原著

ウサギにおける四エチル鉛投与後の分解と排泄 および赤血球 δ -アミノレブリン酸 脱水酵素活性阻害

荒井 二三夫*, 山村 行夫*, 吉田 稔*

DEGRADATION AND EXCRETION AFTER TETRAETHYLLEAD INJECTION AND ERYTHROCYTE δ -AMINOLEVULINIC ACID DEHYDRASE ACTIVITY INHIBITION IN RABBIT

Fumio ARAI†, Yukio YAMAMURA† and Minoru YOSHIDA†

Rabbits were injected tetraethyllead (Et_4Pb) i.v. only once; total lead and triethyllead (Et_3Pb) levels in organs were determined 24 hours, and 30, 60, and 90 days later; and the lead clearance rates in the organs were compared with each other. Total lead and Et_3Pb outputs in the feces and urine of these rabbits were sequentially determined after the injection. Other rabbits were injected Et_3Pb i.v. only once, and Et_3Pb and total lead clearances from organs were determined 24 hours and 20 days after the injection. In order to compare the clearances of Et_4Pb and inorganic lead from organs, rabbits were injected lead acetate i.v. only once; lead acetate levels in various organs were determined 24 hours and 30 days after the injection; and the *in vivo* distribution patterns of this compound were compared with the distribution patterns of lead in the aforementioned animals injected Et_4Pb . Furthermore, lead outputs in the feces and urine of these animals were sequentially determined after the injection, to observe the differences in the output patterns between these animals and the aforementioned rabbits injected Et_4Pb .

1) The rabbits 24 hours after the i.v. injection of 12 mg/kg of Et_4Pb (7.7 mg/kg as lead) gave such a pattern of total lead distribution into various organs that total lead was distributed into the liver>kidney>brain>skeletal muscle>cardiac muscle>spinal cord in the decreasing sequence of level. The total lead levels in the organs showed such a pattern that the level in the liver was 43 times higher, the level in the kidney was 19 times higher, the level in the brain was 4.5 times higher, the level in the skeletal muscle was 4 times higher, the level in the cardiac muscle was 4 times higher, and the level in the spinal cord was 3 times higher than the blood total lead level. The Et_3Pb levels in various organs were of such a pattern that the compound was distributed into the liver>kidney>brain>skeletal muscle>cardiac muscle>spinal cord in the decreasing sequence of level; and the Et_3Pb levels in the organs showed that the level in the liver was 100 times as high, the level in the kidney was 40 times as high, the level in the brain was 10 times as high, the level in the skeletal muscle was 9 times as high, the level in the cardiac muscle was 8 times as high, and the level in the spinal cord was 5.5 times as high as that in the blood. The Et_3Pb /total lead level ratio was 86% in the liver, 77% in the kidney, 85% in the brain, 79% in the skeletal muscle, 78% in the cardiac muscle, and 37% in the blood. The total lead levels in various organs of rabbits 30 days after the i.v. injection of Et_4Pb showed such a pattern that the level in the liver was 1/20; the level in the kidney, 1/50; the level in the brain, 1/40, the level in the skeletal muscle, 1/40; the level in the cardiac muscle, 1/130, and the level in the blood, 1/8, compared with the levels 24 hours after the injection. The Et_3Pb /total lead level ratio 30 days after the injection of Et_4Pb was 96% in the liver, 61% in the kidney, 38% in the brain, and 2% in the

* 聖マリアンナ医科大学公衆衛生学教室
昭和53年4月3日受付

† Department of Public Health, St. Marianna University School of Medicine
Received for publication, April 3, 1978

blood. Sixty days after the injection of Et_4Pb , Et_3Pb was demonstrated in the liver, kidney and blood, but 90 days after the injection, it was demonstrated in minute amounts only in the liver and kidney.

2) In the rabbits 24 hours after the i.v. injection of 6 mg/kg of Et_3Pb , total lead was distributed into the liver>kidney>brain>skeletal muscle>spinal cord>cardiac muscle>blood in the decreasing sequence of level. This group showed such Et_3Pb /total lead ratios as 100% in the brain, spinal cord and skeletal muscle, 80-90% in the liver and kidney, and 28% in the blood. Twenty days after the injection of Et_3Pb , the total lead levels in the organs were decreased in a similar pattern to those in the aforementioned rabbits injected Et_4Pb , with the Et_3Pb /total lead level ratio being 71% in the brain, 89% in the liver and 2% in the blood.

3) The rabbits 24 hours after the i.v. injection of 12.1 mg/kg of lead acetate (7.7 mg/kg as lead) showed such an *in vivo* lead distribution pattern that may be given as the liver>kidney>blood>cardiac muscle>spinal cord>brain>skeletal muscle in the decreasing sequence of level. Thirty days after the injection, the level in the liver was decreased by 10%; that in the kidney, by 70%, and those in the blood and skeletal muscle, by 50%, compared with the levels 24 hours after the injection, while the levels in the brain and spinal cord conversely tended to be increased.

4) The cumulation of lead in the bone was studied by the use of the femur. The rabbits injected Et_4Pb showed no increase in the femoral lead either 24 hours, or 30, 60 or 90 days after the injection, compared with the control animals. The animals 30 days after the injection of lead acetate showed an about 20 times increase in the femoral lead, compared with the controls.

5) The lead outputs in the feces and urine of rabbits injected Et_4Pb during the 4 days after the injection were compared with the counterparts of the animals injected lead acetate. The output in the feces of the former increased, whereas both the output in the feces and that in the urine tended to decrease in the latter.

The 4-day total lead output in the feces amounted to 58% of the injected amount in the rabbits injected Et_4Pb , but only 4% in the animals injected lead acetate.

6) Both the i.v. injection of Et_4Pb and that of Et_3Pb into rabbits caused the red blood cell δ -aminolevulinic acid dehydrase (ALA-D) activity to drop. During the period when the red blood cell ALA-D activity after the injection of Et_4Pb only once restored mostly the level before the injection, the relations of the total lead level and [total lead- Et_3Pb] level to the red blood cell ALA-D activity were observed. In the rabbits injected Et_4Pb , the correlation coefficient for the blood total lead level and the red blood cell ALA-D activity was $r = -0.88$ ($p < 0.001$), and the correlation coefficient for the blood [total lead- Et_3Pb] level and the red blood cell ALA-D activity was $r = -0.92$ ($p < 0.001$): thus, a better correlation was found for the latter than for the former. In other words, this finding suggested that some other lead component than Et_3Pb would be responsible for the decreased red blood cell ALA-D activity due to exposure to Et_4Pb .

It is said that the metabolites of the heme synthesizing system in urine are little increased in Et_4Pb poisoning. In this study, too, no increase was observed in the urinary ALA output. It was considered the reason that the lead compounds derived from the degradation of Et_4Pb are more rapidly excreted and tend to be less accumulated *in vivo* than inorganic lead.

I. はじめに

四エチル鉛中毒の本体は四エチル鉛が体内に取り込まれ代謝されて生じた三エチル鉛によるものと考えられている。ラットに四エチル鉛と三エチル鉛を投与したそれぞれの実験を比べると、興奮状態や振せん、痙攣などの中毒症状の程度や、三エチル鉛の体内分布は両物質の投与により差がみられない。この点から考えると、四エチル鉛中毒は四エチル鉛それ自身の毒性を考えるよりは、四エチル鉛が代謝されて生じた三エチル鉛の作用によるもの¹⁾とする考えが強い。

Bolanowska²⁾ のラットに四エチル鉛を投与した実験によると、注射後24時間では組織中に四エチル鉛は検出されなくなり、ほとんどが三エチル鉛と無機鉛に代謝されるという。また注射後16日の脳には、さきの注射後24時間と同様なレベルの三エチル鉛が検出された。この実験からの推論として四エチル鉛にくり返し暴露されると、三エチル鉛の体内蓄積は徐々に増加する危険があると述べた。

そこでわれわれは、ウサギに四エチル鉛を1回投与し、投与後30日、60日、90日目の脳、脊髄、骨格筋、心筋、腎臓、肝臓、血液中の総鉛と三エチル鉛の体内分

布, 排泄の推移について観察した. また, この実験と並行してウサギに酢酸鉛を投与して無機鉛の体内分布と排泄のパターンについて比較した.

