

海洋生物由来有機ヒ素化合物のマクロファージに及ぼす影響

櫻井 照明・貝瀬 利一・松原 チヨ

(東京薬科大学生命科学部環境衛生化学教室*)

Effect of Organic Arsenic Compounds in Marine Organisms on Murine Macrophages

Teruaki SAKURAI, Toshikazu KAISE and Chiyo MATSUBARA

Laboratory of Environmental Chemistry, School of Life Science, Tokyo University

of Pharmacy and Life Science

Abstract

In the present study, we demonstrated the immunotoxic effects of organic arsenic compounds in marine animals, such as arsenosugar (AsSug), arsenocholine (AsCho), arsenobetaine (AsBe) and tetramethylarsonium ion (TetMA) on murine principal immune effector cells, peritoneal macrophages (PMs) and alveolar macrophages (AMs), comparing with the effects of inorganic arsenical, arsenite, *in vitro*.

Arsenite was strongly and equally toxic for both PMs and AMs, and the concentration of arsenite that decreased the number of surviving cells to 50% of that in untreated controls (IC_{50}) was $5\mu M$. Dimethyl arsenic compound in seaweed, AsSug, was weakly but significantly toxic only for AMs ($IC_{50}=8mM$) and it actually enhanced viability of PMs to 1.5 times the control. In contrast, trimethyl and tetramethyl arsenic compounds in marine animals, AsCho, AsBe and TetMA, was less toxic even at the concentration over 10mM on both PMs and AMs.

ヒ素は毒性の高い元素として知られており、様々な形態で環境中に存在している。近年著者らは、海洋生物がヒ素を高濃度に濃縮する性質を持ち、その含有量は無機ヒ素に換算すると、ヒトの中毒量をはるかに越えることを見いだした^{1),2)}。その化学形態を分析した結果、ワカメ、コンブ、ヒジキなどの藻類にはアルセノシュガー (AsSug) に代表されるジメチル体が主なヒ素化合物として存在していたのに対し、魚類、甲殻類、貝類といった海洋動物ではアルセノコリン (AsCho)、アルセノベタイン (AsBe) などのトリメチル体が主なヒ素化合物であることを明らかにした^{1),2)}。一方で Shiomi らはハマグリのエラから、更にメチル基が一つ多く付いたテトラメチルアルソニウム (TetMA) を単離し報告してい

*所在地：東京都八王子市堀之内1432-1 (〒192-03)

