

有機塩素化合物の代謝に関する研究 (第1報)

p, p'-DDT および PCB の投与におけるラットの生体内分布

Studies on the Metabolism of Organo-chlorinated Compounds (Part I) Distribution in Rats after Administration of p, p'-DDT and Polychlorinated Biphenyls

山本 勇夫 河井 保人
堀 義宏 設 楽 泰 正

Isao Yamamoto, Yasuhito Kawai,
Yoshihiro Hori and Yasumasa Shitara

緒 言

現在、農薬や PCB などによる食品汚染、環境汚染が大きな社会問題となっている。食品中、これら有害物質の残留量が微量であっても長期間摂取することにより徐々に体内の組織や臓器に蓄積され、人体の健康に障害が起こる可能性がある。特に有機塩素化合物はいったん体内に入ると残留、蓄積しやすく慢性中毒の原因になるといわれている。

著者らは p, p'-DDT と、PCB の成分である 4, 4'-Dichlorobiphenyl および 3, 4, 3', 4'-Tetrachlorobiphenyl をラットに投与してこれらの有機塩素化合物が生体内でどのように分布蓄積するかを知る目的で実験を行なった。また、体重、臓器重量、血清中の乳酸脱水素酵素、トランスアミナーゼ活性値への影響について試験した。その結果、若干の知見を得たのでここに報告する。

実 験 方 法

1) 実験動物

実験に用いたのは生後45日(体重113~116g)の Wister 系の雄ラットで、実験前1週間発育順調なことを確かめた後、1匹ずつ別のケージに入れ各群6匹ずつ10群にランダムに分けた。

2) 薬剤の投与

投与薬剤は p, p'-DDT (和光純薬 K.K., 残留農薬試験用純度99.7%), 4, 4'-Dichlorobiphenyl (以下 DCB と略す), 3, 4, 3', 4'-Tetrachlorobiphenyl (以下 TCB と略す) (いずれもガスクロ工業 K.K.) を用いた。投与方法は薬剤を1回の投与量 0.2 ml 中に 10 mg/kg/day になるようにオリーブ油に溶解し、毎日1回定時(日曜日は除

く)に胃ゾンデを使って強制的に胃腔内に投与した。ただし対照群はオリーブ油のみ 0.2 ml 投与した。また、固形飼料(オリエンタル酵母 K. K., 繁殖用固形配合飼料)、水は自由に摂取させた。投与量は5日に1回、体重の測定結果より補正し、投与期間は1日および30日について試験した。

3) 体重および臓器重量

体重は毎日薬剤投与時に測定した。臓器重量は薬剤投与24時間後に動物をクロロホルムで麻酔した後、開胸して心臓穿刺により放血して致死させ、ただちに解剖して脳、心臓、脾臓、腎臓、肝臓、肺臓を摘出して各臓器の重量を測定した。同時に筋肉、腸(管内の内容物は除く)、皮膚(毛を含む)を摘出して以後の分析に供した。

4) 血清中の Lactic Dehydrogenase (LDH), Glutamic Oxaloacetic Transaminase (GOT), Glutamic Pyruvic Transaminase (GPT)

の活性値の測定

LDH はジニトロフェニールヒドラジン発色法²⁾により測定し、単位は、LDH 単位/ml で示した。トランスアミナーゼは Reitman Frankel 法³⁾で測定し、Karmen 単位/ml で示した。

5) 臓器組織より DDT および PCB の抽出

DDT は臓器組織 5 g (5 g 以下のものは全量)を無水硫酸ナトリウム 50 g と共に乳針中ですりつぶした後、n-ヘキサン 100 ml で5時間ソックスレー抽出を行ない、脱水後、約 10 ml に濃縮した。以下 FDA の Pesticide Analytical Manual⁴⁾に準じてアセトニトリル分配、フロリジルカラムクロマトグラフィーによるクリーンアップを行ない、ガスクロマトグラフィー用検液とした。PCB も同様に臓器組織 5 g を秤量し、アルカリケン化法⁵⁾によ