四エチル鉛中毒では, 無機鉛中毒で一般に観察される尿中 δ -アミノレブリン酸(ALA)の増加や尿中コプロポルフィリン(CP)の増加, 尿中ポルフォビリノーゲン(PBG)の増加などのヘム合成系代謝障害はないと考えられている. しかし赤血球 δ -アミノレブリン酸脱水酵素 (ALA-D) 活性だけは, 有意に減少することが報告されている^{3,4}.

Millar ら³は, アルキル鉛に暴露されたヒトの赤血球 ALA-D 活性低下は, 四エチル鉛が代謝されて生じた二エチル鉛イオンによる可能性について示唆した.

またわれわれの観察した四エチル鉛中毒患者の赤血球 ALA-D 活性低下は, 男女事務職員, ガソリンスタンドサービスマンおよび無機鉛のヒューム, 粉じん暴露される鉛鋳造工場作業者とセラミックス工場のリサーチ取扱作業者の血液中総鉛量と赤血球 ALA-D 活性の相関図の回帰直線によく一致していた⁵.

今回は, ウサギに四エチル鉛を投与してその代謝物質の体内分布と排泄を長期間観察し, また血液中総鉛量, 三エチル鉛量と赤血球 ALA-D 活性阻害との関係を検討した.

II. 実 験

1. 動 物

体重 3.0~3.8 kg の雄性または雌性白色ウサギを糞と尿が分離採取できる代謝ケージに入れ, 室温で飼育した.

2. アルキル鉛

四エチル鉛は, 市販のエチル社製アンチノック剤——四エチル鉛——モーターミックス液 (四エチル鉛 61.49 %w/w 含有) を用いた. われわれの実験室で ECD 付ガスクロマトグラフィーを用いて成分を確認したところ, 四エチル鉛の含有量は 62.2 %w/w であった. また三エチル鉛を 0.9 %w/w 検出した. この三エチル鉛は, 四エチル鉛が一部分, 分解し生じたものと思われる.

塩化三エチル鉛は, 神戸大学医学部公衆衛生学教室喜田村教授より提供を受けた. 本実験に用いた塩化三エチル鉛標品を純度検定のために, 原子吸光法で総鉛量を測定し, また ECD ガスクロマトグラフ法で三エチル鉛として測定した. 総鉛量から算出した三エチル鉛量は ECD ガスクロマトグラフ法で得られた三エチル鉛量とよく一致したため, 本標品には無機鉛の混入はないと考えられた.

3. 投与方法

アンチノック剤——四エチル鉛——モーターミックス液は, 綿実油に希釈しその 0.2~0.3 ml をウサギの耳静脈に注射した. 塩化三エチル鉛および酢酸鉛は, 再蒸留水に溶解し, その 2~3 ml をウサギの耳静脈に注射した.

III. 測 定 方 法

組織, 血液, 尿, 糞便中三エチル鉛量および血液中四エチル鉛量は, Hayakawa⁶ のガスクロマトグラフ法によって定量した.

組織中総鉛は, 組織をホモジナイズしたのち混酸 (硝酸 3: 硫酸 1: 過塩素酸 1) で湿式灰化分解を行ない, 灰化液を 2% ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム (DDTC) 溶液 3 ml とメチルイソブチルケトン (MIBK) 10 ml で抽出した後原子吸光光度計で定量した.

血液中総鉛は, 全血を 10% 過塩素酸溶液 40 ml で除タンパクし, 上澄を 2% ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム (APDC) 溶液 2 ml と MIBK 10 ml で抽出した後原子吸光光度計で定量した. 本法による総鉛の測定について, ウサギ血液に一定量の四エチル鉛, 塩化三エチル鉛, 硝酸鉛を添加した場合, おおのの化合物における鉛の回収率と変動係数は, 四エチル鉛が 102.6% と 1.6, 塩化三エチル鉛が 101.2% と 2.0, 硝酸鉛が 99.5% と 2.1 であった (Table 1).

尿中総鉛は, 尿を pH 6 に調整後 5% トリトン X-100 を 1 ml 加え, DDTC-MIBK 抽出後原子吸光光度計で

Table 1. Recovery of alkyllead (as lead) added to blood (rabbit) by atomic absorption spectrophotometry (A.A.S.) using HClO_4 precipitation procedure.

Compound	Added $\mu\text{g Pb}$	Average recovery %	C.V. $n=5$
$(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{Pb}$	6	102.6	1.6
$(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{PbCl}$	10	101.2	2.0
$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	10	99.5	2.1

Table 2. Recovery of Alkyllead (as lead) added to urine (rabbit) by A.A.S. using direct extraction procedure.

Compound	Added $\mu\text{g Pb}$	Average recovery %	C.V. $n=5$
$(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{Pb}$	6	100.3	1.2
$(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{PbCl}$	10	97.6	1.4
$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	10	97.8	1.4

測定した。本法において、ウサギの尿に一定量の四エチル鉛、塩化三エチル鉛、硝酸鉛を添加した場合、おのこの鉛の回収率と変動係数は、血液中総鉛の測定と同様満足する結果を得た (Table 2)。

骨中総鉛は、骨を約 0.8 g とりユニセール (Uniseal Decomposition Vessels Ltd., Israel) に入れ、濃硝酸 5 ml を加え 140°C で90分間加熱および加圧分解し、DDTC-MIBK 抽出後原子吸光光度計で定量した。試料に用いた大腿骨は、筋肉、骨膜、骨髓を除去し、アルコールとエーテルで洗浄後デシケーター中で乾燥させた。

赤血球 ALA-D 活性の測定は、Wada ら⁷⁾の変法⁸⁾を用いた。

さらに上述の方法以外に加温処理 (60°C, 5分間) 法⁹⁾で赤血球 ALA-D 活性を測定した。

IV. 結 果

1. 四エチル鉛投与後の臓器中三エチル鉛量の変化と三エチル鉛の尿、糞への排泄

ウサギにアンチノック剤——四エチル鉛——モーターミックス液を四エチル鉛として 12 mg/kg を投与し、体内臓器中の三エチル鉛と無機鉛の蓄積と排泄について観察した。雌性のウサギを1群3羽とし、注射後24時間 (1日)目、30日目、60日目、90日目に屠殺し、各臓器の三エチル鉛量と総鉛量を測定した。

Fig. 1 は、脳中三エチル鉛量と総鉛量を示す。四エチル鉛投与1日目は、総鉛の 85% が三エチル鉛であっ

Fig. 1. Levels of triethyllead and total lead in brain after injection of tetraethyllead (anti-knock compound—Motor Mix) in a dose of 12 mg/kg (7.7 mg/kg as lead)·body weight.

た。30日目では総鉛量は1日目の約 1/40 に減少し、総鉛の 38% が三エチル鉛であった。さらに60日目では総鉛量は1日目の約 1/80 に減少したが、三エチル鉛は検出されなかった。

Fig. 2 は、血液中三エチル鉛量と総鉛量を示す。1日目は総鉛の 37% が三エチル鉛であった。30日目は1日目の総鉛量の約 1/8 に減少し、三エチル鉛は総鉛の 2% であった。90日目は総鉛量が1日目の約 1/70 に減少し、三エチル鉛は検出されなかった。

Fig. 3 は、脊髄中三エチル鉛量と総鉛量を示す。1日目は、総鉛の 64% が三エチル鉛であった。30日目では総鉛量は1日目の約 1/37 に減少し、三エチル鉛は検出されなかった。

Fig. 4 は、骨格筋中三エチル鉛量と総鉛量を示す。1日目は総鉛の 79% が三エチル鉛であった。30日目では総鉛が1日目の約 1/40 に減少し、三エチル鉛の割合は 86% であった。

Fig. 5 は、心筋中三エチル鉛量と総鉛量を示す。1日目の心筋中三エチル鉛量と総鉛量は、骨格筋とほぼ同様な値を示した。30日目では総鉛量は1日目の約 1/130 に減少し、三エチル鉛は検出されなかった。

Fig. 6 は、腎臓中三エチル鉛量と総鉛量を示す。1日目は総鉛の 77% が三エチル鉛であった。30日目では総鉛は1日目の約 1/50 に減少し、総鉛の 61% が三エチル鉛であった。

Fig. 2. Levels of triethyllead and total lead in blood after injection of tetraethyllead (anti-knock compound—Motor Mix) in a dose of 12 mg/kg (7.7 mg/kg as lead)·body weight.

