

油症と PCB（塩化ビフェニール）

に 関 す る

研 究 報 告 第 4 集

昭 和 49 年 1 月

油症治療研究班，PCB 研究班

九 州 大 学 医 学 部

**The Fourth Reports of the Study on “Yusho”
and PCB (Polychlorinated Biphenyls)**

January 1974

Study Group for the Therapy of “Yusho”
and Study Group of PCB

*Faculty of Medicine, Kyushu University
Fukuoka 812, Japan*

油症とPCBに関する研究

報告集 第4集

(福岡医学雑誌 第65巻 第1号, 昭和49年1月)

目 次

1. 序 言..... 占部 治邦...(1)
2. PCBの代謝に関する研究(第4報) カネクロール400の主要成分3,4,3',4'-テトラクロロビフェニルの生体内変化..... 吉村 英敏・山本 弘明...(5)
3. PCBの代謝に関する研究(第5報) 2,4,3',4'-テトラクロロビフェニル代謝物の胆汁中排泄について..... 吉村 英敏・山本 弘明・木下 春喜...(12)
4. 油症患者および一般人体内のポリ塩化ビフェニール..... 増田 義人・香川 梨絵・倉恒 匡徳...(17)
5. 油症患者および一般人の血液中のポリ塩化ビフェニール
..... 増田 義人・香川 梨絵・島村 京子・高田真由美・倉恒 匡徳...(25)
6. 血液中 PCB の診断学的意義..... 高松 誠・井上 義人・阿部 純子...(28)
7. 塩化ビフェニール(PCB)のラット脂質代謝に及ぼす影響(Ⅱ) 肝脂質について
..... 永井 諄爾・八戸 義明・樋口かをる...(32)
8. 塩化ビフェニール(PCB)のラット脂質代謝に及ぼす影響
(Ⅲ) 脂肪組織および血漿について..... 永井 諄爾・八戸 義明・樋口かをる...(41)
9. PCB型肝酵素誘導性薬物の簡単なスクリーニング法(英文)..... 荒木 泰典・田中 潔...(47)
10. PCBの腸内吸収に対するコレステラミンの抑制作用(英文)..... 田中 潔・荒木 泰典...(53)
11. PCBの腸内吸収に対する活性炭その他の影響..... 荒木 泰典...(58)
12. Chlorinated dibenzofuran および chlorinated dibenzodioxin の酵素誘導作用
..... 荒木 泰典...(61)
13. PCBとDDT, BHCとの複合作用—酵素誘導現象における協力—..... 荒木 泰典・田中 潔...(65)
14. PCBの脳波および電撃けいれんに及ぼす影響..... 福田 健夫・森 順子・荒木 泰典...(69)
15. PCB汚染油を摂取した母親から生れた児についての疫学的調査..... 吉村 健清...(74)
16. 昭和47年度一斉検診による油症患者の皮膚所見..... 幸田 弘・旭 正一・利谷 昭治...(81)
17. 油症患者における血中PCBと血清トリグリセライドとの関係
..... 奥村 恂・増田 義人・中牟田澄子...(84)
18. 油症における呼吸器障害の臨床的ならびに実験的研究(続報)
..... 重松 信昭・石丸 秀三・広瀬 隆士・池田 東吾・江森 治三・宮崎 信義...(88)

The Fourth Reports of the Study on "Yusho" and PCB

(FUKUOKA ACTA MEDICA Vol. 65, No. 1, 1974)

CONTENTS

1. Foreword H. Urabe ... (1)
2. Metabolic studies on polychlorinated biphenyls. IV.
Biotransformation of 3, 4, 3', 4'-tetrachlorobiphenyl, one of the
major components of Kanechlor-400
..... H. Yoshimura and H. Yamamoto (5)
3. Metabolic studies on polychlorinated biphenyls. V.
Biliary excretion of 5-hydroxy-2, 4, 3', 4'-tetrachlorobiphenyl, a
major metabolite of 2, 4, 3', 4'-tetrachlorobiphenyl
..... H. Yoshimura, H. Yamamoto and H. Kinoshita ... (12)
4. Polychlorinated biphenyls in Yusho patients and ordinary persons
..... Y. Masuda, R. Kagawa and M. Kuratsune ... (17)
5. Polychlorinated biphenyls in the blood of Yusho patients and
ordinary persons
Y. Masuda, R. Kagawa, K. Shimamura, M. Takada and M. Kuratsune ... (25)
6. Diagnostic meaning of the blood PCB
..... M. Takamatsu, Y. Inoue and S. Abe ... (28)
7. The influence of the oral administration of PCB on the lipid metabolism
of the rat. (II) Liver lipids J. Nagai, Y. Yae and K. Higuchi ... (32)
8. The influence of the oral administration of PCB on the lipid metabolism
of the rat. (III) Adipose tissue and blood plasma
..... J. Nagai, Y. Yae and K. Higuchi ... (41)
9. A simple screening method of enzyme inducing agents of PCB type
..... Y. Araki and K. Tanaka ... (47)
10. Inhibitory effect of cholestyramine on the intestinal absorption of
PCB K. Tanaka and Y. Araki ... (53)
11. Influences of charcoal and other drugs on the intestinal absorption
of PCB Y. Araki ... (58)
12. Comparison of enzyme-inducing activities of chlorinated dibenzofuran
and chlorinated dibenzodioxin Y. Araki ... (61)
13. Potentiation of enzyme-inducing activity of PCB by DDT or BHC
..... Y. Araki and K. Tanaka ... (65)
14. Effects of PCB on the EEG of rats and on the maximal electro-
shock seizure in mice T. Fukuda, J. Mori and Y. Araki ... (69)
15. Epidemiological study of Yusho babies born to mothers who had
consumed oil contaminated by PCB T. Yoshimura ... (74)
16. Dermatological findings of the patients with Yusho (PCB poisoning)
in general examination in 1972 ... H. Kohda, S. Asahi and S. Toshitani ... (81)
17. Correlation between blood PCB and serum triglyceride levels in
patients with PCB poisoning
..... M. Okumura, Y. Masuda and S. Nakamura ... (84)
18. Clinical and experimental studies on respiratory involvement in
PCB poisoning (II) N. Shigematsu, S. Ishimaru, T. Hirose,
T. Ikeda, K. Emori and N. Miyazaki ... (88)

序 言

油症治療研究班長, 九州大学医学部教授

占 部 治 邦

Foreword

Harukuni URABE

*Chief of the Study Group for the Therapy of "Yusho",
Professor of Dermatology, Faculty of Medicine,
Kyushu University, Fukuoka Japan*

Three reports consisting of collected papers on PCB poisoning (Yusho) have been already published as a special issue of Fukuoka Acta Medica Vol. 60, No. 6, June 1969, Vol. 62, No. 1, January 1971 and Vol. 63, No. 10, October 1972. This fourth report gives the results of studies on "Yusho" and PCB from July 1972 to September 1973.

The total number of patients reached 1,200 on September 13, 1973 and 22 of them are dead. Muco-cutaneous symptoms which were prominent at the time of the onset of the disease have been decreasing year by year. Whereas, neurological symptom, respiratory symptom and various complaints such as general fatigue, anorexia, abdominal pain and headache have been increasing. According to the changing of the symptoms, new diagnostic criteria and treatment guide have been determined.

今回発行する油症研究報告第4集は, 1972年7月より1973年9月までの油症およびPCBにかんする研究成果をまとめたものである。現在油症治療研究班員ではなくても, 関係する研究をされた人々の業績も加えてある。

油症治療研究班員は昭和48年9月現在, 4大学, 27名の班員よりなり, その内訳は基礎系8名, 臨床系19名である(表1)。

表 1. 油症治療研究班員(昭和48年9月1日現在)

九 大 医・皮 膚 科 教 授 占部 治邦(班長)	九 大 医・眼 科 助 手 熊野 誠是
" 第三内科 助教授 平山 千里(副班長)	" 耳 鼻 咽 喉 科 " 林田 邦彦
" 公衆衛生 教 授 倉恒 匡徳	九 大 歯・歯 科 保 存 教 授 青野 正男
" " 助 手 吉村 健清	九 大 薬・衛生裁判化学 " 吉村 英敏
" 胸 研 助教授 重松 信昭	" 生 理 化 学 " 加藤敬太郎
" 第二内科 助 手 山中 正義	" 薬 化 学 助教授 佐伯清太郎
" 皮 膚 科 助教授 幸田 弘	九 大 温 研・皮 膚 科 教 授 中溝 慶生
" " 講 師 旭 正一	福 岡 大 医・病 理 " 菊池 昌弘
" 産婦人科 助教授 楠田 雅彦	" 皮 膚 科 " 利谷 昭治
" 整 形 講 師 塚本 行男	" 第 一 内 科 " 奥村 恂
" 神経内科 " 志田堅四郎	久 留 米 大 医・小 児 科 " 山下 文雄
" 中 検 部 長 大河内一雄	" 環 境 衛 生 " 高松 誠
" 小 児 科 教 授 合屋 長英	第 一 薬 大・分 析 助教授 増田 義人
" " 講 師 本田 恵	

研究費については昭和47年度は厚生省より5,000,000円, 福岡県1,100,000円, 北九州市550,000

円、福岡市 250,000 円、総額 6,900,000 円を受領した。昭和 48 年度は厚生省 11,000,000 円、福岡県 1,200,000 円、北九州市 1,000,000 円、福岡市 250,000 円、総額 13,450,000 円が内定している。なお昭和 47 年度には厚生省は油症患者の追跡調査費として別に 4,000,000 円を支出している。

油症患者数は昭和 48 年 9 月 13 日現在、総数 1,200 名、うち死亡 22 名である。各県別にみると、福岡県 449 名、長崎県 443 名が著しく多く、ついで広島県 80 名、高知県 45 名、山口県 40 名で、その他は少数ずつ全国に分散している（表 2）。油症研究報告第 2 集に樋口教授が記載されている報告によれば、昭和 45 年 3 月現在の油症患者総数は 1,015 名であつたから、その後 3 年ばかりの間に 185 名が追加認定されたことになる。

表 2. 都道府県別油症患者数
(昭和 48 年 9 月 13 日現在)

都 道 府 県	患 者 数
千 葉	5
東 京	7
岐 阜	1
愛 知	17
滋 賀	1
京 都	2
大 阪	25
兵 庫	7
奈 良	21
和 歌 山	4
鳥 取	1
島 根	6
岡 山	3
広 島	80 (1)
山 口	40 (1)
愛 媛	10
高 知	45
福 岡	449 (6)
佐 賀	23 (2)
長 崎	443 (12)
熊 本	1
大 分	6
鹿 児 島	3
合 計	1200 (22)

() 内は死亡者数の内数。

油症患者死亡者 22 名の死因は表 3 のとおりである。悪性腫瘍による死亡者が多いのが目につくが、平山助教授は昭和 47 年度の一斉検診において、福岡県下の油症患者 123 名の α -フェトプロテインを測定し、全例陰性の結果をえ、肝癌多発の心配はないものと判断している。

表 3. 油症患者死亡例の死因

悪 性 新 生 物	9
胃 癌	2
胃 癌 + 肝 癌	1
肝癌 + 肝硬変	1*
肺 癌	1
肺 腫 瘍	1
乳 癌	1
悪性リンパ腫	2
脳 血 管 障 害	3
類 澱 粉 症	1*
線 維 性 骨 異 栄 養 症	1*
心筋変性 + 心外膜炎	1*
胸 腺 リ ン パ 体 質	1*
肝 硬 変	1
自 殺	1
老 衰	1
交 通 事 故	3
計	22

〔注〕 * は剖検例。このほか死産児 1 例の剖検がある。

油症の診断基準は昭和 43 年油症研究班で作成され、同年 10 月 19 日に発表されたものである。油症勃発当初は皮膚粘膜症状が著明で、診断基準もそれらの所見に重点をおいたものが作成されたのは当然であるが、その後 5 年をへた今日では患者の病像にも変遷がみられ、また研究の結果、油症患者に特有な検査所見もつかむことができるようになってきた。とくに血液 PCB の測定が可能になったことは大きな進歩である。

一方臨床的には全身倦怠、食欲不振、不定の腹痛、頭痛ないし頭重感などの不定愁訴、手足のしびれ、疼痛などの末梢神経症状、咳と痰の呼吸器症状など内科的症状が年とともに前景にで、初期

にはげしかつた皮膚粘膜症状は次第に軽快の徴候が認められるようになってきた。

ここにおいて、現状に即するよう診断基準を改訂する必要に迫られ、昭和47年秋、油症治療研究班は検討をはじめた。改訂された新診断基準は10月26日に公表され、厚生省は11月11日付で各都道府県衛生主管部（局）長にこれを通達した（表4）。

翌昭和48年1月22日より1月31日にかけて福岡県下で、昭和47年度の油症患者の追跡調査、いわゆる一斉検診が行われた。厚生省はその際患者の家族も検診をうけるよう働きかけたため、患

表 4. 油 症 診 断 基 準 （昭和47年10月26日改訂）

油症は PCB の急性ないし悪急性の中毒と考えられるが、現在全身症状には、成長抑制、神経内分泌障害、酵素誘導現象、呼吸器系障害、脂質代謝異常などがあり、局所症状には皮膚および粘膜の病変として痤瘡様皮疹と色素沈着、さらに眼症状などがみられる。	2) 他覚症状 ① 気管支炎様症状 ② 感覚性ニューロパシー ③ 粘液囊炎 ④ 小児では成長抑制および歯牙異常 ⑤ 新生児の SFD (Small-For-Dates Baby) および全身性色素沈着
1. 発病条件 PCB の混入した カネミ米ぬか油を摂取していること。 多くの場合家族発生がみられる。	3) 検査成績 ① 血液 PCB の性状および濃度の異常 ② 血液中性脂肪の増加 ③ 貧血、リンパ球増多、アルブミン減少 ④ 知覚神経伝導性と副腎皮質機能の低下
2. 全身症状 1) 自覚症状 ① 全身倦怠感 ② 頭重ないし頭痛 ③ 不定の腹痛 ④ 手足のしびれ感または疼痛 ⑤ 関節部のはれおよび疼痛 ⑥ 咳嗽・喀痰 ⑦ 月経の変化	3. 皮膚粘膜症状 1) 痤瘡様皮疹 顔面、臀部、その他間擦部などにみられる黒色面皰、痤瘡様皮疹とその化膿傾向 2) 色素沈着 顔面、眼瞼粘膜、歯肉、指趾爪などの色素沈着 3) 眼症状 マイボーム腺肥大と眼脂過多、眼瞼浮腫など

表 5. 油 症 治 療 指 針 （昭和47年10月26日改訂）

1. PCB の排泄促進 現在、油症患者の PCB 濃度はかなり低下しているものと推定されるが、PCB の排泄を促進することが最も重要である。ただ PCB の特性上、適当な排泄促進剤はなお報告されていない。 現在考える PCB の排泄促進法としては (1) 絶食 (2) 酵素誘導法 (3) 適当な PCB 吸着剤の経口投与 などがあげられている。 ただし、絶食および酵素誘導法については、その適応および実施に慎重な配慮を要する。	B 剤など、呼吸器症状には鎮咳剤などを投与し、また内分泌症状にたいしてはホルモン療法も考えられる。皮膚症状にたいしては、種々の対症療法が行われているが、症例によつては形成手術も行われる。 その他、眼科、整形外科、歯科保存科においては症状に応じた対症療法が行われる。
2. 対症療法 対症療法としては、種々の解毒剤（たとえば還元型グルタチオン）種々の脂質代謝改善剤などのほか、脳神経症状にたいしては鎮痛剤、ビタミン	3. 合併症の治療 油症患者においては、神経、内分泌障害、酵素誘導などの所見がみられるため種々の合併症を生じやすく、また合併症が重症化する傾向があるので慎重に治療する必要がある。 また、酵素誘導により薬物の分解が促進されており、通常の投与量では治療効果があがらぬことも多い。

者家族 33 名と一般人 8 名，計 41 名があらたに受診した。その結果患者家族から油症 25 名，疑症 6 名，一般人から油症 6 名，疑症 2 名が発見され，受診者 41 名中 31 名が油症と認定されることとなった。

油症の治療指針は，その暫定的なものが昭和 43 年にもうけられているが，これも昭和 47 年 10 月 26 日に改訂して発表した（表 5）。PCB の排泄促進について，絶食療法，酵素誘導法，PCB 吸着剤の経口投与の 3 つをあげたが，絶食療法を除いては，ただちに臨床に応用しうる具体的な治療法がまだ見出されていないのは遺憾である。

付 記

油症治療研究班とは別に，「PCB の慢性毒性に関する研究」（班長：国立衛生試験所，池田良雄毒性部長）に下記の者が加わり，その成果の一部が本報告集に併載されることになった。

九大医学部・薬理	教 授	田 中	潔	九大医学部・癌研	教 授	馬 場	恒 男
〃	解剖	〃	山 元 寅 男	〃	中検	前部長	永 井 諄 爾

PCB の代謝に関する研究 (第4報)

カネクロール-400 の一主成分 3, 4, 3', 4'-テトラ
クロロビフェニルの生体内変化¹⁾

九州大学薬学部衛生裁判化学教室

吉 村 英 敏・山 本 弘 明

Metabolic Studies on Polychlorinated Biphenyls. IV.

Biotransformation of 3, 4, 3', 4'-Tetrachlorobiphenyl, One of
the Major Components of Kanechlor-400

Hidetoshi YOSHIMURA and Hiro-aki YAMAMOTO

*Department of Hygienic and Forensic Chemistry, Faculty of
Pharmaceutical Sciences, Kyushu University*

By the cooperative studies in this university, it was found that so-called Yusho (chlorobiphenyls intoxication), which broke out in the southwest part of Japan in summer of 1968, was caused by ingestion of a particular brand of rice bran oil (Kanemi Rice Oil) containing a large amount of Kanechlor-400 (KC-400, a commercial PCB's preparation of about 48% chlorine content). In order to understand the toxic nature of this KC-400 more in detail, a series of metabolic studies on its individual isomers has been undertaken. The present paper deals with metabolic fate of 3, 4, 3', 4'-tetrachlorobiphenyl (3, 4, 3', 4'-TCB), one of the major components of KC-400, in rats.

It was found that at least three metabolites having phenolic nature were excreted exclusively into the feces of rats together with a large amount of unchanged 3, 4, 3', 4'-TCB after oral administration. Among these, a major metabolite (M-2), mp 167–168°, was isolated and identified to be 2- or 5-hydroxy-3, 4, 3', 4'-TCB by various spectrometries and chemical synthesis. When 3, 4, 3', 4'-TCB was orally administered at a single dose of 25 mg/body to the rat, about 64% of dose was excreted as unchanged during 14 days after the administration, most of which were eliminated in the first day. The excretion of major metabolite (M-2), on the other hand, was accounted only for 3.3% of the dose. Both 3, 4, 3', 4'-TCB and M-2 were still excreted in a small but significant amount on the 14th day.

いわゆる油症の原因物質と考えられているカネクロール-400 (以下 KC-400 と略す) の生体内運命に関しては、すでに油症研究の初期においてその体内残留性²⁾ が報告されているほか、³H 標識 KC-400³⁾ および非標識 KC-400⁴⁾ を用いて、それぞれラットおよびマウス体内における KC-400 の挙動がより詳細に報告されている。

しかしこれらの研究に用いられた KC-400 は、多数の塩化ビフェニル類からなる混合物であり、これを用いての代謝研究には種々の難点があり、特に各成分の代謝物を同定することは極めて困難と考えられた。

Grant ら⁵⁾ も Aroclor 1254 を用い、上記とはほぼ同様の知見を得ると共に、CCl₄ 処理ラットによる肝障害が Aroclor 1254 中の低沸点成分の代謝阻害を起こすことを見い出しているが、代謝物の構造については全く触れていない。

一方多塩化ビフェニル中の単一成分については最近 Hutzinger ら⁶⁾ により Aroclor 1254 中の一成分である 2, 5, 2', 5'-テトラクロロビフェニルについての代謝研究がなされており、このものはラットおよびハトで一部がモノヒドロキシ体代謝され、尿中より排泄されることが速報されているが、その詳細は不明で、

かつ代謝物の正確な構造もわかっていない。

著者ら⁷⁻⁹⁾はすでに KC-400 の主成分 2, 4, 3', 4'-テトラクロロビフェニル (2, 4, 3', 4'-TCB) についての代謝および毒性について詳細に検討し、主代謝物 5-ヒドロキシ-2, 4, 3', 4'-テトラクロロビフェニルおよび副代謝物の一つである 3-ヒドロキシ-2, 4, 3', 4'-テトラクロロビフェニルをラット糞中より単離同定するとともに、得られた主代謝物である 5-ヒドロキシ体は母化合物の急性毒性に比べ約 5 倍の毒性を有することを確認した。

これらの結果は、油症の中毒機作の解明ならびに治療法の確立にあたって、示唆するところ極めて大と考えられる。しかし KC-400 の代謝、ひいてはその毒性発現の機作を明確にするためには、KC-400 中の一成分のみの検討だけでは不十分である。そこで今回は KC-400 の別の主成分の一つ 3, 4, 3', 4'-テトラクロロビフェニル (3, 4, 3', 4'-TCB) を合成し¹⁰⁾、この単一成分についての生体内変化の検討を試みた。

その結果ラットに経口投与された上記 4 塩化ビフェニルは、異性体である 2, 4, 3', 4'-TCB の場合と同様に、未変化体としても、代謝物としても尿中にはほとんど検出されず、多量の未変化体と共に一部がモノフェノール体に代謝されて糞中へ排泄されることが判明した。なお 3, 4, 3', 4'-TCB は 2, 4, 3', 4'-TCB に比べ、モノフェノール体への代謝はかなりの減少を示した。

実験方法

1. 実験動物および投与方法

合成により得られた KC-400 の主成分 3, 4, 3', 4'-TCB¹⁰⁾ を用い、これを市販食用油 (ニッカ天ぷら油) に溶かして、その 1 ml 中 25 mg の 3, 4, 3', 4'-TCB を含有する溶液を調製した。

実験動物としてはすべて Wistar King 系の成熟雄ラット (体重 180~270 g) を用いた。まず代謝物単離のため、上記ラット一匹当たり、3, 4, 3', 4'-TCB の食用油溶液 1.0 ml (3, 4, 3', 4'-TCB 25 mg 含有) をエーテル麻酔下経口投与した。この投与は、3 日ごとに合計 4 回行い、その初回投与より最終投与の 3 日後までの 12 日間の糞と尿を別々に採取した。

代謝物の排泄率の測定には、3, 4, 3', 4'-TCB 食用油溶液 1.0 ml を上記の方法にて 1 回投与し、各ラットはそれぞれ別個の代謝ケージ中に飼育して 14 日間の糞、尿を採取し、これらの試料は測定を行うまで冷蔵庫に保存した。なお水および飼料 (オリエンタル酢

母製飼料 MF) は自由に与えた。

2. 尿および糞中代謝物の抽出

上記の操作によつて得られた 12 日間の尿を、濃塩酸にて pH 2.0 に調製し、クロロホルムにて 6 時間連続抽出を行つた。抽出液は無水芒硝を用いて脱水後、溶媒を留去した。かくして得られた遊離代謝物を含む残渣をメタノールに溶解し、薄層クロマトグラフィー (TLC) で、また無水ピリジンに溶解し、N, O-bis (trimethylsilyl) acetamide で trimethylsilyl (TMS) 化してガスクロマトグラフィー (GLC) を行い、それぞれ代謝物の検索を行つた。抽出後の尿は濃塩酸を加えて塩酸濃度を 10 % としたのち、沸騰水浴上 1 時間加熱加水分解し、上記同様にクロロホルム連続抽出し、得られた抽出物 (抱合体由来の代謝物を含む) を無水ピリジン溶液とし、前記同様に GLC にて代謝物の検索を行つた。

糞はデシケーター (P_2O_5) 中で充分乾燥させたのち乳鉢で細粉とし、まず遊離代謝物を抽出するためクロロホルムにてソックスレー装置により連続抽出し、これを fraction A とした。つぎに抱合型代謝物を検索するため、クロロホルム抽出を行つた後の糞を 10 % 塩酸で、1 時間加熱加水分解したのち、クロロホルム連続抽出を行い fraction B を得た。両抽出液は蒸発乾固し、尿抽出物同様にメタノールあるいは無水ピリジンに溶解し、TLC, GLC にて代謝物の検索を行つた。なお糞中代謝物の排泄率の測定には、塩化ビフェニル投与後 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8~14 日と分けて糞を採取し、それぞれクロロホルムにて 14 時間ソックスレー抽出し、定量試料とした。

3. 薄層クロマトグラフィー (TLC)

螢光物質を添加したシリカゲル (Wakogel B-5-UA) により作成した厚さ 0.25 mm のプレートを用い、105°, 30 分活性化して用いた。展開溶媒には n-ヘキサン-酢酸エチルエステル-氷酢酸 (40:10:1) を使用し、UV ランプ (short wave) にてスポットの確認を行つた。これによれば 3, 4, 3', 4'-TCB は赤紫色に、その代謝物は青紫色に呈色する。またフェノール性代謝物の呈色には、Folin-Ciocalteu 試薬 (青色スポット)、およびジアゾ試薬 (赤橙色) も使用した。

4. ガスクロマトグラフィー (GLC)

装置は島津 GC-3AE 型ガスクロマトグラフ (エレクトロンキャプチャー検出器付) を使用し、カラムは 4 mm×2 m または 4 mm×2.5 m のガラスカラムに 1.5 % SE-30 をコーティングした Chromosorb W

(60 メッシュ～80 メッシュ) を充填して用いた。キャリアガスには N_2 を用い流速 60 ml/min (1.5 kg/cm²), カラム温度 200° で行つた。

5. 糞中未変化物および主代謝物の定量

前述したそれぞれの糞抽出物をクロロホルムにて 100 ml とし, その 0.2 ml をとり溶媒を留去する。その残渣をピリジン 0.2 ml にとかし, これに 0.04 ml の BSA すなわち N, O-bis (trimethylsilyl) acetamide を加え, TMS 化を行い, その 1 μ l を用い前記ガスクロマトグラフィーにて定量した。なお投与後 1 日目の糞中の未変化体の定量には抽出液をさらに 30 倍程度に稀釈して行つた。

実験結果

1. 尿中代謝物の検索

pH 2.0 でクロロホルム連続抽出により得られた尿抽出物は, メタノール溶液として TLC サンプルとし, また無水ピリジン溶液にて TMS 化したものは, GLC サンプルとし, それぞれ対照尿のそれと比較検討した。なおこの対照尿としては, 薬物投与前の尿を採取し, 試験尿と同様処理して用いた。その結果, TLC, GLC とも 3, 4, 3', 4'-TCB 投与の尿抽出物は対照尿抽出物と全く同様のクロマトグラムを呈した。塩酸で加水分解した尿抽出物においても, 結果は全く同様であつた。以上の結果から, ラットに経口投与した 3, 4, 3', 4'-TCB は少なくとも TLC, GLC で検出する程度には, 未変化としても, 代謝物としても尿中には排泄されることが明らかとなつた。

2. 糞中代謝物の検索

実験方法の項に記載した fraction A および fraction B は GLC により対照糞抽出物と比較検討された。そのうち fraction A の GLC の結果を Fig. 1 に示す。

Fig. 1 より明らかなように, 本抽出物中には tr 10.0 分 (M-4), 15.2 分 (M-3), 23.5 分 (M-2) および 24.5 分 (M-1) にそれぞれ対照糞抽出物にはみられない 4 つのピークを認めた。この M-4 の保持時間は 3, 4, 3', 4'-TCB の保持時間と一致した。また他の 3 ピークに相当する TLC 上のスポットがフェノール試薬 (Folin-Ciocalteu 試薬およびジアゾ試薬) の噴霧にてそれぞれ青色および赤橙色に呈色し, いずれもフェノール性代謝物であることが示唆された。

fraction B についても同様に GLC, TLC による代謝物の検索を行つたが, 両クロマトグラムとも対照

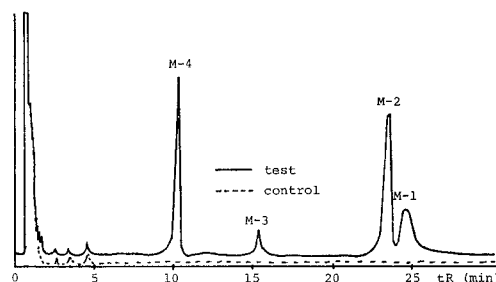


Fig. 1. A typical gas chromatogram of trimethylsilylated extract of fecal sample of rat excreted on the third day after administration of 3, 4, 3', 4'-TCB

糞のそれと全く同様であつた。このことは糞中に抱合代謝物が存在していないことを示すものである。

上記のように糞中にフェノール性代謝物が見出された場合, 体内で実際に形成されたのは, その抱合体 (グルクロナイドもしくはサルフェイト) で, これが胆汁中に排泄され, 腸管内で加水分解されて, 糞中ではフェノール体として見出される可能性も否定し得ない。実際 PCB の骨格をなすビフェニル¹¹⁾ および最も簡単な PCB である 4-クロロビフェニル¹²⁾ の代謝においてはこのようなグルクロナイドの生成が報告されている。しかしながら KC-400 の主成分 2, 4, 3', 4'-テトラクロロビフェニルにおいては, 抱合代謝物としてではなく, 遊離の 5-ヒドロキシ体として, ラット胆汁中に排泄されていることが確認¹⁶⁾ されており, この 3, 4, 3', 4'-TCB の場合もこれと同様と考えられる。

3. 糞中代謝物の単離および精製

前記ソックスレー抽出物 (fraction A) 中のフェノール性代謝物を単離するため, まずこれをメタノールに溶解して不溶物を濾去, 濾液よりメタノールを蒸発乾固し, 残渣を少量のクロロホルムに溶解して, n-ヘキサン溶液で充填した 15 倍量のアルミナ (和光純薬製, 200～300 メッシュ) に通した。

その結果, 最初の展開溶媒である n-ヘキサンの溶出液 (約 300 ml) から M-4 が結晶として単離され, ついで n-ヘキサン-クロロホルム (1:1) 約 500 ml およびクロロホルム約 1000 ml を溶出させたのちのメタノール溶出部分約 500 ml から代謝物含有の油状物質が得られた。この溶出物は GLC にて M-1, M-2, M-3 の 3 種の混合物であることが判明したので, 下記によりさらに精製を行つた。

すなわち, 上記溶出物を n-ヘキサン-酢酸エチル

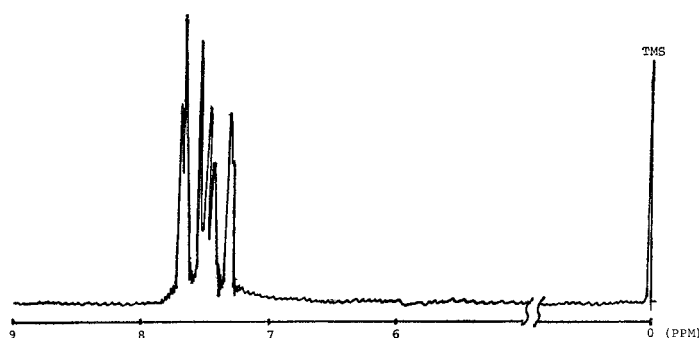


Fig. 2. NMR spectrum of 3,4,3',4'-TCB (in CDCl_3 , JNM-C-60H)

エステル—酢酸 (40:10:1) の展開溶媒を用いて、シリカゲル (Wakogel B 5-UA, 0.25 mm) 薄層による製造的 TLC に付した。この操作により M-1 (Rf 0.53), M-2 (Rf 0.45) および M-3 (Rf 0.40) がそれぞれ薄層上に分離された。これらのスポットに該当する部分のうち M-1, M-2 をメタノールで溶出し、これらを結晶として単離することができた。しかしこのうち M-1 は量的に少なく、再結晶などによる精製は困難であつたが、薄層クロマトグラフィーにより再精製したのち、mass および UV の両スペクトルの試料とした。なお M-3 は量的にさらに少なく薄層上で呈色試薬による検討を行つたのみである。

4. 代謝物の構造

上記クロマトグラフィーにより単離された M-4 は、メタノールにより再結すると mp. 172~173° の白色針状結晶となり、その UV ($\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 265 m μ), IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 1540, 1462, 1452, 1360, 1128, 890, 875, 817 cm^{-1}) NMR (Fig. 2), mass (Fig. 3) の各スペクトルは母化合物 3,4,3',4'-TCB のそれと完全に一致し、混融試験によつても融点降下を認めなかつた。

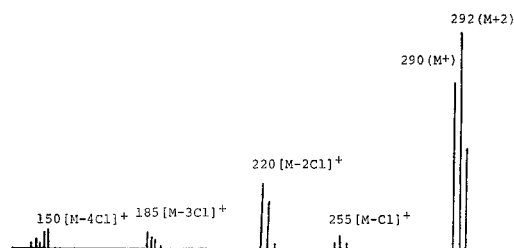


Fig. 3. Mass spectrum of 3,4,3',4'-TCB

M-1 は Folin-Ciocalteu 試薬およびジアゾ試薬によりそれぞれ青色および赤橙色を呈し、フェノール

性化合物なることが示唆されたが、さらに下記のスベクトル分析によりこのことが確認された。すなわち本代謝物は mass スペクトルにて m/e 306 および 308 にそれぞれ M^+ および $\text{M}+2$ イオンピークを示し、これは母化合物のそれ [m/e 290 (M^+), 292 ($\text{M}+2$)] より質量数 16 多く、酸素原子一個を導入したモノフェノール体であることを示している。なおこの $\text{M}+2$ イオンピークは M^+ のピーク強度の約 130

%を示し、このことは 4 塩素化合物に特徴的なものである¹³⁾。また UV 吸収スペクトルにおいても、エタノール中でみられる極大吸収 ($\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 270 m μ) が塩基性溶媒では著しい深色効果を示し ($\lambda_{\text{max}}^{0.1\text{NNaOH}}$ 305 m μ)、本代謝物がフェノール性化合物なることを支持した。

主代謝物と考えられる M-2 は、50%酢酸にて再結晶すると mp. 167-168° の白色針状結晶となつた。この代謝物も mass スペクトルにおいて前記 M-1 と同じく m/e 306, 308 にそれぞれ M^+ および $\text{M}+2$ のイオンピークが認められ、モノフェノール体なることがわかつた。また Fig. 4 により明らかなように、IR スペクトルにおいて 3500 cm^{-1} に水酸基の吸収が存在し、UV においては水酸化ナトリウム添加による顕著な深色効果 ($\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 265, 292 m μ , $\lambda_{\text{max}}^{0.1\text{NNaOH}}$ 255, 325 m μ) が認められた。

M-3 については、極めて微量のため、結晶としては得られなかつたが、薄層クロマトグラフ上で Folin-Ciocalteu 試薬にて青色のスポットとして認められ、この代謝物も恐らくフェノール性化合物と推定された。

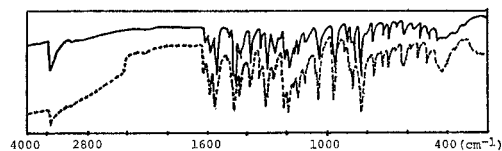


Fig. 4. IR spectra of M-2 and 2- or 5-hydroxy-3,4,3',4'-TCB (KBr)
—: M-2
----: 2- or 5-hydroxy-3,4,3',4'-TCB

上記代謝物のうち、白色針状結晶として単離された主代謝物 M-2 の構造は、モノヒドロキシ-3,4,3',4'-TCB であることが各種スペクトル分析により明らかにされたが、水酸基の位置を明らかにするためさら

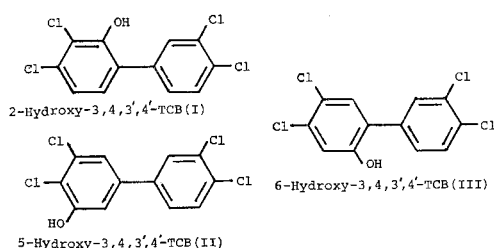


Fig. 5. Possible isomers of monohydroxy-3,4,3',4'-TCB

に合成による検討を加えた。このモノヒドロキシ-3,4,3',4'-TCB として考えられるすべての異性体は、Fig. 5 の 3 種である。

これらフェニルフェノール誘導体の合成法としては、一般にアニリン誘導体をジアゾニウム塩に導き、フェノール誘導体とカップリングを行わせる Colbert¹⁴⁾ 法が知られている。著者らは本法を用い、Fig. 5 に示す 3 化合物をそれぞれ与える反応 (Fig. 6) をまず小規模で行い、そのいずれにより代謝物に一致するものが得られるかを GLC により予備的に検討した。その結果、Fig. 6 の (b) に示す反応物の一つ (I または II) が M-2 の保持時間と完全に一致した。

以上の予備的検討により、M-2 は 3,4,3',4'-TCB の 2-ヒドロキシ体 (I) または 5-ヒドロキシ体 (II) であることが推定された。そこで実際にこれらのモノフェノール体 (I) または (II) を結晶として単離するため、幾分規模を大きくして前記反応を行つた。

反応 (b) すなわち、3,4-ジクロロアニリンと 2,3-ジクロロフェノールとの縮合反応を行うと、GLC に

て前記 Fig. 6-(b) に示す化合物と思われる 3 ピークを与え、かつ n-ヘキサン-酢酸エチルエステル-酢酸 (40:10:1) の溶媒系による TLC で Rf 0.40, 0.45, 0.55 に Folin-Ciocalteu 試薬にて青色に呈色する 3 スポットが認められた。

さらに各スポット部分をかきとりメタノールで溶出して質量スペクトル分析を行うと、いずれも m/e 306(M⁺), 308 (M+2) に顕著なピークを示し、これらの 3 化合物は上記縮合反応で理論的に可能な Fig. 6-(b) の 3 化合物であることが示唆された。このうち M-2 の Rf 値に一致する Rf 0.45 部分より得られた白色針状晶 mp. 167-168° は M-2 と混融して融点降下せず、UV ($\lambda_{\text{max}}^{\text{OH}}$ 265, 292 m μ), IR (Fig. 4), NMR (Fig. 7), mass (Fig. 8) の各スペクトルとも完全に一致した。

本反応で生成可能な化合物は (I), (II) のほか (IV) の 3 種であるが、3,4,3',4'-TCB 誘導体は (I), (II) の両者だけで (IV) は 3,4,3',4'-TCB よりは生成し得ず、このことから M-2 の構造は 2-または 5-ヒドロキシ-3,4,3',4'-TCB であることが結論された。

5. 糞中排泄率

ラットに経口投与した 3,4,3',4'-TCB はモノフェノール体に代謝され未変化体と共に糞中に排泄されることが明らかにされたが、その排泄率を知るため、3 匹のラットに 1 匹当たり 25 mg の 3,4,3',4'-TCB を経口投与し、未変化体 3,4,3',4'-TCB および主代謝物 M-2 の糞中への排泄を経日的に検討した。

糞は投与後 7 日までは 1 日ごとに、それ以後 8 日より 14 日までは 7 日間分を合わせ GLC により定量し

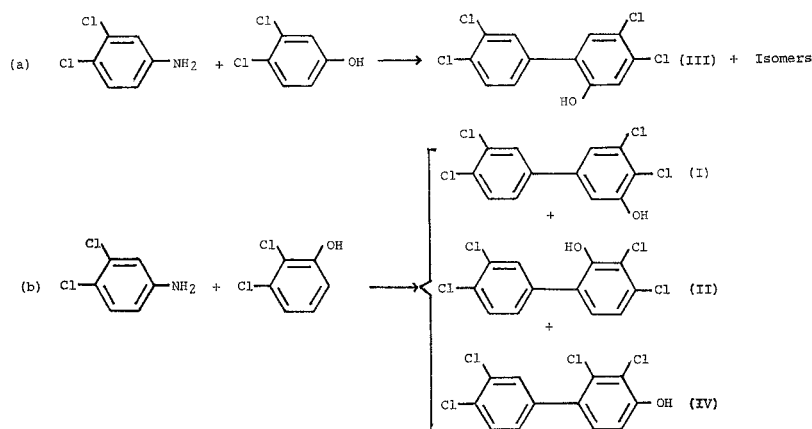


Fig. 6. Synthetic method of possible isomers of monohydroxy-3,4,3',4'-TCB

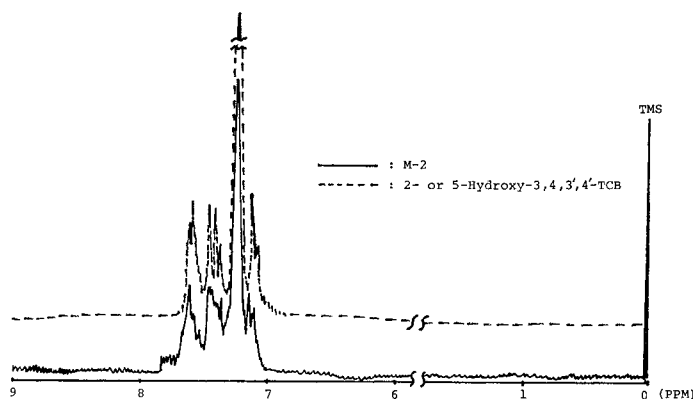


Fig. 7. NMR spectra of M-2 and 2- or 5-hydroxy-3,4,3',4'-TCB (in CDCl_3 , JNM-C-60H)

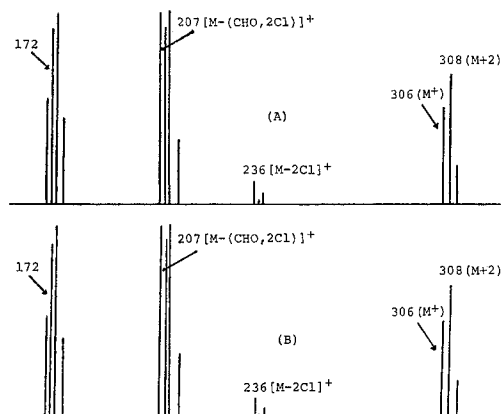


Fig. 8. Mass spectra of M-2 (A) and 2- or 5-hydroxy-3,4,3',4'-TCB (B)

Table 1. Excretion rate of unchanged 3,4,3',4'-TCB and M-2 in the rat feces

Days after administration	Excretion rate (% of dose)	
	Unchanged	M-2
1	58.6	1.6
2	4.9	0.9
3	0.4	0.4
4	0.1	0.2
5	0.1	0.1
6	Trace	0.1
7	Trace	Trace
8~14	Trace	Trace
Total	64.1	3.3

Trace < 0.04

た. その結果を Table 1 に示す.

Table 1 より明らかなように, 投与塩化ビフェニールの大部分は第 1 日目の糞中に排泄され, その後少量ずつ 14 日間にわたって排泄され続け, 投与後 14 日間までには投与量の約 64% に達した. 主代謝物 M-2 は投与後第 1 日目から糞中に見出され, 14 日間の総排泄量は約 3.3% であった.

考 察

多数の塩化ビフェニール類の混合物である KC-400 自身についての代謝研究には数々の難点が考えられるため, その主成分である 2,4,3',4'-テトラクロロビフェニル (2,4,3',4'-TCB) と共に, 今回引き続きその異性体である 3,4,3',4'-TCB について代謝研究を行い, 2,4,3',4'-TCB の実験結果と比較検討した. すなわち 3,4,3',4'-TCB 25 mg を食用油 1 ml にとかし, これをラットに経口投与した場合, 2,4,3',4'-TCB 投与のときと全く同様で, 尿中からは 3,4,3',4'-TCB もしくはその代謝物のいずれも排泄されず, 全く排他的に糞中のみこれが排泄されることが TLC, GLC により明らかにされた.

さらにこの糞中代謝物の構造は各種スペクトル分析により母化合物に水酸基 1 個が導入されたモノヒドロキシテトラクロロビフェニルであることが確認された. そのうち主代謝物と思われる M-2 については Colbert 法を利用した合成により, 2-あるいは 5-ヒドロキシ-3,4,3',4'-TCB であることが結論された. このことは 2,4,3',4'-TCB のラットにおける主代謝物が 5-ヒドロキシ-2,4,3',4'-TCB であり, かつ副代謝物の 1 つも 3-ヒドロキシ-2,4,3',4'-TCB であること⁷⁻⁹⁾, また Hutzinger らの 2,5,2',5'-TCB の代謝物がモノフェノールであるという知見⁶⁾ などからすると, 一般的に PCB の主代謝物はフェノール性化合物であることが示唆される.

