

Title	経口摂取時のBenzo (a) pyreneの生体内挙動に関する研究
Author(s)	山崎, 裕康
Citation	大阪大学, 1982, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/33461">https://hdl.handle.net/11094/33461</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【3】

氏名・(本籍)	山崎裕康
学位の種類	薬学博士
学位記番号	第 5751 号
学位授与の日付	昭和 57 年 7 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	経口摂取時の Benzo(a)pyrene の生体内挙動に関する研究
論文審査委員	(主査) 授教 近藤 雅臣 (副査) 教授 鎌田 皎 教授 岩田平太郎 教授 青沼 繁

### 論文内容の要旨

#### 緒言

ガンの原因は主として環境因子に、特にそのうちでも食品によるものが大部分を占める、という報告が Sir Richard Doll によりなされた。一方、Benzo(a) pyrene (BP) は古くからガン原性物質であることが知られており、皮膚ガン、肺ガンを引き起こす。また、BP は大気、食品中に存在することが報告されている。<sup>1,2)</sup> ところで、食品は加工、調理後摂取することも多く、実際に摂取する状態の食品における BP 含量の把握が必要である。とくに、わが国の食生活において、きわめて大きな比重を占める魚類についてはそのような報告はほとんどないことから、まず最初に、生および調理時に生ずる魚肉中の BP 含量について検討した。

BP はそれ自身が発ガン性を有するだけでなく、その代謝物がより強い発ガン性を有すると考えられている。すなわち、マイクロゾームの mixed function oxidase (MFO) により BP-7, 8-ジオールを経て、BP-7, 8-ジオール-9, 10-エポキシドとなり、これが強い変異原性、発ガン性を有すると報告されている。<sup>3,4)</sup> (Fig. 1) これらの変換は肝マイクロゾームによる代謝実験の結果である。それゆえ、BP が摂取された場合に、どの臓器、組織にいかなる代謝物が存在するかを調べることは、BP の生体における発ガン性を検討する上できわめて重要なことである。BP は、経気道投与により肺ガンを発生させることが報告されているが、経口投与の場合における生体内挙動については報告されていない。そこで、次に、経口摂取時の BP の生体内挙動について基礎的な資料を得るため、ラットを用いその生体内分布、経時変化、代謝物分布について検討した。

## 本 論

### 第一章 魚肉中ならびにその調理時に生ずるBP

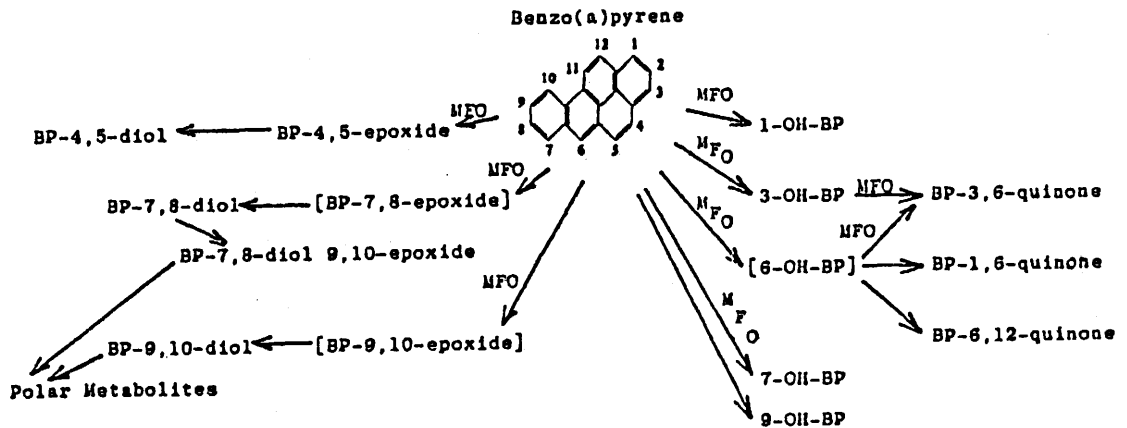
数種の市販魚類について、生および調理時に生ずるBPについて検討した結果、生試料の場合には、全検体についてBPは検出されなかった。これに対し、生試料をガス直火で焼いた場合には、全検体において、試料100gあたり0.01 $\mu$ g (タチウオ, マナカツオなど)~0.75 $\mu$ g (サバ)のBPが検出された。

