生物体内の Cd の分布について (第1報)

On the Distribution of Cd in Biological Materials

Part 1. Human Hair and Rice Straw

金沢大学医学部衛生学教室

石崎 有信・福島 匡昭・坂元 倫子

Arinobu Ishizaki, Masaaki Fukushima and Michiko Sakamoto

Department of Hygiene, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa

The discovery of the fact that "Itai-itai" disease is caused by a chronic cadmium intoxication leads us to investigate in detail the cadmium distribution in biological materials.

As in nature Cd and Zn are usually found mixed, we have analysed quantitatively both Cd and Zn in biological materials, observing their changing ratio. As to our analytical methods, they are discussed in the preface.

I. Human hair:

The following samples were collected from:

25 males from the epidemic district of "Itai-itai" disease.

36 females including patients with this disease.

6 males and 6 females from other safe districts.

Results:

The hair of young females in the non-epidemic districts revealed the highest contents of Cd accompanied with the greatest amount of Zn contents. Because no remarkable difference can be found in the hair either in the epidemic district or in the non-epidemic district, the observation of Cd contents in the hair is not very effective for a clinical diagnosis of intoxication as in the case of mercury.

II. Rice straw:

Samples used were two kinds of stubble grown in the "Itai-itai" disease epidemic district. They were divided into 5 kinds—rice corn, chaff, halm, stubble and root—and analysed.

The higher the part, the lower were the contents of Cd and Zn.

ま え が き

1. はじめに

イタイイタイ病の原因が慢性 Cd 中毒であることは明らかになったが¹⁾, Cd がどのような形で人体に入り,どのように作用したかという詳細になると不明確な点が多。それらを解明するためにも, また Cd 中毒の予防を考える上からも, Cd が自然界ことに生物体内にどのように分布しているものであるかを調査する必要が生じて来た。今回は同病の原因究明の一端として行なった各種の生物体の分析成績を報告すると共に, 食品衛生の見地から各種の食品について分析した成績をも併せて報

告したい。

Cd は Zn と化学的によく似ているため, 自然界には Zn と混在するのが普通であり, 生物体内でも Zn の不純分ともいえる形で一緒に代謝している場合が多いと考えられるので, Zn についても同時に分析を行ない, Zn と Cd の比の変動について観察した。

2. 分析方法

i) Zn について

生物にとって Zn は不可欠な元素であり, 動植物ともに広く分布しており, その濃度もあまり低くない。従っていろいろな分析法が可能であるが, 便利で正確な実用的な方法は少ない。われわれは以前は Di-beta-naphthyl-

thiocarbazone による抽出比色法⁹⁾を用いていたが、感度は高いが精度については充分なことは期待できないし、ポーラログラフも用いたが試料の数が多いときには時間がかかり実用的でないで、最近では主として原子吸光法によっている。

Zn を分析するとき最も注意しなければならないのは器具及び試薬の不純分による汚染であって、普通の試験管は蒸留水を入れただけでかなりのブランク値がでてくる。水についても同様であって、普通の蒸留器で一度蒸留したものを更にガラス製の蒸留器にかけたが、ジチゾンで定性して見るとマイナスにならない。むしろイオン交換樹脂を通した方がジチゾンで陰性になる。Zn イオンが遊離の形でなくなっただけで完全にとれているわけでないという疑いもあるが、実用的には不都合を感じたことはないで、一度蒸留一度イオン交換の形で精製した水を用いている。

1) 装置及び試薬

a. 装置：原子吸光光度計 Perkin-Elmer 303 型

b. 試薬

(1) Zn 標準溶液：特級金属亜鉛を塩酸で溶かし、Zn 1mg/ml 含むものを作り、貯蔵原液とし、これを希釈して使用する。

(2) 硝酸：試薬特級

(3) 硫酸：高純度特級

2) 試料の処理

乾燥試料1~2.5g を蒸発皿にとり、時計皿でおおい、硝酸(必要量)及び硫酸(1ml)で湿式灰化する。過塩素酸を少量加えると灰化が早くすむ。灰化完了後しばらく加熱をつづけて、硝酸及び過塩素酸をなるべく少なくする。冷後蒸留水で洗い込み、10ml 或いは 25ml とする。

3) 操作

灰化液中の Zn が低濃度の場合は、灰化液の一部をとり、蒸留水で2~5倍に希釈し、高濃度の場合には50~100倍に希釈して原子吸光光度計で測定する。基準液は試料と同程度の硫酸量を含むものを使用する。

ii) Cd について

微量の Cd を分析するには従来はジチゾン抽出による比色法が最も普遍的に行なわれており、標準的な分析法として採用もされている⁹⁾。またポーラログラフによる分析法も広く行なわれているが、近年は原子吸光法による測定が簡便であるため次第にこれに置きかえられている情勢である。

