

金属による胸腺免疫の病的老化

荒川 泰昭

静岡県立大学・公衆衛生学・生体衛生学

BIOMEDICAL RESEARCH ON TRACE ELEMENTS

Vol.14 No.4 2003 別刷

トピックス1 「免疫機能における微量元素の栄養と毒」

総説 REVIEW ARTICLES

金属による胸腺免疫の病的老化

荒川 泰昭

静岡県立大学・公衆衛生学・生体衛生学

Morbid Aging of Thymus Immunity by Metals

Yasuaki Arakawa

Department of Hygiene & Preventive Medicine, Faculty of Health Sciences,
The University of Shizuoka,
52-1 Yada, Shizuoka-shi, Shizuoka 422-8526, Japan

Abstract

In this article, morbid aging of thymus immunity are reviewed, with a focus on the thymus atrophy and the suppression of thymus-dependent immunity which are induced by zinc deficiency as an endogenous factor and organotin exposure as an exogenous factor, from three angles on proliferation, differentiation and cell death, on the basis of our data. The table of contents is as follows : Introduction, 1. Physiological Aging (Aging Changes), 2. Morbid Aging, 2.1. In Case of Zinc Deficiency, 2.1.1. Thymus Atrophy, 2.1.2. Cell Death, 2.1.2.1. Disorder of Enzyme Metabolic System, 2.1.2.2. Apoptosis, 2.1.3. Proliferation of T-Lymphocytes, 2.1.3.1. Lymphocyte Activation, 2.1.3.2. Association on Proliferation Transduction System, 2.1.4. Differentiation and Maturation of T-Cell, 2.1.4.1. Changes in the Membrane Surface Antigen of T-Lymphocytes, 2.1.4.2. Suppression of Serum Thymulin Activity, 2.2. In Case of Organotin Exposure, 2.2.1. Thymus Atrophy, 2.2.1.1. Tolerance Manifestation of Thymus Atrophy, 2.2.2. Cell Death, 2.2.2.1. Dibutyltin, 2.2.2.2. Apoptosis of Tributyltin, 2.2.3. Proliferation of T-Lymphocytes, 2.2.3.1. Suppressive effects on the Proliferation Transduction System, 2.2.3.2. Suppression of Lymphocyte Transformation, 2.2.4. Differentiation and Maturation of T-Cell, 2.2.4.1. Changes in the Membrane Surface Antigen of T-Lymphocytes, 2.2.4.2. Suppression of Serum Thymulin Activity, 2.2.5. Intracellular Distribution of Organotins, 2.2.6. Effects on the Structures and Functions of Intracellular Organelles (eg; the Golgi Apparatus, Endoplasmic Reticulum(ER)), 2.2.7. Effects on the Physical Properties of Phospholipid Membranes. 3. Morbid Aging by Disturbance of the Trace Element Balance, 3.1. Mechanism of Ca^{2+} Excessive Accumulation, 3.2. Excessive Accumulation of Trace Elements and Cell Death, 4. Contact of Morbid Aging Process and Cell Death.

To sum up this article, common process and contact of morbid aging in thymus immunity by zinc deficiency as an endogenous factor and organotin exposure as an exogenous factor may be due to such the excessive accumulation of adverse reaction and injurious substance as excessive accumulation of trace elements and disorder of transduction system.

Key words : Zinc deficiency, Organotin exposure, Thymus immunity, thymus atrophy,

Apoptosis, Morbid aging, Disturbance of trace elements, Excessive accumulation

亜鉛欠乏、有機スズ暴露、胸腺免疫、胸腺萎縮、アポトーシス、病的老化、微量元素攪乱、過剰蓄積

はじめに

老化は生理的老化と病的老化に区別され、理想的環境下でも生ずる老化を生理的老化と言い、環境の悪化(異常ストレス)により生ずる老化を病的老化と言う。その中で、とくに病的老化を生理的老化の修飾と考えた場合は、1) 環境の悪化により生理的老化そのものの速度が早まる場合(生理的老化促進)、2) 環境の悪化により一時的に急速に老化がすすむが、その後は生理的老化の速度となる場合(一過性老化促進)、3) 環境の悪化により生理的老化とは異なる老化・死に至る新規の機序が開始される場合(異常老化)など、3つの老化プロセスが考えられる[1]。しかし、生理的老化が十分に明らかでない現時点では、病的老化がいずれのプロセスをとるかを明らかにすることは困難である。しかし、いずれにせよ環境の悪化により死を早めるという現象においては共通である。従って、とりあえずは環境悪化が誘発された時、その時生ずる形態の変化や機能低下、特に生理的老化と同じ現象について、そのメカニズムを解析することが先決である。そこにこそ老化プロセスの本態が重複しながら潜在しているはずである。すなわち、ある因子によって生理的老化と同じ現象が引き起こされた場合、その現象を発現する要因こそが老化プロセスとの接点である。

本稿では免疫老化、その中でも特に胸腺免疫の老化を取り上げ、生理的老化(加齢変化)の典型的現象の1つである「胸腺の萎縮」を中心に、その病的老化を考察する。胸腺はリンパ球を最初にT系列の細胞へと運命づける中枢の器官である。しかも免疫系の最大の特徴でもあるが、免疫応答を本質的に担っているリンパ球の増殖・分化・細胞死がクローンのレベルで制御されている。すなわち、リンパ球クローンの運命は免疫系を構成する細胞間の相互作用によって決定されている。従って、本稿では免疫系における生理的老化においても病的老化においても共通にみられる現象、すなわち「胸腺の萎縮とそれに伴うT細胞性免疫能の低下」を引き起こす因子として、内在的因子となる「微量元素の欠乏」および外来的因子となる「有機スズの暴露」を取り上げ、増殖・分化・細胞死の3つの領域から病的老化を考察する(Fig.1)。

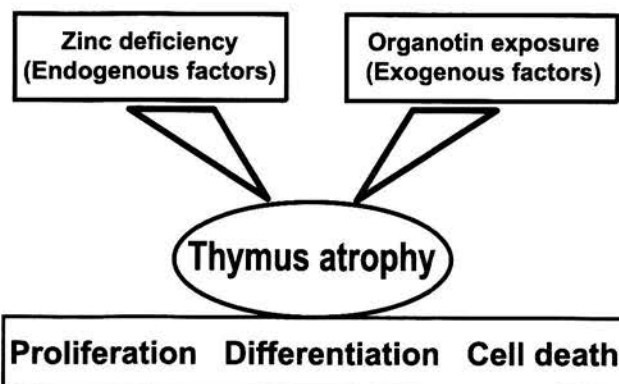


Fig.1. Morbid aging of thymus immunity by metals.

