

ベンゾチオフェン, ジベンゾチオフェン のミトコンドリア膜に対する作用

岡山大学医学部公衆衛生学教室

長 谷 川 亨・緒 方 正 名

(昭和52年10月3日受稿)

緒 言

近年我が国における石油工業の発達により石油関連工場排水のみならず、原油漏洩により海洋が汚染され、沿岸漁業に大きな被害を与えるに到った。油臭魚の発生は、これら石油成分の魚への移行^{1,2}を示すものであり、石油成分の生体に対する影響の検索が必要である。我々は石油成分即ちベンゼン、トルエン、キシレンが油臭魚中に検出されている^{1,2}事から、これら物質の生体膜に対する作用を検討し、これら物質が生体膜に傷害を与える K^+ を遊出させ、その結果ミトコンドリアの酸化的リン酸化を脱共役させる事を報告した^{3,4}。今回は原油中の有機硫黄成分が魚貝類へ移行するのが認められたので⁵、石油成分の有機硫黄のうち、ベンゾチオフェン、ジベンゾチオフェンをモデルとして、これら化合物の生体膜に対する作用を検討した。

材料及び方法

肝ミトコンドリアの分画

ドンリウ系ラット(体重200g前後)より肝臓を摘出し、Hogeboom, Schneider の変法⁶に従ってミトコンドリアを分画し、0℃で0.25M sucrose, 3mM Tris-HCl buffer (pH7.5)に懸濁したものを実験に供した。

試薬の調製

ベンゾチオフェン、ジベンゾチオフェン、アントラセン、ナフタリンは和光試薬特級を用い、アルコール99%に溶解させた。なお、アントラセンはクロロホルム、ナフタリンはDMSOに溶解させた。その他実験に用いた試薬は全て特級を用いた。

酸化的リン酸化反応

反応液0.15MKCl, 10mM Tris-HCl buffer (pH 7.5)Pi 2.5mM中にミトコンドリアを添加し、呼吸基質 Na-succinate 5mM、リン酸化基質 ADP0.3 mMによる呼吸現象を酸素電極(給水化学)を用いて経時的に測定した。反応容量3.5ml、反応温度25℃で行なった。

K^+ 遊出測定

反応液0.15M Choline Chloride, 10mM Tris-HCl buffer (pH7.5)にミトコルドリアを添加し、反応液中に遊出してくる内部 K^+ をカリウム電極(Beckman社)にて経時的に測定した。反応容量3.0ml、反応温度25℃で行なった。

蛋白定量

ピューレット法⁷に従った。

実験結果

ミトコンドリアのエネルギー転換系に対するベンゾチオフェン、ジベンゾチオフェンの作用

使用したミトコンドリアは、呼吸基質コハク酸を用いた場合、呼吸調節能が5.0を示しミトコンドリア膜が intact な状態である事を示した⁸。我々は、ミトコンドリアのこの呼吸調節能を指標として、ベンゾチオフェン、ジベンゾチオフェンのミトコンドリア膜に対する作用を検討してみた。その結果を図1に示す。図1から明らかな如く、ベンゾチオフェン、ジベンゾチオフェンはある濃度(ベンゾチオフェンの場合は0.7mM、ジベンゾチオフェンの場合は0.3 mM)を境にして急激な脱共役作用を示し、一種の膜協同現象が観察された。この膜協同現象は、他の油臭魚中にみられる原油成分例えはヘキサンとほぼ

