マウス諸臓器および骨におよぼすカルシウム、ビタミンD、ビタミンE制限および カドミウム添加食餌長期摂取の影響：組織学的およびX線の観察

今井 常彦^{*1}, 大本 美彌子^{*1}, 関 久美子^{*1}
原 田 孝^{*2}

^{*1}東邦大学医学部衛生学教室

^{*2}東邦大学医学部第一整形外科学教室

The Effects of Long-Term Intake of Restricted Calcium, Vitamin D, and Vitamin E and Cadmium-Added Diets on Various Organs and Bones of Mice: A Histological and the Roentgenological Study

Tsunehiko IMAI^{*1}, Miyako OMOTO^{*1}, Kumiko SEKI^{*1}
and Takashi HARADA^{*2}

^{*1}*Dept. of Environmental and Occupational Health, Toho Univ. Sch. of Med., Omori, Tokyo*

^{*2}*1st Dept. of Orthopedic Surgery, Toho Univ. Sch. of Med., Omori, Tokyo*

Abstract The toxic effects of long-term administration of cadmium (Cd) on the kidneys, liver, and hind leg bones were studied histologically and roentgenologically in 29-day-old female ICR-strain mice separated into groups variously fed 1) a commercial (calcium [1.17%], vitamin D [220IU/100g], vitamin E [10mg/100g]) diet, 2) a low Ca (0.18%) diet, 3) a low Ca and low D (50IU/100g) diet, and 4) a low Ca, low D and low E (5mg/100g) diet. Though the levels of vitamin D and vitamin E were designed to be low in each diet, their amounts fulfilled the nutritional requirements. Three subgroups in each category were fed Cd at dietary concentrations of 0, 20 or 40 ppm. After 12, 18 or 24 months on these diets the mice were sacrificed.

- 1) In the groups fed the commercial diet containing Cd, prominent swelling of the glomerulus and thickening of the basement membrane of glomerulus were observed. This did not occur in the groups fed the commercial diet without Cd.
- 2) In the groups fed the Cd-added low-Ca diet the following findings were more prominent compared with the low-Ca diet group. In the kidneys, swelling of the glomerulus, hyaline casts in tubular lumina and cellular infiltration of the interstitial tissue were present. In the liver, cellular infiltration of the interstitial tissue were present. In the hind leg bones, thinning of trabeculae and ossification of the Achilles's tendon were seen.
- 3) In the Cd-added low-Ca, D diet groups, there was atrophy of glomerulus, thickening of basement membrane of glomerulus, and atrophy of tubular epithelial cells in the kidneys, while in the liver, binucleate cells, anisonucleosis and enlargement of Kupffer cells were

Reprint requests to: Tsunehiko Imai, Department of Environmental and Occupational Health, Toho University School of Medicine, 5-21-16 Omori-Nishi, Ota, Tokyo 143 Japan

seen. In the hind leg bones, thinning of the cortex and trabeculae were present. All of these findings were more prominent in this group than in the low-Ca, group.

- 4) In the Cd-added low-Ca, D, E, diet groups subjects the following findings were more prominent than in the low-Ca, D, E, diet group. In the kidneys, there was swelling of glomerulus and in the liver, there were binucleate cells, anisonucleosis, and cellular infiltration into interstitial tissue. In the hind leg bones, thinning of the cortex and trabeculae, a decrease of cartilage cells and a decrease of osteocytes were seen.

These histological and roentgenological changes were seen to increase in a dose-dependent manner with the amount of dietary Cd.

As a result, we found that some mice given a low-Ca, D, E and Cd-added diet developed bone osteoporotic changes. However, there was no evidence of osteomalacic changes due to cadmium during the 24-month experimental period.

We concluded from these results that aging progressed quickest in the 40ppm Cd-added low-Ca, D, E diet.

The diets promoted the effects of Cd in the following order: low Ca, D, E diet > low Ca, D diet > low Ca diet > commercial diet.

Key words: Cadmium (カドミウム), Chronic exposure (慢性曝露), Histological changes (組織変化), Roentgenological changes (X線像変化), ICR strain mouse (ICR系マウス)

緒 言

富山県神通川流域の高年の経産女性に多発したイタイイタイ病(以下イ病)の主症状は、腰痛、下肢筋肉痛等の自覚症状、蛋白尿、糖尿等の初期症状、さらに骨軟化による多発性の病的骨折を起こすことから、1984年厚生省¹⁾によりイ病はカドミウム(以下Cd)による尿細管障害に続発した成人型Fanconi症候群であるとの見解が提示された。

イ病に認められた骨軟化症の成因については諸説あり、イ病患者の臨床的研究から高瀬ら²⁾はCd摂取によるFanconi症候群様の腎尿細管障害によるとしたが、梶川ら³⁾はイ病患者の剖検所見から、腎病変の程度と骨軟化症の程度とは並行しないと、村田⁴⁾はCdによる小腸障害に起因したカルシウム(以下Ca)吸収障害によるとしている。

また疫学的調査研究では、高瀬ら²⁾はCd曝露に加え、発病当時の蛋白質、脂質、ビタミンA、ビタミンD(以下D)、Ca等の諸栄養素の低摂取を指摘している。

実験的研究ではCd投与により、菅原ら⁵⁾はラット小腸でのCa、リン(以下P)の吸収障害を、広田⁶⁾は家兎尿中Ca、Pの排泄増加と血清Ca増加、血清P低下、蛋白尿、および腎の尿細管に上皮混濁腫脹、上皮剝離、脂肪沈着、尿管柱等の組織学的異常を認めている。Itokawaら^{7,8)}はラットのCa欠乏飼料飼育条件下でのCd投与により大腿骨で骨皮質の菲薄、骨細胞数の減数、骨梁の

消失、類骨組織の増加等、ヒトの骨軟化症類似変化や腎においても糸球体および尿細管に変化を認めたこと等から、Cd投与による骨変化は腎性骨軟化症であるとした。一方、大本ら^{9,10)}はマウスの正常飼料飼育条件下での長期Cd投与による骨変化は、骨粗鬆症に類似の加齢的变化であるとし、大方¹¹⁾、Yoshikiら¹²⁾はラットのCa欠乏・Cd添加飼料飼育、今井ら^{13,14)}はマウス、滝澤¹⁵⁾はラットの制限Ca・Cd添加飼料飼育における骨変化所見は、骨粗鬆症類似変化であるとしている。

土屋¹⁶⁾はCdによる健康障害について臨床症状、病理所見、動物実験結果などに多面的な整合性が見出されず、イ病の骨障害とCdの関連については、なお多くの検討の必要性を指摘している。

本研究においては、Cd曝露の諸臓器影響に対する栄養条件の修飾を明かにする目的で、Cdの標的臓器である腎、腎とともに多量のCdを蓄積する肝、Cdの直接または間接影響があるとされる骨について組織学的観察を行った。実験Iでは骨の構成成分であるCa、実験IIではCaに加え骨のremodelingを調節するD、そしてOmayaら¹⁷⁾が欠乏時の精巣組織変化が萎縮および壊死でありCd投与時の所見と類似としているビタミンE(E)の各栄養素について、成育障害や栄養欠乏が起らぬ程度にCa、D、Eをそれぞれ制限した飼料、およびそれら飼料にCdを添加した飼料により長期飼育した動物について組織学的観察を行った。

実験方法

実験 I

1) 使用動物および飼育条件

ICR 系雌性マウス 128 匹 (日本チャールスリバー K. K.) を実験に供した。生後 29 日齢時より 510 日間乃至 541 日間 (以下 18 M 時) および 690 日間乃至 719 日間 (以下 24 M 時) 飼育観察した。飼料および飲料水 (水道水) は自由摂取とした。飼育環境は, 室温 $22 \pm 3^\circ\text{C}$, 湿度 $53 \pm 5\%$, 8-20 時明期とした。飼育期間中には週 2 回の体重測定を行った。実験期間は 1980 年 10 月 17 日から 1982 年 10 月 6 日である。

2) 飼育飼料条件 (Table 1)

飼料に添加した Cd には塩化カドミウム (特級・関東化学 K. K.) を用いた。

I 群: 市販飼料 (CE-2・日本クレア K. K.) 飼育 (市販群) (Intact), II 群: 制限 Ca (0.18% ・市販飼料の 15% ・所要量の 36%) 飼料 (実験飼料 I) 飼育 (低 Ca 群), III 群: 市販飼料 + 20 ppmCd 添加飼料飼育 (市販・Cd 20 ppm 群), IV 群: 市販飼料 + 40 ppmCd 添加飼料飼育 (市販・Cd 40 ppm 群), V 群: 実験飼料 I + 20 ppmCd 添加飼料飼育 (制限 Ca・Cd 20 ppm 群), VI 群: 実験飼料 I + 40 ppmCd 添加飼料飼育 (制限 Ca・Cd 40 ppm 群) の計 6 種飼料飼育群であり, Ca を除いて所要量を十分に満たす範囲内での制限である。

3) 臓器中 Cd の測定

エーテル麻酔下放血屠殺後, 肝, 腎を摘出し, 各臓器を約 0.5 g 秤取, 湿式灰化後に, APDC (ピリジンカルバミン酸アンモニウム塩)-MIBK (メチルイソブチルケトン) による抽出液を試料溶液とした。各試料溶液中の Cd の定量は, 原子化は空気-アセチレンフレイムにより行い, 原子吸光法 (AAS, 島津マルチチャンネル原子吸光フレイム光度計・MAF-I 型) を用い, 波長 228.8 nm にて測定した。

4) 肝・腎組織学的観察

肝・腎を摘出採取, 10%ホルマルン溶液で固定の後, パラフィン包埋, 薄切切片としてヘマトキシリン・エオジン (H. E) 二重染色, または Periodic acid-Schiff (PAS) 染色後, 顕微鏡観察を行った。観察所見の変化の程度については, 所見なし (-), ごく軽度 (全視野にわずかでも見られる ($\pm$)), 軽度 (全視野の 2~3 か所に見られる (+)), 中等度 (全視野の $1/4$ ほどに見られる ($++$)), 強度 (全視野の $1/2$ 以上に見られる ($+++$)) とした。

5) 骨観察

a) 骨 X 線像観察

骨 X 線像観察は右後肢の脛腓方向で撮影した。使用した X 線装置は, 超軟 X 線発生装置 (SOFTX-CSM 型・ソフテックス K. K.) を使用した。撮影条件は電源 100 V, 二次電圧 25 kv, 管球電流 10 mA, 曝射時間 15 秒, 焦点フィルム間距離 45 cm とした。フィルムは X-ray フィルム (FG・富士フィルム K. K.) を黒色ビニール袋に包んだ上, マウス後肢骨の直下に置いて撮影した。現像液は調合現像液 (レンドール・富士フィルム K. K.) を使用した。観察所見の変化の程度については, 所見なし (-), ごく軽度 (癍痕程度 ($\pm$)), 軽度 (小さいが明確に見ることができる (+)), 中等度 (軽度と強度の中間程度 ($++$)), 強度 (非常に大型化もしくは非常に菲薄 ($+++$)) とした。

b) 骨組織学的観察

右後肢を採取後, 軟部を除去し, 10%ホルマルン溶液で固定した。10%蟻酸・陽イオン交換樹脂 (アンバーライト・IR-20・オルガノ K. K.) により脱灰後, パラフィン包埋, 薄切切片としてヘマトキシリン・エオジン二重 (H. E) 染色後, 型のごとく頸骨, 膝関節を中心とした光顕観察を行った。観察所見の変化の程度については, 所見なし (-), ごく軽度 ($\pm$), 軽度 (+), 中等度 ($++$), 強度 ($+++$) とした。

実験 II

1) 実験動物

ICR 系雌性マウス 144 匹 (日本クレア K. K.) を実験に供した。生後 29 日齢時より 353 日間乃至 365 日間 (以下 12 M 時), 510 日間乃至 541 日間 (以下 18 M 時) および 693 日間乃至 722 日間 (以下 24 M 時) 飼育観察した。飼料および飲料水 (水道水) は自由摂取とした。室温 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 湿度 $55 \pm 5\%$, 8-20 時明期にて本学医学部実験動物センター内準バリアシステム飼育室にて飼育した。飼育期間中, 週 2 回の体重測定を行った。実験期間は 1982 年 11 月 25 日から 1984 年 11 月 17 日, 1985 年 5 月 20 日から 1986 年 11 月 3 日である。

2) 飼育飼料条件 (Table 1)

飼料に添加した Cd には塩化カドミウム (特級・関東化学 K. K.) を用いた。

I 群: 市販飼料 (CE-2・日本クレア K. K.) 飼育 (市販群) (Intact), II 群: 制限 Ca (0.18% ・市販飼料の 15% ・所要量の 36%)・制限ビタミン D (ビタミン D_3 として 50 IU・市販飼料の 22% ・所要量の 330%) 飼料 (実験飼料 II) 飼育 (制限 Ca・D 群), III 群: 制限 Ca・制限 D・制

Table 1 Compositions of experimental diets.

