イヌおよびマウスの精巣におよぼすトリメラルセンの影響について

茂木国男* 佐久間是行* 信永利馬* 石田名香雄*

(昭和 54 年 2 月 16 日受理)

Toxic Effect of Trimelarsen on the Testes of Adult Dogs and Mice

KUNIO T. MOGI et al.

(Institute for Experimental Animals, Tohoku University School of Medicine, Sendai 980)

SUMMARY

Trimelarsen (potassium pentyl thiarsaphenylmelamine) was tested for toxicity on adult dogs and mice. A total of 43 mice of the IVCE strain (9-11 weeks old) and 9 dogs (2-3 years old) were injected subcutaneously, intramuscularly or intravenously with 5 or 10 mg/kg/day of trimelarsen in solution for 2 days. They were sacrificed 1, 2, 3 or 4 weeks after injection to prepare histological sections of the testes, which were stained with hematoxylin and eosin.

Degeneration of seminiferous epithelial cells and impediment of spermatogenesis were seen in about 50% of animals sacrificed 2 weeks after injection. No histopathological changes were found in any seminiferous epithelial cell 3 weeks after injection.

These results suggest that trimelarsen may have an undesirable effect on the reproductive function in dogs. It seems advisable to inhibit the clinical use of trimelarsen in dogs for at least 4 weeks before mating.

はじめに

近年、本邦においてイヌ糸状虫(*Dirofilaria immitis*)の抗成虫剤として、砒素化合物であるトリメラルセン Trimelarsen (化学名 Potassium pentyl thiarsaphenylmelamine) が広く用いられている。本剤の毒性については、臨床所見をはじめ血液、尿あるいは肝機能等の検査所見として詳細な報告がある。しかし生殖系系におよぼす本剤の作用に関する報告は調査した範囲ではみられない。著者らは偶然ではあったが、本剤が精巣細胞に対して影響をおよぼすことを知り、臨床応用上若干の不安をともなってきた。すなわち、マウスに本剤を投与して精巣を病理組織学的に検索した結果、精子形成能が低下する事実が確認され、さらに本剤の使用対象動物であるイヌでもほぼ同様の結果が得られた。そこでさらに経日的な検討を加え、その使用法に若干の示唆を与える必要を認めたので報告する。

材料と方法

1) 実験動物：マウスは9～15週齢、平均体重30gのIVCE系、雄、53匹を用いた。イヌは2～3才、体重9～16kgの*Brucella canis* 抗体陰性で*Microfilaria* 陰性の健康な雑種、雄、14頭を用いた。

2) 飼育条件：マウスは船橋農場製固型飼料を、イヌはオリエンタル製固型飼料に北越飼料研究所製ドックミールを添加して、それぞれ十分量を給与し適正な環境下

で飼育した。

3) 薬剤：本実験に供試したトリメラルセンは1バイアル中に200mgを含有するローズ・プーラン社製のTrimelarsanで、砒素実量は32.8mgである。

4) 投与量と投与方法：注射用蒸留水で溶解希釈し、マウスには0.1%溶液として皮下(頸背部)および静脈内(橈側皮静脈)イヌには10%溶液として筋肉(腎筋中央部)および静脈内(橈側皮静脈)にそれぞれ1日1回、2日間連用投与した。マウスおよびイヌを日量5mg/kg(常用量)投与群と、10mg/kg投与群とに分け、対象群としてマウス8匹、イヌ5頭に注射用蒸留水単味をそれぞれ0.3ml、1ml宛皮下注射し、投与後1週間間隔で4週目までを経日的に精巣および精巣上体を摘出し、ただちに中性ホルマリン固定ののち標本作製し、HE重染色を施し病理組織学的に検索した。

5) 判定：精巣および精巣上体の組織標本で異常を示し、とくに精子形成障害の程度によって次の三段階に分類した。すなわち、精上皮細胞の一部に主として空胞変性や核濃縮などの変化がみられ、精上皮層の配列の乱れや成熟精子に分化する前段階の精上皮細胞が遊離してくるなどの退行性変化が若干でも認められ、しかも精巣上体管腔には精子以外の遊離してきた精上皮細胞が生理的範囲を越えて多数存在する個体を+とした(写真1・2)。

精細管において精子が明らかに減少し、多くの精上皮細胞が変性・遊離し、配列もかなり乱れ、造精機能不全の状態を示し、精巣輸尿管および精巣上体管には多量の変性精上皮細胞が少量の精子とともに存在する個体を+

* 東北大学医学部(仙台市星陵町2-1)

写真1 トリメラルセン 10 mg/kg 投与群の2週間目のマウスにおける精巣の組織像で、わずかながら精上皮細胞の変性、配列の乱れ、遊離が認められる。+と判定した例 (HE染色 ×200)

