

氏名	太田 千穂
学位の種類	博士 (栄養科学)
学位記番号	博栄甲第 0001 号
学位授与の日付	平成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 (課程博士)
研究科専攻	栄養科学研究科 栄養科学専攻
学位論文題目	Study on the metabolism of the highly persistent heptachlorobiphenyls (高蓄積性七塩素化ビフェニルの代謝に関する研究)
主論文公表雑誌	Xenobiotica (第 35 巻, 第 4 号, 319 頁~330 頁, 2005 年)
論文審査委員	(主査) 藤田 守 (副査) 太田 英明 (副査) 古賀 信幸

論文内容の要旨

PCB は世界的環境汚染物質として知られているが、一般に、六塩素化体以上の高塩素化体になるとほとんど代謝されない。ところが、最近、ヒトを含めた哺乳動物血液中において、七塩素化ビフェニルの 4 - 水酸化(OH)体である 4-OH-PCB187 が高濃度存在することが報告された。この 4-OH-CB187 がどの PCB 異性体から生成されたのか不明であるが 2, 2', 3, 4', 5, 5', 6-heptachloro-biphenyl (heptaCB) (CB187) あるいは 2, 2', 3, 4, 4', 5', 6-heptaCB (CB183) が親 PCB であると考えられる。そこで本研究では、この点を明らかにするため、CB187 と CB183 の代謝について、まず、モルモット、ラットおよびハムスター肝ミクロゾーム(Ms)による *in vitro* 代謝を調べた。また、各 PCB 投与モルモットおよびラットにおいて血中および糞中代謝物を検索した。さらに、代謝に関与するチトクロム P450 (P450) 分子種を明らかにするため、P450 誘導剤である phenobarbital (PB) および 3-methylcholanthrene (MC) の影響を調べた。最後にヒト肝 Ms による *in vitro* 代謝についても検討した。なお、本研究は「中村学園大学(含む短期大学部)における動物実験のための指針」を遵守し実施した。

1. CB187 の *in vitro* 代謝: モルモット肝 Ms より 3 種類の代謝物が生成された。それらの化学構造を明らかにするために、10 数種類の標品を合成し、GC-MS データを比較したところ、3 つの代謝物は 4'-hydroxy(OH)- 2, 2', 3, 5, 5', 6-hexachlorobiphenyl (M-1)、4-OH-2, 2', 3, 3', 5, 5', 6-heptaCB (CB178) (M-2) および 4-OH-CB187 (M-3) であることが明らか

となった。また、4-OH-PCB 187 の生成活性には大きな動物種差があり、モルモット>ラット>ハムスターの順であった。さらに、いずれの動物でも CB187 の代謝は PB 前処理で促進され、特にモルモット肝では抗体による代謝阻害により、CYP2B18 が関与していることが明らかとなった。

2. CB183 の *in vitro* 代謝:動物肝 Ms により、2 種類の代謝物が生成された。GC-MS の結果、これらは 3'-OH-CB183 (M-1) と 5-OH-PCB183 (M-2) であることが明らかとなった。また、CB183 代謝はいずれの動物でも PB 前処理で促進された。しかしながら、4-OH-CB187 は CB183 から全く生成されなかった。

3. 血中代謝物の検索:CB187 投与モルモットおよびラットにおいて投与後 4 日目の血中に 4-OH-PCB187 が検出された。PB 前処理により両動物で 1.3~1.4 倍に増加したが、MC 前処理により、モルモットでのみ 35%にまで減少した。なお、その濃度はすべての群でラット>モルモットであった。一方、CB183 投与モルモットおよびラット血中において *in vitro* 代謝物の M-1 と M-2 が検出されたが、4-OH-PCB187 は検出されなかった。

4. 糞中代謝物の検索:4-OH-CB187 は、CB187 投与モルモットおよびラットにおいて投与後 4 日間の糞中には全く検出されなかった。また、CB183 投与の両動物糞中にも全く検出されなかった。

5. ヒト肝による *in vitro* 代謝:CB187 のヒト肝 Ms では 4'-OH-CB178 (M-2) および 4-OH-CB187 (M-3) が生成された。4-OH-CB187 は動物肝 Ms による代謝では、極微量しか生成されなかったのに対し、ヒト肝 Ms では主代謝物であった。

以上の結果より、高蓄積性 PCB 代謝物 4-OH-CB187 は CB187 からのみ生成され、CB183 からは生成されないことが、今回初めて明らかとなった。さらに、*in vivo* 代謝の結果、4-OH-CB187 は選択的に血中にのみ存在しており、糞中へは全く排泄されなかった。

論文審査結果の要旨

PCB は世界的環境汚染物質として知られているが、最近、ヒトなどの哺乳動物血液中において、七塩素化ビフェニル (heptaCB) の 4-水酸化 (OH) 体である 4-OH-CB187 が高濃度存在することが報告された。本代謝物は、2, 2', 3, 4', 5, 5', 6-heptaCB (CB187) あるいは 2, 2', 3, 4, 4', 5', 6-heptaCB (CB183) から生成される可能性が考えられる。本研究は、この 4-OH-CB187 がどの PCB 異性体から主に生成されるかを証明したものである。

① CB187 と CB183 の代謝について、モルモット、ラットおよびハムスター肝ミクロゾーム (Ms) による *in vitro* 代謝を調べた。いずれの動物でも CB187 から 3 種類の代謝物 (4'-OH-CB151、4'-OH-CB178、4-OH-CB187) が生成されたが、4-OH-CB187 の生成活性は、モルモット>ラット>ハムスターの順であった。一方、CB187 からは 2 種類の代謝物 (3'-OH-CB183、5-OH-PCB183) が生成されたが、4-OH-CB187 は全く検出されなかった。さらに、両 PCB の代謝はいずれの動物でも PB 前処理で促進されることから、CYP2B に属するチトクロム P450 の関与が明らかとな

った。

② 両PCB異性体をモルモットおよびラットに投与し、投与後4日目に血中および糞中代謝物を検索した。CB187投与モルモットおよびラット血中にかなり高濃度で4-OH-CB187が検出された。一方、CB183投与モルモットおよびラット血中において、4-OH-CB187は検出されなかった。さらに、4-OH-CB187は、CB187およびCB183を投与した両動物の糞中に全く排泄されていなかった。この結果から、4-OH-CB187はCB187投与動物のみから検出されたことから、*in vivo*代謝でもヒトでの報告のように、選択的に血中に保持されることが明らかとなった。

③ 購入したヒト肝MsによるCB187代謝では4-OH-CB187、CB183代謝では3'-OH-CB183が主代謝物であった。さらに、P450分子種特有の活性とPCB代謝活性の相関を見たところ、CYP2B6、CYP3A4およびCYP2C8の3種の関与が示唆された。これらの結果は、ヒトでの代謝パターンが他の動物と大きく異なることを示しており、非常に興味深い。

本論文は、高蓄積性 PCB の代謝物を新たに数種同定するとともに、代謝に関与する P450 分子種を小動物からヒトまで明らかにしたもので、本学の学位論文としては適格であると判断した。

最終試験結果の要旨

申請者に対して、以下の質問を行った。

1. PCB を含む他の有機塩素化合物の現在の環境汚染の状況について簡潔に説明せよ。
2. 研究テーマの CB187 と CB183 は PCB 製品中に何%位含まれているか。
3. なぜ、ある種の PCB と代謝物は高蓄積性であるのか、その機構を説明せよ。
4. ミクロゾーム (Ms) は細胞のどの部分をいうか
5. PCB 異性体は毒性の強さすわち TEF で評価されているが、これはどんな毒性を指標として決定されているか。
6. チトクロム P450 誘導剤として、phenobarbital と 3-methylcholanthrene を使用しているが、この理由はなぜか。
7. PCB 代謝物の分離に使用された GC カラムの DB-1 と SP2330 の違いを述べよ。
8. 血中に保持されやすい PCB 代謝物の構造は、4(or4') - OH 基をもち、両側に塩素置換されたものであるが、4-OH-CB187 と 4'-OH-CB178 では血中への分布が全く異なっている。この理由をどう考えるか。
9. ヒト肝 Ms の中に 1 人だけ代謝パターンが異なったが、これはどのように考えられるか。
10. ヒト P450 分子種の肝および他の組織での分布について説明せよ。
11. 研究テーマの CB187 と CB183 は肝細胞において、どのような形態学的な変化を起こすか述べよ。例えば、油滴などは見られるか。
12. PCB 代謝において、動物とヒトではかなり違っているが、今後の研究における動物実験の意義はどう考えるか。

1 3. 自分の研究の中で、ここはといえる点を述べよ。

審査結果

以上の研究内容、実験方法および分析方法などに関する質疑応答がなされ、申請者は質問に対してほぼ的確に回答された。

審査委員合議の結果、本論文の研究内容は新しい知見をもたらしたことにより、最終試験に合格したものと判定した。