1. 生理的老化(加齢変化)

免疫系における老化としては、加齢に伴って1) 免疫能の低下(とくにT細胞系の機能低下)、2) 胸腺重量の著しい低下(皮質の退縮、次いで髄質の退縮と、結合組織や脂肪組織への置き換え。脾臓、リンパ節の重量も加齢と共に減少するが、軽度)、3) 胸腺のT細胞分化誘導能の低下(ヘルパーT、キラーT細胞などへの分化誘導能の低下)とサブプレッサーT細胞の機能低下、4) 抗体産生能の低下(血液型抗体価、細菌性抗原への自然抗体価など)、延いては生体防御機能の低下、5) 自己抗体の発生頻度増大などが顕著な変化として観察され[2, 3]、老人における感染症の増加、悪性腫瘍の発症頻度の増加、ある種の自己免疫疾患の発生などの要因と考えられている。

2. 病的老化

2.1. 亜鉛欠乏による場合

亜鉛、鉄、銅などの必須微量元素の欠乏は、主としてT細胞依存性の免疫能を低下させる[4]。特に亜鉛欠乏による免疫不全の特徴は胸腺ならびに胸腺依存性リンパ組織の選択的萎縮とそれに伴う細胞性免疫の不全である[5-7]。ヒト腸性肢端皮膚炎ではCandidaなどのrecall抗原やジニトロクロロベンゼン(DNCB)に対する遅延型皮膚反応の消失やin vitroでのマイトーゲンによるリンパ球幼若化能の低下などの細胞性免疫能の低下がみられるが[8]、これらは亜鉛投与により速やかに回復する。また、動物の実験的亜鉛欠乏症でもヒトと同様に可逆性の胸腺ならびに胸腺依存性リンパ組織の萎縮がみられる[9, 10]。そして、末梢血リンパ球数の低下や血清γ-グロブリン値の低下、マイトーゲンによるリンパ球幼若化能の低下[11]、ヘルパーT細胞機能の低下およびナチュラルキラー細胞の活性低下などの細胞性免疫能の低下、T細胞依存性抗原(SRBC)に対するブランク形成(PFC)反応、とくにその二次反応の低下ないし消失など体液性免疫能の低下などがみられる[12]。動物では機能的には細胞性免疫ばかりでな

連絡先: 荒川泰昭

〒422-8526 静岡県谷田52-1

静岡県立大学・食品栄養科学部・公衆衛生学研究室

大学院・生活健康科学研究科・生体衛生学研究室

TEL&FAX: 054-264-5563

E-mail: arakawa@u-shizuoka-ken.ac.jp

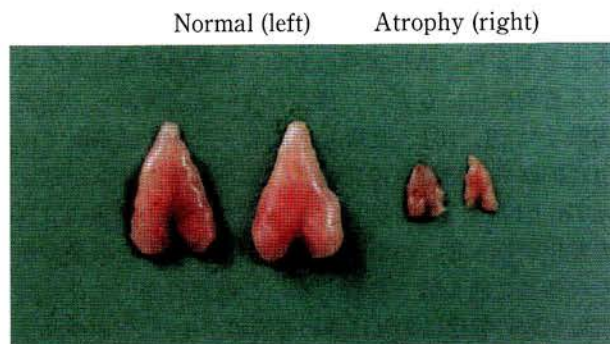


Fig.2. Thymus atrophy induced by zinc deficiency and organotin exposure.

く液性免疫の低下もみられることが多いが、これは抗体産生に關与する regulatory Tリンパ球 (ヘルパーTリンパ球とサプレッサーTリンパ球) の障害に起因したものであると思われる。

2.1.1. 胸腺萎縮

亜鉛欠乏によって細胞性免疫の中樞臓器である胸腺ならびに胸腺依存性リンパ組織の著しい萎縮が誘発される (Fig.2)。この萎縮は胸腺細胞の消失によるものであるが、亜鉛の補給によって可逆的に回復する [6, 9, 10, 13, 14] (Fig.3)。従って、この萎縮は亜鉛欠乏に伴う酵素活性の低下など細胞内代謝の障害や細胞増殖の抑制に起因した細胞死によるものであらうと考えられる。

2.1.2. 細胞死

細胞死にはその原因により壊れ方が形態的に異なるネクロシス (necrosis, 壊死) とアポトーシス (apoptosis) という2つの形がある。微量元素關与の細胞死においても両者が觀察されるが、その形態は原因や細胞のタイプや種類により異なる。

2.1.2.1. 酵素代謝系障害

亜鉛、鉄、銅、セレンなどはそれぞれ多くの酵素の活性中心として存在する。従って、これらの元素の欠乏あるいは生理的異常は直接細胞のホメオスタシスを破壊し、細胞障害を引き起こし、細胞死誘発の要因となる [14]。

2.1.2.2. アポトーシス

胸腺内におけるリンパ球の分化過程において、アポトーシス機構の存在は生物学的に重要な意義をもつ。このアポトーシスを誘発する原因は多種多様であるが、一般に細胞増殖に必要な因子、すなわち増殖因子、各種サイトカイン、ホルモン、亜鉛イオン [15] などの欠損や過剰刺激によって増殖抑制の状態が続く場合に起こる。リンパ球のアポトーシス誘導の機序については目下激しい研究競争が展開されているが、カルシウム流入の必要性、C-キナーゼ (Zn結合) の關与、亜鉛關与か

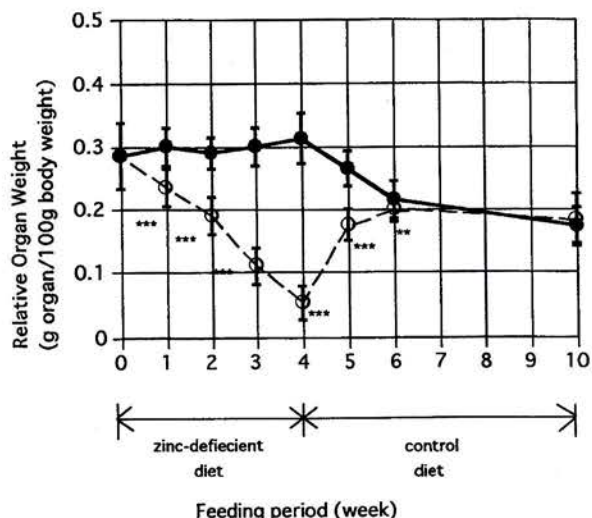


Fig.3. Relative thymus weight of rats fed zinc-deficient diet or zinc-supplement diet (control diet) for 4 weeks and after that period a control diet for 6 weeks. Vertical bars denote SE of the mean for 10 determinations; those marked with asterisks differ significantly (Student's t test) from the corresponding control value. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. (●) control group, (○) zinc deficiency group.

