed, D; died

理期間中に神経障害の発現は認められなかった。10 mg/kg 群, 20 mg/kg 群においても15日目（最終回投与後1日目）までに屠殺した12羽（Group E, F と I, J）については異常を認めなかった。しかし22日目以降に屠殺（死亡）した12羽は, No. 21 を除いた全てのニワトリに運動障害が発現した。

10 mg/kg 群の No. 22 は19日目に明らかな歩行異常が現われ, 20日目にはうずくまったまま起立不能になった。麻痺（paralysis）の状態が5日間続き6日目, すなわち投与開始25日目に死亡した。No. 23 は26日目に運動失調（ataxia）が出現し, 29日目の屠殺時点では起立困難になり横倒しの状態であった。

20 mg/kg 投与群（Group K, L）では No. 36 を除いたすべてのニワトリに, 投与開始後17日目に明らかな歩行障害が一斉に出現した。No. 31, 32, 33, は歩行緩慢で足の交差がうまくできない等の症状が4日間続いた後, 運動失調出現後5日目（21回投与時）には腰を落し, 起立不能になった。さらにこれらのニワトリは足を前に投げ出した異様な姿勢で座り, Phosvel による典型的な麻痺症状を呈した。No. 34, 35 とともに上記の No. 31, 32, 33 とほぼ同様の経過をたどり, 麻痺の状態が3日間続いたのち麻痺発現後4日目（処理開始後25日目）に死亡した。No. 36 は処理開始後20日目に発症し, 6日間運動失調の状態が続いた。しかし麻痺の進行は死亡した No. 22, 34, 35 に比べ遅く, 29日目の屠殺時点ではなお腰を落した“アヒル様”の異様な歩行は可能であった。

IV. 考 察

少数の有機リン化合物に遅発性神経毒性がみられることは1930年米国で起きた TOCP による偶発的な事故を契機に知られるようになった。TOCP による類似の事故は1959年モロッコでも発生しており, 2000人以上が罹患したと言われている¹³⁾。このような特異の毒性をもつ有機リン化合物が殺虫剤からも発見された。すなわち1951年に英国で試験的に製造された殺虫剤 Mipafos に暴露された2人の工場労働者で TOCP 様の麻痺が出現するという事故が起きており, 成書にも記載されている¹⁴⁾。そして Phosvel は1971年エジプトで起きた千数百頭におよぶ水牛の死亡事故をきっかけに知られるようになった。この事件では, 原因物質として当時新しく使用されはじめた有機リン殺虫剤 Leptophos (Phosvel) が最初から疑われており, 間もなくエジプト農業省は Phosvel 散布した飼料を牛に与えて麻痺とそれに続く死亡を確認したという²⁾。

ところでこの種の化合物に対して多くの動物種¹⁵⁾が感受性を持つとされているが, 特に著明な障害を現わすのはニワトリである。さらに感受性には加齢による影響が認められ, 70日齢未満^{6, 17)}の若鶏では発症しないと言われており, 毒性試験には成熟鶏が最も多く使用されている。英国では先の Mipafos による事故以来, 新しく申請される全ての有機リン殺虫剤に対して, 最大限の耐量でニワトリに遅発性神経毒性を示さないことが求められている。

Abou-Donia ら³⁾は140~3000 mg/kg の9段階の投与量で Phosvel をニワトリに経口1回投与し, 180 mg/kg 以上で運動失調が出現したと報告している。著者ら⁴⁾も50 mg/kg, 250 mg/kg, 1, 250 mg/kg の3段階の経口1回投与で1, 250 mg/kg 投与群の全鶏に, 250 mg/kg 群の5羽中1羽に発症を認めた。この最初の実験の場合は, 投与後9~12日目に運動失調が突然出現した。この所見は大量投与しても7日以前に発症することは決していないという Abou-Donia ら³⁾の報告と一致するものであり, 興味深いものがある。つまり投与から発症までに明らかな“潜伏期”があり, Phosvel は TOCP 様の毒性を有することが確かめられた。

