

平成 16 年度年報の発刊にあたって

当センターは、昭和 53 年創立以来 26 周年を経過し、国立試験機関として水俣病や水銀に関する総合的な研究・業務を遂行して参りました。

平成 15 年 7 月の「環境調査研究所」との組織統合に伴い本研究センターの「共同実験棟」も着々と建設が進められ完成間近になりました。国際協力や人材育成等において益々の発展が望まれます。

国際協力分野では、本年 1 月 12 日から 14 日にかけて、分館の水俣病情報センターを会場に「メチル水銀とカドミウムリスク評価とリスクマネジメントにおける今日的課題」をテーマとして NIMD Forum 2005 を開催しました。

当センターは昭和 61 年 9 月 24 日に WHO の協力センターに指定されており、平成 16 年 8 月にはインドネシアのブイヤット湾で発生した「謎の疾病」に関して、WHO からの要請で、当センターから専門家を派遣して調査を行い、現地で噂の高かったメチル水銀中毒ではないという結果報告を致しました。また、同年 11 月にはフィリピンのマニラ市で開かれた「アジア及び東アジア国の健康と環境に関する高官会議」に WHO 西太平洋事務局からの招聘があり、所長以下がオブザーバーとして参加し、当該事務局のアジアの発展途上国への健康維持の面からの支援を改めて認識致しました。

昨年 10 月 15 日の水俣病関西訴訟の最高裁判決によって、国や県の行政責任が認められました。職員一同被害者への支援をモットーとして研究・業務に研鑽を積んで行きたいと考えます。

ここに平成 16 年度の研究成果・業務活動についてのまとめを報告致しました。関係皆様の変わりないご指導及びご鞭撻を衷心よりお願い申し上げます。

平成 17 年 3 月

国立水俣病総合研究センター
所長 衛藤 光明

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現機序の解明と治療法の開発に関する研究	14
3) メチル水銀の毒性検定及び次世代影響に関する実験的研究	39
4) メチル水銀の乳・胎児曝露におけるリスク評価	45
5) 水銀に関する環境科学的研究	72
6) 水俣病に関する社会科学的研究	86

3. 行政研究・業務報告

1) 水俣病患者のリハビリテーション及び健康相談	89
2) 水俣病発生地区住民の健康影響	91
3) 国水研の情報発信のためのデータベース作成	93
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	94
5) 国際共同研究事業の推進	95
6) 開発途上国からの来訪者の研修指導	101
7) 世界の水銀汚染地域住民の毛髪中の水銀量調査	105

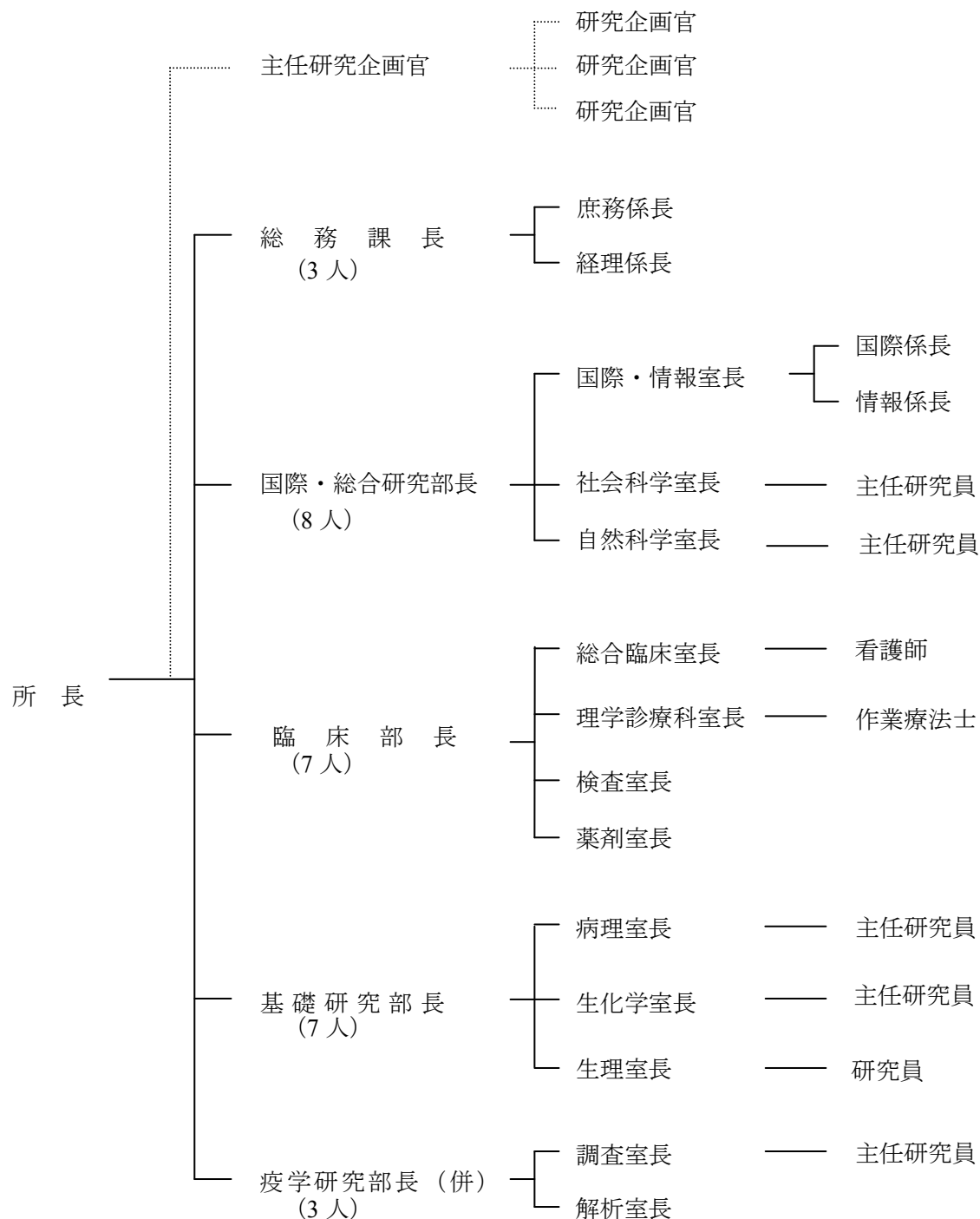
4. 研究発表一覧	
1) 国際・総合研究部	107
2) 臨床部	111
3) 基礎研究部	114
4) 疫学研究部	117
5. 所内セミナー記録	121
6. 客員研究員指導記録	122
7. 所内研究発表会記録	131
8. 客員研究記録	133
9. 共同研究記録	135
10. 委員会名簿	139
11. 国立水俣病総合研究センターの概要	
1) 予算	141
2) 定員	141
3) 主要施設整備状況	142
4) 施設配置図	143
附1. 人事異動	144
附2. 主な来訪者	145

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 17 年 3 月 31 日現在)

所長	技 官	衛藤 光明	○臨床部		
主任研究企画官	(併) 同	二塚 信	臨床部長	技 官	若宮 純司
研究企画官	(併) 同	山本 圭子	臨床総合室長	同	中村 政明
同	(併) 同	有村 公良	理学診療科室長	同	臼杵扶佐子
同	(併) 同	永沼 章	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	三橋 英夫	看護師	同	宮本 清香
庶務係長	同	山内 義雄	作業療法士	同	黒木 静香
経理係長	同	川久保康範		事 務	
	同	田中 秀志		補佐員	古澤美代子
	事 務			同	岩坪 清子
	補佐員	岩本千恵美	○基礎研究部		
	同	坂本まり子	基礎研究部長	技 官	中野 篤浩
	同	宮尾 梨恵	病理室主任研究員	同	足立 達美
	同	小坂 和美	生化学室長	同	安武 章
	同	告坂 明子	生化学室主任研究員	同	永野 匡昭
	同	江口 靖夫	生理室長	同	藤村 成剛
○国際・総合研究部				事 務	
				補佐員	落合利江子
国際・総合研究部長	技 官	中村 邦彦		同	鶴田 香美
国際・情報室長	事務官	馬場 清		同	日高くるみ
情報係員	同	山川 伸也	○疫学研究部		
社会科学室長	技 官	蜂谷 紀之	疫学研究部長 (併)	技 官	中野 篤浩
自然科学室長	同	保田 叔昭	調査室長	同	坂本 峰至
自然科学室主任研究員	同	松山 明人	主任研究員	同	劉 曉潔
自然科学室研究員	同	丸本 幸治		事 務	
	事 務			補佐員	湊上 陽子
	補佐員	緒方 望			
	同	湊上 重美			
	同	淵上美登利			

(定員 29 人 現員 26 人)

2. 開発研究

1. 水俣病の臨床医学的研究

研究概要

本研究課題は、水俣病の臨床医学的調査及び研究を目的としている。

臨床医学的には、成人例における水俣病の病像に関する研究、メチル水銀の知的機能に及ぼす影響に関する研究、サーモグラフィを用いた水俣病患者の客観的診断法の開発に関する研究を行い、胎児例に関しては、胎児期のメチル水銀曝露の健康影響に関する研究を進めている。

病理学的には、新潟水俣病全剖検例の生化学的・病理学的検討及び低濃度メチル水銀曝露における剖検脳の神経病理学的研究を行っている。

実験的には、メチル水銀のグルタミン酸レセプターを介した脳神経細胞局在性傷害に関する研究、メチル水銀中毒への不飽和脂肪酸の影響、金採掘労働者の無機水銀中毒症の治療法の開発に関する臨床的・基礎的研究を行っている。

社会的及び臨床的に未解決な課題を解明すべく研究を継続している。

本年度は以下のような進捗状況である。

1) 新潟水俣病全剖検例の生化学的・病理学的検討

これまで新潟大学医学部から送付された 30 例の剖検例の全症例臓器の水銀組織化学反応、水銀及びセレン濃度の測定、臨床記録の収集が終了し、本年度は、新潟大学脳研から送付された 5 症例の検索を行い、その内の一症例は典型的慢性メチル水銀中毒の病理所見であった。来年度で新潟大学の 30 症例全てが当センターに収集される予定である。

2) 水俣病患者の病像に関する研究

本年度は奇数年に審査を行った水俣病申請者を含めて時系列解析を行い、昭和 52 年を境として申請者全体、認定者、棄却者の傾向が変化していた。水俣病非発生地域をコントロールとして分析した場合、若年者に多かったが、熊本では棄却者をコントロールにした場合、高齢者に高く、逆の結果が得られた。熊本では認定者は経過とともに低下していたが、棄却者は経過とともに高くなっており、逆の傾向を示していた。1977 年以降の認定者と 1976 年以前の認定者を比較すると、女性、男性とも判別上重要な因子は低くなっており、全体的に症状が軽減しているが、合併症と考えられる項目が高くなっていることがわかったが、全体的には病像は変わらないと考えられた（詳細後述）。

3) 胎児期のメチル水銀曝露の健康影響に関する研究

最低 40 名の症例数を目標としているが、昨年度まで 15 名の検査を行なった結果、臍帯メチル水銀濃度と知能テストとの相関が高かった。本年度はさらに昨年より 3 名の研究協力者が得られ、症例数を 18 名とした。

4) メチル水銀の知的機能に及ぼす影響に関する研究

水俣病患者の剖検者を対象として、熊本県水俣病患者及び棄却者について、老年痴呆・アルツハイマー病との関係を検討し、魚食量および痴呆の程度と A β 、tau 蛋白染色の定量結果を性、年齢を調整して検定したが、有意差は認められなかった。しかし、脳血管障害が病理所見で見られる症例を除いて解析すると、tau 蛋白が海馬・海馬傍回とも地域差があった（詳細後述）。

5) メチル水銀のグルタミン酸レセプターを介した脳神経細胞局在性傷害に関する研究

成熟ラットメチル水銀の脳障害部位である小脳顆粒細胞及び大脳皮質の局在性にグルタミン酸受容体のメタボトロピック型が大きく関与し、カルパインの活性化、カテプシン B の放出が生じることを明確にした（詳細後述）。

6) 水俣病患者の客観的診断法における負荷サーモグラフィの有用性に関する研究

術後乳癌患者へのアロマセラピーの有用性をサーモグラフィを用いて証明し、水俣病患者の治療への応用を提案した（詳細後述）。

7) 不飽和脂肪酸のメチル水銀中毒への影響に関する研究

胎児性水俣病モデルラットを用いた実験から、学習・記憶行動、ABR への低濃度メチル水銀の毒性を n-3 系多価不飽和脂肪酸+DHA が抑制している可能性を見出し、さらに dose を変えても ABR への影響は生じていることを証明した（詳細後述）。

8) 低濃度メチル水銀曝露における剖検脳の神経病理学的研究

熊本大学大学院医学薬学研究部で剖検された 450 症例の中の水銀沈着症の 3 症例の神経系特殊染色と水銀組織化学反応、Win-ROOF 検索を行った。また、本邦のメチル水銀汚染地区住民で水俣病病変の認められなかった 5 症例を対象に、各剖検例の総水銀、無機水銀濃度を測定した。水銀沈着症の症例は、剖検により脳内に無機水銀の沈着が証明されたが、病理学的には水俣病に特徴的な所見は確認されなかった。ロチェスター大学で行った剖検脳の検索結果により結論が得られると予想される。

9) 金採掘労働者の無機水銀中毒症の治療法の開発に関する臨床的・基礎的研究

本年度は、予備実験的に、ラットに無機水銀及びセレノメチオニンを投与し、腎尿細管機能・糸球体機能を評価した（詳細後述）。

2) 水俣病患者の病像に関する研究

研究担当者	若宮 純司（臨床部）
	有村 公良（鹿児島大・医歯）
	内野 誠（熊本大・医薬）
	秋葉 澄伯（鹿児島大・医歯）
	安藤 哲夫（鹿児島大・医歯）

〔研究の背景および目的〕

ブラジルなど水銀汚染地域においては、人への健康影響を診断せねばならない状況にあるが、メチル水銀中毒症の臨床症状は必ずしも明確になっていない。また、メチル水銀中毒症としての症状以外に老化の影響が加わり、水俣病の診断は容易ではない。そこで、各種データを収集して解析を試みる。この目的に対し、昨年度までに水俣病患者の症状を明確にし、各発生地域（熊本・鹿児島・新潟県）での病像の相違を明確にするとともに、水俣病患者について症状の経過を明確にしてきた。

〔研究方法〕

昨年、偶数年に審査を行った水俣病認定申請者について時系列解析を行ったが、その結果、昭和52年までは、負の相関が得られたのに対し、昭和53年から平成4年までについては、正の相関があることがわかった。また、認定者と棄却者は昭和51年以降逆相関があり、棄却者についてみると、主要症状は、異なる方法での検査結果に相違が見られたり、診察結果に説明のつかない所見が見られたりする場合は、件数が年度とともに上昇していることがわかった。そこで、本年は、奇数年に審査をおこなった水俣病申請者をふくめて時系列解析を行った。

すなわち、平成13年までの水俣病認定申請者中、資料が入手できた熊本県水俣病申請者6,510名（非認定者名6,128名、認定者382名）、鹿児島県水俣病認定申請者994名（非認定者名765名、認定者229名）、新潟県水俣病認定申請者1,046名（非認定者名574名、認定者472名）を対象として二つの方法で得られた判別式から各申請者の判別値を計算し、判別値を従属変数、性・年齢を共変数、経過年を説明変数として重回帰分析を行った。方法1の判別式は、申請者（ケース）か水俣病非発生地区のA町住民（コントロール）かを従属変数とし、性・年齢を共変数、神経症状を独立変数として地域ごと（熊本、鹿児島、新潟）に多重ロジスティック解析を行って得られた判別式であり、方法2の判別式は、認定者（ケース）か棄却者（コントロール）かを従属変数とし、性・年齢を共変数、神経症状を独立変数として地域ごと（熊本、鹿児島、新潟）に多重ロジスティック解析を行って得られた判別式である。

つぎに、1978年以降の認定者（ケース）か1977年以前の認定者（コントロール）かを従属変数、神経所見を独立変数として多重ロジスティック回帰分析を行った。

〔研究結果および考察〕

水俣病非発生地域を対照とした判別点による解析結果をみると、熊本・鹿児島とも、申請者全体、認定者、棄却者とも若いほど判別点が高いことがわかった。これは、魚食量が若い人に多かったことが一因として考えられる。また、新潟の申請者についてみると、申請者全体・認定者については、若い

ほど高く、3県に共通して見られており、魚によるメチル水銀曝露の場合は、一般的に見られる現象かもしれない。この際、棄却者を対照とした判別式による解析結果をみると、熊本県の申請者では、高齢になるほど高いという結果が得られており、水俣病非発地域を対照とした解析と逆の成績が得られている。この理由は、コントロールのとりかた以外に差はないので、両者の有症頻度に差があるためと考えられる。すなわち、棄却者を対照とした判別式から計算したものは、従来から報告されている加齢の影響が前面に出たと思われる。

なお、経過については、熊本について水俣病非発地域を対照とした判別点による解析結果をみると、認定者は、有意な傾向がなかったのに対し、棄却者では、1977年以前は、経過に一定の傾向は見られないが、1978年以降は、経過とともに有意に増加していた。また、棄却者を対照とした判別式による解析結果をみると、認定者は経過とともに有意に低くなっており、棄却者は経過とともに有意に低くなっていた。すなわち、認定者と棄却者は、異なった特性をもっていることがわかった。これは、前年度の報告と同じであるが、理由については不明である。鹿児島については、一定の傾向はみられなかった。ただ、1973年、1974年を除けば、1977年以前は有意に低下しており、1976年に変化がみられた。新潟については、熊本とほぼ同じで、1976年前後に経過が変化していた。3県で曝露様式、曝露からの時間、曝露人口が異なることを考えると、曝露とは無関係な要因によって起こっている可能性が高いと考えられた。

さらに、1978年以降の認定者と1977年以前の認定者を比較すると、1978年以降にアジアドコキネジス、視野狭窄、眼球運動といった判別上重要な因子は、低くなっており、全体的に症状が軽減していることがわかった。また、根性感覚障害や視野非対称といった合併症と考えられる項目が高くなっていることがわかった。また、男性では、1978年以降にアジアドコキネジス、指鼻試験障害、手袋・靴下型感覚障害といった判別上重要な因子は、低くなっており、全体的に症状が軽減していることがわかった。また、歩行障害、視野非対称といった合併症と考えられる項目が高くなっていることがわかった。女性と同じ傾向であった。いずれにせよ、判別上で重要だった項目以外の神経項目が加わっていないこと、判別係数がほぼ均等に小さくなっていることから軽減したものの全体として病像に大きな変化はないことがわかった。

4) メチル水銀の知的機能に及ぼす影響に関する研究

研究担当者	若宮 純司（臨床部）
	藤村 成剛（基礎研究部）
	宮本謙一郎（臨床部）
	衛藤 光明（所長）
	徳永 英博（熊本大・医）
	高橋 均（新潟大・脳研）

[研究の背景および目的]

ブラジルではメチル水銀による健康影響が懸念されている。現在でもタパジヨス川流域住民の毛髪水銀は高値を示したままである。メチル水銀による知的機能におよぼす影響を明確にするとともに、知的機能への影響因子（特に、メチル水銀による影響阻止因子）を見出すことは急務である。そこで、剖検で認定された水俣病患者と棄却者について A β 、tau 蛋白、知能検査結果の解析を行う。

[研究方法]

60～90 歳の鹿児島県水俣病患者 5 例、新潟水俣病患者 16 例、熊本県水俣病患者 58 例、熊本県水俣病棄却者 19 例、鹿児島在住の痴呆のない者 68 例の剖検者を対象として、熊本県水俣病患者および棄却者について、剖検当初に作成したパラフィンブロックから作成した切片の tau 蛋白染色をしながら、魚食量および痴呆の程度を精神科カルテから調査しながら、各群の A β 、tau 蛋白の定量結果について性、年齢を調整して有意差を検定した。

[研究結果および考察]

上記対象例の検定を行った結果、各群とも有意差はなかった。しかし、脳血管障害が病理所見で見られる症例を除いて熊本の症例か新潟の症例かを従属変数とし、海馬・海馬傍回の A β と tau 蛋白を独立変数、性・年齢を共変数としてロジスティック解析を行うと、tau 蛋白が海馬・海馬傍回とも地域に関して有意差があった。

5) メチル水銀のグルタミン酸レセプターを介した脳神経細胞局在性傷害に関する研究

研究担当者 宮本謙一郎（臨床部）
若宮 純司（臨床部）
足立 達美（基礎部）
後藤 正道（鹿児島大・医）
渡邊 雅彦（北海道大・医）

〔研究の背景および目的〕

メチル水銀による脳傷害の細胞局在性については未だ十分に解明されていない。メチル水銀で傷害が生じる大脳皮質や小脳顆粒細胞層は興奮神経毒性を有するグルタミン酸受容体の NMDA (N-methyl-D-aspartate) 型受容体、メタボトロピックグルタミン酸受容体が密に分布している。メチル水銀中毒の脳傷害機序に低酸素が関与することが判明しているが、低酸素による脱分極で神経細胞外にグルタミン酸が過剰放出される機序が考えられる。事実、メチル水銀と NMDA 型グルタミン酸受容体阻害剤の同時投与により、メチル水銀幼若ラットにおける大脳皮質神経細胞障害が抑制されることが判明した²⁾。また、小脳では、メタボトロピックグルタミン酸受容体の関与が強く示唆される報告が散見される。従って、グルタミン酸受容体がメチル水銀毒性に大きく関与すると考えられる。そこで、グルタミン酸受容体分布とメチル水銀の脳局在性についての関連を検討する。

〔研究方法〕

Wistar 雄性 8 週齢ラットにメチル水銀 5 mg/kg/day で 12 日間経口投与と同時投与で、グルタミン酸受容体 NMDA 型グリシン site の阻害剤であるキヌレン酸 300mg/kg/day、PCP site の阻害剤である MK-801 10 mg/kg/day、メタボトロピック型阻害剤である AIDA (1-aminoindan-1,5-dicarboxylic acid) 2 mg/kg/day の単独投与で小脳顆粒細胞および大脳皮質（17 野 2-3 層）の病理学的観察を行った。

次に、成熟ラットにメチル水銀 5 mg/kg/day で 12 日間経口投与と同時投与で、リソソーム膜から放出されたカテプシン B を特異的にブロックする CA-074 4mg/kg を投与し、メチル水銀最終投与後 8 日目に解剖し、小脳顆粒細胞の投与後 8 日目免疫染色を行った。 μ カルパインの活性化によりリソソーム膜が断裂し、リソソーム内のシステインプロテアーゼであるカテプシン B が細胞質に放出され、ニューロンの構成蛋白を徐々に分解していく神経細胞傷害機序をカテプシン B の免疫染色で検討を行った。

〔研究結果〕

今回のキヌレン酸、MK-801、AIDA の投与実験では、小脳顆粒細胞および大脳皮質のアポトーシスが抑制された¹⁾。また、昨年度メチル水銀中毒の脳神経細胞死機序に μ カルパインの活性化が関与することを報告した³⁾。本年度は、メチル水銀単独投与群では、投与後 8 日目でコントロールラットに比べてカテプシン B の染色性が顕著に増加し、小脳顆粒細胞層の神経細胞の脱落・萎縮が認められた。また、メチル水銀と同時投与した CA-074 群では、カテプシン B の染色性が減少し、小脳顆粒細胞層の神経細胞傷害が抑制された。

[考察]

成熟ラットのメチル水銀の脳傷害部位である小脳顆粒細胞および大脳皮質の局在性傷害にグルタミン酸受容体の NMDA 型のグリシン site、PCP site、メタボトロピック型の関与が考えられた。以上より、メチル水銀により NMDA 型、メタボトロピック型グルタミン酸受容体が過剰興奮し、ホスファチジル・イノシトール代謝によって生じたイノシトール 3 リン酸 (IP₃)が小胞体からの貯蔵性のカルシウムイオンを放出し、 μ カルパインの活性化が起こり、リソソームからカテプシン B が放出されることにより、細胞構成蛋白が破壊され、神経細胞死を生じる機序を推定した。

[引用文献]

1. Nishioku T, Takai N, Miyamoto K, Murao K, Hara C, Yamamoto K, Nakanishi H : Involvement of caspase3-like protease in methylmercury-induced apoptosis of primary cultured rat cerebral microglia. Brain Res., **871**, 160-164. 2000.
2. 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 Res., **901**, 252-258. 2001.
3. Zhang J, Miyamoto K, Hasioka S, Hao HP, Murao K, Saido TC, Nakanishi H: Activation of μ -calpain in developing cortical neurons following methylmercury treatment. Dev Brain Res., **142**, 105-110. 2003.

6) 水俣病患者の客観的診断法における負荷サーモグラフィの有用性に関する研究

研究担当者 若宮 純司（臨床部）
宮本謙一郎（臨床部）

[研究の背景および目的]

メチル水銀中毒症を客観的に診断することは診断上重要であるとともに、ブラジルなどメチル水銀汚染が深刻な地域では、非侵襲的検査方法が望まれている。これについて、12 年度にサーモグラフィ用いた診断ソフトを開発したが、16 年度までにメチル水銀中毒症の診断法として確立する。

[研究方法]

水俣病患者の客観的診断法としては、単純サーモグラフィで比較するのではなく、負荷サーモグラフィでは詳細な評価を行えるのが通常である。本年度は、術後乳癌患者にアロマセラピーを施行し、精油を患者の両肩から背部にかけて軽くマッサージを行い、マッサージの前後でサーモグラフィを測定した。方法は、被検者を室温 $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ の室にて上半身、下肢を脱衣させた後 20 分安静座位を保たせた後、脱衣後から日本電子データム製のサーモグラフィ装置で撮影を行った。撮像は、マッサージ前、マッサージ直後、15 分、30 分で背面立位で行い、両手、背部の皮膚温度を測定した。

[研究結果]

健常人ではマッサージ前に比較して、直後の両手の皮膚温度の上昇は小さく、15 分後、30 分後で徐々に低下した。背部の皮膚温度は前に比較し、直後、15 分後で軽度上昇し、30 分後で低下した。患者群では、マッサージ前に比較して、直後の両手、背部の皮膚温度の上昇が認められ、上昇しない群でも 30 分後には皮膚温度の上昇が認められた。また、マッサージ前ですでに両手、背部の皮膚温度が高い患者においては、直後、15 分後、30 分後で徐々に皮膚温度が低下した。

[考察]

以上の結果、乳癌患者にアロマセラピーを施行することより、精油の血管の血流増加作用による皮膚温度の上昇や最初から基礎体温の高い場合は皮膚温を下降させ、ホメオスターシスの改善作用を認めたことより、アロママッサージの有用性が示された。色々の不定愁訴で悩む水俣病患者の症状を改善するためにアロマセラピーを取り入れるのも必要ではないかと考えられた。

7) 不飽和脂肪酸のメチル水銀中毒への影響に関する研究

研究担当者	宮本謙一郎（臨床部）
	若宮 純司（臨床部）
	村尾 光治（臨床部）
	中野 篤浩（基礎研究部）
	有村 公良（鹿児島大・医）
	安藤 哲夫（鹿児島大・医）
	秋葉 澄伯（鹿児島大・医）
	松倉 誠（熊本大・医）
	村山 伸樹（熊本大・工）
	江頭 伸昭（福岡大・薬）
	三島 健一（福岡大・薬）
	守口 徹（湧永製薬・ヘルスケア研）

[研究の背景および目的]

ニュージーランド、フェロー諸島、セイシェル諸島における低濃度メチル水銀による子供の神経心理学的な発達に対する影響の矛盾は、不飽和脂肪酸の摂取量の影響が大きく関与していることが考えられる。メチル水銀は、活性酸素やラジカルを発生し、酸化ストレスによる神経細胞障害が生じるため、抗酸化作用のある不飽和脂肪酸がメチル水銀による神経障害を抑制している可能性が考えられる。そこで、メチル水銀による子供への発達毒性に対する n-3 (ω3) 系多価不飽和脂肪酸の影響を検討する。

[研究方法]

3 週齢雌ラットを n-3 系多価不飽和脂肪酸+DHA 欠乏・添加飼料で飼育し、10 週齢で妊娠させ、妊娠中に低濃度メチル水銀 1 mg/kg/day を妊娠 2 日目から 19 日目まで経口投与し、生まれた仔ラットが 7 週目になった時点で 8 方向放射迷路試験、10 週目で正選択反応時間、16 週目で水迷路試験の学習行動試験、聴性脳幹反応試験（ABR）を行った。また、dose response を検討するために、上記の妊娠中の母親ラットにメチル水銀を 0.7 mg/kg/day で妊娠 2 日目から 19 日目まで経口投与し、生まれた仔ラットが 7 週目になった時点で 8 方向放射迷路試験、10 週目で正選択反応時間、16 週目で水迷路試験の学習行動試験を行った。

[研究結果および考察]

n-3 系多価不飽和脂肪酸+DHA 欠乏で飼育し、メチル水銀 1mg/kg/day 投与した群では、8 方向放射迷路試験・水迷路試験の空間学習障害が認められ、n-3 系多価不飽和脂肪酸+DHA 添加飼料群では、メチル水銀による空間学習障害が有意に抑制された。この場合、ラットの運動能低下や視力障害による二次的な学習記憶障害ではなかった。また、ABR では n-3 系多価不飽和脂肪酸+DHA 欠乏で飼育し、メチル水銀を投与した群で潜時の延長が認められ、n-3 系多価不飽和脂肪酸+DHA 添加飼料群で有意に抑制された。また、メチル水銀 0.7mg/kg/day 投与群では、正選択反応時間、オペラント学習試験では、学習能

の低下がみとめられたが、8 方向放射迷路試験・水迷路試験の空間学習障害には影響は認められなかった。電気生理学的に ABR の測定を行った結果では、n - 3 系多価不飽和脂肪酸+DHA 欠乏で飼育し、メチル水銀を投与した群で潜時の延長が認められ、n - 3 系多価不飽和脂肪酸+DHA 添加飼料飼育+メチル水銀投与群で潜時の延長が有意に抑制された。

以上より、水俣病胎児ラットモデルにおけるメチル水銀の胎児神経発達毒性を n-3 系不飽和脂肪酸+DHA が抑制している可能性が示唆された。

9) 金採掘労働者の無機水銀中毒症の治療法の開発に関する臨床的・基礎的研究

研究担当者	村尾 光治 (臨床部)
	宮本謙一郎 (臨床部)
	若宮 純司 (臨床部)
	中野 篤浩 (基礎研究部)
	後藤 正道 (鹿児島大学・医)
	及川 定一 (パラ連邦大・熱帯医研)

[研究の背景および目的]

金採掘現場の労働者は、金精錬過程で使用する金属水銀により、様々の不定愁訴や振戦等の無機水銀中毒症状が認められている。これまで用いられた水銀の体外排泄促進剤も少しは無機水銀中毒に対する治療効果が認められるものの、著名な臨床症状の改善効果は期待できない。そこで、臨床症状を体系的に改善する薬物治療法の開発を行う。

[研究対象および研究方法]

金採掘現場の労働者の無機水銀中毒モデルとして、ラットに金属水銀を負荷し、無機水銀中毒ラットモデルを作成する。作成した無機水銀中毒ラットに各種治療薬を与え、ラット尿中の NAG 活性、 $\beta 2$ ミクログロブリン濃度、アルブミン濃度を分析装置で測定し、腎障害の治療効果及び臨床症状の改善効果を検討する。

[研究結果および考察]

本年度は水銀排泄剤の文献的情報収集を行い、予備実験的にセレノメチオニンについてラットで治療効果を検討した。その結果、水銀投与後のラット尿中の NAG 活性、 $\beta 2$ ミクログロブリン濃度、アルブミン濃度の変化により水銀は腎尿細管機能障害及び糸球体障害がみられた。予備的に 3 匹での実験であったのではっきりした成績は得られなかったが、その後のセレン投与がそれらの機能障害を抑制している可能性を示唆した。

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

研究概要

メチル水銀は、細胞内でさまざまな生体分子と相互作用し、その結果、生体ストレス応答、遺伝子発現変化を引き起こす。そして、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と考えられる。しかし、細胞死を引き起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。また、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、派生した無機水銀の寄与も、低濃度慢性曝露の際には特に、無視できない。メチル水銀の毒性発現メカニズムについては、最近、細胞内標的分子の一つが同定されることにより、その一端が明らかにされはしたが、現在なお不明なことが多い。メチル水銀の毒性発現（感受性）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、その理由も未だ十分には解明されていない。本課題では、メチル水銀の生体作用メカニズムの解明に向けて、酸化的ストレス、細胞分化、細胞死、脱メチル化反応などに焦点を当てながら、培養細胞系、モデル動物系を用い、メチル水銀の生体内挙動および作用について検討を行った。

1) 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

酸化ストレスあるいはER ストレスに関係するシグナル伝達系、関連タンパク質の動態について経時的に検討した。その結果、メチル水銀毒性では曝露早期にみられる細胞内 ROS の増加による酸化ストレスがその後のアポトーシス誘導にいたる生体応答の引き金になっており、ER stress はメチル水銀毒性後期の事象であると考えられた。

2) 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

昨年度よりメチル水銀毒性を少し弱めた条件で亜急性メチル水銀中毒モデルラットを作成し、アポトーシス変化に及ぼす抗酸化剤 Trolox および Edaravone の効果を検討した。ほとんどのラットが後肢交差現象陰性であったが、メチル水銀投与群すべてで中毒病変が認められた。現在、定量的な評価をすすめている。

3) 脳メタロチオネインの機能に関する研究

ラットを水銀蒸気で前処理することにより、メチル水銀による小脳アポトーシスの軽減を示唆する結果が得られた。その確認のために、再度、同モデルラットおよび病理変化の時間経過を観察するためのモデルラットを作成した。

4) メチル水銀の生体内無機化反応

ラット大脳ミトコンドリア膜画分におけるメチル水銀の無機化反応は、Succinate (complex II 基質) 存在下よりも、NADH (complex I 基質) 存在下の方が早く、呼吸鎖阻害剤の存在下で上昇した。この傾向は膜におけるスーパーオキシドの産生と矛盾しない。

5) 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

卵巢摘出ラットにメチル水銀を投与した場合の末梢神経毒性を女性ホルモンであるエストラジオール併用投与が抑制する可能性を、感覚神経伝導速度の変化より明らかにした。

6) 水銀化合物の環境汚染指標及び排泄経路としての毛の有用性に関する基礎研究

有毛マウスと無毛マウスの組織水銀濃度は、毛の有無よりも糞及び尿中水銀排泄量の差の影響を大きく受けていると考えられた。

7) 培養細胞を用いたメチル水銀の無機化反応機構の解明

チャイニーズハムスター正常卵巢由来の細胞 (CHO) を用い、細胞の増殖抑制が観察されない 2 μ M MeHg 添加下で、メチル水銀の脱メチル化反応がおこっていることを確認した。

8) 海洋哺乳動物におけるメチル水銀の解毒機構の解明に関する研究

キタオットセイ肝臓における、メチル水銀の脱メチル化反応活性を検討するために、エチル水銀を負荷する系で実験を行っているが、有意な脱エチル化の確認には至っていない。

9) カニクイサルにおける急性メチル水銀中毒実験

カニクイサル 3 頭 (11 歳 2 ヶ月、雄。10 歳 3 ヶ月、雌。10 歳 2 ヶ月、雄。) に、メチル水銀水溶液 (5 ppm Hg/ml) を自由給水させて発症を待って剖検した。大脳病変は顕著にも係わらず、小脳及び末梢神経に病変が認められなかった。この結果は Shaw CM らの報告と同様である。

10) 水俣病におけるバイオマーカーの探索

12 週齢メチル水銀急性中毒モデルラット (5 mg/kg/day) の血清を用いて ProteinChip System 解析を行い、発現蛋白のプロファイリングを比較検討した。その結果、水銀投与群すべてで投与 5-8 日後に発現してくる分子量 13,033 と 55,548 の分子が検出された。バイオマーカー候補として、同定をすすめている。

11) 神経再生 (神経細胞の増殖および突起形成/伸展) に対するメチル水銀の作用およびその薬剤治療に関する研究

メチル水銀は細胞死誘発濃度よりも低濃度で神経未分化細胞株 PC12 細胞の増殖を抑制した。このメチル水銀による細胞増殖の抑制は、神経再生関連シグナルである Wnt signal 活性化剤である LiCl により回復されることを明らかにした。分化した PC12 細胞における神経突起形成/伸展についての測定系を確立した。

1) 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

研究担当者 臼杵扶佐子（臨床部）
竹下 裕也（東京大・生命環境）
笹川 昇（東京大・生命環境）
桃井 隆（国立精神神経センター）

[研究の背景および目的]

昨年度までの検討で、メチル水銀毒性には酸化ストレスと ER（小胞体）ストレスがいずれも関与することが考えられた。酸化ストレスと ER ストレスはそれぞれがお互いの原因となり得ることから、メチル水銀毒性における trigger、中核因子を知るために、酸化ストレス、ER ストレスそれぞれに関係する factor のメチル水銀曝露早期からの動態について検討した。

[研究方法]

メチル水銀の細胞毒性メカニズムを検討するために構築し、これまで解析を続けてきた培養細胞系を用いた。この系は、ヒトミオトニンプロテインキナーゼ (DMPK) の 3' 非翻訳領域の CTG リピート数を変化させた cDNA を C2C12 cell line に遺伝子導入して確立したもので、メチル水銀感受性が異なる 4 つの細胞株より構成され、3' 非翻訳領域の CTG リピート数が多いほどメチル水銀感受性が高いことをすでに報告している¹⁴⁾。この培養細胞系の中から、CTG リピート数 5 個のメチル水銀低感受性である野生株と 160 個のメチル水銀高感受性の変異株を対象に、酸化ストレスに関しては ASK1、SAPK/JNK pathway の活性化について、ER ストレスに関しては転写因子である XBP1 と ER シャペロンである GRP 78、アポトーシスに関係する転写因子である CHOP など関連蛋白質のメチル水銀曝露後の変化について、Western Blot により経時的に検討した。また、caspase 活性の動態に及ぼす抗酸化剤の影響について免疫細胞化学的な検討を行った。

[研究結果]

1) ASK1、SAPK/JNK の活性化についての検討

ASK1 は通常は thioredoxin と結合して不活化されているが、ROS (reactive oxygen species) 依存的に thioredoxin が還元型から酸化型へ変化して ASK1 から解離すると、ASK1 の活性化がおこる。ASK1 の活性化は、さらに SAPK/JNK などさまざまなシグナル伝達系の活性化へと続く。変異株では ROS の増加に一致して投与 3 時間後に ASK1 の活性化は増強した。SAPK/JNK の活性化を示す c-Jun のリン酸化も ASK1 の活性化と平行して持続した。一方、野生株では、メチル水銀投与 7 時間後から ASK1 の活性化が認められたが、SAPK/JNK の活性化は認められなかった。

2) ER stress 関連蛋白質についての経時的な検討

ER stress によって誘導される転写因子である XBP1 と ER シャペロンである GRP78、アポトーシスに関係する転写因子である CHOP は、いずれの cell line でもメチル水銀投与後早期の発現増加は認められず、変異株で後期に XBP1、CHOP の軽度発現、両 cell line で後期に GRP78 の軽度発現増加が認められた。

3) 抗酸化剤同時投与によるメチル水銀曝露後のストレス応答の変化

抗酸化剤 Trolox の同時投与によりメチル水銀曝露後の細胞内 ROS の増加は著明に抑制された。曝露 16 時間後の活性型 caspase 12、活性型 caspase 3 に対する抗体を用いた免疫染色の検討で、メチル水銀曝露後期にみられた caspase の活性化は Trolox により著明に抑制されることが明らかになった (図)。

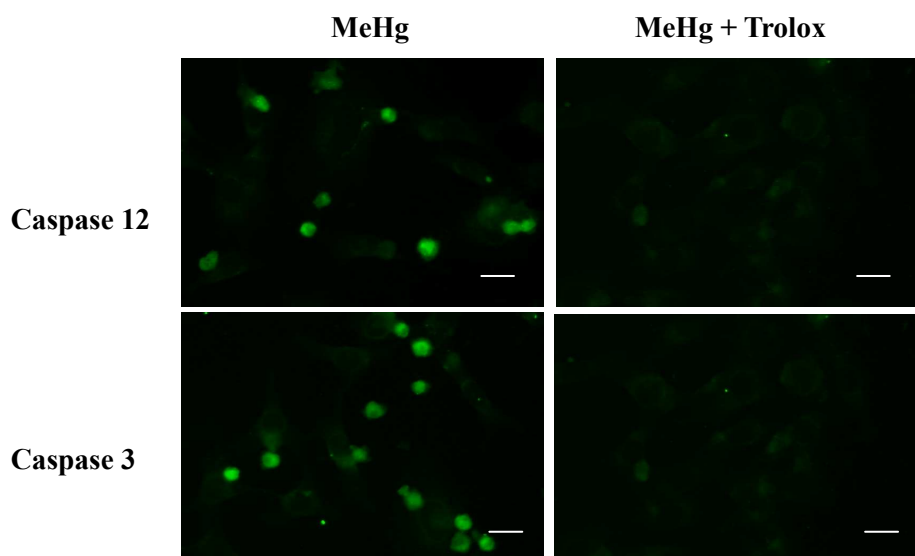


図. Trolox 同時投与による caspase 活性化の抑制

0.3 μ M メチル水銀投与 16 時間後の抗活性型 caspase 3 抗体及び抗活性型 caspase 12 抗体を用いた免疫細胞染色。Trolox の同時投与により caspase 3、12 の活性化は著明に抑制された。 Bar=20 μ m

以上の結果から、メチル水銀毒性ではメチル水銀曝露早期にみられる細胞内 ROS の増加による酸化ストレスがその後のアポトーシス誘導にいたる生体応答の引き金になっており、ER stress はメチル水銀毒性後期の事象と考えられた。

[考察]

メチル水銀による酸化ストレスによって誘発される生体ストレス応答とその破綻によるアポトーシス誘導の分子機構について、細胞内情報伝達系の攪乱、ストレス応答分子の動態変化、ミトコンドリア機能の変動といった側面から細胞培養系を用いて検討するとともに、アポトーシスを防御する方法について検討してきた。本研究でのこれまでの結果よりメチル水銀による生体ストレス応答をまとめると、メチル水銀曝露早期に増加した ROS により、酸化ストレスがおこる。さらに、この ROS の増加やメチル水銀による変性蛋白質の増加によって ER stress がもたらされていく。このようなメチル水銀がもたらす生体ストレスに対し、生体はその防御系として、glutathione 代謝系や酸化ストレスを軽減させるような遺伝子発現変化、即ちミトコンドリア活動やエネルギー産生系の低下、ストレス防御に作用する蛋白質発現増加で対応し、さらに ER ストレスに対しては不良蛋白質を軽減させるシャペロンや ubiquitine-proteasome system の増強により対応するが、ストレス負荷が防御系をこえると細胞は自らの死であるアポトーシスを作動させると考えられる。メチル水銀毒性を防御するためには、メチル水銀の排泄促進とともに、これらさまざまな防御分子とその作用点、作用時期を考慮した生体ストレス防御系を充進させるような対応を考える必要がある。

[引用文献]

1. Usuki, F., Ishiura, S., Saitoh, N., et al : Expanded CTG repeats in myotonin protein kinase suppresses myogenic differentiation. *Neuro Report* **8**, 3749-3753, 1997.
2. Usuki F and Ishiura S : Expanded CTG repeats in myotonin protein kinase increase susceptibility to oxidative stress. *Neuro Report* **9**, 2291-2296, 1998.
3. Usuki F, Takahashi N, Sasagawa 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.
4. Takeshita Y, Sasagawa N, Usuki F, Ishiura S : Decreased expression of alphaB-crystallin in C2C12 cells that express human DMPK/160CTG repeats. *Basic Appl. Myol.*, **13**, 305-308, 2003.