また、試料をアルミはくで包んだ後に、ガス直火で焼いた場合には、生試料の場合と同様、BPは検出されなかった。

この結果より、生の魚肉中には検出されないBPは、魚肉中成分を、ガスと直接接触させて燃焼することにより生ずると考えられた。

以上のことより、焼魚よりのBP摂取量は、一人一日あたり約70ngとなり、経口摂取量500ngの約15%を占めると推察された。

Fig. Metabolic Pathway of Benzo(a)pyrene



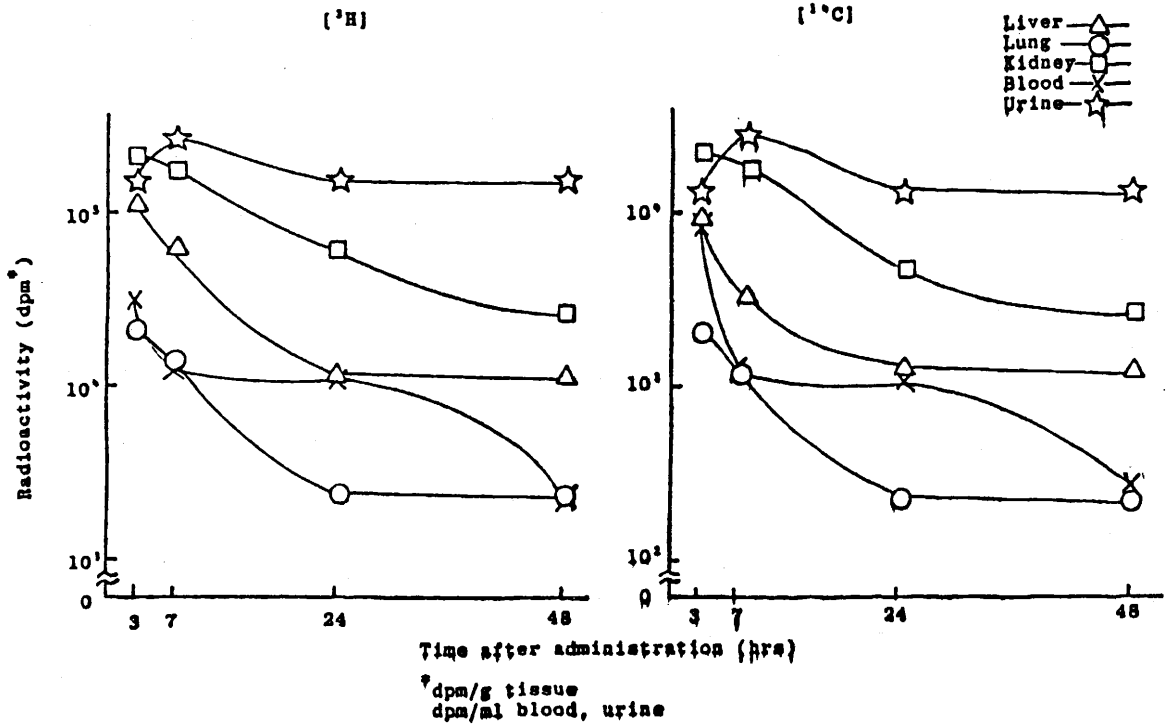
### 第二章 経口投与BPの体内分布とその経時変化

<sup>3</sup>H(general)および<sup>14</sup>C(7, 10位)で標識したBPをSD雄性ラット(体重約250g)に経口投与し、投与3, 7, 24および48時間後に、各臓器、筋肉、脂肪、血液ならびに尿中の放射活性を測定した。そのうちの、肝臓、肺、腎臓、血液および尿における放射活性の経時変化を、Fig. 2に示した。

その結果、投与3時間後では全体的な放射活性の上昇がみられた。それ以後は、時間経過とともに、すみやかな放射活性の減少がみられた。24乃至48時間後には、ほとんどの臓器において、放射活性が認められなくなったが、肝臓、肺および腎臓においては、24時間以降も放射活性の残存がみられた。また、尿中には、投与3時間後で高い放射活性が認められ、7時間後には約2倍に増加した。24および48時間後は、3時間後と同程度の放射活性がみられた。

この結果より、経口投与されたBPは、比較的すみやかに生体に吸収されその一部は投与3時間で

Fig. 2. Distribution of Radioactivity in Various Tissues



尿中に排泄されることが明らかとなった。また、肝臓、肺、腎臓においては、投与後48時間でも放射活性が残存したことから、BPを連続的に摂取した場合には、これらの臓器におけるBPの蓄積ならびにBPおよびその代謝物と組織との長時間にわたる接触が考えられ、組織変化を引き起こす可能性が示唆された。さらに、残存放射活性は肝臓の約25%腎臓の約10%ではあるが、BPの経気道投与によりしゅよう発生が報告され<sup>5)</sup>また、BPの標的臓器といわれている肺に、経口投与したBPが残留したことは、BPと肺との関連性をより一層明らかにしたといえる。

