

ラット胎子動脈管に対するジクワットの影響

Effect of Diquat on the Ductus Arteriosus in the Fetal Rats

沈 明浩

吉林農業大学 (中国)・食品工程学院 毒性学研究室

SHEN Minghao

Jilin Agricultural University Food Institute of Technology, Department of Toxicology, China

Abstract: Rats on day 21 of pregnancy received a subcutaneous injection of diquat (0.5, 2, 7 mg/kg). The inner diameter of the ductus arteriosus (DA) of their fetuses was measured using the whole-body freezing method 1, 3, 6 and 24 hours after injection. The 2 and 7 mg/kg dose groups showed a significant constriction of the DA 3 and 6 hours after diquat treatment. The 0.5 mg/kg dose group showed no significant change in the inner diameter of the DA at any point of measurement (1, 3, 6 and 24 hours after injection). These results indicate that diquat induces constriction of the fetal rat DA in a dose-dependent manner when administered in late stages of gestation, and that this effect of diquat is not seen at a dose level of 0.5 mg/kg.

Key words: Diquat, Ductus Arteriosus, Fetal Rat

緒 言

ジピリディリウム系除草剤のジクワット (化学名; 1,1'-ethylene-2,2'-bipyridylium dibromide, 図 1) は 1957 年にイギリスの ICI 社で開発され, 優れた除草効果を持つ農薬として我が国を始め世界各国で使用されている。

一方, ジクワットの毒性については, 以前からヒトや動物に対して強い毒性を示すことが知られており, 動物種によってその感受性に差があることも報告されている^{1,4,7,13,15)}。ヒト及び動物における経口暴露時のジクワット中毒の症状あるいは徴候は, 初期には口腔, 食道等のびらん, 潰瘍などの消化器系に対する障害およびショックである。ジクワットが体内に吸収されると, 急性期には, 肝臓, 副腎などの高血流臓器において強い毒性を示し, 多臓器不全を引き起こして致死的経過をとる^{4,7)}。

このように, ジクワットの成体に対する影響については多くの研究がなされているが, その発生・生殖毒性に関しては, 少数の報告が見られるのみである^{1,13,15)}。これらによると, ジクワットは, 胎盤を通過し, 胎子へ移行するものの, その胎子に対する毒性は, 成体に対するものと比較すると弱いものと報告されている³⁾。

他方, 胎子は, 栄養分や酸素を母体から胎盤を通して吸収しており, また, 羊水内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, 成体でみられる循環とは異なる独自の循環系を持っている。胎子循環の特徴として, 臍動脈と臍静脈の存在, 胎盤の存在, 卵円孔および動脈管の存在がある。

このうち動脈管は, 肺動脈を直接大動脈へと結ぶ太いバイパスであり, 胎生期においては重要な循環系の一翼を担っており, 成体に見られない独特の血

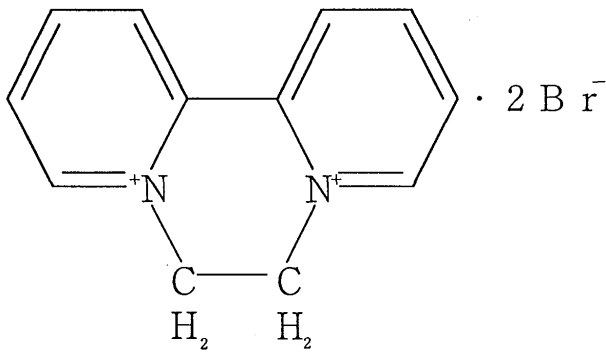


図1 ジクワット(化学名1,1'-ethylene-2,2'-bipyridylium dibromide)の化学構造式

管である。この動脈管は弾性線維に富む肺動脈や大動脈と異なり、きわめて平滑筋に富む中膜を有する筋型動脈である^{8, 11, 17}。

動脈管は、極めて特異な性質を持つ血管であると言われている。その一は、胎子の動脈管の拡張維持はプロスタグランジン E₂ の作用によってなされていることである^{5, 6, 9, 14, 16}。このプロスタグランジン E₂ による動脈管の拡張維持作用は、プロスタグランジンの生合成を阻害する非ステロイド性の抗炎症薬であるインドメタシン等を投与することによって、胎子動脈管が収縮することにより確かめられている^{10, 12}。

