

ミヤイリガイに対する数種薬剤の殺貝効果について

(6) Tribromosalan の殺貝効果

梶原徳昭 薬袋 勝 佐藤 譲

A Screening Test for the Molluscicidal Activity of Chemicals Against *Oncomelania nosophora*

(6) The Molluscicidal Effect of Tribromosalan

Noriaki Kajihara, Masaru Minai and Yuzuru Satoh

筆者らは、山梨県の日本住血吸虫症対策を推進するため、中間宿主ミヤイリガイに殺貝効果のある薬剤を見いだすべくスクリーニングテストを継続している。

今回はその一環として6種の駆虫剤について検討した。その中で、最も高い殺貝効果を示した Tribromosalan (以下 TBS) については、春秋2回の野外試験を実施したので報告する。

材料と方法

供試した薬剤は以下のとおりである。

Tribromosalan : 3, 4', 5-Tribromo-salicylanilide ; 精製粉剤 (フジタ製薬株式会社)。Niclosamide : 2', 5-Dichloro-4'-nitro-salicylanilide ; 70%水和剤 (Bayel 社・Bayluscide WP 70)。Disophenol : 2, 6-Diiodo-4-nitrophenol ; 精製粉剤 (フジタ製薬), Bithionol : 2, 2'-Thiobis (4,6-dichlorophenol), Bithionol disodium : Na₂-Bithionol, Dichlorophen : 2, 2'-Methylenebis (4-chlorophenol) ; 以上3種の駆虫剤はすべて精製粉剤であり、慶応大学医学部寄生虫学教室から提供された薬剤である。また、比較薬剤としてB-2 : 2, 5-Dichloro-4-bromophenol ; 25%水溶剤 (日本化学工業株式会社) とNaPCP : 2, 3, 4, 5, 6-Pentachlorophenol ; 90%水溶剤を用いた。各薬剤の構造式は表1に示した。

使用したミヤイリガイは、韭崎市内より採集し、汲み置き水を入れたシャーレ中で活発に運動するものを用いた。室内試験 (I) は、Komiya¹⁾による直接浸漬法により、25°C の恒温器内で48時間薬液を作用させた²⁾。室内試験 (II) は、活動中のミヤイリガイ10匹を試験管 (φ25×180 mm) に入れ、所定濃度に調整した薬液 10 ml を注いだ後、3×3 cm に切ったビニール網を水面よ

り下になるようにして貝が薬液から離脱するのを防止した。これを試験管立てに立て、25°C の水浴中で所定時間薬液に作用させた。作用後各時間ごとに30匹の貝を取り出して洗浄し、汲み置き水を入れたシャーレに移して24時間放置した後、圧潰法により殺貝率を求めた。

野外試験は、ミヤイリガイの自然生息地である韭崎市旭町地内の休耕田で1986年の5~6月と10~11月に実施した。試験地は草刈り後、1区画4 m² になるよう塩化

表1 駆虫剤の構造式

Chemical name (Common name)	Structure
2,6-Diiodo-4-nitrophenol (Disophenol)	
2,2'-Thiobis-(4,6-dichlorophenol) (Bithionol)	
Disodium 2,2'-thiobis-(4,6-dichlorophenol) (Bithionol disodium)	
2,2'-Methylenebis-(4-chlorophenol) (Dichlorophen)	
3,4',5-Tribromosalicylanilide (Tribromosalan)	
2',5-Dichloro-4'-nitrosalicylanilide (Niclosamide)	
Sodium 2,5-dichloro-4-bromophenol (B-2, Phebrol)	
Sodium 2,3,4,5,6-pentachlorophenol (NaPCP)	

ビニール板で区切り、各区分には試験地周辺から採集した貝を試験1週間前に投入し、薬剤散布前日に自然死亡率を確認した。供試薬剤はTBSの90%水和剤、Niclosamide、B-2の3薬剤とし、各薬剤は所定量を20 lの水に溶かしてジョロで均一に散布した。効果判定は区画内の任意の場所に30×30 cmの木枠を置き、枠内の貝を総て採取して行った。採取貝数が30匹に満たない場合には、同一枠を移動して同様に採取し、圧潰法により殺貝率を求めた。

結 果

1. 室内試験 (I)

表2に6種駆虫剤と2種の比較薬剤の試験結果を示した。最も高い殺貝効果を示したのは、LC₅₀値が0.068 ppmのTBSであり、次いで0.10 ppmのNiclosamideであった。Bithionol及びNa₂-Bithionolはそれぞれ0.56 ppmと0.47 ppmであったが、Bithionolと同じハロゲン化ビスフェノールに属するDichlorophenの値はやや高く1.03 ppmであった。Disophenolは6種駆虫剤中最も低い効果を示し、1.08 ppmであった。また比較検討したB-2は0.69 ppm、NaPCPは0.30 ppmであった。

表2 室内試験における駆虫剤の殺貝効果

No.	薬剤一般名	LC ₅₀ (ppm)	(95%信頼限界)
1.	Tribromosalan	0.068	(0.064~0.073)
2.	Niclosamide	0.10	(0.087~0.115)
3.	Na ₂ -Bithionol	0.47	(0.42~0.53)
4.	Bithionol	0.56	(0.41~0.76)
5.	Dichlorophen	1.03	(0.88~1.21)
6.	Disophenol	1.08	(0.94~1.24)
7.	B-2(Phebrol)	0.69	(0.59~0.81)
8.	Na-PCP	0.30	(0.26~0.35)

2. 室内試験 (II)

濃度一定にした薬剤の経時的殺貝率の変化を検討したのが図1である。ミヤイリガイに対して即効性であることが知られているNiclosamideは、1 mmolで30分後には96.7%、1時間後には100%の殺貝率を示した。また100 μmolでも1時間後に40.0%の殺貝率を示し、4時間で100%に達したTBSは、1 mmolの1時間後の殺貝率は83.3%と高いが、100%に達するのに16時間を要した。NaPCPはこれらと対照的な経時変化を示し、いずれの濃度でも2時間後までの殺貝率は低く、100 μmolでは4時間後に至っても殺貝率は0%であったが、1 mmolでは4時間後に、100 μmolでは8時間後に殺貝率の上昇が見られ、両濃度とも32時間後には100%に達し

た。Na₂-BithionolはNaPCPに類似した経時変化をたどるが、短時間作用での殺貝率はNaPCPよりやや高い傾向が認められた。また、いずれの濃度でもNaPCPよりやや早く、16時間後には100%に達した。汲み置き水のみでの対照では、途中運動性の鈍くなる個体も見られたが、48時間後の死亡率は0%であった。

3. 野外試験

表3、表4に野外試験結果を示した。表3に見られるようにTBSは春期試験において、0.5 g/m²散布区では63.1~97.1%とバラツキが見られるが、1 g/m²区では91.6~93.6%、2 g/m²区では97.5~100%と極めて高い殺貝効果が認められた。比較薬剤であるNiclosamideは5 g/m²散布区で98.1~100%と安定した効果を示し、B-2は10 g/m²区で84.8~92.5%、20 g/m²区では86.4~100%あった。

秋期試験は3種薬剤の総ての散布区において春期試験を下回る結果であった。表4に見られるように、TBSは0.5 g/m²~10 g/m²のいずれの散布区でも、殺貝率にバラツキが見られ、比較的效果の高かった5 g/m²区で72.0~94.2%、10 g/m²区でも65.3~97.0%であっ

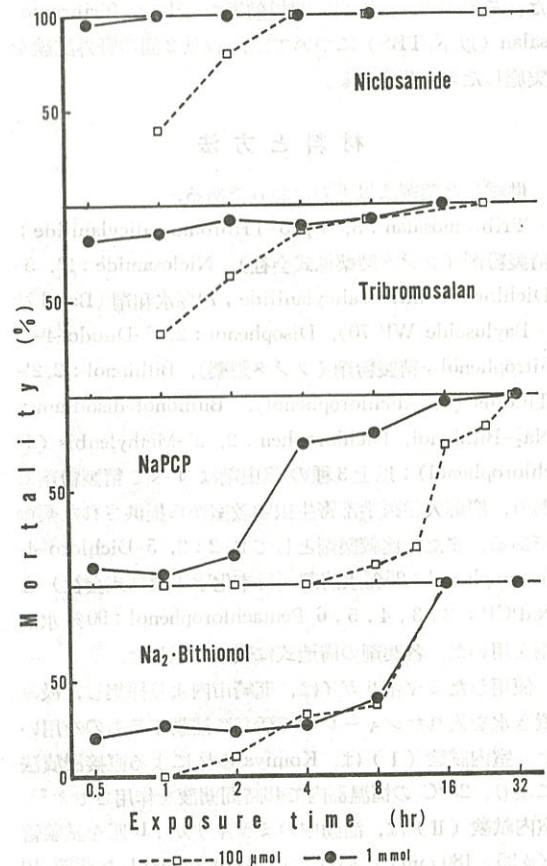


図1 4種薬剤の殺貝率の経時変化

表3 春期野外試験における Tribromosalan の殺貝効果

薬剤名	散布量 (g/m ²)	殺貝率 (%)		
		3日	10日	40日
Tribromosalan	0.5	63.1	97.1	85.0
	1	92.6	91.6	93.6
	2	97.5	98.8	100
	5	100	100	100
	10	98.3	100	100
Niclosamide	5	98.1	100	100
B-2	10	84.8	92.5	88.9
	20	86.4	95.5	100
Control	0	15.9	17.9	14.7

た。同時に実施した Niclosamide の殺貝率も93.7~100%であり、この薬剤としてはパラッキのある結果であった。また、殺貝条件に影響されやすいB-2では10g/m²区で26.0~63.8%, 20g/m²区でも52.7~86.5%という極めて低い殺貝率に止まった。

考 察

室内試験において最も高い殺貝効果を示したTBSは、家畜の肝蛭駆除剤として開発されたものであり、現在市販されている薬剤である³⁾。直接浸漬法によるLC₅₀値は0.068ppmという極めて低い値であり、殺貝効果が高いことで知られるNiclosamideの0.10ppmを上回る効果を示した。しかし、現在までに報告されているNiclosamideのLC₅₀値は、季節や雌雄などにより0.03~0.10ppmの変動幅を持つことから^{4,5)}、TBSの効果はNiclosamideと同程度と判断するのが妥当であろう。

TBSは図1に見られるように、その構造式がNiclosamideに類似していることから、WHOでは1971年に水生貝に対する殺貝効果を検討し、Niclosamideに匹敵することを報告しているが、ミヤイリガイに対する殺貝効果は検討されていない⁶⁾。

BithionolはYokogawaら⁷⁾により肺吸虫に対する駆虫作用が明らかにされた薬剤である。この薬剤はフェノール型で0.56ppm、ナトリウム型で0.47ppmのLC₅₀値を示し、B-2に匹敵する殺貝効果が認められた。小林ら⁸⁾はNa₂-Bithionolの*Biomphalaria glabrata*に対する殺貝効果を検討し、10μmolで6時間後に100%に達したと報告している。しかし、筆者らがミヤイリガイについて検討した結果では100%死亡に16時間以上を要した(未発表)。実験条件に多少の違いはあるが、Na₂-Bithionolに対してはミヤイリガイより*B. glabrata*

