報 文

PCB, DDT などの生理作用と非栄養的多糖類 摂取の影響について

桐山 修八*, 井上 幸子*, 町中 紀子*, 吉田 昭**

*徳島大学医学部栄養学科 **現在 名古屋大学農学部農芸化学科栄養化学教室

Effect of Addition of "Non-nutritive" Polysaccharides on Toxicity of Dietary Polychlorinated Biphenyls (PCB) and 1,1,1-Trichloro-2, 2-Bis (*p*-Chlorophenyl) Ethane (*p*, *p'*-DDT)

Shuhachi Kiriyaama*, Sachiko Inoue*, Toshiko Machinaka*, Akira Yoshida**

*Department of Nutrition, School of Medicine, Tokushima University, 3 Kuramoto-cho, Tokushima

**Laboratory of Nutritional Biochemistry, Department of Agricultural Chemistry,
Nagoya University, Chikusa, Nagoya

J. Jap. Soc. Food and Nutr., 26 (1), 15~25 (1973)

The growth rates, various organ weights and plasma and liver cholesterol levels were examined in rats fed diets containing various levels of PCB (Aroclor-1248) or *p,p'*-DDT. The effect of concurrent addition of konjac mannan, pectin, carboxymethyl cellulose, anion exchange resin (AG 2-X8, C1 form) or sodium cholate on these indices was also studied.

1. The growth rate in rats fed 0.2% PCB diet was about one-half that of the normal group. Any growth retardation did not occur when dietary PCB level was below 0.02%, but the animals died within 3-4 days when a 1% PCB diet was given.

2. Liver weight in rats received PCB was significantly increased in proportion to the dietary PCB level.

3. Spleen weight was decreased in PCB fed groups. There was little or no effect on the weight of heart, kidney and adrenal.

4. Plasma and liver cholesterol concentrations were significantly increased when fed PCB containing diets, being 1.5-2.2 times higher than that of the normal group with a distinct dose-response. The response in plasma cholesterol level was rapid and a significant difference was obtained only 2 days following the PCB feeding.

5. Concurrent addition of konjac mannan or pectin depressed the elevation in plasma cholesterol due to PCB intake, but could not improve hypertrophy or elevated cholesterol levels in the liver.

6. Concurrent addition of anion exchange resin did not depress the plasma cholesterol level.

7. Plasma triglyceride level which was significantly increased in rats fed a 0.2% PCB diet was depressed when 3% konjac mannan or pectin was concurrently supplemented to this diet.

The similar experiments were carried out at the dietary levels of 0.002, 0.02 or 0.2% *p,p'*-DDT, respectively.

8. Plasma cholesterol level was significantly increased in rats fed 0.2% DDT and did not increase at the lower DDT levels.

9. Concurrent addition of konjac mannan to the diet containing 0.02% DDT caused a significantly low plasma cholesterol level as compared with the value in rats fed 0.02% DDT diet. However, this depression was equivocal in another experiment.

10. 0.2% DDT level caused whole body convulsion, but the animals continued to grow although at a slower rate.

(Received July 10, 1972)

PCB は水に難溶で油脂、有機溶媒によくとけ、合成樹脂にもよくとける一方、化学的に非常に反応性に乏しく、安定な化合物で、難燃性、不乾性、高絶縁性などの特性により工業製品に広い応用範囲をもち、日常家庭用品にも使用され、われわれの身近に浸透してきている¹¹⁻¹³⁾。またこうした物理・化学的特性のため、自然界に放出された場合、長期間にわたって分解されずそのままの形で環境にひろがり、蓄積される。

一方、生物はこうした水に極度に溶けにくい化合物でも比較的効率よく吸収する反面、いったん体内にとりこんだ場合、これを効率よく排出するという機構はあまり発達していないようで、体内への一方的蓄積が起ってくる。こうして食物連鎖を通してだいに濃縮されていくが、人間はこの連鎖の頂点に立っている。PCB より化学的安定性はやや低いが持続性農薬として最近まで使われていた DDT についてもほぼこれと似たことがいえる。こうして PCB や DDT は工業的生産開始以来すでに数十年を経ており¹²⁾、世界的規模で地球上に蓄積してきているわけで、われわれが日常的に摂取している食品のすべてにわたって分布していることも疑いないところで、これらの物質はいまや一般栄養成分と同じく、食品の恒常的成分となったといつてよい状態にある。

従来、食品は含まれる栄養素の質や量によって評価されていたのであるが、これら有害汚染物質が恒常成分と化した今日では、これらを常時摂取しているという前提に立って対策を講じざるをえないであろう。もちろん、最も緊急に重要なことは、これら有害物質の使用と廃棄に対する厳重な管理にあることはいうまでもないが、われわれは上述の立場から、食品の恒常成分となった PCB などは体内への吸収の段階で選択的に抑制することや体内にとり込まれた部分についてはその排泄を促進させることが一つの重要な防御手段であろうと考えている。

これまでに、われわれは食餌に由来するコレステロールの腸管吸収がコンニャクマンナン、ペクチンなどの非栄養的多糖類の同時摂取によって有意に阻害されることをコレステロールの出納実験⁴⁾⁵⁾や ¹⁴C-コレステロールの吸収速度の比較⁶⁾などを通じて明らかにしてきたが、コレステロールと同様、典型的な脂溶性物質である PCB、DDT などの腸管吸収も、これら多糖類の同時摂取によって抑制できるかもしれないという期待をもって検討をはじめた。もし両者の吸収機構が類似したものであれば、これは十分期待しうることと思われる。

最近の研究では PCB、DDT などで代表される一連の有機塩素系炭化水素類が高等動物の体内に蓄積してきており⁷⁻¹⁰⁾、これらは薬物代謝酵素系の活性を非常に高め¹¹⁾¹²⁾、性ホルモン代謝の異常昂進⁷⁾¹³⁾⁻¹⁵⁾など著しい代謝変動を誘発することが明らかにされつつあるが、ま

だ脂質代謝をも含めて全貌は明らかでない。そこでまずこれらの物質の生理作用の一部を観察することから本研究を始めた。

実験と結果

1. 実験動物

全実験を通して、実験動物には離乳直後のウィスター系雄白ネズミを用いた。実験開始時の平均初体重とその幅、および実験期間などはそれぞれ実験結果の表に脚注として記載した。

