

[原著]

塩化カドミウム経口投与のマウス胎仔に およぼす主に催奇形性影響について

今 井 裕*

(昭和60年5月20日受付)

要 旨

妊娠マウスに経口的に塩化カドミウム (Cd) を投与し、催奇形性的観点から、その母胎各臓器への Cd の集積量、胎仔への致死・中毒効果ならびに奇形発生を検索した。

1日量16mg/kg (A群), 11mg/kg (B群), ならびに 6 mg/kg (C群) の Cd を妊娠7-15日のマウス 1 (ICR 系) に連続強制経口投与の後、妊娠16日目に屠殺、資料を採取し、これにより Cd の投与量差の影響を検討: さらに投与時期差による影響を見るため、1日量11mg/kg を妊娠7-15日間の前 (7-9日), 中 (10-12日), 後 (13-15日) 期の3群に各3日間投与し、同様に資料を採取検索した。

その結果、母獣の体重増加は投与量が多い程抑制され、また初期投与 (7-9日) に強く現れたが、一般に各臓器への Cd 集積は著しく低値であった。死亡胎仔の性状から検討すると、胎仔への影響は致死性と中毒性が半ばした。奇形発生として口蓋裂が経口投与としては比較的多く発生した。その発現はA群4.90%, B群10.91%, C群1.83%, 7-9日群7.50%, 10-12日群12.93%, 13-15日群0%であった。しかし他種の奇形は全く観察されなかった。

以上から、経口投与による Cd は比較的緩やかに、低濃度、長時間胎仔へ移行すること、しかし器官形成後期 (13-15日) には移行しないこと、口蓋裂の発現の様相には発生段階特異性があり、それは妊娠11日目、すなわち外側口蓋突起形成期に相当することが推定された。また、dose response relationship についてはさらに検討を要すると考えられた。

Keywords: カドミウム, 経口投与, 催奇形性, 致死性, 胎仔中毒性, 発生段階特異性, 口蓋裂, dose response relationship

略語一覧: カドミウム: Cd, 経口投与: 経口, 皮下投与: 皮下

緒 言

カドミウムによる環境汚染が問題にされて久しい。その汚染対策が進展して直接的な被害は、漸次鎮静してきている。しかし、微量長期汚染から生ずる生物学的問題の1つ、すなわち催奇形性については、なお問題を残している。言い換えれば、カドミウムの母胎ならびに胎仔への影響である。

Ferm ら¹⁾は、ゴールデンハムスターを用い、胎仔の死亡率の増加ならびに種々の奇形発生を観察し、カドミウムによる催奇形性を初めて報告した。その後も、

Mulvihill²⁾, Schroeder ら³⁾, Barr ら⁴⁾が、カドミウムの催奇形性について報告し、本邦においても、山村ら⁵⁾, 慶野ら^{6,7)}, 石津ら⁸⁾, 石山⁹⁾による報告が見られている。

しかしながら、これらの報告におけるカドミウムの投与経路は、皮下、静脈、腹腔内投与によるものがほとんどで、経口的投与による催奇形性の報告は少なく、未だ解明すべきことを多く残している。そこで著者は塩化カドミウムを経口的に妊娠マウスへ投与し、その結果をほぼ同様な検索をした石山の皮下投与の結果と比較・検討することにより、経口投与による胎仔への影響を明らか

* 千葉大学医学部歯科口腔外科学教室

Yutaka IMAI: Teratogenic Effects of Cadmium on Fetuses by its *per os* Maternal Administration. Department of Oral Surgery, School of Medicine, Chiba University, Chiba 280.

Received for publication, May 20, 1985.

にしようと試みた。

実験 I. 塩化カドミウム経口投与量の相違による影響

1. 実験材料ならびに実験方法

1) 実験動物

ICR (SPF) 系マウス7週齢を購入し、22°C で3週間飼育した後、雌雄5:1で夜間13時間同居支配させ、翌朝腔栓の認められたものを妊娠0日目とし、以下の実験に供した。

2) カドミウムの投与方法ならびに投与量

妊娠マウスを4群に分け、1群10匹ずつとし、3群を実験群、1群を対照群として使用した。実験群は塩化カドミウム (和光純薬 K.K., 試薬特級) 16mg/kg (以下A群), 11mg/kg (以下B群), 6mg/kg (以下C群) を0.2ml 生理食塩水に溶解し、妊娠7日目より15日までの9日間、マウス用胃ゾンデ (夏目製作所 K.K., 70×0.9mm) により連日 one shot 強制投与を行った。また、対照群 (以下D群) として同量の生理食塩水のみを投与した。

3) 観察項目

①母獣体重増加量の検討: A, B, C, D 各群について、妊娠0日目、4日目、12日目、16日目の母獣体重測定を行い、体重増加量を検討した。

②胎仔の肉眼的所見: 妊娠16日目に母獣を頸推脱白し、開腹ののち、羊水の性状、胎仔の生存・死亡数を観察した。続いて、胎仔の身長・体重・尾長・胎盤重量の測定を行った。

③外表奇形の観察: 各群の胎仔について、実体顕微鏡を用いて頭部、顔面、口腔内、軀幹、尾部、四肢の奇形

の有無を観察した。

④骨格奇形の観察: 各群の生存胎仔数の $\frac{2}{3}$ にあたるA群68匹、B群72匹、C群71匹について骨格奇形の有無を観察した。すなわち、胎仔を無水アルコールに24時間固定・脱水ののち、外皮をむき脂肪分を除去し軽く水洗、1% KOH 液に24-48時間入れ、充分に水洗した後、0.1%アリザリンレッド水溶液0.3ml と20% Mall 液100ml の染色液にて24時間骨染色を行った。その後、グリセリン液に保存し実体顕微鏡で観察した。

⑤母獣各臓器ならびに胎仔のカドミウム量の測定: 妊娠16日目に母獣開腹ののち、肝、腎、肺、胃、胎盤ならびに胎仔を取り出し、重量を測定した後、湿式灰化法により試料の処理を行ない、第二精工舎製 SAS-721型原子吸光光度計でカドミウムを測定、定量した。

2. 実験結果

実験期間中、A, B, C, D 各群のマウスは、外観上順調に发育した。

1) 母獣体重増加量 (表1)

カドミウム投与各群と対照群との比較では、A群とB群が有意に低値 ($P<0.02-0.05$) を示した。しかし、C群は影響が少なく対照群と有意差を認めなかった。カドミウム投与各群間でも、妊娠8、12日目測定分でC群はA, B群と有意差 ($P<0.01$) を認めたものの、A-B群間では投与量の差による影響の相違は認められなかった。また、カドミウム投与期間 (9日間) の前半期にA, B両群の抑制が著しく、C, D群は殆んど抑制されなかった。後半期ではA, B, C群は同程度に軽度抑制された。

2) 胎仔の肉眼的所見

胎仔の死亡率は、A群29.17%, B群15.38%, C群

表 1. 母獣体重増加量 (CdCl₂ 妊娠7—15日投与・16日測定)

	mean $\pm$ S.E.			
	0—4日目 (g)	4—8日目 (g)	8—12日目 (g)	12—16日目 (g)
A	2.18 $\pm$ 0.21	1.15 $\pm$ 0.34	1.42 $\pm$ 1.10	5.78 $\pm$ 1.55
B	2.64 $\pm$ 0.48	1.04 $\pm$ 0.35	1.78 $\pm$ 0.94	5.48 $\pm$ 1.32
C	1.67 $\pm$ 0.31	1.23 $\pm$ 0.49	5.41 $\pm$ 0.84	6.73 $\pm$ 1.16
D	1.63 $\pm$ 0.47	3.40 $\pm$ 0.99	5.03 $\pm$ 1.26	9.06 $\pm$ 1.07
t 検定		A < D ¹⁾	A < D ¹⁾ , A < C ³⁾	B < D ¹⁾
1) : <0.05		B < D ¹⁾	B < C ³⁾ , B < D ²⁾	
2) : <0.02				
3) : <0.01				

表 1 ~ 5

A群: CdCl₂. 16mg/kg, 妊娠7—15日連続投与
 B群: CdCl₂. 11mg/kg, 妊娠7—15日連続投与
 C群: CdCl₂. 5mg/kg, 妊娠7—15日連続投与
 D群: 生食水. 0.2ml, 妊娠7—15日連続投与

表 2. 胎仔の生存・死亡とその性状 (CdCl₂ 妊娠 7—15日投与・16日測定)

	母 獣 数	胎仔総数	生 存 胎 仔 数	死 亡 胎 仔 数			羊水血性
				計 (%)	胎盤遺残	浸軟胎仔	
A	10	144	102	42 (29.17)	20	22	4
B	10	130	110	20 (15.38)	11	9	4
C	10	120	109	11 (9.17)	9	2	1
D	10	128	124	4 (3.13)	3	1	0
t 検定	死亡胎仔数 A<B, C, D, B<D, C<D : P<0.01 ; B<C : P<0.02						

表 3. 胎仔肉眼的所見 (CdCl₂ 妊娠 7—15日投与・16日測定)

mean ± S.E.

	身 長 (mm)	体 重 (mg)	尾 長 (mm)	胎 盤 重 量 (mg)	1 母 獣 当 り 胎 仔 数
A	16.79 ± 0.11	616.52 ± 7.5	7.47 ± 0.07	108.28 ± 11.9	10.2
B	16.62 ± 0.16	627.38 ± 14.8	7.94 ± 0.11	105.02 ± 9.5	11.0
C	17.24 ± 0.13	661.41 ± 11.7	8.08 ± 0.09	107.83 ± 8.4	10.9
D	17.16 ± 0.12	674.15 ± 7.2	8.49 ± 0.06	130.69 ± 10.2	12.4
t*検定 1) : P<0.05 2) : P<0.01 3) : P<0.001	A<C ²⁾ , A<D ³⁾ B<C ²⁾ , B<D ²⁾	A<B ³⁾ , A<C ²⁾ A<D ³⁾ , B<C ³⁾ B<D ³⁾ , C<D ³⁾	A<B ²⁾ , A<C ²⁾ A<D ³⁾ , B<C ¹⁾ B<D ²⁾ , C<D ³⁾		

表 4. 胎仔の外表面奇形 (CdCl₂ 妊娠 7—15日投与・16日測定)

	総 胎 仔 数	生存胎仔数	奇 形 胎 仔 数		
			総 数 (%)	口 蓋 裂	そ の 他
A	164	102	5 (4.90)	5	0
B	130	110	12 (10.91)	12	0
C	120	109	2 (1.83)	2	0
D	128	124	0 (0.00)	0	0
t 検定	奇形胎仔数 A>C : P<0.05 ; B>A, C, D, A>D : P<0.01				

表 5. 各臓器ならびに胎盤・胎仔 Cd 量 (CdCl₂ 妊娠 7—15日投与・16日測定 μg/g)

mean ± S.E.

	肝	腎	胃	肺	胎 盤	胎 仔
A	8.70±2.44	6.00±0.62	9.80±2.34	0.70±0.05	0.70±0.05	0.60±0.11
B	6.67±2.24	4.61±0.77	72.3±2.29	0.79±0.03	0.79±0.03	0.56±0.06
C	5.28±0.68	2.70±0.23	3.81±0.59	1.13±0.49	0.68±0.06	0.44±0.06
D	0.32±0.05	0.70±0.13	0.50±0.08	0.31±0.07	0.31±0.07	0.38±0.04
t 検定 1) : P<0.02 2) : P<0.01 3) : P<0.005 4) : P<0.001	A ²⁾ , B ¹⁾ , C ²⁾ >D	A ⁴⁾ , B ⁴⁾ , C ⁴⁾ >D A ⁴⁾ >C	A ⁴⁾ , B ²⁾ , C ⁴⁾ >D A ¹⁾ >C		A ⁴⁾ , B ⁴⁾ , C ³⁾ >D	

9.17%, D群3.13%で、すべての群間で有意差が認められ、投与量の多い群間ほど死亡率が高かった。死亡胎仔の性状は、胎盤遺残と浸軟胎仔で、A, B 群ともほぼその割合は同程度であった(表2)。

身長では、カドミウム投与群と対照群を比較すると、A群($P<0.001$), B群($P<0.01$)は有意に低値を示したが、C群では有意差を認めなかった。カドミウム投与各群間では、A, B 群がC群に比べそれぞれ有意な差($P<0.01$)で低値を示したが、A-B 群間に有意差はなかった(表3)。

胎仔の体重は、カドミウム投与各群とも対照群に比較し低値で有意差(A, B 群: $P<0.001$, C群: $P<0.01$)が認められた。また、投与量が多い群ほど有意に低い体重が測定された(各群間: $P<0.001$)(表3)。

胎仔の尾長は、カドミウム投与各群は対照群と較べ有意に低値で(A, B群: $P<0.001$, C群: $P<0.01$)、かつ投与量の差によっても体重の場合と同様な傾向を認めた(A-B 群間: $P<0.01$, A-C 群間: $P<0.01$, B-C 群間: $P<0.05$)(表3)。

なお、胎盤重量では、A, B, C, D 各群間に有意差は認められなかった(表3)。

3) 胎仔の外表ならびに骨格奇形の観察(表4)

外表奇形は、A群5例(4.90%), B群12例(10.91%), C群2例(1.83%), D群0例(0%)で、B群に最も高率に出現し、A, C, D 各群と有意差(各群共 $P<0.01$)を認めた。観察された外表奇形は全例が口蓋裂で、その他の外表奇形は見られなかった。

骨格奇形では、A, B, C, D 各群すべてに1例の骨格奇形も観察することができなかった。

4) 母獣各臓器および胎仔カドミウム量(表5)

母獣各臓器別のカドミウム量は、対照群に比較して、カドミウム投与群の肝(A群: $P<0.01$, B群: $P<0.02$, C群: $P<0.01$), 腎(各群共: $P<0.001$), 胃(A, C 群: $P<0.001$, B群: $P<0.01$)に多量な集積を認め、有意差を示した。カドミウム投与各群間では、A群の腎($P<0.001$), 胃($P<0.02$)がC群のそれと比較し、有意に多量であった。また、A, B, C 各群とも、常に腎より肝に多く集積していた。しかし、その他の群間では有意差は認められなかった。

胎盤では、カドミウム投与各群ともに高値を示し、対照群と有意差($P<0.005-0.001$)を認めた。しかし、カドミウム投与各群間には有意差はなかった。

胎仔のカドミウム量は、A, B, C, D 各群間ともに有意差はなかった。

3. 小括

1) 母獣体重増加量は、対照群と比して塩化カドミウム16mg/kg, 11mg/kg 投与群で低値を示し、特に投与期間の前半で抑制が著しかった。しかし、6 mg/kg 投与群はその影響は軽度であった。

2) 胎仔の死亡率、身長、体重などの肉眼的所見では、塩化カドミウム投与各群とも対照群に較べ低値を示し、かつ投与量の多い実験群ほどその影響は強く認められた。死亡胎仔は、胎盤遺残と浸軟胎仔が相半ばする傾向にあった。

3) 胎仔の外表奇形は、口蓋裂がA, B, C 各群に観察され、特に塩化カドミウム11mg/kg 投与群(B群)に最も高率に発生した。しかしながら、その他の外表奇形ならびに骨格奇形は、同群を含め実験群に1例も観察されなかった。

4) 各臓器別カドミウム量は、実験群の肝、腎、胃に多量な集積が認められたが、その他の部位からは有意な量は検出されなかった。また、実験群の胎盤からも対照群に比して、カドミウムが多量に認められたが、投与量の多少による違いはなかった。胎仔では、塩化カドミウム投与各群すべてから、カドミウムは有意に検出されなかった。

実験 II. 塩化カドミウム経口投与の時期の相違がおよぼす影響

実験Iにおいて、口蓋裂の発生が認められ、かつ11 mg/kg 投与群に高率に観察されたため、この量による投与時期差の影響を検討した。

1. 実験材料および実験方法

1) 実験動物

実験Iと同様なものを使用した。

2) 投与量ならびに投与方法

塩化カドミウム1回11mg/kgを0.2ml 生理食塩水に溶解し、次のような時期の異なる3群(1群10匹)に投与した。すなわち、妊娠7日目より9日目(以下B-1群), 妊娠10日目より12日目(以下B-2群), 妊娠13日目より15日目(以下B-3群)の、それぞれの3日間に実験Iと同様、胃ゾンデにより連日強制投与した。また、対照群として、同様な3群に生理食塩水のみを投与した。

3) 観察項目

①母獣の体重増加量: 塩化カドミウム投与の3群およびその対照群につき、実験Iと同様、定日に母獣体重測定を行い、その増加量を比較検討した。

②胎仔の肉眼的所見の検討: 妊娠16日目に母獣を頸椎脱臼し開腹ののち、実験Iと同様な観察を行った。

③外表ならびに骨格奇形の観察: 実験Iと同様に、各

群の生存胎仔すべての外表奇形および生存胎仔の $\frac{2}{3}$ にあたる B-1群54例, B-1対照群85例, B-2群78例, B-2対照群94例, B-3群76例, B-3対照群94例について, 骨格奇形の観察を行った。

④母獣各臓器ならびに胎仔のカドミウム量の測定: B-1群と B-1対照群の妊娠10・13・16日目, B-2群と B-2対照群の妊娠13・16日目, B-3群と B-3対照群の妊娠16日目の母獣をそれぞれ10匹ずつ開腹し, 肝, 腎, 脾, 心, 肺, 胃, 胎盤の各臓器ならびに胎仔について, 実験 I と同様な方法でカドミウムの測定を行った。

2. 実験結果

1) 母獣体重増加量 (表6)

母獣体重増加量については, カドミウム投与群がその投与時期に一致して抑制され, 各対照群と有意な差 ($P<0.02-0.005$) で低値を示した。また投与時期が早期な群ほど体重増加量の抑制が強く見られる傾向にあった。

2) 胎仔の肉眼的所見

胎仔の生存・死亡数では, B-1群の死亡数が21匹 (20.79%) と最も高率で, 対照群 ($P<0.005$) ならびにカドミウム投与群である B-2群, B-3群 ($P<0.05$) に比べて有意差を有した。しかし B-2群, B-3群は各対照群間と有意差は認められなかった (表7)。

胎仔の身長は, カドミウム投与群は対照群に比べ低値で, すべての群間と有意差 ($P<0.001$) を認めた。カド

ミウム投与群においては, B-1群が最も低値で B-2群, B-3群との間に有意差 ($P<0.01$) を認めたが, B-2群と B-3群との間には有意差はなかった。また対照群間でも同様に早期投与群である B-1対照群が低値を示し, 他の対照群間と有意差 ($P<0.05-0.001$) が見られた (表8)。

胎仔の体重は, 身長の場合とほぼ同様な傾向を示した。すなわち, カドミウム投与群は対照群と比較して, 有意 ($P<0.01-0.001$) に低値であった。またカドミウム投与各群間でも B-1群が最も低値で, 他の投与群間と有意差 ($P<0.001$) が認められた。また対照群間でも投与時期が早い群ほど低値で, 各群間に有意差 ($P<0.01$) を認めた (表8)。

胎仔の尾長では, B-1群と B-2群は各対照群との間に有意差 ($P<0.001$) をもち, 低値であったが, B-3群では有意差が認められなかった。またカドミウム投与各群間に有意差はなかった。各対照群間では, B-1対照群が低値を示し, 他の対照群間と有意差 ($P<0.01$) を認めた。しかし B-2対照群と B-3対照群間では有意差はなかった (表8)。

胎盤の重量では, カドミウム投与群は各対照群と比較し, 低値で有意差 ($P<0.05-0.001$) が認められた。またカドミウム投与各群間は, 投与時期が早期な群ほど低値で, 各群間で有意差 ($P<0.001$) を認めた (表8)。

3) 外表奇形ならびに骨格奇形の観察 (表9)

表 6. 母獣体重増加量 (CdCl₂ 11mg 3日間投与)

		mean $\pm$ S.E.			
		0—4日目 (g)	4—8日目 (g)	8—12日目 (g)	12—16日目 (g)
B-1	投与群	2.13 $\pm$ 0.49	0.49 $\pm$ 0.46	3.17 $\pm$ 0.65	1.57 $\pm$ 0.73
	対照群	2.98 $\pm$ 0.43	1.99 $\pm$ 0.34	4.28 $\pm$ 1.05	9.59 $\pm$ 1.17
B-2	投与群	1.84 $\pm$ 0.59	1.09 $\pm$ 0.63	2.24 $\pm$ 0.80	7.89 $\pm$ 1.05
	対照群	2.22 $\pm$ 0.23	2.39 $\pm$ 0.18	5.78 $\pm$ 0.72	11.27 $\pm$ 0.73
B-3	投与群	2.30 $\pm$ 0.37	1.66 $\pm$ 0.29	5.26 $\pm$ 0.71	4.71 $\pm$ 1.17
	対照群	1.98 $\pm$ 0.40	3.31 $\pm$ 0.01	5.65 $\pm$ 0.72	10.75 $\pm$ 0.72
t 検定			B-1・投 < B-1・対 ¹⁾	B-1・投 < B-3・投 ¹⁾	B-1・投 < B-1・対 ³⁾
1): $P<0.05$				B-2・投 < B-2・対 ³⁾	B-2・投 < B-2・対 ²⁾
2): $P<0.02$				B-2・投 < B-3・投 ¹⁾	B-3・投 < B-3・対 ⁴⁾
3): $P<0.005$					
4): $P<0.001$					

表 6 ~ 11

B-1 投与群: CdCl₂ 11mg, 妊娠 7—9 日投与
 B-1 対照群: 生食水 0.2 ml, 妊娠 7—9 日投与
 B-2 投与群: CdCl₂ 11mg/kg, 妊娠 10—12 日投与
 B-2 対照群: 生食水 0.2 ml, 妊娠 10—12 日投与
 B-3 投与群: CdCl₂ 11mg/kg, 妊娠 13—15 日投与
 B-3 対照群: 生食水 0.2 ml, 妊娠 13—15 日投与

表 7. 胎仔の生存・死亡とその性状 (CdCl₂ 11mg 3日間投与, 妊娠16日測定)

		母 獣 数	総胎仔数	死 亡 胎 仔			羊水血性
				計 (%)	胎盤遺残	浸軟胎仔	
B-1	投与群	10	101	21 (20.79)	13	8	3
	対照群	10	132	3 (2.27)	1	2	0
B-2	投与群	10	126	10 (7.94)	3	7	2
	対照群	10	149	9 (6.04)	7	2	2
B-3	投与群	10	123	8 (6.50)	5	3	2
	対照群	10	143	9 (6.43)	6	3	1
t 検定		死亡胎仔, B-1・投>B-2・投, B-3・投: P<0.05; B-1・投>B-1・対: P<0.005					

表 8. 胎仔肉眼的所見 (CdCl₂ 11mg 3日間投与, 妊娠16日測定)

mean ± S.E.

		身 長 (mm)	体 重 (mg)	尾 長 (mm)	胎 盤 重 量 (mg)	1母獣当り 平均生存 胎 仔 数
B-1	投与群	16.46±0.18	560.77±15.5	7.59±0.11	94.88±2.1	8.0
	対照群	17.74±0.11	657.00± 9.7	8.35±0.07	112.70±1.5	12.9
B-2	投与群	17.13±0.13	620.61±12.5	7.96±0.09	98.60±1.7	11.6
	対照群	18.05±0.09	698.25± 8.3	8.63±0.60	118.74±1.6	14.0
B-3	投与群	17.09±0.10	697.03± 9.9	8.39±0.59	106.35±1.8	11.5
	対照群	18.40±0.13	747.04±11.4	8.64±0.08	112.94±2.0	13.1
t 検定		B-1・投<B-1・対 ⁴⁾	B-1・投<B-1・対 ⁴⁾	B-1・投<B-1・対 ⁴⁾	B-1・投<B-1・対 ⁴⁾	
1): P<0.05		B-1・投<B-2・投 ³⁾	B-1・投<B-2・投 ⁴⁾	B-2・投<B-2・対 ⁴⁾	B-1・投<B-2・投 ⁴⁾	
2): P<0.02		B-1・投<B-3・投 ³⁾	B-1・投<B-3・投 ⁴⁾	B-1・対<B-2・対 ³⁾	B-1・投<B-3・投 ⁴⁾	
3): P<0.01		B-2・投<B-2・対 ⁴⁾	B-2・投<B-2・対 ³⁾	B-1・対<B-3・対 ³⁾	B-2・投<B-2・対 ⁴⁾	
4): P<0.001		B-3・投<B-3・対 ⁴⁾	B-3・投<B-3・対 ²⁾		B-3・投<B-3・対 ¹⁾	
		B-1・対<B-2・対 ¹⁾	B-1・対<B-2・対 ⁴⁾			
		B-1・対<B-3・対 ⁴⁾	B-1・対<B-3・対 ⁴⁾			

表 9. 胎仔の外表面奇形 (CdCl₂ 11mg 3日間投与, 妊娠16日測定)

		生存胎仔	奇 形 胎 仔		
			計 (%)	口 蓋 裂	そ の 他
B-1	投 与 群	80	6 (7.50)	6	0
	対 照 群	129	0	0	0
B-2	投 与 群	116	15 (12.93)	15	0
	対 照 群	140	0	0	0
B-3	投 与 群	115	0	0	0
	対 照 群	131	0	0	0

表10. B-1群 各臓器ならびに胎仔 Cd 量 (CdCl₂ 11mg 3日間投与・μg/g)

mean ± S.E.

測定日	10 日 目		13 日 目		16 日 目	
	投 与 群 (n : 10)	対 照 群 (n : 10)	投 与 群 (n : 10)	対 照 群 (n : 10)	投 与 群 (n : 9)	対 照 群 (n : 9)
肝 臓	3.21±0.73 ⁴⁾	0.45±0.05	1.82±0.34 ⁵⁾	0.29±0.03	2.80±0.38 ⁵⁾	0.22±0.02
腎 臓	1.89±0.35 ⁵⁾	0.43±0.05	1.40±0.19 ⁴⁾	0.54±0.11	2.29±0.20 ³⁾	0.71±0.11
心 臓	0.43±0.04	0.44±0.11	0.48±0.06	0.36±0.05	0.58±0.06	0.39±0.07
肺 臓	0.69±0.26	0.35±0.05	0.39±0.02	0.26±0.06	0.43±0.06	0.34±0.04
脾 臓	0.41±0.03	0.34±0.04	0.30±0.02	0.33±0.10	0.47±0.20	0.37±0.04
胃	18.47±0.79 ⁵⁾	0.44±0.05	1.00±0.22 ³⁾	0.34±0.05	1.17±0.18	0.38±0.04
胎 盤	0.78±0.07 ⁵⁾	0.30±0.04	0.54±0.10 ²⁾	0.27±0.01	0.51±0.07 ¹⁾	0.26±0.06
胎 仔	1.29±0.15 ⁵⁾	0.31±0.03	0.47±0.03 ⁵⁾	0.24±0.04	0.48±0.04	0.36±0.03
t 検定	投与群>対照群の場合, 1) : P<0.05, 2) : P<0.02, 3) : P<0.01, 4) P<0.005, 5) : P<0.001					

表11. B-2・B-3群 各臓器ならびに胎仔 Cd 量 (CdCl₂ 11mg 3日間投与・μg/g)

mean ± S.E.

	B-2 群				B-3 群	
測定日	13 日 目		16 日 目		16 日 目	
	投 与 群 (n : 10)	対 照 群 (n : 10)	投 与 群 (n : 11)	対 照 群 (n : 12)	投 与 群 (n : 12)	対 照 群 (n : 9)
肝 臓	2.91±0.39 ³⁾	0.23±0.01	3.52±0.27 ³⁾	0.22±0.02	4.13±0.73 ³⁾	0.30±0.10
腎 臓	1.68±0.36 ³⁾	0.58±0.05	2.50±0.45 ³⁾	0.61±0.13	2.17±0.27 ³⁾	0.62±0.09
心 臓	0.61±0.12	0.58±0.06	0.35±0.05	0.40±0.04	0.46±0.05	0.48±0.13
肺 臓	0.51±0.09	0.42±0.03	0.34±0.06	0.35±0.04	0.70±0.21	0.43±0.08
脾 臓	0.48±0.09	0.37±0.06	0.48±0.05	0.40±0.10	0.54±0.03	0.41±0.09
胃	9.65±1.66 ³⁾	0.36±0.02	1.09±0.22 ³⁾	0.40±0.05	17.62±3.58 ³⁾	0.47±0.05
胎 盤	0.71±0.15 ²⁾	0.27±0.03	0.58±0.07 ³⁾	0.19±0.03	0.94±0.15 ³⁾	0.34±0.08
胎 仔	0.68±0.17 ¹⁾	0.24±0.07	0.42±0.04	0.32±0.02	0.49±0.04	0.36±0.04
t 検定	投与群>対照群の場合, 1) P : P<0.05, 2) : P<0.01, 3) : P<0.001					

外表奇形が観察された胎仔は、B-1群6例 (7.50%)、B-2群15例 (12.93%) で、全例が口蓋裂であった。しかし B-3群ならびに各対照群からは、1例の外表奇形も発現しなかった。

また、骨格奇形はカドミウム投与群および対照群のいずれからも観察されなかった。

4) 母獣各臓器および胎仔のカドミウム量の測定 (表10, 11)

母獣各臓器別のカドミウム量は、B-1群では肝、腎、胃から多量に検出され、投与終了の翌日の胃に著しく高値であった。肝、腎のカドミウム量はその後減少し、さらにカドミウム投与終了7日目の妊娠16日目の測定結果では、再び増加する傾向にあった。しかし、心、肺、脾

では対照各群間との有意差は認められなかった。

胎盤のカドミウム量は、カドミウム投与各群すべてが、いずれの投与時期においても対照各群と比較し有意 (P<0.05-0.001) に高値を示した。カドミウムは投与終了直後に多量に集積し (B-1群, B-2群), その後漸次減少傾向にあった。投与翌日のカドミウム測定量のうち、B-3群が最も高値であった。

胎仔のカドミウム量は、B-1群のカドミウム投与終了の翌日である妊娠10日目にカドミウムが最も多量に検出され、対照群と有意差 (P<0.001) を示した。しかし、妊娠16日目の測定結果では有意差は見られなかった。B-2群では B-1群と同様、カドミウム投与終了の翌日である妊娠13日目カドミウム量が、B-1群ほどでないが有意

($P<0.05$)に高く検出された。しかし、妊娠16日目の測定結果では、多く検出されたものの対照群との間に有意差は認められなかった。B-3群では、カドミウム投与群と対照群との間に有意差は見られなかった。

3. 小括

1) 母獣体重増加量ならびに胎仔の死亡率、身長、体重などの肉眼的所見は、カドミウム早期投与群ほどその抑制の影響は大きく、後期まで持続した。

2) 外表奇形としては、口蓋裂が観察され、かつ早期投与群にも認められた。しかし、脱脳、眼瞼開存、無口、短尾、尾欠損など他の外表奇形は認められなかった。また、骨格奇形も実験Iと同様、1例も観察されなかった。

3) 母獣各臓器のカドミウム量は、肝、腎、胃に多量に検出されたが、皮下投与法(石山⁹⁾)に比べその絶対量が低値であった。胎仔のカドミウム量は、早期投与群におけるカドミウム測定量が有意に高値を示し、以後減少傾向を示し妊娠13日以後は、カドミウムの胎仔への移行は否定的であった。一方、胎盤ではカドミウムの投与時期が遅くなるに従い、カドミウム検出量の増加傾向が見られたが、その蓄積性は認めなかった。

考 察

カドミウム(以下Cdと略)の胃ゾンデによる経口投与がマウス胎仔におよぼす影響をみる本実験の趣旨は、ほぼ同様な方法で行った石山⁹⁾の皮下投与実験と比較、検討し、両者の違いから経口投与の特徴を明らかにすることにある。

1) 投与法に関する問題点

一般にCdが人体に取り込まれる場合、多くは消化管、時には気道経由によるものであるから、臨床に即した実験として消化管経由すなわち経口投与が薦められる。しかるに「Cdの胎仔への影響」を観察する実験において従来この経口投与のものが少なく、その点本実験は有意義なものと考えられる。

さて経口的に催奇形物質を投与する場合、一般には飲料水中または食物中に混じて投与する方法と、本実験のような胃ゾンデによる強制投与の方法がある。前者は主に微量投与法として長期慢性実験に多く使用されるが、この方法を短期投与法として使うと摂取量の誤差が著しく大きくなるので不都合である。したがって本実験のような場合は胃ゾンデを挿入の上、一定量を投与するのが比較的容易で確実である。

胃ゾンデによる強制投与において考慮されるべきことは、この投与法自体の妊娠マウスにおよぼす侵襲の問題

である。投与時に起こる胃・消化器への物理的外傷、肺への誤嚥、マウス保持が直接影響を及ぼすと思われる損傷、恐怖などは、妊娠という特殊な状況下の母獣に、大きなストレスを与えることが推定される。本実験の各種の実験項目のうち、実験IIのCd時期差投与における対照群の胎仔の発育(身長、体重、尾長)に、有意差が生じたことはそれを物語っているのかもしれない。しかしその正確な影響についてはさらに検討の余地がある。

本法によるCdの投与量の設定に関しては、石山⁹⁾に準じてLD₅₀を求めた。その結果、野見山¹⁰⁾の77.9mg/kg(22°C)とほぼ同様に80mg/kgが求められた。

慶野¹¹⁾の報告では経口的にCdを100mg/kg投与しても、マウス胎仔への影響はあまりみられないという。さらに経口投与の場合、体内に一時的に留まるCdは、投与量の数パーセントであるが、大部分は消化管壁(腸)に吸着し、成獣において消化器から全身へ移行するCd量は0.2~0.3%であると述べている。その他、Decker¹²⁾の1~2%、Cotzias¹³⁾の0.5~8%、柴田¹⁴⁾の9%のごとく経口投与の吸収の少ないことが述べられている。

これらの知見を勘案し、実験Iの9日間連続投与には、その中間量(B群)としてLD₅₀の約10%増の99mg/kgを選び、さらにA群として中間量の150%量、C群として中間量の50%量を定めて実験を行った。その結果、3群にそれぞれ有意の差を生じ、さらに経口投与と皮下投与の中間量の比較において、母獣の体重抑制、死亡仔数などの基本的結果に問題にされるべき著しい差が出なかったことから、この経口投与の投与量はほぼ適正で、本実験と石山⁹⁾の皮下投与の結果を対比・検討することができると考えられた。

2) Cdの吸収・蓄積の差

本実験では消化器より吸収されたCdは、皮下投与で有意に蓄積した同じ部位に有意に蓄積した。その量は皮下投与の数値と比べると、肝で約1/10、腎で1/4-1/6、胎盤で1-1/10であり、全体に低値である。しかし胎仔は皮下投与より多少検出量が高く、1-2倍である。また肝、腎には経口、皮下両投与とも蓄積性があるが、胎仔では漸減し器官形成後期には対照値と変わらない。結局Cdの分配、蓄積の大きな差は肝、腎に認められ、皮下投与(恐らく静脈内、腹腔内投与も含む)ではそれは著明であるが、経口投与では対照との有意差があるも比較的低値であり、このことは消化器を経由して吸収される特徴と思われる。

村田¹⁵⁾は静脈内に¹⁰⁹Cdを投与すると、血管を介してすみやかに全身に分布し、その後、主として肝、腎に蓄

積されるといい、また経口投与では一旦腸管粘膜より吸収され、徐々に門脈を介し全身に分布するようになるが、肝、腎、腸管粘膜にも分布集積し、結局それ以外の全身臓器への分布は静脈内投与に比して少ないという。石山の皮下投与と本実験とを比較した場合、村田の見解は恐らく妥当であろうと思われる。

3) Cd の母獣への影響の差

本実験が胎仔への影響を見る趣旨であるため、Cd の母獣への影響は、その体重増加量のみから推定した。

経口連続投与の母獣体重増加量は A、B 群が C、D 群より強く抑制されたが、A 群と B 群、C 群と D 群との間には有意差がなかった。一方石山⁹⁾の皮下投与の結果では、A 群 LD₅₀の125%量、B 群 LD₅₀量、C 群 LD₅₀の75%量、D 群対照群はそれぞれ明瞭な有意差を生じている。これらの結果から経口投与により効果の差異をみるためには、皮下投与（その他静脈内、腹腔内投与）より、一般に困難であろうことが推定された。

一般に母獣体重の Cd による抑制は、経口、皮下投与とも投与量をあげる程、あるいは器官形成の早期に投与すればする程、著しかった。しかし、経口投与では器官形成期の全期に抑制がみられたが、特に前半期に著しく、皮下投与では全期にわたって軽度に抑制した。また連続投与では経口、皮下の両投与は同程度、時期差投与では経口投与が強く体重増加を抑制した。これはほぼ胎仔の発育の抑制と並行している点、興味深い。また既述したが母獣各臓器の Cd 量は、経口投与が皮下投与より総てに低値であったことから、吸収後の Cd の影響というより、吸収前に起こす母獣の Cd 投与操作にともなう消化器や肺への傷害の関与も、大きく経口投与の結果に影響していると考えられる。また皮下投与では投与後の短時間の影響は強いが、母獣の回復は比較的速いのではないかと思われる。

4) 胎仔への影響の差

①致死作用の差

Cd による胎仔の致死作用を本実験では子宮内の胎仔の死亡数とその性状から算出した。死亡胎仔は、資料採取日（妊娠16日目）に、それ以前の死亡した期間の長さに応じて、着床痕、胎盤遺残あるいは浸軟胎仔などの姿で現われると考えられる。これら3様の死亡胎仔が正確に何時死亡したものであるか知ることはできないが、時期差の皮下および経口投与の死亡胎仔の現れ方からみると、着床痕は妊娠7-9日または10-12日、胎盤遺残は10-12日、浸軟胎仔は13-15日に胎仔が死亡したことから生じたと推定できた。このことは逆に種々な投与法の Cd が、胎仔のどの発育段階に作用したかを知るに重要

な情報と思われた。

胎仔の死亡率は、経口、皮下投与とも投与量が多い程高い。また器官形成の早期に投与する程、同様に高い。経口と皮下投与の相違点は、高濃度投与の A 群を妊娠16日目と比較すると、皮下投与の方がやや死亡率が高い。その性状は経口投与では胎盤遺残と浸軟胎仔がほぼ同数であるのに、皮下投与では胎盤遺残（着床痕を含む）が浸軟胎仔より著しく高い。やや投与量の少ない皮下投与 B 群にも同様な傾向が認められるので、経口投与と皮下投与では胎仔への致死作用に質的な差があることがわかる。この差異は時期差投与の結果を比較すると、より明瞭である。すなわち皮下投与では B-1（前期）、B-2（中期）、B-3（後期）とも浸軟胎仔がなく、すべて胎盤遺残である。皮下投与の Cd は器官形成過程の比較的早い時期に強い致死的な影響をもつ（石山の皮下投与の B-1 群死亡胎仔数は、他のデータからみて B-2 群より多くなると考えられるので）と考えられる。

また B-1、B-2 群の死亡胎仔はすべて胎盤遺残（着床痕）であることから、投与時のみの強い効果であったこと、ならびに多くの胎仔はその後、死亡しない（浸軟胎仔がない）事実から Cd 投与直後の致死的な効果は、その後まったく消失すること、すなわち皮下投与の効果は短時間の効果であることも推定できる。

他方、経口投与における時期差投与の結果を検討すると B-1 群の死亡胎仔のうち2/3が胎盤遺残、1/3が浸軟胎仔、B-2 群では死亡率は B-1 群の半分であるが、逆に2/3が浸軟胎仔、1/3が胎盤遺残であった。この結果と経口投与の A、B 群の結果を考え合わせると、経口投与の Cd は初期投与（B-1）群で器官形成の早期に胎仔を死亡させるが、皮下投与よりも頻度は少ない。しかし浸軟胎仔も比較的多く現われるので後期まで致死的效果が残る。中期（B-2）投与も同様である。それゆえ、Cd 経口投与は皮下投与の効果と異なり、比較的その短期間（時間）の強い致死作用は低い、器官形成の全過程の胎仔へ持続的な影響を及ぼすことが推定された。

②胎仔中毒性効果の差

前項の早期経口投与（B-1）群で、妊娠16日の胎仔採取時に、浸軟胎仔として現れたものは、採取直前の妊娠13-15日に死亡したものと考えられる。しかしこの胎仔は恐らく早期（妊娠7-9日）に Cd が投与された時から亜致死のまた中毒状態で生きながらえ、後期（同13-15日）になり、初めて死亡したと考えるのが妥当である。この場合の死亡原因が中毒効果によるものか、あるいは遷延した亜致死的な効果によるものであったのかの分別は困難である。しかし Cd 投与後、死亡に至る時間

表 12-1. マウス Cd 経口および皮下投与における影響の比較

	経 口 投 与 (本報告)	皮 下 投 与 (石山)
Cd 投 与 量 (mg/kg)	妊娠 7—15 日連続投与群 $A: 16 \times 9 = 144 \approx LD_{50} \times 150/100$ $B: 11 \times 9 = 99 \approx LD_{50}$ $C: 6 \times 9 = 54 \approx LD_{50} \times 50/100$ 時期差投与群 $B-1 (7-9 \text{ 日投与}): 11 \times 3 = 33$ $B-2 (10-12 \text{ 日投与}): 11 \times 3 = 33$ $B-3 (13-15 \text{ 日投与}): 11 \times 3 = 33$	同 左 $A: 0.1 \times 9 = 0.9 = LD_{50} \times 125/100$ $B: 0.08 \times 9 = 0.72 = LD_{50}$ $C: 0.06 \times 9 = 0.52 = LD_{50} \times 75/100$ 同 左 $B-1 (同左): 0.08 \times 3 \approx 0.21$ $B-2 (同左): 0.08 \times 3 \approx 0.21$ $B-3 (同左): 0.08 \times 3 \approx 0.21$
使 用 マ ウ ス	ICR (SPF) 系, 10 週齢	ICR (SPF) 系, 11 週齢
母 獣 体 重 の 抑 制	$A \approx B > C \approx D$ 投与前半期 $A B \gg$ 後半期 $A B$ $B-1 \gg B-2 \approx B-3 > D$ 実験 I : 経口 $\approx$ 皮下,	$A > B > C > D$ 投与前半期 $A B \approx$ 後半期 $A B C > D$ $B-1 \approx B-2 > B-3 \geq D$ 実験 II : 経口 $>$ 皮下
胎 仔 死 亡 率 (%)	$A (29) > B (15) > C (9) > (8)$ $B-1 (21) > B-2 (8) > B-3 (7) \approx$ 対照	$A (35) > B = C (9) > D (4)$ $B-2 (12) > B-1 (9) > B-3 (4) \approx$ 対照
死 亡 内 容 p: 胎盤遺残 d: 浸軟胎仔	$A (P \approx d)$ $B-1 (P > d)$ $B (P \approx d)$ $B-2 (P < d)$ $C (P \approx d)$ $B-3 (P > d)$	$A (P \gg d)$ $B-1 (P \text{ のみ})$ $B (P > d)$ $B-2 (P \text{ のみ})$ $C (P > d)$ $B-3 (P \text{ のみ})$
高濃度では皮下が抑制大, しかも初期に強い, 経口は平均的		
胎 仔 の 抑 制		
身 長	$A \approx B > C \approx D$ $B-1 \approx B-2 \approx B-3 > D$	経口 $<$ 皮下 $A \approx B > C \gg D$ 経口 $>$ 皮下 $B-1 \approx B-2 \approx B-3 > D$
体 重	$A > B > C > D$ $B-1 > B-2 > B-3 > D$	経口 $<$ 皮下 $A > B > C > D$ 経口 $>$ 皮下 $B-1 > B-2 > B-3 > D$
尾 長	$A > B > C > D$ $B-1 > B-2 > B-3 > D$	経口 $\leq$ 皮下 $A > B > C > D$ 経口 $>$ 皮下 $B-1 > B-2 > B-3 > D$

経過が長期である点から, 本実験では中毒作用と解釈した。それ故, 前項の致死作用の検討と併せ考えると, 経口投与には致死作用と中毒作用の相半ばする効果があり, その全効果は皮下投与のそれとほぼ同様と思われた。

一方, 胎仔の発育のパラメーターとして本実験では, 身長, 体重, 尾長を測定した。これらの値の抑制度から, 経口, 皮下投与による胎仔中毒作用の差異を求めてみると (表12-1), 時期差投与における皮下投与と比べ, 特に体重増加量において経口投与では著しく抑制されているのが知られる。このことは, 皮下投与は致死性の強い作用を有するが, 一時的で次の過程まで影響が存続しない様相を示していると共に, 逆に長期に作用をする経口投与の中毒性の様相をも明らかにしていると考えられる。

③催奇形性効果の差

奇形の発現に関し経口, 皮下の両投与法を比較すると (表12-2), 経口投与では口蓋裂しか発生しなかったが, 皮下投与ではその種類, 頻度ともに著しく高かった。その連続投与では低濃度でも種々な奇形が発生し, 濃度の上昇と共に個々の発生率が上昇した。しかも時期差投与で特定な 1 時期からのみ発生する時期特異性が認められた。口蓋裂に関しては他の奇形と異なり, 皮下投与より経口投与の方が多発し, 皮下投与では連続投与 B 群と時期差投与の B-2 群に発生したのみであるが, 経口投与ではすべての連続投与群ならびに時期差投与の B-2 群, B-1 群に発生した。

a) Cd が奇形を起す一般的機序

催奇形実験にはすでに多く報告があり, 石山⁹⁾は Cd 皮下投与によりマウスに多種の奇形を生ぜしめた。しかし静脈内^{2,16,17,18)}, 腹腔内^{4,19,20,21,22)}, あるいは皮下投与^{8,9,23,24,25)}による実験は過去に比較的多いが, 経口投

表 12-2. マウス Cd 経口および皮下投与による影響の比較

			経 口 投 与 (本報告)	皮 下 投 与 (石山)
胎盤重量の抑制			A = B = C ≥ D B-1 > B-2 > B-3 > D	経口 ⇔ 皮下 A = B = C > D 経口 > 皮下 B-1 > B-2 > B-3 > D
カ ド ミ ウ ム 量 ($\mu\text{g/g}$)	連続投与群	肝腎胃 胎盤 肺 胎仔	$\left\{ \begin{array}{l} A > B > C > D \\ A = B = C > D \\ A = B = C = D \end{array} \right.$	
	時期差投与群	肝腎 脾心 肺 子宮 胎盤 胎仔 胃	すべてにやや高値 (3~4 $\mu\text{g/g}$) 蓄積傾向 やや高値 (1.4~2.5) やや蓄積傾向 $\left\{ \begin{array}{l} \text{対照と殆んど変わらない} \\ \text{投与直後に多い, のち漸減: B-3最高値} \\ \text{初期に多い, 後期有意差なし} \\ \text{投与直後で高値 (18~9 \mu\text{g/g})} \end{array} \right.$	最後まで著しく高値 (35 $\mu\text{g/g}$) 漸次蓄積する傾向 (14 $\mu\text{g/g}$) $\left\{ \begin{array}{l} \text{対照より高値だが有意差なし} \\ \text{同左, 絶対量は皮下が少ない} \\ \text{同左, 絶対量は皮下が少ない} \end{array} \right.$
総奇形胎仔 (%)			B (11) > A (5) > C (2) > D (0) B-1 (8), B-2 (13), B-3 (0)	A (47) > B (25) > C (6) > D (0) B-1 (28.1), B-2 (4.4), B-3 (0)
脱脳 眼瞼開存			$\left\{ \begin{array}{l} A, B, C, D (0) \\ B-1, B-2, B-3 (0) \end{array} \right.$	A (47) > B (18) > C (6) > D (0) B-1 (28), B-2, B-3 (0)
口蓋裂			B (11) A (5) > C (2) > D (0) B-1 (8), B-2 (13), B-3 (0)	B (8) > A, C, D (0) B-2 (4.4), B-1, B-3 (0)
短尾 尾欠 無口			$\left\{ \begin{array}{l} A, B, C, D (0) \\ B-1, B-2, B-3 (0) \end{array} \right.$	B (3) > A, C, D (0) } B-1 (0) B (1) > A, C, D (0) } B-2 (0) A (1) > B, C, D (0) } B-3 (0)
骨格奇形				A (85) > B (44) > C (24) > D (0) B-1 (40), B-2, B-3 (0)
頭部奇形			$\left\{ \begin{array}{l} A, B, C, D (0) \\ B-1, B-2, B-3 (0) \end{array} \right.$	A (37) > B (20) > C (9) > D (0) B-1 (35), B-2, B-3 (0)
脊椎奇形				A (11) > B (10) > C (5) > D (0) B-1, B-2, B-3 (0)
肋骨奇形				A (46) > B (24) > C (15) > D (0) B-1 (13), B-2, B-3 (0)

与の催奇実験は少ない^{3,26,27,28)}。

催奇物質には多種あり、種類により、あるいはそれが作用する臓器によって、それぞれ異った臨界期を持つこととなる。福田ら²⁹⁾、山村ら³⁰⁾はマウス腹腔内に Cd を投与し、一定の投与日に一定の奇形が集中して発生したことから、Cd における各臓器奇形の臨界期を示した。

奇形の発生のためには臨界期に Cd が直接、間接に胎仔へ到達する必要があるが、これは結局、Cd が胎盤を通過するか否かの問題となる。Cd の通過性に関しては Berlin ら³⁰⁾、石津ら³¹⁾は否定し、Sonawane ら³¹⁾は反対にあらゆる時期に通過するという。他方、妊娠後期に

は通過しないが、妊娠初期には移行するという見解があり、これには Ferm ら¹⁶⁾、慶野ら⁶⁾、Dencker³²⁾、石山⁹⁾などが同様の見解を持っている。なお、Tanaka ら³³⁾は妊娠後期に Cd を投与し胎仔への移行を認めている。本実験では器官形成後期 (B-3群) から奇形が発生しなかったこと、その時期の死亡胎仔数が対照と同一であったこと、器官形成初期の胎仔に有意に Cd が検出されたが、その後減少し後期には有意差がなくなったことなどから、Cd は器官形成の初期、中期には移行するが、後期には移行しないと結論した (図1)。

Cd による催奇形性の原因については、その胎盤通過

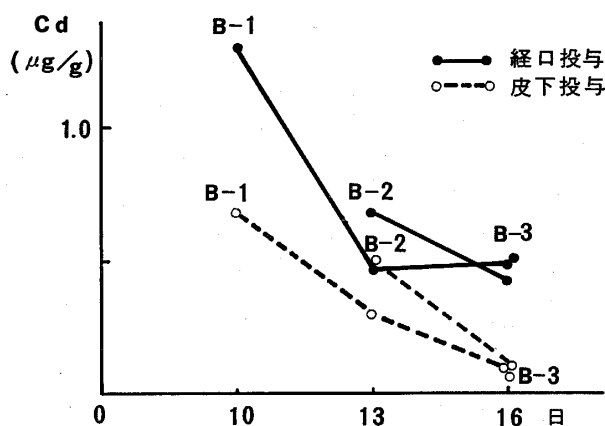


図 1. 経口・皮下投与法における胎仔 Cd 量の比較

経口 B-1: CdCl₂ 11mg/kg, 妊娠 7-9 日投与
 経口 B-2: CdCl₂ 11mg/kg, 妊娠 10-12 日投与
 経口 B-3: CdCl₂ 11mg/kg, 妊娠 13-15 日投与
 皮下 B-1: CdCl₂ 0.08mg/kg, 妊娠 7-9 日投与
 皮下 B-2: CdCl₂ 0.08mg/kg, 妊娠 10-12 日投与
 皮下 B-3: CdCl₂ 0.08mg/kg, 妊娠 13-15 日投与

性の有無に基づいて種々なる意見が述べられている。これらは、1) Cd の母胎への影響が 2 次的に胎仔へおよびすもの、2) Cd が直接胎仔へ影響をおよぼすもの、に大別される。すなわち 1) では Ferm ら³⁴⁾は、Cd と Zn の同時投与により奇形発生が阻止されることから、Cd による催奇形性は Zinc-metalloenzymes に対し拮抗的に働くため生じることを示唆し、Barr ら⁴⁾ はさらに、この Zinc-metalloenzymes に拮抗することが、carbonic anhydrase に影響をおよぼし奇形発生の原因となると述べている。しかし Webb³⁵⁾は、Cd は carbonic anhydrase に影響を与えるものの、それは Cd による Zn の置換によるものでなく、蛋白合成 (metallothionein) に影響を与えるためであるという。また Kelman ら³⁶⁾ は、Cd により母獣から胎盤への血流減少が引き起こされることにより、胎仔の発育障害が生ずると報告している。Samarawickrama³⁷⁾は Cd は Zn の胎仔移行性を妨げ、その結果胎仔における DNA 合成阻害が生じ、催奇形性の原因となるという。

一方、2) の直接作用として Dencker³²⁾は、Cd は胎仔へ移行しその器官形成に影響を与え、Mulvihill²⁾は Cd により発生した口蓋裂を組織学的に検討し、中胚葉形成阻害を観察し、Cd による直接作用としてこれを cadmium-induced mesodermal disturbance と呼んでいる。本実験では Cd の直接的催奇形性機序そのものの自体について特別な検索はしていない。しかし胎仔への移行が本実験で推定されることから、その直接作用を考えたい。この結論は石山の皮下投与と同様の解釈である

が、しかし両者の実験結果に大きな差異があることから Cd 移行に関しその濃度、移行速度、作用時間の長さに差があることが推定される。

Cd 皮下投与のそれらについては、投与直後の胎仔致死性が高く、その後は殆んど見られないこと、投与の時期に一致して sharp に奇形が高率に発生すること、その他から皮下投与直後、速やかに、短時間、高濃度に Cd が胎仔へ移行すると考えられる。投与量を増やると奇形発生頻度が増加するのは、胎仔への移行量が増加し、そのため作用時間が延長するためと考えられる。但し口蓋裂の発生に関してはこれは当てはまらない (後述)。

他方、経口投与においては、消化器を通過することから、母獣での Cd 吸収が著しく少ないこと、口蓋裂という奇形のみが発生であったこと (低催奇性)、胎仔致死性が比較的弱く、むしろ中毒性効果であったこと、などから、Cd 投与後比較的緩やかに、低濃度ではあるが長時間 (前期、中期) 胎仔に移行すると考えられる。

b) Cd 投与による口蓋裂発生の差

正常二次口蓋の発生は、中脳神経堤 (マウス胎齢 8 日) に起源をもつ^{38,39)}。神経管が閉鎖 (同 8 1/2) とすると神経堤細胞は下方に移動、いったん停止してそこで分裂増殖し、上顎突起 (同 11-12 日) となり、一部は最終的に外側口蓋突起となり、下方発育 (同 13 日)、正中方向発育 (同 14 日) ののち、左右が接着・癒合 (同 14 日)、完成 (同 15 日) する。

口蓋裂奇形は、理論的にはこの経過中のどの過程に damage が起っても発現すると考えられる。しかし発生初期であればあるほど、胎仔の障害は大きくなり、致死性となるか、あるいはその原基から発する幾つかの器官の奇形を合併すると思われる。また逆に普通、実験的にも臨床的にもみられる口蓋裂は、一次口蓋奇形以外の奇形との合併は少なく、単独で起こることが多い。それ故、このような奇形は、上述の原基が相当分化した状態で生ずると考えられ、中には口蓋突起の接合時に障害を受けて口蓋裂になるものもあるであろう。

では、Cd 投与による口蓋裂はマウス胎仔発生のどの過程で傷害を受けて発現するのであろうか。山村ら³⁾によれば、マウス Cd 腹腔内投与による奇形成立の臨界は妊娠 7-11 日で、口蓋裂は 11 日に多発し 12 日では胎仔死亡率が著しく高い反面、奇形の出現率は極めて低かったという。石山⁹⁾の Cd 皮下投与実験では 10-12 日投与群のみに口蓋裂が現れた。経口投与の本実験では、13-15 日投与では発現しなかったが、7-9 日と 10-12 日投与群に発現し、特に後者は前者の 2 倍発生した。その他の報告²⁾もほぼ同様であるので、口蓋裂は胎齢 10 日または 11

日のマウス胎仔から発現していると思われる。丁度この時期の二次口蓋正常発生過程は、外側口蓋突起が形成される前後に当る。他方、器官形成期の後期（同13日以後）には二次口蓋がそれによって完成する接着・癒合という重要な時期がある。臨床的には、あるいは他の催奇形物質では、この過程で障害を受け口蓋裂になり易いと考えられるが、Cdのこの時期の投与では全く発生しない。そのためCdにより口蓋裂を起す標的時期は外側口蓋突起の形成時にのみ存在するといえる。

Mulvihill²⁾は口蓋裂発生の原因が中胚葉形成の直接阻害にあるとした。また古くからコーチゾン投与で高率に口蓋裂が得られており、半田⁴⁰⁾は ddY マウスの妊娠11日目まで最も高率に得た。Salomon & Pratt⁴¹⁾ は上顎突起（口蓋突起を含む）の間葉細胞には糖コルチコイドに対して非常に結合力の強い特異的レセプター蛋白があるといい、糖コルチコイドとレセプターが結合することにより、口蓋形成期に必要な蛋白合成を抑え、そのために口蓋裂を起こすのではないかと考えている。これらステロイドによる口蓋裂の発生時期は、Cd投与による発生時期と全く同じであり、Cdによっても上顎突起または口蓋突起の間葉細胞に障害を与えて口蓋裂を発生させていると考えられる。

このようにCdのマウス口蓋裂発生は発生段階特異性（stage specific）と考えられ、石山⁹⁾の皮下投与の結果もほぼそれを証明している。しかし経口投与の本実験では7-9日の器官形成初期の投与からも口蓋裂が発生しているし、他にも^{8,42)}同様な報告がある。一般に静脈内、腹腔内あるいは皮下投与のように、急速にCdが胎仔に到達する場合は、発生段階特異性が明瞭であるが、経口投与では必ずしも表面上はそのようでないようにみえる。しかし、やはりその特異性があることが推定される。すなわち1つは、複数胎仔内にみられる発育個体差に基づくものと⁴³⁾、他の1つは、経口投与時の低濃度移行性、長時間停滞性から、妊娠8,9日のような早朝投与によって胎仔に取り込まれたCdが、臨界期に至って口蓋裂を引き起こすことも考えられる。

山村ら⁹⁾が述べているCdの濃度上昇に伴う奇形発生の増加（dose response）は口蓋裂についてののみは、当てはまらないと思われる。すなわち本実験では、連続投与の各群に、すべて口蓋裂が発生したが、その頻度は濃度順ではなく、B群>A群>C群の順でB群はA群の2倍であった。また石山⁹⁾の皮下投与は本実験の経口投与より胎仔へのCd移行濃度が高いと思われるのに経口投与より約1/2ほど頻度が低く、さらに高濃度のA群からは全く出現しなかった。一方、dose responseをCd催

奇形性について認めた山村ら⁹⁾も、口蓋裂奇形に関してこの関係については言及していない。

口蓋裂発生に関してもこれを認めるならば、次のような推定になろう。すなわちA群では本来B群より多く発生したが、胎仔へ移行したCd濃度がB群より高く、他の奇形等の合併も生じ、総て（皮下投与の場合）、あるいは一部（経口投与の場合）、出産前に死亡し、そのためにA群はB群より劣る結果となったのではないか。しかしCdによる口蓋裂発生は、本実験でもそうであるが、低濃度でも発現しうるし、正確にdose responseの関係があるか否かは、今後、詳細に検討される必要がある。

結 語

塩化カドミウム（Cdと略）強制経口投与によるマウス胎仔への影響を実験した。その実験結果をほぼ同様な方式で行われた石山⁹⁾の皮下投与の結果と対比・検討し、経口投与の特徴を明らかにし、次のように要約する。

1. 多くの臓器のCd検出量は経口・皮下投与共に対照と有意差はなかったが、肝、腎には両者とも著しく蓄積した。経口投与（以下経口と略）の母獣へのCd吸収は、皮下投与（以下皮下と略）と比べて著しく低かった。また経口では胃にも多く認められた。経口、皮下ともに胎盤には器官形成の終期に集積した。

2. 胎仔の抑制では、皮下が経口より強く致死性を示し、特に器官形成前期に強かった。経口は致死性と中毒性が半ばし、致死性は皮下より弱った。しかし経口は致死性・中毒性とも器官形成後期（妊娠13-15日）まで持続した。

3. 皮下は投与後、短時間に高濃度に、経口は比較的緩やかにCdは胎仔に移行することが推定された。しかし器官形成後期にはCdの有意な検出が胎仔にみられなくなることで、同時期に奇形の発生がないことから、経口・皮下共にこの時期にはCdは胎仔へ移行しないことが推定された。

4. 経口では皮下と異なり奇形の種類は著しく少なく、口蓋裂のみしか発生しなかった。しかし口蓋裂の頻度は皮下の2倍であった。多種の奇形の発生は、皮下では特に発生段階特異性を示した。経口は見かけ上は必ずしもそうでなかったが、やはりその特異性があると考えられた。

5. 奇形発生に関するdose responseは皮下に明らかであったが、経口・皮下ともに口蓋裂に関しては必ずしもそうでなく、他の因子の参加があるのではないかと考えられた。以上から口蓋裂は催奇因子に対し閾値が低い

が、その発現に関しては、ある長さ以上に作用する時間因子の存在が必要であろうこと。また皮下で生じた多くの臨床的にも稀れな奇形は、催奇因子に閾値が高いが、時間因子としては臨界期の短時間作用で発生するだろうことが推定された。

6. 特に口蓋裂の発生に関しては、経口・皮下の Cd 投与からは、妊娠11日すなわち外側口蓋突起形成時に、間葉系細胞の障害によって生ずると推定された。

謝辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜った恩師佐藤研一教授に深甚なる謝意を表します。また種々御助言をいただいた本学衛生学教室石川清文教授、産科婦人科学教室高見沢裕吉教授に深く感謝すると共に、本実験の基本的な指針を提示された歯科口腔外科学教室石山信之講師、終始御協力いただいた理学部の中川良三助教授、歯科口腔外科学教室の諸先生に感謝の意を表します。なお本論文の要旨は、第26回日本口腔外科学会総会、第36回日本口腔科学会総会にて報告した。

本論文は、学位審査論文である。

Summary

Effects of cadmium fetotoxicity and teratogenesis on mice were examined with respect to its dosage and time of treatment. CdCl_2 was acutely administered *per os* by a catheter to mice (SPF-ICR) at the 7-15th day of gestation and mice were sacrificed on occasion. On the 16th day, fetal mortality and CdCl_2 accumulation to maternal organs were smaller than those given subcutaneously. Normal or abnormal features of fetuses and their percentage revealed that both fetotoxicity and fetolethal effects appeared about equally in number. Only cleft palates were induced at a higher rate, while other kinds of malformations did not appear at all. The cleft palates developed specifically at the critical stage of the 11th gestation day. Possibility of dose response relationship was not clarified, because incidence of cleft palates did not always depend upon concentrations treated. With the present *per os* method, it is suggested that CdCl_2 is transported to fetuses more slowly under low concentration than with other methods, and cleft palates may be induced as a result of disturbed development of mesenchymal cells at the beginning of the lateral palatine formation.

文 献

1) Ferm, V. H. and Carpenter, S. J.: Tera-

togenic effect of cadmium and its inhibition by zinc. *Nature* **24**, 1123, 1967.

- 2) Mulvihill, J., Gramm, S. and Ferm, V.: Facial formations in normal and treated golden hamster. *J. Embryol. Exp. Morphol.* **24**, 393-403, 1970.
- 3) Schroeder, H. A., Mitchener, M., Hanover, NH. and Brattleboro, Vt: Toxic effects of trace elements on the reproduction of mice and rats. *Arch. Environ. Health* **23**, 102-106, 1971.
- 4) Barr, M. Jr.: Teratology of cadmium chloride in two stocks of wister rats. *Teratology* **7**, 237-242, 1973.
- 5) 山村英樹, 慶野宏臣, 仙波礼治, 村上氏広, 加藤美保子, 太田恵子: カドミウム塩による中枢神経系ならびに軸性骨格の発生異常に関する実験的研究 I 外表および骨格奇形の成立に関する stage specificity および dose response について, II 外脳症の発生過程における脳原基の組織変化について. 発達障害研究年報 I, 30-35, 1972.
- 6) 慶野宏臣, 渡辺貴美, 戸塚 武, 佐藤 浩: ハツカネズミ母体腹腔内へ投与したカドミウムの胎仔内 および 母体腎臓内分布. 医学と生物学 **90**, 197-200, 1975.
- 7) 慶野宏臣, 後藤英子, 山村英樹: 胎生12日のハツカネズミ胎仔羊膜内投与したカドミウムの催奇形率. 医学と生物学 **92**, 65-69, 1976.
- 8) 石津澄子, 南 正康, 鈴木明夫, 山田三根子: カドミウムの催奇形に関する実験的研究. 東女医大誌 **42**, 744-752, 1972.
- 9) 石山信之: 塩化カドミウムの催奇形性に関する実験的研究. 日口外誌 **25**, 475-494, 1975.
- 10) 野見山一生, 野見山紘子: 環境温度のカドミウム急性毒性に及ぼす影響. 環境保健レポート **38**, 153-155, 1976.
- 11) 慶野宏臣, 渡辺貴美, 戸塚 武, 佐藤 浩: ハツカネズミの母体血中カドミウム濃度と胎仔死亡率. 催奇形率との関係. 医学と生物学 **90**, 201-205, 1975.
- 12) Decker, C. F., Byerrum, R. U. and Hoppert, C. A.: A study of distribution of cadmium-115 in the albino rat. *Arch. Biochem. Biophys.* **66**, 140-145, 1957.
- 13) Cotzias, G. S., Borg, D. C. and Selleck, B.: Virtual absence of turnover in cadmium metabolism: Cd studies in the mouse. *Am. J. Physiol.* **201**, 972-930, 1961.
- 14) 柴田 浩: 生体におけるカドミウムの吸収および排泄に関する実験的研究. *Radioisotopes* **22**, 695-700, 1973.
- 15) 村田 勇, 中川照忠, 広野禎介: カドミウムの生体分布ならびに吸収, 排泄に関する研究. I マイクロオートラジオグラフィによる ^{109}Cd のマウス胎体分布. *Radioisotopes* **21**, 365-369,

- 1972.
- 16) Ferm, V. H. and Hanlon, D. P. and Urban, J.: The permeability of the hamster placenta to radioactive cadmium. *J. Embryol. Exp. Morph.* **22**, 107-113, 1963.
 - 17) Ferm, V. H. and Layton, W. M.: Reduction in cadmium teratogenesis by prior cadmium exposure. *Environ. Res.* **18**, 347-350, 1979.
 - 18) Gale, T. F. and Layton, W. M.: The susceptibility of inbred strain of hamster to cadmium-induced embryotoxicity. *Teratology* **21**, 181-186, 1980.
 - 19) Barr, M. Jr.: An animal model for the deficient abdominal muscle syndrome. *J. Pediatr.* **81**, 182, 1972.
 - 20) Yamamura, H., Deguchi, H. and Sawano, J.: Some histological finding in developing exencephalus brain of mouse embryos induced by cadmium salt. *Teratology* **6**, 124, 1972 (abst).
 - 1) Layton, W. and Layton, M.: Cadmium induced limb defect in mice: Strain associated differences in sensitivity. *Teratology* **19**, 229-235, 1979.
 - 22) Webster, W. and Messerle, K.: Changes in the mouse neuroepithelium associated with cadmium-induced neural tube defect. *Teratology* **21**, 79-88, 1980.
 - 23) Chiquonine, A. D.: Effect of cadmium chloride on the pregnant albino mouse. *J. Reprod. Fertil.* **10**, 263-265, 1965.
 - 24) Chernoff, N.: Teratogenic effect of cadmium in rats. *Teratology* **8**, 29-32, 1973.
 - 25) Murdoch, R. N. and Cowen, N. L.: Feto-toxicity of cadmium in Quackenbush strain mice and the effect of the metal on uterine alkaline phosphatase during pseudopregnancy. *Aust. J. Biol. Sci.* **34**, 305-312, 1981.
 - 26) Scharpf, L. G. Jr. and Hill, I. D.: Effect of sodium nitrilotriacetate on toxicity, teratogenicity, and tissue distribution of cadmium. *Nature* **239**, 231-234, 1972.
 - 27) Nolen, G. A., Bohne, R. L. and Buehler, E. V.: Effect of trisodiumnitrilotriacetate-Ferric chloride mixture on cadmium and methyl mercury toxicity and teratogenesis in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **23**, 238-250, 1972.
 - 28) Sutou, S., Yamamoto, K., Senda, H., Tomomatsu, Y., Shimizu, M. and Sugiyama, M.: Toxicity fertility, teratogenicity and dominant lethal tests in rats administered cadmium subchronically. *Ectotoxicol. Environ. Safety* **4**, 39-56, 1980.
 - 29) 福田一男, 戸谷 雄, 名取 功: カドミウムの次世代への影響 (II). *労働衛生研究所年報* **19**, 1973.
 - 30) Berlin, M. and Uliberg, S.: The rate of Cd in the mouse. *Arch. Environ. Health* **7**, 686-693, 1963.
 - 31) Sonawane, B. R., Nordoberg, M., Nordoberg, G. F. and Lucier, G. W.: Placental transfer of cadmium in rats. *Environ. Health Perspect.* **12**, 97-102, 1975.
 - 32) Dencker, L.: Possible mechanisms of cadmium fetotoxicity in golden hamster and mice: Uptake by the embryo, placenta and ovary. *J. Reprod. Fertil.* **44**, 461-471, 1972.
 - 33) Tanaka, M., Matsusaka, N., Yuyama, A. and Kobayashi, A.: Transfer of cadmium through placenta and milk in the mouse. *Radioisotopes* **21**, 50-52, 1972.
 - 34) Ferm, H. V. and Carpenter, S. J.: The relationship of cadmium and zinc in experimental mammalian. *Lab. Invest.* **18**, 429-432, 1968.
 - 35) Webb, M.: Biochemical effect of Cd injury in the rat and mouse testis. *J. Reprod. Fertil.* **30**, 83-98, 1972.
 - 36) Kelman, B. J. and Walter, B. K.: Fetal to maternal cadmium movements across the perfused hemochorial placenta of the Guinea pig. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **52**, 400-406, 1980.
 - 37) Samarawickrama, G. P. and Webb, M.: Acute effects of cadmium on the pregnant rat and embryo-fetal development. *Environ. Health Perspect.* **28**, 245-249, 1979.
 - 38) Been, W. and Lieuw, Kie Soug, S. H.: Harelip and cleft palate conditions in chick embryos following local destruction of the cephalic neural crest. A preliminary note. *Morphol.* **16**, 245-255, 1978.
 - 39) 江藤一洋: 口蓋形成における上皮と間葉の役割. *遺伝* **34**, 40-46, 1980.
 - 40) 半田純雄: 糖コルチコイド剤投与によるマウス胎仔の口蓋裂形成に関する実験的研究. *先天異常* **13**, 245-273, 1973.
 - 41) Salomon, D. S. and Pratt, R. M.: Glucocorticoid receptor in murine embryonic facial mesenchyme cells. *Nature* **264**, 174-177, 1976.
 - 42) Ferm, V. H.: Developmental malformation induced by cadmium. A study of timed injection during embryogenesis. *Biol. Neonat.* **19**, 101-107, 1971.
 - 43) 小坂克子: 顔面突起の癒合に関する光学顕微鏡および電子顕微鏡による発生学的研究. *口病誌* **51**, 562-587, 1984.