

第99回 日本眼科学会総会 特別講演 I

環境汚染物質などによる眼症

—特に有機燐剤の視覚毒性について—

石川 哲

北里大学医学部眼科学教室

共同研究者

宮田 幹夫, 若倉 雅登, 吉富 健志, 向野 和雄, 宇賀 茂三, 青木 繁
難波 龍人, 福島 一哉, 佐古 博恒, 西本 浩之, 本間 啓蔵, 川崎いづみ
春野 功, 中里 宣幸, 佐藤美奈子, 庄司 治代, 横江 淳子

要 約

有機燐系殺虫剤は、微量の長期慢性曝露により眼を含む中枢神経、末梢神経、循環器：心臓、血管系、その他を障害する。今回は研究の発端になった有機燐眼症をまず紹介した。次に、神奈川県下で10年以上にわたり、主に有機燐系殺虫剤を散布している農業従事者に対し、健康調査を目的として検診を行った結果を報告した。検診は3段階に分けて行われた。第一次検診として7,435名に自律神経症状に関するアンケート調査、視力、フリッカー値測定、握力、血液コリンエステラーゼ値測定、第二次検診としてその中から456名(6.13%)に対して眼機能検査：電気眼球運動図(EOG)、網膜電図(ERG)、神経学的検査、肝機能を含む血液生化学的検査を行った。第三次検診では瞳孔反応測定、空間周波数特性測定(MTF)、血中有機燐濃度測定を第二次検診者の中から167名(2.24%)に行い、最終的に64名(0.86%)を治療対象者とした。障害は軽度であったが、瞳孔異常、空間周波数特性(MTF)異常や垂直性滑動性追従眼球運動など眼症候が一番多く、かつ明瞭に出現した。64名は脱燐剤を中心とした治療により、臨床所見の改善を来し血中有機燐濃度も減少した。医師は眼や神経系に異常を来した患者を診た場合、農薬を扱う農業従事者なら有機燐による農薬中毒を鑑別疾患の一番目として考え、瞳孔、視覚、眼球運動系に異常を見出す技術を身につけることが大切であることを強調した。

次に、職業的に有機燐殺虫剤を長期にわたり使用し、心筋梗塞で死亡した患者の病理解剖結果が示されている。著明な網膜神経系の変性と、年齢を超えた動脈硬化性病変が全身にみられた。有機燐とこの動脈硬化については、現在までほとんど知られていないので文献を加え討議を行った。また、なぜ視神経や網膜、末梢神経などの主に神経組織に有機燐が選択的に障害を発生させるかについて実験的に有機燐の残留の面から明らかにした。

最後に、実験的に網膜に変性が起こるメカニズムの解明をカルシウムイオンの細胞内増加と活性酸素の発生を培養網膜ニューロンの画像解析で説明した。さらに、動物で経時的に有機燐投与による活性酸素の発生と、セレンウムの増減につき検討した。これらから、有機燐剤の毒性は一般にいわれているコリンエステラーゼ阻害のみでなく、non-cholinergicの面の毒性が極めて重要であり、毒性を研究するにはこの面を研究する必要性が極めて大切であることを強調した。これらの作用を解明すれば、なぜ網膜や視神経、さらには脳神経系の特殊な部位が障害されるかを解明出来ると考えた。(日眼会誌 100:417-432, 1996)

キーワード：有機燐、殺虫剤、視覚毒性、心臓障害、中毒、環境汚染

別刷請求先：228 神奈川県相模原市北里1-15-1 北里大学医学部眼科学教室 石川 哲
(平成7年12月18日受付、平成8年2月7日改訂受理)

Reprint requests to: Satoshi Ishikawa, M.D. Department of Ophthalmology, School of Medicine, Kitasato University, 1-15-1 Kitasato Sagami-hara-shi, Kanagawa-ken 228, Japan

(Received December 18, 1995 and accepted in revised form February 7, 1996)

Ophthalmopathy due to Environmental Toxic Substances Especially Intoxication by Organophosphorus Pesticides

Satoshi Ishikawa

Department of Ophthalmology, School of Medicine, Kitasato University

Abstract

Organophosphorus pesticides (OPs) produce optico-autonomic peripheral neuropathy in human populations in districts where a large amount of pesticides have been used in agriculture. This report presents an epidemiological study that was performed in Kanagawa Prefecture. An autopsy case of a professional organophosphorus sprayer is reported. In addition, an experiment was performed to investigate a non-cholinergic chronic toxicity due to a certain OP. The epidemiological study revealed that 64 of 7,435 farmers showed vertical smooth pursuit defect of the eyes, impairments of modulation-transfer function (MTF) of the visual system and abnormal contraction dynamics of the pupil reaction to light stimuli, and a high residual level of OP was found in their blood. These abnormalities were reduced by treatment with antidotes such as atropine, prifinium bromide, and pralidoxime meth-

iodide (PAM®). The autopsy findings showed severe retinal degeneration with optic neuropathy and an obviously precocious progression of arteriosclerotic change in heart, brain, and retinal vessels. These findings can not be explained by cholinesterase inhibition alone. Experimental evidence showed that OP produced non-cholinergic impairment such as increase of Ca ions in retinal neurons. A generation of free radicals was noted in tissue-cultured retinal neurons. Blood selenium level was reduced by OP. These non-cholinergic actions may also explain the neural damage caused by long-standing low-dosage contact with OPs. (J Jpn Ophthalmol Soc 100: 417-432, 1996)

Key words: Organophosphorus compound, Pesticide, Visual toxicity, Cardiac damage, Intoxication, Environmental exposure

I 緒言

現代において、我々の最も身近で、環境汚染と関係し、かつ眼に大きな影響を与える可能性が強いものは有機燐殺虫剤(Organophosphorus pesticide, OP)である^{1)~7)}。

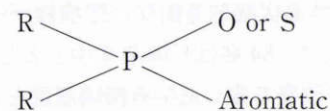
今回の報告では OP を中心とする視覚毒性に関する最近の教室の研究を紹介する。特に、微量の OP を与えたときに発生する種々なる人体の異常を、検診結果、病理例；15年以上追跡出来た有機燐散布指導者例を通して紹介する。さらに、cholinergic の障害のみでなく、non-cholinergic な有機燐殺虫剤の毒性を Ca ion と free radical の検出という面からラット培養網膜ニューロンを中心に研究した新しい結果を報告する。OP は神経毒性のみでなく、serin esterase 阻害や脂質、例えばリポスチンの増加、動脈硬化の進行などが心臓や体の血管系でも認められること、さらに、網膜の細胞では OP 微量投与で Ca イオンの増加と活性酸素が明らかに増加することを示す。さらに、活性酸素とセレンウムが有機燐剤投与によりどう動くかも検討した。

II 有機燐の毒性

有機燐の毒性は眼・自律神経・末梢神経ニューロパチーとして著者が約 25 年以上前に最初に、OP 剤であるマラチオンで報告した症候群が眼毒性としては最初であり、

現在では農薬眼症として知られている^{3)8)~12)}。これらの研究はオリジナリティーがあったが、主に政治的理由から無視されていた。ところが、最近になって石川らの有機燐農薬眼症として報告した論文の review と追試が米国環境庁(Environmental Protection Agency, EPA)と米国政府に所属する中毒学者により行われた。最も新しいものでは J Applied Toxicology (1994) の 14 巻に数々の追認が行われ、眼毒性を明白に証明する論文がいくつかの論文として発表された。詳しくはその原著を参照されたい¹³⁾。

1. 有機燐とは



有機燐剤は燐が中核で、一般に側鎖が 4 つある。R はアルキル、X は O または S、R' は芳香族などである。最近話題のサリンは、この aromatic の部位にフッ素がついており、LD 50 mg/kg はマウスで、0.1 mg/kg と強毒性である。フェニトロチオンまたはスミチオンの LD 50 はマウスでは 788 mg/kg で低毒性であるが、この値には大きな動物差、個体差がある。なお、低毒性有機燐剤にも毒性がある。

急性中毒は、サリン中毒で余りにも有名になったが、強いムスカリン、ニコチン作用が認められるので、その診断

は極めてやさしい。多くの同種の物質では血清中の偽コリンエステラーゼ・血球の真コリンエステラーゼ(acetylcholinesterase, ChE)が阻害されるので診断の参考になる。しかし、最近用いられている有機燐には偽ChEはむしろ活性が高く、真ChEが低下する傾向を示すものがある。これについては後述する。この際、血液のChE酵素測定のみで診断に役立つのは約30%の症例で、他の症例は臨床症状と脱燐剤によるtherapeutic trialで診断する。

慢性中毒は、1970年世界初の報告¹⁾通りoptico-automorphic peripheral and central neuropathyとして整理される。

有機燐剤による微量慢性毒性による障害はアシル化作用、アルキル化作用、エステラーゼ、および他の酵素阻害とされた。つまり、コリンエステラーゼが低下するだけではなく、non-cholinergicな毒作用が出現するので診断・治療が極めて難しくなる。今回の報告では、まず慢性中毒の典型例である佐久の眼病についてふれ、次に最近の検診結果、病理解剖例、そして有機燐殺虫剤の主にnon-cholinergicな網膜神経細胞の毒性などについて述べる。

2. SAKU diseaseについて

前述米国EPAのグループ¹³⁾は、佐久でみられた小児の眼症をSAKU diseaseという名前を用い紹介している⁸⁾⁹⁾¹⁴⁾。この疾患は昭和40年頃長野県佐久地区で始まり、視力低下、強い直乱視、周辺視野狭窄、視神経乳頭の鬱血または萎縮、網膜の変性、垂直滑動性追従運動障害、神経症状を有する眼病が小児に発生し、浅間市立病院の大戸建副院長らにより原因不明の球後視神経炎として経過観察が行われていた。これらの患者の発生は、害虫駆除のためにヘリコプターにより散布されているマラチオンの空中散布後、約数年遅れて発生し散布地区でみられ、非散布地区ではみられなかった。その後、散布面積の増加に比例して患者も増加した⁹⁾。これらの患者の診断基準⁶⁾が厚生省研究班によりつくられ(表1)、これに該当する症例は直ちに脱燐剤の治療を受けたので、低下していた視力や狭窄のあった視野障害を回復させることが出来た(図1)。前述の診断基準による患者数は●印で示されている。患者の増減と有機燐農薬散布面積(ヒストグラム)の増減とがよく一致しているのがわかる。これらの患者は慢性の中毒であり、潜時は約5年位かかって発症している。使用されたのはマラチオンとバミドチオンであった。バミドチオンに変わってから患者の発生は減少した。最高に患者がみられたのは1969~1970年である(図1矢印)。