2) 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）
安武 章（基礎研究部）
黒木 静香（臨床部）
樋口 逸郎（鹿児島大神経・老年内科）
出雲 周二（鹿児島大難治ウイルス
病態制御研究センター）
桃井 隆（国立精神神経センター）

[研究の背景および目的]

これまでメチル水銀中毒モデルラットを用いて、メチル水銀曝露と同時に抗酸化剤 Trolox を投与し、Trolox は組織の水銀含量には変化を与えず病理変化を抑制することから、メチル水銀による傷害メカニズムにおいて酸化ストレス傷害が中心的役割を担うことを指摘してきた¹⁾。本年度は、Trolox に加え、現在すでに急性期脳卒中治療に使用されている抗酸化剤である Edaravone を用いて、亜急性メチル水銀中毒モデルラットのメチル水銀毒性に対する効果を検討するとともに、酸化ストレス傷害以外の因子が関与する可能性について、病理学的、免疫組織学的に検討した。

[研究方法]

昨年度のモデルラット（20 ppm Hg, 28 日間給水曝露; 1 日最大摂取量 600 μ g Hg、投与終了後 7 日目解剖）では、小脳のアポトーシス変化が弱かったため、今年度はメチル水銀毒性を少し弱めた条件を用いてアポトーシス変化に及ぼす Trolox および Edaravone の効果を検討した。すなわち 9 週令の雄ラットを用いて、メチル水銀（20 ppm Hg, 1 日最大摂取量 600 μ g Hg）21 日間給水曝露と Trolox (2.5 mg/kg)、Edaravone (5 mg/kg あるいは 10 mg/kg) を 5 日/週、腹腔内投与した。投与終了後 4 日目に筋肉、末梢神経を採取し、生化学的、病理学的検討の資料とした。脳、脊髄については 4 %パラフォルムアルデヒド還流後、組織を採取し、病理学的、免疫組織学的な検討を行った。

[研究結果及び考察]

ラットのメチル水銀中毒の徴候である後肢交差現象は、メチル水銀単独投与群で一匹のみ陽性、Trolox 同時投与群と Edaravone 10 mg/kg 同時投与群で一匹ずつが擬陽性であったが、病理学的にはメチル水銀投与群すべてで脊髄後根神経・脊髄後索の変性（図 1）、後根神経節細胞の変性（図 2）、小脳顆粒細胞核のピクノーシス（図 3）など、メチル水銀中毒病変が認められた。組織内総水銀、無機水銀含量の検討では、Trolox および Edaravone による水銀排泄は認められなかった。メチル水銀中毒モデルラットでは筋組織化学的にミトコンドリア電子伝達系酵素活性の低下が認められる²⁻⁴が、今年度のモデルラットでも筋組織化学的にミトコンドリア電子伝達系酵素である cytochrome c oxidase (CCO)活性の低下が認められた。この変化を Trolox および Edaravone は抑制した。

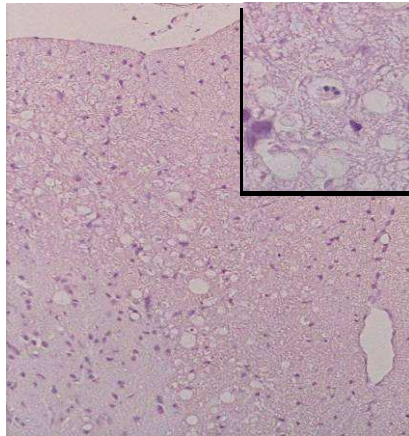


図 1. メチル水銀中毒モデルラットの頸髄後索の空胞変性とオリゴデンドロサイトのアポトーシス

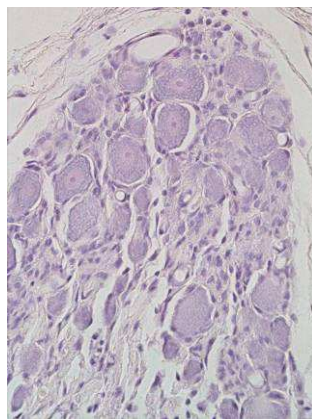


図 2. 脊髄後根神経節の変性

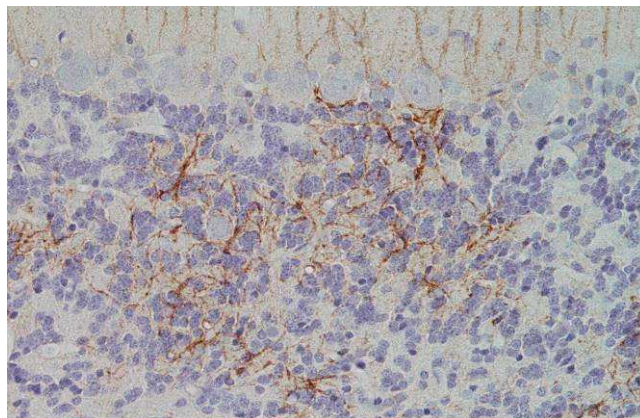


図 3. 小脳顆粒層のグリオシスと顆粒細胞核のピクノーシス

現在、脊髄後根神経・後根神経節、脊髄後索病変について、caspase 染色や ssDNA 染色によるアポトーシスの検出、エボン包埋標本を用いた変性線維の定量的な解析を行い、Trolox および Edaravone の病理変化に及ぼす効果について検討をすすめている。

[引用文献]

1. 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.
2. Usuki F, Yasutake A, Matsumoto M, Umehara F, Higuchi I : The effect of methylmercury on skeletal muscle: a histopathological study. *Toxicol. Lett.*, **94**, 227-232, 1998.
- 3 Usuki F, Yasutake A, Matsumoto M, Higuchi I : Chronic low-dose methylmercury administration decreases mitochondrial electron transport system enzyme activities and induces myopathic changes in rats. *J Health Science*, **47**, 162-167, 2001.
4. Usuki F, Yasutake A, Umehara F, Higuchi I : Beneficial effects of mild lifelong dietary restriction on skeletal muscle: prevention of age-related mitochondrial damage, morphological changes, and vulnerability to a chemical toxin. *Acta Neuropathologica*, **108**, 1-9, 2004.

5) 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

研究担当者 宮本謙一郎（臨床部）
若宮 純司（臨床部）
村尾 光治（臨床部）
八尾 博（国立肥前療養所）

〔研究の背景および目的〕

水俣病患者の有病率は、男性が女性より高いことや、女性でも閉経後の方が高いことが知られている。女性ホルモンは、抗酸化作用としての性質があるが、メチル水銀中毒の病態に酸化的ストレスが関与している事実を考えると、水俣病の発症に性ホルモンが影響していることが推測される。本研究では、メチル水銀中毒の発症における性ホルモンの関与についてモデル動物を作成して検討を行う。

〔研究方法〕

方法は、Wistar 系雌ラット 10 週齢を使用し、雌性ラットの両側卵巣を摘出した群(ovx 群)を (ovx+sesame oil 群)、(ovx+EST 200 μ g/kg 群) の 2 群に分け、偽手術群 (sham 群) を対照群として 3 群間で比較検討した。卵巣摘出手術後 7 日目より sesame oil と EST を一週間に一回三週間大腿筋肉内に投与した。また、sham 群には、vehicle(sesame oil)を投与した。術後 4 週目 (第 3 回 EST 投与一週間後) よりメチル水銀 (Hg)5mg/kg/day を連続 10 回経口投与し、最終投与後翌日から全匹の体重変化を観察した。また、Hg 最終投与後 7 日目の週にラット尾部の神経伝導速度 (NCV) を誘発脳波筋電計で測定した。また、血漿中 EST 濃度、全血中の総水銀濃度を測定した。NCV の測定時は、ラットを保温マットの上に置き、体温を 37 $\pm$ 0.3 $^{\circ}$ C に保持した。また、末梢神経 (坐骨神経) の病理所見の観察を実施した。

〔研究結果〕

ovx+sesame oil 群は sham 群及び ovx+EST 群より体重増加が大きかった。NCV の測定結果は、表 1 に示すように ovx+sesame oil 群は sham 群より有意に感覚神経伝導速度 (NCV) が低下した ($p<0.001$)。NCV の振幅は同様の傾向を示したが有意差は認められなかった。また、ovx+EST 200 μ g/kg 群は、sham 群に比較し、NCV は有意に低下した ($p<0.001$)。しかし、ovx+sesame oil 群より NCV は有意 ($p<0.001$) に上昇した。全血中水銀濃度は、表 2 に示すように、sham 群より ovx+sesame oil 群、ovx+EST 群は高く、ovx+sesame oil 群、ovx+EST 群間で有意差は認められなかった。一方、血漿中 EST 濃度は、表 3 に示すように sham 群に比較して ovx+sesame oil 群は有意に低下し、ovx+EST 群は sham 群と有意差は認められなかった。また、末梢神経 (坐骨神経) 病理所見の観察では、表 4 に示すように sham 群は末梢神経の変性及び脱落所見は認められなかったが、ovx+sesame oil 群は全例脱髄変性を主体とした所見と一例に脱落の所見が認められた。また、ovx+EST 群では、5 例中 2 例は脱髄変性所見は認められなかった。

〔考察〕

今回の検討結果では、ovx+EST 群が ovx+sesame oil 群より NCV の伝導速度が有意に上昇し、坐骨神経の病理所見が ovx+sesame oil 群より神経変性及び脱落を抑制していることより、Hg による末梢神経毒性

を女性ホルモンである EST が抑制している可能性が示唆された。

表 1 各実験群における神経伝導速度の測定結果

実験群	N	NCV (m/s)	NCV(μ V)
sham 群	10	35.68 $\pm$ 2.51	311.16 $\pm$ 176.79
ovx+sesame oil+Hg 群	9	15.7 $\pm$ 3.04 ***	244.96 $\pm$ 98.05
ovx+EST 200 μ g/kg+Hg 群	7	25.92 $\pm$ 3.33 ***	297.18 $\pm$ 224.7

***p<0.001

表 2 各実験群の血液中水銀濃度測定結果

実験群	N	全血 (μ g/g)
sham 群	10	0.39 $\pm$ 0.02
ovx+sesame oil+Hg 群	9	425.45 $\pm$ 96.94***
ovx+EST 200 μ g/kg+Hg 群	7	434.09 $\pm$ 102.95**

**p<0.01
***p<0.001

表 3 各実験群の血漿中エストラジオール活性測定結果

実験群	N	エストラジオール (pg / ml)
sham 群	8	18.55 $\pm$ 7.71
ovx+sesame oil+Hg 群	6	7.17 $\pm$ 2.48***
ovx+EST 200 μ g/kg+Hg 群	4	19.45 $\pm$ 12.69

***p<0.001

表 4 坐骨神経病理検査所見

実験群	N	変性(主に脱髄変性) (%)	脱落 (%)
sham 群	3	0/3(0)	0/3 (0)
ovx+sesame oil+Hg 群	4	4/4 (100)	1/4 (25)
ovx+EST 200 μ g/kg+Hg 群	5	3/5 (60)	0/5 (0)

6) 水銀化合物の環境汚染指標及び排泄経路としての毛の有用性に関する基礎研究

研究担当者 足立 達美 (基礎研究部)
中野 篤浩 (基礎研究部)
桑名 貴 (国立環境研究所)
福井 大祐 (旭山動物園)
Dmowski K. (Warsaw Univ.)

[研究の背景および目的]

ヒト毛髪中の水銀値は水銀曝露の指標として有用であると考えられている¹⁾。本研究では、生態系の環境汚染等を評価するための新手法を開発するための知見蓄積を目的として、野生鳥類の羽毛中の水銀レベルを調べ、さらに収集地域との関連性を考察する。また、水銀排泄経路としての毛の意義を考察するために、有毛マウスと無毛マウスを用いてメチル水銀投与後の水銀動態を比較検討する。

[研究結果および考察]

有毛マウスと無毛マウスにメチル水銀を経口投与してメチル水銀動態の経時変化を比較検討した。組織水銀濃度は、雌雄とも、血液、血漿では差はなかったが、脳、肝臓、腎臓では有毛マウスが無毛マウスより高い傾向を示した。一方、糞及び尿中水銀排泄量は、差の見られなかった雄の尿を除き、無毛マウスの方が有毛マウスよりも高かった。以上のように、有毛マウスと無毛マウスの水銀排泄量に差が見られたため、毛の水銀排泄経路としての有用性を論じることは困難であった。

[引用文献]

1. WHO : Environmental Health Criteria 101, Methylmercury, World Health Organization, Geneva, 1990.

7) 培養細胞を用いたメチル水銀の無機化反応機構の解明

研究担当者 永野 匡昭（基礎研究部）
安武 章（基礎研究部）
森 信子（熊本大学・医）
三浦 郷子（和光大学・経済）

[研究の背景および目的]

ヒトおよび哺乳動物に取り込まれたメチル水銀（MeHg）は、時間の経過にともなって体内で無機水銀に変換されることが報告されている。無機水銀は MeHg と比べて排泄されやすいため、体内蓄積量を減少させる重要な要因と考えられている。このことから、体内での無機化反応を促進すれば、メチル水銀の腸肝循環を減少し、その結果生物学的半減期を短縮することができ、また脳への移行量の減少も可能と推測される。

そこで、本研究では MeHg の毒性発現が異なる組織由来の細胞株を用いて、MeHg の無機化反応の意義について検討を行う。今年度は下記の細胞株を用いて、MeHg の無機化反応の有無を確認した。

[研究方法]

細胞は、チャイニーズハムスター正常卵巣由来の細胞（CHO）を用いた。これまで MeHg 濃度を最終濃度 8 μ M で実験を行っていたが、WST-1 における細胞の生存率を検討した結果、若干の生存率への影響が認められたため、今回は全く毒性が認められない 2 μ M で行った。MeHg 添加 24 または 48 時間後、細胞を回収した。MeHg の無機化反応を明確にとらえるため、10 cm ディッシュ 5 枚分の細胞をまとめて遠心分離後、得られた細胞に PBS(-)を 0.5 ml 加えたものを測定検体とし、総水銀と無機水銀について測定した。空試験として、細胞非存在下で MeHg を添加し、同様に測定した。水銀測定は酸化燃焼—金アマルガム法にて行った。無機水銀の試料は従来¹⁾の方法に若干の改良を加えて調製した。

[研究結果および考察]

MeHg 添加 24 時間または 48 時間後、CHO 細胞内で MeHg の無機化反応が起こっていることを確認した。細胞内の無機水銀の生成量は、24 時間と 48 時間で変化なかった。細胞非存在下では、無機水銀の生成は認められなかった。今後の検討課題として、今回の実験方法は 1 つの実験結果を得るのに時間が掛かるため、さらに少量の細胞で確認する、または検討できる方法を確認する。同時に、無機化反応のメカニズムについても、同様に検討する。

[引用文献]

1. Yasutake A, Hirayama K: Selective quantification of inorganic mercury in tissue of methylmercury-treated rats. Bull. Environ. Contam. Toxicol., **45**, 662-666.1990.

8) 海洋哺乳動物におけるメチル水銀の解毒機構の解明に関する研究

研究担当者 永野 匡昭（基礎研究部）
安武 章（基礎研究部）
池本 徳孝（愛媛大学・農）

[研究の背景及び目的]

海洋哺乳動物の臓器（肝臓、腎臓）には、個体によっては 100 ppm を超えるような高濃度の水銀蓄積が報告されているが、その大半は無機水銀である。これは摂取したメチル水銀の脱メチル化活性が、これらの動物では陸棲哺乳動物と比較して極めて高い可能性があり、それがメチル水銀の解毒に大きく関与しているものと考えられる。本研究では、これまでに実験結果の得られているラット臓器を比較対照としながら、海洋哺乳動物肝臓におけるメチル水銀の脱メチル化能及び生成した無機水銀の存在形態について検討し、解毒機構を明らかにする。

[研究結果及び考察]

2歳と11歳のキタオットセイの肝臓を用い、全組織とミトコンドリアにおける蓄積水銀濃度は下表の通りである。

キタオットセイ肝臓およびミトコンドリアにおける水銀濃度 (μg/mg protein)

	2歳	11歳
全組織		
総水銀	0.103	0.383
無機水銀 (比率、%)	0.092 (89.6)	0.347 (90.4)
ミトコンドリア		
総水銀	0.438	1.66
無機水銀 (比率、%)	0.396 (89.0)	1.40 (84.6)
ミトコンドリア膜		
総水銀 (μg/g)	0.618	2.28
無機水銀 (比率、%)	0.530 (85.4)	1.76 (76.9)

2回測定の平均値を示す。

表からわかるようにキタオットセイの肝臓には高濃度の水銀（大半が無機水銀）が蓄積しており、さらに、ミトコンドリア膜に局在する傾向が見られる。そのため、脱メチル化反応を観察するにあたり、ミトコンドリア膜にメチル水銀を負荷して、生成する無機水銀の量（ラットではng/mg proteinレベル）をモニターする従来の方法は現実的なものではない。そこで、メチル水銀負荷量を少なくして、その減少を観察してみたが、有意の減少はおこらなかった。一方エチル水銀の無機化はメチル水銀と同様のメカ

ニズムで進行すると考えられており、その速度はメチル水銀よりもはるかに速い。現在、エチル水銀を負荷した実験を検討中であるが、有意な脱エチル化の確認には至っていない。

9) カニクイサルにおける急性メチル水銀中毒実験

研究担当者 安武 章（基礎研究部）
衛藤 光明（所長）
徳永 英博（熊大医・病院）
宮本謙一郎（臨床部）
保田 叔昭（国際・総合研究部）

[研究の背景および目的]

高濃度のメチル水銀に曝露後、中毒発現にいたった場合に観察される病理変化や症状は動物種によっては必ずしも同じものではない。そのうち、小脳病変はヒト及び多くの実験動物（コモンマーマウス、ネコ、ブタ、げっし類等）に共通して認められるが、カニクイサルでは、大脳には病変が確認されるものの、小脳には認められないとの報告¹⁻³⁾がある。また末梢神経病変についてはその所見が一致しておらず、Shaw et al.と¹⁾ Kawasaki et al.²⁾は認めていないが、Hunter et al.³⁾は1例に病変を認めている。ここでは、カニクイサルにおける急性メチル水銀中毒時に発現しうる神経系の病変について再検討を行う。尚本実験は、国立水俣病総合研究センター動物倫理安全委員会の承認を受けている。

[研究対象と方法]

メチル水銀曝露は給水より行い、10歳～11歳のカニクイサル3頭（雄2頭、雌1頭）に、メチル水銀-グルタチオン抱合体水溶液（5 ppm Hg）を与えた。非曝露対照として、11歳4ヶ月のサル（雄）を使用し、通常給水を行った。曝露期間中、少なくとも発症前は給水量の減少は認められなかった。曝露前から発症にいたるまで定期的に、水銀濃度と血液性化学データを得るために股静脈より採血し、右側前腕と手根部間の神経伝導速度を測定した。血漿については、タンパク質（アルブミン、グロブリン）、ALP、ALT、アミラーゼ、総ビリルビン、尿素、クレアチニン、グルコース、コレステロール、総脂質、カルシウム、カリウムについて測定を行った。メチル水銀曝露は血中濃度を指標として、10 ppm 近くまで上昇した時点で終了し、発症を待った。各曝露個体は18～29日後に体重の減少とともに中毒症状が顕著になったため、あるいは中毒死にいたったために解剖し、各組織の水銀濃度を測定するとともに、大脳、小脳及び末梢神経を対象に、神経系組織の通常染色の他、GFAP、Neurofilament、TUNEL等の免疫組織染色を施して光学的顕微鏡標本の観察を行った。また、脳の一部を用いてメタロチオネイン（MT）レベルを測定した。

曝露個体の症状経過：

【症例1】雄11歳2ヶ月

体重変化：5.57 kg（実験開始時）→ 4.17 kg（剖検時）。曝露期間：19日（14日目の血中濃度が7.67 ppmを示したため、翌週の測定を待たずに中止）。解剖：34日目。

メチル水銀投与後18日目に足を噛むような動作が出現した。曝露中止後6日目に落ち着きがなく、絶えず視点を動かしていた。9日目には果物を持つ手が振るえ、何度も落としながら食べるようになった。12日目には下肢のふらつきが見られ、刺激を与えるとよろけて壁に顔からぶつかるようになった。固形

飼料は食べるが、水分摂取量が減少した。13 日目には座っていてもバランスがとれず、後ろに倒れそうになったり、両手で果物を持って食べようとする横に倒れたりした。16 日目には食欲はあるが、手が不自由で、給餌、給水に介護が必要になった。17 日目の朝の点検時に死亡確認後剖検。

【症例 2】雌 10 歳 3 ヶ月

体重変化：2.46 kg (実験開始時) → 2.08 kg (剖検時)。曝露期間：29 日 (28 日目の血中濃度 13.10 ppm)。
解剖：29 日目。

死亡前日には固形飼料には手をつけずに、リンゴのみ食べていた。メチル水銀投与期間中、ケージ内の異常行動は特に見られなかった。29 日目の朝の点検時に死亡を確認して剖検。

【症例 3】雄 10 歳 2 ヶ月

体重変化：6.60 kg (実験開始時) → 4.67 kg (剖検時)。曝露期間：29 日 (28 日目の血中濃度 9.53 ppm)。
解剖：34 日目。

投与開始後 9 日目に全身に発疹 (サル水痘症の疑い)。固形飼料を食べないので、バナナ 100 g 給餌。15 日目には発疹は消褪。給餌量も通常に回復。29 日目には、採血のための麻酔薬を投与する際、顔をケージの壁に顔からぶつかっていった。29 日間のメチル水銀投与中止後 1 日目には、足がふらつき、刺激を与えると顔をケージの壁に何度もぶつけた。2 日目にはリンゴを食べようとするが、口からこぼしたり、手から落としたりする。体はふらふらしていた。3 日目には、前日からの給水瓶中の残量に変化が見られなかったため、口元に給水ノズルの先をあてがい、350 ml 飲ませた。固形飼料も食べる前に半分以上こぼすので、夕方再び給餌した。4 日目もノズルを口元にあてがい給水。5 日目には目の焦点が定まらない様子であった。固形飼料を食べないので、水を加えて柔らかくして口に持っていくと少量食べた。殆ど動けないので麻酔なしで採血。その際、直腸温が 33℃と低く、死亡の危惧のために剖検。

【対照】雄 11 歳 4 ヶ月。

体重変化：5.03 kg (実験開始時) → 5.13 kg (剖検時)。実験経過中に著変はなかった。

[研究成果]

神経病理学的所見を Table 1 にまとめた。大脳では軽度のアポトーシスと Neurofilament の減数が認められ、病変は深い脳溝周囲の皮質に、グリオシスを伴う神経細胞の脱落・減数が著明であった。HE 染色で、小脳には顆粒細胞の減数は認められなかったが、髄質には脳浮腫を思わせる小空胞が認められた (Fig. 1B)。さらに、免疫組織化学染色で、GFAP 染色ではベルグマンガリアに陽性所見認められ (Fig. 1D)、髄質の Neurofilament の断裂、顆粒層内の登上線維や苔状線維の減数、プルキンエ細胞樹状突起の変性変化、平行線維の配列の乱れと減数 (Fig. 1F, H) が認められた。しかしながら、末梢神経には著変を認めなかった。メチル水銀曝露前から剖検時にいたる神経伝導速度は、運動神経、知覚神経共に曝露の影響と考えられる変化は認められず (Fig. 2)、急性中毒時には神経伝達速度への影響は考えられない。

Table 1 Pathological findings in MeHg-treated rhesus monkeys

	Case 1	Case 2	Case 3	Control
Cerebrum				
<i>GFAP</i>				
Cortex	++	++	++	±
Medulla	±	±	±	±
<i>Neurofilament</i>				
Cortex	—	—	±	±
Medulla	+	+	±	—
<i>Tunel (Cortex)</i>	±	±	+	—
Cerebellum				
<i>GFAP</i>				
Glanular cell layer	±	++	±	+
Bergmann glia	+	+	+	—
Medulla	+	±	±	+
<i>Neurofilament</i>				
Purkinje cell	±	+	±	—
Glanular cell layer	±	—	—	++
Medulla	++	±	±	—
<i>Tunel</i>	—	—	—	—

メチル水銀曝露は血中濃度を指標にして、次の 1 週間以内に 10 ppm に達することが想定される時期に停止した。血中水銀濃度を Fig. 3 に示したが、血中濃度が 10 ppm 近くまで上昇するとほぼ間違いなく中毒にいたるものと思われる。このことはコモンマーモセットにおいても同様であり、血中濃度を指標とした感受性は 2 種の霊長類においてはほぼ同等と考えられる。剖検後の各組織水銀濃度と脳の総 MT 濃度を Table 2 に示した。高濃度の水銀蓄積にもかかわらず、脳における MT の誘導は観察されなかった。中毒に至る過程で変化の観察された血漿成分は、尿素、クレアチニン、ALT、アミラーゼであった (Fig. 4)。腎機能および肝機能の障害がメチル水銀の急性曝露で引き起こされたことが示唆される。

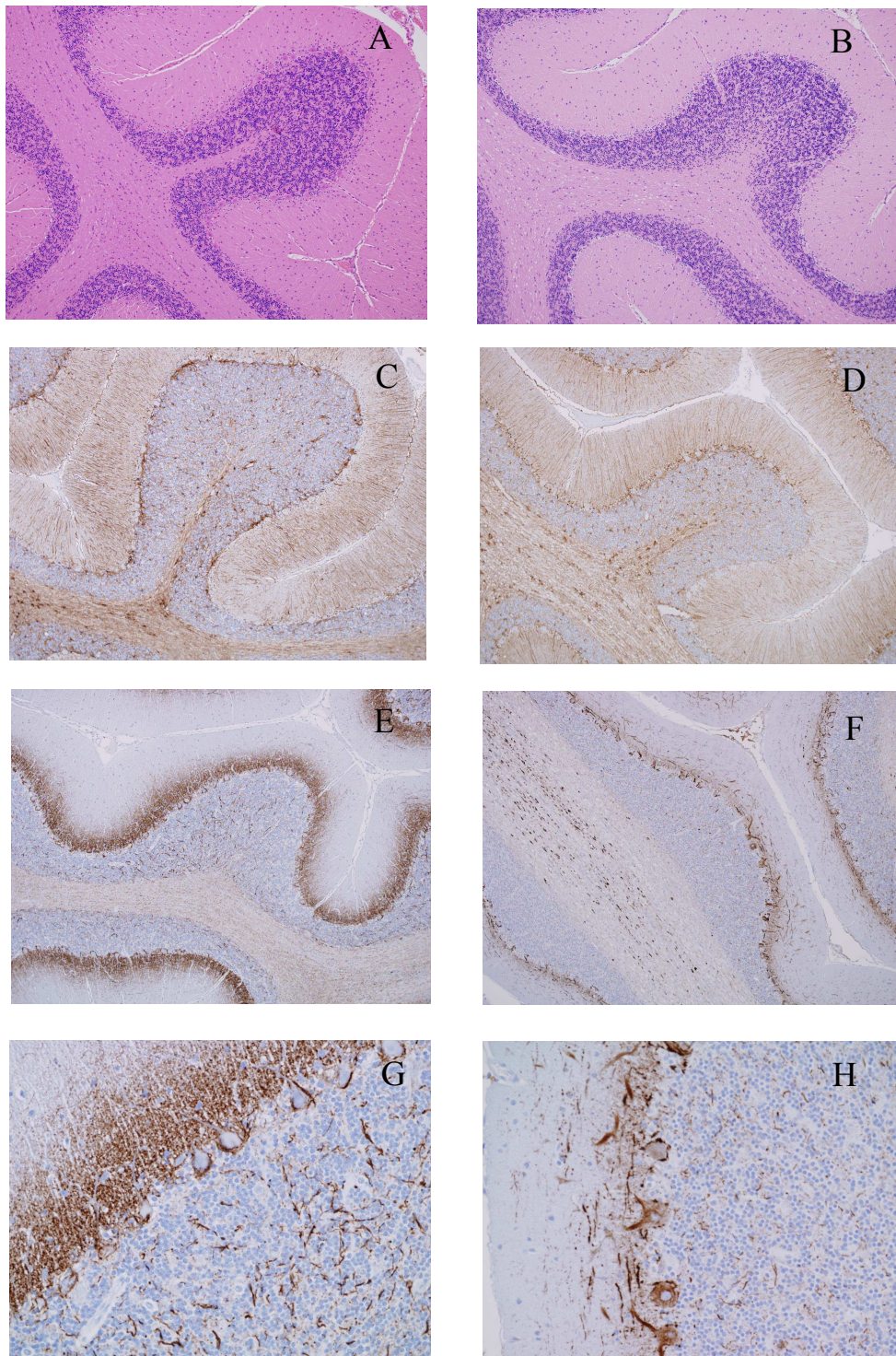


Fig. 1. Cerebellum of control (A, C, E and G) and methylmercury-exposed (B, D, F and H) rhesus monkeys. HE (A, B), GFAP (C, D) and neurofilament staining (E-H) are shown. A-F: x 85; G,H: x 340:

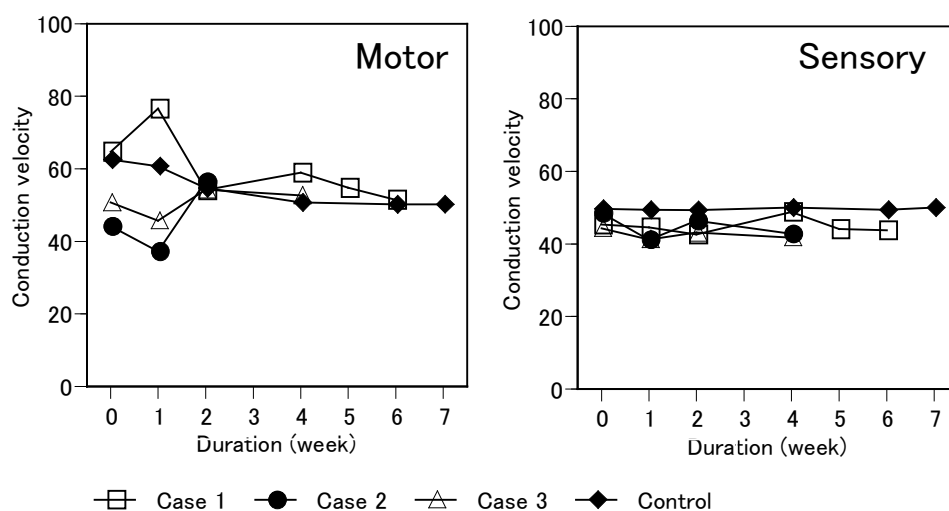


Fig. 2. Conduction velocities in motor and sensory nerves of rhesus monkeys.

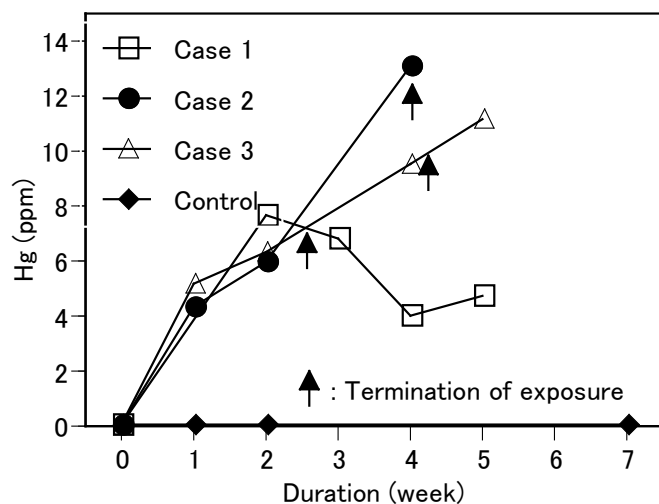


Fig. 3. Blood mercury levels of rhesus monkeys.

本実験では、カニクイサルにおける急性メチル水銀中毒例で、通常の神経系染色では、大脳病変が顕著にも係わらず、小脳及び末梢神経には病変を認めないという、Shaw et al.¹⁾の報告を確認したことになる。しかしながら、本実験において免疫組織化学染色で観察された小脳の所見はこれまでに報告のない新たな知見と言える。また、ベルグマングリアの増加は、水銀組織化学反応の強陽性部（無機水銀の蓄積部）と一致しており、急性発症例の初期変化として興味ある所見である。一方、コモンマーモセットでは、大脳病変に加えて、小脳及び末梢神経に著明な病変が認められ^{4,5)}、ヒトメチル水銀中毒（水俣病）との類似性は極めて高かった。カニクイサルの小脳においてはメチル水銀による病変の発現に対して、ヒトやコモンマーモセットとは異なった防御系が機能していることが予測されるが、その解明は今後の課題である。今回の実験で、カニクイサルの脳にはコモンマーモセットの2倍近い濃度のメタロチオネイン-I（あるいはII）の存在が明らかになった（データは示さない）が、このことが防御系に寄与している可能性も否定できない。

Table 2 Tissue mercury and brain metallothionein levels

	Case 1	Case 2	Case 3	Control
Total Hg, ug/g (% of inorganic Hg)				
Cerebrum	21.1 (8.6)	15.7 (6.1)	30.5 (7.3)	0.0098
Cerebellum	15.6 (7.5)	14.8 (4.4)	23.9 (7.2)	0.0049
Liver	63.5 (37.7)	74.6 (26.2)	116.3 (25.2)	0.0103
Kidney	78.4 (80.3)	93.2 (51.5)	36.4 (37.2)	0.0118
Heart	6.4 (6.3)	18.0 (4.9)	13.6 (3.8)	0.0056
Spleen	13.8 (25.8)	28.6 (14.1)		0.0037
Testis	6.7 (7.0)		19.7 (3.4)	0.0054
Ovary		16.1 (8.3)		
Uterus		20.6 (6.4)		
Brain MT (nmol Hg/g tissue)				
Cerebrum	123.3	164.5	108.2	132.7
Cerebellum	134.6	146.2	112.5	145.7

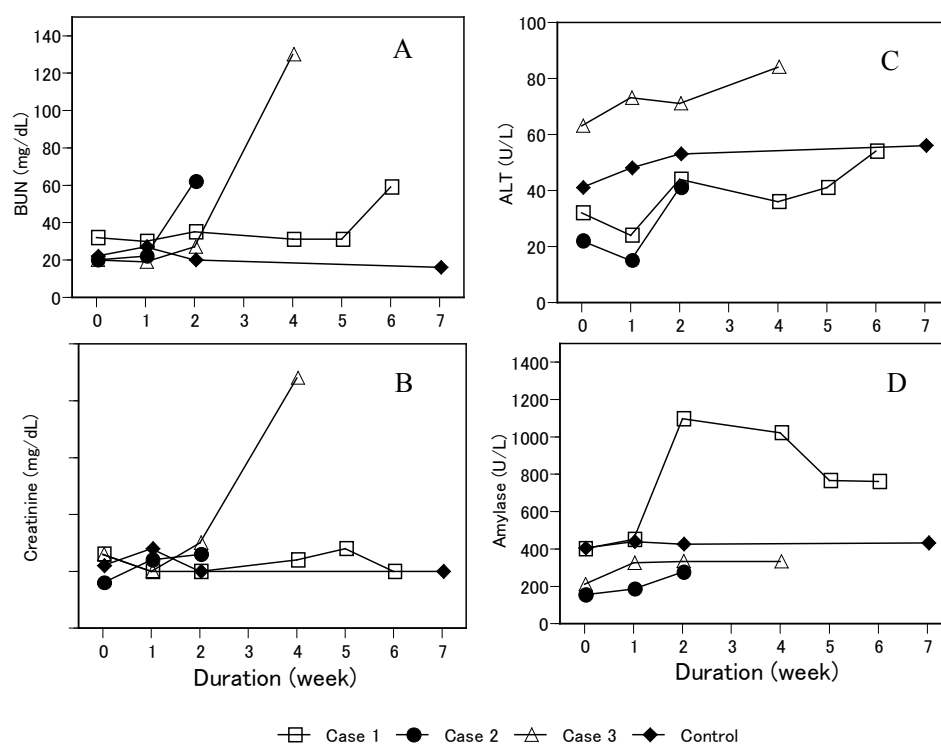


Fig. 4. Effects of methylmercury exposure on plasma BUN (A), creatinine (B), ALT (C) and amylase levels (D) in rhesus monkeys.

[引用文献]

1. Shaw CM, Mottet NK, Body RL, Luschel ES : Variability of neuropathologic lesions in experimental methylmercurial encephalopathy in primates. *Am. J. Pathol.*, **80**, 451-470.1975.
2. Kawasaki Y, Ikeda Y, Yamamoto T, Ikeda K : Long-term toxicity study of methylmercury chloride in monkeys. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **27**, 528-552.1986.
3. Hunter D, Bomford RR, Russell DS : Poisoning by methyl mercury compounds. *Q J Med* 9, 193-213.1940
4. Eto K, Yasutake A, Kuwana T, Korogi Y, Akima M, Shimozeaki T, Tokunaga H, Kaneko Y : Methylmercury poisoning in common marmosets- A study of selective vulnerability within the cerebral cortex. *Toxicol. Pathol.*, **29**, 565-573. 2001.
5. Eto K, Yasutake A, Korogi Y, Akima M, Shimozeaki T, Tokunaga H, Kuwana T, Kaneko Y : Methylmercury poisoning in common marmosets- MRI findings and peripheral nerve lesions. *Toxicol. Pathol.*, **30**, 723-734.2002.