	Commercial diet (CE-2)						Experimental diet						Nutritional requirement	
	I						II							III
Net protein (%)	26.6						27.5						27.5	16~20
Net fat (%)	4.8						4.3						4.3	3~12
Net fiber (%)	3.3						4.1						4.1	~6
Calcium (%)	1.17						0.18						0.18	0.5
Phosphate (%)	1.04						0.73						0.73	0.5
Vitamin D (IU/100g)	220						50						50	15
Vitamin E (mg/100g)	10						12						5	2
Cadmium (μg/g)	0	20	40	0	20	40	0	20	40	0	20	40		
Group Experiment I	I	II	III	IV	V	VI								
Experiment II	I						II	IV	V	III	VI	VII		

限ビタミンE (5 mg/100 g・市販飼料の50%・所要量の250%) 飼料(実験飼料Ⅲ)飼育(制限Ca・D・E群), Ⅳ群:実験飼料Ⅱ+20 ppmCd添加飼料飼育(制限Ca・D・Cd 20 ppm群), Ⅴ群:実験飼料Ⅱ+40 ppmCd添加飼料飼育(制限Ca・D・Cd 40 ppm群), Ⅵ群:実験飼料Ⅲ+20 ppmCd添加飼料飼育(制限Ca・D・E・Cd 20 ppm群), Ⅶ群:実験飼料Ⅲ+40 ppmCd添加飼料飼育(制限Ca・D・E・Cd 40 ppm群)の計7種飼料飼育群である。

3) 肝・腎組織学的観察

実験Ⅰと同様である。

4) 骨観察

a) X線像観察

実験Ⅰと同様であり、フィルムはX-rayフィルム(FR・富士フィルムK.K.)を使用した。

b) 骨組織学的観察

実験Ⅰと同様であり、加えて大腿骨骨幹部骨皮質の骨細胞数(骨細胞数)の計測を行った。計測は大腿骨骨幹部の骨皮質縦断面0.025 mm²当りとした。

統計処理は肝、腎、骨組織所見および骨X線像所見の変化の程度については、Mann-Whitney U-test, その他については、Student's t-test により行った。

結 果

実験Ⅰ

(1) 外部所見

体色変化, 脱毛, 眼瞼・結膜出血, 後側弯や歩行失調等の症状はⅠ群からⅥ群の全群において, 飼育期間中には観察されなかった。

(2) 観察時体重 (Table 2)

12 M時でⅠ群(市販飼料群)>Ⅲ群(市販飼料+20 ppmCd添加飼料群)・Ⅳ群(市販飼料+40 ppmCd添加飼料群)>Ⅴ群(実験飼料Ⅰ+20 ppmCd添加飼料群)・Ⅵ群(実験飼料Ⅰ+40 ppmCd添加飼料群)>Ⅱ群(実験飼料Ⅰ群)の順であった。実験飼料ⅠではCd添加群は非Cd添加群に比較し体重増加の傾向であった。

18 M時でⅥ群・Ⅳ群>Ⅰ群・Ⅲ群>Ⅴ群>Ⅱ群の順であった。Cd添加群はCd非添加群に比較し体重増加の傾向であり, 特に40 ppmCd添加群が最も体重増加していた。

24 M時ではⅣ群>Ⅵ群>Ⅲ群>Ⅴ群>Ⅱ群>Ⅰ群の順であり, 18 M時と同様にCd添加群は非Cd添加群に比較し体重増加の傾向であった。

(3) Cd 含量 (Table 3)

すでに報告したマウスのCd長期投与実験¹⁸⁾から, 臓器別のCd含量は腎で最も多く, 次に肝・胃・脛骨が同程度であり, 肺・脾・子宮・歯牙等は少なかったこと, 雌雄では雌にやや多かったこと, 腎, 肝への蓄積は投与15カ月ですでに最大含量に達していたこと等を明かにしている。

本実験において, Cd含量は20 ppmCd群(Ⅲ群, Ⅴ群)に比較し40 ppmCd群(Ⅳ群, Ⅵ群)が, 18 M時, 24 M時において腎, 肝ともに多い傾向であり, 特に肝は18 M時, 24 M時ともにⅣ群がⅢ群に比較し有意($p<0.05$, $p<0.05$)に高値であった。18 M時と24 M時の間には含量の有意差は見られなかった。制限Ca飼料の影響についてはⅢ群とⅤ群およびⅣ群とⅥ群の比較から, 腎, 肝ともに制限Ca・Cd添加飼料群に多い傾向であった。臓器別ではいずれのCd添加飼料群のいずれの観察時期におい

Table 2 Body weights of the mice.

Experiment I					
Group	(N)	12M	(N)	18M	(N) 24M
I	(21)	34.6±7.4	(17)	31.3±7.4	(4) 26.4±3.1
II	(15)	29.8±3.8	(11)	29.6±3.6	(5) 25.9±4.0
III	(15)	33.4±5.2	(12)	31.3±3.3	(6) 28.1±2.7
IV	(14)	33.1±6.3	(9)	33.0±8.2	(4) 31.5±6.6
V	(18)	32.0±6.5	(9)	30.1±4.2	(5) 27.9±3.0
VI	(22)	31.8±4.4	(14)	33.7±7.5	(6) 28.6±3.4

Mean±S.D. (g)

No significant difference was found between experimental diet groups and group I.

Experiment II

Group	(N)	12M	(N)	18M	(N) 24M
I	(20)	37.6±5.1	(14)	38.6±5.5	(8) 36.8±4.4
II	(22)	38.3±4.4	(17)	36.9±6.2	(9) 34.3±4.6
III	(25)	34.9±3.8b**	(18)	33.3±3.7 a**,b*	(10) 34.2±6.7
IV	(24)	37.2±5.0	(15)	39.4±7.3	(9) 36.0±7.3
V	(25)	36.7±4.7	(19)	38.4±4.7	(8) 37.8±4.9
VI	(25)	35.6±5.1	(17)	37.3±6.9c**	(11) 35.6±7.3
VII	(26)	34.1±4.4a*	(18)	33.5±4.3a*	(10) 32.0±3.8a*

Mean±S.D. (g)

a: Significantly different from group I.

b: Significantly different from group II.

c: Significantly different from group III.

*p<0.05, **p<0.01.

by Student's t-test.

ても腎は肝に比較し高値の傾向であった。

(4) 組織学的所見 (Table 4, 5)

腎, 肝, 骨の加齢変化, 低 Ca 影響および Cd 添加影響について観察した。

A) 腎組織変化

観察された所見は, 糸球体の腫脹, 萎縮, 糸球体の線維化, 糸球体基底膜の肥厚, 尿管上皮細胞の腫脹, 萎縮, 尿管柱および間質への細胞浸潤であった。

① 加齢変化

市販飼料群 (I 群) の 18 M 時 (8 例) と 24 M 時 (4 例) の比較

24 M 時において, 糸球体の線維化および糸球体基底膜の肥厚が有意 (p<0.05, p<0.05) に強く見られた。

② 栄養制限影響 (制限 Ca 飼料影響)

市販飼料群 (I 群) と制限 Ca 群 (II 群) の比較

18 M 時の I 群 (8 例), II 群 (6 例) の比較では, 糸球体基底膜の肥厚は II 群において有意 (p<0.05) に強く見られた。

Table 3 Cadmium contents in kidney and liver.

Kidney				
Group	(N)	18M	(N)	24M
I	(2)	ND	(2)	3.2± 2.5
II	(2)	0.5± 0.3	(2)	4.2± 0.7
III	(3)	61.1± 5.6	(4)	53.6± 6.3
IV	(3)	70.0±10.3	(4)	66.6±15.1
V	(3)	63.4± 4.4	(3)	56.5± 9.6
VI	(3)	75.4±14.6	(3)	69.1± 8.0

Liver

Group	(N)	18M	(N)	24M
I	(2)	ND	(2)	1.3± 0.6
II	(2)	ND	(2)	2.2± 0.3
III	(3)	23.8± 3.6	(4)	21.7± 2.5
IV	(3)	38.3± 6.8*	(4)	33.3± 6.1*
V	(3)	29.4± 6.1	(3)	27.5± 4.7
VI	(3)	51.0±11.1	(3)	45.2±15.9

Mean±S.D. (μg/g)

Significantly different from group III. *p<0.05 by Student's t-test.

24 M 時の I 群 (4 例), II 群 (5 例) の比較では, 尿管上皮細胞の腫脹, 尿管柱および間質への細胞浸潤は I 群において有意 (p<0.05, p<0.05, p<0.05) に強く影響された。

③ カドミウム摂取影響

a) 市販飼料への Cd 添加影響

I 群 (0 ppm) と III 群 (20 ppm), VI 群 (40 ppm) 比較

18 M 時の I 群 (8 例), III 群 (4 例), VI 群 (4 例) の比較では, I 群に比較し III 群では糸球体の腫脹および糸球体基底膜の肥厚は有意 (p<0.05, p<0.05) に強く, I 群に比較し IV 群においても糸球体の腫脹および糸球体基底膜の肥厚は有意 (p<0.01, p 0.05) に強く見られた。III 群と IV 群の間では所見の変化の程度に有意差は見られなかった。

24 M 時の I 群 (4 例), III 群 (6 例), IV 群 (4 例) の間で観察された所見の変化の程度に有意差は見られなかった。

b) Cd 添加・制限 Ca 飼料影響

II 群 (0 ppm) と V 群 (20 ppm), VI 群 (40 ppm) の比較

18 M 時の II 群 (6 例), V 群 (4 例), VI 群 (6 例) の間で観察された所見の変化の程度に有意差は見られなかった。

Table 4 Histopathological and roentgenological findings for kidney, liver and bone in 18-month-old mice.

18M	Group Grade	I					II					III					IV					V					VI				
		-	±	+	##	###	-	±	+	##	###	-	±	+	##	###	-	±	+	##	###	-	±	+	##	###	-	±	+	##	###
Histological findings																															
Kidney	(N)	(8)					(6)					(4)					(4)					(4)					(6)				
swelling of glomerulus		4	2	2			3	2	1			2	2		c*	1	3			c**	1	2	1			3	3				
atrophy of glomerulus		7	1				6					3	1		4					3	1				6						
fibrosis of glomerulus		6	1	1			5	1				2	2		3	1				3	1				4	2					
thickening of basement membrane of glomerulus		7	1				2	1	3		b*	1	2	1		c*	1	2	1		c*	1	2			2	1	3			
swelling of tubular epithelial cells		3	5				4	2				3	1			3	1			3	1				3	3					
atrophy of tubular epithelial cells		2	6				2	4				3	1			3	1			3	1				1	5					
hyaline droplets in tubular epithelial cells		8					6					4				3	1			4					6						
hyaline casts in tubular lumina		6		1	1		4	2				2	2			3	1			2	1	1			4	2					
cell infiltration		2	3	3			3					1	2	1		1	3			2	1	3		d**	2	3	1				
Liver	(N)	(8)					(6)					(4)					(5)					(4)					(6)				
binucleate cells		1	6	1			5	1				3	1			4	1			3	1				5	1					
anisonucleosis			4	4			5	1				4			c*		4	1			2	2			5	1					
fatty infiltration		5	2	1			5	1				3	1			2	2	1		2		2			2	1	1	2			
cell infiltration		6	1	1			5	1				3	1			5				2	2				2	3	1		d*		
enlargement of kupffer cells		2	3	3			2	3	1			2	2				4	1			2	2			4	2					
Tibia and Articular cartilage	(N)	(5)					(5)					(4)					(4)					(4)					(5)				
thinning of trabeculae			3	2				2	3	b**	2		1	1			1	2	1			4		d*		5	d*				
decrease of cartilage cells		1	4				5					2	1	1		1	1	1			1	2	1	d*		2	3	d*			
partial cartilage erosion		5					5					4				4				4					5						
fatty marrow		5					5					4				3	1			3	1				5						
Roentgenological findings																															
Tibia and Articular cartilage	(N)	(8)					(6)					(4)					(5)					(8)					(7)				
thinning of cortex		2	1	1	3	1		2	2	2		2	1	1	1		4			1	4	1	2		2	3	2				
thinning of trabeculae			2	2	4			1	2	3			1	2	1		1		1	3											
ossification of sesamoid bone and menisci			7	1			1	4	1				3	1			4				8					6	1				
ossification of Achille's tendon		4	3	1			2	4				2	2			1	3	1		c*	4	2	2			1	2	3	1	d*	

Grade: (−) No lesions, (±) Minimal, (+) Slight, (##) Moderate, (###) Marked.

b: Significant difference between group I and group II.

c: Significant difference between group I and group III or group IV. *p<0.05, **p<0.01.

d: Significant difference between group II and group V or group VI.

by Mann-Whitney U-test.

Table 5 Histopathological and roentgenological findings for kidney, liver and bone in 24-month-old mice.

