

原 著

## ラット肝の薬物代謝ならびにヘム代謝に 及ぼす鉛の影響

原 田 幸 一\*, 大 森 昭 子\*, 永 野 恵\*\*  
三 浦 創\*

### EFFECTS OF LEAD ON DRUG METABOLIZING ENZYMES, CYTOCHROME P-450 AND HEME OXYGENASE IN RATS

Koichi HARADA,\* Shoko OHMORI,\* Megumi NAGANO\*\*  
and Hajime MIURA\*

The effects of lead on the drug metabolizing system in liver microsomes and porphyrin metabolism in the bone marrow were studied using male Wistar rats (about 250 g in weight). To study the acute effects of lead, rats were given lead injection intraperitoneally once a day for three consecutive days at a dose of 0 (control), 0.1, 1.0, 10 or 50 mg/kg of lead in the form of lead acetate in a 5% glucose solution. In the 2nd experiment, the chronic effects of lead were studied by administering lead at a dose of 0 (control), 5 and 20 mg/kg once a week for 9 wk for a total of 10 administrations. After the last injection, each rat was fasted for 22 h in a metabolic cage to prevent the animal from eating bed chips or feces and was then sacrificed by decapitation. The rat liver microsome enzymes were used to evaluate the effects of lead on the hepatic functions.

In the acute stage, lead decreased the activities of drug metabolizing enzymes, such as aniline hydroxylase and aminopyrine *N*-demethylase, and decreased the contents of microsomal cytochrome P-450 and cytochrome *b*<sub>5</sub>. In the chronic stage, lead decreased the cytochrome P-450 and cytochrome *b*<sub>5</sub> contents and induced hypertrophic liver, but did not affect the activity of aniline hydroxylase. These findings suggest that the rat gradually gained resistance against lead toxicity in the chronic stage.

In a supplementary experiment, lead was found to decrease the contents of heme in the microsome and to increase the activity of heme oxygenase. The contents of heme-protein, such as cytochrome P-450 and cytochrome *b*<sub>5</sub>, were regulated not only by heme biosynthesis but also by heme degradation in the lead administered rats. Serum GPT and bilirubin showed no evident changes compared to the control in either the acute or the chronic stages in the hematological tests. Lead, however, increased total erythrocyte protoporphyrin (total EP) in rats administered lead for 9 wk in the chronic stage but not in those in the acute stage. The increase of total EP in the circulating blood might affect the life span of erythrocytes in the chronic stage.

**Key words:** lead; liver microsome; drug metabolizing enzyme; cytochrome P-450; heme oxygenase; rat

#### I. 緒 言

重金属, 特に鉛の生体作用の一つとして, 赤芽球分化

の過程における骨髓造血系のポルフィリン代謝の異常が  
いわれている<sup>1,2)</sup>. その結果として, 尿中 δ-アミノレブ  
リン酸 (ALA-U) および尿中コプロポルフィリン (CP-U)  
の排泄増加, 末梢血液中赤血球遊離プロトポルフィリン  
(FEP) あるいは, 赤血球重鉛プロトポルフィリン (Zn-P-  
E) の蓄積増加, さらに末梢血液中の赤血球 δ-アミノレ  
ブリン酸デヒドラターゼ (ALA-D) 活性阻害やミトコン  
ドリアの鉄導入酵素活性の阻害等のみられることが, す  
でに明らかにされている<sup>3)</sup>. このポルフィリン代謝によ

\* 熊本大学医学部衛生学教室

\*\* 熊本大学医学部公衆衛生学教室  
平成元年6月28日受付

\* Department of Hygiene, Kumamoto University  
Medical School

\*\* Department of Public Health, Kumamoto Uni-  
versity Medical School

Received for publication, June 28, 1989

って生成されたヘムは、強い疎水環境であるグロビンのヘムポケット<sup>6)</sup>に入りヘモグロビンへと生合成される。またポルフィリン代謝は、ミトコンドリアと可溶性画分を巡って行われており、骨髄以外の臓器においてもみられている<sup>5,6)</sup>。薬物代謝についてみると、生合成されたヘムは、さらにシトクロム P-450 等のヘム蛋白質へ生合成され肝臓の薬物代謝に関与しており、特にシトクロム P-450 は薬物の水酸化反応に係わると考えられている<sup>7,8)</sup>。肝細胞におけるシトクロム P-450 の含量は、他のヘム蛋白に比して高く、ポルフィリン代謝異常を受けやすいと考えられる<sup>7)</sup>。事実、晩発性皮膚ポルフィリン症では  $\delta$ -アミノレブリン酸合成酵素活性に著変はないが、シトクロム P-450 の含量が約 5 倍に増加するといわれる<sup>7)</sup>。鉛により、ポルフィリン代謝に異常がみられることは、肝臓等にあってもシトクロム P-450 の生合成やこれの関与する薬物代謝系に対する鉛の修飾反応が予想される<sup>9)</sup>。肝臓への鉛の影響に関する最近の知見について列挙すると、疫学調査で、肝機能の生体指標である血清 GOT が鉛作業で変化していたという報告<sup>9)</sup> や慢性肝障害をもつ患者の血中鉛と年齢との間に相関をみた報告<sup>10)</sup> また食餌により人と同程度に鉛負荷を与えると、日本産ウズラの肝における RNA 含量が減少したという報告<sup>11)</sup>、さらにポルフィリン代謝に係わるものとしては、鉛によってビリルビン代謝の律速酵素である肝臓のヘムオキシゲナーゼ活性が増加するという報告等が散見される<sup>12-14)</sup>。

以上のことから本研究では肝臓の薬物代謝に関与するシトクロム P-450 の生合成や薬物代謝酵素活性さらにヘムオキシゲナーゼ活性への鉛による影響を調べ、肝臓への鉛の影響を検討した。同時に骨髄ポルフィリン代謝に係わるものとして赤血球遊離プロトポルフィリン (FEP) と赤血球亜鉛プロトポルフィリン (ZnP) の総量を全赤血球プロトポルフィリン (Total EP)<sup>15)</sup> として、これの変化をとらえ、肝および骨髄ポルフィリン代謝に及ぼす鉛の修飾作用を検討した。

## II. 実験方法

### 1. 試薬類

グルコース-6-リン酸 (G6P) およびニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸 (NADP) はオリエンタル製を用いた。グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ (G6PD) は Sigma 製を用いた。その他の試薬は、すべて特級試薬を用いた。水は蒸留後脱イオン水を用いた。

### 2. 実験動物

ウィスター系雄性ラットの 6 週齢を静岡実験動物組合

から購入し、1 ケージ当たり 2 匹を入れ床敷を用い 2 週間馴化飼育した。飼育は、熊本大学医学部動物実験施設内にて行った。当施設では、室温は  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度は  $55 \pm 5\%$ 、そして明暗は 12 時間間隔に制御されている。

短期 3 日間連続投与実験：酢酸鉛-5% ブドウ糖溶液を調製し、鉛として 0 (対照群)、0.1, 1, 10, および 50 mg/kg の投与量で 3 日連続腹腔内投与した。おのおの鉛溶液の投与液量は、1 ml/kg であった。3 回目投与終了後、約 22 時間絶食した。ラットが絶食中にケージ内の床敷あるいは糞を食するのを防ぐために 1 匹ずつステンレス製の代謝ケージに入れ換えた。

長期間投与実験：短期投与実験と同様に鉛として 0 (対照群)、5, および 20 mg/kg を 1 週間に 1 回で合計 10 回、すなわち全実験期間 9 週間にわたり腹腔内投与した。10 回目投与終了後、約 22 時間絶食した。絶食中は短期投与実験の場合と同様にラットを 1 匹ずつステンレス製代謝ケージに入れ換えた。短期および長期投与実験のいずれにおいても飼育期間中は、制限食事を行った。すなわち鉛の最多量投与群 (短期投与群では 50 mg/kg 群、長期投与群では 20 mg/kg 群) のケージの中で、1 日当たり最少食餌量を記録したケージの食餌量と等しい量を翌日に他のすべての実験ラット群に与えた。以上の短期および長期実験での鉛投与状況等を Fig. 1, 2 に示す。

細胞分画法：薬物代謝酵素活性を測定するために絶食後、ラットを断頭屠殺し肝を摘出した。つぎに Alvares らの細胞分画法<sup>16)</sup>に従い、この摘出肝臓からミクロゾーム画分を抽出した。また肝臓中ミクロゾームのヘムオキシゲナーゼ活性を測定するときはラットを断頭屠殺後、0.9% 食塩水を門脈より注入し、肝より血液を洗い流した。この洗浄肝を用いて Alvares らの方法に従いミクロゾーム画分を抽出した。

薬物代謝酵素活性測定：薬物代謝酵素としてはアミノピリン N-ディメチレースとアニリンヒドロキシレースの活性を測定した。アミノピリン N-ディメチレース活性の測定は代謝産物であるホルムアルデヒドを Nash 試薬<sup>17)</sup>にて比色定量し求めた<sup>18)</sup>。アニリンヒドロキシレース活性の測定は代謝産物である *p*-アミノフェノールを吸光定量し求めた<sup>19)</sup>。

ヘムオキシゲナーゼ活性測定：肝ミクロゾームのヘムオキシゲナーゼの活性測定は Maines らの方法<sup>12)</sup>に従って行った。

シトクロム P-450 の定量：肝ミクロゾームのシトクロム P-450 は Omura と Sato の方法<sup>20,21)</sup>に従った。

シトクロム  $b_5$  の定量：肝ミクロゾームのシトクロム

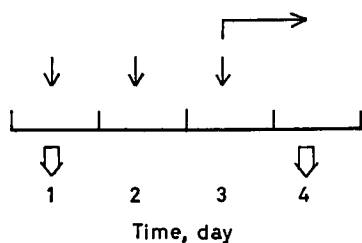


Fig. 1. The schedule of treatments in the short term experiment. arrow : drug injection, horizontal arrow : 22 h of fasting, white arrow : blood sampling.

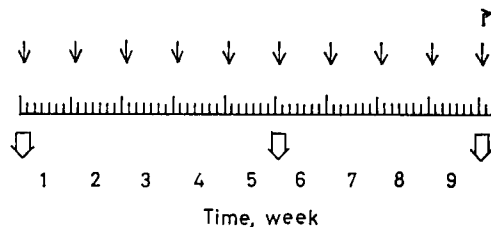


Fig. 2. The schedule of treatments in the long term experiment. arrow : drug injection, horizontal arrow : 22 h of fasting, white arrow : blood sampling.

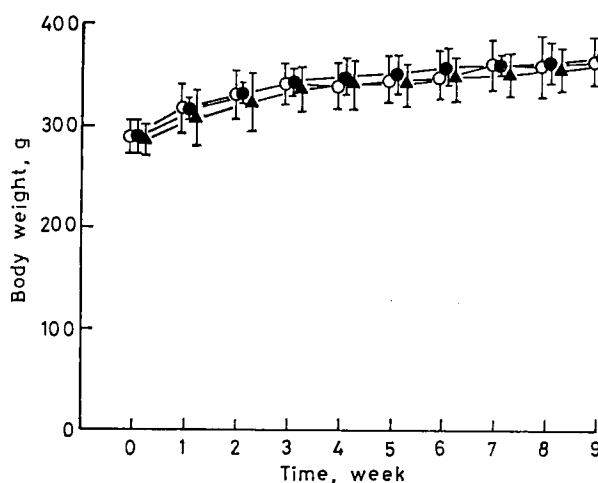


Fig. 3. Gain of body weight in rats. open dot : Pb 0 mg/kg, solid dot : Pb 5 mg/kg, solid triangle : Pb 20 mg/kg.

bs は、ジチオサルファイトを還元剤として用い差スペクトル法にて定量した。

蛋白質定量：肝より抽出したマイクロゾームの蛋白質定量は Lowry らの方法<sup>22)</sup>に従った。標準蛋白質としては牛血清アルブミンを用いた。

肝マイクロゾーム中の全ヘム定量：肝マイクロゾームを 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) にサスペンドした後、これの 0.5 ml をあらかじめ調製した 5.5 ml の呈色液 (ピリジン : 0.1 N-水酸化ナトリウム = 20 : 80) に取り攪拌後 2 等分し、pyridine hemochrome 法<sup>23)</sup>にて比色定量し全ヘムを定量した。

血液像：ヘマトクリット (Ht) ; ミクロチューブ法で行った。ヘモグロビン (Hb) ; シアノメトヘモグロビン法にて行った。Total EP ; Piomelli 変法<sup>24)</sup>にて行った。血清 GPT ; 血清トランスアミナーゼのうち血清 GPT

の測定は S. TA-Test Wako キットを用いて Reitman-Frankel 法<sup>25)</sup>にて行った。血清ビリルビン ; 血清総ビリルビンの測定は、Bilirubin BII-Test Wako を用いて行った。

統計処理：多群間の平均値の比較は、分散分析の結果、有意差のある場合 Scheffé の方法<sup>26)</sup>に従って各群間の対比較を行った。

### III. 結 果

長期鉛投与時の体重増加曲線を Fig. 3 に示した。これを見ると制限食餌の結果、いずれの投与群の間にも体重増加の差はみられなかった。このことから摂食量の差による生体への影響は小さいものと考えた。同様に短期 3 日間連続投与実験でも制限食餌の結果、実験群の間に体重の差はみられなかった。

Table 1. The biological parameters observed in the liver of rats administered lead for 9 wk.

Groups	Liver weight %	Microsomal protein mg/g-liver	Cytochrome P-450 nmol/mg-protein	Cytochrome b <sub>5</sub> nmol/mg-protein
Pb 0 mg/kg (n=8)	2.74±0.21	30.2±2.10	0.784±0.074	0.355±0.025
Pb 5 mg/kg (n=8)	2.97±0.23	29.7±3.50	0.682±0.043**	0.330±0.024
Pb 20 mg/kg (n=5)	3.29±0.14**	27.8±3.62	0.602±0.035**	0.271±0.022**

\*\*  $p < 0.05$  vs. control.

Table 2. The activities of drug metabolizing enzymes in the liver of rats administered lead for 9 wk.

Groups	Aniline hydroxylase nmol/mg-protein/20 min	Aminopyrine N-demethylase nmol/mg-protein/20 min
Pb 0 mg/kg (n=8)	9.09±2.51	47.9±11.7
Pb 5 mg/kg (n=8)	7.84±2.37	47.4±7.9
Pb 20 mg/kg (n=5)	6.63±1.56	34.1±7.85*

\*  $p < 0.1$  vs. control.

Table 3. The biological parameters observed in the liver of rats administered lead for 3 d.

Groups	Liver weight %	Microsomal protein mg/g-liver	Cytochrome P-450 nmol/mg-protein	Cytochrome b <sub>5</sub> nmol/mg-protein
Pb 0 mg/kg	3.86±0.23	27.3±1.3	0.763±0.038	0.518±0.065
Pb 0.1 mg/kg	3.57±0.11	27.2±1.6	0.801±0.045	0.472±0.034
Pb 1 mg/kg	3.88±0.28	32.0±0.8**	0.731±0.063	0.602±0.061
Pb 10 mg/kg	3.73±0.28	29.0±2.4	0.673±0.036	0.513±0.024
Pb 50 mg/kg	4.11±0.17	25.0±0.9	0.431±0.081**	0.405±0.024**

\*\*  $p < 0.05$  vs. control,  $n=5$ .

肝重量%の変化をみると、長期投与の場合、鉛 20 mg/kg 投与群では対照群に比べ肝肥大がみられた (Table 1)。また、短期投与の場合、鉛の 50 mg/kg 投与群では対照群に比べて鉛投与量に応じた肝肥大の傾向がみられた (Table 5)。

肝薬物代謝酵素の一つであるアミノピリン N-デメチレース活性に及ぼす鉛の影響をみると、長期投与実験では鉛の 20 mg/kg 投与群において対照群に比べ活性低下の傾向がみられた (Table 2)。短期3日間連続投与実験では鉛の 0.1 mg/kg 投与群を除いて他の群では対照群に比べて活性低下の傾向がみられた (Table 4)。

アミノヒドロキシレース活性に及ぼす鉛の影響をみると長期投与の場合、いずれの実験群においても活性に変化はみられなかった (Table 2)。しかしながら短期3日間連続投与の場合、鉛の 50 mg/kg 投与群では対照群

に比べ活性低下がみられた (Table 4)。

肝ミクロゾーム中のシトクロム P-450 をみると長期投与の場合、鉛の 5 および 10 mg/kg 投与群では対照群に比べ低下しており、鉛投与量に応じてシトクロム P-450 含量は低下した (Table 1)。また短期3日間連続投与の場合も鉛の 50 mg/kg 投与群でシトクロム P-450 含量は低下した (Table 3)。さらに肝ミクロゾーム中シトクロム b<sub>5</sub> 含量をみると長期投与では鉛の 20 mg/kg 投与でシトクロム b<sub>5</sub> 含量の減少がみられた (Table 1)。短期投与の場合でも同様に鉛の 50 mg/kg 投与群でシトクロム b<sub>5</sub> 含量の低下がみられた (Table 3)。

肝におけるミクロゾーム蛋白質合成の状況をみると長期投与の場合、鉛投与群と対照群との間に差はみられなかった (Table 1)。短期3日間連続投与では鉛の 1.0 mg/kg 投与群では対照群に比較して肝ミクロゾーム蛋

Table 4. The activities of drug metabolizing enzymes in the liver of rats administered lead for 3 d.

Groups	Aniline hydroxylase nmol/mg-protein/20 min	Aminopyrine N-demethylase nmol/mg-protein/20 min
Pb 0 mg/kg	7.08±0.41	33.2±3.65
Pb 0.1 mg/kg	6.84±0.32	32.9±6.84
Pb 1 mg/kg	5.92±0.23	22.3±0.89**
Pb 10 mg/kg	5.65±0.58*	21.7±3.2**
Pb 50 mg/kg	4.92±1.38**	17.0±4.73**

\*  $p<0.1$ , \*\*  $p<0.05$  vs. control,  $n=5$ .

Table 5. The microsomal cytochrome P-450, heme contents and activities of heme oxygenase in the liver of rats administered lead for 3 d.

Groups	Liver %	Cytochrome P-450 nmol/mg-protein	Heme nmol/mg-protein	Heme oxygenase nmol/h/mg-protein
Pb 0 mg/kg	3.30±0.18	0.846±0.047	1.62±0.17	0.314±0.077
Pb 10 mg/kg	3.28±0.22	0.636±0.069**	1.28±0.18*	0.701±0.413
Pb 50 mg/kg	3.74±0.40*	0.538±0.082**	0.98±0.12**	1.273±0.704**

\*  $p<0.1$ , \*\*  $p<0.05$  vs. control,  $n=6$ .

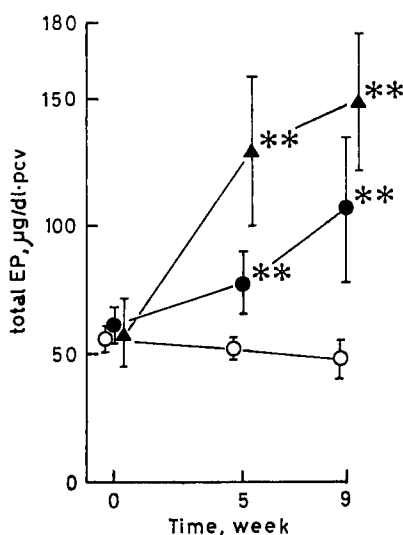


Fig. 4. Total free erythrocyte protoporphyrin (total EP) in rats administered lead for 9 wk. open dot : Pb 0 mg/kg, solid dot : Pb 5 mg/kg, solid triangle : Pb 20 mg/kg, \*\*  $p<0.05$  vs. control by Scheffé's multicomparison method.

白質生成の増加がみられたが、他の群ではみられなかった (Table 3)。すなわち、今回の投与条件では肝ミクロゾーム蛋白質の生合成に対して鉛の影響は明らかでは

なかった。

短期3日間連続投与の場合の肝ミクロゾーム中のヘムオキシゲナーゼ活性およびヘム含量を Table 5 に示す。これを見ると鉛の 50 mg/kg 投与群では対照群に比較してヘムオキシゲナーゼ活性が約 4 倍増加していた。このとき肝ミクロゾーム中のヘム濃度は鉛投与量に応じて低下した。さらにシトクロム P-450 含量の低下が再度確認された (Table 5)。

血液像に及ぼす鉛の影響をみると長期投与の場合鉛投与量に応じて赤血球全プロトポルフィリン (Total EP) の増加が経時的に観察された (Fig. 4)。しかしながら短期投与の場合では Total EP および Ht のいずれにも変化はみられなかった (Fig. 5)。血清総ビリルビンや GPT の変化は長期投与および短期投与のいずれにも各実験群の間に明らかな差はみられなかった (Table 6, 7)。

#### IV. 考 察

今回のわれわれの結果をみると鉛の短期3日間連続投与の場合、鉛の 50 mg/kg 投与群で投与総量は 150 mg/kg であったが、肝ミクロゾーム画分の薬物代謝酵素であるアニリンヒドロキシラーゼやアミノピリン N-デメチラーゼ活性の阻害が鉛の投与量に応じて観察された。さらに肝ミクロゾーム中シトクロム P-450 含量の低下も同時にみられており、短期投与では鉛による肝薬物

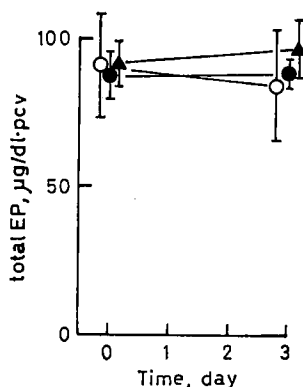


Fig. 5. The total free erythrocyte protoporphyrin (total EP) in rats administered lead for 3 d. open dot : Pb 0 mg/kg, solid dot : Pb 10 mg/kg, solid triangle : Pb 50 mg/kg.

代謝酵素系への全体的抑制作用が発現した。しかしながら、9週間にわたる鉛の長期投与では、鉛の20 mg/kg投与群で投与総量は200 mg/kgであるにもかかわらず、アニリンヒドロキシレースやアミノピリン N-ディメチレース活性には量-作用の影響は著明に現れていない。この要因の一として9週間の暴露飼育期間でのおおののラットの成長に固体差が現れ、そのため鉛毒性に対する感受性に差が現れたものと推測される。このことから鉛による肝の薬物代謝酵素活性への影響を調べるには、成長あるいは加齢による固体差が大きく発現しない時期、すなわち各固体の体重のばらつきの小さい8週齢前後のラットを用いるほうがよいと考えられる。ところで、カドミウムの暴露によりメタロチオネンが誘導生成され、この低分子蛋白がカドミウムの肝毒性に対して防衛的に働くとしており<sup>27)</sup>、同様に、鉛によってメタロチオネンの誘導生成が起こるとすれば、メタロチオネン等のSH基へ鉛が取り込まれ、鉛の肝毒性作用が緩和される可能性が考えられる。しかしながら、鉛暴露とメタロチオネンの誘導生成<sup>13)</sup>による鉛毒性に対する適応反応<sup>1)</sup>に関しては、誘導生成自体を含めてさらに検討の余地が残されている。

鉛による毒性発現は、細胞に対する毒性作用のみでなく、生理的機能調節の作用も考えられる。このことは、ヘム代謝において鉛による造血能亢進作用、すなわちALA-S誘導作用のみられることから首肯される<sup>2,3)</sup>。これは、鉛によるヘム生成抑制の結果、ヘムによるALA-S合成に対する抑制が解除され、ALA-Sの誘導がみられたものであろう。このヘム生成抑制は、鉛による鉄導入酵素阻害<sup>28,29)</sup>の結果、ヘムの生合成抑制を来し、

Table 6. Serum GPT and total bilirubin in the rats administered lead for 9 wk.

Groups	Serum GPT Karmen unit	Total bilirubin mg/dl
Pb 0 mg/kg (n=8)	53.9±24.1	0.428±0.254
Pb 5 mg/kg (n=8)	39.5±17.3	0.576±0.205
Pb 20 mg/kg (n=6)	33.0±12.7	0.370±0.130

Table 7. Serum GPT and total bilirubin in the rats administered lead for 3 d.

Groups	Serum GPT Karmen unit	Total bilirubin mg/dl
Pb 0 mg/kg	20.3± 6.62	0.208±0.107
Pb 10 mg/kg	20.5±12.24	0.196±0.101
Pb 50 mg/kg	22.67±13.03	0.144±0.068

n=6.

ヘム含量の低下やシトクロム P-450 やシトクロム b<sub>5</sub> 含量の低下となって現れたものと考えられる。シトクロム P-450 の低下は、これが関与する薬物水酸化反応の抑制を意味し、またある種のシトクロム P-450 はその水酸化反応にシトクロム b<sub>5</sub> を必要とする<sup>30)</sup>。ゆえにシトクロム b<sub>5</sub> 含量の低下も薬物水酸化反応の抑制を意味するものと考えられる。

鉛暴露によるヘムの減少とビリルビン代謝の律速酵素であるヘムオキシゲナーゼ<sup>31,32)</sup>活性の亢進とが同時進行することはヘム代謝の観点からは問題がある。ヘムオキシゲナーゼがヘムと結合し酵素反応が開始される<sup>33,34)</sup>ことを考えると、今回の短期鉛暴露の状態では鉛暴露がストレッサーとなりヘムオキシゲナーゼの活性が亢進し、その結果ヘムの減少を導いたことも原因の一つとして考えられる<sup>34)</sup>。ヘムオキシゲナーゼは鉛以外の重金属や有機溶剤等の暴露により活性化されることが報告されており、これらから、ストレッサーによる影響を考えると、グルコルチコイド等の介在も考慮せねばならない。これに関してはメタロチオネンの誘導がグルコルチコイドの動態に係わることがいわれている<sup>35)</sup>。

またヘムオキシゲナーゼ活性亢進の結果として血清中総ビリルビンの増加が予想されたが、今回の血清ビリルビン値の測定では各実験群間に明らかな変化はみられなかった。肝機能障害の生体指標である血清 GPT 含量にも鉛による著明な変化はみられなかった。肝機能の臨床

検査で汎用される血清ビリルビンや GPT の変化よりもヘム、シトクロム P-450, シトクロム  $b_5$  含量そしてヘムオキシゲナーゼや薬物代謝酵素活性が鉛により修飾を受けやすいことが判明した。鉛による血清 GOT の変化が鉛作業員について報告されているが<sup>10)</sup>, 人の生活では職業性鉛暴露のほかに、喫煙や飲酒等の考慮が必要であり、鉛による肝への影響を判断するには注意が必要であろう。

Total EP の動態をみると長期投与の場合、経時的に Total EP の増加がみられた。しかし短期暴露の場合、暴露前後に変化はみられなかった。今回の短期暴露実験においても、鉛暴露の初期から造血部位では Total EP の蓄積がみられており、鉛の暴露当初から Total EP 代謝に変化があったものと考えられるが、赤血球寿命のため、末梢血液での Total EP の増加が観察されるまでの期間が遅延したものと考えられる。

## V. 結 語

鉛投与ラットの肝の生化学的および血液像の変化を以下のように短期投与実験と長期投与実験に分ける。

### 1. 短期投与実験

鉛投与群に肝肥大の傾向がみられた。しかしミクロゾーム蛋白質 (mg/g-liver) の合成に差はみられなかった。

肝ミクロゾームのシトクロム P-450 およびシトクロム  $b_5$  は鉛の 50 mg/kg 投与群で低下した。

肝ミクロゾームのアミノピリン N-デメチレースおよびアニリンヒドロキシレース活性は低下した。

肝ミクロゾームのヘムオキシゲナーゼ活性は増加した。また、ヘム含有量は低下した。

鉛暴露前後に Total EP および Ht 値に変化はみられなかった。

血清中総ビリルビンおよび GPT 値に変化はみられなかった。

### 2. 長期投与実験

鉛の 20 mg/kg 投与群に肝肥大がみられた。しかしミクロゾーム蛋白質の合成に差はみられなかった。肝ミクロゾームのシトクロム P-450 は鉛投与量に応じて低下した。シトクロム  $b_5$  は鉛の 20 mg/kg 投与群で低下した。

肝ミクロゾームのアミノピリン N-デメチレース活性は低下の傾向があった。アニリンヒドロキシレース活性には変化はみられなかった。

Total EP 値は経時的に増加した。しかし Ht の変化はみられなかった。

血清中総ビリルビンおよび GPT の変化は明らかでなかった。

今回の研究に際し文部省科学研究費の援助を受けたことを感謝する。

## 文 献

- 1) Sassa S. Toxic effects of lead, with particular reference to porphyrin and heme metabolism. In: Matteis FD, Aldridge WN, eds. Heme and hemoproteins. Berlin: Springer-Verlag, 1978: 333-371.
- 2) Waldron HA. The anemia of lead poisoning: a review. Br J Ind Med 1966; 23: 83-100.
- 3) 三浦 創. 鉛中毒一特論一. 総合衛生公衆衛生学, 改訂第2版. 東京: 南江堂, 1985: 938-944.
- 4) 三木邦夫. 血色素のX線解析: 血色素の分子生理と分子病理. 蛋白質・核酸・酵素 1987; 32: 460-471.
- 5) Sano S, Inoue S, Tanaka Y, et al. Significance of mitochondria for porphyrin and heme biosynthesis. Science 1959; 129: 275-276.
- 6) Sano S, Granick S. Mitochondrial coproporphyrinogen oxidase and protoporphyrin formation. J Biol Chem 1961; 236: 1173-1181.
- 7) 三宅可浩. チトクローム P-450 の生理活性と関連疾患. 代謝 1976; 13: 1651-1662.
- 8) 北川晴雄, 鎌滝哲也. 薬物代謝とチトクローム P-450. 代謝 1976; 13: 1691-1703.
- 9) The joint sponsorship of the United Nations Environment Programme and the World Health Organization. Lead: environmental health criteria 3. Geneva: World Health Organization, 1977: 119-120.
- 10) Bortobi A, Mattiello G, Zotti S, et al. Blood-lead levels in patients with chronic liver diseases. Int Arch Occup Environ Health 1983; 52: 49-57.
- 11) Stone CL, Fox MRS. Effects of low levels of dietary lead and iron on hepatic RNA, protein, and minerals in young Japanese quail. Environ Research 1984; 33: 322-332.
- 12) Maines MD, Kappas A. Studies on the mechanism of induction of heme oxygenase by cobalt and other metal ions. Biochem J 1976; 154: 125-131.
- 13) Eaton DL, Stacey NH, Wong KL, et al. Dose-response effects of various metals ions on rat liver metallothionein, glutathione, heme oxygenase and cytochrome P-450. Toxicol Appl Pharmacol 1980; 55: 393-402.
- 14) 有吉敏彦. 重金属とヘム代謝. 衛生化学 1981; 27: 257-270.
- 15) Harada K, Ohmori S, Ueno T, et al. Comparison of unitages for total free erythrocyte protoporphyrin (total EP) in anemia screening. Clin Chim Acta 1989; 180: 87-92.
- 16) Alvares AP, Mannering GJ. Two-substrate kinetics of drug-metabolizing enzyme systems of hepatic microsomes. Mol Pharmacol 1970; 6: 206-212.
- 17) Nash T. The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the Hantzsch reaction. J Biol Chem 1953; 55: 406-412.
- 18) Schenkman JB, Rommer H, Estabrook RW. Spectral studies of drug interaction with hepatic microsomal cytochrome. Mol Pharmacol 1967; 3:

- 113-123.
- 19) Imai Y, Ito A, Sato R. Evidence for biochemically different types of vesicles in the hepatic microsomal fraction. *J Biochem (Tokyo)* 1966; 60: 417-428.
  - 20) Omura T, Sato R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature. *J Biol Chem* 1964; 239: 2370-2378.
  - 21) Omura T, Sato R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. II. Solubilization, purification, and properties. *J Biol Chem* 1964; 239: 2379-2385.
  - 22) Lowry OH, Rosebrough HJ, Farr AC, et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-273.
  - 23) Fuhrhop JH, Smith KM. Laboratory methods. In: Smith KM. ed. Porphyrin and metalloporphyrins. Amsterdam-Oxford-New York: Elsevier Scientific Publishing Co., 1975: 804-807.
  - 24) 原田幸一, 大森昭子, 三浦 創. ローダミンBを標準物質とした血中プロトポルフィリンの蛍光微量定量法. *産業医学* 1979; 21: 74-79.
  - 25) Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transeaminases. *Am J Clin Path* 1957; 28: 56-63.
  - 26) 三宅浩次.  $t$ -検定の誤用を避けるために一多重比較の統計的検定. *医学のあゆみ* 1986; 136: 600-603.
  - 27) Schrell RC, Yuhans EM, Pence DH, et al. Effect of acute and chronic cadmium treatment on hepatic drug metabolism in male rats. *Arch Toxicol* 1978; 40: 269-277.
  - 28) 原田幸一, 三浦 創. 実験的鉛中毒家兎のヘム生成および鉄動態. *産業医学* 1983; 25: 161-174.
  - 29) Taketani T, Tokunaga R. Rat liver ferrochelatase purification, properties, and stimulation by fatty acids. *J Biol Chem* 1981; 256: 12748-12753.
  - 30) 牧野 龍, 石村 興. テトクローム P-450 の反応機作. *代謝* 1982; 19: 1747-1755.
  - 31) Tenhunen R, Marver HS, Schmid R. The enzymatic conversion of heme to bilirubin by microsomal heme oxygenase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1968; 61: 748-755.
  - 32) Tenhunen R, Marver HS, Schmid R. Microsomal heme oxygenase characterization of the enzyme. *J Biol Chem* 1969; 244: 6388-6394.
  - 33) 吉田 匡, 菊地五郎. ヘムの代謝的分解の機構. *生化学* 1979; 51: 493-504.
  - 34) 吉田 匡. ヘムオキシゲナーゼによるヘム分解反応. 蛋白質・核酸・酵素 1987; 32: 822-829.
  - 35) 井村伸正. 重金属によって誘導される重金属代謝に関わるタンパク質. 酵素誘導—薬物代謝を中心に—東京: 清至書院, 1985: 97-110.

著者への通信先: 原田幸一, 〒860 熊本市本荘 2-2-1 熊本大学医学部衛生学教室 *Reprint requests to* Department of Hygiene, Kumamoto University Medical School, 2-2-1 Honjo, Kumamoto, 860 Japan (K. Harada)