2. 飼料

基本飼料の組成は Table 1 のとおりである。ここで用いた PCB は三菱・モンサント社から提供を受けたアロクロール-1248 であり、カネクロール-400 に相当する塩素量をもつものである。DDT は半井化学薬品 KK 製品で DDT 含量 75% 表示 (Extra pure reagent, MOP 4120) のものである。またコンニャクマンナンは在来種 (群馬産) からのもので、アルコール精製法で部分精製したもの、ペクチンは和光純薬製品の citrus pectin である。PCB、DDT、その他の被験物質の添加は炭水化物源と置きかえることによって行なった。PCB は飼料の脂肪源として用いたコーンサラダ油中にあらかじめ一定濃度に溶解しておき、飼料作製時にこれを適宜脂肪源に均一に混合した。この際、脂肪レベルはもちろん 5% になるよう調節した。

Table 1. Composition of basal diet.¹⁾

Constituent	%
Casein	20
Corn oil ²⁾	5
Salt mixture ³⁾	4
Vitamin mixture ⁴⁾	1
Choline chloride	0.2
α -Corn starch ⁵⁾	34.9
Sucrose	34.9

- 1) Each supplement was added at the expense of carbohydrate sources.
- 2) Mixed with vitamin A palmitate and vitamin D which had been dispersed in water and *dl*- α -tocopheryl acetate to provide 6000 I. U., 600 I. U. and 100 mg/kg diet, respectively, just before preparing the diet.
- 3) This was identical with Harper's mixture.²⁴⁾
- 4) This was identical with Harper's mixture,²⁴⁾ but lactose was used as the bulking agent.
- 5) This is a pregelatinized starch made from corn starch.

3. 飼育と実験動物の処理

飼料は自由に摂取させ、毎朝、体重測定後新しくとりかえ摂取量を測定した。実験期間終了後、ネンブタールで麻酔し、ヘパリン処理した注射器を用い、心臓より採血し、遠心して血漿を得た。肝臓その他の臓器はただちに摘除して、濾紙で拭ったのち重量を測定した。血漿および肝臓については総コレステロールを前報のごとく⁴⁾ Pearson らの方法¹⁶⁾によって定量した。

4. 実験 1

体重 35~45 g の離乳直後の白ネズミを固型飼料で 4~5 日間飼育したのち、1 群 5 匹に組分けし、実験食に

Fig. 1. Growth curves in rats fed the diets containing various levels of PCB (Aroclor-1248).

きりかえ、28 日間飼育した。飼料中の PCB レベルは、0%, 0.02%, 0.2% および 1% とし、成長、血漿および肝臓コレステロール濃度、肝臓、腎臓、心臓、脾臓、副腎重量などに対する影響をしらべた。

Fig. 1 にこのときの成長曲線を、Table 2 に 28 日間飼育後の各種定量結果を示した。Fig. 1 のように、0.02% PCB 群は正常群とはほぼ同程度の成長速度を示したが、その 10 倍量 (0.2% レベル) の群では 28 日間の体重増加量は正常群の約 1/2 であった。1% PCB 群では開始後 3~4 日の間に全部死亡した。Table 2 の中で臓器重量は体重の%として表わしてあるが、これによると肝臓は飼料に PCB を添加すると 0.02% で有意に大きくなり、飼料中の PCB 濃度の増加とともに肝臓の肥大はさらに進んで、0.2% では正常群の約 2 倍に達した。脾臓は逆に有意に小さくなった。心臓、腎臓、副腎の重量は正常群と差がなかった。1% PCB 群も死後解剖して臓器重量を測定したが、いずれも充血したままの値であり、直接比較が困難ゆえ、Table 2 からは除いた。

PCB 摂取によって肝臓重量の著しい増加がひきおこされることがわかったが、これら肝臓の窒素濃度は正常群で 2.70%, 0.02% PCB 群で 2.73%, 0.2% PCB 群では 2.64% であり、全群間に有意差はみられず、肝臓脂質量も同様で肝臓湿重当たり、それぞれ 3.5%, 3.7%, 3.8% で有意差はみられなかった。ここでは体重当たりの%で表わしてあるが、このとき、肝臓の絶対重量自体も増加しており、おそらく、肝臓細胞そのものの肥大によるものではないかと思われる。

さらに、血漿コレステロールと肝臓コレステロールは大きな変動を示し、前者では正常群の 119 mg/100 ml に対して、0.02% PCB 添加群では 156 mg/100 ml (約 1.3 倍) と有意に上昇し、0.2% PCB 添加ではさらに 247 mg/100 ml (約 2.1 倍) と有意に上昇した。肝臓コレステロールも同様にそれぞれ正常群の約 1.4 倍および約 2.4 倍とほぼ同じ割合で増加した。とくに 0.2% 群の血漿コレステロール値は、標準飼料にコレステロール 1%,

Table 2. Weight change in various organs and plasma and liver cholesterol levels in rats fed graded levels of PCB for 4 weeks.¹⁾

Diet	Plasma cholesterol mg/100 ml	Liver cholesterol mg/g tissue	Organ weights, expressed as % of B. wt.				
			Liver	Spleen	Heart	Kidney	Adrenal
				($\times 10^{-2}$)	($\times 10^{-2}$)	($\times 10^{-2}$)	($\times 10^{-2}$)
A Normal	119 $\pm$ 3.4 ^{a,2)}	3.4 $\pm$ 0.21 ^a	5.9 $\pm$ 0.13 ^a	28.7 $\pm$ 1.30 ^a	39.1 $\pm$ 0.35 ^a	96.1 $\pm$ 1.65 ^a	1.16 $\pm$ 0.09 ^a
B A+0.02% PCB	156 $\pm$ 6.7 ^b	4.9 $\pm$ 0.53 ^b	7.3 $\pm$ 0.13 ^b	27.0 $\pm$ 1.50 ^a	39.6 $\pm$ 0.62 ^a	94.5 $\pm$ 0.86 ^a	1.37 $\pm$ 0.08 ^a
C A+0.2% PCB	247 $\pm$ 9.4 ^c	8.0 $\pm$ 0.59 ^c	10.7 $\pm$ 0.18 ^c	23.1 $\pm$ 0.75 ^b	39.9 $\pm$ 1.47 ^a	99.9 $\pm$ 0.31 ^a	1.25 $\pm$ 0.17 ^a

1) Average initial body weight, 64.3 g (range: 59-71 g), and experimental period, 28 days.

