

平成 10 年度年報の発刊にあたって

当研究センターは平成 10 年 10 月に創立 20 周年を迎えました。平成 8 年 7 月 1 日に組織改正が行われ、「国立水俣病総合研究センター」と名称を変更し、新しい役割を果たすための体制づくりに取り組んでいるところであり、従来の水俣病に関する総合的医学的研究に、国際貢献が大きな柱として加わり、これまでの研究成果を踏まえた国際研究協力を鋭意進めています。

この一年を振り返ってみると、従来からの重点領域の研究をはじめとする基礎研究の更なる発展に加えて、ブラジル、中国、インドネシア、タンザニア、フィリピン、バングラディッシュなどの水銀汚染の問題をもつ国々に対する共同研究、技術者の招聘なども進展をみました。特に世界保健機構太平洋地域事務局（WPRO）の依頼によるカンボジア南部の港湾地域で起きた産業廃棄物による健康被害問題では調査員を現地に派遣し、「廃棄物・土壌の撤去が必要である」とする報告書を提出しましたが、こうした面からも有害廃棄物の越境移動はいまや地球規模の国際問題として看過できない事態と言えます。

日本に期待されております科学技術領域における基礎研究及び国際協力の重要性が指摘されて久しくなりますが、最近は科学技術研究基本法の成立を契機に自己評価自己点検が要請されております。当研究センターでは組織改正後の平成 9 年度における研究課題の自己評価を平成 10 年度に実施・公表しました。本年は外部委員による研究評価と機関評価を早急に行なうことを決めております。国立試験研究機関の多くが「自由で開かれた、柔軟で競争的な、活力のある研究環境」を目指しておりますが当研究センターは、新体制において諸外国の研究者から研究交流の魅力と能力・実績などを示し得る WHO 協力研究センターとしての責務に応えて、いわゆる “Center of excellence” を目標とする所存であります。

終わりに、本年報の刊行にあたり、環境庁をはじめ関係省庁、大学ならびに地元関係機関のご指導およびご支援に改めて厚く御礼申し上げます。今後更に一層の進展を図りたいと考えておりますので、忌憚のないご批判とご意見をお寄せいただきますようお願い申し上げます。

平成 11 年 5 月 1 日

国立水俣病総合研究センター
所長 滝澤 行雄

目 次

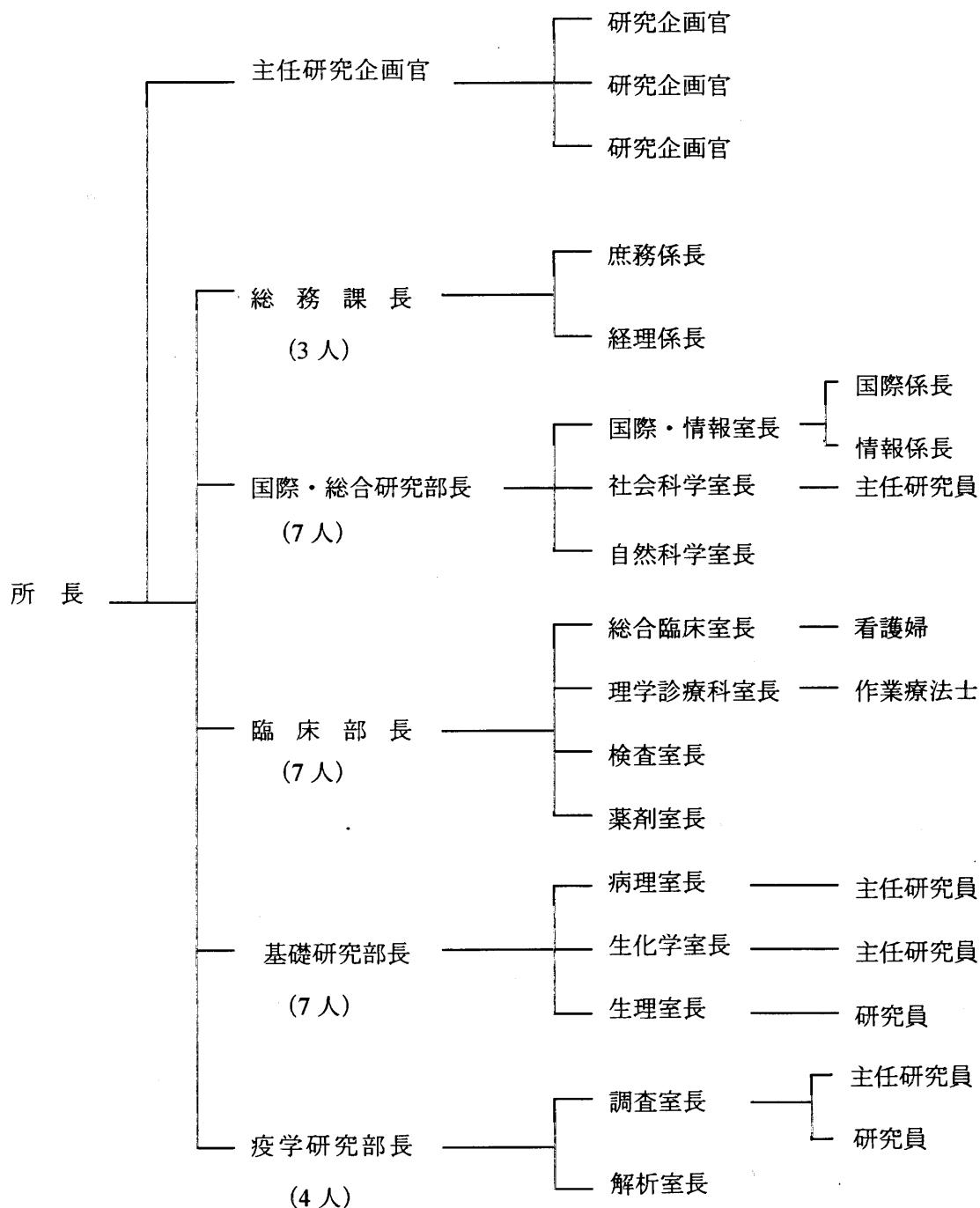
1. 組織構成	
1. 組 織	1
2. 職員構成	2
2. 調査研究	
1. 國際・総合研究部	3
2. 臨床部	11
3. 基礎研究部	24
4. 疫学研究部	34
5. 國際協力研究	46
3. 研究発表一覧	
1. 國際・総合研究部	50
2. 臨 床 部	51
3. 基礎研究部	56
4. 疫学研究部	59
5. 所 長	61
4. 所内セミナー記録	64
5. 所内研究発表会記録	69
6. 客員研究記録	70
7. 共同研究記録	72
8. 委員会報告	74
9. 国立水俣病総合研究センター創立 20 周年記念事業について	79
10. 国立水俣病研究センターの概要	80
1. 予 算	80
2. 定 員	80
3. 主要施設整備状況	81
4. 施設配置図	82
附 1. 人事異動	83
附 2. 主な来訪者	84

1. 組織構成

1. 組織

国立水俣病総合研究センターは、研究部門の国際・総合研究部、臨床部、基礎研究部、疫学研究部と事務部門の総務課を合わせ4部1課12室体制として、今後当初構想の38人体制に向けて逐次拡充を図っているところである。

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 11 年 3 月 31 日現在)

所長	技 官	滝澤 行雄	○臨床部	技 官	衛藤 光明
主任研究企画官	(併) 同	二塚 信	臨床部長	同	若宮 純司
研究企画官	(併) 同	鈴木 健彦	総合臨床室長	同	臼杵扶佐子
同	(併) 同	有村 公良	理学診療科室長	同	宮本謙一郎
同	(委) 同	藤木 素士	検査室長	同	村尾 光治
○総務課			薬剤室長	同	宮本 清香
課長	事務官	森 豊	看護婦	同	松本美由紀
庶務係長	同	秋吉 利彦	作業療法士	事務補佐員	肥前ゆかり
経理係長	同	山下 哲也		同	古澤美代子
	同	猪岡 貴光	○基礎研究部		
	事務補佐員	千々岩雅代	基礎研究部長	技 官	中野 篤浩
	同	渕上 重美	病理室長	同	桑名 貴
	同	下田 聰美	生化学室長	同	安武 章
	同	森本 純子	生理室長	同	中村 邦彦
	同	柴田真由美	主任研究員	同	荒巻 亮二
	同	兼子 英生	主任研究員	同	山根 一祐
○国際・総合研究部			研究員	同	山元 恵
国際・総合研究部長	技 官	赤木 洋勝	事務補佐員	田中 有紀	
国際・情報室長	事務官	鈴 雄藏	同	兵藤 茜	
国際係長	事務官	永井 克博	同	大澤まりも	
情報係長	事務官	山内 義雄	同	坂井 美保	
社会科学室長	技 官	田村 憲治	同	梅田 昭子	
自然科学室長	同	保田 叔昭	○疫学研究部		
研究員	同	新垣たずさ	疫学研究部長	技 官	赤木 洋勝
	事務補佐員	前田 知美	調査室長	同	坂本 峰至
	同	中村 享子	解析室長	同	渡邊 正夫
			研究員	同	山口 雅子
			事務補佐員	前田 志保	

(定員 29 人 現員 29 人)

2. 調査研究

1. 国際・総合研究部 研究の概要

本研究部は当研究センターが平成8年7月に改組を受けた際に新設され、水俣病に関する資料を幅広く収集・整理、提供する情報発信機能を備えながら、水俣病にまつわる社会科学的事象の研究、自然科学的研究を推進することにより、改組後の当研究センターに特に求められている、水俣病発生地域の特性を活かした総合的な研究の実現をめざしている。

本研究部は国際・情報室、社会科室、自然科室3室を擁し、冒頭の機能を果たしつつ水俣病に関する教訓を、開発途上国との国際共同研究、国際機関からの要請による調査研究などを通じて世界へ発信する事業にも積極的に関わっている。

平成10年度における本研究部の研究課題とその概要は以下の通りである。

1. 水俣病関連資料整備並びに情報発信のためのシステムの開発（平成10～14年度）
2. 水俣病被害の拡大・存続要因と地域再生に関する社会科学的研究（平成10～15年度）
3. 公害を経験した水俣地区住民の環境意識の変化（平成10～13年度）
4. メチル水銀の拡散・沈殿と海流・地形の研究
 - 1) 水俣湾の生態系における水銀レベルの現況（平成9～14年度）
 - 2) サンゴの水銀含量を指標とした、過去における水俣湾の水銀汚染レベルの推定と、今後のモニタリング（平成10～13年度）
 - 3) 水俣湾の漁場としての回復過程の追跡（平成10～15年度）
 - 4) 底生生物における無機水銀の体内分布（平成11～13年度）
5. 水銀汚染土・底質からの水銀除去に関する基礎的研究（平成8～11年度）

課題1では水俣病関連研究、特に社会科学分野のそれを進めるうえで不可欠な、患者や地域住民の生活等に関する基礎情報をはじめ、各種の地元の関連機関において所蔵されている水俣病関連の諸情報をも早急に収集・整理し、海外を含めた外部への情報発信の要請に応えられる適切な情報源情報システムの構築を引き続き目指している。課題2については、昨年度実施した「水俣市民意識調査」の結果をまとめ、これをもとにさらに関係者や市民に対する聞き取り等を進めて、地域再生に向けた行政と住民との関係について、社会科学的側面から研究するものである。課題3については、昨年度の調査から水俣地区の住民の「環境」に関する認識が多様であったことをふまえ、これまでの対象者に対して生活史を中心とした聞き取り調査を継続するとともに、聞き取り対象者数を増やして水俣地区住民の環境に関する意識を明らかにする。課題4については、水俣病問題の環境科学的アプローチとして、水俣湾および周辺海域の調査を生態学的側面から実施し、主として潮間帯底生生物における水銀濃度の時間的場所的変化を追跡すると同時に、新たなモニタリング手法の一候補として造礁サンゴを取り上げ、その実用可能性を探る。また環境中の普通の存在形態である不活性な硫化水銀から、有機水銀が生成され、食物連鎖に入していく経路の一候補として潮間帯の無脊椎動物を取り上げその仕組みの解明を目指す。課題

5は、物理化学的手法による汚染土・底質からの水銀除去技術の開発を目指し、今年度は実証プラントを用いた実汚染土・底質からの水銀除去値を検証するとともに、処理土壤の有用性についての検証を進める。

赤木 洋勝

水俣病関連資料整備並びに情報発信のためのシステムの開発

鈴 雄蔵 山内 義雄 永井 克博
田村 憲治 新垣たずさ 保田 叔昭
赤木 洋勝

水俣病に関する国内及び国外の膨大かつ多岐にわたる資料・情報を収集、保管、整理し、広く国内外に水俣病に関する情報や教訓を発信していくことは当研究センターの重要な使命の一つとして求められている。

しかし、これら資料は特に社会科学的な水俣病関連研究を遂行する前提となるものであるが大学、企業、団体、個人、行政機関等と多岐にわたっており、中には水俣病問題の全面的な解決を受け散逸する恐れのある貴重な資料、保存状態の不十分な書類などもあり、かつ水俣病患者等の高齢化に伴い患者等の体験談などの生の声を記録するなど早期に着手する必要がある。

これら既存資料の収集と並行して、当研究センター外の研究者や水俣病に関心のある一般の活用にも応えられるような最適な情報検索システム（資料の所在、内容、利用可能性などに関するデータベース）を構築することが本課題のもう一つの目的である。

1) 水俣病関連資料の収集および検索データベース作成のための基礎調査

①水俣病に関する資料を所蔵している主要な団体、個人などの他、今後情報検索システムを利用する可能性のある研究機関をも含めた対象者に、所蔵資料と情報検索システムに関する調査を行う。②この結果をもとに情報源に関するデータベースを作成し、個々の所蔵資料に関する調査（水俣病関連の所蔵資料・情報の概要、検索用キーワード、公開可能性など）を行う。③収集された情報源、資料で可能なものから逐次データベース化して公開していく。④以上の情報・資料をもとに、当研究センターのみならず外部研究者の社会科学研究遂行に資する情報検索システムを完成する。

2) 水俣病関連資料の収集・整理

上記1)と並行して、可能なところから資料の収集を開始するとともに、検索用データベースを作成していく。

3) 水俣病関連年表の作成

各種の既存年表を参考に、事実関係を確認しながら詳細な年表を作成し、これをインターネット上に公開する。

4) 新聞記事データベースの作成

新聞資料（切り抜き）は国水研はもとより水俣病資料館、歴史考証館、水俣病研究会など、多くの機関で保管しているが、何れも完全なものではない。そこでこれらの機関の協力のもとに当研究センターに一括し、欠けたところを可能な限り補完して最良のものを作成する。このリスト及び重要なものは画像データとしてインターネットなどで公開する。

5) その他

国、県、市などにある社会経済統計資料や医療情報に関する資料の保存状況、利用可能性に関して調査し、データベース化の可能性を検討する。

今年度は、上記1～5の課題について以下のような研究を構築してきた。

1) 患者団体等24名に所蔵資料に関する調査票を送付したが、回収はわずかであった。その後、情報センター建設が具体化したため、収蔵体制を明確にして新たに協力を求めるための調査を実施することとした。

2) 相思社所蔵の資料のデータベース化を委託し、昨年度の10,000件に引き続き、新たに10,000件が追加された。また、昭和47年までの水俣病関連新聞記事見出しについては、環境庁の委託で丸山研究室（熊本大学）が昭和55年に作成した報告書の不足分を補いながらデータベース化した。

3) 年表についてはそれぞれの団体で所有している年表を集め、「水俣病の医学」、「市のあらまし」、「県の環境白書」を入力した。また更にいくつかの資料を補足して一つのものを作ることとした。

4) 新聞社に対し、新聞記事の検索データベースや複写サービスに関する調査をした結果、最近10年間は各社のデータベースから有料で検索できることがわかったが、当センターや資料館などで新聞記事の収集を継続する重要性は変わりなく、この方式の統一が課題となった。

また、本年度は「水俣病情報センター（仮称）」の建設設計画が具体化したこともあり、平成10年12月に、資料の保管方法、来館者への説明体制、展示体制などの参考になる施設（大阪人権博物館、琵琶湖博物館、広島平和記念館、広島県立文書館）を作業部会で視察し、建物の設備、職員の配置、組織、管理運営、取組み等詳細な資料を収集するとともに、情報センター建設へ向けた具体的アイデアも得ることができた。

水俣病被害の拡大・存続要因と地域再生に関する社会科学的研究

田村 憲治 新垣たずさ 赤木 洋勝
牛島 佳代

水俣市では、公害の原点である水俣病を経験した町として、未だに重く残っている住民相互間の水俣病をめぐる差別・不信を解消していくための「もやい直し」事業を推進するとともに、水俣病の負の遺産を転換して環境都市としての再生を目指している。

そこで、水俣病の被害を拡大・存続させた要因、特に患者をめぐる差別の発生と変遷、対応などにつ

いて調査・研究するとともに、地域再生に向けた行政と住民との関係について、社会科学的側面から明らかにすることが本研究の目的である。

「もやい直し」については、関係者からの聞き取りを継続してきたが、まず市民の理解と意識状況を確認することが必須であることから、これまで共通の関心で我々も参加して検討を重ねてきた「水俣・社会ネットワーク研究会」（代表、吉永利夫）として、水俣市民を対象とした意識調査を実施した。対象は20歳以上の市民から無作為に10分の1を抽出し、無記名の郵送法で平成11年1月に発送し、回答を求めた。対象者数2,513に対して、回収数は1182（回収率47%）で、これまでに水俣市民に対して行われた意識調査の中では最大規模のものとなった。

単純集計結果からは、「もやい直し」について聞いたことがあるという回答は87%であったが、関連行事に参加したことがないという回答も63%であった。また、「水俣病問題は終わったか」、「水俣病という病名を変更してほしいか」との問に対する賛否はほぼ半々に分かれた。これらの結果は水俣市など関係者に配付したが、地域や属性による意識の違い、約半数の無回答層の傾向の検討のほか、大量の自由回答（病名問題に関しては491票、42%、もやい直しに関しては309票、26%）について、来年度詳細に解析、検討する予定である。

なお、「水俣病に関する社会科学的研究会」は平成10年度内に5回の研究会を持ち、事実経過の確認、各時期、主体別の考察点と教訓点の洗い出しを行ったが、報告書をまとめるまでの合意には至らなかった。

公害を経験した水俣地区住民の環境意識の変化

新垣たずさ 田村 憲治 赤木 洋勝

水俣病の発生によって水俣地区住民の「環境」に関する意識・価値観に影響を与えてきたことが考えられる。環境問題が注目されている現在、水俣地区住民が「環境」をどのように捉え、水俣病によってどのように変化したのかを水俣地域の住民を対象に生活史を聞き取り、「環境」に関する意識を考察することが本研究の目的である。

今年度は、水俣病患者、漁業関係者から現在「環境」をどのように捉えているのかを中心に聞き取り調査を実施した。同時に水俣市が主体となり積極的に取り組んでいる環境創造みなまた事業を通し、行政が「環境」という言葉をどう捉えているのか把握するため市・県の担当者、市議会議員からも聞き取り調査を行った。

聞き取り調査を通して、水俣病を環境問題の原点と現在の行政の動きを肯定的に捉えたもの、「環境」に関する行政の動きを肯定的に捉えつつも、水俣病問題の影響を否定する意見など多様な認識があることがわかつってきた。

来年度は、これまでの対象者に聞き取りを継続すると共に新たに聞き取り対象者を広げ、生活史を聞き取る。そして水俣病が与えた影響を社会学的に考察したい。

また、このテーマは、カーネギー財団との共同研究「価値観の理解：アメリカ・インド・中国・日本の環境政策形成に際する価値観」のケーススタディーの一部分を構成するものである。

メチル水銀の拡散・沈殿と海流・地形の研究

1) 水俣湾の生態系における水銀レベルの現況

保田 叔昭 赤木 洋勝 安武 章
山口 雅子 森 敬介

過去において激甚な公害の舞台となった水俣湾の、汚染からの回復過程を追跡することを目的とする。その一つとして、潮間帯生物の群集構成およびその中の優先的な特定の種の水銀濃度を調査することで、現在の水俣湾の、生物のおかれている状況についてとらえていく。前年度は、対照地区として宮崎県北浦町を選び、定量調査を行なった。これらの生態系の群集調査に加え、御所浦町江の口、河浦町乗田の2ヶ所をさらに調査対象とした。定量調査の生態学的な解析結果については、疫学研究部の記述にゆずることとするが、大まかにまとめると、種数の最も豊富だったのは河浦町の転石地、もっとも貧弱だったのが御所浦の転石地であった。水俣湾の4つのステーションと対照の北浦町とはほぼ同等の種数であった。しかし北浦町と河浦町乗田の群集構成は他のステーションのそれとはかなり異なっていた。その原因がどこにあるのかは今後の検討課題である。

定量調査と同時に実施したランダムサンプリングで、カサゴの主食のひとつであるヒライソガニ、肉食でどこででも豊富に獲れるイボニシ、やはり肉食のヒモムシそして多くの魚が餌にするゴカイなどを指標生物として選び、その水銀含量を測定した。その結果、八代海では水俣湾を頂点として対岸の御所浦から河浦町へと濃度の勾配が見られた。北浦町は予想通りそれより低く、おそらく自然界レベルに近い値であろうかと思われる。水俣湾の水銀汚染はほぼ収束しているが、現代的な手法で水銀測定を試みると、いまだに過去の汚染のつめあとを確認することが可能であることが明確になった。

2) サンゴの水銀含量を指標とした、過去における水俣湾の水銀汚染レベルの推定と、今後のモニタリング

保田 叔昭 野島 哲 赤木 洋勝

水俣湾には十数種のサンゴの棲息が確認されている。その中の長命種は70年余の寿命を数える。その骨格の、年輪を形作る成分のうちには、その動物体が生存していた頃に環境中から取り込んだ、水銀を始めとする重金属が比較的容易に吸着され、固定される。この年輪の各層の水銀を定量すれば、その年代の水銀濃度レベルを推定することが可能になる。これを利用して、水銀濃度の過去の変遷をたどり、同時に今後のモニタリングの一つの手法を開発する。

サンゴを採取する地点は、恋路島の七つ瀬側と針の目崎側、西の浦半島の両側である。水俣湾針の目崎附近で1996年に採集したコマルキクメイシの断面から過去50年分の年輪をサンプルとして採取することができた。この各層から総水銀濃度を測定して、その経年変化をとった。その結果 1945年から 1968

年まで約6年周期の山を作りながら右下がりの濃度の変化が見られた。その変化は骨格の年間成長量の変化と同調する傾向があり、海水温と水銀蓄積との正の相関を予想させた。ところがその後、公害防止事業が終了する1990年までは約2 ppb前後で極めて一定の値を示し、年間成長量とは無関係であった。これは、生息環境内の水銀レベルが極めて低い場合は、その蓄積には海水温や成長度合は関係がないことを示している。一方1990年以降最表層までの経過は、その濃度が徐々に上昇しており、先の考察から、今の水俣湾の環境中水銀レベルは注意深い観測が必要であることをうかがわせた。

この研究では、いくつか考慮すべき点も明らかになった。まず水銀の定着がどのような経路で起こるのか不明であること。次に、底質のコンタミがどの程度起こっているのか、それが経年的に測定できる形で起こっているのか、それとも経年変化の推定を攪乱させる形で起こっているのかということが不明であること。こういった諸点は、サンゴ骨格をモニタリングの道具として使うためには解明しておかなければならぬが、そのためには実験的な研究が不可欠である。また、同じ年代の層の中でも場所によって水銀濃度にかなり変動があることがわかったので、サンプルの採取は数ヶ所を同時にやって平均をとる必要がある。

上記のサンプルは、前実験として十分に成果を与えてくれたが、本格的な測定のために、新たにサンプリングを行なった。サンプルは、七つ瀬附近、針の目崎、西の浦半島茂道側の3ヶ所でそれぞれ40～50年程度の年齢のコマリキクメイシを2体ずつ採取した。恋路島湾内と裸瀬附近でも採取を試みたが、いずれも大型のものが見つからず断念した。これらのサンプルについては継続して測定を行なう。

3) 水俣湾の漁場としての回復過程の追跡

保田 叔昭 赤木 洋勝

過去20年間にわたって維持されてきた水俣湾の仕切り網が、昨年9月に撤去された。それまで、一種のサンクチュアリ状態にあった湾内の生態系は、八代海との生物の交流と、漁の再開とで、新しい環境に曝されることになった。そこで、今後水俣湾における生態系がどのように移り変わっていくかについて、幾つかの角度から記録しておくことが、本研究の目的である。

水俣湾の漁業は、漁獲高の面から言えばまだ本格的には始まっていない。その原因の主なものは、水俣湾に魚が戻ってきていないことにある。しかし、そろそろ操業を開始するはずであるので、漁師の協力を得て食用魚介類の水俣湾における産出の変化を追跡することにしたい。そこで、漁協の協力を得ながら、水俣湾内で操業している漁師に対して、漁獲についてのアンケート調査を実施する。

4) 水銀による健康影響の指標となる測定系の開発

保田 叔昭 長井 俊彦

メチル水銀は、サリドマイドとならんで、最初に催奇形性を証明された化学物質である。それは、マ

ウスの二次口蓋の閉鎖阻害作用として見いだされた。この作用の基礎には、口蓋棚水平転位を支える細胞運動の阻害能力があると考えられる。ヒトの場合メチル水銀の催奇形性はあまり知られていないが、中枢神経に蓄積したあと、アポトーシスなど、細胞死を招来する作用を発揮する前に、神経細胞がお互いのネットワークを形成する際の突起の伸展などを低レベルで阻害する可能性は十分にある。

この細胞運動阻害活性を、水銀毒性の一つの指標として利用するため、移動活性を備えている細胞を使い、単純な測定系を設計する。研究対象とするのは、培養法がほぼ確立している6日目の鶏胚から単離した角膜形成細胞である。

