

平成20年度 学内グラント報告書

環境有機リン曝露の加齢，視機能低下に及ぼす影響

研究代表者 坂本 安(埼玉医科大学 中央研究施設)

研究分担者 米谷 新¹⁾，廣澤 成美²⁾

【緒言】

有機リン系殺虫剤であるフェニトロチオンは、日本ではスミチオンという商品名で販売され、稲のウンカ、野菜・果物のアブラムシ、桜のアメリカシロヒトリなどの殺虫剤として広く使われている。国内では、佐久病などの子供の眼疾患（近眼等の視力障害）の原因とも指摘されている（大藤ら，眼科学会雑誌 1971;75(8):1944-51.）。この他にも、記憶力低下などの神経毒性の報告（菅谷ら，農村医学 1981;29:724-47.）もあり，小中学校に近接した農地への空中散布や，校庭内の庭木への散布による子供への影響が懸念されている。

また、近年では内分泌攪乱作用として、抗アンドロゲン作用が指摘されており、ヒト培養細胞による実験の結果、フェニトロチオンのアンドロゲン受容体への結合阻害の強さは前立腺ガン治療薬として使われているフルタミドに匹敵するという報告がある (Tamura H, et al. Toxicological Sciences 2001;60:56-62.)。さらに子供は農薬等に対し、大人よりも強く影響を受けるため、生体曝露への影響に関して現状を把握しより詳細に研究する必要性があると考えられ、各種農産物の残留農薬の検出と視機能への影響と生体曝露量を知るためにまず、有機リン剤の尿中生体内代謝産物の定量方法について検討した。

【材料と方法】

1 農産物の残留農薬の検出

1.1 試料

輸入および国内産の野菜と果物は、毛呂山町内で購入した。

1.2 残留農薬の検出

野菜・果物類の残留農薬の検出には、残留農薬（有機リン・カーバメート系）検査キット アグリケム

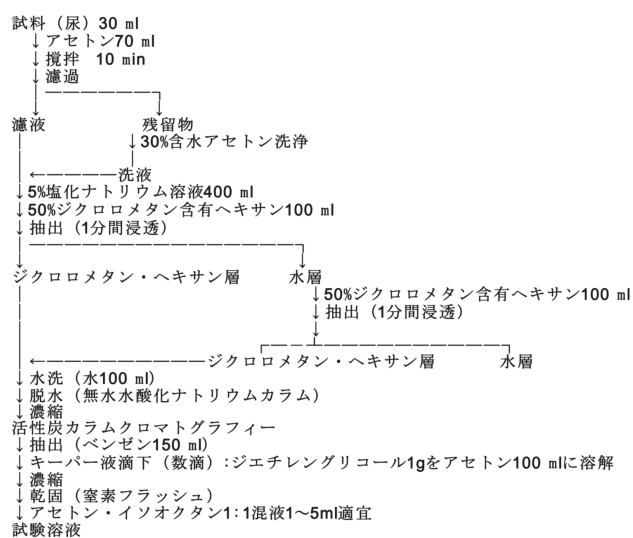
(Institute of Microchemical Technology Co. Ltd) を用いた.

2 有機リン系農薬の代謝産物の尿中濃度測定に関する検討

2.1 試料

雄ラット (Wistar-Imamichi) に、フェニトロチオンを 10 mg/kg, 1 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0 mg/kg を 1 群 3 匹とし、投与した。代謝ゲージを用いて、24 時間毎に、3 日間尿を収集し、尿試料とした。

2.2 試料調整



2.3 フェニトロチオン代謝産物の検出

フェニトロチオン代謝産物の3-Methyl-4-nitrophenol (MNP) の検出は、Liquid Chromatography- Mass spectrometry (LC-MS) [HPLC: Magic 2000 (AMR), Mss spectrometry: T100LC(JEOL)] を用い、以下の条件で遂行した。

2.3.1 LC側溶出条件

溶出液 A：0.1%酢酸，溶出液 B：0.1%酢酸 100%
アセトニトリル，グラジエント：(0～20分；3%→
95% B) (20～30分；95% B を維持) (30～35分；
95%→3% B)，流速：50 ul/分，カラム：CAPCEL

