

111. 抗菌作用を持つ化学物質の乳児期腸内菌叢への影響評価

藤井 由希子

*第一薬科大学 薬学部 薬学科 育薬研究センター

Key words : 腸内細菌叢, 抗菌作用, ハロゲン化合物, 母乳, 生体濃縮

緒言

フェノール性ハロゲン物質 (POC) は、抗菌剤等として広く使用されている化学物質である。環境中に分布する POC の一つであるトリクロサン (TCS) はエノイール-アシル運搬蛋白還元酵素に結合し、脂肪酸合成阻害を起こすことから、細胞膜の合成阻害によりグラム陽性菌、陰性菌に対して優れた抗菌作用を持つことが知られている。しかしながら、現在までに TCS の毒性として、肝線維形成や腫瘍形成の強化¹⁾、心臓・骨格筋の収縮低下²⁾、エストロゲン活性³⁾、さらにはアレルギーリスクの増加⁴⁾ 等が報告され、ヒトへの影響が懸念されている。

TCS の人への曝露経路は製品の使用による直接曝露の他に、環境中に放出された TCS が微生物により脂溶性の高いメトキシ (MeO) 体へ変換され、海洋環境で生体濃縮された後、魚介類を通じて人が摂取する経路があると考えられている。本研究では、TCS について、脂溶性の高い MeO 体も含め、1) 母乳を通じた曝露評価、2) アレルギーリスクの増加の原因として TCS の抗菌作用による腸内細菌叢の変化、の検討を行った。

方法、結果および考察

1. 母乳を通じた曝露評価

泌乳期マウス (Sea:ddY 30 週齢) に経口ゾンデを用いて MeO-TCS を 30 mg/kg 投与した。投与後は 24 時間まで経時的な血液採取と母乳採取を行い、24 時間後に乳腺を含む主要臓器を採取した。また仔マウスについても 24 時間までの経時的な血液採取を行った。試料中の MeO-TCS とその代謝物は trimethylsilyl 化した後、GC-MS (EI) で追跡した。また濃度測定には pentafluorobenzoyl ester で誘導体化した後 GC-MS (CI) で代謝物濃度の測定を行った (図 1)。

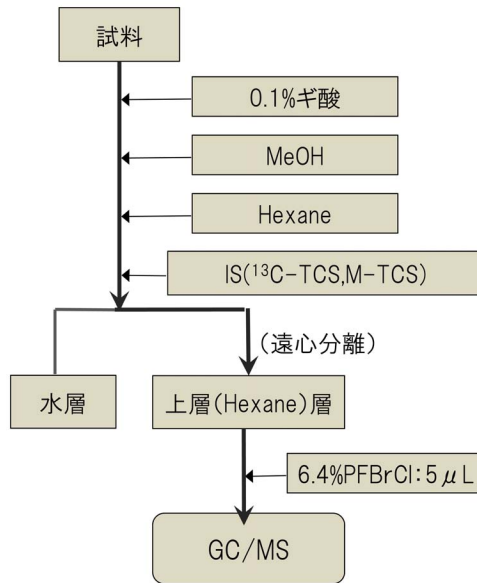


図1. 分析方法

GC-MS (CI) 法での MeO-TCS、TCS の分析フローを示す。

GC-MS (EI) により MeO-TCS を投与したマウスの血液に現れるピークの同定を行った。その結果、MeO-TCS は腸内で脱メチル化体 (TCS)、水酸化体 (OH-MeO-TCS) を経て、ジヒドロキシ体 (OH-TCS) へ代謝されることが明らかになった (図2)。代謝物のピークを比較したところ、脱メチル化体の TCS のピークエリアを 100 としたところ、水酸化体の OH-MeO-TCS では 30 であった。このように MeO-TCS は容易に脱メチル化が起こり、TCS へと変換されることが明らかになった。