Fig. 3. Levels of triethyllead and total lead in spinal cord after injection of tetraethyllead (antiknock compound—Motor Mix) in a dose of 12 mg/kg (7.7 mg/kg as lead)·body weight.

Fig. 5. Levels of triethyllead and total lead in heart after injection of tetraethyllead (antiknock compound—Motor Mix) in a dose of 12 mg/kg (7.7 mg/kg as lead)·body weight.

Fig. 4. Levels of triethyllead and total lead in muscle after injection of tetraethyllead (antiknock compound—Motor Mix) in a dose of 12 mg/kg (7.7 mg/kg as lead)·body weight.

Fig. 6. Levels of triethyllead and total lead in kidney after injection of tetraethyllead (antiknock compound—Motor Mix) in a dose of 12 mg/kg (7.7 mg/kg as lead)·body weight.

Fig. 7 は、肝臓中三エチル鉛量と総鉛量を示す。1 日目は総鉛の 86% が三エチル鉛であった。30 日目では総鉛は 1 日目の約 1/20 に減少し、三エチル鉛は総鉛の 96% であった。さらに 90 日目の総鉛量は、1 日目の総鉛の約 1/160 に減少し、総鉛の 32% が三エチル鉛であった。

投与 1 日目における各臓器の三エチル鉛濃度は、肝臓

が最も高く、次に腎臓、脳、骨格筋、心筋、脊髄の順に低くなり、血液が最も低かった。

血液と各臓器中鉛量との関係は、まず三エチル鉛量では投与 1 日目は血液に対して脳 10 倍、脊髄 5.5 倍、肝臓 100 倍、腎臓 40 倍、骨格筋 9 倍、心筋 8 倍であり、投与 30 日目では脳 15 倍、肝臓 680 倍、腎臓 85 倍、骨

格筋 30 倍であった。つぎに総鉛量としてみると、投与 1 日目では血液に対して脳 4.5 倍、脊髄 3 倍、肝臓 43 倍、腎臓 19 倍、骨格筋 4 倍、心臓 3.7 倍であり、投与 30 日目では脳 0.9 倍、肝臓 16 倍、腎臓 3 倍、骨格筋 0.7 倍、心臓 0.2 倍であった。つぎに、脳と血液について投与 1 日目に対する 30 日目の減少率を比較すると、脳では三エチル鉛は 1/90、総鉛は 1/40、血液では三エチル鉛は

Fig. 7. Levels of triethyllead and total lead in liver after injection of tetraethyllead (antiknock compound—Motor Mix) in a dose of 12 mg/kg (7.7 mg/kg as lead)·body weight.

1/130、総鉛は 1/8 に減少することを示した。血中三エチル鉛の減少速度が他の臓器にくらべて早い、このことは後述するごとく投与後数日間の糞、尿中三エチル鉛が高いことからわかるように臓器から移行した三エチル鉛の血中クリアランスは大きいと考えられた。

Table 3 は、四エチル鉛 12 mg/kg 投与後 1 日目、30 日目、60 日目、90 日目の骨中総鉛量を示した。四エチル鉛投与後 30 日目の骨中鉛量はやや増加傾向がみられるが、対照群と比較すると 2 倍には達していなかった。さらに 60 日後、90 日後では骨に鉛が蓄積する傾向を示さなかった。

Fig. 8 は、四エチル鉛 12 mg/kg 投与後の尿中への三エチル鉛と総鉛の排泄の推移を示した。投与後 1 日目

Table 3. Levels of total lead in bone after injection of tetraethyllead (antiknock compound—Motor Mix) in a dose of 12 mg/kg (7.7 mg/kg as lead)·body weight. [mean±standard deviation]

Days after injection	Number	Total lead (µg Pb/g·dry. wt.)
Controls	3	1.59±0.61
1	3	1.71±0.49
30	3	2.61±0.82
60	3	1.93±0.20
90	3	2.48±0.13

Fig. 8. Excretion of triethyllead and total lead in urine after injection of tetraethyllead (antiknock compound—Motor Mix) in a dose of 12 mg/kg (7.7 mg/kg as lead)·body weight.

から総鉛が大量に排泄され、総鉛の4%が三エチル鉛であった。排泄量は日時の経過とともに減少し60日以後は投与前値の変動幅の中に入ってしまった。ただし、この時期でも三エチル鉛は検出されていた。

Fig. 9 は、糞便中三エチル鉛および総鉛の排泄を示した。投与1日目総鉛量についてみると糞便中には尿より約5倍多く排泄され、三エチル鉛についてみると糞便

中には尿より約8倍多く排泄された。

四エチル鉛静脈内1回投与後の臓器中三エチル鉛の残留状態については投与後60日目はTable 4、投与後90日目はTable 5に示した。三エチル鉛は投与後60日目において脳と骨格筋に検出されなくなった。さらに投与後90日目では肝には微量に検出されるが、腎と血液にはほとんど検出されなくなった。すなわち、四エチル鉛

Fig. 9. Excretion of triethyllead and total lead in feces after injection of tetraethyllead (antiknock compound—Motor Mix) in a dose of 12 mg/kg (7.7 mg/kg as lead)·body weight.

Table 4. Tissue levels of triethyllead and total lead 60 days after injection of tetraethyllead (antiknock compound—Mother Mix) in a dose of 12 mg/kg (7.7 mg/kg as lead)·body weight. [mean±standard deviation]

	Number	Triethyllead ($\mu\text{g Pb/g} \cdot \text{wet} \cdot \text{wt.}$)	Total lead	Triethyllead Total lead (%)
Brain	3	N.D.	0.04 ± 0.01	
Spinal cord	3	N.D.	0.08 ± 0.05	
Liver	3	0.04 ± 0.02	0.60 ± 0.35	6.7
Kidney	3	0.05, N.D., 0.02	0.14 ± 0.05	
Muscle	3	N.D.	0.07 ± 0.02	
Heart	3	N.D.	0.05 ± 0.02	
Blood	3	0.005, N.D., 0.004	0.02 ± 0.006	

(N.D. <0.001 $\mu\text{g Pb/g} \cdot \text{wet} \cdot \text{wt.}$)

Table 5. Tissue levels of triethyllead and total lead 90 days after injection of tetraethyllead (antiknock compound—Motor Mix) in a dose of 12 mg/kg (7.7 mg/kg as lead)·body weight. [mean±standard deviation]

	Number	Triethyllead ($\mu\text{g Pb/g}\cdot\text{wet}\cdot\text{wt.}$)	Total lead	Triethyllead Total lead (%)
Brain	3	N.D.	0.08, 0.03, 0.01	
Spinal cord	2	—	0.03, 0.02	
Liver	3	0.06±0.03	0.19±0.09	31.6
Kidney	3	0.009, N.D., N.D.	0.10±0.06	
Muscle	3	N.D.	0.10±0.02	
Heart	3	—	0.03, 0.01, 0.01	
Blood	3	N.D.	0.01±0.006	

(N.D. <0.001 $\mu\text{g Pb/g}\cdot\text{wet}\cdot\text{wt.}$)

Table 6. Tissue levels of triethyllead and total lead 24 hours after injection of tetraethyllead (antiknock compound—Motor Mix) in a dose of 12 mg/kg (7.7 mg/kg as lead)·body weight. [mean±standard deviation]

	Number	Triethyllead ($\mu\text{g Pb/g}\cdot\text{wet}\cdot\text{wt.}$)	Total lead	Triethyllead Total lead (%)
Brain	3	2.67±0.53	3.15±0.74	84.8
Spinal cord	2	1.37, 1.48	2.18, 2.30	63.8
Liver	3	25.62±3.47	29.91±2.45	85.7
Kidney	3	10.40±0.46	13.57±2.54	76.6
Muscle	3	2.24±0.35	2.84±0.33	78.9
Heart	3	2.05±0.33	2.62±0.41	78.2
Blood	3	0.26±0.02	0.70±0.02	37.1

として致死量の約半量を投与したとき血液中三エチル鉛は約か2月後まで検出されるが、体内の三エチル鉛が完全に消失するには投与後3か月以上を要すると思われた。

2. 四エチル鉛と無機鉛の体外排泄速度の比較

四エチル鉛 12 mg/kg 投与群と酢酸鉛 12.1 mg/kg 投与群 (鉛としては両群とも 7.7 mg/kg に相当する) の臓器中鉛量について投与後 24 時間目 (Table 6, 7) と投与後 30 日目 (Table 8, 9) の結果を比較した。Fig. 10 は投与後 24 時間目の比較である。上段は四エチル鉛投与群、下段は酢酸鉛投与群の臓器中鉛量を示した (黒は三エチル鉛量)。四エチル鉛投与群では酢酸鉛投与群と比較して、脳、骨格筋、心筋、脊髄の鉛量が高値を示している。肝臓、腎臓、血液では酢酸鉛投与群のほうが高

Table 7. Tissue levels of total lead 24 hours after injection of lead acetate in a dose of 12.1 mg/kg (7.7 mg/kg as lead)·body weight.

