

CdCl₂投与ラットの組織障害とCa

佐二木順子

Relationship between Tissue Injury and Ca in Rats Administered CdCl₂

Junko SAJIKI

I はじめに

CdCl₂によるラットの精巣障害は、投与後早期に生ずる炎症が非常にdrasticであり、終局的には組織の機能喪失に陥る特異的な現象であることから、その中毒メカニズムに関して古くから研究されている。にもかかわらずCdCl₂投与直後にひき起こされる精巣の細胞レベルでの変化はもとより、組織レベルの障害発生因子の解明という点でも不明な事が多い。

著者らはすでにCdCl₂をラットに投与し、長期間飼育しておく、精巣の石灰化が進み組織中のCaおよびPの濃度が著しく高まること、この石灰化は投与後かなり早期に始まっている可能性を示唆した。¹⁾

今回は、Cd投与により惹起されるラット精巣へのCaの動員が障害の発症に関与しているか否か、又、重篤な障害が認められない肝臓その他の組織におけるCaの変動を調べるため、精巣障害をひき起こす量(高用量)ならびに障害をひき起こさない量(低用量)のCdCl₂を投与したラット組織中のCaの動態を調べ若干の知見を得たので報告する。

II 材料ならびに実験方法

体重200g前後のウィスター系雄ラットに高用量(5.0mg/kg)、ならびに低用量(1.0mg/kg)の塩化カドミウム(CdCl₂市販特級)を背側に一回皮下注射した。注射後6, 15, 24, 72, 360時間に各5匹ずつエーテル麻酔した後、殺処分し、各組織(肝臓、腎臓、精巣、大脳、大腿骨)を採取した。血清は心臓より採血した血液を遠心分離(2,000×g)した。

精巣については、既報²⁾に従い、炎症のパラメーターとして過酸化脂質量、ヘモグロビン量の測定を行なった。

各組織中のCa, Cdは、硝酸による湿式分解後、フレー

ム原子吸光にて測定した。

データはt検定により処理した。

III 結果

高用量群ラット精巣の肉眼所見は、既に報告したとおりであった。すなわち、Cd投与後15時間目から浮腫が生じ、24, 72時間目には激しい出血性の炎症に進展するが、360時間を経過すると、炎症は治まり組織の硬化が認められた。なお、炎症のパラメーターとしての過酸化脂質量、ヘモグロビン量についても既報¹⁾に記したと同じ傾向(精巣中で15, 24, 72時間目に有意な増加が認められるが、360時間を経過すると平常値に戻る)であった。

低用量群では、上記のような肉眼所見は360時間まで一切認められず、過酸化脂質量、ヘモグロビン量についても有意な変動はみられなかった。

高用量群の組織中Cd, Ca含量の経時変化についてはそれぞれFig. 1, 2に示した。Cd含量の変動については、既存の多くの報告^{3,4)}と同様、すべての組織でCd投与後増加し、とくに肝臓、腎臓における蓄積量は著しく高かった。Ca含量については、肝臓、腎臓で著変は認められなかった。しかし、激しい炎症が観察された精巣では、Cd投与後6時間目から値の増加が観察され、360時間目におけるCa含量は大腿骨におけるレベルとほぼ等しかった。一方、大腿骨中Ca含量は、24, 72時間目に増加したが360時間目には低下した。なお、360時間後の脳中Ca含量も有意に増加していた。血清中のCa含量には変動は認められなかった。

低用量群ラットの組織中Cd, Ca含量については、それぞれ、Fig. 3, 4に示した。Cdについては、高用量群と類似のパターンを示したが、肝臓のCd含量は、投与後72時間まで増加したのち減少した。大腿骨中Caについては、6, 15, 24時間目に増加が認められた。血清中のCaは24, 360時間後に有意な増加を示した。また、

障害の全く認められなかった精巣ならびに脳では、高用量群にみられた様な変化は全く観察されなかった。肝臓(15, 24時間)、腎臓(24時間)でやや増加が認められた。

IV 考察

Cd投与ラットにみられる精巣障害は、投与後初期における出血性の炎症にはじまり、その後組織の石灰化に移行し、精細管がCaで充満されるという重篤なものである。著者らは、Ca拮抗剤をCdと併用することにより、精巣炎症が軽減される⁹⁾ことを観察し、Caの精巣組織への移行が炎症の発生に何らかの役割を果たしているものと考えた。今回高用量のCdを投与したラットの精巣でごく早期(投与後6時間)にCa含量の増加が認められた事実は、すでに報告した²⁾炎症関連因子に変化がみられる時間(投与後15時間前後)以前にCaの精巣への動員が行なわれていることを示すものと思われる。また、低用量のCdを投与した場合、何ら炎症反応が認められず、Ca含量にも変化がみられなかった。重篤な障害の認められない肝臓、腎臓においては顕著なCaの変動は認められなかった。これらの結果は、Cd投与ラットの炎症の発生にCaが重要な役割を果たしているという上記の可能性を裏付けるものと考えられる。

