〔衛 生 化 学〕
EISEI KAGAKU
27 (1) 1-15 (1981)

カルシウムとカドミウムの腸管吸収について*

細 谷 憲 政

東京大学医学部保健学科保健栄養学教室

〒113 文京区本郷7-3-1

Intestinal Absorption of Calcium and Cadmium*

NORIMASA HOSOYA

Department of Nutrition, School of Health Sciences, University
of Tokyo, 7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo, 113, Japan

Toxicity of cadmium could be exerted on the sites of its absorption and/or on the target tissues, such as bone and kidney, after being absorbed. On the other hand, toxicity of cadmium is modulated by nutritional factors, such as proteins, calcium, phosphorus and vitamin D. This review deals with our recent results concerning the role of dietary calcium and vitamin D as modulators of cadmium toxicity. The discussion was specifically focused on the interaction of calcium and cadmium at the site of intestinal absorption in the presence or absence of vitamin D.

In the beginning of cadmium exposure, intestinal absorption of cadmium increased significantly in vitamin D deficient animals, but was not influenced by dietary calcium. Whereas cadmium inhibited vitamin D stimulated intestinal calcium transport in calcium deficient animals. In our experimental conditions, the metabolism of vitamin D₃ to 1, 25-(OH)₂-D₃ in kidney was not yet inhibited by cadmium. However, the binding of calcium to vitamin D dependent calcium binding protein and the activity of alkaline phosphatase in the intestine were significantly inhibited by cadmium. Moreover, the feeding of cadmium induced morphological and biochemical changes in the intestinal villi and microvilli of animals, especially raised on vitamin D deficient and/or low calcium diet. Thus, the prolonged exposure of cadmium will result in the disorders of calcium metabolism in the animals raised on a low calcium diet even in the presence of vitamin D.

These results will suggest that nutritional status not to absorb cadmium and not to inhibit calcium metabolism could be vitamin D and calcium sufficient in the subjects of the normal intake of protein, carbohydrates and lipids.

Keywords—cadmium ; calcium ; vitamin D ; intestinal absorption ; calcium binding protein ; alkaline phosphatase ; intestinal villi ; intestinal microvilli

1. はじめに

毒物の生体に及ぼす影響は、それが生体に吸収されるまでの過程でみられる作用と、生体内に吸収されてからの作用とに分けて考えることができる。カドミウムについても、経口摂取した場合には消化管に及ぼす作用と、

吸収されたカドミウムによる骨や腎臓などに対する作用とに分けてみることができる。カドミウムの腸管に及ぼす作用については、ビタミンD(D)によって促進されるカルシウムの腸管吸収を阻害することが観察されている。¹⁾

* 本報文は、第7回環境汚染物質とそのトキシコロジーシンポジウムに特別講演の演者として招待されて口演した内容である。(昭和55年11月14日、兵庫県民会館、神戸)。

一方、毒物の毒性は生体の栄養条件によって修飾されることも知られている。^{2,3)} 毒物による毒性の発現のためには、その毒物が生体内にとり入れられることが第一の条件になる。しかしながら、そのための腸管吸収も生体の栄養条件によって影響を受けることも考慮に入れなくてはならない。

それゆえ、腸管は経口的に摂取される毒物の第一の作用部位であり、また、その吸収の第一の関門ともなっている。そこで、はじめに腸管の構造と消化吸收機構について、簡単にふれ、次いで、毒物としてカドミウムをとりあげ、カドミウムの腸管吸収、ならびに腸管に及ぼす影響について、生体の側面から考察する。栄養状態の異なる生体について、生体に必須なカルシウムの腸管吸収を比較観察して来た著者らの研究結果を中心にして、カドミウムの毒性について考察してみる。

2. 腸管の構造と栄養素の消化吸收機構

小腸粘膜を構成する上皮は、単層円柱上皮細胞からなり、吸収上皮細胞を主体として、一部に杯細胞 (goblet cell)、パネート細胞、腸内分泌細胞を含んでいる。

吸収上皮細胞の微細構造は、細胞の自由表面の膜構造、細胞側面ならびに、基底部の構造、細胞内部の4つの部分に大別される (Fig. 1).⁴⁻⁷⁾

Fig. 1. Schematic Illustration of an Intestinal Absorptive Cell

細胞の自由表面は、小腸管腔面から、糖被 (glycocalyx)、微絨毛 (microvilli)、終末網構 (terminal web) となり、次いで、細胞基質に接している。微絨毛は、直径約 $0.1 \mu\text{m}$ 、高さ約 $1 \mu\text{m}$ の指状の微細な突起であり、細胞1個あたり約1000個あるといわれている。糖被は、微絨毛上部からケバ立つように付着している微細線維構

造物であって、酸性ムコ多糖類からなり、膜タンパク質と、また、膜脂質と結合している。シアル酸、ウロン酸などを含んでいるので、正に荷電した物質は吸着されやすいことになる。^{4-6,8)}

従来は、小腸における栄養素の消化は、管腔内だけで行なわれるかのように考えられてきた。しかしながら、実際には、膵臓から分泌されるアミラーゼなどの消化酵素は糖被に結合して、微絨毛膜上で接触消化 (contact digestion) を行なっていることが明らかにされている。また、栄養素の終末消化に関与する二糖類水解酵素 (sucrase, maltase など)、ジペプチダーゼ、アルカリホスファターゼなどは、微絨毛膜に局在し、膜消化 (membrane digestion) を行なって、それに続く、吸収を効果的なものに行っている (Fig. 2).^{4-6,9)}

Fig. 2. Schematic Representation of Enteric and Adsorbed Enzymes during Membrane Digestion (section of the apical membrane of microvillus)

(A) Distribution of enzymes. (B) Interactions of hydrolysis and transport. I, lumen; II, glycocalyx; III, three-layered membrane; IV, luminal edge of glycocalyx; V, luminal surface of membrane. 1, enteric enzymes; 2, pancreatic enzymes within the lumen or adsorbed onto glycocalyx and membrane; 3, carriers; 4, substrates.

