

鉛微粒子吸入によるラット体内の鉛の分布

第二報

岡山大学医学部公衆衛生学教室（主任：緒方正名教授）

熊 城 一 男

〔昭和48年3月16日受稿〕

I 緒 言

前報¹⁾において著者は鉛極微粒子（直径=0.02-0.05 μ ）吸入直後のラット体内の鉛の分布について研究し、血液、脳、肺、心、肝、腎及び脾臓について鉛の分析を行い、血液、肺、肝、腎にすみやかに鉛の移行することを報告した。一方鉛中毒の重要な症状の因子として、幼若赤血球出現（好塩基斑点赤血球、網状球、多染球、蛍光球等）、貧血（全血比重、赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値の減少）、Copro-Pr. 尿、 δ -ALA尿等主として造血組織との関係が重要視されている²⁻⁶⁾この点に注目して、今回骨髓、骨における鉛の分布を他の臓器の分布と比較し、併せて末梢血液、及び骨髓像を調べたのでここに報告する。

II 材料および方法

1. 鉛 fume 吸入装置

前報¹⁾に報告した装置を使用した。

2. Chamber 内の鉛気中濃度測定

前報¹⁾と同様の方法で処理し、原子吸光分光分析法で定量を行った。

3. ラットの鉛fume 吸入実験

Wister系雌ラット（約200g）20尾を使用し、その内5尾を対照群とした。30分間空運転して鉛fumeの濃度を均一とした後、ラット15尾を投入箱から、鉛fumeを含有するchamber内に投入した。そして4時間、鉛fumeを吸入させた。鉛fume吸入後の生存日数に従って下記の3群に分けた。a) 対照群 b) 鉛fume吸入直後群、c) 鉛fume吸入後7日群。

4. 血液および臓器の採取と鉛の測定、各群3尾のラットをエーテル麻酔し、断頭致死せしめ、血液をヘパリンコーティングの中試験管に採取した。同時にスライドグラスに smear をひいた。臓器は脳、

肺、心、肝、腎、脾、骨髓及び骨の8種類を分取した。脳、心、脾、骨髓は少量のため名群を pool した。そして前報に報告した過塩素酸処理法により鉛を測定した。すなわち血液の一定量をはかりこれを100mlの共栓三角フラスコに移し、2N-HClO₄液10mlを加えて良く攪拌し、10分後脱イオン水（以下H₂Oと略）10mlを追加して振とう機を用いて24時間振とうした。各臓器は湿重量を秤った後、各々100mlの磁性皿にとり、乳棒で細分し、これを100mlの共栓三角フラスコに移し、H₂O20mlで洗滌し洗液を三角フラスコに合した。そして2N-HClO₄液10ml加えて24時間振とうした。これを50mlの遠心管に移し3000rpm5分間遠心分離し、上清を100mlの共栓付き三角フラスコにとり、さらに残渣にH₂O10mlを加えてよく攪拌し、遠心分離して上清に加え、これを検査資料とした。これを3N-NaOH液でPH=3.0に修正し、2%ピロリジン、ジチオカルバミン酸アンモニウム液（APDC）2mlを加えてよく振とうし、10分間放置した。そしてもう一度3N-NaOH液でPH=3.0に修正し、メチルイソブチルケトン（MIBK）5mlを加えて2分間激しく振とうし、3,000rpm5分間遠心分離し、上清のMIBK層を原子吸光分析で測定した。鉛の検量線は100mlの三角フラスコに10ppm鉛標準液のおの0, 0.1, 0.3, 0.5, 1.0mlとり、これに2N-HClO₄5mlを加え、H₂Oで全量を30mlとした。そして3N-NaOH液でPH=3.0に修正し以下APDC-MIBK法で測定を行った。骨は重量を秤り100mlの磁性皿に移しこれを電気炉で、500℃、6時間灰化し、冷後乳棒で細分し、2N-HClO₄10mlを加えて完全に溶解し、これを100mlの共栓三角フラスコに移し、以下血液、臓器と同様に処理した¹⁾