って抽出し、シリカゲル（ワコーゲルS-1）によるクリーンアップを行なった。

6) ガスクロマトグラフィーの測定条件

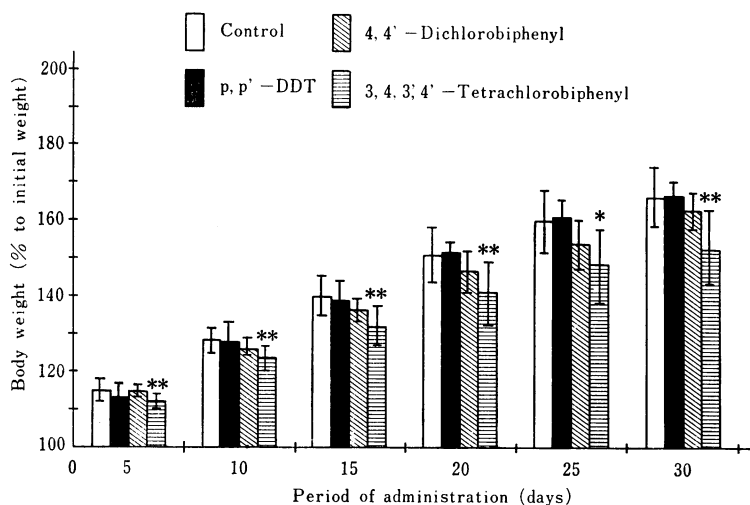
ECD 付島津 GC-5 A (⁶³Ni) の機種を用い、ガラスカラム：φ 3mm×2m, 充てん剤：1.5% OV-17/Shimalite W (60~100メッシュ)および2% QF-1/Chromosorb G AW-DMCS (60~100メッシュ)を用いた。

実験結果および考察

1) DDT および PCB 投与による体重、臓器重量の変動

体重の変動は実験開始時の体重を100とし、これに対して5日毎の体重の増加率で示した。結果を Fig. 1 に示した。

Fig. 1. Body Weight Gain of Rats after Oral Administration of DDT and PCB.



Significantly different from control group, *P<0.10, **P<0.05 by the Student's t test.

Table 1. Organ Weight (% to Body Weight) of Rats after 30 Days.

Organ Treatment	Brain	Heart	Spleen	Kidney	Liver	Lung
Control	0.80±0.05	0.28±0.01	0.18±0.03	0.82±0.04	4.43±0.17	0.40±0.06
p,p'-DDT	0.80±0.04	0.28±0.01	0.20±0.01	0.82±0.02	5.10±0.20*	0.40±0.02
4,4'-Dichlorobiphenyl	0.76±0.03	0.28±0.01	0.19±0.01	0.83±0.04	4.55±0.34*	0.37±0.02
3,4,3',4'-Tetrachlorobiphenyl	0.79±0.05	0.27±0.02	0.19±0.02	0.89±0.06	5.15±0.29*	0.35±0.01

Values are mean±S. D. for 6 rats.

Significantly different from control group, *P<0.01 by the Student's t test.

対照群と薬剤投与群とを比較すると、DDT 投与群との間にはほとんど差が認められないが、DCB 投与群ではやや減少の傾向がみられる。TCB 投与群では投与開始5日目より明らかな差異が認められた。Table 1 は30日投与後の臓器重量を対体重百分率で示したものである。

肝臓においては薬剤投与群はいずれも対照群に比べて増大している。肝臓以外の臓器では対照群との間にほとんど差が認められない。カネミ油症研究班の研究報告によると Wister 系ラットを用いてカネクロール 400 を 50 mg/day の割合で13日間連続経口投与すると肝臓の対体重比が増加したと述べている⁹⁾。一方、Litterst ら¹⁰⁾はアロクロール 1242, 1248, 1254および1260を混ぜた飼料を用いてラット

を28日間飼育した結果、50 ppm の飼料ではアロクロールの Cl 含量48%以上で肝重量の増大が認められた。しかし 5 ppm の飼料ではいずれも変わりなかったと報告している。

2) 乳酸脱水素酵素およびトランスアミナーゼ活性値の測定

血清中の酵素活性値の測定結果を Table 2 に示す。

1日投与において薬剤投与群の LDH, GOT の平均値が低く、GPT は TCB 投与群が高くなっているが、いずれも偏差が大きく有意の差は認められない。30日投与においても対照群と薬剤投与群との間に著明な差は認められなかった。

Table 2. Activities of Lactic Dehydrogenase, Glutamic Oxaloacetic Transaminase and Glutamic Pyruvic Transaminase in Serum of Rats.

