

内分泌かく乱物質に対する感受性の動物種差の解明：

チトクローム P450 発現を指標として

分担研究課題：PCB 類の代謝：動物種差

分担研究者 木村 良平 静岡県立大学 薬学部教授

協力研究者 加藤 善久 静岡県立大学 薬学部講師

(以下の研究者との共同研究として行った)

出川 雅邦 静岡県立大学 薬学部教授 (主任研究者)

根本 清光 静岡県立大学 薬学部助手 (分担研究者)

研究要旨：既に、著者らは 9 種類の PCBs の 3-及び 4-メチルスルホン(3-及び 4-MeSO₂)代謝物には、血清中甲状腺ホルモンの低下作用のあることを報告した。今回、これらの内 8 種類の MeSO₂-PCBs は、肝臓の UGT1A1 及び UGT1A6 を誘導することにより、thyroxine (T₄)の代謝を亢進し、血清中 T₄ 濃度の低下を引き起こすことを明らかにした。このように、MeSO₂ 代謝物に内分泌かく乱作用のある PCB では、PCB の代謝パターン及び肝薬物代謝酵素活性への影響の違いが、各動物種の内分泌かく乱作用発現において種差が表れる要因の一つと考えられる。そこで、2,2',4,5,5'-pentachlorobiphenyl (CB101)及び 2,2',3',4',5,6-hexachloro-biphenyl (CB132)をラット、マウスに腹腔内投与し、経時的に糞及び肝臓中含硫代謝物濃度、肝薬物代謝酵素活性を測定した。ラット、マウスに、CB101 及び CB132 投与後、両種間の経時的な組織重量の変化に違いが認められた。また、各 PCB 投与後、未変化体及び MeSO₂ 代謝物の肝臓中濃度及び糞中排泄量に、ラット、マウス間に明らかな差異が認められた。各 PCB 投与後、第 1 相薬物代謝酵素誘導は、マウスよりラットにおいて顕著であり、UDP-glucuronosyltransferase (UGT1A6、UGT2B1)、glutathione S-transferase (mu class、pi class)活性の増加割合は、ラット、マウスで異なっていた。

A. 研究目的

PCB のメチルスルホン(MeSO₂)代謝物は、多くの野生哺乳動物の組織や、我が国のカネミ油症患者及び健常人の血液、肝臓、肺及び脂肪組織、スウェーデン及びカナダの健常人の母乳から検出されている。これらの主な MeSO₂-PCBs の化学構造は、2,5-位または 2,5,6-位に塩素置換基を有する PCB の 3 位または 4 位が MeSO₂ 化されたものであるが、これらの

生物活性や毒性についての研究はほとんど進められていない。著者らは、これまでに健常人の母乳及び肝臓に残留する PCB の 3-MeSO₂ 代謝物が、母化合物より数百倍強力なフェノバルピタール (PB)型のラット肝薬物代謝酵素誘導効果を有することを報告し、次いで 13 種類の MeSO₂-PCBs を用いて、それらの PB 誘導性 P450 分子種 CYP2B1/2 の誘導作用の強さがそれらの化学構造と密接な相関があること

を明らかにした。さらに、*in vitro* の細胞間コミュニケーションに関する研究から、数種の 3-及び 4-MeSO₂ 誘導体がラットにおいて肝発癌プロモーターとして作用することを示唆した。また、ヒトの母乳、肝臓及び脂肪組織中に比較的多く残留している 9 種類の PCBs の 3-及び 4-MeSO₂ 代謝物 (Fig. 1) は、ラット血清中甲状腺ホルモン量を低下させる作用のあることを見出し、これらの MeSO₂ 代謝物が内分泌かく乱化学物質であることを明らかにした。

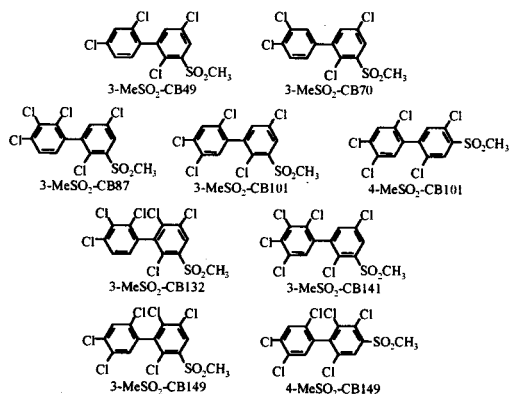


Fig. 1. Chemical structures of methyl sulfone derivatives of PCB congeners

そこで、Fig. 1 に示す MeSO₂-PCBs の甲状腺ホルモン量の低下作用メカニズムを解明することから本研究を開始した。前述した PCB の MeSO₂ 代謝物のように、化学物質の野生生物及びヒトにおける内分泌かく乱作用は、生体内で活性代謝物が生成し、これらの代謝物が内分泌かく乱作用を引き起こしていることも十分に考えられる。MeSO₂ 代謝物を生成する PCB の場合、PCB の代謝パターンあるいは肝薬物代謝酵素に与える影響の違いが、各動物種の内分泌かく乱作用発現の種差の要因の一つと考えられる。そこで、本研究では、PCB の MeSO₂ 体への代謝能及び PCB 投与による肝薬物代謝酵素活性の変動の種差と各動物における内分泌かく乱との関連性を追求することを目的とする。本研究から得られる成果は、行政機関の内分泌かく乱化学物質対策に寄与する重要な資料となり、国民の健康の維持に、かつ野生生物の保護に貢献できるものと確信する。

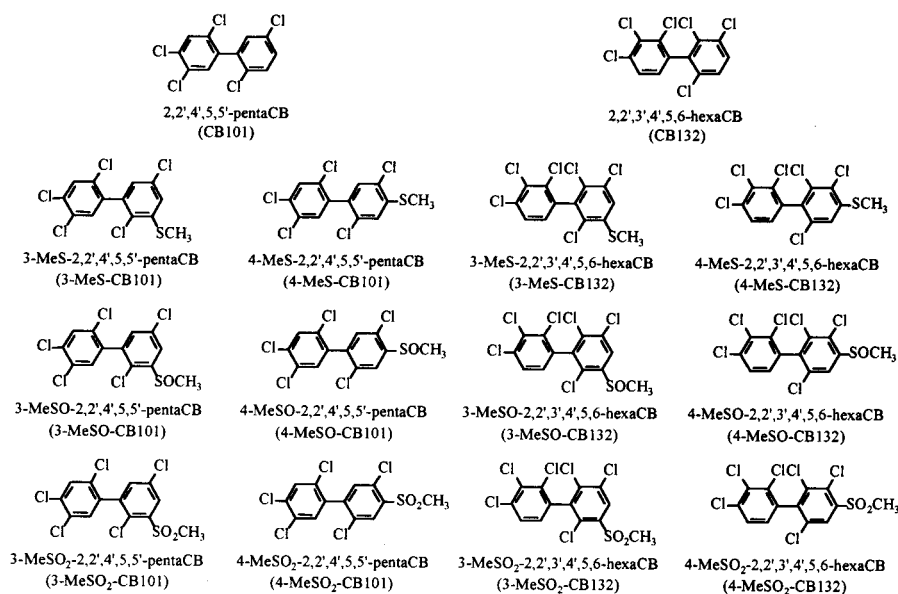


Fig. 2. Chemical structures of PCB congeners and their sulfur containing derivatives