ところで有機リン剤が動物に取りこまれた場合速やかに代謝, 分解を受けるために, 生体内への残留や蓄積は認められないと一般に考えられてきた。しかし植物の場合, Johnson ら¹⁸⁾は Phosvel を散布したトウモロコシをサイロに貯蔵すると, 118日を経過しても56~66%が残留していたと報告している。このような報告は他にもあり, 例えば種々の野菜¹⁹⁾や棉花²⁰⁾などに Phosvel は残留性を示すという。このように, 植物中に入った有機リン剤が比較的長期間分解を受けずに残留していることが知られるようになってきた。そして動物においても, 摂取された有機リン殺虫剤が未代謝の形で脂肪組織に取り込まれていたという報告が行われた。すなわち Davies ら⁸⁾は自殺の目的で摂取された有機リン剤 Dichlofenthion が54日後に患者の体脂肪中から検出されたと述べている。さらに彼ら^{8, 21)}は数種の有機リン殺虫剤について理化学的性質を検討し, octanol/water の分配係数, および加水分解半減期 (hydrolytic half-life) から Phosvel もまた脂肪組織に残留する可能性があるとして報告した。著者ら¹¹⁾は Davies らの報告に示唆を受け, Phosvel の吸収と脂肪組織への移行について実験を行った。その結果, 50 mg/kg と 250 mg/kg を成鶏に経口投与すると血中濃度は3時間以内にピークに達し, その後速やかに減少し48時間目には微量を認めるにすぎないことがわかつ

た。一方脂肪組織中濃度は両群とも12時間で最高値を示したが、その後の減少は遅く72時間を経過してもピーク時の46~93%の濃度が検出された。また著者ら¹⁰⁾は月齢の異なるニワトリに250 mg/kgのPhosvelを経口投与し、体脂肪からの減衰について加齢のおよぼす影響を検討した。この実験においては21~28日を経過してもなお0.13~1.27 ppmのPhosvelが残留していることが認められた。その時の脂肪組織中Phosvelの生物学的半減期は若鶏(6月齢)で1.5日、成鶏(21月齢)では4.9日になり、月齢による明らかな差が証明された。これは、若鶏では遅発性神経障害が発症しないという前述の報告と関連させて考えた場合に興味ある所見と言える。さらにAbou-Donia ら⁶⁾はPhosvelの少量連続投与によってニワトリに遅発性神経毒性を発現させることができると言い、Phosvelには蓄積効果(cumulative effect)があると述べている。

今回の実験は、われわれ自らのこれまでの報告を含めたこれらの成績をすべて踏まえて、低濃度のPhosvelを連続投与した場合、特に成熟鶏の脂肪組織に蓄積するのではないかと考えて企図したものである。

本実験の成績は(Table 3, 4, 5)に要約して表示したように、1日あたり5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kgの投与量で連続投与されたニワトリは、体脂肪中にPhosvelを明らかに蓄積することがわかった。また同一処理期間の脂肪組織中濃度をもとに蓄積比(5 mg/kg : 10 mg/kg : 20 mg/kg)を求めると、7日間投与で1.0 : 2.3 : 3.3, 14日間投与で1.0 : 2.8 : 4.2, そして21日間投与で1.0 : 2.0 : 3.6になる。これは蓄積量が、1回の投与量の大きさにほぼ並行して増加していくことを示している。各投与群別に蓄積量と、投与期間との関係を見ると各群ともに1週間投与でも2週間投与の場合でも蓄積量には大差が見られず、横ばいの傾向を示している。ところが3週間投与になると体脂肪中Phosvel濃度は急激に増大する(Fig.3)。しかし5 mg/kg群と10 mg/kg群の蓄積量は21日目ではほぼ頭打ちになる傾向が認められた。これに対して20 mg/kg群では21日目よりも25日目さらに濃度が高くなった。この急激な増加について十分な説明はできないが、20 mg/kgを25日間投与されたニワトリはいずれも発症から9日後に死亡した時に組織が採取されたことから考えて、この長期にわたる運動失調と麻痺による代謝の低下が、蓄積量をかえって増加させた要因の一つになるのかも知れない。

1回投与による発症の限界量は180~250 mg/kg^{3,4)}付近にあると考えられている。今回の連続投与実験では、

10 mg/kg群の3羽, 20 mg/kg群の6羽に明らかな麻痺(paralysis)の発現を認めた(Table 6)。この成績から、少なくとも10 mg/kgあるいは20 mg/kgの連続投与によってPhosvelは蓄積的な効果を示すといえる。また5 mg/kg群では発症を見なかったが、投与回数をさらに増したり、あるいは今回の実験においても潜伏期を考慮に入れて観察期間を延長したりすれば、毒性が発現したかも知れない。従って5 mg/kgの連続投与では蓄積効果が認められないとはいえない。

