

岡山医学会雑誌

第81巻 11, 12合併号(第900, 901号)

昭和44年12月30日発行

615.778.3-099:616-092.9

農薬有機弗素剤中毒に関する研究

第一編

有機弗素剤の実験的急性中毒に於ける糖代謝, 肝機能
及び血清電解質に及ぼす影響

岡山大学医学部平木内科教室(主任:平木潔教授)

高 木 茂

〔昭和44年12月10日受稿〕

目 次

- | | |
|---------------------|-------------------|
| I 緒 言 | 6. 血清 IRI の変動 |
| II 実験材料 | 7. 血清トランスアミナーゼの変動 |
| III 実験方法及びその成績 | 8. 血清 LDH の変動 |
| 1. 血糖の変動 | 9. 血清膠質反応の変動 |
| 2. G-6-P ホスファターゼの変化 | 10. 血清電解質の変動 |
| 3. Epinephrin-Test | IV 総括並びに考按 |
| 4. 血中ビルビン酸の変動 | V 結 語 |
| 5. 血中乳酸の変動 | |

I 緒 言

戦後の目覚ましい化学の進歩により新しい合成有機化合物農薬が相ついで登場し, その急速な普及が農作物の飛躍的増産, あるいはまた疾病を媒介する昆虫の撲滅などに実に多大の貢献をしていることは周知の通りである。

しかし殆んど農薬は激しい毒性を有するためにこれを直接取り扱う農民, あるいは農薬生産工場に働く人々の間に中毒患者の発生をみることは無論のこと, その他誤飲, 自殺の目的などの中毒を含め届出のあつた者だけでも毎年 1,000人以上の農薬による中毒者を出しているのが現状で, おそらく實際


にはその数を遙かに上回るものと推測され, 社会的問題としても重大である。

このことは最近主として柑橘類の害虫駆除に使用されるようになった有機弗素系農薬についても同様であり, その中毒に対する対策は急がねばならない。

1944年 Marais¹⁾ が南アフリカ土人の間で野牛の毒草として知られている *Dichapetalum Cymosum* の有毒物質が弗化酢酸であることを見出して以来, 有機弗化物に対する生物学的, 生化学的研究は急速な発展をとげた。

現在表 1 に示した如き有機弗化物がある。

表1 有機弗素剤の種類と毒性

薬 剤 名	用 途	化 学 名 及 び 構 造 式	毒 性 (LD ₅₀ mg/kg)
フッソール (特定毒物)	浸透殺虫剤 果樹害虫の 駆除	monofluoroacetamide CH ₂ F COONH ₂	マウス 経口 23 経皮 34 サル 5 (静注) ヒト 2~10 (経口推定)
フラトール (特定毒物)	殺 鼠 剤	sodium monofluoroacetate CH ₂ F COONa	ラ ッ テ 経口 1~7 イ ヌ 0.3 ウ マ 1
ニッソール (劇物)	浸透殺虫剤 果樹害虫の 駆除	N-acetyl-N-(1-naphthyl) monofluoroacetamide CH ₂ F-CO-N—  CH ₃	マウス 経口 250 経皮 370 ウサギ 1.5 1.76 イヌ 2.0 2.75 サル >300 >800

即ち、フラトールは強力な殺鼠剤として、フッソール及びニッソールは浸透性殺虫剤として特に果樹類のカイガラムシ、ハダニ、アブラムシなどの防除剤として卓効を示すので多用されるようになり、その中毒患者の発生もみるに至った。

中毒症状は心臓型、中枢神経型、その混合型などがあり動物種差の著しいことが Chenoweth²⁾ らによつて報告されている。

その中毒発生機構の大略は Peters³⁾ らにより一応ほぼ確立したとされているが、近年平木⁴⁾、北川⁵⁾ 両教授らは中毒時に低血糖を惹起し、ブドウ糖投与により中毒症状が著しく改善されることを見出し、糖代謝との密接な関係を推測するに至っている。

著者は動物実験により有機弗素剤中毒の病態生理の解明を行い、特に急性中毒時の糖代謝を中心に肝機能検査、血清電解質などの基礎的実験を行い、検討を試み、いささかの結果を得たのでここに報告する。

