

# A Follow-up Study on Urinary and Serum $\beta$ 2-Microglobulin and Renal Function in Subjects Exposed to Cadmium

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/8157">http://hdl.handle.net/2297/8157</a>

## カドミウム暴露に起因する尿, 血清中 $\beta_2$ -ミクログロブリン値と腎機能の追跡的研究

金沢大学医学部公衆衛生学講座 (主任: 岡田 晃教授)

城 石 和 子

(平成1年12月4日受付)

富山県神通川流域に居住しカドミウム (cadmium, Cd) 暴露を受け, 腎尿細管障害のみられる対象者 (Cd 暴露者) の尿, 血清中  $\beta_2$ -ミクログロブリン ( $\beta_2$ -microglobulin,  $\beta_2$ -m) を1978~87年までの10年間追跡し, 腎機能の面から検討した結果, 次のことが明らかになった. Cd 暴露者の尿中  $\beta_2$ -m は Cd 非暴露者の1,000倍の高濃度であった. 尿中  $\beta_2$ -m と, 尿細管機能の指標とされているリゾチーム, リン再吸収率や  $\beta_2$ -m 再吸収率等との関係を解析した結果, 尿中  $\beta_2$ -m の増加は尿細管機能の低下に基づく排せつ増加であると結論された. さらに尿中  $\beta_2$ -m は血清中  $\beta_2$ -m 濃度の影響も受けていた. Cd 暴露者の血清中  $\beta_2$ -m は血清中クレアチニン, 尿素窒素との間に正の相関, クレアチニン・クリアランスとの間に負の相関関係があった. これら糸球体機能の指標である諸因子の経年変化と血清中  $\beta_2$ -m の増減が一致していることから, 血清中  $\beta_2$ -m は糸球体機能の低下により血清中に増加したものと考えられる. 追跡調査の結果この期間の Cd 暴露者の腎機能は1972年に比べて糸球体機能, 尿細管機能ともに低下したと推定された. 調査期間中の10年間で Cd 暴露者の糸球体機能の低下は著明に進行したが, 尿細管機能はほとんど変化していなかった.

**Key words**  $\beta_2$ microglobulin, renal dysfunction, cadmium, low molecular weight protein

$\beta_x$ ミクログロブリン ( $\beta_x$ -microglobulin,  $\beta_x$ m) は分子量11,800の低分子蛋白であり各種の腎疾患, 特に尿細管疾患において尿中に増加することがよく知られている<sup>1-3)</sup>. 1968年 Berggård ら<sup>4)</sup>により報告されて以来, 各分野で研究が行われるようになった<sup>5-9)</sup>. イタイイタイ病や慢性カドミウム (cadmium, Cd) 中毒に関しては尿中に増加する蛋白の1つとしてよく知られており<sup>10-13)</sup>, 尿細管障害の指標としてその診断にも用いられるようになった<sup>14)</sup>. 一方血中の  $\beta_2$ -m については原田ら<sup>15)</sup>, 小野寺ら<sup>16)</sup>は Cd 作業により増加すると報告し, 金井ら<sup>17)</sup>はイタイイタイ病患者でも高いと報告した. しかし血中  $\beta_2$ -m が増加する機序, 特に Cd との関係についてはなお明らかにはされていない. そこで血中  $\beta_2$ -m 増加の機序解明を目的として富山県神通川流域における Cd 暴露者の尿, 血清中の  $\beta_2$ -m を追跡

測定し, 腎機能との関係から検討を行った.

### 対象および方法

#### I. 調査対象者

富山県神通川流域の Cd 汚染地域に居住し Cd の暴露歴があり, 尿細管障害は認められるが骨軟化症は明らかではなく, 長期観察が望ましいとされているもの (以下 Cd 暴露者と称す) である. そのうち, 尿, 血液ともに検査ができた61名について追跡調査を行った. 年齢は調査開始時50~82 (平均71) 歳で, 男性は5名, 女性は56名であった. 県内で Cd 汚染のない A, B, C 3地区の住民 (以下 Cd 非暴露者と称す) を対照とした. 各地区はそれぞれ54, 60, 60名で A, B 地区は尿中  $\beta_2$ -m の対照に, C 地区は血清中  $\beta_2$ -m の対照とした. 年齢は A, B 地区が40~88 (平均58) 歳であり, C

Abbreviations: C Cre, creatinine clearance; C Cre (Cre), 血清 creatinine より算出した creatinine clearance; C Cre ( $\beta_2$ -m), 血清  $\beta_2$ -microglobulin より算出した creatinine clearance; Cd, cadmium; Cre, creatinine; EIA, enzyme immunoassay; LZM, lysozyme;  $\beta_x$

地区が40~76 (平均60) 歳であった。

## II. 調査時期

Cd 暴露者では1978年の10~11月に開始し以後隔年を原則として同じ10~11月に実施し、1987年まで追跡した。調査中対象者は年々減少したため最終の1987年には14名のみとなった。Cd 非暴露者ではA, B地区が1987および88年で、C地区は1978年であり、いずれも10~11月に実施した。

## III. 試料および検査項目

試料は早朝起床時尿 (以下早朝尿と称す)、24時間尿 (Cd 暴露者のみ採取した) および血清で、採取後検査に供するまで $-20^{\circ}\text{C}$ で凍結保存した。採血は午前9~12時に行ない、Cd 暴露者では24時間の蓄尿終了の日に実施した。

尿および血清の検査項目は以下の通りである。

### 1. Cd 暴露者

- 1) 早朝尿:  $\beta_2$ -m, リゾチーム (lysozyme, LZM) およびクレアチニン (creatinine, Cre) 定量
- 2) 24時間尿: Cd, Cre, 無機リンおよび $\beta_2$ -m定量 ( $\beta_2$ -m 定量は1981~84年の調査でのみ実施した)
- 3) 血清:  $\beta_2$ -m, Cre, 尿素窒素 (urea nitrogen, UreaN) および無機リン定量
- 4) 腎機能検査: 24時間尿によるクレアチニン・クリアランス (creatinine clearance, C Cre) およびリン再吸収率 (percent tubular reabsorption of phosphorus, TRP) を算出した。1981~84年の調査では $\beta_2$ -m 再吸収率 (percent tubular reabsorption of  $\beta_2$ -m,

TR  $\beta_2$ -m) および $\beta_2$ -m 濾過値も求めた。

### 2. Cd 非暴露者

- 1) 早朝尿:  $\beta_2$ -m および LZM 定量
- 2) 血清:  $\beta_2$ -m 定量

## IV. 検査方法

$\beta_2$ -m は酵素免疫法 (enzyme immunoassay, EIA) (富士レピオ, 東京) を用いたが、Cd 暴露者の早朝尿のみは一元免疫拡散法 (single radial immunodiffusion, SRID) により測定した。LZM, Cre, UreaN, 無機リン (TRP 算出のために測定) はそれぞれリゾプレート (lysoplate) 法, Folin-Wu 法 (Jaffe 反応), ジアセチルモノオキシム (diacetylmonoxime) 法, Fiske-Subba Row 法により行った。

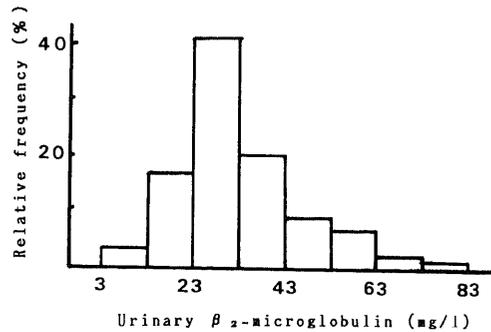


Fig. 1. Relative frequency of urinary  $\beta_2$ -microglobulin concentration in Cd-exposed subjects.

Table 1. Urinary concentration of  $\beta_2$ -microglobulin in cadmium-exposed subjects

Age group (years)	Cd-exposed subjects (mg/l)						Control ( $\mu$ g/l)					
	Female			Female			Male			Total		
	n	Mean	SD	n	Mean	SD	n	Mean	SD	n	Mean	SD
40~49	0	—	—	20	88	2.17	10	99	2.29	30	92	2.18
50~59	7	22.1	1.57	22	94	2.12	22	82	1.78	44	88	1.94
60~69	15 <sup>a</sup>	20.8	1.36	9	121	2.37	8	175	2.47	17	144	2.40
70~79	31 <sup>a</sup>	34.1**	1.50	6	85	1.40	6	130	2.46	12	105	1.98
80~89	8	29.7*	1.50	5	118	2.38	3	74	3.46	8	99	2.62
Total	61 <sup>a</sup>	28.2	1.55	62	96	2.10	49	102	2.20	111	99	2.14

$\beta_2$ -Microglobulin concentration in Cd-exposed subjects was measured by single radial immunodiffusion method and that in controls by enzyme immunoassay; Cd, Cadmium; n, Number of cases examined; Mean and SD, Geometric mean and standard deviation; a, 2, 3 and 5 males were included in these age groups, respectively; \*,  $p < 0.05$  (Compared with age group of 60~69 year by t-test); \*\*,  $P < 0.01$  (Compared with age group of 50~59, 60~69 year by t-test)

m,  $\beta_2$ -microglobulin; SRID, single radial immunodiffusion method; TR  $\beta_2$ -m, percent tubular reabsorption of  $\beta_2$ -microglobulin; TRP, percent tubular reabsorption of phosphorus; UreaN, urea nitrogen

### V. 統計的検定法

各群間の平均値の差および相関係数の有意性の検定は Student の t 検定を、データの棄却には Smirnov の棄却検定法を用い、5%以下の確率をもって有意水準とした。また検定は分布が正規型であった TRP と  $\beta_2$ -m の Cre 補正値を除き、すべて対数変換値により行った。

## 成 績

### I. 1978年(追跡開始時)の調査

#### 1. 尿中 $\beta_2$ -ミクログロブリン

図1は Cd 暴露者61名の早朝尿における  $\beta_2$ -m 濃度の分布である。最低11, 最高76mg/l で、その分布は対数正規型であった。表1には Cd 暴露者および Cd 非暴露者(A, B 地区, 計111名)の幾何平均値および標準偏差を示した。

Cd 非暴露者のレベルは低く、SRID 法では検出できないため(検出限界 3.0mg/l) EIA 法により測定した。最低25, 最高 25,400  $\mu$ g/l であったが、棄却検定により異常値とされた3名を除き 111名の幾何平均値

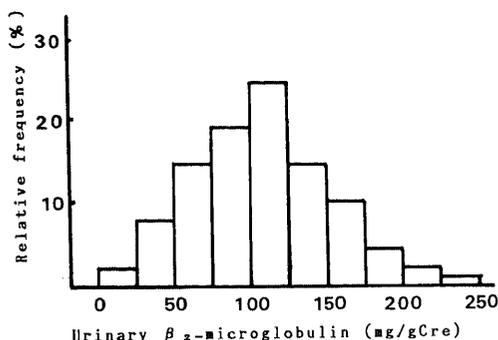


Fig. 2. Relative frequency of urinary  $\beta_2$ -microglobulin concentration per gram creatinine in Cd-exposed subjects.

を示した。60歳代では有意に ( $p < 0.05$ ) 高値を示したが、加齢によると思われる一定の傾向はみられなかった。また性差も認められなかった。男女を合わせ40歳以上の全調査者の幾何平均値は 99  $\mu$ g/l であり、2標準偏差の範囲は 22~453  $\mu$ g/l であった。

Cd 暴露者の幾何平均値は 28.2, 標準偏差は 1.55 mg/l で 2標準偏差の範囲は 11.7~67.8mg/l であった。この値は非暴露者にくらべると 1,000倍の高値である。Cd 暴露者はほとんどが女性であり、男性は5名しか含まれていないので性差をみることはできなかった。年齢階層別に見ると、70歳以上の高齢層では 50, 60歳代に比べて有意に高い値を示した ( $p < 0.05$ )。Cd 暴露者の尿  $\beta_2$ -m 濃度を Cre で補正すると、その分布は正規型となり(図2) 最低23, 最高181, 算術平均値は 97, 2標準偏差の範囲は 23~171

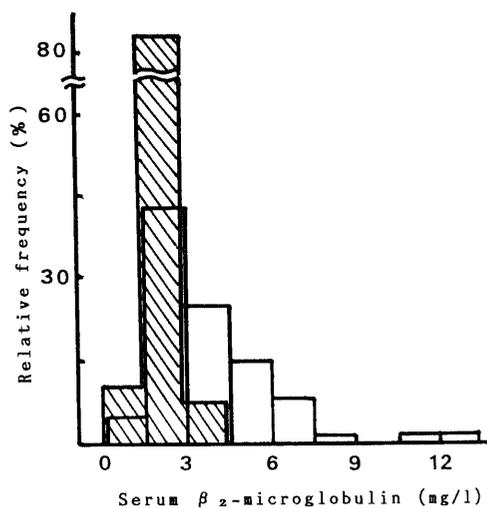


Fig. 3. Relative frequency of serum  $\beta_2$ -microglobulin concentration in Cd-exposed subjects. ▨, Control

Table 2. Serum concentration of  $\beta_2$ -microglobulin in cadmium-exposed subjects

Age group (years)	Cd-exposed subjects (mg/l)						Control (mg/l)						
	Female			Female			Male			Total			
	n	Mean	SD	n	Mean	SD	n	Mean	SD	n	Mean	SD	Range (2SD)
40~49	0	—	—	10	1.72	1.21	0	—	—	10	1.72	1.21	1.17~2.53
50~59	7	2.44	1.79	11	1.67	1.14	6	1.80	1.20	17	1.72	1.16	1.27~2.31
60~69	15*	2.71*	1.54	13	1.98	1.31	8	2.31	1.44	21	2.10	1.36	1.14~3.89
70~79	31*	3.72*	1.71	8	2.96*	1.21	4	2.46	1.16	12*	2.79	1.21	1.90~4.10
80~89	8	4.15	1.40	0	—	—	0	—	—	0	—	—	—
Total	61*	3.33	1.68	42	1.98	1.34	18	2.16	1.34	60	2.03	1.34	1.14~3.63

Cd, Cadmium: n, Number of cases examined: Mean and SD, Geometric mean and standard deviation: a, 2, 3 and 5 males were included in these age groups, respectively: \*,  $P < 0.05$  (Compared with total of control by t-test): \*,  $P < 0.05$  (Compared with age group of 50~59 year of the same column in control by t-test)

mg/gCre であった.

## 2. 血清中 $\beta_2$ -ミクログロブリン

Cd 暴露者および Cd 非暴露者 (C 地区) の血清中 $\beta_2$ -m の分布を図 3 に示した. 非暴露者では最低 1.1, 最高 4.2mg/l であるのに比して, 暴露者では最低 1.4, 最高 13.3mg/l と高値側へ広く分布し対数正規型を示した. 表 2 は Cd 暴露者および Cd 非暴露者の年齢階層別幾何平均値である. 非暴露者では男女ともに高齢層になるに従い高値を示す傾向にあり, 女性では 50 歳代に比べて 70 歳代では有意に高い値を示した ( $p < 0.05$ ). 男女間に差はみられず男女を合わせた幾何平均値と 2 標準偏差の範囲を表に示した. 40 歳以上男女全員の 2 標準偏差の範囲は 1.1~3.6mg/l であった. Cd 暴露者では非暴露者と同様に高齢層になるに従い高値を示す傾向がみられた. しかもその値を各年齢層毎に非暴露者と比較すると, 血清中 $\beta_2$ -m はどの年齢層でも Cd 暴露者が高い傾向にあり, 特に 60, 70 歳代では有意に高い ( $p < 0.05$ ) ので, 単に加齢のみによって生じた増加ではないと推定される.