10) 水俣病におけるバイオマーカーの探索

研究担当者 中村 政明 (臨床部)
若宮 純司 (臨床部)
宮本謙一郎 (臨床部)
村尾 光治 (臨床部)

[研究の背景および目的]

人体において病気が発症する時に、まだ症状が現れていない段階でも遺伝子や蛋白質の発現パターンに変化が起こっていることが考えられることから、近年疾病の初期段階の目印であるバイオマーカーが注目され、疾病の早期発見、治療法の開発への糸口になることが期待されている^{1,2)}。現在、水銀の人体への曝露を評価する際に毛髪水銀濃度が有力な指標として使用されているが、感覚障害、小脳失調、視野・聴覚障害といった水俣病の神経症状の病態を直接反映する指標ではない。また、脳性麻痺症状や知能障害を呈する胎児性水俣病においても早期診断・治療を行うことは重要であるが、有用な指標がないのが実情である。そこで、胎児性水俣病を含めた水銀中毒の早期発見、ひいては創薬開発を最終目的として、本研究では水俣病のバイオマーカーを探索することを目的とする。

[研究方法]

まず、12週齢雄ラットにメチル水銀 5mg/kg/dayで12日間経口投与した群 (n= 4) と未投与群 (n= 4) の血清を用いて、ProteinChip System 解析³⁾ (今回は血清を陰イオン交換チップQ10を用いて50mM Phosphate Buffer pH 7.0で洗浄したものを質量分析装置で解析) を行い、両群における発現蛋白のプロファイリングを比較検討した。次に、水銀投与群で特異的に発現しているバイオマーカー候補の経時的変化を検討した。

[研究結果および考察]

1) バイオマーカー候補の検討

上記条件で ProteinChip System で解析したところ、水銀投与群 4 例全てに特異的に発現を認める 2 つのバイオマーカー候補 (分子量 13,033 と 55,548) が検出された (図 1)。

2) バイオマーカー候補と血清総水銀値の経時的変化の検討

分子量 13,033 のバイオマーカー候補は水銀投与 8 日後より顕著な増加を示し、分子量 55,548 のバイオマーカー候補は水銀投与 5 日後より増加傾向を示し、8 日後で明確な差となっていることが明らかになった (図 2)。水銀投与 5 日後ないし 8 日後では後肢交叉や後足引きずり等の運動障害がみられないことから、今回の検討で検出されたバイオマーカー候補は水俣病の早期診断に有用である可能性が考えられた。

今後、今回検出されたバイオマーカー候補の同定を行う予定である。

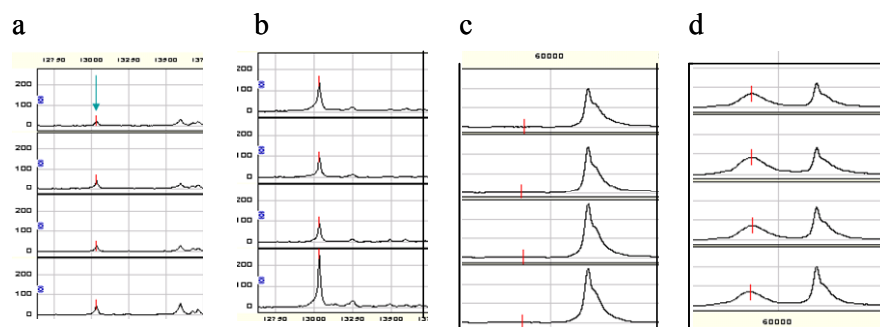


図 1 : バイオマーカー候補の探索

分子量 13,033 のバイオマーカー候補 (a: 水銀未投与群 ; b: 水銀投与群) と分子量 55,548 のバイオマーカー候補 (c: 水銀未投与群 ; d: 水銀投与群) が検出された。

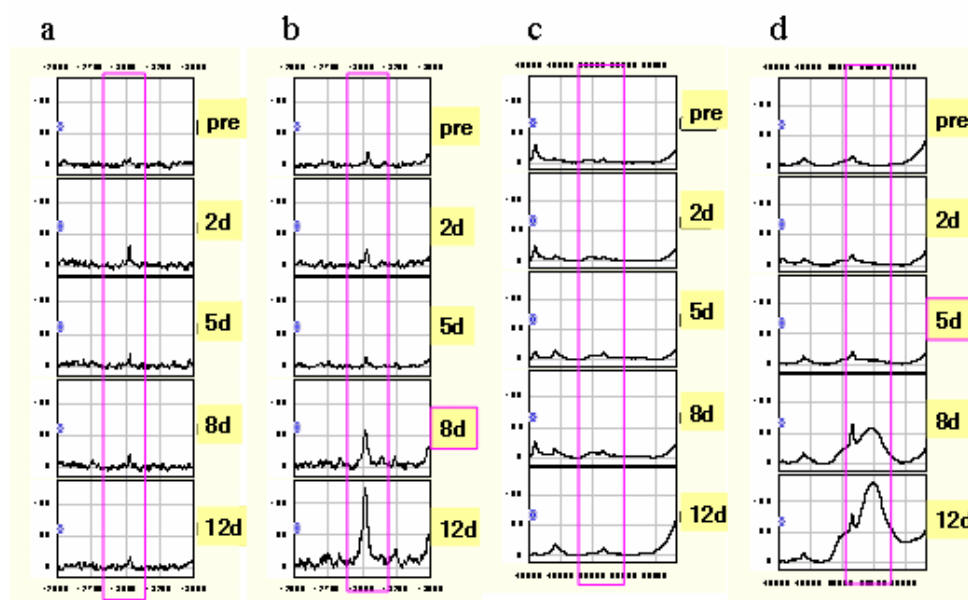


図 2 : バイオマーカー候補の経時的変化

分子量 13,033 のバイオマーカー候補 (a: 水銀未投与群 ; b: 水銀投与群) と分子量 55,548 のバイオマーカー候補 (c: 水銀未投与群 ; d: 水銀投与群) の経時的変化を示す。

[引用文献]

1. Rapkiewicz, A.V., Espina, V., Petricoin, E.F. 3rd, Liotta, L.A.: Biomarkers of ovarian tumours. Eur. J. Cancer. 40, 2604-2612, 2004.
2. Ho, L., Sharma, N., Blackman, L., Festa, E., Reddy, G., Pasinetti, G.M.: From proteomics to biomarker discovery in Alzheimer's disease. Brain. Res. Brain. Res. Rev. 48, 360-369, 2005.
3. Merchant, M., Weinberger, S.R.: Recent advancements in surface-enhanced laser desorption/ionization-time of flight-mass spectrometry. Electrophoresis. 21, 1164-1177, 2000.

1 1) 神経再生（神経細胞の増殖および突起形成/伸展）に対するメチル水銀の作用およびその薬剤治療に関する研究

研究担当者 藤村 成剛（基礎研究部）
澤田 倍美（基礎研究部）
山元 恵（基礎研究部）
高島 明彦（理化学研究所・脳研究センター）

[研究の背景および目的]

メチル水銀の主な標的器官は脳神経系であり、不可逆的な神経機能障害は、最も解決すべき問題である。メチル水銀は神経細胞死を誘発するが、神経細胞死を誘発しない低濃度で既に神経再生障害（神経幹細胞増殖抑制および神経突起形成/伸展抑制）を介して、神経障害を引き起こしている可能性がある。よって本研究では、メチル水銀の神経再生能（神経幹細胞増殖抑制および神経突起形成/伸展抑制）におよぼす作用を明らかにする。また、神経変性疾患は、その発症/進展因子を抑制することによって、それ以上の増悪を抑制することは可能であるが、一度、神経細胞死に至ってしまうと、発症/進展因子の抑制による神経障害の根本治療は不可能である。よって本研究では、メチル水銀中毒患者の根本治療に寄与する可能性のある2つの神経再生関連シグナル（Wnt signal, Rho-ROCK signal）の治療効果についても実験的に明らかにする。

[研究結果および考察]

(1) 未分化神経細胞=神経幹細胞の増殖

メチル水銀は未分化PC12 cells（神経細胞に分化していない増殖細胞）において細胞死を誘発する濃度（1 μ M）よりも低濃度（100 nM）で細胞増殖を有意に抑制することが明らかとなった。（Fig. 1）

（生存率：細胞内/細胞外LDH活性，細胞数：細胞内還元酵素活性）

このことから、メチル水銀は細胞死誘発濃度よりも低濃度で、未分化神経細胞=神経幹細胞の増殖抑制を介して、神経障害を引き起こしている可能性が示された。

また、Wnt signal 活性化剤であるLiClは、メチル水銀による細胞増殖抑制に対して細胞増殖を促進することが明らかとなった。（Fig. 2）

さらに、メチル水銀の神経幹細胞増殖に対する作用を *in vivo*で確認するため、F344ラットにメチル水銀（40 ppm）を1-4週間投与し、新生神経細胞の指標であるBrdU免疫染色を行った。F334ラット脳においてはBrdU陽性細胞がコントロールラットで殆ど確認できず、メチル水銀の影響についての解析を行えなかった。よって、今後はBrdU陽性細胞が豊富にあると報告されているマウス脳を用いて*in vivo*実験を行う。

(2) 神経突起形成/伸展

分化PC12 cells（神経細胞様に分化した細胞, Fig. 3）において、神経突起形成/伸展についての測定系を確立した。（神経突起形成/伸展：リン酸化ニューロフィラメント抗体を用いたCell ELISA, Fig. 4）

今後は本測定系を用いて神経突起形成/伸展に対するメチル水銀の作用を明らかにする。

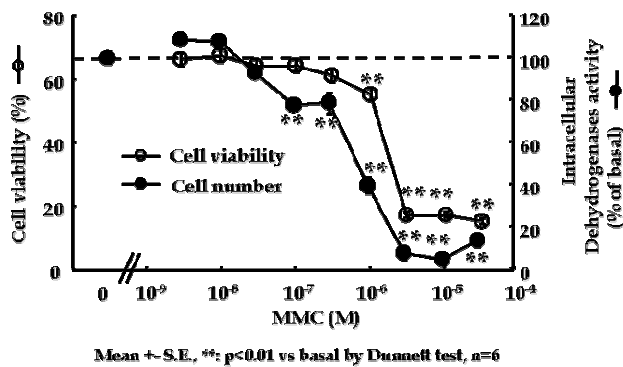


Fig. 1 Effect of methyl mercury on the cell viability and cell number in undifferentiated PC12 cells

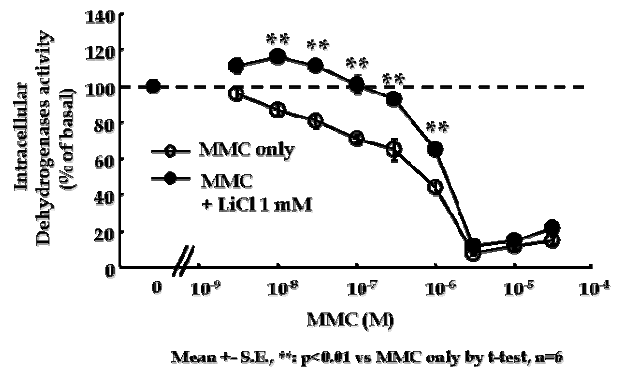


Fig. 2 Effect of LiCl on methyl mercury-induced cell death in undifferentiated PC12 cells

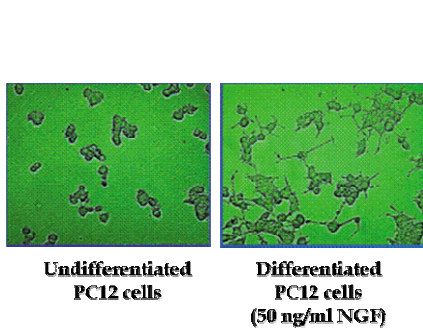
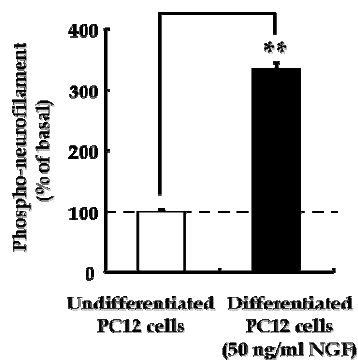


Fig. 3 Photograph of Undifferentiated and differentiated PC12 cells



Mean $\pm$ S.E., **: $p < 0.01$ vs basal by student's t test, $n=6$

Fig. 4 Phospho-neurofilament of Undifferentiated and differentiated PC12 cells

3. メチル水銀の毒性検定及び次世代影響に関する実験的研究

研究概要

実験動物を用いた低レベル、特に環境レベルに近い微量のメチル水銀による慢性曝露の影響は極めて捉えにくいものであり、場合によっては動物の生存期間内にほとんど影響の観察されないまま終わる可能性もある。しかし、メチル水銀に対する感受性は胎児期に高いため、微量曝露によるリスクは世代を経ることによって増強し、後世代で初めて影響が顕著となることもありうる。本課題では、このような視点から、実験動物（3 テーマ）あるいは培養細胞（1 テーマ）を用いて研究を行っている。「長期微量有機水銀の胎児カニクイザルへの影響」では、胎内曝露個体（非曝露条件下で生育）について、指迷路試験で影響を観察しているが、16 年度は有意な結果を得ていない。「コモンマーモセットにおける微量メチル水銀経世代曝露の影響」ではメチル水銀曝露条下で出産・生育した個体について、体内水銀減衰後における脳神経系の病理変化の残存の可能性を検討するために、曝露を中止し、血中水銀を指標として水銀の減衰を待っている。「コモンマーモセットにおける歯科アマルガム由来水銀の生体影響」では、アマルガムを充填したペアについて、血中・呼気中水銀濃度をモニターしており、現在 1 個体の出産を得ているが、その離乳を待って水銀分布等の病理学的検索を行う予定である。以上 3 テーマに関しては、17 年度以降も継続するが、全体結果の詳細については終了した時点で報告したい。「神経系の分化・発達に関する新規毒性評価法の開発研究」では、初代培養細胞において、細胞死誘導濃度よりも低濃度のメチル水銀では特異的マーカーは検出されない、という結論を得て研究の終了とする。

1) a. コモンマーモセットにおける微量メチル水銀経世代曝露の影響

研究担当者 安武 章（基礎研究部）
 衛藤 光明（所長）
 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）

〔研究の背景および目的〕

微量のメチル水銀による慢性曝露の影響は極めて捉えにくく、動物実験では長い時間と詳細な観察を必要とする。しかし、胎児期の個体はメチル水銀に対する感受性が高いため、曝露条件下で世代を経ることによって、そのリスクは増強することが考えられる。ここでは、従来の結果より、神経症状発症に至るほどの水銀蓄積はおこらないことわかっている 0.5 ppm Hg/water のメチル水銀曝露条件下でコモンマーモセットを交配し、出生仔について曝露の影響を検討する。

〔実験経過〕

0.5 ppm Hg/water のメチル水銀曝露条件下で出生したコモンマーモセット 2 頭（A：雄； B：雌、共に症状なし）を生後 5 ヶ月で解剖し、病理検索を行った。表 1 に示すように、小脳に病理変化が観察されている。解剖時点では神経症状は発現していないが、さらに曝露条件下で飼育を続けると症状発現に至ったかもしれない。

表 1 コモンマーモセット 0.5 ppm Hg 曝露 F1 個体脳神経系の病理所見

	個体 A 脳	個体 B 脳
水銀濃度 (μg/g)	大脳：7.69； 小脳：7.92	大脳：11.4； 小脳：11.0
グリオース	小脳顆粒細胞に極軽度	大脳皮質、小脳顆粒細胞に軽度
水銀組織化学	大脳：皮質、髄質に極軽度 小脳：分子層を除く皮質、髄質に極軽度	大脳：びまん性に極軽度 小脳：顆粒細胞に極軽度
小脳	異形性およびプルキンエ細胞の顆粒細胞内遺残	
末梢神経	正常	正常
電顕所見	正常	正常

また、2003 年 12 月に出生した雄 2 個体のうち、1 個体が生後 6 ヶ月で発症したため、2003 年春出生した 1 個体と併せて、全 3 個体については、体内水銀減衰後（血中濃度<0.05 ppm）のモデルを得るために水銀曝露を中止して観察を継続している。これらの個体については毎月血中水銀レベルをモニター中であり、その低下を待って、平成 17 年春～夏の解剖を予定している。

1) b. 長期微量有機水銀の胎児カニクイザルへの影響

研究担当者 村尾 光治（臨床部）
若宮 純司（臨床部）
宮本謙一郎（臨床部）
後藤 正道（鹿児島大学）
山海 直（筑波医学実験用霊長類センター）
土田 順子（筑波医学実験用霊長類センター）

〔研究の背景および目的〕

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 10～20ppm 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 0.5～26.7ppm 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、その矛盾は解決されないままである。動物実験によるメチル水銀毒性発現について、人への外挿を考慮する場合、霊長類であるサルでの研究が有用な手法となる。本研究ではイラクでのメチル水銀中毒で示されている視覚障害発現血中濃度が長期に維持された妊娠サルの中毒症状を観察して、長期慢性曝露下における量－影響・反応を確立するとともに中毒機構、胎児影響、解毒・治療のための基礎的データを集積することを目的としている。

〔研究対象および方法〕

これまで当センターサル動物棟で交配出産させた 8 頭のカニクイザルについて学習認知行動を検討するために国立感染症研究所筑波霊長類センターで開発された指迷路学習について検討した。

〔研究結果および考察〕

当センターのサル動物飼育室内の飼育ケージで、4 段階の指迷路試験を行ったが、第 2 段では水銀投与群が正常群より学習獲得が遅れたがメチル水銀暴露群と正常群の間に有意な差をみることはできなかった。現在認知保持能を検討するために指迷路学習のランダム試験を行っているところである。また、その他の学習認知行動試験として 4 段迷路の改良法である遅延移動方向合わせ試験を行う予定である。

2) 神経系細胞の分化・発達に関する新規毒性影響評価法の開発研究

研究担当者 足立 達美（基礎研究部）
阿相 皓晃（都老人研）

[研究の背景および目的]

メチル水銀毒性に対する感受性は胎児期において高いことが知られている¹⁾。メチル水銀の主な標的である中枢神経系においては、この時期、細胞が盛んに増殖、分化、発達しており、これらに及ぼす毒性影響を評価することは重要である。本研究では、哺乳類胎仔・新生仔の脳から調製した初代培養細胞を用いて、神経細胞およびグリア細胞の形態や特異的マーカー発現量の変化に注目し、微量メチル水銀が神経系細胞の分化・発達に及ぼす影響を細胞化学的・生化学的に解析するための基盤研究を遂行する。

[研究結果および考察]

ラット胎仔大脳半球から調製した初代培養細胞^{2,3)}にメチル水銀－システインまたはシステインのみ（対照）を曝露して生細胞数の変化を調べた結果、メチル水銀 300 nM 以上の曝露によって生細胞数の低下が観察された。次に、メチル水銀 30 または 300 nM を曝露し、アストロサイトのマーカーであるグリア繊維酸性蛋白質 (GFAP) の発現量とオリゴデンドロサイトの数の変化を調べた。GFAP 発現量はメチル水銀曝露の影響をほとんど受けなかったが、オリゴデンドロサイトの数はメチル水銀 300 nM の曝露によって低下した。従って、メチル水銀は細胞死を誘導しない低用量の曝露ではグリア細胞の分化・発達にほとんど影響しないと考えられる。

[引用文献]

1. WHO: Environmental Health Criteria 101, Methylmercury, World Health Organization, Geneva, 1990.
2. Adachi, T., Takanaga, H., Sakurai, Y., Ishido, M., Kunitomo, M., Asou, H : Influence of cell density and thyroid hormone on glial cell development in primary cultures of embryonic rat cerebral hemisphere. J. Neurosci. Res., **69**, 61-71, 2002.
3. Adachi, T., Takanaga, H., Kunitomo, M., Asou, H : Influence of LIF and BMP-2 on differentiation and development of glial cells in primary cultures of embryonic rat cerebral hemisphere. J. Neurosci. Res., **79**, 608-615, 2005.

3) コモンマーモセットにおける歯科アマルガム由来水銀の生体影響

研究担当者	安武 章（基礎研究部）
	永野 匡昭（基礎研究部）
	衛藤 光明（所長）
	高橋 好文（愛知工大）
	澤田 倍美（鳥取大）

[研究の背景および目的]

歯科アマルガム由来の水銀の標的組織は脳と腎臓であるが、その生体影響については議論が続いており、明確な安全性が確立されていない。本研究は、口腔内に充填されたアマルガムから遊離する水銀イオンならびに水銀蒸気が、ヒトへの健康に影響を及ぼすか否かを検証するために、ヒトに近似する咀嚼機能、歯数および胎盤を有するサルを用いてアマルガムによる水銀曝露試験を行ない、歯科用アマルガムの安全性を評価することを目的とする。

[実験の経過]

雌雄2対のコモンマーモセットの上奥歯3対に歯科アマルガムを充填したが、一方の雌固体は、処置翌日に死亡したため、雌雄1対と雄固体1での実験となった。充填後は毎月血液および呼気中の水銀濃度をモニターし、生化学的なデータ（解剖後まとめて測定）のために血漿（～0.5 ml）を凍結保存した。アマルガム充填後、約半年を経過しており、残存アマルガムは6本中3および4本であり、そのせいもあって、血液および呼気中の水銀濃度も徐々に低下傾向にある。すでに1個体のF1を得ており、現在妊娠中であるため、その出産を待って剖検を予定している。

4. メチル水銀の乳・胎児曝露におけるリスク評価

研究概要

胎児期には、胎児は母親から胎盤を介して児の成長に必要な栄養分や酸素を取りこんでいる。また、乳児期には、児は母乳を介して栄養等を取り込んでいる。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胎盤や母乳を介して胎児や乳児に移行する。新潟で第二の水俣病が発生した時には、母親は母乳を与えるかどうかでかなり迷ったという当時の新聞記事が残っている。しかし、最近、我々の動物及びヒトを用いた研究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のではないかという結果を得た。すなわち、同じように母体からの栄養に依存しながらも、胎児期と乳児期では有害物質の移行に違いがあるということを示唆している。メチル水銀に関しては胎児期には非常に高い注意を払わなければならないが、母乳を与えることを必要以上に心配することはないのかもしれない。母乳保育には免疫、脳の発達に欠かせないドコサヘキサエン酸やアラキドン酸等の必須脂肪酸の供給、スキンシップと人工乳保育に無いメリットを多く持っている。そこで、胎児期と乳児期とをきっちりと分けて、それぞれの時期ごとに胎児並びに母親にどのようなリスクがあるかを科学的に究明し、正しいデータを示すことは次世代を担う児を守る意味で、更に、母親へのリスクコミュニケーション上も重要である。

1) 胎児性・小児性水俣病患者の疫学調査

研究担当者 劉 暁潔（疫学研究部）
坂本 峰至（疫学研究部）
有村 公良（鹿児島大）
岡元美和子（明水園）
加藤たけ子（ほっとはうす）
衛藤 光明（所 長）

〔研究の背景および目的〕

水俣病の公式発見（1956年5月1日）以来、すでに約48年が経過した。胎児性・小児性水俣病患者は壮年層に入り、元来高度の運動障害のため日常生活能力が低下してきている可能性が指摘されている。従来、介護を負担して来た両親の高齢化が加わり、将来の介護の問題が深刻に迫ってきていると認識される。そこで胎児性患者、家族に対する情報の提供と支援が必要である。また、今後胎児性患者の医療・介護などの健康支援を行うに当たっては、既に全国的に実施されている重症心身障害児・者の通園事業のようなシステムを構築し、とくに在宅患者の二次障害を防ぐ方策が必要であると考えられる。

〔平成16年度調査概要〕

昨年に引き続き、水俣市と近郊在住者および施設に入所する胎児性・小児性水俣病患者（一部含む）を対象に、認知能力、社会への適応能力、日常生活能力、健康に影響を及ぼす可能性のある嗜好品、食事調査、現在の医療受給状況、今後の自分の介護に関する希望などの項目についての調査を継続した。調査は文書あるいは口頭で今回の研究の主旨について説明し同意を得た後に行った。調査の中で、最近症状の悪化を見た胎児性患者の一部について、より詳細な病歴の聴取を行うことが出来た。また入院中の胎児性水俣病患者については、主治医より症状悪化の要因について聞き取り調査を行った。

(1) 昨年よりも更に対象者を増やして調査を行った結果、昨年と同様、かなりの患者に運動機能障害を伴う社会生活への対応能力の低下が認められた。認知項目をまとめた結果、通常の日常会話ができる人は約半数の48%、一般人なみに社会生活ができる患者は14%であった。日常生活能力の低下のために、何らかの介助が必要な患者は約1/3であった。

(2) 現時点で把握できる療養状況は、入所療養中12名、リハビリテーション施設や支援施設などへの通園10名、在宅でリハビリテーションなどの特別な医療などを受けていない患者15名であった。

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 — 児の循環における赤血球中水銀濃度と脂肪酸濃度との関連についての検討 —

研究担当者	坂本 峰至 (疫学研究部)
	窪田 真知 (宗像水光会総合病院・産婦)
	劉 曉潔 (疫学研究部)
	中野 篤浩 (基礎研究部)
	赤木 洋勝 (国立水俣病総合研究センター)
	村田 勝敬 (秋田大・医)
	仲井 邦彦 (東北大・医)
	佐藤 洋 (東北大・医)

[研究の背景および目的]

メチル水銀は中枢神経毒性を有する地球規模環境汚染物質の中でも最もよく知られた一つで、一般にヒトへの曝露は魚介類の摂取を介して起こる。海洋等の自然界では、食物連鎖の頂点に近い鯨、サメやマグロのメチル水銀濃度が高いことが知られている。ヒトでは、特に胎児が、発達期の脳がメチル水銀に対する感受性が高いことや¹⁻⁵⁾、メチル水銀の濃度が母体よりも高濃度に蓄積することから^{6,7)}最もリスクの高いグループである。それゆえ、魚介類等の消費の高い日本などの集団においては、妊婦への魚介類摂取によるメチル水銀曝露の影響は解明しなければならない公衆衛生上の重要問題である^{3,8-11)}。一方、エイコサペンタエン酸 (EPA, C20:5n-3) やドコサヘキサエン酸 (DHA, C22:6n-3) 等の n-3 多価不飽和脂肪酸 (n-3PUFA) も魚介類摂取由来で、これらの脂肪酸はヒトの健康に有益であることが知られている^{12,13)}。DHA は特に正常な脳の発達や機能に重要な脂肪酸で¹⁴⁻¹⁷⁾、妊娠後期の急激な胎児の脳の発達期¹⁸⁾には、脳中の DHA 濃度も劇的に増加する¹⁹⁾。その時期は、脳がメチル水銀の毒性に最も感受性が高い時期であり、メチル水銀の胎児脳への蓄積も最も高まる時期でもある。血漿や血清は水銀蒸気や無機水銀の曝露の優れた biomarker の一つであることが知られているが²⁰⁾メチル水銀曝露に関しては赤血球中水銀濃度が最も優れた biomarker である^{3,21-23)}。加えて、日本人のような魚介類多者では赤血球中水銀の 90% 以上がメチル水銀であることから²⁴⁾、本研究では赤血球中総水銀濃度を母体や胎児のメチル水銀レベルを現す指標として用い、昨年の 48 組に 15 組のデータを追加し、63 組の母子の赤血球中水銀濃度と血漿脂肪酸濃度の関係を調べ、魚介類摂食のリスクとベネフィットに言及した。

[研究方法]

研究対象者は、福岡県宗像市の宗像水光会総合病院で出産した 63 人の 21-41 歳 (平均 29.6 ± 4.4 歳) の健康な本女性で、同調査への参加の同意が得られたヒトである。血液は出産翌日の朝食前の母親からの静脈血 13 ml と出産時の臍帯静脈血 10 ml を 63 組の母子から採取した。血液はヘパリン処理した真空ベネジエクト管で行い、3000 rpm で 10 分間遠心分離した後、赤血球と血漿に分けて -80 度で使用まで保存した。

総水銀濃度を測定は赤血球約 0.5 g を用い cold vapor atomic absorption spectrophotometry (CVAAS) 法でした²⁵⁾。原理は、サンプルを HNO_3 HClO_4 と H_2SO_4 で加熱分解し酸化した二価の水銀へ SnCl_2 加えてを還元し Hg^0 としして吸光セルに導き測定するというものである。測定限界は 0.1 ng/g で、測定の正確さは参照物質 (DORM-2;

dogfish muscle prepared by the National Research Council Canada) を測定し、推奨濃度の $4.64 \pm 0.26 \mu\text{g/g}$ に対し平均 $4.53 \mu\text{g/g}$ という値が得られている。血漿の脂肪酸分析は SRL Inc. (Tokyo, Japan) で行われた。脂質は Folch et al.²⁶⁾ の方法で抽出し、tricosanoic acid (C23:0) を内部標準物質として加え、0.5 M HCl で加水分解した。フリーの脂肪酸は chloroform で抽出し 0.4 M potassium methoxide-methanol solution と 14wt% boron tri-fluoride-methanol を加えてメチル化した。脂肪酸メチルエステルはキャピラリーカラム、ガスクロマトグラフィー (GC17A, Shimadzu Co., Japan) で標準物質と参照し (Sigma Chemical Co., Poole, UK) 同定した。脂肪酸濃度は ($\mu\text{g/ml plasma}$) で現した。

統計解析：母子のペア間の赤血球中水銀濃度は paired *t*-test で解析した。赤血球中水銀濃度と血漿脂肪酸間の相関は Pearson and Spearman correlation analysis で求めた。個々の母/子の脂肪酸濃度比は one-way analysis of variance (ANOVA) の後 Dunnett's multiple comparison test にかけて、飽和脂肪酸と一価不飽和脂肪酸の合計を参照値とみなして、その値と比較した。 $P < 0.05$ を統計学的に有意とみなした。

(倫理面への配慮)

研究の実施に先立って、本調査の研究デザインについて国立水俣病総合研究センター研究倫理委員会に申請し、研究調査の目的、方法、データの解析について説明し、母親から文書による同意を得ることで承認を得た。データ解析に当っては、個人情報は一切漏れないよう、調査で得られるデータは個人が特定されない形で、調査目的に沿って解析し、報告書・学術誌に発表する旨を明記した。

[研究結果]

母子間の赤血球中水銀濃度、児/母の赤血球中水銀濃度比、全ての血漿脂肪酸濃度、飽和とモノエン酸合計の児/母の脂肪酸濃度比は前年の報告と同様である。児の赤血球中水銀濃度は児の血漿 EPA ($p < 0.05$, $r = 0.32$) と DHA ($p < 0.01$, $r = 0.35$) と有意な相関を示した (Fig. 1)。

[考察]

本研究は妊娠後期における母親の魚介類摂取の影響を母児の赤血球中水銀濃度と脂肪酸濃度の関連で検討するために行った。

胎児はメチル水銀のハイリスクグループとして知られている¹⁻³⁾。水俣における胎児性水俣病患者は母親が軽度か全く中毒症状を示さないにも拘らず脳性小児麻痺様の症状を示し、胎児がメチル水銀に対する感受性が非常に高いことを世界に知らしめた²⁷⁻²⁸⁾。発達期の脳はそれ自身の感受性が高い上に³⁻⁵⁾、胎児は濃度的にも母親よりも高い水銀濃度となる^{1-3, 5)}。そこで、魚介類の摂取量が多い地域の妊婦にとって、低濃度メチル水銀の胎児影響は現在でも解決すべき課題として残っている^{3, 8-11, 30)}。

児 (臍帯) の赤血球中水銀濃度は母親の約 1.6 倍高い値を示し、母児間には有意な相関があった。このことはメチル水銀が胎盤を介し、アミノ酸トランスポート系で能動的に輸送されていること³²⁾の結果であろう。胎児が母親より高濃度の水銀を蓄積することは多くのヒトや動物を用いた研究^{1-3, 32-34)}で知られている。しかしながら、個々の児/母の比は 1.08 - 2.32 とかなり広くばらつき、母親から児へのメチル水銀の移動に個体差があることを示唆した。この結果は、メチル水銀による軽微な影響を評価する研究では母体側より胎児側のメチル水銀 biomarker がより利点があるであろうことを示唆している。

DHA と AA 脳の中に多量に存在し^{14-17, 19)}、DGLA の濃度も LN、EPA 及び LnN より高いことが知られ

ている¹⁴⁾。母乳も DHA と AA 含み^{16, 35)} 胎・乳児期の脳の発達時期には、多量のこれらの脂肪酸が母親循環から児循環へ移行し^{15, 19, 35)}、妊娠の後半 1/3 期の脳にはこれらの脂肪酸が高濃度に蓄積する^{17, 19, 36)}。DHA, AA と DGLA の児/母比が高いこと (Table 2) は、これらの脳やその発達に重要な脂肪酸が優先的に母親循環から児循環へ移行していることを示していることを示すと考えられる。

母児の血漿 EPA ($p < 0.01$, $r = 0.39$) と DHA ($p < 0.05$, $r = 0.37$) 濃度は相関があり、これらの脂肪酸の母親循環から児循環への移行が示唆された。更に、児の赤血球中水銀濃度は児の EPA ($p < 0.05$, $r = 0.32$) と DHA ($p < 0.01$, $r = 0.35$) と有意な相関を示した (Fig. 1)、メチル水銀とこれらの脂肪酸が児の循環循環において一定の関連を保って移行していることを示唆した。これらの結果は、脳の発達や機能に逆方向に作用すると考えられるメチル水銀と DHA が双方とも相関をもっては母親の循環を児循環が反映していることを示している。それゆえ、妊娠中に日常的に食べている魚に関しては、メチル水銀濃度が低く DHA に富んでいたら児の発達に有益であろうし、逆に、メチル水銀濃度が DHA の作用を陵駕するほどに高ければ魚食は子の発達を遅滞させるという結果にもなるであろう。また、母児のメチル水銀と DHA が相関を持つということは、メチル水銀曝露の影響を検討する際に DHA を交絡因子として把握しておく必要性も示唆している。

[結論]

本研究の結果、魚介類摂取由来と考えられるメチル水銀と EPA や DHA は脂肪酸が児の循環において一定の相関をもって存在していることが示された。魚介類の摂取はメチル水銀と n-3 PUFA という観点からリスクもメリットも有しているので、妊婦は魚介類摂取のメチル水銀リスクを恐れて魚を食べるのを止めるのではなく、小型の魚を食べてそのメリットを得しながらリスクを避ける手立てを取るべきであろう。

[引用文献]

1. Choi BH : The effects of methylmercury on the developing brain : Prog. Neurobiol., **32**, 447-470. 1989.
2. Reuhl KR, Chang LW : Effects of methylmercury on the development of the nervous system: A review. Neurotoxicol., **1**, 21-55. 1979.
3. World Health Organization (Eds). IPCS. Environmental Health Criteria 101. Methylmercury, World Health Organization, Geneva. 1990.
4. Sakamoto M, Nakano A, Kajiwara Y, Naruse I, Fujisaki T : Effects of methylmercury in postnatal developing rats. Environ. Res., **61**, 43-50. 1993.
5. Sakamoto M, Kakita A, Wakabayashi K, Nakano A, Takahashi H, Akagi H. Evaluation of changes in methylmercury accumulation in the developing rat brain and its effect: a study with consecutive and moderate exposure throughout gestation and lactation. Brain. Res., **949**, 51-59. 2002.
6. Vahter M, Åkesson A, Lind B, Bjors U, Schuntes A, Berglund M. Longitudinal study of methylmercury and inorganic mercury in blood and urine of pregnant and lactating women, as well as in umbilical cord blood. Environ. Res., **84**, 186-194. 2000.

7. Horvat M, Stegnar A, Byrne R, Dermelj M, Branica A : A study of trace elements in human placenta, blood and hair from Yugoslav central Adriatic. In: Baretter P, Schramel P. (Eds.), Trace elements—analytical chemistry in medicine and biology, Berlin, de Gruyter & Co., pp. 234-250. 1988.
8. Grandjean P, Weihe P, White RF, et al : Cognitive deficit in 7-year-old children with prenatal exposure to methylmercury. *Neurotoxicol Teratol.*, **19**, 417-28. 1997.
9. Kjellström T, Kennedy P, Willis S, Mantell C : Physical and mental development of children with prenatal exposure to mercury from fish. Stage 1: preliminary test at age 4. Report 3080. Stockholm: National Swedish Environmental Protection Board, 1986.
10. Myers G J, Davidson P W, Cox C et al : Prenatal methylmercury exposure from ocean fish consumption in the Seychelles child development study. *Lancet*, **361**, 1689-92. 2003.
11. Skerfving, S : Mercury in women exposed to methylmercury through fish consumption, and in their newborn babies and breast milk. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **41**, 475-482. 1988
12. Tapiero H, Ba GN, Couvreur P, Tew KD : Polyunsaturated fatty acids (PUFA) and eicosanoids in human health and pathologies. *Biomed. Pharmacother.*, **56**, 215-22. 2002.
13. Skerrett P J, Hennekens C H : Consumption of fish and fish oils and decreased risk of stroke. *Prev. Cardiol* **6**, 38-41. 2003.
14. Farquharson J, Cockburn F, Patric WA, Jamieson EC, Logan RW : Infant cerebral cortex phospholipid fatty-acid composition and diet. *Lancet*, **340**, 810-813. 1992.
15. Yavin E, Glozman S, Green P : Docosahexaenoic acid sources for the developing brain during intrauterine life. *Nutr. Health*, **15**, 219-224. 2001.
16. Makrides M, Neuman M, Simmer K, Pater J, Gibson R : Are long-chain polyunsaturated fatty acids essential nutrients in infancy? *Lancet*, **345**, 1463-1468. 1995.
17. Clandinin MT, Chappell JE, Leong S, Heim T, Swyer PR, Chance GW : Intrauterine fatty acid accretion rates in human brain: implications for fatty acid requirements. *Early Hum. Dev.*, **4**, 21-129. 1980.
18. Dobbing J, Sands J : Comparative aspects of the brain spurts, *Early Hum. Dev.*, **3**, 79-83. 1979.
19. Carlson SE : Docosahexaenoic acid and arachidonic acid in infant, *Semin. Neonatol.*, **6**, 437-449. 2001.
20. WHO. Inorganic mercury. Environmental Health Criteria 118, Geneva: World Health Organization, 1991.
21. Swedish Expert Group. Mercury in fish: A toxicological-epidemiologic evaluation of risks. *Nord Hygienisk Tidskrift, Suppl.* **4**. Stockholm, Sweden, 1971.
22. WHO. Methylmercury. Environmental Health Criteria 101, Geneva: World Health Organization, 1990.
23. Svensson B-G, Schülts A, Nilsson A, Åkesson I, Åkesson B, Skerfving, S : Fish as a source of exposure to mercury and selenium. *Sci. Total Environ.*, **126**, 61-74. 1992.
24. Kreshaw TG, Clarkson TW, Dhahir PH : The relationship between blood levels and dose of methylmercury in man. *Arch. Environ. Health*, **35**, 28-36. 1980.
25. Akagi H, Nishimura H : Speciation of mercury in the environment. In: *Advances in Mercury Toxicology* (eds. Suzuki, T., Imura, N., Clarkson, T W.) 53-76. Plenum Press, New York. 1991.
26. Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH : A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497-509. 1957.

27. Harada M. Congenital Minamata disease: Intrauterine methylmercury poisoning. *Teratology*, 18285-288. 1978
28. Takeuchi T. Pathology of Minamata disease. In: Study Group of Minamata Disease (report) Minamata disease. Kumamoto: Kumamoto University, Japan, pp 141-228. 1968.
29. Takeuchi T : Pathology of Minamata disease, with special reference to its pathogenesis. *Acta Pathol. Jpn.*, **32**, 73-99. 1982.
30. Galster W A : Mercury in Alaskan Eskimo mothers and infants. *Environ. Health Perspect.* **15**, 135-14. 1976.
31. Kajiwaru Y, Yasutake A, Adachi T, and Hirayama K : Methylmercury transport across the placenta via neutral amino acid carrier. *Arch. Toxicol.*, **70**, 310-314. 1996.
32. Sakamoto M, Kubota M, Matsumoto S, Nakano A, Akagi H : Declining risk of methylmercury exposure to infants during lactation. *Environ. Res.*, **90**, 185-189. 2002.
33. Ask K, Åkesson A, Berglund M, Vahter M : Inorganic mercury and methylmercury in placentas of Swedish women. *Environ. Health Perspect.*, **110**, 523-526. 2002.
34. Sandborgh-Englund G, Ask K, Belfrage E, Ekstrand, J : Mercury exposure in utero and during infancy. *J. Toxicol. Environ. Health*, **63**, 317-320. 2001.
35. Martinez M : Dietary polyunsaturated fatty acids in relation to neural development in human, in: Galli C, Simopoulos AP (Ed.), *Dietary ω 3 and ω 6 Fatty Acids. Biological Effects and Nutritional Essentiality*. New York: Plenum Press, pp. 123-33. 1989.
36. Valenzuela A, Nieto MS : Docosahexaenoic acid (DHA) in fetal development and in infant nutrition. *Rev. Med. Chil.*, **129**, 1203-1211. 2001.

