短 報

除草剤クロルニトロフェン (CNP) と その分解生成物の変異原性について

Mutagenicity of Herbicide Chlornitrofen (CNP) and its Reduction Products

北森成治, 田中義人, 石黒靖尚, 近藤紘之
福岡県保健環境研究所

Shigeji KITAMORI, Yoshito TANAKA,

Yasuhisa ISHIGURO and Hiroyuki KONDO

Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences

キーワード: Mutagenicity, Chlornitrofen (CNP), Amino-CNP, Ames test, YG strains

除草剤クロルニトロフェン (2, 4, 6-トリクロロフェニル 4'-ニトロフェニルエーテル; CNP) は, 1970年代から, ジフェニルエーテル系の水田用初期除草剤として, わが国の水田に広く散布されてきており, その農業原体生産量は, 平成4年度で, 1,677 tである¹⁾. しかし, 山本らは, 新潟平野等の疫学調査から, 胆嚢がん発生との関連性を指摘し²⁾, 厚生省は, 水道水源の水質に影響を及ぼす地域において, CNP が使用されないように適切な措置等を講じるように通知した³⁾.

CNPの変異原性は, 認められないが, CNPの還元生成物であるアミノ体 (2, 4, 6-トリクロロフェニル 4'-アミノフェニルエーテル; アミノ-CNP) には変異原性があると報告されている⁴⁾. 一方, 環境水を用いた CNPの分解性試験で, アミノ-CNPの生成が確認されている⁵⁾が, このことは, CNPが, 環境水中に流出した場合に河川中の微生物等により分解され, アミノ-CNPが, 生じる可能性を示唆している. そこで今回アミノ-CNPを始めとして, 環境中で CNPの分解により生成されると考えられる化学物質⁶⁾の変異原性と CNPの変異原性について検討した.

方 法

今回実験に用いたCNPとその分解生成物は, 次の通りである. ① 2, 4, 6-トリクロロフェニル 4'-ニトロフェニルエーテル (CNP) ② 2, 4, 6-トリクロロフェニル 4'-アミノフェニルエーテル (アミノ-CNP) ③ 2, 4, 6-トリクロロフェニル 4'-アセチルアミノフェニルエーテル (アセチルアミノ-CNP) ④ 2, 4, 6-トリクロロフェニル 4'-ハイドロキシフェニルエーテル

(OH-CNP) ⑤ 2, 4, 6-トリクロロフェノール (トリクロロフェノール)

①は, 和光純薬工業製残留農薬試験用標準品 ②, ③, ④は, 当研究所で合成し, GC-MS及びIRを用いて構造決定の確認を行なった. ⑤は和光純薬工業製特級品.

変異原性試験は, Ames試験の方法で行なった. 用いた菌株はTA株 (TA 98株とTA 100株)⁷⁾とYG株 (YG 1021株, YG 1024株, YG 1026株及びYG 1029株)⁸⁾である.

変異原性試験用試料は, 各標準物質をジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し, 各菌株とも, -S9 mix及び+S9 mixの両方について, plate当たり6.25-200 µgの範囲内で各濃度ごとに2枚のプレートを用いて, 変異原性試験を行なった.

結果と考察

CNPでは, TA株については, +S9 mixと-S9 mixの両方で, 変異原性は認められなかったが, YG株については, YG 1029株で, +S9 mixと-S9 mixの両方で変異原性が認められた. Fig. 1で示すように, +S9 mixでは, 100 µg/plate, また-S9 mixでは,

Fig. 1. Mutagenicity of CNP by YG1029. —○— +S9 mix, —▲— -S9mix. Spontaneous revertants: +S9mix 116rev./plate, -S9mix 98rev./plate.

Fig. 2. Mutagenicity of amino CNP with S9mix. —○— TA 98, —■— YG 1024, —●— TA 100, —△— YG 1026, —□— YG 1021, —▲— YG 1029. Spontaneous revertants: TA98: 36, TA100: 97, YG1021: 40, YG1024: 42, YG1026: 178, YG1029: 192.

1994年9月16日受付; 1995年1月16日受理

連絡先: 北森成治 〒818-01 福岡県太宰府市向佐野 39

福岡県保健環境研究所, Correspondence to: S. Kitamori, Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences, 39 Mukaizano, Dazaifu, Fukuoka 818-01, Japan

Table 1. The mutagenicity of CNP and CNP derivatives (revertants/nmol)

	TA98	TA100	YG-1021	YG-1024	YG-1026	YG-1029
CNP	—	—	—	—	2.4	—
Amino-CNP	1.2	4.9	0.6	16.8	1.8	152.2
Acetylamino-CNP	—	0.6	—	8.9	1.7	40.6
Hydroxy-CNP	—	—	—	—	—	—
2, 4, 6-trichlorophenol	—	—	—	—	—	—

*¹⁾ — : Not detective, *²⁾ mutagenicity with S9 mix.