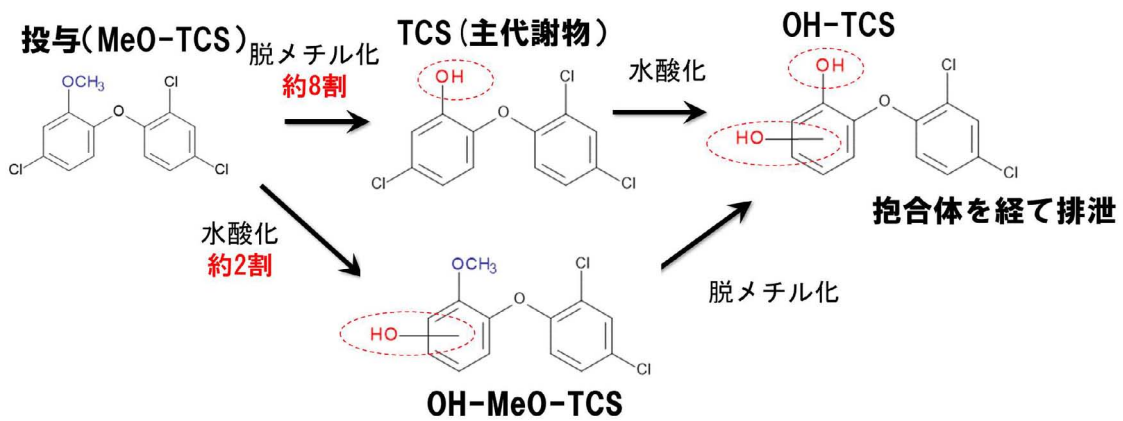


図2. MeO-TCS の代謝経路

MeO-TCS 投与後の代謝経路を示す。主代謝物が TCS であることが明らかになった。

次に血中濃度の推移を投与物質の MeO-TCS とその主要代謝物の TCS について観察した。TCS 投与の場合、TCS の血中濃度は 2h であるが、MeO-TCS 投与では、脱メチル化体である TCS の血中濃度は 7h で最大に達した。MeO-TCS は肝臓や血液ではほとんど TCS として検出されたが、乳腺と脂肪組織では一部が未変化体 MeO-TCS として検出された。MeO-TCS と TCS の仔マウスの血清中濃度変化を見た結果が図3と図4である。主に TCS が検出された母マウスの血液中とは異なり、母乳中では主に MeO-TCS が検出された (図3)。また、興味深いことに仔の血中濃度は

経時的に増加している（図4）。これは母乳経路で MeO-TCS が乳児へ移行し、肝臓で TCS へと代謝されたあと、少なくとも一定期間は血清中に残留することを意味する。成人に比べ乳幼児は抱合能が未発達であることから、TCS の影響を強く受ける懸念があり、さらなる安全性評価が必要であると考ええる。

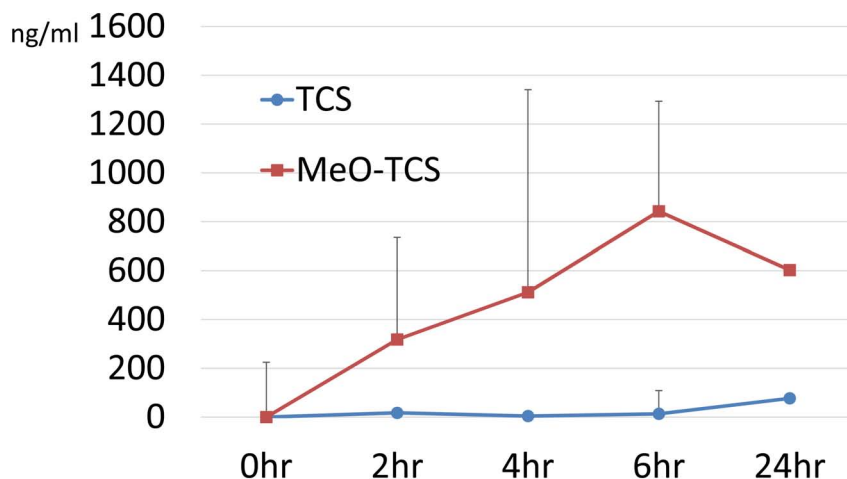


図3. 投与後24時間の母乳中濃度変化
MeO-TCS 投与後24時間の母乳中の MeO-TCS と主代謝物の TCS の濃度変化を示す。

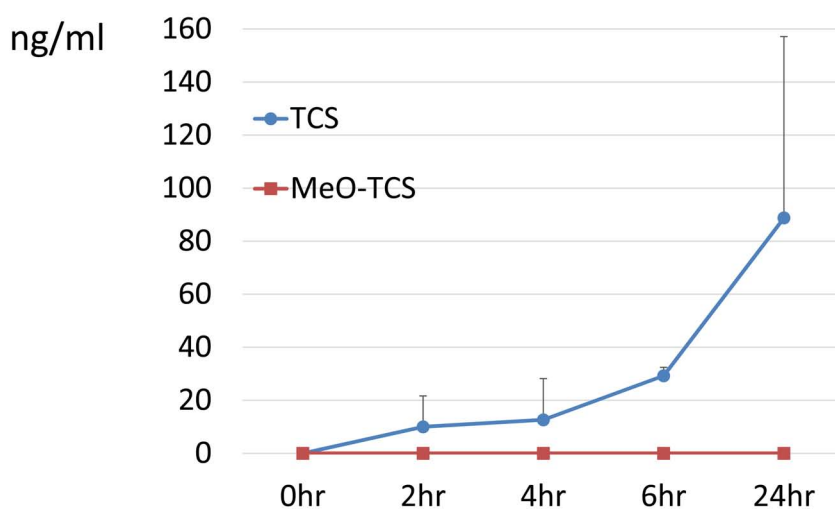


図4. 投与後24時間の仔の血清中濃度変化
MeO-TCS の投与後24時間までの仔の血清中における TCS 濃度変化を示す。
MeO-TCS は検出されなかった。

2. 腸内細菌叢への影響

次に、TCS の腸内細菌叢への影響を見るために、マウスへの投与実験を行った。雌マウス (Sea:ddY 30 週齢) に経口ゾンデを用いて M-TCS を 30 mg/kg 投与し、2 時間後、18 時間後、42 時間後、65 時間後に糞を回収した。回収した糞より DNA を抽出し、プライマーセットで鋳型 DNA を PCR 増幅、制限酵素による消化後フラグメントを解析を行い菌種の推定を行った。その結果、投与前後で *Lactobacillales* が主要な構成種であることに変わりはない。しかしながら、*Bifidobacterium* (ビフィズス菌) が投与後 18 時間後には一端消失するにも関わらず、また 65 時間後に

は投与前より割合が増加する等の興味深い変化が観察された（図5）。こうした腸内細菌叢の変化がアレルギーリスクの増加に関与する可能性がある。

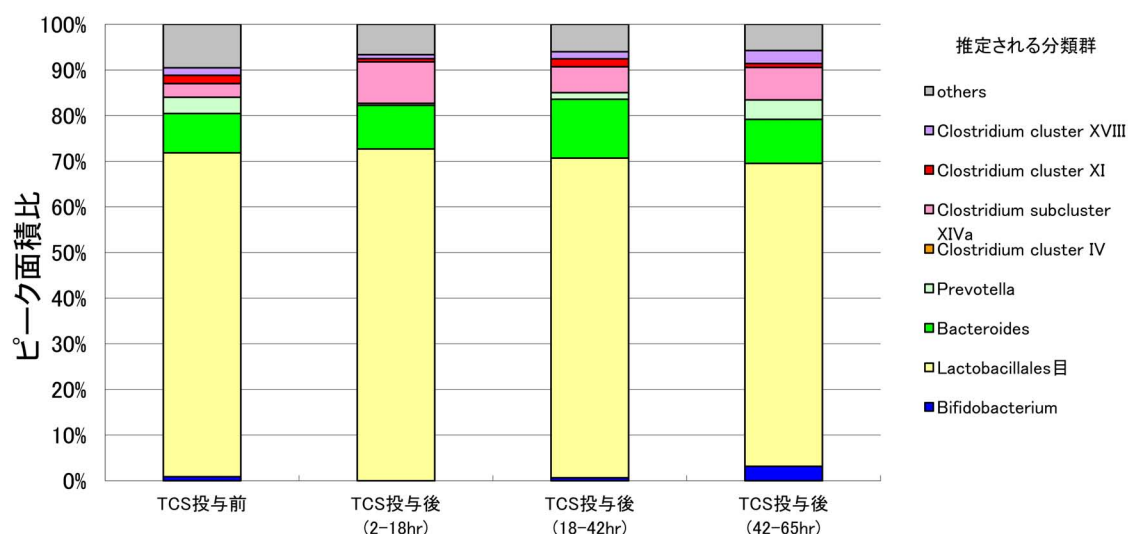


図5. 投与後65時間までの腸内細菌叢の変化

TCS投与後65時間までに腸内細菌叢の変化を示す（表は要旨に掲載）。

共同研究者

本研究の共同研究者は第一薬科大学薬学部の原口浩一、久我歩佳、木下真璃伽である。本稿を終えるにあたり、本研究をご支援いただきました上原記念生命科学財団に深く感謝申し上げます。

文献

- 1) Yueh MF, Taniguchi K, Chen S, Evans RM, Hammock BD, Karin M, et al. The commonly used antimicrobial additive triclosan is a liver tumor promoter. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2014;111(48):17200-5. Epub 2014/11/19. doi: 10.1073/pnas.1419119111. PubMed PMID: 25404284; PubMed Central PMCID: PMC4260592.
- 2) Cherednichenko G, Zhang R, Bannister RA, Timofeyev V, Li N, Fritsch EB, et al. Triclosan impairs excitation-contraction coupling and Ca²⁺ dynamics in striated muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012;109(35):14158-63. Epub 2012/08/15. doi: 10.1073/pnas.1211314109. PubMed PMID: 22891308; PubMed Central PMCID: PMC3435154.
- 3) Huang H, Du G, Zhang W, Hu J, Wu D, Song L, et al. The in vitro estrogenic activities of triclosan and triclocarban. *Journal of applied toxicology : JAT*. 2014;34(9):1060-7. Epub 2014/04/18. doi: 10.1002/jat.3012. PubMed PMID: 24740835.
- 4) Bertelsen RJ, Longnecker MP, Lovik M, Calafat AM, Carlsen KH, London SJ, et al. Triclosan exposure and allergic sensitization in Norwegian children. *Allergy*. 2013;68(1):84-91. Epub 2012/11/14. doi: 10.1111/all.12058. PubMed PMID: 23146048; PubMed Central PMCID: PMC3515701.