

タバコ主流煙成分が胎仔細胞増殖に及ぼす影響

熊本大学教育学部看護課程 ○前田 ひとみ
熊本大学医学部解剖学第三講座 桑名 貴

妊娠中の母親の喫煙により、血中のニコチン、HbCO、シアン化合物が増加するために、胎児の発育不全や先天異常が起こることが報告されている。我々はこれまでに、ニワトリ白色レグホンR種の胚にタバコ主流煙抽出液(TS)とニコチン水溶液(NI)を投与する実験で、①始原生殖細胞はTSの方がNIより高率に移住ルートからはずれること、②腎、肺細胞ともにTSの方がNIより細胞増殖に対する抑制効果が大きく、特に腎細胞に対するTSの抑制効果はニコチン以外の成分によって起こると考えられることを報告した。今回は、タバコの主流煙成分中のニコチンおよびニコチン以外の成分が初期胎仔由来の組織細胞に対して及ぼす影響をさらに追究し、よりヒト胚に近い動物実験系の検索を試みた。

研究方法

培養細胞は、フ卵11日目の白色レグホンR種ニワトリ胚、妊娠10日目のICRマウス胎仔、妊娠12週のヒト胎児の腎、肺組織をトリプシン処理し、採取した細胞を牛新生児血清を10%含む培養液を使用して、pH7.3、38℃、5%CO₂下で2日間単層培養した後、トリプシンで解離し、一定細胞数1シャーレとして培養を始める。対照液(培養液:CT)、タバコ主流煙2本分または5本分のTS、NIを使用して、38℃、5%CO₂下で、2日毎に各培養液の交換を続けながら、24時間おきにシャーレごとロスマン液で固定し、ヘマトキシレン染色を施して細胞数の変化を計測する。

一方、細胞表面の微細構造を調べるために、CT、TS、NIの投与後4時間目に2%グルタルアルデハイド、1%オスミック酸で二重固定し、脱水後、CO₂臨界点乾燥を行って、An-Pdイオンスパッタコーティングを施した後、走査型電子顕微鏡(SEM)で観察する。

結果および考察

(1) 肺細胞の増殖について

ニワトリ胚の肺細胞はTSの方がNIよりも、また5本分の方が2本分よりも増殖の抑制効果が大きい。マウス胚の肺細胞は、2本分ではTSもNIも同様の結果であるが、5本分ではNIの方が増殖の抑制効果が大きい傾向にある。

ヒト胚の肺細胞は、TSの方がNIより増殖抑制効果が大きい傾向にあり、2本分と5本分では差はみられない。

(2) 腎細胞の増殖について

ニワトリ胚の腎細胞は2本分ではTSもNIも差はみられないのに対し、5本分ではTSの方がNIより増殖の抑制効果が大きい。また、NIは2本分も5本分も差はないが、TSは5本分の方が2本分より増殖の抑制効果が大きい。

マウス胚の腎細胞は、肺細胞と同様に、2本分ではTSもNIも差はみられないのに対し、5本分ではNIの方がTSより増殖の抑制効果が大きい傾向にある。

ヒト胚の腎細胞の増殖抑制効果にはTSもNIも大きな差はみられない。

(3) SEMによる細胞表面の微細構造の観察

ニワトリ、マウス、ヒト胚の腎、肺細胞表面の形態に対する影響を見ると、いずれの場合もCTに比してNIは細胞表面の微絨毛の数が少なくなり、コブ状の突起物(blebs)が見られるようになる。TSではさらにこの傾向が強くなり、形態面からもNIよりTS処理が培養胚細胞に対して大きな阻害効果があることがわかる。

以上のことから、細胞の由来する臓器の違いや動物種によって増殖抑制効果が異なることがわかる。細胞の種類による結果の違いは、由来細胞の相違、もしくは細胞型の違いによると考えられる。

今回の結果から、①ニコチン単独よりもタバコ煙の方が細胞に及ぼす影響は大きく、②マウスの方がよりヒトに近い細胞増殖抑制効果のパターンが培養系で得られることがわかった。また、③ニワトリ胚細胞(特に腎細胞)は、タバコ主流煙の持つ細胞増殖阻害作用の強さを鋭敏に反映するために、違った意味で有用な系となり得る。