Period of administration	Enzymes		LDH (U/ml)	GOT (U/ml)	GPT (U/ml)
	Treatment				
1 day	Control		349 ± 112	94.6 ± 12.4	20.4 ± 3.9
	p, p'-DDT		372 ± 217	89.4 ± 16.7	20.4 ± 3.4
	4, 4'-Dichlorobiphenyl		323 ± 92	83.0 ± 15.3	20.4 ± 2.7
	3, 4, 3', 4'-Tetrachlorobiphenyl		275 ± 36	89.7 ± 10.7	24.7 ± 7.8
30 days	Control		246 ± 47	82.3 ± 11.6	26.2 ± 3.8
	p, p'-DDT		183 ± 51	73.3 ± 7.3	24.3 ± 2.7
	4, 4'-Dichlorobiphenyl		284 ± 29	79.2 ± 5.2	22.5 ± 1.2
	3, 4, 3', 4'-Tetrachlorobiphenyl		260 ± 40	79.8 ± 6.5	29.5 ± 2.0

Values are mean ± S. D. for 6 rats.

Table 3. Recovery of Chemicals Added to Tissues and Organs of Rats.

Tissue or Organ	p, p'-DDT	p, p'-DDD	p, p'-DDE	o, p'-DDT	4, 4'-Di-chloro-biphenyl	3, 4, 3', 4'-Tetra-chloro-biphenyl
Brain	92%	92%	90%	88%	74%	80%
Heart	92	92	90	91	70	79
Spleen	85	85	84	81	76	88
Kidney	89	89	87	85	79	88
Liver	85	90	86	85	74	84
Lung	92	86	86	83	80	94
Muscle	85	87	86	83	71	86
Intestines	92	96	94	91	74	81
Skin	92	92	94	94	80	91

3) DDT および PCB の添加回収実験

各薬剤 5 μg を臓器組織 5 g に添加して回収率を求めた。結果を Table 3 に示した。

DCB の回収率はやや低い。他の薬剤では80%以上の回収率が得られた。

4) p, p'-DDT とその代謝物の体内分布

p, p'-DDT 1日投与群の各臓器組織における p, p'-DDT, p, p'-DDD および p, p'-DDE の分布を Fig. 2 に示し、30日投与群については Fig. 3 に示した。また、p, p'-DDT 30日投与群の肝臓および肺臓抽出物のガスクロマトグラムを Fig. 4 に示した。

1日および30日投与群の各臓器組織において p, p'-DDT, p, p'-DDD および p, p'-DDE が検出された。しかし、o, p'-DDT はいずれの臓器組織においても認められなかった。Fig. 2 および Fig. 3 で示されたように分布の割合は、肝臓以外の各臓器は肺臓と類似のパターンを示し、p, p'-DDT が total DDT (p, p'-DDT, p, p'-DDD および p, p'-DDE) の約90%を占めているのに対し、肝臓では p, p'-DDD が p, p'-DDT より多く分布している。p, p'-DDT については1日および30日投与群ともに皮膚に多く分布し、他の臓器では皮膚の1/2以下で脳、心臓、脾

臓、腎臓、肝臓等は特に低かった。各臓器組織について1日投与群と30日投与群を比較すると、30日投与群ではより多く蓄積が認められ、肺臓、筋肉、腸および皮膚は4~6倍の蓄積が見られた。また、p, p'-DDD および p, p'-DDE についても蓄積量は低いが p, p'-DDT と同様の傾向を示した。

なお、対照群では p, p'-DDT, p, p'-DDD, p, p'-DDE はいずれも検出されなかった。以上の結果から p, p'-DDT および p, p'-DDE は p, p'-DDT の代謝物であると考えられる。ラットによる実験で p, p'-DDT から p, p'-DDD への代謝と p, p'-DDE への代謝の報告がなされている⁸⁾⁹⁾。また、p, p'-DDT から p, p'-DDD への代謝部位については、肝臓という説⁸⁾¹⁰⁾と腸内細菌による腸管内とする説¹¹⁾とがある。著者らの実験結果から腸管では DDT 同族体の中で p, p'-DDT の比率が高く、肝臓では p, p'-DDD の比率が高かった。代謝の部位については今後検討する必要があると思われる。

5) DCB および TCB の体内分布

DCB と TCB の1日および30日投与群の各臓器組織における分布を Fig. 5, Fig. 6 に示した。

DCB, TCB ともに各臓器組織への分布がみられ、p, p'-

Fig. 2. Distribution of p, p'-DDT and its Metabolites in Tissues and Organs of Rats after Single Administration of p, p'-DDT (10 mg/kg).

