$^{95}\text{Zr}-^{95}\text{Nb}$ の生体におよぼす影響に関する実験的研究 (1)

—ラット皮下投与時の体内分布とオートラジオグラフ—

Experimental studies for the effect of $^{95}\text{Zr}-^{95}\text{Nb}$ to albino rats

(Report 1.)

—Distribution of $^{95}\text{Zr}-^{95}\text{Nb}$ among organs and autoradiographies of tibia for subcutaneously injected albino rats.—

九州大学医学部衛生学教室 (指導 猿田南海雄)

森 重 敏 子

Toshiko Morishige

Department of Hygiene, Faculty of Medicine, Kyushu University

(Director: Prof. Namio Saruta)

As previously reported $^{95}\text{Zr}-^{95}\text{Nb}$ were detected in fallout and vegetation in consequence of the nuclei explosion.

On a point of view for biological effect of $^{95}\text{Zr}-^{95}\text{Nb}$ to animal, these radioactive materials were quantitatively injected subcutaneously to rats. These rats were sacrificed respectively at 5 hours, 24 hours, 7 days, 14 days, 28 days and 63 days after the administration. After that, the distribution of $^{95}\text{Zr}-^{95}\text{Nb}$ for main organs and tissues were determined and also radioactivities of them in the urine and in the feces were persued for a long period after injection. Autoradiography of tibia for the victims were taken with a macro-contact method in order to observe locality and turnover for $^{95}\text{Zr}-^{95}\text{Nb}$ in the tibia.

The results obtained were as follows;

1. In the period of the experiments, the radioactivities for $^{95}\text{Zr}-^{95}\text{Nb}$ were extremely detected in the tibia rather than in the other organs and tissues. The next highly deposited tissue of them was an upper incisor. But radioactivities of them in main organs except tibia were approximately same level at the 63th experimental day through biological turnover and excretion.
2. Amounts of $^{95}\text{Zr}-^{95}\text{Nb}$ in both urine and feces among experimental rats were the most mainly excreted in them within 24 hours after injection. After that, these amounts of $^{95}\text{Zr}-^{95}\text{Nb}$ excreted in urine and feces per 24 hours gradually decreased day by day and had been kept on at about same level from the 14th experimental day to the end of the experiments. Amount of the substances mentioned above was generally larger in urine than in feces through the experimental period.
3. It could be considered from the result of autoradiographic study for the tibia in the experiments that; firstly, $^{95}\text{Zr}-^{95}\text{Nb}$ were remarkably deposited into a part of metaphysis close to epiphysis line in the initial stage, the 5th experimental day, and were consequently accumulated into metaphysis rather than into both epiphysis and diaphysis. Secondly, at the 14th experimental day, they released from the metaphysis close to epiphyseal line but their depositions at the part of epiphysis did not so remove. Thirdly, at the 63th experimental day, they had still deposited into the epiphysis.

緒 言

よる食品の汚染について調査研究してきたが、既報^{1,2)}の如く食品の放射性降下塵によるかなりの汚染が認められた。よって汚染野菜の洗浄液および野菜について核種分析を行なった結果、 $^{95}\text{Zr}-^{95}\text{Nb}$, ^{137}Cs , $^{106}\text{Ru}-^{106}\text{Rh}$ がみ

昭和 36 年 11 月以来福岡地方における放射性降下塵に

* 特 掲

られ、とくに昭和 36 年 11 月から約 2 カ年余は放射性降下塵の核種分析により ^{95}Zr - ^{95}Nb に特異的な Peak が認められた。また、同様に大阪市内においても昭和 36 年から昭和 37 年にかけて市販葉菜から Fallout 中の giant particles に起因すると考えられる ^{95}Zr - ^{95}Nb に特異的な Peak が認められている³⁾。なお山県⁴⁾ は ^{137}Cs に関する広汎な研究と共に、空気汚染と葉菜類の汚染との関係を示し、 ^{95}Zr - ^{95}Nb は空気中の約 3 倍が葉菜に含まれ、多く葉菜類への蓄積が行なわれると報告している。したがって日本人の食習慣から考えて農作物等を摂取することによって、 ^{95}Zr - ^{95}Nb がかなり多く体内に摂取蓄積されることになるものと考えられる。

