有機塩素系農薬によるラット肝臓と血清の脂質成分の変化と過酸化脂質の生成

(平成2年10月22日受理)

池上幸江^{*1} 土橋文江^{*2} 西出英一^{*3}

Changes in Lipid Components in Liver and Serum and Production of Lipid Peroxide in Liver by Organochlorine Pesticides in Rats

Sachie IKEGAMI^{*1}, Fumie TSUCHIHASHI^{*2} and Eiichi NISHIDE^{*3}

(*¹Division of Food Science, The National Institute of Health and Nutrition: 1-23-1, Toyama, Shinjuku-ku, Tokyo, Japan; *²Tokyo College of Biotechnology: 1-3-14, Kitakouji, Ohta-ku, Tokyo, Japan; *³Department of Fisheries, College of Agriculture and Veterinary Medicine, Nihon University: 3-34-1, Shimouma, Setagaya-ku, Tokyo, Japan)

The present experiments were conducted to clarify the effects of organochlorine pesticides on the lipid components of serum and liver, and lipid peroxide in the liver of rats. Male Sprague Dawley rats aged 4 weeks were fed diets containing seven pesticides (TPN, chlorbenzilate, β -HCH, p,p' -DDT, heptachlor, dieldrin and endrin) for 2 weeks. The changes of biochemical parameters caused by inducers (phenobarbital and 3-methylcholanthrene) and the pesticides were compared.

1. Total cholesterol and HDL-cholesterol in serum increased in rats fed p,p' -DDT, heptachlor, dieldrin and the inducers. Phospholipid in serum increased in rats fed p,p' -DDT, heptachlor and the inducers.

2. Phospholipid and cholesterol in liver increased in rats fed β -HCH, p,p' -DDT and the inducers, and in rats fed chlorbenzilate, β -HCH, p,p' -DDT and the inducers, respectively.

An increase of total lipid in liver was observed in rats fed p,p' -DDT, heptachlor, dieldrin and the inducers, accompanied with an increase of triglyceride in rats fed p,p' -DDT, heptachlor and phenobarbital.

3. Hepatic lipid peroxide significantly increased in rats fed p,p' -DDT, heptachlor and phenobarbital. Induction of cytochrome *c* reductase was observed in rats fed the pesticides except TPN and endrin, and phenobarbital. Production of lipid peroxide was closely related to triglyceride concentration and activity of cytochrome *c* reductase.

(Received October 22, 1990)

Key words: 有機塩素系農薬 organochlorine pesticides; DDT DDT; ディルドリン dieldrin; ヘプタクロール heptachlor; フェノバルビタール phenobarbital; チトクロム *c* リダクターゼ cytochrome *c* reductase; トリグリセリド triglyceride; 過酸化脂質 lipid peroxide; ビタミン E vitamin E; グルタチオンペルオキシダーゼ glutathione peroxidase

緒 言

DDT¹⁾, HCH^{1), 2)}, ディルドリン¹⁾, ヘキサクロロベンゼ

ン (HCB)^{1), 3)} などの有機塩素系農薬が実験動物の肝臓の過酸化脂質を増加させることが報告されているが、そのメカニズムの詳細は不明である。Goel ら¹⁾は有機塩素系農薬の場合はラジカルの生成が関与しているのではないかと考えているが、HCH による過酸化脂質の生成では Junqueira ら²⁾はグルタチオンペルオキシダーゼ

*¹ 国立健康・栄養研究所食品科学部: 東京都新宿区戸山 1-23-1

*² 東京バイオテクノロジー専門学校: 東京都大田区北糺 1-3-14

*³ 日本大学農獣医学部水産学科: 東京都世田谷区下馬 3-34-1

(GSHPx)には変化はないが、スーパーオキシドジスムターゼ(SOD)やカタラーゼは有意に低下しており、スーパーオキシドの関与を示唆した。

他方、PCBでは、ラット⁴⁾、コイ⁵⁾、ニワトリ⁶⁾などに投与したときの過酸化脂質の増加にはGSHPxなどの低下を示唆する論文が多い。

TCDDによる過酸化脂質の生成では、GSHPxの低下に加えて¹⁾、 Fe^{2+} と過酸化水素から生成する各種活性酸素種とラジカルが原因であると報告されている^{7)~9)}。

著者らはPCBによる過酸化脂質の生成について検討してきたが、GSHPxの低下とともに、基質である脂肪の増加が関連することを示唆した⁴⁾、¹⁰⁾。過酸化脂質を増加させる有機塩素系環境汚染物質の多くは脂肪肝によると思われる肝臓肥大が見られる⁴⁾、^{11)~13)}。