2) SEM and figures with different alphabetical superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

Table 3. PCB intake and excretion of ether extractable, nonsaponifiable, and Liebermann-Burchard reaction positive materials in feces.¹⁾

	Normal	0.02% PCB	0.2% PCB
Food intake (g/8 days)	887	883	542
PCB intake (mg/8 days)	0	177	1083
Dried feces (g/8 days)	22.1	21.2	17.3
EEM ²⁾ (mg/10 g dried feces)	1284	1305	1538
EEM (mg/8 days)	2842	2768	2665
NSM ³⁾ (mg/10 g dried feces)	327	334	347
NSM (mg/8 days)	725	707	601
LBPM ⁴⁾ (mg/8 days)	319	319	413

- 1) The feces were collected for 8 days (day 8—day 10, day 18—day 20, day 27 and day 28, respectively) during experimental diet period and after drying at 60°C for 2 days the feces of 5 rats were pooled and pulverized for analysis.
- 2) Ether extractable materials.
- 3) Nonsaponifiable matter.
- 4) Liebermann-Burchard reaction positive matter. Calculated as cholesterol.

胆汁酸塩 0.25 %を添加した高コレステロール食の投与によってもなかなか到達できないほど高い濃度であり、PCB の特異的な影響である。

この実験においては、飼育期間中の 8 日～10 日、18 日～20 日、27 日および 28 日の計 8 日間の糞を集め、乾燥後、全体を乳鉢で粉碎してその一部をとり、エーテル可溶物を抽出し、エーテルを留去後、50 % KOH 2 ml とエタノール 20 ml を加え、水浴上で 50～60°C で 1 時間鹼化し、エタノールの一部を蒸発させたのち、水 10 ml を加え、ヘキサン 10 ml とよく振りまぜて、このヘキサン抽出を 4 回くり返し、集めたヘキサン層を 2 回水洗後、ヘキサンを蒸発させて重量法で不鹼化物を定量した。一方、この不鹼化物をクロロホルムにとかし、50 ml に定容したのち、この中の 0.5 ml をとり、乾固後、Pearson らの方法¹⁶⁾でコレステロールを定量した。

この結果は Table 3 に示した。Liebermann-Burchard 反応陽性物質量をコレステロールとして計算したとき、0.2% PCB 群は正常群より約 100 mg/8 days だけ高くなっており、全不鹼化物量からそれぞれ“コレステロール”量を差し引いた場合、0.2% PCB 群は約 200 mg/8 days で他の両群の約 1/2 であった。一方、採糞期間中に 0.2% PCB 群の摂取した PCB 量は約 1100 mg/8 days であった。この結果からのみ判断すると、摂取した PCB はほとんど糞中に排泄されていないことになる。

5. 実験 2

実験 1 でみられたごとく、PCB 摂取によって肝臓の肥大、血漿および肝臓コレステロール量の著しい上昇がひき起こされることがわかったが、これは 4 週間にわた

って PCB を摂取したときの結果であった。

ここでは、この現象が PCB 摂取後何日くらいで起こってくるかを調べるため、0.2% PCB 食を与えて 2 日、4 日、7 日後に肝臓重量、肝臓および血漿コレステロール値の変化をそれぞれ正常群と比較した。

その結果、Table 4 に示したように肝臓重量は 2 日目ですでに正常群より有意に大きくなり、さらに 4 日、7 日と日時の経過とともにその差は大きくなった。血漿コレステロールもすでに 2 日で高くなる傾向を示し、4 日、7 日後においては有意に上昇した。肝臓コレステロール含量の変化は血漿コレステロールより少しおくれで現われるようであったが、4 日、7 日では、いずれも有意に上昇した。

これらのことから PCB が肝臓重量やコレステロール代謝におよぼす影響は非常に速いものであることがわかる。

6. 実験 3

実験 1 で 0.02% PCB 群の体重増加速度はほとんど低下せず、0.2% PCB 群では成長がかなり抑制された。ここでは成長を緩和に抑制する条件として中間の 0.1 % PCB レベルを選び、これに対する多糖類の添加効果を比較しようと試みた。

試験飼料は 0.1% PCB 添加食を対照として、これにコンニャクマンナン、カルボキシメチルセルロース、ペクチンおのおの 5 %、陰イオン交換樹脂 (AG 2-X 8, Cl⁻型) を 1 %、それぞれ添加して作製し、平均体重 59.7 g (幅 56～67 g) の白ネズミを 14 日間飼育した。

一般に陰イオン交換樹脂は、コレステロールの吸収時

Table 4. Time course of liver hypertrophy and change in plasma and liver cholesterol level.¹⁾

Diet	Days on diet	Liver wt.	Plasma cholesterol	Liver cholesterol
		% of B. wt.	mg/100 ml	mg/g tissue
A Normal	2	5.9±0.10 ^{a,2)}	87± 8.1 ^a	2.9±0.12 ^a
	4	6.0±0.25 ^a	92± 4.0 ^a	1.9±0.20 ^a
	7	5.6±1.07 ^a	71± 7.1 ^a	2.3±0.18 ^a
B A+0.2 % PCB	2	7.8±0.11 ^b	128±14.7 ^b	2.9±0.32 ^a
	4	9.5±0.25 ^b	126±11.8 ^b	4.2±0.35 ^b
	7	10.0±0.73 ^b	126± 8.5 ^b	6.0±0.63 ^b

1) Average initial body weight, 58.4 g (range: 52—67 g).

2) SEM and figures with different alphabetical superscripts are significantly different ($p<0.05$). The significance was tested only between the figures on the same day each.

Fig. 2. Growth curves in rats fed the diets containing 0.1% PCB plus various supplements. The abbreviations are as follows: KM, partially purified konjac mannan; Pec, citrus pectin; CMC, carboxymethyl cellulose; Res, anion exchange resin (AG2-X8, Cl-form).

