

農薬に含まれる界面活性剤の

循環系に対する毒性の評価

- ラットの摘出心と摘出大動脈を用いた薬理学的検討 -

(課題番号 0 7 6 7 2 4 5 5)

平成 7 年度～平成 8 年度科学研究費補助金 (基盤研究 (C) (2))

研究成果報告書

平成 1 0 年 4 月

研究代表者 小山完二

(筑波大学臨床医学系、救急医学)

はしがき

農薬による中毒は致死率が高く社会的に大きな問題となっている。液状の農薬では標的への展着性や浸透性を高めるために種々の界面活性剤が含まれており、最近では、中毒の病態に対し、主成分の毒性だけではなく界面活性剤の毒性が関与することが指摘されるようになった^{1, 3)}。これまでに我々は、殺菌剤として使用されている農薬（イミノクタジン含有殺菌剤）の主成分と界面活性剤の循環系に対する作用を摘出心筋ならびに摘出動脈を用いて調べ、その農薬の循環系に対する作用が界面活性剤の心抑制作用に強く影響を受けることを明らかにした^{4, 5)}。

界面活性剤の毒性には局所刺激作用、中枢神経抑制作用、溶血作用、循環抑制作用などがあるが、死亡の原因となるのは主として循環抑制作用である⁶⁾。従って、農薬中毒において界面活性剤が病態に関与する場合には、治療の主眼を界面活性剤中毒の治療、すなわち界面活性剤の除去、嚴重な循環動態の監視、適切な薬剤投与による循環不全の改善など、に置かなければならない。しかし農薬中毒における界面活性剤の役割についての研究は始まったばかりであり、中毒の病態に対する界面活性剤の関与の有無、心臓や血管機能に対して与える影響、また主成分と界面活性剤との薬物相互作用は一部を除き明らかにされていない。

我々は、農薬の中毒により引き起こされる循環不全とその農薬中に含まれている界面活性剤との因果関係を明らかにする目的で今回の実験を計画した。この実験は、従来注目されなかった界面活性剤の毒性を明らかにすることが第一の特色であり、また界面活性剤の毒性を、治療の主なターゲットとなる循環系に対する作用に絞って評価を行うことが第二の特色である。これは従来から毒性の指標として用いられてきたLD50が、全身に対する毒性の大まかな指標であったのと大きな違いである。第三の特色は *in vitro* の系の実験結果から心臓と血管に対する作用をそれぞれ別々に評価し、最終的に *in vivo* の系の実験結果を統合して評価を加えることにより、心臓あるいは血管に作用するより適切な治療薬選択が可能となることである。将来的には *in vitro* の系を用い農薬の主成分や界面活性剤の作用

機序を解明することも計画しており、治療に有効な拮抗薬の選択に対しても重要な知見を与える可能性がある。

この研究の成果をもとに農薬中毒に対する治療が適切かつ有効なものになり、農薬中毒の救命率が向上することが大いに期待される。

文献

- 1) 郡司啓文、松本幸夫、藤井真行：界面活性剤中毒の 2 症例．中毒研究 3：245 - 248，1990．
- 2) Sawada Y, Nagai Y, Ueyama M et al: Probable toxicity of surface-active agent in commercial herbicide containing glyphosate. Lancet 8580: 299, 1988.
- 3) Tai T, Yamashita M, and Wakimori H: Hemodynamic effects of roundup, glyphosate and surfactant in dogs. Jpn J Toxicol 3: 63-68, 1990.
- 4) K Koyama, M Yamashita, T Miyachi et al: Mechanisms of hypotension in iminocutadine poisoning: pharmacological analysis in rats. Eur J Pharmacol 270: 151-155, 1994
- 5) K Koyama, K Goto, M Yamashita: Circulatory failure caused by a fungicide containing iminocutadine and a surfactant: a pharmacological analysis in rats. Toxicol Appl Pharmacol 126: 197-201, 1994
- 6) 澤田佑介、山本五十年、上山昌史 他：界面活性剤．救急医学 12：1413 - 1418，1988

研究組織

研究代表者	小山完二	(筑波大学臨床医学系、講師)
研究分担者	粕谷善俊	(筑波大学基礎医学系、講師)
	小山恭子	(筑波大学医学専門学群、研究生)
	後藤勝年	(筑波大学基礎医学系、教授)

研究経費

平成7年度	600	千円
平成8年度	800	千円
平成9年度	700	千円
計	210	千円

研究発表

ア) 学会誌 等

Kanji Koyama, Yoshitoshi Kasuya, Kyoko Koyama, and Katsutoshi Goto: Nitric Oxide Mediated Vasorelaxation Induced by Sodium Polyoxyethylene Lauryl ether Sulfate. Toxicology and Applied Pharmacology 145: 294-300, 1997.