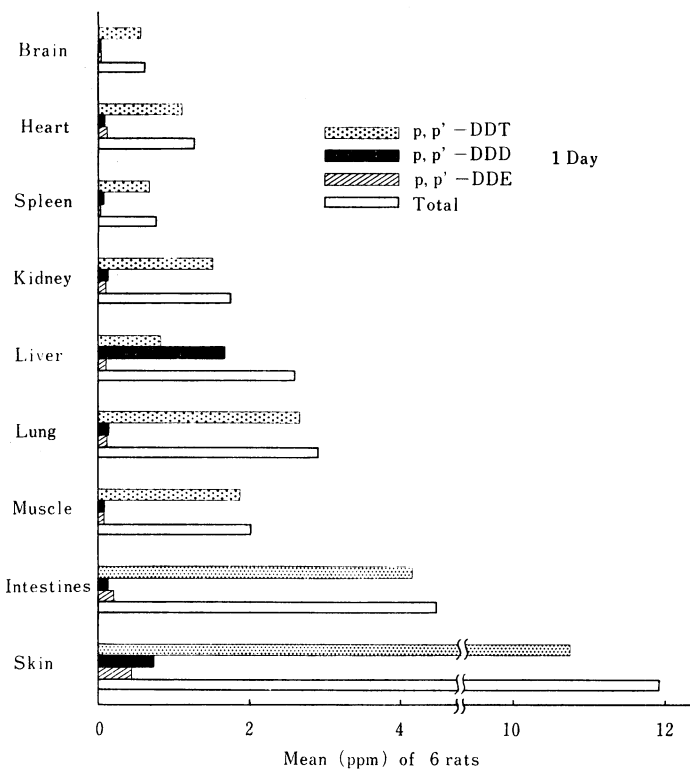


Fig. 3. Distribution of p, p'-DDT and its Metabolites in Tissues and Organs of Rats after Continulative Administration of p, p'-DDT (10 mg/kg/day)

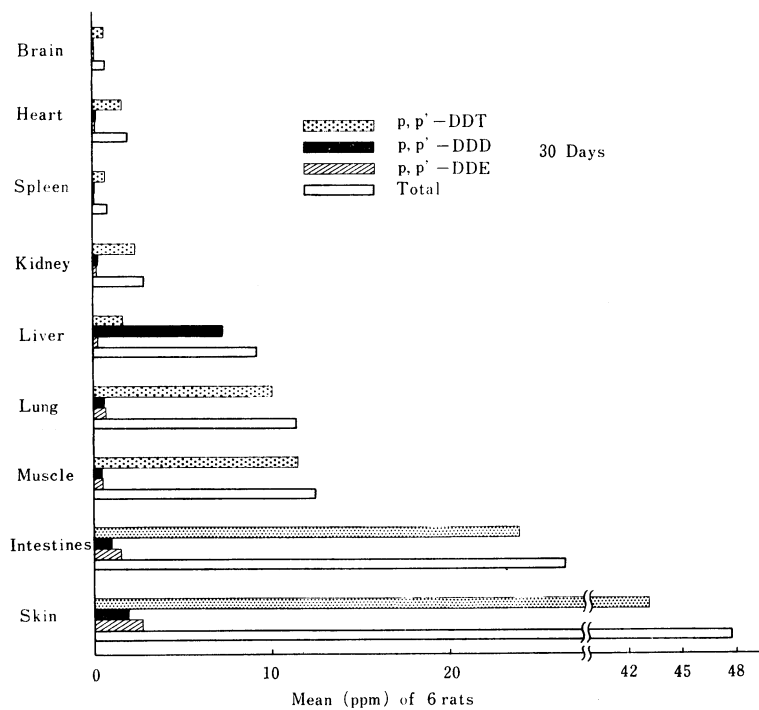


Fig. 4. Gas Chromatograms of Extracts from Organs of Rats Administrated with p, p'-DDT after 30 Days.

