

技術情報

フェニトロチオンの毒性試験の概要

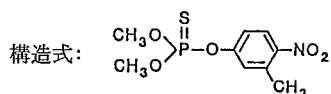
住友化学工業株式会社農業化学品管理室

(昭和63年2月20日受理)

薬剤の概要

フェニトロチオン (スミチオン®) は有機リン系の殺虫剤である。その殺虫スペクトルは広く、国内外で稲、果樹、野菜、茶など広範囲にわたる農業分野の主要害虫および森林害虫に対して、また防疫用の殺虫剤として、カ、ハエ、ゴキブリなどの衛生害虫に対して、その的確な効果と汎用性のゆえに多く使用されている。スミチオンの主な物理化学的性質は次のとおりである。

一般名: フェニトロチオン fenitrothion

化学名: *O, O*-dimethyl *O*-(3-methyl-4-nitrophenyl)-thiophosphate

分子量: 277.23

性状: わずかに特有の臭いをもつ黄褐色油状液体

比重 (d_4^{20}): 1.333

融点: 0.3°C (純品)

蒸気圧: 1.37×10^{-4} mmHg (20°C)

溶解性: アルコール, エーテル, 芳香族炭化水素に易溶。水に対する溶解性は低い (14 ppm, 30°C)。

安定性: 弱酸には安定。アルカリ条件下では比較的不安定で *p*-nitro-*m*-cresol を生ずる。光に対しては比較的安定であるが、紫外線により徐々に分解する。

代謝

スミチオンを ^{14}C もしくは ^{32}P で標識してラット、マウス、イヌ、ウサギ、モルモットに経口投与すると、スミチオンの代謝・分解はきわめて速やかに起こり、72~96時間後には投与した放射能の事実上すべてが、尿、糞へ排泄され、さらに長期間の投与によっても体内での化合物の貯留は認められない。スミチオンを経口投与した動物の尿、糞中には主として *O*-メチル基の脱離によ

て生成した脱メチル体やフェノキシ基とリンとの結合が開裂した *p*-nitro-*m*-cresol やその誘導体およびそれらの抱合体が存在しており、スミチオンはほとんど検出されない。スミチオンは体内で酸化されてコリンエステラーゼ阻害作用を持つスミオキソンに変わるが、スミオキソンはスミチオンよりもさらに速やかに代謝・分解されることが知られている。反芻動物やウサギの消化管ではスミチオン分子中のニトロ基が還元されてアミノスミチオンが生ずる (住友化学1969年, 1976年, 1978年)¹⁻³⁾。

急性毒性試験

動物種	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg)			
ラット	経口	330(雄)	800(雌)	住友化学	1972
	経皮	890(雄)	1200(雌)	"	"
	皮下	840(雄)	1300(雌)	"	"
	腹腔内	148(雄)	461(雌)	"	"
	吸入*	雌雄とも	>2210	"	1986
マウス	経口	1030(雄)	1040(雌)	"	1972
	経皮	雌雄とも	>2500	"	"
	皮下	1350(雄)	1530(雌)	"	"
	腹腔内	464(雄)	530(雌)	"	"

* LC₅₀ (mg/m³, 4時間曝露)

スミチオンによる中毒は神経系のアセチルコリンエステラーゼ (AChE) 阻害に基づくアセチルコリンの過剰な蓄積に起因する。高用量のスミチオン投与により、AChE 阻害に基づく縮瞳、流涎、筋線維性攣縮、振戦、間代性痙攣、呼吸困難などが観察されるが、数日以内に消失する。

刺激性およびアレルギー性試験

1. 刺激性試験

スミチオン原体 0.1 ml を6匹の New Zealand White 系ウサギに点眼すると、1時間後にごく軽度の結膜の充血を認めたが24時間後には回復していた。角膜や虹彩

