

2,2',3,4,4',5'-六塩素化ビフェニル (CB138) のモ ルモットにおける *in vivo* 代謝

太田, 千穂
Faculty of Nutritional Sciences, Nakamura Gakuen University

原口, 浩一
第一薬科大学分析化学教室

加藤, 善久
徳島文理大学香川薬学部薬物動態学講座

遠藤, 哲也
北海道医療大学薬学部衛生薬学講座

他

<https://doi.org/10.15017/19739>

出版情報 : 福岡醫學雜誌. 102 (4), pp.167-174, 2011-04-25. 福岡医学会
バージョン :
権利関係 :

2,2',3,4,4',5'-六塩素化ビフェニル (CB138) の モルモットにおける *in vivo* 代謝

¹⁾中村学園大学栄養科学部 食品衛生学研究室

²⁾第一薬科大学 分析化学教室

³⁾徳島文理大学香川薬学部 薬物動態学講座

⁴⁾北海道医療大学薬学部 衛生薬学講座

太田千穂¹⁾, 原口浩一²⁾, 加藤善久³⁾,
遠藤哲也⁴⁾, 古賀信幸¹⁾

In Vivo Metabolism of 2,2',3,4,4',5'-Hexachlorobiphenyl (CB138) in Guinea Pigs

Chiho OHTA¹⁾, Koichi HARAGUCHI²⁾, Yoshihisa KATO³⁾, Tetsuya ENDO⁴⁾ and Nobuyuki KOGA¹⁾

¹⁾*Faculty of Nutritional Sciences, Nakamura Gakuen University,
5-7-1 Befu, Johnan-ku, Fukuoka 814-0198*

²⁾*Daiichi College of Pharmaceutical Sciences, 22-1
Tamagawa-cho, Minami-ku, Fukuoka 815-8511*

³⁾*Kagawa School of Pharmaceutical Sciences, Tokushima Bunri
University, 1314-1 Shido, Sanuki, Kagawa 769-2193*

⁴⁾*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Health Sciences University of Hokkaido,
1757 Ishikari-Tobetsu, Hokkaido 061-0293*

Abstract Our preceding studies reported using animal liver microsomes that 2, 2', 3, 4, 4', 5'-hexachlorobiphenyl (hexaCB) (CB138), a worldwide and persistent organohalogen pollutant, was metabolized to two major hydroxy (OH)-metabolites, 3'-OH-CB138 (M-3) and 2'-OH-2, 3, 3', 4, 4', 5'-hexaCB (M-4), and two dechlorinated OH-metabolites (M-1 and M-2) in guinea pigs at much faster rate than in rats and hamsters. In this study, the distribution of four CB138 metabolites to the serum and liver 4 days after exposure and their fecal excretion were studied in guinea pigs administered with CB138 intraperitoneally. 3'-OH-CB138 (M-3) was a major metabolite in the liver, serum and feces. M-1 was observed as a minor metabolite in guinea pig feces. In contrast, trace amount of M-2 was present in guinea pig serum. However, 2'-OH-2, 3, 4, 3', 4', 5'-hexaCB (M-4) which was a major metabolite in the *in vitro* system using guinea pig liver microsomes was not found in all tissues and feces tested in this study. On the other hand, the exact chemical structures of M-1 and M-2 were determined to be 6'-OH-2, 3, 3', 4, 4'-pentaCB and 4'-OH-2, 2', 3, 4, 5'-pentaCB, respectively, by comparison of the retention time and mass fragmentation of the synthetic authentic samples in GC-MS. From these results, it is suggested that the metabolism of CB138 in guinea pigs may proceed by three pathways, a direct hydroxylation at 3'-position, and also the formation of 2', 3'- or 3', 4'-epoxide and subsequent dechlorination and that three metabolites show the different mode of distribution and excretion.

Key words : CB138, Metabolism, Guinea pig, PCB

はじめに

ポリ塩素化ビフェニル (PCB) は、周知の通り、

カネミ油症の原因物質¹⁾であるとともに世界的な環境汚染物質²⁾としても有名である。PCB 異性体のうち、2, 2', 3, 4, 4', 5'-hexachlorobiphenyl

(hexaCB) (CB138) は, 2,2',4,4',5,5'-hexaCB (CB153) や 2,2',3,4,4',5,5'-heptachlorobiphenyl (heptaCB) (CB180) とともに, 生体への残留性が非常に高い PCB 異性体として知られている。例えば, 海棲哺乳動物の血液や脂肪組織³⁾⁴⁾, ヒト母乳⁵⁾⁶⁾, ヒト血液およびヒト脂肪組織^{5)7)~9)}では, CB153 に次いで高濃度で検出される。一方, ヒト血液中では, これらの PCB 異性体とともに, 4-hydroxy (OH)-2,2',3,4',5,5',6-heptaCB (CB187), 4-OH-2,2',3,4',5,5'-hexaCB (CB146), 4-OH-2,3,3',4',5-pentachlorobiphenyl (pentaCB) (CB107) などの PCB 水酸化体が比較的高濃度で検出されている^{10)~14)}。