本研究は有機塩素系農薬による過酸化脂質の生成とそのメカニズムを明らかにすることを目的として行った。すなわち、GSHPxとビタミンE(V.E)の変動に注目し、薬物代謝酵素の関与をみるために2種の薬物代謝誘導剤との比較を行い、さらに基質となる脂質との関連をみるために肝臓及び血清の脂質の変化をみた。

実験方法

1. 動物と試料

実験にはSprague Dawley系雄性ラット(4週齢)に7種の有機塩素系農薬(TPN, クロルベンジレート, β -HCH, p,p' -DDT, エンドリン, ヘプタクロール, ディルドリン)及び薬物代謝酵素誘導剤(フェノバルビタール, 3-メチルコランソレン)を含む飼料を2週間投与した前報¹¹⁾のラットから得た血清と肝臓を用いた。

2. 分析方法

血清の総コレステロールは酵素法(ステロザイムM, 富士レビオ(株)), HDL-コレステロールは沈殿・分離法(HDL-ステロザイム, 富士レビオ(株)), トリグリセリドは酵素法(クリンテックTG-S, ヤトロン(株)), リン脂質はモリブデンブルー法(ホスホリピド・テストワコ

ー, 和光純薬工業(株))でそれぞれ測定した。

肝臓の脂質はFolch法¹⁴⁾で抽出し、総脂質は重量法、総コレステロールはSobelとFernandezの方法¹⁵⁾、トリグリセリドはアセチルアセトン法(トリグリセリド・テストワコー, 和光純薬工業(株)), リン脂質はFiskeとSubbarowの方法¹⁶⁾によって測定した。肝臓ミクロソームのNADPH-チトクロムcリダクターゼはOmuraとTakesueの方法¹⁷⁾、肝臓のGSHPxはWhangerらの方法¹⁸⁾を改良して測定した。肝臓の過酸化脂質はOhkawaらの方法¹⁹⁾によって測定し、TBA値をmalonaldehyde生成量で表した。血清と肝臓のV.Eは阿部らの方法²⁰⁾によって抽出し、高速液体クロマトグラフィーによって測定した。

3. 総計処理

実験結果は平均値と標準誤差で示し、有意水準5%において、Student-*t*の検定を行った。また、過酸化脂質の生成量と各種指標との相関を求めた。

実験結果

1. 血清脂質に対する有機塩素系農薬と薬物代謝酵素誘導剤の影響

血清の脂質成分とV.Eに対する有機塩素系農薬の影響はTable 1に、薬物代謝酵素誘導剤の影響はTable 2にそれぞれ示した。有機塩素系農薬を投与したラットの血清のトリグリセリドはTPNと β -HCHを除いて有意に低下した。しかしリン脂質とコレステロールはむしろ増加する傾向が見られた。リン脂質では p,p' -DDTとヘプタクロール、総コレステロールとHDL-コレステロールでは p,p' -DDT, ヘプタクロール, ディルドリンでそれぞれ有意に増加していた。さらに血清中のV.Eもクロルベンジレートを除いて有機塩素系農薬によって増加する傾向がみられ、特にヘプタクロールとディルドリンでは有意に増加していた。他方Table 2に示すように、薬物代謝酵素誘導剤でもほぼ同様の影響がみられた。すなわち、リン脂質、総コレステロール、HDL-コレステロ

Table 1. Effects of the Diet Containing Organochlorine Pesticides on Serum Lipids and Vitamin E

	Content in diet (mg/100 g)	Triglyceride (mg/dl)	Phospholipid (mg/dl)	Cholesterol (mg/dl)	HDL-Cholesterol (mg/dl)	Vitamin E ($\mu\text{g/ml}$)
Control	—	116.6 $\pm$ 19.3	143.3 $\pm$ 11.3	73.5 $\pm$ 2.2	34.5 $\pm$ 1.9	7.13 $\pm$ 1.51
TPN	100	85.0 $\pm$ 8.5	119.7 $\pm$ 6.3	62.6 $\pm$ 4.1	28.6 $\pm$ 3.5	7.21 $\pm$ 1.01
Chlorbenzilate	100	54.4 $\pm$ 8.1 ^a	127.5 $\pm$ 6.2	67.1 $\pm$ 4.9	30.3 $\pm$ 2.9	3.26 $\pm$ 0.44 ^a
β -HCH	100	94.3 $\pm$ 10.3	159.2 $\pm$ 13.9	75.9 $\pm$ 9.0	31.0 $\pm$ 4.2	8.92 $\pm$ 1.45
p,p' -DDT	100	56.1 $\pm$ 7.9 ^a	185.7 $\pm$ 7.6 ^a	110.3 $\pm$ 7.1 ^a	62.9 $\pm$ 2.7 ^a	9.61 $\pm$ 2.01
Heptachlor	10	32.0 $\pm$ 4.6 ^a	189.5 $\pm$ 11.8 ^a	108.0 $\pm$ 8.5 ^a	68.2 $\pm$ 5.0 ^a	11.22 $\pm$ 0.93 ^a
Dieldrin	10	16.8 $\pm$ 4.1 ^a	165.7 $\pm$ 11.3	96.1 $\pm$ 6.7 ^a	72.1 $\pm$ 9.1 ^a	12.51 $\pm$ 1.21 ^a
Endrin	1	37.7 $\pm$ 5.0 ^a	132.6 $\pm$ 6.3	72.1 $\pm$ 1.9	33.0 $\pm$ 4.1	8.96 $\pm$ 0.51