Cd に原子吸光法を応用するとき、他の原子による妨

害は少ない方であって、Si 以外は問題にされていないようである⁹⁾。われわれの経験では 1ppm 以上ほどの充分な濃度に Cd を含む水溶液の場合は、弱酸性の状態でのまま原子吸光にかけても実用的には充分な精度で測定が可能であった。但し硫酸酸性のときはその影響を受けて吸光度は高くなる。

1ppm より低い程度の水溶液のままでは精度が低いので、APDC (Ammonium Pyrrolidine-dithiocarbamate) 及び MIBK (Methyl Isobutyl Ketone) による抽出操作を行なう方がよい。

1) 装置及び試薬

a. 装置：原子吸光光度計 Jarrell-Ash AA-I 型 pH の測定には日立一堀場 M 5 を使用した。

b. 試薬

(1) Cd 標準溶液：試薬特級 $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ より Cd 1mg/dl 含むものを作り、貯蔵原液とし、希釈して使用する。

(2) 硝酸：試薬特級

(3) 硫酸：高純度特級

(4) アンモニア水：試薬特級品を2倍及び10倍に希釈する。

(5) メチルオレンジ溶液：0.1%水溶液を作り、4倍に希釈して使用する。

(6) 2M 硫酸アンモニウム溶液：試薬特級の $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ で 264g/l の溶液を作り、pH 計を用いて硫酸及びアンモニア水で pH 2.6 のものと、pH 2.8 のものを作る。

(7) 1.2% APDC 溶液：高純度特級ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム 1.2% 水溶液、使用時ごとに新しく調製する。

(8) 水飽和 MIBK：試薬特級メチルイソブチルケトンに分液ロートにとり、蒸留水を適量加えて振とう、放置後上層を濾過して使用する。

2) 操作

Zn を測定した残りの灰化液の一部 (Cd を 0.1~1.0r を含むようにする) を 25ml の共栓遠沈管にとり、蒸留水で 5ml とし、メチルオレンジを一滴加えて、 NH_4OH 、 H_2SO_4 で中和し、pH を 3.0 にする。蒸留水を加えて 10ml とし、予め pH 2.6 に調製しておいた 2M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 5ml を加える。1.2% APDC 液 0.5ml を加え、良く混和して、5分間放置後、MIBK 5ml を加えて 30秒間振とうする。5分間 3,000rpm で遠心し、或いは 5分間静置したのみで、上澄液を分離し、原子吸光光度計で測定する。Cd の基準液は、Cd を 0.1~1.0r 含む溶液をとり、蒸留水で 5ml とし、予め調製された pH 2.8

の2M (NH₄)₂SO₄ 10mlを加え、前記と同様に抽出する。

注) その後の経験で、灰化液中の硫酸量を考慮して、硫酸アンモニウムの濃度を1Mに調整すれば、APDC抽出を行なうpHは4~6の範囲の方がよいことに気がついた。

またMIBKの代りにクロロホルムで抽出する方法⁵⁾を推す人もあるが、クロロホルム法の良い点は遠心の必要性がないことにある。MIBK法に於ても遠心の必要があるか否かを検討した。抽出後直ちに5分間、3,000rpm遠心したものと、遠心しないで5分間静置後上澄液を分離したもの、15分間静置後のものについて比較した結果は表1の如くである。

表1 MIBK法の吟味

記録紙上の読み取り

実験	分離条件	基準液 r 数				試料		
		0.1	0.2	0.5	1.0	米 No. 1	米 No. 2	アロ肝
I	遠心	2.9	5.7	13.8	24.0	15.5	12.6	—
	5分放置	2.9	5.7	13.8	24.0	15.1	12.6	—
	15分放置	2.5	5.7	13.9	23.8	15.1	12.6	—
II	遠心	3.0	6.5	14.1	25.9	13.3	16.1	19.9
	5分放置	3.0	6.2	14.2	26.0	13.0	16.1	19.4
	15分放置	2.9	6.2	13.4	25.7	13.1	16.6	19.6

分析値として計算されたもの

実験	分離条件	試料			遠心を基準にした時の差の%		
		米 No. 1	米 No. 2	アロ肝	米 No. 1	米 No. 2	アロ肝
I	遠心	4.6	3.6	—	—	—	—
	5分放置	4.5	3.6	—	-3	0	—
	15分放置	4.5	3.6	—	-3	-1	—
II	遠心	4.6	3.6	22.5	—	—	—
	5分放置	4.6	3.6	22.2	0	-1	-1
	15分放置	5.0	3.8	23.4	+9	+4	+4