これらの患者は脱燐剤たるアトロピン、臭化プリフィニウム(パドリン®)、パムなどによく反応し視力も回復し、この地区の小児は幸いにも大戸らの努力で治癒した。しかし、近視と乱視、網膜変性は後遺症として残った。矯正レンズの度は増加したが、視力は矯正された。最近では東京都のゴミ処理場所と有機燐殺虫剤の研究がある¹⁵⁾。

表1 慢性有機燐中毒の診断基準

必発事項(他疾患を除外する)

| | |
|----------|---|
| 眼症状(両眼) | 1. 視力低下(時に動揺)。 2. 視野狭窄または中心暗点。 3. 屈折異常、近視が多い(成人では稀に正常)。小児では乱視(直乱視が多い)。 |
| 全身症状 | 1. 錐体路徴候(四肢反射の亢進、病的反射出現)。 2. 下肢固有感覚機能低下、閉眼片足立ち不能。 3. 自律神経症状の存在※※。 |
| 検査ならびに治療 | 1. 尿中または血中から0.01 ppm以上の有機燐が検出される。 2. 臨床症状がアトロピン、パム、グルタチオン剤などで改善する。 ※稀に眼症状を初期に欠くことがある。 ※※めまい、頭痛、はきけ、立ちくらみ、下痢、便秘、しびれ、発汗、異常知覚、口渇、インポテンツ、膀胱直腸障害など。 |
| 参考事項 | |
| 眼所見 | 1. 眼底、特に視神経のうっ血(初期)、耳側退色(中期)、萎縮、および変性(末期)を認める、時に視神経炎または皮質盲の形をとる、網膜は末期では変性所見を呈する。 2. 強度の近視性乱視、調節痙攣を認めることがある(小児)。 3. 滑動性追従運動異常(垂直に著明)。 4. ERG: supernormal(初期)、subnormal(末期)。 5. 中心フリッカー値低下。 6. MTF値低下。 |
| 全身所見 | 1. 血球コリンエステラーゼ値低下。 2. 肝機能: LDH ↑, CPK ↑, CCLF(+), アルカリフォスファターゼ値↑。 3. 手袋・靴下型知覚障害。 4. Bidstrupサイン※, Foot drop ※※, 歩行障害、四肢を中心とした全身の筋肉萎縮。 5. アレルギー反応を起こしやすくピールズ性疾患にかかりやすい。 6. 脳波異常、精神的な異常を伴うことがある。 7. 有機燐との接点が必要。 ※両手を拝むように合わせ、指の背屈運動ができない。 ※※つま先をたらし歩く。その時親指背屈、その他の指はたれ下がる。その逆もある。 |

(石川 哲: 慢性有機燐中毒、その症状と診断基準、日本医事新報 第2572号 昭和48年より極く一部改変)

ERG: 網膜電図 MTF: 空間周波数特性

その後発表された研究を述べると、有機燐剤はしばしば極めて難治な下肢麻痺を来すことがある。その初期は極めて痙攣性の傾向を示すので、重症の歩行障害を来す。向野ら¹⁰⁾¹¹⁾は外眼筋、末梢神経の病理学的研究を行った。視神経障害についてUgaら¹¹⁾¹²⁾が臨床および病理を報告している。大野ら¹⁶⁾はガングリオンブロッカーであるメカミラミンクロライドを用い、難治の歩行障害患者の治療に成功している。神経麻痺は神経毒性ターゲットエステラーゼ(neurotoxic target esterase)の関与が重要である¹⁷⁾。網膜のERGおよび変性実験はfenthionで行われた^{18)~21)}。近視発生に関してはビーグル犬を用い、2

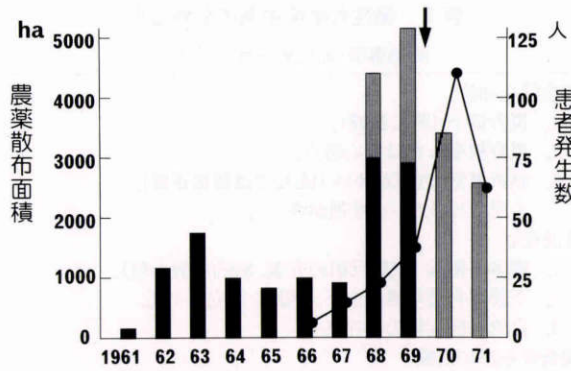


図1 有機燐散布面積と患者数。

●: 患者数 ■: マラチオン ▨: パミドチオン

年間の有機燐微量投与で確認された²²⁾。最近の米国での実験は僅か6か月で投与を打ち切り、近視はなかったと報告している。日本でも1年で打ち切り、近視はなかったとの報告がある。先人の行った2年間の経過を追わないで、このような研究を発表する理由は政治に最も影響されており、甚だ残念なことである²³⁾。

有機燐剤の平衡機能への影響、垂直を中心とする眼球運動異常については過去に詳細に報告^{24)~26)}されている。これらの日本の有機燐慢性中毒の報告に世界で始めて注目したのはスウェーデン人である。サリンを含む毒ガスの遅延性毒性という本がSIPRI(Stockholm International Peace Research Institute)から1975年に世界に報告され注意を喚起した。その中でSAKU diseaseが極めて詳細に報告された。この紹介は、有機燐は遅延性毒性“あり”というもので、それまで“なし”と信じていた世界中の学者に極めて大きな警告を与えた²⁷⁾。その後の外国の反応は1980年Rochester大学で世界の視覚系の中毒学者を集めて行われたシンポジウムで、石川が米国で初めて有機燐殺虫剤の慢性毒性を報告し、Neurotoxicity of visual system²⁸⁾という単行本が米国から発刊されている。有機燐のみでなく、可逆的ChE抑制作用を有するカルバメート剤たるセビンも肝障害や生殖器の造精子作用の抑制を来す²⁹⁾³⁰⁾。前述のごとく米国政府(NIH)と環境庁(EPA)のグループによる詳細な日本の研究の追試で、佐久の眼症を完全に認め、さらに大切なことは有機燐を登録する際には詳細な眼毒性を研究して害がないことを証明しなければ有機燐殺虫剤を登録させないということが法律で義務化された³¹⁾。

3. 最近の疫学調査(フィールドスタディー)

有機燐殺虫剤の急性中毒は診断は容易だが、微量長期曝露による身体の影響の調査は難しい^{1)~5)7)}。特に、特定動物に対するLD 50 mg/kgが大きいと、低毒性有機燐系農薬スミチオン、DDVP、Depterex、マラチオン、ダイアジノンなどは人体にほとんど害がないなどとされ、低毒性有機燐剤はカーバメイト剤とともに現在使用されている殺虫剤の中心となっているが、各国で中毒例が報

告²⁹⁾³⁰⁾されている。

前述のごとく、本邦では石川らが中心となり、厚生省医療研究助成補助金による研究班により診断基準が作成されている⁴⁾。昨年から米国の環境庁でも、これら日本の診断基準が大幅に利用されている¹⁴⁾。青木、佐藤らは、この慢性有機燐中毒の診断基準に基づき、以前から農薬使用者の健康維持のための検診を神奈川県で行って来た。今回は昭和59年から平成5年までの10年間の動向をここに短く報告する。方法および対象は以下のごとくであるが、詳細は佐藤の原著に詳しい(自律神経誌1996年印刷中)。

4. 検診方法

1) 第一次検診

対象は、神奈川県下の農業従事者で、10年以上主として殺虫剤、除草剤を使用している7,435名で、検査項目は以下の通りである。

①問診は、主に自律神経症状を中心とした35項目から成る問診表(表2)を用いた。農薬使用状況アンケート

表2 農薬使用者検診問診票

1. 医師から血圧が高いと言われたことがある。
2. 医師から血圧が低いと言われたことがある。
3. 激しい運動をしたわけでもないのに動悸がしたり胸が苦しい時がある。
4. 息切れしやすい。
5. 顔、手、足がむくむことがある。
6. ひどい風邪をひきやすい。
7. 風邪の症状が長引きにくい。
8. 風邪でもないのに咳や痰がよく出る。
9. あまり食欲がない。
10. 病気をしていないのに身体がだるい。
11. 吐き気があったり、吐いたりする。
12. 胸やけや胃のもたれがある。
13. ひどい便秘症である。
14. よく下痢をする。
15. よくめまいがする。立ちくらみしやすい。
16. よく頭痛や頭重感がある。
17. 身体のどこかにしびれがある。
18. 耳鳴りがする。
19. 物音が聞こえにくい。
20. 神経的に不安定で物事に不必要に敏感である。
21. よく眠れない。
22. 物忘れが急にひどくなった。
23. いつも眠気がある。あくびを繰り返す。
24. 夢を見やすい。
25. 最近、汗を非常にかく。
26. 手足が不器用になったと感じる。
27. 視力が急におとろえたり、物が二重にみえたりする。
28. 関節が腫れるか、または痛む。
29. 仕事にさしつかえるくらいに背中や腰が痛む。
30. 肩こりがひどい。
31. 最近、口が乾いて水をよく飲む。
32. できものができやすい。
33. 二日酔いがなおりにくい。
34. においの感じがにぶってきた。
35. 以上の項目以外その他の症状があればご記入ください。

調査は、農薬の年間使用量、使用農薬名、防護状況などを中心に詳細に行った。② 視力測定(矯正および眼鏡・コンタクトレンズの適格性)、③ 中心フリッカー値の測定、④ 握力検査、⑤ 血清 ChE 値、判定は、上記の検査で4項目以上に異常が認められた者や、問診で自律神経症状が10項目以上、陽性者および血清 ChE 値で50%以上の低下が検出された者(全体の6.13%)を二次検診者として精密検査とした。

2) 第二次検診

対象は、男性321名、女性135名、計456名(全体の6.13%)。年齢分布は22~83歳で、平均年齢57.4歳である。検査項目は、次の通りである。

(1) 眼科的検査

視力検査(矯正視力および屈折検査を含む)、眼位、眼球運動検査、精密細隙灯顕微鏡検査・眼底検査・電気生理学的検査として以下の2項目：網膜電図(ERG)と眼電位図(EOG)：主に眼球運動、特に垂直追従運動検査を実施した。

(2) 神経学的検査

深部腱反射・表在知覚(知覚ピンプリックテスト)、片足立ちテスト・Bidstrup test、錐体路徴候(筋トーン、腱反射、Babinski 反射の有無)。

(3) 血液生化学的検査

・血球および血清 ChE、 β -グルクロニダーゼ、ビタミン A、B₁、B₆、C、B₁₂、葉酸など、肝機能(GOT、GPT、ALP、LDH)

・その他、必要に応じて他の検査

以上の結果から、2項目以上に異常が認められた者、あるいは1項目であっても著しい異常を示した場合、第三次検診とした。ただし、明らかに肝障害などの全身疾患によって ChE 値の異常が出現した者や、神経症状の原因が農薬中毒以外の者、および明らかに他の疾患を有する者は注意して除外した。