Each value is a mean $\pm$ SE of 6 rats.

^a: Significantly different from control at $p < 0.05$

Table 2. Effects of the Diet Containing Phenobarbital and Methylcholanthrene on Serum Lipids and Vitamin E

	Content in diet (mg/100 g)	Triglyceride (mg/dl)	Phospholipid (mg/dl)	Cholesterol (mg/dl)	HDL-Cholesterol (mg/dl)	Vitamin E (μ g/ml)
Control	—	84.9 $\pm$ 8.1	141.1 $\pm$ 4.1	61.3 $\pm$ 2.8	31.2 $\pm$ 1.9	3.93 $\pm$ 0.36
Phenobarbital	20	101.2 $\pm$ 12.1	165.4 $\pm$ 3.5 ^a	71.3 $\pm$ 1.7 ^a	39.4 $\pm$ 2.2 ^a	4.81 $\pm$ 0.36
Phenobarbital	40	60.8 $\pm$ 9.8	158.0 $\pm$ 9.2	70.5 $\pm$ 5.1	46.6 $\pm$ 6.1 ^a	4.35 $\pm$ 0.57
Methylcholanthrene	20	86.8 $\pm$ 10.3	161.8 $\pm$ 9.1	77.7 $\pm$ 5.8 ^a	43.9 $\pm$ 4.6 ^a	7.79 $\pm$ 1.07 ^a
Methylcholanthrene	40	77.6 $\pm$ 16.2	169.1 $\pm$ 11.4 ^a	78.5 $\pm$ 4.9 ^a	48.1 $\pm$ 2.4 ^a	7.18 $\pm$ 0.76 ^a

Each value is a mean $\pm$ SE of 6 rats.

^a: Significantly different from control at $p < 0.05$

Table 3. Effects of the Diet Containing Organochlorine Pesticides on Hepatic Lipids

	Content in diet (mg/100 g)	Total lipid (%)	Triglyceride (mg/g)	Phospholipid (mg/g)	Cholesterol (mg/g)
Experiment 1					
Control	—	7.30 $\pm$ 0.31	14.9 $\pm$ 1.3	27.5 $\pm$ 0.8	2.27 $\pm$ 0.25
TPN	100	8.43 $\pm$ 0.70	16.9 $\pm$ 1.6	26.4 $\pm$ 1.8	3.23 $\pm$ 0.21 ^a
Chlorbenzilate	100	8.39 $\pm$ 0.88	23.9 $\pm$ 5.0	30.0 $\pm$ 1.4	3.28 $\pm$ 0.28 ^a
β -HCH	100	9.17 $\pm$ 0.97	22.6 $\pm$ 4.6 ^a	35.6 $\pm$ 1.2 ^a	4.00 $\pm$ 0.33 ^a
<i>p,p'</i> -DDT	100	16.08 $\pm$ 2.00 ^a	68.0 $\pm$ 15.0 ^a	36.1 $\pm$ 1.3 ^a	5.41 $\pm$ 0.81 ^a
Experiment 2					
Control	—	5.37 $\pm$ 0.28	27.0 $\pm$ 1.4		
Heptachlor	5	8.32 $\pm$ 0.45 ^a	39.3 $\pm$ 4.2 ^a		
Heptachlor	10	7.88 $\pm$ 0.44 ^a	35.0 $\pm$ 2.5 ^a		
Dieldrin	5	6.73 $\pm$ 0.31 ^a	28.4 $\pm$ 1.9		
Endrin	0.5	4.78 $\pm$ 0.64	25.5 $\pm$ 4.9		
Endrin	1	4.63 $\pm$ 0.25	19.2 $\pm$ 2.0 ^a		

Each value is a mean $\pm$ SE of 6 rats.

