

Cd中毒ラットの臓器中過酸化脂質について

佐二木順子 福島悦子 福田芳生

Studies on Lipoperoxide Levels in Viscera of CdCl₂ Intoxicated Rats

Junko SAJIKI, Etsuko FUKUSHIMA and Yoshio FUKUDA

はじめに

Cd中毒の際、肺気腫¹⁾、肝²⁾、腎³⁾障害、精巣の壊死⁴⁾、高血圧⁵⁾等がひきおこされることは、すでに多くの報告より明らかである。

なかでも、Cdの精巣障害は、特徴的で、雄ラットに皮下又は経口投与すると、精巣ならびに精巣上体の一部にのみ出血性の炎症がひきおこされ、その障害は不可逆的なものである。

これら出血性変化については Gupta ら⁶⁾が、体外から carbon および蛍光ラベルの血清タンパクを投与した際、それらが血管から漏出する現象を観察し、血管透過性の亢進が Cd 精巣障害の第一段階であると述べている。又、Schlaepfer⁷⁾は、この血管透過性亢進について、spinal sensory ganglia の血管壁変化を電顕的に観察し、endothelial vascular lining の fragmentation ならびに denudation を確認している。

しかしながら、血管上皮細胞、精細管障害ならびに間質の線維化等、これら一連の変化の原因に関しては不明な点が多く残されている。

最近、各種疾患で各組織を構成している不飽和脂肪酸の過酸化という現象が深い意義をもつものとして注目されている⁸⁾。この過酸化脂質の生成は、生体内の重要な脂質や蛋白質を破壊して著しい害作用を示す。フリーラジカルによって惹起されることが明らかであり、中毒学分野においても詳細に検討が加えられている。

例えば、動物が O₃ (オゾン) あるいは、NO₂ に曝露された場合、肺に重篤な障害が生ずるが、この際、肺の過酸化脂質に増量が認められている⁹⁾。又、制ガン剤である Bleomycine により肺線維症がひきおこされるが、この病態にも過酸化脂質が関与しているという考え方が強く支持されてきている¹⁰⁾。

以上のような細胞レベルでの障害発症の考え方が Cd 中毒時観察される精巣障害にも適応されるものかどうかを確かめるため、精巣における過酸化脂質の測定を行ない、Cd 蓄積量との関係について他の臓器との比較を行なった。

材料ならびに実験方法

動物は体重 220g 前後のウィスター系成熟雄ラットを用いた。Cd は塩化カドミウムの水溶液 0.5mg/0.1ml, 1.0mg/0.1ml, 1.5mg/0.1ml をそれぞれ 3 群に皮下注射で与えた。投与量の設定は Parizek の報告¹¹⁾に準じた。各群、24時間、48時間、72時間目にそれぞれ 6 匹ずつ断頭屠殺を行ない、直ちに各臓器を取り出し、Faupel らの方法¹²⁾に従い、あらかじめ液体窒素で冷却したアルミ厚板を用い瞬間的に -80℃ 以下で圧延凍結し、使用時まで -70℃ 冷凍庫保存した。対象群は無処置のまま同様に断頭屠殺を行なった。

各群の臓器(肝、腎、精巣)につき Cd 含量、過酸化脂質の測定を行なった。

過酸化脂質の測定は、Ohkawa ら¹³⁾による TBA 法にもとずいて測定を行なった。ただし、標準物質としては、1, 1, 3, 3-テトラエトキシプロパン(東京化成 K. K.)を用い、95℃油浴中1時間反応を沸騰浴中1時間の条件で測定を行なった。この際、6nmole/0.2ml までは直線性が得られた。