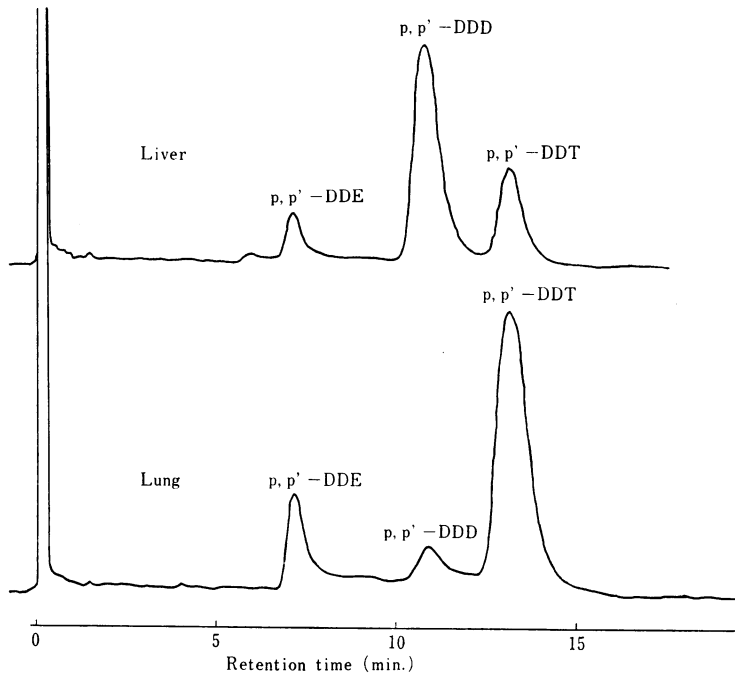


Fig. 5. Distribution of 4,4'-Dichlorobiphenyl in Tissues and Organs of Rats after Single and Continuative Administration.

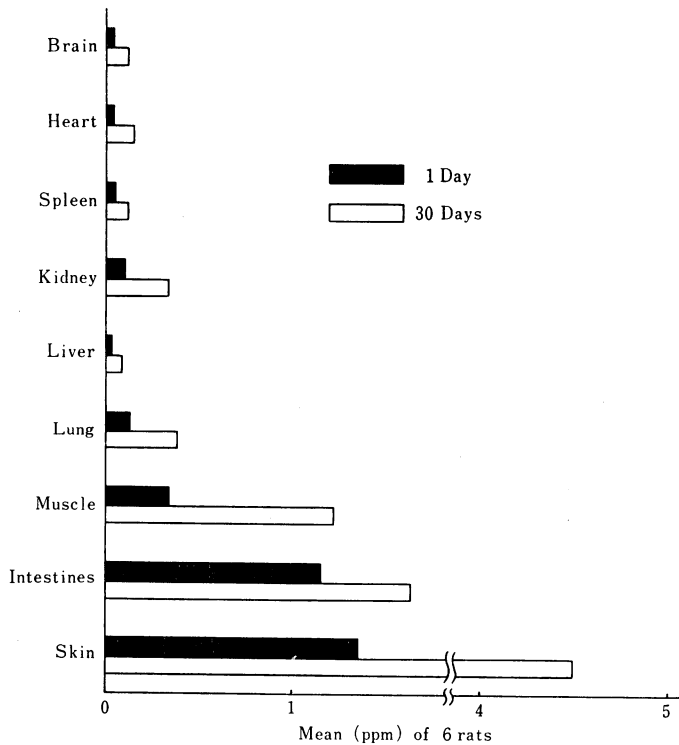


Fig. 6. Distribution of 3,4,3',4'-Tetrachlorobiphenyl in Tissues and Organs of Rats after Single and Continuative Administration.