24M	Group Grade	I					II					III					IV					V					VI				
		-	±	+	##	###	-	±	+	##	###	-	±	+	##	###	-	±	+	##	###	-	±	+	##	###	-	±	+	##	###
Histological findings																															
Kidney	(N)	(4)					(5)					(6)					(4)					(5)					(6)				
swelling of glomerulus		3	1				3	2				3	1	1	1		2	2			3	2				2	2	2			
atrophy of glomerulus		4					5					5					1	2	1		3	1		1		5				1	
fibrosis of glomerulus		1	3			a*	2	3				4	2			2	2				1	4				3	2	1			
thickening of basement membrane of glomerulus		1	2	1		a*	1	2	2			1	2	3	2		1	1				5			d*		1	1	3	1	
swelling of tubular epithelial cells		1	3				5					b**	3	3		3	1				5					3	3			d**e*	
atrophy of tubular epithelial cells		2	2				1	4				3	3			1	3				5					6					
hyaline droplets in tubular epithelial cells		4					4	1				6									5					5	1				
hyaline casts in tubular lumina		2	2				5					b*	1	5			4				3					3	3			d*	
cell infiltration			3	1			3	2				b*		2	4			1	2	1		3	1	1		1	1	4		d*	
Liver	(N)	(4)					(5)					(6)					(4)					(5)					(6)				
binucleate cells			4			a**		5				6					4				4	1				6					
anisonucleosis			2	2			4	1				4	2				3	1			4	1				3	3				
fatty infiltration			2	2		2 a*	4	1				b**	2	2	1	1	2				c*	2				3	1	2			
cell infiltration		3		1			3	1				4	1	1		1	1	1			1	2				4	2			d*	
enlargement of kupffer cells			4				3	2				1	4	1			3	1				3	2		d*		1	5			d*,e*
Tibia and Articular cartilage	(N)	(4)					(5)					(6)					(4)					(5)					(6)				
thinning of trabeculae		1	1	2				2	2	1		1	2	3			1	2	1				5	d**			2	4	d*		
decrease of cartilage cells		1	2	1			1	3	1			1	2	2	1	1	2	1			3	2				1	3	2			
partial cartilage erosion		3	1				5					4				1	2	1			5					6					
fatty marrow		3	1				4					6				4					4	1				4	2				
Roentgenological findings																															
Tibia and Articular cartilage	(N)	(5)					(6)					(5)					(4)					(5)					(6)				
thinning of cortex		1	2	1			2	2	2		1	2	1	1			4					5					1	4	1		
thinning of trabeculae			1		4			1	2	3			1	4								1	4				3	3			
ossification of sesamoid bone and menisci			4	1			5	1				3	1	1			4														d**e*
ossification of Achille's tendon			4	1			2	4				2		2	1	3	1			c*	2	3				3	3				

Grade: (−) No lesions, (±) Minimal, (+) Slight, (##) Moderate, (###) Marked.

a: Significant difference between 18 months group and 24 months group. *p<0.05, **p<0.01.

b: Significant difference between group I and group II.

c: Significant difference between group I and group III or group IV.

d: Significant difference between group II and group V or group VI.

e: Significant difference between group V and group VI.

by Mann-Whitney U-test.

24 M時のII群(5例), V群(5例), VI群(6例)の間ではII群に比較しV群で糸球体基底膜の肥厚は有意($p<0.05$)に強く見られた。II群に比較してVI群では尿細管上皮細胞の腫脹, 尿円柱, 間質への細胞浸潤は有意($p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.05$)に強く観察され, 尿細管上皮細胞の腫脹はVI群ではV群に比較し有意($p<0.05$)に強く影響された。

B) 肝組織変化

観察された所見は, 2核細胞, 核の大小不同, 脂肪滴の貯留, 間質への細胞浸潤, クーパー細胞の動員であった。

① 加齢変化

市販飼料群(I群)の18 M時(8例)と24 M時(4例)の比較から, 2核細胞, 脂肪滴の貯留が18 M時に比較して24 M時で有意($p<0.01$, $p<0.05$)に強く見られた。

② 栄養制限影響(制限Ca飼料影響)

市販飼料群(I群)と制限Ca飼料群(II群)の比較18 M時のI群(8例)とII群(6例)の間で観察された所見の強さの程度には有意差は見られなかった。

24 M時のI群(4例)とII群(5例)の比較からは, 脂肪滴の貯留がI群で有意($p<0.05$)に強く見られた。

③ カドミウム摂取影響

a) Cd添加・市販飼料影響

I群(0 ppm)とIII群(20 ppm), IV群(40 ppm)の比較

18 M時のI群(8例), III群(4例)およびIV群(5例)の比較から, 核の大小不同はI群で強い傾向であり, 特にIII群と比較し有意($p<0.05$)に顕著であった。

24 M時のI群(4例), III群(6例)およびIV群(4例)の比較からは, 脂肪滴の貯留はI群で強い傾向であり, 特にIV群に比較して有意($p<0.05$)に顕著であった。

b) Cd添加・制限Ca飼料影響

II群(0 ppm)とV群(20 ppm), VI群(40 ppm)の比較

18 M時のII群(6例), V群(4例)およびVI群(6例)の比較からは, 間質への細胞浸潤がCd添加群に強い傾向であり, 特にVI群はII群に比較し有意($p<0.05$)に強かった。

24 M時のII群(5例), V群(5例)およびVI群(6例)の比較からは, 間質への細胞浸潤がCd添加群に強い傾向であり, 特にVI群はII群に比較し有意($p<0.05$)に強く, クーパー細胞の動員はVI群に比較しII群, V群が有意($p<0.05$, $p<0.05$)に強く観察された。

c) 骨変化

X線像所見としては, 骨皮質の菲薄①(Photo 1 D), 骨梁の粗網②(Photo 1 B, C), 種子骨の増殖および半月板の化骨, アキレス腱への石灰沈着③(Photo 1 A, B, D)が観察され, 組織学的所見としては骨梁の粗網①(Photo 2 B, D), 関節軟骨細胞数の減数②(Photo 2 D), 関節軟骨層の部分欠損③(Photo 2 C), 脂肪髄④(Photo 2 A)が観察された。

① 加齢変化

市販飼料群(I群)の18 M時と24 M時の比較

Photo 1. Roentgenological findings for hind leg bones of 24-month-old mice. (Experiment I)

A: A group I subject. Slight ossification of Achilles's tendon ③ is indicated.

B: A group IV subject. Moderate thinning of bone trabeculae ② and slight ossification of Achilles's tendon ③ are exhibited.

C: A group V subject. Slight thinning of bone trabeculae ② is demonstrated.

D: A group VI subject. Moderate thinning of cortex ① and minimal ossification of Achilles's tendon ③ are demonstrated.

Photo 2. Histopathological findings for knee joints of 24-month-old mice. (Experiment I)

- A: A group I subject. Minimal fatty degeneration in the bone marrow (④) is demonstrated.
 B: A group III subject. Moderate thinning of bone trabeculae (①) is demonstrated.
 C: A group IV subject. Marked partial erosion of the cartilage (③) is demonstrated.
 D: A group VI subject. A moderate decrease in the number of cartilage cells (②) and slight thinning of bone trabeculae (①) are shown. H.E. stain (x20)

X線像所見は18 M時(8例)と24 M時(5例)の間に所見の変化の程度に有意差は見られなかった。

組織学的所見は18 M時(5例)と24 M時(4例)の間に所見の変化の程度に有意差は見られなかった。

② 栄養制限影響(制限Ca飼料影響)

市販飼料飼育群(I群)と制限Ca飼料(実験飼料I)飼育群(II群)との比較。

18 M時のX線像所見はI群(8例)とII群(6例)の間の所見の変化の程度に有意差は見られなかった。組織学的所見についてはI群(5例)とII群(5例)で、骨梁の粗網はII群が有意($p < 0.05$)に顕著であった。

24 M時のX線像所見はI群(5例)とII群(6例)の間に所見の強さの程度に有意差は見られなかった。組織学的所見についてもI群(4例)とII群(5例)の間に所見の変化の程度に有意差は見られなかった。

③ カドミウム摂取影響

a) Cd添加・市販飼料影響

I群(0 ppm)とIII群(20 ppm), IV群(40 ppm)の比較

18 M時のX線像所見はI群(8例), III群(4例)およびIV群(5例)の間では、アキレス腱への石灰沈着はCd

摂取群に強い傾向であり特にIV群はI群に比較して有意($p < 0.05$)に強く見られた。組織学的所見はI群(5例), III群(4例)およびIV群(4例)の間には所見の変化の程度に有意差は見られなかった。

24 M時のX線像所見はI群(5例), III群(5例)およびIV群(4例)の間ではアキレス腱への石灰沈着がIV群に比較してI群およびIII群は有意($p < 0.05$, $p < 0.05$)に強くみられた。組織学的所見はI群(4例), III群(6例)およびIV群(4例)の間には所見の変化の程度に有意差は見られなかった。

b) Cd添加・制限Ca飼料影響

II群(0 ppm)とV群(20 ppm), VI群(40 ppm)の比較

18 M時のX線像所見はII群(6例), V群(8例)およびVI群(7例)の間では、アキレス腱への石灰沈着がII群に比較してVI群では有意($p < 0.05$)に強く見られた。組織学的所見はII群(5例), V群(4例)およびVI群(5例)の間では、関節軟骨細胞数の減数はCd添加群のV群およびVI群で有意($p < 0.05$, $p < 0.05$)に強く見られた。骨梁の粗網はII群がV群およびVI群に比較して有意($p < 0.05$, $p < 0.05$)に顕著であった。

24 M時のX線像所見はII群(6例), V群(5例)およびVI群(6例)の間では, 種子骨の増殖および半月板の化骨はVI群に比較しII群, V群で有意($p<0.01$, $p<0.01$)に強く観察された。組織学的所見についてはII群(5例), V群(5例)およびVI群(6例)の間では骨梁の粗網がII群に比較してV群, VI群は有意所見($p<0.01$, $p<0.05$)に顕著であった。

実験II

(1) 外部所見

体色変化, 脱毛, 眼瞼・結膜出血, 後側弯や歩行失調などの症状はI群からVII群の全群において, いずれの飼育期間においても観察されなかった。

(2) 観察時体重 (Table 2)

12 M時ではII群(実験飼料II飼料群)(制限Ca・D群)>I群(市販飼料群)・IV群(実験飼料II+20 ppmCd飼料群)(制限Ca・D・Cd20ppm群)>V群(実験飼料II+40 ppmCd添加飼料群)(制限Ca・D・Cd40 ppm群)<VI群(実験飼料III+20 ppmCd添加飼料群)(制限

Ca・D・E・Cd20 ppm群)>III群(実験飼料III飼育群)(制限Ca・D・E群)・VII群(実験飼料III+40 ppmCd添加飼料飼育群)(制限Ca・D・E・Cd40 ppm群)の順であり, I群に比較しIII群, VII群は低体重の傾向であり, 特にVII群は有意($p<0.05$)に低体重であった。

18 M時ではIV群>I群・V群>VI群>II群>VII群・III群の順であり, III群はI群, II群に比較し有意($p<0.01$, $p<0.05$)に低体重であった。Cd添加群は非Cd添加群に比較し高体重の傾向であり, 特にVI群はIII群に比較し有意($p<0.05$)に高体重であった。

24 M時ではV群>I群・IV群>VI群>II群・III群>VII群の順であり, 実験飼料IIではCd添加群は非Cd添加群に比較し高体重の傾向であった。実験飼料IIIでは20 ppmCd添加群は高体重の傾向であり, 40 ppmCd添加群は低体重の傾向であった。

(3) 組織学的所見 (Table 6, 7, 8)

腎, 肝, 骨の組織学的観察から, 加齢変化, 低Ca・低D影響, 低E影響, Cd添加影響について検討した。

Table 6 Histopathological and roentgenological findings for kidney, liver and bone in 12-month-old mice.

Group	I	II	III	IV	V	VI	VII
Grade	- ± + #	- ± + #	- ± + #	- ± + #	- ± + #	- ± + #	- ± + #
Histological findings							
Kidney	(N)	(5)	(5)	(6)	(5)	(5)	(6)
swelling of glomerulus	2 2 1	1 4	4 2	3 1 1	e* 1 4	e* 3 3	2 3
atrophy of glomerulus	5	5	4 2	5	3 2	6	5
fibrosis of glomerulus	2 3	3 1 1	5 1	3 2	4 1	6	3 2
thickening of basement membrane of glomerulus	5	3 1 1	1 5	c**d* 2 2 1	3 1 1	2 4	1 4 g*,h*
swelling of tubular epithelial cells	1 4	2 2 1	3 3	2 1 1 1	3 1 1	e* 1 1 4	4 1
atrophy of tubular epithelial cells	5	2 3	2 2 2	1 4	4 1	e* 4 1 1	3 2
hyaline droplets in tubular epithelial cells	1 2 2	5	6	5	5	4 2	5
hyaline casts in tubular lumina	3 2	3 2	2 4	2 1 2	4 1	4 2	4 1
cell infiltration	4 1	1 4	1 4 1	4 1	e* 2 2 1	1 4 1	1 3 1
Liver	(N)	(5)	(5)	(6)	(5)	(5)	(6)
binucleate cells	2 2 1	4 1	5 1	4 1	e** 2 3	e** 6	g** 1 3 1 h**
anisonucleosis	1 4	4 1	5 1	4 1	e** 2 3	e** 6	1 1 3 h**
fatty infiltration	5	5	6	5	5	5 1	5
cell infiltration	3 2	4 1	4 2	4 1	3 1 1	2 1 2 1	1 3 1 g*
enlargement of kupffer cells	4 1	3 1 1	1 3 2	c*,d* 2 3	e* 1 1 3	1 5	3 2 g*,h**
Tibia and Articular cartilage	(N)	(5)	(5)	(6)	(5)	(5)	(5)
thinning of trabeculae	3 2	2 3	c* 1 3 1 1 c*	1 3 1	2 2 1	1 3 1	3 2
decrease of cartilage cells	2 3	2 3	1 3 1 1	4 1	1 2 1 1	2 3	3 1 1
partial cartilage erosion	5	5	6	5	5	5	5
fatty marrow	1 3	1 2	1 2	1 2 1 2	4 1	2 2 1 3	1 1 2 1 1 1
Roentgenological findings							
Tibia and Articular cartilage	(N)	(5)	(7)	(7)	(6)	(6)	(8)
thinning of cortex	4 1	1 2 4	c** 2 5	c** 1 3 2	3 2 1	3 2 2	1 1 3 2
thinning of trabeculae	3 2	1 3 2 1	c* 2 5	1 3 2	3 1 1 1	4 3	1 4 2 g*,h*
ossification of sesamoid bone and menisci	2 3	6 1	2 5	d* 3 2 1	3 3	3 4 1	3 2 1
ossification of Achille's tendon	5	5 2	5 1 1	6	4 2	8	5 1

Grade: (-) No lesions, (±) Minimal, (+) Slight, (#) Moderate, (##) Marked.

c: Significant difference between group I and group II or group III.

d: Significant difference between group II and group III.

e: Significant difference between group II and group IV or group V.

f: Significant difference between group VI and group V.

g: Significant difference between group III and group VI or group VII.

h: Significant difference between group VI and group VII.

by Mann-Whitney U-test. * $p<0.05$, ** $p<0.01$.