CB138 の毒性は, 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl (CB77), 3,3',4,4',5-pentaCB (CB126) および 3,3',4,4',5,5'-hexaCB (CB168) などのダイオキシン類 (コプラナー PCB) に比べはるかに弱いため, 世界保健機関 (WHO) がダイオキシン類の毒性の強さを表わすために提唱している毒性等価係数は設定されていない¹⁵⁾。しかしながら, CB138 は, CB153 と同様にチトクロム P450 を含む肝薬物代謝酵素の強い phenobarbital (PB) 型誘導能を有することから¹⁶⁾, 何らかの生体影響が危惧される。

これまでに CB138 代謝に関する報告はほとんどなかったが, CB138 の代謝物と思われる 3'-OH-CB138 がヒト血中や肝中から検出されるに至り^{11)~14)17)}, 少なくとも代謝を受けることが判明した。また, ヒト肝では 3'-OH-CB138 が特異的に高濃度で分布していることが報告された¹⁸⁾。一方, 当研究室では, CB138 の動物肝ミクロゾームによる *in vitro* 代謝を調べ, 1) ラットでは 1 種類, ハムスターでは 3 種類およびモルモットでは 4 種類の代謝物が生成されること, 2) そのうち主代謝物は 3'-OH-CB138 および 2'-OH-2,3,3',4,4',5'-hexaCB (CB157) であること, 3) モルモットが最も高い代謝活性を有すること, 4) 2 種類の一脱塩素化 OH 体 (OH-pentaCB) も生成されること, さらに, 5) これらの生成は PB 前処理により著しく増加することを明らかにした¹⁹⁾。そこで, 本研究では, これまで不明であった 2 種類の OH-pentaCB の化学構造を明らかにするとともに, CB138 代謝物の生体内運命を明らかにするため, 代謝活性が最も強いモル

モットに CB138 を投与し, 投与後 4 日目の代謝物の血液および肝への分布と 4 日間の糞中への排泄を調べた。

実験方法

1. 実験材料

(1) CB138 および代謝物

CB138 は Cadogan の方法²⁰⁾で合成した。まず, 1,2,3-trichlorobenzene および 2,4,5-trichloroaniline を tetrachloroethylene で溶解し, さらに isoamyl nitrite を加えて, 110°C で 24 時間反応させた。反応物はアルミナカラム (100 g, Merck) およびシリカゲルカラム (65 g, Merck) で部分精製した後, 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) に付した。HPLC 条件は次の通りである。カラム, ODS カラム (250 × 20 mm i.d., 5 μm, YMC 製); プレカラム, ODS プレカラム (20 mm i.d. × 50 mm, YMC 製); 移動相, acetonitrile; 流速, 4 ml/min; 検出波長, 254 nm。なお, CB138 の純度は電子捕獲型検出器付ガスクロマトグラフィー (GC-ECD) による検討結果, 最終的に 94.0% 以上であった。

CB138 : MS (EI) *m/z* (relative intensity) 358 (100) [M⁺], 360 (193) [M⁺⁺2], 362 (157) [M⁺+4], 364 (63) [M⁺⁺6], 366 (16) [M⁺⁺8], 323 (32) [M⁺-Cl], 288 (89) [M⁺-Cl₂].

(2) 代謝物の合成

M-1 (メチル化体) の予想代謝物として, 6'-Methoxy (MeO)-2,3,3',4,4'-pentaCB (CB105) を合成する場合, 2,3,4-trichloroaniline と 3,4-dichloroanisole を合成原料として用い, Cadogan の方法²⁰⁾で行った。なお, 3,4-dichloroanisole は, 3,4-dichlorophenol をアルカリ性条件下, dimethyl sulfate の添加によりメチル化したものを用いた。一方, M-2 (メチル化体) の予想代謝物として, 5'-MeO-CB105 を合成する場合, 2,3,4-trichloroaniline と 2,3-dichloroanisole を, また 5'-MeO-2,2',3,4,4'-pentaCB (CB85) を合成する場合, 2,3,4-trichloroaniline と 2,4-dichloroanisole を, さらに 4'-MeO-2,2',3,4,5'-pentaCB (CB87) を合成する場合, 2,3,4-trichloroaniline と 2,5-dichloroanisole を, 合成原料として用いた。得られた MeO 体は CB138 と同様に, アルミナカラムとシリカゲルカラムを用いて部分

精製した後、HPLCにて精製した。

6'-MeO-CB105 : MS(EI) *m/z* (relative intensity) 354 (100) [M^+], 356 (152) [$M^+ + 2$], 358 (100) [$M^+ + 4$], 360 (34) [$M^+ + 6$], 362 (6) [$M^+ + 8$], 304 (97) [$M^+ - CH_3Cl$], 241 (39) [$M^+ - COCH_3Cl_2$].

