

カドミウムによりひきおこされた 炎症組織中のSOD活性について

佐二木 順子

On the Superoxide Dismutase (SOD) Activity in the Inflammatory Tissue
of Rat Administered CdCl₂

Junko SAJIKI

I はじめに

高濃度のカドミウム(Cd)が一回ラットに投与されると、精巣に食細胞の遊走、血管透過性の亢進をともなう出血性の炎症が生じ、脂質の過酸化が亢進することはすでに述べた^{1) 2)}。

一般に、炎症の発症過程において活性化された食細胞から放出される活性酸素が組織に強い障害を与えることが明らかになっている³⁾。

Cdが投与されると精巣中の活性酸素の増加が食細胞の精巣内への遊走とはほぼ期を同じくして観察される⁴⁾。おそらく、Cdによる精巣の炎症も同様のメカニズムで生ずるものと考えられる。

一方、生体には活性酸素の毒性から生体を保護する機構が備わっており、炎症部位におけるこれら防御機構の果たす役割は大きいものと考えられている。なかでも、スーパーオキシドディスムターゼ(Superoxide dismutase; SOD)は、貧食中の白血球細胞などから生成されるO₂を自動的にO₂とH₂O₂とに不均化する反応を触媒する活性酸素の消去系としては重要な酵素の一つである⁵⁾。なお、SODは、重金属(Zn、Cu等)を含む酵素である⁶⁾。生体内にCdが存在するとZnの動態は大きく変化することが明らかであり⁷⁾、Znを含むSODのような酵素についても何らかの影響を受けることが考えられる。

今回は、ラット精巣中のSODがCd投与によりどのような影響を受けるか検討した。

II 材料ならびに方法

200g前後のウィスター系雄ラットを5匹ずつ5群(A~

E)に分けた。

A群は無処置対照群とし、B群は10%非イオン系界面活性剤(HCO-60) 0.2mlを8日間皮下投与し、9日目に殺処分した。C群は10%HCO-60に溶かしたd.l. α-トコフェロール(以下α-tocoと略)を10mgずつ8日間皮下投与し、9日目に殺処分した。D群は蒸留水にとかしたCdCl₂ 1.0mgを皮下投与し、3日目に殺処分した。E群はα-tocoとCdCl₂の併用群で、10mg α-tocoは8日間連続皮下投与した。α-toco投与開始から6日目にCdCl₂を投与し、α-toco投与開始9日目すなわちCdCl₂投与後3日目に殺処分した。

と殺後直ちに精巣をとりだし、ヘム蛋白含量の測定を行ない、残りはSOD活性測定まで-80℃にて保存した。

精巣中ヘム蛋白含量測定は、すでに報告した佐二木の方法⁸⁾に従った。組織に生食を加え10%ホモジネートを作成し、2000g、5 min遠心した後、その上清について二波長分光光度計(入₂=540nm、入₁=560nm)にて測定を行ないヘモグロビン値に換算してヘム蛋白含量を表わした。

SOD活性値は、SODがO₂を不均化することにより、cytochrome Cの還元が低下することを用いたMcCord-Fridvichの方法⁹⁾に従った。O₂産生系にはXanthine-Xanthineoxidase系を用いた。Xanthine、Cytochrome Cをそれぞれ最終濃度50、25 μMとなるように50mM Na、K-リン酸Buffer (PH7.4)に加えた反応液をキューベットに入れ、サンプルを加えた後Xanthine Oxidase (50mMリン酸Bufferにて約1 mg/mlになるように調整)を加え、反応速度を記録する。チャートに接線を引き、サンプルがはいっていない時の初速度からサンプルを加えた時の初速度を引いた値をSOD活性値(Cytochrome C還元量 μmol/min/mg protein)として表わした。精巣中SOD活性測定には、ヘム蛋白測定に用いた10%ホモジネート上清を用いた。

千葉県衛生研究所

(1983年10月28日受理)

III 結果ならびに考察

各群の精巣中SOD活性値について図1に、ヘム蛋白含量については図2に示した。ヘム蛋白含量は、精巣内における出血程度を示すが、ヘム蛋白含量とCd炎症のパラメーターと考えられる過酸化脂質値とは高い相関関係にあり、炎症の程度が強いほどヘム蛋白含量は高い。強い炎症が生じているD群では、精巣中のヘム蛋白含量は高かったが、SOD活性値は他の群に比べ著しく低かった。このSOD活性値の低下の原因としては次の2つが考えられる。

1) SODはZn、Cu等の金属を含む酵素と考えられている⁶⁾。生体内にCdが存在すると、結合力の違いにより、蛋白と結合しているZnやCuがCdと置換される可能性が十分考えられる。すでにZnを含む酵素であるアルカリホスファターゼについては、CdとZnとの置換が容易におこり、反応速度も低下することが明らかになっている⁷⁾。このような金属の置換が活性値の低下をひきおこしていることも十分考えられる。

2) O_2^- のSODによる不均化反応が進み H_2O_2 が過剰に生成されると H_2O_2 によるフィードバック抑制がかかり、反応が抑えられSOD活性値が低下するという報告がなされており¹⁰⁾。今回も、重篤な炎症組織(精巣)においてこのような反応が生じていることも考えられる。

今回用いた量の $CdCl_2$ が投与された場合、血清中でCdがZn、Cu等と置換する可能性についてはすでにアルカリホスファターゼについて述べられている¹¹⁾が、臓器中(精巣や肝臓)ではアルカリホスファターゼの活性値は有意に増加しており¹¹⁾、Cd投与後早期の臓器中における金属酵素のCdとの置換は考えられない。とくに、精巣内Cd含量は肝臓や腎臓に比べ極めて低いことが明らかである¹⁾。また、今回 α -tocoの前処置により $CdCl_2$ による出血性の炎症が抑えられたE群(α -tocoと $CdCl_2$ の併用群)のSOD値は $CdCl_2$ 単独投与群に比べ有意に高かった ($P < 0.01$)。もし、SODのZnがCdとの置換により活性値が低下したのであれば、 α -toco処理いかんにかかわらずSOD活性値の低下が生ずるはずである。ちなみに α -toco前処置による精巣中Cd含量の変化は認められていない²⁾。これらの事実は、 $CdCl_2$ 投与によるSOD活性値の低下が2)の理由にもとづく可能性を示すものである。

今回 α -toco処理によりSOD活性値の低下が防げた理由としては、 α -tocoが抗酸化剤であるため、炎症部位で生ずる活性酸素(O_2^- 、 H_2O_2 、 1O_2 、 $\cdot OH$ 等)を

抑える働きをもっており、 O_2^- 等の生成が抑えられひいては H_2O_2 の産生も抑えられたためと考えられる。

IV まとめ

カドミウム投与により炎症がひきおこされた組織(精巣)中のSuperoxide dismutase (SOD) 活性値を測定した。

$CdCl_2$ 単独投与により出血が著しかった(ヘム蛋白含量が高値を示した)精巣中のSOD活性値は対照群に比べ有意に低かった。なお、d.l- α -tocopherolをあらかじめ投与した上で $CdCl_2$ を投与したものでは、出血も抑えられSOD活性値も $CdCl_2$ 単独投与群より有意に高かった。

以上の結果から、活性酸素のスカベンジャーであるSOD活性値の $CdCl_2$ による低下は、精巣で観察される活性酸素の生成亢進にともなうfeed back inhibitionによることが示唆された。

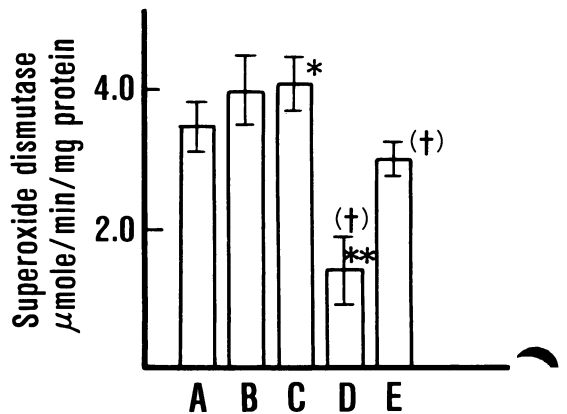


Fig. 1. Superoxide dismutase activities in rats testes of 5 groups.

- A: Control B: Solvent for α -tocopherol
- C: α -tocopherol D: $CdCl_2$
- E: $CdCl_2 + \alpha$ -tocopherol

Each value represents the mean \pm SE

Differences (to the control group) are tested according to t-test ** $P < 0.01$ * $P < 0.05$ (+): Significant difference exists between two groups.

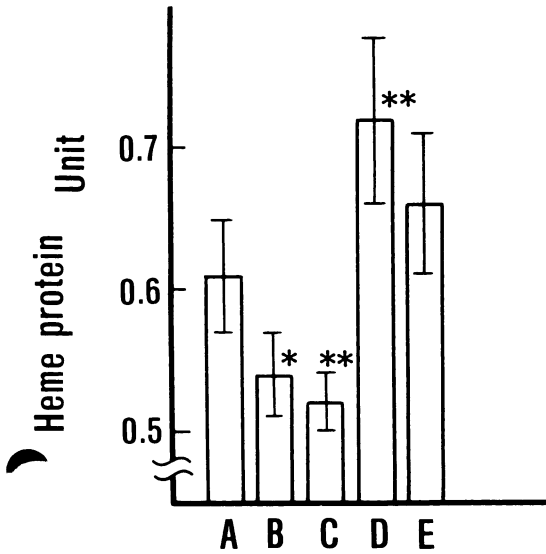


Fig. 2. Heme Protein contents in rats testes of 5 groups.
 Unit : $x' = \{\log(x+1)\}^{1/4}$ x : g/gwet.wt
 Each value represents the mean \pm SE.
 Differences (to the control group) are tested according to t-test.
 **P<0.01 *P<0.05

文献

1) 佐二木順子、福島悦子、福田芳生 (1981) :Cd中毒ラットの臓器中過酸化脂質について、千葉衛研報告、5、44-47
 2) 佐二木順子、福島悦子、福田芳生 (1981) :カドミウムの精巣障害に及ぼすVitamin Eの影響につい

て、千葉衛研報告、6、21-26

3) 丹羽靱負、横山三男 (1981) :炎症のパラメータ、炎症、1、481-492
 4) 佐二木順子、平井愛山、田村泰 (1983) :カドミウムによるラット精巣障害の発症機序における活性酸素の役割り、炎症、3、217-221
 5) Babior, B. M., Kipnes, R. & Curnutte, J. (1973) :Biological defense mechanisms. The production of leukocytes of superoxide, a potential bactericidal agent. J. Clin. Invest., 52, 741-744
 6) Fridovich, I., Superoxide dismutase. In Hayashi, O. (ed.) (1974) : Molecular Mechanism of Oxygen Activation, Academic Press, New York, pp 453-477
 7) Gettins, P. & Coleman, J. E. (1982). ^{113}Cd NMR of Cd(II)-substituted Zn(II) metalloenzymes. Fed. Proc., 41, 2966-2973,
 8) 佐二木順子 (1982) 、二派長分光光度計による臓器中ヘム蛋白測定法の検討とその意義、S.I. News (Hitachi)、25、1-6、
 9) McCord, J. M. & Fridovich, I. (1969) : Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte. J. Biol. Chem., 244, 6049-6055,
 10) Hodgson, E. K. & Fridovich, I. (1975) : The interaction of bovine erythrocyte superoxide dismutase with hydrogen peroxide. Inactivation of the enzyme. Biochemistry, 14, 5294-5299
 11) 佐二木順子、投稿中