Table 7 Histopathological and roentgenological findings for kidney, liver and bone in 18-month-old mice.

Group Grade	I - ± + # #	II - ± + # #	III - ± + # #	IV - ± + # #	V - ± + # #	VI - ± + # #	VII - ± + # #
Histological findings							
Kidney (N)	(4)	(4)	(4)	(5)	(4)	(5)	(5)
swelling of glomerulus	3	2 1 1	4	5	e* 4	3 2	4 1
atrophy of glomerulus	4	4	2 1 1	3 1 1	2 1 1	3 1	1 3 2
fibrosis of glomerulus	1 3	3 1	1 1 2	1 1 3	1 1 1 1	4	1 1 1 3
thickening of basement membrane of glomerulus	4	4	1 1 2	c*,d* 3 1 1	2 1 1	1 2 1 1	2 1 2
swelling of tubular epithelial cells	1 1 2	2 2	3 1	2 1 2	1 3	3 2	1 2 4
atrophy of tubular epithelial cells	1 1 2	a* 1 2 1	4 1 2 1	2 3	3 1	e* 2 1 1 1	1 2 2 1
hyaline droplets in tubular epithelial cells	4	3 1	4	5	4	5	5 2
hyaline casts in tubular lumina	3 1	a* 2 1 1	3 1 c**	2 1 2	1 2 1	3 1 1	2 2 1 g*
cell infiltration	3 1	1 2 1	2 1 1	1 1 1 1 1	3 1	2 1 1 1	3 2
Liver (N)	(4)	(4)	(4)	(5)	(4)	(5)	(5)
binucleate cells	1	3 2	2 2	1 4	2 1	1 2 2	1 4
anisonucleosis	1 1 2	2 2	2 2	1 2 3	2 1 1	1 2 2	1 g*
fatty infiltration	3 1	2 1	4	3 1 1	2 1 1	3 2	4 1 g*
cell infiltration	2 1 1	1 1 2	1 1 2	2 1 1 1	1 1 1 1	3 2	4 1 h*
enlargement of kupffer cells	1 1 1 1	a* 1 3	3 1	2 1 2	2 1 1	1 1 3 g*	2 3 g**
Tibia and Articular cartilage	(N)	(4)	(4)	(5)	(4)	(5)	(6)
thinning of trabeculae	2 2	a* 2 4	1 3	1 2 1 e*	4 f*	3 2	2 4 g*
decrease of cartilage cells	1 1 1 1	2 1 1	2 1 1	2 1 1	2 1 1	2 1	1 4 1 g*
partial cartilage erosion	4	4	3 1	5	4	5	6
fatty marrow	2 1 1	3 1	1 1 1 1	1 1 1 2	2 1	1 2	5 1
Roentgenological findings							
Tibia and Articular cartilage	(N)	(5)	(7)	(6)	(5)	(5)	(5)
thinning of cortex	2 2	2 1	c* 1 2 4	c**d* 1 2 3	e* 2 2 1	3 1 1	3 2
thinning of trabeculae	2 1 1	2 2 1	1 1 2 3	c* 1 3 2	1 4	3 2 g*	1 2 2 h**
ossification of sesamoid bone and menisci	1 1 1 1	5	3 4	d** 2 3 1	e* 3 1 1	e** 3 1	3 2
ossification of Achille's tendon	3 1	3 2	5 2	6	4 1	4 1	5

Grade: (—) No lesions, (±) Minimal, (+) Slight, (#) Moderate, (##) Marked.

a: Sognificant difference between 12 months group and 18 months group. *p<0.05, **p<0.01.

c: Significant difference between group I and group II or group III.

d: Significant difference between group II and group III.

e: Significant difference between group II and group IV or group V.

f: Significant difference between group IV and group V.

g: Significant difference between group III and group VI or group VII.

h: Significant difference between group VI and group VII by Mann-Whitney U-test.

Table 8 Histopathological and roentgenological findings for kidney, liver and bone in 24-month-old mice.

Group Grade	I - ± + # #	II - ± + # #	III - ± + # #	IV - ± + # #	V - ± + # #	VI - ± + # #	VII - ± + # #
Histological findings							
Kidney (N)	(6)	(6)	(7)	(8)	(8)	(10)	(7)
swelling of glomerulus	2 4	a*,b* 5 1	c** 4 1 2	c* 6 1 1	5 3	3 6 1	1 6 g*
atrophy of glomerulus	6	4 2	2 2 3	c**d* 3 3 2	2 6	e**f* 3 1 6	2 5
fibrosis of glomerulus	1 2 3	a*,b* 2 4	2 5	2 3 1 2	3 3 2	e* 5 5	3 1 2 1
thickening of basement membrane of glomerulus	5 1	2 2 2	1 1 4 1	c* 2 1 5	e* 2 6	e* 1 6 3	1 3 3
swelling of tubular epithelial cells	4 2	1 1 2 2	1 1 5	4 4	2 5 1	2 7 1	2 4 1
atrophy of tubular epithelial cells	4 1 1	2 1 3	1 6	c* 3 4 1	3 3 2	10	3 4 h*
hyaline droplets in tubular epithelial cells	6	4 1 1	7	6 1 1	8	e* 9 1	6 1
hyaline casts in tubular lumina	4 2	2 2 2	1 4 2	c* 2 1 4 1	2 6	2 1 6 1	5 2
cell infiltration	4 2	3 2 1	1 3 3	1 4 3	8	3 3 3 1	3 4
Liver (N)	(6)	(6)	(7)	(8)	(8)	(10)	(7)
binucleate cells	1	2 3 a*	2 1 2 1	6 1	1 6	6 2	10
anisonucleosis	2 1 3	a* 2 1 2 1	1 6	d* 3 1 3 1	5 1	1 1	3 5
fatty infiltration	1 2 1 2	a**b* 4 2	c* 5 2	c* 3 1 3 1	e* 2 2 3 1	1 7 2	g** 1 3 2 1 g*
cell infiltration	1	4 1	1 1 4	5 2	c*,d** 1 7	3 5	2 4 1 g**h*
enlargement of kupffer cells	2 4	a** 2 3 1	1 4 2	6 2	3 5	4 5 1	2 4 1
Tibia and Articular cartilage	(N)	(6)	(7)	(5)	(7)	(10)	(7)
thinning of trabeculae	2 2 2	1 2 4 c**	1 1 5 c**	2 3	1 6	1 9	2 2 3 h*
decrease of cartilage cells	3 2 1	4 1	1 4 2 c**	3 2 e**	1 4 2 e**	1 4 3 2	1 6
partial cartilage erosion	3 1 1	a* 6	c* 6 1	5	6 1	9 1	6 1
fatty marrow	1 2 1 2	4 1 1	4 2 1	4 1	3 1 3	2 2 4 2	4 1 2
Roentgenological findings							
Tibia and Articular cartilage	(N)	(9)	(10)	(8)	(10)	(10)	(10)
thinning of cortex	3 3	5 4	1 3 6	c**d** 1 2 5	e** 4 4 2	e** 6 2 2	6 4
thinning of trabeculae	3 2 1	2 5 2	c** 1 3 5	c** 1 4 3	2 8	2 4 4	2 4 4
ossification of sesamoid bone and menisci	3 3 3	a** 5 2 2	c* 3 4 3	3 4 1	6 2 2	4 4 2	2 6 2 g**h**
ossification of Achille's tendon	4 2	5 4	7 3	8	e* 8 2	8 2	10

Grade: (—) No lesions, (±) Minimal, (+) Slight, (#) Moderate, (##) Marked.

a: Significant difference between 12 months group and 24 months group. *p<0.05, **p<0.01.

b: Significant difference between 18 months group and 24 months group.

c: Significant difference between group I and group II or group III.

d: Significant difference between group II and group III.

e: Significant difference between group II and group IV or group V.

f: Significant difference between group IV and group V.

g: Significant difference between group III and group VI or group VII.

by Mann-Whitney U-test.

Photo 3. Histopathological findings for kidneys of 24-month-old mice. (Experiment II)

A: A group I subject. Slight fibrosis of the glomerulus (②) is demonstrated. PAS stain (x100)

B: A group VII subject. Slight atrophy of the glomerulus (①), moderate fibrosis of the glomerulus (②), moderate atrophy of tubular epithelial cells (③) and slight interstitial fibrosis with infiltration of small round cells (④) are indicated. PAS stain (x50)

A) 腎組織変化

観察された所見は、糸球体の腫脹、萎縮 (①) (Photo 3 B), 糸球体の線維化 (②) (Photo 3 A, B), 糸球体基底膜の肥厚, 尿細管上皮細胞の腫脹, 萎縮 (③) (Photo 3 B), 尿円柱, 間質への浸潤, 間質線維増生 (④) (Photo 3 B) であった。

① 加齢変化

市販飼料群 (I 群) の 12 M 時 (5 例) と 18 M 時 (4 例), 24 M 時 (6 例) の比較では, 12 M 時に比較し 18 M 時には尿細管上皮細胞の萎縮が有意 ($p < 0.05$) に強く見られた。12 M 時に比較し 24 M 時には糸球体の腫脹, 糸球体の線維化が有意 ($p < 0.05$, $p < 0.05$) に強く見られ, 18 M 時に比較し 24 M 時には糸球体の腫脹, 糸球体の線維化が有意 ($p < 0.05$, $p < 0.05$) に強く見られた。尿円柱は 12 M 時が 18 M 時に比較して有意 ($p < 0.05$) に強く見られた。

② 栄養制限影響

a) 制限 Ca・D 飼料影響

市販飼料群 (I 群) と制限 Ca・D 飼料群 (II 群) との比較

12 M 時の I 群 (5 例), II 群 (5 例) の比較では, 2 実験群の間で所見の変化の程度に有意差は見られなかった。

18 M 時の I 群 (4 例), II 群 (4 例) の比較では, 2 実験群の間で所見の変化の程度に有意差は見られなかった。

24 M 時の I 群 (6 例), II 群 (6 例) の比較では, 糸球体の腫脹は I 群で有意 ($p < 0.01$) に強く見られた。

b) 制限 E 飼料影響

制限 Ca・D 飼料群 (II 群) と制限 Ca・D・E 飼料群 (III 群) の比較

12 M 時の II 群 (5 例), III 群 (6 例) の比較では, 糸球体基底膜の肥厚は III 群で有意 ($p < 0.05$) に強く見られた。

18 M 時の II 群 (4 例), III 群 (4 例) の比較では, 糸球体基底膜の肥厚は III 群で有意 ($p < 0.05$) に強く見られた。

24 M 時の II 群 (6 例), III 群 (7 例) の比較では, 糸球体の萎縮は III 群で有意 ($p < 0.05$) に強く見られた。

③ カドミウム摂取影響

a) Cd 添加・制限 Ca・D 飼料影響

II 群 (0 ppm) と IV 群 (20 ppm) および V 群 (40 ppm) の比較

12 M 時の II 群 (5 例), IV 群 (5 例) および V 群 (5 例) の比較では, 糸球体の腫脹は Cd 添加群の IV 群, V 群は II 群に比較して有意 ($p < 0.05$, $p < 0.05$) に強く見られた。尿細管上皮細胞の萎縮は Cd 添加群に強い傾向があり, 特に V 群は II 群に比較し有意 ($p < 0.05$) に強く見られた。間質への細胞浸潤は II 群が IV 群に比較し有意 ($p < 0.05$) に強く見られた。

18 M 時の II 群 (4 例), IV 群 (5 例) および V 群 (4 例) の比較では, 尿細管上皮細胞の萎縮は Cd 添加群で強い傾向があり, 特に V 群では有意 ($p < 0.05$) であった。糸球体の腫脹は非 Cd 添加の II 群に強い傾向であり, IV 群に比較し有意 ($p < 0.05$) に強く見られた。

24 M 時の II 群 (6 例), IV 群 (8 例) および V 群 (8 例)

の比較では、Ⅳ群はⅡ群に比較し糸球体基底膜の肥厚は有意($p<0.05$)に強く見られ、Ⅴ群ではⅡ群に比較し糸球体の萎縮、糸球体基底膜の肥厚は有意($p<0.05$, $p<0.05$)に強く見られた。糸球体の萎縮はⅤ群ではⅣ群に比較し有意($p<0.05$)に強く見られた。糸球体の線維化、尿管上皮細胞内の硝子滴はⅡ群がⅤ群に比較して有意($p<0.05$, $p<0.05$)に強く見られた。

b) Cd 添加・制限 Ca・D・E 飼料影響

Ⅲ群(0 ppm)とⅥ群(20 ppm)、Ⅶ群(40 ppm)の比較

12 M時のⅢ群(6例)、Ⅵ群(6例)およびⅦ群(5例)の比較では、糸球体基底膜の肥厚はⅦ群に比較しⅢ群、Ⅵ群で有意($p<0.05$, $p<0.05$)に強く見られた。尿管上皮細胞の腫脹もⅦ群に比較しⅢ群、Ⅵ群では強い傾向にあり、特にⅥ群で有意($p<0.05$)に強く見られた。