糖被は吸収上皮細胞に物質が取り込まれるのに先立って、その物質を細胞表面に固定して、吸収されやすい状態にしているといえる。一方、糖被は腸管における物質の吸収に対して、1つの関門 (barrier) としても作用し

Fig. 3. Vertebrate Junctions

A three-dimensional diagram illustrating different views of the four major junctional types. Closest to the lumen, the occluding zonule (tight junction) is a region of apparent fusion of the outer leaflets of the plasma membrane to form a seal which completely encircles the cell. There may be a single line of fusion or a series of fused regions separated by spaces. The junction hinders diffusion from the fluid bathing the apical surface into the intercellular space (is). The adhering zonule and desmosome (adhering macula) are sites of adhesion between cells which are not barriers to diffusion because substances can pass through the former or circumvent the latter. Together with the occluding zonule, the adhering zonule and desmosome form the so-called junctional complex which is characteristic of many epithelia. At gap junctions (occluding maculae) there is close apposition (20 Å) of the neighboring cell surfaces but no fusion. The large stippling on the face view of the bisected gap junction illustrates the array of particles which are thought to bridge the 20 Å gap. Gap junctions may function both in adhesion and cell-to-cell communication.

ている。

隣接する細胞と細胞とは、微絨毛基底部の高さで tight junction (密着帯)、終末網構の位置で adhering zonule (接着小帯) が、それより基底部へ向うところで デスモゾームならびに gap junction (裂孔連結) などで接触している (Fig. 3).^{4-6,10)}

小腸粘膜を通しての物質の輸送は、一般に細胞を通る細胞路と、細胞の間を通る細胞間路あるいは細胞側路とに大別されている。細胞路は水様路、脂質路ならびに担体伝達路とに区別されている。一方、細胞間路あるいは細胞側路としては、隣接する細胞間の接着部位を通る経路と、上皮細胞の剥離脱落による上皮の空隙 (gap) を通る通路とがある。^{4-6,11)} 後者はとくに、東南アジアなどでの、protein energy-malnutrition (蛋白質エネルギー

失調症) の場合に問題になっており、有害物質が吸収されやすくなるために、毒物による中毒作用も著しくなると言われている。⁴⁻⁶⁾

3. カルシウムの腸管吸収とビタミンD

カルシウムの腸管吸収はDによって促進されることはよく知られている。しかしながら、その作用機構については著者らがビタミンDに関する研究に着手した1960年代前半においては全く明らかにされていなかった。

D欠乏の動物に D_3 を投与した場合の腸管におけるカルシウム吸収を経時的に観察してみると、ビタミン D_3 の作用の発現するまでに一定の時間 (lag) を必要とする (Fig. 4).¹²⁾

この間に、生体内に何が起きているかを明らかにすることがDの作用機構を解明する手がかりとして取り

Fig. 4. Stimulation of Intestinal Transport of Calcium as a Function of Time after a 10 IU Intravenous Dose of Vitamin D₃ to Vitamin D-deficient Rats

挙げられていた。その後、10数年余の間に、Dは生体内において活性型に代謝されてから作用することが明らか

にされ、さらに、腸管におけるカルシウム吸収に関与するタンパク質の1つとして、カルシウム結合タンパク質 (CaBP) がDによって誘導されることが明らかにされてきた。

著者の研究室では、その頃、³HラベルのD₃を自ら作成して、これを白ネズミに投与し、小腸粘膜におけるその細胞内分布を、電子顕微鏡を用いるオートラジオグラフィを行なって観察してみた。¹³⁾ この場合に、放射能が核に局在することを見出したので、Dの構造がステロイドホルモンに似ていること、微量で作用することなどから、D₃は核を経由してホルモン用の作用を示すのではないかと考えて研究を進めてきた。¹⁴⁾ このDの核における局在については、当時は³HラベルしたD₃を用いた実験であったため、多くの問題点を指摘されて、仲々信用してもらえなかったが、現在では、この事実をもと

Fig. 5. Current View of the Metabolism of Vitamin D

Absent from this figure is the conversion of 25-OH-D₃ to 25,26-(OH)₂-D₃. This product has been isolated and identified, but so far its site of biogenesis has not been determined, nor has its function. The major arrows represent major pathways of conversion. Some of the controlling factors are written over the arrows, as are the known or expected sites of conversion.

Fig. 6. Proposed Mechanism of Action of 1,25-(OH)₂-D₃ in Stimulating Intestinal Calcium Transport

1,25-(OH)₂-D₃ is believed to act similarly to steroid hormones by binding with a cytosol receptor, which enters the nucleus and causes transcription of messenger RNA, which codes for calcium and presumably phosphorus transport proteins. These function at the brush border surface in an undetermined manner, permitting calcium to enter the absorption cells. Calcium either is packaged near the terminal web into vesicles or is taken up by mitochondria. Calcium is then extruded by a sodium-dependent process.

にして、D₃ の代謝機構が明らかにされている。

現在、生体内にとり入れられた D₃ あるいは皮膚において 7-デヒドロコlesteroール (7-DHC) から変換された D₃ は、肝臓に運ばれ、25 位の炭素が水酸化されて 25-ヒドロキシビタミン D₃ (25-OH-D₃) に代謝され、さらに、腎臓に運ばれ、1-位あるいは 24-位の炭素が水酸化されて 1,25-ジヒドロキシビタミン D₃ (1,25-(OH)₂-D₃) あるいは 24,25-ジヒドロキシビタミン D₃ (24,25-(OH)₂-D₃) に代謝されることが明らかにされている (Fig. 5).^{15,16)}

この過程は副甲状腺ホルモン、カルシトニン、性ホルモンや血清無機リン酸濃度などによって巧妙に調節されている。¹⁵⁾ 皮膚における 7-DHC から D₃ への代謝系路については、小林らの originality に富んだ一連の研究があるので参照されたい。^{17,18)}

