微量カドミウム投与ラット骨組織の
力学的強度変化 (III) 曲げ強度について

The Changes in Mechanical Properties of
Rat Bones under the Low Dose Level of Cadmium
(III) The bending strength

奈良県立医科大学公衆衛生学教室

御 興 久 美 子・森 山 忠 重

大阪市立大学工学部機械工学教室

南 斎 征 夫

Kumiko Ogoshi and Tadashige Moriyama

Department of Public Health, Nara Medical University, Nara

Yukuo Nanzai

*Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering,
Osaka City University, Osaka*

A hundred and twenty 21 day-old Wistar male rats were divided into four groups: each group was given drinking water containing 0 (control), 1, 5 and 10 ppm of cadmium daily. After four weeks, a hematological test, bending and compressive strength tests of the long bones and a cadmium determination of bone were carried out. The right femur and humerus were used for the bending test, and the left ones for the compressive test. The compressive strength of the diaphysis and the metaphysis were measured respectively by using the crosscut portions of bone.

The bending strength, elasticity and deflection were statistically insignificant between the control and the cadmium groups. The strength to resist the compressive stress, which is a component of the bending stress, reduced in the diaphysis of the 5 and 10 ppm groups and in the metaphysis of the 10 ppm group. Dose related changes in the elasticity and deformation in compression tests were not observed.

The hematological results of the 1 ppm group were not different from those of the control group. In the 5 and 10 ppm groups, anemia, decrease in serum iron and BUN and increase in serum phosphorus were observed, and the differences between the control and the 10 ppm groups were larger than those between the control and the 5 ppm groups. In the 10 ppm group, the serum Alp activity also decreased.

The cadmium concentrations were 12.7 ± 8.4 , 20.6 ± 8.4 , 74.3 ± 18.7 and 127.3 ± 23.2 ng/g dry weight of the femur and 10.1 ± 2.8 , 17.0 ± 4.3 , 101.0 ± 22.5 and 134.5 ± 35.4 ng/g dry weight of the humerus in the control, 1, 5 and 10 ppm groups respectively.

Key words: Cadmium, Rat, Bone, Bending strength, Compressive strength
カドミウム, ラット, 骨, 曲げ強度, 圧縮強度

緒 言

著者らはカドミウムの微量暴露の際の骨への影響を検出する実験方法として力学的強度試験に着目した。その理由は、この力学的骨強度試験方法では骨に及ぼされた影響の強さは強度変化の大きさとして数量的に示されるので、カドミウム暴露量と強度変化の度合いの関係を求めることによりカドミウムの骨への最小作用量を求めることが可能となるからである。

著者らは、カドミウムによる骨強度への最小作用量を決定するために、まず、力学的強度試験方法の確立を目指してこれまでに圧縮試験方法¹⁾とねじり試験方法²⁾の開発をおこなってきた。その際、幼若動物の方がカドミウムの消化器吸収率および体内残留率が高く³⁾、カドミウムの影響を受けやすいと思われるので、生後3週齢のラットを用いて実験をおこなってきた。その結果、10 ppmのカドミウムを4週間経口投与することによってラット長管骨の圧縮強度およびねじり強度が明らかに低下することをみとめた^{1,2)}。

骨には体を支えるために圧縮力が常時加わっているが、外力として加えられる荷重としては、曲げ荷重、ねじり力や衝撃力などが多い。そこで、本研究では曲げ荷重を外力として加えたとき骨の強さがカドミウム投与によってどのように影響されるのかを調べ、これまでに得られた圧縮試験およびねじり試験結果と比較してそれぞれの試験方法の長短を検討することにした。

骨に曲げ荷重を加えると骨断面の中立軸を境として一方の側には圧縮力が、他方の側には引張力が生じて、破壊はどちらか片側でおこりはじめ、最終的には圧縮、引張両側とも分離し骨は折れる。曲げ破壊が引張側か圧縮側かどちらか一方でのみおこりはじめるのであれば、曲げ強度は破壊のおこりはじめた側の強度を反映していると考えられるが、現実には圧縮側破壊と引張側破壊が混在していることもあり、この場合にはより詳細な検討が必要となる。そこで、今回、曲げ強度に及ぼすCdの影響を検討するにあたって、曲げ試験ならびにその補足として曲げ応力成分の1つである圧縮応力による強度も同時に検討することとし、同一ラットの肢の片方の骨を曲げ試験に他方の骨を圧縮試験に供し、双方の強度試験結果を比較検討した。

なお、圧縮試験は前回の試験方法¹⁾を改良し、骨幹部と骨端部を分離して部位別におこなう方法を採用した。

方 法

1 Cd 投与方法ならびに測定項目

3週齢のWistar系雄ラット120匹を30匹ずつ4群に分け、1群を対照群とし、2、3および4群には塩化カドミウム ($\text{CdCl}_2 \cdot 2\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$, 半井化学製, 特級) をCdとして各々1, 5あるいは10ppm (mg/l) の濃度になるように再蒸留水中に溶解させたものを飲料水として与え、28日間自由に摂取させた。対照群には再蒸留水を飲料水として与えた。飼料はオリエンタル酵母K.K. 製固型飼料MFを用いた。ラットは1ケージに2ないし3匹ずつ飼育し、ケージ毎の飼料及び飲料水の摂取量を測定して1匹当りの1日平均摂取量を求めた。飼料及び飲料水の摂取量についての各群間の比較に際しては、1日平均摂取量の28日間の平均値を求め比較した。

