

錫と免疫

荒川 泰昭

(静岡県立大学食品栄養科学部公衆衛生学教室*)

はじめに

生体中に存在する微量元素のうち、4族の錫（以下、有機錫と明記していない場合は無機錫をさす）がその必須性を証明されたのは1970年 Schwarzら¹⁾によってであり、実験動物を用いて意図的に発見されたものである。しかし、その後この仕事に関しては引用はされるものの未だ分子レベルでの存在形態や機能については不明な点が多い。

また、錫の生体内分布については1930年代頃より数多くの報告²⁻¹²⁾があるが、検体の生活環境や測定法の違いなどによりその値のバラツキは大きい。Anspaughらがまとめたデータ¹¹⁾をFig. 1に図示する。

生体中の錫濃度に最も影響を与えるのは大気、食物、水などの生活環境のなかでは食物であるが、その錫の特定の源泉についてはほとんど知られていない。ちなみに食品中の錫含量は野菜類の罐詰食品が極端に高く、アスパラガス38.6、トマト29.4、ピーチ16.6などであり、魚介類ではカキが多含で0.6である（単位： $\mu\text{g/g wet weight}$ ）。

錫の1日の摂取量についてはいくつかの報告^{5,9,13)}があるが、2400カロリー程度の新鮮な肉類、穀類、野菜からなる正常食を摂るとしてだいたい1～4 mgである。

錫の1日の必要量については未だ不明であるが、錫の生理学的な摂取における代謝についてはいくらかのデータ^{4,9,13-17)}がある。それによると外来錫の生体への吸収と貯留は非常にわずかであり、主として糞中に排泄される。

Dattaら¹⁴⁾は摂取された錫の89-92%が糞便に、5.5-6.2%が尿に排泄され、残りの約2%が体内に貯留されると報告している。また、Schroederら⁹⁾はアメリカ成人の1日の錫バランスを摂取量として食

*所在地：静岡市谷田52-1 (〒422)

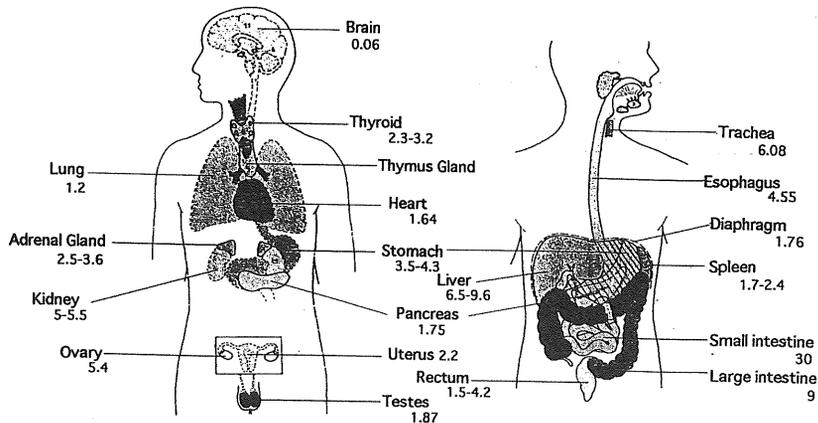


Fig. 1 Tin content in human tissue^a

^aValues obtained from Anspaugh et al. (1971).

品4.0, 水0.0, 空気0.003の合計4.003 (mg), 排泄量として糞3.98 (99.4%), 尿0.023 (0.6%) の合計4.003 (mg) と計算している。

また, 無機錫の生体内生物学的半減期は26¹⁹⁾~29¹⁸⁾日である。ちなみに有機錫の場合はその種類によって異なるが, 腸管からの吸収率はおよそ25~30%程度であり, 生物学的半減期はトリブチル錫で4日前後¹⁸⁾, トリフェニル錫で10日前後¹⁹⁾と一般に無機錫に比べて短い。また, ¹¹³Sn 標識有機錫を用いた代謝実験ではトリフェニル錫の場合^{20,21)}, 一週間以内に90%以上が排泄され, 糞へは88%, 尿へは3%であり, またトリシクロヘキシル錫²²⁾では10日までに100%が排泄され, 糞中へ97.5%, 尿中へ1.8-2.5%であったと報告されている。

そこで, 簡単に錫と生体との関わりについて記述した文献を歴史的に遡ってみると, 無機錫では罐詰の食品やジュースからの錫暴露による毒性^{23,24)}や錫中毒²⁵⁻²⁷⁾さらには錫 (tin oxide) による良性的塵肺症^{28,29)}など, 主として1900年以降からの毒性学的研究が最初である。また, 有機錫では1852年に初めて Löwig によって文献上に記載されて以来, 1930年代に至るまでは主として有機金属化合物としての合成の基礎が築かれた。そして, 1936年 V. Yngve によってポリ塩化ビニルの安定剤として極めて有用であることが証明されるに及んでその利用は爆発的に拡大した。昆虫, 真菌, 細菌, 藻類などに対して有力な生物活性があるとして農水産業界では殺虫剤, 殺菌剤, 殺黴剤, 殺藻剤などへの応用化が進んだ。そして, こうした有機錫の多方面にわたる頻用は科学発展の常としてやがて人体影響や毒性の問題を引き起こし, 1955年の Stoner ら³⁰⁾による総合的毒性研究をはじめ生物活性に関する数多くの研究³¹⁻⁴⁰⁾を引き出す結果となった。

Sn-C 結合を有する有機錫化合物は σ 結合で結ばれる共有結合性化合物であり, だいたい R_nSnX_{3-n} , R_2SnX_2 , R_3SnX , R_4Sn (R =アルキルまたはアリル基) の4つの型に分けられるが, その毒性の強さは一般的には $R_3Sn > R_4Sn > R_2SnX_2 > RSnX$ の順であり, アルキル錫 > アリル錫, アルキル錫では炭素鎖の短いもの > 長いものの傾向がみられる。

このように、有機錫化合物では側鎖の数や種類によってその吸収や作用部位への移行・分布が異なり、その生物活性発現の程度や様式も著しく異なるが、各々の最も特徴的な生物活性としては、トリアルキル錫が中枢神経系への作用であり、ジアルキル錫が免疫系への作用である。

本講では神経系への作用については割愛し、錫の化学構造的特性に由来した豊富な生物活性からくる“錫の功罪”を免疫系への作用に絞って紹介する。

1. 無機錫と免疫

無機錫と免疫との関わりを論じた文献はほとんどなかったが、最近になって Cardarelli らは ^{113}Sn や ^{14}C -ラベルの有機錫を用いたマウスの実験から、易癌性のマウス (例えば A/KI 系及び AKR 系) と違って難癌性マウス (例えば COBS 系) では、錫の主な貯蔵庫は胸腺であり⁴¹⁾、外来の錫はまず胸腺に集積し、しばらく貯留した後、リンパ系循環へ入っていくこと⁴²⁻⁴⁴⁾、ちなみにこの錫のリンパ系組織への蓄積は他の錫の体内分布の解析でも同様に確認されること^{12,45-47)}、そして易癌性マウスでは錫は胸腺には貯留せず、癌細胞膜に蓄積すること^{42,43,48-51)}、またウシの胸腺抽出リピッド画分 (Table 1-II B) あるいはその成分である“S 画分” (サイモステリン) が抗増殖活性を有し^{52,53)} かつ錫を多含すること^{54, 55)} (Table 1)、既知の胸腺ステロイドホルモンを想定して合成した錫ステロイドで強い抗癌活性が確認されること^{42,56)} (Table 2)、ラットにおける錫欠乏症状や亜鉛欠乏症状が胸腺摘出症状と全く類似していること⁴²⁾、T 細胞の抗原形成や機能の発現に関わる胸腺ホルモン (サイムリンなど) が亜鉛を含有し、その活性発現には亜鉛が必須であること^{57,58)} などの知見から、錫-胸腺-抗癌なる軸の存在を仮想し、さらにこの軸を必須微量元素・亜鉛とエイジングプロセスとに結びつけ⁴²⁾、錫は胸腺中で癌細胞に対して直接あるいは間接的に作用する 1 つ以上の循環性の錫ステロイドに作り変えられ、発癌に対する生体防御において重要な機能を果たす。その場合、錫と亜鉛との相乗あるいは拮抗が重要であるという仮説を提唱した。しかし、この仮説もヒトを含め他の動物一般に適用できるかどうかは未だ確認されていない。われわれの追試では、一般動物における胸腺中の錫が極めて微量 (現在の方法論では検出限界に近い) であり、これがこの仮説の支持を妨げている。

Table 1. Tin content and inhibition index of the various bovine thymus extracts.