そこで、除草剤として広く使用されているジクワットが胎生期の特殊な血管である動脈管に対して影響を及ぼすかどうかの検討を行った。

材料および方法

1) 被験物質

本研究で用いたジクワット(diquat dibromide, 純度99.7%)は、ゼネカ(株)より供与されたものを用い、生理的食塩水にて1%の濃度に調製したものを投与液とした。

2) 使用動物および飼育条件

本研究で用いた動物は、日本クレア(株)から購入したWistarラットである。交配時に12～15週齢に達した未交配の雌を用いた。

ラットの飼育は、室温20～24℃、湿度45～65%に設定された動物室で行った。市販の固形飼料(MR Breeder)および水道水を自由に摂取させた。交配時に

雌雄を一晩同居させ、翌朝膈垢中に精子の存在を確認されたものを妊娠0日(胎齢0日)とし、その後は一匹ずつケージに入れて飼育した。

3) 実験方法

妊娠21日目のラットを用いた。妊娠21日目の午後1時を剖検時間と定め、剖検時間の1, 3, 6および24時間前に、ジクワットを0.5 mg/kg(体重)、2 mg/kg および7 mg/kgの用量で母体に皮下投与した。

剖検の際、冷却器(タイテック(株)Coolpipe 200D)により-45～-50℃に調節したアセトンを用意した。胎子は、母体を断頭放血し、直ちに子宮を切開して取り出し速やかに冷アセトンに投入し、全身を急速凍結した。凍結後、胎子の体重を測定し、同腹の胎子のうち同大のもの4匹を選び観察まで-20℃の冷凍庫に保存した。

4) 動脈管の観察方法

動脈管の観察は、Arishima et al.(1991)の方法で行った。

5) 統計学的解析方法

得られたデータは、各群ごとに平均値を算出し、Studentのt検定による統計学的解析を行った。

結果

ジクワット0.5 mg/kg投与群においては観察した全ての時間で、有意な変化は認められなかった(図2)。

ジクワット2 mg/kg投与群においては、投与後3および6時間に対照群と比べて有意な動脈管の収縮が認められた。また、この収縮は投与後3時間と6時間で比べると、投与後3時間でより強い収縮が認められた。しかし、投与後1および24時間では、動脈管の収縮は認められなかった(図2)。

ジクワット7 mg/kg投与群においては、投与後3および6時間に対照群と比べて有意な動脈管の収縮が認められた。また、2 mg/kg投与群と同様に、投与後3時間で最も強い収縮が認められた。この最も強い収縮が認められた7 mg/kg投与群では、対照群の動脈管(図3A)に比べ、内径は対象の約55%まで小さくなっており、動脈管壁は厚くなっていた(図3B)。