には変化はなかった。点眼30秒後に洗眼した3匹の群では何ら刺激反応は認められなかった(住友化学1981年)。

スミチオン原体0.5mlを6匹のNew Zealand White系ウサギの背部の皮膚に24時間接触させたが、紅斑や浮腫などの反応は認められず皮膚刺激性はないと判定された(住友化学1981年)。

2. 皮膚感作性試験

スミチオンの1%、5% コーンオイル液を各群6匹よりなるHartley系雄モルモットに0.1mlずつ隔日に10回皮内注射し、14日後に同濃度のコーンオイル液を皮内注射あるいはアセトン液を皮膚に塗布して誘発したが、いずれの場合も何ら皮膚反応は認められなかった。一方、陽性対照として用いた2,4-dinitrobenzeneでは充血、膨隆などの明らかな皮膚反応が認められた(住友化学1972年)。

3. 全身アナフィラキシー性試験

雌雄各15匹/群のHartley系モルモットを、226および688 mg/m³の空气中濃度のスミチオン原体に、1日2時間、連続7日間吸入曝露した。最終曝露の1週間後に再び同じ空气中濃度にて吸入させ誘発したが、何ら異常な症状は認められなかった。一方、陽性対照として用いた細菌由来の α -アミラーゼでは呼吸困難、虚脱などの症状を示し全例が死亡した(住友化学1977年)。

遅延性神経毒性試験

急性試験においては500 mg/kg(雌成鶏の急性経口LD₅₀値)のスミチオンを16羽/群の雌成鶏に3週間間隔で2回経口投与し、投与直後にみられる中毒症状をatropineとpyridine-2-aldoxime methiodideで寛解させつつ試験した。陽性対照としてtri-*O*-cresyl phosphate(TOCP)を用いた。亜急性試験では急性経口LD₅₀値の1/15量の33.4 mg/kg/dayおよび1/30量の16.7 mg/kg/dayのスミチオンを8羽/群の雌成鶏に連続4週間経口投与した。いずれの試験においてもスミチオン投与群で脚部麻痺などの不可逆的な遅延性神経毒性症状は認められず、坐骨神経、脊髄および脳のHematoxylin-Eosin染色、Luxol fast blue染色による病理組織学的検査においても異常は認められなかった。一方、TOCPを1回投与した鶏は投与10~14日後に著明な脚部麻痺症状を示して起立不能となり、病理組織学的にも坐骨神経および脊髄の変性、脱髄現象を認めた(住友化学1975年⁴⁾、1977年)。

神経系にはneurotoxic esterase(NTE)と呼ばれる酵素が存在し、この酵素活性を75%以上阻害する化合物

は遅延性神経毒性を示すとされている。500 mg/kgのスミチオンを雌成鶏に経口投与すると、2日後の脳のAchEは78%阻害されるが、NTEの阻害度は8%ときわめて小さかった。一方、500 mg/kgのTOCP投与によるAchE阻害度は14%と小さかったが、NTEは97%が阻害された(住友化学1979年)⁵⁾。

変異原性試験

1. 遺伝子突然変異性試験

1) Ames試験

*Salmonella typhimurium*のTA 1535, TA 100, TA 1537, TA 1538, TA 98の各株および大腸菌*Escherichia coli*のWP2 hcr株を用いPCBで誘導したラット肝薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下もしくは非存在下に濃度10~5000 μ g/plateでスミチオンが惹起する各菌株の復帰変異体数を調べた。その結果、スミチオンはS-9 Mixの存在の有無にかかわらずTA 100以外の菌株では復帰変異体数を増加させず、突然変異性を示さなかった。TA 100株においては、とくにS-9 Mixの存在下でわずかな復帰変異体数の増加(約140 revertants/nmol)が認められた(住友化学1983年)。この増加はスミチオン分子のニトロ基がTA 100株バクテリアのnitroreductaseによって還元され、その結果生ずる代謝産物に起因する可能性が考えられたので、以下の実験を行なった。Nitroreductase活性を欠き、かつ種々の既知変異原物質に対して感受性を示すTA 100株の変異株を作成し、この変異株を用いてスミチオンの突然変異性を調べると、S-9 Mix存在の有無にかかわらず陰性であった。このことからTA 100株で観察された復帰変異体数の増加はTA 100株が持つnitroreductaseに起因すると考えられた(住友化学1983年)。