3) 第三次検診

対象は、167名(全体の2.25%)である。検査項目は、次の通りである。

(1) 瞳孔反応測定：赤外線電子瞳孔計(浜松フォトニクス社製イリスコーダーC 301)によって対光反応のダイナミクスを測定した。

(2) 視覚系空間周波数特性測定(moduration transfer function, MTF)：河原式簡易 MTF 測定装置(高木製作所製)により視覚機能を精密に調べた。

(3) 血中有機燐濃度測定：DDVP・ダイアジノン・エカチン・メチルパラチオン・スミチオン・サイアノックス・サリチオンなどを測定した。今回の評価は、これら7薬剤の濃度の合計総量で行った。以上の検査の結果、血中有機燐濃度が0.01 μ g/ml以上で、明らかな対光反応異常や、空間周波数特性の低下が認められた者に対して治療を行った。

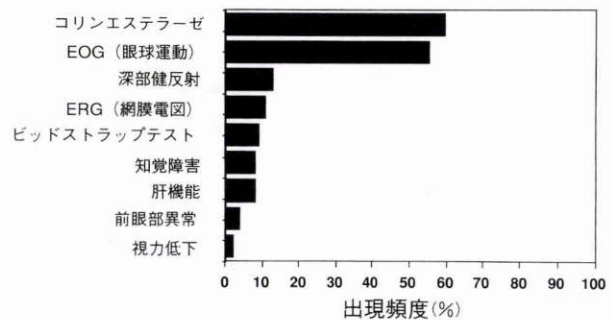


図2 検診患者の異常所見検出率。

4) 治療

対象は、64名(全体の0.86%)である。治療方法はスコポラミンに類似し、副交感神経の緊張を抑制する臭化プロピニウム(Padrin®)の食後経口投与を1日3回/1錠(15mg)行った。治療期間は半年から1年、平均治療期間は9.6か月であった。

5. 検診結果

1) 受診者の傾向と地域別第三次検診者発見率

第一次検診受診者総数は、年次推移に伴い減少傾向が認められた。第二次検診受診者総数は、昭和63年までは毎年60~100名の受診者があったが、以後は減少傾向にあった。男女比は受診者の少ない平成2、3年を除外すると60~70%が男性であり、男性は年度による差は認められなかった。第二次検診受診者のうち、第三次検診が必要とされた人が多く発見された特定地域があった。

殺虫剤散布の1例を以下に紹介する。今回治療対象になった35歳農民のDichlorvos(DDVP)のみの使用量は1年に4,500gを撒いていた。1日換算では12.3gとなった。散布をすると53%は散布物に当たり、13.5%は地上に吸収され、33.5%は空中に残るとされている。散布する面積値を計算し、最後に体内に気道と皮膚からの程度吸収されるかを計算することが出来る³²⁾。これで計算された体内への摂取量は2.05mg/日となる。ただし、体重60kgとして計算した場合である。DDVPはラットでLD50mg/kgは、80mg/kgである。Allowable daily intake(ADI)は、0.03mg/kgであるので、WHOの基準と比べると、この人は68.3倍の摂取をしていることとなる。

2) 第二次検診各種検査における異常検出率(図2)

血球 ChE 値の低下が59.9%に認められた。眼球運動検査 EOG で滑動性追従運動の障害は55.7%と高率に認められ、それは垂直に著しかった。それ以外の異常頻度として、腱反射亢進12.9%、ERGのa波、b波の低下による異常が11.0%、Bidstrup テストの陽性、つまり末梢神経障害³³⁾を有する者が9.0%、手袋・靴下知覚障害が8.1%の順に認められた。

3) 眼球運動と ChE 値(図3 A, B)

眼球運動において滑動性追従運動の異常²⁴⁾³⁴⁾が多くみ

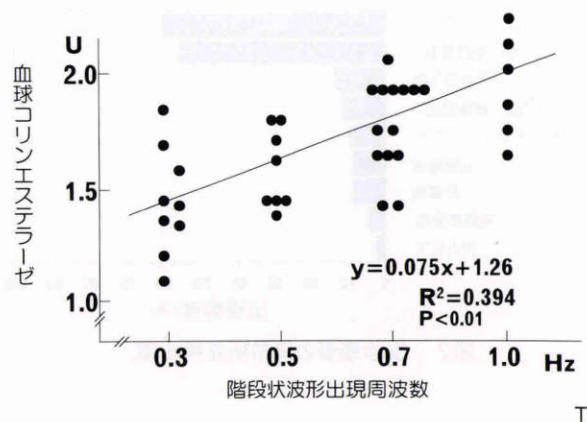


図3 A 眼球滑動性追従運動と血球コリンエステラーゼ活性との相関。

活性が低いと staircase は低い周波数の刺激で出現。

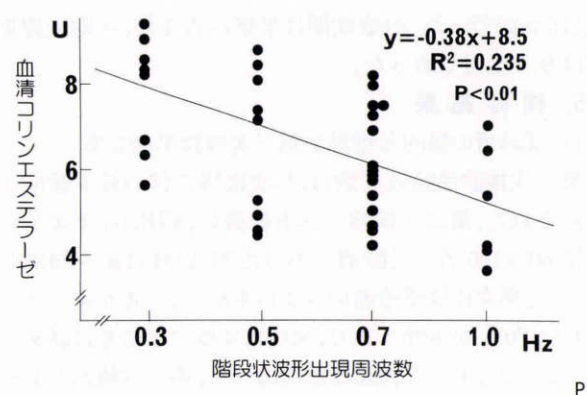


図3 B 眼球滑動性追従運動と血清コリンエステラーゼ活性との相関, 図3 A と逆の関係。

られたため, 階段的追従 staircase pattern の出現度と ChE 値との関係を検討した。縦軸に ChE 値, 横軸に staircase pattern の認められた周波数を表した。図3 A に示したごとく, staircase pattern の程度が高度であるほど血球 ChE 値が低い関係があり, 危険率 1% 以下で相関が得られた。反対に図3 B のように血清 ChE 値ではこれと逆で, 高値の者ほど staircase pattern が高度に認められた。

4) 瞳孔反応

15 分間暗順応後の瞳孔面積を治療前後で比較すると治療前はやや縮瞳を認め, 治療により正常の大きさに近づく傾向が特に 30 代, 40 代と若い年齢層で著明に認められた。対光反応における最大縮瞳速度は, 治療前は速度が低下し cholinergic pupil の所見をみたが, 脱磷剤治療により明らかな改善を認めた。この異常は末梢と中枢の両方の障害である³⁵⁾。

5) MTF(図4)

治療前のコントラスト感度は, 正常群に比べ明らかに低下していた。図は平均値と標準偏差を示している。空間周波数 0.68 cycle/deg の低周波数領域において危険率 5% で有意に低下, 21.8 cycle/deg の高周波数領域にお

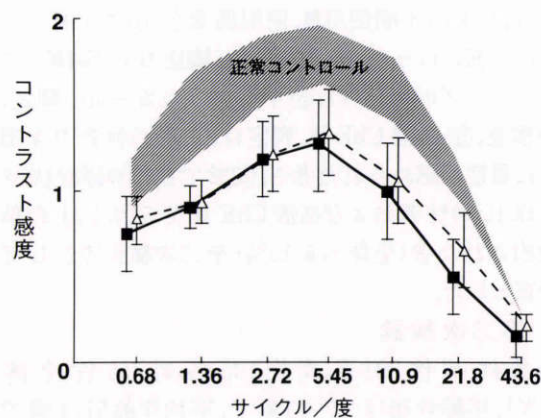


図4 視空間コントラスト感度曲線。

正常より低下している。治療により若干の改善あり。

■: 治療前 □: 治療後

いて危険率 1% で有意に低下し, パドリン投与により治療後若干の改善を認めた。しかし, 正常群の範疇に入るまでには最後まで回復しなかった。つまり, 視覚機能は簡単には治らないことが示された。

6) 血中有機磷濃度

治療対象者の血中有機磷濃度は, 治療前で平均総量 0.071 $\mu\text{g/ml}$ であった。治療により 0.013 $\mu\text{g/ml}$ となり, 僅か減少した。正常群の 0.01 $\mu\text{g/ml}$ 以下には低下しなかった。以上, まとめとしてマクロの観察で眼球運動を見たり, 視力を計るのみでは本症は診断出来ないことを銘記することである。

III 病 理 例

59 歳男性, 臨床診断: 慢性有機磷中毒

両親に血族結婚はない。農業散布業務に携わる(昭和 30 年初期)以前には視力に関する問題はなかった。昭和 45 年左尿管結石で手術が行われている。後述するが, 有機磷剤は腎臓障害を来すことが多い。その後, 視力はゆっくりと低下した。視野が狭くなることも気付いた。昭和 48 年北里大学病院眼科外来を高度の視力低下の訴えで受診した。両眼とも視力は矯正 0.01 以下であった。両側視神経萎縮, 薬物中毒を疑わせる網膜変性, 網膜動脈硬化を高度に認め, 臨床的には scapula alata を認めた。手と四肢末端には末梢運動神経系にも軽度の障害を示す手袋靴下型の sensorial neuropathy を認めた。腓腹神経の生検所見ではニューロパチーの所見を認めた(図 5 D)。さらに, foot drop を歩行時に認め, 眼振, 上方注視麻痺, 軽い小脳失調などの平衡機能障害を認めた。職業的有機磷殺虫剤中毒を疑い長期にわたる脱磷剤 pralidoxime methiodide, atropin などの治療により, 神経症状の改善, 一過性の視力の改善を認めた。血液検査では正常値以上の有機磷殺虫剤を検出し, 血球 ChE 値の低下を認めたが, 治療により上昇し正常値に近づいた。一時的に視力も 0.05 前後まで上昇し退院した。本人の供述では農業試験

場に勤務し、昭和30年初期からパラチオン、ジメトエート、DDVP、フェンチオン、フェニトロチオンなどの有機燐殺虫剤を散布指導者として教えていた。この経歴から臨床的に有機燐殺虫剤中毒と診断され、労災認定を受けている。昭和62年IgA腎症、腎不全、昭和63年8月15日心筋梗塞で死亡、病理解剖に至った。

