

綜 説

有機溶剤の代謝・毒性とチトクローム P450

中 島 民 江

信州大学医学部衛生学教室

Cytochrome P450 in Relation to the Metabolism
and Toxicity of Organic Solvents

Tamie NAKAJIMA

Department of Hygiene, Shinshu

University School of Medicine

Key words: organic solvents, metabolism, toxicity, cytochrome P450

有機溶剤, 代謝, 毒性, チトクローム P450

はじめに

「有機溶剤」は、常温・常圧下で揮発性に富み、非水溶性の物質をよく溶かす（脂溶性）という2つの特徴を持っている有機化合物の総称である。石油化学の発達とともに量・種類が増加し、一説によると600種類もの有機溶剤が市場に出回っている¹⁾。用途は塗料・印刷・表面加工用の溶剤、接着剤中の溶剤、洗浄・拭拭・ドライクリーニング用の溶剤、あるいは分析・試験・研究にと広範囲にわたっている¹⁾。量的には産業職場での使用が大部分を占め、今まで有機溶剤に関する諸問題は作業職場環境に限定されていた。しかし多岐にわたる用途（たとえば日常使用される接着剤や拭拭き用ベンジンなど）、あるいは揮発性という性質のため、一般生活環境にも容易に拡散し、有機溶剤による環境汚染の問題は地球規模の汚染にまで発展しているのが現状である²⁾³⁾。

わが国においても過去に多くの有機溶剤中毒の発生がみられている。中でも今から約30年前に大阪生野区を中心に、ビニールサンダル製造業者に発生したベンゼン中毒は多数の死亡者を出し⁴⁾、労働衛生史上有名である。またベンゼンの代替溶剤として登場し、多発神経炎を招来して社会問題にまで発展した *n*-ヘキサ

ン中毒⁵⁾は長野県下でも発生しており⁶⁾、まだ記憶に新しい。最近、かつてのような集団発生こそみられなくなったが、単発例は依然として報告されており、有機溶剤取扱者の健康管理の難しさを物語っている。

有機溶剤に限らず化学物質の毒性は、その物質固有の生物活性に由来するものであるが、毒性の強さはその標的部位における濃度に依存する。この濃度は化学物質の吸収速度・分布状態・貯蔵形態・代謝様式および排泄速度によって決定される⁷⁾。この中で“代謝”は有機溶剤の毒性に対して重要な意味を持つ。その理由は代謝が有機溶剤の体内からの排泄（生物半減期）を決定するとともに、ある種の溶剤に関しては活性代謝物を生成し、毒性発現に導くからである。前者のよい例は1, 1, 1-トリクロロエタンとトリクロロエチレンの場合であり、後者の代表的例は四塩化炭素である⁸⁾。雄ラットの場合、トリクロロエチレンの代謝速度は1, 1, 1-トリクロロエタンよりも約37倍大きい。そのため、たとえトリクロロエチレンの体内濃度が1, 1, 1-トリクロロエタンより高くても、数時間後には1, 1, 1-トリクロロエタンの体内濃度の方が高くなる。すなわち溶剤の蓄積性は1, 1, 1-トリクロロエタンの方がトリクロロエチレンより高いということである。四塩化炭素は代謝されることによって活性化され、

毒性が発現される。

この総説は四塩化炭素に代表されるような有機溶剤の代謝と毒性に関する問題をチトクローム P450 (P450) との関連においてまとめたものである。

I 有機溶剤の代謝

体内に吸収された有機溶剤の一部は呼吸器を介して、そのままの形で呼気中に排泄されるが、肝で代謝を受けて尿中に代謝物の形でも排泄される。有機溶剤の代謝は2つに大別される。すなわち第I相反応 (functionalization reaction) と第II相反応 (conjugation reaction) である。前者に関与する酵素はミクロソームの P450, 非ミクロソーム酵素 (アルコール脱水素

酵素, アルデヒド脱水素酵素など) など多種存在するが, なかでもミクロソームの P450 の触媒作用によるところが大きい。P450 は肝臓に最も多く分布するが, その他に肺, 皮膚, 腎, 副腎皮質, 副腎髄質, 胎盤, 睾丸, 卵巣などでも存在が確認されている。第II相の反応に関与する酵素には UDP-グルクロン酸, グルタチオン, 硫酸および N-アシル転移酵素などがある⁷⁾。

A チトクローム P450 による酸化反応

P450 はミクロソーム分画に存在するヘム蛋白であり, 多くの外来化学物質あるいは内因性のステロイド等の酸化反応における末端酵素である。この反応には NADPH と分子状酸素が要求され, monooxygenase あるいは mixed-function oxidase とも呼ばれる。

Table 1 Effects of 1-day fasting and ethanol consumption on the metabolism of organic solvents

Solvents	Structure	Metabolic rates, nmol/g liver/min		
		Non-treated	1-Day fasted	Ethanol
Benzene	C ₆ H ₆	13.7± 5.4	36.4± 2.8	87.5±13.7
Toluene	C ₆ H ₅ CH ₃	18.1± 4.9	40.3± 4.8	88.5± 2.6
Ethylbenzene	C ₆ H ₅ CH ₂ CH ₃	22.9± 6.3	40.8± 3.5	70.0± 4.5
Propylbenzene	C ₆ H ₅ CH ₂ CH ₂ CH ₃	46.5±12.8	77.2±17.4	ND
<i>o</i> -Xylene	C ₆ H ₄ (CH ₃) ₂	24.0± 5.5	41.2± 5.0	80.7±12.0
<i>m</i> -Xylene	C ₆ H ₄ (CH ₃) ₂	21.0± 5.5	41.0± 1.9	76.6± 2.6
<i>p</i> -Xylene	C ₆ H ₄ (CH ₃) ₂	24.4± 4.2	50.6± 4.7	94.0±14.2
Cumene	C ₆ H ₅ CH (CH ₃) ₂	36.6± 4.3	75.9± 1.6	ND
Styrene	C ₆ H ₅ CH=CH ₂	28.5± 4.3	46.1± 1.6	90.3±10.1
Dichloromethane	CH ₂ Cl ₂	28.5± 1.5	60.9± 1.9	150.0±21.9
Chloroform	CHCl ₃	19.7± 2.6	55.1± 7.5	126.6±10.5
Carbon tetrachloride	CCl ₄	1.9± 0.2	5.9± 0.8	8.3± 1.5
1, 1-Dichloroethane	CH ₃ CHCl ₂	19.1± 3.3	56.0± 2.4	120.9± 7.5
1, 2-Dichloroethane	CH ₂ ClCH ₂ Cl	23.6± 1.1	59.8± 3.1	128.6± 7.9
1, 1, 1-Trichloroethane	CH ₃ CCl ₃	0.5± 0.2	1.2± 0.2	1.8± 0.5
1, 1, 2-Trichloroethane	CH ₂ ClCHCl ₂	21.0± 1.9	56.0± 3.0	117.6± 2.1
1, 1, 1, 2-Tetrachloroethane	CH ₂ ClCCl ₃	8.1± 2.0	32.8± 8.4	29.4± 5.5
1, 1, 2, 2-Tetrachloroethane	CHCl ₂ CHCl ₂	13.3± 0.6	40.0± 2.4	70.9± 8.3
1, 1, -Dichloroethylene	CH ₂ =CCl ₂	31.1± 6.6	67.3± 6.6	100.6±10.8
<i>cis</i> -1,2-Dichloroethylene	CHCl=CHCl	17.5± 5.2	40.0± 5.0	59.3± 9.9
<i>trans</i> -1,2-Dichloroethylene	CHCl=CClH	<0.5	<0.5	11.4± 5.3
Trichloroethylene	CHCl=CCl ₂	18.9± 7.4	57.0± 1.9	105.3± 1.5
Tetrachloroethylene	CCl ₂ =CCl ₂	0.5± 0.3	1.9± 0.3	2.6± 0.4
1-Chloropropane	CH ₃ CH ₂ CH ₂ Cl	37.6± 5.9	100.0± 5.2	ND
Monochlorobenzene	C ₆ H ₅ Cl	8.2± 1.6	35.5± 6.3	71.1±11.0
Bromobenzene	C ₆ H ₅ Br	13.5± 3.7	28.9± 4.5	71.6±15.1
<i>n</i> -Hexane	C ₆ H ₁₄	19.8± 4.1	37.8± 8.4	84.4± 8.0