Inhibition index : ED ₅₀ (ppm)				
Extract	% Tin	KB Tumor	P-388	Contents
(A)	0	0	0	Essentially water
(BCD)	0.055	100+	75	Contains lipids, lipoproteins, and some proteins
(B)	5.5	103	120	Essentially lipids
(CD)	0.068	250	218	lipoproteins, proteins
(B2)	7.5	35	14	Lipids
(IB)	2.2	260	260	Basically protein
(IIB, IIIB)	30.0	87	55	Lipid
(IIB)	45.0	45	25	Lipid
(IIIB)	2.5	0	0	Lipid

Table 2. Inhibition indices for several tin steroids

Compound ^a	ED ₅₀ (mcg/ml)	
	Human KB tumor	Mouse P-388 leukemia
Tripheyltin cholate	0.22	0.18
Cholesteryl- <i>n</i> -butylstannate	29	25.5
Triphenyltin testosterone	0.2	0.004
Tri- <i>n</i> -butyltin deoxycholate (I)	0.25	0.26
Triphenyltin cholesterol ether (II)	0.1	0.2
Cholesteryl tri- <i>n</i> -butyltin ether (II)	0.3	5.0
Cholesteryl tri- <i>n</i> -butyltin adipate (II)	0.20	0.05
Triphenyltin cholesterol ether (I)	0.24	0.40
Tri- <i>n</i> -butyltin deoxycholate (II)	0.23	0.31
Tri- <i>n</i> -butyltin deoxycholate (III)	1.3	0.4
Testosteronyl- <i>n</i> -butylstannate	24.0	32.0
Estronyl- <i>n</i> -butylstannate	20	24

^a Not single species, since none shows sharp melting points.

The degree of contamination by starting materials is unknown, but believed to be less than 2%.

2. 有機錫と免疫

そもそも錫化合物を免疫系へ最初に結びつけたのは1970年 Verschuuren らによって報告されたトリフェニル錫のウシ白血球数低下誘発作用である。その後、この作用はマウス、ラット、モルモットにおいても脾の萎縮、末梢血リンパ球数の減少、免疫抑制という形で再確認された⁵⁹⁾。そして、このような胸腺リンパ系に対する作用はトリフェニル錫だけでなく、トリブチル錫やトリシクロヘキシル錫にも認められ⁵⁹⁾、最近ではジブチル錫やジオクチル錫のようなジアルキル錫の方がずっと強い作用をもつことが明らかとなってきた⁶⁰⁾。

2-1. 有機錫による免疫機能の抑制

ジブチル錫、ジオクチル錫のようなジアルキル錫ならびにトリブチル錫やトリフェニル錫は胸腺ならびに胸腺依存性部位を選択的に萎縮させ、T細胞依存性の免疫機能を抑制する。この抑制作用の強さはジブチル錫、ジオクチル錫>トリブチル錫>トリフェニル錫の順であり、かつこの作用はこれら物質がもつ他の酸化的リン酸化反応の抑制や脳浮腫よりもより鋭敏である。ちなみにこれら物質は *in vivo* ではツベルクリン反応のような遅延型過敏反応 (DTH)、同種異系移植片拒絶反応、移植片対宿主反応、*Listeria monocytogenes* 感染に対する抵抗性などの、また *in vitro* では PHA や Con A によるリンパ球幼若化反応、モルモット赤血球を用いるロゼット形成能などの細胞性免疫機能を量依存性に著しく抑制する (Table 3)³⁸⁾。

Table 3. In vivo and in vitro function tests of the immune system of dibutyltin- or dioctyltin-treated rats

Cell-Mediated Immunity	Effects*
<i>In vivo</i>	
—delayed type hypersensitivity to tuberculin	+
—allograft rejection	+
—graft-versus-host reaction	+
—resistance to <i>Listeria monocytogenes</i> infection	+
<i>In vitro</i>	
—lymphocyte transformation by Phytohemagglutinin (PHA) and Concanavalin A (Con A)	+
<u>Humoral Immunity</u>	
<i>In vivo</i>	
—thymus-dependent antibody synthesis to sheep red blood cells (SRBC)	+
—thymus-independent antibody synthesis to <i>E. coli</i> lipopolysaccharide (LPS)	—
<i>In vitro</i>	
—plaque formation against SRBC	+
—transformation of lymphocytes by LPS	—
<u>Phagocytosis by macrophages of carbon particles</u>	—
<u>Sensitivity to LPS</u>	+

* + Denotes a suppressive effect on immune parameters or an increase of susceptibility to infection or *E. coli* LPS; — = no effect.

2-2. 有機錫による胸腺萎縮

上述の如く、有機錫による免疫不全の特徴は選択的な胸腺ならびに胸腺依存性部位の著しい萎縮とそれに伴う細胞性免疫の不全である^{31,38,61-71}。

Table 4に、種々の有機錫にそれぞれ単独に100ppm含有する飼料で10日間飼育した場合のラットの体重当たり相対臓器重量の変化を示す。各種有機錫化合物のなかで、胸腺萎縮作用の最も強いのはジブチル錫やジオクチル錫であり、次いでトリブチル錫である。

経口摂取の場合、この選択的な萎縮は1週間以内で観察され、量依存性に対照群の約40%にまで低下する（カゼイン飼料の場合は5ppm含有で同程度の萎縮を誘発する⁹⁹）。しかし、正常食に戻すと速やかに回復する。すなわち、可逆性である（Fig. 2）^{31,38,63-71}。

病理組織学的には、このような有機錫によって誘導される胸腺萎縮では特に細胞分裂の激しい皮質領域におけるリンパ球（大半が未熟細胞である）の消失が著しい（Fig. 3）。しかし、この消失は程度の差はあるが髄質領域においても観察される。そして、グルココルチコイドの遊出増大によるストレス、いわゆる“Starry sky”現象に由来する間接的な萎縮を疑わせるような副腎あるいは副腎皮質の組織学的変化や胸腺皮質のリンパ球破壊などはみられない。従って、この消失は胸腺での錫濃度と萎縮が相関を示すこと（Fig. 4）や胸腺細胞の生存率の低下とDNA合成の障害が共に量依存性であり、かつ互いに平行すること（Fig. 5）などから、錫の直接的作用であり、DNA合成の障害さらには細胞増殖の障害に

Table 4. Relative organ weights of rats fed various organotin compounds (% of control)

	Body weight	Thymus	Adrenal	Liver	Spleen	Kidney	N
Bu ₂ SnCl ₂	97	48***	125	93	98	96	6
Bu ₃ SnCl	90	58***	132*	93	75*	86*	7
BuSnCl ₃	95	106	116	91	89	106	6
Bu ₄ Sn	101	88	119	89	79*	96	6
Pr ₂ SnCl ₂	84	89	98	82**	88	97	7
Me ₂ SnCl ₂	96	92	97	85*	112	99	6
MeSnCl ₃	105	85	103	101	92	100	6
Oc ₂ SnCl ₂	101	39****	100	104	116	100	7
Ph ₃ SnCl	91	100	113	89*	87	99	6
SnCl ₄	88	83	110	92	73**	103	6

Note: Wistar-derived weanling rats (male, 40-45g) fed independently 100ppm organotin for 10 days. All values are the mean of 6-7 animals; those marked with asterisks differ significantly (Student's t test) from the corresponding control value: *p<0.05, **p<0.02, ***p<0.01, ****p<0.001.

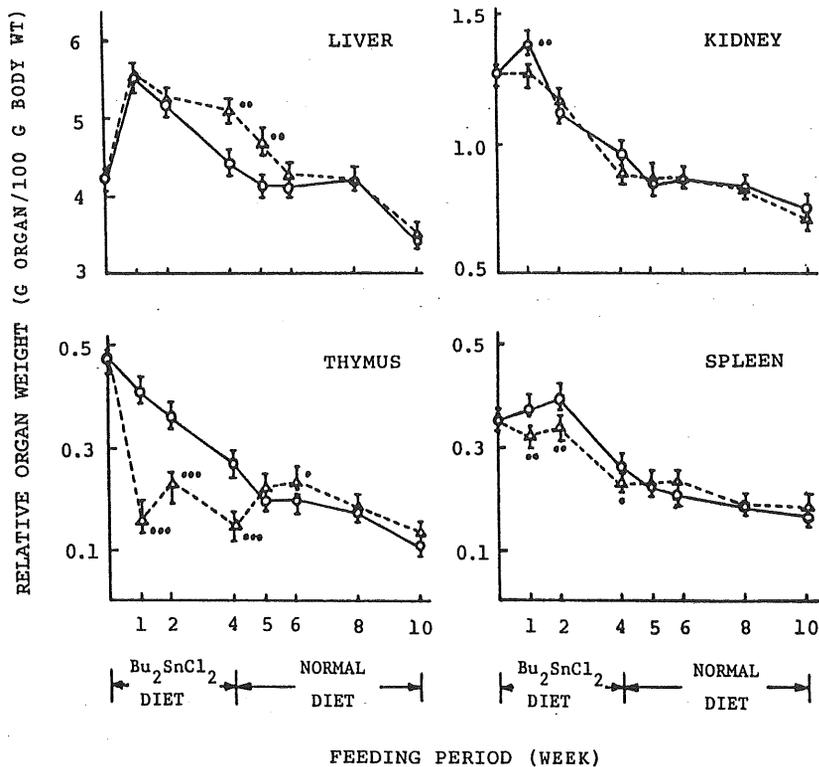


Fig. 2 Relative organ weights of rats fed 0 or 100 ppm Bu₂SnCl₂ for 4 weeks and after that period a normal diet for 6 weeks. Vertical bars denote SE of the mean for 10 determinations; those marked with asterisks differ significantly (Student's t test) from the corresponding control value: *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001. (○) control (0 ppm) group, (△) 100 ppm group.