低融点の寒天を細胞と混ぜることで、細胞塊を基質の一点に張り付けることができる。これを一定時間培養して、外周へ向かって這い出してきた細胞を何等かの形で検出測定し、その細胞群の移動活性とするわけである。このとき、基質にさまざまな細胞接着性物質をあらかじめ吸着させておけば、これらと細胞の移動活性との相関を知ることができる。これを指標とすれば、細胞外液に混入させたメチル水銀等の物質の細胞-基質相互作用に与える影響を判定することが可能になる。今回は、細胞接着物質であるファイブロネクチンのリガンドの一つ、Leu-Asp-Val の配列を含む分子量 2357 のペプチド (CS1) を基質に吸着させる試みをおこない、その条件を決めることができた。これを使って細胞移動の活性をはかる実験を準備中である。

水銀汚染土からの水銀除去に関する基礎的研究

赤木 洋勝 保田 叔昭 滝澤 行雄
松山 明人 早坂 広江 氏家 正人
岡田 和夫

近年、ますます深刻化してきている途上国の水銀汚染に関連して、その汚染源対策とともに、すでに濃厚汚染を受けた地域の土壤、底質等の最終処分を含めた処理システムの確立が大きな課題となっている。

これまでの水銀汚染土壤の処理方法は、硫化物による不溶化・安定化処理が主流であり、一部キレート剤、酸アルカリ類による土壤洗浄のほか、土壤を 600 °C～1000 °C に加熱し、水銀を気化させて回収する新しい技術も提案されている。本研究では、これら従来の方法を踏まえ、可能な限り本来土壤が持つ機能を損なわない処理方法の開発を目指し、種々の土壤、底質中に含まれる水銀の蒸気化およびその回収法について進めるとともに、底質中において水銀の大部分を占め、最も安定に存在する水銀の硫化物の除去に主眼を置き、鉄塩等の遷移金属による物理化学的な触媒作用および硫化水銀と底質、土壤成分との相互作用を究明し、可能な限り低温加熱処理により水銀を除去回収する条件を求めてきた。その結果、水銀の硫化物のみを 200 °C～300 °C 程度に加熱してもそれ自体何ら変化はみられないが、土壤や底質中に存在する場合には同程度の加熱条件下で比較的容易に分解気化することが認められ、さらに鉄塩等の遷移元素の存在下では水銀の硫化物の分解がより顕著に促進することが見いだされた。特にこの反応は鉱物性の土壤において顕著であり、鉄塩の中でも硫化鉄による効果が最も大きいことがわかった。これらの反応やその機構の詳細については、日本水環境学会誌に掲載予定である。また現在、これ

ら一連の室内実験結果に基づき、当研究センター敷地内に小型実験プラントを設置し、水銀汚染土・底質浄化のための最適条件設定に向けた実験研究を試みているが、これまでのところ、各地の土壤、底質に硫化水銀を添加した模擬土壤・底質を用いて処理条件と水銀除去率の関連性を求めてきたものの、比較的高濃度の実汚染土・底質の入手が困難な状況にあり、その後の成果は得られていない。

2. 臨 床 部

研 究 の 概 要

平成 10 年度における臨床部の研究課題は以下の通りである。

1. 水俣病患者の追跡調査
2. 不知火海沿岸および周辺地区住民における有機水銀の影響に関する調査研究
3. 水俣病患者の QOL 向上に関する研究
4. 水俣病症候の客観的評価に関する研究
5. 水俣病の治療法の開発に関する研究
6. 水俣病症候の発症機構に関する研究

上記の研究課題にしたがって概要を述べる。不知火海沿岸および周辺地区住民における有機水銀の影響に関する調査研究については自治体が医療・保健・福祉の各分野において個人への指導方針や地域での活動指針について十分な解析・検討が可能となり、住民に対して十分な支援ができるように、健康管理エキスパートシステムを備えた基盤整備および生活環境に起因する健康影響モニタリングシステムに関する研究を新たに始めた。水俣市とともに進め方について検討を行い、素案を作成した。また、現在、検診結果判定ロジックの修正を行っているが、一部修正を終えた。

また、有機水銀の健康影響に関しては、有機水銀汚染地区住民における現在の感覺障害の有症率は非有機水銀汚染地区より大きい可能性があること、手袋・靴下型感覺障害および靴下型感覺障害と他の水俣病主要神経症状とは相関がない可能性があることを明確にした。

また、水俣病患者の QOL 評価法の開発に関する研究については、既存の神経難病患者用 QOL 評価尺度を基にして QOL 評価スケールの質問内容を検討した。予備調査では、疾病や障害に対する受容がなされており、水俣病患者としてマイナス面のこだわりが少なかった。また、60 歳以上の在宅の水俣病認定患者 29 名と T 町在宅健常老人 801 名を対象として改訂版 PGC モラールスケールを用いて比較検討を行った結果、水俣病患者が有意に低い値を示し、「ストレス」との強い相関を認めた。

水俣病症候の客観的評価に関する研究では、津奈木町在住の水俣病患者 8 名を対象に、ニューロメータによる電流知覚閾値 (CPT 値) の測定を実施し、CPT 値を解析した。手の測定で、8 名中 6 名 (75%) に感覺異常が認められ、ニューロメータの有用性が示唆された。

水俣病の治療法に関する研究では、キレート剤の水銀排泄効果について組織化学的に検討した結果、DED 処置群ではメチル水銀投与群とほとんど同等の病変がみられたが DMSA 群および DED+DMSA 併用群では深部脳回に病変がみられたことから、水銀の排泄法として DED および DMSA を併用することが水俣病の治療法として有意義な方法であると思われた。

また、メチル水銀 (MMC) 中毒幼若ラットで、MK-801 の生存促進効果を検討した。MMC 単独投与群は、最終投与終了後 10 日以内に全匹死亡するが、MMC と MK-801 の同時投与群は、最終投与後 21 日目に解剖するまで、8 匹中 5 匹 (62.5%) 生存し、生存促進作用が見られた。

水俣病症候の発症機構に関する研究では、大脳病変の局在性について血管構築の面から検討し、正常での各領野の支配血管、走行状態との比較を明確にするとともに、中毒例との比較を行い脳溝の巾が狭

いこと、血管網は差がないことを明確にした。水俣病剖検例について、水銀の半減期を計測し、総水銀では脳が 235 日、肝が 298 日、腎が 275 日であり、メチル水銀では脳が 256 日、肝が 184 日、腎が 186 日であることを明らかにした。現在セレン濃度とともに臨床経過への影響について検討中である。

また、有機水銀が知的機能に及ぼす影響が少ないメカニズムについて検討を加えるため、水俣病患者剖検例および知的機能障害のない正常対照者剖検例についてアミロイド β 蛋白染色および tau 蛋白染色を海馬と前頭葉で行った。その結果、対照者の平均年齢が若いにもかかわらず、水俣病患者の方が病理変化は少なかった。現在、熊本県剖検例について検討中である。

有機水銀中毒が筋肉に及ぼす影響に関する研究では、メチル水銀は筋肉においてミトコンドリア酵素活性を低下させるのみでなく、曝露量、曝露期間あるいは曝露される齢によっては筋原性変化をおこすことが明らかになった。メチル水銀が細胞老化に及ぼす影響に関する研究では、メチル水銀によるアポトーシス誘導の mediator は活性酸素であることを明らかにし、さらにメチル水銀添加よりアポトーシスにいたる細胞内ストレスシグナル応答に関して解析を行った。

さらに、低濃度汚染の胎児影響については、本年度生まれたメチル水銀投与サルの方が前年度生まれたメチル水銀投与サルよりも血中水銀量は多く、自発運動量や行動発現など発育の遅れがみられた。両者の間に閾値が存在する可能性があると考えられた。

若宮 純司

有機水銀汚染地区における神経症状の地域差に関する研究

若宮 純司 滝澤 行雄 北野 隆雄
二塚 信

現在水俣市・芦北3町・御所浦町において健康管理事業に基づく住民検診がおこなわれているが、津奈木町の神経愁訴の有症率は他の市町村に比して高い。現在、有症率になぜ差があるのかはわかっていない。そこで、我々は時系列解析をこころみるとともにその原因を検討している。

本年度は、津奈木町の老人保健法にもとづく一般循環器検診の受診者を対象として、神経愁訴（物忘れ、しびれ、振戦、ふらつき、難聴、舌のもつれ、めまい、耳鳴り、痛覚鈍麻、温覚鈍麻、触覚鈍麻、筋力低下）の有症率について時系列解析を行った。

平成 8 年度に有症率が急に上昇したのは、物忘れ（24→56%）、しびれ（手 17→34%、足 5→25%）、振戦（動作時 1→8%）、ふらつき（立位 5→21%）、難聴（6→26%）、耳鳴り（低音 3→17%）、痛覚鈍麻（足 1→4%）、温覚鈍麻（手 0→1%）、触覚鈍麻（手 4→9%）であり、8 年度以降も 7 年度以前より頻度が高く維持されたのは、しびれ（手 34→22%、足 25→16%）、振戦（動作時 8→3%）、難聴（26→12%）、耳鳴り（低音 17→11%）、痛覚鈍麻（足 4→2%）であり、物忘れ、ふらつき、温覚鈍麻、触覚鈍麻については、以前とほぼ同じ頻度になった。ただ、どの項目も 8 年度以降は、低下傾向であった。

8 年度に検診は例年どおりの実施で、特別に行ったことはなく、異常な上昇を示した。その後の経過は 7 年以前と比較して高い頻度を示す項目もあるが、年度とともに徐々に低下していることも理解しが

たい。原因については現在、検討中である。

健康管理エキスパートシステムを備えた基礎整備に関する研究

若宮 純司 中川 晋一 二塚 信
秋葉 澄泊

水俣地方は水俣病という世界に類例をみない公害を発生させた地域であるが、和解による政治的解決をみた現在、健康文化都市へ向けて施策を押し進めようとしている。しかし、個人への指導方針や地域での活動指針について十分に解析・検討できないため、施策の大きな柱である医療・保健・福祉の各分野において住民に対し十分な支援ができていない状態である。一方、当研究所は今後、水俣病患者の症状経過や療養状況の実態に関する研究に加え、WHO の IPCS でも勧告されているように長期微量水銀汚染の影響に関する研究を、水俣地域をフィールドとして臨床的、社会科学的側面から展開する必要がある。また、有機水銀の健康影響について調査研究を行うにあたり、各種データの確保、医療機関との連携が必要である。そこで、環境起因性の健康影響を明らかにできるような医学的調査研究のための基盤整備と解析手法の確立、およびこの情報をもとにしたエキスパートシステムを備えた健康管理システムを実現する。

本年度は、水俣市と協議を行い、エキスパートシステムに関する具体的進め方を検討した。その結果、最低限の予算規模・組織構成を提案し、検診・母子保健についての内容について検討結果をまとめた。また、水俣市が検診で使用している検診結果判定ロジックの修正を行っている。現在、検診の判定ロジックを修正中であるが、糖と脂質についてのロジックが完成した。

有機水銀の健康影響に関する研究

若宮 純司 渡辺 正夫 北野 隆雄
二塚 信 秋葉 澄泊

メチル水銀の神経系および神経以外の臓器（動脈・肝臓・腎臓・骨代謝など）への影響に関しては諸説あり、一定の見解が得られていない。これに対し、津奈木町を対象とし、基本検診を中心として各種データを収集してきたが、有機水銀汚染地区における実態を明確にするとともに、有機水銀の健康影響を明確にすることを目的として解析を行っている。

本年度は、津奈木町住民検診において平成 10 年度に行った神経検診受診者 324 例（平均年齢 69 歳・すべて水俣病認定患者以外）を対象として各神経症状の有症率をみるとともに、手袋・靴下型感覚障害と難聴、視野狭窄、歩行障害、下肢協調運動障害、指・鼻試験、運動転換障害との相関をみた。さらに、津奈木町住民検診において同時にニューロメータを 373 例（平均年齢 63 歳）についてを行い、感覚障害を定量的に捉えてその地域特性を検討した。

その結果、神経所見は、視野狭窄 316 例中 7 例 (2.21%)、難聴 316 例中 51 例 (16.14%)、指・鼻試験障害 316 例中 12 例 (3.80%)、上肢運動転換試験障害 316 例中 16 例 (5.06%)、下肢協調運動障害 316 例中 5 例 (1.58%)、手袋靴下型感覺障害 315 例中 15 例 (4.76%)、靴下型感覺障害 314 例中 8 例 (2.55%) 歩行障害 316 例中 13 例 (4.11%) であった。この有症率は鹿児島県K町における一般住民（平均年齢 73 歳）の有症率（視野狭窄 5.3%、難聴 16.4%、指・鼻試験障害 5.2%、上肢運動転換試験障害 22.4%、下肢協調運動障害 7.6%、手袋・靴下型感覺障害 3.8%、靴下型感覺障害 3.0% 歩行障害 18.8%）とほぼ同じ値であった。また、手袋・靴下型感覺障害および靴下型感覺障害と難聴、視野狭窄、歩行障害、下肢協調運動障害、指・鼻試験、運動転換障害との相関はなかった。また、浜田らの水俣病多変量解析の判別式を用いて判別値を求めるとき、水俣病判別点 9.616 以上は 1 名であった。

以上より、基本検診対象者で神経検診を行ったところ、本地域の水俣病以外の住民においては、感覺障害の有症率は非有機水銀汚染地区より大きい可能性があること、手袋・靴下型感覺障害および靴下型感覺障害と他の水俣病主要神経症状とは相関がない可能性があること、水俣病判別式で水俣病の蓋然性を評価してみると、1名いたことがわかった。

水俣病患者の QOL 向上に関する研究

1) 水俣病患者の QOL 評価法の開発に関する研究

宮本 清香 松本美由紀 玉杵扶佐子
牛島 佳代 新垣たずさ 田村 憲治
衛藤 光明

水俣病患者の QOL の向上を目指して、既存の神経難病患者用 QOL 評価尺度を基に、水俣病患者用スケールを作成するため質問内容の検討を行った。水俣病も神経疾患であり、長期慢性的な経過をたどり、日常生活が阻害されている点を考慮すると、患者が現在の生活をどう受け止めているかという主観的側面をとらえるこの神経難病患者用 QOL 評価尺度は、水俣病患者にも利用しやすい。この評価尺度の信頼性や妥当性はすでに検討され、一応独自の意義のあるものとして確認されているので、水俣病患者の QOL 概念枠組みを「患者が望む生活を獲得すること」とし、併存妥当性（同じ概念を測っている別の測定用具を用いて測定を行い、それを基準として測定の妥当性を考えるもの）の検討を行うことにした。

予備調査には、水俣病患者 7 名（男 2 人・女 5 人・平均年齢 57.0 歳）を対象に、神経難病患者用評価尺度と水俣病患者評価スケール（案）を用いて実施した。

神経難病患者用 QOL 評価尺度は、QOL 測定尺度の枠組みが「受容」の領域として①疾病や障害の受容、「満足」の領域として②疾病や障害から派生する不安③感情の変化、「志気」の領域として④自分自身の存在価値⑤生活に対する姿勢⑥対人関係（家族・親戚及び友人）の 6 領域に設定されている。水俣病患者の QOL を把握する上でも必要と考えられる、疾病や障害の「受容」や生活に対する「満足」・「志気」を把握するには適切な質問であるが、水俣病患者用はその特殊性を考慮し「受容」の項目に①水俣病患者であることを他人に話せますか。②水俣病のことを一日も早く忘れたいと思いますか。③（水

併病の発生した) この地域に住んでいること、あるいは生まれたことを後悔したことがありますか。という3つの質問を追加した。また、「病気」という言葉を具体的に「水併病」と明記した。

今回の予備調査は、センターの外来に来ている患者と訪問看護をしている患者であり、質問項目が神経難病患者用は27項目、水併病患者用(案)は30項目であり、質問内容に対する回答も「はい」、「いいえ」、「どちらでもない」、と回答しやすく、協力が得やすい利点があった。その中で、神経難病患者用QOL評価尺度の得点における7名の結果は、19~32/54点となっており、因子別に注目すると疾病や障害に対する「受容」は〔自分が水併病であることを人に知られたくないと思いますか。(はい・2名/いいえ・5名)〕〔水併病であることを人がどのように思っているか気になりますか。(はい・1名/いいえ・6名)〕〔水併病患者であることを他人に話せますか。(はい・5名/いいえ・2名)〕と肯定的であり、予想以上に水併病患者としてマイナス面のこだわりが少なかった。

今後さらに外来患者及び訪問看護対象者の調査症例数を増やし年令や性別、ADLなどを考慮に入ながら、水併病患者に適合するQOL評価スケールの開発を行いたい。

2) 水併病患者の心理的側面とその特異性に関する研究

松本美由紀 宮本 清香 矢杵扶佐子
衛藤 光明

我々は水併病患者の在宅訪問を行っているが、水併病の持つ社会的背景が患者の精神面に何らかの影響を及ぼしているのではないかという印象を受けることが多い。今回、その精神面の把握を試みた。

対象は、60歳以上の在宅の水併病認定患者(患者群)男性17名、女性12名、計29名。平均年齢74.3歳。過去における有機水銀汚染地区であるT町在宅健常老人(対照群)男性329名、女性472名、計801名。平均年齢69.2歳。ADLは両群ともに特別支障のないレベルであった。方法はLawtonによる改訂版モラールスケール(17項目)にモラール得点に影響すると思われる職業の有無、金銭の不満感の有無、ストレスの有無、生きがいの有無、不安の有無の5項目を追加し、直接面接法にて調査、比較検討を行った。

これまでの報告からモラール得点に「年齢」は影響しないとされているが、今回の調査においても同様の結果が得られた。また、モラール総得点においても対照群は 12.2 ± 2.9 点と、これまで報告されている一般健常老人の得点の12~14点と同様の結果であった。このことは有機水銀汚染地区の健常老人と非汚染地区の健常老人との間に差がないことを示している。一方、患者群では 9.9 ± 4.0 点で、対照群と比較して有意に低い値を示した($P < 0.01$)。またモラールの3つのマイナス因子(心理的動搖、老化に対する態度、孤独・不満感)のうち、老化についての態度及び、孤独・不満感に関するマイナス得点で患者群が高い値を示した($P < 0.05$)。また、関連5項目(職業の有無、金銭の不満感の有無、ストレスの有無、生きがいの有無、不安の有無)と総得点との相関をみると対照群では5項目すべてに高い相関を示したが、患者群では「ストレスの有無」にのみ有意差がみられた($P < 0.01$)。今回の調査ではストレスの内容は自分または家族の病気、人間関係ということであった。

以上の結果より、水併病患者には特異な心理的要因が存在しているという可能性が考えられたが、今

後、水俣病以外の障害老人との比較をおこなうとともに、「ストレス」の内容に関し、さらに検討をおこない、その特質を明らかにしていきたい。

ニューロメーターによる水俣病の感覚障害の客観的定量化に関する研究

宮本謙一郎　　村尾　光治　　若宮　純司
有村　公良

水俣病患者の痛覚障害の経年変化を、神経学的診断の補助診断として、評価できる電気生理学的検査の方法論を確立するために、本年度は、有機水銀汚染地域住民 381 名を対象に、ニューロメーターによる電流知覚閾値 (CPT 値、単位 μA) の測定を実施した。測定部位は、手の第 4 指 (正中神経、尺骨神経支配) で測定を行った。神経受診者 381 名の中で、8 名の水俣病認定患者 (男性 6 名、女性 2 名、平均年齢 71.5 ± 6.1 歳) の CPT 値を解析した。2000Hz・250Hz・5Hz の CPT 値は、それぞれ A β (触覚、振動覚、位置覚) ・ A δ (温度覚、痛覚) ・ C (痛み) 神経線維の機能を反映している。水俣病認定患者 8 名の 2000Hz・250Hz・5Hz の CPT 値の平均値は、 357.6 ± 120.5 ・ 152.3 ± 73.3 ・ 108.2 ± 64.7 であった。8 名のうち 6 名 (75%) に異常感覚が見られ、内訳は、正常が 2 名、ごく軽度の知覚機能異常が 1 名、ごく軽度の感覚鈍麻が 1 名、軽度の感覚鈍麻が 1 名、高度の感覚鈍麻が 2 名、非常に高度の感覚鈍麻が 1 名であった。以上の結果より、水俣病認定患者に手の異常感覚が多く認められ、ニューロメーターによる感覚障害の客観的評価の有用性が示唆された。

サーモグラフィを用いた水俣病患者の客観的診断法の開発に関する研究

若宮　純司　　満渕　邦彦　　中村　昭範

有機水銀中毒症を客観的に診断することは診断上重要である。特に侵襲ない検査方法による診断法が望まれている。これに対し、平成 8 年までに水俣病に関して客観的に診断できる可能性を明確にしたが、診断ソフト開発については高価なため、中断せざるを得なかった。平成 9 年度に、画像処理を安価で、より精度が高い方法を考案したので開発を行った。

具体的には、下肢前面のサーモグラフィ画像について画像処理ソフトの開発を行った。画像処理は、患者画像のそけい部、膝蓋部、足頸部を指定し、正常画像へ 4 区画各々で拡大縮小を行い、患者画像と正常画像の差画像を描出する方法をとった。拡大／縮小方法は、下記の方法によった。すなわち、患者は像の最上辺と最下辺の走査線を指定された最上辺と最下辺に移動し、その間の走査線を等間隔に配置する。縦方向、ついで横方向について正常画像における真の走査線の位置の温度を配置された隣り合う走査点の温度から線形補完で算出する。

このソフトについて、正常者 1 名を対照として約 300 通りの処理を行い、妥当性を検討した。また、腰椎根神経障害 2 名を対象として病変部の描出能を検討した。

その結果、ソフトの正確性については、重心位置をかえて変形させた画像と被写体とカメラとの距離をかえて大きさをかえた画像について検討したところ、変形する以前の画像との相違がなく、半径が正

確に行われていることがわかった。また、病変部の描出能については、腰椎根神経障害における温度低下部位の境界ならびに領域内の正常部との温度差分布がよく描出できた。これにより、信頼性の高いソフトであることが証明できた。

有機水銀中毒症におけるキレート剤の効果

村尾 光治 宮本謙一郎 若宮 純司
後藤 正道

金属排泄キレート剤が各種開発されつつあるが、有機水銀中毒に関する効果は不十分である。しかし、単剤での効果判定がなされており、多剤併用効果についての検討はなされていない。そこで、有機水銀中毒症における急性期治療法の一つであるキレート剤の多剤併用効果について検討した。7週齢ウイスラー系雄生ラットに塩化メチル水銀 5 mg/kg/day を 10 日間経口投与し急性有機水銀中毒を発症させ、投与終了後 7 日目から dimercaptosuccinic acid (DMSA) および diethyldithiocarbamate (DED) を 40 mg/kg/day を 10 日間単独あるいは併用にて腹腔内投与し実験開始 30 日目にラットを灌流し水銀排泄効果を組織学的に検討した。メチル水銀投与ラットおよび薬物処置ラットを 10% 中性ホルマリンで灌流固定後標本を作成し、小脳・視野中枢および海馬について Hematoxylin-Eosin (HE 染色)、抗 Neurofilament 免疫組織化学 (NF 染色) の 2 種類の染色を比較して評価を行った。小脳においては、メチル水銀投与ラットで正常対照と比べ顆粒層神経細胞の核濃縮・断裂化と細胞脱落が見られた。DED 処置群では、メチル水銀投与群とほぼ同等の強さと分布の病変が認められた。DMSA 処置群では、深部脳回に中程度の顆粒層神経細胞脱落が見られた。DED および DMSA 併用処置群では深部脳回の一部のみに少数の顆粒層神経細胞の核濃縮がみられるのみであった。NF 染色では、DED 投与群でブルキンエ細胞層の腫大した線維状の強い染色がみられたが、DMSA 処置群および DED・DMSA 併用処置群は深部脳回の一部に線維状の染色がみられるのみであった。視野中枢および海馬ではいずれの染色においても対照、メチル水銀投与群、薬剤投与群の間に違いは見出されなかった。前年度の成績である水銀排泄効果を考慮すると、脂溶性薬剤のキレート剤である DED は、DMSA と併用することでメチル水銀中毒の治療効果が有効になることが示された。

水俣病大脳病変の選択的傷害の発生機序に関する研究 —マーモセットのメチル水銀中毒の実験病理学的研究—

衛藤 光明 安武 章 桑名 貴
興梠 征典 秋間 道夫 下関 敏江
徳永 英博

ヒト水俣病の神経系病変の発生部位には一定の傷害パターンがあり、特に成人型および小児型の大脳

にはその病巣局在性が明瞭である。つまり、ヒト水俣病の大脳では、後頭葉鳥距野前位部、中心後回、中心前回、横側頭回の第2～3層の神経細胞脱落が認められる。これらの病変の選択的傷害発生機序に関しては、仮説の域を出でていないので、この発生機序を究明する事を目的としている。

メチル水銀中毒では種差があり、げつ歯類では末梢神経病変が強く、大脳には脳溝もなく、大脳病変の局在性を研究するには適していない。そこで、鳥距溝とシルビュウス溝を持つコモン・マーモセット (Common Marmoset) を用いた。マーモセットのメチル水銀中毒病変はヒト水俣病との類似性が強く松村ら (神経眼科 7: 414, 1990) 、Matsumura et al. (Neuro-ophthalmology 13: 331, 1993.) によって神経眼科的分野の研究に用いられた。

神経系を中心とした毒性発現の中毒量を、血中水銀濃度をモニターしながら経過観察を行ってきた。亜急性発症の2剖検例 (A, B) の病理組織学的所見に関しては、昨年度光学顕微鏡レベルで詳細に報告した。今年度はマーモセット B についての電子顕微鏡所見が得られた。その結果、後頭葉、中心前回、横側頭回皮質の神経細胞の崩壊とグリア細胞の線維の増加、有髓線維の減少がみられた。帯状回におけるニッスル小体は明瞭であり、有髓線維その他神経細胞構築は保たれている。小脳顆粒層ではミエリンおよび軸索の変性所見がみられる。坐骨神経においてもミエリンの崩壊、軸索変性とミエリンを貪食した細胞の増加がみられ、明らかに変性所見を認める。

血管構築に関する研究の結果、1) 鳥距溝は2本に分かれた、後大脳動脈の分枝 (鳥距枝) により鳥距野は支配されている。2) 動脈は静脈の上を走る。3) 皮質には毛細血管網を含め、血管の層状構造は見られない。4) 対照例と中毒例の鳥距溝の巾を比較すると、中毒例の方が狭い。5) 皮質血管網の構築は対照例と中毒例の差は目立たないということが判明した。

2年半以上生存した2匹に関しては2週間に1回程度その行動をビデオテープに記録した。また、それらの症例と共に再度急性発症の症例についてMRI撮影がなされ、大脳、小脳、肝臓および腎臓の総水銀、無機水銀およびメチル水銀濃度を測定して初期の目的である大脳病変の局在性について研究を継続している。

水俣病剖検例（1956年～1973年）の臓器水銀およびセレン濃度に関する研究

衛藤 光明 安武 章 中野 篤浩
滝澤 行雄 金城 芳秀 中山 宏明

熊本大学医学部における水俣病関係450例の剖検例の臓器水銀値については、既に滝澤らによって分析され、大部分の測定値は得られている。しかしながら、急性発症例から慢性例初期の測定値の中で、肝臓および腎臓の水銀分析がジチゾン法でなされており、さらにそれらのメチル水銀の定量値が無いことからこの分析値を補完する必要があり、既に測定されていた大脳および小脳に関しても再検して従来の測定値と比較した。また、今回得られた成績を基にして各臓器の発症からの水銀半減値期間を計算した。

また、大脳、小脳、肝臓および腎臓のセレン濃度の測定を行い、水銀値との相関関係の有無を Pearson と Spearman の検定法で 1) 胎児性 3 例、2) 小児 4 例、3) 成人型 18 例 (臨床経過 1 年未満) およ

び成人型 22 例（臨床経過 1 年以上）の 4 群に分類して検定した。総水銀、メチル水銀、無機水銀およびセレン濃度の測定法については昨年度の年報に詳述したので省略する。

安武によって今回測定された値と既存の測定値には大差なかった。新たに得られた安武の測定値（文献参照）から武内ら（熊本医学会雑誌、48: 199, 1974）と同じ方法で剖検例から発症より水銀濃度の半減するまでの半減値期間を計算すると、総水銀値で脳が 235 日、肝が 298 日、腎が 275 日であり、メチル水銀では、脳が 256 日、肝が 184 日、腎が 186 日であった。滝澤らのメチル水銀濃度からの脳の半減値期間は 230 日であり、今回得られた結果で、肝、腎も半減値期間の遅延が認められた。

また、Pearson と Spearman の検定で、上記 3 群と 4 群の大脳、小脳、肝臓、腎臓における総水銀濃度—セレン濃度、無機水銀濃度—セレン濃度には強い相関関係が認められた。水銀値に関しては、その大部分が無機水銀であることから、無機水銀濃度とセレン濃度が相関していると考えられる。

水銀濃度とセレン濃度の臨床経過への影響については検討中である。なお、新潟大学でなされた 30 剖検例についても、水銀濃度およびセレン濃度の測定を行っているところであり、熊本大学の成績と比較検討したい。

Takeuchi, T. and Eto, K. (eds.) *The Pathology of Minamata Disease: A tragic story of water pollution*. Kyushu University Press, Inc. 1999.