さらにその排泄状況を知るため, 未変化 3,4,3',4'-TCB と主代謝物 (M-2) について糞中排泄率を測定した結果 (Table 1), 14 日間で投与量の約 64% が未変化体として排泄され, これに対し主代謝物の排泄は同じく 14 日間で僅かに約 3.3% であった. なお 2,4,3',4'-TCB の場合は 12 日間で投与量の約 43% が未変化体として排泄され, 主代謝物の排泄は 12 日間

で約 10 %であつた⁸⁾。

このことから KC-400 の主成分であるテトラクロロビフェニル各異性体で、その代謝に著しい相違が示唆されると共に、消化管吸収にも幾分の相違があることが明確となつた。すなわち 前回示した 2, 4, 3', 4'-TCB に比べ、今回明らかにした 3, 4, 3', 4'-TCB では消化管からの吸収率において 20 %程度の低下が認められ、また代謝物の排泄率から想定するとフェノール体への代謝量は 3, 4, 3', 4'-TCB において約 1/3 に減少していると考えられた。

なお未変化体の大部分は第 1 日目の糞中に排泄されており、これは恐らく消化管より吸収されずに、そのまま糞中に排泄されたものと考えられた。しかしその排泄は少量ずつではあるが 2 日以降も引続き行われ、14 日後に至るまで排泄され続け、かなり長期に亘つて排泄されるものと推定された。このことは 2, 4, 3', 4'-TCB 投与ラットの場合にも同様な傾向が認められており、これら未変化体は恐らく消化管からわずかずつ排泄されるのみではないかと推定された。最近、当教室で静脈内投与した 2, 4, 3', 4'-TCB は 1 日当たり投与量の約 0.6 %の未変化体が消化管壁から分泌排泄されていることが確認されており¹⁵⁾、上記推定が裏付けられた。

これに対し主代謝物の排泄は、消化管から吸収された 3, 4, 3', 4'-TCB が恐らく肝臓で代謝されて胆汁中に排泄され、最終的に糞中に見出されたものと考えられる。この場合も未変化体の場合と同様に、少量ずつではあるが長期間にわたつて排泄され、投与 14 日後においてもわずかではあるが検出されている。これは 2, 4, 3', 4'-TCB 投与のときと同様な排泄傾向で、その代謝が徐々にしか進行しないことを示している。さらに続報¹⁶⁾ において詳述するが、2, 4, 3', 4'-TCB 投与ラットにおいて、その主代謝物は胆汁中に排泄されることが明確となつており、本化合物 3, 4, 3', 4'-TCB の代謝物も同様な排泄経路をとるものと思われる。

結 論

KC-400 の主成分の 1 つ 3, 4, 3', 4'-TCB を Wistar 系雄ラットに 1 匹あたり 25 mg を経口投与し、糞および尿中の代謝物について定性、定量的検討を行い、つぎの結論が得られた。

1. 3, 4, 3', 4'-TCB およびその代謝物は尿中には全く排泄されず、糞中のみ検出された。

2. 糞中に排泄された代謝物のうち主代謝物 (M-2) が mp. 167~168° の白色針状結晶として得られ、

このものは各種スペクトル分析 (IR, UV, NMR および mass) および合成による同定から、2-または 5-ヒドロキシ-3, 4, 3', 4'-TCB であることが判明した。

3. 糞中に排泄された未変化体は、投与 14 日間で投与量の約 64 %であり、そのうち約 90 %が第 1 日目の糞中に見出された。一方代謝物の排泄量は薬物投与後 7 日間で約 3.3 %であつた。

本研究にあたり、Mass Spectrum を測定していただいた川村嬢、NMR (JNM-C-60H)、IR を測定していただいた田中氏および添田嬢に深謝いたします。

文 献

- 1) この内容の概要についてはすでにつぎの雑誌に速報した。a) 吉村英敏：ファルマシア，7：786，1972；b) Yoshimura, H. and Yamamoto, H.：Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 21：1168, 1973.
- 2) 塚元久雄ほか：福岡医誌，60：496, 1969.
- 3) 吉村英敏，山本弘明，永井諄爾，八戸義明，鵜沢春生，伊藤靖夫，納富昭光，水上茂樹，伊藤明夫，加藤敬太郎，辻宏：福岡医誌，62：12, 1971.
- 4) 吉村英敏，大島美奈子：福岡医誌，62：5, 1971.
- 5) Grant, D. L., Phillips, W. E. J. and Vileeneuve, D. C.：Bull. Envir. Contam. Toxicol., 6：102, 1971.
- 6) Hutzinger, O., Nash, D. M., Safe, S., DeFreitas, A. S. W., Norstrom, R. J., Wildish, D. J. and Zitko, V.：Science, 178：312, 1972.
- 7) 山本弘明，木下春喜，吉村英敏：第 4 回薬物代謝と薬効・毒性シンポジウム講演要旨集，p. 63, 1972.
- 8) Yoshimura, H., Yamamoto, H. and Saeiki, S.：Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 21：2231, 1973.
- 9) Yamamoto, H. and Yoshimura, H.：Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 21：2237, 1973.
- 10) 佐伯清太郎，筒井昭代，小栗一太，吉村英敏，浜名政和：福岡医誌，62：20, 1971.
- 11) West, H. D., Lawson, J. R., Miller, I. H. and Mathura, G. R.：Arch. Biochem. Biophys., 60：14, 1956.
- 12) Block, W. D. and Cornish, H. H.：J. Biol. Chem., 234：3301, 1959.
- 13) Silverstein, R. M. and Bassler, G. C.："Spectrometric identification of organic compounds" 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc., New York, p. 29, 1967.
- 14) Colbert, J. C. and Lacy, R. M.：J. Amer. Chem. Soc., 68：270, 1946.
- 15) 山本弘明，木下春喜，黒木広明，吉村英敏：日本薬学会九州支部第 82 回例会発表，福岡大学，1973 年 5 月 26 日.
- 16) 吉村英敏，山本弘明，木下春喜：福岡医誌，65：12, 1974.

PCB の代謝に関する研究 (第5報)

2, 4, 3', 4'-テトラクロロビフェニル代謝物の 胆汁中排泄について

九州大学薬学部衛生裁判化学教室

吉 村 英 敏・山 本 弘 明
木 下 春 喜

Metabolic Studies on Polychlorinated Biphenyls. V.

Biliary Excretion of 5-Hydroxy-2, 4, 3', 4'-Tetrachlorobiphenyl, a Major Metabolite of 2, 4, 3', 4'-Tetrachlorobiphenyl

Hidetoshi YOSHIMURA, Hiro-aki YAMAMOTO
and Haruki KINOSHITA

*Department of Hygienic and Forensic Chemistry, Faculty
of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University*

In a previous paper of this series it was reported that after oral administration of 2, 4, 3', 4'-tetrachlorobiphenyl (2, 4, 3', 4'-TCB), about 10 % of the dose was excreted as a major metabolite, 5-hydroxy-2, 4, 3', 4'-TCB, exclusively into the feces of rats. The present investigation was undertaken to confirm the assumption that above metabolite is biotransformed probably in the liver and excreted through a biliary system into the feces.

For this purpose, 2, 4, 3', 4'-TCB was orally administered into rats cannulated in the bile-duct, and excretion of the metabolite in bile was examined by gas chromatography. The results indicated undoubtedly biliary excretion of the metabolite, although excretion percentage was very limited (only about 0.4 % of the dose during 3 days after the administration). No unchanged compound was detected in the bile.

In mice, when injected intraperitoneally with 2, 4, 3', 4'-TCB, the same metabolites as in rats were also detected in the feces, suggesting the biliary excretion. The amount of the major metabolite, 5-hydroxy-2, 4, 3', 4'-TCB, excreted was accounted for about 4 % of the dose (250 mg/kg) during 7 days after the injection.

2, 4, 3', 4'-テトラクロロビフェニル (2, 4, 3', 4'-TCB) は、いわゆる油症の原因物質カネクロール-400 (KC-400) の代表的成分であるが、この 2, 4, 3', 4'-TCB をラットに経口投与した場合、主代謝物として、5-ヒドロキシ-2, 4, 3', 4'-TCB および副代謝物として 3-ヒドロキシ-2, 4, 3', 4'-TCB がラット糞中より見出されることは、すでに前報において詳述した¹⁾²⁾。なお上記の主代謝物 5-ヒドロキシ-2, 4, 3', 4'-TCB では母化合物に比べて約5倍も急性毒性が増加していることを認め、PCBの急性毒性の本体はこれらの代謝産物に由来するのではないかと推定された²⁾。しかしこのようなフェノール性代謝物が糞中に見出

される場合、体内で実際に生成するのは、その抱合体 (グルクロナイドもしくはサルフェイト) で、これが胆汁中に排泄され、腸管内で加水分解されて、最終的には遊離のフェノール体として糞中に見出されたと考えることも可能である。

Williams らは薬物の胆汁中への排泄について最近種々の検討を行い、動物の種類や薬物の構造により、その排泄量にかなりの差がみられることを明らかにしている³⁾。たとえばラットは薬物を胆汁中にもつとも多く排泄させる動物の1つであるが、このラットにおいて投与量の少なくとも 5~10%以上が胆汁中に排泄されるための構造上の条件としては、分子量が 300 程

度以上の極性の酸性化合物か、あるいはその薬物自体の分子量は 300 以下であつても、分子量 300 以上のグルクロナイドを作りうるようなフェノール類であることが挙げられている。

これから考えると、2, 4, 3', 4'-TCB のフェノール性代謝物の分子量はいずれも 306 で、グルクロナイドとして胆汁中へ排泄される可能性は否定できない。もしこのように抱合体が体内で生成されたとするならば、抱合体の毒性はきわめて低いと考えられるので、フェノール性代謝物自体の毒性が高くても、実際にはあまり問題とはならないであろう。一方また、上記のフェノール性代謝物は恐らく肝ミクロゾーム分画中の酸素添加酵素により生成したと考えられるが、PCB 分子中の塩素原子が消化管中の微生物による加水分解を受け、フェノール体を生成する可能性についても一考すべきであろう。

これらの問題点を明らかにするため、胆管にカニューレを挿入したラットを用い、胆汁からの代謝物の排泄ならびにその糞中における代謝物の有無に関して詳細な検討を試みた。またマウスにおいては、腹腔内に 2, 4, 3', 4'-TCB を注射することにより、代謝物の糞中からの排泄について検討した。

実験方法

1. 実験動物および薬物投与方法

佐伯ら⁴⁾の方法にて合成して得られた KC-400 の主成分 2, 4, 3', 4'-TCB を用い、これを市販食用油(ニッカ天ぷら油)に溶かし、その 1 ml 中に 25 mg (ラット用)または 10 mg (マウス用)の 2, 4, 3', 4'-TCB を含有する溶液を調製した。実験動物には Wistar 系雄ラット(体重約 150 g)および CF #1 系雄マウス(体重 16~23 g)を使用した。

胆汁中の代謝物の検索には、ウレタン(1.0 g/kg)の腹腔内注射にて麻酔したラット 5 匹を使用し、腹部を切開して胆管にカニューレを挿入後、さらに腹部を縫合して 1 日放置し、2, 4, 3', 4'-TCB をラット 1 匹につき 25 mg の用量で経口投与した。なお手術開始時から胆汁採取終了まで 5 %グルコース溶液を適宜大腿部に筋注した。また 2, 4, 3', 4'-TCB 投与前 24 時間の胆汁を対照サンプルとし、投与後それぞれ 24 時間、48 時間および 72 時間の胆汁を採取して試験サンプルとした。2, 4, 3', 4'-TCB 投与 96 時間後のラットは屠殺し、その消化管内容物および 4 日間の糞を一緒に集め、下記ガスクロマトグラフィーによる代謝物の検索を行った。

マウスにおける実験には、2, 4, 3', 4'-TCB 250 mg/kg の用量に相当する上記食用油溶液を腹腔内に投与し、投与後 1 週間の糞を毎日 1 日分ずつ別個に採取した。なお薬物投与前 24 時間の糞を対照サンプルとした。

2. ガスクロマトグラフィー (GLC)

装置は島津 GC-3AE 型ガスクロマトグラフ(エレクトロンキャプチャー検出器付)を使用し、カラムは 4 mm×2 m のガラスカラムに 1.5 % SE-30 をコーティングした chromosorb-W (60~80 メッシュ)を充填して用いた。キャリアーガスには N₂ を用い、流速 60 ml/min (1.5 kg/cm²)、カラム温度 200°で行った。

3. 糞、消化管内容物、および胆汁中代謝物の抽出

前記の操作によつて得られた 4 日間の胆汁を濃塩酸にて pH 2.0 に調整し、酢酸エチルエステル 10 ml にて 15 分間、3 回振盪抽出した。抽出液は水浴上蒸発乾固したのち、デシケーター(CaCl₂)中で 1 時間減圧乾燥を行った。かくして得られた残渣を無水ピリジンに溶解し、N, O-bis(trimethylsilyl) acetamide で trimethylsilyl (TMS) 化を行い、ガスクロマトグラフィーのサンプルとした。酢酸エチルエステル抽出後の胆汁は、抱合型代謝物の検索のため、濃硫酸を加え 4N 硫酸溶液とし、沸騰水浴上で 1 時間加水分解し、酢酸エチルエステルで 15 分間 3 回振盪抽出を行い、上記同様 GLC サンプルを調製した。

ラットの消化管内容物および糞は、無水芒硝 5 g を加え、乳鉢中で脱水して細粉とし、遠沈管を用い、酢酸エチルエステルで 15 分間、3 回振盪抽出を行い、代謝物ならびに未変化物の検索試料を調製した。

マウス糞はデシケーター(P₂O₅)中で充分に乾燥したのち、乳鉢中で細粉とし、ソックスレー抽出器を用い、クロロホルムにて 14 時間連続抽出を行った。得られた抽出液は 100 ml に調整し、その 0.2 ml を蒸発乾固し、無水ピリジンに溶解して TMS 化後 GLC サンプルとした。

実験結果および考察

1. ラット胆汁中の代謝物

実験方法の項に記載したようにして得られたラット胆汁抽出物は、TMS 誘導体として GLC による代謝物の確認を行った。なお 2, 4, 3', 4'-TCB 投与前 24 時間の胆汁を試験サンプル同様に処理し、これを対照サンプルとして、GLC に供した。以上のようにして得られたガスクロマトグラムを Fig. 1 に示す。

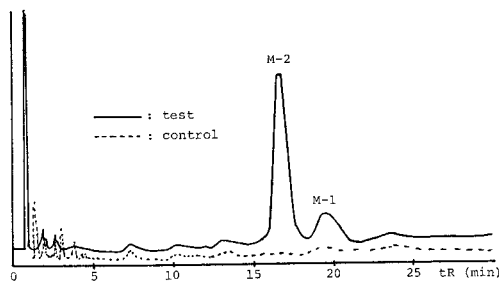


Fig. 1. A typical gas chromatogram of trimethylsilylated extract of biliary sample of rat excreted on the first day after administration of 2, 4, 3', 4'-TCB

Fig. 1 より明らかなように 2, 4, 3', 4'-TCB 投与ラットの胆汁抽出物中には、対照胆汁抽出物に存在しない 2 つの大きなピークが認められた。保持時間 (tr) の遅い方から M-1, M-2 と名付けると、M-1 はすでに前報¹⁾²⁾ で示した 2, 4, 3', 4'-TCB 投与ラット糞中より単離された代謝物の 1 つである 3-ヒドロキシ-2, 4, 3', 4'-TCB の tr と完全に一致し、さらに M-2 においては主代謝物である 5-ヒドロキシ-2, 4, 3', 4'-TCB の tr と完全な一致をみた。これらの代謝物のうち主代謝物についての定量結果を Table 1 に示す。

Table 1. Biliary excretion rate of M-2 in the rat administered with 2, 4, 3', 4'-TCB

Rat No.	Excretion rate (% of dose)			
	24 hr	48 hr	72 hr	Total
1	0.06	0.36	0.09	0.51
2	0.01	0.24	0.17	0.42
3	0.08	0.12	0.04	0.24
4	0.08	—	—	—
5	0.01	0.28	—	—
Average	0.05	0.25	0.10	0.39

Table 1 に示されるごとく、2, 4, 3', 4'-TCB をラット 1 匹当たり 25 mg 投与したにもかかわらず、主代謝物の排泄量は極めて少なく、3 日間の総排泄量で示しても僅か投与量の約 0.4% に過ぎなかつた。この結果を同じく 25 mg の 2, 4, 3', 4'-TCB を経口投与した無傷のラット糞中より排泄される主代謝物量 (3 日間で投与量の約 5.1%) に比べると、著しく減少していることが認められた。この顕著な相異は 2, 4, 3', 4'-TCB の正常時ラットと手術ラットとの吸収率の相違

によるものか、あるいは手術ラットによる代謝活性の減少に基づくものかは現在のところ不明である。しかしながらこの実験により、代謝物の胆汁中への排泄が確認されると共に、無傷のラット糞中に見られた長期間の代謝物の排泄が、Table 1 に示す胆汁中の代謝状況からも窺うことができた。

つぎに酢酸エチルエステルで抽出した後の胆汁を 4 N 硫酸濃度として、沸騰水浴上加水分解して得られたサンプルにつき、前記同様 TMS 化を行い、GLC にて代謝物の検索を試みた。その結果、試験サンプルと対照サンプルは全く同様なガスクロマトグラムを呈し、このことから胆汁中には抱合型代謝物は存在しないことが結論された。

以上の結果から、2, 4, 3', 4'-TCB をラットに経口投与すると、体内に吸収された一部が、体内 (恐らく肝臓) できわめて徐々にフェノール性化合物に代謝され、これは硫酸あるいはグルクロン酸抱合を受けることなく遊離のままで胆汁中に排泄され、十二指腸を経由して糞中に見出されることが明らかとなった。

すでに述べたようにフェノール性代謝物は腸内微生物によつても生成する可能性があるが、この点を明確にするために以下の実験を試みた。すなわち 2, 4, 3', 4'-TCB 投与後 4 日間のラットの糞および投与 4 日後の同消化管内容物を酢酸エチルエステルで振盪抽出し、得られた抽出物を TMS 化したのち GLC にて代謝物の確認を行った。

その結果 2, 4, 3', 4'-TCB 投与糞および消化管内容物の両抽出物とも、対照抽出物と相違する GLC のピークは全く認められず、また上記代謝物 M-1 および M-2 の tr と一致するようなピークは認められなかつた。このことから胆汁中に排泄された M-1, M-2 を始め他のいかなるフェノール性代謝物も、消化管中の微生物によつては生成されないことが明確となった。一方未変化体の方は、糞および消化管内容物中のみ検出され、胆汁中には存在しなかつた。

2. マウス腹腔内投与による糞中代謝物

実験方法の項に従って得られた 2, 4, 3', 4'-TCB 投与後 1 週間にわたるマウス糞は、1 日分ずつをクロロホルムにてソックスレー抽出し、抽出液は蒸発乾固した後、無水ピリジン溶液中 TMS 化を行い、GLC サンプルを調製した。その結果を Fig. 2 に示す。

Fig. 2 より明らかなように、2, 4, 3', 4'-TCB 投与マウスの糞抽出物のクロマトグラムには対照サンプルのそれに存在しない 3 つのピークが認められた。このうち tr 16.8 分および 19.4 分のピークは TMS 化し

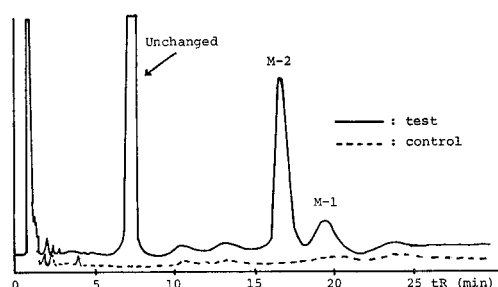


Fig. 2. A typical gas chromatogram of trimethylsilylated extract of fecal sample of mice excreted on first day after administration of 2,4,3',4'-TCB

Table 2. Excretion rate of unchanged 2,4,3',4'-TCB and M-2 in the mouse feces

Days after administration	Excretion rate (% of dose)	
	Unchanged	M-2
1	1.1	0.3
2	1.3	0.3
3	1.6	0.6
4	1.3	0.7
5	1.3	0.7
6	1.1	0.7
7	1.1	0.6
Total	8.8	3.9

た後のサンプルにのみシャープなピークとして認められ、かつ前記のラット胆汁中に排泄されたフェノール性代謝物 3-ヒドロキシ-2,4,3',4'-TCB および 5-ヒドロキシ-2,4,3',4'-TCB の t_R とそれぞれ完全に一致した。また t_R 6.2 分のピークは母化合物 2,4,3',4'-TCB の t_R と一致し、未変化体の存在を明示した。これらの定量結果を Table 2 に一括して示す。

以上のマウスによる実験結果から、2,4,3',4'-TCB は腹腔内に投与されたにもかかわらず、糞中に未変化体ならびに代謝物の排泄が認められたことになる。この代謝物の排泄は、上記胆管カニューレラットを用いての実験結果と合せ考えるとき、胆汁経由のものであることが強く示唆される。

さらに Table 2 から明らかなように、代謝物の排泄は少量宛ではあるが、毎日かなり一定した値を示しており、ラットにおけると同様体内での代謝が徐々に行われていることを推定させる。1 週間の総排泄量は投与量の約 4% でラットに経口投与した場合 (6 日

約 7%)¹⁾ より幾分低い値であるが、投与法が同一ではないので直接の比較はできない。また未変化体はラット胆汁中には全く認められなかったが、腹腔内投与マウスの糞中にはかなり長期間の、しかもかなり一定した未変化体の排泄が確認された (Table 2)。この排泄部位は不明ではあるが、消化管壁からの分泌排泄を示唆するものである。最近著者らによりこの推定を裏付ける結果が得られているが²⁾、これについては別途報告する。

最近 Hutzinger らは 2, 3 の単一 PCB 標品を用い、ラット、ハトおよびマスについての代謝研究を速報している³⁾。それによればマスでは全く代謝が行われなかったが、ラットに 4,4'-ジクロロ-および 2,5,2',5'-テトラクロロビフェニルを腹腔内投与した場合、加水分解した尿中にモノヒドロキシ体が見出され、大量の未変化体が糞中に検出されるという。ハトにおいても同様な代謝が認められている。この報告では代謝物の水酸基の位置も確立されておらず、また定量的な測定結果は全くないので、厳密には著者らの結果と比較し難いが、異性体の 2,5,2',5'-TCB の代謝物が、尿中のみから見出されているのは全く対蹠的である。

結 論

胆管カニューレラットを使用し、KC-400 の代表的成分 2,4,3',4'-TCB を 1 匹あたり 25 mg 経口投与し、ラット胆汁からの代謝物の排泄について検索した。またマウスにおいては上記薬物を 250 mg/kg 腹腔内に投与し、その糞中代謝物の検索を行い、つぎの結論を得た。

1. 2,4,3',4'-TCB をカニューレラットに経口投与すると主代謝物 (5-ヒドロキシ-2,4,3',4'-TCB) および副代謝物の 1 つ (3-ヒドロキシ-2,4,3',4'-TCB) はラット胆汁中より排泄された。そのうち主代謝物の胆汁排泄量は 3 日間で投与量の約 0.4% であった。なお未変化体の胆汁中排泄は全く認められなかった。

2. 2,4,3',4'-TCB をマウスの腹腔内に投与した場合、糞中より未変化体および代謝物の排泄が認められた。このうち代謝物はおそらくラットの場合と同様に、胆汁中へ排泄されたものが糞中に見出されたものと考えられる。

文 献

- 1) Yoshimura, H., Yamamoto, H. and Saeiki, S.: Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 21: 2231;

1973.

2) Yamamoto, H. and Yoshimura, H.: Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 21: 2237, 1973.

3) Abou-El-Makarem, M. M., Millburn, P., Smith, R. L. and Williams, R. T.: Biochem. J., 105: 1289, 1967.

4) 佐伯清太郎, 筒井昭代, 小栗一太, 吉村英敏,

浜名政和: 福岡医誌, 60: 20, 1971.

5) 山本弘明, 木下春喜, 黒木広明, 吉村英敏: 日本薬学会九州支部第82回例会発表, 福岡大学, 1973年5月26日.

6) Hutzinger, O., Nash, O. M., Safe, S., DeFreitas, A. S. W., Norstrom, R. J., Wildish, D. J. and Zitko, V.: Science, 178: 312, 1972.

油症患者および一般人体内のポリ塩化ビフェニール

第一薬科大学薬品分析学教室

増 田 義 人・香 川 梨 絵

九州大学医学部公衆衛生学講座

倉 恒 匡 徳

Polychlorinated Biphenyls in Yusho Patients and Ordinary Persons

Yoshito MASUDA, Rie KAGAWA

Daichi College of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka

and Masanori KURATSUNE

*Department of Public Health, Faculty of Medicine,
Kyushu University, Fukuoka*

Fatty tissue, liver, skin etc. of seven Yusho patients and milk from a Yusho patient were analyzed for PCB and DDE. Eleven samples of fatty tissues and 31 samples of milk from ordinary persons were also analyzed for the same compounds. Two techniques, gas chromatography of PCB and that of decachlorobiphenyl obtained by chlorination of PCB, were used for analysis of PCB.

PCB concentrations in fatty tissues of Yusho patients (2.5 ppm) were about 2.5 times higher than those of ordinary persons (0.9 ppm) on average. PCB in the milk of Yusho patient did not seem to be higher in concentration than that of ordinary persons.

Gas chromatograms of PCB in tissues and milk of the patients had a peculiar peak pattern in most cases and were different from those of ordinary persons.

1968年に西日本一帯で発生した油症事件の原因が、食用油に混入したポリ塩化ビフェニール (PCB) であることはすでに報告¹²⁾され、よく知られている。この PCB の患者体内における状態については各組織の比較的濃度⁶⁾ や一部の皮下脂肪の濃度レベル^{3), 8)} が示されているが、その後の状態はよく調べられていない。

同じ頃、PCB が環境を汚染¹¹⁾していることが世界中の問題になり、人体内の PCB 量がアメリカ^{2), 10)}、ドイツ¹⁾ および日本⁹⁾ で分析されている。また、我が国の PCB による環境汚染の状態を知るために、食品等に関する PCB の統一分析法が厚生省より示された⁴⁾。我々は、この統一分析法を用い、油症患者の体組織や母乳および一般人の脂肪組織や母乳を分析し、両者の PCB 濃度および組成を比較した。

研 究 材 料

1. 試 料

(1) 油症患者組織

九州大学医学部病理学教室、山口大学医学部病理学教室および国立小倉病院でホルマリン溶液に保存中のもの、および手術時に取り除かれた脂肪組織を分析した。

(2) 油症患者母乳

五島、玉之浦町の患者より採取された母乳。

(3) 一般人脂肪組織

佐賀県立病院で手術時に取り除かれた組織の一部を使用。

(4) 一般人母乳

福岡市内の病院および沖縄県石垣市の医療機関で採取されたもの。

2. 溶媒および試薬

(1) n-ヘキサンおよびエタノール

一級品を蒸留塔をつけて2回蒸留した。

(2) 水

イオン交換樹脂で精製した水を前記 n-ヘキサンで 2 回抽出したものを使用。

(3) ベンゼン

濃硫酸およびアルカリ溶液で洗浄したのち蒸留した。

(4) 五塩化アンチモン

電子工学用特製試薬 (半井化学)。

(5) シリカゲル

PCB 用シリカゲル (ワコーゲル S-1) を 130° で 3 時間加熱乾燥したものを用いた。

(6) 水酸化ナトリウム, 無水硫酸ナトリウム, 酒石酸および蓚酸ナトリウム

試薬特級, 使用前にできるだけ n-ヘキサンで洗浄した。

(7) 標準 PCB

鐘淵化学のカネクロールを用いた。

(8) 1,1-ジクロロ-2,2-ビス (p-クロロフェニル) エチレン (DDE)

マイアミ大学の J. L. Radmski 教授より提供された。

(9) デカクロロビフェニール

京都市衛生研究所の藤原邦達主幹より提供された。

3. 装置

(1) ガスクロマトグラフ

島津 GC-5A に ^{63}Ni の電子捕獲型検出器がついたものを使用した。カラムは 5% SE-30 または 5% OV-17 を Chromosorb W AW DMCS にコーティングし, 2 m のガラスカラムに充填したものを用いた。キャリアーガスは 99.9995% の窒素ガスを使用。

(2) ガスクロマトグラフ直結マススペクトル装置 (GC-MS)

日立 RMU-6 M, 島津 LKB 9000, および日本電子 JMS-01 SG-2 を用いて分析することを日立, 島津および日本電子の各社に依頼した。カラムは 2% OV-1 または 2% OV-17 を使用。ガスクロマトグラムは全イオンモニター, マススペクトルは電気検出によった。

分 析 方 法

1. 組 織

試料を精析し, ワーリングブレンダーのカップに取り, 組織中の水分を吸収するのに十分な無水硫酸ナトリウムおよび 50~100 ml の n-ヘキサンを加え, 数分間攪拌した。n-ヘキサン溶液は無水硫酸ナトリウ

ム (約 5 g) の層を通した。ブレンダー内の試料はさらに n-ヘキサン 50 ml で 2~3 回抽出した。n-ヘキサン溶液を集め, K-D 濃縮器で濃縮した。残った油を減圧デシケーター中で一夜乾燥し, 脂肪分の重量を測定した。

この脂肪分にエタノール 50 ml および水酸化ナトリウム 2~5 g を加え, 還流冷却器をつけて, 1 時間加熱した。冷後, 水 20 ml を加え, n-ヘキサン 50 ml で 3 回抽出した。n-ヘキサン層を合し, 水 100 ml で 2 回洗ったのち, 無水硫酸ナトリウムの層を通して乾燥し, K-D 濃縮器で濃縮した。濃縮液をシリカゲル (2~3 g) のカラムクロマトグラフィーにかけ, n-ヘキサン 100 ml で溶出した。この溶出液を K-D 濃縮器で濃縮し, ガスクロマトグラフィーの試料とした。

2. 母 乳

試料 (20~150 g) を分液ロートに取り, これと同量のエタノール, 蓚酸ナトリウム 1~2 g, エーテル 10~50 ml および n-ヘキサン 20~80 ml を加え, よく振盪して, 溶液を遠沈管に移して遠心分離した。上層の n-ヘキサン層をスポイトで取り出した。下層は集めて n-ヘキサンを加えて振盪し, 抽出を繰り返した。n-ヘキサン溶液は合して, 100~500 ml の水で洗ったのち, 無水硫酸ナトリウムの層を通して乾燥し, K-D 濃縮器で濃縮した。残査を減圧デシケーターで乾燥し, 脂肪分を秤量した。その後の操作は組織の場合の脂肪分の処理方法と同様に行つた。

3. ガスクロマトグラフィーによる定量

組織や母乳を処理して得た n-ヘキサン溶液を一定量にし, その数 μl をガスクロマトグラフに注入した。別に試料のガスクロマトグラムに近いパターンを示すカネクロールの数段階の溶液 (0.5~5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) を作り, それぞれ試料と同量注入した。検量線は標準カネクロールの多くのピークのうち DDE と重なるピークを除いた全ピークの高さの和と濃度で作った。試料のピークのうち標準カネクロールと保持時間が一致するピークのすべて (DDE は除く) の高さの和を求め, 検量線より試料溶液の PCB 濃度を求めた。

DDE は PCB 定量の場合スケールオーバーしているので PCB 測定後, 試料溶液を適量に希釈し, 絶対検量線法により DDE の濃度を求めた。

4. 十塩化ビフェニール法による定量

PCB および DDE を定量した試料溶液の全量または一定量を, 一端を封じたガラス管 (1×30 cm) に入れ, 水浴で約 70° に加温し, 溶媒を蒸発させた。これ

に五塩化アンチモン 0.5 ml を加え、ガラス管の上端 50 ml で洗い、分液ロートに入れた。ベンゼン溶液を
を熔封した。このガラス管を 220° で 1 時間加熱し反 30 % 塩酸、10 % 酒石酸および水で洗ったのち、無水
応させた。冷後、ガラス管の一端を切断し、ベンゼン 硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。ガスクロマトグ

Table 1. PCB and DDE in tissues of Yusho patients

Case Sex Age Time of death (Time of operation)	Tissue	Amount of sample (g)	Fat content (%)	PCB (ppm) Whole basis (Fat basis)	DDE (ppm) Whole basis (Fat basis)
Case 1 Still-born baby Oct., 1968	Skin	0.5	8.9	0.11 (1.2)	0.16 (1.6)
	Fatty tissue (Mesentery)	3.0	16.3	0.02 (0.1)	0.02 (0.1)
	Liver	8.8	4.0	0.07 (1.8) [0.07 (1.7)]	0.04 (0.9)
Case 2 Male 13 July, 1969	Fatty tissue (Mesentery)	12.5	34.7	1.3 (3.7)	0.9 (2.7)
	Liver	10.7	1.5	0.14 (9.5)	0.1 (7.0)
	Heart	2.7	3.7	0.6 (15.0)	0.1 (3.9)
	Kidney	10.5	1.1	0.1 (9.6)	0.02 (1.8)
	Brain	17.7	4.1	0.02 (0.6)	0.01 (0.3)
Case 3 Male 25 July, 1969	Skin	2.5	14.3	1.2 (8.7)	0.7 (4.7)
	Fatty tissue (Mesentery)	5.4	18.5	2.8 (15.1) [1.3 (7.0)]	0.9 (4.9)
	Liver	12.8	2.0	0.2 (10.4) [0.2 (8.1)]	0.2 (9.2)
	Heart	4.8	28.1	5.2 (18.3) [2.2 (8.0)]	3.1 (10.9)
Case 4 Male 73 Nov., 1969	Skin	3.0	23.3	1.0 (4.4) [0.7 (2.9)]	0.7 (2.8)
	Fatty tissue (Mesentery)	8.2	45.7	3.8 (8.4) [2.7 (5.9)]	3.1 (6.7)
	Liver	6.6	2.3	0.07 (3.1) [0.07 (3.0)]	0.07 (2.9)
Case 5 Female 48 Dec., 1970	Skin	3.0	79.3	0.6 (0.8) [1.3 (1.6)]	1.2 (1.5)
	Fatty tissue (Mesentery)	3.0	70.0	0.7 (0.9) [2.5 (3.5)]	1.3 (1.8)
	Fatty tissue (Great omentum)	3.0	86.7	0.7 (0.8) [1.5 (1.7)]	1.2 (1.4)
	Liver	3.0	5.3	0.07 (1.3)	0.1 (2.2)
	Heart	3.0	28.3	0.2 (0.8)	0.5 (1.8)
Case 6 Male 46 May, 1972	Skin	3.2	56.3	1.8 (3.2) [1.2 (2.1)]	0.1 (0.2)
	Fatty tissue (Mesentery)	8.5	67.1	4.3 (6.5) [3.5 (5.2)]	2.6 (3.9)
	Liver	5.5	0.9	0.08 (8.4)	0.03 (3.2)
	Heart	1.3	29.6	0.08 (0.3)	0.16 (0.5)
	Kidney	6.7	2.0	0.01 (0.4)	0.003 (0.2)
Case 7 Female 33 (Sept., 1972)	Fatty tissue (Subcutaneous)	3.2	66.3	1.9 (2.9)	2.7 (4.1)
	Fatty tissue (Great omentum)	5.5	83.4	1.9 (2.2)	1.4 (1.7)

Values of PCB are calculated as Kanechlor-500+Kanechlor-600 (1:1).

Values in brackets are calculated from the amount of decachlorobiphenyl.

ラフィーは比較的高い温度条件 (230°) で、絶対検量線法により、十塩化ビフェニールを定量した。この値を PCB 定量の時のカネクロール標準品の塩素含量の PCB に換算して、十塩化ビフェニール化法より求めた PCB の濃度とした。

結果と考察

1. PCB 分析データ

油症患者 7 例の種々の組織に含まれる PCB および DDE の濃度を Table 1 に示す。これらのうち Case 1⁵⁾, Case 3⁶⁾, Case 4⁶⁾ および Case 5⁷⁾ の病理所見は菊池らに依りべられている。油症患者の母乳については 1 例だけであるが、時間を追って採取できたので分析結果を Table 2 に示す。また、一般人の脂肪組織 (佐賀県) および母乳 (福岡市および石垣市) に含まれる PCB および DDE の濃度も Table 3 にまとめた。

2. GC-MS による定性

電子捕獲型検出器がついたガスクロマトグラフの定量では、試料のほとんどのピークの保持時間が標準カネクロールのそれと一致するので、それらを PCB と考えてよいと思うが、さらに確実を期すために一般人の母乳、脂肪組織および油症患者の脂肪組織からの試料をガスクロマトグラフィーで定量後、GC-MS で調

べてみた。

GC-MS の全イオンモニター検出器では母乳の場合バックグラウンドがひどく、PCB らしいピークは見られなかったが、標準カネクロールのピークに相当する保持時間の所でマススペクトルを測定すると、塩素数が 5 個から 7 個までの PCB のピークが見られた。一般人の脂肪組織および油症患者の脂肪組織ではそれぞれ 4~7 個および 5~7 個の塩素を含む PCB のマススペクトルが見られたが、そのほかに脂肪族炭化水素のピークも多く現れた。油症患者 (Case 7) の脂肪組織を GC-MS で測定した場合のガスクロマトグラムおよびマススペクトルの 1 つを Fig. 1 に示す。

3. PCB 定量値についての検討

ここで行った分析方法による PCB の回収率を検討するために、5 μ g のカネクロール 500 を水 100 ml に加え、同様に処理し、分析した。また同量のカネクロール 500 を PCB がこん跡しか含まれない食用油に加えて、同様に分析した。いずれの場合も添加量の約 90 % の PCB を回収した。分析に用いた溶媒や試薬から微量の PCB が混入することが考えられるので、試料を用いずに同様の処理をするブランクテストを行つたが、試料の PCB 定量値に影響を与えるような量の PCB は検出されなかった。以上より、試料の抽出およびクリーンアップ操作で PCB は定量的に集められ

Table 2. PCB and DDE in milk of a Yusho patient

Milk	Amount of sample (g)	Fat content (%)	PCB (ppm) Whole basis (Fat basis)	DDE (ppm) Whole basis (Fat basis)
0~2 days after delivery	34	2.6	0.06 (2.3)	0.12 (4.5)
3 days after delivery	70	2.1	0.04 (1.9)	0.07 (3.1)
4 days after delivery	94	2.1	0.04 (2.0)	0.06 (3.0)
5 days after delivery	85	1.5	0.03 (1.8)	0.04 (2.6)

Table 3. PCB and DDE in human fatty tissue and milk (average $\pm$ standard deviation)

Sample	Time of sample collection	Number of samples	PCB (ppm) Whole basis (Fat basis)	DDE (ppm) Whole basis (Fat basis)
Fatty tissue (Saga)	Sept.-Nov. 1970	11*	0.9 $\pm$ 0.46 (2.6 $\pm$ 1.29)	1.3 $\pm$ 0.87 (3.4 $\pm$ 1.59)
Milk (Fukuoka)	Jan.-March 1972	19**	0.03 $\pm$ 0.015 (1.0 $\pm$ 0.54)	0.02 $\pm$ 0.013 (0.8 $\pm$ 0.57)
Milk (Ishigaki)	March 1972	12	0.014 $\pm$ 0.005 (0.4 $\pm$ 0.18)	0.06 $\pm$ 0.028 (1.8 $\pm$ 0.99)

* One of the samples contains DDE in the concentration of 7.60 (21.7) ppm.

** One of the samples contains DDE in the concentration of 0.59 (19.1) ppm.

Values of PCB are calculated as Kanechlor-500 (Saga and Fukuoka) or Kanechlor-500+Kanechlor-600 (1:1) (Saga and Ishigaki).

ていると考えられる。

PCB のガスクロマトグラムのピークパターンの判定のしかたにより、定量値に違いがでてくることがあると推定されるので、それぞれの試料グループのうち数検体の試料につき、十塩化ビフェニル化法により再度 PCB を定量した。

この方法で求められた PCB 定量値は、大部分の試料において、前記ピークパターン法により測定した PCB 量の 50~100% であった。ただし油症患者の Case 5 の場合は 2 倍以上の値を示した。これは Case 5 のガスクロマトグラムから推察できるように、塩素数の少ない PCB を割合に多く含んでいるにもかかわらず、カネクロール 500+600 (1:1) を標準として計算したので、ピークパターン法による定量値が少なく評価されたのが原因と考えられる。十塩化ビフェニル化法により求めた値のうち、油症患者の組織については Table 1 の角括弧内に示す。

以上のように、大部分の試料についてはピークパターン法と十塩化法による PCB 量に大きな差異がないので表に示されている PCB 濃度に大きな誤りはないものと考えられる。

油症患者の組織はホルマリン溶液に保存してあったので、その間に PCB が変化していることも考えられる。それで、カネクロール 500+600 (1:1) 10 μ g をホルマリン溶液 (3.5%) に加え、1 年間放置したのち、PCB を回収したところ、そのガスクロマトグラムのピークパターンはほとんど変化なく、また、回収率も約 90% であった。したがって、PCB は保存中に変化を受けていないものと思われる。

4. 油症患者および一般人の PCB 濃度の比較

Case 1 を除く油症患者 6 例の脂肪組織中の PCB 濃度の平均は、全量ベースで 2.5 ppm、脂肪ベースで 6.3 ppm であった。これに対し、一般人の脂肪組織中 PCB の平均濃度は、それぞれのベースで 0.9 および 2.6 ppm であった。これだけで比較すれば、油症患者は一般人の 2.5 倍程度の PCB が体内に存在することになる。しかし、個々の例で検討すると、油症患者でも一般人と同程度の PCB 濃度の人もある。水谷らの報告⁹⁾ では、一般人の脂肪組織で PCB 濃度が 13.3 ppm (脂肪ベース) の例があり、PCB 濃度の高い油症患者に相当する場合もある。

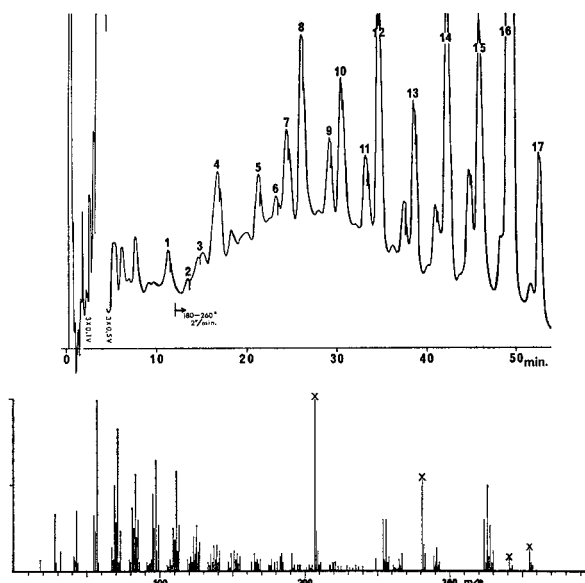


Fig. 1. Total ion current monitor gas chromatogram (on 2% OV-17) of the extract of fatty tissue (Case 7) and Mass spectrum of GC peak 3. (MS peaks with mark X are background peaks)
GC peaks 1-3: $C_{12}H_5Cl_5$; 4: $C_{14}H_8Cl_4$ (DDE);
5-7: $C_{12}H_4Cl_6$; 8: $C_{12}H_3Cl_7 + C_{23}H_{48}$;
9: $C_{12}H_4Cl_6 + C_{12}H_3Cl_7$; 10-11: $C_{12}H_3Cl_7$;
12: $C_{25}H_{52}$; 13: $C_{26}H_{54}$; 14: $C_{27}H_{56}$; 15: ?;
16: $C_{29}H_{60}$; 17: $C_{30}H_{62}$.

5. 油症患者の PCB のガスクロマトグラムパターンについて

油症患者の各組織や患者油に含まれる PCB のガスクロマトグラムは Fig. 2 に示されているが、これによると、油症患者が摂取した患者油に含まれる PCB はライスオイルに混入したカネクロール 400 の低沸点部分が消失したものである¹²⁾。事件 1 年後の患者体内の PCB は患者油の PCB のうち、更に低沸点部分が消失し、カネクロール 500 または 600 に相当する高沸点部分のみが残った状態である。すなわち、摂取した当時は患者体内に高濃度の PCB が存在したと考えられるが、そのうちの大半は 1 年後にはすでになくなり、代謝を受けにくい塩素数 5 から 7 個の PCB が残留しているものと推察できる。

油症患者体内の PCB のガスクロマトグラムは、同一患者では、いろいろ組織が異なってもほとんど同じピークパターンを示した。これらのうち Case 1 および Case 5 を除いた他の患者の PCB はお互によく似たピークパターンであるが、一般人のそれとは異なる特有のパターンを示した。

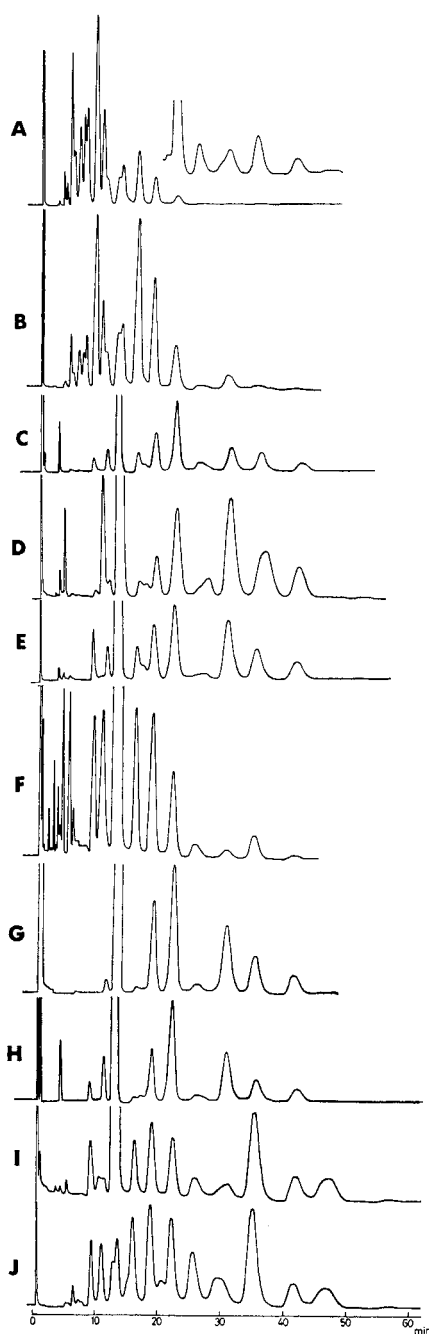


Fig. 2. Gas chromatogram patterns of PCB. A. Kanechlor 400, B. Rice oil (Yusho oil), C. Brain (Case 2) D. Liver (Case 3), E. Fatty tissue (Case 4), F. Fatty tissue (Case 5), G. Liver (Case 6), H. Fatty tissue (Case 7), I. Fatty tissue (Ordinary person), J. Kanechlor 500+600 (1:1).