Nakajima and Sato¹²⁾ ; Sato *et al.*¹³⁾ ; unpublished data
 ND, not determined

P450は多数のアイソザイムの集合体であり、多くの化学物質の生体内反応における律速酵素である。これに関する詳細は他の綜説⁹⁾¹⁰⁾を参考にされたい。

多くの有機溶剤がP450の触媒作用のもとに代謝される。我々は独自に開発した手法¹¹⁾を用いて、27種類の有機溶剤の代謝速度(P450の活性)を測定した¹²⁾¹³⁾(Table 1)。この測定方法は基質の減少を利用しているため、各溶剤の全体の代謝速度は把握できるが、代謝経路に関しては知ることができない。

使用した基質濃度は約0.1mMである。四塩化炭素, 1, 1, 1-トリクロロエタン, テトラクロロエチレン, トランス-1, 2-ジクロロエチレンは代謝され難いが, 他の溶剤は比較的代謝されやすい。代謝の構造-活性相関をみると, 芳香環側鎖のメチル基は代謝速度を上昇させる傾向があるが(ベンゼンからプロピルベンゼンまでの比較), 塩素化脂肪族炭化水素のメチル基は代謝を減少させる傾向を示す(ジクロロメタンと1, 1-ジクロロエタン, クロロホルムと1, 1, 1-トリクロロエタンの比較)。塩素化脂肪族炭化水素では置換する塩素が増えると代謝は低下する傾向を示す(ジクロロメタン, クロロホルムおよび四塩化炭素の比較, 1, 1-ジクロロエチレン, トリクロロエチレンおよびテトラクロロエチレンの比較)。キシレンの4種の異性体間に代謝速度の差は認められず, このような構造異性体は全体の代謝には大きな影響を与えないようである。しかし幾何異性体であるシスとトランスの1, 2-ジク

ロエチレンを比較すると, シス体は他の有機溶剤と同程度に代謝されるが, トランス体はほとんど代謝されない。これはP450に立体化学的特異性があることを示し, 興味深い。検討した有機溶剤に共通している点は, 絶食とエタノール摂取によって代謝が亢進することである。

B チトクロームP450のアイソザイムと有機溶剤の代謝・毒性

P450は1964年OmuraとSato¹⁴⁾によって発見されてから, 多くの研究者により生化学的, 薬物代謝学的特性が研究されてきた。しかし命名法も統一されておらず, おおのこの研究者が独自の命名をしてきたためにしばしば混乱を招いてきた⁹⁾¹⁰⁾。最近, Nebertら¹⁵⁾によって命名法が整理され, 新しい命名法が採用された。有機溶剤の代謝への関与が検討されたP450のアイソザイムをTable 2に示す。

1 ベンゼン

ベンゼンの代謝経路¹⁶⁾をFig. 1に示す。ベンゼンはP450の作用を受けてベンゼンエポキシドに酸化され, この大部分は非酵素的にフェノールに変換される。フェノールの一部は再度P450によってヒドロキノンあるいはカテコールに代謝され, 残りは硫酸転移酵素とグルクロン酸転移酵素によってそれぞれ硫酸とグルクロン酸抱合体へ代謝される。ベンゼンエポキシドからエポキシドヒラーゼとグルタチオン転移酵素によってそれぞれカテコールとメルカプツール酸が生成し,

Table 2 Major isozymes of rat liver cytochrome P450 responsible for the metabolism of organic solvents

Isozymes	Gene designation	Species	Inducer
P450c	IA1	Rat	3-Methylcholanthrene
P450d	IA2	Rat	3-Methylcholanthrene
P450a	IIA1	Rat	3-Methylcholanthrene
P450 PB-2a	IIIA1	Rat	Steroid
P450b	IIB1	Rat	Phenobarbital
P450e	IIB2	Rat	Phenobarbital
P450LM2	IIB4	Rabbit	Phenobarbital
P450 PB-1	IIC6	Rat	Phenobarbital
P450h	IIC11	Rat	Steroid (adult male-specific form)
P450i	IIC12	Rat	Steroid (adult female-specific form)
P450j	IIE1	Rat	Ethanol, Fasting, Acetone, Pyrazole, Isopropyl alcohol, Imidazole, Trichloroethylene, Benzene, Isoniazid, Diabetic state

Lu and West⁹⁾; Nebert *et al.*¹⁵⁾; Koop and Coon⁵⁵⁾; Waxman *et al.*⁷⁰⁾⁷²⁾

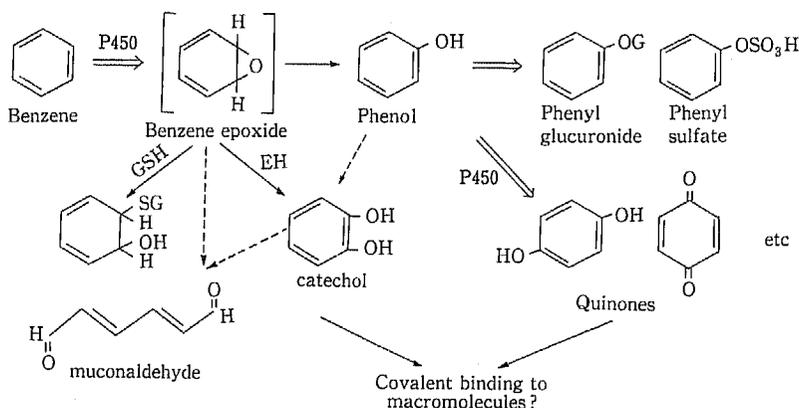


Fig. 1 A scheme of benzene metabolism according to Sabourin *et al.*¹⁶⁾ with several modifications. EH; epoxide hydrase.

カテコールはさらにムコン酸に代謝されるが、これらは主要な代謝経路ではない。

P450のアイソザイムと有機溶剤の代謝に関する研究はそれほど多くない。その中でベンゼンに関する知見は比較的多い方である。GorskyとCoon¹⁷⁾はフェノバルビタール処理した家兎の肝ミクロソームとこれから精製したP450IIB4を使用して、フェノールの生成速度からベンゼンの代謝速度を求め、P450IIB4がベンゼンの代謝におけるhigh-*K_m*酵素であることを明らかにした。JohanssonとIngelman-Sundberg¹⁸⁾はベンゼンの代謝に関与するP450の*K_m*は小さく(0.019mMと0.3mM)、エタノール、アセトンおよびベンゼンの前処理によって亢進することを報告した。さらにラットP450jと家兎P450_{3a}(いずれもP450IIE1に分類される)に対するIgGを使用して、ベンゼンの代謝においてはP450IIE1がおもなアイソザイムであると結論している。Koopら¹⁹⁾は家兎肝から精製した6種のP450アイソザイムと抗体を使用してベンゼンとフェノールの酸化反応について検討し、i)ベンゼンからフェノールへの水酸化がアセトン処理によって亢進し、この過程にP450IIE1とP450IIB4が関与している、ii)P450IIE1はフェノールからヒドロキノンの経路にも関与している、iii)P450IIE1はベンゼン代謝においてlow-*K_m*アイソザイムであるが、P450IIB4はhigh-*K_m*アイソザイムである、と報告している。Nakajimaら²⁰⁾⁻²²⁾はエタノール、絶食、フェノバルビタール、および3-メチルコラントレン誘導ミクロソームとP450アイソザイムに対するモノクローナル抗体を利用して、i)ベンゼンのおもな代