B. 研究方法

1) MeSO₂-PCBs の甲状腺ホルモン量の低下作用メカニズムの解明に関する実験

動物は Sprague-Dawley 系雄性ラット (体重

180~200 g)を用いた。MeSO₂-PCBs 20 μmol/kg を 1 日 1 回 4 日間腹腔内に反復投与した。最終投与後 7 日に屠殺し、肝ミクロゾームの総 cytochrome P450 量、第 1 相薬物代謝酵素 (7-

benzyloxyresorufin *O*-dealkylase (BROD)、7-pentoxyresorufin *O*-dealkylase (PROD)、7-ethoxyresorufin *O*-dealkylase (EROD))活性及び4-nitrophenol (4-NP)、4-methylumbelliferone (4-MU)、chloramphenicol (CP)及び thyroxine (T_4)を基質とした時の UDP-glucuronosyl-transferase (UDP-GT)活性を測定した。

2) PCB の代謝パターンと PCB 投与による肝薬物代謝酵素活性の変動の種差に関する実験

2,2',4',5,5'-Pentachlorobiphenyl (CB101)及び2,2',3',4',5,6-hexachlorobiphenyl (CB132) (Fig. 2) 各 342 $\mu\text{mol/kg}$ を、Wistar 系雄性ラット (体重 150~200 g)、ddy 系雄性マウス (体重 27~35 g) に一回腹腔内投与し、経時的に糞を採取した。また、投与後 1、2、4、8 日に屠殺し、脳、下垂体、胸腺、肺、肝臓、腎臓、副腎及び精巣を摘出し、各組織重量を測定した。糞及び肝臓中の未変化体、メチルスルフィド (MeS)、メチルスルフォキシド (MeSO) 及び MeSO_2 代謝物 (Fig. 2) 濃度を測定し、肝ミクロゾームの第 1 相薬物代謝酵素活性及び UDP-GT 活性、肝可溶性画分の 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB)、1,2-dichloro-4-nitrobenzene (DCNB)、ethacrynic acid (EA) 及び 1,2-epoxy-3-(*p*-nitrophenoxy)propane (EPNP) を基質とした時の glutathione *S*-transferase (GST) 活性を測定した。

(倫理面への配慮)

本研究では、*in vivo* での代謝及び薬物代謝酵素活性の変動の種差を再現しうる培養系細胞あるいはそれに代わる実験系がないため、やむを得ず実験動物を使用した。その使用数は最小限にとどめ、実験動物に対して苦痛を与えない十分な配慮をした。

C. 研究結果

1) MeSO_2 -PCBs の甲状腺ホルモン量の低下作用メカニズムの解明

7 種類の 3- MeSO_2 誘導体、すなわち、3- MeSO_2 -CB49、3- MeSO_2 -CB70、3- MeSO_2 -CB87、3- MeSO_2 -CB101、3- MeSO_2 -CB132、3- MeSO_2 -

CB141 及び 3- MeSO_2 -CB149 (MeSO_2 誘導体は、PCB の IUPAC number に MeSO_2 基を付して示す) 投与により、総 cytochrome P450 量は約 2 倍の、PROD (CYP2B1/2) 活性は 28~55 倍の増加が観察された。また、3- MeSO_2 -CB49、3- MeSO_2 -CB87、3- MeSO_2 -CB101 及び 3- MeSO_2 -CB132 投与により、EROD (CYP1A1/2) 活性は 1.4~7 倍の上昇が認められた。一方、2 つの 4- MeSO_2 -PCBs、すなわち、4- MeSO_2 -CB101、4- MeSO_2 -CB149 はいずれの第 1 相薬物代謝酵素活性にも変化を与えなかった。

今回検討した全ての 3-及び 4- MeSO_2 誘導体投与により、CP を基質とした場合の UDP-GT (UGT2B1) 活性は、68~452% の有意な上昇が認められた (Fig. 3)。7 種類の 3- MeSO_2 誘導体及び 4- MeSO_2 -CB101 投与後に、4-NP を基質として用いた場合の UDP-GT (UGT1A6) 活性は 44~317% の有意な増加が、また、4-MU を基質とした場合の UDP-GT (UGT1A6) 活性は 50~244% の有意な増加が認められた。 T_4 を基質とした時の UDP-GT 活性は、7 種類の 3- MeSO_2 誘導体及び 4- MeSO_2 -CB101 投与により有意な増加が認められた (Fig. 4)。一方、4- MeSO_2 -CB149 投与では 4-NP、4-MU 及び T_4 UDP-GT 活性に変化は全く認められなかった (Figs. 3 and 4)。

既に報告 (Kato *et al.*, *Arch. Toxicol.*, **72**, 541-544 1998, Kato *et al.*, *Toxicol. Sci.*, **48**, 51-54 1999) した 9 種類の MeSO_2 -PCBs 投与後の血清中 total T_4 、total triiodothyronine (total T_3) 及び thyroid stimulating hormone (TSH) 濃度と今回得られた肝ミクロゾームの総 cytochrome P450 量、薬物代謝酵素活性及び UDP-GT 活性との関係について検討を行った。最終投与後 3 日の血清中 TSH 濃度と最終投与後 7 日の肝総 cytochrome P450 量、PROD (CYP2B1/2) 活性及び CP を基質とした UDP-GT (UGT2B1) 活性との間に有意な相関 (相関係数 $r=0.788$, $P<0.01$ 、 $r=0.796$, $P<0.01$ 及び $r=0.833$, $P<0.01$, $n=10$) が認められた。しかし、TSH 濃度と EROD (CYP1A1/2) 活性あるいは 4-NP-及び 4-MU-