1. 神経系

脳重量は1,480gで萎縮なく、くも膜は異常なし。ウィリス動脈輪に高度の動脈硬化を認めた。脳表面の静脈に怒張を認めた。前頭葉、側頭葉、頭頂葉深部白質に小梗塞巣が多発散在する。左尾状核に幅5mmの空洞化した軟化巣を認めた。組織所見では、大脳皮質神経細胞は正常の層構造を示しよく保たれている。老人斑、神経原線維変化などの老化変性所見を認めない。深部白質は内膜の極端な肥厚と高度の内腔狭窄を伴う動脈硬化の著しい血管があり、その付近に空洞化した小軟化巣がある。さらに、その周囲は組織の粗鬆化とびまん性のミエリン淡明化があり、慢性的な循環障害を示す。基底核では左尾状核頭部に空洞形成を伴う陳旧性梗塞巣がある。また、血管周囲腔の拡大も目立たない。それ以外、被殻、淡蒼球、視床、マイネルト核に異常はない。神経細胞の一部には逆行性の変性が認められるが視索有髄線維の脱落は少なく、外側膝状体神経細胞の構築も一応は保たれている。中脳吻側からの連続切片では、habenulaに軽度のグリオシスを認める。反屈束、視蓋前域、およびmedial longitudinal fasciculus(MLF)の有髄線維は一応保たれ、グリオシスもそれほど著明でない。上丘、EW核、橋諸核の神経細胞に強い変性所見はない。その他、下丘、赤核、黒質、大脳脚には梗塞性の病変を除いて著変なく、延髄の諸核の神経細胞も一応保たれ局所病変は軽度である。小脳皮質で、プルキンエ細胞、および顆粒細胞層は保たれ、ベルグマングリアの反応もない。しかし、白質ではミエリン淡明化を認める。歯状核は著変なし。脊髄前角および後索に異常なく、前根、後根に有髄線維の脱落はなかった。腓腹神経の大径および小径有髄線維はbiopsyの所見のように軽いneuropathyを思わす所見がある。

詳細に各細胞を検討すると、動眼神経核、Darkschewitz核およびCajal核の神経細胞の胞体内に空胞変性を認め、垂直性眼球運動障害が推定できる。グリア反応は見られないが、intracytoplasmic hyaline(colloid) inclusion様に見えるものもあった。

全身の病理組織所見として心臓は左室肥大があり、前壁および下壁から心室中隔に及ぶ新鮮な心筋梗塞巣を認めた。梗塞巣には穿孔があり、この心臓破裂が直接の死因であった。腎硬化症、動脈硬化症が高度に認められた。アテローム性動脈硬化症が大動脈、冠動脈、脳動脈に認められた。大脳白質内の動脈硬化も強かった。

2. 眼 球

角膜および結膜には異常はなかった。水晶体は混濁を

認めた。これは過去にも指摘されている。後囊下に線維の膨化と配列の乱れが認められた。Bow構築に乱れを認めた。眼球のマクロの滑断面では、赤道部および周辺部に色素の沈着を認め変性所見を認めた。ERGおよび網膜組織学的研究で網膜変性が存在することは過去にも報告^{20)21)36)~38)}がある。

顕微鏡下では(図5A~C)。

- 1) 視細胞、および網膜色素上皮細胞の脱落。
 - 2) 網膜各層の非常に著明な萎縮の存在、特に網膜後極部で外顆粒層は完全に消失し、内顆粒層に僅かな細胞を認めるのみであった。神経線維層は完全に脱落していた。
 - 3) 網膜血管周囲の色素沈着を認めた。
 - 4) 網膜および脈絡膜血管の硬化、特に脈絡膜の動脈壁の肥厚と不揃い、網膜色素上皮細胞層の細胞の不揃いがみられた。
 - 5) 視神経の萎縮、特に線維の障害は周辺部に強い。
- 以上の所見が主たる病変であった。

病理学的な検査のまとめとして、有機燐剤に長期接することにより、眼の網膜、視神経の変性のみならず¹⁹⁾、垂直眼球運動と関係する部位の空胞変性、全身的に心臓、腎臓、および脳の血管系に年齢を超えた著明な動脈硬化を来していた。この原因については後述する。

IV 有機燐剤の non-cholinergic の網膜ニューロンへの毒性

細胞レベルでの有機燐剤の作用を明らかにするため、受容体を介した作用と受容体を介さない2つの作用につき実験を進めた。

1. 方 法

使用動物は幼弱 Wister ラットを用いた。生後1~4日のラット網膜をトリプシンで消化し、これをラミニン塗布してカバーガラス上に培養した。7~14日で神経突起を有した網膜ニューロンが培養される。この培養細胞を用いて以下の実験を行った³⁹⁾。培養網膜ニューロンの一部は間接蛍光抗体法によりアセチルコリンがラベルされることを確かめ、この網膜ニューロンにアセチルコリン受容体が存在するか否かは、受容体アゴニスト、アンタゴニスト投与により細胞内カルシウムイオン濃度増加が起こるかどうかを調べることにより判定した。網膜ニューロンにおける受容体の有無を確かめ、微量有機燐農薬投与時のCa⁺⁺の変化を検索した。細胞内カルシウムイオンの指示薬としてfura-2 AM(5 μM)を用い、細胞内カルシウム画像解析装置(ArgusCA/100, 浜松ホトニクス)で解析した⁴⁰⁾⁴¹⁾。使用薬剤として、低毒性有機燐剤でかつ水溶性であるジプテレス(Depterex, DEP), Trichlorphonを用いた。

次に、ニューロンのアセチルコリン受容体を介さない作用(活性酸素の発生)をみるために次の実験を行った。DEP投与で網膜ニューロンに過酸化物が生成されるか

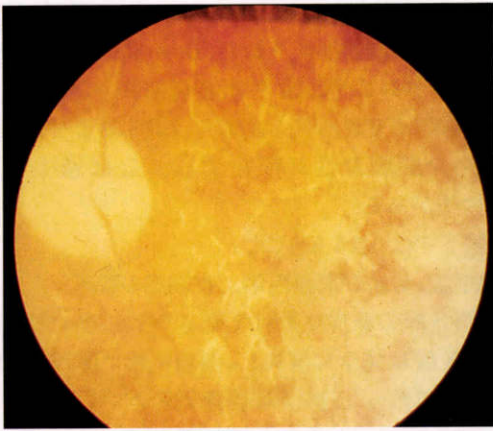


図5A 患者の左眼底。
強い網膜変性と視神経萎縮を認める。このとき視力は殆ど“0”。

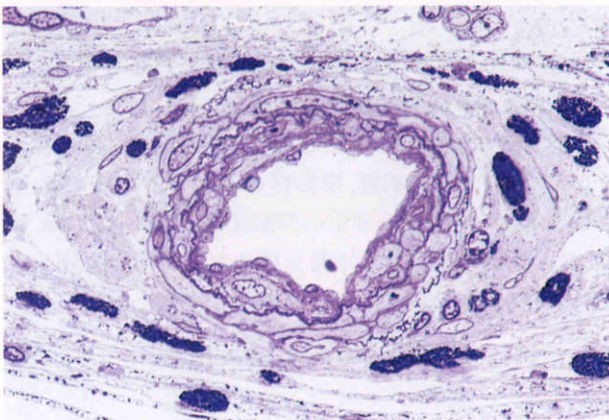


図5B 脈絡膜の血管。強い動脈硬化を認める。

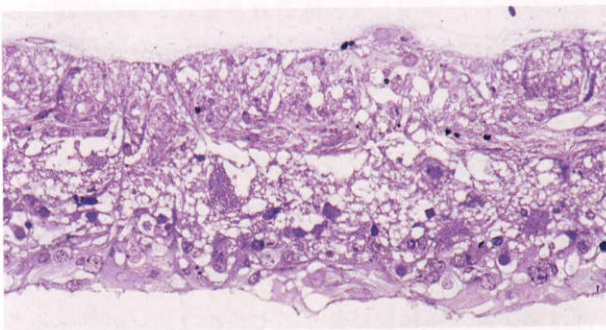


図5C 網膜。ほとんど破壊されている。

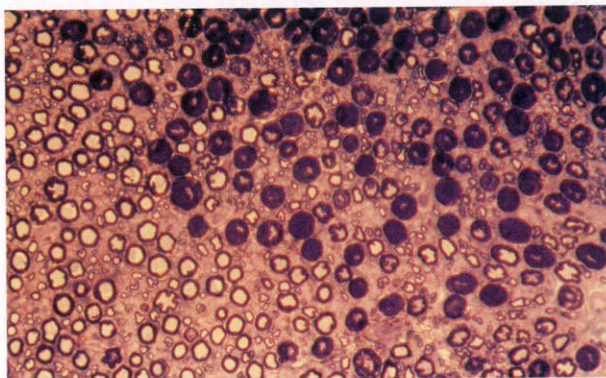


図5D 腓腹神経の生検所見。
ニューロパチーを認める。

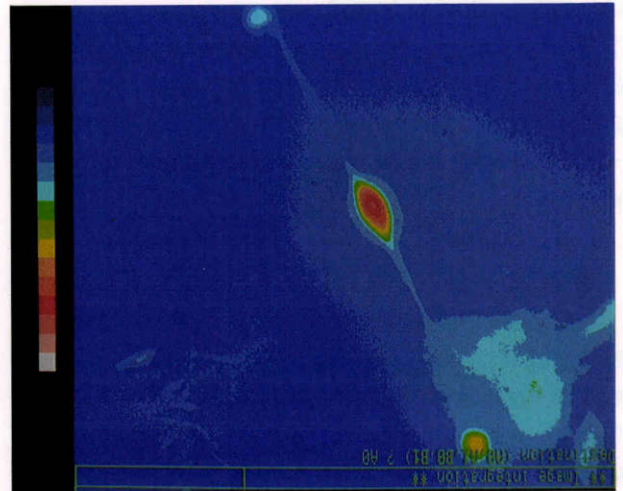


図6A 網膜ニューロンの有機燐投与前。
活性酵素の存在を示す蛍光像がみられない。

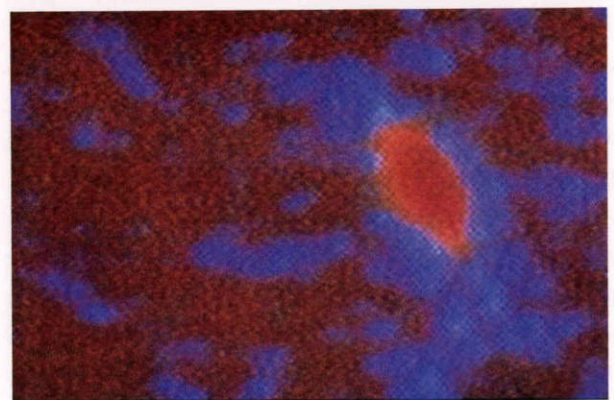


図6B 投与前のsuperimpositionによる写真。
活性酵素は存在しない。

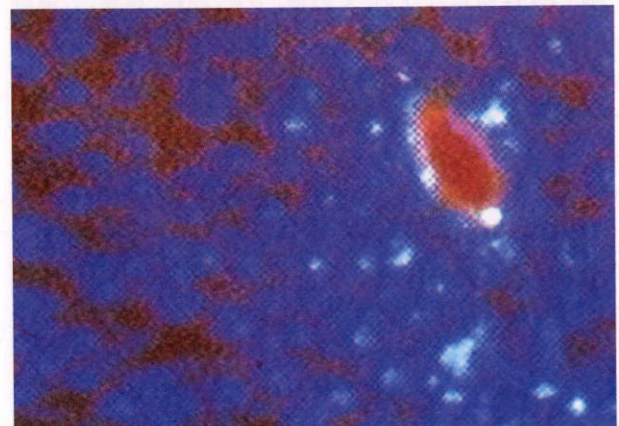


図6C 同じく有機燐投与後の活性酵素を蛍光で示す。
明らかな発生を認める。

否かを調べる目的で、過酸化水素感受性蛍光色素、2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFDA), および活性酸素全般の指標としてルミノールを発光指示薬を用いて画像解析が行われた。まず、DCFDAが過酸化水素と出会うと2',7'-dichlorofluorescein (DCF) となって蛍光を発するので、これを540 nmのフィルターを透過させ、ビデオフル