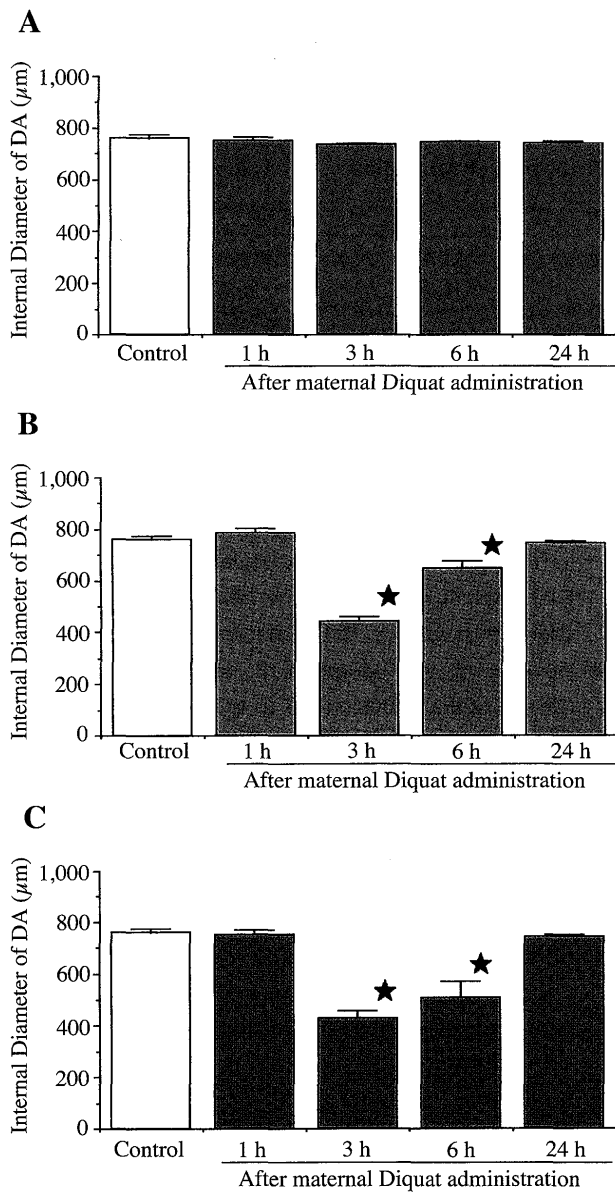
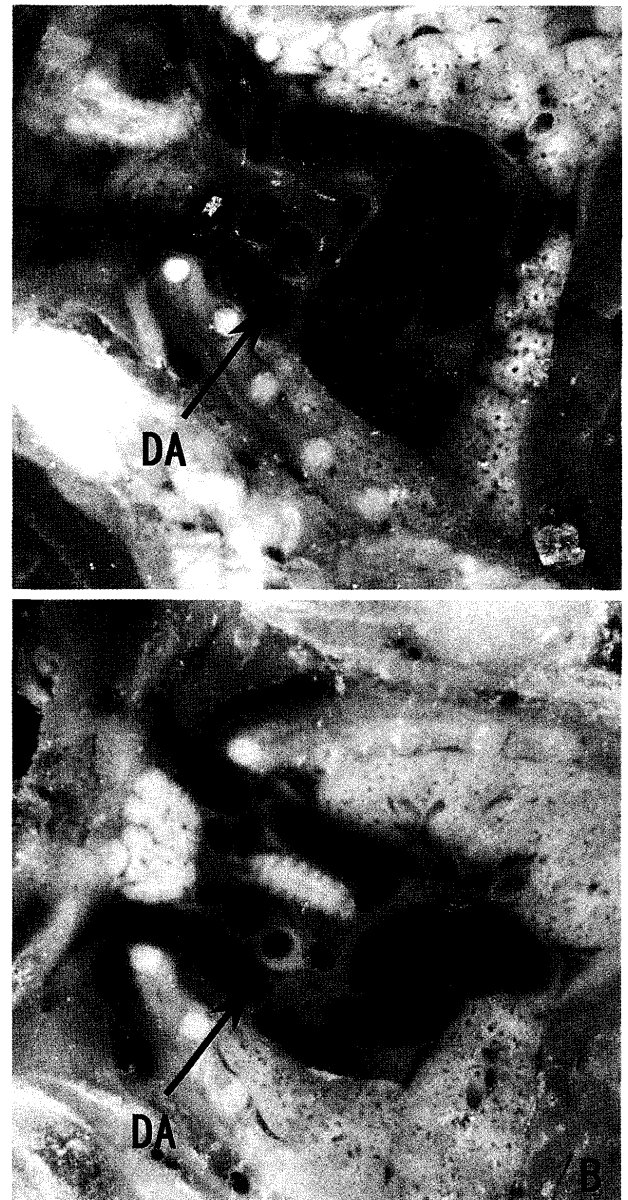


図2 母体へのジクワット投与による胎子動脈管の内径の変化
A: 0.5 mg/kg投与群, B: 2 mg/kg投与群, C: 7 mg/kg投与群. ★: Controlとの間に有意差あり($P \leq 0.05$).



A: 対象群
B: ジクワット7 mg/kg投与後, 3時間目
DA: 動脈管

図3 凍結胎子の動脈管(DA)を示す

考 察

妊娠 21 日のラットにジクワット (0.5, 2 そして 7 mg/kg) を投与し, その胎子動脈管内径の変化を経時的に調べた。

その結果, 0.5 mg/kg 投与群においては, 動脈管の収縮は認められなかった。2 mg/kg 投与群と 7 mg/kg 投与群においては, 投与後 3 時間において最も著し

く収縮し, また, 6 時間においても収縮していたが 3 時間と比べるとその内径は大きくなっており, これは収縮後の再拡張の段階であると思われた。投与後 24 時間において, 対照群との間に有意な差がみられなかったのは, 動脈管は一度収縮した後, 再び徐々に拡張し元の状態まで回復したものと思われた。2 mg/kg 投与群と 7 mg/kg 投与群の動脈管の収縮の程度を比較すると, 7 mg/kg 投与した場合のほうが強く収縮

しており、ジクワットの動脈管収縮作用は用量依存的な作用であった。

また、ジクワットは2 mg/kg という無影響量(ジクワットのラットにおける経口投与LD₅₀は210 mg/kg⁴⁾)に近い低用量で、強い動脈管の収縮作用を示すことが明らかとなった。

