

鳥類に及ぼす化学物質の毒性に関する研究

(第1報) 3種の有機リン系殺虫剤のニホンウズラ に対する経口急性毒性およびコリンエステラーゼ阻害作用について

Toxicological Studies on the Influences of Chemicals to the Birds

(Part 1) Oral Acute Toxicity and Cholinesterase Inhibition of Three Organophosphate Insecticides in Japanese Quail

服部 睦 作 佐藤 秀 男 土屋 公 幸
山本 次 子 小川 悦 子

Keisaku Hattori, Hideo Sato, Kimiyuki Tsuchiya,
Namiko Yamamoto and Etsuko Ogawa

緒 言

産業廃棄物の無秩序な排出、農業等の広域過量使用が、自然界における生態系に攪乱を起し、環境汚染→破壊となつてわれわれの生活環境を悪化させることは、衛生学上重要な問題である。ヒトの健康を損なう現象が認められた時は、既に最悪の状態になっているといつても決して過言ではないことは、水俣病あるいはカネミ油症事件の例をひくまでもなく明らかである。目に明らかに映らず進行する環境の悪化を、野生動物の面でいち早く捉え、対策を講ずる方法を樹立する目的をもって、筆者らは一連の毒性に関する研究を企画した。野生動物の中で、鳥類はあらゆる環境に生息がみられ、生存期間も比較的長く、ヒトの生活と密接な生活を営むものも少なくない。又、逆にヒトの生活環境とかけ離れた地域に生息するものは、人為的汚染を敏感に反映するという事も考えられる。しかし、野鳥を使つての直接の実験は、わが国では数多くの難点がある。すなわち鳥獣保護法による野鳥捕獲に対する強い法的規制、ひいては十分な実験供試数が集め難いこと、あるいは季節的制約などがあげられる。欧米諸国においては、産業上新しく利用される化学物質が現われると、直ちにその野生動物に与える影響についての研究が開始され、検討、報告される。Rudd¹⁾のぼう大な報告書はそのことを如実に示しているといえよう。そのため現在では「化学物質の毒性」すなわち「野生動物特に鳥類に対する毒性」という概念が樹立されている。従つて供試鳥類もウズラ類、キジ類、カモ類が実験用として生産確保され、十分に供給されている。

ひるがえつてわが国の現状を見ると、鳥類を用いての毒性実験そのものが極めて稀であり、供試鳥も野生味を残したまま実験動物化されたニホンウズラ *Coturnix coturnix japonica* があるにすぎない。そのため筆者らは1972年よりニホンウズラ（以下ウズラと略記する）の飼養態勢の確立に努めたところ、当所において実験動物として使用可能な状態にまで到達した。

ウズラによつて得た試験成績を直ちに野鳥に対する影響としてとらえるのは正しくはないが、ウズラでの結果が、野鳥への指標あるいは、裏付として有効に用い得る可能性は十分期待できよう。従つて将来は各種の化学物質に対する各ルートからの急性、慢性毒性試験、生化学試験、薬理学試験、細胞遺伝学試験、更に鳥類に対する各種試験法の検討、改良、開発等にまで研究を推しすすめる予定である。

前述のごとく、わが国においてはウズラを用いての化学物質の毒性試験は、池田²⁾³⁾のほかは見当たらない現状である。そのため、今回は現在北海道内で最も普通に使用されている、有機リン系殺虫剤3種を選び、経口急性毒性試験およびコリンエステラーゼ活性の阻害についての試験を行つたので、第一報として報告する。

実験方法

1) 供試薬剤

Fenitrothion (MEP) スミチオン O, O-Dimethyl
O-(3-methyl-4-nitrophenyl) phosphorothioate
50% 乳剤

Trichlorfon (DEP) ディフテレックス O, O-Dimethyl 1-hydroxy-2-trichloromethyl-phosphonate 50% 乳剤

Dichlorvos (DDVP) O, O-Dimethyl O-2, 2-dichlorovinyl phosphate 50% 乳剤

2) 供試動物

日本生物科学研究所附属実験動物研究所（山梨県，小淵沢）で繁殖，維持されているニホンウズラ *Coturnix coturnix japonica* (Jq-NIBS 系) を3週令で購入し，北海道立衛生研究所実験動物舎で飼養後，5週令で供試した。供試時の体重は雄にあっては80~110g，雌にあっては85~115gであった。