18 M時のⅢ群(4例)、Ⅵ群(5例)およびⅦ群(5例)の比較では、尿管柱がⅦ群に比較しⅢ群、Ⅵ群では強い傾向にあり、特にⅢ群で有意($p<0.05$)に強く見られた。

24 M時のⅢ群(7例)、Ⅵ群(10例)およびⅦ群(7例)の比較では、尿管上皮細胞の萎縮がⅦ群に比較しⅢ群、Ⅵ群では強い傾向にあり、特にⅥ群で有意($p<0.05$)に強く見られた。

B) 肝組織変化

観察された所見は、2核細胞(Photo 4 A, B)、核の大小不同(Photo 4 A, B)、脂肪滴の貯留、間質への細胞浸潤、クッパー細胞の動員(Photo 4 B)であった。

① 加齢変化

市販飼料群(Ⅰ群)の12 M時(5例)、18 M時(4例)および24 M時群(6例)の比較では、二核細胞、核の大小不同、脂肪滴の貯留、クッパー細胞の動員が12 M時に比較し18 M時、24 M時が強い傾向であり、特に18 M時では12 M時に比較しクッパー細胞の動員が有意($p<0.05$)に強く見られた。24 M時では12 M時に比較し、二核細胞、核の大小不同、脂肪滴の貯留、クッパー細胞の動員が有意($p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.01$)に強く見られた。24 M時が18 M時に比較し脂肪滴の貯留は有意($p<0.05$)に強く見られた。

② 栄養制限影響

a) 制限 Ca・D 飼料影響

市販飼料群(Ⅰ群)と制限 Ca・D 飼料群(Ⅱ群)との比較

12 M時のⅠ群(5例)、Ⅱ群(5例)の比較では、2実験群の間で所見の変化の程度に有意差は見られなかった。

18 M時のⅠ群(4例)、Ⅱ群(4例)の比較では、2実験群の間で所見の変化の程度に有意差は見られなかった。

24 M時のⅠ群(6例)、Ⅱ群(6例)の比較では、脂肪滴の貯留はⅠ群で有意($p<0.05$)に強く見られた。

b) 制限 E 飼料影響

制限 Ca・D 飼料群(Ⅱ群)と制限 Ca・D・E 飼料群(Ⅲ群)の比較

12 M時のⅡ群(5例)、Ⅲ群(6例)の比較では、核の

Photo 4. Histopathological findings for livers of 24-month-old mice. (Experiment II)

A: A group I subject. Slight anisonucleosis of hepatocytes and a slight increase in cell number are indicated.
H.E. stain (x100)

B: A group VII subject. Moderate anisonucleosis of hepatocytes, a moderate increase in binucleate cell number and slight enlargement of Kupffer cells are indicated.
H.E. stain (x100)

大小不同, クッパー細胞の動員がⅢ群で有意 ($p<0.05$, $p<0.05$) に強く見られた。

18 M時のⅡ群 (4例), Ⅲ群 (4例) の比較では, 2 実験群の間で所見の変化の程度に有意差は見られなかった。

24 M時のⅡ群 (6例), Ⅲ群 (7例) の比較では, 核の大小不同は, Ⅲ群で有意 ($p<0.05$) に強く見られ, 間質への細胞浸潤はⅡ群で有意 ($p<0.01$) に強く見られた。

③ カドミウム摂取影響

a) Cd 添加・制限 Ca・D 飼料影響

Ⅱ群 (0 ppm) とⅣ群 (20 ppm), Ⅴ群 (40 ppm) の比較

12 M時のⅡ群 (5例), Ⅳ群 (5例) およびⅤ群 (5例) の比較では, 二核細胞はⅡ群に比較しⅣ群, Ⅴ群では有意 ($p<0.05$, $p<0.01$) に強く見られ, 核の大小不同もⅣ群, Ⅴ群がⅡ群に比較し有意 ($p<0.01$, $p<0.01$) に強く見られた。クッパー細胞の動員は Cd 添加群が強い傾向であり, 特にⅣ群で有意 ($p<0.05$) に顕著であった。Ⅳ群とⅤ群の2 実験群の間で所見の変化の程度に有意差は見られなかった。

18 M時のⅡ群 (4例), Ⅳ群 (5例) およびⅤ群 (4例) の比較では, 3 実験群の間で所見の変化の程度に有意差は見られなかった。

24 M時のⅡ群 (6例), Ⅳ群 (8例) およびⅤ群 (8例) の比較では, 核の大小不同が Cd 添加群に強い傾向であり, 特にⅤ群はⅡ群, Ⅳ群に比較し有意 ($p<0.05$, $p<0.05$) に強く見られた。間質への細胞浸潤は Cd 非添加のⅡ群がⅣ群に比較し有意 ($p<0.05$) に顕著であった。

b) Cd 添加・制限 Ca・D・E 飼料影響

Ⅲ群 (0 ppm) とⅥ群 (20 ppm), Ⅶ群 (40 ppm) の比較

12 M時のⅢ群 (6例), Ⅵ群 (6例) およびⅦ群 (5例) の比較では, 2 核細胞は Cd 添加群で強い傾向があり, 特にⅥ群はⅢ群に比較し有意 ($p<0.05$) に強く見られ, Ⅶ群に比較してもⅥ群で有意 ($p<0.05$) に強く見られた。間質への細胞浸潤は Cd 添加群に強い傾向があり, 特にⅦ群はⅢ群に比較し有意 ($p<0.05$) に強く見られた。クッパー細胞の動員はⅦ群がⅢ群, Ⅵ群に比較し有意 ($p<0.05$, $p<0.01$) に軽度であった。

18 M時のⅢ群 (4例), Ⅵ群 (5例) およびⅦ群 (5例) の比較では, 核の大小不同, クッパー細胞の動員はⅢ群に比較しⅥ群が有意 ($p<0.05$, $p<0.05$) に強く見られ, 核の大小不同, 脂肪滴の貯留, クッパー細胞の動員はⅢ群に比較しⅦ群が有意 ($p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.01$) に

顕著であった。間質への細胞浸潤はⅥに比較しⅦ群で有意 ($p<0.05$) に強く見られた。

24 M時のⅢ群 (7例), Ⅵ群 (10例) およびⅦ群 (7例) の比較では, 間質への細胞浸潤はⅢ群に比較しⅥ群, Ⅶ群で有意 ($p<0.01$, $p<0.05$) に強く見られ, 二核細胞はⅥ群に比較しⅦ群で有意 ($p<0.05$) に強く見られた。クッパー細胞の動員はⅦ群に比較しⅢ群, Ⅵ群で有意 ($p<0.01$, $p<0.05$) に顕著であった。

Photo 5. Roentgenological findings for hind leg bones of 24-month-old mice. (Experiment II)

A: A group I subject.

B: A group I subject. Marked ossification of menisci (③), minimal ossification of Achilles's tendon (④) are presented.

C: A group V subject. Slight thinning of bone cortex (①) is shown.

D: A group VII subject. Moderate atrophy of the hind leg bone, moderate thinning of bone cortex (①), moderate thinning of bone trabeculae (②) and a moderate increase in the size of the sesamoid bone (③) are demonstrated.

C) 骨変化

X線像所見としては、骨皮質の菲薄(①)(Photo 5 C, D)、骨梁の粗網(②)(Photo 5 D)、種子骨の増殖および半月板の化骨(③)(Photo 5 B, D)、アキレス腱への石灰沈着(④)(Photo 5 B)が観察され、組織学的所見としては骨梁の粗網(①)(Photo 6 A, C, D)、関節軟骨細胞数の減数(②)(Photo 6 A, C, D)、関節軟骨層の部分欠損(③)(Photo 6 B)、脂肪髄(④)(Photo 6 A, C)、骨細胞数の減数(Photo 7 D)(Table 9)が観察された。

① 加齢変化

市販飼料群(I群)における12 M時群、18 M時群、24 M時群の比較

X線像所見は、12 M時(5例)、18 M時(4例)および24 M時(6例)の比較では、種子骨の増殖および半月板の化骨が12 M時に比較し18 M時、24 M時で強い傾向であり、特に24 M時では有意($p < 0.01$)に顕著であった。組織学的所見では、12 M時(5例)、18 M時(4例)および24 M時(6例)の比較では、骨梁の粗網は12 M

時に比較し18 M時で有意($p < 0.05$)に強く見られ、関節軟骨層の部分欠損は12 M時に比較し24 M時で有意($p < 0.05$)に強く見られた。大腿骨骨幹の骨皮質部における単位面積当りの骨細胞数は12 M時、18 M時に比較して24 M時でわずかに減数の傾向であった。

② 栄養制限影響

a) 制限Ca・D飼料影響

市販飼料群(I群)と制限Ca・D飼料群(II群)の比較

X線像所見は、12 M時のI群(5例)、II群(7例)の比較では、骨皮質の菲薄、骨梁の粗網はII群において有意($p < 0.01$, $p < 0.05$)に強く見られた。

18 M時のI群(4例)、II群(5例)の比較では、骨皮質の菲薄がII群で有意($p < 0.05$)に強く見られた。

24 M時のI群(6例)、II群(9例)の比較では、骨梁の粗網はII群において有意($p < 0.05$)に強く見られ、種子骨の増殖および半月板の化骨はI群で有意($p < 0.05$)に強く見られた。

組織学的所見では、12 M時のI群(5例)、II群(5例)

Photo 6. Histopathological findings for knee joints in 24-month-old mice. (Experiment II)

- A: A group I subject. Moderate fatty degeneration in the bone marrow (④) and a slight decrease in the number of cartilage cells (②) are demonstrated.
- B: A group I subject. Moderate partial erosion of the cartilage (③) is demonstrated.
- C: A group V subject. Moderate thinning of the trabeculae (①), a slight decrease in the number of cartilage cells (②) and marked fatty degeneration in the bone marrow (④) are demonstrated.
- D: A group VII subject. Marked thinning of bone trabeculae (①) and a slight decrease in the number of cartilage cells (②) are demonstrated. H.E. stain (x20)

Photo 7. Longitudinal section of femoral bone in mice. (Experiment II)

A: Group I, 12-month-old subject.

B: Group VII, 12-month-old subject.

C: Group I, 24-month-old subject.

B: Group VII, 24-month-old subject. A marked decrease in the number of osteocytes is demonstrated. H.E. stain (x50)

Table 9 Number of osteocytes in femoral bones of the mice.

Group	(N)	12M	(N)	18M	(N)	24M
I	(5)	29.0 ± 4.9	(4)	28.8 ± 8.1	(6)	27.6 ± 5.7
II	(5)	28.4 ± 11.4	(4)	28.5 ± 6.7	(6)	25.1 ± 8.4
III	(6)	27.8 ± 6.3	(4)	27.3 ± 7.4	(7)	24.2 ± 6.2
II	(5)	28.4 ± 11.4	(4)	28.5 ± 6.7	(6)	25.1 ± 8.4
IV	(5)	28.0 ± 8.3	(5)	28.2 ± 6.7	(5)	23.5 ± 11.6
V	(5)	25.6 ± 7.3	(4)	25.7 ± 9.6	(7)	22.3 ± 6.8
III	(6)	27.8 ± 6.3	(4)	27.2 ± 7.4	(7)	24.2 ± 6.2
VI	(5)	27.4 ± 7.4	(5)	26.0 ± 13.5	(6)	22.9 ± 8.7
VII	(5)	25.2 ± 12.0	(5)	22.6 ± 5.6	(7)	15.7 ± 4.3*

*: Significantly different from group III; * $p < 0.05$.
by Student's t-test.

の比較では、骨梁の粗網がII群で有意 ($p < 0.05$) に強く見られた。

18 M時のI群 (4例), II群 (4例) の比較では、2実験群の間で所見の変化の程度に有意差は見られなかった。

24 M時のI群 (6例), II群 (6例) の比較では、骨梁の粗網はII群で有意 ($p < 0.01$) に強く見られ、関節軟骨

層の部分欠損はI群で有意 ($p < 0.05$) に強く見られた。大腿骨骨幹の単位面積当りの骨細胞数はII群にやや減数の傾向であった。

b) 制限E影響

制限Ca・D飼料群 (II群) と制限Ca・D・E飼料群 (III群) の比較

X線像所見は、12 M時のII群 (7例), III群 (7例) の比較では、種子骨の増殖および半月板の化骨はIII群で有意 ($p < 0.05$) に強く見られた。

18 M時のII群 (5例), III群 (7例) の比較では、骨皮質の菲薄はIII群で有意 ($p < 0.05$) に強く見られ、種子骨の増殖および半月板の化骨はII群で有意 ($p < 0.05$) に強く見られた。

24 M時のII群 (9例), III群 (10例) の比較では、骨皮質の菲薄はIII群で有意 ($p < 0.01$) に強く見られた。

組織学的所見では、12 M時のII群 (5例), III群 (6例) の比較では、2実験群の間で所見の変化の程度に有意差は見られなかった。

18 M時のII群 (4例), III群 (4例) の比較では、2実験群の間で所見の変化の程度に有意差は見られなかった。

24 M時のII群 (6例), III群 (7例) の比較では、2実

験群の間で所見の変化の程度に有意差は見られなかった。

③) Cd 摂取影響

a) Cd 添加・制限 Ca・D 飼料影響

II 群 (0 ppm) と IV 群 (20 ppm), V 群 (40 ppm) の比較

X線像所見は, 12 M時の II 群 (7 例), IV 群 (6 例) および V 群 (6 例) の比較では, 3 実験群の間で所見の変化の程度に有意差は見られなかった。

18 M時の II 群 (5 例), IV 群 (6 例) および V 群 (5 例) の比較では, 骨皮質の菲薄が Cd 添加群で強い傾向にあり, 特に IV 群では II 群に比較し有意 ($p < 0.05$) に強く見られた。種子骨の増殖および半月板の化骨は IV 群および V 群に比較し II 群で有意 ($p < 0.05$, $p < 0.01$) に強く見られた。

24 M時の II 群 (9 例), IV 群 (8 例) および V 群 (10 例) の比較では, 骨皮質の菲薄が II 群に比較し IV 群および V 群で有意 ($p < 0.01$, $p < 0.01$) に顕著であった。アキレス腱への石灰沈着は IV 群に比較し II 群で有意 ($p < 0.05$) に強く見られた。

組織学的所見では, 12 M時の II 群 (5 例), IV 群 (5 例), V 群 (5 例) の比較では, 3 実験群の間で所見の変化の程度に有意差は見られなかった。大腿骨骨幹単位面積当りの骨細胞数は V 群が II 群, IV 群に比較して減数の傾向であった。

18 M時の II 群 (4 例), IV 群 (5 例) および V 群 (4 例) の比較では, 骨梁の粗網は IV 群に比較し II 群および V 群で有意 ($p < 0.05$, $p < 0.05$) に顕著であった。大腿骨骨幹単位面積当りの骨細胞数は V 群は II 群, IV 群に比較し減数の傾向であった。

24 M時の II 群 (6 例), IV 群 (5 例) および V 群 (7 例) の比較では関節軟骨層の細胞数の減数が II 群に比較し IV 群および V 群で有意 ($p < 0.01$, $p < 0.01$) に顕著であった。単位面積当りの骨細胞数は II 群に比較し, IV 群, V 群で減数の傾向であった。

b) Cd 添加・制限 Ca・D・E 飼料影響

III 群 (0 ppm) と VI 群 (20 ppm), VII 群 (40 ppm) の比較

X線像所見は, 12 M時の III 群 (7 例), VI 群 (8 例) および VII 群 (6 例) の比較では, 骨梁の粗網は VII 群が III 群, VI 群に比較し有意 ($p < 0.05$, $p < 0.05$) に強く見られた。

18 M時の III 群 (7 例), VI 群 (5 例) および VII 群 (5 例) の比較では, 骨梁の粗網は VI 群が III 群および VII 群に比較し有意 ($p < 0.05$, $p < 0.01$) に強く見られた。

24 M時の III 群 (10 例), VI 群 (10 例) および VII 群 (10 例) の比較では, 種子骨の増殖および半月板の化骨は VII 群が III 群, VI 群に比較し有意 ($p < 0.01$, $p < 0.01$) に顕著であった。アキレス腱への石灰沈着は III 群が VII 群に比較し有意 ($p < 0.05$) に強く見られた。

組織学的所見では, 12 M時の III 群 (6 例) と VI 群 (5 例) および VII 群 (5 例) の比較では, 3 実験群の間で所見の変化の程度に有意差は見られなかった。大腿骨骨幹単位面積当りの骨細胞数は VII 群で減数の傾向であった。

18 M時の III 群 (4 例), VI 群 (5 例) および VII 群 (6 例) の比較では, 骨梁の粗網および関節軟骨細胞数の減数は VII 群が III 群に比較し有意 ($p < 0.05$, $p < 0.05$) に顕著であった。大腿骨骨幹単位面積当りの骨細胞数は VII 群が III 群, VI 群に比較して減数傾向であった。

24 M時の III 群 (7 例), VI 群 (10 例) および VII 群 (7 例) の比較では, 骨梁の粗網は VI 群が VII 群に比較し有意 ($p < 0.05$) に強く見られた。大腿骨骨幹単位面積当りの骨細胞数の減数は, VII 群が III 群および VI 群に比較し強く, 特に III 群に比較し有意 ($p < 0.05$) であった。

考 察

1) 加齢変化について

腎では, 村岡¹⁹⁾ は市販飼料 (CA-1・日本クレア K. K.), 尾上²⁰⁾ は市販飼料 (NMF・オリエンタル K. K.), 内田²¹⁾ は市販飼料 (NMF・オリエンタル K. K.) によるラットの 18-24 カ月間長期飼育により, 尿管管腔内の硝子円柱, 尿管上皮細胞内の硝子滴, 尿管の拡張, 尿管上皮細胞の萎縮・脱落, 尿管基底膜の肥厚, 糸球体係蹄の膨化・萎縮・線維化, 糸球体基底膜の肥厚, 糸球体とボウマン囊の癒着, 間質への細胞浸潤, 間質の線維化などが観察されたとしている。

本実験における市販飼料 (CE-2・日本クレア K. K.) 飼育の 12 M時, 18 M時と 24 M時の比較において, 上記の所見はいずれの観察時期においても観察され, 24 M時で特に強い変化所見は糸球体の腫脹・萎縮, 糸球体基底膜の肥厚, 糸球体の線維化, 尿管上皮細胞の腫脹・萎縮などであった。

肝では, 村岡¹⁹⁾ は CA-1 (日本クレア K. K.) による 24 カ月間飼育ラットで脂肪肝, 肝細胞の限局性の増殖, 類洞の拡張, 肝細胞索の萎縮などであるとし, 河合²²⁾ は NMF (オリエンタル K. K.) による 24 カ月間飼育ラットでは肝細胞の脂肪変性, 間質への細胞浸潤, 肝細胞の異型化, 肝細胞の壊死, 肝細胞の硝子変性, 鉄沈着などであるとしている。

本実験では12 M時に比較し18 M時と24 M時では二核細胞、核の大小不同、脂肪滴の貯留、クッパー細胞の動員などが強い傾向であり、特に脂肪滴の貯留は18 M時に比較し24 M時で顕著であった。

骨では、川島²³⁾はマウスのNMF(オリエンタル K. K)飼育による24-27 カ月時の大腿骨、脛骨および膝関節のX線像観察では骨皮質の菲薄、骨萎縮、骨梁の粗網、種子骨の増大、半月板の化骨等を認め、組織学的観察では膝関節部の軟骨細胞の減数、関節面軟骨の部分的欠損等を認めたとし、Mastsushita²⁴⁾もマウスのCE-2(日本クレア K. K)飼育による21-25 カ月時の大腿骨では骨皮質の菲薄、骨梁の粗網等は顕著、しかしオステオイドの増加は観察されず骨の加齢変化は骨軟化症ではなく骨粗鬆症であることを明記している。

本実験では、12 M時に比較し18 M時、24 M時ではX線像観察からは骨皮質の菲薄、種子骨の増殖および半月板の化骨、アキレス腱への石灰沈着、また組織学的観察からは骨梁の粗網、が強い傾向であり、24 M時では関節軟骨層の部分欠損も観察された。

以上より、本実験における諸臓器および骨の加齢による組織変化は、従来の報告と同様であり、早期の加齢変化としては腎では尿細管上皮細胞の萎縮であり、肝ではクッパー細胞の動員であり、骨では骨梁の粗網であった。より長期の加齢変化としては、腎で糸球体の腫脹、糸球体の線維化、糸球体基底膜の肥厚であり、肝で二核細胞、核の大小不同、脂肪滴の貯留であった。骨では骨皮質の菲薄、種子骨の増殖および半月板の化骨、関節軟骨層の部分欠損などであり、骨粗鬆症様の変化であると考ええる。

2) 栄養制限影響について

腎では、川村²⁵⁾、Yoshiki¹²⁾は、ラットのCa欠乏飼料飼育3カ月間では組織学的影響は観察されなかったとし、松田²⁶⁾もラットの低Ca(0.015%)飼料飼育10カ月間では、尿細管上皮の腫脹、間質への細胞浸潤等が軽度観察されたのみとしている。

本実験の市販飼料(Ca 1.17%)群に比較し制限Ca飼料(実験飼料I・Ca 0.18%)群が、18 M時では糸球体基底膜の肥厚が強く、24 M時では尿細管上皮細胞の萎縮等がわずかに強い傾向であったが、逆に尿細管上皮細胞の腫脹、尿円柱、間質への細胞浸潤は市販飼料群に比較し軽度であった。

肝では、広田⁶⁾は家兎の低Ca(0.24%)飼料飼育350日間では、低Caの影響は観察されなかったとし、松田²⁶⁾もラットの低Ca(0.015%)飼料飼育12カ月間では、肝細胞の退行性変化がわずかに観察されたのみとしている。

る。

本実験の18 M時においては制限Ca飼料群と市販飼料群の間に所見の変化の程度に有意差は見られず、24 M時群では、脂肪滴貯留等は市販飼料名群に比較し軽度であり、低Ca(0.18%)の長期摂取による肝組織への影響は極めて軽度であると考ええる。

骨では、大方¹¹⁾はラットの低Ca(0.08%)飼料飼育51日間で、大腿骨の骨皮質の菲薄が顕著であったとし、菊地²⁷⁾はラットの低Ca(0.02%)飼料飼育12カ月間で、大腿骨における骨細胞数の減少、骨皮質の菲薄、内骨膜骨芽細胞の早期老化傾向等が観察されたとしている。しかし前原²⁸⁾はラットの低Ca(0.01%)飼料飼育52週間、滝澤¹⁵⁾はラットの低Ca(0.089%)飼料飼育12カ月間、小林²⁹⁾はラットの低Ca(0.089%)飼料飼育500日間で大腿骨の組織変化はほとんど観察されなかったとしている。

本実験における制限Ca(0.18%)群と市販飼料群では、18 M時に後肢骨の骨梁の粗網が強いことの他には差が見られないことから、制限Ca(0.18%)の長期摂取による骨組織への影響は極めて軽度であると考ええる。

以上より、本実験の低Caレベルでは肝、骨ではほとんどその影響は認められず、腎においてごく軽度の加齢変化をもたらすものと考ええる。

b) 制限Ca・D影響について

腎では、Yoshiki¹²⁾はラットのCa欠乏・D欠乏飼料飼育3週間では組織学的変化は観察されなかったとし、小林²⁹⁾はラットの低Ca(0.089%)・D欠乏飼料飼育500日間では、尿細管の拡張、尿細管上皮細胞の変性等が軽度観察されたとしている。

本実験の制限Ca(0.18%)・制限D(D₃として50 IU)飼料群では、市販飼料群との比較では変化の強い所見は観察されず、24 M時では糸球体の腫脹が市販飼料群に強く見られ、制限Ca・D飼料の腎影響は明かとならなかった。

肝では、Davis³⁰⁾は鶏のD欠乏飼料飼育6週間で脂肪滴の貯留が観察されたとし、小林²⁹⁾はラットの低Ca・D欠乏飼料飼育500日間では鬱血がごく軽度観察されたのみとしている。

本実験による制限Ca・D飼料群と市販飼料群との比較からは制限Ca・D飼料群に強い変化所見は見られず、24 M時に脂肪貯留は市販飼料群に強く見られ、制限Ca・D飼料の肝影響は明かとならなかった。

骨では、Oliver³¹⁾はラットのCa欠乏・D欠乏飼料飼育2カ月間では、Ca欠乏による骨粗鬆症の症状はまず

現れ、続いてCa欠乏、D欠乏の両栄養素の欠乏影響としての骨軟化症が発現したとしている。吉木ら³²⁾はラットのCa欠乏・D欠乏飼料飼育3週間で、骨芽細胞・破骨細胞の減数傾向等の骨粗鬆症変化に加え、オステオイド形成、骨端軟骨の肥大、骨梁の石灰化不良等の骨軟化症様所見が観察されたとしている。小林ら²⁹⁾もラットの低Ca・D欠乏飼料飼育500日間で、大腿骨の骨皮質の肥厚、骨芽細胞・破骨細胞の増加、オステオイド形成等の骨軟化症様変化が観察されたとしている。

本実験の制限Ca・Dレベルでは12M時、18M時、24M時のいずれの観察時期においても市販飼料群に比較し後肢骨の骨皮質の菲薄、骨梁の粗網等の骨粗鬆症様変化がより強く観察された。24M時における関節軟骨の一部欠損は市販飼料群で顕著であった。

以上より、本実験における制限Ca・Dの腎、肝の組織変化の程度は市販飼料群とほぼ同程度であったが、骨組織変化は市販飼料群と類似の変化がより強くなったことは、制限Ca・Dにより骨に軽度の加齢促進影響があったと考える。また、骨に骨軟化症様変化は観察されなかったことは、Dが所要量を満たした範囲内での制限Dレベルであったためと考える。

c) 制限Ca・制限D・制限E影響について

腎では、方³³⁾はラットのE欠乏飼料飼育6カ月間で、尿細管上皮細胞の腫脹、空胞変性が顕著に観察されたとし、Nothら³⁴⁾はラットのE欠乏飼料による14週間飼育では、間質への細胞浸潤が観察されたとしている。

本実験においては制限Ca・D・E (5mg/100g) 飼料群ではいずれの観察時期においても、糸球体基底膜の肥厚が顕著であり、18M時、24M時では尿円柱が強く、24M時では糸球体の腫脹、萎縮、尿細管上皮細胞の萎縮も顕著であった。

肝では、方³³⁾はラットのE欠乏飼料飼育6カ月間で、肝細胞索の配列の乱れ、腫脹、脂肪変性、核濃縮が観察されたとし、堤³⁵⁾はラットのE欠乏飼料18カ月間で、脂肪肝が観察されたとしている。寺尾³⁶⁾はマウスのE投与(0.5mg・隔日背部皮下投与)・通常飼料飼育6カ月間ではE非投与・通常飼料飼育6カ月間に比較し一視野当りの肝細胞数および二核細胞数は少数であったことから、肝細胞の蛋白・糖質・脂質代謝に影響し肝細胞の機能亢進させるとしている。

本実験において、制限Ca・D・E飼料により12M時で核の大小不同、クッパー細胞の動員、24M時では2核細胞、核の大小不同、クッパー細胞の動員等が強い傾向であった。しかしE欠乏時に顕著に観察される脂肪変性

が本実験の制限Ca・D・E飼料群にほとんど観察されなかったことは、本実験のE含量が所要量を満たす制限Eレベルであったために、脂肪代謝への影響が少なかったと考える。

骨では、山下³⁷⁾はラットのE欠乏飼料飼育180日間で、大腿骨、脛骨の長径、重量および硬度が低下したことから、Eには骨の石灰化促進作用があるとし、堀口³⁸⁾はラットのE欠乏飼料による飼育10カ月間で体毛の黄色化、歩行失調を認め、Machlinら³⁹⁾はラットのE欠乏飼料飼育5カ月間で、大腿骨の骨皮質の軽度菲薄、脊椎後側弯症が観察されたとしている。

本実験における制限Ca・D・E飼料群では、後肢骨の骨皮質の菲薄、骨梁の粗網、膝関節軟骨細胞数の減数等の骨粗鬆症様変化が24M時において特に強く観察されたが、E欠乏時に観察されたとしている体毛の黄色化、歩行失調、脊椎後側弯変化は観察されなかった。

以上より制限Eの腎、肝、骨等の組織変化はいずれも加齢変化と類似の変化であった。

3) カドミウムの影響について

a) Cd添加・市販飼料影響

腎では、松田²⁶⁾はラットのNMF(オリエンタル)の20ppm Cd添加飼料飼育10カ月間で尿細管上皮の変性・壊死を、黒田⁴⁰⁾はラットのNMF(オリエンタル)と200ppm Cd添加飲料水での91週間飼育で近位尿細管上皮細胞の腫大、空胞変性および壊死、尿円柱の出現、糸球体の萎縮、間質への細胞浸潤、間質の線維増生等を観察し、岩井ら⁴¹⁾はラットのCE-2(日本クレア)と200ppm Cd添加飲料水での50週間飼育により、近位尿細管上皮の腫大、空胞の増加、尿円柱の出現、糸球体係蹄とボウマン囊の癒着、間質への細胞浸潤等がいずれも軽微ではあるが観察されたとしている。

本実験におけるCd添加・市販飼料により飼育した群は市販飼料群に比較し、18M時で糸球体の腫脹、糸球体基底膜の肥厚が強く観察されたが、24M時には所見の変化の程度に差は見られなかった。

肝では、広田⁶⁾は家兎でCR-1(日本クレア)と200ppm Cd添加飲料水による380日間飼育で、脂肪変性、間質への細胞浸潤等が強度であったとしている。しかし松田²⁶⁾はラットのNMF(オリエンタル)の20ppm Cd添加飼料飼育10カ月間および滝澤¹⁵⁾はラットのCE-2(日本クレア)の200ppm Cd添加飼料飼育12カ月間では肝組織に変化所見は見られなかったとしている。

本実験におけるCd添加群が市販飼料群に比較し強い変化所見は見られなかった。

骨では、滝澤¹⁵⁾はラットのCE-2(日本クレア)の200 ppm Cd添加飼料飼育12カ月間では大腿骨に骨萎縮や骨軟化症等の特別な変化は観察されなかったとしている。

本実験においてもCd添加・市販飼料群の18 M時で市販飼料に比較し、アキレス腱への石灰沈着が強く、24 M時では逆に軽度であった他には、所見の変化の程度に差は見られなかった。

b) Cd添加・制限Ca飼料影響

腎では、川村²⁵⁾はラットのCa欠乏・50 ppm Cd添加飼料飼育3カ月間で、近位尿細管を中心とした尿細管上皮細胞の脱落・崩壊、空胞変性、糸球体の腫大、糸球体とボウマン囊との癒着、尿円柱等がわずかに強度傾向であったとし、松田²⁶⁾はラットの低Ca(0.015%)・20 ppm Cd添加飼料飼育10カ月間では、尿細管上皮の壊死、変性が観察されたとしている。滝澤¹⁷⁾はラットの低Ca(0.082%)・200 ppm Cd添加飼料飼育12カ月間では糸球体係蹄とボウマン囊との癒着が軽度観察されたとし、武藤⁴²⁾はラットの低Ca(0.04%)・200 ppm Cd添加飼料飼育7カ月間で尿細管の萎縮変性が観察されたとしている。

本実験においては、Cd添加・制限Ca飼料群の18 M時では細胞浸潤が強く見られた。24 M時の20 ppm添加群では糸球体基底膜の肥厚、40 ppm添加群では尿細管上皮細胞の腫脹、尿円柱、細胞浸潤が強く見られた。

肝では、松田²⁶⁾はラットの低Ca(0.015%)・20 ppm Cd添加飼料飼育12カ月間で特異的所見は観察されなかったとしている。武藤⁴²⁾はラットの低Ca(0.04%)・200 ppm Cd添加飼料飼育7カ月間で間質の線維化、胆管の増生が観察されたとしている。滝澤¹⁵⁾はラットの低Ca(0.082%)・200 ppm Cd添加飼料飼育12カ月間で、肝細胞の変性、間質への細胞浸潤等の所見が市販飼料飼育群のそれと同程度に観察されたとしている。広田⁹⁾は家兎の低Ca(0.24%)飼料・200 ppm Cd添加飲料水による350日間飼育では脂肪変性、間質への細胞浸潤、ヘモジデリン沈着等が強度傾向であったとしている。

本実験におけるCd添加・制限Ca飼料群では18 M時の40 ppm添加群および24 M時の添加群で間質への細胞浸潤が顕著であった。

骨では、滝澤¹⁵⁾はラットの低Ca(0.082%)・200 ppm Cd添加飼料飼育12カ月間では大腿骨に骨萎縮、骨軟化症等の所見は観察されなかったとし、阿部⁴³⁾もラットの低Ca(0.5%)・230 ppm Cd添加飼料飼育4週間では

大腿骨に変化は認められなかったとしている。しかし大方¹¹⁾はラットの低Ca(0.08%)・200 ppm Cd添加飼料飼育51日間では大腿骨の骨皮質の菲薄等の骨粗鬆症様変化が顕著であったとし、武藤⁴²⁾もラットの低Ca(0.04%)・200 ppm Cd添加飼料飼育7カ月間で大腿骨の骨皮質の菲薄、骨萎縮が観察されたとしている。また阿部⁴³⁾はCa欠乏・200 ppm Cd添加飼料飼育4週間で大腿骨の骨皮質の菲薄、オステオイド形成、脊柱の側弯等の骨軟化症様変化が観察されたとし、小林²⁹⁾も低Ca(0.089%)・100 ppm Cd添加飼料飼育500日間でも大腿骨の骨芽細胞・破骨細胞の著しい増加、局所的なオステオイド形成が観察されたことから骨粗鬆症とは異なる所見であるとしている。

本実験ではCd添加・制限Ca飼料で18 M時で軟骨細胞数の減数、アキレス腱への石灰沈着、24 M時で骨梁の粗網、の骨粗鬆症様所見が強く見られた。

c) Cd添加・制限Ca・D飼料影響

腎では、小林²⁹⁾はラットの低Ca(0.089%)・D欠乏・100 ppm Cd添加飼料飼育500日間では、尿細管の腫脹、尿細管上皮細胞の変性、間質への細胞浸潤等が強度に観察されたとし、滝澤¹⁵⁾はラットの低D(150 IU)・200 ppm Cd添加飼料飼育12カ月間では、尿細管への石灰沈着、間質への細胞浸潤等が観察されたとしている。

本実験におけるCd添加・制限Ca・D飼料群では12 M時で糸球体の腫脹、加えて40 ppm群では尿細管上皮細胞の萎縮、18 M時では40 ppmで尿細管上皮細胞の萎縮、24 M時では糸球体基底膜の肥厚、40 ppm群では加えて糸球体の萎縮、が強く観察された。

肝では、小林²⁹⁾はラットの低Ca・D欠乏・100 ppm Cd添加飼料飼育500日間では、組織学的変化所見は観察されなかったとし、滝澤¹⁵⁾もラットの低D・200 ppm Cd添加飼料飼育12カ月間では間質への細胞浸潤がわずかに高頻度に観察されたのみであったとしている。

本実験においては、Cd添加・制限Ca・D飼料群では12 M時で二核細胞、核の大小不同、クーパー細胞の動員等が強く、24 M時で核の大小不同が特に40 ppm群で強く見られた。

骨では、Yoshikiら¹²⁾はラットの低Ca(0.45%)・低D(6.25 IU)・300 ppm Cd添加飼料飼育12週間で、大腿骨に骨粗鬆症様変化は観察されたが骨軟化症様変化は見られなかったとしている。滝澤¹⁵⁾もラットの低D・200 ppm Cd添加飼料飼育12カ月間で、骨軟化症様の骨変化は観察されなかったとしている。一方、小林²⁹⁾はラットの低Ca(0.089%)・D欠乏・100 ppm Cd添加飼料飼

育500日間で、骨皮質の肥厚、骨芽細胞・破骨細胞の増加、オステオイド形成等の骨軟化症類似所見が顕著に観察されたとしている。

本実験のCd添加・制限Ca・D飼料群では、24M時には骨皮質の菲薄、骨梁の粗網、関節軟骨層細胞の減数等の骨粗鬆症様所見が強く見られた。しかし骨皮質の肥厚、骨芽細胞・破骨細胞の増加、オステオイド形成等の骨軟化症所見は観察されなかった。

d) Cd添加・制限Ca・D・E飼料影響

腎では館野⁴⁴⁻⁴⁶⁾はラットのE強化(1%)・300ppm Cd添加飲料水飼育6カ月間で、腎、甲状腺、副甲状腺等の諸臓器の退行性変化はE非強化・300ppm Cd添加群に比較し軽度であったことから、退行性変化に対してCdとEは拮抗的に働くとしている。

本実験でのCd添加・制限Ca・D・E飼料群の12M時、18M時では、制限Ca・D・E影響として糸球体の腫脹、萎縮、糸球体基底膜の肥厚、尿細管上皮細胞の萎縮、尿円柱、間質への細胞浸潤等が顕著であり、Cd添加影響は見られなかった。24M時でCd添加群の特に40ppm群で糸球体の腫脹が強く見られた。

肝では、本実験においてCd添加・制限Ca・D・E飼料群では12M時で二核細胞、18M時で核の大小不同、脂肪滴の貯留、24M時で間質への細胞浸潤、クッパー細胞の動員が顕著であった。

骨では、本実験においてCd添加・制限Ca・D・E飼料群では、各観察時期において骨梁の粗網が強く、24M時では40ppm群で骨細胞数の減数、種子骨の増大および半月板の化骨等の骨粗鬆症様変化が顕著に観察された。

a) 市販飼料、b) 制限Ca飼料、c) 制限Ca・D飼料、d) 制限Ca・D・E飼料へのCd添加による腎、肝、骨組織に観察された変化所見は、いずれも市販飼料飼育時に観察された加齢変化所見と類似の所見であった。

a) 市販飼料へのCd添加影響はわずかな腎影響が見られた。b) 制限Ca飼料へのCd添加では18M時で腎、肝に影響は殆ど見られず、24M時の40ppm群に腎、肝影響が見られた。骨では18M時、24M時にわずかな影響が見られた。c) 制限Ca・D飼料へのCd添加では、12Mでは腎、骨影響は見られず、肝影響が見られた。18M時では腎、肝影響はほとんど見られず、骨影響がわずかに見られた。肝、骨影響はわずかであった。d) 制限Ca・D・E飼料へのCd添加では、12M時には特に40ppm群で腎、肝、骨、影響が見られた。18M時には肝、骨影響が強く特に40ppm群で顕著であり、腎影響はほとんど

見られなかった。24M時では低Ca・低D・低E影響が顕著のために、Cd影響は腎、肝、骨ともにわずかであった。所見の強さの程度は20ppm群に比較し40ppm群でより強度であった。

Cdの腎、肝、骨影響は各栄養素が十分に含有された市販飼料飼育ではほとんど発現せず、制限Caでは24M時の40ppm群に腎、肝影響が発現し、制限Ca・Dでは12M時に肝影響が、18M時、24M時骨影響が、24M時の40ppm群に腎影響が発現し、制限Ca・D・Eでは制限Ca・D・Eの影響が顕著であったが、Cdの影響として12M、18M、24Mに肝影響が、24M時の40ppm群に腎、骨影響が見られた。

Cdの影響の発現におよぼす栄養制限の修飾はCd添加・制限Ca・D・E飼料では12M時にCdの影響が発現し、18M時では顕著となった。24M時では制限Ca・D・E影響は顕著となり、Cd添加、非添加の差は認められなかった。Cd添加・制限Ca・D飼料では、Cd影響は12M時、18M時において軽度見られ、24M時において顕著となった。Cd添加・制限Ca飼料では18M時にCd影響が僅かに見られ、24M時には増強された。Cd添加・市販飼料では18M時にCd影響は極めて軽度であり、24M時には認められなかった。

従って、Cdの影響を増強する飼料条件は、制限Ca・D・E飼料>制限Ca・D飼料>制限Ca飼料>市販飼料の順であった。

結 語

栄養制限条件がカドミウムの腎、肝、骨影響を如何に修飾するかを実験的に観察した。

すなわち、ICR系マウスを用い、実験IではI群：市販飼料、II群：制限Ca飼料(実験飼料I)、III群：市販飼料+20ppmCd添加飼料、IV群：市販飼料+40ppmCd添加飼料、V群：実験飼料I+20ppmCd添加飼料、VI群：実験飼料I+40ppmCd添加飼料の計6種飼料飼育群として、18および24カ月まで飼育観察した。