腎臓において生成される 1,25-(OH)₂-D₃ は、現在のところ D₃ の最終代謝活性物質として考えられている。小腸へ運ばれた 1,25-(OH)₂-D₃ はステロイドホルモンと同様の機構によって小腸粘膜の可溶性画分に存在する 1,25-(OH)₂-D₃ と特異的に結合するタンパク質 (レセプター) によって核に運ばれ、その結果、カルシウムの吸収に関与するタンパク質の合成を促進するものと考えられている (Fig. 6).¹⁴⁻¹⁶⁾

TABLE I. Specificity of Stimulation of Calcium Transport in Embryonic Chick Duodenum Using a Roller Tube Culture Technique

Added to medium	Concentration (M)	CaBP (μg/ 100 mg duo- denum)	⁴⁵ Ca movement (% of control)	
			Tissue uptake	Mucosal to serosal transport
Control	—	0	100	100
Vitamin D ₃	2.6 × 10 ⁻⁵	3.3 ± 0.3	372 ± 6*	820 ± 48*
1,25-(OH) ₂ -D ₃	6.5 × 10 ⁻¹⁰	4.3 ± 0.1	282 ± 14*	172 ± 32*
CaBP (chick)	2.86 × 10 ⁻⁶	0.9 ± 0.2	192 ± 22*	225 ± 23*
CaBP (chick ; "heat-treated")	2.86 × 10 ⁻⁶	0	102 ± 8	108 ± 9
CaBP (bovine)	2.86 × 10 ⁻⁶	0	109 ± 10	111 ± 16
Calsequestrin (rabbit muscle)	2.86 × 10 ⁻⁶	0	100 ± 4	89 ± 11
Fetal bovine serum (dialyzed)	1.8%	0	97 ± 6	94 ± 12
Albumin (bovine serum)	2.86 × 10 ⁻⁶	0	103 ± 4	95 ± 6
Fraction VI glycoprotein (bovine serum)	2.86 × 10 ⁻⁶	0	114 ± 9	85 ± 13
Poly-L-lysine	2.86 × 10 ⁻⁶	0	98 ± 9	86 ± 7
α-Casein (bovine milk)	2.86 × 10 ⁻⁶	0	108 ± 11	115 ± 12
Ferritin (horse spleen)	2.86 × 10 ⁻⁶	0	101 ± 3	97 ± 14
α-Amylase (<i>B. subtilis</i>)	2.86 × 10 ⁻⁶	0	112 ± 7	110 ± 6
Carbonic anhydrase (bovine erythrocytes)	2.81 × 10 ⁻⁶	0	115 ± 5	113 ± 7

a) Values are means ± SE; values followed by an asterisk are greater than control value at the 1% level (Student's *t* test). The test sterol or protein was present in the culture medium for the entire 24-h culture period.

Fig. 7. Immuno-scanning Electron Micrograph of Duodenal Villi from Vitamin D-deficient (a, c, e) and Vitamin D₃-treated (b, d, f) Chick

Either 50 μ l of 95 % ethanol or 2000 IU of vitamin D₃ in 50 μ l of 95 % ethanol was dosed to vitamin D-deficient chicks 48 hours before sacrifice intravenously. Duodena were fixed in 10 % formalin in phosphate buffer (pH 7.4) either immediately (a, b, c, and d) or after being well rinsed with ice-cold phosphate buffer (pH 7.4) (e and f), incubated with anti-CaBP rabbit γ -globulin followed by the incubation with polystyrene latex bound anti-rabbit goat γ -globulin. The tissues were fixed with glutaraldehyde and prepared for the scanning electron microscopy.

a and b: Observation of duodenal villi at low magnification. Black bar denotes 50 μ m.

c, d, e and f: Observation of duodenal villi at higher magnification. Black bar denotes 1 μ m. The apices of goblet cells (arrows) appeared as depression within the coat of microvilli (M) or were covered with their secretory substances (S). P, denotes polystyrene latex particles.

Dによって合成の促進されるタンパク質としては、現在のところ、CaBP、アルカリホスハターゼ、Ca-ATPase、微絨毛の膜タンパク質などをあげることができる。¹⁹⁾

カルシウム吸収に関与すると考えられているCaBPは、現在、ニワトリ、白ネズミ、ブタ、ヒトなどの小腸粘膜や、その他のカルシウム輸送の盛んな組織から見出されている。小腸粘膜のCaBPの分子サイズはニワトリと白ネズミの空腸、回腸に見出されているものは約28000であるが、哺乳動物の十二指腸からのものは約10000である。いずれも、グルタミン酸、アスパラギン酸などの酸性アミノ酸やリジン、ロイシン、イソロイシンなどを多く含んでいる。カルシウムとの親和性の高いのもこの蛋白質の特徴でもある。²⁰⁾

CaBPの細胞内分布については、議論のあるところであるが、細胞内にあるとするものと、²¹⁾細胞表面やgoblet cellにあるとするものがある。²²⁾

免疫走査電子顕微鏡法を用いて、CaBPの小腸粘膜内分布を観察してみると、D₃を投与して、CaBPの誘導されている場合には、小腸吸収上皮細胞の自由表面を一面に被っており、とくに、杯細胞の分泌物の上に一層多く観察される。しかしながら、組織を緩衝液などでよく洗っておくと、自由表面を被っている杯細胞の上だけに観察されるようになる (Fig. 7).²³⁾

糖被がタンパク質などを吸着しやすいという特性を考慮すると、杯細胞、あるいは脱落上皮細胞から分泌されたCaBPは、吸収上皮細胞の自由表面を被って、カルシウム吸収に何らかの作用を示しているのではないかと推察される。事実、CaBPの含まれていない孵卵20日目のニワトリ胚十二指腸の器官培養系にCaBPを添加する

TABLE II. Experimental Design

Group	Initial 5 weeks			Additional 2 weeks		
	Cd	Ca	D	Cd	Ca	D
1	—	+	—	—	—	—
2	—	+	—	—	—	+
3	—	+	—	—	+	—
4	—	+	—	—	+	+
5	+	+	—	+	—	—
6	+	+	—	+	—	+
7	+	+	—	+	+	—
8	+	+	—	+	+	+

Cd+: 200 ppm, Ca-: 0.002 %, Ca+: 0.47 %, D+: 100 IU × 5/2 weeks.