投与終了時、ラットをエーテル麻酔下で腹大動脈より採血して失血死させ、大腿骨および上腕骨を摘出し強度試験に用いた。

血液は赤血球数、ヘモグロビン量(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)をCoulter Counter Sを用いて測定した。また、血清中の鉄量(Ferro Zinc法)、カルシウム量(OCPC法)、無機リン量(モリブデン酸UV法)、アルカリフォスファターゼ活性(Bessey-Lowry法)、尿素窒素(ウレアーゼインドフェノール法)およびクレアチニン(Jaffe法)を測定した。

圧縮試験に用いた大腿骨および上腕骨の骨幹部は試験終了後回収し、生理食塩水で骨髄を除去しCdの測定に供した。Cd定量に際しては、骨を110°C24時間乾燥後デシケーター中で放冷し乾燥重量を秤量した後硝酸および少量の過塩素酸で湿式分解し原子吸光分光分析装置(日本ジャーレル・アッシュ製AA-860, FLA-100型)を用いてフレイムレス分析をおこなった。

2 強度試験方法

1) 曲げ試験

曲げ試験装置の模式図をFig. 1に示す。大腿骨および上腕骨は既報^{1,2)}と同様の方法でその両端を不飽和ポリエステル樹脂により金具F₁およびF₂に埋めこみ、2本のアームL₁およびL₂の間に水平に固定した。その際、骨の第三転子が垂直上方を向くように装着した。また、金具F₁, F₂間の骨の露出部には生理食塩水を含ませた薄い軟質紙を巻きつけて試験中の骨の乾燥を防止した。骨への曲げモーメントはインストロン型材料試験機を使ってロッドRを1.65mm/minの一定速度で、破線に示

Fig. 1 Illustration of apparatus for bending test of rat bone.

したように上方へ引き上げるにより加えた。ちなみに、Fig. 1 に示したような A, B, C および D の 4 点を支点とするいわゆる 4 点曲げ試験法では、支点 B および C 間では曲げモーメントの大きさが一様で、したがってせん断力が作用せず純粋な曲げモーメントの下で骨の曲げ試験を行うことができる。

Fig. 2(a)に、支点 B および C の垂直方向変位(たわみ)量 δ と骨に作用する曲げモーメント M の関係を模式的に示した。曲げの初期段階では M と δ は直線関係を示すが、やがて曲線は徐々にわん曲し、ついには骨が破壊して M は急減する。なお、Fig. 1 に示したロード R の引き上げ力 P と曲げモーメント M の間には

$$M = P \cdot a_1 / 2 \quad (1)$$

の関係がある。ここに a_1 は Fig. 1 に示したようにに支点 AB 間および CD 間の距離である。

金具 F_1, F_2 間の骨の露出部で骨の曲げ剛性 EI が一様であるとみなせば、 M と δ が直線関係を示す曲げの初期段階では

$$\delta = \frac{a_0 a_1}{2EI} \cdot M \quad (2)$$

の関係が成り立つ。ただし a_0 は骨の露出部の長さであり、また、曲げ剛性 EI 中の E は骨の縦弾性係数、 I は曲げの中立軸に関する断面二次モーメントである。Fig. 2(a)に示したように曲げ初期の M と δ の直線の傾き角を α とすると

$$\tan \alpha = M / \delta \quad (3)$$

Fig. 2 Schematic diagrams of mechanical response of rat bones in bending and compression tests.

であり、この式に式(2)を代入すると

$$EI = \frac{a_0 a_1}{2} \cdot \tan \alpha \quad (4)$$

となり、角度 α を測定することにより骨の曲げ剛性 EI が求められる。今回の実験では、 $a_1 = 35\text{mm}$ 、 a_0 は大腿骨の場合 6mm 、上腕骨の場合 4mm である。

曲げ剛性 EI は弾性変形域における曲げ変形に対する骨の抵抗の大きさを表わす力学量である。ただし、後に示すように、 I が骨断面の大きさに依存する量であるため、 EI の値は骨の大きさの影響を受ける。大腿骨については後述する曲げ破壊部の断面二次モーメント I_B が I に等しいとみなせば、骨皮質の縦弾性係数 E を算出することができる。 E は骨の大きさに無関係で、骨の弾性の大きさを表わす力学量である。なお、上腕骨については、その断面の形状が骨の長さ方向では急変するため破壊部位の I_B を求めることがむづかしく、その代りとして I が骨長 l の 4 乗にほぼ比例すると仮定して、弾性係数相当量 $E^* = 10^5 EI / l^4$ を求めた。