メチル水銀中毒脳神経細胞死の障害機序に関する研究

宮本謙一郎 村尾 光治 若宮 純司
衛藤 光明 徳永 英博 福山 直人
中西 博 烏光 慶一 有村 公良

昨年度までの研究で、生後 16 日齢の幼若ラットにメチル水銀 (MMC) を投与すると、大脳皮質の神経細胞障害が著明に保護される結果が得られた。しかし、生存率には、効果が認められなかつた。これは、MMC の投与量が多く、毒性が強すぎたため、MK-801 の効果が見られなかつたことが考えられたため、本年度は、昨年度より MMC の投与量を減らし、かつ、中毒が確実に発現する亜急性中毒モデルで、MK-801 の生存率に対する効果を検討した。その結果、MMC 単独投与群および MMC と YM90K の同時投与群は、MMC 最終投与後、10 日目まで全匹死亡するのに対し、MMC と MK-801 の同時投与群、および MMC 投与終了後、翌日から MK-801 のみ 7 日間投与した群は、MMC 最終投与後 21 日目に解剖するまで、8 匹中 5 匹 (62.5%) が生存し、MK-801 の生存促進効果が認められた。この時点での病理組織所見は、現在検索中である。また、MMC による幼若ラットの大脳皮質神経細胞障害の MK-801 の保護作用機序に NMDA 受容体の活性化が関与しているか検討するために、本年度は、CHO 細胞に NMDA 受容体を発現させ、さらに、大脳皮質スライス標本を上乗せし、グルタミン酸を放出させ、Ca イオンを測定する実験系を確立した。

有機水銀の知的機能に及ぼす影響に関する研究

若宮 純司 後藤 正道 衛藤 光明
徳永 英博 東海林幹夫

水俣病では広範に大脳が障害されるにもかかわらず、知的機能の障害は少ない。そこで有機水銀の知的機能に及ぼす影響が少ないメカニズムについて検討を加えるため、マイネルト核の所見を剖検例について検討した。

対象は鹿児島大学で剖検された水俣病患者 5 例（平均年齢 83 歳）と対象として全く痴呆のない高齢者 8 例（平均年齢 69 歳）である。フォルマリン固定脳から採取した大脳前頭葉（上前頭回）と海馬（外側膝状体を通る矢状断）のパラフィンブロックの 5 ミクロン切片を用いた。アルツハイマー病の病理学的診断において重要な老人斑とアルツハイマー原線維変化については各々、アミロイド β 蛋白と tau 蛋白に対するマウスモノクローナル抗体を用いて elite-ABC 法の免疫組織化学で行う DAB 発色、ヘマトキシリソによる核染色を施した。なお、 β 蛋白は蟻酸による前処理を行った。

その結果、 β 蛋白染色では、前頭葉において病巣部位がみられたのは、水俣病 1 例に対して対照は 2 例であり、海馬において病巣部位がみられたのは、水俣病・対照とも 0 例であった。
Tau 蛋白染色では、前頭葉においては水俣病 0 例に対して対照は 1 例であり、海馬において病巣がみられたのは、水俣病 1 例に対して対照は 5 例であった。

昨年 83 歳の対照者は痴呆の記載が明確でないものが混じっていたため改めて検討しなおして T₂ が、昨年と同様の結果が得られた。すなわち、若干若い非痴呆例と比較しても水俣病ではアルツハイマー病に見られる病理学的变化は少ない傾向が見られた。現在、熊本県剖検例 100 例について検討を行っている。

有機水銀中毒が筋肉に及ぼす影響に関する基礎的、臨床的研究

臼杵扶佐子 安武 章 松本美由紀
樋口 逸郎

有機水銀中毒では、四肢脱力、筋衰弱、易疲労性、muscle cramp などの筋症状がみられる。これまで、有機水銀中毒による神経筋接合部の障害の報告はあるが、筋組織への直接的な影響を検討した報告はみられなかった。我々は本研究による有機水銀投与ラットを用いた筋組織化学的検討で、メチル水銀はミトコンドリア酵素活性の低下をおこすことを明らかにし、水俣病患者で多くみられる易疲労性、脱力感は、この酵素活性の低下によるミトコンドリアエネルギー代謝障害が一因である可能性を指摘してきた。本年度はさらに、慢性メチル水銀曝露 1.5~2 年の筋肉についてひき続き検討するとともに、有機水銀曝露によるミオパチー変化出現の有無について投与量、投与期間を変化させた検討を行った。

メチル水銀投与ラットとして、(1) 長期投与群 (200 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day} \times 21$ ヶ月、24 ヶ月投与) (2) 中期投与群 (800 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day} \times 1$ ヶ月、400 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day} \times 3$ ヶ月投与) を対象とし、筋肉 (EDL (Extensor digitorum

longus)、Soleus) および各臓器(小脳、大脳皮質、肝臓、腎臓)の総水銀および無機水銀含量の測定を行うとともに、EDL、soleus 筋肉の凍結切片における筋組織化学的検討(Hematoxylin and eosin (H & E), modified Gomori-Trichrome, PAS, oil red O, NADH, ATPase, acid phosphatase, succinate dehydrogenase (SDH), cytochrome c oxidase (CCO), myoadenylate deaminase 染色)を行った。

長期投与群では、18ヶ月投与後まではミトコンドリア酵素活性低下が疑われるのみでミオパチーの変化は認められなかつたが、21ヶ月投与になると、ミトコンドリアの多い soleus 筋肉で control に比しミトコンドリア酵素である CCO、SDH 活性染色が明らかに低下し、さらに筋線維の大小不同、筋線維の変性など mild な筋原性変化が認められた。また、リソゾーム酵素である acid phosphatase 活性の軽度亢進が認められた。24ヶ月投与後では、上記の変化に加え、necrotic fiber も散見された。神經原性変化は認められなかつた。以上、長期投与群では、18ヶ月を超えて老齢期になると筋肉の変化が強くなり、mild な筋原性変化が認められることが明らかになつた。

一方、中期投与群では $800 \mu\text{g}/\text{kg/day} \times 1$ ヶ月 + $400 \mu\text{g}/\text{kg/day} \times 1$ 週間 投与群において、総水銀含量は腎臓 ($73.4 \mu\text{g/g}$) > 肝臓 ($43.2 \mu\text{g/g}$) > EDL ($19.4 \mu\text{g/g}$)、大脳皮質 ($14.8 \mu\text{g/g}$)、Soleus ($14.4 \mu\text{g/g}$)、小脳 ($12.2 \mu\text{g/g}$) の順で、筋では大脳、小脳と同程度の蓄積量であったが、無機水銀の含量は腎臓、肝臓に比し微量であった。筋組織化学的には、ミトコンドリアの多い soleus 筋肉でミトコンドリア酵素である CCO 活性染色の低下、SDH 活性染色の低下を認め、筋線維の大小不同や acid phosphatase 活性の軽度亢進が認められるなど軽度筋原性変化の傾向が認められた。神經原性変化は認められなかつた。しかしながら、 $400 \mu\text{g}/\text{kg/day} \times 3$ ヶ月投与群では、筋組織化学的にミトコンドリアの多い soleus 筋肉でミトコンドリア酵素である CCO 活性染色が control に比し軽度低下が認められるのみでその他の変化は認められなかつた。

以上より、有機水銀中毒では、筋肉においてミトコンドリア酵素活性の低下がおこるのみでなく、曝露量、曝露期間あるいは曝露される齢によっては筋原性変化がおこることが明らかになつた。従つて、水俣病患者で多くみられる四肢脱力、筋衰弱、易疲労性、muscle cramp などの筋症状には、メチル水銀の筋組織への直接的な影響に起因するものがあると思われる。今後、さらに曝露量、曝露期間を変化させ有用なモデルを作成して、治療を含めた検討を行う予定である。

Usuki, F., Yasutake, A., Matusmoto, M., Umehara, F., Higuchi, I., The effect of methylmercury on skeletal muscle in the rat: a histochemical study. Toxicol. Lett., 94: 227-232, 1998.

メチル水銀が細胞老化に及ぼす影響に関する基礎的研究

臼杵扶佐子 丸山 敬 石浦 章一

近年、細胞老化をひきおこす重要因子として、活性酸素による酸化傷害や環境ストレスが注目されている。紫外線、放射線、重金属は生体内に活性酸素を誘導する酸化ストレスを与えるが、メチル水

銀もその一つである。酸化ストレスは老化による白内障の誘発因子としても重要であることが指摘されているが、メチル水銀による白内障も実験的に経験されている。そこで、メチル水銀と細胞老化との関わりを明らかにするために、これまで確立してきた環境ストレスの影響を反映しやすく、その影響を解析しやすい細胞解析系。

A) ヒトミオトニンプロテインキナーゼ (MtPK) cDNA を遺伝子導入した C2C12 cell line

B) アミロイド前駆体蛋白質 (APP) cDNA を遺伝子導入したラット PC12 cell line

を対象として、メチル水銀による細胞傷害およびその防御機構、代謝変動についてさらに詳細に検討した。

cell line A), B) は低濃度メチル水銀曝露によりアポトーシスが誘導されるが、このアポトーシスは抗酸化剤 (N-acetyl-L-cysteine (NAC), Trolox) の同時投与で抑制されることから酸化ストレスによるものであることが考えられた。そこで、メチル水銀 1.0 μM 曝露後の細胞内活性酸素の検討を活性酸素に反応性をもつ DCF-DA (2'-7'-dichlorofluorescein diacetate) により cell line A) を用いて組織化学的に検討したところ、メチル水銀 1.0 μM 曝露 4 時間後 DCF 染色強陽性の細胞を多数認め、メチル水銀曝露による細胞内活性酸素の増加が明らかになった。この系では、曝露 24 時間後までにアポトーシスが誘導され、抗酸化剤 (NAC, Trolox) を同時投与することでアポトーシスは抑制されることから、メチル水銀によるアポトーシス誘導の mediator は活性酸素であることが考えられた。また、この系では、アポトーシスの最終段階での DNA 断片化に関与する酵素、caspase-3-like protease 活性の上昇をメチル水銀添加 10 ~ 12 時間後に認めた。従って、メチル水銀添加 4~10 時間に細胞のストレスシグナル応答がおこっていることが予想されるがストレス応答蛋白質の発現解析にて、アポトーシスに関与することが考えられている SAPK / JNK pathway の活性化が曝露 5 時間後より認められた。今後さらに、他のストレス応答遺伝子、応答蛋白質の発現解析を行い、メチル水銀による細胞傷害メカニズムを明らかにするとともに、細胞傷害の各段階における防御因子の検討をすすめる予定である。また、cell line B) を用いて、メチル水銀による酸化ストレスが細胞老化原因物質の一つであるアミロイドβ蛋白質の前駆体である APP の代謝動態に影響を与えるかについて解析を試みたところ、メチル水銀添加 24~72 時間までの検討で APP のβ分解の増加傾向が認められ、メチル水銀による酸化ストレスは APP の代謝動態に影響を与えている可能性が考えられた。今後、さらに条件を変えた実験系により検討を加えていく予定である。

Usuki, F. and Ishiura, S., Expanded CTG repeats in myotonin protein kinase increase susceptibility to oxidative stress. NeuroReport, 9: 2291-2296, 1998.

長期微量メチル水銀曝露のサルへの影響 —カニクイザルの胎児毒性に関する研究—

村尾 光治 若宮 純司 宮本謙一郎
中野 篤浩 安武 章 衛藤 光明

動物実験によるメチル水銀毒性発現について、ヒトへの外挿を考慮する場合、靈長類であるサルでの

研究が必要である。本研究ではイラクでのメチル水銀中毒で示されている視覚障害発現血中濃度（1~2 ppm）程度の血中濃度が維持された妊娠サルを用い、胎児への影響を検討した。実験には雌雄カニクイザル（雄3頭・雌7頭）を排卵周期にあわせてペアリングを行い、4~5週間後妊娠確認を行ったところ5頭の妊娠が確認されたので、3頭をメチル水銀処置群に2頭を正常群とした。メチル水銀処置群にはメチル水銀含有飲料水を、正常群には水道水を出産まで自由に与えた。約150日後正常分娩でメチル水銀投与群は3頭の雄性サルが、正常群は雌雄各1頭の子ザルが生まれたメチル水銀投与群の出生時の血中水銀濃度はNo.1が1.81 ppm、No.2が3.02 ppm、No.3が1.62 ppmであった。発育状況はNo.2が他の中毒サルよりも遅く、指標とした捕まり立ち・ハイハイ・歩行などの行動発現が最もおそかった。自発運動量は各頭ばらばらでメチル水銀濃度との関係は認められなかった。また、親の飼育状況をCCDカメラでビデオ録画したが水銀の影響とみられるようなものは観察されなかった。以上の結果からメチル水銀の胎児カニクイザルへの影響はNo.2とNo.1の間に臨床的閾値のある可能性が示唆された。

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における毒性発現に関する研究と環境中における動態に関する研究を進めてきた。前者では水銀化合物による胎児毒性の解明や中毒発現の機序解明等の毒性学的と基礎医学的研究を行い、後者では水俣湾底質から採取した水銀耐性菌の分類学的研究から、耐性発現の遺伝子特性に関する分子生物学的研究へと発展させ、併せて、この水銀耐性菌による環境浄化法の開発研究も行っている。平成8年7月の改組により、全所的に発展途上国等との国際共同研究を中心にして総合的水俣病研究を推進していくことになった。発展途上の国々においては、現在でも金採掘や産業活動等により大規模な水銀汚染が進行している。これらの水銀汚染地域の住民の曝露レベルは、今までのところ、幸いなことに水俣病様の中毐症の発症までには至っていないが、低濃度長期曝露による健康不安に関する大問題を提起している。メチル水銀の低濃度長期曝露の問題においては、特に、胎児への低濃度曝露の影響解明が解決を待たれている最大の研究課題である。このような状況に鑑み当研究センターの実験的研究としては、従来の水俣病の診断や治療の基礎となる研究に低濃度影響解明等の環境保健学的研究を加味していかねばならない。

(また、当研究部生理室の山元恵研究員は平成10年9月から米国留学中である。)

当研究部において10年度に実施した研究課題は以下の通りである。

1. 生殖毒性影響に関する実験研究
 - 1) 生殖系列への毒性影響に関する基盤研究（平成8～12年度）
 - 2) 生殖巣構成細胞への発生毒性影響に関する研究（平成8～12年度）
2. 各種ヒト培養細胞間での *in vitro* における有機、無機水銀の細胞内分布の検討（平成8～12年度）
3. 脳メタロチオネインの生理的機能に関する研究（平成7～11年度）
4. メチル水銀の生体内脱メチル化反応（平成7～11年度）
5. メチル水銀中毒による運動障害メカニズムの検討（平成9～11年度）
6. 水俣湾の水銀分解細菌の研究（平成6～11年度）
7. 水銀の生体内動態と治療法に関する研究—金属水銀の酸化および水銀イオンの還元について—（平成9～11年度）
8. 生体内における水銀と必須元素の相互作用に関する研究（平成7～11年度）

各研究課題の担当室と概略は以下の通りである。

病理室では、前年度に統いて水銀化合物の次世代影響の解明に関する実験発生学的研究〔課題1の1)及び2)〕と、各種ヒト培養細胞におけるメチル水銀の毒性発現機構の解明に関する細胞毒性学的研究〔課題2〕を開いた。前者では、確立できている鳥類の始原生殖細胞の毒性試験系を更に改良し哺乳類への応用の為の開発を行い、また、発生初期の生殖巣を構成する体細胞に対するメチル水銀毒性を評価する為の鳥類胚を用いた実験系の開発を進めた。後者では、各種ヒト培養細胞でメチル水銀の細胞毒性を検討し、人体における毒性発現のメカニズム解明の為の基礎的データを構築している。また、平成10年度から科学技術庁の科学技術振興調整費の総合研究において、課題〔生殖系列細胞を用いた希少動物種の復活、維持・増殖法の開発に関する基盤研究〕（桑名貴）も行った。

生化学室では、前年度に統いて水銀化合物の毒性発現機構の解明を目指し、水銀の生体内動態や毒性修飾因子等に関する研究を行った（課題3、課題4、及び課題5）。課題3では、水銀で誘導した脳メタロチオネインのI型、II型、及びIII型の同定法の開発を進めた。課題4では、メチル水銀の脱メチル化がミトコンドリアで産生するスーパーオキサイドによる可能性を強く示唆する成績を得ている。課題5では、メチル水銀の運動機能への影響をエネルギー代謝と電気生理の面より検討して、求心性神経伝導性が長期間にわたり回復しないことを明らかにした。また、平成7年度から科学技術庁の原子力試験研究として課題3の研究（安武章）を継続している。

生理室では、前年度に統いて環境科学的研究（課題6）と生理的研究（課題7）を行った。課題6では、水俣湾から採取した水銀耐性菌の分類学並びに分子生物学的研究を進め、更にバイオテクノロジーを駆使して汚染環境の浄化法を開発し、更に復元した環境の安全性の生物学的検定法の確立を目指して研究を進めた。課題7では、生体内における原子状水銀の動態解明を目指して基礎的検討を行った。また、平成9年度から、科学技術振興事業団の戦略基礎研究における課題【有機水銀分解菌の単離と諸性質】に関する研究（中村邦彦）も継続した。

課題8は、部内共同研究として底質と土壤の総水銀の測定法の検討を行った。

生殖毒性影響に関する実験研究 －生殖系列への毒性影響に関する基盤研究－

桑名 貴 内田 達也 松居 靖久
安部 真一 内藤 充 山海 直
田島 淳史 Robert J. Etches Jim Pettite

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の重要な構成因子となる生殖系列の細胞（始原生殖細胞、生殖原細胞、精子形成過程の細胞、卵子形成過程の細胞、精子、卵子）に注目し、実験動物を用いて発生初期における生殖系列細胞に対するメチル水銀の毒性を解析するための基礎研究を遂行してきた。

つまり、生殖系列に属する細胞は直接に後世代を担うことから、これに対する毒性評価を行うことは重要かつ緊急の課題となる。既に、生殖幹細胞としての始原生殖細胞（Primordial Germ Cells; PGC）を用いて、生殖系列に対する直接の毒性影響を評価する実験系を開発してきた。

本研究ではこれを発展させ、①毒性評価に用いる細胞をPGCから範囲を広げて生殖原細胞や精原細胞、卵原細胞が利用可能かどうかを検討し、また、②再現性のある方法とするために、PGC並びに生殖原細胞（Germ Cells; GC）を試験管内でPGCやGCの性質を保持したままで増殖させ均一なPGCを得る条件を検討し、本研究への応用を検討する。更に、③生殖系列への影響を理解するために、生殖系列を決定する因子の特定を試みている。

具体的には、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るために、本年度は羊膜類胚を用いて以下の研究を行った。

具体的には、将来の精子や卵子の祖細胞であるPGCの単離精製法、培養液、凍結保存法等を改良するとともに、単離したPGCをin vitroで長期培養するための培養条件を検討し、その増殖条件を検討し、

従来は操作過程自体に細胞毒性の可能性のある物質を用いていた始原生殖細胞の濃度遠心勾配法に替わる簡便かつ安全な方法を開発することを試みるとともに、in vitro に採りだした SPF ニワトリ胚からの PGC を 96 穴マイクロプレート内で KAv-1 Medium (Kuwana's Avian 1st Medium) を基本として各種の細胞成長因子を添加して PGC に対する増殖効果を検討した。この結果を受けて、樹立ニワトリ細胞株による PGC の維持増殖の条件を検討し、加えて既に生殖巣内に定着して分化を開始している生殖系列の細胞（本年度は生殖原細胞；GC）を in vitro で増殖させるために、胚の生殖巣を KAv-1 Medium を用いて培養して GC の培養条件を検討した。

上記の研究において、生殖系列に対するメチル水銀の毒性影響を検討する系の確立のために前年度に引き続き、①PGC の単離法、培養条件、凍結保存法の改良を行った。従来の PGC 単離法は胚血液中を循環する PGC を血液とともに試験管内に採り出し、これから Ficoll の濃度遠心勾配法を利用して PGC を単離精製する方法で、この方法は煩雑で長時間を要する点、加えて操作時間が長いことに起因する細胞傷害が否定できないという欠点を持っていた。この欠点を克服するために新しく細胞径の違いを利用して単離法を開発し、この方法の精製度、操作時間等を検討した結果、精製度は従来の単離精製法と同程度であり、操作時間は 15~20 倍短くすることが可能であった。今後、本法を改良することによって従来の Ficoll 法の欠点を無くした単離精製法を確立することが可能と考えられる。また、②単離した PGC を in vitro で長期培養するための培養条件を検討した結果、単離 PGC を増殖させるために必要な条件として、既に本研究により樹立したニワトリ胚由来の細胞 ($C_{SPF}ST16EB$) を用いて、本研究で開発した KAv-1 medium (Kuwana's Avian 1st medium) を基本培地として数種の細胞増殖因子を添加することで増殖を維持可能となった。現在、この増殖細胞が培養前の PGC と同じ細胞分化能を持つことを確かめる目的のために、この細胞を用いて生殖巣キメラ個体を作成中である。

加えて、哺乳類胚を用いた検定系開発のための基礎研究として、本年度はマウス胚から SSEA-1 抗体を用いたマウス PGC 単離法を試験的に試みが、現時点では PGC 収量の点で問題が多いため、今後の改良が必要である。

生殖毒性影響に関する実験研究 —生殖巣構成細胞への発生毒性影響に関する研究—

桑名 貴 李 賛東 Teresa Rogulska

初期発生過程での生殖巣形成へのメチル水銀の影響について実験動物を用いて解析する場合、母体経由、もしくは直接胚にメチル水銀を投与する方法では、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。そこで本研究では、メチル水銀の後世代への毒性影響を検討するために次世代を担う生殖巣を構成する体細胞成分に焦点を絞って、発生初期の生殖巣への毒性影響を解明することを目標として、生殖巣を構成する体細胞に対する毒性影響を評価する実験系を鳥類胚をモデルとして研究を行った。

