Effect of Oral Administration of Copper Sulphate to Mice

Ryohei KOJIMA and Eiko TANAKA

Institute for Hygiene and Medical Microbiology of Toyama, Toyama

(Accepted for publication : May 24, 1973)

In mice oral administration of cadmium (Cd) resulted the increase of copper (Cu) concentration in kidneys as well as Cd concentration. To investigate the effect of Cu administration CuSO_4 at concentrations ranging from 0.006 to 1.6 % was orally administered to dd mice via drinking water for 15 days. No remarkable toxicity was observed at a concentration of 0.2 % or less, whereas slight and moderate toxicities were observed at 0.4 and 0.8 %, respectively. A concentration of 1.6 % was lethal. Tolerable concentration of Cu in the mouse liver was found to be approximately 4 times higher than that of the normal level. Relationship between the Cu concentration in drinking water and changes in body weight, bone weight, skin thickness and blood cell counts as well as changes in Cu and other heavy metal concentrations were discussed. [Exp. Animals, 22 (3), 247-250, 1973]

硫酸銅経口投与のマウスに及ぼす影響

小 島 良 平 ・ 田 中 英 子

富山県衛生研究所

著者らはさきにカドミウムを動物に経口的に与えると臓器内の Cu および Zn など他の重金属の分布に変化がおこることを観察した[1]。Cd と Cu の併用投与実験に先立って、マウスに硫酸銅を経口投与し、その毒性と Cu・Zn および Cd の臓器内分布の変化について観察した。

材 料 と 方 法

動物：体重 20 ± 1 gr の dd 系雄マウスを 1 群 5 匹として実験を行った。餌としてオリエンタル酵母の固型飼料 MF を自由に摂取せしめた。

硫酸銅：蒸留水で 1.6% 以下倍々稀釈し、0.006% までの各濃度のものをそれぞれガラスの給水ビンから自由に摂取させた。対照群には水道水を摂取させた。

摂水量：はじめの 4 日間の摂水量を測定し ml/日/匹 の値を算出した。

体重：村上式体重計で 5 日ごとに 15 日まで測定した。

尿検査：0 日と 15 日にコンビスチクス（エームス社）で糖と蛋白の検査をした。

皮膚の厚さ：実験終了時背正中部の肩甲骨よりやや尾側をつまみ上げ、ノギスで厚さを測定した（皮下脂肪を含め皮膚の厚さの 2 倍を測っている）。

臓器重量：実験終了後（15 日）、クロロホルムで動物を殺し、肝・腎・脾ならびに右大腿骨を摘出しメトラータ秤で測定した。

血液所見：15 日にノイバウエル氏血算板を用いて赤血球数を、またシアンメトヘモグロビン法（和光純薬キット使用）でヘモグロビン値の測定を行い色素係数を算出した。

重金属濃度測定：一群の各臓器をプールして臓器別に前報[1]の記載に従って湿式分解後、APDTC 法で重金属を抽出し、日立 208 型原子吸光装置を用いて Cu・Zn 及び Cd の濃度を測定した。

成 績

体重変化(図1)をみると、硫酸銅濃度が0.2%以下では一過性の発育促進がみられたが、0.1%以下では5日目に、0.2%では10日目に対照群よりも増加の傾向がみられた。0.4%以上では濃度に応じて体重減少がみられた。0.4%では10日目に体重は回復したが、0.8%では15日目でも回復せず、1.6%では体重は減少を続けながら17日目に全例死亡した。

尿糖は全例陰性であり、尿蛋白は表1に示したように、対照群に比べ CuSO_4 投与群は全て(+)以上の陽性を示し、0.1ないし0.2%では(+)のみを示す傾向がみられ、0.8%以上で(++)を示す個体がみられた。

剖見時の体重、臓器重量、皮膚の厚さ(皮厚と略す)を表2にまとめた。体重は0.025~0.05%の Cu 濃度を除き、濃度に応じて減少の傾向を示した。この内容を更に分析するために臓器別にみると、肝臓は0.006%でや

Table 1. Protein cocentration in urine

CuSO_4 concentration	Protein concentration*			
	±	+	+-	++
1.6	0	0	0	1
0.8	0	4	0	1
0.4	0	3	1	0
0.2	0	5	0	0
0.1	0	5	0	0
0.05	0	2	1	0
0.025	0	3	0	0
0.012	0	3	2	0
0.006	0	4	1	0
Control	3	2	0	0

(See Figur 1)

* Tested with Combistics (Ames Co., LTD.)

や肥大し、0.2%以上では濃度上昇に伴って減少し0.8%では64%となった。腎臓は0.05%においてわずかに増加を示し、0.8%で対照の79%に低下した。脾臓は0.2%ま

Fig. 1 Body wlight changes

での間は Cu 濃度と平行した重量増加がみられ、0.8%においては86%の重量を示した。骨重量は0.006~0.012%でごくわずかに減少し、また0.8%において80%の重量比を示したが、それ以外は殆ど対照群と変らなかった。なお0.025~0.05%群における後腹壁の脂肪沈着は対照群より良好であった。

皮厚は0.006~0.012%でわずかに減少し0.025%で対照群と等しくなったのち再び減少し0.8%では対照群の70%を示すようになった。

赤血球数並びにヘモグロビン量を表3に示す。Cu濃度にかかわらずヘモグロビン量はほぼ16 g/dl 前後に保たれており、赤血球は0.05%でやや増加し以後対照群と同じ値にもどる傾向を示した。血色素係数も著しい変動は示さなかったが1.6%に達すると明らかに低値を示した。

