

2, 2', 4, 4', 6, 6'-六塩素化ビフェニル (PCB155) の ラット, モルモットおよびヒト肝ミクロゾーム, お よびヒトチトクロムP450による代謝

太田, 千穂
中村学園大学栄養科学部食品学研究室

加藤, 善久
徳島文理大学香川薬学部薬物動態学講座

藤井, 由希子
第一薬科大学分析化学教室

原口, 浩一
第一薬科大学分析化学教室

他

<https://doi.org/10.15017/4483198>

出版情報：福岡醫學雑誌. 112 (2), pp.127-135, 2021-06-25. Fukuoka Medical Association
バージョン：
権利関係：



2,2',4,4',6,6'-六塩素化ビフェニル (PCB155) のラット, モルモット およびヒト肝ミクロゾーム, およびヒトチトクロム P450 による代謝

¹⁾中村学園大学栄養科学部食品学研究室

²⁾徳島文理大学香川薬学部薬物動態学講座

³⁾第一薬科大学分析化学教室

⁴⁾北海道医療大学薬学部実務薬学講座

⁵⁾中村学園大学栄養科学部食品衛生学研究室

太田千穂¹⁾, 加藤善久²⁾, 藤井由希子³⁾, 原口浩一³⁾,
木村 治⁴⁾, 古賀信幸⁵⁾

Metabolism of 2,2',4,4',6,6'-Hexachlorobiphenyl (PCB155) by Rat, Guinea Pig and Human Liver Microsomes and Human Cytochrome P450s

Chiho OHTA¹⁾, Yoshihisa KATO²⁾, Yukiko FUJII³⁾, Koichi HARAGUCHI³⁾,
Osamu KIMURA⁴⁾ and Nobuyuki KOGA⁵⁾

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

²⁾*Kagawa School of Pharmaceutical Sciences, Tokushima Bunri University, 1314-1 Shido,
Sanuki, Kagawa 769-2193*

³⁾*Daiichi College of Pharmaceutical Sciences, 22-1 Tamagawa-cho, Minami-ku,
Fukuoka, 815-8511*

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

Abstract

The *in vitro* metabolism of a 2,4,6-trichloro-substituted PCB, 2,2',4,4',6,6'-hexachlorobiphenyl (PCB155), was studied using rat, guinea pig and human liver microsomes, and human cytochrome P450 (CYP) isoforms. Three kinds of liver microsomes from untreated, phenobarbital (PB)-treated and 3-methylcholanthrene (MC)-treated rats and guinea pigs were also used. In rats, PCB155 was metabolized to M1 by PB-microsomes with a remarkable high rate of 4.554 nmol/hr/mg protein, but not by both untreated microsomes and MC-microsomes. In guinea pigs, both untreated microsomes and MC-microsomes showed the M1-producing activity with rates of 0.056 and 0.060 nmol/hr/mg protein, respectively, and the activity was increased to 3.5-fold of untreated microsomes by PB treatment. GC-MS analysis demonstrated that the methylated M1 had the molecular weight of 388 and almost completely agreed with a synthesized authentic 3-methoxy-PCB155 with regard to the retention times and mass fragmentation. Of four human CYP isoforms, only CYP2B6 showed high activity to form M1 at a rate of 0.702 nmol/hr/nmol CYP. These results suggest that the major metabolite formed by PB-inducible CYP2B enzymes in rats, guinea pigs and human is 3-hydroxy-PCB155, and that CYP2B6 plays the most important role in PCB155 metabolism in human liver.

Key words : PCB155, metabolism, human, cytochrome P450

はじめに

Polychlorinated biphenyls (PCBs) は、周知の通り、代表的な世界的環境汚染物質で高残留性有機汚染物質 (POPs, persistent organic pollutants) として有名である。PCB 異性体は理論的に 209 種類あるが、このうち、塩素数が 5 個以下の多くのものは、肝臓で比較的容易に水酸化され、胆汁を介して糞中へと排出される¹⁾²⁾。一方、塩素数が 6 個以上になると水酸化されにくくなり、結果として長期にわたり体内に残留することになる。これらのうち、特に、2,4,5-三塩素置換あるいは 2,3,4,5-四塩素置換の PCB 異性体は、ヒトの血液、脂肪組織および肝臓において、高濃度で検出されている^{3)~5)}。また、Todaka らは、ヒト健常者と油症患者の血液中 PCB 異性体の濃度を調べ、いずれにおいても 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (hexaCB) (PCB153) が最も多く、次いで 2,2',3,4,4',5,5'-heptachlorobiphenyl (heptaCB) (PCB180) および 2,2',3,4,4',5'-hexaCB (PCB138) が多いこと、また、これらの PCB 異性体は、油症患者では健常者の 1.6~2.2 倍多いこと、さらに、2,2',3,4',5,5',6'-heptaCB (PCB187), 2,2',3,3',4,4',5'-heptaCB (PCB170) および 2,3,3',4,4',5'-hexaCB (PCB156) については、健常者の 2.2~3.9 倍多いことを報告した⁶⁾⁷⁾。

