

カドミウムの生物学的影響における閾値に関する研究

Critical concentration of cadmium in the renal cortex of man and animals

代表研究者	自治医科大学教授	野見山 一生
協同研究者	自治医科大学講師	菅田 安男
	自治医科大学講師	野見山 紘子
	自治医科大学講師	田口 徹也
	自治医科大学研究員	世取山 守
	自治医科大学研究生	松井 寛二

Though cadmium health effects in the general population have been widely studied, the early detection and the mechanism of cadmium poisoning have not been fully elucidated so far. To estimate the allowable daily intake of cadmium, the present investigators intended to clarify the critical concentration and the biological half time of cadmium in the renal cortex of man and animals.

Summary of the results are as follows;

1. Standardization of procedures for determining cadmium in biological materials
The standard procedure of cadmium determination was developed for biological materials such as blood, urine and tissue samples. The new cadmium determination procedure was also developed with use of Zeeman effect atomic absorption spectrophotometry.
2. Criteria for health effects of cadmium in the general population, and physiological significance of the increased urinary excretion of β_2 -microglobulin
High dose-response relationship was found between urinary excretion of cadmium and β_2 -microglobulin. However, the urine level of β_2 -microglobulin was not closely related to the renal functions. Therefore, β_2 -microglobulin in urine was thought as a good indicator media for early sign of human response to cadmium on a group basis, but not of renal dysfunctions.
3. Critical concentration of cadmium in human renal cortex
WHO Working Group estimated the critical concentration of cadmium in human renal cortex as 200 $\mu\text{g/g}$. However, Nomiyama discussed it difficult to establish the critical concentration of cadmium in human renal cortex at this moment based on 28 autopsy and biopsy data on cadmium workers and residents in cadmium-polluted areas.
4. Critical concentration of cadmium in rabbit renal cortex (Feeding Experiment)
Twenty eight rabbits were fed with 0 or 300 $\mu\text{g/g}$ cadmium over a period of 54 weeks, and the critical concentration of cadmium in rabbit renal cortex was found to be 230 $\mu\text{g/g}$ for proteinuria and aminoaciduria.
5. Critical concentration and biological half time of cadmium in rabbit renal cortex (Injection Experiment)
Thirteen rabbits were injected with cadmium at a dose level of 0.5 mg/kg/day for up to 42 weeks. The critical concentration of cadmium was found 300 $\mu\text{g/g}$ for proteinuria, glycosuria and aminoaciduria. The biological half time of cadmium was found 21 days, while that in rabbits given injections of 1.5 mg/kg/day was 11 day.
6. Biological half time of cadmium in rabbits
Seventeen rabbits were given various doses of cadmium and left untreated for up to 2 years. Biological half time of cadmium in rabbits given a larger dose was shorter than that in rabbits given a smaller dose.
7. Critical concentration and biological half time of cadmium in mice acclimatized to various temperatures

One hundred and sixty-two mice acclimatized to 8, 22 or 37°C were given injections of cadmium at dose levels of 0, 0.3 or 1.0 mg/kg/day over a period of 8 months. Biological half time of cadmium in mice given larger dose of cadmium was shorter than that in mice given smaller dose of cadmium. The critical concentration of cadmium in the renal cortex altered also according to the environmental temperatures.

8. Critical concentration and biological half time of cadmium in monkeys

Ten rhesus monkeys were fed with cadmium at 0, 3, 30 or 300 $\mu\text{g/g}$ levels over a period of 55 weeks. Critical concentration of cadmium was estimated 380 $\mu\text{g/g}$ for low-molecular-weight proteinuria or 470 $\mu\text{g/g}$ for proteinuria, glycosuria or aminoaciduria. Biological half time of cadmium in monkeys fed with cadmium of higher dose level was shorter than that in monkeys fed with cadmium of lower dose level.

According to the above results, it was realized that it is hard at this stage to estimate the allowable daily intake of cadmium because of changeable critical concentration and biological half time of cadmium in the renal cortex.

