

〔原著〕 松本歯学 9 : 47~51, 1983

key words: ヒ素化合物 - DMSA - DMPS

ヒ素の急性中毒における解毒剤の効果について

前橋 浩, 山口由理子

松本歯科大学 歯科薬理学教室 (主任 前橋 浩 教授)

Treatment of Arsenic Poisoning with Heavy-Metal Antagonists in Mice

HIROSHI MAEHASHI and YURIKO YAMAGUCHI

Department of Dental Pharmacology, Matsumoto Dental College

(Chief : Prof. H. Maehashi)

Summary

Metal binding agents, 2,3-dimercaptosuccinic acid (DMSA) and 2,3-dimercapto-1-propanesulfonic acid, Na salt (DMPS) were studied on the effectiveness for treatment of arsenic poisoning in mice. All mice which were given a toxic dose of arsenic trioxide (0.2 mmol As/kg, s. c.) survived by the treatment immediately after arsenic, with either one of these two agents (0.4 mmol/kg, i. p.). DMPS showed also the therapeutic effects against the acute poisoning with sodium arsenate and sodium monomethylarsonic acid.

はじめに

ヒ素中毒における解毒剤としては、従来 BAL がもっとも有効な薬剤の一つとして挙げられて来たが⁹⁾、近年 Fig. 1 に示すような構造の DMSA や DMPS が Pb⁷⁾¹⁴⁾、Hg⁵⁾¹²⁾、Ca²⁾¹⁴⁾などの重金属による中毒のほか、As 中毒における解毒剤¹⁾⁶⁾¹⁴⁾としても BAL に劣らぬ効果を示したという報告がなされている。

著者らは、ヒ素化合物の毒性研究の一環として、ヒ素解毒剤による体内ヒ素化合物の代謝に対する影響を調べているが、今回は種々のヒ素化合物に対する DMSA および DMPS の解毒効果をマウスを用いて実験したのでその結果を報告する。

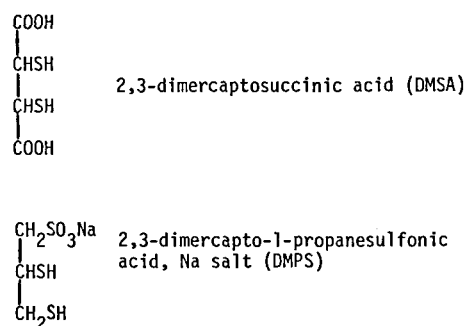


Fig. 1 : Chemical structures of DMSA and DMPS

実験方法

実験動物および飼育方法：実験動物としてマウ

(1983年 5月16日受理)

ス (ddY, 雄, 体重25—30 g, 5—6 週令) を用いた。静岡実験動物農業協同組合より購入した。プラスチックケージにホワイトフレーク (日本チャールス・リバー) を敷きこの中に1群10匹として入れ、室温 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ の飼育室で飼育した。水および飼料 (オリエンタル酵母工業, MF) は自由に摂取させた。

実験薬物：ヒ素化合物として三酸化ヒ素 (As_2O_3 , 半井化学またはメルク), ヒ酸ナトリウム ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 半井化学), モノメチルヒ酸ナトリウム ($\text{Na}_2\text{CH}_3\text{AsO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, P&B), ジメチルヒ酸ナトリウム ($(\text{CH}_3)_2\text{AsO}_2\text{Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 半井化学) を用いた。三酸化ヒ素ははじめに1 N NaOH で溶解したのち, 1N HCl で中性とし, 蒸留水または0.9%食塩水で希釈した。そのほかのヒ素化合物は, そのまま蒸留水または0.9%食塩水に溶解して用いた。

解毒剤として DMSA (2, 3-dimercaptosuccinic acid, 半井化学), DMPS (2, 3-dimercapto-1-propanesulfonic acid. Na salt, シグマ) のほかにチオクト酸 (半井化学) および BAL (dimercaprol 注射液, 100 mg/ml, 第一製薬) を用いた。DMSA は5—10% NaHCO_3 に溶解し, 0.9%食塩水で希釈した。DMPS は0.9%食塩水に溶解した。チオクト酸および BAL の溶媒としては corn oil (半井化学) を用いた。