### 第三章 肝臓、肺、腎臓、血液および尿におけるBP代謝物の分布ならびに経時変化

第一章において、投与BPの放射活性の残留が認められた肝臓、肺、腎臓に加えて血液、尿におけるBPの存在形態について検討した結果、肝臓においては、BP-9, 10-ジオール(9, 10-D), BP-4, 5-ジオール(4, 5-D), BP-7, 8-ジオール(7, 8-D)および3-ヒドロキシ-BP(3-OH-BP)が投与初期において多量存在し、時間経過とともに減少していた。一方、BP-3, 6-キノン(3, 6-Q), BP-1, 6-キノン(1, 6-Q)の抱合体は、時間経過とともに増加していた。投与初期における存在割合は、ジオール体(4, 5-D, 7, 8-D, 9, 10-D)35%, 3-OH-BP15%, キノン体15%, BP10%であった。

肺においては、3, 6-Qおよび1, 6-Qが投与初期に多く、BPの存在も顕著であった。4, 5-D, 7, 8-D, 9, 10-Dは時間経過とともに増加していた。また、3-OH-BPは少量の存在が認められた。投与初期における存在割合は、キノン体30%, BP20%, ジオール体10%であった。

腎臓では、全実験時間にわたって、キノン体が多く、ついでジオール体が目立った。また、3-OH

-BPはほとんど認められなかった。代謝物の存在割合は、投与初期において、キノン体50%、ジオール体35%、時間経過後は、キノン体25%、ジオール体15%であった。

血中には、投与初期において、BP, 9,10-D, 3-OH-BP, 4,5-Dおよび7,8-Dが、時間経過後は3,6-Qの抱合体が認められた。

尿中には、3,6-Q, 1,6-Qならびにその抱合体、ジオール体の抱合体、極性代謝物とその抱合体が多量存在し、3-OH-BPならびにBPはほとんど認められなかった。

Croverら<sup>6)</sup>は、肝臓ホモジネートおよび肝マイクロゾームを用いた実験により、9,10-D, 4,5-Dおよび7,8-Dのジオール体と3-OH-BPが主要代謝物であると報告している。また、Rasmussenら<sup>7)</sup>は、肝マイクロゾームを用いて、ジオール体、3-OH-BPに加えてキノン体の生成を報告している。本実験結果でも、ジオール体、3-OH-BP、キノン体が肝臓中に認められたことより、肝臓は、BPを、主として9,10-Dをはじめとするジオール体および3-OH-BPに代謝していること、また、時間経過とともに3-OH-BPの一部を3,6-Qなどキノン体に、さらに抱合体にまで代謝していることが考えられた。

肺には、本実験により、未代謝のBPが多量存在することが確認され、肺組織とBPの親和性が強いこと、ならびにBP代謝能の低いことを示していた。Groverら<sup>6)</sup>は、肺ホモジネートおよび肺マイクロゾームを用いた実験において、3-OH-BPが主代謝物であり、ついで9,10-D, 4,5-D, 7,8-Dのジオール体の生成を報告している。また、Cohenら<sup>8)</sup>は、ヒト、ハムスター、ラットの培養肺とBPとを接触させた後、酢酸エチル可溶性代謝物として、3-OH-BPの硫酸抱合体が多量生成すると報告しているが、本実験においては、3,6-Qおよび1,6-Qが肺における主要代謝物であり、また、酢酸エチル可溶性代謝物中には、3-OH-BPの硫酸抱合体と同じ挙動を示す物質がほとんど認められなかった。それゆえ、肺においては、*in vitro*と*in vivo*におけるBP代謝物の明らかな相違がみられた。

