

四塩化炭素、三塩化エチレン、及び四塩化エチレン 中毒時の血清蛋白分画値の変動について

岡山大学医学部公衆衛生学教室（主任：故大田原一祥教授）

助 教 授 緒 方 正 名
技術補助員 黒 田 泰 生

〔昭和 37 年 2 月 27 日 受 稿〕

緒 論

有機塩素化合物は溶解力が極めて強く、又ベンゾールに比べてその毒性が少ないため、溶剤及び洗剤として広く使用され、本邦におけるその生産量は逐次増加の傾向にある¹⁾。

四塩化炭素は金属ディグリーザー、脂肪の溶剤等に用いられ、三塩化エチレン、四塩化エチレンはドライクリーニング工場で洗剤に自動車工場等で金属洗滌剤として用いられている²⁻⁵⁾。又三塩化エチレンは無痛分娩における麻酔剤として四塩化エチレンは蟻虫の駆除薬として、医薬領域における利用度も高いものがある。

しかしこれらの有機塩素化合物は肝臓の実質細胞に対する毒性が強いことが知られている。即ち Dianzani⁶⁻⁸⁾、Christie⁹⁾ 等はこれらの有機塩素化合物の第一の攻撃点は、肝臓実質細胞のミトコンドリアにあることを述べている。これらの有機塩素化合物を長期間使用した場合は急性症状として脂肪肝がおこり、慢性の場合は肝硬変への移行が認められる。私共が三塩化エチレン及び四塩化エチレンを使用している某ドライクリーニング工場従業員の肝機能を調べた所正常人に比して若干の障害が認められ、又血清蛋白分画値も正常例に比して僅かながらアルブミンが減少し β グロブリンが増加していた¹⁰⁾。

私共はこの事実を更に明確にするため、Cb 系統系マウスを実験材料とし、これらの有機塩素化合物による中毒の際の血清蛋白分画値の変動並びに体重変動の状態を追求し、更に治療剤としての A. T. P. Xanthine の四塩化炭素中毒群に対する抑制効果を検討したので、ここにその成績を発表する。

実験材料並びに実験方法

1. 動物の被毒法

Cb 系統系マウス（生後 1～2ヶ月、体重25～30g）

5匹ずつを1群とし、第1群には四塩化炭素、第2群には三塩化エチレン、第3群には四塩化エチレンを隔日に皮下注射した。注射は上述の有機塩素化合物はあまり分子量に差がないので、何れもマウス体重1kg 当たり1.5ml とし、その9倍量の大豆油と混合したものを皮下注射した。

又 A. T. P. Xanthine の四塩化炭素中毒に対する抑制効果を調べるため、前述の方法と同様にして、1群5匹宛の四塩化炭素注射マウス群を2群作り、その1群には A. T. P. を他の1群には Xanthine を1匹当たり10mg ずつ1ml の生理的食塩水に溶解したものを四塩化炭素注射の翌日に腹腔に注射した。

2. 採血法

これらの有機塩素化合物注射5回、10回、15回及び20回目後に各々のマウスの尾部先端を切断し、口径約1mm 長さ約10cm の毛細管で血液を分離採集し、室温で約30分放置した後3000r. p. m. で5分間遠沈し血清を分離した。

3. 濾紙電気泳動法

Grassman and Hannig¹¹⁾¹²⁾により濾紙上で泳動を行なった。即ち緩衝液には Holt 緩衝液¹³⁾ (pH 8.6, イオン強度0.045 のペロナールソーダ、醋酸ソーダ、醋酸の混合液) を使用し、濾紙には Whatman No. 1 を用い、試料は一検体毎に0.003ml をマイクロピペットで濾紙上に点状に塗布し、氷室内で通電電流0.3mA/cm により、泳動距離が7～8cm となるまで泳動を行なった。泳動終了後濾紙を100～110°C で20分間乾燥し、染色には Amido Black 10B 溶液（メルク製 Amido Black 10B をメタノール、氷醋酸9：1の混合液に0.2% 溶かしたもの）を用い、20分間染色の後、2%氷醋酸で脱色、風乾後、アタゴ式自記濾紙泳動用濃度計で血清蛋白泳動図を記録しプランイメーターで面積を測定し、各分画値を算出した。

4. 体重測定

マウスの体重測定は毎日午前9時、自動上皿天秤で行った。なお飼料にはオリエンタル酵母工業製の固型飼料を用いた。

実験成績

1. 有機塩素化合物中毒時の血清蛋白分画の変動

測定成績は〔第Ⅰ表〕に示す如くである。以下3群に分つて述べる事にする。

a) 四塩化炭素中毒群

本群は実験時期によってA、B、Cの3群に分つて研究を行なつた。A群ではβグロブリンの増加が顕著であり、20.6→35.5% (10回後)、ついでアルブミンの減少 37.8→34.0% (10回後) が認められた。βグロブリンの増加は既に5回注射後に認められた。B群に於いても又βグロブリンの増加18.7→31.0% (15回後)、アルブミンの減少 45.5→33.6% (15回後) が認められた。C群ではβグロブリンの増加 24.2→30.0% (20回後) が著明であつた。A群の内、定型

的な1例を〔第1図〕に示す。

b) 三塩化エチレン中毒群

βグロブリンの増加 21.2→26.0% (10回)、アルブミンの減少 48.7→42.4% (15回) が認められるがその程度は四塩化炭素には及ばない。

c) 四塩化エチレン中毒群

βグロブリンの増加 24.4→30.3% (15回)、アルブミンの減少 41.4→38.8% (15回) が認められる。然しながらその程度は矢張り四塩化炭素中毒群には及ばない。

2. 体重変動について

注射前の体重を100とし注射5回目毎の体重変動を示すと〔第Ⅱ表〕の如くである。

a) 四塩化炭素中毒群

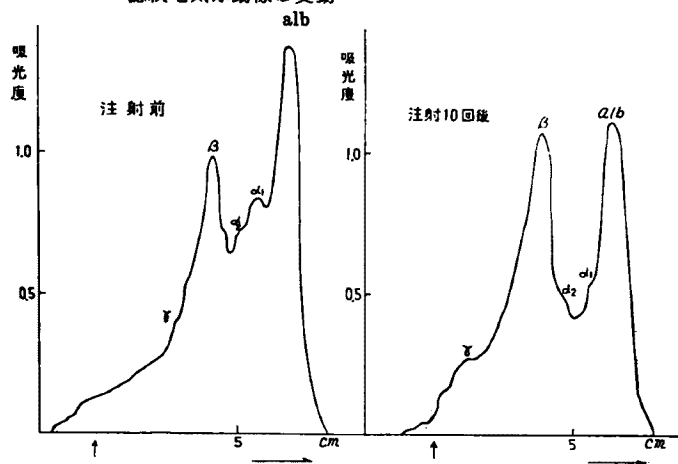
何れの群も減少の傾向が認められた。例えばA群では100→93.8 (5回)→93.0 (10回) の如くである。一般に注射翌日に平均2gの体重減少があり翌

第Ⅰ表 有機塩素化合物中毒マウスの血清蛋白分画の変動及び四塩化炭素中毒に対するA. T. P., Xanthineの効果

		Alb	α ₁ -glob	α ₂ -glob	β-glob	γ-glob
CCl ₄ (A)	注射前	37.8±2.68	14.3±1.13	6.3±0.69	20.6±2.39	21.1±2.48
	5回後	37.7±3.31	10.4±3.04	8.9±2.14	23.8±2.00	19.2±2.90
	10回後	34.0±2.66	9.1±1.43	6.5±0.47	35.5±7.55	15.1±3.84
CCl ₄ (B)	注射前	45.5±2.81	11.4±0.89	7.4±0.92	18.7±1.96	17.0±2.13
	10回後	35.5±4.11	10.0±0.77	9.1±1.55	29.3±3.73	16.5±2.09
	15回後	33.6±3.10	6.9±1.04	7.0±0.60	31.0±3.83	21.6±0.83
CCl ₄ (C)	注射前	41.1±1.56	10.3±1.33	6.8±0.73	24.2±0.52	17.7±1.58
	10回後	37.8±3.15	9.3±0.92	7.1±1.10	29.1±2.62	16.7±1.32
	20回後	41.0±4.90	8.7±0.56	7.6±1.47	30.0±4.09	12.6±1.11
CHCl ₃ : CCl ₂	注射前	48.7±0.62	11.4±1.45	6.7±0.94	21.2±0.88	12.1±2.40
	10回後	44.3±1.25	9.8±0.76	6.8±1.02	26.2±1.91	14.9±1.31
	20回後	42.4±2.09	10.2±0.75	8.2±1.45	26.0±3.29	13.3±0.92
CCl ₂ : CCl ₂	注射前	41.4±1.70	11.6±0.12	7.4±1.07	24.4±1.70	15.2±2.35
	10回後	40.5±2.70	11.3±0.64	8.2±2.96	27.1±2.77	13.0±0.27
	20回後	38.8±3.42	10.4±1.21	7.2±1.12	30.3±3.80	13.3±2.48
CCl ₄ +A. T. P.	注射前	36.5±3.15	14.7±2.64	8.0±1.20	19.4±2.34	21.4±1.16
	10回後	36.1±2.79	10.4±0.28	8.9±1.93	25.8±1.35	18.9±0.75
	15回後	32.1±2.02	7.8±1.12	8.2±0.92	29.3±1.30	21.9±3.14
CCl ₄ +Xanthine	注射前	40.1±3.52	12.4±0.82	5.9±1.01	22.6±2.58	19.1±0.57
	10回後	40.0±0.71	10.1±1.05	8.2±2.05	24.6±1.12	17.2±1.61
	15回後	33.4±1.88	8.3±0.56	7.2±1.56	27.4±1.70	23.8±2.09

相対濃度 (%) m ± σ を示す

第1図 四塩化炭素注射前及び10回注射後におけるマウス血清の濾紙電気泳動像の変動



々日には回復の傾向が存在した。

b) 三塩化エチレン、四塩化エチレン中毒群

体重の減少は認められず却つて増加の傾向が認められた。三塩化エチレン 100→106.7 (20回)、四塩化エチレン 100→106.3 (20回) の如くである。対照として同時に行なつた四塩化炭素中毒群 (C群) では 100→92.3 (20回) を示した。

3. 四塩化炭素中毒に効する A.T.P. 及び Xanthine の効果

第II表 有機塩素化合物中毒マウスの体重変動及び四塩化炭素中毒に対する A.T.P., Xanthine の効果

		注 射 前	5 回 後	10 回 後	15 回 後	20 回 後
CCl ₄ [A]	%	100.0	93.8	93.0	／	／
	g	25.8	24.2	24.0	／	／
CCl ₄ [B]	%	100.0	94.6	97.3	96.2	／
	g	26.0	24.6	25.3	25.0	／
CCl ₄ [C]	%	100.0	95.6	93.0	94.1	92.3
	g	27.3	26.1	25.4	25.7	25.2
CHCl ₃ : CCl ₂	%	100.0	105.6	105.9	107.7	106.7
	g	28.5	30.1	30.2	30.7	30.4
CCl ₂ : CCl ₂	%	100.0	106.6	105.1	106.6	106.3
	g	27.2	29.0	28.6	29.0	28.9
CCl ₄ + A. T. P.	%	100.0	93.7	94.5	101.1	／
	g	27.1	25.4	25.6	27.4	／
CCl ₄ + Xanthine	%	100.0	93.6	104.5	101.9	／
	g	26.3	24.9	27.8	27.1	／
Normal Control	%	100.0	100.7	107.3	105.5	112.0
	g	27.4	27.6	29.4	28.9	30.7

a) 血清蛋白分画値の変動に対する効果

〔第I表〕に示す如くアルブミンの減少は CCl₄ 10回注射対照群 45.5→35.5% (減少率23%) に比べて A. T. P. 投与群は、36.5→36.1% (減少率1.1%) であり Xanthine 投与群は、40.1→40.0% (減少率0.2%) であり、少なくとも10回回返はアルブミンの減少に対して抑制効果を有する。

βグロブリンの増加は、同時に行なつた対照群は18.7→29.3% (増加率57%)、A. T. P. 投与

群は19.4→25.8% (増加率33%) で、Xanthine 投与群は22.6→24.6% (増加率9%) であり、何れもβグロブリン増加に対して抑制効果を示す。又15回注射群でも同様であつた。

なお、正常マウスに A. T. P. 及び Xanthine を投与した場合には蛋白分画値に特別の変動は認められなかつた。

b) 体重変動に対する効果

〔第Ⅱ表〕にみる如く注射前を 100 とした比率で比較すれば同時に行なつた CCl_4 中毒対照群 (B 群) 100→96.2 (15 回後) に比べて, A. T. P. 投与群は 100→101.1 (15 回後) であり Xanthine 投与群は 100→101.9 (15 回後) であり, 何れも体重の減少に抑制的に作用している. 正常マウス A. T. P. 及び Xanthine を投与した場合には投与自身による体重変動は認められなかつた.

考 按

私共は, 有機塩素溶剤として広く用いられている四塩化炭素, 三塩化エチレン, 四塩化エチレンによる中毒マウスの濾紙電気泳動像を求め, アルブミンの減少, β グロブリンの増加の傾向の著しい事を認めた.

血清アルブミンの減少は肝硬変の際認められる如く, 肝実質細胞の機能低下と関係の深い現象である. この点について Peters は肝切片を C^{14} -glycine と incubate 後, 抗血清アルブミン抗体を用いて分離した血清アルブミン分画に C^{14} -glycine の組入れの認められる点から肝細胞に血清アルブミンの合成能力のある事実を証明した¹⁴⁻¹⁸⁾. 私共は四塩化炭素中毒海狼の肝切片のアルブミンに対する C^{14} -glycine の組入れが正常肝切片に比較して少ない事実から, 肝細胞の血清アルブミン合成能力の減少を明らかにし¹⁹⁾, 更に *in vivo* において四塩化炭素中毒マウスの血清アルブミンについてもまた C^{14} -glycine の導入の少ない事を明らかにした²⁰⁾.

これらの研究は四塩化炭素注射後短期間にしてすでに血清アルブミンの合成能力の下つた事を認めたものであるが, 今回の実験に示される如く, 5 回注射以後では四塩化炭素中毒による血清の net synthesis 自身もまた, 減少することが証明された.

血清 β グロブリンの増加については現在迄全く明らかにされていなかった点である. 恐らくこの現象は CCl_4 中毒の際の脂肪肝と密接な関係を有する事実と考えられる. 一般に二硫化炭素及びベンゾール中毒の際にも β グロブリンの増加が認められるので有機溶剤に共通な特性かも知れない.

四塩化炭素中毒に比較すれば, 四塩化エチレン及び三塩化エチレン中毒時のアルブミンの減少, β グロブリンの増加の傾向は多少は劣るけれども明らかに認められる. これらの事実は四塩化エチレン, 三塩化エチレン中毒時にも又肝細胞の機能低下の存在することを示すものである.

私共¹⁰⁾は昭和26年より30年迄三塩化エチレンを使用し昭和30年より昭和36年迄四塩化エチレンを溶剤として用いている某ドライクリーニング工場従業員4名(8~11年勤務)について調べたところ, 尿中ウロビノーゲン量が2例に於いてはかなり増加しており, また cephalin-cholesterol flocculation test で2例が陽性を示し, 更に cobalt 反応では3例が右側傾向を示し肝機能障害を疑わしめる所見を示した. 更に濾紙電気泳動法で調べた血清蛋白分画値も正常値に比べるとアルブミンが減少し, β グロブリンが増加していた. これ等の事実は明らかにマウスによる本実験成績と同一傾向を示している. 次に四塩化炭素中毒に対する A. T. P. 及び Xanthine の効果であるが, A. T. P. については Dianzani⁸⁾ は四塩化炭素中毒の際の A. T. P. の減少を証明しており, A. T. P. を利用する系, 特に脂肪酸の分解の抑制と脂肪肝との関係について述べている. 本実験で A. T. P. 投与群は四塩化炭素単独注射群と比較して, アルブミンの減少, β グロブリンの増加共抑制されており, また顕微鏡所見によつても肝細胞の balloon cell の増加が抑制され, 更に体重減少傾向も抑制されていた. 即ち, 四塩化炭素中毒時の A. T. P. の減少は中毒の全貌を示すものではないとしても A. T. P. が中毒に続発する種々の症状にある程度抑制的に働く事は, 容易に推定される.

Xanthine については Farbus が Xanthine の注射は四塩化炭素にする組織像の変化を抑制することを述べている.

Xanthine 投与群も濾紙泳動に於けるアルブミンの減少, β グロブリンの増加及び体重の減少に抑制効果を示し, Xanthine もまた肝臓の脂肪化抑制に効果を有すると考えられる.

結 論

私共は四塩化炭素, 三塩化エチレン及び四塩化エチレンを Cb 系統系マウスに体重 1 kg 当り 1.5 ml を隔日に注射し, その血清蛋白分画値の変動及び体重変化を測定し, 更に四塩化炭素中毒マウス群に対する A. T. P. 及び Xanthine の効果を測定するために, 中毒マウス 1 匹当り 10 mg の A. T. P. 及び Xanthine を注射し, 次の如き成績を得た.

1) 四塩化炭素, 三塩化エチレン, 四塩化エチレン中毒群は何れもアルブミンの減少, β グロブリンの増加を示した. 殊に四塩化炭素群は他群と比較してその変動が著しかった.

2) 体重変動については四塩化炭素中毒群のみが明らかな減少傾向を示し, 他群はいずれも著しい変動を認めなかった。

3) A. T. P. 及び Xanthine はいずれも四塩化炭素中毒群の血清アルブミンの減少, β グロブリンの増加及び体重減少を多少抑制する効果のあることが

認められた。

本稿を終るに臨み御指導を賜った故大田原一様教授に深謝致します。

(本論文の要旨は昭和36年4月, 第34回日本産業医学会に於いて発表した)

文 献

- 1) 原 一郎; 有機溶剤取扱者の健康管理; 産業医学, 3, 4 (1961).
- 2) Jacobs, M. B.; The Analytical Chemistry of Industrial Poisons, Hazards and Solvents. 191, New York, Interscience Publishers (1949).
- 3) Sterner, James, H.; Industrial Hygiene and Toxicology. 2, 796, Interscience Publishers I. N. C., New York (1949).
- 4) Von Oettingen, W. F.; Poisoning, 559, and 579, N. B. Saunders Company, Philadelphia (1958).
- 5) Merewether, E. R. A.; Industrial Medicine and Hygiene, 527 and 531, Butterworth & Co. LTD. London (1956).
- 6) Dianzani, M. U.; Biochem. et Biophys. Acta., 14, 514 (1954).
- 7) Dianzani, M. U.; Biochem. et Biochem. Acta., 17, 391 (1955).
- 8) Dianzani, M. U.; Biochem. J., 65, 116 (1957).
- 9) Christie, G. S., and Judah, J. D.; Proc. Roy. Soc., London, 142, 241 (1954).
- 10) 緒方正名, 杉山勝三, 黒田泰生; 岡山医学会雑誌, 印刷中.
- 11) Grassman, W., Hanning, K., and Kunkel, M.; Deutsche. Med. Wochenshr., 76, 333 (1951).
- 12) Grassman, W., and Hanning, K.; Paper Chromatography, ed 2, New York, (1954).
- 13) Holt, C. U., et al; Biochem. Z., 323, 345 (1952).
- 14) Peters, T. Jr., and Anfinsen, C. B.; J. Biol. Chem., 182, 171 (1950).
- 15) Peters, T. Jr., and Anfinsen, C. B.; J. Biol. Chem., 186, 805 (1950).
- 16) Peters, T. Jr.; J. Biol. Chem., 200, 461 (1953).
- 17) Peters, T. Jr.; J. Biol. Chem., 229, 659 (1957).
- 18) Peters, T. Jr.; Fed. Proc., 17, 452 (1958).
- 19) Ogata, M.; Acta Medicinæ Okayama, 15, No. 6 (1961).
- 20) Ogata, M.; Acta Medicinæ Okayama, 16, No. 1 (1962).

Effects of Carbon Tetrachloride, Trichloro-ethylene and Tetrachloro-ethylene on Serum Protein Fractions of Mice (especially with the effect of A. T. P. and Xanthine)

By

Masana OGATA

Yasuo KURODA

Department of Public Health, Okayama University Medical School

Authors' Abstract

For the purpose of determining the effects of carbon tetrachloride (CCl_4), trichloro-ethylene, and tetrachloro-ethylene on the changes in serum protein fractions and the body

weight, we injected 1.5 ml/kg of these compounds every other day into Cb strain mice, and also 10mg/mouse of A. T. P. and Xanthine was injected every other day 15 times into the animals with CCl_4 poisoning in order to find out the effects of these drugs and obtained the following results.

1. Every group of the mice with experimental CCl_4 poisoning, trichloro-ethylene and tetrachloro-ethylene poisoning, showed a tendency of a decrease in albumin fraction and an increase in β -globulin fraction. Such changes were especially marked in the group with CCl_4 poisoning.

2. As for the change in their body weight, the group with CCl_4 poisoning alone demonstrated clearly a decrease in the body weight, but the other groups did not show any marked change.

3. It was recognized that both A. T. P. and Xanthine had a slight inhibitory effect on the decrease of the albumin, the increase of β -globulin, and the diminution of the body weight, in the CCl_4 - poisoning group.