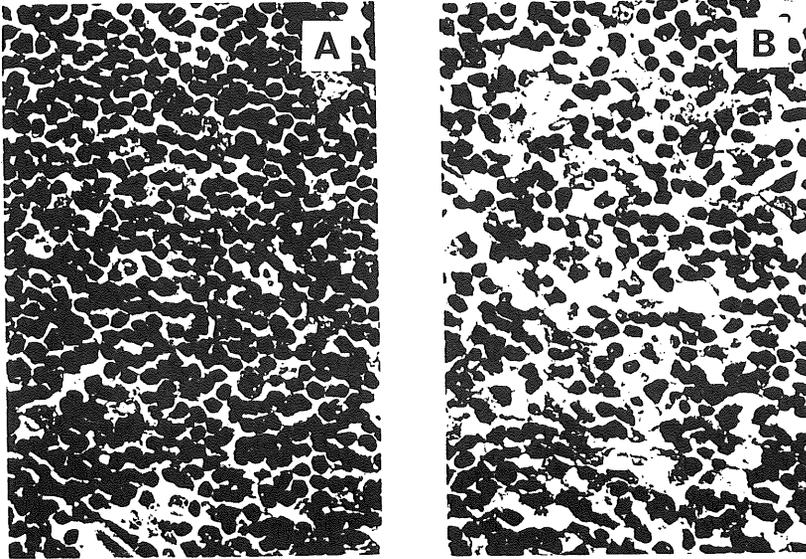


Fig. 3 Part of thymic cortex from a control rat (A) and a rat (B) fed 100 ppm Bu_2SnCl_2 for 2 weeks. Note the complete lymphocyte depletion of the cortex (B). Hematoxylin and eosin; $\times 400$.

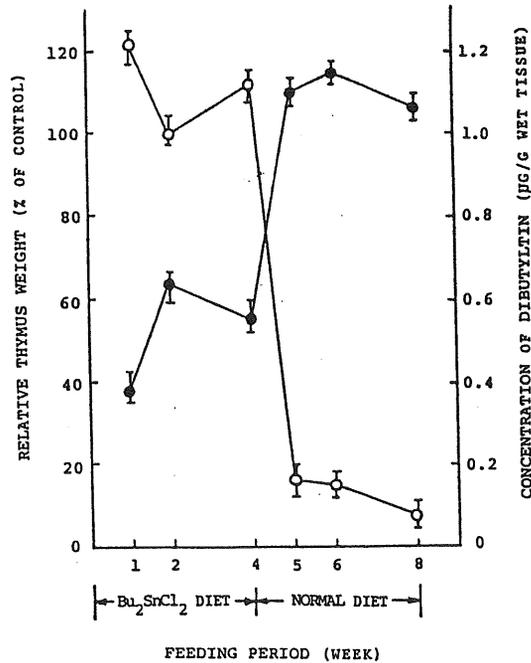


Fig. 4 Relationship between thymus atrophy and the concentration of dibutyltin in the thymus of rats fed 100 ppm Bu_2SnCl_2 for 4 weeks and after that period a normal diet for 6 weeks. (○) Concentration of Bu_2SnCl_2 in rat thymus ($\mu g/g$ tissue), (●) relative thymus weights are given as percentages of control values. Vertical bars indicate SE of the mean for seven determinations.

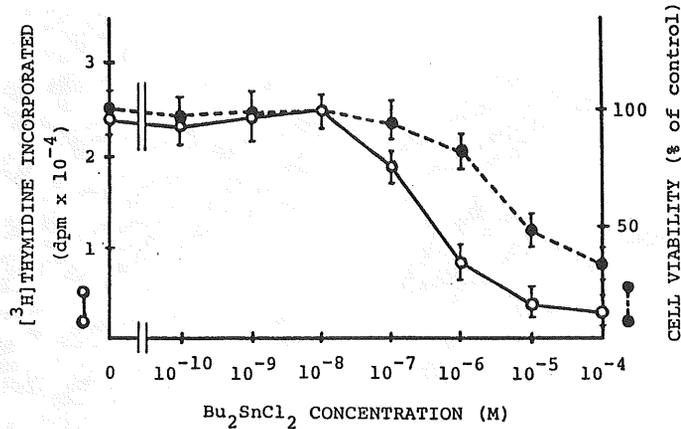


Fig. 5 Effect of Bu_2SnCl_2 concentrations on DNA synthesis (○) and viability (●) of rat thymocytes. Cells (10^6 cells/ml) were cultured in triplicate during 24 hr and [^3H]thymidine was present during the last 4 hr of the culture period. Vertical bars denote SE of the mean for seven determinations.

起因した二次的な細胞死によるものであると結論した^{72,73})。そして、このような胸腺細胞の著しい量的変化が直接免疫応答を混乱させていることは言うまでもない。

また、質的には、細胞表面抗原の解析から、主として胸腺細胞における Thy1,1 抗原の減少、 α/β 抗原の減少、CD4 および CD8 抗原の増大などが有意の変化として観察され、胸腺における分化・成熟過程への影響が確認されている (Table 5)⁷⁴)。

2-3. 有機錫の抗腫瘍活性

上述の胸腺萎縮のメカニズム解析の過程で、ジブチル錫にはさらに抗増殖作用^{31,38,68,70-73,75-91})や抗炎症作用^{31,68,71,77,92-94,97,98})が存在することを見出した。そして、このジブチル錫のもつ抗増殖活性の発見は自ずと抗腫瘍活性の検討へと発展し、各種悪性細胞の増殖抑制や担癌動物に対する抗腫瘍活性が確認された。例えば、in vitro 実験では 10^{-7}M (胸腺細胞の細胞生存性にほとんど影響を与えない濃度)以上のジブチル錫がリンパ球トランスホメーションや胸腺性リンパ肉腫細胞および HeLa 細胞のような悪性細胞の増殖を著しく阻害する (Fig. 6)^{31,68,72,73,81})。さらに、BALB/c3T3細胞のトランスホメーションにおける2段階発癌 (イニシエーションおよびプロモーション) システムを用いて解析すると、ジブチル錫は 10^{-7}M でメチルコランスレン (MCA) によるイニシエーション過程を特異的に抑制する (Fig. 7-E)^{31,72,73,81-86})。

また in vivo 実験では、ジブチル錫はエールリッヒ腹水癌、IMC-カルシノーマ、P-388リンパ球性白血病およびサルコーマ180などの各種担癌マウスに対して、順次再現性のある抗腫瘍活性を示す^{31,72,73,78-80})。とくに、エールリッヒ腹水癌システムに対して最も強い活性を示し、3.0mg/kgの1回投与で延命率 (Life Span: T/C) は186%を示す (Fig. 8)^{31,72,73,77,80,81})。さらに、マウス皮膚にお

Table 5. Cell surface marker analysis of thymocytes and peripheral T cells of organotin-exposed rats

Lymphocyte subpopulation	Relative count (%) ^{a)}			
	Thymocyte		Peripheral T Cells	
	Control	organotin-exposed	Control	organotin-exposed
Thy 1,1 (MRC OX-7)	99.42±0.19	98.58±0.57*	38.90±2.20	32.84±1.68**
CD2 (MRC OX-34)	99.60±0.15	99.44±0.15	85.72±3.97	78.98±6.92
Alpha / Beta (R73)	80.26±2.03	61.72±2.12***	98.50±0.84	97.60±1.05
CD4 (W3/25)	4.50±0.91	5.48±1.55	48.41±2.28	48.75±3.06
CD4,CD8 double positive	88.72±1.11	77.12±6.54**	6.57±6.04	3.29±0.97
CD4,CD8 double negative	1.35±0.19	6.90±2.64**	30.30±4.78	34.97±3.87
CD8 (OX-8)	5.11±0.79	10.50±2.55**	14.73±2.41	12.94±1.43

a) The values are the mean ± SE of 5 Wistar-derived weaning rats (male, 40-45g) per group. After 10 days of feeding with NMF solid diet containing 100 ppm Bu₂SnCl₂ (Oriental Yeast Co Ltd.), cell suspension were made of the thymus and peripheral blood cells, and lymphocyte subpopulations analyzed on a fluorescence activated cell sorter (FACS) with monoclonal antibodies to rat cell surface determinants. The clones of antibodies used are indicated between parentheses. Those marked with asterisks differ significantly (Student's t test) from the corresponding control value *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001.

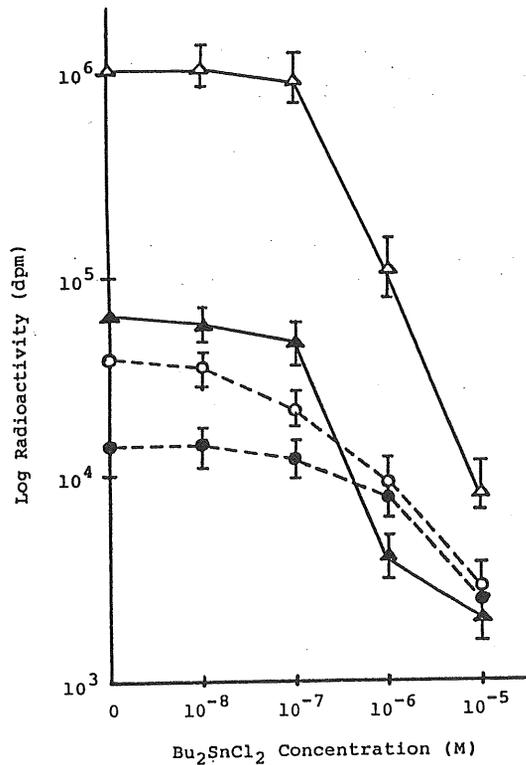


Fig. 6 Effect of Bu₂SnCl₂ on DNA synthesis of proliferating cells. Cells (each, 1 × 10⁶ cells/ml) were cultured with varying amounts of Bu₂SnCl₂ in octuple during 24 hr and [³H] thymidine was present during the last 4 hr of the culture period. (○) ConA-stimulated thymocytes, (●) nonstimulated thymocytes, (▲) thymic lymphosarcoma cells, (■) HeLa cells.