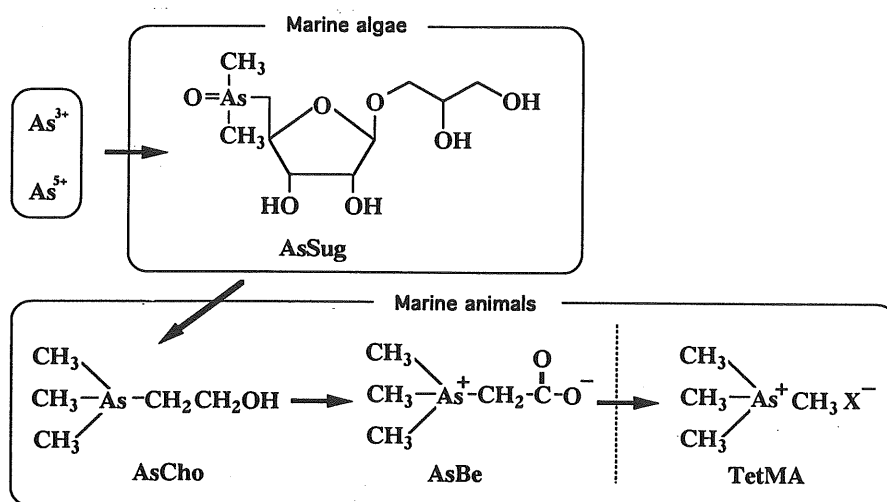


Fig. 1 Organic arsenic compounds in marine organisms

る (Fig. 1) ^{3), 4)}。

海洋生物は海水中から取り込んだ無機ヒ素をメチル化することにより、その毒性を軽減しているものと推定される。しかしながら、その化学形態と毒性発現との明確な因果関係はほとんど検討されていない。ヒトは古来より海洋生物を食物として摂取しており、とりわけ我々日本人は、魚介類や甲殻類だけでなく海藻類をも食品として摂取している唯一の民族である。従って、それら海洋生物に含まれる有機ヒ素化合物の生体影響を知ることは、食品衛生学上非常に重要である。本研究では、海洋生物に含まれる有機ヒ素化合物を合成し、マウスのマクロファージを用いてその生体影響を免疫毒性学的見地から *in vitro* において検討した。

実験方法

AsSug, AsBe, AsCho, TetMA は既報に従い研究室で合成した^{5), 6), 7)}。対照に用いた亜ヒ酸ナトリウムは市販されているものを再結晶処理して用いた。これらのヒ素化合物は GC/MS 分析より純度は 99.5% 以上であり、リムルステストによりエンドトキシンは全く含まれていないことを確認した。マウス腹腔マクロファージ及び肺胞マクロファージは SPF 環境下で飼育した雄性 C3H/HeN マウスより既報に準じて採取し^{8), 9), 10)}、10% の牛胎児血清を含む MEM 液体培地を用いて培養した。ヒ素化合物の細胞毒性はアラマープルー (AB) 法¹¹⁾ を用いて検討した。

結果と考察

種々のヒ素化合物の存在下で、マクロファージを 48 時間培養し、化合物の示す細胞毒性を検討したところ、無機ヒ素である亜ヒ酸ナトリウムでは、腹腔マクロファージ、肺胞マクロファージの両者に対して強い細胞毒性が観察され、50% 細胞増殖阻害濃度 (IC₅₀ 値) は約 5 μM であった (Fig. 2)。これ

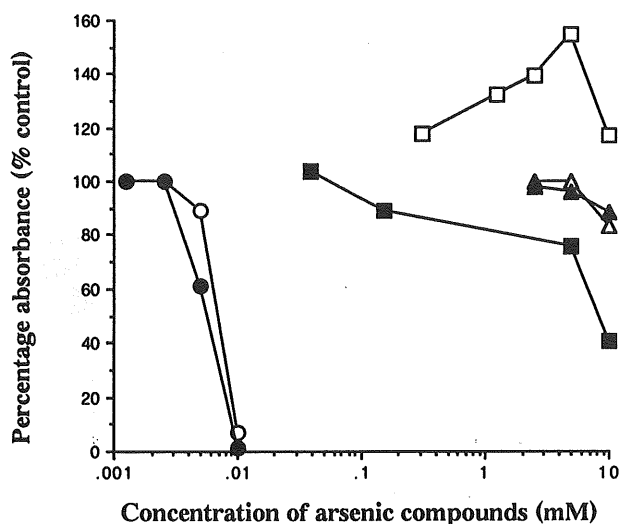


Fig. 2 Effects of arsenic compounds on viability of macrophages. Monolayers of PMs (○, □, △) or AMs (●, ■, ▲) isolated from C3H/HeN mice were incubated with various concentrations of arsenite (○, ●), AsSug (□, ■) or AsBe (△, ▲) for 48 h at 37°C, and the viability of cells was determined by measuring by AB assay.

に対し、海洋動物に含まれるトリメチルヒ素化合物である、AsCho及びAsBeは10mM以上の高濃度においてもマクロファージに対して毒性も活性も示さなかった (AsBeの結果のみ Fig. 2 に示す)。我々は以前、マウスを用いた急性毒性試験において、AsCho, AsBeのLD₅₀値はそれぞれ6.5g/kg, 10g/kg以上と、極めて毒性の低い化合物であることを明らかにしており^{6), 7)}、今回の結果を考え合わせると海洋動物に含まれるヒ素化合物は食品衛生上ほとんど無害であると考えられる。

TetMAはハマグリのエラやウミウシの体表面など比較的特異なところに存在するテトラメチルヒ素化合物であるが³⁾、AsChoやAsBeと同様10mM以上の高濃度でもマクロファージの成育 (viability) に余り影響を与えなかった。ただし、肺胞マクロファージに対してのみ10mMで若干viabilityを弱める傾向にあった (データ示さず)。