オロフォトメトリーを用いて調べた。また、ルミノールを発光指示薬とした解析では、化学発光(chemiluminescences)をフトンカウンティングカメラを取り付けた超微弱光画像解析装置(浜松ホトニクス)を用いて測定した。

2. 実験結果

アセチルコリン 0.5 mM の投与により細胞内カルシウム濃度は明らかに上昇した。次に、アセチルコリン受容体のうち、ニコチン受容体、ムスカリン受容体のいずれが作動しているかを確かめるため、そのアゴニスト、アンタゴニストを用いて実験した。その結果、ニコチン 5 nM の投与で約 30~40% のニューロンで細胞内カルシウムイオン濃度は上昇し、この上昇はアルファブングアロトキシン (20 nM) で完全に抑制された。また、細胞外カルシウムを除去した状態では、ニコチンに対する応答はみられなかった。

一方、ムスカリンの 50 μ M の投与で約 40~50% のニューロンにカルシウムイオンの上昇応答があり、この応答はアトロピン (10^{-3} %) 存在下ではみられなかった。以上から、ニコチン受容体、ムスカリン受容体のいずれもが培養網膜ニューロンの一部に存在することが明らかとなった。方法論については川崎ら⁴²⁾の原著に詳しい。この予備実験後、有機燐殺虫剤の影響をみた。

1) Depterex 投与の Ca への影響

DEP 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 重量濃度で投与前と比べて投与後直ちに 80% 以上のニューロンで細胞内カルシウム濃度上昇が著明にみられた。この応答はアルファブングアロトキシンの 50 nM で抑制され、また、アトロピン 10^{-3} % の存在下で応答が抑制された。

以上から、DEP は内在するアセチルコリンがムスカリンもしくはニコチン受容体に結合し、抗コリンエステラーゼの作用が阻害されているため、アセチルコリンの過剰作用が起り、細胞内カルシウム濃度を上昇させた。受容体のアンタゴニストのアトロピン、アルファブングアロトキシン存在下では細胞内カルシウム濃度上昇を一部抑制した。これらから、過度の細胞内カルシウム上昇は当然細胞死につながるものであることがわかった。

以上から、培養網膜ニューロンにはニコチン受容体、ムスカリン受容体のいずれもが存在し、有機燐剤の投与で内在性アセチルコリン過剰作用が起り、細胞内カルシウム濃度を上昇させることが明らかにされた。この過剰作用はニコチン、ムスカリンいずれのタイプの受容体にも惹起され、アンタゴニストによってそれぞれ抑制された。

2) 活性酸素

有機燐剤投与で網膜ニューロンに過酸化物が生成されるか否かを調べるために 0.1~10 ppm の微量の DEP 投与後、15 分で明らかに蛍光の増強がみられ、30 分では蛍光の退色のため増強は顕著ではなくなった。これは細胞

内過酸化水素 (H_2O_2) の発生を反映したものである。この蛍光の増強は、カタラーゼの存在下では抑制的に、super-oxide dismutase (SOD) の存在下では余り変化しなかった。ルミノールを発光指示薬とし、化学発光 (chemiluminescence) を測定した。その結果、 10^{-6} ~ 10^{-8} の DEP 剤投与により 15~30 分後において発光増加がニューロンの細胞体周辺に著明にみられた。次に、フトンカウンティングで活性酸素の発生を研究した。図 6 A は、対照とした網膜ニューロンである。DEP 投与前の photon counting の状態で活性酸素の発生はない (図 6 B)。投与後の所見を (図 6 C) に示す。明らかに活性酸素の発生を認める。この蛍光増強の時間経過を調べると、DEP 投与 20 分後から増強が始まり、40~50 分に最高のピークがみられた。なお、Müller 細胞には明らかな発光増加は出現しなかった。カタラーゼおよびアスコルビン酸の存在下では、ともにこの活性酸素の増強は起こらず抑制された。以上から、DEP の投与により過酸化水素を含む活性酸素が発生することが明らかとなった。これが網膜細胞障害性に作用することが培養網膜ニューロンで細胞レベルで確認された。

3) 活性酸素とセレンウム

中里は有機燐殺虫剤の non-cholinergic な毒性を解明する目的で、fenitrothion の微量背面皮下投与 (0.2 mg/kg) 後のラット血液中の活性酸素 (CLA) 量を測定し、さらに脳皮質、水晶体、腎臓のセレンウム含有量を測定した。セレンウムはある種の有機燐剤で変化する可能性を考えたので測ることとした。測定にはラジオメーター社の PSU 20 POTENTIOMETRIC STRIPPING UNIT による標準添加法を用いた⁴³⁾。

投与量は 0.002 mg/kg から始めたが、有意な変化は 0.2 mg/kg から認めたので、今回はこの量に限定して研究した結果につき以下に述べる。

血液中の活性酸素は、投与後 7 日目までは有機燐剤投与群で有意な上昇 ($p < 0.01$) を示した。これに対してセレンウムは、脳皮質ではすべての日数で有機燐投与群が有意な低下 ($p < 0.02$) を示した。水晶体では 7 日目以降で有機燐剤投与群が有意に低下 ($p < 0.04$)、腎臓では 14 日目以降で有機燐剤投与群が有意な低下 ($p < 0.05$) を示した。全体的には、21 日目まで日を追って低下する傾向を示した。この結果から、有機燐投与によってラット体内の活性酸素が 1 週間にわたり上昇することが判明した。活性酸素の消去系で重要な元素とされるセレンウムの減少が活性酸素が元に戻っても低下し続けたことが明らかとなり、有機燐の non-cholinergic な毒性は活性酸素を介した組織障害の存在が重要な因子である。結果は図 7 に示した。

V 視神経障害と残留有機燐

本間は横浜国立大学環境科学センター花井義道氏との

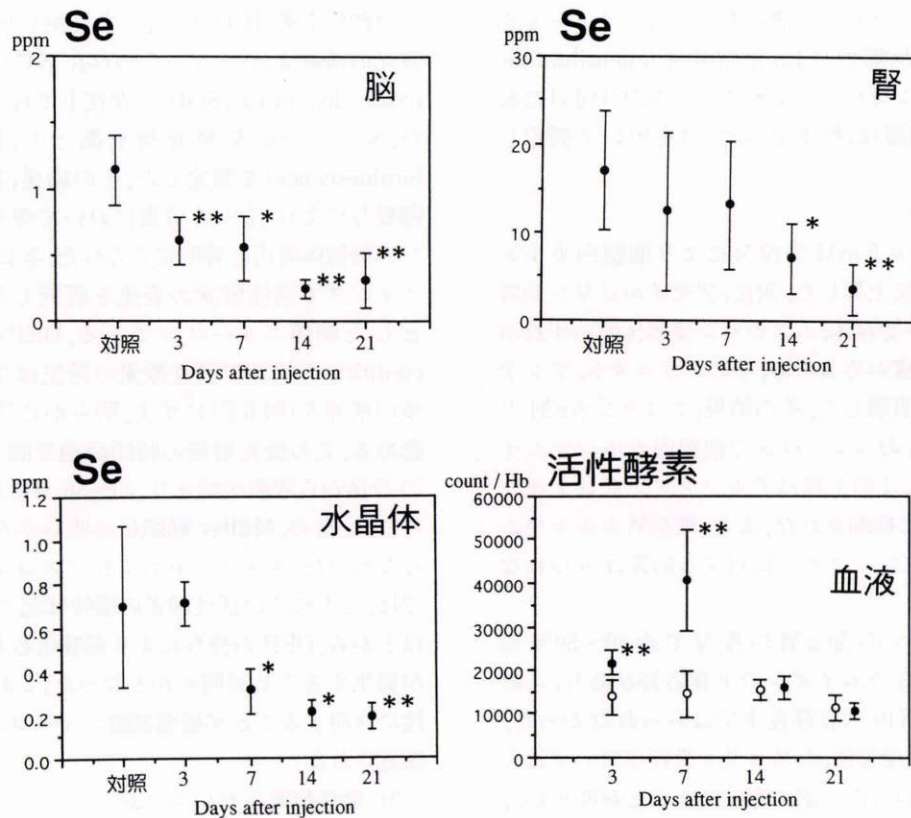


図7 有機燐剤によるセレンウム(Se)と活性酵素の変化。
 脳, 水晶体, 腎臓で低下していた, 活性酵素は血液で上昇した。○: 対照 ●: fenitrothion

共同実験で有機燐の視神経毒性を証明している。成熟白色家兎(平均体重 3.5 kg)に Fenitrothion (Sumithion) 50 mg/kg を背部の筋肉に唯の 1 回投与した後, 各臓器の fenitrothion の残留をガスクロマトグラフ (FPD) で測定した。図 8 A~C にそれを示す。縦に残留値を ppm で, 横軸に測定が行われた日数を示す。強調したいのは視神経と網膜への残留は極めて高いことである。つまり, 投与後 70 日でも平均残留値は 0.42 ppm 残留する。この時, 血液, 尿, 脂肪組織は 0.001~0.01 ppm 以下で, 視神経の残留値の約 1/100 である⁴⁴⁾。

この時点での臨床検査で血清測定を行っても視神経で

の残留を推定することは出来ず, 血液測定で 0.01 ppm というデータを得た場合は, 視神経, 網膜の残留値を考えると 100 倍しなければならない。図のごとく坐骨神経 (0.13 ppm) と大脳 (0.14 ppm) には視神経に次いで多く残留し, 小脳 (0.09 ppm) がそれに続く。皮膚, 肝臓には大脳並みに残留するが, 血清, 尿, 脂肪組織には余り残留しない。以上から, 身体では視神経および網膜残留が体のどこよりも一番高いことが判明した。