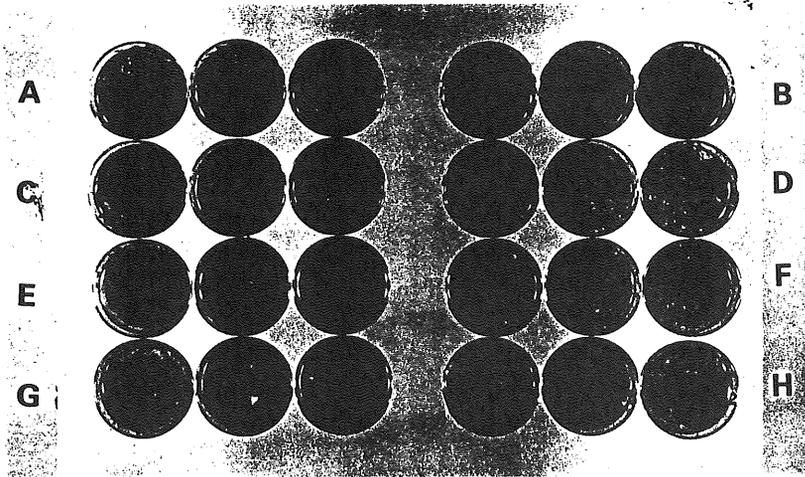


Fig. 7 Effect of Bu_2SnCl_2 on two-stage in vitro transformation of BALB/c 3T3 cells. The cells (1×10^4) were initiated with MCA ($0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$) and promoted with TPA ($0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$). Bu_2SnCl_2 was added simultaneously with either MCA or TPA. A : whole negative control, B : MCA alone (promotion blank), C : TPA alone (initiation blank), D : MCA-TPA (positive control), E : [MCA + Bu_2Sn ($3 \times 10^{-7} \text{ M}$)]-TPA, F : MCA-[TPA + Bu_2Sn ($3 \times 10^{-7} \text{ M}$)], G : [MCA + Bu_2Sn ($3 \times 10^{-8} \text{ M}$)]-TPA, H : MCA-[TPA + Bu_2Sn ($3 \times 10^{-8} \text{ M}$)].

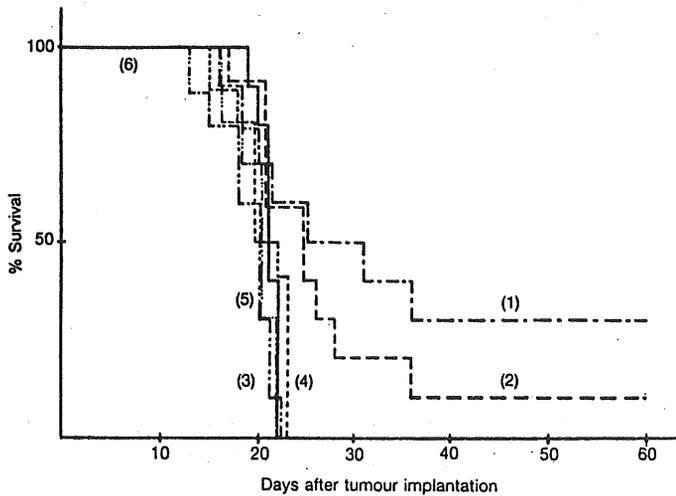


Fig. 8 Antitumour effect of Bu_2SnCl_2 on Ehrlich ascites tumour cells. Bu_2SnCl_2 was injected i.p. into dd-Y mice daily from days 1 to 5 after Ehrlich tumour cells (5×10^6) were inoculated i.p. into the mice. (1) $3 \text{ mg kg}^{-1} \times 1$ or 2 (---), (2) $2 \text{ mg kg}^{-1} \times 2$ or 4 (- - -), (3) $1 \text{ mg kg}^{-1} \times 5$ (- · - · -), (4) $0.3 \text{ mg kg}^{-1} \times 5$ (- - - -), (5) $0.1 \text{ mg kg}^{-1} \times 5$ (- · · · -), (6) control (-).

Table 6. Metal and metalloid compounds tested by the national cancer institute

Transition elements										III A Al 90	IV A	V A	VI A
Sc 8	Ti 87	V 84	Cr 253	Mn 273	Fe 883	Co 844	Ni 734	Cu 1275	Zn 861	Ga 59	Ge 226	As 1254	Se 734
Y 10	Zr 59	Nb 28	Mo 170	Tc 0	Ru 145	Rh 257	Pd 435	Ag 145	Cd 124	In 18	Sn 2008	Sb 353	Te 51
La ⁺ 27	Hf 15	Ta 15	W 118	Re 41	Os 25	Ir 41	Pt 1538	Au 121	Hg 823	Tl 37	Pb 288	Bi 81	Po 0
Ce 30	Pr 23	Nd 27	Pm 0	Sm 20	Eu 79	Gd 18	Tb 40	Dy 22	Ho 12	Er 18	Tm 12	Yb 13	Lu 11

ける2段階発癌（イニシエーションならびにプロモーション）システムに対する抗腫瘍効果をみると、ジブチル錫はプロモーション過程，とくにホルボールエステル（TPA）によるステージIのプロモーションを著しく抑制する（Fig. 9）^{31,72,73,81-86}。

現在，この錫化合物の抗増殖活性を利用せんがために Fig. 10に示すような種々の構造の錫化合物が合成されている。これまでに米国立癌研究所（NCI）において抗癌性をテストされた金属ならびにメタロイド化合物の数を Table 6に示す。錫は最多で，現在2000種以上の化合物がその抗癌性をテストされている。

2-4. 胸腺萎縮の耐性発現

最近，ジアルキル錫による胸腺萎縮に耐性が発現することがわかった（Fig. 11）。これは有機錫の脱アルキル化に働く分解酵素の生成誘導すなわち有機錫の代謝に伴う無毒化によるものではないことから（Fig. 12），おそらく錫結合物質の生成誘導によるものであろうと思われる¹⁰⁰。これは前述の錫結合胸腺ステロイドホルモンの存在を唱えた先達の仮説と考え合わせると興味深い。

3. 有機錫の生物活性発現に関する細胞生化学的考察

有機錫化合物は側鎖の数，種類によって生物活性発現の程度，様式は著しく異なる。この生物活性の違いは1つには構造に由来する各種有機錫間の物性の差，言い換えれば体液への溶解性や細胞内への取込みの差すなわち細胞内分布の違いによるものである。ジブチル錫，トリブチル錫，トリフェニル錫のような疎水性有機錫は，Fig. 13-Aに示すように，核やプラズマメンブレンではなく，核周辺のゴルジ体-小胞体領域に選択的に集積する^{31,89,95,96}。ちなみにモノメチル錫やモノブチル錫のようなやや親水性有機錫は細胞内に広範囲に分散し，とくにジメチル錫は核周辺には集積せず，広範囲に分散する（Fig. 13-B）。ゴルジ体-小胞体に集積した疎水性有機錫は，それぞれゴルジ体の特異的層状構造（Fig.

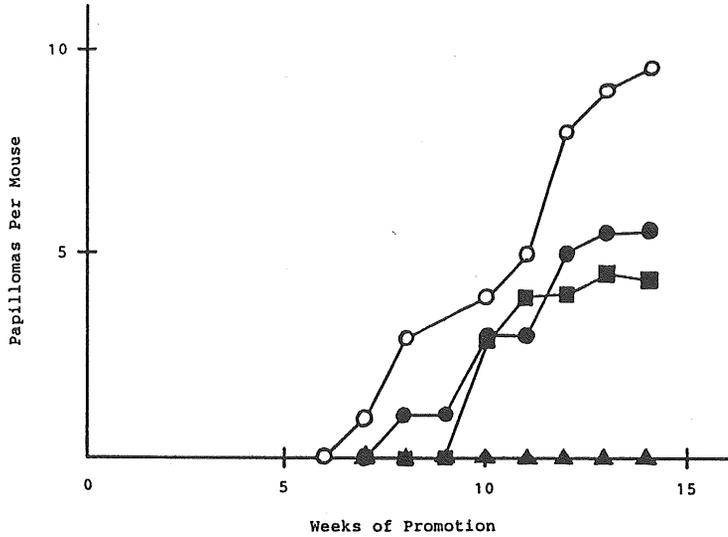


Fig. 9 Inhibitory effect of Bu₂SnCl₂ on two-stage mouse skin carcinogenesis system of initiation and promotion. The mice were initiated with 100 nmol of DMBA and promoted with 5 μg of TPA and 2.5 μg of mezerein. Bu₂SnCl₂ (5 μg) was applied 30 min before treatment with the initiator or promoters. (○) Control, (●) DMBA-Bu₂SnCl₂ (initiation stage), (▲) TPA-Bu₂SnCl₂ (promotion stage I), (■) Mezerein-Bu₂SnCl₂ (promotion stage II).