実験IIではI群：市販飼料、II群：制限Ca・D飼料(実験飼料II)、III群：制限Ca・D・E飼料(実験飼料III)、IV群：実験飼料II+20ppmCd添加飼料、V群：実験飼料II+40ppmCd添加飼料、VI群：実験飼料III+20ppmCd添加飼料、VII群：実験飼料III+40ppmCd添加飼料の計7種飼料飼育群として、12、18および24カ月まで飼育観察した。

1) 通常市販飼料飼育群において観察し得た加齢変化。

腎で糸球体の線維化, 糸球体基底膜の肥厚, 尿管上皮細胞の萎縮, 肝では二核細胞, 核の大小不同, 脂肪滴の貯留, 間質への細胞浸潤, クッパー細胞の動員, 後肢骨では骨皮質の菲薄, 骨梁の粗網, 半月板の化骨, アキレス腱への石灰沈着, 膝関節では関節軟骨細胞数の減数, 関節軟骨層の一部欠損等の骨粗鬆症様変化であった。

- 2) 栄養制限の影響。a) 制限 Ca 条件では, 後肢骨の骨梁粗網が見られた。b) 制限 Ca・D 条件で, 後肢骨の骨皮質菲薄, 骨梁粗網, 関節軟骨細胞数の減数等の骨粗鬆症様変化が認められた。c) 制限 Ca・D・E 条件では, 腎糸球体萎縮, 糸球体基底膜肥厚, 尿円柱が顕著であり, 肝では二核細胞, 核の大小不同, クッパー細胞の動員が顕著であり, 後肢骨では骨皮質の菲薄, 骨梁の粗網, 関節軟骨細胞数の減数, 関節軟骨層の一部欠損等の骨粗鬆症様変化が認められた。本実験レベルの栄養制限影響では, いずれも加齢変化の促進であると考えられる。
- 3) カドミウム添加の影響。a) Cd 添加・市販飼料群では Cd 無添加飼料群に比較して影響はほとんど見られなかった。b) Cd 添加・制限 Ca 飼料では, 腎尿管上皮細胞の腫脹, 尿円柱, 間質への細胞浸潤, 肝では間質への細胞浸潤, 後肢骨では骨梁の粗網, アキレス腱への石灰沈着が顕著で, 20 ppmCd 群に比較し 40 ppmCd 群により顕著であった。c) Cd 添加・低 Ca・D 飼料では, 腎糸球体の萎縮, 糸球体基底膜の肥厚, 尿管上皮細胞の萎縮, 間質への細胞浸潤, 肝では二核細胞, 核の大小不同, クッパー細胞の動員, 後肢骨では骨皮質の菲薄, 骨梁の粗網が顕著で, 20 ppmCd 群に比較し 40 ppmCd 群により強く観察された。d) Cd 添加・制限 Ca・D・E 飼料では, 腎糸球体の腫脹, 萎縮, 肝では2核細胞, 核の大小不同, 間質への細胞浸潤, 後肢骨では骨皮質の菲薄, 骨梁の粗網, 軟骨細胞の減数, 骨細胞数の減数などの骨粗鬆症様変化が顕著で, 観察された所見の強さの程度は 40 ppm 群により顕著であった。本実験レベルの Cd 添加影響はいずれも加齢変化の促進であると考えられる。
- 4) カドミウム摂取影響に及ぼす本実験におけるカルシウム, ビタミンD, ビタミンE制限条件の修飾影響は, Cd 添加・市販飼料群に観察された加齢変化の促進を増強させ, その影響は制限 Ca・D・E 条件が最も強く, ついで制限 Ca・D 条件, 制限 Ca 条件順であった。

稿を終えるに臨みご懇篤なる組織学のご示唆を賜りま

した元東京都監察医務院 故川村弘徳博士に深甚なる謝意を表します。またご協力頂きました東邦大学医学部薬理学教室長田漢洵博士に感謝いたします。

本研究の一部には昭和56年度文部省科学研究費補助金奨励研究(A)(課題番号56770301)補助を得た。

文 献

- 1) 厚生省: 富山県におけるイタイイタイ病に関する厚生省の見解, (1986)。
- 2) 高瀬武平, 重松逸造, 水本 潔, 赤須文男, 石崎有信, 野村 進, 沢田大成, 久保欣一, 梶川欽一郎, 河野俊一, 早稲田正澄, 小林一到, 平松 博: 富山県に発生するいわゆるイタイイタイ病の本態をめぐって, 日本臨床, **25**, 379-397 (1967)。
- 3) 梶川欽一郎, 北川正信, 中西功夫, 上島半治, 勝田省吾, 黒田邦彦: 「イタイイタイ病」の病理学的研究, 金沢十全医会誌, **83**, 309-347 (1974)。
- 4) 村田 勇: イタイイタイ病の研究, 日本医師会誌, **65**, 15-42 (1971)。
- 5) 菅原千枝子, 菅原直毅: 消化管におけるカドミウムの毒性, 特にカルシウムとリンの吸収障害について, 日衛誌, **28**, 511-516 (1974)。
- 6) 広田昌利: 骨塩代謝に対するカドミウムの影響, 岐阜大学医学部紀要, **19**, 82-115 (1971)。
- 7) Itokawa, Y., Abe, T. and Tanaka, S.: Bone changes in experimental chronic cadmium poisoning, Arch. Environ. Health, **26**, 241-244 (1973)。
- 8) Itokawa, Y., Abe, T., Tabei, R. and Tanaka, S.: Renal and skeletal lesions in experimental cadmium intoxication, Arch. Environ. Health, **28**, 149-154 (1974)。
- 9) 大本美彌子, 今井常彦, 野村良治: カドミウムの長期経口投与実験(4) Cd 投与マウスの尿中アミノ酸増および後肢骨のX線所見, 日衛誌, **33**, 169(1978)。
- 10) 大本美彌子, 今井常彦, 外間安次, 野村良治, 額田 粲: カドミウム長期経口投与実験(5)—Cd 投与マウスの腎組織所見および後肢X線像の監察, 日衛誌, **35**, 215 (1980)。
- 11) 大方一義: 低カルシウムおよびカドミウム添加が, 生体諸組織のカドミウム, 亜鉛, 銅の濃度におよぼす影響について, 日大医誌, **31**, 105-124 (1972)。
- 12) Yoshiki, S., Yanagisawa, T., Kimura, M., Otaki, N., Suzuki, M. and Suda, T.: Bone and kidney lesions in experimental cadmium intoxication,

- Arch. Environ. Health, **30**, 559-562 (1975).
- 13) 今井常彦, 大本美彌子, 大谷 篤: カドミウムの骨影響に関する研究—Cd 添加および Ca, 蛋白質制限食餌投与マウスの後肢骨の監察, 日衛誌, **39**, 445 (1984).
- 14) 今井常彦, 大本美彌子: Cd の骨影響に関する研究—Cd 添加および Ca, 蛋白質制限食餌のマウスの脛骨・大腿骨骨端部におよぼす影響, 日衛誌, **40**, 524 (1985).
- 15) 滝澤行雄: ラットにおけるカドミウム連続経口投与実験 (II), 環境保健レポート, **45**, 54-74 (1979).
- 16) 土屋健三郎: イタイイタイ病およびカドミウム中毒 (4), 総括, 環境保健レポート, **58**, 20-23 (1991).
- 17) Omaye, S.T. and Tappel, A.L.: Effect of cadmium chloride on the rat testicular soluble selenoenzyme, glutathione peroxidase, Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., **12**, 695-711 (1975).
- 18) 大本美彌子, 石見敦子, 佐藤京子, 今井常彦, 野村良治: カドミウムの長期経口投与実験 (1) カドミウムのマウス体内分布, 日衛誌, **32**, 136 (1977).
- 19) 村岡義博, 伊藤真喜子, 前田ユミノ, 林 裕造: SD-JCL ラット諸臓器の加齢による組織学的変化について, 実験動物, **26**, 1-12 (1977).
- 20) 尾上正治, 内田和美, 高橋徳太郎, 草野信男, 務台方彦: 加齢にともなうラットの腎の病理組織学的変化と腎機能検査値の関係, 実験動物, **27**, 405-412 (1978).
- 21) 内田和美, 尾上正治, 高橋徳太郎, 草野信男, 務台方彦: Fischer-344/Yit ラットの加齢にともなう腎病変の組織病理学的所見, 実験動物, **29**, 45-54 (1980).
- 22) 河合清之: ラット長期飼育ワーキンググループ報告, 実験動物, **29**, 181-231 (1980).
- 23) 川島一雄: マウス膝関節の老性変化に関する線学的ならびに組織学的研究, 解剖学雑誌, **37**, 307-317 (1962).
- 24) Matsushita, M., Tsuboyama, T., Kasai, R., Okumura, H., Yamamuro, T., Higuchi, E., Higuchi, K., Kohno, A., Yonezu, T., Utani, A., Umezawa, M. and Takeda, T.: Age-related changes in bone mass in the senescence-accelerated mouse (SAM) SAM-R/3 and SAM-P/6 as new murine models for senile osteoporosis, Am. J. Pathol., **125**, 276-283 (1986).
- 25) 川村寿一, 大上和行, 細川進一, 吉田 修, 西野幸典, 糸川嘉則: 長期カドミウム投与ラットにおけるカルシウム, リン代謝障害の検討, 骨代謝, **10**, 319-325 (52).
- 26) 松田 悟: 慢性カドミウム中毒の実験的研究, 金沢十全医学会誌, **76**, 239-253 (1968).
- 27) 菊地達之: 実験的骨粗鬆症に関する病理形態学的研究, 日整外会誌, **58**, 543-553 (1984).
- 28) 前原 毅: 重金属 (カドミウム) の長期投与がラット骨のカルシウム代謝におよぼす影響に関する実験的研究, 日整外会誌, **42**, 287-300 (1968).
- 29) 小林悦子, 能川浩二, 石崎有信: 慢性 Cd 中毒と V. D 欠乏の関係, 環境保健レポート, **45**, 131-137 (1979).
- 30) Davis, W.L., Jones, R.G., Farmer, G.R., Dickerson, T., Cortinas, E., Cooper, O.J., Crawford, I. and Goodman, D.B.P.: Identification of glyoxylate cycle enzymes in chick liver—the effect of vitamin D3: Cytochemistry and biochemistry, Anat. Rec., **284**, 227-284 (1990).
- 31) Cliver, W.M., Leaver, A.G. and Scott, P.G.: The effect of deficiencies of calcium or calcium and vitamin D on the rate of oral collagen synthesis in the rat, J. periodont. Res., **7**, 29-34 (1972).
- 32) 吉木周作, 柳沢孝彰: ラット骨組織におけるカルシウム, ビタミン D, およびカルシウムとビタミン D 欠乏の影響に関する組織学的ならびに組織化学的研究, 骨代謝, **6**, 17-24 (1973).
- 33) 方壬葵: ビタミン E 欠乏症の消化器, とくに肝および脾の変化について, ビタミン, **22**, 59-67 (1961).
- 34) Nath, K.A. and Salahuden, A.K.: Induction of renal growth and injury in the intact rat kidney by dietary deficiency of antioxidants, J. Clin. Invest., **86**, 1179-1192 (1990).
- 35) 堤 晴朗: 老化現象と vitamin E との相関関係に関する知見補遺 (1), 日医大誌, **38**, 138-153 (1971).
- 36) 寺尾 清, 岡 正利, 副島恒男, 副嶋秀夫, 滝沢延次郎: ビタミン E のマウス肝に対する影響, 老年病, **7**, 587-594 (1963).
- 37) 山下泰正: ビタミン E に関する実験的研究, ビタミン, **15**, 330-334 (1958).
- 38) 堀口親男: 精巣と腓腹筋にみられる実験的ラットビタミン E 欠乏性病変とヒト老年性病変との比較病理学的研究, 日医大誌, **45**, 245-253 (1978).

- 39) Machlin, L.J., Filipski, R., Nelson, J., Horn, L.R. and Brin, M.: Effects of a prolong vitamin E deficiency in the rat, *J. Nutr.*, **109**, 1200-1208 (1977).
- 40) 黒田邦彦: カドミウムのラットの腎及び骨に及ぼす影響, *金沢十全医会誌*, **87**, 481-497 (1978).
- 41) 岩井重寿, 松野康二: カドミウム投与によるラット腎近位尿細管障害の超微形態的研究, *東邦医会誌*, **37**, 757-771 (1991).
- 42) 武藤泰敏, 四童子好広, 鈴木庄亮: ラットにおける慢性カドミウム中毒の発症におよぼす低栄養条件の影響 (1), *栄養と食糧*, **28**, 1-8 (1975).
- 43) 阿部登茂子, 田中清介, 糸川嘉則: 実験的カドミウム中毒に関する研究 (2) 低たんぱく質, カルシウム欠乏ラットのカドミウム中毒に及ぼす影響, *日衛誌*, **27**, 308-315 (1972).
- 44) 館野政也: カドミウム (Cd) 中毒に関する基礎的研究 (1), *ホルモンと臨床*, **19**, 563-568 (1971).
- 45) 館野政也: カドミウム (Cd) 中毒に関する基礎的研究 (2), *ホルモンと臨床*, **19**, 647-650 (1971).
- 46) 館野政也: カドミウム (Cd) 中毒に関する基礎的研究 (3), *ホルモンと臨床*, **19**, 719-721 (1971).
- (受付 1994 年 11 月 21 日 受理 1995 年 4 月 24 日)