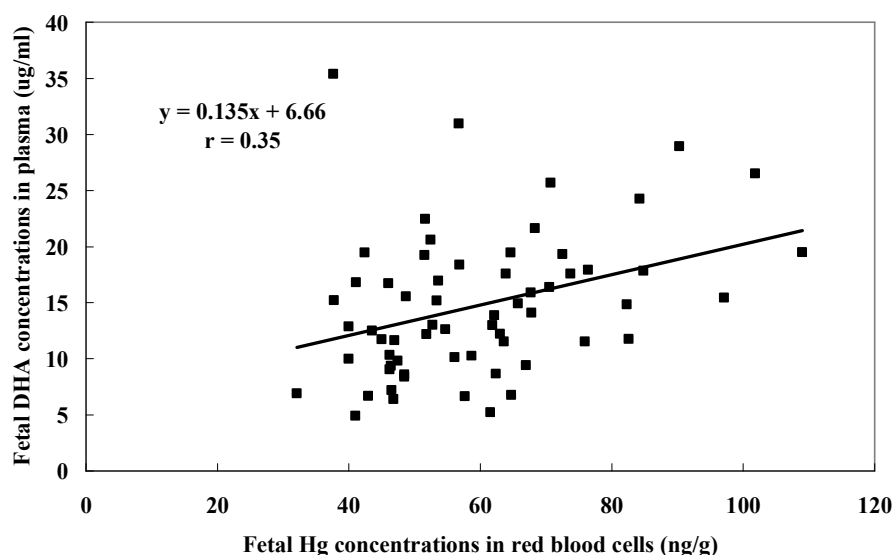


Figure 1. Correlation between mercury concentrations in red blood cells and plasma docosahexaenoic acid concentrations in 63 fetus

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 ーメチル水銀間欠曝露による血中メチル水銀濃度“spike”が脳への水銀蓄積と神経変成へ及ぼす影響に関する研究ー

研究担当者 坂本 峰至（疫学研究部）
潘 煥生（熊本大・医）
劉 曉潔（疫学研究部）
柿田 明美（新潟大学脳研究所）
赤木 洋勝（国際水銀ラボ）
村田 勝敬（秋田大・医）
仲井 邦彦（東北大・医）
佐藤 洋（東北大・医）

[研究の背景および目的]

メチル水銀の人体影響に対しては、成人に比較して胎児・小児の感受性が高いことが知られている^{1,2)}。メチル水銀の胎児期曝露の影響を検討した大型コホート研究には、フェロー諸島における Grandjean らの研究³⁾と、セイシェル諸島における Myers らの研究^{4,5)}がある。しかし、双方のコホートにおけるメチル水銀の曝露量は、ほぼ等しいか、若干セイシェルの方が高いに関わらず、フェローでは胎児期のメチル水銀の影響が観察されたと報告され、セイシェルでは影響が無かったと報告されている。その研究結果が異なっている原因については多くの可能性が議論されているが、曝露形態の違いも要因の一つ考えられている^{1,6)}。フェロー諸島におけるメチル水銀の主な曝露源は月 2-3 回の鯨からであり、セイシェル諸島の曝露は毎日食している魚からである。そこで、フェローの間欠的な比較的高濃度の曝露によって生じる血液中水銀濃度の急激な上昇“spike”が児の神経発達に及ぼす影響を検討する必要があるという議論が米国ホワイト・ハウスでの National Toxicology Program¹⁾でなされた。本研究では、メチル水銀の曝露量が積算値では同じでも、一定量連続曝露と多量間欠曝露のメチル水銀蓄積と末梢および中枢神経への影響を量・反応的に調べて、ヒトの体内におけるメチル水銀の蓄積をコンパート・メント理論式でシミュレーションしヒトのケースへの外挿を行う。実際にはフェロー諸島で行われた研究はメチル水銀の胎児期曝露の影響に関する研究なので、妊娠期間中のメチル水銀曝露形態違いの胎児への影響を調べる必要があるが、ヒトの妊娠期間が約 10 ヶ月であるのに対しラットの妊娠期間は 21 日と短く、妊娠ラットを用いての曝露形態別水銀蓄積の差異を検討することは不可能である。そこで、今回は成獣ラットを用いて毎日の連続曝露と間欠的な比較的高濃度の曝露の脳へのメチル水銀蓄積と神経細胞に及ぼす影響の違いを検討する。

[研究方法]

メチル水銀の曝露量が積算値では同じでも、一定量連続曝露と多量間欠曝露の生体メチル水銀蓄積への影響調べるために、8 週齢ウイスター系雄ラットに、メチル水銀をそれぞれ 0.3、1.5、3.0 mg/kg/day 毎日経口投与する群とそれぞれ 7 倍量の 2.1、10.5、21 mg/kg を 1 週間に 1 回経口投与する群の計 6 群（1 群 5 匹）を作成した。メチル水銀の血液中水銀濃度の蓄積・変動パターンは尾静脈から 10μl 採血し 5 週間追跡した。毎日投与する群(A)からは 1 週間の投与中日（4、11、18、25、32 回目の投与直前）に採血

した。1週間に1回投与するラット群は更に採血の負荷がかからないよう3群追加して、メチル水銀投与24時間後(B-1)及びその1週間後の次のメチル水銀投与直前(B-2)の2回に分けて採血した。約5週間のメチル水銀の曝露後に一定量連続曝露と多量間欠曝露群の積算水銀投与量が等しくなる日程で、脳の水銀量の比較を行った。多量間欠曝露群は脳中水銀濃度が単回投与でピークになる投与4日後(B-1)及び投与7日後(B-2)に解剖した。3.0 mg/kg/day と 21 mg/kg/week の群は約3週間後に体重が実験開始時以下に減少したので前者は21日間の連日投与翌日後者は3回目の投与4日後(B-1)及び投与7日後(B-2)に解剖して各組織の水銀濃度を比較した。Fig. 1 にメチル水銀をそれぞれ 0.3、1.5、3.0 mg/kg/day の毎日投与するラットとそれぞれの7倍量の 2.1、10.5、21 mg/kg を1週間に1回投与するラットの6群のメチル水銀投与、採血及び解剖のプロトコールを示した。

(倫理面への配慮)

本研究は国立水俣病総合研究センター動物倫理安全委員会の規定に則った動物を用いた実験で、ヒトを対象としたものではなく、遺伝子解析を行うものでもなく、解剖に当たっては、完全なネンブタール麻酔下で操作を行い、試験動物を扱う上での苦痛回避等に十分な配慮を行った。

[研究結果]

Fig. 2 に示したように 0.3 mg/kg/day 群と 2.1 mg/kg/week 群では顕著な体重の減少無くラットは成長した。一方、1.5 及び 3.0 mg/kg/day 群ではそれぞれ投与開始 27 日後、15 日後から体重の減少が始まった。10.5 及び 21 mg/kg/week 群では投与直後から数日間体重が減少した増加に転じるといふ波打った体重減少を示した。3.0 mg/kg/day 群と 21 mg/kg/week 群は3週間後には体重が投与開始時以下になったので3週間で投与を中止し、解剖した。各投与量レベルで毎日投与群と週に1回投与群の間には有意な体重差は認められなかった。Fig. 3-1 に示したように体重に影響を与えないレベルのメチル水銀の投与による血液中の水銀濃度の変動は毎日投与群で徐々に水銀濃度が上昇していったのに対して週に1回投与群は投与翌日に急激に水銀濃度が上昇し1週間後には低下するといふ“spike”を伴った濃度変動を繰り返した。一方、体重が落ちていく高濃度の群では体重減少が始まるまでは同様であったが体重減少が始まるとその関連が崩れてきた(Fig. 3-2, 3-3)。Table 2 に示したように積算投与量が等しくなる各投与量群で毎日投与群と週に1回投与群の間で解剖時点における脳の水銀濃度に有意差は認められなかった。

[考察]

胎児はメチル水銀のハイリスクグループとして知られている。そこで、特に魚介類の摂取量が多い地域の妊婦にとっては、低濃度メチル水銀の胎児影響は現在でも解決すべき課題として残っている。日本でも環境省事業として胎児期のメチル水銀が児の神経発達に及ぼすコホート研究が始まっているが、先行しているセイシェルとフェロー諸島での研究は異なる研究結果を出している。本年度は、セイシェルとフェロー諸島におけるメチル水銀曝露形態の違いを念頭に置いて、メチル水銀の曝露量が積算値では同じでも、一定量連続曝露と多量間欠曝露でメチル水銀蓄積にどのような差異が出るのかをラットを使って検討した。

ラットでは一般にメチル水銀による中毒症状出現に先行して体重の減少が起こる。Fig. 3-1 に示したように 0.3 mg/kg/day 群と 2.1 mg/kg/week 群では顕著な体重の減少無くラットは成長したが、1.5 及び 3.0 mg/kg/day 群ではそれぞれ投与開始 27 日後、15 日後から体重の減少が始まったので、ヒトでのメチル水

銀が体重に影響を及ぼさない範囲での水銀の蓄積ということでは 0.3 mg/kg/day 群と 2.1 mg/kg/week 群で観察された水銀濃度の変動が参考になるだろう。Fig. 3-1 に示したように 1 週間に 1 回のメチル水銀投与によってフェロー諸島で起こっていると考えられる血液中メチル水銀の急激な上昇“spike”が再現されたと考える。

体重の減少もラットにおける毒性発現の指標だとすると 1.5 及び 3.0 mg/kg/day 群と 10.5 及び 21 mg/k/week 群 10.5 及び 21 mg/k/week 群では、前者が徐々に体重が低下していくのに比べ後者では波打った体重減少を示すという違いはあったが両者間で積算投与量が等しい期間に極端な体重差は生じさせるほどの毒性の違いは無いということになる。

血液中の水銀濃度も毎日投与群で徐々に水銀濃度が上昇していったのに対して週に 1 回投与群は投与翌日に高く次の投与前には減少するという連続投与軍をはさむ感じで濃度の急上昇“spike”を伴った上下変動を繰り返すが、積算投与量が等しい場合の最終解剖時点での脳中水銀濃度はほぼ同じとなることが明らかになった。今回の動物実験の結果は、Grandjean が出産時の母親の頭髪の頭皮から 2 cm までの水銀濃度と全長の水銀濃度を測定し、両者の値が著しく異なる例を水銀濃度変動の著しいグループとして全体の解析から除いて量-反応関係を再解析したところ、得られた結果は全体の解析と殆ど違いが無かったと述べているヒトでの研究結果⁶⁾を説明するものでもある。

以上のことから、本実験は胎児への水銀の蓄積を調べた実験ではないが、積算値が等しい投与の場合、極端に間隔が開く場合や、極端に高濃度でない場合の水銀の蓄積には、毎日投与群と週に 1 回投与群の間には、後者で血液中水銀濃度の変動に“spike”が生じるが、脳の水銀濃度は両者間に有意な差は認められず、フェロー諸島で起こったと推定される血液中水銀濃度の“spike”がセイシェル諸島の毎日の連続曝露と比較し、脳における水銀の蓄積という点では差を引き起こす要因にならないであろうことが推察された。

[結論]

フェロー諸島でもメチル水銀曝露で考えられた、かなり高い水銀濃度を持つゴンドウ鯨を月に 2-3 回食べることによって起こる血中水銀濃度の“spike”（短期-ピーク）の生体へ及ぼす影響を解明するための研究として、本年度は脳を始めとする脳への水銀の蓄積を毎日の連続曝露と比較した。その結果、積算量が同じであるなら一定量連続曝露群と多量間欠曝露群は脳における水銀の蓄積という点では差を引き起こす要因にならないであろうことが推察された。

[引用文献]

1. National Research Council. Toxicological effects of methylmercury. National Academy Press, Washington , DC. 2000.
2. International Programme on Chemical Safety. Methylmercury (Environmental Health Criteria 101). WHO, Geneva. 1990.
3. Grandjean P, Weihe P, White RF et al. Cognitive effect in 7-year old children with prenatal exposure to methylmercury, Neurotoxicol. Teratol., 19, 417-428. 1997.

4. Davidson PW, Myers GJ, Cox C, et al: Effects of prenatal and postnatal methylmercury exposure from fish consumption on neurodevelopment:outcomes at 66 months of age in the Seychelles child development study. *JAMA* **280**, 701-707. 1998.
5. Myers GJ, Davidson PW, Cox C, et al. Prenatal methylmercury exposure from ocean fish consumption in the Seychelles child development study. *Lancet*, **361**:1686-1692. 2003.
6. Grandjean P, White RF, Weihe P, Jorgensen PJ. Neurotoxic risk caused by stable and variable exposure to methylmercury from seafood. *Ambul Pediatr.*, **3**, 18-23. 2003.

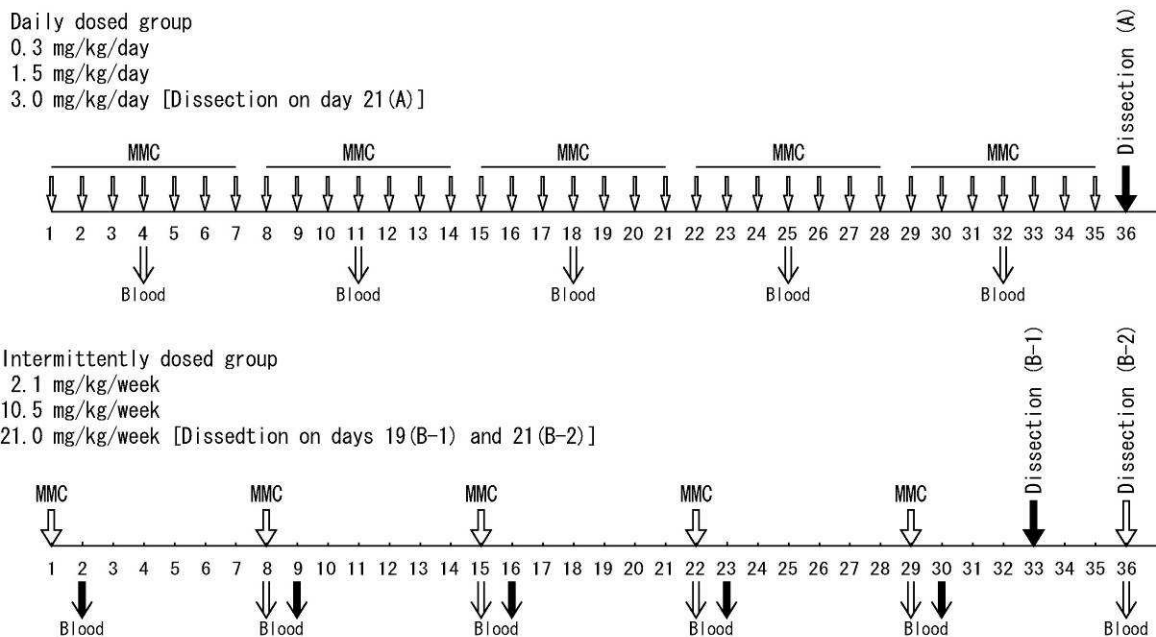


Fig. 1. Protocol of methylmercury administration, blood sampling and dissection

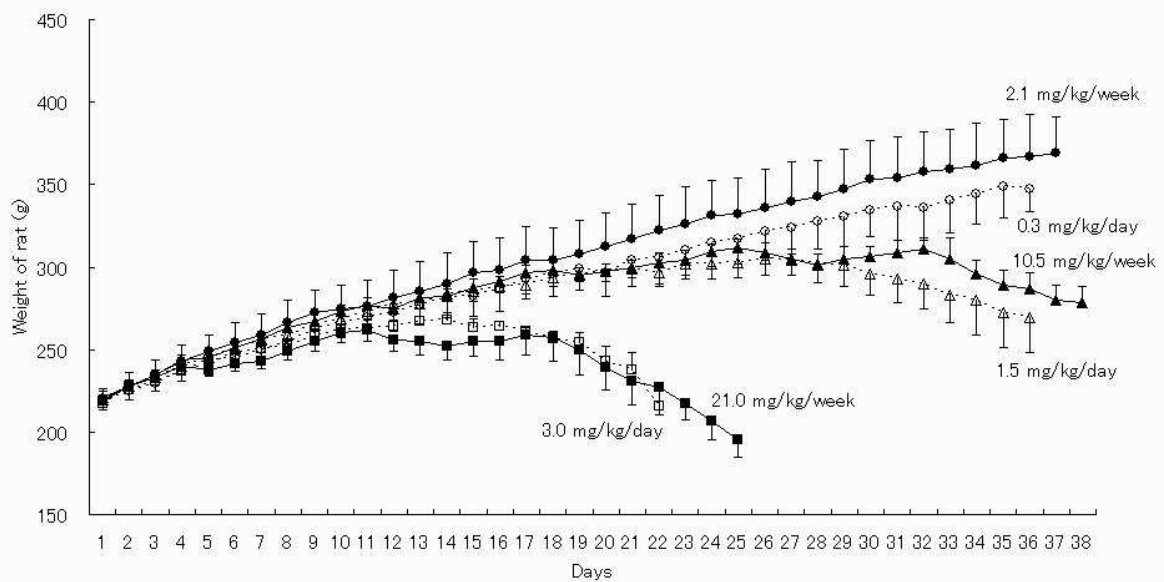


Fig. 2. Changes in body weight of rats with daily (0.3, 1.5 and 3.0 mg/kg/day) and intermittent (2.1, 10.5 and 21.0 mg/kg/week) dosage of methylmercury.

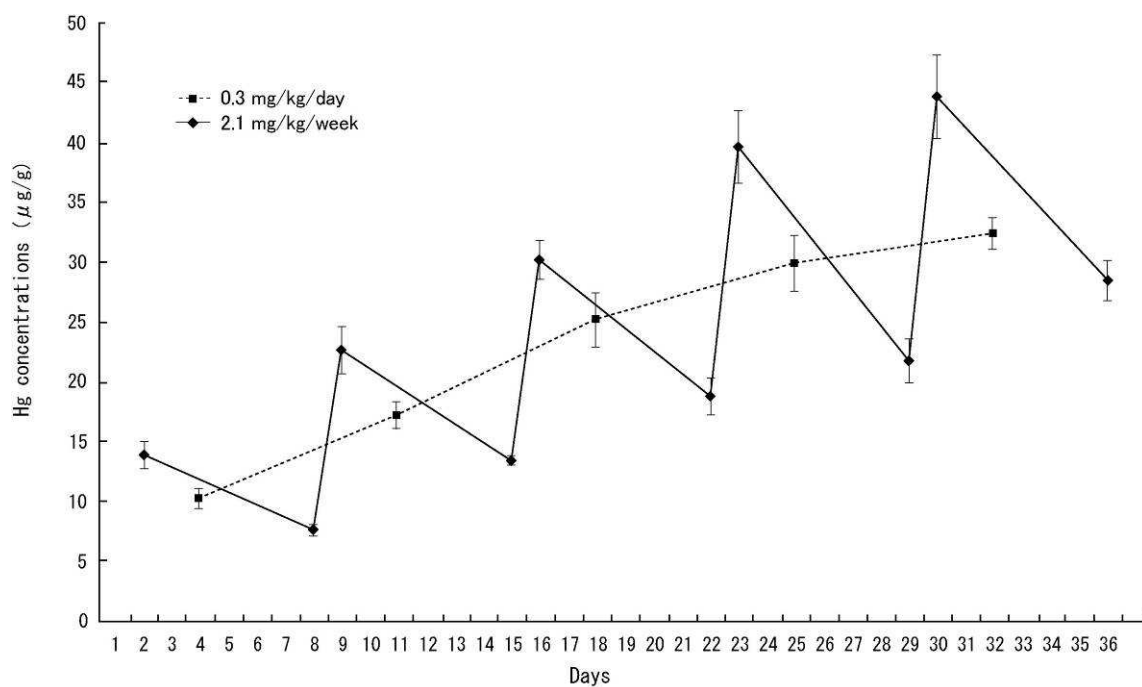


Fig. 3-1. Changes in mercury concentrations in blood of rats treated with daily (0.3 mg/kg/day) and intermittent (2.1 mg/kg/week) dosage of methylmercury.

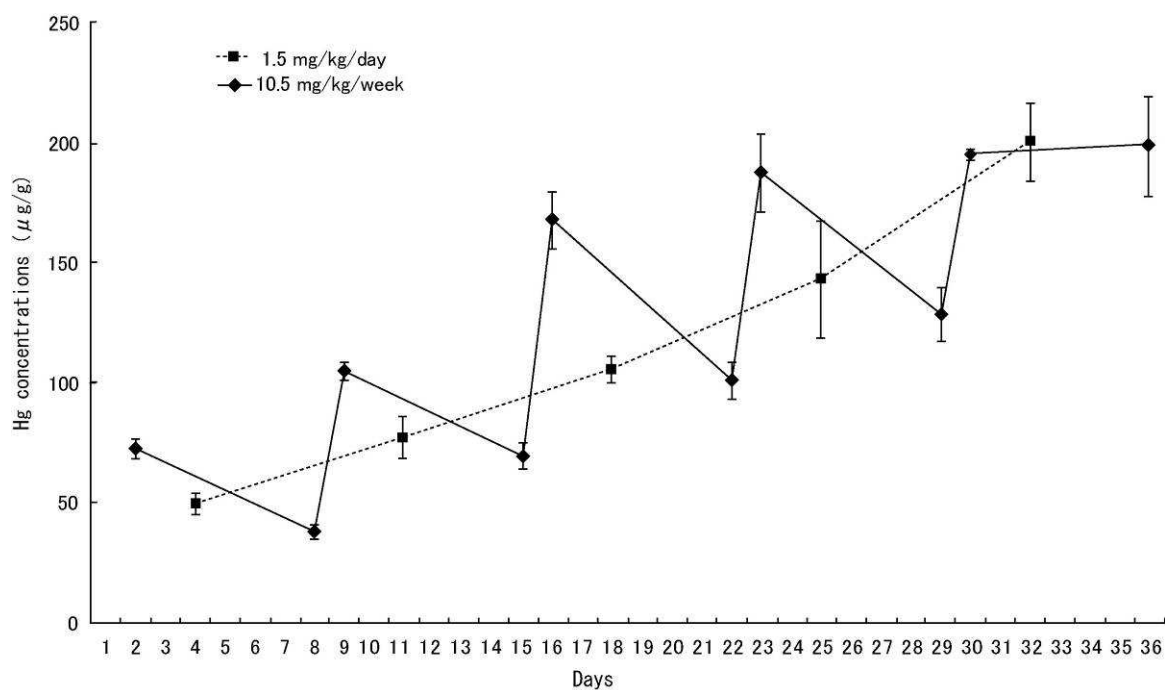


Fig. 3-2. Changes in mercury concentrations in blood of rats treated with daily (1.5 mg/kg/day) and intermittent (10.5 mg/kg/week) dosage of methylmercury.

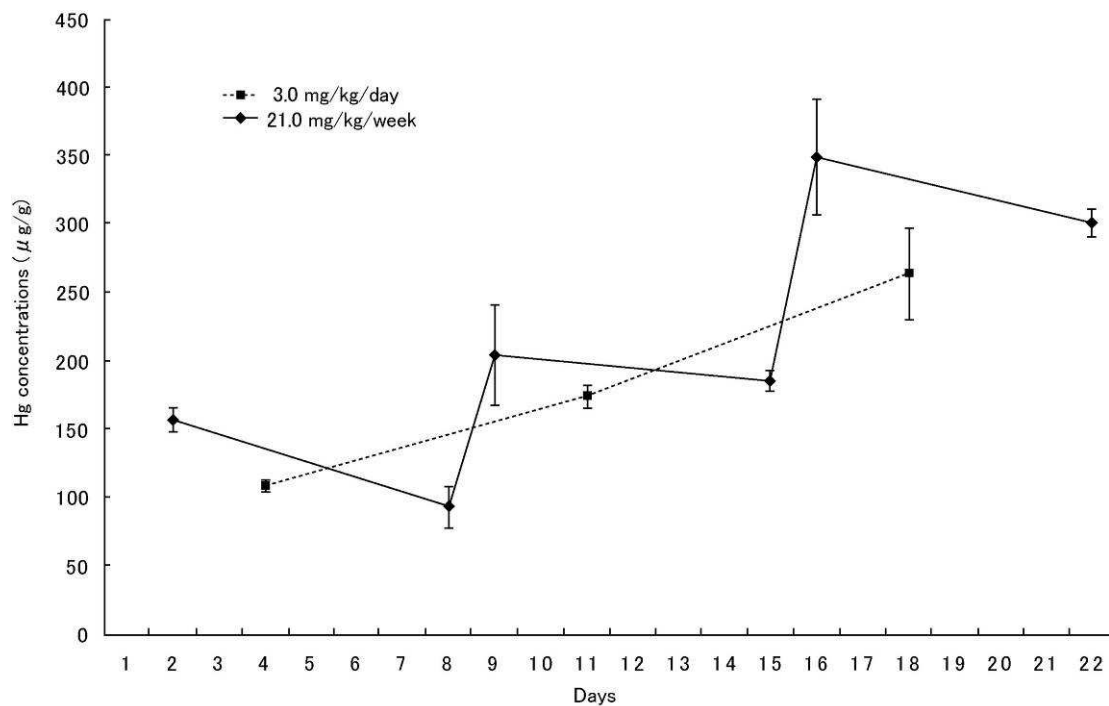


Fig. 3-3. Changes in mercury concentrations in blood of rats treated with daily (3.0 mg/kg/day) and intermittent (21.0 mg/kg/week) dosage of methylmercury.

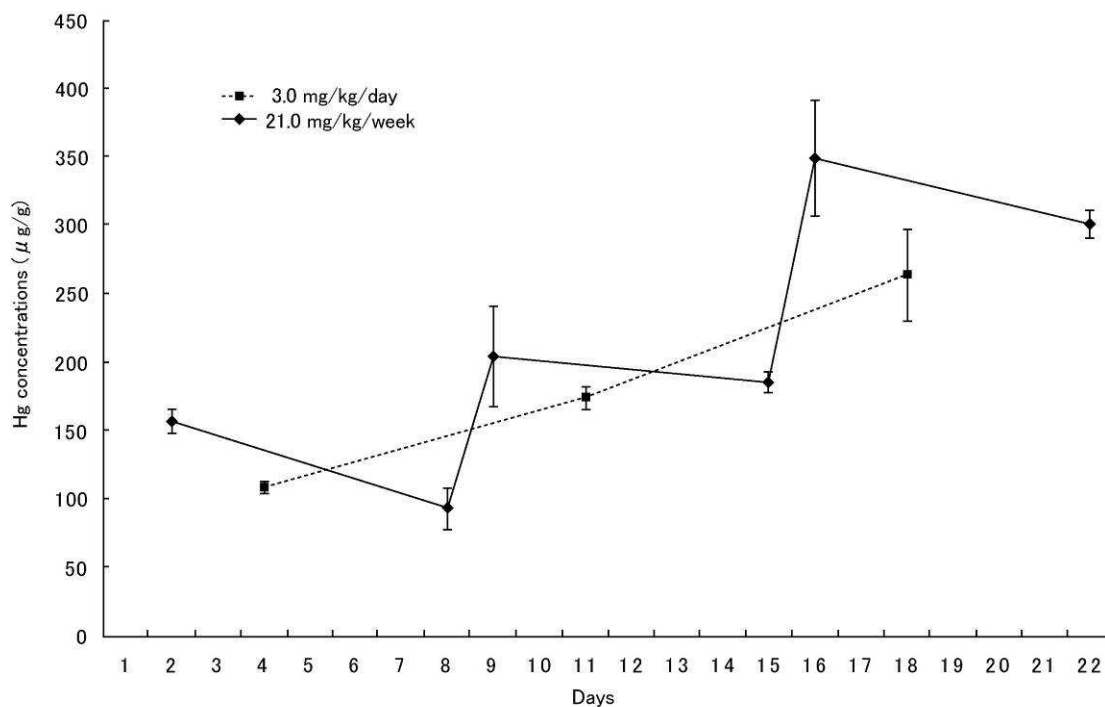


Fig. 3-3. Changes in mercury concentrations in blood of rats treated with daily (3.0 mg/kg/day) and intermittent (21.0 mg/kg/week) dosage of methylmercury.

Table 1. Mercury concentrations in the brain, liver and kidney of rats administered with daily (0.3, 1.5 and 3.0 mg/kg/day) and intermittent (2.1, 10.5 and 21.0 mg/kg/week) dosages of methylmercury.

Organs	MMC treatment	Mercury concentrations ($\mu\text{g/g}$)		
		Daily dosed rats (A)	Intermittently dosed rats (B-1)	Intermittently dosed rats (B-2)
Brain	0.3 mg/kg/day (A) and 2.1 mg/kg/week (B-1 and 2)	0.17 ± 0.012	0.17 ± 0.016	0.16 ± 0.006
	1.5 mg/kg/day (A) and 10.5 mg/kg/week (B-1 and 2)	1.28 ± 0.15	1.13 ± 0.13	1.16 ± 0.16
	3.0 mg/kg/day (A) and 21.0 mg/kg/week (B-1 and 2)	1.80 ± 0.056	1.96 ± 0.21	2.02 ± 0.18

Note : Rats were sacrificed and dissected on day 36 (A) for daily dosed groups and days 33 (B-1) and 36 (B-2) for intermittently dosed groups. The body weight of rats administered 3.0 mg/kg/day and 21 mg/k/week became lower than at the beginning on day 21 and they were sacrificed and dissected. There were no differences among daily and intermittently dosed groups when the amount of MeHg added is was same.

4) メチル水銀の毒性発現に及ぼすセレンとヨードの役割に関する研究

研究担当者 中野 篤浩 (基礎研究部)
坂本 峰至 (疫学研究部)
宮本謙一郎 (臨床部)
金 一和 (中国医科大)

[研究の背景および目的]

セレンは生体内でメチル水銀に最も強い親和性を示す元素であり、ヨードは神経機能の維持や胎児期脳の発達に非常に重要な役割を演じている元素である。また、この両者の間には、甲状腺ホルモンの活性化即ち T_4 を T_3 に脱ヨード化する酵素がセレン酵素であるという関係もある。このようなことから、この両元素はメチル水銀毒性に対して大きく関与しているものと思われる。また、地球レベルで眺めてみると、中国大陆や南米大陸等の内陸部には広大なセレンやヨードの欠乏地帯が存在している。これらの地域における水銀汚染においては、当該地域住民の水銀毒性への感受性の増大が予想される。そこで、実験的研究として、低セレンと低ヨードの条件下におけるメチル水銀の毒性発現を検討する。

[研究方法]

セレンとヨード、又はそのいずれかの欠乏のメチル水銀毒性への影響を明らかにする為に、5 種の特殊飼料を調整しメチル水銀の毒性実験を行った。実験飼料は日本クレア製のトルラ酵母とグラニュー糖等の配合により、低セレンと低ヨードの基準飼料を作り、これにミネラル Mix のセレン及びヨード成分を調整して作成した。

- ① 低セレン・低ヨード セレンもヨードも欠乏した飼料。
- ② 低セレン・中ヨード セレン欠乏で通常のヨード(+15ppm)を含む飼料。
- ③ 少セレン・低ヨード 通常レベルの 1/10 のセレン(+0.05ppm)を含むヨード欠乏飼料。
- ④ 中セレン・低ヨード 通常レベルのセレン(+0.5ppm)を含むヨード欠乏飼料。
- ⑤ 中セレン・中ヨード 通常レベルのセレン(+0.5ppm)とヨード(+15ppm)を含む飼料。

これらの飼料を 3 週齢のウイスター系雄性ラット (各群 12 匹) に 5 週間給餌して、8 週齢に達した時から 5mgHg/Kg/day の割合でメチル水銀を 10 日間経口投与して影響を観察した。

[研究結果および考察]

低セレン・低ヨード飼料群は、メチル水銀投与 1 日目から餌の摂取量の低下が始まり、体重も 3 日目から急速に減少して行った。13~14 日目にすべて(6/6)後肢交差を発現し、15~16 日目にすべて(6/6)死亡した。

低セレン・中ヨード飼料群は、メチル水銀投与 1 日目から餌の摂取量の低下が始まり、体重も 4 日目から減少して行った。14~15 日目にすべて(6/6)後肢交差を発現し、16~18 日目にすべて(6/6)死亡した。通常レベルのヨードの効果が見られる。

少セレン・低ヨード飼料群は、メチル水銀投与 3 日目から餌の摂取量の低下が始まり 4 日目から体重も減少して行った。18~19 日目に 1 匹を除いて 5/6 に後肢交差が発現した。そして、22 日、44 日、45 日、

73 日に各 1 匹ずつ死亡した。2 匹は後肢に失調はあるが、体重も増加し長期生存の可能性あり。

中セレン・低ヨード飼料群は、メチル水銀投与 4 日目から餌の摂取量の低下が始まり 5 日目から体重も減少して行った。24～25 日目に 3 匹(3/6)に後肢交差様の現象が見られたが、数日で消失した。その後、体重増加に転じ長期生存の見込みである。

中セレン・中ヨード飼料群は、メチル水銀投与 4 日目から餌の摂取量の低下が始まり 5 日目から体重も減少して行った。20 日目に 1 匹(1/6)に、23 日目に 2 匹(2/6)に後肢交差様の現象が見られるになったが、食欲旺盛で、体重増加に転じ長期生存の見込みである。

以上のように、メチル水銀の毒性発現はセレンの摂取レベルにより強烈に影響される事が解った。また、この事は、セレンの欠乏した中国東北部松花江流域では住民のメチル水銀感受性が高まり、低濃度曝露でも影響が発現した可能性が示唆された。

5) 胎児期から乳幼児期における水銀等重金属曝露のモニタリング手法の開発に関する研究

研究担当者 中野 篤浩（基礎研究部）
坂本 峰至（疫学研究部）
宮本謙一郎（臨床部）
山元 恵（環境研）
安藤 哲夫（鹿大・医）

[研究の背景および目的]

胎児期から乳幼児期における水銀等重金属曝露のモニタリング手法の開発として、メチル水銀の簡易分析法とセレン等揮発性元素の ICP-MS 分析の前処理法の確立を目指した。

[研究方法と結果]

今年度も以下のような分析法の検討に終わった。

1) 生体試料中のセレンやヨードの ICP-MS 分析の前処理法の検討

ICP-MS 分析の前処理では過塩素酸が使えないので、高温分解はできない。そこで、頭髮、ツメ、動物の餌等をガラス分解管に取り、硝酸を加え密栓をして、約 50℃で一昼夜加熱処理する。室温に戻し、エーテルとヘキサンで脱脂して、その一部分をマイクロウェーブ分解を行う。時間と手間は掛かるが、分析はほぼ満足できた。

2) 旧環境省公定法のメチル水銀分析法の検討

旧法は色々と批判を受けている部分はあるが卓越した簡便性も持っている。そこで、旧法のより一層の簡便化と高精度化を検討してみた。試料を塩酸溶液に浸漬しメチル水銀を塩化物としてトルエン（昔はベンゼン）に抽出し、ガスクロマトグラフィーで分析する旧法の改善点は、共存する脂肪成分の除去とメチル水銀の溶媒への回収率の上昇である。脂肪成分の除去は 5N-NaOH で生体試料を加水分解し、1N-NaOH の状態まで希釈し、クロロホルムとヘキサンで脱脂する事により、ほぼ満足できる処理が可能となった。メチル水銀の溶媒への回収率は、塩酸を臭素酸に転換し銅イオンを共存させる事により、95%まで到達できた。そして、臭素酸とトルエンの化学的抽出分離により無機水銀とメチル水銀はほぼ完全に分離されるので、トルエン中のメチル水銀をシステイン-アセテート溶液で逆抽出し、これを加熱気化-金アマルガム-水銀分析法で測定する事が可能になった。しかしながら、ガスクロ法を実施する場合、測定液の脂肪成分は可能な限り少ない事が望ましい。そこで、可溶化脱脂液からのメチル水銀のトルエンへの抽出を、pH4 の酢酸緩衝下において臭化ナトリウムと酢酸銅を共存させて、臭化メチル水銀を抽出することにより脂肪の妨害の軽減化を図った。

3) 還元気化原子吸光法（水銀計）によるメチル水銀、総水銀の測定

国内国外を問わず、水銀計だけでメチル水銀、総水銀を測定したいという希望が非常に多かった。そこで、2) において実施したように、生体試料を可溶化脱脂し、臭素酸酸性にして銅イオンを共存させて、メチル水銀をトルエンに抽出し、これをシステイン-アセテート溶液で逆抽出する。このメチル水銀溶液の測定を、環境省公定法の古い水質試験法を応用して確立した。原理はメチル水銀溶液を硫酸酸性下、過マンガン酸カリウム溶液で易分解性成分を湿式灰化し、次に 70℃で 30 分間加

熱しながら過硫酸カリウム溶液でメチル基の脱メチル化分解を行う。過剰の酸化力を塩酸ヒドロキシルアミンで中和し、塩化第一スズと苛性ソーダで水銀を還元気化し、水銀計で測定しメチル水銀濃度とする。また、総水銀は可溶化脱脂液を一部分取り、メチル水銀と同様に操作する。しかし、酸化剤としての過マンガン酸カリウムと過硫酸カリウムの要求量が大いなので、最初に要求量の検討が必要である。また、この分析操作ではドラフトチャンバーも必要とせず、通常の室内実験として実施できる。

4) その他の分析法の開発

モノヨード酢酸を用いてヨウ化メチル水銀を形成させ pH8 でトルエンに抽出する方法と、ビス硫化メチル水銀を形成させ pH8 でトルエンに抽出する方法も開発した。これらの方法は脂肪の妨害除去に優れており、ガスクロマトグラフィー分析に適している。

[考察]

1) セレン分析について

セレンがメチル水銀毒性発現に顕著に寄与する元素であることから簡易な分析法の開発が待望されている。そこで、セレンの ICP-MS による分析を試みた。ICP-MS 分析の前処理操作において、セレンは酸分解の過程で揮散してしまうので密封系で処理できるマイクロウェーブによる加熱分解を行うことにした。そして、生体試料の灰化処理において最大の障害となる脂肪成分を、低温加熱による加水分解の後に脱脂操作により除去することにした。分解時間は延長し分析操作は増えたが満足できる分析値を得ることができた。

2) メチル水銀分析について

これまでの水銀研究により、自然界の生物圏に安定的に存在する水銀の化学形態は 2 価態の無機水銀と有機水銀としてはメチル水銀のみである事が明らかになっている。そこで、メチル水銀を分析する為に、生体試料に含まれている水銀化合物をハロゲン塩または硫化物に転換し、トルエンやクロロホルム等の有機溶媒で有機水銀であるメチル水銀をほぼ完全に有機溶媒層へ抽出できるようになった。この場合に無機水銀はほぼ完全に水層に残った。そこで、この有機水銀をメチル水銀と見て見做し、シスチン溶液で抽出し、クロマトグラフィーを行わず、原子吸光法で水銀として分析することにした。メチル水銀の分析操作が非常に簡略化され、標準試料の分析でも満足な成績を得ている。

6) 日本人の毛髪水銀濃度の調査

研究担当者 安武 章（基礎研究部）
蜂谷 紀之（国際・総合研究部）

〔研究の背景および目的〕

水銀は環境中に広く分布しており、その一部は水環境中の微生物の作用によりメチル水銀に変換される¹⁾。魚介類はメチル水銀の生物学的半減期が長いため、食物連鎖を介してメチル水銀を蓄積する²⁾。したがって、ヒトへの水銀曝露経路は魚介類摂取がその90%以上を占めるといわれる。体内に摂取されたメチル水銀は循環系を介して各組織に分布するが、血液-脳関門を容易に通過するため、摂取量によっては神経症状をきたす。その一部は毛髪に取り込まれるため、ヒトへの曝露を評価する際に毛髪水銀値は有力な指標となる。WHOによると、神経症状発現の最大無作用量は毛髪レベルで50 ppmとされている³⁾。日本人は諸外国に比べて魚介類摂取量が多いため、比較的高い毛髪水銀濃度を示すことが考えられるが、その一般的な毛髪水銀濃度について全国的に調査を実施した例はない。ここでは、全国14地域で約13000人から毛髪を採取してその水銀濃度を測定し、測定結果と性、年齢、魚介類摂取状況などとの関連性について検討を行った。

〔対象と方法〕

2000年～2004年にかけて、全国14の地域（網走市、苫小牧市、石巻市、新潟市、千葉県外房地域、坂戸市、塩尻市、和歌山市、鳥取県沿岸地域、広島市、福岡市、熊本市、水俣市、沖縄県中部地域、Fig. 1）の美容・理容組合の協力のもとに、顧客の毛髪を採取した。また、若年層の毛髪は同地域の小学校の協力を得た。採取に当たっては、自記式のアンケート調査により、①年齢、②性別、③魚介類の摂取量と頻度、④普段摂取する魚種、⑤毛染めあるいはパーマの有無について情報を得た。採取した12923検体（女6477、男6446）の毛髪は、洗浄（洗剤液にひたして超音波処理）後、アセトンに浸し、ろ紙の上に広げて乾燥した。乾燥した毛髪はバイアル瓶に入れて、はさみで1～2 mmの長さに細断した。細断した毛髪約20 mgをマイクロチューブ（1.5 ml）にとり、2N NaOH（0.5 ml）を加えて60℃で30分加熱してアルカリ溶液とし、その10～50 μlを用いて、酸化燃焼-金アマルガム-原子吸光法にて総水銀濃度を測定した。

〔研究結果および考察〕

毛髪水銀値を目的変数とし、アンケート内容の各項目を説明変数とする重回帰分析の結果、性別、年齢、居住地、パーマの有無、魚介類摂取量、そしてマグロとカツオの摂取傾向が毛髪水銀値と比較的強い有意の相関性を示した。

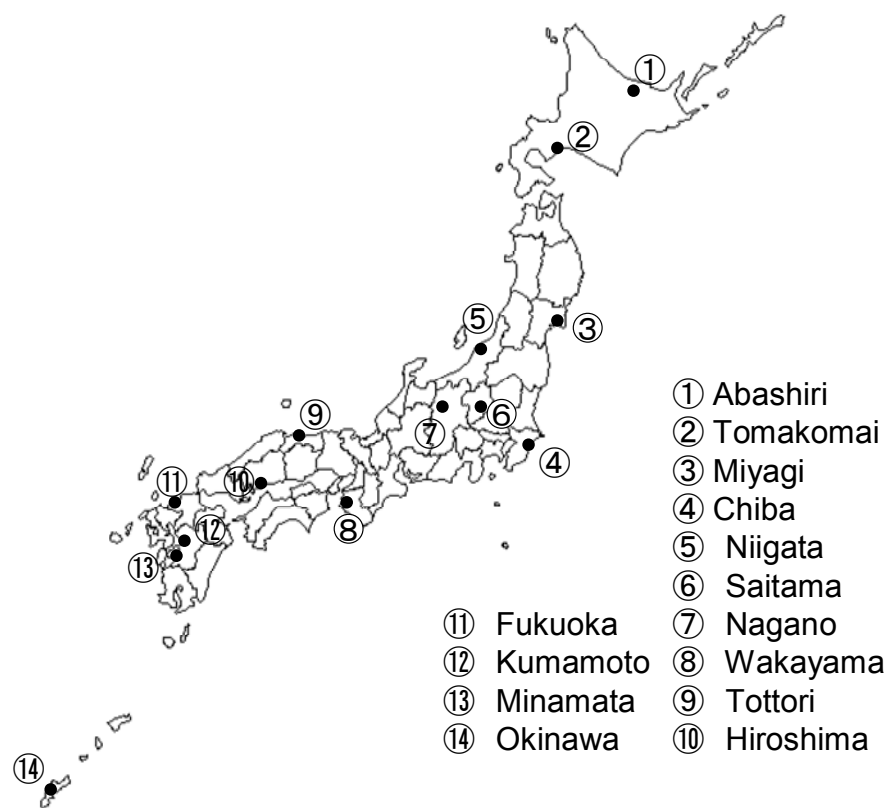


Fig. 1. Hair sampling locations.

性別と年齢

得られた毛髪水銀の濃度分布をFig. 2に示す。水銀濃度は対数正規分布を示すため、平均値としては幾何平均を用いた。解析の結果、男女の平均はそれぞれ2.42 ppm, 1.39 ppmとなり、パーマをかけていない毛髪でも2.47 ppm, 1.65 ppmと明確な男女差があった。この差の原因として魚介類摂取量が考えられるが、体重あたりの摂取量には差が認められなかった (Fig. 3)。毛髪水銀濃度の年齢依存性は男女とも2峰性を示し、20歳代にかけて徐々に減少し、その後は上昇するが高齢期には再度減少に向かう (Fig. 4)。これは魚摂取量の年齢変化 (Fig. 3) とほぼ一致している。

メチル水銀の体内での代謝速度には性ホルモンが寄与しており、明確な雌雄差のあることが実験動物で報告されている⁴⁾。毛髪水銀濃度の男女差が明確になってくるのが思春期以降であることもあわせて (Fig. 4)、ヒトにおいても摂取したメチル水銀の血中への分布あるいは血液から毛髪への移行に性ホルモンの寄与している可能性が示唆される。

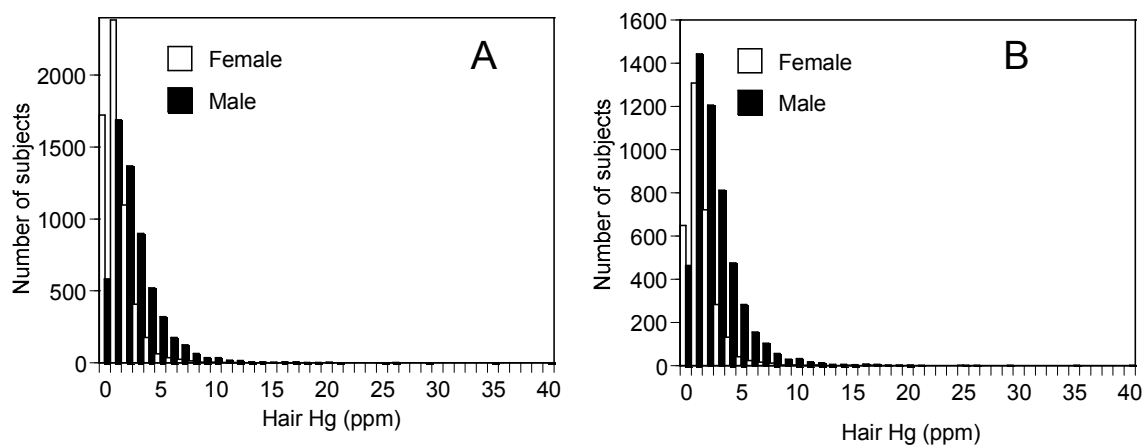


Fig. 2. Distribution of hair mercury content among the total study population (A) and the population without artificial waving (B). Open bar and solid bar indicate female and male populations, respectively.

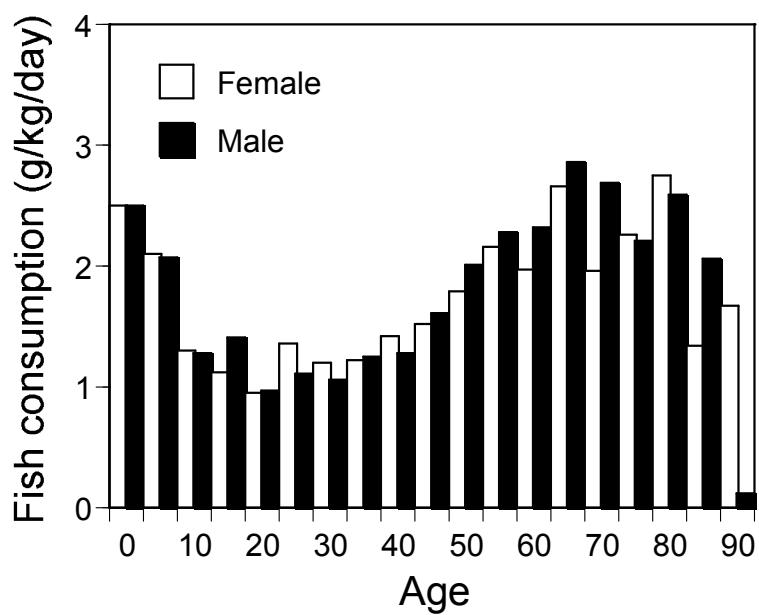


Fig. 3. Age-dependent variation in amount of fish consumption. Open bar and solid bar indicate female and male populations, respectively.

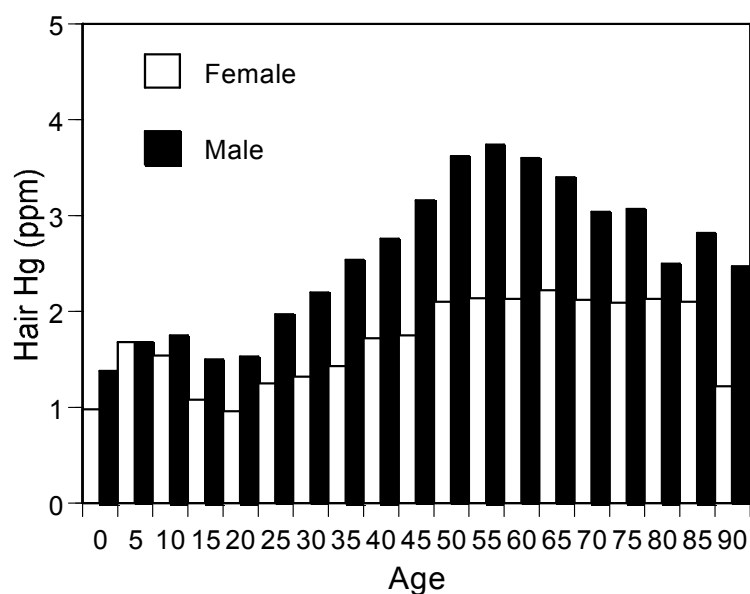


Fig. 4. Age-dependent distribution of the geometric mean of hair mercury content among the population without artificial waving. Open bar and solid bar indicate female and male populations, respectively.

魚種別摂取傾向

得られたアンケート内容から、全国的に摂取量の多い魚種をTable 1に示す。魚種別の摂取傾向の有無と毛髪水銀値の関係を重回帰分析で調べると、マグロの摂取傾向とカツオの摂取傾向に有意の相関がみられた。Tableにある魚種の中でマグロの水銀濃度は際立って高く、その嗜好者においては、それが主なメチル水銀摂取源となっていることが考えられる。

Table 1 日本における摂取頻度の高い魚種

魚種	摂取率 (%) ^a	水銀濃度 (ppm) ^b	魚種	摂取率 (%) ^a	水銀濃度 (ppm) ^b
サバ	57.5	0.16	タコ	33.3	0.03
サケ	54.7	0.01	カレイ・ヒラメ	25.9	0.03
アジ	49.6	0.03	貝類	24.1	0.01
サンマ	49.5	0.07	カツオ	23.7	0.17
イカ	46.8	0.02	ブリ	22.4	0.13
マグロ	45.4	0.97	タイ	19.3	0.08
魚加工品	45.2	0.01	ウナギ	18.1	0.04
エビ	42.3	0.03	カニ	14.8	0.02
イワシ	34.4	0.02			

^a 摂取率は「よく食べる」との回答の比率（10%以上）を示した。

^b 厚生労働省ホームページ⁷⁾より引用

地域差

毛髪水銀濃度を地域別に見ると、関東地域で高く、西日本地域で低い、「東高西低」の傾向を示した (Fig. 5)。これは、アンケート内容から、総魚食量および魚種毎の嗜好性の地域差、特にマグロの嗜好傾向の違いで説明できる。全国的に嗜好度の高い魚種の中では、マグロのみが顕著に高い水銀濃度をもつことから、関東地域および東北地方東部ではマグロの多食が毛髪水銀の上昇に寄与しているものと考えられる。地域ごとの総魚食量およびマグロの摂取傾向と毛髪水銀濃度の関係をFig. 6に示す。総魚食量に比べて、マグロの摂取傾向（消費量）には大きな地域差のあることがわかる。沖縄ではマグロの摂取傾向が高いが、総魚食量が低いため毛髪水銀濃度の上昇が抑えられたものと考えられる。

パーマ

既に報告はあるが^{5,6)}、パーマ処理した毛髪は未処理の毛髪に比べて低い水銀濃度を示す。これはパーマ液に含まれるチオグリコール酸によって毛髪水銀の一部が抜き取られるためである。実際にパーマのかかっていない毛髪を用い、美容院で通常使用されているパーマ液で処理すると、1回の処理で30%近く水銀濃度の減少が観察された (Fig. 7)。したがって、パーマ処理した毛髪を除外した9093（女3470、男5623）例についての解析も行い、Fig. 4以降はその値を表記した。一方、毛染めは毛髪水銀濃度にほとんど影響しないことがわかった。

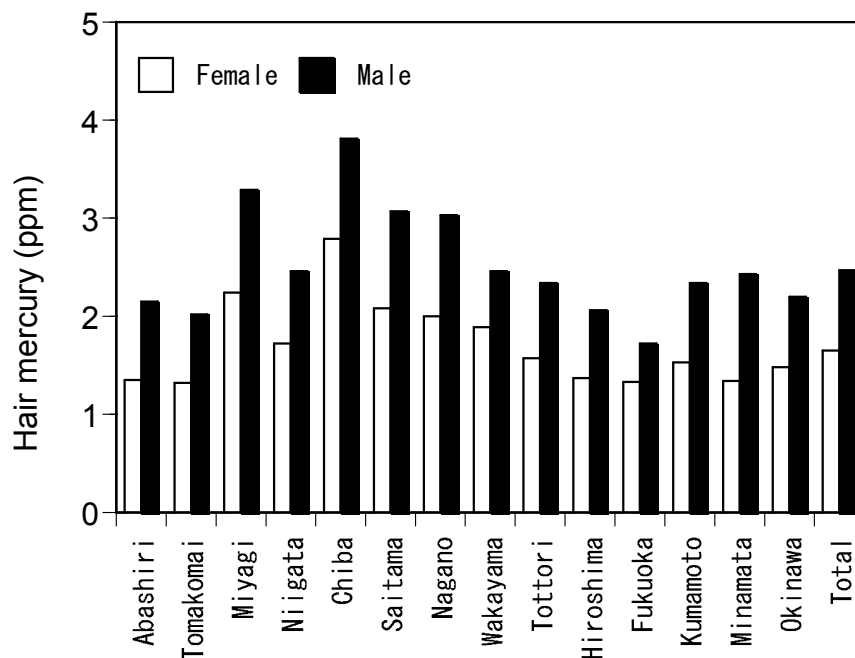


Fig. 5. Geometrical mean of hair mercury levels in 14 districts without artificial waving. Open bar and solid bar indicate female and male populations, respectively.

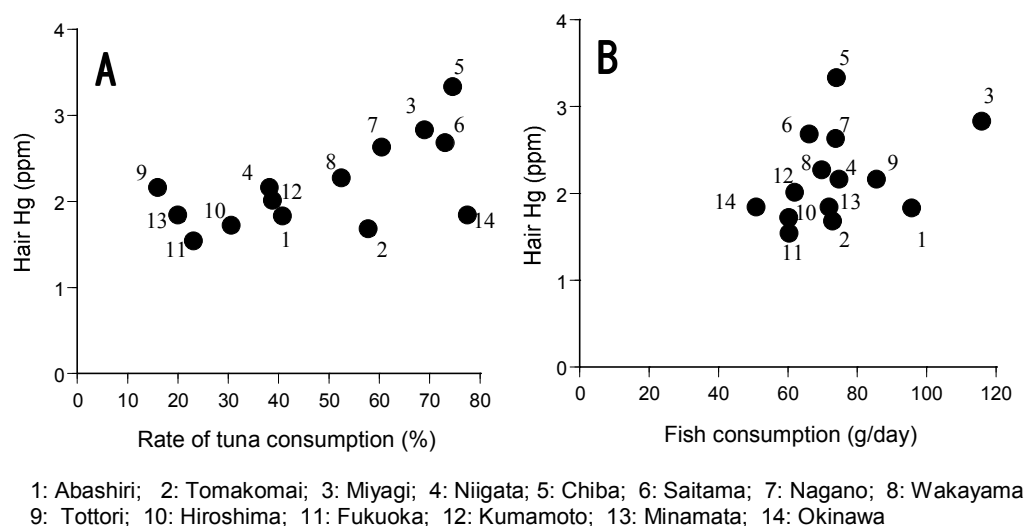


Fig. 6. Relation of hair mercury levels to tuna consumption rates (A) and total amount of fish consumption (B) in 14 districts.

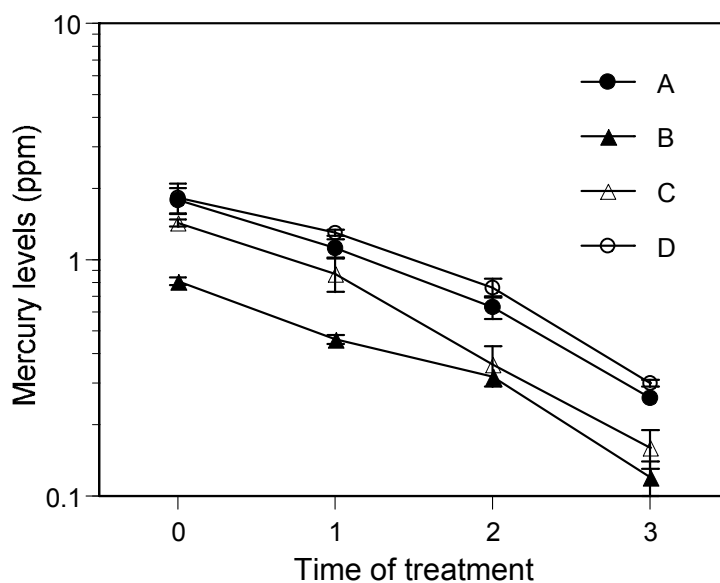


Fig. 7. Effect of artificial waving on hair mercury levels. Non-artificial permanent waved hair samples from 4 women (A to D) were treated with waving lotion up to 3 times. Hair mercury levels were determined after each treatment. Each value represent the mean $\pm$ SD of 3 measurements.

メチル水銀摂取量と安全基準値

毛髪の値からメチル水銀の摂取量を次の式で計算することができる⁸⁾。

$$d = \frac{C \times b \times V}{A \times f \times bw}$$

C = 血中水銀濃度 (μg/L) = 毛髪濃度 (ppm, μg/g) × 1000/250

b = 排泄係数 (0.014/day)

V = 血液容積 (体重の 9%)

A = メチル水銀の吸収率 (0.95)

f = 血中への分布率 (0.05)

bw = 体重 (kg)

d = 摂取量 (μg/kg bw/day)

メチル水銀摂取の安全基準値については国内外でいくつかの値が提唱されている。日本では、水銀として週あたり 0.17 mg (3.4 μg/kg bw/week) が厚生省から 1973 年に発表されている。この値は WHO³⁾の神経症状発現の最大無作用レベルに 10 倍の安全率を見積もって設定されたものであり、1999 年の 53 回 JECFA⁹⁾(食品添加物に関する FAO/WHO 合同専門委員会会議)の提唱 (3.3 μg/kg bw/week) とほぼ等しい。ちなみにこれらの摂取量は毛髪濃度で約 5 ppm に相当する。しかしながら 2003 年には、61 回 JECFA¹⁰⁾において、胎児影響を考慮した値として、従来の半分以下である 1.6 μg/kg bw/week (毛髪で 2.2 ppm に相当) という値が提唱された。これは、セイシェル諸島とフェロー諸島でのコホート調査報告を参考にしたものである。

Table 2 に今回の調査で得られた毛髪の濃度分布率を段階的に示した。出産年齢 (15～49 歳) の女性で、約その 1/4 が JECFA の新基準を超え、日本の基準値を超えるのは 1.4%であった。JECFA では新基準の設定にあたって、胎児影響のない最大無作用レベルを、毛髪濃度で 14 ppm (安全係数 6.4) としたが、15～49 歳の女性でこの値を超える例は今回の調査では見られなかった。

Table 2 毛髪水銀濃度が一定値を超える割合 (%)

毛髪水銀 (ppm)	0 ≤	1 <	2 <	2.2 <	5 <	10 <
男	100	91.1	62.8	57.6	13.8	1.9
女 (全体)	100	80.1	38.5	32.3	3.2	0.3
女 (15～49 歳)	100	74.1	29.7	24.7	1.4	0.1
全体	100	86.9	53.6	47.9	9.8	1.3

パーマなしの毛髪について記載した。

今回の調査で、現代日本人のメチル水銀摂取状況の概略が把握できたが、胎児影響を指標とした女性のリスクレベルの考察についてはさらに検討を行う必要がある。最初に述べたように、メチル水銀の摂取源はそのほとんどが魚介類である。若い女性、特に出産をひかえた女性に対しては、メチル水銀のリスクをできるだけ小さくするための魚介類摂取に関する情報提供、つまりリスクコミュニケーション活動が今後さらに必要になってくるものと考えられる。

尚、本調査の一部は学術雑誌に報告している^{6,11)}。

[引用文献]

1. ATSDR : Agency for Toxic Substances and Disease Registry Mercury toxicity. Am. Fam. Physician, **46**, 1731-1741. 1992.
2. Clarkson, T.W : Mercury: major issues in environmental health. Environ. Health Perspect., **100**, 31-38. 1992.
3. WHO IPCS : Environmental Health Criteria 101 Methylmercury. World Health Organization, Geneva. 1990.
4. Hirayama, K., Yasutake, A. and Inoue, M : Effect of sex hormones on the fate of methylmercury and glutathione metabolism in mice. Biochem. Pharmacol., **36**, 1919-1924. 1987.
5. Yamamoto, R. and Suzuki, T : Effects of artificial hair-waving on hair mercury values. Int. Arch. Occup. Environ. Health, **42**, 1-9. 1978.
6. Yasutake, A., Matsumoto, M., Yamaguchi, M. and Hachiya, N Current hair mercury levels in Japanese: survey in five districts. Tohoku J. Exp. Med., **199**, 161-169. 2003.
7. The Ministry of Health, Labor and Welfare <http://www.mhlw.go.jp/shinngi/2003/06/s0603-3.html>
8. NRC : Toxicological Effects of Methylmercury, National Academy Press, National Research Council. Committee on the Toxicology Effects of Methyl-Mercury, Washington DC. 2000.
9. JECFA : Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives 53rd Meeting. Rome, 1-10 June 1999. <http://www.who.int/pcs/jecfa/jecfa.htm>
10. JECFA : Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives 61st Meeting. Rome, 10-19 June 2003. <http://www.who.int/pcs/jecfa/jecfa.htm>
11. Yasutake, A., Matsumoto, M., Yamaguchi, M. and Hachiya, N : Current hair mercury levels in Japanese for estimation of methylmercury exposure. J. Health Sci., **50**, 120-125. 2004.

5. 水銀に関する環境科学的研究

研究概要

本研究課題は局地的な水銀汚染に起因す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、環境中での水銀の移動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の2分野からなっている。

水銀は環境汚染物質として重要な元素であり、その汚染形態は局地的なものにとどまらず地球規模で拡散・沈殿し汚染源とは全く別の場所で生態系に入って生物濃縮を受けるという性質を持つ。その拡散・沈殿という挙動には化学形態の転換をとまっており、また生態系に入る際の、いわゆるバイオアベイラビリティを獲得する際にもやはり形態の転換が関わっている。

こういった観点に加え、当研究所がかつて深刻な水銀汚染を被った水俣の地にあるという立地を生かして、自然界における水銀の動態に関する様々な局面を研究対象とする。具体的には、主として水俣湾の水、底質、ベントス類等各環境要素における水銀の動向の調査、実験環境における食物連鎖および生物への水銀取り込みの研究、バクテリアにおける水銀化学形態変換遺伝子の構造解析と自然界における役割の研究などがある。また、応用分野として、低温度加熱処理、バクテリア利用による水銀回収そして放射線を利用した水銀の脱メチル化に関する研究を現在実施中である。

これらの研究テーマの平成16年度における研究結果の概要について以下に列挙する。

1) 水銀挙動

a. (ア) 水俣湾における水銀の動態

対馬暖流に沿った2地点と水俣湾とでベントスや底質に含まれるメチル水銀濃度を検討した。底質と同様に数倍から十数倍水俣湾の方が高い値を示した(詳細後述)。

(イ) 水俣湾、水俣川等に残留する浚渫対象外水銀含有底質(25ppm以下)および埋設水銀含有底質が水圏環境に与える影響について

海域を含めた水俣市全域の水圏の水銀分布とその挙動について、統括的なモニタリングを実施している。また、水試料のメチル水銀測定法を改良し、より少量の試料でも従来同様の感度が得られるようになった。詳細は後述する。

b. 自然界における生物への水銀の移行機作に関する研究

カサゴが常食とする潮間帯のカニを水俣湾および羊角湾で採集しそれによってカサゴを長期間飼育した結果、水俣湾に棲息するカサゴと同等の水銀値を示す個体が得られた。

c. 水俣湾の水銀耐性菌の遺伝学的研究

水銀耐性が弱く2価の水銀イオンを揮発化できる特殊な68株の*Bacillus*属細菌の水銀揮発化遺伝子の一部を解析し、還元酵素に関連する各遺伝子のPCRによる単離を行った。この結果、すべての細菌ではほぼ同じ大きさ(約1.9 kb)の2価の水銀イオンを金属水銀蒸気に変換する酵

素（レダクターゼ）を作る *merA* 遺伝子をもっていることが判明した。（詳細後述）

d. **インドネシア・セレベス島、ブイヤット湾における、金採掘鉱滓による海域汚染の実態調査**

対照地区に対岸の湾を選定し両地点から底質、ベントス類、住民の頭髮を採取して水銀濃度を比較した。いずれも両地域で有意の差が認められたが、ブイヤット湾の水銀値は日本の規制値よりかなり下回る値を示し、水銀による健康影響を考慮する濃度ではなかった（詳細後述）。

e. **大気中水銀蒸気のモニタリングおよび環境循環量の推定法に関する研究**

国水研および情報センターの2ヶ所で大気中水銀のモニタリングを実施した。得られた気中濃度は総じて低い値で安定していた（ 2.5ng/m^3 ）が、ときおり一時的な濃度上昇も認められた。これらの現象はまだ評価をするだけの知見に乏しく、今後の検討課題である（詳細後述）。

2) **環境修復**

a. **低温加熱処理による汚染土壌／底質および水銀含有廃棄物の浄化処理とその水銀の回収技術の開発**

低温加熱処理技術は既に実用化され、現在国内7箇所で主に廃蛍光管処理を目的として活用されているが、まだ問題も残されている。たとえば排ガス中に基準値を超える水銀が混入する場合がある。今年度はこの問題について解析し、対処法を考案した（詳細後述）。

b. **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**

バイオマスを微生物で処理した後に行う、電気透析装置内での2価の水銀イオンの挙動について検討した。その結果、陽極槽の2価の水銀イオンは、電気透析により、陰極槽に移動し、ここで水銀蒸気に変換され除去できることが示唆された。

1) a. (ア)水俣湾における水銀の動態

研究担当者 保田 叔昭 (国際・総合研究部)
森 敬介 (九州大・理)

[研究の背景および目的]

過去に甚大な水銀汚染を受けた水俣湾において、生態系もまた相当の打撃を受けたことが各種資料からうかがえる。汚染源の化学工場が水銀の排出を停止してすでに 36 年を経過し、湾内の汚染された底質も埋立地に密封されている現在、生態系に含まれる水銀は自然界レベルにまで低下しているが、他の地域に比べるとなおいくぶん高い価を示す。この差を利用して、他の地域と比較しながら、海洋生物の生態系における水銀の動態について調査を行うことが本研究の目的である。

[研究対象および研究方法]

水俣湾潮間帯底生生物個体群を研究対象とし、比較のために西日本各地にある内海の潮間帯についても調査を実施した。調査地は、水俣湾内外各 2 ヶ所、御所浦町(江の口)、新和町(乗田)、上五島(郷の首および針木)、甕島(浦内湾)、能登島、および小豆島の合計 11 ヶ所である。なお、水俣湾については、平成 7 年より隔年で定点調査を実施しており、過去に九州大学が実施した平成 4 年のデータを加えて、経年変化を観察している。

これらの各地点で、定量採集を行なうとともに、種を定めて必要数だけ採取する、ランダムサンプリングも適宜実施した。

さらに、水俣湾においては、底生生物の生息環境に関する情報を入手する目的で各潮帯の底質を生物採取のステーションごとに採取し、水銀分析を行なった。試料は各潮帯 8 ヶ所ずつ、50cm 四方のコードラート内で、四隅と中央との 5 点の底質を混合し四分法によって代表する画分を得た。

[研究成果]

水俣湾の転石海岸における底質、潮間帯の底生無脊椎動物のメチル水銀分布と動態を評価するため、肉食動物(イボニシ)、雑食動物(ヒライソガニ、イソゴカイ)草食動物(スガイ)等、優占種を選び、それぞれにおけるメチル水銀の濃度を、対照地区のものと比較する。

対照地区としては、対馬暖流の上流にあたる甕島浦内湾(内海)および下流にあたる五島列島北端(若松海峡)を選んだ。水俣湾はその中間にあり、天草諸島で境された内海(八代海)に位置する。それぞれに底生生物の定量調査とランダムサンプリングを実施し、さらにメチル水銀濃度を測定する。なお、この測定作業は現在も継続中であり、値の確定したもののみを下表に掲げる。

表 1

	食性	水俣湾 μg/kg (N)	甌島 μg/kg (N)	五島 μg/kg (N)
ヒライソガニ	雑食	23.1±1.7 (30)	—	2.8±0.7 (20)
イソゴカイ	雑食	73.9±20.3 (6)	6.6±0.9 (5)	4.2±1.4 (11)
イボニシ	肉食	183.1±28.2 (13)	21.3±10.5 (37)	38.0±14.3 (21)
底質 (range)	—	8.0–14.9 (3)	—	0.48–1.15 (3)
間隙水 (range) ng/L	—	1.27–1.45 (3)	0.31–0.44 (3)	0.32–0.50 (3)

以上の結果から、水俣湾のメチル水銀の濃度レベルは対照地区に比べていずれの検体においても数倍から十数倍の値を示す事がわかった。一方底質のメチル水銀レベルの差はさらに大きい。また、いずれの地区においても食物連鎖の地位が高い動物はメチル水銀濃度も高いが、その差異の程度（濃縮度）には違いが見られる。

底質については、現在総水銀値のみが得られている（表 2）。数値は、恋路島湾内の値が比較的高く、西の浦湾内の値がそれに続く。

表 2

総水銀		低潮帯	中潮帯	高潮帯
湾内	恋路島	6.42±0.33	4.74±0.35	3.55±0.26
	西の浦	1.28±0.12	1.36±0.23	1.46±0.37
湾外	恋路島	0.65±0.06	0.62±0.08	0.57±0.04
	西の浦	0.34±0.03	0.18±0.02	0.09±0.01

Mar. '05

平均値±95%信頼限界 mg/kg

n=8

1997 年の仕切り網撤去以来、潮の流れが変わったらしく、西の浦湾内の海岸では底質が失われつつある。一方対岸の恋路島へは、1 昨年まで湾内の汚染除去工事で導入されたものと思われる明るい茶色の砂が打ち上げられて来たが、昨年から砂の増加が止まり、従来の底質と混合しつつあることが色の变化からうかがえる。上記の湾内の水銀値がそれらとどう対応しているのか、興味のあるところである。一方湾外の両海岸では単純に拡散が進んでいる結果を表わしていると思われる。

1) a. (イ)水俣湾、水俣川等に残留する浚渫対象外水銀含有底質（25ppm 以下）および埋設水銀含有底質が水圏環境に与える影響について

研究担当者 松山 明人（国際・総合研究部）
江口 朋美（特別研究員）
園田 育子（梶みなまた環境テクノセンター）
富安 卓滋（鹿児島大学・理）
井村 隆介（鹿児島大学・理）
矢野信一郎（九州大学・工）
多田 彰英（長崎大学・工）

[研究の背景および目的]

水俣市内および百間埋立地・水俣湾周辺の海水、河川水、地下水、底質等を研究対象として、各試料中の水銀について化学形態別に定量を行い、同時に物理的な測定を各種実施することによって、各測定間の相関や関係を把握し水俣市の現在における水圏環境の実態を総合的に評価する。

[今年度の研究結果および考察]

1 水俣地域にある既設井戸調査

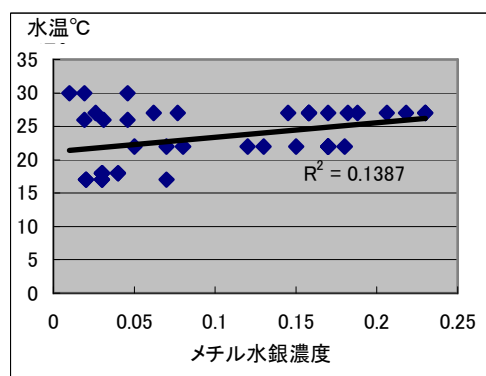
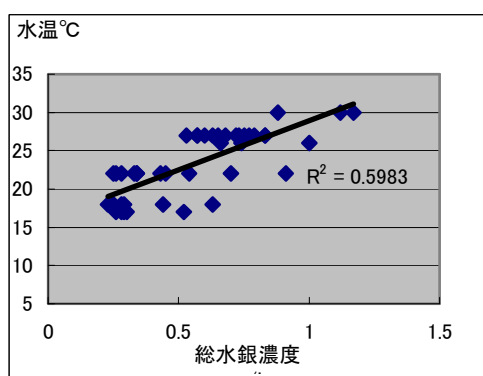
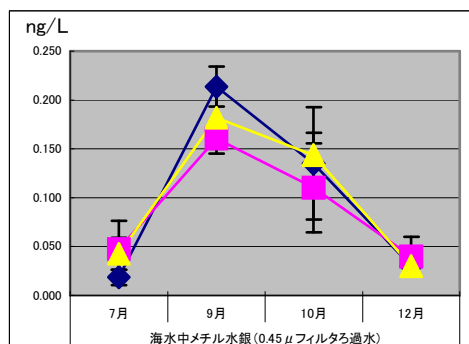
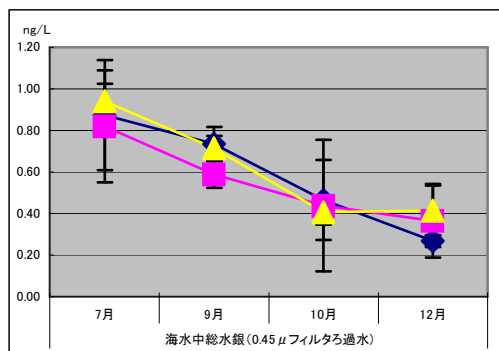
聞き取り調査等より水俣市内に 13 箇所のモニタリング井戸を設定（ただし地権者の承諾はすでに得られているが、まだ観測井を設置できていない水俣産業団地内 2 箇所を含む）。

これまでに 2 回、春および夏に各サンプリング井より採水を行い、各種化学分析を実施した。結果として多少の水銀濃度変動はあるが、国内地下水環境基準値である総水銀として 0.5ppb（0.0005mg/L Hg）を超える検体はなかった。

2 水俣湾海水中における水銀の挙動

昨年 7 月より今年 1 月まで計 5 回に亘って、水俣湾 3 箇所（裸瀬、湾央、恋路島北側）で海底から表層までを 5 から 6m ごと数段階にわけて採水を行い、水中に含有される水銀について化学形態別に水銀を定量した。また同時に水温、塩分濃度、DO、SS 等を測定した。これら結果より特徴的な事実として、海水中における総水銀濃度は水温との相関が強く、海水温が高くなるほど総水銀濃度が高くなる傾向があるが、メチル水銀については相関が全く認められず 7 月から 9 月にかけて濃度が増大し冬場にかけて濃度が減少した（図—1）。他塩分濃度や DO（溶存酸素濃度）等との相関については現在検討中であるが、メチル水銀の生成は海水中の塩分濃度を強い相関が認められそうである。

◆ 第1St ■ 第2St ▲ 第3St



3 水ージチゾン抽出ーGCECD による微量水銀定量法の改良

特に地下水面は季節によって変動するため、これまで化学分析に必要であった最低 1L の量を常時確保することができないことも多い。このため 200ml 程度以下の少量試料でも正確に化学形態別に水銀が測定できるよう、これまでの分析手法の見直しと、分析に必要な備品類の維持管理方法について検討した。その結果、200ml から 100ml の試料量でも、これまでと同様のジチゾン抽出による定量法で同様の測定感度を得ることができた。具体的なメチル水銀のスタンダードの設定は 0.5、1、2ng/L 程度となっている。

1) c. 水俣湾の水銀耐性菌の遺伝学的研究

研究担当者 中村 邦彦 (国際・総合研究部)
古川 謙介 (九大・生物資源環境科学)
矢木 修身 (東京大・工学系研究科)
内山 裕夫 (筑波大・応用生物化学系)

[研究の背景及び目的]

水俣湾は、長年にわたり高濃度の水銀に汚染され、その底質には世界に類をみない多量の水銀が堆積しました¹⁻³⁾。自然界に生息する微生物、特に細菌は、環境中の重金属と種々の相互反応を行っていることが知られています⁴⁻⁵⁾。水銀汚染海域では、底質中の水銀濃度に比例して、2 価の水銀イオンに耐性の水銀耐性菌の割合が増加していることが報告されています⁶⁻⁷⁾。また、水銀化合物を揮発性の金属水銀に変換・分解する水銀揮発化細菌が存在することも報告されています。

細菌の水銀揮発化遺伝子群 (*mer* オペロン) は、*merR*, *merT*, *merA*, *merB* など構成されている⁸⁻⁹⁾。塩化第二水銀などの 2 価の水銀イオンの場合は、*merA* 遺伝子により作られる酵素 (レダクターゼ) により 2 価の水銀イオンが揮発性の金属水銀に変換されます¹⁰⁻¹¹⁾。また、メチル水銀などの有機水銀化合物の場合には、最初に、*merB* により作られる酵素 (リアーゼ) が働いて、有機水銀化合物の炭素と水銀の結合を切断し、その結果生じる 2 価の水銀イオンをレダクターゼによって、水銀蒸気に変換され行われます¹²⁾。

これまでの研究で、水俣湾では、水銀耐性菌や水銀揮発化細菌が、水銀汚染のない対照地点に比べて、多数出現していることが明らかになりました¹³⁻¹⁴⁾。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、水銀で汚染された水俣湾で、特異的に出現して来ているものと思われます¹⁵⁾。

そこで、水俣湾の種々の水銀耐性菌の水銀揮発化遺伝子の構造やその機能等を研究し、水銀汚染によりどのような遺伝的変化が起き、どのようにして水銀汚染環境で水銀耐性細菌が出現して来ているのかを明らかにしたいと思います。

[研究方法]

長期間高濃度の水銀に汚染された水俣湾海水および底質の、特殊な水銀耐性菌の水銀揮発化遺伝子について、サザンブロットハイブリダイゼーションや PCR 法などの分子生物学的手法により、その機能や構造等について解析を行います。

[研究結果及び考察]

水俣湾底質から採取している、水銀耐性が弱く 2 価の水銀イオンを揮発化できる特殊な *Bacillus* 属細菌 68 株の水銀揮発化遺伝子の一部の解析を行いました。

最初に、これら 68 株の細菌の分類を行ったところ、これらの細菌は、*Bacillus pumilus*、*B. megaterium* 2、*B. licheniformis*、*B. circulans* 1、*B. stearothermophilus*、*Brevibacillus laterosporus*、*B. subtilis*、*B. circulans* 2、*Paenibacillus macerans* であることが判明した。また、多くの細菌 (61%) が、*B. pumilus* であることも明らかになりました。

つぎに、これらの細菌から DNA を抽出し、PCR 法により水銀揮発化遺伝子 *mer* オペロンの構造について検討したところ、これら 68 株の細菌は、すべて、ほぼおなじ大きさ（約 1.9 kb）の二価の水銀イオンを金属水銀蒸気に変換する酵素、レダクターゼを作る *merA* 遺伝子を持っていることが判明しました。また、調整遺伝子 *merR*、水銀取り込みの遺伝子 *merP* や *merT*、および *merA* 遺伝子の領域（約 3.6 kb）を PCR により 68 株すべてで増幅できました。

以上のことから、水俣湾底質から採取した水銀耐性が弱い *Bacillus* 属の細菌は、水銀揮発化遺伝子群（*mer* オペロン）を保持しておりレダクターゼにより 2 価の水銀イオンを水銀蒸気に変換できることが推定されました。

[引用文献]

1. 藤木素士、入鹿山且朗：不知火海の水銀汚染の推移、有馬澄夫（編）水俣病。-20 年の研究と今日の課題一。青林社，134-145，1979.
2. 熊本県：熊本県公害白書，145-152，1973.
3. 熊谷幹朗、西村肇：水俣湾海水中の水銀分布および粒状水銀の起源。日本水産学会誌，**34**，50-56. 1978.
4. Nakahara, H., Ishikawa, T., Sarai, Y., Kondo, I., Mitsuhashi, S. : Frequency of heavy-metal resistance in bacteria from impatiens in Japan. *Nature*, **266**, 165-167. 1977.
5. Summers A., Silver, S. : Microbial transformation of metals. *Ann. Rev. Microbiol.*, **42**, 637-672. 1978.
6. Timoney, J., Port, J., Giles, J., Spanier, J. : Heavy metal and antibiotic resistance in bacterial flora of sediments of New York Bight. *Appl. Environ. Microbiol.*, **36**, 465-472. 1978.
7. Barkay, T., Olson, B. : Phenotypic and genotypic adaptation of aerobic heterotrophic sediment bacterial communities to mercury stress. *Appl. Environ. Microbiol.*, **52**, 403-406, 1986.
8. Bogdanova, E., Minakhin, L., Bass, I., Volodin, A., Hobman, J., Nikiforov, V. : Class II broad-spectrum mercury resistance transposons in Gram-positive bacteria from natural environments. *Res. Microbiol.*, **152**, 503-514. 2001.
9. Silver, S., Walderhaug, M. : Gene regulation of plasmid- and chromosome- determined inorganic ion transport in bacteria. *Microbiol. Rev.* **56**, 195-228, 1992.
10. Schiering, N., Kabsch, W., Moore, M. J., Distefano, M. D., Walsh, C. T., Pai, E.F.: Structure of the detoxification catalyst mercuric ion reductase from *Bacillus sp* strain RC 607. *Nature* **353**, 168-171. 1991.
11. Guangyong, J., Salzberg, S., Silver, S. : Cell-free mercury volatilization activity from three marine *Caulobacter* strain. *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**, 1695-1701. 1990.
12. Begley, T. P., Walts, A. E., Walsh, C. T. : Bacterial organomercuric lyase: Overproduction, isolation, and characterization. *Biochemistry*, **25**, 7186-7193, 1986.
13. 中村邦彦：海洋水銀汚染と微生物 環境科学会誌，**5**，1-14，1992.
14. Nakamura, K., Sakamoto, M., Uchiyama, H. Yagi, O.: Organomercurials-volatilizing bacteria in the mercury-polluted sediment of Minamata bay, Japan. *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**, 304-305, 1990.
15. Nakamura, K., Silver, S. : Molecular analysis of mercury-resistant *Bacillus* isolates from sediment of Minamata Bay, Japan. *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**, 4596-4599, 1994.