骨に破壊が発生し、曲げモーメント M が急減する点を破壊点 (Fig. 2(a) の × 印) とし、この点での曲げモーメントを M_B 、たわみを δ_B とする。骨の破壊が曲げ応力の引張側で開始する時には、引張側の断面係数 (後述) を Z_t とすると、引張側破壊応力 σ_t は、塑性変形を無視することにより次式で求められる。

$$\sigma_t = M_B / Z_t \quad (5)$$

同様に、破壊の開始が圧縮側であれば、圧縮側の断面係

数を Z_c として、圧縮破壊応力 σ_c は

$$\sigma_c = M_B / Z_c \quad (6)$$

で与えられる。

大腿骨の場合には破壊部の断面係数 Z_t および Z_c ならびに断面二次モーメント I_B を次のようにして求めた。すなわち、骨の破壊した部位を試験後に瞬間接着剤で元の形状に復元し、骨長軸に垂直に、破壊部位にダイヤモンドカッターを通して平滑な骨断面を切り出し、この断面を約25倍の大きさの写真に撮影した。Fig. 3はこの断面の模式図を示している。曲げモーメント M が作用すると断面の重心 G を通る $X-X$ 軸が中立軸となり、 I_B は $X-X$ 軸に関する断面二次モーメントとなる。この図の $X-X$ 軸より上側で引張応力、下側で圧縮応力が働いていて、断面係数 Z_t および Z_c は次のように定義される。

$$Z_t = I_B / e_1 \quad (7)$$

$$Z_c = I_B / e_2 \quad (8)$$

各試料の断面の I_B , e_1 および e_2 は拡大写真により画像解析装置 (Leitz 社製 ASM) を用いて測定した。なお、上腕骨の場合には、前述したように、破壊部位の I_B の測定が困難なため、 σ_t および σ_c は求めなかった。

ところで、骨の形状が幾何学的に相似であると仮定すれば、断面係数 Z と骨長 l の間に

$$Z \propto l^3 \quad (9)$$

Z と骨湿重 w の間に

$$Z \propto w \quad (10)$$

の関係が成り立つ。ここに、幾何学的相似の場合には $I \propto l^4$ であり Fig. 3 の e_1 および e_2 はともに l に比例し、 Z_t および Z_c はともに l^3 に比例するので断面係数は添字をつけず単に Z と表記した。よって σ_t あるいは σ_c と比較しうる量として、骨長から換算される曲げ強度 s_{l0} および骨湿重から換算される曲げ強度 s_{w0} を計算することができる。 s_{l0} および s_{w0} はそれぞれ次のように定義される。

$$s_{(l)} = M_B / l^3 \quad (11)$$

$$s_{(w)} = M_B / w \quad (12)$$

なお s_{l0} および s_{w0} は大腿骨および上腕骨の両方について計算した。

次に、破壊時のたわみ δ_b は曲げ破壊するまでに骨が耐えることのできる変形量の指標である。ただし、 δ_b は、

Fig. 3 Illustrative cross section of diaphysis subjected to bending moment M .

骨皮質の強度が骨の大小に関係なく同じである場合には、骨の大きさに逆比例する量となる。このため、骨の大きさに無関係な曲げ変形能を表わす量として次に示す換算たわみ量 δ_b^* を算出した。

$$\delta_b^* = \delta_b \times l / \bar{l}_0 \quad (13)$$

ここに $\bar{l}_0$ は対照群の骨長の平均値であり、 l は各試料骨の長さである。

2) 圧縮試験

今回の圧縮試験では既報¹⁾の場合に比べて骨幹部の力学特性をより正確に測定することを目的とした。そのため、既報¹⁾の場合と同様に骨端を樹脂によって金具に埋めこんだ骨試料から一定の長さの骨幹部を切り出し、この骨幹部と金具に埋めこまれた状態の骨端部を別々に圧縮試験に供した。骨幹部の切り出しには、厚さ0.3mmのダイヤモンドカッター2枚を一定の間隔（すなわち骨幹部試料の長さ）をあけて同一軸に固定した高速回転切断装置を試作し使用した。このとき、大腿骨の骨幹部試料の長さは8mm、上腕骨は5mmとした。使用した圧縮試験装置は既報¹⁾と同じであるが、圧縮速度は1.65mm/minとした。

骨幹部および骨端部の圧縮力 F と圧縮変形量 λ の関係を Fig. 2(b)に模式的に示した。ただし便宜上骨端部の曲線の原点は横軸に沿って任意にずらせてある。骨幹部では、 F と λ はまず直線関係を示し、その後徐々に曲線がわん曲し破壊点に達する。一方、骨端部（大腿骨では遠位骨端部、上腕骨では近位骨端部）では直線部分が認められず、Epiphysisの破壊と思われる小さなピークが現われた後、曲線の傾きが大きく減少しわん曲しながら破壊点に至る。破壊点における F および λ をそれぞれ F_B および λ_B で表わした。