^a: Significantly different from control at $p < 0.05$

Table 4. Effects of the Diet Containing Phenobarbital and Methylcholanthrene on Hepatic Lipids

	Content in diet (mg/100 g)	Total lipid (%)	Triglyceride (mg/g)	Phospholipid (mg/g)	Cholesterol (mg/g)
Control	—	5.91 $\pm$ 0.35	18.0 $\pm$ 3.1	35.0 $\pm$ 0.4	2.30 $\pm$ 0.10
Phenobarbital	20	9.91 $\pm$ 0.86 ^a	52.8 $\pm$ 9.9 ^a	39.4 $\pm$ 1.9 ^a	4.00 $\pm$ 0.38 ^a
Phenobarbital	40	10.76 $\pm$ 0.74 ^a	54.2 $\pm$ 7.6 ^a	43.7 $\pm$ 1.0 ^a	4.76 $\pm$ 0.22 ^a
Methylcholanthrene	20	7.22 $\pm$ 0.43 ^a	21.1 $\pm$ 3.4	41.7 $\pm$ 2.2 ^a	3.86 $\pm$ 0.33 ^a
Methylcholanthrene	40	6.77 $\pm$ 0.25	18.1 $\pm$ 2.1	38.9 $\pm$ 1.2 ^a	3.96 $\pm$ 0.27 ^a

Each value is a mean $\pm$ SE of 6 rats.

^a: Significantly different from control at $p < 0.05$

ルは誘導剤の種類にかかわらず増加する傾向があったが、特にメチルコランスレンにおいて顕著であった。また、血清の V.E も誘導剤で増加する傾向があるが、特にメチルコランスレンにおいて顕著であった。しかし、血清のトリグリセリドへの有意な影響がみられなかったのは、有機塩素系農薬とは異なっていた。

2. 肝臓脂質に対する有機塩素系農薬と薬物代謝酵素誘導剤の影響

肝臓脂質に対する有機塩素系農薬の影響は Table 3 に、薬物代謝酵素誘導剤の影響は Table 4 に示した。

肝臓の総脂質は *p,p'*-DDT、ヘプタクロール、ディルドリンにおいて有意に増加しているが、他の農薬でも増加傾向がみられた。しかし、エンドリンでは低下する傾向

Table 5. Effects of the Diets Containing Organochlorine Pesticides on TBA Value, Cytochrome *c* Reductase, Glutathioneperoxidase and Vitamin E in the Liver

	Content in diet (mg/100 g)	TBA Value (μ mol/g)	Cytochrome <i>c</i> reductase (μ mol/min/g)	Glutathione peroxidase (unit/g)	Vitamin E (μ g/g)
Experiment 1					
Control	—	0.995 $\pm$ 0.091	0.590 $\pm$ 0.044	227 $\pm$ 20	24.1 $\pm$ 3.7
TPN	100	0.665 $\pm$ 0.085 ^a	0.093 $\pm$ 0.033 ^a	157 $\pm$ 7 ^a	25.0 $\pm$ 3.1
Chlorbenzilate	100	1.303 $\pm$ 0.158	0.782 $\pm$ 0.055 ^a	149 $\pm$ 3 ^a	20.0 $\pm$ 3.0
β -HCH	100	0.876 $\pm$ 0.065	1.218 $\pm$ 0.096 ^a	141 $\pm$ 3 ^a	25.9 $\pm$ 3.1
DDT	100	2.002 $\pm$ 0.184 ^a	1.490 $\pm$ 0.076 ^a	170 $\pm$ 24 ^a	19.5 $\pm$ 2.3
Experiment 2					
Control	—	0.574 $\pm$ 0.025	0.463 $\pm$ 0.004		54.8 $\pm$ 10.5
Heptachlor	5	1.148 $\pm$ 0.105 ^a	1.046 $\pm$ 0.010 ^a		35.9 $\pm$ 7.5
Heptachlor	10	1.487 $\pm$ 0.096 ^a	1.090 $\pm$ 0.008 ^a		40.1 $\pm$ 10.9
Dieldrin	5	0.819 $\pm$ 0.125	0.691 $\pm$ 0.009 ^a		35.8 $\pm$ 8.8
Endrin	0.5	0.560 $\pm$ 0.077	0.450 $\pm$ 0.006		67.7 $\pm$ 16.5
Endrin	1	0.452 $\pm$ 0.008 ^a	0.451 $\pm$ 0.006		48.8 $\pm$ 13.0

Each value is a mean $\pm$ SE of 6 rats.