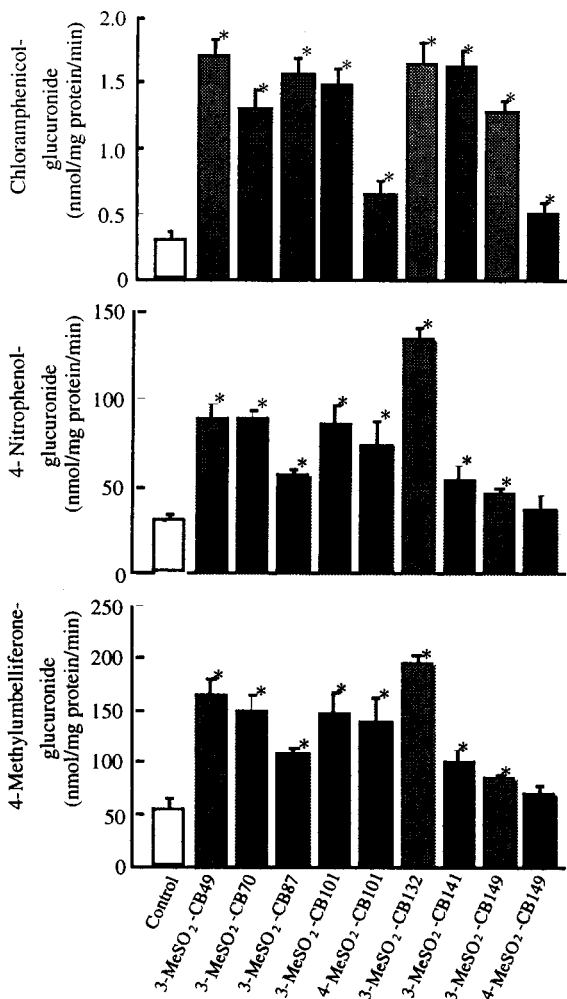


Fig. 3. Effects of MeSO₂ derivatives of PCBs on UDP-glucuronosyltransferase activities of liver microsomes in rats. MeSO₂-PCBs (20 μmol/kg) were given i.p. to rats once daily for four days and the rats were killed seven days after final administration. Results are expressed as the mean ± S.E. for four to eight animals. *P<0.05, significantly different from the control.

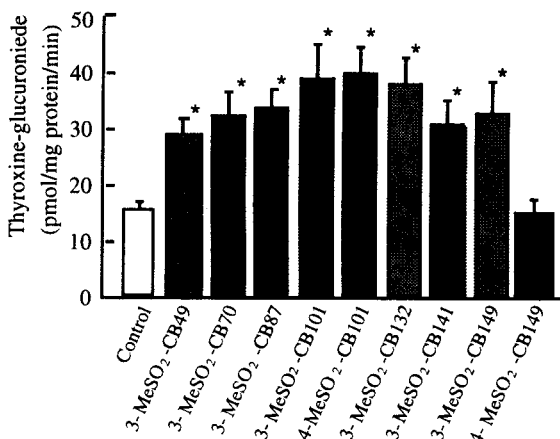


Fig. 4. Effects of MeSO₂ derivatives of PCBs on UDP-glucuronosyltransferase activity toward thyroxine of liver microsomes in rats. The experimental condition was the same as described in the legend to Fig. 3. Results are expressed as the mean ± S.E. for four to ten animals. *P<0.05, significantly different from the control.

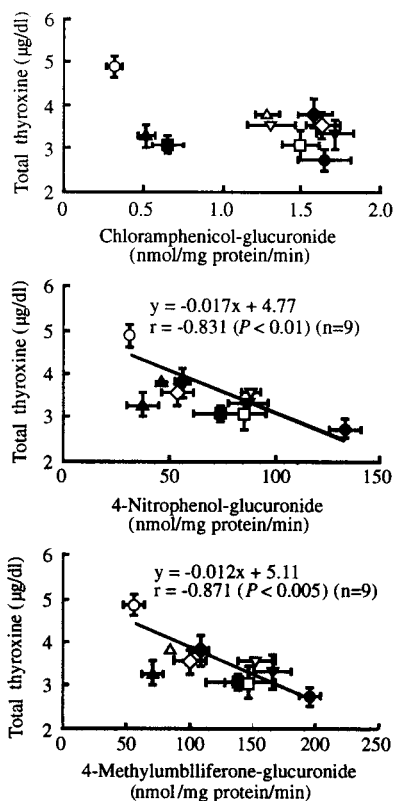


Fig. 5. Correlations between hepatic microsomal UDP-glucuronosyltransferase activities and serum total thyroxine concentration in MeSO₂-PCB derivative-administered rats. ○, Control; ▼, 3-MeSO₂-CB49; ▽, 3-MeSO₂-CB70; ◆, 3-MeSO₂-CB87; □, 3-MeSO₂-CB101; ■, 4-MeSO₂-CB101; ●, 3-MeSO₂-CB132; ◇, 3-MeSO₂-CB141; △, 3-MeSO₂-CB149; ▲, 4-MeSO₂-CB149. The data of T₄ concentrations in MeSO₂-PCB derivative-administered rats cited from our previous papers (*Arch. Toxicol.*, 72:541-544 1998, *Toxicol. Sci.*, 48:51-54 1999). Each point represents the mean ± S.E. (vertical bars) for four to eight animals. Regression line was calculated from nine points except the point of 4-MeSO₂-CB149 (▲).

UDP-GT (UGT1A6)活性との間には相関は認められなかった。4-MeSO₂-CB149 (4-NP-及び 4-MU-UDP-GT 活性に変化を示さなかった)を除いた9化合物の最終投与後2日の血清中total T₄濃度と最終投与後7日の4-NP及び4-MUを基質としたUDP-GT (UGT1A6)活性との間に、有意な相関($r=0.831$, $P<0.01$ 及び $r=0.871$, $P<0.005$, $n=9$)が認められた (Fig. 5)。しかし、血清中total T₄濃度とCPを基質としたUDP-GT (UGT2B1)活性との間に相関は認められなかった (Fig. 5)。さらに、4-MeSO₂-CB149を除いた9化合物の最終投与後7日の血清中total T₄濃度と肝臓のT₄-UDP-GT活性との間に有意な相関 ($r=0.784$, $P<0.02$, $n=9$)が認められた (Fig. 6)。

