実験的カドミウム中毒による貧血 ——臓器中鉄、カドミウム量及びVD欠乏との関係——

Cadmium-induced Anemia in Relation to Cadmium and Iron in
Organs and Vitamin D Deficiency

金沢大学医学部公衆衛生学教室

田 丸 忠 良

Tadayoshi Tamaru

Department of Public Health, School of Medicine, Kanazawa
University, Kanazawa

Female Wistar rats with an average body weight of 100 g were divided into 8 groups according to three levels of vitamin D₂ added to their diets (0, 1 and 5 IU/100 g of food), two levels of cadmium (0 and 10 mg/100 g of food) and the method-oral or subcutaneous-for administration of cadmium.

Rats were exposed to cadmium for 500 days.

There was a significant decrease of the iron content in the liver, kidney and femur in rats which had ingested cadmium and in vitamin D-deficient control rats. However in the rats which had been injected cadmium there was no decrease in iron in the liver, and only a slight decrease in iron in the femur and kidney was observed.

Significant reductions of hematocrit and hemoglobin were found only in those rats which had received cadmium both orally and subcutaneously, although there was no significant difference for iron concentrations in organs between rats having ingested cadmium and rats receiving it both orally and subcutaneously.

These results indicate that cadmium-induced anemia can not explained merely as an iron deficiency caused by the oral exposure to cadmium.

I. 緒 言

カドミウム（以下 Cd）は環境汚染物質として重要視されている重金属の1つである。亜鉛鉱石など他の鉱物とともに産生され、従ってそれらの鉱山活動により環境中に拡散されることが多い。日本では鉱山活動によって、Cdを含む廃水が河川に流れこみ、これらの河川をかんがい用水として利用している水田土壤中に蓄積し、その水田で栽培された米を通して人体に侵入するのが最も普通にみられる人体汚染の経路である。その他鉱石を精錬する工場の排煙によって土壤汚染を生じる場合もみられているが、そのような汚染は工場附近に限局するのが特徴的である。Cdによって環境が汚染されている地域は日本各地で多数報告されており¹⁾、実際にCdによる人体影響の認められている地域も存在する²⁻¹⁵⁾。経口的Cd曝露の際の標的臓器は腎と考えられており、上述のCd

汚染地区に居住する人々の中にも腎障害を呈する者が多数見い出されている²⁻¹⁵⁾。

イタイイタイ病は富山県神通川流域のCd汚染地区に多発した骨軟化症類似の骨症状を主徴とする特異的な疾患であり、Cdによる環境汚染との密接な関連性が指摘されている^{2, 3, 16-23)}。

このイタイイタイ病患者には骨軟化所見、腎機能障害の他に重症の貧血を呈するものが、存在することが最近明らかにされてきた²⁴⁾。そもそもCd曝露の際に貧血のみられることは人間においても²⁵⁻²⁹⁾動物実験によっても観察³⁰⁻⁴²⁾されており、腎障害、経気道的曝露の際の肺気腫と並んで注目されている病的所見である。動物実験の報告によればCd曝露による貧血は鉄代謝と関係があり^{30-32, 36, 38, 42)}、食餌中の栄養素によって貧血の発生及びその重症度が影響されるといわれている^{30, 32, 35, 36, 39, 40, 42)}。ビタミンD（以下V.D）はその活性化が腎臓で行われて

いることから Cd 中毒との関係が以前から注目されている。しかし V.D の Cd 中毒に及ぼす影響に関する長期間の観察を行った研究は少ない。今回の実験目的は Cd 曝露による貧血の発生と Cd 投与の際の鉄 (以下 Fe) 代謝異常, 及び食餌中 V.D との関係を探らねにしようとするものである。

II. 研究 方 法

1. 実験動物及び実験条件

体重 100 g 前後のウィスター系雌ラット70匹を Cd 投与の有無, 投与方法と餌に対する V.D 添加の有無, 添加量により, Table 1 に示すように8群に分けた。ラットは乱数表を用い無作為にふり分けた。V.D としては V.D₂ (和光純薬製) を大豆油に溶かして用い, 基本飼料 100 g 当たり 5 IU と 1 IU の割合に添加した。しかし後述するように実験開始後80日目までは添加量は 2.5 IU/100 g 餌と 0.5 IU/100 g 餌とした。

Cd は経口投与と経皮的投与の2種類の投与方法を用いた。経口の投与では, 塩化 Cd (和光純薬製試薬特級) を用い, 餌に Cd として, 100 ppm の濃度になるように添加した。経皮的投与では塩化 Cd を滅菌した生理食塩

水に Cd として 300 ppm の濃度になるように溶解し, その溶液 0.5 ml を背部皮下に注射した。Table 1 に示すように1~3群は対照群, 4, 5群は Cd 経口投与群, 6, 7群は Cd 経口, 皮下とも投与群, 8群は Cd 皮下投与群である。基本飼料は Table 2 に示す内容から成っており各食品を機械的によく混合して作成した。

2. 検査項目と検査材料の採取

貧血の指標としてヘモグロビン (以下 Hb), ヘマトクリット (以下 Ht) を用いた。血液は実験開始後425日と500日の2回採血を行った。1回目は尾静脈を切断し出血させて採血した。2回目は開腹後, 腹部大動脈を注射針で穿刺し採血した。抗凝固薬としてヘパリンを用いた。体内の Cd 蓄積状況を知る目的で, 肝, 腎, 大腿骨中の Cd 量を測定した。実験開始後500日目でラットを失血死させた後, 肝, 腎, 大腿骨をとり出し, 直ちに重量測定後, 分析時まで-20℃で凍結保存した。