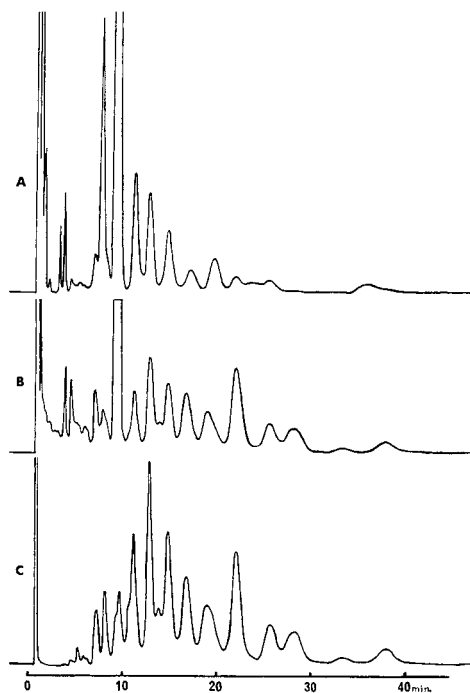


Fig. 3. Gas chromatograms of PCB in still-born babies.

A. Liver (Case 1), B. Liver (Control), C. Kanechlor 500+600 (1:1).

すなわち、患者 PCB のガスクロマトグラムでは、保持時間 31 分のピークが一般人のそれに比し、特異的に高く現れ、保持時間 16 分のピークは比較的低い。患者 PCB のうち保持時間 22, 26 および 31 分のピークのみを考えると、摂取された患者油中の PCB が 4 年後も患者体内に残っている様子がうかがえるように思われる。

油症死産児および一般死産児の PCB のガスクロマトグラムを Fig. 3 に示す。これによると、油症死産児の PCB は患者油 PCB のピークパターンに近い状態である。それは母親が患者油を摂取後まもない頃の出産のためと思われる。

Case 5 の患者は症状が軽かつたと言われているが、その PCB のガスクロマトグラムパターンは一般人のそれに近い。この例では、低沸点 PCB に相当する部分にピークが現れているが、これはのちに環境汚染等による低塩素の PCB を摂取したことによると考えられる。

油症患者の母乳は 1 例のみしか得られなかつたが、その PCB 濃度は 0.03~0.06 ppm で、一般人の平均濃度 0.03 ppm (福岡) および 0.014 ppm (石垣)

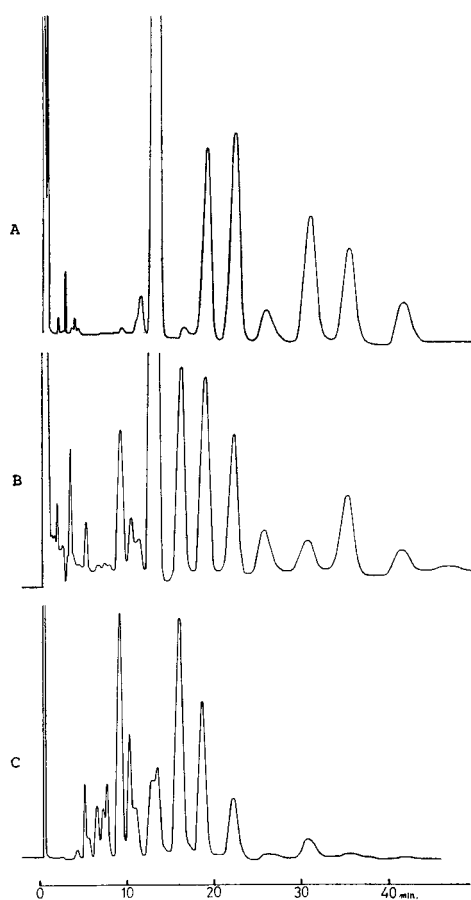


Fig. 4. Gas chromatograms of PCB in human milk.

A. Yusho patient, B. Ordinary person, C. Rice oil (Yusho oil).

に比べ特に高いとは考えにくい。そのガスクロマトグラムは Fig. 4 に示す。このピークパターンも一般人のそれとは異なり、油症患者特有のパターンに近い状態を示している。

6. DDE について

DDE は DDT が代謝されて体内に蓄積されている物質である。また、この PCB の分析法のアルカリ分解においても DDT が DDE に変化する。結局、ここで求めた DDE 量は試料中の DDT および DDE の総量を示すことになる。

油症患者 6 例 (Case 1 を除く) の脂肪組織内の平均 DDE 濃度は、全量ベースおよび脂肪ベースで 1.7 および 3.6 ppm であった。これに対し、一般人脂肪組織の DDE 濃度の平均はそれぞれ 1.3 および 3.4 ppm であり、油症患者および一般人は同程度の塩素

系農薬の汚染を受けているとみなされる。

総 括

1. 油症患者 7 例の体内組織、および 1 例の母乳、ならびに一般人の脂肪組織 11 例、および母乳 31 例の PCB 濃度を、ピークパターンによる方法および十塩化ビフェニールにする方法で分析した。また DDE の分析も同時に行った。

2. 脂肪組織の平均 PCB 濃度で比較すると、油症患者は 2.5 ppm で一般人 0.9 ppm の約 2.5 倍程度であった。母乳の PCB 濃度は油症患者が一般人より特に高いとは考えにくかった。

3. 油症患者のいろいろな組織および母乳に含まれる PCB のガスクロマトグラムピークパターンは、一般人のそれとは異なる特有の状態を示すものが多かった。

試料の収集に御協力いただいた、九州大学医学部産婦人科滝一郎教授、病理学教室菊池昌弘助教授、佐賀県立病院鶴丸広院長、石垣市の宮良長先生、五島玉の浦町の藤原弁止先生をはじめ多くの先生、患者の方々に感謝いたします。また標準試料を提供していただいたマイアミ大学 J. L. Radmski 教授および京都市衛生研究所の藤原邦達主幹ならびに GC-MS の測定をしていただいた、日立製作所、島津製作所および日本電子株式会社にお礼を申し上げます。

本研究は厚生省、福岡県、福岡市、北九州市および大牟田市の昭和 47 年度油症研究費の援助を受けて行われた。

文 献

- 1) Acker, L. und Schulte, E.: Über das Vorkommen von chlorierten Biphenylen und Hexachlorbenzol neben chlorierten Insektiziden in Humanmilch und menschlichem Fettgewebe. Naturwiss. 57: 497, 1970.
- 2) Biros, F. J., Walker, A. C. and Medberry, A.: Polychlorinated biphenyls in human adipose tissue. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 5: 317-323, 1970.
- 3) 五島応安, 樋口謙太郎: 油症 (塩化ビフェニール中毒症) の皮膚科学的症候論. 福岡医誌, 60: 409-431, 1969.
- 4) 川城巖ほか: PCB 様物質の分析方法に関する研究. 厚生省環境衛生局, 1972.
- 5) 菊池昌弘ほか: いわゆる油症 (塩化ビフェニール中毒) 死産児の 1 剖検例. 福岡医誌, 60: 489-495, 1969.
- 6) 菊池昌弘ほか: いわゆる油症患者の 2 剖検例. 福岡医誌, 62: 89-103, 1971.
- 7) 菊池昌弘: 肝硬変症ならびに肝癌を伴ったい

わゆる油症患者の1剖検例. 福岡医誌, 63: 387-391, 1972.

8) 小嶋亨: 喀痰および組織中の塩化ビフェニール. 福岡医誌, 62: 25-29, 1971.

9) 水谷民雄, 松本正義, 藤原邦達: 塩化ビフェニール(PCB)および有機塩素農薬の人体脂蓄積. 医学のあゆみ, 81: 666-667, 1972.

10) Price, H. A. and Welch, R. L.: Occurrence of polychlorinated biphenyls in humans.

Environmental Health Perspectives, No. 1: 73-78, 1972.

11) Risebrough, R. W. et al.: Polychlorinated biphenyls in the global ecosystem. Nature, 220: 1098-1102, 1968.

12) 塚元久雄ほか: 油症患者が使用したライスオイル中の有毒物質の化学的検索. 福岡医誌, 60: 496-512, 1969.

油症患者および一般人の血液中の ポリ塩化ビフェニール

第一薬科大学薬品分析学教室

増 田 義 人・香 川 梨 絵

鳥 村 京 子

九州大学医学部公衆衛生学講座

高 田 真由美・倉 恒 匡 徳

Polychlorinated Biphenyls in the Blood of Yusho Patients and Ordinary Persons

Yoshito MASUDA, Rie KAGAWA, Kyoko SHIMAMURA

Daiichi College of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka

Mayumi TAKADA and Masanori KURATSUNE

*Department of Public Health, Faculty of Medicine,
Kyushu University, Fukuoka*

The blood of Yusho patients (41) and ordinary persons (37) was analyzed for PCB by gas chromatography. PCB concentrations for respective groups were 7 and 3 ppb on average.

Gas chromatogram patterns of PCB in the blood of Yusho patients were divided into three types, namely A: peculiar to Yusho patient, B: resembling to A, and C: similar to PCB of ordinary person. Average PCB concentrations in the blood for A, B and C types were 9, 4 and 2 ppb, respectively. Numbers of Yusho patients who had the PCB patterns of A, B and C were 24, 15 and 2, respectively. The majority of patients (95 %) showed the types A or B.

人体血液中のポリ塩化ビフェニール (PCB) は数 ppb のオーダーで存在することがアメリカで報告¹⁾された。一部の油症患者の血漿中の PCB については Jensen²⁾によれば 22 および 35 ppb, 高松ら³⁾によれば平均 9 ppb であり, 一般人よりも多いと言われている。また, かなりの人数の油症患者の血中 PCB 濃度が調べられ, 油症患者グループでは一般人よりも明らかに高いとの発表⁴⁾があつた。油症患者の体内組織の PCB については, その濃度が一般人のそれよりも多少高く, そのガスクロマトグラムピークパターンが一般人のそれとは異なる患者特有のものであることは前報⁵⁾でのべた。

認定油症患者および一般人の血中 PCB においても, このような状態が見られるかどうかを検討することは, 治療にも役立つと考えたので両者の血液を分析した。その結果, 大部分の油症患者の血中 PCB は,

前報の組織内 PCB と同様な状態であり, 一般人のそれとは異なることがわかつたので報告する。

研 究 材 料

1. 血 液

(1) 油症患者血液

九州大学油症外来に来院の認定油症患者 41 名より, 1973 年 3 月から 8 月にかけて検査用に採取された血液の一部, 約 10 g を用いた。

(2) 一般人血液

大学職員 8 名より 1972 年 11 月に採血されたもの各 10~20 g, および血液センターで 1972 年 11 月に採血され輸血不適合となつたもの 29 名分を使用した。

2. 溶媒および試薬

前報³⁾のように PCB 分析用に特別に精製または洗浄したものを使用した。

Table 1. PCB in the blood of Yusho patients and ordinary persons

Group		Number of persons PCB concentration (ppb)																Total number (%)	Average conc. (ppb)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	17	18	26		
Yusho patient	A			4	3	1		5	3	2				2	1	2	1	24 (59)	9
	B		2	6	4	1	1					1						15 (37)	4
	C		2															2 (5)	2
	A+B+C		4	10	7	2	1	5	3	2		1		2	1	2	1	41 (101)	7
Ordinary person		7	12	9	3	4		2										37	3

3. 装置

電子捕獲型検出器を装着した島津 GC-5A およびベックマン GC-72-5 のガスクロマトグラフに 5% SE-30 を充填したガラスカラムをつけて使用した。

分析 方法

血液 10~20 g を丸底フラスコに取り、同量のエタノールおよび水酸化ナトリウム 2~3 g を加え、還流冷却器をつけて 1 時間加熱した。冷後 n-ヘキサン 10~20 ml で 3 回抽出した。n-ヘキサン層を集めて水洗し、無水硫酸ナトリウムで乾燥したのち、活性化したシリカゲル（ワコーゲル S-1）1~2 g のカラムクロマトグラフィーにかけた。カラムは更に n-ヘキサン 50~100 ml で溶出させた。この n-ヘキサンを合して K-D 濃縮器で濃縮し、ガスクロマトグラフィーの試料とした。

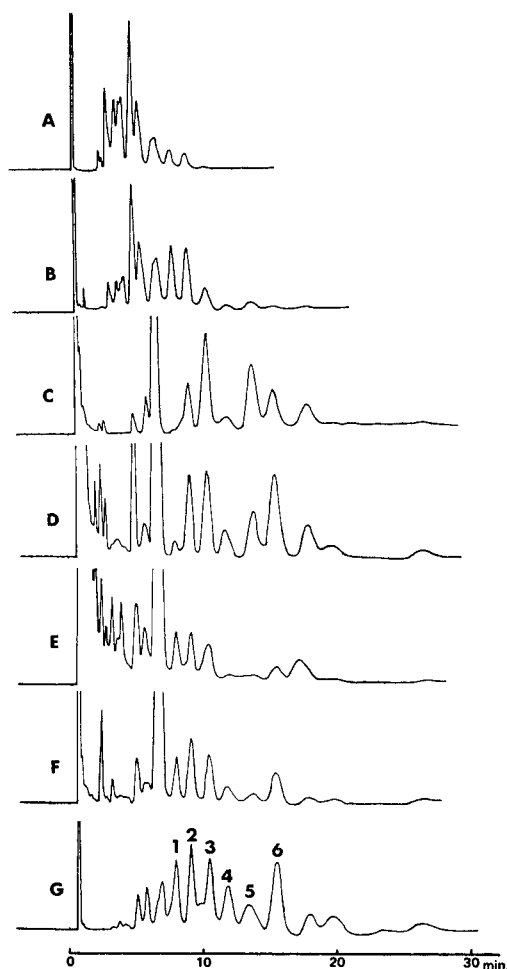
ガスクロマトグラフィーによる PCB の定量は標準物質としてカネクロール 500+600 (1:1) を用い、前報³⁾と同様にピーク高の和による方法で行った。

結果と考察

一般人および油症患者の血中 PCB の濃度分布を Table 1 に示した。平均 PCB 濃度で比較すると、油症患者は 7 ppb であり、一般人の 3 ppb の 2 倍程度であつたが、個々の患者で考えると、一般人と同じ程度の血中 PCB 濃度の人もあつた。

油症患者の場合、血中 PCB のガスクロマトグラムピークパターンにより 3 つのタイプに分けた。それぞれのタイプの代表を Fig. 1 に示してあるが、油症患者に特有のパターン³⁾を A (Fig. 1, C), それに近いものを B (Fig. 1, D) および一般人と見分けのつきにくいものを C (Fig. 1, E) とした。

Table 1 には、それぞれのパターンについて血中 PCB 濃度別の人数が示してあるが、A パターンの場合には PCB 濃度の高い患者が多く見られ、B パタ

**Fig. 1.** Gas chromatograms of PCB

A: Kanechlor 400, B: Rice oil (Yusho oil)
C, D and E: Blood of Yusho patient of
Pattern A, B and C, F: Blood of ordinary
person, G: Kanechlor 500+600 (1:1)

ーンの場合がこれに次ぎ、Cパターンでは低い。A、BおよびCのパターンに属する患者の平均 PCB 濃度

は 9, 4 および 2 ppb であり, その差が現れている。

認定油症患者 41 名では A, B および C パターンに属する人数の割合は, それぞれ 59, 37 および 5 % である。このうちで一般人とは異なるパターンを示す A および B パターンには, 患者の 95 % がこれに属する。油症患者に特有な A パターンのガスクロマトグラム (Fig. 1) のピーク 3~5 を見ると, ライスオイル中の PCB の高沸点部分が事件 5 年後の現在も体内に蓄積されている様子がうかがえる。B および C パターンでは, ライスオイルの PCB に一般汚染による PCB が加わつて来たために, A パターンがだんだん見えにくくなつたものと考ええる。

一般人および油症患者の血液中の PCB 濃度は大部分が数 ppb で非常に低い。また, 一人からの採血量は 10 ml 程度と限度がある。結局, 一回の分析に用いられる PCB 量は 0.01~0.1 μ g 程度である。このように少ない量の PCB ではどの程度の正確さで分析値が得られるかを検討した。

まず, 0.1 μ g のカネクロール 500+600 (1:1) を 10 ml の水に加え, PCB の分析と同様の処理を行った。5 回の実験結果は 80~110 % の回収率であつた。この分析方法によるロスはあまり考えなくてよい。次に, 試料を用いずに全操作を行うブランクテストを 10 回繰り返したところ 1~10 ng の範囲の PCB が検出された。この量が試料 10 g に含まれていたとすると 0.1~1 ppb の濃度となる。

以上の 2 つの実験より, 血中 PCB の濃度の高低をグループとしては比較できるが, 個人の PCB 定量値には 1~2 ppb 程度の誤差はあるものと考えなくてはならない。

ここで調べられた油症患者の大部分が一般人とは異なるガスクロマトグラムパターンを示しているのが, A または B パターンであれば油症患者としての 1 つの指標となり得ると思うが, C パターンの場合には油症患者ではないとの証拠にはならない。その理由は, ここで検査された血液中の PCB パターンは事件当時の状態ではなく, 5 年後の現在のものである。したがつて, カネクロール混入のライスオイルを摂取していた人でも, 現在はその PCB が環境汚染の PCB にか

くれて見えにくい場合が考えられるからである。実際に, われわれの調べた認定患者の 5 % は C パターンであつた。

総 括

油症患者 41 名および一般人 37 名の血液中の PCB をガスクロマトグラフにより分析した。その結果, それぞれの平均濃度は 7 および 3 ppb で, 油症患者の方が高かつた。

油症患者の血中 PCB のガスクロマトグラムピークパターンにより 3 つのタイプ, すなわち, 油症患者特有のものを A, A に近いものを B, および一般人に近いものを C, に分けた。それぞれのパターンに属する患者の平均 PCB 濃度は, 9, 4 および 2 ppb で, A パターンの場合が最も高かつた。

A, B および C パターンの油症患者の人数の割合は, それぞれ 59, 37 および 5 % であり, 大部分の油症患者の血中 PCB は A または B パターンであつた。

血液を提供していただきました油症患者および大学職員の方々, ならびに試料収集に御協力いただきました九州大学皮膚科幸田弘助教授に感謝いたします。

なお, 本研究は厚生省, 福岡県, 福岡市, 北九州市および大牟田市の昭和 47 年度油症研究費の援助を受けて行われた。

文 献

- 1) Hammer, D. I. et al.: Polychlorinated biphenyl residues in the plasma and hair of refuse workers. Environ. Health Perspectives, No. 1: 83, 1972.
- 2) Jensen, S.: The PCB story. AMBIO, 1: 123-134, 1972.
- 3) 増田義人, 香川梨絵, 倉恒匡徳: 油症患者および一般人体内のポリ塩化ビフェニール。福岡医誌, 65: 17-24, 1974.
- 4) 中島裕而ほか: 人の血中 PCB の測定について。日本産業衛生学会九州地方会, PCB 研究会で発表, 1973 年 1 月。
- 5) 高松誠, 井上義人, 阿部純子: 血中 PCB 測定法としての Jensen 法の検討。日本衛生学会で発表, 日衛誌, 28: 78, 1973.

血液中 PCB の診断学的意義

久留米大学医学部環境衛生学教室

高 松 誠・井 上 義 人
阿 部 純 子

Diagnostic Meaning of the Blood PCB

Makoto TAKAMATSU, Yoshito INOUE
and Sumiko ABE

*Department of Environmental Health, School of
Medicine Kurume University, Kurume, Japan*

In order to investigate the degree of human contamination by polychlorinated biphenyls (PCB), the authors have assayed the blood PCB concentration of 114 persons living in the western Japan. Samples were obtained from 32 patients of PCB poisoning and 82 normal persons. Results were as follows:

1) PCB was detected in all samples. The level of plasma PCB of the patients ranged widely from 2 to 15 ppb, and that of the normal ranged from 1 to 7 ppb. The former was higher than the latter statistically ($p < 0.01$).

2) The gaschromatographic pattern of PCB in the patient's blood was very characteristic. The patients were classified into 3 grades according to the gaschromatographic pattern: i. e. (A) typical (ca. 60%), (B) intermediate (ca. 25%), and (C) normal (ca. 15%).

3) There was no definite relation between the PCB concentration and age or sex of patients.

It was considered that the analysis of blood PCB was useful in the diagnosis of PCB poisoning and the follow-up of the patients and normals.

ま え が き

最近、血液の PCB の微量分析が可能となつたので、健常者および油症患者の血液中 PCB を測定した。油症患者は発症後5年を経過しているので、体内に残留する PCB は量的にも質的にも、発症当時とは異なるものがあると思われる。著者らは、北九州在住の油症患者のほか、昭和47年度の油症検診を受診した被検者から、血液の提供をうけることができたので、血中 PCB の分析を行つた。その成績について血中 PCB が油症の解明、ひいては PCB の慢性毒性を明らかにする上で、どのような診断学的意義を有するか考えてみたい。

対象ならびに方法

健常者は西日本に居住する者で、主に当教室の行つ

た集団検診時に血液の提供を受けた82例（男35例、女47例）であり、油症患者は北九州在住患者および1972年1月の一斉検診を受けた久留米・大牟田地区の患者、32例（男14例、女18例）を対象とした。年齢は健常者は20才から67才まで、油症患者は5才から60才までであつた。

測定法としては Jensen が1972年に発表した7%発煙硫酸で処理する方法¹⁾に準じた著者らの変法²⁾と、いわゆるアルカリ分解法との二つを用いた。前者では血液を遠心分離して分画した血漿を用い、後者では全血を分析に供した。両法とも clean-up の終りには Holden らのシリカゲルドライカラム³⁾を用いた。

同定、定量は、1.5% SE-30、2% QF-1、あるいは2% OV-17 をつめたカラムをつけた ECD 付ガスクロマトグラフで行つた。

定量は総ピーク高あるいは3本のピーク高の合計

で、カネクロール 500 (KC-500) あるいは KC-500: KC-600=1:1 を標準とした。

結 果

1. 血液中の PCB 濃度

表 1 に健常者と油症患者の血漿中および全血中の PCB 濃度を示した。PCB は全員に検出された。血漿中では健常者は 1~7 ppb, 平均 3.0 ± 1.3 ppb であり, 油症患者は 2~15 ppb, 平均 6.3 ± 4.0 ppb であった。また全血中の PCB は健常者 1~6 ppb, 平均 2.8 ± 1.5 ppb, 油症患者 1~12 ppb, 平均 4.8 ± 2.9 ppb であった。いずれも油症患者は健常者より高濃度であり, その平均値の差異は統計的に有意であった。健常者を都市居住者と農山村居住者に分けて比較すると, 都市居住者が高かったが, 油症患者はそれよりも高かった²⁾。

油症患者の血中 PCB 濃度を段階別にわけると表 2 のようになる。例数の多い全血中の PCB 値でみると, 1~4 ppb が 14 例 (56%), 5~9 ppb が 8 例 (32%), 10 ppb 以上が 3 例 (12%) であった。一方, 健常者では 4 ppb 以下が 83% で大半を占めていた。

また健常者 35 例, 油症患者 25 例について, 性別, 年齢等の違いを検討したが, 明らかな差はみられなかった。

2. 血液中 PCB の性状

油症患者の体内蓄積をみる場合には, 濃度だけでなく, PCB の質的性状をみる必要がある。発症後 5 年を経過している患者の血中 PCB は図 1 に示すように, 摂取したカネミライスオイル中に混入していたカネクロールのパターンとはかなり異なっていた。

また健常者では血中 PCB のガスクロマトグラムは, 全員がほぼ一致したパターンであったが, 油症患者では健常者と異なっていた。すなわち患者のガスクロマトグラムは, ピーク 13 が低くなり, ピーク 17 が高くなるという傾向がみられた。

これを数値化するために, ピーク 14 を 100 として各ピークの高さを相対高で表した。油症患者と健常者のガスクロマトグラムで, ピーク 13 の平均とピーク 17, 18, 19 の各ピークの相加平均を求めると表 3 のようになり, 量的ばかりでなく質的性状についても両者の間に, はつきりした差異のあることが明らかになった。

油症患者にみられるこの特徴的パターンを A とし, 健常者と全く区別のつかないパターンを C とし, その

Table 1. PCB level of human blood (ppb)

Group		No.	Range	Mean $\pm$ S.D.
Plasma	normal	82	1~7	3.0 ± 1.3
	patient	15	2~15	$6.3 \pm 4.0^*$
Whole blood	normal	11	1~6	2.8 ± 1.5
	patient	25	1~12	$4.8 \pm 2.9^{**}$

Significant high level compared with normal: * ($p < 0.01$), ** ($p < 0.05$).

Table 2. PCB concentration in the whole blood of PCB poisoned patients and normal persons

PCB conc. (ppb)	Patient		Normal	
	number	(%)	number	(%)
1~4	14	(56)	10	(83)
5~9	8	(32)	2	(17)
10~	3	(12)	—	—

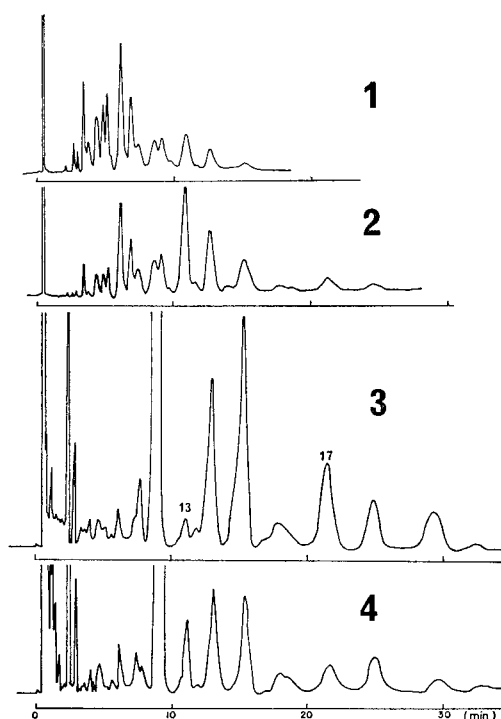


Fig. 1. Gaschromatograms of PCB

- (1): A technical sample of Kaneclor-400
- (2): An extract of the Rice Oil contaminated with Kaneclor-400
- (3): An extract of the blood of a PCB patient
- (4): An extract of the blood of a normal person

Table 3. The relative height of peak 13 and peak (17+18+19) vs. peak 14 of blood PCB (mean±S.D.)

Group	No.	Peak 13	Peak 14	Peak (17+18+19)
patient	15	49±29.5*	100	77±30.9*
normal	50	98±23.3	100	48±14.9

* Significantly high compared with normal (p<0.001)

Table 4. PCB patients classified by gas-chromatographic pattern

Class	Number	per cent (%)
A	16	(64)
B	5	(20)
C	4	(16)

A: typical PCB pattern, B: intermediate PCB pattern, C: normal PCB pattern.

中間をBとして分類すると、表4のようになった。すなわち全血でみた場合にはA: 64%, B: 20%, C: 16%であった。血漿でみた場合もほぼ同じ値であった。なお一斉検診時の臨床検査成績との相関をみたが、各項目ともPCB濃度とのつきりした相関はみられなかった。また濃度とパターンをみると、油症患者で5ppb以上の例は一人を除いて、すべてAパターンを示した。しかし健常者のなかでは5ppbを越えた例でも、Aパターンを示す場合は一例もなかった。

考 察

油症が集団発生してから5年になるが、油症患者の血液中PCB量は、健常者と比較すると高値で統計的にも有意差を示した。しかし一人一人についてみると必ずしも高い例ばかりではなく、健常者のレベルのものもいた。

この結果は中島ら⁴⁾や増田⁵⁾の成績と一致していた。しかし佐藤ら⁶⁾、喜田村ら⁷⁾が報告しているコンデンサー工場のPCB取扱労働者の血液中PCB量にくらべると、油症患者の血液中PCBは顕著に低かった。これは前者がPCB取扱中、あるいは取扱中止直後の測定であるので、比較的排出しやすい低塩素のPCB部分も残留しているため高値を示し、一方油症患者は暴露後5年経過しているため、低塩素のPCBはほとんど体外に排出されてしまつて低値を示し、両者に大きな差がみられたのであろう。それゆえ両者を

直接比較するのは困難である。吉村らの動物実験の結果⁸⁾⁹⁾をみても、カネミライスオイル摂取時の血中濃度は高いレベルにあるので、油症患者も発症の初期の血液中PCB量は相当高かつたものと推定される。

また都市居住者は農山村居住者にくらべて高い値を示すのは、PCBに汚染された魚類の摂取量が多いか少ないかによるものと考えられるが、油症患者の血液PCB濃度の違いも、摂取したカネミライスオイル中のPCB量と関係があるかどうかということについては、今後なお検討が必要である。

体内に蓄積するPCBは高塩素化された5, 6塩化物と考えられる部分が多かつた。この事実は油症研究班で初期の頃から気づかれていたが、健常者にくらべて油症患者では高塩素化物の比率がさらに高いことがわかつた。同様のことは、油症患者の母乳についても認められた¹⁰⁾。

油症患者には、このように体内に残留するPCBの総量はかなり少なくなつたと推測できる現在でも、なお種々の症状が存在しているが、症状の好転をはかるためには今なお根強く体内に残っている高塩素部分の排出をはかるとか、不可逆的に起こつていとも考えられる代謝異常あるいは変化を正常に戻してやらねば、回復しないのではなからうか。

油症は比較的短期間にひき起こされたものであるもので、現在問題になつている環境汚染によるPCBの人体に対する影響とは直接には結びつかないかもしれないが、油症を解明することがPCBの慢性中毒解明の手がかりになるだろうから、われわれは油症患者だけでなく、同時に健常者とPCB取扱労働者との追跡調査を、血中PCBについては質、量の両面から行つていくことが必要だと考えている。

また、油症患者では量だけでなく、Aパターンが64%, Bが20%, Cが16%に現れていたため、質的側面も検討すれば、油症の診断に際しても有用な示標になるものと思える。

今までの血液中のPCBの分析には、全血と血漿のどちらかが用いられてきたが、血球部分に含まれるPCB量はわずかなので、Clean-upが容易になる点からも、今後は血漿を試料として用いる方が好ましいと考えている。われわれの行つてきたJensen法の変法では、血漿について発煙硫酸によつて処理するので、PCB以外にもBHC, DDTなどが測定可能である。ただDieldrinなどの酸に弱いものは分析不可能だが、本法によつて他の有機塩素剤を同時に測定することは、母乳¹¹⁾や体脂¹²⁾でみられたのと同じよ

うに、複合汚染の問題を考えていく上で貴重な資料となるであろう。

む す び

PCB による人体汚染を明らかにするために、健常者 82 名、油症患者 32 名について血液中の PCB の分析を行い、次のような成績を得た。

1) PCB はすべての試料から検出された。血漿中の PCB 濃度は健常者では 1~7 ppb, 平均 3.0 ± 1.3 ppb であり、油症患者では 2~15 ppb, 平均 6.3 ± 4.0 ppb であった。油症患者は健常者に比べて高値を示し、これは統計学的に有意であった。

2) 油症患者の血液中 PCB は質的にも非常に特徴的であった。これをガスクロマトグラムのパターンによつて分類すると、油症患者に特徴的にみられるパターン (A) は 64% であり、健常者と区別のつかないパターン (C) は 16% であった。残りはこれらの中間型 (B) であった。

3) 血液中 PCB 濃度の年令差、性差をみたが、健常者でも油症患者でも差はみられなかった。

以上の結果から血液中 PCB の量的ならびに質的分析は、PCB 中毒の診断や患者と健常者の今後の追跡調査に際して極めて有用な示標になるものといえる。

御指導ならびに御助言いただきました京都市立衛生研究所の藤原邦達主幹ならびに研究室員の方々に厚く感謝いたします。

文 献

- 1) Jensen, S.: The PCB story. Ambio 1: 123, 1972.
- 2) Inoue, Y., Abe, S., Esaki, H. and Takamatsu, M.: Polychlorinated biphenyls in human blood. Kurume Med. J. 20: 83, 1937.
- 3) Holden, A. V. and Marsden, K.: Single-stage clean-up of organochlorine residue analysis. J. Chromatog. 44: 481, 1969.
- 4) 中島裕而・星出道代・梅田玄勝ほか：ヒトの血液および組織中の PCB 測定。第 46 回日本産業衛生学会講演集 360, 1973.
- 5) 増田義人・香川梨絵・島村京子・高田真由美・倉恒匡徳：油症患者および一般人の血液中の PCB。福岡医誌 65: 25, 1974.
- 6) 佐藤光男・長谷川弘道・鶴田寛：PCB の生体内分布について。第 46 回日本産業衛生学会講演集 352, 1973.
- 7) 喜田村正次・塚本利之・住野公昭ほか：某電機工場従業員の血中 PCB。同上 360, 1973.
- 8) 吉村英敏・大島美奈子：カネクロール成分のマウスにおける残留性について。福岡医誌 62: 5, 1971.
- 9) 吉村英敏・山本弘明・永井諄爾ほか： ^3H -カネクロールのラットにおける体内分布および排泄について。福岡医誌 62: 12, 1971.
- 10) 井上義人・阿部純子・高松誠：(未発表)
- 11) 日高公雄・大江武・藤原邦達：母乳中 PCB および有機塩素系農薬。医学のあゆみ 82: 519, 1972.
- 12) 水谷民雄・松本正義・藤原邦達：塩化ビフェニル (PCB) および有機塩素農薬の人体脂蓄積。医学のあゆみ 81: 666, 1972.

塩化ビフェニール (PCB) のラット 脂質代謝に及ぼす影響

第2報 肝脂質について

九州大学医学部附属病院中央検査部

永井 諄爾*・八戸 義明

樋口 かをる**

The Influence of the Oral Administration of PCB on the Lipid Metabolism of the Rat

II. Liver Lipids

Junji NAGAI*, Yoshiaki YAE and Kaoru HIGUCHI**

*Central Clinical Laboratory of Kyushu University
Hospital, Fukuoka, Japan*

The rats of 200 g body weight were fed for 10 days with 20 mg of PCB and [1^{14}C] acetate was injected intraperitoneally 2 hours before decapitation. The liver was taken out and mitochondria and microsome fractions were separated by ultracentrifuge. The lipids were extracted from the cell particulates respectively and each lipid was quantified and the radioactivity was measured after analyzing by method of thin-layer chromatography.

The oral administration of PCB caused liver hypertrophy to rats. Triglyceride in mitochondria was reduced by PCB administration, but that in microsome remained unchanged. The incorporation of labeled acetate into mitochondrial and microsomal triglyceride was enhanced by the administration of PCB.

The presence of considerable quantities of free fatty acids in mitochondria and microsome of liver was certified. The quantity of free fatty acids was not influenced by PCB administration, but the incorporation of labeled acetate into it was accelerated.

The content of cholesterol and cholesterol ester in the liver cell particulates was small and influenced not significantly by the PCB administration, but those had the highest specific radioactivity among the liver lipids. In spite of an increase in the specific radioactivity of triglyceride fatty acids by the PCB administration, fatty acids of liver cholesterol ester lost the specific radioactivity. The changes of the fatty acid composition of cholesterol ester, e.g., a decrease of palmitic acid corresponding to an increase of oleic acid, was different from that of triglyceride and free fatty acids, suggesting the different metabolic pathway of cholesterol ester fatty acids from other liver fatty acids.

The quantities of liver phospholipids was not changed by PCB administration. The incorporation of labeled acetate into mitochondrial phospholipids was not influenced by such treatment, but microsomal phospholipids incorporated labeled acetate exaggeratedly.

現所属 (Present address)

* 中村学園大学食物栄養学科 (Department of Food and Nutrition, Nakamura-Gakuen College, Fukuoka, Japan)

** 国立病院九州がんセンター研究検査科 (Research and Clinical Laboratory, National Hospital of Kyushu Cancer Center, Fukuoka, Japan)

The experimental findings above described might be explained by the fact that administered PCB enlarges liver microsome and activates the microsomal enzymes, as found already by some authors.

ラットを実験動物として塩化ビフェニール (PCB) を投与するとき、脂質代謝の変化がおこることは、九大油症研究班および九大油症治療研究班の班員によって研究されている⁷⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾。われわれは前報において PCB の皮膚脂質に対する影響を検索し、その経口投与によって、皮膚脂質のうち triglyceride と遊離脂酸とは $[1-^{14}\text{C}]$ 酢酸の取りこみが減少し、sterol ester の脂酸ではそれがかえって増加し、リン脂質では影響を受けないことを報告した。

皮膚の脂質代謝は皮膚独自の様式によって行われる面が強いと同時に、全身的な脂質代謝の一環でもある。そこで今回は全身的脂質代謝の中核ともいべき肝臓について、その mitochondria と microsome とを分離し、それらの脂質代謝が PCB 経口投与によって、どのように影響を受けるかを、 $[1-^{14}\text{C}]$ 酢酸の脂質への取りこみを検索しつつ研究した。

ヒトにおけるいわゆる油症症状の発現が、どれだけの PCB 経口摂取量によるかを決定することは困難ではあるが、倉恒ら⁶⁾の調査によれば、3カ月の間に1人1日約5mgが最低であつたと推定されている。われわれの前研究では、平均体重150gの雌ラットにおいて、1日2mgを30日間連続投与するとき、体重の増加がおこらなかった。

しかしラットの成長発育とヒトの健康維持とを比較するとき、飼育実験において PCB の経口投与量を増量し、その投与期間をさらに短縮する方が、より適当な実験条件であると思われた。そこで今回の研究では、平均体重約200gの雄ラット1頭あたりの1日投与量を20mgとし、その投与期間を10日とした。また前研究では PCB として Kaneclor 400 を投与したが、今回はより高沸点でより毒性の強い Kaneclor 500 を用いた。

実験方法

1. ラット飼育試験

平均体重218gのWistar-King系雄ラット12頭を1群とする対照群と実験群とをつくり、実験群には Kaneclor 500 の20mgを市販サラダ油0.5mlに混合したものを、毎日ピペットで強制的に経口投与し、その他は常用の合成固形飼料と水とを自由に摂取させた。

対照群は0.5mlのサラダ油だけを強制的に経口投与し、その他の飼育条件は実験群と全く同じにした。このようにして10日間飼育したのち、7日間普通固形飼料と水とだけで飼育し、さらに18時間絶食させたのち、 $[1-^{14}\text{C}]$ 酢酸ナトリウム (第一化学薬品株式会社製、比放射能49.3mCi/mM) 100 μCi に相当する量を0.5mlの生理的食塩水に溶かして、両群とも一頭ずつ腹腔内に注射した。

2. 呼気 CO_2 の捕集

腹腔注射したラットは、直ちに空気の入出管を備えた容量約2lのガラス容器に入れ、吸引口とアスピレーターとの間に10% triethanolamine 溶液20mlを入れた2個のトラップを連続し、吸引によってラット呼気中の CO_2 を triethanolamine 溶液に吸収させた。15分ごとにトラップを取りかえ、2時間にわたって呼気中の $^{14}\text{CO}_2$ を捕集した。

2個のトラップの内容液を合わせて、triethanolamine 溶液を追加して全量を40mlとし、その0.25mlをとって scintillator (toluene-methylcellosolve 2:1) 15mlに混合し、密栓して冷処に約1週間保存して安定化させたのち、Beckman Liquid Scintillation Counter (^{14}C wide window) で放射能を測定した。

3. ラット肝 mitochondria と microsome との分離

2時間の呼気捕集が終つたあと直ちに断頭漏血して、ヘパリン-EDTA 混合液の少量で湿らせた試験管に採血した。

そのあと腹部を開いて肝臓を取り出して秤量し、0.25 M sucrose 溶液を取りかえて数回洗い、血液、血管、結合組織などを切除し、濾紙で水分を拭きとり、鋏で細かく切つてその5~10gをTeflon-pestol homogenizer に入れ、10倍量になるように0.25 M sucrose を加えて homogenate を作った。

600 $\times$ g で10分間遠心して、細胞核、細胞破片、未破壊細胞を沈澱させて除き、上清を18,000 $\times$ g で15分間遠心し、mitochondria を沈澱させた。この沈澱を180 mM 塩化カリウム溶液に浮遊させ、再び15分間18,000 $\times$ g で遠心沈澱を行い、mitochondria を洗浄した。

最初に mitochondria を沈澱させた上清液を、50

分間 100,000×g で遠心すると microsome が沈澱した。これを 0.25 M sucrose に浮遊させ、再び 50 分間 100,000×g で沈澱させ、microsome を洗浄した。

4. 肝 mitochondria と microsome から脂質の抽出

mitochondria および microsome に 20 倍量の chloroform-methanol 2:1 混合溶媒を加え、マグネット攪拌器で 30 分間かきまぜ、冷処に放置したのち濾過して chloroform 層を分離し、これを 0.1 M 食塩水で振盪洗浄したのち、無水硫酸ナトリウムを加えて冷処で 1 夜脱水し、減圧 40° 以下で溶媒を溜去し、残渣をエーテルに溶かして不溶物を濾過して除き、えられた粗脂質を秤量した。粗脂質は 20 ml の chloroform に溶解、-20° に保存して必要に応じて実験に供した。

5. 脂質の分別定量

mitochondria および microsome の脂質の分別は薄層クロマトグラフィ (TLC) で行つた。支持体には Kiesel Gel H (Merck) を、展開溶媒には石油エーテル・エーテル・水 (85:15:2) を使用して、リン脂質 (PL), cholesterol (Ch), 遊離脂肪酸 (FFA), triglyceride (TG) および cholesterol ester (ChE) に分離し、各分画をシリカゲルから chloroform で抽出して定量および放射能の測定を行つた。

ただし PL はアミノ酸その他の極性物質を含むため、エーテル溶液からアセトン沈澱をくりかえして精製した。

PL をさらに lysophosphatidylcholine, sphingomyelin, phosphatidylcholine, phosphatidylinositol, phosphatidylserine, phosphatidylethanolamine および cardiolipin に分別するためには、シリカゲル薄層クロマトグラフィにおいて、展開溶媒として chloroform-methanol-H₂O (65:35:4) を用いた。

脂肪酸をその不飽和度によつて分別するには、脂肪酸をメチルエステルに転化し、AgNO₃-Kiesel Gel G (1:4) を支持体とし、石油エーテル・エーテル (90:10) 混合液で展開した。この方法によれば R_f の大ききの順に、40, 41, および 43, 4 に分別された。

ガスクロマトグラフィ (GLC) は島津 GC-5A 型装置を使用し、脂酸分析はジアゾメタンで脂酸をメチル化し、10% DEGS-Shimalite カラム、カラム温

度 185°, N₂ 流速 30 ml/min で行つた。ステロールは 1.5% SE 30-Chromosorb カラム、カラム温度 235°, N₂ 流速 30 ml/min で分析した。

6. 脂質の定量

TG は Fletcher³⁾ の方法, FFA は Duncombe²⁾ の方法, Ch は Zurkowski 法¹³⁾, PL は過塩素酸灰化後、リン酸を Baumann¹⁾ の方法で定量した。ただしいずれの方法も、原法をいくらか改良修飾して実施した。

実験結果

1. PCB 投与のラット体重および肝重量に及ぼす影響

Table 1 に示されるように、PCB 投与を 10 日続けたときの体重増加は平均 2 g であり、投与後 7 日間の増加は 1 g であつた。これにたいして対照群では、10 日間の増加は約 17 g、その後 7 日間のそれは約 12 g であつた。すなわち PCB 1 日 20 mg の投与によつて、体重増加は直ちに、ほとんど停止し、その停止は投与中止後少なくとも 7 日間は継続した。

Table 1. The influence of PCB administration on the body weight of male rats*

Experimental group	Beginning of PCB administration (g)	10 days after daily administration of 20 mg PCB (g)	7 days after stopping PCB administration (g)
Control	218±11	235±18	246±15
PCB	219±13	221±12	222±17

* All values present the mean±standard deviation.