VI 考 按

毒物の慢性毒性の定義は, 長期にわたり微量の物質を

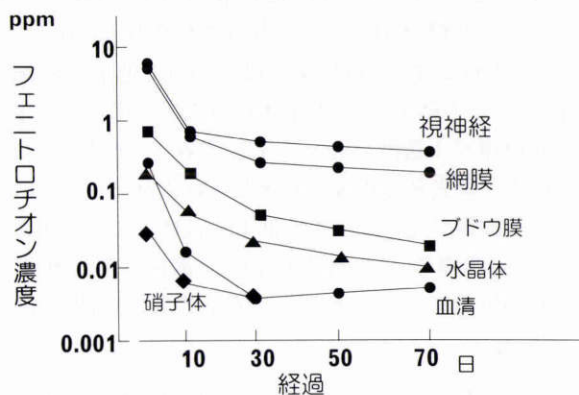


図 8 A 白色家兎に対する fenitrothion 投与による経時的な各組織中の残留濃度。

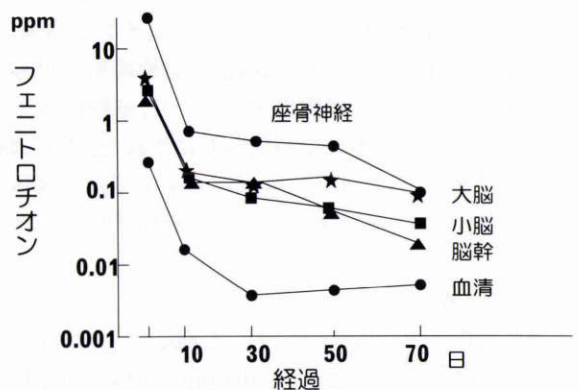


図 8 B 白色家兎に対する fenitrothion 投与による経時的な各組織中の残留。

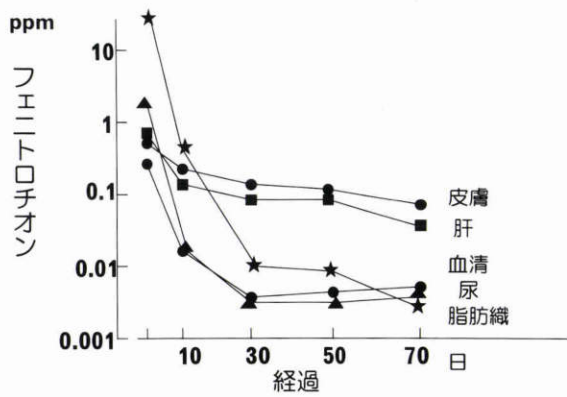


図 8 C 白色家兎に対する fenitrothion 投与による経時的な各組織中の残留。

種々なる経路から摂取することにより、有毒物質が体内にゆっくりと蓄積されて個体の Total Body Load を越えることにより毒性を発現するとされている⁴⁵⁾。有機燐系殺虫剤、主にマラチオンによる慢性毒性については、昭和 45 年に視力低下、強い近視性乱視、視野狭窄を主徴とする「佐久の眼病」として世界で初めて報告³⁾され、以後いくつかの研究、実験が行われてきた¹⁾²⁾⁴⁾⁵⁾⁷⁾。1994 年には、前述のごとく、米国の環境庁 EPA によりこれまでの我々の研究報告が評価され、法的に有機燐系殺虫剤の認可登録には必ず視覚毒性を含む眼毒性の検討が必須であるということが発表されている⁴⁶⁾。有機燐系殺虫剤に関連して幅広い研究が米国では行われているにもかかわらず、本邦の研究は極めて僅かである。現在に至るまで視覚系の慢性毒性に関する疫学的調査については報告が少なく、佐久¹⁾、徳島⁴⁷⁾、その他、最近では上野らによる東京夢の島地区¹⁵⁾、神奈川県中央、県北地区⁴⁸⁾の地域を対象にしたものがあるに過ぎない。

1. 検診結果の考察

今回の検診は神奈川県全域を対象に検診の呼びかけに応じた農薬使用者(殺虫剤が主)を三段階に分けて施行し、そのうちの昭和 59 年から平成 5 年までの 10 年間の結果を分析した。受診者総数の減少傾向が年次的に認められたが、この原因として農業人口の減少、耕地面積の減少などが考えられた。さらに環境問題、健康問題に対する関心の高まりから、農薬使用者が自ら散布回数を減じ、防護服の使用など散布に注意していた。その結果、専門医を受診するケースが変化している結果も考えられる。地域別に要三次検診者の発見率を比較してみると、県南部において発見率が高かった。これら地域の特徴としてハウス栽培が多く、また果実や花、キャベツ・ほうれん草などの葉菜を生産している傾向がある。ハウス内での換気が十分行われなかったり、作物に害虫がつきやすいため農薬使用の回数や量が多く、農薬との接点が多い可能性がある。一方、発見率の低い地域は県中央部で、これらの地域はオープンエアでいもや大根のような根菜の生

産が多く、農薬使用量や散布回数も少なく曝露が少ない可能性が考えられた。

第一次検診のアンケート調査による自律神経系の訴えは、主に心・脈管系、中枢神経系、末梢神経系、消化器系の順に多く認められた。第二次検診の検査で異常が多く検出された項目は、①血球 ChE 値、② ERG や EOG などの眼機能検査の異常、③神経学的検査の異常であった。

視力および眼底所見で異常が少なかったのは、軽症例が多いことと異常発見に対するこれら検査そのものの感度が極めて低いことによると考えられた。

2. 垂直眼球追従運動異常

今回初めて試みた眼球運動異常で検出頻度の高かった stair case pattern と ChE 値との相関関係は極めて重要である。血球 ChE (True ChE) と血清 ChE (Pseudo ChE) と眼球運動異常について、興味あるのは既に示したように stair case pattern が高度である人ほど血球 ChE 値は低値を示す。つまり、中枢神経系に異常がある。反対に血清 ChE 値は有機燐剤などの酵素への induction によりかえって高値を示す例があるという結果が得られた。つまり、中枢神経系の障害と血清 ChE は余り相関しない。低毒性有機燐剤の中毒では、血球 ChE は低下し、血清 ChE はむしろ上昇する傾向があることが既に指摘されており、興味深い現象である⁴⁹⁾。

さて、著者は 1971 年に有機燐殺虫剤による神経毒性の一つとして、滑動性追従運動の垂直、特に上方注視障害が重要であることを報告した。その後、Wadia³⁴⁾ は fenthion, malathion, fenitrothion の長期使用者で 32 例中 12 例、50 例中 7 例、48 例中 4 例に眼球運動異常を認めることを報告している。Jay⁵⁰⁾ は dermaton で upbeat nystagmus を報告した。さらに、malathion 中毒で opsoclonus を発症した例が報告されている。慢性中毒患者では、これに加えて Rapid Eye Movement (REM) 期における睡眠時の眼球異常が知られている⁶⁾。

3. 瞳孔反応異常

自律神経系を他覚的に測定する赤外線電子瞳孔計による瞳孔の検査では、縮瞳傾向と対光反応における最大縮瞳速度の低下がみられた。これらの異常は、有機燐剤による cholinergic な変化と考えられる。また、治療によりこの所見は若年者で改善傾向があり、50 代以降の年齢層では治療前後の瞳孔面積に余り変化がみられなかった。これは加齢とともに正常人でも縮瞳傾向になること、高齢者ほど長期間の農薬曝露を受けている可能性が高いことと虹彩の機械的因子で、これ以上縮瞳できないことも一因である。最近ではサリンでも縮瞳がなぜ起こるか議論があったが、瞳孔括約筋の cholinergic action のみでなく、Edinger-Westphal 核など中枢性の縮瞳、さらに、中枢の GABA を中心とする抑制系の障害による強い縮瞳を考慮すべきである³⁴⁾⁵¹⁾。瞳孔反応のダイナミクス分析では、Benzene Hexa-Chloride (BHC), Dichlor Diphenyl Tri-

chlorethan (DDT)などの有機塩素殺虫剤有機燐による中毒とは異なり、むしろ抑制系の障害が強く見られた。後者については白川ら⁵²⁾の瞳孔に対する詳しい報告がある。

4. 視覚機能検査

視覚機能を最も正確、かつ定量的に示すのはMTF測定検査である。コントラスト感度は正常群と比べ、検診三次陽性者では平均値で全周波数で低下していた。MTFは網膜大脳系の視覚機能をとらえる。中心視力低下がないにもかかわらず、MTFにおいて感度の低下が認められたということは、MTFが中心部の視力よりも周辺部を含んだ視機能を敏感に反映するためと考えられた。治療によりコントラスト感度の閾値の上昇が完全に回復しにくいことは、殺虫剤により視神経障害や網膜変性を来すことが実験的に証明されていることから³³⁾⁵³⁾、網膜や視神経を中心に刺激を伝える大脳系に至るまでの神経経路を毒物が広範に障害し、それはアトロピンなどの治療によって回復し得ない状態になった結果と思われた。一方、血中有機燐濃度の減少と自律神経系の自覚症状はかなりの改善を認めた。これらの視覚障害については過去にも若干の報告¹⁴⁾⁴⁶⁾⁵⁴⁾がある。

今回の結果および治療効果から、農薬散布者の中に0.86%前後の潜在慢性有機燐中毒者が存在し、治療を行っても回復が乏しい障害も起こっていることがわかる。最近では、有機燐系殺虫剤が心臓・脈管系をも障害するという報告⁵⁵⁾が増えて来ており、今回の病理例のごとく生命に危機を及ぼす可能性のある例も出現してきている。したがって、早期発見、早期治療が大変有用であると考えられる。また、生産者だけにとどまらず、農薬を散布された食物を摂取している一般消費者に対しても、量は少ないが残留農薬による身体障害も発現するので、視覚系を中心に適切な検診の実施をする必要がある。農薬の問題はそれぞれの化学物質に特長があるので、よく調査して毒性を判定することである⁵⁵⁾。

教室の今井のERGの研究⁴⁴⁾、さらに最近のNIHの研究の結果から、僅か1回投与の有機燐の体内残留が、今でも使われているfenthionでは70日をはるかに越すことが知られ、ERGの変化は1ppm以下でも発現する。また、fenthion 1回投与後、脳のacetylChE活性は正常値になっても網膜のinositol phosphateの代謝異常が60日を越えても、まだ半分位しか回復しないことが知られてきている⁵⁴⁾。この異常の発生は個体側要因、すなわちbiochemical individualityを考慮する必要がある。Parathionの中間代謝産物paraoxonの分解酵素であるparaoxonaseのheterogeneityがよく知られてきており⁵⁶⁾、この理由から殺虫剤中毒になりやすい作業者と、なりにくい作業者がでてくるのは当然のことである。

5. 近視と有機燐殺虫剤との関係

この件も極めて重要な問題であるが、既に詳細な報告

がNeuro-toxicity of the Visual System-Raven Pressになされているので、それを参照されたい。大切なことは、ビーグル犬を用いて実験する場合は最短で2年間投与実験をしなければ対照犬と統計的に有意にならないことを銘記すべきであり、過去において実験を行ったのは石川らのみであることを強調しておく。最近のAtkinsonら²⁸⁾によるビーグル犬による実験は、前述したが、2年間の我々の実験を無視して6か月で打ち切り、近視発生はなかったとしている。