臓器中 Cd の測定は、硝酸による湿式分解後、フレイム原子吸光法¹⁴⁾にて行なった。

各データの差の検定は、t 検定を用いた。

結果

今回の実験では、すでに 0.5mg 投与24時間後で、肉眼的に軽度ではあるが精巣の出血性炎症が認められ、時間の経過とともにその程度は強まった。又、投与量が増加

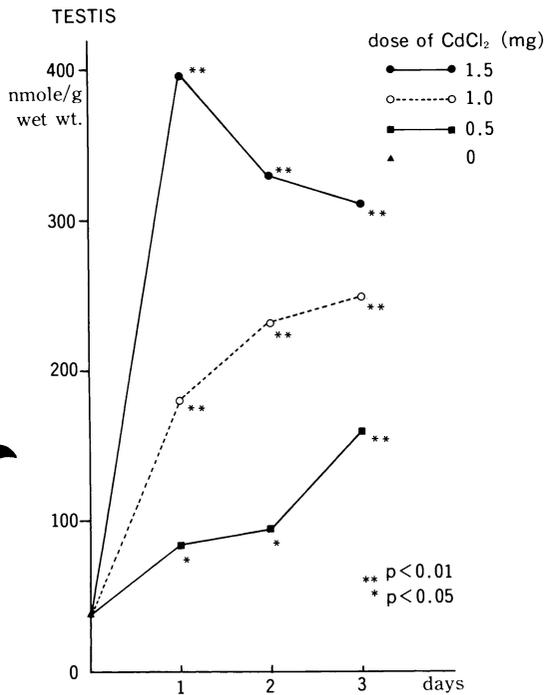


Fig. 1 Changes of lipoperoxide contents (TBA method) in testis after CdCl₂ injection

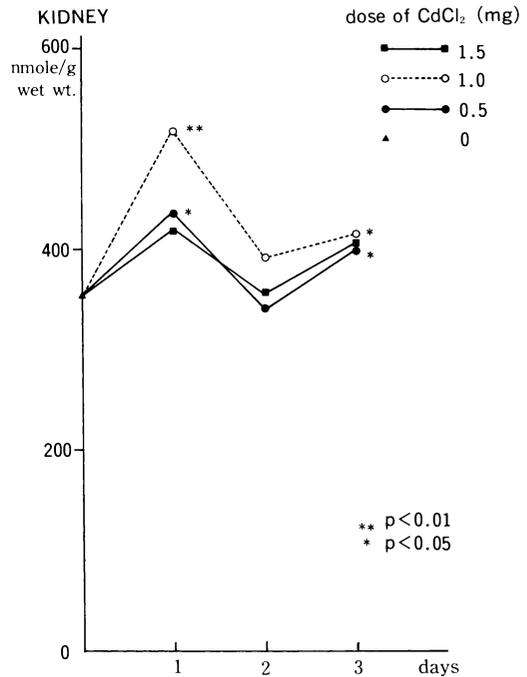


Fig. 3 Changes of lipoperoxide contents (TBA method) in kidney after CdCl₂ injection

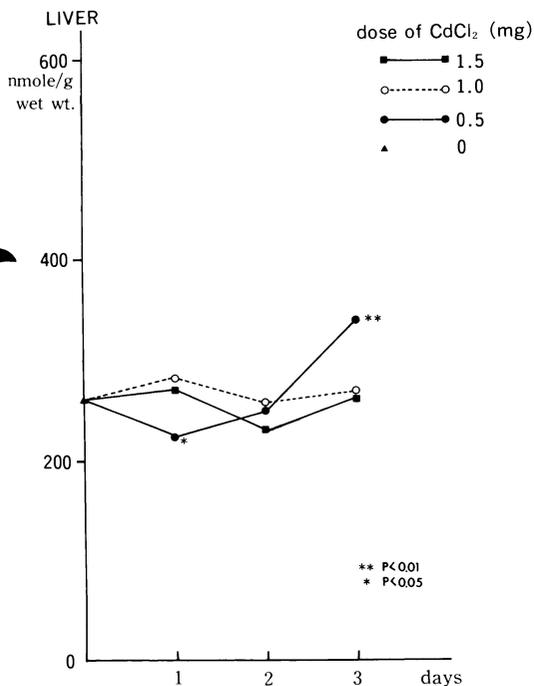


Fig. 2 Changes of lipoperoxide contents (TBA method) in liver after CdCl₂ injection