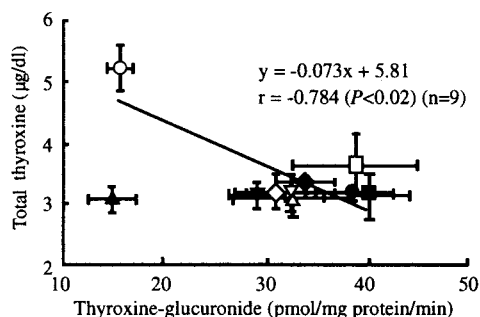


Fig. 6. Correlation between hepatic microsomal UDP-glucuronosyltransferase activity toward thyroxine and serum total thyroxine concentration in MeSO₂-PCB derivative-administered rats. ○, Control; ▼, 3-MeSO₂-CB49; ▽, 3-MeSO₂-CB70; ◆, 3-MeSO₂-CB87; □, 3-MeSO₂-CB101; ■, 4-MeSO₂-CB101; ●, 3-MeSO₂-CB132; ◇, 3-MeSO₂-CB141; △, 3-MeSO₂-CB149; ▲, 4-MeSO₂-CB149. The data of T₄ concentrations in MeSO₂-PCB derivative-administered rats cited from our previous papers (*Arch. Toxicol.*, 72 541-544 1998, *Toxicol. Sci.*, 48 51-54 1999). Each point represents the mean ± S.E. (vertical bars) for four to eight animals. Regression line was calculated from nine points except the point of 4-MeSO₂-CB149 (▲).

2) PCB の代謝パターンと PCB 投与による肝薬物代謝酵素活性の変動の種差

ラットに CB101 を投与すると、投与後 2、8 日に肝臓及び腎臓重量の増加、2 日に精巣重量の低下が認められた (Fig. 7)。マウスに CB101 を投与すると、4 日目に脳重量の増加、

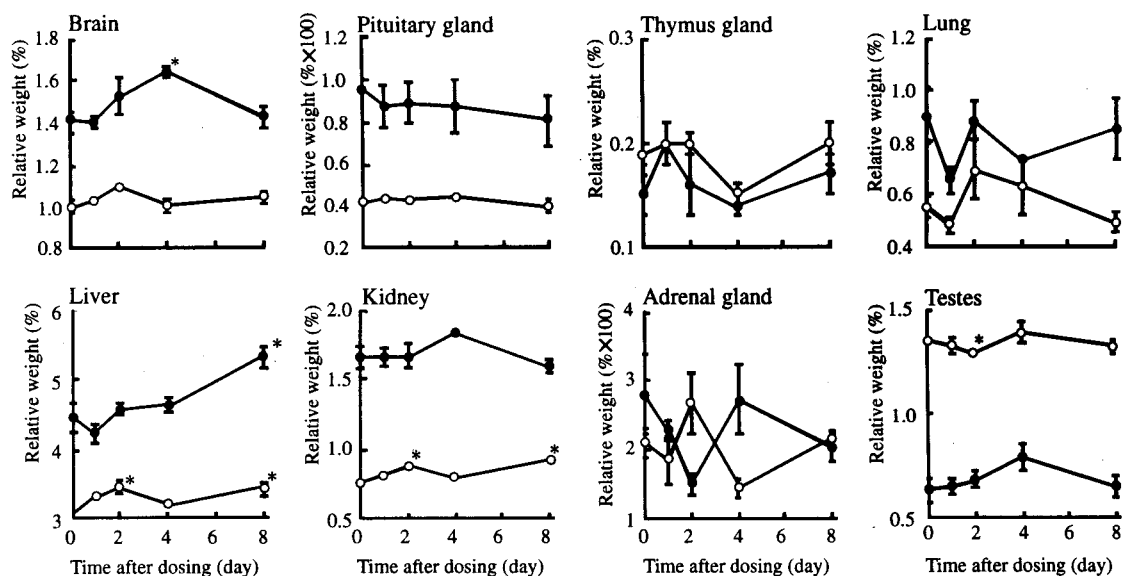


Fig. 7. Relative tissue weights after the administration of CB101 to rats and mice. Animals were given CB101 (342 µmol/kg) i.p. and killed at the appropriate times after the administration. Each point represents the mean ± S.E. (vertical bars) for two to four animals. * $P < 0.05$, significantly different from the corresponding control. —○—: Rats, —●—: mice.

8 日目に肝臓重量の増加が認められた。また、CB132 をラットに投与すると、投与後 4、8 日に肺重量、2 日に肝臓重量、2~8 日に腎臓重量の増加が観察された (Fig. 8)。CB132 投与マウスでは、4 日から 5 日にかけて全例 (3 匹) が死亡した。この死亡前あるいは死亡時に、胸腺重量の低下、肺、肝臓、腎臓重量の顕著な増加が認められた。

マウスに CB101 投与後 1 日に、肝臓中未変化体濃度は最高となり、以後急激に減少した (Fig. 9)。この時、投与後 4 日にピークとなる 3-及び 4-MeSO₂ 代謝物の生成及び残存が認められた。一方、ラットに CB101 投与後、肝臓中未変化体濃度は、マウスに CB101 投与後の肝臓中未変化体濃度より低く、ラットの肝臓中 3-及び 4-MeSO₂ 代謝物の生成もマウスの肝臓中両 MeSO₂ 代謝物濃度に比べ低かった。また、ラット、マウスに CB132 を投与すると、CB101 投与時の肝臓中未変化体及び 3-及び 4-MeSO₂ 代謝物濃度と類似した結果が観察された (Fig. 10)。CB132 投与後、マウスの肝臓中未変化体濃度は 2 日目から急激に減少した。一方、肝臓中 3-及び 4-MeSO₂ 代謝物はマウスの死亡時まで生成量の増加が認められた。