McDonald E. et al⁵⁾, J. Rundo et al⁶⁾, T. Schönfeld et al⁷⁾ らが fall out の呼吸による経気道的摂取の影響を人間の肺について考察し、 ^{137}Cs , ^{106}Ru , ^{95}Zr - ^{95}Nb , ^{40}K の測定をなし、 ^{95}Zr - ^{95}Nb が他より多く認められた旨を報じているが、まだ長期間にわたる ^{95}Zr - ^{95}Nb の体内蓄積および排泄を考えた体内臓器組織への分布については詳細な報告がなく、本邦では E. Ogawa et al^{8,9)} により短期間における ^{95}Zr - ^{95}Nb に関する体内沈着とその予防剤に関する報告があるのみである。そこで著者は、まず定量的に ^{95}Zr をラットに皮下投与し、体内における分布状態の比較的長期に亘る時間的推移と尿、尿への排泄の状態を調べ、さらに骨のオートラジオグラフィーを行なって若干の知見を得たのでその結果を報告する。

実験材料

実験動物は体重 105.2 ± 20.67 の wister 系の雄性幼若ラットを用い、実験 1 週間前より一定の食餌 (オリエンタル酵母工業株式会社製 NMF 固型飼料) を与えた。

^{95}Zr は米国 Oak Ridge National Laboratory から日本放射性同位元素協会に送られたもので、化学的形狀は蓆酸塩、放射化学的純度 99% のものである。

実験方法

^{95}Zr 蓆酸塩を生理的食塩水にて適量に稀釈し、実験動物の腰背部皮下に 1 匹 2ml $20\mu\text{c}$ 宛注射した。

実験動物は注射後 5 時間、24 時間、7 日、14 日、28 日、63 日目に断頭してじゅうぶん放血し、各臓器は剔出し直ちに秤量して後、アルミニウム箔の測定皿に入れて、 100°C 、1 時間乾燥し、放射能を測定した。

尿はポリエチレン濾紙をしき、少量の木毛を入れた Rat Cage に 1 匹宛入れて、ポリエチレン濾紙および木毛に尿を吸収させ、これを頻繁に交換し、灰化して測定

した。

尿は上記の Rat Cage の中およびポリエチレン濾紙、木毛に附着した尿を集めて灰化測定した。

測定器は神戸工業シングルチャンネルパルスハイトアナライザー (TEN RSP-101) を用い、 0.76 , 0.72 Mev の γ 線の Photo Peak の部分を測定した。シンチレーターより 5 cm の距離をにおいて ^{95}Zr と ^{95}Nb の分離は行なわず含量として計測した。

骨のオートラジオグラフィーは、脛骨を矢状面にて骨の中心近く切断し、切断面を平滑にして後、Contact method に従って、富士エーワン乾板上に固定し、暗室にて 14 日間保存して作製した。現像は FD105 現像液を使用し、現像時間は 20°C で 10 分間であった。定着は富士調合定着剤フジフィックスを用いた。

実験成績

1) 各臓器内分布

肝臓、腎臓、脾臓、副腎、心臓、肺臓、筋肉、辜丸、脳、脛骨、胃、腸 (回盲部)、切歯 (歯根部を含まない) の各臓器の ^{95}Zr - ^{95}Nb を測定し、全投与量に対する臓器 g 当り百分率を求め、第 1 図の如き臓器内分布の時間的消長を得た。

すなわち、脛骨は注射後 5 時間目では 1.6% で各臓器中もっとも多く、24 時間目では 3.9%、7 日目では 4.1% で Peak を示し、以後漸次減少しているが、63 日目の観察においても 2.5% で他の臓器に比して明らかに多くの ^{95}Zr - ^{95}Nb が測定された。

切歯は 5 時間目では 0.4% であるが、24 時間目では 1.3% でかなり急速に増加し、28 日目では 4.0% で他の臓器に比して高い Peak が認められたが、以後急速に減衰し、63 日目の観察では 0.4% で脛骨を除く他の臓器とほぼ同じ位であった。

腎臓は 5 時間目で 1.3%、24 時間目では 1.6%、7 日目が Peak で 1.8% を示し、いずれも脛骨について多いが、以後減少して 63 日目では 0.1% に減衰した。

脾臓は 5 時間目では 0.4% で各臓器中かなり低い率を示しているが、24 時間目では 0.9% に増し、脛骨、腎臓、切歯、肝臓に次いで多く、以後著明な減少はみられず、63 日目では 0.6% で脛骨を除く他の臓器中最高位であった。

副腎は 5 時間目で 0.8% で、脛骨、腎臓、肝臓、肺臓について高率を示すが、24 時間目で 1.0% の Peak を示し、以後急速に減衰し、63 日目では脳と同程度で臓器中最下位であった。

第1図 ラットにおける ^{95}Zr - ^{95}Nb の各臓器内分布の時間的推移
(全投与量に対する臓器 g 当り百分率)