^a: Significantly different from control at $p < 0.05$

Table 6. Effects of the Diet Containing Phenobarbital and Methylcholanthrene on TBA Value, Cytochrome *c* Reductase, Glutathioneperoxidase and Vitamin E in the Liver

	Content in diet (mg/100 g)	TBA Value (μ mol/g)	Cytochrome <i>c</i> reductase (μ mol/min/g)	Glutathione peroxidase (unit/g)	Vitamin E (μ g/g)
Control	—	0.352 $\pm$ 0.014	0.386 $\pm$ 0.033	123 $\pm$ 3	25.1 $\pm$ 0.6
Phenobarbital	20	0.575 $\pm$ 0.075 ^a	0.752 $\pm$ 0.061 ^a	124 $\pm$ 1	27.1 $\pm$ 2.8
Phenobarbital	40	0.580 $\pm$ 0.089 ^a	1.090 $\pm$ 0.038 ^a	116 $\pm$ 1	18.1 $\pm$ 2.7 ^a
Methylcholanthrene	20	0.386 $\pm$ 0.019	0.465 $\pm$ 0.042	114 $\pm$ 1 ^a	32.8 $\pm$ 1.5 ^a
Methylcholanthrene	40	0.381 $\pm$ 0.020	0.202 $\pm$ 0.023	110 $\pm$ 1 ^a	34.1 $\pm$ 2.5 ^a

Each value is a mean $\pm$ SE of 6 rats.

^a: Significantly different from control at $p < 0.05$

がみられた。肝臓のトリグリセリドも総脂質とほぼ同様の結果であった。リン脂質とコレステロールは実験 1 においてのみ測定したが、前者は β -HCH と p,p' -DDT で、後者は TPN, クロルベンジレート, β -HCH, p,p' -DDT でそれぞれ有意に増加した。

他方, Table 4 に示すように、肝臓の総脂質は薬物代謝酵素誘導剤によって増加した。とくにフェノバルビタールによる増加が著しかった。脂質成分のうちトリグリセリドはフェノバルビタールでの増加が著しく、リン脂質とコレステロールは誘導剤のタイプに関係なく有意に増加していた。

3. 肝臓の過酸化脂質生成に対する有機塩素系農薬と薬物代謝酵素誘導剤の影響

肝臓の過酸化脂質生成に対する有機塩素系農薬の影響は Table 5, 薬物代謝酵素誘導剤の影響は Table 6 に示

した。

肝臓の過酸化脂質は p,p' -DDT とヘプタクロールの投与によって有意に増加していたが、その他の農薬では増加傾向のあるもの、TPN, エンドリンのように有意に低下するものもあった。ミクロソームの脂質過酸化反応に関与するチトクロム *c* リダクターゼはクロルベンジレート, β -HCH, p,p' -DDT, ヘプタクロール, ディルドリンでは有意に増加し、TPN では有意に低下した。過酸化脂質の消去に関与する GSHPx は実験 1 の農薬投与の場合にはいずれも低下し、V.E はいずれもほとんど変化は見られなかった。

他方, Table 6 に示すように肝臓の過酸化脂質はフェノバルビタールの投与によって有意に増加しているが、メチルコランスレンではいずれの投与量でも過酸化脂質の増加はみられなかった。チトクロム *c* リダクターゼは

Table 7. Correlations between Lipid Peroxide* and Triglyceride, Cytochrome *c* Reductase, Glutathione-peroxidase or Vitamin E

	Organochlorine pesticides		Phenobarbital + Methylcholanthrene
	Exp. 1	Exp. 2	
Triglyceride	0.623 ($p < 0.01$)	0.500 ($p < 0.01$)	0.643 ($p < 0.01$)
Cytochrome <i>c</i> reductase	0.500 ($p < 0.01$)	0.675 ($p < 0.01$)	0.657 ($p < 0.01$)
Glutathioneperoxidase	-0.014	—	0.034
Vitamin E	-0.385	-0.318	-0.414 ($p < 0.05$)

* TBA value

フェノバルビタールにおいて有意に増加しているが、メチルコランスレンでは変化がなかった。GSHPxはメチルコランスレンでは有意に低下したが、フェノバルビタールでは有意な変化はみられなかった。V.Eはフェノバルビタール高投与群では有意に低下したが、メチルコランスレンの両投与群では逆に有意に増加していた。

以上の結果に基づいて、Table 7には過酸化脂質量とその生成に関連の深い因子との相関係数を示した。本研究の結果では、過酸化脂質の生成に対して、基質であるトリグリセリドの増加との相関が高く、農薬と誘導剤に共通していた。また、脂質過酸化反応に関与するチトクロム*c*リダクターゼの活性との相関もみられたが、過酸化脂質の消去系であるGSHPxやV.Eとの相関はそれほど高いものではなかった。