最近、当研究室では、2,4,6-三塩素置換の PCB 異性体である 2,2',3,4,4',5,6'-heptaCB (PCB182) の代謝について、ラットおよびモルモット肝ミクロゾーム (Ms) を用いて調べたところ、いずれの動物肝 Ms も主代謝物として 3'-水酸化 (OH) 体を生成すること、また、ラット肝 Ms に

よる 3'-OH 体の生成活性は、phenobarbital (PB) 前処理により顕著に増加すること、さらに、この活性は、前述の 2,4,5-三塩素置換の heptaCB (PCB187, PCB180, 2,2',3,4,4',5',6'-heptaCB (PCB183)) の場合に比べ、10~50 倍高いことを明らかにした⁸⁾。その後、2,4,6-三塩素置換 PCB 異性体の 2,2',3,4',5,6,6'-heptaCB (PCB188) についても検討し、その結果、PCB182 と同様に、比較的容易に 3'-OH 体へと代謝されること、この生成が PB 前処理により著しく促進されることを明らかにした⁹⁾。ところで、これらの 2,4,6-三塩素置換の PCB 異性体は、ヒト組織中からほとんど検出されていない。恐らく、PB 誘導性のヒト肝 cytochrome P450 (CYP) により高い活性で水酸化され、胆汁中へと排泄されたため、体内に残留していないものと考えられる。

そこで本研究では、この点をさらに確認するため、左右対称で 2 つの 2,4,6-三塩素置換ベンゼンから成る 2,2',4,4',6,6'-hexaCB (PCB155) について、*in vitro* 代謝を調べた。PCB155 の代謝については、これまでに、数報報告されているにすぎない。1975 年 Goto らは、PCB155 投与ラット糞中から主代謝物として、初めて 3-OH 体を同定した¹⁰⁾。1980 年、Matthews らは、PCB155 を含む 4 種類の対称的な PCB 異性体をラットに静注し、血液中および糞中における PCB とその代謝物の動態を比較した。このうち、Fig. 1 に示した PCB153 と PCB155 について見ると、① PCB155 は、高残留性の PCB153 より血中半減期が 3 分の 1 と短いこと、② PCB155 の糞中への排泄量は PCB153 より数倍多いこと、さらに、③ PCB155 および PCB153 はともに 3-OH 体が主代謝物で

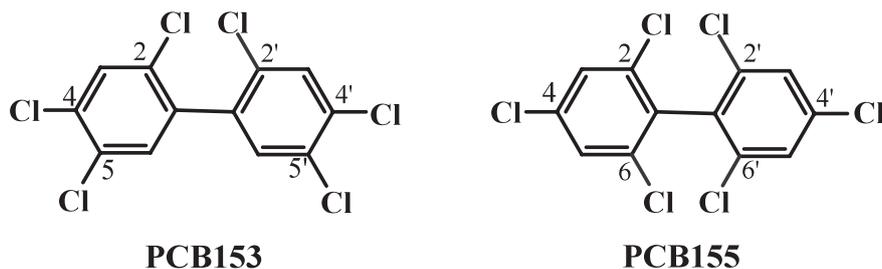


Fig. 1 Chemical structures of PCB153 and PCB155

あるが、その量はそれぞれ投与量の12%および0.3%を占めること、を報告した¹¹⁾¹²⁾。このような背景で、本研究では、ラット、モルモットおよびヒト肝 Ms による *in vitro* 代謝の動物種差を調べるとともに、ヒト CYP 分子種による代謝も検討した。

実験方法

1. 実験材料

(1) 試薬

2,4,6-trichloroiodobenzene, 2,4,6-trichloroaniline, 2,4,6-trichloroanisole, *N,N*-dimethylformamide, tetrachloroethylene および isopentyl nitrite は、東京化成工業（東京）より購入した。また、NADP, glucose-6-phosphate (G-6-P), PB-Na 塩, 3-methylcholanthrene (MC), G-6-P 脱水素酵素 (G-6-PD) および 2-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazine] ethanesulfonic acid (HEPES) は富士フィルム和光純薬（大阪）より購入した。さらに、ウシ血清アルブミンは Sigma-Aldrich 社 (USA) から購入した。

(2) ヒト肝 Ms およびヒト CYP 分子種

ヒト肝 Ms (10 名の男性肝 Ms を混合したもの) およびヒトリンパ芽球様細胞由来の 4 種類のヒト CYP 分子種 (CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP3A4) は、Corning 社 (USA) より購入した。