本研究での影響評価を行う項目は以下の項目とした。

①PGC に対する誘引因子への影響

②PGC と体細胞との接着性と相互作用への影響

③PGC から GC へ分化させる因子への影響

④減数分裂が開始する時間スケジュールへの影響

生殖巣を構成する体細胞に対する発生影響を検討するための対照群として、①孵卵 3~5 日のウズラ、ニワトリ胚の生殖巣の体細胞のみを *in vitro* で培養した。この培養細胞を用いて、単離した PGC、GC と混合培養することにより生殖系列細胞の支持能を検討した。②更に、生殖巣の体細胞性の細胞に対する影響を検討するために、胚の予定生殖巣域を生体外に取り出して、予め生殖巣域を含む下半身を外科的に切除したホスト胚に移植する。この系を、胚手術が可能である鳥類胚（ニワトリ胚とウズラ胚との間）で行い、ホスト胚の PGC が移植した生殖巣原基（予定生殖巣）に誘引される比率の変化を検討解析した。

本年度は、PGC と体細胞との接着性を検討する材料として、生殖巣原基からの体細胞系の培養株の樹立を行い、これらの細胞系と PGC を混合培養して PGC 維持能と分化の有無を検討した結果、無細胞系での培養では PGC が 48 時間後には生存率が 5% 程度になるのに対し、生殖巣原基由来の細胞との混合培養では 10 日以上の維持が可能なことが判明した。ただし、本年度の培養系では混合培養用の細胞の基質からの剥離が激しく、それ以上の長期培養ができなかったために今後は継代混合培養を行って細胞分化の追跡を行いことが必要と考えられる。また、本年度は昨年度に引き続き、ウズラ胚の予定生殖巣域をニワトリ胚（予め生殖巣域を切除）に移植し、ホスト胚の PGC はウズラ生殖巣原基に誘引される際のデータを蓄積し、発生段階によって変化する予定生殖巣域の PGC 誘引能力の解析も行った。

各種ヒト培養細胞での *in vitro* における有機・無機水銀の細胞内分布の検討

—各種培養細胞間における水銀感受性の違いの検討—

荒巻 亮二 中野 篤浩 安武 章
岩城 徹

哺乳動物由来の培養細胞を用いた細胞種間でのメチル水銀感受性の違いについては、昨年度コロニー法を用いた実験で違いがあることを確認した。本年度は *in vitro* で培養されているヒト由来の細胞、神経芽腫 IMR-32、SK-SH、神経膠腫 U-373MG、子宮頸癌 Hela-S3、間でのメチル水銀毒性の違い、及び他の動物細胞との違いについて①顕微鏡下での形態変化の観察、②コロニー法、③WST-1 を用いた生細胞のミトコンドリア中の脱水素酵素の測定（MTT 法の改良型）、④LDH 法による死細胞から遊離してくる脱水素酵素の測定、について検討を行った。水銀添加後の変化については顕微鏡下での形態変化が一番鋭敏に観察出来、神経芽腫と他の細胞との間ではっきりした違いが見られた。又、変化の形が水銀濃度によって異なっている事が観察されたが、この方法では生と死の関係は判定できない。コロニー法は形態変化が起こる濃度に近い感受性の変化を示すが神経芽腫のコロニー形成能が悪い事から全ての細胞間の相互比較は出来なかった。WST-1 法は細胞間の比較が容易であるが、測定結果の変動が大きく、変動の原因を検討中である。LDH 法による死細胞の出現濃度は顕微鏡像の変化よりも感受性が低下するが、神経芽腫と他細胞間の違いは観察された。この事から形態変化と LDH 値の変化の併用が

細胞種間での毒性の違いの観察には、より有効と考えられる。又、メチル水銀と無機水銀の感受性の大きな違いは昨年度のコロニー法で観察しているが、細胞への接着又は取り込みを水銀分析計を用いた測定を行った結果、無機水銀のコロニー法での感受性はメチル水銀の10倍程度抵抗性であるが、細胞と接触している無機水銀の量についてはメチル水銀の1/10程度の量が認められ、培地中の血清成分等によって細胞との接触が妨げられている事が考えられる。メチル水銀と無機水銀との毒性の違いについては、さらに継続して検討を行う。

脳メタロチオネインの生理的機能に関する研究 第3報. メタロチオネインIIIの分別定量

安武 章 中野 篤浩 永沼 章

金属結合蛋白質メタロチオネイン(MT)は生体内各組織でラジカルスカベンジャーとしても機能し、重金属毒性作用や酸化的ストレスに対する防御機構の一端を担っている。MTにはI~IVの同族体があり、このうちMT-IIIは脳に特異的な同族体であるが、その機能に関してはほとんど報告がない。MT-IIIの機能を研究するには、混在するMT-I、IIとは別にその増減を正確に把握する必要がある。しかしながら、メッセンジャーレベルでのMT-III誘導に関する報告はあるものの、MT-III蛋白質自体の変化に関するデータはない。ここではMT-IIIの分別定量を電気泳動法とカラムクロマトグラフィー法によって検討した。検討するための試料として、MT-I、II遺伝子の欠損したMT-nullマウスおよび対照としての野性種マウス(C57BL系)の凍結組織(脳、肝臓、腎臓)を国立環境研究所・佐藤雅彦博士より入手した。MT-nullマウスの脳では遺伝子欠損のため、存在するMTは全てMT-IIIである。また、野性種マウスでは、脳にMT-I、II、III全てが存在し、肝臓と腎臓にMT-IとIIが存在する。まず組織をMTの酸化を防ぐために窒素気流下でホモジナイズし、存在するMT(大半が不安定な亜鉛結合型)を過剰量のHgCl₂(電気泳動用には²⁰³HgCl₂)を用いて水銀結合型に変換した。最終的に得られた水銀結合型MTをゲル電気泳動あるいはカラムクロマトグラフィーにて分析した。MTの検出・定量は、ゲル電気泳動では²⁰³Hgをプローブとしたオートラジオグラフィーで、カラムクロマトグラフィーでは溶離液をフラクションコレクターで集め、各フラクションの水銀濃度測定により行った。

まず、対照マウスおよびMT-nullマウス脳より分離調製した²⁰³Hg-結合型MTを用いてポリアクリルアミドゲル電気泳動を行い、オートラジオグラフィーにより、MTの分離・定量を試みた。ゲルの架橋度、泳動条件等を変えながら分離条件を検討したが、採用したいずれの条件下でも泳動後のバンドの広がりが大きく、各MT同族体の良好な分離結果は得られなかった。尚、文献的にはMT-IおよびII(亜鉛結合型あるいは遊離型)の分離例(従来の染色法)はあるが、水銀結合型を分離した例はなく、泳動バンドが広がる、という現象が水銀結合型の特性のひとつである可能性も考えられる。

次いで、1980年代からMT-I、II(亜鉛結合型)の分離系が確立しているイオン交換カラムによる分離を試みた。最近報告されたイオン交換-HPLCカラム(Shodex Asahipack ES-502)による分離例を参考に、同カラムを用いて水銀結合型MT同族体の分離を試みたが、良好な分離は得られなかった。電気泳動の結果ともあわせて、水銀結合型MTは亜鉛結合型とは電気的性質がかなり異なるものと考えら

れ、従来行われてきた電気的性質による分離は困難であると判断された。

次に、ゲルクロマトグラフィーを用いた分離の試みについて紹介する。これまでに、ゲルクロマトカラム（ファルマシア Superdex HR75）を用いることにより、組織中の水銀結合型 MT を他の蛋白質と分離定量できることを報告した (Yasutake et al., Arch. Toxicol., 72: 187, 1998)。採用した分離条件（流速 0.5 mL/分、1 mL フラクション）では、ラット脳より調製した水銀結合型 MT が 13~15 番目のフラクションに単一ピークで溶出する。この条件で MT-null マウス脳 (MT - IIIのみを含む) と野生種マウス腎臓 (MT - I、II を含む) のクロマトグラムを比較すると、前者は 13~14 番目に、後者は 14~15 番目に単一ピークが観察される。このずれは、MT - III が MT - I、II よりも余分にアミノ酸残基をもつていてるために、わずかに分子量が大きいためと考えられる。そこでさらに明確に MT - III を分離するために、本カラムを 2 本直列に結合して流速 0.5 mL/分、0.5 mL フラクションでクロマト操作を行った。MT - I、II のみが存在する野生種マウスの腎臓あるいは肝臓から調製した試料では、56~60 番目のフラクションに単一ピークが得られ、MT - III のみが存在する MT-null マウスの脳試料では 52~56 番目に単一のピークが得られた。また、MT - I、II、III すべてが存在する対照としての野生種マウスの脳試料からは、上記二つのピークが一部重複したパターンで得られた。また、ピーク面積から、野生種マウス脳では MT - III が総 MT の 80% 近くを占めることが推定された。以上、連結カラムを用いた 1 段階のクロマト操作により、MT - III と MT - I、II との分離・定量が可能であることがわかった。本法を用いることにより、昨年度報告した脳 MT 誘導モデルラット（総 MT としては 2 倍に上昇）において、MT - III 量の変動を知ることも可能であると考えられる。

(本研究は科学技術庁原子力試験研究費による)

Yoshida, M., Satoh, M., Yasutake, A., Shimada, A., Sumi, Y. and Tohyama, C., Distribution and retention of mercury in metallothionein-null mice after exposure to mercury vapor. Toxicology, in press.

Yasutake, A., Satoh, M., Tohyama, C., Hirayama, K., Selective and simple quantification of metallothionein III in mouse brain. J. Health Sci., in press.

メチル水銀の生体内脱メチル化反応

安武 章 平山紀美子 井上 稔

メチル水銀が動物体内で徐々に無機水銀に変化するのは周知の事実である。これまでのラットを使った研究から、肝臓が無機化反応の主要部位のひとつであり、反応に活性酸素分子の寄与することを明らかにしてきた。さらに、ラット肝臓スライスを使った研究から、関与する活性酸素分子は、 $\cdot\text{OH}$ ラジカルではなく、スーパーオキサイドである可能性が示唆された。今回さらに反応部位の推定を含めて、生体内無機化反応をより詳細に検討するために実験を行った。

細胞内における無機化反応の部位を推定は、メチル水銀投与 6 時間後のラット肝臓の細胞分画により行った。細胞を遠心分離法により、核／細胞膜、ミトコンドリア、ミクロソームおよび細胞質に分画

して、それぞれの無機水銀含有率を計算すると、他の部位に比べて、ミトコンドリアに高濃度の無機水銀が検出された。細胞内におけるスーパーオキサイドの産生が主にミトコンドリアの電子伝達系で行われることを考えあわせると、メチル水銀の脱メチル化の主要部位がミトコンドリアである可能性が高くなつた。次いで、分離ミトコンドリアにおける無機化反応について検討した。

肝臓ホモジネートより遠心分離法によって得たミトコンドリアは、2 mg protein/mL 濃度に調製し、反応に用いた。メチル水銀の負荷は、氷冷下でグルタチオン-メチル水銀 (10 μM) と 30 分処理することにより行つた。反応基質として 2.5 mM malate, 2.0 mM glutamate, 0.5 mM ADP を添加し、37 °C、2 時間の反応後、生成した無機水銀量を対照値とした。この反応系に電子伝達系阻害剤である rotenone, antimycin A, myxothiazole あるいは KCN を添加して同様にインキュベートし、無機水銀生成量への影響を観察した。培養ミトコンドリアにおける無機水銀の生成はこれら阻害剤により有意に抑制され、メチル水銀の脱メチル化反応が電子伝達系の活性と相關することが示唆された。電子伝達系ではユビキノンの還元反応によりスーパーオキサイドが産生されるが、この活性酸素の反応性はメチル水銀を分解するには不十分であることが証明されている。しかし、非水環境中における反応性は水溶液中とはかなり異なることも報告されている。有機溶媒に可溶性のクラウンエーテル - スーパーオキサイド複合体を用いて、疎水環境中におけるスーパーオキサイドのメチル水銀に対する反応性について検討した。その結果、ベンゼンあるいは酢酸エチル中では、メチル水銀を効率よく分解したが、この系に微量の水を添加すると分解反応は完全に抑制された。この結果はスーパーオキサイドが疎水環境中では、メチル水銀を分解しうることを証明するものである。ミトコンドリアのスーパーオキサイドは疎水環境の内膜で生じることを考慮すると、内膜に侵入したメチル水銀がそこで脱メチル化反応を受けるという状況はほぼ間違いないことと思われる。

ミトコンドリアの複合体IIIでは、セミキノンラジカルによって酸素がスーパーオキサイドに還元されるが、やがて還元型ユビキノンによって過酸化水素に還元される。したがって複合体IIIの阻害剤であるアンチマイシン A、ミクソチアゾールおよびKCN はここでのスーパーオキサイドの産生を阻害することにより無機化を抑制するものと考えられる。一方複合体 I の阻害剤であるロテノンは、複合体IIIへの還元当量の流入阻害をもたらし、同様にここでのスーパーオキサイド産生を抑制するのであろう。この状況はインキュベーション中のミトコンドリアにおける還元型ユビキノンの時間変化によって裏付けられる。当初約 50% であったミトコンドリアの還元型ユビキノンの割合は、インキュベーション開始後 5 分後には 80% 近くまで上昇するが、やがて減少に向かい、2 時間後には 20% 近くまで低下する。しかし、アンチマイシン A あるいはミクソチアゾールが存在すると、上昇した還元型の比率の低下はおこらない。したがって、産生したスーパーオキサイドの消去（還元）力が持続するものと考えられる。またロテノンが存在すると、還元型ユビキノンの初期の上昇は観測されず、2 時間後には 10% 以下まで低下する。

以上から、メチル水銀が疎水環境のミトコンドリア内膜に取り込まれ、そこで産生するスーパーオキサイドによって分解される、という現象が生体内無機化反応の少なくとも一部を説明するものと考えられる。ミトコンドリアは生体細胞において普遍的な器官であり、脳を始めとする各組織においても同様のメカニズムによる無機化反応がおこりうることも推定される。

Hirayama, K. and Yasutake, A., Effects of reactive oxygen modulators on in vivo demethylation of methylmercury. J. Health Sci., 45: 24-27, 1999.

メチル水銀中毒による運動障害メカニズムの検討

山根 一祐 安武 章 中野 篤浩
坂本 峰至 宮本謙一郎 三森 文行

ラットでの動物実験からメチル水銀中毒により骨格筋の無力化等の運動障害が起こることが知られている。メチル水銀による運動障害には、中枢神経および末梢神経の障害、更に骨格筋の障害が関与していると考えられる。本研究では、無力化に到るメカニズムを、骨格筋レベル、末梢神経、脊髄および中枢神経の各レベルで検討することを目的としおた。

ラットに塩化メチル水銀を経口投与し、メチル水銀中毒のモデル動物を作った。メチル水銀中毒ラットにおいて、電気生理学的方法により末梢神経の伝導速度及び活動電位の測定を行なった。また、運動障害の発生及び障害の程度と電気生理学的測定の結果との両者の比較から、メチル水銀中毒の運動障害における末梢神経障害の寄与を検討した。

求心性神経誘発電位から得られる値は神経伝導速度と Compound Nervous Action Potential であるが、メチル水銀投与群では極端に活動電位の低下が見られるため、神経伝導速度は測定不可能と考え、Compound Nervous Action Potential のみで、評価を行なった。5 mg Hg/Kg-B.w. で 7 日間メチル水銀を投与後、投与終了直後（3～7 日間）は、コントロール群との間に有意な変化は見られなかった。しかし、2 週目から伝導性が低下し始め、4 週目まで低下が続き、1 カ月では、ほぼ完全に求心性神経の伝導性が消失した。求心性神経の伝導性の消失は、その後も長期わたり続き、投与終了後 6 カ月経っても回復が見られなかった。

水俣湾の水銀分解細菌の研究

中村 邦彦 古川 謙介 境 正志

昨年度は、水銀耐性が高く、種々の水銀化合物を分解できる細菌を、水俣湾海水より分離することができたので、本年度は、同様の性質を持った細菌を水俣湾底質から分離することを試みた。1987 年および 1988 年に水俣湾底質より分離し、-80°C でストックしてある 814 株の細菌について、塩化第二水銀に対する耐性を調べたところ、59 株が最も高い耐性を示し 40 µg/mL の濃度まで発育できた。これらの細菌について、塩化第二水銀、塩化メチル水銀、塩化エチル水銀、酢酸フェニール水銀、パラクロロ安息香酸水銀、およびフルオレッセイン酢酸水銀に対する耐性を検討したところ、これら細菌の耐性パターンは、6 群に分類された。また、これら細菌の上記水銀化合物の分解性を検討した結果、水銀分解パターンは、20 群に分類されることが判明した。また、この 59 株と昨年水俣湾海水より分離した 35 株の細菌の分類を行ったところ、これらの細菌は *Pseudomonas*、*Aeromonas*、*Vibrio* 属細菌などに分類された。

また、水俣湾海水より分離した、塩化第二水銀や塩化メチル水銀などの水銀化合物を分解できる

Pseudoalteromonas 属細菌 1 株の水銀分解遺伝子の構造を決定した。この細菌の水銀還元酵素遺伝子 (*merA* 遺伝子) の塩基配列は、*Pseudomonas putrefaciens* 由来の *merA* と最も類似しており、68%の相同意を示した。また、この水銀還元酵素は、分子量 50 kD と推定された。更に、このアミノ酸配列 (479 残基) は、既知の水銀還元酵素の活性部位および Hg²⁺結合部位が見出されたが、N 末端の約 80 アミノ酸残基を欠失した特異な構造であることが判明した。

水銀の生体内動態と治療法に関する研究 —特に（1）金属水銀の酸化、及び（2）水銀イオンの還元について—

山元 恵 中村 邦彦 芳生 秀光
永沼 章 田端 正明

（1）金属水銀の酸化について

水銀は一度生体内に取り込まれると、生体内物質との親和性が強く排泄速度が極めて遅く、有効な治療法がないのが現状である。水銀中毒の治療法や発症前の予防法を開発するに当り、水銀の生体内動態について研究することは重要である。原子状水銀はそのままでは低毒性であるが、生体内における種々の因子により水銀イオンに酸化されて生体組織などに強力に結合し、毒性が増強し体外への排出も困難になる。原子状水銀の酸化を制御することができれば、水銀の生体組織への結合を阻止できる可能性が出てくる。従来の研究報告によると、原子状水銀の酸化には生体内的カタラーゼが主な役割を果たしていることになっている。しかしながら、カタラーゼのみが生体内における原子状水銀の酸化因子であるとは考えにくい。我々は水環境中における原子状水銀の酸化について研究し、水溶液中の原子状水銀の酸化が SH 化合物の存在下において顕著に促進される現象を発見し、そのメカニズムを水銀イオンと SH 化合物による安定な配位化合物の形成による、原子状水銀 水銀イオンの化学平衡の右方へのシフトによると説明した。しかしながら、化学平衡のみでは説明出来ない現象も存在した。本研究においては、生体内に豊富に存在する SH 化合物の原子状水銀酸化への関与の可能性、及び原子状水銀酸化のメカニズムの検討を行うことを目的とした。

実験系は、ガラスバイアル中に種々の反応液と原子状水銀を共存させて 37°Cにおいて反応後、反応液中の原子状水銀を窒素ガスにより除去し、水銀イオンを還元気化法で測定する系である。生体試料は動物血液などを用いることにした。本年度は、SH 化合物による原子状水銀の直接的な酸化反応の存在を証明する手段を検討した。

（2）水銀イオンの還元について

生体内において原子状水銀の酸化のみでなく水銀イオンの還元も起きていることが、これまでに報告されている。水銀イオンの還元のメカニズムを明らかにすることにより、生体内水銀の排出の可能性を検討することにした。従来、生体内の水銀イオンの還元については、カタラーゼに仲介される原子状水銀の酸化の抑制として説明されている。しかしながら、直接的に水銀イオンの還元に関与する因子については殆ど知られていない。そこで、生体内における水銀イオンの還元に直接的に関与する因子について検討することにして、従来、最も強い水銀イオン還元活性を持つとされる *Pseudomonas sp.K-62* から

m-mercuric reductase を抽出精製し、この酵素の反応条件を確定し、*in vitro*において glutathione reductase を添加し、水銀イオンの還元について検討することにした。本年度は、*Pseudomonas sp.*K-62 から mercuric reductase の抽出精製法を行なった。

底質と土壤の総水銀の測定法の検討

中野 篤浩 山元 恵 安武 章
坂本 峰至 有沢 幸吉

生体内における水銀と必須元素の相互作用に関する研究を計画していたが、国際共同研究における底質と土壤の総水銀の測定法の検討に変更した。底質と土壤の総水銀分析における検討課題は、水銀の可溶化と湿式灰化による残存硝酸や揮発性酸の問題である。底質と土壤中の水銀は種々の化学形態で存在しており、湿式灰化による酸処理で必ずしも完全には可溶化していない場合が多い。そこで、種々の酸の組合せによる可溶化の検討を行った。また、残存硝酸や揮発性酸の問題はアルカリ側での塩化第一スズによる水銀の還元を検討した。

水銀分析の為の湿式による加熱分解は水銀の揮散を防止する為に少しでも低い温度での処理が望ましい。王水はその組成から見て高温処理は出来ない混酸であるが、底質と土壤の水銀の可溶化には非常に有効であることが分かった。100 °Cで3~5時間の加熱でほぼ完全に可溶化している。また、この程度の加熱処理では高濃度の塩素イオンが共存しているので水銀の揮散は殆ど起こらない。残存硝酸と揮発性酸の問題は、硫酸酸性下において塩化第一スズで水銀を還元しようとすると残存硝酸が第一スズを消費し、更に硝酸や塩酸等の揮発性酸が気化し水銀蒸気の経路に付着し水銀蒸気を捕獲するようになり、水銀の測定を妨害することである。この問題は、苛性ソーダを加えてアルカリ性にすることによりほぼ解決できた。また、水銀に対する第一スズの還元力はアルカリ側の方が強力であった。

4. 疫 学 研 究 部

研 究 の 概 要

疫学研究部では、これまで不知火海沿岸地域における有機水銀汚染とそれに起因する健康影響について、人体および環境の両面から明らかにすることを目的として、水俣病の疫学特性を解明するための各種疫学資料の収集・解析を進める一方、有機水銀毒性、とくに胎児、新生児期における量-影響関係等を明らかにするための実験疫学的研究水銀による実態および人体影響評価のためのモニタリング方式の開発研究、水圈および生態系における水銀の動態に関する研究等を実施してきた。さらに、各国からの強い要請を受けて、近年新たな水銀汚染問題として世界の関心を集めているブラジル・アマゾン河流域、タンザニア・ビクトリア湖をはじめとする熱帯地域における金採掘に伴う水銀汚染のほか、中国・貴州省での化学工場からの水銀汚染、旧露天堀水銀鉱山をかかえるキルギスタンの水銀汚染問題、カンボジアに搬入された水銀を含む産業廃棄物事件等についても、これまでの知見を活かした国際協力研究を鋭意進めている。当研究部のこれらの研究は、水俣病の全容の解明はもとより、現在、熱帯地域を中心とし、顕在化しつつある水銀汚染に起因する健康被害に係る対策に役立てるためにも重要であり、とくに国際的な共同・協力研究については国際・総合研究部と密接に連携をとりながら調査研究を継続し、さらに進展させていく必要がある。

当研究部の研究課題と進捗状況の概要は以下の通りである。

1. 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
2. 毛髪水銀値からみた死因解析
3. 水銀汚染地域住民の出生性比に関する疫学調査研究
4. 中枢神経毒性を示す環境汚染物質のスクリーニング法開発に関する研究
　　—メチル水銀曝露による遊離神経細胞内 Ca イオン濃度変動—
5. ラットにおけるメチル水銀の間欠曝露により得られる中毒症状：水俣病モデルとして
6. 水圈における水銀の動態に関する研究
7. 水銀の生体および環境モニタリングに関する研究
8. 水銀の生物濃縮および生態系の影響に関する研究
9. 水銀の変異原性の下等脊椎動物を用いたスクリーニング

1、2 および 3 の課題は水銀汚染地域および対照地域住民を対象とした疫学調査研究で、課題 1 および 2 では水銀汚染地域の死因等に関する調査を水俣病発生当時からの資料を収集し、解析してきたもので、本年度は平成 6 年以降の死亡票の転記により、データを累積し、解析を行った。課題 3 は汚染の激しかった当時に溯って入手し得る貴重なデータであり、その出生について解析することは重要な意味を持つと思われる。課題 4 については、環境汚染物質の中で向神経作用を示す物質のスクリーニング法の開発研究の一環として、遊離神経細胞を用いたスクリーニング法を検討した。これは、これまでの研究でメチル水銀毒性により Ca 拮抗剤が抑制効果を有することを見出し、メチル水銀による細胞障害機序における Ca イオンの関与が強く示唆されたことに基づいており、今年度は蛍光 Ca イオン指示薬である Fura-2 を利用した細胞内 Ca イオン濃度測定装置を用いて、メチル水銀毒性と細胞内 Ca イオン濃度の変動との関連性の検討を行った。課題 5 については、ラットを用いてメチル水銀を間欠曝露することにより体重を維持し、体力の消耗状態でなく、症状のみを呈するラットの作成を試みた。課題 6 につい

ては、前年度に引き続き環境内での水銀の有機化と分布を化学形別に評価し、それらの過程に及ぼす環境要因の影響を放射化学的手法を用いて検討し、環境中における生物濃縮に至る機構を明らかにしようとするものである。今年度は放射性トレーサーと薄層クロマトグラフィーを組み合わせた手法を駆使して、水銀の有機化と水一底質系内における水銀分布に及ぼす底質特性、環境温度差の影響等を中心に検討する予定である。課題7については今年度水産庁の協力を得て、水俣湾および周辺海域の水質試料をはじめとする環境試料中の有機・無機水銀の存在濃度を決定するとともに、今後のモニタリングを進めるための予備的調査を行った。課題8では、魚類の水銀摂取には、鰓や腸のイオン調節機構が何らかの関与をもっていることが示唆された。また、水俣湾の底生生物群集は、かなり多様であること、対照地区とはやや生物相が異なっていることが明らかになった。課題9については、メダカのクローズドコロニー2系統を入手し、現在繁殖を進めている。

赤木 洋勝

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

渡邊 正夫 坂本 峰至 赤木 洋勝
中野 篤浩

メチル水銀の神経外臓器に対する影響や各種疾患に与える影響は未だ不明な点が多い。現在までに死因解析を行った結果では、水俣病患者では肝疾患と腎疾患の死亡率が高いという結果が得られている。今後、本結果の確認を含めた追跡調査はメチル水銀の影響を解明する上で重要と考えられる。

1968年から1992年までに死亡した水俣病患者と水俣病患者および水俣病高発症地域である水俣市、芦北町、津奈木町、田浦町、出水市、東町、御所浦町（指定地域）と対照として、上記を除く八代海周辺地域を2つ（対照1、対照2）にわけて40歳から84歳までについて各種疾患について性別に標準化死亡率(SMR)を計算し、比較検討を行う。

法務局において、各市町村より集められている死亡届より、死亡原因を転記し、調査資料を収集した。法務局は、熊本地方法務局八代支局、人吉支局、天草支局、鹿児島地方法務局川内支局の4箇所である。平成6年6月から12月までの資料を集めた。

各支局別に収集件数を見ると、八代支局455件、人吉支局296件、川内支局439件、天草支局971件であった。集められた資料については、コードづけを行っている。

一般に、平均余命を算出するにあたっては、死亡表を作成する必要がある。死亡表においては、まず、年齢階級における死亡率 q を求める。これより、生存率 p を得、これから年齢階級における最初の生存数とその階級内の死亡数及び定常人口を得る。これより、 χ 歳以上の定常人口の総数を求める。これから平均余命を計算することができる。このような方法で水俣病患者の簡易生命表の作成を行うことを試みたが、データの少ない階級があり、その補正について検討を行っている。

毛髪水銀値からみた死因解析

渡邊 正夫 坂本 峰至 赤木 洋勝
中野 篤浩 若宮 純司

水俣病におけるメチル水銀と死因の量一反応関係についてはいまだ不明である。そこで、毛髪水銀値データとのリンクを行い、量一反応関係の検討を試みる。

すでに入力済みの昭和 35、36 年におこなった毛髪水銀調査成績とのリンクを行い、量一反応解析を行う。

水銀汚染地域住民の出生性比に関する疫学調査研究

坂本 峰至 渡邊 正夫 山口 雅子
赤木 洋勝 中野 篤浩

水俣病は熊本県の水俣を中心とする地域の住民に発生したメチル水銀による神経障害である。患者らは化学工場から排出されたメチル水銀に汚染された魚介類を多量に摂取した。そして、その地域の住民、特に漁民及びその家族はメチル水銀によって高度に汚染された。当時の患者の毛髪中水銀濃度の平均値は 338.4 ppm (96.8-705.0 ppm, n=9) という極めて高い数値の報告もある。最初の患者は 1953 年に報告されており、その数は 1955 年以降急激に増加した。そして、2,200 人以上が水俣病患者であると認定された。また、1955-59 年にかけて多くの胎児性水俣病患者も出た。

一般に出生児数は女より男が多く、その出生性比は一定であることが知られており女 100 に対し男 106 で 1.06 である。しかし最近、化学物質汚染地帯近接の住民の生殖障害の潜在的指標として児の出生性比の変化が指摘されている。また、我々の動物実験でもメチル水銀の高濃度投与により仔の出生性比が崩れることを示唆する結果が得られている。そこで、我々は水俣における高濃度且つ広域なメチル水銀汚染の性比への影響を危惧した。国立水俣病総合研究センターは 1953 年から 1969 年までの水俣市における出生票のデータを保存している。今回は、そのデータを解析し、メチル水銀汚染の出生性比への影響を検討した。

水俣市における出生票のデータから子の住所が水俣市になっているものを抽出した。1953 年から 1969 年までを 5 年間ごとの期間に区切って（但し、最初の期間は 1953-54 年）①水俣市全体、②患者多発地区及び③漁民（父親の職業が漁業と記載されている、最もメチル水銀の曝露量が高かったグループとして）の子の出生性比（男/女）を求めた。なお、最も典型的な胎児性水俣病患者は第 2 番目の期間に相当する 1955-59 年に生まれている。本研究では、5 年間ごとの水俣市全体、患者多発地区及び漁民の男女の出生児数と対照として熊本県の出生性比から得られる期待値とを χ^2 適合度検定で比較した。熊本県の出生性比は 1953-54 年及び 1965-69 年が 1.05、1955-59 年及び 1960-64 年が 1.06 と一定している。

5 年間ごとの水俣市全体、患者多発地区（袋）及び漁民の男女の出生児数の検討の結果、水俣市における男女児の出生数には 1953-54 年は対照である熊本県と有意な差は認められなかった。1955-59 年は女児

が男児より多く生まれ、男女児出生数は対照と有意 ($p < 0.01$) に異なっていた。一方、男女児出生数は 1960-64 年、1965-69 年では対照の状態に戻っていた。患者多発地区では 1955-59 年には女児が男児より多く生まれていたが、男女児の出生数には熊本県と有意な差は認められなかった。漁民における男女児出生数は 1953-54 年では対照である熊本県と有意な差は認められなかった。1955-59 年では女児が男児より多く生まれ、男女児出生数は対照と有意 ($p < 0.05$) に異なっていた。1960-64 年、1965-69 年と依然として漁民における出生児数は女児が男児より多かったが、男女児出生数は対照である熊本県と有意な差は認められなかった。1955-59 年の性比は、対照地区 (1.05-06) > 水俣市全体 (0.97) > 患者多発地区 (0.85) > 漁民 (0.62) と汚染の高度なグループほど低下していた。

ダイオキシンなどいくつかの化学物質汚染で、出生性比が崩れて男性より女性が多く生まれるという報告がある。今回、熊本県全体と比較して水俣市全体及び同市の漁民の児で男性より女性が多いという出生性比の乱れが示された。その時期はこの地域におけるメチル水銀汚染の最も激しかった 1955-59 年と一致していた。更に、メチル水銀高濃度曝露群ほど傾向が顕著であった。これらのことから、当時のメチル水銀高濃度曝露が水俣市全体、特に漁民の出生性比に影響を与えていた可能性が示唆された。1985 年に土井らはメチル水銀汚染の性比への影響の検討を報告している。彼らも、統計学的には有意ではないが水俣市における性比の低下を指摘している。メチル水銀汚染で男性の出生数が女性より減少する理由の一つとして、胎児期に男性が女性より汚染に弱く男性が流産や死産で淘汰されたことが考えられるが、メチル水銀汚染地において性比が崩れていたことの原因及びその機序については更なる検討が必要と思われる。加えて、漁民の出生性比が完全には対照レベルに戻っていないようなので 1970 年以降の追跡調査も重要であると考える。胎児期のメチル水銀曝露が出生性比に与える影響について、我々は現在動物実験を行い、その発現機序の検討を進めている。

中枢神経毒性を示す環境汚染物質のスクリーニング法開発に関する研究 —メチル水銀曝露による遊離神経細胞内 Ca^{2+} 濃度変動—

坂本 峰至 中野 篤浩 足立 達美

我々はメチル水銀による中毒の発現機序について検討を進めている。最近、 Ca^{2+} の動態との関連で研究が進んでいる脳虚血における神経細胞死で、 $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{i}}$ が上昇することにより、 $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{i}}$ 依存性の phospholipase や protease の活性が高まり、細胞骨格や細胞膜の破壊がおこると考えられている。また、ミトコンドリアの障害や過酸化も $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{i}}$ 依存性であるとも考えられている。更に、最近中毒学でも注目されてきているアポトーシスも $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{i}}$ 依存性であるという説がある。我々はこれまでに、ラットを用いた *in vivo* の実験系および小脳顆粒細胞の初代培養細胞を用いた *in vitro* の実験系で Ca^{2+} 拮抗剤がメチル水銀毒性発現を効果的に抑制することを明らかにした。更に、蛍光 Ca^{2+} 指示薬である fura-2 を負荷した小脳顆粒細胞に塩化メチル水銀及びメチル水銀-システィン抱合体を曝露すると $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{i}}$ が上昇することを示し、メチル水銀の細胞毒性の発現機序に Ca^{2+} が寄与していることを示唆した。今回は、 K^{+} による脱分極や NMDA 負荷による $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{i}}$ の上昇との比較によりメチル水銀の作用機序を検討した。更に、塩化メチル水銀とメチル水銀-システィン抱合体を $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{i}}$ の測定時と同様な条件で曝露し細胞内に実際に移行したメチル水銀量を比較検討した。

小脳顆粒細胞の単離と蛍光色素の負荷：1週齢ウィスター系ラットから断頭により小脳を摘出し、酸素負荷した36 °CのTyrode's bufferで60分間ディスパーゼ（1000 protease units/mL、合同酒精）処理後、ピッチャーピングによりメッシュに通して、細胞浮遊液とした。

[Ca²⁺]i 解析：2 mLの細胞浮遊液をカバーガラス底培養皿（MERIDIAN Instruments Far East K.K.）に入れ、34 °Cの恒温槽に1時間静置し細胞をカバーガラス底に接着させ、5 μM相当となるようにFura 2/AMを加え更に1時間静置した。[Ca²⁺]iの測定は細胞内カルシウムイオン濃度解析システム FC-500（フルサワ ラボ・アプライアンス）により、小脳顆粒細胞の接着したカバーガラス底培養皿を顕微鏡ステージ上に置き、まず位相差光学系で観察し、適当な視野を選び、光学系をテレビカメラ側に切り替え、15個の細胞を選び励起光を340 nmに固定し、360 nmの励起光をメチル水銀曝露実験前後だけに照射して代表的な6個の細胞の340 nm/360 nmの蛍光比の平均をとって[Ca²⁺]iの変化として表した。温水を流した太管の中に細管を通し、それを通して一定温度（31-32°C）でTyrode's bufferを灌流し続け、薬液を灌流液に切り替えて曝露を行った。

K⁺及びNMDAとメチル水銀ーシステイン抱合体による[Ca²⁺]i上昇との比較：今回は、50 mM K⁺及び200 μM NMDA（Mg²⁺-freeの系）で引き起こされる[Ca²⁺]i上昇とメチル水銀ーシステイン抱合体によるものとの比較を行った。更に、Ca²⁺拮抗剤であるフルナリジン（100 μM）の[Ca²⁺]i上昇抑制効果の比較検討も行った。

細胞へのメチル水銀の取り込み：前述の方法で作成した細胞浮遊液は35 °Cの恒温槽で30分間ゆっくりと振盪し、30 μLの1 mM 塩化メチル水銀またはメチル水銀ーシステイン抱合体を30 mLの細胞浮遊液に加え（メチル水銀の最終濃度が1 μM）攪拌し、すぐに10 mLの反応液を取り出した。残りの反応液10 mLは35 °Cの恒温槽で10分間振盪した後に取り出した。取り出した反応液は3000 rpmで一分間遠沈し、沈殿した細胞は1 mMの2-アミノイソ酪酸を含むTyrode's bufferで更に2回洗浄した。メチル水銀の非特異的吸着を除くために1 mMの還元型グルタチオン（GSH）を含むTyrode's bufferで同様に洗浄する系も作った。沈殿洗浄した細胞は2 NのNaOHで溶解させ水銀と蛋白質の定量を行い、水銀濃度は蛋白質当たりの総水銀として表した。データは3回の実験の平均値と標準偏差で表した。

K⁺及びNMDAによる[Ca²⁺]iは通常の灌流液が薬液に変わった直後から上昇し薬液を通常の灌流液に切り換えると速やかに元のレベルに戻った。一方、メチル水銀ーシステイン抱合体20 μMの場合、90秒後から上昇を始めゆっくりと上昇し200秒後にピークに達し、一旦上昇した[Ca²⁺]iは通常の灌流液に切り換えて観察期間内での低下は見られなかった。

50 mM K⁺及び200 μM NMDAによる[Ca²⁺]i上昇はフルナリジンにより1/10以下に押さえられた。一方、メチル水銀ーシステイン抱合体による[Ca²⁺]i上昇はフルナリジンにより全く影響を受けなかった。

塩化メチル水銀またはメチル水銀ーシステイン抱合体と反応後すぐに遠沈しTyrode's bufferで洗った場合の水銀値は、塩化メチル水銀を負荷した細胞がメチル水銀ーシステイン抱合体を負荷させたものより約2.5倍高かった。同様に反応後すぐに遠沈しGSHを含むbufferで洗った場合、Tyrode's bufferで洗った場合より水銀値は低下した。特に、メチル水銀ーシステイン抱合体に曝露した細胞の水銀値は大きく低下し、塩化メチル水銀を負荷したもののは1/5以下であった。塩化メチル水銀並びにメチル水銀ーシステイン抱合体と反応10分後すぐに遠沈した場合の結果では、GSHを含むbufferで洗った細胞の水銀値の増加が塩化メチル水銀負荷の場合約40%であったのに対しメチル水銀ーシステイン抱合体を負荷した場合約4倍と大幅に高くなっていた。

我々は、ラットを用いた *in vivo* 及び小脳顆粒細胞を用いた *in vitro* の実験系で、 Ca^{2+} 拮抗剤がメチル水銀毒性発現を効果的に抑制することを明らかにし、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ がメチル水銀の毒性発現機序において重要な役割を果たしていることを示唆した。更に、小脳顆粒細胞に蛍光 Ca^{2+} 指示薬である fura-2 を負荷し $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 測定装置を用いて、塩化メチル水銀とメチル水銀-システィン抱合体の負荷による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の変動を比較検討した。今回は、 K^+ による脱分極や NMDA 負荷による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇との比較によりメチル水銀曝露による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇の作用機序を検討した。更に、塩化メチル水銀とメチル水銀-システィン抱合体を $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の測定時と同様な条件で曝露することにより実際に細胞内に、移行するメチル水銀量の違いの比較検討を行った。

メチル水銀による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇は、 K^+ による脱分極や NMDA 負荷による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇とは全く異なり、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇はメチル水銀負荷後かなり時間が経ってから起こり、メチル水銀の負荷を止めても元にもどらなかった。更に、 Ca^{2+} 拮抗剤によっても $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇は押さえられなかつた。これらの結果から、メチル水銀による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇は受容体の活性化、またそれに伴う膜の脱分極による、受容体運動陽イオンチャネルや電位依存性 Ca^{2+} チャネルが活性化されて Ca^{2+} が激しく細胞内に流れ込むパターンとその機序が異なるのではないかと考えられた。すなわち、メチル水銀による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇は細胞内に徐々に取り込まれていったメチル水銀による細胞内小器官からの Ca^{2+} の遊離による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇、細胞内の Ca^{2+} のくみ出し能の低下、または、細胞内小器官への $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の取り込み能の低下によることが示唆される。これらは、前回発表した Ca^{2+} -free の Tyrode's buffer 中でもメチル水銀による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇が起つたという結果からも支持される。

塩化メチル水銀並びにメチル水銀-システィン抱合体と反応直後に遠沈し Tyrode's buffer で洗った場合、塩化メチル水銀を負荷した細胞がメチル水銀-システィン抱合体を負荷させたものより約 2.5 倍高く、単離した細胞に塩化メチル水銀で曝露するとシスティンとの抱合体で曝露するより膜表面に付着したメチル水銀量が顕著に高く、メチル水銀の細胞内への移行が制限され、メチル水銀の細胞膜への作用が強調されることによって *in vivo* でのメチル水銀作用を反映していない可能性が示唆された。また、塩化メチル水銀並びにメチル水銀-システィン抱合体と反応 10 分後すぐに遠沈した場合での結果では、GSH を含む buffer で洗った細胞の水銀値の増加が塩化メチル水銀負荷の場合よりも大幅に高く、メチル水銀をシスティン抱合体の形で曝露すると細胞内へ取り込まれ易くなり、*in vivo* により近いメチル水銀の作用が観察されると考えられた。

ラットにおけるメチル水銀の間欠曝露により得られる中毒症状：水俣病モデルとして

坂本 峰至 中野 篤浩 若林 孝一

ラットにメチル水銀 5-10 mg/kg/day を連続投与すると神経症状の出現に先行し食欲の減退によると思われる体重の減少が起つり、投与終了後 1-2 週間以内に飢餓状態で死に至る。そのようなラットに観察されるメチル水銀中毒症状の指標としてよく用いられているのは尻尾を持ってぶら下げた場合の後肢交差である。しかし、この後肢交差は筋の緊張に絶食状態からくる体力の消耗による脱力が加わったもののように思われ、後肢交差を示すに至つたラットは数日後には死んでしまう。そこで、メチル水銀による急性激症型を除く、一般の水俣病患者を考えての実験なら症状を呈しながらなおかつ体重の減少を

抑えて長く生き続ける動物の作成が必要であると考えた。今回は、メチル水銀 5 mg/kg/day を間欠的に投与し、体重を急激に減少させないままに後肢麻痺等の症状を出現させ症状を持ったまま生き続けるラットを作成することを目的として実験を行った。また、同様な投与法の下での雌雄の耐性の比較も行った。更に、この投与法で症状を呈したラットへのメチル水銀の投与を止めた後の症状の変化についても観察した。途中で体重減少が起こり体重の回復不可能と想定されたものについては病理組織学検討を行った。

実験 1：8 週齢のウイスター系雄ラットに塩化メチル水銀 5 mg/kg/day を 5 日間連続投与し、3 日間休み、続いて 3 日間投与し、5 日間休み、更に間欠的にメチル水銀を投与することによって体重を急激に減少させない様に個体ごとに投与を続け症状の出現の観察を行った。また、途中で体重減少が起こり体重の回復不可能と想定されたものについては病理組織学検討を行った。

実験 2：8 週齢のウイスター系雄雌それぞれ 7 匹のラットに日 5 mg/kg/day の塩化メチル水銀を 8 日間連続投与し、更に間欠的にメチル水銀を投与することによって体重を急激に減少させない様に投与を続け症状の出現の観察を行った。但し、本実験では雄雌に同じ日に投与を行った。

実験 1：塩化メチル水銀 5 mg/kg/day を 12 日間連続投与したウイスター系雄ラットでは 6 回目投与後から体重が減少し始め投与終了後もほぼ直線的に体重が減少した。そして、投与終了後 1 週間後には半数が後肢交差現象を示し、その 2 日後から数日間の間に全例が死亡した。

一方、間欠投与群ラット（体重 275.5 ± 3.8 g, n=6）には個体ごとに 320 g を越えたら塩化メチル水銀 5 mg/kg を投与し続け、最初の投与から 32 日目に全例に尻尾を持って吊るしたときの後肢の引きつけが見られた。48 日後には全例に後肢の麻痺が観察された。この時のラットの平均体重は 307.2 ± 30.7 g (n=4) で、尻尾を持って吊り下げる全例が強い後肢の屈曲を示した。但し、毛並みは良く体力も残っているのでケージの中で激しく後肢をバタバタさせている状態が続き、連続投与による食欲減退で衰弱し、動きも少ない従来の中毒状態とは全く異なっていた。その後も間欠的に投与を続け、約 3 カ月間で最多投与例は 5 mg/kg/day を 20 回であった。途中で体重が減少し脱落していった 3 例については病理組織学的検討を行った。

Case A: 10 月 6 (277.5 g)、7、8、9、10、14、15、16、22、23、28、29、30 日、11 月 5、13、19 日に 5 mg/kg/day の塩化メチル水銀を投与し 11 月 10 日 (275 g) に強い後肢麻痺と尻尾を持って提げた場合の後肢の屈曲を示し、その後後肢麻痺のまま体重減少が続き、11 月 14 日に 227.8 g まで体重が落ちたので解剖した。

Case B: 10 月 6 (277.4 g)、7、8、9、10、14、15、16、22、23 日、11 月 10、12、13、19 日に 5 mg/kg/day の塩化メチル水銀を投与し 11 月 25 日 (253 g) に強い後肢麻痺と尻尾を持って提げた場合の後肢の屈曲を示し、その後も後肢麻痺のまま体重減少が続き、11 月 28 日に 230.7 g まで体重が落ちたので解剖した。

Case C: 10 月 6 (277.4 g)、7、8、9、10、14、15、16、22、23、28、29、30 日、11 月 17、19 日に 5 mg/kg/day の塩化メチル水銀を投与し 11 月 18 日 (329 g) に強い後肢麻痺と尻尾を持って提げた場合の後肢の屈曲を示し、その後徐々に後肢麻痺のまま体重減少が続き、12 月 15 日に 228.2 g まで体重が落ちたので解剖した。

病理組織学的検討の結果、A、B、C 共に高度の変化が脊髄後根と脊髄後索に認められた。ここでは、神経線維の崩壊、脱落が高度であった。更に、A、B には小脳顆粒細胞脱落が明らかであった。一方、

Cには顆粒細胞の脱落は認められなかった。

実験2：12月26日には雌全例、翌日には雄全例に尻尾を持って吊るした場合に後肢の軽い引きつけが見られた。このころの雌の反応が鋭敏になりメチル水銀の投与の際にキーキーと鳴き攻撃的な態度を示した。1月20日の最期の投与後、雌雄共に体重の減少が続いたが雌の方の体重減少は緩やかだった。1月27日に雌、1月28日に雄のほぼ全例に強い後肢の麻痺が現れた。雄のラットは1月29日から死亡例が現れ、2月6日で全例が死亡した。一方、雌は2月6、16、23日に1例ずつが死亡したが残り3匹は3月3日あたりから強い後肢の麻痺を残したまま体重が回復し始め、3月6日以降も症状を残したまま順調な体重回復を見せてている。

両実験を通じ、体重が一方的に減少せず回復していくような場合ではメチル水銀の投与を止めると症状も多少回復していく傾向にあった。また、後肢交差は、体重が減少し衰弱した死亡直前のラットにのみ観察され、強い後肢の麻痺を呈しているラットの尻尾を持って吊るしたときに見られるのは後肢の強い屈曲であった。

これまで行われてきた多くのラットを用いたメチル水銀中毒実験は5-10 mg/kg/day のメチル水銀を連続投与し、体重の減少が起こり、体重の回復不可能なまま死に至る状況にあるものを中毒ラットとして扱っている。しかし、実際の急性激症の水俣病の患者を除き、一般的の水俣病患者はメチル水銀が体内から排泄されて水銀値が低くなった後でも症状を呈しているケースである。すなわち、体重の回復が不可能で衰弱しているラット（体内的水銀濃度も高い）での生理、薬理学的実験と体重が回復してきて症状のみを呈するもの（体内的水銀濃度は低下してきている）とは区別して考えるべきであると考えた。そこで、今回は体重減少が始まった頃に投与を止め更に体重が増加し始めると投与を開始するという方法で実験を行い。体重を維持し、体力の消耗状態でなく、症状のみを呈するラットの作成を試みた。

その結果、体重が減少し始めたら投与を止めるという方法で後肢の完全な麻痺症状を呈しながらも体重は増加するラットの作成に成功した。更に、同様な投与法及び投与量のメチル水銀を間欠的に雌雄双方のラットに続けたところ雌の方がメチル水銀の毒性に対して強かった。このことは、雄より雌に体重への影響を除いて脳中により多くのメチル水銀を蓄積させ得るということで、脳中にある一定以上水銀値を長期間蓄積した状態でのメチル水銀の脳組織に及ぼす影響の観察には雌の方が適していることが示唆された。また、完全な後肢麻痺を呈するまでに到らなかった場合メチル水銀の投与を止めると後肢麻痺の症状は回復傾向にあり、メチル水銀が体内にある一定濃度以上有る場合に比べ、メチル水銀が抜けた後では症状が軽くなることが窺われた。

また、今回の実験で得られた体力を残したまま症状を呈するラットは非常に強い後肢の麻痺があっても後肢交差は呈せず後肢の強い屈曲のみが観察され、後肢交差は体重減少による衰弱状態が加味された状態であることが示唆された。

早晚死に至る様なラットでは飢餓状態による体重減少による臓器中の水銀の濃縮・水銀値の上昇が起ると考えられヒトの水俣病を考えるには不適当であるし、長期に脳中水銀値が高濃度に継続された場合の参考にはなりにくい。そこで、本実験で得られたラットは、これまでの中毒モデルとは異なった視点での研究に有益であろうと考える。更に、実験的に中毒動物を作る場合でもメチル水銀が体内に多量に存在していて、その残留するメチル水銀の影響も受けているものと、メチル水銀は抜けてメチル水銀による細胞障害による症状のみを呈しているものとは分けて考える必要がある。その点でも、本研究の成果は有益と考える。ただし、本投与法による組織中の水銀濃度の推移や症状を呈した状態で体重の回

復していくラットの病理組織学的検討は行っておらず今後の研究課題としたい。

水圏における水銀の動態に関する研究

赤木 洋勝 坂本 峰至 J.R.D. Guimaraes
J.R. Ikingura

水銀化合物の化学形変換、水銀の化学形別分布並びに生物濃縮について総合的に評価するとともにそれらの過程に及ぼす環境要因の影響を詳細に検討し、環境内における水銀の生物濃縮に至る機構を明らかにする。

種々の底質試料に乾燥重量当たり 0.1-1 ppm になるように放射性 ^{203}Hg を加え、Jenkins tube (8×30 cm、円筒型) を用いて底質-水-生物系モデルを作成する。定期的に各コンパートメントの試料を採取し、オートウェル γ -カウンター (NaI) を用いて総水銀濃度を測定するとともに、各試料中水銀をジチゾン-トルエン溶液を用いて抽出し、アルカリ溶液でトルエン層中の過剰のジチゾンを除去後、TLC で有機水銀と無機水銀に分離してメチル水銀の含量を評価する。

本研究は、これまで確立してきた環境試料中水銀の化学形別分布を定量的に評価しうる放射化学的手法を駆使し、放射性トレーサーを含むモデル水圏を用いて種々の環境条件下における水銀の動態を定量的に把握することにより、生物濃縮に関わる水銀の有機化とその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。前年度において、水俣川上流で摂取した表層底質に乾燥重量当たり 0.7-1.0 ppm の $^{203}\text{HgCl}_2$ を添加し、その上部に河川水 1 L を積層したモデル水圏について、種々の条件下で 3-5 週間インキュベートした結果、底質中で生成されたメチル水銀量は底質中水銀の 3-13.8% を占め、底質中メチル水銀量は表層で最も高く、中層・下層の順に低くなる傾向がみられた。好気性と嫌気性の比較では嫌気性条件下に、よりメチル水銀の生成量が多く、水層に自然移行した水銀については、時間の経過とともにメチル水銀が大半を占めるようになることが認められた。

今年度は、これらの結果の信憑性を確認すべく、タンザニア・ダルエスラーム大より来日した Dr. Ikingura の協力を得て放射性トレーサーを用いないコールドの HgCl_2 を同様に底質に添加した水槽（全容積 30 L）での実験系を作製し、定期的にサンプリングした底質、水質、生物試料につき、これまで当センターで確認してきた総水銀およびメチル水銀分析手法を駆使して各種試料中無機・有機水銀の評価を行った。その結果、コールドの系においても極めて類似した底質でのメチル化の水槽への移行性等を確認することができ、これまで確立してきた放射化学的手法の妥当性が再確認された。なお、この新しい放射化学的手法については今年度から 5 年間にわたって計画されている IAEA プロジェクト “Coordinated Research Project on Isotope Studies of the Biogeochemistry of Mercury in Polluted Environment” における手法の一つとして採用されることになっている。

また、今年度の成果については、Sci. Total Environ. に編集され近く掲載される予定である。これらの知見は現在アマゾン河流域をはじめ国際的にも大きな関心事となっている熱帯地域を中心とした金採掘に伴う水銀汚染問題、とくに無機水銀からの有機水銀生成とその生物濃縮機構解明の課題とも関連して意義深いものであり、今後更に詳細な知見の集積が必要である。

水銀の生体および環境モニタリングに関する研究

赤木 洋勝 坂本 峰至 山口 雅子
保田 叔昭 富安 卓滋 安藤 哲夫
佐藤 正典 堀川 博史

水俣湾周辺海域および鹿児島湾における水銀について化学形別分布状況を定期的に把握し、今後の水銀汚染の推移を観察するとともに、とくに生物濃縮に関わるメチル水銀の起源とその移行経路を明らかにする。また各調査地点における種々の環境要因を併せて調査し、モデル水圏を用いた化学形別水銀の移行、分布等に及ぼす環境要因の解析結果と関連させることによりフィールドにおける生物への水銀蓄積機構を解明する。

汚染形態の異なる水俣湾周辺海域並びに鹿児島湾を対象とし、鹿児島大および水産庁西海区水産研究所の協力を得て、水生生物、水質、底質を採取する。水銀の化学形別評価のための手段としては、これまでに生体および環境試料中水銀の分析化学的研究で確立された総水銀およびメチル水銀の系統的分析法を用い、同時に温度、酸化還元電位、イオン強度、pH、浮遊物濃度、底質特性等の環境要因の測定を行い、水銀の化学形別分布との関連性を求める。

本研究は、水俣湾を中心とする不知火海および鹿児島湾における水銀汚染の現状を把握し、内湾域における生物濃縮性の高いメチル水銀の起源とその生物濃縮に至る機構を明らかにすることをねらいとしている。水銀の化学形別分別分析のための手法としては、これまで当研究センターで長年かけて確立し、改良を重ねてきた総水銀およびメチル水銀の系統的分析法を駆使して実施してきたが、今年度もこれまで手がけてきたメチル水銀抽出に用いるベンゼンからトルエンへの移行に伴う、各分析操作過程における抽出効果、精度等の確認作業を更に進め、すべての生物・生体試料および環境試料中メチル水銀においてトルエンを用いた最適分析条件を設定することができた。また昨年度は、共同研究のカウンターパートである水産庁西海区水産研究所の協力を得て、これまで明らかにされていない水俣湾周辺海域における海水中の水銀について総水銀のみならずメチル水銀の濃度レベルに加えて、底泥中水銀の化学形別分布についても明らかにしてきたが、今年度はこれらの結果をさらに確認するため、文部省による日本-スロベニア2国間学術交流プログラムの一環として来日した、前IAEA海洋科学研究所(モナコ)海洋科学部長、現スロベニア・リュブリアナ大学ステファン研究所環境科学部長Dr. Horvat、鹿児島大医・公衛・安藤哲夫氏、鹿児島大・理・分析化学・富安卓滋氏らの協力を得て、水俣湾周辺海域の水質およびムラサキイガイを採取し、水質試料についてはガラスファイバーフィルター(GF/C,whatmann)を用いて濾過し、濾液と浮遊物質について無機・有機分別分析を行った。その結果、全水中総水銀レベルは1.24-17.10 ng/Lであり、濾過水中総水銀レベルは0.46-2.27 ng/Lを示し、大半は懸濁物に吸着して存在することを確認した。また、濾過水中メチル水銀レベルは0.04-0.29 ng/Lであり、濾過水中総水銀のうちメチル水銀の占める割合は2.7-11.2%であった。一方、百間港および丸島港へ流入する側溝についても同様な調査を行ったところ、全水中総水銀レベルはそれぞれ17.1および3.17 ng/L、濾過水中のそれはそれぞれ5.80および0.51 ng/Lを示し、濾過水中メチル水銀レベルは0.25および0.29 ng/Lと海水に比べ比較的高い値を示した。これらの結果は昨年度の結果とほぼ一致するものであり、湾央部、湾口

部、湾奥部ではやや高いものの、湯ノ児湾の海水ではほぼ汚染のない天然海水の水銀レベルであることが再確認された。ムラサキイガイについては目下、当研究センターと鹿児島大学で分析が進められており、近々結果が出揃う予定である。

水銀の生物濃縮および生態系の影響に関する研究

山口 雅子 保田 叔昭 赤木 洋勝

水銀は環境中に放出されると食物連鎖を経て生物濃縮され、高濃度になって人体を汚染することが知られているが、生物による水銀摂取にはいくつかの環境因子が影響すると考えられ、それについては未だ不明な点も多い。本研究では生物濃縮と環境因子の関係、及び水銀汚染による生態系への影響についての研究を行う。

1. 魚類の水銀摂取・蓄積と環境水浸透圧との関係について

昨年度の実験で、魚類の環境水からの水銀蓄積量は、淡水中と海水中で異なることが示された。

今年度は、魚類の水銀摂取における塩類細胞の役割について探るため、イオン交換系阻害剤の効果を調べた。実験にはウナギ (*Anguilla japonica*) を用い、淡水適応群と海水適応群について実験を行った。阻害剤としては、 Na^+/H^+ -antiporter 阻害剤の Dimethyl Amyrolide (DMA) と、 Na^+/K^+ -ATPase 阻害剤の Ouabine を用いた。

阻害剤を入れないときの水銀摂取量は、鰓、腸とともに海水適応群のほうが多い。

次に阻害剤の効果であるが、鰓の水銀摂取量は、海水適応群においては DMA で減少、Ouabine で増加した。淡水適応群でも、海水適応群ほどではないものの、同様の傾向が見られた。腸の水銀摂取量は、淡水適応群においては、DMA, Ouabine のどちらによっても著しく増加したが、海水適応群では殆ど効果が見られなかった。

以上の結果から、水銀摂取にはイオン交換系が何らかの方法で関与していること、また、その働きは、鰓と腸、淡水適応時と海水適応時では異なることがうかがえる。特に、淡水適応群の腸においては、Ouabine 处理で水銀摂取量が激増している。この物質は腸における能動的なイオン交換を効率的に停止させることから、淡水中では腸から水銀を排出する機構があると考えられる。塩類細胞には、 Na^+ を淡水中から摂取する際に、これと引き換えに NH_4^+ などの一価の陽イオンを排出する作用がある。メチル水銀イオンもこのような経路に乗っている可能性がある。今後、水銀排出実験などを通じて、魚類の水銀摂取機構を明らかにしたい。

2. 潮間帯底生生物の多様性と水銀濃度との関係について

御所浦、天草郡河浦町、宮崎県北浦町で定量採集を行った。各採集地点では、高潮帯・中潮帯・低潮帯について、転石帶では $50 \times 50 \text{ cm}$ コドラーート 4 個、岩礁帶では $25 \times 25 \text{ cm}$ コドラーート 6 個を設定して底生生物を採集した。得られた生物は、すべて種を同定し、各種毎に個体数と 60°C 一晩乾燥後の総重量を求めた。

これらのデータから種の多様性、各地点間の群集構造の類似度についての尺度となる計数を求め、昨年度調査した水俣湾との比較を行った。

水俣湾は他の地点より多様性がやや高い傾向が見られた。これは、この地区ではヒトによる捕獲圧が低かったためと考えられる。水俣湾の生物群集の特徴としては、他の地点では常に見られたイワフジツボの大群落が、水俣湾だけで見られなかったことが挙げられる。このため、岩礁地の生物群集は、水俣湾とそれ以外とで大きく異なるという結果が得られた。イワフジツボの個体数の影響が現れにくい解析法を用いると、水俣湾の群集は御所浦のものと比較的類似していたが、河浦町・北浦町のものとは異なるという結果になった。

こうした特徴が何によって生じたのか、現時点では明らかではない。今後、飼育実験などを通じてこの点に迫りたい。

水銀の変異原性の下等脊椎動物を用いたスクリーニング

山口 雅子 島田 敦子 嶋 昭絢

水銀の遺伝影響については *in vitro* の実験に基づいて様々な推測が述べられてはいるものの、*in vivo* で遺伝影響の有無を証明した研究はなく、はっきりとした結論は出ていない。

本研究では迅速に水銀の遺伝影響の有無とその程度を確認し、この分野における更なる研究の必要性があるかどうか見極めるために、下等脊椎動物を用いた水銀の変異原性のスクリーニングを行う。

実験には、東京大学理学部放射線生物学研究室において開発された、メダカ (*Orzias latipes*) のクローズドコロニーを用いる。

具体的な実験方法としては、表皮に存在する色素胞をコードする 5 つの遺伝子、*b*、*lf*、*gu*、*i^b*、*wl* を標識遺伝子座し、野生型の親を変異原である水銀で処理して劣性ホモ接合体（テスター）と交配することによって、生殖細胞の標識遺伝子座に生じた突然変異を *F₁* で検出して突然変異率を求める。これをオス親を処理した場合とメス親を処理した場合について行い、未処理群から求めた自然誘発突然変異率と比較して、変異原性の有無および変異原としての特徴を考察する。

8 月にメダカ 2 系統をそれぞれ 10 匹程度入手し、現在繁殖に取り組んでいるが、冬季に入りメダカが冬眠に入ったため、繁殖は一時停止している。

5. 国際協力研究

カンボジアにおける台湾から運び込まれた産業廃棄物による汚染調査

疫学研究部調査室長	坂本 峰至
国際・総合研究部長	赤木 洋勝
基礎研究部長	中野 篤弘
臨床部総合臨床室長	若宮 純司
国際・総合研究部	
国際・情報室長	鈴 雄蔵
総務課長	森 豊
所長	滝澤 行雄

[調査の背景]

1999年12月21日、WPRO (WHO西太平洋事務局) から、WHOの研究協力機関としての国立水俣病総合研究センターに緊急調査依頼をうける。カンボジア政府によると、12月4日に行われた台湾からカンボジアに船で持ち込まれた水銀を含むと考えられる産業廃棄物の荷降ろし作業に携わった現地の3名が死亡し、10人が中毒症状を呈し、現地シアヌークビルはパニック状態で避難騒動や暴動まで起こっているという。その廃棄物は小高い丘の上に放置されており総量は約3,000トンにも達するという。依頼内容は汚染物質の特定、汚染状況等についての調査であった。

[調査の目的]

1. シアヌークビルにおける廃棄物からの危険を避けるための初期勧告を行う。
2. 廃棄物中の水銀及びその他の重金属の分析を行う。
3. 水サンプルの分析を行う。
4. 荷降ろしに携わった人及び廃棄物処理現場で働いている人達が水銀による被害を受けていないかどうかの健康評価を行う。
5. 研究所に持ち帰ったサンプルの分析結果に基づいて追加勧告を行う。

[調査概要及びサンプル採集]

12月24日カンボジア着。12月25日シアヌークビルの廃棄物投棄現場に到着。小高い丘の上に約500m²広さに約2~3mの高さに廃棄物が山積みしてあった。丘の麓のほうには民家が広がっている。梱包されているはずの廃棄物のプラスチック袋はぼろぼろに破れていた。カンボジアWHO事務局のピーターセン医師の説明によると廃棄されたプラスチックの袋を町で売りさばくために住民が競って取りにきたのだという。そして、それを取り廻むかのようにおびただしい数のドラム缶が置いてあった。ドラム缶一つに約0.5トンの廃棄物が入れられるとして約6,000個のドラム缶が必要という。そこでは、約200人の若い兵士たちがスコップを持ち手作業でドラム缶に廃棄物を積めこんでいた。炎天下での作業は如何にも過酷で、手袋をはずし、袖をまくって作業をしている人もいた。早速、作業現場で廃棄物か

らの放射線を調べたがカウンターは反応せず放射線を出す廃棄物でないことだけは確認された。続いて、廃棄物全体を眺めそれを代表するであろうサンプルの採集に取りかかった。全体的に灰色の乾燥した汚泥が主で、その中に黒い石炭のような固形物が混入していた。合計 5 種類の廃棄物を採取した。また、現場のすぐ脇の井戸水と周辺民家の飲用水の採取も行った。

翌日、廃棄物の積荷を解く作業に従事し健康障害を訴えている人たち 9 人に現地の赤十字病院に集まつてもらい、WHO の女医 2 人による健康状態の聞き取り及び水銀の暴露量指標となる尿、血液、毛髪の採取を行った。作業で亡くなったヒトは実際には 1 名で後の 2 人は避難騒動で亡くなったという。更に、現在撤去作業を行っている人たち 5 人にも同様な作業を行った。対照としては町で働いていた 5 人の毛髪を採取した。

現地での調査が終わったら帰りにフィリッピンの WPRO に寄って現場での報告をしなければならない予定だったが、ピーターセンと協議の結果、早期にサンプルの分析を行わない限り的確な判断は下せないということになり、予定を早めて 26 日にセンターへ試料を運ぶためにカンボジアを出発することとなった。

出発の日の朝、今回の調査の初期勧告を国営放送を通じての記者会見を行うことが急遽決定。ピーターセン医師と今回の調査期間中に協議してきた内容をとりまとめたもの中心に、廃棄物の適切かつ迅速な撤去。作業者の安全確保。近くの井戸の閉鎖。それらが適切に行われれば環境の汚染の心配は少なく、住民は過剰に反応しないでほしいこと等を初期勧告として述べた。

[分析結果]

廃棄物の主体をなす灰色の廃棄物サンプルの総水銀値は 496 及び 726 $\mu\text{g/g}$ 。黒色の廃棄物は 2,497 及び 3,984 $\mu\text{g/g}$ 。茶色の廃棄物は 97 $\mu\text{g/g}$ であった。メチル水銀は茶色のサンプルで 33.7 ng/g であった。

その他の重金属濃度は、カドミウム: trace-26 $\mu\text{g/g}$ 、マンガン: 83~1779 $\mu\text{g/g}$ 、ニッケル: 10~77 $\mu\text{g/g}$ 、リチウム: 7~449 $\mu\text{g/g}$ 、亜鉛: 102~1,018 $\mu\text{g/g}$ 、鉛: 35~499 $\mu\text{g/g}$ 、鉄: 23,058~87,525 $\mu\text{g/g}$ 及び銅: 35~323 $\mu\text{g/g}$ であった。

周辺で飲用に用いられている水サンプルの上澄み中の水銀濃度は 3.7~6.3 ng/L であった。但し、沈殿物も含む全水では廃棄物投棄現場の 200~300 m 下手にある井戸中の水銀濃度が 153.2 ng/L で最も高く、廃棄物が粉状になって混入していることが示唆された。

荷降ろし作業従事者 9 名、廃棄物処理作業従事者 5 名及び対照者 5 名の赤血球、血漿、尿及び毛髪中の水銀値は、廃棄物処理作業従事者尿中の水銀値がやや高いことを除くと、すべて正常範囲内であった。

また、荷降ろし作業従事者 9 名の愁訴、および廃棄物処理作業従事者 5 名の愁訴（プノンペンの医師による聞き取りの結果）がまとめられている。

[結論]

1. 廃棄物中の水銀濃度は非常に高い。他の金属類は自然の土壤中の範囲内である。
2. 廃棄物投棄現場周辺の水の水銀値は正常な自然レベルである。廃棄物投棄現場に最も近い井戸は、廃棄物の粉塵による汚染を受けていることが示唆される。しかし、水銀の溶出は少ないと思われる。
3. 荷降ろし作業従事者、廃棄物処理作業従事者の赤血球、血漿、尿及び毛髪中の水銀値をは正常範囲内である。

4. 水銀中毒特有の症状は無く、荷降ろし作業従事者、廃棄物処理作業従事者のサンプルの水銀値は正常値内であり、水銀中毒の可能性は無いと思われる。

【追加勧告】

1. 廃棄物中の水銀濃度は非常に高く、それが寺院やいくらかの村が下方にある小高い丘の上に投棄されているので出来るだけ早く安全な方法で撤去されるべきである。廃棄物は水銀蒸気化するのを避けるために熱を加えないこと。
2. 廃棄物処理作業従事者は粉塵の吸入、直接的な皮膚との接触を避けるためにマスク、長袖、手袋等の防御服装をすること。
3. 撤去が適切に行われれば、シアヌークビルの環境汚染は特に心配いらない。現場周辺の飲料水中は水銀で汚染されていないので、シアヌークビルの住民や廃棄物投棄現場付近の村の住民は特に神経質になる必要はない。但し、現場に近い井戸水は廃棄物の粉塵で汚染されていると思われる所以閉鎖すること。
4. 廃棄物の撤去作業後に表層土の 5~10 cm を取り除くこと。撤去後に作業が適切に行われたかどうかの水銀汚染のチェックが必要である。

**バングラデシュ国における水銀電解法苛性ソーダ工場の解体処理後の周辺環境
モニタリングに関する国際共同研究**

中野 篤浩 山根 一祐 坂本 峰至
荒巻 亮二 松岡 信明

バングラデシュ国チッタゴン化学コンビナートは、1968 年に日本の輸銀円借款により水銀電解法による苛性ソーダ工場として建設された。その後、1988 年から海外経済協力基金の円借款により改修事業が実施され、それまでの「水銀電解法」を「イオン交換膜法」に転換し新しい工場が建設された。そして、この苛性ソーダ工場が旧工場の水銀電解施設の解体処理等による周辺環境への水銀汚染に関する長期のモニタリングを実施することになった。このモニタリングが JICA の再活性化事業として行われることになり、当水俣病総合研究センターが九州環境管理協会の協力を得て、チッタゴン化学工場の担当者を指導教育しながら、モニタリングの計画を立案し実施することになった。そこで、このモニタリング事業の計画立案、実施、評価の過程を、発展途上国という立地条件等を考慮に入れて国際共同研究として展開することになった。

本年度は、年度当初に JICA からこの化学工場への供与器材（水銀分析計など）を選定しバングラデシュへ送付した。そして、今年 1 月の訪問時に、送付された器材を用いて現地の化学工場内に水銀分析室を作り、現地の担当者に水銀の分析操作を指導した。一方、モニタリングの準備として、山の位置や川の位置から地下水の流れを推定し、地下水のサンプリングの為の深さ 10 メートルの井戸を掘る地点を 8 カ所選定した。更に、工場の排水が流れ込む川に 3 カ所のサンプリング地点を決めた。そして、モニタリングの予備調査として、現地チッタゴン化学工場のモニタリング担当者と共同で川の水や飲料用

の井戸水等の水銀測定を行った。工場からの排水の流れこむ川の水には規制値を大幅に超えるものもあった。

3. 研究発表一覧

1. 国際・総合研究部

(1) 学術刊行物による発表

(1) Matsuyama, A., Iwasaki, H., Higaki, H., Yabuta, H., Sano, and Akagi, H.

Basic study on the remediation technology of mercury contaminated soil by low temperature thermal treatment.

Mercury Contaminated Sites, Environmental Sciences (R. Ebinghouse et al. eds.), pp. 421-440, 1998.

(2) 松山明人、岡田和夫、赤木洋勝

「低温加熱処理による水銀汚染土壤浄化技術に関する基礎的研究」

水環境学会議 22: 109-117, 1999.

2. 臨 床 部

(1) 学術刊行物による発表

(1) Usuki, F., Yasutake, A., Matsumoto, M., Umehara, F., Higuchi, I.

The effect of methylmercury on skeletal muscle: a histopathological study.

Toxicol. Lett., 94: 227-232, 1998.

(2) Usuki, F. and Ishiura, S.

Expanded CTG repeats in myotonin protein kinase increase susceptibility to oxidative stress.

NeuroReport, 9: 2291-2296, 1998.

(3) Wakamiya, J., Mabuchi, K., Fujimasa, I., Nakagawa, S., Miyake, H., Arimura, K., Osame, M.,

Igata, A. and Takizawa, Y.

The development of a program to transform thermograms to a same shape.

Biomed. Thermol., 18: 176-180, 1998.

(4) Akiba, S., Wakamiya, J., Andoh, T., Yamamoto, M., Shiraishi, T. and Kinjo, Y.

Glove-and-stocking type sensory disturbances in a general population — a preliminary report of a study in Amami islands, Japan.

Environ. Sci., 6: 93-97, 1998.

(5) Arima, K., Ogawa, M., Sunohara, N., Nishino, T., Shimomura, Y., Hirai, S. and Eto, K.

Immunohistochemical and ultrastructural characterization of ubiquitinated eosinophilic fibrillary neuronal inclusions in sporadic amyotrophic lateral sclerosis.

Acta Neuropathol., 96: 75-85, 1998.

(6) Kameda, N., Ueda, H., Ohno, S., Shimokawa, M., Usuki, F., Ishiura, S. and Kobayashi, T.

Developmental regulation of myotonic dystrophy protein kinase in human muscle cells in vitro.

Neuroscience, 85: 311-322, 1998.

(7) Korogi, Y., Takahashi, M., Okajima, T. and Eto, K.

MR findings of Minamata disease – Organic mercury poisoning -.

JMRI, 8: 308-316, 1998.

(8) Saitoh, N., Usuki, F., Sasagawa, N., Koike, H., Sorimachi, H., Yabe, I., Ishiura, S. and Suzuki, K.

Myotonin protein kinase (MtPK) affects the chloride permeability of C2C12 myogenic cells.

Biomed. Res., 19: 191-198, 1998.

(9) 衛藤光明

「中毒と神経疾患：a. 水俣病」

病理と臨床（臨時増刊：日本人の病気と病理学）、17: 207-212, 1999.

(10) 白杵扶佐子

「酸性マルターゼ欠損のないリソソームグリコーゲン蓄積症（Danon 病）」

日本臨床 先天代謝異常症候群（下）353-355, 1998.

(2) 学術研究会における発表

(1) Asayama, K., Murakami, M., Mori, N., Arizono, N., Kodama, H. and Wakamiya, J.

The remodeled spex (Spring assisted extension knee hinge) for kafo.

IXth World Congress of the International Society for Prosthetics and Orthotics.

June 28 – July 3, 1998. (Amsterdam)

(2) Eto, K., Asano, S. and Tokunaga, H.

Differential diagnosis between organic and inorganic mercury poisoning in human cases

-The pathological points of view-

第 87 回日本病理学会総会

平成 10 年 4 月（広島）

(3) 衛藤光明、安武 章、徳永英博、金子陽介

「コモン・マーモセットを用いたメチル水銀中毒症に関する実験的研究」

第 39 回日本神経病理学会総会

平成 10 年 5 月（福岡）

(4) 松本美由紀、宮本清香、若宮純司、白杵扶佐子、二塚 信

「水俣病患者の QOL に関する一考察—PGC モラールスケールを用いて—」

第 108 回熊本リハビリテーション研究会

平成 10 年 12 月（熊本）

(5) 宮本謙一郎、村尾光治、藤崎 正、若宮純司、衛藤光明、徳永英博、赤木洋勝

有村公良、納 光弘

「メチル水銀中毒の神経細胞障害に対する MK-801 の保護作用」

第 21 回日本神経科学・第 41 回日本神経化学合同大会

平成 10 年 9 月（東京）

- (6) 宮本謙一郎、岩下眞一、若宮純司、浅山 涼、山田聰子、有村公良、納 光弘
「電気刺激および CO₂ レーザー刺激による健常人の痛み関連電位の検討」
第 28 回 日本脳波・筋電図学術大会
平成 10 年 10 月 (神戸)
- (7) 白杵扶佐子、笛川 昇、石浦章一
「ヒトミオトニンキナーゼ (MtPK) cDNA 導入筋芽細胞株における酸化ストレス傷害」
日本神経学会総会
平成 10 年 5 月 (京都)
- (8) 白杵扶佐子、梅田達也、笛川 昇、石浦章一
「ヒトミオトニンキナーゼ (MtPK) cDNA 導入筋芽細胞における酸化ストレス傷害」
日本生化学大会
平成 10 年 10 月 (名古屋)
- (9) 白杵扶佐子、梅田達也、笛川 昇、石浦章一
「ヒトミオトニンキナーゼ (MtPK) cDNA における CTG リピートと酸化ストレス傷害」
日本分子生物学会年会
平成 10 年 12 月 (横浜)
- (10) Wakamiya, J., Mabuchi, K., Osame, M. and Igata, A.
Mechanism of skin temperature change in lumbar radiculopathy
第 15 回大会日本サーモロジー学会
平成 10 年 6 月 (名古屋)
- (11) 若宮純司、白杵扶佐子、有村公良、中川正法、浜田陸三、納 光弘、井形昭弘
秋葉澄伯
「40 年後の水俣病」
第 39 回日本神経学会総会
平成 10 年 5 月 (京都)
- (12) 秋葉澄伯、安藤哲夫、若宮純司、白石とも子、有村公良、中川正法、納 光弘
「一般住民における血球総水銀レベルと神経所見の関係」
平成 10 年度重金属等の健康影響に関する総合研究班会議 - 有機水銀の健康影響に関する研究 -
平成 11 年 3 月 (東京)
- (13) 有村公良、滝澤行雄、赤木洋勝、衛藤光明、中野篤浩、若宮純司、森 豊、鈴 雄蔵、
永井克博、佐藤正典、佐藤 洋、永沼 章、遠山千春、二塚 信、秋葉澄伯、箕輪真澄

内野 誠、濱田陸三、吉井正澄、吉海安丈、吉本哲裕、田中力男、水本 二、山本 理
緒方 剛、山岸 博、鈴木健彦

「有機水銀問題に関する国際研究・協力のあり方に関する研究」

平成 10 年度重金属等の健康影響に関する総合研究班会議－有機水銀の健康影響に関する研究－

平成 11 年 3 月（東京）

(14) 有村公良、若宮純司、中川正法、納 光弘、白石智子、秋葉澄伯、北野隆雄、二塚 信

「水俣病認定患者および汚染地区住民の神経所見の推移」

平成 10 年度重金属等の健康影響に関する総合研究班会議－有機水銀の健康影響に関する研究－

平成 11 年 3 月（東京）

(15) 浅野重之、衛藤光明、望月 衛、小田島 肇、徳永英博、箱崎半道、若狭治毅

「急性無機水銀中毒症の 3 剖検例一生化学的、病理学的および免疫組織化学的検討－」

第 44 回日本病理学会秋期特別総会

平年 10 年 11 月（奈良市）

(16) 二塚 信、北野隆雄、稻岡 司、永野 恵、牛島佳代、滝澤行雄、若宮純司、納 光弘

有村公良

「メチル水銀汚染地域住民の ADL とソーシャルサポートに関する研究」

平成 10 年度重金属等の健康影響に関する総合研究班会議－有機水銀の健康影響に関する研究－

平成 11 年 3 月（東京）

(17) 石浦章一、笹川 昇、小池 恒、渡辺知司、臼杵扶佐子、丸山 敬

「ミオトニンキナーゼ の細胞内局在及び生理作用」

厚生省精神神経疾患研究委託費筋ジストロフィー及び類縁疾患の病態と治療法に関する

研究班会議

平成 10 年 12 月（東京）

(18) 中川正法、秋葉澄伯、納 光弘、有村公良、白石知子、若宮純司、二塚 信

北野隆雄

「水俣病患者の臨床疫学に関する研究－臨床症状の多変量解析と有機水銀非汚染地区住民
の神経所見との比較－」

平成 10 年度重金属等の健康影響に関する総合研究班会議－有機水銀の健康影響に関する研究－

平成 11 年 3 月（東京）

(3) 講演による発表

(1) 宮本謙一郎

「電気生理学的検査の臨床応用について」

第31回臨床電気生理研究会

平成10年4月（熊本）

(4) その他の刊行物

(1) Takeuchi, T. and Eto, K.

The Pathology of Minamata Disease – A tragic story of water pollution –

Kyushu University Press, Inc. 1999.

3. 基礎研究部

(1) 学術研究会における発表

(1) Kuwana, T.

Avian germ-line cells in biotechnological aspect.

French-Japanese Workshop.

June, 1998. (Lyon, France).

(2) Kuwana, T.

Avian germ-line cells in biotechnological aspects.

The 18th International Congress of Genetics.

August, 1998 (Beijing, China).

(3) Kuwana, T.

In vitro culture of chick primordial germ cells.

Cold Spring Harbor Symposium on "Gametogenesis".

October, 1998 (Cold Spring Harbor, USA).

(4) Satoh, M., Yoshida, M., Shimada, A., Yasutake, A., Sumi, Y. and Tohyama, C.

Enhanced acute pulmonary toxicity of mercury vapor in metallothionein-null mice.

The 38th Annual Meeting of the Society of Toxicology

March, 1999 (New Orleans, USA).

(5) 中野篤浩、坂本峰至、山元 恵

「土壤中水銀濃度の測定法の検討」

第69回日本衛生学会総会

平成11年3月(千葉)

(6) 江口昭彦、斎藤 寛、中野篤浩、有澤孝吉

「食品中の硫黄含量に関する研究」

第69回日本衛生学会総会

平成11年3月(千葉)

(7) 藤間慎太郎、茂木幹夫、大谷委宏、安武 章、堀米恒好、市村 徹、小俣三郎

「発生・加齢過程における蛋白質メチル化活性の変動とメチル水銀の影響」

第71回日本生化学会大会

平成10年10月(名古屋)

(8) 庵原啓司、飯山 領、後藤政利、古川謙介、中村邦彦

「水俣湾由来有機水銀耐性 *Pseudoalteromonas haloplanktis* M-1 株の *mer A* 遺伝子の構造解析」

日本農芸化学会 1999 年度大会

平成 11 年 3 月（福岡）

(9) 劉 曜潔、有澤孝吉、中野篤浩、斎藤 寛

「カドミウム土壤汚染地域住民の頭髪、尿及び血液中カドミウム濃度—土壤復元前後 18 年間の比較」

第 69 回日本衛生学会総会

平成 11 年 3 月（千葉）

(10) 吉田 稔、佐藤雅彦、安武 章、島田章則、鷲見 和、遠山千春

「メタロチオネイン遺伝子欠損マウスにおける水銀蒸気曝露後の体内水銀動態」

第 24 回環境トキシコロジーシンポジウム・第 2 回衛生薬学フォーラム合同大会

平成 10 年 10 月（大阪）

(2) 学術刊行物による発表

(1) Hirayama, K. and Yasutake, A.

Effects of reactive oxygen modulators on in vivo demethylation of methylmercury.

J. Health Sci., 45: 24-27, 1999.

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

Donor primordial germ cell-derived offspring from recipient germline chimaeric chickens: absence of long term immune rejection and effects on sex ratios.

British Poult. Sci., 39: 20-23, 1998.

(3) Naito, M., Sakurai, M. and Kuwana, T.

Expression of exogenous DNA in the gonads of chimaeric chicken embryos produced by transfer of primordial germ cells transfected in vitro and subsequent fate of the introduced DNA.

J. Reprod. Fertil., 113: 137-143, 1998.

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

Production of germ-line chimeras by transfer of cryopreserved gonadal primordial germ cells (gPGCs) in chicken. J. Exp. Zool., 280: 265-267, 1998.

(5) Yoshida, M., Satoh, M., Shimada, A., Yasutake, A., Sumi, Y. and Tohyama, C.

Pulmonary toxicity caused by acute exposure to mercury vapor is enhanced in metallothionein-null mice.

Life Sci., 64: 1861-1867, 1999.

(6) 桑名 貴

「鳥類の始原生殖細胞形成と移動」

蛋白質核酸酵素 43: 390-396, 1998.

(7) 郭 錦秋、水元一博、荒巻亮二、楠本正博、末原伸泰、小川尚洋、田中雅夫

「大線量 X 線照射によるヒト臍・胆嚢癌培養細胞株のアポトーシス：術中照射モデルにおける細胞死の機序」

臍臓 13: 17-24, 1998.

4. 疫 学 研 究 部

(1) 学術研究会による発表

(1) Sakamoto, M., Adachi, T. and Nakano, A.

Methylmercury-induced increase in intracellular calcium level of dissociated rat cerebellar granule cells
International Congress of Toxicology VIII

July 1998 (Paris, France).

(2) 坂本峰至、足立達美、中野篤浩

「メチル水銀による小脳顆粒細胞内 Ca イオン上昇の特徴」

第 24 回環境トキシコロジーシンポジウム・第 2 回衛生薬学フォーラム合同大会

平成 10 年 10 月（大阪）

(3) 坂本峰至、中野篤浩、赤木洋勝、高橋 均

「メチル水銀汚染地域における出生性比についての検討」

平成 10 年度重金属等の健康影響に関する総合研究班総会 一有機水銀の健康影響に関する研究一

平成 11 年 3 月（東京）

(4) 坂本峰至、中野篤浩、赤木洋勝

「メチル水銀汚染は水俣における出生性比に影響を及ぼしたのか？」

第 69 回日本衛生学会

平成 11 年 3 月（東京）

(5) 山口雅子、安武 章、森 敬介、保田叔昭

「その後の水俣湾：水銀汚染からの回復状況」

第 12 回日本ベントス学会

平成 10 年 11 月（広島）

(6) 山口雅子、保田叔昭、森 敬介

「潮間帯底生生物群集における群集指標の地点間比較」

第 26 回海洋生態談話会

平成 11 年 2 月（天草）

(2) 学術刊行物による発表

- (1) H. A. Kehrig., O. Malm. and Akagi, H.
Methylmercury in hair samples from different riverine groups, Amazon, Brazil.
Water, Air and Soil Pollution, 97: 17-29, 1997.
- (2) H. A. Kehrig., O. Malm., Akagi, H., J.R.D. Guimaraes. and J. P. M. Torres.
Methylmercury in fish and hairs from Balbina Reservoir, Amazon, Brazil.
Environ. Res. Sec. A, 77: 84-90, 1998.
- (3) 金岡 豪、赤木洋勝、伊藤博文、兼子和彦、原 浩一
「わが国における母児の血液中総水銀レベル メチル水銀の世界的胎児曝露評価に関する疫学的研究の一環としてー」
日本産婦人科新生児血液学会誌 7: 112-113, 1997.
- (4) 金岡 豪、赤木洋勝、伊藤博文、兼子和彦、原 浩一
「血液中総水銀・メチル水銀濃度の母児相関について」
日本産婦人科新生児血液学会誌 8: 61-62, 1998.

5. 所長

(1) 学術刊行物による発表

(1) Takizawa, Y.

Forced behind current radioecological studies and perspectives of human effects studies.

Comparative Evaluation of Environmental Toxicants (Inaba, J. and Nakamura, Y. eds), Kodansha Scientific Ltd. (Tokyo), pp. 243-253 1998.

(2) Takizawa, Y.

Effects of ozone depletion on human health.

Photomed. Photobiol., 20: 1-6, 1998.

(3) Takizawa, Y.

Minamata disease and Niigata mercury poisoning incident.

Heavy Metal Pollution Control FY 1998, Japan International Cooperation Agency (Osaka), pp. 1-24, 1998.

(4) Takizawa, Y.

Risk assessment of environmental effects of ozone depletion.

Ozone Layer Protection and Applicable Technology, Japan International Cooperation Agency (Tokyo), pp. 1-6, 1999.

(5) Takizawa, Y. and Sekikawa, A.

Mercury and global health.

Super course, WHO Global Health Network (<http://www.pitt.edu/~super1/lecture/lec0321/index.htm>), 1998.

(6) Takizawa, Y. and Sekikawa, A.

Epidemiology of Minamata disease.

Super course, WHO Global Health Network (<http://www.pitt.edu/~super1/lecture/lec0361/index.htm>), 1998.

(7) Hisamatsu, S. and Takizawa, Y.

Transfer of radionuclides into and their removal from agricultural products.

International Workshop Proceedings on Improvement of Environmental Transfer Models and Parameters (Frissel, M. J. et al. eds), Nuclear Cross-Over Research, pp. 281-289, 1996.

- (8) Hisamatsu, S., Amano, H., Isogai, K., Atarashi, M., Zhu, H., and Takizawa, Y.
Organically-bound ^3H concentration in rice around atomic energy facilities.
Health Physics, 74: 448-450, 1998.
- (9) Longstreth, J., de Gruije, F. R., Kripke, M. L., Abseck, S., Arnold, F., Slaper, H. I., Velders, G.,
Takizawa, Y. and van der Leun, J. C.
Heal risks: Environmental Effects of Ozone Depletion: 1998 Assessment, United Nations Environment
Program (UNEP) (Nairobi), pp. 28-62, 1998.
- (10) 滝澤行雄
「オゾン層破壊と健康管理」
日本医師会雑誌、121: 701, 1999.
- (11) 滝澤行雄
「ダイオキシンの発がんリスクと内分泌搅乱物質」
PVC News, No. 27: 10-13, 1998.
- (12) 滝澤行雄
「オゾン層破壊分野における世界の研究動向からみた日本における推進研究の中期のプライ
オリティーについて」
地球環境研究展望—オゾン層の破壊、国立環境研究所地球環境研究グループ、pp. 26-28, 1998.
- (13) 市川龍資、滝澤行雄、桜井直行、清水誠、村松康行
「食品試料の放射能水準調査」
環境放射能水準調査結果報告書、(財) 日本分析センター、pp. 1-77, 1999.

(2) 学術研究会による発表

- (1) Takizawa, Y.
Actinides and long-lived radionuclides in Japanese human tissues: Summary of the post 20 years studies.
7th International Conference on "Low Level Measurements of Actinides and Long-Lived Radionuclides in
Biological and Environmental Samples",
September 1998 (Salt Lake, USA)
- (2) Tonouchi, S., Habuki, H., Igai, Z., Hashimoto, T. and Takizawa, Y.
Long- lived radionuclides in sea sediment around Kashiwazaki- Kariwa nuclear power station.
7th International Conference on "Low Level Measurements of Actinides and Long- Lived Radionuclides in
Biological and Environmental Samples",

September 1998 (Salt Lake, USA)

(3) 滝澤行雄

「オゾン層破壊に伴う健康影響」

第20回日本光医学光生物学会総会

平成10年7月（熊本）

(3) 講演による発表

(1) Takizawa, Y.

Minamata disease

Seminar on Group Training Course in Community Health Services (JICA, Kyushu),

August 1998 (Kurume, Fukuoka)

(2) Takizawa, Y.

Risk assessment of environmental effects of ozone depletion.

Seminar on Ozone Layer Protection and Applicable technology (JICA, Tokyo),

January 1999 (Tokyo)

(4) その他

(1) United Nations Environmental Program (UNEP)

Certification of Excellence to Yukio Takizawa in recognition of an outstanding contribution to the protection of the Earth's Ozone Layer.

December 1998.

4. 所内セミナー記録

(1) 水俣病故知新—国立水俣病総合研究センターの将来一（平成 10 年 5 月 19 日）

国際地球環境大学環境科学博士（米国）
熊本大学名誉教授医学博士 武内 忠男

「水俣病」、Minamata Disease という名称は、筆者が大学生の頃、中国東北の克山地方に急性心不全の多発があり、当時の満州医科大学の研究班が、原因不明のため「克山病」Kushan Disease と仮称した故事にならい、昭和 31（1956）年に名付けしたのに始まる。原因が明らかになったら改名すれば良いと考えていた。その原因がアルキル水銀中毒症であることが証明された時点の昭和 34（1959）年で、有機水銀中毒症と呼ぶべきであった。それが国により認められずに長年過ぎたために、学問上、水俣病、Minamata Disease が固有名詞となってしまった。

因みに、Kushan Disease は、国際的に固有名詞になっているが、戦後その原因が Se-deficiency に由来することが明らかにされた。

1. Encephalopathia toxica について

病理学では、病気について、その疾病観を重視する。病気を見る場合、その本態（Wesen）、その原因（Ursache）は何であるかを知ることが大切で、それを知ることにより、病気の経過および予後について考え、対策をたてることが出来る。筆者は水俣病研究当初、その本態を知るために病理解剖の必要性を主張した。人間は勿論、当時異常の認められた奇病猫、カラス、海鳥、魚類についても精力的に病理解剖を実施した。それにより、病変が脳神経系にあり、神経細胞傷害のされ方が、本質的に同じであることを明らかにした。種の如何を問わず、本質的病変が同じであるということは、毒物による中毒以外に考えられない。これは病理学者の常識である。かくて、Encephalopathia toxica は研究初年度に明らかにされた。

2. 胎児性水俣病について

先天性脳性麻痺の患者発生は、水俣地区では他地域よりも疫学的に 6% も多く、水俣病との関連が病的と考えられていた。しかし、小児水俣病とは臨床症状が異なって一致せず、個別的にみて別の疾患であると見られていた。昭和 36～37（1961～1962）年に 2 例の人体解剖により、胎児期に有機水銀の影響を受けて、発育障害と有機水銀による神経系傷害の加重したものだと立証された。これに先だって母猫にアルキル水銀を投与して、その子猫に有機水銀中毒症を病理学第二講座で実証していたので、この有機水銀は経胎盤性に胎児に中毒を起こすことを明らかにした。

3. 慢性発症のいわゆる慢性水俣病

有機水銀摂取量が増加し、その排出量より残量の方が多くなり、漸次蓄積して脳神経細胞を傷害し、被害神経細胞の脱落が臨床症状を発症せしめる現象を病理学的に認めることができた。このようにして発症する水俣病は慢性水俣病であり、それは殆ど軽症例にみられた。

4. 水俣地区以外の水俣病及び水銀汚染

昭和 41 年に新潟水俣病が発見されてから、2 つの問題が提起された。1 つは日本各地における水銀汚染問題であり、2 つ目は失調、構音障害、両側性視野狭窄の三主徴を示すいわゆる Hunter-Russell's

Syndrome が、水俣病症候群に代わり、また軽症水俣病の存在が発見されるようになった。水俣病患者が著しく増加したのはそのためである。

尚、国外にも水俣病の存在する事が分かった。猫の病理解剖の研究から、一つはカナダの化学工場排水の流れ込むワビグーン河地域、もう一つは水俣と同じ型式の工場からの排水が流れ込む中国東北松花江の或る地区であり、この二カ所は筆者らの研究成果である。また水銀汚染地域は南米ブラジル、中国貴州省、フィリピン、インドその他世界的となりつつある。従つて日本の水俣にある国立水俣病総合研究センターは、将来国際的研究センターとして中心的な活躍ができる未来を持っていると言えよう。

(2) 生活習慣とがんに関する疫学調査（平成 10 年 7 月 1 日）

国立がんセンター研究所 がん情報研究部室長 金城 芳秀

わが国の死亡率の経年変化をみると、1960 年以降、男女共に脳血管疾患が減り、悪性新生物が増えってきた。これらは生活習慣と深く係わる疾患とされている。わが国における貴重な疫学研究の 1 つである六府県計画研究（1966-1982 年）から得られた約 26 万 5 千人のデータを用いて、がんを中心に食物の摂取頻度と各種疾患死亡率との解析結果を紹介した。

がんのリスクは飲酒、喫煙、野菜・果物の摂取、運動、ウイルス感染、放射線や化学物質の曝露など多彩である。これらリスク要因が 2 つ以上重なった場合、リスクの上昇は相加的と考えられる。しかし例外もあり、飲酒・喫煙のリスクは相乗的に増加する。喫煙と飲酒に第三の要因が加わった場合、さらにリスクは相乗的に増加するのであろうか。ここでは食道がんにおける 3 要因の交互作用について報告した。

(3) 生殖細胞介した変異の伝達—メダカ実験系による解析（平成 10 年 12 月 18 日）

東京大学理学部生物科学大講座放射線生物学研究室
教授 嶋 昭絢

メダカ属は東アジアから東南アジアにかけて 14 種が知られている。このうち、メダカ (*Oryzias latipes*) は中国、朝鮮半島、日本に分布しており、遺伝的に 4 つの主要なグループから成っている。

メダカの体色には数多くの変異が存在する。当研究室ではそのうち 5 つの遺伝子座について劣性ホモの遺伝子型を持つテスター系統を開発し、これを用いて ^{137}Cs -ガンマ線による誘発突然変異を調べた。

野生型のオスを照射した場合、照射から授精までの日数によって、精子形成のどの段階で被曝したかがかなり正確に判定できる。実験の結果、精子形成の段階が進むと、優性致死突然変異・特定座位突然変異ともに生じ易いことがわかった。そのひとつの理由として精子形成の進行に伴って DNA 修復機能が失われるものと考えられる。また、変異体の優性致死率は、精子形成段階に関わらずおよそ 90% で一定していた。なお、孵化まで生存したものについての倍加線量は、精子照射で 2.6 cGy、精母細胞 5 cGy、

精原細胞 48 cGy で、マウスとほぼ等しかった。

優性致死になることが経験的に予測される胚の細胞を初代培養したところ、対照群よりも増殖速度が速かつた。また、染色体の大幅な **rearrangement** が生じていた。

ついで、**ethylnitrosourea (EMU)**について同様に実験を行った。この物質は強力なアルキル化剤で、グアニンの O⁶にエチル基を付加する。これにより、DNA 複製の際に GC から AT への変化 (Transition)が生じる。つまり、これによって生じる変異は点突然変異である。精原細胞の段階で被曝したものは、変異体のほとんどが生存し、この傾向は高濃度ほど著しかった。この点がガンマ線照射とは異なっている。

ガンマ線照射による遺伝子レベルの変化を探るため、個体ごとの染色体構造異常の発生率を調べた。受精後 1 日胚では生存する個体と致死になる個体は判別できないが、この段階での染色体異常の発生率は線量にほぼ比例し、4.75 Gy でおよそ 20% 程度である。しかし、判別ができるようになる 3 日胚になると、これとは別に、線量に依存せずに染色体異常頻度が高い第 2 のグループが現れる。このグループは致死になる個体に相当する。ガンマ線によって直接生じた現象は DNA 2 重鎖の切断であり、これは線量依存性である。これがいつ、どのようにして、線量非依存性の染色体異常に変化したのかは不明である。

AP-PCR を用いて DNA **fingerprint** を行った。異なる 2 系統を掛け合わせたときの F1 のバンドは父母の系統のバンドの和になる。ここでオスの系統に特異的なバンドに着目すると、精子に生じたことがほぼ反映されている。4.75 Gy 照射群では、生存個体の 0.1%、致死胚の 3.3% で父方のバンドの欠落が見られた。対照群でも致死胚では 0.2% でバンドの欠落があった。

(4) 水銀問題をめぐる技術転換—北海道イトムカ鉱業所の試み（平成 11 年 1 月 11 日）

帯広畜産大学社会学部 講師 関 札子

水銀問題は、当初熊本、新潟の水俣病発生によって、クローズアップされるが一部地域の汚染問題としか見なされなかつた。しかし第三「水俣病」発生疑惑や一般廃棄物焼却による水銀ガス発生問題へと、しだいに水銀は社会問題と見なされるようになった。そのため水銀は、有機・無機またはの別なく「もっとも嫌われた金属」となり、水銀はわが国をゆるがす反公害の「メインテーマ」となつた。その対処として企業側は、製法転換、行政には乾電池の分別回収、適正処理を促進した。これは企業に社会的責任を自覚化し、厳しい公害規制は外部不経済を内部化させることとなつた。

ここではイトムカ鉱業所を事例としてとりあげた。イトムカ鉱山は東洋一の水銀鉱山と称され、1973 年に閉山した。その後、1979 年よりこれまでの技術を活かし、日本で唯一の廃乾電池処理プラントとして 1996 年には 3,648 kg の水銀を回収している。しかし水銀未使用電池の登場による市場の低迷や新たな市場の開拓、乾電池保管状況の改善などといった課題もある。

この転換は水俣病に始まる一連の水銀問題が不十分であるにせよ行政による水銀問題への対処を引きおこし、それによって制約が課された市場というアリーナの中で、企業の技術が社会的要請によって方向づけされたといえる。今後はイトムカ鉱業所自体の環境付加への対策、情報公開が求められている。

(5) 水俣湾の造礁サンゴについて（平成11年1月19日）

九州大学理学部附属天草臨海実験所 助教授 野島 哲

造礁サンゴは、腔腸動物花虫綱、六放サンゴ亜綱に属する。最も近い仲間はイソギンチャクで、両者の間にみられる顕著な違いは石灰質の外骨格を有するか、有さないかである。また、六放サンゴ亜綱のすぐ近くには八放サンゴ亜綱と呼ばれるグループがあり、宝石のサンゴとして知られるモモイロサンゴや固い外骨格を持たないソフトコーラルなどが含まれる。六放サンゴ亜綱と八放サンゴ亜綱の違いは、”イソギンチャク”様のポリープの触手が6の倍数か8の倍数（8もしくは16本）かで異なる。造礁サンゴ（イシサンゴとも呼ばれる）では原則的に6、12、24本等の触手を持つ。

サンゴ礁の北限は、説によってやや異なるが、一般的には北緯29度14分のトカラ列島の小宝島付近と言われている。これ以北にはサンゴ礁はみられないがサンゴ礁を形成する造礁サンゴ群集は多く分布している。造礁サンゴは数千年から数百万年のオーダーで、島の周囲の浅海に自らの石灰質の骨格を積み上げ、形成した浅瀬がいわゆるサンゴ礁と呼ばれている。

サンゴ礁を形成する造礁サンゴは、世界に約850種ほど知られているが、このうち日本の南西諸島では400種を越える種が知られている。熊本県では天草諸島を中心として広い範囲に造礁サンゴが分布し、天草には約100種の造礁サンゴが生息することが確認されている。1990年10月に行ったマンタ法による調査では設定した総延長44km、437の調査区のうち、26調査区（うち9ヶ所は砂底）を除く411調査区でサンゴの生息が確認された。全体的に見ると下須島を境に、西側の天草灘に面した海岸線ではテーブル状サンゴが優占し、次いで塊状、被覆状のサンゴが多い。これに比べて東側の長島海峡、八代海ではテーブル状のサンゴは少なく、代わって枝状のサンゴが優占してくる。造礁性サンゴは水深30m付近まで確認されているが、天草灘に面した海岸では、テーブル状サンゴは主として8m以浅に、キッカサンゴ、ウスカミサンゴ等葉状のサンゴは10m以深に出現する。

1968年に行われた熊本県海中公園学術調査では、1962/3年の以上寒波により死滅した多くのテーブル状サンゴの遺骸と共に、直径20-30cmの小型のテーブル状サンゴが確認されている。これらのサンゴは現在直径2m前後にまで生長しており、また被度も非常に高くなっている。

サンゴの成長速度をアリザリンレッドによる染色法、永久コドラーの一定時間間隔写真撮影法、X線撮影法により測定した。テーブル状サンゴの *A. solitaryensis* はアリザリンレッド染色法により $46.5 \pm 13.7 \text{ mm/year}$ (半径) の速度で、被覆状の *Echinophyllia aspera* などでは永久コドラーの一定時間間隔写真撮影法により平均して約 15 mm / year の速度で水平方向 (半径) に成長することが測定された。またX線法により17種の塊状および、被覆状のサンゴの垂直方向 (厚さ) への年間成長速度が測定され、*Montipora turgencens*, 2.3-2.6 mm, *Porites heronensis*, 3.1-3.9 mm, *Cyphastrea serailia*, 2.71-3.22 mm, *Alveopora japonica*, 4.68 mm, *Goniopora pendulus*, 4.35 mm / year 等の値が得られた。同じ種類の成長速度をみると、生息する深度が深くなるほど成長速度は減少し、また南に行くほど (水温が温かくなるほど) 成長速度は増加した。

平成4年に水俣湾に浮かぶ恋路島の潮間帯に生息する生物の調査を行ったところ、潮間帶種であるキクメイシもどきをはじめ、これまでの調査で湾内では17種の造礁サンゴが確認されている。この中には

コマルキクメイシ、ルリサンゴ、ミダレカメノコキクメイシなど塊状のサンゴが多くを占めるが、なかでもコマルキクメイシではその成長率から推定すると100年を越える群体も確認されている。一般に、サンゴの骨格には古水温をはじめとして、多くの情報が記録されていると言われており水俣湾内に生息する造礁サンゴ類が過去の環境情報を保存している可能性もあり、今後この方面からのアプローチが期待されている。

5. 所内研究発表会記録

平成 10 年 7 月 30 日

「水銀の胎児影響の解明を目指して」
「水俣病大脳病変の選択的傷害の発生機序に関する研究」
山元 恵
衛藤 光明

平成 10 年 8 月 28 日

「水銀と生態系－生物濃縮と生体影響の視点から－」
「水銀分析の検討」
山口 雅子
中野 篤浩

平成 10 年 9 月 29 日

「水俣病と社会学」
「脳の発達期におけるメチル水銀の影響」
新垣たずさ
坂本 峰至

平成 10 年 10 月 27 日

「培養細胞と水銀毒性」
「水俣湾及び周辺地域海岸の底生生物の水銀含量調査」
「水銀中毒モデル動物について」
「メチル水銀中毒動物の行動を中心にして」
荒巻 亮二
保田 叔昭
安武 章
村尾 光治

平成 10 年 11 月 24 日

「『もやい直し』と市民意識」
「ICP 発光分析装置について」
田村 憲治
山根 一祐

平成 10 年 12 月 21 日

「中期海外研究を終えて－ヒ素耐性菌」
「水俣病の追跡調査と臨床検査」
中村 邦彦
若宮 純司

平成 11 年 1 月 21 日

「メチル水銀による細胞傷害とその防御」
「生殖細胞の毒性影響に関する基盤研究の現状について」
臼杵扶佐子
桑名 貴

平成 11 年 1 月 29 日

「メチル水銀中毒の脳神経障害機序及び治療法の検討」
「水俣病患者の QOL」
「チッソ生産工程の変遷と水俣病の発生」
宮本謙一郎
松本美由紀
赤木 洋勝

平成 11 年 2 月 4 日

「水俣病患者の QOL に関する一考察」
「データ暗号化の一つの方法」
宮本 清香
渡邊 正夫

6. 客員研究記録

- (1) 九州産業大学工学部教授 境 正志
(基礎研究部 中村 邦彦)
「環境中の重金属の新しい生物分解法とその環境評価法の開発に関する研究」
- (2) 中国農大生物学院助教授 李 賛東
(基礎研究部 桑名 貴至)
「生殖細胞を用いたメチル水銀毒性検定の効率化に関する研究」
- (3) 郵政省通信総合研究所通信システム部主任研究官 中川 晋一
(所長 滝澤 行雄)
「所内 LAN を含めたインターネット環境整備及び研究用ネットワークシステム構築に関する研究」
- (4) 新潟大学脳研究所病理学分野 高橋 均
(主任研究企画官 衛藤 光明)
「新潟水俣病剖検例と熊本水俣病剖検例の比較検討」
- (5) 東北大学農学部応用生物化学科・分子生物学講座助教授 西森 克彦
(基礎研究部 桑名 貴)
「水銀分解遺伝子を用いたトランスジェニックマウスの作成に関する予備研究」
- (6) 東京都精神医学総合研究所分子生物室長 丸山 敬
(臨床部 白杵 扶佐子)
「メチル水銀が細胞老化に及ぼす影響に関する基礎的研究」
- (7) 九州大学医学部附属脳神経病研究施設病理部門教授 岩城 徹
講師 堂浦 克美
(基礎研究部 荒巻 亮二)
「各種ヒト培養細胞間における有機、無機水銀の細胞内分布の検討」
- (8) 九州大学農学部教授 古川 謙介
(基礎研究部 中村 邦彦)
「環境中の重金属の新しい生物分解法とその環境評価法の開発に関する研究」
- (9) 国立環境研究所環境健康部保健指標研究室長 三森 文行
(基礎研究部 山根 一祐)
「有機水銀中毒が筋肉に及ぼす影響に関する研究」

- (10) 九州大学理学部附属天草臨海実験所助教授 野島 哲
(国際・総合研究部 保田 叔昭)
「メチル水銀の拡散・沈殿と海流・地形の研究」
- (11) 東北大学薬学部教授 永沼 章
(基礎研究部 安武 章)
「脳メタロチオネインの生理的機能に関する研究」
- (12) 筑波大学農林学系助教授 田島 淳史
(基礎研究部 桑名 貴)
「鳥類生殖幹細胞を用いた毒性影響検定法の基盤研究」
- (13) 熊本大学動物資源開発センター技術開発部門教授 山田 源
(基礎研究部 桑名 貴)
「高等哺乳類胚発生系を利用した毒性影響検討法への応用に関する基盤研究」

7. 共同研究記録

- (1) 九州大学理学部附属天草臨海実験所助手 森 敬介
(国際・総合研究部 保田 叔昭)
「水俣湾の生態系における水銀レベルの現状」
- (2) 熊本大学医学研究科公衆衛生学教室大学院生 牛島 佳代
(臨床部 宮本 清香)
「QOL の向上に関する研究」
- (3) 福井医科大学第二内科助手 藤山 二郎
(基礎研究部 安武 章)
「脳メタロチオネインの生理的機能に関する研究」
- (4) 東京大学大学院総合文化研究科生命環境化学系助手 笹川 升
(臨床部 白杵 扶佐子)
「メチル水銀が細胞老化に及ぼす影響に関する基礎的研究」
- (5) 福島県立医科大学臨床検査医学講座助手 長井 俊彦
(国際・総合研究部 保田 叔昭)
「水銀の細胞運動活性阻害に関する培養細胞を用いた評価系の開発」
- (6) 国立環境研究所地域環境研究グループ主任研究員 足立 達美
(疫学研究部 坂本 峰至)
「中枢神経毒性を示す環境汚染物質のスクリーニング法開発に関する研究」
- (7) 国立がんセンター研究所がん情報システム研究室長 金城 芳秀
(疫学研究部 坂本 峰至)
「水銀汚染地域住民の死因解析に関する研究」
- (8) 鹿児島大学医学部教授 秋葉 澄伯
(疫学研究部 坂本 峰至)
「不知火海沿岸住民の死因追跡調査に関する研究」
- (9) 新潟大学脳研究所病理学分野助手 林 森太郎
(疫学研究部 坂本 峰至)
「ラットのメチル水銀間欠的曝露実験」

- (10) 国立環境研究所社会環境システム部環境経済研究室主任研究員 青柳 みどり
(国際・総合研究部 田村 憲治)
「水俣病被害の拡大・存続要因と地域再生に関する社会科学的研究」
- (11) 熊本大学医学部附属病院病理部検査技師 徳永 英博
(臨床部 衛藤 光明)
「水俣病大脳病変の選択的傷害の発生機序に関する研究」
- (12) 東邦大学医学部病理学第一講座主任技師 下関 敏江
(臨床部 衛藤 光明)
「水俣病大脳病変の選択的傷害の発生機序に関する研究」
- (13) 東京理科大学生命科学研究所分子生物学研究部門客員研究所員 梅田 昭子
(基礎研究部 桑名 貴)
「免疫系発生における毒性影響に関する基盤研究」
- (14) 九州大学医学部医学科外科学第一講座助手 水元 一博
(基礎研究部 荒巻 亮二)
「培養ヒト神経細胞におけるメチル水銀感受性の検討」

8. 委員会報告

(1) 学術委員会

委員長 田村 憲治
委 員 宮本 清香 山根 一祐 秋吉 利彦

本委員会は所内セミナー・所内研究発表会の開催と客員・共同研究員の招聘を担当した。

本年度は所内セミナーとして 7 名の外部講師にご講演いただいた。また、今年度より所員間の研究内容等を活発に議論する場として所内研究発表会を活用することとし、概ね毎月（9回、21名）開催した。

(2) 図書委員会

委員長 安武 章
委 員 猪岡 貴光 村尾 光治 渡邊 正夫

本年度は通常作業（9年版雑誌の製本、要求単行本の審査、11年度購入雑誌の選定）の他、環境科学、疫学、分析化学関係の製本雑誌を本館書庫から国際研究協力棟資料室に移した。また、保存希望者のない製本雑誌（Chemical Abstracts、Index Medicus、Cummulative Index Medicus および Current Contents）を廃棄処分した。現在の蔵書は単行本 2,940 冊、受入雑誌 268 種（うち 11 年度受入 124 種）である。検索システムとしては、従来通り、Dialog、JICST、Current Contents が機能しているが、Dialog に関しては、インターネットによるアクセスへの移行をはかることを予定している。

(3) 機器整備委員会

委員長 荒巻 亮二
委 員 赤木 洋勝 宮本謙一郎 山下 哲也

本委員会の業務は、年度当初に重要物品（50 万円以上）の購入希望を募り、各部から提出された購入希望物品の要求理由、選択理由、研究計画との関連性、緊急性、共用性、使用頻度並びに設置場所などを綿密に審査し購入計画を作り部長会に答申することである。今年度の答申に基づき下記の 16 物品が購入された。
1. ICP 発光／質量分析装置（日本ジャーナル・ッシュ）
2. 半自動水銀分析計（三双製作所）
3. 電子捕獲型ガスクロマトグラフ装置（ヤナコ）
4. ドラフトチャンバー（ヤマト科学）
5. サンプル前処理装置（アステック社）
6. 水銀分析装置一式（杉山元）
7. 超純水製造システム（日本ミリポア）
8. ゼーマン原子吸光装置の修理交換機器一式（パーキン・エルマー社）
9. 安全キャビネット

ト（岩城硝子）10. 振とう恒温槽（タイテック）11. 携帯型簡易生化学分析システムベトスキャン（第一化学薬品 KK）12. ポラロイドプレゼンフィルムレコーダ（日本ポラロイド社）13. CTP／C 型末梢神経検査装置（東洋メディック）14. 小型冷却遠心機（コクサン）15. フルオロスキャンアセント（大日本製薬）16. バイオイメージングアナライザー（富士フィルム）。

（4）動物実験施設運営委員会

委員長 中野 篤浩
委 員 坂本 峰至 宮本謙一郎 安武 章
猪岡 貴光

動物実験施設運営委員会は、施設の円滑な運営と諸種動物実験の支援を目的としている。当委員会は本年度の運営業務として、23 件の実験申し込みを受け付け、実験の目的や計画等の妥当性を検討し、必要なものには訂正を命じ承認した。また、トランスジェニックマウスの導入申請があり、組替え DNA 実験安全委員会にも諮り導入の準備を進めている。現在、環境汚染物質としてのメチル水銀の毒性で早急な解明を待たれている課題は、低濃度長期曝露の影響、特に胎生期から新生児期における低濃度長期曝露の影響の解明である。当動物実験施設は、水俣病の診断法や治療法の開発に関する基礎的研究の推進の為に設置され、これまでに応分の成果を上げてきた。今後は、これまでの水俣病に関する実験的研究に加え、メチル水銀の低濃度長期曝露の影響解明を推進して行かねばならない。長期の曝露実験は飼育管理等に多大な経費を必要とする。予算面でのご理解を頂くとともに、実験者の益々の精進が期待される。また、当施設の飼育等の管理は、（株）アニマルケアに委託され良好なクリーンレベルが維持されている。

（5）動物実験倫理安全委員会

委員長 中野 篤浩
委 員 保田 叔昭 村尾 光治 桑名 貴
猪岡 貴光

動物実験倫理安全委員会は、動物実験施設運営委員会と共同して実験の円滑な進行を支援している。本年度は、23 件の実験申請があり、これらを動物実験倫理安全規定に基づき計画や方法等を審査し、実験の妥当性を認めたので総べて承認した。委員から、培養細胞による予備実験を提案された場合もあった。

(6) RI 実験施設運営委員会

委員長 赤木 洋勝
委 員 白杵扶佐子 山口 雅子 安武 章
森 豊

本年度は、重要物品の購入において、ラジオアイソトープが内蔵された ECD ガスクロマトグラフィーの購入が認められた事から、科学技術庁に放射性同位元素等の承認使用に係る変更の申請を行い、承認された。又、バイオイメージングアナライザーも購入設置され、オートラジオグラフィー等によるフィルム露出や現像時間の大幅な短縮、感度の上昇が見込まれている。

(7) 水銀関連文献委員会

委員長 鈴 雄藏
委 員 秋吉 利彦 若宮 純司 中野 篤浩

昭和 62 年より、国内外の水銀文献に関する情報収集を行っており、検索可能なデータベース化を図っている。本年度は国内文献については、文献収集 515 件、文献のイメージ入力 165 件の入力を行った。国内文献に関して所蔵は 6,766 件（所蔵率 60.8 %）で、所蔵率は現存する文献データベース中最大のものである。

(8) 組み換え DNA 実験安全委員会

委員長 白杵扶佐子
委 員 森 豊 中村 邦彦 坂本 峰至
安全主任者 桑名 貴

中村、桑名、白杵により P1 レベルの組み換え DNA 実験が、また、白杵により P2 レベルでの組み換え DNA 実験が、当委員会承認のもとに実施された。本年度は、P2 細菌室の機器整備が整い、P2 実験室がさらに充実した。

(9) リサーチ・リソース・バンク運営委員会

委員長 衛藤 光明
委 員 桑名 貴 宮本 清香 山口 雅子
山下 哲也

本年度の来館者は、日本人 323 名、外国人 124 名であった。また、サービスとして実施した毛髪水銀濃度測定者は日本人 230 名、外国人 100 名であった。センター創立 20 周年記念行事の一環として、平成 10 年 10 月 1 日から 4 日まで水俣市立水俣病資料館の展示コーナーに当センターの研究内容および活動状況についての展示を行った。また、10 月 8・9 日の 2 日間は当センター展示室を一般公開し、各実験室を解放すると共に希望者約 30 名の毛髪水銀濃度を測定した。

昨年度以来継続してきた水俣病関係ホルマリン固定標本内容器内のホルマリン・リサイクルはほぼ完了した。平成 11 年 2 月には新たに熊本大学医学部病理学第二講座に保管されていた水俣病発症当時に採取された魚介類とヘドロおよび当時の実験病理標本の譲渡を受けた。平成 11 年 3 月 27・28 日に「'99 全国こどもエコクラブ全国フェスティバル in 北九州」が北九州市若松区で開かれ、当展示室のパネル等一部の展示を行った。

(10) コンピュータ環境整備委員会

委員長 鈴 雄藏
委 員 山下 哲也 田村 憲治 山内 義雄
渡邊 正夫 若宮 純司 桑名 貴

当センターの所有する情報や研究成果等などをインターネット等を利用して国際的に示していくことが期待されている。これに応えるにはコンピュータ環境を整備する必要があることから、本委員会を平成 9 年 10 月に設置し、次の項目別に委員を割り振り検討していくこととした。1. 国水研 LAN (Local Area Network) のインターネット接続。2. 本庁 LAN との接続。3. 各種データベースシステムの運用等。4. LAN 利用規程の作成。5. 職員に対し LAN 利用に関する講習会の開催。

水俣病情報センター（仮称）の建設が今年度政府予算で決定されたのを受け、1. 情報センターにおけるネットワークシステムの整備（①会議室部門、②展示部門、③資料保管室・資料整備室・解析室部門）2. 当センターの移行コンピューターシステムについて検討、見直しを今後図っていくこととした。

(11) 定期刊行物編集委員会

委員長 衛藤 光明

委 員 秋吉 利彦 松本美由紀 保田 叔昭

安武 章

「国水研だより 4月号」を平成 10 年 5 月 1 日に発行した。さらに、「国立水俣病総合研究センター 20 周年記念誌」の編集を行い、平成 11 年 3 月 31 日付で刊行した。尚、記念誌の編集には、上記委員の他山内 義雄（国際・総合研究部）と山口 雅子（疫学研究部）の 2 名が参画した。

9. 国立水俣病総合研究センター創立 20 周年記念事業について

総務課長 森 豊

国立水俣病総合研究センターは、平成 10 年 10 月 1 日に創立 20 周年を迎えるに關連して以下の記念行事を実施した。

1. 水俣市立水俣病資料館におけるセンター研究内容、活動状況等の展示

期間：自 10 月 1 日（木）至 10 月 4 日（日）

2. 記念式典

日時：10 月 6 日（火）

場所：センターリハビリテーション室

3. 記念講演会

日時：10 月 6 日（火）

演者：江口 吾朗 熊本大学学長、黒子 武道 元所長

4. センターの一般公開

期間：自 10 月 8 日（木）至 10 月 9 日（金）

5. 出張講義

日時・場所：10 月 21 日（水）葛渡中学校 2 年生

10 月 22 日（木）第二中学校 3 年生

10 月 23 日（金）袋中学校 1 年生

10 月 28 日（水）第三中学校全校生

6. センター紹介ビデオ作製

日本語版、英語版

7. 創立 20 周年記念誌の編集・出版

10. 国立水俣病総合研究センターの概要

1. 予 算

(当初予算 単位:千円)

区分	6年度	7年度	8年度	9年度	10年度
運 営 費	(460,316) 488,018 (188,856)	(468,020) 490,372 (194,292)	(544,519) 561,875 (208,589)	(581,361) 599,926 (230,736)	(610,915) 629,462 (258,636)
人 件 費	203,818 (91,564)	204,851 (95,888)	208,595 (109,960)	231,254 (119,032)	258,636 (98,982)
事 務 处 理 費	96,850 (179,896)	95,186 (177,840)	116,362 (225,970)	126,018 (231,593)	105,324 (253,297)
試 験 研 究 費	187,350	190,335	236,918	242,654	265,502
施 設 整 備 費	(0) 0	(142,794) 143,731	(295,295) 297,367	(0) 0	(1,800,000) 0

() 外書きは、補正後

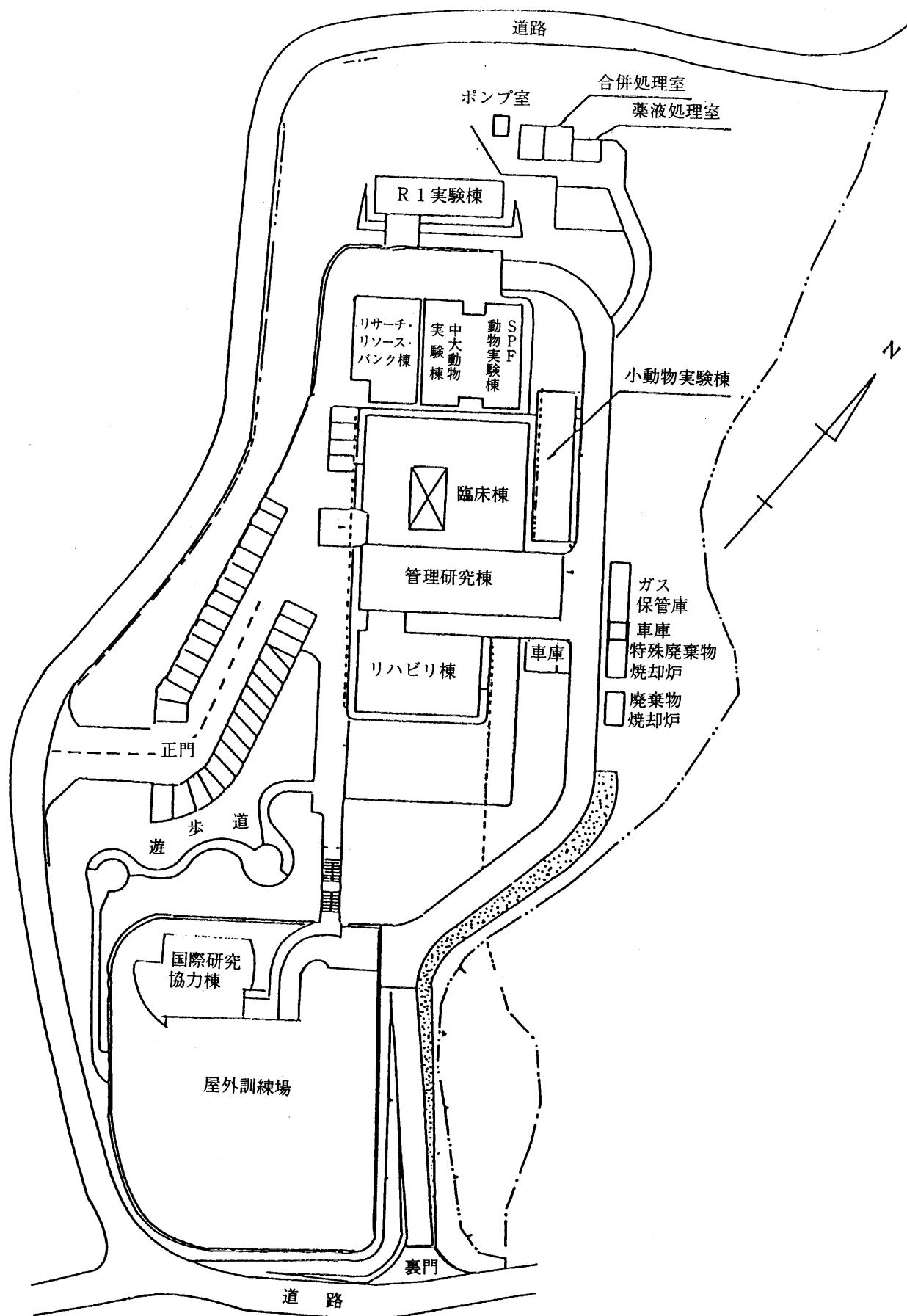
2. 定 員

区分	6年度	7年度	8年度	9年度	10年度
総務課	4	4	4	4	4
国際・総合研究部	—	—	6	6	7
臨床部	10	10	7	7	7
基礎研究部	7	7	7	7	7
疫学研究部	6	6	4	4	4
計	27	27	28	28	29

3. 主要施設整備状況

施 設 名	面 積 (m ²)	竣 工 時 期
本 館	3,497.14	昭和 53 年 3 月
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
特殊焼却炉	48.00	昭和 59 年 2 月
S P F 動物実験棟	146.38	昭和 60 年 3 月
中大動物実験棟	231.65	昭和 61 年 11 月
R I 実験棟	305.80	昭和 63 年 3 月
リサーチ・リソース・バンク	450.00	平成 8 年 3 月
国際研究協力棟	806.95	平成 9 年 7 月

4. 施設配置図 (敷地総面積 22,684 m²)



附1. 人事異動

年月日	新職名	氏名	異動事由	備考
10,4,1	研究企画官	二塚 信	併任	熊本大学教授医学部
10,4,1	研究企画官	有村 公良	併任	鹿児島大学助教授医学部
10,6,22	九州財務局宮崎財務事務所 財務課	本田 浩	出向	総務課経理係長
10,6,22	総務課経理係長	山下 哲也	転任	九州財務局鹿児島財務事務所財務課
10,7,1	研究企画官	鈴木 健彦	併任	環境庁特殊疾病対策室室長補佐
10,8,1	国際・総合研究部 国際・情報室 国際係長	永井 克博	併任	環境庁長官官房総務課主査

附2. 主な来訪者（敬称は省略させて頂きました）

平成10年4月	JICA研修員	1名
	中国貴州省JICA調査団 副団長	宮澤 健
	環境事務次官	田中 健次
5月	国務大臣 環境庁長官	大木 浩
	熊本県知事	福島 譲二
	水俣市長	吉井 正澄
6月	元環境庁地球環境部長	加藤 三郎
7月	JICA研修「有害金属汚染対策コース」	8名
	環境庁環境専門員行政実務研修	32名
	熊本大学医学部	12名
	JICA研修	7名
	水俣市芦北郡医師会立看護専門学校	36名
8月	JICA研修「産業環境対策研修コース」	10名
	国立環境研究所	20名
	JICA研修「産業排水処理技術コース」	10名
9月	有害物質被害研究会 成城学園名誉学園長 加藤 一郎	外6名
	産業医科大・産業医学集団研修コース	11名
	KITAパレスチナ「汚水処理」コース	8名

10月	KITA 「韓国中小企業技術者研修コース」	10名
	元所長 黒子 武道	
	前所長 加藤 寛夫	
	熊本大学学長 江口 吾朗	
	前参議院議員 守住 有信	
	KITA 「生活排水対策コース」	11名
11月	メキシコ環境研究センター 副所長 Frencisco Jose Abascal Garrido	外 3名
	JICA 研修「環境行政コース」	14名
	JICA 研修「第9回農業人口における保健対策」	11名
12月	パレスチナ支援、地域保健コース	7名
	国際保健医療交流センター	7名
平成11年2月	JICA 研修「南米地域国別特設：水質保全」	16名
	JICA 研修「第6回東欧産業環境対策」	13名
	JICA 研修	17名