琉球大学学術リポジトリ

[原著] 経胃投与された塩化カドミウムのラット小腸における吸収について

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学医学部 公開日: 2014-07-18 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 田中, 重徳, 川村, 公一, 瑞慶覧, 朝盛, 中河, 志朗, 脇坂, 晟, 皆川, 輿栄, 田中, 礼子, 中井, 健五, Tanaka, Shigenori, Kawamura, Koichi, Zukeran, Chosei, Nakagawa, Shiro, Wakisaka, Akira, Minagawa, Koei, Tanaka, Reiko, Nakai, Kengo メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016468

琉大保医誌 5(1)：33～47，1982.

経胃投与された塩化カドミウムのラット小腸における吸収について

琉球大学医学部解剖学第1講座
田中　重徳

秋田大学医学部病理学第2講座
川村　公一

琉球大学医学部解剖学第1講座
瑞慶覧朝盛　　中河　志朗

秋田大学医学部生化学第1講座
脇坂　　晃

新潟大学教育学部
皆川　興栄

秋田大学医学部薬理学講座
田中　礼子　　中井　健五

はじめに

公害汚染の原因のひとつである重金属の体内への取込み（吸収），分布，蓄積および排泄に関する研究が急速に進んでいる．重金属のカドミウム（Cd）については，これと特異的に結合する低分子の結合蛋白 metallothioneins（MT; カドミウム結合蛋白[10]）の存在がウマの腎において発見されて以来，マウス[16]，ラット[22]，さらにはヒト[20]においても発見されている．カドミウムの慢性中毒は「イタイイタイ病」として有名であるが，急性中毒をも含めて，カドミウムと生体との係わりに関する生化学的[7)9)11)21)25)]および（公衆）衛生学的[1)2)5)6)12)23)24)]立場からの研究は，上述のMTの発見に例示されるように歴史がながい．これに対して，形態学的観点からの研究は，比較的最近になって本格的に行われるようになった[8)13)14)15)18)]．とりわけ，オキシン（8-hydroxyquinoline）とカドミウムが錯塩をなす反応を利用し，生体内に，水とアルコールに不溶性の沈澱物を形成させ，これを非分散型X線エネルギー分布検出装置（elctron energy dispersive analysis of X-rays, EDAX）および透過型走査電子線像装置（transmission type scanning electron image system, TSEI）を装備した透過型電子顕微鏡下に観察・同定する方法[8)13)14)15)]は，カドミウムの局在を亜細胞レベルで直接的に証明しえた点で特筆に価する．

しかしながら，カドミウムが腸管の上皮から，どの様な機序で吸収され，体内に分布するか，ということについて形態学的に追究した報告はない．私たちは，この点に着目し本研究を行っ

本研究はトヨタ財団の助成を得て行われた．
（助成番号：78－1－063，79－1－034）．

た．考察で後述するように，方法論的にはEDAXおよびTSEI 装備の電子顕微鏡を使用していないので，カドミウムの局在を直接的に証明しえてはいない．しかし，実験群と対照群とを対比することによって，ほぼカドミウムの投与に付随すると思われる形態学的知見が得られたので，ここに考察を加えて報告したい．

対象ならびに研究方法

あらかじめ絶食させておいた雄ラット（wister 系，250−400 g・体重）を実験群（6匹）と対照群（3匹）とに分け，実験群では胃内に，胃カニューレを使用し，塩化カドミウム（$CdCl_2$）水溶液（250mg／10mℓ/kg・体重）を投与し，3−5時間放置した．対照群については，何も与えずに，そのまま3−5時間放置した．これらのラットは，その後，10%ウレタン液を3−4 mℓ 腹腔内に注射して麻酔し，開腹し，胃から大腸にいたる消化管の各部を摘出し，各々から電子顕微鏡下の観察のための組織ブロックを作製した．その際，カドミウムを細胞・組織内に留めるために，組織化学的および電子顕微鏡学的操作を次のように方法を変えて行った．

1．単純浸漬法

麻酔したラットを開腹し，消化管の各部を摘出して，オキシンを飽和含有する3%グルタールアルデヒド−（4%アクロレイン−）0.14Mベロナールナトリウムまたは3%グルタールアルデヒド−0.1Mカコジル酸ナトリウム（pH7.2-7.4）の中に浸漬し，速やかに細切した．その後，ひき続き2−4時間，同じ組成の固定液の中で，振とうを加えながら浸漬固定した．

“後„固定は2%オスミック酸−0.14Mベロナールナトリウムまたは0.1 Mカコジル酸ナトリウムで行い，エチルアルコール〔方法1 a〕またはヘキシレングリコール〔方法1 b〕により脱水し，そのままSpurr 樹脂に包埋，重合させた．

2．灌流固定法

麻酔したラットを開腹する前に，開胸し左心室を開け，ここから大動脈弓にカニューレを挿入して，経動脈的に先ず全身を約80mℓのオキシン（飽和含有）− 0.14Mベロナールナトリウムまたは−0.1Mカコジル酸ナトリウム（pH7.2−7.4）で灌流した．その後，同様に，オキシン（飽和含有）3%グルタールアルデヒド−0.14Mベロナールナトリウムまたは− 0.1 Mカコジル酸ナトリウム（pH7.2−7.4）で灌流固定を行った。これと平行して，胃カニューレから同じ組成液を約20mℓ注入して，消化管粘膜の固定と共に，同粘膜の上皮細胞内のカドミウムを捕捉するための組織化学反応（Cd−oxine 化合物）の改善を期した．この灌流の後，開腹し，消化管の各部位を摘出し，細切し，同じ組成の固定液中にて2時間浸漬固定した．

後固定以後の操作は，1.と同様である．

重合した組織ブロックから超ミクロトーム〔Porter−Blum MT−1A，MT−2B(Sorvall)〕を使用して，超薄切片を作製し，Reynoldsの鉛染色を30分間行い，JEOL 100B，100C またはHU−12A で観察した．一部は，比較・対照のために，無染色のまま観察した．

また，各実験群の一部については，オスミック酸による後固定を経ずに，そのまま(グルタールアルデヒドによる固定の後に，)脱水・包埋・重合させて，後日の分析電子顕微鏡による観察に備えた．

結　　果

1．胃・腸管の各部の内腔におけるカドミウムの局在

カドミウムを胃内に投与した後，3−5時間経過したラットの消化管において，カドミウムはその大部分が回盲部に停留しているのが観察された．このことは，消化管の各部位を細切して，オキシンを飽和含有する固定液中に浸漬した場合に，この回盲およびこの直ぐ頭側(近位)の回腸部に著明なCd-oxine 化合物が沈澱することからも推定することができる．電子顕微鏡下に観察すると，この部位の上皮細胞の微絨毛に近接して，層流状の流動物の存在を物語る形態が観察された（Fig. 1a）．しかしながら，この形態は，この部位のすべての上皮細胞について

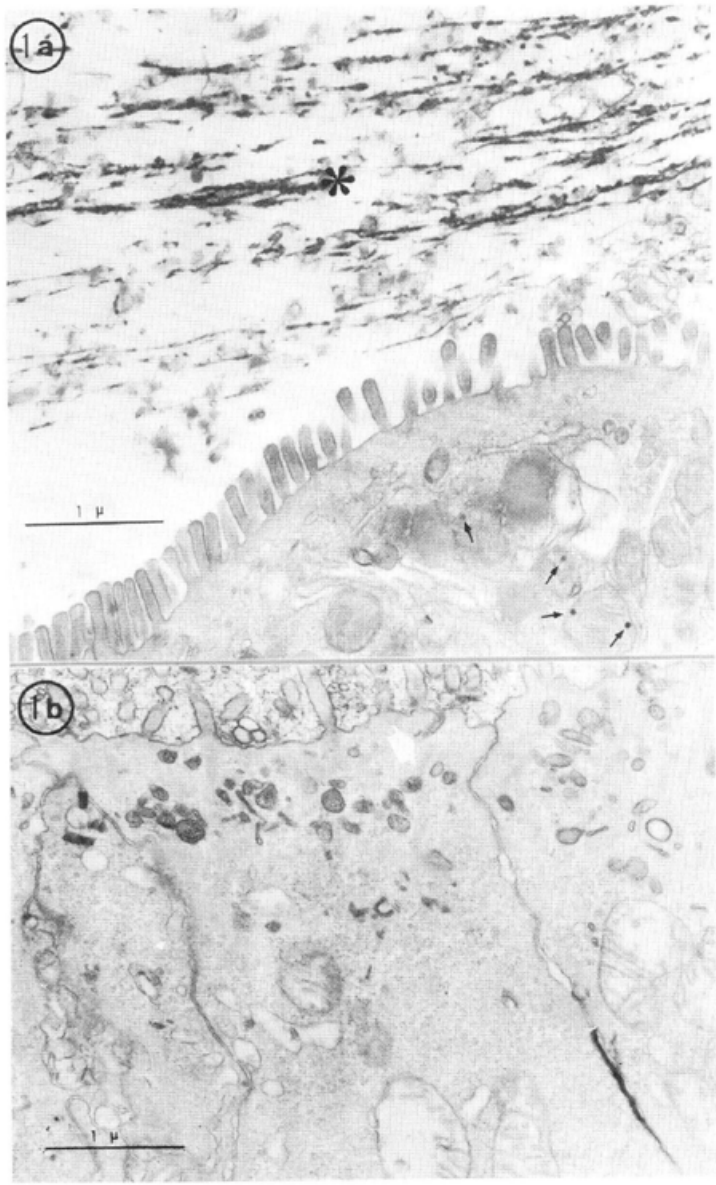

Fig. 1. **a.** Cd-oxine reaction product in the lumen of the small intestine. In the lumen of the small intestine of experimental group, the Cd-oxine complexes appear as linear profiles with high electron density. They are arranged in a parallel, stratified array, and, typically, are found in close proximity to the microvilli of the small intestinal absorptive cell (asterisk). The intramatrix granules of the mitochondria are characterized by their high electron density (arrows). Apical cell membrane occasionally give rise to invagination.

b. An electron micrograph showing the apical region of the small intestinal absorptive cells. Note intermicrovillar spaces and pockets are occupied with reticular profiles with a high electron density. At bottom to the right, a massive reaction product is seen occupying the intercellular space.

Fig. 2. **a.** An electron micrograph of the small intestine of the Cd-administered rats. This micrograph clearly demonstrates that, although the Cd-oxine reaction products are reported to be insoluble in ethyl in ethyl alcohol, they are subject to dislocation and diffusion off from their initial sites when dehydrated in this agent.

b. Dislocation and diffusion of the reaction products, when hexylene glycol is substituted for ethyl alcohol, are to some extent diminished; the former is known to act as dehydrating agent milder than does the latter.

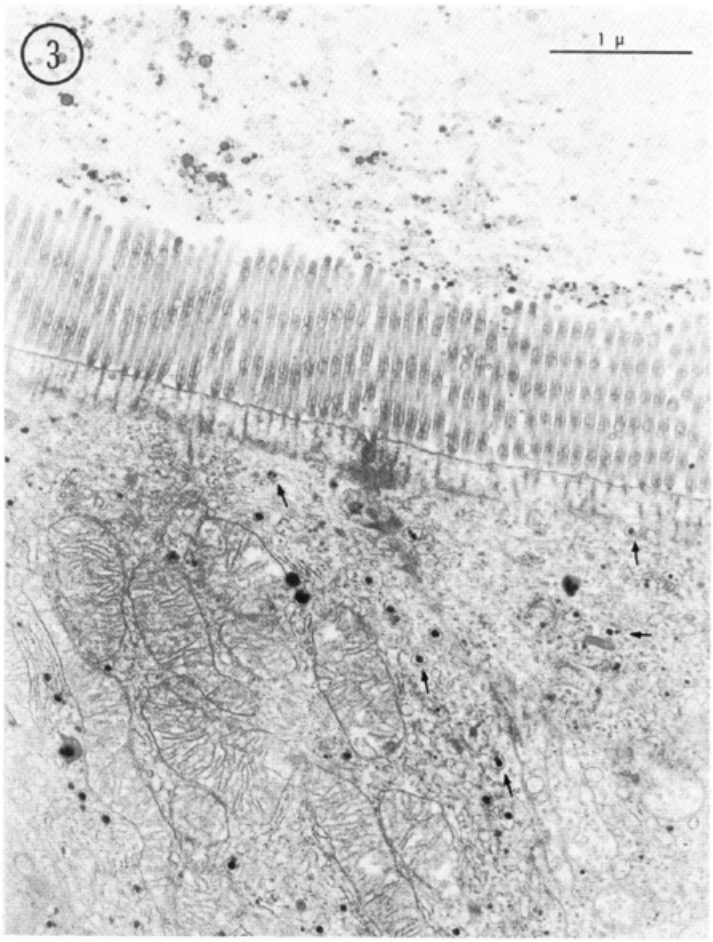

Fig. 3. An electron micrograph of a specimen from rats, which were transcardially and also transgastrically perfused with oxine-saturated barbital sodium buffer, followed by oxine-saturated ficatives (see text). The preservation of the intestinal structural relationship are substantially improved as compared with nonperfused specimens (cf. Figs. 2a, b). Note an abundance of electron dense granule-containing vesicles are found dispersed throughout the apical cytoplasm of the small intestinal absorptive cells (arrows).

観察されたわけではない.

2. 回腸部上皮細胞層におけるカドミウムの局在

回腸部上皮細胞の中で, 杯細胞 (Fig. 5a), パネート細胞, 腸内分泌細胞にはカドミウムの局在を物語る確定的な所見は得られなかった. これに対して, 吸収上皮細胞には, 塩化カドミウムの経胃的投与に起因すると思われる形態上の変化が認められた.(以下, この回腸部の吸収上皮細胞の細胞頂から細胞底へと, 順次所見を

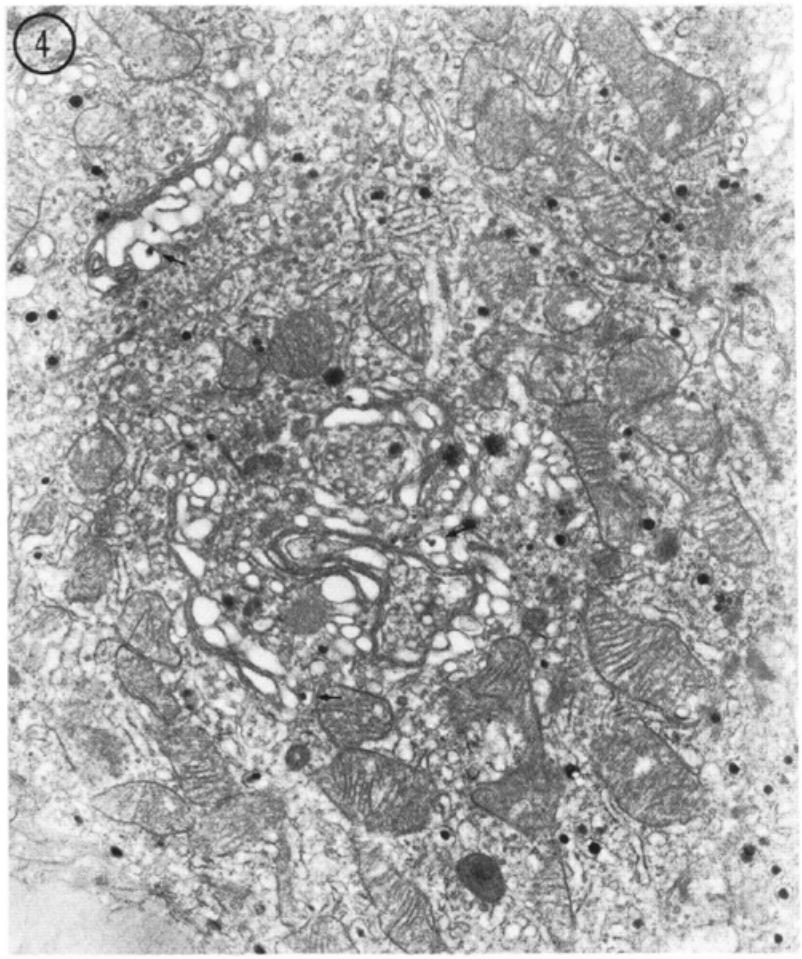

Fig. 4. Highly electron dense granules are also encountered in the Golgi vesicles.

述べる.)

単純浸漬法によって固定し，エチルアルコールで脱水し，そのままSpurrの樹脂に包理して得た組織ブロックにおいては，電子顕微鏡下の観察において，組織化学的反応産物（Cd-oxine化合物）の拡散が認められた(Fig. 2a).

単純浸漬法によって固定，ヘキシレングリコールで脱水し〔方法1b〕，そのままSpurrの樹脂に包埋して得た組織ブロックについて観察したところ，拡散は減少し，吸収上皮細胞の個々の微絨毛の間の，いわゆる微絨毛間腔において，所によって網状の電子密度の高い構造物が見られた(Fig. 1b)．この部位の（細胞頂の）細胞膜は，時に細胞質内に小管状に陥入し，さらに端網層直下の細胞質には，球状や楕円状等の形をした小胞構造物が多数観察された（Fig. 1b)．これらの小胞状構造物の内容は，上述の微絨毛間腔に存在する物質と同様に，網状を呈していた(Fig. 1b)．この部位およびこれより基底側（basal）の部位の高さに存在するミトコンドリアは，時にその基質の中に，電子密度の高い微小な顆粒状構造物を含んでいた（Fig. 1a)．(陽イオン給合部位と言われる基質顆粒であるかもしれない.)

灌流固定法〔方法2.〕により固定し，エチルアルコールで脱水後Spurrの樹脂に包埋した組織ブロックにおいては，前者の方法〔方法1.〕よりも，より鮮明に塩化カドミウム投与に伴うと思われ

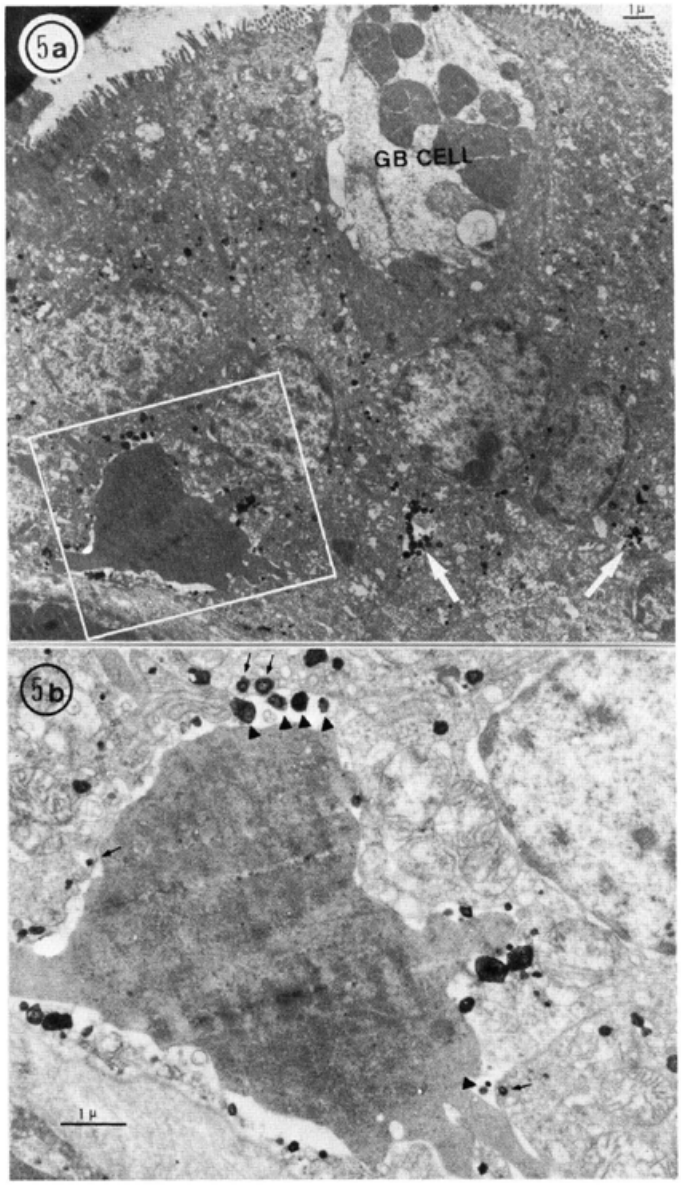

Fig. 5. **a.** An abundance of electron dense granule-containing vesicles are found dispersed throughout the cytoplasm of the small intestinal absorptive cells. Note the Goblet cell is free of those electron dense granules. The square indicates approximately the area that appears in Fig. 5b. Note also many electron dense granules are found in the intracellular spaces (clefts; white arrows).

b. A regional magnification of a portion of Fig. 5a. The vesicles containing electron dense granules are found in close association with the lateral cell membrane (arrows). Across these membrane the electron dense granules are occasionally encountered located opposite the electron dense granule-containing vesicles inside the cell, implying that the these electron dense granules contained in the vesicles might be exocytosed in these sites.

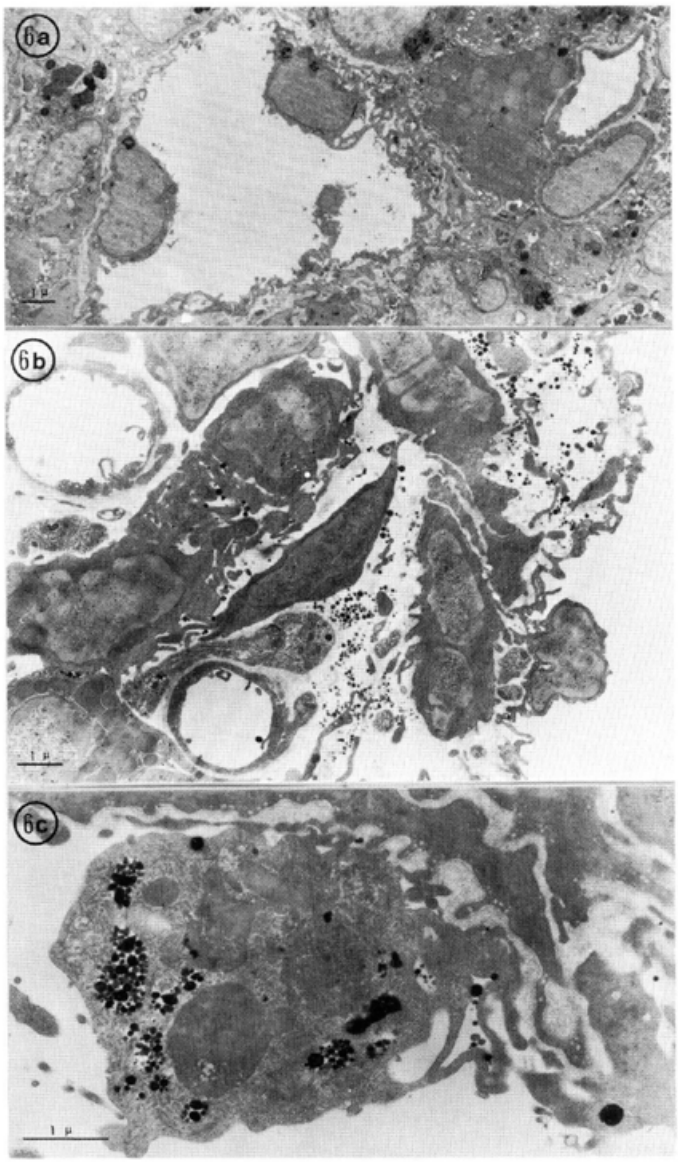

Fig. 6. **a.** Cd-oxine complexes in the lamina propria of the small intestine. Note the reaction products are localized to the lysosomes of migrating cells. In this micrograph, the reaction products are observed to be located in the cytoplasm of the lymphatic endothelial cells.

b. The mucosa of the small intestine is infiltrated by a number of migrating cells (leukocytes and macrophages). A great number of electron dense granules are observed located intercellularly between the migrating cells ; not frequently they are found aggregated around the lymphatic and blood capillaries of the lamina propria.

c. Migrating cells contain more or less aggregated electron dense granules in their cytoplasm (supposedly in the secondary lysosomes).

る形態像を得ることができた．端網層直下の細胞質には，電子密度の著しく高い顆粒状の形態物（以下顆粒物という．）を含む小胞状の構造物が豊富に観察された(Fig. 3)．このような小胞状の構造物は，細胞頂から細胞底にかけて，小腸吸収上皮細胞内の全域にわたって観察された(Fig. 5a)．細胞小器管との関係においては，ゴルジ装置付近の小胞内にも，またゴルジ装置内にも観察された（Fig. 4)．側方ならびに基底の細胞膜（特に前者の場合は著明である．）をはさんで，細胞質側（interior）には上述の小胞状の構造物が，外側（exterior）には小胞状の構造物と思われる電子密度の高い顆粒物が観察された(Fig. 5b)．

3．粘膜固有層におけるカドミウムの局在

基底板以下の粘膜固有層には，遊走性の細胞（白血球，大食細胞）が数多く観察された（Figs. 6a, b)．量的に検索したわけではないが，正常ラット（対照群）の場合に比べ，増加しているものと思われる．これらの細胞の中には，先述の高電子密度の顆粒物が，豊富に観察された(Fig. 6c)．（大食細胞であるように思われる．）

4．細脈管の部位におけるカドミウムの局在

粘膜固有層に存在する細血管とリンパ細管の周囲に顆粒物が豊富に観察された（Fig. 6b)．これらの顆粒物の一部は，これら細脈管の内皮細胞の突起（状形態物）によって囲まれていたり，その細胞の細胞質の中に完全にとり込まれているのが観察された．

考　　察

1．本研究の意義と問題点

本研究において小腸吸収上皮細胞の膨化した小胞体，細胞間腔，上皮細胞下の粘膜固有層の遊走性細胞の細胞間腔や大食細胞の細胞質の中の二次ライソゾームと思われる細胞小器官に豊富に観察された顆粒物が，経胃的に投与した塩化カドミウムとどの様な関係にあるか，ということは，本研究の意味を根本的に左右する問題である．

本研究は方法論的に大きな弱点をもっている．それは形態学の固定・脱水・包埋・染色といった，いわゆる通常の方法に依拠する限り免ることの出来ない物質の組織内における移動または流出という問題である．たしかに，オキシンはカドミウムを高感度（0.1γ[8]）で検出するほどの反応（捕捉）力を持っており，Cd-oxine 化合物は水に対しても，またエチルアルコールに対しても不溶性ではある．しかしながら，上述の形態学的操作の過程で，この化合物のある部分が，固定・洗浄液，脱水剤および染色液中に流出してしまっていることが考えられる[14]．このことは，本研究において，脱水の方法（方法1a，方法1b）および単純浸漬法または灌流固定法による組織ブロックの電顕観察像の相異によっても明らかである．この移動および流出の問題は，次のことがらによって更に複雑化する．つまり，オキシンは遊離状のカドミウムとは，上述のように高感度にキレート化合物を形成するが，何らかの形で蛋白等と結合したカドミウムはキレートし難い[14]ということである．この場合，高分子の蛋白であれば，むしろこれが固定液中のアルデヒド基によって固定されるから，カドミウムはこの高分子蛋白と結合した状態で，組織内に留まることが期待される．しかしながら，5,400～9,800 という低分子量の小腸粘膜 metallothionein [23] が，グルタールアルデヒドによって，どの程度固定されるかは，目下のところ不明である．以上のことから，組織中のカドミウムのかなりの部分が移動や流出しているものと考えざるを得ないが，上述の顆粒物が決して無原則に微細構造下に観察されるのではなくして，明らかに微細構造（e.g. 小胞体）と一定の関係を示す，ということから，その局在証拠が全くの人工産物（または，別物）であるという可能性は除外できるものと考えられる．木村[8]および水平ら[14]は塩化カドミウムを腹腔内に投与したマウスの肝細胞内に観察された沈澱物質様微小顆粒を遊離またはそれに近い状態のカドミウムとオキシンの化合物とし，0.2 ミクロン径前後の特殊顆粒（ライソゾームの一種）をカドミウムと metallothionein の結合物と見なしている．

2．小腸吸収上皮細胞がカドミウムを吸収する

機序について

本研究において，塩化カドミウムを経胃的に投与したラットの小腸吸収上皮細胞の細胞頂の細胞膜が小管状に，細胞質内に陥入し，これによって小管状構造を形成したり，さらには細胞質内のいわゆる端網層と称される部分直下に小胞（vesicles）を豊富に形成し，この中に微絨毛間腔に見られるところの高電子密度の網状構造と同一，またはこれをさらに濃縮したかのような構造物を容れている所見が得られたことは，一応注目に値するものと思う．既述のように，分析電子顕微鏡によるカドミウムの同定を未だ行っていないので，断定は出来ないが，このような形態学上の所見に依拠する限りにおいては，pinocytosisによるところの，カドミウムのラット小腸吸収上皮細胞からの吸収という仮定も一応検討に価する．しかしながら，この場合，小腸吸収上皮細胞には，脈絡叢の上皮（衣）細胞のような細胞頂の細胞膜の著明な陥入は観察されない．その上，このような仮定は，これまで広く認められて来ているところの，小腸吸収上皮細胞が行う通常の吸収の様式と異るものである．(この点においても，私たちは断言を慎みたいと思う．) つまり，Na^+，K^+等の“生理的„な金属イオンの通過は，(現今の形態学が把み得る限りにおいては）これといった形態を伴うことなく行われる．また，糖や蛋白といった吸収物質は，通常の場合，微絨毛細胞膜表面に露出している酵素の活性部位（膜内粒子の亜粒子；この亜粒子の中にreceptor として働くものが存在する．)において，単糖およびアミノ酸のレベルにまで，いったん消化（終末消化）されてから吸収される．この場合，終末消化による産物は，膜内亜粒子が形成する通路（channel)を通って，微絨毛細胞質に輸送される[26)27)]．

また，中性脂肪は胃液や胆汁によって乳化され，腸管腔内の膵リパーゼによって，脂肪酸とmonoglyceride にまで分解される．これらは，さらに胆汁塩が加わることによってミセル化し，この状態で微絨毛細胞膜に運ばれる．ここで，この細胞膜の脂質の部分を通過し，微絨毛細胞質に入る[26)27)]．

以上のように，小腸吸収上皮細胞における塩類，糖，蛋白および脂肪の吸収は，(それらが生理的物質である限りにおいては）pinocytosis とは別の吸収機序〔膜を通しての吸収（transmembrane absorption)〕によって行われるのが通常である[26)27)]．

ただ，例えば管腔内消化不全といった病的状態および出生直後の新生児（仔）においては，蛋白(免疫抗体をも含む．)が pinocytosis によって吸収される[4)17)26)27)]．

安藤ら[1)]は，ラットに塩化カドミウムを経口投与し，十二指腸中のゲル濾過パターンから，カドミウムは蛋白と結合しないかたちで吸収されると報告している．カドミウムの場合は，生理的な金属ではなく，その上 Na やK と異って，ligand (carrier)と強く結合しており[7)]（蛋白に対する親和力が高い．)，この重金属が上述の transmembrane absorption という機序によって腸管吸収上皮細胞から吸収されると片づけることに，いささか疑問が残ると思わざるを得ない．この中にあって，最近 receptors を介しての諸物質の吸収が，線維芽細胞において行われていることが明らかになって来ており[3)18)]，これとカドミウムの吸収が少なからず関係していると思われるので，この点に関して少々考察を加えたい．この吸収機序は receptors を介しての吸収（receptor-mediated endocytosis）であって，それゆえに特異性があり，通常の endocytosis (pinocytosis）とは区別される．この機序においては，インシュリン，表皮成長因子，ソマトメディンC，低分子リポプロテイン，α_2-マクログロブリン，ウィルス等と共に，金属結合蛋白(Cd-metallothionein もこれに含まれる．)が線維芽細胞膜上の receptors と結合し，そこに coated pit を形成し，後にこれから receptosomes が形成される．この receptosomes は，さらにゴルジ装置に達し，ライソゾーム酵素を得て次のライソゾームが形成される[18)]．線維芽細胞と小腸吸収上皮細胞という違いを考察しなければならないが，後者においても receptor-mediated endocytosis という機序が存在するかどうか，という問題は，カドミウムの腸管からの吸収を解明する

上で，避けて通ることが出来ない．今後はこの方面での研究がさらに必要となって来るものと思われる．

3.小腸吸収上皮細胞に吸収された（と思われる）カドミウムについて

本研究において，塩化カドミウム経胃投与ラットの小腸吸収上皮細胞の細胞質内に観察されたところの，著しく電子密度の高い顆粒物を含む小胞状の構造物については，すでに木村[8]，水平と木村[15]，水平ら[14]が塩化カドミウム腹腔内投与後26時間後のマウスの肝細胞中に，類似の小胞状構造物の存在と，さらにこの中にカドミウムを含む沈澱物質様の微小顆粒が存在することを報告している．目下のところ，私たちはこの小胞状の構造物がカドミウムの吸収に重要な役割を果しているのではないか，と推測している．しかしながら，この形態は生化学的な裏づけを未だ得ていない．つまり，Taguchi & Suzuki[23]，脇坂ら[25]の生化学的研究においては，塩化カドミウムの3ヶ月間経口投与したラット[23]および経胃投与後1及至5時間のラット[25]の小腸粘膜組織中の全カドミウム量の30%またはそれ以上が cytosol (105,000xg) に存在する，と報告している．この場合，本研究において観察された小胞状構造物および後述の粘膜固有層中の顆粒状構造物が，遠心分画法の操作過程で，どの様な運命をたどるか，大きな問題である．

本研究では，小腸吸収上皮細胞の細胞頂に存在するわずかのミトコンドリアについてのみ，その内部に電子密度の高い微小の反応産物が観察された．水平と木村[15]，水平ら[14]は塩化カドミウム腹腔内投与後のマウスの肝細胞のミトコンドリア内に微小沈澱物を観察し，ここにカドミウムの局在を確認している．生化学的には，塩化カドミウム経胃投与後1時間のラットの小腸粘膜組織内に存在するカドミウムの約14%がミトコンドリアに存在するという[25]．ただ，このミトコンドリア内のカドミウムがどのような意味を有するか，目下のところ不明である．

4.粘膜固有層に観察される反応産物について

一般に小腸吸収上皮細胞によって吸収された物質は，その大部分が細胞側面から，細胞間腔に放出されると言われる[26][27]．本研究においても，反応産物は小腸吸収上皮細胞の基底側の細胞膜直下のほかに，外側の細胞間腔にも電子密度の高い反応産物が観察された．したがって，小腸吸収上皮細胞によって吸収されたカドミウムは，この細胞の exocytosis によって放出され，粘膜固有層に移送されるのではないか，と推される．

粘膜固有層には遊走性の細胞が豊富に観察された．これはカドミウム経胃投与後の腸管に強い細胞浸潤が起こることを物語っているものと思われる．この様な細胞浸潤は，たとえば celiac sprue のような消化不全疾患においても観察される．塩化カドミウム経胃投与の場合は，顆粒状の反応産物が，これらの遊走性の細胞間および粘膜固有層の“細脈管”の周囲に豊富に存在するのが観察された．さらに，大食細胞と思われる細胞が，これをさかんに食していることを示す形態が見られた．このことから，小腸吸収上皮細胞から粘膜固有層に放出された顆粒状構造物が，血管腔内にそれほどスムーズに移動されないのではないか，ということが一応考えられる．

結　　論

雄ラット（Wister 系，250-400g・体重）に塩化カドミウム水溶液（250 mg/10mℓ/kg・体重）を経胃的に投与し，オキシン[8]法によって，小腸を電子顕微鏡下に観察したところ，次の知見を得た．

1.小腸の吸収上皮細胞の細胞頂の細胞膜の小管状陥入や細胞頂に存在する小管状構造および小胞の中に，電子密度の高い網状構造物が，時に観察された．

2.小腸吸収上皮細胞の細胞質に，このほかに，電子密度の高い顆粒状構造物を内含する平滑な小胞が観察された．これは，receptosomes[18]と何らかの関係があるものと推測される．

3.粘膜固有層の遊走細胞間，細脈管の近傍および大食細胞の細胞質内にも顆粒状構造物が豊富に存在するのが観察された．

文 献

1) 安藤正典, 佐谷戸安好, 外村正治：有害性金属の衛生化学的研究（第4報）カドミウムの生体内への吸収機構について. 衛生化学22, 24−30, 1976.

2) Ando, M., Sayato, Y., Tonomura, M. & Osawa, T.: Studies on excretion and uptake of calcium by rats after continuous oral administration of cadmium. Toxicol. Applied Pharmacol. 39, 321-327, 1977.

3) Bainton, D.F.: The discovery of lysosomes. J. cell biol. 91, 66-75, 1981.

4) Cornell, R. & Padykula, H. A.: A cytological study of intestinal absorption in the suckling rat. Amer. J. Anat. 125, 291-316, 1969.

5) Frazier, J. M. & Puglese, J.: Dose dependence of cadmium kinetics in the rat liver following intravenous injection. Toxicol. Applied Pharmacol. 43, 461-474, 1978.

6) Julshamn, K., Utne, F. & Braekkan, O. R.: Interactions of cadmium with copper, zinc and iron in different organs and tissues of the rat. Acta Pharmacol. Toxicol. 41, 515-524, 1977.

7) Kello, D. & Kostial, K.: Influence of age and mild diet on cadmium absorption from the gut. Toxicol. Applied Pharmacol. 40, 277-282, 1977.

8) 木村美智子：急性カドミウム中毒
1.マウス・カドミウム中毒肝における電子顕微鏡的・元素分析的研究. お茶の水医学雑誌21, 43-63, 1973.

9) Klaassen, C. D. & Kotsonis, F. N.: Biliary excretion of cadmium in the rat, rabbit, and dog. Toxicol. Applied Pharmacol. 41, 101-112, 1977.

10) Margoshes, M. & Vallee, B. L.: A cadmium protein from equine kidney cortex. J. Amer. Chem. Soc. 79, 4813-4814, 1957.

11) 道岡攻, 加美山茂利：リゾゾーム酵素の潜在性におよぼすカドミウムの影響 …… in vitro の成績. 秋田医学6, 195−204, 1980.

12) 皆川興栄, 脇坂 晟, 田中礼子, 田中重徳, 川村公一, 藤沢 進, 中井健五；たん白質栄養が無機カドミウム, 無機水銀およびメチル水銀の消化管吸収と体内分布におよぼす影響. 秋田医学6, 205-214, 1980.

13) 水平敏知& Russ, J. R.: 分析電子顕微鏡…微小部X線分析の理論と生物医学的応用. pp. 307. 日本メディカルセンター, 東京. 1978.

14) 水平敏知, 二重作豊, 椎橋美智子：重金属と細胞の微細構造. 細胞7, 487-518, 1975.

15) 水平敏知, 木村美智子：分析電子顕微鏡によるカドミウムの検出法と細胞分布. 総合臨床23, 76-84, 1974.

16) Norber, G. F., Piscator, M. & Lind, B.: Distribution of cadmium among protein fractions of mouse liver. Acta. Pharmacol. Toxicol. 29, 456-470, 1971.

17) Ono, K. & Satoh, Y.: Ultrastructural localization of acid phosphatase activity in the small intestinal absorptive cells of postnatal rats. Histochemistry 71, 501-512, 1981.

18) Pastan, I.H. & Willingham, M.C.: Journey to the center of the cell : role of the receptosome. Science 214, 504 -509, 1981.

19) Piscator, M.: On cadmium in normal human kidneys together with a report on the isolation of metallothionein from livers of cadmium-exposed rabbits. Nord. Hyg. Tidskr. 45, 76-82, 1964. Cited in: Rudd, C. J. & Herschman, H. R. 1978.

20) Pulido, P., Kägi, J. H. R. & Vallee, B. L.: Isolation and some properties of human metallothionein. Biochemistry 5,

1768-1777, 1966. Cited in : Ridd, C. J. & Herschman, H. R. 1978.

21) Rudd, C. J. & Herschman, H. R.: Metallothionein accumlation in response to cadmium in a clonal rat liver cell line. Toxicol. Applied Pharmacol. 44, 511-521, 1978.

22) Shaikh, Z. A. & Lucis, O. J.: Isolation of cadmium-binding proteins. Experientia 27, 1024-1025, 1971. Cited in : Rudd, C. J. & Herschman, H. R. 1978.

23) Taguchi, T. Suzuki, S.: Cadmium binding components in the supernant fraction of the small intestinal mucosa of rats administered cadmium. Japanese J. Hygiene 33, 467- 473, 1978.

24) Takashima, M., Nishino, K. & Itokawa, Y.: Effect of cadmium administration on growth, excretion and tissue accumlation of cadmium and histological alternations in calcium-sufficient and deficient rats: an equilized feeding study. Toxicol. Applied pharmacol. 45, 591-598, 1978.

25) 脇坂 晟, 皆川興栄, 田中礼子, 田中重徳, 川村公一, 藤沢 進, 中井健五：たん白質栄養状態の異るラットの小腸における無機カドミウム, 無機水銀, メチル水銀の動態と粘膜上皮細胞中の金属結合物質. 秋田医学 6, 215-228, 1980.

26) 山元寅男：消化と吸収（細胞機能と構造）. 代謝（臨増号）14, 1809-1817, 1977.

27) 山元寅男：吸収不全と小腸吸収細胞. 日本医事新報 2867, 130-131, 1979.

Uptake of cadmium by the small intestinal absorptive cells of rats

Shigenori Tanaka
Department of Anatomy, School of Medicine, University of the Ryukyus

Koichi Kawamura
Department of Pathology, Akita University School of Medicine

Chosei Zukeran, Shiro Nakagawa
Department of Anatomy, School of Medicine, University of the Ryukyus

Akira Wakisaka
Department of Biochemistry, Akita University School of Medicine

Koei Minagawa
Niigata University Faculty of Education

Reiko Tanaka, Kengo Nakai
Department of Pharmacology, Akita University School of Medicine

The electron histochemical method using oxine (8-hydroxyquinoline) as chelating agent was used to study the mechanism by which per gastrem administered cadmium (Cd) might be uptaken by the absorptive cells of the small intestine (SI) of rats.

Six rats weighing 250-450 g, anticipatively 12 hours starved, received an intragastric injection of 250 mg/kg of aqueous cadmium chloride (experimental group), whereas 3 rats similarly starved were given merely an equivalent volume of pure water (controle group).

The histochemical procedure which had so far provided the convincing results were as follows : the animals were perfused first with 80 ml of 0.14 M barbital sodium saturated with oxine (pH 7.2-7.4) transcardially; the same perfusate was simultaneously perfused transgastrically. This procedure was followed by the perfusion of 3 % glutaraldehyde in 0.14 M barbital sodium buffer saturated with oxine (pH 7.2-7.4). The sample were postfixed with 2 % osmium tetroxide in 0.14 M barbital sodium saturated with oxine as mentioned, dehydrated in a graded series of ethyl alcohols or hexylene glycols, and finally embedded in Spurr's low viscosity resin.

Electron micrograph revealed that in the lumen of the SI of experimental group, the reaction products appeared as linear profiles with high electron density. These were arranged more or less in parallel array, implying the existence of highly viscous substance which might contain Cd-oxine complexes. Typically, they were observed in close proximity to the microvilli of the SI absorptive cells; intramicrovillar spaces and pockets were filled with reticular profiles having a high electron density. Apical plasma membrane was occasionally observed to indent into the apical cytoplasm thus providing there profiles of tubular structure; numerous vesicles were found in the apical region of SI absorptive cells. These tubules and vesicles

were found filled with the same substance of reticular structure as that of intramicrovillar spaces and pockets mentioned. The intracellular space was seen packed with massive electron dense material or with highly electron dense granules (EDG).

There were found an abundance of EDG-containing vesicles dispersed throughout the cytoplasm of SI absorptive cells ; these EDG were also observed in the Golgi vesicles. The vesicles were also found in close association with the lateral and basal cell membranes. Interestingly, across these cell membrane the EDG were frequently found located opposite the EDG-containing vesicles inside the cells. These findings suggest that the EDG supposedly containing Cd-oxine complexes, might be excytosed in these sites of the cells.

The mucosa of the SI was characterized by abundant migrating cells (leukocytes and macrophages), indicating that the transgastrical administration of Cd was accompanied by the cell infiltration in the mucosa of SI of rats. Noticeably, EDG were found distributed among these migrating cells and/or accumlated around the lymphatic as well as blood capillaries. Some migrating cells (macrophages) were seen containing in their cytoplasm a number of EDG aggregated.

No profiles of EDG were observed in the specimens from the SI of rats of the controle group.