

氏名(本籍)	モト ヤ マ スミ (神奈川県) 本谷真澄
学位の種類	博士(獣医学)
学位記番号	乙第371号
学位授与の要件	学位規則第3条第3項該当
学位論文題名	ラットにおけるパラコートの胎子動脈管収縮作用に関する実験的研究
論文審査委員	(主査) 赤 堀 文 昭 (副査) 野 村 靖 夫 二 宮 博 義 政 岡 俊 夫 有 嶋 和 義

論 文 内 容 の 要 旨

胎子は栄養分や酸素を母体から胎盤をとおして吸収しており、また、羊水中で生活しているため肺は機能していない。そのため、末梢から心臓へ送られた血液は肺を経由せず、成体で見られる循環とは異なる独自の循環系をもっている。胎子循環の特徴のひとつとして動脈管の存在がある。動脈管は肺動脈を直接大動脈へと結ぶ太いバイパスで、胎子循環系の重要な役割を果たしている。また、動脈管は胎生期においては拡張し肺への血液流入を大部分阻止する役目を果たしており、出生後は呼吸の開始とともに次第に収縮閉鎖し動脈管索として遺存する。

この動脈管は胎子血液PO₂が低いことと、胎子と胎盤で生合成されるプロスタグランジンE₂ (PGE₂) の作用によってその拡張が維持されているが、近年、インドメタシンなどの抗炎症薬がPGE₂の合成を阻害することによって、動脈管に対して収縮作用を持つとの報告がなされた。胎生期における動脈管の収縮は胎子肺高血圧症を引き起こしその影響は出生後も残ることから、動脈管に対するインドメタシンと同様の作用を持つ種々の化学物質の検索が注目されるようになった。

本研究に用いたパラコート (1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridylum) は有用性の高い除草剤として今日なお、世界中で使用されている。パラコート毒性の標的器官は肺であり、出血や水腫といった急性期の変化を特徴とする。また、ヒトではこの初期の変化の後に致死的な経過をとる肺線維症が誘発されることが知られている。一方、胎子に対するパラコート毒性は、成体に対する毒性に比べ比較的低いと考えられているが、胎子動脈管への影響に関する報告はない。そこで、本研究はパラコート (PQ) の胎子に対する毒性、とくに動脈管に対する作用およびその期序についてラットを用いて究明した。

第1章では、妊娠ラットおよび胎子でのPQの動態を調べるために、妊娠21日の母親ラットにPQ25mg/kgを皮下投与し、その後の母体および胎子の血漿中PQ濃度を測定した。その結果、母体の血漿中PQ濃度は、投与後1時間において最高血漿中濃度を示し、その後急速に低下し、6時間以降は24時間までゆるやかな減少を示した。一方、胎子においては、最高血漿中濃度は投与後2時間に観察され、その後はゆるやかに減少した。母体と胎子の血漿中PQ濃度の推移を比較すると、最高血漿中濃度では、母体の43.65 ± 4.76 μg/mlに対

し胎子では $3.35 \pm 0.36 \mu\text{g/ml}$ と低く、また、投与後24時間では母体 ($0.83 \pm 0.32 \mu\text{g/ml}$) と比べて胎子 ($1.51 \pm 0.36 \mu\text{g/ml}$) の血漿中PQ濃度がより高かった。このように、PQは容易に胎盤を通過し胎子へ移行すること、また、母体と比べ胎子では血漿中濃度は低いものの、その排泄は非常に遅く、血漿中濃度が長時間維持されることを明らかにした。

第2章では、PQが胎子動脈管に対し収縮作用を有するかどうかを調べるために、妊娠21日の午後1時を剖検時間として、その1、3、6および24時間前に母親ラットにPQ 2、7および25mg/kgを皮下投与し、胎子動脈管の内径の変化を急速全身凍結法にて計測した。その結果、PQ 2 mg/kg投与群では対照群に比べ有意な差はみられなかったが、PQ 7 mg/kg投与群では投与後3時間に動脈管の有意な収縮がみられた。PQ 25 mg/kg投与群では投与後3および6時間に有意な収縮がみられた。これらの結果から、PQは妊娠末期のラット胎子の動脈管に対して強い収縮作用を持つこと、また、この収縮作用は用量依存的な変化であることを立証した。

第3章では、PQの動脈管収縮作用が胎生期のいつの時期に感受性を示すのかを明らかにするために、妊娠19、20および21日の母親ラットにPQ25mg/kgを皮下投与し、その3時間後の胎子動脈管の内径の変化を急速全身凍結法にて計測した。その結果、胎齢19日2/3、20日および21日の胎子動脈管では収縮がみられたが、胎齢19日1/2の胎子動脈管においては観察されなかった。したがって、胎子動脈管のPQに対する感受性の臨界期は、胎齢19日1/2と19日2/3の間にあることを究明した。