(3) PCB155 の合成

Ariyoshi らの方法¹³⁾で行った。すなわち、*N,N*-dimethylformamide 50 mL に 2,4,6-trichloroiodobenzene (0.6 g) を溶解し、活性化銅 14 g を入れて 185°C で加熱還流を 4 時間行った。さらに活性化銅を同量追加し、さらに 4 時間加熱を続けた。放冷後、反応液に蒸留水を加え chloroform で抽出し、シリカゲル 60 カラム (70 g, Merck 製) および分取用 HPLC で精製した。HPLC の分析条件は以下の通りである。分析機器、高速液体クロマトグラフ LC-10AT (島津製)；カラム、Inertsil ODS-HL カラム (250 × 10 mm i.d., 5 μm, GL Sciences 製)；ガードカラム、Inertsil ODS-HL プレップガードカートリッジ (30 × 7.6 mm i.d., GL-Sciences 製)；移動相, acetonitrile；流速, 4 mL/min；検出波長, 254 nm。GC-MS の結果、分子量 358 であり、同位体ピークから 6 つの塩素が置換されていることを確認した。収量は 23 mg

で、純度はほぼ 100%であった (データ未掲載)。GC-MS の分析条件は次の通りである。分析機器, GCMS2010 (島津製)；カラム, DB-1 フェ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°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；キャリアーガス, He (1 mL/min)。

PCB155 : MS (EI) *m/z* (relative intensity, %) : 358 (100) [M⁺], 360 (179) [M⁺+2], 362 (147) [M⁺+4], 364 (62) [M⁺+6], 366 (15) [M⁺+8], 288(70) [M⁺-Cl₂].

(4) 代謝物の合成

PCB155 代謝物として、3-OH 体を想定し、そのメチル誘導体 3-methoxy (MeO)-PCB155 の合成を、Cadogan の方法¹⁴⁾で行った。すなわち、2,4,6-trichloroaniline 1.0 g および 2,4,6-trichloroanisole 1.3 g を tetrachloroethylene 10 mL で溶解し、さらに isopentyl nitrite 0.5 mL を加えて、110°C で 24 時間反応させた。反応液は蒸発乾固後、*n*-hexane で溶解し、アルミナカラム (50 g, Merck 製) およびシリカゲル 60 カラムで部分精製し、HPLC にて精製した。得られた予想化合物の分析は、GC-MS にて行った。

3-MeO-PCB155 : MS (EI) *m/z* (relative intensity, %) : 388 (100) [M⁺], 390 (198) [M⁺+2], 392 (153) [M⁺+4], 394 (65) [M⁺+6], 396 (19) [M⁺+8], 373 (59) [M⁺-CH₃], 345 (92) [M⁺-COCH₃], 275 (56) [M⁺-COCH₃Cl₂].

(5) 実験動物と薬物処理

Wistar 系雄性ラット (体重約 200 g) 12 匹、および Hartley 系雄性モルモット (体重約 280 g) を 12 匹用い、1 群 4 匹として、未処理群、PB 前処理群および MC 前処理群の 3 群に分けた。PB-Na 塩は生理食塩水に溶解し 80 mg/kg 体重/day の用量で、また、MC はコーン油に溶解し 20 mg/kg 体重/day の用量で、いずれも 3 日間腹腔内に投与した。最終投与日の翌日に動物を屠殺して、肝を摘出し、常法により肝 Ms を調製した。なお、これらの動物実験は中村学園大学動物実験委員会による審査承認を得た上で、「中村学園大学 (含む短期大学部) 動物実験に関する規定」を遵守し実施した。ラットの屠殺に際しては、「中村学園大学における動物実験のための指針」に従い、苦痛

をできるだけ軽減するため、セボフルランで麻酔後、頸動脈からの脱血により死亡させた。

2. 肝 Ms による代謝

40 μ M PCB155 (Dimethylsulfoxide に溶解) を、NADPH 生成系 (0.33 mM NADP, 5 mM G-6-P, G-6-PD 1 unit), 6 mM MgCl₂, 動物肝 Ms (1 mg protein) および 100 mM HEPES 緩衝液 (pH 7.4) とともに合計 1.0 mL として、37°C で 60 min インキュベート後、反応液に chloroform-methanol (2:1) 1 mL と n-hexane 3 mL を加えボルテックスで振とう抽出した。ヒト肝 Ms の場合、0.5 mg protein を用いて、その他すべてを 1/2 のスケールで行った。抽出は 2 回行い、有機層を合わせて濃縮後、diazomethane でメチル化し、GC-ECD および GC-MS に供した。GC-ECD の分析条件は次の通りである。分析機器、GC-ECD (Agilent 製): カラム, DB-1 フェーズドシリカキャピラリーカラム (30 m \times 0.25 mm i.d., 0.25 μ m 膜厚, J&W Scientific 製); オープン温度, 210°C; 注入口温度, 270°C; キャリアーガス, N₂ (4.6 mL/min)。なお、代謝物の定量は、PCB155 の検量線を用いて行った。