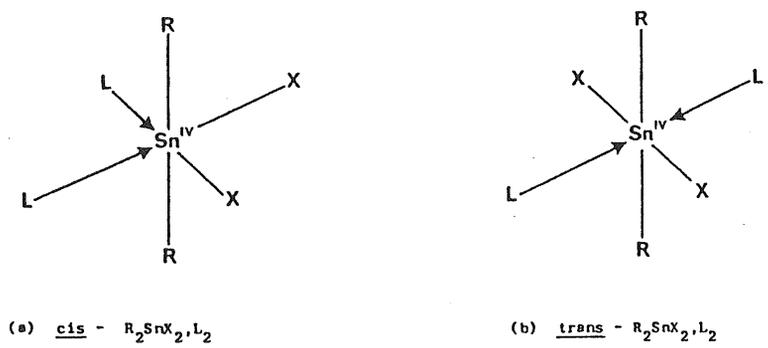


Fig. 10 Octahedral diorganotin dihalide complexes.

14-A) や小胞体の特異的細網構造 (Fig. 15-A) を破壊する (Fig. 14-B および Fig. 15-B)^{31,89,95,96}。そして、ゴルジ体によるリン脂質代謝 (Fig. 16) や小胞体におけるイノシトール-3-リン酸 (IP₃) による細胞内カルシウム動員化 (Fig. 17) など、それぞれのオルガネラ機能を阻害する^{31,89,95,96}。

一方、ジブチル錫、トリブチル錫、トリフェニル錫のような疎水性有機錫はプラズマメンブレンにおけるリン脂質の合成 (Fig. 18) やPI代謝回転 (Fig. 19) をも阻害する^{31,72,73,75,77,97,98}。

また、これら有機錫は種々のリン脂質膜ベシクルのオーダーリング (ordering) の増大 (Fig. 20) な

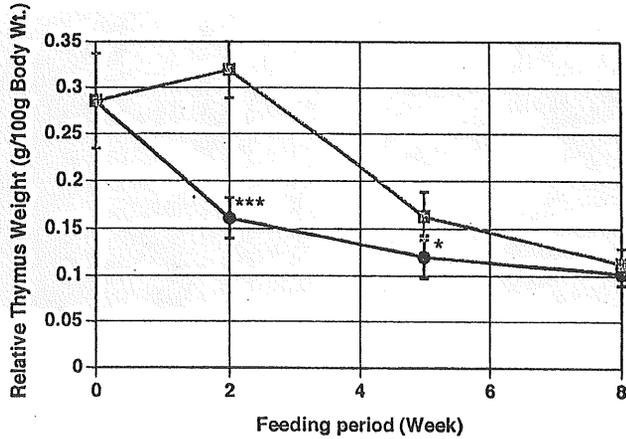


Fig. 11 Relative thymus weight of rats fed 0 or 100 ppm dibutyltin dichloride Bu_2SnCl_2 throughout the experimental period. Vertical bars denote SE of the mean for 10 determinations; those marked with asterisks differ significantly (Student' t test) from the corresponding control value : * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. (■) control (0 ppm) group, (●) 100 ppm group.

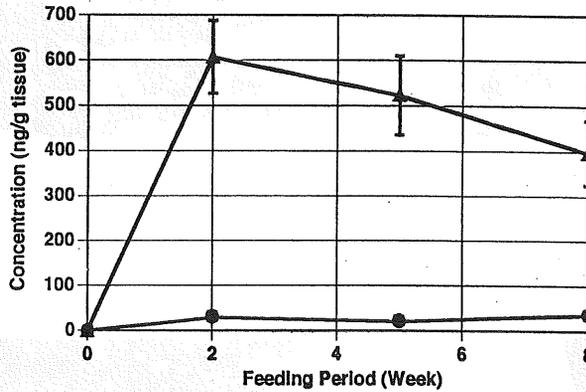


Fig. 12 Movements of dibutyltin and its metabolites in the thymus of rats fed 100 ppm dibutyltin dichloride throughout the experimental period. Vertical bars denote SE of the mean for 10 determinations. (●) monobutyltin, (▲) dibutyltin.

ど、膜の物性に著しい影響を与えることによって、各オルガネラ間のリン脂質輸送の活性化を傷害する^{77,97)}。

これらの結果から、上記抗増殖活性を含め、錫のもつ生物活性の発現は、1つにはまず外来の有機錫がベシクルの形で融合あるいはカチオン様の膜通過によって細胞内に入り、それらの疎水性 (hydrophobicity) に依存してプラズマ膜や核ではなく、ゴルジ体や小胞体 (ER) 領域に選択的に集積し、それぞれのオルガネラにおける膜や構造を変化あるいは破壊し、各オルガネラ間のリン脂

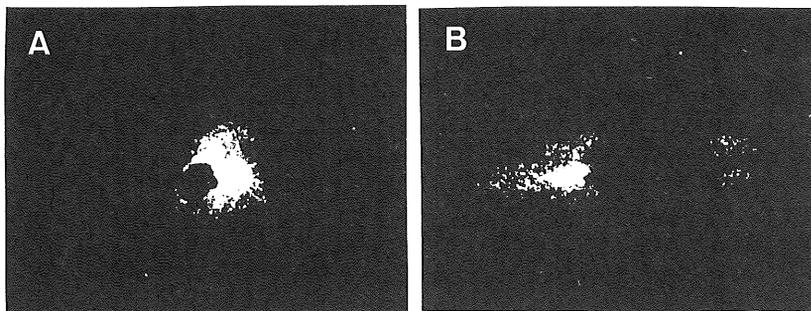


Fig. 13 Intracellular distribution of various organotin compounds in fixed cell. Human skin fibroblasts were fixed with 0.5% glutaraldehyde for 10 min at room temperature, washed, and incubated for 10 min at 37°C with 50 μ M Bu_2SnCl_2 (A) or 100 μ M Me_2SnCl_2 (B). The cells were then washed, incubated with 100 μ g/ml morin for 5 min at 37°C, washed again, and photographed.

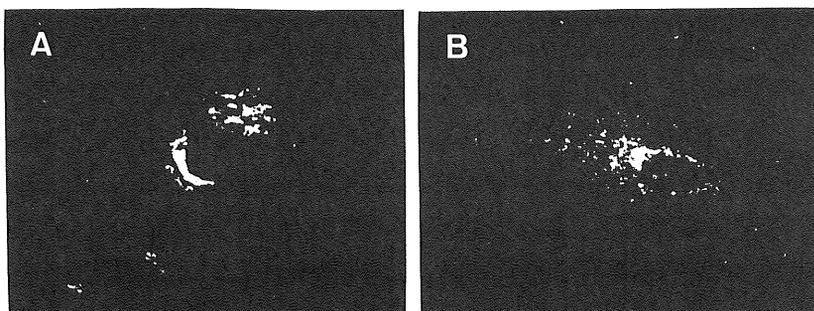


Fig. 14 Effects of organotin compound on the morphology of the Golgi apparatus in living cells. Human skin fibroblasts (SF-TY) were incubated in the absence (A) or presence (B) of 1 μ M Bu_2SnCl_2 for 2 hr, and then were stained with C_6 -NBD-ceramide-BSA and viewed in the fluorescence microscope.

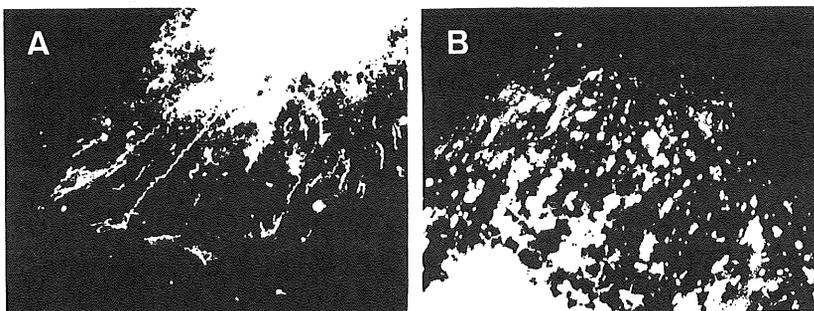


Fig. 15 Effects of organotin compounds on the morphology of the ER in living cell. African green monkey kidney epithelial cell lines (CV-1) were incubated in the absence (A) or presence (B) of 5 μ M Bu_3SnCl for 10 min at 37°C. Further, the cells were fixed with 0.5% glutaraldehyde for 5 min at room temperature, washed, and incubated with 2.5 μ g/ml DiOC_6 (3) (3,3'-dihexyloxycarbocyanine iodide) for 15 sec at room temperature. The cells were then washed and photographed.