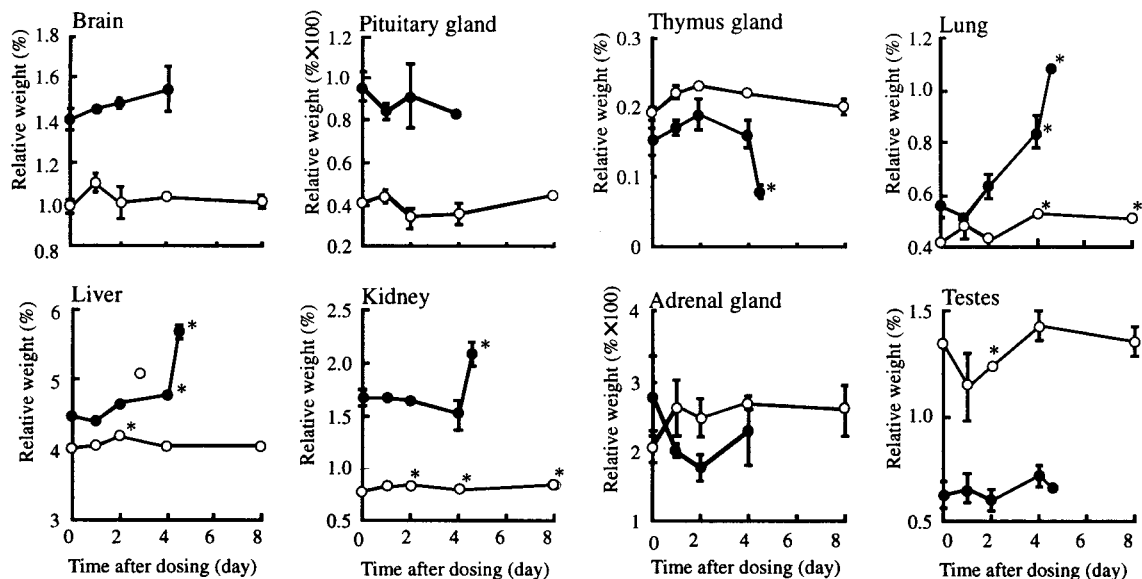


Fig. 8. Relative tissue weights after the administration of CB132 to rats and mice. Animals were given CB132 (342 μmol/kg) i.p. and killed at the appropriate times after the administration. Each point represents the mean \pm S.E. (vertical bars) for two to four animals. * P <0.05, Significantly different from the corresponding control. —○—:Rats, —●—:mice.

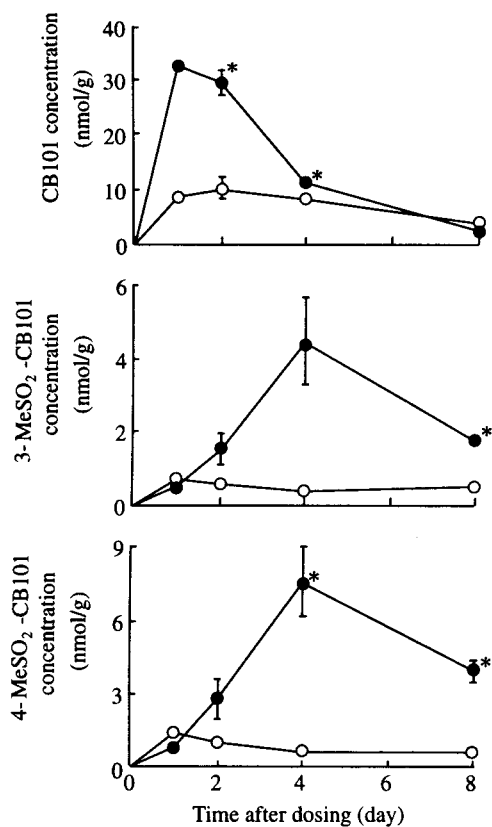


Fig. 9. Time courses of liver concentrations of CB101, and its 3- and 4-MeSO₂ metabolites after the administration of CB101 to rats and mice. The experimental conditions were the same as described in the note to Fig. 7. Each point represents the mean \pm S.E. (vertical bars) for one to three animals. * P <0.05, significantly different from the corresponding value of rats. —○—:Rats, —●—:mice.

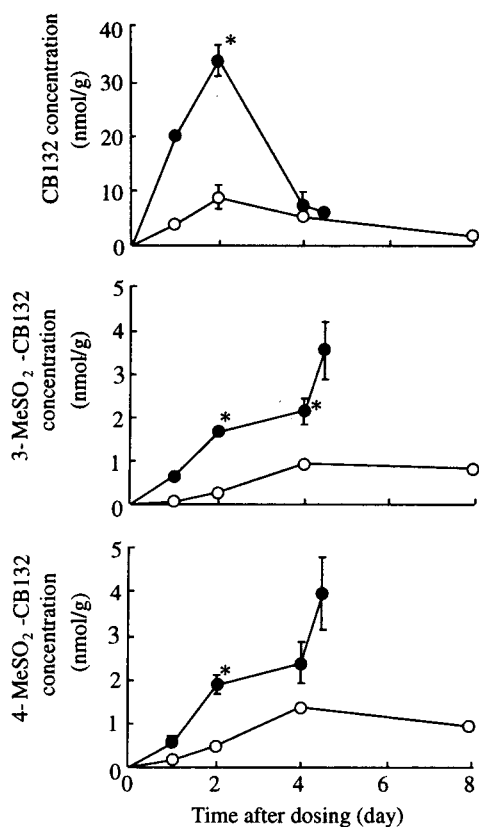


Fig. 10. Time courses of liver concentrations of CB132, and its 3- and 4-MeSO₂ metabolites after the administration of CB132 to rats and mice. The experimental conditions were the same as described in the note to Fig. 8. Each point represents the mean \pm S.E. (vertical bars) for one to three animals. * P <0.05, significantly different from the corresponding value of rats. —○—:Rats, —●—:mice.

両動物に CB101 投与後 8 日迄の、投与量に対する未変化体の糞中排泄量の割合は、ラットでは 1.9%、マウスでは 0.74%であった (Fig. 11)。また、CB101 の 3-MeS 代謝物の糞中排泄割合は、ラットでは 0.3%、マウスでは 0.6%であった。一方、4-MeS 代謝物の排泄割合は、ラットでは 2%、マウスでは 1.3%であり、3-MeS 代謝物よりかなり多かった。また、マウスにおける CB101 の 3-及び 4-MeSO₂ 代謝物の排泄割合は、ラットの場合より 5~15 倍多く、それぞれ 0.1、0.23%であった。一方、両動物に CB132 投与後、投与量に対する未変化体の糞中排泄量の割合は、ラットでは 0.26% (8 日迄)、マウスでは 0.48% (死亡時迄)であった (Fig. 12)。ラットにおける CB132 の両 MeS 代謝物の糞中排泄割合は、マウスのそれらより大きかったが、両 MeSO₂ 代謝物の排泄は、マウスにおいてラットより 48 時間先行していた。また、ラット、マウスに各 PCB 投与において、糞中に MeSO 代謝物の排泄は、観察されなかった (Figs. 11 and 12)。

ラット、マウスに CB101 を投与すると、BROD、PROD 及び EROD 活性は有意に増加し、投与後 8 日にこれら 3 種の酵素活性は、ラットではそれぞれ 34 倍、16 倍及び 1.7 倍に、マウスではそれぞれ 11 倍、6 倍及び 1.3 倍になった (Fig. 13)。ラットに CB132 を投与すると、BROD 及び PROD 活性は 1 日目及び 4 日目に 2 相性の有意な増加が認められ、マウスに CB132 を投与すると、両酵素活性は 4 日目に最大になった (Fig. 14)。両動物において、CB132 投与では EROD 活性の増加は認められなかった。