肺臓は5時間目では1.0%で脛骨、腎臓、肝臓について高率を示すが、以後漸次減少し、63日目では0.2%であった。

睾丸は7日目がPeakで0.7%の摂取率を示し、以後僅かな減少しか認めず、63日目では脛骨、脾臓、切歯について多くの ^{95}Zr - ^{95}Nb が測定された。

脳は5時間目から非常に少なく、以後も緩慢に減衰し、63日目まで臓器中最下位を示した。

他の臓器はいずれも5時間目が最高値で7日目までやや急速に減衰し、以後緩慢な減衰状態を示した。

2) 尿、尿への排泄

注射後5時間、24時間、7日、14日、28日、63日目の排泄量を測定し、全投与量に対する百分率をもって第2図に示した。すなわち、24時間当りの排泄量は、注射後最初の24時間が尿へ3.8%、尿へ4.5%で最も多く、7日目までの24時間当りでは尿へ1.4%、尿へ1.6%に減少し、14日以降はおおむね類似の値を保ちつつ長期間に亘って排泄をつづけることが認められた。

上記の排泄の傾向を累積排泄量として観察するとき第

第2図 24時間当りの排泄量の時間的推移
(全投与量に対する百分率)

3図に示す如く、尿尿へ24時間までに8.3%、7日目までに25.5%、14日目までに33.9%、28日目までに投与量の44.6%の排泄率を示した。24時間当りの排泄量は28日目まで漸減するけれどもかなり大である。しかしそれ以後は24時間当りの排泄量は小で累積排泄量の増加は緩慢になり、63日目までに尿尿を経て投与量の58.5%の排泄率を示した。

第 3 図 累積排泄量の時間的推移
(全投与量に対する百分率)

なお第2図, 第3図にみられる如く, 排泄量は尿より尿に多く認められた。

3) 骨のオートラジオグラフィー

皮下注射による各臓器の分布状態をみると, 前述の如く脛骨に著しい沈着が認められたので, 脛骨のオートラジオグラフィーを行なって, 骨における沈着の状態を経時的に調べた。

その結果は写真1に示す如く, 注射後5時間目では骨端部に弱く, 骨端線近くの骨幹端にやや強い黒化度が認められ, 24時間目では全体的に黒化度が強度になり, 特に骨幹端はかなり強度で, また骨端部も骨幹端とほとんど同程度に著明となり, 7日目ではさらに全体的に非常に強い黒化度が認められた。14日目では骨端線近くの骨幹端がやや弱くなり, 28日目では全体的に黒化度が弱く, ことに骨端線近くの骨幹端はかなり弱くなっている。しかし骨端部はほとんど変化は認められず, 大体14日目と同程度の黒化度を維持している。63日目では全体的に著しく弱くなっているが, 骨端部のみは著しい減少は認められなかった。

考 察

^{95}Zr の動物体内における分布は Ogawa ほかがラットおよびマウスについて皮下, 腹腔内注射を行なって, マウスでは注射後 12 時間目, ラットは 24 時間目まで観

察を行なっているが, 投与後長時間の代謝を追求することも重要と考え, 著者は 63 日目までの推移をみた。

Ogawa ほかは皮下注射後 2 時間目, 4 時間目, 6 時間目いずれも血清について肺に高い摂取率を示し, 24 時間目においても血清, 骨について高率であると報告し, また, 呼吸からの fall out 沈着による人間での ^{95}Zr - ^{95}Nb の体内分布は, McDonald E. et al, J. Rundo et al, T. Schönfeld et al らが肺に多く認められたと報告しているが, 本実験では肺臓は注射後 5 時間目で骨, 腎臓, 肝臓につく沈着率を示すが, 以後減少し 63 日目では骨, 脾臓, 切歯, 睾丸, 肝臓の次に沈着率を認めるが, 特に肺臓への沈着は認められなかった。これは ^{95}Zr - ^{95}Nb 化合物の溶解性および体内進入経路による差と考えられる。