考 察

HCB¹⁾、 γ -HCH^{1)~3)}、ディルドリン¹⁾などの有機塩素系農薬は、ラット肝臓の過酸化脂質を増加させることが報告されている。また、有機塩素系環境汚染物質であるPCB^{4)~6)}とTCDD^{1), 7)~9), 12)}などでも、実験動物体内の過酸化脂質の生成を高めることが示されている。これまでの報告から、これら有機塩素化合物による過酸化脂質増加のメカニズムとしては、1) 薬物代謝酵素、特にチトクロム*c*リダクターゼが関与する電子伝達系から生ずるラジカルや活性酸素種による反応、2) GSHPx, V.E, SOD, カタラーゼなどのスカベンジャー系の低下、3) Fe^{2+} に触媒されて生ずる活性酸素種による反応、4) 化合物自身がラジカル化されるなどが示唆されてきた。加えて、著者らはPCBによる過酸化脂質増加のメカニズムとして、肝臓における脂質の蓄積も原因ではないかと考えてきた^{4), 10)}。

有機塩素系環境汚染物質による過酸化脂質増加のメカニズムは、個々の物質によって異なるためにこのように多様であるとも考えられるが、共通するメカニズムによる可能性もある。そこで著者らは有機塩素系農薬を用いて、薬物代謝系酵素との関連をみるために2種の薬物代謝誘導剤と比較し、GSHPxとV.Eの変化、基質の関与をみるために血清と肝臓脂質の動向をみた。血清中の脂質成分のうち、リン脂質は p,p' -DDTとヘプタクロール

で有意に増加し、総コレステロールとHDL-コレステロールは p,p' -DDT、ヘプタクロール、ディルドリンで有意に増加した。リン脂質とコレステロールの増加はフェノバルビタールとメチルコランスレンでもみられた。PCBを投与した実験動物でも血清リン脂質とコレステロールの増加は報告^{21)~23)}され、さらに農薬を扱う人においても血清コレステロールの上昇が報告^{24), 25)}されている。また、肝臓のリン脂質とコレステロールもほぼ血清と同じように有機塩素系農薬や薬物代謝誘導剤によって上昇する傾向を持っているものと思われる。

しかし、血清トリグリセリドは種々の条件で容易に変動すると思われる。著者らの実験条件では有機塩素系農薬の場合は低下傾向にあり、薬物代謝誘導剤では変化がなかった。フェノバルビタール投与ラットでは絶食と摂食では血清トリグリセリドが大幅に変動することが報告²⁶⁾されている。PCBの場合は、人では高トリグリセリド血症がみられる²⁷⁾が、ラットではむしろ低下することが報告²¹⁾されている。他方、肝臓のトリグリセリドは β -HCH, p,p' -DDT, ヘプタクロール、フェノバルビタールでは有意に増加し、メチルコランスレンでは変化がなく、高投与群のエンドリンでは有意に低下した。このようにトリグリセリドは同じ化合物でも血清と肝臓では含量の増減が異なり、有機塩素系農薬と薬物代謝誘導剤のそれぞれでも影響のしかたが異なっている。すなわち、血清と肝臓のトリグリセリド含量は化合物の毒性の強さやその他の実験条件によって変動しやすいのではないかと思われる。

著者らはこれまでPCBによって肝臓の過酸化脂質が増加することを示してきた^{4), 10)}が、有機塩素系農薬である p,p' -DDTとヘプタクロールにも同様の影響のあることを明らかにした。フェノバルビタールについてはすでに過酸化脂質の増加が報告されている²⁸⁾が、本研究ではそれを確認するとともに、タイプの異なるメチルコランスレンでは過酸化脂質の増加はみられないことを示した。Table 7にはTBA値と相関の高い因子を示したが、最も高い相関を示したのは基質となりうる肝臓のトリグリセリドと、チトクロム*c*リダクターゼの活性であった。

有機塩素系農薬の薬物代謝酵素の誘導パターンに関する大山の報告²⁹⁾によれば、本研究に用いた農薬はいずれもフェノバルビタールに類似した誘導パターンを持っている。フェノバルビタールタイプの誘導剤ではチトクロム *c* リダクターゼも誘導されることが、過酸化脂質増加に関係しているものと思われる。

他方、P-450 自身が過酸化脂質増加に関与することを示唆する論文³⁰⁾もあるが、メチルコランスレンでは過酸化脂質が増加しないことから、その可能性は少ないように思われる。Baird ら³¹⁾も同様の考えを示している。

しかし、PCB³²⁾、TCDD^{8), 9), 12)}、HCB³⁸⁾ではポルフィリアといわれる、ヘム鉄代謝の異常が知られており、鉄、特に2価鉄が過酸化脂質反応に関わる可能性が有機塩素系農薬でも検討される必要がある。