Table 2. The influence of PCB administration on the liver weight and the crude liver lipids of male rats

Experimental group	Liver weight (g)	Liver weight/100g of body weight (g)	Liver crude lipids/g of liver (mg)
Control	8.7±1.2	3.6±0.6	19.1±1.7
PCB	13.6±1.4	6.2±0.8	17.0±2.2

肝重量は Table 2 に示されるように、対照群の 8.7 g に対して、投与群では 13.6 g に増量した。これを体重 100 g あたりの肝重量に計算すると、PCB 投与群では 6.2 g、対照群では 3.6 g であり、PCB

の短期投与によつても、著明な肝肥大がおこされることが明らかであった。

この肝臓からの抽出粗脂肪量を比較すると、Table 2に示されるように、単位肝重量あたりの量はほぼ同じであった。すなわち PCB 投与による肝肥大は脂肪蓄積によるものではないこと、短期間の PCB 投与によつては脂肪肝はおこらないことが推定された。

2. PCB 投与の $[1-^{14}\text{C}]$ 酢酸から生成する呼吸二酸化炭素量に対する影響

PCB 投与によつて 脂酸化が影響を受けるものならば、この影響はあるいは RQ に変化を与える可能性のあることを想像し、 $[1-^{14}\text{C}]$ 酢酸ナトリウムを腹腔内に注射後、直ちに 15 分ごとに 2 時間にわたつて呼吸 CO_2 を集め、その放射能を測定した。しかしながら Table 3 に示されるように、対照群と実験群との間に差を認めることができなかった。

Table 3. The influence of PCB administration on the radioactivity of expired $^{14}\text{CO}_2$ after intraperitoneal injection of $[1-^{14}\text{C}]$ acetate in rats

Minutes after injection	Control	P C B
15	20.7 $\pm$ 5.5	21.6 $\pm$ 8.8
30	18.6 $\pm$ 7.6	18.8 $\pm$ 5.7
45	15.0 $\pm$ 3.8	13.2 $\pm$ 3.5
60	8.1 $\pm$ 1.5	7.0 $\pm$ 1.7
75	6.1 $\pm$ 1.0	5.3 $\pm$ 1.1
90	4.1 $\pm$ 0.3	3.2 $\pm$ 0.3
105	3.2 $\pm$ 0.2	2.0 $\pm$ 0.3
120	2.6 $\pm$ 0.2	1.5 $\pm$ 0.1
Total	78.4 $\pm$ 18.7	72.6 $\pm$ 16.5

3. PCB 投与による肝 mitochondria および microsome の triglyceride に及ぼす影響

Table 4 に示されるように、PCB 投与によつて肝 mitochondria の TG 量は約 1/2 に減少したが、microsome の TG 量は変化しなかった。比放射能について観察すれば、対照群と実験群といずれにおい

ても、mitochondria のそれと microsome のそれとは等しく、PCB 投与によつて mitochondria, microsome ともにその比放射能が 2 倍に増加を示した。

このことは TG が microsome において合成され、その TG が mitochondria に輸送されたことを示すものである。PCB 投与によつて肝 microsome の薬物代謝活性が上昇することは、すでに、田中ら⁷⁾ および塚元⁴⁾ らによつて実証され、この酵素活性上昇とともに、microsome における TG 合成に関する酵素系もまた活性化されたものと推測される。

Table 5 に示されるように、TG の脂酸組成が mitochondria と microsome とにおいて、ほとんど同じであり、しかも PCB 投与によつて、それらの脂酸組成が変化しないことは、microsome における正常の脂酸合成パターンならびにこれらの脂酸の microsome から mitochondria への輸送パターンが、PCB 投与によつて全面的に拡大促進されたものと想像される。

Table 5. The influence of PCB administration on the fatty acid composition of mitochondrial and microsomal triglyceride in rat liver

Fatty acid	Mitochondria		Microsome	
	Control	P C B	Control	P C B
C _{14:0}	3.9 $\pm$ 0.4	5.1 $\pm$ 0.5	0.8 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.2
C _{16:0}	27.3 $\pm$ 1.5	24.4 $\pm$ 1.7	29.0 $\pm$ 2.0	25.8 $\pm$ 1.8
C _{16:1}	1.1 $\pm$ 0.07	1.5 $\pm$ 0.11	0.8 $\pm$ 0.08	1.0 $\pm$ 0.08
C _{18:0}	2.4 $\pm$ 0.1	5.3 $\pm$ 0.2	3.0 $\pm$ 0.1	5.5 $\pm$ 0.1
C _{18:1}	17.5 $\pm$ 1.6	19.4 $\pm$ 2.1	17.9 $\pm$ 1.8	19.5 $\pm$ 1.5
C _{18:2}	44.3 $\pm$ 3.3	39.1 $\pm$ 3.5	44.2 $\pm$ 4.0	41.0 $\pm$ 3.8
C _{2:40}	3.5 $\pm$ 0.6	5.1 $\pm$ 0.9	4.3 $\pm$ 0.7	6.5 $\pm$ 1.1

また Table 6 に示されるように、mitochondria と microsome との TG を、グリセリンと脂酸に水解して、その脂酸部分の放射能を測定して TG 全放射能の%として表すとき、対照群と実験群において同じ

Table 4. The influence of PCB administration on mitochondrial and microsomal triglyceride of rat liver

Experimental group	Mitochondria			Microsome		
	Total triglyceride (μM)	$\mu\text{M/g liver}$	Specific radioactivity (dpm/ μM)	Total triglyceride (μM)	$\mu\text{M/g liver}$	Specific radioactivity (dpm/ μM)
Control	10.2 $\pm$ 0.8	1.2 $\pm$ 0.2	1626 $\pm$ 324	5.3 $\pm$ 0.5	0.6 $\pm$ 0.1	1752 $\pm$ 457
P C B	6.9 $\pm$ 0.5	0.5 $\pm$ 0.1	3717 $\pm$ 448	7.1 $\pm$ 0.5	0.5 $\pm$ 0.1	3762 $\pm$ 536

Table 6. The influence of PCB administration on the incorporation of [^{14}C] acetate into fatty acid of rat liver triglyceride

Experimental group	dpm of triglyceride fatty acid/ dpm of triglyceride (%)	
	Mitochondria	Microsome
Control	28.4 $\pm$ 5.5	21.3 $\pm$ 6.8
P C B	41.3 $\pm$ 6.1	40.7 $\pm$ 5.8

%を示し、PCB 投与による%の増加もまた等しかったことは、上記の想像を裏付ける事実であろう。

4. PCB 投与の肝 mitochondria および microsome の遊離脂酸に及ぼす影響

われわれはすでに、脳、皮膚、脂肪組織などにおいて、無視できない量の FFA が存在することを認めている。これらの FFA が血液 FFA に由来するものか、組織で de novo に合成されて TG, ChE, PL などに取りこまれないで残ったものであるか、あるいは上記の脂酸エステルの水解によって生じたものか、その起原を確定することは困難である。

肝 mitochondria と microsome について測定するときもまた、Table 7 に示されるように、それぞれ TG を上回る量の FFA の存在が証明された。これらの FFA の量は microsome よりも mitochondria の方がやや多く、その量的変化にたいする PCB 投与の影響はほとんど認められず、比放射能は mitochondria と microsome とともに PCB 投与によって約 2 倍に増加した。このことは組織 FFA と TG とが、相似の態度をとることを示したものである。

しかし GLC によって mitochondria と microsome との FFA の組成分析を行うとき、Table 8 に示されるように、TG の場合とは異なつた結果がえられた。すなわち PCB 投与によってパルミチン酸 ($\text{C}_{16:0}$) が減少して、ステアリン酸 ($\text{C}_{18:0}$) の増加が認められた。

また AgNO_3 -シリカゲル TLC によって、FFA を

Table 8. The influence of PCB administration on the composition of free fatty acids in rat liver

Fatty acid	Mitochondria		Microsome	
	Control	P C B	Control	P C B
$\text{C}_{14:0}$	0.2 $\pm$ 0.01	0.5 $\pm$ 0.01	0.7 $\pm$ 0.2	0.8 $\pm$ 0.3
$\text{C}_{16:0}$	21.4 $\pm$ 1.7	14.4 $\pm$ 1.5	29.6 $\pm$ 1.6	19.9 $\pm$ 1.1
$\text{C}_{16:1}$	0.6 $\pm$ 0.02	0.8 $\pm$ 0.02	0.5 $\pm$ 0.04	1.0 $\pm$ 0.10
$\text{C}_{18:0}$	20.6 $\pm$ 1.1	25.6 $\pm$ 1.3	28.8 $\pm$ 1.8	35.4 $\pm$ 2.0
$\text{C}_{18:1}$	8.4 $\pm$ 0.5	8.8 $\pm$ 0.5	8.4 $\pm$ 0.5	7.8 $\pm$ 0.4
$\text{C}_{18:2}$	25.7 $\pm$ 2.3	23.9 $\pm$ 1.8	15.9 $\pm$ 1.1	14.2 $\pm$ 0.9
$\text{C}_{20:4}$	23.1 $\pm$ 3.8	26.0 $\pm$ 4.1	16.1 $\pm$ 2.5	20.9 $\pm$ 4.0

その不飽和度によって分画し、それぞれの放射能の比率を比較すると、Table 9 に示されるとおり、PCB 投与によって mitochondria と microsome とともに飽和脂酸の%が減少して、不飽和脂酸とくに 2 重結合を 3 個ないし 4 個もつものの%が増加することが認められた。この脂酸の不飽和化もまた microsome で行われるといわれている。すなわち PCB 投与によって microsome の酵素系が活性化されたと推察された。

こうした結果から、肝 mitochondria および microsome に存在する FFA は、一部は TG の分解によって生じた脂酸であり、また他の一部は ChE や PL などから由来するものであらうと推察された。

5. PCB 投与の肝 mitochondria および microsome の遊離 cholesterol に及ぼす影響

Table 10 に示されるように、PCB 投与によって肝 mitochondria および microsome の量はわずかに減少した。このことは PCB 投与によって皮膚 cholesterol の量が変化したことと、有意義に相関するものであると思われた。

Ch の比放射能を測定するとき、Table 10 に示されるように、肝脂質の中で最高の値を示した。これは [^{14}C] 酢酸が最も多く肝 Ch の中に取りこまれることを表すものであり、また PCB 投与によってこの

Table 7. The influence of PCB administration on mitochondrial and microsomal free fatty acid of rat liver

Experimental group	Mitochondria			Microsome		
	Total free fatty acid (μM)	$\mu\text{M/g}$ liver	Specific radioactivity (dpm/ μM)	Total free fatty acid (μM)	$\mu\text{M/g}$ liver	Specific radioactivity (dpm/ μM)
Control	15.9 $\pm$ 3.3	1.8 $\pm$ 0.4	236 $\pm$ 68	7.5 $\pm$ 2.4	0.9 $\pm$ 0.2	225 $\pm$ 75
P C B	17.2 $\pm$ 4.2	1.3 $\pm$ 0.4	504 $\pm$ 53	10.4 $\pm$ 3.8	0.8 $\pm$ 0.3	493 $\pm$ 66

Table 9. The influence of PCB administration on the incorporation of $[1-^{14}\text{C}]$ acetate according to the desaturation grade into free fatty acids of rat liver

Cell particulate	Experimental group	% Distribution of radioactivity of free fatty acids according to the desaturation grade			
		$\Delta=0$	$\Delta=1$	$\Delta=2$	$\Delta=3, 4$
Mitochondria	Control	73.7 $\pm$ 10.8	6.6 $\pm$ 1.1	5.9 $\pm$ 1.3	13.0 $\pm$ 3.4
	PCB	59.3 $\pm$ 8.3	7.7 $\pm$ 2.1	10.0 $\pm$ 2.2	23.0 $\pm$ 5.5
Microsome	Control	64.3 $\pm$ 12.6	4.3 $\pm$ 0.9	6.2 $\pm$ 1.3	25.2 $\pm$ 4.9
	PCB	40.7 $\pm$ 10.1	13.5 $\pm$ 2.5	12.6 $\pm$ 3.3	33.2 $\pm$ 4.7

Table 10. The influence of PCB administration on free cholesterol in rat liver

Experimental group	Mitochondria			Microsome		
	Total cholesterol (μM)	$\mu\text{M/g}$ liver	Specific radioactivity (dpm/ μM)	Total cholesterol (μM)	$\mu\text{M/g}$ liver	Specific radioactivity (dpm/ μM)
Control	18.9 $\pm$ 2.5	2.2 $\pm$ 0.3	2649 $\pm$ 653	15.6 $\pm$ 2.0	1.8 $\pm$ 0.2	2481 $\pm$ 755
PCB	18.5 $\pm$ 3.2	1.4 $\pm$ 0.3	2059 $\pm$ 707	17.9 $\pm$ 1.8	1.3 $\pm$ 0.3	1980 $\pm$ 687

Table 11. The influence of PCB administration on cholesterol ester in rat liver

Cell particulate	Cholesterol ester	Control	PCB
Mitochondria	Total (μM)	1.1 $\pm$ 0.12	2.3 $\pm$ 0.24
	$\mu\text{M/g}$ liver	0.12 $\pm$ 0.02	0.17 $\pm$ 0.02
	Specific radioactivity (dpm/ μM)		
	Cholesterol	1671 $\pm$ 368	1003 $\pm$ 277
	Fatty acids	365 $\pm$ 109	281 $\pm$ 72
Microsome	Total (μM)	0.9 $\pm$ 0.1	3.2 $\pm$ 0.3
	$\mu\text{M/g}$ liver	0.10 $\pm$ 0.01	0.23 $\pm$ 0.03
	Specific radioactivity (dpm/ μM)		
	Cholesterol	931 $\pm$ 282	675 $\pm$ 266
	Fatty acids	991 $\pm$ 325	468 $\pm$ 188

取りこみが少しく抑制されることも認められた。

GLC で検討したとき, Ch 以外のステロール, とくに squalene から Ch までの中間ステロールは, その存在が認められなかった。

6. PCB 投与の肝 mitochondria および microsome の cholesterol ester に及ぼす影響

実験 5 で示されたように, PCB 投与によって肝 mitochondria および microsome の遊離 Ch は, 微量ながら減少した。これにたいして ChE では, Table 11 に示されるように, PCB 投与によってその量がわずかながら増加した。ChE を Ch と脂酸とに水解し, 別々に比放射能を測定して比較すると, Table 11 に示される結果がえられた。すなわち Ch 部分も脂酸部分ともに, PCB 投与によって比放射能

が低下し, Ch と脂酸とを比較すれば, mitochondria では Ch 部の低下の方が著しく, microsome では脂酸部分の低下が Ch 部のそれより大きかった。

さらに GLC によって ChE の脂酸組成を分析すると, Table 12 に示されるように, PCB 投与によってパルミチン酸 ($\text{C}_{16:0}$) が減少し, オレイン酸 ($\text{C}_{18:1}$) が増加することが認められた。

このようにラット肝では ChE 脂酸への $[1-^{14}\text{C}]$ 酢酸の取りこみが, TG や FFA よりも遙かに大きく, PCB 投与によってその取りこみが減少し, FFA の場合のようにステアリン酸 ($\text{C}_{18:0}$) の増加の代りに, オレイン酸 ($\text{C}_{18:1}$) が増加したことは, ChE の脂酸が TG 脂酸や FFA と異なつた代謝過程にあることを示唆するものであろう。

Table 12. The influence of PCB administration on the fatty acid composition of cholesterol ester in rat liver

Fatty acid	Mitochondria		Microsome	
	Control	P C B	Control	P C B
C _{14:0}	17.2±1.2	9.1±0.8	5.1±0.4	5.7±0.5
C _{16:0}	26.9±1.6	15.5±1.3	29.7±2.0	20.0±1.7
C _{16:1}	3.1±0.2	2.2±0.2	1.3±0.1	1.7±0.2
C _{18:0}	5.5±0.1	8.0±0.2	15.9±0.8	14.5±0.8
C _{18:1}	17.8±1.0	27.2±2.2	10.4±1.3	16.6±1.5
C _{18:2}	19.2±2.2	25.2±2.5	22.2±2.0	22.5±1.7
C _{20:4}	10.3±1.8	12.9±2.1	15.5±2.0	17.1±1.7

7. PCB 投与の肝 mitochondria および microsome のリン脂質に及ぼす影響

既知のように、リン脂質は肝脂質の中でその量が最も多いものである。Table 13 に示されるように、PCB 投与によつて mitochondria と microsome の全リン脂質は少しく増加したが、肝 1g あたりでは、量的変化はほとんど認められなかつた。

全リン脂質の比放射能を測定すると Table 13 に示されるように、PCB 投与によつてその比活性の上昇することが認められた。そこで全 PL をアルカリ水解してその脂酸を分離し、その放射能を全 PL の放射能の%で表すと、Table 14 に示されるように、PCB 投与によつてその%の増加することが観察された。

このことから PCB 投与による全 PL 比放射能の増加は、主として PL 脂酸の [1-¹⁴C] の取りこみが促進されたことを示すものであり、PL 脂酸は TG 脂酸や FFA と同じ合成系列のものであつて、ChE 脂酸の系列と異なるものであろうことが推測された。

つぎに chloroform-methanol 展開溶媒による TLC によつて、mitochondria および microsome の PL を分画すると、R_f の小さな順に、lysophosphatidylcholine (lysolecithin), sphingomyelin, phosphatidylcholine (lecithin), phosphatidyl-

Table 14. The influence of PCB administration on the incorporation of [1-¹⁴C] acetate into fatty acid of rat liver phospholipids

Experimental group	dpm of phospholipid fatty acid/dpm of phospholipids (%)	
	Mitochondria	Microsome
Control	28.4±5.5	21.3±6.8
P C B	41.3±6.1	40.7±5.8

inositol+phosphatidylserine (上記の一次元 TLC ではこの両者は 1 点に展開される), phosphatidylethanolamine (cephalin) および未同定の溶媒先端物質 (mitochondria の場合には cardiolipin が含まれる) の 6 個のスポットに分画された。

各スポットからそれぞれの PL を抽出し、リンを定量して総 PL リンの%で表すと、Table 15 に示されるとおりである。

mitochondria では phosphatidylcholine が最も多く、ついで phosphatidylethanolamine であつたのに対し、microsome では phosphatidylcholine が最も多く、ついで sphingomyelin, さらに続いて lysophosphatidylcholine と phosphatidylethanolamine とであつた。

PCB 投与の影響は mitochondria の PL 量にはほとんど認められず、比放射能に対する影響も、phosphatidylinositol + phosphatidylethanolamine の約 2.5 倍の、phosphatidylcholine と phosphatidylethanolamine のわずかの増加であつた。これに対して microsome の PL 量では、lysophosphatidylcholine と sphingomyelin の減少、相対的に phosphatidylcholine と phosphatidylinositol+phosphatidylserine の増加が認められ、これらの比放射能の変化は mitochondria におけるよりも、はるかに大きく、phosphatidylcholine の比放射能が約 2.5 倍の増加とともに、他の PL 画分はすべて 3 倍以上に増加することが観察された。

このことは PCB 投与によつて microsome にお

Table 13. The influence of PCB administration on phospholipids in rat liver

Experimental group	Mitochondria			Microsome		
	Total phospholipids (μM)	μM/g liver	Specific radioactivity (dpm/μM)	Total phospholipids (μM)	μM/g liver	Specific radioactivity (dpm/μM)
Control	162.2±18.3	18.6±2.0	548±148	107.2±9.6	12.3±1.4	603±192
P C B	212.5±17.6	15.6±2.2	814±205	209.6±15.5	17.5±1.7	929±218

Table 15. The influence of PCB administration on the phospholipid composition in rat liver

Cell particulate	Phospholipids	% of total phospholipids		Specific radioactivity (dpm/ μ M)	
		Control	P C B	Control	P C B
Mitochondria	Lysophosphatidylcholine	2.1 $\pm$ 0.2	2.2 $\pm$ 0.2	320 $\pm$ 64	325 $\pm$ 78
	Sphingomyelin	5.9 $\pm$ 0.3	4.6 $\pm$ 0.2	247 $\pm$ 56	292 $\pm$ 59
	Phosphatidylcholine	41.9 $\pm$ 3.8	48.9 $\pm$ 3.5	548 $\pm$ 115	680 $\pm$ 123
	Phosphatidylinositol +phosphatidylserine	12.2 $\pm$ 3.3	11.4 $\pm$ 2.9	165 $\pm$ 44	435 $\pm$ 83
	Phosphatidylethanolamine	26.1 $\pm$ 5.7	24.7 $\pm$ 6.6	379 $\pm$ 87	453 $\pm$ 102
	Solvent-front substances*	11.7 $\pm$ 3.8	8.2 $\pm$ 2.5	197 $\pm$ 62	347 $\pm$ 83
Microsome	Lysophosphatidylcholine	12.5 $\pm$ 1.5	5.9 $\pm$ 0.8	267 $\pm$ 70	1036 $\pm$ 227
	Sphingomyelin	21.9 $\pm$ 1.8	11.6 $\pm$ 1.3	266 $\pm$ 57	790 $\pm$ 239
	Phosphatidylcholine	32.5 $\pm$ 3.6	41.6 $\pm$ 4.1	755 $\pm$ 112	1215 $\pm$ 384
	Phosphatidylinositol +phosphatidylserine	10.7 $\pm$ 1.8	17.8 $\pm$ 2.0	337 $\pm$ 95	1204 $\pm$ 454
	Phosphatidylethanolamine	12.8 $\pm$ 1.6	13.2 $\pm$ 0.8	414 $\pm$ 78	1227 $\pm$ 375
	Solvent-front substances**	9.6 $\pm$ 1.1	12.2 $\pm$ 1.7	545 $\pm$ 107	1729 $\pm$ 523

* The majority of this fraction was occupied by cardiolipin.

** The substances of this fraction were not yet identified.

ける PL 合成が促進され、また一方では各 PL の合成経路が多少なりとも異なることを示すものであろう。

さらに microsome において、上述のように PCB 投与によつて lysophosphatidylcholine が大きな比率で減少したことは、lysophosphatidylcholine の生理的意義がなお明らかでない今日、将来の課題として興味あるものであろう。

総 括

ヒトの PCB 中毒に近似した状態をラットに再現するために、今回の研究においては、比較的多量の PCB とくに Kaneclor 500 を短期間投与し、それが肝脂質にどのように影響するかを検討した。

肝組織から超遠心によつて mitochondria と microsome とを分画し、両者から脂質を抽出して各脂質を分析し、PCB 投与がこれら各脂質の量に及ぼす影響を定量的に検索した。

また PCB 投与ラットに [1- 14 C] 酢酸を腹腔内注射し、各脂質への取りこみをその比放射能から測定して、PCB 投与が各脂質の動的状態にどのような影響を及ぼすかを検討した。

PCB 投与によつて肝肥大のおこることは、今回の研究の実験条件でも確認された。しかし単位重量あたりの肝脂質量は PCB によつて変化を受けず、したがってこの肝肥大は脂質蓄積ないし脂汗を原因とするも

のではなかつた。

肝脂質のうち triglyceride は、PCB 投与によつて mitochondria において減少したが、microsome では変化がなかつた。しかし [1- 13 C] 酢酸の triglyceride への取りこみは、mitochondria および microsome とともに増加し、とくに triglyceride の脂酸部分においてその増加が大きかつた。このことは microsome における脂酸合成系酵素が、PCB によつて活性化するためであろうと推察された。

肝 mitochondria および microsome の抽出脂質中には、triglyceride の量以上の遊離脂酸の存在することが確かめられた。この遊離脂酸の量および [1- 14 C] 酢酸の取りこみは、mitochondria と microsome とともに PCB 投与によつて増大された。またこの遊離脂酸はいくらかの性質において triglyceride 脂酸に類似し、他のある点では cholesterol ester とリン脂質の脂酸に通じる性質も認められた。

遊離 cholesterol については、元来この画分が最も大きく [1- 14 C] 酢酸を取りこむことが明らかにされ、PCB 投与によつてその取りこみが抑制された。また PCB 投与によつて、肝 mitochondria および microsome とともに、その脂質中の遊離 cholesterol 量が減少した。

cholesterol ester については、mitochondria および microsome とともに PCB 投与によつてその量がわずかに減少し、比放射能もまた少し減少した。

cholesterol ester 脂酸の $[1-^{14}\text{C}]$ 酢酸の取りこみもまた、PCB 投与によつて抑制された。これは同じ脂酸でありながら、triglyceride 脂酸や遊離脂酸などと、大きく異なるところであつた。

リン脂質を総体的に検索するとき、PCB 投与による総リン脂質の量的変化は、mitochondria と microsome についてほとんど認められなかつた。しかし総リン脂質の比放射能は PCB 投与によつて多少増加し、これは主としてリン脂質脂酸の $[1-^{14}\text{C}]$ 酢酸取りこみの促進によることが証明された。

一次元薄層クロマトグラフィによつて、mitochondria と microsome とにその存在が認められたリン脂質は、lysophosphatidylcholine, sphingomyelin, phosphatidylcholine, phosphatidylinositol + phosphatidylserine, phosphatidylethanolamine および mitochondria では cardiolipin, さらに mitochondria と microsome とともに未同定の低極性物質であつた。PCB 投与によつて mitochondria のこれらのリン脂質は、量的にも $[1-^{14}\text{C}]$ 酢酸取りこみにおいても、影響を受けなかつたが、microsome ではこれらはほとんどすべて、PCB 投与によつてその比放射能が平均約 2 倍以上に増大した。このこともまた PCB による肝小胞体の増大⁶⁾¹²⁾ と一致する現象であることが推測された。

われわれはさらに、ラットの血漿脂質および脂肪組織について研究を継続し、次報にそれを発表する。

文 献

1) Baumann, E. J.: On the estimation of

organic phosphorus. *J. Biol. Chem.* 59: 667-674, 1924.

2) Duncombe, W. G.: The colorimetric micro-determination of non-esterified fatty acids in plasma. *Clin. Chim. Acta* 9: 122-125, 1964.

3) Fletcher, M. J.: A colorimetric method for estimating serum triglyceride. *Clin. Chim. Acta* 22: 393-397, 1968.

4) 藤田節治, 辻 宏, 加藤敬太郎, 佐伯清太郎, 塚元久雄: Biphenyl-chloride 誘導体のラット肝ミクロゾームに与える影響. *福岡医誌* 62: 30-34, 1971.

5) 平山千里, 入佐俊武, 山元寅男: 油症患者肝臓の形態学的所見. *福岡医誌* 60: 455-461, 1969.

6) 倉恒匡徳: 個人通信 (1972).

7) 小松富美子, 田中潔: Chlorobiphenyls による Hexobarbital 麻酔短縮現象と血清中性脂肪の変動. *福岡医誌* 62: 35-41, 1971.

8) 永井諄爾, 古川ミチヨ, 八戸義明, 樋口かをる: ラッテ臓器脂質にたいする塩化ビフェニール (カネクロール) の影響. *福岡医誌* 62: 42-47, 1971.

9) 永井諄爾, 樋口かをる, 八戸義明: 塩化ビフェニール (PCB) のラット脂質代謝におよぼす影響 (第 1 報) 皮膚脂質について. *福岡医誌* 63: 367-373, 1972.

10) 田中潔, 藤田節治, 小松富美子, 田村典子: 塩化ビフェニール亜急性中毒実験, ことにラット血清脂質について. *福岡医誌* 60: 544-547, 1969.

11) 田中潔, 小松富美子: 微量塩化ビフェニール (PCB) によるラットの麻酔短縮現象. *福岡医誌* 63: 360-366, 1972.

12) 山元寅男, 平山千里, 入佐俊武: 油症患者肝臓の形態学的所見補遺. *福岡医誌* 62: 85-88, 1971.

13) Zurkowski, P.: A rapid method for cholesterol determination with a single reagent. *Clin. Chem.* 10: 451-453, 1964.

塩化ビフェニール (PCB) のラット 脂質代謝に及ぼす影響

第3報 脂肪組織および血漿について

九州大学医学部附属病院中央検査部

永井 諄爾*・八戸 義明

樋口 かをる**

The Influence of the Oral Administration of PCB on the Lipid Metabolism of the Rat

III. Adipose Tissue and Blood Plasma

Junji NAGAI*, Yoshiaki YAE and Kaoru HIGUCHI**

*Central Clinical Laboratory of Kyushu University
Hospital, Fukuoka, Japan*

The rats, fed with 20 mg of PCB every day for 10 days, were injected with [1-¹⁴C] acetate intraperitoneally and after sacrifice the blood plasma and the abdomen fat pad (epididymal and perirenal) were collected. Lipids of the samples were extracted and determined by colorimetry and gas-chromatography after fractionating and separating by thin-layer chromatography.

PCB influenced less on the quantity and the specific radioactivity of triglyceride in the abdomen fat pad.

Although the quantity in the blood plasma of cholesterol, cholesterol ester and phospholipids was increased by the PCB administration, triglyceride did not receive any influence. Free fatty acids, also, did not change in the blood plasma. When the specific radioactivity of these lipids was measured and the fatty acid composition was analyzed, a close relationship between plasma and liver lipids was found.

In the conclusion, it was discussed that PCB stimulated the microsomal enzyme system in liver and by that means the lipid metabolism of rat was influenced to enhance the fatty acid synthesis excepting the depression of the synthesis of cholesterol and its ester fatty acids.

われわれは PCB をラットに投与して、その脂質代謝に及ぼす影響を研究し、第1報において、皮膚脂質についての実験結果を報告した⁹⁾。ヒトの PCB 中毒、いわゆる油症において、特有の皮膚症状がしばしば観察されたからである⁵⁾。第2報においては肝脂質についての実験結果を発表し¹⁰⁾、この第3報において脂肪組織と血漿脂質についての研究成績を取りあげること

にした。油症において血清脂質、とくにその triglyceride の増加が、しばしば観察され、時としてさらに高度の乳濁血清が認められることから、その原因の検索を主な目的としたのである。

われわれはすでに発表したように、いろいろの PCB 投与方法でラットを飼育したが、これによつて血清脂質のうち cholesterol とリン脂質が増加することは明

現所属 (Present address)

* 中村学園大学食物栄養学科 (Department of Food and Nutrition, Nakamura Gakuen College, Fukuoka, Japan)

** 国立病院九州がんセンター 研究検査科 (Research and Clinical Laboratory, National Hospital of Kyushu Cancer Center, Fukuoka, Japan)

らかに認めても、飼育ラットの体重が減少するほどの大量の PCB を投与しない限り、血清 triglyceride が増加しないことを観察した⁸⁾。今回の実験においても、ラットの成長発育が辛じて停止する程度の PCB 投与量では、血漿 triglyceride は増加しないことを再び確認した。ここにヒトとラットの種属差による代謝差を認めざるをえないわけであるが、ラットにおいて、その肝臓、脂肪組織および血漿の脂質が、PCB 投与によって受ける変化を比較検討して、ラットにおける PCB による全身的脂質代謝の変化を、ある程度まで明らかにすることができたと思われる。

実験材料と方法

1. ラット飼育試験

飼育方法は、前報告におけるものと全く同じである¹⁰⁾。20 mg の PCB を 10 日間連続投与し、その後 7 日間投与休止したラットに、[1-¹⁴C] 酢酸ナトリウムを腹腔内注射し、2 時間後に断頭漏血した。

2. 血漿ならびに脂肪組織の採取

ヘパリン-EDTA 混合液の少量を入れた遠心沈澱管を、氷水で冷やししながら、漏血を集め、冷却遠心器で遠心して血漿を分離した。採血後ただちにラットの腹部を開いて、epididymal および perirenal fat pad を鋭で完全に取り出し、秤量したのち、生理的食塩水でよく洗い、つぎの実験段階に移した。

3. 脂質の抽出、分画、定量および放射能測定

これらの方法は、前報告で述べたものと、すべて同じであった¹⁰⁾。

実験結果

1. PCB 投与の腹脂 triglyceride に及ぼす影響

腹脂の有機溶媒抽出物はほとんど triglyceride から成り、少量の cholesterol およびリン脂質を含む

Table 1. The influence of PCB administration on the weight of rat abdomen fat pad

Experimental group	Epididymal (g)	Perirenal (g)
Control	2.9±0.2	2.2±0.5
PCB	2.8±0.4	1.9±0.5

が、後 2 者はあまりに微量であるため、分析測定が不可能であり、もつぱら triglyceride についてだけ実験した。

epididymal および perirenal とともに、Table 1 に示されるように、PCB 投与による組織重量の変化は認められなかった。前報告において⁸⁾、これら腹脂の著しい萎縮減量が観察されたのは、PCB 投与が 30 日にわたる長期間であつたためと思われた。組織重量に変化がなかっただけでなく、Table 2 に示されるように、その組織 triglyceride 量にも、PCB 投与の影響は認められなかった。

しかしこの triglyceride の比放射能(腹脂 triglyceride の場合には dpm/mM、他の場合はすべて dpm/μM) は、PCB 投与によって少しく低下することを示した。しかもその低下は、他の脂質の場合にくらべて、triglyceride の脂酸部分への [1-¹⁴C] 酢酸の取りこみが低下する以上に、triglyceride の glycerol 部分の [1-¹⁴C] 酢酸の取りこみが低下したことが、triglyceride の脂酸の比放射能の測定値からうかがわれた。

換言すれば脂肪組織に対して PCB は、その脂酸代謝に直接影響するよりも、脂肪組織におけるブドウ糖→α-グリセロリン酸→triglyceride の前半部分を、より大きく抑制することが示唆された。PCB 投与が腹脂 triglyceride 脂酸に影響を与えることの少ない

Table 2. The influence of PCB administration on triglyceride in the abdomen fat pad of male rat

Fat pad	Experimental group	Total (mM)	mM/g tissue	dpm/mM of triglyceride	dpm/mM of triglyceride fatty acids
Epididymal	Control	2.4±0.2	0.83±0.08	20±5	5±1.5
	PCB	2.1±0.2	0.75±0.06	51±12	21±10.6
Perirenal	Control	1.9±0.3	0.87±0.04	9±5	—*
	PCB	1.7±0.2	0.89±0.05	18±10	—

* The radioactivity was too small, to determine the specific radioactivity of triglyceride fatty acids of perirenal adipose tissue.

Table 3. The influence of PCB administration on the fatty acid composition of triglyceride in rat abdomen fat pad

Fatty acid	Epididymal		Perirenal	
	Control	PCB	Control	PCB
C _{14:0}	3.7±0.4	4.0±0.2	1.1±0.2	1.6±0.3
C _{16:0}	20.9±0.4	20.6±0.6	22.8±2.3	21.7±1.1
C _{16:1}	3.7±0.1	3.9±0.6	2.2±0.4	3.1±0.7
C _{18:0}	2.6±0.1	2.6±0.2	3.4±0.2	3.6±0.3
C _{18:1}	28.6±0.3	29.4±0.4	29.3±1.9	31.2±1.0
C _{18:2}	40.8±0.4	39.5±0.7	39.4±1.4	37.5±1.4
C _{18:3}	—	—	0.6±0.3	0.5±0.1
C _{18:4}	—	—	1.3±0.2	0.9±0.2

ことは, Table 3 に示されるように, その脂酸組成に変化が認められなかつたことから, またうかがわれた.

2. PCB 投与の血漿 triglyceride に及ぼす影響

PCB 投与によつて血漿 triglyceride の量が影響を受けなかつたことは, Table 4 に明らかである. しかしその比放射能 (dpm/ μ M) は有意差に上昇し, ほぼ肝 triglyceride のそれに等しく, 血漿 triglyceride は主として肝 triglyceride に由来することが推測された.

血漿 triglyceride の脂酸組成を分析すると, Table 5 に示されるように, PCB 投与によつてパルミチン

Table 4. The influence of PCB administration on triglyceride of rat plasma

Group	μ M/ml	dpm/ μ M
Control	0.42±0.05	2129±388
PCB	0.40±0.08	3236±507

Table 5. The influence of PCB administration on the fatty acid composition of triglyceride in rat plasma

Fatty acid	Control	PCB
C _{14:0}	2.5±0.5	3.9±0.2
C _{16:0}	28.6±1.2	24.6±0.5
C _{16:1}	1.5±0.2	1.8±0.3
C _{18:0}	3.4±0.2	5.5±0.7
C _{18:1}	16.7±0.4	17.5±1.3
C _{18:2}	41.1±1.8	36.0±0.7
C _{20:4}	5.8±1.3	10.7±1.5

Table 6. The influence of PCB administration on the incorporation of [1-¹⁴C] acetate into fatty acids of triglyceride in rat plasma

Experimental group	% distribution of radioactivity in triglyceride fatty acids according to desaturation grade			
	$\Delta=0$	$\Delta=1$	$\Delta=2$	$\Delta=3,4$
Control	78.3±5.1	7.9±2.1	5.8±2.3	8.0±1.4
PCB	49.2±10.7	9.8±5.8	8.2±0.8	32.8±11.5

酸 (C_{16:0}) の比率が低下し, その代りアラキドン酸 (C_{20:4}) の比率の上昇することが認められた.

このことは Table 6 に示されるように, $\Delta=0$ 脂酸群の放射能, すなわち [1-¹⁴C] の取りこみが減少し, $\Delta=3,4$ 脂酸群のそれが上昇することを示す実験結果からも確認された.

しかし血漿 triglyceride 脂酸の C_{20:4} と肝 triglyceride のそれとを比較すると, 前者の方がその比率が高かつた. このことは大部分の血漿 triglyceride が肝臓で生成されるけれども, 小部分は肝外組織で生成されるものを含むことを示すものであろう.

3. PCB 投与の血漿遊離脂酸に及ぼす影響

血漿遊離脂酸が全身代謝に重要な役目を果していることは⁴⁾, 周知のとおりである. Table 7 に示されるように, PCB 投与によつて, この遊離脂酸は量的な変化は受けなかつたが, その比放射能は約 1/2 に低下した.

Table 7. The influence of PCB administration on plasma free fatty acids of rat

Experimental group	μ M/ml	dpm/ μ M
Control	0.38±0.11	240±87
PCB	0.37±0.03	125±66

Table 8. The influence of PCB administration on the composition of free fatty acids in rat plasma

Fatty acid	Control	PCB
C _{14:0}	2.4±0.1	2.4±0.2
C _{16:0}	36.7±0.5	35.4±0.3
C _{16:1}	3.1±0.3	4.4±0.6
C _{18:0}	8.6±0.5	8.3±0.8
C _{18:1}	19.2±0.5	18.1±1.7
C _{18:2}	25.6±2.0	22.6±1.8
C _{20:4}	4.4±1.2	8.8±1.6

血漿遊離脂酸は、脂肪組織の triglyceride に主として由来するものであると、一般には認められている。しかし遊離脂酸と腹脂 triglyceride 脂酸との比放射能の間には、かなりの隔りが認められた。また血漿遊離脂酸の組成を分析しても、Table 8 に示されるように、腹脂 triglyceride 脂酸の組成との間に、必ずしも近似は認められなかった。PCB 投与ラット血漿の遊離脂酸の由来を探索することは、将来の研究に待つべきであろう。

4. PCB 投与の血漿 cholesterol ならびに cholesterol ester に及ぼす影響

微量 PCB 投与によつて、血漿 cholesterol が増加することは、われわれがすでに発表したとおりである⁸⁾。本研究における比較的多量 PCB の短期投与によつても、血漿 cholesterol ならびに cholesterol ester の量は、Table 9 に示されるように、それぞれ対照群の約 1.5 倍に増加した。しかしそれらの比放射能は肝臓の場合と同様に、PCB 投与によつて低下を示した。しかもその比放射能は血漿と肝臓とではほぼ等しいことから、血漿 cholesterol ならびにそのエステルは、肝臓で生成されたものであると推定された。

ただそのエステル脂酸の組成を比較するとき、

Table 9. The influence of PCB administration on cholesterol and cholesterol ester in rat plasma

Cholesterol	Quantity and specific radio-activity	Control	PCB
Free	$\mu\text{M/ml}$ $\text{dpm}/\mu\text{M}$	0.36 ± 0.05 1518 ± 236	0.52 ± 0.11 1172 ± 187
Esterified	$\mu\text{M/ml}$ $\text{dpm}/\mu\text{M}$ cholesterol fatty acid	0.94 ± 0.18 938 ± 196 347 ± 68	1.66 ± 0.15 372 ± 108 190 ± 53

Table 10. The influence of PCB administration on the fatty acid composition of cholesterol ester in rat plasma

Fatty acid	Control	PCB
C _{14:0}	3.6 ± 1.2	4.3 ± 1.5
C _{16:0}	26.4 ± 3.3	20.9 ± 0.7
C _{16:1}	2.7 ± 0.5	2.9 ± 0.2
C _{18:0}	1.5 ± 0.4	0.8 ± 0.4
C _{18:1}	12.3 ± 0.8	11.3 ± 0.6
C _{18:2}	53.5 ± 2.5	59.5 ± 2.3

Table 10 に示されるように、両組織において多少の差が認められた。これは血漿中の lecithin-cholesterol acyltransferase などによる脂酸組成の変化によるものであろう。

5. PCB 投与の血漿リン脂質に及ぼす影響

血漿リン脂質についても、これが微量 PCB 長期投与によつて増加することは、われわれがすでに報告したとおりである⁸⁾。本研究においてもまた、リン脂質量は Table 11 に示されるように、cholesterol と同様に、PCB 投与によつて対照群の 1.5 倍に増加した。しかしその比放射能は PCB 投与によつて低下し、cholesterol と相似の変化を示した。

リン脂質脂酸組成は Table 12 に示されるとおりであり、これらの実験結果から、血漿リン脂質もまた、主として肝臓の支配を受けることが推測された。

周知のように肝臓で生成された脂質は、それぞれ一定の比率で組み合わされ、lipoprotein として血漿に放出される。PCB 投与によつて血漿 cholesterol ならびに cholesterol ester とリン脂質はほぼ相似の変化を示すのにたいし、血漿 triglyceride は、他の脂質と異なつた変化を示した。この異様性の解明は、血漿 lipoprotein 生成に関する知見を、さらに発展させるものであろう。

Table 11. The influence of PCB administration on phospholipids in rat plasma

Experimental group	mM/ml	dpm/ μM Phospholipids	% of dpm of fatty acids in phospholipids
Control	1.01 ± 0.09	806 ± 231	32.0 ± 3.9
PCB	1.52 ± 0.25	574 ± 52	34.7 ± 3.2

Table 12. The influence of PCB administration on the fatty acid composition of phospholipids in rat plasma

Fatty acid	Control	PCB
C _{14:0}	0.9 ± 0.3	0.9 ± 0.2
C _{16:0}	32.7 ± 1.2	25.3 ± 1.2
C _{16:1}	1.6 ± 0.3	0.9 ± 0.2
C _{18:0}	24.4 ± 1.4	38.5 ± 1.9
C _{18:1}	5.8 ± 0.1	5.8 ± 0.3
C _{18:2}	17.3 ± 0.5	14.8 ± 1.0
C _{20:4}	17.4 ± 0.5	13.8 ± 2.5

考 案

PCB 投与ラットの組織脂質分析、および各脂質へ

の [1-¹⁴C] 酢酸の取りこみにたいする PCB の影響を総括検討すると、PCB によるラット脂質代謝の変化の大部分は、PCB による細胞小胞体の酵素系誘発に帰することができる。しかし逆に、小胞体酵素を誘発する PCB 以外の物質が、すべてヒトの PCB 中毒（油症）と同じ皮膚症状、あるいは脂肪血をおこすとは限らない。

たとえば肝小胞体の薬物代謝酵素活性を高める phenobarbital は、肝臓にたいして anabolic な効果を与え、肝臓のグラムあたりの小胞体蛋白質を増加させる³⁾。これにたいして 3-methylcholanthrene のような多環芳香属炭化水素は、肝臓グラム当りの蛋白質量に影響を与えることは少ないが、全肝蛋白質合成と、それに伴う肝肥大を励起させると言われている¹⁾。

PCB 投与によつてラット肝肥大がおこることと比較すれば、PCB はラットに対して、methylcholanthrene に似た作用をもち、ヒトに対しては、肝肥大はおこさないが、小胞体の肥大をおこさせることから^{6) 12)}、phenobarbital に似た作用をもつことになる。すなわち PCB の作用については、種属差を考慮する必要が生れる。

phenobarbital や methylcholanthrene などによつて励起される肝小胞体の薬物代謝酵素の多くは、NADPH 依存酵素である。この酵素は薬物代謝、すなわち多くの場合は、薬物の水酸化に関係するが、脂酸合成にもまた関係する^{7) 11)}。また肝小胞体の NADPH 依存酵素は、cholesterol の生合成にも要求されると言われている²⁾。

NADPH と脂酸代謝の関係を考察すれば、さしあたりつぎのようになる。

第1は脂酸合成の中間段階における Fig. 1 A のような還元反応であり、第2は Fig. 1 B のような microsomal desaturase system の酸化反応である。

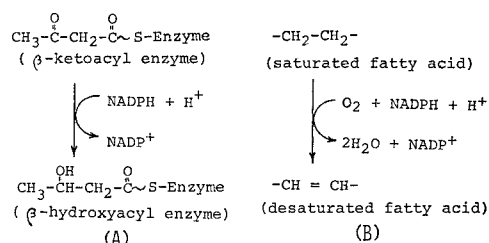


Fig. 1. Reduction of β-ketoacid (A) and desaturation of saturated fatty acid (B) by NADPH

ラット組織の triglyceride やリン脂質の脂酸において、PCB 投与によつて Δ = 0 脂酸群の放射能比率が減少して Δ = 3, 4 脂酸群の放射能比率が増加したのは、PCB によつて主として NADPH-dependent microsomal desaturase system が励起されたものと推測される。

これに対して cholesterol ester 脂酸の全般的な比放射能低下は、PCB によつて第1の NADPH 系の還元反応が阻害されたものと推察される。本研究第1報において観察されたように、PCB によつて squalene の比放射能が低下したのは farnesyl pyrophosphate が重合して squalene を生成する場合、Fig. 2 の NADPH による還元が阻害され、このために窮極的に cholesterol の比放射能が低下したのと思われる。すなわち PCB は、小胞体内に同時に存在する NADPH 系の酸化反応にたいしては励起的に、その還元反応にたいしては抑制的に作用することが推測される。

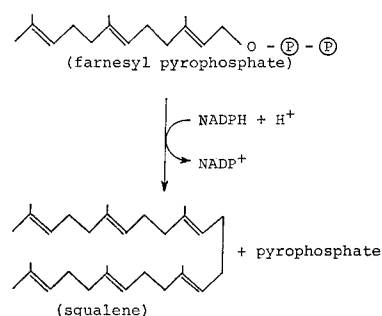


Fig. 2. Condensation of farnesyl pyrophosphate by NADPH

総 括

本研究の第2報における飼育条件と同じ方法によつて PCB を投与したラットの腹脂（epididymal および perirenal）と血漿について、その脂質を分析定量し、また比放射能を測定した。

腹脂の重量は PCB 投与によつて影響を受けず、その triglyceride の抽出量も脂酸組成も変化しなかった。その比較放射能はきわめて低く、腹腔に注射された [1-¹⁴C] 酢酸はその中にわずかしき取りこまれないことを知った。

血漿 triglyceride は PCB によつて量的変化は受けなかったが、その比放射能は上昇し、肝 triglyceride とよく似ていることが認められた。

血漿遊離脂酸は PCB によつて量的には変化され

ず、比放射能は低下することが認められ、このことから脂肪組織の triglyceride 量が PCB によつて量的変化は受けず、その triglyceride の脂酸が、注射された $[1-^{14}\text{C}]$ 酢酸を取りこむことの少ないことを再び確認した。

血漿 cholesterol および cholesterol ester は、PCB 投与によつてその量が増加したが、比放射能は減少し、この成績は肝臓の場合と全く一致した。cholesterol ester 脂酸も、PCB によつて特異的に比放射能の減少することが観察された。

血漿リン脂質もまた、PCB 投与によつてその量を増し、比放射能もわずかに上昇し、肝リン脂質と類似することが認められた。

皮膚脂質および肝脂質に関する研究と本研究を総括すると、上述の PCB による脂質代謝の変化は、主として肝 microsome における NADPH 依存酵素の PCB による励起と、ある場合にはその阻害によつておこるものであろうことを推論した。

文 献

- 1) Arcos, J. C., Conney, A. H. and Buu-Hoi, N. P.: Induction of microsomal enzyme synthesis by polycyclic aromatic hydrocarbons of different molecular sizes. *J. Biol. Chem.* 236: 1291-1296, 1961.
- 2) Bloch, K.: The biological synthesis of cholesterol. *Science* 150: 19-28, 1965.
- 3) Conney, A. H., Davison, C., Gastel, R. and Burnes, J. J.: Adaptive increases in drug-metabolizing enzymes induced by phenobarbital and other drugs. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 130: 1-8, 1960.
- 4) Frederickson, D. and Gordon, Jr., R. S.: Transport of fatty acids. *Physiol. Rev.* 38: 585-630, 1958.
- 5) 五島応安, 樋口謙太郎: 油症 (塩化ビフェニール中毒症) の皮膚科学的症候論. 福岡医誌 60: 409-431, 1969.
- 6) 平山千里, 入佐俊武, 山元寅男: 油症患者肝臓の形態学的研究. 福岡医誌 60: 455-461, 1969.
- 7) Marsh, J. B. and James, A. T.: The conversion of stearic to oleic acid by liver and yeast preparation. *Biochim. Biophys. Acta* 60: 320-328, 1962.
- 8) 永井諄爾, 古川ミチヨ, 八戸義明, 樋口かをる: ラット臓器脂質にたいする塩化ビフェニール (カネクロール) の影響. 福岡医誌 62: 42-47, 1971.
- 9) 永井諄爾, 樋口かをる, 八戸義明: 塩化ビフェニール (PCB) のラット脂質代謝に及ぼす影響. 第1報, 皮膚脂質について. 福岡医誌 63: 367-373, 1972.
- 10) 永井諄爾, 八戸義明, 樋口かをる: 塩化ビフェニール (PCB) のラット脂質代謝に及ぼす影響. 第2報, 肝脂質について. 福岡医誌 65: 32-40, 1973.
- 11) Stoffel, W.: Biosynthesis of polyenoic acid. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 6: 270-273, 1961.
- 12) 山元寅男, 平山千里, 入佐俊武: 油症患者肝臓の形態学的所見補遺. 福岡医誌 62: 85-88, 1971.