に必要とされる胆汁酸と強く結合することによってコレステロールの吸収を阻害することが知られているので¹⁷⁻¹⁹⁾, もしも PCB がコレステロールと同じ機構で吸収されるならば, この樹脂によって PCB の吸収も阻

害される可能性があるわけで, とくに用いたわけである。

その結果を Fig. 2 と Table 5 に示した。0.1% PCB 添加群の成長は正常群にくらべてやや抑制されたが, 全群とも 10 日まではほぼ順調に成長をつづけたが, それ以後は多糖類添加群, とくに陰イオン交換樹脂添加群では飼料摂取量が低下しはじめ, 体重も減少してきた。肝臓重量は 0.1% PCB 添加で有意に増加し, 多糖類を添加したものも同程度肥大した。脾臓は PCB 添加で実験 1 同様萎縮傾向がみられ, 多糖類添加でも回復していない。一方, 正常群の血漿コレステロールは 90 mg/100 ml であったが, 0.1% PCB 群では 160 mg/100 ml と有意に上昇し, これにさらにコンニャクマンナンを添加したものでは 87 mg/100 ml と完全に正常レベルにまで下がっていた。カルボキシメチルセルロース群では低下しなかった。陰イオン交換樹脂の添加では PCB のみの添加時よりも有意に上昇した。肝臓コレステロールにおいても, 0.1% PCB 添加によって約 2 倍となったが, この上昇に対しては多糖類の添加効果はみとめられなかった。

7. 実験 4

これは実験 3 と同種の実験で, 飼料中の PCB 濃度が 0.2% のものを対照群とした。この飼料にさらにコンニャクマンナンあるいはペクチンを 5%, あるいは陰イオン交換樹脂 AG 2-X 8, Cl 型を 1% あるいはコール酸ナトリウム 0.2% を前回同様添加したものを 11 日間与え, 同様の観察を行なった。コール酸ナトリウムを加えた実験では, これがコレステロール吸収の促進と同様に PCB の吸収をも促進させ, PCB 単独添加時よりも強い害作用が現われやすくなるかどうか調べる目的で加えたものである。

その結果は Fig. 3 と Table 6 のとおりで, まず

Table 5. Effect of various dietary supplements on organ weight and cholesterol levels in plasma and liver of rats fed 0.1% PCB.¹⁾

Diet	Liver wt.	Spleen wt.	Plasma cholesterol	Liver cholesterol
	% of B. wt.	% of B. wt.	mg/100 ml	mg/g tissue
A Normal	5.1±0.13 ^{a,2)}	0.32±0.013 ^a	90±3.9 ^a	2.6±0.08 ^a
B A+0.1% PCB	8.7±0.12 ^b	0.30±0.020 ^a	160±7.9 ^b	5.9±0.41 ^b
C B+5% PPKM ³⁾	8.8±0.64 ^{bc}	0.20±0.038 ^{bc}	87±9.7 ^a	6.4±0.64 ^b
D B+5% pectin ⁴⁾	8.1±0.09 ^{bc}	0.22±0.017 ^b	104±10.7 ^{ad}	5.9±0.89 ^b
E B+5% CMC ⁵⁾	7.8±0.30 ^c	0.18±0.015 ^b	130±12.4 ^{bd}	6.5±0.99 ^b
F B+1% resin ⁶⁾	8.4±0.36 ^c	0.23±0.012 ^c	224±6.8 ^c	6.5±0.70 ^b

- 1) Average initial body weight, 59.7 g (range: 56—67 g), and experimental period, 14 days.
- 2) SEM and figures with different alphabetical superscripts are significantly different ($p<0.05$).
- 3) Partially purified konjac mannan.
- 4) Citrus pectin (Wako Pure Chemical Ind., Ltd., Osaka).
- 5) Carboxymethyl cellulose (sodium salt).
- 6) Anion exchange resin (AG 2-X8, Cl form, 200—400 mesh, Bio•Rad Laboratories).

Table 6. Effect of various dietary supplements on organ weight and cholesterol levels in plasma and liver of rats fed the diet containing 0.2% PCB.¹⁾

Diet	Liver wt.	Spleen wt.	Plasma cholesterol	Liver cholesterol
	% of B. wt.	% of B. wt.	mg/100 ml	mg/g tissue
A Normal	6.0±0.49 ^{a,2)}	0.31±0.024 ^a	77±2.8 ^a	2.1±0.08 ^a
B A+0.2% PCB	11.1±0.36 ^b	0.28±0.017 ^a	172±10.6 ^b	4.9±0.63 ^b
C B+5% PPKM	9.0±0.53 ^c	0.19±0.016 ^{bc}	108±19.0 ^c	9.0±1.91 ^c
D B+5% pectin	10.4±0.67 ^{bc}	0.18±0.019 ^{bc}	151±12.6 ^{bc}	5.5±0.45 ^b
E B+0.2% sodium cholate ³⁾	10.8±0.77 ^{bc}	0.23±0.021 ^{bc}	205±22.8 ^b	5.0±0.43 ^b
F B+1% resin	11.8±0.55 ^b	0.24±0.013 ^c	164±15.1 ^{bc}	4.5±0.59 ^b

- 1) Average initial body weight, 60.1 g (range: 53—68 g), and experimental period, 11 days.
- 2) SEM and figures with different alphabetical superscripts are significantly different ($p<0.05$).
- 3) Purchased from Nutritional Biochemicals Corp.

