

アルコールによるトリクロロエチレンの肝毒性 増強作用

那須(中島)民江, 沖野知範, 齊世荃*, 奥山周作, 倉沢和成
村山忍三, 中野雅行**, 釘本 完***

Effects of ethanol intake on the trichloroethylene
hepatotoxicity

Tamie Nasu-Nakajima, Tomonori Okino, Seizen Sei*,
Shusaku Okuyama, Kazunari Kurazawa, Ninzo Murayama,
Masayuki Nakano** and Mamoru Kugimoto***

Tri の肝毒性にアルコールがどのような影響を与えるか, Tri の暴露濃度と暴露時間を変えて検討した。アルコール未処理ラットにおいては Tri の暴露濃度を上げて暴露時間を延長させても, 血清GPT値は若干上昇し, 組織学的にも中心静脈周囲の点状壊死がわずかに認められる程度であった。アルコール処理ラットも未処理ラットと同様の所見が認められたが, その程度ははるかに大きく, 血清GOT, CPT値の著しい上昇と, 中心静脈周囲の帯状壊死や広範性壊死が認められた。この現象は Tri の暴露濃度を上昇させた時よりも暴露時間を延長させた時の方が顕著であった。

アルコールは *in vivo* における Tri 代謝を亢進させた。このことがアルコールによる Tri の肝毒性増強作用の一因と思われる。しかしアルコールによる Tri 代謝亢進作用は Tri の暴露濃度を上げていくにつれ抑制されるようであった。

1. はじめに

トリクロロエチレン (以下 Tri と少略する) は金属の脱脂洗浄など, 主に職業的に有機溶剤として使用される化学物質である。近年この物質による地下水汚染が注目されている。昭和58年の環境庁の調査によると, 全国13都市の井戸の約半数は Tri 濃度がWHOのガイドラインを越えているという。この事実は Tri による健康障害は Tri を使用している作業者のみならず, 公衆全般にまで及ぶ危険性があることを示唆するものであろう。

Tri は有機溶剤に非特異的にみられる麻酔作用を有する他に, 肝や腎, 末梢神経などに対する障害性も有する。Tri を誤飲して肝, 腎障害により死亡した症例, Tri 暴露により肝壊死が認められた症例, 災害的暴露により腎尿管変性を生じた症例, が報告されている。しかし一方では Tri 作業者に肝, 腎機能の異常を認めない例も多く, 四塩化炭素やクロロホルムのような強い肝毒

性や腎毒性は持たないと考えられている。実際筆者らの研究室で経験した症例でも, 意識を消失する程高濃度の Tri 暴露をうけたにもかかわらず, 軽度の肝障害が認められた程度であった。

一般に Tri による肝障害はその代謝物に起因するといわれている。最近筆者らはアルコールが Tri の代謝を著しく亢進させることを報告した。従ってアルコールが Tri の肝毒性発現にどのような影響を及ぼすか興味を持たれた。近年わが国におけるアルコールの消費量は増加傾向にあり, この20年間でアルコール類の販売量は5倍の増加を示しているという。このような事実と Tri による地下水汚染が進行していることを総合して考えれば, アルコールが Tri の肝毒性に対してどのような影響を与えるか研究することは重要と思われる。このような観点から本研究は計画された。

2. 方 法

1) 実験動物 Wistar系雄性ラット (11~13週令) を使用した。ラットは12時間ごとの明 (6 am - 6 pm), 暗 (6 pm - 6 am) サイクルの恒温室 (18~22°C) で飼育した。ラットに固型飼料 (日本クレア, CE-2) と水を自由に与え, 8週令に達したところで栄養的に十分な組成

信州大学医学部衛生学

* 現住所 中国河北医学院 衛生学

** 信州大学医学部第1病理学

*** 信州大学医学部公衆衛生学

Department of Hygiene,

Shinshu University

School of Medicine

表1 試験食成分 (カロリー%)

	Basal	Alcohol
Protein	15	15
Carbohydrate	60	20
fat	25	45

ラット1尾1日あたり摂取カロリー(80kcal/day)

をもつ液体食(基準食, アルコール食, 成文は表1に示す)にきり換えた。ラットにこれらの液体食を毎日午後4時に80ml(1 kcal/ml)ずつ与えた。約3週間の馴化飼育後, 実験に供した。