A Simple Screening Method of Enzyme-Inducing Agents of PCB Type

Yasunori ARAKI and Kiyoshi TANAKA

*Department of Pharmacology, Faculty of Medicine,
Kyushu University, Fukuoka 812, Japan*

Since PCBs (polychlorinated biphenyls) were detected in the global echosystem as widespread pollutants, effects of PCBs on organisms have extensively explored by many investigators. Consequently, it appears to be generally agreed that the most sensitive reaction of mammals to PCBs is hepatic enzyme induction (Komatsu & Tanaka, Tanaka & Komatsu, Bruckner et al., Benthe et al., Litterst et al., Schmoldt et al.), of which type is chemically analogous to phenobarbital (Fujita et al.). Other environmental contaminants, particularly DDT (chlorophenothane) and many organochlorine insecticides, are also known to have similar enzyme-inducing activities (Fouts, Robinson, Kinoshita & Kempf, Klinger et al.).

Though the effect of hepatic enzyme induction on the human health is not fully elucidated, it seems important to know which compounds have inducing activity. The chemical method to test enzyme induction, however, needs rather complicated techniques and is not suitable for screening of drugs. The present investigation aims to introduce a simple screening method for this purpose.

Methods

Mice of CF#1 strain were used as experimental animals. Though female rats had been known to be sensitive to enzyme induction, mice were chosen because smaller animals were considered favorable for screening. Factors which might influence the enzyme activity were carefully kept constant (Fujii et al.).

At least three, usually four or five, groups each consisting of 10-15 mice were subjected to the anesthesia test, in which 100 mg/kg of hexobarbital sodium was injected intraperitoneally and the duration of anesthesia (so-called sleeping time) was measured.

Kaneclor 400 (KC-400), one of PCBs principally consisting of tetrachlorobiphenyl and almost identical to Aroclor 1248, was employed as a standard inducing agent, according to our former experiments (Komatsu & Tanaka, Tanaka & Komatsu).

The drug, emulsified with 0.5 percent CMC (carboxymethylcellulose sodium), was applied orally with a metal catheter and the first anesthesia test was performed 48 hours after drug ingestion. The test was repeated on the 7th, 14th, 21st...days after the drug administration, which was one shot and not repeated, until the sleeping time recovered to the control level. Only CMC was given to the mice of one group, which was taken as control. The average sleeping time of other groups, which received different doses of an inducing agent, was compared with that of control group on each test day and expressed as percentage. Shortening of the sleeping time was regarded as the expression of hepatic enzyme induction (Conney et al., Fouts), and the recovery course of the shortening was delineated in a graph.

Results

1. Selection of sex and age of mice

KC-400 in the dose of 100 mg/kg was given to the following four groups, each

consisting of 15 mice: (1) adult male (21–30 g in bodyweight), (2) young male (15–20 g), (3) adult female (21–30 g), and young female (15–20 g). Each group had corresponding control group receiving no medication.

A definite reduction of the sleeping time was induced by the drug only in female mice. Male mice did not respond to the drug at all in the dose used. Among females the younger group showed more sensitive reaction (Fig. 1).

From this result, young female mice with lighter bodyweight than 20 g were exclusively used in the subsequent experiments.

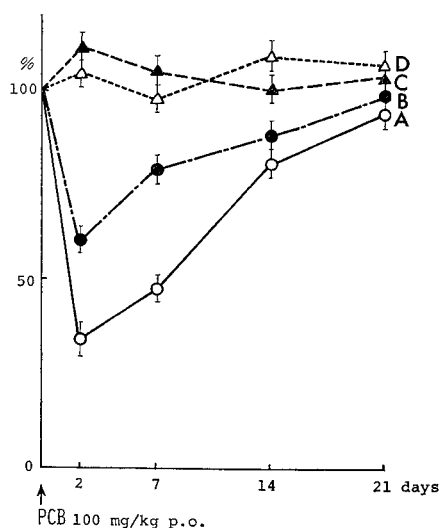


Fig. 1. Hexobarbital sleeping time after PCB ingestion in four different groups of mice

Ordinate: Sleeping time expressed as percentage of each corresponding control group (with standard error), abscissa: days after ingestion of 100 mg/kg PCB (KC-400).

A: young female, B: adult female, C: young male, D: adult male.

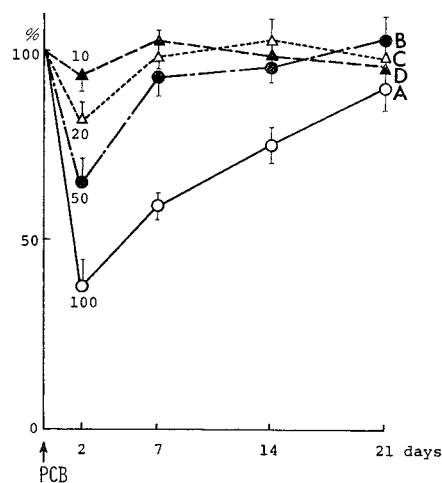


Fig. 2. Dose-dependent reduction of the sleeping time and its recovery course after PCB

A: 100 mg/kg, B: 50 mg/kg, C: 20 mg/kg, D: 10 mg/kg of KC-400.

Ordinate and abscissa, as in figure 1.

2. Dose-dependent response to inducing agents

Five different doses (0, 10, 20, 50 and 100 mg/kg) of KC-400 were given to five groups, each consisting of 10 mice. The reduction of sleeping time compared to the control group and its recovery course were shown in Fig. 2. These responses were completely dose-dependent and the shortened sleeping time after the largest dose (100 mg/kg) needed three weeks for recovery.

Four different doses (0, 50, 100 and 200 mg/kg) of phenobarbital, another known inducing agent, were applied to four groups of mice. The reduction of sleeping time was parallel to the dose applied as shown in Fig. 3. In spite of sharp fall of the sleeping time, a complete recovery was noted within one week in any dose used.

Four different doses (0, 1, 2 and 10 mg/kg) of aldrin (hexachloro-hexahydro-dimethanonaphthalene), an organochlorine insecticide, were given to four groups of mice. The effect of aldrin was extremely strong as shown in Fig. 4. Even with 1 mg/kg, obvious reduction of the sleeping time was remarked. After 10 mg/kg, five weeks were required for recovery. These responses were also perfectly dose-dependent.

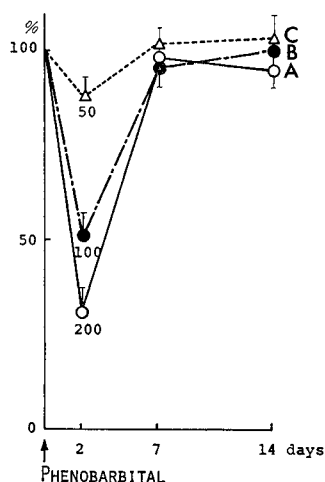


Fig. 3. Dose-dependent reduction of the sleeping time after phenobarbital

A: 200 mg/kg, B: 100 mg/kg, C: 50 mg/kg of phenobarbital.

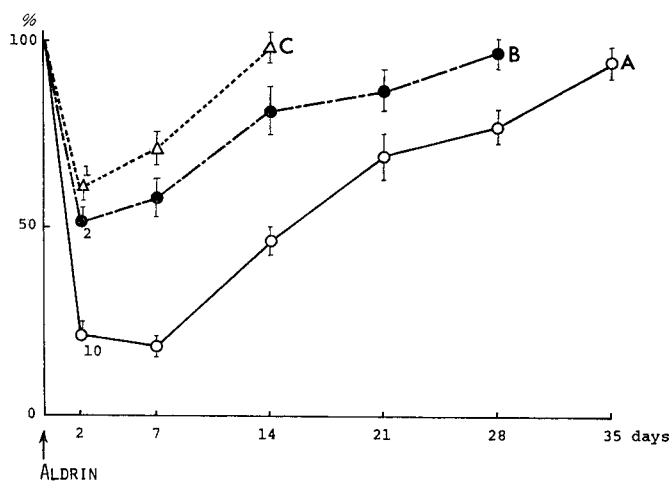


Fig. 4. Reduction of the sleeping time and its delayed recovery after aldrin

A: 10 mg/kg, B: 2 mg/kg, C: 1 mg/kg of aldrin. Ordinate and abscissa, as in figure 1.

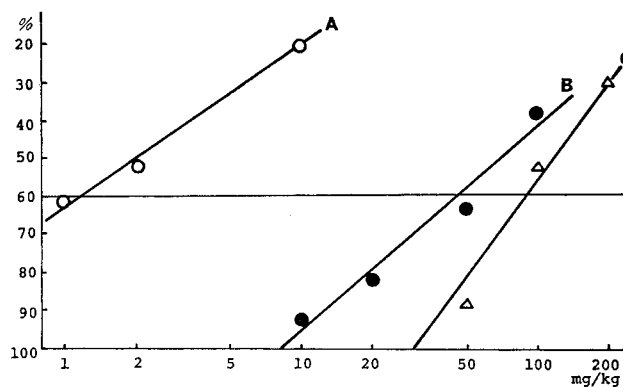


Fig. 5. Linear relationship between log-dose and sleeping time reduction

Ordinate: sleeping time expressed as percentage of control, abscissa: log-dose (mg/kg). RD 60 can be obtained from the cross point of the oblique line and the horizontal 60% line.

A: aldrin, B: PCB, C: phenobarbital.

3. Numerical expression of the intensity of induction

When log-doses and percentage reductions of the sleeping time were plotted on semilogarithmic chart paper, a linear relationship was obtained as to each drug tested (Fig. 5).

Since 0 percent of the sleeping time (100 percent reduction) was usually not brought about by enzyme induction, calculation of ED 50 appeared not adequate. Instead of ED 50, ED 40 or RD 60 (the dose to reduce the sleeping time to 60 percent of control) was adopted, because the maximal reduction of sleeping time was empirically known to

be 20 percent of control in many drugs tested.

RD 60s thus calculated were: aldrin 1.2 mg/kg, PCB (KC-400) 50 mg/kg, and phenobarbital 90 mg/kg.

Discussion

The duration of hexobarbital sleeping time is a good indicator of hepatic microsomal enzyme activity hydroxylizing hexobarbital (Fouts), which is regarded as one of the representative enzymes stimulated by inducing agents. When PCB was employed as inducing agent, the chemical data (Fujita et al., Litterst et al., Bente et al., Bruckner et al.) coincided well with the pharmacological results of our former (Komatsu & Tanaka, Tanaka & Komatsu) and present experiments, in which reduction of the sleeping time was parallel to the dose of PCB.

Though the sensitivity of mice to inducing agents has generally been considered inferior to that of rats (Hart & Fouts, Kato et al.), the present experiment clearly demonstrates that young female mice of CF#1 strain are satisfactorily sensitive and suitable for screening of inducing drugs.

The feature of this screening method is delineation of a recovery curve of sleeping time reduction. This graph demonstrates not only the intensity but also the duration of induction. Thus, phenobarbital is potent but short-acting inducer, whereas PCB and aldrin have prolonged inducing action. These long-acting organo-chlorine compounds are assumed to deposit in body fat and to be gradually released (Hart et al.). Accordingly, the retarded recovery curve of the sleeping time may indicate slow elimination of a drug from the body.

The numerical expression of the inducing activity is based upon the dose-dependent response of sleeping time reduction. The dose-dependent induction by PCB has also been chemically substantiated by Schmoldt et al. Breckenridge et al. recommended delineation of dose-response curve to demonstrate dose-dependent enzyme induction. RD 60 proposed in the present study is a trial to express the potency quantitatively.

Another utilization of this method is estimation of the absorption of a known inducing agent. Since the grade of induction represents the amount of drug in the liver, inhibition or facilitation of the absorption from the intestine of an inducing agent may be judged by the change of hexobarbital sleeping time. A search for preventing intestinal absorption of PCB is now proceeding in our laboratory with this method, and the result will be reported separately.

Summary

1. When PCB was given orally as a hepatic enzyme-inducing agent, the reduction of hexobarbital sleeping time was most sensitive in young female mice.
2. The reduction of hexobarbital sleeping time and its recovery course were parallel to the doses of PCB, phenobarbital, or aldrin. The potency and persistency of enzyme induction were evaluated by delineated recovery curve.
3. RD 60 (the dose of an inducing agent to reduce the sleeping time to 60 percent of control) was proposed for a numerical expression of the inducing activity.

References

- 1) Bente, H. F., Schmoldt, A. u. Schmidt, H.: Induktion mikrosomaler Leberenzyme nach einmaliger Gabe von PCB und anschliessender Stress-situation. Arch. Toxikol. 29: 97-106, 1972.
- 2) Breckenridge, A., Orme, M. E., Davies, L., Thorgeirsson, S. S. and Davies, D. S.: Dose-dependent enzyme induction. Clin. Pharmacol. Ther. 14: 514-520, 1973.

- 3) Bruckner, J. V., Khanna, K. L. and Cornish, H. H.: Biological responses of the rat to PCBs. *Toxic. appl. Pharmacol.* 24: 434-448, 1973.
- 4) Conney, A. H., Davison, C., Gastel, R. and Burns, J. J.: Adaptive increases in drug-metabolizing enzymes induced by phenobarbital and other drugs. *J. Pharmacol.* 130: 1-8, 1960.
- 5) Fouts, J. R.: Factors influencing the metabolism of drugs in liver microsomes. *New York Acad. Sci.* 104: 875-880, 1963.
- 6) Fouts, J. R.: The stimulation and inhibition of hepatic microsomal drug-metabolizing enzymes with special reference to effects of environmental contaminants. *Toxic. appl. Pharmacol.* 17: 804-809, 1970.
- 7) Fujii, K., Jaffe, H. and Epstein, S. S.: Factors influencing the hexobarbital sleeping time and zoxazolamine paralysis time in mice. *Toxic. appl. Pharmacol.* 13: 431-438, 1968.
- 8) Fujita, S., Tsuji, H., Kato, K., Saeki, S. and Tsukamoto, H.: Effect of PCBs on rat liver microsomes. *Fukuoka Acta Med.* 62: 30-34, 1971 (in Japanese).
- 9) Hart, L. G. and Fouts, J. R.: Effects of acute and chronic DDT administration on hepatic microsomal drug metabolism in the rat. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 114: 388-392, 1963.
- 10) Hart, L. G. and Fouts, J. R.: Further studies on the stimulation of hepatic microsomal drug metabolizing enzymes by DDT and its analogs. *Arch. exp. Path. Pharmacol.* 249: 486-500, 1965.
- 11) Hart, L. G., Shultice, R. W. and Fouts, J. R.: Stimulatory effects of chlordane on hepatic microsomal drug metabolism in the rat. *Toxic. appl. Pharmacol.* 5: 371-386, 1963.
- 12) Kato, R., Onoda, K. and Takanaka, A.: Species difference in drug metabolism by liver microsomes in alloxan diabetic or fasted animals. *Jap. J. Pharmacol.* 20: 546-553, 1970.
- 13) Kinoshita, F. K. and Kempf, C. K.: Quantitative measurement of hepatic microsomal enzyme induction after dietary intake of chlorinated hydrocarbon insecticides. *Toxic. appl. Pharmacol.* 17: 288, 1970.
- 14) Klinger, W., Gmyrek, D. u. Grübner, I.: Untersuchung verschiedener Stoffe und Stoffklassen auf Induktoreigenschaften. *Arch. int. Pharmacodyn.* 202: 270-280, 1973.
- 15) Komatsu, F. and Tanaka, K.: Shortening of hexobarbital sleeping time and change of serum triglyceride level in PCB-intoxicated rats. *Fukuoka Acta Med.* 62: 35-41, 1971 (in Japanese).
- 16) Litterst, C. L., Farber, T. M., Baker, A. M. and Van Loon, E. J.: Effect of PCB on hepatic microsomal enzymes in the rat. *Toxic. appl. Pharmacol.* 23: 112-122, 1972.
- 17) Robinson, J.: Persistent pesticides. *Ann. Rev. Pharmacol.* 10: 353-378, 1970.
- 18) Schmoldt, A., Fröling, R. and Benthe, H. F.: Dose dependent induction of microsomal liver enzymes of rats by PCBs. *Arch. Pharmacol.* 277 (Suppl.): 66, 1973.
- 19) Tanaka, K. and Komatsu, F.: Shortening of hexobarbital sleeping time after small doses of PCB in rats. *Fukuoka Acta Med.* 63: 360-366, 1972 (in Japanese).

(和文抄録)

PCB 型肝酵素誘導性薬物の簡単なスクリーニング法

九州大学医学部薬理学教室

荒 木 泰 典・田 中 潔

PCB が肝ミクロゾーム系薬物代謝酵素を著しく増加する作用(酵素誘導作用)をもつことは定説であり、かつこれが生体の PCB に対する最も鋭敏な反応であることもほぼ確実である。同様の誘導作用は DDT や BHC にもある。誘導現象の人体に対する影響については未知の点が多いが、少なくともどんな物質が誘導性をもつかを知ることは必要であろう。そ

れには複雑な化学的操作を要しないスクリーニング法の開発が望ましい。

1) ヘキソバルビタールナトリウムによるラットの麻酔が、PCB などの酵素誘導で著しく短縮することは知られていたが、同様のことをマウスで試験してみると、雄マウスでは麻酔短縮がおこらず、若い雌マウスが鋭敏に反応した。

2) PCB (カネクロール), フェノバルビタール, アルドリン等, 既知誘導性薬物の各種用量を用いて, 麻酔短縮の程度が完全に用量に比例することを確認した. また麻酔短縮回復曲線を描くことにより, 誘導性の持続 (すなわちその薬物の残留性) も知ることができた.

3) 誘導性の数量的表現としては, 対照に比べて麻酔が 60% に短縮する用量を, 半対数図表で求め, それを RD 60 とすることを提唱した.

4) 以上の結果から, PCB 型の 酵素誘導性をスク

リーニングする方法を次のように確立した. すなわち体重 15~20 g の雌マウス 10 匹を 1 群とし, 被検薬物の各種用量経口応用の数群と, 薬を与えない対照群を作り, 薬物応用後 2 日 (48 時間), 7 日, 14 日 (以後回復まで 1 週間ごと) に, ヘキシバルビタールナトリウム 100 mg/kg i. p. 応用して麻酔時間を計測, それをその日の対照群を 100 として%で表現, 麻酔短縮とその回復曲線を作る. 誘導性の強さは RD 60 で, 持続は回復までの日数によって表すことができる.

Inhibitory Effect of Cholestyramine on the Intestinal Absorption of PCB

Kiyoshi TANAKA and Yasunori ARAKI

*Department of Pharmacology, Faculty of Medicine,
Kyushu University, Fukuoka 812, Japan*

The pollution of fishes with PCB (polychlorinated biphenyls) is now proceeding in many areas of Japan. Detection of an effective method to protect human health from PCB pollution is eagerly awaited.

Cholestyramine (CSA), a basic anion exchange resin, is known to combine with bile acids in the intestinal tract and interfere with fat absorption (Harkins et al.) resulting in steatorrhea (Hashim et al.). Since PCB is oily substance not affected by digestive enzymes, emulsification by bile appears absolutely necessary for its absorption. From this idea, the possibility that CSA might prevent the intestinal absorption of PCB, was tested in experimental animals.

Methods

The degree of PCB absorption was indirectly measured by its hepatic enzyme inducing effect, which was considered most sensitive action of PCB in mammals (Komatsu and Tanaka, Tanaka and Komatsu). The screening method of enzyme inducing agents in mice, reported by us in a separate paper (Araki and Tanaka), was employed as the indicator of intestinal absorption of PCB. Briefly, several groups of young female mice, each consisting of 10 animals, were subjected to hexobarbital sleeping time test, in which 100 mg/kg of hexobarbital sodium was injected intraperitoneally. PCB (Kaneclor 400) in the dose of 100 mg/kg, emulsified with carboxymethylcellulose sodium (CMC), was given orally with a metal catheter, and the sleeping time was measured after 48 hours. This test was repeated on the 7th, 14th, 21st and 28th (if necessary) day after PCB administration.

The shortening of sleeping time compared to the control group, was regarded as the expression of enzyme inducing activity and as the indicator of absorbed amount of PCB.

Pure powder of cholestyramine*, suspended in water with CMC, or Questran* containing 75 percent cholestyramine, was given orally at different time before or after PCB ingestion.

Results

1. *Effects of different doses of cholestyramine given 30 minutes after PCB ingestion*

Sixty female mice were divided into six groups of 10 animals as follows: -(A) dosed with PCB (Kaneclor 400) only, (B) with PCB and 20 mg/kg of CSA, (C) with PCB and 50 mg/kg of CSA, (D) with PCB and 100 mg/kg of CSA, (E) with PCB and 500 mg/kg of CSA, and (F) control group without medication. The mice of A-E groups received 100 mg/kg of Kaneclor 400 orally and the mice of B-E groups received CSA 30 minutes after PCB ingestion.

* Cholestyramine was kindly presented by Dr. D. L. Schneider, Mead Johnson Research Center, and Questran was generously supplied by Japan Bristol Laboratories.

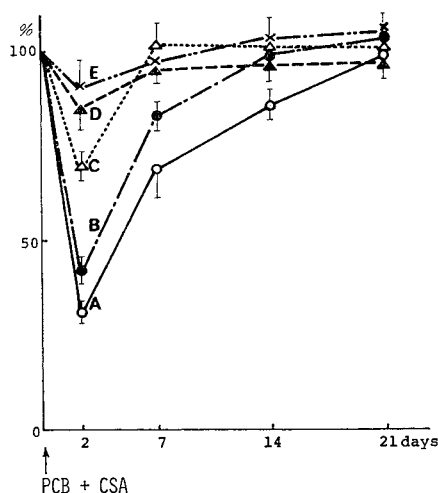


Fig. 1. Influences of varied doses of cholestyramine (CSA) given 30 min after PCB ingestion on hexobarbital sleeping time
Ordinate: sleeping time expressed as percentage of control, abscissa: days after PCB (100 mg/kg p.o.).

A: PCB only, B: PCB+20 mg/kg of CSA, C: PCB+50 mg/kg of CSA, D: PCB+100 mg/kg of CSA, E: PCB+500 mg/kg of CSA

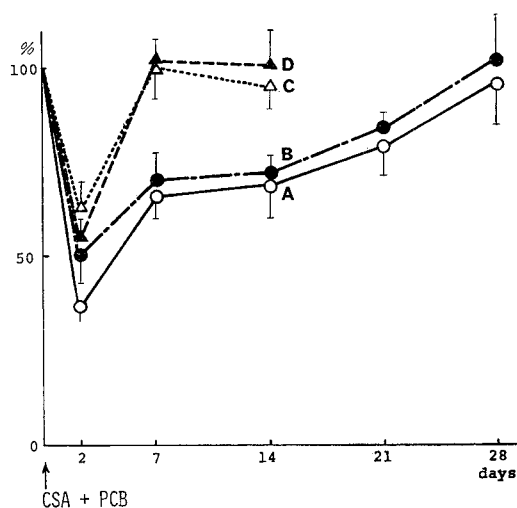


Fig. 2. Influences of a moderate dose of cholestyramine given at varied time before PCB on hexobarbital sleeping time

Ordinate: sleeping time expressed as percentage of control, abscissa: days after PCB (100 mg/kg p.o.)

A: PCB only, B: 200 mg/kg of CSA, 24h before PCB, C: same dose of CSA 3h before PCB, D: CSA 30 min before PCB

Each value of hexobarbital sleeping time in A-E groups was compared to the value of F group on each test day, and was expressed as percentage of control. Thus, five curves demonstrating the reduction of sleeping time due to PCB absorption and its recovery course were obtained.

As illustrated in Fig. 1., the reduction of sleeping time 48 hours after PCB ingestion was more or less alleviated by small doses of CSA, and almost perfect suppression of PCB action was yielded with 500 mg/kg of CSA. The recovery of reduced sleeping time was also facilitated by any dose of CSA, and only one week was sufficient to recover in the groups receiving higher doses than 50 mg/kg of CSA, whereas A group (PCB only) needed three weeks for recovery.

In other words, these responses to CSA were perfectly dose-dependent, indicating that CSA effectively inhibited the intestinal absorption of PCB.

2. Effects of cholestyramine given at different time before PCB ingestion

A moderate dose of CSA, 200 mg/kg, was administered at three different time before PCB ingestion. Fifty mice were divided into following five groups of 10 animals: (A) treated with PCB only, (B) with CSA and PCB given 24 hours after CSA, (C) with CSA and PCB after 3 hours, (D) with CSA and PCB after 30 minutes, and (E) control group without medication.

Four curves demonstrating the reduction of sleeping time and its recovery in A-D groups were shown in Fig. 2. The sleeping time 48 hours after PCB in C and D groups was significantly shorter than that of A group, and its recovery was perfect after one week, whereas the reduction and recovery course of B group differed not significantly from A group.

These results indicated that CSA administered within 3 hours before PCB

ingestion was more or less effective to prevent PCB absorption.

3. Effects of cholestyramine repeatedly given from two days after PCB ingestion

Three groups of mice were treated as follows: (A) with PCB only, (B) with PCB and from two days thereafter with 500 mg/kg/day of CSA for five days, and (C) control group with no medication.

The percentage of reduced sleeping time compared to control group in each test was illustrated in Fig. 3. The reduction in B group 48 hours after PCB (i. e. before CSA administration) perfectly coincided with that in A group. However, the recovery from the reduction after repeated CSA administration in B group was significantly faster than that in A group. This indicated that delayed CSA administration showed slight inhibitory effect on PCB action.

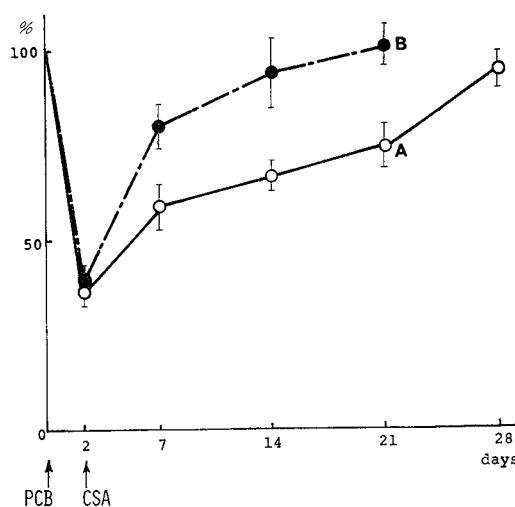


Fig. 3. Influence of repeated administrations of cholestyramine from 2 days after PCB on hexobarbital sleeping time

Ordinate: sleeping time expressed as percentage of control, abscissa: days after PCB (100 mg/kg p.o.)

A: PCB only, B: 500 mg/kg/day of CSA given from the 2nd to the 6th day after PCB

Discussion

Since CSA is not absorbed from gastrointestinal tract (Gallo and Sheffner) and therefore is considered not to affect hepatic enzymes, its inhibitory influence on the shortening of hexobarbital sleeping time after PCB is attributable not to the direct action on the liver but to its inhibitory effect on the intestinal absorption of PCB.

The mechanism of inhibition of PCB absorption is probably based on the bile acid sequestrant property of CSA, which results from its strong binding activity with acid substances and results in suppression of intestinal absorption of oily substances (Hashim et al.). CSA appears not to combine directly with PCB, because PCB is a chemically inert and neutral substance.

In the present study, absorption of PCB was most effectively inhibited by CSA when CSA was given 30 minutes after PCB. Premedication of CSA before PCB was also effective, provided the time lag between two drugs was shorter than three hours.

The quick recovery of reduced sleeping time after PCB combined with CSA, which was administered repeatedly from two days after PCB (Fig. 3), is partly explicable by the inhibitory effect of CSA on the absorption of remained PCB in the intestine. Another possibility is the inhibition of reabsorption of excreted PCB in the intestine, since the route of excretion of PCB is not urinary but almost exclusively fecal (Yoshimura et al.). Though reabsorption of PCB in the intestine is not evidenced experimentally, this might be a factor of delayed elimination of PCB from the body.

As will be reported elsewhere (Araki), the potency of CSA to protect PCB absorption is greater than another anion exchange resin, cellulose ion exchanger type DEAE, and far greater than charcoal, a nonspecific absorbent.

CSA has been used for the therapy of pruritus in jaundice (Datta, VanItallie) and

tried for lowering serum cholesterol (Blacket et al.). Detoxicating effects of CSA were reported in cases of sporidesmin intoxication in sheep (Peters and Mortimer) and endotoxin toxicity in rats (Nolan and Ali). The present investigation is the first experimental demonstration of the ability of CSA to prevent PCB absorption. This may illuminate a new category of medical uses of this drug.

Though the pollution with PCB is now global, it is particularly marked in Japan, because higher concentration of PCB than provisionally regulated level (3 ppm) is frequently detected in fishes captured around Japan. In order to protect human health from PCB pollution and also to avoid panic of Japanese people, effective prophylactic methods have been explored. CSA appears the most promising drug in this meaning. Nontoxicity of CSA, excepting malabsorption of fat-soluble vitamins (Longenecker), is also profitable for its clinical use.

The demonstration of clinical effectiveness of CSA to prevent PCB absorption, however, seems extremely difficult, because there has been no evidence that PCB pollution caused actual poisoning. Only possible method for this purpose will be repeated determination of PCB level in the blood or milk. A normal Japanese has 3 ppb of PCB in the blood and 0.03 ppm in the milk on the average. These levels of PCB are considered to come mainly from daily uptake of PCB in the food. Consequently, if the level of PCB in the blood or in the milk of a volunteer is significantly lowered by daily ingestion of CSA, the effectiveness of CSA will be substantiated.

Summary

The degree of PCB absorption was indirectly measured by its hepatic enzyme inducing activity indicated by reduction of hexobarbital sleeping time in young female mice. When cholestyramine was given orally 30 minutes after PCB ingestion, obvious inhibition of PCB absorption was manifested, and this inhibitory action was completely parallel to the doses of cholestyramine. When cholestyramine was given before PCB, the inhibition of PCB absorption was also noted, unless the time lag was not longer than three hours. Furthermore, repeated administration of cholestyramine was considered to inhibit reabsorption of PCB excreted in the intestine.

These experimental data suggest clinical usefulness of cholestyramine to protect human health from unaware and inevitable intake of PCB-polluted foods.

References

- 1) Araki, Y. and Tanaka, K.: A simple screening method of enzyme-inducing agents of PCB type. *Fukuoka Acta Med.* 65: 47-52, 1974.
- 2) Araki, Y.: Influence of charcoal and other drugs on the intestinal absorption of PCB. *Fukuoka Acta Med.* 65: 58-60, 1974 (in Japanese).
- 3) Blacket, R. B., Woodhill, J. and Brown, W. D.: The effect of cholestyramine on serum cholesterol in man. *Med. J. Australia* 2: 15-19, 1964.
- 4) Datta, D. V. and Sherlock, S.: Treatment of pruritus of obstructive jaundice with cholestyramine. *Brit. Med. J.* 1: 216-219, 1963.
- 5) Gallo, D. G. and Sheffner, A. L.: The disposition of orally administered cholestyramine-C¹⁴. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 120: 91-93, 1965.
- 6) Harkins, R. W., Hagerman, L. M. and Sarett, H. P.: Absorption of dietary fats by the rat in cholestyramine-induced steatorrhea. *J. Nutrit.* 87: 85-92, 1965.
- 7) Hashim, S. A., Bergen, S. S. and VanItallie, T. B.: Experimental steatorrhea induced in man by bile acid sequestrant. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 106: 173-175, 1961.
- 8) Komatsu, F. and Tanaka, K.: Shortening of hexobarbital sleeping time and change of serum triglyceride level in PCB-intoxicated rats. *Fukuoka Acta Med.* 62: 35-41, 1971 (in Japanese).

- 9) Longenecker, J. B. and Basu, S. G.: Effect of cholestyramine on absorption of amino acids and vitamin A in man. *Fed. Proc.* 24: 375, 1965.
- 10) Nolan, J. P. and Ali, M. V.: Effect of cholestyramine on endotoxin toxicity and absorption. *Digest. Dis.* 17: 161-166, 1972.
- 11) Peters, J. A. and Mortimer, P. H.: The effect of cholestyramine on sporidesmin intoxication in sheep. *New Zeal. J. agric. Res.* 9: 137-141, 1966.
- 12) Tanaka, K. and Komatsu, F.: Shortening of hexobarbital sleeping time after small doses of PCB in rats. *Fukuoka Acta Med.* 63: 360-366, 1972 (in Japanese).
- 13) VanItallie, T. B., Hashim, S. A., Crampton, R. S. and Tennent, D. M.: The treatment of pruritus and hypercholesteremia of primary biliary cirrhosis with cholestyramine. *New Eng. J. Med.* 265: 469-474, 1961.
- 14) Yoshimura, H., Yamamoto, H., Nagai, J. et al.: Studies on the tissue distribution and the urinary and fecal excretion of ^3H -PCB in rats. *Fukuoka Acta Med.* 62: 12-19, 1971 (in Japanese).

(和文抄録)

PCB の腸内吸収に対するコレステラミンの抑制作用

九州大学医学部薬理学教室

田 中 潔・荒 木 泰 典

現在日本各地で進行している魚の PCB 汚染に対して、汚染の根源を絶つ努力はもちろんされねばならないが、汚染食品を知らずに食べた場合の解毒法または吸収予防法の研究も必要であろう。

コレステラミンは陰イオン交換樹脂の一種で胆汁酸との結合力が強く、これを内服すると脂質の吸収を抑制することが知られている。PCB は消化酵素の作用を受けない油性物質で、これが腸から吸収されるためには胆汁の作用で微粒子になることが必要と思われる。こういうことからコレステラミンの PCB 吸収抑制作用を予想して実験を行つた。

若い雌マウスにおいて、PCB が吸収されるとヘキサバルビタールナトリウムの麻酔時間が短縮する原理により、肝酵素誘導性薬物のスクリーニング法(Araki & Tanaka)を応用して、PCB の吸収度を間接的に測定した。

一定量の PCB (カネクロール 400, 100 mg/kg) 経口応用 30 分後に、コレステラミン 20~500 mg/kg の各種用量を経口投与すると、PCB による麻酔短縮はコレステラミンの用量に比例して抑制され、500 mg/kg では PCB の作用がほとんど完全に出現しなかつた。

PCB の前にコレステラミンの中等量 200 mg/kg を

のませると、30 分前と 3 時間前の応用は PCB の作用を相当抑制したが、24 時間前の応用は無効であつた。

PCB 応用後 2 日たつてから、コレステラミンを毎日 500 mg/kg ずつ 5 日間与えると、7 日以後の麻酔短縮経過は、PCB 単独群に比べてやや速やかな回復を示した。

コレステラミンは消化管から全く吸収されない物質であるから、以上のように PCB の麻酔短縮作用を減弱することは、それが PCB の腸管吸収を抑制したためであることが、ほぼ確実である。コレステラミンは従来、胆汁酸の再吸収抑制作用が黄疸のかゆみ治療に、またコレステロール吸収抑制作用が脱コレステロール剤として応用されたが、今回の動物実験で、PCB, DDT, BHC など脂溶性汚染物質の吸収予防薬として有望なことが予想されるに至つた。

現在のところ PCB の自然界汚染で中毒が発生していないから、コレステラミンの有効性を臨床的に直接証明することは困難であるが、日本人の母乳に平均 0.03 ppm の PCB が発見される事実に基づき、継続的に母乳中の PCB を定量しながら、コレステラミン内服中だけ含有量が低くなることが証明できれば、吸収予防の有効性が裏付けられるであろう。

PCB の腸内吸収に対する活性炭その他の影響

九州大学医学部薬理学教室 (主任: 田中 潔教授)

荒 木 泰 典

Influences of Charcoal and Other Drugs on the Intestinal Absorption of PCB

Yasunori ARAKI

*Department of Pharmacology (Director: Prof. K. Tanaka),
Faculty of Medicine, Kyushu University, Fukuoka, Japan*

The degree of PCB absorption from the intestine was indirectly measured by its hepatic enzyme inducing activity indicated by reduction of hexobarbital sleeping time in young female mice.

Charcoal (500 mg/kg $\times$ 1 or $\times$ 2), anion exchange resin DEAE cellulose (100 mg/kg and 500 mg/kg), and melinamide (500 mg/kg) given orally 30 minutes after PCB ingestion, were more or less effective in inhibiting intestinal absorption of PCB. However, even DEAE 500 mg/kg, the most effective inhibitor among them, was inferior to cholestyramine of which potent inhibitory effect had been reported by us (Tanaka and Araki).

Cook & Wilson は、ウシの体内に蓄積した農薬 DDT の体外排泄を促進するために、活性炭を内服させてある程度の効果を収めた。彼らはその機転として、DDT が腸内に排泄されたあと再吸収されるのを活性炭が防ぐのであろうと考え、類似の農薬 dieldrin 内用で糞便中に出てくる量が、活性炭併用で著しく増加する事実をその根拠の一つに挙げている。もしそうなら PCB も DDT や dieldrin と性状が似ているから、活性炭で腸からの吸収が抑制されるかもしれないと考え、マウスで試験することにした。

PCB が腸から吸収されると直ちに肝に行き、酵素誘導をおこすので、hexobarbital 麻酔短縮作用を利用して、間接的に吸収の程度を推測することができる (Araki & Tanaka)。同じ方法を使って cholestyramine の PCB 吸収抑制効果が著しいことを別の論文で発表した (Tanaka & Araki), cholestyramine と同じ陰イオン交換樹脂である、カラムクロマトグラフ用試薬 diethylaminoethyl cellulose (DEAE) にも類似の作用がないかどうかテストしたいと思う。

また cholestyramine は胆汁酸と結合してその再吸収を抑制することにより、脱コレステロール薬としても働くが、コレステロールの腸内吸収を抑制することにより血中コレステロール低下作用を示す melina-

mide (Fukushima ら) も、この試験に加えることにした。

実験方法

体重 15~20 g の CF#1 系の雌マウスのみを使用し、Araki & Tanaka の法により、hexobarbital-Na 100 mg/kg i.p. 応用後の麻酔時間を測定した。PCB (Kaneclor 400) 100 mg/kg を 0.5% CMC で水性懸濁液とし、胃ゾンデで1回経口応用すると、2日後、7日後、14日後 (以後1週間ごと) の麻酔時間測定で、対照群 (CMC のみの無処置群) に比し著しい麻酔短縮と2~3週間後の回復を描く曲線が得られる (Araki)。この曲線に対して活性炭その他がいかに影響するかをみた。

活性炭 (日本薬局方: 薬用炭, 藤沢薬工), diethylaminoethyl cellulose (DEAE, Brown Co.) および melinamide (AC-223, 住友化学) の3者を吸収抑制の目的に使用した。melinamide は化学名 N-(α -methylbenzyl)-linoleamide で、リノール酸アミドの誘導体である。

これらの吸収抑制薬をいずれも 0.5% CMC で懸濁液とし、PCB 応用後 30 分して胃ゾンデで経口応用した。それにより PCB の麻酔短縮作用がどれくらい

阻止されるかによつて、吸収抑制効果を判断した。なお推計学的処理は、PCB 単独群と薬物併用群の平均

麻酔時間と標準誤差 (S. E.) から、 t 検定で $P < 0.05$ の場合を有意差ありとした。麻酔短縮の程度は毎回対照群に比較して判定するので、実験シリーズの異なるたびに、対照群、PCB 単独群、PCB + 薬物併用群の少なくとも 3 群 (1 群 10 匹のマウス) を要した。

実験成績

1. 活性炭 1 回投与の影響

PCB 経口応用後 30 分して活性炭 500 mg/kg を経口的に 1 回だけ与えると、2 日後の麻酔短縮は PCB 単独群に比してやや軽く、有意差があつた ($P < 0.01$)。7 日後も両群の差は有意で ($P < 0.05$)、回復曲線は活性炭群が PCB 単独群に比して常に上方にあつた (Fig. 1)。すなわち活性炭の 1 回投与でわずかながら PCB の吸収を抑制する傾向がうかがえた。

2. 活性炭 2 回投与の影響

PCB 経口応用して 10 分、30 分後に活性炭 500 mg/kg の 2 回経口投与を行つた。2 日後の麻酔短縮は活性炭によつて明らかに減弱し、PCB 群との間に $P < 0.001$ の有意差があつた。7 日後には、活性炭群は回復し、PCB 単独群の回復曲線に比べて明らかに回復期間の短縮をみた (Fig. 2)。

3. DEAE-cellulose と melinamide の影響

この実験では PCB 単独群が回復に 4 週間を要した

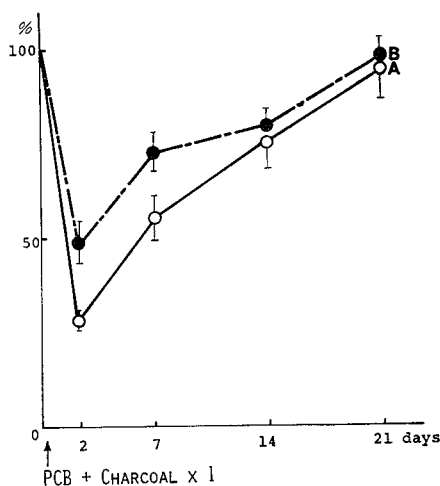


Fig. 1. Influence of activated charcoal given 30 minutes after PCB ingestion on hexobarbital sleeping time
Ordinate: Sleeping time expressed as percentage of control, abscissa: days after PCB and charcoal.
A: PCB (100 mg/kg) only, B: PCB + charcoal 500 mg/kg.