本研究では、GSHPx、V.Eと過酸化脂質との関係はみられなかった。最近、Goel ら¹⁾も数種の有機塩素系農薬をラットに投与して、肝臓の過酸化脂質が増加することを示したが、ディルドリンと γ -HCHではGSHPxは変化しないことを明らかにしている。また、Stohs ら¹²⁾は鉄欠乏飼料を投与したラットではTCDDによってGSHPxが低下しても過酸化脂質の増加はみられないことを示しており、過酸化脂質とGSHPxがかならずしも関連しないことを示した。しかし、PCB^{4)-6), 34)}、TCDD⁷⁾による過酸化脂質の増加に対してGSHPxあるいはグルタチオンリダクターゼやグルタチオンの低下が原因とする論文も多いので有機塩素系農薬とこれらの化合物との間に違いがあるのかもしれない。

すでに著者らはPCBによる過酸化脂質の増加には肝臓におけるトリグリセリドの増加に関係しているのではないかと考えていた^{4), 10)}。今回、有機塩素系農薬においてその可能性が一層明確になった。PCBを投与したコイにおける過酸化脂質の増加でも伊東ら⁹⁾が同様の考えを示し、Stohs ら¹⁾もTCDDについて同じ可能性を示唆している。さらに、Junqueira ら²⁾は γ -HCHによる過酸化脂質はスーパーオキシドアニオンの増加を原因としながら、肝臓組織の形態観察では脂肪滴の存在を示した。このように、肝臓のトリグリセリドが過酸化脂質増加の原因となる可能性を示唆する論文もあったが、これを明確に述べた報告はなかった。有機塩素系農薬が肝臓のリン脂質を増加させる場合のあることも示したが、リン脂質と過酸化脂質の間には明確な相関はみられなかった。従来、過酸化脂質の生体への影響として、膜の脂質の過酸化の害が指摘されている。しかし、Stohs ら¹²⁾はTCDDの毒性には過酸化脂質はほとんど影響しないことを示した。トリグリセリドの過酸化はリン脂質の過酸化に比べて、生体にとってそれほど顕著な機能低下にならないように思われる。同時に脂質過酸化反応のおこる細胞内場を考えると、膜の可能性が高く、おそらく脂肪顆粒として存在するトリグリセリドが、どのようにし

て酸化されるのかのメカニズムも検討されなければならない。

ま と め

7種の有機塩素系農薬(TPN, クロルベンジレート, *p,p'*-DDT, β -HCH, ヘプタクロール, ディルドリン, エンドリン)を含む飼料をSprague Dawley 系雄性ラット(4週齢)に2週間投与し、血清と肝臓の脂質成分及び肝臓の過酸化脂質の生成について検討した。同時にフェノバルビタールと3-メチルコランスレンを投与した動物における変化と比較して、薬物代謝酵素の誘導との関連についても検討した。

1. 7種の農薬のうち、*p,p'*-DDT, ヘプタクロール, ディルドリンを投与したラットでは血清コレステロールとHDL-コレステロール、*p,p'*-DDTとヘプタクロールではリン脂質の増加が認められた。これらの影響は2種の誘導剤でも同様であった。

2. 肝臓においては、 β -HCH, *p,p'*-DDTの投与によってリン脂質が、またクロルベンジレート、 β -HCH, *p,p'*-DDTによってコレステロールが増加した。肝臓の総脂質は*p,p'*-DDT, ヘプタクロール, ディルドリンによって増加し、*p,p'*-DDTとヘプタクロールによってトリグリセリドの増加も観察された。フェノバルビタールでもこれらの脂質成分の増加がみられ、特にトリグリセリドの増加が顕著であった。メチルコランスレンではリン脂質とコレステロールの増加はみられたが、トリグリセリドには影響はなかった。

3. 肝臓の過酸化脂質は*p,p'*-DDTとヘプタクロールを投与したラットにおいて有意に増加した。薬物代謝誘導剤ではフェノバルビタールにおいてのみ、有意な過酸化脂質の増加がみられた。チトクロム *c* リダクターゼはTPNとエンドリンを除く農薬とフェノバルビタールで有意に増加し、GSHPxは*p,p'*-DDT, β -HCHとメチルコランスレンで有意に低下した。肝臓のV.E含量は農薬とフェノバルビタールによる影響はみられず、メチルコランスレンでは有意に増加した。

これらの結果から、肝臓の過酸化脂質の増加にはトリグリセリド含量とチトクロム *c* リダクターゼの活性が高い相関を持つことが分かった。

なお、本研究は環境庁国立機関公害防止等試験研究費により行ったものである。関係各位に深謝致します。

文 献

- 1) Goel, M. R., Shara, M. A., Stohs, S. J.: Bull. Environ. Contam. Toxicol. **40**, 255~262 (1988).
- 2) Junqueira, V. B. C., Simizu, K., Videla, L. A., Barros, S. B. M.: Toxicol. **41**, 193~204 (1986).
- 3) 三原 翠, 内山 充: 衛生化学 **28**, 325~329 (1982).
- 4) 斉藤衛郎, 池上幸江, 印南 敏, 永山スミ子, 西出英一: 福岡医誌. **72**, 142~148 (1981).
- 5) 伊東保之, 村田敏郎: 農化. **54**, 263~270 (1980).

