キンギョの破骨細胞、骨芽細胞及び血漿Ca濃度に及ぼすカドミウムの影響

メタデータ	言語: jpn
	出版者:
	公開日: 2017-10-05
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 鈴木, 信雄
	メールアドレス:
	所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/19589

キンギョの破骨細胞、骨芽細胞及び血漿Ｃａ濃度に及ぼすカドミウムの影響

鈴木信雄

〒927-0553　珠洲郡内浦町小木　金沢大学自然計測応用研究センター，臨海実験施設

Nobuo Suzuki: Effects of cadmium on the osteoclastic and osteoblastic activities and plasma calcium concentrations in goldfish

魚のウロコには、破骨細胞と骨芽細胞とが共存し、Ｉ型コラーゲンも存在している。その中のカルシウムは、ハイドロキシアパタイトの形状をしている。すなわちウロコは、ヒトの脊椎骨を薄く輪切りにしたような構造である。このような構造を持つウロコを用いて培養系を開発した（昨年度研究報告参照）。

一方カドミウムは、イタイイタイ病（骨軟化症）を引き起こす重金属である。その作用機構は、腎障害を経る経路が有力だが、骨に対する直接的な影響に関しては不明な点が多い。そこで昨年度は、ウロコの培養系を用いて、カドミウムの骨細胞に対する直接的な作用を調べ、ウロコで発現している遺伝子も解析した。その結果、破骨細胞の活性を低下させ、カドミウムが骨に直接的に作用していることを明らかにした。さらにウロコの骨細胞で発現している遺伝子を解析すると、カドミウムの解毒に関係するタンパク質であるメタロチオネインの発現が上昇し、短時間の培養（18及び36時間）では、骨芽細胞の活性は低下しなかった。しかしながら、骨芽細胞の増殖や分化に関係するエストロゲン受容体及びインシュリン様成長因子-１の発現が減少していたので、長期間の培養（64及び96時間）では、その活性が低下した。以上の結果が、生体内でも起こっているかを明らかにするため、本研究ではカドミウムを含む水でキンギョを飼育し、ウロコの破骨及び骨芽細胞の活性と血液中のカルシウム濃度を調べた。

未成熟のキンギョ（体重5g前後、16匹）を実験に用いた。これらを２群に分けた。実験群は、カドミウム（和光）（10^{-7} M）を含む水で飼育し、対照群は水道水で飼育した。4日間飼育後、これらのキンギョをMS222（Aldrich）で麻酔し、ウロコ及び血液を採取した。ウロコは、10%ホルマリンを含む0.05Mカコジル酸緩衝液（pH7.4）で固定し、酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ及びアルカリフォスファターゼ活性を測定した。血液は、エラからペパリン処理したガラス毛細管を用いて血液を採取した。その後、遠心機で血漿を分離し、分析まで-20℃で保存した。血漿Ca濃度は、カルシウム-Cテストワコー（WAKO）を用いて測定した。

ウロコの破骨細胞（A）及び骨芽細胞（B）の結果をFig. 1に示す。破骨細胞の活性は、コントロール（1.23±0.07 nmol pNP produced x (mg scale x h)$^{-1}$）よりも有意に（$P<0.05$）低下した（1.09±0.04 nmol pNP produced x (mg scale x h)$^{-1}$）。また、骨芽細胞もコントロールとカドミウム処理群において、有意差（$P<0.01$）が認められ、その活性が低下していた（コントロール：2.05±0.07 nmol pNP produced x (mg scale x h)$^{-1}$；実験群：1.83±0.12 nmol pNP produced x (mg scale x h)$^{-1}$）。これらの結果は、前述の*in vitro*のウロコの培養系で、64-96時間培養により、両方の細胞の活性が低下したという結果と一致していた。したがって、*in vivo*においても*in vitro*の結果が再現されたことを示している。

さらに、血液中のカルシウム濃度もコントロール（7.56±0.37mg/100ml）よりも有意に低下した（6.54±0.38mg/100ml、$P<0.01$）（Fig. 2）。ウロコに含まれるカルシウム含量は、全体の20%に過ぎないが、生殖や絶食時には、他の硬組織よりもカルシウムの供給量が多いことが知られている。したがって、カドミウムがウロコの骨細胞の活性を低下させ、キンギョのカルシウム代謝を撹乱させた為、血液中のカルシウム濃度を調節することができなくなり、低下したと考えられる。

以上のことから、ウロコのアッセイ系で得られた結果は、生体内でも再現されることが判明した。したがって、この系により、重金属の骨細胞に対する作用を迅速に把握できる可能性がある。さらにこの系は、前述の内分泌撹乱化学物質に対しても有効であり、広く環境汚染物質の骨に対する作用を調べるのに使用できる可能性がある。今後、この系を他の環境汚染物質にも適用し、骨に対する影響を調べていく予定である。

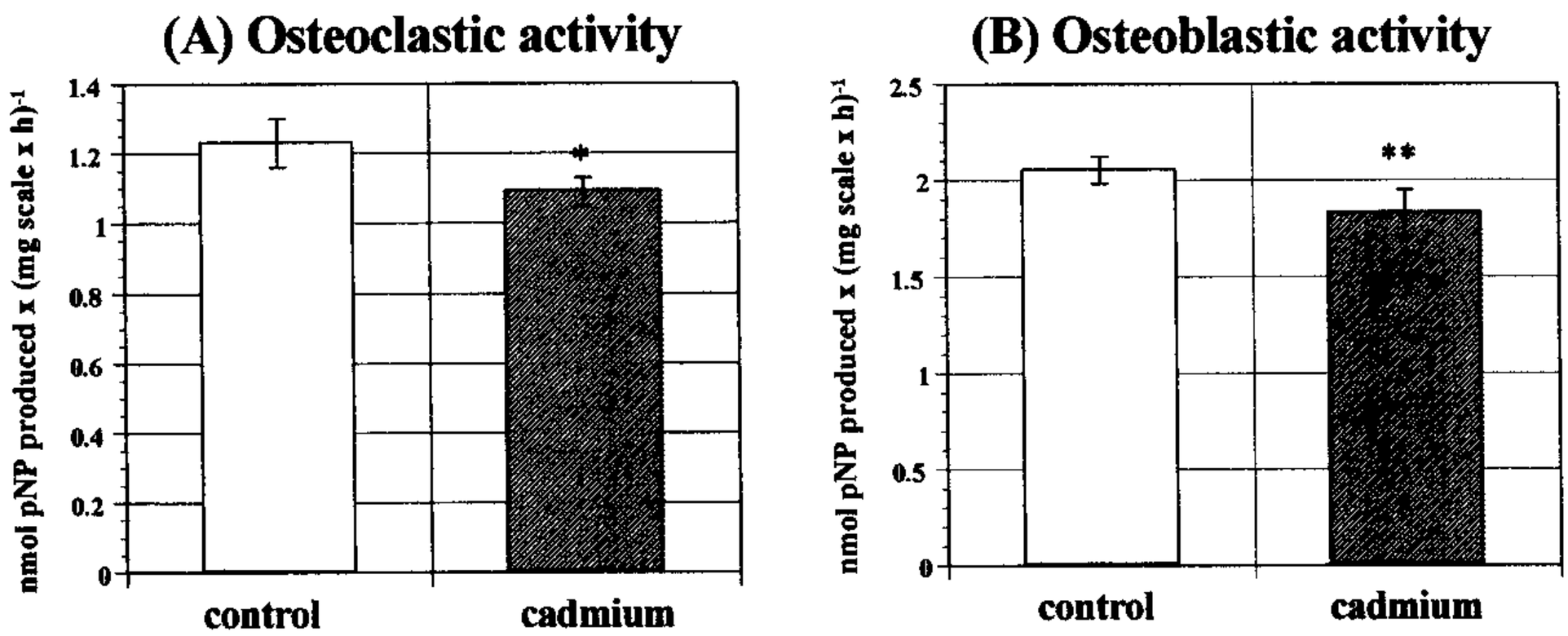

Fig. 1 Osteoclastic (A) and osteoblastic (B) activities in the cadmium-treated goldfish and control goldfish. Values are means± SEM. *,** indicate statistically significant differences at $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively, compared with the values in the control.

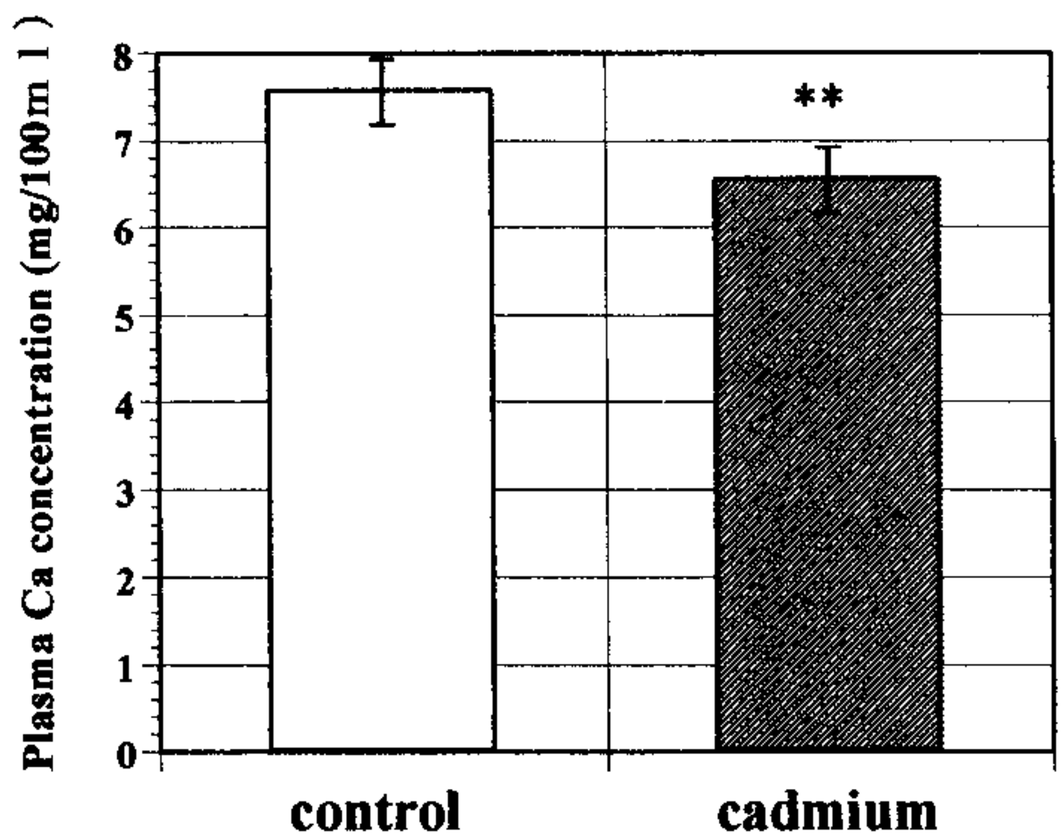

Fig. 2 Plasma calcium (Ca) concentrations in the cadmium-treated goldfish and control goldfish. Values are means± SEM. ** indicates a statistically significant difference at $P<0.01$, compared with the value in the control.

謝辞
本研究は科学研究費，若手研究B（14740455）の援助により行われた。