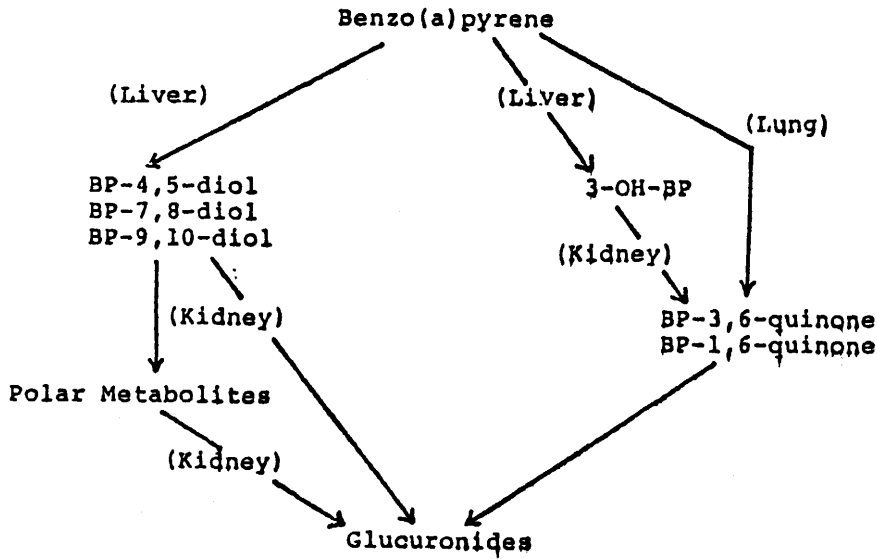
腎臓では、3,6-Q, 1,6-Qのキノン体、4,5-D, 7,8-D, 9,10-Dのジオール体の存在が顕著である一方、尿中には、ジオール体の抱合体、極性代謝物ならびにその抱合体が多量存在することから、腎臓は、ジオール体を、その抱合体および極性代謝物に、さらに、極性代謝物を抱合体に変える役割を果たしていると推察された。また、血液中に認められた3-OH-BPが、尿中にはほとんど認められなかったことから、3-OH-BPが腎臓において、3,6-Q, 1,6-Qのキノン体に代謝されていることも示唆された。腎臓を用いたBPの代謝報告は、腎臓のBP代謝酵素活性についての報告以外にはなく、本実験により、*in vivo*での腎臓のBP代謝がはじめて明らかとなった。この結果より、*in vivo*における、BP代謝経路および関連臓器を示したのがFig. 3である。

Nemotoら<sup>9)</sup>は、マイクロゾームを用いて、BP代謝物のグルクロン酸抱合体形成能について検討し、3-OH-BPをはじめとするフェノール体は全種が抱合体を形成するのに対し、ジオール体は全体として抱合体の形成は少なく9,10-Dにおいては全く認められなかったと報告しているが、本実験結果では、肝臓、肺、腎臓、尿などにおける抱合体は、3-OH-BPはむしろ少なくジオール体、キノン体に多いという顕著な相違がみられた。

また、本実験により、肝臓における、多量のジオール体の投与初期での存在、肺におけるジオール

体の経時的増加、腎臓におけるジオール体の、極性代謝物への変換が、明らかもしくは強く示唆されたことは、Borgenら<sup>10)</sup>, Kahlら<sup>11)</sup>が報告している肝マイクロソーム存在下での7,8-DとDNAとの強い結合、さらには、Feldmanら<sup>12)</sup>による、4,5-Dへの代謝中間体であるBP-4,5-エポキシドの、肺細胞DNAとの結合性の報告、Hubermanら<sup>13)</sup>による7,8-Dから極性代謝物への代謝中間体であるBP-7,8-D-9,10-エポキシドの、微生物に対する強い変異原性の報告などを考え合わせると、これらの臓器においては、BP代謝物によるしゅよう発生の可能性がかなり高くなると思われる。

Fig. 3. Metabolic Pathway of Benzo(a) pyrene



#### 第四章 3-OH-BPのin vivoならびにin vitroにおける代謝

BPの主要代謝物としては、4,5-D, 7,8-D, 9,10-Dのジオール体および3-OH-BPをはじめとするフェノール体があり、このうちジオール体については、ジオールがさらにジオールエポキシドに代謝され変異原性を発揮することが明らかにされていることから、ジオール体に対する代謝研究は非常によくなされている。一方、フェノール体は、変異原性はジオール体にくらべかなり弱い細胞毒性が強いとGelboinら<sup>14)</sup>により報告されており、また、代謝物としての生成量が多いにもかかわらず、このものを投与した場合の代謝に関する研究はほとんどなされていない。そこで、3-OH-BPを投与した場合の尿中代謝物について検討した結果、3-OH-BPの抱合体、3,6-Q, 1,6-Qおよびそれぞれの抱合体のほかに、3-OH-BPからの代謝経路が報告されていない4,5-D, 7,8-D, 9,10-Dならびに9,10-Dの抱合体が認められた。