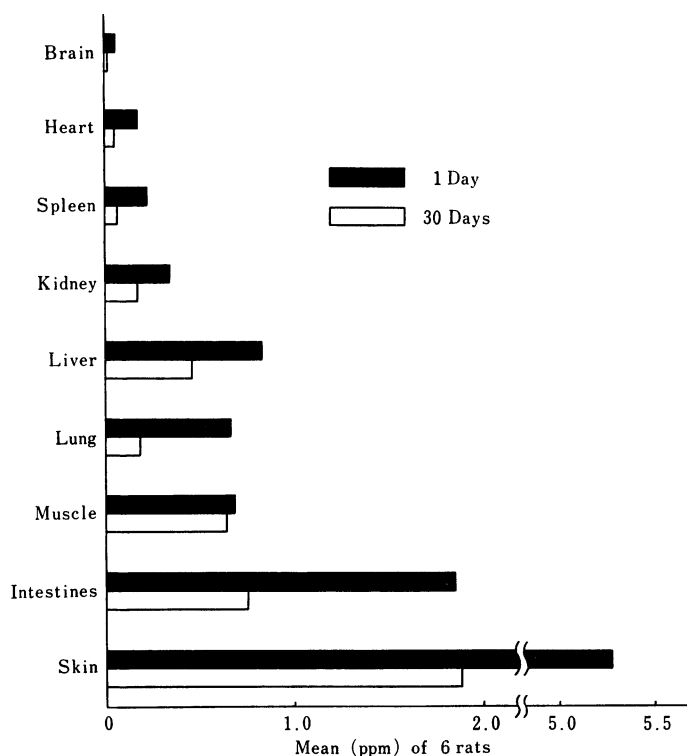


Table 4. Accumulated DDT or PCB, and their Ratios to Total Chemicals.

Period of Administration	Organs	Total DDT		4,4'-Dichlorobiphenyl		3,4,3',4'-Tetrachlorobiphenyl	
		Accumulation (μg)	Ratio (%)	Accumulation (μg)	Ratio (%)	Accumulation (μg)	Ratio (%)
1 Day	Brain	6.14	0.081	0.394	0.0045	0.579	0.0068
	Heart	3.61	0.048	0.116	0.0013	0.522	0.0061
	Spleen	1.68	0.022	0.103	0.0012	0.437	0.0051
	Kidney	14.52	0.192	0.855	0.0099	2.975	0.0348
	Liver	113.80	1.505	1.491	0.0172	41.454	0.4843
	Lung	12.45	0.165	0.566	0.0065	2.546	0.0297
	Intestines	130.50	1.726	30.856	0.3568	48.639	0.5682
	Total	282.70	3.739	34.381	0.3970	97.152	1.1350
30 Days	Brain	8.19	0.0032	1.214	0.00045	0.200	0.00008
	Heart	7.58	0.0029	0.560	0.00021	0.204	0.00008
	Spleen	2.31	0.0009	0.290	0.00011	0.168	0.00006
	Kidney	30.10	0.0120	3.791	0.00141	2.034	0.00077
	Liver	624.59	0.2406	5.468	0.00204	30.691	0.01158
	Lung	60.27	0.0232	1.938	0.00072	0.836	0.00032
	Intestines	669.06	0.2578	33.620	0.01255	14.098	0.00532
	Total	1,402.10	0.5406	46.881	0.01750	48.231	0.01820

Each value is total of 6 rats.

DDT と同様に皮膚が最も高く、次いで腸であった。脳、心臓、脾臓、腎臓等は低い値を示した。各臓器組織において p,p'-DDT 投与の場合と比較するといずれもかなり低い値を示した。これら臓器における分布の傾向は、ラットで種々の PCB 投与の場合にも同様の結果が報告されている¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾。

1日投与群と30日投与群を比較すると、DCB では30日投与群の方が約3倍多いが、TCB は逆に30日投与群の方が低い結果が得られた。DCB は蓄積性が認められたが、TCB は蓄積性があまり認められなかった。一般に PCB は Cl 量が多いと蓄積性が強いとされているが、著者らの実験結果および Curley らのラットの実験結果¹²⁾とは必ずしも一致していない。

これらの理由としては未変化体の腸管からの吸収性の相異とかモノヒドロキシン体¹⁵⁾¹⁶⁾の代謝速度の相異等が考えられる。

6) 薬剤投与量に対する臓器別蓄積量の割合

各臓器組織の湿重量当たりの蓄積量と薬剤投与量に対する割合を Table 4 に示した。

DCB および TCB は1日、30日投与群において腸、肝臓の蓄積が高く、total DDT も1日、30日投与群ともに腸、肝臓の分布が高かった。このうち、未変化体の p,p'-DDT の割合は前述のように肝臓には低く、腸に高い蓄積性が認められた。

