原著

クロム化合物の呼吸器への影響

第1報 クロムメッキの吸入暴露実験

安達修一*, 吉村博之*, 宮山玲子*
片山博雄*, 竹本和夫*, 川井英雄**

EFFECTS OF CHROMIUM COMPOUNDS TO THE
RESPIRATORY SYSTEMPart 1. An Experimental Study of Inhalation of Chromic Acid Mist
in Electroplating

Shuichi ADACHI†, Hiroyuki YOSHIMURA†, Reiko MIYAYAMA†,
Hiroo KATAYAMA†, Kazuo TAKEMOTO† and Hideo KAWAI††

Chromium concentrations in the lungs, liver and kidneys of rats (Sprague-Dawley, female) after single inhalation or long-term inhalation of chromic acid mist in electroplating were examined by flameless atomic absorption spectrometry.

I) Long-term inhalation: Rats inhaled the mist twice a week for 6 months (30 min for single inhalation, average chromium concentration in the inhalation chamber was 3.18 mgCr/m), and remained uninhaled for the following 6 months. Chromium content in the lungs of rats inhaled for 3 months was 30.533 μ g, 35.000 μ g in those for 6 months, but 15.600 μ g in those inhaled for the first 6 months and remained uninhaled for the following 6 months. These values were extremely higher than that of the control (0.201 μ g). Chromium hexavalent chromic acid, in the mist, is supposed to be reduced to trivalent state and produce an insoluble compound. Chromium in the lungs of rats remained uninhaled for 6 months may take the form of such an insoluble compound. Chromium concentration in the liver and kidneys of rats after long-term inhalation was much higher than those of the control and so was that of the following 6-month uninhalation.

II) Single inhalation: Chromium contents in the lungs of rats after single inhalation decreased as time passed and the curve of decrease showed an exponential form. Biological half time of the chromium content in the lungs was 120 hours. Chromium concentrations in the liver and kidneys of rats immediately after the single inhalation were already higher than those of the control. A part of the inhaled chromium mist is supposed to be transferred into the blood stream through the lungs.

Concerning the long-term inhalation of chromic acid mist in the electroplating, chromium in the lungs, liver and kidneys was retained for a long time in spite of remaining uninhaled for 6 months. In the single inhalation, chromium contents in the lungs were almost decreased to that of the control within 4 weeks. According to these results, it suggests that there was certain histological or chemical changes in the lungs or chromium itself in the mist.

* 埼玉医科大学公衆衛生学教室

** 東京医科歯科大学公衆衛生学教室
昭和55年11月6日受付

† Department of Public Health, Saitama Medical School

†† Department of Public Health, Tokyo Medical and Dental University

Received for publication, November 6, 1980

I. はじめに

クロムは職業性肺がんや大気汚染との関連からきわめて重要視されており¹⁻³⁾, とくに高濃度の暴露がクロム酸塩製造工やクロムメッキ工にみられ, その肺などの臓器内クロム量については多くの報告が知られている⁴⁻⁸⁾. また, 種々のクロム化合物を用いた暴露あるいは肺内注入等の動物実験もいくつか知られており⁹⁻¹⁵⁾, 肺をはじめ諸臓器内クロム量もそれぞれ示されている. しかし, クロムメッキ工程で発生するミストに長期間暴露を受けた場合には, 肺内クロム量が暴露を受けない一般人で $0.26 \mu\text{g/g wet wt.}$ ¹⁶⁾ あるいは $0.39 \mu\text{g/g wet wt.}$ ¹⁷⁾ なのに対して $32.12 \sim 731.00 \mu\text{g/g dry wt.}$ ⁵⁾ と数十倍から数百倍まで増加することが知られているが, いままでに暴露実験例はない. さらに, クロムによる肺での発がんには高濃度かつ長期間の暴露が必要と考えられるが, クロムを含むミスト吸入後の肺における貯留や排出についてはほとんど知られていない. そこで, クロムメッキ槽から発生するミストをラットに長期間暴露した場合のクロムの肺, 肝臓, 腎臓における貯留と, さらに暴露を中止して一定期間後にはどの程度のクロムの減少がみられるかを検討した. 加えて, 1回暴露後の肺, 肝臓, 腎臓におけるクロム濃度の経時的な変化についても検討した.