表4 秋期野外試験における Tribromosalan の殺貝効果

薬剤名	散布量 (g/m ²)	殺貝率 (%)			
		7日	14日	21日	35日
Tribromosalan	0.5	15.2	13.9	23.8	39.1
	1	42.3	51.5	39.8	50.0
	2	48.1	48.0	52.2	46.3
	5	72.2	94.2	83.2	70.1
	10	65.3	90.0	94.1	97.0
Niclosamide	5	97.4	100	93.7	95.6
B-2	10	26.0	54.8	42.5	63.8
	20	86.5	63.7	52.7	63.0
Control	0	0	0	0	1.8

の方が感受性が高いものと考えられる。

Dichlorophenも肝蛭と条虫類の駆虫剤であるが、殺貝効果はやや低く1.03ppmであり、犬の鉤虫駆虫剤であるDisophenolは1.08ppmであった。

以上検討した駆虫剤の殺貝効果は平均して高いものであった。極めて高い殺貝効果を示したNiclosamideとTBSだけでなく、ハロゲン化ビスフェノールも寄生蠕虫類の呼吸系阻害剤であることが明らかにされており^{9,10)}、水生軟体動物と寄生蠕虫類の呼吸系に類似が見られるという指摘¹¹⁾と共に、駆虫作用と殺貝作用との関連に興味を持たれる結果であった。

殺貝効果の経時変化を見ると、Niclosamideの即効性が際立っており、殺貝率は1mmolで1時間後に100%に達する。TBSもこれと類似した経時変化を示すが、死亡率100%となるのに20時間を要した。また、両薬剤は100μmolでも短時間作用で高い殺貝率を示すが、死亡率が100%となる時間は、Niclosamideの4時間に対しTBSでは16時間を要している。これらと対照的に、BithionolとNaPCPでは、1mmolでも短時間作用での殺貝率は低く、100%に達するのに16時間ないしそれ以上の時間を要した。室内試験における殺貝効果は、Mol濃度換算でもTBS≥Niclosamide>NaPCP≥Bithionolとなり、経時変化はおおまかにNiclosamide型とNaPCP型に区分できると考えられる。しかし、短時間作用での殺貝率や100%に達する時間に相違が見られることは、各薬剤の作用点への到達速度や作用機序などを含んだ作用特性の違いによるものと推測される。

これらの結果は、適確な殺貝効果の達成と作業の効率化のために必要な条件を提供しているものと考えられるので、今後さらに詳細な検討を実施する予定である。

野外試験は、室内試験で最も効果の高かったTBSに

ついて実施した。春期試験では、薬剤散布後6日目に大量の降雨があり2日間浸水状態が続いたが、TBSとNiclosamideの殺貝率は降雨の前後で差は見られなかった。しかし、B-2の20 g/m²散布区ではわずかに上昇傾向が認められた。また、試験直前の各区の平均死貝率は4.1%であり、無散布対照区では3回の効果判定時に14.7~17.9%と高い死貝率であった。これは、試験区の自然生息貝数が少なかったため、試験1週間前に周辺地域から採集した貝を投入したこと起因していると考えられる。試験地の選定は今後益々困難となろうが、貝の他所からの移入、特に春期における移入については慎重な配慮が必要であろう。

春期におけるTBSの殺貝効果は、バラツキの見られた0.5 g/m²散布区以外は高い殺貝効果を示し、有効成分量を考慮するとNiclosamideに匹敵するものと考えられる。B-2の殺貝率は10 g/m²区では84.8~92.5%とやや低い効果であったが、20 g/m²区では10日後に95.5%、40日後に100%であった。この区の殺貝率の上昇傾向は、他の試験区の結果が比較的安定していること、各区画は浸水したにもかかわらず隣接区画の影響を受けていないと考えられること、および前報の結果¹²⁾などから、降雨による影響であろうと推測された。

秋期試験は春期試験と異なり、全体にバラツキの大きい結果であった。春期において安定した高い殺貝効果を示したTBSも、0.5 g~5 g/m²散布区では効果が安定せずかつ低い効果であった。10 g/m²区の殺貝率は65.3~97.0%と比較的高い効果を示したが、その経過を見ると、7日後に65.3%であった殺貝率が、14日後に90.0%、21日後に94.1%、35日後には97.0%となった。この区の経時的な殺貝率の上昇傾向が、TBSの残留効果に因るのか、単なるサンプリング方法の問題か、あるいは未知の要因によるのか不明である。

