

国立水俣病研究センター年報

第 14 号
平成 5 年度

環境庁
国立水俣病研究センター

平成5年度年報の発刊にあたって

当研究センターは、水俣病に関する総合的医学研究機関として昭和53年10月に設置され、以来15年が経過しました。その間、昭和61年9月に「有機水銀の健康影響に関するWHO協力センター」に指定されました。

センターは、発足以来、水俣病および有機水銀中毒に関する総合的な調査・研究を実施してきました。また、これら研究活動の成果については内外に学術集会、学術誌等に発表し、高い評価を受けておりますが、これはひとえに、環境庁をはじめ関係省庁、大学および地元関係諸機関の御指導と御援助によるものであり、改めて厚くお礼申し上げます。

本年度は、世界各地で有機水銀または無機水銀による健康被害が起こっている現状を踏まえ、昨年10月にWHOとの共催で、「メチル水銀による環境汚染と健康影響の評価」に関する国際シンポジウムを熊本で開催し、そのProceedingsを刊行しました。調査の方法については、引き続き国水研で開かれたWorkshopで詳細に議論され、その成果は「調査方法に関する指針」としてWHOから前述のProceedingsとは別に刊行されることになっています。当研究センターでは、地球環境研究の一環として平成5年度から3年計画で地球環境研究総合推進費を活用し、ブラジル・アマゾン河流域における水銀汚染の調査を行っております。

各研究部における調査研究の年次計画は研究員の充足とともに順調に進捗しており、それらの成果については、内外の学会に発表しております。例年の如く、内外の見学者、研修者の受入れ、外部講師によるセミナー、研究員による研究集会、「水俣病に関する総合的研究班」との共催による第9回合同ワークショップ等を開催いたしました。

水俣病はその発生から既に30年以上を経過し、本病をめぐる諸問題は重大な転機を迎えております。本年度は水俣病総合対策のうち、有機水銀汚染地域住民の健康管理事業が実施され、実施方式の評価およびデータの集中管理と解析などに関して当研究センターの技術援助が大いに役立っております。新たな研究プロジェクトとして平成4年度からサルを用いた「胎児期におけるメチル水銀の健康影響に関する研究」を開始しましたが、本年度からはさらに、水銀の環境モニタリングを中心とした「水銀汚染についての環境評価に関する研究」を開始しました。

私共はこのような状況に適切に対処するため、将来研究計画の見直しを行い、研究活動の一層の推進をはかり、水俣病の本質の解明に資するとともに、被害者の方々や各方面の御要望に応え、またWHO協力センターの業務をとおして国際協力の実践にも努力する所存です。

年報は創刊以来14号を重ねました。この年報は、平成5年度におけるセンターの業務と研究活動を御理解いただくため、その概要をとりまとめたものです。

今後とも御支援と御協力を賜りますようお願い申し上げます。

平成6年5月

国立水俣病研究センター

所長 加藤 寛 夫

目 次

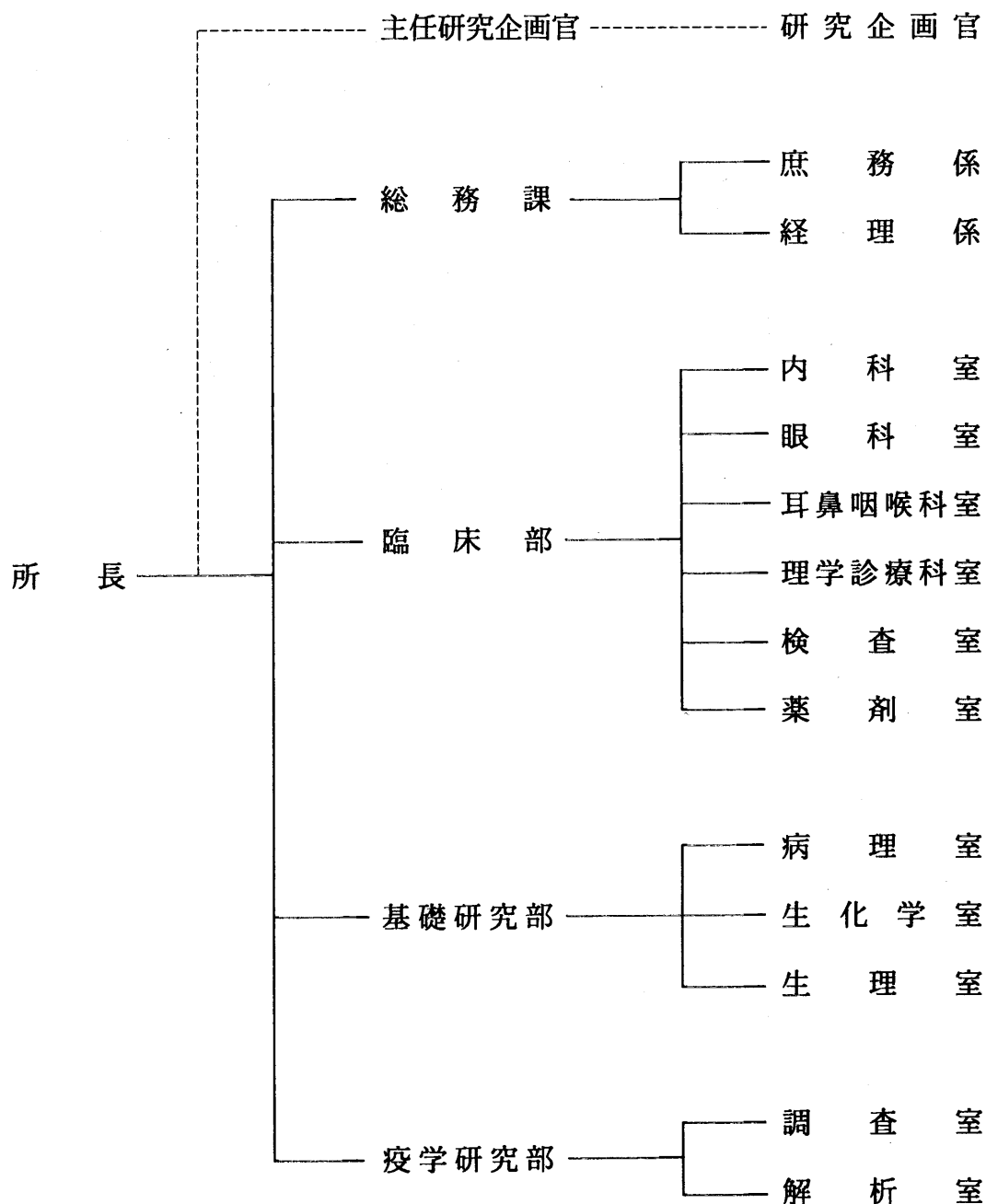
1. 組織構成	1
1. 組 織	1
2. 職員構成	2
2. 調査研究	3
1. 臨 床 部	3
2. 基礎研究部	10
3. 疫学研究部	16
3. 研究発表一覧	23
1. 臨 床 部	23
2. 基礎研究部	25
3. 疫学研究部	27
4. 所内セミナー記録	31
5. 合同ワークショップ	38
6. 国際シンポジウム	39
7. 所内研究発表会記録	42
8. 客員研究記録	43
9. 共同研究記録	46
10. 委員会報告	48
11. 国立水俣病研究センターの概要	51
1. 予 算	51
2. 定 員	51
3. 主要施設整備状況	52
4. 主要機器整備状況	53
5. 図書および文献等の整備状況	55
6. 施設配置図	56
附1. 人事異動	57
附2. 主な来訪者	58

1. 組織構成

1. 組織

国立水俣病研究センターの組織は、研究部門としての臨床部・基礎研究部・疫学研究部と事務部門としての総務課との3部1課11室2係からなっており、平成5年度末の定員は27名で、今後当初構想の38人体制へ向けて逐次拡充を図ることとしている。

また、主任研究企画官及び研究企画官を設置し、センターの所掌事務のうち重要事項を掌らせている。



2. 職員構成 (平成6年3月末日)

所 長	技 官	加 藤 寛 夫	検 査 室			
主任研究企画官	(併) 同	二 塚 信	検 査 技 師	技 官	宮 本 謙一郎	
研究企画官	(併) 同	杉 原 弘 晃	薬 剂 室			
同	(併) 同	衛 藤 光 明	薬 剂 師	技 官	村 尾 光 治	
同	(併) 同	納 光 弘		事 務 員	寺 川 由 紀 子	
○ 総 務 課				補 佐		
課 長	事 務 官	山 下 洋 一		同	立 花 真 理	
庶 務 係 長	同	蜂 須 賀 正	○ 基礎研究部			
	同	山 内 義 雄	基礎研究部長	技 官	藤 崎 正	
経 理 係 長	同	奥 克 幸	病 理 室 長	同	桑 名 貴	
	同	松 本 和 也	研 究 員	同	梶 原 裕 二	
	事 務 員	岩 坂 美 秋	生 化 学 室 長	同	安 武 章	
	補 佐	古 里 富 子	研 究 員	同	足 立 達 美	
	同	山 下 裕 子	生 理 室 長	同	中 村 邦 彦	
	同	齐 藤 美 紀	研 究 員	同	山 元 惠	
○ 臨 床 部				事 務 員	豊 田 裕 子	
臨 床 部 長	技 官	加 藤 寛 夫		補 佐		
	(事務取扱)			同	寒 川 麻 紀	
内 科 室 長	技 官	若 宮 純 司		同	寺 川 和 代	
医 師	同	池 上 真 人	○ 疫学研究部			
看 護 婦	同	宮 本 清 香	疫学研究部長	技 官	赤 木 洋 勝	
眼 科 室			調 査 室 長	同	中 野 篤 浩	
研 究 員	(併) 同	古 吉 直 彦	研 究 員	同	坂 本 峰 至	
耳鼻咽喉科室			研 究 員	同	金 城 芳 秀	
研 究 員	(併) 同	神 崎 順 徳	解 析 室 長	同	渡 邊 正 夫	
理学診療科室長	(併) 同	有 村 公 良	情 報 解 析 係			
医 師	同	中 村 昭 範		事 務 員	作 田 惠 理	
理学療法士	(併) 同	深 水 英 俊		補 佐		
作業療法士	同	松 本 美 由 紀				

(定員27名 現員25名 欠員2名)

2. 調 査 研 究

1. 臨 床 部

研 究 の 概 要

水俣病問題は長年月紛糾してきたが、解決をめざして動き始めている。その中で当センター臨床部は水俣病問題解決と学問的成果の還元を主眼として研究を行っているのは現在も変わらない。主要な研究テーマと活動の状況は以下のとおりである。

1. 水俣病の病像に関する研究
2. 水俣病の治療法に関する研究
3. 水俣病の在宅ケア法の開発に関する研究
4. 水俣病症候の客観的評価に関する研究
5. 有機水銀中毒症の生化学的研究

研究員の異動としては、池上真人が内科室研究員として平成3年5月に採用となり、臨床部はますます充実してきたが、その中で下記のような研究成果をおさめた。

すなわち、臨床的研究に関しては若宮は有機水銀汚染地区住民の神経愁訴を汚染地区住民と比較検討し、視力障害とこむら返りが多いことを明らかにした。宮本（謙）は水俣病の感覚障害を評価するのに Triple T が有用であることを実証し、症状の客観的定量化の道を開いた。実験的研究動に関しては、中村はメチル水銀中毒での小脳顆粒細胞の細胞死に apoptosis が関与していることを明らかにし、選択的細胞死の機序解明に大きく貢献した。池上はラットにおける実験的メチル水銀中毒を α -tocopherol で阻止し、治療の可能性を見いだした。村尾はラットにおける実験的メチル水銀中毒においてグルタメートレセプターのアンタゴニストにより学習行動障害が抑制される可能性を見だし、障害機序解明の糸口を掴んだ。訪問看護については宮本（清）は訪問を地域の福祉サービスと連携をとりながら水俣病患者の生活の質（QOL）を高めてゆく重要性を見いだした。また、松本は胎児性水俣病患者は知的・性格的にも未熟で有るが、反復学習によって社会生活を支障なく送れる可能性を見だし、リハビリテーションの新しい方向性を見いだした。

その他、若宮は熊本県の健康管理事業を健康管理評議会を通じて大きく推進する役目を果たしている。

以上、スタッフ一同今後一層幅広い調査研究活動を進めてゆきたいと考えている。

若宮 純司

有機水銀汚染地区における神経愁訴の検討

若宮 純司 池上 真人 中村 昭範 宮本謙一郎
藤山 二郎 (鹿児島大・医・三内) 二塚 信 (熊本大・医・公衛)

水俣病患者の神経症状の推移は各研究者でまちまちであり、明確ではない。そこで有機水銀汚染地区において検討をおこない、非汚染地区と比較検討した。

有機水銀汚染地区 (T町) において平成5年におこなった老人保健法に基づく一般循環器検診を行い、神経に関する自覚症状に関して非汚染地区 (御船町・笠利町) と比較した。手足のシビレについては汚染地区28.8%に対して非汚染地区27.8%・32.3%で有意差なく、振戦については汚染地区5.0%に対して非汚染地区3.9%・9.7%と有意差はなく、難聴についても汚染地区22.1%に対して非汚染地区29.3%・16.4%と有意差はなかった。これに対し、視力障害については汚染地区37.0%に対して非汚染地区12.0%・11.9%と有意差があり、こむら返りについても汚染地区35.1%に対して非汚染地区11.9%と有意差があった。

比較できた症状のなかでは視力障害とこむら返りが汚染地区住民の方に多かった。

上記の結果からは単純に結論は出せないが、イラクの水銀汚染事件で量-反応関係を見た Bakirらの報告では異常感覚の方が難聴よりホッケースティックラインは左よりであり、上記の結果では有症率が同率であることを考え合わせると、水俣病の症状以外で有意差が出ている可能性もありうる。ただ、対象者が老人保健法に基づく一般循環器検診受診者であること、歩行障害や構音障害など他愁訴が不明であることおよび神経所見と愁訴は必ずしも一致しないことを考えると一概に結論は出せないと思われる。今後、検討を加え、一定の結論を出して行きたい。

水俣病の病像に関する研究 —主要神経徴候以外の症状について—

中村 昭範 池上 真人 若宮 純司

水俣病患者あるいは申請患者がしばしば訴える症状のなかに、「疲れ易さ」と「カラス曲がり (muscle cramp)」がある。しかし、これらの症状に対する具体的な検討はほとんどなく、また、これらが有機水銀中毒と本当に関連があるかどうかも現在のところ不明である。そこで、津奈木地区の住民検診受信者約1200名を対象にこれらの症状について詳細な調査を行った。「疲れ易さ」に対しては、大まかには全身的な疲れ (中枢性疲労) と局所的な筋肉の疲れ (末梢性疲労) に分け、医師が問診する形式で行った。中枢性疲労は、「疲れを感じない」 (grade 0) から、「疲れすぎて動けなくなることがある」 (grade 8) まで9段階に分け、末梢性疲労は「重いものを持ってても手が疲れない」 (grade 0) から、「軽いものを少し持っただけでも手が疲れる」 (grade 4) まで、5段階に分けて評価した。一方「カラス曲がり」に対しては、1) 頻度、2) 起こる筋肉の分布、3) 痛みの程度、4) 持続時間、5) 生活への影響度、6) 病歴、7) 起こりやすい時期、8) 誘因の有無、について問診の形式で行った。以上の調査から得られた結果については、水銀高曝露地区と低曝露地区、あるいは患者、申請者、非申請者間等で比較検討していく予定であるが、データは現在解析中である。

水俣病認定患者における温度感覚閾値の検討

宮本謙一郎 有村 公良 若宮 純司

水俣市立明水園に入園中の水俣病認定患者の末梢性の感覚障害を客観的に評価する目的で、今年度は、温覚および冷覚温度閾値が測定できる Medelec 社製 Thermal Threshold Tester (Triple T) を用いて、水俣病認定患者15名（男性3名、女性12名、平均年齢 81.6 ± 6.9 歳）およびコントロールとして年齢をマッチさせた特別養護老人ホーム入園者21名（男性2名、女性19名、平均年齢 81.5 ± 5.1 歳）を対象に測定を行い、その有用性を検討した。測定は、手根部屈側で1秒間に 1°C の温度変化をサーモードで皮膚表面に加え、温度変化を加える事象と加えない事象の2個の事象をランダムに与え、温度変化を感じた方の事象を二者択一方式で up-down transformed rule に基づいて被検者に弁別判定させ、計6ポイントを平均して温覚および冷覚閾値とした。その結果、水俣病認定患者は、コントロールに比較して温覚および冷覚閾値とも有意に上昇した。また、水俣病患者の測定記録のパターンでは温覚はコントロールに似た比較的正常例に近いパターンを示したが、冷覚は、障害が高度なパターンが多く見られた。温覚は無髄線維、冷覚は小径有髄線維機能を反映するが、今回の Triple T の閾値の上昇が水俣病認定患者で認められたことにより、温度感覚障害が存在する可能性が示唆された。また、Triple T は水俣病認定患者の感覚障害を評価する上で大変有用であった。