Kanji Koyama, Kyoko Koyama, and Katsutoshi Goto: Cardiovascular Effects of a Herbicide Containing Glufosinate and a Surfactant: In Vitro and In Vivo Analysis in Rats. Toxicology and Applied Pharmacology 145: 409-414, 1997.

イ) 口頭発表

小山完二、粕谷善俊、小山恭子、後藤勝年：界面活性剤による一酸化窒素を介した血管弛緩作用．[若手研究者リーダーの主張] 第 24 回、日本救急医学会総会．1996 年 10 月 8 日（横浜）．

小山完二、小山恭子、後藤勝年：グルホシネート含有除草剤（バスタ液剤）ならびにその成分がラットの摘出心房に及ぼす影響．第 96 回、日本薬理学会関東部会．1997 年 6 月 7 日（東京）．

Kanji Koyama, Yoshitoshi Kasuya, Kyoko Koyama, and Katsutoshi Goto: Nitric Oxide-Mediated Vasorelaxation Induced by Sodium Polyoxyethylene Lauryl ether Sulfate. European Association of Poison Control Centres and Clinical Toxicologist, Scientific Meeting 1997 (Oslo).

小山完二、小山恭子、後藤勝年：バスタ液剤の各成分の心血管系に対する作用。
第25回、日本救急医学会総会。1997年11月26日（新宿）。

ウ）出版物

Kanji Koyama: Agricultural Chemicals. in Oxford Textbook of Critical Care. edited
by Andrew Webb, Marc J Shapiro, Mervyn Singer, Peter Suter. Oxford University
Press. Oxford (1998, in press).

小山完二：グルホシネートを主成分とする除草剤による中毒。
医学のあゆみ 185：192 - 193, 1998。

小山完二：グルホシネートを含有する除草剤による中毒。
今日の治療指針。1999（印刷中）

研究成果

本研究の成果の詳細は参考論文として後に掲げ、はじめに研究結果全体の概要を以下に記載した。

はじめに我々は、多くの農薬中に含まれる非イオン系界面活性剤ポリオキシエチレンアルキルエーテル（A E）の心血管系に対する作用とその機序をラットの *in vitro*, *in vivo* の系において検討した。A Eはクレブスリングル液中に懸垂した摘出大動脈の輪状標本に対し緩徐な収縮作用を及ぼした。この血管収縮作用は α_1 受容体阻害薬（ブナゾシン）、細胞外あるいは細胞内 Ca^{2+} の除去のいずれによっても影響を受けなかったことから、なんらかの形で Ca^{2+} 非依存性の血管収縮作用が絡んでいると考えられた。またA Eはクレブスリングル液中の摘出右心房に対し陰性変時作用を、3.3Hz の電気刺激により収縮させている摘出左心房に対し陰性変力作用を及ぼした。イソプロテレノールや Ca^{2+} による陽性変時変力作用に対してA Eは競合的阻害を示さなかったことから、A Eの陰性変時変力作用は受容体や Ca^{2+} が関与する過程に特異的に影響を与えるものではないことが考えられた。一方、A Eをラットに静脈内投与した場合、用量依存的に心拍数と血圧が同時に低下したことから、A Eの直接作用による循環不全の主な原因は心抑制作用であると考えられた。

以上の結果より、A Eによる循環不全に対しては患者の心機能の低下に注意する必要がある、現在のところ特異的な拮抗薬はなさそうであるが、ドパミンなどのカテコルアミンやジギタリス製剤など心刺激作用や強心作用有する薬物を患者の循環動態に応じて適宜投与することが必要であると考えられた。

次に我々は、除草剤や洗剤によく使われる陰イオン系界面活性剤、ポリオキシエチレンアルキルエーテル硫酸ナトリウム（A E S）について循環系に対する作用を上記と同様な系において検討した。A E Sはラットの摘出大動脈において血管弛緩反応を惹起した。この反応は血管内皮の除去、L-NAME、OxyHb、メチレンブルーの前処置により著しく抑制されたが、インドメタシンの前処置によって