ラットにいずれの PCB 投与においても、CP を基質とした時の UDP-GT 活性は、投与後 2~8 日に有意な増加が認められた。また、4-NP を基質とした時のラットの UDP-GT 活性は CB101 投与後 8 日に、CB132 投与後 1 日にわずかに上昇した。一方、マウスに各 PCB を投与した時には、両基質の UDP-GT 活性に変化が認められなかった。

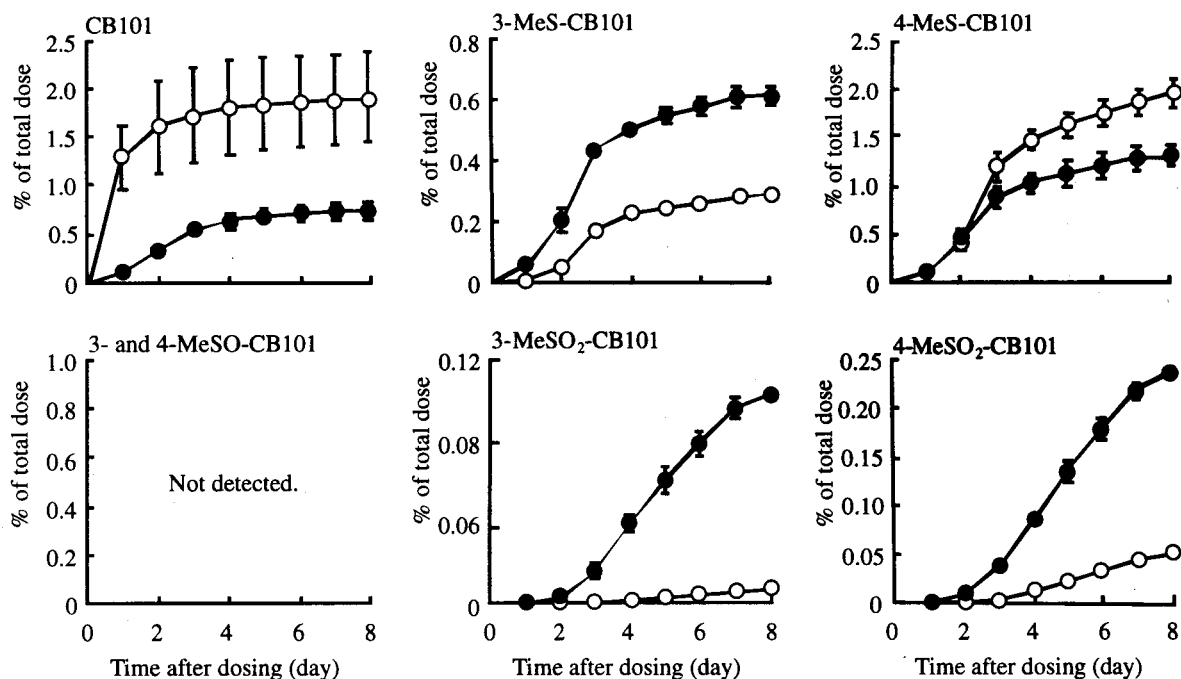


Fig. 11. Fecal excretions of CB101 and its sulfur containing metabolites after the administration of CB101. Animals were given CB101 (342 μ mol/kg) i.p. and killed 8 days after the administration. Each point represents the mean \pm S.E. (vertical bars) for two to three animals. —○—Rats, —●—mice.

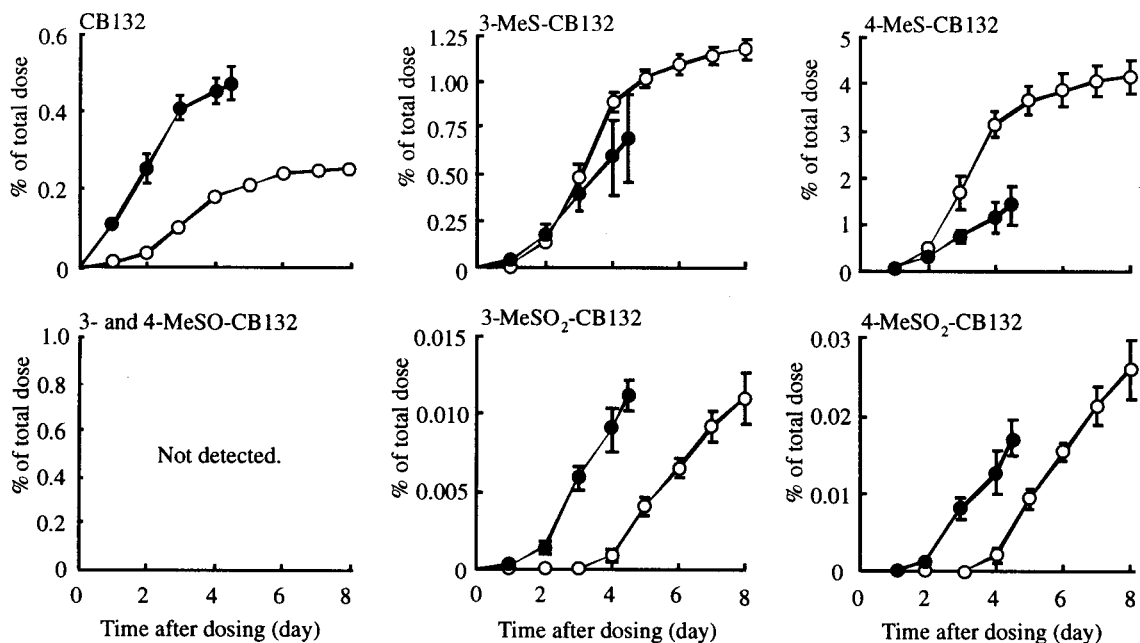


Fig. 12. Fecal excretions of CB132 and its sulfur containing metabolites after the administration of CB132. Animals were given CB132 (342 $\mu\text{mol/kg}$) i.p. and killed 8 days after the administration. Each point represents the mean \pm S.E. (vertical bars) for three animals. \circ —:Rats, \bullet —:mice.