II 実験材料

- 1) ニッソール25%乳剤, 日本曹達製
- 2) フッソール10%液剤, 三共製

以上2剤を蒸留水で稀釈し, 1ml 中それぞれ 2.5 mg 及び 10mg とし使用した。

3) 健康な体重 2 kg 前後の白色家兎を主として, その他ラッテ, マウスを使用した。

III 実験方法及びその成績

1. 血糖の変動

- a) 家兎を24時間絶食せしめた後ニッソール 2mg

/kg の皮下注射を行い, 固定箱に固定し, 耳静脈よりニッソール投与前及び投与後30分毎に採血を行い, O-アミノピフェニール法⁶⁻⁸⁾ により血糖の測定を行った。

表2 ニッソール中毒家兎の血糖値の変化
Nissol 2mg/kg 皮下注射

番 号	血 糖 の 変 化 mg/dl								
	投与 前	0.5	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4h
No. 1	109	115	122	118	125	130	124	107	
No. 2	125	108	102	102	89				
No. 3	118	125	128	112	108	121	123	131	134
No. 4	124	103	96	91					
No. 5	121	131	138	127	133	126	130	126	136

実験成績：表2に示した如く家兎では血糖値の変動はまちまちで一定の傾向はみられなかった。

b) ラッテにフッソール 50mg/kg の経口投与を行い, その血糖値の変動をみた。

実験成績：表3及び図1に示したように投与後1乃至3時間値では上昇する例もあつたがその後次第に低下し, 特に痙攣発作時及びその前後に著明に低下した。

2. G-6-P ホスファターゼの変化

測定原理は血清の適当量を基質 G-6-P とともに, 37°C で1時間反応させ, 遊離されたリンの量を Fiske-Subbarow 法⁹⁾により測定した,

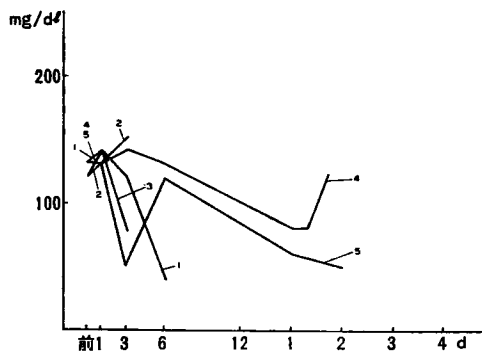
血清酵素活性値は、血清 1.0ml 当り、37°C 1時間 に 17 の無機リンを遊離する酵素の活性を 1 単位

表 3 Fussol 中毒ラットの血糖値の変化
Fussol 50mg/kg 経口投与群

番号	体重 (g)	血糖値の変化 mg/dl								
		投与前	1	3	6	24 ^h				
No.1	140	130	140	120	40					
No.2	120	120	130	150						
No.3	120	120	140	80						
No.4	155	130	130	140	130	80	80 (32h)	120 (40h)		
No.5	130	130	130	50	120	60	50 (48h)			

— は個体時またはその前後

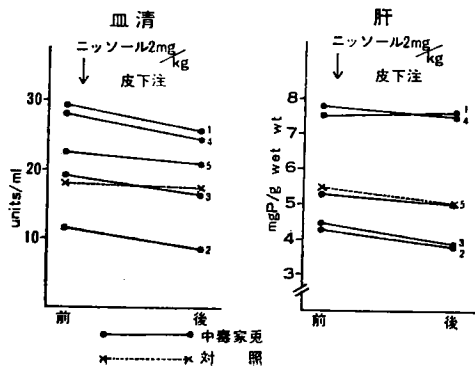
図 1 Fussol 中毒ラットの血糖値の変化
Fussol 50mg/kg 経口投与群



