

1 カドミウム評価書（第 2 版）以降に得られた知見 概要集（案）
 2 （実験動物への影響（神経、生殖、その他））
 3

【事務局より】

専門委員及び専門参考人より選定を頂いた各文献に記載されている内容をまとめています。第 3 版への組み込み方は別途ご相談させていただければと考えております。

※目次の項目名は仮です。

4
 5
 6 <目次>

7	○. 実験動物等における有害性評価.....	1
8	（1）慢性影響.....	1
9	①腎臓への影響 ※審議済.....	1
10	②骨への影響 ※審議済.....	1
11	③呼吸器への影響 ※該当文献なし.....	1
12	④高血圧及び心血管系への影響 ※該当文献なし.....	1
13	⑤神経.....	1
14	⑥内分泌 ※該当文献なし.....	3
15	⑦生殖.....	3
16	⑩その他.....	6

17
 18
 19
 20 ○. 実験動物等における有害性評価

21 （1）慢性影響

22 ①腎臓への影響 ※審議済

23 ②骨への影響 ※審議済

24 ③呼吸器への影響 ※該当文献なし

25 ④高血圧及び心血管系への影響 ※該当文献なし

26
 27 ⑤神経

28 C57BL/6J マウス（8 週齢、雄、各群 10 匹）に塩化カドミウム（CdCl₂）（0 又
 29 は 3 mg Cd/L）を 20 週間飲水投与後、神経行動に対する影響を検討した（表 1）。
 30 行動試験終了後（投与終了 60 週後）に血中カドミウム濃度を測定した。また、
 31 別途同様の投与群（各群 4 匹）を設け、5 及び 13 週間投与後の血中カドミウム
 32 濃度を測定した。

1 試験概略を図 1、試験結果を表 2 に示す。

2 5 及び 13 週間投与後の血中カドミウム濃度は、対照群ではいずれも検出限界
3 未満 ($<0.5 \mu\text{g/L}$)、カドミウム投与群では 2.125 ± 0.47 及び $2.25 \pm 0.48 \mu\text{g/L}$ で
4 あった。また、行動試験終了後の血中カドミウム濃度は対照群で検出限界未満
5 ($<0.08 \mu\text{g/L}$) から $0.15 \mu\text{g/L}$ 、カドミウム投与群で $0.18 \pm 0.028 \mu\text{g/L}$ であった。

6 NOL 試験、T 迷路試験及び文脈的恐怖条件付け試験においてカドミウムが海
7 馬依存的学習・記憶を障害した。また、嗅覚短期記憶、匂いてがかりによる嗅覚
8 学習の試験でもカドミウムによって障害が引き起こされた。

9 著者らは、カドミウムばく露と認知及び嗅覚の障害の直接的な関連性が動物
10 モデルで示唆されたとしている。(Wang et al. 2018) (参照 1) [No.040](#)

11
12 表 1 実施した行動試験

試験名	評価内容
オープンフィールド試験(Open field test)	自発運動量、不安
高架式十字迷路試験(Elevated plus maze test)	不安
モリス水迷路試験(Morris water maze test)	海馬依存的空間学習・記憶
新規物体位置認識試験(Novel object location test : NOL)	海馬依存的空間作業記憶
T 迷路試験(T-maze continuous alternation test)	海馬依存的空間作業記憶
文脈的恐怖条件付け試験(Contextual fear-conditioning tests)	海馬依存的学習・記憶
音依存的恐怖条件付け試験(Cued and contextual fear-conditioning tests)	海馬非依存的学習・記憶
Olfactory habituation/dishabituation test	嗅覚馴化/脱馴化
Threshold for odorant detection test	嗅覚閾値
Short-term olfactory memory	嗅覚短期記憶
Sand-digging-based odor cued associative olfactory learning test	嗅覚学習

13

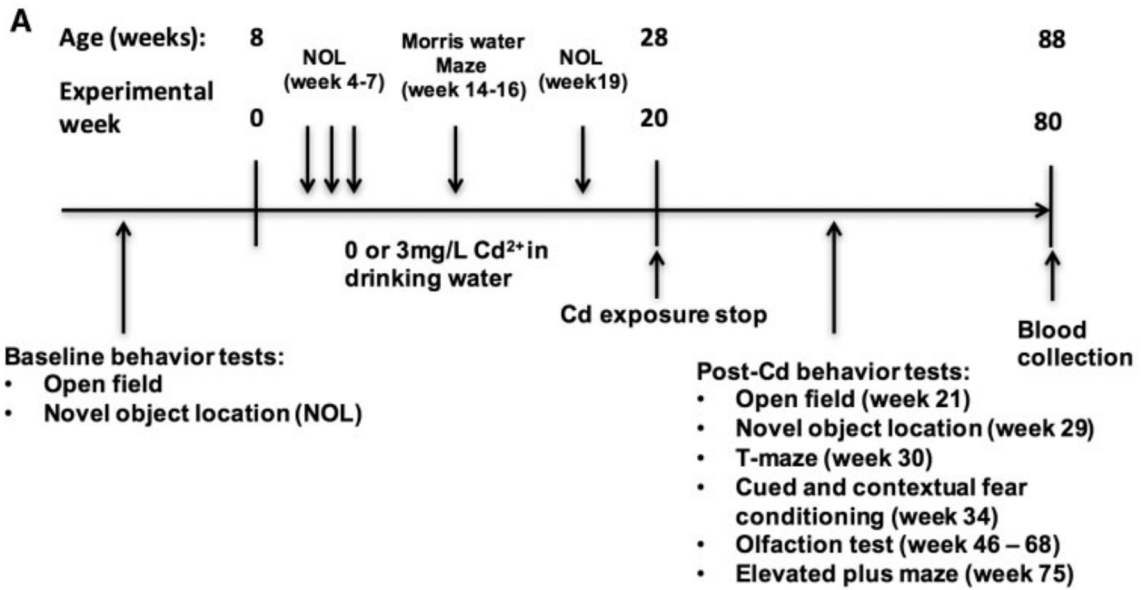


図 1 試験概略

表 2 20 週間投与による神経行動への影響：有意な変化

投与群 (mg/L)	雄(各群 10 匹)
3	↓ NOL における探索能 (時間/discrimination ratio) ↓ T 迷路における自発的交替行動の割合 ↓ 文脈的恐怖条件付け試験におけるフリージングの割合 ↓ Short-term olfactory memory における sniffing 時間 ↓ Sand-digging-based odor cued associative olfactory learning test における炭素臭選択の正答率

⑥内分泌 ※該当文献なし

⑦生殖

【野原専門委員コメント】

1) 投与方法の記載について

言葉の使い方はわからないのですが、曝露は父動物にも行っているようですので、その趣旨に変更してください。

2) 肝機能指標 (alanine aminotransferase : ALA 等) について

できれば測定した項目をすべて記述していただいたほうがいいと思います。有意差が出たものは示した方がいいと思いますし、また例えば肝機能の指標である ALA, ASA などは測定したが差はなかったということがわかるようになりますので。または変化しなかった主な指標を書くという方法もあるかもしれません。

【事務局より】

- 1) 交配前に雌雄マウスに投与していることがわかるように修正いたしました。
- 2) ○○等の記載をやめ、具体的な測定項目を追記いたしました。

1 C57BL/6J マウス (~~母動物、各群 10 匹~~) に塩化カドミウム (CdCl₂) (0、1、
2 10 又は 100 µg Cd/L) を 二世代に 飲水投与し、児動物の発達、生殖及び神経系
3 に対する影響を検討した。1 か月齢の 母親動物 (雌雄、各群 10 匹) に交配 1、3
4 又は 5 か月前から飲水投与を 開始し、した。妊娠後も母動物に 離乳まで投与し、
5 た。 離乳後 は、母親動物と同様に 児動物にカドミウム 0、1、10 又は 100 µg/L を
6 生後 10 週まで飲水投与した。交配 1、3 又は 5 か月前から投与した各母動物か
7 ら生まれた児動物を、F1-1、F1-3、F1-5 と表記し、さらにカドミウム 1、10、
8 100 µg/L を投与した F1-1 児動物を F1-1-1、F1-1-10、F1-1-100 と表記した。児
9 動物の発達について、身体発育分化 (耳介の開展、歯牙萌出、毛生、眼瞼開裂等)、
10 反射 (平面立ち直り反応、空中立ち直り反応、背地走性)、性発達 (精巣下降、
11 膣開口、膣肛門間距離、性周期) について観察を行った。神経行動については 8
12 ~9 週齢の児動物で、学習・記憶に関してモリス水迷路試験、自発運動・不安に
13 関してオープンフィールド試験を行った。生後 10 週に児動物を解剖し、脳、肝
14 臓、腎臓、精囊腺、前立腺、精巣 (左)、精巣上部、子宮及び卵巣の重量を 測定
15 した。 生殖については、精巣上部の精子の数、運動性及び形態観察を行った。
16 また、精巣及び卵巣の組織学的観察及び TUNEL 法によるアポトーシスの検出
17 を行った。精巣については real-time PCR 法にて、ライディッヒ細胞に特異的
18 な遺伝子 (*Hsd3b1* 及び *Cyp17a1*) 及びセルトリ細胞に特異的な遺伝子 (*Dhh*
19 及び *Sox9*) の発現を検討した。血清中のテストステロン、卵胞刺激ホルモン
20 (follicle-stimulating hormone : FSH)、黄体ホルモン (luteinizing hormone :
21 LH)、インヒビン B、マロンジアルデヒド (malondialdehyde : MDA)、スーパ
22 ーオキシドジスムターゼ (superoxide dismutase : SOD)、抗ミュラー管ホル
23 モン (Anti-Müllerian hormone : AMH)、エストラジオール、コルチコステロ
24 ン及びインスリン並びに脳中のアセチルコリン (acetylcholine : ACh)、アセチ
25 ルコリンエステラーゼ (acetylcholinesterase : AChE) 及び一酸化窒素 (nitric
26 oxide : NO) を測定した。血清中の生化学的指標として、グルコース、血清脂質
27 (トリグリセリド : TRI、総コレステロール : TCL、高密度リポタンパク : HDL、
28 低密度リポタンパク : LDL 等)、肝機能指標 (総タンパク : TP、アルブミン :
29 ALB、グロブリン : GLO、総胆汁酸 : TBA、直接ビリルビン : DB、アラニンア
30 ミノトランスフェラーゼ alanine aminotransferase : ALA、アスパラギン酸ア
31 ミノトランスフェラーゼ : ASA、アルカリホスファターゼ : ALP 等) 及び腎機
32 能指標 (尿素窒素 : UN、クレアチニン : CRE、尿酸 : UA 等) について測定し

1 た。

2 有意な変化を表 3 に示す。なお、TP、TBA、DB 及び GLO 以外の血清中生化
3 学的指標に有意差はなかった。

4 著者らは、妊娠前からの長期間にわたる低用量のカドミウムばく露により、児
5 動物の生殖器、神経行動、肝機能指標に影響がみられ、肝機能指標（血清中総タ
6 ンパク及びグロブリン）への影響に性差がみられたとしている。（Zhang et al.
7 2019）（参照 2） [No.048](#)

8

【野原専門委員コメント】

1) オープンフィールド試験は雄雌 n=6 となっています。

2) 表中の斜線は意味が分からないので、有意差なし、等の方がいいと思います。他の表についても同じです。

【事務局より】

1) 表の脚注として試験毎に記載しました。

2) 「該当なし」としました。

9

表 3 主な試験結果有意な変化

投与群 (µg/L)	児動物	
	雄(各群 <u>6 又は 10 匹</u>) ¹⁾	雌(各群 <u>6 又は 10 匹</u>) ¹⁾
100	↑精子形成段階Ⅶの割合：F1-5 ↓精子形成段階Ⅷの割合：F1-5 ↓精巣 <i>Cyp17a1</i> 発現：F1-5 ↓オープンフィールド試験における中央部での移動距離：F1-5 ↓オープンフィールド試験における中央部での滞在時間：F1-5 ↑血清中コルチコステロン濃度： <u>F1-5</u>	↓オープンフィールド試験における中央部での移動距離：F1-5 ↓オープンフィールド試験における中央部での滞在時間：F1-5 ↑血清中コルチコステロン濃度： <u>F1-5</u> ↓血清中総タンパク： <u>F1-5</u> ↑血清中グロブリン濃度： <u>F1-5</u>
10 以上	<u>該当なし</u>	<u>該当なし</u>
1 以上	<u>該当なし</u>	<u>該当なし</u>

10

1) オープンフィールド試験は各群 6 匹、それ以外の試験は各群 10 匹。

11

12 Wistar ラット（70 日齢、雄、各群 5 匹）に塩化カドミウム（CdCl₂）（10%シ
13 ョ糖溶液に 0、25、50 又は 75 mg Cd/L）を 30 日間飲水投与し精巣への影響を
14 検討した。投与終了後、精巣、精嚢腺、凝固腺、腹側前立腺及び精巣上体の重量

1 の測定並びに標本の画像解析による精巣内の精細管、精細管間隙等の組織構成
2 の解析を行った。ライディッチ細胞については、細胞質及び核の細胞内構成の解
3 析も行った。また、精巣のホモジネートを作製し、バルビツール酸反応物による
4 脂質過酸化反応、カタラーゼ活性及び総グルタチオン量を測定した (表 4)。~~な~~
5 ~~お、ライディッチ細胞に関する指標に有意な変化はなかった。~~

6 カドミウムによる脂質過酸化の亢進は最高用量のみでしか観察されなかった
7 が、最低用量でもカドミウムが内因性の抗酸化システムを乱し得ることが示さ
8 れた。なお、ライディッチ細胞に関する指標に有意な変化はなかった。 顕著な形
9 態学的な変化はなかったが、いくつかのカドミウムばく露の動物試験による血
10 管腔の著しい変化が報告されており、著者らは、血管内皮がカドミウムの毒性の
11 主要な標的組織のひとつである可能性が示唆されたとしている。(Leite et al.
12 2015) (参照 3) [No.052](#)

13
14 表 4 精巣における有意な変化

投与群(mg/L)	雄(各群 5 匹)
75	↓ 相対重量：精巣、精囊腺、凝固腺、精巣上体 ↑ 脂質過酸化
50 以上	<u>該当なし</u>
25 以上	↑ 体重 ↑ リンパ管腔(lymphatic space)容積及び容積割合 ↑ 血管腔容積及び容積割合 (25 及び 50 のみ) ↑ 総グルタチオン量 ↑ カタラーゼ活性

15
16 ⑩その他

17 C57BL/6 マウス (5 週齢、雄、各群 10 匹) に塩化カドミウム (CdCl₂) (10 又
18 は 50 mg Cd/L) ¹を 20 週間飲水投与することによりヒト中年で見られる肝臓で
19 のカドミウム沈着のモデル動物を作製し、非アルコール性脂肪性肝疾患
20 (nonalcoholic fatty liver disease : NAFLD) が誘発されるか検討した。

21 投与後、採血及び肝臓の採取を行い、肝臓重量、肝臓中のカドミウム量、血液
22 生化学パラメータ (FFA、TG、ALT、AST) ²並びに肝臓中の脂質 (TG、CHO、

1 著者らが収集したこれまでのヒトの 40~60 歳の剖検研究報告から (TableS1)、ヒト肝臓に概ね 2 µg/g 組織のカドミウムが蓄積しているとしており、当該モデル試験におけるカドミウム蓄積目標値としている。

2 FFA：遊離脂肪酸 (free-fatty acid)、TG：中性脂肪 (triglyceride)、ALT：アラニンアミノ基転移酵素 (alanine aminotransferase)、AST：アスパラギン酸アミノ基転移酵素 (aspartate aminotransferase)

1 LDL-C)³、タンパク、ATP、NAD⁺及びNADHを測定した (n = 8、カドミウ
2 ム量 n = 6)。採血の4日前にグルコース負荷試験 (glucose tolerance test: GTT)、
3 2日前にインスリン負荷試験 (insulin tolerance test: ITT) を行った (n = 10)。
4 インスリン抵抗性を空腹時のグルコースとインスリンの値から算出した
5 (homeostasis model assessment of insulin resistance: HOMA-IR)。各群4匹
6 について肝臓の病理組織学的検討を行った。電顕によるミトコンドリアの観察、
7 凍結切片を用いた脂質の観察、H&E染色及びシリウスレッド染色による脂肪肝
8 の評点化を行った。肝臓からミトコンドリアを抽出し、脂肪酸酸化能を測定した
9 (n = 4)。さらに、肝臓中の炎症、脂質生合成/蓄積、ミトコンドリアβ-酸化及
10 び酸化リン酸化に関する遺伝子の mRNA 発現を検討した (n = 8)。

11 投与20週後、肝臓中のカドミウム濃度は10 mg/L投与群で0.95 ± 0.25 µg/g、
12 50 mg/L投与群で6.04 ± 0.53 µg/gであった。病理組織学的に脂肪化、炎症及び
13 線維化が観察され、脂肪肝の評点も用量依存的な悪化を示し、両群で有意であっ
14 った。10 mg/L投与群は moderate NAFLD、50 mg/L投与群は modest NASH (非
15 アルコール性脂肪肝炎: nonalcoholic steato-hepatitis) に相当する評点であっ
16 った。

17 肝臓中の炎症、脂質代謝に関連する遺伝子の mRNA 発現の対照群に対する有
18 意な変化を表5に示す。

19 ミトコンドリアのミトコンドリア DNA、ATP が両群で有意な減少がみられ、
20 脂肪酸酸化能は50 mg/L群で有意な減少がみられた。電顕においても形態学的
21 にミトコンドリアの膨潤、クリステの破壊・損失等の損傷が観察され、カドミウ
22 ムによってミトコンドリアが損傷され肝臓の脂肪酸酸化が機能しなくなった。
23 また、カドミウム投与により肝臓中の SIRT1⁴遺伝子の mRNA 発現に用量依存
24 的かつ有意な減少がみられ、NAD⁺/NADH比が50 mg/L投与群で有意に減少し
25 ていたことから、著者らは、カドミウムが NAD⁺依存性脱アセチル化酵素であ
26 る SIRT-1 を介してミトコンドリアの機能不全を引き起こしていることが支持
27 されたとしている。

28 この SIRT-1 遺伝子を介した経路に対するカドミウムの影響について、ヒト及
29 びマウスの肝がん細胞株 HepG2 及び Hepa1-6 を用いた培養試験を行い、カド
30 ミウム存在下で培養することによりミトコンドリア DNA の減少及び *SIRT1*、
31 *PPARα*、*CPT1-α*、*VLCAD* 及び *MCAD* 遺伝子の mRNA 発現量の減少がみら
32 れた。(He et al. 2019) (参照4) [No.060](#)

33

³ CHO: コレステロール (cholesterol)、LDL-C: 低密度リポタンパクコレステロール (low-density lipoprotein cholesterol)

⁴ Silent mating type information regulation 2 homologue 1

表 5 肝臓中 mRNA 発現結果

機能	遺伝子 ⁵	投与群(飲水中濃度)	
		10 mg/L (各群 10 匹)	50 mg/L (各群 10 匹)
Inflammation	<i>TNF-α</i>	N.S.	↑
	<i>MCP-1</i>	N.S.	↑
Lipid synthesis/accumulation	<i>FAS</i>	N.S.	N.S.
	<i>SCD-1</i>	N.S.	N.S.
	<i>CD36</i>	↓	N.S.
	<i>PPARγ</i>	N.S.	N.S.
脂肪酸 β -酸化	<i>CPT1-α</i>	↓	↓
	<i>VLCAD</i>	↓	↓
	<i>MCAD</i>	↓	↓
	<i>PPARα</i>	N.S.	↓
酸化的リン酸化	<i>COX</i>	↓	↓
	<i>Cyto c</i>	N.S.	↓
	<i>ATP5γ</i>	N.S.	↓

N.S. : 有意差なし

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

CD-1 マウス (母動物、各群計 19 匹) に塩化カドミウム (CdCl_2) (0 又は 500 ppb) を飲水投与し児動物の代謝性疾患に関する影響を検討した。母動物に交配 2 週間前から飲水投与を開始し、出産 10 日後 (PND10) まで投与した。試験は 2 回実施し (母動物数 : 20 匹及び 18 匹)、摂餌量、摂水量、妊娠期の体重増加、腹数、児動物性別比、児動物体重について試験間で有意な差がなかったのを、併せて解析した (試験概略 図 2)。また、同腹児 6 匹未満のものは除外し、1514 匹以上の場合は 12 匹に調整した。投与開始時及び交配日 (GD0) に各群 10 匹の母動物並びに PND1 及び PND21 の児動物について、血中ヘモグロビンを測定した。妊娠 18 日目 (GD18) に各群 3 匹の母動物から胎児を取り出し、体重測定及び臓器採取を行い、子宮内位置及び性別を記録した。他の母動物については、PND1 に腹子数、性別、児動物体重を記録した。腹毎に雌雄各 1 匹の児動物について体重を測定し、PND1、21、42、90 又は 120 (試験終了) に解剖した。児動物について、PND42 の血液中のトリグリセリド (TG) 及びサイロキシ

⁵ *TNF- α* : Tumor necrosis factor alpha、*MCP-1* : Monocyte chemotactic protein 1、*FAS* : Fatty acid synthase、*SCD-1* : Stearoyl-CoA desaturase 1、*CD36* : Cluster of differentiation 36、*PPAR γ* : Peroxisome proliferator-activated receptor gamma、*CPT1- α* : Carnitine palmitoyltransferase 1 alpha、*VLCAD* : Very long-chain acyl-CoA dehydrogenase、*MCAD* : Median-chain acyl-CoA dehydrogenase、*PPAR α* : Peroxisome proliferator-activated receptor alpha、*COX* : Cyclooxygenase、*Cyto c* : Cytochrome C、*ATP5 γ* : ATP synthase 5 gamma

1 ン (T4) を測定し、PND42 にグルコース負荷試験 (GTT)、PND49 にインスリ
2 ン負荷試験 (ITT) を行った。肝臓の組織標本を作製し、PND42 の切片につい
3 てオイルレッド O 染色による中性脂肪及び PAS 染色によるグリコーゲンの観
4 察を行い、PND90 及び 120 の切片についてマッソントリクローム染色による病
5 変観察を行った。さらに、雌の PND1、21 及び 42 並びに雄の PND42 の肝臓か
6 ら RNA を抽出し、トランスクリプトーム解析及びパスウェイ解析を行った。な
7 お、測定した n 数は指標毎に異なり (n = 3~18)、文献中の図表等に示されて
8 いる。

9 交配時に各群 3 匹の母動物の血中カドミウムを定量したところ、対照群は定
10 量限界 (0.1 µg/L) 未満、投与群は 0.42±0.04 µg/L であった。また、PND42 に
11 おける雌児動物の肝臓中のカドミウムを定量したところ、対照群及び投与群と
12 もに検出限界 (0.08 µg/L) 未満であった。トランスクリプトーム解析を除く主
13 な試験結果を表 6 に示す。妊娠期のカドミウムばく露に対する肝臓の代謝性応
14 答に関する性差及び雌児動物でみられた脂肪肝の機序を検討するために、トラ
15 ンスクリプトーム解析を行った。PND42 における発現変動遺伝子
16 (differentially expressed gene : DEG) 数を雌雄で検討したところ、雄で 11、
17 雌で 5789 (減少が 3103(54%)、増加が 2686(46%)) であった。雌の PND1、21
18 及び 42 における DEG についてパスウェイ解析を行った。

19 関連付けられた経路の中で、増強された上位 10 経路を表 7 に示す。

20 母動物の血中カドミウム濃度はヒトの妊娠時の濃度と同様であり、児動物が
21 成獣した時にカドミウムは検出されなかった。母動物又は妊娠に関連したアウ
22 トカムへのカドミウムによる影響は観察されなかった。GTT 及び ITT の結果か
23 ら PND42 におけるグルコース代謝の異常が示された。カドミウムによる血中
24 TG 増加及び脂肪肝は雌にのみみられ、PND120 ではカドミウム投与により体重
25 が 30%増加し、性腺周囲脂肪が 7 倍になった。雄ではカドミウムによる脂質異
26 常、脂肪肝、体重増加量の上昇、脂肪蓄積はみられなかった。PND1、21 及び
27 42 における肝臓のトランスクリプトーム解析の結果から、酸化ストレス及びミ
28 トコンドリアの機能不全が雌に特異的に起こり、レチノイン酸 RA-シグナルの
29 初期的な障害傷害、及び成人女性の肝インスリン感受性に一致するインスリン
30 受容体シグナルの変動を伴うことが示された。インスリン受容体シグナルの変
31 動は雌のインスリン感受性の変化に一致していた。以上の結果から、著者らは、
32 カドミウムが性特異的に肥満を誘発する遅発性の因子 (obesogen) として、成長
33 期に作用することを示唆しているとしている。(Jackson et al. 2020) (参照 5)
34 [No.062](#)

35

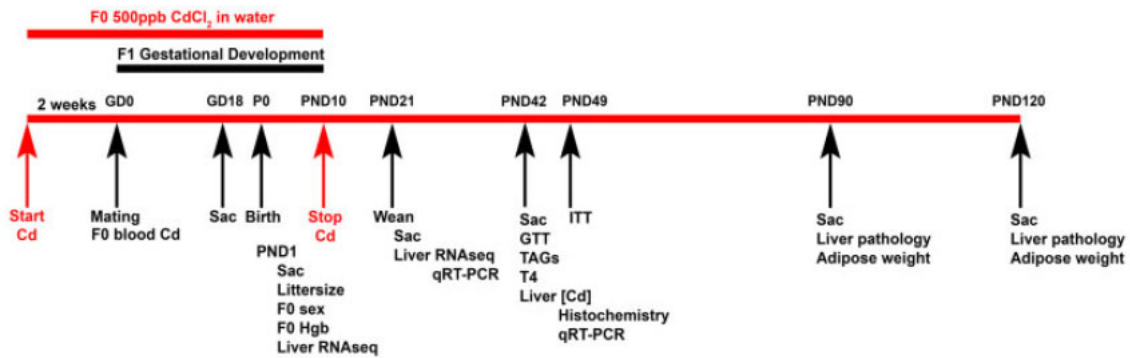


図2 試験概略

表6 主な試験結果

		児動物	
		雄	雌
体重	PND120	<u>N.S.</u>	↑ ¹⁾
血中 Hb ²⁾	PND1	↓	↓
	PND21	<u>N.S.</u>	N.S.
性腺周囲脂肪	PND90	<u>N.S.</u>	↑
	PND120	<u>N.S.</u>	↑
血漿中総 TG	PND42	<u>N.S.</u>	↑
血清中総 T4	PND42	<u>N.S.</u>	N.S.
GTT	PND42	↑血中グルコース (負荷後 30,60,90,120 分) ↑グルコース AUC	↑血中グルコース (負荷後 30,60,90,120 分) ↑グルコース AUC
ITT	PND49	↑血中グルコース (負荷後 15,30 分) <u>N.S. : グルコース AUC</u>	↑血中グルコース (負荷後 15,30,45,60 分) ↑グルコース AUC
肝臓組織			
中性脂肪 (オイルレッド O 染色)	PND42	<u>N.S.</u>	↑
グリコーゲン (PAS 染色)	PND42	<u>N.S.</u>	N.S.
病理所見 (マッソトリクロム染色)	PND90	<u>記載なし</u>	前がん病変 ↑明細胞性病巣 重篤度 ↑単核球浸潤 発生頻度 ↑多核球細胞 発生頻度 非腫瘍性病変 ↑びまん性脂肪変性 重篤度 ↑炎症 発生頻度及び重篤度 ↑過形成 発生頻度

	PND120	<u>記載なし</u>	<u>前がん病変</u> ↑明細胞性病巣 発生頻度 ↑単核球浸潤 発生頻度 ↑多核球細胞 発生頻度 <u>非腫瘍性病変</u> ↑びまん性脂肪変性 発生頻度 ↑炎症 発生頻度 ↑過形成 発生頻度 ↑肥大 発生頻度
--	--------	-------------	--

- 1) 有意な変化を示す。
2) 試験開始時及び交配時における母動物の血中 Hb 濃度に有意差はなかった。

3

4

表7 パスウェイ解析で DEG と関連付けられた上位 10 経路

	PND1	PND21	PND42
DEG 数	278	446	5789
経路	<ul style="list-style-type: none"> • Mitochondrial dysfunction • Oxidative phosphorylation • Sirtuin signaling pathway • TCA cycle II • Acetyl-CoA biosynthesis • Branched chain α-keto acid dehydrogenase complex • Retinoate biosynthesis • Valine dehydration • RAR activation • Retinol biosynthesis 	<ul style="list-style-type: none"> • Unfolded protein response • BAG2 signaling pathway • Pregnenolone biosynthesis • Histidine degradation VI • Ubiquinol-10 biosynthesis • Huntington's disease signaling • Endoplasmic reticulum stress pathway • Aldosterone signaling in epithelial cells • Nrf-2-mediated oxidative stress response • Role of PKR in interferon induction and antiviral response 	<ul style="list-style-type: none"> • EIF 2 signaling • Sirtuin signaling pathway • Protein ubiquitination pathway • mTOR signaling • Mitochondrial dysfunction • Estrogen receptor signaling • Regulation of eIF4 and P70S6K signaling • Nrf-2-mediated oxidative stress response • Molecular mechanisms of cancer • Senescence pathway

5

【野原専門委員コメント】

論文を読んでわからなかったのですが、この値は1日あたりでいいのでしょうか？（おそらくそうだと思うのですが。）

【事務局より】

ご指摘頂きましたように明示的な記載はありませんでした。投与期間が不明となるため、該当箇所の下記記載から読み取りました。

“CdCl₂ was administered to the rats by drinking water every day at 8:30 a.m. The daily water volume given to each rat was its average amount of water consumption last week plus 5 ml drinking water.”

1 SD ラット (9 週齢、雄、各群 10 匹) に塩化カドミウム (CdCl₂) (0、0.13、
2 0.80 又は 4.89 mg Cd/kg 体重/日) を 24 週間飲水投与し、血清サンプルについ
3 てメタボノーム解析 (分析 : UPLC-MS、多変量解析 : PCA 及び PLS-DA⁶) を
4 行った。また、血清中の ALT、AST、LDL、HDL、TCHO、TG 並びに肝臓中
5 の SOD 活性、カタラーゼ (catalase : CAT) 活性、グルタチオン (L-glutathione :
6 GSH)、MDA の測定を行い、肝臓組織の H&E 染色による病理学的観察も行っ
7 た。

8 肝臓中のカドミウム量は、対照群では非常に低値であり、投与により用量依存
9 的に有意な蓄積がみられた。血清及び肝臓の生化学的指標の結果を表 8 に示す。
10 なお、肝臓の相対重量は対照群と投与群で有意差はなかった。肝臓の病理組織学
11 的観察では、0.13 及び 0.80 mg/kg 体重/日群では対照群と明らかな変化はなか
12 ったが、4.89 mg/kg 体重/日群では、細胞質の空胞変性、脂肪変性及びアポトー
13 シスがみられた。さらに、肝細胞索の配列の乱れ及び大量の脂肪滴の融合がみら
14 れた。メタボノーム解析の結果、対照群と投与群で差異のみられた代謝物として
15 10 物質 (図 3 の下線) が同定された。

16 著者らは表 8 の結果と併せて、カドミウムが影響した経路として、図 3 のよ
17 うな代謝経路を提示している。(Hu et al. 2018) (参照 6) [No.067](#)

18
19

表 8 血清及び肝臓の生化学的指標

	生化学的指標	対照群	投与群(mg/kg 体重/日)		
			0.13	0.80	4.89
血清	ALT(U/L)	46.6±6.30	52.4±7.00	53.1±5.95	67.0±4.24*
	AST(U/L)	105.6±17.05	119.9±15.59	121.1±13.6	139.8±16.8*
	LDL(nmol/L)	0.46±0.04	0.48±0.03	0.50±0.04	0.70±0.05*
	HDL(nmol/L)	1.05±0.31	0.93±0.28	0.83±0.23	0.65±0.20*
	TCHO(nmol/L)	1.76±0.34	1.93±0.29	2.07±0.48	2.21±0.23*
	TG(nmol/L)	0.81±0.10	0.96±0.16	1.00±0.17	1.48±0.22*
肝臓	SOD(U/mgprot)	150.6±15.6	142.6±14.0	134.2±18.1	121.9±12.7*
	GHS(mgGHS/mgprot)	5.96±0.67	5.51±0.39	5.37±0.76	4.04±0.59*

⁶ PCA : 主成分分析 (principal components analysis)、PLS-DA : 部分的最小二乗判別分析 (partial least-squares discriminant analysis)

CAT(U/mgprot)	14.5±2.03	13.9±1.23	12.8±2.14	12.4±1.43*
MDA(nmol/mgprot)	0.83±0.16	0.93±0.19	0.98±0.13	1.34±0.17*

* : 有意な変化。

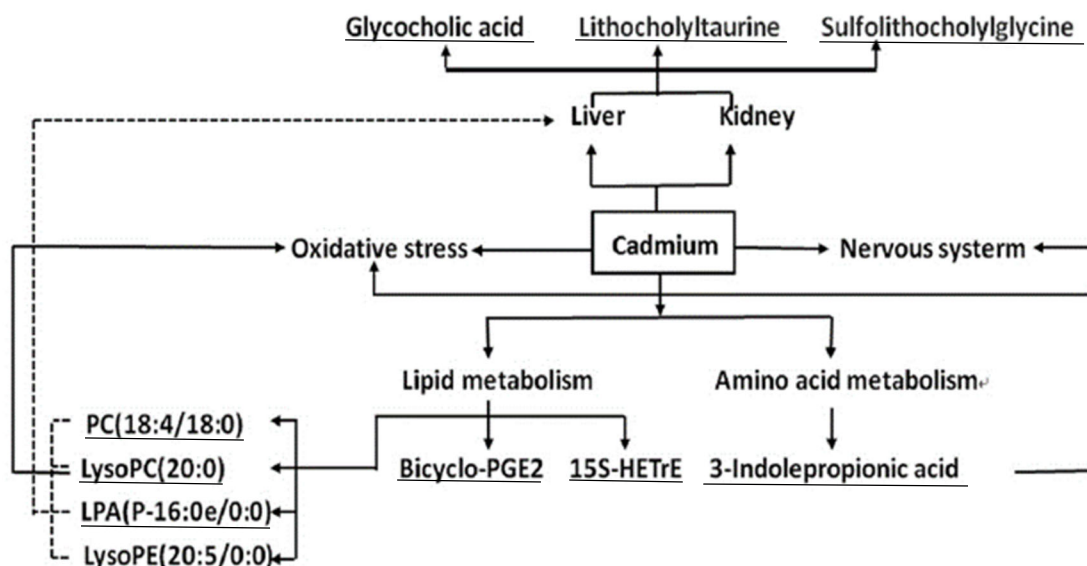


図3 カドミウムの影響した代謝経路

Wistar ラット (4 か月齢、雌雄、各群 9 匹) に塩化カドミウム (CdCl_2) (0、5、50 又は 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日) を 3 か月間飲水投与後、採血、採尿及び組織の採取を行った。血液生化学パラメータ (TG、FFA、総 CHO、HDL、alanine aminotransferase : ALAT、aspartate aminotransferase : ASAT、gamma-glutamyl transferase : GGT、thiobarbituric acid reactive substances : TBARS、glutathione peroxidase : GPx、インスリン、C ペプチド) 及び尿中の Kim-1 (尿細管傷害マーカー) を測定した。投与開始 10 週後にグルコース負荷試験 (IpGTT)、11 週後にインスリン負荷試験 (IpITT) を行った。なお、ばく露レベルが対照群と大きいな差異がなかったため、5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日投与群は毒性指標の測定を行わなかった。

~~投与 3 か月後の血漿、肝臓、腎臓及び脾臓中のカドミウム濃度を図 4 に示す。~~
有意な変化を表 9 に示す。

IpGTT 及び IpITT 試験で雌雄ともに負荷後の血中グルコースに有意な変化はなかったが、雌で血中インスリン濃度に有意な変化がみられた。

著者らは、グルコースの恒常性が、性特異的にカドミウムの長期ばく露に影響を受けるとしている。(Jacquet et al. 2018) (参照 7) (再掲：体内動態の項目にも記載) [No.068](#)

表9 有意な変化

投与群 ($\mu\text{g/kg}$ 体重)	雄 (各群 4-8 匹)	雌 (各群 4-8 匹)
500	該当なし	該当なし
50 以上	<u>↑血漿中 TBARS</u>	↑絶食 16 時間後の血漿中インスリン濃度 ↑グルコース投与 15 分後の血漿中インスリン濃度 ↓Quick ¹⁾

1) 下式で算出するインスリン感受性の評価指標

$$\text{Quick} = 1 / [\log(\text{絶食時グルコース (mg/dL)}) + \log(\text{絶食時血漿インスリン (mU/mL)})]$$

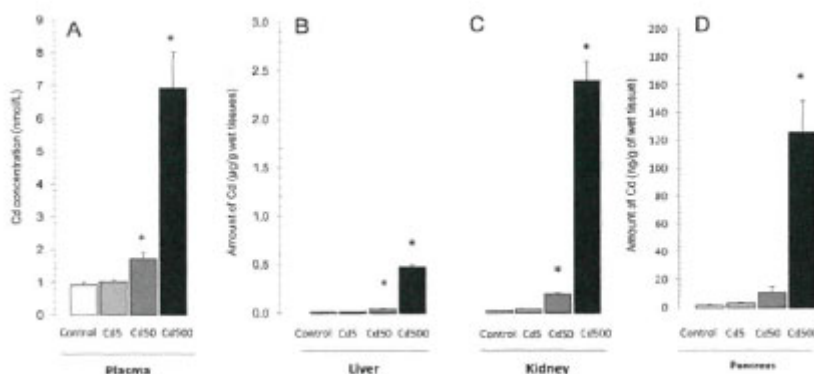


図4 血漿、肝臓、腎臓及び膵臓中のカドミウム濃度 (Fig. 1. より抜粋)

【事務局より】

体内動態の項目に図 4 と同じものを記載したため、こちらからは削除いたしました。

1 < 参照 >

- 2 1. Wang H, Zhang L, Abel G M, Storm D R, and Xia Z: Cadmium Exposure Impairs
3 Cognition and Olfactory Memory in Male C57BL/6 Mice. *Toxicol Sci* 2018; 161: 87-102
- 4 2. Zhang T, Gao X, Luo X, Li L, Ma M, Zhu Y et al.: The effects of long-term exposure to
5 low doses of cadmium on the health of the next generation of mice. *Chem Biol Interact*
6 2019; 312: 108792
- 7 3. Leite R, Peloso E F, Gadelha F R, and Dolder M A: Environmentally Realistic Doses of
8 Cadmium as a Possible Etiologic Agent for Idiopathic Pathologies. *Biol Trace Elem Res*
9 2015; 168: 133-40
- 10 4. He X, Gao J, Hou H, Qi Z, Chen H, and Zhang X X: Inhibition of Mitochondrial Fatty
11 Acid Oxidation Contributes to Development of Nonalcoholic Fatty Liver Disease Induced
12 by Environmental Cadmium Exposure. *Environ Sci Technol* 2019; 53: 13992-4000
- 13 5. Jackson T W, Ryherd G L, Scheibly C M, Sasser A L, Guillette T C, and Belcher S M:
14 Gestational Cd Exposure in the CD-1 Mouse Induces Sex-Specific Hepatic Insulin
15 Insensitivity, Obesity, and Metabolic Syndrome in Adult Female Offspring. *Toxicol Sci*
16 2020; 178: 264-80
- 17 6. Hu L, Bo L, Zhang M, Li S, Zhao X, and Sun C: Metabonomics analysis of serum from
18 rats given long-term and low-level cadmium by ultra-performance liquid chromatography-
19 mass spectrometry. *Xenobiotica* 2018; 48: 1079-88
- 20 7. Jacquet A, Arnaud J, Hininger-Favier I, Hazane-Puch F, Couturier K, Lénon M et al.:
21 Impact of chronic and low cadmium exposure of rats: sex specific disruption of glucose
22 metabolism. *Chemosphere* 2018; 207: 764-73

23