Fig. 3にみられるように実験3においては実験の途中で死亡するものはなかったが、PCB レベルを0.2%と増加したためか、ここでは途中で死亡したものが多かった。0.2% PCB 添加で成長はおくれるが、これに対する多糖類の添加効果はみられなかった。コンニャクマンナン群および樹脂群は5日まで PCB 単独群と同程度であったが、それ以後成長がほとんど止まった。0.1% PCB (Fig. 2) に比して全体の成長が低くなっていた。

Table 6 は11日後の結果であるが、0.2% PCB では肝臓重量の増加は著しく、正常群の2倍近くになった。これに5%コンニャクマンナンを添加した群では有意に抑制したが、なお、正常群よりは有意に大きかった。ペクチン、コール酸ナトリウム、樹脂の添加は影響を与えなかった。脾臓の萎縮は多糖類添加群のほうが著しかっ

た。血漿コレステロールは0.2% PCB 添加群では172 mg/100 ml で正常群の2倍以上に上昇したが、コンニャクマンナン添加で108 mg/100 ml と有意に抑制していた。ペクチン、コール酸ナトリウム、樹脂群は PCB 単独添加群と差がなかった。とくにコール酸ナトリウム添加ではむしろ高くなる傾向がみられた。一方、肝臓コレステロールはコンニャクマンナン添加群で逆に PCB 単独添加群の約2倍で最高値を示したが、他の添加群には差が出なかった。

8. 実験5

実験3、4では多糖類添加群の成長が常に PCB 単独添加群より劣る傾加がみられたので、基本飼料に多糖類のみを添加した群も加えて同種の実験を行なった。ここでは多糖類添加量を3%にへらした。実験期間は17日

Fig. 3. Growth curves in rats fed the diets containing 0.2% PCB plus various supplements. The abbreviation, S. C., represents sodium cholate.

Fig. 4. Effect of konjac mannan (KM) or pectin (Pec) supplementation to the diet with or without 0.2% PCB on the growth of rats.

Table 7 Effect of PPKM or pectin supplemented to the diet with or without PCB on the organ weight and plasma and liver cholesterol level.¹⁾

Diet	Liver wt.	Spleen wt.	Plasma cholesterol	Liver cholesterol
	% of B. wt.	% of B.wt.	mg/100 ml	ma/g tissue
A Normal	5.6 ± 0.34 ^{1,2)}	0.30 ± 0.008 ^a	89 ± 7.8 ^a	2.0 ± 0.15 ^a
B A+0.2% PCB	10.7 ± 0.14 ^b	0.24 ± 0.014 ^b	169 ± 10.1 ^b	3.9 ± 0.38 ^b
C A+3% PPKM	5.5 ± 0.16 ^a	0.33 ± 0.021 ^a	82 ± 4.0 ^a	2.1 ± 0.17 ^a
D B+3% PPKM	10.2 ± 0.51 ^b	0.21 ± 0.020 ^b	145 ± 16.6 ^b	4.0 ± 0.45 ^b
E A+3% pectin	6.0 ± 0.45 ^a	0.33 ± 0.019 ^a	95 ± 7.0 ^a	2.2 ± 0.23 ^a
F B+3% pectin	10.4 ± 0.38 ^b	0.21 ± 0.009 ^b	148 ± 13.9 ^b	4.7 ± 0.38 ^b

1) Average initial body weight, 61.5 g (range: 54—71 g), and experimental period, 17 days.

2) SEM and figures with different alphabetical superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

間とした。

この結果は Fig. 4 と Table 7 に示した。基本飼料に多糖類のみを添加した群はほぼ正常群と同程度の成長を示したが、0.2% PCB 食ではかなり成長が低下し、これに多糖類を添加した群では前の2実験でみられたと同様成長はさらに劣った。肝臓、脾臓の重量は0.2% PCB 群、コンニャクマンナン添加群およびペクチン添加群の間に差はみられなかった。血漿コレステロールについては前実験と同様、PCB 単独添加で増加し多糖類添加によつては低下する傾向を示したが、今回は有意差はみられなかった。肝臓コレステロールは前の実験結果と同様、まったく差がみられなかった。この実験においては、血漿中のトリグリセライドについても測定したが

(Stern-Shapiro の方法)²⁰⁾、Table 8 に示したように PCB 添加によって有意に上昇したが、これは、コンニャクマンナンやペクチンの添加群では正常値に保たれた。

DDT についての実験：

9. 実験 6

はじめに PCB の実験と同様にどの程度の飼料濃度で実験するのがよいかをまず知る目的で、0%, 0.02%, 0.2% 添加飼料について生理的影響をしらべた。同時にコンニャクマンナン添加の影響をみるために0.02% DDT 飼料に対する添加効果を10日間観察した。なお、本実験ではコンニャクマンナンの添加量は3%とした。

Fig. 5 から成長におよぼす影響をみるとコンニャクマンナンやペクチンの添加時にも PCB でみられたような

Table 8. Effect of PPKM or pectin supplementation on the plasma triglyceride levels in rats fed 0.2% PCB.

Diet	Plasma triglycerides meq/100 ml
A Normal	$0.91 \pm 0.08^{a,1)}$
B A+0.2% PCB	1.21 ± 0.06^b
C A+3% PPKM	0.97 ± 0.08^a
D B+3% PPKM	0.90 ± 0.05^a
E A+3% pectin	0.90 ± 0.13^a
F B+3% pectin	0.86 ± 0.07^a

1) SEM and figures with different alphabetical superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

成長の悪化はみられなかったが、0.02% DDT 単独添加群よりよくはならなかった。ただし、本実験では正常群の成長もよくならなかったため正確な比較はできなかった。0.2% DDT 群では投与後1日でケイレン様症状があらわれ実験終了時までつづいたが、飼料摂取量もそれほど大きな低下はみられず体重減少も起こさなかった。

Table 9 に示したように、血漿コレステロールは DDT 添加量が増すにつれて増加したが、PCB のときほど顕著ではなく、0.2% DDT 群では、0.02% PCB 群と同程度の値となり正常群よりは有意に高かった。これに対し 0.02% DDT 飼料にコンニャクマンナンを添加した群ではこの上昇が有意に抑制されていた。肝臓コレステロールに対しては 0.2% DDT 群で少し上昇傾向がみとめられたが有意差はなかった。肝臓重量に対しても同じような傾向であり、いずれも有意差はなかった。0.2% DDT 単独添加群でのみ脾臓の萎縮がみとめられた。

10. 実験 7

実験 6 と同様の実験をくり返した。DDT の単独添加量は 0%, 0.002%, 0.02%, および 0.2% とし、0.02% DDT 飼料に対してコンニャクマンナンあるいはペクチンをそれぞれ添加した群を設け、14 日間飼育した。

Fig. 6 にこのときの成長曲線を示した。今回は多糖類添加群の成長はいずれも差は小さいが、0.02% DDT 単独添加群よりいくらか改善され、ほぼ正常群に近かった。肝臓重量は DDT 添加量とともにしだいに大きくなるような傾向を示し、0.02% では有意に肥大していた (Table 10)。0.2% DDT 群は今回は実験開始後 6 匹中 5 匹が 6 日以内に死亡したので 1 匹のみの結果を示したが、これにも明らかな肥大がみられた。脾臓重量は全群の間に差がなかった。血漿コレステロールは 0.2% DDT の中の生き残った 1 匹だけの値であるが、これのみが高い値を示しただけで、他群は全部正常群と変わらなかった。

Fig. 5. Effect of dietary DDT level and konjac mannan or pectin supplementation to the diet containing 0.02% DDT on the growth of rats.