らエンドヌクレアーゼによるDNA切断、死に關する遺伝子として zinc-finger ドメインを有し、DNAと結合する蛋白質と膜蛋白質の存在などが知見として得られている [16, 17]。とくに亜鉛欠乏によるアポトーシス誘導の機序としては亜鉛欠乏時の胸腺リンパ球においてカルシウムの過剰蓄積やカルシウムによるエンドヌクレアーゼの活性化などが顕著にみられることから、カルシウムの過剰蓄積によるC-キナーゼ、細胞死關与タンパクの誘導、そしてエンドヌクレアーゼの活性化によるDNA切断の系路が主であると考えられる。また、このようなカルシウムの過剰蓄積を誘発する要因としては、増殖因子の除去や低量のX線照射、コーチゾン、ホルボールエステル、cAMP、 Ca^{2+} -イオノフォア (A23187) などによる Ca^{2+} 過流入があり、亜鉛欠乏と同様のアポトーシス誘導の系路が考えられる。また、Tリンパ球は O_2^- やNOなどの活性酸素によってもアポトーシスを起こす。この酸化ストレスによるアポトーシスには活性酸素消去システムとしてスーパーオキシドジスムターゼ (SOD、活性中心にCu-Zn, FeあるいはMnをもつ)、カタラーゼ (Fe結合、 H_2O_2 分解酵素)、それにグルタチオンペルオキシダーゼ (Se結合) などが關与しており [18]、これらの活性關与元素の生理的異常が直接免疫応答の修飾や細胞死を誘発することは容易に考えられることである。

2.1.3. T細胞の増殖

前述の如く、亜鉛、鉄、銅などの微量元素の免疫系

への関与はT細胞系において顕著である。その中でも、T細胞の増殖に最も関与が強いのは亜鉛である。亜鉛はDNA polymerase、RNA polymerase、thymidine kinaseなどの構成成分として存在し、DNA合成、RNA合成、タンパク合成などの細胞内代謝（ホメオスタシス）や細胞増殖の系においてその活性発現に重要な役割を演じている。従って、亜鉛欠乏においては当然これらの酵素活性は低下し[19]、代謝あるいは増殖が抑制され、最終的には細胞死が誘導される。

2.1.3.1. リンパ球の活性化

リンパ球は種々の非特異的なミトゲン (mitogen) によって多クローン性の活性化を受け、分化増殖 (トランスホメーション, transformation) する [20]。通常、このトランスホメーションはプロテインキナーゼ-C (PKC) 活性化、NF- κ B 活性化、Ras 活性化、そしてさらに IL-2 活性化の系を経て成就するが、このトランスホメーションには亜鉛が必須である [6, 21]。さらに亜鉛はミトゲンとしても働き、リンパ球のDNA合成やRNA合成を増大させ、最終的にトランスホメーションを誘導する。したがって、亜鉛欠乏ではこのトランスホメーションが抑制される [6, 22]。

2.1.3.2. 増殖情報伝達系への関与

細胞増殖の促進に関与するシグナル伝達系には大別して cAMP, Ca^{2+} , DG, IP_3 などのセカンドメッセンジャーを介する系とチロシンリン酸化を初期反応とする系とがある。最近このセカンドメッセンジャーを介する系に続くプロテインキナーゼ-C (PKC) が亜鉛によって活性化されることがわかった [23]。そして、さらにこの酵素は C1 ドメインに4分子の亜鉛を配置 (DNA-binding zinc-finger 構造) した亜鉛金属酵素であることがわかってきた [24]。これらの事実は前述の亜鉛によるリンパ球の活性化の機序を説明するための重要な知見の1つである。

2.1.4. T細胞の分化・成熟

免疫システムは簡単に言えば非自己排除の機構であり、そのための多様化能と自己・非自己の識別能を有するものである。T細胞にもB細胞にもこの両者の機能は備わっているが、T細胞の方がより厳密な自己非反応性を有し、このT細胞における自己非反応性の獲得が免疫システムの中心である。このT細胞の機能の獲得は胸腺内で行われ、骨髄幹細胞から派生したT前駆細胞はネガティブセレクション、デフォルト細胞死、ポジティブセレクションを経て分化・成熟し、胸腺を出て末梢へ到達する。この分化・成熟プログラムの過程で、種々の分化抗原が胸腺膜表面に発現され、それぞれの機能をもったT細胞が形成される。以下、T細胞の分化・成熟に最も強く関与している亜鉛を例に挙げて解説する。

2.1.4.1. T細胞膜表面抗原

亜鉛欠乏によるT細胞系の重篤な免疫不全は、前述の

胸腺萎縮すなわち胸腺細胞の消失という量的変化もさることながら、胸腺細胞の分化・成熟過程の異常からくる質的变化にも大きく依存している。著者らの動物実験では [9, 10]、亜鉛欠乏によって、胸腺細胞では CD4 抗原や CD8 抗原の発現に、また末梢血リンパ球では Thy1,1 抗原、CD2 抗原、 α/β 抗原などの発現に有意の変化がみられ、かつ CD4 抗原/CD8 抗原の比の減少から抗体産生能の低下も視える。この質的变化すなわち抗原発現の変化はこれに関わる胸腺ホルモン (血中サイムリンなど) が亜鉛を含有することからも推測できるように、亜鉛欠乏に伴うホルモン活性の低下によるものであらうと思われる [9, 10]。