Cd投与ラットのCa代謝異常については、イタイイタイ病患者の骨の異常⁹⁾が報告されて以来、多くの研究がなされている。とくに骨吸収、骨形成については数多くの報告^{7,8)}があるが、一般にCdは骨吸収を促進し、骨形成を抑えるものと考えられている。本実験結果によるとCd投与後360時間飼育した時点では骨中Caの低下が認められるものの、高低用量群ともに投与後初期の骨中Caは増加していた。また、血清中Caは、高用量群で不変、低用量群では高値を示した。通常、CdはCaの腸管からの吸収を妨げるため血清中Ca濃度は低下する^{9,10)}ものと考えられている。この様な矛盾については、投与量、期間等の違いが考えられる。腸管Ca吸収に抑制が見られるのは、10ppmのCdの3週間投与¹⁰⁾の様に比較的高濃度、長期投与の場合が多い。骨吸収に関してもCdの濃度によりその効果が異なるというin vitroの報告¹¹⁾があり、CdのCa代謝に及ぼす影響は、生体内のCd濃度により微妙に異なるものと思われる。

高用量投与ラットを360時間飼育した場合、精巣中Caは骨Caとほぼ同じレベルまで増加していた事実は、この時期前後に精巣内での石灰化が亢進していることを示している。この時期の骨中Caは有意なレベルに低下し

ており、生体内でのCa収支を考えると、骨中Caが精巣へ移行した可能性が大きい。精巣の石灰化のために骨中Caが低下したのか、Cdにより骨吸収が促進したためCa低下をひきおこしたのかさらに検討を要する。

ところで、精巣内石灰化のメカニズムを究明することは難しいが、現在までに骨以外の軟組織の石灰化については、動脈硬化¹²⁾や膀胱¹³⁾で研究されている。それによると、リン脂質、アルカリホスファターゼ、プロテオグリカン等がCaアパタイト形成上重要な因子と考えられている。実際、Cd投与直後(炎症反応が旺盛な時期)の精巣内pHは高まっており(未発表)アルカリホスファターゼ活性も有意に増加している¹⁴⁾ことが明らかである。また、Ca代謝に欠かせないCa結合蛋白は他組織に比べ精巣に多く含まれていることが知られている¹⁵⁾。以上のことを考慮すると、Cd投与ラット精巣内は、石灰化には好条件であるものと推察される。ここで、精巣と同様、脳内Ca濃度が増加していた現象も見逃せない。脳中におけるCa結合蛋白量は生体内で最も多く¹⁵⁾、Cd投与ラットの軟組織における障害を考える場合、Ca結合蛋白の役割は非常に興味深いものと思われる。ちなみに、Cdによる脳障害の報告としては、大脳、小脳障害が新生ラット、ウサギで認められたというGabbianiらの実験¹⁶⁾、神経節に出血性の病変をひきおこすというもの¹⁷⁾がある。

V まとめ

激しい炎症が観察された高用量Cd(5.0mg/kg)投与ラットの精巣におけるCaのとり込み量は他の臓器に比べ著しく多く、投与後360時間目のCa含量は大腿骨のレベルにまで達していた。この時期の大腿骨中Ca量は有意なレベルに低下しており、骨中から精巣へのCa移行の可能性が示唆された。なお、Cd蓄積量の多い肝、腎臓では、この様な現象はみられなかった。

一方、低用量Cd(1.0mg/kg)投与ラットの精巣には障害は認められず、精巣へのCaのとり込みも観察されなかった。

以上の結果から、一定量以上のCdがラットに投与された場合、精巣では無機物のバランスが著しく乱れ、とくにCaの異常流入が生ずる。この現象が障害発生に深く関係しているものと推察された。

