

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 2 日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460873

研究課題名(和文)メソミル代謝物の追求 臭い成分を中心として

研究課題名(英文)Research for metabolites of methomyl -Focus to volatile compounds-

## 研究代表者

福家 千昭 (FUKE, Chiaki)

琉球大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：60173374

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：メソミル中毒死例の剖検試料をGC/MSにて分析したところジメチルジスルフィド(DMDS)を検出した。DMDSは独特の臭気を有する有機硫黄化合物であるが、メソミルと関連付ける報告は見当たらない。そこでメソミルが分解することによりDMDSが産生されることを証明するために実験を行った。新鮮なブタ肝臓をホモジナイズし、メソミルと混合した後37℃で加温した。結果、メソミル濃度は経時的に減少し、DMDS濃度は増加するという結果が得られた。以上の結果より、DMDSはメソミルが分解することにより産生されることが明らかとなり、DMDSの特徴的な臭いが剖検試料からしてきた場合、メソミル中毒の疑いがあるといえる。

研究成果の概要(英文)：We analyzed specimens of a methomyl poisoning victim by head-space GC/MS, and dimethyl disulfide (DMDS) was detected. DMDS is an organic sulfur compound and has characteristic odor. However there are no reports associated methomyl with DMDS. In order to confirm that DMDS is a decomposed compound from methomyl, we conducted in vitro examination using fresh pork liver and methomyl. Fresh pork liver homogenate (w/w: 1:1 with saline) was incubated with methomyl at 37 degrees centigrade. The phenomenon which the methomyl concentration was decreased and the DMDS concentration was increased was observed. When fresh pork homogenate alone or methomyl only was incubated at same manner, DMDS was not detected. DMDS was a decomposed compound from methomyl. We expect that the characteristic odor of DMDS is help to find a victim poisoned by methomyl.

研究分野：法医中毒学

キーワード：メソミル ジメチルジスルフィド クロマトグラフ質量分析計 ヘッドスペース分析法 メソミル分解  
酵素 肝臓・腎臓 腸内細菌 Bacillus cereus

1. 研究開始当初の背景

メソミルは、カルバメート系殺虫剤で毒物及び劇物取締法上の劇物、労働安全衛生法の第4毒物に指定されている。「ランネート」などの商品名で販売されており、この製品は青色の粉末で、弱い硫黄臭がある。「ランネート」はハスモンヨトウ等の大型食葉性害虫やアブラムシなどの吸汁性害虫に高い速効性を示し、世界中で広く使用されている。日本でも使用量は多く、中毒事例も多発している。科警研資料の「薬物による中毒事故等の発生状況」によると、メソミル中毒事故の年間の取り扱い数は、ここ数年60から90件でカルバメート剤中毒の80%以上を占めている。

我々もここ数年で、3件のメソミル中毒事例を経験した。いずれの症例も薬物分析用に採取された試料から独特なイオウ化合物の臭気が認められた。この臭気は、他の剖検例では経験したことがないのでメソミル中毒特有のものと予想される。しかし、メソミルの代謝に関する文献にはこのことに関する記載を確認することはできなかった。

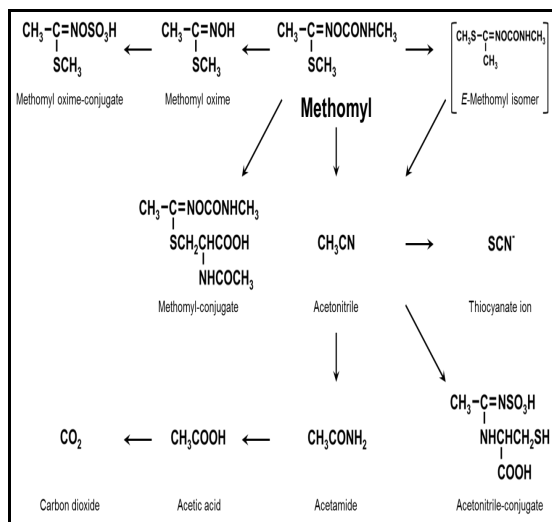


図1. メソミルのラットにおける代謝経路

この臭気の発生原因を解明することは、薬物中毒の中で臭気にてメソミル中毒の検索が行えるようになるとともに、メソミルのこれまでに報告のない毒性を発見することに

繋がるものとする。

2. 研究の目的

本研究は、メソミル中毒例の剖検試料から発せられる独特な臭気の原因を明らかにするとともに発生メカニズムを解明することを目的とする。

3. 研究の方法

メソミルの生体内での分解・代謝ということで、新鮮な臓器が必要となるが、入手が容易なブタの肝臓、腎臓、筋肉を市中の販売店で購入し、可及的速やかにホモジネート(臓器:生理食塩水 1:1 w/w)を作成し使用した。