5'-MeO-CB105 : MS(EI) *m/z* (relative intensity) 354 (100) [M^+], 356 (148) [$M^+ + 2$], 358 (96) [$M^+ + 4$], 360 (33) [$M^+ + 6$], 362 (4) [$M^+ + 8$], 304 (5) [$M^+ - CH_3Cl$], 311 (31) [$M^+ - COCH_3$], 241 (41) [$M^+ - COCH_3Cl_2$].

5'-MeO-CB85 : MS(EI) *m/z* (relative intensity) 354 (100) [M^+], 356 (154) [$M^+ + 2$], 358 (107) [$M^+ + 4$], 360 (32) [$M^+ + 6$], 362 (6) [$M^+ + 8$], 339 (16) [$M^+ - CH_3$], 311 (29) [$M^+ - COCH_3$], 304 (7) [$M^+ - CH_3Cl$], 241 (37) [$M^+ - COCH_3Cl_2$].

4'-MeO-CB87 : MS(EI) *m/z* (relative intensity) 354 (100) [M^+], 356 (138) [$M^+ + 2$], 358 (118) [$M^+ + 4$], 360 (34) [$M^+ + 6$], 362 (4) [$M^+ + 8$], 339 (17) [$M^+ - CH_3$], 311 (35) [$M^+ - COCH_3$], 241 (46) [$M^+ - COCH_3Cl_2$].

2. 動物の薬物処理

代謝実験は、Hartley系雄性モルモット（体重約300~350g）を5匹用いて行った。実験期間中は、床敷き用ケージにて個別に飼育し、飼料RC4（オリエンタル酵母製）を、水とともに自由に摂取させた。実験室は、温度 $23.0 \pm 0.5^\circ C$ 、湿度 $60 \pm 5\%$ に保持し、照明は12時間の暗期/明期サイクル（明期：7:00~19:00）とした。CB138はコーン油に溶解し、モルモット1匹あたり10mgを腹腔内に投与した。投与後、糞を2日間ごとに採取するとともに、4日目には頸動脈より全血液を採取することにより屠殺した。血液は血清分離剤（栄研製）で処理し、血清として得た。また、肝は屠殺後直ちに摘出し、生理食塩水で灌流した後、分析まで $-80^\circ C$ に保管した。なお、これらの動物実験は動物実験研究倫理審査委員会の承認を得た上で、「中村学園大学（含む短期大学部）における実験動物のための指針」を遵守し実施した。

3. 代謝物の抽出

(1) 糞中代謝物

糞は $60^\circ C$ で48時間乾燥後、コーヒーミルで粉

砕した。乾燥糞の粉末10gに内部標準物質として2,2',3,3',4,5,5',6,6'-nonachlorobiphenyl (CB208)を添加後、acetone-*n*-hexane (2:1, v/v)で16時間、ソックスレー抽出器で連続抽出した。次に代謝物をメチル化するため、得られた抽出物をchloroformに溶解した。次に、この20分の1を採り、2M水酸化カリウム水溶液2.5mlで懸濁した後、dimethyl sulfateを0.5ml添加し、 $100^\circ C$ で60分間還流した。その後、chloroformで抽出し、濃縮した後、*n*-hexaneに溶解したものをGCサンプルとした。

(2) 血中代謝物

血清0.5mlにCB208を添加し、0.5M硫酸0.25ml添加して酸性にした後、chloroform-methanol (2:1, v/v) 1mlおよび*n*-hexane 3mlの混合溶媒で3回抽出した。また、抽出物はdiazomethaneでメチル化した。

(3) 肝中代謝物

肝臓1gにCB208を添加して、Potter-Elvehjemホモジナイザーを用いてacetone-*n*-hexane (2:1, v/v) 15mlでホモジナイズした。次に、脱水するため、上清は硫酸ナトリウムカラム(12g)にかけた。また残渣は*n*-hexane 10mlで2回ホモジナイズを繰り返した後、前述の硫酸ナトリウムカラムにかけた。得られた抽出物はdiazomethaneでメチル化した。