と、カルシウムの輸送を促進することが観察されている (Table I).²⁴⁾

一方、ニワトリ小腸粘膜のアルカリホスハターゼは、1,25-(OH)₂-D₃の投与によって、シアル酸を含む分子種に変換することも観察している。²⁵⁾この場合に、アルカリホスハターゼはCaBPと結合性をもつようになることを観察している。²⁶⁾現在のところ、腸管におけるカルシウム吸収過程において、CaBPがどのように関与しているかは必ずしも明らかではないが、D₃によって変化を受ける小腸に存在するその他のタンパク質と相互に関連して、カルシウムの腸管吸収を増大するものと考えている。

4. カドミウムの腸管吸収と動物の栄養状態

カドミウムの腸管吸収については、肝臓や腎臓などの組織へのカドミウム蓄積量から観察している場合が多い。低カルシウム食、低リン食、低タンパク質食などの低栄養状態で、動物を飼育するとカドミウムの肝臓や腎

TABLE III. Effects of Dietary Cadmium, Calcium and Vitamin D₃ on Terminal Body Weight and Serum Calcium, Phosphorus, 1,25-(OH)₂-D Concentration

Group	Body weight (g)	Serum		
		Ca(mg/dl)	P(mg/dl)	1,25-(OH) ₂ -D(pg/ml)
1	112.0±3.7	4.8±0.1	9.4±0.2	18.9
2	156.4±7.2 ^{a)}	8.8±0.2 ^{b)}	9.9±0.3	129.7
3	124.6±6.7	5.7±0.2 ^{c)}	9.9±0.5	11.2
4	162.2±9.1 ^{a)}	9.1±0.2 ^{b)}	9.0±0.2	42.2
5	83.0±6.7	5.1±0.1	9.7±0.2	29.7
6	90.2±5.4	8.9±0.1 ^{b)}	9.1±0.2	150.0
7	94.6±5.4	5.4±0.1	10.1±0.2	17.1
8	95.6±9.7	9.2±0.3 ^{b)}	9.3±0.3	48.3

Values are the M±SE of 5 rats.

a) Significantly different from respective vitamin D deficient group at $p < 0.05$.

b) Significantly different from respective vitamin D deficient group at $p < 0.01$.

c) Significantly different from respective low Ca group at $p < 0.05$.

TABLE IV. Effects of Dietary Calcium Level and Vitamin D₃ on Cadmium Accumulation in Liver and Kidney

Group	Diet			Liver ($\mu\text{g/g}$ tissue)	Kidney ($\mu\text{g/g}$ tissue)
	Cd	Ca	D		
5	+	-	-	65.0 $\pm$ 2.4	64.5 $\pm$ 2.9
6	+	-	+	55.7 $\pm$ 3.1 ^{a)}	63.4 $\pm$ 4.6
7	+	+	-	62.4 $\pm$ 1.7	59.0 $\pm$ 2.5
8	+	+	+	52.8 $\pm$ 1.1 ^{b)}	63.8 $\pm$ 0.7

Tissue Cd was determined by atomic absorption spectrophotometry. Values are the M $\pm$ SE of 5 rats.

a) Significantly different from respective D deficient group at $p < 0.05$.

b) Significantly different from respective D deficient group at $p < 0.01$.

臓への蓄積量は増大するといわれている。²⁷⁻³⁰⁾ これらの報告は、Dの充分に存在する条件で観察されている。Dの充分に存在する条件では、低カルシウム食、あるいは、低リン食で、動物を飼育した場合には、カルシウムの腸管吸収は著しく増大することが知られている。³¹⁾ それゆえ、低カルシウム食、あるいは低リン食で、Dの存在する場合のカドミウムの腸管吸収の増大は、カルシウムの腸管吸収の増大による二次的な結果であるのかもしれない。一方、D欠乏の場合におけるカドミウムの腸管吸収については、必ずしも充分に観察されているとはいえない。そこで、カドミウムの肝臓や腎臓などへの蓄積量、ならびに、反転腸管による ¹⁰⁹Cd 輸送能を比較検討してみた。

通常の食事を摂取している場合には、リンの欠乏は比較的小さい。それゆえ、食餌中のリンの比率は一定 (0.3%) にして、離乳直後の Wistar 系雌白ネズミを、D欠乏飼料、あるいは、カドミウムを 200ppm 添加した飼料をもちいて、まず、5週間予備飼育した。その後、食餌中のカルシウム比率を、低カルシウム (0.002%) あるいは、正常カルシウム (0.47%) レベルに変化させ、また、D欠乏の場合と、D₃を投与した場合の計8群に分けて、さらに、2週間飼育を行なってみた (Table II)。

白ネズミの生長は、カドミウム添加群では、有意に抑制されていたが、食餌中のカルシウム比率や、D₃による影響は観察されなかった。カドミウム無添加群では、食餌中のカルシウム比率による生長の差異は観察されなかったが、D₃投与によって生長は促進されていた。血清の無機リン濃度は、各群に差異はみられなかった。血清カルシウム濃度は、D欠乏の場合に低下するが、カドミウム無添加群では低カルシウム食の場合には、正常カ

Fig. 8. The Effect of Dietary Ca and Vitamin D₃ on Cd Transport in Rat Duodenum

Cd transport was observed with everted duodenal sacs from the rats raised on various diets. CdCl₂ concentration of mucosal medium was 1.0 mM and incubation period was 1 hr. Tissue Cd was expressed as $\mu\text{mol/g}$ tissue (A). Ca transport was expressed as nmol Cd transferred to 1 ml serosal medium (B). Each column represents the M $\pm$ SE of 5 rats. Cd transport of group 1 was significantly different from group 2 at $p < 0.05$. That of group 3 was significantly different from group 4 at $p < 0.01$.