1) 埼玉医科大学 医学部 眼科

2) 埼玉医科大学 中央研究施設

PACK C1 1.5 ϕ X 50 mm

2.2.3 MS側測定条件

ESI(electro ion spray), Positive ion mode

3 結 果

3.1. 野菜・果物類の残留有機リン系農薬の検出

17種類の野菜・果物類について有機リン系残留農薬の検出試験を遂行した結果を表1に示す。

3.2 フェニトロチオン代謝産物MNPの検出試験

最も主要な代謝産物と考えられているMNPのLC-MS スペクトルを図1に示す。また、ラット尿より抽出されたMNPの溶出パターンを図2に示す。

4 考 察

4.1 野菜・果物類の残留有機リン系農薬量

野菜・果物各試料は、日常的に摂取する一般的なものを選定した。果物類からの残留農薬は検出されなかったが、アスパラを除く葉物系野菜における様に残留農薬量は、弱陽性または陽性であった(表1)。特にコマツナ、ベビーリーフ、レタスに関しては、比較的強い陽性を示し、葉物野菜の商品価値を配慮し使用農薬量が多いものと推定され、これらの野菜の各残留農薬量は、100 ppb以上と考えられる。これは野菜類の基準値(200～500 ppb)を上回るものではないが、今後ヒトの時間的な曝露量について検討する上で極めて重要な情報である。また、今回、尿中の有機リン系農薬の代謝産物について検討したが、検出イオンの分

子量が理論値 $m/z = 154.0$ であるのに対して151.0が検出されるためイオン化の際に、何らかの副反応が生じていると考えられ現在検討中である(図1)。しかしながら、投与量の最も多いラット尿から同様の質量数が検出されており、実用化することは可能であると判断される(図2)。LC-MSを有機リン代謝産物の検出に応用した例は無く、今後体内濃度と視機能障害との関係を検討する上できわめて重要なツールとなるものと期待される。また、最近有機リン系のLC-MS解析のための専用カラムが市販され、一定の溶出条件等も定まりつつあるため分離系をそちらに変更することに関しても検討中である。

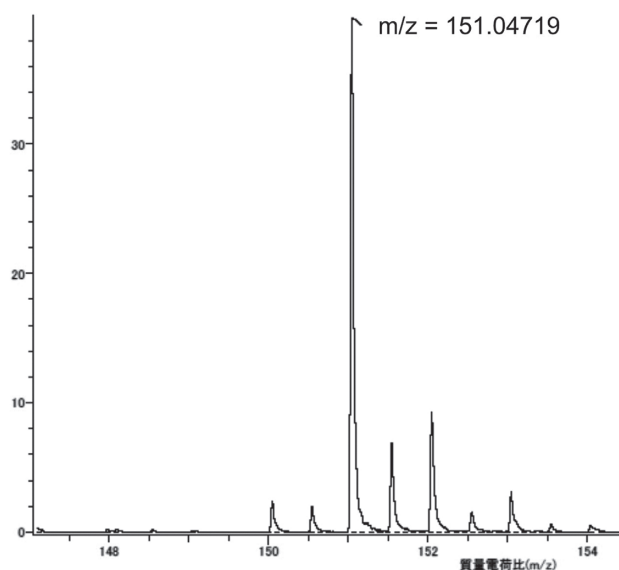


図1. 3-Methyl-4-nitrophenolのESIマススペクトル。

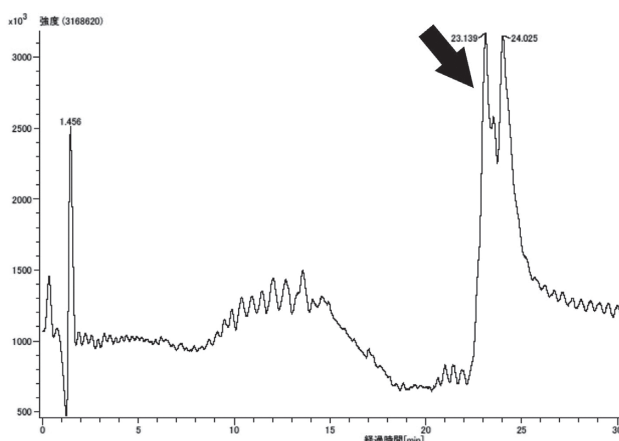


図2. フェニトロチオン投与ラット尿より抽出された3-Methyl-4-nitrophenolのTotal Ion Chromatogram. 矢印は、3-Methyl-4-nitrophenolの溶出位置を示している。

表1. 野菜、果物類の残留農薬検出試験

種類	残留農薬検出量判定 (- 陰性 +弱陽性 ++陽性)
バナナ1	-
バナナ2*	-
キウイ1	-
キウイ2*	-
グレープフルーツ	-
ピーマン	-
ナス	-
キュウリ	-
コマツナ	++
ホウレンソウ	+
チンゲンサイ	+
ミニトマト	+
キャベツ	+
ベビーリーフ	++
レタス	++
アスパラ	+

* 有機栽培品