Fig. 6. Effect of dietary DDT level and konjac mannan or pectin supplementation to the diet containing 0.02% DDT on the growth rate of rats.

た。こうしてすべての目安について今回は多糖類の影響があいまいであった。肝臓コレステロールにもそれほど大きな変化はみられなかった。

Table 9. Effect of PPKM supplemented to the diet containing DDT on various organ weight and plasma and liver cholesterol levels.¹⁾

Diet	Plasma cholesterol	Liver cholesterol	Organ weights, expressed as % of B. wt.				
			Liver	Spleen	Heart	Kidney	Adrenal
	mg/100 ml	mg/g tissue		($\times 10^{-2}$)	($\times 10^{-2}$)	($\times 10^{-2}$)	($\times 10^{-2}$)
A Normal	120 $\pm$ 11.1 ^{ac,2)}	2.3 $\pm$ 0.33 ^a	7.0 $\pm$ 0.31 ^a	39.4 $\pm$ 2.7 ^a	42.8 $\pm$ 1.6 ^{ab}	112 $\pm$ 4 ^a	2.19 $\pm$ 0.07 ^a
B A+0.02% DDT	141 $\pm$ 6.9 ^a	2.4 $\pm$ 0.16 ^a	7.4 $\pm$ 0.58 ^a	35.0 $\pm$ 1.0 ^{ab}	42.7 $\pm$ 0.6 ^a	113 $\pm$ 2 ^a	3.94 $\pm$ 0.10 ^a
C A+0.2% DDT	174 $\pm$ 6.2 ^b	3.3 $\pm$ 0.36 ^a	8.6 $\pm$ 0.38 ^a	27.5 $\pm$ 3.2 ^b	43.7 $\pm$ 1.8 ^{ab}	113 $\pm$ 5 ^a	2.12 $\pm$ 0.43 ^a
D B+3% PPKM	114 $\pm$ 5.2 ^c	2.6 $\pm$ 0.32 ^a	7.7 $\pm$ 0.31 ^a	35.7 $\pm$ 2.3 ^{ab}	39.9 $\pm$ 0.6 ^b	109 $\pm$ 3 ^a	2.41 $\pm$ 0.13 ^a

1) Average initial body weight, 64.8 g (range: 55—74 g) and experimental period, 10 days.

2) SEM and figures with different alphabetical superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

Table 10. Effect of PPKM or pectin supplementation on organ weight and cholesterol levels in plasma and liver of rats fed graded levels of DDT.¹⁾

Diet	Liver wt.		Plasma cholesterol	Liver cholesterol
	% of B. wt.	% of B. wt.		
			mg/100 ml	mg/g tissue
A Normal	6.0 $\pm$ 0.12 ^{a,2)}	0.49 $\pm$ 0.037 ^a	98 $\pm$ 7.7 ^a	2.0 $\pm$ 0.05 ^a
B A+0.002% DDT	5.9 $\pm$ 0.26 ^a	0.54 $\pm$ 0.072 ¹	95 $\pm$ 8.6 ^a	2.2 $\pm$ 0.06 ^{ac}
C A+0.02% DDT	6.6 $\pm$ 0.19 ^b	0.55 $\pm$ 0.073 ¹	105 $\pm$ 8.6 ^a	2.5 $\pm$ 0.15 ^c
D A+0.2% DDT ³⁾	7.4	0.40	164	2.1
E C+3% PPKM	7.3 $\pm$ 0.15 ^c	0.52 $\pm$ 0.054 ^a	106 $\pm$ 6.1 ^a	2.5 $\pm$ 0.08 ^b
F C+3% pectin	6.5 $\pm$ 0.11 ^b	0.41 $\pm$ 0.050 ^a	98 $\pm$ 8.2 ^a	2.5 $\pm$ 0.21 ^{bc}

1) Average initial body weight, 71.1 g (range: 63—81 g), and experimental period, 14 days.

2) SEM and figures with different alphabetical superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

3) Since five rats died within 6 days, data from only one are indicated.

考 察

本報では PCB, DDT の生理的影響を概観することを一つの目的として予備的検討を行なったのであるが、以上の実験から、PCB, DDT の摂取によって生体はかなり大きな代謝変動がひきおこされることは明らかである。DDT の場合、0.02% で実験開始後 1 日以内に早くも、全身のケイレンを起こし、毛は立った状態になった。しかし、こうした状態でも摂取量はそれほど低下せず、体重減少も起こさなかった。PCB の場合は、飼料中 0.2% と DDT の 10 倍濃度でも外観上の異常はみられず毛並も正常群と区別できなかった。この群の飼料摂取量はこのとき低下しており成長速度も正常群の 1/2 くらいまで下がることもあったが、PCB の直接的な毒性は DDT より小さいようである。1% PCB 群は実験開始後 3～4 日の間に全部死亡した。この群では初日から飼料をほとんど摂取しておらず (1g 以下)、そのため実際摂取した PCB 量は当然低 PCB 群 (0.02%あるいは

0.2% PCB 添加群) に比較してはるかに少量であったにもかかわらず死亡したわけで、これは PCB の急性毒性の上に飢餓条件がさらに加わって悪化したものと思われる。これらのことは、DDT とくらべて毒性の現われ方に大きな違いのあることを示すものである。