研究目的

富山県神通川流域に発生したイタイタイ病がカドミウムの生活環境汚染によって起った公害病であるとされてから、群馬、兵庫、秋田などの日本各地でもカドミウムの生活環境汚染が大きな社会問題となり、すでに数万名にもおよぶカドミウム健康診断が実施された。しかし、カドミウム中毒、ことにカドミウムによる腎機能障害の発症機序が明らかでないために、研究の進歩とともに年年中毒診断方式さえ改定する必要が生じてきている。そこで、カドミウムによる腎機能障害の発症機序を研究し健康障害の早期診断方法を簡易化するとともに、腎障害をもたらす腎皮質のカドミウム閾値を量-反応関係より明らかにし、一般住民のカドミウム摂取許容量を推定することとした。

研究成果

1. 生物試料（血液・尿・臓器）中のカドミウム測定法の検討

種々の測定法について比較検討し、再現性がよいことから、生物試料を湿式灰化したのち Dithizone-Chloroform で抽出し、さらに、稀硝酸で再抽出して原子吸光法で測定する方法を標準法とするのが適切であるが、高感度で測定する必要がある場合には、 D_2 ランプで補正した無炎光原子吸光法を併用するとよいことや、また、半定量的な測定であれば、無炎光原子吸光直接法も応用できることが分った。

さらに血液、尿中カドミウムの無炎光原子吸光法について検討し、最近日本で開発された Zeeman 型無炎光原子吸光分光光度計を用いれば高感度に再現性よく、またバックグラウンドもほぼ完全に補正され定量的に測定できることが分った。

2. カドミウム汚染地域住民の健康影響指標の検討

カドミウム汚染地域（群馬・茨城・富山）住民 525 名ならびにカドミウム作業員 11 名の尿試料を収集し、 β_2 -ミクログロブリンをラジオイムノアッセイ法で定量した。尿中カドミウム濃度と尿中 β_2 -ミクロブリン濃度の間には量-反応関係が認められた。

カドミウムの生活環境汚染によってもっとも健康影響を受け易いのは高令者であると考えられている。しかし、健康調査でいわゆる異常値が得られても、高令者の生理値が知られていないために判断に困ることがしばしばある。そこで、カドミウム非汚染地域に住む 50 才以上の健康な男女 50 名について、尿中 β_2 -ミクログロブリン濃度と尿蛋白、糖、アミノ酸排泄量、腎機能（クレアチニンクリアランス、尿細管リン再吸収率）との関係を検討し、尿中 β_2 -ミクログロブリン濃度を腎機能異常の早期症状として理解することの是非について研究した。非汚染地域の高令者ならびに汚染地域住民における尿中 β_2 -ミクロブリンの尿中排

排泄機序は、糸球体ならびに尿細管機能異常とは直接関係のないことが分った。以上の知見ならびにこれまでの内外の研究報告を基に、 β_2 -ミクログロブリンの生成ならびに尿中排泄機序についての仮説を提出した。また、クレアチニンクリアランスとリンの尿細管再吸収機能は加齢によっても大きく変動しなかったが、尿中 β_2 -ミクログロブリン濃度は加齢とともに上昇していた。

しかし、尿中 β_2 -ミクログロブリン濃度がカドミウム暴露量とよい量-反応関係を示すことから、集団レベルでは、カドミウムによる生体影響の早期徴候として理解することが適切であると考えられた。

β_2 -ミクログロブリンの簡易スクリーニング法についても検討を加え、一般的な蛋白定性法であるスルホサリチル酸法、トリクロロ酢酸法、定量法としては Tsuchiya-Biuret 法が有用であることを証明した。Tsuchiya-Biuret 法のスクリーニング基準としては 8 mg/dl を提唱した。さらに、赤血球凝集阻止反応を利用した β_2 -ミクログロブリンその他の低分子蛋白（レチノール結合蛋白、リゾチーム）の同時鋭敏検出法について検討している。

3. ヒトにおけるカドミウムの腎皮質閾値

現在までに報告された 28 例のカドミウム作業者ならびにカドミウム汚染地域住民の腎皮質カドミウム濃度と蛋白尿、腎の病理学的変化との関係について再検討を加えたところ、腎皮質のカドミウム閾値を $200 \mu\text{g/g}$ とすることには困難があることが分った。さらに多くの剖検例を積みか最近実用化の段階に入った中性子放射化分析法によって生体中カドミウムを分析し症例数を増加すれば、将来、閾値を設定することが可能であると考えられた。

4. ウサギにおけるカドミウムの腎皮質閾値 (経口投与実験)