として算出した¹⁰⁾。また肝では約 2.5% ホモジネートをクエン酸緩衝液にて作り、その上清を用い同様に測定した¹¹⁾。

実験成績：家兔にニッソール 2mg/kg を皮下注射し、投与前及び中毒時 (3~4 時間後) の血清並びに肝の G-6-P ホスファターゼの測定値は図 2 に示

図 2 ニッソール中毒家兔に於ける G-6-Pase の変化

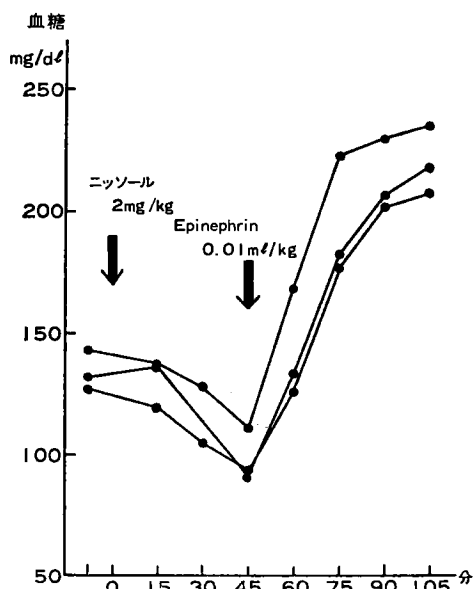


ようにその前後で殆んど変化は認められなかつた。

3. Epinephrin-Test¹²⁾

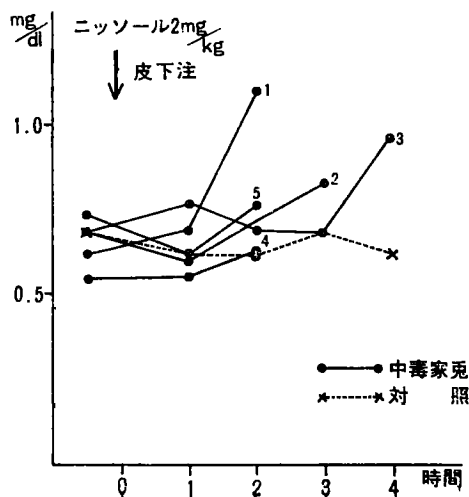
空腹家兔にニッソール 2mg/kg の皮下注射を行い中毒状態にした後、更に 1,000 倍 Epinephrin 0.01 ml/kg の皮下注射を行い、15 分毎に 1 時間にわたり血糖値を O-アミノピフェニール法により測定した。実験成績：血糖値の変動は図 3 に示した通り Epi-

図 3 Epinephrin-Test
(ニッソール中毒家兔)



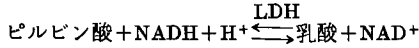
nephrin の投与により著しい血糖の上昇がみられた。

図 4 ニッソール中毒家兔に於ける 血中ビルビン酸の変動



4. 血中ピルビン酸の変動

測定原理はピルビン酸は LDH を触媒として下記



の反応により過剰の NADH の添加及び H⁺ の存在下で定量的に乳酸になり、ピルビン酸と同じ分子数だけの NAD⁺ が生成される。この NADH の減少量を分光光度計で吸光度の減少（波長340μm）により求めた¹³⁾¹⁴⁾。

家兎に 2mg/kg のニッソールを皮下注射し、血中ピルビン酸の変動をみた。

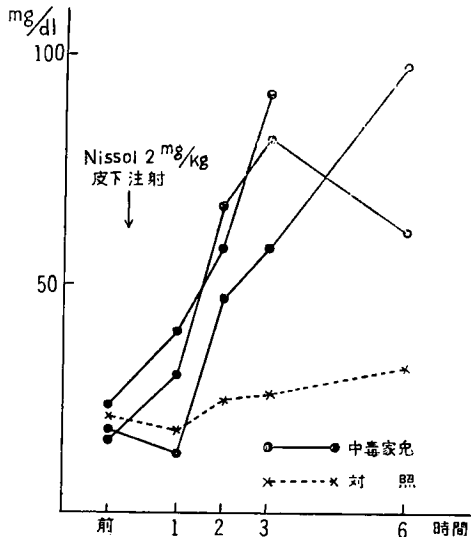
実験成績：死亡前に増加の傾向がみられ、特に痙攣が続いた直後、家兎 1・3 にその傾向が著明であつた。（図 4）