第4章ではPQによって一旦収縮した動脈管のPGE₂に対する反応性を検討するために、妊娠21日のラット母体にPQ25mg/kgを皮下投与してから2時間後、胎子に直接PGE₂を皮下注射し、その1時間後の胎子動脈管の内径を測定した。その結果、PQを投与した母体の胎子の動脈管は対照群と比べて有意に収縮していたが、母体PQ投与後、PGE₂を投与した胎子動脈管は対照群と同様に拡張していた。

第5章では、プロスタグランジン合成酵素であるプロスタグランジンエンドペルオキシドシンセターゼ（シクロオキシゲナーゼおよびヒドロペルオキシターゼ）に対するPQの*in vitro*における影響を検討した。すなわち、アラキドン酸を基質として、PQ存在下でプロスタグランジンエンドペルオキシドシンセターゼを含有するヒツジ精囊ミクロソームを作用させて、PGG₂およびPGH₂の生成量を測定した。その結果、PGG₂およびPGH₂の生成量はPQ存在下においても影響を受けなかったことから、PQはプロスタグランジン合成酵素に対して影響を与えない (*in vitro*) ことを明らかにした。

第6章では、*in vivo*におけるPQのPGE₂に対する作用を検討するため、妊娠21日の母親ラットにPQ25mg/kgを皮下投与し、その3時間後の母体および胎子の血漿中PGE₂濃度をRIA法を用いて測定した。その結果、母体および胎子の血漿中PGE₂濃度は対照群との間で有意な差は認められず、PQは*in vivo*においてもPGE₂に対して影響を及ぼさないことを立証した。

以上、本研究では

- 1) PQはラット母体に皮下投与した時、胎子に移行すること。
- 2) PQを妊娠末期のラット母体に投与すると、その子の動脈管に用量依存的な収縮を引き起こすこと、また、この動脈管の収縮は可逆的な変化であること。
- 3) PQのラット動脈管収縮作用の臨界期は、ラットにおいて胎齢19日1/2から胎齢19日2/3の間にあること。
- 4) PQは*in vitro*において、プロスタグランジン合成酵素（プロスタグランジンエンドペルオキシドシンセターゼ）

ーゼ；シクロオキシゲナーゼおよびヒドロペルオキシターゼ）に対して影響を及ぼさないこと。

5) PQはラット母体に投与しても、その子の血漿中PGE₂濃度には影響を及ぼさないこと。

を証明した。

このように、筆者は、パラコートが胎子動脈管に対して収縮作用のあることを明らかにし、さらに、このパラコートの動脈管収縮作用の機序はPGE₂を介したものではないことを立証した。

論文審査の結果の要旨

胎生期の動脈管は、胎子の血液PO₂が低いことおよび胎子と胎盤で生成されるプロスタグランジンE₂ (PGE₂) の作用によって、その拡張が維持されている。従って、プロスタグランジン生成阻害作用を持つ抗炎症薬が妊娠中の動物やヒトに投与されると、胎子（児）および胎盤でのプロスタグランジン生成が阻害され、動脈管収縮が引き起こされる。ヒト胎生期の動脈管収縮は、出生後の新生児肺高血圧持続症や心不全などを引き起こすことが知られている。

一方、パラコート (1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridylium) は有効性の高い除草剤として今日なお、世界中で使用されている。パラコート毒性の標的器官は肺であり、出血や水腫といった急性期の変化（パラコート肺）を特徴とする。また、ヒトでは致死的な経過をとる肺線維症が誘発される。しかしながら、パラコートの胎子に対する毒性学的研究は少なく、動脈管への影響報告は全くない。

そこで、本研究はパラコート (PQ) の胎子に対する毒性、とくに動脈管に対する作用およびその機序についてラットを用いて究明することを目的としている。

本論文は六つの章からなっている。

第1章では、妊娠ラットおよび胎子でのPQの動態を調べるために、妊娠21日の母親ラットにPQ25mg/kgを皮下投与し、その後の母体および胎子の血漿中PQ濃度を測定している。母体の血漿中PQ濃度は投与後1時間において最高血漿中濃度を示し、その後急速に低下し、6時間以降は24時間までゆるやかな減少を示している。一方、胎子においては、最高血漿中濃度は投与後2時間に観察され、その後はゆるやかに減少している。母体と胎子の血漿中PQ濃度の推移を比較すると、最高血漿中濃度では、母体の43.65 ± 4.76 μg/mlに対し、胎子では3.35 ± 0.36 μg/mlと低く、また、投与後24時間では母体 (0.83 ± 0.32 μg/ml) と比べて胎子 (1.51 ± 0.36 μg/ml) の血漿中PQ濃度がより高い。このように、PQは容易に胎盤を通過し胎子へ移行すること、また、母体と比べ胎子では血漿中濃度は低いものの、その排泄は非常に遅く、血漿中濃度が長時間維持される、と論じている。