血液は、新鮮なものが必要なためボランティアより同意のもと採取し直ちに実験に供した。

メソミル(S-methyl-N-(methylcarbamoyloxy)thioacetimidate)、メソミルオキシム、オキサミルは、残留農薬試験用標準品を和光純薬工業株式会社より購入した。メソミル-d3(S-methyl-N-(methylcarbamoyloxy)thioacetimidate-d3)は、林純薬工業株式会社より購入した。S-メチル-d3メソミル(S-methyl-d3-N-(methylcarbamoyloxy)thioacetimidate)は、林純薬工業株式会社に依頼して合成した。

メソミルの定量分析は、高速液体クロマトグラフにて行った。

揮発性化合物の分析は、ガスクロマトグラフ質量分析計にて行った。

- (1) ブタの肝臓ホモジネートとメソミルを混合し、気化平衡法を応用して37℃でインキュベーションし、発生してくる臭気をガスクロマトグラフ質量分析計に注入し、成分の検索を行う。
- (2) 同定された化合物の標準品を入手し、生体試料からの定量分析法を確立する。
- (3) 臭気化合物の発生メカニズムの解明を行うために、メチル基が重水素置換された

メソミルを入手し、新鮮な肝臓ホモジネートとそれらの化合物を混ぜ合わせ、発生してくるガス成分の分析を行う。

- (4) どの臓器で代謝が起こっているのかを明確にするために、新鮮なブタの臓器を入手し同様の実験を行う。
- (5) メソミルと類似化合物のメソミルオキシムやオキサミルを用いて同様の実験を行い、臭気の発生の有無を観察する。

#### 4. 研究成果

- (1) メソミルとブタ肝臓ホモジネートをバイアルに入れ、密栓した後十分に混合し、37 で1時間加温後バイアル中の気相をガスクロマトグラフ質量分析計に注入したところ、ジメチルジスルフィドが検出された。

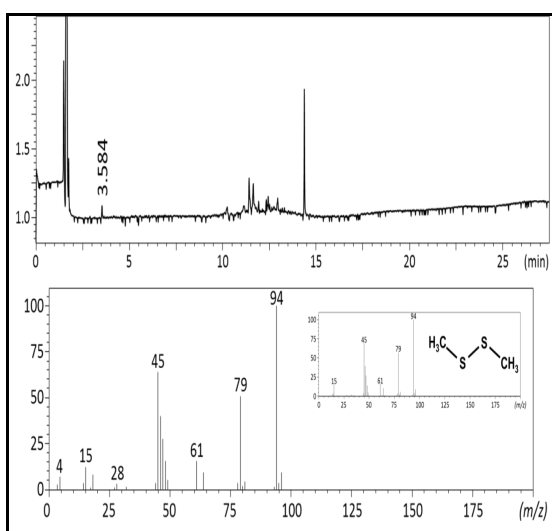


図2. 揮発性化合物検出のガスクロマトグラフ質量分析のトータルイオンクロマトグラフと3.5分のピークのマスマスペクトル

- (2) 肝臓ホモジネートを用いてジメチルジスルフィドの添加回収実験を行ったところ、継時的にジメチルジスルフィド濃度が減少することが確認され、正確な定量値を算出することが困難なことが明らかとなった。

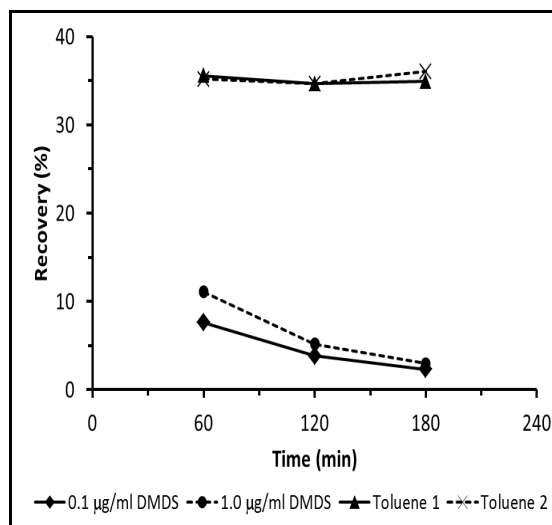


図3. ジメチルジスルフィド (DMS) の回収率の経時変化

- (3) メチル基が重水素置換されたメソミルを用いて同様に処理したところ、S-メチル-d3 メソミルを用いた場合のみ、メチル基のすべての水素が重水素に置換されたジメチルジスルフィドが検出された。