5. 血中乳酸の変動

ピルビン酸と同様酵素法により NADH の増加量を測定し乳酸値を求めた¹⁴⁾。

実験成績：家兎に 2mg/kg のニッソールを皮下注射した場合、乳酸は初期低下した例もあつたが、次第に経過とともに著しい増加がみられた。（図 5）

図 5 ニッソール中毒家兎に於ける
乳酸の変動



6. 血清 IRI (Immuno reactive insulin) の変動

Radio Isotope を使用してマウスでフッソールの投与群及び非投与群について IRI を測定した¹⁵⁾¹⁶⁾。

実験成績：投与群では対照に較べその活性化に著明な低下が認められた。（表 4）

7. 血清トランスアミナーゼの変動

家兎にニッソール 2mg/kg の皮下注射を行い、投

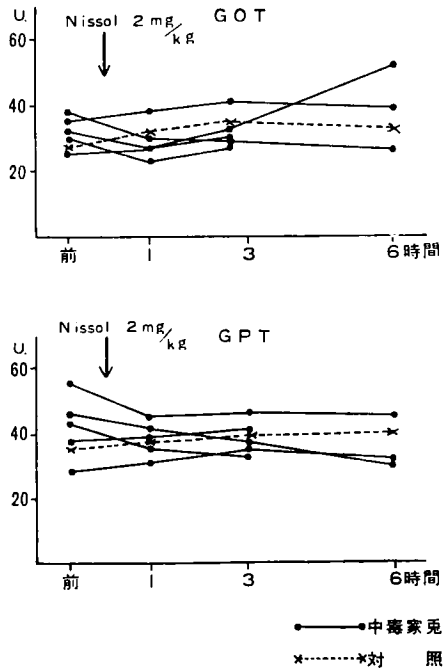
表 4 Fussol 中毒マウス IRI

対 照 群	II 群	Fussol per os 1mg/kg/day	III 群	Fussol per os 0.5mg/kg/day	
No4	47μu/ml	No4	8μu/ml	No1	7μu/ml
" 5	36 "	" 5	4 "	" 3	11 "
" 6	36 "	" 6	7 "	" 6	11 "
" 7	43 "	" 7	4 "		
		" 10	7 "		

与前及び 1, 3, 6 時間後の血清 GOT, GPT の活性値を Reitman-Frankel 法¹⁷⁾により測定を行つた。

実験成績：GOT, GPT とともに殆んど変動はみられなかつた。（図 6）

図 6 Nissol中毒家兎に於ける
血清 Transaminase の変動



8. 血清 LDH の変動

家兎を使い同様に血清 LDH を Cabaud 法¹⁸⁾により測定した。

実験成績：中毒時その活性値に著明な上昇が認められた。（図 7）

9. 血清膠質反応の変動

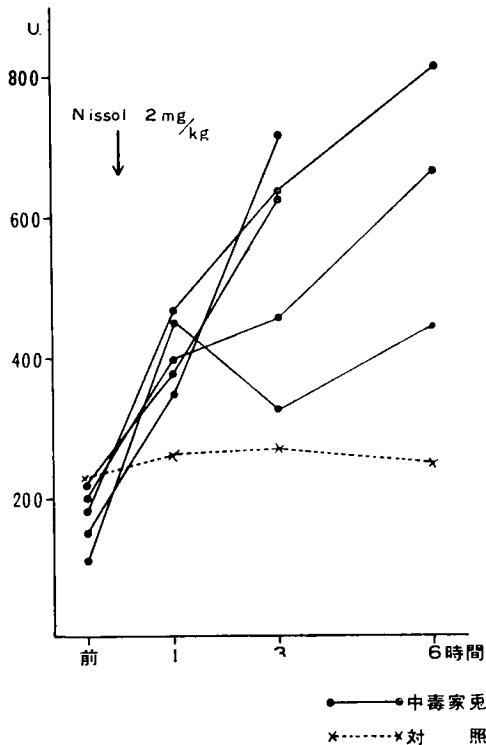
家兎にニッソール 2mg/kg の皮下注射を行い、経時的に採血し、膠質反応検査は常法¹⁹⁾により実施した。