VI 謝辞

本研究を遂行するにあたり、御援助を賜った食品化学研究室福島悦子主任研究員に謝意を表します。

VII 引用文献

- 1) 佐二木順子, 福田芳生 (1984) カドミウムによる精巣障害関連因子の経時的変化について, 衛生化学, 30, 177-182.
- 2) 佐二木順子, 福島悦子, 藤代良彦 (1983) カドミウムによる精巣障害発症過程における脂質過酸化の関与について, 衛生化学, 29, 389-393.
- 3) Lucis, O.J. and Lucis, R., (1969) Distribution of Cadmium 109 and Zinc 65 in mice of inbred strains, Arch. Environ. Health, 19, 334.
- 4) Nordberg, G. F. and Nishiyama, K., (1972) Whole body and hair retention of cadmium of mice, Arch. Environ. Health, 24, 209.
- 5) 佐二木順子, 福島悦子, 平井愛山, 田村泰, 吉田尚, (1985) CdCl₂によるラット精巣炎症に対するベラパミールの影響, 炎症, 5, 151-154.
- 6) Friberg, L., Piscator, M., Nordberg, G.F. and Kjellström, T., (木村正己訳), (1975) 環境中のカドミウム, 医歯薬出版, pp258-358.
- 7) 宮原龍郎, 狐塚寛, (1985) 培養骨におけるカドミウムの骨代謝に及ぼす作用及びカドミウムと銅, 亜鉛との相互作用, 衛生化学, 31, 59-71.
- 8) Miyahara, T., Komurasaki, T. Matsuzaki, Kozuka, H and Seta, S., (1980) Influence of poisonous metals on the bone metabolism., Eisei kagaku, 26, 167-173.
- 9) Bonner, F.W., King, L.J. and Parke, D.V. (1981), The acute and subacute effects of cadmium on calcium homeostasis and bone trace metals in the rat, J. Inorg. Biochem., 14, 107-114.
- 10) 細谷憲政, (1981) カルシウムとカドミウムの腸管吸収について, 衛生化学, 27, 1-15.
- 11) Miyahara, T., Miyakoshi, M., Saito, Y. and Kozuka, H., (1980) Influence of poisonous metals on Bone metabolism, Toxicol. Appl. Pharmacol., 55, 477-483.
- 12) Kim, K.M. (1976) Calcification of matrix vesicles in human aortic valve and aortic media, Federation Proc., 35, 156-162.
- 13) Callis, P.D. (1982) Bone development following transplant of urinary bladder wall : a quantitative histological and ultrastructural study, J. Anat., 135, 53-63.
- 14) 佐二木順子, 福島悦子, (1984) カドミウム投与ラットにおけるアルカリホスファターゼ活性の変動, 衛生化学, 30, 309-312.
- 15) 祖父江憲治, (1982) カルモジュリンの分布, 蛋白質核酸, 酵素, 27, 2201-2209.
- 16) Gabbiani, G., Baic, D and Deziel, C., (1967) Toxicity of cadmium for the central nervous system, Exp. Neurol, 18, 154.
- 17) Schlaepfer, W.W., (1971) Sequential study of endothelial changes in acute cadmium intoxication, Lab. Invest., 25, 556-564.

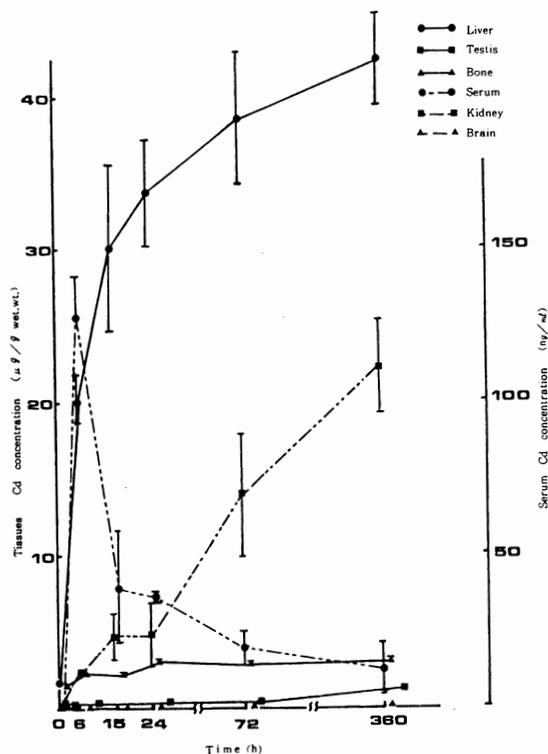


Fig. 1 Changes of Cd concentrations as a function of time in serum and various tissues in rats treated with high dose of CdCl₂.