3. ヒト CYP 分子種による代謝

40 μ M PCB155 を、NADPH 生成系 (0.33 mM NADP, 5 mM G-6-P, G-6-PD 1 unit), 6 mM MgCl₂ および 100 mM トリス-塩酸緩衝液 (pH 7.4) とともに合計 0.5 mL になるように、1.5 mL プラスチックチューブの中に入れて 37°C の恒温槽に固定した後、ヒト CYP 分子種 (0.19~0.45 mg protein) の添加により反応を開始した。60 min 後、chloroform-methanol (2:1) 0.5 mL 添加により反応停止後、n-hexane 1.5 ml で抽出した。これを 3 回繰り返した後、有機層 3 回分を減圧濃縮し、diazomethane でメチル化後、GC-ECD に供した。

4. その他

動物肝 Ms のタンパク質の定量は、Lowry らの方法¹⁵⁾ に従って行った。なお、標準タンパク質としてウシ血清アルブミンを用いた。

実験結果

1. PCB155 代謝物の化学構造

まず、PB 前処理ラット肝 Ms により生成された代謝物 M1 (メチル化) の分子量を GC-MS により調べた。Fig. 2 に、分析結果を示した。PCB155 は、保持時間 11.87 min に検出されたが、これ以外に、代謝物と思われる M1 (メチル化) が保持時間 13.38 min に検出された。このピークの分子量は 388 であり、PCB155 の分子量より 30 大きかった。この結果から、M1 (メチル化) は 3-OH 体のメチル誘導体であることが推定された (Fig. 2)。次に、予想代謝物として、別途合成した 3-MeO-PCB155 と比較したところ、両者は GC-MS における保持時間およびマスフラグメントパターンが、いずれもほとんど完全に一致した (Table 1)。

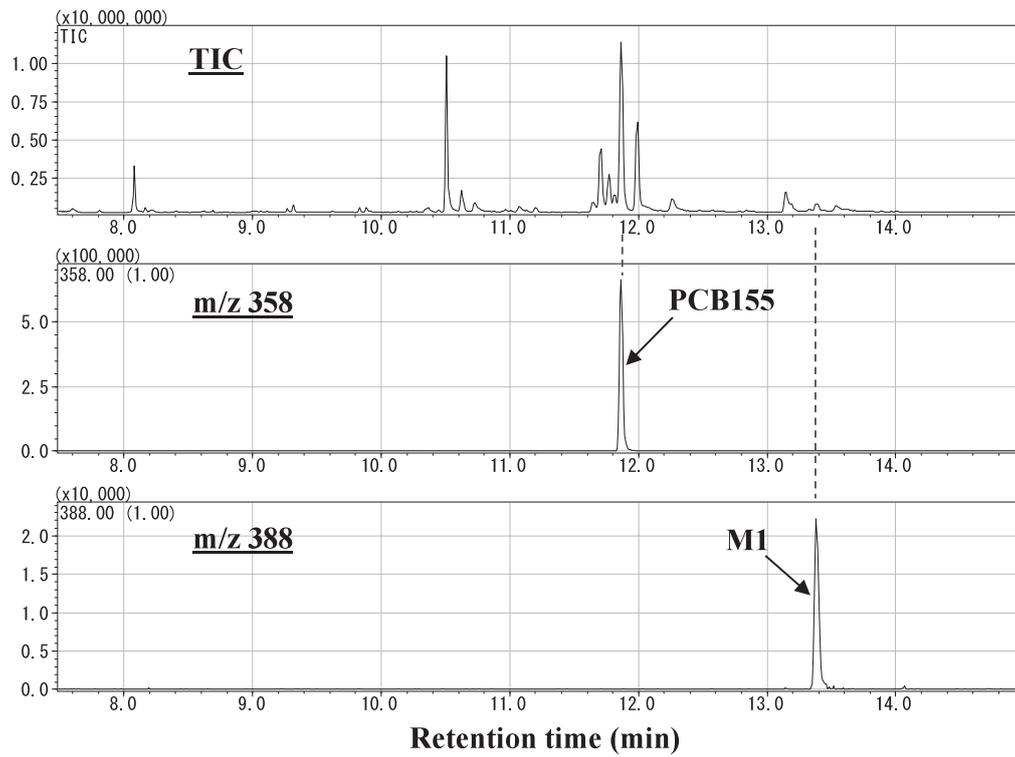
2. ラット、モルモットおよびヒト肝 Ms による PCB155 代謝

PCB155 を、NADPH 存在下、好氣的にラット、モルモットおよびヒト肝 Ms とともに、37°C、60 min 反応させ、代謝物の生成を比較した。なお、ラットとモルモットの場合、未処理動物肝 Ms とともに、CYP 誘導剤を前処理した動物肝 Ms を用いて比較した。M1 の定量は、分析機器として GC-ECD を使用し、PCB155 の検量線から行った (Table 2)。