2.1.4.2. 血中サイムリン活性

胸腺内T細胞の分化成熟過程では種々の胸腺ホルモンが関与するが、本稿ではその一つである血中サイムリンについて紹介する。血中サイムリンは胸腺から分泌され、T細胞の増殖や分化を促進する胸腺ホルモンの一種であり、亜鉛を結合したノナペプチドである。未熟細胞における Thy1,1 抗原の発現や CD4 あるいは CD8 抗原を持つ成熟細胞の活性化などの作用をもち、亜鉛を失うことによってその活性が消失する [9, 10, 25]。事実、著者らの胸腺摘出動物の前駆T細胞を用いた実験では亜鉛欠乏によって血中サイムリン活性は有意に低下し、末梢血T細胞のThy1,1抗原が著減する [10]。

2.2. 有機スズ暴露による場合

ジブチルスズ、ジオクチルスズのようなジアルキルスズは細胞性免疫ならびにT細胞依存性の液性免疫を抑制する [26-40]。その細胞性免疫能の抑制は量依存性に 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、T細胞依存性の *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抑制として確認される。トリブチルスズやトリフェニルスズのようなトリ有機スズもまた胸腺依存性免疫応答を抑制するが、トリメチルスズやトリエチルスズは免疫毒性よりはむしろ神経毒性 [41] の方が顕著である。また、高級トリアルキルスズでは、トリヘキシルスズはほんのわずかにしか、トリオクチルスズは全く胸腺に影響を与えない。結論的には、有機スズによる免疫抑制作用の強さはジブチルスズ、ジオクチルスズ > トリブチルスズ > トリフェニルスズの順であり、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。

2.2.1. 胸腺萎縮

有機スズ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 [26-40, 42, 43]。各種有機スズ化

化合物のなかで、胸腺萎縮作用の最も強いのはジブチルスズやジオクチルスズであり、次いでトリブチルスズである。この選択的な萎縮は暴露を止めると速やかに回復する。すなわち、可逆性である。病理組織学的には、このような有機スズ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。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有機スズ濃度と萎縮とが逆相関を示すことや胸腺細胞の生存率の低下とDNA合成の阻害とが共に量依存性であり、かつ互いに平行することなどから、有機スズの直接的作用であり、DNA合成の阻害さらには細胞増殖の阻害に起因した二次的な細胞死によるものであると結論した[30, 44]。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攪乱させていることは言うまでもない。

2.2.1.1. 胸腺萎縮の耐性発現

前述の如く、ジブチルスズやジオクチルスズは選択的に著しい胸腺萎縮を誘発し、細胞性免疫不全を誘発するが、この萎縮は長期間連続暴露を続けると逆に回復してくる。すなわち、耐性が発現してくる[26-28]。トリブチルスズの場合もアポトーシスを伴う胸腺萎縮を誘発するが、このような回復は見られない。ここに、

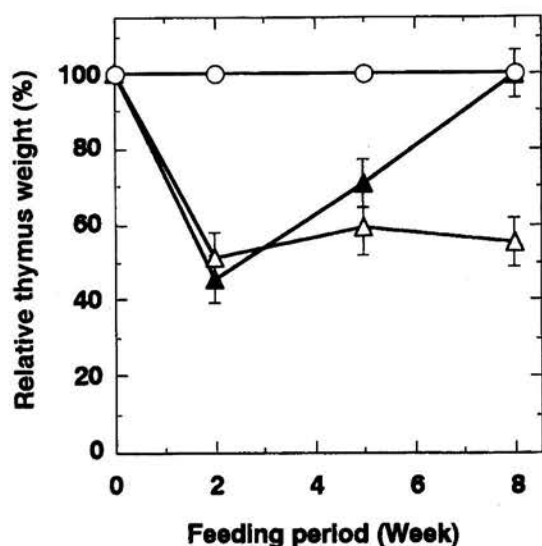


Fig.4. Relative thymus weight (% of control) of rats fed 100 ppm of dibutyltin dichloride or tributyltin chloride throughout the experimental period. Vertical bars denote SE of the mean for ten determinations. (○) Control (0 ppm) group, (▲) dibutyltin group, (△) tributyltin group.

ジブチルスズとトリブチルスズの胸腺萎縮誘発におけるメカニズムの違いが明確化される。ジブチルスズに見られるこの耐性発現の要因として、1) 分解酵素の誘導、2) 錫結合物質の誘導、3) 細胞死抑制因子の誘導などが考えられるが、解析した結果、水溶性のメタロチオネインファミリー画分にある細胞死抑制因子の誘導が判明した。数種の蛋白質が細胞死抑制に関与しており、それらの精製した蛋白質の内、現在、N末端のアミノ酸配列の決定から判明したものの一つは血清アルブミンである[45]。この血清アルブミンがジブチルスズの毒性軽減に如何に関与しているかは今後の課題である (Fig.4)。

2.2.2. 細胞死

2.2.2.1. ジブチルスズによるネクロシス

病理組織学的には、ジブチルスズによって誘導される胸腺萎縮では浮腫edemaが多くみられ、ネクロシスによる細胞死が主である。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。しかも、この消失は胸腺での有機スズ濃度と萎縮とが逆相関を示すことや胸腺細胞の生存率の低下とDNA合成の阻害とが共に量依存性であり、かつ互いに平行することなどから、ジブチルスズの直接的作用であり、DNA合成の阻害さらには細胞増殖の阻害に起因した二次的な細胞死によるものである[26-30]。

2.2.2.2. トリブチルスズによるアポトーシス

トリブチルスズ暴露による胸腺細胞の死は、Fas/FasLを介した経路でカスパーゼ3の活性化やDNAの断片化を伴うアポトーシスを含む。すなわち、アポトーシスを誘導する1) FasLを介する経路、2) Ca^{2+} を介する経路、3) ミトコンドリアを介する経路などについて検討した結果、FasLの発現量の増加やCaspase-8の活性化が見られたことから、FasLを介する経路によってCaspase-3が活性化され、DNAの断片化を伴うアポトーシスが引き起こされていることが確認された。また、その時DNAの断片化に関与するDNaseはNuc18であることが確認された。しかし、胸腺細胞におけるCa濃度の有意の上昇や細胞質へのCytochrome Cの遊離が見られたことから、細胞内 Ca^{2+} の増加によるカルパイン、Caspase-1, 3の活性化を介するアポトーシスの誘導経路やCytochrome CによるApaf-1の活性化、さらにはCaspase-9の活性化を介するアポトーシスの誘導についてもさらに検討する必要がある[46, 47]。