3) 飼養

当所で改良作製した金属ケージに，5羽1群として雌雄別々に収容し，飼料としては日本生物科学研究所より購入したペレット型ウズラ用固型飼料および水を自由に摂食せしめた。

4) 薬剤投与

供試薬剤は蒸留水で希釈して，各濃度液を作り，ウズラ体重100g当たり0.5mlを金属製胃ゾンデを用いて投与した。対照には水のみを同様に投与した。生死数の判定は投与後5日目に行なった。

5) コリスエステラーゼ（血漿，脳）活性測定法

薬剤投与によって死亡した個体にあつては，死亡後直ちに心臓穿刺によって採血（2~4ml 採血可能）した。次いで直ちに全脳を別出し，乳剤化して測定に供した。生存個

表1 3種有機リン系殺虫剤の投与後5日目のウズラ死亡数

Fenitrothion			Trichlorofon			Dichlorvos			対照	
投与量 mg/kg	♂	♀	投与量 mg/kg	♂	♀	投与量 mg/kg	♂	♀	♂	♀
30	0/5	0/5	22.5	0/5	0/5	12	0/5	0/5	0/5	0/5
60	2/5	1/5	45	0/5	0/5	24	4/5	2/5	0/5	0/5
120	3/5	5/5	90	4/5	3/5	48	4/5	5/5	0/5	0/5
240	5/5	5/5	180	5/5	5/5	96	5/5	5/5	0/5	0/5

死亡数/供試数

表2 3種有機リン系殺虫剤のウズラに対するLD₅₀ 値 mg/kg (): 信頼限界

薬剤名	ウズラ		備考	
	♂	♀	ラット	マウス
Fenitrothion	84.85 (52.49~137.16)	73.87 (55.98~97.46)	340	788.4
Trichlorofon	73.11 (55.40~96.45)	83.98 (59.80~111.79)	186~375	610
Dichlorvos	22.01 (13.89~34.32)	25.72 (18.32~36.13)	56~112	68.5~124
※ 乳剤用増量剤	>8000		2254	不明

※ パラコール SL-5, キシレン

表3 3種有機リン系殺虫剤によるウズラの致死時間

薬剤名	投与量mg/kg	性	死亡数	致死時間 (時間:分)					平均
Fenitrothion	240	♂	5/5	0:28	4:39	0:52	0:37	0:31	
		♀	5/5	2:52	0:38	3:37	3:37	0:54	
	120	♂	3/5	0:29	0:28	0:25			
		♀	5/5	0:34	0:41	0:20	1:01	18:00	
	60	♂	2/5	0:48	18:00				
		♀	1/5	0:45					
Trichlorfon	180	♂	5/5	0:23	0:15	0:23	0:14	0:20	0:19
		♀	5/5	0:12	0:14	0:25	0:17	0:20	0:18
	90	♂	4/5	0:34	0:51	0:29	0:36		0:38
		♀	3/5	0:47	0:46	0:27			0:40
Dichlorvos	96	♂	5/5	0:07	0:07	0:07	0:06	0:07	0:07
		♀	5/5	0:12	0:05	0:04	0:09	0:04	0:07
	48	♂	4/5	0:15	0:09	0:12	0:10		0:12
		♀	5/5	0:09	0:28	0:30	0:28	0:14	0:22
	24	♂	4/5	0:11	0:13	0:28	0:12		0:16
		♀	2/5	0:12	0:11				0:12

体については投与後5日目の生死数判定後2カ月飼養を続け、同様に採血、採脳した。コリンエステラーゼの測定は Michel 法⁹⁾に従い、基質としては acetyl thiocholine iodide を用いた。測定値は ΔpH/hr を以て表わし、阻害度合は対照の測定値に対する百分比を以て表記した。

6) コリンエステラーゼ活性阻害の時間的測定

致死濃度における平均致死時間以内 (Fenitrothion 20分 Trichlorfon 10分, Dichlorvos 5分) をもって薬剤投与後と殺し、コリンエステラーゼ (血漿, 脳) 活性の測定を行なった。