50 $\mu\text{g}/\text{plate}$ までそれぞれ明らかに用量反応曲線が得られた。しかしこれ以外の YG 株においては、変異原性は認められなかった。

Miyauchi らは、TA 株 (TA 98 株と TA 100 株) において、変異原性は認められなかったと報告しており⁴⁾、今回、TA 株については、著者らも同じ結果がえられたが、YG 株のうち YG 1029 株で、変異原性が認められた。すなわち、菌株の復帰変異コロニー数 (revertant 数) が、DMSO のみの対照で生じた spontaneous revertants 数の 2 倍以上を示し、明らかに用量反応曲線が得られた。このように今回の試験結果からは、CNP が、変異原性を示している可能性が示唆された。

アミノ-CNP は、TA 株及び YG 株の全てにおいて、+S9 mix では、変異原性は認められるが、-S9 mix では、認められなかった。Miyauchi らも、TA 株 (TA 98 株と TA 100 株) で、同様な結果を示している⁴⁾。変異原性試験の結果は、Fig. 2 に示すように、TA 株では、50 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 当たりの revertants 数は、TA 98 株で、約 200 revertants/plate であるのに対し、TA 100 株では、約 850 revertants/plate と高い数値を示している。一方、YG 株では、YG 1024 株及び YG 1029 株に高い変異原活性が見られ、特に YG 1029 株では、0.19 μg –3.13 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の低濃度範囲で、revertants 数について、明らかに用量反応曲線が得られた。これらの結果は、アミノ-CNP に対して、YG 株は、TA 株に比べて、変異原性について優れた感受性を持つことを示している。

アセチルアミノ-CNP の変異原性試験の結果は、アミノ-CNP とよく似た傾向を示している。すなわち TA 100 株及び YG 1029 株については、+S9 mix で、変異原性は認められ、その revertants 数は、それぞれ、204 revertants/ 50 $\mu\text{g} \cdot \text{plate}$ と 3070 revertants/ 25 $\mu\text{g} \cdot \text{plate}$ であり、-S9 mix では、認められなかった。YG 1024 株と YG 1026 株については、+S9 mix で、若干の変異原性が認められたが、明らかな用量反応曲線が得られなかった。また、TA 98 株及び YG 1021 株では、+S9 mix 及び -S9 mix の何れでも、変異原性は認められなかった。

OH-CNP とトリクロロフェノールは、TA 株では、

6.25 $\mu\text{g}/\text{plate}$ から 500 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の範囲で、また YG 株では、0.78 $\mu\text{g}/\text{plate}$ から 12.5 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の範囲で、+S9 mix 及び -S9 mix の両方で、それぞれ変異原性試験を行なったが変異原性は、認められなかった。

今回の結果を、Table 1 に変異原性比活性 (revertants/nmol) として示したが、これまで変異原性が認められなかった CNP について、ニトロアレーン、芳香族アミンに高感受性を示す YG 株を用いれば、変異原性を検出することができる可能性、また、環境中で生じる CNP の分解物についても YG 株は、TA 株に比べて、変異原性試験に用いる事が可能である事が示唆された。今後、今回の結果を踏まえ、YG 株を中心に、農業及びその分解物に関して変異原性を検討していく事が可能であろう。

本研究は、環境庁公害一括研究「公共用水域における関係使用化学物質の動態及び安全性等に関する研究」の補助を受けて行なわれた。

文 献

- 1) 農林水産省農蚕園芸局植物防疫課編. 農業要覧—1993—, 東京: 日本植物防疫協会, 1994: 65–67.
- 2) 山本正治, 遠藤和男, 高木修子, ほか. 胆嚢癌発生の多因子説. 日本医事新報 1991; 3531: 23–26.
- 3) 厚生省生活衛生局水道環境部長. クロルニトロフェン (CNP) について. 衛水第 56 号 1994 年 3 月 8 日.
- 4) Miyauchi M, Haga M, Takou Y, et al. Mutagenic activity of chlorinated 4-Nitrobiphenyl ethers and their Nitroso- and Amino-derivatives. Chem. Biol. Interaction 1983; 44: 133–141.
- 5) 伏脇祐一, 田中克彦, 浦野紘平. 除草剤 CNP による環境汚染. 用水と廃水 1985; 27: 463–469.
- 6) 鍛塚昭三. 土壌環境中における除草剤の分解. 農業科学 1976; 3: 107–122.
- 7) Maron DM, Ames BN. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. Mutation Res. 1983; 113: 173–215.
- 8) Watanabe M, Ishidate M, Nohmi T. A sensitive method for the detection of mutagenic nitroarenes: construction of nitroreductase-overproducing derivatives of *Salmonella typhimurium* strains TA 98 and TA 100. Mutation Res. 1989; 216: 211–220.