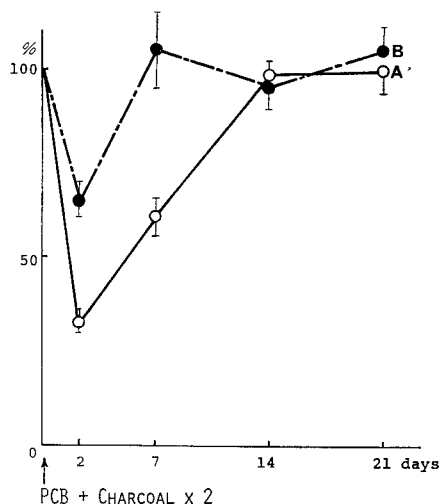


Fig. 2. Influence of charcoal given twice, 10 and 30 minutes after PCB ingestion on hexobarbital sleeping time
A: PCB (100 mg/kg) only, B: PCB + charcoal 500 mg/kg x 2

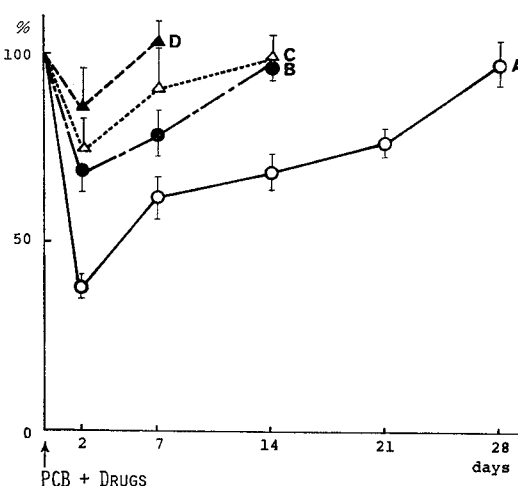


Fig. 3. Influences of DEAE and melinamide given 30 minutes after PCB ingestion on hexobarbital sleeping time
A: PCB (100 mg/kg) only, B: PCB + melinamide 500 mg/kg, C: PCB + DEAE 100 mg/kg, D: PCB + DEAE 500 mg/kg.

が (Fig. 3 A), melinamide 500 mg/kg を PCB の 30 分後に 1 回経口応用した群では、麻酔短縮がやや軽度で ($P < 0.05$), 回復も 2 週間を要しただけであった (Fig. 3 B).

DEAE 100 mg/kg の 1 回投与群では、2 日後の麻酔短縮は軽度で PCB 群との間には $P < 0.01$ と有意差があった。7 日後には、対照群との間に有意差がなくなりほぼ回復した (Fig. 3 C).

DEAE 500 mg/kg 応用群では、2 日後の麻酔短縮は著しく弱く、PCB 単独群との間に大差があるとともに、対照群との間の差は有意とはいえず、しかも 7 日後には完全に回復した (Fig. 3 D).

考 察

試験に供した 3 種の薬物は、いずれも PCB による麻酔短縮作用に多少とも抑制的影響を与えた。活性炭と DEAE は腸管から吸収されない物質であり、melinamide は 1/2 以下が吸収されるけれども、肝に影響はないと考えられるので、これら 3 薬の作用は PCB の吸収抑制にあるとみなされる。

活性炭がその普遍的吸着作用によつて PCB の吸収を妨げることは当然考えられるが、今回用いた 500 mg/kg 2 回応用という用量は、マウスに与え得る最大量であり、これをヒトに換算すると 50 g という大量になるので、臨床応用にふさわしくないといえる。しかもそのような最大量を用いても、吸収抑制の程度は充分とはいえない程度であつた。活性炭の体内 DDT 排泄促進効果をみた Cook らの実験があるけれども、ニワトリの卵の中の dieldrin を指標にした Mick の研究では、活性炭でも phenobarbital (酵素誘導による代謝促進をねらつて) でも、卵の中の dieldrin を減少させることはできなかった。

DEAE セルロースは陰イオン交換樹脂という点で cholestyramine と共通であり、実験結果も相当有効であつた。しかしその 500 mg/kg の作用曲線が cholestyramine 100 mg/kg 応用の場合に近く (Tanaka & Araki), 大ざっぱにいえば cholestyramine の約 1/5 の効力とみなされる。この場合の作用機転は、cholestyramine と同様に胆汁酸吸着により、PCB が吸収されにくくなるためであろう。しかし本品がカラム用試薬であつて、毒性などが調べられていないため、直ちに臨床的に試用することはできない。近年 DEAE-Sephadex を人体に應用して脱コレステロール作用があると報告されているが (Howard), その製剤ならば人体應用が可能であろう。

melinamide の影響は小さく、500 mg/kg を用いても、cholestyramine 50 mg/kg と同程度の抑制にすぎなかつた。本薬の作用機転は不明であるが、コレステロール吸収抑制の際、PCB のような脂溶性物質も何らかの機転で吸収が多少冒されるものであろう。

総 括

PCB の腸内吸収を抑制する目的で、活性炭、陰イオン交換樹脂の diethylaminoethyl cellulose (DEAE) およびコレステロール低下作用をもつ melinamide を、PCB 応用後 30 分に経口投与した。マウスの hexobarbital 麻酔短縮現象を利用して、PCB の吸収度を間接的に測定すると、活性炭 500 mg/kg 1 回または 2 回、DEAE 100 mg/kg および melinamide 500 mg/kg の 1 回投与は弱い抑制を示し、DEAE 500 mg/kg ではかなり強い抑制効果が認められた。しかし別に報告した cholestyramine の吸収抑制効果に及ぶものはなかつた。

文 献

- 1) Araki, Y. and Tanaka, K.: A simple screening method of enzyme-inducing agents of PCB type. *Fukuoka Acta Med.* 65: 47-52, 1974.
- 2) Cook, R. M. and Wilson, K. A.: Removal of pesticide residues from dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 54: 712-718, 1971.
- 3) Fukushima, H., Toki, K. and Nakatani, H.: The effect of N-(α -methylbenzyl)linoleamide on experimental atherosclerosis in rabbits. *J. Atheroscl. Res.* 9: 57-64, 1969.
- 4) Fukushima, H., Aono, S., Nakamura, Y., Endo, M. and Imai, T.: The effect of N-(α -methylbenzyl)linoleamide on cholesterol metabolism in rats. *J. Atheroscl. Res.* 10: 403-414, 1969.
- 5) Howard, A. N. and Hyams, D. E.: Combined use of clofibrate and cholestyramine or DEAE Sephadex in hypercholesterolaemia. *Brit. Med. J.* 3: 25-27, 1971.
- 6) Mick, D. L. and Long, K. R.: The effects of dietary dieldrin on residues in eggs and tissues of laying hens and the effects of phenobarbital and charcoal on these residues. *Bull. Envir. Cont. Toxic.* 9: 197-203, 1973.
- 7) Tanaka, K. and Araki, Y.: Inhibitory effect of cholestyramine on the intestinal absorption of PCB. *Fukuoka Acta Med.* 65: 53-57, 1974.

Chlorinated Dibenzofuran および Chlorinated Dibenzodioxin の酵素誘導作用

九州大学医学部薬理学教室 (主任: 田中 潔教授)

荒 木 泰 典

Comparison of Enzyme-inducing Activities of Chlorinated Dibenzofuran and Chlorinated Dibenzodioxin

Yasunori ARAKI

Department of Pharmacology (Director: Prof. K. Tanaka),
Faculty of Medicine, Kyushu University, Fukuoka, Japan

Chlorinated dibenzofuran (CDF, principally pentachloro-dibenzofuran) and chlorinated dibenzodioxin (CDD, principally 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin) were orally administered to female mice of CF#1 strain, and their hepatic enzyme-inducing activities were evaluated by our method, in which the reduction of hexobarbital sleeping time was used as the indicator.

CDF and particularly CDD were highly active in reducing the sleeping time and their effects were persistent. Judging from RD60 (the dose to reduce the sleeping time to 60 % level of control), CDF was 170 times and CDD 1250 times stronger than PCB (Kaneclor 400).

Chlorinated dibenzofuran (CDF) と, Chlorinated dibenzodioxin (CDD) とは, PCB 近縁化合物で (Fig. 1), PCB 製剤に不純物として含まれることがあるという (Vos). CDF と CDD の強力な毒性, ことに皮膚に塗布するとニキビ様発疹を生ずることは, PCB の毒性が問題になる以前から知られていたが (Bauer, Jones), その毒性の強さについては, CDF をウサギに 0.5~1 mg/kg p.o. 与えると重篤な肝障害をおこして死亡し, CDD は 0.05~0.1 mg/kg p.o. の微量で同様に致死的であるという Bauer の報告と, CDD について二, 三の報告 (Greig ら, Buu-Hoi ら) があるのみで, PCB との間のくわしい数量的比較がない。

今回 CDF と CDD の結晶の分譲を受けたので (この 2 化合物は第一薬科大学増田義人氏の合成による), 麻酔短縮作用を指標とする肝酵素誘導力で, これらの作用強度を PCB と比較することにした。

実験方法

1. 試料

用いた CDF と CDD はともに白色結晶であるが,

製作者の分析によると, CDF は 4 塩化物 3 異性体, 5 塩化物 6 異性体, 6 塩化物 2 異性体, 計 11 種の単一化合物の混合物であり, そのうち主要成分とみなされるのは pentachlorodibenzofuran である。また CDD は 3 塩化物 1 種, 4 塩化物 3 種, 5 塩化物 2 種の計 6 異性体より成るが, 主要成分は 2,3,7,8-tetrachloro-dibenzo-*p*-dioxin とみなされる。これらの代表的な異性体を, PCB の代表的なもの (Kaneclor 400 中の代表的異性体 2,4,3',4'-tetrachlorobiphenyl) とともに化学構造式で示すと Fig. 1 となる。ただしこの図の CDF の Cl の位置は確定されていない。

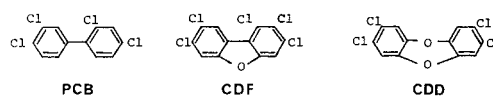


Fig. 1. Chemical structure of materials

PCB: tetrachlorobiphenyl

CDF: pentachlorodibenzofuran

CDD: tetrachlorodibenzodioxin

2. 麻酔時間測定法

Araki & Tanaka の肝酵素誘導薬スクリーニング法によつた。すなわち CF#1 系マウスの体重 15~20 g の雌のみを使用し、10 匹ずつケージに入れ、固型飼料で飼育、中毒処置としては、CDF, CDD の各用量を 0.5% carboxymethylcellulose (CMC) で、水性懸濁液とし、体重 10 g 当たり 0.1 ml になるようにして、金属ゾンデを用いて経口投与した。また対照群には 0.5% CMC のみを投与した。

hexobarbital-Na 100 mg/kg 腹腔内注射により、立上り反射の消失から同反射の自然回復までを麻酔時間とし、これを毎回の対照群と比較して百分率で表した。麻酔にかからない例は、実験成績より除外し、対照群と中毒処置群の平均値の t 検定により、 $P < 0.05$ 以下の場合を有意差ありと判定した。

実験成績

1. Chlorinated dibenzofuran による麻酔短縮

CDF 0.1 mg/kg, 1 mg/kg および 10 mg/kg の 3 用量につき、各 1 回経口応用して 48 時間後、その後は 1 週間ごとに麻酔時間を測定した結果を Fig. 2 に示す。

0.1 mg/kg 群では、2 日 (48 時間後) に麻酔時間は対照群の 70% に短縮したが ($P < 0.01$)、7 日後には 80% となつて対照群との間に有意差がなくなった。

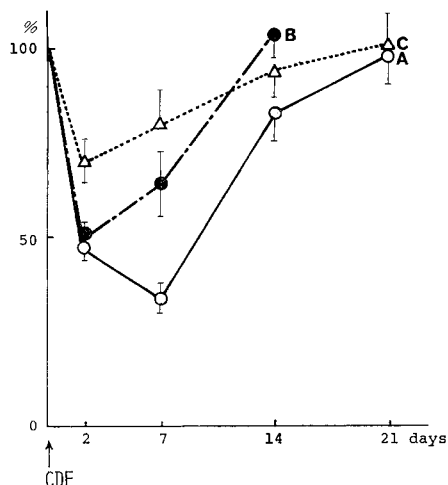


Fig. 2. Reduction of hexobarbital sleeping time after chlorinated dibenzofuran (CDF)

Ordinate: sleeping time expressed as percentage of control, abscissa: days after CDF

A: 10 mg/kg, B: 1 mg/kg, C: 0.1 mg/kg of CDF

1 mg/kg の投与では、2 日後の麻酔時間は 50% に短縮し ($P < 0.001$)、7 日後でも 64% とかなり持続し ($P < 0.01$)、14 日後に回復した。

10 mg/kg 投与では 2 日後に 48% ($P < 0.001$)、7 日後にはさらに 34% と下降した。すなわちこの場合の作用ピークは、2 日から 7 日の間にあることが推測される。14 日後には 83% となり (有意差なし)、21 日で完全に回復した。

Fig. 2 から作用ピークを 2 日後と 7 日後の間に線の延長交差点で求め、それから RD 60 (麻酔時間を対照の 60% にする量, Araki) を計算すると 0.3 mg/kg となつた。

2. Chlorinated dibenzodioxin による麻酔短縮

CDD 0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg および 1 mg/kg の 3 用量につき、各 1 回応用後の麻酔時間短縮の経過を Fig. 3 に示す。

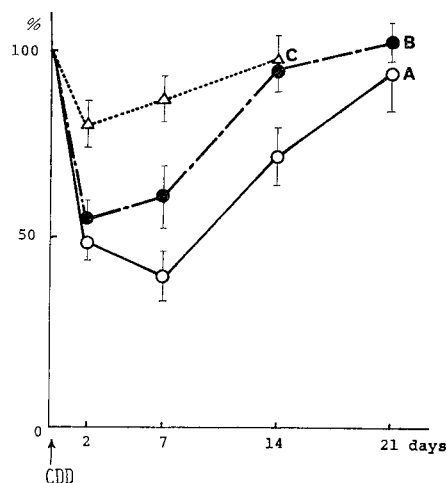


Fig. 3. Reduction of hexobarbital sleeping time after chlorinated dibenzo-*p*-dioxin (CDD)

A: 1 mg/kg, B: 0.1 mg/kg, C: 0.01 mg/kg of CDD

0.01 mg/kg 投与では、2 日後の測定で対照群の 80% とやや短縮し ($P < 0.05$)、7 日後 87% (有意差なし) と回復した。0.1 mg/kg では、2 日後に 55% とかなり短縮 ($P < 0.001$)、7 日後 61% と持続し ($P < 0.01$)、14 日後に 95% と回復した。

1 mg/kg 応用では、2 日後に 49% に短縮 ($P < 0.001$)、7 日後にはさらに下降して 40% ($P < 0.001$) となつた。すなわちこの用量では、作用のピークは 2 日と 7 日の間にあることが想定される。回復は 14 日

後でも 72% となお短縮が持続し ($P < 0.02$), 21 日後にやつと回復した。

CDF の場合と同様にピークを作図によつて求め、RD 60 を計算すると 0.04 mg/kg となつた。

考 察

Vos 一派は PCB の市販製剤 3 種を比較して、内服による毒性にも (Vos & Koeman), 皮膚に塗布したときの毒性にも (Vos & Beems), 相当な差があることをみた。すなわち同じ 6 塩化物を主成分とする PCB 製剤 (塩素含量 60%) で、Aroclor 1260 (アメリカ製), Clophen A 60 (ドイツ製), Phenoclor DP 6 (フランス製) の 3 者を比較すると、Aroclor のみが毒性が少なく、欧州産の 2 者は毒性が強いことを確かめ、その原因は欧州産 PCB 製剤に不純物として夾雑する CDF のためと判断した (Vos et al.)。

日本の油症の場合も不純物の影響が疑われたが、市販の Kaneclor 400 の中には CDF も CDD も検出されていない。すなわち Kaneclor は Aroclor と同程度の純粋性があるとみなされている。ただ熱媒体として使い古された Kaneclor 中に、CDF が酸化によつて自然に生ずる可能性は否定はできないのであつて (Nelson), ライスオイル中の PCB は未使用 Kaneclor より 2 倍くらい毒性が強いという判断 (池田) は、あるいは CDF が夾雑したためかもしれない。

しかしながら油症の皮膚症状が、CDF などの夾雑物がなければ発生しないわけではなく、PCB 自身でも生ずることは、純品結晶の tetrachlorobiphenyl を用いた動物実験で、市販 Kaneclor 400 と同程度の皮膚発疹をみた小松らの報告で明らかである。この点につき Vos & Notenboom-Ram も純品の 6 塩化物 (hexachlorobiphenyl) と、それを主成分とする Aroclor 1260 の各種作用を比較し、ほぼ同じ症状を呈することをみている。ただし彼らは Aroclor の方が皮膚発疹、浮腫、肝障害が強いとみて、なお CDF の夾雑による影響を疑っている。

CDD の毒性はきわめて大きく、致死量となるのはウサギで 0.1 mg/kg (Bauer), モルモット 0.01 mg/kg, ニワトリ 0.05 mg/kg, ラット 0.2 mg/kg (Greig ら) という微量である。その上催奇性も強く (Neubert), 肝障害をおこしやすいとされている (Buu-Hoi ら)。致死量を与えても死ぬのに何日もかかるが、それは排泄がおそくて肝に長く残留する

(Norback) ためのものである。CDD は肝の酵素系に著しい影響を及ぼし (Buu-Hoi ら), 0.2 mg/kg 経口 1 回応用でラットの肝酵素は一部誘導され、zoxazolamine 麻痺時間の短縮をおこすが、hexobarbital 麻酔時間はかえつて延長するという報告がある (Greig)。今回私の実験では hexobarbital 麻酔時間は、CDD の 0.01~1 mg/kg の範囲でいずれも短縮したので、酵素誘導がマウスではよくおこると考えられる。

CDF, CDD の毒性を PCB と比較した研究は少ないが、Bauer のウサギの致死例から概算して、CDF は PCB の約 500 倍、CDD は約 5000 倍という漠然とした数字が出されている。今回の実験で、酵素誘導の RD 60 (hexobarbital 麻酔時間を対照の 60% にする用量) は、CDF 0.3 mg/kg, CDD 0.04 mg/kg となり、これを PCB (Kaneclor 400) の 50 mg/kg (Araki & Tanaka) と比較すれば、PCB 1 に対して CDF 170 倍、CDD 1250 倍となる。酵素誘導作用は、PCB とその誘導体に対する最も鋭敏な生体反応とみなされるので (田中), 他の各種生理作用も、この程度の強度比をもつのではないかと思われる。

総 括

多塩化 dibenzofuran (主成分 5 塩化物) と多塩化 dibenzodioxin (主成分 4 塩化物) の結晶を用い、肝酵素誘導能力をマウスの hexobarbital 麻酔短縮現象を利用して検査した。両者とも強い誘導性をもち、PCB (主成分 4 塩化物) を 1 とすれば、dibenzofuran は 170 倍、dibenzodioxin は 1250 倍の値を示した。

文 献

- 1) Araki, Y. and Tanaka, K.: A simple screening method of enzyme-inducing agents of PCB type. Fukuoka Acta Med. 65: 47-52, 1974.
- 2) Bauer, H., Schulz, K. H. u. Spiegelberg, U.: Berufliche Vergiftungen bei der Herstellung von Chlorphenolverbindungen. Arch. Gewerbe-path. Gewerbehyg. 18: 538-555, 1961.
- 3) Buu-Hoi, N. P., Chanh, P. H., Sesqué, G., Azum-Gelade, M. C. and Saint-Ruf, G.: Enzymatic functions on targets of the toxicity of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. Naturwissenschaften 59: 173-174, 1972.
- 4) Greig, J. B.: Effect of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-1, 4-dioxin on drug metabolism in the rat. Biochem. Pharmacol. 21: 3196-3198,

1972.

5) Greig, J. B., Jones, G., Butler, W. H. and Barnes, J. M. : Toxic effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Food Cosm. Toxic.* 11: 585-595, 1973.

6) 池田良雄: PCB の毒性. *食品衛生誌* 13: 359-367, 1972.

7) Jones, E. L. and Krizek, H. : A technic for testing acnegenic potency in rabbits, applied to the potent acnegen, 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *J. invest. Dermat.* 39: 511-517, 1962.

8) 小松富美子, 菊池昌弘: 結晶 tetrachlorobiphenyl 塗布によるウサギ皮膚の変化. *福岡医誌* 63: 384-386, 1972.

9) Nelson, N. : PCBs—Environmental impact. *Environ. Res.* 5: 249-362, 1972.

10) Neubert, D. and Dillmann, I. : Embryotoxic effects in mice treated with 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharm.* 272: 243-264, 1972.

11) Norback, D. H. and Engblom, J. F. : Chlorinated dibenzo-p-dioxin distribution with

rat tissues and subfractions of the liver. *Feder. Proc.* 32: 236 Abs, 1973.

12) 田中 潔: PCB 中毒の病態生理. *日本臨床* 31: 2027-2032, 1973.

13) Vos, J. G. and Koeman, J. H. : Comparative toxicologic study with PCB in chickens with special reference to porphyria, edema formation, liver necrosis, and tissue residues. *Toxic. appl. Pharmacol.* 17: 656-668, 1970.

14) Vos, J. G., Koeman, J. H., Van der Maas, H. L., Ten Noever de Brauw, M. C. and de Vos, R. H. : Identification and toxicological evaluation of chlorinated dibenzofuran and chlorinated naphthalene in two commercial PCBs. *Food Cosm. Toxic.* 8: 625-633, 1970.

15) Vos, J. G. and Beems, R. B. : Dermal toxicity studies of technical PCB and fractions thereof in rabbits. *Toxic. appl. Pharmacol.* 19: 617-633, 1971.

16) Vos, J. G. and Notenboom-Ram, E. : Comparative toxicity study of 2,4,5,2',4',5'-hexachlorobiphenyl and a PCB mixture in rabbits. *Toxic. appl. Pharmacol.* 23: 563-578, 1972.

PCB と DDT, BHC との複合作用

— 酵素誘導現象における協力 —

九州大学医学部薬理学教室

荒 木 泰 典・田 中 潔

Potentialiation of Enzyme-inducing Activity of PCB by DDT or BHC

Yasunori ARAKI and Kiyoshi TANAKA

*Department of Pharmacology, Faculty of Medicine,
Kyushu University, Fukuoka, Japan*

Hepatic enzyme inducing activity in mice was evaluated by our method, in which the reduction of hexobarbital sleeping time was used as an indicator. The activities of DDT and β -BHC were approximately 1/8 of PCB (Kaneclor-400). When a small dose of DDT or BHC was combined with a very small dose of PCB (e.g. each 1/4 of minimal effective dose), the inducing activity was obviously potentiated.

PCB, DDT, BHC の3者は、現在世界的環境汚染物質として多くの動物体、食品中に発見される。これらはいずれも有機塩素化合物に属し、脂溶性で残留性が強いという共通の性質をもっている。そのため製造中止になってからも、なおしばらくは汚染が進行するといわれる (Woodwell, 磯野)。わが国でヒトの手術時採取した脂肪組織中には、これら化合物が 2~8 ppm 程度含まれ (西本)、正常母乳中にも 0.03~0.12 ppm 程度含まれている (日高, 西本)。食品の中では、シジミの分析でやはり3者が同じ程度証明され (日高)、外国でもほとんどあらゆる食品中にこれら3化合物が発見されている (Price)。

すなわち現実には、PCB, DDT, BHC の3者の複合汚染が進行しているのであつて、単独汚染はもはや存在しないといつてもよい。したがつて複合作用の研究が重要な課題となつてくる。

PCB に対する生体の反応として最も鋭敏なものは、肝の薬物代謝酵素誘導現象であり、それはマウスの麻酔短縮作用を指標として、数量的に評価することができる (Araki)。DDT にも酵素誘導作用があることは多くの学者が認めるところで (Robinson, Hart, Cranmer, Kinoshita)、BHC も同様の性質があるとされている (Kolmodin-Hedman)。そこでこれら共通の酵素誘導作用において、PCB と DDT、あるいは PCB と BHC の協力がみられるかどうかを試験

することにした。

実験方法

体重 15~20 g の CF 1 系雌マウス 10 匹を 1 群とし、DDT (dichlorodiphenyl trichloroethane)、 β -BHC (hexachlorocyclohexane) および PCB (カネクロール 400) の各単独と、PCB と DDT、PCB と BHC の混合物の各種用量を 1 回応用した。これらの薬物は水に不溶であるので、0.5% CMC で水性懸濁液を作り、金属ゾンデで体重 10 g 当り 0.1 ml になるように胃内に投与した。2 日後、1 週間後から毎週 1 回、hexobarbital-Na 100mg/kg を腹腔内に注射して、麻酔時間を測定し、毎回対照群の麻酔時間を 100 として、各群の麻酔時間を対照に対する百分率で現した。二つの群の麻酔時間の差については、平均麻酔時間と標準誤差 (S. E.) から t 検定で $p < 0.05$ の場合を有意差ありとした。

実験成績

1. DDT 単独による麻酔短縮

DDT は 100, 200, 350 mg/kg の3種用量を使用した。500 mg/kg では死亡例が多く実験困難であつた。2 日 (48 時間) 後の麻酔時間は、100 mg/kg で対照と有意差なく、200 mg/kg では短縮の傾向がみられ (有意差ではないが)、7 日後には回復した。350

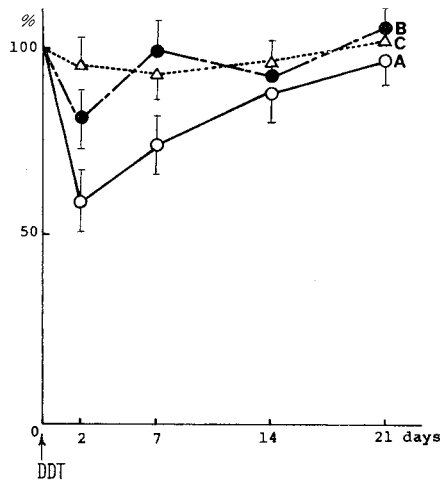


Fig. 1. Reduction of the hexobarbital sleeping time after DDT

Ordinate: Sleeping time expressed as percentage of control, abscissa: days after DDT ingestion.

A: 350 mg/kg, B: 200 mg/kg, C: 100 mg/kg of DDT

mg/kg 応用では、2日後に对照の59%に短縮し($p < 0.01$), 7日後も74%でなお低く、14日後には有意差なくなり、21日で完全に回復した(Fig. 1). Arakiに従い RD 60 (麻酔時間が对照の60%になる用量)を求めると、370 mg/kg となった。

2. BHC の単独による麻酔短縮

β -BHC は 50, 100, 200, 500 mg/kg の4種用量を応用した。2日後の麻酔時間は 50 mg/kg で对照と有意差なく、100 mg/kg では对照の77% ($p < 0.05$)に短縮し、7日後に回復した。200 mg/kg 応用では、2日後に对照の70% ($p < 0.01$)となり、7日後88% (有意差なし)、14日後完全に回復した。500 mg/kg の応用では、2日後对照の58% ($p < 0.001$)に短縮、7日、14日後も有意差をもつて短縮がつづき、21日後にやつと回復した(Fig. 2)。

Araki の RD 60 を計算すると 400 mg/kg という数値が得られた。

3. PCB と DDT の併用による麻酔短縮

同じ実験方法による PCB の麻酔短縮作用については、Araki が別の論文で発表したように、2日後の麻酔時間は对照に比べて 10 mg/kg で93% (有意差なし)、20 mg/kg で82%、50 mg/kg で65%、100 mg/kg で38%であった。すなわち最小有効量は 20 mg/kg である。DDT の最小有効量は上記の結果から 200 mg/kg とみなされる。そこで以下の実験には

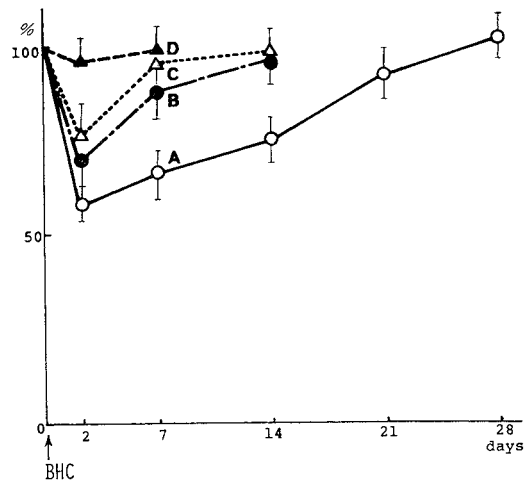


Fig. 2. Reduction of the sleeping time after β -BHC

A: 500 mg/kg, B: 200 mg/kg, C: 100 mg/kg, D: 50 mg/kg of BHC

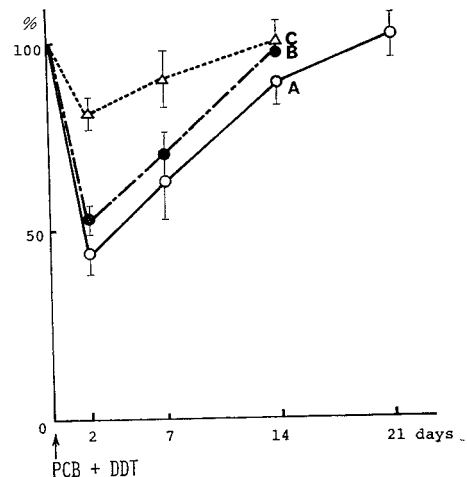


Fig. 3. Reduction of the sleeping time after PCB combined with DDT

A: PCB 20 mg/kg + DDT 200 mg/kg, B: PCB 10 mg/kg + DDT 100 mg/kg, C: PCB 5 mg/kg + DDT 50 mg/kg

両者の最小有効量の 1/1, 1/2, 1/4 ずつの用量を組合せて使用した。

両薬物の最小有効量同志の組合せ、すなわち PCB 20 mg/kg + DDT 200 mg/kg の同時応用では、2日後の麻酔時間は对照の44% ($p < 0.01$)で、これは PCB 50 mg/kg, DDT 350 mg/kg のいずれの単独応用よりも強い短縮であった。7日後も63% ($p < 0.05$)でなお短縮が持続し、14日後89%で有意差なくなり、21日後完全に回復した(Fig. 3A)。

最小有効量の 1/2 ずつの組合せ, すなわち PCB 10 mg/kg+DDT 100 mg/kg の応用では, 2 日後の麻酔時間は 53 % ($p<0.01$), 7 日後 70 % ($p<0.01$) と著しい短縮を示し, 14 日後回復した (Fig. 3B).

最小有効量の 1/4 ずつの組合せ, すなわち PCB 5 mg/kg+DDT 50 mg/kg を同時に応用すると, 2 日後の麻酔時間は 81 % ($p<0.05$) に短縮し, 7 日後 90 % (有意差なし), 14 日後完全回復した (Fig. 3C).

4. PCB と BHC との併用による麻酔短縮

β -BHC の最小有効量は 100 mg/kg とみなされるので, 両者の最小有効量の 1/2, 1/4, 1/8 ずつの組合せで実験を行った.

両者の最小有効量の 1/2 の組合せ, すなわち PCB 10 mg/kg+BHC 50 mg/kg の同時応用では, 2 日後の麻酔時間は 53 % ($p<0.001$), 7 日後 65 %, 14 日後 85 % と有意差がつづき 21 日後に回復した (Fig. 4A). この経過は PCB 100 mg/kg 応用時に近い曲線であった.

最小有効量の 1/4 ずつの組合せ, すなわち PCB 5 mg/kg+BHC 25 mg/kg の併用では, 2 日後の麻酔時間は対象の 65 % ($p<0.01$) となり, 7 日後 70 % ($p<0.05$) とつづき, 14 日後 92 % (有意差なし) と回復した (Fig. 4B). これは PCB 50 mg/kg 単独の作用と匹敵するものであり, BHC 200 mg/kg 単独よりも強い作用であった.

最小有効量の 1/8 の組合せ, すなわち PCB 2.5

mg/kg+BHC 12.5 mg/kg 同時に応用すると, 2 日後麻酔時間は対照の 72 % ($p<0.05$) と短縮し, 7 日後 85 % (有意差なし) と回復した (Fig. 4C). すなわち両者の非常な微量の併用でも明らかな麻酔短縮がおこった.

考 察

今回の実験で, PCB と DDT あるいは PCB と BHC の各単独無作用量を組合せた併用では, 明瞭な麻酔短縮効果を示し, 単独の 2 倍量を用いたときよりはるかに強い作用が現れた. すなわちこれら二つの組合せは麻酔短縮作用において相乗効果を示したといえる.

DDT と他の塩素系殺虫剤の併用で, 肝酵素活性を調べた Street らの研究によると, 多くの場合作用は相加的で, ことに無作用量同志の組合せで, はつきり作用があることがある点は, 現在の農薬汚染が複合的である実状から注意を要するといっている. また二つの誘導性薬物 heptachlor と phenobarbital の各種用量組合せによる酵素活性の変化をみた Krampf らの実験によると, 相加的協力がみられる場合とみられない場合があるという. その実験には単独でも充分誘導効果の出る用量を用いているので, 併用して上限にぶつかる場合は協力がみられないといっている.

殺虫薬の組合せで急性毒性 (LD 50) をみた実験では, DDT その他各種有機塩素剤の併用は, 原則として相加作用であつて, まれに相乗効果を示す組合せもあるという (Keplinger). 一方有機塩素化合物の酵素誘導現象が, 他の薬物の代謝を促進する結果, 併用によつて毒性が下るといふ現象もある. 例えば DDT の前処置で parathion の毒性は下り (Bass), dieldrin と併用すると DDT の死亡率が下るといふ (Mayer).

以上のように殺虫薬の併用は一般に作用が相加するという説が多く, ことに小量の場合はその傾向が強い. ところがわれわれはもう一つの環境汚染物質 PCB が存在すると, DDT, BHC の酵素誘導性は, 相加よりも相乗に近い協力を示すことをみた. 現在, 人体に入り得る誘導性物質としては, これら 3 者以外にも, 工業用, 農業用, 医用として日常使われる多数の有機ハロゲン化合物がある (荒木, 学会発表). それらが単に相加作用を発揮するとしても, 単独では非常な微量からそれに参加する可能性が考えられる. もし多くの物質が併用で相乗作用を現すならば, 現在の PCB その他の汚染濃度はすでに無作用量を越えてい

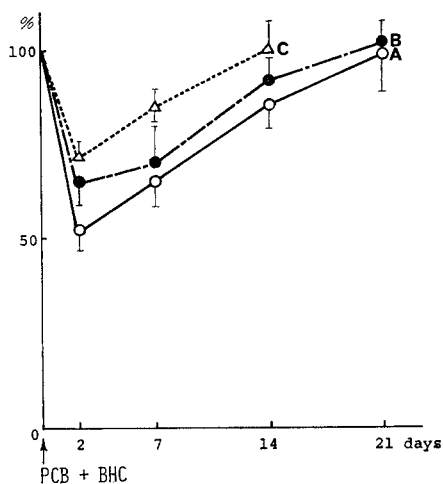


Fig. 4. Reduction of the sleeping time after PCB combined with β -BHC

- A: PCB 10 mg/kg+BHC 50 mg/kg,
B: PCB 5 mg/kg+BHC 25 mg/kg,
C: PCB 2.5 mg/kg+BHC 12.5 mg/kg

るかもしれない。このような複合汚染による作用の増強は、常に念頭に置かねばならないと考える。

総 括

マウスの hexobarbital 麻酔短縮作用を指標として、肝の酵素誘導力を比較すると、DDT, β -BHC は PCB (カネクロール 400) の約 1/8 の強度を持つ。DDT または BHC の微量を PCB の微量と併用すると、それらの複合作用として麻酔短縮は著しく強化され、明らかに協力作用が認められた。

文 献

- 1) Araki, Y. and Tanaka, K. : A simple screening method of enzyme-inducing agents of PCB type. 福岡医誌 65: 47-52, 1974.
- 2) Bass, S. W., Triolo, A. J. and Coon, J. M. : Effect of DDT on the toxicity and metabolism of parathion in mice. Toxic. appl. Pharmacol. 22: 684-693, 1972.
- 3) Cranmer, M., Peoples, A. and Chadwick, R. : Biochemical effects of repeated administration of DDT on the squirrel monkey. Toxic. appl. Pharmacol. 21: 98-101, 1972.
- 4) Hart, L. G. and Fouts, J. R. : Effects of acute and chronic DDT administration on hepatic microsomal drug metabolism in the rat. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 114: 388-392, 1963.
- 5) 日高公雄, 大江武, 藤原邦達 : 母乳中 PCB および有機塩素系農薬. 医学のあゆみ 82: 519-520, 1972.
- 6) 日高公雄, 大江武, 藤原邦達 : シジミの PCB および有機塩素系農薬汚染. 食品衛生誌 13: 523-530, 1972.
- 7) 磯野直秀 : PCB による汚染 (Ⅲ). 科学 42: 447-456, 1972.
- 8) Keplinger, M. L. and Deichmann, W. B. : Acute toxicity of combinations of pesticides. Toxic. appl. Pharmacol. 10: 586-595, 1967.
- 9) Kinoshita, F. K., Frawley, J. P. and DuBois, K. P. : Quantitative measurement of induction of hepatic microsomal enzymes by various diet levels of DDT and toxaphene in rats. Toxic. appl. Pharmacol. 9: 505-513, 1966.
- 10) Kolmodin-Hedman, B., Alexanderson, B. and Sjöqvist, F. : Effect of exposure to Lindane on drug metabolism: Decreased hexobarbital sleeping time and increased antipyrine disappearance rate in rats. Toxic. appl. Pharmacol. 20: 299-307, 1971.
- 11) Krampl, V., Vargova, M. and Vldar, M. : Induction of hepatic microsomal enzymes after administration of a combination of heptachlor and phenobarbital. Bull. Env. Cont. Toxic. 9: 156-162, 1973.
- 12) Mayer, F. L., Street, J. C. and Neuhold, J. M. : DDT intoxication in rainbow trout as affected by dieldrin. Toxic. appl. Pharmacol. 22: 347-354, 1972.
- 13) 西本孝男, 上田雅彦, 田植栄, 近沢紘史, 西内巖, 近藤慶二 : 人体脂中有機塩素農薬, PCB の蓄積. 医学のあゆみ 82: 515-516, 1972.
- 14) 西本孝男, 上田雅彦, 田植栄, 近沢紘史 : 母乳中有機塩素農薬と PCB. 医学のあゆみ 82: 574-575, 1972.
- 15) Price, N. O., Young, R. W. and Dickinson, J. K. : Pesticide residues and PCB levels in diets, urine and fecal matter of preadolescent girls. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 139: 1280-1283, 1972.
- 16) Robinson, J. : Persistent pesticides. Ann. Rev. Pharmacol. 10: 353-378, 1970.
- 17) Street, J. C., Mayer, F. L. and Wagstaff, D. J. : Ecological significance of pesticide interactions. Indust. Med. 38: 409-414, 1969.
- 18) Woodwell, G. M., Craig, P. P. and Johnson, H. A. : DDT in the biosphere: Where does it go? Science 174: 1101-1107, 1971.

PCB の脳波および電撃けいれんに及ぼす影響

九州大学医学部薬理学教室 (主任: 田中 潔教授)

福田 健夫・森 順子
荒木 泰典

Effects of PCB on the EEG of Rats and on the Maximal Electroshock Seizure in Mice

Takeo FUKUDA, Junko MORI
and Yasunori ARAKI

*Department of Pharmacology, Faculty of Medicine,
Kyushu University, Fukuoka, Japan*

In order to confirm whether PCB has any action on the central nervous system or not, the following experiments were performed.

1. EEG experiment

Electrical activities of the sensorimotor cortex, the basal nucleus of amygdaloid complex and the dorsal hippocampus were recorded in unanesthetized immobilized rats. Autocorrelation analysis of the electrical activities was carried out with a computer in order to distinguish the periodic components from the random components. Rats were divided in two groups: control and pretreated with PCB (Kaneclor 400) 0.3 g/kg p.o. for 6 days. Autocorrelograms of cortical, amygdaloid and hippocampal activities of PCB pretreated rats were almost same to those of control rats. Even after pentetrazol 5 mg/kg i.v. or hexobarbital 5 mg/kg i.v. the correlograms of PCB pretreated rats behaved samely as those of control rats.

2. Maximal electroshock experiment

Seventy female mice of CF#1 strain were divided in 7 groups: control, pretreated with PCB (Kaneclor 400) 0.1 g/kg p.o. or 0.3 g/kg p.o. 6, 24 or 48 hours before the shock. Duration of each component of the seizure of PCB pretreated groups was almost identical to that of control mice.

Judging from the present and our former results, it was concluded that PCB manifests no distinct effect on the central nervous system of rats and mice.

PCB を実験動物に急性投与すると、脳内に一定量が分布する (吉村, Curley). 油症患者剖検例でも脳内に微量ながら証明された (菊池). しかし油症の症状の中に、はつきり脳が冒されたと思われるものはなく、脳波異常も証明されていない (永松). われわれの動物実験でも、大量でみられる誘発電位の変化は末梢神経への影響とみなされ (福田), 脳セロトニン量にも変化がない (古賀). ということから PCB は脳に直接悪影響を与えることはないと思われ、なお念を入れてそれを確かめる必要を感じ、今回はラットの脳波への影響と、マウスの電撃けいれんへの影響を検することにした.

実験方法

1. 脳波実験

実験動物として、体重 170~230 g の Wistar 系雌ラットを用い、正常対照群 (6 匹), カネクロール (KC-400) 投与群 (5 匹) について実験を行った. カネクロール群では、KC-400 0.3 g/kg を 0.5% CMC に懸濁し、実験の前日まで 1 日 1 回、6 日間連続経口投与した.

ラットは decamethonium 不動化、無麻酔の状態 で頭部を固定装置に固定し、ステンレス製双極電極を、一側の大脳皮質表面 (bregma の後方 2 mm, 正

中より側方 3 mm), 背側海馬 (inter-aural line より前方 3.7 mm, 正中より側方 2.5 mm, 皮質表面より深さ 2.6 mm), および 扁桃核中の基底核 (inter-aural line より前方 5.5 mm, 正中より側方 4 mm, 皮質表面より深さ 8 mm) に挿入固定した.

これらの部位の電気的変化をポリグラフ (三栄測器・142 型) で観察するとともに, データレコーダー (TEAC・R 70) に記録した. 自発脳波および pentetrazol (PTZ) 5 mg/kg または hexobarbital (HB) 5 mg/kg の静脈内投与による変化が, 正常群と KC 群で差があるかどうかは, 実験終了後, レコーダーに記録したデータを実時間相関計 (TEAC・C 110) に入れ, 波形の自己相関に差があるかどうかで確かめた. 脳波の自己相関検査は, 波形に規則性があるかどうかを検するには最も有用な方法で, もし一定の周波数の波が多く出現すれば, その周波数およびその整数倍のところに相関のピークが出現する.

2. 電撃けいれん実験

体重 25~30 g の CF 1 系雌マウスを用いて最大電撃けいれんに対する KC-400 1 回投与の影響を観察した. マウスは 1 群 10 匹とし, 対照群, KC-400 0.1 g/kg 投与後 6 時間群, 24 時間群, 48 時間群, KC-400 0.3 g/kg 投与後 6 時間群, 24 時間群, 48 時間群の合計 7 群とした. KC-400 は 0.5% CMC に懸濁し, 投与量が体重 10 g 当り 0.1 ml になるよう調整して, 金属ゾンデを用いて経口的に投与した. 対照群では 0.5% CMC のみを投与した.

最大電撃は Woodbury and Davenport の電撃装置を用い, 角膜電極を通じて 50 mA, 0.2 秒の通電を行った. 電撃による強直性屈曲けいれん (TF), 強直性伸展けいれん (TE), 間代性けいれん (CL) および昏睡 (CO) について経過時間を観察し, 対照群と KC 投与各群との間に差があるかどうかを検討した. マウスは初めて電撃をうけると TE によつて窒息死するものが多いので, あらかじめ 1 回の電撃を経験したものをを用いた.

実験結果

1. 脳波実験

(1) 大脳皮質脳波の変化

薬物投与前の大脳皮質脳波は, 正常群でも KC 群でも, 低振幅の不規則な速波を中心とする波が多く, 自己相関図には特定の所見がなかった. PTZ 5 mg/kg 投与によつても両群とも自己相関図に著明な変化はなかった.

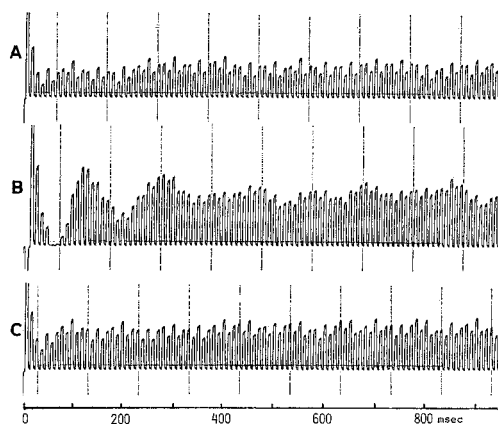


Fig. 1. Auto-correlograms based on cortical EEG of a normal rat

A: Control, no obvious auto-correlation, B: 3 min after intravenous injection of hexobarbital (HB) 5 mg/kg, peaks on 120~150 msec and 250~300 msec indicating an increase of 6~8 c/s waves in cortical EEG after HB, C: 15 min after HB injection, recovery to the control.

HB 5 mg/kg の静注後, 両群ともに 6~8 c/s の大振幅徐波が出現し, 相関図では正常群の 6 例中 5 例に, 120~150 msec および 250~300 msec の所に相関のピークが現れた (Fig. 1). KC 群でも同様に 5 例中 4 例において上記相関のピークが出現し, 両群の間に差は認められない. HB によるこのような変化は, 正常群では 5 例中 3 例が 15 分以内に消失し, 残り 2 例も 30 分で大体もともどつたが, KC 群では 4 例全部が 15 分以内に回復した.

