

## 哺乳動物における有機スズの生殖毒性

鈴木浩史, 大谷寧子, 小野千春, 村山奈穂,  
山口千賀子, 黒田麻衣子, 大庭里枝子, 荒川泰昭

(静岡県立大学・食品栄養・公衆衛生\*)

### The reproductive toxicity of organotin on the mammalian species

Hirofumi SUZUKI, Yasuko OTANI, Chiharu ONO, Nao MURAYAMA, Chikako YAMAGUCHI,

Maiko Kuroda, Rieko OBA, Yasuaki ARAKAWA

*Department of Hygiene & Preventive Medicine,*

*Faculty of Health Science, The University of Shizuoka*

### Summary

Organotin compounds have been widely used as antifouling paints for ships. However, once these compounds are released into the aquatic environment, they act as environmental hazards. One of the well-known effects of organotin compounds is the endocrine-disrupting activity on marine snails. Tributyltin chloride (TBTC) has been shown to induce imposex in female gastropods, producing male genitals to female ones. However, the effects of organotin compounds on the reproduction of mammal are largely unknown. Here we demonstrate the toxicity of TBTC on mammalian reproduction. Histopathological examination of testes of rats treated with TBTC showed the loss of interstitial tissue. Histochemical staining showed the accumulation of organotin in the interstitial tissue. As there are leydig cells responsible for the production of androgens in the interstitial tissue, we examined the concentration of testosterone in the blood. The concentration of testosterone was decreased significantly by the TBTC administration. These results indicate that TBTC can act as toxicant to the mammalian reproduction system by damaging the leydig cells in the interstitial tissue and by which disturbing the production of testosterone.

有機スズ化合物は、藻や貝類などが船底へ付着するのを防ぐため、船舶の塗装剤の原料として広く用いられている。しかし、塗装に用いられた有機スズ化合物の一部は水中に溶出し、世界的規模の海洋汚染の原因となっている。トリブチルスズ (TBTC) は、巻き貝類の雌に雄の生殖器の形成を誘発する (インボセックス) 生殖毒性を持つことが知られている<sup>1)</sup>。本研究では、TBTCの哺乳動物に対する生殖毒性について調べるため、実験材料にラットを用いて、TBTC含有飼料の経口投与実験を行った。

### 実験方法

#### 1. 動物実験

Wistar系幼若ラット (雄性, 4週齢, 50 g前後) に塩化トリブチルスズ (tributyltin chloride; TBTC) を100 mg/kg含むNMF固形飼料を連続自由摂取させた。コントロール群には通常のNMF固形飼料を与えた。

---

\*所在地：静岡市谷田52-1 (〒422-8526)

## 2. 組織染色

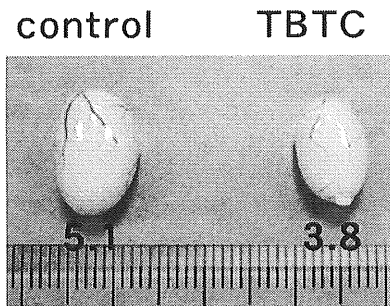
ラットを断頭によりと殺し精巣を摘出した。10 %ホルムアルデヒド溶液で組織を固定した精巣を用いてパラフィン包埋切片を作成した。組織切片を脱パラフィン処理した後、ヘマトキシリン・エオシン染色を行い、光学顕微鏡で観察した。

## 3. テストステロン濃度の測定

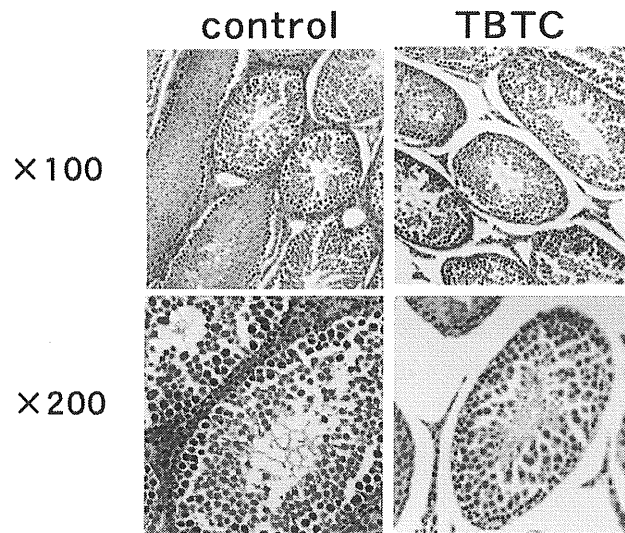
血中テストステロン濃度の測定は、Testosterone EIA Kit (cayman chemical社製) を用い、添付された説明書に従って行った。

## 結 果

Wistar系幼若ラットにTBTC含有飼料を1週間自由摂取させた。精巣を摘出し重量を測定したところ、TBTC投与群では精巣重量が減少していた (Fig. 1)。精巣の組織切片を作成し、ヘマトキシリン・エオシン染色した後、光学顕微鏡で観察した。コントロール群の精巣は、精細管の周囲は間質細胞により満たされていたが、TBTC投与群では間質細胞の多くが消失していた (Fig. 2)。



**Fig. 1** Oral administration of TBTC induces the atrophy of testes. Rats were treated with TBTC (100 mg TBTC/kg NMF food) for 1 week by free consumption. Testes were extracted and weighed. The numbers indicate the weights of testes per body weights (mg/g).

