

論文の内容の要旨

論文題目 カルバメート殺虫剤の非コリン性循環機能不全の機序

氏 名 二 川 治 子

序論

カルバメート殺虫剤は農薬として世界中で使用されている。その薬理作用は害虫のコリンエステラーゼ (ChE) 阻害であり、害虫の神経伝達物質であるアセチルコリンをシナプス間隙に蓄積させ、コリン作動性神経を過剰に興奮させて殺虫効果を発揮する。一方、アセチルコリンはヒトでも中枢及び末梢のコリン作動性神経の伝達物質であることから、カルバメート殺虫剤はヒトに対しても重篤な中毒を発症する危険性を有している。

2-*sec*-butylphenyl methylcarbamate (BPMC) は我が国で開発され、ウンカやヨコバイ類などの水稻害虫に卓効を示すことから、国内では多く使用されているカルバメート殺虫剤である。一方、国外ではあまり使用されていないため、毒性研究の報告は国内のものに限られ、報告数も少ない。このことは、BPMC の中毒処置に関する情報は十分でない可能性を示している。本研究は、BPMC を大量に暴露された場合を想定してウサギに静脈内投与した結果、ChE 阻害以外の作用により急性死を生ずることを明らかにした。そこで、BPMC による急性中毒症の処置法に関する情報を提供するために、急性死の機序を明らかにすることを目的とした。検討においては、代表的な ChE 阻害剤であるフィゾスチグミンを対照として用い、BPMC と類似構造を持つカルバメート殺虫剤 2-isopropoxyphenyl methylcarbamate (PHC) と 2-isopropylphenyl methylcarbamate (MIPC) とも比較した。

本論

1. 中枢及び循環動態に対する作用

フィゾスチグミン、PHC、MIPC、BPMC をウサギに静脈内投与すると、痙攣、縮瞳、流涎などの ChE 阻害剤に特徴的な症状が認められた。また、これらの化合物の致死用量を投与して中枢及び末梢の部位の ChE 活性を測定すると、いずれの部位においても著明な抑制が認められた。しかしながら、これらの異常症状及び ChE 活性の抑制にはカルバメート剤の間で明確な差はみられなかった。次に、無麻酔ウサギにこれらの化合物の致死用量を静脈内投与し、呼吸と血圧のパターンを調べた。フィゾスチグミンと PHC では投与終了後から血圧が上昇し、その後呼吸停止し死亡した。一方、MIPC と BPMC では投与中から急激に血圧が低下し、その後呼吸停止し死亡した。アトロピン (20 $\mu\text{mol/kg}$, *i.v.*) を前処置すると、フィゾスチグミンと PHC でみられた血圧上昇は拮抗されたが、MIPC、BPMC でみられた血圧低下は拮抗されなかった。さらに、フィゾスチグミン、PHC、MIPC による急性死はアトロピン前処置で抑制されたが、BPMC による急性死は抑制されなかった。これらの急性死に対する人工呼吸の影響をハロセン麻酔ウサギを用いて調べると、フィゾスチグミンと PHC による急性死は人工呼吸によって抑制されたが、BPMC による急性死は人工呼吸の影響を受けなかった。さらに、BPMC はノルエピネフリン (NE、3 $\mu\text{g/kg}$) 静脈内投与による昇圧を抑制した。

以上の結果より、ウサギに BPMC の致死用量を静脈内投与すると、症状や ChE 活性の抑制程度に他のカルバメート剤との差はないが、血圧パターンと致死原因が異なることを明らかにした。BPMC の致死原因は ChE 阻害以外の作用による末梢性の循環機能不全である可能性が示唆された。

2. 摘出心筋及び血管平滑筋に対する作用

BPMC による循環機能不全の機序を明らかにするため、摘出心筋及び血管平滑筋に対する作用を検討した。いずれのカルバメート剤も摘出左心室乳頭筋の電気刺激による収縮と摘出大動脈の K^+ (40 mM) 及び NE (1 μM) による持続的収縮を抑制したが、その中でも BPMC は乳頭筋収縮と大動脈 K^+ 収縮を強く抑制した。次に BPMC の摘出大動脈収縮抑制の機序を詳細に検討した。BPMC は NE (1 μM) による収縮よりも K^+ (40 mM) による持続的収縮を強く抑制した。BPMC による K^+ 収縮抑制の程度は、細胞外液の K^+ 濃度を変化させても変わらなかったが、 Ca^{2+} チャンネルアゴニストである *S*(-)-BAY K 8644 (100 nM) を細胞外液に添加することによって弱まった。 K^+ によって増加させた張力と細胞内 Ca^{2+} レベルを同時に測定し、BPMC を適用すると、細胞内 Ca^{2+} レベルは張力に平行して減少した。一方、BPMC は Ca^{2+} -free 溶液中でのカフェイン (20 mM) なら