(2) 扁桃核脳波の変化

扁桃核基底核の脳波は振幅の小さい速波に, 比較的振幅の大きい徐波が混入し, 例によつてはこれに振幅の小さい棘波が散発的に認められたが, 相関図でみると, 正常群の 3 例および KC 群の 2 例に, 200~300 msec の所に相関のピークがあった.

PTZ 投与後, 正常群では投与前にピークのあつた 3 例中の 2 例と, ピークのなかつた 3 例中の 2 例が, 200~300 msec の所にピークを示し, 30 分後にもその効果は残っていた. KC 群では, PTZ 投与前にピークのあつた 2 例において, PTZ 後も一層著明なピークの存在が認められたが, 他の例ではピークが現れて来なかった.

HB の投与によつて, 正常群では 3 例においてピークが消失したが, 15 分後までには全例回復した. KC 群では, 2 例中 1 例が HB によつてピークの消失を

きたしたが, 15分後には回復した。

(3) 背側海馬脳波の変化

背側海馬の脳波は正常, KCの両群とも, 大振幅の3~5 c/sの波が優位であつたが, これを反映して正常群では6例中4例, KC群では5例全部が, 相関図で200~300 msecの所にピークを示した。

PTZの投与によつて, この3~5 c/sの波はますます著明となり, ピークのなかつた正常群の2例にも同様にピークが出現し, 両群を通じて200~300 msec帯域の自己相関は一層著明となつた (Fig. 2, 3-A, B). このPTZの効果は正常では3例, KC群では2例に30分後にも認められた。

HBの投与によつて, 投与前にピークのあつた正常

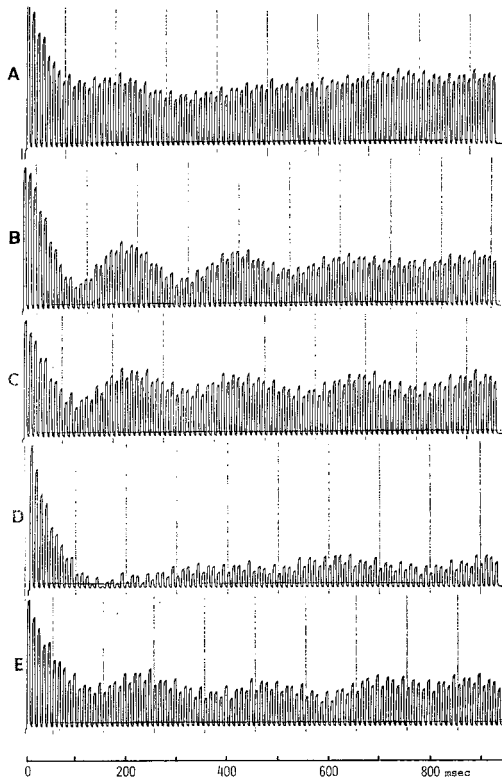


Fig. 2. Auto-correlograms based on hippocampal EEG of a normal rat

A: Control, a peak of the correlogram on ca. 200 msec, B: 3 min after intravenous injection of pentetrazol (PTZ) 5 mg/kg, obvious peaks on ca. 200 msec and 400 msec, C: 15 min after PTZ injection, D: 3 min after injection of HB 5 mg/kg (about 30 min after injection of PTZ), disappearance of the peaks, E: 30 min after HB injection, reappearance of the peaks.

群4例, KC群5例の全例において, 3~5 c/s波の減弱または消失が認められ, 相関図のピークもこれにつれて減弱または消失した (Fig. 2, 3-C, D). このHBの効果は正常群, KC群とも各1例を除き, 投与15分後には回復した. 正常群のPTZによつて海馬3~5 c/s波が出現した2例では, HBによつてPTZの作用はみごとに拮抗されたがその持続は15分以内であつた。

2. 電撃けいれん実験

最大電撃によつておこるけいれん各期および昏睡の持続時間については表1に示す通り, 正常群のTF, TEおよびCLは平均1.0, 13.6, 7.1 secであるのに対し, KC投与各群でも大体同様に, 平均値の範囲はTF 1.0~1.3 sec, TE 13.2~14.3 sec, CL 6.0~8.3 secであり, 標準誤差からのt検定でいずれも対照群との間に有意差がなかつた. (なおTFは測

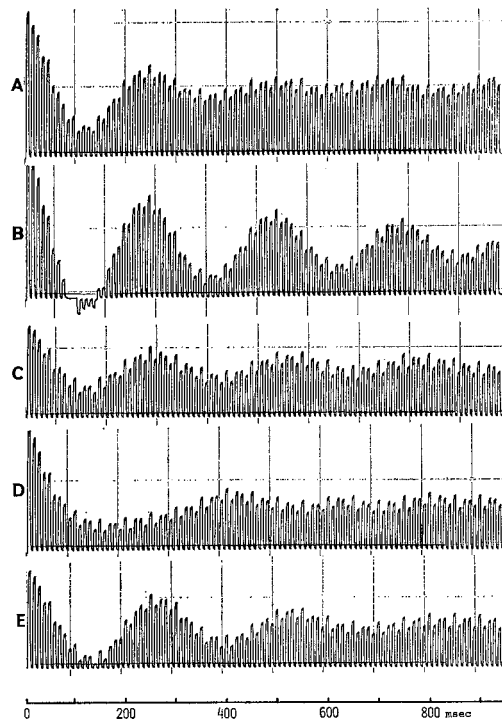


Fig. 3. Auto-correlograms based on hippocampal EEG of a PCB pretreated rat (KC-400 0.3 g/kg x 6 p.o.)

A: Control, B: 3 min after intravenous injection of PTZ 5 mg/kg, evident peaks of the correlogram, C: 15 min after PTZ injection, D: 3 min after intravenous injection of HB 5 mg/kg (about 30 min after injection of PTZ), flattening of the peaks, E: 30 min after HB injection.

Table 1. Average duration (sec) of each component of maximal electroshock seizure

Group	Time after injection	No. of animals	Tonic flexion	Tonic extension	Clonic	Postictal coma
Control	—	10	1.0	13.6±0.3	7.1±0.6	69.4±2.6
KC-400 0.1 g/kg	6 h	10	1.1	14.3±0.6	8.3±1.0	89.0±4.5
	24 h	10	1.3	13.3±0.5	6.0±0.5	73.5±7.0
	48 h	10	1.1	13.3±0.5	6.2±0.9	78.5±7.3
KC-400 0.3 g/kg	6 h	10	1.1	13.5±0.7	7.1±0.8	87.0±6.2
	24 h	10	1.0	13.2±0.3	6.4±0.6	83.5±4.3
	48 h	10	1.1	13.3±0.5	6.7±0.7	84.0±4.5

定誤差が1秒あるので平均値の標準誤差は算出しなかつた。) けいれん後の昏睡については正常群の平均が69.4 secであるのに対し、KC各群では73.5~89.0 secの範囲にあり、延長する傾向がうかがえたが、対照群との間に有意差($p<0.05$)があるのは、0.1 g/kg投与後6時間群のみであつた。

考 察

1. 脳波の自己相関による分析

脳波分析法の一つとしての相関分析は、相当以前からBrazierら(1952)によつて試みられていたが、電子計算機の普及によつて最近多くの報告がみられるようになった(Møller, Meyerson, 阪本ら)。相関分析法に関するくわしい理論は他書にゆずるが(阪本ら, 中浜ら,), 自己相関分析の主な目的は、不規則な波形の中に埋れた周期成分を抽出することで、この方法を用いれば微弱な周期的変化でも検出することができる。しかしこの方法を薬物の作用分析に応用した報告はまだないので、我々はpentetrazol (PTZ) と hexobarbital (HB) という脳波上著明な変化をおこす薬物を選んで使用してみた。

今回の実験では、KCによつて脳波上に変化がおけるとすれば周波数の低い波についてであろうと予想し、低い周波数を中心に分析を行つた。結果としては正常群とKC群との間に差はなかつたが、両群とも皮質脳波ではHBによる周期的徐波が、背側海馬ではPTZによるいわゆるhippocampal arousalが出現したために、自己相関図で相関のピークが現れた。扁桃核では海馬における変化と同様のものが観察されたが、これは位置的に近い腹側海馬の変化が混入し、これを相関計が敏感に捕えたものと考えられる。

2. PCBの中樞作用

今回の実験に用いたPCBは、ラットでKC-400 0.3 g/kg 6日間(計1.8 g/kg)という大量である

が、それでも脳波の分析結果に明瞭な影響を与えなかつた。HBによる変化がPCB群で速かに回復したのは、酵素誘導による分解促進の結果とみなされ、中枢作用とは関係がない。

マウスには0.3 g/kg 1回応用したが、これもマウスには充分量で、それでも電撃けいれん自身には全く影響がなかつた。ただ電撃後の昏睡の延長がKC 0.1 g/kg投与後6時間群で有意に認められたが、それより大量の0.3 g/kg投与群では有意差がなかつた。けいれん後の昏睡は全身状態の影響を受けやすく、データのばらつきも大きいので、これは中枢作用の表現というよりも、大量PCBによる全身異和不調の結果とみなされる。

PCBと化学的に近いDDTでは、脳波の変化もおこるし(Woolley & Barron, Joy), 電撃けいれんにもTF延長、TE短縮、coma短縮の影響があるという(Woolley)。DDTに中枢作用があることは古くから知られ、振戦、けいれん発現などをみし、BHCでも頸動脈内注射でけいれんをおこす(Omer)。このことから、同じ有機塩素化合物であるPCBにも中枢作用があるにちがいないという素人考えがあるが、DDTやBHCに似た塩素系殺虫剤chlordaneには中枢作用がないという報告(Hrdina)からもわかるように、決して画一的なものではない。

緒言でも述べたように、今までの研究でPCBに中枢作用があることを証明する結果は何も出ていないが、今回の実験も陰性の成績であつたので、PCBの通常量では中枢作用の存在をほぼ否定してよいのではないかと思われる。いずれにしてもPCBの急性中毒(油症)あるいは慢性摂取(汚染食品)で、中枢作用がほとんどないということ是不幸中の幸いというべきで、この点が水銀に比べて大きな救いである。

総 括

PCB によつて中枢障害がおこるかどうかを確かめるため, ラット脳波およびマウスの最大電撃に対するカネクロール (KC) の影響を観察した。

脳波実験では正常群と KC-400 0.3 g/kg 6日間連続経口投与群とについて, 大脳皮質, 扁桃核 (基底核) および 背側海馬の脳波を自発脳波, pentetrazol (PTZ) 5 mg/kg 静注後および hexobarbital (HB) 5 mg/kg 静注後について自己相関分析法を用いて観察した。皮質脳波は HB 投与によつて 120~150 msec の所に相関のピークが現れ, 海馬の脳波は相関図で 200~300 msec の所にピークがあり, それが PTZ によつて著明となつたが, これらの現象は KC 投与群と対照群の間に全く差がなかった。

マウスの最大電撃実験では, 正常群と KC 0.1 g/kg または 0.3 g/kg 経口投与後それぞれ 6時間群, 24時間群および 48時間群について, けいれん各期の持続時間を測定したが, KC 各群と正常群との間に有意差はなかった。しかし, けいれん後の昏睡の持続時間は KC 0.1 g/kg 投与後 6時間群では有意に延長した。

以上の結果を前報の実験結果と合せて考察し, PCB の普通量では中枢作用はほとんど無視できると結論した。

文 献

- 1) Brazier, M. A. B. and Casby, J. U.: Crosscorrelation and autocorrelation studies of electroencephalographic potentials. *EEG clin. Neur.* 4: 201-211, 1952.
- 2) Curley, A., Burse, V. W., Grim, M. E., Jennings, R. W. and Linder, R. E.: PCB; distribution and storage in body fluids and tissues of Sherman rats. *Envir. Res.* 4: 481-495, 1971.
- 3) 福田健夫: 坐骨神経刺激による大脳皮質誘発電位に及ぼす PCB の影響. 福岡医誌 63: 378-381,

1972.

- 4) Hrdina, P. D., Singhal, R. L., Peters, D. A. V. and Ling, G. M.: Comparison of the chronic effects of pp'-DDT and α -chlordane on brain amines. *Europ. J. Pharmacol.* 20: 114-117, 1972.

- 5) Joy, R. M.: Electrical correlates of pre-convulsive and convulsive doses of chlorinated hydrocarbon insecticides in the CNS. *Neuropharmacology* 12: 63-76, 1973.

- 6) 菊池昌弘, 御健信治, 橋本美智雄, 小嶋亨: いわゆる油症患者の2剖検例. 福岡医誌 62: 89-103, 1971.

- 7) 古賀利枝: PCB 投与ラットの脳内セロトニン量. 福岡医誌 63: 382-383, 1972.

- 8) Meyerson, B. A.: Ontogeny of inter-hemispheric functions. An electrophysiological study in pre-and postnatal sheep. *Acta Physiol. Scand., Suppl.* 312: 1-108, 1968.

- 9) Møller, A. R.: The use of correlation analysis in processing neuroelectric data. *Prog. Brain Res.* 33: 87-99, 1970.

- 10) 永松啓爾, 黒岩義五郎: 油症患者における神経学的所見, その脳波について. 福岡医誌 62: 157-158, 1971.

- 11) 中浜博, 山本光輝, 石井直宏: 神経生理学と電子計算機. 神経研究の進歩 13: 467-486, 1969.

- 12) Omer, V. S.: Investigations into mechanisms responsible for seizures induced by chlorinated hydrocarbon insecticides. *J. Neurochem.* 18: 365-374, 1971.

- 13) 阪本捷房, 池田研二: 生体現象における相関関数の測定. 医用電子と生体工学 4: 393-407, 1966.

- 14) Woolley, D. E. and Barron, B. A.: Effects of DDT on brain electrical activity in awake, unrestrained rats. *Toxic. appl. Pharmacol.* 12: 440-454, 1968.

- 15) Woolley, D. E.: Effects of DDT and of drug-DDT interactions on electroshock seizures in the rat. *Toxic. appl. Pharmacol.* 16: 521-532, 1970.

- 16) 吉村英敏ほか10人: ^3H -カネクロールのラットにおける体内分布および排泄について. 福岡医誌 62: 12-19, 1971.

PCB 汚染油を摂取した母親から生れた 児についての疫学的調査

九州大学医学部公衆衛生学教室（主任：倉恒匡徳教授）

吉 村 健 清

Epidemiological Study on Yusho Babies Born to Mothers Who Had Consumed Oil Contaminated by PCB

Takesumi YOSHIMURA

*Department of Public Health, Faculty of Medicine,
Kyushu University, Fukuoka, Japan*

The study was performed on babies who were born from January 1967 to April 1972, in all 108 families affected by Yusho in Tamanoura-cho, Nagasaki-ken, in order to find Yusho babies born to mothers who had consumed oil contaminated by PCB. In this population, 27 babies were born and checked. However 5 babies were not available for study, due to subsequent migration and other reasons. Therefore 22 babies were investigated and were divided into the 3 groups mentioned below.

Two out of the 7 babies fed mainly by mother's milk contaminated by PCB were diagnosed as Yusho. They are called "trans-milk Yusho babies". We may safely say that one of the two can be called "trans-milk Yusho baby" without having to resort to a chemical analysis of the mother's milk after considering the time period of the mother's consumption of contaminated oil, the time period of the baby's feeding by mother's milk and the time of the baby's ablactation. But the other one could not be considered for sure to be a "trans-milk Yusho baby", because the baby may have been fed not only with mother's milk but also with food contaminated by PCB. The other 5 cases were not diagnosed as Yusho.

Among 4 mothers who had taken oil contaminated by PCB during their pregnancies, 2 babies were diagnosed as being Yusho at birth. So we can call them "trans-placental Yusho babies". Two other cases have not been diagnosed yet by the doctors.

Finally one out of 11 babies whose mother had taken oil contaminated by PCB prior to conception, was diagnosed as Yusho. Of the other 10 cases, all except three had dark gray skin or pigmentation of the gingiva at birth. But they have not been diagnosed yet.

From the above observations, we could suggest that human milk excreted by mothers who had taken contaminated oil may contain a high enough PCB dosage to be able to affect the baby. And as in the case of a trans-placental Yusho baby born to a mother who had consumed contaminated oil during pregnancy, a mother who had conceived even after the period in which she had consumed contaminated oil, gave birth to a (probably trans-placental) Yusho baby.

Considering from the view-point of excretory passage way, compared to other females, mothers have extra excretory passage ways, namely one is the mammary gland, and the other one is the placenta.

We should follow these patients in order to take care of them and to clarify what their late effects are.

はじめに

PCB の環境汚染が問題にされている中で、大阪府衛研から、注目すべき発表があつた。すなわち、一般の婦人の母乳に含まれる PCB を測定したところ、0.1~0.7 ppm、平均 0.27 ppm という高濃度であつたという¹⁾。それでは、この母乳を飲んだ乳児に、油症の症状がおこつてはいないだろうか。この不安は、油症の研究にたずさわつたわれわれのみならず、世の婦人、ことに授乳中の婦人にとって、非常に大きなものであつた。幸いにして、これら乳児に油症の症状がみられたという報告はない。

一方、油症に関しては、妊娠中に汚染油を母親が摂取し、PCB が胎盤を通して胎児に移行し、生下時にすでに PCB 中毒児として出産するいわゆる“黒い赤ちゃん”、“新生児油症”、または“chlorobiphenyls 胎児症”とよばれる油症児が報告されている²⁾³⁾⁴⁾。しかし、生下時に異常を認めず、その後汚染された母乳のみを飲用して、中毒をおこした例は報告されていない。

著者は、もし PCB が高濃度含まれる母乳により、油症の症状をおこしうるものならば、まさに高濃度の PCB を摂取した油症患者の集団の中に必ず生後汚染された母親の母乳を飲み、発症した児（経母乳油症児と呼ぶことにする）がみつかるはずであるという予測のもとに、本調査を行つた。

さらに、母親が PCB 汚染油を摂取し終つた後で妊娠した場合、その子供にどのような所見がみられるであろうか。もし、新生児油症（経母乳油症児と区別するため経胎盤油症児と呼ぶ）と同様の結果が観察されるとすれば、この問題は、PCB が胎盤を通してどの程度の期間子供に影響を及ぼすのか、また胎盤および胎児が母体の PCB の排泄経路としてもつ意味等、非常に重要な課題を含んでいると思われる。

調査方法

経母乳油症児は、つぎの条件を満足している母子の群の中で、乳児が油症という診断を受けていなければならぬ。

- ① 妊娠中、母親は汚染油を摂取していないこと。
- ② 授乳期間中に、母親が汚染油を摂取していること。
- ③ 乳児は、一定期間母乳のみで育てられていること、すなわち、母親が汚染油を摂取している期間は、母乳のみを飲用していること。

油症事件は、昭和 43 年 2 月の事件であるので、今となつては、過去の資料を調査するか、直接母親へ訪問調査をするかしかない。

幸い、長崎県衛生部の御好意により、長崎県五島地区の患者家族台帳を閲覧する機会を得たので、この資料をもとに調査を行つた。

(1) 調査対象：長崎県五島玉の浦町の油症患者家族 108 世帯から、昭和 42 年 1 月より昭和 47 年 4 月までに生まれた子供とその母親。

(2) 調査時期：昭和 47 年 5 月

(3) 調査項目：

a) 母親について：出産時年齢、油症重症度、汚染油摂取量、摂取時期および期間（長崎県油症患者家族台帳による）

b) 出生児について

- ① 性、出生年月日、在胎週数、生下時体重、油症重症度（長崎県油症患者家族台帳および玉の浦町母子センター記録による）
- ② 生下時所見（医師、助産婦の記録および面接調査結果）
- ③ 授乳方法（母親への面接調査結果）
- ④ 児の現在の所見（母親および児への面接調査による）

調査結果

玉の浦町の油症患者家族 108 世帯から、昭和 42 年 1 月以後昭和 47 年 4 月までに出生した児は 27 例であつた。このうち、2 例はそれぞれ昭和 42 年 2 月および、同年 3 月の出生であり、経口摂取による油症罹患の可能性があると考えられるので解析から除外した。また、汚染油を地区住民が摂取した時期に、母親が町外に出て入院し、汚染油の摂取がほぼないと考えられる母親から生まれた 1 例も除いた。さらに調査当時、すでに転出した家族から生まれた 2 例も、調査ができないため、同様に解析から除外した。

したがって、残り 22 例について、以下検討を加えた。

1. 経母乳油症児となる可能性のある小児

上に述べた 22 例について、児の出生年月日、母親の汚染油摂取時期および、母乳を与えた時期、離乳時期を各例について検討し、出生時点までは母親が汚染油を摂取しておらず、母乳投与時期に、母親が汚染油を摂取した例を抜きだすと表 1 および図 1 に示すように 7 組の母子が見出された。

母親は未受診の 1 例 (M-6) を除き、全例油症の

表 1. 経母乳油症児となる可能性のある小児

(長崎県 玉の浦町)

母 親 の 所 見					児 の 所 見							
母症例 番 号	出産時 年 齢	皮膚 ¹⁾ 重症度	汚染油 摂取量 (μ)	汚染油摂取期間 (昭和43年 月 旬—月 旬)	児症例 番 号	性	出生年月日	在胎 週数	生下時 体 重 (g)	哺育方法	離乳期の母 乳授乳期間 (生後月数)	皮膚 ¹⁾ 重症度
M-1	30	中等症	0.4	3・中—4・中	TM-1	男	42. 9. 10	38	3,950	母 乳	10 —18	異常なし
M-2	27	軽 症	2.0	2・下—5・下	TM-2	女	42. 12. 28	39	3,000	混合乳	6 — 8	異常なし
M-3	41	中等症	1.5	2・下—6・下	TM-3	女	42. 11. 18	40	3,500	母 乳	7,8 —24	軽 症 ³⁾
M-4	42	軽 症	2.0	3・上—6・上	TM-4	男	42. 9. 20	40	3,600	?	?	—
M-5	33	中等症	1.5	3・上—6・下	TM-5	女	42. 7. 30	41	3,450	母 乳	6 —12	軽 症
M-6	39	—	0.5	3・上—4・上	TM-6	女	43. 3. 3	38	2,700	混合乳 ²⁾	5,6 —12	—
M-7	29	中等症	1.0	3・上—6・中	TM-7	女	43. 1. 19	40	2,700	混合乳 ²⁾	なし	—

注: 1) 長崎県油症検診の結果, 一は受診記録がないもの. 2) 母乳は生後2—3か月間夕方だけ授乳された. 3) 発症は出生後3—4か月頃と記載されている. 油症の診断は昭和44年7月に受けている.

各症例の調査時所見は次の通りである. なお, かつこ内にその所見の出所を示した.

TM-1: 眼球結膜色素沈着 (土) (著者), TM-2: 特に症状に気づかず (母親), TM-3: 交通事故にて3才10か月で死亡, TM-4: 不在のため調査不能, TM-5: 顔面皮疹, 足爪黒変, 全身皮膚浅黒い (著者), TM-6: 外見上特記すべき所見なし (著者), 風邪ひきやすい (母親), TM-7: 外見上特記すべき所見なし (著者).

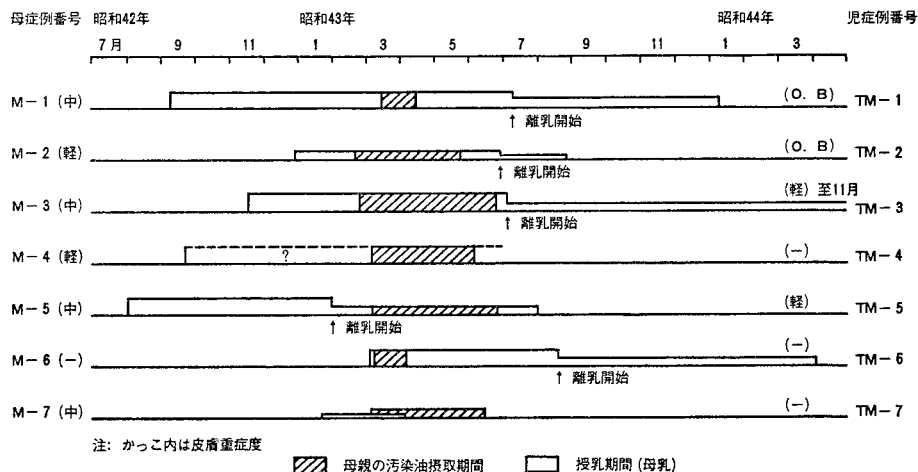


図 1. 母親の汚染油摂取時期と児の母乳授乳時期

図中, 母親の汚染油摂取期間および授乳期間 (母乳) の高さは, 乳児の母乳への依存度を示す. (詳細は表1参照)

認定を受けている. この M-6 の母親は受診をしていないが, 汚染油を摂取しているため, PCB が母乳に移行している可能性は十分考えられる.

これらの母親から授乳を受けた子供7例についてみると, TM-4 の1例の哺育方法が, 母親に面接できなかったため, 不明であるが, 残り6例中2例が油症と診断されていた.

(1) 症例 TM-3

この症例の母親 (M-3) が汚染油を摂取した時期は, この子供 (TM-3) が母乳のみを飲んでいて期間

内であるので, この症例の PCB の体内への侵入経路としては, 母乳以外に考えられない. そして, 油症と診断されていることは, とりもなおさず, この症例は, 母乳によつて油症をひきおこしたと考えるのが妥当であろう. 発症の時期は生後3—4か月頃と県の記録にある. 油症と診断されたのは昭和44年7月であった.

(2) 症例 TM-5

この症例は, 母乳で育てられているが, 母親が汚染油を摂取した時期には, すでに離乳期に入っていた.

表 2. 妊娠中に汚染油を摂取した母親から生まれた児

(長崎県 玉の浦町)

母 親 の 所 見					児 の 所 見						
母症例 番 号	出 産 時 年 齢	皮膚 ¹⁾ 重症度	汚 染 油 ¹⁾ 摂 取 量 (g)	汚 染 油 摂 取 期 間 (昭和43年 月 旬—月 旬)	児症例 番 号	性	出生年月日	在胎 週 数	生 下 時 体 重 (g)	生 下 時 所 見	皮膚 ¹⁾ 重症度
M- 8	32	中等症	1.6	3・上—6・下	TP-1	男	43. 6. 3	40	3,500	額が黒い ²⁾	—
M- 9	40	中等症	1.2	2・下—4・下	TP-2	女	43. 6. 30	36	2,550	黒い ²⁾	中等症
M-10	30	中等症	1.5	2・中—6・中	TP-3	女	43. 9. 10	?	3,100	少し黒い・爪の変形 ²⁾	軽 症
M-11	37	—	0.5	2・下—3・下	TP-4	女	43. 6. 5	40	2,600 ⁴⁾	黒くない ³⁾	—

注：1) 長崎県油症検診の結果、一は受診記録のないもの、2) 助産婦との面接調査結果によるもの、

3) 母親の訴えによるもの、4) SFD: small for-date infant (船川昭和43年発表の在胎週別出生時発育基準で $-3/2$ SD 以下のもの.)

各症例の調査時所見は次の通りである。なお、かつこ内にその所見の出所を示した。

TP-1: 風邪ひきやすい、長崎大小児科で油症といわれる(母親)、TP-2: 歯ぐき黒い、顔面皮
 疹あり(母親)、TP-3: 生後4か月で肺炎のため入院、ゼーゼーいうために4—5回受診して
 いる(母親)、爪の黒変および変形(著者)、TP-4: 爪の変形(著者)。

この時期には、母乳の影響が大きいとは考えられるが、汚染油を使用して調理した食品による影響も否定できない。したがって、この症例については、PCBにより汚染された母乳のみによつて発症したとは断言できない。

(3) 他の症例

TM-1 および TM-2 の症例は発症の可能性はあると考えられるが、油症班の検診結果では油症と診断されていない。また、現在のところ、母親から特に訴えられた症状はなかった。

症例 TM-6 では、母親の汚染油摂取量が少なく、PCB が母乳を通して児に入る量は、他に比して多いとは考えられないが、母乳だけを飲んでいただけという時期に母親が汚染油を摂取している点から、可能性は否定できない。しかし、この症例が、風邪をひきやすいという母親の訴え以外、外見上、油症の徴候を見い出すことができなかった。

TM-7 の症例は、混合乳で哺育され、しかも母乳は生後2—3か月の夕方だけしか飲ませていないため、発症しても、母乳だけによるものとは考え難いし、また、事実とくに所見は見出されなかった。

2. 妊娠中に汚染油を摂取した母親から生まれた児

4例の母親が妊娠中に汚染油を摂取していた(表2)。これらの母親のうち、1例は、検診を受けていないので、油症であるか否かは不明である。この群から生まれた子供4例のうち2例は油症と診断されており、いわゆる“黒い赤ちゃん”と呼ばれる胎盤を通してPCBが胎児に移行したものである。

TP-1 の症例は、生下時に助産婦が額の皮膚が黒い

と指摘し、さらに、現在風邪をひきやすいといったことから、油症を疑わせるが、未受診のため不明である。なお油症と認定されている2例はSFD (small for-date infant) ではなかった。

3. 母親が汚染油摂取期間以後に妊娠し、出生した児

この町の一部では、宗教的理由から人工流産が行われていない。そのためすでに油症になつた母親(妊娠時には汚染油の摂取は中止している)から生まれた児がこの地区で観察された。

この群に入る児は、全部で11例出生していたが(表3)、そのうち、油症と認定されているのは、1例(AP-6)であつた。AP-6の症例の受胎日は、出生年月日および在胎週数から逆算して、ほぼ、昭和43年9月中旬であるから、汚染油摂取終了後、約3カ月後である。そして本症例は新生児油症がもつと同様、生下時にすでに皮膚の色素沈着等の所見を有している。

この症例以外に油症と認定されているものはないが、その他の症例の生下時所見(医師、助産婦との面接調査結果)および、現在著者が観察した所見によると、興味深いことがわかる。すなわち、同一母親(M-7, M-13, M-14)から生まれた子供についてみると、後に生まれた子供ほど、生下時の皮膚の黒変の程度が軽くなり、また、現症も少なくなっている傾向がみられる。ことにM-13の母親についてみると、3年間で3児を出生しているが、最初に生まれたAP-6は油症と診断され、爪の変形や、肉肉の色素沈着がみられ、呼吸器の障害を示唆する訴えがみられるのに対し、AP-7では、生下時に全身の皮膚の黒変は

表 3. 母親が汚染油摂取期間以後に妊娠し、出生した児

(長崎県 玉の浦町)

母 親 の 所 見					児 の 所 見						
母症例 番 号	出産 時 年 月 日	皮膚 ¹⁾ 重症度	汚染油 摂取量 (μ g)	汚染油摂取期間 (昭和43年 月 旬—月 旬)	児症例 番 号	性	出生年月日	在胎 週数	生下時 体 重 (g)	生 下 時 所 見	皮膚 ¹⁾ 重症度
M-3	44	中等症	1.5	2・下—6・下	AP-1	女	45.12.23	38	2,700	?	—
M-7	31	中等症	1.0	3・上—6・中	AP-2	男	44.5.3	36	2,750	黒い(2か月で褪色) ⁴⁾	異常なし
“	33	“	“	“	AP-3	男	46.8.8	38	3,100	?	?
M-11	38	—	0.5	2・下—3・下	AP-4	女	44.8.13	40	2,550 ⁵⁾	黒くない ⁴⁾	—
M-12	32	中等症	1.8	2・下—6・下	AP-5	女	45.8.8	40	2,700	黒い ²⁾³⁾	—
M-13	27	重 症	2.0	3・上—6・上	AP-6	男	44.5.6	37	2,300 ⁵⁾	黒い(3か月で褪色) ⁴⁾	中等症
“	28	“	“	“	AP-7	女	45.5.9	32	2,150	黒い(1か月後褪色) ²⁾	—
“	29	“	“	“	AP-8	男	46.11.1	39	2,900	背中が少し黒い ²⁾	—
M-14	29	重 症	3.0	3・上—6・下	AP-9	女	45.9.14	38	3,000	歯ぐき黒い.少し黒い ³⁾	—
“	30	“	“	“	AP-10	男	47.1.15	40	3,000	歯ぐき少し黒い ³⁾	—
M-15	30	軽 症	2.0	2・下—6・下	AP-11	男	44.8.29	35	2,550	うす黒い ³⁾	異常なし

注: 1) 長崎県油症検診結果による, 2) 医師との面接調査結果による, 3) 助産婦との面接調査結果による, 4) 母親の訴えによるもの, 5) SFD.

各症例の調査時所見は次の通りである. なお, かつこ内にその所見の出所を示した.

AP-1: 特に症状なし(母親), AP-2: 爪の変形および色素沈着, 眼脂過多(著者), ゼーゼーいう(母親), AP-3: 腸炎で死亡(助産婦), AP-4: 爪の変形(著者), AP-5: 眼脂過多・皮膚の黒変は褪色(著者), AP-6: 爪の変形, 歯肉色素沈着(著者), ゼーゼーいう(母親), AP-7: 爪の色素沈着(土)(著者), AP-8: ゼーゼーいう(母親), AP-9: 児と面接できず, AP-10: 児と面接できず, AP-11: 爪の変形(著者), 風邪ひきやすい(母親).

あるが, 爪の色素沈着ははつきりしない. そして, AP-8 では, 生下時の皮膚の黒変部位が, 背中に限局し, 爪の変形等は認められなくなっている.

母体からの PCB の排泄経路として, 胎盤が考えられることが言われているが, 上記事実は時間と共に, 胎盤を通して排泄される PCB 量が少なくなっていることを示唆しているのではあるまいか.

油症の診断を受けていない10例について, 生下時所見をみると, 不明2例を含む3例を除いた残り7例は, 全身皮膚の黒変もしくは歯肉の色素沈着を有しており, これらの症例も, 胎盤を通じて何らかの影響を受けたであろうと推定される.

なお, 表3からは, 母体の PCB の影響がどの程度の期間続いているかについては, 各症例の出生時期とその所見との間に一定した結果が得られないため, 言及できない.

考 察

1. 経母乳油症児について

本調査で, 経母乳油症児と考えられる症例が, その可能性がある症例7例のうち1例認められた. そしてこの1例(TM-3)は, 他の症例に比して, 最も発

症しやすい条件にあるように思われる. すなわち, TM-1, TM-6 の症例は, 母親の汚染油摂取量が少なく, TM-2 の症例は, 混合乳で哺育されている. さらに, TM-7 の症例は, 母乳哺育量が非常に少ない等の理由からである.

しかし, TM-3 が確実に母乳のみによつて発症したか否かについては確証はない. ここで経母乳油症児とした根拠は, 専ら, 母親の供述によつて知りえた哺育方法, 哺育期間と, 県の油症発生当時の記録による汚染油摂取時期とによつてい

では, この症例が経母乳油症児でないとすると, 発症要件たる PCB は, どこから侵入したであろうか. 他の経路としては, 汚染された食品の経口摂取によると考えられるが, 発症が生後4カ月といわれているこの症例で, それまでにどの程度の一般食品を摂り得たかを考えるとき, その可能性は非常に薄いものとしか考えられない. しかも, 最も PCB 含量の多いといわれる魚介類も, この地域では汚染源がなく, 発症原因になるとは考えられない.

直接母乳から乳児に侵入したことを証明するためには, その母親の当時の母乳の PCB 含有量を測定すればよいが, 当時の母乳がないため証明できない. しか

し、母乳中の PCB の検出は、一般住民婦人の母乳にすでに証明されていることから当然予想できることであり、Curley ら⁵⁾ のラッテを使つた実験でも明らかである。Fries⁶⁾ の乳牛に、1日 200 mg 60日間 Aroclor 1254 を投与した実験によると、これら9頭の牛の牛乳中の PCB 含量は、投与開始後、急速に上昇し、30日で 46 ppm (fat base), 60日で 67 ppm (fat base) であつたという。

そして、PCB 投与期間中、牛乳中の PCB 量は、牛の脂肪組織中の PCB 量に比し、常に高い値を示している。これらのことは、もし授乳という排泄経路があれば、PCB の多くは母乳を通して排泄されることを示唆し、経母乳油症児の発現を十分予想しうるものである。

以上のように、経母乳油症児として断定する直接的証拠はないが、この症例の PCB の侵入経路として、母乳と考えることが、最も妥当であろうと思われるので、報告するものである。

それでは、どれ位の PCB 量が乳児に与えられたのであろうか。

この母親 (M-3) が経口的に摂取した PCB 量は、当時の汚染油についての PCB 測定値がないため、不明であるが、かりに福岡の同じ時期の油 (昭和43年2月8日出荷分) と同じとして、800 ppm と仮定すると、1.2 g を摂取したことになる。摂取期間は4カ月であつたので、体重を 50 kg とすると M-3 の症例は、PCB を 200 μ g/kg/day とついていたと推定される。

しかし、この母親の摂取した PCB 量のうちどれ位の量が母乳に排泄されたかという点に関しては、その当時の母乳が残っていないので全く不明である。このため、乳児が母乳からどの程度の PCB を摂取したかを推定することは困難である。

動物実験の成績、例えば前述の Fries⁶⁾ の乳牛への Aroclor 1254 の投与実験成績を使えば、推定が全くできないわけではない。しかし、試算の過程において、数多くの仮定を設ける必要があるので、本稿での発表は保留したい。

以上のようにこの症例から、発症した乳児がその母親からとつた PCB 量についての知見が得られないのは残念である。しかし、このように経母乳油症児と考えられる症例があるということは、一般の母乳汚染の問題を低く評価してはならないことを示唆するものであり、今後の解明が急がれる。

2. 経胎盤油症児、いわゆる“黒い赤ちゃん”につ

いて

経胎盤油症児については、これまでいくつかの報告があるが、それらはすべて、妊娠中に汚染油を摂取した母親から生まれた症例である。

本論文では、汚染油の摂取終了後に、妊娠出生した新生児においても、同様に経胎盤油症児 (いわゆる黒い赤ちゃん) が生まれることを強調したい。そして、生下時の皮膚の黒変が、出産を続ける度に少なくなっていることは、胎盤を通じて PCB が、母親から排泄される重要な経路と考えられることを示唆し興味深い。

おわりに

今回、長崎県五島玉の浦町において、昭和42年1月より昭和47年4月まで、108世帯の患者家族から出生した全例について、疫学的に検討を行った結果を報告した。

(1) 得られた結果の重要な点は次の3点である。

a) 経母乳油症児と考えられる症例が、その可能性のある7例の乳児の中に1例見いだされた。

b) 経胎盤油症児は、母親が妊娠中に汚染油を摂取した場合だけでなく、汚染油摂取終了後に妊娠出生した場合にも見いだされる。

c) 以上の事実を PCB の排泄という点から考えると、母親は他の婦人が通常もっている排泄経路以外に、乳腺を通して母乳へ、また胎盤を通して胎児へという2通りの排泄経路をもっている。

(2) 上記の観察結果から、著者はこれまで観察された乳児の油症患者を次のように分類することを提案したい。

a) 経母乳油症児

b) 経胎盤油症児

① 母親が妊娠中に PCB を摂取し、出産した中毒児

② PCB の摂取後に妊娠して、出産した中毒児

(3) 最後に今後の研究および対策として次のことを望みたい。

a) 本調査で明らかにされた経母乳油症児、経胎盤油症児およびその可能性がある小児については、十分な臨床観察と共に、今後の患者の健康管理を中心とする継続的観察が望まれる。

b) 動物実験等によつて、母親の摂取した PCB が、母乳、胎盤、胎児へどのように移行するかを明らかにし、母乳汚染対策の基礎とする。

本調査に必要な、基本的資料の提供をいただいた長崎県衛生部に深く感謝する。また、多忙な中を、現地での調査に協力いただいた患者の方々や、現地での資料の提供をして下さった玉の浦町立診療所長、王国梁先生はじめ、母子センターの方々、さらに藤原弁止氏に、厚く感謝の意を表したい。

最後に本稿の御校閲をいただいた恩師倉恒匡徳教授に感謝する。

なお、本研究は福岡県、福岡市、北九州市、大牟田市昭和47年度油症研究費の援助を受けて行われた。

文 献

- 1) 環境庁企画調整局公害保健課：ポリ塩化ビフェニール(PCB)：生物汚染, No. 2, 107, 1972.
- 2) 滝一郎, 久永幸生, 天ヶ瀬慶彦：油症妊婦とその児に関する調査報告. 福岡医誌 60: 471-474, 1969.

3) 山口敦子, 吉村健清, 倉恒匡徳：塩化ビフェニール汚染油を摂取した妊婦より生まれた児に関する調査. 福岡医誌 62: 117-122, 1971.

4) 船津維一郎ほか：Chlorobiphenylsによる胎児症. 福岡医誌 62: 139-149, 1971.

5) Curley, A., V. W. Burse, M. E. Grim, R. W. Jennings and R. E. Linder: Presented at 160th American Chem. Soc. Meeting, Washington, D. C., (1971). Polychlorinated biphenyls and the environment, Interdepartmental Task Force on PCBs, pp. 146-149, 1972, Mayより引用.

6) G. F. Fries: Polychlorinated biphenyl residues in milk of environmentally and experimentally contaminated cows. Environmental Health Perspectives, No. 1: 55-59, 1972.

昭和47年度一斉検診による油症患者の皮膚所見

九州大学医学部皮膚科教室 (主任: 占部治邦教授)

幸 田 弘・旭 正 一

福岡大学医学部皮膚科教室 (主任: 利谷昭治教授)

利 谷 昭 治

Dermatological Findings of the Patients with Yusho (PCB Poisoning) in General Examination in 1972

Hiromu KOHDA, Shoichi ASAHI

*Department of Dermatology (Director: Prof. Harukuni Urabe),
Faculty of Medicine, Kyushu University, Fukuoka, Japan*

Shoji TOSHITANI

*Department of Dermatology (Director: Prof. Shoji Toshitani),
Faculty of Medicine, Fukuoka University, Fukuoka, Japan*

One hundred and thirty patients, who were suspected of Yusho, were studied as general yearly examination for Yusho in 1972. One hundred and twenty patients were diagnosed as true Yusho which was composed of 89 patients diagnosed before 1972 and 31 newly diagnosed patients.

It was noticed that almost all patients had hyperpigmentation of gingiva and hypersecretion of Meibom glands in the mild group which was composed of grade 0, 1 and 2. But gradual improvement of the cutaneous lesions was observed in this group. The serious group consisted of grade 3 and 4 showed no spontaneous improvement of cutaneous manifestations and surgical treatment was unavoidable.

Since 70 percent of the newly diagnosed patients as Yusho belonged to grade 0 or 1, it was difficult to decide the diagnosis from the cutaneous manifestation. Therefore, examinations of internal organs were employed for the final diagnosis.

は し が き

油症患者の natural history の追跡調査は、昭和44年以降、毎年1回夏季に一斉検診の形式で行われてきた。しかしながら、昭和47年度の一斉検診は夏季に行いえなかつたので、昭和48年1月22、23日の両日福岡市周辺地区の患者を九大病院で、1月25日北九州市周辺地区の患者を北九州市立小倉病院で、1月26日筑豊地区患者を田川市立病院で、1月30日久留米市周辺の患者を久大病院で、1月31日大牟田周辺の患者を大牟田市立病院において実施された。過去2年もそうであつたが、今回も筑豊地区患者は一斉検診拒否を決議したため、1世帯2名の患者が受診したに止まつた。

今回の一斉検診の特徴は、油症認定患者だけでな

く、疑症患者および、未認定患者および、未認定患者ではあるが同一家族内に油症認定患者がいるような、いわば認定洩れと考えられるものまでも検診の対象にしたことである。

福岡県在住油症認定患者413名、疑症患者10名、その他未認定患者家族177名、計600名を対象として、一斉検診希望者を調査したところ、認定患者155名、未認定家族54名、計209名の希望者があつた。結局、一斉検診受診者は、油症患者89名であつたので、受診率は21.5% (89/413) の低率に止まつた。また未認定患者家族で新しく油症と認定されたものは31名であつた。

昭和47年度検診時の皮膚科的所見

前回と同様、被覆部における皮膚の状況をも充分に

観察した結果、認定患者 89 名の皮膚重症度分布をみると、Table 1 のとおりであり、0, 1, 2 度までの軽症者が 71 % を占めた。また新しく認定された患者 31 名の皮膚重症度分布については、Table 2 にみられるように、0, 1, 2 度までの軽症例がすべてで、重症例はみられなかった。

Table 1. Distribution of the patients with Yusho classified by the grading according to severity of the skin lesion in the general examination in 1972.

Grading of skin lesion	No. of cases	%
Grade 0	2	3
1	41	46
2	20	22
3	16	18
4	10	11
Total	89	100

Table 2. Distribution of the new patients with Yusho classified by the grading according to severity of the skin lesion in the general examination in 1972.

Grading of skin lesion	No. of cases	%
Grade 0	5	16
1	17	55
2	9	29
3	0	0
4	0	0
Total	31	100

皮膚重症度の経年変化

昭和 47 年度受診患者 89 名のうち、昭和 46 年度も受診したものは 62 名 (67 %) であり、不変 28 名 (45 %), 改善 16 名 (26 %), 悪化 18 名 (29 %) となり、皮膚症状は一旦改善後は、極めて改善の割合が低いことを想像させる (Table 3)。このことは昭和 44 年か

Table 4. Distribution of Yusho patients by the grading of skin lesion in the general examination from 1969 to 1972.