肝臓肥大に対する影響は DDT より PCB のほうが大きく、投与量と肝臓肥大との平行関係も PCB のほうが常に明瞭に観察された。PCB の摂取による肝臓の肥大は窒素濃度などの上昇によるのではなく、全肝臓容量の増加によるものであった。藤田²¹⁾らはカネクロールの塩素量および置換位置による生理的影響について比較検討を行なっているが、6.8 mg/day の量を体重約 100g のネズミに対して経口的に 3 日間与え、4 日目に殺して調べたところ、肝臓重量は塩素化程度の高いものほど大きいと報告している。

永井²²⁾らはカネクロール-400 を最高 50mg/day の割合で体重 160～180g のネズミに 13 日間投与したが、肝臓重量そのものは増加しておらず、対体重比では対照群が

4.5%であったのに対して、50 mg/day PCB 群では 6.2%という値を得ている。これらの結果は、われわれの観察した値よりかなり低く、dose-response については明瞭な関係を得ていない。アロクロール-1248 を用いた本実験では dose-response はきわめて明瞭で、対体重比でなく、重量そのものでも大きくなっていた。それゆえ、対体重比ではこの差はさらに拡大される (Table 2, 5~7)。この差異が何によるものか、現在不明だが、カネクロール-400 とアロクロール-1248 の構成異性体比の相違によるものか、含まれる副生物の差によるものか、おそらく製品内容の差によるのではないと思われる。

脾臓は一般に栄養状態がわるいとき萎縮するが、PCB、DDT の摂取により、ともにこの傾向があらわれた。本実験を通して動物のばらつきが大きかったが、心臓、腎臓、副腎重量については、対体重比では PCB 投与群と DDT 投与群ともに正常群との間に差のないことが多かった。

この一連の実験において、最も顕著な変化を示したものは、PCB 摂取量の増加に伴う血漿コレステロールレベルの上昇であった。この現象は DDT ではそれほどはっきり現われなかったが、PCB 食では飼料中の PCB 濃度と血漿コレステロールの間に常に一定の平行関係がみられた。本来、白ネズミは家兎やニワトリなどに比して高コレステロール血症を起こしにくい動物であるが、0.02% PCB 飼料群で観察された血漿コレステロール値 156mg/100ml (Table 2) をはじめとして、0.1% PCB 飼料時の 160mg/100ml (Table 5)、0.2% PCB 飼料での 169mg/100ml (Table 8)、172 mg/100 ml (Table 6) および 247 mg/100ml (Table 2) などの値は標準飼料中にコレステロール 1%と胆汁酸 0.3%を加えた、いわゆる“高コレステロール食”を投与したときはじめて達せられるほどの高度の高コレステロール血症である。本実験においては、飼料にコレステロールを添加していないにもかかわらず、血漿ならびに肝臓コレステロールの異常な上昇が誘起されることが明らかになったわけである。これはコレステロール合成速度の上昇、分解速度の低下あるいはこの両者のからみ合いで引き起こされた結果であろうが、この変化が、PCB を摂取して 2 日後にすでに有意差をもって現われる (Table 4) ほど、非常に速い変化であることは注目に値する事実であろう。

油症研究班の報告²²⁾によると、カネミライスオイル患者の血清コレステロール値はとくに高くなっていないようであるが、これがヒトとネズミの PCB に対する対応の相違なのか、PCB 摂取後の期間の相違によるものか、PCB の製品の相違によるものか、判定しがたいが、少なくともネズミでこうした明瞭な dose-response がみられたことは、PCB がネズミのごとき高等動物の脂質代

謝全般に大きな影響を与えていることを示すもので、今後さらに詳細に検討されねばならない点であろうと考えられる。

また、本実験では肝臓コレステロールも血漿と同様に PCB 摂取の増加とともに段階的に有意に増加しており、0.02% PCB 群では正常群の約 2 倍、0.2% PCB 群では約 3 倍量も蓄積した。永井ら²²⁾のネズミでの実験によると肝臓コレステロールにはなんら影響がでないと報告されている。永井らの実験²²⁾では PCB の投与方法がわれわれと異なり強制経口投与であり飼料とは別個に投与しているが、1 日当たりの PCB 摂取量はわれわれのそれとほぼ同じであるから、こうした response の違いは前述のごとく PCB 自体の違いによるものかもしれない。

いずれにせよ、PCB の摂取によって血漿および肝臓のコレステロールレベルはかなり速く、しかも有意に上昇することは明らかであり、PCB の特異的影響として重要なものと考えられる。PCB 汚染はこうした面でなんらかの代謝障害 (油症のような急性毒性とはまた異なった意味での) 発生の一因にもなりうる可能性をもっていることを指摘しておかねばならない。また、化学的に不活性な物質の代表のごとくいわれている PCB が生体内脂質代謝に対してこのような大きな影響を与えることはきわめて興味深い現象である。

コレステラミン (Dowex 1-X2, Cl 型) などの陰イオン交換樹脂は腸内においても胆汁酸類と強く結合し、コレステロールの腸肝循環を遮断するので¹⁸⁾¹⁹⁾、高コレステロール血症の治療にも用いられている¹⁷⁾。コレステロールのミセル化には胆汁酸は必須だから、もし PCB もコレステロールと同じく、あらかじめミセル化されたのち吸収されるのならば、陰イオン交換樹脂の添加によって PCB の吸収も低下することが予想される。しかし AG 2-X8, Cl 型を飼料に混合しその効果をみたところ、血漿コレステロールはかえって PCB 単独添加群よりも上昇し、224mg/100ml と異常な高値を示した。この実験では PCB の出納は直接測定していないが、前述のように PCB 摂取量と血漿コレステロールレベルの相関性から考えると、陰イオン交換樹脂の同時摂取で PCB の吸収はとくに低下しないらしい。すなわち PCB の吸収はコレステロールの吸収とは異なった機構で行なわれている可能性もあるのではないかと推定される。

糞中の不飽和化物質の測定から推定すると (Table 3)、PCB は比較的効率よく吸収されている可能性もあり、これは吉村ら²³⁾の結果と矛盾するので、今後は PCB そのものを直接測定する正確な出納実験をする予定である。