謝物はフェノールとヒドロキノンである、ii)エタノール、絶食、フェノバルビタール、3-メチルコラントレン処理によってベンゼンの代謝が亢進する、iii)P450IA1/2、P450IIB1/2、P450IIC11/6およびP450IIE1がベンゼンの代謝に関与する、iv)P450IIE1はlow-*K_m*アイソザイムであるが、他のアイソザイムはhigh-*K_m*値を示す、v)絶食とエタノール処理によりベンゼンの代謝が亢進するが、これはP450IIE1の増加でほとんど説明される、vi)未処理ラット肝においてはP450IIE1とP450IIC11/6がそれぞれlow-*K_m*とhigh-*K_m*アイソザイムとしてベンゼン代謝に関与するが、その寄与はP450IIE1の方が大きい、と報告している。これらの研究を総合すると、P450IA1/2、P450IIB1/2/4、P450IIC11/6およびP450IIE1がベンゼンの代謝に関与する。P450IIE1はベンゼン代謝に対してlow-*K_m*アイソザイムであり、未処理ラット肝のベンゼン代謝のおもな酵素である。他のアイソザイムはhigh-*K_m*値を示す。

ベンゼンは骨髄毒性物質であるとともに、白血病の罹患率を上昇させることにより発癌物質ともみられている²³⁾。ベンゼンの骨髄毒性がベンゼンそのものではなくベンゼンの代謝物によることはよく知られており、代謝物に骨髄毒性を求める多くの研究が行われてきた²³⁾。しかしその究極的代謝物は何かという点に関してはいまだ結論が出されていない。かつてはベンゼンエポキシド、すなわちベンゼンからフェノールへの代謝過程が疑われていたが、最近の知見によるとベンゾキノン、カテコール、ヒドロキノン等、フェノール以降の代謝物あるいは代謝過程に起因するとする説が

有機溶剤の代謝・毒性とチトクロームP450

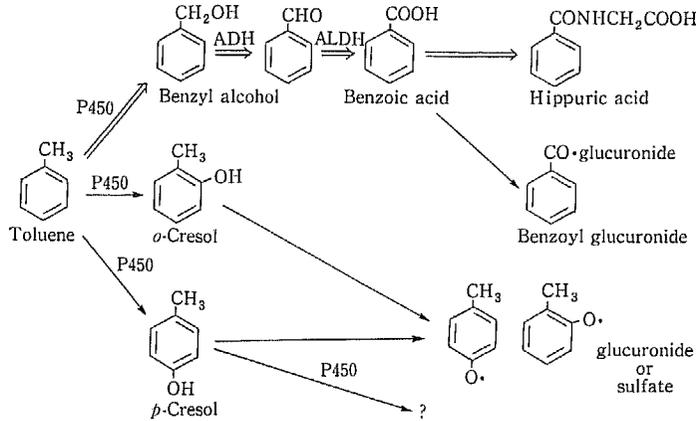


Fig. 2 A scheme of toluene metabolism according to Antti-Poika *et al.*²⁹⁾ with several modifications. ADH; alcohol dehydrogenase, ALDH; aldehyde dehydrogenase.

支持されるようになった^{24)~26)}。その一因は姉妹染色分体交換 (SCE) の出現頻度等の研究から、ベンゼンおよびその代謝物の毒性作用は、カテコール>ベンゾキノン>ヒドロキノン>ベンゼントリオール>フェノール>ベンゼンの順であるという研究²⁵⁾や、エタノール摂取がフェノールからの活性代謝物の生成を促進することによってベンゼンの骨髄毒性を高めるという研究²⁷⁾に負うところが大きい。いずれにしてもベンゼンの代謝に関与する P450 がベンゼンの骨髄毒性に深く関与しているという点では一致している。通常ヒトが暴露されるベンゼン濃度は低い。構成アイソザイムでは P450IIE1 がおもな代謝酵素であり、このアイソザイムは人間でも発現し²⁸⁾、low-*K_m* 値を示す^{20)~22)}。P450IIE1 がベンゼンの骨髄毒性に重要な役割を演じているかもしれない。

2 トルエン

トルエンの代謝経路²⁹⁾を Fig. 2 に示す。トルエンはまず P450 の作用でベンジルアルコール、*o*-クレゾールと *p*-クレゾールに代謝される。*m*-クレゾールへの代謝を報告している研究者もいるが、意見の一致が得られていない³⁰⁾。*o*-クレゾールと *p*-クレゾールへの代謝は動物種によって若干異なるが、1~2% にすぎず、ベンジルアルコールへの代謝がおもな代謝経路となる。生成したベンジルアルコールはアルコール脱水素酵素およびアルデヒド脱水素酵素の作用で安息香酸に代謝され、さらにグリシン抱合を受け、馬尿酸となって尿中に排泄される。安息香酸の一部はグルクロン酸²⁹⁾やカルニチン³¹⁾抱合を受けることを示す報告もあ

るが、これらに関しては、トルエン暴露に伴う直接的証拠に乏しく、さらに検討を要する。

トルエン代謝と P450 のアイソザイムに関する研究はそれほど多くない。Waxman と Walsh³²⁾、Waxman³³⁾は精製した 5 種類のチトクローム P450 のアイソザイムを使用して、トルエンからベンジルアルコールへの代謝を検討した。代謝回転が最も大きいアイソザイムは P450IIB1 であり、P450IIC11 と P450IIC6 が次に続き、P450IIC12 と P450IIA1 の寄与はきわめて低い。Nakajima ら³⁴⁾は 6 種類のモノクローナル抗体を使用して、トルエンの 3 つの代謝経路への P450 アイソザイムの寄与を検討した。トルエンからベンジルアルコールへの経路には P450IIB1/2、P450IIC11/6、P450IIE1 が、*o*-クレゾールへの経路には P450IA1/2、P450IIB1/2、P450IIC11/6 が、*p*-クレゾールへの経路には P450IA1/2、P450IIB1/2、P450IIC11/6、P450IIE1 が関与しており、P450IIA1 のトルエン代謝に対する寄与はきわめて小さい。P450IIE1 は low-*K_m* アイソザイムであり、他は high-*K_m* アイソザイムである。

これら 2 つの研究機関における研究を総合すると、通常の構成アイソザイムの中で、雄に特異的なアイソザイム (P450IIC11) とエタノール誘導性アイソザイム (P450IIE1) はトルエン代謝に関与するが、雌に特異的なアイソザイム (P450IIC12) の関与はきわめて低い。P450 の各アイソザイムにはトルエンに対する構造特異性が認められる。P450IA は芳香環の水酸化 (特に *o*-位の水酸化) に関与するが、側鎖の酸化への関与はほとんど認められない。P450IIB と

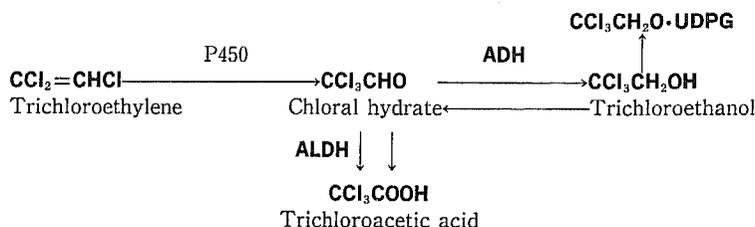


Fig. 3 A scheme of trichloroethylene metabolism according to Waters *et al.*³⁵⁾ with several modification. ADH; alcohol dehydrogenase, ALDH; aldehyde dehydrogenase.