主要排泄臓器である腎臓は 5 時間目, 24 時間目いずれも骨について高率を示し, Ogawa ほかの成績と一致している。

Mally et al¹⁰⁾, 中沢¹¹⁾, Barnum et al¹²⁾ は ^{32}P 投与実験において, ラットおよび家兎の歯牙の ^{32}P の沈着量は 21 日まで増加を認めたと報告し, 石西ら¹³⁾ は家兎の歯牙の ^{32}P は 14 日まで増量し, 21 日まで僅かに減少する旨を報じているが, 本実験ではラットの切歯の ^{95}Zr - ^{95}Nb は注射後急速に増加し, 14 日目まで骨について高率を示し, 28 日目では骨が減衰しはじめるに反して, さらに増加をつづけて切歯が最高率を示すが, その後急速に減少し, 63 日目では骨, 脾臓について睾丸と同じ程度の沈着率を示している。また石西らは家兎大切歯を歯根部より歯冠部に亘り細断して ^{32}P 皮下投与時の沈着過程を逐的に観察し, 投与後 3 日目, 7 日目は歯根部が歯冠部に比してその濃度は極めて高度であり, 21 日目には最高濃度の部分は中間部に移動すると報告しているが, ^{95}Zr - ^{95}Nb が同様に歯根部から歯冠部の方へ移動するものと考えれば, 萌出と摩耗が同時に行なわれているラットの切歯においては, 28 日目までは他の臓器に分布した ^{95}Zr - ^{95}Nb が血液中に再び放出され, 萌出をつづけている門歯にとり入れられ, その ^{95}Zr - ^{95}Nb は逐次歯根より歯冠部の方へ移動して, 歯根部より歯冠部に亘っての量が最大になった時期が 28 日目頃であると考えられ, 28 日目以後においては他の臓器から血液への放出も少なく, 萌出する切歯に新しく摂り入れられる ^{95}Zr - ^{95}Nb も少なく, そのうえ, 歯冠部が摩耗されていくということから急速に減少が認められるのではないかと考えられる。

^{95}Zr - ^{95}Nb の骨における摂取率は, Ogawa ほかの実験

写真 1 脛骨 (下腿骨) のオートラジオグラフ

では皮下注射後 24 時間までの観察で、注射後 2 時間目、4 時間目、6 時間目まで肺臓に次ぐ摂取率を示し、24 時間目では骨が最高であると報告しているが、本実験では注射後 5 時間目から摂取率は最高で、24 時間目以降他の臓器に比して著明な高率を示し、その傾向は 63 日目まで引きつづいて観察された。すなわち、 ^{95}Zr - ^{95}Nb は体内に吸収されると短時間で骨に選択的に集まり、また一方では、他の臓器に分布して再び血中に流出した ^{95}Zr - ^{95}Nb の一部を逐次摂取するため、かなり長時間に亘って停滞、内部照射するものと考えられる。この骨への親和性が、無機物質代謝の最も旺盛である骨組織について観察されることは、 ^{95}Zr - ^{95}Nb の臓器沈着性を考える上においてきわめて重量な点と考えられる。

この点に関して骨のオートラジオグラフィの成績が示す如く、骨の各部における放射能の変動という現象は、長管骨の大腿骨について ^{32}P 投与実験において渡辺¹⁴⁾、 ^{89}Sr 投与実験において横路¹⁵⁾が認めているが、長管骨におけるその変動は、いずれも早期には大腿骨の遠位端に強く、骨幹部における沈着は著明ではないが、後期には遠位端、近位端いずれよりも骨幹部に近い部分にかなり著明な沈着が認められた旨報告している。本実験の脛骨においては、投与後早期にはまず骨幹部特に近位端に著明に沈着し、注射後 7 日目、14 日目において骨端部にもかなり著明な沈着が認められるようになるが、注射後 28 日目を経て 63 日目の後期には再び骨幹部は減少し、骨端部のみはひきつづいて沈着がみられ、骨幹部には全期間を通じて著明な沈着は認められず、 ^{32}P 、 ^{89}Sr の投与実験の如き大腿骨における骨幹部への移動はみられなかった。

J. G. Hamilton¹⁶⁾ は 5-ミクロン切片によるラットの大腿骨のマイクロオートラジオグラフィの研究を ^{89}Sr 、 ^{88}Y 、 ^{95}Zr 、 ^{144}Ce 、 ^{228}Th 、 ^{239}Pu そして ^{241}Am について実施し、 ^{89}Sr の代謝はカルシウムと大変よく類似し、大腿骨の ^{89}Sr の蓄積は骨質または無機質構造を通じて平等に分布され、 ^{95}Zr はそれと異なって、 ^{239}Pu と同様にその大部分は骨の中に結合しているのではなく、骨膜、骨内膜および骨梁の表面に附着し、オステオイド基質の中やその附近に集中してみられ、骨の小さい血管の壁の中に入るかもしれないと考えられると報告している。本実験の結果も大腿骨と同じ長管骨である脛骨につきほぼ同様な結果が観察されるが、オートラジオグラフィがミクロとマクロとの差のあることに留意せねばならないと考えられる。