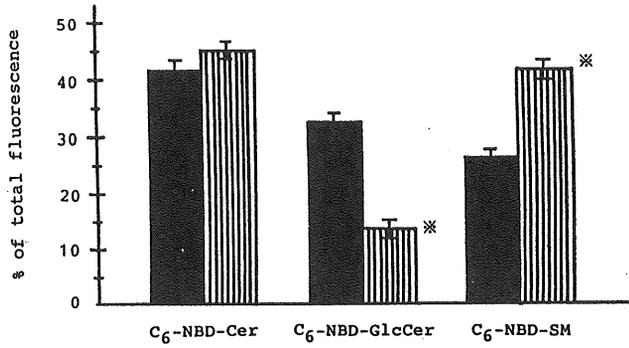


Fig. 16 Effects of organotin compound on the metabolism of C₆-NBD-ceramide in Golgi apparatus. CHO cells were incubated without (control, ■) and with 10 μM Bu₂SnCl₂ (▨) for 3 hr, and then incubated with C₆-NBD-Cer/BSA. Each value represents the mean ± SE of four independent experiments; those marked with asterisks differ significantly (Student's t test) from the corresponding control value (* p < 0.001). Cer : ceramide, GlcCer/ glucosylceramide, SM : sphingomyelin.

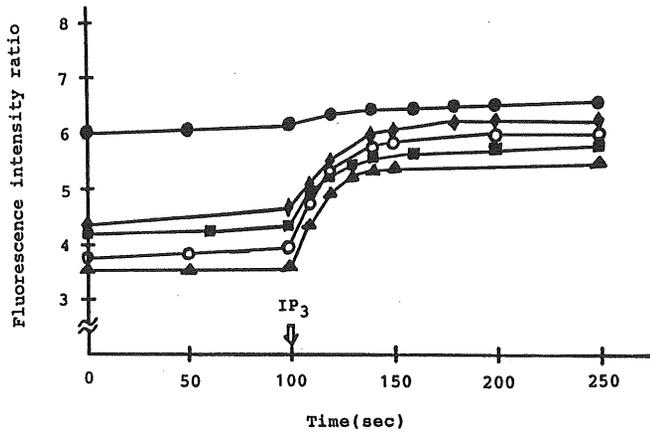


Fig. 17 Effects of organotin compounds on IP₃-induced intracellular Ca²⁺ mobilization. Saponin-permeabilized RBL-2H3 cells (5 × 10⁶ cells/ml) were incubated with 5 × 10⁻⁶ M individual organotin compound for 10 min after the addition of 1.5 μM Fura-2. The kinetics of Ca²⁺ release were resolved by determination of fluorescence intensity ratio using dual excitation mode of 335 and 375 nm after the addition of 333 nM IP₃. Each point denotes the mean for five determinations : control (○), BuSnCl₃ (▲), Bu₃SnCl (●), Bu₄Sn (■), TBTO (◆).

質輸送を阻害し (Fig. 21参照), その結果ホスファチジルイノシトール (PI) 代謝回転の阻害, アラキドン酸遊出の阻害, 細胞内カルシウム動員化の阻害など, プラズマメンブレンを含めた細胞内リン脂質代謝の阻害を誘発し, 最終的に DNA 合成を導く膜介在の増殖伝達系を阻害することによるものであると考えられる (Fig. 22, 23参照)。そして, 上記の如き疎水性有機錫のゴルジ体や小胞体への輸送は, 有機錫が intact cells の場合でも fixed cells の場合でも容易に行われることから, エンドサイトーシス

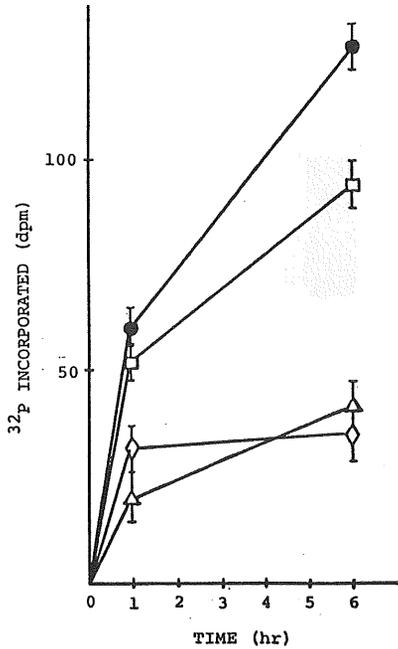


Fig. 18 Effect of organotin compounds on phospholipid synthesis of rat thymocytes. Phospholipid synthesis was measured by the incorporation of ^{32}P into the lipid fraction of the cultured cells (1.5×10^6 cells/ml) after stimulation with ConA ($5 \mu\text{g/ml}$) in the absence (○) and presence of 10^{-7} M $n\text{-Bu}_2\text{SnCl}_2$ (△), 10^{-7} M MeSnCl_3 (□), or 10^{-7} M Ph_3SnCl (◇). Each point is corrected for radioactivity incorporated without ConA at each incubation time. Vertical bars denote SE of the mean for five determinations.

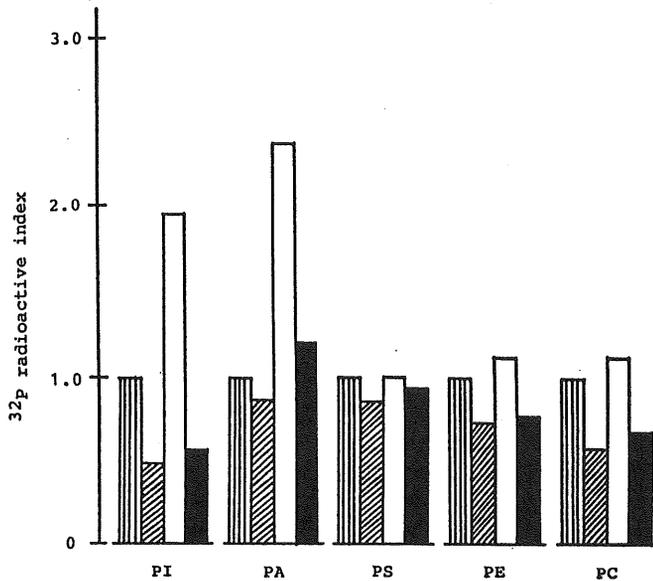


Fig. 19 Effect of Bu_2SnCl_2 on phospholipid metabolism. Rat thymocytes (3×10^6 cells/ml) prelabeled with $[^{32}\text{P}]$ -phosphoric acid ($10 \mu\text{Ci/ml}$) were treated without and with ConA ($5 \mu\text{g/ml}$) in the absence and presence of Bu_2SnCl_2 (5×10^{-7} M) for 5 min. The mean radioactivity of each phospholipid component separated from the control culture (|||) was taken as 1.0 and was compared to that of the corresponding phospholipid component from the experimental cultures treated with Bu_2SnCl_2 (▨), ConA (□), and ConA plus Bu_2SnCl_2 (■).

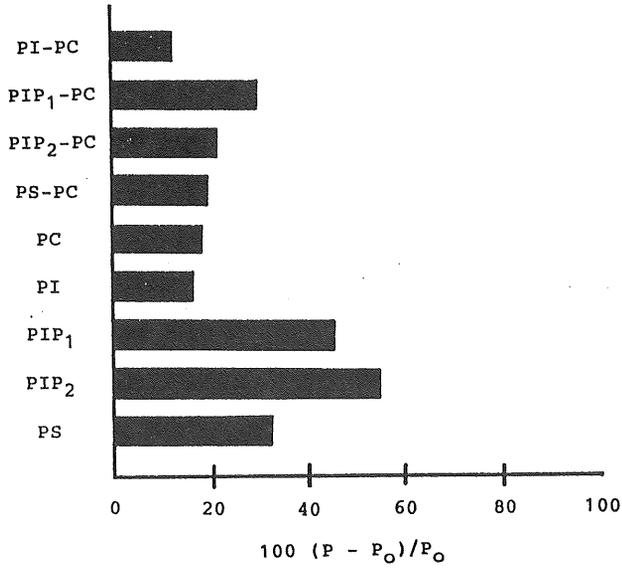


Fig. 20 Effect of Bu_2SnCl_2 on the membrane order of various phospholipid vesicles. Each phospholipid vesicle containing DPH in 20 mM Tris-HCl buffer (pH 7.5, containing 100 mM NaCl) was incubated without and with Bu_2SnCl_2 (10^{-4} M) for 5-7 min at 25°C and the membrane order was measured by fluorescence polarization. Each value was expressed as a percentage change in the degree of fluorescence polarization, $100 (P - P_0) / P_0$. All the phospholipid vesicles contained 18 $\mu g/ml$ total phospholipid. In case of the mixture vesicles, the ratio of each phospholipid to PC is 1/2.

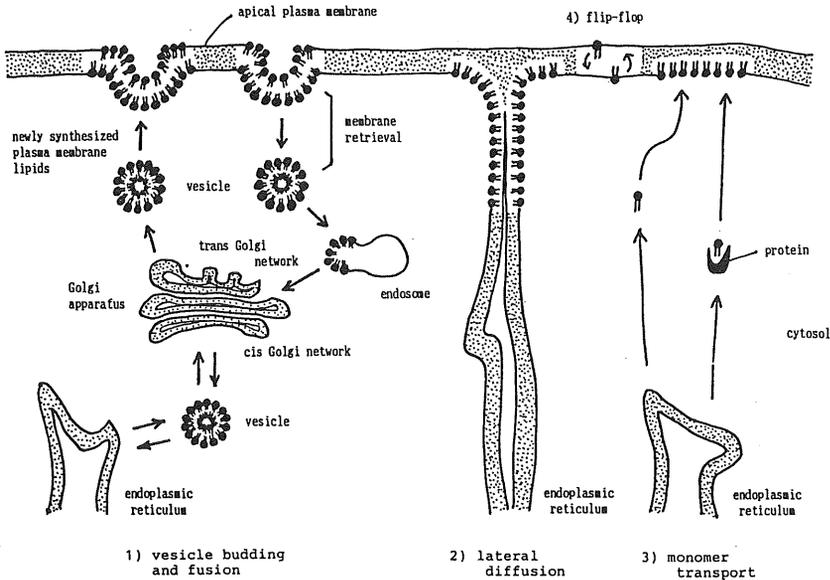


Fig. 21 The proposed intracellular transport of phospholipids.