6. 病理例の考察

網膜変性とcholinergic and non-cholinergic作用：人間のERGの異常は宮田、今井ら⁵⁷⁾により1973年に詳細に報告された。初期supernormal、晩期subnormalとなること。この詳細は内海ら⁵³⁾によりさらに確かめられた。網膜脈絡膜炎、網膜血管の特に動脈硬化による狭細化についてはNutridinova³⁶⁾が1975年に報告している。1977年大戸ら⁹⁾は人の有機燐中毒患者で暗順応障害とERG障害が発生すること、その異常が極めて軽症ならば脱燐剤投与で回復することを述べた。実験的に網膜の変性、特に色素変性を完全に証明したのは今井ら⁵⁷⁾で、1983年に米国に報告された。

人間の黄斑部変性と有機燐について79例の患者の報告はMisraら⁵⁸⁾により1985年に報告され、センセイションを米国で巻き起こした。これらの報告は、毒性はhyper-cholinergicなる毒性によるものと推定されたが、今回報告したように有機燐の毒性はさらに過酸化脂質、活性酸素、カルシウム代謝異常などによる。Dementiは網膜色素上皮のカルバコール刺激により放出されるイノシトール三燐酸は脳のcholinesteraseが完全に回復しても60%しか改善せず、second messengerであるカルシウムの細胞内での異常が網膜の変性をつくる重要な因子であることを強調している¹⁴⁾。

1) 動脈硬化の促進問題

今回解剖例で認めた強い動脈硬化性病変と慢性有機燐中毒との関係を考える必要がある。基本的には生化学的個人差(biochemical individuality)が重要である^{59)~61)}。パラチオンを例にとることとする。パラチオンの分解に関与するparaoxonase (PON, EC 3.1.1.2)は一種のアセチルエステラーゼであり、パラチオンの硫黄基が酸素と置き変わった活性型の中間代謝産物であり、毒性が非常に強いparaoxonを分解し有機燐中毒の防御にあずかっている⁶²⁾。この酵素は動物種差も非常に大きく、特にトリでは一般的に低い量しかない。したがって、神経麻痺を簡単に作れる有機燐中毒triorthocresyl phosphate (TOCP)中毒などの実験にトリ(ハト、ニワトリ)などが最も使われやすいのも、この酵素の活性が低いことが原因である。有機燐散布により環境中に鳥が極めて少なくなるのもその理由である。

また、ヒト血清のPON活性はコリンエステラーゼと

ともに遺伝的に規定されており、その heterogeneity とともに、活性には非常に個人差が強く、強い人は弱い人の40倍の差に達しているという。つまり、有機燐殺虫剤に対する感受性も40倍の差があるといわれる⁶³⁾。これが個体差が出てくる理由である。PONの分子生物学的な研究も進歩している。しかし、このPONの問題は、その生理的な基質が何かについてはまだわかっていない点がある¹⁴⁾⁶⁴⁾。最近、種々なる研究からPONは脂質代謝に必要、かつ重要な役割を果たす事実が明らかになった。

PONはapolipoprotein A-Iの重要構成成分である⁶⁵⁾。この分画にはHDL粒子が含まれている。また、ヒト血清から精製されたPONは、low density lipoprotein (LDL)の*in vitro*の酸化的变化を防ぐ作用がわかった⁶⁶⁾。血清PON活性は血清中性脂肪、LDLコレステロール、apoA-II、apoBの濃度と有意に関係していることが判明している⁶⁷⁾。

これらの問題は、その後もHutterite Brethrenの脂質代謝上でも証明されている⁶⁸⁾。いずれにしてもこれまでの報告はPONと動脈硬化の関係を強く示すものであり、逆にPON活性が低く慢性有機燐中毒になりやすいヒトは動脈硬化にもなりやすいことを示している。長期に有機燐化合物に曝露されてPONが徒に解毒に動員されれば、脂質代謝に大きな障害を引き起こし、強度の動脈硬化を容易に引き起こす。本症例の血清PON活性は当時のレベルでは測定することが出来なかったが、この慢性有機燐中毒患者の剖検所見に年齢を逸脱した高度の動脈硬化性病変が認められていることは、上述したPON活性を考慮に入れると非常によく説明できる。この所見は非特異的な変化であるが、有機塩素、二硫化炭素、メチル水銀による慢性中毒により動脈硬化の進行が助長されることが知られており、今回の解剖所見から有機燐もこれらの環境汚染物質と同様に動脈硬化の原因もしくは悪化因子である可能性がある。しかし、日本でこれらに注目した文献はない。本報告が初めてである。

2) 培養網膜ニューロンの障害

今回の培養された細胞が網膜ニューロンであることは、形態的および免疫組織化学的方法を用いた方法で既に証明されている。ニューロフィラメント抗体、microtubules associated protein 1 (MAP 1) 抗体を用いた間接蛍光法⁶⁹⁾、また一部(突起を有した30~40%以上)のニューロンはThy-1抗体陽性で網膜神経節細胞もこの培養に含まれていることが確認されている。網膜ニューロンのアセチルコリン受容体を介して細胞内の燐酸化に影響した、二次的な結果である可能性もあり得るが、一般に受容体を介した作用は短時間に起こるのに対し、過酸化産物は15~20分後から始まるゆっくりとした反応であるため、ニューロンに存在する酸化ストレスに対する防御機構を崩壊せしめた結果である可能性が極めて高いと考えられる。すなわち、酸化ストレスに対する防御として

重要なグルタチオンサイクル中にある種々の酵素活性を変化させるなど、直接神経伝達物質の受容体を介さない別ルートの細胞毒性と考えられる。SOD存在下で若干過酸化産物が増加したようにみえたのは、SOD存在下で生成された過酸化水素を処理するカタラーゼやグルタチオンペルオキシダーゼの活性が落ちているからとも考えられる。

今回、有機燐殺虫剤による細胞内Caの増加および活性酸素発生が始めて画像でとらえられた。DEP微量投与で明瞭に有機燐剤での活性酸素が発生し、そこにグルタチオン、カタラーゼ、SOD、vitamin CおよびEが存在すれば有機燐剤で生じた活性酸素の抑制ができる。これらのantioxidantがそこないと発生したfree radicalにより網膜neuronの変性が進行し、やがて網膜の変性に至る経過が今回の実験から十分に考えられる。最近、米国で増加している黄斑部変性も有機燐と大いに関係があると考えられる。なお、今回は超微量摂取による化学物質過敏症やアレルギー問題は紙面の都合で触れないが、文献を参照されたい⁷⁰⁾。

今後、有機燐殺虫剤の研究は細胞レベルでも大いに研究される必要があり、non-cholinergicな障害として第一にCaを中心とするsecond messengerの異常が、第二に活性酸素による障害、第三に有機燐による脂質代謝の異常による動脈硬化の加速などが極めて重要であると考えられる。

VII おわりに

医師側は眼や神経系に異常を来した患者を診た場合に農業従事者なら、まず第一に農薬中毒を鑑別疾患の一番目としてあげ得るだけの知識を十分に身につけることが大切である。次に、どの農薬がいかなる作用を有するかを調査出来るようなインターネットなどの態勢作りが必要である。さもなくば、日本の医師達は農薬に関する毒性情報を得る手段がない。

日本では我々の25年以上にわたる「殺虫剤」に気を配ろうという啓蒙活動の成果により、幸いに有機燐系農薬は年々生産が減少してきている。UNESCOの地中海沿岸諸国の会議では、有機燐剤は2005年をもって使用中止にすることが欧州ではほぼ決定されている。今回の疫学研究で、農業従事者の間に視覚系を中心とする有機燐中毒が潜在して存在する事実が認識されたが、幸いその数は年々減少している。これも国民の健康上大変重要なことである。今後、日本農業は有機農法、あるいは農薬を減量した天敵利用、植物、害虫の遺伝子組み替えなどの分子生物学を利用したバイオ技術が研究され、患者発生のない健康な農業を施行することである。薬がどんなに害虫に効くにせよ人間に無害な物などない。したがって、化学物質にすべて頼る農業は考え直すことである。

終わりに、病理解剖でお世話になった葛岡哲男博士(高知

市),および大戸 建(元浅間総合病院副院長)に感謝する。米国では我々の研究を高く評価してくれ、1996年に環境医学学会で環境問題で貢献した独創的研究者に贈られる最高賞とされるアメリカン・アカデミー-Jonathan Forman賞を石川 哲が受賞することになった。

