

|               |  |
|---------------|--|
| Title         | 骨中のカドミウム挙動に関する基礎的研究  |
| Author(s)     | 岡野, 登志夫  |
| Citation      |  |
| Issue Date    |  |
| oaire:version |  |
| URL           | <a href="https://hdl.handle.net/11094/32248">https://hdl.handle.net/11094/32248</a>  |
| rights        |  |
| Note          | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。 |

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

|         |   |
|---------|---|
| 氏名・(本籍) | 岡野登志夫   |
| 学位の種類   | 薬学博士  |
| 学位記番号   | 第 4457 号  |
| 学位授与の日付 | 昭和 54 年 1 月 12 日                                      |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 5 条第 2 項該当                                      |
| 学位論文題目  | 骨中のカドミウム挙動に関する基礎的研究                                   |
| 論文審査委員  | (主査)<br>教授 近藤 雅臣<br>(副査)<br>教授 上原喜八郎 教授 青沼 繁 教授 岩田平太郎 |

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 緒 論

カドミウム (Cadmium, 以下Cdと略す) の急性, 慢性中毒時に骨障害が認められる。この骨障害のうち, 最も顕著で共通な所見として, 骨の脱灰を伴う構造組織変化ならびに脆弱化が挙げられる。<sup>1)</sup> これまで, これら骨障害の発生機序としては次の様に考えられてきた。すなわち, まず初めに, 腸管からのカルシウム吸収障害および腎におけるカルシウム再吸収障害に由来するHypocalcemiaが起こる。続いてSecondary Hyperparathyroidismを併発することにより骨の脱灰を誘起させるというCdの二次的な作用によるものと考えられてきた。

しかし, 近年, 糸川,<sup>2)</sup> 須田<sup>3)</sup>らは腎障害の現われる以前に主として骨芽細胞の消失を伴う直接的な骨障害が認められることを報告している。また, 宮原<sup>4)</sup>らは鶏胚脛骨の器官培養系を用いた実験で, Cd投与によりコラーゲンの合成阻害, DNA含量低下を伴う著しい骨成長阻害が認められることを報告している。これらの結果は, 骨に存在するCdの影響も無視できないことを強く示唆している。

しかし, これら骨にたいするCdの影響を解明するうえで, 基本的に重要な問題と思われる骨中カドミウムの存在意義に関しては, 現在のところ全く不明といっても過言ではない。これは, Cdの骨中レベルが極めて低いこと, また, 硬組織という特殊な生物試料中でのCdの測定に付随する分析上の問題によるものと思われる。

これらの観点より, 演者はCdの骨における挙動を解明することが, 骨にたいするCdの直接的な影響を知るうえで, 重要な手掛りとなると考え, まず, 基本操作法となる骨中カドミウムの定量法を確立し, この方法を用いて骨中へのCdの取込み機序を明らかにし, さらに骨中に取込まれたCdの細胞内分

布ならびに存在型についても検討した。

## 本 論

### 第1章 骨中カドミウムの微量定量法

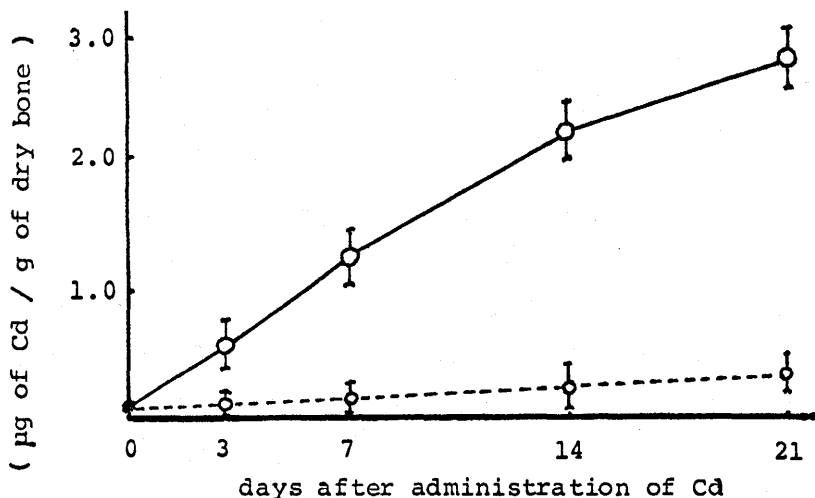
骨を湿式灰化した後、灰化液について無炭原子吸光分析法によるCdの測定法を検討した。その結果、骨に多量に含まれるカルシウム、リンがCdの測定を著しく妨害することがわかった。このため骨灰化液よりのカルシウム、リンの除去法を検討した。

その結果、陽イオン交換樹脂Dowex 50Wカラムによる分離定量法が最も有効であった。この方法により、Cdは0.5M-HClによりカラムから選択的に溶出され、分離、分画された。また、このCd画分に僅かに混在するカルシウム、リンは全くCdの測定を妨害するものではなく、極めて精度よく骨中のCdを測定し得る方法を確立した。

### 第2章 カドミウムの骨中への取込み

前記の如く確立した、Cdの微量定量法を用いて、Cd投与後の骨中への取込み挙動を、大腿骨Metaphyseal BoneおよびDiaphyseal Boneで検討した。その結果、図に示すようにDiaphyseal BoneにくらべMetaphyseal BoneでCdの取込みが高く、骨の部位によってCdの取込み活性が異なることが明らかとなった。

一方、Cdによる骨の構造組織変化発現に、骨のカルシウム、リン代謝が密接に関係していることが報告されている。そこで、カルシウム、リン含量の異なる飼料により飼育した動物におけるCdの骨中への取込み挙動を検討した。その結果、低カルシウムおよび高リン飼料群においてCdの取込みが有意に高い事実が認められた。このことより、骨のCa動員(骨吸収)の変動がCdの骨への取込みならびに毒性発現に重要な影響を与えるものと推察された。さらに、Cdの骨への取込み量を、骨を標的臓器とする鉛、ストロンチウムと比較検討した結果、Metaphyseal Boneに取込みが高いという点において、Cdとよく似た傾向を示した。



○—○ metaphyseal bone    ○-----○ diaphyseal bone

Accumulation of Cadmium into Metaphyseal Bone and Diaphyseal Bone of Rat Femur

### 第3章 骨におけるカドミウムの細胞内分布および存在型

Cdは生体内においてCdイオンとして存在するとき極めて高い毒性を発揮する。一方、肝臓、腎臓、膵臓などのいわゆるCd親和性臓器においてCdはMetallothioneinと呼ばれる特殊なタンパク質と結合して存在している。そのため、Cdの毒性は著しく緩和されることが知られている。

従って、骨中に存在するCdの場合においても、その存在型を知ることは毒性を推察するうえで重要な手掛りを与えるものと考えられる。そこで、 $^{109}\text{Cd}$ を用いて骨での細胞内分布、存在型について検討した。その結果、細胞内可溶性画分である  $105,000\times\text{G}$  遠心上清に放射活性の大部分が認められ、そのうち80%以上が非透析性Cdとして存在することが明らかとなった。(表中)

Distribution of  $^{109}\text{Cd}$  Radioactivities in Subcllural  
Fraction of Metaphyseal Bone

| Fraction  | Radioactivity of $^{109}\text{Cd}$<br>(cpm / g of dry bone) |
|---|---|
| $3,000\times\text{G}$ . ppt                                   | 2,073   |
| $10,000\times\text{G}$ . ppt                                  | 801   |
| $105,000\times\text{G}$ . ppt                                 | 438   |
| $105,000\times\text{G}$ . sup.                                | 14,577  |
| .....   |   |
| $105,000\times\text{G}$ . sup<br>Dialysate. $^{109}\text{Cd}$ | 3,186   |
| NON-Dialysate. $^{109}\text{Cd}$                              | 11,661  |

この非透析性Cdをゲルろ過法およびDEAE-Celluloseカラム法により分離精製した結果、このタンパク質は250~260nmに吸収シヨルダーを持ち、構成アミノ酸としてcysteineが約20%を占めるSHタンパク質であることが明らかとなった。また、このタンパク質の出現とCd投与量との間に、dose responseが認められることより、このタンパク質が細胞内においてカドミウムの毒性発現に何らかの役割を果たすものと考えられた。

#### 結 論

1. 陽イオン交換樹脂Dowex 50Wカラムクロマトグラフィーを併用した無炎原子吸光法による骨中のCdの微量定量法を確立した。
2. 大腿骨のMetaphyseal BoneおよびDiaphyseal BoneへのCdの取込みは、Metaphyseal Boneで高く、この取込みは骨のカルシウム、リン代謝と密接な相関を示すことが示唆された。
3. Metaphyseal BoneへのCdの取込みは、骨を標的臓器とする鉛、ストロンチウムとよく似た傾向であった。
4. 骨中に存在するCdの大部分は、細胞内可溶性画分に局在することが明らかとなった。
5. 細胞内可溶性画分でCdは分子量約13,500のタンパク質と結合して存在し、このタンパク質はCd投与により誘導されることが示唆された。

#### 引用文献

1. G. F. Nordberg, M. Piscator, B. Lind., : Acta. Pharmacol. et. Toxicol. **29**, 456 (1971)
2. Schafer. H. J., : A. Pathol, Anal. Histol. **362**, 1 (1974)
3. Hokawa Y. Abe T. Tabei R., : Arch. Environ. Health, **28**, 149 (1974)
4. Suda T. Horiuchi N, Ogata E., : FEBS Lett **42**, 23 (1974)
5. 酒井立夫, 宮原龍郎, 実井佳代, 野村昇, 高柳尹立, : 衛生化学, **21**, (1) 35 (1975)

#### 論文の審査結果の要旨

カドミウム摂取時の骨障害の原因を究明する方法のひとつとして、カドミウム摂取時骨中にとりこまれるカドミウムの存在意義ならびにその挙動について検討した。そして、まず、骨中カドミウムの微量定量法を確立し、これを用いて種々の飼育状態における骨中へのカドミウムのとりこみの差を究明し、大腿骨へのカドミウムのとりこみはMetaphyseal Boneで高く、このとりこみはカルシウム、リン代謝と密接な相関を示すことを明らかにした。また、骨中に存在するカドミウムは細胞内可溶性画分に局在し、しかも、分子量約13,500のタンパク質と結合しており、このタンパク質はカドミウム投与により誘導的に生合成されることを明らかにした。これらの知見はカドミウムによる骨障害の原因究明に関し、新しい知見を加えこの問題の解明の糸口となるものといえ、博士号を授与するに値するものと判定した。