結 語

雄ラットに p,p'-DDT, 4,4'-Dichlorobiphenyl (DCB) および 3,4,3',4'-Tetrachlorobiphenyl (TCB) を 10 mg/kg/day の割合で1日および30日間経口投与し、体重、臓器重量、血清酵素群への影響、体内分布、蓄積性について試験し、次の結果を得た。

1) 30日投与群において体重増加率は TCB 投与によって減少した。30日投与群では各薬剤の投与により肝臓の対体重比の増加が認められた。

2) 血清中の LDH, GPT および GOT の酵素活性値には各薬剤投与群において変化が認められなかった。

3) p,p'-DDT 投与群では、皮膚、腸に高く、脳、心臓、脾臓に低い分布が見られた。1日投与群より30日投与群の方が蓄積が多かった。各臓器組織に代謝物 p,p'-DDD および p,p'-DDE が見られ、肝臓では p,p'-DDD が特に高かった。

4) PCB 投与群では皮膚に多く分布し、各臓器組織において30日投与群は1日投与群よりも高かった。TCB 投与群では逆に30日投与群の方が1日投与群よりも低かった。

本研究に終始ご指導、ご鞭撻をいただいた道立衛生研究所森夫食品科学部長、長谷川恩疫学部長、唐島田隆細菌

科長並びに助言をいただいた上田正義研究員、佐藤秀男技師の諸氏に厚く感謝の意を表します。

文 献

- 1) 喜田村正次：食品衛生研究, 23, 571 (1972)
- 2) Cabaud, P. C. : Am. J. Clin. Pathol., 30, 234 (1958)
- 3) Reitman, S. and Frankel, S. : *ibid.*, 28, 56 (1957)
- 4) Pesticide Analytical Manual, Vol. 1 (1968)
- 5) 厚生省環境衛生局 PCB 分析研究班：分析方法に関する研究 (1972)
- 6) 永井諄爾他：福岡医誌, 62, 42 (1971)
- 7) Litterst, C. L. et al. : Toxicol. Appl. Pharmacol., 23, 112 (1972)
- 8) Peterson, J. E. and Robinson, W. H. : *ibid.*, 6, 321 (1964)
- 9) Datta, P. R. : Ind. Med. Surg., 39, 49 (1970)
- 10) Datta, P. R. : Science, 145, 1052 (1964)
- 11) Mendel, J. L. and Walton, M. S. : *ibid.*, 151, 1257 (1966)
- 12) Curley, A. et al. : Environ. Res., 4, 481 (1971)
- 13) 関田 寛他：食衛誌, 11, 36 (1970)
- 14) Grant, D. L. et al. : Bull. Environ. Contam. Toxicol., 6, 102 (1972)
- 15) Hutzinger, O. et al. : Sciences, 178, 312 (1972)
- 16) 吉村英敏, 山本弘明：福岡医誌, 65, 5 (1974)

Studies on the Metabolism of Organo-chlorinated Compounds (Part I)

Distribution in Rats after Administration of p,p'-DDT and Polychlorinated Biphenyls

Isao Yamamoto, Yasuhito Kawai,
Yoshihiro Hori and Yasumasa Shitara
(Hokkaido Institute of Public Health)

Recently organo-chlorinated compounds have contaminated our environment. DDT and PCB have similar toxicity and biochemical effects, but the mechanism of the actions has not been made clear. In order to obtain further information, the following experiments were undertaken.

p,p'-DDT, 4,4'-dichlorobiphenyl (DCB) and 3,4,3',4'-tetrachlorobiphenyl (TCB) were orally administered at 10 mg/kg/day to rats for 1 day and 30 days. A significant decrease in body weight gain was found in the TCB administered group. The ratios of liver weight to body weight were signifi-

cantly increased in all groups. The elevation of enzyme activities (LDH, GOT and GPT) in serum was not observed.

In the p,p'-DDT administered group, a high amount of p,p'-DDT was found in the skin and intestines, but in the brain, heart and spleen, it was at a small amount. Generally a higher amount of chemicals was accumulated in the continuously administered group than in the singly administered group. p,p'-DDE and p,p'-DDD which were considered

metabolites of p,p'-DDT were found in all organs, especially high amount of p,p'-DDD was found in liver.

In the DCB administered group, a high amount of DCB was found in the skin. The continuative administration of DCB resulted in higher organ concentrations than the comparable single administration. The reverse occurred however in the TCB administered group.