1) d. インドネシア・セレベス島、ブイヤット湾における、金採掘鉱滓による海域汚染の実態調査

研究担当者 保田 叔昭(国際・総合研究部)

Markus T. Lasut (サムラトゥランギ大)

[研究の背景および目的]

現在世界的に問題となっている金採掘に伴う水銀拡散は、金属水銀による労働者およびその家族の被爆に加え、水圏および大気圏を介した広範囲の環境汚染の問題としてとらえられる。金採掘は企業が大規模に実施する鉱山と、個人による小規模のものがあり、前者は水銀を使わない手法も最近採用する例が増えている。しかし依然として大量の金属水銀が使用され、その内のかなりの量が環境中へ放出されるという報告が相次いでいる。

インドネシアも金の産出国であり、中でもセレベス島はオランダによる植民地化の始まった 1890 年代以来続く金および水銀鉱山を擁する地域である。ここで対象とするブイヤット湾はセレベス島北端に近い東岸にあり、20km 奥地にある大規模鉱山からパイプラインをひいて 800m 沖合いの水深 82m 付近で、一日あたり 2000t の鉱滓 (Tailing) を放出している。この手法(submarine tailings disposal) についてはその環境負荷に関して賛否があり、現在議論が続いている。

そこで、この湾の水銀の存在状態を調査し、鉱滓廃棄との関連をさぐる一助としたい。

[研究対象および研究方法]

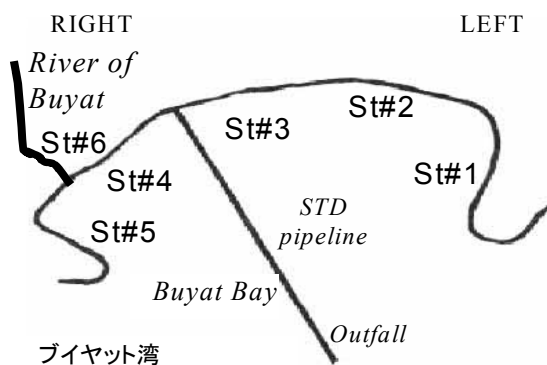


左図に関係する箇所の位置を示す。ブイヤット湾は差し渡し 800m 程度の小さな入江で大部分が砂浜である。湾の東の端にサンゴ礁が突起をなしており、さらにここから東へ向けて 4km ほどの細長い砂洲が突き出て、となりのトック湾との境をなしている。前者は外洋に面しているが、後者はこの半島に区切られて半ば内海上である。両湾の間の海水の交流はほとんどない。トック湾へはブイヤット湾へ注ぐ川とは別の川が注いでいるが、この川の上流域では、1980 年頃から数多くの小規模な金採掘業者が採鉱しており、川には水銀が流されているといわれている。トック湾、ブイヤット湾の底質、生態系および湾岸住民の水銀濃度の調査を実施した。鉱山のない対照地区として対岸にあるバジョ湾を選び、同様の調査を実施した。

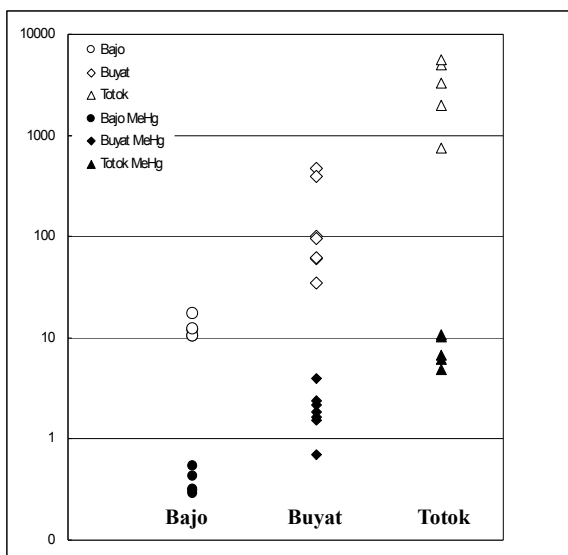
上記三つの湾についてそれぞれ 5~7 ヶ所のステーションをほぼ均等な間隔で設け、底質を半径 5m の 5 点混合法で採取した。また、肉食魚、雑食魚、カキ、二枚貝、植物食性巻き貝、雑食性カニ等を採集し、生態系における水銀分布を調べることにした。

[研究成果]

底質の採取地点を下図に示す。ブイヤット湾に5ヶ所、流入する川の川口付近に1ヶ所、



また、バジヨ湾には5ヶ所（●）のステーションを設けた。トトック湾も5ヶ所ステーションを設定した（地図省略）。

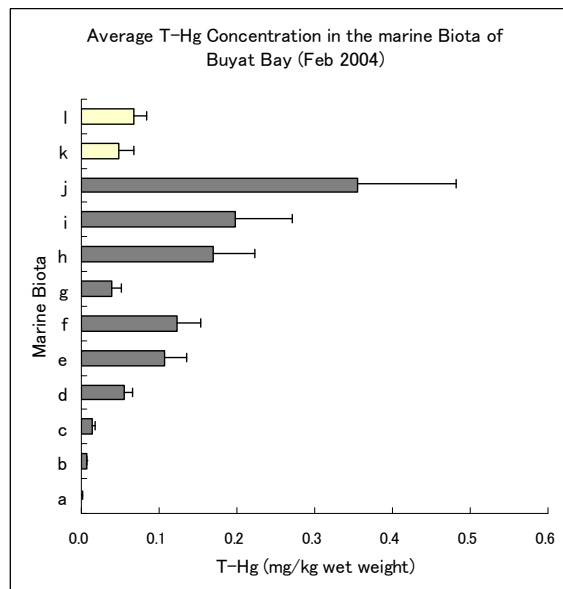


試料の総水銀濃度を左図に示す。対照であるバジヨに比べ、ブイヤット、トトック両湾の水銀濃度の差は有意である。特にトトック湾の水銀蓄積が進んでいることがわかった。また、メチル水銀が増加していることは、次に示す生物への水銀蓄積と対応する。

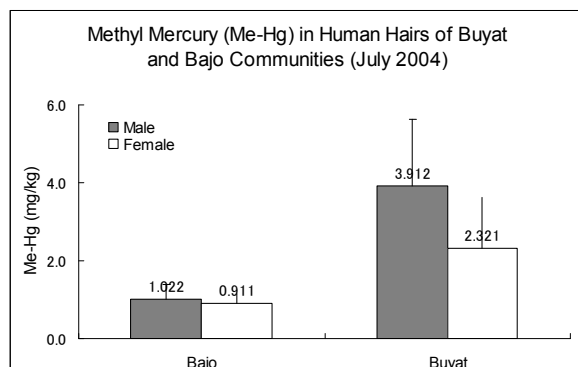
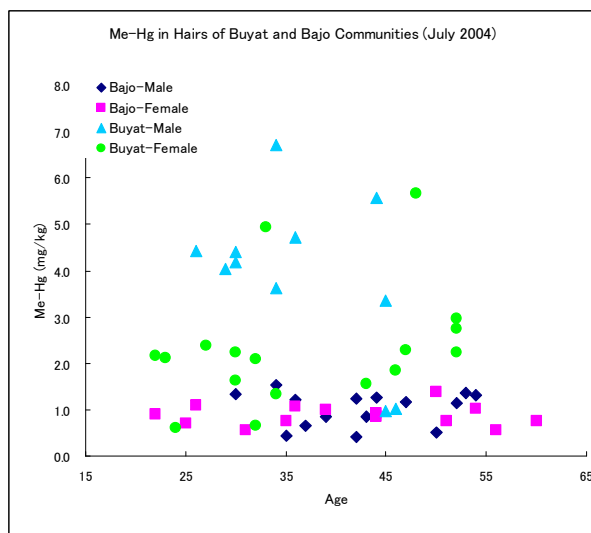
ベントス類における総水銀濃度は下図のとおりである。下表のうち、k と l は対照地区の雑食魚と肉食魚の筋である。また、i と j はブイヤット湾の湾口付近で取れた雑食魚と肉食魚である。魚の筋の最大水銀濃度は 0.35ppm であった。

生態系の地位に添った水銀量の増加が顕著である。

Marine Biota		average	std
Soft coral	a	0.001	0.000
Seagrass (root)	b	0.007	0.001
Seaweed	c	0.014	0.003
Biv (Sep) Soft part	d	0.056	0.010
Biv (Oyst) DG	e	0.107	0.028
Gastropod (soft part)	f	0.123	0.031
Coast-crbs	g	0.039	0.013
Fish 'W' (meat)	h	0.170	0.053
Fish 'R' (meat)	i	0.199	0.072
Fish 'S' (meat)	j	0.355	0.128
Fish RB Control	k	0.049	0.019
Fish G Control	l	0.067	0.017



住民の頭髮の水銀濃度はメチル水銀の値で示す。いずれも男性の方が女性より高く、また男性では年齢との相関が見られたが、女性では相関は弱かった。



両地域の濃度差は有意であったが、ブイヤット湾住民の最大値は 8.2 (男) ないし 8.6 (女) であり、健康影響を考慮するほどの値ではなかった。また、総水銀とメチル水銀との濃度差は小さく、水銀蒸気の付着による総水銀値の上昇は考慮に入れる必要がなさそうであった。

[考察]

1996 年に始まった STD もすでに 2004 年には役目を終え、会社は他へ撤退を決めている。約 8 年間の操業でどの程度の水銀が放出されたのか正確にはわからないが、ニューヨーク・タイムズの記事によれば、17t が海中へ、16t が大気中へそれぞれ放散されたとされる。得られた測定値を見るかぎり、確かに対照地区と比べて水銀濃度は上昇しており、それはちょうど日本の規制値を下回るくらいの値であった。しかし予想したよりも STD という手法は水銀の拡散に効果をあげたのかもしれない。

1) e. 大気中水銀蒸気のモニタリングおよび環境循環量の推定法に関する研究

研究担当者 松山 明人（国際・総合研究部）
安武 章（基礎研究部）
保田 叔昭（国際・総合研究部）
Nikolay R. Mashyanov (St.Petersburg State Univ.)

[研究の背景および目的]

近年、世界的に中国などで広く実施されている石炭火力発電等の排ガスから、大気中へ放出される微量水銀による環境影響が懸念されている。地球規模における水銀の環境内循環を考えた場合、生物－水－土壌－大気における物質循環が重要であるが、わが国では一般大気中の水銀濃度として指針値(40ng/m³－Hg)はあるが、現在基準値などの法規制はない。このようは背景をふまえ、わが国における水銀関連研究の中で、最も蓄積が少ないと思われる領域が大気分野であること、および今後水銀の環境中における挙動を知る上で、気中水銀は重要なウェイトを占める可能性があることから、気中の水銀モニタリング手法の検討を含め早期に実データを蓄積、検討していく必要がある。

[研究結果および考察]

気中水銀モニタリング用として、ロシア LUMEX 社製、連続水銀分析装置 RA-915 を新規に導入し、水俣を中心とする地域の気中水銀モニタリングを実施した。以下にその内容概要について述べる。

<大気中水銀のモニタリング場所>

- ・当国立水俣病総合研究センター内国際協力研究棟 3 階、
- ・水俣湾埋立地に隣接する水俣病情報センター4 階屋上

<気中水銀測定時期および頻度>

平成 16 年、4、7、11、12 月平成 17 年 1 月の計 5 回

(昨年 7 月および 12 月の観測は、上記 2 地点同時に気中水銀のモニタリングを実施)

<測定項目>

気中水銀連続してモニタリング（最低数日間）。天候、風向、風速、気温等のデータを記録。

<昨年実施モニタリング結果まとめ>

環境省が過去に行った大気中の水銀濃度（H7 年未規制大気汚染物質モニタリング調査結果より）

- ・工場周辺地域の居住地域 3.9ng/m³(n=8)
- ・大中都市の居住地域 2.2ng/m³(n=13)
- ・バックグラウンド地域 3.6 ng/m³(n=8)
- ・水俣地域 2.5 ng/m³(n=5)

◎ H17 年 3 月に中国貴州省で大気中水銀モニタリングを実施（高濃度汚染地区を対象）。

将来的に高濃度水銀汚染底質浄化工事後の気中水銀濃度を測定し、工事前後における気中水銀濃度の変遷について比較検討を実施する予定。

2) a. 低温加熱処理による汚染土壌／底質および水銀含有廃棄物の浄化処理とその水銀の回収技術の開発

研究担当者 松山 明人（国際・総合研究部）
赤木 洋勝（国際水銀ラボ）

〔研究の背景と目的〕

水銀で濃厚に汚染された土壌や底質さらには、廃蛍光管、廃水銀電池などの水銀含有廃棄物を、特殊添加剤を使用する条件の下、300℃以下の低温で加熱処理を行い、効率よく水銀を除去回収できる技術を開発する。加熱処理物や回収した水銀をリサイクルできるようにし、資源循環型社会の形成に貢献することを目的とする。

〔今年度の研究内容〕

低温加熱処理技術を応用した廃蛍光管処理システムの改善

硫化鉄を反応添加剤として用いる低温加熱処理を基礎とした、廃蛍光管処理システムは現在、国内ですでに稼動しているが、その一部のプラントに初の不具合が生じた。その内容は、加熱処理に。よって発生する排ガス中の水銀濃度が、国内基準である $0.05\text{mg}/\text{m}^3$ を僅かに超過したことであった。実稼動しているプラント設備にあって、環境基準を満足できないことは致命的であることから、今回その原因究明を現地加熱処理プラントも活用しながら行った。

〔研究結果および考察〕

a 本処理システム排ガス中に含まれる水銀含有量の把握および増加の原因究明

現地観測および室内実験の結果より以下の原因が、予想された。

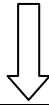
- ・ スクラバー水を経年的の交換しなかったことによる湿式スクラバーの劣化（冷却効果の低下）
- ・ 廃蛍光管屑中にプラスチック類が混入し、加熱時によって半ば溶解したプラスチックおよび廃蛍光管の破砕物が塊となり、さらに添加剤がその回りに付着して添加剤の効果が十分ではなくなった。
- ・ プラスティックに混入された可塑剤等の影響もあり、水銀の化学形が反応途中で変化してしまい、排ガス処理の最終段に設けられている活性炭槽の水銀除去効果を減じた。通常、この活性炭槽に封入されている活性炭は蒸気状金属水銀の除去に用いられるもので、この化学形以外の水銀を対象とした除去には効果が薄い（活性炭名称 MA-G）。

b 排ガス中水銀濃度低減のための対策立案

a の結果を踏まえ、以下の内容を対策案とした。

- ・ スクラバー水の即時交換
- ・ 回転式トロンメル等を利用して、廃蛍光管破砕物からプラスチック類を事前除去
- ・ 基本的に加熱処理温度を 250 度以下に下げる。温度を低下させることによりプラスチック類の加熱溶解を抑止する。

しかしながら本システムは、実稼動しているため様々なケースを想定し対応させる必要がある。



当面、水銀の化学形変化にも柔軟に対応できる新しい気相水銀専用吸着剤の開発が必要

c 新しい水銀専用吸着剤の開発

bの結果を受けて、新しい水銀専用吸着剤の開発を現在行っている。結果として、まだ途中ではあるが新しい吸着剤開発の目途がたっているので、いかにその特徴を述べる。

- ・ 元素状金属水銀以外の水銀化学種に対応でき、十分な除去効率を有する可能性がある。
- ・ 従来の活性炭（MA-G）では、特別管理物処理が必要のため再利用不可であったが、本材は吸着した水銀を除去回収でき、再化学処理すれば再利用が可能となる。
- ・ 鉱物質の天然素材を利用するため、生産コストを低減可能。

〔現在の処理性能〕

- ・ 単位 kg あたりの水銀吸着量
市販品 MA-G 70g/kg（国内最高水準）
新吸着剤 35～40g/kg 前後と予測

※ 今後更なる高い吸着量を目指して、粒度の調整や化学薬品処理工程の見直しを図る。

6. 水俣病に関する社会科学研究

研究概要

水俣病発生の社会的影響と地域再生に関する研究では一般市民 20 名から証言を得るとともに、前年度までの調査対象者についての追補調査を実施した。水俣病の発生から今日に至るまでの間を通じ、八代海沿岸の患者発生地域において水俣病の発生によりもたらされた様々な社会的影響の実態や被害の拡大要因についての検証・考察を行っている。様々な立場、地域の住民の証言を収集し多様な意見を集約することによって、地域社会における被害の実態解明やその修復のための方策についての示唆を得ることを目的としている。さらに今日的な水銀の環境問題として、魚介類摂取を介した低濃度メチル水銀についての社会的リスク認知に関して、リスクコミュニケーション推進のための調査研究を実施している。効果的なリスクコミュニケーションのあり方を探求する中で、札幌市において毛髪水銀測定およびそれに関連した意識調査を実施し、前年度に調査した川崎市および高知市での調査データとともに、集団間の曝露状況ならびに社会的リスク認知等に関して解析を行った。

1) 水俣病発生の社会的影響と地域再生に関する研究

研究担当者 蜂谷 紀之（国際・総合研究部）
劉 暁潔（疫学研究部）
志水 恒雄（元市立水俣病資料館長）

〔研究の背景および目的〕

水俣病の発生にともなう差別や偏見の発生、住民間の対立などについては平成 15 年度までの「水俣病被害の拡大・存続要因と地域再生に関する研究」において問題点を整理してきた。その過程において、当事者の証言などの記録を残しておくことの重要性があらためて認識された。そこで、このような社会的な影響について証言等の記録を整理し、それに基づいて社会的影響についての教訓を後世に伝えることを目的とした調査研究を実施する。

〔平成 16 年度研究概要〕

平成 16 年度においては、一般市民 20 名から証言を得た。内訳は、認定・未認定を含む患者・被害者 10 名、それ以外の一般市民 10 名（うち、元チッソ従業員 6 名）で、水俣市内在住者 14 名、鹿児島県出水市在住者 4 名、熊本県葦北郡田浦町在住者 2 名であった。またこれら新規調査と合わせて、前年度までに実施した調査内容に関する追補調査などを実施した。この結果、前年度までの調査を含めると聴き取り調査を実施した者は 38 名（正味）となった。

2) 低濃度メチル水銀曝露に関するリスクコミュニケーションの研究

研究担当者 蜂谷 紀之（国際・総合研究部）
安武 章（基礎研究部）
永野 匡昭（基礎研究部）
宮本 清香（臨床部）
黒木 静香（臨床部）
衛藤 光明（所長）

[研究の背景および目的]

現在、魚介類等を介した低濃度メチル水銀による発達影響をはじめとする人体影響が世界的な関心事となっている。栄養摂取における海産物・魚介類依存性の高いわが国においては、メチル水銀の最大無作用量に対する安全マージンは必ずしも十分ではない。すなわち、全集団の約一割、出産年齢期の女性の2%程度が厚生労働省の暫定的摂取限度をこえて魚介類などを通じてメチル水銀を摂取していると考えられるが、これら過剰曝露者の頻度は地域によって大きく異なる。一方、2003年6月食品添加物に関するFAO/WHO 合同専門家委員会（JECFA）はメチル水銀の暫定耐容週間摂取量を従来の約半分以下に引き下げた。この基準値に比較すると、わが国の集団の約半数、出産年齢期の女性の約1/4がこれを超過していると予想される。このように安全基準値が低下する背景には、乳児死亡率の低下などによる微弱影響因子の寄与危険度割合の総体的な顕在化や健康影響の検出技術の進展もあるといえる。このような現状のもと、これからの低濃度水銀のリスクマネジメントにおいては、十分な安全マージンを織り込んだ安全摂取限界量の設定や魚介類の水銀濃度による流通管理等といった従来型リスク管理ではすでに限界と思われる。そこで一般消費者における健康・環境リスク問題への関心・意識を明らかにしながら、毛髪水銀測定を取り入れたリスクコミュニケーションを実施し、効果的なリスクコミュニケーションのあり方を探求する。

[平成16年度研究成果]

前年度に調査を実施した川崎市^{1,2)} および高知市での調査データの解析を行った。また、札幌市において開催された環境問題展示会参加者を対象に、毛髪水銀測定およびリスクコミュニケーションにかかわる調査を行った³⁾。

川崎調査では、毛髪水銀測定参加者は685名（男263、女422）で、参加者の居住地は神奈川県63.5%（川崎市33.3%、横浜市17.5%）、東京都25.4%、その他関東地方5.1%であった。毛髪水銀濃度の幾何平均（および平均年齢）は男3.30 ppm（37.8歳）、女2.86 ppm（40.3歳）で、これは全国14地域のレベル（男2.47 ppm [38.1歳]、女1.65 ppm [32.7歳]）よりも高かった。さらに、出産年齢女性の5.6%がMeHgの厚生労働省の暫定的摂取限度に相当する毛髪水銀レベル（5ppm）を超過し、食品添加物に関するJECFA（2003年）の暫定的耐容週間摂取量相当値（2.2 ppm）を超えたのは63.3%であった。これらの超過率は全国14箇所の出産年齢の女性で観察された1.7%および24.9%に比べて高かった。毛髪水銀値は魚介類の摂取傾向と密接に関連しており、魚種ではマグロの摂取との関連が顕著で、カツオの摂取傾向も有意差を認めた。2003年6月、厚生労働省は妊娠中の女性および妊娠するかもしれない女性に対して、特定

の海産物の摂取に関する注意事項（厚労省勧告）を公表した。アンケート調査によると、厚労省勧告の認知率は 55.5%であったが、勧告対象が妊婦等に限られることを納得できるとしたのは 11.9%のみであった。これらおよびその他のアンケート結果などによると、一般消費者においては、メチル水銀の曝露源や排泄、食生活との関係、健康影響などについての情報や認識がとりわけ不十分な状況にあり、低濃度メチル水銀のリスク対応においては、低濃度メチル水銀と魚食との関係、体内の水銀動態、メチル水銀リスクの特徴および魚食の便益性などに関する情報の普及などが現時点で必要であると考えられた。これらについての十分な情報提供を伴う効果的な意思決定支援を前提に、毛髪水銀測定は効果的なリスク対応手段となると考えられた⁴⁾。

[引用文献]

1. 蜂谷紀之、安武章、黒木静香、宮本清香、永野匡昭、衛藤光明、魚介類を介したメチル水銀曝露のリスク問題（3）大都市部における曝露状況とリスク認知、第 63 回日本公衆衛生学会、日本公衛誌 51、特別付録 929、2004.
2. Hachiya N, Yasutake A, Miyamoto K, Kuroki S, Yamaguchi M, Eto K: Attitudes about low level methylmercury risk problems among Japanese consumers, RMZ Materials and Geoenvironment, **51**, 610-612, 2004.
3. Hachiya N: Safety margin and risk perception is insufficient on exposure to methylmercury among Japanese consumers, Agenda and Abstract of NIMD Forum 2005 26-27, 2005.
4. 蜂谷紀之、リスクコミュニケーションツールとしての毛髪水銀、公衆衛生、68、528、2004.

3. 行政研究・業務報告

1. 水俣病患者のリハビリテーション及び健康相談

担当者 宮本 清香（臨床部）
黒木 静香（臨床部）
中村 政明（臨床部）
臼杵扶佐子（臨床部）

1. 水俣病患者の外来及び訪問リハビリテーション

水俣病患者に対するデイケア（家族の付き添いなしに患者を預かり、半日を過ごしてもらう）を取り入れた外来リハビリテーションと訪問患者リハビリテーションを今年度も引き続き行った。

昨年度から明水園に入所中の胎児性患者が家族の希望と明水園の配慮もあり外来リハビリテーションに参加するようになったが、今年度はさらに3年前まで週1回外来リハビリに参加していた小児性水俣病患者1名が参加できるようになった。今回来セ時、以前に比べ車椅子移乗やトイレ動作で機能低下が著明で、またADLに対する自発性の低下も認められたが、週1回の運動訓練や作業療法（毛糸 knob つくり）、ADL 訓練で機能は明らかな改善が認められてきた。この患者は1月から、本人の希望で週2回の外来リハビリテーション参加となった。

胎児性患者は50歳代前後になっていて、2次性変化の影響が現れてきている。胎児性患者の1例には、ジストニーによる頸椎の変形や強い痙性に伴う筋短縮による腱付着部痛がみられ、進行防止を目的とした装具着用および薬物治療を行った。今後も follow up していきたい。

リハビリテーションの内容としては、運動療法（関節可動域訓練、筋力維持・強化訓練）、作業療法（スキルスクリン・革細工・フェルト細工・ウール細工等々）、ADL 訓練を各々の患者のレベルに応じて取り入れている。各々の患者には、作業を通しての機能の維持・向上がみられ、また出来上がった作品をプレゼントするという目標・行為を持つことで精神的な充足感や意欲が得られていると思われる。

87歳の成人型水俣病患者（平成15年6-9月に左片麻痺で入院）の退院後の訪問リハビリテーションを今年度も行った。昨年同時期に比し、端座位から立位動作、T-cane を用いた歩行能力などに運動レベルの回復がみられている。住宅改修面では手摺の取り付け位置を改善し、また介護保険を用いた座椅子の導入などの相談指導もあわせて行った。

昨年度から取り組んだ「外来リハビリ便り」を今年度も3回発行した。センターでの患者リハビリテーションの様子、健康情報に加え、今年度は手すりの設置やトイレに関する住宅改修の情報を発信した。今後、介護や住宅改修などの情報を充実させたいと考えている。

2. 水俣病健康相談室

健康相談室に総合臨床室の神経内科医師中村室長が平成16年9月より加わった。

(1) 健康相談

アメリカサンフランシスコから水俣病患者とキレート剤に関する質問がインターネットで寄せられた。電話や手紙による問い合わせとして、徳島県から水銀値と現在の症状の関連についての問い合わせが、

さらに、以前水銀汚染地区に居住していた北九州の方から現在の症状が水俣病と関連があるかどうかの相談などがあった。

(2) 毛髪水銀値測定

今年度も生化学室安武室長の協力をえながら、情報センター来館者の中で日本人 1293 名、外国人 20 名の毛髪水銀値測定を行った。平成 15 年 2 月に 1 万部初版発行した「水銀と健康」のパンフレットは在庫薄になったため、平成 16 年 3 月に新しい情報を加えた改訂第 2 版を 1 万部作成した。公共施設や情報センターの受付などに置いているが好評である。この「水銀と健康」のパンフレットは厚生労働省のホームページにものせられ、今年度は情報センターのホームページでも開示されるようになった。現在英語版の作成に取り組んでいる。

〔参考〕

宮本清香、黒木静香、安武 章、臼杵扶佐子：

毛髪を試料とした水銀値測定と情報提供 保健の科学 47, 313-317, 2005.

(3) 水銀に関する質問

毛髪採取の際に実施しているアンケートには今年度も下記のような質問が 95 件寄せられた。回答は例年と同じように水銀値の結果とともに郵送した。

〔質問内容〕

- | | |
|---------------------------|------|
| ・毛髪水銀値の基準値及び健康影響について | 38 件 |
| ・毛髪測定や毛髪と水銀の関係について | 18 件 |
| ・水銀に関する一般的なこと | 15 件 |
| ・水銀中毒の対処法・治療・予防 | 4 件 |
| ・その他（魚と水銀値の関係、体内の水銀の動きなど） | 20 件 |

アンケートとは別に、小学生や既来館者からの手紙による水銀に関する熱心な質問も寄せられ、返信した。

(4) 健康セミナー

本年度は第 3 回、第 4 回健康セミナーとして平成 16 年 6 月に「老化と痴呆の話」（111 名参加）、平成 17 年 2 月に「生活習慣病の話」（78 名参加）を水俣市芦北郡医師会との共催で実施した。回を重ねる毎に参加者も増加しており、第 4 回のアンケート記入では 58 名の協力が得られた。93%の方が次回も参加したいと答え、セミナーの満足度でも大満足 31%、満足 45%と好評であった。今後も引き続き健康セミナーを開催し、地域住民の方々の健康の保持・増進に寄与していければと考えている。

2. 水俣病発生地区住民の健康影響

研究担当者	若宮 純司（臨床部）
	宮本謙一郎（臨床部）
	村尾 光治（臨床部）
	北野 隆雄（熊本大・医薬）
	二塚 信（熊本大・医薬）
	安藤 哲夫（鹿児島大・医歯）
	秋葉 澄伯（鹿児島大・医歯）

A. 緒論

1993 年に、総合対策事業の一貫として、メチル水銀による地域の健康不安を解消する目的で健康管理事業が始まった。以後、5 年ごとにメチル水銀の健康影響と事業の方向性を検討してきた。1997 年の解析では、事業を続行し、さらにデータを収集して検討すべきであるとの結論に達し、2002 年の検討では、対照地区との比較を行って詳細な検討の必要性があるとの結論に達した。この結論を受けて、メチル水銀の健康影響に関して 1993 年から 2002 年までの老人保健法に基づく循環器検診の検診項目およびその上乘せ項目について対照地区との比較解析を行った。

B. 解析

問診項目については、上記結果から、初年度が高い項目については、初年度以外での回帰係数より大きくなるし、前半と後半の動向が異なる項目については、前半・後半とも異なる動向が得られた。このようにデータがばらついた要因としては、問診の手技上の問題やメチル水銀の曝露により影響を受けた可能性の高い者の占める割合が年度ごとに異なることなどが考えられる。メチル水銀の曝露により影響を受けた可能性の高い者のデータには含まれておらず、解析ができなかった。

こうした難点はあるが、一応、全年度のデータを用いて回帰を行うと、ほとんどの項目が解析対象期間内には対照地区と同じ有症率ではなかった。比較的安定したデータが得られた津奈木町も同じ結果であった。期間内に同じ有症率になる理由がないこと、対照地区の方がかえって高い項目があることを考えると、さらなるデータ解析が必要であろう。

すなわち、対象集団において、メチル水銀の曝露により影響を受けた可能性の高い集団とそれ以外の集団にわけてその動向を解析し、病歴やメチル水銀の曝露により影響を受けた可能性の高い集団について調整した上で年次比較や市町村間の比較や全体の比較をおこなうことが必要であると考えられる。また、特に、問診項目で、対照集団の方に高い項目が得られたことから対照集団としての適正に問題があると考えられ、今後、対照として適当と考えられるデータを収集した上で解析することが必要であると考えられる。

検査項目について年度間に有意差がある項目がみられるが、問診と同様、データ精度や対象集団の構成要因の問題があり、一定の結論を出せない。ただ、問診項目で比較的安定したデータの得られた津奈木・田浦が検査項目について有意差がなかったことは、興味深い。対照集団との比較では、全市町で年度によって有意差が見られた項目があることから病歴やメチル水銀の曝露により影響を受けた可能性の高い

集団の調整をつけた上で解析を行う必要があると考えられる。

以上より、地域に対するメチル水銀曝露の影響について一定の結論を導き出し、今後の方針を決めるためには、問診方法を徹底いた上で、今後数年間の成績を収集するとともに、対照地区データを同じ精度管理のもとに収集することが必要である。

3. 国水研の情報発信のためのデータベース作成

担当者 若宮 純司（臨床部）

現在、水俣病総合研究センターに所蔵されている図書（単行本・雑誌）と水銀関連文献（昭和 27 年から昭和 62 年までに国内で発表された水銀に関連した論文および代表的な国外の水銀に関連した論文）に関する情報がデータベース化されている。情報量は、単行本が洋書 865 件、和書 3117 件、雑誌が洋雑誌 47597 件、和雑誌 21768 件、水銀関連文献が国内論文 12891 件、国外論文 25827 件である。

本 DB は、図書システムと連動されており、書誌事項や状況（所蔵場所・貸出など）について検索できるようになっている。特に、水銀関連文献については、国内文献のうち 62% の文献がイメージとして入力されており、必要に応じて所内の研究者が個人的使用に限って書誌情報と連動して閲覧できるようになっている。今後、随時、イメージ情報量を増やしてゆく予定である。

本年は、水銀関連文献 1054 件のイメージ入力を行うとともに、誤入力された書誌事項について件 DB を修正したが、206 件が未修正のままである。また、情報源がない 4009 件については、文献情報が収集できた時点で随時修正してゆくこととした。さらに、昭和 63 年以降の文献情報を入力する予定である。

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

担当者	中村 邦彦（国際・総合研究部）
	馬場 清（国際・総合研究部）
	山川 伸也（国際・総合研究部）
	蜂谷 紀之（国際・総合研究部）
	保田 叔昭（国際・総合研究部）

〔研究成果及び進捗状況〕

水俣病に関する国内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（以下「国水研」）の重要な任務のひとつである。しかしながら、これらの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、中には平成 7 年の政治解決を受け散逸する恐れのあるもの、保存状態が不適切なものなども含まれる。また、水俣病患者等の高齢化も進んでいることから、患者・関係者等の体験談など生の声の記録などの情報・資料の収集を早急且つ重点的に行う必要があった。

こうした状況を踏まえ、国水研では平成 13 年 6 月、新たに「水俣病情報センター（以下「情報センター」）」を開館し、水俣病関連資料の収集・整理及び情報提供について積極的な取り組みを実施してきたところである。

平成 16 年度は前年度に引き続き、学識経験者・行政・患者団体等の水俣病関係団体をメンバーとする「水俣病関連資料整備検討会」を開催し「水俣病関連資料総合調査事業」を推進していく上での資料整備のあり方についての検討を行い、「水俣病関連資料の寄贈及び購入」、「水俣病関連文献目録情報データベースの充実及び文献デジタル化」、「水俣病患者、関係者聴き取り調査」等、「水俣病関連資料総合調査事業」の積極的な推進を図るとともに、展示室で公開している「水俣病関連新聞記事データベース」拡充のための作業などを実施した。

また、国水研ホームページで公開している「水俣病関連文献所蔵目録検索システム」に患者団体等から提供された新たな情報を追加し、インターネットによる情報提供の充実を図った。

さらに、自主事業の一環として国水研主催による「公開セミナー」、「健康セミナー（水俣市芦北郡医師会との共催）」及び「N I M D フォーラム 2005」を開催したほか、水俣市立水俣病資料館による語り部講話や、熊本県環境センターによる環境学習等情報センターへの会場提供など情報センター講堂を活用した水俣病関連情報等の提供に積極的に取り組んだ。

〔参考〕

平成 16 年度水俣病情報センターの情報収集、提供活動の概要について

- ①来館者集計：平成 17 年 3 月末現在、本年度中 31,147 名、延べ 118,402 名
- ②講堂利用状況：平成 17 年 3 月末現在、本年度中 106 回、延べ 382 回
- ③資料室における資料収集状況：平成 17 年 3 月末現在、本年度中 658 点、延べ 2,928 点

5. 国際共同研究事業の推進

担当者	馬場 清（国際・総合研究部）
	衛藤 光明（所長）
	中村 邦彦（国際・総合研究部）
	蜂谷 紀之（国際・総合研究部）
	保田 叔昭（国際・総合研究部）
	松山 明人（国際・総合研究部）
	若宮 純司（臨床部）
	宮本謙一郎（臨床部）
	安武 章（基礎研究部）
	坂本 峰至（疫学研究部）
	劉 曉潔（疫学研究部）

〔研究成果及び進捗状況〕

当研究センターでは毎年、水銀による環境汚染が顕在化している開発途上国を中心に研究員の現地への派遣、在外研究員の招聘など、在外研究機関との共同研究を推進している。

＜研究員の海外派遣＞

平成 16 年度においては、「第 7 回地球環境汚染物質としての水銀に関する国際会議」をはじめとした国際会議や共同研究に必要な現地調査等のため、12 カ国に延べ 24 名の研究員を海外に派遣した。

＜在外研究員の招聘＞

平成 16 年度においては、共同研究推進に必要な水銀分析技術の修得等を目的として、10 の国や国際機関から延べ 12 名の在外研究員を招聘した。

平成 16 年度 国際共同研究事業等一覧 / 派遣

用務地・機関	派遣者	用務名	用務	派遣期間
タイ王国 バンコク市	疫学研究部調査室長 坂本 峰至	「UNEP 水銀汚染に関する意識向上地域 ワークショップ」出席	水銀汚染に関する地域意識向上会議にアジア、太平洋地域会議で UNEP が人の活動により排出される水銀を世界規模で減少させるためのプログラムの一環として行われたものであり、アジアにおける水銀汚染の現状や対策が会議の中で話し合われた。	H16. 4. 25-4. 30
イタリア共和国 マラテア市	疫学研究部調査室長 坂本 峰至	「水銀測定法と大気質と人健康における発生源・影響を評価するモデルの調和に関する国際学術会議」出席	本会議は、2005 年に開かれる UNEP 管轄会議や「地球環境汚染物質としての水銀に関する国際会議」へ、その成果がレポートされることになっており、水銀による環境汚染問題や健康への影響などに関する研究業務を行っている国立水俣病総合研究センターとして、会議出席のため招聘された。	H16. 5. 22-5. 29
スロベニア共和国 リュブリャナ市	国際・総合研究部長 中村 邦彦 疫学研究部調査室長 坂本 峰至 国際・総合研究部社会科学室長 蜂谷 紀之 国際・総合研究部自然科学室長 保田 叔昭	「第 7 回地球環境汚染物質としての水銀に関する国際会議」出席	本会議は、世界の水銀研究者が 4 年に一度集まり、水銀研究を発表する会議であり、平成 13 年に水俣で行われた前回の会議でも 600 以上の研究発表が行われ、当センターにおいても、水銀を扱う研究機関として、現在の水銀汚染の状況や水銀研究の進展を把握するため、会議に出席した。	H16. 6. 25-7. 5
スロベニア共和国 リュブリャナ市	国際・総合研究部自然科学室 主任研究員 松山 明人	「第 7 回地球環境汚染物質としての水銀に関する国際会議」出席及びスロベニア・イドリア川水銀汚染調査(鹿児島大学との共同研究)	本会議は、世界の水銀研究者が 4 年に一度集まり、水銀研究を発表する会議であり、平成 13 年に水俣で行われた前回の会議でも 600 以上の研究発表が行われ、当センターにおいても、水銀を扱う研究機関として、現在の水銀汚染の状況や水銀研究の進展を把握するため、会議に出席した。また、会議終了後には鹿児島大学との共同研究も行った。	H16. 6. 25-7. 8
フィンランド共和国 タンペレ市	臨床部検査室長 宮本 謙一郎	「第 10 回国際トキシコロジー会議」出席	メチル水銀中毒における神経細胞死機序と神経細胞死防御効果のある薬剤の検討に関する討議を行い、臨床的に使える薬剤の開発につながる研究の成果を期待すると共に、世界的にメチル水銀中毒の神経細胞障害機序及び治療に関する研究を行っている毒性学者と率直な意見の交換を行った。	H16. 7. 9-7. 15

用務地・機関	派遣者	用務名	用務	派遣期間
インドネシア共和国 ジャカルタ市	疫学研究部調査室長 坂本 峰至	「インドネシア共和国における有害化学物質汚染状況調査」	インドネシア共和国スラウェシ島北部のブイヤット湾において金鉱山廃水による健康被害が報じられ、WHO 協力機関として当研究センターよりインドネシア国へ早急に派遣し汚染物質の特定、汚染状況について調査を行った。	H16. 8. 5-8. 13
アメリカ合衆国 ロチェスター市	所長 衛藤 光明 国際・総合研究部長 中村 邦彦	低濃度メチル水銀曝露における成人剖検脳の神経病理学的研究	米国ロチェスター大学医学研究所から低濃度メチル水銀の脳への微細な変化の有無を対照例と比較して検討したいと共同研究の依頼があり、低濃度メチル水銀を長期間摂取することにより、人体成人脳に病変を招来するか否かを検討した。	H16. 8. 22-8. 28
デンマーク王国 フェロー諸島	疫学研究部調査室長 坂本 峰至	「低濃度メチル水銀の胎児期曝露健康影響研究」実施	メチル水銀の胎児影響に関して、世界的には、南デンマーク大学のフェロー諸島での調査、米国ロチェスター大学のセイシェル諸島での調査があり、すでにセイシェルには平成 15 年度に研究方法、食生活等に関する調査を行った。今回は、フェロー諸島で行われている調査の詳細やフェロー諸島における食生活の実態の調査し、双方の研究成果の違いを考察し、双方の研究手技を取り入れて日本での精度の高い研究を目指す事を目的とした。	H16. 8. 28-9. 4
中華人民共和国 ハルビン市、北京市	疫学研究部調査室長 坂本 峰至 疫学研究部調査室主任研究員 劉 曉潔	中国黒龍江省における水銀汚染共同研究調査	吉林省にある吉林化学工業会社カーバイド工場酢酸職場のアセトアルデヒド行程により、1958 年から 1982 年まで深刻なメチル水銀汚染をもたらされた松花江の川底に堆積した百トンの水銀が自然界でメチル水銀となり、新たな汚染源として住民の健康に被害を及ぼしている可能性があったため、その汚染状況を把握するために調査を行った。	H16. 9. 8-9. 14
スロベニア共和国 リュブリャナ市	国際・総合研究部自然科学室主任研究員 松山 明人	スロベニア・イドリア地域における水銀の環境動態の測定（鹿児島大学との共同研究）	調査目的地は、世界第二位の水銀鉱山で、現在は操業を中止している状態であるが、長年の操業によって鉱山周辺から市街地にいたるまで水銀によって広く汚染されている。現地の特徴は無機水銀による汚染が主体であり、アセトアルデヒド製造工場などによる汚染とは異なり、メチル水銀が直接環境中に放出されていないので、環境中に放出された水銀が、どのような条件で有機化が進むのか追跡検討を行った。	H16. 9. 20-10. 2
オーストラリア ブリスベン市	所長 衛藤 光明	「第 25 回国際病理アカデミー」出席	2002 年にオランダで開かれた国際病理アカデミーにも環境病理学分野のシンポジウムにおいて研究発表をした敬意があり、今回も水俣病剖検例を中心に研究発表を行った。	H16. 10. 10-10. 17