実験結果

1) 経口毒性試験

3薬剤、各濃度とも死亡は24時間以内に起こり、以後死亡個体は現われなかったため、最終死亡数のみを表1に示した。表1の結果から Weil⁵⁾によって LD₅₀ 値を算出し表2に示した。

2) 症状および死亡経過

初期症状としては立羽毛、震せんがみられ、次いで流涎起立困難から起立不能となり、烈しいけいれんの後に、脚を強く伸長して死に到る。ほとんどの個体は水様便を頻出した。3薬剤とも全く同様の経過を示した。

3) 致死までの所要時間

致死時間は表3に示した。

4) 回復

症状が起立不能にまで進行したものでも回復した個体があったが、けいれんを発した後の回復個体はなかった。又回復個体はすべて24時間で完全に回復した。一度回復した後に死亡した個体はなかった。

5) コリンエステラーゼ活性阻害

死亡個体の活性値は表4に、生存個体の活性値は表5に示した。

表5 生存ウズラのコリンエステラーゼ活性

薬剤名	投与量 mg/kg	性	供試数	血漿		脳	
				ΔpH/hr	%	ΔpH/hr	%
対 照		♂	6	1.85	100	1.85	100
		♀	6	1.37	100	1.85	100
Fenitrothion	120	♂	1	1.41	76	1.59	86
		♀	1	1.41	76	1.59	86
	60	♂	3	1.45	78	1.62	88
		♀	4	1.03	75	1.55	84
	30	♂	5	1.40	76	1.48	80
		♀	4	1.20	88	1.55	84
Dichlorvos	48	♂	1	1.19	64	1.63	88
		♀	1	1.19	64	1.63	88
	24	♂	1	1.41	76	1.54	83
		♀	3	0.89	65	1.63	88
	12	♂	5	1.46	79	1.59	86
		♀	5	1.34	98	1.61	87
Trichlorfon	90	♂	1	1.45	78	1.67	90
		♀	2	1.17	85	1.72	93
	45	♂	3	1.35	73	1.66	90
		♀	3	1.07	78	1.69	91
	22.5	♂	5	1.19	64	1.71	92
		♀	4	0.76	55	1.72	93

表4 死亡ウズラのコリンエステラーゼ活性

薬剤名	投与量 mg/kg	性	血漿		脳	
			ΔpH/hr	%	ΔpH/hr	%
対 照		♂	1.67	100	1.38	100
		♀	1.47	100	1.30	100
Fenitrothion	240	♂	0.114	6.8	0.40	29
		♀	0.05	3.4	0.57	44
Trichlorfon	180	♂	0.012	0.7	0.10	7.2
		♀	0	0	0.07	5.4
	90	♂	0.03	1.8	0.19	13.8
		♀	0.013	0.9	0.20	15.4
Dichlorvos	96	♂	0.144	8.6	0.29	21
		♀	0.094	6.4	0.34	26
	48	♂	0.115	6.9	0.50	36
		♀	0.256	17.4	0.40	31

6) コリンエステラーゼ活性阻害の時間的变化

3薬剤とも、致死時間は投与量と反比例して短くなることは明らかとなったが、活性阻害の進行が、投与量と関係するか、あるいは阻害度が薬剤によって相違するかを調べるために、薬剤投与後一定時間を切って、生存個体をと殺し、活性阻害状況を調べた。結果は表6に示すとおりである。

考 察

橋本⁶⁾は有機リン系殺虫剤は鳥類に対する毒性が一般に高いと評価しているが、今回試験を実施した3薬剤とも表2の備考欄に掲げたラットおよびマウスの LD₅₀ 値と比較すると、Fenitrothion ではラットの4.3倍、マウスの9.9倍、Trichlorfon ではラットの3.6倍、マウスの7.7倍、Dichlorvos ではラットの3.7倍、マウスの4.2倍の感受性をウズラは示した。又、投与後の致死までの時間も短く、Fenitrothion を除いては1時間以内に死亡している。コリンエステラーゼの阻害度において Trichlorfon 投与群での低下が著しいのは、本薬剤の毒性として、コリンエステラーゼ活性阻害以外のものが働くことも考えられる。