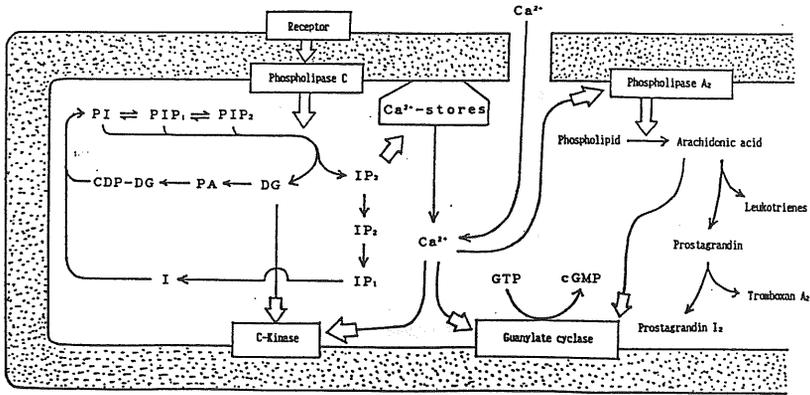


Fig. 22 Signal transduction via phospholipid turnover and Ca mobilization.

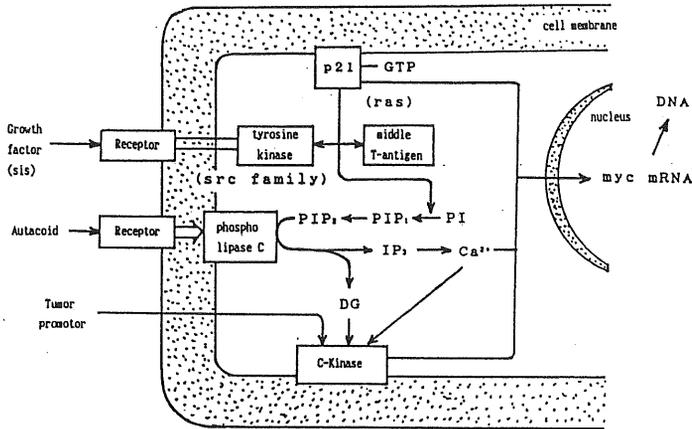


Fig. 23 Cell growth and transformation via oncogene products.

のような細胞プロセスは含まず、おそらく有機錫のもつ適度の疎水性（細胞内疎水基と非常に親和度の高い物性状態）によるものであろうと考えられる。また、有機錫が Triton X-100 で予め処理したオルガネラには集積しないことから、この有機錫集積には各オルガネラの脂質が重要な役割を担っていることがわかる^{31,89-91,95}。

おわりに

錫はその化学的特性から生物活性も豊富で多種多様であるが、本講ではとくに免疫系との関わりに絞って現在までに得た知見をもとに概説した。

錫のなかには現在世界的規模で、一方では環境汚染物質として抹殺の憂き目にあるものがある反面、また一方では本化合物のもつ豊富な特性を利用して創薬の夢が託されていることも事実である。

今後、錫というひとつの元素を介して細胞性免疫の中核である胸腺免疫を中心に、免疫監視機構さらには癌化や老化の領域にも言及できるかもしれない。

最近では、上述の如き研究に端を発して錫に関する国際会議や国際シンポジウムが頻繁に開催され、ますます錫化合物に関する興味が国際的に高まっている。

文 献

1. Schwarz, K., D.B. Milne and E. Vinyard (1970) *Biochem. Biophys. Comm.* 40(1) : 22
2. Misk, E. (1923) *C.R. Seances Acad. Sci.* 176 : 138
3. Boyd, T.C. and N.K. De (1933) *Indian J. Med. Res.* 20 : 789
4. Cholak, J. and R.V. Storey (1938) *Ind. Eng. Chem.* 10 : 619
5. Kehoe, R.A., J. Cholak and R.V. Storey (1940) *J. Nutr.* 19 : 579
6. Koch, H.J., E.R. Smith, N.F. Shimp and J. Connor (1956) *I. Normal tissue, Cancer* 9 : 499
7. Tipton, I.H. and J.J. Shafer (1964) *Arch. Environ. Health.* 8 : 59
8. Tipton, I.H. and M.J. Cook (1963) *Health Phys.* 99 : 103
9. Schroeder, H.A., J.J. Balassa and I.H. Tipton (1964) *J. Chronic Dis.* 17 : 483
10. Geldmacher-von Mallinckrodt, M. and M.Pooth (1969) *Arch. Toxicol.* 25 : 5
11. Anspaugh, L.R., W.C. Robinson, W.H. Martin and E.A. Lowe (1971) : *Compilation of Published Information on Elemental Concentrations in Human Organs in Both Normal and Diseased States, Rep. UCRL 51013, Part 1~3, Lawrence Livermore Laboratory, University of California, Livermore*
12. Hamilton, E.I., M.J. Minski and J.J. Cleary (1972/1973) *Sci. Total Environ.* 1 : 341
13. Tipton, I.H., P.L. Stewart and P.G. Martin (1966) *Health Phys.* 12 : 1683
14. Datta, M.C. (1940) *Indian. J. Med. Res.* 28 : 451
15. Perry, H.M. and E.F. Perry (1959) *J. Clin. Invest.* 38 : 1452
16. Calloway, D.H. and J.J. McMullen (1966) *Am. J. Clin. Nutr.* 18 : 1
17. Hamilton, E.I., M.J. Minski, J.J. Cleary and V.S. Halsey (1972) *Sci. Total Environ.* 1 : 205
18. Brown, R.A., C.M. Mazario, R.S. Tirado, J. Castrillon and E.T. Agard (1977) *Environ. Res.* 13 : 56
19. Nagamatsu, K., Y. Kido, G. Urakubo, Y. Aida, Y. Ikeda and Y. Suzuki (1978) *Jpn. J. Hyg.* 33 : 486
20. Herok, J. and H. Gotle (1962) *Animal Biol. Med. Sci. Proc. Conf., Mexico, 1961, 177-178*
21. Heath, D.E. (1963) *International Atomic Energy Agency, 188-193*
22. Smith, J.F. (1970) : *Metabolism of Plitran miticide observations on the absorption, distribution and excretion of tricyclohexyltin compounds, Unpublished report of the Dow Chem. Co.*
23. Schryver, S.B. (1909) *J. Hyg.* 9 : 253
24. Beney, C.J., P.A. Hooper and R. Schneider (1971) *Food Cosmet. Toxicol.* 9 : 645
25. Salzer, M (1918) *J. Am. Med. Assn.* 70 : 980
26. Mamontova, A.A. (1940) *Vopr. Pitan.* 2 : 13

27. Campbell, W.A. (1983) *Therap. Gaz. S.* 3, 9 : 152
28. Pendergrass, E.P. and A. W.A. Pryde (1948) *J. Ind. Hyg.* 30 : 119
29. Dundon, C.C. and J.P. Hughes (1950) *Am. J. Reoentgenol.* 63 : 797
30. Stoner, H.B., J.M. Barnes and J.I. Duff (1955) *Br. J. Pharmacol.* 10 : 16
31. Arakawa, Y. and O. Wada (1993) : Chapter 4, Biological properties of alkyltin compounds. in *Metal Ions in Biological Systems, Volume 29 : Biological Properties of Metal Alkyl Derivatives*, ed. by Sigel, H., Marcel Dekker, Inc., New York : pp.101-136
32. Piver, W.T. (1973) *Environ. Health. Perspect.* 4 : 61
33. Kimbrough, R.D. (1976) A Review, *Environ. Health Perspect.* 14 : 51-56
34. Barnes, J.M. and H.B. Stoner (1959) *Pharmacol. Rev.* 11 : 211-231
35. McCollister, D.D. and A.E. Schober (1975) *Environ. Qual. Safe., Suppl.* 4 : 80-95
36. Thayer, J.S. (1974) *J. Organomet. Chem.* 76 : 265-295
37. 和田攻, 真鍋重夫, 岩井秀明, 荒川泰昭 (1982) 有機スズ化合物の分析法, 毒性, 代謝および健康影響に関する最近の知見, 産業医学, 24巻, 総説 : 24-54
38. 荒川泰昭 (1991) 金属, 毒性試験講座 第10巻「免疫毒性」, 地人書館, 東京 : pp.119-143
39. 荒川泰昭 (1991) 金属中毒, 栄養・健康科学シリーズ「公衆衛生学」, 南江堂, 東京 : pp.173-187
40. 荒川泰昭 (1994) 第5章「食品汚染性有害物」6 トリブチル錫, トリフェニル錫, 総合食品安全事典, 産業調査会, 東京 : pp.368-376
41. Cardarelli, N.F., B.M. Quitter, A. Allen, E. Dobbins, E.P. Libby, P.Hager and L. Sherman (1984) *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 62 : 199
42. Cardarelli, N.F., (1985) *Tin as a Vital Nutrient : Implications in Cancer Prophylaxis and Other Physiological Processes*, ed. by Cardarelli, N.F., CRC Press, Boca Raton, Florida
43. Cardarelli, N.F., B.M. Cardarelli and M. Marioneaux (1984) *J. Nutr. Growth Cancer* 1, 181
44. Ege, G.N. and A. Warbick (1979) *Br. J. Radiol.* 52 : 124
45. Herok, J. and H. Gotte (1963) *Int. J. App. Rad. Iso.* 14 : 461
46. Hiles, R.A. (1974) *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 27 : 366
47. Kutzner, J. and K.H. Brod (1971) *Nucl. Med.* 10(3) : 286
48. Cardarelli, N.F. and R.F. Peterson (1986) Aspects of xenobiotic tin distribution in rodent tissue. in *Tin as a Vital Nutrient*, ed. by Cardarelli, N.F., CRC Press, Boca Raton, Florida : pp.59-70
49. Sherman, L.R. (1986) Tin, tumors and the thymus gland. in *Tin as a Vital Nutrient*, ed. by Cardarelli, N.F., CRC Press, Boca Raton, Florida : pp.71-84
50. Sherman, L.R., K.I. Bilgicir and N.F. Cardarelli (1985) *J. Nutr. Growth Cancer* 2 : 107
51. Cardarelli, N.F. (1986) Tin and cancer : A review. in *Tin as a Vital Nutrient*, ed. by Cardarelli, N.F., CRC Press, Boca Raton, Florida : pp.35-40
52. Cardarelli, N.F. (1986) The thymus gland. in *Tin as a Vital Nutrient*, ed. by Cardarelli, N.F., CRC