DDT についての実験では、0.02% DDT 単独添加群に対してこれにコンニャクマンナンあるいはペクチンを 3%添加した群の成長はやや劣ったがほとんど差がみら

れないほどであった。この実験では正常群の成長がむしろ少し劣っていた。一方、血漿コレステロール値は0.02% DDT 群では正常群より有意に上がったが、多糖類添加群ではこれが有意に低下した。再度、実験をくり返したが、Fig. 6 のようにコンニャクマンナン添加群では成長がかなり改善された。しかし、血漿コレステロールは DDT 単独添加群でも前回のような上昇がみられず、多糖類添加の影響も比較しうる条件がえられなかった。これら全体の傾向からみると、DDT との場合は PCB の場合とやや異なるようで、さらに検討する必要があると思われる。

なお、今回の実験では PCB, DDT とともに実際の食品汚染よりはるかに高いレベルで行なったが、低レベル時の多糖類の効果について実験する必要があると考えている。

要 約

白ネズミを用いて、その標準飼料に PCB (アロクロール-1248) を 0, 0.02, 0.2 および 1%; DDT (*p,p'*-DDT) を 0, 0.002, 0.02, 0.2% それぞれ添加したときの生理的影響をしらべた結果、

1. 0.02% PCB 群の成長速度は正常群と差がなかったが、0.2% PCB 群は約 1/2 となった (28日間)。1% PCB 群は 3~4 日以内に全部死亡した。

2. PCB の摂取で肝臓重量は明らかに増加し、対体重比ではこの差はいっそう拡大された。肝臓肥大の程度は飼料中の PCB レベルに比例した。

3. 脾臓重量は PCB 摂取により低下し、その他、心臓、腎臓、副腎重量には大きな変化がみられなかった。

4. PCB 添加飼料では血漿および肝臓コレステロールレベルは有意に上昇し、正常群の 1.5~2.2 倍に達した。この変化には明らかな dose-response がみとめられた。さらにこの変化はきわめて急速に誘起され、飼料投与 2 日後ですでに有意差がみられた。

5. PCB 添加による血漿コレステロールの上昇はコンニャクマンナン、ペクチンを同時に添加した際、多くの場合抑制された。しかし、肝臓コレステロールレベル、肝臓肥大には改善の傾向はみられず成長速度は途中から低下した。

6. PCB と陰イオン交換樹脂の同時添加では血漿コレステロールは低下せず、むしろ、PCB の単独添加より上昇する場合もあった。コール酸ナトリウムの添加では血漿コレステロールは上昇した。

7. 0.2% PCB 添加で血漿トリグリセライドは有意に上昇し、3% コンニャクマンナン、3% ペクチンなどの同時添加で正常レベルにおさえられた。

8. DDT 添加量の低い間は血漿コレステロールの上

昇はみられなかったが、0.2% DDT 添加飼料時にはじめて有意に上昇した。

9. 0.02% DDT と同時にコンニャクマンナンを加えたものでは、PCB 単独添加群の血漿コレステロールより有意に低い値であった。しかし、0.02% DDT 添加では正常群からの上昇幅が少ないので、くり返した実験でははっきりしなかった。

10. 0.2% DDT では全身的ケイレンを起こし、毛は立った状態となったが、体重減少はみられず、速度は低下したが持続的に成長した。

文 献

- 1) 立川 涼, 磯野直秀: 自然, 26 (6月号), 30 (1971)
- 2) 藤原邦達: 「公害とガスクロマトグラフィ」講演会講演要旨 (1972)
- 3) 磯野直秀, 藤原邦達: 科学, 42, 312 (1972)
- 4) Kiriyaama, S., Okazaki, Y. and Yoshida, A.: *J. Nutrition*, 97, 382 (1969)
- 5) Kiriyaama, S., Morisaki, H. and Yoshida, A.: *Agr. Biol. Chem.*, 34, 641 (1970)
- 6) 児玉俊明, 中井秀明, 桐山修八, 吉田 昭: 栄養と食糧, 25, 603 (1972)
- 7) Risebrough, R. W., Herman, S. G., Peakall, D. B. and Kirven, M. N.: *Nature*, 220, 1098 (1968)
- 8) Holden, A. V. and Marsden, K.: *Nature*, 216, 1274 (1967)
- 9) Risebrough, R. W., Menzel, D. B., Martin, D. J., Jun. and Olcott, H. S.: *Nature*, 216, 589 (1967)
- 10) Le Boeuf, B. J. and Bonnell, M. L.: *Nature*, 234, 108 (1971)
- 11) Conney, A.: *Pharmacol. Rev.*, 19, 317 (1967)
- 12) Bitman, J., Cecil, H. C., Harris, S. J. and Fries, G. F.: *J. Agr. Food Chem.*, 19, 333 (1971)
- 13) 小松富美子, 田中 潔: 福岡医誌, 62, 35 (1971)
- 14) Bitman, J., Cecil, H. C., Harris, S. J. and Fries, G. F.: *Science*, 162, 371 (1968)
- 15) Peakall, D. B.: *Nature*, 216, 505 (1967)
- 16) Pearson, S., Stern, S. and McGavack, T. H.: *Anal. Chem.*, 25, 813 (1953)
- 17) Holmes, W. L.: *Clin. Med.*, April, 41 (1970)
- 18) Parkinson, T. M.: *J. Lipid Res.*, 8, 24 (1967)
- 19) Tennent, D. M., Siegel, H., Zanetti, M. E., Kuron, G. W., Ott, W. H. and Wolf, F. J.: *J. Lipid. Res.*, 1, 469 (1960)
- 20) Stern, I. and Shapiro, B.: *J. Clin. Pathol.*, 6, 158 (1953)
- 21) 藤田節治, 辻 宏, 加藤敬太郎, 佐伯清太郎, 塚元久雄: 福岡医誌, 62, 30 (1971)
- 22) 永井淳爾, 古川ミチヨ, 八戸義明, 樋口かをる: 福岡医誌, 62, 42 (1971)
- 23) 吉村英敏, 山本弘明, 永井淳爾, 八戸義明, 鶴沢春生, 伊東靖夫, 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)
- 24) Harper, A. E.: *J. Nutrition*, 68, 405 (1959)

(昭和 47 年 7 月 10 日受理)