表6 3種有機リン系殺虫剤によるコリンエステラーゼ活性阻害の時間的測定

文 献

薬 剤 名	投与量 mg/kg	と殺 時間 分	血 漿		脳	
			Δ pH/hr	%	Δ pH/hr	%
対 照			1.24	100	1.20	100
Fenitrothion	15	20	0.15	12.1	1.00	83
	30	20	0.11	8.9	1.00	83
	60	20	0.13	10.5	0.86	72
Trichlorfon	11.3	10	0.09	7.3	0.69	57.5
	22.5	10	0.06	5.0	0.27	22.5
	45	10	0.05	4.0	0.24	20
Dichlorvos	6	5	0.28	23	1.07	89.2
	12	5	0.16	13	0.85	71
	24	5	0.15	12	0.71	59.2

これは表6に示した活性阻害の時間経過をみても明らかである。Trichlorfon 投与群は他2薬剤投与群に比し、異常な程の活性値の低下を示しているにもかかわらず、死亡個体が現われない。このことは本薬剤の作用機序として他に比して何らかの特異性があることを示している。従って有機リン製剤の活性を単にコリンエステラーゼの活性阻害度だけで評価することについてはなお検討を要しよう。又 Trichlorfon のこの特異性は Dichlorvos との特異性比較の面で甚だ興味深いものがあり今後の研究課題の一つとなるらう。

結 語

化学物質による環境汚染を野生動物、特に鳥類に対する毒性影響としてとらえる一連の研究として、現在最も普通に北海道で使用されている有機リン系殺虫剤3種 (Fenitrothion, Trichlorfon, Dichlorvos) をとり上げ、50%乳剤を用いてウズラに対する経口急性毒性試験およびコリンエステラーゼ活性阻害を調べた。経口投与による LD₅₀ 値は Fenitrothion ♂ 84.85 (52.49~137.16) mg/kg, ♀ 73.87 (55.98~97.46) mg/kg, Trichlorfon ♂ 73.11 (55.40~96.45) mg/kg, ♀ 83.98 (59.80~111.79) mg/kg, Dichlorvos ♂ 22.01 (13.89~34.32) mg/kg, ♀ 25.72 (18.32~36.13) mg/kg であり、哺乳動物との比較において、マウスの約4~10倍、ラットの約3~4倍の感受性をウズラが示すことを知った。コリンエステラーゼの活性阻害試験において Trichlorfon が他の2薬剤に比して異常な低下を示し、特異的な性質を示したことは興味深い。

本研究に当たり、各種文献、情報の収集に協力をいただいた三共株式会社および供試薬剤を提供された北海三共株式会社に厚く御礼申し上げる。

- 1) Rudd, R. L. et al.: Game Bull. 7, State of Calif. (1956)
- 2) 池田真次郎: 林試研報, 186, 135 (1966)
- 3) 池田真次郎: 林試研報, 238, 141 (1971)
- 4) Michel, H. O.: J. Lab. Clin. Med., 34, 1564 (1949)
- 5) Weil, C. S.: Biometrics, 8, 249 (1952)
- 6) 橋本康: 今月の農業, 16, 4, 76 (1972)

Toxicological Studies on the Influences of Chemicals to the Birds

(Part 1) Oral Acute Toxicity and Cholinesterase Inhibition of Three Organophosphate Insecticides in Japanese Quail

Keisaku Hattori, Hideo Sato, Kimiyuki Tsuchiya, Namiko Yamamoto and Etsuko Ogawa

(Hokkaido Institute of Public Health)

Oral acute toxicity and cholinesterase inhibition tests of three organophosphate insecticides, Fenitrothion, Trichlorfon and Dichlorvos were carried out in Japanese quail. LD₅₀ of each insecticide is as follows: Fenitrothion ♂ 84.85 (52.49~137.16) mg/kg, ♀ 73.87 (55.98~97.46) mg/kg; Trichlorfon ♂ 73.11 (55.40~96.45) mg/kg, ♀ 83.98 (59.80~111.79) mg/kg; Dichlorvos ♂ 22.01 (13.89~34.32) mg/kg, ♀ 25.72 (18.32~36.13) mg/kg. The Japanese quail appears to have 3~10-fold as sensitive as laboratory mice and rats to these organophosphates.

It is of interest to note that Trichlorfon shows extreme inhibition without death than the other two insecticides in the inhibition test of plasma and brain cholinesterase activities, as shown in table 6.