P450IIC11 はいずれの酸化反応にも関与しうが、寄与の割合から見ると側鎖の水酸化が最も大きく、トルエンに対する親和性という観点からは類似したアイソザイムである。P450IIE1 は芳香環側鎖の酸化に最も大きな親和性を示し、*p*-位の水酸化にも若干関与しているが、*o*-位の水酸化にはほとんど関与していない。また *K_m* 値が小さいという点で、他のアイソザイムと異なり、高濃度のトルエンによって阻害される性質を持ち、特殊なアイソザイムである。雄ラットの場合、通常の状態では、低濃度のトルエンの代謝はおもに P450IIE1 に支配され、高濃度のトルエンの代謝は P450IIC11/6 に支配される。しかしトルエンの親和性という点ではベンゼンと異なり、P450IIC11/6 に対する方が P450IIE1 より大きい。

トルエンは神経毒性、視力、聴力、腎に対する障害性など様々な毒性を有するが²⁹⁾、ベンゼンによる骨髄障害のような構造的な障害性に関する報告は少なく、毒性を代謝との関連において検討した報告はあまりみあたらない。

3 トリクロロエチレン

トリクロロエチレンの代謝経路³⁵⁾を Fig. 3 に示す。トリクロロエチレンはまず P450 の作用で抱水クロラールに代謝され³⁶⁾³⁷⁾、アルコール脱水素酵素とアルデヒド脱水素酵素によって速やかにトリクロロエタノールとトリクロロ酢酸に代謝される³⁹⁾。生成したトリクロロエタノールの大部分はグルクロン酸抱合をうけ、ウロクロラール酸として尿中に排泄されるが、ミクロソームのアルコール酸化酵素によって再び抱水クロラールとなり、トリクロロ酢酸に代謝される経路³⁶⁾³⁸⁾³⁹⁾も存在する。

Miller と Guengerich³⁷⁾は 8 種類の精製 P450 アイ

ソザイムを使用してトリクロロエチレンの代謝速度を測定した。代謝回転は次の通りである。P450IIB1 > P450IA2 > P450IA1 > P450IIC11 > P450IIC6。P450IIB2, P450IIA1 および P450IIIA1 のトリクロロエチレン代謝への寄与はほとんどない。我々もトルエンの代謝と同様に、モノクローナル抗体を用いてトリクロロエチレンの代謝に対する P450IA1/2, P450IIB1/2, P450IIC11/6, P450IIE1 の寄与を検討し、Miller と Guengerich と同様の結果を得ている。また、ベンゼンやトルエンと類似して、P450IIE1 はトリクロロエチレン代謝において low-*K_m* アイソザイムとして作用する主要なアイソザイムであり、P450IA1/2, P450IIB1/2, P450IIC11/6 は high-*K_m* アイソザイムとして作用する (未発表資料)。

トリクロロエチレンの障害性は神経系⁴⁰⁾⁴¹⁾のみならず消化器系 (肝⁴²⁾, 大腸⁴³⁾⁴⁴⁾), 造血器系⁴⁰⁾, 皮膚粘膜⁴⁵⁾ など多彩である。近年、マウスで発癌性 (肝細胞癌)⁴⁶⁾が認められ、この方面でも注目されている。このような中で、毒性が代謝との関連において検討されているのは肝に対する発癌性も含めた障害性である。

トリクロロエチレンによる発癌には種差が認められる⁴⁷⁾。すなわちトリクロロエチレンの長期投与によりマウスでは肝細胞癌や腺腫の発生が認められるが、ラットでは認められない。この種差の一部はマウスの方がラットよりトリクロロエチレンの代謝能力が大きい点に求められている⁴⁸⁾⁴⁹⁾。マウスの場合、2,400mg/kg のトリクロロエチレンを 3 日間投与すると肝の中心葉に巣状壊死がおり、この壊死部位の再生に伴って DNA の生合成が促進され、細胞の分裂像も観察される。しかしラットではこのような現象が認められない。

トリクロロエチレンによる肝障害も代謝と深く係わ

っている。たとえばエタノールやフェノバルビタール処理によってトリクロロエチレンの肝毒性が増強されることより、トリクロロエチレンの肝毒性は代謝物に起因するとみなされている⁵⁰⁾⁵¹⁾。我々はエタノールとフェノバルビタールのトリクロロエチレン肝毒性に対する影響を生化学的⁵²⁾および病理学的側面⁵³⁾から検討した。トリクロロエチレンによる肝障害とトリクロロエチレンの尿中代謝物（総三塩化物、トリクロロエタノールとトリクロロ酢酸の和）の排泄には正の相関関係が認められ、トリクロロエチレンによる肝障害は、トリクロロエチレンから抱水クロラールへの過程に起因する。この過程に關与する P450 のアイソザイムの違いによって毒性発現機序が異なる。すなわちエタノール処理ラットでは低濃度暴露から、肝の中間領域を中心に空胞変性が、フェノバルビタール群の場合は高濃度になって初めて肝障害が出現し、病理学的には中心帯を中心とした壊死像がみられる。さらに肝機能能（血清 GPT 値）から同程度の障害を呈していると推測される場合においても、エタノール群の P450 の活性は保持されているが、フェノバルビタール群の活性は低下する。両群にみられるこれらの差異の一因はエタノールとフェノバルビタールで誘導される P450 アイソザイムの物理化学的性質（例えば P450IIE1 は low-*K_m* アイソザイムで、P450IIB は high-*K_m* アイソザイム）の差異によると推察され、興味深い。誘導される P450 のアイソザイムの違いによってトリクロロエチレンの肝障害の程度と病理像が異なるということである。一方 Miller と Guengerich³⁷⁾は *in vitro* におけるトリクロロエチレンの代謝と毒性について検討した。トリクロロエチレンはまず P450 と複合体を形成し、ついで 4 つの代謝経路、i) ヘムの分解、ii) 抱水クロラールの生成、したがってこの経路がトリクロロエタノールやトリクロロ酢酸の生成に結びつく、iii) トリクロロエチレンオキシドの生成、iv) 比較的安定な高分子成分との不可逆的結合物質の生成、をたどる。どの経路が優先するかは P450 アイソザイムの種類に依存する。以上の研究はいずれも、トリクロロエチレンの肝毒性、発癌性に P450 とそのアイソザイムが深く關与していることを示すものである。

4 エーテル

エーテル類の代謝に関する知見はそれほど多くない。ジエチルエーテルは肝ミクロソームにおいて脱エチル化されて、アセトアルデヒドが生成される⁵⁴⁾。Bready ら⁵⁴⁾はジエチルエーテルの脱エチル化に關与

する P450 アイソザイムについて検討した。これによると、P450IIE1 に対するモノクローナル抗体によって未処理ラット肝のジエチルエーテル脱エチル化が45%、アセトン処理ラット肝の脱エチル化が78%阻害されることから、この反応に P450IIE1 が關与している。しかも精製した P450IIE1 の再構成系におけるジエチルエーテル脱エチル化の代謝回転は P450IIB1 の約10倍であり、P450IIE1 がこの代謝の主酵素であるという。またこのアイソザイムは *K_m* 値が低いことが推測されている。

5 エタノール

エタノールは通常ヒトが摂取する機会をもつ唯一の有機溶剤である。生体内でのエタノール代謝には主として3つ（アルコール脱水素酵素、ミクロソームエタノール酸化酵素、およびカタラーゼ）の経路がある。その中でもアルコール脱水素酵素（ADH）とミクロソームエタノール酸化酵素（MEOS）によるところが大きい。最近、従来 MEOS とよばれていた酵素系は P450 であることが明らかにされ、MEOS を“アルコール P450 酸化酵素”と呼ぶ研究者もいる⁵⁵⁾。これらの中で、P450IIE1 がエタノールの代謝や過酸化脂質の生成、これらに伴う肝障害性に關与していることで注目されている⁵⁵⁾⁵⁶⁾。P450IIE1 がヒトでも発現し、飲酒者に多い²⁸⁾点から、ヒトのアルコール性肝障害の発生・進展に深く關与しているものと思われる。しかしアルコールの代謝に關与しているのはこのアイソザイムのみではなく、P450IIC11/6 も關与している⁵⁷⁾。

6 アセトン

アセトンはヒトの生体内に存在する物質であり、絶食や種々の病態時に増加する。有機溶剤としてのみならず、人の生理的物質の代謝としても注目すべき物質である。生体内におけるアセトンはアセトールを經由して最終的には D-グルコースに代謝される。Casa-zza ら⁵⁸⁾は、ラット肝ミクロソームにおいて、NADPH、O₂存在下でアセトンが酸化されることを報告した。最近になって、この反応に P450 が關与していることが明らかにされ、家兎から精製された P450_{3a} とラットより精製された P450j (P450IIE1)⁵⁹⁾⁶⁰⁾ がアセトンの水酸化反応に關与している。しかしフェノバルビタールや3-メチルコラントレンで誘導されるアイソザイムはアセトンの水酸化反応には關与していない⁶¹⁾。アセトンの毒性と P450 の関係を論じた報告はほとんどない。