2.2.3. T細胞の増殖

胸腺リンパ球のような増殖細胞はジブチルスズやジオクチルスズなどのジアルキルスズに対して他の有機スズよりも、また他の臓器細胞よりも非常に感受性が高い。胸腺リンパ球のDNA合成はジブチルスズによって $10^{-7}M$ の濃度（細胞生存性に障害しない濃度）でさえ有意に阻害される。しかも、DNA合成と細胞生存率に

に対するジブチルスズの量-反応曲線は互いに平行する。この結果はジブチルスズがまず細胞増殖を阻害し、その結果二次的に細胞死を引き起こしていることを示している [30]。

2.2.3.1. 増殖情報伝達系の阻害

ジブチルスズのもつ増殖抑制の発現は、次のようないくつかのプロセスに因るものであると考えられる。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質輸送を阻害する。その結果、ジアルキル錫ではPI代謝回転の阻害、アラキドン酸遊出の阻害、細胞内IP₃作動性カルシウム動員化の阻害などプラズマ膜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情報伝達系を阻害する [26-30]。また、トリアルキル錫においてはカルシウムホメオスタシスの攪乱あるいは破壊を介した阻害も考えられる [46, 47]。

2.2.3.2. リンパ球トランスホメーションの阻害

現在、細胞増殖やトランスホメーションのメカニズムは十分に解明されていないが、DNA合成や最終的な有糸分裂へ導く主経路についてはいくつかの仮説が提唱されている [26-30]。いずれの場合にせよ、DNA合成を導く情報伝達はホスホリパーゼの活性化を促し、PI代謝回転の増大やアラキドン酸遊離を引き起こすことによって誘起されると考えられる。

そこで、現在までにこの系のモデルとして最もよく吟味されているリンパ球トランスホメーションを用いてジブチルスズによる細胞増殖の阻害機序を検討すると、DNA合成を導く多くの初期反応の中で、量依存性にドラマチックに阻害されるのはRNA合成であり、リン脂質代謝である。とくに、10⁻⁷M以上のジブチルスズでリン脂質の合成が阻害され、なかでもPI代謝回転の増大が著しく抑制される。また、同濃度でリン脂質の分解も阻害され、アラキドン酸の遊離増大が著しく抑制される。これらの抑制はホスホリパーゼA₂、CおよびDなどの酵素そのものに対する直接阻害ではなく、膜介在の活性化機構の障害によるものである。また、DNA合成への主経路の1つと思われる細胞内へのカルシウム取り込みは全く阻害されないが、後述 (2.2.6.) の如く細胞内での小胞体からのカルシウム動員化は著しく抑制される [26-30]。

2.2.4. T細胞の分化・成熟

2.2.4.1. T細胞膜表面抗原

ジブチルスズ、ジオクチルスズのような有機スズ暴露によって胸腺細胞におけるCD4抗原やCD8抗原の増大、未分化細胞の減少、そして末梢血リンパ球にお

けるThy1,1抗原の減少、胸腺細胞における α/β 抗原の減少、CD2抗原は変化せず、未分化細胞の減少などがみられる [48, 49]。

2.2.4.2. 血中サイムリン活性の抑制

亜鉛欠乏の場合 (2.1.4.2.) と同様に、実際に血中サイムリン活性測定法を開発して、有機スズ暴露動物の血中サイムリン活性を測定した結果、胸腺萎縮時の末梢血リンパ球におけるThy1,1抗原は有意に低下し、明らかに血中サイムリン活性が低下していることが確認された [48]。

2.2.5. 有機スズの細胞内分布

有機スズ化合物は側鎖の数、種類によって生物活性発現の程度、様式が著しく異なる。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スズ間の物性の差、言い換えれば体液への溶解性や細胞内への取り込みの差、さらには細胞内分布の違いによるものである。蛍光標識法を用いて有機スズの細胞内分布を調べてみると、ジブチルスズ、トリブチルスズ、トリフェニルスズのような疎水性有機スズは、核やプラズマ膜ではなく、核周辺のゴルジ体-小胞体 (ER) 領域に選択的に集積する [50]。おそらくほとんどの有機スズはベシクル (vesicle) の形で融合によるか、あるいはカチオンの形と類似の取り込み様式によって細胞内に取り込まれると思われるが、その中でとくに、疎水性有機スズのゴルジ体や小胞体への輸送はintact cellsでもfixed cellsでも同じようにこれらの領域に集積することから、エンドサイトーシスのような細胞プロセスは含まず、また上述の如くTriton-X 100処理によってゴルジ体や小胞体への集積が阻害されることから、この輸送は有機スズのもつ適度の疎水性 (hydrophobicity; 細胞内疎水基と非常に親和度の高い物性状態) すなわち脂溶性あるいは細胞内脂質や脂質親和性タンパク質への親和性によるものであらうと思われる。また逆の言い方をすれば、この有機スズ集積には各オルガネラの脂質あるいは疎水基が重要な役割を演じていると言える。そして、細胞内ではハロゲン化物や水酸化物の形でジアルキルスズはジスタノキサン (distanoxane) として、またトリアルキルスズは単体のみならずビスオキシド (2量体) や多種類のポリマーとして存在するものと思われる [26-30, 50]。

2.2.6. 細胞内オルガネラの構造や機能への影響

ゴルジ体の特異的層状構造は蛍光標識セラミドを用いて明示できるが、ジブチルスズのような集積した有機スズによって完全に破壊される。しかも、集積した有機スズは同時に脂質代謝の如きゴルジ体の機能、例えばグリコシルセラミドとスフィンゴミエリンへのセラミド代謝を有意に障害する [50]。これらの結果は有機スズによるゴルジ機能の抑制がゴルジ体構造の破壊に起因していることを示している。