2) 哺乳動物培養細胞

チャイニーズ・ハムスター肺由来の培養細胞(V79)を用い、6-thioguanine耐性細胞の出現率を指標として濃度 10^{-5} ~ 3×10^{-4} Mでスミチオンが示す遺伝子突然変異性を調べたところ、S-9 Mix存在の有無にかかわらず陰性であった(住友化学1986年)。

2. 染色体異常誘発性試験

1) *In vivo* 染色体異常試験

6匹/群のICR系雄マウスに200, 400, 800 mg/kgのスミチオンを腹腔内投与し6, 24, 48時間後に、6匹/群のSD系雄ラットに100, 400, 800 mg/kgのスミチオンを経口投与し6, 24, 48時間後に、さらに、20, 40, 80 mg/kg/dayのスミチオンを連続5日間、SD系雄ラットに経口投与し最終投与から6時間後に、それぞれ骨髄

塗沫標本を作製し染色体異常出現頻度を調べたが、いずれの場合にも溶媒対照群と比べ有意な染色体異常の増加は認められなかった(住友化学 1982年)。

2) 小核試験

200, 400, 800 mg/kg のスミチオンを6匹/群の ICR 系雄マウスに腹腔内投与し、24時間後に骨髓塗沫標本を作製し精査した。その結果、スミチオンには小核誘発能は認められなかった(住友化学 1982年)。

3) 優性致死試験

スミチオンを ICR 系マウス (12匹) に 20, 200 mg/day の用量で、また、SD 系雄ラット (12匹) に 2, 7, 20 mg/kg/day の用量で連続5日間、経口投与した。その後8週間にわたって成熟した雌と1:3(マウス)または1:2(ラット)の割合で交配させた。その結果、いずれの群においても妊娠率、黄体数、早期・後期死胚数、優性致死率は対照群と同等であり、スミチオンには優性致死作用は認められなかった(住友化学 1975年)。

3. DNA 損傷性

1) Rec-assay

Bacillus subtilis の組換修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、濃度 0.26~26 mg/disk でスミチオンが示す DNA 損傷性を、rec-assay 法で検討した。その結果、いずれの濃度においても両菌株に生育阻止帯は認められなかった((財)残留農薬研究所 1983年)。

2) 姉妹染色分体交換試験

ICR 系マウスの胎仔腹部より得た細胞を 10^{-5} ~ 10^{-4} M のスミチオンで S-9 Mix 存在下あるいは非存在下で3時間処理し、以後染色して姉妹染色分体交換の出現頻度を調べた。その結果、スミチオンはこの頻度を上昇させなかった(住友化学 1980年)。

催奇形性試験

各群 20~24匹の SD 系妊娠ラットに 3, 8 および 25 mg/kg のスミチオンを妊娠6日から15日まで毎日経口投与し、妊娠20日目に胎仔の外形、内臓および骨格異常を検査した。その結果、スミチオン投与のいずれの群においても着床率、胚仔死亡率、性比および胎仔体重などのパラメーターは対照群と同等で、外形、内臓および骨格の異常の種類と出現率にも差はなかった。なお、25 mg/kg のスミチオンを投与した母獣では振戦や粗毛などの中毒症状を示し、体重増加量が抑制された。(Hazleton Laboratories 1987年)。

各群 13~16匹の New Zealand White 系妊娠ウサギにスミチオンを 3, 10 および 30 mg/kg の用量で妊娠7日から19日まで毎日経口投与した。妊娠29日目に胎仔の

外形、内臓および骨格の異常を検査した。その結果、スミチオン投与のいずれの群においても着床率、胚仔死亡率、性比および胎仔体重などのパラメーターに異常はなく、また胎仔の外形、内臓および骨格異常の種類と出現率は対照群と同等であった。なお、30 mg/kg 投与群の母獣に体重増加の抑制および流産、呼吸困難、振戦などの中毒症状が認められた (Hazleton Laboratories 1987年)。

