

## ヒト副腎由来 H295R 細胞のコルチゾール産生に及ぼす 各種有機スズ化合物の阻害効果

篠田 聡<sup>a</sup>、大野修司<sup>a</sup>、藤巻照久<sup>b</sup>、中澤裕之<sup>a</sup>、牧野恒久<sup>c</sup>、中陳静男<sup>a</sup>

<sup>a</sup>星薬大・薬、<sup>b</sup>神奈川県衛生研究所、<sup>c</sup>東海大・医

我々はヒト副腎由来の H295R 細胞をヒトステロイドホルモン産生細胞のモデルとして用い、メチルスズ、ブチルスズ、オクチルスズおよびフェニルスズを含む 17 種の有機スズ化合物曝露によるステロイドホルモン、特にコルチゾール産生に及ぼす影響を検討した。

実験には H295R 細胞を 24well のプレートにサブカルチャーし、80%コンフルエントの状態では検体を添加し、さらにステロイド合成を誘導するためにジブチリル cAMP を添加した。一定時間後に培養上清に分泌されるコルチゾールを RIA により測定し、対照群と比較した。同時に、培養上清に逸脱する LDH 活性と細胞の総蛋白質量を測定して、細胞に対する毒性の指標とした。コルチゾール合成に参与する各種酵素、P450scc (CYP11A)、 $3\beta$ -HSDtype II、P45017 $\alpha$  (CYP17)、P450c21 (CYP21B)、および P45011 $\beta$  (CYP11B1) の酵素活性は、放射性ステロイドを基質として、H295R 細胞から調製したミトコンドリア及びミクロソーム酵素を使用して測定した。

多くの有機スズ化合物は  $10\ \mu\text{M}$  以上の曝露により毒性が認められ、コルチゾール産生が阻害された。しかし、毒性の認められない濃度 ( $1\ \mu\text{M}$ ) 以下の曝露において、酸化トリブチルスズ、塩化トリブチルスズ、および二塩化ジブチルスズは H295R 細胞の産生するコルチゾール産生を有意に阻害した。次にコルチゾール合成に参与する 5 種類の酵素に対する活性阻害について検討した。その結果、酸化トリブチルスズ、塩化トリブチルスズ、および二塩化ジブチルスズは  $1\text{-}3.1\ \mu\text{M}$  の濃度で P450c21、P45011 $\beta$  活性を有意に阻害した。

### Inhibitory Effect of Various Organic Tin Compounds on Cortisol Production in Human Adrenocortical H295R Cells

Satoshi Shinoda<sup>a</sup>, Shuji. Ohno<sup>a</sup>, Teruhisa Fujimaki<sup>b</sup>, Hiroyuki Nakazawa<sup>a</sup>, Tsunehisa Makino<sup>c</sup> and Shizuo Nakajin<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hoshi University, Tokyo 142-8501, <sup>b</sup> Kanagawa Prefectural Public Health Laboratory, Yokohama, 241-0815, <sup>c</sup> Tokai University School of Medicine, Kanagawa, 259-1143, Japan

We investigated the inhibitory effects of 17 organic tin compounds on steroidogenesis, especially cortisol production, by human adrenocortical H295R cells as a model of human steroidogenic cells. Bis(tributyltin)oxide, tributyltin chloride and dibutyltin dichloride produced a significant decrease in the dibutyl cAMP-stimulated cortisol secretion. Reductions in cortisol production by these compounds exposure were dose-dependent at the concentration of 0.1 to  $1.0\ \mu\text{M}$ . To elucidate the inhibitory effects of these compounds on cortisol production from H295R cells, the effects of these chemicals on various steroidogenic enzymes, such as P450scc(CYP11A),  $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type II, P450c17(CYP17), P450c21(CYP21), P45011 $\beta$  (CYP11B1), were investigated. Bis(tributyltin) oxide, tributyltin chloride and dibutyltin dichloride significantly inhibited cytochrome P450s such as P450c21, and P45011 $\beta$  at the concentration of  $1\text{-}3.1\ \mu\text{M}$ .