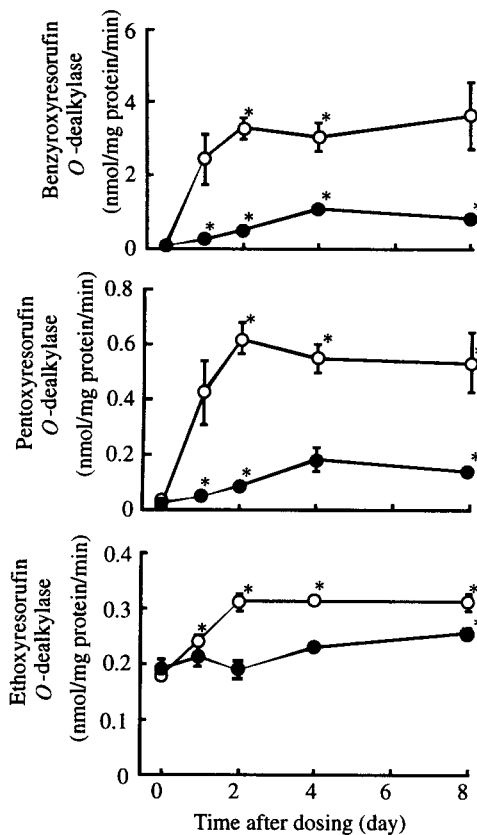


Fig. 13. Effects of CB101 on the activities of drug-metabolizing enzymes of hepatic microsomes in rats and mice. The experimental conditions were the same as described in the note to Fig. 7. Each point represents the mean \pm S.E. (vertical bars) for one to four animals. * $P < 0.05$, significantly different from each control. \circ —:Rats, \bullet —:mice.

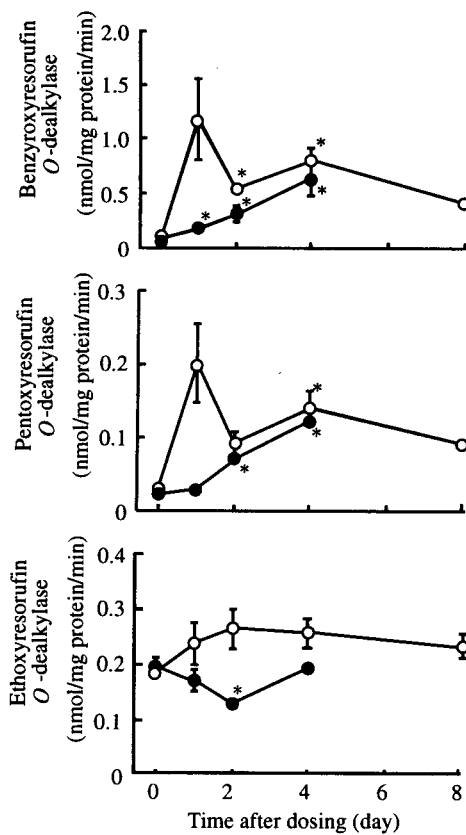


Fig. 14. Effects of CB132 on the activities of drug-metabolizing enzymes of hepatic microsomes in rats and mice. The experimental conditions were the same as described in the note to Fig. 8. Each point represents the mean \pm S.E. (vertical bars) for one to four animals. * $P < 0.05$, significantly different from each control. \circ —:Rats, \bullet —:mice.

ラットに CB101 を投与した時、CDNB を基質に用いた total GST 活性は、わずかな上昇を示したが、CB132 を投与した時、この活性には変化が認められなかった。マウスに各 PCB を投与すると、この GST 活性は上昇傾向を示した。ラット、マウスに各 PCB を投与した時、DCNB を基質に用いた mu class の GST 活性は、ラットよりマウスに顕著な上昇が認められた。また、EPNP を基質に用いた pi class の GST 活性は、各 PCB 投与により、マウスにのみ有意な上昇あるいは上昇傾向が認められた。しかし、EA を基質に用いた GST 活性は、両動物に各 PCB 投与において変化は認められなかった。

D. 考察

1) MeSO₂-PCBs の甲状腺ホルモン量の低下作用メカニズムの解明

7 種類の 3-MeSO₂ 誘導体 20 μmol/kg を 4 日間連続投与すると、総 cytochrome P450 量、PROD (CYP2B1/2) 活性は、既報 (Kato *et al.*, *Chem.-Biol. Interact.*, **95**, 257-268 1995, Kato *et al.*, *Chem.-Biol. Interact.*, **95**, 269-278 1995, *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, **3**, 137-144 1997) の単回投与の増加割合を上回る増加、及び PB に類似した誘導パターンを示した。また、これらの 3-MeSO₂ 誘導体は、CP(UGT2B1)-、4-NP(UGT1A6)-、4-MU(UGT1A6)- 及び T₄-UDP-GT 活性を有意に増加した。これらの結果は、3-MeSO₂-PCBs が第 1 相薬物代謝酵素の PB 型誘導剤であることを支持している。さらに、3-MeSO₂-PCBs が第 2 相薬物代謝酵素、UDP-GT の内、UGT2B1 (phenobarbital-inducible UGT) に加え、UGT1A6 (phenol UGT) を誘導することを示すものである。

一方、4-MeSO₂-CB101 及び 4-MeSO₂-CB149 の 2 つの 4-MeSO₂ 誘導体は、20 μmol/kg を 4 日間連続投与した場合でも、単回投与の場合と同様に、総 cytochrome P450 量、PROD 及び EROD 活性に変化を示さなかった。4-MeSO₂-CB149 は CP-UDP-GT 活性にわずかな増加を

示したが、4-NP-、4-MU- 及び T₄-UDP-GT 活性には変化を示さなかった。しかし、4-MeSO₂-CB101 は、CP、4-NP- 及び 4-MU-UDP-GT 活性を増加し、UGT2B1 及び UGT1A6 を誘導することが明らかとなった。

MeSO₂-PCBs 投与後の血清中 TSH 濃度 (最終投与後 3 日) と肝総 cytochrome P450 量、PROD (CYP2B1/2) 及び CP-UDP-GT (UGT2B1) 活性 (最終投与後 7 日) との間に、有意な相関が認められた。この結果は、MeSO₂-PCBs による血清中 TSH 濃度の変動に、PB 誘導性 cytochrome P450 分子種 (CYP2B1/2) 及び UDP-GT 分子種 (UGT2B1) が関与していることを示唆している。