実験成績：高田反応、血清コバルト反応、グロス氏反応、CCF についてはともに中毒時著変が認め

表5 血清膠質反応の変動

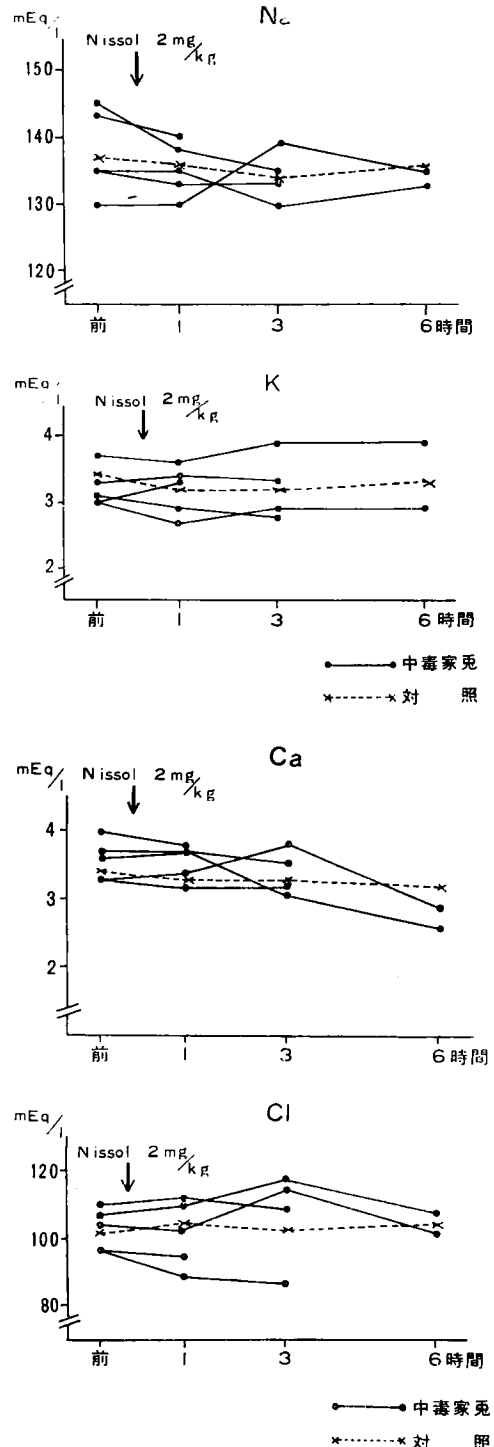
膠質反応の種類	家兎番号	投与前	1時間	3時間	6時間
高田反応	No. 1	(-)	(-)	(-)	
	No. 2	(-)	(-)	(-)	(-)
	No. 3	(-)	(-)	(-)	(-)
血清コバルト反応	No. 1	R6(1)	R6(1)	R7(1)	
	No. 2	R6(1)	R7(1)	R7(1)	R9(0)
	No. 3	R6(1)	R5(1)	R7(1)	R8(0)
グロス氏反応	No. 1	(-)	(-)	(-)	
	No. 2	(-)	(-)	(-)	(-)
	No. 3	(-)	(-)	(-)	(-)
C C F	No. 1	(++)	(++)	(++)	
	No. 2	(++)	(++)	(++)	(++)
	No. 3	(+++)	(+++)	(++)	(+++)
血清蛋白 (g/dl)	No. 1	5.6	5.1	4.8	
	No. 2	5.4	4.9	4.2	3.9
	No. 3	5.2	5.0	4.8	4.6

図7 Nissol中毒家兎に於ける血清HDLの変動



られなかった。(表5)なお TTT, ZnTT は家兎血清では測定不能であった。

図8 Nissol中毒家兎に於ける血清電解質の変動



また膠質反応に平行してアタゴ蛋白計により血清蛋白の測定を行つたところ、経過とともに減少の傾向がみられたが、おそらく採血による全血量の減少のためと考えられる。

10. 血清電解質の変動

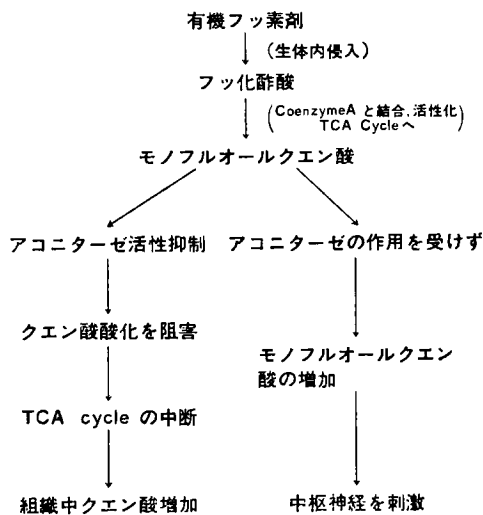
家兎にニッソール 2mg/kg の皮下注射を行い、同様に経時的に採血した。電解質の測定方法は Na, K は炎光分光光度法²⁰⁾で、Ca は NFR 色素法²¹⁾で、また Cl は Schales and Schales 法により測定した。