は影響を受けなかった。従って、この弛緩反応は内皮依存性であり、NO-cyclic GMP pathway の賦活によると考えられた。またウシの肺動脈内皮細胞の培養系で、A E S は培養液中の NOx と細胞内 Ca^{2+} の増加をもたらしたことから、A E S が細胞内カルシウムを増加させた結果、NOsynthase を活性化したと考えられた。おそらく A E S はその界面活性作用で内皮細胞の細胞膜の流動性を増加させた結果、細胞外から細胞内への Ca^{2+} の流入をもたらしたのではないかと想像された。(参考論文 1)

また、ラットの摘出右心房と摘出左心房について実験を行なったところ、それぞれ陰性変時作用と陽性変力作用を示した。この結果から、A E S は A E と異なり心刺激作用を有するのではないかと考えられたので、モルモットの摘出心房を用いて同様な検討を行なったところ、明らかな陽性変時変力作用が認められた。

In vivo の系で A E S を静脈内に投与する実験では、少量～中等度の投与量において、心拍数の軽度増加と平均動脈圧の著明な低下が惹起された。しかし大量投与では心拍数と平均動脈圧は共に著明に低下した。これを in vitro の結果と併せて考察するに、少量～中等量の A E S を投与した場合、血管弛緩作用により血圧が低下し、A E S の直接的な変時作用に比べて圧－受容体反射が強い影響を及ぼしたために心拍数が軽度増大したと考えられた。一方、大量の A E S を投与した場合、A E S の血管弛緩作用に直接的な心抑制作用が加わり血圧と心拍数が減少したと考えられた。これらの変化は、ヒトが A E S を高濃度含有する農薬を服毒した際にみられる循環不全が通常、全血管抵抗の低下を呈すること、さらに心拍出量の増大あるいは低下を伴っていることと共通性が認められた。(参考論文 2)

最後に、実際に A E S を含有する農薬 (バスタ液剤 [B S T]) の中毒における A E S の役割を明らかにする目的で研究を行なった。B S T は主成分グルホシネートアンモニウム (G L A) を 18 . 5 %、A E S を 30 %、グリコール類 (G L Y) を 10 % 含有する除草剤である。B S T の服毒中毒は近年、わが国で増加しており、中枢神経症状 (意識レベル低下、痙攣、呼吸停止など) と、末梢血管抵抗の低下を伴う循環不全をきたすことが知られている。In vitro の系では、B S

TとAESは同程度の陽性変力作用を示したが、高濃度では陰性変時変力作用を示した。また、大動脈に対しては弛緩作用を示した。GLAとGLYはなんら作用を持たなかった。In vivoの系で、BSTとAESは同程度の血圧の低下と心拍数の軽度上昇をもたらしたが、大量投与により血圧も心拍数も低下した。GLAとGLYはなんら作用をもたらさなかった。これらの結果から、BSTによる循環系への直接作用の原因は主成分GLやGLYではなくAESによると考えられた。(参考論文2)

補足実験として、ハービー液剤(主成分ピアラホスのほか、AESなどの界面活性剤を含有する除草剤)についてもBSTと同様な実験を行なったところ、BSTと同様に、ハービー液剤の循環系に対する直接作用はその主成分ではなく主にAESによりもたらされることが明らかになった。

以上より、AESや、BSTをはじめとするAESを含有する農薬の循環系に対する直接作用は、主にAESによってもたらされ、その主たる作用は血管弛緩作用であることが明かとなった。従って、これらの界面活性剤による中毒では患者の血行動態を注意深く観察し、必要に応じてフェニレフリンやノルエピネフリン等の血管収縮薬を使用することが治療上重要であると考えられた。また、大量に服毒し、心抑制を呈している症例においてはAEと同様、心刺激薬や強心薬の投与が必要になると考えられた。今後、AESの血管系に対する作用に与えるL-NAMEやメチレンブルーの治療効果をin vivoの系で詳細に検討する予定である。

参考文献 1

Kanji Koyama, Yoshitoshi Kasuya, Kyoko Koyama, and Katsutoshi Goto: Nitric Oxide-Mediated Vasorelaxation Induced by Sodium Polyoxyethylene Laurylether Sulfate. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 145:294-300, 1997.

参考文献 2

Toxicol. Appl. Pharmacol. 145:409-414, 1997.

Cardiovascular Effects of a Herbicide Containig Glufosinate
and a Surfactant: In Vitro and in Vivo Analysis in Rats

Kanji Koyama, Kyoko Koyama, and Katsutoshi Goto