ルシウム食の場合に比べて有意に低下していた。D₃投与によって、血清カルシウム濃度は、カドミウム摂取の有無にかかわらず、有意に増大している。血清 1,25-(OH)₂-D₃濃度は、カドミウム無添加群、カドミウム添加群のいずれにおいても、低カルシウム食-D₃投与群において最も高く、正常カルシウム食-D₃投与群の約3倍の値を示していた。それゆえ、動物は食餌による影響を明らかに受けているといえる。また、この条件下では、D₃の腎臓における水酸化機構はまだ阻害されていなかった (Table III).¹⁾

同条件下での、肝臓及び腎臓のカドミウム蓄積量については、2週間という短期間の飼育条件下であるので、腎臓におけるカドミウム蓄積量に対する食餌の影響は観

Cd+: 200ppm, Ca-: 0.002%, Ca+: 0.47%
D+: 100IU×5/2weeks

Fig. 9. The Effect of Dietary Cadmium and Calcium on Vitamin D-stimulated Calcium Transport in Rat Duodenum

Ca transport was expressed as ^{45}Ca radioactivity ratio of serosal to mucosal medium after incubation (S/M ratio). Values are the $M \pm \text{SE}$ of 5 rats. Significantly different at $p < 0.001$ when comparison was made between group 1 and 2, group 3 and 4, group 5 and 6, and group 7 and 8 respectively. Significantly different at $p < 0.05$ when comparison was made between group 2 and 4, and group 2 and 6 respectively.

察されなかった。肝臓のカドミウム蓄積量も摂取カルシウム比率による差異はみられなかったが、D欠乏の場合には著しく増大していた (Table IV).¹⁾

そこで、反転腸管をもちいて、 ^{109}Cd の粘膜側から漿膜側への輸送、いわゆる *in vitro* の輸送を観察してみた。 ^{109}Cd の組織への結合、あるいは取り込みについては、食餌組成による影響はみられなかった。しかしながら、漿膜側への ^{109}Cd の輸送は微量ではあるが、D欠乏の場合に著しく増大していた (Fig. 8).³²⁾

組織へのカドミウム蓄積量は必ずしも、カドミウムの腸管吸収を示すものではないが、反転腸管をもちいるこのような *in vitro* の実験系におけるカドミウム輸送能の結果を考え併せてみると、カドミウムの曝露初期においては、D欠乏状態は、カドミウムの毒性発現に重大な影響を与えているものと考えられる。

5. カルシウムの腸管吸収に及ぼすカドミウムの影響と動物の栄養状態

Fig. 10. Effect of Cadmium and Magnesium on the Vitamin D-stimulated Calcium Transport *in Vitro*

Calcium transport was studied in the rats which were raised on vitamin D-deficient diet (Ca: 0.002%, P: 0.3%) for 3 weeks followed by the dose of 100 IU of vitamin D₃ 24 hr before sacrifice. The mucosal medium consisted of 0.25 mM CaCl₂ containing ^{45}Ca (10000 cpm/ml) and various concentration of CdCl₂ or MgCl₂. The serosal medium was without CdCl₂ or MgCl₂. Incubation was carried out at 37° for 2 hr. Each point represents the mean $\pm$ S.E. of 5 rats, —○—, in the presence of CdCl₂; —△—, in the presence of MgCl₂.

Fig. 11. Kinetic Analysis of Inhibitory Effect of Cadmium on Vitamin D-stimulated Calcium Transport

Mucosal medium consisted of various concentration of Ca in the absence (—○—) or in the presence of Cd (0.025 mM CdCl₂ (—△—), and 0.05 mM CdCl₂ (—□—)). Initial serosal medium was free from Ca and Cd. Incubation was carried out at 37° for 1 hr. The plots are according to the method of Lineweaver-Burk. The abscissa represents $1/S$ where S is the concentration of Ca in the initial mucosal medium. The ordinate represents $1/V$ where V is the amount of Ca transferred/ml/hr. Each point represents the mean of 5 rats.

Fig. 12. Scanning Electron Micrographs of Rat Duodenal Villi incubated in the Absence or in the Presence of CdCl_2 in the Mucosal Medium

B, C: After 1 h incubation of everted duodenal sac in the absence of CdCl_2 .

D, E: After 1 h incubation of everted duodenal sac in the presence of 2.5 mM CdCl_2 .

Table I に示した実験条件の白ネズミを用いて、 ^{45}Ca の腸管吸収を観察してみた。D 欠乏の場合には、カドミウム摂取の有無に関係なく、S/M比は1—2の範囲であったが、D₃ の投与によって、 ^{45}Ca 輸送は促進されていた。とくに、低カルシウム-D₃ 投与群においては、カルシウム輸送能は著しく増大していた。しかしながら、このカルシウム輸送能の D₃ による効果は、カドミウムによって抑制されていた。一方、正常カルシウム食を摂取している白ネズミにおいては、D₃ 投与によって、 ^{45}Ca 輸送能は増大したが、カドミウムの摂取による影響は、ほとんど見受けられなかった。食餌中にカルシウムが十分に存在する場合には、 ^{45}Ca 輸送のカドミウムによる阻害はみられなかった (Fig. 9).¹⁾

このことは、長期間、低カルシウム食で飼育した場合には、D₃ が存在している場合でも、カドミウムによってカルシウム吸収の障害されることを示している。

このカドミウムによるカルシウム輸送能の阻害現象を粘膜側の反応液にカドミウムを添加して、さらに観察してみた。反応液中のカルシウム濃度が 0.25 mM のとき

には、カドミウムを 0.025 mM に加えると、明らかな阻害効果が観察された。しかしながら、マグネシウムによる効果は、2.5 mM にして初めて明らかな阻害効果が観察されるようになる。それゆえ、カドミウムによる阻害は、特異的であると考えられる (Fig. 10).³³⁾

さらに、粘膜側の反応液中のカルシウムの濃度を変化させ、カドミウムを 0.025 mM、あるいは 0.05 mM に添加した場合のカルシウム輸送能を観察してみた。その結果、カドミウムによる阻害の様式は、competitive type であることが明らかにされた (Fig. 11).³³⁾