前報⁷⁾の実験において、1回投与によって毒性が発現する限界量のPhosvelをニワトリに分割投与したところ、毒性が増強されるという成績を得た。すなわち250 mg/kgの1回投与では発症しなかったが、125 mg/kg, 2日連続投与で5羽中1羽に、また50 mg/kg, 5日連続投与で5羽中5羽に麻痺が出現した。この成績は1回投与よりも連続あるいは分割投与の方が、毒性発現の限界量が低くなることを明示している。Davies ら²²⁾はニワトリに350 µg/kgのDFPを1回筋注すると、明らかな遅発性神経障害が認められ、150 µg/kgあるいは250 µg/kgの1回投与では何らの異常を示さないが、250 µg/kg投与後1~16日の間隔において150 µg/kgを再び投与すると発症すると報告している。これらの事実は、この種の有機リン化合物では毒性発現とそれに要する総投与量の問題については投与方法が関係し、かなり複雑であることを示唆している。今後の実験では、1回あたりの投与量、投与間隔、投与期間、潜伏期等を考慮に入れたPhosvelの連続投与によって、遅発性神経毒性発現の限界量をめぐる問題についてあらためて検討してみる必要がある。

TOCPによる偶発的事故を機会に、これまでに多くの研究がなされてきたが、現在なおこの種の化合物による遅発性毒性の作用機序に関する有力な説明はだされていない。しかし今回の研究を通じて、Phosvelがニワトリの脂肪組織に蓄積することが明らかにされた。また同時にニワトリの症状を観察した結果、蓄積によって毒性効果が出現してくることも確められた。これらの成績からみればPhosvelの脂溶性と蓄積性が毒性発現に何らかの役割を果たしているように思われる。しかしTOCPの代謝物質である、o-cresyl saligenin phosphateが神経毒性を示したという報告²³⁾もあるので、遅発性毒性の解明には、代謝機構の面からも検討する必要があることは、さらに言うまでもない。

なおわが国におけるPhosvelの登録は、1977年11月をもって失効したことが農林大臣名で告示されたことを付

言する。

V. 結 論

Phosvel は遅発性神経毒性を示す有機リン殺虫剤である。本剤がニワトリの脂肪組織に残留することをすでに著者らは報告したが、低濃度連続投与による蓄積についての研究はまだなされていない。そこで今回は LD₅₀ (4,700 mg/kg) の約 1/1,000~1/250 量の Phosvel をニワトリに連続 (日) 経口投与し、脂肪組織中の濃度と神経障害発現の有無について検討した。

1. 成鶏 (22月齢) に 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg の Phosvel を連続投与した。投与期間は、7 日, 14 日, 21 日, 28 日とし、それぞれ最終回投与から 24 時間後に屠殺した。しかし 10 mg/kg 群の 1 羽と 20 mg/kg 群の 2 羽は最終回投与 (28 回) を待たず、25 日目に麻痺が進行し死亡した。

2. 脂肪組織中 Phosvel 濃度の平均値は、7 日間投与、14 日間投与、21 日間投与、28 日間投与の順に列記すると、5 mg/kg 群で 0.94 ppm, 0.85 ppm, 2.05 ppm, 1.22 ppm, 10 mg/kg 群で、2.12 ppm, 2.37 ppm, 4.17 ppm, 3.51 ppm, 20 mg/kg 群で、3.22 ppm, 3.53 ppm, 7.38 ppm, 11.03 ppm (本例だけは 25 日間投与) であった。

3. 同一投与期間の平均濃度をもとに Phosvel の蓄積比 (5 mg/kg : 10 mg/kg : 20 mg/kg) を求めると、7 日間投与で 1.0 : 2.3 : 3.3, 14 日間投与で 1.0 : 2.8 : 4.2, 21 日間投与で 1.0 : 2.0 : 3.6 であった。

4. Phosvel 投与開始後 17~28 日目に 10 mg/kg 群の 6 羽中 5 羽に、また 20 mg/kg 群の 6 羽中 6 羽に特異的な運動失調の発現を認めた。それらのニワトリのうち、10 mg/kg 群の 3 羽と 20 mg/kg 群の全鶏 (6 羽) の症状は運動失調から麻痺にまで進行した。

以上の成績から有機リン剤 Phosvel はニワトリの脂肪組織に蓄積し、蓄積した Phosvel の濃度は投与量の大きさにほぼ並行することがわかった。また低濃度連続投与による神経毒性の発現を認めたが、発症の限界量については、1 回の投与量、投与期間、潜伏期を考慮してさらに検討する必要があることを指摘した。

稿を終るに臨み、御指導、御校閲をいただきました福島県立医科大学公衆衛生学教室、辻義人教授、並びに木根淵英雄助教授に深甚なる謝意を表します。また御協力いただきました同教室の方々に厚く御礼申し上げます。