ウサギ 10 羽には $0 \mu\text{gCd/g}$ 、18 羽には $300 \mu\text{gCd/g}$ の塩化カドミウムを含むエサを投与し、3 週ごとに尿中蛋白、アミノ酸、カドミウム排泄量を測定するとともに、2, 4, 6, 12 ケ月目にウサギを屠殺して臓器中カドミウムを定量した。カ

ドミウム投与によって腎皮質カドミウム濃度は上昇して $230 \mu\text{g/g}$ に至り、以後漸減した。アミノ酸尿は腎皮質カドミウム濃度が $230 \mu\text{g/g}$ に達して 3 週後、蛋白尿は 8 週後に出現しており、ウサギにおける腎皮質の閾値は $230 \mu\text{g/g}$ と推定された。

5. ウサギにおけるカドミウムの腎皮質閾値と生物学的半減期 (皮下投与実験)

ウサギ 2 羽には生理的食塩水、13 羽には 0.5 mgCd/kg の塩化カドミウムを連日、最長 42 週間皮下投与した。毎週尿ならびに血液の検査を実施し、適時ウサギを屠殺して臓器中カドミウムを定量した。蛋白尿、糖尿、アミノ酸尿を指標とすると、腎皮質の閾値は $300 \mu\text{g/g}$ と推定された。肝は血漿 GOT, GPT を指標とすると閾値は $430 \mu\text{g/g}$ であった。生物学的半減期は腎皮質が 3 週、肝が 6 週と推定された。 1.5 mgCd/kg 連日皮下投与したウサギの生物学的半減期は、腎皮質 11 日、肝 12 日 (野見山, 1973) であったから、カドミウムの投与量が多いと生物学的半減期は短くなるということが分った。

6. ウサギにおけるカドミウムの生物学的半減期 (皮下投与後放置の実験)

オスの日本ウサギ 17 羽を 3 群に分け、各群に総量 17.5, 31.5, 52.5 mgCd/kg の塩化カドミウムを 3~5 週の間皮下投与したのち、無処置のまま最長 2 年間飼育した。適時、ウサギを屠殺して臓器中のカドミウムを定量したところ、17.5 mgCd/kg 群の肝、腎皮質の生物学的半減期は 51 週、71 週、31.5 mgCd/kg 群では肝 19 週、腎皮質 39 週、52.5 mgCd/kg 群では肝 15 週、腎皮質 31 週で、カドミウム負荷量の多いほど生物学的半減期は短かく、これまで信じられてきたような「負荷量にかかわらず生物学的半減期は一定」ではないことが分った。

7. マウスにおけるカドミウムの生物学的半減期と閾値

ICR-JCL マウス 162 匹を 3 群に分け、8, 22, 37°C に温度馴化させたのち、最長 8 ケ月にわたって、0, 0.3, 1.0 mg/kg のカドミウムを週 6 日皮下投与した。1, 2, 3, 4, 6, 8 ケ月日ごとに生

体反応を測定するとともに屠殺して臓器中カドミウム濃度を定量した。カドミウムの生物学的半減期をカドミウムの臓器蓄積曲線より計算したところ、いずれの温度条件下でも、カドミウム投与量が多いほど生物学的半減期が短かかった。また、1 mg/kg 投与群についてみると、温度条件により腎における閾値が異なっていた。したがって、一定の生物学的半減期、閾値を用いて、カドミウムの許容摂取量を計算することには理論的な問題があることが分った。

8. サルにおけるカドミウムの生物学的半減期と閾値

生後 2~3 才のアカゲザル (オス) 10 頭を 2, 2, 3, 3 頭の 4 群に分け、0, 3, 30, 300 ppm のカドミウムを含む固形飼料を最長 55 週間経口投与した。2 週ごとに採尿、4 週ごとに採血して種々の臨床生化学的検査を実施したが、実験開始後 24 週目に 2 頭、55 週目に残りの 8 頭を屠殺して体内のカドミウム蓄積量を測定した。

3 ppm 55 週間のカドミウム投与では異常な生体反応は出現しなかった。30 ppm 群でも、55 週目に腎皮質カドミウム濃度が 730 µg/g もあるのに尿中蛋白濃度上昇以外異常な生体反応を見出すことができなかった。300 ppm 群では、腎機能異