4. 分析機器

CB138とその代謝物の分析は、GC-ECDおよび質量分析計付GC (GC-MS)により行った。なお、これらの定量は、CB138の検量線を用いてGC-ECDにより行った。GC-ECDの条件は次の通りである。分析機器、ECD付HP5890 Series IIガスクロマトグラフ (Hewlett-Packard製)；カラム、DB-1フューズドシリカキャピラリーカラム (30 m × 0.25 mm i.d., 0.25 μm膜厚, J&W Scientific製)；オープン温度, $230^\circ C$ ；注入口温度, $250^\circ C$ ；検出器温度, $250^\circ C$ ；キャリアーガス, N_2 (1 ml/min)。一方、代謝物の分子量は、GC-MS 2010 (島津製作所製)を用いて、EIモードで測定した。GC-MS分析条件は次の通りである。カラム、DB-1フューズドシリカキャピラリーカラム (30 m × 0.25 mm i.d., 0.25 μm膜厚, J&W Scientific製)；オープン温度, $70^\circ C$ (1.5 min) -

20°C/min- 230°C (0.5 min) - 4°C/min- 280°C (5 min); 注入口温度, 250°C; 検出器温度, 280°C; キャリアーガス, He (1 ml/min).

実験結果

1. 血中代謝物の検索

CB138 投与後4日目のモルモット血中のCB138 およびその代謝物(メチル化体)のGC-ECDクロマトグラムをFig. 1Aに示す. 未変化体のCB138以外に, 2本の代謝物ピークが, それぞれ保持時間15.1分および18.9分に検出された. これらのピークは, 既報¹⁹⁾の代謝物の保持時間との比較から, それぞれOH-pentaCB (M-2) および3'-OH-CB138 (M-3) のメチル化体であることが確認された.

次に, これらの血中濃度を定量した (Table 1). 定量にはCB138の検量線を用いた. その結果, 未変化体の血中濃度は, 0.25 ± 0.05 nmol/ml serumであった. これに対し, 主代謝物のM-3の血中濃度は, 0.18 ± 0.07 nmol/ml serumであり, 未変化体と同程度が検出された. 一方, M-2の血中濃度は, 0.04 ± 0.01 nmol/ml serumとかなり低かった.

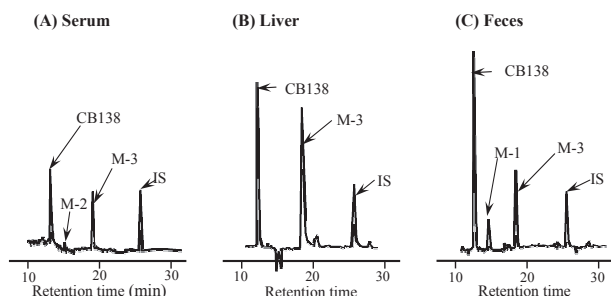


Fig. 1 Gas chromatograms of CB138 and the methylated derivatives of CB138 metabolites detected in the serum (A), liver (B) and feces (C) of guinea pigs injected CB138 intraperitoneally. IS, internal standard (CB208).

Table 1 Distribution of CB138 and its metabolites to the serum and liver 4 days after CB138 injection to guinea pigs

Compound	Serum (nmol/ml serum)	Liver (nmol/g wet wt.)
CB138	0.25 ± 0.05	1.87 ± 0.05
M-1	N.D.	N.D.
M-2	0.04 ± 0.01	N.D.
M-3	0.18 ± 0.07	1.26 ± 0.09
M-4	N.D.	N.D.

N.D., not detected.

Each value represents the mean \pm S.D. of five guinea pigs.

2. 肝中代謝物の検索

CB138 投与後4日目のモルモット肝中のCB138 およびその代謝物(メチル化体)のGC-ECDクロマトグラムをFig. 1Bに示す. CB138以外に, 代謝物として3'-OH-CB138 (M-3) のメチル化体のみが検出された. そこで, 肝中の未変化体およびM-3の定量を試みたところ, 肝中濃度はそれぞれ 1.87 ± 0.35 および 1.26 ± 0.09 nmol/g wet wt.であり, 肝においてもM-3は未変化体に匹敵するほどの高濃度で分布していた (Table 1). なお, モルモット5匹の平均肝湿重量を約17gとして換算すると, 4日目の肝に分布する未変化体とM-3の総量はそれぞれ投与量の0.12%と0.08%に相当していた.

3. 糞中代謝物の検索

Fig. 1Cに, CB138 投与後2日間の糞中の未変化体および代謝物(メチル化体)のGC-ECDクロマトグラムを示す. 未変化体とともに2種類の代謝物ピークが, 保持時間14.9分および18.9分に検出された. なお, これらはGC保持時間から, それぞれ, 既報¹⁹⁾のOH-pentaCB (M-1) および3'-OH-CB138 (M-3) のメチル化体と推定された. 次に, 4日間で糞中へと排泄された未変化体および代謝物 (M-1とM-3)を定量し, 投与後2日間および3~4日間で比較した (Fig. 2).