実験成績：Na, K, Ca, Cl とともに急性中毒時著変はみられなかつた。(図 8)

IV 総括並びに考按

有機弗素剤による中毒発現機構は図 9 の如く Peters³⁾ らにより、中毒時に組織中に大量のクエン酸が蓄積することより、有機弗素剤(弗化酢酸アミド)が体内に入るとモノフルオールクエン酸となり、これが有毒物質として作用し、Krebs 回路のアコニタ

図 9 有機弗素剤中毒の発生機転

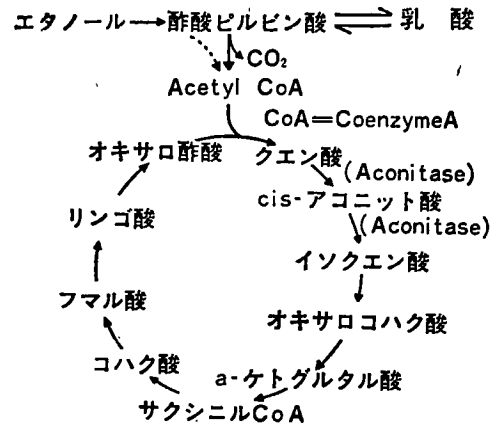


ーゼの活性を抑制し、この回路が中断するためと推論されている。(図10)

Buffa²²⁾ 及び Potter²³⁾ らによると各臓器内のクエン酸増加は腎に最も多く正常の80倍にもなり、次いで心、脾、胸腺、腸管、肺の順で肝には著明な増加が認められていない。また、この Krebs 回路中断のためエネルギー生成が阻害されると同時に、モノフルオールクエン酸が直接中枢を刺激して痙攣、意識障害などの中枢神経症状が現われると考えられている。

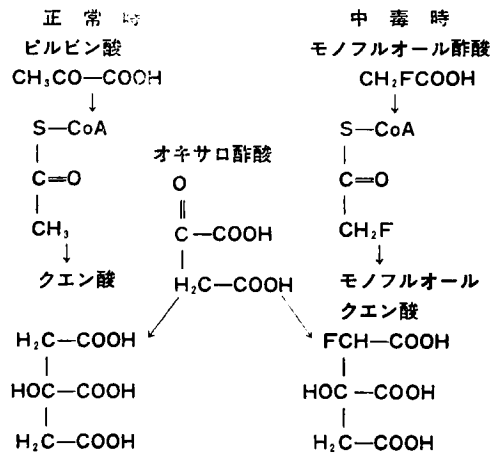
その後 Brady²⁴⁾, Marcus²⁵⁾²⁶⁾ らは実験的に fluoroacetyl Coenzyme A を合成し、これが Condensing

図10 Krebs のクエン酸回路



enzyme の存在下でオキサロ酢酸と縮合し、モノフルオールクエン酸が合成されることを ¹⁴C で標識した化合物を用いて実証し、(図11) 今日では中毒発

図11 クエン酸サイクル (Krebs cycle) とモノフルオールクエン酸の生成



生機構はほぼ確立されたといつてもよいであろう。

ところで最近平木教授⁴⁾ らは動物によつては有機弗素剤中毒時に血糖値の低下を来たすと述べ、北川教授⁵⁾ らも動物実験で中毒時ブドウ糖を投与することで中毒症状が速かに改善されることを見出している。