II. 実験方法

1. 実験動物

被検動物はすべて Sprague-Dawley 系雌性ラットを(株)日本クレアより購入し使用した. 実験群は長期暴露群10匹, 1回暴露群21匹および対照群3匹の3群とし, 長期暴露群では4週齢を, 1回暴露群と対照群では7週齢を購入し, それぞれ1週間の予備飼育後に実験に供した. 飼育は, (株)日本クレア製固型飼料 CE-2 と水道をもとに自由摂取とし, 飼育室内は気温 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 湿度 $50 \pm 10\%$ に保った.

2. 暴露装置

使用した暴露装置は, 小型クロムメッキ槽から電解時のガス発生により生じるミストを暴露箱内に導き, 暴露を行なうもので概略を Fig. 1 に示した. メッキ液の組成等は Table 1 に示した.

3. 暴露条件および暴露期間

長期暴露, 1回暴露ともに, 10 A 通電で30分間を1回とし, ラットには専用の暴露筒 (Fig. 2) を使用し可能なかぎり呼吸器以外への暴露を避けた. また, この条件下での暴露箱内平均クロム濃度およびミスト粒径を

Table 2 に示した. クロムメッキ工程で発生するミスト濃度や粒径に関する測定法は, 相原ら¹⁸⁾によって示されており, この方法を参考とし測定を行なった. 暴露箱内クロム濃度は, 暴露箱から蒸留水を入れた洗気びん中にクロム酸ミストを導き, その蒸留水中のクロム濃度から算出した. また, ミスト粒径は, 前記のメッキ条件下でミストを発生させ暴露箱に導いたのち吸引を中止して, 暴露箱内に静置したスライドガラス上に落下. 付着したミストを顕微鏡下で対物マイクロメーターを用い測定した.

長期暴露群は週2回の暴露を約6か月間 (計 50 回) 行ない, 以後6か月間は暴露を中止して飼育を続けた. クロムの測定は, 肺, 肝臓, 腎臓について, 暴露開始後3か月, 6か月および12か月に行なった.

1回暴露群は, 暴露直後, 12時間, 24時間, 72時間, 1週間, 2週間および4週間後に, 肺, 肝臓および腎臓について測定した.

4. クロムの測定

各試料は解剖後, 生理食塩水で血液等を洗い落とした後, 密封容器に入れ分析時まで凍結保存した. 前処理は, 乾重量約 0.1g をめやすに試料をるつぽにとり, 110°C で12時間乾燥後精秤し, $30\% \text{HNO}_3$ 10ml を加えホットプレート上で乾固後, 550°C で48時間乾式灰化を行ない, $10\% \text{HNO}_3$ で加温等の処理後, 定容とした. 分析は, フレームレス原子吸光法 (Varian-Techtron 社製 AA-1150 に同社製 CRA-63 を付設した) により, 標準添加法にもとづいて測定した. それら条件等を Table 3 に示した. なお, 水は再蒸留水を, 試薬類は精密分析用を使用した. また, ガラス器具, るつぽ等は洗剤で洗浄後, 希硝酸に一夜浸漬後乾燥し使用した.

III. 結果と考察

長期暴露および対照ラット, 1回暴露の肺, 肝臓および腎臓の各クロム濃度を Table 4 と Table 5 にそれぞれ示した.

1. 肺

長期暴露の3か月例, 6か月例および12か月例は対照の $0.201 \mu\text{g}$ にくらべ, $15,600 \sim 35,000 \mu\text{g}$ と約 $80 \sim 170$ 倍の含有量を示しているが, 6か月暴露後でも3か月例の場合との含有量の差は小さい. 一般に, 重金属等を長期間にわたって経口投与した場合の体内蓄積は, その化合物の生物学的半減期により異なるがはじめは急激に蓄積し, その後は次第に増加はゆるやかになり, ついには平衡に達してしまうことが知られている¹⁹⁾. 長期暴露の3か月例と6か月例の肺内クロム量の差が小さい原因として, このような長期経口投与の際の体内蓄積と同

Fig. 1. The chromium electroplating and inhalation system. 1 : thermostat, 2 : electrodes, 3 : bath, 4 : plastic cover, 5 : trident cock, 6 : fan, 7 : glass fiber filter, 8 : flow meter, 9 : compressor, 10 : relay, 11 : crystal heater 500 W, 12 : current controller

Fig. 2. Inhalation tube for rats.

1 : glass tube, 2 : caoutchouc stopper, 3 : holder, 4 : hole fitted to nose of rat

Table 1. Components of chromium electroplating bath and electrodes.

Bath character		
Component	CrO ₃	200 g/l
	H ₂ SO ₄	1.3 g/l
Volume		8.0 l
Temperature		50°C
Electrodes		
Anode	95% Pb 5% Sn	12×18 cm
Cathode	pure Cu	"

Table 2. Mist size and chromium concentration in inhalation chamber* (mean±S.D.).

Mist size; 10 μm -	: 2.7±2.0%
5-10 μm	: 12.8±4.3%
- 5 μm	: 84.5±5.2%
Cr concentration	: 3.63±0.57 mgCr/m ³
* Electrolytic condition	: 10 A, 30 min

様な傾向が、クロム酸ミスト暴露の肺内クロム量についてもあてはまり、暴露開始から3か月ですでにクロムの貯留がゆるやかな増加になっているとも考えられた。

Table 3. Working program of atomic absorption spectrometry and the use of CRA-63 flameless atomizer.

Cr lamp current	4.0 mA
Wave length	357.8 nm
Slit width	0.2 nm
N ₂ gas flow	8.0 l/min
Sample volume	5 μl
Voltage setting	
dry	0.6 V-40 sec
ash	2.0 V-20 sec
atomize (ramp mode, cut off volt)	7.5 V

また、6か月間の暴露後に暴露をやめ、6か月間放置飼育してもなお、肺には15,600 μgのクロムが貯留しており、その存在形態などに興味もたれる。メッキ槽から発生するミスト中のクロムは6価のクロム酸イオンとして存在しているが、肺内に吸入されたミストに含まれるクロムの一部は還元され3価となり難溶性化合物を生成する可能性がある。その結果、長く肺内に貯留し、12か月例の値はそのような形態として存在するクロムを示しているとも考えられた。

一方、1回暴露後の肺内クロム量は、暴露後72時間まで比較的速やかに減少するが、その後はゆるやかになっている。1回暴露の結果をもとにして生物学的半減期をもとめると約120時間となった (Fig. 3)。クロム化合物吸入後の肺から血中への移行に関する報告はきわめて少ないが、6価の水溶性化合物は3価のものにくらべ容易に吸収され则认为られている¹⁾。また、Langårdら¹⁵⁾の行なったクロム酸亜鉛粉じんの暴露実験では、吸

Table 4. Chromium concentrations in organs of rats after long-term inhalation of chromic acid mist in the electroplating ($\mu\text{g/g}$ dry wt.).

	3 months (26 times)	6 months (50 times)	12 months	Control
Lung	123.310	75.127	26.670	0.367
content (μg)	30.533	35.000	15.600	0.201
Liver	2.321	2.247	1.960	0.474
Kidney	10.354 ($n=3$)	11.678 ($n=3$)	5.199 ($n=4$)	0.318 ($n=3$)

Table 5. Chromium concentrations in organs of rats after single inhalation of chromic acid mist in the electroplating ($n=3$; $\mu\text{g/g}$ dry wt.).

	0 hr	12 hr	24 hr	72 hr	1 w	2 w	4 w
Lung	13.016	11.527	10.521	6.957	5.025	1.548	1.098
content μg	2.041	1.851	1.653	1.154	0.895	0.337	0.232
Liver	1.051	2.112	0.896	0.128	0.391	0.759	0.276
Kidney	0.943	0.656	1.030	1.076	0.479	0.755	0.856

Fig. 3. Chromium contents in lungs of rats after an inhalation of chromic acid mist in the electroplating ($n=3$)

入されたクロムが3価へ変換する前に血中に吸収され、さらに赤血球中へ入り込むことが示された。本実験の結果は、クロムメッキ槽から発生するミスト暴露後の肺内クロム量が比較的速やかに減少することを示すのみで、排出経路についての考察は不可能であるが、暴露物質がミストであり、さらにその粒子径も $5\mu\text{m}$ 以下のものが、 $84.5\pm 5.2\%$ (電解電流 10 A, 30 分間) と、肺胞まで達する量も多いと考えられ、排出経路としては喀出のほか肺吸収も大きな役割を果たすと思われた。また、長期間肺内に貯留するクロムの存在形態をはじめ、クロム