9 種類の MeSO₂-PCB の血清中甲状腺ホルモン濃度に対する影響と肝薬物代謝酵素誘導との関係について検討したところ、4-MeSO₂-CB149 を除いた MeSO₂-PCBs 投与後の血清中 T₄ 濃度 (最終投与後 2 日) と 4-NP- 及び 4-MU-UDP-GT (UGT1A6) 活性 (最終投与後 7 日) との間に、有意な相関が認められた。T₄ を代謝する UDP-GT の分子種は、UGT1A1 及び UGT1A6 であることから、血清中 T₄ 濃度と T₄-UDP-GT 活性との関係を検討した。4-MeSO₂-CB149 を除いた MeSO₂-PCBs を投与した後の血清中 total T₄ 濃度と T₄-UDP-GT 活性との間に、有意な相関が認められた。この結果は、3-MeSO₂-PCBs と 4-MeSO₂-CB101 は、肝臓の UGT1A1 及び UGT1A6 を誘導して T₄ の代謝を亢進し、グルクロン酸抱合された T₄ が胆汁排泄されることにより、血清中 T₄ 濃度の低下を引き起こすことを示している。また、4-MeSO₂-CB149 投与後の血清中 T₄ 濃度の低下は、他の MeSO₂ 誘導体とは異なり、甲状腺に直接作用することがその主因である可能性がある。

2) PCB の代謝パターンと PCB 投与による肝薬物代謝酵素活性の変動の差

ラットとマウスでは、CB101 投与後の脳、胸腺、腎臓及び副腎重量の増加程度が異なる傾向があった。一方、CB132 投与の場合には

マウスの胸腺、肺、肝臓、腎臓及び副腎重量はラットと異なる異常な増加あるいは減少が認められた。

CB101 及び CB132 投与後、肝臓中未変化体濃度の減少、3-及び 4-MeSO₂ 代謝物濃度の増加に、ラット、マウス間に明らかな差異が認められた。両動物に CB101 投与後、マウスにおける肝臓中 3-及び 4-MeSO₂ 代謝物濃度は、ラットのそれより高いことは、マウスにおける糞中両 MeSO₂ 代謝物の排泄量が、ラットのそれらより多いことと一致し、CB101 の 3-及び 4-MeSO₂ 代謝物の生体内での生成は、ラットよりマウスの方がかなり多いと考えられる。また、CB132 投与マウスにおける肝臓中両 MeSO₂ 代謝物濃度の急激な増加は、経時的な両 MeSO₂ 代謝物の糞中排泄量の増加と一致している。また、CB132 投与マウスは全て死亡したことから、CB132 のマウスへの毒性は強いが、肝臓中 MeSO₂ 代謝物濃度の上昇が、死亡を引き起こした原因と深く関連しているものと推察される。

CB101 及び CB132 投与後、BROD 及び PROD 活性の上昇は、いずれもマウスよりラットにおいて顕著であった。また、各 PCB 投与後、UGT2B1 及び UGT1A6 活性の変動には、ラット、マウス間において明らかな違いが認められた。さらに、両動物に各 PCB を投与した時、DCNB(mu class)及び EPNP(pi class)を基質にした GST 活性は、それらの上昇割合に、ラット、マウス間に違いが認められた。

以上の結果から、ラット、マウスに CB101 及び CB132 を投与すると、組織重量の変化、未変化体及び MeSO₂ 代謝物の肝臓中濃度及び糞中排泄量に、ラット、マウス間に差異が認められることが明らかとなった。さらに、各 PCB 投与後の BROD 及び PROD 活性、UGT2B1 及び UGT1A6 活性、mu class 及び pi class の GST 活性の変動に、ラット、マウス間に違いがあることが明らかになった。

E. 結論

7 種類の 3-MeSO₂-PCBs 及び 4-MeSO₂-CB101 は、UGT1A1 及び UGT1A6 を誘導することにより、血清中 T₄ の代謝を亢進し、血清中 T₄ 濃度の低下を引き起こすことが明らかとなった。一方、4-MeSO₂-CB149 による血清中 T₄ 濃度の低下は、甲状腺に直接作用することがその主因である可能性がある。

CB101 及び CB132 を投与後、MeSO₂ 体への代謝パターンには、ラット、マウス間で違いがあることが明らかとなった。また、CB101 及び CB132 投与による肝薬物代謝酵素 (BROD 及び PROD 活性、UDP-GT (UGT2B1 及び UGT1A6) 活性、GST (mu class 及び pi class)) 誘導にも、ラット、マウス間に種差があることが明らかになった。

今後、PCB 及び MeSO₂-PCB 投与後の肝臓中 MeSO₂ 体量及び肝薬物代謝酵素誘導に関するデータを、副腎及び精巣の生殖機能に関わる各種ステロイドホルモン合成酵素活性の変動及びその合成酵素遺伝子の発現量に関するデータと照合し、それらの変動の種差と各動物における内分泌かく乱との関連性を追求する予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Yoshihisa Kato, Koichi Haraguchi, Tomoo Shibahara, Yasuhiko Shinmura, Yoshito Masuda, Masakuni Degawa and Ryouhei Kimura. Induction of hepatic microsomal UDP-glucuronosyl transferase by methylsulfonyl metabolites of polychlorinated biphenyl congenere in rats. *Organohalogen Compounds*, **42**, 337-340 (1999).
2. Yoshihisa Kato, Kouichi Haraguchi, Tomoo Shibahara, Shinya Yumoto, Yoshito Masuda and Ryouhei Kimura. Reduction of serum thyroxine concentrations by methylsulfonyl metabolites of tetra, penta and hexachlorinated biphenyls in male Sprague Dawley rats. *Chemosphere*, **40**, 1233-1240 (2000).
3. Yoshihisa Kato, Koichi Haraguchi, Tomoo Shibahara, Yasuhiko Shinmura, Yoshito Masuda and Ryouhei Kimura. The induction of hepatic microsomal UDP-glucuronyl-

transferase by the methylsulfonyl metabolites of polychlorinated biphenyl congeners in rats. *Chem. -Biol. Interact.*, **125**, 107-115 (2000).

2. 学会発表

1. Yoshihisa Kato, Koichi Haraguchi, Tomoo Shibahara, Yasuhiko Shinmura, Yoshito Masuda, Masakuni Degawa and Ryouhei Kimura. Induction of hepatic microsomal UDP-glucuronosyltransferase by methylsulfonyl metabolites of polychlorinated biphenyl congenere in rats. 19th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs (Venice, Italy), 1999, Sep. 13.
2. 加藤善久, 湯本信也, 新村康彦, 木村良平, 原口浩一, 増田義人 : 2,2',4',5-

Tetrabromobiphenyl のメチルスルホン代謝物の薬物代謝誘導効果. 第 25 回環境トキシコロジーシンポジウム・第 3 回衛生薬学フォーラム合同大会(名古屋), 講演要旨集, p.118, 1999 年 10 月 21 日.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし