

〔原著〕 松本歯学 7: 64~67, 1981

砒素のラット肝薬物代謝酵素に対する影響

倉 橋 寿

松本歯科大学 歯科薬理学教室 (主任 前橋 浩 教授)

The Effect of Sodium Arsenite on Drug-Metabolizing Enzymes in Rat Liver

HISASHI KURAHASHI

Department of Dental Pharmacology, Matsumoto Dental College

(Chief: Prof. H. Maehashi)

Summary

The effect of sodium arsenite on drug-metabolizing enzymes in rat liver was studied *in vivo* and *in vitro*.

In the *in vitro* study, aminopyrine demethylase, hexobarbital oxidase and aniline hydroxylase were all inhibited when sodium arsenite was added to the incubation mixtures.

In the *in vivo* study, when rats were ingested sodium arsenite in their drinking water for a month, it was observed that the quantity of drinking water was decreased against the increase of arsenic concentration. The maximum intake of arsenic from drinking water was 9 mg/kg/day. Body weight and liver-body weight ratio were rather increased in low arsenic concentration, but they were decreased in high concentration. The three of drug-metabolizing enzymes were inhibited as well. The inhibition was stronger *in vivo* under the same arsenic concentration.

緒 言

薬物代謝酵素は肝マイクロソームに局在し種々の薬物を代謝する酵素系であり、その活性の変動は薬物の効果や毒性に密接な関連のあることが知られており、一方、人体に存在する無機元素のうち Zn, Mg, Ca, Cu などの必須元素の欠乏や過剰

摂取が肝薬物代謝機能に影響をおよぼすことが報告されている^{1) 2) 3) 4)}。

砒素は人体に存在する元素のうちのひとつであるが生理的意義は明らかでなく、単に飲料水や食品に含まれているものを摂取した結果吸収されて組織に一時的に存在しているものと思われる⁵⁾。しかし砒素の少量を飼料に添加すると家畜の成長を促進するという例もあり⁶⁾、一方、多量摂取による中毒や歯科臨床面での歯髄失活剤としての使

用などを考慮して砒素に関する各研究がなされてきた。しかし砒素の肝薬物代謝機能に対する作用は明らかでないため亜砒酸ナトリウムを用いてラットの肝薬物代謝酵素に対する作用を検討した。

実験材料および方法

動物は体重約200gの Wistar 系雄ラットを使用した。薬物代謝酵素標本は肝を1.15%の KCl を含んだ 0.02 M Tris-HCl buffer (pH 7.4) とともに Potter 型 teflon homogenizer で homogenate し、その9,000×g上清を用いた⁷⁾。

in vitro の実験では酵素反応溶液中の砒素濃度が 0.1 mM, 1 mM, 10 mM, 100 mM となるように亜砒酸ナトリウムを添加し、in vivo の実験では1群4匹のラットに砒素として 37.5 ppm, 75 ppm, 150 ppm, 300 ppm の濃度の亜砒酸ナトリウム水溶液を1ヶ月間自由に飲用させた。対照群にはそれぞれ蒸留水を添加あるいは飲用させた。

薬物代謝酵素活性は aminopyrine demethylase, aniline hydroxylase, hexobarbital oxidase について測定し^{8) 9) 10)}, 37°C の恒温水槽中で毎分120回, 10分間振とうした時に肝1gが代謝した薬物量(μg)を定量した。

実験結果

1. 砒素量に対する肝と体重の変化

体重約200gの Wistar 系ラットに表1に示した各濃度の亜砒酸ナトリウムを1ヶ月間飲用させたが、飲水量は砒素濃度の増加にともなって減少し、対照群に対して 37.5 ppm 群で31%, 75 ppm 群で39%, 150 ppm 群で59%それぞれ減少した。また 300 ppm 群では88%も減少して飼料摂取量も低下し死亡したため、この群の実験を中止した。この飲水量から砒素の摂取量を計算すると 150 ppm 群の 9 mg/kg/day が最大であった。1ヶ月後の体重は 37.5 ppm 群でやや増加した他はいずれも減少しており、また肝一体重比は 37.5 ppm 群と 75 ppm 群でやや増加したが、150 ppm 群では減少した。

2. 肝薬物代謝に対する砒素の影響

表2は各群のラットの hexobarbital oxidase 活性, aminopyrine demethylase 活性, および aniline hydroxylase 活性について示した。ami-

Table 1: Arsenic Intake, Body Weight and Liver/Body Weight Ratio

Treatment (as As)	Arsenic intake (ml/kg/day)	(mg/kg/day)	Body weight	Liver (g/100g body wt)
Control	147 ± 11	-----	288 ± 15	3.37 ± 0.14
37.5ppm	101 ± 7	3.78 ± 0.26	303 ± 9	3.69 ± 0.15
75 ppm	90 ± 9	6.74 ± 0.67	261 ± 14	3.78 ± 0.17
150 ppm	60 ± 9	8.99 ± 1.35	230 ± 4	3.23 ± 0.20
300 ppm	18 ± 12	5.39 ± 3.60	*Death by dehydration.	

Each value represents the mean ± S.D. of four male rats on sodium arsenite treatment for a month.

Table 2: Drug-Metabolizing Enzyme Activities after Prolonged Sodium Arsenite Treatment (1 Month)

Treatment (as As)	Hexobarbital oxidase	Aminopyrine demethylase	Aniline hydroxylase
Control	233 ± 13	17.5 ± 1.0	19.4 ± 1.4
37.5ppm	217 ± 12	15.6 ± 1.2	15.1 ± 1.3*
75 ppm	216 ± 11	14.9 ± 1.2*	14.1 ± 1.9*
150 ppm	214 ± 16	13.6 ± 2.3*	14.4 ± 2.0*

Enzyme activities are expressed as μg of hexobarbital consumed/g liver/10 min(hexobarbital oxidase); μg of formaldehyde formed/g liver/10 min(aminopyrine demethylase); and μg of p-aminophenol formed/g liver/10 min(aniline hydroxylase).

Each value represents the mean ± S.D. of four male rats.

*Significantly different from control(P<0,05).

Table 3: Inhibitory Effect of Sodium Arsenite on Drug-Metabolizing Enzymes in Rat Liver (In Vitro)

NaAsO ₂	Hexobarbital oxidase	Aminopyrine demethylase	Aniline hydroxylase
0 mM	199.3	15.16	14.41
0.1mM	195.4	14.86	14.23
1 mM	203.2	14.25	13.42
10 mM	191.5	12.58	10.00
100 mM	21.5	4.69	3.78

Enzyme activities are expressed as μg of hexobarbital consumed/g liver/10 min(hexobarbital oxidase); μg of formaldehyde formed/g liver/10 min(aminopyrine demethylase); and μg of p-aminophenol formed/g liver/10 min(aniline hydroxylase).

nopyrine demethylase 活性は 37.5 ppm 群で11%抑制したが有意差はなく、75 ppm 群で15%, 150 ppm 群で22%の抑制があり、ともに有意差を認めた。aniline hydroxylase 活性はこれら三種類の薬物代謝酵素の中で一番強く抑制され、37.5 ppm 群で22%, 75 ppm 群および 150 ppm 群では26~27%の抑制があり、3群全てに有意差を認めた。hexobarbital oxidase 活性では 37.5 ppm 群以上で一様に7~8%の抑制があったものの有意差はなかった。

3. in vitro での砒素の影響

表3は酵素反応溶液中に亜砒酸ナトリウムを加え終濃度が 0.1 mM, 1 mM, 10 mM, 100 mM となるようにしてそれぞれの薬物代謝酵素活性を測定した。aminopyrine demethylase 活性は 1 mM で

6%, 10 mM で17%, 100 mM で69%抑制された。aniline hydroxylase 活性は1 mM で7%, 10 mM で31%, 100 mM で74%抑制され、これら三種類の薬物代謝酵素の中で抑制が一番強かった。hexobarbital oxidase は10 mM の濃度までは4%以下の抑制であったが、100 mM では89%も抑制された。

考 察

砒素が経口的に投与あるいは摂取された場合、主に腸管から吸収され各臓器に分布されるが、そのとり込みは脾、腎、肝、肺などに多いことが知られている¹¹⁾。また体内に取り込まれた無機砒素は大部分がメチル化されて排泄されるという報告もある¹²⁾。砒素にはSH基を持つ酵素を阻害する作用があり、細胞に対しては原形質毒としても作用するので、肝薬物代謝酵素に対しても影響があるかどうか調べた。

亜砒酸ナトリウムを用いた今回の結果では in vivo, in vitro とともに薬物代謝酵素に対して同じ傾向の抑制が見られ aniline hydroxylase, aminopyrine demethylase の順に抑制が強くなり、hexobarbital oxidase では比較的弱かった。また亜砒酸ナトリウムの1 mM は砒素の75 ppm に相当するが、同じ濃度では in vitro より in vivo の実験において薬物代謝酵素活性の抑制が強くなり生じたのは肝に蓄積された砒素が肝薬物代謝酵素に継続的に作用するためであり、単に incubation mixture 中に砒素が存在するだけなら、in vitro の実験で示されたように、その活性は in vivo より阻害を受けにくいものと推察された。このように砒素が薬物代謝酵素活性を阻害することから、hexobarbital による睡眠時間を延長するなど¹¹⁾、他の薬物の作用が増強されることも推察された。

in vivo の実験でラットの飲水量は砒素の濃度増加にともない減少したが、砒素の摂取量は150 ppm 群で最大の約9 mg/kg/day であり、この量は経口1回投与によるラットのLD₅₀に近いことから限界値と考えられた。またラットの体重が37.5 ppm 群でやや増加したことは低濃度の砒素が作用したものと報告と一致する傾向が見られた⁶⁾。肝一体重比が37.5 ppm 群と75 ppm 群で増加する傾向が見られたことは砒素の代謝機序との関連が推察され¹²⁾、今後検討の必要があるものと

思われた。

ま と め

亜砒酸ナトリウムのラット肝薬物代謝酵素に対する影響を in vitro および in vivo で測定した。

in vitro での影響は、incubation 溶液中の砒素濃度の増加にともない aminopyrine demethylase, hexobarbital oxidase, aniline hydroxylase の活性をすべて抑制する傾向を示し、その程度は特に砒素の高濃度で著しかった。

in vivo での影響は、ラットの飲用水の砒素濃度の増加にともないやはり抑制される傾向にあったが、その程度は aniline hydroxylase と aminopyrine demethylase に対して強く生じ、hexobarbital oxidase では比較的弱かった。

同じ砒素濃度においては、in vitro に較べて in vivo の方が薬物代謝酵素活性を強く抑制したが、in vivo では砒素が肝に蓄積されて継続的に作用した結果抑制が強まったものと推察された。

文 献

- 1) Becking, G. C. and Morrison, A. B. (1970) Hepatic drug metabolism in zinc-deficient rats. *Biochem. Pharmacol.* 19: 895—902.
- 2) Becking, G. C. and Morrison, A. B. (1970) Role of dietary magnesium in the metabolism of drugs by NADPH-dependent rat liver microsomal enzymes. *Biochem. Pharmacol.* 19: 2639—2644.
- 3) Dingell, J. V., Joiner, P. D. and Hurwitz, L. (1966) Impairment of hepatic drug metabolism in calcium deficiency. *Biochem. Pharmacol.* 15: 971—976.
- 4) Moffitt, A. E. and Murphy, S. D. (1973) Effect of excess and deficient copper intake on rat liver microsomal enzyme activity. *Biochem. Pharmacol.* 22: 1463—1476.
- 5) 芦田 淳 (1968) 栄養化学. 230—242. 養賢堂, 東京.
- 6) 野崎 茂 (1973) ヒ素代謝に関する研究 (第7報). *日薬理誌*, 69: 201—212.
- 7) 倉橋 寿 (1977) フッ化ナトリウムのラット肝薬物代謝酵素に及ぼす影響. *松本歯学*, 3: 15—21.
- 8) Nash, T. (1953) The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the Hantzsch reaction. *Biochem. J.* 55: 416—421.
- 9) Guarino, A. M., Gram, T. E., Gigon, P. L., Greene, F. E. and Gillette, J. R. (1969) Changes

- in Michaelis and spectral constants for aniline in hepatic microsomes from phenobarbital treated rats. *Mol. Pharmacol.* 5: 131—136.
- 10) Cooper, J. R. and Brodie, B. B. (1955) Enzymatic metabolism of hexobarbital. *J. Pharmacol. exp. Ther.* 114: 409—417.
- 11) 堤 璋二, 伊藤春生, 前橋 浩, 中井一仁 (1977) 歯学薬理学. 210—216. 学建書院, 東京.
- 12) 山内 博 (1980) 無機砒素の生体内代謝. *医学のあゆみ*, 113: 162—163.