

チャイニーズハムスター肝ミクロゾームによる Tetrachlorobiphenylの代謝

太田, 千穂
中村学園大学栄養科学部

加藤, 善久
徳島文理大学香川薬学部薬物動態学講座

原口, 浩一
第一薬科大学薬学部

藤井, 由希子
第一薬科大学薬学部

他

<https://doi.org/10.15017/6790831>

出版情報：福岡医学雑誌. 114 (1), pp.31-39, 2023-03-25. Fukuoka Medical Association
バージョン：
権利関係：



原 著

チャイニーズハムスター肝ミクロゾームによる Tetrachlorobiphenyl の代謝

¹⁾中村学園大学栄養科学部
²⁾徳島文理大学香川薬学部薬物動態学講座
³⁾第一薬科大学薬学部
⁴⁾北海道医療大学薬学部病院薬学講座

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

In Vitro Metabolism of Tetrachlorobiphenyls by Chinese Hamster Liver Microsomes

Chiho OHTA¹⁾, Yoshihisa KATO²⁾, Koichi HARAGUCHI³⁾, Yukiko FUJII³⁾,
Osamu KIMURA⁴⁾ and Nobuyuki KOGA¹⁾

¹⁾*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⁾*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Daiichi University of Pharmacy, 22-1
Tamagawa, 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 2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl (TCB) (CB52), 2,3',4',5'-TCB (CB70) and 3,3',4,4'-TCB (CB77) with liver microsomes of Chinese (CH) hamsters was studied and compared with those of Golden Syrian (GS) hamsters. It has been revealed that GS hamster liver microsomes produces two hydroxy (OH)-metabolites each from three TCB isomers and that phenobarbital (PB) pretreatment mainly increased 3-OH-metabolite of CB52 and CB70, whereas 3-methylcholanthrene pretreatment preferentially increased 4-OH-metabolite of CB52, CB70 and CB77. In this study, CH hamster liver microsomes produced only 4-OH-metabolite from both CB52 and CB70 and their metabolic activities were increased to about 4-fold of untreated microsomes by PB pretreatment. However, CH hamster liver microsomes had no activity for CB77. In addition, coumarin 7-hydroxylase activity, a characteristic activity of CYP2A enzymes, was also markedly induced by PB pretreatment. As with the report of Fukuhara and others, immunoblot analysis of CH hamster liver microsomes using anti-CYP2A14 antiserum confirmed that CYP2A14 was constitutive and PB-inducible. From these results, it was suggested that CH hamster is a unique animal different from GS hamster in terms of the mode of TCB metabolism and that CYP2A14 plays a major role as a 4-hydroxylase for CB52 and CB70 in CH hamster liver.

Key words : Chinese hamster ; liver microsomes ; tetrachlorobiphenyl ; metabolism; cytochrome P450 ; CYP2A14

はじめに

Polychlorinated biphenyls (PCBs) は、カネミ油症の原因物質であるとともに、世界的環境汚染物質としても知られているが、脂溶性が極めて高いことから、経口摂取されると、その大部分は小腸から吸収される。その後、肝臓に移行し、ここで主に薬物代謝酵素のチトクロム P450 (CYP) により一酸素原子が添加され、水酸化 (OH) 体に変換される。生成された OH 体の多くは胆汁を介して糞中へと排泄される¹⁾。一方、置換塩素数が 6~7 個以上の PCBs は CYP による代謝を受けにくくなり、血液、脂肪組織および肝臓などに高濃度で残留することになる。

ところで、PCBs の水酸化には、現在、3 つのサブファミリーに属する CYP 分子種が関与していることが明らかになっている²⁾。まず、CYP1A 酵素は、主に coplanar PCB, すなわち 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl (TCB) (CB77)³⁾, 3,3',5,5'-TCB (CB80)⁴⁾, 2,3',4,5'-TCB (CB70)⁵⁾, などの *para* 位の水酸化を触媒する。次に、CYP2B 酵素は、*ortho* 位に塩素原子が 1~4 個置換した PCB, すなわち 2,2',5,5'-TCB (CB52)³⁾⁶⁾, CB70⁵⁾, 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (hexaCB) (CB153)⁷⁾, 2,2',4,4',6,6'-hexaCB (CB155)⁸⁾, などの *meta* (3, 5, 3' あるいは 5') 位の水酸化を触媒する。さらに、CYP2A 酵素は、*meta-para* 位に隣接する 2 つの水素原子が置換している PCB, すなわち CB52⁹⁾¹⁰⁾, CB70⁵⁾, 2,2',4,5,5'-pentachlorobiphenyl (CB101)¹¹⁾, 2,2',3,4,5',6-hexaCB (CB149)¹²⁾, などの *para* (4

あるいは 4') 位の水酸化を特異的に触媒する。

Chinese (CH) ハムスターの卵巣細胞は、バイオ医薬品 (ワクチン、抗体などのタンパク質の医薬品) の製造の際の宿主細胞として、非常に有名である¹³⁾¹⁴⁾。特に、抗体医薬品を製造する場合、約 80% の品目で本細胞が使用されている。これ以外にも、遺伝学、栄養学、毒性スクリーニングおよび遺伝子や組換えタンパク質の発現などの研究においても、広く用いられている。しかしながら、ラットやマウスに比べ、CH ハムスターの薬物代謝酵素に関する報告はほとんど見当たらない。Fukuhara らは、Golden Syrian (GS) ハムスターおよび CH ハムスターの肝薬物代謝酵素につき、系統差を調べている過程で、phenobarbital (PB) や 3-methylcholanthrene (MC) などの CYP 誘導剤に対する反応性が、両ハムスターで大きく異なることを見出した^{15)~20)}。すなわち、発がん物質 aflatoxin B₁ の代謝活性化や 7-ethoxycoumarin O-脱エチル化活性を調べると、GS ハムスターでは MC 前処理により顕著に促進されるのに対し、CH ハムスターでは PB 前処理により促進されることを報告した。その後、彼らは CH ハムスター肝から、主要な PB 誘導性の CYP 分子種を精製し、本酵素 (CYP2A14 と命名) が CYP2A 酵素の特徴である coumarin 7-水酸化活性²¹⁾ を有すること、また、前述の aflatoxin B₁ の代謝活性化や 7-ethoxycoumarin O-脱エチル化活性に強く関与することを明らかにした²²⁾。

我々はこれまでに、TCB 異性体、すなわち CB52, CB70, CB77, CB80 につき、GS ハムスター肝ミクロゾーム (Ms) による代謝を調べ、

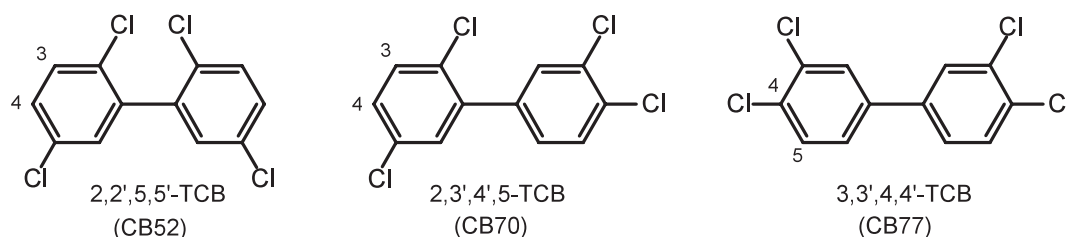


Fig. 1 Chemical structures of CB52, CB70 and CB77 used in this study.

CB52 および CB70 は、PB 誘導性の CYP2B 酵素により 3-OH 体へ、CB70、CB77 および CB80 は、MC 誘導性の CYP1A2 および CYP2A8 によって 4-OH 体へと代謝されることを報告した⁶⁾⁹⁾²³⁾。そこで本研究では、CB52、CB70 および CB77 につき、CH ハムスター肝 Ms による代謝を調べ、既報の GS ハムスターと比較した (Fig. 1)。CH ハムスター肝 Ms として、未処理 Ms とともに、PB および MC で前処理した肝 Ms を用いた。

実験方法

1. 実験材料

(1) TCB および代謝物

CB52 と CB70 は Hutzinger らの方法²⁴⁾ に従い、また、4-OH-CB52 は既報²³⁾ に従い合成した。3-OH-CB52 は吉村らの方法²⁵⁾、すなわち、CB52 (200 mg/kg) をラットに単回腹腔内投与した後、ラット糞から精製した。3-OH-CB70 と 4-OH-CB70 の合成は既報²⁶⁾ に従い行った。CB77 は Nakatsu らの方法²⁷⁾ により、5-OH-CB77 および 4-OH-3,5,3',4'-TCB (CB78) は、既報²⁸⁾ に従い、合成した。

(2) その他の試薬

PB (Na 塩) および MC は和光純薬株式会社 (大阪) から購入した。Glucose-6-phosphate (G-6-P) および NADP⁺ はオリエンタル酵母株式会社 (東京) より、また、7-ethoxyresorufin (7-ER)、resorufin、coumarin、7-hydroxycoumarin および、G-6-P 脱水素酵素は Sigma Chemical Co. (St. Louis, USA) より購入した。トリメチルシリル (TMS) 化剤の *N,O*-Bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide はジエールサイエンス株式会社より購入した。その他の試薬は最も高い純度のものを用いた。

(3) 抗体

抗 CYP2A14 抗血清は、福原守男博士 (国立健康・栄養研究所) から供与された。抗ラット CYP2A2 抗血清は、第一化学薬品株式会社 (東京) から購入した。また、抗ラット CYP1A1 抗血清は既報⁴⁾ に従い、調製した。

(4) 実験動物の薬物処理

雄性の CH ハムスター (体重約 20 g) を、それぞれ未処理群、PB 前処理群および MC 前処理群の 3 群に分け、1 群 3 匹とした。PB-Na 塩は生理食塩水に溶解し 80 mg/kg/day の用量で、一方、

MC はコーン油に溶解し 20 mg/kg/day の用量で、いずれも 2 日間腹腔内に投与した。最終投与日の翌日に CH ハムスターを屠殺して、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の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。

2. 肝 Ms による TCB 代謝

CH ハムスター肝 Ms による TCB の代謝は既報⁵⁾ に準じて行った。すなわち、40 μ M TCB を NADPH 生成系 (0.33 mM NADP, 5 mM G-6-P, G-6-P 脱水素酵素 1.0 unit), 6 mM MgCl₂ および ハムスター肝 Ms (1 mg protein) を 100 mM HEPES 緩衝液 (pH 7.4) とともに合計 1 mL として、37°C で 20 min インキュベートした。その後、代謝物を chloroform-methanol (2:1) 1 mL および *n*-hexane 3 mL で 3 回ずつ抽出した。抽出液は TMS 化後、GC-ECD に付した。各 TCB 代謝物の TMS 誘導体の保持時間は次の通りである。3-OH-CB52 (8.27 min), 4-OH-CB52 (8.67 min), 3-OH-CB70 (8.78 min), 4-OH-CB70 (9.08 min), 5-OH-CB77 (11.37 min), 4-OH-CB78 (12.26 min)。なお、代謝物の定量は、各 TCB の検量線を用いて行った。

GC-ECD の条件は次の通りである。分析機器、電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ HP5890 Series II (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 (15 m $\times$ 0.25 mm i.d., 0.33 μ m 膜厚, J&W Scientific 製); キャリアーガス, N₂ (1 mL/min); カラム温度, 200°C; 注入口温度, 250°C; 検出器温度, 250°C。

3. その他

肝 Ms のタンパク質の定量は、Lowry らの方法²⁹⁾ に従い行った。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。また、総 CYP 含量、7-ER *O*-脱エチル化活性および coumarin 7-水酸化活性は、それぞれ Omura and Sato³⁰⁾, Prough ら³¹⁾ および Yamazaki ら³²⁾ の方法で測定した。肝 Ms の SDS-アクリルアミドゲル電気泳動およびウエスタンブロッティングは、

Table 1 Effect of CYP inducers on liver microsomal monooxygenases in CH and GS hamsters

CYP inducer	Total CYP content (nmol/mg protein)	7-ER <i>O</i> -deethylase (nmol/min/mg protein)	Coumarin 7-hydroxylase (nmol/min/mg protein)
<i>CH hamster</i> ^{a)}			
None	0.486 ± 0.027 (1.00)	0.063 ± 0.009 (1.00)	0.385 ± 0.047 (1.00)
PB	1.459 ± 0.339* (3.00)	0.124 ± 0.024* (1.99)	1.753 ± 0.480* (4.55)
MC	1.435 ± 0.153* (2.95)	0.572 ± 0.185* (9.13)	0.081 ± 0.012* (0.21)
<i>GS hamster</i> ^{b)}			
None	1.025 (1.00)	0.179 (1.00)	0.255 (1.00)
PB	1.502 (1.47)	0.114 (0.64)	0.341 (1.34)
MC	1.917 (1.87)	2.865 (16.00)	0.132 (0.52)

*Significantly different from the control, $p < 0.05$.

^{a)} Each value represents the mean ± S.D. of three CH hamsters and those in parentheses are the relative ratio to the control.

^{b)} The data were cited from our previous report²³⁾ and each value represents mean of duplicate determinations of pooled microsomes from ten GS hamsters. Coumarin 7-hydroxylase activity represents mean of duplicate determination of pooled microsomes from three GS hamsters.

Guengerich らの方法³³⁾で行った. CYP タンパクの免疫染色に用いたコニカイムノステインキットはコニカ(株)から購入した.

実験結果

1. 肝薬物代謝酵素に対する CYP 誘導剤の影響

Table 1 には, CH および GS ハムスター肝 Ms 中の総 CYP 含量, 7-ER *O*-脱エチル化活性および coumarin 7-水酸化活性に対する CYP 誘導剤の影響を示した. まず総 CYP 含量は, GS ハムスターでは, PB 前処理で未処理 Ms の 1.5 倍に, MC 前処理で 1.9 倍に増加したが, CH ハムスターでは, PB および MC のいずれによっても未処理の約 3 倍と有意に増加した. 次に, MC で誘導される CYP1A1 の特徴的な活性である 7-ER *O*-脱エチル化活性を比較すると, GS ハムスターでは MC 前処理により未処理 Ms の 16 倍に増加したが, CH ハムスターでも同様に, MC によって未処理 Ms の 9.1 倍に顕著に増加した. さらに, CYP2A 酵素の特徴的な活性である coumarin 7-水酸化活性は, GS ハムスターでは PB 前処理で

未処理の 1.3 倍であったが, CH ハムスターでは PB により未処理の 4.6 倍に増加した. しかし, 両ハムスターともに, MC 前処理により, それぞれ未処理の 21% および 52% と激減した.

2. CH ハムスター肝 Ms による CB52, CB70 および CB77 の代謝

CH ハムスター肝 Ms による TCB 代謝を調べ, GS ハムスターの結果と比較した. Fig. 2 には, CH ハムスター肝 Ms による CB52 代謝物の GC-ECD クロマトグラムを示した. その結果, 未処理, PB 前処理および MC 前処理の CH ハムスター肝 Ms において, 1 本の代謝物ピークがいずれも保持時間 8.67 min に検出された. このピークは PB 前処理により顕著に増加した. 標準品との比較から, 3-OH 体 (保持時間 8.27 min) ではなく, 4-OH 体の TMS 誘導体と保持時間が一致した. 同様に, TMS 誘導体として, CB70 の 3-OH 体と 4-OH 体は保持時間 8.78 min と 9.08 min に, CB77 の 5-OH 体と 4-OH 体は 11.37 min と 12.26 min に検出された. 以下, 各ピーク面積

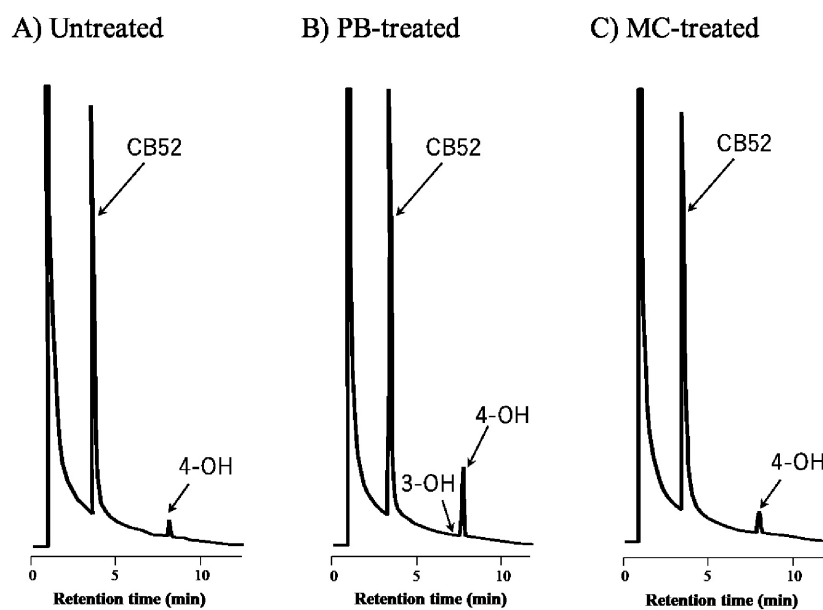


Fig. 2 GC-ECD chromatograms of the trimethylsilylated derivatives of CB52 metabolite by liver microsomes from untreated (A), PB-treated (B) and MC-treated (C) CH hamsters.

Table 2 Effects of CYP inducers on the metabolism of CB52, CB70 and CB77 by CH and GS hamster liver microsomes

CYP inducer	Metabolite formed (pmol/min/mg protein)					
	CB52		CB70		CB77	
	3-OH	4-OH	3-OH	4-OH	5-OH	4-OH
<i>CH hamster</i> ^{a)}						
None	N.D.	20.1 ± 3.3 (1.00)	N.D.	22.3 ± 4.2 (1.00)	N.D.	N.D.
PB	N.D.	68.0 ± 15.0* (3.38)	N.D.	83.0 ± 25.1* (3.73)	N.D.	N.D.
MC	N.D.	25.1 ± 2.8 (1.25)	N.D.	18.2 ± 0.4 (0.82)	N.D.	N.D.
<i>GS hamster</i> ^{b)}						
None	6.3 ± 0.5 (1.00)	5.6 ± 0.3 (1.00)	5.9 ± 1.4 (1.00)	46.8 ± 2.1 (1.00)	N.D.	N.D.
PB	20.1 ± 0.2* (3.19)	11.1 ± 0.3* (1.98)	40.7 ± 2.1* (6.90)	59.0 ± 2.3 (1.26)	0.9 ± 0.7	N.D.
MC	3.6 ± 0.4* (0.57)	15.2 ± 0.6* (2.71)	N.D.	96.4 ± 9.6* (2.06)	0.4 ± 0.1	3.6 ± 0.7

*Significantly different from the control, $p < 0.05$. N.D., not detected.

^{a)} Each value represents the mean ± S.D. of three CH hamsters and those in parentheses are the relative ratio to the control.

^{b)} The data were cited from our previous reports⁵⁾²³⁾ and each value represents the mean of triplicate determinations of pooled microsomes from ten GS hamsters.

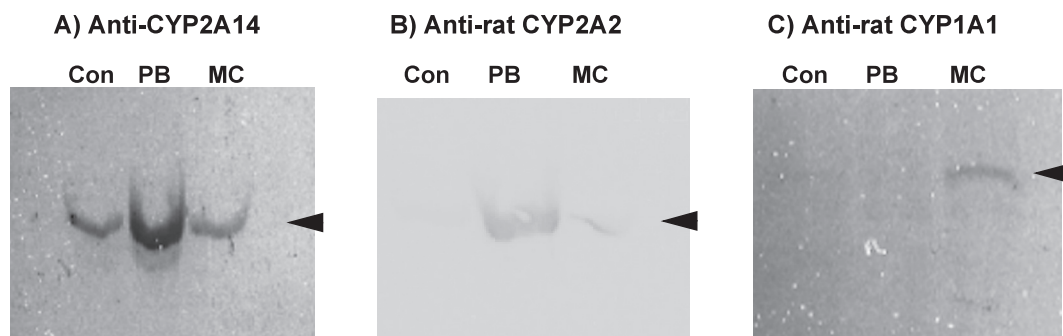


Fig. 3 Immunoblot analysis of liver microsomes from CYP inducers-treated CH hamsters with antiserum against CYP2A14 (**A**), rat CYP2A2 (**B**) and rat CYP1A1 (**C**). Lanes Con, PB and MC contain liver microsomes (10 μ g protein each) from untreated, PB-treated and MC-treated CH hamsters, respectively.

から生成量を算出した。

Table 2 に各 TCB 代謝物の定量結果を示した。その結果、CB52 および CB70 は非常によく似た代謝パターンを示した。すなわち、未処理、PB 前処理および MC 前処理のすべての CH ハムスター肝 Ms では 4-OH 体のみを生成した。また、この生成は PB 前処理により、CB52 で未処理の 3.4 倍、CB70 で未処理の 3.7 倍に顕著に増加した。一方、CB77 は、CH ハムスター肝 Ms では、全く代謝物は生成されなかった。これらの結果から、CH ハムスター肝 Ms による代謝は、GS ハムスターと大きく異なり、CB52 と CB70 に対して 3-水酸化ではなく、4-水酸化を触媒すること、これらの TCB 代謝活性は PB 誘導性酵素によって触媒されること、CB77 に対しては代謝活性を示さないことが明らかになった。

3. CH ハムスター肝 Ms の免疫染色

CH ハムスター CYP2A14, ラット CYP2A2 およびラット CYP1A1 に対する抗血清を用いて、CH ハムスター肝 Ms 中の CYP2A14 タンパクの検出を試みた。Fig. 3A に示すように、すべての CH ハムスター肝 Ms において、抗 CYP2A14 抗血清と交差反応するバンドが 1 本検出され、さらに、このバンドは PB 前処理 Ms で顕著に増加していた。また、抗ラット CYP2A2 抗血清を用いた場合にも同様に、PB 前処理 Ms で濃いバンドとして検出された (Fig. 3B)。なお、抗ラット CYP1A1 抗血清を用いた場合には、MC 前処理 Ms でのみ、1 本のバンドが検出された (Fig. 3C)。これらの結果から、CYP2A14 は CH ハムスター

肝 Ms において、構成的で PB 誘導性の CYP であることが確認された。

考 察

従来、PB は、ラット、マウス、GS ハムスター、モルモットおよびヒトなど、多くの動物肝において、CYP2B 酵素を顕著に誘導する代表的な CYP2B 誘導剤として知られている。これに対し、Fukuhara らは、GS ハムスターと全く異なり、CH ハムスター肝では、PB 前処理により、CYP2B 酵素が全く誘導されず、その代わり CYP2A 酵素が顕著に誘導されることを報告した¹⁸⁾²⁰⁾。本研究において、CH ハムスターを PB で前処理した際、最初の投与から 24 時間後も睡眠作用が継続していた。この事実は、Fukuhara らの報告と同様に、PB の代謝酵素 (CYP2B 酵素) が誘導されていない、あるいは極めて少ないことを示唆していると思われる。

今回、CH ハムスター肝 Ms による 3 種類の TCB の代謝を調べたところ、CB52 と CB70 に対し、4-OH 体のみを生成し、3-OH 体は全く生成されなかった。また、この活性は PB 前処理により、4 倍に増加した。さらに、この TCB 代謝の誘導パターンは、CYP2A 酵素の特徴的な活性である coumarin 7-水酸化活性の誘導パターンとよく一致していた。これらの結果から、CB52 と CB70 の 4-水酸化酵素として、CYP2A 酵素の関与が示唆された。さらに、抗 CYP2A14 抗血清を用いた免疫染色の結果、PB 前処理により、CYP2A14 タンパクが顕著に増加することが確認された。Fig. 4 に、CH ハムスターおよび GS ハム

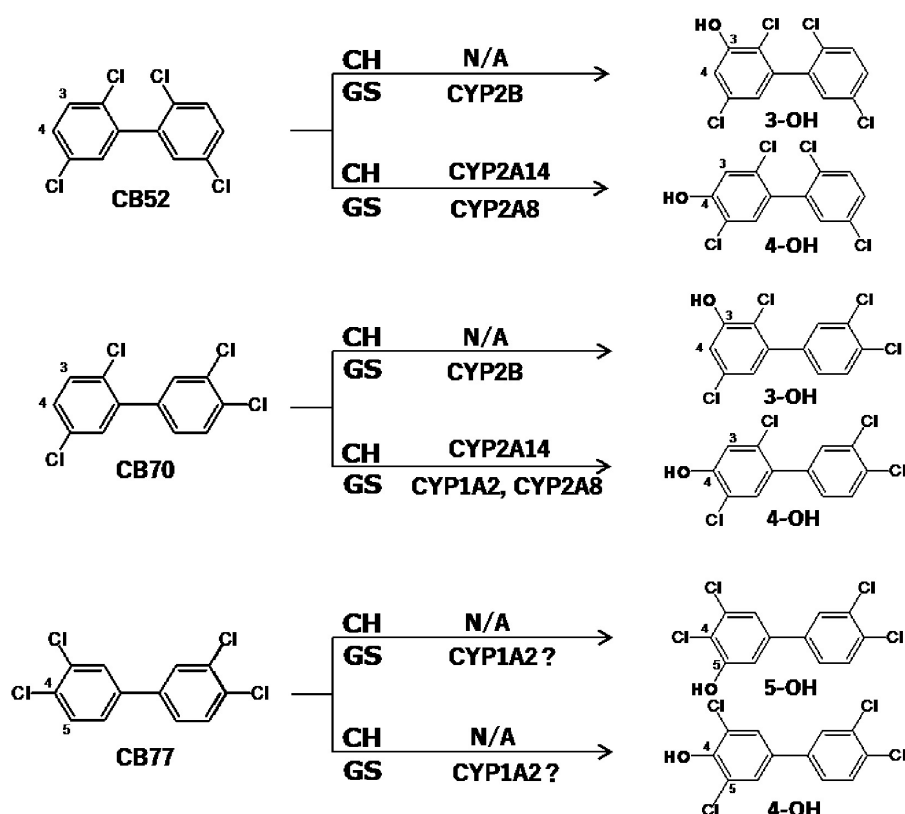


Fig. 4 Postulated metabolic pathways of CB52, CB70 and CB77 by CYP isoforms in CH and GS hamsters. N/A, not applicable.

スターの CYP 分子種による TCB 異性体の推定代謝経路を示したが、CH ハムスターにおける CB52 と CB70 の 4-水酸化は、CYP2A14 によって主に触媒されていることが示唆された。なお、CYP2A14 は coplanar PCB の CB77 に対しては代謝活性を有していなかった。

ヒト血中には、PCB 異性体だけではなく、それらの PCB 代謝物である 4-OH 体も、高濃度で検出されている³⁴⁾。4-OH 体のうち最も多いのは、4-OH-2,2',3,4',5,5',6-heptachlorobiphenyl (CB187) で、次いで 4-OH-2,2',3,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (CB146) や 4-OH-2,3,3',4',5-pentachlorobiphenyl (CB107) が多い。これらの構造は、4 位水酸基の両隣 (3 および 5 位) に塩素が置換されているのが特徴であるが、現在のところ、これらの生成に関与するヒト CYP 分子種は特定されていない。前述のように、PCB の 4 位水酸化を触媒できる CYP としては、ラット CYP1A1、ラット CYP1A2 および GS ハムスター CYP2A8 が挙げられるが、CYP1A 酵素は主に

coplanar PCB を基質にしていることから、ヒト CYP2A 酵素が最有力であろう。最後に、現在、入手困難ではあるものの、このユニークな CH ハムスターを用いた検討により、今後、5 個以上の塩素が置換された高残留性 PCB 異性体の代謝研究がさらに進展することが期待される。

総括

- 3 種類の TCB (CB52, CB70 および CB77) につき、CH ハムスター肝 Ms による代謝を調べ、GS ハムスターと比較した。CB52 と CB70 の代謝について、GS ハムスター肝 Ms では、両 PCB から 3-および 4-OH 体が生成されたが、CH ハムスター肝 Ms では、両 PCB のいずれから 4-OH 体のみが生成された。また、この代謝活性は GS ハムスターでは MC 前処理で増加したが、CH ハムスターでは PB 前処理により著しく増加した。一方、coplanar PCB の CB77 は、CH ハムスター肝 Ms により全く代謝されなかった。

2. CH ハムスター肝 Ms が有する CB52 と CB70 に対する 4-水酸化活性の CYP 誘導剤による誘導パターンは, coumarin 7-水酸化活性のそれとよく一致していた.
3. 抗 CYP2A14 抗体および抗ラット CYP2A2 抗体を用いた免疫染色の結果, CH ハムスター肝 Ms 中の CYP2A14 タンパクは, CB52 および CB70 の 4-水酸化活性と一致して, PB 前処理により顕著に増加した.

以上の結果から, Fukuhara らにより報告された PB 誘導性の CH ハムスター CYP2A14 は, CB52 および CB70 の 4-水酸化反応を特異的に触媒す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補助金(食品の安心・安全確保推進研究事業, 21KA2003 太田千穂)および JSPS 科研費(JP20K12188 原口浩一, JP21K12262 藤井由希子)の助成を受けたものです. 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) Ishida C, Koga N, Hanioka H, Saeki HK and Yoshimura H: Metabolism in vitro of 3,4,3',4'- and 2,5,2',5'-tetrachlorobiphenyls by rat liver microsomes and highly purified cytochrome P-450. J Pharmacobio-Dyn. 14: 276-284, 1991.
- 4) Koga N, Nishimura N, Kuroki H, Masuda Y and Yoshimura H: Metabolism of 3,5,3',5'-tetrachlorobiphenyl by rat liver microsomes and purified P4501A1. Xenobiotica. 24: 775-783, 1994.
- 5) 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: 1985-1904, 1998.
- 6) Koga N, Kikuichi N, Nishimura N, Hara T, Harada N, Ishii Y, Yamada H, Oguri K and Yoshimura H: Purification and characterization of a newly identified isoform of cytochrome P450 responsible for 3-hydroxylation of 2,5,2',5'-tetrachlorobiphenyl in hamster liver. Arch Biochem Biophys. 312: 464-470, 1995.
- 7) 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.
- 8) 太田千穂, 加藤善久, 藤井由希子, 原口浩一, 木村治, 古賀信幸: 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. 福岡医誌. 112: 127-135, 2021.
- 9) Koga N, Kikuichi N, Kanamaru T, Ariyoshi N, Oguri K and Yoshimura H: Hamster liver cytochrome P450 (CYP2A8) as a 4-hydroxylase for 2,5,2',5'-tetrachlorobiphenyl. Biochem Biophys Res Commun. 225: 685-688, 1996.
- 10) 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.
- 11) McGraw SrJE and Waller DP: Specific human CYP450 isoform metabolism of a pentachlorobiphenyl (PCB-IUPAC#101). Biochem Biophys Res Commun. 344: 129-133, 2006.
- 12) 太田千穂, 原口浩一, 加藤善久, 藤井由希子, 木村治, 古賀信幸: 2,2',3,4',5',6'-六塩素化ビフェニル (CB149) のラット, ハムスター, モルモットおよびヒトにおける *in vitro* 代謝の比較研究. 福岡医誌. 114: 31-39, 2023.
- 13) 山野-足立範子: 組換えタンパク質を生産するための優れた宿主細胞とは. 生産と技術. 73: 68-71, 2021.
- 14) 大政健史: バイオ医薬品製造の研究開発はどう進めるべきか—技術研究組合の事例から考える. Yakugaku Zasshi. 142: 723-729, 2022.
- 15) Mizokami K, Nohmi T, Fukuhara M, Takanaka A and Omori Y: Purification and characterization of a form of cytochrome P-450 with high specificity for aflatoxin B₁ from 3-methylcholanthrene-treated hamster liver. Biochem Biophys Res Commun. 139: 466-472, 1986.
- 16) Fukuhara M, Mizokami K, Sakaguchi M, Niimura Y, Kato K, Inouye S and Takanaka A: Aflatoxin B₁-specific cytochrome P-450 isozyme (P-450-AFB) inducible by 3-methylcholanthrene in Golden hamsters. Biochem Pharmacol.

- 39 : 463-469, 1990.
- 17) Antignac E, Fukuhara M, Kimura M and Ushio F : Clotrimazole-induced modulation of hepatic cytochrome P450 enzymes in Syrian and Chinese hamsters. *Biochem Pharmacol.* 44 : 2266-2270, 1992.
- 18) Fukuhara M, Antignac E, Fukusen N, Kato K and Kimura M : Characterization of cytochrome P450-monooxygenases of Chinese hamsters with respect to aflatoxin B₁ activation. *Toxicology.* 93 : 165-173, 1994.
- 19) Ushio F, Antignac E, Fukuhara M and Kimura M : Differential induction of cytochrome P-450 isozymes by rifampicin in the Chinese hamster, *Cricetus griseus*. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol.* 12 : 163-168, 1995.
- 20) Fukuhara M, Sun B, Kato K, Kimura M and Yamazaki S : Cytochrome P450 isoforms catalyzing benzo [a] pyrene metabolism in the Chinese hamster liver. *Toxicol Lett.* 110 : 85-93, 1999.
- 21) Pearce R, Greenway D and Parkinson A : Species differences and interindividual variation in liver microsomal cytochrome P450 2A enzymes : effects on coumarin, dicumarol, and testosterone oxidation. *Arch Biochem Biophys.* 298 : 211-225, 1992.
- 22) Fukuhara M, Kurose K, Aiba N, Matsunaga N, Omata W, Kato K and Kimura M : A major phenobarbital inducible P450 isozyme, CYP2A14, in the Chinese hamster liver : purification, characterization, and cDNA cloning. *Arch Biochem Biophys.* 359 : 241-248, 1998.
- 23) Koga N, Kikuichi-Nishimura N and Yoshimura H : Effect of cytochrome P450 inducers on liver microsomal metabolism of tetrachlorobiphenyls in rats, guinea pigs and hamsters. *Biol Pharm Bull.* 18 : 705-710, 1995.
- 24) Hutzinger O, Safe S and Zitko V : Polychlorinated biphenyls : Synthesis of some individual chlorobiphenyls. *Bull Environ Contamin Toxicol.* 6 : 209-219, 1971.
- 25) 吉村英敏, 山本弘明, 米沢和明 : PCB の代謝に関する研究 (第 7 報) 2,5,2',5'-テトラクロロビフェニルのラットにおける代謝. 福岡医誌. 66 : 555-562, 1975.
- 26) Koga N, Shin'yama A, Ishida C and Yoshimura H : A new metabolite of 2,4,3',4'-tetrachlorobiphenyl in rat feces. *Chem Pharm Bull.* 40 : 3338-3339, 1992.
- 27) Nakatsu K, Brien JF, Taub H, Racz WJ and Marks GC : Gram quantity synthesis and chromatographic assessment of 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl. *J Chromatogr.* 239 : 97-106, 1982.
- 28) Yoshimura H, Yonemoto Y, Yamada H, Koga N, Oguri K and Saeki S : Metabolism *in vivo* of 3,4,3',4'-tetrachlorobiphenyl and toxicological assessment of the metabolites in rats. *Xenobiotica.* 17 : 897-910, 1987.
- 29) Lowry OH, Rosebrough AL, Farr AL and Randall RJ : Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 193 : 265-275, 1951.
- 30) Omura T and Sato R : The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. II. Solubilization, purification and properties. *J Biol Chem.* 239 : 2379-2385, 1964.
- 31) Prough RA, Burke MD and Mayer RT : Direct fluorometric methods for measuring mixed function oxidase activity. *Methods Enzymol.* 102 : 372-377, 1978.
- 32) Yamazaki H, Mimura M, Sugahara C and Shimada T : Catalytic roles of rat and human cytochrome P450 2A enzymes in testosterone 7 α - and coumarin 7-hydroxylations. *Biochem Pharmacol.* 48 : 1524-1527, 1994.
- 33) Guengerich FP, Wang P and Davidson NK : Estimation of isozymes of microsomal cytochrome P-450 in rats, rabbits, and human using immunochemical staining coupled with sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *Biochemistry.* 21 : 1698-1706, 1982.
- 34) Bergman Å, Klasson-Wehler E and Kuroki H : Selective retention of hydroxylated PCB metabolites in blood. *Environ Health Perspect.* 102 : 464-469, 1994.

(Received for publication March 17, 2023)