2) Tri 暴露実験

基準食およびアルコール食摂取ラットに 500, 1000, 2000, 8000 ppmの Tri を2時間(10~12am)あるいは8時間(8am~4pm), 既報の暴露装置で暴露した。暴露終了後Triの血中濃度をsyring-平衡法で, 尿中に排泄されるTriの代謝物(総三塩化物, トリクロロエタノール, トリクロロ酢酸)をTanaka and Ikedaの方法で経時的に測定した。Tri 暴露終了22あるいは18時間後, ラットを屠殺し, 血清GOTとGPT値をRate法(ペーリンガーマンハイム, モノテスト)により測定した。さらに肝の一部を10%のホルマリンで固定し, Tri 暴露後の組織変化を, HE染色後光顕的に観察するとともに肝のトリグリセライド含有量も測定した。肝トリグリセライドはBligh and Dyer法により抽出した後, トリグリセライド測定用キット(和光純薬)で測定した。

3 結 果

1) Tri 暴露後のGOTとGPT値の変化

Tri 暴露終了22あるいは18時間後の血清GOTとGPT値を表2に示す。Tri 非暴露群では, アルコールはGOTとGPT値に影響を与えなかった。基準食群では Tri

表2 Tri 暴露後の血清GOT, GPT値

ppm×hours	GOT (IU/l)	
	Basal	Alcohol
0	74.1 ± 7.7	63.8 ± 6.2
2000 × 2	75.6 ± 9.4	75.5 ± 16.1
500 × 8	84.8 ± 15.4	152.4 ± 54.1*
8000 × 2	82.1 ± 3.2	± 25.5**
2000 × 8	93.6 ± 8.2*	± 706.0*

ppm×hours	GPT (IU/l)	
	Basal	Alcohol
0	27.8 ± 2.3	33.7 ± 3.1
2000 × 2	31.7 ± 5.6	42.9 ± 17.2
500 × 8	42.2 ± 9.6*	119.9 ± 36.8*
8000 × 2	57.1 ± 14.7*	229.1 ± 96.9*
2000 × 8	50.7 ± 7.1*	1781.8 ± 1691.2*

* P < 0.05

8000 ppm × 2 hrs という高濃度でもGPTが軽度上昇(約2倍)するのみであった。GOTは2000 ppm × 8 hrs 暴露後極めて軽度上昇するのみであった。さらに8000 ppm × 2 hrs 暴露と2000 ppm × 8 hrs 暴露の間にGPT値の著しい差は認められなかった。アルコールはTri 暴露によるGOTとGPT値の上昇を著しく強めた。この作用はTriの暴露濃度を高めるよりもTriの暴露時間を延長する方がより顕著であった。すなわち, アルコール食群においては, 2000 ppm × 8 hrs 暴露の方が8000 ppm × 2 hrs 暴露よりも, また500 ppm × 8 hrs 暴露の方が2000 ppm × 2 hrs 暴露よりも著明にGOTやGPT値を上昇させた。

2) Tri 暴露後の肝トリグリセライドの変化

表3は肝のトリグリセライド含有量を示す。Tri 非暴露群では, 基準食群とアルコール食群の間にトリグリセライド量の差は認められなかった。基準食群のトリグリセライドはTri 8000 ppm × 2 hrs と2000 ppm × 8 hrs 暴露後約2倍増加した。アルコール食群のトリグリセライドは, いずれの暴露においても増加した。しかしその程度はいずれの暴露においても軽度であった。

表3 Tri 暴露後の肝トリグリセライド量 (mg/g)

ppm × hours	Basal	Alcohol
0	13.8 ± 4.1	12.8 ± 2.9
2000 × 2	18.2 ± 3.5	20.8 ± 1.5*
500 × 8	16.4 ± 6.1	22.1 ± 3.1*
8000 × 2	32.7 ± 5.5*	30.7 ± 5.8*
2000 × 8	26.6 ± 7.1*	22.7 ± 6.8*

* P < 0.05

3) Tri 暴露後の肝組織学的所見

表4は肝の組織学的所見を示したものである。肝HE染色標本の所見を障害の程度により4段階に分類すると, GPT値とよく対応した。基準食群ではTri 8000 ppm × 2 hrs と2000 ppm × 8 hrs で中心静脈周囲に軽度の肝細胞壊死と細胞浸潤がほぼ同程度に認められた。Tri 500 ppm × 8 hrs 暴露で基準食群のGPTが若干上昇しているが, 光顕的には明らかな変化は認められなかつ

表4 肝組織所見

ppm×hours	Basal					Alcohol				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
2000 × 2	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
500 × 8	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
8000 × 2	+	-	+	+	-	++	++	++	++	++
2000 × 8	+	-	+	+	-	++++	++++	++++	++++	++++