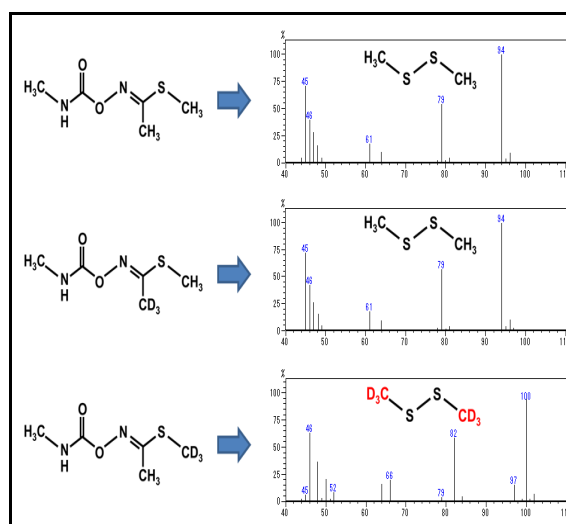


図4. 重水置換されたメソミルから発生するジメチルジスルフィドの分析結果

以上の結果より、メソミルとブタ肝臓ホモジネートを混合し、加温することによって発生してきたジメチルジスルフィドはメソミルのS-メチル基由来であることが確認された。また、発生のメカニズムは、メソミルが加水分解されオキシム体となり、さらに分解

されメチルスルフィドとなったものが重合して2量体となり、ジメチルジスルフィドを形成したものと判断された。この事実はこれまで報告はなく、世界で初めての事実確認である。

(4) ブタ肝臓、ブタ腎臓、ブタ筋肉、ヒト血液を用いてジメチルジスルフィドの発生の有無を確認したところ、ジメチルジスルフィドは、ブタ肝臓のみならず、腎臓からも発生してきたが、ブタ筋肉、ヒト血液からは発生が認められなかった。また、メソミル濃度もブタ肝臓、ブタ腎臓中では継時的に減少したが、ブタ筋肉、ヒト血液では減少は認められなかった。

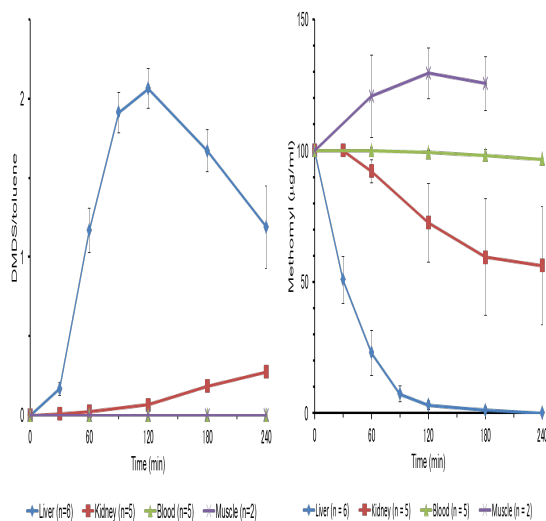


図5．肝臓、腎臓、筋肉、血液中のDMDSとメソミル濃度の経時変化

以上の結果より、ブタ肝臓、腎臓中に存在する酵素によりメソミルは分解されるものと判断される。また、ブタ肝臓を膜成分画分、核画分、ミトコンドリア画分、可溶性画分の4画分に画分し、同様にメソミルと混合してジメチルジスルフィドの産生を確認したところ、可溶性画分に活性が認められ、他の画分からはジメチルジスルフィドの発生は認められなかった。以上の結果より、メソミル

を分解する酵素は、可溶性画分に存在することが確認された。

メソミルを加水分解する酵素は、カルバミン酸エステル加水分解酵素であると推測される。

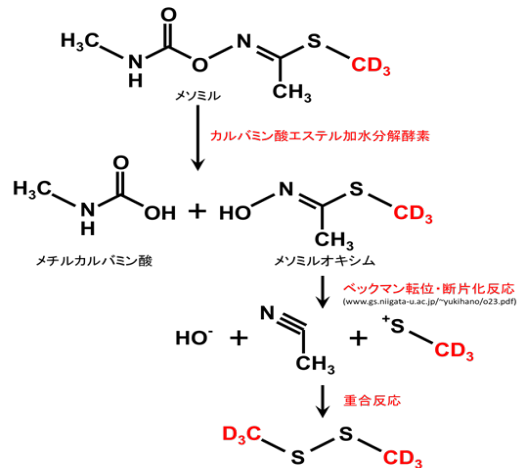


図6．メソミルのラットにおける代謝経路

## 5．主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

## 6．研究組織

### (1) 研究代表者

福家 千昭 (FUKE, Chiaki)

琉球大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号： 60173374

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし