

有機錫による胸腺萎縮と胸腺中微量元素の動態

荒川 泰昭¹⁾・新川 加奈子¹⁾・森本 絢美²⁾・小林 俊秀¹⁾・小石 秀夫²⁾
(静岡県立大学食品栄養科学部*, ¹⁾公衆衛生学教室, ²⁾特殊栄養学教室)

Organotin-Induced Thymus Atrophy and Movement of Trace Elements in the Thymus

Yasuaki ARAKAWA¹⁾ Kanako SHINKAWA¹⁾, Ayami MORIMOTO²⁾, Toshihide KOBAYASHI¹⁾
and Hideo KOISHI²⁾

¹⁾Department of Hygiene & Preventive Medicine, and ²⁾Department of Human Nutrition,
School of Food and Nutritional Sciences, The University of Shizuoka

In vivo studies on the oral treatment of organotin compounds with weanling rats, dibutyltin dichloride (Bu_2SnCl_2) and dioctyltin dichloride (Oc_2SnCl_2) induced a severe thymus atrophy. This atrophy was reversible and its degree correlated to the concentration of Bu_2SnCl_2 in the thymus. At histopathological examination, there was marked depletion of lymphocytes in the thymic cortex rather than in the thymic medulla. Further, cortisone-pretreatment studies revealed that immature cells in the thymic cortex were far more sensitive to organotin compounds than mature cells. DNA synthesis of the thymic lymphocytes was significantly inhibited by Bu_2SnCl_2 and Oc_2SnCl_2 at the concentration of 10^{-7}M at which cell viability was not yet impaired. Moreover, a parallelism between dose-response curves of Bu_2SnCl_2 for DNA synthesis and cell viability was found. These results indicate that organotins primarily induces an inhibition of cell proliferation and secondarily causes cell death. Further studies on the movement of metals in the thymus of rats fed diets containing same molar concentration of individual organotin compound revealed that the degree of thymus atrophy correlated to the concentration of manganese in the thymus.

However, manganese was unevenly distributed to the epithelial connective tissues containing reticular cells and it was found in extremely small quantities in the thymic lymphocytes, depletion of which induces a severe thymus atrophy. Therefore, a relative increase of manganese concentration in the atrophic thymus depends on the immobility of manganese concentration in the epithelial connective tissues.

*所在地：静岡市谷田395 (〒422)

錫 (Sn) は鉛, ゲルマニウム, ケイ素と並ぶ4価の金属である。従って, 金属-炭素の共有結合によって構成される有機錫化合物には R_3SnX , R_2SnX_2 , R_3SnX および R_4Sn (側鎖 R: アルキルまたはアリル基, X: アニオン) の4つの型が存在し, そのリガンドの数や種類によって Metal の吸収や作用部位への移行, 分布が個性化され, Metal の生理活性の程度や様式が著しく変わる。

本研究ではこれらの点を考慮しつつ各種有機錫化合物の免疫系への影響を調べるために, まず免疫関連器官への影響を中心に調べた。即ち, 各臓器の体重あたりの相対的臓器重量の変化を観察し, かつその時の有機錫の各臓器への移行状態とそれに伴った他の微量元素動態との関連を検討した。

実験方法

1. 動物実験

10匹を1群とする Wistar 系幼若ラット (雄性, 3週令: 40-45g) に各種有機錫化合物をそれぞれ等モルずつ含む NMF 固形 (あるいは粉末) 飼料 ($0.33 \mu\text{moles/g}$ of NMF) を実験開始より2週間 (あるいは4週間) 自由摂取させ, その後, 無添加飼料に戻して1週間 (あるいは6週間) 飼育した。1, 2, 3週 (あるいは4, 5, 6, 8, 10週) の各週ごとに体重および飼料消費量を記録し, 解剖後, 各臓器重量を測定した。

2. 臓器中金属の測定

臓器中金属の分析には単独金属に対しては原子吸光法^{1,2)}を, 微量元素の一斉分析に対しては発光分析法を, また有機錫化合物の分析にはガスクロマトグラフィー³⁻⁵⁾や高速液体クロマトグラフィー^{6,7)}を用いた。

結果と考察

各種有機錫化合物のなかで, ジブチル錫ジクロリド (Bu_2SnCl_2), ジオクチル錫ジクロリド (OC_2SnCl_2), トリブチル錫クロリド (Bu_3SnCl) を連続経口摂取したラットにおいて, 著しい胸腺の萎縮が観察された (Table 1)⁸⁻¹¹⁾。この選択的な萎縮はジブチル錫の場合約1週間で観察され, 相対的

Table 1. Relative organ weights of rats fed various organotin compounds (% of control)

	B.W.	THYMUS	ADRENAL	LIVER	SPLEEN	KIDNEY	N
Bu_2SnCl_2	97	48***	125	93	98	96	6
Bu_3SnCl	90	58***	132*	93	75*	86*	7
$BuSnCl_3$	95	106	116	91	89	106	6
Bu_4Sn	101	88	119	89	79*	96	6
Pr_2SnCl_2	84	89	98	82**	88	97	7
Me_2SnCl_2	96	92	97	85*	112	99	6
$MeSnCl_3$	105	85	103	101	92	100	6
OC_2SnCl_2	101	39****	100	104	116	100	7
Ph_3SnCl	91	100	113	89*	87	99	6
$SnCl_4$	88	83	110	92	73**	103	6

* $p < 0.05$ ** $p < 0.02$ *** $p < 0.01$ **** $p < 0.001$

臓器重量において対照群の40%にまで低下した。しかし、正常食に戻るとその萎縮は速やかに回復した (Fig. 1)。この可逆性は胸腺細胞の総数や viability の測定においても全く同様に観察されたが、骨髓細

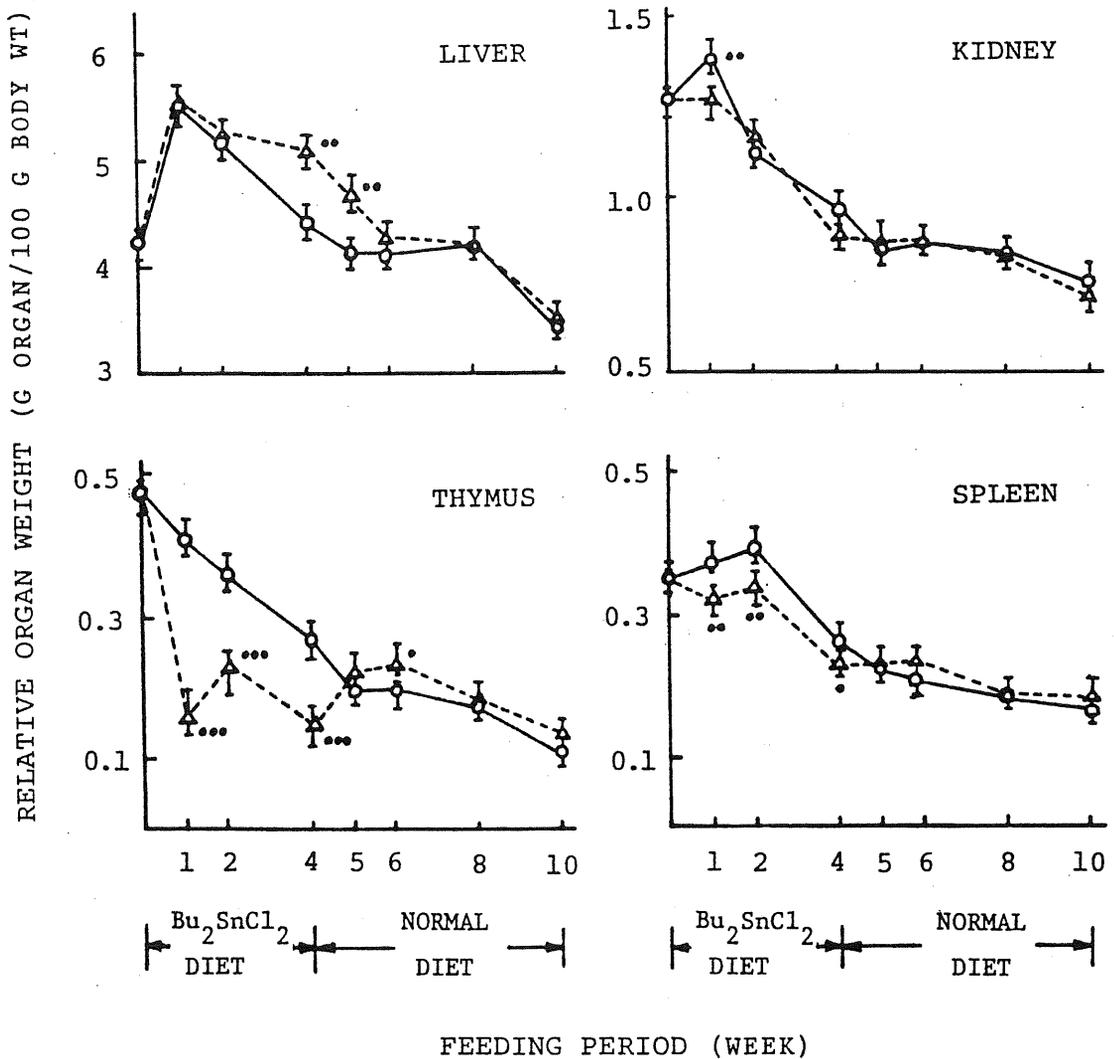


Fig. 1. Relative organ weights of rats fed 0 or 100 ppm Bu₂SnCl₂ for 4 weeks and after that period a normal diet for 6 weeks.

○, control (0 ppm) group; △, 100 ppm group. * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001.

胞では対照群と有意の差はなかった。さらに、この胸腺萎縮の程度は胸腺中のジブチル錫濃度と相関しており、ジブチル錫濃度の低下とともにその萎縮も回復した (Fig. 2)。また、胸腺の組織病理学的所見では髄質領域よりはむしろ皮質領域におけるリンパ球の消失が著しかった (Fig. 3)。そして、³H-チミジンの取込み実験でも、あらかじめコーチゾン処理したラットからの胸腺細胞は未処理ラットからの胸腺細胞に比べ、ジブチル錫による阻害を受けにくい。即ち、細胞分裂の激しい皮質領域の未熟細胞は

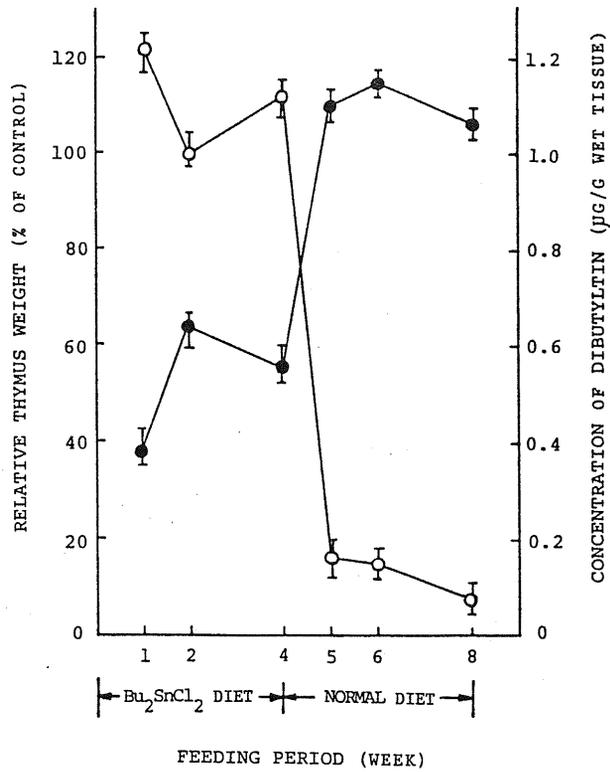


Fig. 2. Relationship between thymus atrophy and the concentration of dibutyltin in the thymus of rats fed 100ppm Bu₂SnCl₂ for 4 weeks and after that period a normal diet for 6 weeks.

○, Concentration of Bu₂SnCl₂ in rat thymus (µg/g tissue) ; ●, relative thymus weights are given as percentages of control values.

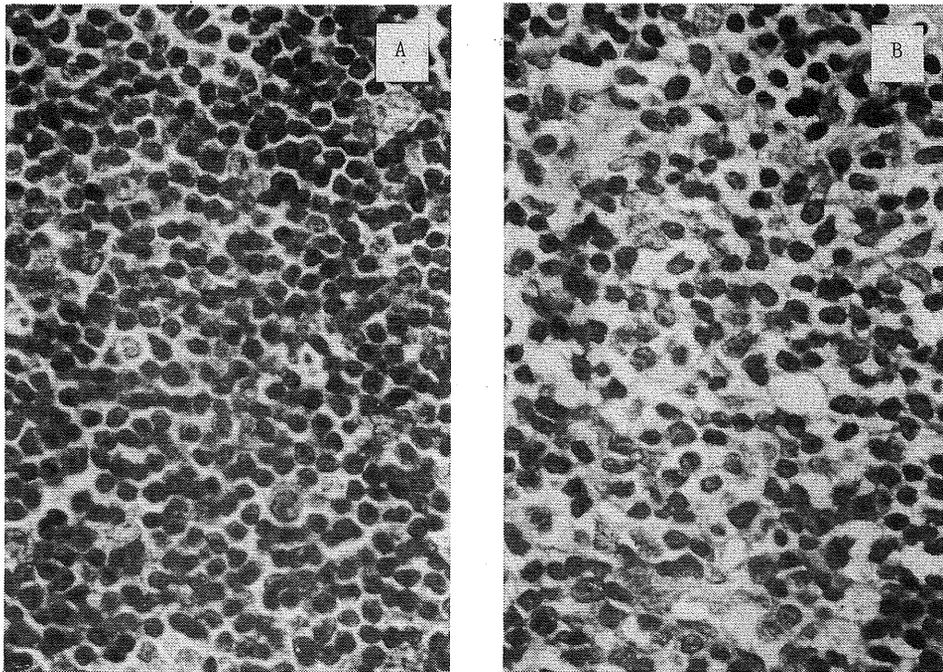


Fig. 3. Part of thymic cortex from a control rat (A) and a rat (B) fed 100ppm Bu_2SnCl_2 for 2 weeks.

Note the complete lymphocyte depletion of the cortex (B).
Hematoxylin and eosin; x400.

成熟細胞に比べ、ジブチル錫に対して非常に感受性が強いことがわかった。さらに、胸腺細胞の DNA 合成はジブチル錫により対照群の1/5~1/10にまで抑制され、他の臓器細胞に比べ著しい有意差を示した。この DNA 合成の阻害と cell viability の低下はともに量一依存性であり、かつ両者の量一反応曲線は互いに平行した。そして、この DNA 合成の阻害は細胞死を生じない濃度 ($1 \times 10^{-7}\text{M}$ 以下) で現われた¹²⁾ (Fig. 4)。これは有機錫がまず細胞増殖を阻害し、その結果二次的に細胞死を誘導するであろうことを示している。以上のことから、有機錫によって誘起される胸腺の萎縮は胸腺細胞の消失によるものであり、この消失の程度は DNA 合成の阻害さらには細胞増殖の阻害に起因する直接的細胞毒性によるものであることがわかった。

次に、各種有機錫化合物経口摂取時のラット胸腺中の各種金属の動態を観察した (Fig. 5)。胸腺萎縮の著しいジブチル錫投与時では、マンガン、カルシウムおよび銅などの濃度が増加傾向を示し、金属代謝系との関連性が示唆された。そこで、最も相対的濃度が増大するマンガンに着目し、胸腺萎縮との関連性を経時的に観察すると、胸腺中マンガン濃度は萎縮の程度とよく相関した (Fig. 6,7)。しかし、この胸腺中のマンガンは大半 (約80%以上) が胸腺実質の上皮性細胞網細胞などを含む上皮性結合織に分布し、リンパ球には少ない。従って、リンパ球の消失に起因する胸腺萎縮では胸腺中のマンガンはほと

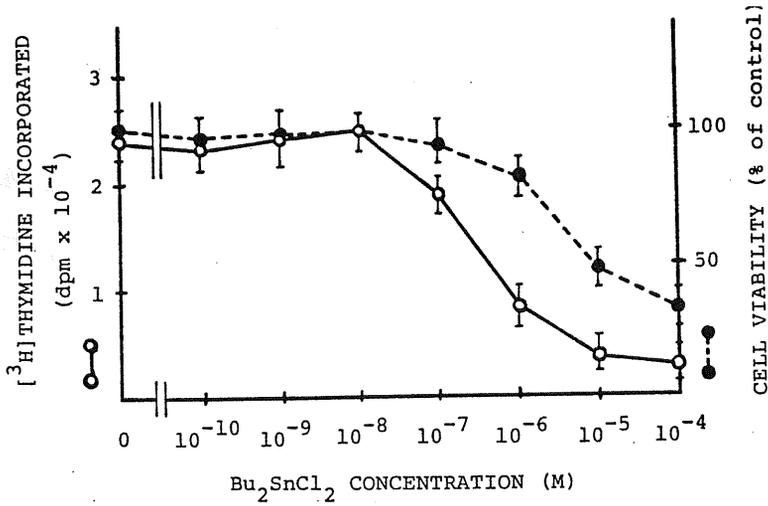


Fig. 4. Effect of Bu₂SnCl₂ concentrations on DNA synthesis (○) and viability (●) of rat thymocytes. Cells (10⁶ cells/ml) were cultured in triplicate during 24hr. and [³H] thymidine was present during the last 4 hr. of the culture period.

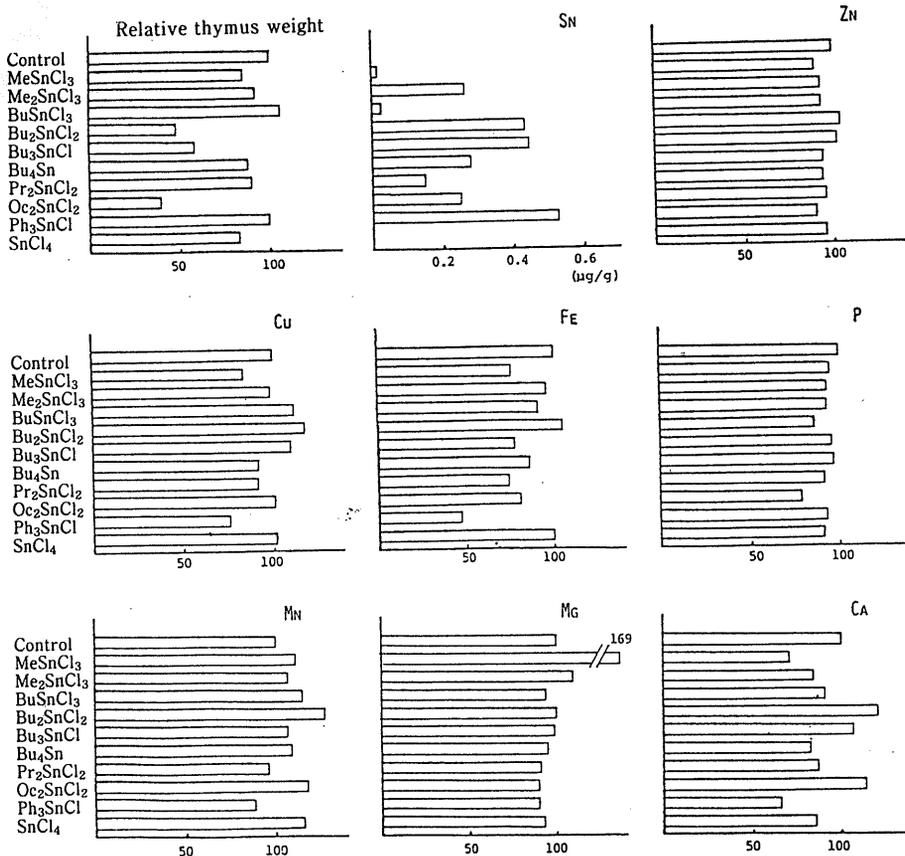


Fig. 5. Movement of trace elements in the thymus of rats exposed to organotin compounds (% of control)

んど胸腺外に漏出ししない。そのために胸腺萎縮時には相対的にマンガン濃度の増大が生じているものと思われる。この胸腺中マンガン濃度の恒常性については目下検討中である。

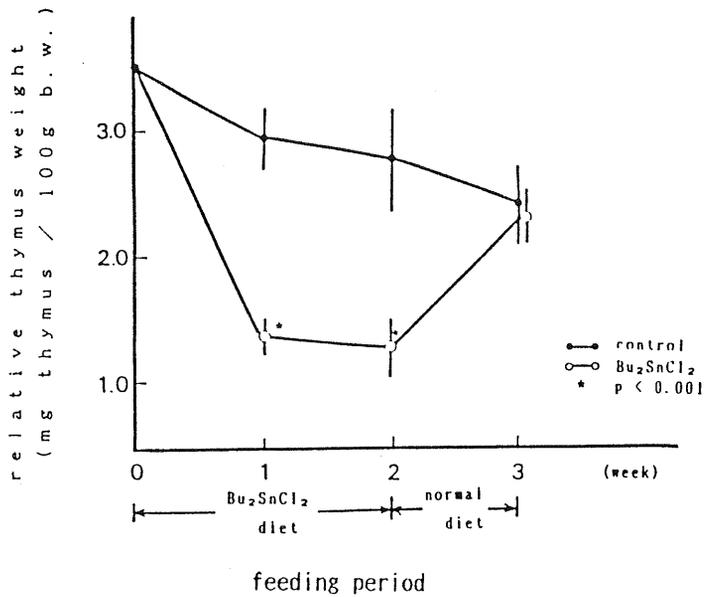


Fig. 6. Change in relative thymus weight of rats fed 0 and 100 ppm Bu₂SnCl₂.

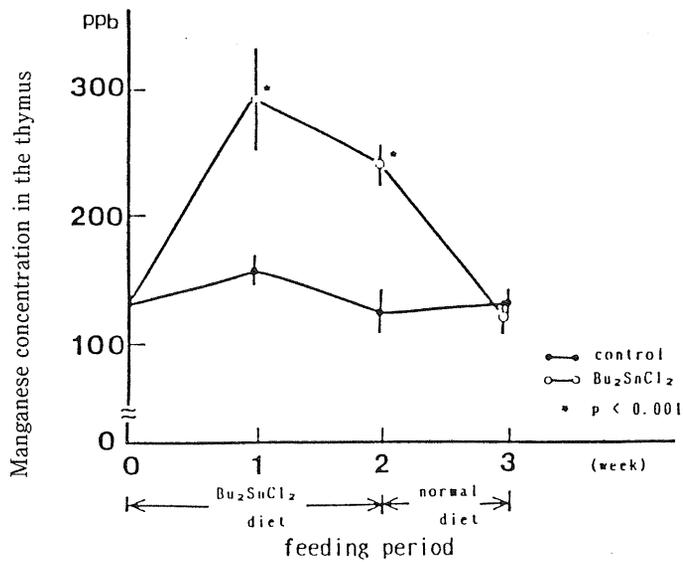


Fig. 7. Change in manganese concentration in the thymus (n = 8).

文 献

1. 三島昌夫 (1985) 環境中の微量金属の測定, 東京化学同人, 東京: pp. 145
2. IWAI, H., O. WADA and Y. ARAKAWA (1981) J. Anal. Toxicol. 5 : 300
3. ARAKAWA, Y., O. WADA, T. H. YU and H. IWAI (1981) J. Chromatogr. 216 : 209
4. ARAKAWA, Y., O. WADA, T. H. YU and H. IWAI (1981) J. Chromatogr. 207 : 237
5. ARAKAWA, Y., O. WADA and T. H. YU (1981) Toxicol. Appl. Pharmacol. 60 : 1
6. T. H. YU and Y. ARAKAWA (1983) J. Chromatogr. 258 : 189
7. ARAKAWA, Y., O. WADA and M. MANABE (1983) Anal. Chem. 55 : 1901
8. 荒川泰昭 (1982) 第1回金属の関与する生体関連反応シンポジウム講演要旨集: pp.100 (日本薬学会主催)
9. ARAKAWA, Y. (1983) J. Pharm. Dyn. 6, S-23
10. 荒川泰昭, 和田攻 (1984) 第1回重金属ワークショップ“金属の免疫毒性”講演要旨集: pp. 9 (日本衛生学会主催)
11. 荒川泰昭, 和田攻 (1986) 医学のあゆみ 136(3):177
12. ARAKAWA, Y. and O. WADA (1988) Suppression of cell proliferation by certain organotin compound. in "Tin and Malignant Cell Growth", ed. by Zuckerman, J. J., CRC Press, Florida : Chapter 9 (pp. 83-106)