表 1 動物におけるカドミウムの臨界濃度¹⁰⁾

動物	脂 肪	腎皮質濃度 (µg/g)	文 献
マウス	蛋白尿	250	Nordberg <i>et al.</i> 1972
		225	野見山ら 1977
	糖尿	225	野見山ら 1977
ラット	蛋白尿	225	鈴木 1974
		234	村上ら 1974
		255	岸野ら 1975
	酵素尿	135	Piscator <i>et al.</i> 1972
		300	岸野ら 1975
	病理学的変化	400	Bonnell <i>et al.</i> 1960
		56	Kawai <i>et al.</i> 1976
ウサギ	蛋白尿	300~700	Friberg 1975
		142	片桐ら 1973
		300	Nomiyama <i>et al.</i> 1974
		230	野見山ら 1976
		300	野見山ら 印刷中
	低分子蛋白尿	300	野見山ら 印刷中
	糖尿	117	片桐ら 1973
		300	野見山ら 1974
		300	野見山ら 印刷中
	アミノ酸尿	200	Nomiyama <i>et al.</i> 1974
		230	野見山ら 1976
		300	野見山ら 1978
	酵素尿	117	片桐ら 1973
		200	Nomiyama <i>et al.</i> 1974
尿細管機能低下	250	Piscator <i>et al.</i> 1970	
	238	Nomiyama <i>et al.</i> 1973	
病理学的変化	250	Axelsson <i>et al.</i> 1966	
	250	Stowe <i>et al.</i> 1972	
サル	蛋白尿	450	Nomiyama <i>et al.</i> in press
	低分子蛋白尿	380	Nomiyama <i>et al.</i> in press
	糖尿	450	Nomiyama <i>et al.</i> in press
	アミノ酸尿	450	Nomiyama <i>et al.</i> in press
	病理学的変化	300~465	Nomiyama <i>et al.</i> in press

常、貧血などが12週以降にみられた。骨には病変が認められなかった。以上の所見から、サルにおける腎皮質の閾値は380 µg/g (低分子蛋白尿を指標にとった場合、蛋白尿、糖尿、アミノ酸尿を指標にとれば470 µg/g)、肝の閾値は210 µg/gと推定された。また、55週目におけるカドミウムの生物学的半減期は、投与カドミウム量の多い群ほど短かく、0 ppm 群 22.4年、3 ppm 群 5.2年、30 ppm 群 6.4年、300 ppm 群 0.66年であ

った。

考察ならびに結論

1. カドミウム汚染地域住民の健康影響指標

尿中β₂-ミクログロブリンは、カドミウムによる生体影響の早期診断の指標としては適切であることが分ってきた。しかし、β₂-ミクログロブリンはカドミウムの尿管機能障害がなくても尿中排泄量の増加がおこることも分ってきたので、健康障害の指標とすることには問題がある。