実験方法：テルモシリンジ (1 ml, ツベルクリン用) を用い, ヒ素化合物は皮下注射によって, 解毒剤は腹腔内注射によって与えた。また, 三酸化ヒ素および DMSA に関する一部の実験では金属製ゾンデによって経口投与を行なった。いずれも投与容量はマウス体重10 g 当り0.1 ml とし, 投与後7—14日間の症状経過を観察し, 死亡率の推

移を記録した。なお, 今回の実験では投与後96時間以後の死亡率に変化を見た例はなかった。LD₅₀ 値および ED₅₀ 値の算出は Litchfield-Wilcoxon 法¹¹⁾によって行なった。

結果および考察

1. ヒ素化合物の急性毒性

解毒剤の作用は, ヒ素化合物の LD₁₀₀ 量を投与した場合に対する効果としてみるために, あらかじめ各ヒ素化合物の急性毒性を調べた。その成績を Table 1 に示した。表の最右欄に示した値が, この実験で求めた LD₁₀₀ 量で, この値を以後の実験に用いた。

2. 三酸化ヒ素に対する解毒剤の効果

三酸化ヒ素の LD₁₀₀ 量を経口投与または皮下注射し, 直ちに各解毒剤の腹腔内注射を行なった場合の結果を Table 2, 3 に示した。表には各投与量における生存率を示した。

Table 2 に示したチオクト酸の例では三酸化ヒ素を経口投与によって与えたのでは, 解毒剤の投与量が多くなり, それ自身の毒性もあらわれて, 救命効果を認めることはできなかった。そこで以後の実験では, ヒ素化合物は全て皮下注射によって与えた。Table 2 によると, DMSA はヒ素と等モルの量の投与で効果が認められ, 2 倍モル投与では90%の救命率となった。Table 3 ではヒ素の皮下注射を行なって, 直ちに解毒剤を腹腔内注射した時の効果を示した。従来から有効とされてきた BAL およびチオクト酸も比較のために行なった。この表によると DMSA および DMPS では2 倍モル投与で100%, BAL では4 倍モル投与で90%の救命率が得られた。これに対し, チオクト酸では50%程度の救命率に止まった。BAL の場合

Table 1 : Acute toxicity of arsenic compounds in mice

Arsenic compounds	p.o. LD ₅₀ mg/kg (95 % confidence limits)	s.c. LD ₅₀ mg/kg (95 % confidence limits)	LD ₁₀₀ mg As/kg
Arsenic trioxide	33 (25 - 44)	12 (10 - 14)	50, p.o. 15, s.c.
Sodium arsenate	-	98 (83 - 116)	36, s.c.
Sodium monomethyl- arsonic acid	-	1,000 (833 - 1,200)	514, s.c.
Sodium dimethyl- arsonic acid	-	2,350 (2,061 - 2,679)	1,400, s.c.

Table 2 : Protection by DMSA and thioctic acid against the lethal dose of arsenic in mice

DMSA (mg/kg)	Survival rate ^{b)}	Thioctic acid (mg/kg)	Survival rate ^{b)}
0	0/10	69	0/10
61	0/10	137 ^{a)}	0/10
121 ^{a)}	3/10	275	0/10
243	9/10		
364	9/10		

DMSA was given i.p. immediately after As₂O₃ (50 mg As/kg)p.o.

a) Mole ratio : Arsenic : DMSA = 1 : 1

b) Number of survived/number of tested

Table 3 : Protection by DMSA, DMPS, BAL and thioctic acid against the lethal does of arsenic administered subcutaneously in mice

DMSA (mg/kg)	Survival rate ^{c)}	DMPS (mg/kg)	Survival rate ^{c)}
0	0/10	25	0/10
18	1/10	33	2/10
36 ^{a)}	5/10	43 ^{a)}	9/10
50	8/10	84 ^{b)}	10/10
73 ^{b)}	10/10		

BAL (mg/kg)	Survival rate ^{c)}	Thioctic acid (mg/kg)	Survival rate ^{c)}
50 ^{b)}	1/10	83 ^{b)}	0/10
74	4/10	124	5/10
99	9/10	165	4/10
124	2/10		

Antidotes were given i.p. immediately after As₂O₃ (15 mg As/kg) s.c.