Hamilton らは、カドミウムを 0.5 mM、1 mM に添加した場合のカルシウムの小腸組織片への取り込みに対するカドミウムの阻害は、non-competitive type であったと報告している。³⁴⁾ 著者らの実験では、この濃度のカドミウムによって、カルシウムの能動輸送は全く阻害されているので、小腸粘膜に不可逆的な変化が起こっていることが推察される。

実際に、2.5 mM のカドミウムの存在下においてカルシウム輸送を観察した反転十二指腸管を、走査電子顕微

Fig. 13. The Surface of Duodenal Epithelial Cells

The duodenal epithelial cells are covered by knoblike microvilli arranged in orders in the absence of cadmium (4a and 4b, group 4). The border of cell is observed as the fissure of the microvilli (4a and 4b). In the cadmium exposed groups, duodenal epithelial cells which have lost of their microvilli are observed mainly in the region of middle to upper intestinal villous surface in groups 5, 6 and 7, especially in group 5 (5a and 5b, group 5). Horizontal bars indicate 1 μ m.

鏡を用いて観察してみると、小腸粘膜の絨毛そのものが明らかに障害されていた (Fig. 12).³²⁾

カドミウム濃度の低い場合には competitive type であるが、カドミウム濃度が高くなると、絨毛の障害がみられるようになってくると、non-competitive type になるのは、粘膜構造の変化のために、吸収機構も全く変わってくるためと考えられる。

カドミウムによる障害が、カルシウム吸収のどの段階に作用しているかどうかを観察してみた。この場合、D と関連する小腸のカルシウム吸収には、CaBP やアルカリホスハターゼなどが関与しているので、これらに対するカドミウムの影響を観察してみた。

Ingersoll らはニワトリ小腸粘膜の CaBP と種々の金属イオンとの結合性を観察しているが、カドミウムは CaBP とカルシウムとの結合を抑制することを観察している。³⁵⁾

一方、小腸微絨毛膜に局在するアルカリホスハターゼ

活性も D_3 によって増大されるが、この活性もカドミウムによって、*in vivo* においても、³⁶⁾ *in vitro* においても阻害される。³⁷⁾

CaBP の細胞内局在については議論のあるところであるが、われわれの観察結果では CaBP は、微絨毛膜表面にも観察されており、さらに、微絨毛膜に局在するアルカリホスハターゼと結合性をもっていることを考え合わせると、これらの小腸自由表面に存在する CaBP とカルシウムとの反応をカドミウムが阻害する結果、カルシウムの腸管吸収が阻害されるものとも考えられる。

6. カドミウムによる腸管の形態的ならびに生化学的变化と動物の栄養状態との関連

カルシウムの腸管吸収に対するカドミウムの直接の作用を観察して、その阻害機構を考察してきた。しかしながら、動物がカドミウムを摂取している場合には、形態的にも、生化学的にも変化を受けることが推察される。

栄養状態の異なる白ネズミの腸管のカドミウムによる

Fig. 14. Scanning Electron Micrographs of Duodenal Microvilli of Rats raised on Low Calcium Diets in the Absence or Presence of Vitamin D and Cadmium

Numbers indicate the name of groups. The length of microvilli in the cadmium exposed groups (5 and 6) was shorter as compared with that in the cadmium non-exposed groups (1 and 2). With vitamin D₃ repletion, the microvilli increased in the length significantly (2 and 6). Horizontal bar indicate 0.5 μ m.

TABLE V. The Effect of Vitamin D₃, Dietary Calcium Level and Cadmium on the Hydrolytic Enzymes in Rat Duodenal Microvilli

Group	Diet			Enzyme activities		
	Cd	Ca	D	Sucrase*	Maltase*	Alkaline phosphatase**
1	—	—	—	56.8 $\pm$ 6.5	213.5 $\pm$ 18.0	96.8 $\pm$ 4.2
2	—	—	+	45.6 $\pm$ 3.8	219.0 $\pm$ 20.1	206.0 $\pm$ 15.2 ^{b)}
3	—	+	—	50.3 $\pm$ 4.7	229.5 $\pm$ 18.5	114.7 $\pm$ 21.7
4	—	+	+	49.6 $\pm$ 3.4	192.0 $\pm$ 22.0	197.3 $\pm$ 27.0 ^{b)}
5	+	—	—	32.3 $\pm$ 6.1 ^{a)}	144.5 $\pm$ 14.5 ^{a)}	25.1 $\pm$ 2.9 ^{a)}
6	+	—	+	28.5 $\pm$ 3.2 ^{a)}	112.2 $\pm$ 18.9 ^{a)}	64.8 $\pm$ 7.3 ^{a),b)}
7	+	+	—	29.0 $\pm$ 3.2 ^{a)}	141.0 $\pm$ 14.0 ^{a)}	35.6 $\pm$ 6.2 ^{a)}
8	+	+	+	27.0 $\pm$ 2.2 ^{a)}	110.9 $\pm$ 14.1 ^{a)}	62.1 $\pm$ 5.8 ^{a),b)}

Values are the means $\pm$ S. E. of 3 rats. Enzyme activities were expressed as either μ mol substrate hydrolyzed/mg protein/h (*) or μ mol *p*-nitrophenol produced/mg protein/min (**).

a) Significantly different from respective Cd non-exposed group at $p < 0.05$.

b) Significantly different from respective vitamin D deficient group at $p < 0.05$.

Cd —, no addition; Cd +, 200 ppm added; Ca —, 0.002%; Ca +, 0.47%; D —, vitamin D deficient; D +, 100 IU of vitamin D₃ was dosed 5 times in 2 weeks orally.

Fig. 15. The Effect of Vitamin D₃, Dietary Calcium and Cadmium on the Length of Rat Duodenal Microvilli

The length of microvilli was measured from scanning electron micrographs as shown in Fig. 14. Values are the means $\pm$ S.E. of 10 microvilli. Difference between the group 6 and 8 is significant at $p < 0.05$. Differences between groups 1 and 2, 3 and 4, 5 and 6, 7 and 8, 1 and 5, 2 and 6, 3 and 7, and 4 and 8 are significant at $p < 0.01$. Cd -, Cd no added; Cd +, Cd 200 ppm added; Ca -, 0.002%; Ca +, 0.47%; D -, vitamin D deficient; D +, 100 IU of vitamin D₃ was dosed 5 times in 2 weeks orally.