の6価から3価への変換が肺内で起こるとすれば、それはどの部位の細胞、またどのような成分との相互作用によるかなどが、クロムの発がん性との関連から興味深い。

2. 肝 臓

長期暴露の3か月例 ($2.321\mu\text{g/g}$ dry wt.), 6か月例 ($2.247\mu\text{g/g}$ dry wt.) とともに対照 ($0.474\mu\text{g/g}$ dry wt.) の約4~5倍の値を示し、それぞれ近い値であった。この結果も、肺と同様の傾向で、定期的な暴露により肝臓内クロム濃度も平衡に近い状態に達しているためと思われる。そして、12か月例 ($1.960\mu\text{g/g}$ dry wt.) では若干の減少がみられるものの、まだ対照の4倍を超える値を示した。

一方、1回暴露の結果では、暴露直後ですでに対照の2倍以上の値 ($1.051\mu\text{g/g}$ dry wt.) となり、12時間後で最高値 ($2.112\mu\text{g/g}$ dry wt.) に達した。これは、暴露中から肝臓へのクロムの移行があることを示しており、この移行の速やかさから考えて、おそらく血液を介して行なわれたと思われる。また、暴露後12時間後ですでに最高値となっていることから、肺から血液中への移行は短時間内で終了するものと考えられた。しかし、肺内にいったん貯留したクロムは喀出によっても排出され、消化器系へ移行することも考えられる。Mertz ら²⁰⁾によれば、クロム酸塩の経口投与による吸収率は3~6%といわれており、したがって、喀出による消化器系を介しての肝臓内クロム濃度への影響は比較的少ないと考

えられた。

3. 腎 臓

長期暴露の結果は、肺や肝臓と同様に3か月例(10.354 $\mu\text{g/g dry wt.}$)と6か月例(11.678 $\mu\text{g/g dry wt.}$)での差が小さく、また、12か月例(5.199 $\mu\text{g/g dry wt.}$)では6か月例の約半分の値にまで減少しているものの、なお対照(0.318 $\mu\text{g/g dry wt.}$)の約16倍以上の濃度であった。

一方、1回暴露の結果は暴露直後ですでに対照の2倍以上の濃度(0.943 $\mu\text{g/g dry wt.}$)を示し、この後72時間に最高値(1.076 $\mu\text{g/g dry wt.}$)となっている。肺から吸入されたクロムのおもな排泄は尿中へとされているが¹⁵⁾、肝臓内クロム濃度の最高となる12時間目より遅れて、72時間目に腎臓で最高濃度に達することから考えて、クロム酸ミストの暴露による排泄は、肺から血液へ移行後、直接腎臓へ、または肝臓などの諸臓器を経由したのちに腎臓から排泄されると考えられた。

IV. 総 括

従来のクロム化合物の暴露実験では、肺における累積的な蓄積量を示すものが主であったが、本実験ではクロム酸ミストの長期暴露により暴露を中止して長期間放置しても、肺をはじめ肝臓や腎臓にも対照にくらべ高濃度でクロムが貯留することを実験的にたしかめることができた。これは、1回暴露の結果で示されるように、1回だけの暴露では4週間ではほぼ対照値付近まで減少することから、暴露を長期間継続することによって、肺の形態的な変化による排出機能の低下、あるいはクロム自身の変化による貯留形態の変化が起きる可能性が考えられた。このように、肺内クロム濃度がクロムメッキにおいても職業的暴露の根拠として有意義であることが明らかとなったが、主に肺がんの発生に関係するとされる6価クロムの肺よりの消退、貯留の問題も、肺がん発生機序とあいまって重要な問題であろう。肺がん発生に視点をあてながら今後とも実験的に追究しなければならないと考えている。