本研究の要旨は第 37 回日本公衆衛生学会 (1978 年、東京) において発表した。

文 献

- 1) Smith, M. I. and Elvove, E.: Pharmacological and chemical studies of the cause of so-called ginger paralysis, Public Health Report, **45**, 1703-1716 (1930).
- 2) Shea, Kevin P.: Nerve damage, Environment, **16**(9), 6-10 (1974).
- 3) Abou-Donia, M. B., Othman, M. A., Tantawy, G., Zaki Khalil, A. and Shawer, M. F.: Neurotoxic effect of leptophos, Experientia, **30**, 63-64 (1974).
- 4) 木根淵英雄, 紺野信弘, 山内徹: 有機リン農薬「ホスベル」の遅発性神経毒性 (予報), 日本公衛誌, **23**, 509-514 (1976).
- 5) Bidstrup, P. L., Bonnell, J. A. and Beckett, A. G.: Paralysis following poisoning by a new organic phosphorus insecticide (Mipafos), report on two cases, Brit. Med. J., **1**, 1068-1072 (1953).
- 6) Abou-Donia, M. B. and Preissing, S. H.: Delayed neurotoxicity from continuous low-dose oral administration of leptophos to hens, Toxicol. Appl. Pharmacol., **38**, 595-608 (1976).
- 7) 木根淵英雄, 紺野信弘, 山内徹, 金田光男, 佐々木一男: 有機リン殺虫剤 Phosvel の限界量分割投与による遅発性神経毒性, 医学のあゆみ, **101**, 837-838 (1977).
- 8) Davies, J. E., Barquet, A., Freed, V. H., Haque, R., Morgade, C., Sonneborn, R. E. and Vavalek, C.: Human pesticide poisonings by a fat-soluble organophosphate insecticide, Arch. Environ. Health, **30**, 608-613 (1975).
- 9) 紺野信弘, 木根淵英雄, 山内徹: 有機リン農薬「ホスベル」の鶏脂肪組織中残留, 日本公衛誌, **24**, 507-512 (1977).
- 10) 紺野信弘, 木根淵英雄, 山内徹, 金田光男, 佐々木一男: 有機リン農薬 Phosvel の脂肪組織中残留におよぼす加齢の影響, 医学のあゆみ, **101**, 896-898 (1977).
- 11) 紺野信弘, 木根淵英雄: ホスベル 1 回投与鶏の血中および脂肪組織中濃度, 日本公衛誌, **25**, 1-5 (1978).
- 12) Konno, N. and Kinebuchi, H.: Residues of Phosvel in plasma and in adipose tissue of hens after single oral administration, Toxicol. Appl. Pharmacol., **45**, 541-547 (1978).

- 13) Smith, H. V. and Spalding, J. M. K.: Outbreak of paralysis in Morocco due to ortho-cresyl phosphate poisoning, *Lancet*, **2**, 1019-1021 (1959).
- 14) 若月俊一: 環境汚染と健康障害, 201-205, 講談社, 東京 (1973).
- 15) Aldridge, W. N., Barnes, J. M. and Johnson, M. K.: Studies on delayed neurotoxicity produced by some organophosphorus compounds, *Annals of N. Y. Acad. Sci.*, **160**, 314-322 (1969).
- 16) Barnes, J. M. and Denz, F. A.: Experimental demyelination with organo-phosphorus compounds, *J. Path. Bact.*, **65**, 597-605 (1953).
- 17) Barnes, J. M.: Toxic chemicals and peripheral neuropathy: experimental studies, *Proc. roy. Soc. Med.*, **62**, 205-208 (1969).
- 18) Johnson, J. C., Bowman, M. C., Leuck, D. B. and Knox, F. E.: Persistence of Phosvel in corn silage and effects of feeding dairy cows the treated silage, *J. Dairy Sci.*, **54**, 1840-1847 (1971).
- 19) Braun, H. E., McEwen, F. L., Frank, R. and Rittcey, G.: Residues of leptophos and its metabolites following application to various crop plants, *J. Agr. Food Chem.*, **23**, 90-95 (1975).
- 20) Holmstead, R. L., Fukuto, T. R. and March, R. B.: The metabolism of o-(4-bromo-2, 5-dichlorophenyl) o-methyl phenylphosphonothioate (leptophos) in white mice and on cotton plants, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **1**, 133-147 (1973).
- 21) Freed, V. H., Haque, R., Schmedding, D. and Kohnert, R.: Rhysicochemical properties of some organophosphates in relation to their chronic toxicity, *Envir. Health Perspect.*, **13**, 77-81 (1976).
- 22) Davies, D. R. and Holland, P.: Effect of oximes and atropine upon the development of delayed neurotoxic signs in chickens following poisoning by DFP and sarin, *Biochem. Pharmac.*, **21**, 3145-3151 (1972).
- 23) Casida, J. E., Eto, M. and Baron, R. L.: Biological activity of a tri-o-cresyl phosphate metabolite, *Nature*, **191**, 1396-1397 (1961).

(受付 1978年11月22日)