胎児性水俣病患者の高次脳機能に関する検討 —知能、性格について—

松本美由紀 宮本 清香

水俣病患者の知的機能や、精神、心理状態、性格などについての十分な検討は少なく、有機水銀がこれらの高次脳機能に及ぼす影響を明らかにすることは重要である。今回は特に知的機能と性格について胎児性患者を対象に検討を行った。検査法は、患者の運動能力が障害されていることや、理解力、集中力が乏しいことを考慮に入れ、動作性、言語性の双方で評価できる WAIS-R と、単純で短時間にできる CRT カラーピラミッド性格検査が適当であると判断して用いた。WAIS-R は、動作性、言語性ともに検査し得たのは2名で、それぞれ言語性 IQ は54と45未満、動作性 IQ は46と45未満で、総合 IQ は42と40未満であった。また、言語性のみ検査し得た患者は3名で、それぞれ IQ は46、53、87であり、動作性のみ検査し得た患者は1名で、IQ は40未満であった。総合判定では「平均以下」が1名で、残り5名は「精神遅滞」と判定された。一方性格検査は5名に対し検査し得たが、全例で幼児的な反応性や衝動性を持ち、未熟で未分化なパーソナリティーを示す傾向が強く、情緒的な接触や情動のはげきを求めている状態を示した。以上より、知的にも性格的にも未熟で未発達な傾向にあることがわかったが、その割には日常生活上の支障がさほどないように思われる。これは、日常生活に必要最小限の情報や行動様式などを反復学習し、活用できる能力があることに加え、未熟なパーソナリティーを受け入れた周囲の援助があるためと考えられた。

水俣病の在宅ケア法の開発に関する研究 (継続)

宮本 清香 松本美由紀

昭和58年より行っている訪問看護の結果、在宅療養患者においてADLよりも、QOLを高めることがむしろ重要であることをこれまでに明らかにしてきた。QOLを高める法としては、地域の福祉サービスやデイケアが有効であると考えられるので、T町における介護の必要な65歳以上の高齢者80名の実態を調査した。無回答者を除いた結果を分析すると、ホームヘルパーを利用している人は4/68名(5.9%)、利用していない人は64/68名(94.1%)で、デイサービスを利用している人は1/64名(1.6%)、利用していない人は63/64名(98.4%)と、利用率は非常に低率であった。また、今後利用したいかどうかという質問に対しても、ホームヘルパーは52名(76.5%)、デイサービスは46名(71.9%)が利用したくないと答えていた。我々の訪問看護においても患者側の受入れが良くない現状は以前に報告しているが、地域の福祉サービスにおいても同様の傾向が認められることが確認された。これらの原因としては、PR不足や、サービス側の体制不十分なども考えられるが、受け入れ側にとってこれらのサービスに対するメリットがはっきりと感ぜられない点が大きな問題点であると思われる。今後はこの点をふまえ、地域の福祉サービスとも連携を持ちながら患者自らが「楽しみ」として参加できるようなデイケアの形態を考案し、患者のQOLを高めていく在宅ケアの検討を行っていく必要があると考えられた。

メチル水銀による選択的細胞死の機序の検討 -apoptosisの観点からII-

中村 昭範 安武 章 藤山 二郎
池上 真人 若宮 純司

前年度は有機水銀による選択的神経細胞死にapoptosisが関与している可能性を指摘し、これを証明する為の方法を検討した結果、細胞DNAのfree 3'endをラベルすることによって、DNA fragmentationをきたしている細胞をin situでvisualizeする方法(TUNEL法、Gavrieli et al. 1992)が有用であることを報告した。今年度は本方法を実験的有機水銀中毒ラットに応用した。9週齢のmale Wistar ratに、5 mg/kg weight/dayのMeHgCl、又は生食を12日間経口投与し、投与終了後15日目に4%ホルマリンにて灌流固定を行いパラフィン切片を作成し、一般病理所見及びTUNEL法による検討を行った。その結果、メチル水銀投与ラットは全て投与終了後7日目までに後肢交差を呈し、HE染色で小脳顆粒層にpyknoticな細胞が少なからず観察された。TUNEL法では、水銀投与ラットの小脳顆粒層で非常に多数の細胞が陽性に染色されたが、Purkinje細胞は全て染色陰性で形態的変化も認めなかった。anti-GFAP-antibodyを用いた免疫染色を組み合わせたdouble stainingでは、顆粒層のTUNEL陽性細胞はほとんどが二重染色されず、これらのDNA fragmentationを来している細胞が神経細胞であることも示唆された。大脳では海馬と後頭葉の下面に少数の染色陽性細胞を認めたが、感覚領野や視覚領野には陽性細胞は認められなかった。一方肝、腎では、組織中水銀濃度が脳に比べて数倍以上高値であったにも関わらずTUNEL陽性細胞は少数認められるのみであった。以上の結果より、apoptosis

に特徴的な所見の一つとされるDNA fragmentationが、メチル水銀中毒ラットの、特に小脳顆粒層の神経細胞に選択的に生じていることが明らかとなり、apoptosisが選択的神経細胞死のプロセスに重要な関わりを持っていることが示唆された。

メチル水銀による細胞死に対する蛋白合成阻害剤の効果

中村 昭範 池上 真人 藤山 二郎
若宮 純司

前述の検討でメチル水銀による細胞死にapoptosisが関与していることが示唆されたが、apoptosisのプロセスは新たなRNA合成や蛋白合成を阻害することによって抑制できる可能性がある。そこで、RNA合成を阻害するactinomycin D (AD)及び蛋白合成を阻害するcycloheximide (CHX)を用いて有機水銀に対する細胞感受性の変化を検討した。健常人の皮膚線維芽細胞を96 well plateに培養し、培地中に段階希釈されたメチル水銀-システイン複合体を加え、 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ のCHXまたは $0.1\mu\text{g}/\text{ml}$ のADの存在下で1-10日間cocultureし、Neutral Red法にて細胞生存曲線を求めた。その結果coculture 4日目まではメチル水銀単独培養とメチル水銀+CHXまたは+AD培養との間に有意な差は認められなかった。一方、7日及び10日間の長期培養を行うと、メチル水銀単独の場合のLD50はそれぞれ、 0.618 , $0.629\mu\text{M}$ であったのに対し、CHXを加えた系では 3.43 , $2.30\mu\text{M}$ と高い値を示した。また、長期間培養の個々の水銀濃度における生存率を検討すると、 $3.2\mu\text{M}$ 以上の高濃度ではメチル水銀単独とCHXを加えた場合とではほとんど差を認めなかったが、 $1.6\mu\text{M}$ 以下の低濃度では、メチル水銀単独では生存不能の一部の細胞がCHXを加えることによってrescueされた。なお、ADを加えた場合の長期培養では細胞が全て死滅してしまったため検討不能であった。以上より、メチル水銀による細胞死には、高濃度の水銀によって短期間に引き起こされ、ADやCHXで抑制されない細胞死(=necrosis?)と、比較的低濃度の水銀によってやや遅れて引き起こされ、CHXで抑制できる細胞死(=apoptosis?)のパターンがある可能性が示唆された。

メチル水銀による細胞傷害は α -Tocopherolで抑制可能か?

池上 真人 中村 昭範 宮本謙一郎
若宮 純司

メチル水銀による中枢神経障害、特に、小脳顆粒細胞の障害と、腎機能障害の発現過程では、フリーラジカルや活性酸素などの酸化物質の関与が指摘されているが、これらの障害を抗酸化作用を持つビタミンである α -Tocopherol投与により抑制可能かどうか検討した。

方法は、雄のウイスターラットにメチル水銀単独を $5\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ を12日間経口投与した群と、それに加えて α -Tocopherol $50\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ 、 $150\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ を投与した群、NMDAレセプターアンタゴニストであるMK-801を $1.0\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ 投与した群の四群において、そのメチル水銀に

よる障害を全身所見、神経所見、体重を指標として評価した。

その結果、メチル水銀単独投与群においては約22%の体重減少、食欲低下などの全身所見と後肢交差、筋緊張低下などの神経所見を認めた。 α -Tocopherol 50mg/kg/day 投与群と MK-801 投与群とにおいては体重でそれぞれ22%、25%の減少や後肢交差、筋緊張低下などの神経所見の発現を認め、これらの症状を抑制することはできなかった。

しかし α -Tocopherol 150mg/kg/day 投与群ではこれらの症状は完全に発現することなく抑制された。

以上のことより α -Tocopherol は経口投与により用量依存的にメチル水銀の臓器障害を抑制できる可能性が示唆された。

上述したごとくラットへの α -Tocopherol の経口投与によりメチル水銀の組織障害を抑制できることを認めているが、その抑制機序について *in vitro* における検討は現在までなされていない。そこで今回我々は組織培養細胞を用いた実験系でこの抑制機序を検討することとした。方法は、正常人の培養皮膚線維芽細胞と、生後7日目の新生ラット小脳より分離培養した小脳顆粒細胞を用い、その培養液中にメチル水銀を最終濃度50 μ M から0.1 μ M になるよう段階希釈して加えた。それをメチル水銀単独の系、 α -Tocopherol を最終濃度10, 100, 500 μ g/ml に調整し加えた系、対象コントロールとしてオリーブオイルを最終濃度100 μ g/ml に調節し加えた系の3系に調整し、37 $^{\circ}$ Cで培養した。その24時間後にニュートラルレッド法を用いてメチル水銀感受性を検討した。

その結果、培養皮膚線維芽細胞を用いた系では、LD50値は対照コントロール系 (LD50=4.55 μ g/ml) と比較して、 α -Tocopherol 10 μ g/ml 投与 (LT50=5.03 μ g/ml)、 α -Tocopherol 100 μ g/ml 投与 (LD50=4.71 μ g/ml) とでは差が認められなかった。しかし α -Tocopherol 高濃度投与系である α -Tocopherol 500 μ g/ml 投与 (LT50=6.4 μ g/ml) ではLD50値は約3倍であった。

以上の結果より、 α -Tocopherol はメチル水銀による障害を *in vitro* の系においても抑制できる可能性が示唆された。

今後は、今回の実験により *in vitro* の系においてもメチル水銀の障害が α -Tocopherol により抑制できる可能性が示唆されたが、これを検討数を増やし検定する。

さらにこの *in vitro* の実験系を用いることによりメチル水銀の障害に対する抑制効果を簡便に検討することが可能となったので、治療効果を期待できるその他の抗酸化作用を有する薬物によるメチル水銀の障害抑制効果を検証する予定である。またこの実験において、 α -Tocopherol の経口投与によりメチル水銀の臓器障害が臨床的に抑制されることが認められたが、その作用機序としてメチル水銀による直接的細胞傷害の抑制に加えてアポトーシスを介した細胞死の抑制が関与している可能性があるため、これらの可能性を各臓器を組織化学的に検証することで明らかにする。

メチル水銀中毒へのグルタメートの関与

村尾 光治 宮本謙一郎 藤崎 正

グルタメートをはじめとする興奮性アミノ酸は、哺乳動物の中枢神経系において興奮性神経伝達物質として興奮性シナプス後電位を発生させるばかりでなく、内在性興奮毒として神経細胞の特異的変性・障害作用を示し、虚血性脳障害においてもグルタメートの興奮毒関与が示唆されている。また、有機水銀中毒症である水俣病の病理所見は純粋な低酸素症における大脳、小脳の極めてユニークな病変とその分布は強い類同性を示している。そこで我々は、グルタメート関連薬物を用い、メチル水銀中毒へのグルタメートの関与を学習行動を指標に検討した。同時に投与したグルタメートレセプターのNMDA形アンタゴニストであるMK-801 (1 mg/kg, i.p.) はメチル水銀によるT迷路型学習行動障害を中毒初期の段階でわずかに抑制する傾向を示したがメチル水銀投与後3週間ではほとんどのマウスが死亡したためその後の影響を確認することはできなかった(今回のマウスはメチル水銀に対する感受性が高かった)。今後、グルタメートレセプターのサブタイプのアゴニスト・アンタゴニストを用いてメチル水銀中毒におけるグルタメートの関与を検討する余地がある。

2. 基礎研究部

研究の概要

基礎研究部は水銀化合物の生体内毒性発現機構および環境中におけるこれら水銀の動態について研究を行ってきた。生体影響については、胎児毒性の解明を目標に胎児期および新生児期動物への影響について、また中毒の機序解明および予防を目標に毒性修飾要因について検討を行なった。一方、環境水銀の動態については水俣湾底質中水銀耐性菌の水銀分解遺伝子の特性について検討した。

主要な研究テーマと進捗状況

1. 胎児毒性に関する実験発生学的研究
 - 1) メチル水銀の遺伝毒性評価法
 - 2) 胎児形成期胚の細胞毒性評価法
2. メチル水銀の生体内動態および毒性の修飾因子に関する研究
 - 1) メチル水銀の感受性に影響を与える要因の検討
 - 2) メチル水銀の生体内無機化に関する研究
3. メチル水銀の作用機序-分子レベルからのアプローチ
4. 水銀による環境汚染、特に海洋細菌への影響に関する研究
5. バイオテクノロジーによる高濃度水銀生体試料のスクリーニング法に関する研究

病理室では水銀化合物の胎児毒性について発生学的研究を行なっている。1. の課題の1) における胎児に対するメチル水銀の遺伝毒性の検討の必要性はIPCS90でも強力に指摘されており、本研究では次世代を担う生殖巣に焦点を絞り、実験動物を用いて発生初期の生殖巣形成に対するメチル水銀の毒性を解析することを目標としている。本年度は発生途上の羊膜類胚を用いて研究した。始原生殖細胞に使用する培養液の検討を行ない、Caとglucoseの最適濃度を決定した。更に、始原生殖細胞の凍結保存の条件や発生途上胚への導入条件の検討等を進めた。1. の課題の2) においては、*in vitro*の実験法の不完全さを改善する為に、胎児細胞を*in vitro*に取り出し数日間培養し、その細胞が分化する時期に再び胎児内に戻す実験法を開発している。本年度はX線による脳室帯細胞間結合の破壊とその再集合による脳室内注入細胞の取り込みの検討等を行なった。また病理室では梶原裕二研究員が本年度後期から英国留学中である。

生化学室ではメチル水銀の生体内動態および毒性の修飾因子に関する研究を行なっている。これまでにメチル水銀の動物実験では性差、年齢差、系統差等を明らかにしてきた。これら内的修飾因子に加え、2. の課題の1) では外的修飾要因の一つである低蛋白質栄養の中毒への影響を検討している。低蛋白質食で水銀の体外排泄が低下し、組織の水銀濃度が上昇し、その結果毒性の発現が促進されることなどを明らかにし、本年度は特にこの低蛋白質食に含硫アミノ酸を添加してメチル水銀の影響を検討した。2の課題の2) ではメチル水銀の生体内における無機化の機構解明を目的とし、昨年度に続き活性酸素の関与を検討した。実験動物をメチル水銀とデスフェラルール(鉄キレート剤)、鉄(Ⅲ)EDTA、パラコート、アミノトリアゾール(カタラーゼ阻害剤)、NaCN等の薬物で処理し、メチル水銀の無機化に活性酸素が関与すること、無機化の主要臓器が肝臓であることなどが明らかになった。3. の課題ではメチル水銀の毒性発現の作用機序を分子レベルで解明することを目標として、本年度は放射化アルブミンを用いてメチル水銀と血清アルブミンとの相互作用を検討し、腎臓がメチル水銀投与直後にアルブミン代謝に重要な役割を演じていることなどを明らかにした。

生理室では水銀化合物の海洋細菌への影響を解明することを目的とし、水銀化合物形状変換に関与する耐性菌の研究を行なってきている。4. の課題では水俣湾周辺海域の海洋細菌の動向を明らかにすると共にこれらの細菌による水銀化合物形状変換に関する分子生物学的研究を行なっている。これまでの研究で水俣湾では多種類の水銀化合物を分解する Bacillus 属の細菌が特異的に出現していることを明らかにしてきた。本年度は Bacillus 属以外の細菌で水銀化合物形状変換のパターンを示す細菌を検索した。グラム陰性細菌の1612株の中で34株の Pseudomonas 属の細菌が、またグラム陽性細菌の2420株の中で81株の細菌が水銀化合物形状変換能を持つことを明らかにした。また有機水銀化合物を分解する Bacillus 属細菌の水銀分解遺伝子の構造を検討し、この遺伝子型が8種類に分類されることなどを明らかにした。5. の課題では水銀分解細菌の水銀還元能を利用して生物学的水銀測定法を開発している。この方法は生成する気化水銀による X線フィルム黒化度に依存しており、現在試料中水銀濃度として25ppm までを検出できる感度を開発した。

中野 篤浩

メチル水銀の遺伝毒性評価法

桑名 貴 梶原 裕二 保田 叔昭
田島 淳史 内藤 充

胎児に対するメチル水銀の遺伝毒性を詳細に検討することの必要性は、IPCS90でも指摘されている通りである。本研究では、次世代を担う生殖巣に焦点を絞り、実験動物を用いて発生初期における生殖巣形成に対するメチル水銀の毒性を解析することを目標とした。