血清中 $\beta_2$ -m と尿中 $\beta_2$ -m との関係を図 4 に示した. 相関係数は 0.457 ( $p < 0.001$ ) で有意な相関が認められた. 尿中 $\beta_2$ -m 濃度を Cre で補正して血清中 $\beta_2$ -m 濃度との関係を見ると, 0.589 の相関係数が得られた. 1981~84 年の調査で実施した検査では $\beta_2$ -m の糸球体濾過値 ( $\mu\text{g}/\text{min}$ ) を算出した. この値と尿中 $\beta_2$ -m 濃

度 ( $\mu\text{g}/\text{min}$ ) との間には相関係数 0.48 ( $p < 0.01$ ) の相関が認められ, 尿中 $\beta_2$ -m 濃度は血清中 $\beta_2$ -m 濃度の影響も受けていることが示唆された.

## 3. その他の臨床検査

### 1) 尿中リゾチーム

Cd 非暴露者の尿中 LZM はリゾプレート法ではほとんどが不検出 (0.5mg/l 以下) であり, 検出されたも

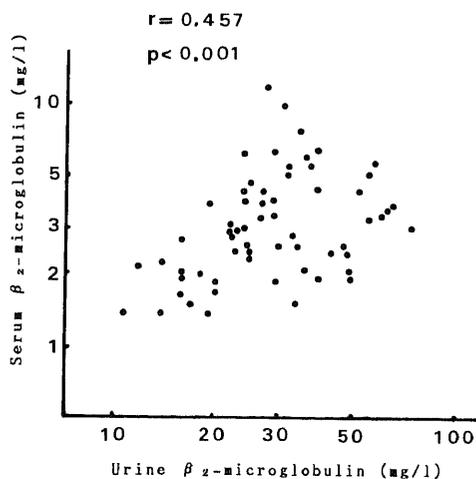


Fig. 4. Relationship of  $\beta_2$ -microglobulin concentrations between serum and urine in Cd-exposed subjects.

Table 3. Urinary and serum concentrations of  $\beta_2$ -microglobulin in cadmium-exposed subjects and their clinical data for the renal function

Year of measurement		1978		1980		1981~84		1987	
		n=61		n=58		n=32		n=14	
Item		Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
$\beta_2$ -Microglobulin									
Urine	mg/l	28.2	1.55	42.2	1.65	37.2	1.47	34.4	1.43
Serum	mg/l	3.3	1.68	4.1	1.72	4.1	1.82	6.1***	1.79
Clinical data									
Urine lysozyme	mg/l	17.6	2.16	26.1	2.04	39.4	2.15	32.6*	2.67
Serum creatinine	mg/dl	1.8	1.57	2.0	1.67	2.2	1.53	2.8*	1.99
Serum urea nitrogen	mg/dl	23.8	1.35	29.1	1.48	23.8	1.52	35.0*	1.91
Creatinine clearance	ml/min	24.1	1.80	22.0	1.84	18.7	1.87	12.9**	2.14
Percent tubular reabsorption of phosphorus	%	45.6	20.8	52.2	18.0	41.9	19.9	43.2	21.5
Urine cadmium	$\mu\text{g}/\text{l}$	7.3	1.68	7.0	1.61	5.8	1.82	3.4**	2.56

Mean and SD, Geometric mean and standard deviation (except for TRP): Mean and SD of TRP, Mathematic mean and standard deviation: n, Number of cases examined: \*, \*\* and \*\*\*,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  and  $p < 0.001$ , respectively (Compared with data examined in 1978 by t-test)

のは僅か3.5% (4/114) であった。しかも検出された4名の幾何平均値は1.1mg/lで極めて低い値である。Cd 暴露者の LZM は全例の尿中に検出され、幾何平均値は17.6 (最低2.0, 最高58.0) mg/l であり (表3), Cd 非暴露者に比して高い値を示していた。また尿中の  $\beta_2$ -m と LZM の間には有意な相関関係が認められた ( $r=0.647$ ,  $p<0.001$ ) (表4)。LZM は  $\beta_2$ -m と同様に低分子量の蛋白質であり、この両者は Cd 暴露者の尿中で共に増加していた。

#### 2) 血清中クレアチニンおよび尿素窒素

Cd 暴露者の血清中 Cre は最低0.7, 最高4.8mg/dl で高値側へ広く分布していた。幾何平均値は1.8mg/dl と高く、標準偏差は1.57mg/dl であった (表3)。また2.0mg/dl 以上の異常者は43% (26/61) の高率を占めていた。血清中の  $\beta_2$ m と Cre との相関係数は0.866 ( $p<0.001$ ) であり有意な相関が認められた (表4, 図5)。

血清中の UreaN でも Cd 暴露者には異常者が多く、最低8.2, 最高55.8mg/dl で Cre と同様に高値側へ広く分布していた。幾何平均値は23.8mg/dl, 標準偏差は1.35mg/dl で、25mg/dl 以上を異常値とすると異常者の出現率は41% (25/61) であった。血清中の  $\beta_2$ -m と UreaN との間には相関係数0.637 ( $p<0.01$ ) の有意な相関が認められた。血清中の Cre と UreaN との間にも相関が認められ ( $r=0.691$ ,  $p<0.001$ )、血清中  $\beta_2$ -m は糸球体機能の指標である血清中の Cre や UreaN とよく合致した。

#### 3) クレアチニン・クリアランス

Cd 暴露者の C Cre は最低6.2, 最高64.7ml/min の間に分布し、幾何平均値は24.1 (標準偏差0.8) ml/min で、全体に低い値を示した。上述の血清中 Cre,

UreaN との相関係数はそれぞれ-0.817, -0.593で負の相関 ( $p<0.001$ ) が認められた。図6に血清中  $\beta_2$ -m と C Cre との関係を示した。相関係数は-0.724 ( $p<0.001$ ) と負の相関が認められた。血清中  $\beta_2$ -m は前述のとおり、血清中 Cre, UreaN とも相関関係があり、血清中  $\beta_2$ -m の増加は糸球体機能の低下と関連のあることがわかった。また血清中  $\beta_2$ -m と C Cre との間には、 $\log y = 2.63 - 0.82 \cdot \log x$  ( $x$ =血清  $\beta_2$ -m,  $y$ =C Cre) の回帰式で示される関係が得られた。一方尿中  $\beta_2$ m との間には相関は認められなかった。

#### 4) リン再吸収率

Cd 暴露者の TRP は正規型の分布を示し、その算

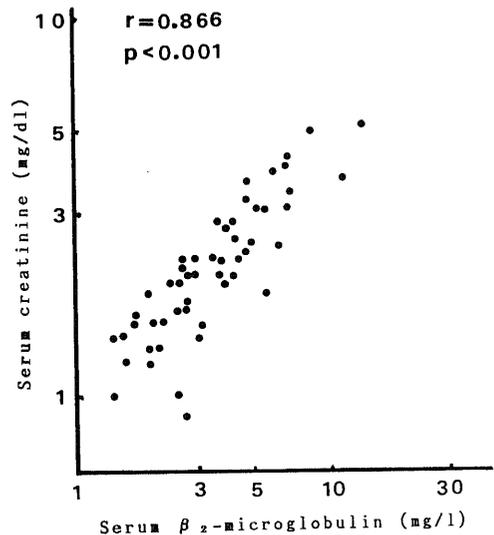


Fig. 5. Relationship between serum creatinine and  $\beta_2$ -microglobulin in Cd-exposed subjects.

Table 4. Correlation between  $\beta_2$ -microglobulin concentration and other parameters of renal function in cadmium-exposed subjects

Parameter	$\beta_2$ -Microglobulin	
	Urine	Serum
Serum $\beta_2$ -microglobulin	0.457***	—
Urine lysozyme	0.647***	0.655***
Serum creatinine	0.336**	0.866***
Serum urea nitrogen	0.153	0.637***
Creatinine clearance	-0.179	-0.724***
Percent tubular reabsorption of phosphorus	-0.046	-0.570***

Correlation coefficient of the data examined in 1978: Number of cases examined, 61: \*\* and \*\*\*,  $p<0.01$  and  $p<0.001$ , respectively, by t-test

術平均値は45.6 (最低8, 最高85) %と低値を示した. 尿中 $\beta_2$ -m 濃度との間に相関は認められなかったが,  $\beta_2$ -m 濃度を Cre 補正值とすると TRP との間には負の相関関係 ( $r = -0.412$ ,  $p < 0.001$ ) が認められた. また1981~84年の調査では TR  $\beta_2$ -m を測定したが (幾何平均値76.6, 最低18.7, 最高99.9%), これと TRP との間には有意な相関関係 ( $r = 0.622$ ,  $p < 0.001$ ) が認められ (図7), 尿中 $\beta_2$ -m の増加は尿細管機能の低下によるものであることが確認された.

一方 TRP は血清中 $\beta_2$ -m との間にも相関 ( $r = -0.570$ ,  $p < 0.001$ ) が認められ,  $\beta_2$ -m は尿中, 血清中ともに TRP と関連のあることがわかった.

### 3. 尿中カドミウム

Cd の暴露指標とされている尿中 Cd 濃度について Cd 暴露者の24時間尿の値は最低 2.8, 最高 26.2  $\mu\text{g/l}$  で Cd 汚染地域におけるスクリーニングレベルの30  $\mu\text{g/l}^{10}$  を超えるものは1名も存在しなかった. 幾何平均値は7.3, 標準偏差1.68 (最低2.8, 最高26.2)  $\mu\text{g/l}$  であった. しかし著者ら<sup>10</sup>が県内非暴露者の女性144名について測定した値は, 幾何平均値3.7, 2標準偏差の範囲は0.9~15.0 (男性は115名についてそれぞれ38, 1.0~14.0)  $\mu\text{g/l}$  であり, この値に比べて有意ではないが全般的に高い傾向にある. また24時間の排せつ量を算出したところ, その幾何平均値は12.8, 標準偏差1.7, 最低4.7, 最高54.0  $\mu\text{g}$  であった. 尿中の $\beta_2$ -m と Cd 濃度との間に相関は認められなかった.

## II. 追跡調査

Cd 暴露者の追跡調査は隔年毎の検査を原則としたが, 1981~84年では4年を1サイクルとして検査を行った. 対象者が年々減少したために1987年まで継続

が可能であったものは僅か14名のみであった. 追跡開始時 (1978年) の成績から尿中 $\beta_2$ -m 濃度は尿細管機能と, また血清中 $\beta_2$ -m は糸球体機能と関連のあることが明らかになったので追跡調査はそれぞれの腎機能の面から解析を行った.

### 1. 尿中 $\beta_2$ -ミクログロブリン濃度と尿細管機能の推移

表3に各調査時期における成績の平均値を示した. 尿中 $\beta_2$ -m 濃度は追跡開始時既に高値を示しており, その後著しい変化はみられなかった. LZM は1978年に高値であったにもかかわらず, その後も徐々に増加し1987年には1978年に比して有意な増加を示していた. しかし TRP では $\beta_2$ -m と同様にその変化はほとんどなく, 追跡開始時にみられた尿細管機能障害がさらに進行したとする論拠は得られなかった.

### 2. 血清中 $\beta_2$ -ミクログロブリン濃度と糸球体機能の推移

Cd 暴露者の血清中 $\beta_2$ -m は1978年には既に幾何平均値は3.3  $\text{mg/l}$  で, Cd 非暴露者に比べて高い傾向がみられた. その後も順次増加し1987年には幾何平均値は6.1 (最高15.4)  $\text{mg/l}$  となった. この値は1978年に比べて統計的にも有意な増加である ( $p < 0.001$ ).

糸球体機能の指標となる血清 Cre, UreaN, でも Cd 暴露者は増加傾向を示し, 1978年に比べ1987年では有意に増加していた ( $p < 0.05$ ) (表3). C Cre は徐々に低下し, 1987年には有意に低値を示し ( $p < 0.001$ ),

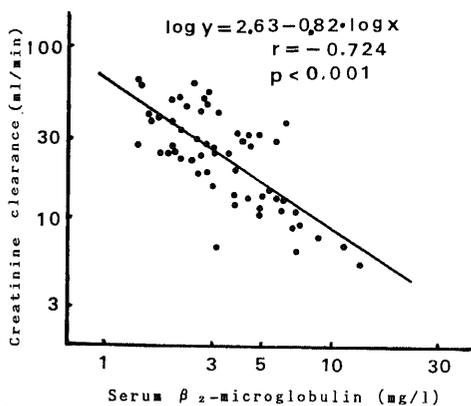


Fig. 6. Relationship between creatinine clearance and serum  $\beta_2$ -microglobulin in Cd-exposed subjects.

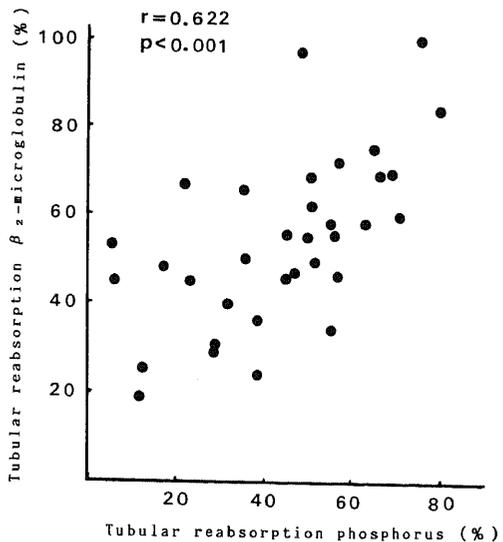


Fig. 7. Relationship of percent tubular reabsorption between  $\beta_2$ -microglobulin and phosphorus in Cd-exposed subjects.

糸球体機能低下は調査開始時よりもさらに進行していることが判明した。

### 3. 個人別の追跡調査

調査対象者は回を重ねるごとに激減しているため平均値のみで調査成績を評価することはできない。そこで最後まで追跡可能であった Cd 暴露者14名個々の経年変化を調べた。図8は血清と尿中の  $\beta_2$ -m 濃度の推

移を示したものである。尿中  $\beta_2$ -m 濃度の経年変化は少なく、尿中  $\beta_2$ -m 濃度が年数の経過に伴って増加していると認められたものは ( $p < 0.05$ ) 2名のみであった。一方血清中  $\beta_2$ -m 濃度では経年とともに増加し、 $\beta_2$ -m 濃度と経過年数の間には14名全員が正の相関を認めた (14名中  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ はそれぞれ6, 6, 2名)。

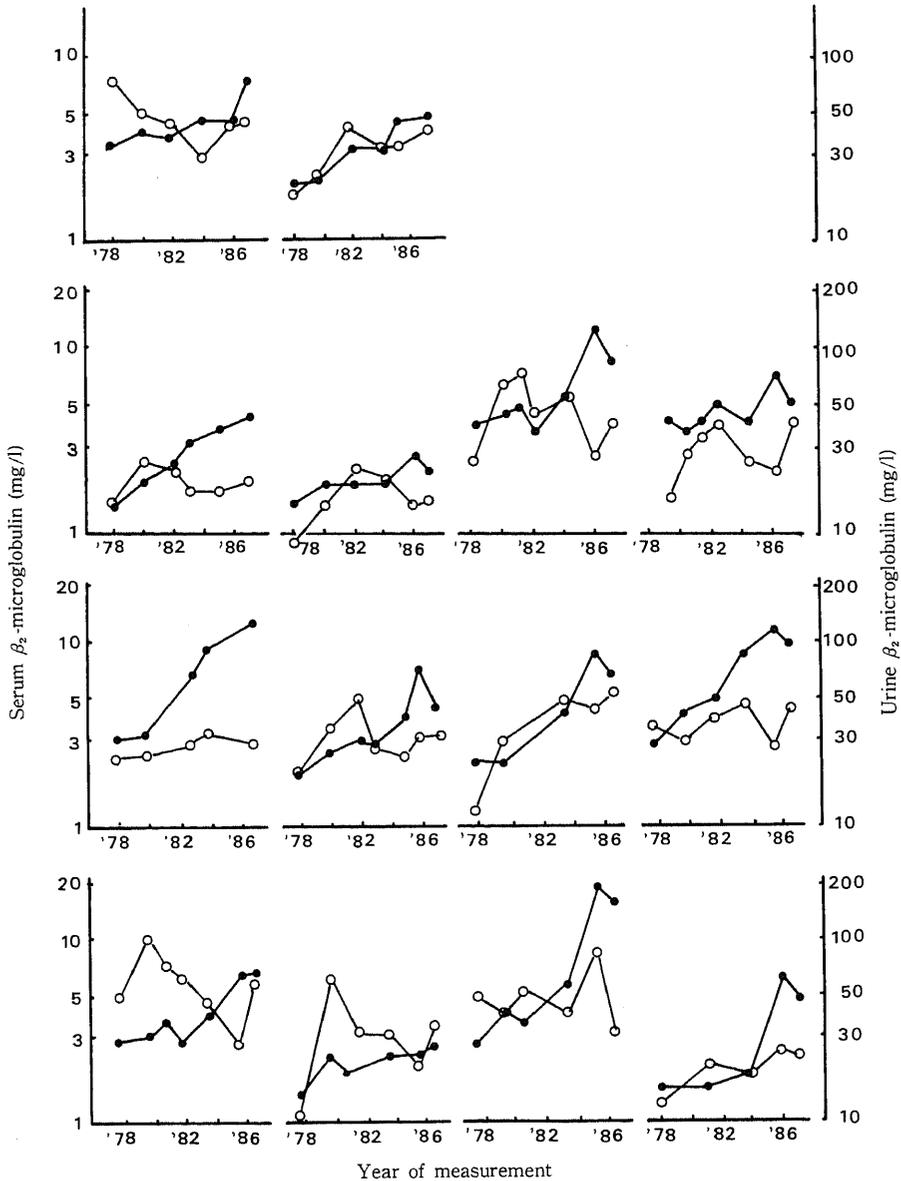


Fig. 8. Change in urine and serum  $\beta_2$ -microglobulin concentrations of 14 individuals in Cd-exposed subjects during the period from 1978 to 1987: ○, Urine  $\beta_2$ -microglobulin; ●, Serum  $\beta_2$ -microglobulin

## 4. クレアチニン・クリアランスの推移

図9にCd暴露者14名個々のC Creについて10年間の推移を示した。実測値として示されているものが24時間尿を用いて測定した内因性C Creの値である。14名ともに低下傾向を示し、1987年の幾何平均値は1978年と比べて有意に低い値を示した ( $p < 0.01$ )。

また血清中の  $\beta_2$ -m, Cre は C Cre との間に高い相関係数を有するので、この両者の関係から2種の C

Cre 推定値を算出した。その一つは前述した血清中の  $\beta_2$ -m と C Cre との回帰式(図6)で得られた係数を用いて式  $\log y = 2.63 - 0.82 \cdot \log x$  [ $x =$ 血清  $\beta_2$ -m,  $y =$ 血清  $\beta_2$ -m より算出された C Cre, 以下 C Cre ( $\beta_2$ -m) とする] より算出し、他の一つは血清中の Cre と C Cre との関係(図10) から式  $\log y = 1.66 - 1.07 \cdot \log x$  [ $x =$ 血清 Cre,  $y =$ 血清 Cre より算出された C Cre, 以下 C Cre (Cre) とする] から算出した。それぞれの

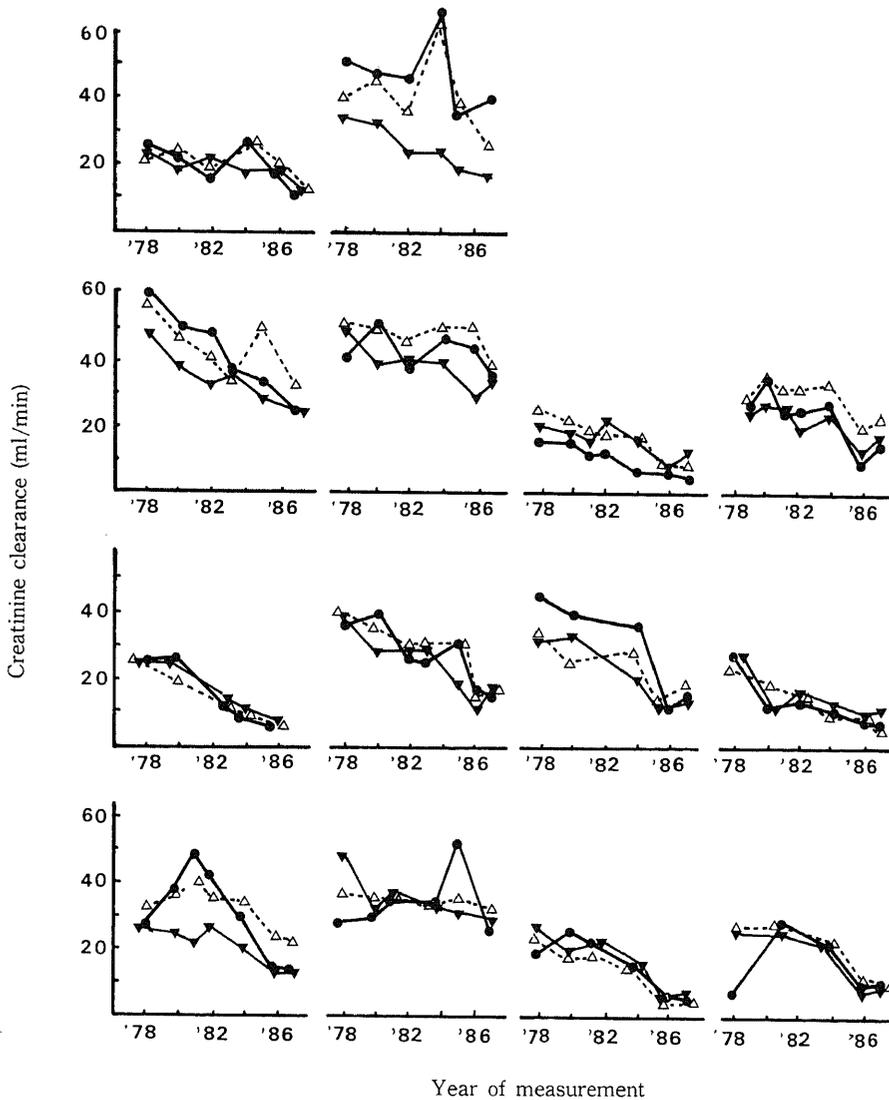


Fig. 9. Comparison of creatinine clearance between measured values and those calculated by serum  $\beta_2$ -microglobulin or creatinine concentration of 14 individuals in Cd-exposed subjects. ●, Actual values: ▼, Calculated values based on  $\beta_2$ -microglobulin: △, Calculated values based on creatinine

C Cre の推定値を図9の実測値に併記し比較したところ、実測値と推定値の傾向はよく合致しており、血清中の $\beta_2$ -m や Cre から C Cre を推定することは可能であると考えられる。

Cd 暴露者の調査において C Cre が取り入れられるようになったのは1978年からで、それ以前のものにつ

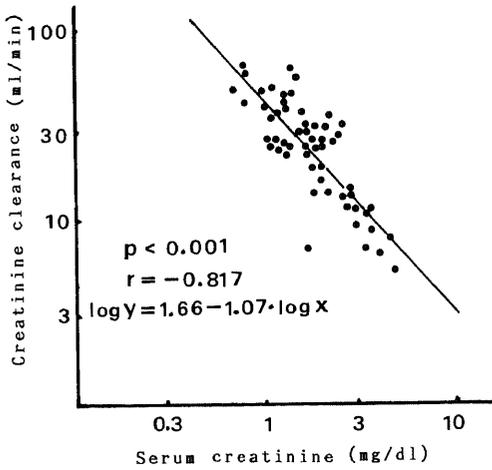


Fig. 10. Relationship between creatinine clearance and serum creatinine in Cd-exposed subjects.

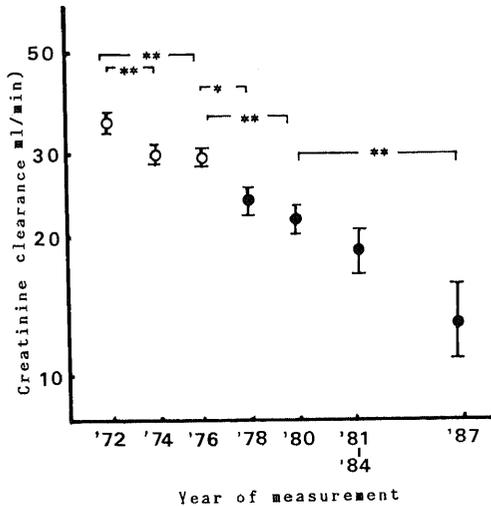


Fig. 11. Change in creatinine clearance of Cd-exposed subjects during the period from 1972 to 1987.  $\bar{x}$ , Geometric mean and its standard error of actual value;  $\bar{x}$ , Geometric mean and its standard error of calculated value based on serum  $\beta_2$ -microglobulin concentration: \*, \*\*,  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively, by t-test.

いて糸球体機能に関するデータは少ない。そこで凍結保存されていた血清を用い $\beta_2$ -m と Cre を測定し(測定: 1980年), 1972年からの糸球体機能について推定を試みた。1978年の調査対象者61名のうち試料が保存されていて検査が可能なのは58名であった。この58名の1972年における血清中 $\beta_2$ -m濃度は幾何平均値2.2, 標準偏差1.40, 最低1.2, 最高5.8mg/lであり、血清中 $\beta_2$ -m の値から求めた C Cre ( $\beta_2$ -m) の幾何平均値は

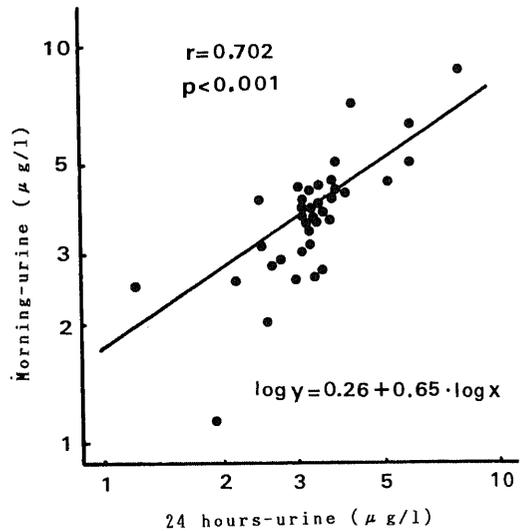


Fig. 12. Relationship of  $\beta_2$ -microglobulin concentrations between morning-urine and 24 hours-urine in Cd-exposed subjects.

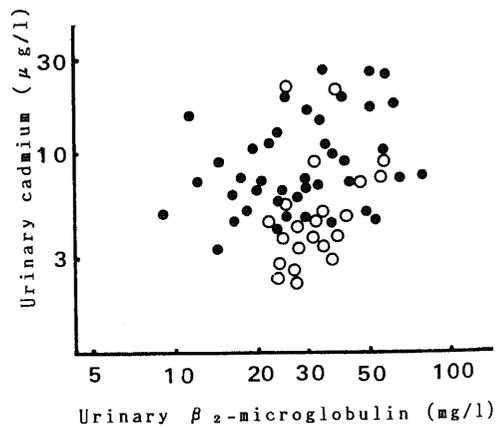


Fig. 13. Relationship of urinary concentration between Cd and  $\beta_2$ -microglobulin in Cd-exposed subjects.  $\bullet$ , Creatinine clearance of 21ml/min or higher ( $r = 0.312$ ,  $p < 0.05$ , by t-test);  $\circ$ , Creatinine clearance of 20ml/min or lower.

34.8, 標準誤差は1.0ml/minであった。1972年の血清中 Cre の幾何平均値は1.4(標準偏差1.33, 最低0.8, 最高2.7) mg/l であり, この Cre から求めた C Cre (Cre) の幾何平均値は31.6, 標準誤差は1.0ml/minであった。血清中 $\beta_2$ -m および Cre の値から求めた2種の C Cre 推定値はよく合致していた ( $p < 0.001$ )。図11は血清中の $\beta_2$ -m より求めた C Cre ( $\beta_2$ -m) 推定値(1972~76年)と C Cre 実測値(1978年以降)による C Cre の幾何平均値および標準誤差である。経年にもなって低下しており, 1972年から糸球体機能は低下傾向にあったことが判明した。

### 考 察

尿中成分の測定は24時間尿を用いて1日当たりの排せつ量を求めることが望ましいが, 集団検診では蓄尿の難しさや蓄尿中の変性等からスポット尿を用いる場合が多い。その場合は尿濃度を補正するため Cre による補正值が用いられている。しかし年齢や労作の程度が異なる等で Cre 排せつ量に違いのあるものを Cre 補正值で比較することは適当ではない。Cd 暴露者の Cre は全体的に低く, Cre 補正值は実際の排せつ量より高く評価される危険性がある。そのためスポット尿は早朝尿を用い, 未補正の値を使用してきた。図12は EIA 法で測定した24時間尿と早朝尿の $\beta_2$ -m を比較したものである。両者の間には,  $\log y = 0.26 + 0.65 \cdot \log x$  ( $x = 24$ 時間尿の $\beta_2$ -m 濃度,  $y =$ 早朝尿の $\beta_2$ -m 濃度,  $r = 0.801$ ) の回帰式で示される関係にあり早朝尿はやや高い値を示すものの24時間尿に近い値であり充分利用しうるものと思われる。

Cd 暴露者の尿中 $\beta_2$ -m に関する研究は多く, 環境汚染による地域住民についての報告も多い<sup>20)~24)</sup>。しかし Cd 暴露による異常者のほとんどが高齢であるために加齢の影響を無視することはできない。尿中 $\beta_2$ -m については, 加齢により増加する傾向があり, 特に70~80歳代の高齢者にその傾向が強い。ただしその量は健康成人の正常上限(0.2mg/日)をやや超えた程度である, との報告<sup>20)</sup>がある。今回の対照者は60歳代が最も高値を示していた。しかし40歳以上の中高齢者を対象とした調査であったためか加齢によると思われる一定の傾向はみられず, 95%信頼限界の上限は $453 \mu\text{g/l}$ であった。これに対して Cd 暴露者の尿中 $\beta_2$ -m は対照者の1,000倍にも達しており, LZM も高濃度で検出された。また TRP も低下しており, 調査開始当時既に尿細管機能低下が顕著であったことが確認された。しかも尿中 $\beta_2$ -m は高齢者ほど高値を示しており, 加齢とともに尿細管障害の程度は更に進行するのではない

かと心配された。しかし10年間の追跡の結果では, 尿中 LZM 濃度は増加したものの,  $\beta_2$ -m や TRP は調査開始当時とほとんど代わらず, 尿細管機能低下の増悪は認められなかった。

Cd 暴露に起因して尿中に $\beta_2$ -m が増加することは既に認められているにもかかわらず, 本調査の Cd 暴露者では尿中の $\beta_2$ -m と Cd の間に相関は認められなかった。これまでの調査で神通川流域における Cd 汚染地域住民の尿中 Cd 濃度は, C Cre が低下しているものでは低く, 特に C Cre が20ml/min 以下のものではそれ以上のものより明らかに低いことが判明している<sup>20)</sup>。そこで C Cre が20ml/min 以下を除いて尿中 $\beta_2$ -m と Cd の関係のみたところ, 相関係数は0.312 ( $p < 0.05$ ) で有意な相関が認められた(図13)。

1978年の調査から Cd 暴露者の血清中 $\beta_2$ -m は高値を示すものが多いことが判明し, その後追跡調査の結果さらに漸増の傾向にあることがわかった。また血清中 $\beta_2$ -m の増加は血清中の Cre や UreaN の増加を伴っており C Cre の低下ともよく合致していた。このことは血清中 $\beta_2$ -m の増加は糸球体機能の低下によるものであることを示唆する。

著者ら<sup>20)</sup>は神通川流域の Cd 暴露者について尿細管機能が低下したものでは糸球体機能も低下していると報告した。Cd 暴露による腎障害は近位尿細管機能の異常とされており<sup>10)~13)</sup>, 糸球体機能の障害には触れていない。また剖検による病理学的な研究<sup>25)</sup>において糸球体の本質的な障害があったとの報告もなされていない。篠田(金医大, 腎内)の私信によれば, 神通川流域の Cd 暴露者にみられる糸球体機能の低下は必ずしも糸球体の器質的障害に基づくものではなく, 尿細管機能の低下に対する機能的調節の結果として現れることもあり得ると述べている。

原田ら<sup>10)</sup>は Cd 作業員について, 作業に従事した後2~4か月後には一時的に血清中 $\beta_2$ -m が増加したと報告している。本調査における Cd 暴露者の場合は Cd 暴露による直接的な誘導があったとは考えられない。増加の機序が明らかではないので全面的に否定することはできないが, 現在新たな Cd 暴露がないこと, 生体に影響を与えたと思われる高度の Cd 暴露を受けてから, かなりの年月を経ていることなどを考慮すれば, 血清中 $\beta_2$ -m の増加は糸球体機能低下に基づく排せつ抑制によるものと考えるのが妥当であろう。

血清と尿中の $\beta_2$ -m の間には有意な相関が認められ, 血清中に高いものでは尿中にも高いことがわかった。 $\beta_2$ -m の糸球体濾過値と尿中濃度の間にも有意な

相関が認められた。血清濃度が再吸収濃度の限界を超えるとオーバーフローによって尿中排せつが増加する。Uthmann & Geisen<sup>29)</sup>は尿細管で完全に再吸収される範囲の最大血清濃度は0.7~0.8mg/dlであると述べており、また金井ら<sup>30)</sup>は4~5mg/lが限界であろうと報告している。Cd暴露者の血清中のレベルはこれらの閾値から推定しても充分尿中排せつ量に影響を与え得るものであり、さらに尿細管再吸収機能の低下したCd暴露者では血清中に増加した $\beta_2$ -mの影響はもろに尿中濃度に現れることが推察される。

C Creの推定に用いた血清中の $\beta_2$ -mおよびCreの値は-20°Cで凍結保存されていた血清(保存期間の最長のもは8年間)について測定したものである。両者とも比較的安定で保存が可能である<sup>31,32)</sup>。C Creを集団検診の形で実施しているので精度の高い値を得ることは難しい。血清中の $\beta_2$ -mやCre濃度から求めたC Creを一時点の値としてではなく経年変化の推移としてみるならば実測値とはよく合致しており、血清中の $\beta_2$ -mあるいはCre濃度からの推定値はともに利用し得るものであると思われる。

C Creの実測値と血清中の $\beta_2$ -m, Cre濃度から算出した推測値を用いてCd暴露者の過去15年間の糸球体機能について推定を試みた。Cd暴露者のC Creは経年にもなって低下していることが明らかになった。C Creの低下が先に述べたように尿細管機能の低下に由来するものであるならば、TRPもまたC Creとともに低下したものではないかと推定することが可能である。

## 結 論

富山県神通川流域に居住しCd暴露を受け、腎尿細管障害のみられるCd暴露者の尿および血清中 $\beta_2$ -mを10年間追跡し、腎機能の面から検討した結果、次のことが明らかになった。

### I. $\beta_2$ -ミクログロブリンについて

#### 1. 尿中 $\beta_2$ -ミクログロブリン

1) 尿中 $\beta_2$ -mはCd非暴露者の1,000倍の高濃度であった。

2) 尿細管機能の指標とされているリゾチーム、リン再吸収率や $\beta_2$ -m再吸収率等との間に有意の相関が認められた。

3) 尿中 $\beta_2$ -mは血清中 $\beta_2$ -m濃度、 $\beta_2$ -m濾過率との間にいずれも相関が認められた。

#### 2. 血清中 $\beta_2$ -ミクログロブリン

1) 血清中 $\beta_2$ -mは血清中Cre, UreaNとの間に正の相関、C Creとの間に負の相関が認められた。

2) 血清中 $\beta_2$ -mの増減は血清中Cre, UreaNおよびC Creの経年変化と一致していた。

以上のことからCd暴露者の $\beta_2$ -mは尿中では尿細管再吸収機能の低下により増加したものであり、さらに血清中に増加した $\beta_2$ -m濃度の影響も受けているものと推定される。また血清中の $\beta_2$ -mは糸球体機能の低下により増加したものであることが判明した。

## II. 腎機能の経年変化について

Cd暴露者の腎機能は1972年以来糸球体機能、尿細管機能ともに低下してきたと推定された。しかし1978年以後の10年間では糸球体機能低下は著明に進行したが、尿細管機能はほとんど変化していなかった。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、終始御指導、御校閲を賜りました恩師岡田晃教授に深甚なる謝意を表します。また、御指導いただきました富山県衛生研究所佐藤茂秋博士、児玉博英博士に深く感謝いたします。最後に御協力をいただいた同所環境保健部の皆様にお礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Peterson, P. A., Cunningham, B. A., Berggård, I. & Edelman, G.:  $\beta_2$ -microglobulin—a free immunoglobulin domain. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **69**, 1697-1701 (1972).
- 2) Brauman, H., Etienne, J., Dupont, E., Geertruyden, J. V., Vereerstraeten, P. & Toussaint, C.: Plasma  $\beta_2$ -microglobulin in kidney transplant patients. Acta Clin. Belg., **31** (Suppl.8), 38-43 (1976).
- 3) 下条信雄, 中恵一:  $\beta_2$ -マイクログロブリン. 臨床検査, **32**, 857-862 (1988).
- 4) Berggård, I. & Bearn, A. C.: Isolation and properties of a low molecular weight  $\beta_2$ -globulin occurring in human biological fluids. J. Biol. Chem., **243**, 4095-4103 (1968).
- 5) Ogawa, H., Saito, A. & Hirabayashi, N.: Amyloid deposition in systemic organs in long-term hemodialysis patients. Clin. Nephrol., **28**, 199-204 (1987).
- 6) 地曳和子, 出村博, 福永隆幸, 山中優和子, 星野優子, 出村黎子: 悪性腫瘍における $\beta_2$ -microglobulinについての検討. 最新医学, **35**, 819-825 (1980).
- 7) 金衛仁, 河合忠:  $\beta_2$ -microglobulin 測定の臨床的応用に関する研究. III. 各種免疫疾患における血清 $\beta_2$ -microglobulinの動態. 臨床病理, **24**, 681-687 (1976).

- 8) Hall, P. W. & Vasiljević, M.: Beta<sub>2</sub>-microglobulin excretion as an index of renal tubular disorders with special reference to endemic Balkan nephropathy. *J. Lab. Clin. Med.*, **81**, 897-904 (1973).
- 9) Evrin, P.-E. & Wibell, L.: The serum levels and urinary excretion of  $\beta_2$ -microglobulin in apparently healthy subjects. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **29**, 69-74 (1972).
- 10) Kjellström, T., Elinder, C.-G. & Friberg, L.: Conceptual problems in establishing the critical concentration of cadmium in human kidney cortex. *Environ. Res.*, **33**, 284-295 (1984).
- 11) Lauwerys, R. R., Bernard, A., Roels, H. A., Buchet, J.-P. & Viau, C.: Characterization of cadmium proteinuria in man and rat. *Environ. Health Perspect.*, **54**, 147-152 (1984).
- 12) Shiroishi, K., Kjellström, T., Kubota, K., Evrin, P.-E. & Anayama, M., Vesterberg, O., Shimada, T., Piscator, M., Iwata, T. & Nishino, H.: Urine analysis for detection of cadmium-induced renal changes, with special reference to  $\beta_2$ -microglobulin. *Environ. Res.*, **13**, 407-424 (1977).
- 13) Peterson, P. A. Evrin, P.-E. & Berggård, I.: Differentiation of glomerular, tubular, and normal proteinuria: Determinations of urinary excretion of  $\beta_2$ -microglobulin, albumin, and total protein. *J. Clin. Invest.*, **48**, 1189-1198 (1969).
- 14) 環境庁企画調整局環境保健部: カドミウム環境汚染地域住民健康調査方式. カドミウムによる環境汚染地域住民健康調査方式関係資料, 第1版, 5-6頁, 環境庁企画調整局環境保健部, 東京, 1976.
- 15) 原田章, 渋谷保之, 広田昌利, 河野公一: カドミウム作業に従事することによって起こる血清中, 尿中 $\beta_2$ -microglobulin 量の増加について. 環境保健レポート, **47**, 183-193 (1981).
- 16) 小野すみ子, 桜井治彦, 細田加那江, 大前和幸: 女子カドミウム作業者の早期健康影響. 産業医学, **30**, 402-403 (1988).
- 17) 金井正光, 百瀬正, 相沢孝夫, 奥平貞英, 本間達二, 荻野昇: イタイイタイ病患者とその家族における尿中および血中 $\beta_2$ -microglobulin 測定の意味について. 最新医学, **31**, 1793-1799 (1976).
- 18) 厚生省環境衛生局公害部公害課長: 「カドミウム環境汚染暫定対策要領」の一部(住民健康調査方式)改正について. カドミウムによる環境汚染地域住民健康調査方式関係資料, 第1版, 121-123頁, 環境庁企画調整局環境保健部, 東京, 1976.
- 19) 健名智子, 新村哲夫, 城石哲二, 中崎美峰子, 城石和子: 富山県における一般住民の尿中重金属濃度について(その7). 富山衛研年報, **9**, 187-192 (1986).
- 20) Kjellström, T., Shiroishi, K. & Evrin, P.-E.: Urinary  $\beta_2$ -microglobulin excretion among people exposed to cadmium in the general environment. *Environ. Res.*, **13**, 318-344 (1977).
- 21) Nomiya, K., Yotoriyama, M. & Nomiya, H.: Dose effect relationship between cadmium and  $\beta_2$ -microglobulin in the urine of inhabitants of cadmium-polluted areas (Japan). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **12**, 147-150 (1983).
- 22) 杉平直子, 斎藤寛: カドミウム汚染地域住民における N-アセチル- $\beta$ -D-グルコサミニダーゼと $\beta_2$ -ミクログロブリンの尿中排泄. 日衛誌, **41**, 665-671 (1986).
- 23) 窪田裕子: カドミウム汚染地域住民の腎障害に関する研究(第1報) 5種類の分子量の異なる血漿由来蛋白の定量にもとづく尿中蛋白排泄パターン分類の試み. 日衛誌, **41**, 539-549 (1986).
- 24) Kido, T., Honda, T., Tsuritani, I., Yamaya, H., Ishizaki, M., Yamada, Y. & Nogawa, K.: Progress of renal dysfunction in inhabitants environmentally exposed to cadmium. *Arch. Environ. Health*, **43**, 213-217 (1988).
- 25) 原田章, 石本三男, 野見山一生, 斎藤寛, 原田孝司, 柴崎敏昭: 腎尿細管機能異常に関する臨床医学的研究. 環境保健レポート, **56**, 14-33 (1989).
- 26) 城石和子, 岩田隆: イタイイタイ病発生地域住民の尿中カドミウム濃度に関する検討. 富山衛研年報, **4**, 118-120 (1981).
- 27) 城石和子, 庄司俊雄, 中田仁三, 新村哲夫, 渡辺正男, 菅野利克, 永原良美: イタイイタイ病発生地域住民の腎機能検査について. 富山衛研年報, **2**, 108-112 (1979).
- 28) 梶川欽一郎, 綿貫勤, 北川正信, 竹林茂夫, 武川昭男, 町並陸生, 宮崎吉平, 葛原由章, 喜多村正次, 住野公昭, 箕輪真澄, 石田陽一: 重金属の人体影響に関する病理組織学的研究. 環境保健レポート, **56**, 39-49 (1989).
- 29) Uthmann, U. & Geisen, H. P.: Beta-2-Mikroglobulin. *Dtsch. Med. Wochenschr.*, **106**,

782-786 (1981).

30) 金井正光, 百瀬正, 相沢孝夫, 本間達二: 低分子血漿蛋白 ( $\beta_2$ -microglobulin と Retinol-binding protein) の尿細管再吸収閾値について. 医学のあゆみ, 104, 372-376 (1978).

31) 城石和子, 松永明信, 渡辺正男: 尿中  $\beta_2$ -ミクロ

グロブリンの保存による影響. 富山衛研年報, 1, 198-202 (1978).

32) 佐々木匡秀, 上田尚紀, 北村元仕, 中山年正: クレアチン・クレアチニン. 人体成分のサンプリングー血液一, 第1版, 97-103頁, 講談社, 東京, 1972.

**A Follow-up Study on Urinary and Serum  $\beta_2$ -Microglobulin and Renal Function in Subjects Exposed to Cadmium** Kazuko Shiroishi, Department of Public Health, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med. Soc., 98, 1168—1180 (1989)

**Key words**  $\beta_2$ -microglobulin, renal dysfunction, cadmium, low molecular weight protein

#### Abstract

The renal function of the inhabitants in the basin of the Jinzu River, Toyama Prefecture, who had been exposed to cadmium(Cd) and showed renal tubular dysfunction, was followed up for 10 years between 1978 and 1987 with special reference to urinary and serum  $\beta_2$ -microglobulin( $\beta_2$ -m) levels. The urinary concentration of  $\beta_2$ -m of Cd-exposed subjects was found to be 1,000 times higher than that of those who had not been exposed to Cd. The urinary  $\beta_2$ -m concentration in Cd-exposed subjects was significantly correlated with the urinary lysozyme concentration and tubular reabsorptions of phosphorus and  $\beta_2$ -m, and thus the increased urinary concentration of  $\beta_2$ -m in Cd-exposed subjects was concluded to be due to renal tubular dysfunction. The urinary  $\beta_2$ -m concentration was also correlated with that of serum  $\beta_2$ -m. The latter was positively correlated with serum creatinine or urea nitrogen concentration and negatively correlated with creatinine clearance. These findings suggested that renal glomerular dysfunction was involved in the increase of serum  $\beta_2$ -m concentration in Cd-exposed subjects. Both renal glomerular and tubular functions in Cd-exposed subjects were supposed to have declined in this follow-up period, compared to those in 1972. The glomerular dysfunction in Cd-exposed subjects has progressively declined in these 10 years while tubular function has remained almost unchanged.