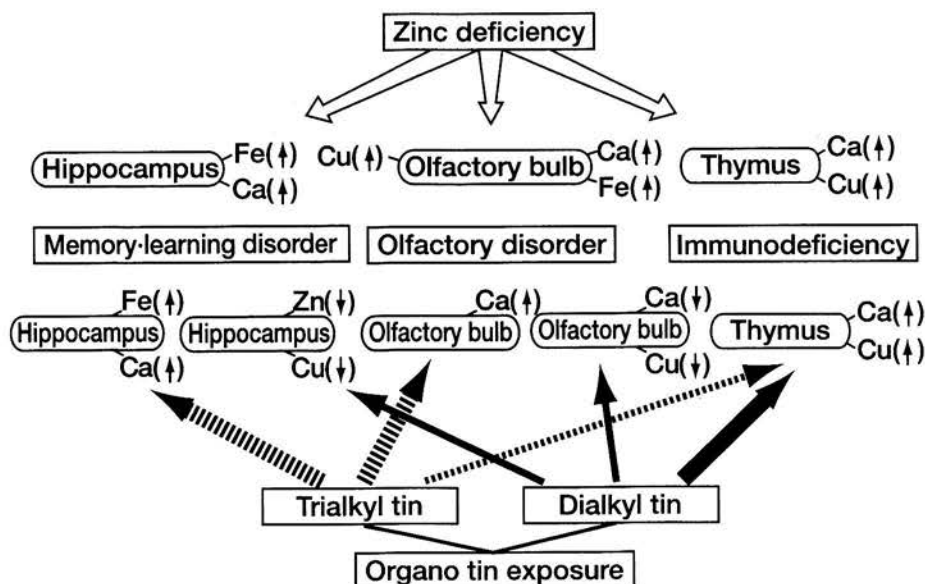


Fig.5. Disturbance of the trace element homeostasis and symptoms manifestation of disease.

全く同様に、小胞体に集積したジブチルスズのような有機スズは小胞体の特異的細網構造を選択的に破壊する。小胞体ネットワークは末梢から収縮し、大きな偏平嚢が形成される。そして同様に、集積した有機スズはイノシトール三リン酸 (IP_3) 作動による細胞内カルシウム動員化の如き小胞体機能を阻害する [50]。この阻害は小胞体膜構造の変化あるいは破壊によるものと思われるが、モノブチルスズ、テトラブチルスズでは小胞体の構造や機能に全く影響を与えない。以上のゴルジ体や小胞体において観察される結果から、有機スズの各オルガネラに対する作用は、主にそれらの疎水親和性 (lipotrophy) とくにそれらの側鎖の数や長さなどにより性格づけられる細胞内分布に依存しているように思われる。[26-30, 50]

2.2.7. リン脂質膜の物性に対する影響

オルガネラ間のリン脂質輸送の活性化は膜の物性に影響される。とくに、ゴルジ体や小胞体のリン脂質は、ベシクル (vesicle) の形でベシクル出芽や融合によってプラズマ膜へ輸送されると考えられる。しかるに、ジブチルスズのような有機スズは種々のリン脂質ベシクルのメンブレンオーダー (membrane order) に顕著に影響する。とくに、ジブチルスズはホスファチジルイノシトールリン酸 (PIP_1) やホスファチジルイノシトール二リン酸 (PIP_2) のベシクル膜に対して、他のリン脂質ベシクル膜に対するよりもはるかに強い“オーダーリング (ordering) 効果”を示す。しかも、この効果は量依存性である [51-53]。この知見は後述のホスファチジルイノシトール (PI) 代謝回転に対するジブチルスズの阻害機序の糸口を供給しているように思われる。というのは PIP_2 はイノシトールリン脂質の代謝回

転を引き起こす最初の標的である。すなわち、 PIP_2 はホスホリパーゼCによってジアシルグリセロール (DG) とイノシトールリン酸あるいはイノシトールポリリン酸へ加水分解される基質である。

3. 生体内微量元素バランスの攪乱による病的老化

亜鉛欠乏あるいは有機スズ暴露に伴って、生体内の微量元素バランスは著しく変動する (Fig.5)。亜鉛欠乏では、胸腺においてカルシウム、銅の過剰蓄積、海馬において鉄、銅の過剰蓄積、嗅球においてカルシウム、銅、鉄の過剰蓄積、嗅上皮においてカルシウムの過剰蓄積、脳脊髄液においてカルシウムの過剰蓄積がみられる。また、有機スズ暴露ではジアルキルスズの場合、胸腺においてカルシウム、銅の過剰蓄積、海馬において亜鉛、銅の著減、嗅球においてカルシウム、銅の著減が、トリアルキルスズの場合、胸腺においてカルシウム、銅の過剰蓄積、海馬において鉄、カルシウムの過剰蓄積、嗅球においてカルシウムの過剰蓄積などがみられる。これらの知見の中で、とくに注目すべきことは亜鉛欠乏においても、また有機スズ暴露においても類似の症状を発現する臓器：胸腺、海馬、嗅球において、カルシウムや銅、鉄などの遷移金属の過剰蓄積が共通にみられることである。最近、カルシウムの過剰蓄積がエンドヌクレアーゼなどを活性化してアポトーシスを誘導することや、鉄の過剰蓄積が活性酸素の生成を促進し、酸化ストレスの系を介してアポトーシスを誘導することなどが解かってきており、これらの過剰蓄積がそれぞれの部位での細胞毒性や機能障害、あるいは症状発現の誘発に関与している可能性も十分考慮に入れなければならない (Fig.6)。

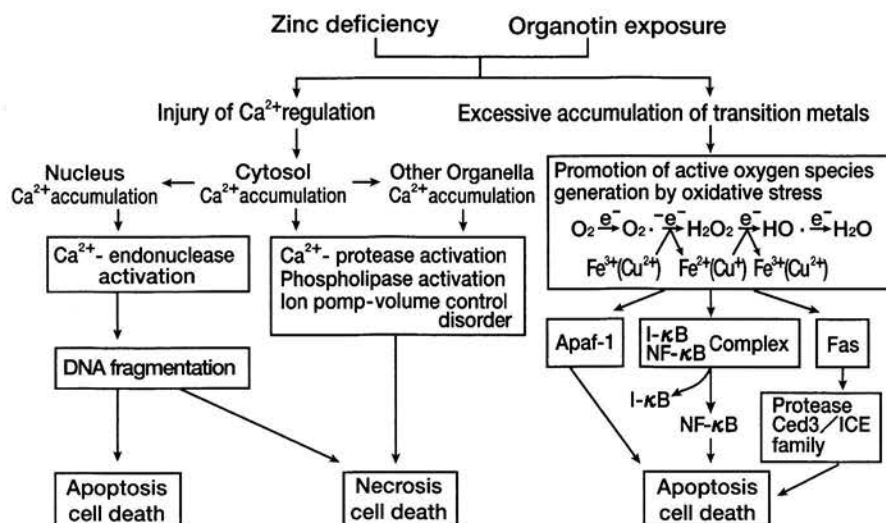


Fig.6. Excessive accumulation of trace elements and cell death.