基準液については、遠心したものと、5分間静置したものとは殆んど差がないが、15分放置では低値を与える傾向がある。また試料液では5分間放置では低値を示す場合があり、15分放置では値が動揺し不安定である。いろいろの夾雑物が含まれている試料液では、放置による分離に時間がかかり、反面MIBKに抽出されたAPDC錯塩は時間経過とともに水層に逆行する性質があるためである。結局5分放置は遠心法より低値を与える傾向はあるが、その差は小さいので、精密さを特に要求されない場合には遠心を省略して5分放置でも差しつかえないと

考えられる。

クロロホルム法について吟味してみたが、その再現性は、MIBK法より良いとは思われなかった。またクロロホルムの燃焼産物が著しい刺激臭を放つのが難点である。

I 毛髪

1. 目的

有機水銀中毒では、水銀が毛髪によく集まって、600ppmにも達し、人体内に有機水銀が貯留しているかどうかの良い指標になることが知られている⁶⁾。Cdも化学的にはHgと同属であるので、似たような現象があるか否かを見る必要があると考えた。

2. 試料の集め方

イタイイタイ病発生地区のものは萩野昇博士の御好意によって、同氏の病院に入院している患者の一部からと、健康者のものは婦中町の理髪店で集めたものである。金沢市在住者はわれわれの教室に勤務しているものである。

得られた試料はエーテルで数回洗滌して乾燥したものを分析した。

3. 成績

分析結果は表2に示したが、CdとZnの比はCd/Zn×100の形で表わした。最もCdの含有量の高かったのは、I病患者を含む婦中町の老齢女子で、その平均値は0.68ppmであった。Znはその割合には高くないので、CdのZnに対する比率は高く、0.60に達しているものもある。

同年齢層の女子で、Cd汚染地区外に住むものは2例を観察できたのみであるが、Cd濃度は0.26ppmと0.19ppmで低い数値といえるものであって、婦中町の老齢女子にはCdが体内に蓄積の多いことを示しているものと考えさせられる。

しかし、若年の女子の毛髪はかなりのCdを含んでいて、金沢市在住者でも0.40、0.80、0.98であってI病患者と同程度である。またI病発生の中心地に住む1例が0.66、発生地外の1例は0.52となっていて、全沢市在住者と大差がない。但し一般に重金属類は若年の女子の毛髪に多いといわれているものであって⁷⁾、Cdの多いときはZnも多くてCd/Zn×100は0.20~0.25と動きは小さい。Cdのクラーク数⁸⁾は 1.5×10^{-5} 、Znについては 8×10^{-8} とされているので、これらの数値からCd/Zn×100を計算すると約0.2となる。若年女子のCd率はほぼこれに近い。

男性の方はI病地区の老人でもCd量は少ないが、ただ1例だけ1.38ppmという異常に高い人があった。青

表2 毛髪中の Cd, Zn 含有量

イ病発生地域

	55歳以上 男子			55歳以上 女子			20歳前後 男子			20歳前後 女子		
	Cd ppm	Zn ppm	$\frac{Cd}{Zn} \times 100$	Cd ppm	Zn ppm	$\frac{Cd}{Zn} \times 100$	Cd ppm	Zn ppm	$\frac{Cd}{Zn} \times 100$	Cd ppm	Zn ppm	$\frac{Cd}{Zn} \times 100$
	0.18	220	0.08	0.68	190	0.36○	0.20	190	0.11	0.66	310	0.21
	0.37	140	0.27	0.44	170	0.27○	0.40	210	0.19			
	0.38	190	0.21	0.26	200	0.13○	0.56	220	0.26			
	0.20	210	0.10	0.44	200	0.22○	0.34	890	0.04			
	0.16	160	0.10	0.49	180	0.28?	0.22	190	0.12			
	0.32	190	0.17	1.20	330	0.37?	0.31	190	0.16			
	0.20	180	0.11	1.00	170	0.60	0.21	200	0.10			
	0.24	190	0.13	0.96	450	0.22	0.26	190	0.14			
	0.18	200	0.09				0.20	190	0.11			
	0.32	190	0.17				0.15	180	0.09			
	1.38	200	0.68									
平均	0.36	190	0.19	0.68	240	0.31	0.29	270	0.13			

非発生地域

				0.19	250	0.08	0.15	170	0.09	0.52	260	0.20
				0.26	130	0.20						

対照地区 (金沢在住民)

				0.32	250	0.13	0.24	200	0.12	0.98	390	0.25
										0.40	170	0.24
										0.80	390	0.21
平均										0.73	320	0.23

(注) ○印はイ病患者, ?は同容疑者

年についても老年期のものと大体同様な数値であった。Zn に対する Cd の比率は若年の女性よりも小さい数値を示している。

4. まとめ

試料の集まり方に偏りが強くて十分な比較はできないが、イタイイタイ病の好発年齢である老齢女子では、毛髪中の Cd 量は高値を示す傾向があることは確からしいが、Cd 汚染の全くない地方の若い女性とほとんど同程度の値であって、毛髪中の Cd 含有量を観察することは、有機水銀中毒の場合とは異なり診断や疫学的調査の上で価値は少ないといわねばならない。