	Total lead ($\mu\text{g Pb/g}\cdot\text{wet}\cdot\text{wt.}$)			
	No. 1	No. 2	No. 3	Mean
Brain	0.13	0.09	0.11	0.11
Spinal cord	0.17	0.11	0.19	0.16
Liver	75.64	67.13	86.13	76.30
Kidney	17.20	12.46	14.16	14.61
Muscle	0.09	0.11	0.11	0.10
Heart	0.25	0.24	0.32	0.27
Blood	1.71	1.58	1.29	1.53

Table 8. Tissue levels of triethyllead and total lead 30 days after injection of tetraethyllead (antiknock compound—Motor Mix) in a dose of 12 mg/kg (7.7 mg/kg as lead)·body weight. [mean±standard deviation]

	Number	Triethyllead ($\mu\text{g Pb/g} \cdot \text{wet} \cdot \text{wt.}$)	Total lead	Triethyllead (%) Total lead
Brain	3	0.03±0.01	0.08±0.03	37.5
Spinal cord	3	N.D.	0.06±0.01	
Liver	3	1.36±0.46	1.42±0.28	95.8
Kidney	3	0.17±0.06	0.28±0.03	60.7
Muscle	3	0.06±0.04	0.07±0.04	85.7
Heart	3	N.D.	0.02±0.006	
Blood	3	0.002, N.D., 0.002	0.09±0.01	

(N.D. <0.001 $\mu\text{g Pb/g} \cdot \text{wet} \cdot \text{wt.}$)

Table 9. Tissue levels of total lead 30 days after injection of lead acetate in a dose of 12.1 mg/kg (7.7 mg/kg as lead)·body weight.

	Total lead ($\mu\text{g Pb/g} \cdot \text{wet} \cdot \text{wt.}$)			
	No. 4	No. 5	No. 6	Mean
Brain	0.63	0.22	0.17	0.34
Spinal cord	0.35	0.15	0.19	0.23
Liver	87.83	96.45	11.05	65.11
Kidney	7.13	3.16	2.82	4.37
Muscle	0.06	0.04	0.05	0.05
Heart	0.10	0.07	0.06	0.08
Blood	1.35	0.39	0.36	0.70

値を示していた。血液では酢酸鉛投与群は四エチル鉛投与群よりも約2倍高値を示した。Fig. 11は投与後30日目の結果を比較したものである。総鉛でみると四エチル鉛投与群では投与後1日目と比較し、脳、脊髄、腎臓、骨格筋では約2%, 肝臓では約5%, 血液では約13%まで低下した。一方酢酸鉛投与群では投与1日目と比較すると肝臓は90%, 腎臓は30%, 血液は50%まで低下したに過ぎず、脳と脊髄は2倍程度に増加する傾向さえみられた。

つぎに、四エチル鉛と無機鉛の骨に蓄積する割合を比較した。Table 3に四エチル鉛投与群の骨鉛量を示す。投与後24時間目、30日目の両群は対照群との間に差がみられなかった。Table 10は酢酸鉛投与群の投与後24時間目と30日目を示す。Fig. 12は四エチル鉛投与群と酢酸鉛投与群を対比させた。以上の結果は四エチル鉛

Fig. 10. Comparison of lead concentration in various tissues of rabbits at 24 hours after intravenous injection of tetraethyllead (12 mg/kg) and lead acetate (12.1 mg/kg). Upper column: tetraethyllead group, Lower column: lead acetate group

Fig. 11. Comparison of lead concentration in various tissues of rabbits at 30 days after intravenous injection of tetraethyllead (12 mg/kg) and lead acetate (12.1 mg/kg). Upper column: tetraethyllead group, Lower column: lead acetate group

投与群では無機鉛投与の場合と異なり骨への鉛蓄積は起きにくいことが示された。

Table 11, 12 は四エチル鉛投与群と酢酸鉛投与群の鉛排泄について比較した。酢酸鉛投与群では注射後に尿量と糞便量が減少したが四エチル鉛投与群では糞便量の

Table 10. Levels of total lead in bone after injection of lead acetate in a dose of 12.1 mg/kg (7.7 mg/kg as lead)·body weight. [mean±standard deviation]

Days after injection	Number	Total lead (μg Pb/g·dry·wt.)
1	3	17.70±3.84
30	3	29.66±15.94

Fig. 12. Retention of lead by the rabbit after intravenous injection of tetraethyllead (12 mg/kg) and lead acetate (12.1 mg/kg). Upper column: tetraethyllead group, Lower column: lead acetate group

Table 11. Excretion of total lead in urine and feces after injection of tetraethyllead (antiknock compound—Motor Mix) in a dose of 12 mg/kg·body weight.

Animal Days after injection	A		B		C	
	Urine (μg Pb/day)	Feces (μg Pb/day)	Urine (μg Pb/day)	Feces (μg Pb/day)	Urine (μg Pb/day)	Feces (μg Pb/day)
1st	483	3,533	507	2,330	407	3,390
2nd	—	2,045	215	4,733	177	5,898
3rd	222	2,972	99	3,784	94	2,204
4th	93	2,862	76	2,226	68	2,460
Total 4 days	798	11,412	897	13,073	746	13,952
Dose as lead (μg Pb)	22,290		23,280		24,580	
Total 4 days/dose (%)	3.6	51.2	3.9	56.2	3.0	56.8
	54.8		60.1		59.8	

Table 12. Excretion of total lead in urine and feces after injection of lead acetate in a dose of 12.1 mg/kg·body weight.

Animal Days after injection	D		E		F	
	Urine (μg Pb/day)	Feces (μg Pb/day)	Urine (μg Pb/day)	Feces (μg Pb/day)	Urine (μg Pb/day)	Feces (μg Pb/day)
1st	277	117	22	25	186	25
2nd	94	106	315	—	150	—
3rd	9	31	—	—	—	—
4th	8	—	59	—	82	1,380
Total 4 days	388	254	396	25	418	1,405
Dose as lead (μg Pb)	34,610		34,610		22,760	
Total 4 days/dose (%)	1.1	0.7	1.1	0.1	1.8	6.2
	1.8		1.2		8.0	

増加が目立っていた。Table 12 は酢酸鉛投与群の尿量と糞便量の減少を考慮して注射後4日間に排泄された鉛量について比較することにした。

四エチル鉛投与群の糞には尿よりも10倍以上の鉛が排泄されており、糞中鉛のうち三エチル鉛は2~6%を占めていた。また尿中鉛の2~4%が三エチル鉛であった。酢酸鉛投与群では鉛の糞中排泄が少なく、四エチル鉛投与群にくらべて尿と糞の鉛量には差が少なかった。

投与30日目の測定値でみると、四エチル鉛投与群では酢酸鉛投与群よりも肝臓、腎臓、脳、脊髄、心臓、血液、骨など、いずれの組織でも鉛量は減少していた。この相違は、四エチル鉛投与群が酢酸鉛投与群より糞や尿へ鉛の排泄が大きいと考えられた。

3. 三エチル鉛投与後の臓器中三エチル鉛量の変化

ウサギに塩化三エチル鉛 6 mg/kg を1回投与し、注射後24時間(1日目)と20日目の体内臓器中三エチル鉛と総鉛を測定した (Table 13, 14)。

投与1日目の三エチル鉛濃度は、肝臓>腎臓>脳>骨格筋>脊髄>心筋>血液の順に高値を示した。各臓器間の濃度順位は、脊髄と心筋が入れ替った他は四エチル鉛投与ウサギと同一のパターンを示していた。20日目では各臓器中三エチル鉛濃度は、1日目にくらべ脳が1/60、脊髄が1/48、骨格筋が1/24、腎臓が1/30、肝臓が1/8、血液は1/135へ減少した。

各臓器における総鉛に対する三エチル鉛の割合は、1日目では脳が115%、骨格筋が109%、脊髄が104%、心筋が97%、腎臓が92%、肝臓が80%、血液が28%であった。しかし20日目では、脳が71%、骨格筋が77%、脊髄が67%、腎臓が88%、血液が2%へそれぞれ減少した。1日目の脳、骨格筋、脊髄で、総鉛に対す

Table 13. Tissue levels of triethyllead and total lead 24 hours after injection of triethyllead chloride in a dose of 6 mg/kg·body weight.