形態的变化を走査型ならびに透過型電子顕微鏡を用いて観察してみた。カドミウムを摂取していない場合には、カルシウム摂取量による差異は明らかではなかったが、D欠乏の場合には小腸絨毛の萎縮が観察された。カドミウムを摂取している場合には、著しい小腸絨毛の萎縮と糜爛が認められた。この変化は、とくに、ビタミンD欠乏、あるいはカルシウム欠乏のような極端な低栄養状態のときに著しかった。

カドミウムを投与しないで、D₃とカルシウムを十分に摂取している場合には、微絨毛は規則正しく配列している。しかしながら、D欠乏、低カルシウムの状態のような、カドミウム投与によるその影響の著しい場合には、微絨毛の離脱した細胞が多く見受けられた (Fig. 13).³⁶⁾

さらに、断面について観察してみると、カドミウム摂取によって、微絨毛の長さが短縮している様相が観察された (Fig. 14).³⁶⁾

実際に、微絨毛の長さを計測してみると、低カルシウム食で飼育した白ネズミの微絨毛は、正常カルシウム食の場合に比べて短く、とくにD欠乏の場合に短かった (Fig. 15).³⁶⁾

さらに、透過型電子顕微鏡を用いて、吸収上皮細胞を観察してみると、とくに、カルシウム欠乏、D欠乏の食餌条件下では、カドミウムを摂取している場合に、その変化は著明であった。ミトコンドリアの膨潤、崩壊、ならびに、微絨毛の過疎化および脱落、terminal webの消失といった変化も見受けられる。正常Ca食で、D₃を投与している条件においては、カドミウムによる形態的变化、微絨毛の脱落した細胞はほとんど、認められなかった。³⁶⁾ カドミウムによる影響は、最初に障害を受けた細胞から、さらに隣接する細胞へと波及していくように見受けられた。

一方、膜消化に関与する微絨毛膜に局在する二糖類水解酵素やアルカリホスファターゼなどの膜消化酵素活性はカドミウムの摂取によって、全体的に低下しており (Table V),³⁶⁾ 微絨毛の長さの短縮と関連があるように思われる。

十二指腸微絨毛膜の脂質組成についても観察したところ、リン脂質含量はD₃投与によって、増大の傾向を示したが、糖脂質、コレステロールの含量は、カドミウムを摂取している場合に有意に減少していた。リン脂質の脂肪酸組成における変化は、カドミウムを摂取していない場合に、D₃の投与によって、長鎖不飽和脂肪酸の増大と飽和脂肪酸の減少が観察された。カドミウムを摂取している場合には、D₃は18:1を増大させ、14:0や18:3を減少させている。

コレステロール画分の脂肪酸組成は、カドミウムを摂取していない場合には、短鎖脂肪酸、18:0は増加していたが、18:2は減少していた。一方、カドミウムを摂取している場合には、D₃の投与によって、20:5は増加していたが、短鎖脂肪酸は減少していた。³⁹⁾

D₃は、コレステロールの低下しているカドミウム摂取の白ネズミにおいて、低級脂肪酸を減少させて、膜のrigidityを増大する作用を示しているものと思われる。一方、カドミウムを投与しない場合には、D₃は長鎖不飽和脂肪酸を増大させ膜の流動性を増大する方向に作用している。このことは、D₃が小腸の微絨毛膜を正常に維持し、膜輸送を正常におこなうことに重要な働きをしているものと考えられる。

7. おわりに

カドミウムとカルシウムの腸管吸収について、生体の

栄養条件, とくに, 食餌中のカルシウムとDの変化を通して観察してきた。

カドミウム曝露初期のカドミウムの腸管吸収はD欠乏の場合には促進されるが, 食餌中のカルシウムによる影響は見受けられなかった。しかしながら, 低カルシウム食の場合には, D₃によって促進される腸管のカルシウム吸収能は阻害される。この場合, CaBP とのカルシウムの結合がカドミウムによって阻害されると同時にアルカリホスハターゼ活性も阻害される。それゆえ, カドミウムに長期間曝露されている場合には, カルシウム不足を引き起こして, 間接的にカルシウム代謝障害に導くものと思われる。このことは, 小腸粘膜絨毛, ならびに微絨毛が, カドミウムによって形態的, あるいは生化学的に変化を受けることから推察される。

一方, カドミウムの吸収も少なく, また, カルシウム吸収の阻害されていない生体側の栄養条件下においては, タンパク質, 糖質, 脂質摂取の正常な場合には, カルシウムならびにDのいずれも充分に存在している条件と考えられる。

現在の日本においては, Dの摂取不足による欠乏症もほとんど見受けられないし, カルシウム欠乏や, その他の栄養素欠乏症も見受けられない状態になってきている。このような, 栄養状態のよい場合には, カドミウムなどの毒物に対しても, それに打ち勝てる抵抗性とも言えるものが, 腸管の抵抗性というか, 関門のようなものが形成されるのではないかと考えられる。戦前においては, 天ぷらを食べたら氷水を飲んではいけないというような食事禁忌というものもあった。これには腸内細菌の

問題なども関与していることも考えられるが, 一方では腸粘膜の栄養状態も大きく関連しているものと思われる。現在, 油の中で揚げたアメリカンホットドックやフライドチキンなどを食べ, 次いでアイスクリームや冷たい清涼飲料水などをとり, さらに泳いでも, 下痢をする子供は見掛けられない。このように, 私達の腸管の構造ならびに機能は著しく変化してきている。その結果, 毒物による害作用も比較的を受け難い状態になってきているとも考えられる。