- 6) Combs, G. F., Cantor, A. H., Scott, M. L.: *Poultry Sci.* **54**, 1,143~1,152 (1975).
- 7) Stohs, S. J., Al-Bayati, Z. F., Hassan, M. Q., Murray, W. J., Mohammadpour, H. A.: *Adv. Exp. Med. Biol.* **197**, 357~365 (1986).
- 8) Al-Bayati, Z. A. F., Murray, W. J., Stohs, S. J.: *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **16**, 159~166 (1987).
- 9) Al-Bayati, Z. A. F., Stohs, S. J.: *Toxicol. Lett.* **38**, 115~121 (1987).
- 10) 池上幸江, 斉藤衛郎, 印南 敏: 過酸化脂質研究, **3**, 107~109 (1979).
- 11) 池上幸江, 土橋文江, 西出英一: 食衛誌, **32**, 1~7 (1991).
- 12) Al-Turk, W. A., Shara, M. A., Mohammadpour, H., Stohs, S. J.: *Drug Chem. Toxicol.* **11**, 55~70 (1988).
- 13) 池上幸江, 土橋文江, 大野光宣, 西出英一: 食衛誌, **28**, 436~444 (1987).
- 14) Folch, J., Lees, M., Stanley, G. H. S.: *J. Biol. Chem.* **226**, 497~509 (1957).
- 15) Sobel, C., Fernandez, A.: *Clin. Chem.* **12**, 739~747 (1966).
- 16) Fiske, C. H., Subbarow, Y.: *J. Biol. Chem.* **66**, 375~400 (1925).
- 17) Omura, T., Takesue, S.: *J. Biochem.* **67**, 249~258 (1970).
- 18) Whanger, P. D., Weswig, P. H., Schmitz, J. A., Oldfield, J. E.: *J. Nutr.* **107**, 1,298~1,307 (1977).
- 19) Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K.: *Anal. Biochem.* **95**, 351~358 (1979).
- 20) 阿部皓一, 勝井五一郎: ビタミン **49**, 259~263 (1975).
- 21) 印南 敏, 中村敦子, 小野 悟, 永山スミ子: 栄養学雑誌 **36**, 215~224 (1978).
- 22) Itokawa, Y., Tabei, R., Kamohara, K., Fujiwara, K.: *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **3**, 115~131 (1975).
- 23) Nagaoka, S., Masaki, H., Aoyama, Y., Yoshida, A.: *J. Nutr.* **116**, 726~732 (1986).
- 24) Carlson, L. A., Kolmodin-Hedman, B.: *Acta Med. Scand.* **192**, 29~32 (1972).
- 25) Wassermann, M., Wassermann, D., Aronovski, I., Ivriani, I., Rosenfeld, D.: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **5**, 368~372 (1970).
- 26) Goldberg, D. M., Roomi, M. W., Yu, A., Roncari, D. A. K.: "Microsomes, Drug Oxidations, and Chemical Carcinogenesis" ed. by Coon, M. J., Conney, A. H. Estabrook, R. W., Gelboin, H. V., Vol. II, 725~728 (1980), Academic Press.
- 27) 鶴沢春生, 伊東靖夫, 納富昭夫, 勝木司馬之助: 福岡医誌, **60**, 449~454 (1969).
- 28) Hahn, H. K. J., Barak, A. J., Tuma, D. J., Sorrell, M. F.: *Pharmacology*, **17**, 341~344 (1978).
- 29) 大山 徹: 道衛研所報, 第35集, 1~6 (1985).
- 30) Svingen, B. A., O'Neal, F. O., Aust, S. D.: *J. Biol. Chem.* **254**, 5,892~5,899 (1979).
- 31) Baird, M. B.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **95**, 1,510~1,516 (1980).
- 32) Kimbrough, R. D., Linder, R. E., Gaines, T. B.: *Arch. Environ. Health* **25**, 354~367 (1972).
- 33) Allman, M. A., Koster, J. F., Wilson, J. H. P., Edixhoven-Bosdijk, A., Slee, R. G., Kroos, M. J., Eijk, G. V.: *Biochem. Pharmacol.* **34**, 161~166 (1985).
- 34) 蒲原一隆, 藤原邦達, 八木典子, 糸川嘉則: 日衛誌, **34**, 189 (1979).