

除草剤 Paraquat 中毒 その重篤性と治療薬開発へのアプローチ

赤堀 文昭

麻布大学獣医学部薬理学教室

除草剤パラコート paraquat (PQ) 中毒の重篤な点は、たとえ急性期の死を乗り越えた場合でも、PQ はその後、肺線維症を誘発し、死に至らしめることにある。今日、PQ 製剤の代替剤や剤型の変更など PQ 中毒発症予防の対応がとられたことから、中毒件数は減少したものの未だ毎年 200 名以上の中毒患者を出している。

PQ 中毒の臨床像は特徴的であり、パラコート肺と呼ばれるように出血を伴った一連の肺の変化として観察される。この PQ 急性毒性のメカニズムは細胞内で NADPH 依存性にヒドロキシラジカルが生成され、この活性酸素が脂質過酸化を引き起こし細胞死に繋がるとされている。

PQ 毒性および PQ 中毒の特徴はヒトや動物に対する致命率の高いこと、標的臓器が肺であること（急性毒性の PQ 肺、遅延性毒性の PQ 誘発肺線維症）、PQ 誘発肺線維症発症のメカニズムが解明されていないこと、急性中毒および肺線維症に対する特異的治療薬のないこと、などがあげられる。演者（ら）はさらに PQ 毒性の特徴として、PQ 誘発肺線維症は種差・個体差の大きいことを立証している。

1. パラコート毒性の動物種差と個体差

PQ の毒性機序として脂質過酸化説が受け入れられていることから、私たちは活性酸素のスカベンジャーのひとつである血清セルロプラスミン (Cp) の変動を検討した。その結果、血清 Cp はサル、イヌ、ラットおよびウサギなど動物種を問わず PQ 曝露量の多寡に比例して上昇することを明らかにした。また、

肺胞毛細血管内皮細胞に特異的に存在するアンギオテンシン I 変換酵素 (ACE) は PQ 投与により、イヌでは肺中活性レベルが低下し、血清レベルが上昇するが、ウサギでは血清中のレベルが低下し、PQ 曝露後の ACE 活性の変動には動物種差の存在することを明らかにした。これらのことから、PQ 誘発肺線維症の種差解明の手がかりとして、ACE の生物学的意義の詳細な研究の必要性を示唆した。そこで、ヒトではアンギオテンシン (Ang) II が AT1 受容体の活性化を介して、肺の線維芽細胞増殖を引き起こすことが示唆されていること、また、ブレオマイシン誘発肺線維症の初期段階ではキマーゼ活性の上昇が肺線維化に関与していることも示唆されていることから、ハムスターを用いて PQ 曝露後の肺 ACE および肺キマーゼ活性 (ハムスターでは Ang I から Ang II への変換にヒトと同様、ACE およびキマーゼが関与) の変動を調べた。その結果、急性 PQ 肺および PQ 誘発肺線維症ハムスターでは肺 ACE 活性は低下し、肺キマーゼ活性は有意に上昇することを明らかにした。このことから、少なくともキマーゼ活性の上昇は肺線維化に関与していることを示唆した。

2. PQ 誘発肺線維症発症メカニズム解明へのアプローチ

ヒトでの PQ 誘発肺線維症は致命的経過をとることが知られているが、サルではヒトと同様致命的経過をとる個体と 2 ヶ月の観察期間中生存した個体がみられた。また、ラットでは PQ 誘発肺線維症には個体差の著しいこと、ラットおよびイヌの PQ 誘

発肺線維症ではヒトのような致死的経過をとらないこと、さらにウサギでは他の動物にみられるようなPQ誘発肺線維症のみられないことを証明した。

1) モデル動物の作成

PQ誘発肺線維症を実験動物で作出するのは難しく、私たちはラットにPQ7 mg/kg/dayを7-8日間皮下投与し、2日間連続して体重が減少したとき、PQの投与を中止することで供試ラットの30-50%にPQ誘発肺線維症を起こす方法を確立した。