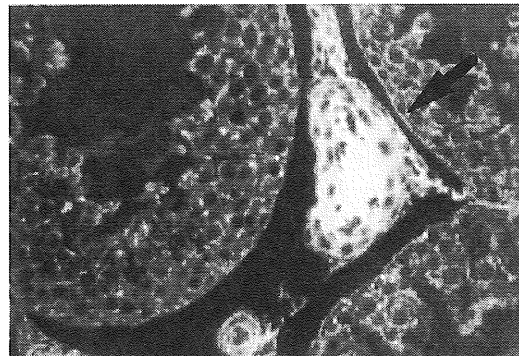


**Fig. 2** Histopathological analysis of testes of rats treated with TBTC-containing diet. Rats were treated with NMF food containing TBTC (100 mg/kg NMF food, left panels) or control food (right panels) for 4 days by free consumption. Testes were fixed by 10 % formaldehyde and stained by Hematoxylin and eosin.

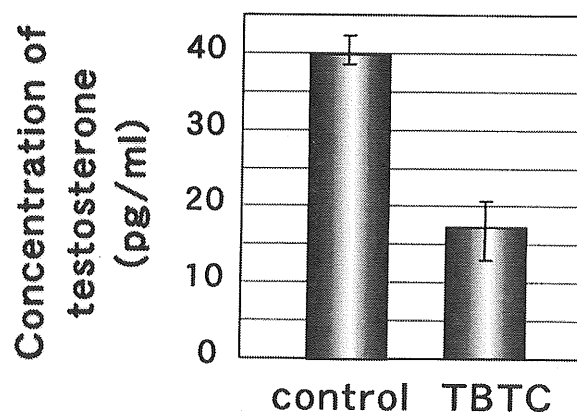
また、組織切片をモリン試薬により組織を染色した後、UV照射下で組織を観察したところ、有機スズ化合物の存在を示す黄緑色の蛍光は間質部に特に強くみられた (Fig. 3)。

間質に存在するライディッヒ細胞は、テストステロンを産生する細胞である。そこで、ラットの血液を採取し、血中テストステロン濃度を測定したところ、TBTC投与群では血中テストステロン濃度が減少していた (Fig. 4)。

以上の結果から、TBTCは、精巣の間質部位に蓄積することにより、細胞を傷害し、テストステロン生産を阻害すると考えられる。しかし、TBTCが間質部位に高濃度に蓄積する理由は不明である。また、TBTCがどのようにして間質細胞に毒性を示すかについては今後検討の必要がある。



**Fig. 3** Histochemical analysis of testes of rats treated with TBTC-containing diet. Rats were treated with TBTC-containing diet (100 mg/kg NMF food). Testes were extracted and fixed with 10 % formaldehyde and stained by molin reagent. Pictures were taken under the ultraviolet irradiation. Note that the strong fluorescence is seen in the interstitial tissue, which indicates the accumulation of organotin compounds (indicated by an arrow).



**Fig. 4** Concentration of testosterone in the blood. Rats were treated with TBTC-containing diet (100 mg/kg NMF food) for 1 week. Blood was taken and treated with 5 volume of ether. Samples were vortexed and ether fractions were transferred to the new tube. Ether was carefully evaporated in the decompression chamber. Concentration of testosterone was determined by "Testosterone EIA Kit" following the protocol provided in the same kit.

## 考 察

近年、有機スズ化合物の生殖毒性についていくつかの報告がされている。貝類を用いた研究では、雌貝のテストステロン濃度が投与するTBTCの濃度と投与期間に依存して上昇することが報告されている<sup>2)</sup>。雌貝にエストロゲンをアンドロゲンに変換するアロマターゼの阻害剤を投与すると、インボセックスが誘発できることから、TBTCはアロマターゼ活性を阻害することによりインボセックスを誘発することが示唆されている<sup>2)</sup>。また、ヒト胎盤由来細胞を用いた研究では、有機スズ化合物がアロマターゼ活性を阻害することが報告されている<sup>3)</sup>。ヒト前立腺ガン細胞を用いた研究では、有機スズ化合物がAR (androgen receptor) 依存で発現する遺伝子の転写を活性化するため、インボセックスが誘発される可能性を示している<sup>4)</sup>。

本研究では、TBTCの投与によりテストステロン濃度が減少する結果を得た。しかし、今回行った研究では雄性ラットに経口投与でTBTCを投与したという点で、生物種、性別、投与経路など実験条件において大きく異なる点があり、結果を一概にこれまでに報告されている事例と比較することは難しい。*In vitro*の実験系におけるTBTCの毒性評価は、分子生物学的な解析をするにあたり必要不可欠である。しかし、実験動物に経口投与でTBTCを投与した場合は、吸収、代謝、蓄積など複雑な要素が関与する。そのため、*in vitro*におけるTBTCの毒性評価と経口投与によるTBTCの毒性評価の比較は、今後、注意深く検討していく必要があると思われる。

## 文 献

- 1) Horiguchi T, Hyeon-Seo C, Shiraishi H, Shibata Y, Soma M, Morita M, Shimizu M. (1998): *Sci Total Environ.* 214: pp 65 - 70.
- 2) Bettin C, Oehlmann J, Stroben E. (1996): *Helgol-lander Meeresun.* 50: pp 299 - 317.
- 3) Dagmar DH., Stephan S, Dietrich K. (2001) *Steroids.* 66: pp 763 - 769.
- 4) Yamabe Y, Hoshino A, Imura N, Suzuki T, Himeno S. (2000): *Toxicology and Applied Pharmacology* 169: pp 177 - 184.