+ : 中心静脈周囲の点状ないし巣状壊死, 細胞浸潤
 ++ : +に加えて中間領域に空泡変性を伴う
 +++ : 中心静脈周囲の帯状壊死ないし広範性壊死

た。アルコール食群でも基準食群と同様の組織学的変化が認められた。しかしその程度は基準食群より激しく、中心静脈周囲の細胞壊死と細胞浸潤に加えて、中間領域に細胞浸潤を伴った空胞変性が出現した。この空胞変性はTri 8000 ppm×2 hrs 暴露時のように、壊死や細胞浸潤が中等度の時に顕著で、Tri 2000 ppm×8 hrs 暴露時のように中心静脈周囲の带状壊死が認められる場合はむしろ少数であった。

4) Tri 血中濃度と尿中総三塩化物 (TTC)

1000, 2000 および 8000 ppm の Tri 2 時間暴露後の Tri 血中濃度の推移を図 1 に、尿中 TTC の累積を図 2 に示す。いずれの暴露濃度においてもアルコールは血中からの Tri の排泄を速めた。しかし Tri の暴露濃度を高めると、基準食群もアルコール食群も Tri の血中からの消失速度は遅延する傾向が認められた。とくに 8000 ppm 暴露時における基準食群の Tri 血中濃度は暴露終了 2 時間後までほとんど変化しなかった。

図 2 に示されているように、アルコールはいずれの濃度においても、TTC の尿中への排泄速度を速めた。しかし血中 Tri 濃度の消失速度と対応して、Tri の暴露濃

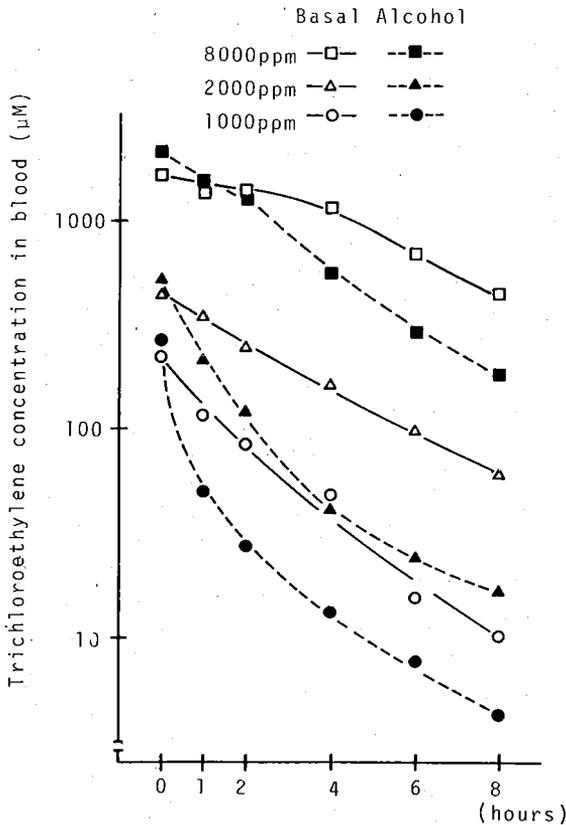


図 1

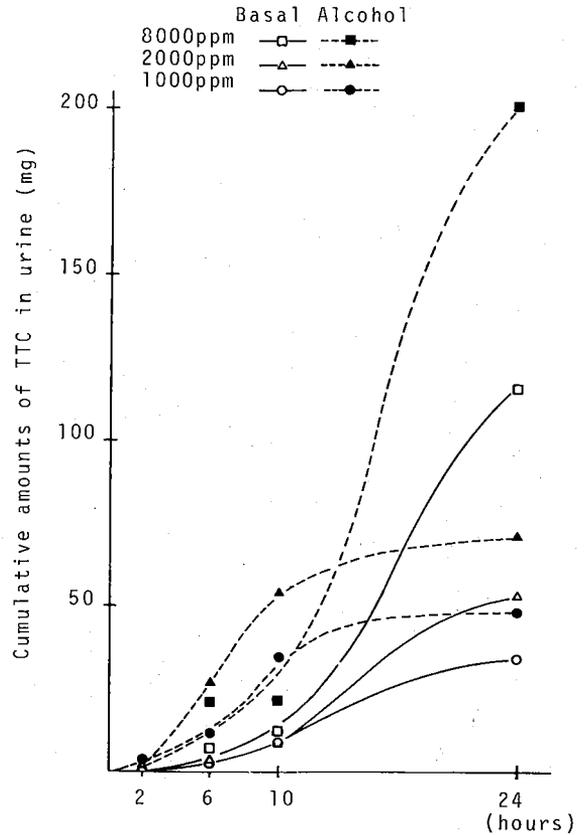


図 2

度が上昇すると基準食群も尿中 TTC の排泄速度が遅延する傾向がみられた。とくに 8000 ppm の Tri 暴露においては、尿中 TTC の排泄速度は基準食群もアルコール食群も 2000 ppm 暴露時より遅延していた。これらの結果から、基準食群食ラットやアルコール食群食ラットの Tri 代謝は Tri の暴露濃度が高くなると抑制されるといえよう。

4 考 察

Tri は肝毒性を有する。しかしアルコール未処理ラット (基準食群) における肝障害はいずれの Tri 暴露においても軽度であった。筆者らは過去にヒトの Tri 急性中毒事例を経験した。この症例は意識を消失する程の大量の Tri 暴露をうけたにもかかわらず、血清の GOT, GPT, LDH は軽度上昇したのみであった。従って、通常の状態では Tri による肝障害はあっても軽度と思われる。

アルコールは *in vivo* における Tri 代謝を著しく亢進させ、Tri の肝毒性を増強した。アルコールによるこの Tri 肝毒性増強作用は暴露濃度を高めるよりも暴露時間

を延長させた時の方がより顕著であった。例えば 8000 ppm × 2 hrs の Tri 暴露よりも 2000 ppm × 8 hrs の暴露の方が、また 2000 ppm × 2 hrs 暴露よりも 500 ppm × 8 hrs 暴露の方が GOT, GPT 値の上昇が著しく、光顕的にも激しい肝障害が認められた。

一般に Tri による肝障害は Tri の代謝物に起因するといわれている。図 1 および図 2 から明らかなようにアルコールは *in vivo* の Tri 代謝を著しく亢進させた。アルコールによる Tri 肝毒性増強作用は恐らくこのためと思われる。しかし Tri の暴露濃度を高めると、基準食群のみならずアルコール食群の Tri 代謝は抑制されるようであった。特に 8000 ppm と 2000 ppm 暴露を比較すると明らかである。すなわち基準食群とアルコール食群共に 2000 ppm 暴露の方が 8000 ppm 暴露より Tri の血中からの消失速度は速く、尿中代謝物 (TTC) の排泄も速かった。これらの結果から 2000 ppm の Tri 暴露の方が 8000 ppm の暴露より Tri の代謝速度が速く、毒性を発揮する代謝物の生成速度が速いといえよう。このことが 2000 ppm × 8 hrs の Tri 暴露の方が 8000 ppm × 2 hrs の Tri 暴露より強い肝障害を招来したひとつの原因であろう。

最近筆者らはベンゼン代謝に関与する cytochrome P-450 は少なくとも 3 種類あることを報告した。そのうちの 2 種類はベンゼン代謝に対する k_m 値が極めて近く、アルコールや絶食で誘導される。すなわちアルコールで誘導される cytochrome P-450 によるベンゼン代謝は低い濃度 (おそらく 0.4 mM 付近) で飽和してしまう。このような現象が Tri 代謝でもみられるのかもしれない。

文 献

- 1) 長瀬叶彦, 土屋一徳, 信州産業衛生 4, 57, 1985.
- 2) M. Kleinteld and I. R. Tabershaw: Arch. Ind. Hyg. Occup. Med 10, 134, 1954
- 3) G. E. Joron et al: Canad. Med. Ass. J., 73, 890, 1955
- 4) C. F. Gutch et al: Ann. Int. Med., 63, 128, 1965
- 5) 中島民江他, 産業医学, 22, 496, 1980
- 6) 野見山一生, 野見山紘子, 産業医学 21, 311, 1979
- 7) A. Sato, T. Nakajima and Y. Koyama; Br. J. Ind. Med 37, 382, 1980
- 8) A. Sato, T. Nakajima: Toxicol. Appl. Pharmacol, 60, 8, 1981
- 9) A. Sato, T. Nakajima and Y. Koyama: Toxicol. Appl. Pharmacol.
- 10) A. Sato and T. Nakajima; Xenobiotica
- 11) A. Sato, et al, Br. J. Ind. Med 32, 321, 1975
- 12) A. Sato, T. Nakajima and Y. Fujiwara, Br. J. Ind. Med. 32, 210, 1975
- 13) S. Tanaka and M. Ikeda, Br. J. Ind. Med. 25, 214, 1968
- 14) T. Nakajima, et al, Chem-Biol Interact. 1985
- 16) T. Nakajima, et al, Toxicol. Appl. Pharmacol, (in Press)