まず、ラット肝では、PB 前処理 Ms でのみ、保持時間 5.58 min に M1 が検出され、その生成活性は、4.662 nmol/hr/mg protein と非常に高かった。なお、未処理および MC 前処理 Ms では代謝物は全く生成されなかった。次に、モルモット肝では、M1 の生成活性は未処理および MC 前処理 Ms においても検出され、それぞれ 0.056 および 0.060 nmol/hr/mg protein であった。また、ラットと同様に、PB 前処理 Ms で増加したが、未処理 Ms の約 3 倍と低いものであった (0.193 nmol/hr/mg protein)。

一方、ヒト肝 Ms でも、ラットおよびモルモットと全く同じ保持時間に M1 が検出された (Fig. 3)。その生成活性は 0.292 nmol/hr/mg protein であった。この値を、ラットおよびモルモットの未処理 Ms と比較すると、ヒト > モルモット >

(A) Mass chromatograms



(B) Mass spectra of PCB155 and M1

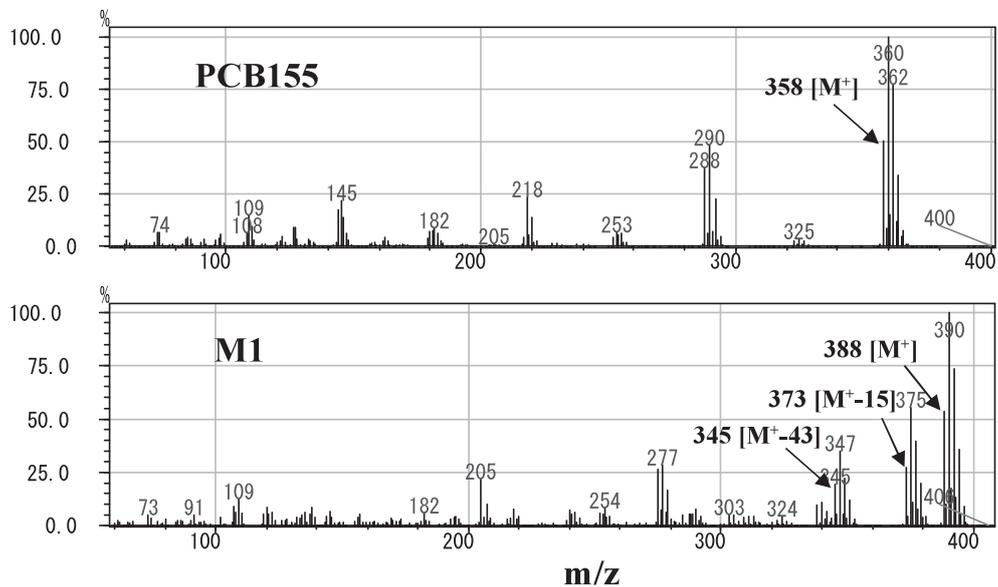


Fig. 2 GC-MS analysis of the methylated derivative of a PCB155 metabolite formed by liver microsomes of PB-treated rats

(A) Mass chromatograms (B) Mass spectra of PCB155 and M1

Table 1 Mass spectral data and retention times of PCB155 and the methylated M1

Compound	Molecular weight	Mass spectral data (Relative abundance, %)						Retention time (min) in GC-MS
		[M ⁺]	[M ⁺ -15]	[M ⁺ -35]	[M ⁺ -43]	[M ⁺ -50]	[M ⁺ -70]	
PCB155	358	100	-	5	-	-	74	11.87
M1	388	100	54	-	35	10	-	13.37
3-MeO-PCB155	388	100	53	-	34	9	-	13.37

-, not detected.

Table 2 Metabolism of PCB155 by liver microsomes of rats and guinea pigs, and human, and the effect of CYP inducers on its metabolism

Animal	M1 formed (nmol/hr/mg protein)		
	Untreated	PB-treated	MC-treated
Rat	N.D.	4.662 ± 0.201	N.D.
Guinea pig	0.056 ± 0.013 (100)	0.193 ± 0.011 (345)	0.060 ± 0.010 (107)
Human *	0.292 ± 0.017		

N.D., not detected.

Each value represents the mean ± S.D. of four rats and guinea pigs.

*The value represents the mean ± S.D. of three determinations.