以上のようにラットとウサギを用いた試験で、スミチオンの母獣に対する毒性が明らかに認められる用量においても催奇形性、胚仔致死作用および胎仔の発育抑制作用は認められなかった。

繁殖性試験

SD 系ラットの雌雄に 10, 30 および 100 ppm のスミチオンを含む飼料を摂取させ、3世代の繁殖性試験を行った。各世代ごとに2回の交配を行ない、第2回目の交配より得た仔動物の一部を次世代の親動物として用いた (F_{1A} を得るための P_0 では各群とも雄 15 匹と雌 30 匹を用い、それ以後の P_0, P_1, P_2 では雄 10 匹と雌 20 匹を用いた。また F_{1A} を得る場合のみ、スミチオンの最高投与量は 150 ppm とした)。 P_0, P_1, P_2 については死亡率、体重、摂餌量、外観、挙動を記録するほか、妊娠率、分娩率を調べ、 F_{1A} ~ F_{3B} については出生数、24時間後の生存率、離乳時の生存率(哺育率)、体重(生後24時間および離乳時)を調べた。また F_{1B} ~ F_{3A} の約 1/3、 F_{3B} の約 1/2 については離乳時に剖検するとともに最高用量群と対照群の雌雄各5匹については病理組織学的検査を行なった。その結果、 P_0 と P_1 では最高用量群に体重の増加抑制傾向が認められたが、外観、挙動に異常はなかった。また、妊娠率、分娩率、仔の数、24時間後の仔の生存率、仔の外観などには各世代を通じてスミチオン投与による影響は認められなかった。しかし、哺育率は最高用量群で全世代 (F_{1A} ~ F_{3B}) を通じて有意に低く、また離乳時の体重が最高用量群の雄 (F_{1A}, F_{1B}, F_{2A}) と雌 (F_{1A}, F_{2A}) において有意に低く、 F_{3B} の雄と雌においても低い傾向が認められた。一方、離乳仔の剖検および F_{3B} の最高用量群の主要な 17 種類の臓器・組織の病理組織学的検査においてはスミチオン投与に起因する変化は認められなかった。以上の結果から、スミチオンは親世代の体重増加が抑制される 100 ppm もしくは 150 ppm の濃度では次世代に若干の影響を与えるが、30 ppm 以下では次世代に影響を及ぼさないと結論された (Hazleton Laboratories 1974年)。

亜急性毒性試験

1. 吸 入

各群10~12匹/性のICR系マウスおよびSD系ラットにスミチオンのミストを2, 7, 15, 62 mg/m³の気中濃度で1日2時間, 週6日間, 4週間曝露した。62 mg/m³群の雌雄のラットにのみ軽度の流涎と尿失禁が認められ, 15 mg/m³以上においては血漿, 血球および脳のコリンエステラーゼ (chE) の阻害が認められたが, 体重, 血液学, 血液生化学および病理組織学の各検査では異常は認められなかった。chE阻害を指標として無影響量は7 mg/m³と考えられた (住友化学 1975年)。

2. 経 皮

5匹/性/群のNew Zealand White系ウサギの背部皮膚に10, 50, 250, 500 mg/kgのスミチオンを1日6時間, 連続21日間接触させた。500 mg/kg群に嗜眠, 軟便, 下痢などの中毒症状, 投与後5日目以降からの死亡が認められたが, 皮膚反応, 体重, 摂餌量, 血液学的検査, 血液生化学的検査, 臓器重量, 剖検, 病理組織学的検査においてはスミチオン投与に起因する変化はなかった。血漿, 血球, 脳chE阻害を指標として無影響量は50 mg/kg/dayと判断された (Huntingdon Research Centre 1987年)。