第2章では、PQが胎子動脈管に対し収縮作用を有するかどうかを調べるために、妊娠21日の午後1時を剖検時間として、その1、3、6および24時間前に母親ラットにPQ2、7および25mg/kgを皮下投与し、胎子動脈管の内径の変化を急速全身凍結法にて計測している。PQ2mg/kg投与群では対照群に比べ有意な差はみられなかったが、PQ7mg/kg投与群では投与後3時間に動脈管の有意な収縮がみられている。PQ25mg/kg投与群では投与後3および6時間に有意な収縮がみられている。これらの結果から、PQは妊娠末期のラット胎子の動脈管に対して強い収縮作用を持つこと、また、この収縮作用は用量依存的な変化である、と述べている。

第3章では、PQの動脈管収縮作用が胎生期のいつの時期に感受性を示すのかを明らかにするために、妊娠

19、20および21日の母親ラットにPQ25mg/kgを皮下投与し、その3時間後の胎子動脈管の内径の変化を急速全身凍結法にて計測している。胎齢19日2/3、20日および21日の胎子動脈管では収縮がみられたが、胎齢19日1/2の胎子動脈管においては観察されなかった。したがって、胎子動脈管のPQに対する感受性の臨界期は、胎齢19日1/2と19日1/3の間にある、と述べている。

第4章では、PQによって一旦収縮した動脈管のPGE₂に対する反応性を検討するために、妊娠21日のラット母体にPQ25mg/kgを皮下投与してから2時間後、胎子に直接PGE₂を皮下注射し、その1時間後の胎子動脈管の内径を測定している。PQを投与した母体の胎子の動脈管は対照群と比べて有意に収縮していたが、母体PQ投与後、PGE₂を投与した胎子動脈管は対照群と同様に拡張していた、と述べている。

第5章では、プロスタグランジン合成酵素であるプロスタグランジンエンドペルオキシドシンセターゼ（シクロオキシゲナーゼおよびヒドロペルオキシターゼに対するPQのin vitroでの影響を検討するため、アラキドン酸を基質として、PQ存在下でプロスタグランジンエンドペルオキシドシンセターゼを含有するヒツジ精囊ミクロソームを作用させて、PGG₂およびPGH₂の生成量を測定している。PGG₂およびPGH₂の生成量はPQ存在下においても影響を受けなかったことから、PQはプロスタグランジン合成酵素に対して影響を与えない（in vitro）、と述べている。

第6章では、in vivoにおけるPQのPGE₂に対する作用を検討するため、妊娠21日の母親ラットPQ25mg/kgを皮下投与し、その3時間後の母体および胎子の血漿中PGE₂濃度をRIA法を用いて測定している。母体および胎子の血漿中PGE₂濃度は対照群との間で有意な差は認められず、PQはin vivoにおいてもPGE₂に対して影響を及ぼさない、と述べている。

以上、パラコートのラット胎子動脈管に対する作用とその機序に関する本研究結果を総括すれば、次のようになる。

- 1) PQを妊娠末期のラット母体に投与すると、その子の動脈管に用量依存的な収縮を引き起こす。また、この動脈管の収縮は可逆的な変化である。
- 2) PQのラット動脈管収縮作用の臨界期はラットにおいて胎齢19日1/2から胎齢19日2/3の間にある。
- 3) PQはin vitroおよびin vivoにおいて、プロスタグランジン（PG）E₂の生合成に対して影響を及ぼさない。従って、PQの動脈管収縮作用にPGE₂は関与していない。

本研究はこのように、パラコートが胎子動脈管に対して収縮作用のあることを明らかにし、さらに、このパラコートの動脈管収縮作用の機序はPGE₂を介したものではないことを立証した。また、動脈管収縮作用を持つ化学物質の収縮作用機序は、これまでPGE₂の生合成阻害と考えられてきたが、本研究によってPGE₂を介さない収縮作用機序の存在を明らかにしたことは、発生毒性学上、大いに貢献したものと考えられる。それ故、本研究は、獣医学の立場から有意義な業績を示すものであり、博士（獣医学）の学位を授与するにふさわしいものと判定した。