まず, 未変化体の糞中への総排泄量は, 投与後2日間で76.8 nmol, 3~4日間で31.6 nmolであった. これに対し, M-3の総排泄量は, 投与後2日間で20.8 nmol, 3~4日間で10.0 nmolであった. また, M-1の総排泄量は, 投与後2日間

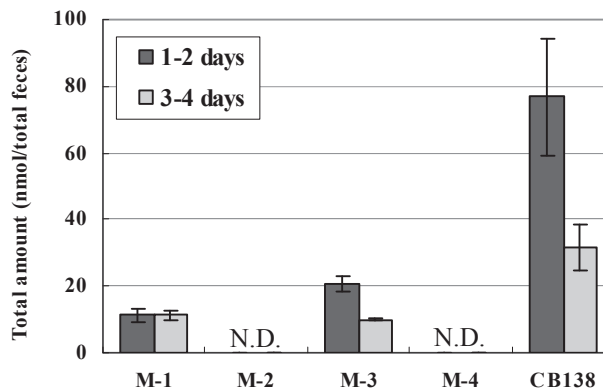


Fig. 2 Fecal excretion of CB138 and its metabolites in guinea pigs injected CB138 intraperitoneally. N.D., not detected.

で 11.3 nmol, 3~4 日間でも 11.3 nmol と変わらなかった。このように, 代謝物 (M-3 および M-1) の排泄量は, 未変化体の半分以下であった。なお, 両代謝物の 4 日間の糞中排泄量は投与量のほんの 0.19% であった (データ未掲載)。

4. 代謝物 M-1 と M-2 の同定

今回 CB138 代謝物として, M-1 および M-2 が微量ながら, それぞれ糞中および血中から検出された。そこで, これらの分子量を確かめるために, 各試料の抽出物を GC-MS に付した。その結果, Table 2 に示すように, M-1 および M-2 のメチル化体はいずれも分子量 354 を有することから, 既報¹⁹⁾と同様に, 塩素が 1 個脱離した MeO-pentaCB であることが確認された。次に, 予想代謝物を合成し, 両代謝物の同定を試みた。

まず, M-1 (メチル化体) のマススペクトルをみると, フラグメントイオン $[M^+ - 50]$ が強く検出されたことから, M-1 (メチル化体) は 2(2')位に, あるいは 6(6')位に MeO 基を有する pentaCB²¹⁾と推定された。そこで, 予想代謝物として 6'-MeO-2,3,4,4',5'-hexaCB (CB105) を合成し, GC-MS での保持時間およびマスフラグメンテーションを M-1 (メチル化体) と比較した結果, いずれも完全に一致した。以上の結果から, M-1 は 6'-OH-CB105 であると決定された。

一方, M-2 (メチル化体) のマススペクトルで

は, 弱いフラグメントイオン $[M^+ - 15]$ とともにフラグメントイオン $[M^+ - 43]$ が比較的強く検出されたことから, 3(3')位あるいは 5(5')位に MeO 基を有する pentaCB²¹⁾と推定された。そこで, 予想代謝物として別途, 5'-MeO-CB105 および 5'-MeO-CB85 を合成し, GC 保持時間を比較した。しかしながら, いずれも M-2 (メチル化体) と保持時間が一致しなかった。次に, 4'-MeO-CB87 を合成し比較したところ, GC-MS での保持時間およびマススペクトルが M-2 (メチル化体) とほぼ完全に一致した。以上の結果から, M-2 は 4'-OH-CB87 であることが明らかになった。

考 察

モルモットによる CB138 の代謝を調べたところ, 肝ミクロゾームを用いた *in vitro* 代謝系とかなり異なる代謝パターンを示すことが明らかとなった。すなわち, *in vitro* 代謝系では 4 種類の代謝物が生成されたが¹⁹⁾, 今回, *in vivo* 代謝系ではそのうちの 3 種類が検出された。主代謝物は 3'-OH-CB138 (M-3) であり, 血液, 肝および糞のすべてから検出された。他に, 微量ではあるが, 2 種類の OH-pentaCB (M-1, M-2) がそれぞれ糞中と血中から検出された。

本研究では, 上記 2 種類の OH-pentaCB の化学構造が明らかとなった。予想代謝物を合成し, GC-MS で比較したところ, M-1 と M-2 はそれ

Table 2 GC-MS data of CB138 metabolites and synthetic authentic samples

Compound	Molecular weight	Mass spectral data				Retention time (min)
		$[M^+]$	$[M^+ - 15]$	$[M^+ - 43]$	$[M^+ - 50]$	
Serum						
M-2	354	100	18	39	-	13.81
M-3	388	100	7	38	10	15.08
Liver						
M-3	388	100	5	34	8	15.08
Feces						
M-1	354	100	-	-	84	13.75
M-3	388	100	5	33	7	15.08
Standards						
6'-MeO-CB105	354	100	-	-	97	13.75
5'-MeO-CB105	354	100	-	31	5	15.17
5'-MeO-CB85	354	100	16	29	7	13.58
4'-MeO-CB87	354	100	17	35	-	13.81
3'-MeO-CB138 (M-3)*	388	100	8	40	-	15.08
2'-MeO-CB157 (M-4)*	388	100	-	-	155	15.23

-, not detected. *cited from the reference¹⁹⁾.

CB85 (2,2',3,4,4'-pentaCB); CB87 (2,2',3,4,5'-pentaCB); CB105 (2,3,3',4,4'-pentaCB); CB138 (2,2',3,4,4',5'-hexaCB); CB157 (2,3,3',4,4',5'-hexaCB).

それぞれ 6'-OH-CB105 と 4'-OH-CB87 であることが示唆された。この事実から、モルモットでは3つの水酸化経路が同時に進行していることが示唆された。Fig. 3 にモルモットにおける CB138 の推定代謝経路を示した。すなわち 3'-OH-CB138 は主として 3' 位の直接水酸化により、また、6'-OH-CB105 (M-1) と 4'-OH-CB87 (M-2) は 2', 3'-epoxide と 3', 4'-epoxide を中間体とし^{22)~24)}、さらに脱塩素化が起こって生成されたものと考えられる。

生成された3種類の代謝物はそれぞれ異なる分布を示した。CB138 投与後4日目では、主代謝物の 3'-OH-CB138 (M-3) は、血中でも検出されたが、肝で特に高濃度分布していた。この結果は、Guvenius ら¹⁸⁾のヒト肝の報告とよく一致したが、本代謝物がなぜ肝に蓄積しやすいかは不明である。さらに、2種類の OH-pentaCB のうち、4'-OH-CB87 (M-2) は微量ながら血中へと分布し、一方、6'-OH-CB105 (M-1) は容易に糞中へと排泄されることが明らかとなった。これまで血中に残留している PCB 代謝物は、共通して 4-OH-3, 5-dichlorobenzene の構造を有しており、血中の甲状腺ホルモン結合タンパク transthyretin と高い親和性を示すことが知られている²⁵⁾。4'-OH-CB87 (M-2) は、この条件を満たしていることから、transthyretin に結合し血中へ残留しているものと推定される。なお、モルモット肝ミクロゾームを用いた *in vitro* 代謝系において主代謝物の1つであった 2'-OH-CB157 (M-4) は、今回の *in vivo* 代謝系では、全く検出されなかった。この理由は不明であるが、今回調べた血液、肝および糞以外に特異的に分布しているのかもしれない。あるいは、代謝物が生体高分子と結合しており、抽出されなかったためかもしれない。この点は今後の研究課題である。

今回、腹腔内投与された CB138 は血液、肝だけではなく、糞中にも高濃度で検出された。腹腔から糞への排泄経路は、2つ考えられる。1つは、腹腔内から、血液、肝、さらに胆汁を介して糞中へ排泄される経路である。この場合、CB138 は脂溶性が高いことから小腸で CB138 のほとんどが再吸収されると思われる。もう1つは、小腸上皮細胞からの排出である。吉村と神村²⁶⁾は、カネミ油症の主たる原因物質の1つである 2, 3, 4, 7,

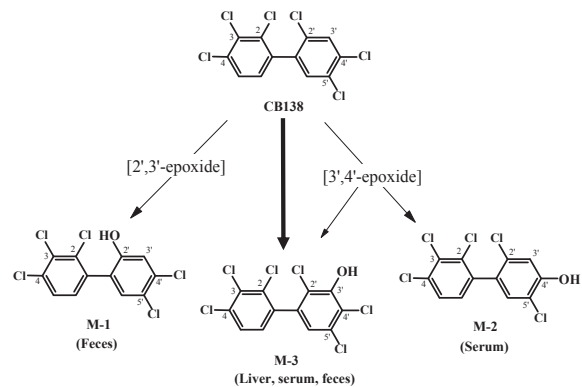


Fig. 3 Postulated metabolic pathways of CB138 in guinea pigs.

8-pentachlorodibenzofuran (pentaCDF) が、ほとんど代謝されることなく、毎日微量ではあるが、胆汁を介さずに、ラット小腸管腔内に排泄されることを報告している。現在、小腸上皮細胞膜に存在するトランスポーターの P 糖タンパク質 (MDR1) が種々の薬物の細胞外への排出を担っていることが知られており²⁷⁾、前述の pentaCDF や本研究の CB138 も MDR1 の基質になっているのかもしれない。

前述のように、ヒト血中では PCB 異性体とともに、代謝物の 4-OH-CB187 や 4-OH-CB146 が検出されている。4-OH-CB146 はヒト血中で2番目に多い PCB 代謝物であるが、もし CB138 が酸化されて、4,5-epoxide 中間体を生成し、さらに 4 位の塩素が 5 位に NIH 転位すると 4-OH-CB146 が生成されることになる²⁸⁾。しかしながら今回、CB138 投与モルモットの血液、肝および糞のいずれからも 4-OH-CB146 は検出されなかったことから、4-OH-CB146 は CB138 からは生成されないことが示唆された。

総括

1. CB138 をモルモットに腹腔内投与し4日目の CB138 代謝物の血液と肝への分布および糞中排泄を調べた。3種類の代謝物 (M-1, M-2, M-3) が検出され、このうち、M-3 (3'-OH-CB138) は血液、肝および糞中のいずれでも最も多く検出された。
2. CB138 投与モルモット血中から、未変化体および 3'-OH-CB138 とともに微量の M-2 が検出された。肝中では未変化体と 3'-OH-CB138 が

高濃度で検出された。

3. CB138 投与後 4 日間のモルモット糞中から、未変化体および 3'-OH-CB138 とともに少量の M-1 が検出された。
4. M-1 および M-2 の予想代謝物を合成し、GC-MS により比較したところ、M-1 と M-2 は、それぞれ 6'-OH-CB105 と 4'-OH-CB87 であることが明らかになった。

以上の結果からモルモットでの CB138 の代謝は 3' 位への直接水酸化が主であること、また、一部は中間体の 2',3'-epoxide と 3',4'-epoxide を経由して脱塩素化が起こること、さらに、これらの代謝物は肝、血液への分布および糞への排泄がそれぞれ異なることが示唆された。

謝 辞

本研究は厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業，H22-食品-指定-001 古賀信幸）および日本学術振興会科学研究費補助金（基盤研究(B)，No. 20404006 原口浩一；基盤研究(C)，No. 20510070 加藤善久）に一部負うものである。ここに記して謝意を表します。

参 考 文 献

- 1) Kuratsune M : Outlines of Yusho, In Kuratsune M, Yoshimura H, Hori Y, Okumura M and Masuda Y (eds.) : Yusho—a human disaster caused by PCBs and related compounds. pp. 1-46, Kyushu University Press Fukuoka, Japan, 1996.
- 2) Ballschmiter K, Rappe C and Buser HR : Chemical properties, analytical methods and environmental levels of PCBs, PCTs, PCNs and PBBs, In Kimbrough RD and Jensen AA (ed) : Halogenated biphenyls, terphenyls, naphthalenes, dibenzodioxins and related products. pp. 47-69, Elsevier, 1989.
- 3) Haraguchi K, Athanasiadou M, Bergman A, Hovander L and Jensen S : PCB and PCB methyl sulfones in selected groups of seals from Swedish waters. *AMBIO* 21 : 546-549, 1992.
- 4) Roots O and Talvari A : Bioaccumulation of toxic chloroorganic compounds and their isomers into the organism of Baltic grey seal. *Chemosphere* 35 : 979-985, 1997.
- 5) 三村敬介, 田村水穂, 原口浩一, 増田義人 : 油症患者母乳及び血液中の全 PCB 異性体の分析. *福岡医誌* 90 : 202-209, 1999.
- 6) Prachar V, Veningerova M, Uhnak J and Kovacicova J : Polychlorinated biphenyls in mother milk and adapted cow's milk. *Chemosphere* 29 : 13-21, 1994.
- 7) Humphrey HE, Gardiner JC, Pandya JR, Sweeney AM, Gasior DM, McCaffrey RJ and Schantz SL : PCB congener profile in the serum of humans consuming Great Lakes fish. *Environ. Health Perspect.* 108 : 167-172, 2000.
- 8) Kannan N, Schulz-Bull DE, Petrick G, Duinker JC, Macht-Hausmann M and Wasserman O : Toxic chlorobiphenyls in adipose tissue and whole blood of an occupationally/accidentally exposed man and the general population. *Arch. Environ. Health* 49 : 375-383, 1994.
- 9) Sonzogni W, Maack L, Gibson T, Degenhardt D, Anderson H and Fiore B : Polychlorinated biphenyl congeners in blood of Wisconsin sport fish consumers. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 20 : 56-60, 1991.
- 10) Bergman Å, Klasson-Wehler E and Kuroki H : Selective retention of hydroxylated PCB metabolites in blood. *Environ. Health Perspect.* 102 : 464-469, 1994.
- 11) Fångström B, Athanasiadou N, Grandjean B, Weihe P and Bergman Å : Hydroxylated PCB metabolites and PCBs in serum from pregnant Faroese women. *Environ. Health Perspect.* 110 : 895-899, 2002.
- 12) Sandau CD, Ayotte P, Dewailly E, Duffe J and Norström RJ : Analysis of hydroxylated metabolites of PCBs (OH-PCBs) and other chlorinated phenolic compounds in whole blood from Canadian Inuit. *Environ. Health Perspect.* 108 : 611-616, 2000.
- 13) Sjödin A, Hagmar L, Klasson-Wegker E, Björk J and Bergman Å : Influence of the consumption of fatty Baltic Sea fish on plasma levels of halogenated environmental contaminants in Latvian and Swedish men. *Environ. Health Perspect.* 108 : 1035-1041, 2000.
- 14) Park JS, Linderholm L, Charles MJ, Athanasiadou M, Petrik J, Kocan A, Drobná B, Trnovec T, Bergman Å and Herts-Piccio I : Polychlorinated biphenyls and their hydroxylated metabolites (OH-PCBs) in pregnant women from eastern Slovakia. *Environ. Health Perspect.* 115 : 20-27, 2007.
- 15) van den Berg M, Birnbaum LS, Denison M, De Vito M, Farland W, Feeley M, Fiedler H, Hakansson H, Hanberg A, Haws L, Rose M, Safe S, Schrenk D, Tohyama, C, Tritscher A, Tuomisto J, Tysklind M, Walker N and Peterson

- RE : The 2005 World Health Organization reevaluation of human and Mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicol. Sci.* 93 : 223-241, 2006.
- 16) Parkinson A, Safe SH, Robertson LW, Thomas PE, Ryan DE, Reik LM and Levin W : Immunochemical quantitation of cytochrome P-450 isozymes and epoxide hydrolase in liver microsomes from polychlorinated or polybrominated biphenyl-treated rats. A study of structure-activity relationships. *J. Biol. Chem.* 258 : 5967-5976, 1983.
- 17) Hovander L, Malmberg T, Athanasiadou M, Athanassiadis I, Rahm S, Bergman Å and Klasson-Wehler E : Identification of hydroxylated PCB metabolites and other phenolic halogenated pollutants in human blood plasma. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 42 : 105-117, 2002.
- 18) Guvenius DM, Hassanzadeh P, Bergman Å and Noren K : Human prenatal and postnatal exposure to polybrominated biphenyl ethers, polychlorinated biphenyls, polychlorobiphenyls, and pentachlorophenol. *Environ. Toxicol. Chem.* 21 : 2264-2269, 2002.
- 19) 古賀信幸, 金丸知代, 大石奈穂子, 加藤善久, 木村良平, 原口浩一, 増田義人 : 2,4,5,2',3',4'-六塩素化ビフェニルの *in vitro* 代謝における動物種差. *福岡医誌* 92 : 167-176, 2001.
- 20) Cadogan JIG : A convenient new method of aromatic arylation. *J. Chem. Soc.* : 4257-4258, 1962.
- 21) Tulp MTM, Olie K and Hutzinger O : Identification of hydroxyhalobiphenyls as their methyl ethers by gas chromatography mass spectrometry. *Biomed. Mass Spectrom.* 4 : 310-316, 1977.
- 22) Ariyoshi N, Koga N, Oguri K and Yoshimura H : Metabolism of 2,4,5,2',4',5'-hexachlorobiphenyl with liver microsomes of phenobarbital-treated dog ; the possible formation of PCB 2,3-arene oxide intermediate. *Xenobiotica* 22 : 1275-1290, 1992.
- 23) Ohta C, Haraguchi K, Kato Y and Koga N : *In vitro* metabolism of 2,2',3,4',5,5',6- heptachlorobiphenyl (CB187) by liver microsomes from rats, hamsters and guinea pigs. *Xenobiotica* 35 : 319-330, 2005.
- 24) 古賀信幸, 吉村英敏 : PCB と関連化学物質の代謝並びに代謝物の毒性. 小栗一太, 赤峰昭文, 古江増隆編 : 油症研究—30年の歩み—, pp. 93-110, 九州大学出版会福岡, 2000.
- 25) Brouwer A, Morse DC, Lans MC, Schuur AG, Murk AJ, Klasson-Wehler E, Bergman Å and Visser TJ : Interactions of persistent environmental organohalogenes with the thyroid hormone system : mechanisms and possible consequences for animal and human health. *Toxicol. Ind. Health* 14 : 59-84, 1998.
- 26) 吉村英敏, 神村英利 : PCB および PCDF の排泄促進 (動物実験). 小栗一太, 赤峰昭文, 古江増隆編 : 油症研究—30年の歩み—, pp. 259-271, 九州大学出版会福岡, 2000.
- 27) Sakaeda T, Nakamura T and Okumura K : MDR1 Genotype-related pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Biol. Pharm. Bull.* 25 : 1391-1400, 2002.
- 28) 古賀信幸, 太田千穂 : 高残留性 PCB の代謝と代謝物の毒性. 古江増隆, 赤峰昭文, 山田英之, 吉村健清編 : 油症研究Ⅱ—治療と研究の最前線—, pp. 200-218, 九州大学出版会福岡, 2010.

(Received for publication March 17, 2011)