本論文の要旨は、第52回日本産業衛生学会総会(仙台)において発表した。

文 献

- 1) Friberg, L., Nordberg, G. F. and Vouk, V. B.: Handbook on the Toxicology of Metals, 383-397, Elsevier/North Holland Biochemical Press, Amsterdam, 1979.
- 2) Baetjer, A. B.: Pulmonary carcinoma in chromate workers, 1. A review of the literature and report of cases, *Arch. Ind. Hyg. Occup. Med.*, 2: 487-504, 1950.
- 3) 竹本和夫: 環境と肺癌, 埼玉大誌, 5: 319-330, 1979.
- 4) 竹本和夫, 川井英雄, 吉村博之, 金 潤台: クロムと肺疾患, 肺癌の研究(Ⅲ) 肺癌例のクロム含有量, 第51回日本産業衛生学会講演集, 730-731, 1978.
- 5) 竹本和夫, 金 潤台, 川井英雄, 牛尾耕一: クロムメッキ工に発生した気道ガン2症例, 第52回日本産業衛生学会講演集, 148-149, 1979.
- 6) 岸 玲子: クロムによると思われる職業性肺癌患者の臓器中クロム量, 医学のあゆみ, 92: 387-388, 1975.
- 7) 工藤俊英, 鷲崎 誠, 田村昌士, 本間日臣, 須田耕一, 齊木茂樹, 京野洋子, 河合清之: 元クロム工場従業員にみられた多発性肺癌の一例, 肺癌, 19: 385-391, 1979.
- 8) 寺岡久之, 小林 純: クロムメッキ工員の臓器中に含まれる金属元素量について, 日衛誌, 32: 162, 1977.
- 9) 宮井 亨: クロム化合物吸入動物におけるクロムの吸収と蓄積に関する研究(第1報) クロム酸化合物長期吸入ラットにおけるクロムの体内蓄積, 四国医学雑誌, 36: 193-209, 1980.
- 10) 宮井 亨, 藤井信男, 鈴木泰夫: クロム化合物吸入動物におけるクロムの吸収と蓄積に関する研究(第2報) 各種クロム化合物の比較, 四国医学雑誌, 36: 210-223, 1980.
- 11) Visek, W. J., Whitney, I. B., Kahn, V. S. G. and Comar, C. L.: Metabolism of ^{51}Cr by animals as influenced by chemical state, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 84: 610-615, 1953.
- 12) Baetjer, A. M., Lawney, J. F., Staffe, H. and Budacz, V.: Effect of chromium on incidence of lung tumors in mice and rats, *Arch. Ind. Health*, 20: 124-135, 1959.
- 13) Baetjer, A. M., Darmon, C. and Budacz, V.: The distribution and retention of chromium in men and animals, 20: 136-150, 1959.
- 14) Takeuchi, T.: A study on the industrial chromium poisoning, An experimental study with ^{51}Cr , *Osaka City Med. J.*, 6: 159-176, 1960.
- 15) Langård, S., Gunderson, N., Tsalev, D. L. and Glyseth, B.: Whole blood chromium level and chromium excretion in the rat after zinc chromate inhalation, *Acta Pharmacol. Toxicol.*, 42: 142-149, 1978.
- 16) Sumino, K., Hayakawa, K., Shibata, T. and Kitamura, S.: Heavy metals in normal Japanese tissues, *Arch. Environ. Health*, 30: 487-494, 1975.
- 17) Yukawa, M., Amano, K., Suzuki, M. and Terai, M.: Distribution of trace elements in the human body determined by NAA, *Arch. Environ. Health*, 35: 36-44, 1980.
- 18) 相原敬二, 黒川道子, 金子幹宏, 氷見康二: クロムめっき工程からの排ガス中のクロム酸ミスト測定法の検討, 大気汚染研究, 12: 414-419, 1977.
- 19) 和田 攻: 重金属・水銀, 診断と治療, 65: 1882-1886, 1977.
- 20) Mertz, W., Roginski, E. E. and Reba, R. C.: Biological activity and fate of intravenous chromium (III) in the rat, *Am. J. Physiol.*, 209: 489-494, 1965.

著者への通信先: 安達修一, 〒 350-05 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷 38 埼玉医科大学公衆衛生学教室 *Reprint requests to* Department of Public Health, Saitama Medical School, 38 Morohongo, Moroyama-machi, Iruma-gun, Saitama, 350-04 Japan (S. Adachi)