II 稲, 蕨

1. 目的

イタイイタイ病発生地地区の Cd は河川水で運ばれて来たものであり、当然水田に沈澱し、水田作物である稲に大きな影響を与えている。稲は選択的に Cd を吸収する

という考えが発表⁹⁾されているので、それを確かめるためにイ病発生地地区の稲、蕨について分析を試みた。

2. 試料の採集

試料を採集したのは昭和42年の秋で、刈取りの適期とされている頃である。十五丁部落はイ病発生の中心地区で水田の Cd 汚染も高度であり、押上部落は汚染の程度が軽い地区である。品種及び稲株についていた泥の分析値は表3の如くである。

表3 試料の採取状況と土壌分析値

採取場所	採取日	品 種	泥 中		
			Cd ppm	Zn ppm	$\frac{Cd}{Zn} \times 100$
十五丁(1)	8月24日	豊年早生	4.4	850	0.52
(2)	〃	〃	2.4	366	0.66
押 上	9月6日	越 光	1.6	404	0.40

3. 成績

もみを落してから茎葉部は大体中央で上下にわけ、約 1cm の長さにきざんで、混和して分析試料をとった。根は流水中で静かに洗い、泥を全部落してから乾燥した。株と呼んだ部分は、基部が約 1cm、根部が約 0.5cm ついている。分析試料はいずれも 1 株分について混和して部分をとった。分析した結果は表 4 の如くである。いずれも乾燥物質についての ppm 単位である。

表 4 稲の部分別分析成績
(乾燥重量当り濃度 ppm)

		米	もみ がら	茎葉 部上	同下	株	根
Cd	十五丁(1)	2.5	4.3	11.0	25.0	21.5	18.5
	(2)	3.0	4.3	19.0	15.5	42.5	52.5
	押 上	0.5	0.5	0.8	0.9	2.0	1.4
Zn	十五丁(1)	28	65	103	260	420	583
	(2)	29	84	110	170	550	625
	押 上	24	36	52	75	135	320
$\frac{Cd}{Zn} \times 100$	十五丁(1)	8.9	6.6	10.7	9.6	5.1	3.2
	(2)	10.3	5.1	17.3	9.1	7.7	8.4
	押 上	2.1	1.4	1.5	1.2	1.5	0.4

Cd も Zn も共に根に最も濃度が高く、上に行くほど低く、米粒では最も低くなる。

また土壌中の Cd, Zn と稲中のものとの関係は、必ずしも並行しない。おそらくはこれら重金属が溶解され易かったか否かの条件によって異なった吸収を示したものと思う。

Cd/Zn の比は土壌中の値に比して Cd の多い方に傾いており、とくに土壌中の Cd 濃度の高い場合にこの比の値が高い。稲が特に Cd をよく吸収するのか、或いは Cd の方が溶解され易い状態であったのかどちらかであ

ろう。

4. まとめ

Cd に汚染された水田の稲、葉中の Cd 量は根に特に高く、茎葉部、もみがらの順と低くなり、米粒に最も低い。Zn も同様である。土壌中の Cd, Zn の多いほど葉中にも多いようであるが必ずしも並行しない。Cd/Zn は土壌中よりも葉中がはるかに高かった。

本研究の一部は厚生省公害医療研究費によった。また本論文の一部要旨は第39回日本衛生学会総会において発表した。

文 献

- 1) 石崎有信, 福島匡昭: イタイイタイ病, 日衛誌, 23, 271 (1968).
- 2) Cholak, J., Hubbard, D. M. and Roland, R. E.: Determination of Zinc in Biological Material, Indust. and Engineer. Chem., 15, 754 (1943).
- 3) 公害関係法規総覧 1: p. 369, 新日本法規出版, 東京 (1960).
- 4) 武内次夫, 鈴木正巳: 原子吸光分光分析法, p. 75, 南江堂, 東京 (1964).
- 5) 永田正, 志村博, 寺島敏雄: 原子吸光分析法による食品中の Cd の分析, 食衛誌, 日本食品衛生学会第 16 回学術講演会, 9 月 (1968).
- 6) 上田喜一: 阿賀野川水銀中毒事件の論争点, 日公衛誌, 15, 525 (1968).
- 7) 石沢正一, 酒井淳, 森川幸雄, 倉恒匡徳: 頭髮の微量元素について (第 3 報), 日衛誌, 18, 167 (1963).
- 8) 化学大辞典 3: p. 67, 共立出版, 東京 (1962).
- 9) 吉岡全市: 神通川水系鉍害研究報告書, 6 月 (1961).

(受付 1969 年 5 月 6 日)