Mole ratio : Arsenic:antidote=1:1^{a)}1:2^{b)}

c) Number of survived/number of tested.

は投与量が4倍モルを超えるとかえって効果は劣った。BALのLD₅₀値は140 mg/kg (i. m.)⁸⁾であるから、124 mg/kgの投与では毒性があらわれたものとみられる。

Table 3からDMSAのED₅₀値は35 mg/kg (26-46 mg/kg)と算出されるが、DMPSもほぼ同程度の値になると推定される。仮に両者が同じ値を得たとして、DMSAのLD₅₀値は2,474 mg/kg (i. p.), DMPSは1,098 mg/kg (i. p.)と報告¹⁾されているので、これらを用いて治療係数を求めると、DMSAでは71、DMPSでは31となり、Apo-shianら¹⁾の報告した数値(DMSAに対して209-115、DMPSに対して79-86)とは異なるものの、どちらもDMSAの方がDMPSより大きな値となる点で一致している。

Table 4はDMSAの効果が経口投与によって認められることを示したものであるが、この場

Table 4 : Protection by oral administration of DMSA against the lethal dose of arsenic in mice

DMSA (mg/kg)	Survival rate ^{b)}
0	0/10
36 ^{a)}	0/10
73	1/10
146	10/10

DMSA was given p.o. immediately after As₂O₃ (15 mg As/kg) s.c.

a) Mole ratio : Arsenic:DMSA=1:1

b) Number of survived/number of tested.

合は100%の救命効果を得るためには4倍モルの量を要し、腹腔内注射に比べれば大量の投与が必要である。

Table 5, 6は、DMSAによる治療の効果と予防の効果について調べた成績である。Table 5はDMSAを予防的に投与しておき、その後30分、60分、120分後に三酸化ヒ素15 mg As/kgの皮下注射あるいは50 mg As/kgの経口投与を行なった場合の結果を示すが、経口投与の場合は30分で70%、60分で10%の救命効果が得られたのに対し、皮下注射では30分でわずかに10%の救命率が得られたにすぎなかった。これをヒ素投与後にDMSAを投与するという治療の効果と比べると著しく劣る成績であった。すなわち治療的投与実験の場合は、ヒ素の経口投与例では90分後のDMSA投与でも20%の救命率が認められ、ヒ素の皮下注射例では60分後で90%の救命率であった。これらのことはDMSAの体内代謝の速度とも関係するが、DMSAが結合する金属は何も外因性のものばかりとは限らず、内因性の金属、例えば銅ともよく結合するらしく³⁾、このようなことを考えれば、予防的投与よりも治療的投与の方が効果が大きいことが理解される。

3. ヒ酸ナトリウム、モノメチルヒ酸ナトリウムおよびジメチルヒ酸ナトリウムに対するDMSAおよびDMPSの効果

三酸化ヒ素は、生体に投与されると体内でメチル化が行なわれるといわれている¹³⁾。すなわち、投与されたヒ素(As(III))は体内でモノメチルヒ酸となり、更にジメチルヒ酸へ順次メチル化が進行し

Table 5: Prophylactic effects by DMSA in acute arsenic poisoning in mice

Time before arsenic ^{a)}	Survival rate ^{b)}	Time before arsenic ^{c)}	Survival rate ^{b)}
30 min	1/10	30 min	7/10
60	0/10	60	1/10
120	0/10	120	0/10

a) DMSA (109 mg/kg, mole ratio 1:3) was given i.p. before As₂O₃ (15 mg As/kg) s.c.

b) Number of survived/number of tested.

c) DMSA (364 mg/kg, mole ratio 1:3) was given i.p. before As₂O₃ (50 mg As/kg) p.o.