ラットの順であり、ヒト肝が最も高かった。

3. ヒト CYP 分子種による PCB155 代謝

ヒト CYP 分子種のうち、CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6 および CYP3A4 を用いて、PCB155 代謝を調べた。その結果、CYP1A2, CYP2A6 および CYP3A4 では全く代謝物は見られなかったが、CYP2B6 でのみ、ヒト肝 Ms と全く同じ保持時間に、代謝物 M1 が検出された (Fig. 3)。また、M1 は GC-MS により、3-OH 体であることが確認された。次に、PCB155 の検量線を用いて定量したところ、CYP2B6 は 0.702 nmol/hr/nmol CYP とかなり高い生成活性を示した (Table 3)。

考 察

本研究では、2,4,6-三塩素置換 PCB である PCB155 の *in vitro* 代謝を調べた。その結果、ラット肝 Ms だけではなく、モルモット肝 Ms およびヒト肝 Ms でも、3-OH 体のみが生成された (Table 1, Fig. 4)。しかしながら、各動物間で 3-OH 体の生成パターンは大きく異なっていた。すなわち、ラットでは PB 前処理 Ms でのみ著しく

高い活性を示したが、一方、モルモットでは未処理 Ms でも低いながら活性が見られ、さらに PB 前処理により約 3 倍に増加した。次に、ヒト肝 Ms を未処理と仮定して、ラットおよびモルモットと比較すると、3-OH 体の生成活性は、ヒト > モルモット > ラットの順であった。この事実から、ヒト肝は PCB155 代謝に関して、動物肝より 5 倍以上の高い活性を有していることが示唆された。

PCB の水酸化機構として、2つの経路が考えられている。1つは、PCB 芳香環の C-H 結合に、直接酸素が挿入される経路である。本研究では、ラット、モルモットおよびヒト肝ともに、3-OH 体しか生成されなかったことから、PCB182⁸⁾ や PCB188⁹⁾ と同様に、直接水酸化で進行しているものと考えられる。もう1つは、エポキシド中間体を經由し、塩素原子の NIH 転位を伴い進行する経路である。これまでも、PCB153¹⁶⁾、3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (pentaCB) (PCB126)¹⁷⁾、PCB187¹⁸⁾ など主要な PCB 異性体でも報告されている。例えば、PCB126 投与ラットの糞中から、4'-OH-3,3',4,5,5'-pentaCB が、また、PCB187 代謝では、4'-OH-2,2',3,3',5,5',

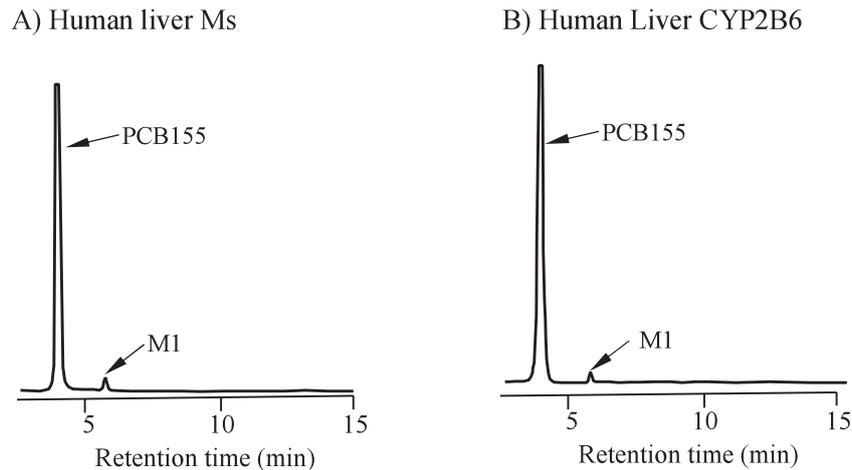


Fig. 3 GC-ECD chromatograms of the methylated derivative of M1 formed by human liver microsomes and by human CYP2B6

Table 3 Metabolism of PCB155 by human CYP isoforms

CYP isoform	M1 formed (nmol/hr/nmol CYP)
CYP1A2	N.D.
CYP2A6	N.D.
CYP2B6	0.702 ± 0.024
CYP3A4	N.D.

N.D., not detected.

Each value represents the mean ± S.D. of three determinations.

6-heptaCB や脱塩素化体の4'-OH-2,2',3,5,5',6-hexaCB が見つかっている。さらに, AriyoshiらはPB前処理イヌ肝 Ms による PCB155 代謝を調べ, 主代謝物の3-OH体以外に, NIH転位の産物と思われる4-OH-2,2',3,4',6,6'-hexaCB や4-OH-2,2',4',6,6'-pentaCBを報告した¹³⁾。この結果は, PB前処理イヌ肝 Msにおいて, 直接水酸化およびepoxide中間体を經由した水酸化を触媒する複数のCYPが存在することを示唆している。

これまでに, PB誘導性CYPとして, CYP2B酵素が知られているが, 今回の結果から, ラットCYP2B1¹⁹⁾ およびモルモットCYP2B18¹⁹⁾²⁰⁾ が PCB155 の3-水酸化に強く関与していることが示唆された。また, 4種類の代表的なヒトCYP分子種(CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP3A4)を用いた検討から, CYP2B6だけが低いPCB155代謝活性を有していた。ヒト肝のCYP2B6含量