5. 血液検査

A 貧血に関する検査

ラット断頭致死時別に少量の血液をとり、下記の

検査を行った。

a) ヘマトクリット値：毛細管を使用し、成書²⁴⁾に従って検査した。

b) 血色素量：シアンメトヘモグロビン法で行い、成書¹⁰⁾に従って検査した。

c) 全血比重：第一化学全血比重用試薬を使用し、成書¹¹⁾に従って検査した。

d) 赤血球数：Bürker-Türk式血球計算板を使用し、成書¹²⁾に従って測定した。

B 末梢血液像及び骨髄像

断頭致死時に、末梢血液像はスライドガラスに smear をひき、骨髄像はスライドガラスにスタンプした。そして May-Giemsa 染色を行い、成書¹³⁾に従って分類した。

III 実験結果

1. 実験 chamber 中の気中鉛濃度

30分間の空運転の後、30分間隔で実験中5回測定した。その結果は気中濃度 ($m \pm \delta$) = $15.2 \pm 1.7 \text{ mg/m}^3$ となり、これは労働衛生の基準 0.15 mg/m^3 の約100倍にあたる高濃度であった。これは前報吸入実験時の約5分の濃度であった。汚紙に吸着された鉛の微粒子は微細な黄かっ色粉末で、高温時に生じる酸化鉛すなわちミツダソウと推定され、同一条件の電子顕微鏡による粒子の直径は $0.02 - 0.05 \mu$ の範囲であった¹⁾。

2. 血液中の鉛量の変化

表1に示すごとく鉛 fume を吸入していない対照群は $10.8 \pm 2.2 \mu\text{g/dl}$ が、鉛 fume 吸入4時間群では $29.5 \pm 6.4 \mu\text{g/dl}$ となり、対照群の約3倍に増加した。しかし前回の吸入実験ほど(対照群の約10倍)血液中の鉛量は上昇しなかった。これは気中濃度が前回 $53 \pm 12 \text{ mg/m}^3$ のき程度であったことが原因と考えられる。吸入後7日目の血中鉛は $11.2 \pm 2.0 \mu\text{g/dl}$ となり、対照群とはほぼ同程度であった。これは浅川¹⁴⁾らの家兎における吸入実験とはほぼ一致し、鉛 fume 吸入後7日間で血中鉛はほとんど正常に復したものと推定される。

表1 鉛 fume 吸入後のラット臓器中の鉛の分布
(単位：血液— $\mu\text{g/dl}$ 、臓器— $\mu\text{g}/100 \text{ g wet}$)

	対照群	鉛ヒューム吸入群 (直後)	鉛ヒューム吸入群 (7日後)
血液	10.8 ± 2.2 ※1	29.5 ± 6.4	11.2 ± 2.0
脳	22.7	18.0	27.5
肺	71.5 ± 7.0	927.3 ± 24.5	46.9 ± 6.1
心	28.3	37.0	22.7
肝	19.4 ± 4.1	80.1 ± 5.1	32.9 ± 6.7
脾	27.8	50.6	62.5
腎	35.7 ± 6.7	321.7 ± 17.3	60.6 ± 5.7
骨髄	1270.0	1667.0	1430.0
骨	55.6 ± 6.1	60.3 ± 8.3	72.1 ± 5.6

※1 $m \pm \delta$ ($n=3$)

3. ラット臓器中の鉛量

表1に示すごとく、鉛 fume の吸入後明らかに鉛の増加した臓器は、肺、腎、肝であり、脾も増加の傾向を示した。しかし、脳、心においては鉛の増加は明らかではなかった。これは前回の吸入実験とはほぼ同様であり、鉛の経口投与や腹腔内注射とやや異なるのは、腎における鉛量の増加の特に著しいことである。今回初めて測定した骨髄中の鉛の測定は各群3尾を pool したものの骨髄の湿重量が約 0.15 g であり、鉛の絶対量が少ないので、今後家兎等で鉛 fume 吸入実験を行ってゆきたいと考える。

骨中鉛については、対照群、鉛 fume 吸入直後群、鉛 fume 吸入7日後群が各々 $55.6 \pm 6.1 \mu\text{g}/100 \text{ g wet}$ 、 $60.3 \pm 8.3 \mu\text{g}/100 \text{ g wet}$ 、 $72.1 \pm 5.6 \mu\text{g}/100 \text{ g wet}$ 、と

表2 貧血検査における吸入群(7日後)と対照群の比較

		ヘマトクリット	血液比重	血色素量	赤血球数
対照群	1	46.1%	1.056	14.9 g/dl	877個/ mm^3
	2	40.0	1.054	12.9	647
	3	42.5	1.056	13.6	651
	4	38.0	1.054	12.5	766
	5	41.0	1.055	13.4	735
		41.5 ± 3.0	1.055 ± 0.001	13.5 ± 0.9	735 ± 95
鉛ヒューム吸入群 (7日後)	1	43.0	1.053	13.2	761
	2	38.0	1.056	13.9	724
	3	40.8	1.055	13.4	708
	4	44.0	1.054	13.9	786
	5	41.5	1.056	13.6	770
		41.5 ± 2.3	1.055 ± 0.001	13.6 ± 0.3	750 ± 33

なりやや蓄積の傾向があり、長期間の鉛暴露では明らかな増加が見られると推定される。

4. 貧血検査

鉛 fume 吸入群の貧血検査の成績は表 2 に示すごとく、ヘマトクリット値、全血比重、色血素量、赤血球数とも対照群と差がなく、この程度の暴露では、貧血検査に影響を与えるほどのことはないと考えられる。

5. 末梢血液像

表 3 に示すごとく、多染性赤血球は対照群が12個/3600、鉛 fume 吸入群(7日後)が32個/3600とやや増加の傾向を示した。白血球所見において、吸入群は好塩基球 1.5%、エオジン好性白血球 2.5%、細網細胞 2.0%の増加の傾向を示した。しかし明らかな差異が認められないので今後検討してゆきたい。

表 3 末梢血液における吸入群(7日後)と対照群の比較

		対照群	吸入群(7日後)	
赤血球所見	多染性赤血球	12 3600	32 3600	
白血球所見	Baso	0 %	1.5 %	
	Eosino	0	2.5	
	Neutro	Bl	0	0
		Pro	0	0
		Myelo	0	0
		Meta	0	0
		Stab	1.5	3.0
		Seg	30.0	24.0
	Lympho	39.0	51.5	
	Mono	29.0	15.5	
Ret	0.5	2.0		

6. 骨髓像

表 4 に示すごとく、鉛 fume 吸入群は、塩基性正赤芽球、および多染性正赤芽球が対照群よりやや多い傾向を示した。しかしながら短期間の暴露であるので差異が明らかでないので今後長期間の暴露で検討したい。

考 按

鉛中毒による症状は貧血、鉛緑、腹部の痙攣、上腕伸筋マヒ、脳症等があり、しばしばみられる病変として骨髓細胞の増大、胃または腸の潰瘍形成又は

表 4 骨髓像における吸入群(7日後)と対照群の比較

		対 照 群	吸入群(7日後)	
赤 芽 球 系	前赤芽球	15 %	15 %	
	大	塩基性	0	0
		多染性	0	0
		正染性	0	0
	正	塩基性	105	165
		多染性	0	25
		正染性	0	0
核分裂像	0	0		
小 計		120	190	
顆 粒 球 系	骨髓芽球	25	15	
	好	前骨髓球	100	50
		骨髓球	50	45
	中	後骨髓球	45	15
		桿核球	110	95
		分節核球	210	120
	好	前骨髓球	5	15
		骨髓球	15	10
		後骨髓球	25	5
	球	桿核球	25	0
分節核球		0	0	
好塩基球	15	0		
小 計		625	385	
そ の 他	単球	単芽球	0	0
		前単球	0	0
		単球	65	50
	リンバ球	リンバ芽球	0	0
		大リンバ球	10	10
		小リンバ球	160	345
	形質細胞	20	10	
	細網細胞	0	10	
	核分裂像	0	0	
	小 計		255	425

出血、線維性筋炎、腎管細胞核含有物変性、慢性間質性腎炎、こう丸上皮の変性、肝細胞の変性等がある²⁻⁹⁾これらの原因については多くの研究者により研究されているが今回は骨髓、骨について検討したい

前報で鉛 fume 吸入直後のラット生体内の鉛の分布は血液、肺、肝、腎で著名な鉛の増加があり、脾においても増加の傾向を示し、脳、心については増加傾向の明らかでないことを報告した¹⁾今回の鉛は fume 吸入実験は、気中鉛濃度が $15.2 \pm 1.7 \text{ mg/m}^3$ となり前報の約 $\frac{1}{2}$ の濃度であったが、前報同様傾向を示し

た。本実験の血中鉛濃度上昇がやや低い、これは気中鉛濃度に併行しているものと推察される。

今回骨髓造血組織の主たる骨髓中の鉛濃度を測定して、対照群、吸入直後群、吸入7日目群の鉛量を比較した。その結果吸入群は対照に比してやや多い傾向を示している。そして7日目群もやや蓄積の傾向を示した。ただ各群とも pool した骨髓湿重量が約 0.15 g と極少量なので、今後家兎等で追試を行ってゆきたい。

骨中鉛は対照群、吸入直後群、吸入7日目群がそれぞれ 55.6 ± 6.1 , 60.3 ± 8.3 , $72.1 \pm 5.6 \mu\text{g}/100\text{g wet}$ であり、吸入群は対照群よりやや多く蓄積の傾向を示している。

造血組織への鉛の影響については、主として三つの見解があり、A. de Bruin¹⁵⁾は1) 環流血液への影響 2) 骨髓の造血組織への妨害、3) 骨髓の造血組織への刺激、等がある。

Kehoe¹⁶⁾は $50\text{mg}/\text{m}^3$ の濃度で家兎の赤血球数、色素量は数週間増加し以後減少し、骨髓における鉛濃度が 10^{-7}M から 10^{-11}M ではポルフィリンの生産増加を示し、 10^{-4}M では減少すると報告している。小机¹⁷⁾は家兎にステアリン酸鉛 $0.5\text{g}/\text{kg}$ 毎日投与し2日後から流血中に好塩基点赤血球の出現をみとめている。

椿¹⁸⁾は家兎に酢酸鉛 $0.2\text{g}/\text{kg per week}$ 皮下注射して、その骨髓の電顕像を観察し、赤芽球系細胞において、成熟型に細胞辺縁の不整核膜の彎入、細胞質においてRNA顆粒の分布を認め、好中球系細胞では成熟型に細胞辺縁に偽足の突起、核質の均一性を欠くもの、幼若型に外核膜の著名な膨出等を認めている。

今回鉛 fume 吸入7日後群における末梢血液好塩基性斑点赤血球 (Baso)¹⁹⁾ は出現しなかったが多染性赤血球は対照群より多く、Baso が多染性赤血球 (Poly) あるいは網状赤血球 (Ret) との密接な関係が報告されており、これは骨髓における鉛の直接の影響があるものと考えられる。¹⁹⁾ ラットの骨髓像にお

いて吸入群が対照群より塩基性、多染性正赤芽球が多かった。これは勝沼²⁰⁾の人における鉛中毒の骨髓像と一致している。

骨についての鉛の蓄積については、Grundy, K. D は全体の70%あるといわれ年令とともに増加すると報告している。⁵⁾ Kehoe¹⁶⁾は長骨に多く蓄積され成人の平均は $670\mu\text{g}/100\text{g wet} \sim 350\mu\text{g}/100\text{g}$ に達するとされている。

大井²¹⁾らはハトの大たい骨中の鉛をしらべ棲息場所により $270 \sim 3000\mu\text{g}/100\text{g wet}$ の差のあることをみいだして蓄積のあることを報告している。

注) 佐野²⁰⁾は鉛が骨髓に達すると選択的に赤芽球の細胞質を侵襲し、特にミトコンドリアに作用してその成熟を抑制し、ためにミトコンドリアが赤血球の段階にまで残存し、これが細胞質のRNAと凝集纏絡して大きい特有の顆粒を形成することを報告している。

IV 結 論

鉛極微粒子吸入時におけるラット体内の鉛の分析を行った。気中鉛濃度 $15.2 \pm 1.7\text{mg}/\text{m}^3$ で4時間吸入させた。

1) 鉛 fume 吸入直後では血液、肺、肝、腎に明らかな鉛の増加を示し、脾、骨髓、骨で増加の傾向を示した。吸入後7日では血中鉛は正常に復したが、骨ではやや蓄積の傾向があり、肝、腎、脾、骨髓に鉛の残留の傾向をみとめた。

2) 血液検査において貧血検査は対照群と吸入後7日目群では差を示さなかった。末梢血液像において吸入群は対照群よりやや多くの多染性赤血球を認め、骨髓像においてもやや多くの塩基性及び多染性正赤芽球を認めたが、明らかな差異はなかった。

謝 辞

本論文の研究遂行にあたり、末梢血液像および骨髓検査に多大な御援助をいただいた倉敷成人病センター血液検査主任徳永達文先生に深謝する。

文 献

- 1) 熊成一男：鉛微粒子吸入によるラット体内の鉛の分布。日本公衛誌，20：23-27，1973。
- 2) Robert A. Kehoe：Industrial hygiene and Toxicology，1：941-981，Interscience Publishers, Inc, New York.
- 3) 労働科学研究所編：労働衛生ハンドブック：667-676，労働科学研究所出版部，1970。
- 4) 土屋健三郎：鉛の健康への影響。科学，41，575-580，1971。
- 5) 和田攻：公害による疾患。192-198，南山堂，

- 東京, 1971.
- 6) 鈴木継美: 職業病管理. 208-209, 南山尚, 東京, 1971.
 - 7) 原田昭: 鉛中毒について. 臨床病理, **18**, 699-702, 1970.
 - 8) 甘利貞衛: 鉛の有毒性について, 衛生検査. **20**, 666-667, 1971.
 - 9) 松本久男: 鉛中毒における代謝と測定. 臨床病理. **19**, 56-61, 1971.
 - 10) 金井泉: 臨床検査法提要, VII-5, 金原出版, 京都, 1965.
 - 11) 金井泉: 臨床検査法提要, VI-35, 金原出版, 京都, 1965.
 - 12) 金井泉: 臨床検査法提要, VI-9, 金原出版, 京都, 1965.
 - 13) 金井泉: 臨床検査法提要, VI-18, 金原出版, 京都, 1965.
 - 14) 浅川富美雪, 緒方正名: 原子吸光法による尿中鉛の定量, 第43回日本産業医学会講演集. 403, 1970.
 - 15) A. de Bruin: Certain Biological Effects of Lead Upon the Animal Organism. Arch Environ Health., **23**, 249-264, 1971.
 - 16) Robert A Kehoe: Standards for the Prevention of Occupational Lead Poisoning. Arch Environ Health., **23**, 245-248, 1971.
 - 17) 小机弘之, 工藤吉郎, 吉村晶子: 鉛および P.C.NB 重複中毒におけるウサギ赤血球変化の蛍光顕微鏡的研究. 日本衛生学雑誌, **21**, 199, 1966.
 - 18) 椿健一: 鉛中毒家兎における骨髓内細胞の電子顕微鏡的研究. 労働科学. **46**, 86-110, 1970.
 - 19) 鈴木庄亮, 他: 好塩基性斑点赤血球の本態と検出法についての考察. 産業医学. **11**, 545-551, 1969.
 - 20) 佐野晴洋: 好塩基斑点赤血球のミトコンドリアに関する研究. 細胞学シンポジウム, **8**, 195-197, 1958.
 - 21) G. Ohi, Akiyama, K, Saki, H, Maeda, H, Hukuda M, and Yagyu, H.: Lead Pollution Reflected in the Pigeons. 日本公衛誌. **18**, 477, 1971
 - 22) 堀口俊一, 村上靖: 一般健康日本人の鉛収支推定の試み (その2). 産業医学. **14**, 466-467, 1972.
 - 23) 勝沼晴雄: 鉛中毒と骨髓巨核球. 労働科学. **29**, 113-118, 1953.
 - 24) 金井泉: 臨床検査法提要. VI-21, 金原出版, 京都, 1965.

The Distribution of Lead in the Organs of White Rats exposed to Lead Fume

(Part 2)

Kazuo KUMASHIRO

(Department of Public Health, Okayama University Medical School)

Okayama, Japan

(Director: Prof. Masana Ogata)

- 1) The distribution in the organs of Wister rats (female) was studied by making them inhale lead fume for four hours, the concentration of which was as high as 15.2 mg/m³.
- 2) Immediately after inhaling lead fume, the amount of distributed lead increased clearly in lung, liver and kidney, and slightly increased in spleen, bone marrow and bone, and after seven days amount in blood of inhaled rat came to the normal level.
- 3) It is inferred that kidney and bone are the organ where lead accumulates.
- 4) It was recognized that polychromatic red cells increased in the peripheral blood.