

カドミウムのラットの腎及び骨に及ぼす影響： 光顕的及び電顕的研究

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	http://hdl.handle.net/2297/8730

カドミウムのラットの腎及び骨に及ぼす影響 (光顕的及び電顕的研究)

金沢大学医学部病理学第一講座(主任: 梶川欽一郎教授)

黒 田 邦 彦

(昭和53年6月7日受付)

近年カドミウム(Cd)の人体に及ぼす影響が注目されている。そのきっかけとなったのは富山県神通川流域のCd汚染地区における「イタイイタイ病」(「イ病」)の発生である。「イ病」は骨軟化症を主病変とする疾患であるが、蛋白尿、糖尿、アミノ酸尿を伴う尿細管障害がみられることから、「イ病」はCdによる尿細管障害に続発した成人型Fanconi症候群であるとう見解が提唱された¹⁾²⁾。Cd汚染地区住民や^{3)~6)}、Cd作業員⁷⁾⁸⁾及び動物実験⁹⁾においても同様な尿所見が見出され、Cdは尿細管機能に何らかの障害を与えるものと考えられている。しかしその形態学的所見については定説がない。人体例においても動物実験においても腎に変化のないものから¹⁰⁾¹¹⁾、尿細管の萎縮と変性^{12)~16)}、間質の線維化¹⁵⁾¹⁷⁾、さらに糸球体に病変のみられるもの¹³⁾¹⁸⁾まで様々な所見が報告されている。最近Nishizumi¹⁹⁾及びStowe¹⁷⁾らによってCd投与動物の腎の電顕的研究が発表されたが、両者の所見にも差異があり、腎変化の実態はほとんど解明されていない現状である。

一方、全国のCd汚染地区住民やCd作業員について広範囲な調査が行なわれたが^{4)~6)20)}、富山県の「イ病」にみられるような骨軟化症は発見されていない。又「イ病」の剖検所見からも腎病変の程度と骨軟化症の程度とは平行しないことが指摘された¹⁴⁾。さらに動物実験においても、Cd曝露によって確実に骨軟化症を発生させることに成功した研究はない。そこで「イ病」の病理発生を解明するためには、第1にCd曝露によって腎にどのような形態学的変化が惹起されるか、第2にそのような変化に伴って骨軟化症が発生するか否かを実験的に確かめることが必要である。本研究はこの2つの問題を解明するために計画されたものである。実験の結果、腎の近位尿細管に徐々に進行する上皮の変性と壊死が認められたが、骨には有意な変化は認め

られなかったのでその成績を報告する。

実験材料及び実験方法

Wistar系成熟雌ラット(体重150~180g、生後約45日)をオリエンタル固形飼料で飼育した。CdCl₂を含む水道水(Cd 200ppm)を自由に飲ませ、4、12、16、24、32、40、48、52週(1年)、65週(1年3ヶ月)、69週(1年4ヶ月)、91週(1年9ヶ月)目に屠殺し、腎と骨を材料とした。対照動物には、CdCl₂を含まない水道水を与え、同様の日数毎に屠殺した。各実験日数毎、2~4匹の動物を検査し、Cd投与群では総計30匹、対照群では25匹を使用した。

電顕的観察

腎を2.5%グルタルアルデヒド(0.1M カコジル酸ソーダ緩衝液でpH7.4)で4°C、1時間固定し、さらに2%オスミウム酸(0.1M カコジル酸ソーダ緩衝液でpH7.4)で4°C、1時間固定を行ない、エチルアルコール系列で脱水、エポン812で包埋した。

試料はLKB ultrotome IIIでガラスナイフを用いて超薄切片を作製し、酢酸ウラニールと鉛の重染色を行なった。

アルカリフォスファターゼ反応: 24週、40週、48週の腎について検査した。腎を2.5%グルタルアルデヒド(0.1M カコジル酸ソーダ緩衝液でpH7.4)で4°C、1時間固定後、Vibratomeで、60~80μに薄切した切片を同緩衝液で約10分間洗浄し、室温でHugonら²¹⁾の方法に従い、β-グリセロリン酸ナトリウム、硝酸鉛、トリスマレイン酸緩衝液よりなるmediumに30分間浸漬した。次いで2%オスミウム酸(0.1M カコジル酸ソーダ緩衝液でpH7.4)で4°C、1時間固定し、上記の方法で電顕試料を作製した。超薄切片は日立HU-12型、又は日立HU-500型電子顕微鏡で直接倍率1,200~15,000倍で撮影した。

Effect of cadmium on the kidney and bone in rats: A histological and electron microscopic study. **Kunihiko Kuroda**, Department of Pathology(I), (Director: Prof. K. Kajikawa), School of Medicine, Kanazawa University.

組織学的検査

摘出した腎を10%ホルマリンで固定し、パラフィン切片を作製し、HE, アザン, PASの各染色を施した。
骨の検査

大腿骨を10%ホルマリン固定後、5%硝酸で脱灰し、パラフィン切片を作製し、HE染色を行なった。又、ホルマリン固定後の大腿骨を超軟X線発生装置(SOFTEX-CMB型)で撮影し、印画紙に拡大したX線像について、大腿骨の長さ、骨の中央の直径及び皮質の厚さを測定した。

大腿骨の塩類の含有量は、NORLAND社のBone Mineral Analyzerを用いて測定した。

腎のCd含有量：腎を肉眼的に皮質と髓質に分け、湿式灰化後、原子吸光法でCd量を測定した。

尿中蛋白：採尿用ケージで採集した尿2ccをビューレット法で測定した。

成 績

I. 一般的所見

実験期間中の動物の体重の変化は、図1に示す。対

照群では65週までは体重は次第に増加し、その後はほぼ一定となった。

Cd投与群の体重増加は少なく、Cd投与40週以後は体重増加はほとんど見られなかった。Cd投与によって食餌の摂取量は減少し、やせと共に運動も鈍くなり、65週目の6匹の動物について1日摂取量をみると、実験群では一匹あたり13.5g、対照群は25.0gであった。

尿中の蛋白の排泄は図2に示すようにCd投与後40週から次第に増加し、52週以後はほぼプラトーとなった。

腎のCd含量は図3に示すようにCd曝露期間と共に増加したが、40週以後は減少の傾向を示した。

II. 腎

腎の重量はCd投与群と対照群との間に差異はみられなかった(図4)。又Cd投与群の腎は肉眼的に著変はなかった。

1. 組織学的所見

Cd投与群の組織学的変化はほとんど近位尿細管に限局して認められるが、その所見は全般に微弱である。

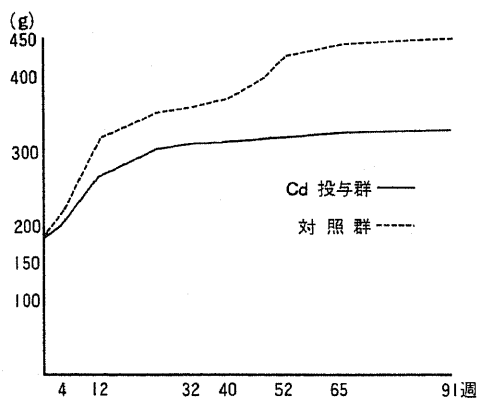


図1 体重の変化

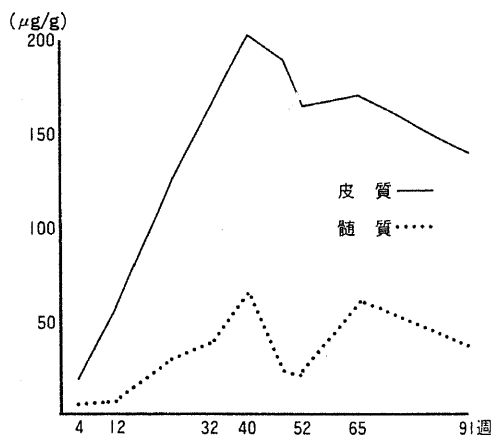


図3 Cd投与群の腎Cd含量

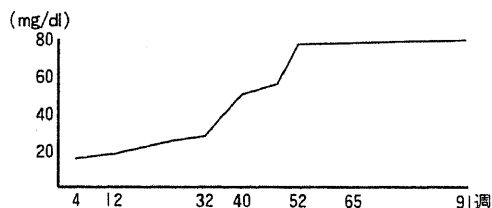


図2 Cd投与群の尿中蛋白排泄量

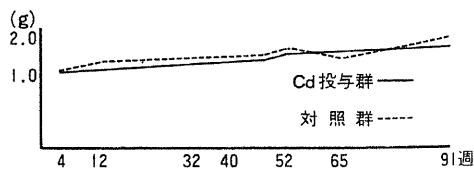


図4 腎重量の変化

Cd 投与 16 週から散在性に近位尿細管上皮の腫大が現われる。原形質は多少とも好塩基性淡明となり、核は大きさを増し、核小体が明瞭で、まれに核分裂が認められる。

24～32 週から腫大を示す上皮は増加し、時々原形質に多数の小空胞が認められる。40 週以後は上皮の腫大や著明な核小体をもつ大型の細胞が多くなり（写真 1）。処々、上皮の基底線条の凝集、さらに原形質の好酸性濃縮を示す壊死細胞が認められる（写真 2）。52 週以上を経過した動物では、原形質の腫大、空胞変性及び壊死が増加し、刷子縁は部分的に崩壊し、尿細管の内縁は凹凸不平となる（写真 3）。これらの変化に伴って核には、クロマチンの消失、核濃縮、核崩壊がみられるが、一方では、大型の核をもつ細胞も増加し、しばしば著明な核小体が認められる。又、核分裂像に時々遭遇する。

組織学的検査において特に注目される所見は、いわゆる自然発症性慢性腎炎の合併である。この病変の初期には、皮髄境界の集合管にコロイド円柱が出現し、糸球体係蹄の萎縮と、Bowman 腔内にエオジンに淡染する液状物の貯留が認められる。病変の進行と共に、皮髄境界や皮質にコロイド円柱を満たした嚢状の集合管が散在し、萎縮性の糸球体係蹄の数は増加し、糸球体や間質血管周囲にリンパ球の浸潤が認められ、次いで線維の増加が伴われる（写真 4）。遠位尿細管上皮にも多層化や、まれに核分裂が認められる。又腎被膜下に尿細管萎縮と線維症からなる楔形の限局性病変が認められることがある。

慢性腎炎の発生率は対照群では 16.0%（4/25）であるのに対して、Cd 投与群では 56.7%（17/30）と明らかに高率であった。腎炎の発生は加齢と共に増加するが、52 週以上経過した動物についてみると、対照群は 33.3%（3/9）であるのに対し、Cd 投与群では 100%（9/9）であった。しかも、腎炎の進行程度は Cd 投与群において高度であった。

2. 電顕的所見

4～16 週：この時期には腎の変化は全般に乏しい。16 週例で近位尿細管に処々原形質の水腫様腫脹、糸粒体の腫大及び管腔側的小胞や空胞の増加を示す細胞が認められたにすぎない。水腫様腫脹を示す細胞では、小器官は乏しくなり、細胞基底部の形質膜の陥入も減少する。糸粒体には処々腫大を示すものがあり、糸粒体に近接して microbody の増加が認められる。管腔側に増加した空胞内に高電子密度の不定形物質の貯留が観察される。

遠位尿細管には管腔側に軽度の小胞の増加が認めら

れることがあるが、一般にはほとんど異常がない。Henle 係蹄の細脚では上皮の腫大がみられることがある。集合管には上皮の二層性の配列や暗調細胞が認められるほか異常はない。

糸球体には著変はない。間質では血管の拡張と軽度の水腫が認められる。

24～32 週：近位尿細管上皮に水腫様腫脹と、管腔側的小胞や空胞の増加があり、不定形物質をいれる大型ライソゾームが散在性に認められる。糸粒体の一部は腫大し、一部は萎縮状を呈するため、糸粒体の大小不同が目立ち、その配列が乱れる（写真 5）。しばしば細胞基底部に脂肪滴が認められる。

この時期には注目すべき 2 つの変化が出現する。1 つは滑面小胞体の巣状の増殖である。滑面小胞体の巣状増殖を示す細胞の核には、しばしば著明な核小体が認められる（写真 6）。

他の注目すべき変化は上皮の凝固壊死である。この変化は細胞の一部、又は全部が凝縮する変化であるが、初期には主として細胞基底部における限局性の小病巣として認められる。その部分の電子密度は上昇し、数個の糸粒体が密集している（写真 7、写真 9）。この所見は光顕的にみられる基底線条の凝集に対応するものと考えられる。病巣は二層の形質膜で境されるので、この小病巣は複雑に入り込んだ上皮の突起の部分における壊死を表わしているものと解釈される。壊死は細胞突起から次第に 1 個の細胞全域に拡大する。このような壊死細胞では電子密度の上昇した原形質に萎縮状の糸粒体が密集し、その間に小胞、ライソゾーム又は脂肪滴が含まれる（写真 7、9）。壊死細胞の刷子縁の形態は一般によく保たれているが、管腔側まで壊死が広がった場合にはその刷子縁も崩壊する。時々壊死細胞が管腔内に脱落する像に遭遇する。

遠位尿細管上皮には、空胞の増加を示す細胞に遭遇するほか著変はない。Henle 係蹄や集合管にも著変はない。集合管上皮にまれに核分裂像が認められた。糸球体及び間質には著変は認められない。

40～52 週：近位尿細管においてこれまで認められた諸変化が様々の程度に混在するばかりでなく、後述のように空胞変性に加わるため多彩な像を呈する。滑面小胞体の増殖の範囲は広くなり、microbody の増加が伴われる（写真 8）。まれに核分裂像に遭遇する。凝固壊死の範囲も拡大し、細胞基底部に限局した壊死から細胞全体の壊死に至るまで、さまざまな段階の変化が認められる（写真 9）。

空胞変性は原形質に大型ライソゾームを伴って種々の大きさの空胞が出現する変化である。この変化は滑

面小胞体の増殖に続いて発生する。管腔側に増加した小胞は次第に空胞化し、その内にミエリン様物質や高電子密度の不定形物質が蓄積し大型のライソゾームに発育する。変化が進行した細胞では原形質は多数の空胞とライソゾームで満たされる(写真10)。ライソゾームが崩壊しその周囲に原形質融解が認められることがある。空胞変性に陥った細胞は結局、細胞壊死にまで進行し、多数の空胞を含む濃縮した細胞に変わり、管腔内に脱落する。

以上の諸変化は40週から52週へと次第に増加の傾向がみられる。空胞変性や凝固壊死に陥った細胞の基底膜は肥厚を示す。しかしこれらの重篤な変化は全ての近位尿細管上皮に一律に出現するのではなく、その間に滑面小胞体の増殖や水腫様腫脹のみに止まる細胞が介在している。

遠位尿細管には依然として変化は乏しく、時々上皮の空胞変性や多層化がみられる程度である。集合管上皮にも時々多層化、空胞の増加や暗調細胞がみられる。まれに糸粒体の腫大、空胞化を示す細胞に遭遇した。Henle係路の細脚には上皮の腫大と基底膜の肥厚が認められる。

糸球体係路には異常はないが、Bowman嚢の肥厚がみられることがある。間質には粗面小胞体の拡張した間質細胞が軽度増加し、48～52週では処々コラーゲン線維の形成が伴われる。

65～91週：この期間の変化は52週のそれと本質的には同様で、近位尿細管上皮には滑面小胞体の増殖、空胞変性及び凝固壊死が認められる。

滑面小胞体の増殖は著明となり、原形質の大部分を占める細胞もみられる(写真11)。空胞変性や凝固壊死に陥った細胞の数は増加し、変化の進行した細胞では両者の区別が困難となる。これらの変化の進行は緩徐で65週の病変の程度と91週のそれとの間に著しい差はない。又この時期になってもなお1個の尿細管の断面で、ほとんど正常な細胞や上記の諸変化のさまざまな段階を示す細胞が混在し、管腔の内縁は不規則となる(写真12)。

91週の実験例で核の変化が注目された。滑面小胞体が増加する細胞では核小体の増大がみられることは既に述べたが、この時期では、滑面小胞体が増加した細胞や、時には凝固壊死に陥った細胞の核内に封入体様の構造物が認められた(写真13)。この構造物はその大部分が二重の限界膜で境され、その中にしばしば空胞、小胞、ライソゾーム様小体、又は脂肪滴などが含まれている。

遠位尿細管の変化はこの時期においても少なく、時

々原形質の腫脹、空胞の増加や多層化がみられる程度である(写真14)。集合管も一般には変化は乏しいが、時々上皮に空胞の増加とdense bodyの出現がみられることがある。Henle係路には基底膜の肥厚が認められる。

糸球体にはBowman嚢の肥厚のほか著変は認められない。

間質には処々に間質細胞の増殖があり、細胞間にはコラーゲン線維の増加が伴われる。毛細血管の基底膜は軽度の肥厚を示す。

アルカリフォスファターゼ反応

Cd投与後24, 40, 48週の近位尿細管上皮のアルカリフォスファターゼ反応は対照群とほとんど同様であった。すなわち、尿細管上皮の刷子縁の表面に最も強い活性が認められ、管腔側の一部の小胞の限界膜及び空胞内、側面の形質膜、及び基底部の陥入した形質膜に点状の反応産物が証明された。これらのアルカリフォスファターゼ活性は原形質に滑面小胞体の巣状増殖や限局性の凝固壊死を伴う細胞にもよく残存していることが観察された。

Ⅲ. 骨

大腿骨の組織学的検査ではCd投与群と対照群との間に差異はなく、骨萎縮や骨軟化症は認められなかった(写真15)。しかしX線写真では、Cd投与後91週の動物の中に骨皮質が対照動物のそれに比べて僅かに菲薄である印象をうける例があった(写真16)。そこで大腿骨の長さ、骨中央において、骨の直径及び皮質の厚さを計測し、又Bone Mineral Analyzerで骨塩量を測定した。それらの結果は図5～8に示す通りである。Cd投与群、対照群とも、骨皮質の厚さは実験期間中はほぼ一定であったが、骨の長さ及び骨塩類の含量は漸増を示した。骨皮質の厚さと骨塩量はCd投与群は対照群に比べて軽度減少の傾向がうかがわれたが、4週～91週のCd投与群、対照群それぞれ13例についてその平均値を推計学的に危険率5%で検定すると、両者の間に有意差は認められなかった。

考 察

1. 腎における変化

1) 組織学的所見

Cd投与によっておこる主要な変化は、組織学的にも電顕的にもほとんど近位尿細管に局限してみられた。この所見はCdが近位尿細管に集中的に沈着するというBerlin²²⁾やPopham²³⁾のラジオオートグラフィの研究の成績とよく対応する。組織学的には腎の変化は一般に微弱であるが、近位尿細管上皮の腫大、空胞変

性及び細胞壊死などの退行性変性と、著明な核小体をもつ大型の核の出現が観察された。

しかし、ラットを用いた長期実験では加齢に伴う慢性腎炎がしばしば合併するので、組織学的所見の解釈には慎重を要する。従来、Cdによる腎の組織学的所見として記載されているものの中に、慢性腎炎の所見が混同されている疑いの強いものがある¹³⁾¹⁸⁾。本研究では、腎炎合併例で、遠位尿細管の萎縮がみられたほかは、尿細管の萎縮は観察されなかった。又52週以上を経過した動物に、間質の血管周囲に線維の増加が認められることがあったが、腎炎による変化と厳密に区別することは困難である。

Andrewら²⁴⁾はWistar系ラット腎の加齢に伴う変化として、300日齢以上の動物では近位尿細管上皮に著明な核小体をもつ大型核が出現することを報告して

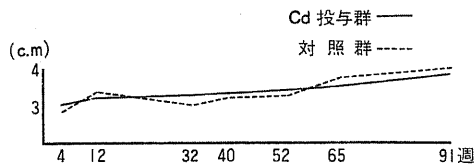


図5 大腿骨の長さ

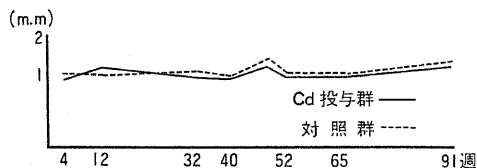


図6 大腿骨皮質の厚さ

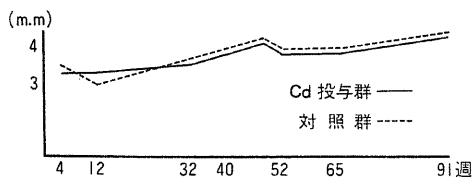


図7 大腿骨の直径

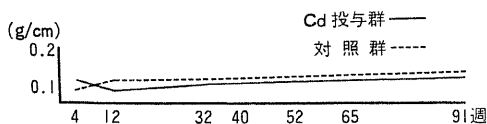


図8 大腿骨の骨塩量

いる。彼等はこのような大型核をもつ細胞を“aberrant cell”と称した。本研究で観察された近位尿細管上皮の核小体の著明な大型核をもつ細胞は、Andrewらの“aberrant cell”に類似している。しかし本研究においては、このような核の変化は対照群では52週(生後約410日)以後の動物に散発的に見出されるのに対し、Cd投与群では、腎炎の合併の有無にかかわらず24～32週(生後213日～269日)ですでに出現し、40週(生後約325日)以後は著しく増加することが観察された。従ってこのような核の変化は加齢による変化と重なり合っているものもあろうが、少なくとも一部はCd曝露と関係のある変化と考えられる。

本研究において注目された所見の1つは、腎炎がCd投与群に高率に発生したことである。腎炎は対照群では16.0%に発生したのに対し、Cd投与群では56.7%と明らかに高率に発生し、その進行の程度も高度であった。しかも、実験開始後52～91週(生後410～682日)の動物についてみると、対照群で33.3%、Cd投与群で100%の腎炎の発生がみられた。

対照群における加齢に伴う腎炎の発生率は従来の報告²⁵⁾²⁶⁾と比較するとやや低率であるが、Cd投与群にみられるような100%の発生率は、1000日以上の高齢動物であるとされている²⁵⁾。腎炎の発生機序は明らかではないが、加齢が重要な因子となっていることは多くの研究者によって指摘されている²⁵⁾²⁸⁾。Cd投与群に腎炎発生率が有意に高率である事実は、Cdが老化現象の発現と何らかの関係があることを示唆している。Cdと老化との関係は今後に残された興味ある問題である。

2) 電顕的所見

電顕的観察による腎の変化は光顕所見にほぼ対応するが、それよりはるかに明瞭である。その主要な変化として、近位尿細管上皮における水腫様腫脹、糸粒体の腫大、滑面小胞体の増殖、凝固壊死及び空胞変性をあげることができる。これらの変化は腎炎を合併しない動物にも認められ、蛋白尿や腎のCd蓄積量に比例して増強するので、Cdに起因する変化であると判断される。以下これらの変化について考察を加える。

原形質の水腫様腫脹は早期に出現する変化である。同様な変化はdl-serine²⁹⁾、塩化水銀³⁰⁾、鉛³¹⁾、ウラン³²⁾、エチレングリコール等の中毒³³⁾、及び腎の自己融解³⁴⁾において認められており、Cd中毒に特異的な変化とは言えない。この変化はおそらく、種々の障害によって中間代謝産物が蓄積し、浸透圧の上昇と共に水分が侵入する結果おこるものであろう。

近位尿細管上皮における滑面小胞体の増殖は注目すべき所見である。同様な変化は、Stowe¹⁷⁾やNishizumi¹⁹⁾によっても観察されている。Stoweは近位尿細管上皮ばかりでなく、肝細胞にも滑面小胞体の増殖がみられることを報告している。肝細胞における滑面小胞体の増加は、3'-Me-DAB³⁵⁾、フェノバルビタール³⁶⁾、又はPCBの投与³⁷⁾によっておこることはよく知られた事実であり、滑面小胞体に含まれる薬物代謝酵素の活性の上昇がみられることから、肝細胞の解毒作用の亢進を表わしているものと解釈されている³⁵⁾³⁶⁾³⁸⁾³⁹⁾。腎においてもCdばかりでなく、種々の腎障害性薬物の投与²⁹⁾³³⁾⁴⁰⁾によって滑面小胞体の増殖がおこることが報告され、又Fowler⁴¹⁾は解毒酵素の誘導剤であるdieldrin投与によって尿細管上皮に同様な変化がおこることを観察した。これらの成績を総合すると、Cd曝露によっておこる尿細管上皮の滑面小胞体の増殖は、Cdの代謝酵素の合成の亢進を表わしているものと解釈される。滑面小胞体の増殖は32週から出現し、91週に至るまで持続している事から、尿細管上皮には長時間にわたって絶えずCdの解毒機構が働いているものと考えられる。

原形質の水腫様腫脹や滑面小胞体の増加に伴って糸粒体の一部に腫大が認められた。同様な糸粒体の腫大はNishizumi¹⁹⁾によっても報告されている。Jacobs⁴²⁾、Simon⁴³⁾はCdは糸粒体の酵素系に障害を与えると述べているが、糸粒体の形態学的変化がどのような機能障害に対応するかは明らかではない。

動物に投与されたCdは肝でmetallothioneinと結合し、糸球体を通過した後、尿細管上皮で再吸収される⁴⁴⁾。実験の初期からみられた管腔側の小胞の増加はこのCd-蛋白結合物の再吸収の亢進を表わしているものと考えられる。

Castano⁴⁵⁾らはCd投与ラットにおけるhorseradish peroxidaseの尿細管からの再吸収をしらべたところ、対照群との間に差が認められなかったと報告している。本研究においても刷子縁は細胞全体が壊死に陥らない限り形態学的にほとんど変化はなく、アルカリフォスファターゼ活性もよく保たれていた。これらの事実から尿細管上皮の再吸収能は、Cd曝露後も比較的良好に保持されるものと推定される。Cd-蛋白結合物の大部分は上述のように、滑面小胞体の増加によって示される代謝機構で解毒され、一部はライソゾームで処理されるものと思われる。

しかし、Cdの蓄積が細胞の処理能力の限界を越えると、空胞と大型ライソゾームの増加をもたらす、空胞変性が発生するものと考えられる。同様な変化はさ

まざまな物質の注射によって尿細管の再吸収に負荷をかけた場合に観察されている^{29)46)~49)}。本研究においても空胞変性はCd投与後40週以後に顕著となり、同時に尿中の蛋白排泄が急速に増加する事実は、空胞変性が尿細管上皮の再吸収能不全と関係する変化であることを示唆している。

凝固壊死はCd障害にかなり特徴的な変化であるが、その発生機序については明らかではない。空胞変性が上述のように管腔側小胞とライソゾームの増加に続発するのに対して、凝固壊死はこれらのCd処理機構の乏しい細胞に発生する印象をうける。又しばしば脂肪滴の出現を伴って、細胞基底部から進展する所見も、空胞変性とは別個の発生機序が働いていることを推定させる。細胞内のCdの局在についてはまだ十分解明されていないが、組織化学²³⁾、エネルギー分散型X線微小分析の成績⁵⁰⁾から、管腔側の小胞から取込まれたCdの一部はライソゾームに、一部は細胞基底部の原形質内に分布するらしい。このようにCdの局在と凝固壊死の発生部位が一致することから判断すると、凝固壊死は細胞基底部に集積したCdの直接の細胞障害に起因する可能性がある。

Cd投与後91週の動物の近位尿細管上皮の核内に封入体様の構造が観察された。同様な所見は、Nishizumi¹⁹⁾によって、300ppmのCdを経口投与されたラットにおいて、既に12週で見出されることが報告されている。この構造物は二重の限界膜で包まれ、細胞小器官を含んでいる点から、核の陥入の断面に原因するいわゆるpseudo inclusionに属するものと思われるが、その発生機序や意義については今後の研究にまたねばならない。

近位尿細管の変化以外には本研究では、有意義な変化は認められなかった。Henle係蹄の細脚における基底膜肥厚、遠位尿細管や集合管の上皮における空胞の増加、多層化又は暗調細胞等が認められたが、その出現は不定で、対照群でも同様な像に遭遇することがあるので、どの程度までCd中毒に関係する変化であるかは疑問である。

糸球体係蹄にも著変はみられなかった。52週以上の実験例でBowman嚢周囲や間質にコラーゲン線維の増加がみられる例があったが、その程度は軽度である。尿細管の変性、壊死に伴って間質結合組織が反応することはありうることはあるが、この変化の中には加齢に伴う慢性腎炎に基くものが含まれている可能性を否定することはできない。

腎のCd含量は特に皮質において曝露量と共に次第に増加し、40週で頂点に達し、以後は漸次減少の傾向

がみられた。このようなCd含量の推移は他の研究者によっても注目されているが⁹⁾¹³⁾¹⁵⁾⁵¹⁾、その理由は明らかではない。Friberg⁴⁴⁾は尿管上皮の脱落と共にCdが尿中に排泄されるためであると説明している。本研究においても、壊死におちいった尿管上皮が管腔に剥離する像に遭遇したが、その頻度は著しいものとは云えないので、上皮の剥離のみでCd蓄積の減少を十分に説明できないように思われる。

以上腎における変化を総括すると、近位尿管に取込まれたCd-蛋白結合物は初期には、原形質の水腫様腫脹をおこすが、滑面小胞体の増殖によって示される解毒機構が作動し、細胞の著しい損傷が防止されるものと思われる。Cdの処理能力が限界を越えると細胞に空胞変性が発生し、蛋白尿が出現し、又おそらく、Cdの直接的な細胞障害の結果、凝固壊死がおこるものと思われる。しかし、これらの重篤な細胞障害は近位尿管上皮に散在性におこるものであり、その進行は緩慢である点が注目される。

2. 骨における変化

Cd曝露によって骨軟化症がおこるか否かは「イ病」の病理発生の解明に重要である。しかし従来の実験成績は一定していない。小島⁵²⁾はCd投与によって骨変化はみられなかったと報告し、河合¹⁵⁾、Shimizu⁵³⁾、Yoshikiら⁵⁴⁾は、骨の萎縮がおこることを述べ、特にYoshikiらは骨病変は腎病変に先行すると言う。さらに、Cd投与と同時に低カルシウム食⁵⁵⁾、又低カルシウム食と低蛋白食で飼養すると骨萎縮ばかりでなく、骨軟化症を発生しようと言う報告⁵⁶⁾もある。

本研究では組織学的に骨軟化症も骨萎縮も認められなかった。しかしX線写真で、Cd投与52週以後の動物に骨皮質の菲薄化を思わせる例があり、骨皮質の厚さ、骨塩量はCd投与群では低下する傾向があった。推計学的には対照群との間に有意差は証明されなかったが、例数が少数であるためかも知れない。Cd投与群も対照群も、実験期間中に、体重、骨の大きさ、骨塩量が漸増していることは、動物はこの期間中も発育を続けていることを示している。

しかしCd投与群では体重の増加は対照群に比べて明らかに少なく、発育の遅延があるものと考えられる。一定量以上のCd曝露によって動物の発育が遅延することは他の研究者によって指摘されていることである¹⁷⁾。本研究では、Cd投与69週の動物では、摂食量が対照群の約1/2に減少したことから判断すると、摂食量の減少による栄養低下が発育遅延の一因となっているものと考えられる。上述のCd投与群にみられた骨質の軽度な減少傾向も低栄養による骨の発育遅延の表

れであると解釈される。

いずれにしても本研究ではCdによって腎に一定の変化が持続したにもかかわらず、骨軟化症は発生しなかったことは、「イ病」における骨軟化症が腎病変に起因するものでないとする見解に一つの支持を与える。

結 論

ラットに200ppmのCdCl₂を含む飲料水を4～91週間与え、腎と骨の形態学的変化を観察し、併せて尿中蛋白の排泄と腎Cd含量の推移を調べた。得られた結果は次の通りである。

1) 腎には組織学的に近位尿管上皮の変性、壊死と核小体の著明な大型の核の出現が散在性に認められた。

Cd投与群には加齢と共に、いわゆる自然発症性慢性腎炎の合併が対照群に比べて高率に見出された。

電顕的には近位尿管上皮において原形質の水腫様腫脹、管腔側の小胞とライソソームの増加がおこり、次いで糸粒体の腫大と滑面小胞体の増殖が認められ、さらに、凝固壊死及び空胞変性へと進展した。これらの変化はCd曝露後約52週の間に発生し、その後の進行は緩慢であった。

2) 尿中蛋白の排泄は腎の形態学的変化に平行して増加した。腎のCd含量は40週で頂点に達し、その後は漸減の傾向を示した。

3) 骨には、骨軟化症や骨萎縮を含めて、有意義な変化は認められなかった。

謝辞：御指導を賜りました恩師梶川欽一郎教授に感謝の意を表します。また本研究遂行に際して、腎のCd含量の測定に北陸大学、坂本倫子博士、尿中蛋白の測定には石川県衛生公害研究所、松田晴夫氏、又大腿骨の骨塩量の測定に金沢大学医学部第二内科、黒田満彦博士、上原元先生に多大の御助力を戴いた。さらに統計処理に関して金沢大学医学部公衆衛生学教室、寺西秀豊博士に御助言を戴いた。これらの御援助をうけたかたがたに深く感謝の意を表します。又種々御援助を戴きました教室員各位と電子顕微鏡室技術員のかたがたに厚く御礼を申し上げます。

文 献

- 1) 武内重五郎・篠田 晤・小林一到・中本 安・高沢 至・黒崎正夫：内科，21，876 (1968)。
- 2) 石崎有信：日医会誌，62，242 (1969)。
- 3) 城石和子・穴山道子・谷井美樹子・福山裕三・久保田憲太郎：医学と生物学，85，263 (1972)。
- 4) 斉藤 寛・塩路隆治・古川洋太郎・有川 卓・斉藤喬雄・永井謙一・道又勇一・佐々木康彦・古山隆・吉永 馨：日内会誌，64，1371 (1975)。
- 5) 緒方弘文・原 耕平・松田源治・近藤 厚・計屋紘信・有吉敏彦・大塚喜久雄・矢島邦康・渡辺孝孝。

- 松尾礼三・東 房之：環境保健レポート，38，118 (1976).
- 6) 宇留野勝水・音山幸子・中野 信雄・宮武光吉：環境保健レポート，38，90 (1976).
- 7) Kazantzis, G., Flynn, F. V., Spowage, J. S. & Trott, D. G.: Q. J. med., 32, 165 (1963).
- 8) 星野忠夫・土屋健三郎：環境保健レポート，31，97 (1974).
- 9) 野見山一生・野見山紘子：環境保健レポート，38，161 (1976).
- 10) Smith, J. P., Smith, J. C. & McCall, A. J.: J. Pathol. Bacteriol., 80, 287 (1960).
- 11) Potts, C. L.: Ann. Occup. Hyg., 8, 55 (1965).
- 12) Axelsson, B., Dahlgren, S. E. & Piscator, M.: Arch. Environ. Health., 17, 24 (1968).
- 13) Bonnell, J. A., Ross, J. H. & King, E.: Brit. J. Indust. Med., 17, 69 (1960).
- 14) 梶川欽一郎・北川正信・中西功夫・上島半治・勝田省吾・黒田邦彦：十全医会誌，83，309 (1974).
- 15) 河合清之・福田一男：環境保健レポート，31，61 (1974).
- 16) 宮崎吉平：医学のあゆみ，95，193 (1975).
- 17) Stowe, H. D., Wilson, M. & Goyer, R. A.: Arch. Pathol., 94, 389 (1972).
- 18) 糸川嘉則・阿部登茂子・田中清介：日衛誌，29，80 (1974).
- 19) Nishizumi, M.: Arch. Environ. Health., 24, 215 (1972).
- 20) 長谷川豊：環境保健レポート，11，13 (1972).
- 21) Hugon, J. & Borgers, M.: J. Histochem. Cytochem., 14, 429 (1966).
- 22) Berlin, M., Hammarström, L. & Maunsbach, A. B.: Acta. Radiol., 2, 345 (1964).
- 23) Popham, J. D. & Webster, W. S.: Histochemistry, 46, 249 (1976).
- 24) Andrew, W. & Pruett, D.: Am. J. Anat., 100, 51 (1957).
- 25) Simms, H. S. & Berg, B. N.: J. Gerontol., 12, 244 (1957).
- 26) Saxton, J. A. & Kimball, G. C.: Arch. Pathol., 32, 951 (1941).
- 27) Foley, W. A., Jones, D. C. L. & Osborn, G. K. & Kimeldorf, D. J.: Lab. Invest., 13, 439 (1964).
- 28) Snell, K. C.: Pathology of Laboratory Rats and Mice (Cotchin, E. & Roe, F. J. C. eds), p.105, Blackwell Scientific Publications, Oxford and Edinburgh., 1967.
- 29) Wachstein, M. & Besen, M.: Am. J. Pathol., 44, 383 (1964).
- 30) Gritzka, T. L. & Trump, B. F.: Am. J. Pathol., 52, 1225 (1968).
- 31) Totovic, V.: Virchows. Arch. Pathol. Anat., 339, 151 (1965).
- 32) Stones, R. S., Bencosme, S. A., Latta, H. & Madden, S. C.: Arch. Pathol., 71, 160 (1961).
- 33) David, H. & Uerlings, I.: Acta. Biol. Med. Ger., 12, 203 (1964).
- 34) Faith, G. C. & Trump, B. F.: Am. J. Pathol., 46, 4a (1965).
- 35) 今野陽三：札幌医誌，33，145 (1968).
- 36) Remmer, H. & merker, H. J.: Science., 142, 1657 (1963).
- 37) 山元寅男：細胞生物学シンポジウム，21，87 (1970).
- 38) Porter, K. R. & Bruni, C.: Cancer, Res., 19, 997 (1959).
- 39) Jones, A. L. & Fawcett, D. W.: J. Histochem. Cytochem., 14, 215 (1966).
- 40) Suzuki, T., Mostofi, F. K.: Lab. Invest., 15, 1225 (1966).
- 41) Fowler, B. A.: Am. J. Pathol., 69, 163 (1972).
- 42) Jacobs, E. E. & Jacob, M.: J. Biol. Chem., 223, 147 (1956).
- 43) Simon, F. P., Potts, A. M. & Gerard, R. W.: Arch. Biochem., 12, 283 (1947).
- 44) Friberg, L., Piscator, M. & Nordberg, G.: Cadmium in the Environment, p.112, Cleveland, The chemical Rubber Co., 1974.
- 45) Castano, P. & Vigliani, E. C.: J. Occup. Med., 14, 125 (1972).
- 46) Caulfield, J. B. & Trump, B. F.: Am. J. Pathol., 40, 199 (1962).
- 47) Hübner, G.: Beitr. Pathol. Anat., 126, 1 (1962).
- 48) Anderson, M. S. & Recant, L.: Am. J. Pathol., 40, 555 (1962).
- 49) David, H.: Beitr. Pathol., 130, 187 (1964).
- 50) 河合清之・京野洋子：環境保健レポート，38，137 (1976).

- 51) Axelsson, B. & Piscator, M.: Arch. Environ. Health., 12, 360 (1966).
 52) 小島良平: 医学のあゆみ, 93, 179 (1975).
 53) Shimizu, K., Shirama, K., Takeo, Y., Anazawa, N. & Maekawa, K.: 結合組織, 8, 15 (1976).
 54) Yoshiki, S., Yanagisawa, T., Kimura, M., Otaki, N., Suzuki, M. & Suda, T.: Arch. Environ. Health., 35, 559 (1975).
 55) 松田 悟: 十全医会誌, 76, 239 (1968).
 56) 石崎有信・田辺 釧・松田 悟・坂本倫子: 日本衛生誌, 20, 398 (1966).

写 真 説 明

- 写真1. Cd 投与 48 週, 腫大した近位尿細管上皮の核の大型化と著明な核小体(矢印). PAS 染色. $\times 1,200$
 写真2. Cd 投与 48 週, 近位尿細管上皮の壊死(矢印). azan 染色. $\times 1,200$
 写真3. Cd 投与 69 週. 近位尿細管(P)では上皮の腫大, 核小体の著明な大型核がみられ, 尿細管内腔は不規則となる. 遠位尿細管(D)には著変はみられない. PAS 染色. $\times 1,200$
 写真4. Cd 投与 48 週. 慢性腎炎. 集合管(C)は拡大し, コロイド円柱をいれ, 糸球体(G)には係蹄の萎縮, Bowman 腔内の液の貯留, 間質にはリンパ球がみられる. H.E. 染色 $\times 300$

- 写真5. Cd 投与 32 週. 近位尿細管上皮. 糸粒体の腫大(矢印). F: 脂肪滴. $\times 8,400$
 写真6. Cd 投与 32 週. 近位尿細管上皮. 滑面小胞体の巣状増殖(S)と著明な核小体をもつ大型の核. $\times 7,500$
 写真7. Cd 投与 32 週. 近位尿細管上皮. 1 個の上皮の凝固壊死(N), 密集した糸粒体, 空胞, 脂肪滴が含まれる. 隣接の上皮には原形質の腫大がみられる. $\times 6,000$
 写真8. Cd 投与 48 週. 近位尿細管上皮. 滑面小胞体の増殖と microbody (矢印) の増加. $\times 9,000$
 写真9. Cd 投与 48 週. 近位尿細管上皮の凝固壊死. 細胞基底部に局限した小壊死巣(n)と細胞全般に及ぶ壊死(N). 壊死細胞の基底膜(BL)は肥厚を示す. $\times 8,400$
 写真10. Cd 投与 40 週. 近位尿細管上皮の空胞変性. 多数の空胞とライソゾーム(L)が含まれる. 基底膜(BL)は肥厚. $\times 6,000$
 写真11. Cd 投与 91 週. 近位尿細管上皮. 原形質の大部分を占める滑面小胞体(S)の増殖. 腫大した糸粒体(矢印)がみられる. $\times 7,500$
 写真12. Cd 投与 65 週. 近位尿細管上皮. 上皮の凝固壊死(N), 滑面小胞体の増殖(S), 空胞の増加(V)等様々な段階の変化がみられる. $\times 3,900$
 写真13. Cd 投与 91 週. 近位尿細管上皮. 核内の「封入体」と核小体の肥大. $\times 8,100$
 写真14. Cd 投与 91 週. 遠位尿細管上皮. ほとんど著変はみられない. $\times 4,300$
 写真15. Cd 投与 91 週. 大腿骨. 著変はみられない. H.E. 染色. $\times 120$

A b s t r a c t

In Wistar albino rats given drinking water containing 200ppm of CdCl_2 for 4 to 91 weeks, morphological changes of the kidney and femur were studied. Urinary excretion of protein and cadmium content in the kidney were also examined.

1. Histological examination of the kidney revealed degeneration and necrosis in the epithelial cells of proximal convoluted tubules. The cells showed enlarged nucleus with very prominent nucleolus.

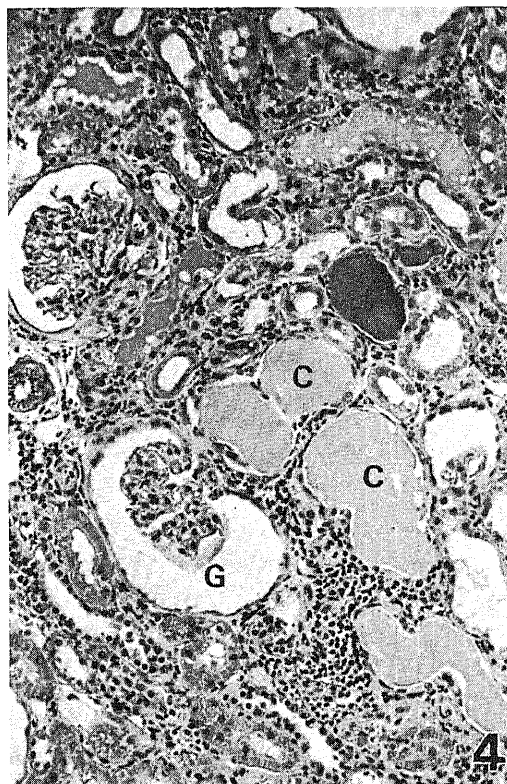
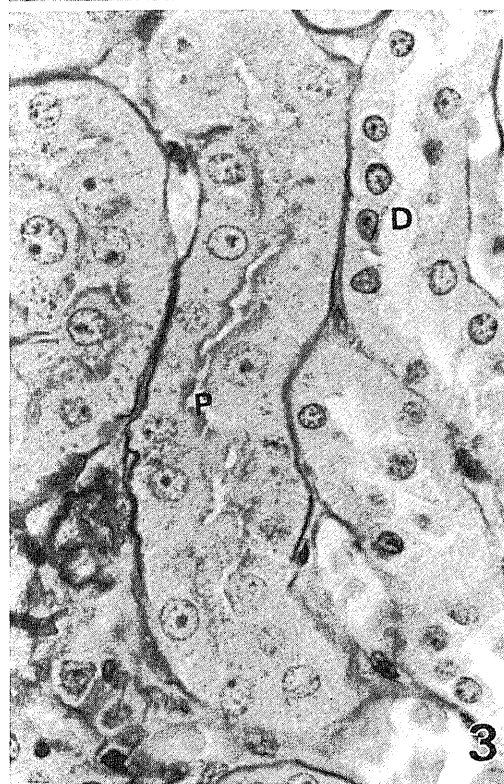
It was noted that spontaneous chronic nephritis was found more frequently in cadmium-exposed animals than in controls.

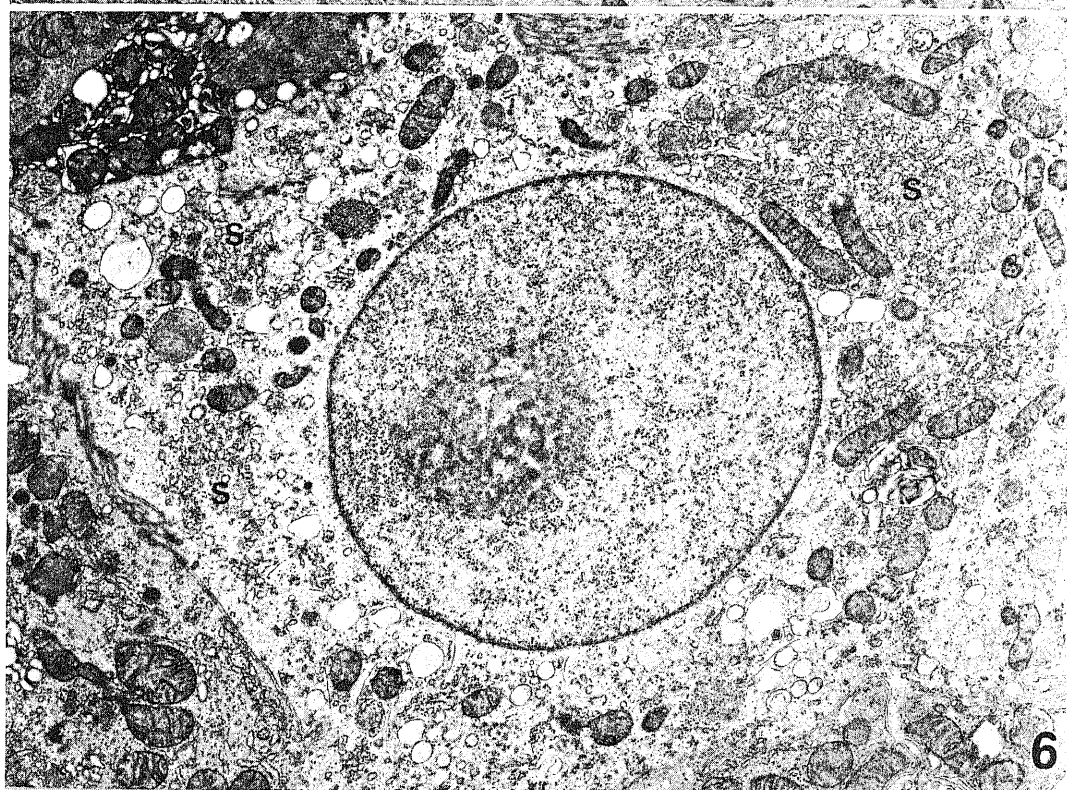
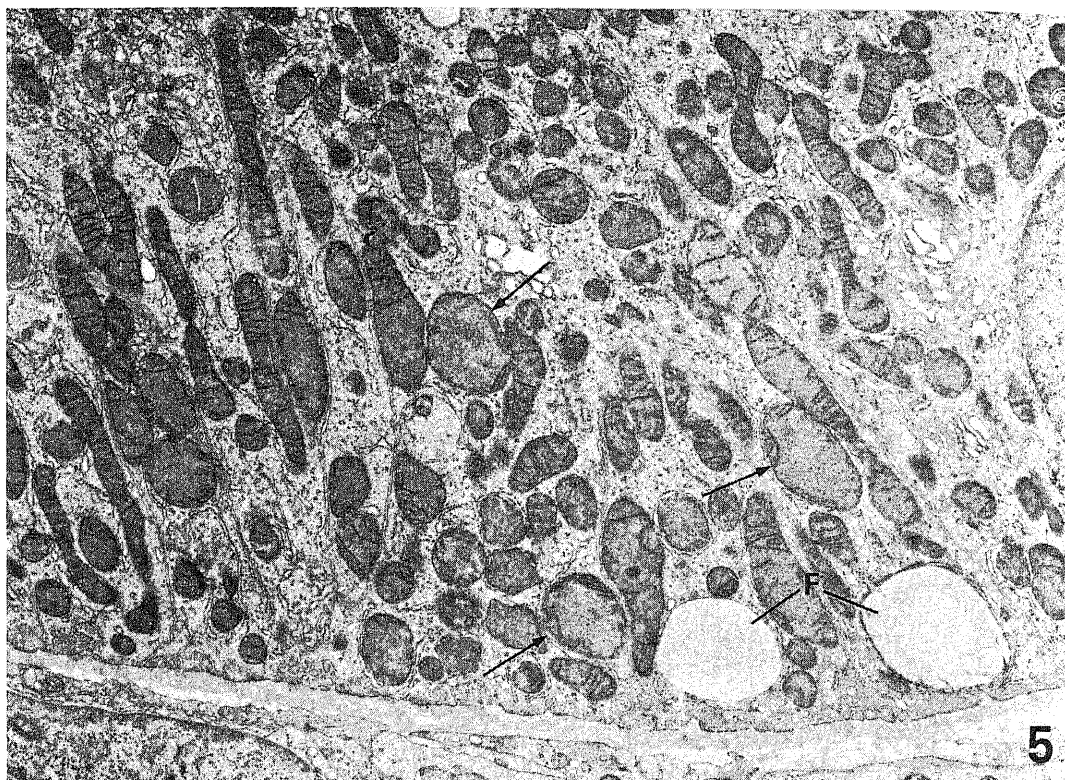
2. Electron microscopy of the kidney showed several changes in the epithelial cells of proximal convoluted tubules: edematous swelling of the cytoplasm, increased number of apical vesicles and lysosomes, swelling of mitochondria, proliferation of smooth-surfaced endoplasmic reticulum, vacuolar degeneration and coagulation necrosis.

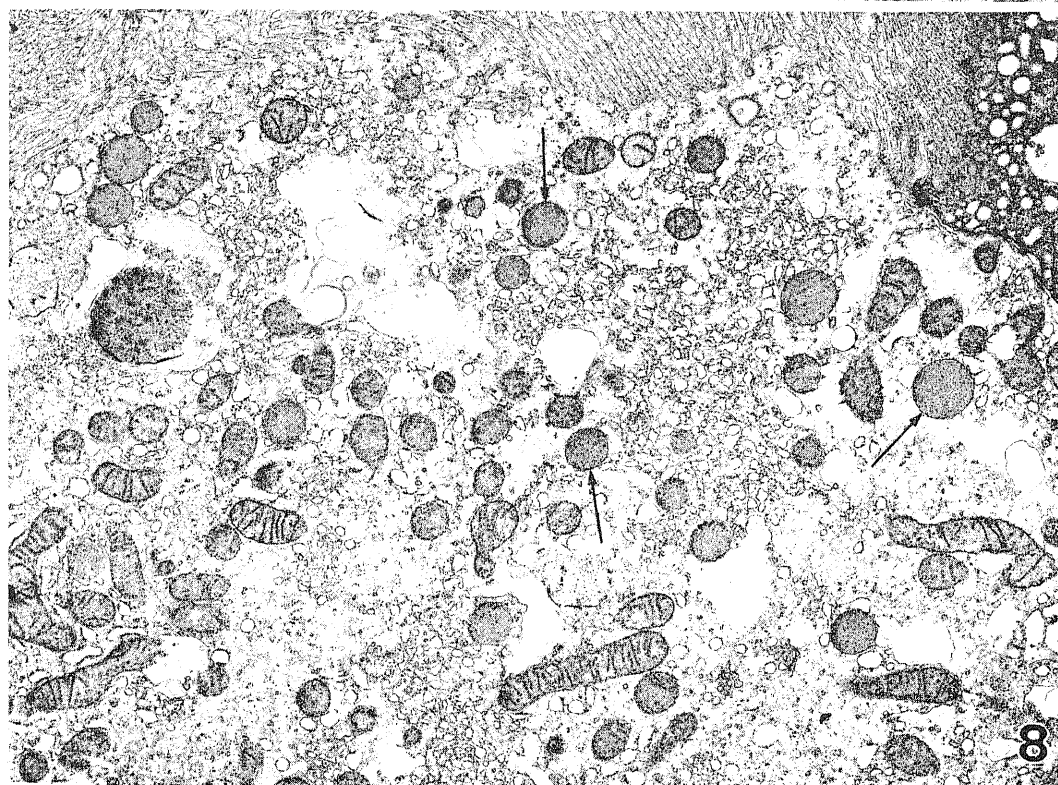
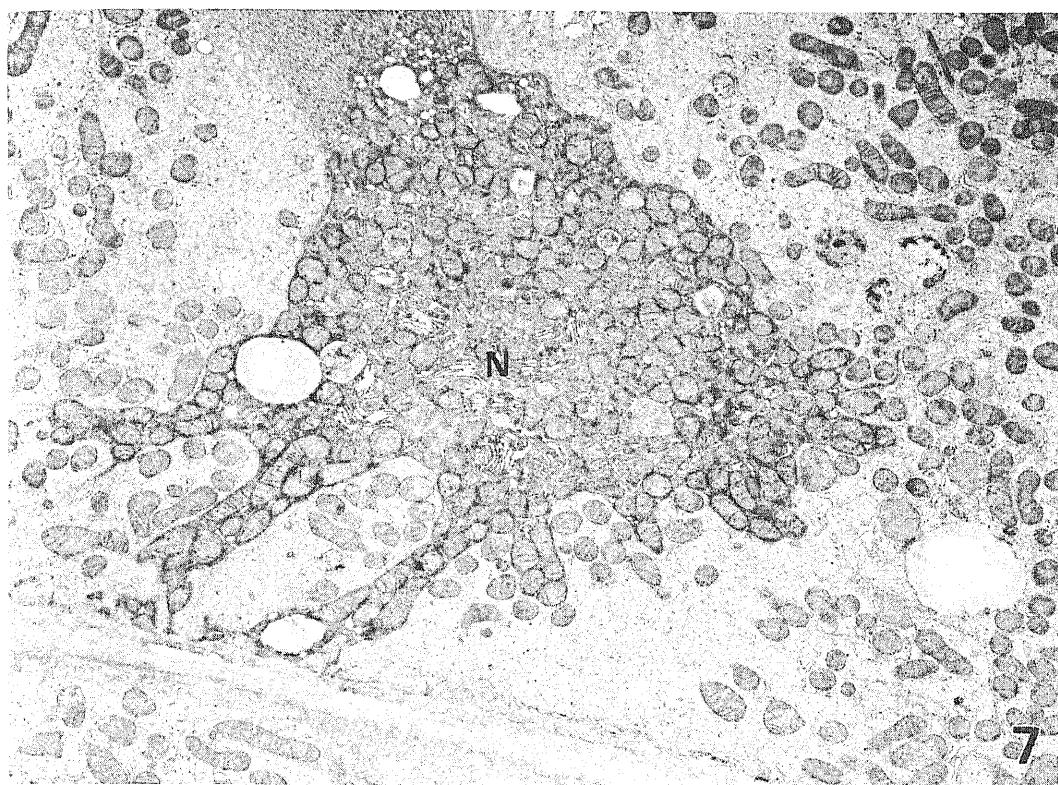
3. Urinary excretion of protein increased with the progress of morphological changes in the kidney.

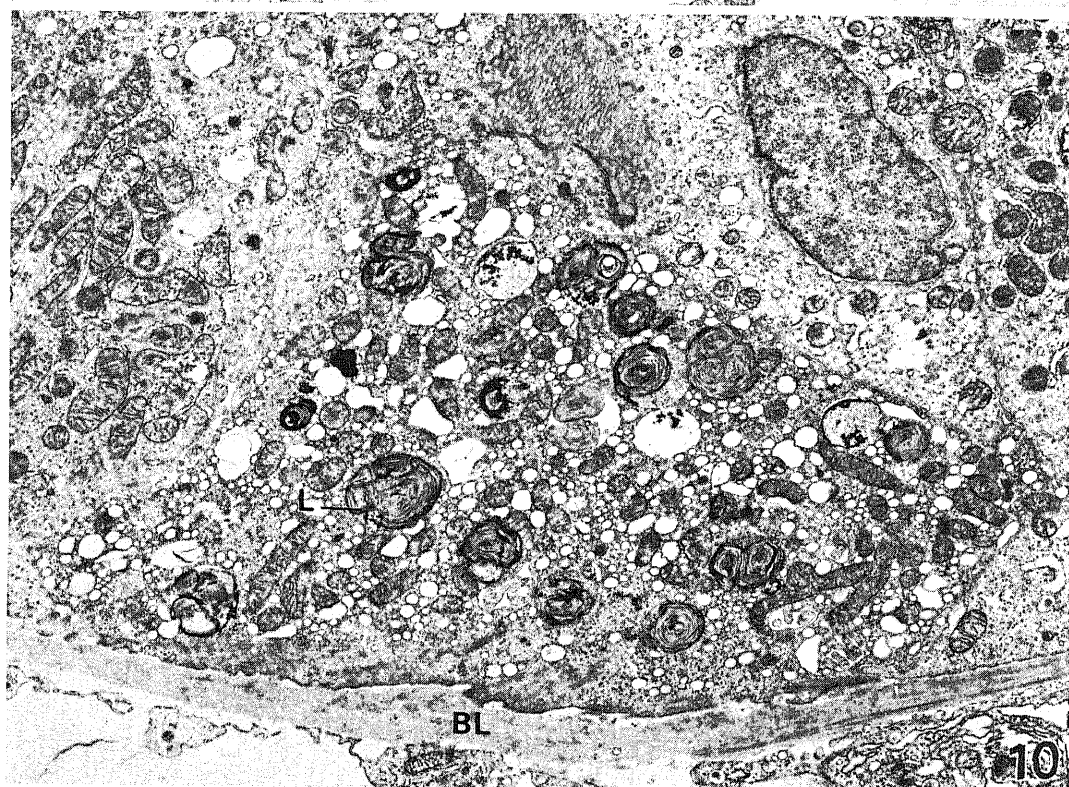
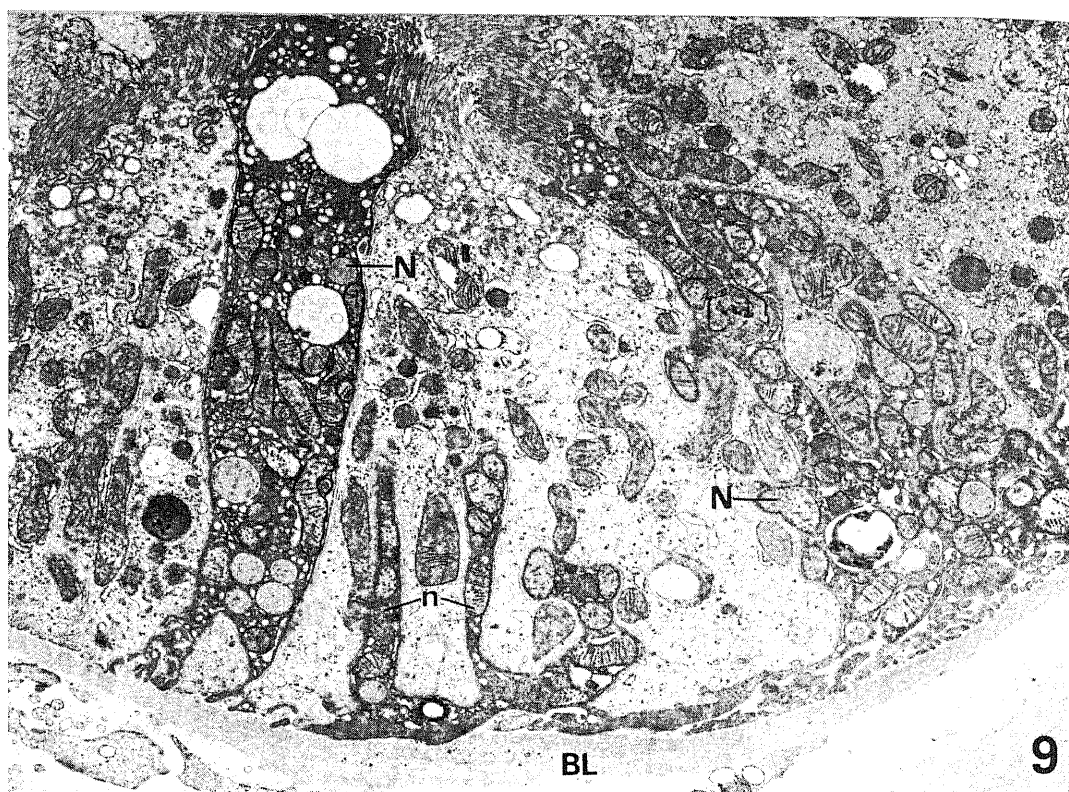
Cadmium content of the kidney elevated progressively to reach the maximum 40 weeks after cadmium exposure and then showed a gradual decrease.

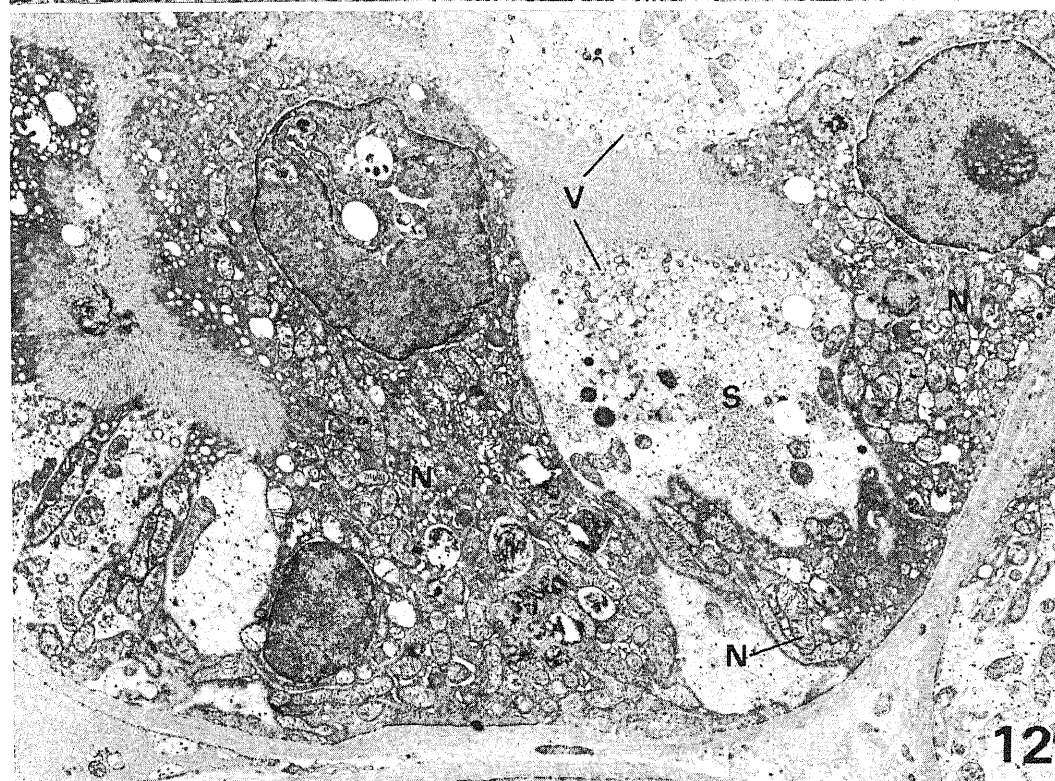
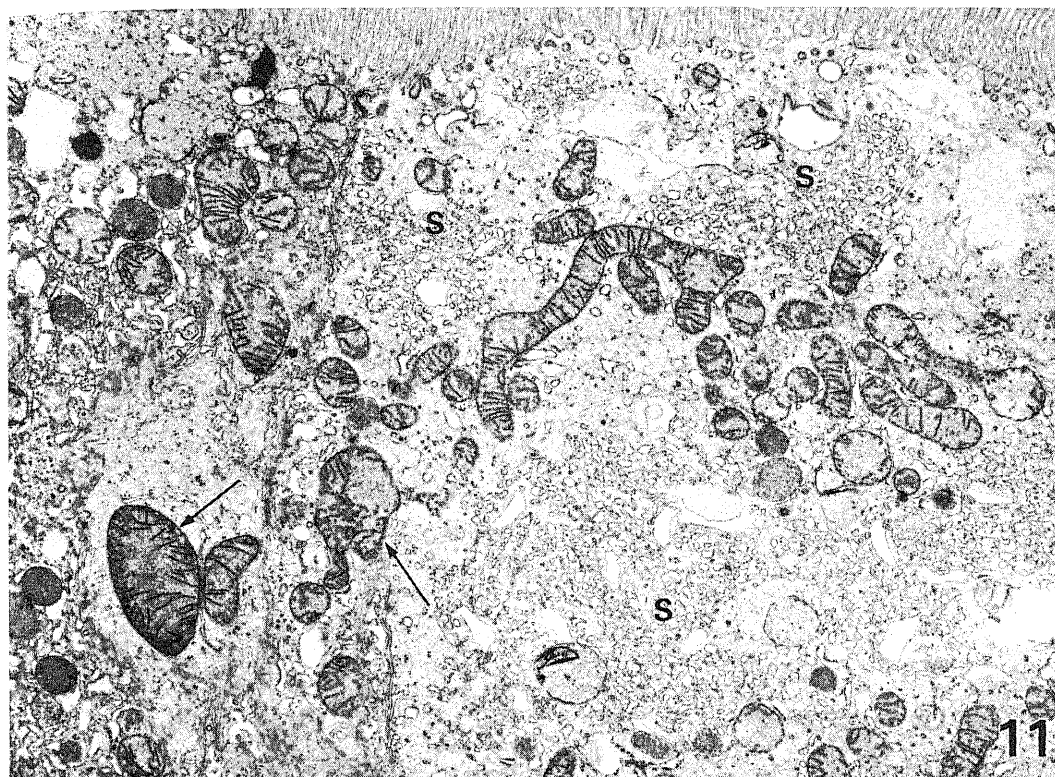
4. Histological examination of the bone showed no significant changes.
-

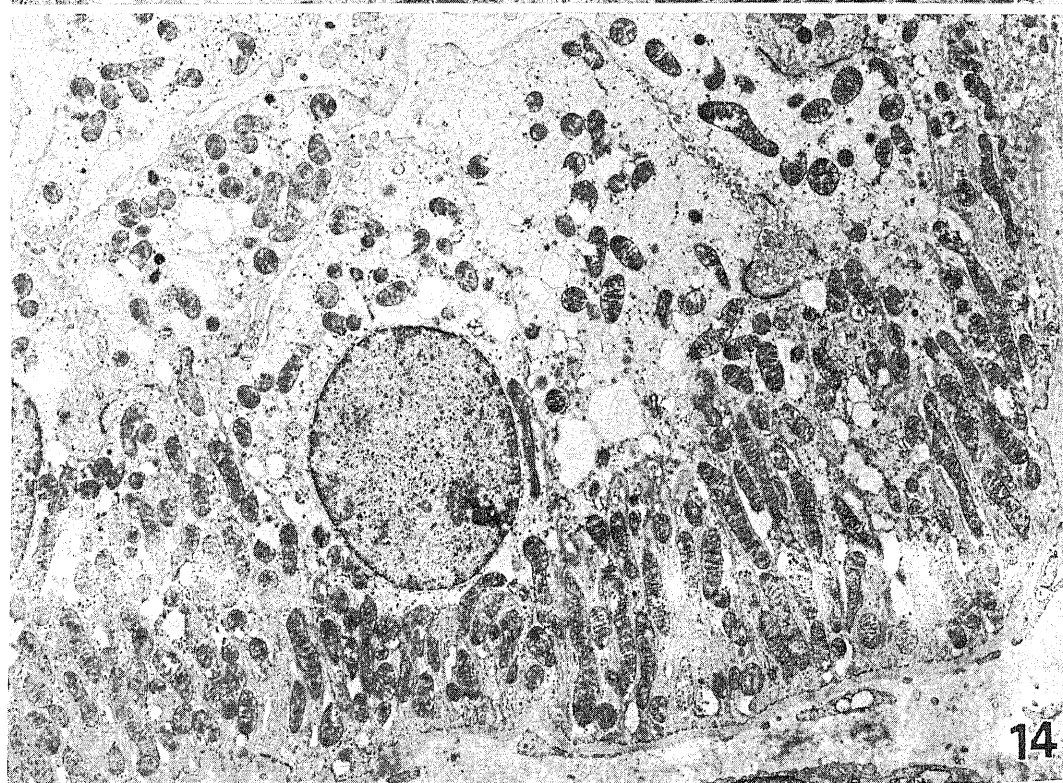
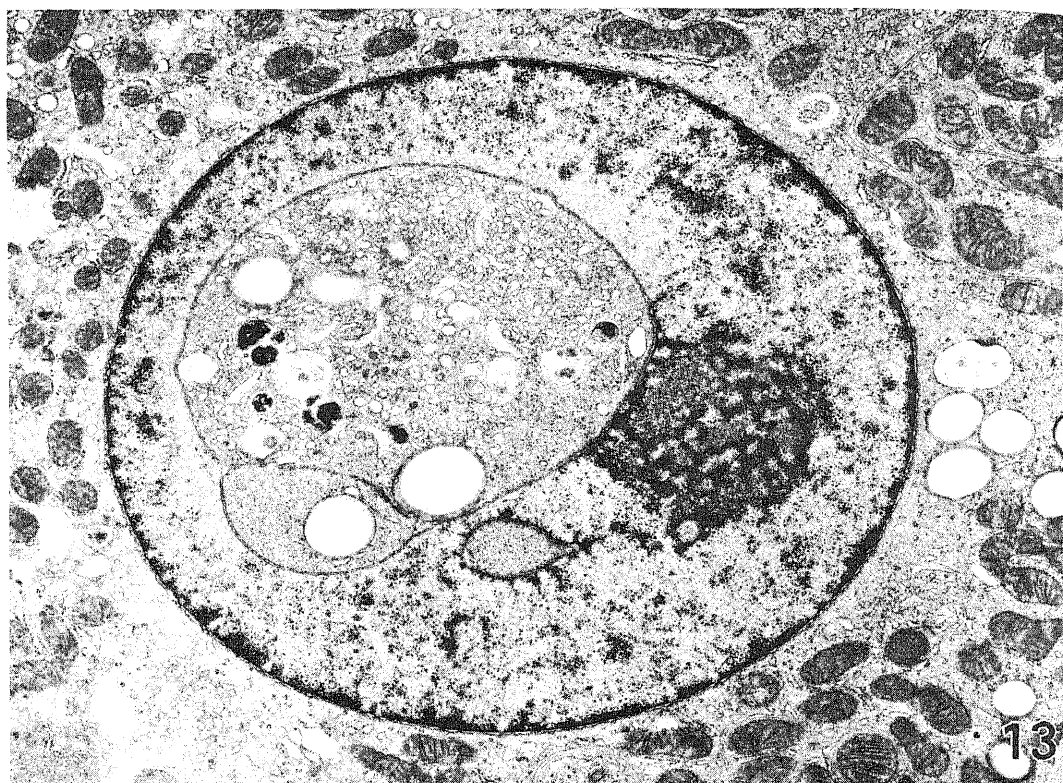


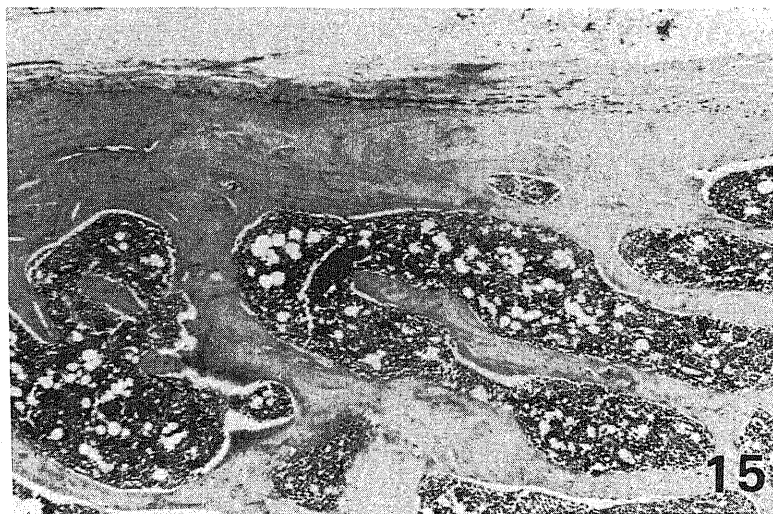












対照 91W

Cd 投与 52W

Cd 投与 65W

Cd 投与 91W

写真16 大腿骨 X線写真. Cd 投与91週例で, 対照と比べて骨皮質がごく僅かに菲薄. $\times 3$