写真2 同上例の精巣上体で、若干の遊離細胞と多量の精子が精巣上体管腔にみられる (HE染色 ×200)

写真3 トリメラルセン 10mg/kg 投与群の1週間目のマウスの精巣で、大部分の精細管において精上皮細胞の変性・遊離がみられる。++と判定した例 (HE染色 ×200)

写真4 同上例の精巣上体で、多量の遊離細胞と少量の精子が同管腔にみられる (HE染色 ×200)

表1 トリメラルセン投与による精上皮細胞変性の程度と発生頻度

実験動物	投与経路	投与から剖検までの期間	対 照			5 mg/kg/day 投与群					10 mg/kg/day 投与群				
			-	+<	比率*	-	+	++	+++	比率*	-	+	++	+++	比率*
マウス	皮下注射	1 (週)	2	0	0/2	3	1	1	1	3/6	3	1	1	0	2/5
		2	2	0	0/2	3	0	3	0	3/6	5	5	0	0	5/10
		3	2	0	0/2	3	0	0	0	0/3	3	0	0	0	0/3
		4	2	0	0/2	3	0	0	0	0/3	3	0	0	0	0/3
	静脈注射	2	2	0	0/2	-	-	-	-	-	2	1	1	0	2/4
	合 計		10	0	0/10	12	1	4	1	6/12	16	7	2	0	9/25
犬	筋肉注射	1	2	0	0/2	-	-	-	-	-	0	0	0	1	1/1
		2	1	0	0/1	0	1	0	1	2/2	0	1	0	0	1/1
		4	1	0	0/1	1	0	0	0	0/1	-	-	-	-	-
	静脈注射	1	1	0	0/1	-	-	-	-	-	1	1	0	0	1/2
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	0	0	1/2
	合 計		5	0	0/5	1	1	0	1	2/3	2	3	0	1	4/6

* 比率：陽性頭数／実験頭数

写真5 トリメラルセン 5 mg/kg 投与群の1週間目のマウスの精巣で、変性して遊離した精上皮細胞で充満した精細管と精子無形成を示している。卍と判定した例 (HE染色 ×200)

写真6 同上例の精巣上体で、同管腔には精子は認められず、変性した遊離上皮細胞のみがみられる (HE染色 ×200)

写真7 トリメラルセン 5 mg/kg 投与群の2週間目のイヌの精巣で、わずかにセルトリー細胞および精原細胞の一部を残し、大部分の精上皮細胞が変性・遊離しており、精子は全くみられない。卍と判定した例 (HE染色 ×100)

写真8 同上例の精巣上体で、遊離細胞のみが充満している (HE染色 ×200)

とした(写真3・4)。また、ほとんどの精細管において管壁にそってセルトリー細胞とわずかの精原細胞を残し、ほとんどの精上皮細胞が変性・遊離しており、精細管腔には変性精上皮細胞が塊りを成し、あるいは空洞化した状態に陥り、精子形成の痕跡すら認めず、さらに精巣上体管には遊離した変性精上皮細胞のみ存在するという精子形成障害の最も強い個体を卍とした(写真5~8)。これら+から卍までをすべて異常な精巣すなわち陽性として判定した。また上記のような異常所見がなく、精子形成が正常な個体を一と判定した。

実験結果

本実験の成績を表1に示した。すなわち最上欄には体重 kg 当たりの投与量を、次の欄には陰性と各陽性段階を示し、あわせて検査頭数に対する陽性頭数の比を示した。また縦には投与経路別と投与日から剖検日までの期間を示し、成績はそれぞれに該当する動物数で示した。こ

の成績から、2週間目までのマウスの集計では50%(15/31)、イヌの集計では75%(6/8)の陽性率であって、1週間目と2週間目における陽性率に有意差(5%水準)はなかった。3週間目および4週間目では例数が少なかったためか陽性をはっきり示す個体は1例もなかった。さらにマウス、イヌともに5 mg/kg 投与群と10 mg/kg 投与群との間に陽性率の有意差(5%水準)がみられなかった。また本剤による精巣への影響は、マウス、イヌの両者とも個体により強く受けた個体から全く表現しなかった個体まで各段階の影響度がみられた。さらに本剤では投与経路間においても陽性率に有意差(5%水準)は認められなかった。一方においてマウスの4週間目の2例に精細管で多核巨細胞の出現を認めた。しかし精子形成能は正常に近い状態を示していた。このように投与群の約半数が本剤の影響を受けていたのに対して対照群には精巣、精巣上体に異常は認められなかった。