F と λ が直線関係を示す骨幹部の圧縮初期段階では、

直線の傾き角を β とし、骨幹部試料の長さを l_0 とすると

$$\tan \beta = F/\lambda = EA/l_0 \quad (14)$$

の関係が成り立つ。ここに EA は圧縮剛性であり、 E は試料の縦弾性係数、 A は断面積である。依って β を測定することにより骨幹部の圧縮剛性 EA を求めた。 l_0 は前述したように大腿骨では8 mm、上腕骨では5 mmである。また、骨幹部を切り出した際に現われる断面（大腿骨の場合は遠位骨端側、上腕骨の場合は近位骨端側）の実断面積を断面積 A とみなして大腿骨および上腕骨の縦弾性係数 E を求めた。

なお、圧縮破壊応力 σ は

$$\sigma = F_B/A \quad (15)$$

の関係により求めた。また、既報¹⁾との比較のために、骨形状は幾何学的に相似であると仮定して、骨長 l および骨湿重 w により破壊応力次元量

$$f_{(w)} = F_B/w^{2/3} \quad (16)$$

および

$$f_{(l)} = F_B/l^2 \quad (17)$$

を算出した。

最後に、圧縮破壊変形量 λ_B は骨幹部では試料長さ l_0 が一定なので mm 単位のままです。これに対し骨端部では個々の試料長さが異なるので次式により換算変形

量 λ_B^* を算出し変形量の標準化を行った。

$$\lambda_B^* = \lambda_B \times l/\bar{l}_0 \quad (18)$$

ここに $\bar{l}_0$ は対照群の骨長の平均値であり、 l は切断前の各試料の長さである。

結 果

1 体重について

Table 1 に示されるように、10ppm 群では投与開始後1週目より、5 ppm 群では3週目より対照群に比べて低体重が観察される。また、10ppm 群の方が低下の度合いが著しい。

Table 2 は飲料水及び食餌の摂取量と体重増加の関係をみたものである。Cd を含んだ飲料水の投与によって水の摂取量、体重増加量当りの水の摂取量ならびに餌の摂取量は低下しており、また、摂食量当りの体重増加量も減少している。

2 血液化学的所見

Table 3 に示されるように、5 および10ppm 群で Hb, Ht, MCV, MCH の低下および血清鉄、血清中尿素窒素量が低下している。血清アルカリフォスファターゼ活性は10ppm 群において対照群に比べて有意に低下している。また、血清中無機リン量は5 および10ppm 群で有意な増加を示している。血清中カルシウムおよびクレアチニン量は対照群と Cd 投与群間で差はみとめられない。

Table 1 The body weight of the rats.

Group	N	The initial stage (g)	The 1st week (g)	The 2nd week (g)	The 3rd week (g)	The final stage (g)
Control	30	50.7±5.3	93.5± 8.3	134.8±10.5	173.3±12.2	209.7±12.2
1 ppm	30	50.2±6.8	92.1±10.7	132.0±13.9	171.6±17.0	203.9±14.1
5 ppm	30	50.2±6.0	89.8±10.6	127.8±12.0	164.5±15.8*	197.0±15.9*
10 ppm	30	50.2±6.0	88.2± 8.4*	122.0±10.4*	156.1±15.4*	188.1±14.5*

Results are expressed as means ± SD. * Significantly different at $p < 0.05$ compared with the control group.

Table 2 Average water and food consumptions and weight gain.

	Average water consumption (g/day)	Water consumption per weight gain (g/g weight gain)	Average food consumption (g/day)	Weight gain per food intake (g/g food intake, $\times 10^{-2}$)
Control-group	20.5	3.6	14.8	38.5
1 ppm-group	18.1	3.3	14.6	37.6
5 ppm-group	17.4	3.3	14.3	36.7
10 ppm-group	15.7	3.2	13.3	37.0

Table 3 Biochemical test of blood and serum.

(A)							
	N	RBC (/mm ³ , ×10 ⁴)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (μ ³)	MCH (pg)	MCHC (%)
Control	29	637.6 ± 43.5	13.3 ± 0.4	33.8 ± 2.3	52.8 ± 2.9	20.9 ± 1.6	39.4 ± 2.8
1 ppm	28	660.9 ± 37.7	13.4 ± 0.7	34.0 ± 2.5	51.0 ± 1.8	20.3 ± 1.3	39.5 ± 3.3
5 ppm	27	630.3 ± 49.8	11.4* ± 0.6	28.9* ± 2.9	45.2* ± 1.7	18.2* ± 1.2	39.9 ± 3.7
10 ppm	28	530.2* ± 48.6	10.0* ± 0.5	24.5* ± 2.0	45.7* ± 0.9	19.0* ± 1.0	41.1* ± 1.8
(B)							
	N	Fe (μg/dl)	Ca (mEq/l)	Pi (mg/dl)	Alp (KA-U)	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)
Control	30	216.3 ± 48.3	5.3 ± 0.3	7.7 ± 0.4	72.2 ± 7.3	18.2 ± 1.7	0.6 ± 0.1
1 ppm	30	197.7 ± 35.4	5.4 ± 0.4	7.8 ± 0.4	70.9 ± 7.7	17.3 ± 3.0	0.6 ± 0.1
5 ppm	30	118.5* ± 52.2	5.2 ± 0.3	8.2* ± 0.4	68.3 ± 8.4	16.9* ± 1.7	0.6 ± 0.1
10 ppm	30	92.5* ± 25.7	5.2 ± 0.3	8.5* ± 0.5	64.5* ± 7.2	15.4* ± 1.8	0.6 ± 0.1

* Significantly different at $p < 0.05$ compared with the control group.

