原著

赤血球内水分量におよぼす鉛の影響

第1報 *in vitro* の実験唐井一郎*, 福本紘一**, 蔭山勝弘***
堀口俊一*THE EFFECT OF LEAD ON INTRACELLULAR WATER
CONTENT OF HUMAN RED BLOOD CELLSPart 1. An Experiment *in vitro*Ichiro KARAI†, Kōichi FUKUMOTO††, Katsuhiro KAGEYAMA†††
and Shun'ichi HORIGUCHI†

We observed *in vitro* experiment that lead increased osmotic resistance of normal human erythrocytes and decreased mean corpuscular volume and intracellular potassium. Though the mechanism of the increased osmotic resistance of erythrocytes caused by lead has not yet been completely clarified, the following hypothesis could be accepted. Lead causes leakage of water from erythrocytes, which means that more water can enter the cell before hemolysis occurs. But, there has been no report of direct measurement of the intracellular water content of erythrocytes treated with lead. This paper tried to clarify the relationship between intracellular water and osmotic resistance of lead treated erythrocytes *in vitro* experiment. The results were: 0.05 $\mu\text{mol/ml}$ of lead increases osmotic resistance, trapped water content and plasma water content of normal human blood and decreases intracellular water content after incubation for 2 hours at 37°C.

I. はじめに

われわれ¹⁻³⁾は鉛が赤血球浸透圧抵抗(以下浸透圧抵抗と略記)を増強させることを鉛作業者において明らかにし,さらに血中鉛濃度と浸透圧抵抗の間に量-反応関係を有することを明らかにした。さらに,われわれ^{4,5)}は鉛投与したかいウサギによる *in vivo* の実験,鉛添加した正常ヒト赤血球の *in vitro* の実験においても,浸透圧抵抗が増強することを Coil Planet Centrifuge (CPC) 法を用いて確認した。

鉛が浸透圧抵抗を増強させる機序については,まだ完全には明らかになっていない。Griggs⁶⁾は鉛によって赤血球カリウムイオンポンプが障害され,血球内水分量の減少により浸透圧抵抗が増強すると述べている。しかしながら,鉛による赤血球内水分量の変化を直接的に測定した報告はいまだなされていない。今回われわれは蔭山⁷⁾の方法にしたがって, *in vitro* で鉛添加した正常ヒト血液の赤血球内水分量を測定し,あわせて血漿水分量,赤血球(細胞)間隙水分量,浸透圧抵抗を測定した。

II. 実験方法

ヘパリン添加した正常ヒト血液 1 ml に濃度の異なる酢酸鉛水溶液 10 μl を鉛濃度が 0~1 $\mu\text{mol/ml}$ になるように添加し, 37°C で2時間加温した。³H でラベルされたショ糖液 10 μl (2 μCi でショ糖(キャリア) 0.1 mg を含む)を添加し,十分に混和したのち 4°C にて 3,000 回転で 30 分間遠沈した。分離した血漿層および赤血球層のおのおの 50 μl を 4.1% *n*-ブタノール(内部標準物質)

* 大阪市立大学医学部衛生学公衆衛生学教室

** 大阪府職業病センター

*** 大阪市立大学医学部第2生理学教室
昭和55年12月27日受付

† Department of Preventive Medicine and Public Health, Osaka City University Medical School

†† Osaka Prefectural Institute of Occupational Health

††† Department of Physiology, Osaka City University Medical School

Received for publication, December 27, 1980

Fig. 1. Changes in osmotic fragility of RBC by CPC.

Fig. 2. Changes in intracellular water content.

を含むメタノール 1.95 ml にすばやく注入し、強く振盪したのち、3,000 回転で 10 分間遠沈した。その上澄み 2 μl 中の水分量をガスクロマトグラフ (島津 GC-4 BPE, 熱伝導型検出器) を用いて測定した。

赤血球間隙水分量は、さきに使用した血漿および赤血球を含むメタノールの上澄み 50 μl の放射能を液体シンチレーションカウンター (Packard, Model 3330) を用いて測定し、以下の式より求めた。

$$\text{赤血球間隙水分量} = \frac{\text{赤血球層中放射能}}{\text{血漿中放射能}} \times \text{血漿水分量}$$

赤血球内水分量は赤血球層水分量から赤血球間隙水分量を差し引き求めた。

浸透圧抵抗は CPC 法³⁾を用いて測定し、溶血開始値、最大溶血値、溶血終了値の 3 点を測定した。

III. 結 果

Fig. 1 に浸透圧抵抗の変化を示す。鉛濃度 0.03 μmol/ml 未満では浸透圧抵抗は変化を認めないが、0.03 μmol/ml にて溶血開始値および最大溶血値の軽度

Fig. 3. Changes in plasma water content.