Table 6: Therapeutic effects by DMSA in acute arsenic poisoning in mice

Time after arsenic ^{a)}	Survival rate ^{b)}	Time after arsenic ^{c)}	Survival rate ^{b)}
30 min	10/10	30 min	7/10
60	9/10	60	6/10
120	0/10	90	2/10

a) DMSA (109 mg/kg, mole ratio 1:3) was given i.p. after As₂O₃ (15 mg As/kg) s.c.

b) Number of survived/number of tested.

c) DMSA (364 mg/kg, mole ratio 1:3) was given i.p. after As₂O₃ (50 mg As/kg) p.o.

ていく。海産動植物にはトリメチルヒ素の形態もあることが近年明らかにされている⁴⁾¹⁰⁾。

このようなヒ素のメチル化の意義について最近では、恐らくヒ素の解毒機構の一種なのではないかと理解されるようになって来た。確かに、例えばTable 1に示すように急性毒性はAs(III), As(V), モノメチルヒ酸, ジメチルヒ酸の順で低くなっており, As(III)に比べるとジメチル体の毒性はヒ素に換算して1/90である。ヒ素はメチル化されることによってヒ素本来の毒性が隠蔽されていくとみられるので、解毒剤との反応も、これに相応したものになるはずである。

Table 7は、ヒ酸ナトリウムに対するDMPSの解毒効果を、これまでと同様の方法によって調べた結果を示したものである。DMPSの等モル投与で80%、2倍モル投与で90%、3倍モル投与では100%の救命率が得られ、効果の点では三酸化ヒ素の場合とほぼ同程度であるとみられる。

Table 8はモノメチルヒ酸ナトリウムに対する効果を示すが、毒性は低いのでモル比で投与するとDMPSの投与量は多くなった。しかし1/4倍モルでも90%の救命率が得られた。等モル投与ではかえって効果は低下した。

Table 9はジメチルヒ酸ナトリウムに対して効果があるかどうかをみたものであるが、予想通り有効とする成績は得られなかった。従ってジメチルヒ酸ナトリウムの毒性は極めて低い、その毒性はヒ素としての毒性を示す他の形態のヒ素化合物に代謝されて示されるものではないということがいえよう。

Table 7: Protection by DMPS against the lethal dose of sodium arsenate in mice

DMPS (mg/kg)	Survival rate ^{b)}
0	0/10
51 ^{a)}	0/10
101	8/10
202	9/10
303	10/10

DMPS was given i.p. immediately after sodium arsenate (36 mg As/kg) s.c.

a) Mole ratio: Arsenic: DMPS = 1:1

b) Number of survived/number of tested.

Table 8: Protection by DMPS against the lethal dose of sodium monomethyl arsonic acid in mice

DMPS (mg/kg)	Survival rate ^{b)}
0	0/10
360	9/10
721 ^{a)}	10/10
1,441	2/10

DMPS was given i.p. immediately after sodium monomethyl arsonic acid (514 mg As/kg) s.c.

a) Mole ratio: Arsenic:DMPS=1:1

b) Number of survived/number of tested.

Table 9: Protection by DMSA or DMPS against the lethal dose of sodium dimethylarsinic acid in mice

DMPS (mg/kg)	Survival rate ^{b)}	DMSA (mg/kg)	Survival rate ^{b)}
490	0/10	425	0/10
1,960 ^{a)}	0/10	1,698 ^{a)}	0/10

Antidotes were given i.p. immediately after sodium dimethylarsinic acid (1,400 mg As/kg) s.c.

a) Mole ratio: Arsenic:antidote=2:1

b) Number of survived/number of tested.

以上の通り、DMSA および DMPS はともにヒ素の解毒剤として BAL やチオクト酸をはるかに凌駕する効果を示した。このことは他の報告者の結果と同様であった¹⁶⁾¹⁵⁾。BAL は油剤として用いられ、適用は筋肉内注射によって行なう。大量投与では毒性があらわれるなどの欠点が指摘されてきた⁹⁾。その点、DMSA や DMPS はそれらの欠点がいずれも除かれたものといえよう。臨床応用が期待されるが、そのためには今後はそれらの毒性をさらに検討し、また安価で入手も容易となることも望まれる。

ま と め

DMSA (2, 3-dimercaptosuccinic acid) および DMPS (2,3-dimercapto-1-propanesulfonic acid, Na salt) のヒ素中毒における解毒剤としての効果をマウスを用いて調べた。その結果、三酸化ヒ素の LD₁₀₀ 量である 0.2 mmol As/kg (s. c.) の投与に対して、これらの解毒剤はともに 0.4 mmol/kg (i. p.) の投与によって 100% の救命効果が得られ、比較として行なった BAL およびチオクト酸の効果を凌ぐ成績であった。三価ヒ素 (As(III), arsenic trioxide) の体内代謝物といわれる 5 価ヒ素 (As(V), sodium arsenate) およびメチル化ヒ素のモノメチルヒ酸 (monomethylarsonic acid) に対しても DMPS は解毒効果を示した。

文 献

- 1) Aposhian, H. V., Tadlock, C. H. and Moon, T. E. (1981) Protection of mice against the lethal effects of sodium arsenite-A quantitative comparison of a number of chelating agents. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **61**: 385-392.
- 2) Cantilena, L. R., Jr., and Klassen, C. D. (1981) Comparison of the effectiveness of several chelators after single administration on the toxicity, excretion, and distribution of cadmium. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **58**: 452-460.
- 3) Cantilena, L. R., Jr., and Klassen, C. D. (1982) The effect of chelating agents on the excretion of endogenous metals. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **63**: 344-450.
- 4) Cooney, R. V., Mumma, R. O. and Benson, A. A. (1978) Arsoniumphospholipid in algae. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **75**: 4262-4264.
- 5) Gabard, B. (1976) Treatment of methylmercury poisoning in the rat with sodium 2, 3-dimercaptopropane-1-sulfonate: Influence of dose and mode of administration. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **38**: 415-424.
- 6) Graziano, J. H., Cuccia, D. and Friedheim, E. (1978) The pharmacology of 2, 3-dimercaptosuccinic acid and its potential use in arsenic poisoning. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **207**: 1051-1055.
- 7) Graziano, J. H., Leong, J. K. and Friedheim, E. (1978) 2, 3-dimercaptosuccinic acid: A new agent for the treatment of lead poisoning. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **206**: 696-700.
- 8) 石井俊文 (1959) 水銀中毒に関する研究, 産業医学, **1**: 1-17.
- 9) Klassen, C. D. (1980) Heavy metals and heavy-metal antagonists in Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. 6th ed. 1615-1637. Macmillan, New York.
- 10) Kurosawa, S., Yasuda, K., Taguchi, M., Yamazaki, S., Toda, S., and Fuwa, K. (1980) Identification of arsenobetaine, a water soluble organo-arsenic compound in muscle and liver of a shark, *Prionace glaucus*. *Agric. Biol. Chem.* **44**: 1993-1994.
- 11) Litchfield, J. T. Jr., and Wilcoxon, F. (1949) A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **96**: 99-113.
- 12) Magos, L. (1976) The effects of dimercaptosuccinic acid on the excretion and distribution of mercury in rats and mice treated with mercuric chloride and methylmercury chloride. *Br. J. Pharmac.* **56**: 479-484.
- 13) 前橋 浩 (1981) 金属の生体影響——ヒ素に関連して——. 松本歯学, **7**: 137-180.
- 14) 松田美泰 (1968) Sodium dimercaptosuccinic acid に関する実験的研究, 岐阜大学医学部紀要, **1**: 869-888.
- 15) Tadlock, C. H., and Aposhian, H. V. (1980) Protection of mice against the lethal effects of sodium arsenite by 2, 3-dimercapto-1-propanesulfonic acid and dimercaptosuccinic acid. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **94**: 501-507.