発生過程における生殖巣形成過程へのメチル水銀の影響を実験動物を用いて解析しようとする時、以前は母体経由、もしくは直接胚にメチル水銀を投与方法しかなかった。ただしこの場合には、生殖巣を構成する細胞に対する直接的な影響なのか、他組織（または胚全体）への影響からくる二次的影響なのかが判定できない。そこで本年度は、生殖巣構成細胞に対する毒性影響のみを評価する実験系を確立し、毒性評価法としての有用性を検討することを目的とした。

メチル水銀による後世代に対する毒性影響を検討する実験系の確立に資するために、本年度は発生途上の羊膜類胚を用いて以下の研究を行った。

将来の生殖細胞の祖細胞である始原生殖細胞 (Primordial Germ Cells ; PGCs) を *in vitro* への単離精製法の改良に付いては、Ficollによる濃度勾配遠心法を用いての単離精製を前提に、使用する培養液の検討を行った。その結果、最適の Ca、glucose 量を決定して PGCs の生存率を向上させる事が出来た。凍結保存の条件の検討においては、10%DMSO を凍結保護剤として使用して凍結保存し、融解後の PGCs 生存率、移動導入率を検討した。生存率は、凍結細胞数が比較的少数な為に、約20-30%と低率であったが、移動導入率は凍結・融解をしない場合と結果は変わらなかった。さらに平成4年度の研究結果を踏まえて、単離した PGCs を発生中の胚に高効率に導入が図れるよう各条件を検討した結果、PGCs の移植を受ける胚 (ホスト) 側の血液を予め抜いておくことによって、最高で80%の PGCs を置き換える事が出来た。また、生殖巣の第二構成要素である体細胞性の生殖巣原基に対する影響を検討する系の確立のための基礎資料として、ニワトリとウズラ胚を用いて生殖巣原基による PGCs 誘引の効率を検討し、この系の態度を高める条件を検討した。数多くの実験で微小手術での技術上の制約を克服する事が困難であった。更に、

検定する動物種を有羊膜類全体に広げる試み事は本年度は遂行出来なかったために、次年度に実施するべき課題として残された。

胎児形成胚の細胞毒性評価法の開発

梶原 裕二 桑名 貴 井上 稔

母親母体内で水銀に曝露されると、発達中の胎児は様々な影響を受ける。これまでに、マウスやモルモットを用いて、妊娠母体に水銀を投与し、初期胚の死亡、着床異常、マクロな脳の発達障害と退行変性を明らかにしてきた。しかし、その細胞障害、組織障害の機構には不明な点が多く、機能的重要な中枢と末梢神経系、生殖系を構成する細胞が発生中の胎児内でどのように障害されるかを細胞レベルで調べる実験系は現在のところ開発されていない。

in vitro の実験系は細胞レベルで生物現象を開発する有力方法である。実際に、発達中の胎児から神経細胞、生殖細胞、線維芽細胞などを in vitro に取り出して、培養液にメチル水銀を添加し、成長や分化の異常を解析する実験系は、特に神経系において報告されている。しかし、これら in vitro の実験結果が胎児体内での分化異常を反映するかという問題、in vitro の均一な細胞の観察から組織構築の異常をどう予測するかという問題、さらに胎児期に曝露を受けた細胞が障害をとおして正常に機能するかといった問題は依然として残っている。これらの問題を解決する一つのアプローチとして、胎児を構成する細胞を in vitro に取り出して、数日間培養し、その細胞が分化する場所と時期に再び胎児内に戻す実験系を開発している。最終的には、in vitro の実験結果を複雑な母体内曝露の現象に外挿する一つの方法、また環境汚染物質が細胞分化に及ぼす影響評価法の確立を目的とする。

本年度は、胎児を構成する細胞を再び宿主胎児内に移植する方法の一つ、即ち脳室にドナー細胞を注入し脳室帯に取り込ませる方法の開発を検討した。背景として、胎児がメチル水銀や放射線で曝露されると脳の低形成の他に神経細胞の遊走障害が報告されている。

通常の状態では脳室内に注入された細胞が脳室帯に取り込まれる頻度は非常に低いので、X線により脳室帯細胞間結合を破壊した。妊娠13日、14日に妊娠母体を1GYのX線で照射した。6時間後、子宮内の胎児の第4脳室にオスミウムで固定着色した培養細胞や人工粒子を注入した。その結果、脳室帯や、大脳皮質付近の中間層に細胞や粒子が存在していた。これらの結果は、X線による脳室帯細胞間結合の破壊と再集合に伴い脳室内の細胞を取り込ませることができる可能性を示唆する。

メチル水銀の生体内脱メチル化機構

安武 章 足立 達美 須田 郁夫
平山紀美子

昨年度はラットに過剰の鉄を与えることによって、肝臓におけるメチル水銀の無機化（脱メチル化）反応が促進されることを明らかにした。しかし、組織試料がメチル水銀投与72時間後に採取したものであったことから、水銀の組織間再分布、排泄、腸内細菌類による無機化等の因子の

寄与も小さくないと考えられる。したがって、得られた結果が肝臓における正味の無機化そのものを反映しているとはいえない。そこで本年度は、これらの点を考慮して、より短時間における無機化反応について検討を行った。肝臓におけるメチル水銀の無機化を感知するのに必要な投与後の経過時間を検討する目的で、ラットにメチル水銀を投与後3、6、9、12および24時間後の肝臓と腎臓における総水銀と無機水銀の分別定量を行った。肝臓における無機水銀量は投与直後から時間とともに増加するが、腎臓においては、3時間後までは無機水銀の増加がみられず、その後上昇が観察された。このことは、投与直後から肝臓で脱メチル化がおり、生成した無機水銀の一部が血液循環系を通過して、腎臓に運ばれ、蓄積することを示している。また、投与6時間後には肝臓、腎臓における総水銀に対する無機水銀の比率が、それぞれ約2.5および1.5%となり、十分に正確な定量が可能と考えられたため、これをモデルとして脱メチル化に対する各種薬物の効果について検討した。

まず、生体内で鉄-触媒反応により産生される水酸ラジカル($\cdot\text{OH}$)の寄与について検討した。 $\cdot\text{OH}$ の産生を抑制する目的で、遊離鉄のキレート剤であるデスフェラルをメチル水銀と同時に投与した。メチル水銀投与6時間後の肝臓における無機水銀の値にやや減少の傾向がみられたが、統計的に有意なものではなかった。逆に、 $\cdot\text{OH}$ 産生を促進するために鉄-EDTAをラットに寄与した場合には、両臓器における無機水銀の蓄積量には変化が認められなかった。次に、スーパーオキシド(O_2^-)の寄与について検討した。生体内における代謝過程で O_2^- を産生するパラコートでラットを処理すると、肝臓の無機水銀値が顕著に上昇したが、腎臓における変化は観察されなかった。また、このとき生成した O_2^- からの $\cdot\text{OH}$ 産生を促進する目的で、鉄-EDTAを投与しても、肝臓における無機水銀量がさらに上昇することはなかった。一方、ミトコンドリアにおける O_2^- を始めとする活性酸素産生系の阻害剤である青酸ナトリウムをラットに投与すると、肝臓の無機水銀レベルが顕著に減少した。

以上の結果は、メチル水銀の生体内脱メチル化反応に活性酸素が関与することを示唆するものであり、*in vitro*の実験で証明された $\cdot\text{OH}$ よりも、*in vivo*ではむしろ O_2^- の方が強く関与している可能性を示すものである。しかし、現段階では関与する活性酸素の種類を特定するのは多少の危険があり、さらに詳細な研究の継続が必要と考えられる。しかし、種々の薬物の効果が肝臓においてのみ観察されたことは、前述の肝、腎両臓器における無機水銀の蓄積に時間的なずれがあるという結果と併せて、無機化反応の主要部位が肝臓であるというこれまでの説を強く支持するものである。

メチル水銀投与動物の組織試料における無機水銀の分別定量法

安武 章 足立 達美 平山紀美子

メチル水銀の生体内脱メチル化反応を検討するにあたっては、組織試料中の総水銀、メチル水銀および無機水銀の値を正確に定量する必要がある。前二者については、原子吸光法およびガスクロマトグラフィー法による正確な方法が確立されている。しかし、後者についてはいくつかの方法が報告されているものの、簡便かつ迅速に正確な値を得ることは困難である。たとえば、一般に広く用いられている Magos 法は、試料の処理過程でメチル水銀の一部が脱メチル化するという問題点がある。動物実験において、メチル水銀投与後短時間(24時間以内)での無機水銀量について検討する場合、無機水銀値の高い腎臓においてさえ24時間後のその値は総水銀量の2

～3%であり、神経組織については1%をはるかに下回る値を示す。この場合、試料の処理過程において、試料中のメチル水銀がわずか（たとえば0.5%）でも無機水銀に変化すると、結果そのものの信憑性が疑わしいものになってくる。

そこで我々は、ガスクロマトグラフィーによるメチル水銀測定法において用いられる、試料中メチル水銀の抽出法を応用して、無機水銀の分別定量法の確立を試みた。未処理ラットの肝臓を生理的食塩水中でホモジナイズし、得られた5～20%のホモジネートに既知量のメチル水銀および無機水銀を添加して試料とした。試料を1.5～2規定の塩酸酸性条件下にベンゼンで抽出すると、一回の抽出で約80%のメチル水銀が試料から消失した。抽出を5回繰り返すことにより、試料中のメチル水銀をほぼ100%除去できることがわかった。またこの条件下で、メチル水銀の脱メチル化および無機水銀のベンゼン相への移行は全く検出されなかった。抽出操作終了後は、試料に含まれる微量のベンゼンを除くために石油エーテルで一回抽出を行い、アスピレータを用いた気流で有機溶媒を完全に除去した。次いで、NaOHで試料を中和後、酸化燃焼-金アマルガム法にて試料中の無機水銀値を求めた。ここで用いたベンゼンおよび石油エーテルは、抽出効率、揮発性および水への難溶性を考慮して選択した。

本法による試薬ブランク値は、0.5ng Hg/ml以下であり、試料中の無機水銀量が総水銀の1%未満であっても正確な値をもとめることができると考えられる。尚、本法を用いて求めたメチル水銀（20μモル/kg）投与24時間後のマウス脳中の無機水銀量は総水銀の0.25%であった。

メチル水銀の生体内動態に対する食餌性タンパク質量の影響（IV）

—含硫アミノ酸の重要性—

足立 達美 安武 章 平山紀美子

雄性のC57BL/6Nマウスを用いた実験から、メチル水銀の生体内動態は食餌中のタンパク質量によって大きく影響を受けることが明らかとなった。さらに、タンパク質量低下に起因する間接的な含硫アミノ酸の不十分さが重要な因子である可能性を検討するために低タンパク食に含硫アミノ酸を補給した飼料（Amino Acid Supplemented Diet, ASD）で飼育したマウスにメチル水銀を1回投与すると、低タンパク食（Low Protein Diet, LPD）飼育マウスにおいて増加した脳へのメチル水銀の移行速度はさらに加速し、低下した尿中水銀排泄量はコントロール食（Normal Protein Diet, NPD）飼育マウスの値をうわまわるほど回復した。そこで、これらのメチル水銀動態変化の機序を詳細に検討した。

メチル水銀の組織移行と関連が深い血漿の低分子量分画の水銀レベルは、LPD群とNPD群の間では差がなかったが、ASD群は他の2群より高く、これがASD群の脳への水銀移行速度が最も速かった原因の一つと考えられた。また、この分画の水銀レベルの差は、血漿の低分子チオール化合物レベルがLPD群≤NPD群<ASD群であったこと、および血漿のアルブミンレベルが3群間で差がなかったことから推定されたとおりであった。¹⁴C-L-フェニルアラニンの脳への移行速度はLPD群とASD群がNPD群に対して高く、これらの2群においてL系の中性アミノ酸輸送系が亢進していることが示された。メチル水銀はこの輸送系を介して脳内に移行することが知られており、この結果が低分子量分画の水銀レベルはNPD群と差がなかったLPD群において脳への水銀移行速度が速かった原因と考えられた。

尿中のシステインレベルは、LPD群でNPD群の約1/3に減少し、ASD群でNPD群の

値まで回復した。尿への水銀排泄にはシステインの役割が重要であることが知られており、この結果がLPD群における尿中水銀排泄量の低下を説明すると考えられた。さらに、ASD群の尿では他の2群においてほとんど検出されなかったホモシステインが異常な高レベル（20倍以上）で検出された。これらの結果は、尿中のチオール化合物レベルはASD群が最も高いことを示唆し、これがASD群の尿中水銀排泄量がNPD群より高くなった原因と推測された。

以上の結果より、食餌中のタンパク質量を低下させた飼料で飼育したマウスにおいて観察されたメチル水銀の生体内動態の顕著な変化は、タンパク質量低下に起因する含硫アミノ酸の不十分さが重要な因子の一つであることが示唆された。

水俣湾の有機水銀分解細菌の水銀分解遺伝子

中村 邦彦

水銀汚染により水俣湾に特異的に出現している、多くの種類の有機水銀化合物を分解できる78株の *Bacillus* 属細菌 (*Bacillus subtilis* 20株、*B. firmus* 17株、*B. lentus* 24株および *B. badius* 17株) について、その水銀分解遺伝子の構造を検討した。水銀分解遺伝子の分類は、78株の細菌の染色体DNAを抽出し、これを各種制限酵素で切断し、プローブにボストン湾より分離した *Bacillus* 属細菌の塩基配列を決定している水銀分解遺伝子DNAを用いて、サザンブロットハイブリダイゼーションを行い、制限酵素による切断の相違による制限酵素地図を作成して行った。

水俣湾の78株の有機水銀分解細菌の水銀分解遺伝子は、7種類の型に分類されることが明らかになった。細菌の種と水銀分解遺伝子の型とは関連がなかった。78株の細菌のうち30株（38%）の水銀分解遺伝子の制限酵素による切断地図は、ボストン湾底質より分離された *Bacillus* 属細菌の切断地図と同一であり、水銀汚染環境において、同じ種類の水銀分解遺伝子を持った細菌が出現していることが明らかになった。16株の水銀分解遺伝子は制限酵素 *Bgl* II で切断されない点をのぞけば、ボストン湾の *Bacillus* 属細菌の切断地図と同一であった。また、19株の水銀分解遺伝子は、*EcoRI* と *SphI* 以外の制限酵素では切断されず、非常に特異的な構造をしていることが判明した。さらに、4株の細菌の水銀分解遺伝子を種々の条件下でハイブリダイゼーションを行ったが、いずれの条件でもプローブDNAと結合しなかった。この点で、これらの細菌の水銀分解遺伝子は、ボストン湾底質より分離した *Bacillus* 属細菌および水俣湾で頻繁に出現している *Bacillus* 属細菌の水銀分解遺伝子とかなり構造が異なるものと考えられた。

3. 疫 学 研 究 部

研 究 の 概 要

疫学研究部では、有機水銀の環境汚染とそれに起因する地域住民の健康影響について、生体及び環境の両面から明らかにすることを目的として、各種疫学資料の収集、解析を進めるとともにメチル水銀毒性の量-反応関係等の解明を目的とした実験疫学的研究、人間およびその生態系における水銀等重金属の動態等の解明を目的とした調査研究、並びに水銀による環境汚染とその人体影響評価のための新しい生体および環境モニタリングに関する研究を行っている。さらに、近年世界的関心事となっているアマゾン河流域の水銀汚染の実態の解明を目的として、今年度から3年間にわたる環境庁地球環境研究推進費による調査研究を開始した。これらの業務のほか当研究部では大型電子計算機の管理運営も行っている。

研究課題と進捗状況は次の通りである。

1. 水俣病認定患者等の疫学的特性に関する研究
2. 水銀汚染地域住民の死亡率および死因等に関する疫学調査研究
3. 胎児並びに新生児の発育成長に及ぼすメチル水銀の影響に関する研究
4. 人間とその生態系における水銀等重金属の動態と相互作用に関する研究
5. 水圏における水銀の動態に関する研究
6. 水銀の生体および環境モニタリングに関する研究
7. アマゾン河流域における水銀汚染に関する研究

水俣病認定患者等の疫学的特性に関する研究の一環として、武内・衛藤による水銀汚染地域の剖検資料（1992年）について解析を進めた。武内・衛藤はメチル水銀曝露により神経細胞が脱落し、曝露長期経過例では脳萎縮が強く現われると報告している。ここでは、剖検例から病理組織学的に水銀による障害が認められた群（障害群）と認められなかった群（非障害群）とで脳重量を比較検討した。その結果、障害群が非障害群に比べて脳重量が減少していることが認められ、武内・衛藤が指摘したメチル水銀曝露指標としての脳重量変化の重要性が確認された。さらに、広島、長崎の原爆被爆者から得られた脳重量を対照群として比較したところ、障害群の脳重量は広島、長崎より軽いことが明らかになった。また死亡時年齢（40歳以上）と脳重量との回帰直線における回帰係数の比較では、障害群と広島、長崎とに差が見られないことから、メチル水銀曝露により加齢に伴う脳重量の低下は促進されないものと考えられた。

これまで水銀汚染地域住民の死亡率および死因等に関する疫学調査研究として、法務局から閲覧許可を得た死亡届の転記作業を実施してきた。死亡届は死亡者本人の本籍地を管轄する法務局へ移送されるので、現住所が死亡調査対象地域内であっても本籍地が死亡調査対象地域外であれば死亡調査対象地域を管轄する法務局ではもはや死亡情報を入手することができない。したがって国勢調査人口を用いて死亡率を推定する場合、厚生省大臣官房統計情報部が保管している人口動態調査死亡票のような現住所で収集される死亡情報がより適当な解析資料となる。一方、本籍地が既知であれば特定集団（例えば原爆被爆者）の死因を調査するには死亡届による情報入手がより確実となろう。すなわち、水俣病認定患者を含めた八代海沿岸地域住民の死亡解析を実施するためには、人口動態調査死亡票と死亡届とを相互補完的に利用する必要がある。現状では人口動態調査死亡票をベースに死亡届を補完的に使用することができれば最も適切と考えており、プ

ライバシーの保護を前提とした調査研究体制の展開を図っている。

胎児並びに新生児の発育成長に及ぼすメチル水銀の影響に関する研究においては、胎児性水俣病の疫学研究と平行してラットの胎児並びに新生児期のメチル水銀中毒における量-反応関係の解明を進めている。また、ラット新生児にメチル水銀を投与して、脳の発達過程における中枢神経障害を中心に新生児期におけるメチル水銀による影響の特性を明らかにしつつある。

人間とその生態系における水銀等重金属の動態と相互作用に関する研究では、セレン等微量元素の分析法の改良と声帯試料の多元素分析による元素間相互作用の検討を行なっている。無炎原子吸光法によるセレンの測定法を検討し、血漿、血球、頭髮、肝臓及び腎臓等の臓器試料では直接法が可能となり、リン濃度の高い試料ではリン除去の為に溶媒抽出を行なうか、マトリックス標準液を調製することにより可能となった。また、動物実験では生体内におけるメチル水銀とセレンの相互作用解明の為に亜セレン酸ソーダの縦量投与の影響を検討している。

水圏における水銀の動態に関する研究では、環境中におけるメチル水銀の生物濃縮に至る機構およびその挙動を支配する環境要因を総合的に評価することを目的とし、種々の環境条件を設定できるモデル水圏を用い、放射化学的手法を駆使して環境中水銀の化学形変化、分布、生物濃縮等について予備的検討を加えている。水銀の生体および環境モニタリングに関する研究においては、今年度、これまでに確立された効率的かつ精度の高い化学形別分離分析法を水俣湾および鹿児島湾のベントスを中心に適用し、各種ベントスの組織別水銀分布を明らかにしてきたが、指標とすべき生物種と部位決定の基礎資料を得るには今後さらに種および試料数を増やしてデータを蓄積する必要がある。また、アマゾン河流域の水銀汚染研究においては、汚染の実態把握はもとより環境中での無機水銀からの有機水銀の変換とその生物濃縮、人体への移行経路等を総合的に評価することが重要であり、ブラジル・リオ・デ・ジャネイロ連邦大学との共同でアマゾン河の一支流であるタバジョス川を中心に現地調査とともにサンプリングを行ない、これまで当研究センターで確立してきた水銀分析手法を用いて分析を進めている。

赤木 洋勝

生後の各発達期別にメチル水銀を投与したラットの脳、肝臓及び腎臓への水銀の蓄積に関する比較並びに脳内部位における蓄積差について

坂本 峰至

胎児並びに新生児はメチル水銀に対しハイリスクグループの一つであると考えられている。また、この時期には成長につれて脳、肝臓及び腎臓で組織学的、生化学的に大きな変化がみられ、機能的にも未熟から成熟へ向けて急激に変化する。そこで、この時期におけるメチル水銀の代謝及びその影響も成熟期にみられるものとは異なっていることが考えられる。そこで本研究では、中毒量以下のメチル水銀をラットの生後の各発達期に投与して、脳、肝、腎及び脳内部位へのメチル水銀の蓄積量を比較した。先に、メチル水銀を等モルのシステインとコンデンスミルクを加えるという方法により新生児ラットへも非傷害的にメチル水銀を大量投与することが可能となり、幼若期ラット成熟期ラットに比べはるかに重篤な中毒症状を呈することを発表した。今回は、生後1 (PD-1)、14 (PD-14) および35日齢 (PD-35) の各1群5匹のウイスター系雄ラットに中

毒量以下の、体重1 kg当たり1 mgのメチル水銀を10日間連続経口投与し、最後の投与24時間後の組織中の水銀濃度を測定した。脳及び肝中の水銀濃度はPD-14のラットで最も高く、腎臓中の水銀濃度は成長に伴い顕著に増加していた。末梢臓器間及び脳の部位間の水銀の取り込みの差は幼弱期ほど小さく、臓器の機能的な未熟期から成熟へ向けての変化が水銀の末梢臓器間及び脳の部位間の取り込み差を顕著にしているものと考えられた。ここで、新生児期ラットは成熟期ラットに比べ相対的に末梢臓器より脳への水銀の蓄積性が高く、この時期は脳が特に標的臓器となるのではないかと考えられる。また、成長に伴い、脳における水銀濃度の部位差は顕著になり、PD-14のラットでは大脳皮質+海馬において最も高く、中脳-延髄で最も低い値であった。PD-35のラットでは小脳において最も高く、中脳-延髄で最も低い値であった。脳と脊髄の水銀濃度差もPD-1よりPD-14及び35のラットで顕著になった。脳の部位別の水銀の取り込みの差が成熟したラットほど顕著になることから、水俣病における脳の病変が胎児に比べて成人の場合の方が特定の部位が障害されることと関連があるのではないかと考えられた。

金採掘活動に起因するメチル水銀汚染に関する疫学調査方法論

金城 芳秀

1960年代頃より、ブラジル・アマゾン河流域では川床やジャングルの堆積土中の砂金を抽出するために金属水銀が使用されてきた。残念ながら金属水銀の一部が河川へ流失され、金と水銀の合金（アマルガム）の精錬により生じた水銀蒸気が大気中に放出されていたのである。1992年にブラジルで開催された地球サミットの折、アマゾン河流域の水銀汚染問題が国際的に表面化した。この段階ではアマルガムの精錬作業中に水銀蒸気を吸入し、無機水銀中毒症状を呈した例が報告されている。

1993年、われわれはリオデジャネイロ大学との国際共同研究の一環としてアマゾン河の一支流であるタパジォス川流域にて疫学調査を実施した（日本側調査員は赤木洋勝、滝澤行雄（秋田大）、鹿島勇治（横浜市立大）、金城芳秀）。その時入手した流域住民の毛髪や魚介類中のメチル水銀レベルは金採掘に端を発するメチル水銀汚染の存在を裏付けるものであった。

ここでは金採掘活動に起因するメチル水銀汚染に対して実施すべき疫学調査を提示する。第一段階として、(a)曝露調査、(b)患者調査をまず行うべきである。曝露調査はメチル水銀汚染の地理的・時間的広がりを明らかにする上で最も重要である。患者調査では水銀汚染が疑わしい地域の病院カルテを調査して水銀中毒が疑われる患者を発見する。第二段階は第一段階の調査結果からメチル水銀による健康影響が強く危惧された地域に対して次の3調査を行うべきである。すなわち、(c)環境内メチル化に関する調査、これは環境中での無機水銀からメチル水銀への変換に関して、メチル水銀の生成、分布を支配する環境要因を決定するために必要である。(d)環境・生物学的モニタリングに関する調査、これは水銀による環境汚染に対するモニタリングシステムの確立を目的としている。(e)水銀中毒例の発生率に関する調査、メチル水銀の及ぼす生体影響に関する健康調査を通してメチル水銀中毒における用量-反応関係を明らかにする。なお、事前に予備調査結果などから水銀汚染が想定できる場合には、(a)と(c)を同時に実施することが望ましい。

以上の疫学調査における水銀の汚染指標は毛髪、血液、尿などの生体試料、河川水、底質、魚

介類等の環境試料とに大別できる。アマゾン河流域のように水銀蒸気による無機水銀曝露と魚介類由来のメチル水銀曝露とが同時に起り得る場合には、各種の汚染指標における水銀の化学形別定量が不可欠となる。これには当研究センターで開発された各種試料中メチル水銀の分離分析法が適用できる。

本調査論の概要は国際シンポジウム（熊本）において発表した。さらに来年度開催予定の国際シンポジウム（リオ・デ・ジャネイロ）においても調査方法論の一致を目指して討論される予定である。

アマゾン地域における水銀蓄積のシュミレーション

渡辺 正夫

アマゾン流域において、人が魚を食した場合に、どの程度体内に水銀が蓄積するかを、計算機によってシュミレーションを行ってみた。

アマゾン流域では、雨期と乾期が交互にやってくる。雨期には、川が氾濫して漁をすることができないため、人々の魚食量は少ないのに対し、乾期には、そのようなことがないため、定常的に魚を食べる。

アマゾン一帯では、よく知られているように、金の採掘が行われ、その際、土砂の中から、金を分離する時に、水銀が使われる。水銀は、バーナーで熱せられ、空中に飛散し、雨と共に地上に落ち、一部は川の中に流れる。水銀は魚の体内に蓄積する。この魚を人が食することによって人の体内の水銀値は徐々に上昇する。人の代謝機構の中にあっては、水銀は一定の割合で排出される。このため定量的に摂取しても、体内での濃度は、ある値にまで達すると、そこにとどまる。雨期、乾期が交互におとずれる地域にあっては、摂取する魚の量は、その季節によって変動するので、体内に蓄積する水銀の量も変動する。

そこで、計算機によって、水銀の蓄積量のシュミレーションを行い、そのピークの値が、一定量を食べ続けた場合のピーク値に対して、どの程度の割合になるかを調べてみた。

水銀の体内残量の半減期は70日、雨期、乾期は180日と仮定し計算すると、経過日数540日で、体内の水銀蓄積量は、連続的に蓄積した場合の93%に達し、1/10の魚食量では、蓄積量は87%、雨期の魚食がない場合でも85%に達することが示された。

水圏における水銀の動態に関する研究

赤木 洋勝 西村 肇 山元 恵

本研究は環境中における水銀の化学変換および分布を定量的に評価しうる放射化学的手法による無機および有機水銀分別分析法を確立し、放射性水銀を含むモデル水圏を用いて種々の環境条件下での水銀の挙動を定量的かつ総合的に評価することにより、生物濃縮に係わる有機水銀の生成および分布に及ぼす環境要因を明らかにしようとするものである。

無機および有機水銀の分別分析の手段としては、これまでの環境試料中水銀の分析化学的研究で得られた手法、とくに各種試料の前処理法を基礎として放射性トレーサーと薄層クロマトグラフィー法を組み合わせた放射化学的手法の適用が簡便性、迅速性等の点からも最も有効であると考えられる。

今年度は前年度に引き続き、この放射化学的手法を確立するため、生物-水-底質系のすべての試料を対象に試料からの無機および有機水銀抽出分離の最適条件設定のための詳細な検討を行った。この放射化学的手法による無機・有機水銀の定量的解析のためには薄層クロマトグラフィー分離に先立って試料中に含まれる放射性水銀がほぼ完全に抽出分離されることが極めて重要であり、この点にとくに重点を置いて検討を加えた。底質および生物試料については、これまでの生物・環境試料中水銀の分析化学的研究の成果に基づき、試料の1N KOH-EtOH 処理-酸性化-ジチゾン抽出-妨害物質除去を基本とし、試料量、各ステップの試液量、濃度、混和する試液の量的比率、処理時間等について検討し最適条件を求めた。その結果、底質については湿重量として1.5 g以下を20ml 容バイアルにとり、1N KOH-EtOH 8ml を加えて10分間振とう攪拌後3N-HCL 5ml を加えて0.1%ジチゾン-ベンゼン（またはトルエン）5 ml で振とう抽出することにより、底質中の無機水銀、メチル水銀ともにほぼ100%抽出されることが認められた。魚については1-2 gの金魚を用いて、微量の放射性無機水銀およびメチル水銀を含む河川水中で飼育後、同様な検討を行ったところ、1N KOH-EtOH 処理時間を長く（1.5hr）以上することと酸性化のために加えるHCl濃度を2N HClとするほかは底質の場合と全く同様の条件で魚体内の無機水銀および有機水銀がほぼ完全に抽出されることが確認された。一方、水試料からの抽出条件については、試料量100mlとし、5N HCl 2ml および0.5%KMnO₄ 1-2滴加えて混和し、5分間放置後0.1%ジチゾン-ベンゼン5 ml で抽出する条件下に、水試料中の水銀がほぼ完全に有機相に移行することが認められた。

抽出後の有機物中には脂質等の有機物のほか過剰のジチゾンが含まれており、これをそのまま薄層に塗布することはできない。本法では生物および底質サンプルからの抽出物はパスツールピペットに0.5gのフロリジルおよび0.5g無水硫酸ナトリウムを順次充てんしたカラムを通過させたのち、アンモニア水（1→10）を加えて振り混ぜ、過剰のジチゾンを除去することにより、この問題を解決することができた。ただし、水からの抽出物はとくにフロリジルクラムを通す必要はなく、単にアルカリ洗浄のみで充分である。

現在、種々の底質を用い生物-水-底質系の水圏モデルを作成し、底質中の無機水銀からのメチル水銀生成およびその系内分布等について検討を進めている。

水銀の環境モニタリングに関する研究

赤木 洋勝 富安 卓滋 作藤 正典
安藤 哲夫 原口 浩一

本研究では、前年度までに進めてきた水銀の生体および環境モニタリング方式に関する研究で得られた一連の総水銀およびメチル水銀分析法を水俣湾および鹿児島湾の両海域からの各種環境試料に適用し、各試料中の無機・有機水銀レベルを定期的に計測することにより、水銀の化学形別分布、各試料間相互の濃度関係、さらには水銀の環境中での濃度を支配する要因等を明らかに

することをねらいとしている。今年度は初夏に2回水俣湾および周辺海域の海水サンプリングを実施したが、いずれも同海域のレベルを上まわり、参考値程度のデータを得るに止まった。かなりの時間をかけてその原因を究明したところ、それまで比較的高濃度の水銀を含むアマゾンのサンプルを数多く分析してきた結果、試薬、器具、試液調製用の純水までも二次汚染を受けていることがわかった。その後も新たに調製した試薬を用い、可能な限り水銀の汚染を除いた器具類を使用して分析を試みたが、2-4 ℓから8000-10,000倍に濃縮して測定する水試料中のメチル水銀の分析は今のところ完全には成功していない。水試料のようなng/ℓレベル以下の測定は水銀汚染のない別棟で行うよりほかないのかも知れない。そこで、水試料の分析は断念し、ベントスについて環境モニタリングに関する予備的検討を行った。ムラサキイガイ（水俣湾明神崎）、マガキ（鹿児島湾重富海岸）およびイトマキヒトデ（鹿児島県長島町鹿大水産実験所前）の3種のベントスについて分析中である。これまでのところ、ムラサキイガイの筋肉部の総水銀濃度は37.1-58.5ppb（平均46.1ppb）で、試料中水銀の83.6-97.6%（平均90.3%）はメチル水銀であることが判明した。マガキについて組織の部位別の水銀分布を調べた結果、貝柱、中腸線、外套膜および鰓の総水銀値はそれぞれ15-48.3、6.7-46.0、10.4-43および24-66.7ppbで組織間の差はとくに見られなかったが、各組織中メチル水銀の割合は貝柱で平均74.2%、中腸線42.3%、外套膜37.1%、鰓18.9%で、貝柱では大半がメチル水銀であるのに対し、鰓ではわずか20%以下であった。またイトマキヒトデについても生殖巣と肝盲嚢に分割し、総水銀値およびメチル水銀値を求めた。総水銀値は生殖巣で平均50.2（41.3-69.8）ppb、肝盲嚢124.3（93.8-160.7）ppbで、組織内に差異がみられたが、総水銀に対するメチル水銀の割合は前者が平均40.5%、後者が44.9%であり、大きな差は見られなかった。指標とすべき生物種と部位決定の基礎試料を得るためには、今後さらに生物種および試料数を増やし、同様な無機・有機水銀の分別分析データを蓄積していく必要がある。

アマゾン河流域における水銀汚染に関する研究

赤木 洋勝	金城 芳秀	坂本 峰至	中野 篤浩
安藤 哲夫	佐藤 正典	富安 卓滋	原口 浩一
滝沢 行雄	土井 陸雄	鹿島 勇治	佐藤 洋

アマゾン河流域の水銀汚染は、金採掘に伴う金属水銀の環境への放出によるものであり、2000ヶ所を越える金採掘現場からこれまで放出された水銀量は1,800-2,000トンともいわれ、現場で活動する人々に対する直接的な被害はもとより、流域に沿って生活する地域住民への健康被害も懸念されている。

アマゾン河流域における水銀汚染の実態とその汚染機構を解明するため、今年度から3年間にわたる、環境庁地球環境推進費による調査研究に着手した。今年度は古くから活発に金採掘が行われているタバジョス川流域を選定し、これまで入手した現地の金採掘関係者及び住民の毛髪並びに、魚類サンプル中に含まれる水銀について予備的調査を実施するとともに、平成5年9月下旬に同流域上流のアルタフローレスタ、ジャカレアカンガ等の集落を中心に現地調査を行った。予備調査のため現地から入手した試料は主として毛髪および魚類である。

金属水銀に曝されていると考えられる金採掘者および金ブローカーに高いものでは100ppmを

越える総水銀値を示したが、いずれもメチル水銀値は極端に低く(0.3-4ppm)、大部分の水銀は外部からの無機水銀汚染によることが判明した。一方、金採掘現場から離れた漁村の住民の毛髪中水銀を分析した結果、金採掘現場に近い漁村ほど高値を示し、総数136検体のうち最小発症閾値とされる50ppmを越えるものが数検体あった。これらの漁村での毛髪中水銀はいずれも大部分メチル水銀の形で存在するという注目すべき結果が得られた。主要な金採掘現場から約350km離れたポンタ・デ・ペドラス村の住民においても6.2-12.6ppmの値を示し、流域全体にわたる広範囲なメチル水銀による汚染が伺われる。また、過去からの現在に至るメチル水銀曝露状況を評価するため、毛髪おのサンプルを毛根部から1.5cm間隔で分割し、その水銀分布を調べた結果、季節によると思われる変動がみられたが、毛髪の成長速度を1cm/月と仮定すると、タバジヨス川流域のメチル水銀汚染は少なくとも1988年以前から続いており、年毎に幾分上昇する傾向がみられた。

これらの漁村におけるメチル水銀の人体への移行経路は魚食によるものと考えられ、事実タバジヨス川流域で採取された24検体の魚肉中水銀を分析した結果、魚種による差はあるが、上流のテレスピレス川で0.3-3.8ppmと高く、下流のサンタレン近くでは0.1-0.4ppmの低値を示し、魚肉中水銀は平均91.5%がメチル水銀の形態で存在することがわかった。メチル水銀の魚から人体への移行を明らかにするには食習慣、魚食量等を加味した今後の疫学調査の結果を待たなければならない。

人間とその生態系における水銀等重金属の動態と相互作用に関する研究

—ラットにおけるメチル水銀とセレンの相互作用—

中野 篤浩 坂本 峰至 金城 芳秀
赤木 洋勝

人体内では水銀化合物に対して、セレン化合物の代謝物が最も強い反応性を持つものと考えられている。メチル水銀と亜セレン酸ソーダを実験動物に同時に投与することにより、体重減少の抑制、寿命の延長等の効果のあることが多数報告されている。しかしながら、その作用機序は今だに明らかにされていない。セレン化合物は単独投与では殆どのものが強い毒性を示すが、メチル水銀との同時投与では両者の毒性が相互に軽減される。そこで、メチル水銀と同時に投与するセレン化合物の大量投与の可能性を検討した。これまでに行なわれた動物実験における亜セレン酸ソーダの同時連続投与では、0.5mg/kg-b.w.ずつの投与量が最大であった。今年度の実験では、メチル水銀の水銀として5mg/kg-b.w.の投与に対して、亜セレン酸ソーダのセレンとして2.0mg/kg-b.w.の連続12日間の同時投与でも、体重変化や食欲は0.5mg/kg-b.w.の連続投与の場合と殆ど差がなく耐えることがわかった。このセレンとして0.2mg/kg-b.w.の連続投与により、脳中水銀濃度は水銀として5mg/kg-b.w.の12日間の投与(総量60mg)直後で、水銀単独投与の約2倍の濃度、40ppmに達していた。このセレンの作用による脳中水銀濃度上昇の機序と影響を次年度検討する。また、セレンアミノ酸としてセレンメチオニンを用いて、ラットにおけるメチル水銀との同時投与におけるセレンアミノ酸の大量投与の可能性を検討した。一回同時投与において、メチル水銀の水銀として5mg/kg-b.w.に対してセレンとして20mg/kg-b.w.までの増量が可能であった。

3. 研究発表一覧

1. 臨床部

(1) 学術研究会による発表

- (1) Nakamura, A., Fujiyama, F., Yasutake, A., Wakamiya, J., Umehara, F., Izumo, S. and Osame, M. "Apoptosis, a possible mechanism for neuronal death in methylmercury intoxication."

Annual Joint workshop by the Minamata Disease Research Group and National Institute for Minamata Disease (Current topics in mercury research)
October 1993, (Kumamoto)

- (2) Fujiyama, J., Hirayama, K., and Yasutake, A.

"Secretion mechanism of methylmercury from rat astrocytes"

9th Annual Joint workshop by the Minamata Disease Research Group and National Institute for Minamata Disease (Current topics in mercury research)
October 1993, (Kumamoto)

- (3) Fujiyama, J., Yasutake, A., Nakamura, A., Wakamiya, J., "The efflux mechanism of methylmercury from cultured astroglia."

XVth World Congress of Neurology.
September 1993, (Vancouver, Canada)

- (4) 中村昭範, 若宮純司, 藤山二郎, 梅原藤雄, 出雲周二

「メチル水銀中毒における選択的神経細胞死のプロセスの検討」
第35回日本神経学会総会 平成6年5月(福岡)

- (5) 藤原美定, 中村昭範

「ヒト老化細胞の増殖抑制の分子要因の検討」
第52回日本癌学会総会 平成5年10月(仙台)

- (6) 宮本謙一郎, 西村要子

「A町におけるHTLV-I抗体陽性率の検討」
第42回日本臨床衛生検査学会 平成5年5月(札幌)

(2) 講演による発表

- (1) 中村昭範, 安武 章, 若宮純司, 藤山二郎, 梅原藤雄, 出雲周二, 納 光弘

「メチル水銀中毒による選択的神経細胞死とアポトーシス」
第7回鹿児島ブレインサイエンスカンファランス 平成5年10月(鹿児島)

(3) 学術刊行物による発表

- (1) Nakamura, A., Fujiyama, F., Yasutake, A., Wakamiya, J., Umehara, F., Izumo, S. and Osame, M. "Apoptosis, a possible mechanism for neuronal death in methylmercury intoxication." In : Proceedings of the International Symposium on "Assessment of Environmental Pollution and Health Effects from Methylmercury" pp 210-221, World Health Organization, National Institute for Minamata Disease, 1993
- (2) Fujiyama, J., Hirayama, K., and Yasutake, A.
"Secretion mechanism of methylmercury from rat astrocytes"
Proceedings of the International Symposium on "Assessment of Environmental Pollution and Health Effects from Methylmercury" 1993, WHO/National Institute for Minamata Disease, 222-231, 1994.
- (3) 東郷清児, 中村昭範, 宇辰保彦, 野元正弘, 栗山 勝, 納 光弘
「家族性高コレステロール血症に伴う多発関節痛についての検討」
動脈硬化 20 : 949-954, 1992
- (4) 久保田龍二, 中川正法, 中村昭範, 納 光弘
「HAMに対する lymphocytopheresis の治療効果」
臨床神経 32 : 984-988, 1992

2. 基礎研究部

(1) 学術研究会による発表

- (1) 内藤 充, 田島淳史, 保田叔昭, 桑名 貴
「ニワトリ生殖系列キメラにおける生殖細胞の効率的置き換え」
日本家禽学会春期大会 平成6年3月(神奈川)
- (2) 呉 光, 平山紀美子, 安武 章
「赤血球によるメチル水銀取り込みの速度論的研究」
第19回環境トキシコロジーシンポジウム 平成5年11月(広島)
- (3) 藤山二郎, 平山紀美子, 安武 章
「ラットアストロサイトにおけるメチル水銀の排出機構」
第19回環境トキシコロジーシンポジウム 平成5年11月(広島)
- (4) 平山紀美子, 安武 章, 須田郁夫
「メチル水銀の生体内無機化における活性酵素の関与」
第19回環境トキシコロジーシンポジウム 平成5年11月(広島)
- (5) 中村邦彦, 山元 恵, 小祝 修, 古川謙介
水俣湾の特殊な有機水銀分解細菌の水銀分解遺伝子に関する研究(2)
環境科学会1993年会 平成4年12月(つくば)
- (6) 中村邦彦
水俣湾の水銀分解細菌
水俣病に関する総合研究班・国立水俣病研究センター第9回合同ワークショップ
平成5年10月(熊本)
- (7) 足立達美, 安武 章, 平山紀美子
「低タンパク食飼育によるメチル水銀動態変化のメカニズム～含硫アミノ酸の重要性～」
第10回記念日本薬学会九州支部大会 平成5年11月(福岡)

(2) 学術刊行物による発表

(1) Kuwana, T.

“Migration of avian primordial germ cells toward the gonadal anlage”
Develop. Growth&Differ., 35(3) : 237-243, 1993.

(2) Tajima, T., Naito, M., Yasuda, Y., and Kuwana, T.

“Production of germ line chimera by transfer of primordialgerm cells in the domestic chicken (Gallus domestics)”
Theriogenology, 40 : 509-519, 1993.

(3) Nakamura, K.

“Mercury compounds-decomposing bacteria in Minamata Bay.”
Proceeding of the international symposium on “Assessment of Environmental Pollution and Health Effects from Methylmercury” 198-209, 1994.

(4) 平山紀美子, 安武 章

「有機水銀」

Toxicology Today—中毒学から生体防御の科学へ— 佐藤 洋 編著
(金芳堂) 87-91, 1994.

3. 疫 学 研 究 部

(1) 学術研究会による発表

- (1) Akagi, H., Malm, O., Kinjo, Y., Harada, M., Branches, F., Pfeiffer, W.C. and Kato, H.

“Methylmercury Pollution in Amazon, Brazil” .

International Symposium on Assessment of Environmental Pollution and Health Effects from Methylmercury, October 1993 (Kumamoto)

- (2) Branches, F., Harada, M., Akagi, H., Malm, O., Kato, H., and Pfeiffer, W.C.
Human mercury contamination as a consequence of goldmining activity in the Tapajos river basin, Amazon, Brazil

International Symposium on “Assessment of Environmental Pollution and Health Effects from Methylmercury”, October, 1993 (Kumamoto)

- (3) Futatsuka, M., Kitano, T., Wakamiya, J., Kinjo, Y., Kato, H. and Takizawa, Y.

“Recent finding in the epidemiological studies on Minamata Disease”.

International Symposium on Assessment of Environmental Pollution and Health Effects from Methylmercury, October 1993 (Kumamoto)

- (4) Kinjo, Y., Akagi, H. and Kato, H.

“Methods for Epidemiological Survey on Environmental Pollution by Methylmercury Originating from Gold Mining Activities”.

International Symposium on Assessment of Environmental Pollution and Health Effects from Methylmercury, October 1993 (Kumamoto)

- (5) Moriyama, H., Futatsuka, M. and Kinjo, Y.

“Fetal Minamata Disease-a review”.

International Symposium on Assessment of Environmental Pollution and Health Effects from Methylmercury, October 1993 (Kumamoto)

- (6) Mitsumori, F., Nakano, A.

“³¹P NMR study on the energy metabolism in a rat brain intoxicated with methylmercury”

X V International conference on magnetic resonance in biological systems, August 1993 (Jerusalem, Israel).

- (7) 東 博文, 清水利之, 坂本峰至
地域住民にたいする行政区別健康教育資料の開発
第58回日本民族衛生学会総会 平成5年11月(東京)
- (8) 生田房弘, 坂本峰至
メチル水銀の選択的細胞毒性に関する研究-In vivo マイクロダイアライシス法を用いて確認されたメチル水銀による小脳神経細胞外間隙中のアミノ酸レベルの変動
水俣病に関する総合的研究班会議、平成6年3月(新潟)
- (9) 生田房弘, 坂本峰至
メチル水銀の選択的細胞毒性に関する研究-ラットの生後の各発達期別における脳肝、腎へのメチル水銀蓄積値の比較、並びに脳内部位による蓄積差について-
水俣病に関する総合的研究班会議、平成6年3月(新潟)
- (10) 安藤哲夫, 赤木洋勝
鹿児島湾海水中の水銀
日本衛生学会 平成5年4月(東京)
- (11) 秋葉澄伯, 二塚 信, 金城芳秀
「八代海沿岸水俣病患者における悪性腫瘍発生率についての研究」
水俣病に関する総合的研究班会議 平成6年3月(新潟)
- (12) 金城芳秀, 衛藤光明, 武内忠男, 加藤寛夫
「慢性経過した水俣病剖検例の脳重量」
第52回日本公衆衛生学会総会 平成5年10月(北九州)
- (13) 金城芳秀, 赤木洋勝
「ブラジル・アマゾン川流域の水銀汚染」
第58回日本民族衛生学会総会 平成5年11月(東京)

(2) 講演による発表

- (1) 金城芳秀(国際協力事業団専門家)
「水銀中毒における用量-反応関係」
「水俣病認定患者の疫学的特性」
「ブラジル・アマゾン川流域の水銀汚染-その現状と疫学調査方法論」
海洋生態システムの分析と研究(ブラジル・ペルナンブコ州環境汚染コントロール・水資源管理公社) 平成6年2月(ブラジル)

(3) 学術刊行物による発表

- (1) Suzuki, T., Hongo, T., Yoshinaga, J., Imai, H., Nakazawa, M., Matsuo, N., and Akagi, H.
The hair-organ relationship in mercury concentration in contemporary Japanese
Archives of Environmental Health, 48 : 221-229, 1993.
- (2) Branches, F., Harada, M., Akagi, H., Malm, O., Kato, H., and Pfeiffer, W.C.
Human mercury contamination as a consequence of goldmining activity in the Tapajos
river basin, Amazon, Brazil
Proceedings of the International Symposium on "Assessment of Environmental Pollution
and Health Effects from Methylmercury" : 19-32, 1993.
- (3) Akagi, H., Malm, O., Kinjo, Y., Harada, M., Branches, F., Pfeiffer, W.C., and
Kato, H.
Methylmercury pollution in Amazon, Brazil
Proceedings of the International Symposium on "Assessment of Environmental Pollution
and Health Effects from Methylmercury" : 41-48, 1993.
- (4) Kinjo, Y., Akagi, H., and Kato, H.
Methods for epidemiological survey on environmental pollution by methylmercury origi-
nating from goldmining activities
Proceedings of the International Symposium on "Assessment of Environmental Pollution
and Health Effects from Methylmercury" : 57-63, 1993.
- (5) Futatsuka, M., Kitano, T., Wakamiya, J., Kinjo, Y., Kato, H. and Takizawa, Y.
"Recent finding in the epidemiological studies on Minamata Disease".
Proceedings of the international symposium on Assessment of Environmental Pollution
and Health Effects from Methylmercury : 1 -18, 1993.
- (6) Moriyama, H., Futatsuka, M. and Kinjo, Y.
"Fetal Minamata Disease-a review".
Proceedings of the international symposium on Assessment of Environmental Pollution
and Health Effects from Methylmercury : 64-72, 1993.
- (7) Kinjo, Y., Higashi, H., Nakano, A., Sakamoto, M. and Sakai, R.
"Profile of subjective complaints and activities of daily living among current patients
with Minamata Disease after 3 decades".
Environmental Research 63 : 241-251, 1993.

- (8) Mitsumori, F., Nakano, A.
“Proton magnetic resonance imaging and phosphorus-31 NMR studies on the rat brain intoxicated with methylmercury”
Environmental Research, 62 : 81-88, 1993.
- (9) Iwata, K., Saito, H., Moriyama, M., Nakano, A.
“Renal tubular function after reduction of environmental cadmium exposure : A ten-year follow-up”
Archives of Environmental Health, 48 : 157-163, 1993.
- (10) 坂本峰至, 中野篤浩, 赤木洋勝, 北野隆雄, 二塚 信
赤血球中水銀濃度における性、年齢差に関する研究
日本衛生学雑誌, 48(5), 911-919, (1993)
- (11) 金城芳秀
「水俣病の発症閾値」
医学のあゆみ, 168 12 : 1078-1079, 1993.
- (12) 金城芳秀, 衛藤光明, 武内忠男, 加藤寛夫
「長期経過した水俣病剖検例の脳重量」
熊本医学会雑誌, 68(1) : 7 - 15, 1994.
- (13) 三森文行, 中野篤浩, 鈴木継美
「核磁気共鳴法による脳のエネルギー代謝機能評価法の研究—メチル水銀中毒脳を例として—」
Intervision, 8 : 51-52, 1993.

4. 所内セミナー記録

(1) 微生物による水銀変換反応機構とその意義

摂南大学・薬学部 芳生 秀光

水銀化合物の変換反応は微生物のごく一般的な性質として認められている。微生物による水銀化合物の還元的分解反応は最終生成物として揮発性で、反応性に乏しい金属水銀を生ずることから、その微生物にとって確かに一つの解毒反応と理解することができる。しかし、無機水銀より毒性が高いと考えられるメチル水銀を生ずる反応が、微生物にとってどういう意味を持つかについては不明である。また、これを追究した研究も極めて少なかった。今回、*Clostridium cochlearium* T-2による水銀化合物の変換反応(脱メチル化とメチル化)機構ならびにこれらの変換反応の意味について、演者らがこれまで行ってきた研究を中心に紹介する。

プラスミドを保有する本菌株(T-2 P)はそのプラスミドで支配されていた有機水銀分解活性および硫化水素産生活性を有するために、有機水銀と無機水銀に対して共に強い耐性を示す。この菌株からプラスミドを除去して得られた菌株(T-2 C)はメチル水銀および無機水銀に対する耐性が顕著に低下した。また、このプラスミドを失ったT-2 C株は明らかにメチル水銀生成活性を有することが確認された。このように一菌株がプラスミドを保有するか、あるいはこれを欠失するかによって水銀化合物の変換反応において全く相反する二つの方向の変換活性を発現し得るということは、環境中での水銀化合物の存在状態のバランスにおける微生物の関与を考える上で興味深い知見である。

次に、このT-2 C株を変異誘発剤で処理することにより得られたビタミンB₁₂要求株は、メチルビタミンB₁₂依存性と考えられるメチル水銀生成活性を失ったことにより、無機水銀に対してさらに強い感受性を示すようになる。このように微生物の示す水銀化合物変換反応はそれぞれの菌株の水銀耐性において重要な役割を果たしていること、また、微生物による無機水銀のメチル化反応がその微生物にとって強力な毒性物質である無機水銀の解毒機構の一つであることが明らかとなった。今後、これらの変換活性の利用法(環境中の水銀浄化への利用)について検討を加える予定である。

(2) プラナリア再生の分子生物学

姫路工業大学理学部 渡辺 憲二

プラナリアは再生能力が強く、また系統発生上、多細胞動物の起源的な位置を占めている。プラナリアの形態、発生、再生を概説し、形態形成における位置情報と再生を担当する細胞(新生細胞)について述べた。プラナリアは外見上、眼と咽頭に特徴がみられるだけであるが、ほとんどすべてのヒトの器官に対応する組織を単純な形で備えている。またプラナリアの遺伝子はヒトのものと同質性が高いのである。プラナリアの基本構造は他の動物と同じく、ホメオボックス遺伝子などによって規定され、発生、再生はホメオボックス遺伝子の指定する位置情報の言葉で語られる。プラナリアの生理的な修復や再生は新生細胞によって担われ、プラナリアの成長は新生

細胞から分化した細胞が旧組織に挿入する形で進行する。形態形成の具体例として、眼の組織形成、再生を詳しく紹介した。プラナリアを再生生物学のモデル動物とするために、いくつかの近代的な手法の導入を試みている。

(3) グルタミン酸と脳虚血性遅発神経細胞死

愛媛大学医学部第一生理 三谷 章

虚血時細胞外に流出する高濃度グルタミン酸とそれに呼応して濃度上昇する細胞内カルシウムイオンは虚血性遅発神経細胞死の発生過程において重要な役割を担う2大因子として広く支持されている。この2大因子のうち虚血性細胞外グルタミン酸流出は虚血脳領域において領域非選択的に発生し、これは主として虚血時のエネルギー枯渇による代謝プールからの漏洩的流出と考えられる。短時間の脳虚血の場合には、神経細胞由来のグルタミン酸の流出がまず発生し、虚血時間が延長すると、これにグリア細胞由来のグルタミン酸流出が加わってくる。次いで、虚血中の細胞外高濃度グルタミン酸に応答して脳内において領域特異的に存在するグルタミン酸受容体が活性化され、細胞内カルシウムイオン濃度が上昇する。この高濃度細胞内カルシウムイオンは、海馬では虚血に対して特に脆弱なCA1領域において領域特異的に観察され、これはグルタミン酸作動性及び電位依存性カルシウムイオンチャンネルを介した細胞外から流入成分と、細胞内小胞体からの Ca^{2+} -induced Ca^{2+} releaseと IP_3 -induced Ca^{2+} releaseによる放出成分とから成る。濃度上昇したカルシウムイオンが細胞内においてセカンドメッセンジャーとして働き、 Ca^{2+} 依存性の酵素等が過剰に活性化され、細胞は自己消化するものと考えられる。しかしながら、これら2つの因子が発現するのは虚血時に限られ、数日後発生する虚血性遅発神経細胞死との間を結ぶ因子が必要となる。現在、一過性脳虚血後に機能を回復した神経細胞において発生しているグルタミン酸受容体の持続的活性化がその候補の一つとして考えられる。今後は、一過性脳虚血により死がプログラムされた神経細胞において発生する細胞膜上あるいは細胞内の機能変化が重要な研究課題となるものと考えられる。

(4) 環境因子の変動に対する生体応答 —メタロチオネインを中心として—

長崎大学薬学部 有蘭 幸司

メタロチオネイン (MT) はカドミウムなどの有害金属の解毒、生体必須金属の亜鉛や銅などの恒常性維持の他、金属の生体内移送や活性酸素のスキャベンジ効果等、様々な機能を有する生体多機能蛋白質として注目されている。これまで我々のグループはMTの誘導機構の解明を目的に、重金属を含む各種化学物質など外的環境因子や生体内情報伝達系に関与するcAMP、発癌プロモーターホルボールエステル (TPA)、Ca さらに心理的ストレスなど内的因子によるMTの誘導について検討してきた。また、MT mRNAの誘導についても一部初代培養肝細胞や各種培養細胞系を用い検討しているので紹介したい。

また、各種環境汚染物質は、タイやニシキゴイなど魚類において、MTや薬物代謝酵素系の本

体とされるチトクロム P450などを変動させることを報告してきた。今回、ラットチトクロム P-4501A2に相同性をもつタイ肝 P-450cDNA をクローニングし、環境汚染物質による魚類への影響を遺伝子レベルで解析することを試みているので併せて紹介したい。

(5) 遺伝子治療の現状と将来の展望

鹿児島大学医学部臨床検査医学講座 北島 勲

米国では、1980年のサラセミアに対する遺伝子治療の失敗を基礎に、多くのステップを経て1990年代に入り急速に遺伝子治療が行なわれるようになってきた。その困難だった遺伝子治療法開発、臨床応用への具体例をアデノシンデアミナーゼ欠損症 (ADA) を実例に紹介した。

次に、演者が広義の遺伝子治療法として注目されているアンチセンスオリゴヌクレオチドを用いた。アンチセンス法を米国スクリプス研究所で行った実例をもとに紹介した。

成人T細胞白血病の原因ウィルスである HTLV-I の tax 遺伝子は NF-KB を介して IL-6、IL-2、GM-CSF など多くの細胞増殖因子発現を活性化させることが知られている。演者らは、米国スクリプス研究所にて HTLV-I tax トランスジェニックマウスに発症する fibroma を用いて、アンチセンス法を利用した癌治療の開発にとり組んだ。まず tax に対するアンチセンスオリゴを合成し、この腫瘍から樹立した腫瘍細胞株に投与した。tax 蛋白はセンス tax に比し80%減少したが腫瘍細胞の増殖に変化を与えなかった。次に NF-KB に対するアンチセンスオリゴを合成し本細胞株に投与したところ、NF-KB が80%減少し、さらに腫瘍細胞の増殖が70%抑制された。そこで、本アンチセンスが in vivo でも有効か検討した。腫瘍細胞をマウスに移植し、マウス腹腔内に NF-KB アンチセンスオリゴを40 μ g/g 3回投与した。その結果、コントロール群に比しアンチセンス投与群は投与8日目に1/6、15日目に1/20まで減少することを認めた。この効果は、組織学的にも炎症細胞の集積と腫瘍細胞の壊死と一部アポトーシスを思わせる所見が認められた。

以上の結果は、アンチセンス療法が将来、新しい遺伝子発現抑制による遺伝子治療法として臨床的にも利用できる可能性を示している。

(6) 国立水俣病研究センターにおける研究のあゆみ

前国立水俣病研究センター所長 黒子 武道

私は昭和55年10月より平成元年6月末に至る約9年間、所長とし在職し、創設期のセンターの管理と運営にあたった。

退職の前年、63年10月にセンターの創立十周年記念式典を挙行し、記念誌を刊行して、センターの開設から10年間の歩みを総括し、その将来を展望した。センターの設立の趣旨、設立に至る経緯については、あらためて述べる必要はあるまい。センターの開設と運営が、設立準備懇談会と設立準備検討会の最終報告、いわゆる「基本構想」によったものであることも周知のことである。しかし、センターの設立当初、最大の課題は研究者の確保であり、研究業務の停滞という深刻な

事態を招いた。ある程度、予測をされたことであろうが、研究者に明確なヴィジョンと将来展望を示しえなかったことも、その一因かもしれない。

就任にあたって、研究者にとって魅力のあるセンターを作ること、研究活動の将来展望を提示することを運営の基本方針とした。まず、定員の獲得と充足に努め、57年度には全部門の研究活動を軌道に乗せた。また、部長会議、各種委員会を設置し、研究企画官制度、流動研究制度を導入して研究組織の強化拡大を図るとともに、研究企画会議を設け、センターにおける年次計画の策定と調査研究成果の評価を行うなど、研究管理体制導入して年次計画の適正化と効率化を図った。研究施設については、コンピューター・システムの導入、SPF動物実験棟、中大動物実験棟、アイソトープ実験施設の建設など一連の施設整備を行い、また、各種研究機器を整備して、研究機能の向上と充実を図った。その他、所内外の研究者による研究集会、国際セミナーの開催など、外部研究との交流を推進して研究レベルの向上を図るなど、センターにおける研究体制の基盤の確立に努めた。

60年10月、「国立試験研究機関の整理、合理化の実施」の指示に基づき、センターの見直しを行っている。報告の内容は、「国立水俣病研究センター創立十周年記念誌」に資料として掲載した。見直し後の全体構想と、いわゆる「基本構想」の当初全体計画による組織構築との間に、差異があるが、見直し当時のセンター・ヴィジョンが示されている。

61年9月、「有機水銀の健康影響に関するWHO協力センター」に指定された。センターの研究成果が国際的に高く評価されたことを示すもので、センターの研究活動とその将来に明るい展望を与えるものとなった。研究センターの業務を通し国際協力を進めることは、就任以来の念願であったから、協力センターの実現に努力した者の一人として大きな喜びである。

近年、環境汚染物質と健康障害の問題が国際的な論議となっており、有機水銀化合物の健康影響についても、局地的、人為的な環境汚染の問題にとどまらず、より広域的な地球環境の問題として採り上げられており、有機水銀問題は新たな局面と転機を迎えていると云わねばならない。センターの研究活動もそのような認識と視点に立つべきであり、独創の高い、世界的水準の研究成果を期待している。

センターの調査研究活動の一層の進展を祈念するとともに、在任中の御交誼と御協力に対し衷心より謝意を表したい。

(7) 精神科領域におけるDIB (Diagnostic Interview for Borderlines) の発展とその応用の試み

東京都精神医学総合研究所 三宅 由子

精神科領域における疫学を考えると、最も障害となるのは診断の問題である。客観的検査をほとんど持たない精神科では、患者の自覚症状と医療側の観察というふたつの主観がすべてである。そこで診断体系を作るにあたって、まず、もちろん観察の結果から導かれるものではあるが、理論的枠組みを先に作り、それに合わせて分類を考えるというやりかたがある。その対極に、70年代から提唱され始めた操作的診断基準がある。これは精神科医が観察できる事象に基づいて、「理論なし」に診断を決定できるよう工夫されている。これに併って使われるようになった測定方法として(半)構造化面接がある。面接の進め方を一定に保ち、誘導尋問にならずしかも必要

な情報をもれなく得られるようにすることによって、主観に頼る測定をできる限り信頼性のあるものにしようとする試みである。現在国際的には、研究用の精神症状評価や診断には、ほとんどこの方法が用いられるようになっている。

DIBは「境界パーソナリティ障害」という人格障害の診断をつけるための、半構造化診断面接法である。1970年代後半から80年代前半にかけて、ハーバード大学のガンダーソン教授が開発し、アメリカにおける信頼性と妥当性は確かめられている。約160の質問・評価の項目があり、そこから29の評定項目（ステートメントスコア）を評価し、それを変換して0～10点のトータルスコアが計算でき、7点以上が境界パーソナリティ障害と判断される。我々の研究ではカットオフは原法でも日本版でも同じであった。ある程度以上の力動的精神科面接の技術を持つ精神科医であれば評価者間信頼性は高く、測定技術として使えるものになっている。私と共同研究者のグループは、日本版を作成し、その信頼性と妥当性を検討した上で、若年女性のうつ病や摂食障害と境界パーソナリティの併存の問題、その予後研究などに用いて、興味ある結果を得ている。

(8) 疫学研究における統計学パッケージHALBAUの利用について

文部省 統計数理研究所 高木 廣文

HALBAU（はるぼう）は当初、柳井・高木(1986)に掲載されている多変量解析用のプログラム集として、その作成が計画された。しかしながら、サブプログラムだけでは何の役にも立たないので、データ入力、解析のための変数指定メニュー、分析結果の出力などのプログラムを加え、さらに多変量解析以外のデータ解析のための基本的な手法も多数加え、統合的な統計学パッケージとなるように開発した。開発当初の主な目的は、大型計算機などの設備が使用できない研究者、学生などに、同等の統計学の解析をパソコン上で行えるような環境を提供することであった。HALBAUの開発にあたっては、使用者が統計学やコンピュータの知識があるものと仮定しなかった。すなわち、平均値は分かるが、分散は知っている程度、コンピュータの電源は入れられる程度で、使用解説書に書かれていることが理解できればよい、と考えた。データ解析の基礎的知識なしで、実際の解析が行えるように意図したものであり、いくつかの問題も生じたが、教育的な効果もあったものと考えられる。

HALBAUは基本的には、質問紙調査データなどを想定し、その解析に有効なように構成されている。HALBAUの特徴は、(1)メニュー画面の採用、(2)データ入力のエディタがある、(3)極めて多変数を扱える、(4)実用的なケース数を扱える、という点にある。1986年の開発当初では、機能も手法もかなり限られていたが、継続的にバグの取り除きや方法の追加などを行い、1989年にバージョン3とした（高木ら、1989）。以後は細かな修正を継続的に行ってきた。現在はバージョン4の改訂作業を行っている。

開発に参加した全員が疫学研究者であり、この点から疾病のリスク要因の研究のための手法が多く含まれている。基本的なリスク比、オッズ比などの推定値とその信頼区間、生命表解析などを含むのはもちろんのこと、比例ハザードモデルや条件付きロジスティックモデルなどによる解析も行える。HALBAUに含まれている多種多様な方法を活用できれば、パソコンのみの研究環境であっても、高度な疫学的な解析が可能である。

(9) 重金属及び酸化ストレスによるメタロチオネイン誘導の生理的意義

福島県立医科大学公害医学研究室 佐藤 政男

メタロチオネイン (MT) はシステインを多量に含む低分子重金属結合蛋白質である。最近多種多様な物質や条件下で誘導される事が報告されその生理的意義に興味もたれている。大別すると Cd, Hg, Zn, Cu などの重金属に依る誘導とホルモンや薬毒物等の非金属化合物に依る群となる。今回は夫々の群の誘導と生理的役割について毒性学的観点から紹介した。

(1) カドミウム中毒とメタロチオネイン Cd の MT 誘導能は非常に高く、 Cd^{2+} は生成アポ MT に結合して無毒となる。しかし曝露により腎臓中 Cd 蓄積量が多くなると MT 結合型以外の Cd^{2+} が高感受性部位や亜鉛酵素等に結合して尿細管再吸収機能を障害し、低分子蛋白、糖やアミノ酸の尿中排泄量を増大させた。更に Cd 連続曝露は亜鉛の有効利用可能量を減少させ二次的亜鉛欠乏症を惹起し、又、亜鉛欠乏症ラットでは Cd 中毒発現が増強された。これらは組織内での Cd の存在形が毒性発現の上では重要である事を示している。

(2) 酸化ストレスとメタロチオネイン 非金属化合物のうちフリーラジカルを産生し生体に酸化ストレスを負荷する群が見い出される。典型的活性酸素産生剤パラコートラットに投与すると用量依存的、組織特異的 MT 合成が誘導された。その合成関与要因を明らかにするためビタミン E を前投与しラジカル産生に伴う脂質過酸化反応を抑制しても、MT 合成は維持され、関与要因ではなかった。次いで組織傷害等でおこるサイトカイン産生を抑制するグルココルチコイド前投与後にパラコートを投与すると MT 合成は抑制され、サイトカインを介する事が示唆された。その種類の同定はなされていないが炎症性サイトカインのインターロイキン 6 は主として肝臓で、腫瘍壊死因子は肝、肺及び心臓で合成を誘導した。誘導された MT は四塩化炭素による肝障害を抑制した。これはパラコート等で活性酸素が産生され障害を発現するが、一方でサイトカインが遊離され MT を誘導しラジカルスカベンジャーとして作用している事を示唆している。

以上のように MT は多種多様な因子により誘導され重金属解毒をはじめ金属代謝調節、ラジカル捕捉等多種機能性を示し、しかも微生物からヒトに至るまで基本的構造が維持されており生物にとって重要な蛋白質と考えられる。

(10) 神経系組織初代培養の基礎と応用

カナダ・ブリティッシュ・コロンビア大学 金 承業

神経系は、生体にとって最も重要な器官であるが、同時に、神経細胞・グリア細胞・血管内皮細胞など、多くの細胞種からなる構成成分が、非常に複雑なネットワークを形成している、最も複雑な組織でもある。従って、神経組織を解析する場合には、考慮すべき要因があまりにも膨大なものとなるため、その機能や病態についての多くは未解明である。この神経系組織を、生体全体からの影響から遮断し、複雑なネットワークをなるべく単純化する事によって理解しようとするアプローチが神経系組織培養である。神経系組織培養法は、大まかに、神経系組織各部位により分離した組織小片または単離細胞をそのまま培養する初代培養法と、腫瘍由来、または形質転換により無限増殖性を獲得して継代培養が可能となった株細胞系培養法の 2 つに分類される。初代培

養法も更に細かく分類されるが、最近では、神経細胞・アストログリア・オリゴデンドロサイト・マイクログリア・脳血管内皮細胞等を純粹に培養する、単一細胞群純培養が広く行われている。このような培養系を用いることによって、各種神経細胞やグリア細胞の形態、生理、代謝の実態やニューロングリア相関関係の研究に非常に有用な実験手技となっている。初代培養の成否には、用いられる動物種と年齢の要素に大きく依存しているが、多くの研究者の努力により各種動物の最適時期が確立されていった。我々は、胎児や、死後の成人脳からの、ヒト神経系組織の培養法も確立し、神経機能や、ヒト神経疾患の解明のための手法として応用している。

(1) 発生過程に見られるアポトーシスの機能について

広島大学理学部 吉里 勝利

無尾両生類幼生の尾は、幼生が成体に変化する（変態）とき除去される。この現象のメカニズムの解明をめざす努力は長い歴史をもっている。プログラム細胞死の観点からの研究も多くなさえてきたが、この現象は単なるプログラム細胞死にとどまらず、組織死（histolysis）、さらに器官死（organolysis）も含むことが特徴であり、このことがカエルにおいては突然変異種が得られないことと相まって、メカニズム解明の障壁となっていた。今回は、これまで明らかにされてきた両生類変態におけるアポトーシスのメカニズムを主として、①甲状腺ホルモンの作用機構、②DNA合成の抑制、③蛋白質合成の抑制、④間充織因子などの役割について紹介した。また、遺伝子の発現機構からみたアポトーシスのメカニズムに関する研究例をコラゲナーゼ遺伝子について紹介し、今後の問題点を考察した。

5. 合同ワークショッププログラム

第9回水俣病に関する総合的研究班・国立水俣病研究センター合同ワークショップは「水銀研究に関する最近の話題」のテーマについて平成5年10月国立熊本病院において開催された。

合同ワークショッププログラム

水銀研究に関する最近の話題	座長	藤木 素士
1) 水俣湾内の水銀分解菌		
	国立水俣病研究センター基礎研究部	中村 邦彦
2) アポトーシス：メチル水銀中毒における神経細胞死の機構		
	国立水俣病研究センター臨床部	中村 昭範
	指名討論 名古屋大学環境医学研究所	井上 稔
	座長	井村 伸正
3) ラットアストロサイトからのメチル水銀分泌機構	鹿児島医学部第三内科学	藤山 二郎
4) メチル水銀耐性 PC12細胞株におけるメチル水銀感受性の支配決定因子		
	和光大学経済学部	三浦 郷子
	指名討論 熊本大学医療技術短期大学部	平山紀美子

6. 国際シンポジウム

International Symposium on "Assessment of Environmental Pollution and Health Effects from Methylmercury"

国際シンポジウム「有機水銀の環境汚染および人体影響に関する評価」

上記の国際シンポジウム（主催：WHO，環境庁・国立水俣病研究センター）は国立水俣病研究センターが主として企画・運営にあたり、平成5年10月8日－9日の2日間、国立熊本病院研修センターで開催された。講演プログラムを下記に示した。なお、この国際シンポジウムでの講演の要約は proceedings として国立水俣病研究センターから刊行されている。

Agenda

October 8

9 : 30 Registration

10 : 00 Annual Joint Workshop by Minamata Disease Research Group and National Institute for Minamata Disease (NIMD) : Refer to Appendix 4 for detail.

12 : 00 Lunch

13 : 00 Welcome remarks

Dr. T. Kjellstrom (WHO, Geneva)

Dr. A. Igata (Minamata Disease Research Group)

Dr. R. Nomura (Environment Agency)

13 : 30 Chairperson Dr. A. Igata

Recent findings in the epidemiological studies on Minamata Disease

Dr. M. Futatsuka (Kumamoto Univ.)

14 : 00 A) Methylmercury pollution originated from metallic mercury (goldmines) in Amazon, Brazil

Chairperson Dr. P. Grandjean

Dr. Y. Takizawa

1. Human mercury contamination as a consequence of goldmining activity in the Tapajos River basin, Amazon, Brazil

Dr. F. P. Branches (Univ. Fed. Rio de Janeiro)

2. Preliminary field survey in Tapajos River basin, Amazon

Dr. M. Harada (Kumamoto Univ.)

3. Methylmercury pollution in Amazon, Brazil

Dr. H. Akagi (NIMD)

15 : 30 Coffee break

16 : 00 4. Mercury environmental and human contamination in Amazon goldmining areas

Dr. O. Malm (Univ. Fed. Rio de Janeiro)

Discussion

5. Methods for epidemiological survey on environmental pollution by methylmercury originating from goldmining activities

Dr. Y. Kinjo (NIMD)

Discussion

18 : 00 Banquet

October 9

9 : 00 B) Effects of methylmercury exposure in utero

Chairperson Dr. P. W. Davidson

Dr. M. Futatsuka

1. Fetal Minamata Disease-A review

Dr. H. Moriyama (Meisui-En Hospital)

2. Pathological findings on fetal type of Minamata Disease

Dr. K. Eto (National Institute of Health)

3. Exposure of Canadian aboriginal peoples to methylmercury

Dr. B. Wheatley (Health Canada)

10 : 10 Coffee break

10 : 30

Chairperson Dr. B. Wheatley

Dr. T. Suzuki

4. Measuring neurodevelopmental outcomes of young children following prenatal dietary methylmercury exposure-The Seychelles child development study

Dr. P. W. Davidson (Univ. Rochester, U.S.A.)

5. Sources and magnitude of mercury exposure in the Faroe islands : Outline of a cohort study

Dr. P. Weihe (The Faroe hospital system)

6. Development and field testing of a neuropsychological test battery to assess the effect of methylmercury exposure in the Faroe islands

Dr. R. F. White (Boston Univ., U.S.A.)

Dr. P. Grandjean (Odense Univ., Denmark)

7. Neuroelectrophysiological study of children in low-level methylmercury exposure in Faroe islands : Methodology and preliminary findings

Dr. S. Araki and Dr. K. Murata (Univ. of Tokyo)

8. Neurobehavioral effects of intrauterine methylmercury exposure : Bias problems in epidemiological studies

Dr. P. Grandjean (Odense Univ., Denmark)

Designated discussant

Dr. R. Doi (Yokohama City Univ.)

12 : 30 Lunch

13 : 30

Chairperson Dr. T. Kjellstrom

Dr. T. Suzuki

9. Preparation of an international guideline for environmental epidemiology studies of methylmercury and other mercury compounds

Dr. P. Grandjean (Odense Univ., Denmark)

Dr. T. Kjellstrom (WHO, Geneva)

Discussion

14 : 30 Coffee break

15 : 00 C) Country reports

Chairperson Dr. S. A. Tamplin

Dr. H. Kato

1. A WHO perspective on environmental health research in the Western Pacific Region

Dr. S. A. Tamplin (WHO, WPRO)

2. Epidemiological research on the health effect of residents along the Sonhua River polluted by methylmercury

Dr. T. R. Soong

(Harbin Medical College, Peoples Republic of China)

3. Studies and evaluation on contents of Hg and MeHg in hair and other tissues of special population in mercury polluted area

Dr. M. Guan

(Norman Bethune Univ., Peoples Republic of China)

4. Determination of total mercury and methylmercury in Vietnamese head hair

Dr. H. M. Dung

(Nuclear Research Institute, Dalat, Vietnam)

Discussion

16 : 40 Closing remarks

Dr. S. A. Tamplin (WHO, WPRO)

Dr. H. Kato (NIMD)

7. 所内研究発表会

第7回：平成5年6月11日

桑名 貴（基礎研究部） 「鳥類生殖細胞と胚操作」

第8回：平成5年7月30日

池上 真人（臨床部） 「HTLV-Iの分子生物学」

第9回：平成5年12月16日

金城 芳秀（疫学研究部） 「アマゾン・タバジョス河上流域の人々」

8. 客員研究記録

- (1) 九州大学農学部教授 古川 謙介
(基礎研究部 中村 邦彦)
「バイオテクノロジーによる高濃度水銀生体試料のスクリーニング法に関する研究」
- (2) 熊本大学医療技術短期大学教授 平山紀美子
(基礎研究部 安武 章)
「生体内におけるメチル水銀の無機化のメカニズムに関する研究」
- (3) 放射線影響研究所長崎研究所疫学・生物統計部長 柴田 義貞
(疫学研究部 金城 芳秀)
「水俣病認定患者等の疫学的特性に関する研究」
- (4) 熊本工業大学工学部教授 村尾 澤夫
(基礎研究部 山元 恵)
「水銀の環境内動態に関する研究」
- (5) 愛知県コロニー発達障害研究所室長 成瀬 一郎
(疫学研究部 坂本 峰至)
「脳の細胞間隙中グルタミン酸濃度とメチル水銀との関係に関する研究」
- (6) 摂南大学薬学部教授 芳生 秀光
(基礎研究部 山元 恵)
「水銀の環境内動態に関する研究」
- (7) 東北大学農学部助教授 西森 克彦
(基礎研究部 桑名 貴)
「発生期における性分化及び生殖線分化に与えるメチル水銀の影響に関する研究」
- (8) 新潟大学脳研究所助手 若林 孝
(疫学研究部 坂本 峰至)
「メチル水銀による脳細胞死のメカニズム及び脳の発達期別感受性の違いに関する研究」
- (9) 熊本大学医学部助手 保田 叔昭
(基礎研究部 桑名 貴)
「鳥類始原生殖細胞の単離法の改良に関する研究」

- (10) 農林水産省畜産試験場主任研究員 内藤 充
(基礎研究部 桑名 貴)
「鳥類始生殖細胞を利用した遺伝子導入法の開発と孵卵法に関する研究」
- (11) 筑波大学農林医学系助教授 田島 淳史
(基礎研究部 桑名 貴)
「鳥類始原生殖細胞の長期凍結保存法の開発・改良に関する研究」
- (12) 愛知がんセンター研究所主任研究員 小祝 修
(基礎研究部 中村 邦彦)
「水俣湾の有機水銀分解細菌の遺伝的研究」
- (13) 熊本工業大学助教授 新 隆志
(基礎研究部 山元 恵)
「水銀の生物濃縮に関する研究」
- (14) 鹿児島大学理学部教授 市川 敏弘
(基礎研究部 山元 恵)
「水銀の生物濃縮に関する研究」
- (15) 中村学園大学家政学部教授 谷口巳佐子
(基礎研究部 安武 章)
「培養肝細胞におけるグルタチオン代謝と解糖系酵素活性に関する研究」
- (16) 北里大学薬学部助教授 永沼 章
(疫学研究部 坂本 峰至)
「脂児並びに新生児の発育成長に及ぼすメチル水銀の影響に関する研究」
- (17) 長崎大学医学部講師 岩田 孝吉
(疫学研究部 中野 篤浩)
「組織中セレン濃度測定法に関する研究」
- (18) 熊本大学薬学部助教授 船越 崇行
(基礎研究部 足立 達美)
「水銀化合物の血液凝固系に対する影響に関する研究」
- (19) 産業医科大学産業生態科学研究所講師 Doosub James Jhang
(疫学研究部 金城 芳秀)
「水俣病発生に関する社会・経済的要因のモデル化に関する研究」

⑳ 放射線影響研究所理事長 重松 逸造

(疫学研究部 赤木 洋勝)

「アマゾン河流域における水銀汚染に関する研究」

㉑ 鹿児島大学医学部教授 秋葉 澄伯

(疫学研究部 金城 芳秀)

「水銀汚染地域住民の死亡率及び死因等に関する調査研究」

㉒ 熊本大学医学部講師 牧 正啓

(基礎研究部 桑名 貴)

「哺乳類胎児の口蓋裂発生と塩化メチル水銀に関する研究」

9. 共同研究記録

- (1) 鹿児島大学医学部医員 城之園 学
(臨床部 中村 昭範)
「水銀による細胞死のメカニズムに関する研究」
- (2) 鹿児島大学医学部助手 安藤 哲夫
(疫学研究部 赤木 洋勝)
「環境中水銀の動態に関する研究」
- (3) 鹿児島大学理学部助手 佐藤 正典
(疫学研究部 赤木 洋勝)
「水銀の生物濃縮に底生無脊椎動物が果たす役割に関する研究」
- (4) 鹿児島大学理学部助手 冨安 卓滋
(疫学研究部 赤木 洋勝)
「環境中水銀のモニタリングに関する研究」
- (5) 九州大学農学部 廣瀬 遵
(基礎研究部 中村 邦彦)
「水銀による環境汚染特に海洋細菌への影響に関する研究」
- (6) 鹿児島大学医学部医員 藤山 二郎
(臨床部 中村 昭範)
「メチル水銀による神経細胞の選択的障害のメカニズム」
- (7) 広島大学理学部 渡部 美穂
(基礎研究部 桑名 貴)
「鳥類胚における始原生殖細胞の移動と血管形成に関する研究」
- (8) 東京農業大学大学院農芸科学科 二宮 裕一
(基礎研究部 桑名 貴)
「鳥類始原生殖細胞 (PGCs) 培養系の確立」
- (9) 国立八代工業高等専門学校生物工学科助教授 金田 照夫
(基礎研究部 桑名 貴)
「始原生殖細胞特異抗原の生理学的意義に関する研究」

- (10) 熊本大学医学部助手 中嶋 充生
(基礎研究部 桑名 貴)
「塩化メチル水銀と口蓋形成との関連に関する研究」
- (11) 熊本大学医学部医員 大林 武久
(基礎研究部 桑名 貴)
「塩化メチル水銀と口蓋形成との関連に関する研究」
- (12) 鹿児島大学医学部助手 北島 勲
(臨床部 中村 昭範)
「高脂血症の疫学的・分子生物学的解析に関する研究」

科学技術庁科学技術振興調整費による招へい研究者の受け入れ

「培養細胞におけるメチル水銀の排出機構に関する研究」
ブリティッシュコロンビア大学神経内科教授 Seung U. Kim
平成5年10月2日～平成5年10月8日
(臨床部 藤山 二郎)

科学技術国際交流センターからの招へい研究者の受け入れ

「ラット赤血球におけるメチル水銀代謝」
ユージン大学(イタリア) Wu Guang
平成5年4月1日～平成6年3月31日
(基礎研究部 安武 章)

10. 委員会報告

(1) 学術委員会

委員長 安武 章

委員 金城 芳秀 宮本謙一郎 蜂須賀 正

第9回水俣病に関する総合的研究班・国立水俣病研究センター合同ワークショップをWHO国際シンポジウムと連係して、10月8日、国立熊本病院にて開催した。日程の都合で4演題（指名討論2題）のみであったが、発表は全て英語とし、英文のプロシーディングを国際シンポジウムのプロシーディングとまとめて製本、発行した。所内セミナー、所内研究発表会についても例年通り開催した。

(2) 図書委員会

委員長 桑名 貴

委員 宮本 清香 松本美由紀 渡辺 正夫
松本 和也

昨年に引き続き、平成4年度分の雑誌を製本した。次年度購入雑誌の見直しを行い、製本雑誌の保管場所を含めて購入雑誌の総額規制等の抜本的な見直しの必要性を答申し、次年度への継続課題となった。また、平成4年度年報の作成業務を行った。臨床関連の一部雑誌は患者リハビリテーションの現場の近くに設置することが効率的との考えから、臨床部のリハビリテーションの現場近くに配架する事とした。また、本センター設置のコピー機の一台中を図書室内に移設した。

(3) 機器整備委員会

委員長 中野 篤浩

委員 中村 昭範 藤崎 正 奥 克幸

本委員会は、年度当初に各部から提出された重要物品（50万円以上）の購入希望を、研究計画との関連性、要求理由、機種選定理由、緊急性、共用性、使用頻度、設置場所などを綿密に審査し、順位を決め、これを部長会に答申した。当委員会の答申に基づき本年度は、細胞マーキングシステム、臨床生化学自動分析計、ガスクロ用試料注入装置、マイウォッシャーオートⅡ（自動洗浄装置）、小型培養装置が購入された。

(4) 動物実験施設委員会

委員長 村尾 光治
委員 足立 達美 坂本 峰至 松本 和也

当センターの動物実験施設は SPF 棟、中大動物棟、小動物棟の 3 棟からなるが、前年度導入したカニクイザルのため施設の動物占有率はほぼ100%の状態であるが、施設の飼育管理運営を委託している(株)アニマルケアの方にかなりの配慮をいただきかなり良好なクリーンレベルを維持している。本年度動物実験施設の最大ニュースは『カニクイザル2世誕生』である。

(5) R I 委員会

委員長 赤木 洋勝
委員 山下 洋一 中村 昭範 山元 恵

本委員会では、年度当初に各研究員から提出された放射線業務従事者登録申請書および放射性同位元素使用計画書について審査するとともに、当研究センター放射線障害予防規定および R I 実験棟の使用についての周知徹底並びに放射線同位元素の安全取扱いに関する教育訓練を実施した。また、日常の R I 使用施設内の汚染チェックと並行して放射線作業従事者と共に施設内の清掃を定期的に 4 回行なうなど施設内の汚染防止に努めた。

(6) 水銀関連文献委員会

委員長 若宮 純司
委員 梶原 裕二 山内 義雄 渡辺 正夫

昨年に引き続き、アルバイト 2 人で現在までの蔵書に関するデータの修正・入力を行った。内容は、単行本に関して和書1654件、洋書689件、製本雑誌に関して和書1983件、洋書4453件、相互貸借文献に関して和書479件、洋書2890件の書誌事項に関する情報の修正を行った。また、雑誌に関して寄贈本658件、相互貸借文献に関して651件の書誌事項に関する情報の新規入力を完了した。以上により、蔵書データベースの構築に関して3次（最終）作業を完了した。

(7) 組換えDNA実験安全委員会

委員長 中村 邦彦
委員 藤崎 正 山下 洋一
中野 篤浩 中村 昭範
安全主任者 桑名 貴

本年度は、「組換えDNA実験指針」および当研究センターの「組換えDNA実験安全管理規則」にしたがって、P1レベルで30件の組換えDNA実験が行われ、一部の遺伝子のクローニングが行われた。

11. 国立水俣病研究センターの概要

1. 予 算

(当初予算 単位：千円)

区 分	元 年 度	2 年 度	3 年 度	4 年 度	5 年 度
運 営 費	(416,081) 421,346	(424,006) 428,579	(433,090) 441,212	(443,502) 449,094	(453,790) 466,444
人 件 費	(155,617) 155,617	(158,693) 158,693	(170,968) 170,968	(178,059) 178,857	(188,837) 189,428
事 務 処 理 費	(92,821) 95,136	(92,150) 93,573	(91,013) 94,672	(91,523) 94,705	(90,601) 95,564
試 験 研 究 費	(167,643) 170,593	(173,163) 176,313	(171,109) 175,572	(173,920) 178,532	(174,352) 181,452
施 設 整 備 費	(0) 0	(0) 0	(0) 0	(0) 0	(95,917) 0

() 内は、補正後

2. 定 員

区 分	元 年 度	2 年 度	3 年 度	4 年 度	5 年 度
総 務 課	5	5	4	4	4
臨 床 部	10	10	10	10	10
基 礎 研 究 部	7	7	7	7	7
疫 学 研 究 部	6	6	6	6	6
計	28	28	27	27	27

3. 主要施設整備状況

施設名	面積(延べ)	備考
本館	3,497.14㎡	昭和53年3月竣工
小動物実験棟	196.98	〃
車庫	35.94	〃
特殊ガス・プロパン庫	20.32	〃
廃棄物焼却炉	15.00	〃
薬液処理機械室	21.56	〃
合併処理室	30.58	昭和56年3月竣工
特殊焼却炉	48.00	昭和59年2月竣工
S P F 動物実験棟	146.38	昭和60年3月竣工
中大動物実験棟	231.65	昭和61年11月竣工
R I 実験棟	305.80	昭和63年3月竣工

4. 主要機器整備状況

平成4年度までに整備した機器のうち主なものは、次のとおりである。

- 水銀分析装置（杉山元医理器MV 250R・253R）
- 多軌道断層撮影装置（島津製作所 HL-31）
- 直接撮影装置（島津製作所 ID 150G-2）
- 多用途脳波計（三栄測器 IA-58）
- モジュール式筋電計（三栄測器 MS-6）
- 医用データ処理装置（三栄測器 7T-08）
- 多用途生体電気計測装置（日本光電 RM-6000）
- 脳波スキャナ（日本光電 MCE-1400）
- 高速アミノ酸分析計（日製産業 835-50）
- 高速液体クロマトグラフ（日製産業 635A-M）（ウォーターズ ACL/GPC 209D）
- 二波長分光光度計（日製産業 557）
- 炎光分光光度計（日製産業 MPF-4）
- 分離用超遠心器（日製産業 80P-7）
- 原子吸光分光光度計（島津製作所 AA640-13）
- 分析電子顕微鏡（日本電子 JEM-200CX）
- 超マイクローム（LKB-2088）
- 電気泳動装置（LKB-2138）
- 酸素反応速度測定（LKB-2086MK-11）
- ガスクロマトグラフ質量分析計（日本電子 JMS-D300）
- 細胞膜超微流動性測定装置（セントラル科学MV-10）
- サーモビューアー（日本電子 JIG-MD）（日本電子 JTG-3300）
- 上気動粘膜組織の分光解析装置（日製産業 RA-1500）
- デジタルソナグラフ（KAY-7800）
- 歩行運動自動解析装置（アニマ）
- 電子スピン共鳴装置（日本電子 JES-FEIXG）
- 行動科学研究装置（BRS/LVE）
- コンピューター（FACOM M150F）
- カテコールアミンアナライザー（BASLC 340DE）
- 誘発反応測定装置（AHSJ CA5200-2P）
- プラズマ発光分光分析装置（SMI スペクトラスパンⅢB型）
- オートシッパ分光光度計（日立 U-1080型）
- プリアンプ内蔵圧電型加速度計（TEAC-505）
- 走査型電子顕微鏡（日本電子 JSM-T300）及びクライオユニット（LG3CRU）
- 万能倒立顕微鏡（ニコン TMD-2）
- 動物用X線装置（ソフロン）
- 電動マニピュレーター（ライツ）
- シグナルプロセッサー（日本三栄）
- 卓上型分離用超遠心器（米国ベックマン TL-100）

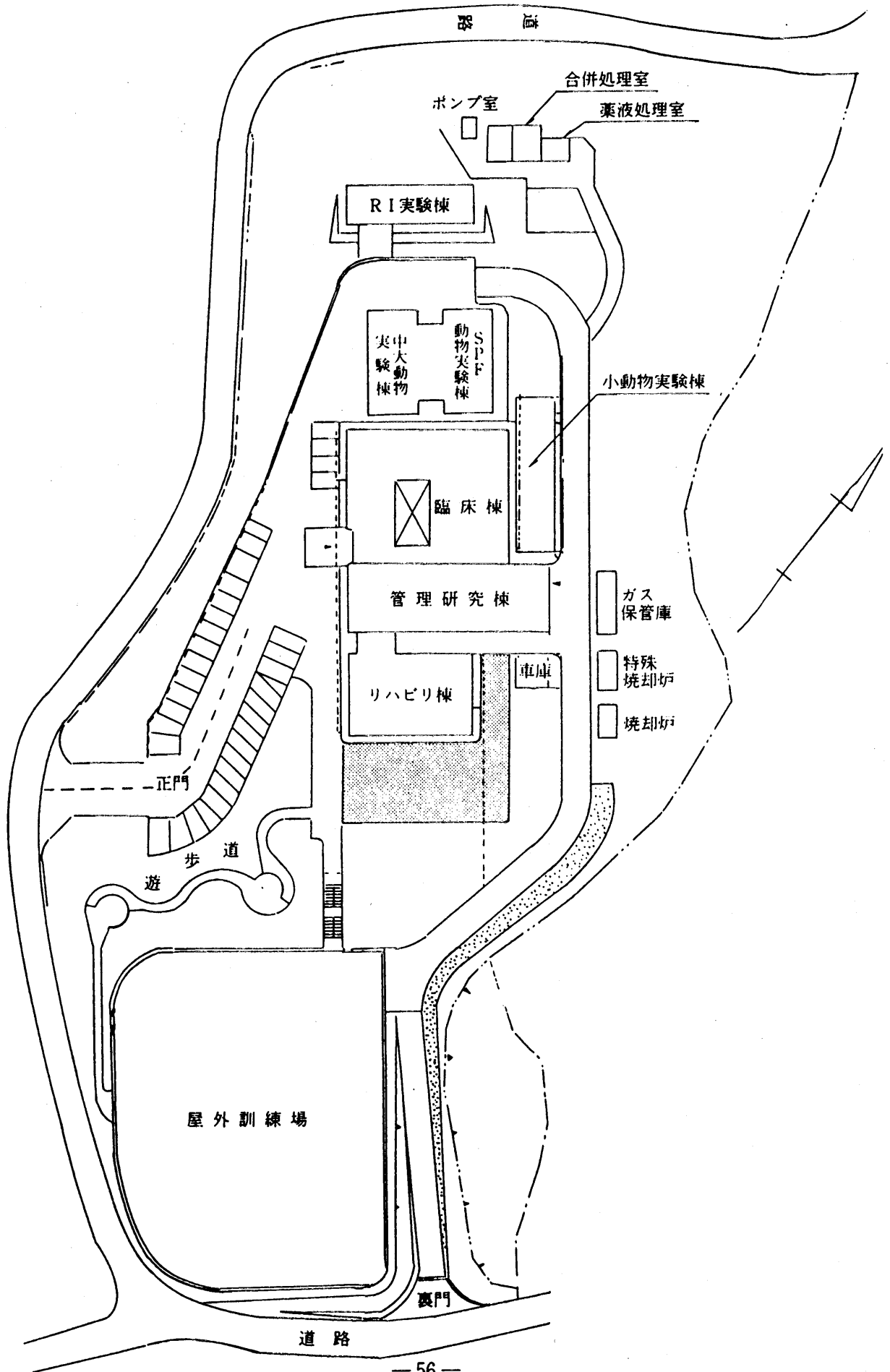
- 水銀測定専用装置 (日本インスツルメント)
- 回転式マイクローム (ケンブリッジ)
- カテコールアミン分析装置 (ウォーターズ)
- マイクロプレッシャシステム (WPI社)
- ガスクロマトグラフ (柳本商事)
- 空気圧平式電子眼圧計 (アルコン PTG)
- マイクロインジェクションポンプ (アステック CAM/100)
- マルチガスインキュベーター (フォーマサイエンティフィック MIP/3159)
- 冷却遠心分離器 (アロカ NC/107S)
- プロテインシステム (ミリポア W650)
- 原子吸光分析装置 (パーキンエルマー ゼーマン5100型)
- 実験動物行動解析装置 (室町機械 BTA-2型)
- RIフローディテクタシステム (ベックマン)
- 全自動スーパードライシステム (京都第一科学)
- マイコン心電計 (フクダ電子 FCP-4301)
- 総水銀測定装置 (パスコ HG-3000)
- ラジオクロマナイザー (アロカ JTC-600)
- 全自動洗浄器 (仏国ランサー 1300UP)
- 炭酸ガスレーザーメス装置 (日本赤外線工業 IR101)
- 高速冷却遠心器 (ベックマン J2-MI)
- 全自動高速電気泳動解析システム (ファルマシア)
- マイクロプレートリーダー (モレキュラーデバイス M-Tmax)
- 微量高速冷却遠心器 (トミー精工 MRX-150)
- 小型冷却遠心器 (国産遠心器 H-500R)
- 水銀検出装置 (日本インスツルメンツ MD-A)
- ガスクロマトグラフ (柳本商事)
- 炭酸ガス培養器 (タバイエスベック BNA-111)
- サル用オープンフィールド測定システム (ニューロサイエンス)
- プログラムテンプコントロールシステム (アステック PC-700)
- 3連自動ビューレット (マイクロニクス BX-1)
- 繁殖用ケージ一式 (トキワ科学器械 TD-113)
- 東芝自動分析装置一式 (東芝 TBA-20FR)
- 小型培養装置 (丸菱バイオエンジ MDL5005L)
- マイクロウォシャーオートII (三光純薬株 SJ109-80)
- 半自動水銀分析装置 (三双製作所 HG-3500)
- 全自動水銀分析システム (三双製作所 HG-10A)
- 細胞マーキングシステム一式 (キャノン販売株)

5. 図書および文献等の整備状況

当図書室は、平成6年3月末現在、単行本2,322冊、和雑誌161種類、洋雑誌132種類、各種抄録誌ほか、1930年以降の国内及び国外の有機水銀関連文献集を蔵している。また、必要な情報が迅速に入手できるように最新の情報検索システムとして、JOIS、DIALOG、current contentsを導入し、情報検索の充実を図っている。

6. 施設配置図

(敷地総面積 22.684㎡)



附1. 人事異動

年 月 日	新 職 名	氏 名	異動事由	備 考
5. 4. 1	主任研究企画官	二 塚 信	併 任	熊本大学教授医学部
”	研 究 企 画 官	納 光 弘	”	鹿児島大学教授医学部
”	研 究 企 画 官	衛 藤 光 明	”	国立予防衛生研究所安全性 研究部一般毒性室長
”	臨床部理学診療科室長	有 村 公 良	”	鹿児島大学講師医学部
”	臨床部眼科室研究員	古 吉 直 彦	”	熊本大学助手医学部
”	臨床部耳鼻咽喉科室 研 究 員	神 崎 順 徳	委 嘱	山鹿市立病院診療部 耳鼻咽喉科長
”	総務課総務課長	山 下 洋 一	出 向	国立環境研究所総務課課長 補佐
”	総務課経理係	松 本 和 也	”	環境庁企画調整局 環境保健部保健業務課調査係
5. 4. 1	臨床部理学診療科室 理 学 療 法 士	深 水 英 俊	委 嘱	湯の児病院理学診療科 副療法士長
5. 7. 1	鹿児島大学医学部医員	藤 山 二 郎	出 向	臨床部内科室医師
”	臨床部内科室医師	池 上 真 人	転 任	鹿児島大学医学部
6. 3. 31		藤 崎 正	退 職	基礎研究部長

附2. 主な来訪者 (敬称は略させていただきました)

平成5年4月	東京医科歯科大学 教授 熊本県環境センター 館長 熊本県環境公害部長	高野 健人 藤木 素士 永野 義之 他1名
5月	中国医科大学職業病教研室主任教授	丁 桂英 他1名
6月	九州財務局総務部長 前国立水俣病研究センター所長 総務庁九州管区行政監察局首席調査官 水俣市議会 議長	井上 拓雄 他1名 黒子 武道 島津 短通 吉井 正澄 他2名
7月	会計検査院第二局厚生検査第一課統括調査官	太田 雅都 他5名
8月	フィリピン大学疫学生物統計学 ラ・サール大学生物学助教授 JICA「産業環境対策集団研修コース」	P. ヴァレンズエラ I. サンティアゴ S. ラウラ (アルゼンチン) 他8名
9月	JICA「産業廃水処理技術集団研修コース」 勸化学品検査協会企画管理部部長	M. ニーブス (アルゼンチン) 他7名 北野 大 他1名
10月	ロータリー財団研究グループ 長野県衛生公害研究所食品衛生部部長 JICA「生活廃水対策コース」 WHO・環境保健部、医官 ブラジル・リオ・デ・ジャネイロ大学助教授 デンマーク・オデンス大学医学部教授 カナダ厚生省環境汚染研究部長 米国・ロチェスター大学医学部教授 中華人民共和国・ハルビン大学医学部教授	J. ピーター 他4名 中村 和夫 他1名 M. メディ (アルジェリア) 他8名 T. シェルストローム O. マルム P. グランジャン D. ウィットレイ D. デビットソン 宋 増仁
11月	東京大学名誉教授 JICA「環境政策コース」 JICA「産業医学集団研修コース」	不破敬一郎 A. ヘラディア (アルゼンチン) 他9名 G. ガルヴァーロ (ブラジル) 他12名

	JICA「農村近代化過程の健康障害 対策セミナー集団研修コース」	I.ウイルリッチ(ブラジル) 他9名
	在ブラジル日本大使館一等書記官	西宮 洋 他1名
	JICA「公衆衛生技術者コース」	M.キララ(バブアニューギニア) 他3名
1月	滋賀県立衛生環境センター所長 熊本県津奈木町 町長 大韓民国全羅北道環境指導課	本郷 節哉 他1名 西川 裕 林 永換
2月	JICA「ブラジル特設環境保全コース」 JICA 東欧支援「環境保全一 産業環境対策コース」 徳島県保健環境センター所長	A.コンソニ(サンパウロ) 他8名 P.ブラネック(チェッコ) 他13名 田原 功 他1名
3月	大蔵省理財局資金管理課課長補佐 中華人民共和国衛生部衛生防疫司 総理府公害等調整委員会専門委員 ケベック大学モントリオール校環境毒物研究所所長 JICA「廃棄物処理実習処理コース」 総務庁行政管理局副監理官	佐伯 長門 他2名 周 軍 他2名 有馬 邦正 他1名 G.シュベリエ 他1名 H.リチャマン(インドネシア) 他11名 平井 賢治 他2名