Fig. 4. Changes in trapped water content.

の増加を認める。0.05 μmol/ml にて溶血開始値、最大溶血値、溶血終了値の 3 点において著しい増強を認める。0.05 μmol/ml より以上の鉛濃度では、溶血開始値がさらに減少する傾向が認められる。

Fig. 2 に赤血球内水分量の変化を示す。鉛濃度 0.01 μmol/ml では赤血球内水分量は変化を認めないが、0.05 μmol/ml にて著しい減少を認め、鉛濃度の増加によりさらに漸減傾向を認める。

Fig. 3 に血漿水分量の変化を示す。鉛濃度 0.01 μmol/ml より血漿水分量は増加を認め、0.05 μmol/ml 以上にてさらに漸増傾向を認める。

Fig. 4 に赤血球間隙水分量の変化を示す。鉛濃度 0.01 μmol/ml では赤血球間隙水分量は変化を認めないが、0.05 μmol/ml にて著しい増加を認める。鉛濃度の増加によりさらに漸増傾向を認める。

IV. 考 察

鉛中毒において赤血球機械的抵抗の減少や浸透圧抵抗の増強が認められるが、これらの変化は赤血球膜の異常によるとされている。Griggs⁵⁾は鉛による浸透圧抵抗の増強の機序として以下のような仮説を述べている。「鉛

により赤血球膜能動輸送（カリウムポンプ）が障害をうけ、赤血球内からのカリウムの流出に伴い水が流出し、血球容積は減少する。血球表面積に対する血球容積の比は増加し、したがって低浸透圧の状態におかれると正常赤血球に比して溶血が起こるまで、より多くの水の流入が可能となるため浸透圧抵抗が増強する。⁴⁾われわれは *in vitro* の実験において、血球内カリウムイオンが減少し、さらに平均赤血球容積が減少することを報告した。今回の実験では血漿水分量が増加し、赤血球内水分量が減少することを認めたが、平均赤血球容積の減少がカリウムの流出に伴う赤血球内水分量の減少によることが明らかになり、さらに浸透圧抵抗の増強と赤血球内水分量の減少の間に強い関連が認められた。なお、鉛添加による赤血球間隙水分量の増加は、赤血球内水分量の減少によって惹起された赤血球変形能の低下によると考えられる。今後は鉛作業者の赤血球内水分量が *in vitro* と同じように減少するか、測定する予定である。

文 献

- 1) Horiguchi, S., Teramoto, K., Nakano, H., Shinagawa, K., Endo, G. and Kiyota, I.: Osmotic fragility test of red blood cells of lead workers by coil planet centrifuge, Osaka City Med. J., 20: 51-53, 1974.
- 2) Horiguchi, S., Teramoto, K., Nakano, H., Shinagawa, K., Endo, G. and Kiyota, I.: Relationship between osmotic fragility of red blood cells by coil planet centrifuge and peripheral blood findings in lead workers, Osaka City Med. J., 21: 55-58, 1975.
- 3) Karai, I., Fukumoto, K. and Horiguchi, S.: Studies on osmotic fragility of red blood cells determined with a coil planet centrifuge for workers occupationally exposed to lead, Int. Arch. Occup. Environ. Health (in press).
- 4) 唐井一郎, 福本紘一, 堀口俊一: Coil Planet 型遠心分離器によるかいウサギ赤血球浸透圧抵抗に及ぼす鉛の影響, 産業医学, 21(5): 458-459, 1979.
- 5) 唐井一郎, 福本紘一, 堀口俊一: 赤血球浸透圧抵抗に及ぼす各種金属 (Pb, Hg, Cu, Zn, Cd, Mn) の影響—Coil Planet 型遠心分離器を用いて, 産業医学, 22(6): 498-499, 1980.
- 6) Griggs, R. C.: Lead poisoning: Hematologic aspects, Prog. Hematol, 4: 117-137, 1964.
- 7) Kageyama, K.: Effect of incubation on red cell shape and water content as measured by gas-liquid chromatography, Nouv. Rev. Fr. Hématol., 21: 161-169, 1979.
- 8) Ito, Y., Weinstein, M. A., Aoki, I., Harada, R., Kimura, E. and Nunogaki, K.: The coil planet centrifuge, Nature, 212: 985-987, 1966.

著者への通信先: 唐井一郎, 〒545 大阪市阿倍野区旭町1丁目 4-54 大阪市立大学衛生学公衆衛生学教室 Reprint requests to Department of Preventive Medicine and Public Health, Osaka City University Medical School, 4-54, Asahimachi 1-chome, Abeno-ku, Osaka, 545 Japan (I. Karai)