

平成 12 年度年報の発刊にあたって

当研究センターは、平成 13 年 1 月より環境省附置機関として、省庁再編で国立研究所の使命を担うこととなりました。すでに水俣病の医学的研究に加え、水俣病に関する社会科学、自然科学研究や資料の収集・整理など体系的研究を総合的に展開するとともに、当研究センターだからこそできる業務を構築しているところであります。

平成 11 年度を 21 世紀に羽ばたくミレニアムに向けた年と位置づけ、当研究センターは研究評価と機関評価作業を終了し、本年度はこれらの評価結果を受けて、いち早く中期目標に沿った研究業務の中期計画をたててみました。国水研が全所的に展開する 5 つの主題は、行政研究推進の責務から将来像を的確に捉え、社会的要請を鋭敏に感知しつつ、現実的で具体的な研究計画の体裁を一応ととのえており、相応の成果がえられたものと自負しています。とはいえ、当研究センターが“好ましいと考える”独自の研究活動は機関評価書が指摘するように、社会の評価と容認を得る必要があります。所員全員は“変わる姿勢”の意識改革、フレキシビリティ、スピード化の活動のパターンならびに運営の仕組みを作りあげたいと願っています。

さて、各研究部における調査研究は、海外の協力研究と相まって、本年も広汎多岐、かつ順調に進捗しており、それらの成果については斯学の専門誌、内外の学会に発表しております。本年は日米科学会議のワークショップ「低濃度メチル水銀曝露による健康影響」および「国水研フォーラム‘2000」を開催し、予期以上の知見の交換をあげることができました。また、例年のように、内外の見学者、研修者を受入れ、希望者には頭髮中水銀濃度の測定を行い、諸外国人の水銀水準濃度を求めています。なお、外部講師、所員によるセミナー研究集会などを開催いたしました。

また、国水研の研究成果とともに水俣病関連資料を国の内外に提供していく機能を担う「水俣病情報センター」施設が年度末の 3 月に完成しました。

ここに、これらの成果を「年報第 21 号（平成 12 年度）」として取りまとめましたので、諸賢のご叱正、ご教示をお願いいたします。

終わりに、本年度もいろいろお世話になった環境省はじめ、各自治体関係の方々に、とくに厚くお礼申し上げます。

平成 13 年 3 月

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. 開発研究

1) 水俣病の臨床医学的研究	3
2) メチル水銀毒性の発生機序の解明と治療法の開発に関する研究	12
3) メチル水銀の次世代影響に関する実験的研究	28
4) メチル水銀胎・乳児期曝露のリスク評価の為の実験・疫学的研究	37
5) 水銀に関する環境科学的研究	45
6) 水俣病に関する社会科学的研究	57

3. 行政研究・業務計画

1) 水俣病患者の外来リハビリテーション.....	58
2) 生活環境に起因する健康影響モニタリングの構築および健康管理エキスパートシステムを そなえた基盤整備.....	61
3) 水俣病発生地域におけるメチル水銀による後影響の疫学的データの収集と解析.....	62
4) 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.....	64
5) 国際協力	
1 - a. バングラデシュ国における水銀電解苛性ソーダ工場の解体処理後の周辺環境モニタ リング.....	65
1 - b. 台湾からカンボジアへ運び込まれた産業廃棄物による水銀汚染調査.....	66
1 - c. アマゾン河流域における臨床神経学的調査 (JICA)	67
2. 開発途上国からの来訪者の研修指導.....	68
3. 「第6回地球環境汚染物質としての水銀に関する国際会議」開催準備.....	69
4. 低濃度メチル水銀曝露の人体影響に関する日米ワークショップの開催.....	71

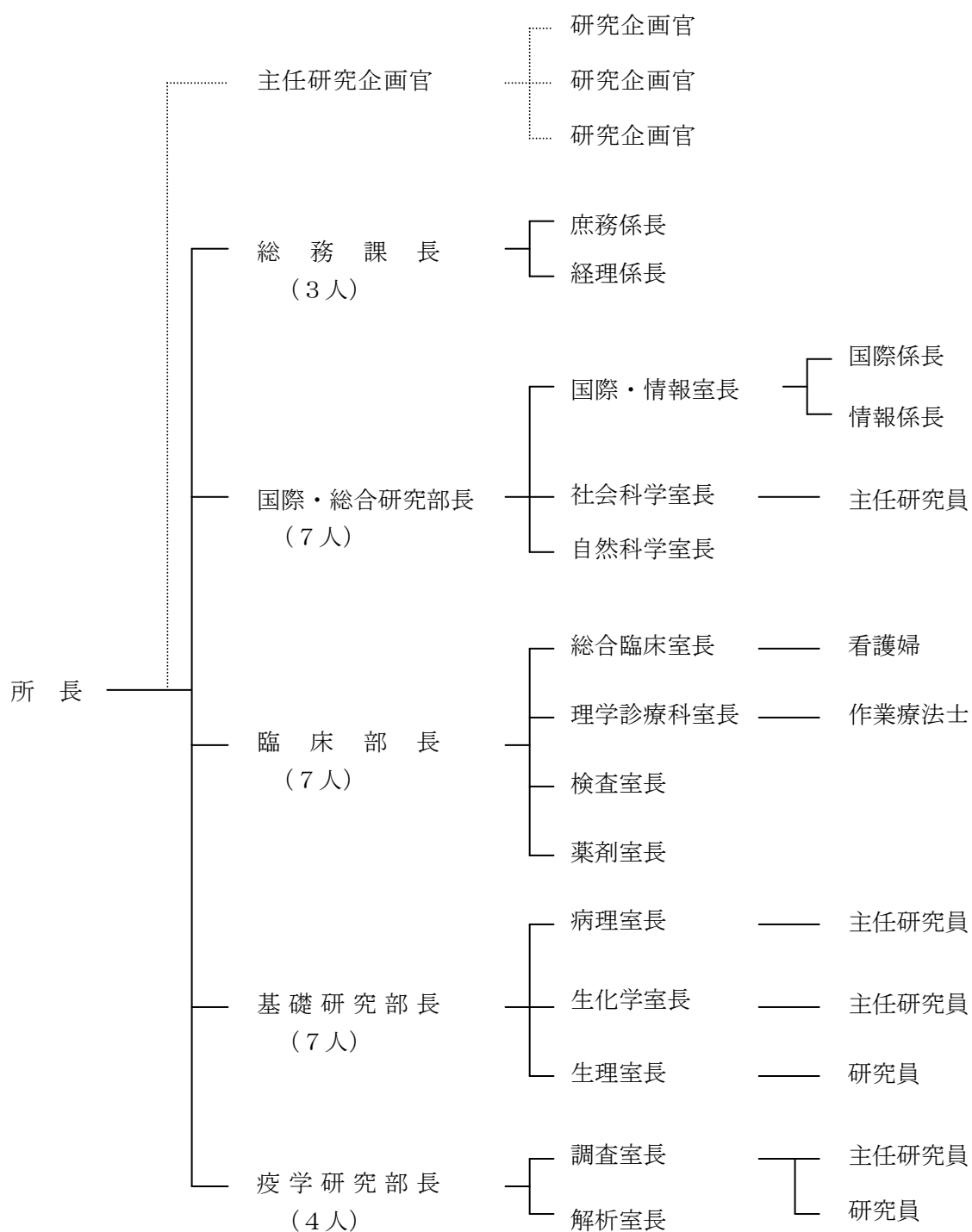
4. 研究発表一覧	
1) 国際・総合研究部	72
2) 臨 床 部	75
3) 基礎研究部	79
4) 疫学研究部	82
5) 所 長	85
5. 所内セミナー記録	90
6. 客員研究員指導記録	101
7. 国際フォーラム	106
8. 所内研究発表会記録	108
9. 客員研究記録	110
10. 共同研究記録	111
11. 外国人長期共同研究等記録	113
12. 委員会報告	115
13. 国立水俣病総合研究センターの概要	
1) 予 算	119
2) 定 員	119
3) 主要施設整備状況	120
4) 施設配置図	121
附1. 人事異動	122
附2. 主な来訪者	123

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、基礎研究部及び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、定員29人となっている。

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



2. 職員構成

(平成13年3月31日現在)

所長	技 官	滝澤 行雄	○臨床部		
主任研究企画官	(併) 同	二塚 信	臨床部長	技 官	衛藤 光明
研究企画官	(併) 同	高城 亮	総合臨床室長	同	若宮 純司
同	(併) 同	有村 公良	理学診療科室長	同	臼杵扶佐子
同	(委) 同	藤木 素士	検査室長	同	宮本謙一郎
○総務課			薬剤室長	同	村尾 光治
課長	事務官	久保 恒男	看護婦	同	宮本 清香
庶務係長	同	藤田 佳久	作業療法士	同	松本美由紀
経理係長	同	中野 剛		事 務	
	同	仁科 英俊		補佐員	鶴田ゆかり
	事 務			同	古澤美代子
	補佐員	淵上 重美	○基礎研究部		
	同	深水 文恵	基礎研究部長	技 官	中野 篤浩
	同	藤原いのり	病理室長	同	桑名 貴
	同	佐藤 純子	生化学室長	同	安武 章
	同	野口真由子	生理室長	同	中村 邦彦
	同	大澤まりも	主任研究員	同	荒巻 亮二
	同	兼子 英生	研究員	同	山元 恵
○国際・総合研究部				事 務	
国際・総合研究部長	技 官	赤木 洋勝		補佐員	柿本えつ子
国際・情報室長	事務官	佐藤 邦子		同	前田 志保
国際係長	事務官	永井 克博		同	開田 織
情報係長	事務官	山内 義雄		同	竹之下柳子
社会科学室長	技 官	蜂谷 紀之	○疫学研究部		
自然科学室長	同	保田 叔昭	疫学研究部長	技 官	赤木 洋勝
研究員	同	新垣たずさ	調査室長	同	坂本 峰至
	事 務		解析室長	事務官	渡邊 正夫
	補佐員	嶋本 淑子	研究員	技 官	山口 雅子
	同	中山 陽子		事 務	
	同	岡田 美鈴		補佐員	中村 享子

(定員29人 現員28人)

2. 開発研究

1. 水俣病の臨床医学的研究

概 要

下記の2つのテーマにしたがって研究を進めている。

1. 水俣病患者の追跡調査

水俣病の症状は、発症初期の数十例について有症率をみたものがほとんどで、詳細な統計解析を試みたものはない。また、近年の水俣病の症状は、有機水銀中毒症としての症状以外に老化の影響が加わって複雑化しており、その経過についてもいまだ明確ではない。

これに対し、IPCS 環境保健クライテリア 101 では、水俣病の病像・量－反応関係・神経外臓器影響が明確でないことが指摘されている。また、近年、ブラジル・コロンビアなど人への影響に関する国際協力を求められるようになってきている。したがって、病理所見、神経症状や療養状況などの患者の追跡調査を行って臨床像を明確にし、国際的に提示されている問題に答えるとともに国際協力を役立てる。さらに、水俣病患者に対し、必要な指導・援助を行ってゆく。

2. 低濃度メチル水銀曝露の健康影響に関する研究：

IPCS 環境保健クライテリア 101 では、母親のピーク時毛髪水銀レベルが 10～20 ppm で胎児の 5%に障害が現れる恐れがあり、追加的研究を早急に行う必要があると勧告した。

これに対し、米国ロチェスター大学グループでは、母親頭髪水銀値 0.5～26.7 ppm で児の健康影響に問題なしとしたが、デンマーク国オデンス大学グループでは、より低濃度で運動機能、言語、記憶の面での障害をきたす可能性があるとしており、国際学会でも意見が二分している。

本問題は、肉食魚類を多食する我が国にとって緊急の課題である。また、当センターは、WHO 協力機関としてこれに答えねばならないが、本年に入り、米国環境保護庁（EPA）からも同問題での共同研究の申し入れがあり、必要性が増している。

そこで、魚介類喫食調査、栄養調査から国内外数か所を調査対象地域に選定し、メチル水銀の胎児影響についての曝露評価指標を確立し、量－反応関係を明確にするための検討、および胎児期メチル水銀曝露による児童の神経行動異常などについて多角的に調査・検討を行うとともに、サルでの外挿を行って、メチル水銀の胎児への影響について結論を得る。これにより、WHO や EPA をはじめとした世界的要請に答え、基準値を決定する。

上記の研究をすすめるにあたって、下記のような展望と社会への貢献を目指している。

将来展望：

1. 病像を明確にし、IPCS 環境保健クライテリア 101 で不明確とされていることに答える。
2. 水銀中毒の鑑別が容易に可能となる。
3. 成人のメチル水銀曝露に関する安全性基準を確立することができる。
4. 胎児期の低濃度メチル水銀曝露に関する安全性基準を設定することにより、WHO や EPA の要請に応じる。

将来的な社会への貢献の内容：

1. 有機水銀中毒の症状を明確にすることにより、世界的におきている水銀汚染事件に対して国際貢献が可能になる。
2. 水俣病問題の解決に役立つ。
3. 金鉱山からの金採掘に由来する水銀汚染や、肉食魚介類・鯨等を多食する地域住民に対する国際的な指針となる。
4. 現在、意見の分かれている低濃度メチル水銀の胎児への影響について一定の結論を出し、世界的要請に答える。

具体的には、下記のような研究課題で、チームを組んで研究をすすめている。

- 1) 新潟水俣病剖検例と熊本水俣病剖検例の比較検討 (平成 12～16 年度)
衛藤 光明 高橋 均 柿田 明美 徳永 英博 安武 章 中野 篤浩
新潟水俣病患者 5 例について大脳・小脳・肝臓・腎臓の水銀組織化学、水銀・セレン濃度の測定を行ない、病理所見を検討する予定した。来年度は 7 例について追加検討する。
- 2) 水俣病患者の症状経過に関する研究 (平成 12～16 年度)
若宮 純司 内野 誠 有村 公良 辻 省三
熊本県水俣病患者 508 名と鹿児島県水俣病患者 128 名のデータを入力し終えた。来年度は、新潟水俣病とともに、ロジスティック解析を行って、神経所見の相違を明確にする。
- 3) 胎児期のメチル水銀曝露の健康影響に関する研究 (平成 12～16 年度)
若宮 純司 宮本謙一郎 村尾 光治 安藤 哲郎
臍帯水銀濃度と知能テスト・発育状況が相関する可能性を示したが、来年度は、例数を増やすとともに対照をとって比較検討する。
- 4) 低濃度メチル水銀の胎児影響における臨床応用可能な曝露評価指標および生体防御方法の開発に関する研究 (平成 12～16 年度)
宮本謙一郎 若宮 純司 村尾 光治 中野 篤浩 有村 公良
胎児期のメチル水銀による影響の指標として ABR が有用であることを示した。来年度は、他の電気生理との比較検討を行う。
- 5) 有機水銀の知的機能に及ぼす影響に関する研究 (平成 12～16 年度)
若宮 純司 後藤 正造 衛藤 光明 宮本謙一郎 村尾 光治
A β 、tau 蛋白の沈着が少なくする方法について検討したが、来年度は、トランスジェニックマウスについて実証を試みる。

6) メチル水銀の免疫機能に及ぼす影響に関する研究 (平成 12～14 年度)

宮本謙一郎 川合 覚 有村 公良

メチル水銀が免疫グロブリン産生能、補体活性化能に影響をおよぼすことを示したが、来年度は、インターロイキンなどのサイトカインを検討するとともに、マラリア感染症との対比を行う。

7) サーモグラフィによる水俣病患者の客観的診断法の開発に関する研究 (平成 12～15 年度)

若宮 純司 満淵 邦彦 宮本謙一郎

正常画像の描出可能性を明確にし、サーモグラフィ診断法の基準化を行った。来年度は、例数を増やし、方法論を確立する。(詳細後述)

8) ニューロメータによる水俣病の感覚障害の客観的定量化に関する研究 (平成 12～14 年度)

宮本謙一郎 若宮 純司 村尾 光治 有村 公良

所見の安定性をもたらす方法を検討中であり、来年度は、健常者の例数を増やして方法論を確立する。(詳細後述)

9) メチル水銀の健康影響に関するサルとの対比研究 (平成 12～14 年度)

村尾 光治 若宮 純司 宮本謙一郎

血漿中水銀濃度が 2.73ppm の子サルが得られたが、自発運動量に関して昨年と同じ相関関係が得られた。来年度は、より低濃度で閾値を検討するとともに、知能検査を行う。

10) 水銀排泄促進剤を用いたメチル水銀中毒の治療に関する研究 (平成 12～14 年度)

村尾 光治 若宮 純司 宮本謙一郎 安武 章

中国パセリによる水銀排泄効果を検討したが、明確な結果は得られなかった。来年度は再度確認するが、効果が少ないようであれば、中止する。なお、中国パセリによる水銀排泄効果がみこまれない場合、メチル水銀による胎児の知的機能障害におよぼす不飽和脂肪酸の効果に検討課題を変更する予定である。

ニューロメータ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 若宮 純司 村尾 光治 有村 公良

[目的]

ニューロメータ(末梢知覚神経機能検査装置)による Current Perception Threshold (CPT, 電流知覚閾値)検査は、5 Hz(C fibers)、250Hz(A δ fibers)、2000Hz(A β fibers)の正弦波電流閾値を調べることにより、A β 、A δ 、C 線維を非侵襲的に評価できる検査である。CPT は、同一人物の同一部位でも、日により異なるので、健常者における同時再現性、日差再現性及びデータに及ぼす心理的要因について検討を行った。

[対象と方法]

健常者 20 名（男性 14 名、女性 6 名、年齢 23～57 歳）を対象に、手及び額の皮膚に電極を付け、それに微小電流を流し、刺激を徐々に上げてゆき、被検者が何らかの違和感を感じた時の最小電流閾値を測定した。2000Hz、250Hz、5 Hz の 3 種類の周波数の電流サイン波刺激を用いて、それぞれの刺激に対する電流知覚閾値（CPT）の日内、日差再現性の検討を行った。日内再現性は、1 日 3 回の連続測定における同時再現性、日差再現性は、1 週間に 1 回、3 週連続で測定し、CPT のデータのバラツキを観察した。また、CPT におよぼす心理的要因、手及び額の 2 点間の CPT 比による解析の検討も行った。

[結果]

1 日 3 回の連続測定における同時再現性は、2000Hz、250Hz、5 Hz の 3 種類の周波数刺激とも良好であったが、日差再現性は、2000Hz の刺激が、250Hz、5 Hz の刺激よりもデータのバラツキが大きかった。CPT に及ぼす心理的要因は、検査時の緊張感よりも検査に対する集中力、理解力の有無がデータのバラツキに関係していた。また、手及び額の 2 点間の CPT 比の検討では、一定の傾向は得られなかった。

[考察]

今回の CPT の日差再現性は、2000Hz の刺激が、250Hz、5 Hz の刺激よりもデータのバラツキが大きかったが、これは、被検者の検査時の体調により、感覚の感じやすさに違いが生じている可能性も考えられるが、2000Hz の刺激は、圧覚、振動覚の刺激で、被検者にとって刺激の感覚がわかりにくい事に対し、250Hz、5 Hz の刺激は、痛覚刺激のため、痛みの感覚を感じやすいことも、バラツキに差が生じる要因の一つであると考えられた。心理的要因については、今回の検討では、検査に対する理解力、集中力が大切であることがわかった。また、手及び額のように 2 点間比で解析するような、新しい解析方法は、今後開発していく必要があると考えられた。

[文献]

1. American Association of Electrodiagnostic Medicine Quality Assurance Committee. Technology review: the neurometer current perception threshold(CPT).
MUSCLE&NERVE 22:523-531, 1999.

水俣病患者における客観的定量化診断法に関する研究

サーモグラフィ診断法の開発 1

研究担当者	若宮 純司（臨床部）
	満洲 邦彦（東京大学国際産学協同研究センター）
	藤正 巖（政策研究大学院大学）
	宮本謙一郎（臨床部）
	村尾 光治（臨床部）
	有村 公良（鹿児島大学第 3 内科）
	納 光弘（鹿児島大学第 3 内科）
	井形 昭弘（愛知健康プラザ）

〔目的〕

水俣病は、客観的診断方法がないのが現状である。特に、感覚障害は、最も有症率が高く、早期に現れる症状であることから、客観的診断法が必要である。サーモグラフィが水俣病診断に有用である可能性が高いことは既を示したが、診断に活用するのは画像診断法を確立する必要があったので、サーモグラムを定型化处理した後に差画像を求める方法を開発した¹⁾。症状が明確な疾患である腰部神経障害について、病変部描出の可能性と平均画像によるサーモグラフィ診断の可能性を検討した²⁾。

〔対象・方法〕

片側性第 4・5 腰神経障害の患者 4 例、片側性第 3・4・5 腰神経障害の患者 2 例について、室温 24℃、湿度 60%の部屋にて脱衣後 20 分に、下肢のサーモグラムを撮像した。このサーモグラムについて定型化处理を行った後、健側と患側の差をとった。つぎに、求めた差画像の平均画像を求めた。

〔結果〕

片側性第 4・5 腰神経障害の画像は、下腿および第 1 趾を含む足部内側および大腿前面に温度低下がみられた（図 1、図 2）。また、片側性第 3・4・5 腰神経障害の画像は、大腿前面、下腿および足部に温度低下がみられた。

つぎに、片側性第 4・5 腰神経障害の患者 4 例の平均画像を求めると、図 3 に示すように、下腿内側および第 1 趾を含む足部内側および大腿前面に温度低下がみられた。また、片側性第 3・4・5 腰神経障害の患者 2 例の平均画像を求めると、図 4 に示すように、大腿前面、下腿内側および足部に温度低下がみられた。

〔考察〕

片側性第 4・5 腰神経障害、片側性第 3・4・5 腰神経障害における温度低下部位は、ほぼ同じである。このことより、病巣部位で温度低下領域が決まる可能性が高く、温度低下の分布範囲は異なると考えられる。すなわち、温度低下領域から鑑別診断ができる可能性があると考えられる。また、平均画像は、疾患に特異的な部位は温度低下が現れるが、特異的でない部位は温度低下が現れないことから各

障害部位における代表的画像であると思われる。つぎに、患者画像と疾患の典型像の差をとれば、2画像の異同が明確になるが、諸疾患で典型像と患者画像との差をとり、温度変化の範囲や程度が最も少ない、いいかえれば、一致性の高い画像を求めれば、鑑別診断ができると考えられる。ただ、この温度低下の機序については、いずれの皮膚分節や筋肉分布ともあわず^{3,9)}、今後、研究せねばならない課題であろう。

〔文献〕

- 1) The Development of A Program to Transform thermograms to A same shape: Wakamiya J, Mabuchi K, Fujimasa I, Nakagawa S, Miyake H, Arimura K, Osame M, Igata A, Takizawa Y., Biomedical Thermology, 1998, 18, p176-180
- 2) Study on Standardization of Analytical Method in Thermography: Wakamiya J, Mabuchi K, Fujimasa I, Miyake H, Arimura K, Osame M, Igata A, Takizawa Y., Biomedical Thermology, 1999, 19, p74-80
- 3) Musculi membri inferioris In Anatomy: Kanehara Japan, Mori O., 1977,p249-437
- 4) The Segmental Distribution of the Cutaneous Nerves in the Limbs of Man: Keegan JJ, Garrett FD. Anat. Rec 1948, 102, p409-437
- 5) Segmental Innervation, Ihre Bedeutung in Klinik und Praxis: Stuttgart Thieme, Hansen K, Schliack H, 1962
- 6) Sensory Examination. Physical Examination of the Nervous System: Nanzando Japan, Tazaki Y., Saito Y., 1996、 p91－102
- 7) Sensory System. In An Approach to Anatomy, Pathology, and Physiology by Systems and Levels. Medical Neurosciences: Mayo Medical School, Rochester, Minnesota, Jasper RD, Burton AS, 1972,p115-136
- 8) Foerster's Scheme of the Dermatomes: Fender FA, Archives of Neurology and Psychiatry, 1939, 41, p688-693
- 9) Lumbar Sympathetic Dermatomes in Man Determined by the Electrical Skin Resistance Method: Richter CP, Woodruff BG, Journal of Neurophysiology, 1945, 8, p323-338

上記は Study on standardization of thermographic diagnosis: Wakamiya J, Mabuchi K, Fujimasa I, Miyamoto K, Murao K, Arimura K, Osame M, Igata A, Takizawa Y: Biomedical Thermology, 2000, 20, p59-63 において発表した。

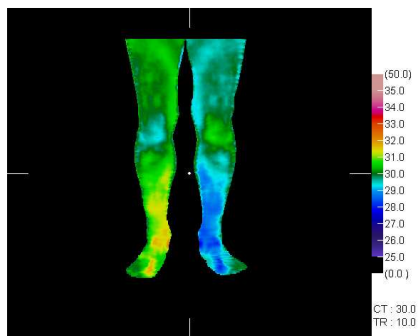


図1. 症例2のサーモグラム

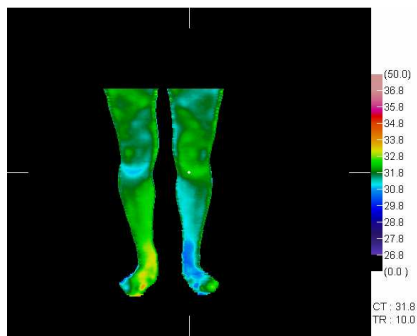


図2. 症例4のサーモグラム

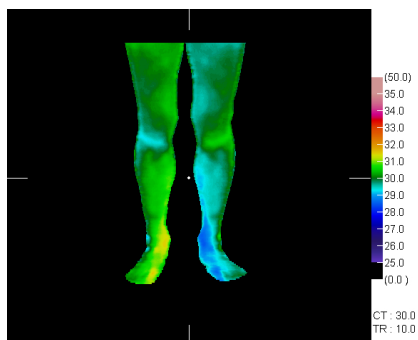


図3. L4／5, L5／S1の平均画像

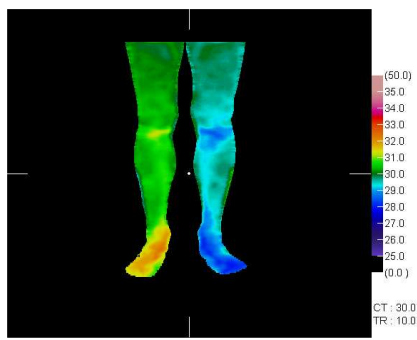


図4. L3／4～L5／S1の平均画像

水俣病患者における客観的定量化診断法に関する研究

サーモグラフィ診断法の開発 2

研究担当者	若宮 純司（臨床部）
	宮本謙一郎（臨床部）
	城之園 学（鹿児島大学第 3 内科）
	肥後 克郎（日本電子）
	光増 武彦（日本電子）
	鈴木 利明（日本電子）
	森 英俊（筑波技術短期大学鍼灸学科）
	満洲 邦彦（東京大学国際産学協同研究センター）
	藤正 巖（政策研究大学院大学）
	有村 公良（鹿児島大学第 3 内科）
	納 光弘（鹿児島大学第 3 内科）
	井形 昭弘（愛知健康プラザ）

〔目的〕

水俣病は、客観的診断方法がないのが現状である。特に、感覚障害は、最も有症率が高く、早期に現れる症状であることから、客観的診断法が必要である。サーモグラフィが水俣病診断に有用である可能性が高いことは既に示したが、診断に活用するのは画像診断法を確立する必要があったので、サーモグラムを定型化处理した後に差画像を求める方法を開発した¹⁾。つぎに、症状が明確な疾患である腰部神経障害について病変部描出の可能性について検討した²⁾。つぎに、平均画像によるサーモグラフィ診断の可能性を示した³⁾。そこで、健常画像の描出可能性を検討したが、その結果、健常者の室温馴化過程のサーモグラムパターンは年代ごとに異なるものの、個体差は少ないことがわかり、健常者の室温馴化過程について数式化の可能性を検討した。

〔対象・方法〕

健康診断にて正常とされた 20 代の男性 4 名（平均年齢 24 歳）を対象とし、室温 24℃、湿度 60% の部屋にて上着はそのままズボンをぬがせ、下着 1 枚とした。脱衣直後からエアークャップ上にて立位をとらせ、30 分間サーモグラムを 2 分おきに撮像した。

〔結果〕

定型化处理プログラムを用いてサーモグラムを同じ形にそろえ、大腿 4 点、下腿 4 点、足部 2 点について 2 群における馴化過程の相違を比較すると、各被験者ともほぼ同様の経過をたどり、徐々に低下していた。

大腿、下腿、足の各部位ごとに、被験者の平均値の時間経過について 3 次式までの非線形回帰分析を行ったところ、適合度の高い回帰式が得られた。

$$\text{大腿 : } Y = 0.0001X^3 - 0.0052X^2 + 0.0313X + 32.31$$

$$(R^2 = 0.9954)$$

$$\text{下腿 : } Y = 0.0001X^3 - 0.0058X^2 + 0.0103X + 32.986$$

$$(R^2 = 0.9954)$$

$$\text{足部 : } Y = -0.0001X^3 + 0.0061X^2 - 0.0061X + 33.1$$

$$(R^2 = 0.9712)$$

また、無作為に指定した大腿 9 箇所、下腿 9 箇所、足部 2 箇所それぞれのポイントにおける馴化経過について二次元配置分散分析および Friedman 検定を行ったところ、いずれのポイントにおいても有意差はなかった。

〔考察〕

大腿・下腿・足部の各部位の各時間における平均値について 1 次から 3 次までの回帰分析を行ったところ、適合度がきわめて高い回帰式が得られた。したがって、範囲はあるが、健常者のサーモグラムを算出することができると考えられた。つぎに、大腿、下腿、足部の各部位での同じポイントにおける被験者間の有意差をみたが、いずれのポイントにおいても有意差はなかった。したがって、健常者のサーモグラムは個体条件と環境条件が同じであれば、初期値は異なるが、同じ過程をたどって馴化が起こる可能性があると考えられた。この際、健常者のサーモグラムは一定の範囲をもっていたが、各個人の馴化曲線を平行移動させればほぼ同一と判断できることから、必ずしも健常者がとりうる範囲のサーモグラム全てと比較しなくてよい可能性があると考えられた。

以上より、個体条件と撮像条件を一定にすれば、健常者のサーモグラムを算出でき、患者画像との差画像をとることにより幹部を描出できる可能性があると考えられた。

〔文献〕

- 1) Study on standardization of analytical method in thermography: Wakamiya J, Mabuchi K, Fujimasa I, Miyake H, Arimura K, Osame M, Igata A, Takizawa Y: Biomedical Thermology, 1999, 19, p74-80
- 2) The development of a program to transform thermograms to a same shape: Wakamiya J, Mabuchi K, Fujimasa I, Nakagawa S, Miyake H, Arimura K, Osame M, Igata A, Takizawa Y: Biomedical Thermology, 1998, 18, p176-180
- 3) Study on standardization of thermographic diagnosis: Wakamiya J, Mabuchi K, Fujimasa I, Miyamoto K, Murao K, Arimura K, Osame M, Igata A, Takizawa Y: Biomedical Thermology, 2000, 20, p59-63

上記は、Basic study on calculation of normal thermograms: Wakamiya J, Miyamoto K, Jonosono M, Higo K, Mitumasu T, Suzuki T, Mabuchi K, Fujimasa I, Arimura K, Osame M, Igata A, Takizawa Y: Biomedical Thermology, 2000, 20, p91-95 において発表した。

2. メチル水銀毒性の発現機序の解明と治療法の開発に関する研究

概 要

体内にとりこまれたメチル水銀が、生体内で毒性を発現するメカニズムについてはなお不明なことが多い。メチル水銀の毒性発現は、発生期、成熟期、老齢期の各年齢相で異なり、また臓器や細胞の種類、個体によっても異なるが、その理由は未だ解明されていない。最近酵母におけるメチル水銀の細胞内標的分子が明らかにされたが、ほ乳類では同様な物質の存在は同定されていない。これまでにメチル水銀が細胞に酸化ストレス傷害をひきおこすという事実が蓄積されてきている。メチル水銀は、低濃度では遺伝子にプログラムされた細胞死（アポトーシス）をひきおこすが、最終的にアポトーシスが決定されるまでに細胞内ではさまざまな生体ストレス応答、遺伝子発現変化が起こっていて、これらの生体応答が破綻して修復が困難な場合に細胞死が選択されることが考えられる。また、細胞死をひきおこさない微量のメチル水銀濃度でも、生体応答を攪乱している可能性がある。生体内に滞留したメチル水銀は次第に無機化されていくが、この生体内無機化は低濃度慢性曝露の際の重要な問題となる。本課題では、体内にとりこまれたメチル水銀が毒性を発現するメカニズム及びメチル水銀に対する生体の応答メカニズムを解明し、さらにその成果をもとにメチル水銀中毒がもたらす傷害の防御、修復のための新たな治療法の開発へと発展させることを目的として、メチル水銀の生体内動態、シグナル応答、生体防御機構などについて、培養細胞系、モデル動物を用いて下記のような検討を行っている。

研究実施体制と平成12年度の各テーマ毎の進捗状況は下記の通りであり、ほぼまとまった結果が得られているものについては、詳細を後述した。

1. メチル水銀毒性の細胞種依存性についての放射線生物学的研究（平成12－16年）

荒巻 亮二

3系統の細胞、Chinese hamster 肺細胞 (V79)、ヒト子宮頸癌 (Hela) 及び Chinese hamster 卵巣細胞 (CHO) のメチル水銀毒性に対する感受性は、V79 が最も高く、メチル水銀添加後 24 時間以内に細胞死が決定された。メチル水銀感受性が細胞により異なる原因として、メチル水銀の細胞内取り込み速度や細胞周期による差、細胞内因子が考えられ、さらに検討を進めている。

2. メチル水銀の発生期における細胞分化に及ぼす影響に関する研究（平成12－16年）

---特にシグナル伝達に及ぼす影響に関する検討---

山元 恵 臼杵扶佐子 Colin R. Jefcoate

メチル水銀の細胞分化に及ぼす影響を検討する最適な分化モデル培養細胞系を構築するために、マウス胎児由来の株化線維芽細胞である C3H/10T1/2 細胞を用いて、細胞の増殖に影響を及ぼさないメチル水銀曝露条件に関する基礎実験を重ねている。

3. メチル水銀による酸化ストレス傷害の分子機構解明に関する研究（平成 12－16 年）

臼杵扶佐子 石浦 章一 丸山 敬

環境ストレスの影響を評価するための培養細胞系を構築し、メチル水銀添加後の細胞内化活性酸素の経時的動態、アポトーシス誘導に関与すると考えられるシグナル伝達系の活性化との関連性、及び抗酸化剤の効果等について検討を行っている。

4. 抗酸化剤を用いたメチル水銀中毒の病態と治療に関する研究（平成 12－16 年）

臼杵扶佐子 安武 章 梅原 藤雄 桶口 逸郎 衛藤 光明

培養細胞系でアポトーシスの防御に有用であることが確認された抗酸化剤 Trolox はメチル水銀排出促進効果は認めないものの *in vivo* においてもメチル水銀毒性発現を防御可能であることが、病理学的検討から明らかになった。即ち、*in vitro* で確認されたメチル水銀中毒の病態への酸化ストレスの寄与が *in vivo* においても証明された。（詳細後述）

5. 塩化メチル水銀の亜慢性。慢性曝露による生殖器官、中枢神経系及び胎児への影響に関する基礎研究（平成 12-14 年）

安武 章 永野 匡昭 井上 稔

微量のメチル水銀曝露の投与は世代を経て継続すると、腎臓、精巣に影響が現れることが病理学的、内分泌学的検討から明らかになった。（詳細後述）

6. 脳メタロチオネインの機能に関する研究（平成 12－16 年）

安武 章 永沼 章

水銀蒸気曝露したモデルラット脳でメタロチオネイン III が長期に持続して増加することを明らかにした。メタロチオネイン III 特異的抗体の作成に成功し、さらに脳メタロチオネインの機能に関する検討を進めている。（詳細後述）

7. メチル水銀の生体内無機化反応（平成 12－16 年）

安武 章 平山紀美子

ラット肝臓のスライス及びミトコンドリアを用いた反応系をラット脳ミトコンドリアに応用した。無機化反応の主要部位の一つがミトコンドリアであることが電子伝達系阻害剤を用いた実験で推定された。現在、分離ラット脳ミトコンドリアを反応系として、メチル水銀の脱メチル化速度と活性酸素産生量との関連性について検討している。

8. メチル水銀中毒脳神経細胞死の傷害機序に関する研究 (平成 12-16 年)

宮本謙一郎 村尾 光治 中西 博

メチル水銀中毒ラットを用いた脳神経細胞傷害は 16 日令ラットで広範に出現するが、パッチクランプを用いた検討からこの時期のラットでは NMDA receptor の感受性が他の時期に比べて高いことが明らかとなり、脳神経細胞傷害の病態に NMDA receptor の活性化が深く関与していることが推定された。(詳細後述)

9. 性ホルモンがメチル水銀中毒に及ぼす影響に関する研究 (平成 12-16 年)

宮本謙一郎 村尾 光治 若宮 純司 八尾 博

メチル水銀の発症における性ホルモンの関与について検討するため、更年期モデルとしての卵巣摘出ラットを作成した。メチル水銀投与を行ったラットの病理検討を行っている。

10. 代謝系解析のためのモデル動物開発 (平成 12-16 年)

桑名 貴 足立 達美 坂井 美保

代謝系解析に用いるトランスジェニックマウス系統作成のため、水銀分解遺伝子群 (merA、merB) の in vitro における発現ベクターの検討を行っている。

抗酸化剤を用いたメチル水銀中毒の病態と治療に関する研究

研究担当者 臼杵扶佐子（臨床部）
松本美由紀（臨床部）
衛藤 光明（臨床部）
安武 章（基礎研究部）
梅原 藤雄（鹿児島大学第三内科）
樋口 逸郎（鹿児島大学第三内科）

〔目的〕

これまで培養細胞系を用いた検討により、低濃度メチル水銀はアポトーシス（プログラム細胞死）を誘導すること、このアポトーシスは抗酸化剤（N-acetyl-L-cysteine、Trolox）の同時投与で抑制されること、また、メチル水銀曝露により細胞内活性酸素が増加することを明らかにし、*in vitro* においてメチル水銀毒性に酸化ストレス傷害が関与していることを指摘してきた^{1, 2}。今回、培養細胞系においてメチル水銀毒性防御に有用であることが確認されたビタミン E の水溶性誘導体である Trolox を用いて、*in vivo* におけるメチル水銀毒性の病態に対する酸化ストレス傷害の関与について、メチル水銀中毒ラットを用いて検討した。

〔対象および方法〕

以下の各群 5 匹ずつのラット（10 週令、体重 300–325 g）を対象とした。

- (1) メチル水銀単独投与群（20 ppm Hg 給水曝露）
- (2) メチル水銀（20 ppm Hg 給水曝露）+ Trolox 1 mg/kg 投与群、
- (3) メチル水銀（20 ppm Hg 給水曝露）+ Trolox 2.5 mg/kg 投与群
- (4) Trolox 2.5 mg/kg 単独投与群
- (5) Control 群

メチル水銀は 2 8 日間連日投与、Trolox は 5 日/週にて 4 週間腹腔内投与した。

投与終了 1 週間後、病理学的、生化学的検索のため大脳、小脳、筋肉（EDL (Extensor digitorum longus), Soleus)、脊髄、肝臓、腎臓の各組織を採取した。大脳、小脳、脊髄はホルマリン固定後、パラフィン包埋し病理学的な検討（Hematoxylin and eosin (H & E)、Kluver-Barrera、Masson's trichrome 染色）を行うとともに、小脳は TUNEL 染色を行った。EDL、Soleus は凍結切片にて筋組織化学的な検討（H & E、modified Gomori-Trichrome、acid phosphatase、PAS、oil red O、NADH、ATPase、succinate dehydrogenase (SDH)、cytochrome c oxidase (CCO)、myoadenylate deaminase 染色）を行った。また、各組織は総水銀および無機水銀含量の測定を行った。

〔結果〕

メチル水銀投与群では control 群に比し、有意な体重減少を認めたが Trolox 群では体重減少は軽度抑制された。後肢交差現象はメチル水銀投与群で明らかに認められたが、Trolox 群では軽度抑制を認めた。総水銀含量は表 1 に示すように、Trolox のメチル水銀に対する排泄効果は認められなかった。筋肉内無機水銀含

量はいずれの群でも微量であった。

Trolox は病理学的な検討で水銀毒性に対し著明な抑制効果があることが明らかになった。筋組織化学的な検討では、メチル水銀投与群では、1ヶ月投与後ミトコンドリアの多い Soleus で control に比しミトコンドリア酵素である CCO、SDH 活性染色の低下が認められたが、このミトコンドリア酵素活性の低下は、Trolox で著明に抑制された (図 1)。また、脊髄神経では前根神経はメチル水銀による変化を認めなかったが、後根神経節、後根神経では空胞形成、腫脹などの変性を強く認めた。Trolox はこの変化を抑制した。さらに Trolox は中枢神経系においてもメチル水銀毒性に対し抑制効果がみられることが明らかになった。即ち、小脳パラフィン切片を用いて TUNEL 染色によるアポトーシスの検索を行ったところ、メチル水銀単独投与群では小脳顆粒層に多数のアポトーシスを認めたが、Trolox 投与群ではアポトーシスは抑制された (図 2)。

表 1 各組織における総水銀濃度

Tissue	MeHg ($\mu\text{g/g}$)	MeHg + low Trolox ($\mu\text{g/g}$)	MeHg + high Trolox ($\mu\text{g/g}$)
Soleus muscle	10.7 ± 1.6 (5)	12.6 ± 1.7 (5)	12.3 ± 1.7 (5)
Cerebellum	9.7 ± 1.1 (5)	9.8 ± 1.7 (5)	9.8 ± 2.2 (5)
Cerebrum	12.3 ± 1.5 (5)	12.8 ± 2.1 (5)	11.9 ± 2.2 (5)
Liver	37.8 ± 10.9 (5)	40.0 ± 8.7 (5)	37.6 ± 8.7 (5)
Kidney	95.2 ± 7.8 (5)	100.9 ± 18.7 (5)	109.3 ± 13.6 (5)*

Values are means $\pm$ SD, with the numbers of samples in parentheses. * significantly different from MeHg-treated rats determined by one way Welch's *t* test. $P < 0.001$

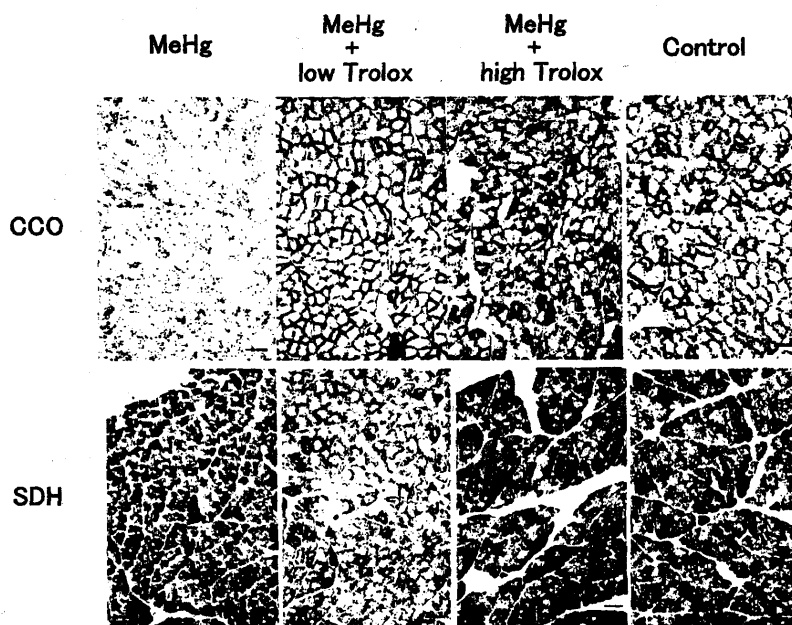


図 1 Soleus 筋の凍結切片を用いた Cytochrome c oxidase (CCO)、succinate dehydrogenase (SDH) 活性染色 (Bar=100 μm)

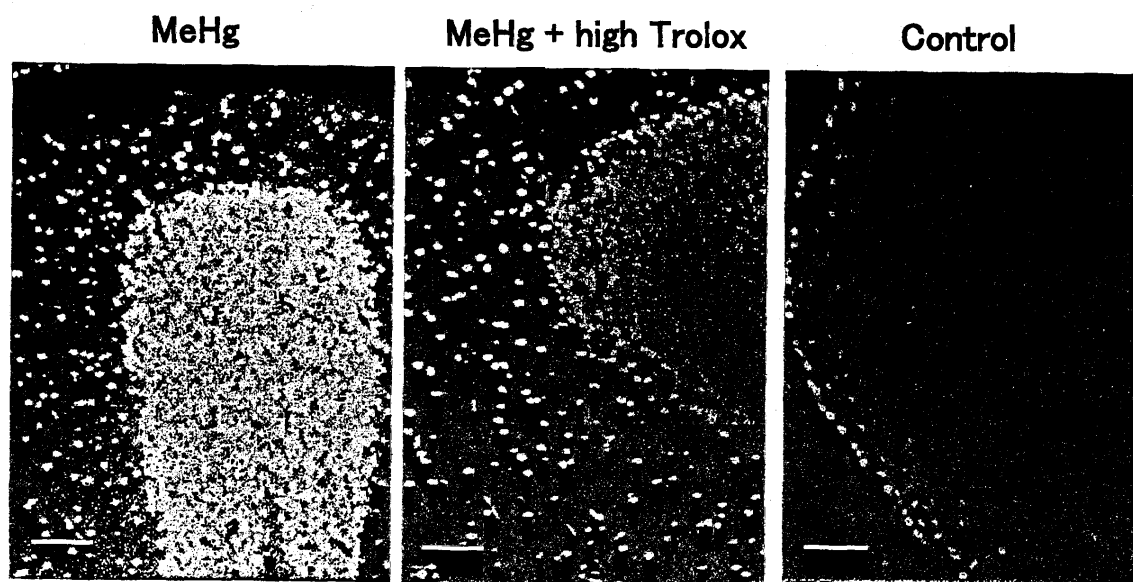


図2 小脳パラフィン切片を用いた TUNEL 染色 (Bar=50 μ m)