するに従い炎症は増強した。

臓器 (肝, 腎, 精巣) 中の過酸化脂質値を投与量, 経過時間ごとに図示した (図 1, 2, 3)。精巣においては, すでに 0.5mg 投与群 24 時間目で対象群とに有意差 ($P < 0.05$) が認められ, 時間とともに値の増加が明らかであった。又, dose response も認められたが, 各群における経過時間ごとの過酸化脂質の動態は若干異なっており, 0.5, 1.0mg 投与群では, 時間に比例して値が増加したのに反し, 1.5mg 投与群においては, 投与後早期に顕著な値の増加を認めたが, 時間とともに減少した。一方, 肝, 腎では dose response がみられず, 1.5mg 投与群の 72 時間目のものでは, 肝においては逆に値の減少が認められた。腎では, すべての群において 24 時間目に最高値を示した。

次に表 1 に各臓器中 Cd の含量を示した。対象群は, すべての臓器中に検出できなかったが, 肝, 腎においては, dose response が認められ, 時間とともに含量は増加した。しかしながら, 精巣においては, dose response は認められず, 0.5, 1.0mg 群では投与 24 時間目における含量が最も高く, 時間とともに減少した。

Table 1 Changes of Cd contents in viscera after CdCl₂ injection.

dose of administration	treated time	Liver	Kidney	Testis
0.5 mg	24 hrs	13.1 ± 11.4	3.7 ± 2.42	1.3 ± 1.40
	48 hrs	17.4 ± 3.24	6.9 ± 1.89	0.4 ± 0.04
	72 hrs	23.1 ± 8.1	12.2 ± 3.09	0.3 ± 0.05
1.0 mg	24 hrs	27.8 ± 6.71	7.2 ± 1.79	0.7 ± 0.08
	48 hrs	32.5 ± 3.75	12.7 ± 1.77	0.4 ± 0.04
	72 hrs	41.8 ± 4.05	18.5 ± 1.84	0.3 ± 0.05
1.5 mg	24 hrs	32.7 ± 6.37	11.4 ± 6.18	0.5 ± 0.08
	48 hrs	42.8 ± 13.09	25.8 ± 22.76	0.7 ± 0.34
	72 hrs	46.3 ± 4.76	31.6 ± 6.32	0.4 ± 0.10

考察

Cd 中毒の精巣障害に関し、その病態については、多くの報告より明らかであるが、それらをひきおこす原因については、未だ十分に解明されていない。とくに Cd の精巣への移行は、他の臓器に比べると非常に小さいのに反し、その障害は大きく、回復不可能な状態にまで進行すると言われている。我々の結果からも、Nordberg ら¹⁵⁾の報告したように、Cd の精巣への移行は明らかであった。しかしながら、肝、腎とは異なり dose response はみられず、Cd の精巣移行に関しては、regulation 機構が存在する可能性が示唆された。これに関しては、最近、精巣において blood testis barrier (BTB) の存在が明らかになっており¹⁶⁾、blood brain barrier (BBB) が脳を安全に保持するために存在するのと同様精子の形成能を維持する働きを示すことが判っているが、Cd 中毒の場合、これが病態に影響しているものかどうか不明である。Nordberg ら¹⁵⁾は、成熟マウスの脳に Cd が移行、蓄積したことを報告し、又、Lucis¹⁷⁾は、Cd が胎児ラットの BBB を通過しうることを認めた。現在のところ、精巣において Cd は間質組織で濃縮され、精上皮には検出されないことから、精細管には移行しないものと考えられている¹⁸⁾。

これまで、精巣障害の原因については、血管透過性の亢進¹⁹⁾、carbonic anhydrase 活性減少²⁰⁾、生殖上皮への直接障害⁹⁾等が考えられているが、これらの考えは、精巣障害時にみられるすべての現象を説明するには不十分である。今回の過酸化脂質値の有意上昇という現象が示すように、細胞レベルでの superoxide 説は、これらを補足するものと考えられる。

ここで問題になるのは、過酸化脂質が Cd 含量の高い肝では著明な変化をおこさず、一方、含量の低い精巣で顕著である理由である。これに関しては、ハローセン中

毒時、ハローセンそのものがラジカル反応を起こし、肝障害をひきおこす場合²¹⁾と異なり、Cd そのものがラジカル反応をおこすとは考えられず、精巣に特異的な現象と思われる。又、肝は精巣に比べ種々の解毒機構が備わっていることも今回の結果を生みだした原因と考えられよう。さらに、精巣における BTB の毒物阻止機構が、逆に局所的な Cd 濃度の上昇を引きおこし、高濃度の Cd が過酸化反応の触媒として作用したものと考えられる。