3. 経 口

各群雌雄15匹のWistar系ラットに10, 30, 150 ppmのスミチオンを含む飼料を6か月間与えた。150 ppmのスミチオンを投与した直後に摂食量の減少に伴う一過性の体重増加抑制が認められた。一般症状, 摂餌量, 摂水量, 血液学的検査, 血液生化学的検査, 尿検査, 臓器重量, 病理組織学的検査においてはいずれの群にも化合物投与による変化は認められなかった。スミチオン投与により血漿 (全群), 血球 (30 ppm以上) および脳 (30 ppm以上) のchEが阻害されていた (住友化学 1975年)⁶⁾。

慢性毒性試験

1. ラ ッ ト

SD系ラットを用いたスミチオンの繁殖試験で得たF_{1A} (50~60匹/性/群) に10, 30, 100 ppmのスミチオンを含む飼料を2年間にわたって摂食させ, 慢性毒性と発癌性を調べた。一部の動物 (10匹/性/群) は摂食開始1年後に中間検査を行なった。雄の30および100 ppm投与群に摂餌量の有意な低下と雄の100 ppm投与群に有意な体重増加抑制がともに最初の52週間において認められたが, 以後, 投与終了時まで対照群とは同等であった。死亡率, 一般症状, 13, 26, 52, 104週に行なっ

た血液学的検査, 血液生化学的検査および尿検査, 81, 104週に行なつた眼科学的検査, 臓器重量, 剖検, 病理組織学的検査においては, スミチオン投与に起因する変化は認められず, また発癌性も認められなかった。一方, 0, 2, 4, 8, 13, 26, 92, 104週で測定した血液chE活性ならびに52, 104週で測定した脳chE活性はスミチオン投与に相関して阻害が認められた。血漿chEでは全群に, 血球と脳のchEでは100 ppm群にのみ阻害が認められた (Hazleton Laboratories 1974年)。

スミチオンのchE活性への影響を調べる目的で, 各群15匹/性/群のWistar系ラットに2.5, 5, 10 ppmのスミチオンを含む飼料を92週間にわたって摂食させ, 投与開始後2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24, 42, 68, 92週に血液のchE活性を測定した。脳chE活性は92週に測定した。血漿chEは5 ppm群で初期にごくわずかに阻害されたが, 以後回復した。10 ppm群では明瞭な阻害が認められた。血球と脳のchEには, いずれの群でも阻害は認められなかった (住友化学 1975年)⁶⁾。

2. マ ウ ス

各群雌雄それぞれ50匹のICR系マウスに30, 100, 200 ppm (投与開始後2週間はそれぞれ0, 30, 100 ppm)のスミチオンを含む飼料を78週間にわたって摂食させ, 発癌性を調べた。一般症状, 死亡率, 体重, 28週および試験終了時に行なつた眼科学的検査, 臓器重量, 剖検, 病理組織学的検査においては, スミチオン投与に関連する変化は見いだされず, 発癌性はないと結論された (Hazleton Laboratories 1975年)。

3. イ ヌ

6匹/性/群のビーグル犬に5, 10, 50 ppmのスミチオンを含む飼料を1年間にわたって摂食させた。外観, 挙動, 死亡率, 体重, 摂餌量, 3, 6, 12か月経過時に実施した眼科学的検査, 4, 8, 13, 17, 21, 26, 39, 52週経過時に実施した血液学的検査, 血液生化学的検査および尿検査, 臓器重量, 剖検, 病理組織学的検査においてはスミチオン投与に関連した変化は認められなかった。一方, 4, 8, 13, 17, 21, 26, 39, 52週経過時に実施した血液のchE活性測定および試験終了時に実施した脳chE活性測定においては, 50 ppm投与群の血漿chEのみがスミチオンにより阻害されていた (International Research and Development Inc. 1986年)。

各群雌雄それぞれ6匹のビーグル犬に30, 100, 200 ppmのスミチオンを含む飼料を2年間にわたって摂食させた。200 ppm投与群の1匹の雌に体重増加抑制が認められたのみで, 一般症状, 死亡率, 体重, 0, 3, 6, 9, 12, 24か月経過時に行なつた血液学的検査, 血液生