文 献

- 1) 石川 哲: 公害と眼, 有機燐と眼, 慢性有機燐中毒症の疫学, 臨床及び実験的研究, 日眼会誌 77: 1835—1886, 1973.
- 2) 石川 哲: 慢性有機燐農薬中毒, 眼紀 23: 569—583, 1972.
- 3) 石川 哲, 大戸 建: 視力障害を主徴とする「佐久の眼病」について, 日本医事新報 2425: 8, 1970.
- 4) 石川 哲: 慢性有機燐中毒, その症状と診断基準, 日本医事新報 2572: 37—40, 1973.
- 5) 石川 哲: 慢性有機燐農薬中毒患者の診断基準, 眼臨 66: 817—820, 1972.
- 6) 石川 哲: 有機燐の慢性中毒, サイエンス 1: 68—82, 1978.
- 7) 石川 哲, 宇尾野公義, 瀬川昌也: 有機燐農薬中毒(慢性例), 脳と神経 24: 387—391, 1972.
- 8) Ishikawa S: Eye injury by organic phosphorus insecticides (preliminary report), Jpn J Ophthalmol 15: 60—68, 1971.
- 9) Ishikawa S, Ohto K: Optico-neuropathy induced by environmental exposure to organophosphate pesticides. Proceeding of Afro-Asian Congress of Ophthalmology, Tokyo, Kyorinsha. 434—444, 1973.
- 10) Mukuno K, Ishikawa S, Uga S: An electron microscopic study of the extraocular muscles, optic nerve and sural nerve in experimental chronic organophosphate intoxication. J Clin Electron Microscopy 6: 3—4, 1973.
- 11) Ishikawa S, Uga S: Optic neuropathy due to chronic organophosphate pesticide intoxication. IXth Congress Asia-Pacific Academy of Ophthalmology, Transaction 171—175, 1976.
- 12) Uga S, Ishikawa S, Mukuno K: Histopathological study of canine optic nerve and retina treated by organophosphate pesticide. Invest Ophthalmol Vis Sci 16: 877—881, 1977.
- 13) Salem H, Seabaugh V, Katz A: Proceedings: Symposium on ocular effects of organophosphate exposure. J Appl Toxicol 14: 103—154, 1994.
- 14) Dementi B: Ocular effects of organophosphates: A historical perspective of Saku disease. J Appl Toxicol 14: 119—129, 1994.
- 15) Ueno J, Masaki T: Visual impairment by environmental factors. (abstract). Jpn J Clin Ecol 3: 24, 1994.
- 16) 大野新治, 今井弘子, 石川 哲: 興味ある慢性有機燐中毒の2例, 臨眼 27: 39—44, 1973.
- 17) Johnson M: The delayed neuropathy caused by some organophosphorus esters, Mechanism and challenge. CRC Crit Rev Toxicol 3: 289—316, 1975.
- 18) Miyata M, Imai H, Ishikawa S: Electroretinographic study of the rat after fenthion intoxication. Jpn J Ophthalmol 17: 335—343, 1973.
- 19) Uga S, Ishikawa S, Mukuno K: Fine structure of retina by a long-termed treatment of organophosphate compounds in beagle dogs. J Clin Electron Microscopy 8: 570, 1975.
- 20) Miyata M, Imai H, Ishikawa S: Experimental retinal pigmentary degeneration by organophosphorus pesticides in rats. Int Cong Ser 450: 901—902, 1978.
- 21) Ishikawa S, Miyata M, Imai H, Uga S, Ohno S, Nakano K, et al: Ocular manifestations of chronic organophosphate pesticide intoxication (combined toxicity). Int Cong Ser 450: 207—212, 1978.
- 22) Suzuki H, Ishikawa S: Ultrastructure of the ciliary muscle treated by organophosphate pesticide in beagle dogs. BJO 58: 931—940, 1974.
- 23) Atkinson J, Bolte H, Rubin L, Sonawane M: Assessment of ocular toxicity in dogs during 6 months' exposure to a potent organophosphate. J Appl Toxicol 14: 145—152, 1994.
- 24) Ishikawa S, Ohno S, Fujii T: Vertical gaze paresis in organophosphate pesticide intoxication. Sixth Afro-Asian Congress of Ophthalmology 473—478, 1976.
- 25) Ishikawa S, Ozawa H, Miyata M: Abnormal standing ability in patients with organophosphate pesticide intoxication. Chronic Cases Agres-sologie 24: 143—144, 1983.
- 26) Ishikawa S, Ozawa H, Aoki S, Miyata M: Disturbed balance in chronic organophosphate intoxication. Improvement of balance by eye-tracking. Igarashi & Black: Vestibular and visual control on posture and locomotor equilibrium. 7th Inter. Soc. Posturography, Houston, Texas, 1983 Karger, Basel. 295—301, 1985.
- 27) Barnaby F: Delayed toxic effect of chemical warfare agents. Almqvist & Wiksell International, Stockholm and New York. A Stockholm International Peace Research Institute (SIPRI) Monograph 1—57, 1975.
- 28) Ishikawa S, Miyata M: Development of myopia following chronic organophosphate pesticide intoxication: An epidemiological and experimental study. Neurotoxicity of the Visual System 233—254, 1980.
- 29) Kitagawa K, Wakakura M, Ishikawa S: Light microscopic study of endocrine organs of rats treated by carbamate pesticide. J Toxicol Sci 2: 53—60, 1977.
- 30) Wakakura M, Ishikawa S, Uga S: Ultrastructural hepatic changes by carbamate pesticide (sevin) in Rats. Environmental Res 16: 191—204, 1978.
- 31) Hori Y, Miyazawa S, Nishiyama S, Miyata M, Ishikawa S: Experimental Behcet's disease and ultrastructural x-ray microanalysis of pathologi-

- cal tissues. *J Dermatology* 6: 31—37, 1979.
- 32) **Plimmer JR**: Pesticide residues and exposure, ACS symposium series 182: 158—168, American Chemical Society, Washington DC 1982.
- 33) 向野和雄, 石川 哲, 宇賀茂三: 慢性有機燐中毒—その視神経, 末梢神経障害について. *眼臨* 69: 969—971, 1975.
- 34) **Wadia R**: Neurological manifestation of three organophosphate poisoning. *Indian J Med Res* 66: 460—468, 1977.
- 35) 早川重夫, 平本 大, 関谷治久: 有機燐剤中毒の縮瞳に関する実験的研究, 瞳孔反応中枢の関与について. *日眼会誌* 93: 167—173, 1989.
- 36) **Nutridinova F**: The toxic effect of organophosphate pesticides on the eyes.—Translated by EPA from Russian Journal. *Vestnik Oftalmologii* 1: 75—76, 1975.
- 37) **Dugelny G**: Labour examination in case of ocular diseases and traumas in agricultural mechanizers and persons having contact with poisonous chemical substances. *Oftalmol Zh* 26: 458—460, 1971.
- 38) **Ishikawa S**: Optico-autonomic-peripheral neuropathy due to chronic organophosphate pesticide intoxication. *Acta* 2: 1021—1025, 1976.
- 39) **Wakakura M, Foulds W**: Laminin expressed by cultured Mueller cells stimulates growth of retinal neurites. *Exp Eye Res* 48: 577—582, 1989.
- 40) **Wakakura M, Yamamoto N**: Rapid increase of intracellular Ca^{2+} concentration caused by amino adipic acid enantiomers in retinal Mueller cells and neurons *in vitro*. *Doc Ophthalmol* 80: 385—395, 1992.
- 41) **Wakakura M, Yamamoto N**: Cytosolic calcium transient increase through the AMPA/Kainate receptor in cultured Mueller cells. *Vision Res* 34: 1105—1109, 1994.
- 42) 川崎いづみ, 若倉雅登: 培養ミュラー細胞における AMPA/KA 受容体の役割に関する研究. *日眼会誌* 99: 1214—1221, 1995.
- 43) 中里宣幸: Fenitrothion 投与後のラット血液活性酵素および臓器内セレンウムの変動. *北里医学* 25: 526—530, 1995.
- 44) 本間啓蔵: 有機燐農薬 Fenitrothion の家兎組織内残留. *北里医学* 21: 542—549, 1991.
- 45) **Gilman AGS, Goodman LW, Rall T, Murad F**: GOODMAN and GILMAN: The Pharmacological Basis of Therapeutics. Macmillan Publishing Company, New York. 1593—1594, 1985.
- 46) **Hamernik LK**: Proposed Protocols for the Determination of Potential Ocular Effects of Organophosphorus Pesticides. *J Appl Toxicol* 14: 131—134, 1994.
- 47) **Tamura O, Mitsui Y**: Organophosphorous pesticides as a cause of myopia in school children: An epidemiological study. *Jpn J Ophthalmol* 19: 250—253, 1975.
- 48) 青木 繁, 宮田幹夫, 石川 哲: 有機燐長期散布者に対するフィールドスタディー. *自律神経* 21: 23—28, 1984.
- 49) **Davey P, Shearer R**: Hypersensitivity caused by environmental chemicals in particular pesticide. *Clin Ecol* 4: 35—39, 1986.
- 50) **Jay W**: Primary position upbeat nystagmus with organophosphate poisoning. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 19: 318—319, 1982.
- 51) 小嶋良宏, 関谷治久, 石川 哲: 有機燐剤投与による脳内の免疫学的 GABA 陽性細胞に対する影響. *日眼会誌* 97: 50—57, 1993.
- 52) 白川慎爾, 石川 哲, 宮田幹夫, **Rea WJ, Johnson AR**: 有機燐素系殺虫剤中毒における自律神経障害の検討. *日眼会誌* 94: 418—423, 1990.
- 53) 内海 隆, 宮田幹夫: 慢性有機燐中毒によると思われる網膜色素変性症例の生化学的考察. *眼臨* 7: 550—555, 1977.
- 54) **Boyes KW, Pushpa Tandon SB Jr, Padilla S**: Effects of Organophosphates on the Visual System of Rats. *J Appl Toxicol* 14: 135—143, 1994.
- 55) **Kashyap S**: Health surveillance and biological monitoring of pesticide formulators in India. *Toxicology* 33: 107—114, 1986.
- 56) **Li W, Costa L, Furlong C**: Serum paraoxonase status: A major factor in determining resistance to organophosphates. *J Toxicol Environ Health* 40: 337—346, 1993.
- 57) **Imai H, Miyata M, Uga S, Ishikawa S**: Retinal degeneration in rats exposed to an organophosphate pesticide (fenthion). *Environ Res* 30: 453—465, 1983.
- 58) **Misra UK, Nag D, Misra NK, Merra MK, Ray PK**: Some observations on the macula of pesticide workers. *Hum Toxicology* 4: 135—145, 1985.
- 59) **Ahmad N**: The electro-cardiographic changes in organophosphate poisoning (Dichlorophos). A case report *JPM* Feb 44—50, 1980.
- 60) **Kruppa K, Hietanen E, Klockars M, Partinen M, Lantanen J**: Chemical exposure at work and cardiovascular morbidity.—Atherosclerosis, ischaemic heart disease, hypertension. *J Work Env Health* 10: 381—388, 1984.
- 61) **Weatherall D**: The role of nature and nutrition in common diseases: Garrod's legacy. *J Nutritional Environm Med* 5: 63—76, 1995.
- 62) **Aldridge W**: Two types of esterase (A and B) hydrolysing para-nitrophenol acetate, propionate and butylate and a method for their determination. *Biochem J* 53: 110—117, 1953.
- 63) **Playfer J, Eze L, Bullen M, Evans A**: Genetic polymorphism and interethnic variability of plasma paraoxonase activity. *J Med Genet* 13: 337—342, 1976.
- 64) **Humbert R, Adler D, Disteché C, Hasett C, Omiecinski C, Furlong C**: The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorph. *Nat Genet* 3: 73—76, 1993.
- 65) **Blatter M-C, James R, Messer S, Barja F**,

- Pometta D**: Identification of a distinct human high-density lipoprotein subspecies defined by a lipoprotein-associated protein K-45. *Eur J Biochem* 211: 871—879, 1993.
- 66) **Mackness M, Arrol S, Durrington P**: Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. *FEBS Lett* 286: 152—154, 1991.
- 67) **Saha N, Roy A, Teo S, Tay J, Rat nam S**: Influence of serum paraoxonase polymorphism in serum lipids and apolipoproteins. *Clin Genet* 40: 277—282, 1991.
- 68) **Hegele R, Brunt J, Connelly P**: A polymorphism of paraoxonase gene associated with variation in plasma lipoproteins in a genetic isolate. *Arteriosclerosis-thromb-Basc-Biol* 15: 89—95, 1995.
- 69) **若倉雅登**: 視覚神経伝達物質, 培養細胞を用いた解析. *神眼* 7: 190—195, 1990.
- 70) **Miyata M, Namba T, Horiuchi K, Aoki S, Ishikawa S**: Aggravation of experimental allergic conjunctivitis by environmental chemical and physical factors. *Folia Medica Cracoviensia* 34: 129—139, 1993.