著者の経験した患者症例(詳細は第2編に記載した。)に於ても中毒時に著明な低血糖が起り、しか

もこれが中毒症状発現と非常に密接な関係があつたので、強い糖代謝の異常が中毒時に起ることが推測されるに至つた。

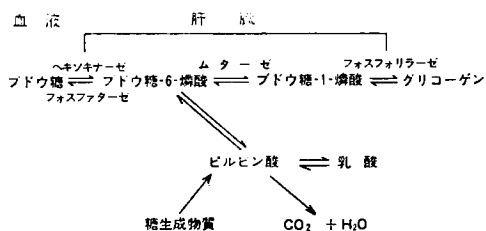
1. 中毒時の糖代謝障害について

血糖はいろいろの原因により変動するが、異常な低値や高値を示すことは普通の場合ではまずない。即ち 生体は内部環境の恒常性を維持する機能 (Homeostasis) を有しているからである。

著者の実験によると家兎では中毒時血糖値はまぢまちで一定の傾向は見出し得なかつたが、ラッテにフソールを投与した場合、その中毒時血糖の低下がみられ、特に痙攣発作前後にその傾向が著明であつた。

解糖機構の概略は図12に示した通りであるが、血糖を左右する最も重要な過程は肝に於けるブドウ糖よりグリコーゲンの生成及びグリコーゲンよりブド

図12 解糖機構



ウ糖への転化であり、これらは種々のホルモンにより調節されている。即ち、膵のランゲルハンス島より分泌されるインシュリンは血糖低下に、また脳下垂体前葉ホルモン、副腎皮質ホルモン、副腎髄質ホルモン、甲状腺ホルモン、膵のランゲルハンス島より分泌されるグルカゴンなどは血糖上昇に作用し、これら諸ホルモンは相互の間の勢力均衡の上に調節され、同時に中枢及び自律神経系も糖代謝に影響を及ぼすことが知られている。

無機弗化物は肝よりのブドウ糖遊離速度を規定する G-6-P ホスファターゼ活性を抑制することが知られているが²⁷⁾、著者の有機弗素化合物による中毒実験では、血清及び肝 G-6-P ホスファターゼはともに中毒前後に於ける活性化には殆んど差異が認められなかつた。

また中毒家兎に Epinephrin-Test を行うと著明な血糖の上昇がみられた。

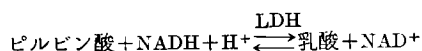
これは Epinephrin がアデニールサイクラーゼを賦活し、不活性なホスファターゼを活性化して Glycogenesis を盛んにし、一過性の過血糖を惹起し

たものである²⁸⁾。

以上の事実からグリコーゲンよりブドウ糖への転化過程では障害ないものと考えられる。

次にピルビン酸は糖の重要な中間代謝物で、しかも各物質代謝の主要な交叉点に存在することから代謝の状態をうかがうに重要な物質である。Petersらの理論によると Krebs 回路が中断されることから当然この物質の増加が予想されたが、中毒家兎で実測してみると痙攣直後に増加がみられることから、これらの変化は中毒によるというよりむしろ痙攣による2次的変化と考えられる。

これに反し、乳酸は経過とともに著しい上昇がみられた。これは生体は正常状態では Krebs 回路にその殆んどのエネルギー源を依存しているのであるが、本中毒時には Krebs 回路が中断されるため、実質的には無酸素状態と同様になるので、少しでも細胞機能の維持をはかろうとして嫌気性代謝の最終段階である lactic dehydrogenase System ではピルビン酸は自ら H⁺ の受容体となり、乳酸に還元され、少しでもエネルギー生成をはかろうとして、下記反応は著しく右方に傾き、血中乳酸の増加がみられ、



同時に低血糖を惹起したのではないかと考えられる。

なおピルビン酸の還元で費される2原子のHは、解糖の過程で1,3-ジホスホグリセリンアルデヒドが脱水素を受けて1,3-ジホスホグリセリン酸になる段階で補給され NAD⁺ が NADH₂ に還元されることにより均衡が保たれるのであろう。

また著者の実験でみられた血清 LDH の著明な活性の上昇は lactic dehydrogenase System の盛んな活動による各組織内での活性化の昂進を示すものと考ええる。しかしながら本酵素は分子量約14万と高分子で、正常な細胞膜を自由に透過することは出来ないから、急性中毒時血清中に於て高値を示すことは、中毒時に細胞膜の透過性の変化、あるいは細胞の急激な変性乃至壊死が起り、本酵素が血中に放出されたものではなからうか。この点に関してはなお今後組織学的検討を要する問題である。

