

in vitro 実験系を用いた有機スズ暴露による胸腺リンパ球の細胞死誘導メカニズムの解析

富山健一^{*1)}, 山口明子¹⁾, 佐山友里江¹⁾, 栗山孝雄¹⁾, 荒川泰昭¹⁾

(1) 静岡県立大学・生体衛生学)

当研究室では、有機スズが免疫系や脳神経系、内分泌系へ障害をもたらすことを見出しており、それらの発症メカニズムの解析を行ってきた。免疫系において、有機スズは選択的に胸腺萎縮を引き起こし、T細胞性由来の免疫不全を引き起こす。この有機スズによる胸腺萎縮はTリンパ球の細胞死によるものであるが、当研究室では連続暴露においてジブチルスズ (Bu_2Sn) とトリブチルスズ (Bu_3Sn) とではその胸腺萎縮の発現様態が著しく異なる。 Bu_2Sn 暴露では細胞死に対する耐性 (抑制因子) が発現し、胸腺萎縮は回復するが、 Bu_3Sn ではこのような回復は見られないなどその胸腺萎縮の発現様態が著しく異なることを見出している。in vivo による先行研究では、 Bu_2Sn 暴露の場合は主として caspase 非依存型細胞死 (ネクローシス) を誘発し、 Bu_3Sn 暴露の場合は caspase 依存型細胞死 (アポトーシス) を誘発することを明らかにしている。本研究では、胸腺リンパ球の細胞死のメカニズムをより詳細に検討するために、この発現様態が異なる Bu_2Sn と Bu_3Sn を用いて比較しながら解析した。

本実験ではまず、FACS を用いて Bu_2Sn ならびに Bu_3Sn 暴露後の細胞死の形態を評価した。その結果 Bu_3Sn ではアポトーシスを示し、 Bu_2Sn ではアポトーシスはほぼ見られずネクローシスを示した。次に caspase-8, -9, -3 の活性量を測定した結果、 Bu_3Sn 暴露において caspase-8, -9, -3 の著しい活性の増大が見られ、それに対し、 Bu_2Sn 暴露ではそのような活性は見られなかった。また、DNA 断片化を起こす CAD について、その発現の確認を行ったところ、 Bu_3Sn 暴露では CAD の強い発現が確認され、かつその活性抑制因子である ICAD の発現はほとんど確認されなかった。ちなみに、 Bu_2Sn 暴露では ICAD の発現が見られた。さらに、 Bu_3Sn 暴露において著しい caspase-9 の活性化が認められたことから、ミトコンドリアの関与が示唆された。そこで、ミトコンドリアの機能評価を WST-8 assay により、caspase 活性化の関与について cytochrome *c* の発現を検討した。その結果 Bu_3Sn 暴露 10 分後から、ミトコンドリア機能が失われ、また、両有機スズとも暴露 10 分後には cytochrome *c* の発現が見られ始めたが、その発現量は Bu_3Sn 暴露において著しく高く、 Bu_2Sn 暴露では低かった。これらの結果より、ミトコンドリアの機能低下および cytochrome *c* の遊出はかなり早い段階から起こっており、 Bu_3Sn 暴露における細胞死誘導経路はミトコンドリアを起点としていることが示唆された。

以上の結果から Bu_2Sn 暴露では caspase 非依存型細胞死、 Bu_3Sn 暴露では caspase 依存型細胞死が主であることが明らかとなった。 Bu_2Sn 暴露による caspase 非依存型の細胞死誘導メカニズムについては目下検討中である。