は, 総CYP含量のうち, ほんの1%以下であるが²¹⁾, 全CYPが関与する薬物代謝のうち, 約5%に寄与しているといわれる²²⁾。今回の結果から, CYP2B6は多くの薬物代謝反応のうち, PCB異性体のメタ位(3, 3', 5あるいは5'位)水酸化を触媒しており, 結果としてPCB155の体外への排泄促進に大きく寄与していると思われる。一方, CYP3A4およびCYP1A2は, ヒト肝総CYP含量のうち, それぞれ約20%および10%を占めており²¹⁾, 薬物代謝への寄与率の点では, 非常に重要なCYPとして知られている²²⁾。しかし, 両CYPともにPCB155代謝には全く関与していなかった。また, CYP2A6はヒト肝の総CYP含量のうち, 約5%を占めており²¹⁾, PCB異性体の4位水酸化に寄与していることが報告されているが²³⁾²⁴⁾, 今回PCB155代謝では, 代謝活性を示さなかった。

最近, ヒトにおけるPCB代謝研究の1つとし

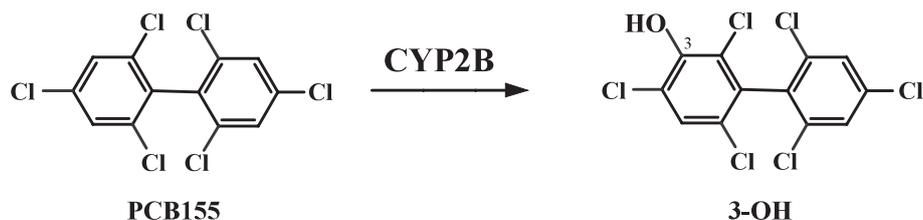


Fig. 4 Postulated metabolic pathway of PCB155 in the liver of rats, guinea pigs and human

て、*in silico* 分析におけるドッキングシミュレーションがヒトの各 CYP 分子種で試みられている²⁴⁾²⁵⁾。その結果、CYP 分子種の活性中心と PCB 水酸化の標的部位との距離が 5Å 以内である場合、その CYP 分子種は、その PCB に対する水酸化活性を示す可能性が高いとされる。現在、5 種類のヒト CYP 分子種 (CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1, CYP2A6, CYP2B6) が、PCB 代謝に関与すると推定されている。ただし、今回検討した PCB155 をはじめとする 2,4,6-三塩素置換 PCB 異性体はいずれも残留性が低いことから、*in silico* 解析はなされていない。今後、*in silico* 法により、2,4,6-三塩素置換 PCB 異性体が、なぜ代謝されやすいかという点が明らかになることを期待している。

総 括

1. 2,4,6-三塩素置換 PCB 異性体の PCB155 について、ラット、モルモットおよびヒト肝 Ms による代謝を調べた。また、4 種類のヒト CYP 分子種による代謝も調べた。
2. ラットでは、未処理および MC 前処理 Ms で代謝物は全く生成されなかったが、PB 前処理 Ms でのみ、代謝物 M1 の顕著な生成が見られた (4.662 nmol/hr/mg protein)。一方、モルモットでは、未処理および MC 前処理 Ms でも M1 が生成されたが、いずれも 0.06 nmol/hr/mg protein と低かった。また、PB 前処理 Ms では未処理 Ms の 3.4 倍に増加した。
3. ヒト肝 Ms でも、M1 のみが生成され、その生成活性はモルモット未処理 Ms の 5.2 倍であった。4 種類のヒト CYP 分子種のうち、CYP2B6 のみが高い M1 生成活性 (0.702 nmol/hr/nmol CYP) を有していた。
4. 主代謝物 M1 は、GC-MS の結果、別途合成し

た標品との比較により、3-OH-PCB155 であることが明らかになった。

以上の結果から、PCB155 は、PB 誘導性の CYP 分子種 (ヒト CYP2B6, モルモット CYP2B18, ラット CYP2B1) により、容易に 3-OH 体へと代謝されることが示唆された。

謝 辞

本研究は厚生労働行政推進調査事業費 (食品の安全確保推進研究事業, H30-食品-指定-005 古賀信幸) の助成を受けたものである。ここに記して謝意を表します。

参 考 文 献

- 1) 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, 2000.
- 2) 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, 2010.
- 3) Sjödin A, Hagmar L, Klasson-Wehler 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.
- 4) Fångström B, Athanasiadou M, Grandjean P, Weihe P and Bergman Å: Hydroxylated PCB metabolites and PCBs in serum from pregnant Faroese women. *Environ. Health Perspect.* 110: 895-899, 2002.
- 5) Park JS, Linderholm L, Charles MJ, Athanasiadou M, Petrik J, Kocan A, Drobná B, Trnovec T, Bergman Å and Hertz-Picciotto I: Polychlorinated biphenyls and their hydroxylated metabolites (OH-PCBs) in pregnant women from eastern Slovakia. *Environ. Health Perspect.*