用務地・機関	派遣者	用務名	用務	派遣期間
インドネシア共和国 マナド市	国際・総合研究部自然科学室長 保田 叔昭	「インドネシア・セレベス島、プイヤット湾における金採掘鉱滓による海域汚染の実態調査」実施	鉱滓放出部にあたるプイヤット湾の底質、生態系、及び住民の各試料を採取して水銀濃度調査を行った。	H16. 10. 23-11. 2
ベトナム社会主義共和国 ハノイ市	疫学研究部調査室長 坂本 峰至 疫学研究部調査室主任研究員 劉 曉潔	水銀汚染に関する共同研究	ベトナム自然科学・技術研究所研究員との研究事業を開始し、今回は、現地調査による状況把握と水銀分析の管理および質向上を図った。	H16. 11. 6-11. 14
フィリピン共和国 マニラ市	所長 衛藤 光明 国際・総合研究部長 中村 邦彦	「ASEAN と東アジア諸国における健康と環境に関する WHO と UNEP と ADB の国際会議」出席	WHO 協力機関として本会議へ出席し、各国の専門家と意見を交換し地球規模での汚染の防止に関する知見の収集と実践方法の検討を行った。	H16. 11. 23-11. 27
中華人民共和国 上海市、貴陽市	基礎研究部生化学室長 安武 章 疫学研究部調査室主任研究員 劉 曉潔	貴州省清鎮市における大気中水銀汚染調査等	上海においては上海交通大学と研究交流を実施。 清鎮市においては、将来の被害を予測させるほどの土壌汚染が起こっていることが判明し、計画されている汚染土壌修復作業の効果を評価するための水銀蒸気の減衰モニタリングを行い、修復前後の大気の汚染状況把握調査を行った。	H17. 2. 27-3. 12
大韓民国 ソウル市	疫学研究部調査室長 坂本 峰至	「メチル水銀の毒性と人体曝露評価」について講演		H17. 3. 6-3. 9
モンゴル国 ウランバートル市	疫学研究部調査室長 坂本 峰至 疫学研究部調査室主任研究員 劉 曉潔	モンゴル国における小規模金採掘に伴う人体水銀曝露モニタリング		H17. 3. 21-3. 25

平成 16 年度 国際共同研究事業等一覧 / 招聘

氏名	所属機関	職名	招聘期間	研究テーマ	受入担当者
Christian P.R.Beinhoff	United Nations Industrial Development Organization (UNIDO) 国連産業開発機構	Chief Technical Advisor of Global Mercury Project 主幹技師	H16.5.10-5.17	“Global Mercury Project” についてのセミナー	所長 衛藤 光明
Luiz C.de L.Silveira	Federal University of Para パラ連邦大学	Director センター長	H16.5.27-6.24	開発途上国における水銀汚染地域住民の毛髪中水銀汚染濃度調査	国際・総合研究部長 中村 邦彦
Maria Conceicao Pinheiro	Federal University of Para パラ連邦大学	Vice-Coordinator 副センター長	H16.5.27-6.24	開発途上国における水銀汚染地域住民の毛髪中水銀汚染濃度調査	国際・総合研究部長 中村 邦彦
Elizabeth C.de O. Santos	Instituto Evandro Chagas ブラジル厚生省エバンドロシャージャス研究所	Head of the Coordination off Human Ecology and Environment 環境部コーディネータ	H16.6.2-6.18	アマゾン河流域水銀汚染地域漁村住民の健康影響に関する共同研究	臨床部長 若宮 純司
Markus Talintukan Lasut	University of Sam Ratulangi サム・ラトゥランギ大学	Senior Lecturer 講師	H16.7.5-8.7	インドネシア・セレベス島、プヤット湾における金鉱山鉱滓海洋投棄の海洋生物および人健康にあたる影響に関する共同研究	国際・総合研究部自然科学室長 保田 叔昭
Assem Alimberdiyeva	Republic of Kazakhstan Kazhydromet カザフスタン水門気象庁	JICA 専門家分析補助員	H16.7.9-8.5	環境中の水銀動態に関する研究(河川中の石炭灰に吸着した水銀の挙動解析)	国際・総合研究部自然科学室 主任研究員 松山 明人
Vu Duc Loi	Vietnamese Academy of Science and Technology Institute of Chemistry ベトナム自然科学・技術研究所	Researcher 研究員	H16.7.11-8.1	水銀分析に関する質管理	疫学研究部調査室長 坂本 峰至
Jin Ping Cheng	School of Environmental Science and Engineering Shanghai Jiao Tong University 上海交通大学環境科学与工程学院	Lecturer 講師	H16.7.12-8.1	水銀分析に関する質管理	疫学研究部調査室長 坂本 峰至 疫学研究部調査室主任研究員 劉 曉潔
Jesus Tadeo Olivero Verbel	University of Cartagena カルタヘナ大学	Professor 教授	H16.8.1-8.17	開発途上国における水銀汚染地域住民の毛髪中水銀汚染濃度調査	国際・総合研究部長 中村 邦彦
Elizaveta Emanuilovna Graevskaya	Department of Biophysics, Faculty of Biology Moscow State University モスクワ大学 生物学部	Senior Researcher 主任研究員	H16.9.25-10.20	ラット肥満細胞のヒスタミン分泌に対するメチル水銀の影響	基礎研究部生化学室長 安武 章

Ray Bright Voegborlo	Kwame Nkrumah University of Science and Technology Kwame Nkrumah科学技術大学	Technical Instructor 技術講師	H16.11.1-11.29	ガーナ南西部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	国際・総合研究部自然科学室 主任研究員 松山 明人
氏名	所属機関	職名	招聘期間	研究テーマ	受入担当者
Charles Wilson Messo	University of Dar-es-Salaam Department of Geology ダルエスサラーム大学 地質学科	Laboratory Scientist 研究所研究員	H16.11.1-11.26	タンザニア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	国際・総合研究部自然科学室 主任研究員 松山 明人

6. 開発途上国からの来訪者の研修指導

担当者	馬場 清 (国際・総合研究部)
	衛藤 光明 (所長)
	中村 邦彦 (国際・総合研究部)
	蜂谷 紀之 (国際・総合研究部)
	保田 叔昭 (国際・総合研究部)
	松山 明人 (国際・総合研究部)
	安武 章 (基礎研究部)
	坂本 峰至 (疫学研究部)

[研究成果及び進捗状況]

当研究センターでは毎年、国際協力機構等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16年度においては、アジア（中国、フィリピンなど）、中南米（ブラジル、チリなど）、アフリカ（アルジェリアなど）、東欧（ルーマニアなど）など世界各地から163名、21集団研修コースを受け入れ、衛藤光明所長（8回）、中村邦彦国際・総合研究部長（13回）、蜂谷紀之国際・総合研究部社会科学室長（2回）、保田叔昭国際・総合研究部自然科学室長（1回）、松山明人国際・総合研究部自然科学室主任研究員（1回）、安武章基礎研究部生化学室長（3回）、坂本峰至疫学研究部調査室長（1回）がそれぞれ対応し、水俣病に関する講義、環境中の水銀と世界規模から見た水銀汚染の講義、魚類・土壌・毛髪中の総水銀分析の講習、施設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。

平成 1 6 年度研修指導受入実績

	受入日		研修名	相手先	演題	担当者	人員
1	平成 16 年 6 月 3 日	木	J I C A 研修 環境負荷物質の分析技術及びリスク評価コース	(財) 日本国際協力センター関西支所	環境水銀汚染について	中村部長	8 人
2	平成 16 年 6 月 17 日	木	J I C A 研修 平成 1 6 年度有害金属等汚染対策コース	(財) 地球環境センター	最近の知見を踏まえた水俣病の原因及び臨床病理学的所見について	衛藤所長	7 人
					環境中の水銀と世界の水銀汚染問題	中村部長	
3	平成 16 年 6 月 25 日	金	J I C A 研修 平成 1 6 年度第 1 9 回「産業環境対策コース」	(財) 北九州国際技術協力協会	水俣病について	衛藤所長	7 人
4	平成 16 年 7 月 1 日	木	J I C A 研修 第 6 回フィリピン「都市および産業における環境対処能力向上コース」	(財) 北九州国際技術協力協会	水俣病について	衛藤所長	10 人
					環境中の水銀と世界の水銀汚染問題	安武室長	
5	平成 16 年 7 月 7 日	水	J I C A 研修 平成 1 6 年度「地域流域環境管理コースⅡ」	(社) 北方圏センター帯広国際センター	水俣病情報センター見学	馬場室長	9 人
6	平成 16 年 7 月 14 日	水	韓国済州道環境分野公務員先進環境施設視察	韓国済州道知事	水俣病について	衛藤所長	13 人
7	平成 16 年 8 月 19 日	木	J I C A 研修 ブラジル国別案件（鉱山環境技術）	(財) 国際鉱物資源開発協力協会	水俣病について 有機水銀分析施設見学	中村部長	1 人
8	平成 16 年 8 月 27 日	金	J I C A 研修 (第 2 回) 産業廃水処理技術Ⅱコース	(財) 北九州国際技術協力協会	環境中における水銀汚染問題について	中村部長	9 人
9	平成 16 年 9 月 9 日	木	J I C A 研修 草の根技術協力事業（地域提案型）	熊本県環境生活部環境政策課	水俣病について	衛藤所長	3 人
					世界中の水銀と世界の水銀対策	中村部長	

	平成 16 年 9 月 10 日	金	J I C A 研修 草の根技術協力事業（地域提案型）	熊本県環境生活部環境政策課	水俣病の歴史から学ぶ教訓	蜂谷室長	3 人
					水銀モニタリング(実習)	安武室長	
10	平成 16 年 9 月 15 日	水	J I C A 研修 チリ共和国鉱害防止指導体制強化協力	(財) 国際鉱物資源開発協力協会	水俣病について 有機水銀分析施設見学	中村部長	3 人
11	平成 16 年 9 月 24 日	金	平成 16 年度 JICA 集団研修 「産業医学」コース	産業医科大学	最近の知見を踏まえた水俣病の 臨床病理学的研究について	衛藤所長	12 人
					世界中の水銀と世界の水銀対策	中村部長	
12	平成 16 年 10 月 5 日	火	平成 16 年度 JICA 集団研修 「地方自治体による環境再生・保全行政」	水俣市環境対策課	水俣病について	中村部長	10 人
					水銀の毛髪測定について	安武室長	
					水俣病の悲劇から得られる教訓	蜂谷室長	
13	平成 16 年 10 月 6 日	水	第 5 回「生活排水対策コース」	(財) 北九州国際技術協力協会	水俣病について	中村部長	8 人
14	平成 16 年 11 月 4 日	木	平成 1 6 年度 JICA 集団研修 「水環境モニタリング」コース	(財) 日本環境衛生センター (環境省環境調査研修所)	水俣病について	中村部長	10 人
					環境中の水銀モニタリング(実 習)	保田室長	
15	平成 16 年 11 月 4 日	木	平成 1 6 年度 JICA 集団研修 「農村医学」コース	(財) 国際保健医療交流センター	水俣病の歴史及び水俣病の臨床 病理学的研究について	衛藤所長	9 人
16	平成 17 年 1 月 20 日	水	チリ共和国鉱害防止指導体制強化協力	(財) 国際鉱物資源開発協力協会	水俣病について 有機水銀分析施設見学	中村部長	2 人
17	平成 17 年 2 月 2 日	水	JICA (国別研修) 環境モニタリング	JICA 東京国際センター	水俣病情報センター等見学	馬場室長	2 人
	平成 17 年 2 月 3 日	木			所長表敬 水俣病について	衛藤所長	
18	平成 17 年 2 月 21 日	月	JICA 研修中央アジア水質モニタリング コース	(財) 国際環境技術移転研究センター	水銀分析実習	松山主任	8 人
	平成 17 年 2 月 22 日	火			水銀分析実習	松山主任	8 人

	平成 17 年 2 月 23 日	水	JICA 研修中央アジア水質モニタリング コース	(財)国際環境技術移転研究センター	水銀分析実習	松山主任	8 人
19	平成 17 年 2 月 25 日	金	JICA 研修 平成 16 年度「中・東欧地域産業環境対 策コース」	(財)北九州国際技術協力協会	水俣病について	坂本室長	9 人
20	平成 17 年 3 月 2 日	金	JICA 研修 「環境と開発と女性セミナー」	(財)アジア女性交流・研究フォーラム	地球規模での環境（水銀）汚染	中村部長	11 人
21	平成 17 年 3 月 31 日	木	平成 16 年度アルジェリア国別研修 「工業及び都市環境管理」 第 2 回「産業環境対策」コース	(財)北九州国際技術協力協会	水俣病の歴史と研究	中村部長	12 人

国内	平成 16 年 10 月 8 日	金	九州大学医学部 4 年生学外見学	九州大学大学院医学研究院	水俣病について	衛藤所長	102 人
----	------------------	---	------------------	--------------	---------	------	----------

7. 世界の水銀汚染地域住民の毛髪の水銀調査

担当者 中村 邦彦（国際・総合研究部）
蜂谷 紀之（国際・総合研究部）
松山 明人（国際・総合研究部）
坂本 峰至（疫学研究部）
中野 篤浩（基礎研究部）
衛藤 光明（所長）

[進捗状況および研究成果]

本年度は、国水研のホームページや海外からの見学者に水銀汚染地域の住民の毛髪を提供を呼びかけました。南米のベネズエラとフランス領ギニアおよび、中部アフリカのベニンの3カ国から、毛髪を提供があり、これらの毛髪の水銀値を測定しました。毛髪の水銀量は、以下の通りです。

ベネズエラ 1（試料数：100 男；50 女；50）

毛髪は、水銀非汚染地域から採取されたものであり、総水銀値は、男性で平均 1.1 ppm、女性で 0.9 ppm でした。男性でも女性でも、総水銀値が、5 ppm を超える人はいませんでした。

ベネズエラ 2（試料数：63 男；37 女；26）

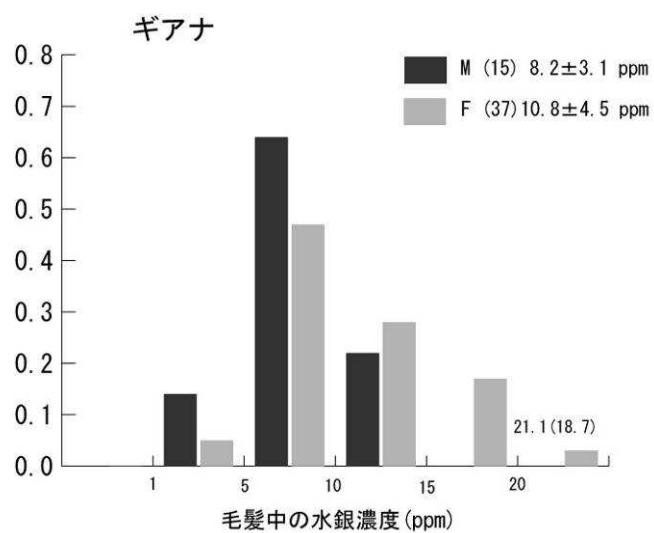
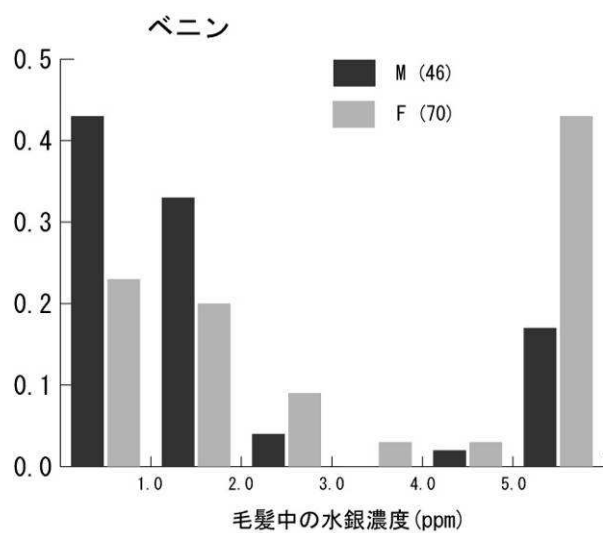
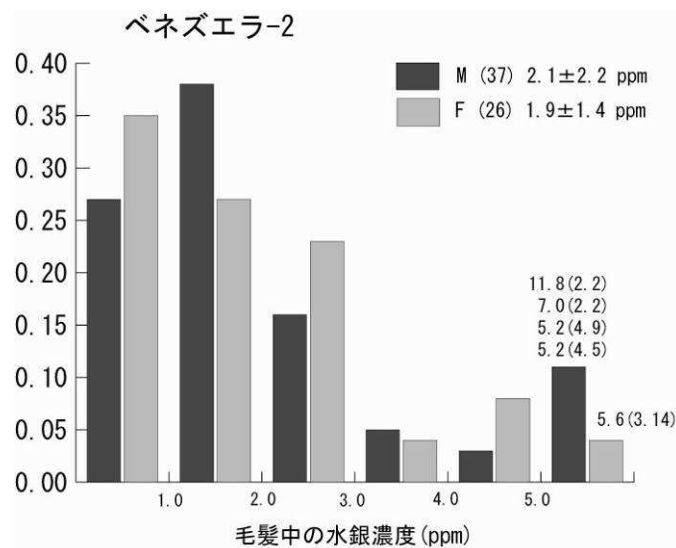
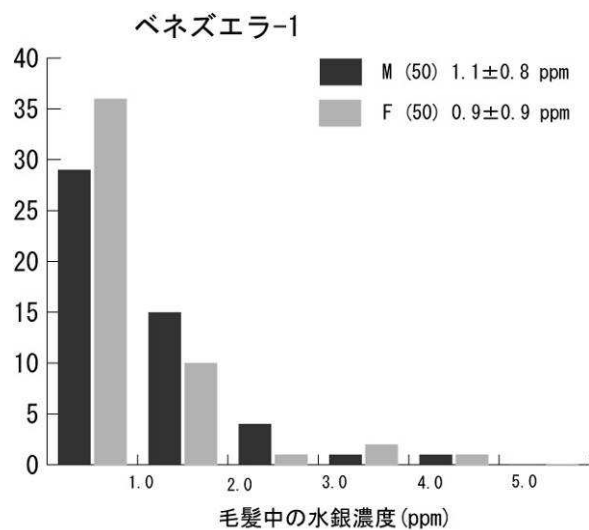
毛髪は、金鉱山による水銀汚染地域から採取されたものであり、総水銀量は、男性で平均 2.1 ppm、女性で平均 1.9 ppm でした。男性では、総水銀値の高い毛髪は、11.8、7.0、5.2 および 5.2 ppm でした。これらの毛髪のメチル水銀値は、それぞれ、2.2、2.2、4.9、および 4.5 ppm でした。女性では、総水銀値の高い毛髪は 5.6 ppm でありメチル水銀値は、3.1 ppm でした。

ベニン（試料数：116 男；46 女；70）

男性では、総水銀量が 100 ppm を超える毛髪が、2 検体、1000 ppm を超える毛髪が 2 検体ふくまれていました。これらのメチル水銀値を測定した結果は、いずれも 1 ppm 以下でした。女性では、1000 ppm を超える毛髪は、18 検体（約 25%）もあり、これらのいくつかについて、メチル水銀値を測定した結果、全て 1 ppm 以下であることが判明しました。これらの地域では、水銀を多量に含んだ化粧品などが使用されていることから、これらの高濃度の水銀は、化粧品などから来ていることが推定されました。

フランス領ギニア（試料数：112 男；75 女；37）

毛髪は、金鉱山による水銀汚染地域から採取されたものであり、総水銀量は、男性で平均 8.2 ppm、女性で平均 10.8 ppm と極めて高い値を示しました。特に、若い女性や子供に高く、総水銀量が 21.1、15.2、15.9、および 13.3 ppm の毛髪のメチル水銀値は、それぞれ、18.7、14.6、13.5 および 12.2 ppm と極めて高い値でした。そこで、来年度、毛髪を提供してくれた研究者を当研究センターに招聘し、現地の水銀汚染状況や魚の摂取状況等についてセミナーを開いてもらうと共に、低濃度水銀の妊婦に対するリスク等の情報を提供し、水銀汚染に対応するつもりです。



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) Nakamura K.
Mercury-pollution and the occurrences of mercury-resistant bacteria in Minamata Bay, Japan
In : Proceedings of the International Workshop on Health and Environmental Effects of Mercury
-Impacts of Mercury in South and Central America-
pp. 46-57, 2003.
- (2) Matsuyama A., Qu L, Yasutake A., Yamaguchi M, Aramaki R, Liu X., Jian P, Lie L, Li M, An Y, Yasuda Y.
Distribution of Methylmercury in an area polluted by mercury containing wastewater from an organic chemical
factory in China.
Bull Environ Contam Toxicol. **5**, 846-852, 2004.
- (3) Hachiya N., Yasutake A., Kuroki S., Nagano M., Miyamoto K., Eto K.
Safety margin and risk perception is insufficient on exposure to methylmercury among Japanese consumers
In: Proceedings of NIMD Forum 2005 Current Problems in Risk Evaluation and Risk Management of
Methylmercury and Cadmium
pp. 79-83, 2005.
- (4) Hachiya N., Yamaguchi M, Matsumoto M, Yasutake A.
Methylmercury exposure level in current Japanese population through ordinal fish consumption.
In : Proceedings of the International Workshop on Health and Environmental Effects of Mercury
-Impacts of Mercury in South and Central America-
pp.111-119、2003.
- (5) 蜂谷紀之
リスクコミュニケーションツールとしての毛髪水銀
公衆衛生 **68**, 528, 2004.
- (6) 中村邦彦
細菌を利用した水銀のバイオレメディエーション
水環境学会誌 **28**, 58-62, 2005.

2) 学術研究会による発表

- (1) Nakamura K, Morishita K
The occurrences of mercury-resistant bacteria in Minamata Bay.
7th International Conference on Mercury as a Global Pollutant
June 2004, Ljubljana, Slovenia
- (2) Hachiya N, Yasutake A, Miyamoto K, Kuroki S, Yamaguchi M, Eto K
Attitudes about low level methylmercury risk problems among Japanese consumers
7th International Conference on Mercury as a Global Pollutant
June 2004, Ljubljana, Slovenia
- (3) Horvat M, Logar M, Ogrinc N, Fajon V, Lojen S, Akagi H, Ando T, Tomiyasu T, Matsuyama A
The effect of sampling and sample pretreatment on MeHg concentration in coastal marine sediments
7th International Conference on Mercury as a Global Pollutant
June 2004, Ljubljana, Slovenia
- (4) Lasut MT, Yasuda Y
Concentration of mercury in Buyat Bay, North Sulawesi, Indonesia: bioaccumulation, contamination status and potential impact to human
7th International Conference on Mercury as a Global Pollutant
June 2004, Ljubljana, Slovenia
- (5) Maramba NPC, Reyes JR, Francisco-Rivera AT, Panganiban LCR, Dioquino C, Dando N, Timbang P, Akagi H, Castillo MT, Quitoriano C, Afuang M, Matsuyama A, Eguchi T and Fuchigami Y
Health risk assessment among mother and abandoned mercury mines
7th International Conference on Mercury as a Global Pollutant
June 2004, Ljubljana, Slovenia
- (6) Mashyanov N, Matsuyama A, Akagi H, Pogarev S, Ryzhov V
Mercury thermo-speciation in contaminated soils and sediments
7th International Conference on Mercury as a Global Pollutant
June 2004, Ljubljana, Slovenia
- (7) Matsuyama A, Okada K, Akagi H
New recycle system on discarded fluorescent lamp by using low thermal treatment with some modified
7th International Conference on Mercury as a Global Pollutant
June 2004, Ljubljana, Slovenia

- (8) Tada A, Yano S, Oshikawa H, Nakamura T, Akagi H, Matsuyama A, Tomiyasu T, Rajar R, Horvat M
Improvement if in situ measurement of mercury transport in the Manamata Bay
7th International Conference on Mercury as a Global Pollutant
June 2004, Ljubljana, Slovenia
- (9) Tomiyasu T, Matsuyama A, Eguchi T, Fuchigami Y, Oki K, Horvat M, Rajar, Akagi H
Apatial variations of mercury in the sediments of Minamata Bay, ten years later from Minamata Bay Pollution Prevention Project
7th International Conference on Mercury as a Global Pollutant
June 2004, Ljubljana, Slovenia
- (10) Yano S, Tada A, Oshikawa H, Nakamura T, Akagi H, Matsuyama A, Tomiyasu T, Rajar R, Horvat M
The first trial of in situ measurement of mercury transport by using an oceanographic method in the Minamata Bay
7th International Conference on Mercury as a Global Pollutant
June 2004, Ljubljana, Slovenia
- (11) Yasuda Y, Qu L, Matsuyama A, Usuki F, Yasutake A, Aramaki R, Yamaguchi M, Liu X, Liu L, Li M, An Y, Nakano N and Jian P
A survey of environmental pollution by mercury derived from factory drain in Guizhou China
7th International Conference on Mercury as a Global Pollutant
June 2004, Ljubljana, Slovenia
- (12) Yasutake A, Matsumoto M, Yamaguchi M, Hachiya N
Current hair mercury levels in Japanese for estimation of methylmercury exposure
7th International Conference on Mercury as a Global Pollutant
June 2004, Ljubljana, Slovenia
- (13) Yasutake A, Matsuyama A, Mashyanov N, Ryzhov V, Nikiforov A
Mercury monitoring in ambient air in the Minamata area
7th International Conference on Mercury as a Global Pollutant
June 2004, Ljubljana, Slovenia
- (14) 岩原正宜、谷口智穂、葛西健太郎、中村邦彦
「水銀気化性細菌と電気化学的手法を用いた水銀含有溶液からの水銀除去・回収」
第8回マリンバイオテクノロジー学会大会 平成 17年 5月 (熊本)

- (15) 蜂谷紀之, 安武章, 黒木静香, 宮本清香, 永野匡昭, 衛藤光明

魚介類を介したメチル水銀曝露のリスク問題（3）大都市部における曝露状況とリスク認知
第 63 回日本公衆衛生学会 平成 16 年 10 月（松江市）

- (16) 蜂谷紀之, 中野篤浩, 安武章, 小泉昭夫

保存血液・食事試料を用いた 1979 年から 1997 年のメチル水銀曝露量の推定
第 75 回日本衛生学会総会 平成 17 年 3 月（新潟市）

3) その他

- (1) 馬場 清

水俣病の経験を世界に発信し、後世に伝えるために～「水俣病関連資料総合調査事業」について～
Libella 81, 6-7, 2004

2. 臨床部

1) 学術刊行物による発表

- (1) Usuki F, Yasutake A, Umehara F, Higuchi I
Beneficial effects of mild lifelong dietary restriction on skeletal muscle: prevention of age-related mitochondrial damage, morphological changes, and vulnerability to a chemical toxin.
Acta Neuropathologica **108**, 1-9, 2004.
- (2) Usuki F, Yamashita A, Higuchi I, Ohnishi T, Shiraishi T, Osame M, Ohno S
Inhibition of nonsense-mediated mRNA decay rescues the mutant phenotype in collagen VI-deficient Ullrich's disease.
Ann Neurol **55**, 740-744, 2004.
- (3) Miyamoto K, Wakamiya J
Health survey of inhabitants of fishing villages in a mercury-polluted area of the amazon.
In : Proceedings of the International Workshop on Health and Environmental Effects of Mercury
-Impacts of Mercury in South and Central America-
pp. 113-136, 2003.
- (4) 岩下眞一、鳥居 勇、山田聡子、坂口里美、谷川富夫、宮本謙一郎、浅山 滉
手根管症候群における感覚神経の順・逆行法による障害部位の検討
臨床脳波 **46**, 345 - 350, 2004
- (5) 衛藤光明、竹屋元裕、秋間道夫
水俣病（メチル水銀中毒）の感覚障害に関する考察－末梢神経の病理学的所見を踏まえて
最新医学 **59**, 150-156, 2004.
- (6) 宮本清香、黒木静香、安武 章、臼杵扶佐子
毛髪を試料とした水銀値測定と情報提供
保健の科学 **47**, 313-317, 2005 .

2) 学術研究会による発表

- (1) Eto K, Yasutake A, Takeya M, Tokunaga H
A neuropathological study of adult exposure to low level methylmercury.
Oct. 2004, Brisbane, Australia
- (2) Miyamoto K, Nakanishi H, Moriguchi S, Fukuyama N, Eto K, Wakamiya J, Murao K, Arimura K, Osame M
Involvement of enhanced sensitivity of NMDA receptors in vulnerability of developing cortical neurons to methylmercury neurotoxicity.
July 2004, Tampere, Finland
- (3) Usuki E, Yamashita A, Higuchi I, Ohno S
Effect of the inhibition of nonsense-mediated mRNA decay on the mutant phenotype in Ullrich's disease
International Symposium, Molecular Therapy of Muscular Dystrophy / Part II
Nov. 2004, Tokyo
- (4) Usuki E, Sasagawa N, Takeshita Y, Yasutake A, Momoi T
Cellular stress responses following exposure to methylmercury
NIMD FORUM 2005 Joint Workshop on Health Effects of Methylmercury and Cadmium.
January, 2005, Minamata, Japan
- (5) 宮本謙一郎、若宮純司、山田聡子、岩下眞一、谷川富夫、浅山 滉
「術後乳癌患者の芳香療法における選択的痛覚閾値とサーモグラフィの検討」
第 34 回日本臨床神経生理学会・学術大会 平成 16 年 11 月 (東京)
- (6) 内野 誠、若宮純司、平野照之、秋葉澄伯、安藤哲夫、有村公良
水俣病認定患者の神経症候の軽時的推移に関する研究
水俣病検診・審査促進研究班 平成 17 年 3 月 (東京)
- (7) 二塚 信、北野隆雄、庄野昌博、若宮純司
水俣病発生地域の健康状態に関する解析
水俣病検診・審査促進研究班 平成 17 年 3 月 (東京)
- (8) 秋葉澄伯、若宮純司、安藤哲夫、北野隆雄、児玉知子、有村公良、中川正法、納 光弘、二塚 信
水俣病患者と水俣病発生地区・非発生地区住民の健康問題の比較に関する研究
水俣病検診・審査促進研究班 平成 17 年 3 月 (東京)

- (9) 中川正法、有村公良、児玉知子、若宮純司、秋葉澄伯、北野隆雄、二塚 信、納 光弘
水俣病発生地域住民の健康状態に関する研究
水俣病検診・審査促進研究班
平成 17 年 3 月（東京）
- (10) 宮本謙一郎、若宮純司、山田聡子、岩下眞一、谷川富夫、浅山 滉
「術後乳癌患者の芳香療法における選択的痛覚閾値とサーモグラフィの検討」
第 34 回日本臨床神経生理学会・学術大会 平成 16 年 11 月（東京）
- (11) 宮本謙一郎、若宮純司、村尾光治、有村公良
「胎児性水俣病モデルラットの生後発達における n-3 系多価不飽和脂肪酸の影響」
日本脂質栄養学会第 11 回大会 平成 14 年 9 月（函館）
- (12) 中村政明、安東由喜雄、永原俊治、佐野明彦、植田光晴、今西 武
「BNA 化した single-stranded oligonucleotides (SSOs) による FAP の遺伝子治療とその評価」
第 51 回日本臨床検査医学会総会
- (13) 衛藤光明、安武 章、保田叔昭、秋間道夫、下関敏江、徳永英博、金子陽介
「コモン・マーモセットにおけるメチル水銀中毒症－胎児期曝露の病理学的研究」
第 45 回日本神経病理学会総会学術研究会 平成 16 年 5 月（前橋）
- (14) 衛藤光明、竹屋元裕、徳永英博
「低濃度メチル水銀の成人への影響に関する神経病理学的研究」
第 93 回日本病理学会総会 平成 16 年 6 月（札幌）
- (15) 臼杵扶佐子、樋口逸郎、大野茂男
Nonsense-mediated mRNA decay (NMD) の抑制による Ullrich 病細胞機能の回復
第 45 回 日本神経学会総会 平成 16 年 5 月（東京）

3. 基礎研究部

1) 学術刊行物による発表

- (1) Yamaguchi M, Yasutake A, Nagano M, Yasuda Y
Accumulation and distribution of methylmercury in freshwater- and seawater-adapted eels.
Bull Environ Contam Toxicol **73**, 257-63, 2004.
- (2) Yoshida M, Watanabe C, Satoh M, Yasutake A, Sawada M, Ohtsuka Y, Akama Y, Tohyama C
Susceptibility of metallothionein-null mice to the behavioral alterations caused by exposure to mercury vapor at human-relevant concentration.
Toxicol Sci **80**, 69-73, 2004.
- (3) Yasutake A, Hirayama K
Effects of iron overload on hepatic and renal metallothionein levels in rats.
J Health Sci **50**, 372-378, 2004.
- (4) Yasutake A, Sawada M, Shimada A, Satoh M, Tohyama C
Mercury accumulation and its distribution to metallothionein in mouse brain after sub-chronic pulse exposure to mercury vapor.
Arch Toxicol **78**, 489-495, 2004.
- (5) Shimada H, Takamure Y, Shimada A, Yasutake A, Waalkes MP, Imamura Y
Strain difference of cadmium-induced hepatotoxicity in Wistar-Imamichi and Fisher 344 rats: involvement of cadmium accumulation.
Toxicology **203**, 189-197, 2004.
- (6) Shimada H, Takahashi M, Shimada A, Okawara T, Yasutake A, Imamura Y, Kiyozumi M
Protection from spontaneous hepatocellular damage by N-benzyl-D-glucamine dithiocarbamate in

Long-Evans Cinnamon rats, an animal model of Wilson's disease.

Toxicol Appl Pharmacol **202**, 59-67, 2005.

- (7) Yasutake A, Nagano M, Nakano A

Simple method for methylmercury estimation in biological samples using atomic absorption spectroscopy.

J Health Sci **51**, 220-223, 2005.

- (8) Adachi T, Takanaga H, Kunimoto M, Asou H

Influence of LIF and BMP-2 on differentiation and development of glial cells in primary cultures of embryonic rat cerebral hemisphere.

J Neurosci Res **79**, 608-615, 2005.

- (9) Nakano A, Miyamoto K

Development of analytical method for methylmercury determination by atomic absorption photometry.

In : Proceedings of the International Workshop on Health and Environmental Effects of Mercury

-Impacts of Mercury in South and Central America-

pp. 218-128, 2003.

2) 学術研究会による発表

- (1) Yasutake A, Hachiya N

Current hair mercury levels in Japanese for estimation of methylmercury exposure.

NIMD FORUM 2005 Joint Workshop on Health Effects of Methylmercury and Cadmium.

January, 2005, Minamata, Japan

- (2) 足立達美, 佐藤雅彦, 国本 学

「大脳半球及び小脳由来の培養アストロサイトにおける水銀化合物に対する感受性並びにチオール化合物レベルの差」

フォーラム 2004 : 衛生薬学・環境トキシコロジー 平成 16 年 10 月 (千葉)

(3) 岡崎舞子、坂上元栄、森直子、足立達美、原俊太郎

「低レベルメチル水銀によって誘導されるラット小脳顆粒細胞培養系の caspase 非依存性アポトーシスは PARP の活性化を伴わない」

日本薬学会第 125 年会 平成 17 年 3 月（東京）

4. 疫学研究部

1) 学術刊行物による発表

- (1) Pan HS, Sakamoto M, Liu XJ, Futatsuka M
Deficits in rat brain growth induced by methylmercury treatment during the brain growth spurt.
J Health Sci **51**, 1-7, 2005.
- (2) Murata K, Sakamoto M, Nakai K, Weihe P, Dakeishi M, Iwata T, Liu XJ, Ohno T, Kamiya K, Satoh H
Effects of methylmercury on neurodevelopment in Japanese children in relation to Madeiran study.
Int Arch Occup Environ Health **77**, 571-579, 2004.
- (3) Sakamoto M, Kakita A, Oliveira RB, Pan HS, Takahashi H
Dose-dependent effects of methylmercury administered during neonatal brain spurt in rats.
Dev Brain Res **152**, 171-176, 2004.
- (4) Sakamoto M, Kubota M, Liu XJ, Murata K, Nakai K, Satoh H
Maternal and fetal mercury and n-3 polyunsaturated fatty acids as a risk and benefit of fish consumption to fetus.
Environ Sci Technol **38**, 3860-3863, 2004.
- (5) Sakamoto M, Kubota M
Plasma fatty acid profiles in 38 pairs of maternal and umbilical cord blood samples.
Environ Health & Prev Med **9**, 67-69, 2004.
- (6) Pan HS, Sakamoto M, Oliveira RB, Liu XJ, Kakita A, Futatsuka M
Changes in methylmercury accumulation in the brain of rat offspring throughout gestation and during suckling.
Toxicol Environ Chem **86**, 163-170, 2004.
- (7) Nakai K, Suzuki K, Oka T, Murata K, Sakamoto M, Okamura K, Hosokawa T, Sakai T, Nakamura T, Saitoh Y, Kurokawa N, Kameo S, Satoh H
A Cohort study of effects of perinatal exposures to methylmercury and environmentally persistent organic pollutants on neurobehavioral development in Japanese children.
Tohoku J Exp Med **202**, 227-237, 2004.

- (8) Sakamoto M, Kubota M, Pan H S, Kakita A
Changes in Methylmercury exposure to offspring throughout gestation and suckling: A mini-review
In: Proceedings of NIMD FORUM 2005 Current Problems in Risk Evaluation and Risk Management
of methylmercury and Cadmium pp.103-115,2005
- (9) 坂本 峰至、赤木 洋勝
メチル水銀（広範囲血液・尿化学検査・免疫学的検査—その数値をどう読むか—）
日本臨床 62 巻増刊号 **12**, 529-532, 2004.
- (10) 坂本 峰至、衛藤 光明
成人においても微量のメチル水銀は危険なのか？
医学のあゆみ **211**, 1155-1156, 2004.
- (11) 坂本峰至
「不知火海沿岸住民における毛髪中水銀濃度の 1960 年以後の継時的変動」
水俣病研究 3, 72-76, 2004.

2) 学術研究会による発表

- (1) Sakamoto M
Methylmercury exposure in general populations of Japan, Asia and Oceania.
International Workshop On Harmonization of Mercury Measurement Methods and Models to Assess
Source-Receptor Impact on Air Quality and Human Health.
May 2004, Maratea, Italy.
- (2) Nakai K, Murata K, Suzuki K, Oka T, Sakamoto M, Yasutake A, Kameo S, Kurokawa N, Sugawara N, Satoh H
Methylmercury Exposure in the Tohoku Pregnant Women.
7th ICMGP 2004 June 2004, Ljubljana, Slovenia.
- (3) Sakamoto M, Kubota M, Liu X. J, Murata K, Nakai K, Satoh H
Maternal and fetal mercury and n-3 polyunsaturated fatty acid as a risk and benefit of fish consumption to
fetus.
Methylmercury Exposure in the Tohoku Pregnant Women.
7th ICMGP 2004 June 2004, Ljubljana, Slovenia.