	1969	1970	1971	1972
Grade 0	41(11%)	32(17%)	4(3%)	2(3%)
1	86(25%)	77(37%)	49(38%)	41(46%)
2	90(26%)	59(29%)	32(25%)	20(22%)
3	87(25%)	27(13%)	31(24%)	16(18%)
4	47(13%)	10(4%)	13(10%)	10(11%)
Total	352	205	129	89

ら昭和 47 年度までの油症患者の重症度分布からもうかがえる (Table 4)。

かんがえ

はじめにものべたごとく、今回の検診では油症認定患者に加えて、これまで疑症とされていたもの、あるいは油症認定患者と同一家族でありながら放置されていたものをも検診した。受診総数 130 名中従来からの認定患者は 89 名で、検診結果皮膚症状の軽症群に属するものすなわち 0, 1, 2 度までのものは 63 名 (71 %), 重症群すなわち 3, 4 度のものは 26 名 (29 %) であった。46 年度の検診結果は軽症群が 66 %, 重症群が 34 % なので、わずかではあるが軽症群が増加してきているといえよう。

これらのうち 46 年度と 47 年度続けて受診しているものは 62 名あり、これら患者の推移をまとめたのが Table 3 である。62 名中 12 名が改善し 14 名が増悪した結果となつていますが、これをそのまま受けとるには問題がある。まず昨年までの検診は利谷がひとりでおこなつたが、今回は幸田、旭が加わりそれぞれ地区を分担して検診をおこなつたため、判定に若干の違いが出た可能性が考えられる。また個々の症例をみると、前回見落されていた 1, 2 個の面皰を見つけたために 1 度から 2 度へ増悪した結果となつたり、あるいは検診時たまたま数個の面皰が化膿していたために 2 度から 3 度へ増悪となつた場合が多い。すなわち症状

Table 3. Change of the grading of skin lesion in the general examination from 1971 to 1972.

Change	Grade 0	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4	Total
Improved	—	1 (8%)	6 (50%)	3 (25%)	2 (17%)	16 (26%)
No change	1 (3%)	21 (58%)	5 (14%)	3 (8%)	6 (17%)	28 (45%)
Worse	1 (7%)	6 (43%)	6 (43%)	1 (7%)	—	18 (29%)

の真の意味での進行、増悪ではなく、見落としあるいは一時的な変化にすぎない。これらを考えると、たんに統計的に処理するのではあまり意味がなく、かえって危険であるともいえよう。

今回の検診結果や九大油症外来での診察結果からいえることは、軽症群では全体的に徐々にではあるが改善の方向へ向っているということである。軽度の面皰はほとんどとれつつあり、指爪の色素沈着も消退してきている。ただ歯肉部の色素沈着および眼脂過多の訴えはなお多く、当分は続きそうである。

一方重症群においてはほとんど改善のきざしがないといつても過言ではなからう。鼻を中心とした皮膚の黒色化は依然として存続し、爪、眼瞼などの色素沈着もほとんど変化はない。また重症群においては、面皰はたんに面皰に終ることなく、大きく皮下に嚢腫を形成しているため、自然治癒がまったくみられない。嚢腫はつきつきと2次感染をおこし膿瘍を形成するが、切開、排膿するだけでは再発を繰り返すだけで、どうしても外科的にひとつ、ひとつ摘出するしか改善の道はなさそうである。さらに面皰が治癒したあとには、一見痘瘡様の陥凹した瘢痕を残し、かなりの醜形を呈する。われわれは一部に皮膚剝削術を行ってみているが、その結果については追って発表するつもりである。

以上要するに重症群においては、すでに4年半を経過した今日においても、ほとんど変化なく、ためにい

らだちが目立ち精神的にも肉体的にもかなりまいってきており、このままでは2次的な疾患の発生も憂慮される。

つぎに油症認定患者以外の41名についてであるが、これらのうち31名があらたに油症と認定された。31名中家族に油症患者のいるものが25名で、そうでないものは6名である。新認定患者の皮膚所見は軽度で、重症度からすれば2度以下である。すなわち黒色面皰のあつたものは9名(29%)で、面皰の程度もごく軽度であつた。歯肉部や眼瞼の色素沈着と眼脂過多を訴えた重症度1度のものが約半数の17名(55%)で、残りの5名(16%)はまったく皮膚に異常を認めなかつた。これらは次第に明らかとなつてきた内科的所見にもとづいて油症と診断されたものである。

ま と め

昭和47年度油症患者一斉検診は130名について行われた。うち油症認定患者は89名、今回の検診の結果あらたに油症と診断されたもの31名である。軽症群においては、徐々に皮膚症状の改善がみられているが、歯肉部の色素沈着と眼脂過多はなお多くの症例にみられた。重症群においては、自然寛解はあまりみられず、外科的処置が必要である。新認定患者の皮膚所見は7割が0, 1度で、これのみでは油症と診断し難いものであつた。

油症患者における血中 PCB と 血清トライグリセライドとの関係

福岡大学医学部第一内科教室

奥 村 恂

第一薬科大学薬品分析学教室

増 田 義 人

九州大学医学部第二内科教室

中 牟 田 澄 子

Correlation between Blood PCB and Serum Triglyceride Levels in Patients with PCB Poisoning

Makoto OKUMURA

*First Department of Internal Medicine,
Fukuoka University Medical School*

Yoshito MASUDA

*Analytical Chemistry, Dai-ichi College
of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka*

Sumiko NAKAMUTA

*Second Department of Internal Medicine, Faculty of
Medicine, Kyushu University, Fukuoka, Japan*

Blood PCB and serum triglyceride (TG) levels in 42 patients (18 males and 24 females, average age of 26.7) with PCB poisoning, diagnosed in late 1968, were studied during April to August in 1973. Blood PCB was analyzed with gas chromatography and TG was determined under supervision cooperative triglyceride standardization program, Atlanta, Georgia, U. S. A.

Significant positive correlation ($r=0.485$) between blood PCB concentration and serum TG level was obtained in 42 patients. According to the peak pattern of PCB on gas chromatogram, patients were classified into 26 cases in type "A", 14 cases in type "B", and 2 cases in type "C". Type "A" pattern was considered to be specific for PCB poisoning.

In patients with type "A", striking high concentration of PCB (8.6 ± 5.2 ppb) contrasted to those with type "B" and "C" (3.8 ± 2.2 ppb) or normal controls (2.8 ± 1.6 ppb). The highest level of serum TG (134 ± 60.0 mg/100 ml) was also observed in patients with type "A".

昭和43年に九州北部に集団発生した、いわゆる油症（塩化ビフェニールあるいは PCB 中毒）も5年を経過した。本症では典型的な皮膚症状ならびに眼瞼症状のほか全身倦怠、咳嗽、喀痰、腹痛、四肢しびれ感など多彩な自覚症状がみられる。しかし他覚的には生化学所見として高グリセライド血症のほか、ほとんど認むべき所見を欠いていることが、本症研究の隘

路となつてきた。このような状況下にあつて、PCB中毒の発症要因に直接関与する血中 PCB の解析は、まことに大きな意義があるといえよう。

最近油症患者の血中 PCB 濃度測定とガスクロマトグラム・パターンの解析が可能となり、同時に測定した血清トライグリセライド値との関係を検討することができたので報告する。

Table 1. Blood PCB concentration and triglyceride level in 42 patients with PCB poisoning, classified into two groups by gas chromatography pattern

Subjects	PCB pattern	Number of cases	Age	PCB concentration (ppb)	TG level (mg/100 ml)
PCB poisoning	A	26	31.9	$8.6 \pm 5.2^{**}$	$134 \pm 60.0^*$
	B	14	21.4	3.8 ± 2.2	91 ± 39.8
	C	2			
Controls	C	37	34.5	2.8 ± 1.6	

Mean values $\pm$ SD are presented. ** indicate $p < 0.005$ and * $p < 0.05$.
TG level of normal controls in this series was omitted.

対象ならびに方法

対象は昭和48年4月より同年8月までの約4カ月間に、九州大学油症外来を受診した油症患者のうち、血液 PCB およびトリグリセライド (TG) が同時に測定された42症例である。

PCB 分析用の対照血液は、福岡赤十字血液センターより得た29例と、大学職員8例計37例(男28, 女9)で、平均年齢は34.5才である。

血液 PCB 濃度およびそのパターンは、5% SE-30 カラムを用いたガスクロマトグラフィー¹⁾²⁾ によつて解析された。

血清 TG の定量は既報³⁾ のとおりで、同一例について上記期間内に2回以上 TG が測定された場合は、その平均をもつて TG 値とした。

成 績

血液中 PCB はガスクロマトグラムのピークのパターンより、A, B, Cの三つのタイプに分類される。Aパターンが油症患者に最も特異的であり、BパターンはAに近いもの、Cパターンは一般健常者と区別できないものである¹⁾²⁾。

油症42例について、血中 PCB の A, B, C各パターンによる分類と、それぞれの PCB 濃度および血清 TG 値の平均値 $\pm$ SD を示したものが表1である。

Aパターンは26例(男8, 女18)で最も多く、Bパターンは14例(男8, 女6)、Cパターンは2例(男2)のみであつた。対照血清はすべてCパターンを呈した。

血中 PCB 濃度は、Aパターン群で 8.6 ± 5.2 ppb ($n=26$) を示し、BまたはCパターン群の 3.8 ± 2.2 ppb ($n=16$) あるいは対照群の 2.8 ± 1.6 ppb ($n=37$) に比べて、いずれも極めて有意 ($p < 0.005$) の高値であつた。しかし、油症でも B または C パターンを呈する

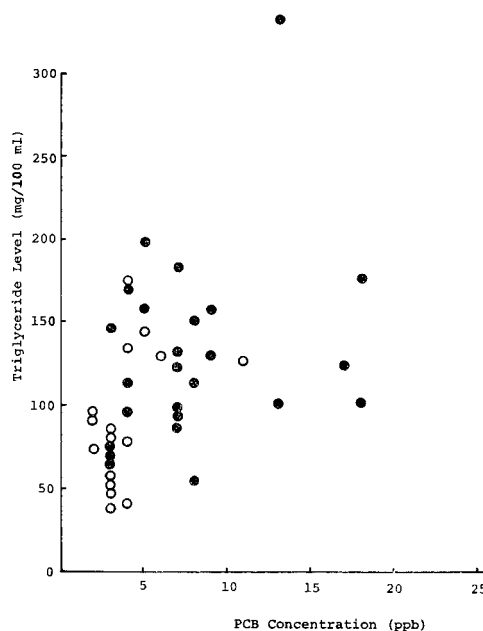


Fig. 1. Correlation between blood PCB concentration and serum triglyceride level in 42 patients with PCB poisoning

●: Patients of "A" pattern on gas chromatogram, ○: "B" and "C" pattern. ($r=0.485$)

群 (3.8 ± 2.2 ppb, $n=16$) においては対照群 (2.8 ± 1.6 ppb, $n=37$) との間に有意の差がみられなかつた。

各群の血清 TG 値は、Aパターン群 134 ± 60.0 mg/100ml ($n=26$)、BまたはC群 91 ± 39.8 mg/100 ml で両群の差は有意 ($p < 0.05$) であつた。しかし PCB 濃度における両群の差ほど著明とはいえない。

42症例について血中 PCB 濃度と TG 値との相関を示したものが図1である。両者の相関係数 $r=0.485$ で、有意の正の相関がみられた。この散点図から、A

パターン群(●)は、BまたはCパターン群(○)に比べて、PCB濃度はかなり高いものが多いが、TG値の高いものはそれほど多くない傾向がみられる。(○)はPCB、TGとも比較的狭い範囲内に分布することが見られる。

考 察

PCB中毒の原因物質であるカネクロール(^3H 標識-KC-400)を用いた動物実験⁴⁾あるいは油症患者の喀痰、臓器などに含まれるPCBの追跡的測定⁵⁾などから類推すると、中毒発生以来5年を経た今日では当初摂取されたPCBの大部分は排泄され、体内蓄積はかなり低くなっているものと考えられる。それにもかかわらず、今回対象とした油症患者についてのPCB分析の結果、対照者の平均2~3倍の血中PCB濃度が証明された点がまず注目されよう。

なかでもAパターンを呈する26例のPCB濃度が、BまたはCパターンを呈する16例や対照者に比べて極めて有意に高い点は注目に値しよう。

Aパターンはカネクロールに由来していると考えられる¹⁾²⁾。すなわちAパターンを呈する症例においては、カネクロールの高沸点部分の一部が5年を経た今日でも残っているものと考えられる。それだけに摂取されたカネクロールの絶対量も多かったことが想像される。

最近、九州大学油症治療研究班の幸田ら⁶⁾はAパターン群とBやCパターン群の臨床症状を比較し、両群で自覚的症状には差がみられないが、他覚的症状たとえば皮膚、眼瞼の色素沈着、痤瘡、面皰、化膿などがAパターン群に圧倒的に多いことを指摘している。このことは、血中PCB濃度が油症の他覚的所見の程度すなわち油症の重症度を決める重要な因子であることを示唆する。

血清TG値はAパターン群が $134 \pm 60.0 \text{ mg/100 ml}$ 、BないしCパターン群が $91 \pm 39.8 \text{ mg/100ml}$ であり、健常者の平均は $24 \pm 29 \text{ mg/100ml}$ ⁷⁾であるので、油症患者においては今日もなお高水準にあり、健常者とのoverlapは少ないといえることができる。これに反して血中PCB濃度についてはAパターン群では極めて高いが、同じ油症のなかでもその他のBないしCパターン群と健常者との間にはかなりのoverlapがみられる。すなわち、軽症~中等症の油症においては血中PCB濃度は対照者に近い状態にあるが、血清TG値に関しては依然として高い水準を保っていると考えられる。

油症発症の早期からカネクロール中毒によつて、生体内TG代謝機構のどこかに、容易にはもとへ戻らぬ変化が生じてそれが恒在している可能性⁷⁾が強い。上に述べたような油症における、ことに中等症以下の症例におけるPCBとTGとの微妙な態度の差は、PCBは生体にとってはあくまで外来性の異物であるのに対し、血清TGの上昇はPCB中毒によつてもたらされた二次的な反応現象であることによるものであろう。

油症における血清PCBの解析は、久しくその必要性が説かれてきたが、実際に行われたのは今回がはじめてであり、この成績をもつて多くを論じることは難しい。今後の検討によつてさらに解明されることが期待される。

総 括

油症(PCB中毒)の発生以来5年を経過したが、今回ようやく血中PCBの解析が可能となり、従来注目されてきた血清トリアグリセライド(TG)値との関係を検討した。

対象は九州大学油症外来における42例(男18, 女24)である。血液PCBはガスクロマトグラフィーにより解析され、TGはすでに報告された方法で定量した。

血液PCBはパターンよりA, B, Cの3タイプに分類され、Aパターン群26例、Bパターン群14例、およびCパターン群2例であつた。A群のPCB濃度は極めて有意に他群より高かつた。血清TG値はA群で最も高く、他の油症においても高水準にあつた。

42例について、PCB濃度とTG値との間には正の相関($r=0.485$)が認められた。しかしPCB濃度とTG値との態度には油症の重症度によつて多少の差がみられ、これはPCBは外因性の異物であり、TGは二次性反応による上昇であることによる現象であると考えられた。

文 献

- 1) 増田義人, 香川梨絵, 倉恒匡徳: 油症患者および一般人体内ポリ塩化ビフェニール. 福岡医誌 65: 17-24, 1974.
- 2) 増田義人, 香川梨絵, 島村京子, 高田真由美, 倉恒匡徳: 油症患者および一般人の血液中のポリ塩化ビフェニール. 福岡医誌 65: 25-27, 1974.
- 3) 鷗沢春生, 中牟田澄子: トリグリセライド. 臨床化学 1: 35-41, 1972.
- 4) 吉村英敏, 山本弘明, 永井諄爾 ほか: ^3H -カネクロールのラットにおける体内分布および排泄につ

いて、福岡医誌 62: 12-19, 1971.

5) 小嶋亨：喀痰および組織中の塩化ビフェニール。福岡医誌 62: 25-29, 1971.

6) 幸田弘，旭正一，利谷昭治：油症研究班口頭

報告 1973, 10月.

7) 鶴沢春生，納富昭光，中牟田澄子，池浦泰子：油症患者における血清トライグリセライドの3年間の推移。福岡医誌 63: 401-404, 1972.

油症における呼吸器障害の臨床的 ならびに実験的研究 (続報)

九州大学医学部胸部疾患研究施設 (指導: 杉山浩太郎教授)

重 松 信 昭・石 丸 秀 三
広 瀬 隆 士・池 田 東 吾
江 森 浩 三・宮 崎 信 義

Clinical and Experimental Studies on Respiratory Involvement in PCB Poisoning (II)

Nobuaki SHIGEMATSU, Shuzo ISHIMARU, Takahito HIROSE,
Togo IKEDA, Kozo EMORI and Nobuyoshi MIYAZAKI

*Research Institute for Diseases of the Chest (Director: Prof.
K. Sugiyama) Faculty of Medicine, Kyushu University*

The first report of clinical and experimental studies on respiratory involvement of the patients with PCB poisoning was published in 1971. Since then observation of the patients status and experiments to find the pathophysiological exact features of PCB poisoning have been repeated up to date.

I. Clinical manifestations were improved in some patients, but exacerbated in some others (Table 1). In 8 patients checked up for 2 years or more, two of them have been shown to be involved in the same bacteria more than 1 year and three of them within 1 year (Table 2). It seemed that they have been involved in chronic airway infections. X-ray findings were almost unchanged (Table 3). In pulmonary function test mild small airway obstructive data were detected in 3 of 6 patients examined and those were unchanged even in 1973 (Table 4).

II. The experimental studies on oral administration of PCB with oil have been done following to the plan in Table 5. Morphological changes were detected predominantly in alveolar type II cells as packed lamellae of inclusion bodies, dilated endoplasmic reticulum and large lipid droplets (Photo 1) and also in alveolar phagocytes as increase in lysosomes and large vacuoles (Photo 2). Acid phosphatase activity in alveolar macrophages was determined in alveolar cells with the lavage via a tracheal tube. It was decreased in rats treated with PCB (Fig. 2).

九大油症研究報告第2集において、PCBの呼吸器系に与える影響観察の第1回報告¹⁾を行い、臨床所見とその病態解明のための実験の一部について述べ、第3集には血清と局所すなわち痰における免疫グロブリン値およびその変動についての報告²⁾を行った。今回は昭和44年に検討を始めてから昭和48年までの臨床像の経過と、病態解明のための実験的研究におけるその後の知見につき述べたい。

I. 呼吸器臨床所見の追加とその経過

昭和45年7月までの検討では、咳、痰などの症状出現は患者の約40%であったが、その後一斉検診にも参加するようになって、昭和45年末までの同症状の頻度を再検討の結果は56%で、症状聴取の密度差による多少の違いとも考えられる。そこで経過の観察としては、昭和44年以後毎年連続して比較観察し得た47例について検討を加えた。表1のように一部に軽快が認められるが、前年度に比し増悪例もあり、な

Table 1. Clinical course of respiratory symptom (cough and sputa) in 47 cases, which were followed up for 3 years

Symptom		1969~1970	1970~1971	1971~1973
Positive	Exacerbated	10(21%)	5(11%)	10(21%)
	Unchanged	15(32%)	20(42%)	18(38%)
	Improved	4(9%)	4(9%)	7(15%)
Negative		18(38%)	18(38%)	12(26%)

お今後の観察を要する状態である。

経過中に virus や一般細菌感染によると思われる急性増悪をくりかえす例も少なくなく、重症例では中耳カタルや副鼻腔炎の症状反復もみられる。

喀痰中細菌検査を経時的に2年以上行い得た8例についてみると、表2のように1年以上連続して同一菌が検出されたもの2例（うち1例には途中から他の菌も合併）、1年以内同一菌検出3例で、連続して大腸菌（途中より変形菌も合併）あるいは緑膿菌、インフルエンザ桿菌が検出され、これら5例のような例では慢性気道感染症の状態がおこつて来ており、抗生剤投与にもかかわらず難治性になって来ていると考えられる。

胸部X線像については、第1報¹⁾において昭和44年まで撮影されたフィルムについての検討結果を報告したが、今回は私達が一斉検診にも参加するようになった昭和45年以降のフィルムについて検討を行い、

表3のように約半数例に線状網状影、少数例には小斑状浸潤様あるいは無気肺様陰影（びまん性の線状網状影の一部に存在）を認め、年令別では小児の方に有所見率が高い傾向である。経時変化としては浸潤影の一部吸収をみたのみである。

自覚症状と胸部X線異常所見との一致率を検討すると、表3の有所見104例中に咳、痰などの症状のあるもの73%、明らかでないもの27%で、呼吸器症状とX線像とが相伴っているものが多く、X線像に異常所見の明らかでない残りの93例のうち、自覚症状ありは55%、明らかでないのは45%になつていて、X線像に所見の出現しない程度の気道の変化が存在している例もあることを示していると考えられる。

肺機能は呼吸器症状の明らかな9例について実施したが、そのうち発病前の呼吸器既往症がなく、2回実施し得た6例についてみると、表4のように肺活量はほぼ正常で、1秒率は半数においてごく軽度低下、さらにFlow-volume curveによつて末梢気道変化をcheckすると、異常度1、2が半数に認められた。この3例のうち2例は毎月ほぼ1回の理学的検査において常に呼吸気時に笛声音を聴取するもので、自覚症として第1回報告¹⁾の表2に喘息様とした5例中の2例でもある。また同報告の表4に好中球に混じて好酸球の増加をみた2例にも相当する。

動脈血酸素分圧もほぼ半数に低下がみられたが、それは上記所見の総合から末梢気道の変化によるものと考えられる。

Table 2. Serial bacteriological examination of sputa for more than 2 years

Bacteria	E. coli	Pseudomonas	Hemophilis
Same bacteria detected more than 1 yr.	2*	2	1
Same bacteria detected within 1 yr.			
Different bacteria	3		

* Proteus combined with E. coli was detected twice in one of them.

Table 3. Chest X-ray findings

Grading of dermal eruption	Age	Findings		Negative findings
		patchy infiltrative or atelectatic	linear and reticular	
0.5~2	<15	6	40 (63%)	24
	>16	2	27 (25%)	83
3~4	<15	1	7 (39%)	11
	>16	1	30 (28%)	79
Total		10	104 (53%)	197

Table 4. Pulmonary function test
(6 cases, age: 30~49 yrs.)

Test		1970	1973
% VC	>100	5	4
	> 90	1	1
FEV _{1.0} %	> 80	3	4
	> 75	3	2
F.-V. Curve	0*		3
	1		2
	2		1
Po ₂	> 85	3	2
	> 70	2	4
	> 60	1	

* 0: normal, 1, 2: abnormal

II. PCB の呼吸器に及ぼす影響の実験的研究

PCB 中毒症における呼吸器障害については、すでに自覚症と胸部レ線像において慢性気管支炎様所見のみられること¹⁾、患者の喀痰中より PCB が検出され、肺が PCB 排出経路の1つであること¹⁾³⁾、又、上記のように患者の約半数に痰喀出がみられ、その中に好中球の増多や各種一般細菌が検出されること¹⁾より肺の自浄機構の障害(図1)を考えねばならないことになった。

そのうち患者の血清 および喀痰の免疫グロブリン²⁾については、特に IgA の低下のあることが認められたが、多くの例では経過と共に正常域に復した²⁾にもかかわらず、なお症状が継続するので、それ以外の自

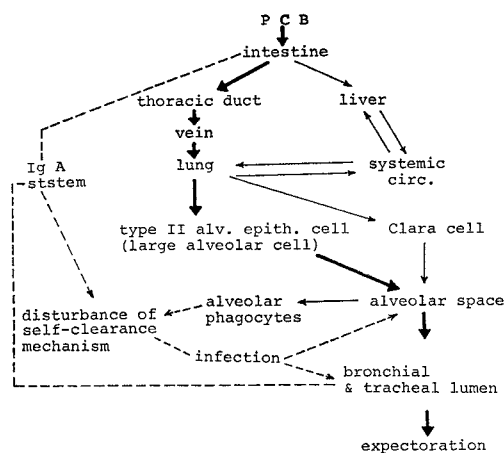


Fig. 1. Respiratory involvement in chlorinated hydrocarbon poisoning

浄機構すなわち肺胞貪細胞、繊毛気管支上皮に対する障害の検討を要することが考えられる。

又肺の非呼吸性機能には自浄機能の他に脂質代謝もあるが、PCB が食用米ぬか油と混入して摂取され、しかも水溶性でなく油溶性である点から、この機能への障害も考えられる(図1)。

また上記の様に患者の約半数の胸部レ線像として線網状影や一部斑状浸潤影あるいは無気肺様影がみられるが、既報¹⁾においてはレ線像に一致するほどの変化を動物に作り得なかつたのでその点の検討も行つた。

1. 実験方法

実験動物は SD 系ラット雄(体重 200 g 前後)およびマウス(15 g 前後)で、光頭、電頭試料作製のほか肺胞貪細胞の機能検査も行つたが、肺表面張力測

Table 5. Pathological broncho-pulmonary findings in PCB-treated rats

Group		Drug administration	Observed period	Light microscope				Electron microscope	
				Trach. & bronch.		Alveoli		alveol. cell (type B)	alveol. phagocyte
				epith. prolif.	cell. inflit.	alveol. phagocyte	pneumonia		
1	P C B	KC-400 25 mg +tempura oil 0.5 ml×1	1-12w	+	±	±	—	packed IB dilated ER	lyso. ↑ large vac. ↑
	Control	tempura oil 0.5 ml×1	1-12w	±	±	±	—	n. f.	lyso. (↑)
2	P C B	KC-400 25 mg +tempura oil 0.5 mg/w×4	30 days	+	+	+	+	packed IB large fat droplet	lyso. ↑↑ large vac. ↑↑
	Control	tempura oil 0.5 ml/w×4	30 days	±	±	±	±	small fat droplet	lyso. ↑

KC: Kaneclor, IB: inclusion body, ER: endoplasmic reticulum, lyso.: lysosome, vac.: vacuole.

定は現在までのところマウスについてのみ行い得た。PCB 投与はマウスには第1報¹⁾と同じ方法で、またラットには表5のような実験計画にしたがって経時的観察を行った。PCB 使用量ラット1匹あたり25mgというのは、患者1人のPCB摂取量が平均2g程度とされているので、ラットの体重比に換算すると200g前後に対し8~10mgとなるので、その2倍程度として25mgを選んでいる。

1) 形態的観察には、光顕、電顕を使用し、電顕試料作製には飽和、不飽和脂肪酸に関係なく磷脂質固定に適し、肺表面活性物質の固定に有用とされるDermerのtricomplex法(表6)⁵⁾を主に用いた。

2) 気管支肺洗浄液より摂取した肺胞食細胞については、朝長法¹⁵⁾により酸フォスファターゼ(Ac-Pase)染色を行った。

3) 肺胞食細胞の機能変化の生化学的検討のためには、気管支肺洗浄液より得た肺胞遊離細胞⁶⁾について、lysosomal enzymeのAc-Paseの測定を行った。

表7の様に得た沈渣のうちライソゾーム画分には、界面活性物質であるtriton X-100を加え、ライソゾーム膜を破壊し、分光光度計にて410m μ の吸光度で測定値を求め、これを遊離していないライソゾーム内Ac-Pase値(L)とし、上清についての測定値を遊離していたAc-Pase値(S)とした。その和の(S)+(L)はtotal activityに相当する。

4) 肺表面張力測定には、肺を充分換気した後気道を結紮し、肺を摘出、mincingし肺の抽出液を作製した。全肺を使用し、これに30mlの生理食塩水を加えて測定した。

2. 結果

1) PCB (KC-400) 25mg 1回ないし4回経口投与し、1ヵ月後の肺組織の形態的变化(主に肺胞上皮細胞および肺胞食細胞についての電顕的観察)

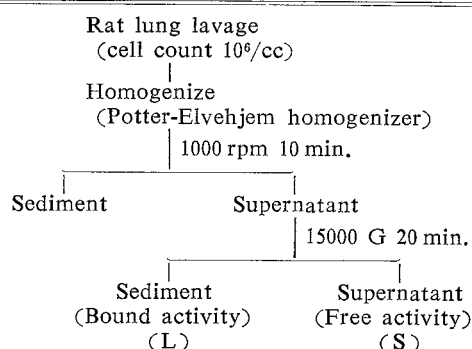
ラットにKC-400 25mgを1回経口投与して1ヵ月後の肺胞Ⅱ型細胞には、小胞体の空隙拡張所見および脂質代謝に関係するとされる封入体が細い層状構造物で密になった所見があり、PCB 4回投与(1週間ごと)の実験群では、写真1の様に中央に巨大な脂肪滴と思われる円形巨大顆粒を認め、封入体は増大し、層状構造は更に密に変化している。

PCB 25mg 4回投与(1週間ごと)における肺胞食細胞では、写真2のように、著明なライソゾーム増加および脂肪滴と思われる黒染無構造物を貪食したphagosomeを多数認め、酸フォスファターゼ染色では食細胞の空胞泡沫化がみられ、空胞泡沫内には酵素

Table 6. The fixation of pulmonary surfactant for electron microscopy by Dermer's method

1. Prefixation with 2% glutaraldehyde solution in cacodylate buffer (PH 7.2) for 1 hr.
2. Rinsing briefly in buffer.
3. Incubation in a solution made 0.05N in Pb(NO₃)₂ and K₃Fe(CN)₆ for 30 min.
4. Postfixation with 1% OsO₄ for 1 hr.
5. Dehydration with graded acetone.
6. Embedding.

Table 7. Ac-Pase activity determination of the pulmonary alveolar macrophage



活性を認めた。肺表面活性物質については、やや増加をみるが形態的变化は明らかでなかった(写真3)。

テンブラ油 0.5ml 単独1週ごとと4回投与の対照群の肺胞Ⅱ型細胞には、脂肪滴の増加を認めたが、封入体などには明らかな変化を見出し得なかった。肺胞食細胞には軽度のlysosomeの増加を認めた以外には明らかな変化を見出さなかった。

2) PCB (KC-400) 25mg 1回投与後の肺胞遊離細胞の酸フォスファターゼ(Ac-Pase)活性経時的变化

肺胞食細胞の機能障害を検討する試みとして、気道より採取した気管支肺洗浄液から、その遊離細胞を集め、表7に従ってAc-Pase活性を測定した。

図2は細胞当りのAc-Pase酵素活性の経時的变化を示したもので、PCB 25mg 1回経口投与後の第3、4週目に低下があり、肺胞内食細胞の機能低下を示すものと考えられる。さらにAc-Paseのライソゾーム外への遊離比100S/(S+L)では、第1と第4週目にpeakがあり、特に第4W目では対照群との有意差が考えられ、ライソゾーム膜の不安定性を示すも

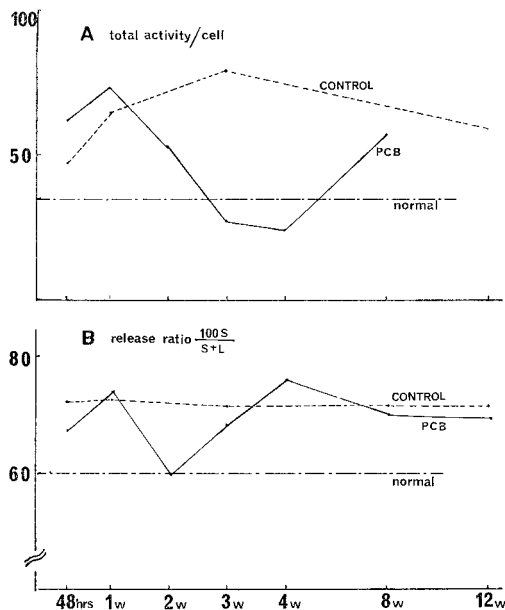


Fig. 2. Alteration of Ac-Pase activity in rat alveolar macrophages

A: total activity/cell, B: release ratio $(100S)/(S+L)$

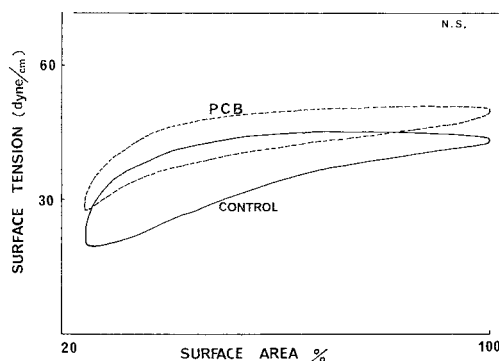


Fig. 3. Tension-area hysteresis loop of minced mouse lung

PCB: 25 mg, after 1 month

のと思われる。対照群の経時的変化では細胞当りの酵素活性の低下はみられなかった。

3) 肺表面活性物質の表面張力について

PCB 25 mg 1 回経口投与後 4 週目の肺表面張力では、対照群と比較して最大、最小値ともにやや高値を示した (図 3)。

4) PCB 投与量の差と病変出現度の差異

上述のように、実験のラット第 1 群の PCB 投与量も、患者 1 人平均の PCB 摂取量を平均 $2 \text{ g}^{16)}$ と考

え、そのラット体重換算量の約 2 倍に当るが、光顕レベルでは胸部 X 線像を説明するほどの所見はなく、マウスの実験でも同様であつた。ラットの第 2 群はその 4 倍量投与で、光顕レベルでも気管支や細気管支の壁と周囲に、程度の差はあるが細胞浸潤が認められ (写真 4)、浸潤細胞はリンパ球様細胞や組織球が中心で、好中球を混ざる例もあり、肺腔内の細胞も食細胞と一部の例では好中球が多く、好中球増多は肺炎の所見と考えられる。

III. 考 案

肺組織における脂質代謝⁷⁾は、小胞体、ゴルジ野においてリボゾームの供給する蛋白と結合してリポ蛋白となつたり、コリンと結合してリン脂質となり、肺胞表面活性物質 (主成分は dipalmitoyl lecithin¹⁴⁾) として肺腔に放出され、肺胞の形態機能の維持に重要とされるが、この過程が障害されると小胞体内に中性脂肪が貯留し、脂肪滴が出現してくると思われる。脂質代謝関連細胞といわれる肺胞 II 型細胞に、電顕的にみられた脂肪滴や封入体の pack 像、小胞体の開大拡張像は、肺の脂質処理機構の障害を示唆するものであろう。鶴沢ら⁴⁾は、油症における高中性脂肪血症は、中性脂肪の生成亢進よりもむしろ末梢における処理障害であるとしているが、相関する問題である可能性がある。

肺胞表面活性物質については、PCB 25 mg 1 週ごと 4 回投与においてやや増加をみるが、微細な形態的变化は明らかでなく、PCB 1 回投与 1 カ月後でも肺表面張力の低下がみられ、surfactant 構成成分の変化 (活性成分の減少) も考えられる。今後特殊固定染色ないし酵素学的検索が必要であろう。

さて PCB による食細胞障害の報告はない。上記のように肺胞細胞内に貯留、ついで肺腔内に放出された PCB を含むと考えられる異常代謝脂質は食細胞に貪食されるが、PCB 25 mg 1 回投与 1 カ月後にも食細胞内に著明に認められる空胞 (脂肪滴とみなされる) には Ac-Pase 染色で活性亢進が認められ、食細胞による脂質代謝—自浄機能の変化が考えられる。

肺胞食細胞の経時的 Ac-Pase 活性測定で得られた S (遊離の Ac-Pase) の S + L (非遊離ライソゾーム内 Ac-Pase) に対する比率上昇は、ライソゾーム膜に対する PCB の不安定化作用を示すものであろう。de Duve⁸⁾によると、脂肪を溶かす溶媒などは、ライソゾーム膜の labilizer であり、PCB が膜脂質に高率に局在し⁹⁾、酵素誘導を起こすことを考え合

せると、PCB が lysosome labilizer であると思われる。PCB が lysosome 膜の不安定化作用を長期持続するならば、lysosomal enzyme である Ac-Pase の遊離が肺胞表面活性物質であるレシチンを分解¹⁰⁾するような変化を来す可能性もある。さらに細胞当りの Ac-Pase 活性測定にみられた第 3, 4 週目の低下は、Hurst ら¹³⁾ が O_3 吸入実験でみたこれら酵素の hydrolytic activity の低下と肺への感染に対する抵抗減弱との相関を対比して考えさせるものである。

PCB による気管支肺の変化の程度と PCB 投与量との関係については、九大癌研で肝に adenoma 形成をみた報告¹⁷⁾があるが、高率に肺炎を認め、さらにその気管支壁や周囲には異常脂質貪食を考えさせる phagocyte と、リンパ球を主とし好中球を混ざる細胞浸潤がみられ、上皮の変化も強い(扁平上皮化生もみられる)。その量は投与期間は異なるにせよわれわれの第 2 群の約 10 倍であるが、患者の胸部 X 線所見とその頻度を考える時、第 1 群の量は明らかに少なすぎるし、九大癌研例は多すぎるようで、第 1 群の量の換算源となつた患者摂取 PCB 量の推定値が低すぎることを意味するのか、あるいは動物と人間との種属差を意味するのか、なお今後より多くの検討を要すると思われる。

IV. ま と め

1) 油症患者の約半数に、症状ならびに胸部 X 線像において、慢性気管支炎様所見、一部に肺炎所見がみられ、5 年経過後改善例もあるが悪化例もみられる。

2) 痰には二次的感染所見があり、時々増悪を反覆するが、1 年以上同一菌検出を認める例があり、慢性気道感染症の状態になっているものと考えられる。

3) 肺機能検査において、軽度の末梢気道の閉塞所見と PO_2 低下を認めたものがある。

4) PCB 経口投与による実験ラット(一部マウス)肺の形態的变化は、脂質代謝関連細胞である肺胞Ⅱ型細胞において著明で、肺の脂質代謝機能の障害が推定された。肺表面活性物質については、その形態的变化は認めなかったが、PCB 4 回投与(1 週間ごと)ではその増加を推定させる像を認めた。

5) 肺胞食細胞は PCB を含む脂質貪食像を示し、その酸フォスファターゼ活性測定により、PCB のライソゾーム膜不安定化作用を推定させる所見を得た。またその細胞当りの活性低下を認め、感染に対する抵抗減弱を推定させた。

欄筆するにあたり、本研究に多くの助言と電顕像検討の機会を与えられた九大薬学部加藤敬太郎教授や九大癌研岡野博光助教授および各教室の先生方に、また Flow-volume curve 検討の機会を与えられた国立南福岡病院長野準院長に心から感謝いたします。

文 献

- 1) 重松信昭, 乗松克政, 石橋凡雄ほか: 油症における呼吸器障害の臨床的ならびに実験的研究. 福岡医誌 62: 150, 1971.
- 2) 齊藤玲子, 重松信昭, 石丸秀三: 油症における免疫グロブリン値について. 福岡医誌 63: 408, 1972.
- 3) 小嶋亨: 喀痰および組織中の塩化ビフェニール. 福岡医誌 62: 25, 1971.
- 4) 鵜沢春生, 伊東靖夫, 納富昭光ほか: 塩化ビフェニールによる高グリセリド血症の臨床的ならびに実験的研究. 福岡医誌 62: 66, 1971.
- 5) Dermer, G. B.: The fixation of pulmonary surfactant for electron microscopy I: The alveolar surface lining layer. J. Ultrastr. Res., 27: 88, 1969.
- 6) Myrvik, O. N.: Studies on pulmonary alveolar macrophages from the normal rabbits: A technique to procure them in a high state of purity. J. Immunol., 86: 128, 1961.
- 7) Felts, J. M.: Carbohydrate and lipid metabolism of lung tissue in vitro, Med. Thorac., 22: 89, 1965.
- 8) de Duve, C.: Ciba Found Symp., Lysosome, Little, Brown: 1, 1963.
- 9) 藤田節治, 辻宏, 加藤敬太郎ほか: Biphenyl chloride 誘導体のラット肝ミクロゾームに与える影響. 福岡医誌 62: 30, 1971.
- 10) Replogle, R. L.: Use of corticosteroids during cardiopulmonary bypass: Possible lysosome stabilization, Circulation 33 Suppl. 1: 86, 1966.
- 11) Pattie, R. E. and Thomas, L. C.: Lipoprotein composition of the film lining. Nature, 189: 844, 1961.
- 12) Clements, J. A.: Pulmonary surface tension and the mucus lining of the lung, some theoretical consideration. J. Appl. Physiol., 12: 262, 1958.
- 13) Hurst, D. J.: Ozone effect on lysosomal hydrolases of alveolar macrophages in vitro. Arch. Intern. Med., 127: 1059, 1971.
- 14) Brown, E. S.: Isolation of assay of di-palmitoyl lecithin in lung extract. Am. J. Physiol., 207: 402, 1964.
- 15) 朝長正允ほか: 白血球フォスファターゼの染色, 臨床病理; 1 (特): 41, 1967.
- 16) 吉村健清: 油症における重症度の解析ならびに摂取量調査. 福岡医誌 62: 104, 1971.
- 17) Kimura, N. T. and Baba, T.: Neoplastic changes in the rat liver induced by polychlorinated biphenyl. Gann, 64: 105, 1973.

Explanation of Photographs

Photos 1~3 are electron microscopic findings of the lung tissue fixed in Dermer's flocculation method in rats, which received 25 mg of PCB once a week for 4 weeks.

Photo 1. A large lipid vacuole situates centrally in a Type II alveolar cell and the lamellar bodies have packed lamellae. Dilated spaces are present in the cytoplasmic reticulum. (× 5000)

(AS) Alveolar space, (LIB) Lamellar inclusion body, (L) Large lipid vacuole, (BM) Basement membrane

Photo 2. Alveolar macrophage containing numerous dark bodies (lysosomes) and phagocytizing lipids. Collagen fibres are seen beneath the basement membrane. Note the dense inclusion and irregular surface. (× 15000)

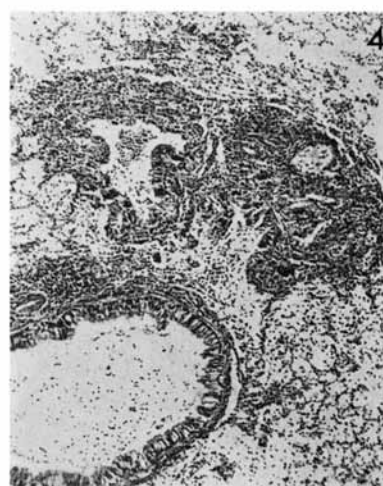
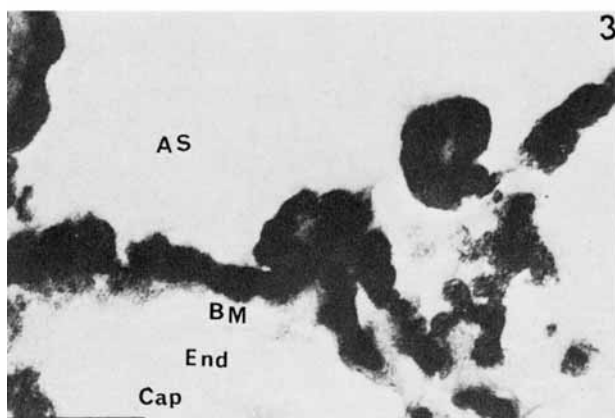
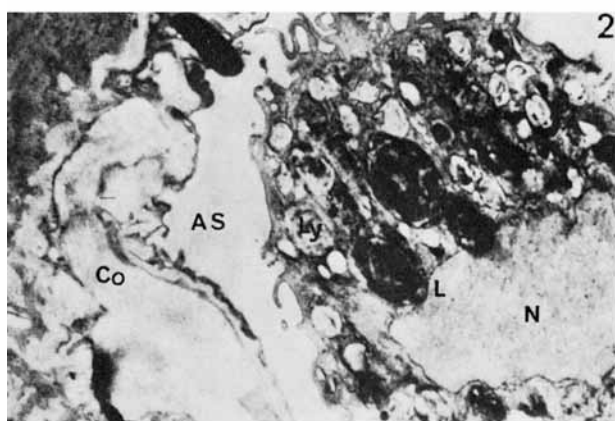
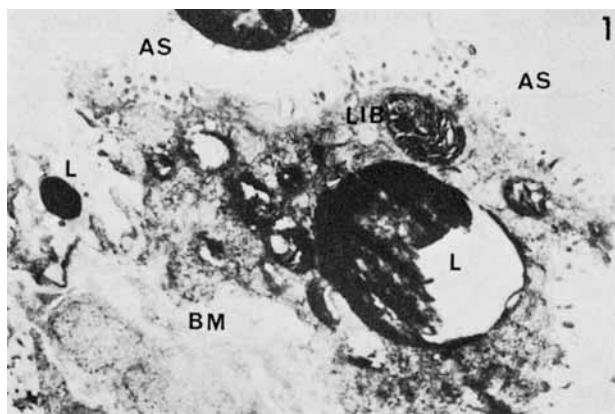
(AS) Alveolar space, (LY) Lysosome, (L) Lipid, (Co) Collagen fibre, (N) Nucleus.

Photo 3. Electron dense material is a continuous lining layer and seems to be increased on the alveolar epitheliums. (× 50000)

(AS) Alveolar space, (BM) Basement membrane, (End) Endothelial cell, (Cap) Capillary lumen.

Photo 4. Lung of a rat administered PCB once a week for 4 weeks. The cell infiltrations are more intense in bronchial and peribronchial areas and less in alveolar spaces.

(× 54)



昭和49年1月25日発行

発行所 〒812 福岡市東区堅粕1276
九州大学医学図書館内

福岡医学会

編集者 田 中 深

印刷所 福岡市南区塩原1194
秀巧社印刷株式会社

頒価 400 円