- pect. 115 : 20-27, 2007.
- 6) Todaka T, Hori T, Hirakawa H, Kajiwara J, Yasutake D, Onozuka D, Iida T and Furue M : Concentrations of polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients over 35 years after the incident. *Chemosphere* 74 : 902-909, 2009.
 - 7) Todaka T, Hori T, Yasutake D, Yoshitomi H, Hirakawa H, Onozuka D, Kajiwara J, Iida T, Yoshimura T and Furue M : Concentrations of polychlorinated biphenyls in blood collected from Yusho patients during medical check-ups performed from 2004 to 2007. *Fukuoka Igaku Zasshi* 100 : 156-165, 2009.
 - 8) 太田千穂, 藤井由希子, 原口浩一, 加藤善久, 木村治, 遠藤哲也, 古賀信幸 : 2,2',3,4,4',5,6'-七塩素化ビフェニル (CB182) のラット, モルモットおよびヒト肝ミクロゾームによる代謝. *福岡医誌* 108 : 51-57, 2017.
 - 9) 太田千穂, 山本健太, 加藤善久, 藤井由希子, 原口浩一, 木村治, 遠藤哲也, 古賀信幸 : 2,2',3,4,5,6,6'-七塩素化ビフェニル (CB188) のラットおよびモルモット肝ミクロゾームによる代謝. *福岡医誌* 110 : 83-90, 2019.
 - 10) Goto M, Hattori M and Sugiura K : Metabolism of pentachloro- and hexachlorobiphenyls in the rat. *Chemosphere* 3 : 177-180, 1975.
 - 11) Kato S, McKinney JD and Matthews HB : Metabolism of symmetrical hexachlorobiphenyl isomers in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 53 : 389-398, 1980.
 - 12) Matthews HB and Tuey DB : The effect of chlorine position on the distribution and excretion of four hexachlorobiphenyl isomers. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 53 : 377-388, 1980.
 - 13) Ariyoshi N, Yoshimura H and Oguri K : Identification of *in vitro* metabolites of 2,4,6,2',4',6'-hexachlorobiphenyl from phenobarbital-treated dog liver microsomes. *Biol. Pharm. Bull.* 16 : 852-857, 1993.
 - 14) Cadogan JIG : A convenient new method of aromatic arylation. *J. Chem. Soc.* : 4257-4258, 1962.
 - 15) Lowry OH, Rosebrough AL, Farr AL and Randall RJ : Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193 : 265-275, 1951.
 - 16) Ariyoshi N, Oguri K, Koga N, Yoshimura H and Funae Y : Metabolism of highly persistent PCB congener, 2,4,5,2',4',5'-hexachlorobiphenyl by human CYP2B6. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 212 : 455-460, 1995.
 - 17) Koga N, Beppu M and Yoshimura H : Metabolism *in vivo* of 3,4,5,3',4'-pentachlorobiphenyl and toxicological assessment of the metabolite in rats. *J. Pharmacobio-Dyn.* 13 : 497-506, 1990.
 - 18) 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.
 - 19) Koga N, Kikuichi N, Kanamaru T, Kuroki H, Matsusue K, Ishida C, Ariyoshi N, Oguri K and Yoshimura H : Metabolism of 2,3',4',5-tetrachlorobiphenyl by cytochrome P450 from rats, guinea pigs and hamsters. *Chemosphere* 37 : 1895-1904, 1998.
 - 20) Koga N, Kanamaru T, Kikuichi N, Oishi N, Kato S and Yoshimura H : Guinea pig liver cytochrome P450 responsible for 3-hydroxylation of 2,5,2',5'-tetrachlorobiphenyl. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 60 : 898-903, 1998.
 - 21) Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, Inui Y and Guengerich FP : Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals : Studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 270 : 414-423, 1994.
 - 22) Rendic, S and Guengerich FP : Survey of human oxidoreductases and cytochrome P450 enzymes involved in the metabolism of xenobiotic and natural chemicals. *Chem. Res. Toxicol.* 28 : 38-42, 2015.
 - 23) McGraw SrJE and Waller DP : Specific human CYP450 isoform metabolism of a pentachlorobiphenyl (PCB-IUPAC#101). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 344 : 129-133, 2006.
 - 24) Shimada T, Kakimoto K, Takenaka S, Koga N, Uehara S, Murayama N, Yamazaki H, Kim D, Guengerich FP and Komori M : Roles of human CYP2A6 and monkey CYP2A24 and 2A26 cytochrome P450 enzymes in the oxidation of 2,5,2',5'-tetrachlorobiphenyl. *Drug Metab. Dispos.* 44 : 1899-1909, 2016.
 - 25) Hirakawa S, Miyawaki T, Hori T, Kajiwara J, Katsuki S, Hirano M, Yoshinouchi Y, Iwata H, Mitoma C and Furue M : Accumulation properties of polychlorinated biphenyl congeners in Yusho patients and prediction of their cytochrome P450-dependent metabolism by *in silico* analysis. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 25 : 16455-16463, 2018.

(Received for publication March 9, 2021)