	Triethyl- lead ($\mu\text{g Pb/g}\cdot\text{wet}\cdot\text{wt.}$)	Total lead ($\mu\text{g Pb/g}\cdot\text{wet}\cdot\text{wt.}$)	Triethyllead Total lead (%)
Brain	3.03	2.63	115.2
Spinal cord	1.91	1.83	104.4
Liver	14.27	17.75	80.4
Kidney	10.97	11.88	92.3
Muscle	2.42	2.22	109.0
Heart	1.33	1.37	97.1
Blood	0.27	0.95	28.4

る三エチル鉛の割合が100%を超えている場合があるが、これは総鉛の定量が湿式灰化——原子吸光法を用い、また三エチル鉛にはECD付ガスクロマトグラフ法を用いたためと考えられた。

Fig. 13 に、塩化三エチル鉛投与後の尿中三エチル鉛と総鉛排泄の推移を示した。投与後1日目では、総鉛の9%が三エチル鉛であった。

4. In vitro 実験による三エチル鉛イオンと無機鉛イオンの赤血球 ALA-D 活性阻害作用の比較

ウサギの新鮮血を試料とした。塩化三エチル鉛水溶液と酢酸鉛水溶液をそれぞれ 10^{-7} モル濃度から 10^{-2} モ

Table 14. Tissue levels of triethyllead and total lead 20 days after injection of triethyllead chloride in a dose of 6 mg/kg·body weight.

	Triethyl- lead ($\mu\text{g Pb/g}\cdot\text{wet}\cdot\text{wt.}$)	Total lead ($\mu\text{g Pb/g}\cdot\text{wet}\cdot\text{wt.}$)	Triethyllead Total lead (%)
Brain	0.05	0.07	71.4
Spinal cord	0.04	0.06	66.7
Liver	1.76	1.97	89.3
Kidney	0.37	0.42	88.1
Muscle	0.10	0.13	76.9
Heart	N.D.	0.10	
Blood	0.002	0.11	1.8

(N.D. <0.001 $\mu\text{g Pb/g}\cdot\text{wet}\cdot\text{wt.}$)

Fig. 13. Excretion of triethyllead and total lead in urine after injection of triethyllead chloride in a dose of 6 mg/kg·body weight.

Fig. 14. Relationship between erythrocyte ALA-D activities in rabbits and molar concentrations of both $\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{Cl}$ and $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$.

Fig. 15. Relationship between erythrocyte ALA-D activities and blood lead levels after injection of tetraethyllead (antiknock compound—Motor Mix) in a dose of 18.5 mg/kg·body weight.

Fig. 16. Relationship between erythrocyte ALA-D activities and blood lead levels after injection of tetraethyllead (antiknock compound—Motor Mix) in a dose of 12 mg/kg·body weight.

ル濃度までの数段階になるように調製した試料に基質を加え、60 分間インキュベーションして赤血球 ALA-D 活性値を測定した。Fig. 14 は鉛のモル濃度と赤血球 ALA-D 活性の対照値を 100 としての各モル濃度による阻害度との関係を示した。

酢酸鉛を添加した場合、 2×10^{-6} モル濃度では赤血球 ALA-D 活性は 88% に低下し、 2×10^{-4} モル濃度では 5.7% に低下していた。つぎに三エチル鉛を添加した場合は、 1×10^{-4} モル濃度では 93% に低下し、 2×10^{-3} モル濃度では 25% に低下していた。Fig. 14 から酢酸鉛と三エチル鉛イオンによる赤血球 ALA-D 活性の 50% 阻害点を推定してみると、三エチル鉛イオンの阻害は酢酸鉛イオンの 1/100 以下に相当し、三エチル鉛イオンの赤血球 ALA-D 活性阻害は無機鉛イオンより弱いことが明らかになった。

5. ウサギに四エチル鉛投与後の血液中三エチル鉛、総鉛と赤血球 ALA-D 活性との関係

Fig. 15 は雄性のウサギ 4 羽にアンチノック剤——四エチル鉛——モーターミックス液を四エチル鉛として 18.5 mg/kg を投与した後の血液中三エチル鉛、総鉛と赤血球 ALA-D 活性の関係を観察した。四エチル鉛注射後 29~36 時間に 4 羽のうち 3 羽のウサギが死亡したため、第 1 日目までを除いて、その後のデータは生存した 1 羽についての成績を示した。注射後まもなく、赤血球 ALA-D 活性は減少し、投与前を 100% とすると、1 日目に 1.6% まで低下した。しかし 3 日目から徐々に上昇してゆき、17 日目には投与前の 99% まで回復した。

1 日目の血液中総鉛は、平均 249 $\mu\text{g Pb}/100\text{g}$ であり 51 $\mu\text{g Pb}/100\text{g}$ が三エチル鉛であった。注射後 24 時間目の血液について四エチル鉛を測定したが 4 羽のウサギのいずれにも四エチル鉛は検出されなかった。

Fig. 16 は、アンチノック剤——四エチル鉛——モーターミックス液を四エチル鉛として 12 mg/kg 投与した雄性のウサギ 3 羽の血液中三エチル鉛および総鉛と赤血球 ALA-D 活性の関係を示した。投与前を 100% とすると、1 日目に 3.7% まで低下した。しかし 3 日目から徐々に上昇してゆき、20 日目には投与前の 66% まで回復した。1 日目の血液中総鉛量は、平均 81 $\mu\text{g Pb}/100\text{g}$ であり、19 $\mu\text{g Pb}/100\text{g}$ が三エチル鉛であった。四エチル鉛投与 7 日目までは、血液中総鉛と三エチル鉛の減少速度は速かったが、それ以後は減少が緩慢になった。

3 羽のおののウサギの血液中鉛量と赤血球 ALA-D 活性値について観察すると、血液中総鉛量と赤血球 ALA-D 活性値の相関は相関係数が $r = -0.88$ ($p < 0.001$) であった。また血液中総鉛量から血液中三エチ

ル鉛量を引いた量と赤血球 ALA-D 活性値の相関は、相関係数が $r = -0.92$ ($p < 0.001$) であった。赤血球 ALA-D 活性値は、血液中総鉛よりも血液中総鉛から三エチル鉛を差し引いた残りの部分とより高い相関を示した。

6. 三エチル鉛投与後の血液中三エチル鉛と赤血球 ALA-D 活性との関係

Fig. 17 は、ウサギに塩化三エチル鉛 6 mg/kg を投与した後の血液中三エチル鉛および総鉛と赤血球 ALA-D 活性の関係を観察した。

三エチル鉛の注射後、赤血球 ALA-D 活性は減少し、投与前を 100% とすると 24 時間目には 14% まで低下した。しかし 3 日以後は徐々に上昇してゆき、17 日目には投与前値の 79% まで回復した。1 日目の血液中総鉛は平均 56 $\mu\text{g Pb}/100\text{g}$ であり、三エチル鉛 77% が分解していた。

Fig. 17. Relationship between erythrocyte ALA-D activities and blood lead levels after injection of triethyllead chloride in a dose of 6 mg/kg body weight.

Fig. 18. Relationship between erythrocyte ALA-D activities and blood lead levels of control rabbits.

血液中鉛量と赤血球 ALA-D 活性値について観察すると、血液中総鉛と赤血球 ALA-D 活性の相関は、相関係数が $r = -0.93$ ($p < 0.01$) であった。また血液中総鉛量から血液中三エチル鉛量を引いた量と赤血球 ALA-D 活性値の相関は、相関係数が $r = -0.96$ ($p < 0.01$) であった。

Fig. 18 は、対照ウサギの血液中総鉛と赤血球 ALA-D 活性を示した。本実験では使用したモーターミックス液の中に ALA-D 活性阻害物質の有無を調べるために、アンチノック剤——四エチル鉛——モーターミックス液の同組成品で四エチル鉛の代りにオリーブ油を加えた液を調製し、2羽のウサギに注射したものである。この液の注射後に血液中総鉛の増加および赤血球 ALA-D 活性の低下はいずれも生じなかった。

V. 考 察

四エチル鉛は、自然界では種々の物理的化学的作用によって三エチル鉛を経て二エチル鉛へ、さらに無機鉛に分解してゆくことが知られている^{10,11)}。

これまでの四エチル鉛中毒における症状および代謝を調べた研究の多くはラットを用いた観察である。このことはラットは一般に無機鉛に対する感受性は少ないが、四エチル鉛の致死量を投与されたラットでは突然の音や周囲の動きに対して非常に被刺激性が亢進し、振戦を生じさらに全身痙攣から死亡する。また致死量以下の投与では急性期には闘争的になるが1週間以内に回復しその後はまったく正常に行動する様子などはヒトの四エチル鉛中毒の特徴と近似している。これらの点でラットが四エチル鉛中毒の実験に用いられた¹⁾ものと思う。

Buck and Kumro (1930)¹²⁾ は、ラットに四エチル鉛を投与した場合と三エチル鉛を投与した場合、出現する症状の程度は同一であることから、四エチル鉛はそれ自身が毒性物質ではなく、四エチル鉛が体内で分解されて生じた三エチル鉛が四エチル鉛中毒の原因物質であると考えた。

Mortensen (1942)¹³⁾ は、ラットを用いて四エチル鉛の体内の代謝を観察している。四エチル鉛の吸入暴露の数時間後において、揮発性鉛(四エチル鉛に相当する)は脳、肝臓、腎臓、血液から検出されなかったと述べた。

Cremer (1959)¹⁴⁾ は、ラットに四エチル鉛を静注し、投与 24 時間後に組織中から高濃度の三エチル鉛を検出した。それに続く 4 日間中には組織中三エチル鉛の減少はみられないことから、体内において四エチル鉛から三エチル鉛への分解は早く起こるが、三エチル鉛から二エチル鉛への分解はきわめて緩徐に生ずるのであろうと述

べた。

Bolanowska (1968)²⁰ は、三エチル鉛の体内分布について、四エチル鉛投与 24 時間後のラットの臓器中総鉛の 50% が三エチル鉛であると報告した。彼女は二エチル鉛の測定法として飽和シュウ酸溶液で無機鉛を沈殿させ、上澄の二エチル鉛を分離し測定するという方法を用いた。この方法を用いてラット体内に二エチル鉛は検出されなかった。この結果四エチル鉛の代謝産物はおそらく三エチル鉛と無機鉛のみであると結論した。また Bolanowska²¹ はラットに四エチル鉛を投与すると体内の三エチル鉛は数日間低下せず、くり返し暴露を行なった場合には、三エチル鉛の蓄積は増加する可能性について述べた。

つぎにラット以外の動物を用いた四エチル鉛中毒の研究についてみると、その数は比較的少ないが、Bischoff ら (1928)¹⁵ はウサギに四エチル鉛または三エチル鉛を与えたとき、二つの物質の中毒症状は類似していると報告している。

Machle (1935)¹⁶ は、薬理学的にみると四エチル鉛中毒の生体反応はカエル、ハト、ラット、ウサギ、イヌ、ネコなどの実験動物において類似していると報告した。

Kehoe (1927)¹⁷ は、ウサギにおける四エチル鉛の代謝に関して、四エチル鉛は体内組織中ですみやかに三エチル鉛もしくは無機鉛と思われる水溶性の鉛化合物に分解していると述べた。

Bolanowska ら (1968)¹⁸ は、ウサギに四エチル鉛を静脈内に 1 回投与し 14 日後まで観察している。臓器中三エチル鉛濃度は投与後 4 日目までは著明に減少した。脳での 4 日目の値は 1 日目の 1/4 に低下していた。また 4 日目以後の減少速度は緩徐であり、14 日目では 1 日目の 1/10 に低下していた。この実験はウサギでは四エチル鉛は体内で三エチル鉛と無機鉛へすばやく代謝され、また三エチル鉛が無機鉛に代謝される経路の存在することも示唆した。この点ではウサギとラットでは三エチル鉛の代謝が異なるものと考えている。

今回の実験では、まず 4 羽のウサギに四エチル鉛の致死量 18.5 mg/kg を投与した。3 羽は注射後、歩行困難、呼吸数増加、苦悶状を呈し、下痢、体温下降などがみられ、注射後 29~36 時間に死亡した。これらのウサギの脳の鉛量は三エチル鉛として 3.52~5.76 $\mu\text{g Pb/g} \cdot \text{wet-wt.}$ 、総鉛として 3.84~5.53 $\mu\text{g Pb/g} \cdot \text{wet-wt.}$ であった。生存した 1 羽は注射後 3 日目から不穏状態となり、眼を大きく開き、周囲に対し異常な警戒心を示した。人が近づくと飛び上がり、ケージの蓋を開けると 1 m 以上飛び上がった (Fig. 19)。以前にわれわれが報告し

た四エチル鉛中毒例⁵⁾ では患者は真夜中でも目を光らせ、何物かを凝視し、家族や周囲の人は恐ろしくて患者に近づけなかったと述べていたが、このウサギでも、まさにそのような印象であった。この状態は約 2 日間続いた。しかしその後は静穏になり、間もなく外観的には正常なウサギと区別がつかなくなった。ウサギに毒物を投与すると下半身の麻痺をよく経験するのであるが、このウサギにはそのような運動麻痺症状は観察されなかった。

つぎに、ウサギ 3 羽を 1 群とし、四エチル鉛を体重当り 12 mg/kg (鉛として 7.7 mg/kg) を静脈内に投与して血液と尿、糞の三エチル鉛量と総鉛量、また投与後 24 時間目、30 日目、90 日目に屠殺して臓器中三エチル鉛量と総鉛量を測定した。

四エチル鉛投与後 24 時間目の群では臓器中総鉛量は肝臓、腎臓、脳、骨格筋、心筋、脊髓、血液の順となり、また三エチル鉛/総鉛の比は約 70~80% であり、この結果は Bolanowska¹⁸⁾ のウサギの実験とほぼ一致していた。つぎに、四エチル鉛投与後 30 日目になると 24 時間目と比較し、三エチル鉛は脳では約 1%、骨格筋 3%、肝臓 5% と各臓器とも 24 時間目の量の 10% 以下に低下していた。また鉛として総鉛—三エチル鉛の部分では、脳が約 10%、骨格筋と肝臓は 2% とやはり 10% 以下に低下していた。さらに投与後 60 日目の群では三エチル鉛は肝臓と腎臓で微量に検知されたが、脳や筋肉中にはすでに検出できなくなっている。血液では、三エチル鉛は投与後 30 日目では 24 時間目の群と比較して 1% 以下に減少していた。前述したヒトの四エチル鉛中毒例⁵⁾ では血中三エチル鉛は 196 日後にも検知したが、このウサギの実験では投与後 90 日目の血液にも三エチル鉛は極微量に検出されていた。

つぎに、酢酸鉛の 12.1 mg/kg (鉛として 7.7 mg/kg) を静脈内注射したウサギを投与 24 時間目と 30 日後に屠殺し、臓器中鉛と尿、糞への鉛排泄について前述の四エチル鉛投与群と比較した。酢酸鉛投与後 24 時間目では肝臓および腎臓、血液の鉛量は四エチル鉛投与群よりも高値を示した。一方脳、脊髓、骨格筋、心筋などでは四エチル鉛投与群より低値であった。酢酸鉛投与後 30 日目では肝臓の鉛量は酢酸鉛投与後 24 時間目の値と比較して約 90%、腎臓で約 30%、血液で約 50% に低下した。しかし脳と筋肉では 2 倍程度の増加傾向が観察された。

鉛は“bone seeker”と呼ばれる程骨に蓄積し易い。四エチル鉛投与後 24 日目と 30 日目の群の骨中総鉛量はいずれも増加がみられなかった。しかしこの事実とは対照的に、酢酸鉛投与群の 24 時間目ではコントロール

Fig. 19. A poisoned rabbit, at three days after injection of tetraethyllead (12 mg/kg) this rabbit became very excitably to sudden sound and movement. The front rabbit: poisoned, the rear rabbit: control

群の約 10 倍, 30 日目には約 20 倍の増加が観察された。

四エチル鉛投与群と酢酸鉛投与群の尿および糞中への総鉛排泄量について比較した。四エチル鉛投与群では糞便量が増加したが, 酢酸鉛投与群では糞便量も尿量ともに著しく減少した。鉛量を比較するときウサギによっては排便, 排尿をしない日があったために投与後 4 日間の総排泄量として比較を試みた。四エチル鉛投与群の糞

中鉛量は尿より 10 倍以上多量であった。これに対して酢酸鉛投与群では糞中鉛量と尿中鉛量はほぼ同じ程度であった。投与量に対する糞と尿の日間の総鉛量の割合をみると, 四エチル鉛投与群では 4 日間に鉛としての投与量の約 58% が排泄された (ただし, 非処置ウサギの糞中鉛量を $37 \mu\text{gPb/day}$, 尿中鉛量は $2 \mu\text{gPb/day}$ として計算した)。

一方酢酸鉛投与群では投与量の約 4% が排泄された

にすぎなかった。以上のことから四エチル鉛投与群と酢酸鉛投与群を比較すると酢酸鉛群では糞尿への排泄量が減少したために体内蓄積量が減少しなかったものと考えた。Bolanowska ら (1968)¹⁸⁾ は四エチル鉛の代謝経路はラットとウサギでは異なることを示唆した。しかし今回のウサギの実験と Bolanowska (1968)²⁾ の報告を比較すると——ただし Bolanowska^{2), 18)} の研究では糞中総鉛についての記載がないが——ラットとウサギは代謝経路が異なると思うよりは、ウサギの場合は糞や尿の鉛排泄が大きく、そのため臓器内鉛の減少が早いと考えるのが妥当と思われた。

ウサギの実験成績とヒトの四エチル鉛中毒とを対比してみると、中枢神経症状は脳に三エチル鉛蓄積量の多いことで説明される。次に Harnack (1878)¹⁹⁾ は、四エチル鉛中毒時の脱力感や循環系の変化を横紋筋や心筋に蓄積した鉛の作用であると述べている。

今回の実験では骨格筋や心筋の鉛は、四エチル鉛投与 24 時間の試料で三エチル鉛として多量に検出された。この結果は上記のように古くから指摘された推定と一致し、また急性中毒患者の自覚症状では全身倦怠感が強いことに対応しており、興味深い点と思われる。

四エチル鉛中毒の場合、赤血球 ALA-D 活性低下を除いては無機鉛中毒のようにヘム合成系代謝阻害は起こらず、一般に尿中 δ -アミノレブリン酸 (ALA) や尿中コプロポルフィリンの (CP) 増加は生じにくいという^{4, 20)}。

Millar ら³⁾ は、アルキル鉛に職業的に暴露されている自・他覚症状のない四エチル鉛製造作業員 27 名について調査したところ、これら作業員は対照者とした事務系職員にくらべ赤血球 ALA-D 活性が有意に低下していたと報告した。

Beattie ら⁴⁾ は、加鉛ガソリタンク清掃作業中に四エチル鉛に暴露された 4 名の四エチル鉛中毒患者を調べ、彼らの血液中 ALA-D 活性が著しく減少していることを確認した。

四エチル鉛暴露による赤血球 ALA-D 活性低下の機序について Millar ら³⁾ は、Cremer¹⁴⁾ の研究から、四エチル鉛が体内で三エチル鉛、二エチル鉛、無機鉛へと分解し、赤血球 ALA-D 活性の阻害はこの中間代謝物の二エチル鉛によって起きるものと考えた。

われわれが経験した四エチル鉛中毒の場合、血液中鉛量と赤血球 ALA-D 活性との関係は無機鉛暴露者群の血液中鉛量と赤血球 ALA-D 活性について求めた逆相関の回帰直線に非常によく似ていた。また赤血球 ALA-D 活性に対する酢酸鉛と三エチル鉛の阻害効果を *in vitro* で比較してみると、三エチル鉛の作用は酢酸鉛の 1/100 程

度にすぎなかった。今回はこの関係をウサギの四エチル鉛および三エチル鉛実験でさらに検討してみた。四エチル鉛投与ウサギでは血液 [総鉛量-三エチル鉛量] 対赤血球 ALA-D 活性低下の相関係数は $r = -0.92$ ($p < 0.001$) に対し血液の総鉛量対赤血球 ALA-D 活性は $r = -0.88$ ($p < 0.001$) となり (Fig. 16), また三エチル鉛投与実験でも赤血球 ALA-D 活性の低下は、血液中の三エチル鉛以外の鉛成分の量とよい逆相関関係が得られた。

以上の結果より、四エチル鉛暴露による赤血球 ALA-D 活性の低下は三エチル鉛以外の鉛成分の作用であるということが示唆された。

四エチル鉛中毒の場合、無機鉛中毒との重要な相異点として ALA やコプロポルフィリン、ポルフォビリノーゲンなどヘモグロビン合成系の中間代謝物質が尿中に増加しないということが挙げられている。われわれの経験した中毒事例でも⁵⁾ 症例 1 ではコプロポルフィリンが正常、症例 2 の尿中 ALA 量の暴露 20 日目から 118 日目までの結果はすべて正常値であった。また、今回のウサギの尿中 ALA は最高値でも 1.0 mg/l と増加は認められなかった。この理由を考えるために四エチル鉛と酢酸鉛を等モル投与した両群の実験結果について注目してみた。この両群の違いとして、四エチル鉛投与群では酢酸鉛投与群よりもすべての臓器について総鉛としての蓄積性は低く、尿や糞便へは大量の鉛が排泄された。四エチル鉛中毒の場合、ヘモグロビン合成系阻害を起こすことが少ないと考えられる点について、その理由は鉛の体内蓄積性が低いということで説明できると考えられる。

VI. 結 語

ウサギに四エチル鉛を 1 回静脈内に投与し、24 時間目、30 日目、60 日目、90 日目の各臓器中の総鉛と三エチル鉛の蓄積量および尿中、糞中への排泄量を測定した。また四エチル鉛の体内蓄積と比較する目的で三エチル鉛および酢酸鉛をウサギに 1 回静脈内に投与して各臓器の蓄積量と尿中および糞中鉛排泄量を測定した。

1) 四エチル鉛 12 mg/kg (鉛として 7.7 mg/kg) を静脈注射後 24 時間目の臓器中総鉛量は、肝臓>腎臓>脳>筋肉>心臓>脊髄の順であった。各臓器中総鉛量を血液中総鉛量と比較すると、肝臓は 43 倍、腎臓は 19 倍、脳は 4.5 倍、筋肉は 4 倍、心臓は 4 倍、脊髄は 3 倍の高値を示した。また臓器中三エチル鉛量は、肝臓>腎臓>脳>筋肉>心臓>脊髄の順であった。各臓器中三エチル鉛量を血液中三エチル鉛量と比較すると、肝臓は 100 倍、腎臓は 40 倍、脳は 10 倍、筋肉は 9 倍、心臓

は8倍、脊髄は5.5倍の高値を示した。各臓器中の総鉛量に対する三エチル鉛量の比は肝臓 86%, 腎臓 77%, 脳 85%, 筋肉 79%, 心臓 78% そして血液は 37% であった。つぎに四エチル鉛の投与後 30 日目のウサギの各臓器中総鉛量は, 24 時間目の量にくらべて肝臓では 1/20, 腎臓は 1/50, 脳は 1/40, 筋肉は 1/40, 心臓は 1/130, 血液は 1/8 に減少した。30 日目では総鉛量に対する三エチル鉛量は肝臓 96%, 腎臓 61%, 脳 38%, 血液 2% であった。三エチル鉛は四エチル鉛投与後 60 日目では肝臓, 腎臓, 血液に検知され, 90 日目には肝臓と腎臓に極微量に検知された。

2) ウサギに三エチル鉛 6 mg/kg を静脈注射し 24 時間目と 20 日目の各臓器中鉛量を測定した。投与後 24 時間目の総鉛量の体内分布は肝臓>腎臓>脳>筋肉>脊髄>心臓>血液の順であった。総鉛量に対する三エチル鉛量の割合は脳, 脊髄, 筋肉は 100%, 肝臓と腎臓は 80~90%, 血液は 28% であった。三エチル鉛投与後 20 日目では臓器中総鉛量は前の四エチル鉛の例と同様のパターンで減少し, 総鉛量に対する三エチル鉛量の比は脳 71%, 肝臓 89%, 血液では 2% であった。

3) 四エチル鉛 12 mg/kg (鉛として 7.7 mg/kg) 投与の実験と比較のために酢酸鉛 12.1 mg/kg (鉛として 7.7 mg/kg) 投与実験を行なった。酢酸鉛静脈注射 24 時間後の鉛の体内分布は肝臓>腎臓>血液>心臓>脊髄>脳>筋肉の順であった。注射後 30 日目では, 24 時間目とくらべて肝臓では 10%, 腎臓で 70%, 血液と筋肉で 50% 減少したが脳と脊髄では逆に増加の傾向がみられた。大腿骨を用いて骨の鉛蓄積について観察した。骨の総鉛量は四エチル鉛注射群では投与後 24 時間目, 30 日目, 60 日目, 90 日目のいずれも増加していなかった。しかし酢酸鉛注射群では 30 日後には約 20 倍に増加していた。

4) 四エチル鉛注射群と酢酸鉛注射群の投与後 4 日間の尿中, 糞中鉛排泄量を比較した。四エチル鉛注射群では糞便量が増加したが一方酢酸鉛注射群では糞便量, 尿量ともに減少した。4 日間の糞尿中の総排泄量では, 四エチル鉛群では投与量の 58% の鉛が排泄され, 酢酸鉛群では僅か 4% 排泄されたのにすぎなかった。

5) ウサギに四エチル鉛および三エチル鉛を静脈注射すると赤血球 ALA-D 活性は低下した。四エチル鉛 1 回注射後赤血球 ALA-D 活性が約 100% に回復するまでの期間, 血液中の総鉛量および [総鉛-三エチル鉛] 量と赤血球 ALA-D 活性との関係を追跡した。四エチル鉛投与の実験では, 血液中総鉛量対赤血球 ALA-D 活性の相関係数は $r = -0.88$ ($p < 0.001$), 血液中の [総鉛-三エ

チル鉛] 量対赤血球 ALA-D 活性との相関係数は $r = -0.92$ ($p < 0.001$) であった。すなわち, 四エチル鉛暴露による赤血球 ALA-D 活性低下は三エチル鉛以外の鉛成分によって生ずることが示唆された。

四エチル鉛中毒では, 無機鉛中毒のような尿中にヘモグロビン中間代謝物質の増加はないといわれている。今回の実験でも尿中 ALA の増加は認められなかった。両鉛化合物中毒にみられる相違点を説明するものとして, 四エチル鉛は体内で無機鉛まで分解されるのではなく, 二エチル鉛まで分解された時点で排泄され, したがって体内の蓄積性は比較的少ないのであろうと考えられた。

稿を終えるにあたり, 試料の提供を賜りました神戸大学医学部公衆衛生学教室 喜田村正次教授, 日本石油精製株式会社横浜製油所品質管理課長富永素雄氏に深謝致します。

本稿の内容の一部は第 50 回日本産業衛生学会・第 22 回日本産業医協議会, 久留米, 1977 年に発表した。

文 献

- 1) Cremer, J.E.: Toxicology and biochemistry of alkyl lead compounds, *Occup. Health Rev.*, 17: 14-19, 1965.
- 2) Bolanowska, W.: Distribution and excretion of triethyllead in rats, *Br. J. Ind. Med.*, 25: 203-208, 1968.
- 3) Millar, J.A., Thompson, G.G., Goldberg, A., Barry, P.S.I. and Low, E.H.: δ -Aminolevulinic acid dehydrase activity in the blood of men working with lead alkyls, *Br. J. Ind. Med.*, 29: 317-320, 1972.
- 4) Beattie, A.D., Moore, M.R. and Goldberg, A.: Tetraethyllead poisoning, *Lancet*, 2: 12-15, 1972.
- 5) 山村行夫, 高倉 淳, 平山二三夫, 山内 博, 吉田 稔: 航空機用燃料タンク清掃作業において発生した四エチル鉛中毒, *産業医学*, 17: 223-235, 1975.
- 6) Hayakawa, K.: Microdetermination and dynamic aspects of *in vivo* alkyl lead compounds, Part 1. Analytical methods, *Jap. J. Hyg.*, 26: 377-385, 1971.
- 7) Wada, O., Yano, Y., Kurashina, S., Ono, T., Aoki, Y. and Toyokawa, K.: Simple method for the determination of the δ -aminolevulinic acid (ALA) dehydrase activity in erythrocytes and the ALA concentration in urine to evaluate lead absorption, *Asian Med. J.*, 13: 581-590, 1970.
- 8) 平山二三夫, 吉田 稔, 山内 博, 山村行夫: 鉛および水銀蒸気暴露者の赤血球 δ -aminolevulinic acid dehydrase 活性について, *聖マリアンナ医科大学雑誌*, 2: 333-341, 1974.
- 9) 千葉百子, 菊地正一: 溶血加温前後の δ -アミノレブリン酸脱水酵素測定による鉛暴露, 非暴露の判別方法の検討, *産業医学*, 15: 656-657, 1973.
- 10) Calingaert, G., Shapiro, H., Dykstra, F.J. and Hess, L.: The decomposition of alkyllead compounds, *J. Am. Chem. Soc.*, 70: 3902-3906, 1948.
- 11) Henderson, S.R. and Snyder, L.J.: Rapid spec-

- trophotometric determination of triethyllead, diethyllead, and inorganic lead ions, and application to the determination of tetraorganolead compounds, *Anal. Chem.*, 33: 1172—1175, 1961.
- 12) Buck, J.S. and Kumro, D.M.: Toxicity of lead compounds, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 38: 161—172, 1930.
  - 13) Mortensen, R.A.: The absorption of lead tetraethyl with radioactive lead as indicator, *J. Ind. Hyg.*, 24: 285—288, 1942.
  - 14) Cremer, J.E.: Biochemical studies on the toxicity of tetraethyl lead and other organo-lead compounds, *Br. J. Ind. Med.*, 16: 191—199, 1959.
  - 15) Bischoff, F., Maxwell, L.C., Evans, R.D. and Nuzum, F.R.: Studies on the toxicity of various lead compounds given intravenously, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 34: 85—105, 1928.
  - 16) Machle, W.F.: Tetraethyl-lead intoxication and poisoning by related compounds of lead, *J. Am. Med. Assoc.*, 105: 578—585, 1935.
  - 17) Kehoe, R.A.: On the toxicity of tetraethyllead and inorganic lead salts, *J. Lab. Clin. Med.*, 12: 554—560, 1927.
  - 18) Bolanowska, W. and Garczyński, H.: Metabolism of tetraethyllead in rabbits, *Med. Pracy*, 19: 235—243, 1968.
  - 19) Harnack, Erich.: Über die Wirkung des Bleis auf den thierischen Organismus, *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.*, 9: 152, 1878.
  - 20) Gutniak, O., Koziółowa, H. and Kowalski, E.: Free protoporphyrin content of erythrocytes in chronic tetraethyl lead poisoning, *Lancet*, 1: 1137—1138, 1964.

著者への通信先: 荒井二三夫, 〒213 川崎市高津区菅生 2095 聖マリアンナ医科大学公衆衛生学教室
Reprint requests to Department of Public Health, St. Marianna University School of Medicine, 2095 Sugao, Takatsu-ku, Kawasaki, 213 Japan (F. Arai)