2) トキシコゲノミクス/トキシコプロテオミクス解析

PQ曝露後、コラゲナーゼインヒビターである $\alpha 2$ -マクログロブリン($\alpha 2M$)の変動が肺線維症を起こすラットと肺線維症のみられないウサギとの間で異なっていたことから、PQ誘発肺線維症の個体差および種差を解明する手がかりとして、ラットおよびウサギの $\alpha 2M$ について調べた。すなわち、マイクロ二次元電気泳動法によりトキシコプロテオミクス解析した結果、ラットでは血漿 $\alpha 2M$ はメジャーな $\alpha 2M-1$ 、 $\alpha 2M-4$ およびマイナーな $\alpha 2M-2$ 、 $\alpha 2M-3$ の4分子種に分類できた。PQ中毒で亜急性死したラットではメジャーな分子種である $\alpha 2M-1$ の増加、PQ誘発肺線維症ラットでは $\alpha 2M-1$ 以外の分子種の減少、また、著明なPQ毒性を示さなかったラットではいずれの $\alpha 2M$ 分子種も対照ラットに較べ相対的に増加していた。ウサギでは血漿 $\alpha 2M$ は $\alpha 2M-1$ 及び $\alpha 2M-1'$ の2分子種に分離でき、PQ曝露後、亜急性死するウサギとPQに抵抗性を示すウサギとの間で各分子種の濃度の変化に差がみられた。

一方、PQ誘発肺線維症ラットでのDNAマイクロアレイ法による遺伝子発現解析(トキシコゲノミクス解析)では、肺線維症を併発する神経線維症I型の原因遺伝子など48種の遺伝子に発現変化のあることを明らかにした。このことから、今後の研究対象となる遺伝子を絞り込むことができ、PQ誘発肺線維症の機序解明や個体差解明の足がかりを築いた。

さらに、PQ曝露により肺線維化に進行するラットでの低分子領域のタンパク質についても検討した結果、 $\alpha 2U$ グロブリン(insulin-like growth factor I: IGF-I 遺伝子と関連のあるタンパク質と考えられている)

が特異的に減少することを確認し、トキシコゲノミクス解析で得られた結果(I: IGF-I 遺伝子の発現減少)と考えあわせ、この研究におけるトキシコゲノミクス/トキシコプロテオミクス解析の有用性が示唆された。

3. パラコートの胎児毒性

母親ラットに投与されたPQは胎児動脈管を著しく収縮することを世界で初めて報告した。このPQによる動脈管収縮には臨界期があり、胎齢19・2/3日以降であることを証明した。また、この作用の強さはPQの用量に依存して認められ、無作用量は2 mg/kg以下であることも報告した。さらに、プロスタグランジン(PG)E2はこの収縮を抑制し、PQの胎児毒性としての動脈管収縮にPGE2が大きく関与していることを示唆した。

4. パラコート中毒治療薬開発へのアプローチ

PQ毒性機序とされている活性酸素による脂質過酸化説から多くの抗酸化薬について治療薬としての有効性を検討してきたが、いずれも無効であった。その中で、taurineを静脈内持続注入すると、PQの血中濃度レベルが比較的高い濃度で持続されることを立証した。このことは、現在PQ中毒の効果的な治療法がないことを考えると、taurine投与により血中PQ濃度を維持させておき、その間に活性炭血液灌流などで血中のPQを除去できれば補助的治療法として推奨できることを示唆するものである。一方、PQ誘発肺線維症における治療薬についてはイヌやラットでの研究結果から、コラーゲン合成酵素プロリルヒドロキシラーゼの阻害作用をもつジドロプロリン(DHP)の投与が、PQによる肺中ジドロキシプロリン量の増加を抑制していたことから、肺線維症に対するDHPの有効性が期待される。

まとめ

本研究の成果はPQ急性中毒およびPQ誘発肺線維症の実態を明らかにし、PQ誘発肺線維症モデル動物を確立して、その薬物治療の端緒を開くことができたことにある。