化学的検査および尿検査, 臓器重量, 剖検, 病理組織学的検査においてはスミチオン投与に関連する変化は認められなかった. 一方, 6, 12, 15, 18, 24 か月経過時に測定した血液の chE および試験終了時に測定した脳 chE にはスミチオン投与に相関した阻害が認められた. 血漿 chE ではすべての投与群で, 血球 chE では 100 ppm 以上の投与群で, 脳 chE では 200 ppm 投与群で阻害がみられた (Industrial BIO-TEST Laboratories 1974 年).

要 約

スミチオンは哺乳動物の体内で速やかに代謝・分解され, 容易に体外へ排泄される. スミチオンの急性毒性は比較的弱く, 眼と皮膚に対する一次刺激性はそれぞれごく軽度および陰性であった. 皮膚感作性や全身アナフィラキシー性は認められない. スミチオンには遅延性神経毒性は認められず, 変異原性や催奇形性もない. 繁殖性にもとくに問題はない. 経口, 経皮ならびに吸入曝露による亜急性毒性試験, およびラット, マウスならびにイヌを用いた慢性毒性試験においても, chE 阻害以外には, スミチオンによる影響は認められず, 発癌性も認められない.

以上のようにスミチオンの長期投与の影響は chE 阻害のみと考えられる. 阻害は血漿 chE に比較的強く認められたが, 血漿 chE は神経系のアセチルコリン伝達には何ら役割を果たしていないことが知られており, 血漿 chE 阻害は化合物被曝の指標となりえても, 毒性学的意味はないとされている. 一方, 血球 chE 活性は神経系の AchE 活性を反映していることから血球 chE 阻害を有機リン化合物のような抗 chE 剤の毒性の指標にすべきであるとされている⁷⁾ (スミチオンについても, 中毒症状発現は血漿 chE ではなく AchE 阻害と相関していることが知られている¹⁾). この観点から, NOAEL (No-Observed-Adverse-Effect-Level) の概念が導入された⁸⁾.

したがって, スミチオンの慢性毒性試験における NOAEL はラットについては 10 ppm (0.5 mg/kg/day 相当量), イヌについては 30 ppm (0.75 mg/kg/day 相当量) と考えられる.

スミチオンは昭和 36 年 12 月に稲のメイチュウ等に登録を取得して以来, 広範囲の作物および害虫に適用が拡大された. スミチオンの残留基準値は玄米, 豆類, 果実, 野菜および茶に対して, いずれも 0.2 ppm が設定されている.

スミチオンは代表的な殺虫剤の一つであり, その安全性, 汎用性のゆえに農業および防疫用資材として不可欠な薬剤の一つとなっている.

問合せ

住友化学工業株式会社農業化学品管理室

〒103 東京都中央区日本橋 2-7-9 住友日本橋ビル

引用文献

- 1) J. Miyamoto: "Residue Reviews," ed. by F. A. Gunther, Vol. 25, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg and New York, pp. 251-264, 1969
- 2) J. Miyamoto, K. Mihara & S. Hosokawa: *J. Pesticide Sci.* **1**, 9 (1976)
- 3) Y. Okuno, Y. Misaki & J. Miyamoto: *J. Pesticide Sci.* **3**, 233 (1978)
- 4) Y. Okuno & J. Miyamoto: 防虫科学 **40**, 49 (1975)
- 5) H. Ohshita & J. Miyamoto: *Biochem. Pharmacol.* **29**, 2721 (1980)
- 6) H. Kohda & J. Miyamoto: 防虫科学 **40**, 38 (1975)
- 7) FAO/WHO: "Pesticide Residues in Food—1982," FAO Plant Production and Protection Paper 46, p. 6, 1983
- 8) FAO/WHO: "Pesticide Residues in Food—1986," FAO Plant Production and Protection Paper 77, p. 2, 1987