以上の結果より、ジクワットは胎生期のラット胎子動脈管を収縮させること、また、その収縮作用は用量依存的な作用であることが示唆された。

結 語

妊娠 21 日の午後 1 時を剖検時間と定め、その 1, 3, 6 および 24 時間前に妊娠ラットにジクワットを 0.5, 2 および 7 mg/kg の用量で皮下投与し、その胎子動脈管の内径を経時的に全身凍結法にて測定した。

0.5 mg/kg 投与群では有意な変化はみられなかったが、2 mg/kg および 7 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。2 mg/kg および 7 mg/kg 投与群でみられた動脈管の収縮を比較すると 7 mg/kg 投与群においてより著しい収縮がみられた。

これらの結果から、ジクワットは妊娠末期のラット胎子の動脈管に対して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が示唆された。

謝 辞

本研究の御指導を賜りました麻布大学獣医学部の政岡俊夫教授に深謝の意を示します。

文 献

- Ahmed, A.A., Soliman, M.M., Khalifa, B.A.A., Eisadek, S.E., and Nounou, A.H. Embryocidal and teratogenic of paraquat of chick embryos and white rats. *Arch. Exper. Vet. Med.* 42: 848-853, 1988.
- Arishima, K., Takizawa, T., Yamamoto, M., Ueda, Y., Kusanagi, M., and Eguchi, Y. Onset of the constrictive effect of indomethacin on the ductus arteriosus in fetal rats. *Acta Anat.* 142: 231-235, 1991.
- Bus, J.S., Aust, S.D. and Gibson, J.E. Lipid peroxidation: A possible mechanism for paraquat toxicity. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 11: 31-38, 1975.
- Clark, D.G. and Hurst, E.W. The toxicity of diquat. *Brit. J. Ind. Med.* 27: 51-55, 1970.
- Clyman, R.I., Manuary, F., Roman, C., and Pudolph, A.M. PGE₂ is a more potent vasodilator of the lamb ductus arteriosus than is either PGI₂ or 6 keto PGF₂. *Prostaglandins.* 16: 259-264, 1978.
- Coceani, F. and Olley, P.M. The response of the ductus arteriosus to prostaglandins. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 51: 220-225, 1973.
- Conning, D.G., Fletcher, K. and Swan, A.A.B. Paraquat and related bipyridyls. *Br. Med. Bull.* 25: 245-249, 1969.
- Desligneres, S. and Larroche, J.C. Ductus arteriosus. I. Anatomical study of its development during the second half of gestation and its closure after birth. II. Histological study of a few cases of patent ductus arteriosus in infancy. *Biol. Neonate.* 16: 278, 1970.
- Heyman, M.A., Rudolph, A.M., and Silverman, M.H. Closure of the ductus arteriosus in premature infants by inhibition of prostaglandin synthesis. *New Engl. J. Med.* 295: 530-533, 1976.
- Höng, S-C.L., and Lewis, I. Inhibition of arachidonic acid release from cells as the biochemical action of anti-inflammatory corticoid. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 73: 1730-1736, 1976.
- Hörblad, P.Y., and Larsson, K.S. Studies on closure of the Ductus arteriosus I. Whole body freezing as improvement of fixation procedure. *Cardiologia.* 51: 231-235, 1967.
- Kantrowitz, F., Robinson, D.R., and McGuire, M.B. Corticosteroids inhibit prostaglandin production by reumatoid synovia. *Nature.* 258: 734-737, 1975.
- Khera, K.S., Whitta, L.K., and Ciegg, D.J. Embryopathic effects of diquat and paraquat on rats. *Ind. Med. Surg.* 37: 257-261, 1968.
- Momma, K., Uemura, S., Nishihara, S., and Ota, Y. Dilation of the ductus arteriosus by prostaglandins and prostaglandins precursors. *Pediatr. Res.* 14: 1074-1077, 1980.
- Selypes, S.S., Nagymajtenyi, L., and Berencsi, G. Mutagenic and embryotoxic effects of paraquat and diquat. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 25: 513-517, 1980.
- Sharpe, G.L., and Larsson, K.S. Studies on closure of the ductus arteriosus. X. In vivo effect of prostaglandin. *Prostaglandins.* 9: 703-719, 1975.
- Walsh, S.Z., Meyer, W.W., and Lind, J. The human fetal and neonatal circulation. Springfield. Thomas. 1975.