しかしながら, 現在では, 食事の不規則から栄養素摂取のバランスを崩して栄養欠陥症とも言える状態(他の栄養素は比較的十分に摂取しながら, ある特定の栄養素だけが比較的欠乏しているような状態)にあるものも見受けられる。また, 腎臓や肝臓の障害によって, Dの活性化が障害され, その結果として, カルシウム吸収に異常を示している場合も見受けられる。このような場合には, カドミウムの曝露には充分な注意を払うことが必要であろう。

謝辞 本報文の内容は, 東京大学医学部保健栄養学教室において, 森内幸子を中心にして施行された研究成果の一部である。本報文の作成にあたり, 森内幸子に御助力頂いたことを感謝する。また, 本研究に協力してくれた教室員各位にも感謝している。さらに, 本報文内容の発表にあたり, 特別講演の演者として御招聘下さった第7回環境汚染物質とそのとキシコロジーンシンポジウム実行委員長の神戸女子薬科大学教授小林 正博士に深謝する。

引用文献および注

- 1) 鶴木富紀子, 翁蕙玲, 田村正明, 志村二三夫, 森内幸子, 細谷憲政, ビタミン, **52**, 161 (1978).
- 2) 森内幸子, “中毒学と栄養学,” 鈴木継美, 井村伸正, 鈴木庄亮編, 篠原出版, 東京, 1978, p. 100.
- 3) 糸川嘉則, “中毒学と栄養学,” 鈴木継美, 井村伸正, 鈴木庄亮編, 篠原出版, 東京, 1978, p. 228.
- 4) 細谷憲政, 臨床栄養, **44**, 241 (1974).
- 5) 細谷憲政, “ライフ・サイエンスと生存資源,” (日本医師会編, ライフ・サイエンスの進歩第4集), 春秋社, 東京, 1977, p. 202.
- 6) 武藤泰敏, “消化・吸収,” 第一出版, 東京, 1976, p. 293.
- 7) J.S. Trier, C.E. Rubin, *Gastroenterology*, **46**, 574 (1965).
- 8) 山元重男, 代謝, **14**, 1809 (1977).
- 9) A.M. Ugolev, P. De Laey, *Biochim. Biophys. Acta.*, **300**, 105 (1973).
- 10) M.F. Berridge, J.L. Oschman, “Transporting Epithelia,” Academic Press, New York, 1972, p. 10.
- 11) W.L. Burland, P.D. Samuel, “Transport Across Intestine,” A Glaxo Symposium, Churchill, Livingstone, Edinburgh, London, 1972, p. 1.
- 12) H.F. DeLuca, *Vitamins and Hormones*, **25**, 315 (1967).
- 13) S. Moriuchi, T. Watanabe, N. Hosoya, *J. Vitaminol.*, **13**, 322 (1967).
- 14) 細谷憲政, ビタミン, **48**, 217 (1974).
- 15) H. F. DeLuca, “Handbook of Lipid Research Vol. 2,” ed. H.F. DeLuca, Plenum Press, New York and London, 1978, p. 69.

- 16) 細谷憲政, 大泉久美子, “新医薬品の現状とその動向<下>,” 医薬品開発基礎講座VII,” 津田恭介, 野上 寿編, 地人書館, 東京, 1972, p. 122.
- 17) T. Okano, M. Yasumura, K. Mizuno, T. Kobayashi, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **23**, 165 (1977).
- 18) 小林 正, ビタミン, **52**, 463 (1978).
- 19) S. Moriuchi, N. Hosoya, “Biochemical Aspect of Nutrition,” ed. K. Yagi, Japan Scientific Societies Press, Tokyo, 1979, p. 231.
- 20) 細谷憲政, 骨代謝, **12**, 51 (1979).
- 21) A.N. Taylor, R.H. Wasserman, *J. Histochem. Cytochem.*, **18**, 107 (1970).
- 22) R.L. Morissey, R.W. Empson, D.T. Zolock, D.D. Bikle, T.J. Bucci, *Biochem. Biophys. Acta*, **538**, 34 (1978).
- 23) S. Noda, K. Kubota, S. Yoshizawa, S. Moriuchi, N. Hosoya, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **24**, 331 (1978).
- 24) R.A. Corradino, C.S. Fullmer, R.H. Wasserman, *Arch. Biochem. Biophys.*, **174**, 738 (1976).
- 25) S. Moriuchi, S. Yoshizawa, N. Hosoya, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **23**, 497 (1977).
- 26) S. Moriuchi, Y. Shidoji, K. Mizuno, N. Hosoya, “Calcium Endocrinology,” Chugaiigaku-sha, ed. Y. Yoshitoshi and T. Fujita, Tokyo, 1980, p. 221.
- 27) S.E. Larson, M. Piscator, *Israel J. Med. Sci.*, **7**, 495 (1974).
- 28) Y. Itokawa, T. Abe, R. Tabei, S. Tanaka, *Arch. Environ. Health*, **28**, 149 (1974).
- 29) P.W. Washko, R.J. Cousins, *Nutr. Res. Int.*, **11**, 113 (1975).
- 30) M. Omori, Y. Muto, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **23**, 361 (1977).
- 31) M.L. Ribovch, H.F. DeLuca, *Arch. Biochem. Biophys.*, **170**, 529 (1975).
- 32) 森内幸子, 太田原洋子, 細谷憲政, 野田節子, ビタミン, **52**, 747 (1978).
- 33) F. Tsuruki, Y. Otawara, H.L. Wung, S. Moriuchi, N. Hosoya, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **24**, 237 (1978).
- 34) D.L. Hamilton, M.W. Smith, *J. Physiol.*, **265**, 549 (1976).
- 35) R.J. Ingersoll, R.H. Wasserman, *J. Biol. Chem.*, **246**, 2808 (1971).
- 36) S. Noda, K. Kubota, K. Yamada, S. Yoshizawa, S. Moriuchi, N. Hosoya, *J. Nutri. Sci. Vitaminol.*, **24**, 405 (1978).
- 37) N. Sugawara, C. Sugawara, *Bull. Environ. Contamination V. Toxicology*, **14**, 653 (1975).
- 38) S. Noda, 未発表資料.
- 39) F. Tsuruki, S. Moriuchi, N. Hosoya, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 投稿中.