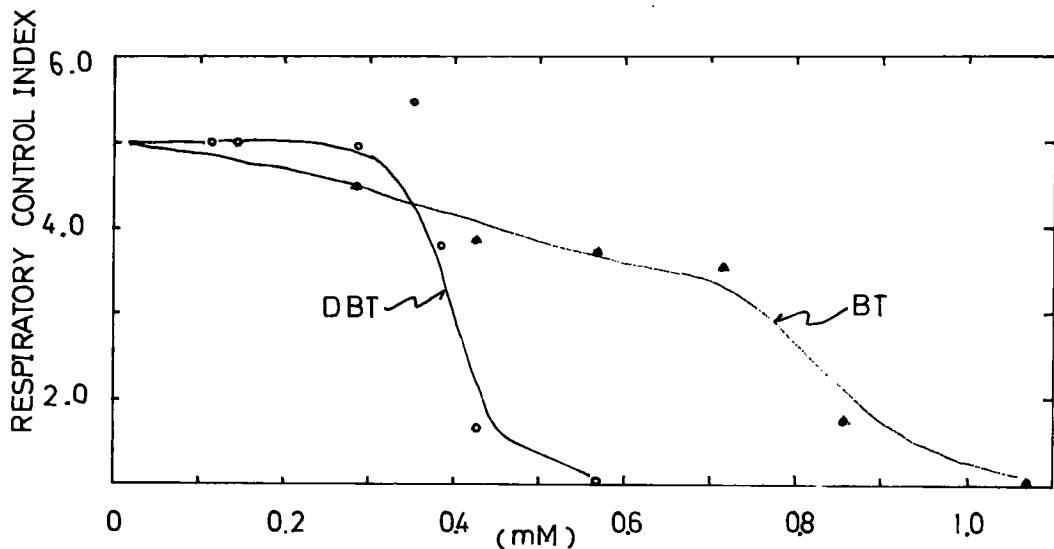


図1. Benzothiophene, Dibenzothiophene の呼吸調節能に対する作用。
 反応条件, 0.15MKCl, 10mMTris-HCl buffer(pH 7.5).Pi 2.5mM.
 Na-succinate 5 mM. Na-ADP 0.3mM. ラット肝ミトコンドリア蛋白2.4mg
 protein/ml. BT :Benzothiophene, DBT :Dibenzothiophene BT. DBTは,
 アルコールに容解, 対照はアルコール処理のミトコンドリアを用いた。反応容
 量3.5ml, 反応温度25°C.

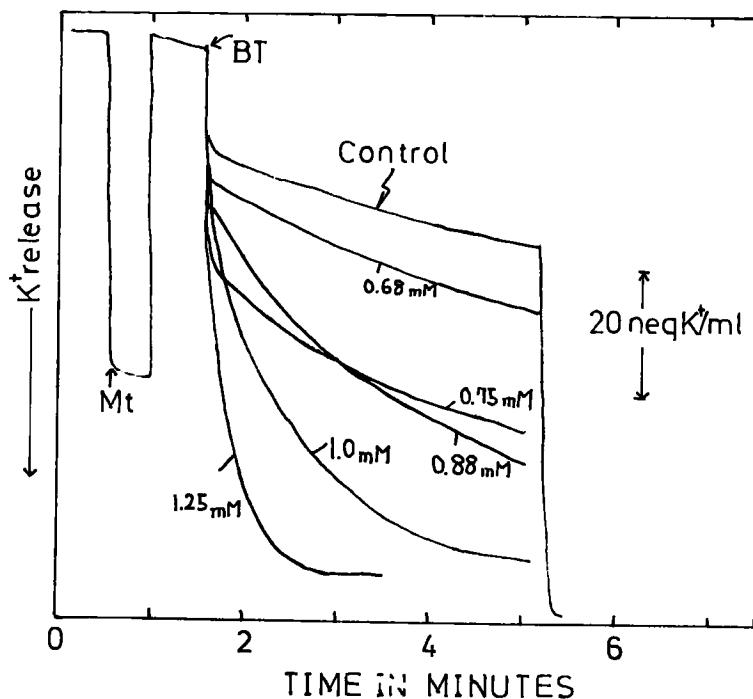


図2. Benzothiophene の K^+ 遊出作用。
 反応条件. 0.15M Choline Chloride, 10mM Tris-HCl buffer (PH 7.5)
 ラット肝ミトコンドリア蛋白 0.8mg 蛋白/ml. 対照はアルコールが添加反応
 容量3.0ml. 反応温度25°C

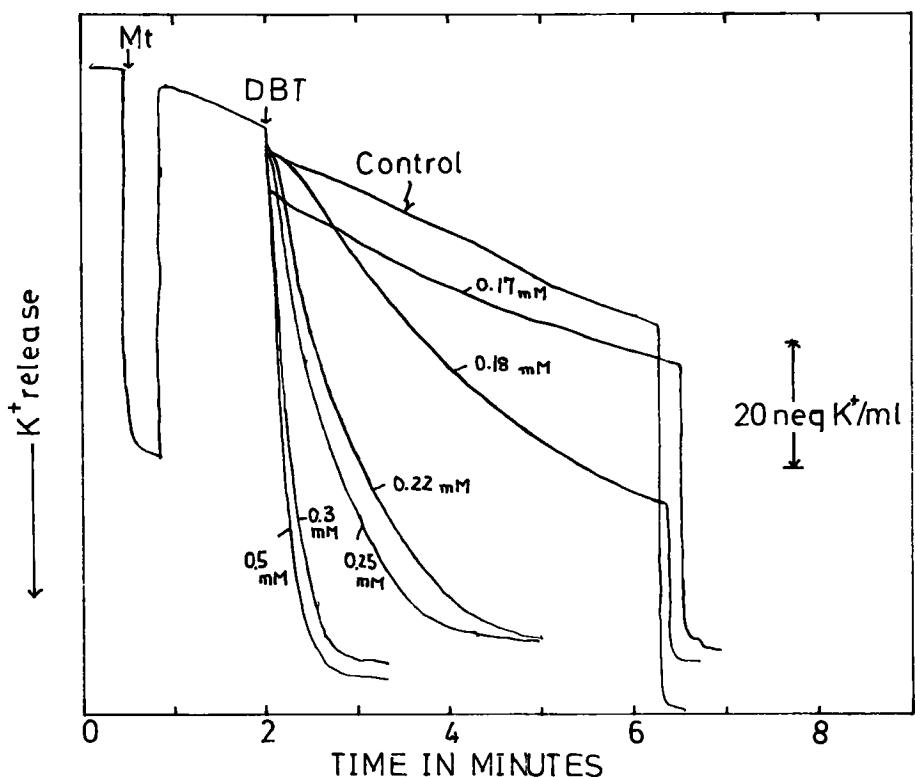


図3. Dibenzothiophene のK⁺遊出作用
反応条件、図2と同じ

同様な現象であるが、この膜協同現象をひきおこす濃度がヘキサンよりも低い事が注目される。またミトコンドリアに対する脱共役作用の強さはジベンゾチオフェン>ベンゾチオフェンであった。

ミトコンドリアに対するジベンゾチオフェン、ベンゾチオフェンのK⁺遊出作用

ジベンゾチオフェン、ベンゾチオフェンはミトコンドリアのエネルギー転換系に対し、脱共役作用を示す事が認められ、ミトコンドリア膜に対する傷害作用を有する事が示唆された。我々はこの傷害作用を検討する意味で、ミトコンドリア膜のK⁺区画性に対する作用を検討してみた(図2、図3)。明らかに脱共役作用と同様に、ほぼ同じ濃度で膜協同現象が観察され、脱共役作用とK⁺遊出作用との間に相関が認められた。

ベンゾチオフェン、ジベンゾチオフェンとナフタリン、アントラセンの作用比較

ベンゾチオフェン、ジベンゾチオフェンはミトコンドリア膜に対しK⁺遊出という傷害作用を発揮する事が認められたが、これら化合物の構造相関性の

あるナフタリン、アントラセンの作用を比較する事は、ベンゾチオフェン、ジベンゾチオフェンの作用発現を示す化学構造解析する意味で興味ある問題である。それ故、ミトコンドリアの呼吸調節能を指標として解析したのが図4である。明らかにナフタリン、アントラセンはほぼ同様な作用を有する事が認められ、この事はベンゾチオフェンとベンゾチオフェンのベンゼン環がミトコンドリア膜に対し傷害作用を示す事を示唆するものである。

考 察

原油中に存在する硫黄分の含量は、その原油を産出する油田によって異なるが、数%の割合で存在する事より⁹、原油の生体影響を考慮する場合、硫黄分の影響は無視できない。

ベンゾチオフェン、ジベンゾチオフェンはベンゼン、トルエン、キシレン同様油臭魚貝類中に検出されている⁹。

ベンゾチオフェンは、2核芳香族炭化水素であるナフタリンの1個のベンゼン環がチオフェン環に置

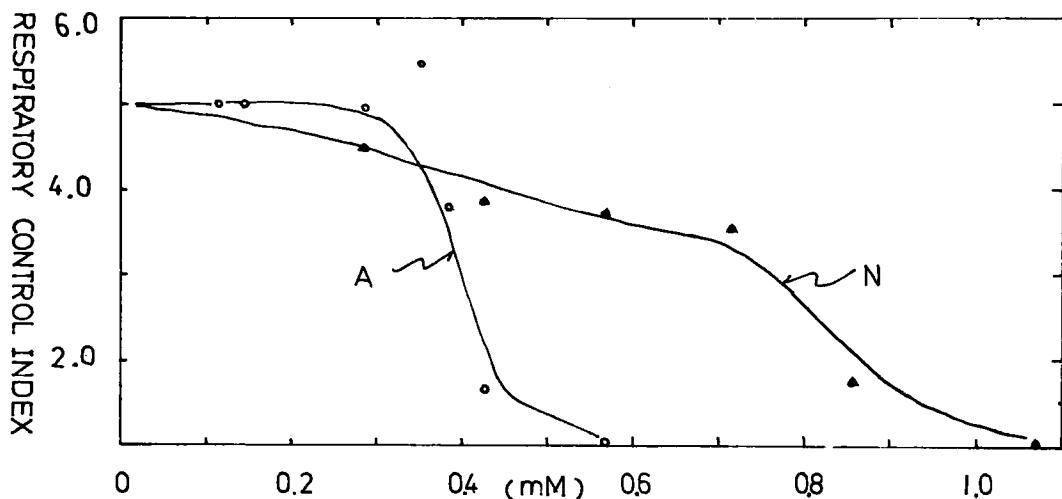


図4. ナフタリン, アントラセンの呼吸調節能に対する作用.

反応条件. 図1と同じ. N: ナフタリン, A: アントラセン

ナフタリンの対照はDMSO, アントラセンの対照はクロロホルムを用いた.

換したものであり, ジベンゾチオフェンは3核芳香族炭化水素であるアントラセンの中央のベンゼン環がチオフェン環と置換されたものであり, 両者共に石油成分として含有されている. 今回の測定より, ミトコンドリアに対する脱共役作用を呼吸現象より測定した結果, ベンゾチオフェンとナフタリン, ジベンゾチオフェンとアントラセンとの間に大差が認められなかった.

他の石油成分の脱共役作用の比較では, ミトコンドリアのエネルギー転換系に対し, ベンゾチオフェン, ジベンゾチオフェンは, ベンゼン, トルエン, キシレンと比較して低濃度で作用を発現する事が認められる. たとへばヘキサンでは1 mM付近で膜協同現象を示すが, ベンゾチオフェンは0.7 mM, ジベンゾチオフェンでは0.3 mMである.

以上の事実は, ベンゾチオフェン, ジベンゾチオフェンの生体に対する傷害作用が, ベンゼン, トルエン, キシレンよりも強い事を示唆し, 原油中の他の硫黄成分の生体影響を早急に解明する必要がある

事を示すものと思われる.

結論

ベンゾチオフェン, ジベンゾチオフェンの生体膜に対する作用をミトコンドリアのエネルギー転換反応及びK⁺選択性を指標にして検討し以下の結果を得た.

1. ベンゾチオフェン, ジベンゾチオフェンはミトコンドリアのエネルギー転換系に対し脱共役作用を示し, その強度はジベンゾチオフェン>ベンゾチオフェンであった.
2. ベンゾチオフェン, ジベンゾチオフェンはミトコンドリア膜に傷害を与え, K⁺遊出作用を発現する事が認められ, その強度はジベンゾチオフェン>ベンゾチオフェンであった.
3. ミトコンドリアのエネルギー転換反応に対するベンゾチオフェンとナフタリン, ジベンゾチオフェンとアントラセンの脱共役作用には大差がなかった.

文 献

- 1) Ogata. M and Miyake. Y. *Water Res.*, 7. 1493- 1504. 1973.
- 2) Ogata. M and Miyake. Y. *Water Res.*, 9. 1075- 1078, 1975.
- 3) 長谷川亨, 吉良尚平, 緒方正名. 医学と生物学, 89. 291- 296, 1974.
- 4) 内海耕儲, 長谷川亨, 緒方正名. 医学と生物学, 91. 13- 18, 1975.
- 5) Ogata. M., Miyake. Y and Kira. S. *Water Res.*, 11. 333- 338, 1977.
- 6) Utsumi. K. *Acta Med. Okayama.*, 17. 259- 271, 1963.
- 7) Layne. E. *Method in Enzymol.*, 3. 447- 454, Academic Press, New York, 1957.
- 8) Walter, G. H. *Biochim. Biophys. Acta.*, 456. 129- 148. 1976.
- 9) 古賀雄造. 石油学会誌, 9. 540- 545, 1966.

**The effects of benzothiophene and dibenzothiophene
on the mitochondrial membrane**

Tohoru HASEGAWA and Masana OGATA

The Department of Public Health, Okayama University Medical School of Okayama

The effects of benzothiophene and dibenzothiophene on the mitochondrial membrane were studied and the following results were obtained.

1. The uncoupling actions of benzothiophene and dibenzothiophene on the energy transfer reaction of mitochondria were observed in the order of dibenzothiophene and benzothiophene.
2. The K^+ release was induced by benzothiophene and dibenzothiophene, and its ability of K^+ release was in the order of dibenzothiophene and benzothiophene.
3. The uncoupling actions of naphthalane and anthracene were similar to that of benzothiophene and dibenzothiophene respectively.