表2 カドミウムの生物学的半減期¹⁰⁾

動物	投与方法	化合物	投与量	動物		生物学的半減期 (日)			文献	
				性	命数	全身	肝	腎		
マウス	sc	¹⁰⁹ CdCl ₂	1 µCi	M		21.5			富田 1971	
				F		32.0				
	sc	¹⁰⁹ CdCl ₂		M & F	80			76	鈴木ら 1971	
	sc	¹⁰⁹ CdCl ₂	1 µCi	M	8週	280			田口ら 1972	
	ip	¹⁰⁹ CdCl ₂	17 µCi			100<			Cotzias <i>et al.</i> 1961	
	ip	¹⁰⁹ CdCl ₂	1 µCi	M	7週	280			田口ら 1972	
					16週	260				
					50週	660				
		ip	Cd(NO ₃) ₂	50 µG		16	60	55		小泉 1975
		iv	¹⁰⁹ Cd				40			Richmond <i>et al.</i> 1966
	iv	¹⁰⁹ CdCl ₂	10 µCi				90		柴田 1974	
ラット	po	¹⁰⁹ CdCl ₂		若		30~35			Shiraishi <i>et al.</i> 1971	
	po	^{115m} CdCl ₂	1 mg			15			佐谷戸ら 1971	
	iv	^{115m} CdCl ₂	1 mg			333			佐谷戸ら 1971	
	im	¹⁰⁹ Cd	2 µCi			300			Dubrin <i>et al.</i> 1957	
イヌ	ip	¹¹⁵ Cd(NO ₃) ₂				260~500			Burch <i>et al.</i> 1959	
	サル	po	¹¹⁵ CdCl ₂		2 2	2年<			Nordberg <i>et al.</i> 1971	
ヒト	po	^{115m} CdCl ₂		M, 53才	1	20年			Yamagata <i>et al.</i> 1975	
マウス	sc	CdCl ₂	0.3 mg/kg×8月	M	18	60	81	60	Nomiya <i>et al.</i> 1977	
			1.0 mg/kg×8月	M	18	21	24	24		
ラット	ip	CdCl ₂	0.75 mg/kg×6月				60	60	Bonnell, Ross, King 1960	
	ip	Cd(NO ₃) ₂	100 µg×30回		24		450~500	100~200		
ウサギ	sc	CdCl ₂	1.5 mg/kg×35回	M	12		12	11	野見山 1973	
	sc	CdCl ₂	1.5 mg/kg×21回	M	9		160		野見山 1974	
	sc	CdCl ₂	0.5 mg/kg×35回	M	4		357	497	Nomiya <i>et al.</i> 1976	
			1.5 mg/kg×21回	M	8		133	273		
			1.5 mg/kg×35回	M	5		105	217		
	sc	^{115m} CdCl ₂	キャリアーフリー	M	3				血漿 98時間 野見山 1976	
			50~150 mg	M	13				血漿 1.8時間	
	sc	CdCl ₂	0.5 mg/kg×42週	M	13		42	21	野見山ら 印刷中	
サル	po	CdCl ₂	30 mg/kg×54週	M	2	0.66年			Nomiya <i>et al.</i> in press	
			3 mg/kg×54週	M	2	6.4年				
			0.3 mg/kg×54週	M	2	5.2年				
			0.01 mg/kg×54週	M	2	22.4年				

投与方法: 皮下 (sc), 腹腔内 (ip), 静脈内 (iv), 経口 (po), 筋内 (im)

動物の性: M (オス), F (メス)

また、 β_2 -ミクログロブリンの簡易スクリーニング法についても検討を加え、一部は実用化した。

2. 腎皮質のカドミウム閾値

今回の研究成果ならびにこれまでの研究報告を一覧にしたのが表1である (Nomiyama and Nomiyama, in press¹⁰⁾ より引用)。マウス, ラット, ウサギでは 200~300 $\mu\text{g/g}$, サルでは 380 $\mu\text{g/g}$ であることがわかる。ヒトはサルに近似の種であるから、200 $\mu\text{g/g}$ よりも高いということが考えられる。現時点で 200 $\mu\text{g/g}$ という閾値を設定することに問題があることはすでに述べたとおりである。そのうえ、8, 22, 37°C で飼育したマウスについてみると、環境温度によって閾値が異なるので、特定環境温度条件下でのヒトの閾値を設定することはできるかも知れないが、世界共通のヒトの閾値を設定するのは困難ではないかと考えられた。

3. カドミウムの生物学的半減期

今回の研究成果にこれまでの研究報告を加え一覧にしたのが表2である。実験データは、カドミウムの投与条件によって全く異っている。しかし、動物種、性、令、投与方法を一にした実験では、カドミウムの暴露量の大きいほどカドミウムの生物学的半減期が短いことがわかる。

4. 一般住民のカドミウム摂取許容量の推定

カドミウムの摂取許容量は、カドミウムの腸管吸収率、生物学的半減期、閾値から推定することができる。しかし、以上の調査ならびに実験成績から生物学的半減期ならびに閾値がカドミウム暴露量や環境温度によって大きく変動することが分かってきた。腸管吸収率についても、暴露量が大きくなると低下することが知られている。したがって、一般住民の剖検例から得られたカドミウムの生物学的半減期を用いてカドミウム汚染地域住民のカドミウム許容摂取量を推定することは正しくないということになる。

今後はカドミウム汚染地域住民のカドミウム摂取量、体内カドミウムの測定と生体影響のデータを積み上げてゆくことが必要であり、これによってのみ一般住民のカドミウム摂取許容量の推定も可能になると考えられた。