Niclosamideは秋期試験でも高い殺貝効果を示したが、効果にバラツキが見られ、B-2は極めて低い効果に止どまった。これらの結果は、即効的で残効性のあるNiclosamideに比し、B-2が効果の発現に時間を要するNaPCP型の殺貝作用を示す薬剤であり(未発表)、かつ分解が速いという違いが、試験期間中晴天が続いた秋期試験において現れたためと考えられる。また、前報での野外試験結果¹²⁾と比較しても、B-2が殺貝時の環境条件に影響されやすいという弱点が示された結果であった。

ま と め

駆虫剤6種について室内試験を実施し、最も効果の高かったTBSについては、春秋2回の野外試験を実施した。

1. 検討した駆虫剤のうち、最も高い殺貝効果を示し

たTBSのLC₅₀値は0.068 ppmであり、0.10 ppmであったNiclosamideを上回る殺貝効果が認められた。

2. その他の駆虫剤の殺貝効果も比較的高く、LC₅₀値はBithionolで0.56 ppm, Na₂-Bithionolで0.47 ppm, Dichlorophenで1.03 ppm, Disophenolで1.08 ppmであった。

3. 殺貝率の経時変化を検討した結果、1 mmol濃度のTBSは1時間の作用で83.3%という高い殺貝率を示し、Na₂-Bithionolでは4時間後でも26.7%と低い殺貝率であった。

4. 野外試験の結果、TBSの殺貝率は、春期試験では1 g/m²散布区で91.6~93.6%、2 g/m²区で97.5~100%という高い値を示したが、秋期試験では10 g/m²でも65.3~97.0%と低い効果であった。

今回検討した駆虫剤は、慶応大学医学部寄生虫学教室及びフジタ製薬株式会社から提供頂いた。また、野外試験に当たり、葦崎保健所宮川裕治氏に多大な御協力を頂いた。ここに記して感謝の意を表する。

文 献

- 1) Komiya, Y., Yasuraoka, K. and Hosaka, Y. : Jap. J. Med. Sci. Biol., 15, 41~51 (1962)
- 2) 梶原徳昭, 堀見利昌, 薬袋 勝, 三木阿い子, 菊島 慶彦, 保坂幸男: 山梨衛研年報., 18, 41~43 (1974)
- 3) 科研化学株式会社, 日本全業工業株式会社, フジタ製薬株式会社: トリプロモサリチルアニリド (1976)
- 4) Hosaka, Y., Yasuraoka, K. and Komiya, Y. : Jap. J. Med. Sci. Biol., 22, 65~67 (1969)
- 5) 梶原徳昭: 山梨衛公研年報., 28, 22~24 (1985)
- 6) World Health Organization: Meeting of directors of collaborating laboratories on molluscicide testing and evaluation., Washington, D. C. (1971)
- 7) Yokogawa, M., Yoshimura, H., Okura, T., Sano, M., Tsuji, M., Iwasaki, M. and Hirose, H. : Jap. J. Parasitol. 10, 317~327. (1961)
- 8) 小林正規, 竹内 勤, 中村 健: 寄生虫誌., 35, 増刊号, 124 (1986)
- 9) Andrews, P., Thyssen, J. and Lorke, D. : Pharmac. Ther., 19, 245~295 (1983)
- 10) 村越善衛, 守屋芳子: 寄生虫誌., 17, 289~290 (1968)
- 11) 大家 裕, 高宮信三郎, 林 久子, 古島理江子: 寄生虫誌., 29, 39 (1980)
- 12) Kajihara, N., Horimi, T., Minai, M. and Hosaka, Y. : Jap. J. Med. Sci. Biol., 32, 225~228 (1979)