7 四塩化炭素

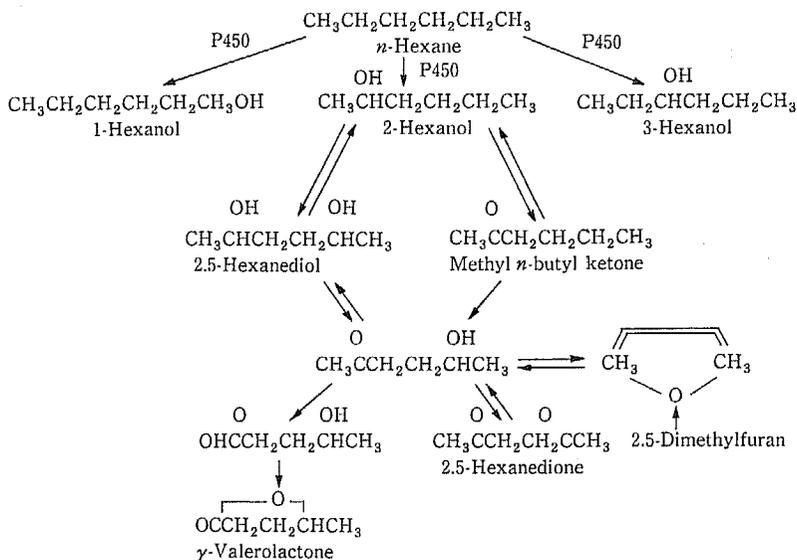


Fig. 4 A scheme of *n*-hexane metabolism according to Perbellini *et al.*⁶⁵⁾ with several modifications.

絶食やアルコール投与により四塩化炭素の代謝が亢進し、肝障害が増強されることはよく知られている¹²⁾¹³⁾。Johanssonら⁶¹⁾⁶²⁾は家兎から精製した3種類の精製P450アイソザイムを使用して、これらの四塩化炭素の代謝(クロロホルムの生成で測定)とこの代謝依存性の過酸化脂質の生成への関与を検討した。P450LMeb (P450IIE1)により四塩化炭素が代謝され、過酸化脂質が生成されたが、P450LM₂ (P450IIB4)とP450LM₄ (P450IA2)による四塩化炭素の代謝はほとんど認められず、過酸化脂質の生成も検出されていない。したがって、エタノールによる四塩化炭素肝障害の増強作用はP450IIE1の誘導によると結論づけている。一方四塩化炭素の好氣的代謝はフェノバルビタール処理の影響を受けないが、嫌氣的代謝はこの処理により著しく亢進することから、フェノバルビタール誘導型のアイソザイム (P450IIB1/2)が四塩化炭素の嫌氣的代謝に関与していることを示唆する報告もある⁶³⁾。

8 *n*-ペンタン

n-ペンタンもアセトンと同様に有機溶剤としてのみならず人の生理的物質の1つとしても注目されている。この物質は生体内で多価不飽和脂肪酸の過酸化反応により産成される。*n*-ペンタンはまず3-ペンタノールと2-ペンタノールに代謝される⁶⁴⁾。この反応にP450IIE1が関与しているが、P450IIB4とP450IA2

は関与していないことが報告されている⁶⁵⁾。

9 *n*-ヘキサン

n-ヘキサンの代謝経路⁶⁶⁾をFig. 4に示す。Morohashiら⁶⁷⁾はラット肝から精製した2種のチトクロームP450 (フェノバルビタールと3-メチルコラントレンで誘導されるおもなアイソザイム)を使用して、*n*-ヘキサンの代謝を検討し、両アイソザイムが*n*-ヘキサンの代謝に関与することを報告した。フェノバルビタールで誘導されるアイソザイムはヘキサンから2-ヘキサノールの経路に最も寄与が大きく、次いで3-ヘキサノールの経路である。1-ヘキサノールへの関与はきわめて小さく、2-ヘキサノールの1/40にすぎない。一方、3-メチルコラントレンで誘導されるアイソザイムは3-ヘキサノール生成への寄与が最も大きく、次いで2-ヘキサノールである。このアイソザイムの1-ヘキサノール生成への寄与は認められていない。すなわちフェノバルビタールと3-メチルコラントレンで誘導されるP450アイソザイムはそれぞれ親和性を示す部位を異にしている。一方P, 450IIE1のこの代謝への寄与に関する研究はない。しかしTable 1に示されるように、P450IIE1を誘導する絶食やエタノール摂取によって代謝が亢進することから、P450IIE1の関与が推測される。

n-ヘキサンの構造特異的毒性は末梢神経に対する障害性である⁵⁾。これは*n*-ヘキサン自身でなく、代謝

物メチル *n*-ブチルケトンあるいは、2,5-ヘキサジオンに起因する。トリクロロエチレンや四塩化炭素と異なり、代謝部位と毒性発現部位が違い、毒性発現の機構として様々な説があるが、原因を代謝物に求められている点では一致している⁵⁾。

C 有機溶剤の代謝に影響を与える因子

P450の活性に影響を与える多くの因子が知られている⁷⁾。種、性、年齢、妊娠、栄養状態、肝障害や糖尿病などの疾病、エタノール、喫煙等はチトクロームP450のアイソザイムに量的、質的影響を与えることによって有機溶剤の代謝を修飾する。有機溶剤の代謝はP450の全体的な量的変化よりも、親和性の高いア

イソザイムの量的な変化に依存する。

1 種差

P450のアイソザイムには種差が存在する。詳細は文献⁸⁾、著書⁷⁾を参考にされたい。一般にマウスの肝組織における化学物質の代謝活性はラットやヒトよりも高いといわれている。有機溶剤関係でよく知られているのはベンゼン¹⁶⁾とトリクロロエチレン¹⁸⁾¹⁹⁾の代謝である。ベンゼンとトリクロロエチレンの代謝はマウスの方がラットより大きく、この違いによってマウスとラットのこれらの有機溶剤に対する感受性の差が説明されている。我々はモノクローナル抗体を使用してベンゼン代謝の種差を検討した。雄マウスは雄ラットよりもP450IIE1の含有量が多く、またラットには存在がほとんど認められないP450IA1/2をもっている。一方、雄ラットはマウスよりもP450IIC11/6の含有量が高い。このようなアイソザイムの分布の違いによって、マウスとラット間に見られるベンゼン代謝の種差の一部が説明できる(未発表資料)。

2 性差

ラットでは化学物質の代謝に性差が認められるが、家兎、マウス、人間には認められない⁷⁾。ラットにおける化学物質の代謝の性差はそれぞれ雄(P450IIC11)、雌に特異的なP450アイソザイム(P450IIC12)の発現で特徴づけられている⁸⁾。さらにP450IIE1にも性差が認められ、雌の方が雄より多い⁷⁾。有機溶剤代謝の性差をみると、トルエンの代謝は雄の方が雌より大きく、性差が認められるが、トリクロロエチレンの代謝には認められない(Fig. 5)。

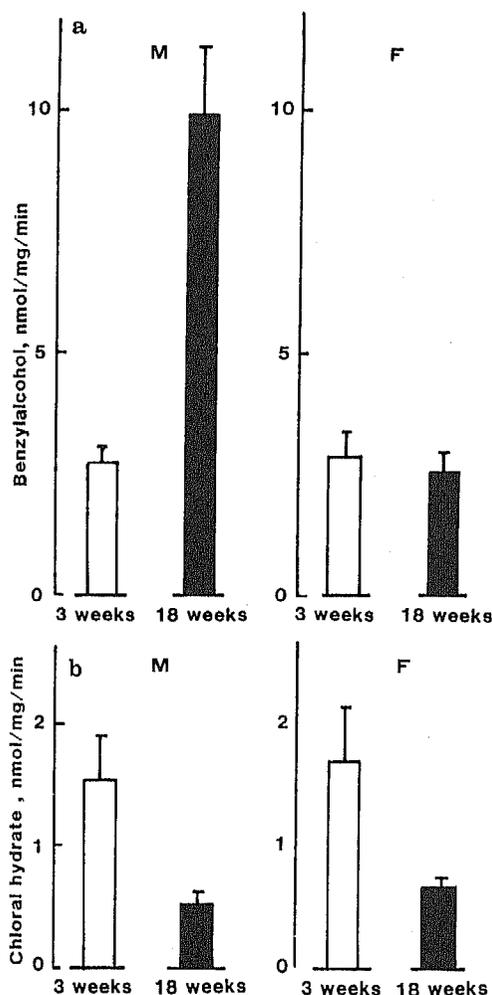


Fig. 5 Effects of sex and aging on the metabolism of toluene (a) and trichloroethylene (b) (unpublished data).

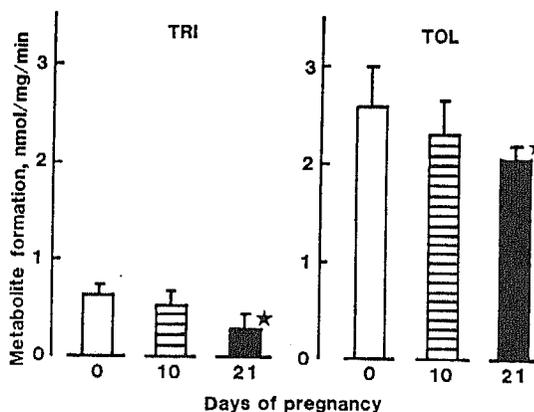


Fig. 6 Effects of duration of pregnancy on the metabolism of trichloroethylene (TRI) and toluene (TOL) (unpublished data). **p* < 0.05

この性差の出現の違いはトルエンとトリクロロエチレンの雄、雌優位のアイソザイムに対する親和性の違いに起因するであろう。有機溶剤の中でも、一般に芳香族炭化水素の代謝には性差があるが、塩素化脂肪族炭化水素の代謝には性差が少ない¹²⁾。

3 年齢

加齢に伴い P450 のアイソザイムの量的な変化が認められる。P450IIE1 は加齢に伴い減少する⁷¹⁾が P450IIC11 は増加する⁶⁹⁾。P450IIA1 は雄でのみ減少するが、P450IIC6 は加齢の影響をほとんど受けない⁷²⁾。有機溶剤の代謝に対する加齢の影響をみると、トルエンの代謝は加齢に伴い上昇するが、トリクロロエチレンの代謝は逆に減少する (Fig. 5)。

4 妊娠

一般に妊娠することにより P450 の活性は低下するといわれている⁷³⁾。妊娠によりトルエンとトリクロロエチレンの代謝が低下する (Fig. 6)。これは P450IIC11/6 と P450IIE1 の減少が一因である。

5 栄養

栄養状態はそれ自身有機溶剤の代謝に影響を与えるのみならず⁷⁴⁾、化学物質による P450 の誘導効果にも影響を及ぼす⁷⁵⁾⁷⁶⁾。飲酒 (エタノール)¹³⁾⁷⁷⁾、低炭水化物食⁷⁴⁾、絶食²¹⁾²²⁾によって P450 (P450IIE1) が誘導される。このため多くの有機溶剤の代謝がこれらの処理によって亢進する (Table 1)。絶食や低糖質食によってエタノール⁷⁵⁾、PB、MC⁷⁶⁾によるチトクローム P450 誘導効果が増す。

6 化学物質

フェノバルビタール、3-メチルコラントレン、P CB、エタノール、イミダゾール、トリクロロエチレン、アセトン、ピラゾール、イソニアジドなど多くの化学物質によって P450 のアイソザイムが誘導される

(Table 2)。

7 病態

アロキサンやストレプトゾトシンなどの化学物質による糖尿病、あるいは自然発症糖尿病ラットでは P450IIE1 が誘導されるが⁷⁸⁾⁷⁹⁾、P450IIC11 は減少する⁸⁰⁾。

一般に肝障害時は P450 の活性が低下するといわれているが¹³⁾⁷⁴⁾⁷⁵⁾、必ずしも一致した意見が得られていない。著しい肝障害を呈していても P450 の活性が保たれ、有機溶剤の代謝が行われる場合もある⁵²⁾。

おわりに

有機溶剤の代謝と毒性を P450 との関連において綜説した。概して P450 は有機溶剤の代謝・毒性発現に関与している。中でも、P450IIE1 は多くの有機溶剤の代謝に関与しているアイソザイムである。このアイソザイムの有機溶剤代謝に対する *K_m* 値は小さく、低濃度の有機溶剤の代謝にも参加する可能性を持つ。またヒトでの発現、飲酒による誘導²⁸⁾ が明らかにされている。P450IIE の関与が検討されているのはごく一部の有機溶剤にすぎない。このアイソザイムの他の有機溶剤の代謝への寄与と、量的分布を把握することによって、有機溶剤の代謝と毒性に関する知見がさらに広がるであろう。一方、P450 アイソザイムの種差は動物実験結果のヒトへの外挿を難しくしている。最近 Aoyama ら⁸¹⁾ はヘパトマ細胞でヒト P450 を合成することに成功した。この実験系を使用することによって種差の問題の一部が解決される可能性もあり、この方面の研究も期待したい。

本研究の一部は文部省科学研究費 (一般研究 C 02807059) によって行われた。

文 献

- 1) 朝原照三, 戸倉仁一郎, 大河原信, 熊野谿従, 妹尾学: 溶剤ハンドブック, pp. 143-631, 講談社サイエンスティフィク, 東京, 1976
- 2) 奥野年秀: 大気中ハロゲン化炭化水素の存在量. 昭和57年度環境庁委託業務結果報告書, 大気汚染物質のレビュー, 有機溶剤, pp. 7-27, 特殊法人, 日本化学技術情報センター, 東京, 1983
- 3) 平田健正: 地下水汚染(4) 有機塩素化合物による地下水汚染. 地下水学会誌, 30: 223-230, 1988
- 4) 原 一郎, 西島茂一: 大阪におけるビニル履物製造作業者のベンゼン中毒. 労働科学季報, 8: 43-47, 1960
- 5) 竹内康浩, 久永直見, 小野雄一郎, 井上 俊: n-ヘキサンの毒性と量・反応関係. 産業医学, 22: 470-487, 1980
- 6) 中島民江, 村山忍三, 田畑賢一, 米倉郁美, 佐藤章夫: “ベンジン” 使用者に発生した n-ヘキサンによる多発神経炎. 産業医学, 27: 340-341, 1985

- 7) Alvares, A. P. and Pratt, W. B.: Pathways of drug metabolism. In: Pratt, W. B. and Taylor, P. (eds.), Principles of drug action, pp. 365-422, Churchill Livingstone, New York, Edinburgh, London, Melbourne, 1990
- 8) Sato, A. and Nakajima, T.: Pharmacokinetics of organic solvent vapors in relation to their toxicity. Scand J Work Environ Health, 13: 81-93, 1987
- 9) Lu, A. Y. H. and West, S. B.: Multiplicity of mammalian microsomal cytochromes P-450. Pharmacol Rev, 31: 277-295, 1980
- 10) Adesnik, M.: Genes for cytochrome P-450 and their regulation. CRC Crit Rev Biochem, 19: 247-305, 1986
- 11) Sato, A. and Nakajima, T.: A vial-equilibration method to evaluate the drug-metabolizing enzyme activity for volatile hydrocarbons. Toxicol Appl Pharmacol, 47: 41-46, 1979
- 12) Nakajima, T. and Sato, A.: Enhanced activity of liver drug-metabolizing enzymes for aromatic and chlorinated hydrocarbons following food deprivation. Toxicol Appl Pharmacol, 50: 549-556, 1979
- 13) Sato, A., Nakajima, T. and Koyama, Y.: Effects of chronic ethanol consumption on hepatic metabolism of aromatic and chlorinated hydrocarbons in rats. Br J Ind Med, 37: 382-386, 1980
- 14) Omura, T. and Sato, R.: The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. 1. Evidence for its hemoprotein nature. J Biol Chem, 239: 2370-2378, 1964
- 15) Nebert, D. W., Nelson, D.R., Adesnik, M., Coon, M. J., Estabrook, R. W., Gonzalez, F. J., Guengerich, F. P., Gunzalus, I. C., Johnson, E.F., Kemper, B., Levin, W., Phillips, I.R., Sato, R. and Waterman, M. R.: The P450 superfamily: updated listing of all genes and recommended nomenclature for the chromosomal loci. DNA, 8: 1-13, 1989
- 16) Sabourin, P. J., Bechtold, W.E., Birnbaum, L. S., Lucier, G. and Henderson, R. F.: Differences in the metabolism and disposition of inhaled [³H] benzene by F344/N rats and B6C3F₁ mice. Toxicol Appl Pharmacol, 94: 128-140, 1988
- 17) Gorsky, L. D. and Coon, M. J.: Evaluation of the role of free hydroxyl radicals in the cytochrome P-450-catalyzed oxidation of benzene and cyclohexanol. Drug Metab Dispos, 13: 169-174, 1985
- 18) Johansson, I. and Ingelman-Sundberg, M.: Benzene metabolism by ethanol-, acetone-, and benzene-inducible cytochrome P-450 (IIE1) in rat and rabbit liver microsomes. Cancer Res, 48: 5387-5390, 1988
- 19) Koop, D. R., Laethem, C. L. and Schnier, G. G.: Identification of ethanol-inducible P450 isozyme 3a (P450IIE1) as a benzene and phenol hydroxylase. Toxicol Appl Pharmacol, 98: 278-288, 1989
- 20) Nakajima, T., Okino, T. and Sato, A.: Kinetic studies on benzene metabolism in rat liver: possible presence of three forms of benzene metabolizing enzymes in the liver. Biochem Pharmacol, 36: 2799-2804, 1987
- 21) Nakajima, T., Elovaara, E. Park, S. S., Gelboin, H. V., Hietanen, E. and Vainio, H.: Immunochemical characterization of cytochrome P-450 isozymes responsible for benzene oxidation in rat liver. Carcinogenesis, 10: 1713-1717, 1989
- 22) Nakajima, T., Elovaara, E. Park, S. S., Gelboin, H. V., Hietanen, E. and Vainio, H.: Monoclonal antibody-directed characterization of benzene, ethoxyresorufin and pentoxyresorufin metabolism in rat liver microsomes. Biochem Pharmacol, 40: 1255-1261, 1990
- 23) Kalf, G. F.: Recent advances in the metabolism and toxicity of benzene. CRC Crit Rev Toxicol, 18: 141-159, 1987
- 24) Morimoto, K., Wolff, S. and Koizumi, A.: Induction of sister-chromatid exchanges in human lymphocytes by microsomal activation of benzene metabolites. Mutat Res, 119: 355-360, 1983
- 25) Erexson, G. L., Wilmer, J. L. and Kligerman, A. D.: Sister chromatid exchange induction in human

- lymphocytes exposed to benzene and its metabolites *in vitro*. Cancer Res, 45, 2471-2477, 1985
- 26) Pellack-Walker, P., Walker, J. K., Evans, H. H. and Blumer, J. L. : Relationship between the oxidation potential of benzene metabolites and their inhibitory effect on DNA synthesis in L5178YS cells. Mol Pharmacol, 28 : 560-566, 1985
 - 27) Nakajima, T., Okuyama, S. and Sato, A. : Effects of ethanol and phenobarbital administration on the metabolism and toxicity of benzene. Chem Biol Interact, 55 : 23-38, 1985
 - 28) Perrot, N., Nalpas, B., Yang, C. S. and Beaune, P. H. : Modulation of cytochrome P450 isozymes in human liver by ethanol and drug intake. Eur J Clin Invest, 19 : 549-555, 1989
 - 29) Antti-Poika, M., Kalliokoski, P. and Hänninen, O. : Toluene. In: Snyder, R. (ed.), Ethel Browning's Toxicity and Metabolism of Industrial Solvents, pp. 38-63, Elsevier, Amsterdam-New York-Oxford, 1987
 - 30) Woiwode, W. and Drysch, K. : Experimental exposure to toluene. Further consideration of cresol formation in man. Br J Ind Med, 38 : 194-197, 1981
 - 31) Quistad, G. B., Stiger, L. E. and Schooley, D. A. : The role of carnitine in the conjugation of acidic xenobiotics. Drug Metab Dispos, 14 : 521-525, 1986
 - 32) Waxman, D. J. and Walsh, C. : Cytochrome P-450 isozyme 1 from phenobarbital-induced rat liver : purification, characterization, and interactions with metyrapone and cytochrome *b₅*, Biochemistry, 22 : 4846-4855, 1983
 - 33) Waxman, D. J. : Rat hepatic cytochrome P-450 isoenzyme 2c. J Biol Chem, 259 : 15481-15490, 1984
 - 34) Nakajima, T., Wang, R. S., Elovaara, E., Park, S. S., Gelboin, H. V., Hietanen, E. and Vainio, H. : Monoclonal antibody-directed characterization of cytochrome P450 isozymes responsible for toluene metabolism in rat liver. Biochem Pharmacol, 41 : 395-404, 1991
 - 35) Waters, E. M., Gerstner, H. B. and Huff, J. E. : Trichloroethylene. 1. An overview. J Toxicol Environ Health, 2 : 671-707, 1977
 - 36) Ikeda, M., Miyake, Y., Ogata, M. and Ohmori, S. : Metabolism of trichloroethylene. Biochem Pharmacol, 29 : 2983-2992, 1980
 - 37) Miller, M. and Guengerich, F. P. : Metabolism of trichloroethylene in isolated hepatocytes, microsomes, and reconstituted enzymes containing cytochrome P-450. Cancer Res, 43 : 1145-1152, 1983
 - 38) Nakajima, T., Okino, T., Okuyama, S., Kaneko, T., Yonekura, I. and Sato, A. : Ethanol-induced enhancement of trichloroethylene metabolism and hepatotoxicity : difference from the effect of phenobarbital. Toxicol Appl Pharmacol, 74 : 227-237, 1988
 - 39) Nakajima, T., Wang, R. S., Murayama, N. and Sato, A. : Three forms of trichloroethylene-metabolizing enzymes in rat liver induced by ethanol, phenobarbital, and 3-methylcholanthrene. Toxicol Appl Pharmacol, 102 : 546-552, 1990
 - 40) 野見山一生, 野見山紘子 : トリクロロエチレンの健康影響. 産業医学, 21 : 311-334, 1979
 - 41) 中島民江, 村山忍三, 井上 敦, 佐藤章夫 : トリクロロエチレンによる多発神経炎の1例. 産業医学, 26 : 182-183, 1984
 - 42) 中島民江, 佐藤章夫, 小山 裕, 村山忍三, 武田 潤, 草間昌三 : 急性トリクロロエチレン中毒の1例. 産業医学, 22 : 496-497, 1980
 - 43) 山口孝太郎 : 腸管囊腫様気腫—本邦におけるその疾患像の時代的変遷と trichloroethylene 暴露との因果関係について. 信州医誌, 34 : 401-410, 1987
 - 44) 中島民江, 村山忍三, 大和理務, 赤松泰次, 佐藤章夫 : 腸管囊腫様気腫発生職場の労働衛生的考察—とくにトリクロロエチレン暴露との関係. 産業医学, 32 : 454-460, 1990
 - 45) 中島民江, 沖野知範, 倉沢和成, 村山忍三, 佐藤章夫 : 化学火傷と不整脈を呈した急性トリクロロエチレンの中毒の1例. 産業医学, 29 : 72-73, 1987

- 46) NTP (National Toxicology Program). Technical report on the carcinogenesis studies of trichloroethylene (without epichlorohydrin) in F344/N rats and B6C mice. NIH Publ No 83-1979. National Toxicology program 1983, Research Triangle Park, NC
- 47) Stott, W. T., Quast, J. F. and Watanabe, P. J.: The pharmacokinetics and macromolecular interactions of trichloroethylene in mice and rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 62 : 137-151, 1982
- 48) Prout, M. S., Provan, W. M. and Green, T.: Species differences in response to trichloroethylene. I. Pharmacokinetics in rats and mice. *Toxicol Appl Pharmacol*, 79 : 389-400, 1985
- 49) Green, T. and Prout, M. S.: Species differences in response to trichloroethylene. II. Biotransformation in rats and mice. *Toxicol Appl Pharmacol*, 79 : 401-411, 1985
- 50) Cornish, H. H. and Adefuini, J.: Ethanol potentiation of halogenated aliphatic solvent toxicity. *Am Ind Hyg Assoc J*, 27 : 57-61, 1966
- 51) Moslen, M. T., Reynolds, E. S. and Szabo, S.: Enhancement of the metabolism and hepatotoxicity of trichloroethylene and perchloroethylene. *Biochem Pharmacol*, 26 : 369-375, 1977
- 52) Okino, T., Nakajima, T. and Nakano, M.: Morphological and biochemical analysis of trichloroethylene hepatotoxicity : differences in ethanol- and phenobarbital-pretreated rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1991 (in press)
- 53) Chengelis, C. P. and Neal, R. A.: Microsomal metabolism of diethyl ether. *Biochem Pharmacol*, 29 : 247-248, 1980
- 54) Bready, J. F., Lee, M. J., Li, M., Ishizaki, H. and Yang, C. S.: Diethyl ether as a substrate for acetone/ethanol-inducible cytochrome P-450 and as an inducer for cytochrome (s) P-450. *Mol Pharmacol*, 33 : 148-154, 1987
- 55) Koop, D. R. and Coon, M. J.: Ethanol oxidation and toxicity: role of alcohol P-450 oxygenase. *Alcoholism*, 10 : 44-49, 1986
- 56) Koop, D. R., Morgan, E. T., Tarr, G. E. and Coon, M. J.: Purification and characterization of a unique isoenzyme of cytochrome P-450 from liver micro-somes from ethanol-treated rabbits, *J Biol Chem*, 257 : 8472-8480, 1982
- 57) 中島民江, 村山忍三: チトクローム P450 のアイソザイムに対する糖質とアルコールの相互作用, *日本衛生学雑誌*, 45 : 302, 1990
- 58) Casazza, J. P., Felver, M. E. and Veech, R. L.: The metabolism of acetone in rat. *J Biol Chem*, 259 : 231-236, 1984
- 59) Koop, D. R. and Casazza, J. P.: Identification of ethanol-inducible P-450 isozyme 3a as the acetone and acetol monooxygenase of rabbit microsomes. *J Biol Chem*, 260 : 13607-13612, 1985
- 60) Johansson, I., Eliasson, E., Norsten, C. and Ingelman-Sundberg, M.: Hydroxylation of acetone by ethanol- and acetone-inducible cytochrome P-450 in liver microsomes and reconstituted membranes. *FEBS Lett*, 196, 59-64, 1986
- 61) Johansson, I., Ekström, G., Scholte, B., Puzycki, D., Jornvall, H. and Ingelman-Sundberg, M.: Ethanol-, fasting-, and acetone-inducible cytochrome P-450 in rat liver : regulation and characteristics of enzymes belonging to the IIB and IIE gene subfamilies. *Biochemistry*, 27 : 1925-1934, 1988
- 62) Johansson, I. and Ingelman-Sundberg, M.: Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation dependent on an ethanol-inducible form of rabbit liver microsomal cytochrome P-450. *FEBS Lett*, 183, 265-269, 1985
- 63) Sato, A. and Nakajima, T.: Enhanced metabolism of volatile hydrocarbons in rat liver following food deprivation, restricted carbohydrate intake, and administration of ethanol, phenobarbital, polychlorinated biphenyl and 3-methylcholanthrene : a comparative study. *Xenobiotica*, 15 : 67-75, 1985
- 64) Frommer, U., Ullrich, V., and Staudinger, H.: Hydroxylation of aliphatic compounds by liver microsomes. I. The distribution pattern of isomeric alcohols. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol Chem Phys*, 351 :

- 903-912, 1970
- 65) Terelius, Y. and Ingelman-Sundberg, M. : Metabolism of *n*-pentane by ethanol-inducible cytochrome P-450 in liver microsomes and reconstituted membranes. *Eur J Biochem.* 161 : 303-308, 1986
 - 66) Perbellini, L., Brugnone, F. and Pavan, I. : Identification of the metabolites of *n*-hexane, cyclohexane, and their isomers in men's urine. *Toxicol Appl Pharmacol*, 53 : 220-229, 1980
 - 67) Morohashi, K., Sadano, H., Okada, Y. and Omura, T. : Position specificity in *n*-hexane hydroxylation by two forms of cytochrome P-450 in rat liver microsomes. *J Biochem (Tokyo)*, 93 : 413-419, 1983
 - 68) Kato, R. : Characteristics and differences in the hepatic mixed function oxidases of different species. *Pharmacol Ther*, 6 : 41-98, 1979
 - 69) Waxman, D. J. : Interactions of hepatic cytochromes P-450 with steroid hormones. Regioselectivity and stereospecificity of steroid metabolism and hormonal regulation of rat P-450 enzyme expression. *Biochem Pharmacol*, 37, 71-84, 1988
 - 70) Waxman, D. J., Morrissey, J. J. and LeBlanc, G. A. : Female-predominant rat hepatic P-450 forms j (IIE1) and 3 (IIA1) are under hormonal regulatory controls distinct from those of the sex-specific P-450 forms. *Endocrinology*, 124 : 2954-2966, 1989
 - 71) Thomas, P. E., Bandiera, S., Maines, S. L., Ryan, D. E. and Levin, W. : Regulation of cytochrome P450j, a high-affinity N-nitrosodimethylamine demethylase, in rat hepatic microsomes. *Biochemistry*, 26 : 2280-2289, 1987
 - 72) Waxman, D. J., Morrissey, J. J., MacLeod, J. N. and Shapiro, B. H. : Depletion of serum growth hormone in adult female rats by neonatal monosodium glutamate treatment without loss of female-specific hepatic enzymes P450 2d (IIC12) and steroid 5 α -reductase. *Endocrinology*, 126 : 712-720, 1990
 - 73) Turcan, R. G., Symons, A. M. and Parke, D. V. : Factors affecting hepatic drug metabolism during pregnancy in the rat. *J Endocrinol*, 87 : 23-24, 1980
 - 74) Nakajima, T., Koyama, Y. and Sato, A. : Dietary modification of metabolism and toxicity of chemical substances-with special reference to carbohydrate. *Biochem Pharmacol*, 31 : 1005-1011, 1982
 - 75) Sato, A., Nakajima, T. and Koyama, Y. : Interaction between ethanol and carbohydrate on the metabolism in rat liver of aromatic and chlorinated hydrocarbons. *Toxicol Appl Pharmacol*, 68 : 242-249, 1983
 - 76) Nakajima, T. and Sato, A. : Effect of carbohydrate intake on phenobarbital, polychlorinated biphenyl- and 3-methylcholanthrene-induced enhancement of drug oxidation in rat liver. *Biochem Pharmacol*, 33 : 2517-2519, 1984
 - 77) Sato, A., Nakajima, T. and Koyama, Y. : Dose-related effects of a single dose of ethanol on the metabolism in rat liver of some aromatic and chlorinated hydrocarbons. *Toxicol Appl Pharmacol*, 60 : 8-15, 1981
 - 78) Peng, R., Tennant, P., Lorr, N. A. and Yang, C. S. : Alterations of microsomal monooxygenase system and carcinogen metabolism by streptozotocin-induced diabetes in rats. *Carcinogenesis*, 4 : 703-708, 1983
 - 79) Bellward, G.D., Chang, T., Rodrigues, B., McNeill, J. H., Maines, S., Ryan, D. E., Levin, W. and Thomas, P. E. : Hepatic cytochrome P-450j induction in the spontaneously diabetic BB rat. *Mol Pharmacol*, 33 : 140-143, 1987
 - 80) Favreau, L. V. and Schenkman, J. B. : Decrease in the levels of a constitutive cytochrome P-450 (RLM5) in hepatic microsomes of diabetic rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 142, 623-630, 1987
 - 81) Aoyama, T., Yamano, S., Guzelian, P. S., Gelboin, H. V. and Gonzalez, F. J. : Five of 12 forms of vaccinia virus-expressed human hepatic cytochrome P450 metabolically activate aflatoxin B₁. *Proc Natl Acad Sci USA*, 87 : 4790-4793, 1990

(2. 12. 21 受稿)