研究報告

- 1) 野見山一生, 世取山守: ヒトにおけるカドミウムの量・反応関係—尿中カドミウム濃度と β_2 -microglobulin 濃度, 環境保健レポート 38, 147-149, 1976.8.
- 2) 野見山一生, 世取山守, 野見山紘子: 尿中低分子蛋白スクリーニングテスト方法の検討, 環境保健レポート 38, 150-152, 1976.8.
- 3) 野見山一生, 野見山紘子: ウサギにおけるカドミウムの生物学的半減期, 環境保健レポート 38, 156-158, 1976.8.
- 4) 野見山一生, 野見山紘子: ウサギにおける長期 300 ppm カドミウム 経口投与実験—12ヶ月目の中間報告, 環境保健レポート 38, 161-163, 1976.8.
- 5) 野見山一生, 野見山紘子, 田口徹也: 環境温度のカドミウム慢性毒性に及ぼす影響, 環境保健レポート 41, 29-37, 1977.7.
- 6) Kazuo Nomiyama: Does a critical concentration of cadmium in human renal cortex exist? J. Toxicol. Environ. Health 3, 607-609, 1977.
- 7) Kazuo Nomiyama, Hiroko Nomiyama, Mamoru Yotoriyama and Tetsuya Taguchi: Some recent studies on the renal effects of cadmium, Edited Proceedings of the First International Cadmium Conference pp. 186-194, Metal Bulletin, London, 1978.
- 8) 野見山一生: 中毒性腎障害における代謝, 日腎会誌, 印刷中.
- 9) Kazuo Nomiyama, Hiroko Nomiyama, Yasuo Nomura, Tetsuya Taguchi, Kanji Matsui, Mamoru Yotoriyama, Fumiaki Akahori, Soichiro Iwao, Naoko Koizumi, Toshio Masaoka, Shoji Kitamura, Kenzaburo Tsuchiya, Tatsuo Suzuki and Kosaku Kobayashi: Effects of dietary cadmium on rhesus monkeys, Environ. Health Perspective, in press.
- 10) Kazuo Nomiyama and Hiroko Nomiyama: Factors modifying critical concentration and biological half time of cadmium, Arch. Industr. Hyg. Toxicol., in press.

学会発表 (未印刷論文)

- 1) 野見山一生, 世取山守, 原田 章, 秋田喜美: ヒトにおけるカドミウムの量-反応関係—尿中カドミウム濃度と尿中 β_2 -microglobulin 濃度, 第46回日本衛生学会総会, 新潟, 1976.7. (日衛誌 31, 90, 1976).
- 2) 野見山一生, 世取山守, 野見山紘子: 尿中低分子蛋白スクリーニングテスト方法の検討, 第46回日本衛生学会総会, 新潟, 1986.7. (日衛誌 31, 89, 1976).
- 3) 野見山一生, 野見山紘子: ウサギにおけるカド

- ミウムの生物学的半減期, 第 46 回日本衛生学会総会, 新潟, 1976.7. (日衛誌 31, 78, 1976).
- 4) 野見山一生, 野見山絃子, 大島勝美: ウサギにおける長期 300 ppm カドミウム経口投与実験—12 ヶ月目の中間報告, 第 49 回日本産業衛生学会総会講演集 pp. 502-503 (1976).
- 5) 野見山一生, 世取山守, 野見山絃子: カドミウム非汚染地域高令者の尿検査成績と腎機能, 第 47 回日本衛生学会総会, 東京, 1977.4. (日衛誌 32, 122, 1977).
- 6) 野見山一生, 世取山守, 野見山絃子: 尿中 β_2 -Microglobulin 排泄増加の生理学的意義に関する考察, 第 47 回日本衛生学会総会, 東京, 1977.4. (日衛誌 32, 123, 1977).
- 7) 野見山一生, 野見山絃子, 田口徹也: マウスにおけるカドミウムの生物学的半減期, 第 47 回日本衛生学会総会, 東京, 1977.4. (日衛誌 32, 128, 1977).
- 8) 野見山絃子, 野見山一生, 世取山守: Zeeman 原子吸光法による生体試料中カドミウム測定法の検討, 第 48 回日本衛生学会総会, 前橋, 1978.5. (日衛誌 33, 174, 1978).