今後、Cd 精巣障害時の BTB の確認、ならびに精巣内の各部位における O₂分圧の測定は、これら Cd 中毒発現機構を究明する上で意義あるものと考えられる。

文献

- 1) Friberg, L. : Proteinuria and kidney injury among workman exposed to cadmium and nickel dust. J. Ind. Hyg. Toxicol., 30, 32, 1948.
- 2) Prodan, L. : Cadmium poisoning : II. Experimental cadmium poisoning, J. Ind. Hyg. Toxicol., 14, 174, 1932.
- 3) Wisniewska - knypl, J. M. Jablonska, J. and Myslak, Z., : Binding of cadmium on metallothionein in man : an analysis of a fatal poisoning by cadmium iodine, Arch, Toxikol., 28, 46, 1971.
- 4) Pařizerk, J., The destructive effect of cadmium ion on testicular tissue and its prevention by zinc, J. Endocrinol., 15, 56, 1957.
- 5) Schroeder, H. A. & Vinton, W. H., Hypertension induced in rats by small doses of cadmium, Am. J. Physiol., 202, 515, 1962.
- 6) Gupta, R. K., Barnes, G. W& Skelton, F. R, Light-microscopic and immunopathologic observations on cadmium chloride-induced injury in mature rat testis., Am. J. Path., 51, 191, 1967.
- 7) Schlaepfer, W. W., Sequential Study of Endothelial Changes in acute cadmium intoxication., Lab. Invest., 25, 556, 1971.
- 8) 今井陽, 自然界におけるフリーラジカル生成機構と生体への影響, 最新医学, 33, 654, 1978.
- 9) 森脇紀夫 : 非呼吸性肺機能に関する研究。とくに O₃ の肺組織 Na-k, ATPase および脂質におよぼす影響。日胸疾会誌, 11, 406, 1973.
- 10) 山中直樹, 加藤武俊, 大田和雄, : 癌と化学療法, 3, 1139, 1976.

- 11) Pafizek, J. & Zahor, Z., : Effect of cadmium salt on testicular tissue, *Nature*, 177, 1036, 1956.
- 12) Faupel R. P. : The problem of tissue sampling from experimental animals with respect to freezing technique, anoxia, stress and narcosis. *Arch. Biochem. Biophys.*, 148, 509, 1972.
- 13) Ohkawa, H, Ohishi, N & Yag : K : Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Anal. Biochem.*, 95, 351, 1979.
- 14) 環境汚染物質シリーズ, カドミウム, 日本化学会編, 丸善株式会社, PP. 65, 1977.
- 15) Nordberg, G. H. & Nishiyama, K., Wholebody and hair retention of cadmium in mice, *Arch. Environ. Health*, 24, 209, 1972.
- 16) Furuya, S. Kumamoto, Y., Mori, M. & Sugiyama, S., The blood-testis barrier. ed. by Hafez. E. S. E., Martinus Nijhoff publishers BV, Netherland, PP. 73, 1980.
- 17) Lucis, O. J., Lucis, R., and Shaikh, Z. A., Cadmium and zinc in pregnancy and lactation, *Arch. Environ. Health*, 25, 14, 1972.
- 18) Berlin, M. & Vllberg, S., The fate of ^{109}Cd in the mouse. An autoradiographic study after a single intravenous injection of $^{109}\text{CdCl}_2$, *Arch. Environ. Health*, 7, 686, 1963.
- 19) Clegg, E. J. & Carr, I., Changes in the blood vessels of the rat testis and epididymis produced by cadmium chloride. *J. Path. Bact.*, 94, 317, 1967.
- 20) Hodgen, G. D., Gomes, W. R, and Van Demark, N. L., In vitro and in vivo effects of cadmium chloride on isoenzymes of carbonic anhydrase in rat testis and erythrocytes, *Biol. Reprod.*, 2, 197, 1970.
- 21) 吉村望, 安達寛, 豊平均., Halothan 麻酔によると思われる術後肝障害の1例——還元型 glutathione および α -tocopherol による治験例——, *麻酔*, 26, 90, 1977.