本実験の脛骨のオートラジオグラフにみられる如く、

長管骨における ^{95}Zr - ^{95}Nb の分布および沈着は、骨端部および骨幹部において、海綿状構造がよく発達し、骨梁が多岐に亘り形成され、血管分布が骨幹部に比して密であり、生体における生長期において骨の發育に最も関与している点を考えるとき、当該物質が血流により運ばれ最も高度に分布沈着し、強力な内部照射を造血臓器たる骨髓に行なうものと考えられ、急性障害としての放射線障害と共に、慢性障害としての白血病および悪性腫瘍に対する可能性を考え合わせ、じゅうぶんにこの点につき将来とも研究考察されねばならないと考えられる。

結 論

(1) 皮下注射された ^{95}Zr - ^{95}Nb のラット臓器分布の時間的推移は、実験の全期間を通じて脛骨に著明な沈着がみられた。ついで切歯に高率を示すが、63 日目では他の臓器と大体同程度に減少した。腎臓は 28 日目まで脛骨、切歯について高率で、以後急速に減少し 0.1% 以下になる。脾臓は 24 時間目では脛骨、腎臓、切歯、肝臓、副腎について第 6 位であるが、以後僅かな減少しか認めず、63 日目では脛骨を除く他の臓器中最高位である。睾丸は 28 日目まで他の臓器中中位にあるが、以降ほとんど減少がみられず、63 日目では脛骨、脾臓、切歯について第 4 位である。

(2) 尿、尿への排泄量は注射後最初の 24 時間が最も多く、以後 24 時間当りの排泄量は減少し、14 日以降は尿、尿ともにほとんど減少せずおおむね類似の値を保ちつつ長時間に亘って排泄がみられた。全期間を通じて尿より尿に多く排泄された。

(3) 脛骨のオートラジオグラフィの結果、骨に沈着された ^{95}Zr - ^{95}Nb は初期には骨端線近くの骨幹部に強く、以後骨端部にも強度となり、14 日目を以降漸次骨端線近くの骨幹部から減少するが、骨端部はほとんど変化なく、63 日目では骨端部のみひきつづいて沈着が認められた。

擧筆に当り、終始御懇篤なる御指導ならびに御校閲をいただいた猿田南海雄教授に心から感謝申し上げます。また、御指導と御助言をいただいた石西助教教授に深謝いたします。なお、種々御助言をいただいた九州大学医学部放射線基礎医学吉永春馬教授、九州大学農学部山田芳雄教授に深謝し、併せて、本実験に御協力頂いた教室員の方々に厚く御礼申し上げます。

本論文の要旨は第 35 回日本衛生学会総会において発表した。

文 献

- 1) 森重敏子: 日本衛生学雑誌 18; 6, 1964
- 2) 森重敏子: 日本衛生学雑誌 20; 2, 1965
- 3) 中西勝三ほか: 大阪市立大学医学雑誌 vol. 11; No. 5, 8, 1962
- 4) 山果 登: 公衆衛生院研究報告 vol. 11; No. 3, 1962
- 5) McDonald, E. et al: Health Physics vol. 10, No. 12, 1964
- 6) Rundo, J. et al: Nature vol. 205, No. 4966, 1965
- 7) Schönfeld, T. et al: Nature vol. 185, No. 4707, 1960
- 8) Ogawa, E. et al: Gunma Journal of Medical Sciences (Rats) vol. 4, No. 3, 1960
- 9) Ogawa, E. et al: Gunma Journal of Medical Sciences (mice) vol. 4, No. 3, 1960
- 10) Manly, M. L. et al: J. Biol. Chem., 129; 125, 1939
- 11) 中沢 靖: 日本医学雑誌 14; 3, 390, 1955
- 12) Barrum, C.P. et al: Am. J. Physiol., 135; 478, 1942
- 13) 石西 伸ほか: 医学研究 28; 9, 3154~3164, 1958
- 14) 渡辺 漸: 日本病理学会々誌 46; 3, 183~239, 1957
- 15) 横路謙次郎: 日本血液学会雑誌 21; 5, 昭 33
- 16) Jos, G. Hamilton, M.D.: Radiology vol. 49, 1947
- 17) Walter, D. Clavs: Radiation Biology and Medicine Chapter 14.
- 18) 化学の領域委員会: アイソトープ実験技術 南江堂
- 19) 化学の領域委員会: アイソトープ実験技術 2集応用操作篇I 南江堂
- 20) 化学の領域委員会: アイソトープ実験技術 3集応用操作篇II 南江堂
- 21) 木村健二郎: 放射線データーブック 地人書館 昭 32
- 22) Russell, R. S.: Radioactivity and Human Diet. 1966

(受付 1966 年 6 月 7 日)