〔考察〕

我々はこれまでメチル水銀投与ラットを用いた筋組織化学的検討で、メチル水銀は急性中毒³のみならず慢性投与⁴においても筋肉の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てきた。今回の検討で、メチル水銀による筋肉のミトコンドリア酵素活性の低下は水溶性ビタミンEであるTroloxにより著明に抑制されることが明らかになった。Troloxはメチル水銀に対する排出効果はなかったことから、メチル水銀によるミトコンドリア酵素活性の低下は酸化ストレスによるものであることが推察された⁵。

Troloxはさらに後根神経、後根神経節や中枢神経系においてもメチル水銀毒性に対し抑制効果を示すことが明らかになった。即ち、後根神経や後根神経節の病理変化及び小脳のアポトーシスはTroloxにより明らかに抑制された。これらの事実は、*in vivo*におけるメチル水銀中毒の病態においても酸化ストレス傷害が重要な役割を担っていることを示している⁵。

今回我々は、メチル水銀毒性の病態における酸化ストレスの関与を*in vivo*において検討するために、メチル水銀とTroloxの同時投与にて検討した。今回の投与量では、後肢交差現象を完全に抑制することはできなかった。Troloxの投与量の検討とともにメチル水銀を排出させるためのチオール剤など水銀排泄作用のある薬剤との併用を今後検討していく予定である。さらにメチル水銀投与を先行させた治療効果についての検討も必要である。

〔参考文献〕

1. Usuki F and Ishiura S: Expanded CTG repeats in myotonin protein kinase increase susceptibility to oxidative stress. *NeuroReport* 9: 2291-2296, 1998
2. Usuki F, Takahashi N, Sasawa N, Ishiura S: Differential signaling pathways following oxidative stress in mutant myotonin protein kinase cDNA-transfected C2C12 cell lines. *Biochem Biophys Res Comm* 267: 739-743, 2000
3. Usuki F, Yasutake A, Matsumoto M, Umehara F, Higuchi I: The effect of methylmercury on skeletal muscle in the rat: a histopathological study. *Toxicol Lett* 94: 227-232, 1998
4. Usuki F, Yasutake A, Matsumoto M, Higuchi I, Higuchi I: Chronic low-dose methylmercury administration decreases mitochondrial enzyme activities and induces myopathic changes in rats. *J Health Science* 47: 162-167, 2001
5. Usuki F, Yasutake A, Umehara F, Tokunaga H, Matsumoto M, Eto K, Ishiura S, Higuchi I, In vivo protection of a water-soluble derivative of vitamin E, Trolox, against methylmercury-intoxication in the rat. *Neurosci Lett* 304: 199-203, 2001

メチル水銀中毒脳神経細胞死の傷害機序に関する研究

研究担当者 宮本謙一郎（臨床部）

村尾 光治（臨床部）

中西 博（九州大 歯）

〔目的〕

メチル水銀の脳病変分布は、胎生期、小児期、成人期で異なり、胎生期のメチル水銀曝露で最も病変が広範に生じる。これは、脳の発達段階で、神経細胞のメチル水銀に対する感受性に差が生じていることが考えられる。その要因の一つに、グルタミン酸受容体の一つである NMDA 受容体が考えられる。本受容体は、ヒト、ラットで胎生期の発達とともに、サブユニットの発現が変化し、ラット脳では、生後 2 週間前後でその代謝が最も活発になる。ここでは、生後日数の異なる Wistar 雄性ラット（生後 2 日目(P2)、16 日目(P16)、60 日目(P60)）の発達時期における NMDA 受容体の活性化の程度を検討する目的で、ラット脳の冠状断の後頭部皮質スライス標本を用いて、ホールセルパッチクランプ法で、NMDA 誘発性の興奮性シナプス電位の測定（宮本、村尾、中西）を行い、NMDA 受容体の関与について検討した。

〔対象と方法〕

Wistar 雄性ラットの生後 2 日目(P2)、16 日目(P16)、60 日目(P60)の発達時期における脳の冠状断の後頭部皮質スライス標本を用いて、ホールセルパッチクランプ法で、NMDA 誘発性の興奮性シナプス電位の測定を行った。また、P2、P16、P60 ラットにメチル水銀(MeHg)を 10mg/kg/day で 7 日間連続経口投与した群、及び MeHg+NMDA 受容体の阻害剤である MK-801 0.1mg/kg/day 腹腔内投与群を対象に、MeHg 最終投与後 8 日目に解剖した大脳皮質の中性ホルマリン固定標本を用いて、HE 染色、ミクログリア染色の病理組織化学的検討を行った。さらに、同モデルラットを用いて、大脳皮質の一酸化窒素 (NO) と活性酸素との反応で生じるパーオキシ亜硝酸の産生の指標であるニトロチロシンの測定を HPLC 法にて行った。

〔結果〕

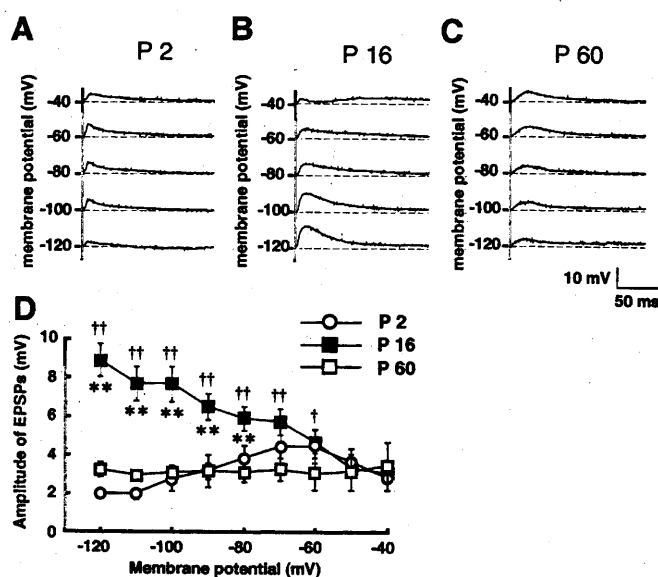


図 1. NMDA 誘発性興奮性シナプス電位の変化

スライス標本を用いた NMDA 誘発性の興奮性シナプス電位の P2、P16、P60 ラットにおける測定結果では、P16 は、P2、P60 よりも興奮性電位の変化が有意に大きくなった（図 1）。

表 1 MeHg 中毒ラットにおける病理所見

Brain regions	Treatment	P2	P16	P60
Cerebral cortex	MeHg	—	++++	++
	MeHg+MK-801	—	++	+
Hipoocampus	MeHg	—	+++	—
	MeHg+MK-801	—	—	—
Brainstem	MeHg	+	+	—
	MeHg+MK-801	—	—	—
Cerebellum	MeHg	—	—	++
	MeHg+MK-801	—	—	++

++++:very severe; +++: severe; ++:moderate; +: mild; — : no change

MeHg 中毒モデルラットにおける病理組織化学的検討結果を表 1 に示す。

大脳皮質の検討では、P16 において神経細胞の脱落が P2、P60 よりも広範囲に認められた。この大脳皮質の神経細胞の脱落は P16 では MK-801 により顕著に抑制された。

また、ミクログリア染色では、MeHg 単独投与群で、活性化ミクログリアの染色像が認められたが、MK-801 投与群では、活性化ミクログリアの出現が抑制された。さらにニトロチロシンの測定では、MeHg 単独投与群で産生が認められ、MK-801 投与群では、有意に抑制された（表 2）。

表 2 ニトロチロシン測定結果

Treatment	N.	% NTYR	
		Cerebrum	Cerebellum
Control	4	0	0
MK-801 alone	4	0	0
MeHg alone	4	0.162±0.061	0.092±0.010
MeHg+MK-801	4	0.016±0.001*	0.025±0.006*

Value are mean±SD. *significantly different from MeHg alone *P<0.05
NTYR, nitrotyrosine

〔考察〕

ヒトの MeHg 中毒における脳病変分布は、曝露を受けた胎生期、小児期、成人期で異なり、胎生中期～後期の MeHg 曝露で最も病変が広範囲に生じる。これは、脳の発達段階で、神経細胞の MeHg に対する感受性に差が生じていることが考えられる。グルタミン酸受容体の一つである NMDA 受容体は、ヒト、ラットで胎生期の発達とともに、サブユニットの発現が変化する。P16 の脳では、低酸素や重金属により、グルタミン酸が脳の神経細胞外に過剰に蓄積すると、NMDA 受容体が活性化しやすく、細胞内に Ca イオンが過剰流入し、NO が産生され、神経細胞を死に至らしめることが考えられる。今回の病理学的検討で、P16 より MeHg を投与した群の脳皮質の神経細胞傷害が、最も重篤で、かつ広範囲に生じ、その傷害を MK-801 が抑制することが明らかになった。また、ニトロチロシン産生を MK-801 が抑制した。今回のパッチクランプの検討から、NMDA 誘発性の興奮性シナプス電位の変化は P16 が最も大きいことが明らかになった。P16 ラット脳は、ヒト脳の胎生中期～後期に相当する。ヒト胎生期の MeHg 中毒による広範囲な神経細胞傷害の発現機序にも NMDA 受容体が深く関与している可能性が示唆された。

〔参考文献〕

1. Miyamoto,K., Nakanishi,H., Moriguchi,S., Fukuyama,N., Eto,K., Murao,K., Wakamiya,J., Arimura,K., and Osame,M : Involvement of enhanced sensitivity of NMDA receptors in vulnerability of developing cortical neurons to methylmercury neurotoxicity. Brain Reserch, (2001) in press.
2. Nishioku,T., Takai,N., Miyamoto, K., Murao, K., Hara,C., Yamamoto,K., Nakanishi,H. : Involvement of caspase 3-like protease in methylmercury-induced apoptosis of primary cultured rat cerebral microglia. Brain Reserch, 871: 160-164 (2000).

塩化メチル水銀の亜慢性・慢性曝露による生殖器官・中枢神経系及び胎児への影響に関する基礎研究

研究担当者 安武 章（基礎研究部）
永野 匡昭（科学技術振興事業団）
井上 稔（(株)新日本科学）

〔目的〕

高濃度メチル水銀（MeHg）の生体影響については、ヒトおよび実験動物で数多くの結果が蓄積されているが、低濃度かつ長期曝露の影響についてはまだ情報が不足している。高濃度曝露時が脳神経系を主標的とするのに対し、長期低濃度曝露ではむしろ腎臓が標的となることも報告されており¹、曝露レベルによっては、MeHg の標的臓器が変わりうることも示唆されている。ここでは低濃度 MeHg 曝露というリスクを負荷した条件下でラットの交配を繰り返すことにより、経世代に現れる曝露の影響を観察した。

〔研究方法〕

4.5 週齢の Wistar 系ラット（雌雄）を 0、0.5、1、5 ppm Hg の MeHg を含む給水にて飼育し、11.5 週齢目に交配（雌雄、1:1）させ、産仔（第二世代）を得、以降も同様に 11.5 週齢目に交配を繰り返し、第四世代までを得た。各世代の曝露期間は 18 週（産仔の離乳）までとし、以下について検討した。

生殖系への影響：雄ラットのプラグ数、精巣及び前立腺、精巣上体の組織重量、過酸化脂質、グルタチオン（GSH）、メタロチオネイン（MT）レベル、及び、血漿中テストステロン、黄体形成ホルモン（LH）及び濾胞刺激ホルモン（FSH）濃度、さらに精巣病理より評価し、雌ラットの妊娠率についても検討した。

中枢神経系への影響：脳の過酸化脂質、GSH、MT レベルの他、第二世代以降については、行動試験（Morris water-maze test²）で学習記憶への影響を評価した。

肝臓及び腎臓への影響：血漿中の酵素活性あるいは尿素窒素（BUN）およびクレアチニンレベル、組織重量、過酸化脂質、GSH、MT レベルより評価した。

また、各組織について、MeHg から派生した無機水銀（Hg²⁺）の生体影響への寄与について検討するため、総水銀の他、Hg²⁺濃度を測定した。

〔結果と考察〕

第一世代：18 週齢までの MeHg 曝露では全く異常は観察されなかったが、1 年後には、5 ppm Hg 群の雄に、BUN と血漿クレアチニンレベルの上昇が認められ、腎機能障害が示唆された。病的には糸球体硬化症が認められ、MeHg から派生した Hg²⁺によるものと推察された。一方、雌の腎臓では、雄よりも水銀濃度が高いにもかかわらず、組織損傷は雄よりも軽度なものであり、雄腎臓の水銀毒性に対する感受性の高いことが示唆された。1 年後の精巣病理、血漿中総テストステロン及び LH 濃度に水銀曝露の影響は観察されなかった。

第二～第四世代：第二世代以降のラットは、胎仔期から MeHg に曝露されているにもかかわらず、いずれの世代においても受精率と妊娠率には水銀曝露の影響が認められず、今回の曝露レベルでは、性成熟期における生殖機能に影響を及ぼさないことがわかった。しかしながら、第二世代の 1 及び 5 ppm Hg 曝露群雄ラットにおいては、成熟後、精子形成障害といった輸精管の異常が病的に認められた（図 1）。

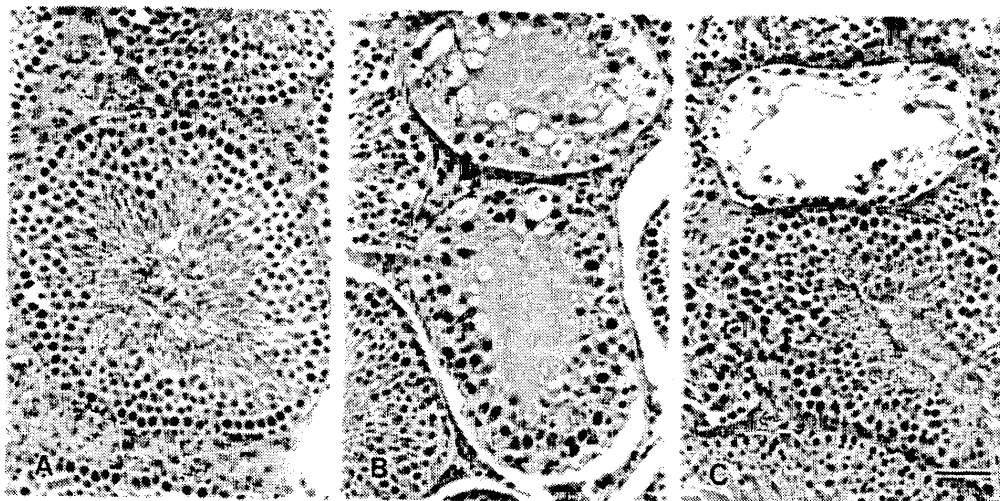


図1 第二世代ラットの精巣

A: 対照群; B, C: 5 ppm Hg 曝露群。 B がさらに進行すると C の状態になる。

また、ライディッヒ細胞と精子の欠損した輸精管内では、 Hg^{2+} 染色が顕著であったことから、この異常は MeHg よりもむしろ、派生した Hg^{2+} による可能性が示唆された。興味あることにこれらの異常は第二世代のみで、第三及び第四世代のラットでは観察されなかった。さらに、第二世代の 5 ppm Hg 曝露群では血漿中総テストステロン濃度の減少が認められ、ライディッヒ細胞の機能障害も示唆されたが、この現象もやはり、第三、第四世代では観察されなかった。一方、血漿中 LH 濃度はいずれの世代においても有意な変化はなかった。その他、雄ではいずれの世代においても、派生した Hg^{2+} によるものと推察される腎機能障害が BUN、血漿クレアチニンレベルの上昇から示唆されたが、病理変化は軽微なものであった。また、中枢神経への水銀曝露の影響はいずれの世代においても認められなかった。

次に、第二、第三世代の離乳期について、組織内で水銀毒性の抑制に寄与する MT と GSH のレベルに関して検討を行った。MT は、生体組織内で Hg^{2+} によって誘導され、その毒性を抑制する内因性防御物質の一つである。ラットは生体内各組織の機能が未熟な状態で出生し、成長とともにそれらの機能は成熟していく。各組織の MT レベルもその成熟過程で大きく変動することが図2からわかる。離乳時点において、水銀曝露による MT 誘導が有意であったのは精巣と腎臓であったが、世代間に差は認められなかった。興味あることに、肝臓においては、生後2週間まで認められていた有意差（曝露群>対照群）が、離乳期以降は消失した。肝臓本来の機能の成熟に伴って、MT の代謝が活発になることが示唆され、本実験の曝露条件が、少なくとも肝臓の MT 代謝にはほとんど影響しないレベルであることがわかる。

一方、離乳時の GSH レベルは、いずれの世代においても、腎臓においてのみ曝露群が高い値を示し、水銀曝露による生合成の促進が示唆されたが、その上昇率にもやはり世代間の差は認められなかった。腎臓中の GSH 合成の律速酵素である γ -グルタミルシステインシンターゼ活性は、MeHg、 Hg^{2+} いずれでも上昇するため^{3,4}、どちらの化学形の水銀が寄与しているのかは判断できない。

以上の結果より、本実験のメチル水銀曝露条件下では、その標的組織が中枢神経系よりもむしろ腎臓あるいは精巣であること、およびその影響が MeHg そのものではなく、生体内で派生した Hg^{2+} によることが示唆された。第二世代ラットで認められた精巣障害が、第三世代以降では観察されなかった理由に関しては、

今回の結果だけから説明はできない。GSH、MT 以外の遅発性生体内防御因子の発現が第三世代から促進した可能性も考えられるが、その解明は今後の課題である。

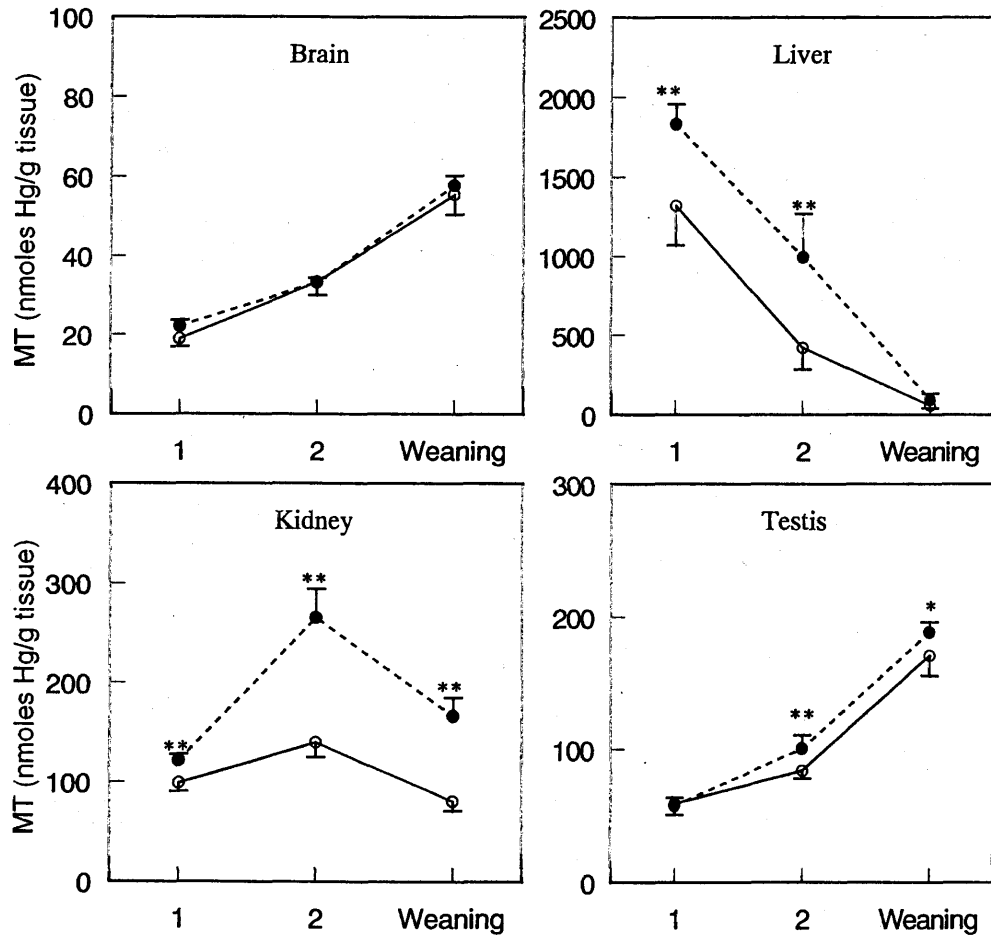


図2 出生から離乳期までの第二世代ラット組織 MT レベルの変化。

○: 対照群; ●: 5 ppm Hg 曝露群。6 匹の平均値と標準偏差で標示。有意差は、* ($p < 0.05$) および ** ($p < 0.01$) で表した。

[参考文献]

1. Yasutake A, Nakano A, Miyamoto K and Eto K, Chronic effects of methylmercury in rats. I. Biochemical aspects. Tohoku J Exp Med 182: 185-196, 1997.
2. Morris R, Development of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. J Neurosci Methods 11: 47-60, 1984.
3. Yasutake A and Hirayama H, Acute effects of methylmercury on hepatic and renal glutathione metabolism in mice. Arch Toxicol 68: 512-516, 1994.
4. Nielson JB, Andersen HR, Andersen O and Starklint H, Mercuric chloride-induced kidney damage in mice: Time course and effect of dose. J Toxicol Environ Health 34: 469-483, 1991.

脳メタロチオネインの生理的機能に関する研究

研究担当者 安武 章（基礎研究部）
永野 匡昭（科学技術振興事業団）
永沼 章（東北大学・薬学部）

〔目的〕

生体内各組織に広く分布するメタロチオネイン（MT）は重金属や酸化的ストレスで誘導合成されるタンパク質であり、生体各組織でフリーラジカルや重金属の毒性発現の抑制に寄与する。MTには4種類の同族体（Ⅰ～Ⅳ型）が存在し、アミノ酸の配列や残基数、あるいは組織分布の点で異なっている。このうち、MT-Ⅲは脳組織特異的であるが、^{1,2} その情報はほとんどがメッセンジャーレベルのものであり、タンパク質としての、共存する MT-Ⅰ/Ⅱ に対する相対的存在量や機能に関する情報は欠如している。近年、重金属や酸化的ストレスで容易に誘導される MT-Ⅰ/Ⅱ と異なり、MT-Ⅲ は誘導されない、という報告もある。³ ここでは、これまでに確立したカラムクロマトグラフィーによる MT-Ⅲ の分離・定量系⁴を用いて、水銀蒸気曝露ラット脳の MT-Ⅲ の変動を MT-Ⅰ/Ⅱ と比較しながら、MT-Ⅲ 誘導の可能性について検討した。さらに、MT-Ⅲ の組織内分布を調べる上では不可欠ともいえる抗-MT-Ⅲ モノクロナール抗体の作成についても報告する。

〔実験方法〕

1. ラット脳 MT-Ⅲ の誘導の確認

10 年度の報告で、ラットの脳 MT はそのほとんどが MT-Ⅲ であり、水銀蒸気で曝露することにより（8.3 mg Hg/m³ x 15 時間）、MT-Ⅰ/Ⅱ が顕著に誘導されるが、MT-Ⅲ の誘導がほとんどおこらないことを示した。しかし、本誘導モデルラットの脳 MT は3週間後も高値を維持しており、⁵ その間の MT アイソマーの変動を観察するために、水銀曝露終了後、1、8、15 および 22 日の大脳と小脳から Hg-MT を調製し、MT アイソマーの分布を調べた。MT アイソマーの分離・定量には、10 年度報告した FPLC カラムクロマトグラフィー系を用いた。

2. MT-Ⅲ 特異的モノクロナール抗体の作成

MT-Ⅲ cDNA を組み込んだプラスミド pGEX-3X を大腸菌 E. coli （BL-21）に導入し、MT-Ⅲ をグルタチオン S-トランスフェラーゼ（GST）との融合蛋白質（MT-Ⅲ/GST）として発現させた。精製 MT-Ⅲ/GST 融合蛋白質をマウスに注射して、ハイブリドーマからモノクロナール抗体を得た。抗体の特異性は、各 MT アイソマーの GST 融合蛋白質をゲル電気泳動後、Western ブロットニングで確認した。

〔結果と考察〕

1. ラット脳 MT-Ⅲ の誘導の確認

ラットを水銀蒸気で7日間、延べ15時間曝露すると、曝露終了翌日には脳の総 MT レベルは約2倍に上昇するが、これはカラムクロマトグラフィーによる分離系から MT-Ⅰ/Ⅱ の誘導によることがわかっている。しかし、曝露終了後22日目には、特に大脳において、誘導された MT-Ⅰ/Ⅱ の量は大きく減少するが、総 MT レベルは依然と高値（曝露前の1.8倍）を維持する（図1）、前者の后者に対する高値が MT-Ⅰ/Ⅱ のレベルの

上昇のみでは説明できない。この結果は、少なくとも曝露後 22 日目の脳においては、MT-III の誘導もおこっていることが確認される。この結果から、水銀蒸気曝露により、早期には MT-I/II が優先的に誘導されるが、時間経過と共に 2 週間前後の半減期でもとのレベルまで減衰すること、および MT-III の誘導はそれほど急速ではないが、長時間（数日以上）かけてゆっくりとおこり、22 日目にはむしろ MT-III の誘導の方が顕著に観察されることがわかる。これまで、脳 MT の誘導に関する報告例は少なかったが、最近、放射線照射 48 時間後にマウス脳 MT の誘導が報告されている。³ さらに、放射線で誘導されるのは MT-I/II のみであり、MT-III の誘導はおこらない、と結論付けられている。³ 本結果からは、MT-III の誘導を観察するためには、水銀蒸気で曝露後、少なくとも数日の観察期間が必要であることが考えられる。MT-III の誘導が、放射線照射ではおこらず、水銀蒸気曝露で確認されたという結果を説明する理由としては、①動物種（マウスとラット）の違い、②誘導手段（放射線と水銀蒸気）の違い、③観察期間（48 時間と 22 日間）の違い等が考えられる。いずれにせよ、これまで「誘導されない」と考えられていた MT-III が、水銀蒸気曝露によって誘導されうる、という事実は興味深いことと考えられる。

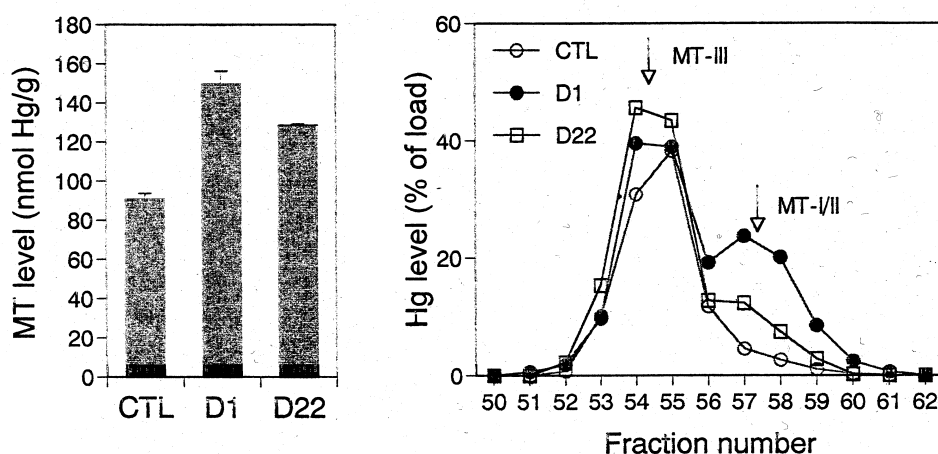


図 1. 水銀蒸気曝露後 1、22 日目のラット大脳における総 MT とアイソマーの変動

2. MT-III 特異的モノクローナル抗体の作成

MT-III の機能を研究する上で、選択的定量と平行して、組織内における分布を把握することも必要であり、そのためには特異的抗体は不可欠の道具である。平成 7 年度より、MT-III のみに存在する特異的なアミノ酸配列を含むオリゴペプチドを合成してその抗体作成を試みてきたが、特異的抗体を得ることはできなかった。これは、オリゴペプチドのもつ立体構造（コンフォメーション）が必ずしも MT-III 蛋白質の配列部分のものと一致しないためと考えられる。そこで MT-III 分子そのものを抗原として抗体の作成を試みた。まず、MT-III の cDNA を組み込んだプラスミドを大腸菌に導入して、GST との融合蛋白質として組換え MT-III を発現させた。得られた精製蛋白質をマウス投与して抗体作成を試みた。このようにして得られた抗体の特異性を確認するために、これまでに報告されている全ての MT アイソマー、MT-I、MT-II、MT-III および MT-IV をゲル電気泳動後、Western ブロットニングを行った結果、MT-III とのみ反応することがわかった（図 2）。この結果は、本抗体が組織化学において、MT-III の分布を探るための有用なプローブとなり

うることを示す。

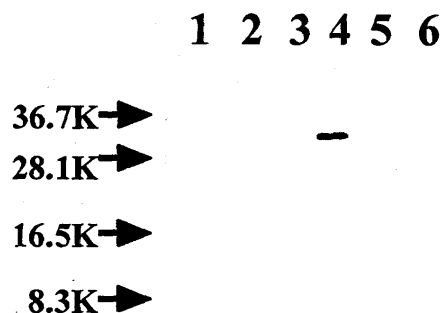


図2. 抗-MT-III 抗体をプローブとした MT アイソマーの Western ブロットティング。

1: 分子量マーカー、2: MT-I/GST 融合蛋白質、3: MT-II/GST 融合蛋白質、4: MT-III/GST 融合蛋白質、5: MT-IV/GST 融合蛋白質、6: GST 蛋白質

〔参考文献〕

1. Uchida Y, Takio K, Titani K, Ihara Y and Tomonaga M, Neuron, 7: 337-347, 1991.
2. Masters BA, Quaife CJ, Erickson JC, Kelly EJ, Froelick GJ, Zambrowicz BP, Brinster RL and Palmiter RD, J. Neurosci., 14: 5844-5857, 1994.
3. Ono S, Cai L, Koropatnick J and Cherian MG, Biol. Trace Elem. Res., 74: 23-30, 2000.
4. Yasutake A, Satoh M, Tohyama C and Hirayama K, J. Health Sci., 45: 222-225, 1999.
5. Yasutake A, Nakano A and Hirayama K, Arch. Toxicol., 72: 187-191, 1998.

3. メチル水銀の次世代影響に関する実験的研究

概 要

メチル水銀、特に微量のメチル水銀曝露が胎児に対してどのような毒性を与えるかを評価解析することは IPCS90 に示された通りである。この胎児組織に対する毒性影響を考えるとき、各種幹細胞（神経幹細胞、生殖幹細胞、免疫幹細胞、血液幹細胞）への影響は個体全体への波及影響の高さから最も重要視するべきものである。以上のことから本課題では、①生物の本質的機能の一つである生殖機能と次世代に対するメチル水銀毒性影響を最新の研究手法で解析することに加えて、②これら研究手法の限界を解決するための新規の毒性影響評価法を開発することを目的としている。

具体的には、①本研究所の持つ最新のメチル水銀曝露影響評価手法を用いて胎児期に長期微量曝露を行い、胎児、新生児の細胞と組織、生殖細胞、生殖機能への影響、次世代への毒性影響を検討評価する研究を遂行している。加えて、②微量メチル水銀曝露による毒性影響を評価する新規手法を開発する目的のために、現状の最新研究手法で評価が困難な生殖幹細胞を始めとした各幹細胞への定量的直接影響を検討し、次世代影響を解析する手法や感受性の高い発生時期の検討手法を開発、確立しようとしている。また、実験動物系統の中で毒性影響検定に適した系統、種を検討して新しい実験設計を開発する試みを行っている。

研究実施体制と平成 12 年度の各研究テーマの進捗状況は以下の通りである。

（1）生殖機能と次世代に対する影響解析研究

各種幹細胞（神経幹細胞、生殖幹細胞、免疫幹細胞、血液幹細胞）への影響は個体全体への波及影響が高く、その中でも生殖幹細胞は次世代影響に波及することから、これに対する微量曝露の影響を評価することは重要な研究課題である。本研究項目では既に本研究所で蓄積してきた研究手法を用いて胎児期、新生児期におけるメチル水銀の長期微量影響を、主に生殖機能への影響評価の視点から解析評価する。

1. 慢性曝露による経世代影響に関する基礎研究（平成 12～15 年度）

安武 章 衛藤 光明 秋間 道夫 下関 敏江 徳永 英博 保田 叔昭

コモンマーモセットを低レベルメチル水銀（～0.5 ppm Hg/water）曝露条件下で飼育・交配し、新生児を対象に行動、病理、生化学的手法で曝露の影響を検討するために、まず非曝露対照として非曝露条件下で 2 度の出産・離乳を経過した。また、2 年余り 1 ppm Hg の給水曝露を続けてきた雌個体の交配によって 2 頭の出生児を得、生後 3 ヶ月目に母子ともに解剖し、組織水銀濃度測定および病理学的検索を行ったところ、光頭では髄質、鳥距野および後頭葉外側部の皮質のグリオシスが顕著に認められ、電頭では鳥距野神経細胞のニッスル顆粒および核クロマチンの減数が観察された。

2. 次世代影響に関する生殖学的実験研究（平成 12～16 年度）

桑名 貴 阿部 訓也 高橋 慎司 内藤 充 松崎 正治 村田 浩一

鳥類の中で幾つかの種を用いて生殖幹細胞である始原生殖細胞（PGCs）の単離精製法を改良し、凍結保存法についての各条件の検討を行った結果、効率的な単離精製法、凍結保存法を開発することができた。また、これを応用することによって久連子鶏（熊本県天然記念物）の個体増殖にも成功している。ただ、本実験系を用いて行う微量メチル水銀による次世代影響の検定は、PGCs の培養に使用する線維芽細胞の凍結保存状態に問題があったために大幅に計画が遅れ本年度は成果を挙げるができなかったため、来年度以降の課題である。

（2）微量曝露による毒性影響の新規評価法の開発研究

現存の研究手法の限界を解決するために新規の毒性影響評価法を開発することを目的とし、各動物種を用いたより明確で詳細な毒性評価法の開発研究を行っている。

1. 次世代影響に関する生殖学的実験研究（平成 12～16 年度）

桑名 貴 阿部 訓也 高橋 慎司 内藤 充 松崎 正治 村田 浩一

研究の範囲を哺乳類に拡大するためにマウス胚を用いて PGC を培養して生体内に移植する方法の検討を行った。膣栓確認後 7、8 日および 13、14、15 日胚を用いて PGCs 導入法の開発のために PGCs と同径の花粉粒子を子宮外または羊膜外から注入し、粒子注入部域についての解析を組織学的に行ったところ導入に適当な妊娠時期は 8 日胚であると考えられ、実際にこの胚を 15 日まで妊娠継続させて組織学的に注入粒子の分布を検討したところ、一部の粒子は臍帯内に取り込まれていることが観察されたことから移植 PGCs を宿主生殖巣に導入することも可能であると推察できる。

2. 水銀化合物の細胞内分布と感受性の検討（平成 12～16 年度）

荒巻 亮二

胎児期の器官形成期では各器官で細胞増殖がもっとも盛んな時期である。そこで、培養動物細胞の Chinese hamster V79 細胞を用いて、細胞増殖の盛んな対数増殖期の細胞と、細胞が対数増殖期を過ぎて増殖が止まっている定常期の細胞のメチル水銀感受性を細胞毒性測定用試薬（Dojindo Cell Counting Kit）を用いて比較した結果、対数増殖期の細胞の感受性が定常期の細胞よりも高いことが確認出来た。

3. 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（平成 10～16 年度）

山口 雅子 島田 敦子 嶋 昭紘

魚類を用いて簡便な水銀による遺伝毒性評価法を開発する目的で、メダカを用いてメチル水銀の変異原性の有無と変異源としてのメチル水銀の解析評価を試み、水中のメチル水銀の取り込み速度および排出速度についての予備実験を行い、実験時の投与濃度を 0.1 ppm と決定して体内への水銀蓄積を解析した結果、雄と雌とでは全く異なる結果を得た。ただし、蓄積水銀の排出速度に関しての解析結果から、曝露個体間での交雑実験の実施は今後さらに検討を要することが判明した。

微量メチル水銀の慢性曝露影響

研究担当者 安武 章 (基礎研究部)
衛藤 光明 (臨床部)
秋間 道夫 (東邦大・医)
下関 敏江 (東邦大・医)
徳永 英博 (熊本大・医)
保田 叔昭 (国際・総合研究部)

〔目的・方法〕

コモンマーモセットを低レベルメチル水銀 (~ 0.5 ppm Hg/water) 曝露条件下で飼育・交配し、新生児を対象に行動、病理、生化学的手法で曝露の影響を検討する。実験に使用可能な動物は、現在 2 つがいのみであるため、まず非曝露条件下で 2 度の出産・離乳を経過 (これを非曝露対照とする) した後、メチル水銀曝露を開始する。

〔平成 12 年度研究成果および進捗状況〕

1. 0.5 ppm 曝露

11 年度導入した雌 2 頭 (個体 A、B) の中、個体 A は非曝露条件下で 2 度の出産 (共に 2 頭、ビデオ観察の後、生後 3 ヶ月目に解剖、病理対照、安武・保田・衛藤)・離乳後、0.5 ppm Hg の給水曝露を開始し、血中水銀濃度をモニター (月 1 回) した。曝露開始後 4 ヶ月後に 3 頭を出産し、うち 1 頭を出生日に解剖、組織水銀濃度を測定した (安武)。個体 B は非曝露条件下で 2 度の出産を終了したばかりであり、離乳を待って同様に 0.5 ppm Hg の給水曝露を開始する。

コメント：コモンマーモセットは通常 2 頭出産であり、まれにおこる 3 頭出産の場合、正常に発育するのは 2 頭のみである。さらにその場合、出生時の体重も小さく、そのことが出生から離乳までの時間等、行動にも影響すると考えられたため、個体 A の出産した残った 2 頭についてはビデオ撮影を行っていない。

2. 1 ppm 曝露

本研究のポジティブコントロールとして、過去 2 年余り 1 ppm Hg の給水曝露を続けてきた雌個体 (血中水銀濃度はほぼプラトー域であり、症状はない) について、交配を試み、2 頭の出産をみた。生後 3 ヶ月目に母子ともに解剖し、組織水銀濃度測定 (安武・保田・衛藤) および病理学的検索を行った (衛藤・徳永・秋間・下関)。対照と比較して出生児には、光顕で、髄質、鳥距野および後頭葉外側部の皮質のグリオーシスが顕著に認められた。電顕では、鳥距野神経細胞のニッスル顆粒および核クロマチンの減数が観察された。

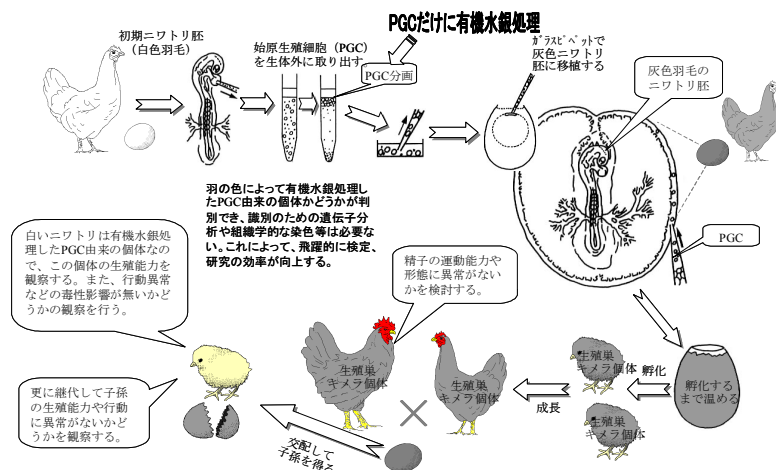
次世代影響に関する生殖学的実験研究

研究担当者 桑名 貴（基礎研究部）
 阿部訓也（熊本大・医）
 高橋慎司（独法・国環研）
 内藤 充（独法・農生資源研）
 松崎正治（熊本県・農研）
 村田浩一（日本大・農）

〔研究成果及び進捗状況〕

メチル水銀が生殖細胞の形成過程に与える影響を検討するために、鳥類を用いて生殖巢の重要な構成因子となる生殖幹細胞に注目して発生初期における生殖系列細胞に対する微量メチル水銀曝露の毒性影響を解析するため（下図）、昨年度までの実験研究手法を用いて

次世代影響検定法



鳥類の中で幾つかの種を用いて生殖幹細胞である始原生殖細胞（PGCs）の単離精製法を改良した。幾つかの鳥類種と系統、具体的にはニワトリ、ウズラ、ハト、ボブホワイトおよび熊本県天然記念物指定の希少種である久連子鶏（クレコドリ）のPGCsに応用可能な単離精製法および凍結保存法を

検討した。胚の血液中の PGCs 比率を検討した結果（図 1）、単離精製法に関しては胚の血液内移動期の PGCs は開口径 10 μm のナイロンフィルター法、ナイコデント濃度遠心勾配法ともにほぼ同一の条件で単離可能であることが判明した。ただし、希少種及び近交系においては血液中 PGCs の数が極端に少ないことから各 PGCs を直接採取する方法が適当であった。この手法を応用して、図 2 に示すように久連子鶏 PGCs を採取して白色レグ

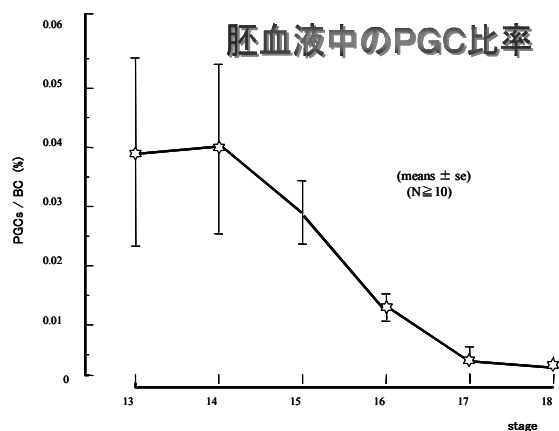


図 1 : PGCs が血液中に占める割合を検討した結果、発生段階 13~15 が単離操作に最適であることが分かる。

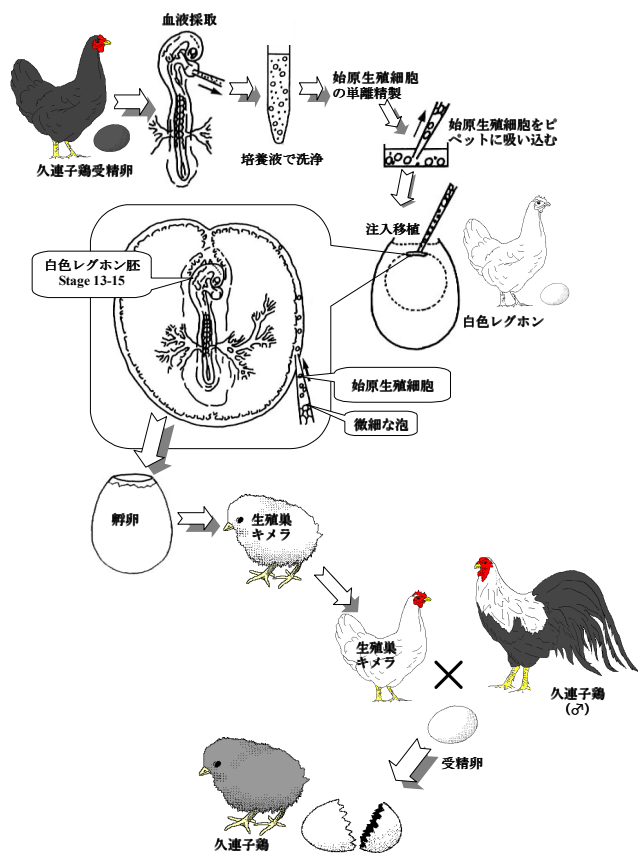


図2： 少数の久連子鶏 PGCs を白色レグホン胚に移植し、生殖巣キメラ個体を得た後に戻し交配によって産卵、孵化率の低い久連子鶏個体を効率よく得ることが可能となった。

よび 13、14、15 日胚を用いて PGCs 導入法の開発のために PGCs と同径の花粉粒子を子宮外または羊膜外から注入し、粒子注入部域についての解析を組織学的に行ったところ、導入に適当な妊娠時期は 8 日胚であると考えられる結果を得た。

〔参考文献〕

- 桑名貴、鳥類始原生殖細胞の胚間移植、蛋白質核酸酵素、43: 390-396, 1998.
- Hamburger, V., and H. L. Hamilton, A series of normal stages in the development of the chick embryo. J. Morphol., 88, 49-92, 1951.
- Kuwana, T., K. Hashimoto, A. Nakanishi, Y. Yasuda, A. Tajima and M. Naito, Long-term culture of avian embryonic cells in vitro. Internat. J. Develop. Biol., 40: 1061-1064, 1996.
- Naito, M., Matsubara, Y., Harumi, T., Tagami, T., Kagami, H., Sakurai, M. and Kuwana, T.: Foreign gene expression in the gonads of chimaeric chicken embryos by transfer of primordial germ cells transfected in vitro by lipofection for 24 hours. Animal Science Journal, 71: 308-311, 2000.

ホーン胚に移植することによって移植した PGCs 由来の久連子鶏雛を得ることができた。

凍結保存に関しては、既に開発しているニワトリ PGCs 凍結保存法を応用できるのはウズラ、ボブホワイトであった。ハトについては通常の凍結解凍によってほとんどの PGCs が損傷をうけるために、単離精製をしない段階で凍結保存して解凍後に精製を行うことによって生存率の改善が可能となった。この方法は血中 PGCs が極端に少ない希少種においても同様に有効であった。更に微量メチル水銀による次世代影響の検定については、PGCs の培養に使用する線維芽細胞の凍結保存状態に問題があったために大幅に計画が遅れ本年度は成果を挙げることはできなかった。

次に、本研究の範囲を哺乳類に拡大するためにマウス胚を用いて PGC を培養して生体内に移植する方法の検討を行った。膣栓確認後 7、8 日お

- Tajima, A., Hayashi, H., Kamizumi, A., Ogura, J., Kuwana, T., Chikamune T.: Study on the concentration of circulating primordial germ cells (cPGCs) in early chick embryos. J. Exp. Zool 284(7):759-764, 1999.
- Naito, M., Tajima, A., Yasuda, Y., Tagami, T., Harumi, T., Matsubara, Y., Sano, A., Kagami, H., Sakurai, M. and Kuwana, T.: Cryopreservation of avian germline cells. Proceedings of the 21st World's Poultry Congress, August 20-24, Montreal, Canada, 2000.
- Tajima, A., Barbato, G.F., Kuwana, T., Hammerstedt, R.H.: Recovery of a genetically selected broiler line using cryopreserved primordial germ cells isolated by a newly developed filtration method. Proceedings of the 21st World's Poultry Congress, August 20-24, Montreal, Canada, 2000.
- Naito, M., Sano, A., Matsubara, Y., Harumi, T., Tagami, T., Sakurai, M. and Kuwana, T.: Fate of donor blastodermal cells derived from the central disc, marginal zone and area opaca transferred into the recipient embryos. Journal of Poultry Science, 38: 58-61, 2001.
- Naito, M., Sano, A., Matsubara, Y., Harumi, T., Tagami, T., Sakurai, M. and Kuwana, T.: Localization of primordial germ cells or their precursors in the stage X blastoderm of chickens and their ability to differentiate into functional gametes in the opposite-sex recipient gonads. Reproduction 121: in press, 2001.

水銀化合物の細胞内分布と感受性の検討

研究担当者 荒巻 亮二（基礎研究部）

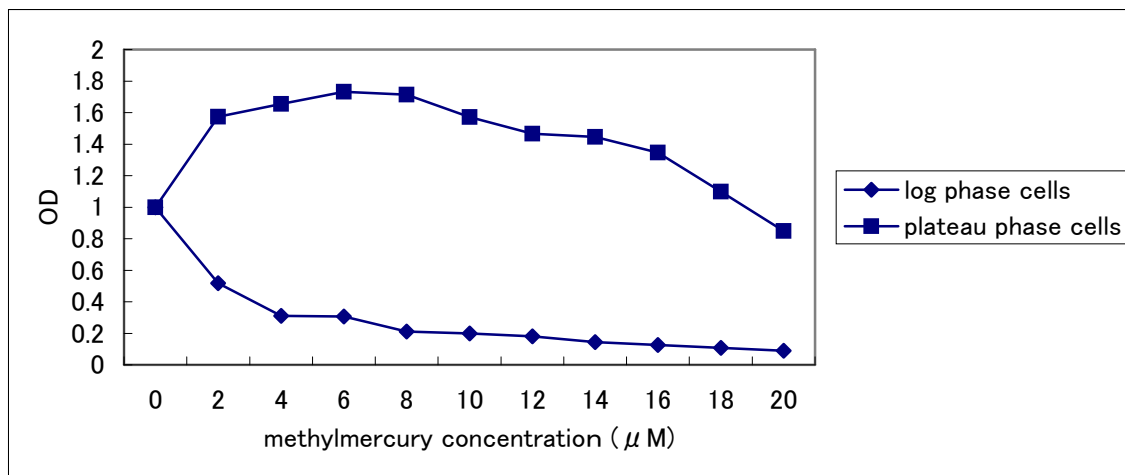
年次計画：平成 12～14 年度 細胞毒性判定法に関する基盤研究

〔研究成果及び進捗状況〕

細胞毒性の判定法について主に 3 種類の株化細胞（HeLa, CHO, V79）を用いコロニー法や LDH 法、MTT 法、トリパンプルー法などについて検討を行ったが、今回は MTT 法の改良型である WST-1 を用いて、メチル水銀の影響が観察されるまでの時間の細胞種依存性について検討した。この方法は生細胞内の脱水素酵素の活性を測定して生細胞の割合を測定するもので、他の方法に較べて短時間で簡単にメチル水銀の細胞への影響を見ることが出来る。

この方法で種々の株化動物細胞のメチル水銀感受性を検討したところ、コロニー法で影響を見たときに時間的にメチル水銀感受性に差が見られなかった V79 細胞は、CHO 細胞などと異なり、メチル水銀を培地に加えた直後から数時間以内に影響が見られることが分かった(図)。このことについて細胞内のメチル水銀濃度を測定した結果、V79 細胞には HeLa 細胞などよりもはるかに多くの水銀が存在することを確認した。

平成 13 年度は、V79 細胞のメチル水銀感受性が他の細胞と異なっている原因について細胞内の SH 量などの違いについて検討していく。



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

研究担当者 山口 雅子（疫学研究部）

島田 敦子（東京大・院新領域・先端生命）

嶋 昭紘（東京大・院新領域・先端生命）

昨年度に引き続きメダカの繁殖と並行して、コントロールデータを取りつつある。現在までに観察した受精卵数は 12,695 個、有効 locus 数は 37,118 個であり、このとき優性致死率は 12.6%、総突然変異率は 4.58×10^{-3} 、生存突然変異率は 9.01×10^{-5} であった。

また、水中のメチル水銀の取り込み速度および排出速度についての予備実験を行った。メダカをメチル水銀添加水（2 尾に対して 20 mL）中でインキュベーションし、鰓、肝臓、生殖巣及び筋肉中の水銀量の経時変化を求めた。6 ppb 添加では鰓の水銀濃度は上昇したものの、他の臓器では変化が見られなかった。また、1 ppm 添加では 1 時間の飼育で 4 尾中 1 尾、2 時間以上ではすべての個体が、0.5 ppm 添加では 3 時間で 4 尾中 1 尾、4 時間で 4 尾中 3 尾が死亡した。死亡した個体は、いずれも鰓の水銀濃度が 30 ppm 以上に達していた。一方、0.1 ppm 添加では各臓器の水銀濃度は明らかに上昇し、また 8 時間のインキュベーションでも死亡した個体はなかった。以上の結果から、実験時の投与濃度は 0.1 ppm と決定した。

このとき、オスでは、鰓の水銀濃度は 10 分程度で急激に増加し、その後次第に減少した。肝臓の水銀濃度は 8 時間後でも依然として増加傾向を示した。精巣と筋肉の水銀濃度は 4 時間でプラトーに達した。一方メスでは、鰓、卵巣の水銀濃度が最大値を示したのはそれぞれ 1 時間、3 時間経過時であり、肝臓は 2 時間、筋肉は 1 時間でほぼプラトーになるなど、オスとは全く異なる結果が得られた。こうした現象がどのような理由によって生じたのかは不明である。

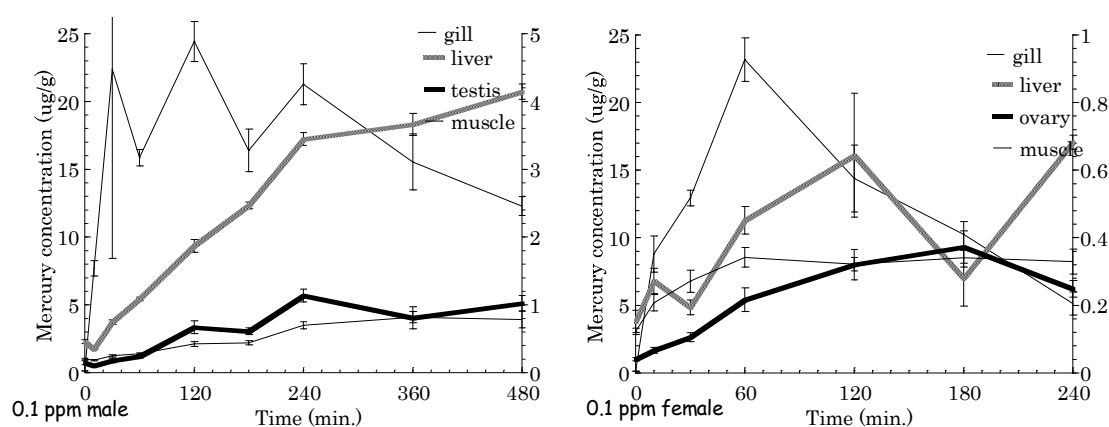


図 1. メチル水銀曝露による各臓器への水銀蓄積

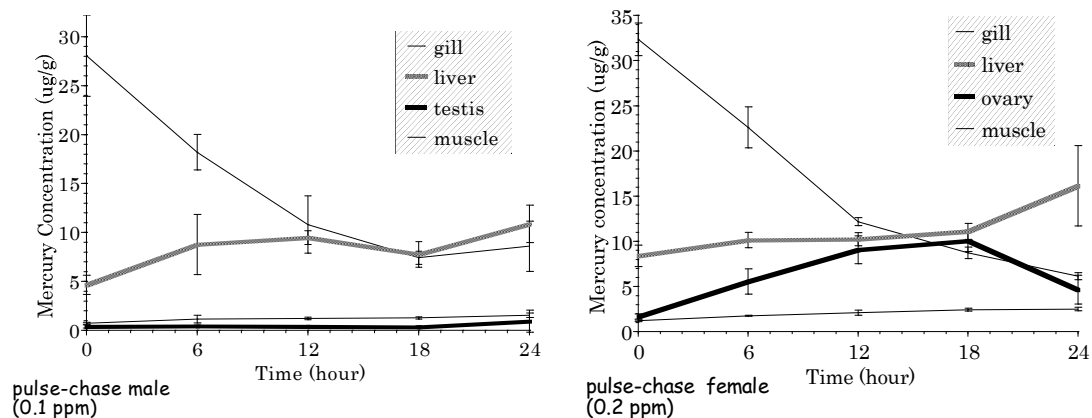


図 2. メチル水銀 4 時間曝露後の水銀排出

次に、同様の条件で 4 時間インキュベーションした個体を用いて、体内に蓄積した水銀の排出速度に関する実験を行った。生殖細胞中の水銀濃度が高いまま交雑を開始すると、水銀の遺伝子影響を見ているのか初期胚への発生毒性をみているのかわからなくなる恐れがある。卵巣中の水銀濃度は、清水中で 18 時間以上飼育すると減少に転じたが、精巣中の濃度は 24 時間経過しても減少しなかった。この状態では実験開始に十分なだけ濃度が低下したとはいえないが、24 時間以上清水中で飼育すると、曝露後第 1 日のデータが取れなくなってしまうので好ましくない。曝露時間も含めて再検討する必要がある。

4. メチル水銀胎・乳児期曝露のリスク評価の為の実験・疫学的研究

概 要

メチル水銀の曝露によって生ずる健康被害及びリスクの発生の評価は固体レベルでの生体影響、人口集団レベルでの一般大衆への影響及び胎児などハイリスク・グループにおける疾病構造や影響の把握が必要となる。特に、胎児に対するメチル水銀の影響検討の重要性は IPCS の勧告でも取り上げられている。我々は先にメチル水銀汚染が最も激しかった昭和 30 年から 34 年に水俣市、漁民及び水俣病患者の出生性比が逆転し男児よりも女児の数が多かったことを報告しその成果が注目された。この結果は、実証はされていないが胎児期における児の感受性が女児よりも男児に高く、流産・死産等によって男児が淘汰されたためであろうと推測された。実際に、汚染が最も激しかった時期における死産の性比は女児 1 に対し男児 1.7 と高まっていた。この昭和 30 年から 34 年の汚染が最も激しかった時期に生まれた児の成人時点での健康影響及び次世代影響の検討の為の疫学的検討はメチル水銀の低濃度影響を知る上でも重要な研究としてデータ収集と解析を進めている。また、母体からのメチル水銀を中心とする重金属移行による胎児・乳児期別リスク評価に関する研究は、胎児期も乳児期も共に母体からの栄養に依存している時期では有るが臍帯と母乳を介したメチル水銀の移行に違いが有るのではないかという視点にたったのもので、実験動物のみならず実際にヒトの試料を分析することによって行う。このようなヒトからの検体採取は綿密な検討を加えたインフォームド・コンセント作成が重要であるので、その作成と病院との検体採取の合意を完成させ得られる成果が期待される。同時に、動物実験により胎児・新生児脳のメチル水銀に対する感受性の高さのリスク評価に関する研究を行う。また、セレンとヨード欠乏のメチル水銀の毒性発現を昂進に関する研究も行う。更に、多数の毛髪中水銀濃度を分析し日本人の平均値と分布を求め、妊娠可能な女性におけるメチル水銀曝露のリスク評価の為の基礎資料とする。

それぞれのテーマごとの研究体制と平成 12 年度の進捗状況は下記の通りであり、ほぼまとまった結果が得られたものに関しては詳細を記する。

1. メチル水銀の胎児期曝露影響の疫学的研究 (平成 12 年-16 年)

研究担当者 坂本 峰至 (疫学研究部)

平成 12 年度は昭和 25 年から昭和 27 年までの水俣市の出生票データの転記作業を完了した。また、昭和 48 年から昭和 53 年度までの水俣市の出生票データの転記作業も完了した。平成 13 年度の計画は、昭和 54 年度以後の水俣市の出生票データの転記作業を継続する。昭和 55 年度に水俣市で行われた一斉健康調査のデータ化を行い、昭和 30 年から 34 年の汚染の最も激しかった時期に生まれた児の成人時の健康状態の特性を把握する。既存の臍帯の水銀値とマッチングし量・反応関係の解析を行う。

2. 母体からのメチル水銀を中心とする重金属移行による胎児・乳児期別リスク評価に関する研究 (平成 12-16 年)

研究担当者 坂本 峰至 (疫学研究部)

平成 12 年度は検体提供者に研究内容を理解して研究に協力してもらうためのインフォームド・コンセントの作成を行った。更に、胎児期、乳児期のバイオマーカーの決定その採取時期の決定など病院側との研究協力内容の検討を行った。平成 13 年度研究実施計画は、検体提供に賛同を得られた母子について年間 8 名をめぐり母体血、臍帯血、乳児血等のバイオマーカーの採取及びそれらのバイオマーカー中の総水銀、メチル水銀の測定を行う。

3. 胎児・新生児脳のメチル水銀に対する感受性の高さのリスク評価に関する実験的研究 (平成 12-16 年)

研究担当者 坂本 峰至 (疫学研究部)

平成 12 年度、我々は、ラット成獣では脳への障害が生じないレベルである水銀として 5 ppm のメチル水銀を含む飼料を妊娠前から母親に与え、生まれた仔の運動・学習並びに脳の組織像への影響等を検討した。まず、雌ラットに水銀として 5 ppm のメチル水銀を含む飼料を妊娠前から与え、血液中の水銀濃度がほぼプラトーになった時点で交配させた。妊娠、授乳期も親ラットには 5 ppm のメチル水銀を含む飼料を与え続け、離乳後の仔にも引き続き同飼料を与えた。6 週齢に達した時点で、運動及び学習の行動科学的検索を行った。また、出産直後及び離乳時 (30 日齢) の親と仔、10 日、20 日、40 日及び 55 日齢の仔の臓器中水銀濃度を測定し、経胎盤及び経母乳的メチル水銀の移行を検討した。また、それぞれの時点での仔の組織学的検索を行った。生まれた仔は麻痺などの明かな症状を示すこと無く対照と同様に順調に发育した。出産直後の仔の脳中水銀濃度は 4.5 µg/g で母親の約 1.4 倍の高さであった。しかし、授乳中には仔への水銀の移行は非常に少なく仔の脳中水銀濃度は 10 日齢では 1/4 以下まで低下し、離乳後飼料を食べ始めると徐々に高くなり 55 日齢で 2 µg/g となった。行動科学的検索ではロータ・ロッドと受動回避法で対照群との間に差が見られ、筋協調運動及び脳の高次機能に障害がある可能性が示唆された。組織学的検索では、小脳顆粒細胞の移動障害を示す局所的形成異常が認められた。

A. 研究目的

胎児並びに新生児は、メチル水銀に対するハイリスク・グループで、日本及びイラクにおけるメチル水銀汚染ではいわゆる胎児性水俣病が発生した。我々は先の研究で、ラット新生児期から長期に渡りメチル水銀を投与することにより、ヒトの胎児性水俣病で見られるような中枢並びに末梢に広がる広範な病変を生じさせることに成功している。このように、メチル水銀を脳の発達期に長期に渡って投与することによってのみ中枢並びに末梢に広がる広範な病変は起し得る。実際の水俣における胎児性の患者も胎児期には経胎盤的に、乳児期には経母乳的にメチル水銀の曝露を受けていた。また、発達期の脳は感受性が高いことでも知られている。今回は、長期低濃度メチル水銀曝露の発達期の脳へのリスク評価のために妊娠前から授乳期、離乳後を通じて成獣では神経系に影響の出ない水銀として 5 ppm の低濃度のメチル水銀を与えてその水銀の親から仔への移行、仔の運動・学習並びに脳組織像への影響の検討を行った。

B. 研究方法

7 週齢の雌ラット 10 匹に一匹当たり、毎日約 16 g の水銀として 5 ppm のメチル水銀を含む飼料を、対照 5 匹は水銀を含まない飼料を、2 ヶ月間与え、1 週間毎に尾静脈から採血を行った。そして、雄 10 匹と交配

をさせた。交配後並びに授乳期の飼料は自由摂取とした。

生まれた仔は離乳後も同じ飼料で 6 週齢まで飼育した。出産確認日並びに離乳時 (30 日齢) に 3 匹の親とそれぞれ 4 匹づつの仔を解剖し、組織の水銀濃度を測定した。また、10 日齢、20 日齢、離乳時、40 日齢、55 日齢の各時点でそれぞれ 4 匹の雌の仔を用いて各組織中の水銀濃度を測定した。また、各時点でそれぞれ 2 匹の仔の脳について組織学的検索を行った。更に、水銀投与群と対照群からランダムにそれぞれ雄 6 匹を抽出し、5 週齢の時点で、10 rpm のロータ・ロッドによる筋協調運動、6 週齢の時点で水迷路及び受動回避法による学習能力の観察を行った。組織中の水銀濃度の測定、組織学的検索、ロータ・ロッド、水迷路及び受動回避法は我々のこれまでの発表した班会議の手技に準ずる。

C. 研究結果

水銀濃度

Fig. 1 に 5 ppm のメチル水銀を含む飼料を 2 ヶ月間摂取させたときの母親の継時的な血中水銀濃度及び出産直後と離乳時血中水銀濃度、更に 0 日 (出生時点)、10 日、20 日、離乳時 (30 日齢)、40 日及び 55 日齢の仔の血中水銀濃度を示した。母親の血中水銀濃度は 2 ヶ月でほぼプラトーの 46.4 $\mu\text{g/g}$ に達したが、出産直後の母親の血中水銀濃度は 21.1 $\mu\text{g/g}$ に低下していた。出生直後の仔の血中濃度は 1.6 倍の高さ (33.7 $\mu\text{g/g}$) であった。ところが、授乳期の仔の血中水銀濃度はその後急激に減少し、離乳して摂餌開始後徐々に上昇してきた。一方、離乳直後の母親の血中水銀濃度は 76 $\mu\text{g/g}$ に上昇していた。

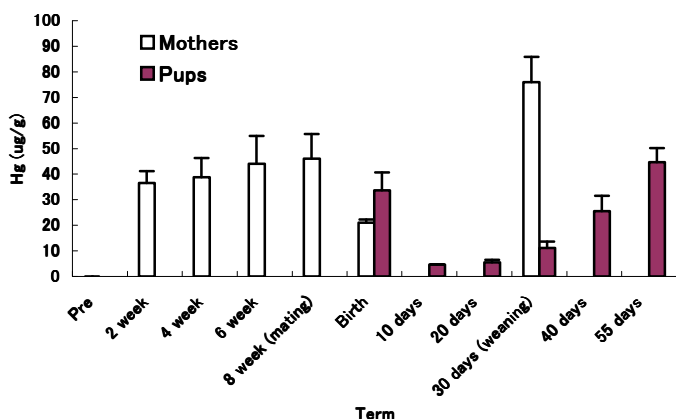


Fig.1 Changes in Hg concentrations in blood
of rat mothers and pups

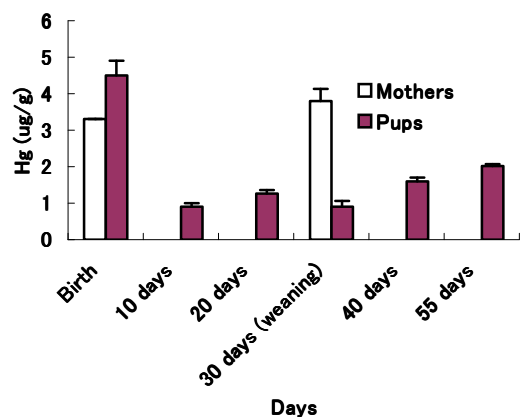


Fig.2 Changes in Hg concentration in the brain
of rats for mothers and pups

Fig.
2 に

出 産

直後と離乳時の母親の脳中水銀濃度及び出生時 10 日、20 日、離乳時 (30 日)、40 日及び 55 日齢の仔の脳中水銀濃度を示した。出産直後の母親の脳中水銀濃度は 3.31 $\mu\text{g/g}$ で、離乳直後には 3.82 $\mu\text{g/g}$ とやや上昇していた。出産直後の仔の脳中水銀濃度は 4.5 $\mu\text{g/g}$ で母親の約 1.4 倍の高さであった。授乳期の仔の脳中水銀濃度は 10 日齢では 1/4~1/5 以下まで低下し、その後徐々に高くなり 55 日齢で 2 $\mu\text{g/g}$ となった。

運動・学習試験

Fig. 3 に 5 週齢における水銀投与群と対照群のロータ・ロッド試験の結果を示した。3 回の手技の合計で、60 秒以上ロータ・ロッド上で歩行出来た頻度は水銀投与群で 6/18 で対照群の 14/18 と χ^2 検定で有意($p<0.01$)の差が認められた。

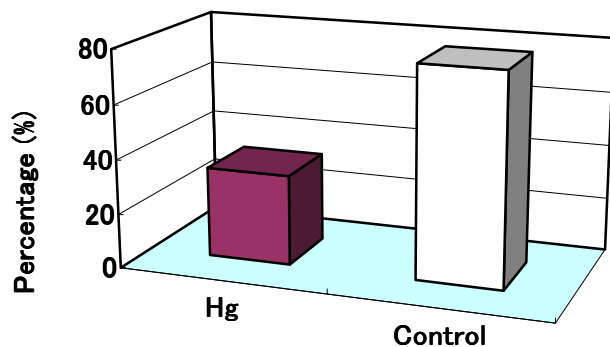


Fig.3 Percentage of rats (six rats per group with three trials) reaching the criterion of 60 sec on 5rpm of rotarod

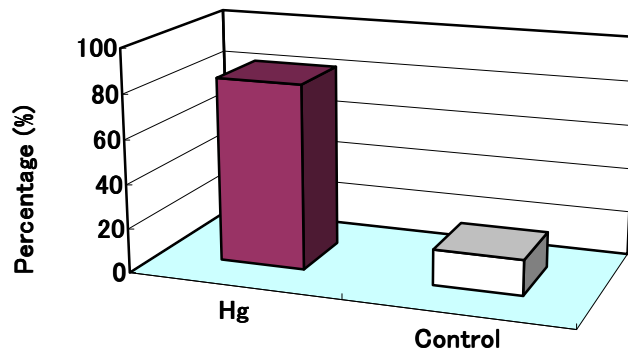


Fig.4 Percentage of rats entered into the dark box in which they had hocked 24 hrs before

Fig. 4 に 6 週齢における水銀投与群と対照群の受動回避試験の結果を示した。対照群で前日に 200 V の電撃を受けた暗箱の中に 5 分を限度とする観察期間内に入ったのは 1/6 で水銀投与群で入ったのは 5/6 と χ^2 検定で有意な差($p<0.01$)が得られた。水迷路試験では有意な差は得られなかった。

組織学的検索

生後 20 日・40 日・55 日齢のラットでは、6 例中 3 例の小脳皮質に focal な形成異常が認められた。そこでは folia の一部で、外境界膜下から内顆粒層内に顆粒細胞が連続し分子層を縦断する形で遺残し、あるいは分子層を帯状に欠き顆粒層が外境界膜直下から存在する像が認められた。同部では Purkinje 細胞が欠失していた。また他の folia では Purkinje 細胞と考えられる Calbindin 蛋白陽性の大型錐体細胞が、顆粒層内に少数ながら散見された。

D. 考察

今回は、成獣では神経系に影響の出ない水銀として 5 ppm の低濃度のメチル水銀をラットに与えて、妊娠前から出産、授乳、離乳の長期のライフ・スパンを通じてのメチル水銀の母親への蓄積・仔への移行並びにその仔への運動・学習・組織脳への影響を検討した。

水銀濃度

約 2 ヶ月間の飼料の摂取で雌成獣の血中水銀濃度はほぼプラトーに達した。しかし、この時点の約 1 ヶ月間の妊娠を経、出産した母親ラットの血中水銀濃度は約 1/2 に減少していた。このことから、妊娠期間の胎児の成長により母親ラットの水銀曝露によるリスクが軽減した可能性が示唆される。一方、出産時点の仔の血中水銀濃度は母親の 1.6 倍であった。ここから、仔の血中水銀濃度は急激に低下を始め、10 日齢、20 日齢の時点の仔の血中水銀濃度は出生時の 1/6~1/7 に低下し授乳期間中は母親の母乳からの水銀の取り

こみが非常に低いことが示唆される。逆に、母親の血中水銀濃度は出産時の約 3 倍以上にまで上昇し、授乳によって母親の水銀が仔へ移行してメチル水銀の負荷が減るであろうという予測は覆され、母乳を介しての仔への水銀の移行が非常に少ないにも拘わらず、授乳のため多くの餌を食べて結果として血中水銀濃度が高まってしまうのではないかと推察された。離乳後摂餌開始に伴い徐々に血中水銀濃度は高くなっていった。脳中水銀濃度もほぼ血中水銀濃度と同様な動きを見せた。出生直後の脳中水銀濃度は母親の 1.4 倍の高さであった。その後仔の脳中水銀濃度は出生時の約 1/4~1/5 の濃度に低下し、離乳後摂餌開始に伴い徐々に濃度が高くなっていった。更に、母親の脳中水銀濃度も出産時よりはやや高くなっていった。以上の事から、妊娠によって母体の水銀は仔の方に移行し、母親のメチル水銀に対するリスクは軽減される。一方、仔の脳中水銀濃度は出産時の母親より高く、妊娠中は母親より仔のメチル水銀曝露に対するリスクが高いことが窺えた。しかし授乳期には母親からの水銀の移行が少なく、仔は水銀曝露から保護されたような状態になっていることが示唆された。ヒトでもこのようなことが起こっているのかについては今後の研究課題としたい。

運動・学習試験

行動試験ではロータ・ロッド試験で、水銀曝露群が対照群に比較し短時間で落下し、筋協調運動の障害が示唆された。このことは、後述する組織学的検索で小脳に異常が見られた結果からも支持されると思われる。学習試験では、前日に 200 V の電撃を受けたにも拘わらず暗箱に入るラットが水銀曝露群で多く、高次学習機能障害の可能性が示唆された。以上のように成獣では影響の出ない水銀として 5 ppm の飼料の摂取でも、仔の運動や学習には影響が現れ得ることが明らかとなった。このことは、出産直後の仔の脳中水銀濃度は 4.5 µg/g で母親の約 1.4 倍の高さであったことが示唆するように脳中水銀濃度が母親より高くなることに起因するのか、発達中の仔の脳の感受性が高いことによるのか。その双方の影響によるものかは今後の研究課題としたい。

組織学的検索

組織学的には小脳皮質の部分的形成異常が認められ、これは外顆粒層から内顆粒層への顆粒細胞の移動障害によるものと考えられた。この移動は Bergmann glia の突起をガイドとして周産期から新生児期に行われる垂直方向性の移動である。この異常は経胎盤的にメチル水銀に曝露され続け、最も脳中水銀濃度が高かった出生前後に惹起されたものと考えられた。また少数ながら Purkinje 細胞の位置異常も観察された。Iraq のヒト胎児期曝露例でも、この異所性 Purkinje 細胞が白質や顆粒層内にしばしば認められ、その移動障害が示唆されてきた。

E. 結論

成獣では脳や行動に障害を引き起こさない量のメチル水銀でも、経胎盤的に仔に蓄積し母親の約 1.4 倍高い脳中水銀値を示し、小脳の形成不全とそれに起因するであろう筋協調運動失調を引き起こした。また、受動回避試験では対照群との間に学習能力の差が認められ、脳の高次機能にも障害を与えている可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Sakamoto M., Nakano A., Kajiwara Y., Naruse I. and Fujisaki T.: Effects of methyl mercury in postnatal developing

rats. In “Neurobehavioral methods and effects in occupational and environmental health” (Araki S Ed.) p.p. 829-836, Academic Press, San Diego, 1994.

2) Sakamoto M. and Nakano A.: Comparison of mercury accumulation among the brain, liver, kidney and the brain regions of rats administered methylmercury in various phases of postnatal development. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1995, 55, 588-596.

3) Wakabayashi K., Kakita A., Sakamoto M, Su Mu, Iwanaga K and Ikuta F.: Variability of brain lesions in rats administered methylmercury at various postnatal phases. Brain Res. 1995, 705, 267-272.

4) Sakamoto M, Wakabayashi K., Kakita A., Takahashi H, Adachi T and Ikuta F.: Widespread neuronal degeneration in rats following oral administration of methylmercury during the postnatal developing phase: a model of fetal-type Minamata disease. Brain Res. 1998, 784, 351-354.

2. 学会発表

1) Sakamoto M., Nakano A., Kajiwara Y., Naruse I. and Fujisaki T.: Toxicity of methyl mercury on neonatal rats. 4th International symposium, Neurobehavior methods and effects and effects in occupational and environmental health, July 1991 (Tokyo)

2) Sakamoto M., Nakano A. and Fujisaki T.: Deficits in cerebellar growth and rotarod performance in rats induced by methylmercury treatment during the brain growth spurt. Annual meeting of the society of toxicology, March 1993 (New Orleans)

3) 坂本峰至、中野篤浩、赤木洋勝；ラットの新生仔におけるメチル水銀投与による小脳成長およびロータ・ロッド運動の欠損, 第18回環境トキシコロジーシンポジウム、平成4年11月（東京）

4. セレンとヨード欠乏下のメチル水銀毒性発現に関する研究（平成12－16年）

研究担当者 中野 篤浩（基礎研究部）

平成12年度の研究成果は以下の通りである。

- 1) 生体試料のメチル水銀を、モノヨード酢酸を用いてヨウ化メチル水銀を形成させ、トルエンで抽出し、ECD ガスクロマトグラフィーで分析する簡便法の検討を重ねた。ECD ガスクロマトグラフィー法による生体試料中のメチル水銀分析で、最大の妨害要因は共存する脂肪成分である。脂肪成分の除去法として、生体試料を苛性ソーダで加水分解し、塩酸で中和した後、ヘキサンやトルエンで脂肪の抽出除去を試みた。ガスクロマトグラフィー分析に影響を与えないレベルまでの脂肪の除去は容易であったが、脂肪と同時にメチル水銀も抽出されることが分った。pHが8前後であり塩化メチル水銀（この化学形が形成されれば抽出される）は形成されないの、苛性ソーダによる加水分解の結果、イオウイオン（ S^{2-} ）が遊離し、ビスメチル水銀サルファイド（この化学形は有機溶媒に抽出される）を形成したのであろう。一方、無機水銀は全く抽出されなかった。以上のことから、脂肪成分を除去してから、モノヨード酢酸を加えヨウ化メチル水銀を形成させることは出来なくなった。脂肪成分の共存の下、モノヨード酢酸を加えヨウ化メチル水銀を形成させ、脂肪成分とヨウ化メチル水銀を同時に抽出し、次の段階で分離精製することにした。
- 2) ラットを用いて、亜セレン酸ソーダより毒性の低い、アミノ酸の一種であるセレノメチオニンの、

メチル水銀毒性の発現抑制に関する量—影響関係を検討した。12日間毎日 5 mgHg/b.w.-Kg のメチル水銀を投与して、メチル水銀の完全な致死量（メチル水銀：60 mgHg/b.w.-Kg）を投与しても、セレノメチオニンを Se として 1 mg 又は 5 mgSe/b.w.-Kg を併用投与すると殆ど神経症状も呈せず生存出来ることを確認した。また、単独でメチル水銀の完全な致死量（メチル水銀：60 mgHg/b.w.-Kg）を投与してから、その後 1 mgSe/b.w.-Kg/day のセレノメチオニンを投与してやると、後肢交差を起すラット（2/6）も出てくるが殆ど生存（5/6）した。以上のように、セレノメチオニンは、非常に強いメチル水銀の毒性発現抑制作用を示した。

3) マウスによるセレンとビタミン E の低用量長期投与実験は進行中である。

5. 胎児期から乳幼児期における重金属曝露の曝露指標の開発に関する研究（平成 12—16 年）

研究担当者 中野 篤浩（基礎研究部）

平成 12 年度の研究成果は以下のとおりである。

- 1) ヒトの出産時に胎盤、臍帯血等を採取する計画では、組織試料の脱血や洗浄、保存器具の洗浄法等を検討した。
- 2) 元素分析法の検討において、生体試料や環境試料に存在する殆どの元素は ICP 質量分析計により測定可能となっているが、セレンとヨードの分析法が確立できず、現在も検討を進めている。セレン分析には陰イオン樹脂からなるプレカラムの導入を、ヨード分析には汚染を最小限に抑える為にネブライザーの改造を進めている。
- 3) 水銀分析において、最も安定な検出手段である原子吸光により、無機水銀と有機水銀を分別定量する方法の確立を目指している。昔から使われている Magos の方法があるが、無機水銀の計測中に共存するメチル水銀が脱メチルして無機水銀として計測される欠点がある。このメチル水銀の脱メチル作用は、水銀イオンの還元に使用する第一スズイオンの活力に依存している。第一スズイオンの活力は、標準液の分析では第一スズイオンの濃度で決まるが、実際の試料では共存する被還元性物質により種々の影響を受ける。そこで、この被還元性物質の影響を軽減する為に、ヒドロキシルアミンによる前処理（前還元、水銀は還元されない）を試み、非常に有効であることが分った。また、このような水銀の有機形と無機形の分別定量には、原子吸光の計測に高性能の積分機能を持った水銀計が必要である。

6. 毛髪水銀レベルの再検討（平成 11－13 年度）

研究担当者 山口 雅子（疫学研究部）

11 年度に収集した水俣市の試料についての分析及び解析を行った。今回の調査で得られた例数、魚介類摂取量、毛髪水銀濃度は以下のとおりである。

例数		魚介類摂取量 (g / day)		毛髪水銀値 (ppm)			
年齢	男	女	男	女	男	女	計
0	33	50	15.2	25.4	1.47	1.33	1.38
10～	33	42	30.6	43.8	1.66	1.34	1.48
20～	33	64	32.2	35.6	1.99	1.14	1.43
30～	38	96	49.2	40.2	2.83	1.43	1.83
40～	64	95	64.6	47.5	3.32	1.60	2.29
50～	55	76	85.3	95.1	3.51	1.70	2.46
60～	48	89	133.8	80.3	3.56	1.63	2.31
70～	27	70	96.9	61.2	3.09	1.59	2.01
80～	6	12	145.8	82.1	3.79	1.57	2.31
計	337	594	68.5	55.6	2.84	1.51	1.99

今回調査した水俣市民の毛髪水銀濃度の平均値は 1.99 ppm で、センターに来訪した日本人の平均濃度 3.27 ppm よりも低かった。

魚介類摂取量は男女とも若い世代ほど少なく、年代が上がるにつれて多くなる傾向が見られた。一方毛髪水銀濃度は、男性では 40 代以下の世代では魚介類摂取量と同様に年代とともに増加したが、それ以上の年代ではほぼ一定であった。これに対して成人女性の毛髪水銀濃度は魚介類摂取量から予想されるより低かった。これには 20 代以上の女性のほとんどがパーマをかけていることが関与していると考えられる。

この点について確認するため、パーマ液処理による毛髪水銀濃度の変化を実験によって調べた。その結果、一回のパーマをかけた女性の長髪を 2 cm ごとに水銀測定した結果からも、同様の結論が得られている。

なお、今年度の試料採取地点として熊本、福岡、鳥取、和歌山、仙台、秋田、千葉の各都市を選定し、それぞれの理容・美容組合理事長に協力依頼を行っている。半数近くの組合からは承諾の返答を得ている。

5. 水銀に関する環境科学的研究

概 要

水銀は自然界に遍く存在するがその大部分は不活性な硫化水銀の形態であるといわれている。しかし、酸や酸素の作用による可溶化の後、光、バクテリアなどの作用によってメチル化を受ける現象が報告されている。メチル化した水銀は食物連鎖網に入り、生物濃縮を受ける。

本研究課題は局地的な水銀汚染による地球規模の水銀拡散の問題および汚染地域の環境復元を視野に入れて、水俣湾や諸外国の金採掘などによる水銀汚染の問題を抱える地域をフィールドとして、環境中での水銀の移動、生物濃縮および化学形態変化に関連する研究と、汚染土壌等からの水銀回収に関連する研究、そして過去の水俣湾における水銀汚染の実態調査とから構成されている。各研究テーマは以下のとおりである。

(1) 環境中での水銀の移動および化学形態変化

1. 水俣湾における水銀の動態
2. 水銀循環の生物地球化学
3. 食物連鎖網における水銀動態
4. バクテリアにおける水銀化学形態変換酵素遺伝子の出現機序と自然界における役割の研究
5. 生体試料および環境試料に含まれる微量水銀の化学形別測定法の開発

(2) 環境修復

6. 低温加熱法による汚染土壌の修復と水銀の回収技術の開発
7. バクテリア利用による環境中水銀蒸散技術の開発
8. 放射線を利用したメチル水銀の脱メチル化の開発（新規）

(3) 過去における水銀汚染の実態調査

これらの研究テーマの平成 12 年度における研究結果の概要について以下に列挙する。また、まとめた成果があるものについては詳細を後に添付する。

(1) 環境中での水銀の移動および化学形態変化

1. 水俣湾における水銀の動態（平成 12-14 年）

保田 叔昭 山口 雅子 森 敬介 安武 章 赤木 洋勝

水俣湾潮間帯底生生物群集調査を平成 8 年度末以降 1 年おきに実施している。今年度は、平成 10 年度末に実施した第 2 回調査の採集試料の分類・同定と解析を行った。

水俣湾の今回の調査結果を 1997 年のものと比較すると、恋路島水俣湾側 (St.K) と西の浦八代海側 (St.S) で個体数が増加している。このうち St.S では乾燥重量は減少しており、サイズの小さい個体が増加したことがうかがわれる。また、St.K と西の浦水俣湾側 (St.G) で多様性の上昇がみられる。群集構造の変化を見ると、二枚貝類が減少し、代わって節足動物が増加している。食性別では、濾過食者が減少して底質食者が増加している。岩などへの固着性の強い二枚貝が減少して固着性の弱い節足動物が増

えていることから、波が穏やかになった可能性が考えられる。ただし、これらの結果が平成 10 年に行われた仕切り網の撤去の影響なのか、通常の年変動の範囲内なのかを判断するためには更に数回の調査を繰り返す必要がある

一方、これら解析を終えた試料のうち、優占種については順次水銀濃度の測定を行っている。現在のところ、ヒライソガニやゴカイについてはある程度測定が進んでいる。一例としてヒライソガニの過去 3 回の測定結果を見ると、水俣湾の潮間帯の水銀濃度レベルは平成 4 年よりは低下しており、最近ではほぼ横ばいになっている。しかしこの濃度は他の地域（宮崎県北浦町や長崎県若松町など）の値より数倍から十倍ほど高い。今後の動向が注目される。

2. 水銀循環の生物地球化学（平成 12～13 年）

赤木 洋勝 Ikingura J. Guimaraes J.R.D.

本年度は「放射性同位元素を用いた、河川の水－底質系におけるメチル水銀の生成と分布」の課題で、河川における無機水銀のメチル化の度合を、川の水と底質を組み合わせたモデル系を用いて測定した。その結果、空気を吹き込んだモデル系では、チッソガスを吹き込んだ系に比べてメチル水銀の増加が 1.5 ～2 倍も早かった。（詳細後述）

3. 食物連鎖網における水銀挙動（平成 12～15 年）

山口 雅子 安武 章 保田 叔昭

塩化メチル水銀を添加した淡水及び海水中にウナギを飼育して、水中の水銀濃度の変化とウナギ体内での水銀の分布を調べている。0.1ppm の塩化メチル水銀を添加した今年度の実験では死亡するウナギが多く、満足のいく結果が得られなかった。そこで添加する水銀量を 0.010ppm まで低下させた条件で再度同じ実験を継続している。

4. バクテリアにおける水銀化学形変換酵素遺伝子の出現機序と自然界における役割の研究（平成 12～15 年）

中村 邦彦 古川 謙介 矢木 修身

本年度は、「水俣湾の水銀分解細菌の分子生態学的研究」の課題で、水俣湾から採取した、水銀耐性菌 *Pseudoalteromonas haloplanktis* M-1 株の水銀揮発化遺伝子の構造を解析した。

5. 生体試料および環境試料に含まれる微量水銀の化学形分別測定法の開発（平成 12～13 年）

赤木 洋勝 松山 明人

生体試料を含む様々な環境試料の水銀濃度を効率よく正確に測定する方法の開発は最終段階に入り、簡易な前処理によってあらゆる試料を共通の水銀測定手法へ統合することができた。今年度はさらにより経済的にかつ廃棄物の減少を目標として試薬の組み合わせや各反応ステップの見直しを行った。

一方水俣湾において底質のコアサンプルと海水とを採取し、これらに含まれる微量水銀の定量を国水研およびスロベニア・ステファン研究所にて同時に実施した。その測定結果はきわめて近似しており、双方の測定技術の水準を確認できた。

(2) 環境修復

6. 低温加熱法による汚染土壌の修復と水銀回収技術の開発(平成 12～15 年)

赤木 洋勝 松山 明人

国内の化学工場跡地水銀汚染土壌（水銀初期濃度 250ppm）を用いて、硫化鉄添加（重量比 1 %）による低温加熱処理実験を行った。結果として、室内外実験ともに、300℃の加熱温度で約 30 分処理することにより、水銀の除去反応は終了し水銀除去率として 98%以上を得られた。また処理した後の土壌を用いて、環境省告示第 46 号の手順にしたがい、水銀の溶出実験を行って溶液中の水銀を測定した結果、環境省が水銀の土壌汚染基準として設けている 0.0005ppm を満足させることができた。

また技術的に本処理は 300℃以下の温度条件ではあるが、加熱処理によって土壌／底質中の水銀を除去することから処理中に発生する可能性のあるダイオキシンや亜硫酸ガスなどを定量し評価しておく必要がある。そこで今回、屋外に設置した加熱処理プラントを用いて、前述の工場跡地土壌を実際に処理した時のダイオキシンや亜硫酸ガスの発生量を測定した。測定に供したガスは、ロータリーキルン（加熱炉）内部の水銀混入ガス、スクラバーで水銀を捕集したあとの洗浄ガスの 2 種類とした。その結果、加熱炉内部のガス中には、ダイオキシンが基準の 5 倍から 10 倍量程度が検出された。しかし、洗浄ガス中では基準量を若干上回る程度にまで減少していた。実際にはこの洗浄ガスはもう一段、活性炭吸着塔を経由して大気放出される。現在、この最終排出ガスに含まれるダイオキシン濃度を測定中である。また実験に用いた土壌には最初から高濃度のダイオキシン含まれていたことから、このダイオキシンは還元雰囲気の中で土壌から遊離したものと考えられる。さらに、処理後土壌中のダイオキシンは、初期含有量値に比べ 1/100 以下に低下していた。

7. バクテリア利用による環境中水銀蒸散技術の開発(平成 12～15 年)

中村 邦彦 境 正志 岩原 正宣 羽賀 清典

本年度は、以下の 2 課題について検討した。

①水銀揮発化細菌を利用した水銀汚染物処理技術の開発に関する基盤研究

この研究では、水俣湾から採取した水銀揮発化細菌を利用し、種々の条件における、水俣湾底質の水銀の除去反応について検討を行った。（詳細後述）

②液状バイオマス処理のための高度な微生物制御技術に関する基盤研究

この研究では、水俣湾から採取した、種々のメチル水銀揮発化細菌を用いて魚の肉汁などからのメチル水銀除去反応等を検討した結果、90%以上のメチル水銀が、24 時間で除去されることが判明した。

(3) 過去における水銀汚染の実態調査(平成 11～12 年)

衛藤 光明 小嶋 照和 安武 章 赤木 洋勝
中野 篤浩 徳永 英博 山口 雅子 中村 邦彦

本年度は、以下の 4 課題について検討した。

- ① H.I 液（メチル水銀）投与猫（No.717）の病理学的研究
- ② 水俣湾周辺におけるヒバリガイモドキ(*Hormomya mutabilis*)の水銀濃度に関する再検討
- ③ 水俣湾魚類等の標本中水銀濃度について
- ④ 水俣湾周辺の泥土の水銀濃度に関する再検討

これらの研究を通して、水俣病発症当時の貴重な試料について、病理学的研究や水銀値の測定などを行った。(詳細後述)

放射性同位元素を用いた、河川の水—底質系におけるメチル水銀の生成と分布

研究担当者 赤木 洋勝 (国際・総合研究部)

Ikingura J. (ダルエスサラーム大・地質学)

Guimaraes J.R.D. (リオデジャネイロ連邦大・生物物理研)

〔目的〕

水銀の生物濃縮は水銀汚染地域のみならず、一般環境水域においても広く認められるが、環境それ自体の複雑さに加えて水銀分析技術上の問題もあり、その機構については不明な点が多い。環境中における水銀の生物濃縮機構を明らかにするためには、実際の水圏に存在する濃度レベルの水銀の挙動について、無機水銀のメチル水銀への変化並びにそれらの系内分布を定量的に把握するとともに、それらの過程に及ぼす様々な環境要因の影響を評価することが重要である。本研究では、河川の底質および水を使って実験系を構成し、河川水—底質系における水銀のメチル化とその系内分布を、これまで当センターで確立し改良を重ねてきた放射性同位元素とジチゾン抽出—薄層クロマトグラフィーを組み合わせた放射化学的手法による高感度の無機・有機水銀の分別分析法を用いて検討した。

〔研究方法〕

河川の水と底質を使い、底質には乾重量当り $0.7\mu\text{g/g}$ の水銀の放射性同位元素 ($^{203}\text{HgCl}_2$) を加えて良く混合した後 Jenkins Tube(内径 80mm x 高さ 300mm のガラス製円筒容器)にいれ、これに河川水 1 L を静かに積層し、いくつかの条件下に $11-13^\circ\text{C}$ の薄暗い室内で 21-38 日間インキュベートした。

インキュベーションの条件は、a. 空気を吹き込み(25ml/min)、好氣的条件下にインキュベートしたもの、b. 窒素ガスを吹き込み(25ml/min)、嫌氣的条件下にインキュベートしたもの、c. 好氣的条件下に底生生物を入れて静置したもの、および d. 底質を入れず河川水に他と同じ量の無機水銀を加えたものの 4 種類を設定した。インキュベーション終了後、放射化学的手法を駆使して底質および水中の総水銀、無機水銀およびメチル水銀濃度を測定して相互に比較した。

〔結果と考察〕

a. では底質中で総水銀量の 9.9-13.8%、水中で同じく 66% がメチル水銀であった。これに対して b. では底質中で 3-6.3%、水中では 44% であった。このとき a. の水中総水銀量は b. のその 2-5 倍高い値を示した。また c. では、水中の無機水銀濃度が a. b. に比べて高かったが、それは底質中の生物の活動によるものであろう。水だけを入れた d. では、実験開始時に投入した水銀量のわずか 1.1% しか水中に残っていなかった。その中のメチル水銀の総水銀に対する割合は 43% で、b. に匹敵する値であった。

c. の実験系に投入した底生生物における生物濃縮指数を算出すると、水の濃度に対してはメチル水銀で 1970 倍、総水銀で 620 倍となった。一方底質の水銀濃度に対してはメチル水銀で 1.38 倍、総水銀で 0.37 倍であった。

以上のように、水中で豊富な空気が存在するとメチル水銀の生成が進むという興味深い結果を得ることができた。放射性同位元素を活用することによって、高感度でかつ正確な水銀測定手法を用いたことが、研究の成果に繋がった。

〔参考文献〕

Guimaraes J.R.D., Ikingura J. and Akagi H. Methylmercury production and distribution in river water-sediment systems investigated through radiochemical techniques. Water, Air, and Soil Pollution, **124**: 113-124, 2000.

生体試料および環境試料に含まれる微量水銀の化学形別測定法の開発

研究担当者 赤木 洋勝（国際・総合研究部）

富安 卓滋（鹿児島大・理・地球環境科学）

安藤 哲夫（鹿児島大・医・公衆衛生）

Horvat M.（スロベニア・ヨセフ ステファン研・環境科学）

松山 明人（特別研究員）

〔目的〕

水環境中における水銀動態は未だ解明されていない。その大きな理由の一つに水試料および底質に含まれる極微量の総水銀（T-Hg）およびメチル水銀（MeHg）を測定する簡便で正確な手法が最近までなく、正確な測定値が蓄積されていないという事情がある。本研究では、河川、水路等の淡水試料および海水試料に含まれる水銀を化学形別に定量し、それら試料中の水銀測定に用いる前処理法を二つの別々の研究室間で相互比較し、定量値の信頼性を確認すると共に、各試料に含まれる有機水銀・無機水銀の真値を求めことを目的としている。

〔研究方法〕

水俣湾内外および流入河川、水路等の数地点に観測定点を置き、淡水系の水試料はバケツを用いて表層水を採り、海水試料については GO-FLO ニスキ採水器を用いて水深 1m および 10m から採取した。各試料を均質化して二分し、それぞれの研究室において開発された独自の水銀の無機・有機分別分析手法を用いて分析した。当センター（NIMD）の水質試料中 T-Hg および MeHg の分析法は、酸性過マンガン酸塩処理後、水銀化合物をジチゾン錯体としてトルエンに抽出し、その一部を溶媒留去後湿式灰化し冷原子吸光法を用いて T-Hg を定量、トルエン相の残りは Na_2S 溶液に転溶し、微酸性下に N_2 通気により過剰の S^{2-} イオンを除去後再度ジチゾン錯体として少量のトルエンに抽出し ECD—ガスクロマトグラフィーを用いて MeHg を測定した。一方、スロベニア・ヨセフ ステファン研究所（IJS）での T-Hg の定量法は試料を酸分解後還元気化法により生成する金属水銀蒸気を一旦金アマルガムとして濃縮し、これを加熱して測定する方法である。また、MeHg については、酸性で CH_2Cl_2 抽出し水相に転溶後 NaBEt_4 でエチル化して常温でガスクロマトグラフィー用カラム（Tenax）に濃縮し、これを加熱して分離されて出てくる水銀化合物を熱分解し蛍光分光分析法により測定した。

〔結果と考察〕

環境試料の中でも、特に水試料中水銀分析に当ってはその含量が極微量(ng/L)であるために多くの場合、その前処理法としての濃縮操作が必要であり、その操作の過程でコンタミを起こし易く、それを克服し T-Hg について正確な測定値を得るにはかなりの熟練を要し、今なお、正確な測定を可能にする水試料中 T-Hg および MeHg の高感度で精度の高い測定手法の開発は重要な研究課題となっている。今回、これまで NIMD および IJS においてそれぞれ独自に開発し改良を加えてきた最新の手法を用いて 21 検体の水質試料を分析し、相互比較を行った。得られた種々の水試料中 T-Hg 値は、全水中 $0.98\text{--}42.80\text{ ng/L}$ 、濾過水中(溶解性) $0.45\text{--}5.79\text{ ng/L}$ および浮遊物中(吸着性) $0.78\text{--}42.40\text{ ng/L}$ を示し、MeHg 値は全水中 $0.02\text{--}0.51\text{ ng/L}$ 、濾過水中(溶解性) $0.04\text{--}0.29\text{ ng/L}$ および浮遊物中(吸着性) $0.00\text{--}0.32\text{ ng/L}$ の範囲であっ

た。NIMD と IJS 間でこれらの結果を相互に比較したところ、それぞれ分析手法は全く異なっているものの、得られた測定結果は、濾過水試料の T-Hg 値の幾つかを除いては T-Hg 値および MeHg 値 共に、二者間で極めてよい一致を示し、相互の手法の有用性が確認された（例えば、全水中 T-Hg: $r^2=0.9865$; MeHg: $R^2=0.9895$ ）。今回両者間に相違が見られた一部の濾過水中の T-Hg 値については、細心の注意を払って操作したにもかかわらず、それでも起きたサンプリング、サンプル輸送、あるいは濾過等サンプルの前処理の操作過程におけるコンタミによるものと考えられるが、この問題については今後さらに詳細なデータの品質保証に関する検討を重ね、その原因を明らかにしていく予定である。

〔参考文献〕

Tomiyasu T. et al.. Mercury contamination in the Yatsushiro Sea, South-western Japan : spatial variations of mercury in sediment. The Science of the Total Environment, **257**, 121-132, 2000.

水俣病発生当時の魚介類、ヘドロ、廃液等の水銀およびセレン濃度の測定に関する研究

(平成 11～12 年度)

1. H.I. 液（メチル水銀）投与（No. 717）の病理学的研究

研究担当者 衛藤 光明（臨床部）
小嶋 照和（てらもと総合福祉センター）
安武 章（基礎研究部）
赤木 洋勝（国際・総合研究部）
中野 篤浩（基礎研究部）
徳永 英博（熊本大・医）

〔はじめに〕

水俣病の公式発見は、故細川 一チツソ株式会社水俣工場附属病院長および野田兼喜医師の連名で「原因不明の中枢性疾患の多発」という題目で水俣保健所へ届け出がなされた昭和 31（1956）年 5 月 1 日とされている¹⁾。昭和 34（1959）年 7 月 14 日に熊本大学医学部水俣病研究班が有機水銀説を発表したが、その一週間後の 7 月 21 日に、細川氏らは H.I. 液（細川・市川の頭文字の略）と名付けられた酢酸工場廃液を猫の餌に振りかけて、中毒発症の有無を確認する実験を開始した。最初の猫実験は有名な猫 400 号と呼ばれ、発症後に解剖されているが、この症例の剖検所見は未公開であった^{2),3)}。

その後細川氏らは実験を追加して、計 10 匹の猫実験をおこなっている。今回発見された標本は、熊本大学医学部基礎棟の病院側への移転に伴い、たまたま倉庫から見つかったものであり、細川氏が昭和 37（1962）年 3 月末日退職後会社より自宅に持ち帰り、昭和 43（1968）年の有機水銀説が政府公式見解として公表されたのを機に、当時の熊本大学医学部病理学第二講座武内忠男教授に送付され、約一年後に病理診断を入手したとの事である。その後、約 1 年経過した昭和 45（1970）年 10 月 13 日に細川氏は肺癌で永眠された。しかしながら、この剖検診断は約 40 年にわたり公表されないままになっていた。

〔研究対象と方法〕

細川、小嶋らは熊本大学医学部に保管されていた工場廃液と同様と思われる廃液を毎日 20 ml 猫の

餌にかけて投与して、間代性痙攣、跳躍運動、廻走運動、流涎、振戦、失調、麻痺の有無を観察し、発症後 5 日目に屠殺した。我々は保存されていた H.I.-2 液を上澄み液と懸濁液に分けて総水銀とメチル水銀濃度を測定した。また、同廃液の元素分析を行った。病理学的には、ホルマリンに固定・保存されていた大脳、小脳、肝臓、腎臓を改めて切り出してパラフィン包埋切片を作成して、ヘマトキシリン・エオジン染色及び水銀組織化学反応を施した。また、神経系には Klüver-Barrera (KB) 染色及び Glial fiber acidic protein (GFAP) 染色を行った。各臓器の総水銀、無機水銀及びメチル水銀濃度を測定した。

〔研究成績〕

小島、細川らの記録によれば、昭和 35 年 11 月 28 日に採取液の投与開始後 46 日目（昭和 36 年 1 月 12 日）に後麻痺を感じさせるような症状の発現を見た。さらに 1 月 14 日には後肢麻痺もはっきりと現れ異常歩行失調（よろめき）を認めた。1 月 17 日には後肢麻痺が著明（腰が抜けたような症状）及び振戦が見られ衰退も加わったので屠殺解剖した。廃液投与前の体重 2.2kg は解剖時に 1.4kg と 800g の体重減少を見た。

H.I.-2 液の上澄み液・懸濁液の水銀濃度を測定した。室温で長期間保存したためにメチル水銀は大部分失活したと考えられるが、尚高濃度の総水銀が確認された。他の元素分析も行った。上澄み液と懸濁液の濃度差はない。セレン及びタリウムは検出されなかった。

病理組織学的検索の結果、長期間ホルマリン固定されていたために染色性は不良であるが、大脳皮質頭頂部において神経細胞の減数と細胞構築の乱れがあり、GFAP 染色で明らかに対照例と比較してグリオーシスが認められた。小脳には顆粒細胞層の神経細胞の減数及び髄質内に海綿状の変化が見られた。GFAP 染色で、明らかに分子層及び顆粒細胞層にグリオーシスが見られた。対照例では、大脳、小脳共に髄質内のグリア細胞が見られるが、皮質にグリア細胞は見られない。

水銀組織化学反応の結果、肝臓には肝細胞及び Kupffer 細胞に強陽性所見を得た。しかしながら、大脳、小脳、腎臓においては多量の無機水銀の蓄積にもかかわらず組織細胞内には弱陽性所見しか得られなかった。

〔考察〕

本猫実験の位置付けについては、既にいくつかの著書に記載されている^{4)~8)}。細川氏のこの実験の目的は「工場が白か黒かを見極めたい」と言うことであつた²⁾。本実験の前になされた猫実験 400 号は発症後に解剖されたが、たったの一例にすぎないと言う事、また、病理所見が疑わしいと書かれていたために、工場廃液が原因であると断定するには至っていなかった²⁾。また、工場廃液を直接猫に投与して発症しても、魚介類を介して発症する猫やヒトの中毒を証明する事にはならないと、工場内部の反対を受けていた²⁾。さらに、追加実験を企てた中の 1 症例が 717 号である。

本廃液には、高度の水銀が含まれている事が分かった。既に会社内でも $100 \mu\text{g/g}$ の水銀が含まれている事を認知していた⁵⁾。40 年近く室温で保管されたためか、メチル水銀は失活しているものと考えられる。また、他の元素分析で、初期の原因として考えられたセレン及びタリウムが検出されていない事実が判明した。しかし、自然界では水銀濃度の高い魚介類や人体剖検例ではセレン濃度が高いことも最近判明した。セレンはメチル水銀中毒を抑制することも知られており興味深い。水銀組織化学反応に関しても、肝臓では無機水銀濃度に比例し強陽性所見が得られたが、大脳、小脳及び腎臓では無機水銀濃

度に相当する程度に陽性所見は得られなかった。これは長期間のホルマリン固定液保存によるものと考えられる。

病理所見については、GFAP 染色が極めて鮮明に陽性所見を呈したことで、神経系の通常染色、あるいは水銀組織化学反応でも診断困難と思われたが、対照例の脳、小脳では髄質のみに陽性所見が見られたのに比し、実験例では明らかに皮質にグリオシスを認めた事で、容易にメチル水銀中毒の病理診断を下す事が出来た事は幸甚であった。

本実験を通して、細川氏の真実を突き止めたいとする科学者の立場と、会社人間としての立場の苦勞を伺い知る事が出来る。現在の技術を使用して、貴重な歴史に遺る試料を解明出来た事は幸運と言う他はない。

謝辞：ホルマリン固定猫標本及び廃液を、元青林舎有馬澄雄氏を通じてご提供頂きました故細川 一先生ご令室様に感謝申し上げます。また、取材を契機に本研究にご尽力された NHK 記者堀内喜代美氏に衷心よりお礼を述べます。

〔引用文献〕

1. 水俣芦北医師会史、水俣市・芦北郡医師会会史編集委員会、水俣旭印刷、pp. 321、1982 年 8 月。
2. 富田八郎：水俣病—水俣病研究会資料—、水俣病を告発する会、pp. 135-136、1970 年 3 月。
3. 水俣病—20 年の研究と今日の課題—有馬澄雄編、青林舎、pp. 270-272、1979 年 1 月。
4. 水俣病問題の十五年—その実相を追って—、チッソ株式会社「水俣病問題の十五年」編集委員会、1970 年 12 月。
5. NHK スペシャル、戦後 50 年そのとき日本は、NHK 出版、pp. 169-174、1995 年 11 月。
6. 戦後誌—光と影の記録—、朝日新聞西部本社編、石風社、pp. 259-260、1995 年 10 月。
7. 豊かさの中で—戦後 50 年 4—朝日新聞社編、朝日文庫、pp. 205-247、1995 年 11 月。
8. 板東克彦：新潟水俣病の三十年—ある弁護士の回想—、NHK 出版、pp. 135-152、2000 年 1 月。

2. 水俣湾周辺におけるヒバリガイモドキ(*Hormomya mutabilis*)の水銀濃度に関する再検討

(平成 11～12 年度)

研究担当者 衛藤 光明 (臨床部)
安武 章 (基礎研究部)
山口 雅子 (疫学研究部)

〔研究目的〕

熊本大学医学部病理学第二講座より当センターに譲渡された水俣病発生当時採取された魚介類等試料の水銀およびセレン濃度の測定を行う。

〔研究成果〕

熊本大学医学部に水俣病発生当時の魚介類が保存されていた。その中に、水俣湾周辺におけるヒバリ

ガイモドキ(*Hormomya mutabilis*)が番号指定で18個の保管されていたので、その総水銀濃度を測定した。これらは既に氏岡氏が昭和 35 (1960) 年に測定していた¹⁾。

今回追試的に総水銀濃度を測定して、ほぼ同様の結果が得られた。水銀濃度は全体に高い値を示しているが、患者多発地区である茂道周辺海域で 2ppm を示しており、比較的低濃度であるのに比し、湯の児周辺で 10ppm が測定されているのが注目される。

〔参考文献〕

氏岡 威令：食品ならびに動物諸臓器中の水銀に関する化学分析的研究、熊本医学会誌、34 (補 2)、119-135, 1960.

3. 水俣湾魚類等の標本中水銀およびセレン濃度について (平成 11~12 年度)

研究担当者 衛藤 光明 (臨床部)
山口 雅子 (疫学研究部)
安武 章 (基礎研究部)
中野 篤浩 (基礎研究部)

〔研究成果〕

1956 年に採取されたマダイ、コノシロ、マアジ (2 匹)、シマイサキ、バカガイ (5 体) の総水銀および無機水銀およびセレン濃度を測定した。マダイおよびシマイサキが高濃度の水銀値を示した。しかしながらマアジは 2 匹ともに魚介類の暫定的規制値以下であった。マアジは回遊魚であり、たまたま水俣湾が水銀に汚染されていた時期に湾外から入り捕獲されたと考えられる。1958 年に捕獲されたクロダイ (2 匹)、ボラ、スズキ、カニの水銀濃度測定を行った。1990 年に採取された魚類 (マダイ、クロダイ、メバル、カサゴ、キス、タチウオ) が相思社に保存されていたので、総水銀および無機水銀濃度を測定したところ高い値を示すものはなかった。熊本県は 1974~1990 年にかけて水俣湾の浚渫および埋め立て工事を行った。この影響で魚類の水銀濃度が低下したものとする。

4. 水俣湾周辺の泥土の水銀濃度に関する再検討 (平成 11~12 年度)

研究担当者 衛藤 光明 (臨床部)
中村 邦彦 (基礎研究部)

〔研究成果〕

熊本大学医学部に保存されていた、1958 年に採取された泥土の水銀値を測定した。

泥土 0.2g を 50ml のサンプルチューブにとり、これに 6M HCl を 9.6ml と 0.2g の $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ を 0.2g 入れ一昼夜室温に放置した。翌朝、上澄液を採り、NaOH で中和して水銀分析計で測定した (中村)。

以下の結果が得られた。

表 1. 採取場所と総水銀濃度

採取場所	総水銀濃度
水俣湾	2052.5 μ g/g
水俣湾沿岸泥土 5	33.9 μ g/g
鉄橋下	2445.0 μ g/g
水素タンク	12.2 μ g/g

〔考察〕

1960 年の氏岡の報告（文献）によると、水俣湾内の海底泥土が 2,010ppm を示しており、今回測定された試料と同じものと考えられる。

1963 年以後の泥土の水銀濃度と今回得られた測定濃度を比較すると、水俣湾および鉄橋下の水銀値が極めて高いことが分かった。

〔参考文献〕

氏岡 威令：食品ならびに動物諸臓器中の水銀に関する化学分析的研究、熊本医会誌、34（補 2）、199-135、1960.

6. 水俣病に関する社会科学研究

概 要

従来、水俣病に関する研究は水俣病患者救済が急務であったため、臨床医学・基礎医学的な研究が中心に行われてきた。平成8年の政治解決により水俣病補償問題が一応解決したが、現在も患者のみならず水俣地区住民間の水俣病をめぐる差別や偏見なども残っており、水俣病の発生によって地域住民の生活が被った影響は、様々な形で残っている。

そこで、水俣病問題についてとくに社会科学的観点から、総合的・体系的に解明するため、法律学・経済学・歴史学・民俗学・教育学・社会学など学際的研究を行う。さらにこれらの研究を通じて、水俣病をめぐる住民相互間のわだかまりを解消し、新たな人間関係の再構築と住民の福祉の向上へ役立てる。また、水俣病事件を今日の化学物質を中心とする環境汚染問題との共通の基盤から歴史的に検証し、水俣病に関する被害の実態を明らかにすることによって抽出された教訓を国内外の環境問題の予防・被害拡大防止をめざすものとする。

1. 公害を経験した水俣地区住民の環境意識の変化（平成10～12年度）

研究担当者 新垣たずさ（国際・総合研究部）

水俣病の発生が水俣地区住民に与えた影響のうち、現在も残っているもののひとつに、水俣病問題の経験に基づく「環境」意識および価値観の変化が考えられる。そこで本研究では、水俣地区住民の「環境」に関する意識の変遷を、生活史との関連で明らかにすることを目的とした。水俣地区住民を対象とする聞き取り調査を行い、この結果をもとに、水俣病の経験が地区住民の「環境」意識に対して与えた変化を考察した。また、現在の「環境」に対する意識と行動との関連について、例えば「環境」への配慮（ゴミの分別収集、減量化への協力、緑化等）等についても併せて検討した。10～11年度は、水俣病患者、水俣病問題運動支援者、県行政担当者、漁業従事者など、延べ20人以上に対する調査を実施し、多様な認識の存在を確認した。12年度においては、水俣病発生後、昭和30年代に業務として水俣病に関わってきた行政関係者を中心に聞き取り調査を実施した。当時の行政の対応状況や現在から振り返り感じていることなどの語りから時間の経過とともに個人の意識の変化が明らかになった。

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研究

研究担当者 蜂谷 紀之（国際・総合研究部）

水俣病の発生は住民の健康と生命に重大な被害を及ぼし、長年にわたって自然環境に広範囲の影響を与えただけでなく、地域社会に対しても、差別や偏見、利害の対立などにより、住民間に深刻な影響を生じさせた。これらの影響は様々な形で今日に至るまで残されている。本研究はこのような患者・被害者をめぐる社会的影響を明らかにする目的で企画した。現在、平成8年の政治解決などを受け、水俣市のもやい直し事業の推進などにみるように、水俣病患者などを取り巻く社会的状況も変化してきているとはいえ、今なお偏見など根強いのも事実であり、患者・被害者を対象としたこの種の調査の実施には十分な配慮と綿密な計画が必要である。水俣病「患者」となることはどのような社会的意味を生じさせるのか、申請などの行動に対して、地理的・時間的・社会的その他各種要因がどのように干渉したのか。各種文献調査などを含め、これらについて検証するための予備的研究を行った。

3. 行政研究・業務計画

1. 水俣病患者の外来リハビリテーション

担当者 臼杵扶佐子（臨床部）
宮本 清香（臨床部）
松本美由紀（臨床部）

本年度も毎週月曜日、水曜日にデイケアを取り入れたリハビリテーション外来を行った。本年度、特に問題となった症例について報告する。

症例 1. S.K. 女性 50 歳 小児水俣病

リハビリ上での問題点は、四肢・体幹の運動失調と表在・深部感覚障害、視覚障害、廃用性筋萎縮などに伴う ADL 障害である。ADL は整容のみ自立しており、トイレ・入浴・食事・更衣などは要介助であった。昭和 63 年より外来において筋力強化や立位保持、バランス訓練などの訓練を中心とし、寝返りなどの動作訓練や ADL 指導も行ってきた。平成 7 年 α -tocopherol transfer protein 遺伝子異常によるビタミン E 欠損症の合併があることが明らかとなり、以後、血中ビタミン E の測定を行いながらビタミン E の補充療法を行っている症例である。現在、血中ビタミン値は正常化している。治療開始後 5 年を経過しているが、臨床的には深部知覚及び下肢運動機能の軽度改善がみられている。また、自覚的には視力の改善があるという。各関節の可動域と筋力に関しては共に維持できており、特に下肢においては股関節外内転筋群や足関節背屈筋群などの筋力の増強もみられている。ADL に関しては、自宅でのトイレ動作の自立や入浴時の介助量の減少、食事動作に関してはスプーン使用であったのが箸を使用してほぼ自立したなどの改善がみられる。知能は比較的保たれているためアマチュア無線の資格をとり、楽しみのひとつとなっている。

当初から言葉の上では訓練意欲は有るように見えるが、実際の訓練場面になると依存的である。現在では本人の身の回りの状況変化により、悩みの相談にのるなど心理面のサポートに留意しながら訓練している状況である。

本年度の問題点は、これまで母親（88 歳）と二人暮らしであった生活環境に大きな変化があったことである。

これまで、トイレ、入浴、食事、更衣など日常生活全般に関する介助は母親が行っており、外出時には車椅子を使用しているため、母親が体調不良時の外来参加日の準備には、車で 15～20 分位離れたところに住んでいる実姉が、昼食の弁当を作ったり、トイレや更衣の介助をするために来ていた。

他の兄弟は既に他界し、現在は 3 姉妹となっているものの幼少の頃からの蟠りが有り、顔を合わせると口喧嘩が絶えないなど家族関係はあまり良好ではなかった。

しかし、平成 12 年 9 月に母親が胃癌のため重篤な状態で入院となり、姉は自宅を含め 3 箇所を巡回する形で、この患者の介護を行ってきた。

それまで介護をほぼ全面的に母親に依存していた姉は、自分の体調も思わしくない上に介護の重労働も加わり、心身共に疲労感が蓄積してきたため口論にも拍車がかかり、わがままな患者に対して手を挙げた事もあったようである。

患者自身もこの頃は母親の容態や自分の将来に関して不安感が募り、泣きながらの電話相談が多くな

った。

平成 12 年 12 月母親の他界後、約 2 ヶ月間にわたり姉の介護を受けながら生活をしたが、やはり姉との生活には馴染めず、姉の言動に冷たさを感じているために、できれば施設にはいつて自由に生活したいという希望を持つようになった。

このケースの問題点をまとめると、姉の場合は患者の現在の症状を十分に把握しておらず、ご飯をこぼしたりトイレを失敗すると不注意や甘えの行為と捉えてしまったり、子供の頃からの言葉の暴力に嫌気がさしているために、性格的に合わないと思っていること、また、患者の場合は、身体が思うように動かないこともありわがままに育てられ、自己中心的にしか物事の判断ができないこと、相手の気持ちを配慮しながらの言動ができないこと、依存心が強いことなどが考えられる。

以上の問題点を踏まえて、医師による病気や症状についての説明を家庭訪問にて実施し、患者の将来を含めて最善策を検討した。姉も体調不良のため十分な介護が行えない状況があり、入院する方向で話は進行している。

臨床的には入院する施設としては、この患者の合併症を含んだ神経症状に対する追跡調査が万全で、継続したりハビリ訓練を行える施設であることが理想と思われる。

症例 2. A.Y. 女性 56 歳 小児水俣病

三男五女の五女として生まれる。小学校入学前、5-6 歳頃から流涎、足に力が入りにくい、しゃべることが難しくなるなど症状がでていたが、26 歳時によりやく認定される。

昭和 59 年、母親の訪問を開始したが、母親は彼女の存在を隠していたため、彼女と顔を合わせたのは 2 年後、母親が明水園に入所してからであった。隣家は長男夫婦が住んでいるが、行き来はあまりなく、支援者らの支えにより一人暮らしをしていた。甲斐甲斐しく母親の世話をしていたが、平成 5 年 9 月に母親死去。その後、アパートにて一人暮らしを始めるが、「支援者との付き合い方に不安がある」と支援者への不満を漏らす様になり、この頃から安定剤の量が増加。平成 8 年には支援者らと共同作業所を作り、2 日に一度集まっていたが、人間関係での悩みを訴える電話による相談や訪問の要請などは増加してきた。平成 9 年 T 病院（肛門科）入院。その後、腹痛や頭痛などを訴え、病院を替えながら入退院を繰り返していた。この頃から希死念慮や気分の落ち込みを頻繁に訴えるようになり、ADL にも支障をきたし、食事の準備や掃除などはヘルパーに頼んでいた。

平成 11 年に入ってから、周りを振り回すような言動が多くみられるようになり、今まで密に支えてきた支援者も距離をおくようになった。4 月頃から頻尿・切迫性尿失禁のため、夜間はおむつ使用となり、その後ぎっくり腰や肋骨骨折などで昼間もおむつを使用することが多くなった。その間一度、睡眠剤を多量に服用する自殺未遂を図っている。平成 12 年 Y 病院（精神科）に 3 ヶ月入院したが、あまり良くない状態で退院となつたらしく、訪問要請や電話での相談が以前にも増して頻繁にあり、訴えは自殺念慮や人間関係に対する絶望感であった。以来、顔が浮腫んでいたり、昼間うとうとしていたり薬の量に疑問を持つようなことや首に痕をつけるような自殺企図もあったため、危機感を感じ、主治医や関係者にも連絡を取った。その 1 週間後、自らの命を絶っている。

この症例の場合、憂鬱気分、不安感が強く、他責的で状況によって気分が変わるという反応性のう

つ病の要素が強く現れていたと考えられる。自立に対する願望は強く訴えるが、行動は依存的である。母親が亡くなってからは、特定の支援者 A に対して母親、恋人のような感情を持ち、独占したい気持ちはまだ自制されていたが、作業所で他患にやさしく接する A を目の当たりにし、感情の抑制が揺らぎ始め、振り回すような言動が多くみられる状態になった。距離を置こうとした A に対し、「見捨てられ不安」の感情を抱き始め、自殺を仄めかすような言動も増加したように思われる。

胎児性や小児性の患者の場合、親の存在が支えのすべてであり、その存在がなくなるとある程度、自立した生活をせざるをえない状況になることがおきてくる。その急激な変化にとまどい、精神的にもかなりのストレスになるのではないかと懸念しながら、日頃のケアを行っている。我々はこの症例から、治療として認識されにくい「心理的なケア」の重要性を改めて痛感した。

2. 有機水銀汚染地区住民の健康影響

担当者	若宮 純司	(臨床部)
	宮本謙一郎	(臨床部)
	村尾 光治	(臨床部)
	有村 公良	(鹿大・三内)
	二塚 信	(熊大・公衆衛生)
	北野 隆雄	(熊大・公衆衛生)
	秋葉 澄伯	(鹿大・公衆衛生)

1. 成果および進捗状況

水俣病は、昭和 30 年以降、水俣・芦北地域を中心として発生したが、本地域に居住する住民がメチル水銀の曝露を受けていることは、昭和 35 年の毛髪水銀調査の結果をみても明らかである。しかし、当時のメチル水銀の計測がジチゾン法であるため精度が悪いこと、毛髪を採取した時期がピーク値を過ぎているので、健康影響（量-反応関係）を調査するにあたり、昭和 35 年当時の毛髪水銀値を用いることはできないと考える。有機水銀曝露地区内での海岸地区と山村地区を比較するためには、対照地区を選定する必要がある。

そこで、熊本県下 68 市町村の検診をおこなっている成人病予防協会に、本研究の対象地区である津奈木町と同様の検査内容と精度をもつ、水銀汚染地区以外の対照地区のデータ提供および動脈硬化に関する一般住民のリスク調査に関する共同研究を申しこんでいる。

なお、平成 12 年度は、津奈木町にて 1,318 名を対象として一般循環器検診をおこなった。

2. 平成 13 年度研究計画

成人病予防協会に共同研究をお願いし、データが入手できた段階で、解析を行なう。

住民検診としては、感覚障害と動脈硬化についてデータ収集をおこなう予定である。

3. 生活環境に起因する健康影響モニタリングシステムの構築および健康管理エキスパートシステムを そなえた基盤整備

担当者	若宮 純司	(臨床部)
	宮本謙一郎	(臨床部)
	村尾 光治	(臨床部)
	二塚 信	(熊大・公衆衛生)
	秋葉 澄伯	(鹿大・公衆衛生)

研究成果および進捗状況

保健・医療・福祉を統合するシステムであるが、構築したシステムは、研究センターが実施する上で役立つことが主であった。システム運営主体が自治体であることを考えると、自治体中心のシステムにする必要があるため、自治体に必要な保健・医療・福祉システムを中心とした内容にまとめなおした。

システムの実現の検討を環境庁統括事務次官がセンターを訪問された折に、企画調整課長にお願いするとともに厚生省健康政策課長（現、環境保健部長）にお願いした。検討は、13年度とのことであった。

4. 水俣病発生地域におけるメチル水銀による後影響の疫学的データの収集と解析

担当者 渡邊 正夫（疫学研究部）

坂本 峰至（疫学研究部）

蜂谷 紀之（国際・総合研究部）

1. 研究成果および進捗状況

平成 12 年度は水俣病認定患者の死亡動向の推移および、新潟県内市町村における死亡の疫学的特徴の把握を行った。

まず水俣病認定患者の死亡動向の推移については、熊本・鹿児島における水俣病認定患者の死因について、1953 年から 1992 年までの経時的な解析を試みた。メチル水銀の直接的影響による水俣病や中枢神経系の非炎症性疾患による死亡が総死亡に占める相対頻度は 35%(1953-72 年)から 3.9%(1988-92 年)に低下してきた。標準化死亡比 (SMR)の算出においては、標準集団を水俣病認定患者を除く水俣市全体とし、5 歳年齢階級別人口と年齢階級別死亡数から算出した。水俣病認定患者の全死亡の SMR は 1973-82 年で男 121.4* 女 122.8*で、1983-92 年で男 137.5* 女 129.3*といずれも有意に高率を示した。死因別の SMR では 1973-82 年で肝疾患（男=266.7*, 女=215.3*）と腎疾患（女=259.8*）で、1983-92 年では男の肝疾患(258.2*)でそれぞれ有意に高かった。ここで、1973-82 に比較して 1983-92 では脳血管疾患が増加の傾向にあり（男 114.1→130.2, 女 78→117.8）、その後の動向に留意する必要性が指摘される。以上、水銀汚染後の第一ステージではメチル水銀中毒による直接の死因が大きな比重を占める。第二次ステージでは肝疾患や腎疾患による死亡が特徴的となる。しかし、第三ステージでは肝疾患や腎疾患による死亡が低下してきて、脳血管疾患による死亡が増加する傾向が窺われる。そこで、最近の水俣病認定患者における健康管理は脳血管疾患への何らかの対策が必要とされるかもしれない。また、1973-82 年から 1983-92 年と全死亡の SMR が増加傾向にあることが危惧された。(*: $p<0.05$)

次に、②新潟県における市町村別悪性新生物死亡の特徴については、1969-83 年の 15 年間の、新潟県内市町村別悪性新生物死亡率の推移を全国平均に対する SMR で調べた。この 15 年間を 5 年ごとの 3 期に分けて比較したところ、男子において有意に高い SMR を示す地域が多く、3 期間を通じて一貫して高率を示したのは、新潟市(106.1-114.8)、新発田市(112.6-124.8)、新井市(117.6-120.2)、上越市(117.2-122.1)、巻町(121.5-129.8)の 5 市町であった。また女子については、一貫して有意差が認められた例はなかった。次に、肝、気管・気管支および肺、乳房、骨および関節軟骨、白血病、骨髄生白血病、リンパ性白血病、甲状腺の 8 部位の悪性新生物ならびに、肝硬変について、前記 3 期間における SMR の推移を調べた。まず、肝がんについては、一般に経時的な変動が大きく、複数の期間で有意の高率を示したところではなかった。単一期間のみでは、名立：女、1969-73 の 469.6、高柳：女、1979-83 の 460.6、新穂：女、1969-73 の 396.9、三和：女、1969-73 の 369.1 など有意に高い SMR が 10 例認められたが、これらの市町村についても 15 年間を通して一貫した高率傾向は認められなかった。肝硬変についても、潟東：女、1969-73 の 377.3、黒埼：男、1969-73 の 260.0 など一部有意に高い SMR を示す市町村が 5 例認められたが、これらはいずれも 1969-73 年のみであった。女子の乳房については、有意に高い死亡率は認められなかった。骨および関節軟骨、白血病、骨髄性白血病、リンパ性白血病、甲状腺の各部位の悪性新生物についても、同様に単一の期間

において有意に高い SMR が散見される例があったが、一貫した傾向はなかった。一方、気管・気管支および肺については、15 市町村において、男子に限り、それぞれ単一期間で期待値よりも高い死亡率が認められた。また、その期間は 15 例中 13 例は、79-83 に集中しており、残り 2 例も、74-78 で、その後の動向を注視する必要がある。女子においてはこのような傾向は認められず、乳がんと肺がん死亡が相関する一般的疫学的傾向と一致していた。以上をまとめると、1969-83 年において、これらの悪性新生物死亡について、地域的集積性を示す一貫した傾向は検出されなかった。

2. 平成 13 年度研究計画

今年度も、上記に引き続き 1993 年以降の患者等について同様の解析を実施し、当該集団の死亡状況における疫学的特徴についての調査を進める。さらに、これらの死亡動向に及ぼす各種要因の影響に関しても、とくに地域差、職業、認定・未認定状況などの関与についての精査の可能性も検討する。

なお、従来まで死亡調査については法務局から入手したデータを用いていたが以降これを中止し、保健所の死亡小票の閲覧に変更する。このため、統計法の定める規定に基づき、人口動態統計調査票の目的外使用に対する承認を厚生労働省に申請するために手続中である。

5. 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

担当者 佐藤 邦子（国際・総合研究部）
山内 義雄（国際・総合研究部）
永井 克博（国際・総合研究部）
蜂谷 紀之（国際・総合研究部）
新垣たずさ（国際・総合研究部）
保田 叔昭（国際・総合研究部）
赤木 洋勝（国際・総合研究部）

成果及び進捗状況

水俣病に関する国内及び国外の膨大且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、国立水俣病総合研究センターの重要な任務の一つである。しかし、これら資料は、その所在が大学、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政治的解決を受け散逸する恐れのあるもの、保存状態の不適切なものなどもある。また、水俣病患者等の高齢化も進んでいることから、患者等の体験談など生の声を記録するなどの情報・資料の収集を早急且つ重点的に行う必要がある。

本業務は、これら既存資料の収集と平行して、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利用にも応えられるような情報検索システム（資料の所在、内容、利用可能性等に関するデータベース）を構築しようとするものである。

平成12年度は、水俣病関連資料の収集及び検索データベース作成のための基礎調査を行うとともに、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の作成について検討を行った。

また、新聞記事については、昭和47年までの水俣病関連新聞記事見出しについてのデータベース化が終了しており、引き続きデータベース化のための切り抜き作業を行った。

さらに、水俣病情報センターの平成13年6月の開館を踏まえ、一層の資料収集、整備体制の確立に向け、検討を行った。

6 - 1) - a . バングラデシュ国における水銀電解苛性ソーダ工場の解体処理後の周辺環境モニタリング

担当者 坂本 峰至（疫学研究部）

バングラデシュ国チッタゴン化学コンビナートは、昭和 43 (1968) 年に日本の輸銀の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、昭和 63 (1988) 年から、また日本の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」から「イオン交換膜法」に転換した新しい工場が建設された。この改修事業において、旧苛性ソーダ工場の水銀電解施設の解体作業等による周辺環境への水銀汚染の懸念が生じた。そこで、この工場が環境モニタリングを実施することになり、JICA が再活性化事業として支援することになった。当センターが JICA からの要請うけ、(財)九州環境管理協会と協力し、チッタゴン化学工場の担当者を指導教育するとともに、モニタリングの計画を立案し実施することになった。このモニタリング事業の計画立案、実施、評価の過程を、チッタゴン化学工場の担当者と国際共同の研究課題として展開することになった。研究対象および研究方法は 1) 解体処理後の旧水銀電解施設付近並びに工場周辺環境のサンプリング地点の選定。2) サンプリング手法及びサンプリング時期の決定、3) 水銀測定法とデータの精度管理手段の確立と指導教育。4) 実施された長期モニタリングの評価である。平成 11 年度は、2 月にチッタゴン化学工場に赴き、各サンプリング地点のモニタリングを実施するとともに、現地の担当者を指導教育した。工場跡地に近いサンプリング地点の井戸水からは高濃度の水銀濃度が観察された。また、工場周辺の小学校の子供達から頭髮と尿を採取してきた。平成 12 年度は、再度現地に赴き、工場の担当者と共同でモニタリングを実施し、化学工場の廃水が流れ込む川の流域住民及び工場周辺児童の頭髮を採取した。今回がモニタリング事業の最終訪問となり、水銀系のメンテナンス等、現地のスタッフのみでも作業が継続可能なことが確認された。

6-1) - b. 台湾からカンボジアへ運び込まれた産業廃棄物による水銀汚染調査

担当者 坂本 峰至（疫学研究部）

日本で排出される産業廃棄物は年間 4 億トンを超えている。産業廃棄物の問題点は排出量が多く（一般廃棄物の約 9 倍）しかも年々その量が増加してきていることである。その結果、再生利用されずに最終処分方法として約 9,000 万トンもの廃棄物が埋立処分される。これは、東京ドームの約 250 杯分に相当し、毎年これに相当する分の空間が廃棄物によって占領されていくこととなるという。また、首都圏で排出された産業廃棄物が自都県以外の最終処分場に流れていくという廃棄物の広域移動は日本国内でも大きな問題となっている。世界的にみると有害廃棄物処分処理場は、処分費用の高い国から安い国へ、規制の厳しい国から緩い国へと持ち込まれやすい。そのため、有害廃棄物を適正に処理する能力を持たない国で処分され、その結果として経済的に弱者である国の環境やそこに住む人々の健康に大きな被害が及ぶ恐れがある。

平成 10 年 12 月 21 日に WPRO（WHO 西太平洋地域事務局）から、WHO の研究協力機関である当センターに緊急調査依頼があった。それによると、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。主な廃棄物である灰色のサンプルで 490 及び 720 ppm 黒色のサンプルが 2,479 及び 3,984ppm と高い水銀値を示した。その他、マンガンが 83～1,779ppm、鉛が 35～499ppm 等であった。作業従事者に水銀の曝露による尿中水銀濃度の若干の上昇がみられたが、幸いなことに、健康に影響の出るレベルではなかった。研究対象および研究方法は、1) 廃棄物投棄現場の表層の撤去・表層水銀濃度のモニタリング、2) 廃棄物投棄現場周辺水系のモニタリング。平成 11 年度は、表層 10 cm の土壌除去作業が行われた後、作業後の土壌のサンプリングが 15 ポイントで行われ、その試料の分析が当センターで行われた。土壌中の水銀濃度は 0.08 ppm～177.8 ppm で、20 ppm を越える 4 ポイント付近の土壌は再度除去作業を行った。また、同時に送ってきた廃棄物サンプル 3 個の内最高濃度は 4,211ppm であった。引き続き、再除去作業後も土壌のサンプリングが 15 ポイントで行われ、その試料の分析結果、全地点で数 10 ppm 以下に下がっておりこれ以上のモニタリングの必要がない旨を報告した。その後、3 回水のサンプルが送ってきた。投棄現場近接の井戸水中総水銀濃度も 0.067 ppb、0.053 ppb、0.019ppb と下がってきた。

平成 12 年度は、投棄現場近接の井戸を封鎖し、環境及び人体への影響が出ないことが確認されたので、本モニタリングは終了することに合意を得た。

6-1)-c. アマゾン河流域における臨床神経学的調査 (JICA)

担当者	若宮 純司	(臨床部)
	宮本謙一郎	(臨床部)
	有村 公良	(鹿大・三内)

アマゾン河の支流であるタパジヨス河の上流ではガリンボといわれる金採取場があり、金採取に使用する無機水銀が環境を汚染している。放出された無機水銀は、有機化されて魚に取り込まれるため、これを主食としている流域住民の毛髪水銀値が高くなっている。地元 PARA 大学の研究チームは、メチル水銀による健康影響、特に水俣病の発生を懸念し、JICA に神経検診の要請をした。

この要請を受け、平成 13 年 1 月 5 日から 2 月 1 日までブラジルに行き、流域住民の健康調査を行なった。毛髪水銀値の高い 41 名について検診を行ったが、今後追跡調査が必要と思われる住民が 3 名いるのみで、それ以外は特記すべき神経所見を有しているものはなかった。

しかし、この症例研究は汚染を受けている住民の一部について行なっているにすぎないので、研究方法・体制を構築しなおす必要性があり、下記のような提案を行なった。

1. アマゾン河流域全体における環境中のメチル水銀の動態から人への健康影響までを研究調査内容とし、必要な共同研究体制をとり、データベース作成システムを構築する。具体的には、環境中のメチル水銀の動態については、ガリンボの分布状況を把握するとともに、河床の水銀値、河水の水銀値、魚の水銀値を調査するとともにメチル化の機転を明確にし、アマゾン河流域の汚染状況を把握した上で、今後の状況を推察し、環境復元ができるようにする。
2. 人への健康影響については、胎児と成人とは許容濃度が異なるため区別して調査すべきであるが、特に、感受性の高い胎児に対しては、世界的にも影響が懸念されるメチル水銀量を超えているため、早急な調査と対応が必要である。
3. 以上を具現化するためには、対象地域の規模や研究内容の多彩さを考えると、1 施設のみでは不可能で、共同研究体制が必要である。現時点では、Para 大学、厚生省エバンドロシャージャス研究所、鉱山局 DNPM・CETEM、州政府、Rio 大学が考えられる。国や水銀研究を行ないたい他の施設が関与するのが望ましい。
4. 解明した事実や研究成果は、インターネットや学会を通じて世界に発信すべきである。

滞在中に州政府による委員会が設置されたが、これにより、本格的調査が可能と考えられる。PARA 大学からは、引き続き指導を依頼され、研究内容の提案をおこなった。

6-2). 開発途上国からの来訪者の研修指導

担当者 佐藤 邦子（国際・総合研究部）
山内 義雄（国際・総合研究部）
永井 克博（国際・総合研究部）
赤木 洋勝（国際・総合研究部）
衛藤 光明（臨床部）
安武 章（基礎研究部）
中村 邦彦（基礎研究部）

成果及び進捗状況

当研究センターでは毎年、国際協力事業団が開発途上国の専門家を対象として実施する集団研修コースをはじめとして開発途上国からの来訪者の受け入れを行っている。

平成12年度においては、ベトナム、フィリピン、インドネシア、タイ、メキシコ、中国、韓国など43ヶ国、216名、21集団研修コースを受け入れ、水俣病に関する講義、環境中の水銀と世界的規模から見た水銀汚染の講義、魚・土壌・毛髪中の総水銀分析の講習、見学等多岐にわたる講義、講習を行い研修員個人の毛髪水銀測定なども実施した。

6-3).「第6回地球環境汚染物質としての水銀に関する国際会議」開催準備

赤木洋勝 国際・総合研究部
久保恒男 総務課
山元 恵 基礎研究部
佐藤邦子 国際・総合研究部
安武 章 基礎研究部
藤田佳久 総務課
永井克博 国際・総合研究部
水銀国際会議所内準備委員会委員

当研究センター主導のもと「第6回地球環境汚染物質としての水銀に関する国際会議」の開催を平成13年10月に予定している。本会議は水銀に関する学術的な国際交流のみならず、一般市民の参加による地域活性化を目的とした総合環境イベントである。

平成12年度に行った主な業務は以下の通りである。

1. 会合開催による全体スケジュールの構築

- ・ 第5回 Local Organizing Committee 会議開催（平成12年7月）
- ・ 第6回 Local Organizing Committee 会議開催（平成13年3月）
- ・ Steering & Local Organizing Committee 合同会議開催（平成13年3月）

2. 本会議プログラム作成

- ・ 学術会議プログラム作成（abstract 募集・受付・分類、分類審査依頼、等）
- ・ 会場使用計画案、輸送計画案等の設営および運営関係案の作成
- ・ 宿泊及びエクスカーション関係

3. 会議の広報活動

- ・ ホームページ作成・管理
- ・ ポスター作成・配布
- ・ 2nd announcement 作成・配布
- ・ 学会等における広報活動

4. 会議運営資金調達

- ・ 予算案作成
- ・ 募金関係申請業務
- ・ 助成金申請業務
- ・ 機器出展等勧誘活動

5. 関連行事等準備

- ・ 水銀汚染対策マニュアル作成業務支援
- ・ 市民向け公開行事企画
- ・ 会議参加者向け市内ツアーの企画

6-4). 低濃度メチル水銀曝露の人体影響に関する日米ワークショップの開催

準備委員会	委員長	衛藤 光明	(臨床部)
	委員	若宮 純司	臼杵扶佐子 (臨床部)
		桑名 貴	中村 邦彦 (基礎研究部)
		坂本 峰至	(疫学研究部) 蜂谷 紀之 (国際・総合研究部)
補 佐	佐藤 邦子	(国際・総合研究部)	久保 恒男 (総務課)

国立水俣病総合研究センター及び当時の環境庁では、アメリカ環境保護庁との共催で、「メチル水銀の低濃度曝露による人体影響に関する日米ワークショップ」を、以下の概要で開催した。

本ワークショップは、「環境の保護の分野における協力に関する日本国政府とアメリカ合衆国政府との間の協定」(日米環境保護協力協定)に基づく両国間の協力の一環として開催することが、平成12年3月に開催された第11回日米合同企画調整委員会において合意されたのに基づき、平成12年11月28～30日に開催されたものである。この会議では邦人25名(うち当研究センター及び環境庁所属研究者14名)、外国人5名(Mahaffey R. Kathryn: Division Director, Exposure Assessment Coordination and Policy Division, EPA, USA. Bellinger David: Professor, Neurology, Harvard University, USA. Dietrich Kim: Professor, Epidemiology, University of Cincinnati Medical College, USA. Grandjean Philippe: Professor, Institute of Community Health, Denmark. Kjellström Tord: Professor, Epidemiology, University of Auckland.)、計30名の研究者等の参加を得て、メチル水銀の低濃度曝露による人体影響、特に感受性の強いグループ(妊婦及び胎児等)に対して健康影響を及ぼす曝露(量)の評価に関して検討を行った。本会議の議事内容は後日 Proceedings として刊行予定である。

4. 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) Akagi, H. , Ikingura, J.R. , Guimarães, J.R.D.:
A simple and sensitive radiochemical technique for evaluating mercury transformation and distribution in the aquatic environments.
In: Proceedings of NIMD Forum' 99, pp.161-172, 2000.
- (2) Akagi, H. , Ikingura J. R.:
Analytical technique in evaluation of the environmental factors influencing the dynamics of mercury in aquatic systems with particular emphasis on tropical areas.
In: Proceedings of the NIMD Forum 2001, pp. 1-11, 2001.
- (3) Takizawa, Y. , Hachiya, N.:
Mercury analysis in Japan
Understanding on Minamata Disease - Methylmercury poisoning in Minamata and Niigata, Japan (eds.: Takizawa,Y. and Osame,M.), Japan Public Health Association, 2001.
- (4) Guimarães, J.R.D. , Ikingura, J.R. , Akagi, H.:
Methylmercury production and distribution in river water - Sediment systems investigated through radiochemical techniques.
Water, Air, and Soil Pollution, **124** (1-2): 113-124, 2000.
- (5) Haraguchi, K. , Ando, T. , Sato, M. , Kawaguchi, C. , Tomiyasu, T. , Horvat, M. , Akagi, H.:
Detection of localized methylmercury contamination by use of the mussel adductor muscle in Minamata Bay and Kagoshima Bay, Japan
The Science of the Total Environment, **261**, 75-89, 2000.
- (6) Ikingura, J.R., Akagi, H. , Guimarães, JR.D.:
Evaluation of mercury methylation in fresh and pre-dried sediments using ²⁰³Hg radioisotope
Journal of Environmental Sciences, **12**, Supplement, 66-75, 2000.
- (7) Rajar, R. , Agar, D., Sirca, A. , Akagi, H. , Yano, S. , Tomiyasu, T. , Ohki, K. , Horvat, M.:
Use of modeling in mercury pollution studies with two case studies: Gulf of Trieste and Yatsushiro Sea
In: Proceedings of the NIMD Forum 2001, pp. 123-135, 2001.

- (8) Satoh, M. , Haraguchi, K. , Ando, T. , Kawaguchi, C. , Tomiyasu, T. , Horvat, M. , Akagi, H.:
Levels of mercury contamination in Minamata Bay and Kagoshima Bay, Japan: Mussel adductor muscle as a bioindicator for methylmercury contamination.
In: Proceedings of NIMD Forum' 99, pp.139, 2000.
- (9) Tomiyasu, T. , Nagano, A. , Yonehara, N. , Sakamoto, H. , Rifardi, Ohki, K. , Akagi, H.:
Mercury contamination in the Yatsushiro Sea, southwestern Japan: Spatial variations of mercury in sediment
The Science of the Total Environment, **257**, 121-132, 2000.
- (10) 赤木洋勝
「水銀による生態影響－アマゾン流域における水銀汚染を中心に－」
燃焼プロセスにおける微量成分ワークショップ－Trace Element 2001, pp. 15-23, 2001.
- (11) 保田叔昭
「水俣湾」
日本の水環境、7九州・沖縄編、4章 開発と水環境 (日本水環境学会編) 技報堂出版
pp. 115-125, 2000.

(2) 学術研究会による発表

- (1) Akagi, H.:
Methylmercury pollution ~ Minamata Bay after Minamata disease outbreak and latest problems in foreign countries.
International Program on Chemical Safety ~ The 6th GINC Tokyo Meeting for Information
Exchange and Collaboration in East Asia on Chemical Incidents and Chemical Toxicology (Feb. 2000, Tokyo, Japan).
- (2) Akagi, H. , Ikingura J. R.:
Evaluation of the environmental factors influencing the dynamics of mercury in aquatic systems with particular emphasis on tropical areas.
NIMD Forum 2001 (Mar. 2001, Minamata, Kumamoto, Japan).
- (3) Takizawa, Y. , Hirasawa, F. , Sasaki, F. , Hachiya, N.:
Mercury in river sediments on northern Japan region and coastal sediments of Japan Sea.
International Conference on Problem of Freshwater Mercury Pollution in Natural and Manmade Reservoirs and Possible Ways for Their Remediation
(Sept. 2000, Irkutsk, Russia).

- (4) Rajar, R. , Agar, D. , Sirca, A. , Akagi, H. , Yano, S. , Tomiyasu, T. , Oki, K. , Horvat, M.:
Use of modeling in mercury pollution studies with two case studies: Gulf of Trieste and Yatsushiro Sea
NIMD Forum 2001 (Mar. 2001, Minamata, Kumamoto, Japan).
- (5) 赤木洋勝
水俣湾の水銀汚染の推移と現状.
第 39 回日本水環境学会セミナー「水環境行政の歩み ―環境基準の設定から水域での取組まで―」
平成 12 年 5 月（東京）
- (6) 蜂谷紀之, 劉 揚, 矢嶋信浩, 伊藤 悟, 近藤 宏
gpt delta トランスジェニックマウスの有用性に関する研究: Mitomycin C 投与により誘発される Spi-
変異の臓器特異性と発現時間に関する解析. 同プログラム・要旨集: 132
日本環境変異原学会第 29 回大会
平成 12 年 11 月（仙台）

2. 臨床部

学術刊行物による発表

- (1) Eto, K.:
Minamata disease.
Neuropathol. **20**: S14-S19, 2000.
- (2) Usuki, F. and Maruyama, K.:
Ataxia caused by mutations in the α -tocopherol transfer protein gene.
J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry **69**: 254-256, 2000.
- (3) Wakamiya, J. Mabuchi, K., Fujimasa, I., Nakagawa, S., Miyake, H., Arimura, K., Osame, M., Igata, A., Takizawa, Y.:
Data-processing method for standardization of thermographic diagnosis.
The Proceedings of the 22nd Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, 5168-89731(CDNo.), 2000.
- (4) Nishioku, T., Takai, N., Miyamoto, K., Murao, K., Hara, C., Yamamoto, K., Nakanishi, H.:
Involvement of caspase 3-like protease in methylmercury-induced apoptosis of primary cultured rat cerebral microglia.
Brain Research, **871**:160-164, 2000.
- (5) 若宮純司、満洲邦彦、藤正 徹、宮本謙一郎、村尾光治、有村公良、納 光弘、井形明弘
「サーモグラフィー診断の基準化に関する研究」
医学・生物学サーモロジー **20** (2): 59-63, 2000.
- (6) 若宮純司、宮本謙一郎、城之園学、肥後克郎、光増武彦、鈴木利明、森 英俊、満洲邦彦、藤正 徹、有村公良、納 光弘、井形明弘
「正常画像の算出に関する研究」
医学・生物学サーモロジー **20** (3): 91-95, 2000.
- (7) 内野 誠、箕田修治、有馬寿之、木村 円、原暁生、中村政明、平野照之、宇山栄一郎
安東由喜雄、若宮純司
「水俣病認定患者の追跡調査－施設入所中の水俣病認定患者の神経症候の推移－」
平成 12 年度重金属等の健康影響に関する総合研究班総会
－有機水銀の健康影響に関する研究－
(財) 日本公衆衛生協会 pp. 44-49, 2001.

- (8) 中川政明、有村公良、納 光弘、平田圭子、秋葉澄伯、児玉知子、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 ―計量診断モデルによる頸椎症、末梢神経障害患者との比較検討―」
平成 12 年度重金属等の健康影響に関する総合研究班総会
―有機水銀の健康影響に関する研究―
(財) 日本公衆衛生協会 pp 50-53, 2001
- (9) 内野 誠、二塚 信、有村公良、中川正法、箕田修治、宇山栄一郎、平野照之、原 暁生
中村政明、安東由喜雄、佐藤 宏、若宮純司
「指定研究：水俣病認定患者追跡調査―臨床像の推移を中心に―」
平成 12 年度重金属等の健康影響に関する総合研究班総会
―有機水銀の健康影響に関する研究―
(財) 日本公衆衛生協会 pp. 86-94, 2001.
- (10) 有村公良、滝澤行雄、赤木洋勝、衛藤光明、中野篤浩、若宮純司、久保恒男、永井克博、佐藤邦子、佐藤 洋、永沼 章、遠山千春、二塚 信、秋葉澄伯、内野 誠、吉井正澄、吉本哲郎、水本 二、原 徳壽、高城 亮
「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 12 年度重金属等の健康影響に関する総合研究班総会、2001、東京
―有機水銀の健康影響に関する研究―
(財) 日本公衆衛生協会 pp. 86-88, 2001.

(2) 学術研究会における発表

- (1) Eto, K.:
Minamata disease.
Symposium SY22 [Environ] : Pathological Aspects of Heavy Metal Intoxication.
X X III International Congress of the International Academy of Pathology and 14th World Congress of Academic and Environmental Pathology.
(Oct. 2000, Nagoya, Japan).
- (2) Usuki, F. , Yasutake, A. , Umehara, F. , Higuchi, I. , Ishiura, S.:
Oxidative stress and cellular responses in methylmercury cytotoxicity.
American Society of Toxicology 40th Annual Meeting
(Mar. 2001, San Francisco, USA).

- (3) Usuki F:
Possible genetic factors increasing susceptibility to methylmercury.
US-Japan Workshop on Human Health Effects of Low Dose Methylmercury Exposure
(Nov. 2000, Minamata, Kumamoto, Japan).
- (4) Wakamiya, J.:
Standardization of thermographic diagnosis.
Sixth Annual Workshop on Medical IR Imaging World Congress 2000, Chicago, IL.
(July 2000, Chicago, USA).
- (5) Wakamiya, J. , Mabuchi, K., Fujimasa, I., Nakagawa, S., Miyake, H., Arimura, K.,
Osame, M., Igata, A., Takizawa, Y.:
Date-processing method for standardization of thermographic diagnosis.
Chicago 2000 World Congress
(July 2000, Chicago, USA).
- (6) Wakamiya, J. , Miyamoto, K. , Murao, K. , Kawazu, M. , Hiyoshi, T.:
The preliminary study of the inhabitants bones in the methyl mercury polluted area in the nineteen-fifties.
US-Japan Workshop on Human Health Effects of Low Dose Methylmercury Exposure
(Nov. 2000, Minamata, Kumamoto, Japan).
- (7) 衛藤光明、徳永英博
「H.I.液（メチル水銀）投与猫実験（No.717）の病理学的研究」
第 89 回日本病理学会総会
平成 12 年 4 月（大阪）
- (8) 衛藤光明、秋間道夫
「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 41 回日本神経病理学会総会学術研究会
平成 12 年 6 月（米子）
- (9) 衛藤光明
「水俣病の中樞神経病変」
第 17 回日本毒性病理学会 シンポジウム 1 中枢神経系の毒性病理学の課題
平成 13 年 1 月（淡路）

- (10) 宮本謙一郎、若宮純司、岩下眞一、浅山 滉、山田聡子、有村公良
「腰部脊柱管狭窄症における経皮的電気刺激法による電流知覚閾値（CPT）の検討」
第 30 回日本臨床神経生理学会学術大会
平成 12 年 12 月（京都）
- (11) 臼杵扶佐子、安武 章、衛藤光明、樋口逸郎
「抗酸化剤 Trolox の腹腔内投与によるメチル水銀中毒ラットの治療」
第 41 回日本神経学会総会
平成 12 年 5 月（松本）
- (12) 臼杵扶佐子、安武 章、笹川 昇、石浦章一、樋口逸郎
「環境化学物質による酸化ストレス傷害と生体ストレス応答」
第 73 回日本生化学大会
平成 12 年 10 月（横浜）
- (13) 臼杵扶佐子、笹川 昇、石浦章一
「Myotonic dystrophy モデル細胞株の筋分化における MAPK シグナル伝達系の活性化遅延」
第 23 回日本分子生物学会年会
平成 12 年 12 月（神戸）
- (14) 若宮純司、満洲邦彦、藤正 巖、有村公良、納 光弘、井形昭弘
「サーモグラフィ診断の基準化に関する研究」
日本サーモロジー学会第 17 回大会
平成 12 年 6 月（香川）
- (15) 若宮純司、森 英俊、満洲邦彦、藤正 巖、有村公良、納 光弘、井形昭弘
「正常画像の算出に関する研究」
日本サーモロジー学会第 17 回大会
平成 12 年 6 月（香川）
- (16) 丸山 敬、臼杵扶佐子、宇佐見美保子
「 α -tocopherol transfer protein による presenilin 関連細胞死の抑制」
第 74 回日本薬理学会年会
平成 13 年 3 月（横浜）

3. 基礎研究部

(1) 学術刊行物による発表

- (1) Aramaki, R , Yasutake, A. , Mizumoto, K.:
Radio and methylmercury sensitivity of cultured mammalian cells.
Proceedings of NIMD Forum '99, 61-69, 2000.

- (2) Nakamura, K. , Hagimine, M., Sakai, M. , Furukawa, K.:
Removal of mercury sulfide from Minamata Bay sediments by a combined method of chemical and microbial volatilization.
Biodegradation **10**, 443-447, 2000.

- (3) Nakamura, K. , Aoki, J. , Morishita, K. , Yamamoto, M.:
Mercury volatilization by the highest concentrations of mercury-resistant bacteria from the seawater of Minamata Bay in various physiological conditions.
Clean Product and Processes **3**, 174-178, 2000.

- (4) Taniguchi, M. , Yasutake, A. , Takedomi, K.:
Effects of dietary sulfur-containing amino acids on oxidative damage in rat liver caused by *N*-nitrosodimethylamine administration.
British J. of Nutrition **84**, 211-217, 2000.

- (5) Naito, M. , Matsubara, Y. , Harumi, T. , Tagami, T. , Kagami, H. , Sakurai, M. , Kuwana, T.:
Foreign gene expression in the gonads of chimaeric chicken embryos by transfer of primordial germ cells transfected in vitro by lipofection for 24 hours.
Animal Sci. J. **71**: 308-311, 2000.

- (6) Tajima, A. , Hayashi, H. , Kamizumi, A. , Ogura, J. , Kuwana, T. , Chikamune T.:
Study on the concentration of circulating primordial germ cells (cPGCs) in early chick embryos.
J. Exp. Zool **284** (7): 759-764, 1999.

- (7) Toriya, M. , Yamamoto, M. , Saeki, K. , Fujii, Y. , Matsumoto. K.:
Antitumor effect of photodynamic therapy with Zincphyrin, Zinc-coproporphyrin III, in mice. Biosci. Biotechnol. Biochem. **65**, 363-370, 2001.

(2) 学術研究会による発表

- (1) Nakamura, K. , Sakai, M. , Furukawa, K.:
A method for the removal of mercury from sediment by bacteria.
Fifth International Symposium on Environmental Biotechnology
(July 2000, Kyoto, Japan).
- (2) Nakano, A. , Sakamoto, M.:
Comparison of dithizon colorimetry and cold vapor atomic absorption photometry in mercury analysis
-A commentary on theory and practice by literature-
US-Japan Workshop on Human Health Effects of Low Dose Methylmercury Exposure
(Nov. 2000, Minamata, Kumamoto, Japan).
- (3) Nagamatsu, H. , Sakai, M. , Nakamura, K. , Furukawa, K.:
Bioleaching of metal oxide by a mutant of *Pseudomonas pseudoalcaligenes* KF707.
Fifth International Symposium on Environmental Biotechnology
(July 2000, Kyoto, Japan).
- (4) Naito, M. , Tajima, A. , Yasuda, Y. , Tagami, T. , Harumi, T. , Matsubara, Y. , Sano, A. , Kagami, H. ,
Sakurai, M. , Kuwana, T.:
Cryopreservation of avian germline cells.
Proceedings of the 21st World's Poultry Congress.
(Aug. 2000, Montreal, Canada).
- (5) Tajima, A. , Barbato, G.F. , Kuwana, T. , Hammerstedt. R.H.:
Recovery of a genetically selected broiler line using cryopreserved primordial germ cells isolated by a
newly developed filtration method.
Proceedings of the 21st World's Poultry Congress.
(Aug. 2000, Montreal, Canada).
- (6) 桑名 貴、坂井美保、土屋英明、趙 東風、松田佳子、李 相芝
「生殖幹細胞を用いた生殖巣キメラ作出の試み」
第 20 回発生懇話会
平成 12 年 7 月 (大分)

- (7) 土屋英明、坂井美保、松田佳子、柿本えつ子、趙 東風、李 贊東、桑名 貴
「ハト自然交配卵における胚発生と始原生殖細胞の動態」
日本家禽学会平成 12 年度秋季大会
平成 12 年 10 月（福岡）
- (8) 趙東風、坂井美保、李 相芝、松田佳子、土屋英明、柿本えつ子、李 贊東、桑名 貴
「減数分裂前にある鳥類生殖幹細胞の単離・精製」
第 20 回発生懇話会
平成 12 年 7 月（大分）
- (9) 飯山 領、庵原啓司、中村邦彦、古川謙介
「水俣湾由来水銀耐性 *Pseudomonas haloplanktis* M1 株の *mer* オペロンの構造解析」
日本生物工学会九州支部大会
平成 11 年 12 月（福岡）
- (10) 森下惟一、中村邦彦、岩原正宜
「水俣湾海水から分離した水銀耐性菌の水銀揮発化反応」
日本防菌防黴学会 第 28 回年次大会
平成 13 年 5 月（大阪）
- (11) 平山紀美子、山本景一、坂口里美、高田理恵、鶴田優子、溝上幸洋、森 信子、安武 章、
井上 稔
「脳ミトコンドリアの活性酸素産生能に及ぼす水銀化合物の影響」
日本薬学会 フォーラム 2000：衛生薬学・環境トキシコロジー
平成 12 年 10 月（東京）

4. 疫学研究部

(1) 学術刊行物による発表

- (1) Akagi, H. , Haraguchi, K. , Kinjo, Y. , Malm, O. , Branches, F. J. P. , Guimarães, J. R. D.:
Exposure of aboriginal people to methylmercury due to gold mining in the Amazon, Brazil.
J. of Environ. Sci. **12**, Supplement, 45-50, 2000.
- (2) Akagi, H. , Naganuma, A.:
Human exposure to mercury and the accumulation of methylmercury that is associated with gold mining in the Amazon basin, Brazil
Journal of Health Science, **46** (5) 323-328, 2000.
- (3) Akagi, H. and Sakamoto, M.:
Quantitative evaluation of environmental factors influencing the dynamics of mercury in the aquatic systems.
In: Report on the First Research Co-ordination Meeting on Health Impacts of Mercury Cycling in Contaminated Environments Studied by Nuclear Techniques, NAHRES-61, IAEA, Vienna, pp. 94-101 2001.
- (4) Sakamoto, M. , Akagi, H. , Nakano, A. , Wakamiya, J. , Suzu, Y., Mori, Y. , Takizawa, Y.:
Suspected mercury contamination at Sihanoukville, Cambodia caused by industrial wastes from Taiwan
In: Proceedings of NIMD Forum' 99, pp. 125-138.
- (5) Costa, M. , Akagi, H. , Nilson Sant' Anna Jr.:
Total and methylmercury levels in the hair of native coastal population in the Brazilian Northeast
In: Proceedings of NIMD Forum' 99, pp. 1-9.
- (6) Fukuda, Y. , Ushijima, K. , Kitano, T. , Sakamoto, M. , Futatsuka, M.:
An analysis of subjective complaints in a population living in a methylmercury-polluted area.
Environ. Research Section A **81**, 100-107, 1999.
- (7) Kakita, A. , Wakabayashi, K. , Mud, Su. , Sakamoto, M. , Ikuta, F. , Takahashi, H.:
Distinct pattern of neuronal degeneration in the fetal rat brain induced by consecutive transplacental administration of methylmercury.
Brain Research **859**, 233-239, 2000.
- (8) Kakita, A. , Wakabayashi, K. , Mu , Su. , Yoneoka, Y. , Sakamoto, M. , Ikuta, F. , Takahashi, H.:
Intrauterine methylmercury intoxication consequence of the inherent brain lesions and cognitive dysfunction in maturity.
Brain Research **877**, 322-330, 2000.

- (9) Sant' Ana, N. , Costa, M. , Akagi, H.:
Níveis de mercúrio total e metilmercúrio no cabelo de uma população costeira e peixes do nordeste do Brasil.
In: Ecotoxicologia – Perspectivas para o século XXI, pp. 229-240. E.L.G. Espíndola et al. (Editors).
Rima Ed., São Carlos, SP. , 2000.

(2) 学術研究会による発表

- (1) Akagi, H.:
Human exposure to methylmercury due to gold mining in the Amazon, Brazil.
US-Japan Workshop on Human Health Effects of Low Dose Methylmercury Exposure
(Nov. 2000, Minamata, Kumamoto, Japan).
- (2) Sakamoto, M. , Kakita, A. , Wakabayashi, K. , Nakano, A. , Takahashi, H. , Akagi, H.:
Assessment of the effects of low and long-term exposure of methylmercury throughout the periods of gestation and lactation.
US-Japan Workshop on Human Health Effects of Low Dose Methylmercury Exposure
(Nov. 2000, Minamata, Kumamoto).
- (3) Sakamoto, M. , Nakano, A. , Akagi, H.:
Effect of methylmercury pollution on gender ratio of offspring: Gender distribution of offspring in Minamata disease patients.
39th Society of Toxicology Annual Meeting
(Mar. 2000, San Francisco, USA).
- (4) Sakamoto, M. , Nakano, A. , Akagi, H.:
Effect of methylmercury pollution on sex ratio in Minamata City.
The 2nd Congress of the Asian Society Toxicology
(Aug. 2000, Cheju Island, Korea).
- (5) Yamaguchi, M.:
Current hair mercury data in NIMD.
US-Japan Workshop on Human Health Effects of Low Dose Methylmercury Exposure
(Nov. 2000, Minamata, Kumamoto, Japan).

- (6) Sant' Ana, N. , Costa, M. , Akagi, H.:
Total and methylmercury levels in hair of a coastal human population and fish from the Brazilian Northeast.
International conference on sustainable use of estuaries and mangroves: Challenges and Prospects
(May 2000, Recife, Brazil).
- (7) 赤木洋勝
「水銀による生態影響ーアマゾン流域における水銀汚染を中心にー」
第2回燃焼プロセスにおける微量成分ワークショップーTrace Element 2001
平成13年1月（横浜）
- (8) 坂本峰至, 柿田明美, 赤木洋勝, 中野篤浩, 高橋 均
「脳発達期におけるメチル水銀影響の量・反応関係と性差」
重金属等の健康影響に関する総合研究班総会
ー有機水銀の健康影響に関する研究ー
平成13年3月（東京）
- (9) 坂本峰至, 柿田明美, 若林孝一, 赤木洋勝, 中野篤浩, 高橋 均
「低濃度長期メチル水銀曝露のラット胎児脳への影響に関する研究」
フォーラム2000：衛生薬学・環境トキシコロジー
平成12年10月（東京）
- (10) 山口雅子
「メダカを用いた変異原性試験」
第19回 生体と金属に関する研究会
平成12年8月（金沢）
- (11) 高橋 均, 柿田明美, 稲永親憲, 坂本峰至
「メチル水銀曝露による神経芽細胞・グリア芽細胞の移動障害」
重金属等の健康影響に関する総合研究班総会
ー有機水銀の健康影響に関する研究ー
平成13年3月（東京）

5. 所 長

(1) 学術刊行物による発表

- (1) Takizawa, Y.:
Minamata disease in retrospect.
World Resource Review, **12**: 211-223, 2000.
- (2) Takizawa, Y.:
Understanding Minamata disease and strategies to prevent further environmental contamination by methylmercury.
Water Sci. Technol., **42**: 139-146, 2000.
- (3) Takizawa, Y.:
Minamata disease and Niigata methylmercury poisoning incident.
Heavy Metal Pollution Control FY 2000, Japan International Cooperation Center, pp. 1-24, 2000.
- (4) Takizawa, Y.:
Mercury poisoning focus -Minamata: A poisoning disease caused by methylmercury pollution.
Administration Management for Environmental Restoration and Conservation by Minamata City Government: Lesson from Minamata Disease (Mercury Poisoning) FY 2000, Japan International Cooperation Agency (Kyushu) • Minamata City, pp. 1-21, 2000.
- (5) Takizawa, Y.:
Risk assessment of environmental effects of ozone depletion.
Ozone Layer Protection and Applicable depletion FY 2000, Japan Environmental Sanitation Center, pp. 1-6, 2000.
- (6) Takizawa, Y. , Hisamatsu, S. , Abe, T. , Yamashita, J.:
Actinides and long-lived radionuclides in tissues of the Japanese population: Summary of the past 20-year studies.
J. Radioanal. Nucl. Chem., **243**: 305-315, 2000.
- (7) Takizawa, Y. and Osame, M. (eds):
Understanding of Minamata disease -Methylmercury poisoning in Minamata and Niigata, Japan.
Japan Public Health Association, Tokyo, March 2001.
- (8) Tonouchi, S. , Habuki, H. , Igari, Z. , Hashimoto, T. ,Takizawa, Y.:
Long-lived radionuclides in sea sediments around Kashiwazaki-Kariwa nuclear power station.
J. Radioanal. Nucl. Chem., **243**: 433-445, 2000.

- (9) 滝澤行雄
「水銀分析法の遍遷，生体試料(魚)中メチル水銀の測定方法：アルカリ分解ジチゾネート法(赤木)の検討および水銀の分析方法」
水銀分析公定書，(財)日本公衆衛生協会 pp. 8-16, pp.17-31 および pp. 33-47, 1998.
- (10) 滝澤行雄（監訳）
「カドミウム曝露の健康評価－文献およびリスク評価レビュー(Jarup, L. ed. : Scand. J. Work Environ. Health, **24** (Suppl. 1): 52, 1998).
(財)日本公衆衛生協会 pp. 1-70, 2000.
- (11) 滝澤行雄
「オゾン層破壊に伴う環境影響の現況－U N E P 環境影響パネル委員会の 1999 年討議内容を踏まえて－」
生活と環境，**46**: 59-63, 2001.
- (12) 滝澤行雄
「放射能・水銀禍」
保健物理，**36**: 67-68, 2001.
- (13) 二塚 信，北野隆雄，内野 誠，秋葉澄伯，納 光弘，滝澤行雄
「水俣病認定患者の生活と健康の実態に関する調査研究」
平成 12 年度重金属等の健康影響に関する総合研究班総会
－有機水銀の健康影響に関する研究－
(財)日本公衆衛生協会 pp. 101-106, 2001.
- (14) 二塚 信，北野隆雄，牛島佳代，稲岡 司，永野 恵，滝澤行雄，若宮純司
メチル水銀汚染地域住民の QOL とソーシャルサポートに関する調査研究
平成 11 年度重金属等の健康影響に関する総合研究班総会
－有機水銀の健康影響に関する研究－
(財)日本公衆衛生協会 pp. 67-73, 2001.
- (15) 市川龍資，滝澤行雄，鈴木 譲，清水 誠，村松康行
平成 12 年度環境放射能水準調査結果報告書(食品試料の放射能水準調査)
(財)日本分析センター pp. 1-43, 2001.

(2) 学術研究会による発表

(1) Takizawa, Y.:

Minamata disease: Environmental contamination with methylmercury.

International Conference on Problems of Freshwater Mercury Pollution in Natural and Manmade Reservoirs and Possible Ways for Their Remediation

(Sept. 2000, Irkutsk, Russia).

(2) Takizawa, Y. , Hirasawa, F. , Sasaki, T. ,Hachiya, N.:

Mercury in river sediments on northern Japan region and coastal sediments of Japan Sea.

International Conference on Problem of Freshwater Mercury Pollution in Natural and Manmade Reservoirs and Possible Ways for Their Remediation

(Sept. 2000, Irkutsk, Russia).

(3) Takizawa, Y.:

The threshold value for onset of symptoms in human body: (IPCS Environmental Health Criteria No. 101).

US-Japan Workshop on Human Health Effects of Low Dose Methylmercury Exposure

(Nov. 2000, Minamata, Kumamoto, Japan).

(4) Takizawa, Y.:

Some aspects of lowest toxic concentrations in man -The outbreak of Minamata disease-.

US-Japan Workshop on Human Health Effects of Low Dose Methylmercury Exposure.

(Nov. 2000, Minamata, Japan).

(5) Takizawa, Y. , Eto, K. , Nakamura, K. , Hachiya, N.:

Discussion of data describing range of human exposure to methylmercury in Japan.

US-Japan Workshop on Human Health Effects of Low Dose Methylmercury Exposure.

(Nov. 2000, Minamata, Japan).

(6) Hisamatsu, S. ,Takizawa, Y.:

Distribution of transuranium elements in the Japanese population: A comparison to the ICRP metabolic models.

8th International Conference on Low-Level Measurements of Actinides and Long-Lived Radio nuclides in Biological and Environmental Samples.

(Oct. 2000, Oarai, Ibaragi, Japan).

- (7) Moriyama, H. and Takizawa, Y.:
Assessing low-dose effects on children exposed *in utero* to methylmercury -Protocol for on the spot re-inspection for Minamata and Niigata data at early stage-.
US-Japan Workshop on Human Health Effects of Low Dose Methylmercury Exposure
(Nov. 2000, Minamata, Japan).
- (8) 有村公良, 滝澤行雄, 赤木洋勝, 衛藤光明, 中野篤弘, 若宮純司 他 19 名
「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 12 年度重金属等の健康影響に関する総合研究班総会
－有機水銀の健康影響に関する研究－
平成 13 年 3 月 (東京)
- (9) 二塚 信, 北野隆雄, 牛島佳代, 滝澤行雄
「メチル水銀汚染地域住民の健康状態と生活状況－ある漁村地区を事例として」
平成 12 年度重金属等の健康影響に関する総合研究班総会
－有機水銀の健康影響に関する研究－
平成 13 年 3 月 (東京)
- (10) 二塚 信, 北野隆雄, 内野 誠, 納 光弘, 有村公良, 秋葉澄伯, 滝澤行雄
「水俣病認定患者の追跡調査」
平成 12 年度重金属等の健康影響に関する総合研究班総会
－有機水銀の健康影響に関する研究－
平成 13 年 3 月 (東京)

(3) 講演による発表

- (1) Takizawa, Y.:
Minamata disease.
International Seminar on Group Training Course in Community Health Services, JICA Kyushu International Center・Saint Mary Hospital (Kurume)
(Aug. 2000, Kurume, Fukuoka, Japan).
- (2) Takizawa, Y.:
Minamata disease and Niigata mercury poisoning incident.
International Seminar on Heavy Pollution Control, Global Environmental Center・Japan International Cooperation Center
(2000, Minamata, Kumamoto, Japan).

- (3) Takizawa, Y.:
Risk assessment of environmental effects of ozone depletion.
International Seminar on Ozone Layer Protection and Applicable Technology, JICA Tokyo International Center • Japan Environmental Sanitation Center
(2000, Tokyo, Japan).
- (4) Takizawa, Y.:
Medical aspects of Minamata disease.
International Seminar on Administration Management for Environmental Restoration and Conservation by Minamata City Government: Lesson from Minamata disease (mercury poisoning) ”.
(Minamata, Kumamoto, Japan).
- (5) Takizawa, Y.:
International Seminar on Global Controls Mulled for Mercury for the Korean Industrial Health Association, JICA Kyushu International Center
(Feb. 2001, Minamata, Kumamoto, Japan).
- (6) 滝澤行雄
「公害のリスクの光と影－水銀・ダイオキシン」(特別講演)
第1回熊本県保健環境科学研究所研究発表会
平成12年6月(熊本)
- (7) 滝澤行雄
「公衆衛生学実習のすすめ方」
帝京大学医学部公衆衛生学学生研修
平成12年7月(水俣)

5. 所内セミナー記録

(1) 日本における近年の出生性比低下～その要因等についての研究結果

帝京大学医学部公衆衛生学講師 野中 浩一

(平成 12 年 6 月 2 日)

近年、複数の西欧諸国で、出生性比（男児数／女児数）が低下し、相対的に男児の出生数が減少している可能性が報告されている。わが国も 1899 年以来の人口動態統計が存在するので過去の推移が調べられる。わが国の出生性比は、1910 年の約 1.04 から徐々に上昇し、1970 年には 1.06 を超えるまでになった。しかしその後は上昇が止まり、とくに 1970 年代から 1980 年代前半には約 0.01 ポイント減少している。こうした低下が何かしらの環境要因の影響を示唆しているのではないかという問題提起がある。その背景には、昔から知られているように死産の性比が出生性比より高い、すなわち、男児が死産によって失われやすく、死産が増えたために出生性比が低下しているのではないかという考えがある。わが国の死産統計から最近の性比の推移を調べてみると、1970 年頃までは約 1.2 だった性比が、最近では 2.0 にまで上昇していた。しかしながら、たとえば従来の後期死産（妊娠満 28 週以降）に限ると、むしろ性比は 1.1 程度にまで低下しており、最近の死産性比の上昇は妊娠初期、とくに満 22 週未満に限られている。したがって、もし最近の出生性比の低下が流死産の変化によるものであるとしたら、それは妊娠のかなり初期の現象であることになる。現在の死産統計では、妊娠満 12～15 週では約 6 割、16～19 週でも約 5 割が性不明であり、また、妊娠初期の性判定を外生殖器だけで行うと誤分類の可能性もあり、性が判明した死産だけでみた妊娠満 12～15 週での性比の上昇が真のものかどうかはまだ結論を出せない。さらに、実際の妊娠損失は死産の届出が行われる以前の満 12 週未満にさらに多く、ヒトの妊娠初期に起こっている現象については未知の部分が多い。現在の人口動態統計から入手できる情報から、最近の出生性比の低下に関する要因を調べたところ、出生順位が高く、母親の出産年齢が高いほうが低下している可能性が考えられた。また、最近の出生性比は 4～7 月に高い季節変動を示すが、最近の全般的低下はどの季節にも認められ、季節変動をもたらす原因と最近の低下に関わる原因とは別のものと考えられた。出生性比を変化させる要因はこれまで数多く示されているが、メカニズムを考えるためには、主として父親への影響による精子形成異常（とくに X 精子と Y 精子の差）、授精後に受精が成立するまでの精子の移動による選別（受精時性比＝一次性比）、その後の胎児の性に依存した流死産の影響（出生時性比＝二次性比）のどこに働くのかを識別していく必要がある。現在、受精時の両親のホルモン環境で一次性比が異なるとする James 仮説が提唱されているが、性依存性流産についても視野に入れ、たとえば水銀曝露の影響を考える際にも、動物実験なども行ってどのステージに作用するのかを明らかにしなくてはならない。セミナーでは、ヒトが胎児期に受けた影響が生後も長期にわたって残ることを示唆する疫学的研究についても触れ、今後、胎児期環境学ともいうべき分野の研究をいっそう進める必要があることを強調する。出生性比は、指標としては感度、特異度のいずれも十分とは言えないが、胎児期の影響を知るための、誤分類の少ない貴重な疫学指標の一つとして今後とも重要となるだろう。

(2) 実験用霊長類の飼育管理について

筑波医学実験用霊長類センター

客員研究員 長 文 昭

(平成 12 年 7 月 4 日)

。 法的検疫制度のはじまり

今年(2000年)1月1日より輸入サル類の検疫が法的に義務づけられた。これまで、わが国に輸入されたカニクイザルは、フィリピン、インドネシア、ヴェトナム、中国とモーリシャス(いずれも施設内繁殖または島繁殖)の現地において1ヶ月間の輸出前の検疫を受け、輸出国政府または獣医師による健康証明書の与えられたものである。もちろん CITES による事前輸入承認を受けてのことである。今回、輸入サル類の検疫が法的に義務づけられたことにより、今後の輸入に際しては、輸入後、農林省動物検疫所あるいは同所の承認許可を取得した民間委託検疫施設において、検疫(30日間)をうけることになる。

。 目的をもって繁殖育成されたサルの入手

施設内繁殖または島繁殖とは医学生物学等での実験利用を目的として繁殖育成されることを指し、輸出前と輸入後の検疫を経ることにより、性急な、たとえばウイルス性の人獣共通感染症(エボラ、マールブルグなど)発生の危険性はもたない。しかし、サル自身の健康を害しかねない病原性をもつ細菌や試験研究の結果に誤りを持ちこみかねない寄生虫をもつ可能性があるものと考えなければならない。ウィルスに関しては、サル自身にとっては常在性のものでありながら、ひとたびヒトに感染するや致死的な結果をもたらす B ウィルス症など、日常的に忘れてはならない要因をもつ場合がある。

。 動物の飼育管理に関する法律と動物愛護

実験用サル類の飼育管理について、その飼育環境を整備する事の必要性は何人も異論を持ちこむものではない。ケージの大きさ、飼育室の適正な照明と空気の清浄さ、与える飼料の適正な質と量、サル類の適正な取り扱いと利用等の諸点については所内討議を経たうえでのコンセンサスはもちろん、ときには専門分野の異なる所外からの人を交えた討議も必要である。動物を飼育する事から生じる法的な規制や、その利用面での動物愛護に関する法的規制も、当然、考慮されなければならない。

。 標準作業手順書の整備と記録保持

すでに実験を使用目的としたサル類が飼育管理されている施設にあって、具体的に整備あるいは再確認されなければならないことは、標準化(明文化)された飼育管理作業のひとつひとつを管理者、作業者ともにその目的を理解し、それが日常作業に生かされていることである。そしてこのことが定期的に査証され、記録として残されていることである。

。 獣医学的管理

次に、管理されている動物の健康に関しては、サル類の取り扱いを専門とする獣医師の意見を取り入れることが重要である。定期的な健康検査の結果は飼育管理作業にフィードバックされなければならない。また、その結果は、試験研究を開始するにあたって、その試験研究の目的に見あった動物個体の選択に

も重要な情報の提供をするものとして、継続的な材料の採取と検査結果に基づいて蓄積されているべきである。獣医学的管理では予防的な側面と疾病の治療、なかでも疫学的要因の解明は、飼育管理作業へのフィードバックを考えると、きわめて重要なことである。一方、管理中の動物を試験研究に提供した後のフォローアップも重要な獣医学的管理の側面である。獣医師は、研究協力者として、手術、投与、行動観察、実験殺（非実験殺もある）、死体処理など、試験研究開始前に所内委員会により許諾された範囲の支援活動を実施する役割をもつ。

(3) Pathogenic Potential and Toxic Chemical Degradation by *Burkholderia cepacia*.

A. M. Chakrabarty

Department of Microbiology and Immunology,

University of Illinois,

Chicago, Illinois 60612, USA

(平成 12 年 7 月 7 日)

2,4,5-Trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T) is a herbicide which is quite recalcitrant to microbial degradation. By using a highly selective chemostatic enrichment technique, we isolated a strain of *Burkholderia cepacia* that could utilize 2,4,5-T as its sole source of carbon and energy. The complete pathway of 2,4,5-T degradation by this strain has been delineated. This strain metabolizes 2,4,5-T via formation of 2,4,5-trichlorophenol, 5-chlorohydroxyquinol, hydroxyquinol, maleyacetate and 3-oxoadipate. 3-Oxoadipate is finally metabolized by the chromosomal β -ketoadipate pathway. The genes for various steps of this pathway have been cloned and sequenced. These genes are partially clustered as three sets on the chromosomes of *B. cepacia* AC1100. Pulsed-field gel electrophoresis analyses of whole chromosomes of this strain demonstrated that the genome is comprised of five replicons of 4.0, 2.7, 0.53, 0.34 and 0.15 mega base pairs (Mbp), designated replicons I to V respectively. The *tft* genes are located on smaller replicons: the *tftAB* cluster is on replicon IV, *tftEFGH* is on replicon III while copies of the *tftCD* genes are found on both replicons III and IV. Strain AC1100 is capable of removing large amounts of 2,4,5-T from 2,4,5-T-contaminated soil and restores the soil condition. *B. cepacia* strains are also useful for application as biopesticides. Many strains of *B. cepacia* are, however, pathogenic and are often isolated from the lungs of cystic fibrosis patients or patients suffering from chronic granulomatous disease. Thus there is great concern that release of *B. cepacia* in an open environment may greatly enhance and magnify the infection process. There is a need to assess the pathogenic potential of bioremediating organisms such as *B. cepacia*. Approaches to this effect will be discussed.

(4) The total genome of *thiobacillus ferrooxidans* (gapped) versus partial, gapped and complete genomes of other environmental microbes, and mercury phytoremediation using bacterial genes in higher plants.

Simon Silver

Department of Microbiology and Immunology,

University of Illinois,

Chicago, Illinois USA

(平成 12 年 7 月 7 日)

The first completed bacterial total genome was released less than five years ago, and there are currently almost 50 complete genomes available in open Internet sites, with perhaps four-times that number either complete but not-available (mostly held by commercial interests) or more often partial (frequently Aessentially complete@, which more than 90% of the total sequence available). Of the 31 complete genomes available on <http://www.tigr.org/http://www.tigr.org> or the 234 complete or partial annotated genomes listed on <http://wit.integratedgenomics.com/WIT2.FE/> about half are for environmental microbes of interest and the other half for pathogens. There is currently an active discussion of the relative merits of using approximate the equivalent effort and cost for 10 essentially complete or Agapped genomes@ versus one complete genome. This discussion is basically similar for the April 2000 release of a gapped version of the *Drosophila* genome as it is for human an for microbes. The first released total human genome (which is projected to be released before the end of this year) will contain approximately 100-thousand remaining gaps.

The newly published genome of the biomining bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*, <http://www.integratedgenomics.com/FE;>><http://www.integratedgenomics.com/FE/>www.integratedgenomics.com/FE; E.Selkov et al. 2000. Functional analysis of gapped microbial genomes: amino acid metabolism of *Thiobacillus ferrooxidans*. *Proc National Acad. Sci. USA* 97: 3509-3514 will be presented in terms of information content, analysis and the more general question of future genome studies. The *T. ferrooxidans* genome is approximately 96% complete, with 2612 kb of sequence available and approximately 100 kb remaining in 1350 gaps, that are on average estimated to be about 75 bp each. 2712 predicted open reading frames (OFRs) were found and 2159 of these were assigned predicted functions, using newer and more powerful analytical software plus the rapidly increasing available data based of complete and partial genomes. Probably 99% of the total *T. ferrooxidans* genes have been obtained at this stage, with error rates for identification and assignment indistinguishable from that of published complete genomes of *E. coli* and *B. subtilis*. With remaining time, we will briefly update progress in using bacterial genes for “phytoremediation” of mercury pollution in soils, with two genes found in Minamata Bay isolates, those for mercuric reductase and organomercurial lyase, now adapted to poplar trees and cleaning both methylmercury and inorganic mercuric from soils.

(5) 地域からの情報発信と博物館 — 環境情報センターに期待される役割とは何か —

京都精華大学教授 嘉田由紀子

(平成 12 年 8 月 1 日)

日本各地に博物館、水族館などが盛んに建設される中、環境に関する情報センターに期待される役割について、琵琶湖博物館の構想段階から関わってきた経験を基に述べる。

1. 問題を巡る認識のズレ

環境問題の認識の仕方は、専門家と素人では異なる。専門家は数量化し、数値に基づく合理的判断をしようとするのに対し、素人は問題の中身は理解できなくても感性として直接的なリアリティで判断する。また、専門家の場合、判断の際に学会内での評価に依存する傾向があるのに対し、素人は社会的常識で判断する。情報センターを創っていく際に先ず考えるべきはどちらのアプローチをとるかということ。全体としては両方必要だろうが、今までの多くの行政がつくる情報センターは圧倒的に「科学者」認識に寄っていた。

博物館や情報センターに期待される役割として、普及活動や教育・啓発活動がある。「普及・啓発」という言葉自体が、実は、中央から周辺へ、上から下へとといった一方向の流れを連想させるが、琵琶湖博物館では「交流」として、双方向のやりとりを重視している。利用者との間で知識や情報を交換し、語り合う場を設け交流することにより情報や知識の双方向の流れを作り出すことが、これら施設を成長、発展させる上で重要ではないか。

2. 博物館を取り巻く人々 — “その気様”と“ついで様”

博物館には専門家、学生、教育関係者、旅行者など実に様々な人々が訪れる。これらの人々がいつ、どのようなルート（例えば、ロコミ）で、何を求めてくるのかを把握することが重要である。明確な目的を持って来館する“その気様”と異なり、特段の関心事を持たず観光などのついでに訪れるような“ついで様”の関心を引き起こすような展示も必要である。科学的情報だけでは、ついで様の興味はひかない。

3. 公害・環境問題のもつ特殊性、表現の難しさ

博物館は、「公害・環境問題は負の歴史か、正の歴史か?」、「近代社会に内包される公害・環境問題とは何か?」といった問に対する対立する意見を“そのまま”表現する場であり、判断は来館者自らが行うもの。

4. 博物館、資料館等の運営の原則

価値のある資料や情報は「人」に乗って（人が運んで）来るものであり、“発信と受信”は相互補完的な関係である。双方向の情報にこそ新しい価値がある。人はハコ（博物館の建物）には感動しない。特に、負の歴史については建物の立派さはマイナス点ともなる。

5. 展示について — 1 人称の展示は可能か? —

展示の企画に当たっては、定説の押しつけをしない、対立する意見の表明、プライバシーの尊重などへの配慮が必要。1 人称での展示はリアリティーがある。来館者の共感を育む仕掛けや仕組み（例えば、展示物に触れることができる）が重要ではないか。

(6) 熊本県保健環境科学研究所の事業内容の紹介（国水研との交流の為）

熊本県保健環境科学研究所 所長 橋本 朗

（平成 13 年 2 月 8 日）

近年、私達を取り巻く保健・環境の状況は、社会経済の成熟化、医療技術の進歩などに伴うライフスタイルや価値観の多様化などによって著しく変化し、研究所は県民の健康や生活環境についての新たな課題への対応が求められている。研究所は、こうした県民のニーズに的確に応え得る専門的で高度な施設設備及び試験、検査研究用機器類を備え、他の試験研究機関との連携、国際化時代に対応した国際協力等を積極的に推進し、21 世紀に向けた本県の保健並びに環境科学分野の中核的試験研究機関として、その役割を果たしている。

組織は、微生物科学部、生活化学部、大気科学部、水質科学部、地下水科学室と総務課の 4 部 1 室 1 課からなる。微生物科学部は、伝染病や食中毒を始めとする各種感染症の原因となる細菌やウイルスに関する試験検査や調査研究を行い、感染症の原因究明と予防に努めている。その他、県民の保健に役立つ検査、研究を行っている。生活化学部は、健康で安全な生活ができるように、食品中の残留農薬、合成抗菌剤、食品添加物、PCB や水銀などの有害化学物質をはじめ、洗浄剤や衣類食器等の生活用品に含まれる有害物質や医薬品等日常生活に密接に関係のあるものについて試験検査や調査研究を行っている。大気科学部は、大気環境質の実態を把握し、良好で快適な大気環境を保全するため、大気中の汚染物質、悪臭物質、未規制の有害化学物質等の調査測定を行っている。また、環境放射能水準調査を実施し、全国的な基礎資料の集積に参加している。このほか、地球的規模の環境問題を含む様々な試験検査や調査研究を行っている。水質科学部は、河川、海域等の公共用水域の水質を保全するために、利水目的に応じた環境基準が、また工場排水については排水基準が定められている。これらの水質については、生活環境の保全に関する生活環境項目、人の健康の保護に関する健康項目や特殊項目、さらに河川に生息する底生生物によって水質の汚濁を判定する方法等を用いて、水質検査や調査研究を行っている。また水質科学部では、本県が 80%（熊本市では 100%）を地下水に依存しており、全国でも類を見ない程豊富で良質の水に恵まれた大変特色のある地域であるため、地下水科学室を設け、将来とも、豊富できれいな地下水を確保できるように「質」と「量」の両面から、試験検査や調査研究に取り組んでいる。

(7) 疫学研究とコンピュータ

東京都老人総合研究所 情報科学 水野正一

（平成 13 年 3 月 2 日）

はじめに

近年のコンピュータなかでもパソコンの能力の進展には目を見張るものがある。IT、情報社会の到来に象徴されるように、通信と Communication の手段として欠かせないものになった。情報（データ）の蓄積、管理、解析、評価等の面から応用面を検討したい。

情報処理技術の開発と応用

情報（データ）にある処理を施して姿を新しくした場合、そこに付加価値が生じたかどうかの問題に

なる。また、実際面から、作業量が無理のないものであることも重要となる。

(処理)

情報 → 情報

疫学研究におけるデータは、出来上がってから評価を受けるまでに、時にずいぶんと長い時間を要する。生活習慣の健康影響を検討した地域住民 40 歳以上、265,000 人を対象とした平山コホート研究は、1965 年から 20 年近くの follow-up がなされ、その情報の評価、再評価は現在も続いている。一方、年齢の若い層では、旧国鉄職員 5 万人（25 歳から 60 歳）が 1975-1982 年より 1985 年まで follow された疫学データがあり、情報のリンク（メタアナリシス）による評価が期待されている。

文献情報の整備に関して：IT 社会は目次の文化とよく言われ、見出しや表題が展開する。目次より original page に展開する技術は、文献のマイクロフィルム的な管理を想定すれば分かりやすく、近年この種の作業がより容易となった。

統計的な見方

個々人の値をその個人の属する母集団の平均値から相対的に観て以下のように書くと（個人の値－母集団の平均値）はいわゆる個性の部分であり、この量は、正規分布を仮定すると、母集団の平均値とは独立な概念になる。

$$\text{個人の値} = (\text{個人の値} - \text{母集団の平均値}) + \text{母集団の平均値}$$

喫煙者の肺がん生涯リスクは、上記データから、10 人に 1 人程度と推定され、喫煙者がすべて肺がんになるわけではない。近年のポストゲノムの動きは、この個性の部分にせまろうという動きとも解釈でき注目される。

(8) チッソ付属病院の故細川先生とネコ実験

てらもと総合福祉センター 小嶋 照和

(平成 13 年 3 月 26 日)

私は昭和 25 年熊本大学医学部・専門部を卒業し、細川一先生（付属病院長）のお誘いで昭和 27 年 1 月、チッソ付属病院に入社致しました。当時、水俣には市立病院がなく、チッソ付属病院が地域の核として機能していた時代です。入社して 3 年目の昭和 30 年 1 月から昭和 35 年 3 月の期間、細川先生の取り計らいで熊本大学医学部・公衆衛生学教室（教授 喜田村正次氏）に研究生として入り、教授指導のもと学位論文『水俣病に関する実験研究』を提出することができました。

昭和 31 年 4 月 21 日、チッソ付属病院小児科に水俣湾に面する月浦地区より 5 歳の少女が運び込まれ入院となり、更に 8 日後にその妹も同じ症状を起こして入院しました。小児科は野田兼喜先生と柿田俊之先生でした。細川先生と野田先生との相談の結果、水俣保健所に病気発生を報告すると、それから忙

しくなりました。チッソ付属病院の奇病担当者として細川先生をはじめとして内科より三隅彦二先生と私、小児科より野田兼喜先生と柿田俊之先生、外科より大島一郎先生、以上6名がいろいろな事例、調査研究に励みました。

患者発生を地図の上で見ますと、水俣湾を囲むように明神地区、月浦・出月地区、茂道地区に大別できますが、全ての地区が湾と関係あるように思われます。チッソの排水溝は百間地区ですので、工場に疑いの目を向けるのは当然だと思います。当時、月浦・出月地区は蜜柑の栽培が盛んでしたので、私は水俣産蜜柑は殆どこの地区と考えまして蜜柑の農薬をも一応考慮に入れて自分で検討しましたが、これとは関係ないと結論を出しました。又、細川先生は熊本大学だけでなく日本中の英知を集めてもらって早く病気の原因をつきとめたいとの強い願望から日本医事新報に小論文を発表されました。

当初、チッソ付属病院の実験は、水俣保健所長・伊藤蓮雄先生のネコ実験を細川先生が見られて病院でもやろうということから始まりました。始めの頃は予算もなく、実験に供する動物も家ネズミを捕獲して10匹位から始め、又チッソ生協で猿が不要になったとして猿を飼育しましたがそのうち会社内に技術部と病院との共同研究という体制ができ、猫や魚介類等の購入は会社の庶務係の役割となりました。技術部は分析、病院は猫実験をやるというもので飼育係が工場従業員を4~8名病院に派遣してもらい、一緒に実験を担当致しました。実験棟を作ってもらい、種々な実験を行うことができました。実験材料としては、一眼レフカメラ・8ミリ撮影機（弁当箱と称して、一眼の定焦点のもの）などがありました。又、飼育係により1名事務専門職として次のようなことを実行させました。猫購入の年月日、猫の経路の記録、一週間くらい普通食で飼育して実験に耐えられるかの選別、実験猫に番号をつけること、又資料として魚類の種類・重量・産地の記録、百間港内の泥土（採取年月日・採取地点等）を全て大学ノートに記載せしめました。後でネコ台帳なるものがありますが、それは私の研究目的の為に大学ノートを毎日見ることが出来ず、また分類も出来ないので私用として台帳をつくり利用しました。昭和34年初頭かと思います。その台帳を見て飼育係がこれは便利だから別に作成しても良いかというので許可を与え、その結果作成されたものです。

又、飼育係は猫の解剖（脳・心・肝・腎の臓器摘出）を大島先生より私に、私より飼育係に教示して、後には殆ど飼育係2名で出来るようになりました。又、猫の祟りは怖いという者もでましたので、盆・正月には僧侶に頼みまして慰霊祭を実施するように致しました。私達が使用したネコは約1000匹位で他にラットも相当実験に供されたと思われます。水俣保健所長は熊大の先輩になるのでいろいろと教示を受けました。ある日突然伊藤先生が私に用事があると見えまして。「動物実験に必要なだからチッソ生協にでている8ミリシネ（エルモ製ターレット型）を何とか購入したいので世話をしてくれないか」との事でしたので、私が生協の幹部に頼んで、購入してもらいました。私も後で同型のものを購入して、家族のレクリエーションや実験に使用致しました。衛藤先生にお届けした資料のシネも全部私個人のシネで撮影したものです。私がチッソを退職するに際して水俣病実験資料、弁当箱で撮影したシネ、ネコ台帳及び大学ノート等すべて病院内飼育係に渡して参りました。

ヒバリガイモドキを実験に供した経緯について：湾内での魚類の漁獲が一定せず、天気の影響で不漁の時も考えられるので、ヒバリガイモドキに注目されたのが上妻技術部次長でした。気さくな方で、然も博識で病院の若手を可愛がってくれました。私には医学だけでなく雑学のすすめもありました。ヒバリガイモドキの利点を挙げると地域ごとに大量採取でき、煮干しのように加工すれば保存もきくし、四季別にも採取できるのでこれに決定した訳です。各研究者より資料請求があったので封筒一杯分だけ分

けてあげました。一度、多量の希望で多量に分与したところ資料がなくなり、細川先生より叱られましたので、封筒一杯分と決めるようになったのです。

ネコ 400 号と H I 実験について：病院側と技術部との実験方法を協議したときに、大島先生よりいろいろ決めずに各係排水を飲ませたらどうかという意見がありました。各係排水を飲ますとなれば非常に多数のネコが必要となり、水俣病は魚介類を介して起こる中毒性疾患であるとの認識が強かった点、又、係排水中に生命に対する毒性危険性が不明なのに、実験途中で死亡してしまつては困るという理由にて見送りになった経緯があります。

アセトアルデヒド製造工程の排水の直接投与は細川先生自身の極秘実験でした。ある日実験棟内を見回っていたとき、眼に飛び込んできたのが係排水投与 a:398 号 と b:400 号でした。飼育係よりやっと聞き出したところ、先生だけの実験と教えてくれました。そして、先生の機嫌の良い時を見計らって直接お尋ねしたところやっと重い口を開いて次のように述べられました。それは「若い人や、皆に迷惑がかからないように私の責任でやっています」とのことでしたのでびっくり仰天致しました。やがて 400 号は発病しました。この 400 号の実験の取扱いが後で問題になりましたが、このことは細川先生と市川技術部長との相談の結果、細川先生の裁量で決まったと聞いています。発病が 1 例でしたので季節的にも漁業問題、チッソに対する風当たりが強い当時でしたから先生も余計に慎重になられたと思います。そのうちに病理所見を依頼しました九大・遠城寺先生よりの病理所見が送付されました。「水俣病に非常によく似ていますが、断定しかねます」とのことでした。

H I 実験は細川の H と市川の I をとって、H I 実験と命名して昭和 35 年 8 月よりネコ 655 号・658 号・659 号・660 号・690 号・701 号・716 号・717 号・734 号の 9 例を用いて行い、所期の成果を収めました。この実験はネコ 400 号実験の再確認の意味がありました。このうち実験例 717 号がいろいろの経緯で衛藤先生の手元にあります。実験や観察記録は細川先生と相談しながら私が記録しました。その記録は全て衛藤先生にお渡ししてありますので研究センターで役立てていただければ幸いです。このセミナーを開催してくださった所長滝澤先生・衛藤先生その他研究員の皆様方には厚く御礼申し上げます。

(9)「国立教育・研究機関における研究のあり方」

熊本大学学長 江口吾朗

(平成 13 年 3 月 27 日)

研究は、たとえば新素材を開発するとか、新薬を創成するとかの、目的が利を生む極めて明確な、謂ば目的達成型の研究と、事象の理をひたすら追求する原理追求型に大別できよう。いずれにせよ、およそ研究という業は、それが行われる場に関係なく、その在り方は不変不動であろうと考えます。一定の課題を解決するために、最も有効な方法論を導入し、計画を着実に実施することで、然るべき成果を得ようとするのが研究であります。したがって、研究に携わる心根や態度といったものに、私的機関であろうと公的機関であろうと、差異がある筈はありません。

しかし、公的機関にあつては、研究を行うのに必要な資源は公費、すなわち税金であることを研究者

は常に念頭に置くことが肝要であります。納税者には、公費が如何なる目的の研究に如何に使われ、それによって如何なる成果が得られたかを知る権利があり、公的機関の研究者には自己の研究について可能な限り情報を開示する義務があります。

現今問われている評価の問題もこの点と深くかゝわっていると言えましょう。つまり、研究者、ことに国立大学や国立の研究機関に身を置く研究者は、自己評価を怠ることなく常に問題を意識し、自己の研究の位置付について考える努力が求められているのであります。

とは言え、応用価値の高い、端的に表現すれば、利に直結する研究のみが重視されるようなことが横行しては、20年、30年先に必要となる新技術を創造することなど望むべくもありません。目的達成型の研究と同時に、地道な原理追求型の研究をも着実に積み重ねていくことが、ことに技術に依って立つしか業のない我が国にはとりわけ必要なことであります。そして、文化とか知的活動に資金を提供する習慣が欠如している我が国では、しばらくの間は、原理追求型の研究は国立大学や国立研究機関が中心とならざるを得ないであろうと思うのであります。

(10)「放射線でがんのできる線量、がんのできない線量」

副題：放射線発がんにおけるしきい値線量存在の検討

国立がんセンター客員研究員 田ノ岡 宏

(平成13年3月28日)

放射線発がんのデータをていねいにしらべてみると、低い放射線量の領域では発がん率の上昇がみとめられなかったり、発がんゼロのレベルがかなり高い線量まで続きそこからはじめて上昇しはじめる例や、さらに放射線のないときよりも少量の放射線によって発がん率が一旦低下するような例がみられる。これは、いかに少ない線量でもそれに応じて発がん率が上昇するという直線型しきい値なしのモデルに反するものである。しかも現在の放射線防護規制の基準はこの直線モデルにもとづいて構築されているので、放射線防護の基準はますます厳しくなる一方である。この事情をふまえて放射線発がんの基礎データを整理しなおしてみた。その結果は近々発刊される国際誌(International Journal of Radiation Biology)に発表されるが、この機会に紹介し、放射線の発がんリスクを考え直してみたい。

まず、放射線発がんのデータは大きく分けて、1)一回急照射の場合、2)ゆるやかに徐々に照射をうける場合、3)さらに生涯にわたって慢性とにうける場合と大きく三つに分けられる。これは、線量率効果として認識され、損傷が一気に与えられる場合と少しずつ与えられる場合とでは生体の反応、すなわちDNA修復効率、損傷細胞除去(アポトーシス)効率、免疫応答が異なるからであると考えられる。さらにこの効果は、全身被曝の場合と、身体の部分被曝の場合とでは異なり後者により強く現れる。以上の状況をさらに放射線の電離密度の低い(低LET)場合と高い(高LET)場合とに分けられる。放射線の発がんリスクとは以上の各々の場合をきちんと整理したうえでないと論じることはいえない。

ここで放射線をどの程度まで与えるとがんが発生しはじめるのかを表すために、動物実験や疫学データでがんの増加がみとめられない最高の線量を Non-Tumor Inducing Dose(Dnt)と定義した。この値は生体

の耐性を表す指標とみてよい。Dnt の値は上記の照射条件によっていろいろに変化する。

X線やガンマ線のように低 LET 放射線の全身一回照射のデータはもっとも多く得られていて、動物やがんの種類を総合的にみても、Dnt は 0.1Gy 近辺に集中し、上限 1Gy あたりまで分布する。このとき白血病のデータが最も多い。慢性被曝の場合は Dnt 値はひとけた大きくなる。すなわちもっと多量の放射線に耐えられるようになる。このことは原爆のがんデータを日常作業のがんリスクの推定に用いる場合に留意しなければならないことである。部分被曝の場合は、耐性はさらに大きくなり Dnt 値は全身被曝の場合にくらべて一桁高くなる。以上の傾向は高 LET 放射線の場合もみられている。ただし、この場合には、DNT 値は一桁低くなり、高 LET 放射線に対する耐性が低くなることを示す。注目すべきは、高 LET 放射線には線量率効果がないとされてきたのに、データをよくみるとそれが存在することである。このデータは、アルファ放射性のラドンを生体ラットに吸入させて肺がんの発生率をみた実験やラジウムを体内にとりこんだヒトの骨肉腫の調査からえられたものである。これらの場合には、明らかに放射線発がんに必要な線量にしきい値が存在する。われわれがマウス皮膚にベータ線を生涯反復して照射して皮膚がん発生を観察した実験でも、非常に大きなしきい値線量が認められている。

以上からみられるように、放射線の影響は単に物理的線量からだけでは決まらない。生体の放射線をうける側の条件によって左右される。日常うけている放射線のリスクは従来考えられていたものよりは、はるかに低いものであろう。このことは放射線に限らず、化学物質についてもあてはまるものと思われる。

6. 客員研究指導記録

1. 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

客員研究員 嶋 昭紘（東京大学院新領域創成科学研究科教授）

飼育法について

メダカ個体のストックを現在の3倍程度まで殖やし、繁殖用個体群と実験用個体群に分ける必要がある。実験の際にはここから取った個体を掛け合わせるが、中に入れてからコンスタントに産卵するようになるまでにはおよそ1週間程度必要となる（6月の場合）。毎日産まないペアは外のストックから採ったものと入替え、常にコンスタントに卵が得られる状態にしなければならない。また、室内でのペアリングは1~2ヶ月が限度である。この期間を過ぎると産卵数が減少するので、その場合は外の集団に戻して1ヶ月程度飼育すると回復する。

実験法について

投与に際しては、10mlの溶液を入れた25cm²フラスコ中に2尾の個体を入れ、暗黒、恒温の条件下で処理を行う。ただし、長期曝露の影響を見る際の処理法については別途考慮する必要がある。最初は少数でも良いが、慣れてきたら1度に70ペア程度処理して、短期間に集中的に実験を行うのが望ましい。また、一度実験に使用した個体は再び使用してはならない。

変異体が出た場合には、変異の種類についても検討すべきである。また、マイクロサテライトを見る際には戻し交配を行うので、得られた変異体はできるだけ保存すべきである。得られた変異の数が数個では有効な結果とはいえない。少なくとも二桁は必要である。

2. 液状バイオマス処理のための高度な微生物制御技術に関する基礎研究

客員研究員 内山 裕夫（国立環境研究所 水土壤環境部）

高濃度の水銀に長期間汚染された水俣湾では、種々の水銀化合物に耐性のある水銀耐性菌の割合や、これらの水銀化合物を揮発性の金属水銀蒸気に変換・分解できる水銀分解細菌の出現頻度が水銀汚染のない対照地点に比べて、かなり高いことが明らかになった。特に、水俣湾底質から分離した1428株の細菌のうち、19株の細菌は、使用した7種全ての水銀化合物を分解したが、対照地点の3176株では、このような分解パターンを示す細菌は存在していなかった。これらの細菌は、水銀汚染により何らかの遺伝的な変化を受けて、水銀汚染環境で特異的に出現して来ているものと思われる。

細菌の水銀分解遺伝子は、*merR*, *merT*, *merA*, *merB*などで構成されている。2価の水銀イオンは、細菌の作る酵素レダクターゼにより揮発性の水銀蒸気に変換される。メチル水銀や酢酸フェニール水銀の場合は、最初に、*merB*の産物であるラーゼが水銀と炭素の結合を切り、結果として生じた2価の水銀イオンを先程同様にレダクターゼにより揮発性の水銀蒸気に変換される。この様に、細菌は、水銀

化合物を水銀蒸気に変換し、自分の生息している環境から除去していることが明らかになっている。本研究では、水俣湾の特殊な水銀分解細菌の水銀分解遺伝子の構造等を研究し、水銀汚染によりどのような遺伝的变化が起き、どのようにして水銀分解細菌が出現してくるのかを明らかにすることを目的に研究を行っている。

水俣湾海水から採取した *Pseudoalteromonas* 属細菌 M-1 株の水銀分解遺伝子は、*merR-merT-merP-merC-merA-merD* で構成されており、*Shigella* 属細菌由来の Tn21 上の *mer* オペロンと、その構成が非常に類似していることが明らかになった。しかし、M-1 株は、メチル水銀などの有機水銀を揮発できるが、*merB* 遺伝子は、このオペロンの近くにはなく、別の有機水銀を支配するオペロン上に位置しているものと思われる。

また、*merR* の上流には、II 型のトランスポゾン上に見出される転移因子の一つ *resolvase* をコードする遺伝子 *tnpR* と高い相同性を示す配列が見出された。このことより、M-1 株の *mer* オペロンは、II 型のトランスポゾン上にいちしているものと推定された。

このことは、水銀汚染の起こった水俣湾においては、水銀耐性および水銀揮発化遺伝子の伝播は、プラスミドでなくトランスポゾンにより行われていることが示唆された。

3. メチル水銀毒性の細胞種依存性についての放射線生物学的研究

客員研究員 岩城 徹（九州大学大学院医学研究院教授）

メチル水銀の毒性発現は臓器や細胞の種類によって異なっており、メチル水銀の細胞種による感受性の違い及びその機構を解明することを目的とする。

本研究においては九州大学岩城研究室より 2 種類の human neuroblastoma と human glioblastoma, human glioma および rat glial cell tumor の 5 種類の神経系、非神経系細胞の供与を受け、培養技術、毒性試験等の指導を受けた。

その後、これらの細胞の内 human neuroblastoma と human glioblastoma についてメチル水銀感受性を求め、両者の間で大きな感受性の違いがあることを確認した。

さらに他の細胞についての毒性テストを行い、感受性の違いの機構解明を共同研究して行く予定である。

4. 新潟水俣病剖検例と熊本水俣病剖検例の比較検討

熊本水俣病患者の末梢神経病変についての考察

客員研究員 高橋 均（新潟大学脳研病理教授）

水俣病患者に認められる四肢末梢の感覚障害の責任病巣は、感覚中枢である大脳中心後回にあるとする説がある。最近、国立水俣病総合研究センターの衛藤および東邦大学医学部の秋間らは、コモン・マーマーセットにメチル水銀中毒症を惹起させる実験を行い、神経病理学的見地からその中枢責任病巣説に

反論する研究を報告した。これまでも、コモン・マーモセットを用いたメチル水銀中毒症では、その病変はヒト水俣病病変によく類似しているとの報告がある。本報告では、その衛藤・秋間らの実験を紹介し、私の見解を述べたい。

以下、衛藤・秋間らの実験について述べる。実験動物は等モルの塩化メチル水銀とグルタチオンを溶解した給水（5ppmHg）で曝露した。血中水銀濃度を1週間おきにモニターしながら、8~10ppm前後を保持しながら発症させた3匹（Ⅰ群）、急性発症直前の1匹（Ⅱ群）、急性発症後の慢性経過2匹（Ⅲ群）および対照4匹を対象に、脊髓末梢神経の光顕標本および電顕標本を作製して検討した。Ⅰ群の脳および小脳病変は極めて強く、本群の脊髓末梢神経では、前根神経、後根神経共に軸索の膨化腫脹にあり、後根神経の線維脱落がより強く、ボディアン染色で軸索の数珠玉状変化を認めた。電顕的にも軸索の変性・崩壊と髄鞘の渦巻き状変化および崩壊した髄鞘を貪食したマクロファージが多数見られた。Ⅱ群の脳・小脳は浮腫を呈しており、鳥距野に軽度グリオーシスを認めたが、小脳皮質は保たれていた。脊髓末梢神経はボディアン染色で軸索の数珠玉状変化が見られた。Ⅲ群の慢性経過例には重症例と軽症例があるが、脊髓末梢神経にはボディアン染色で微小軸索の増加が見られた。電顕的には、無髄神経線維の増加と膠原繊維の増加を認め、ヒト水俣病の病変と類似していた。コモン・マーモセットにおけるメチル水銀中毒では、明らかに末梢感覚神経の傷害が認められた。これらの脊髓末梢神経病変の観察においては、縦断切片のボディアン染色が最も有効と考えられた。

最近の知見で、チッソ水俣工場からのメチル水銀排出の最大の原因は、アセトアルデヒド製造工程における助触媒の変更に由来することが判明した。すなわち、1951年に従来用いられていた二酸化マンガンを硫化第二鉄に変更したために、塩化メチル水銀が多量生成されたことを、西村 肇氏が発見したのである。以来1968年の排水停止まで17年間水俣湾は高濃度のメチル水銀で汚染され、単なる食物連鎖によるものではなく、直接魚介類の鰓や消化管に取り込まれていたのである。熊本水俣病はこのようなメチル水銀の「長期高濃度曝露」による中毒症であり、この点、新潟水俣病あるいは諸外国のメチル水銀中毒とは異なった曝露状態であるといえる。熊本水俣病患者の末梢感覚神経には神経線維の脱落などの明らかな病変が見られる。今回の衛藤・秋間らの実験は、この「長期高濃度曝露」という概念に基づき、ヒトの末梢感覚神経病変をマーモセットで再現したものと理解できる。

5. 次世代影響に関する生殖学的実験研究

客員研究員 李 賛東（中国農業大学・生物学院）

鳥類の始原生殖細胞（primordial germ cells: PGCs）は、胚の発育初期に出現し、組織内又は血流を介して生殖隆起に移動して定住した後、増殖して最終的に精子または卵子に分化することが知られている。そのため、PGCsはトランスジェニック鳥類の作出、希少鳥類の増殖研究、あるいは次世代に対する生殖毒性影響評価に都合の良い実験モデルになっている。ここでは、鶏初期胚の血液からPGCsを分離・採取し、それを地位語句の在来鴨である麻鴨（マヤ）の初期胚の血管に注入して鶏・鴨キメラの作出を試みた。手法としては、白色レグホーン種をドナー、マヤをホストとして使用した。白色レグホーン種の受精卵を孵卵器に入れ、温度38℃、相対湿度60%、回転角度90度/30分一回転の条件下で約

50時間培養した後、胚の周縁静脈より PGCs を含む血液を採取した。次いで、この血液を72時間培養したマヤの初期胚の血管に注入して、上記の条件下で29日間培養を続けた。なお、鴨のW染色体の特異的プローブを用いて、培養中に死亡した胚の主要臓器について、*in situ* ハイブリダイゼーションを行って鶏由来の PGCs の分布を調査した。これについて、鶏の PGCs を107個のマヤの初期胚に移植したところ、8羽の雛が得られた。現時点で、これらの鴨は性成熟に達しており、後代検定を行っている。また、*in situ* ハイブリダイゼーションを行った結果、心臓、肝臓、筋、胃、脳、肝臓および性腺に鶏由来の細胞がそれぞれ検出された。これらの臓器のうち、鶏由来の細胞は、性腺に次いで腎臓で多く見られたが、脳では少なかった。

このような結果は、鶏と鴨のような遺伝的距離の比較的に遠い種の間でも、PGCs を利用した生殖腺キメラが作出できる可能性を示唆している。また、希少鳥類の増殖あるいはトランスジェニック家禽の作出、さらに次世代への毒性影響評価法への応用面での有用なモデルとなるものと思われる。

6. 哺乳類（霊長類）を用いた毒性検定法の開発業務

客員研究員 揚山 直英（社団法人 予防衛生協会）

昨今、医学実験において、霊長類を用いた様々な実験系が増加しつつある。しかしながら、サル類は人に最も近縁の動物であるため人との共通の感染症を多く保有し、エボラ出血熱、マールブルグ病など最重要感染症の感染源の可能性があり、また、Bウイルス病、黄熱の自然宿主であるほか、結核、細菌性赤痢の重要警戒動物であることを理解しておく必要がある。また、それらの病原体は動物において発症しているものばかりではなく、潜伏し、様々なストレス（検疫、馴化期間におけるリケージング、免疫抑制等の実験処置）等により、惹起される場合があることを認識しておく必要がある。今回、それらサル類の Zoonosis を紹介すると共に、筑波霊長類センターの繁殖コロニーにおいて認められる症例の報告等も併せて行う。

また、霊長類を用いた毒性検定をはじめ様々な研究が厚生省霊長類共同利用施設において行われているが、それらの実験の中から遺伝子治療のベクター評価・移植免疫学等の研究に用いらてれる「霊長類を用いた造血幹細胞移植モデル」を以下に紹介する。

造血幹細胞の唯一の測定法は、移植実験により *in vivo* の長期的造血再構築能を確認することである。そこで NOD/SCID マウスやヒツジ胎仔への移植が行われている。しかしこれらは異種移植であり、造血幹細胞の動態を必ずしも正確に反映しない可能性がある。それに対してサルを用いた造血幹細胞自家移植法は、ヒトに遺伝学的に近い系であり、本来の造血幹細胞の動態を調べる上で有望な方法である。今回、確立されたカニクイザルの自家造血幹細胞移植法はマウス等とは異なる大型動物特有の造血幹細胞生物学を明らかにし、造血幹細胞遺伝子治療におけるベクターの有効性、安全性の評価、また、移植免疫学の実験モデルとなることが期待される。

7. メチル水銀の乳・胎児期別リスク評価

客員研究員 窪田真知（宗像水光会総合病院産婦人科医師）

我々は、「母体からのメチル水銀を中心とする有害重金属移行の胎児、乳児期別リスク評価に関する研究」を行うにあたって、以下のような説明書を作成し、また同意書（印ホームド・コンセント）の検討を行い検体採取を進めている。

（説明書）胎児期には胎児は母親から“へそのお”を介して胎児の成長に必要な栄養分や酸素を取りこんでいます。また、乳児期には乳児は“母乳”を介して栄養等を取り込んでいます。ところが、厄介なことにメチル水銀を始めとする有害な物質も“へそのお”や“母乳”を介して胎児や乳児に移行すると考えられています。新潟でメチル水銀に汚染された魚を食べて“水俣病”が起こったときなど、母親は母乳を与えるかどうかでかなり迷ったと聞いています。しかし、最近、私達の研究所の動物実験で胎児期にはメチル水銀は母親から胎児に移行しやすいが、母乳からは殆ど移行しないという結果が得られました。すなわち、同じように母体からの栄養に依存しているけど、胎児期と乳児期では有害物質の移行に違いが有るということを示唆しているのです。メチル水銀に関しては胎児期には注意しなければいけないが、母乳を与える事を必要以上に心配することはないのかもしれないかもしれません。胎児期と乳児期とはきっちりと分けて、それぞれの時期にどのような物質に注意を払うべきかをはっきりさせておく必要があるでしょう。そのためには、動物実験だけでなくヒトのデータがどうしても必要となってきます。

母親から胎児への有害物質の移行は母体血と“へそのお”の血液（臍帯血）で解ります。臍帯血は胎児側の血液で、本来なら廃棄処分されるものです。“へそのお”を切った後、軽く絞る感じで採取しますので、直接胎児から採取するものではありませんので、母子にその事で何ら苦痛を与えるものではありません。

母親から乳児への有害物質の移行は母乳を介して行われます。出産約3ヶ月後の母体血と出産前の母体血、また、臍帯血と乳児血を比べる事で、母体から乳児への有害物質の移行が推定できます。母乳中の有害物質も測定します。また、毛髪はメチル水銀の体内量を示す良い指標で、1ヶ月に約1cm伸びます。そこで、毛髪を生え際からいただいて、根っ子側から1cmずつ切って分析すると妊娠前、妊娠中、授乳中の体内メチル水銀量の動きが解ります。40本というと“そんなに”と驚かれるかもしれませんが、普通の洗髪でも10数本は抜けます。また、今回は後頭部から20本ずつ切らせていただくので決して切ったあとが目立つような事はありません。

子供さんからの採血は、私達も心苦しいのですが、刺針を繰り返すなどの無理な採血は決して行わず。スムーズに採血できた場合のみとさせていただきます。

以上の研究の主旨や検体の採取にご理解をいただき研究協力いただけますことをお願い申し上げます。

7. 国際フォーラム

本研究センター主催のもと NIMD Forum 2001-Mercury Research: Today and Tomorrow-を、2001 年 3 月 19 - 20 日、本研究センター国際協力棟およびもやい館にて開催した。本フォーラムの記録は Proceedings of NIMD Forum 2001 として本研究センターより刊行されている。

Agenda

- 1) Analytical technique for the evaluation of the environmental factors influencing the dynamics of mercury in aquatic systems with particular emphasis on tropical area.

Hirokatsu Akagi

Dept. of International Affairs and Environmental Sciences, National Institute for Minamata Disease (Japan)

- 2) The impact of mercury mining on the environment and human health

Milena Horvat

Dept. of Environmental Sciences, Institute Jozef Stefan (Slovenia)

- 3) A review on the investigations of mercury contamination using biological indicators along the Brazilian coast.

Monica Costa

Dept. of Oceanography, Federal University of Pernambuco (Brazil)

- 4) Mercury in fresh water systems – A synopsis

Justinian R. Ikingura

Dept. of Geology, University of Dar es Salaam (Tanzania)

- 5) Mercury species over Europe – MOE. project overview and highlights from atmospheric measurements

John H. Munthe

Dept. of Atmospheric Chemistry and Environmental Effects, IVL Swedish Environmental Research Institute Ltd. (Sweden)

- 6) Recent research on missing sources and sinks in the global Hg cycle: The role of the arctic as a sink

Steven E. Lindberg

Dept. of Environmental Sciences Division, Oak Ridge National Laboratory (USA)

- 7) The mercury bio-geochemical cycle: site specificity and data interpretation

Ricardo Melamed

Dept. of Coordination of Mineral Processing, CETEM-Center for Mineral Technology (Brazil)

8) Mercury contaminated sites – A review of remedial solutions –

Marcello M. Veiga

Dept. of Mining and Mineral Process Engineering, University of British Columbia (Canada)

9) Health effect – Epidemiology of chronic low-dose exposure

Mokoto Futatsuka

Dept. of Public Health, Kumamoto University School of Medicine (Japan)

10) The effects of aging on the neurological findings of Minamata disease patients and inhabitants of mercury polluted and non-polluted areas

Kimiyoshi Arimura

The Third department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Kagoshima University (Japan)

11) Effects of long-term and low-dose methylmercury exposure in the experimental mice

Hiroshi Satoh

Dept. Environmental Health Sciences, Tohoku University Graduate School of Medicine (Japan)

12) Research to improve mercury risk assessments

Ronald E. Wyzga

Dept. of Environment, Electric Power Research Institute (USA)

13) Use of modeling in mercury pollution studies with two case studies: Gulf of trieste and Yatsusiro sea

Rudi Rajar

Factory of Civil Engineering, University of Ljubljana (Slovenia)

14) Atmospheric Cycling of Mercury in Polar Regions

Ralf Ebinghaus

Dept. for Organic Trace Analysis, GKSS Forschungszentrum Geesthacht (Germany)

15) Mercury Environmental and Human Contamination in Brazilian Amazon: An Overview

Olaf Malm

Program of Environmental Biophysics and Radioisotopes Laboratory, Biophysics Institute Carlos Chagas Filho (Brazil)

8. 所内研究発表会記録

平成 12 年 9 月 26 日

「メチル水銀の発生期における細胞分化に及ぼす影響に関する研究」

—特に細胞分化におけるシグナル伝達に及ぼす影響に関する検討—

山元 恵

「安全と健康のための社会医学的アプローチ」

—リスクアセスメントと疫学研究を例として—

蜂谷 紀之

「メチル水銀中毒の神経系選択的障害についての研究」

—特に末梢神経病変について—

衛藤 光明

平成 12 年 9 月 29 日

「日米協定「低濃度メチル水銀曝露の影響評価」

—協同研究の意義とその戦略—

滝澤 行雄

平成 12 年 10 月 17 日

「培養株化哺乳動物細胞のメチル水銀感受性」

荒巻 亮二

「計算機の基礎について」

渡邊 正夫

「次世代生殖影響研究の現状について」

桑名 貴

「ヨウ化メチル水銀形成による生体試料中メチル水銀測定を検討」

中野 篤浩

平成 12 年 11 月 21 日

「外来患者の症例報告」

松本美由紀

「水俣地域の再生—社会学的考察から」

新垣たずさ

「メチル水銀中毒と免疫機能」

宮本謙一郎

「中国パセリと水銀」

村尾 光治

平成 12 年 12 月 26 日

「看護カウンセリングについて」

宮本 清香

「バイオマス有効利用における細菌による水銀の除去」

中村 邦彦

「水俣湾のモニタリングについて」

保田 叔昭

9. 客員研究記録

- (1) 東京大学大学院新領域創成科学研究科教授 嶋 昭紘
(疫学研究部 山口 雅子)
「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」

- (2) 国立環境研究所水圏環境部室長 内山 裕夫
(基礎研究部 中村 邦彦)
「液状バイオマス処理のための高度な微生物制御技術に関する基礎研究」

- (3) 九州大学脳神経病研究施設病理部門教授 岩城 徹
(基礎研究部 荒巻 亮二)
「メチル水銀毒性の細胞種依存性についての放射線生物学的研究」

- (4) 新潟大学脳研究所病態神経科学部門病理学分野教授 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) 新潟大学農学部家畜監理学研究室 李 賛東
(基礎研究部 桑名 貴)
「次世代影響に関する生殖学的実験研究」

- (6) 社団法人 予防衛生協会 研究推進企画部 研究推進企画室 揚山 直英
(基礎研究部 桑名 貴)
「哺乳類（霊長類）を用いた毒性検定法の開発業務」

- (7) 医療法人宋像水光会総合病院産婦人科医師
(疫学研究部 坂本 峰至)
「メチル水銀の乳・胎児期別リスク評価」

10. 共同研究記録

- (1) 九州大学大学院理学研究科教官 森 敬介 他
(国際・総合研究部 保田 叔昭)
「低生生物群集調査 (全国レベル) 甌島予備調査」

- (2) 国立環境研究所環境健康部環境疫学研究室主任研究員 田村 憲治
(国際・総合研究部 荒垣 たずさ)
「公害を経験した水俣地区住民の環境意識の変化」

- (3) 秋田大学医学部助手 蜂谷 紀之
(国際・総合研究部 赤木 洋勝)
「アマゾン流域における水銀汚染に関する研究」

- (4) 熊本大学医学部附属病院病理部検査技師 徳永 英博
(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」
「コモン・マーマセツトに対する低レベルメチル水銀の慢性暴露効果の研究」

- (5) 九州大学大学院理学研究科教官 森 敬介 他
(国際・総合研究部 保田 叔昭)
「低生生物群集調査 (全国レベル)」

- (6) 鹿児島大学理学部助教授 富安 卓滋 他
(国際・総合研究部 赤木 洋勝)
「水銀に関する環境科学的研究」

- (7) 熊本大学薬学部助手 島田 秀昭
(基礎研究部 安武 章)
「塩化メチル水銀の亜慢性・慢性暴露による生殖器官・中枢神経及び胎児への影響に関する基礎研究」

- (8) 東邦大学医学部病理学第一講座教授 秋間 道夫
(主任研究企画官 衛藤 光明)
「有機水銀の選択的障害機序に関する研究」

- (9) 国立環境研究所環境健康部環境疫学研究室主任研究員 田村 憲治
(疫学研究部 山口 雅子)
「毛髪水銀レベルの再検討」
- (10) 九州大学大学院理学研究科教官 森 敬介 他
(国際・総合研究部 保田 叔昭)
「低生生物群集調査 (定点観測地区第3次定量調査)」
- (11) 九州大学医学部外科学第一講座助手 水元 一博
(基礎研究部 荒巻 亮二)
「メチル水銀毒性の細胞種依存性についての放射線生物学的研究」
- (12) 北海道大学大学院薬学研究科医療薬学講座薬理学分野助手 上原 孝
(臨床部 宮本 謙一郎)
「メチル水銀中毒脳アポトーシスにおける一酸化窒素の障害機序に関する研究」
- (13) 埼玉医科大学薬理学教室教授 丸山 敬
(臨床部 臼杵 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」
- (14) スロベニア国リュブリアナ大学教授 Rudolf Rajar
(国際・総合研究部 赤木 洋勝)
「水俣湾及び鹿児島湾における水銀のマスバランスについて」
- (15) 鹿児島大学理学部助教授 富安 卓滋
鹿児島大学医学部公衆衛生学講座助手 安藤 哲夫
鹿児島大学大学院理工学研究科助教授 大木 公彦
(国際・総合研究部 赤木 洋勝)
「水銀に関する環境科学的研究」

11. 外国人長期共同研究等記録

- (1) Ricardo Bezerra ブラジル、パラ連邦大学 助教授
「メチル水銀の胎児影響」
6月10日～8月3日
- (2) Zhao Lancai 中国、衛生部工業衛生実験所 監督監測部長
「水銀と微量放射線(能)の環境負荷とその生体影響の認知基準化」
9月5日～10月8日
- (3) Wang Zuoyuan 中国、衛生部工業衛生実験所 監督監測部研究班リーダー
「環境試料の水銀測定および水銀の健康影響の評価」
9月24日～9月30日
- (4) Elizaveta Emanuilovna Graevskaya ロシア連邦、国立モスクワ大学 主任研究員
「培養哺乳動物細胞のメチル水銀抵抗性獲得に関する研究」
11月5日～2月5日
- (5) Milena Horvat スロベニア、ジョセフ・ステファン研究所 部長
Sonja Lojen スロベニア、ジョセフ・ステファン研究所 研究員
Ingrid falnoga スロベニア、ジョセフ・ステファン研究所 研究員
Martina Logar スロベニア、ジョセフ・ステファン研究所 研究員
「水銀に関する環境科学的研究」
11月20日～12月1日
- (6) Tord Kjellstrom ニュージーランド、オークランド大学 教授
「低濃度メチル水銀曝露の人体影響に関する日米ワークショップ」出席及び講演の為
11月26日～12月1日
- (7) Ana Trinidad Francisco-Rivera フィリピン、保健省労働保健部 環境・労働保健技士
Ailyn G. Manglicmot フィリピン、フィリピン大学 毒性分析技術者
「フィリピンにおける金採掘に伴う水銀汚染とその健康影響に関する共同研究」
2月15日～2月28日
- (8) Liu Li 中国、貴州省環境保護科学研究所 工程師
Shen Yuman 中国、貴州省環境保護科学研究所 助手
「中国・貴州省、清鎮市周辺における水銀汚染土壌の解析及び健康影響の有無の監視と土壌の再生に関する基礎研究」に関する共同研究
3月3日～3月29日
- (9) Rudolf Rajar スロベニア、リュブリアナ大学 教授
「水俣湾及び鹿児島湾における水銀のマスバランスについて」
3月5日～3月29日

12. 委員会報告

(1) 学術委員会

委員長 山元 恵
委 員 宮本 清香 新垣たずさ 藤田 佳久

本委員会は、本研究所主催の会合開催、および、客員・共同研究員、セミナー講師の招聘、所内研究発表会開催等の業務を担当している。

本年度は、2001年3月19-20日、本研究センターおよびもやい館にてNIMD Forum 2001を開催した。

所内セミナーにおいては10名の外部講師の先生方にご講演をいただいた。また、所内研究発表会では15名の所員が各自の研究紹介を行った。

(2) 図書・文献委員会

委員長 安武 章
委 員 仁科 英俊 臼杵扶佐子 渡邊 正夫

本年度は通常作業として、11年版雑誌の製本、要求単行本の審査、13年度購入雑誌の選定を行った。現在の蔵書は単行本3,164冊（和書2,405冊、洋書759冊）、受入雑誌313種（うち12年度受け入れ148種）である。

(3) 機器整備委員会

委員長 宮本謙一郎
委 員 赤木 洋勝 荒巻 亮二 中野 剛

本委員会は、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。今年度の答申に基づき、下記の6物品が購入された。1. 特注ダクトレスヒュームフード（オリエンタル技研）2. レブコフリーザー（朝日ライフサイエンス社）3. RI管理区域入退管理システム（千代田テクノル社）4. デスクトップX線解析装置 MiniFlex（リガク株社）5. サンゴ骨格自動切削装置（マシナックス株社）6. サーモグラフィー装置（日本電子株社）

(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	桑名 貴	
	仁科 英俊			

表記委員会は、動物実験施設の円滑な運営と各動物実験の支援を目的としている。本年度は 22 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、必要な場合には修正の上承認した。動物実験施設では年度途中、カニクイザルに B ウイルスの抗体が発見され、再検査の上感染ザルの薬殺処分を行った。この事故を切っ掛けにして、サルの飼育並びに実験領域の準 B-2 化作業を進めている。また、動物実験施設では、毎年年末に実験動物の慰霊祭を行っている。この慰霊祭は動物実験施設関係者だけでなく、全所的に多数の職員の方々からのお志により執り行うことになっている。毎年のものであるが、直接には実験動物と関係のない総務課や国際総合研究部からより多くのご寄付を頂いている。施設利用者は、感謝申し上げるとともに、認識を新たにして研究業務に励まねばならない。また、当施設の飼育管理等は（株）アニマルケアに委託されている。

(5) 動物実験倫理安全委員会

委員長	村尾 光治			
委員	坂本 峰至	安武 章	中野 剛	

動物実験倫理安全委員会は、動物実験施設運営委員会と連携して動物実験の円滑な進行を支援している。本年度は 22 件の申請があり、これらの実験計画や科学的妥当性・安全性・動物福祉性を当センターの動物実験倫理安全規定に基づき審査した結果、総べての申請が妥当と判断され承認された。

(6) RI 実験施設運営委員会

委員長	赤木 洋勝			
委員	村尾 光治	山口 雅子	中村 邦彦	
	久保 恒男	荒巻 亮二		

有機廃液焼却装置の改造に伴う変更申請が承認され、有機シンチレータの焼却が可能となり、現在当施設の維持管理を行っている千代田テクノル(株)に委託して定期的に焼却を行っている。また、管理区域への立ち入りについては、指紋照合式ドアロックシステムを採用して、RI 登録者のみ入室可能体制となった。

(7) 組替え DNA 実験安全委員会

委員長	中村	邦彦		
委員	久保	恒男	臼杵扶左子	坂本 峰至
安全主任者	桑名	貴		

本年度は、P1 実験 3 計画、P2 実験 1 計画について、それぞれ組替え DNA 実験が行われた。また、本年度も新たに、RI 研究棟のコールドラン室および I-3 室を P1 実験区域に加えた。

(8) 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	藤田	佳久	永井 克博	宮本 清香
	桑名	貴		

てらもと総合福祉センター小嶋 照和氏（元チッソ附属病院医師）より故細川 一院長とのネコ実験に関する資料他、裁判証言記録等の寄贈があった。国立医薬品食品衛生研究所の川崎 靖氏・鈴木幸子氏からサルにおける塩化メチル水銀の長期毒性に関する研究（1986.6）の病理標本の保管管理を依頼された。

一階展示室の来訪者は 371 名で、日本人 202 名、外国人 169 名であった。

(9) 定期刊行物編集委員会

委員長	衛藤	光明		
委員	藤田	佳久	保田 叔昭	山口 雅子
	松本美由紀	安武	章	

平成 11 年度（第 20 号）年報を平成 12 年 7 月 1 日に発行した。また、国水研だより 7 号を平成 12 年 8 月、8 号を平成 13 年 2 月に発行した。

(10) コンピュータ環境整備委員会

委員長	保田	叔昭		
委員	仁科	英俊	若宮	純司
	渡邊	正夫	桑名	貴

昨年度に行なわれた、水俣病情報センターにおける情報ネットワーク構築のための仕様書に基づく契約にしたがって諸作業が進行中である。それ以外には、特に案件がなかった。

(11) 国際研究協力棟運営委員会

委員長	赤木	洋勝		
委員	藤田	佳久	永井	克博
	荒巻	亮二	坂本	峰至
			宮本	謙一郎

国際研究協力棟管理運営規則及び同利用細則の改正を行った。

13. 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	8 年度	9 年度	1 0 年度	1 1 年度	1 2 年度
運 営 費	(544,519) 561,875	(581,361) 599,926	(661,249) 629,462	(613,008) 610,220	(642,249) 637,759
人 件 費	(208,589) 208,595	(230,736) 231,254	(258,970) 258,636	(250,313) 255,931	(251,691) 257,656
事 務 処 理 費	(109,960) 116,362	(119,032) 126,018	(98,982) 105,324	(120,203) 100,818	(114,176) 101,401
試 験 研 究 費	(225,970) 236,918	(231,593) 242,654	(303,297) 265,502	(242,572) 253,471	(276,382) 287,702
施 設 整 備 費	(295,295) 297,367	(0) 0	(1,802,000) 0	(0) 0	(0) 0

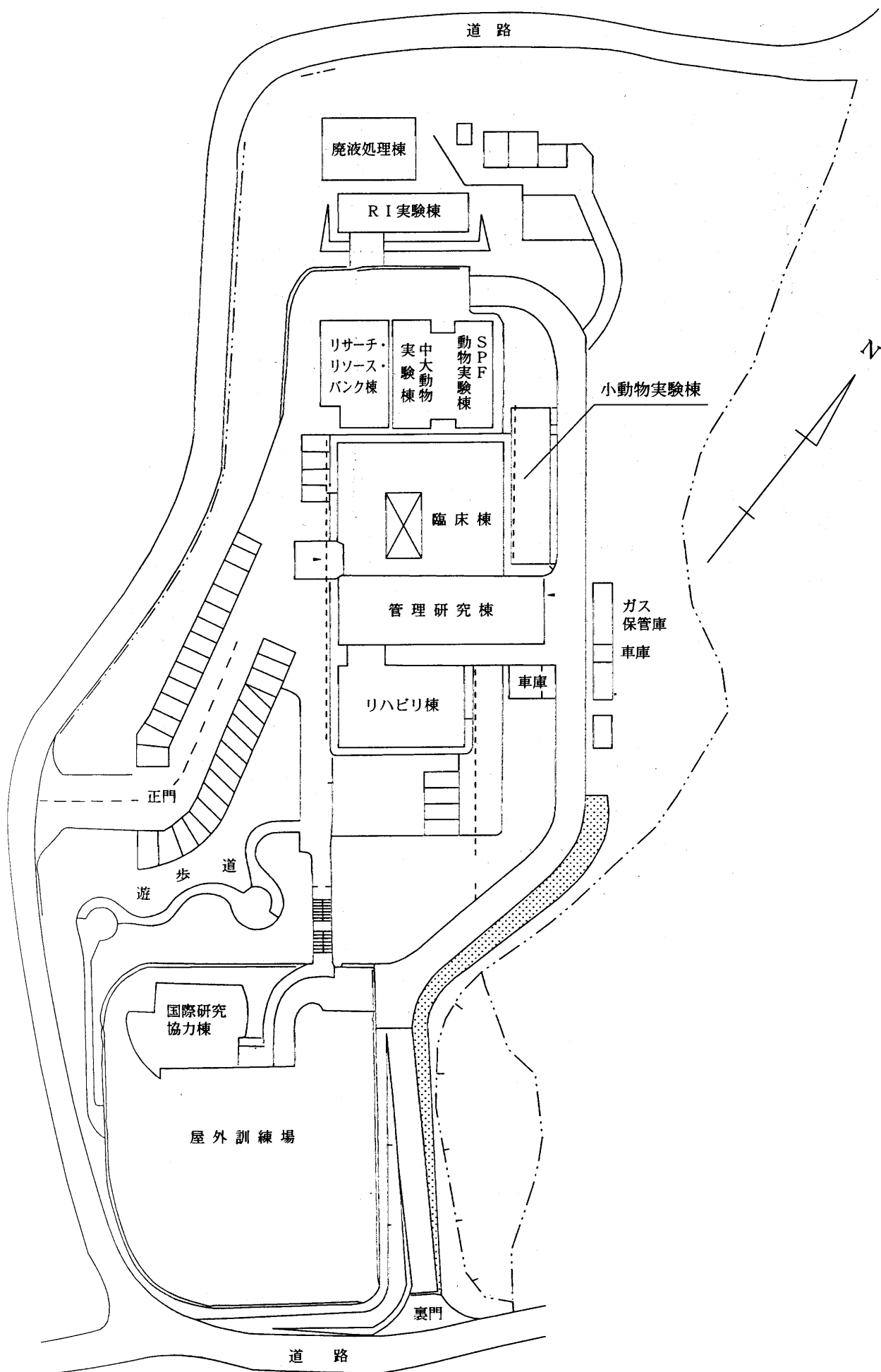
() 外書きは、補正後

2. 定 員

区 分	8 年度	9 年度	1 0 年度	1 1 年度	1 2 年度
総務課	4	4	4	4	4
国際・総合研究部	6	6	7	7	7
臨床部	7	7	7	7	7
基礎研究部	7	7	7	7	7
疫学研究部	4	4	4	4	4
計	28	28	29	29	29

3. 主要施設整備状況

施 設 名	面 積	竣 工 時 期
本 館	3,505.14 m ²	昭和 53 年 3 月竣工
小 動 物 実 験 棟	196.98	〃
車 庫	35.94	〃
特 殊 ガ ス ・ プ ロ パ ン 庫	20.32	〃
S P F 動 物 実 験 棟	146.38	昭和 60 年 3 月竣工
中 大 動 物 実 験 棟	231.65	昭和 61 年 11 月竣工
R I 実 験 棟	305.80	昭和 63 年 3 月竣工
リサーチ・リソース・バンク	450.00	平成 8 年 3 月竣工
国 際 研 究 協 力 棟	806.95	平成 9 年 7 月竣工
廃 液 処 理 棟	299.10	平成 12 年 3 月竣工



附 1. 人事異動

年月日	新 職 名	氏 名	異動事由	備 考
12. 4. 1	関東信越地方医務局	鈴 雄蔵	配置換	国際・情報室長
12. 4. 1	経理係員	仁科 英俊	配置換	環境庁企画調整局企画調整課
12. 4. 1	環境庁長官官房総務課	猪岡 貴光	配置換	経理係員
12. 4. 1	主任研究企画官	二塚 信	併 任	熊本大学教授医学部
12. 4. 1	研究企画官	有村 公良	併 任	鹿児島大学助教授医学部
12. 4. 1	研究企画官	藤木 素士	委 嘱	熊本県環境センター館長
12.4.22	国際・情報室長	佐藤 邦子	配置換	環境庁企画調整局地球部
12. 7. 1	九州財務局	山下 哲也	配置換	経理係長
12. 7. 1	経理係長	中野 剛	配置換	環境庁環境保健部特殊疾病対策室企画係長

附 2. 主な来訪者（敬称は省略させていただきました）

平成 12 年 4 月 14 日	元環境庁長官	広中和歌子	
5 月 1 日	環境庁長官	清水嘉代子	
	衆議院議員	矢上 雅義	
	熊本県知事	潮谷 義子	
	水俣市長	吉井 正澄	
6 月 9 日	K I T A 第 15 回「産業環境対策研修コース」		9 名
30 日	J I C A 集団研修「有害金属汚染対策コース」		8 名
7 月 6 日	第 2 回 J I C A 国別特設フィリピン環境管理コース		12 名
7 月 4 日 ～ 9 月 29 日	IAEA 研修員(Mua LE TAT)「栄養学的健康関連環境学」研修		1 名
19 日	平成 12 年度 J I C A 国別特設枠「インドネシア N G O スタッフ環境教育研修」		8 名
8 月 25 日	K I T A 第 13 回「産業廃水処理技術集団研修コース」		10 名
29 日	J I C A カザフスタン「環境政策（水質モニタリング技術）」C/P 研修		1 名
31 日	環境庁総括政務次官	河合 正智	
9 月 5 日	J I C A による発展途上国環境 N G O リーダーの人材育成研修		10 名
9 月 5 日	法政大学第二中学校	修学旅行	43 名
21 日	平成 12 年度産業医学集団研修コース（産業医科大学）		12 名
10 月 13 日	平成 12 年度 J I C A 衛生・環境分析技術者研修		6 名
18 日	K I T A 韓国中小企業技術者研修「環境先進技術」コース		12 名
23 日	平成 12 年度 K I T A 第 11 回生活排水対策コース		9 名
24 日	日本国際協力センター「環境行政セミナー」		3 名
11 月 6 日	J I C A 「地方自治体による環境再生・保全行政」一般特設研修		11 名
7 日	見学・意見交換会（微量成分研究会）		5 名
8 日	J I C A 委託集団研修「環境行政コース」（第 8 回）		11 名
17 日	第 1 回農作業に伴う健康障害予防対策セミナー（国際保健医療交流センター）		9 名
21 日	J I C A フィリピン共和国鉱山環境管理計画カウンターパート研修		5 名
12 月 2 日	環境共生学部水環境管理学フィールドワーク（熊本県立大学環境共生学部）		30 名

平成 13 年 1 月	29 日	J I C A 平成 12 年度水産開発セミナー	19 名
2 月	9 日	平成 12 年度 J I C A 一般特設「産業廃水・廃棄物の処理及びリサイクル技術」研修	13 名
	16 日	見学（韓国カソリック医科大学交流会）	17 名
	23 日	J I C A 研修「第 8 回東欧産業環境対策コース」	12 名
3 月	28 日	平成 12 年度 J I C A スカラーシップ春期セミナー	22 名

International Cooperation Between NIMD and Foreign Countries

March, 2001

Contents

The Survey of Health Effect of an Environmental Mercury Pollution Caused by a Chemical Factory in Guizhou, China.....	1
Mission Report – Investigation into Suspected Mercury Contamination at Sihanoukville, Cambodia.....	7
Report for the cooperation about Hg monitoring at Chittagong Chemical Complex (CCC) in Chittagong, Bangladesh.....	30
International cooperation on mercury environmental monitoring in Bangladesh.....	35
The neurological investigation of the residents with high mercury levels in hair in Amazon basin as a member of JICA.....	37
The Vietnam – Japan Seminar on Minamata disease.....	38
Cooperative study on environmental pollution in Vietnam (1990-2000).....	40

The Survey of Health Effect of an Environmental Mercury Pollution Caused by a Chemical Factory in Guizhou, China

¹Yoshiaki Yasuda, ¹Atsuhiko Nakano, ¹Akira Yasutake, ¹Fusako Usuki, ¹Ryoji Aramaki, ¹Masako Yamaguchi, ¹Kazuhiro Yamane, ¹Hirokatsu Akagi, ¹Yukio Takizawa, ²Qu Liya, and ²Xion Jiling

¹National Institute for Minamata Disease, Minamata, Kumamoto, Japan, ²Guizhou Institute of Environmental Protection Sciences, Guiyang, Guizhou, China

Introduction

Maotiao River runs nearby Guiyang City, Capital of Guizhou Province, China (Fig. 1). It has two artificial lakes, and runs into Chang-Jiang River via Wu-Jiang River

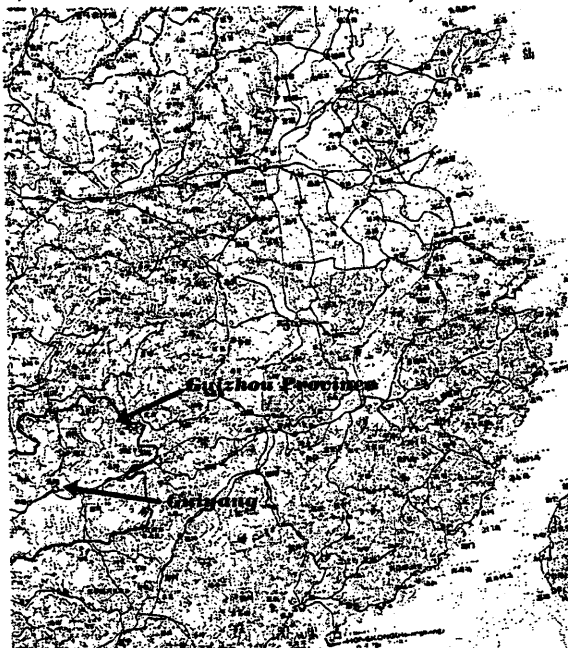


Fig. 1

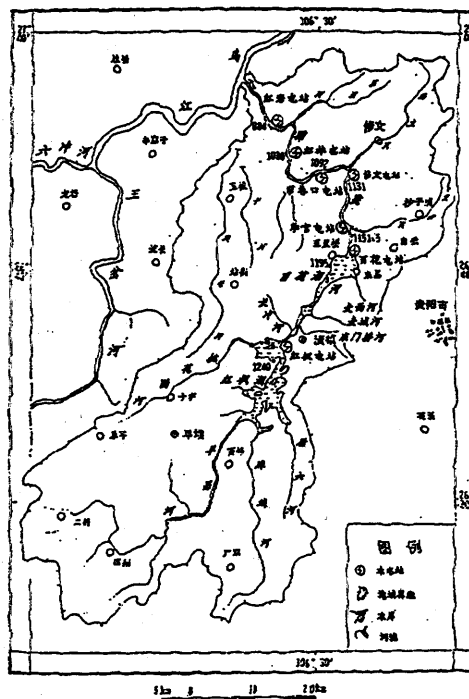


Fig. 2

(Fig. 2). There is an irrigation canal meets with the river between the two lakes, Hongfeng Lake and Baihua Lake

(Fig. 3). In the starting point of a waterway which lead the canal, there is a chemical factory with acetaldehyde plant which has been working for 30 years using mercury as catalyst. The factory waste is discharged into the waterway and the canal, then flow into the Maotiao River (the portion between two lakes is called Guodi River) and reach to Baihua Lake (Fig. 3). The lake is used for industrial water, electricity generation, fish breeding, irrigation, and drinking water for village people around the lake. Furthermore, it is issued to utilize the lake water as drinking water for Guiyang citizen. We studied water pollution caused by factory waste; soil which receive irrigation and health effects on residents around the irrigation area, Guodi River and Baihua Lake.

Study Area

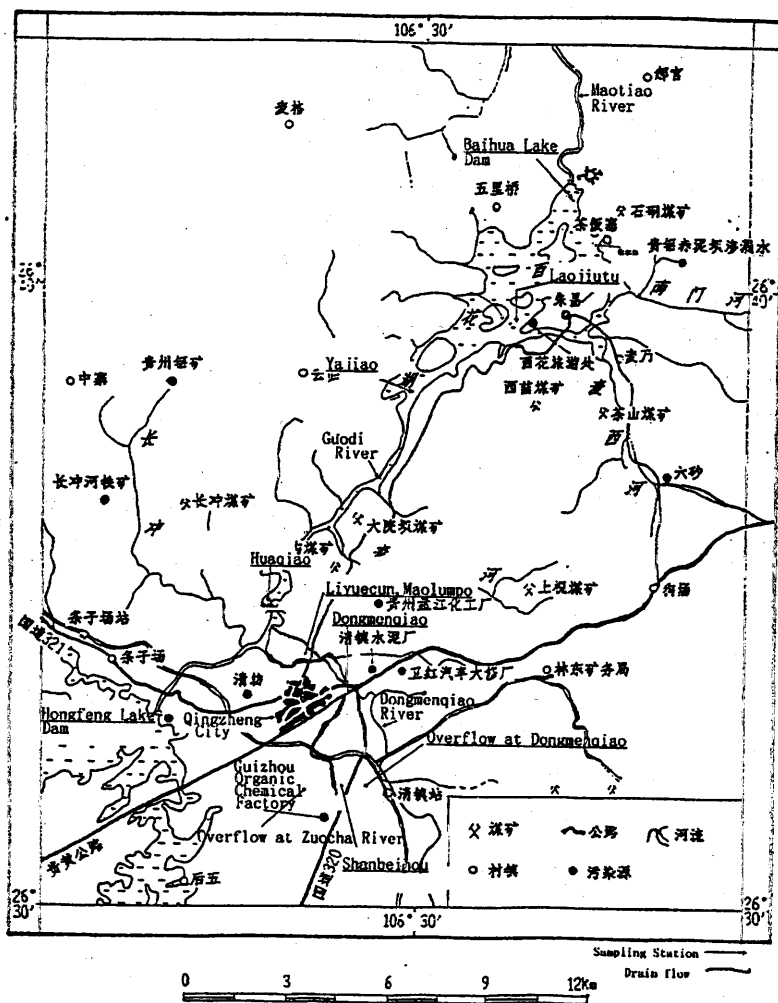


Fig. 3

The drainage of the factory runs from Shanbeihou where the factory exists, into Dongmenqiao River at Dongmenqiao after running down 3.5 km (Fig. 3). An irrigation canal diverges at that point, where the wastewater flow into the irrigation. The irrigation area is 180 ha. The irrigation canal joins Guodi River at Huaqiao (Fig. 3) after running about 7 km down passing through the villages; Shanbeihou, Qinglong, Xinzhai, Huayuan and Wukefen. The place where Guodi River flows into Baihua Lake is called Yajiao, and the place central of Baihua Lake where a lot of resort facility and wharfs exist is called Laojiutu.

Methods

Factory waste, irrigating water, lake water, sediment, soil, fishes, and hair sample from residents were analyzed for mercury concentration. Health effect survey by interview on residents was also carried out after questionnaire investigation.

Environmental samples were taken from six points (Baihua Lake, Laojiutu, Yajiao, Huaqiao, Dongmenqiao and Hongfeng Lake as control) and two outlets, Dongmenqiao River side and Zuocha River side of the factory (Figs. 3 and 4). On the fish samples, we obtained them from a fishfarm in central area of the Baihua Lake, as well as those angled in upper reaches. Bled fishes and angled fishes in Hongfeng Lake were also obtained for control. Soil samples were taken from rice field near the factory and 3 km downward from the factory.

Water samples were taken 2-8 L in each point and mercury was extracted into dithizone-toluene solution at Guizhou Institute of Environment Protection. All environmental samples were brought into Japan, total mercury concentration has

then been determined by cold vapor atomic absorption spectrophotometry.

The mercury concentration of hair samples from 300 people chosen randomly from villages. They answered to questionnaire about their health when hair is collected. Eighty-seven people who complained of neurological symptoms such as numbness, sensory disturbance and muscle clump were interviewed about their health states. Hair samples are washed with neutral detergent prior to quantify total mercury concentration by flameless vapor atomic absorption spectrophotometry.

Results

Water Samples

Total mercury concentrations in water samples were 1.5-8.7 ppt (ng/L) in Baihua Lake, 46.5 ppt in Yajiao, 13.5-60.4 ppt in Huaqiao. Compared with water sample from Hongfeng Lake included 2.5-4.4 ppt mercury.

The factory has two outlets (Fig. 4). One of them is common drain contained 15.5 ppt mercury. But the other one in Shanbeihou, which is from acetaldehyde plant, contained 2198 ppt mercury when analyzed with suspension. It was still contained 1466 ppt total mercury in Dongmenqiao (Table 1).

Wastewater was then filtered with glass wool and analyzed. Total mercury concentration in filtered water was 3.4 ppb compared with 17.4 ppb in non-filtered supernatant which omitted suspended materials by sedimentation sitting for overnight. This comparizon tells as that suspended materials attaches majority of mercury in wastewater.

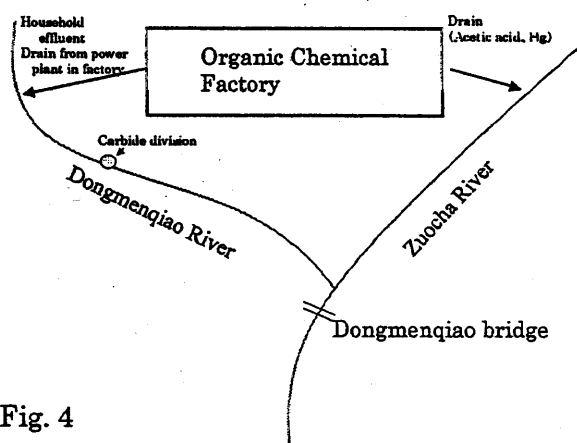


Fig. 4

Sediments and Soils

Total mercury concentrations in sediments ranged 1.96-4.69 ppm (mg/kg) (dry weight) in Baihua Lake, 19.43 ppm in Yajiao. In Huaqiao, hard bottom was scrapped since sediment was not accumulated. It contained 1.16-1.52 ppm mercury. Control sample from Hongfeng Lake contained 0.33-1.56 ppm mercury. Soil from rice field was 164 ppm nearby the factory and 13 ppm in 3 km downstream.

Fish Samples (Table 2)

Total mercury concentration (wet weight) in 1 year-old (around 30 cm length, 600 g body weight) and one and a half year-old carps

Sampling Station	T-Hg μg/l
Baihua dom	0.0036
Laojiutu	0.0015
Yajiao	0.0158
Huaqiao	0.0604
Dongmenqiao	1.4664
Overflow_Dongmenqiao	0.0155
Overflow_Zuocha	2.1978
Hongfeng Lake	0.0025

Table 1

Table 2

Station	Species	Sample No.	Length (cm)	Whole weight (g)	Estimated age (Y)	T-Hg ppm
Baihua Lake	Carp	13	30.4 ± 2.5	737.7 ± 123.6	1	0.026 ± 0.005
Baihua Lake II	Carp	10	42.7 ± 1.7	1416 ± 152	1.5	0.023 ± 0.003
Yajiao	Crucian carp	5	22.4 ± 2.6	201.7 ± 0.17	3~6	0.167 ± 0.142
Hongfeng Lake	Carp	3	33.7 ± 5.0	583 ± 257	?	0.030 ± 0.012
	Carp	6	35.7 ± 3.9	635 ± 136	?	0.024 ± 0.004

(around 43 cm length, 1300 g body weight) bled in Baihua Lake was 0.026 ± 0.005 ppm and 0.023 ± 0.003 ppm respectively. Wild crucians (21-27 length, 150-360 g body weight, estimated at 3-6 years old) angled at side contained 0.075-0.4 ppm mercury. Bled fish and wild fish from Hongfeng Lake contained 0.01-0.06 and 0.02-0.04 ppm mercury respectively.

Hair samples

Total mercury concentrations of hair samples from residents were 0.15-11.8 ppm. It was, though, below 1 ppm in 90% of people living around Baihua Lake. On the other hand there were 30% each of below 1 ppm, 1-4 ppm and 4-12 ppm populations in residents living just around the factory. Finally, a tendency had been detected that the mercury concentration level increased from the Lake to the factory (Fig. 5)

Discussion

Guizhou Organic Chemical Factory had engaged a drain treatment facility using sedimentation method since 1981, the rate of omitting

Table 3

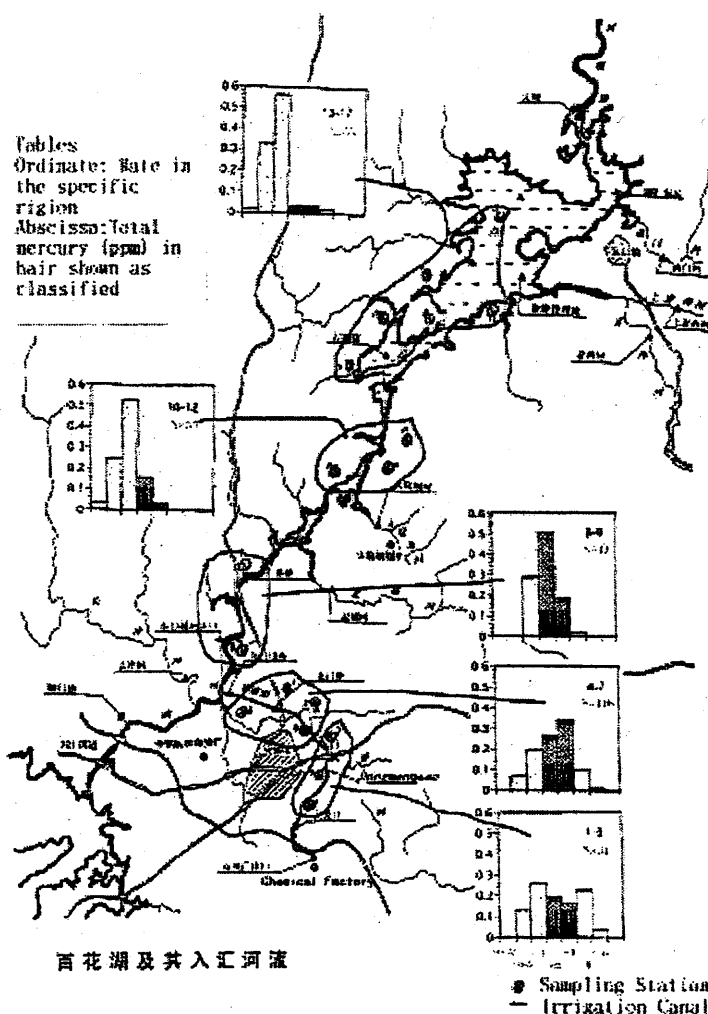
A: w/ symptom		1	2	3	4	5
Fish	34	36	6	3	6	
Rice	0	3	0	0	82	
Vegetable	0	1	0	0	84	
Egg	33	29	19	2	2	
Meat	3	30	39	8	5	

B: w/o symptom		1	2	3	4	5
Fish	105	76	25	11	4	
Rice	0	0	2	0	219	
Vegetable	0	0	1	1	220	
Egg	76	72	55	15	2	
Meat	13	59	98	43	9	

A+B: total		1	2	3	4	5
Fish	139	112	31	14	10	
Rice	0	3	2	0	301	
Vegetable	0	1	1	1	304	
Egg	109	101	74	17	4	
Meat	16	89	137	51	14	

- 1 : Scarcely eat
 2 : Once or twice a month
 3 : Once or twice a week
 4 : 3 or 4 times a week
 5 : Almost everyday

Fig. 5



mercury is announced as 95%. The majority of remained mercury after the treatment (2 ppb) is thought to be attached to suspended matter. That is, after removing suspended matter by sedimentation or filtration, mercury concentration decreased to 1/10 or 1/100. The mercury attached to suspended matter could be removed from the waste by sediment when passing through the irrigation field.

The water in Baihua Lake continuously exchanged with the water from Hongfeng Lake, which is five times larger than Baihua Lake. The wastewater from the irrigation canal is diluted drastically. These are the reasons why the mercury concentration level in Baihua Lake was

low.

The questionnaire investigation against residents showed that they eat fishes only twice or three times a week (Table 3). The bred fishes in the both lakes are usually shipped to Guiyang, then, residents always eats wild fishes, scarcely, though. Therefore, there was no tendency of accumulation of mercury.

Conclusion

On the mercury pollution of Guiyang region was that of the period before the waste treatment remains in the sediment of irrigation canal or soil in the irrigated region up to 3 km from the factory. However, the water in Maotiao River and Baihua Lake contains mercury lower than the Japanese water quality standard value. In addition, the investigation of mercury concentration in hair of resident showed no indication of health effect.

References

- Xion Jiling and Qu Liya (1996) Mercury Pollution from an Acetaldehyde-Producing Factory and Its Problem in Perspective in Guizhou Province, China. Proceeding of the International Forum "Environmental Studies on Mercury Pollution in the World" pp22-23.
- Yukio Takizawa and Hiroaki Sugihara (1996) Mercury Pollution Caused by Guizhou Organic Chemical Factory. Shigen Kankyo Taisaku (in Japanese) 32, 17-21.
- Qu Liya (1997) Cooperative Studies on Mercury Pollution Caused by Guizhou Organic Chemical Factory in Environment. Proc. NIMD Forum '97, pp17-18.
- Qu Liya and Hou Huiyuan (1997) Mercury Pollution and Resource Development in Guizhou, China. SCOPE Workshop on Mercury Pollution in Asia. P24.

Mission Report - Investigation into Suspected Mercury Contamination at Sihanoukville, Cambodia

National Institute for Minamata Disease

(This Mission Report was prepared in collaboration with the following Study Group)

Study Group for WPRO-Project Proposal (1998)

Field visit and fact-finding staff;
Mineshi Sakamoto, Ph.D.

Hirokatsu Akagi, Ph.D. (Dept of International Affairs & Environmental Science,
Director)

Atsuhiko Nakano, Ph.D. (Dept of Basic Medical Science, Director)

Mineshi Sakamoto, Ph.D. (Dept of Epidemiology, Section Chief)

Jyunji Wakamiya, M.D. Ph.D. (Dept of Clinical Medicine, Section Chief)

Yuzo Suzu (Dept of International Affairs & Environmental Science, Section Chief)

Yutaka Mori (Dept of Administration, Director)

Yukio Takizawa, M.D. (Director-General)

National Institute for Minamata Disease, Kumamoto, Japan

14th January 1999

1. Background

This is the report of the collaborative mission carried out by NIMD (National Institute for Minamata Disease) in response to the request of WPRO (World Health Organization Regional Office for the Western Pacific).

On 28 November 1998 a ship arrived in Sihanoukville with 2779 tons of waste from Taiwan. According to information obtained from the Ministry of Environment in Cambodia the waste is old byproducts from battery production. The English language newspaper Cambodia Daily described it as "waste which was left over from treating alkaline with mercury and had been encased in cement in Taiwan for two decades". It had been impossible for the Ministry of Environment to obtain any more exact information on the content since the Taiwanese Company, Formosa Plastic, has refused to cooperate.

The ship was unloaded on 4 December and the content, rather huge, solid plastic bags were transported to a site approximately 15 kilometers out of Sihanoukville and dumped on a field 500 meters from Road no.4. About 200 workers were involved in the transportation and unloading of the cargo. In the process the plastic bags were opened and taken as valuable items and much of the solid content broken into pieces of various sizes creating a lot of dust and sand like particles.

According to the Director of Health in Sihanoukville there has now been 10 patient admitted to the provincial hospital with symptoms of poisoning and 1 has died. The main symptoms were vomiting, diarrhea and dyspnoe. The patients have all been among the workers who transported the waste or local people who took part in the looting of the plastic bags.

It seems plausible that the process of opening the bags created dust particles that was inhaled by the workers and this may have caused an acute poisoning. The symptoms are compatible with mercury poisoning but more detailed patient histories should be obtained.

The blocks are of highly variable sized, from approximately 1/2 cubic meter down to brick size. The waste cover approximately 500 square meter and an earth wall are being constructed around it. The site is sloping slightly and is situated in a hilly area with lower lying land surrounding it. The workers constructing the earth wall with heavy machinery used plastic gloves and paper face masks (some in a rather useless way). The soldiers and policeman guarding the area had no protection and just a few hundred meters away there were children playing and cattle grazing.

The main purpose of this investigation was to make preliminary recommendations to avoid possible risks to the environment, population in Sihanoukville and workers in the site. Five samples of the waste and 3 samples of water from well and tap water supplied

to the people around the site were collected for further analysis in Japan. The evaluations of the potential hazards of mercury exposure to the port and site workers were performed by analyzing mercury concentrations in red blood cells, serum, urine and hair. As a control, 5 hair samples of villagers working in the center of the Sihanoukville about 5 km away from the site were selected for the purpose of comparison. All the samples were analyzed at the NIMD to determine the mercury concentrations. Waste samples were further analyzed for cadmium, manganese and nickel. In addition, Dr K E Mony and Dr P P Rainsey from the Ministry of Health interviewed health conditions of the port and site workers. This report summarizes the results of the findings.

2. Mission objectives

The objectives of the mission are as follows:

- I to make preliminary recommendations to avoid possible risks from the waste in Sihanoukville.
- II to carry out analyses of the waste samples for mercury and some other metals.
- III to carry out analyses of the water samples for mercury.
- IV to carry out an health assessment of the port workers and soldiers to ascertain whether they are suffering from mercury poisoning.
- V to make further recommendation to avoid possible risks from the waste in Sihanoukville standing on the results analyzed in NIMD.

3. Survey

3-1. Samples for the study

Sihanoukville is about 10 km south of the dumping site of the waste. About 3,000 tons of the waste was dumped on the hill. We collected two slightly different properties gray solids, which were main component of the waste, two black solids and sand-like waste. Water samples from the wells and tap water near the dumping site were collected. Hair, urine and blood samples of 9 port workers who have complaints after the work of unloading or cleaning the waste were collected. Hair, urine and blood samples of 5 workers/soldiers involved in the clean-up operation at the site were also collected. Hair samples from 5 villagers at the center of Sihanoukville were collected as a control.

Waste

However the plastic bags were a part broken most of the waste in the bags looked homogeneous. Predominant constitution of the waste was fragile and gray solid, which will occupy more than 95% of the whole waste. Also, the fragile and gray solid contained some broken coal-like pieces, which were black and very hard. Remaining about 5% of the whole waste was sand-like brown waste.

About 100 g of waste samples of each property was collected into pre-cleaned plastic bottles and stored in icebox with ice cubes.

As shown in the picture the property and color of the samples taken were:

- ① Fragile and gray solid (A part of main component of the waste)
- ② Fragile and gray solid (A part of main component of the waste)
- ③ Hard and black solid (Pieces found in the main waste)
- ④ Hard and black solid (Pieces found in the main waste)
- ⑤ Sand-like brown waste (A small part of the waste)

① and ② occupy more than 95% of the waste.

Water

Samples were collected in a 100ml pre-cleaned bottle. The samples were stored in an icebox, avoiding sunlight exposure until analysis.

Samples of water were taken from:

- ① the well water 200-300m below the site (supplies both drinking and washing for woodcutters).
- ② the tap water in Pagoda (supplies both drinking and washing for priests and soldier working in the site).
- ③ the well water 200m below the Pagoda (supplies both drinking and washing for inhabitants of a small village)
- ④ the tap water for inhabitants living 1.5km far away from the site; another side across a Road no.4. (As a control without the contamination of the waste).

Blood

About 10 ml of blood sample were collected by syringe and transferred into sample tube including heparin. All the samples were stored in icebox with ice cubes.

Urine

Urine was collected in a paper cup. From that cup, 5 ml of the urine was transferred into

sample tube. All the samples were stored in icebox with ice cubes.

Hair

About 0.5 g of hair samples were cut with scissors from the root and taken into small sealed bag.

Health condition

Two doctors from Ministry of Health of Cambodia also interviewed workers at the port and site for their health conditions.

3-2 Mercury analyses

Total mercury

(a) Biological samples

A known amount of samples (1 - 10 mg of human hair, 0.5 g or less blood, fish) is placed in a 50 ml volumetric flask, to which 2 ml of nitric acid-perchloric acid (1+1), 5 ml of sulfuric acid 1 ml of water are added and heated at 230 - 250°C on a hot plate for 20 minutes. In the case of urine sample, the mixture of these acids are placed first in the 50 ml volumetric flask, to which 1 - 5ml of urine sample is added dropwise with stirring the mixture and then digested in the same manner as described above. After cooling, the digest samples is made up to 50 ml with mercury free water. An aliquot of the sample solution is introduced into automated circulating airflow system with addition of 10 % stannous chloride solution. After air circulating for 30 seconds, the circulating air is measured with a cold vapor atomic absorption spectrometry. The detection limit is around 1 ng/g for 0.5 g samples.

(b) Water

For water analysis, preconcentration is carried out by dithizone extraction. 100 ml of a water sample in a separately funnel is mixed with 0.5 ml of 20 N sulfuric acid and 0.25 ml of 0.5 % potassium permanganate and allowed to stand for 5 minutes. The treated sample is then neutralized with 1 ml of 10 N sodium hydroxide and 0.25 ml of 10 % hydroxylamine hydrochloride and allowed to stand for 20 minutes. After addition of 5 ml of 10 % ethylenediamine tetraacetic acid tetrasodium salt, the sample is extracted with 0.5 ml of purified 0.01 % dithizone in benzene. The sample was left until it separated and the water layer is discarded. A known volume of benzene layer is transferred into a 10 ml volumetric flask and evaporated to dryness using a rotary evaporator. The residue in the volumetric flask is digested with nitric acid - sulfuric acid - perchloric acid system, diluted and measured by cold vapor atomic absorption spectrometry in the same manner as described in above.

(c) Others

Total mercury in other environmental materials (0.5 g or less of biota, 1 - 2g of sediment) is measured by the same method as outlined for biological samples.

(2) Methylmercury

The procedure for methylmercury analysis developed in our laboratory is based on the combined techniques of dithizone extraction and ECD gas chromatography. For hair methylmercury, we have developed a simple and rapid technique by the combination of hydrochloric acid - benzene extraction and ECD gas chromatography.

Gas chromatographic conditions for the methylmercury measurement are as follows. Column: Glass column (100 cm × 3 mm I.D.) packed with Hg-20A (Gasukuro Kogyo Inc., Tokyo, 60 - 80 mesh) and about 0.2 g of NaCl crystal on the top of the column, Column temperature: 150 - 155°C, Injection port temperature: 180°C, Detector oven temperature: 200°C, Carrier gas (N₂): 35 - 40 ml/min.

(a) Human hair

Hair samples (10 - 20 mg) is taken into 10 ml test tube with screw cap, to which 2 drops of ethanol, 5 ml of 2 N hydrochloric acid then small amount of cotton are added to prevent the floating of hair sample. The test tube is capped, and then heated 100°C for five minutes. After cooling, 1 ml of the 2 N hydrochloric acid extract is transferred to another 10 ml test tube with screw cap and extracted with 4 ml of benzene. Methylmercury in the final benzene extract is measured by ECD - gas chromatography.

(b) Other biological samples (Fish, Blood, Urine etc)

A known amount of blood or fish (usually 0.5 g or less) is digested with 10 ml of 1N potassium hydroxide in ethanol in a 50 ml screw-capped centrifuge tube at 100°C on a water bath for 1 hour. The digested sample is mixed with 1 ml of 20 % ethylenediamine tetraacetic acid tetrasodium salt (EDTA) and then slightly acidified with 10 ml of 1N hydrochloric acid. After washing with 5 ml of n - hexane, the methylmercury in the sample is extracted 5 ml of 0.05 % dithizone - benzene. Urine sample (usually 20 ml) is simply shaken with 10 ml of 1N potassium hydroxide for 15 minutes using a mechanical shaker. The sample is mixed with 1 ml of 20 % EDTA and then slightly acidified with 10 ml of 1 N hydrochloric acid, followed by the extraction with 0.05 % dithizone benzene. Each benzene layer is then washed twice with 3 ml of 1 N sodium hydroxide to remove excess of dithizone in benzene layer. An aliquot of the benzene layer (usually 3 ml) is transferred to 10 ml test tube with cap and back - extracted with 2 ml of 5 ppm sodium sulfide in 0.2 N NaOH - ethanol (1+1). After centrifuged, benzene layer is removed, 1 N hydroxide acid is added dropwise until a blue color appears with bubbling nitrogen gas thorough the solution, and bubbling is continued for three more minutes to eliminate the excess sulfide ions as H₂S gas. To the sample solution, 2 ml of Walpole's buffer (pH 3.0) is added and the mixture is re-extracted with 0.05 % dithizone in benzene purified with equal volume of 0.2 N sodium hydroxide just before use. The

benzene layer is washed twice with 2 ml of 1 N NaOH and subsequently with 4 ml of distilled water. After acidified with a few drops of 1 N hydrochloric acid, methylmercury in benzene layer is measured by ECD - gas chromatography.

(c) Sediment (waste)

Sediment samples (1 - 5g) is simply shaken with 10 ml of 1 N potassium hydroxide for 15 minutes using a mechanical shaker. The treated sediment sample with 1 N potassium hydroxide in ethanol was bubbled with nitrogen gas through the solution for 5 minutes at a flow rate of 100 ml/min., after acidified with hydrochloric acid. The sample was then mixed with 2 ml of 20 % hydroxylamine hydrochloride and 2 ml of 20 % ethylenediamine tetraacetic acid tetrasodium salt and extracted with 5 ml of purified 0.05 % dithizone in benzene followed by cleanup procedure using sodium sulfide solution, re-extraction with purified dithizone in benzene, and ECD gas chromatography.

Determination of other metals

Powdered samples of 0.200g were exactly measured and placed in sample tubes. Samples were digested with 3 ml of HCl and 1 ml of HNO₃. The digested samples were diluted to 1/500. Manganese, lithium, zinc, lead, iron and copper were measured by the method of ICP-emission spectrometry (ICP-Emission Spectroscopy Optima 3000XL, Perkin-Elmer Co. Ltd.). Cadmium and nickel were measured by flame-less atomic absorption method (Atomic Absorption Spectroscopy, Z-5100, Perkin-Elmer Co. Ltd.). Background absorbance was corrected by done with

Conversion factors

1 ppm (parts per million) = 1 µg/g

1 ppb (parts per billion) = 1 ng/g

4. Results and discussion

4-1 Total and methylmercury concentrations in waste samples.

As shown in Table 1 total mercury concentrations in the gray samples were 496 µg/g and 726 µg/g, respectively. Total mercury concentrations in the black samples were 2497 µg/g and 3984 µg/g, respectively. Total mercury concentrations in the brown sample was 97 µg/g.

Mercury concentrations in soils and sediments are summarized in Mercury Contamination in Man and his Environment (International Atomic Energy Agency, Vienna, 1972) as follows; In Sweden the mercury concentration in the soil ranged from 20 to 920 ng/g, with a mean of 70 ng/g (Anderson 1967). Stock and Cucuel (1934)

regarded 100 ng/g as normal but gave ranges 100-290 ng/g for forest soils, 140-1000 ng/g for cultivated soil, 30-34 ng/g for clay soil and 1-29 µg/kg for sand. In vicinity of gold, molybdenum and base-metal deposits, soils were found to contain 50-250 ng/g but sometimes 2000 ng/g. Thus, mercury concentrations in the waste was very high compared with the environmental levels. The average mercury concentration of the whole waste may be around 500 to 700 ppm since the gray solids were predominant in the waste

Methylmercury concentrations in the waste samples, except the sand-like waste, were lower than detective level (0.01 ng/g). Methylmercury concentration in the sand-like sample was 33.7 ng/g, suggesting the contamination of surface soil or some other organic matters.

4-2 Metals in waste samples

Table 2. shows cadmium, manganese, nickel, lithium, zinc, lead, iron and copper concentrations in the waste samples. Cadmium concentrations in black samples were below 1.0 ng/g. Cadmium concentrations in the other samples were 9-26 ng/g. The other metals concentration were as follows; Manganese 83.3-1779.6 µg/g. Nickel 10.6 -76.7 µg/g. Lithium 7.5-147.6 µg/g. Zinc 101.8-698 µg/g. Lead 35.1-499 µg/g. Iron 23058-87525 µg/g. Copper 35.1-323.3 µg/g.

Cadmium, manganese and nickel concentrations in natural soils and sediments are summarized in Trace Elements in Biochemistry (Bowen 1966) as follows; Cadmium 0.01-0.7 µg/g. Manganese 100-4000 µg/g. Nickel 10-1000 µg/g. Lithium 7-200 µg/g. Zinc 100-300 µg/g. Lead 2-200 µg/g. Iron 7000-550000 µg/g. Copper 2-100µg/g. Thus, almost all the cadmium, manganese, nickel, lithium, zinc, lead, iron and copper concentrations in the waste samples were within the natural soils level. However, lead concentration in sample 2 was slightly higher than natural soil and sediments.

4-3 Total mercury concentrations in water samples.

Total concentrations in water samples are shown in Table 3. The mercury concentrations in water samples in wells and tap water were from 4.2 to 6.3 ng/l. Even the water of the well near the site was 6.3 ng/l. Tap water from 1.5 km far from the site and another side across Road no.4 was 5.5 ng/l, which was considered as a control.

Representative values for dissolved total mercury are: open ocean, 0.5-3 ng/l; coastal seawater, 2-15 ng/l; fresh water rivers and lakes, 1-3 ng/l (WHO, 1990). The concentration range for mercury in drinking water is the same as in rain, with an average of about 25 ng/l (Lindqvist *et al.* 1984, in WHO, 1990). All the water samples around the site showed natural levels of total mercury suggesting no leakage of mercury from the site. Dry weather at the present in Cambodia may be a redeeming feature in a tragic affair.

On the other hand, the whole water near the site was 153.2 ng/l, suggesting the

contamination of the well water with the dust containing mercury. The well water was suspended with some small particle, which should be the dusts of the waste carried by the wind from the site. In the procedure of mercury analysis, mercury must be extracted from the waste particle under the acid condition. However, mercury can not easily dissolve from the waste under the natural condition. As a matter of fact, the mercury concentration of water itself was still low, suggesting the stability of the mercury in the waste.

4-4 Total and/or methylmercury in red blood cells and serum

Total and/or methylmercury concentrations in red blood cells and serum are shown in Table 5. Total mercury concentrations in red blood cells were 13.1-25.5 ng/g for port workers and 10.5-17.0 ng/g for site workers, respectively. Methylmercury concentrations in red blood cells were 11.8-22.4 ng/g for port workers and 7.5-14.0 ng/g for site workers, respectively. Total mercury concentrations in serum were 1.96-3.59 ng/g for port workers and 3.26-4.58 ng/g for site workers, respectively.

Methylmercury concentration in red blood cells is one of the best indicators of the methylmercury pollution. It is said that certain groups with a high fish consumption may attain a blood methylmercury level (about 400ng/g) associated with a low (5%) risk of neurological damage to adults (WHO, 1990). Methylmercury level of non-exposed populations is about 16 ng/g for blood cells. The methylmercury concentrations port workers and site workers were similar to the low level. The methylmercury concentrations in the former workers looks higher than the latter, suggesting the inhabitants in Sihanoukville consume fish often. However, methylmercury levels of port workers and site workers were lower than about 1/20 of the critical level.

Serum mercury concentration is a good indicator of inorganic mercury. In the cases of inorganic mercury exposure serum total mercury increase. As the results, serum mercury percentage against methylmercury in blood cells becomes higher. In this results, Serum mercury percentage against methylmercury in red blood cells are slightly higher, suggesting the slight inorganic mercury exposure from the waste. The mercury concentration in serum that never used to eat fish was about 2.7 ng/ml (Birke, 1972). The mercury concentration in the serum of the port and site workers were almost control level, but about 1.5 times higher than the people who never used to eat fish.

4-5 Total mercury in urine

As shown in Table 6 urine mercury concentrations were 0.82-3.43 ng/ml for the port workers, 3.83- 6.53 ng/ml for the site workers.

Mercury concentration in urine is one of the best indicators of the inorganic mercury pollution. Mercury levels in urine correlate with mercury vapor only after long-term exposure (Cherian *et al.*, 1978 in WHO, 1990). The urine mercury concentrations of the port workers and site workers were similar to the normal level (approximately 4 ng/ml for non-exposed populations, in WHO, 1990). The urine mercury level was higher in site

workers than port workers, suggesting some more mercury exposure during the work of removal the waste.

According to WHO (1976), recommended maximum individual urine mercury concentration is 50 µg/g creatinine corresponding about 25 ng/ml of urine. The urine mercury concentration in site workers with the highest value is about 1/4 of the recommended level.

4-6 Total Mercury in Hair

In this mission, mercury concentrations in hair were analyzed to know the possible adhesion of mercury contaminated waste.

As shown in Table 6 mercury concentrations in hair was 2.17-5.08 µg/g for the port workers, 1.29-4.32 µg /g for the site workers and 1.68-3.55 µg/g for the control inhabitants.

Mercury concentration in hair is also one of the best indicators of the methylmercury pollution. It is said that certain groups with a high fish consumption may attain a blood methylmercury level (about 50 µg/g of hair) associated with a low (5%) risk of neurological damage to adults (WHO, 1990). Fish consumption is the main source of mercury accumulation in human. Since the people of this area eat fish daily, methylmercury accumulation of these populations was similar to that of Japanese. The mean mercury concentrations corresponds to fish consumption patterns as follows: once or less a month, 1.4 µg/g; once every 2 weeks, 1.9 µg/g; once a week, 2.5 µg/g; and once or more day, 11.6 µg/g. (Airey, 1983 in WHO, IPCS, Environmental Criteria 101: Methylmercury, 1990). The mercury concentrations were similar to normal levels (0.8-2.5 µg/g) in Southern Hemisphere.

4-7 Complaints of the port and site workers

Complaints of port and site workers were shown in Table 4 and 5. According to the two doctors, the present health conditions of most the site workers were better than at that time of accident.

Since the symptoms developed soon after work began, it is quite conceivable the cause was environmental. However, the cause of the symptoms in port stevedores and/or engaged in wastes disposal operations must be found in other than mercury.

Table 4 and 5 show symptoms such as dizziness and visual trouble, symptoms that suggest a disturbance of consciousness, together with headaches and weakness common to the patients. Judging from the working environment, heat stroke and hypoxia must be thought as the differential diagnosis. If so, it would be only reasonable that patients would complain of abdominal pain, diarrhea and chest pain. It would have helped had data been available on body temperature, blood pressure, pulse, findings from electrocardiogram and chest X rays, hematocrit, urine and serum electrolytes. But such would now be impossible. Therefore, one can only say at this

junction that the symptoms would have occurred due to the heavy physical workload undertaken in such a dusty and hot environment.

However, the above differential diagnosis is no more than an analogy. Since urine and blood samples, not to mention clear data on body conditions, are presently unavailable, we consider it impossible to pinpoint the exact causes of the symptoms even were a thorough investigation conducted.

5. Conclusion

- 1** The total mercury concentrations in the waste sample was very high. The other metals concentrations in the waste were within the normal concentrations in natural soils.
- 2** The total mercury concentrations in water around the site were normal natural levels. It was suggested that the well water near the site had been contaminated with the dust of the waste. However, the elution of the mercury from the waste should be limited.
- 3** The total mercury concentrations in red blood cells, serum urine and hair of port workers and site workers were normal. They were similar to those of the general population in Asia.
- 4.** Since typical health effects due to mercury exposure were not specified in the complaints of port and site workers and since none of the human samples showed high mercury concentration, it is unlikely that they suffer from mercury poisoning.

6. Preliminary recommendations from the investigation of the waste site in Sihanoukville by Dr M Sakamoto, WHO temporary adviser, National Institute for Minamata Disease, Japan and Dr G Petersen, WHO Representative to Cambodia, 25th and 26th December 1998.

Samples were taken of various parts of the waste for further analysis in Japan. The site was tested for radioactivity (alpha- and beta rays). A test was also done for mercury vapor. Water Samples from water sources in neighboring village and a well used by woodcutters just 200 meters from the site were taken and tested. The preliminary tests of air and water showed no abnormal level of radioactivity or mercury. The result of tests on the soil samples will not be available before Dr Sakamoto returns.

Results from analysis of a soil sample taken previously and sent to Singapore for testing was given to the team. It showed high level of mercury (675 µg/g) but does not specify if it is inorganic mercury and/or methyl-mercury.

Samples of hair, blood and urine were collected from port workers complaining of sickness after handling the waste and of soldiers engaged in the Clean up operation.

The available data are not sufficient to make any firm conclusion of the toxicity of the waste. It may contain toxic organic material or toxic metals.

However, based on the size and location of the site, our observations and tests so far and the information given to us by the Department of Health and the Singaporean test results, we make the following preliminary recommendations:

1. The waste site as it is today does not pose any short-term threat to the population of Sihanoukville and there is no need for any special precautions directed towards the general population. There is no need to evacuate anybody. Neither does the waste pose any threat to the water supply of Sihanoukville. There is no danger of contamination of any food produced in the province or any fish or other seafood from the waters outside the province.
2. As the waste may pose a long-term risk for the population in the area, it should be removed as soon as possible in a safe way. To speed up the process more heavy machinery should be employed and the waste stored in larger containers. This will reduce the number of people exposed.
3. The local authorities should do its utmost to calm the population and dispel unfounded rumors about the danger of the waste.
4. The dumpsite must be protected securely from possible scavengers, children and other unauthorized persons.
5. The workers/soldiers employed in the removal of the waste must wear protective clothing: long sleeves, gloves and facemasks. Any solid gloves protecting against direct contact and dust will do. Paper masks plus a tight krama is recommended. After work thorough body wash is needed. Working clothes should be washed every day after use.
6. No special precautions are needed for the population in the closest villages.

Their water source seems safety.

7. The well in the woodcutter's camp very close to the site should be closed.
8. As there may be long term health risks from the waste, anyone possessing ascertained parts of the waste should notify local authorities so it can be collected and disposed of properly.
9. Workers and soldiers exposed to the waste should be followed up medically if they develop symptoms of poisoning. Guidelines for this should be developed.
10. Domestic animals should be kept outside the waste area.
11. Fish in the pond next to the site should not be consumed.
12. After removal of the waste a layer of approximately 5cm topsoil should also be removed.

7. Further recommendations after the analysis of samples

- 1 As the mercury concentrations in the waste was very high and it was dumped on the hilly area surrounded with a pagoda and some villages in lower lying land, it should be removed as soon as possible in a safety way. Waste should not be heated in order to avoid the mercury vapor exposure.
- 2 The workers/soldiers employed in the removal of the waste must wear protective clothing: long sleeves, gloves and facemasks in order to avoid the inhalation of the dust and the direct skin contact.
- 3 The contamination of the environment of Sihanoukville would not be worried if the clean up of the site was properly carried. No special precautions are needed for the population in Sihanoukville and in the closest villages, since their water sources close the site were not contaminated with mercury. The well near the site should be closed, since the water was contaminated with the dust of waste.
- 4 After removal of the waste a layer of approximately 5-10 cm topsoil should also be removed. Check of the mercury contamination would be necessary to know whether the clean up was properly done or not.

References

- WHO Environmental Health Criteria 1: Mercury (1976).
- WHO IPCS, Environmental Health Criteria 101: Methylmercury (1990).
- WHO IPCS, Environmental Health Criteria 118: Inorganic Mercury (1991).
- Mercury Contamination in Man and his Environment, International Atomic Energy Agency, Vienna, (1972).
- Advances in Mercury Toxicology, Edited by T. Suzuki, N. Imura and T. W. Clarkson, Plenum Press, New York and London (1991).
- Bowen H J M.: Trace Elements in Biochemistry (1966)
- Birke G *et al.*: Studies on humans exposure to methyl mercury trough fish consumption. Arch. Environ. Health 1972, 25, 77-91.

Acknowledgments

We wish to express our appreciation to all those who assisted the mission and subsequent investigation and analysis. The mission required considerable advice and assistance, in particular in technical and practical matters both before and during the mission from a number of individuals at WPRO in Philippine, in Tokyo and particularly in the field in Cambodia. We would especially like to express our appreciation for the support from local government officials in Cambodia and the hard work by the local assistance from Dr KE Mony and Dr PP Rainsey who assisted in the field research.

8 Continuous monitoring

After removal of the waste a layer of approximately 5-10 cm topsoil, checking of the mercury contamination at 15 points of surface soil was carried out. Then, the soil containing more than 20 ppm was removed again. Finally, all the monitoring points became lower than 20 ppm. Monitoring of the well water near the dumping place was also continued for 2 years. The mercury concentration in the well water did not show the significant increase. All the monitoring was completed in August 2000.

Waste Samples

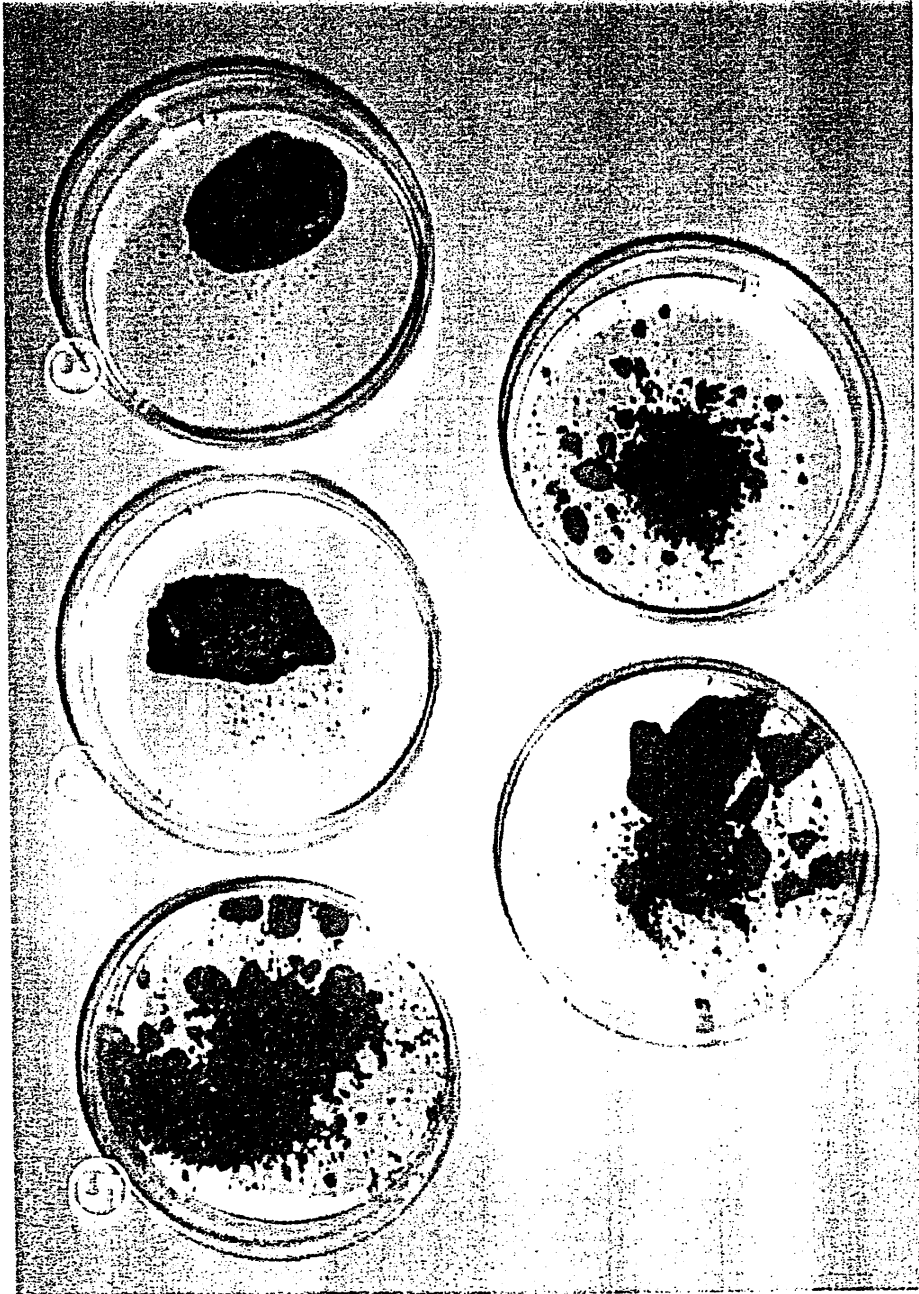


Table 1. Mercury concentrations in waste samples (dry weight basis)

Number	Property	Color	Moisture (%)	Total Hg (µg/g)	Methyl Hg (ng/g)
1	Solid (fragile)	Gray	28.4	496	-
2	Solid (fragile)	Gray	26.4	724	-
3	Solid (hard)	Black	11.4	2497	-
4	Solid (hard)	Black	1.3	3984	-
5	Sand	Brown	31.1	97	33.7

∴ Below 1.0 ng/g

Table 2. Cadmium, manganese, nickel, lithium, zinc, lead, iron and copper concentrations in waste samples (dry weight basis)

Number	Cd (ng/g)	Mn (µg/g)	Ni (µg/g)	Li (µg/g)	Zn (µg/g)	Pb (µg/g)	Fe (µg/g)	Cu (µg/g)
1	26	979.0	25.5	111.2	1018.6	194.7	51451	323.3
2	11	1779.6	27.6	448.7	968.3	499.2	87525	306.5
3	-	445.4	10.6	147.0	187.8	87.1	23058	92.6
4	-	83.3	19.9	7.5	102.8	35.1	26834	35.1
5	9	1140.6	76.7	99.5	561.9	134.9	48807	317.9

∴ Below 1.0 ng/g

Table 3. Mercury concentrations in water samples

Sampling point	Total mercury in water (ng/l)	
	Supernatant fluid	Whole (suspension)
① Well (200-300m below the site)	6.3	153.2
② Tap water in Pagoda (1km below the site)	3.7	3.6
③ Well (200m below the Pagoda)	4.2	8.3
④ Tap water (1.5km far from the site, another side across a Road no. 4)	5.5	2.2

Table 4. Complaints of port workers

Object No.	Gender (age)	Exposure period (days)	Exposure period (hours)	Complaints (after the work)	Complaints (present)	Condition (change)
P-1	Male (32)	1	4	Stomatitis, dizziness, cough, weakness	Weakness, stomatitis	Better
P-2	Male (42)	1	5	Visual trouble, weakness	Visual trouble	Same
P-3	Female (40)	4	8	Headache, weakness	Headache, weakness	Better
P-4	Male (34)	2	8	Dizziness, headache, diarrhea	Dizziness, headache, diarrhea, stomachache, cough	Better
P-5	Male (33)	2	5.5	Weakness, stomachache, headache, stomatitis	Weakness, stomachache, headache	Better
P-6	Male (55)	2	4	Dizziness, weakness	Dizziness, weakness	Better
P-7	Male (30)	1	4	Visual trouble, feeling sleepy, chest pain	Weakness,	Better
P-8	Male (31)	1	4	Weakness, cough, body pain	Weakness, pollakiuria, stomachache	Better
P-9	Male (35)	1	4	Weakness, chest pain, headache	Headache, sore throat	Better

Interviewed by Dr K E Mony and Dr P P Raingsey

Table 5. Complaints of site workers

Object	Gender (age)	Exposure period (days)	(hours)	Protection	Complaints (during the work)	Condition (before working at the site)
S-1	Male (25)	4	16	±	Sore throat, dizzy, chest pain, thoracic oppression,	Healthy
S-2	Male (28)	4	16	±	Chest pain, thoracic oppression, asthenia	Healthy
S-3	Male (26)	4	16	±	Thoracic oppression, dysuria (minor pain and burning during urination), sore throat, headache	Healthy
S-4	Male (28)	4	16	No mask	Sore throat, trouble of vision, chest pain, skin irritation	Healthy
S-5	Male (28)	4	16	-	Thoracic oppression, trouble of vision, headache, skin irritation, Wound on the finger caused by the broken part of the waste	Healthy

Table 6. Mercury concentrations in human samples

Object	RBC (Total Hg) (ng/g)	RBC (Methyl Hg) (ng/g)	Serum (Total Hg) (ng/g)	Urine (Total Hg) (ng/ml)	Hair (Total Hg) (ng/g)	Hair (Methyl Hg) (ng/g)
P-1	19.0	17.1	2.61	3.27	3.87	2.29
-2	16.3	14.3	2.94	1.96	3.39	3.22
-3	22.2	21.0	3.27	1.80	4.45	3.32
-4	19.6	15.7	2.94	1.63	3.63	3.18
-5	20.9	18.1	3.59	3.43	3.39	3.25
-6	25.5	22.4	2.94	1.47	4.79	4.21
-7	13.1	11.8	1.96	2.12	2.17	1.58
-8	17.0	15.7	2.29	0.82	5.08	3.26
-9	19.0	17.7	3.26	3.43	4.68	3.60
S-1	14.7	11.2	3.92	5.56	3.44	2.12
-2	17.0	13.4	3.26	4.41	1.64	1.30
-3	10.5	8.1	3.26	6.53	3.71	2.06
-4	11.7	7.5	4.58	3.84	1.29	1.16
-5	16.0	14.1	3.26	water	4.32	—
C-1					2.27	1.89
-2					2.89	2.84
-3					2.36	2.21
-4					1.68	1.59
-5					3.55	3.37

P: Port worker who has complaints.

S: Site work at the site.

C: Control who works in the center of Sihanoukville

Report for the cooperation about Hg monitoring at Chittagong Chemical Complex (CCC) in Chittagong, Bangladesh

We, JICA experts carried the final confirmation of the project at CCC for 9 days from 30/10/00 to 7/11/00. The confirmations are as follows;

- 1) The final confirmation about Hg monitoring technique by the JICA experts.
- 2) The confirmation about the necessary matters to continue Hg monitoring in future.
- 3) The reconfirmation about the necessity of Hg monitoring in CCC for future.

1. JICA experts.

The following four JICA experts visited CCC.

Dr. Atuhiro Nakano	National Institute for Minamata Disease
Dr. Mineshi Sakamoto	National Institute for Minamata Disease
Mr. Tosiya Endoh	Sugiyama-Gen Iriki Co.,LTD
Mr. Kentaro Yanagi	Kyushu Environmental Evaluation Assoc.

2. Schedule for JICA experts at CCC.

The following schedule was decided after the meeting with CCC staffs (Mr. Mohsin Uddit Takukder (Deputy Chief Chemist), Mr. Santosh Kumar Sil (Deputy Chief Chemist) and Mr. P. N. Waddader)

Schedule for

10/30 (Monday)

Meeting in CCC for the schedule of Hg monitoring in this time.

Brief checking of the Hg-analyzer condition.

10/31 (Tuesday) –11/1(Wednesday)

Settlement of the troubles of Hg-analyzer (Bubbling in the water level detector).

Adjustment of the condition of Hg-analyzer.

Blank and standard checking.

Calibration for Hg analysis.

11/2 (Thursday) –11/3(Friday)

Holiday.

Making a manual for Hg-analyzer maintenance.

11/4 (Saturday) –11/5 (Sunday)

Checking the accuracy of sampling from monitoring points.

Checking the accuracy of Hg measurement.

11/6 (Monday)

Technical transfer for Hg-analyzer maintenance.

Technical transfer for trouble treatment.

11/7 (Tuesday)

Assessment of the Hg monitoring in CCC up to the present.

Discussion about the possible cooperation for 5 years from now.

Discussion about the possible problems in future.

Discussion about the provision of the spare parts for Hg analysis in future.

Requests for the future monitoring from JICA experts.

Requests for the future monitoring from CCC site.

3. Activities

3.1 Inspection about Hg analyzer

JICA experts carried out the inspection about Hg analyzer. As the result of inspections of all circuits of the analyzer, some troubles were found in the analyzer. Exchanging their parts solved the troubles. The analyzer became good condition after using all the spare parts reserved in CCC. And we solved some problems (bubbling in the water level gauge, Hg peak telling), which happened when we visited CCC at the last time.

Further, we made the maintenance manual for Hg analyzer in CCC. Staffs in CCC could understand the method for the maintenance.

3.2 Assessment of the Hg monitoring technique.

JICA experts and CCC staffs confirmed the sampling points and collected samples. CCC staffs were collecting samples with good understanding about the meaning the monitoring.

Further, we confirmed the technique of the analysis of CCC staffs using the samples. The calibration, blank test and standard were carried out accurately by the staffs. Their analytical technique level was sufficient enough.

Next, JICA experts checked the results of Hg analysis reported from CCC. The level of Hg in each monitoring point was almost settled. The water at points No.1~No.3 the upstream from the

laboratory and the water at points No.4 and No.5 did not show any Hg contamination until now. Therefore, we decided to stop the monitoring from the 5 points. We confirmed the continuous monitoring for another 3 point that showed high Hg concentration. We also confirmed the continuous monitoring for all the well water with the understanding for the significance.

3.3 Confirmation for the necessary matters for the continuous Hg monitoring

We confirmed that Hg monitoring was carrying out with three CCC staffs. The technique will be transferred even if one or two staffs move to another section in the future.

For the maintenance at this time, we used up all the spare parts, which were reserved in CCC as mentioned in 3.1. If the maintenance of Hg analyzer is necessary once in two years, we have to supply the spare parts in a year. In addition, we must supply the chemical reagents (SnCl_2 , Sn, Hg-std) that are impossible to keep for a long time. Also, some frequently used expendables (Fintips for 10ml, Printer-ribbon) are necessary to supply. About the supply, we decided to discuss with the staffs of JICA and JBIC.

3.4 Confirmation for Hg monitoring in the future

JICA experts and CCC staffs discussed about Hg monitoring in future. The contents of discussion are in appendix (Material for the final meeting). The following 5 staffs from CCC joined to the discussion.

Mr. Ezharul Haque, GCM (OPR)

Mr. Saifullah Chowdhury, GM (MTS)

Mr. B. K. Chowdhury, Addl. C. E (Mech.)

Mr. P. Wadadar. D.C.M.E

Mr. Santosh Kumar Sil. Dy. Chief Chemist.

The pivot of our discussion was JICA' cooperation to continue the Hg monitoring for 5 years in future. There seemed some differences in the understanding about the monitoring between BCIC and CCC' staffs. CCC staffs seemed that they were urged to do Hg monitoring. For the further monitoring in future, they were thinking that JICA' backup was a matter of course. It is necessary for JICA and JBIC to reconfirm immediately about the backup.

4. The summary of this project

Hg monitoring-staff in CCC have enough knowledge for the necessities of Hg monitoring. Also, they have mastered how to using Hg analyzer. We can conclude that Hg monitoring technique was transferred enough. We feel that 95% of the object of this project was completed. However, remaining 5% is a matter of anxiety about the monitoring for 5 years in future.

The maintenance of the Hg analyzer is essential to continue the monitoring. Without the support for the maintenance, it may be impossible for CCC staffs to continue the monitoring. In BCIC, we emphasized the importance of the monitoring. And the staffs of BCIC also wanted the further support for the maintenance.

【Material for the final meeting】

JICA cooperative matter about Hg monitoring in Chittagong Chemical Complex, Barabkund, Bangladesh

Subjective: According to the agreement between OECF and CCC, CCC must report the environmental Hg contamination from the disposal area of an oil plat for caustic soda.

Technical transfer and equipment arrangement for Hg monitoring should be established with JICA cooperation. After the acquirement of the techniques, CCC must report the results of Hg monitoring to OECF for further 5 years.

Assessment of the Hg monitoring in CCC up to the present.

Technical transfer for Hg analysis was carried out 3 times in Japan.

Hg analyzer was set up in CCC and monitoring points were selected.

Technical transfer for Hg monitoring was carried out 3 times at the field in CCC.

Technical transfers for sample collection and Hg measurement were achieved to sufficient levels the cooperation of this project.

(Mr. Salim Mia and Mr. Nesar Ahmed under Mr. S. K. Sil are mainly engaged to the work and send the results of the analysis.

They have acquired enough skills for Hg sampling of analysis through our training in Japan and CCC.)

Technical transfer for Hg analyzer maintenance was carried out in this dispatch.

Technical transfer for Hg analyzer maintenance was achieved to sufficient levels.

(Mr. Endo, a technical expert for Hg analyzer mainly trained Mr. Salim.)

An interim report about Hg contamination:

Hg concentration in the main drain is still high.

Hg concentration in the well waters nearby the old plant is high.

Monitoring should be continued once a month for more than two years.

The control surface and well water are not contaminated with Hg.

Therefore, we can reduce the number for collecting surface waters.

(Sampling should be continued in the main drain, in rivers just under the main drain, upper and down streams.)

In order to continue the monitoring for future 5 years, maintenance of Hg machine and providing some spare parts and reagents in future are needed.

Expendables and reagents needed to supply in the near future;

1,000 Fintips for 10 ml, Printer-ribbon for Hg analyzer, SnCl₂ 500 ml, Hg-Std. 100 ppm.

Discussion about the possible cooperation for 5 years from now.

Discussion about the possible problems in future.

Discussion about the provision of the spare parts for Hg analysis in future.

Requests for the future monitoring from JICA experts.

Requests for the future monitoring from CCC site.

International cooperation on mercury environmental monitoring in Bangladesh

Yanagi. K.⁽¹⁾ Matsuoka. N.⁽¹⁾ Endoh. T.⁽²⁾ Sakamoto. M.⁽³⁾ Aramaki. R.⁽³⁾ Nakano. A.⁽³⁾

(1)Kyushu Environmental Evaluation Association, (2)Sugiyama-Gen Iriki Co., LTD

(3)National Institute for Minamata Disease

In Bangladesh, conversion to the ion-exchange membrane method from the mercury electrode method has been performed in caustic soda production. In this process, the mercury environmental pollution caused by mercury from the old factory, which had been using the mercury electrode method needed to be investigated, and environmental monitoring would have to be carried out also in the future. However, in Bangladesh there is no basis to carry out such environmental monitoring. Thus, international cooperation was required to do the monitoring. Then, the Japan International Cooperation Agency (JICA) recognized this issue as an important international cooperation project, and made the joint-work for environmental monitoring commissioning National Institute for Minamata Disease (NIMD) and Kyushu Environmental Evaluation Association (KEEA). Local training has been done now four times in Bangladesh, and the training of counterparts three times in Japan. Mercury measurement equipment installation, field survey, and monitoring technology transfer have been completed.

The focus of the international cooperation was the Chittagong Chemical Complex (CCC). Caustic soda production at the CCC factory was began with the mercury electrode method in 1966, and converted to the ion exchange membrane method in 1988. We were concerned about the environmental pollution caused by the leak of mercury from the electrolytic cells. While we jointly performed a local survey with the local CCC staff, a technology transfer was made concerning analysis (the 1st phase). The old factory (mercury electrode method) was dismantled during the 1st phase, at the end of the 1st phase, environmental monitoring by the local staff has been carried out up to the present (2nd phase). The monitoring has been down on the water sample of groundwater and river water, and the results have been periodically reported to Japan.

From the results reported to date, the following facts were revealed. A quite high concentration of mercury (total mercury) has been observed in the groundwater near the old factory and the concentration variation with time has also been seen (Fig. 1). In the groundwater more than 100 m far away from the old factory, however, the mercury concentration has been very low. So it can be considered that the mercury from the old factory has not dispersed a long distance (Fig. 2). Although some contamination was

seen in the sewer water adjacent to the old factory, no contamination has been observed in the neighboring river water.

It is important to continue the monitoring and evaluate the pollution dispersion, especially observing whether or not the natural barrier will be effective in the future to prevent the mercury dispersion in the underground system.

Fig. 1 Mercury concentration in the underground water close to the old factory.

Fig. 2 Mercury concentration in the underground water far from the old factory.

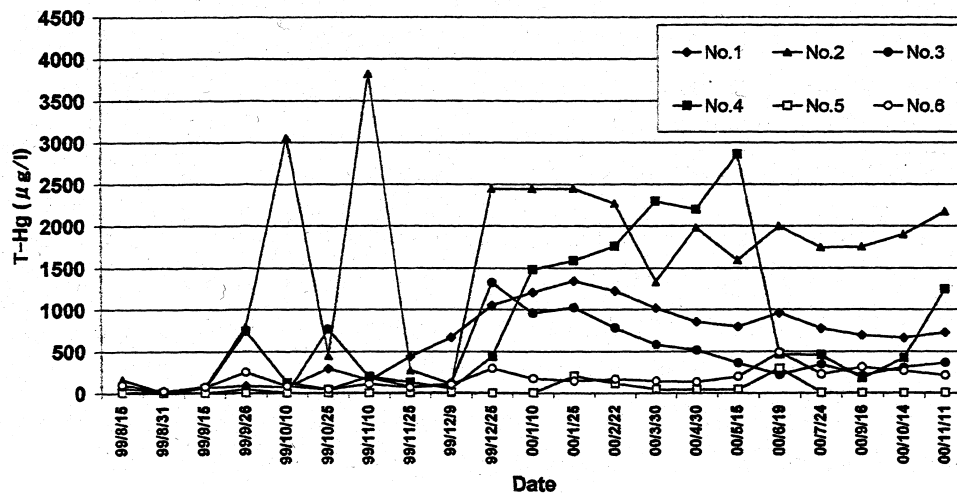


Fig.1 Mercury concentration in the underground water close to the old factoryt.

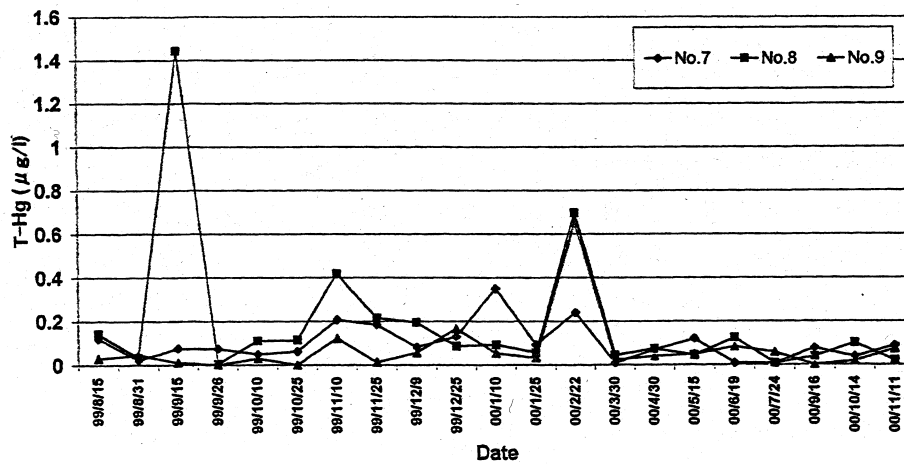


Fig.2 Mercury concentration in the underground water far from the old factory.

The neurological investigation of the residents with high mercury levels in hair in Amazon basin as a member of JICA

Junji Wakamiya, Ken-ichirou Miyamoto

Para University asked JICA to examine neurological findings of the residents with high mercury levels in hair in Amazon basin. We, J. Wakamiya and K. Miyamoto, went to Brazil from 5 January to 1 February. We went to the field, upper basin of Tapajos river, in which the team in Para University follows up, and examined neurological findings, electrophysiological studies, and asked anamnesis to the residents with high mercury levels. As a result of neurological examination, there is no patient with Minamata disease among 31 residents who we examined. There is no man who was suspected to have neurological findings caused by methyl mercury without 3 men. Their hair mercury levels ranged from 2.7 to 48.3 ppm.

In this case study, the sample size is one-third in the village. Many men with higher mercury levels than the residents we examined were reported in other areas. And facts to which the government takes policy are not enough. Therefore, we proposed the following study method and organization.

The objects are the effects of the environment and human health. The organization of the cooperation study including database and sampling system was needed. And the case control study was needed. To say concretely, in environmental study, the condition of pollution, for example, distribution of galimpo, mercury levels in the river and fishes, and ethylating was investigated for a purpose of estimation of the pollution and restoration of the environment. The study on fetal effects was urgent.

The committee was organized, included Para University, Evandro-Shaagas institute, DNPM, CETEM, and the Para state government.

Para University wants to have collaboration study with us. And JICA plans to propose them to progress this study plan.

The Vietnam - Japan Seminar on Minamata disease

Noriyuki Hachiya¹ and Mineshi Sakamoto²

¹*Department of International Affairs and Environmental Sciences*

²*Department of Epidemiology, National Institute for Minamata Disease*

The seminar on Minamata disease is held in developing countries since 1996 by Ministry of the Environment for dissemination of health, social and economic impacts of environmental pollution based on a Minamata experience. It is conducted as an international cooperation program according to the statement of Prime Minister on solving the problem with Minamata disease in 1995. The aim of the program is to provide information for people of developing countries, where environmental destruction is worried about in the progress of economic development, to recognize the serious effects of environmental pollution in various aspects and the importance of environmental protection by introducing the experience and learning of Minamata disease from different standpoints of scientist, government administrators, and the patients and victims. The fifth seminar was held in cooperation with Ministry of Science, Technology and Environment of Vietnam on March 7, 2001 at Hotel Melia Hanoi in Hanoi, Vietnam.

Fourteen Japanese were dispatched to the Vietnam seminar. They included three victims, an NGO staff and a citizen sent from Minamata and Niigata by Earth, Water and Green Foundation, two government administrators by governments of Niigata Prefecture and Minamata City, and Director Hara, Dr. Hachiya and Dr. Sakamoto by Ministry of the Environment. Prof. Niimi, who had been in Vietnam for the purpose of a JICA project was joined to the member in Hanoi.

Nearly two hundred audiences came to the seminar. Government administrators, scientists and physicians of research or medical institutes and universities were invited. The guidance video of Minamata disease was shown prior to presentations and photo panels of S. Kuwabara and of Minamata City and photograph collections of Minamata disease were also exhibited.

The title of presentation was the followings:

The outbreak of Minamata disease and issues in the early stage	N. Hachiya
Minamata disease and anti-pollution measure	N. Hara
The Message from a patient of Minamata disease	T. Sugimoto
Impression concerning Minamata disease problems	M. Ishida
Thinking of Minamata disease from a stand point of a community resident	T. Koyanagi
Minamata disease problems and measures of Minamata City	M. Fukuoka
Niigata Minamata disease and measures of Niigata Prefecture	M. Tomita

Victim supporting activity of NGO for establishment of “environment human right”

H. Takano

The message from a patient of Niigata Minamata disease for descendant

K. Higuchi

Environmental problems and measures in Japan

I. Niimi

Pollution sources, dynamics in environment and human, and toxicity by three chemical forms of mercury

M. Sakamoto

Environmental pollution of mercury and contamination level in human blood, hair and urine

*Nguyen Khac Hai

Measurement of mercury in serum, erythrocyte, hair and urine for clinical diagnosis

*Le Lan Anh

Food contamination of chemicals and its surveillance and management system in Vietnam

*Tran Dang

*:speaker from Vietnam

Hara, Hachiya and Sakamoto visited Institute of Hygiene and Epidemiology, National Institute of Occupational and Environmental Health, and National Center for Natural Science and Technology of Vietnam and discussed on further cooperation.

Cooperative Study on Environmental Pollution in Vietnam (1990-2000)

Komoyo Eto, Akira Yasutake and Mineshi Sakamoto

On May 16, 2000

Dr. Nguyen Xuan Thanh mailed the problem of poisoning in Vietnam to our Institute. He suspected the poisoning concerned to mercury. And he sent us the next paper.

1. Preliminary results of investigation on the Minamata-like disease at a gold mining area of Vietnam.

Nguyen Xuan Thanh

Institute of Hygiene & Epidemiology, Vietnam

I . Introduction

Although the Minamata Disease (MD) has been detected in Japan and other countries with thousands of cases since 1956, it is the first time the disease is investigated in Vietnam. At a gold mining area in the North, liquid mercury has been used to extract metallic gold from gold containing stone after milled by miners. The outbreak of MD-like disease with predominant symptoms of nervous system was registered officially in 1990. Up to now, it is estimated about more than 3,000 cases. Most victims are suffering from muscle weakness and the sensory disorders with tendency of more serious at distal portions of four extremities (glove & socking sign). Some developed symptoms of cerebellar lesion such as ataxia etc. There is no research work conducted for MD in the country so far.

We have investigated victims to verify whether they are suffering from the MD.

II . Patients and Methods

A. Patients :

Among 250 victims with complaint of sensory disturbance, we have selected relative typical 35 patients with one more adding symptom based on the Diagnostic Guideline for Minamata Disease issued by Environmental Health Department, the Environment Agency, July 1977, Japan. They are examined for clinical features, biochemical data and blood mercury levels. Twenty blood samples from healthy staff members were taken in parallel to analyze mercury levels as controls.

In addition, sediment, fish, shellfish, frog, snake specimens in the areas where patients are living with are also taken for mercury analysis.

B. Methods

Doctors of Neurological Department examined clinical features. Blood samples were drawn during investigation time for mercury analysis by using AAS according the same method described elsewhere.

III. Results

- Clinical features observed in 35 patients
- Sensory disorder with glove & socking sign : 35
- Sensory disorder at oral area : 35
- Muscle weakness : 35
- Tremor of lips and tongue : 33
- Tremor of bilateral hands or legs : 21
- Dysequilibrium : 15
- Hearing impairment : 12
- Ataxia marked or suspected : 11
- Bila. concentric contraction of visual fields : 8
- Nistagmus : 6
- Mercury concentration in some tested specimens

(Assayed by AAS)

Specimens from site 1 & site 2 :

Sediment : 3.14 ppm, 2.68 ppm

Shellfish, fish : 5.5 ppm, 5.94 ppm

Frog, snake : 6.69 ppm, 10.34 ppm

Note : site 1, site 2 : a lake and a steam where miners have dumped Hg containing waste (upper layer contains milled stone powder after separated gold into liquid mercury) and burned to collect gold amalgamated into the mercury. Most patients have caught fish, shellfish, frog from the sites for their meals.

- Mercury levels in whole blood

Patients group (n ; 24) : 41.5 ± 12.21 ppm

Control group (n ; 20) : 0.5 ± 0.14 ppm

IV. Discussion

The preriminary results showed that the patients have symptoms similar to MD according to The Guidelines. Because it is the first cases in Vietnam, we could not confirm the diagnosis as

MD though mercury levels were rather high in whole blood. Mercury values has been analyzed in only one lab. That is not experienced before. It is necessary to have the same specimens retested at other laboratories and consult the results at institutes with experts for the MD.

Table. List of 43 hair samples

CODE	NAME	AGE	SEX	Me($\mu\text{g/g}$)
1	BVT	28	M	0.95
8	BTN	38	F	1.39
10	BVQ	11	M	1.21
11	PTT	43	F	1.32
13	NTH	40	F	1.76
16	BVQ	14	M	1.29
20	BVY	41	M	1.30
21	BTB	38	F	1.41
25	BTM	47	F	1.17
26	BTX	37	F	1.06
29	BTB	45	F	0.97
31	BTN	43	F	1.01
32	BVT	36	M	1.08
39	BTH	27	F	1.61
40	QTC	38	F	2.74
45	BTB	37	F	1.39
46	BTC	29	F	1.30
47	BVT	5	M	1.97
49	BTN	28	F	1.13
50	BTB	30	F	1.28
62	BTS	26	F	1.58
63	QTH	48	F	1.45
78	BVD	47	F	1.61
80	CTD	35	F	1.93
85	BTN	27	F	1.73
111	BTH	35	F	1.11
116	BTM	41	F	1.18
117	NTD	44	F	1.08
124	BTN	52	F	1.59
133	BVT	41	F	1.78
134	BTS	46	F	1.90
450	NTV	50	F	1.66
451	BVH	39	M	2.56
452	QTD	35	F	1.54
453	NTT	31	F	1.34
S.C1	BXD	45	M	2.19
S.C2	BVL	43	M	1.84
S.C3	BNL	45	M	2.93
S.C4	BVH	43	M	2.23
S.C5	QTB	30	F	1.52
E7-1	DVH	45	M	2.48
E72-3	NTH	17	F	1.72
E72-9	PDB	40	M	2.94

1.61 $\pm$ 0.52

2. Analyze of methylmercury in the hair samples and sediments at a gold mining of Vietnam

Akira Yasutake and Mineshi Sakamoto

National Institute for Minamata Disease

Dr. Thanh sent our Institute 35 hair sample from the patients who had reported in his paper and other 7 samples from victims with sensory disturbance only. He asked us to measure methylmercury level and to give his information relating to MD in Vietnam.

All hair samples were washed 3 times by using distilled water / dry with vacuums dryer at 30°C and keep dry before transferring to our Institute.

The contents of methylmercury in the samples showed in the Table. The contents of methylmercury showed 1 – 2 μ g/g.

Mineshi Sakamoto performed another analysis of mercury in the sediment. Hg in site 1 was 4.8 ng/gw was 52.1 ng/gw in site 2. Gw equals gram at wet base. These concentrations are normal levels.

Comments :

We have made a suggestion for Dr. Thanh to measure the samples except mercury like lead or other toxicant levels.