

蛍光X線分析による有機スズ化合物の組織局在と毒性発現における 意義の解明

Application of XRF of Tin in Animal Tissues on Organotin Toxicity

武田（本間）志乃^a、上野俊治^b、西村義一^a、渡辺嘉人^a、湯川雅枝^a、寺田靖子^c
Shino Homma-Takeda^a, Shunji Ueno^b, Yoshikazu Nishimura^a, Yoshito Watanabe^a, Masae Yukawa^a,
and Yasuko Terada^c

^a放射線医学総合研究所、^b北里大学獣医畜産学部、^cJASRI

^aNational Institute of Radiological Sciences,

^bSchool of Veterinary Medicine & Animal Sciences, Kitasato University, ^cJASRI

有機スズ化合物は防汚塗料として広く使用され、近年、それに伴う海洋汚染が危惧されている。本研究では、ジブチルスズの腎毒性発現とスズの細胞特異的な蓄積との関係を明らかにする目的で、ジブチルスズをばく露した動物の腎臓切片についてマイクロビームを用いた蛍光X線イメージングを試みた。ジブチルスズを投与すると、スズは腎臓髄質よりも皮質に高く、皮質においては尿細管のみならず糸球体でもスズが検出された。また、本法による精巣の細胞選択的なスズの検出についても試みた。

Organotin compounds were used widely for anti-fouling paints and their contamination into marine sediments is of recent concern. In the present study, SR-XRF imaging with micro-beam was employed for renal sections obtained from the animals exposed to dibutyltin chloride to reveal the cell-specific accumulation of tin in dibutyltin-promoted nephropathy. Tin was high in the renal cortex than medulla after administration of dibutyltin chloride. In the renal cortex, tin was detected in the glomeruli as well as renal tubules. The micro-beam technique was also applied for cell-selective determination of tin in testis of the animals exposed to tributyltin chloride.

はじめに

有機スズ化合物は船底塗料や魚網防汚剤として広範に使用され、近年、それに伴う海洋汚染が世界的に危惧されている環境化学物質である。哺乳動物においては、有機スズ化合物の曝露により肝臓、腎臓、脾臓および生

殖毒性を呈することが示されている^{1, 2)}ものの詳細な作用機序は解明されていない。その要因の一つとして、スズは汎用の分析手法では感度の高い分析が困難な元素であるため、微細な組織分布に関する研究はほとんどなされていないことが挙げられる。有機スズ化

物による毒性影響が示されている脾臓や腎臓、精巣などの臓器は、複数の種類の細胞から成る複雑な構造をしている。有機スズ化合物の詳細な毒性作用メカニズムを解明するためには、細胞によるスズの分布違いとスズの標的細胞（スズに対する感受性細胞）との関係を明らかにする必要がある。

組織中に数 ppm 程度含まれるスズを感度よく検出するためには、スズの $K\alpha$ 線を利用した蛍光 X 線分析が望ましい。そこで、SPRING-8 生体微量分析ビームライン (BL37XU) において有機スズ化合物を投与した動物の腎臓および精巣について微小ビームを用いた蛍光 X 線イメージングを試みた。

実験

マウスあるいはハムスターに塩化ジブチルスズを 180 または 360 $\mu\text{mol/kg}$ の割合で経口 1 回投与した。24 時間後に屠殺し、腎臓を摘出、パラフィン包埋後、6 μm と 1 mm 厚の測定試料を作成した。一方精巣については、ラットに塩化トリブチルスズを 45 $\mu\text{mol/kg}$ の割合で経口 3 回投与した。最終投与 24 時間後に屠殺し、精巣を摘出した。直ちに OTC コンパウンドで包埋、液体窒素にて凍結し、30 μm 厚の測定試料を作成した。