Fe 代謝を知るために上述の肝, 腎, 大腿骨の他に, 大腿筋中の Fe 量を測定した。大腿筋を採取後直ちに重量を測定し, 同様にして, 分析時まで保存した。

3. 測定方法

Hb はシアンメトヘモグロビン法, Ht は毛細管法で測定した⁴³⁾。各臓器中の Cd は以下のようにして測定した。

Table 1 Experimental condition for each group

Group NO.	V.D.	Cd		Number of Rats Food Consumption		
		Oral ^c	Inj. ^d	Initial	Final	g/Rat/Day
1	++ ^a	—	—	6	5	13.8
2	+ ^b	—	—	6	4	14.1
3	—	—	—	6	3	13.8
4	+ ^b	+	—	10	3	14.3
5	—	+	—	10	6	12.8
6	++ ^a	+	+	10	5	15.2
7	+ ^b	+	+	12	6	15.3
8	+ ^b	—	+	10	4	13.6

a: Vitamin D₂ was added to the control diet at the rate of 2.5 IU/100 gm of food for 80 days and 5 IU/100 gm of the diet for 420 days

b: Vitamin D₂ was added to the control diet at the rate of 0.5 IU/100 gm of food for 80 days and 1.0 IU/100 gm of the diet for 420 days

c: Cadmium was added in the form of cadmium chloride to the control diet in a concentration of 10 mg Cd/100 gm of food

d: A 0.5 ml cadmium chloride solution (300 µg Cd/ml) was injected subcutaneously 22 times during the experiment

Table 2 Composition of control diet

Contents	Percentage composition
Rice powder	60 (g/100 g of diet)
Defatted soybeans	30
Bean oil	5
Mineral mixture ^a	3
Vitamin mixture ^b	0.17
Lactose	1.83
Observed mineral concentration	
Cd	0.008 (mg/100 g of diet)
Zn	4.76
Ca	89
P	275

a: The salt mixture contained (mg/100 g of food): NaCl 84.4 Na₂CO₃ 176.3 K₂CO₃ 388.0 MgCO₃ 114.4 ZnCO₃ 4.2 FeSO₄·7H₂O 13.6 CuSO₄·5H₂O 2.2 KI 0.04 MnSO₄·H₂O 16.9

b: The vitamin mixture contained (mg/100 g of food): V.B₁-HCl 0.59 V.B₆ 0.29 Nicotinic acid 2.94 V.C 5.88 Ca-pantothenate 2.34 V.B₂ 0.6 Inositol 11.76 Biotin 0.01 Choline chloride 150 Folic acid 0.02 V.B₁₂ 0.002

肝，筋肉は1g前後の大きさのもの，腎は右側腎を硝酸，硫酸，過塩素酸で湿式灰化後蒸留水を加えて10 mlとしてそのまま原子吸光度計（島津 AA-610）で測定した。検出限界以下であったものは，灰化液の適量を取り，それを APDC-MIBK 抽出後，無炎原子吸光度計（日立 518 デジタル原子吸光度計-Perkin-Elmer HGA 2000）で測定した。骨は右大腿骨を硝酸，塩酸，過塩素酸で湿式灰化した後，灰化液の適量を取り APDC-M-IBK 抽出後，無炎原子吸光度計で測定した。肝，腎，筋肉中の鉄は灰化液を直接原子吸光度計で測定した。骨の Fe はこの方法では正確に測定できなかったため Fe キット-N（日本商事株式会社製）を用いて測定を行った。

III. 研究 成 績

Table 3 Hemoglobin, hematocrit and mean corpuscular hemoglobin concentrations 425 days after exposure to cadmium

Group No.	V. D	Cd		N	Hemoglobin (g/100 ml) M±S.D.	Hematocrit (%) M±S.D.	Mean corpuscular hemoglobin concentration (%) M±S.D.
		Oral	Inj.				
1	++	—	—	5	15.4±0.30	41.2±3.19	37.6±2.80
2	+	—	—	4	15.0±0.60	38.0±2.71	39.6±4.05
3	—	—	—	3	15.4±1.40	46.0±4.04	33.8±2.71
4	+	+	—	5	14.4±0.81	37.8±4.55	38.5±4.58
5	—	+	—	7	14.1±0.42	43.1±3.08	32.8±1.71
6	++	+	+	8	10.6±0.98	34.3±2.49	30.9±1.38
7	+	+	+	9	11.9±0.67	38.7±2.12	30.8±1.98
8	+	—	+	5	14.0±2.05	46.6±6.66	30.0±1.33

Significant difference, p, between groups:

1-2	NS	NS	NS
1-3	NS	NS	NS
1-6	<0.001	<0.01	<0.001
2-3	NS	<0.05	NS
2-4	NS	NS	NS
2-7	<0.001	NS	<0.001
2-8	NS	NS	<0.05
3-5	NS	NS	NS
4-5	NS	NS	NS
4-7	<0.001	NS	<0.05
4-8	NS	NS	<0.05
6-7	<0.01	<0.01	NS
7-8	NS	NS	NS

Group: As in Table 1

NS: Not significant

N: Number of rats examined

1. 実験経過

Cd 皮下投与は，実験開始後11日から51日の間に16回，270～286日の間に4回，326～343日の間に2回，計22回の投与を行った。1回の投与量は150 μgであり，合計3,300 μgのCdを皮下投与したことになる。経口，経皮的投与の両方を行った6，7群のラットでは皮下投与後，体重が著しく減少する時期にはCdの経口，経皮投与とも中止し，体重の回復をはかった。Cd投与を中止したのは，実験開始後70～81日，206～219日，297～312日，398～402日の間，計43日間であった。同様の理由でCd経口のみ投与群の4，5群でも実験開始後398～402日の間の4日間はCd投与を中止した。V.D量は最初，2.5 IU/100 g 餌と0.5 IU/100 g 餌の割合で添加したが，Cd経口，皮下とも投与，VD 2.5 IU/100 g 餌の6群においてもCd注射投与後，体重減少が著しく，実験の継続

が困難と思われたので、実験開始後81日目からは V.D 量を 5 IU/100 g 餌に変更した。また 0.5 IU/100 g 餌は 1 IU/100 g 餌に変更した。実験期間はできるだけ長期間として開始したが、実験は 500 日で打切った。実験途中死亡したラットについては今回の成績から除外してある。

2. Hb, Ht 及び平均赤血球色素濃度

Hb, Ht の測定は実験開始後 425 日と 500 日の 2 回行った。Table 3 には第 1 回目、Table 4 には第 2 回目の測定成績を示してある。1 回目と 2 回目の測定成績は、ほぼ同様の結果であった。即ち Cd を経口、皮下ともに投与した 6, 7 群では、多くの場合有意差が認められ、対照群に比較して、Hb, Ht 値、平均赤血球色素濃度 (以下 MCHC) の低下が観察された。

Cd を経口のみ投与した 4, 5 群では、Hb, Ht, MC-HC とも対照群と平均値は、ほぼ同じであり、両者の間に有意差を認めなかった。Cd を経皮的にのみ投与した 8 群も 4, 5 群とほぼ同じ成績であり Cd 投与による影響はみられなかった。

V.D 添加量による影響に関しては、Cd 投与群、対照群ともに V.D 量の差によると考えられる系統的な差は各群間に認められなかった。

3. 臓器中 Cd, Fe 濃度

Table 5 に肝、腎、大腿骨中の Cd 濃度を示してある。対照群 (1, 2, 3 群) では、1 群は 2, 3 群に比し各臓器とも Cd 濃度の上昇はみられたが、Cd 投与群よりも肝、腎、骨とも極めて低かった。肝では Cd 投与群である 4~8 群の平均値は 288~333 ppm にあり、6, 7 群間を除けば各群間の平均値に有意差は認められなかった。腎では 4 群、8 群の平均 Cd 濃度はそれぞれ 146 ppm, 143 ppm であるのに対し、5, 6, 7 群ではその平均値は 124~129 ppm であり、低い傾向を示していた。大腿骨では Cd を経口、皮下とも投与した 6, 7 群は Cd 経口のみ投与群である 4, 5 群よりも Cd 濃度の平均値は高く、その差は有意であった。

Cd を経口投与のみした 4 群と 5 群では、V.D 添加をした 4 群の方が V.D 無添加の 5 群より Cd 濃度の平均値は有意に高かった。Cd を皮下投与のみした 8 群の平

Table 4 Hemoglobin, hematocrit and mean corpuscular hemoglobin concentration 500 days after exposure to cadmium

Group No.	V. D	Cd		N	Hemoglobin (g/100 ml) M±S.D.	Hematocrit (%) M±S.D.	Mean corpuscular hemoglobin concentration (%) M±S.D.
		Oral	Inj.				
1	++	—	—	4	14.0±1.44	39.5±3.83	35.5±0.15
2	+	—	—	2	13.4	38.5	34.7
3	—	—	—	3	14.5±0.91	44.3±3.43	32.8±0.57
4	+	+	—	3	12.5±0.46	37.0±0.00	33.7±1.21
5	—	+	—	6	16.1±4.07	38.0±5.10	42.3±9.67
6	++	+	+	5	8.4±2.30	27.4±6.77	30.2±1.83
7	+	+	+	6	11.0±1.58	35.0±4.62	31.4±2.05
8	+	—	+	3	15.2±2.76	39.0±3.50	39.7±10.83

Significant difference, p, between groups:

1-3	NS	NS	NS
1-6	<0.01	<0.05	<0.05
3-5	NS	NS	NS
4-5	NS	NS	NS
4-7	NS	NS	NS
4-8	NS	NS	NS
6-7	NS	NS	NS
7-8	<0.05	NS	NS

Group: As in Table 1

NS: Not significant

N: Number of rats examined

均値は5群とほぼ同じ値であり，V.D 添加量が同じである4群と比較するとその平均値は有意に低かった。

Table 6 には肝，腎，大腿骨，大腿筋肉中の Fe 濃度を示してある。肝では対照各群間（1，2，3群間）の差は有意ではなかったが，V.D 量が最も少ない3群の Fe 濃度の平均値が最も低かった。Cd を投与した4～7群では対照群に比し，明らかな平均値の低下が認められた。この低下に関しては Cd 投与量，及び V.D 添加量による系統的な差はみられず，各群の平均値はほぼ同じ値であった。Cd を経皮的にのみ投与した8群では Fe 濃度の低下は全くみられなかった。腎では対照群である1，2，3群間では，V.D 添加量の最も多い1群の平均値が他の群より高くその差は有意であった。肝におけると同様に Cd 投与群である4～7群では対照群に比し，その平均値は明らかに低下していた。Cd 投与量の多い6，7群の方が Cd 投与量の少ない4，5群より Fe 濃度の平

均値は低くなっていた。しかし4—5群間，6—7群間では有意差はみられず，V.D の添加量による差は認められなかった。Cd 皮下投与のみの8群では対照群より平均値は低下しておりその差は有意であったが Cd 経口投与のみの4群よりも明らかに平均値は高くなっていた。骨では，対照群でその差は有意ではなかったが，V.D 無添加の3群は V.D を添加した1，2群よりも平均値は低下していた。Cd 投与群である4～7群では平均値の低下が明らかであった。しかしその低下には V.D 添加量及び Cd 投与量による系統的な影響はみられず各群ともほぼ同じ値を示していた。

Cd 皮下投与のみの8群では対照群より平均値は低かったが，その差は有意ではなく，Cd 経口投与のみの4群より有意に高い平均値であった。筋肉について対照群でみると，1，2，3群の Fe 濃度の平均値は V.D 量の最も多い1群で最高値を示し，最も少ない3群では

Table 5 Cadmium concentration in liver, kidney and femur

Group NO.	V. D	Cd		N	Cadmium ($\mu\text{g/g}$ wet weight)		
		Oral	Inj.		Liver M $\pm$ S.D.	Kidney M $\pm$ S.D.	Femur M $\pm$ S.D.
1	+	—	—	4	5.9 $\pm$ 2.6	13.9 $\pm$ 3.4	0.12 $\pm$ 0.03
2	+	—	—	4	0.3 $\pm$ 0.1	0.8 $\pm$ 0.2	0.04 $\pm$ 0.02
3	—	—	—	3	0.7 $\pm$ 0.4	1.0 $\pm$ 0.3	0.04 $\pm$ 0.02
4	+	+	—	3	296.3 $\pm$ 39.1	145.6 $\pm$ 6.9	4.83 $\pm$ 0.57
5	—	+	—	6	288.0 $\pm$ 66.0	128.7 $\pm$ 13.4	3.40 $\pm$ 0.57
6	+	+	+	5	287.9 $\pm$ 27.3	124.1 $\pm$ 19.0	7.53 $\pm$ 1.02
7	+	+	+	6	332.5 $\pm$ 30.1	124.1 $\pm$ 12.8	6.61 $\pm$ 0.83
8	+	—	+	4	293.2 $\pm$ 46.3	142.8 $\pm$ 29.2	3.63 $\pm$ 0.17

Significant difference, p, between groups:

1-2	<0.001	<0.05	<0.05
1-3	<0.001	<0.05	<0.05
1-6	<0.001	<0.01	<0.001
2-3	NS	NS	NS
2-4	<0.001	<0.05	<0.001
2-7	<0.001	<0.001	<0.001
2-8	<0.001	<0.05	<0.001
3-5	<0.001	<0.001	<0.001
4-5	NS	NS	<0.05
4-7	NS	<0.05	<0.05
4-8	NS	NS	<0.05
6-7	<0.05	NS	NS
7-8	NS	NS	<0.001

Group: As in Table 1

NS: Not significant

N: Number of rats examined

Table 6 Iron concentration in liver, kidney, femur and muscle tissue

Group NO.	V. D	Cd		N	Iron ($\mu\text{g/g}$ wet weight)			
		Oral	Inj.		Liver $M \pm S. D.$	Kidney $M \pm S. D.$	Femur $M \pm S. D.$	Muscle $M \pm S. D.$
1	++	—	—	4	460.8 $\pm$ 56.8	276.5 $\pm$ 62.4	109.2 $\pm$ 44.0	37.1 $\pm$ 2.1
2	+	—	—	4	501.9 $\pm$ 65.2	174.5 $\pm$ 22.2	131.7 $\pm$ 41.6	34.0 $\pm$ 1.7
3	—	—	—	3	331.5 $\pm$ 100.1	143.1 $\pm$ 13.1	53.0 $\pm$ 10.3	32.8 $\pm$ 7.1
4	+	+	—	3	99.5 $\pm$ 62.2	70.4 $\pm$ 6.0	33.4 $\pm$ 10.2	24.4 $\pm$ 3.0
5	—	+	—	6	80.8 $\pm$ 23.5	82.3 $\pm$ 9.6	29.3 $\pm$ 5.6	35.5 $\pm$ 4.8
6	++	+	+	5	71.4 $\pm$ 40.1	62.5 $\pm$ 14.8	32.4 $\pm$ 8.0	27.2 $\pm$ 2.9
7	+	+	+	6	103.7 $\pm$ 54.0	54.8 $\pm$ 5.8	44.9 $\pm$ 6.7	32.4 $\pm$ 4.7
8	+	—	+	4	533.7 $\pm$ 81.9	121.7 $\pm$ 11.4	75.9 $\pm$ 15.1	33.0 $\pm$ 3.1

Significant difference, p, between groups:

1-2	NS	<0.05	NS	NS
1-3	NS	<0.05	NS	NS
1-6	<0.001	<0.05	NS	<0.01
2-3	NS	NS	<0.05	NS
2-4	<0.001	<0.001	<0.05	<0.01
2-7	<0.001	<0.05	<0.05	NS
2-8	NS	<0.05	NS	NS
3-5	NS	<0.001	<0.01	NS
4-5	NS	NS	NS	<0.05
4-7	NS	<0.05	NS	NS
4-8	<0.001	<0.001	<0.05	<0.05
6-7	NS	NS	<0.05	NS
7-8	<0.001	<0.001	<0.05	NS

Group: As in Table 1

NS: Not significant

N: Number of rats examined

最低であった。一方 Cd 投与群では4群と6群で低い平均値であり、対照群との間に有意差を認めたが、他の群は対照群とほぼ同じ値を示し、有意差は認められなかった。

4. 大腿骨中 Cd 濃度と Hb 濃度との関係

Fig. 1 には各群の大腿骨中 Cd 濃度の平均値と第2回測定における各群の Hb 濃度の平均値との関係を図示してある。大腿骨中 Cd 濃度が増加するに従い Hb 濃度が低下していく傾向が認められる。大腿骨中 Cd 濃度と、Hb 濃度の間には密接な関係があることが明らかであった。

IV. 考 察

本研究の目的の一つとしてあげられるのは Cd による貧血に与える V.D の影響を明らかにすることであり、実験に用いた基本飼料は V.D 欠乏食であり、V.D₂ を2

Fig. 1 Association between cadmium concentrations in femur and average hemoglobin concentration for each group

段階に添加して対照群として3種類のCd無添加の飼料を作成した。また本研究の特長は長期間の観察を行うところにあるので、極端なV.D欠乏食では早期に死亡する可能性もあり、最も驚心したところであるが、結果からみてその目的を達することができた。V.D添加量による差が、当然想定されるので前述の如く対照群を3群にわけたわけであるが、発育曲線でもその効果が明らかに認められていた。

Cd投与法を経口的と経皮的の2方法に分けたのは腸管におけるFe吸収に対するCdの影響を明らかにするためである。Cdの摂取量を知るためには臓器中Cd濃度が有用と思われたので肝、腎、骨中のCd濃度を測定した。Cdは肝、腎に蓄積されることはよく知られている⁴⁴⁾。

今回の実験では基本飼料中のCd濃度は0.08 ppmであり主成分が白米粉であるのでこれは汚染のない場合の濃度に相当し、妥当な値と思われた。基本飼料のみを投与した対照群(1, 2, 3群)の中で1群だけが明らかに高い臓器中Cd濃度を示していた。ひなを用いた実験によれば、V.D添加群ではCdの吸収が促進されることが報告されており⁴⁵⁾、今回の結果にもV.D量の差が影響している可能性もある。しかし1群の各臓器における濃度は2, 3群に比してあまりにも高く、おそらく短期間の間、Cdを含む餌が誤って投与されたことによると考えられる。しかしこの1群の臓器におけるCd濃度は、他の実験群に比し極めて低く、この程度のCdによってもV.Dの効果が消去されるかどうかを観察される意味もあり、対照群として取り扱うことが可能と考えられた。Cdを投与した4~8群の肝、腎中Cd濃度は各群間に著しい差はなく、いわゆる飽和量に達していると思われた。一方Cd投与群における大腿骨中のCd濃度は、Cd経口投与のみの4, 5群とCdを経口、皮下ともに投与した6, 7群との間にははっきりした差が認められた。このことは、大腿骨中Cd濃度は曝露の指標として有用であることを示していると考えられる。またCdを皮下のみ投与した8群の大腿骨中Cd濃度は経口のみ投与した5群とほぼ同じであり、体内Cd量は、経口のみ投与した5群と皮下のみ投与した8群の間に著しい違いはないことが推定された。

経口的にのみCdを投与した4, 5群間では、V.Dを添加した4群の方が無添加の5群より大腿骨中Cd濃度は有意に高く、飼料摂取量は両群ともほぼ同じであった。このことはV.DがCdの腸管からの吸収を増加させるというひなにおける報告⁴⁵⁾と一致するものとおもわれた。吸収された鉄は正常人ではフェリチン、ヘモジデリ

ンとして肝、脾、骨髓、筋肉及びその他の組織内に存在し、そのうちの全体の $\frac{1}{3}$ は肝に貯えられているとされている⁴⁶⁾。鉄欠乏性貧血の際にはまずこれらの貯蔵鉄が減少するとされているので組織中のFe濃度を知ることは貧血の機序を知る上で重要と思われる⁴⁷⁾。

今回の実験では、肝、腎、大腿骨、大腿筋肉中のFe濃度を測定したが、いずれもCdとV.Dによる影響を認めることができた。

Cd非投与群(1, 2, 3群)の各臓器中のFe濃度はV.D無添加群で最も低くなっており、各群間の差は、腎、骨では明らかに有意差が認められ、肝、筋肉でも同様の傾向にあると判断された。

Cdを経口投与のみした4, 5群とCdを経口、皮下とも投与した6, 7群では対照に比較して、各臓器中のFe濃度は明らかに低下しており、特に肝では約 $\frac{1}{5}$ に減少していた。これらCdを投与した各群のFe濃度はほぼ同じ値であって、Cd曝露量による差、及びV.D量による差はみられなかった。Cd非投与群でみられたV.Dの効果がCd投与群でははっきり認められなかったのはCdによる影響に陰べいされたためであろう。

一方Cdを皮下のみ投与した8群の肝におけるFe濃度は対照と同じ値であり、これは皮下投与によるCdは肝におけるFe濃度に影響を及ぼさないこと、つまりCdは腸管からのFeの吸収を阻害することにより肝のFe濃度を低下させることを意味する如く考えられる。上述のCd曝露量による差が肝のFe量に認められなかったことはCd皮下投与は肝のFe量に影響しないことにより説明できると考える。

Cd皮下投与のみの8群の腎、骨中Fe濃度は対照群よりも低く、そのFe濃度は対照群とCd経口のみ投与群との中間にあり、軽度の低下があることが明らかであった。一方8群の肝、筋中Fe濃度は対照と同じ値を示しており、この臓器中Fe濃度の成績は、Cdの皮下投与による影響というべきものである。Fox³⁶⁾らは、うずらを用い肝、腎、骨中のFe濃度はCdの経口投与により低下することを報告している。Pondら⁴²⁾及び、Stoweら³⁸⁾はラットを用いてそれぞれ肝、精巣、及び肝、腎中のFe濃度がCd経口投与によりやはり低下することを報告している。今回の成績はこれらの報告とよく一致しており、臓器のFe濃度の低下が第一義的に腸管におけるFeの吸収阻害によるものであること、および経皮的Cd投与によっても臓器中Fe量を減少させることを示した点で意義があると考えられる。

Cd曝露により貧血の生じることは人間の観察によっ

ても²⁵⁻²⁹⁾動物実験によっても³⁰⁻⁴²⁾確かめられている。この貧血は低色素のものであり、鉄欠乏が関与しているという動物実験による報告^{30-32, 36, 38, 42)}が多い。その他循環量の増加⁴⁰⁾、溶血^{33, 34)}、赤血球破壊の亢進³²⁾が原因の一部として報告されている。動物実験では Cd 投与を中止すれば貧血状態は改善され³³⁾、Fe^{30, 32, 35, 40, 42)}、アスコルビン酸^{35, 36)}、蛋白の投与³⁹⁾は貧血の防止に有効であることが明らかにされている。

今回の実験では Hb, Ht を貧血の示標として用いたが他の動物実験でもこれらが貧血の示標とされていることが多い。

今回の実験で Cd を経口、皮下投与とも行った群 (6, 7 群) では Hb, Ht, MCHC は明らかに低下しており、Cd 投与により低色素性貧血の生じていることは明らかである。しかし Cd の経口投与のみを行った群 (4, 5 群) 及び皮下投与のみを行った 8 群では貧血の傾向は認められなかった。

Cd を経口、皮下とも投与した群 (6, 7 群) で注射後、体重が減少したことは前述したが、Cd 曝露を短期間中止することにより体重は急速に回復した。従って Cd を注射することにより生じた影響は可逆的なものであったと考えられ、このことが貧血の直接の成因になったとは思われない。Cd 皮下、経口とも投与群と Cd 経口のみ投与群の間では、肝、腎、骨、筋肉中の Fe 濃度に著しい差のないことは前述した通りである。それにもかかわらず Cd 皮下、経口とも投与群のみに貧血が認められたことは、今回の貧血は単なる貯蔵鉄量の減少によって生じた鉄欠乏性の貧血とはいいたい。その発生には貯蔵鉄量の減少という量的要因の他に鉄利用における過程になんらかの障害があることを今回の成績は示していると思われる。Berlin⁸⁾ら、及び Friberg³⁰⁾は家兎に Cd を皮下投与して低色素性の貧血を生じさせている。Berlin⁸⁾は放射性 Fe を用い、Cd 中毒家兎における赤血球の破壊亢進、骨髓における Fe の欠乏及び Fe 剤を注射することによる貧血の改善を報告している。しかし彼等は骨髓中の Fe 濃度を測定してはいないので、どの程度の Fe 量の低下があるかは不明である。Cd による貧血の発生には骨髓における Fe の量的問題の他に骨髓における Fe の利用能力の問題がある。しかし Cd 中毒のラットや家兎における成績は骨髓の過形成や網状赤血球増加を示しており^{48, 49)}、骨髓の萎縮、骨髓細胞の障害がみられたという報告はない。また Berlin⁸⁾は Hb の生成における摂取された Fe の利用に関しては対照家兎と Cd 中毒家兎の間に差はみられなかったとしている。このよう

に骨髓の赤血球生成能力が Cd によって明らかに障害されるということは現在のところ考えにくい。今回の実験結果、及び従来の報告を併せて考えると、Cd 経口曝露による貧血の場合、腸管からの鉄吸収阻害による鉄欠乏が基礎であるといえる。しかし、臓器 Fe 量が同程度減少しても貧血が認められない群がみられるので、単なる Fe 量の減少だけで貧血を説明する事は困難である。鉄欠乏のうえに Cd による他の作用、つまり赤血球破壊の亢進、溶血の循環量の増大などが加わることにより、貧血が発生するとするのが妥当であると考ええる。

また今回の実験では骨中 Cd 濃度と Hb 濃度の間に明らかな関連性がみられ、これは Cd の量が貧血の発生に重要であるということを示唆していると考えられ、今後 Cd の量的問題と貧血との関連性の追求が重要であると考ええる。

今回の実験の目的の1つである V.D 量の貧血の発生に及ぼす影響に関しては、否定的な結果であった。V.D には Fe, アスコルビン酸、蛋白のようなはっきりした予防効果はないようである。しかし今回添加した V.D₂ の量は市販飼料中に含まれている量に比較して少なく、5 IU を添加した飼料でも V.D が豊富であるとはいえない。従って、V.D の予防効果の有無を確認するためには、より高濃度の V.D 添加飼料についても、実験を行うことが必要である。

Cd 作業者では、低色素性貧血のみられることが報告されている²⁵⁻²⁹⁾。これらの作業者では通常 Cd は経気道的に体内に侵入すると考えられ、従って今回の実験で明らかになったような腸管における Fe の吸収阻害の機構は貧血の生成に関与しないように思われる。事実、Prigge はラットに Cd を経口に投与した際には、血清鉄の低下と Hb, Ht 値の低下がみられるが、経気道的投与では血清 Fe, Hb, Ht に減少がみられなかったと報告している⁵⁰⁾。しかし最近 Adamsson らは Cd 作業者の糞便中に多量の Cd が存在するのを見い出し、Cd 作業者における経口的曝露の重要性を指摘している⁵¹⁾。従って Cd 作業者にみられる貧血に関しても、腸管における Fe 吸収阻害が重要な因子となっている可能性がある。一方環境中 Cd による人体被害を受けている人についての貧血に関する組織的調査はほとんどみられない。能川らはイタイイタイ病患者、要観察者では著しい貧血を呈する人がみられること、その貧血は低色素性ではなく正色素性であることを報告し、腎障害と関連が深いことを示す結果であったとしている⁵²⁾。人間の場合の Cd 中毒による貧血の発生に関する報告は少なく、今後の研究が必要であ

るが、その際臓器中 Fe 量が重要な示唆を与えてくれることを指摘しておきたい。

V. 結 論

Cd 中毒による貧血に及ぼす V.D の影響及び鉄代謝の異常を明らかにする目的で動物実験を行った。ウィスター系ラット70匹を V.D 量, Cd 量, Cd 投与方法の違いにより 8 群に分けて飼育した。

実験は 500 日で打ち切り、ラットを失血死させ、ヘモグロビン、ヘマトクリット、肝、腎、大腿骨中 Cd, Fe 濃度、大腿筋肉中の Fe 濃度を測定した。結果は以下のようであった。

1. 肝、腎の Cd 量は“飽和量”に達していたが、骨では Cd 投与量に応じた蓄積がみられ、骨中 Cd 濃度は曝露の示標として有用であることが示された。

2. Cd 曝露のない場合は V.D 欠乏は臓器中 Fe 量を減少させた。

3. 臓器中 Fe 濃度は、Cd 経口投与により著しく低下していた。しかし Cd を皮下のみ投与した場合には肝では全く低下せず、腎、骨で軽度の低下があったことから Cd 投与による臓器 Fe 量の低下は第 1 義的には腸管よりの鉄吸収阻害にあること、及び Cd の皮下投与も臓器中鉄濃度に影響することが明らかとなった。

4. Cd 投与により発生した貧血と臓器鉄量の減少との間には量的関係はみられず、むしろ大腿骨中 Cd 濃度との間に量的関係が認められた。このことは Cd による貧血は貯蔵鉄の減少という量的因子のみによって発生するものではないことを示していると考えられた。

5. 飼料中 V.D 量と Cd による貧血との間に関連性は認められなかった。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師岡田晃教授ならびに御教示頂いた橋本和夫教授（金沢大学衛生学）、石崎有信教授（金沢医科大学）、能川浩二助教授（金沢医科大学）に深く感謝の意を表します。動物の飼育、臓器中元素の測定には、小林悦子講師（金沢医科大学衛生学）の多大なる御援助を頂いたことを記し、感謝の意を表します。

文 献

- 1) 山本宜正：カドミウム環境汚染の現状，環境保健レポート，**11**，7-12 (1972)。
- 2) 福島匡昭，石崎有信，能川浩二，坂元倫子，小林悦子：イタイイタイ病発生地住民の腎障害に関する疫学的研究（第 1 報）神通川流域住民の尿検査成績，日本公衛誌，**21**，65-72 (1974)。
- 3) 福島匡昭，石崎有信，坂元倫子，能川浩二，小林悦子：イタイイタイ病発生地住民の腎障害に関する疫学的研究（第 2 報）精検者の尿異常所見と Cd 排泄の居住地および診断との関係に関する観察，日本公衛誌，**22**，217-224 (1975)。
- 4) 能川浩二，稲岡宏美，小林悦子，石崎有信：神通川流域住民の腎障害に関する研究——尿検査成績——，環境保健レポート，**41**，125-127 (1977)。
- 5) 石川県厚生部：梯川流域住民健康調査報告書，金沢 (1976)。
- 6) 渡辺 弘，村山ヒサ子，松下純雄，小野一男，永倉苑子，奥野俊博，荒木万嘉，荒木容子，山本昭夫，山本 淳：カドミウム汚染地域住民の腎尿細管機能変化に関する疫学的研究(1)，(2)，環境保健レポート，**3**，12-17 (1974)。
- 7) 石崎有信，福島匡昭，能川浩二，小林悦子：兵庫県市川下流一地区住民の尿所見，環境保健レポート，**31**，29-31 (1974)。
- 8) 能川浩二，石崎有信，小林悦子，稲岡宏美，柴田市子：兵庫県市川流域の Cd 汚染地住民の腎障害に関する研究，日衛誌，**30**，549-555 (1975)。
- 9) 緒方弘文，原 耕平，松田源治，近藤 厚，計屋紘信，有吉敏彦，大塚喜久雄，矢島邦康，渡辺尅孝，松尾礼三，東 房之：長崎県対馬（佐須川，椎根川流域）住民の腎障害に関する研究，環境保健レポート，**38**，118-122 (1976)。
- 10) 福島匡昭，能川浩二，坂元倫子，小林悦子，石崎有信：福井県一地区の環境 Cd 汚染と住民検診成績，環境保健レポート，**36**，126-129 (1976)。
- 11) 井口 弘，川西正祐，山下節義，佐野晴洋，岸田英夫：京都府下田川流域のカドミウム汚染調査と住民健康調査，労働の科学，**30**，10-17 (1975)。
- 12) 宇留野勝水，音山幸子，中野信雄，宮武光吉：山形県吉野川流域住民のカドミウム環境汚染に関する健康調査——昭和50年度中間報告——，環境保健レポート，**38**，90-103 (1976)。
- 13) 永井謙一，斉藤 寛，有川 卓，斉藤喬雄，古川洋太郎，塩路隆治，古山 隆，吉永 馨：カドミウム環境汚染地域住民に認められた β_2 -microglobulinuria—カドミウム環境汚染による健康障害の指標として—，日腎会誌，**19**，1-11 (1977)。
- 14) Saito, H., Shioji, R., Hurukawa, Y., Arikawa, T., Saito, T., Nagai, K., Furuyama, F. and Yoshinaga,

- K.: Chronic cadmium poisoning induced by environmental cadmium pollution. Renal lesion (multiple proximal tubular dysfunctions) identified in residents of cadmium-polluted Hosogoe, Kosaka Town, Akita Prefecture, Japan, *Jap. J. Med.*, **16**, 2-13 (1977).
- 15) Saito, H., Shioji, R., Hurukawa, Y., Nagai, K., Arikawa, T., Saito, T., Sasaki, Y., Furuyama, T. and Yoshinaga, K.: Cadmium-induced proximal tubular dysfunction in a cadmium-polluted area, *Nephrology*, **6**, 1-12 (1977).
- 16) 福島匡昭: 神通川流域における環境汚染と健康障害に関する統計的観察(1) Cd による環境汚染経路と健康障害の関係について, *日衛誌*, **28**, 39 (1973).
- 17) 石崎有信, 福島匡昭, 坂元倫子: イタイイタイ病患者および北陸地方住民の臓器の Cd および Zn 濃度について, *日衛誌*, **26**, 268-273 (1971).
- 18) 石崎有信, 福島匡昭: イタイイタイ病, *日衛誌*, **23**, 271-285 (1968).
- 19) 加藤孝之, 河野俊一: イタイイタイ病の過去と現在——これまでの研究経過から——, *現代医学*, **16**, 29-48 (1968).
- 20) Ishizaki, A.: On Itai-itai (Ouch-ouch) Disease, *Asian Medical Journal*, **14**, 421-436 (1971).
- 21) Fukushima, M.: In "New methods in environmental chemistry and toxicology" (Editor: F. Korte and M. Goto), International Academic Printing Co., Tokyo (1973).
- 22) Nogawa, K., Ishizaki, A., Fukushima, M., Shibata, I. and Hagino, N.: Studies on the women with acquired Fanconi syndrome observed in the Ichi River basin polluted by cadmium Is this Itai-itai disease-, *Environ. Res.*, **10**, 280-307 (1975).
- 23) Friberg, L., Piscator, M., Nordberg, G. and Kjellstrom, T.: Cadmium in the environment, 2nd ed., p. 192-195 Chemical Rubber Co. Press., Cleveland (1974).
- 24) 篠田 晤, 由利健久, 中川昭忠: イタイイタイ病患者の現状——内科的所見について——, *環境保健レポート*, **41**, 44-52 (1977).
- 25) Friberg, L.: Health hazards in the manufacture of alkaline accumulators with special reference to chronic cadmium poisoning, *Acta Med. Scand.*, **138** (suppl. 240), 1-124 (1950).
- 26) Princi, F.: A study of industrial exposures to cadmium, *J. Ind. Hyg. Toxicol.*, **29**, 315-320 (1947).
- 27) Lauwerys, R. R., Buchet, J. P., Roels, H. A., Brouwers, J. and Stanescu, D.: Epidemiological survey of workers exposed to cadmium, *Arch. Environ. Health*, **28**, 145-148 (1974).
- 28) Tsuchiya, K.: Proteinuria of workers exposed to cadmium fume, *Arch. Environ. Health*, **14**, 875-880 (1967).
- 29) Tsuchiya, K.: Proteinuria of cadmium workers, *J. Occup. Med.*, **18**, 463-466 (1976).
- 30) Friberg, L.: Iron and liver administration in chronic cadmium poisoning and studies of the distribution and excretion of cadmium, *Acta Pharmacol. et Toxicol.*, **11**, 168-178 (1955).
- 31) Decker, L. E., Byerrum, R. U., Decker, C. F., Hoppert, C. A. and Langham, R. F.: Chronic toxicity studies. I. Cadmium administered in drinking water to rats, *A. M. A. Arch. Ind. Health*, **18**, 228-231 (1958).
- 32) Berlin, M. and Friberg, L.: Bone-marrow activity and erythrocyte destruction in chronic cadmium poisoning, *Arch. Environ. Health*, **1**, 478-486 (1960).
- 33) Axelsson, B. and Piscator, M.: Serum proteins in cadmium poisoned rabbits, *Arch. Environ. Health*, **12**, 374-381 (1966).
- 34) Piscator, M. and Axelsson, B.: Serum proteins and kidney function after exposure to cadmium, *Arch. Environ. Health*, **21**, 604-608 (1970).
- 35) Fox, M. R. S. and Fry, B. E. Jr.: Cadmium toxicity decreased by dietary ascorbic acid supplements, *Science*, **169**, 989-991 (1970).
- 36) Fox, M. R. S., Fry, B. E. Jr., Harland, B. E., Schertel, M. E. and Weeks, C. E.: Effects of ascorbic acid on cadmium toxicity in the young coturnix, *J. Nutr.*, **101**, 1295-1306 (1971).
- 37) Itokawa, Y., Abe, T., Tabei, R. and Tanaka, S.: Renal and skeletal lesions in experimental cadmium poisoning, *Arch. Environ. Health*, **28**, 149-154 (1974).
- 38) Stowe, H. D., Goyer, R. A. and Medley, P.: Influence of dietary pyridoxine on cadmium toxicity

- in rats, Arch. Environ. Health., **28**, 209-216 (1974).
- 39) Popescu, G. and Popescu, F.: The effect of body protein supply on resistance to cadmium, Br. J. Ind. Med., **35**, 154-160 (1978).
- 40) Barlin, M. and Piscator, M.: Blood volume in normal and cadmium poisoned rabbits, Arch. Environ. Health., **2**, 576-583 (1961).
- 41) Sjöbeck, M. and Larsson, A.: The effect of cadmium on the hematology and on the activity of δ -aminolevulinic acid dehydratase (ALA-D) in blood and hematopoietic tissues of the flounder, *Pleuronectes flesus* L. Env. Res., **17**, 191-204 (1978).
- 42) Pond, W. G. and Walker, E. F.: Cadmium-induced anemia in growing rats, Prevention by oral or parenteral iron, Nutrition Reports International, **5**, 365-370 (1972).
- 43) 金井 泉, 金井正光: 臨床検査法提要, 第27版, P. VI-20-21, P. VI-23-24, 金原出版, 東京 (1975).
- 44) Friberg, L., Nordberg, G. and Piscator, M.: In "Toxicology of metals, vol. II" (Editor: L. Friberg), p. 124-163, National Technical Information Service, Springfield, Virginia (1977).
- 45) Worker, N. A. and Migicovsky, B. B.: Effect of Vitamin D on the utilization of zinc, cadmium and mercury in the chick, J. Nutr., **75**, 222-224 (1961).
- 46) 米山良昌, 竹下正純: 血液の生化学——基礎と臨床——(吉川, 中尾編), 第1版, 229-245, 朝倉書店, 東京 (1969).
- 47) 和田 政: 貧血のすべて (中尾編), 第1版, p. 69-80, 南江堂, 東京 (1975).
- 48) Pindborg, E. V., Pindborg, J. J. and Plum, C. H.: Studies on incisor pigmentation in relation to liver iron and blood picture in the white rat, IV. The relationship between cadmium poisoning and iron metabolism, Acta pharmacol. and toxicol., **2**, 302-306 (1946).
- 49) Wilson, R. M., Deeds, F. and Cox, A. J. Jr.: Effects of continued cadmium feeding, J. Pharmacol. and Exper. Therap., **71**, 222-235 (1941).
- 50) Prigge, E.: Early signs of oral and inhalative cadmium uptake in rats, Arch. Toxicol., **40**, 231-247 (1978).
- 51) Adamsson, E., Discator, M. and Nogawa, K.: Pulmonary and gastrointestinal exposure to cadmium oxide dust in a battery factory, Environ Health Perspect., (in press).
- 52) 能川浩二, 小林悦子, 石崎有信, 加藤孝之, 金森ちえ子: 慢性カドミウム中毒の臨床化学的研究(3)貧血, 日衛誌, **34**, 574-579 (1979).

(受付 1979年7月20日)