考 察

Dirofilaria immitis の抗成虫剤として砒素剤が古くから用いられてきた。すなわち、Dichlorophenarsin hydrochloride にはじまり今日では Arsinobenzamide や Trimelarsen が専ら用いられている。これら砒素剤の毒性に関する文献は数多くみられる。とくにその中で Dichlorophenarsine hydrochloride については大石ら^{5,6)}が、Arsinobenzamide (Thiacetarsamide) については最近 CARLSLE ら²⁾の報告がみられ、さらに Trimelarsen については大石ら⁷⁾、小林ら⁴⁾、岩上ら³⁾が詳細にその毒性について報告している。しかし、いずれも臨床問題となる血液、尿、肝機能等についての検討であり、生殖系とりわけ精巣におよぼす影響に関する文献は著者らの接した著書、雑誌等には見あたらなかった。今回の実験では以上の事実をふまえ、常用量およびその倍量投与による精巣実質の病理組織学的変化を中心に検討を試みた。その結果、程度の差こそあれ少なくとも投与後2週間目までは、精子形成能に影響する精細胞の変性遊離がマウスおよびイヌの50%以上の個体に認められた。しかも常用量でも倍量投与とはほぼ同率に影響を受けたということは、臨床応用上とくに注意を要することである。また今回は3週間以降の例数が少なく、陽性例がみられなかったが、2週間目までは50%以上の陽性率を示したことを考慮するならば、3週間以降においても若干の影響があるものと推察される。さらにマウスの4週間目における2例に多核巨細胞の出現がみられたことは、本剤による影響の回復期にあったものと推測される。このことはすなわち、本剤の影響も投与後4週間以降は個体によって若干の長短はあっても、精子形成能が回復する傾向を示唆している。またこの回復は卅と判定した例においても、精細管の基底膜に接するように存在するセトリ細胞や精原細胞の一部がなお残存していることによるものと考えている。いっぽう、今回の実験とは別にマウスにおける他の系統、すなわちICR系の22匹を用いて6倍量(30mg/kg)の多量をIVCE系の場合と同一条件、方法により投与した結果では全例の精巣に対して陰性であった。このことは明らかにマウスにおいては系統差があることを示唆しており、同様のことはイヌの種類によっても影響の度合に差が存在する可能性を示唆するものと考えられる。なお同時にICR系マウスの体重、精巣、精巣上体、下垂体および前立腺のそれぞれの重量変化について、本剤投与後と無処置対象群について比較検討したが、両者の間にはそれぞれ有意差(5%水準)はみられなかった。以上のことから本剤を種雄のイヌに用いた場合、繁殖成績に影響する可能性を示唆しており、安全域を考え、交配に使用する前に少なくとも約4週間あるいはそれ以上は本剤の投与を見合わせる必要があると考え

られる。ただし、実際問題として本剤投与による死滅虫体が肺動脈栓塞を起こす生体の最も危険な時期が、本剤投与後2~4週間目頃といわれ、同時期はとくに安静を必要とすることを考慮するならば、当然交配を差し控える必要があるということになる。なお最近、砒素が変異原性物質として問題になりつつあるので¹⁾、今後の問題として染色体組換え試験や繁殖試験(受胎能力、催奇形性)についての検討が必要である。

ま と め

マウス(IVCE系)およびイヌ(雑種)にTrimelarsenの常用量(5mg/kg)と倍量(10mg/kg)を投与した結果、投与後2週間目までにマウスで約5%、イヌで75%の個体に精上皮細胞の変性あるいは遊離をともなった精子形成障害がみられた。また本剤による精子形成障害はその程度に個体差がみられた。しかしこの影響も4週間目以降には回復するものと推察された。したがって本剤投与後少なくとも4週間以内には、種雄としての交配は避けることが望ましいと考えられた。

本研究は文部省科学研究補助金特定研究210709により行なった。

[なお本論文の要旨は、昭和53年度日本臨床獣医学会(東北)および第5回毒作用研究会で発表した。]

文 献

- 1) 阿部達生, 森田益次, 川井啓市, 三沢信一, 小川博正: 日衛誌, 33, 121 (1978).
- 2) CARLSLE, C. H., PRESCOTT, C. W., McCOSKER, P. J. and SEAWIGHT, A. A.: *Australian Vet.*, 50, 204~208 (1978).
- 3) 岩上一絃, 大石 勇, 早崎峰夫, 小林茂雄, 久米清治: 日獣会誌, 24, 639~640 (1971).
- 4) 小林茂雄, 大石 勇, 久米清治: 日獣学誌, 31 (学会号) 112 (1969).
- 5) 大石 勇, 中沢浩之, 久米清治: 日獣会誌, 9, 267~271 (1959).
- 6) 大石 勇, 久米清治: 日獣会誌, 9, 422~426 (1956).
- 7) 大石 勇, 小林茂雄, 久米清治: 日獣会誌, 24, 92 (1970).

日 獣 の 図 書 案 内

家畜衛生指導事業研修用テキスト

動物用医薬品の一般知識

A5 62頁 定価200円(〒55円)

農林水産省畜産局 中曾博之著