各臓器内重金属濃度を表4にまとめた。Cuについてみると肝ではCuSO₄ 0.2%で16.3 γ/gと対照群の約4倍となり0.8%では178.4 γ/gと著しく高い値を示した。腎では0.012%で12.5 γ/gと高値を示し、以後Cu濃度が上昇しても対照群と大差ない値にもどるのがみられた。骨ではCuは全く検出されなかった。Znについては肝臓でCu濃度の高くなるにつれてわずかな増加が認められたのみであり、腎では0.012%で23.9 γ/gとごくわずかに増加したのみであった。骨においてはCuSO₄ 0.05ないし0.2%でややZn含量の増加を示した。Cdに関しては骨では全く検出されず腎臓ではCuSO₄ 0.8%群のみ1.5 γ/g、肝臓ではCuSO₄ 0.006%投与群のみ0.3 γ/g検出された。Zn/Cuは肝臓ではCuSO₄濃度上昇につれて減少した他、腎の0.012%投与群において低値を示すのが注目された。

Table 2. Body Weight, Skin-thickness and Organ weight

CuSO ₄ concentration	Body weight	Skin thickness	Organ Weight			
			Liver	Kidney (bose)	Spleen	r-Femur
1.6 %	12 (40)	0.8 (60)				
0.8	19.2 (63)	0.94 (70)	1.190 (64)	0.437 (79)	0.101 (86)	0.110 (80)
0.4	26.0 (86)	1.12 (84)				
0.2	29.9 (99)	1.24 (93)	1.651 (89)	0.536 (96)	0.160 (136)	0.133 (97)
0.1	29.6 (98)	1.06 (79)				
0.05	31.0 (104)	1.26 (94)	1.883 (101)	0.611 (110)	0.130 (110)	0.139 (101)
0.025	31.5 (104)	1.34 (100)				
0.0125	27.9 (92)	1.16 (87)	1.776 (96)	0.562 (101)	0.126 (107)	0.130 (95)
0.006	27.9 (92)	1.12 (84)	2.136 (115)	0.549 (99)	0.123 (104)	0.130 (95)
Control	30.3 (100)	1.34 (100)	1.857 (100)	0.556 (100)	0.118 (100)	0.137 (100)

Table 3. Blood observation

CuSO ₄ concentration	No. Erythrocyte 10 ⁴ /mm ³	Hb g/dl	Color Index
1.6 %	1235	15.5	0.39
0.8	965	15.9	0.51
0.2	983	15.7	0.50
0.05	1060	16.2	0.48
0.0125	1036	16.4	0.50
0.006	980	16.1	0.51
Control	933	15.9	0.53

Table 4. Changes of heavy metal concentration in organs

Metals Organs		CuSO ₄ -concentration (%)					Control
		0.8	0.2	0.05	0.0125	0.006	
Cu	Liver	178.4 *	16.3 *	5.7 *	4.2 *	3.8 *	4.0 *
	Kidney	4.4	3.4	2.8	12.5	3.0	3.7
	Bone	0	0	0	0	0	0
Zn	Liver	37.2	33.9	31.0	29.8	25.1	24.7
	Kidney	19.8	19.7	17.3	23.9	20.0	19.6
	Bone	7.9	26.8	21.0	6.5	19.5	14.0
Cd	Liver	0	0	0	0	0.3	0
	Kidney	1.5	0	0	0	0	0
	Bone	0	0	0	0	0	0
Zn/Cu	Liver	0.2	2.0	5.4	7.1	6.6	6.8
	Kidney	4.5	5.8	6.2	1.9	6.6	5.3
	Bone	∞	∞	∞	∞	∞	∞

* $\mu\text{g/gr}$ wet weight

考 察

体重の変化からして、経口投与した CuSO₄ の濃度が 0.2 % 以下では著明な毒性はみられないが、0.4 % で軽度、0.8 % では中等度、1.6 % では致死的な毒性が認められた。

CuSO₄ 0.4 % 以上では、体重、皮厚ともに著しく低下した。皮厚は体重とともに健康の良いバロメーターである。一方 CuSO₄ 0.4 % 以下の場合皮厚は骨重量よりもより鋭敏な反応を示した。

臓器内の重金属分布で最も著しい変化を示したのは肝臓内の Cu であった。CuSO₄ 0.2 % 投与群の肝内 Cu 濃度が対照群の約 4 倍を示し、0.8 % では異常に高い Cu 値を示していることからして、正常値の約 4 倍の Cu は肝臓の適応限界であり、CuSO₄ 0.2 % が経口投与における急性毒性を示さぬ限界と思われる。CuSO₄ 0.4 % では軽度、0.8 % では中等度、16 % ではほぼ LD₁₀₀ の毒性を示すことが証明された。

腎臓および骨における Cu 濃度は肝臓に比べると低かったが、0.012 % で腎 Cu がやや高値を示し、蛋白尿も

やや増加し、体重、皮厚、骨重量ともに低下しているのは興味深い。腎障害があり、骨もその影響をこうむっていることがうかがわれる。

骨における Cu 濃度は極めて低かったが、Cu 投与による Zn の変化が骨では認められた。0.012 % と 0.8 % において Zn 濃がそれぞれ 6.5 および 7.9 γ/g と低下し、0.05 ~ 0.2 % において Zn 値の上昇がみられたことは、前報[1]の Cd 投与による骨の Zn 値の低下を考えあわせると興味深い。

CuSO₄ 0.8 % 以上では尿蛋白の増加(+)傾向が認められ、腎機能低下が示唆された。一方 CuSO₄ 0.4 % 以下で血液所見が比較的よく保たれていたのは、骨における Cu 濃度が低く、腎障害も軽度であったためであろう。

久保田憲太郎所長に校閲をたまわり感謝いたします。

文 献

[1] 小島良平・田中英子・久保田憲太郎(1972): 医学と生物学 85, 285-290