Press, Boca Raton, Florida : pp.99-132

53. Potop, I., V. Sterescu, V. Boreu, R.Petoni, E.Petrescu and E. Ghinea (1970) *Neoplasma* 17 : 655
54. Cardarelli, N.F. and F. Fazely (1988) *Thymus* 11 : 123
55. Sherman, L.R. and N.F. Cardarelli (1988) *Thymus* 12 : 131
56. Cardarelli, N.F. (1988) Chapter 6, Tin steroids as anticancer agents. in *Tin and Malignant Cell Growth*, ed. by Zuckerman, J.J., CRC Press, Boca Raton, Florida : pp.53-58
57. Goldstein, A.L. (1984) *Thymic Hormones and Lymphokines : Basic Chemistry and Clinical Applications*, ed by Goldstein, A.L., Plenum Press, New York
58. Dardenne, M., W. Savino, S. Wade, D. Kaiserlian, D. Lemonnier and J.F. BACH (1984) *Eur. J. Immunol.* 14 : 454
59. Ishaaya, I., J.L. Engel and J.E. Casida (1976) *Pestic. Biochem. Physiol.* 6 : 270
60. Seinen, W. and M.I. Willems (1976) *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 35 : 63
61. Seinen, W., J.G. Vos, I.V. Spanje, M. Snoek, R. Brands and H. Hooykaas (1977) *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 42 : 197
62. Seinen, W., J.G. Vos, R.V. Krieken, A. Penninks, R. Brands and H. Hooykaas (1977) *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 42 : 213
63. Arakawa, Y., N. Yamazaki and Yu. T.H. (1980) *J. Toxicol. Sci.* 5(3) : 258
64. Arakawa, Y., T.H. Yu., M. Hihara, N. Yamazaki and S. Fujita (1981) *J. Toxicol. Sci.* 6 : 237
65. Arakawa, Y. (1983) *J. Pharm. Dyn.* 6 : S-23
66. 荒川泰昭 (1982) 有機錫とリンパ球, 第1回金属の関与する生体関連反応シンポジウム (日本薬学会主催) (東京), 講演要旨集 : pp.100-102
67. 荒川泰昭 (1984) 金属の免疫毒性—有機錫の免疫毒性, 第1回重金属ワークショップ集録 (日本衛生学会主催) (東京) : pp.9-12
68. 荒川泰昭, 和田攻 (1986) 有機錫の免疫毒性, 「免疫毒性」—環境汚染物質としての金属を中心に—, 医学のあゆみ, 医歯薬出版, 136巻3号 : pp.171-181
69. 荒川泰昭 (1989) 微量栄養素研究 第6集 : pp.43-50
70. 荒川泰昭 (1990) 金属と免疫との関わり—錫—, *Sugiyama Chem. Industr. Lab. Ann. Rep.* : pp.151-187
71. 荒川泰昭 (1991) 有機錫の生物活性とその機序, 第5回金属の関与する生体関連反応シンポジウム (日本薬学会主催) (金沢) 講演要旨集 : pp.82-84
72. Arakawa, Y. and O. Wada (1988) Chapter 9, Suppression of cell proliferation by certain organotin compounds in *Tin and Malignant Cell Growth*, ed. by Zuckerman, J.J., CRC Press, Boca Raton, Florida : pp.83-106
73. Arakawa, Y. (1992) Chapter 23, Antitumor activity of organotin compounds and inhibition of membrane signal transduction in *Chemistry and Technology of Silicon and Tin*, ed. by Kumar Das, V.G.

- and Gielen, M., Oxford University Press, Oxford : pp.319-333
74. 荒川泰昭, 栗山孝雄, 國友讓, 森田亮, 岩崎徹, 中島晴信, 堀伸二郎 (1992) *Biomed. Res. Trace Elements*, 3(3) : 319
 75. Arakawa, Y. (1994) *Main Group Metal Chemistry*, 17 : 225
 76. Arakawa, Y. (1993) *Biomed. Res. Trace Elements* 4(2) : 129
 77. 荒川泰昭 (1991) 有機金属の抗腫瘍ならびに抗炎症活性とリン脂質代謝阻害. 蛋白質・核酸・酵素, Vol.36, No.3, 臨時増刊号「動物細胞におけるリン脂質代謝と病態」 : pp.462-469
 78. Arakawa, Y., T. Abe, T.H. Yu and O. Wada (1987) *J. Pharmacobio-Dyn.*, 10 : S-2
 79. 荒川泰昭, 阿部哲昭, 余泰宏, 和田攻 (1986) 有機錫の抗腫作用ならびに抗炎症作用, 第3回金属の関与する生体関連反応シンポジウム (日本薬学会主催) (名古屋), 講演要旨集 : pp.5-6
 80. Arakawa, Y. and O. Wada (1985) *Proc. of the 2nd Int. Symp. on Tin upon Malignant Cell Growth*, Scranton, PA : pp.4-5
 81. Arakawa, Y. (1986) *Proc. of the 3rd Int. Symp. on Tin upon Malignant Cell Growth*, Padua, Italy : pp.24-25
 82. Arakawa, Y. (1988) *Proc. of the 4th Int. Symp. on Tin upon Malignant Cell Growth*, Scranton, PA : pp.13
 83. Arakawa, Y. (1989) *Prpc. of the NATO Advanced Research Workshop on Tin upon Malignant Cell Growth*, Brussels, Belgium : p.1
 84. Arakawa, Y. (1989) *Proc of the 2nd Meeting of Int. Society for Trace Element Research in Humans (ISTERH)* Tokyo, Japan
 85. Arakawa, Y. (1989) *J. Trace Elements in Exp. Med.* 2 : 114
 86. Arakawa, Y. (1989) *Proc. of the 1st A.N.A.I.C. Int. Chem. Conf. on Silicon and Tin*, Kuala Lumpur, Malaysia : pp.31
 87. Arakawa, Y. (1990) *Biomed. Res. Trace Elements*, 1 : 135
 88. Arakawa, Y. (1991) *J. Pharm. Dyn.*, 14 : S-131
 89. Arakawa, Y. (1992) *Proc. of the 7th Int. Conf. on Organometal. Coord. Chem. of Germanium, Tin and Lead*, Riga, Latvia : pp.46
 90. Arakawa, Y. (1993) *Proc. of Int. Symp. on Organic, Bioorganic and Bioinorganic Chemistry of Compounds of Higher Row Group 14 Elements*, Tokyo, Japan
 91. Arakawa, Y. (1993) *Proc. of the 2nd Int. Conf. on Materials Science and Environmental Chemistry of Main Group Elements*, Kuala Lumpur, Malaysia
 92. Arakawa, Y. and O. Wada (1984) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 123 : 543
 93. Arakawa, Y. and O. Wada (1984) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 125 : 59
 94. Arakawa, Y. (1986) *Proc of the 5th Int. Conf. on Organometal. Coord. Chem. of Germanium, Tin and Lead*, Padua, Italy : pp.3

95. Arakawa, Y., T. Iizuka and C. Matsumoto (1991) Biomed. Res. Trace Elements, 2(3) : 321
96. Arakawa, Y. (1989) Proc. of the 6th Int Conf. on Organometal. Coord. Chem. of Germanium, Tin and Lead, Brussels, Belgium.
97. Arakawa, Y. (1989) Main Group Metal Chemistry, 12 : 37
98. Arakawa, Y. (1989) Main Group Metal Chemistry, 12 : 31
99. 森本絢美, 荒川泰昭, 小石秀夫 (1992) 必須アミノ酸研究 No.133 : pp.35-38
100. 村田純子, 荒川泰昭, 中島晴信 (1994) 産業医学, 36巻 : 427