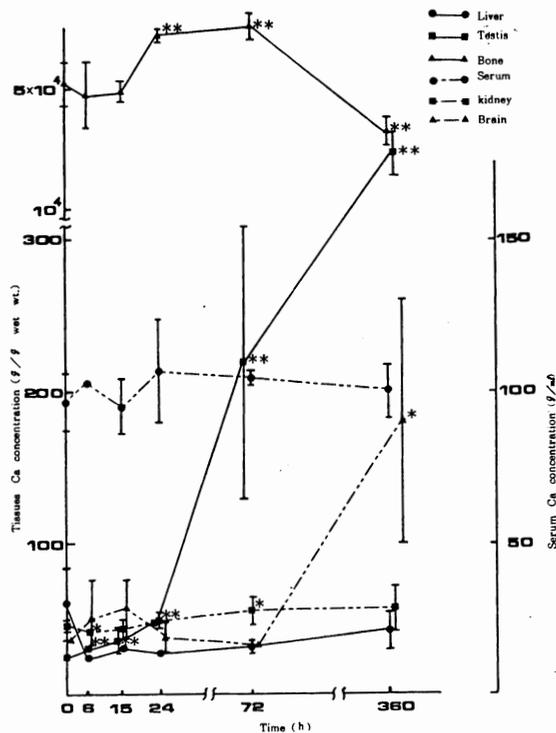


Fig. 2 Changes of Ca concentrations as a function of time in serum and various tissues in rats treated with high dose of CdCl₂. * * P<0.01 * P<0.05 as compared with 0 time.

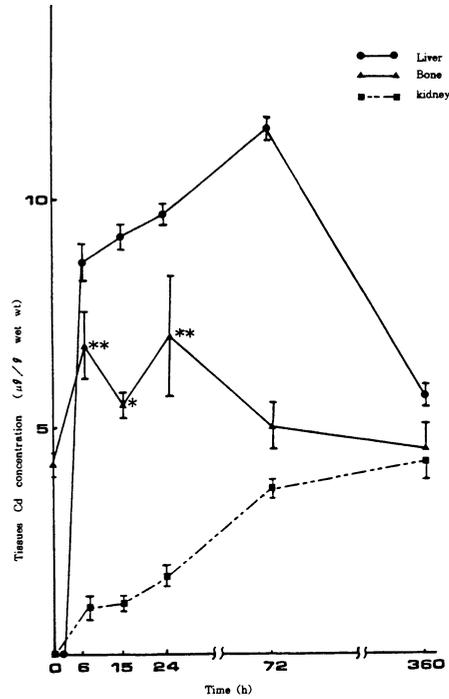


Fig. 3 Changes of Cd concentrations as a function of time in the liver, kidney and bone in rats treated with low dose of CdCl₂. As for the bone, data were analysed according to t-test, because Cd was detected at 0 time. **P<0.01 *P<0.05 as compared with 0 time. Cd was not detected in testis and brain at all the experimental time.

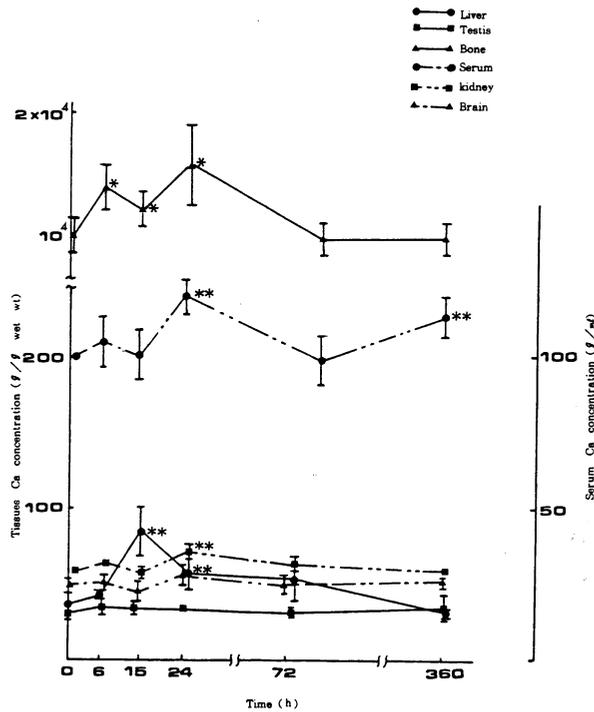


Fig. 4 Changes of Ca concentrations as a function of time in serum and various tissues in rats treated with low dose of CdCl₂. **P<0.01 *P<0.05 as compared with 0 time.