Table 4 Bending properties of rat bone.

(A) Femur														
	<i>N</i>	Weight (g)	Length (mm)	<i>N</i>	M_B (10 ⁻³ ·Nm)	S_{wy}	Strength S_0	σ_t (MPa)	σ_c (MPa)	<i>N</i>	Rigidity EI (10 ⁻³ ·Nm ²)	Elasticity E (GPa)	<i>N</i>	Deflection δ_b^* (mm)
Control	30	0.601 ± 0.032	30.60 ± 0.56	30	19.1 ± 1.3	3.24 ± 0.16	6.80 ± 0.28	103.39 ± 10.68	95.60 ± 9.49	28	12.34 ± 2.07	3.82 ± 0.74	28	3.77 ± 0.46
1 ppm	30	0.593 ± 0.034	30.50 ± 0.71	30	18.3* ± 1.3	3.16 ± 0.17	6.60* ± 0.39	97.41 ± 12.84	91.39 ± 11.68	28	11.79 ± 1.94	3.62 ± 0.71	28	3.82 ± 0.50
5 ppm	30	0.575* ± 0.045	30.24* ± 0.72	30	17.9* ± 1.7	3.18 ± 0.20	6.60* ± 0.39	101.43 ± 9.60	94.97 ± 9.65	29	11.54 ± 1.53	3.78 ± 0.71	29	3.62 ± 0.36
10 ppm	30	0.555* ± 0.038	29.97* ± 0.79	30	17.3* ± 1.7	3.18 ± 0.19	6.56* ± 0.38	100.06 ± 9.60	92.02 ± 9.43	25	11.01 ± 1.90	3.61 ± 0.71	25	3.76 ± 0.43

(B) Humerus														
	<i>N</i>	Weight (g)	Length (mm)	<i>N</i>	M_B (10 ⁻³ ·Nm)	S_{wy}	S_0			<i>N</i>	Rigidity EI (10 ⁻³ ·Nm ²)	E^*	<i>N</i>	Deflection δ_b^* (mm)
Control	27	0.275 ± 0.018	23.56 ± 0.40	27	73.9 ± 9.9	2.78 ± 0.37	5.75 ± 0.66			23	4.67 ± 1.34	1.58 ± 0.31	21	3.52 ± 0.59
1 ppm	29	0.268 ± 0.014	23.39 ± 0.51	29	73.7 ± 12.0	2.81 ± 0.42	5.87 ± 0.85			24	4.64 ± 0.87	1.59 ± 0.23	24	3.58 ± 0.67
5 ppm	29	0.263* ± 0.024	23.26* ± 0.49	29	71.3 ± 10.8	2.78 ± 0.38	5.77 ± 0.70			21	4.63 ± 1.07	1.59 ± 0.36	21	3.79 ± 0.51
10 ppm	30	0.255* ± 0.018	23.03* ± 0.52	30	69.1 ± 12.7	2.76 ± 0.42	5.74 ± 0.82			23	4.51 ± 0.88	1.58 ± 0.31	23	3.72 ± 0.76

* $p < 0.05$ compared with the control group.

3 強度試験結果

曲げ強度試験の結果を Table 4 に示す。大腿骨の場合、曲げ破壊モーメント M_b は、すべての Cd 群において対照群に比べて有意に低い値を示しているが、骨の大きさによる影響を除外した応力次元量 $\bar{s}_w$, $\bar{s}_0$ および破壊応力 σ_t , σ_c で比較すると 1.5 および 10ppm 群すべてについて $\bar{s}_0$ では対照群との間に有意差がみとめられるが $\bar{s}_w$, σ_t , σ_c での比較では有意差はみとめられない。また、10ppm 群では剛性率 EI の低下はみとめられるが、骨の大きさによる影響を除外した値である弾性率 E では変化はみとめられない。たわみ量 δ_b^* についても対照群と Cd 投与群との間に有意差はみとめられない。

上腕骨の場合は、すべての Cd 投与群において強度 M_b , $\bar{s}_w$, $\bar{s}_0$, 剛性 EI , 弾性率相当量 E^* およびたわみ量 δ_b^* について対照群との間に差はみとめられない。

Table 5 および 6 は圧縮試験の結果を示している。Table 5 は大腿骨および上腕骨それぞれの骨幹部についての結果である。破壊荷重値 F_b では大腿骨上腕骨ともに 5 および 10ppm 群で有意な低下がみとめられる。換算応力 f_w および f_0 では、大腿骨の場合は 5 および 10ppm 群で、上腕骨の場合は 10ppm 群で強度低下がみとめられる。断面積の実測により算出した圧縮破壊応力 σ では、大腿骨上腕骨ともに 5 および 10ppm 群で強度低下がみ

とめられる。

圧縮剛性率 EA は大腿骨の場合、1.5 および 10ppm 群で有意な低下がみとめられるが、骨の大きさが除外されている値である弾性率 E で比較すると、対照群と 1 ppm 群との間に有意な差がみとめられ、対照群と 5 および 10ppm 群間では差はみとめられない。上腕骨の場合、剛性率 EA は 10ppm 群で有意な低下を示しており、また弾性率 E の比較では 1.5 および 10ppm 群すべてにおいて対照群との間に有意な差がみとめられる。

圧縮変形量 λ_b^* は大腿骨においても上腕骨においてもすべての群間で差はみとめられない。

Table 6 は骨端部における圧縮破壊特性を示している。大腿骨においても上腕骨においてもどちらも強度に関する値 F_b , f_w , f_0 , σ すべてにおいて 10ppm 群では対照群に比べて有意な低下を示している。変形量 λ_b^* は大腿骨において 1 および 5 ppm 群では対照群との間に有意差がみとめられるが、10ppm 群では差はみとめられない。

4 骨中 Cd 量

大腿骨および上腕骨の骨幹部の Cd 蓄積量を Fig. 4 に示す。対照群の大腿骨では 12.7 ± 8.4 , 上腕骨では 10.1 ± 2.8 ng/g dry weight であり、1 ppm 群の大腿骨では 20.6 ± 8.4 , 上腕骨では 17.0 ± 4.3 ng/g dry weight, 5 ppm 群では大腿骨で 74.3 ± 18.7 , 上腕骨で 101.0 ± 22.5 ,

Table 5 Compressive properties of diaphysis of the bone.

(A) Femur										
	<i>N</i>	F_b (N)	Strength			<i>N</i>	Rigidity	Elasticity	Deformation	
			$\bar{f}_w$	$\bar{f}_0$	σ (MPa)		$EA (10^{-1} \cdot \text{N} \cdot \text{m}^2)$	E (GPa)	<i>N</i>	λ_b^* (mm)
Control	28	412.1 ± 44.5	58.6 ± 6.3	4.51 ± 0.43	116.4 ± 15.8	15	9.67 ± 0.59	2.82 ± 0.22	15	0.37 ± 0.04
1 ppm	30	396.4 ± 52.7	56.9 ± 7.0	4.37 ± 0.56	110.8 ± 15.6	15	9.14* ± 0.83	2.58 ± 0.25	15	0.37 ± 0.03
5 ppm	30	368.9* ± 57.2	54.4* ± 8.0	4.11* ± 0.59	106.9* ± 19.0	15	8.86* ± 1.13	2.65 ± 0.41	15	0.36 ± 0.03
10 ppm	28	369.2* ± 46.7	54.5* ± 6.7	4.17* ± 0.52	106.1* ± 16.4	13	8.96* ± 1.12	2.67 ± 0.36	15	0.36 ± 0.03
(B) Humerus										
Control	30	287.6 ± 41.6	69.1 ± 9.9	5.31 ± 0.70	124.9 ± 22.7	14	5.62 ± 0.77	2.55 ± 0.28	14	0.28 ± 0.02
1 ppm	30	283.8 ± 39.2	69.2 ± 9.7	5.30 ± 0.70	121.1 ± 17.8	15	5.42 ± 0.50	2.33* ± 0.22	15	0.28 ± 0.04
5 ppm	29	265.5* ± 23.8	66.2 ± 7.5	5.06 ± 0.53	113.4* ± 13.1	15	5.35 ± 0.54	2.28* ± 0.28	15	0.27 ± 0.02
10 ppm	28	252.2* ± 32.5	63.2* ± 8.8	4.86* ± 0.61	107.5* ± 16.8	14	5.38* ± 0.47	2.35* ± 0.20	14	0.27 ± 0.03

* $p < 0.05$ compared with the control group.

Table 6 Compressive properties of bone ends.

A: at the distal end of the femur

	<i>N</i>	<i>F</i> (N)	Strength <i>f_{un}</i>	<i>f_o</i>	σ (MPa)	Deformation <i>N</i>	λ_b^* (mm)
Control	30	214.6 ± 26.8	30.5 ± 3.7	2.34 ± 0.27	60.8 ± 9.2	15	1.30 ± 0.16
1 ppm	30	222.7 ± 27.2	31.9 ± 3.4	2.45 ± 0.24	62.2 ± 7.9	15	1.17* ± 0.14
5 ppm	30	210.7 ± 24.2	30.5 ± 3.7	2.30 ± 0.26	60.3 ± 8.0	15	1.19* ± 0.10
10 ppm	26	191.4* ± 24.0	28.3* ± 3.3	2.16* ± 0.25	55.6* ± 7.5	13	1.23 ± 0.19

B: at the proximal end of the humerus

	<i>N</i>	<i>F</i> (N)	Strength <i>f_{un}</i>	<i>f_o</i>	σ (MPa)	Deformation <i>N</i>	λ_b^* (mm)
Control	30	109.0 ± 20.1	26.2 ± 4.8	2.01 ± 0.36	47.4 ± 9.7	14	0.69 ± 0.09
1 ppm	30	111.8 ± 24.1	27.2 ± 5.4	2.08 ± 0.41	47.8 ± 11.41	15	0.69 ± 0.11
5 ppm	29	100.0 ± 21.0	24.8 ± 4.6	1.90 ± 0.35	42.6 ± 9.1	15	0.62 ± 0.13
10 ppm	30	90.7* ± 16.1	22.6* ± 4.0	1.74* ± 0.29	38.5* ± 6.7	14	0.68 ± 0.12

* $p < 0.05$ compared with the control group.

Fig. 4 Cadmium concentration in bone. Each bar represents the mean $\pm$ SD. The number of samples is shown in parentheses.

10ppm では大腿骨で 127.3 ± 23.2 , 上腕骨では 134.5 ± 35.4 ng/g dry weight である。

考 察

10ppm 群で低体重がみとめられることは、これまでの

実験^{1,2)}からも明らかにされているが、今回は 5 ppm 群においても低体重が観察された。飲料水中に Cd を添加してラットに与えることにより Table 2 に示されるように、水および餌の摂取量は減少する。また、摂取量当りの体重増加量ならびに体重増加量当りの水の摂取量を求めてみるとこれらも減少している。おそらく、Cd 投与によって餌および水の摂取量の低下がおこり、かつそれに加えて、摂取量当りの体重増加も減少することによって低体重がひきおこされたものと思われる。

5 および 10 ppm の Cd の経口投与によって低色素性小球性貧血がおこることはこれまでの結果^{1,2)} および今回の結果から明らかである。血清鉄の減少も同時にみとめられるので、この貧血はおそらく鉄欠乏性貧血であろうと思われる。

血清アルカリフォスファターゼ活性は 10 ppm 群で低値を示している。当研究では幼若ラットを用いているので、血清 AlP 値はおそらく骨性 AlP 活性を反映していると考えられる。また、無機リン量は 5 および 10 ppm 群で高値を示している。骨代謝に関連しているこれらの因子が変動していることから、Cd は骨に対して何らかの作用を及ぼしているだろうと推定されるが、しかし、Cd 汚染地区住民ではこれらの値は上昇することがみとめられて

おり⁴⁾当所見とは一致しない。この点については、Cd 汚染地区住民の所見は長期間暴露を受けた成人のものであり、本研究は 4 週間投与の若い動物の結果であるという相違もあり、今後詳しく検討してゆきたいと考えている。

曲げ強度を骨の大きさを除外した値で比較すると、大腿骨での σ_0 の比較を除いては、大腿骨、上腕骨ともに対照群と Cd 投与群間で差はみとめられない。骨に曲げ荷重を加えると骨断面の中立軸の片側には圧縮力が、他側には引張力が生じる。今回の曲げ試験では圧縮側から破壊が始まる場合や引張側から破壊が始まる場合およびどちら側から破壊がはじまったのか判然としない場合が混在していた。もし破壊の開始が引張側あるいは圧縮側のどちらかに一定しているのであれば破壊側の応力 σ_t あるいは σ_c のどちらかを求めればよい。また、引張と圧縮の両破壊モードが混在していても個々の骨についてはどちらの破壊モードであるのか判別できれば、個々の骨についての曲げ応力として σ_t あるいは σ_c のどちらかを求めればよい。しかし、今回の場合はどちらの破壊モードであるのか判然としない場合が多かったので、一応全ての骨が引張側で破壊を開始したと仮定した場合の応力 σ_t と全ての骨が圧縮側で破壊を開始したと仮定した場合の応力 σ_c の 2 つを算出し、各々について Cd による影響を検討したが、ばらつきが大ききはっきりした結果は得られなかった。

曲げ応力の成分の 1 つである圧縮応力による強度を求めると、骨幹部では 5 および 10ppm 群で、骨端部では 10 ppm 群で強度低下がみとめられた。今回の圧縮試験方法は骨幹部と骨端部を分離して荷重を加えるように改良したので、前回¹⁾のように骨端部破壊の影響を骨幹部が受けることがなく 5 ppm 群でも有意な強度低下をみとめることができた。

骨端部は metaphysis で破壊がおこっている⁵⁾ので、破壊強度はこの部分の骨梁の総合的な強さを示していると考えられるが、この部分は、いろいろな段階に石灰化した骨梁が複雑な構造をとっているところなので、正確な強度の測定はかなりむづかしい。これに対して骨幹部強度は骨皮質の強さそのものを測定している。骨幹部において、圧縮強度は 5 および 10ppm 群で低下を示し曲げ強度は変化を示さなかったという今回の結果は、曲げ強度は圧縮強度と引張強度の複合したものであり変化の検出が難しいということを示しているにすぎず、Cd 投与ラットの骨が圧縮力には弱くなっているが、外力として加えられる曲げ荷重に対しては変化がなく骨折ににくいということを示しているわけではない。このことは、成

熟骨を用いて曲げ試験を行った場合には、破壊モードが一定した良好な結果が得られることから裏付けられる⁶⁾。

圧縮試験における弾性率および変形量に関しては一定した傾向はみとめられない。ただし剛性率については Cd 投与群において低下がみとめられているので、試料数を増やして検討すれば弾性率についても変化がみとめられるかもしれない。

骨疾患と骨の力学的特性との関係を調べた研究としては Weir ら⁷⁾や Bell と Dunbar⁸⁾の研究がある。Weir ら⁷⁾はくる病食を与えたラット骨で曲げ試験を行い、強度と弾性率が低下することおよび破壊時の最大たわみ量は増加するが弾性変形限界での相対たわみ量は逆に減少することを報告している。Bell と Dunbar⁸⁾は骨粗しょう症の際の変化について知るために、さまざまな年齢のヒト脊椎骨を用いて圧縮強度と灰分量の測定をおこない、強度も骨灰分量も加齢とともに低下するが、強度低下の方が骨灰分量の変化よりもはやく進行すること及び変形量は骨の大きさや年齢と無関係であったことを報告している。また、Bell ら⁹⁾および Spengler ら¹⁰⁾はコラゲン架橋形成阻害剤 BAPN を投与したラット大腿骨で、それぞれ曲げ試験、ねじり試験を行い、ともに強度の低下をみとめている。我々のこれまでの研究からは、Cd によって骨組織にどのような変化がひきおこされているのかを決定するに足る十分なデータをまだ得ていないので、今後、弾性率および変形量についてより詳しく検討し、骨の力学的特性の変化から Cd によっておこされるであろう骨疾患を推定したいと考えている。

結 論

5 あるいは 10ppm のカドミウムを含む飲料水を生後 3 週齢雄ラットに 4 週間投与することによって、曲げ応力成分の 1 つである圧縮応力に対する強さが大腿骨および上腕骨の骨幹部において低下することがみとめられた。また、骨端部の圧縮応力に対する強さは 10ppm 群で低下がみとめられた。

これまでにおこなった圧縮試験およびねじり試験結果とも合わせて総合的に判断すれば、幼若ラットを用いた骨強度試験方法としては、骨幹部と骨端部を分離して部位別におこなう改良圧縮試験方法が最も骨度変化の検出力にすぐれた方法であるといえる。

稿を終えるに臨み本研究の遂行にあたって御助力および御助言をいただいた当公衆衛生学教室土肥祥子博士ならびに石見恵子氏に厚く感謝いたします。

(注) この研究の一部は昭和58年度文部省科学研究費助成金によっておこなった。

文 献

- 1) 御興久美子, 青木善也, 車谷典男, 森山忠重, 南斎征夫: 微量カドミウム投与ラット骨組織の力学的強度変化 (I) 圧縮強度について, 日衛誌, **36**, 584-595 (1981).
- 2) 御興久美子, 石見恵子, 森山忠重, 南斎征夫: 微量カドミウム投与ラット骨組織の力学的強度変化 (II) ねじり強度について, 日衛誌, **39**, 848-854 (1984).
- 3) 松坂尚典, 田中衛, 西村義一, 湯山章, 小林晴男: 幼若および成熟ハツカネズミにおける ^{115}Cd の体内残留率と消化器吸収, 医学と生物学, **85**, 275-279 (1972).
- 4) Tsuchiya, K. (ed.): "Cadmium studies in Japan - A Review", Kodansha LTD., Tokyo (1978).
- 5) 中野容道, 松吉徹也: ラット骨強度試験の標準化, 大阪市立大学工学部機械工学科卒業論文 (1980).
- 6) 松峯恵子, 御興久美子, 森山忠重, 南斎征夫: 微量カドミウム投与ラット骨組織の力学的強度変化, 日衛誌, **37**, 234 (1982).
- 7) Weir, J.B., Bell, G.H. and Chambers, J.W.: The strength and elasticity of bone in rats on a rachetogenic diet, J. Bone and Joint Surg., **31B**, 444-451 (1949).
- 8) Bell, G.H. and Dunbar, O.: Variations in strength of vertebrae with age and their relation to osteoporosis, Calc. Tiss. Res., **1**, 75-86 (1967).
- 9) Bell, G.H., Khogali, A. and Sharma, D.N.: Quantitative studies on the suppression of skeletal lesions in the rat produced by β -amino-propionitrile, Q. J. Exp. Physiol., **47**, 244 (1962).
- 10) Spengler, D.M., Baylink, D.J., Washington, S. and Rosenquest, J.B.: Effects of β -amino-propionitrile on bone mechanical properties, J. Bone and Joint Surg., **59A**, 670-672 (1977).

(受付 1984年9月18日)