次にインシュリン (IRI) に関しては著者らの予想と反し、著しい活性低下がみられたが、本中毒に際し低血糖状態下に於ける生体の恒常性を維持しようとする機能 (Homeostasis) の現われではないかとも考えられるが、何れにせよ血糖レベルに関与する因子は多く、且つ複雑で本実験のみでは解決は不可能で

あり、なお今後検討を要する問題を多く残している。

2. 肝機能障害について

家兎に於ける急性中毒時の肝機能について血清トランスアミナーゼでは GOT, GPT とともに著しい変化はみられなかつたのに反し、血清 LDH では著明な上昇が認められた。

Potter²⁸⁾らも本剤中毒時肝組織では、他臓器にみられるクエン酸の増加が殆んどなかつたと述べており、肝の異物に対する生体防禦反応が最後までよく働いていることがうかがわれ、おそらく血清 LDH の上昇も肝以外の組織、例えば腎、心などより由来したものではないかと考えられるが、この点に関してはなお今後検討を要する。

膠質反応については高田反応、グロス氏反応、血清コバルト反応、CCF はともに殆んどみるべき変化はなかつた。

以上のことからニッソール 2mg/kg 皮下注射による急性中毒の場合、経過も比較的短時間であつたためか、肝障害を起すまでには至らなかつたものと考えられる。

3. 血清電解質の変動について

本中毒時に於ける糖代謝障害についてはすでに述べた通りで、ラッテでは著明な低血糖が惹起され、家兎に於てはあまり変動がみられなかつた。

低血糖時の血清電解質の変動は Keys²⁹⁾の報告によると Na, K は増加し、また Haid³⁰⁾は Ca の減少を認めるとしているが、著者の家兎による実験では本中毒時あまり低血糖はみられず、血清電解質に

も殆んど変化を認めなかつた。ただ Ca で比較的長時間生存した例に僅かな低下がみられた程度であつた。

V 結 語

著者は有機弗素剤による急性中毒に於ける糖代謝障害、肝機能、血清電解質の変動について実験を行い次の成績を得た。

1. 血糖の変動は家兎では一定の傾向を示さず、またその動変巾も少ないのに反し、ラッテでは著明な低血糖が惹起され、特に痙攣前後でその傾向は著しい。
2. 中毒時 Krebs 回路の中断による 2 次的変化として lactic dehydrogenase System の活動が盛んとなるようである。
3. 肝機能はトランスアミナーゼ、膠質反応ともに障害はみられない。
4. 血清電解質 Na, K, Ca, Cl には著変を認めない。
5. 以上より動物による中毒時病態生理の差はあるが、糖代謝の面でかなりの異常を来たすものと推測される。

擧筆するに当り終始御懇篤なる御指導、御校閲を賜つた恩師平木教授並びに岩崎助教授に深甚なる謝意を表す。

(本論文の要旨は第 8 回国保医学会学術総会に於て発表した。)

(文献は第 3 編末に一括掲載する。)

Studies on Agricultural Organofluoride Poisoning

Part I. Influences of Organofluorides on Carbohydrate Metabolism, Liver Functions, and Serum Electrolytes

By

Shigeru Takagi

Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School
(Director: Prof. Kiyoshi Hiraki)

Studies were performed on the alterations of the carbohydrate metabolism, liver functions, and serum electrolytes in rabbits and rats which were acutely poisoned by organofluorides.

1. In the poisoned rabbits the blood glucose levels showed no consistent abnormalities, but in the rats marked hypoglycemia was induced which tended to be more pronounced before and after convulsions.
 2. At the time of intoxication the lactic dehydrogenase system seemed to be secondarily augmented due to the blockade of the Krebs cycle. The system is metabolically located at the final stage of the anaerobic glycolysis.
 3. No abnormalities in the serum transaminases and colloidal reactions were observed.
 4. No significant alterations were seen in the serum Na, K, Ca, and Cl.
 5. These observations suggest the presence of an abnormal carbohydrate metabolism, although species-dependent, in the intoxicated animals.
-