つぎに、単離肝細胞および腎臓スライスによる3-OH-BPの代謝について検討した結果、肝細胞は3-OH-BPを3,6-Q, 1,6-Qおよびその抱合体、4,5-D, 7,8-D, 9,10-Dに代謝すること、腎臓は、3-OH-BPを、3,6-Q, 1,6-Q, 4,5-D, 7,8-D, および9,10-D抱合体に代謝することが明らかとなった。このことより、肝臓は、キノン抱合体経路、腎臓は、ジオール抱合体経路を有することが判明

した。さらに、*in vivo*において示唆された、3-OH-BPから4,5-D, 7,8-D, 9,10-D生成系の存在が、肝臓ならびに腎臓を用いた*in vitro*実験により証明された。

#### 結 論

魚肉中のBP含量について、生および調理時に生ずるBP量をしらべた結果、生ならびにアルミはくで包んだ後ガス直火で焼いた魚肉中にはBPが検出されなかった。一方、魚肉をガス直火で焼いた場合には、全検体から、試料100gあたり0.01~0.75 $\mu$ gのBPが検出された。

つぎにBPを経口投与すると、肝臓、肺、腎臓において残留性をしめし、とくに、肺における残留性は、肺がBPの標的臓器といわれることとよく一致していた。

BPは肝臓において4,5-D, 7,8-D, 9,10-Dのジオール体、3-OH-BPに、肺において3,6-Q, 1,6-Qのキノン体に主として代謝され、さらに腎臓においてジオールの抱合体、極性代謝物およびその抱合体に代謝された後尿中に排泄されると示唆された。

肺においては、3,6-Q, 1,6-Qのキノン体の存在が顕著であり、肺を用いた*in vitro*実験の結果との相違が明らかとなった。

腎臓におけるBPのとくに*in vivo*での代謝が本実験により明らかとなった。

肝臓、肺、腎臓においては、変異原性の強いエポキシド生成が不可避であり、これらの臓器におけるしゅよう発生が充分予想された。

BP代謝物のひとつである3-OH-BPを投与すると、尿中にこれまで3-OH-BPからの代謝経路が報告されていない4,5-D, 7,8-D, 9,10-Dのジオール体が認められ、さらに、肝臓、腎臓を用いた*in vitro*実験によってもこの代謝経路の存在がうらづけられた。

#### 引用文献

1. 齊藤 健 化学と生物, 8, 178(1970)
2. 石館守三 生活環境と発ガン, p113 朝倉書店
3. 根本信雄 蛋白質, 核酸, 酵素, 21, 957(1976)
4. 永田親義, 児玉昌彦 代謝, 13, 1705(1976)
5. H. Schreiber, G. Saccomanno, D. H. Martin and L. Brennen; *Cancer Res.*, 34, 689(1974)
6. P. L. Grover, A. Hewer and P. Sims; *Biochem. Pharmacol.*, 23, 323(1974)
7. R. E. Rasmussen and I. Y. Wang; *Cancer Res.*, 34, 2290(1974)
8. G. M. Cohen, S. M. Haws, B. P. Moore and J. W. Bridges; *Biochem. Pharmacol.*, 25, 2561(1976)
9. N. Nemoto and H. V. Gelboin; *Biochem. Pharmacol.*, 25, 1221(1976)
10. A. Borogen, H. Darvey, N. Castagnoli, T. T. Crocker, R. E. Rasmussen and I. Y. Wang; *J. Med. Chem.*, 16, 502(1973)
11. G. F. Kahl, E. Klaus, C. Legraverend, D. W. Nebert and O. Pelkonen; *Biochem. Pharmacol.*, 28, 1051(1979)
12. G. Feldman, J. Rewsa, T. V. Wang and P. Cerutti; *Biochemistry*, 19, 1095(1980)

13. E. Huberman, L. Sachs, S. K. Yang and H. V. Gelboin ; Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 73, 607 (1976)
14. H. V. Gelboin, E. Huberman and L. Sachs ; Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 64, 1188 (1969)

### 論文の審査結果の要旨

経気道ならびに経皮吸収による Benzo(a) pyrene の発ガン性および生体内分布などについては多くの研究があるが、経口摂取時の体内挙動に関してはほとんど明らかにされていなかった。本研究はまず食品の調理時における Benzo(a) pyrene の生成について検討し、経口摂取時には肝臓、肺、腎臓にその残留性が認められることを明らかにした。また、それぞれの臓器における代謝産物を同定し、従来臓器ホモジネートを用いた代謝実験で明らかにされた経路と異なる *in vivo* の代謝経路が存在することを明らかにした。これらの成果は発ガン物質の代謝経路に新しい知見を加えるものであり、薬学博士の学位を授与するに値するものと判定した。