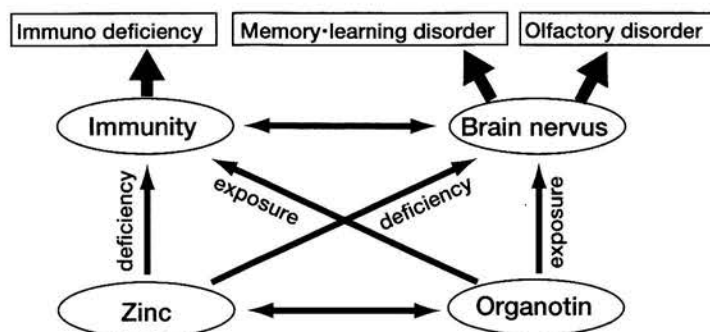


Fig.7. Common process and contact of symptoms manifestation and morbid aging between immunity and brain nervous induced by zinc deficiency as an endogenous factor and organotin exposure as an exogenous factor.

4. 老化プロセスの接点

以上、金属欠乏の代表例として内在的因子である「亜鉛欠乏」および金属過剰の代表例として外来的因子である「有機スズ暴露」という2つの相反する環境因子を用いて、免疫系における生理的老化においても病的老化においても共通にみられる現象、すなわち「胸腺の萎縮とそれに伴うT細胞性免疫能の低下」を発症させ、その機序を増殖、分化、細胞死の領域から比較・考察してみた。これらの発症機序あるいは発症要因の中に病的老化のプロセスが、あるいはプロセスとの接点が必要潜在しているはずである。事実、亜鉛欠乏と有機スズ暴露という2つの相反する環境因子により共通の現象が誘発されること自体、そこには重複する共通のプロセスあるいは接点が存在していることになる (Fig.7)。そして、双方で共通にみられる要因の中で、生体に不利な反応または物質の蓄積、例えば「カルシウム、銅、鉄など金属の過剰蓄積」、「情報伝達の誤り」なども「老化を誘発する不利効果の蓄積」の一つと見なすこと

は出来ないだろうか。そしてまた、有機スズ暴露にみられる「ジブチルスズの場合の一過性の胸腺萎縮」と「トリブチルスズの場合の持続性の胸腺萎縮」との間に明らかに老化プロセスの違いがみられる。前者を「一過性老化促進」、後者を「生理的老化促進」と当てはめてみるのは穿った見方であろうか。

文 献

- 1) Lamb MJ : Biology of aging, Blackie, London, 1977.
- 2) Hirokawa K, Sato K, Makinodan T : Influence of age of thymus grafts on the differentiation of T cell in nude mice. Clin Immunol Immunopathol 24 : 251-262, 1982.
- 3) Inoue T, Out S : Statistical analysis of the organ weights in 1,000 autopsy case of Japanese aged over 60 years. Acta Pathol Jpn 37 : 343-359, 1987.