測定は BL37XU の蛍光 X 線測定システムを用いて行った。試料からの蛍光 X 線の検出には Si(Li)-SSD を用い、大気中で測定した。

結果および考察

有機スズ化合物による腎毒性モデルについて、腎臓内のスズの分布を調べた。塩化ジブチルスズを投与した場合、スズは腎臓髄質よりも皮質に高く蓄積していた。さらに、皮

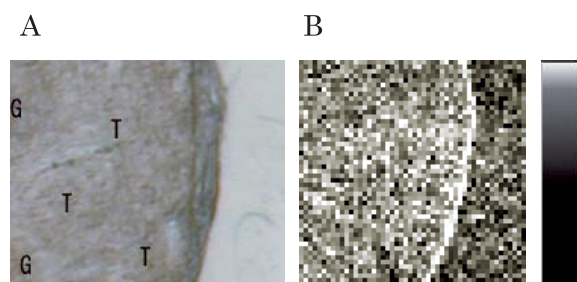


Fig. 1. Sn distribution in kidney of the hamster exposed to dibutyltin chloride. A, photograph of the specimen (6 μm); B, XRF imaging of Sn of renal specimen obtained at 24 hr after oral injection of dibutyltin chloride (360 $\mu\text{mol/kg}$). G, glomerulus; T, renal tubule. Measurements condition was as follows; energy of X-rays, 37.5 keV; beam size, 3 μm^2 ; step size, 10 μm ; counting time, 10 sec per point. The Sn concentration of the specimen was 6.7 $\mu\text{g/g}$ of wet tissue.

質について詳細に調べてみると、スズは尿細管ばかりでなく糸球体にも分布していた (Fig. 1)。この傾向は、尿細管に特異的に蓄積して腎毒性を呈する無機水銀の分布³⁾と大きく異なり、ジブチルスズによる腎毒性メカニズムは無機水銀とは異なることが推測された。

精巣の精細管上皮では生殖細胞が系統だった分裂・分化を経て精子形成が行われている。各段階の生殖細胞はストレスに対する感受性に違いがあり^{4, 5)}、ダメージを受ける生殖細胞の種類により精巣の病態像は大きく異なることから、有機スズ化合物の精巣毒性の作用機序を明らかにするためには、細胞ごとのスズの動態を把握することが重要である。精巣切片を観察すると、精細管上皮の外側から精原細胞、精母細胞、精子細胞、精子と配列しており、生殖細胞の形態的特長から成長段階 (ステージ) が判別できる。我々はこれまで、精細管をステージごとに分画してその微量元素含量の差異を調べてきたが^{6, 7)}、ナノビームを用いた蛍光 X 線分析を利用すると、さらに目的細胞について選択的にスズを検出

することができる利点がある。

トリブチルスズを曝露したラット精巣の精子形成段階の最終段階であるステージ VIII の精子に照射したところ、スズが検出された。すなわち、通常精原細胞から精子になるまで 60 日あまりを要するが、トリブチルスズの場合は、最初の投与からわずか 4 日後にスズが精子に移行していたことが判明した。

今後の課題

スズの細胞特異的な蓄積と有機スズ化合物の毒性影響との関係を論じるためには、より広範な組織情報を入手し、さらにばく露量の違いや経時的な変化を捉える必要がある。そのためには、検出感度を高め、分析時間の短縮化が望まれる。

参考文献

- 1) Ueno S. *et al.*, *Toxicol. Sci.* **75**, 201-207, 2003.
- 2) Ueno S. *et al.*, *Arch. Toxicol.* **77**, 173-181, 2003.
- 3) Homma-Takeda S. *et al.*, *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **7**, 179-187, 1999.
- 4) Homma-Takeda, S., *et al.*, *Toxicology* 2001; 169: 25-35.
- 5) Homma-Takeda, S., *et al.*, *Free Rad. Res.* 2002; 36: 555-566.
- 6) Homma-Takeda S. *et al.*, *Int. J. PIXE* **11**, 103-110, 2001.
- 7) Homma-Takeda S. *et al.*, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **259**, 521-525, 2004.

論文発表状況

[1] S. Homma-Takeda, Y. Nishimura, Y. Terada, S. Ueno, Watanabe, and M. Yukawa: 9th International Conference on Nuclear Microbeam Technology and Application（発表予定）