興味深いことに、これらの結果とは異なり海藻類に含まれるジメチルヒ素化合物、AsSugは腹腔マクロファージと肺胞マクロファージにそれぞれ異なる影響を与えた。即ちAsSugは肺胞マクロファージには弱いが有意な細胞毒性 (IC₅₀=8mM)を示したのに対し、腹腔マクロファージに対しては、逆に細胞のviabilityを上げる効果を示した。この効果はAsSugの濃度が5mMの時に最も強く観察され、viabilityはコントロールの約1.5倍であった (Fig. 2)。この時の腹腔マクロファージは良く伸展した典型的な細胞形態を示した (Fig. 3)。AsSugのみが何故このような免疫修飾活性を示すのか現在のところ不明であるが、その機構が明らかとなれば海藻類の機能性食品としての新たな活用につながる可能性があると考え、現在検討中である。

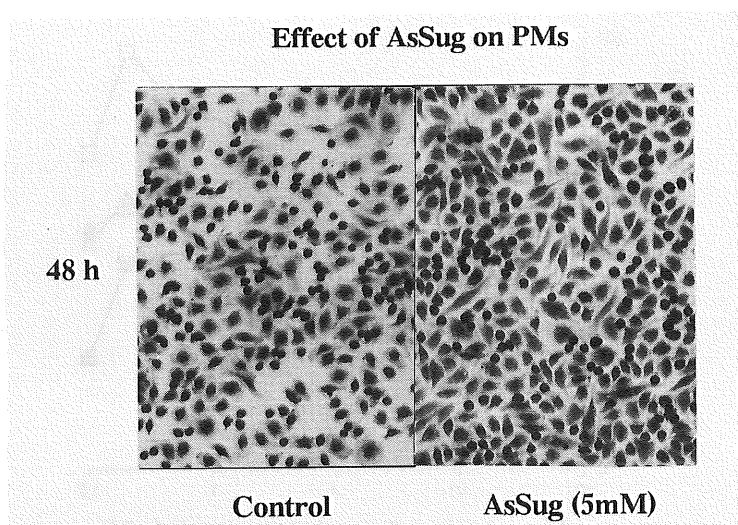


Fig. 3 Morphological changes of PMs by incubation with 5mM of AsSug for 48 h at 37°C .

文 献

- 1) Kaise, T., Yamauchi, H., Hirayama, T. and Fukui, S. (1988) Appl. Organomet. Chem. 2 : 339
- 2) Kaise, T., Hanaoka, K., Tagawa, S., Hirayama, T. and Fukui, S. (1988) Appl. Organomet. Chem. 2 : 539
- 3) Shiomi, K., Kakehashi, Y., Yamanaka, H. and Kikuchi, T. (1987) Appl. Organomet. Chem. 1 : 177
- 4) Shiomi, K., Aoyama, M., Yamanaka, H. and Kikuchi, T. (1988) Comp. Biochem. Physiol. 90C : 361
- 5) McAdam, D.P. and Stick, R.V. (1986) Tetrahedron Lett. 27 : 251
- 6) Kaise, T., Watanabe, S. and Itoh, K. (1985) Chemosphere 14 : 1327
- 7) Kaise, T., Horiguchi, Y., Fukui, S., Shiomi, K., Chino, M. and Kikuchi, T. (1992) Appl. Organomet. Chem. 6 : 369
- 8) Sakurai, T., Ohno, N. and Yadomae, T. (1992) Chem. Pharm. Bull. 40 : 2120
- 9) Sakurai, T., Ohno, N., Suzuki, I. and Yadomae, T. (1995) Immunopharmacology 30 : 157
- 10) Sakurai, T., Ohno, N. and Yadomae, T. J. Leukocyte Biol. 60 : 118
- 11) Ahmed, S. A., Gogal Jr, R. M. and Walsh, J. E. (1994) J. Immunological Methods 170 : 211