びに NE (1 μ M) による一過性収縮を抑制しなかった。

以上の結果から、BPMC による循環機能不全の機序として、心筋及び血管平滑筋収縮の抑制が示唆された。さらに、BPMC による血管平滑筋収縮の抑制は L 型 Ca^{2+} チャンネルを介する細胞外からの Ca^{2+} 流入の抑制によることが示唆された。

3. 心筋 L 型 Ca^{2+} チャンネル電流に対する作用

BPMC はモルモットにおいてもウサギと同用量で同様の血圧低下及び急性死を示し、摘出乳頭筋の電気刺激による収縮をウサギと同様に抑制した。そこで、BPMC による Ca^{2+} 流入抑制の機序を明らかにするため、モルモット単離心室筋細胞の L 型 Ca^{2+} チャンネル電流に対する作用をホールセルパッチクランプ法を用いて調べた。BPMC は可逆的かつ濃度に依存して Ca^{2+} チャンネル電流を抑制した。ピーク電流の 50% 抑制濃度は 5.2×10^{-4} M であり、摘出乳頭筋収縮の 50% 抑制濃度 1.3×10^{-4} M に近似していた。また、BPMC はピーク電流を抑制すると共に Ca^{2+} チャンネル電流の減衰速度を著明に促進した。この促進は細胞外液の Ca^{2+} を Ba^{2+} に置換しても認められたため、電位依存性の不活性化過程の促進によると考えられた。これを支持するように、 Ca^{2+} チャンネル電流の不活性化過程を 2 成分にフィッティングすると、BPMC は電位依存性不活性化を反映する遅い成分の不活性化を促進した。このことは、BPMC (3×10^{-4} M) が不活性化曲線を過分極方向に 12.7 mV シフトさせたことから支持された。さらに、BPMC による Ca^{2+} チャンネル電流の不活性化速度の促進は代表的な Ca^{2+} 拮抗薬 (ジルチアゼム、ニフェジピン、ベラパミル) に比べて顕著であった。

以上の結果から、BPMC は心筋の L 型 Ca^{2+} チャンネル電流を抑制することが示唆された。さらに、BPMC は L 型 Ca^{2+} チャンネルの不活性化を著明に促進する特徴を持っていたことから、他の Ca^{2+} 拮抗薬とは異なった機序で Ca^{2+} チャンネルを抑制する可能性が示唆された。

結論

本研究では、カルバメート殺虫剤 BPMC を静脈内投与した時の致死原因とその機序を検討し、以下の結果を得た。

1. BPMC は ChE 阻害以外の作用による末梢性の循環機能不全によって急性死を生じた。
2. BPMC は摘出心筋及び血管平滑筋の収縮を強く抑制した。
3. BPMC による血管平滑筋収縮の抑制は、細胞外からの L 型 Ca^{2+} チャンネルを介する Ca^{2+} 流入抑制による。
4. BPMC は心筋 L 型 Ca^{2+} チャンネル電流を抑制した。

5. BPMC は L 型 Ca^{2+} チャンネルの不活性化を著明に促進する特徴を持っていた。

以上の結果より、BPMC は心筋及び血管平滑筋の L 型 Ca^{2+} チャンネルを抑制することにより、ChE 阻害作用からは予想できない循環機能不全による急性死を生ずることを明らかにした。殺虫剤は散布中の事故や誤飲などによって大量に暴露され、急性中毒症を発症する恐れがあり、本研究によって BPMC の中毒処置には ChE 阻害剤とは異なる処置が必要であることを示した。さらに、BPMC は他の Ca^{2+} 拮抗薬とは異なった機序で L 型 Ca^{2+} チャンネルを抑制する可能性があることから、 Ca^{2+} チャンネル研究に有用なツールとなる可能性が示唆された。