- 4) 和田攻, 荒川泰昭, 阿部哲昭: 微量金属と健康. ファルマシア 21(5): 407-413, 1985.
- 5) 和田攻, 荒川泰昭, 長橋捷: 微量元素およびビタミン欠乏と免疫不全. 免疫と疾患、国際医書出版、特集“続発性免疫不全症候群” 6 (6): 763-767, 1983.
- 6) 荒川泰昭: 免疫と亜鉛 (総説)、Gut Fronts, 協和企画通信, 4: 7-10, 1995.
- 7) Frost P, et al: The effect of zinc deficiency on the immune response. In Zinc Metabolism: Current Aspects in Health and Disease, ed by Brewer GJ, Prasad AS. New York, Alan R. Liss. Inc., 143, 1977.
- 8) Endre L, et al: Zinc deficiency and cellular immune deficiency in acrodermatitis enteropathica. Lancet 24: 1196, 1975.
- 9) 荒川泰昭、他: 胸腺における微量元素とT細胞の膜表面抗原の変化. Biomed Res Trace Elements 3(3): 319-329, 1992.
- 10) 荒川泰昭、他: 亜鉛欠乏による免疫不全と脱毛. 微量栄養素研究10: 39-47, 1993.
- 11) Gross RL, et al: Depressed immunological function in zinc-deprived rats as measured by mitogen response of spleen, thymus, and peripheral blood. Am J Clin Nutr 32: 1260-1265, 1979.
- 12) Haas S, et al: The effects of zinc deficiency on the immune response of A/J mice. Fed Proc 35: 659, 1976.
- 13) 荒川泰昭、他: 胸腺における微量元素とT細胞の動態. 微量栄養素研究8: 117-124, 1991.
- 14) 荒川泰昭: 栄養—評価と治療、特集“微量元素の評価”「微量元素の栄養状態の評価としての免疫能について」(総説). メディカルレビュー社、(大阪)、16(2), 73-83, (1999)
- 15) Zalewski PD, Forbes IJ, Giannakis C: Physiological role for zinc in prevention of apoptosis (gene-directed death). Biochem Int 24: 1093-1101, 1991.
- 16) Shankar AH, Prasad AS: Zinc and immune function: the biological basis of altered resistant to infection. Am J Clin Nutr 68: 447S-463S, 1998.
- 17) Sunderman FW Jr: The influence of zinc on apoptosis. Ann Clin Lab Sci 25: 134-142, 1995.
- 18) Buttkie TM, et al: Oxidative stress as a mediator of apoptosis. Immunol Today 15: 7-10, 1994.
- 19) Sandstead HH: Zinc in Human nutrition. In Disorders of Mineral Metabolism, Vol.1, ed by Bronner F, Coburn JW. New York, Academic Press, 93-157, 1981.
- 20) 荒川泰昭: 毒性試験講座10: 免疫毒性—金属—、東京、地人書館、119-143, 1991.
- 21) Alford RH: Metal cation requirements for phytohemagglutinin-induced transformation of human peripheral blood lymphocytes. J Immunol 104: 698-703, 1970.
- 22) Kirchner H, Ruhl H: Stimulation of human peripheral lymphocytes by Zn^{2+} in vitro. Exp Cell Res 61: 229-230, 1970.
- 23) Csermely P, Szamel M, Resch K, Somogyi J: Zinc can increase the activity of protein kinase C and contributes to its binding to plasma membranes in T lymphocytes. J Biol Chem 263: 6487-6490, 1988.
- 24) Andrew FG, John B, Elaine SG, Robert M: The regulatory domain of protein kinase C coordinates four atoms of zinc. J Biol Chem 267: 10193-10197, 1992.
- 25) Chandra RK, Heresi G, Au B: Serum thymic factor activity in deficiencies of calories, zinc, vitamin A and pyridoxine. Clin Exp Immunol 42: 332-335, 1980.
- 26) Arakawa Y: Chapter 10: Recent studies on the mode of biological action of the di- and tri-alkyltin compounds. Smith PJ (ed): Chemistry of Tin. Blackie Academic & Professional, an imprint of Chapman & Hall, Glasgow, U.K., 1997, pp 388-422.
- 27) Arakawa, Y: Cellular and biochemical aspects of antitumor activity of organotin compounds. Kumar Das VG (ed): Main Group Elements and Their Compounds. Narosa Publishing House, New Dehli, India, 1996, pp 422-445.
- 28) Arakawa Y, Wada O: Chapter 4: Biological properties of alkyltin compounds. Sigel H (ed): Metal Ions in Biological Systems, Volume 29; Biological Properties of Metal Alkyl Derivatives. Marcel Dekker Inc., New York, 1993, pp 101-136.
- 29) Arakawa Y: Chapter 23: Antitumor activity of organotin compounds and inhibition of membrane signal transduction. Kumar Das VG, Gielen M(ed): Chemistry and Technology of Silicon and Tin. Oxford University Press, Oxford, 1992, pp 319-333.
- 30) Arakawa Y, Wada O: Chapter 9: Suppression of cell proliferation by certain organotin compounds. Zuckerman JJ (ed): Tin and Malignant Cell Growth. CRC Press, Boca Raton, Florida, 1988, pp 83-106.
- 31) 荒川泰昭: 特集「有機スズにみる環境ホルモンの現状/編集者: 荒川泰昭」. Biomed.Res.Trace Elements 11(3): 一有機スズの生体機能への侵襲—免疫系・脳神経系・内分泌系—(総説). 259-286 (2000)
- 32) 荒川泰昭: 化学物質等による食中毒—スズ、有機スズ、厚生省生活衛生局監修: 食中毒予防必携. 日本食品衛生協会、東京、1998、181-199.
- 33) 荒川泰昭: 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. 産業調査会事典出版センター、東京、1994、368-376.
- 34) 和田攻、真鍋重夫、岩井秀明、荒川泰昭: 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 (総説). 産業医学 24(1): 24-54, 1982.
 - 35) 荒川泰昭: 金属. 毒性試験講座 10 「免疫毒性」. 地人書館、東京、1991、119-143.
 - 36) 荒川泰昭: 金属中毒. 栄養健康科学シリーズ「公衆衛生学」. 南江堂、東京: 1991、173-187.
 - 37) 荒川泰昭: 錫の生物活性と免疫 (総説). 産業衛生学雑誌 39: 1-20, 1997.
 - 38) Arakawa Y: Tin and Immunity - Review -. Biomed. Res. Trace Elements 6(2): 1-34, 1995.
 - 39) 荒川泰昭: 錫と免疫 (総説). 微量栄養素研究 11: 13-35, 1994. Proc of the 11th Sympo on Trace Nutrients Research. Kyoto, 1994, May 14.
 - 40) Arakawa Y: Tin and Immunity. Proc of the 12th World Meeting of the Organotin Environmental Programme (ORTEP) Association, Koriyama, 1994, October 27-29: pp 35-99.
 - 41) Snoeij NJ, Van Iersel AAJ, Penninks AH, Seinen W: Toxicity of triorganotin compounds; comparative in vivo studies with a series of trialkyltin compounds and triphenyltin chloride in male rats. Toxicol Appl Pharmacol: 81: 274-286, 1985.
 - 42) Arakawa Y, Yamazaki N, Yu TH: Effect of organotin compounds on the immune functions - Atrophy of thymus by di-n-butyltin dichloride. J Toxicol Sci 5(3): 258, 1980.
 - 43) Seinen W: Immunotoxicity of alkyltin compounds. Sharma RP(ed): Immunologic Considerations in Toxicology. CRC Press, Florida, 1981, pp 103-119.
 - 44) 荒川泰昭、和田攻: 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 136(3): 医歯薬出版、東京、1986、177-181.
 - 45) 鈴木浩史、大谷寧子、荒川泰昭、武内孝之、中野幸廣、中島晴信: 有機錫招来の胸腺萎縮における耐性と細胞死抑制因子の発現. 微量栄養素研究 17: 19-24, 2000.
 - 46) 村山奈穂、鈴木浩史、荒川泰昭: 有機スズ投与による胸腺萎縮とアポトーシス. 微量栄養素研究 18:53-56, 2001.
 - 47) Suzuki,H., Murayama,N., Yamaguchi,C., Ono, C., Ohba,R., Kuroda,M., Ohtani,Y., Nakano, Y., Takeuchi, T. and Arakawa,Y.: Calcium overload and apoptosis in the thymus induced by tributyltin exposure. KURRI Progress Report 2001,136(2002)
 - 48) 荒川泰昭、栗山孝雄、国友譲、他: 胸腺における微量元素とT細胞の膜表面抗原の変化. Biomed Res Trace Elements 3(3): 319-329, 1992.
 - 49) 荒川泰昭、室賀清美、小石秀夫、他: 胸腺における微量元素とT細胞の動態. 微量栄養素研究 8: 117-124, 1991.
 - 50) Arakawa Y, Iizuka T, Matsumoto C: Intracellular distribution of organotin compounds and its effects on the structure and function of organelles. Biomed Res Trace Elements 2(3): 321-326, 1991.
 - 51) Arakawa Y: Inhibition of phosphatidylinositol turnover by an organotin compound and the physical aspect. Main Group Metal Chemistry 12: 37-45, 1989.
 - 52) Arakawa Y: The inhibition, by organotin compounds in rabbit neutrophils, of the phosphorylation of lipocortin, a phospholipase inhibitory protein. Main Group Metal Chemistry 12: 31-36, 1989.
 - 53) Arakawa Y: Antitumour activity of organotin compounds and membrane-mediated inhibition of signal transduction leading to DNA synthesis. Main Group Metal Chemistry 17: 225-249, 1994.