- (4) Sakamoto M, Oliveira R B, Pan H S, Liu X. J, Akagi H
Changes in methylmercury accumulation in the brain of rat offspring throughout late and during suckling.
Methylmercury Exposure in the Tohoku Pregnant Women.
7th ICMGP 2004 June 2004, Ljubljana, Slovenia.
- (5) Sakamoto M, Kubota M, Liu X. J, Kaneoka T, Akagi H
Relationships in mercury concentrations between methylmercury exposure biomarkers such as, maternal and umbilical cord red blood cells, umbilical cords and placentas.
Methylmercury Exposure in the Tohoku Pregnant Women.
7th ICMGP 2004 June 2004, Ljubljana, Slovenia.
- (6) Satoh H, Nakai K, Suzuki K, Oka T, Murata K, Sakamoto M, Okamura K, Hosokawa T, Sakai T, Nakamura T, Saito Y, Kurokawa N, Kameo S
A Cohort Study of Effects of Perinatal Exposures to Methylmercury and Environmentally persistent Organic Pollutants on Neurobehavioral Development in Japanese Children: Study design and status report.
7th ICMGP 2004 June 2004, Ljubljana, Slovenia.
- (7) Loi D. V, Anh L. L, Duc A. T, Thong Q. N, Sakamoto M, Boudou A, SHAFER J
Contamination by Cadmium and Mercury of the water, Sediment and Biological component of hydrosystems around Hanoi, Vietnam.
NIMD FORUM 2005 Joint Workshop on Health Effects of Methylmercury and Cadmium. January, 2005, Minamata, Japan
- (8) 坂本峰至
スロベニアにおける水銀に関する国際会議レビュー
第5回横浜微量成分ワークショップ 平成16年7月（横浜）
- (9) 有村公良、劉 曉潔、坂本峰至、加藤たけ子、岡元美和子、納 光弘、三田勝巳、秋葉澄伯、平山清武、松葉佐正、泉川良範、赤滝久美
「胎児性水俣病患者の機能障害とその対策に関する研究」
平成16年度重金属等の健康影響に関する総合研究 平成17年2月（東京）
- (10) 佐藤 洋、仲井邦彦、亀尾聡美、永沼 章、村田勝敬、吉田 稔、坂本峰至、岩田豊人、嶽石美和子、岡 知子、鈴木恵太
「メチル水銀を中心とした水銀の健康影響と国際的水銀汚染問題に関するレビュー」
平成16年度重金属等の健康影響に関する総合研究 平成17年2月（東京）

- (11) 高橋 均、譚 春鳳、豊島靖子、坂本峰至、柿田明美

「メチル水銀が神経系に与える特異的な影響に関する研究：発生期脳における未分化細胞の移動障害メカニズムの解明」

平成 16 年度重金属等の健康影響に関する総合研究 平成 17 年 2 月（東京）

- (12) 高橋 均、坂本峰至、潘煥生、柿田明美、劉 曉潔、村田勝敬、仲井邦彦、佐藤 洋

「メチル水銀が神経系に与える影響に関する研究－メチル水銀間欠曝露による血メチル水銀濃度“spike”が脳への水銀蓄積と神経変成へ及ぼす影響に関する研究－」

平成 16 年度重金属等の健康影響に関する総合研究 平成 17 年 2 月（東京）

- (13) 劉 曉潔、坂本峰至、赤木洋勝、平野裕司

「魚類等のメチル水銀及び総水銀濃度に関する調査研究」

第 75 回日本衛生学会 平成 17 年 3 月（新潟）

3) その他

- (1) Sakamoto M, Speets Ir.Jan A, Margono S, Alkadri H.W, Nakano A, Liu X. J, Matsuyama A, Eto K.

Mission Report—Investigation Into Suspected Mercury Contamination in People Living Near Buyat Bay, Manado, North Sulawesi, Indonesia.

Study Group for WHO Indonesia-Project Proposal (2004)

September 2004

5. 所内セミナー記録

1. イタイイタイ病の病理

富山医科薬科大学名誉教授・あゆみの郷施設長

北川 正信

(平成 16 年 5 月 18 日)

イタイイタイ病（イ病）は富山県神通川流域に、地域限定性に生じている疾患である。その主要病変は腎病変と骨病変とから成っている。腎病変は「尿細管症」と名づけられている尿細管の変性・萎縮・消失で、それは近位部から始まる。骨病変は全身性の骨粗鬆症を伴う骨軟化症で、これらが進むと、骨格変形や骨折の多発を来す。“耐え難い痛み”の正体は骨痛である。腎は尿細管症の進行度によって軽度（100-120g）、中等度（70-90g）、高度（60g 以下）の“萎縮腎”となり、著しい皮質の菲薄化が特徴的である。骨粗鬆症は明らかに対照高齢者のそれより程度が強く、常時骨吸収（破骨）活動が亢進していて、その結果骨梁縁の不整化を来し、皮質骨の海綿骨化をも招来し、容易に骨折が生ずるようになる。骨軟化症は石灰化へ進まない類骨の量が増すことによる、文字どおり荷重で撓み易い、軟らかい骨に変化することである。組織学的には、類骨量の骨梁中に占める％によって程度分けしているが、「高度」ではしばしばX線写真上“改変層”を見る。骨格の変形や身長短縮はこれら両病変によってもたらされる。

腎尿細管症の程度と骨病変の程度とは原則的に相関しており、イ病は「カドミウム（Cd）の慢性中毒により近位尿細管上皮の傷害が進行し、ビタミンDの活性化障害、カルシウム・磷のアンバランスを来して、腎にファンconi症候群をもたらした病態」と解されている。しかし、Cdが骨代謝（骨芽細胞の働き）を直接障害する可能性も示唆されており、これが閉経後の女性にイ病が多いことの説明に役立つ。

イ病に見られる腎と骨との特徴的病変の組み合わせは他疾患には見られないものであり、同様の症例が長崎県対馬の佐須川流域、兵庫県市川流域、石川県梯側川流域等のCd汚染地でも観察されている。また、実験的にもCdによる両病変作製が成功するようになっていて、本症がCdによって起こることはもはや動かし難い事実である。

6. 客員研究員指導記録

1. 中国における水銀の人為的な環境汚染及び住民の疫学的調査に関する研究

王 青躍 (埼玉大学大学院理工学研究科環境制御工学専攻循環制御研究室 助教授)

近年、中国の経済が急速な成長を遂げた事は知られている。15年の通商白書に拠れば、これからの東アジアは世界の成長中心と言われている。一方、中国では、高度成長期の日本よりも、もっと深刻な環境汚染に悩む地域が多く形成してきている。今のままの状態、経済発展を突き進めば中国の自然環境は、さらに深刻化する事態を招くであろう。特に、水系及び大気系における環境汚染物質が最も多く排出されており、東アジア全域に及ぶ問題となっている。

中国近海の汚染状況や対策をまとめた報告書「中国海洋環境保護」では、経済発展が著しい沿岸海域で赤潮が頻発、重金属の汚染も深刻になり、特に長江（揚子江）河口から東シナ海にかけて汚染が深刻化している実態が明らかになった。今回は中国最も大きな漁港及び沿岸都市部の魚介類の水銀(Hg)汚染物に関する実態調査により、その地域住民の水銀汚染現状を把握することを一つの目的としている。

一方、中国のエネルギー消費は76%石炭に頼っている。石炭の燃焼由来Hgが排出されているが、排出地域とその被害が生じている地域は必ずしも一致していない。各地に分布する石炭中Hgの含有量や燃料の利用形態、Hgの移動・輸送・汚染機構などの差異が原因であると考えられている。そのため、本研究では、広域人為的燃焼由来の水銀(Hg)の発生源排出量分布を調査し、低品位燃料の利用地域(遠隔地、農村、炭鉱、貧困地域)、並びに都市化しつつある太平洋沿岸部、都市部、発展地域における自動車由来のHg排出量分布を把握していく必要がある。そちらの汚染現状は全く把握できない状態であり、現地調査との共同研究を開始する。それらの調査結果を元に、地域別のHg排出量マップの作成とデータベースの構築をもう一つの目的としている。

また、地域住民髪の毛の尿や頭髮中のHg組成分析など、健康影響や疫学的な実態調査を通じて、そのHg環境汚染源と健康被害との関連性を検証することも重要な目標としている。さらに、実地サンプリングや疫学と環境モニタリングを実施することによって、中国のHg汚染に関する局地的、地域的特性を評価することができると思われる。

2. 胎仔肢芽培養法を用いた水銀とセレンの相互作用の解析

米元 純三 (国立環境研究所 環境ホルモン・ダイオキシンプロジェクト 総合研究官)

胎仔肢芽培養法は、分化への影響と細胞増殖への影響とを同時に、定量的に評価できることから *in vitro* の発生毒性スクリーニング法として有用である。一方、単独の物質への曝露における EC50 の値を1として相対化した Toxic Unit (TU) と isobole diagram を用いて相互作用の有無、複合作用のタイプ、様式を示すことが提案されている (Sprague, 1970; Dawson and Wilke, 1991)。相互作用の知られている水銀

化合物とセレンの混合物について、胎仔肢芽培養法を用いて発生毒性を検討し、複合作用の解析を試みた。

Hg-Se の場合、細胞増殖への影響において毒性の軽減が顕著で、特に Hg-Se 3:1 と 1:1 において大きい。これに対し、分化への影響では 1:1 にのみ毒性の軽減が見られた。他方、MMC-Se では毒性の軽減の程度は Hg-Se より小さく毒性の軽減はむしろ分化への影響において見られた。このように複合作用に特異性があることは興味深い。また、Hg-Se 3:1 の細胞増殖および細胞分化をそれぞれ対照の 50% 阻害する濃度 IP50 と ID50 の TU の比は 5.44 と非常に高く、濃度比によっては発生毒性のポテンシャルが高くなる可能性が示唆された。

また、このときの水銀濃度および GSH 濃度を測定した。MMC の場合、細胞内の水銀濃度は培養液中の濃度にほぼ比例しているのに対し、Hg の場合、培養液中の濃度に対する細胞内の濃度の割合は Se の複合群でいずれも高くなっており、Hg-Se のコンプレックスの形成によると考えられた。毒性の軽減と水銀濃度との関連は特に見いだせなかった。細胞内の GSH 濃度は、Hg 群で非常に高いことが注目される。Se との複合では、MMC の場合、1:3 がもっとも高く、Hg の場合、3:1 がもっとも高かった。これは単に単独投与群の濃度を反映した結果とも解釈されるが、毒性との関連では、毒性の軽減の程度の大い場合、GSH 濃度が低い傾向がみられた。

3. コモンマーモセットにおける歯科アマルガム由来水銀の生体影響

高橋 好文（愛知学院大学歯学部 助教授）

歯科アマルガムからは絶えず微量の金属水銀蒸気が遊離し、呼吸作用に伴って肺を介して生体に取り込まれ続ける。この種の水銀の想定される標的組織は脳と腎臓であるが、その生体影響については議論が続いており、明確な安全性が確立されていない。本研究は、口腔内に充填されたアマルガムから遊離する水銀蒸気が、ヒトへの健康に影響を及ぼす可能性を検証するために、ヒトに近似する咀嚼機能、歯数および胎盤を有するコモンマーモセットを用いてアマルガムからの水銀曝露試験を行ない、歯科アマルガムの安全性を評価することを目的とする。雌雄のコモンマーモセットの歯に歯科用アマルガムを充填した上で、経時的に血液および呼気中の水銀濃度をモニターしながら飼育を継続することによって、アマルガムからの水銀遊離状況の把握と、出生仔をも対象とした水銀の分布と生体影響についての検討が可能である。このような飼育条件下で 16 年度は 1 仔の出産を得ている。

4. 培養細胞を用いたメチル水銀の無機化反応機構の解明

三浦 郷子（和光大学経済学部 教授）

ヒトおよび哺乳動物に取り込まれたメチル水銀（MeHg）は、時間の経過にともなって体内で無機水銀に変換されることが報告されている。無機水銀は MeHg と比べて排泄されやすいため、体内蓄積量を減少させる重要な要因と考えられている。このことから、体内での無機化反応を促進すれば、メチル水銀の腸肝循環を減少し、その結果生物学的半減期を短縮することができ、また脳への移行量の減少も可能と推測される。そこで、本研究では MeHg の毒性発現が異なる組織由来の細胞株を用いて、MeHg の無機化反応の意義について検討を行っている。手始めに、現在所有しているチャイニーズハムスター正常卵巣由来の細胞（CHO）、肺由来の細胞（V79）およびヒト由来 glioblastoma（U373MG）を用いて、MeHg に対する影響を WST-1 assay にて調べた。次に MeHg の無機化反応の有無を確認するため、細胞の増殖速度が速い CHO 細胞に MeHg（細胞に全く毒性が認められない最終濃度 2 μ M）を添加し、MeHg 添加 24 時間または 48 時間後、CHO 細胞内で MeHg の無機化反応が起こっていることを確認した。細胞非存在下では、無機水銀の生成は認められなかった。今回の実験方法では MeHg の細胞内無機化反応を明確にとらえるにあたって、多くの細胞が必要であり、1 つの実験結果を得るのに多くの時間を要するという問題点がある。今後は、MeHg の細胞内無機化反応をより、明確にとらえることができる方法を確立する必要がある。また、MeHg の毒性発現が異なるヒト組織由来の細胞株で実験を行い、無機化反応のメカニズムについて検討し、MeHg の無機化反応の意義について明かにできるものとする。

5. 内分泌かく乱作用が疑われる化学物質の生殖系・次世代への影響評価に関する研究

宮川 宗之（独立行政法人 産業医学総合研究所研究企画官）

妊娠中期のラットに PCB 153 を強制経口投与し、次世代における行動・認知機能（学習・記憶）への影響を測定するとともに、神経伝達物質や甲状腺ホルモン・性ホルモンの変化をあわせて検索し、内分泌かく乱作用が疑われる化学物質の次世代影響を明らかにすべく検討を行った。我々は、血中甲状腺ホルモン（ T_4 および T_3 ）濃度、TSH に対する T_4 分泌の応答性を測定した結果、妊娠中に母体が高容量の PCB 153 曝露を受けると、産仔の脳下垂体－甲状腺の機能にわずかな変化をもたらすが、体成長に対する明確な影響は検出されなかった。また、性ホルモンの検討では、PCB 153 曝露による若成熟期の雄性仔ラットの血中テストステロン濃度への影響は見られなかったが、成熟期の雄性仔ラットでは血中性ホルモンの顕著な低下が認められた。また、テストステロンの前駆体であるプロジェステロンの低下も観察され、PCB 153 は性ステロイドホルモンの体内合成に影響を与える可能性が示唆された。一方、PCB の出生前後の投与により、セロトニン濃度あるいはセロトニン代謝物は、雌雄ラットとも dose-dependent に増加した。さらに出生仔の DA ニューロンの活性を高める可能性が示されたことから、PCB の周産期曝露が出生仔の情動に何らかの影響をもたらす可能性が考えられた。また、妊娠中に高いレベルで PCB 153 曝露を受けた仔ラットの成長後に、オペラント条件づけを応用した手法を用いて認知機能を測定した結

果では、条件づけ訓練時に雄では比較的高い反応率を示す時機があったが、学習習得や短期記憶の保持といった認知機能に対する影響や、多動や行動性亢進といった情動面に及ぼす明確な影響は示されなかった。

6. 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

出雲 周二（鹿児島大学医歯学総合研究科 教授）

9週令の雄ラットを用いてメチル水銀モデルラット（20 ppm Hg, 21 日間給水曝露；1 日最大摂取量 600 μ g Hg）を作成し、抗酸化剤 Trolox および Edaravone の治療効果について検討した。Trolox（2.5 mg/kg）、Edaravone（5 mg/kg あるいは 10 mg/kg）は 5 日/週、腹腔内投与した。投与終了後 4 日目に解剖し、4%パラフォルムアルデヒド還流後、組織を採取した。脳、脊髄、脊髄後根神経節の病理学的、免疫組織学的な検討を行うために、標本ブロックを作成した。ラットのメチル水銀中毒の徴候である後肢交差現象は、メチル水銀単独投与群で一匹のみ陽性、Trolox 同時投与群と Edaravone 10 mg/kg 同時投与群で一匹ずつが擬陽性で他は陰性であったが、病理学的にはメチル水銀投与群すべてで小脳顆粒細胞核のピクノーシス、後根神経節細胞の変性、脊髄後根神経・脊髄後索の変性など、メチル水銀中毒病変が認められた。組織内総水銀、無機水銀含量の検討では、Trolox および Edaravone による水銀排泄は認められなかった。現在、脊髄後根神経・後根神経節、脊髄後索病変について、カスパーゼ染色や ssDNA 染色によるアポトーシスの検出、エボン包埋標本を用いた変性線維の定量的な解析をおこない、Trolox および Edaravone の病理変化に及ぼす効果について検討を進めている。

7. 環境有害因子に曝露された小児の神経運動機能の評価

村田 勝敬（秋田大学医学部 教授）

【抄録】 神経行動学的検査は環境有害因子のリスク評価に古くより使用されている。現在、1つの鞆とノートパソコンを持ち歩けば、身体重心動揺、ふるえ、耳一手協調運動、反応時間、finger tapping の検査を実施することができる“CATSYS 2000”がデンマークで製造販売されている。本稿は、これらの測定法（finger tapping を除く）と環境保健領域で得られた研究成果の概要を紹介した。この機器は運搬・操作が容易であるため欧米で使用されているが、この簡便性ゆえに研究者が予期せぬ落とし穴に嵌ったと思われる論文も散見された。

【はじめに】 環境有害因子による小児の神経行動学的評価に関する報告は幾つかある。低濃度メチル水銀の胎児期曝露による影響評価として、Child Behavior Checklist、McCarthy General Cognitive Test、California Verbal Learning Test、Bender Copying Test、Boston Naming Test、McCarthy Motor Test、反応時間、Finger tapping などが使用され、これらの指標の幾つかは出生時メチル水銀曝露指標と有意な量一影響（反

応) 関係を示した¹⁻³⁾。また、小児の鉛による神経行動学的影響に関する論文も多数ある⁴⁾。したがって、これらを列挙するとすれば枚挙に暇がない。

本稿では、日本で行われた低濃度メチル水銀の胎児期曝露による7歳児神経運動機能影響の評価に用いられた身体重心動揺、ふるえ (tremor)、耳一手協調運動 (ear-hand coordination)、反応時間について述べる⁵⁾。これらの測定はデンマークの Danish Product Development 社 (<http://www.catsys.dk/>) より発売されている“CATSYS 2000”に全て含まれており⁶⁾、フェロー諸島出生コホート研究の14歳児調査でも使用された⁷⁾。この装置はわが国では薬事申請されていないので、医療用診断目的で使用することはできないが、調査研究用としての使用は可能である。以下、本装置を用いた測定法およびこれまでの研究成果を概観する。

【身体重心動揺検査】 この検査は、身体重心を固い床面に置いた板 (重心動揺計) に投影し、その前後方向と左右方向の移動距離 (偏位) や移動面積を計測する方法である。対象者に、裸足で重心動揺計の中央上にゆっくりと乗ってもらい、両足を1 cm 離して平行に置き、直立姿勢を約1分 (65.5秒) 間保持してもらう⁸⁾。開眼時検査では、対象者は2 m前方の壁に置かれた目印を見続ける。また、閉眼時検査では目を閉じたまま直立姿勢を保持してもらう。小児の検査では、この後厚さ約7 cmのウレタンフォームを足と重心動揺計の間に入れ、先程の開眼時および閉眼時検査を繰り返す。フォームを置くことで足裏 (下肢深部知覚) の不安定感が増し、揺れが強調され、曝露影響の検出率が高くなると考えられている⁸⁾。なお、身体重心動揺 (およびふるえ) 検査は4歳前後から測定可能と思われるが、測定時間を短縮し、かつ開眼時のみにしないと検査の完遂は困難であろう。

上述したように、身体重心の移動距離および面積、Romberg 比 (開眼時と閉眼時の測定値の比) が得られるが、このほか偏位データを高速フーリエ変換法によるスペクトル解析すると、身体重心の揺れの周波数0~1.0、1.0~2.0、2.0~4.0 Hzの成分パワースペクトル密度を算出することも可能となる。横山らは特徴的な障害部位を抱える患者の重心動揺を以下のように整理している⁹⁾。(1) 前庭小脳路 (lower vermis) 障害では、揺れの周波数や方向に特徴がなく、視覚入力による調整が働かないため開眼時にも動揺が生ずる、(2) 下肢からの深部感覚入力を含む脊髄小脳路障害では、閉眼時に1 Hz以下の揺れ周波数の動揺 (どちらかと言えば、左右方向優位の動揺) が生ずる、(3) 小脳前葉障害では、閉眼時に2~4 Hzの揺れ周波数で、主に前後方向の動揺が生ずる。したがって、これらの点に注目すれば、平衡機能の障害部位をある程度推定することも可能となろう。

【ふるえ検査】 この検査では手のふるえ変化を加速度センサー内蔵の検出器で一定時間計測する。椅子の背もたれに接触しないように座った対象者に、上腕を体幹から離し、肘を90°屈曲し、手を腹臍部より10 cm 離し、検出器を親指と人差指で把持してもらう。利き手および非利き手を各々16.4秒間測定し、平均ふるえ強度 (m/s^2) およびふるえの中心周波数 (Hz) が算出される⁶⁾。このほか毎時のふるえ強度をスペクトル解析することにより、ふるえ周波数1.0~5.9、6.0~9.9、10.0~13.9 Hzの成分パワースペクトルを算出することが可能となる。

7歳児 (男子167名、女子160名) で検討すると⁵⁾、ふるえ強度に男女差は認められなかったが、性・年齢は基本的な交絡因子 (あるいは共変量) と考えるべきであろう。このほか、看護師の心拍数とふるえ強度との間に有意な正の相関が認められており¹⁰⁾、心臓拍動が上肢を経て手のふるえに影響する可能

性が考えられる。

【耳一手協調運動検査】 この検査は、一定の音刺激リズムに手の動きをどれほど合わせることができるかどうか調べる⁶⁾。すなわち、CATSYS システムから出る信号音に合わせて、机の上に置いたスイッチ内蔵の円盤を手の回内位一回外位で交互に叩かせ、信号音に合わせて正確にスイッチが押されたのかどうかを時間差（毎回の時間のずれの平均）で表す。信号音は 1 Hz および 2.5 Hz の一定間隔のものと、最初 1.6 Hz から 7.5 Hz まで 12 秒間に音刺激間隔を速めていくものの計 3 種類が用意されている。検査では、利き手および非利き手を別々に調べる。

【反応時間検査】 この検査では、音（あるいは光）信号を感知した後いかに敏捷にスイッチ操作に結び付けられるかを調べる。対象者に押しボタン（スイッチ）のついた棒を片手で持たせ、不規則な時間間隔で発する信号音を聞く度に直ぐにボタンを押させる⁶⁾。この音刺激からスイッチ操作までの平均時間を算出する。利き手および非利き手の両方を検査する。

【測定成績】 低濃度メチル水銀曝露による神経発達影響を検討した日本の横断研究（7 歳児 327 名）では上述の神経運動検査全てが測定された⁵⁾。性・年齢（および身長）補正を施した偏相関係数の解析で、母親毛髪水銀濃度と有意な関係が見られたのは開眼時前後方向の移動距離（ウレタンフォーム無し）と 1 Hz リズムの耳一手協調運動平均時間差の 2 つであったが、多重有意性検定を行うと有意性（ $p < 0.05$ ）が消失する程度の弱い関係であった。また、フェロー諸島出生コホート研究（14 歳児 878 名）では、ふるえ、耳一手協調運動、反応時間、finger tapping が“CATSYS 2000”を用いて行われたが、研究成果はまだ発表されていない⁷⁾。これら両研究で、身体重心動揺のいずれの指標も男子の方が女子より有意に大きい数値を示していた。この性差は出生時の母親毛髪水銀濃度、出生時体重、測定時の年齢や身長などを用いても説明することができなかった。

Nadeau らは気中エタノール濃度 0、250、500、1000 ppm の空気を吸入させた対象者 5 名の神経運動機能（身体重心動揺、ふるえ、協調運動、反応時間）を調べたが、いずれも有意な変化は見られなかった¹¹⁾。吸入曝露では限界があり、今後飲酒の神経運動機能への急性影響を確認する必要がある。

Carta らは魚（特にマグロ）多食群 22 名とその対照群 22 名の比較を行い、幾つかの神経行動学的検査（color word reaction time、digit symbol reaction time など）で有意差を認めたが、CATSYS のふるえ指標では有意差を検出できなかった¹²⁾。

ノルウェイのマンガン合金工場で働く労働者 100 名（28～62 歳）と年齢を合致させた対照群 100 名（28～61 歳）の神経運動機能が測定された¹³⁾。前者の血中マンガン濃度は平均 189（84～426）nmol/l であり、後者は平均 166（72～374）nmol/l であった（ $p = 0.002$ ）。協調運動とふるえで有意差が認められたが、反応時間には有意差が見られなかった。また、ふるえ検査では喫煙者の方が非喫煙者よりもふるえが大きいことが示された。一方、南アフリカのマンガン精錬工 509 名（平均年齢 45.1 歳、血中マンガン濃度 $12.5 \pm 5.6 \mu\text{g/l}$ ）と外部の非曝露集団 67 名（平均年齢 38.6 歳、血中マンガン濃度 $6.4 \pm 1.7 \mu\text{g/l}$ ）を調べた Myers らは、WHO の神経行動テストバッテリー（NCTB）の digit symbol 得点でマンガンの累積曝露指標（ $\text{mg/m}^3/\text{年}$ ）の増加に伴って有意に低下することを見出したが、CATSYS のふるえ検査指標のいずれにおいても有意差あるいは有意な関係を観察することができなかった¹⁴⁾。

Ishii らは夜勤を含む交替制勤務の看護師と日勤のみの看護師の神経運動機能を調べた¹⁰⁾。交替制看護師の1 Hz リズム平均時間差は、日勤看護師と比べ、有意に大きいことが見出された。しかし、飲酒量、コーヒー摂取回数、喫煙ではこの差を説明できなかった。その他の検査成績（身体重心動揺、ふるえ、反応時間）に有意差は見られなかった。

【おわりに】 神経運動機能検査の測定法について概説した。これらの検査は性・年齢、身長（身体重心動揺検査の時）のほか、外傷（骨折、脱臼）、喫煙、飲酒などの影響を受ける可能性があるため、これらを確認する必要がある（フェロー諸島出生コホート研究の14歳児検査時に喫煙者や習慣的飲酒者が何人かいた）。その上で、これらの交絡因子（共変量）を統計的に調整しなければならない。また、神経運動機能検査の中で相互に関連する指標（例えば、身体重心動揺検査とふるえ検査）もあるかもしれない。このような交絡因子（共変量）はこれまでほとんど検討されていない。また、神経運動機能は被験者が意図的に振る舞えば数値が大きく変わりうることを認識しておくべきである。また、低年齢の子供を対象とする時は、検査者の交代あるいは言動でデータが異なってくることもありうる。フェロー諸島出生コホート研究では、神経心理学者が測定していた検査項目を、時間の都合で熟練検査技師に代わったためにリスクの過小評価に結びついた可能性が報告されている⁷⁾。すなわち、上述のCATSYSの測定成績で有意な結果があまり見られなかったのは、測定手技が簡単であることに甘んじ、複数の未熟練測定者が検査を行った結果であったかもしれないのである。したがって今後の調査研究においては、ひとりの習熟した検査者が、定められた手技に従って、測定することが肝要であるように思われる。

【引用文献】

1. Davidson, P.W. et al.: Effects of prenatal and postnatal methylmercury exposure from fish consumption on neurodevelopment: outcomes at 66 months of age in the Seychelles Child Development Study. *JAMA* **280**: 701-707, 1998.
2. Grandjean, P. et al.: Cognitive deficit in 7-year-old children with prenatal exposure to methylmercury. *Neurotoxicol. Teratol.* **19**: 417-428, 1997.
3. Kjellström, T. et al.: Physical and mental development of children with prenatal exposure to mercury from fish. Stage 2, interviews and psychological tests at age 6 (Report 3642). National Swedish Environmental Protection Board, Stockholm, 1989.
4. International Programme on Chemical Safety: Inorganic Lead (Environmental Health Criteria 165). World Health Organization, Geneva, 1995.
5. Murata, K. et al.: Effects of methylmercury on neurodevelopment in Japanese children in relation to Madeiran study. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* (in press).
6. Despres, C. et al.: Standardization of a neuromotor test battery: the CATSYS system. *Neurotoxicology* **21**: 725-735, 2000.
7. 村田勝敬・他: フェロー諸島における出生コホート研究. 環境科学会誌 **17**: 169-180, 2004.
8. Bhattacharya, A. et al.: Effect of early lead exposure on children's postural balance. *Dev. Med. Child Neurol.* **37**: 861-878, 1995.
9. Yokoyama, K. et al.: Subclinical vestibule-cerebellar, anterior cerebellar lobe and spinocerebellar effects in lead

- workers in relation to concurrent and post exposure. *Neurotoxicology* **18**: 371-380, 1997.
10. Ishii, N. et al.: Effects of shift work on autonomic and neuromotor functions in female nurses. *J. Occup. Health* **46**: (in press).
 11. Nadeau, V. et al.: Neuromotor effects of acute ethanol inhalation exposure in humans: a preliminary study. *J. Occup. Health* **45**: 215-222, 2003.
 12. Carta, P. et al.: Sub-clinical neurobehavioral abnormalities associated with low level of mercury exposure through fish consumption. *Neurotoxicology* **24**: 617-623, 2003.
 13. Bast-Pettersen, R. et al.: Neuropsychological function in manganese alloy plant workers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* **77**: 277-287, 2004.
 14. Myers, J.E. et al.: The nervous system effects of occupational exposure on workers in a South African manganese smelter. *Neurotoxicology* **24**: 885-894, 2003.



8. 赤ちゃんの神経行動発達とその診かた

大城 昌平（聖隷クリストファー大学 教授）

近年、子どもの健康に与える環境汚染物質が大きな問題となっている。「環境ホルモン」は、極微量であっても発達途上の胎児、新生児、乳幼児に対して、いろいろな問題を引き起こす可能性がある。環境ホルモンの中枢神経系への影響は、胎児奇形や早産、乳幼児の精神発達遅滞や行動問題との関連が指摘されている。本セミナーでは、このような環境ホルモン及び水銀の中枢神経系への影響をみる一つの評価尺度として、「新生児神経行動発達評価（Neonatal Behavioral Assessment Scale; NBAS）」について紹介した。

新生児の神経行動発達は、自律神経系、運動系、状態系（state）、注意/相互作用系の4つの系の枠組みで捕らえることができる。この4つの系は、階層的かつ相乗的に組織化する。自律神経系は呼吸・循環器系、内臓器系など生理機能の恒常性、運動系は姿勢や自発運動、原始反射の活動性などの運動調整能力、状態系は睡眠－覚醒リズムや意識状態（state）の調整能力、注意/相互作用系は視聴覚刺激に対する反応や覚醒状態を調整して外界と関わる能力を示す。新生児の中枢神経系に問題ある場合、その徴候はいずれかの系に生じる。

具体的には、NBASは検査者が新生児を取り扱いながら、この4つの行動系の安定性と全体の組織化を

評価する。評価は 35 項目の行動評価と、18 項目の神経学的評価から構成される。評価結果は 1) 慣れ反応（睡眠状態の安定性）、2) 相互作用（敏活性、視聴覚刺激に対する注意と反応性）、3) 運動（運動の成熟性）、4) 意識状態の組織化と調整能力（意識状態の安定性と調整能力）、5) 自律神経系の安定（呼吸循環系、神経系の安定）、6) 誘発反応（筋緊張・原始反射）の項目群に分けて、新生児神経行動の発達をとらえる。中枢神経系の異常徴候としては、自律神経徴候（振戦、驚愕）、過敏性（睡眠状態の不安定性、易刺激性、意識状態の変わりやすさ）、自己調整の乏しさ（落ち着きにくさ、など）、動きの異常（攣動的な四肢の動き）、筋緊張の異常（筋のつっぱり）、原始反射の異常（低反応や過剰反応）などである。

NBAS は、臨床活用では新生児の発達評価、研究利用では周産期リスク因子と新生児行動発達との関連の分析、新生児行動に対する母体の薬物使用や環境汚染の影響など、新生児小児科分野および発達心理学分野などで世界的に広く利用されている。

新生児期の脳は可塑性に富む。そのため、なんらかの中枢性障害があった場合も、適切な環境を提供することによって、その機能は代償される可能性が高い。早期に新生児の神経行動発達を評価することは、児の発達を支援することにつながる。

7. 所内研究発表会記録

■ 平成 16 年 6 月 15 日

衛藤 光明（所長）

「コンモ・マーモセットにおけるメチル水銀中毒症一胎児期曝露の病理学的研究」

「低濃度メチル水銀の成人への影響に関する神経病理学的研究」

中村 邦彦（国際・総合研究部）

「世界の水銀汚染地域住民の毛髪中の水銀量調査」

蜂谷 紀之（国際・総合研究部）

「リスクコミュニケーションツールとしての毛髪水銀」

■ 平成 16 年 7 月 27 日

黒木 静香（臨床部）

「住宅改修について」

安武 章（基礎研究部）

「LUMEX 水銀分析装置 RA - 915 を用いた分析 - 生体試料（毛髪）と大気 - 」

■ 平成 16 年 10 月 19 日

坂本 峰至（疫学部）

「胎・乳児期別メチル水銀リスク評価」（5 年間の成果総括）

藤村 成剛（基礎研究部）

「抗精神病薬の開発研究－NMDA 拮抗剤誘発 Neuronal vacuolization に着目して－」

「抗アルツハイマー薬の開発研究 –Tau リン酸化酵素 GSK-3・に着目して－」

「神経細胞の増殖および伸展に対する環境有害物質の作用

およびその薬剤治療に関する研究（案）」

宮本 静香（臨床部）

「毛髪水銀値測定の経過報告」

■ 平成 16 年 11 月 30 日

足立 達美（基礎研究部）

「培養アストロサイトにおけるグルタチオン、メタロチオネインの変化と水銀毒性」

宮本謙一郎（臨床部）

「無機水銀中毒ラットの腎障害に対するセレノメチオニンの効果」

中村 政明（臨床部）

「家族性アミロイドポリニューロパチー（FAP）の治療戦略」

「メチル水銀の毒性評価のためのバイオマーカーの探索」

■ 平成 16 年 12 月 15 日

村尾 光治（臨床部）

「カニクイザルの指迷路試験評価」

若宮 純司（臨床部）

「水俣病の病像について」

■ 平成 17 年 1 月 25 日

劉 曉潔（疫学部）

「魚類等のメチル及び総水銀濃度に関する調査研究」

永野 匡昭（基礎研究部）

「メチル水銀の生体内無機化反応について」

白杵扶佐子（臨床部）

「メチル水銀中毒における glutathione peroxidase の動態」－NMD 関与の可能性－

■ 平成 17 年 3 月 8 日

丸本 幸治（国際・総合研究部）

「土壌表面から発生する水銀量の測定」

松山 明人（国際・総合研究部）

「水俣湾海水中における水銀の挙動について」

保田 叔昭（国際・総合研究部）

「海岸動物および底質のメチル水銀測定値」

8. 客員研究記録

- (1) 独立行政法人環境研究所基盤研究技術ラボラトリー環境生物資源研究室室長 桑名 貴
(基礎研究部 足立 達美)
「代謝系解析のためのモデル動物開発」
- (2) 埼玉大学大学院理工学研究科環境制御工学専攻循環制御研究室助教授 王 青躍
(疫学研究部 坂本 峰至 劉 曉潔)
「途上国低品位燃料から排出される水銀科学種曝露影響の疫学的研究」
- (3) 独立行政法人国立環境研究所内分泌かく乱物質及びダイオキシン類のリスク評価と
管理プロジェクトグループ健康影響研究チーム総合研究官 米元 純三
(基礎研究部 中野 篤浩)
「生体内におけるセレンの役割に関する研究」
- (4) 愛知学院大学歯科部歯科理工学講座助教授 高橋 好文
(基礎研究部 安武 章)
「コモンマーモセットにおける歯科アマルガム由来水銀の生体影響」
- (5) 和光大学経済学部教授 三浦 郷子
(基礎研究部 永野 匡昭)
「培養細胞を用いたメチル水銀の無機化反応機構の解明」
- (6) 独立行政法人産業医学総合研究所企画調整部研究企画官 宮川 宗之
(臨床部 宮本 謙一郎)
「性ホルモンのメチル水銀中毒への影響」
- (7) 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科附属附属難治ウイルス病態制御研究センター
分子病理病態研究分野教授 出雲 周二
(臨床部 臼杵 扶佐子)
「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」
- (8) 秋田大学医学部社会環境医学講座環境保健学分野教授 村田 勝敬
(疫学研究部 坂本 峰至)
「低濃度水銀影響のポジティブコントロールとしての水俣病患者における電気生理学的検討」

- (9) 秋田大学医学部社会環境医学講座環境保健学分野助手 岩田 豊人
(疫学研究部 坂本 峰至)

「低濃度水銀影響のポジティブコントロールとしての水俣病患者における電気生理学的検討」

- (10) 聖隷クリストファー大学リハビリテーション学部教授 大城 昌平
(疫学研究部 坂本 峰至 劉 曉潔)

「メチル水銀の胎児期曝露影響の疫学的研究」

9. 共同研究記録

- (1) 元市立水俣病資料館長 志水 恒雄
(国際・総合研究部 蜂谷 紀之)
「水俣病に関連する聞き取り調査（水俣病発生の社会的影響と地域再生に関する影響）」

- (2) 鹿児島大学医学部保健学科臨床作業療法学専攻助手 柳田 信彦
(臨床部 黒木 静香)
「社会的要因が胎児性水俣病患者に与えた心理的影響に対する臨床的アプローチ」

- (3) 東北大学大学院医学系研究科社会医学講座環境保健医学分野医科学修士課程 大葉 隆
(疫学研究部 坂本 峰至)
「毛髪水銀の研究に関する研究（低濃度メチル水銀胎児健康影響研究）」

- (4) 熊本大学医学部附属病院病理部主任臨床検査技師 徳永 英博
(所長 衛藤 光明)
「1）低濃度メチル水銀暴露における剖検脳の神経病理学的研究 2）コモン・マーモセットにおける微量メチル水銀経世代暴露の影響 3）カニクイサルにおける急性メチル水銀中毒実験」

- (5) 鹿児島大学理学部地球環境科学科助教授 富安 卓滋
(国際・総合研究部 松山 明人)
「八代海・水俣湾における残留水銀動態予測に関する研究」

- (6) 鹿児島大学理学部地球環境科学科助教授 井村 隆介
(国際・総合研究部 松山 明人)
「水俣地域の水環境中における水銀動態調査」

- (7) 鹿児島大学理学部地球環境科学科多様性生物学講座助教授 宮本 旬子
(国際・総合研究部 松山 明人)
「水俣地域の水環境中における水銀動態調査」

- (8) 熊本大学大学院医学教育部病態情報解析学分野研究院 宮崎光二セバスチャン
(国際・総合研究部 馬場 清)
「ブラジル連邦共和国アマゾンタパジヨス川流域住民健康改善計画」

- (9) 独立行政法人国立環境研究所環境健康研究領域健康指標研究室主任研究員 山元 恵
(基礎研究部 中野 篤浩)
「生体内における水銀と必須元素との相互作用に関する研究」
- (1 0) 長崎大学工学部社会開発工学科助教授 埴田 彰秀
(国際・総合研究部 松山 明人)
「八代海・水俣湾における残留水銀動態予測に関する研究」
- (1 1) 九州大学大学院工学研究院環境都市部門学術研究員 矢野 真一郎
(国際・総合研究部 松山 明人)
「八代海・水俣湾における残留水銀動態予測に関する研究」
- (1 2) 鳥取大学農学部獣医学科助手 澤田 倍美
(基礎研究部 安武 章)
「コモンマーモセットにおける歯科アマルガム由来水銀の生体影響」
- (1 3) 国土環境株式会社環境創造研究所環境科学グループ一般職員 平野 裕司
(疫学研究部 坂本 峰至)
「低濃度メチル水銀胎児健康影響研究」
- (1 4) 三菱ウェルファーマ株式会社創薬本部研究部門創薬第 1 研究所薬理 1A
グループ副主任研究員 藤村 成剛
(基礎研究部 中野 篤浩)
「生体内における水銀と必須元素との相互作用に関する研究」
- (1 5) 北里大学薬学部衛生薬学科専任講師 清野 正子
(国際・総合研究部 中村 邦彦)
「水俣湾の水銀耐性菌の遺伝学的研究」
- (1 6) 熊本大学医学部保健学科助手 森 信子
(基礎研究部 永野 匡昭)
「培養細胞を用いたメチル水銀の無機化反応機構の解明」
- (1 7) 鹿児島大学医学部公衆衛生学講座兼任講師 安藤 哲夫
(臨床部 宮本 謙一郎)
「不飽和脂肪酸のメチル水銀中毒への影響に関する研究」

- (18) 愛媛大学農学部生態系保全学研究室科学技術振興研究補助員 池本 徳孝
(基礎研究部 安武 章)
「海洋哺乳類動物肝臓におけるメチル水銀の解毒機構」
- (19) 長崎大学環境科学部環境科学科教授 中村 武弘
(国際・総合研究部 松山 明人)
「八代海・水俣湾における残留水銀動態予測に関する研究」
- (20) 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
(所長 衛藤 光明)
「新潟水俣病全剖検例の生化学的・病理学的研究」
- (21) 九州大学大学院農学研究院応用微生物学講座教授 古川 謙介
(国際・総合研究部 中村 邦彦)
「水俣湾の水銀耐性菌の遺伝学的研究」
- (22) 東京大学大学院工学系研究科附属水環境制御センター教授 矢木 修身
(国際・総合研究部 中村 邦彦)
「水俣湾の水銀耐性菌の遺伝学的研究」
- (23) 筑波大学大学院生命環境科学研究科教授 内山 裕夫
(国際・総合研究部 中村 邦彦)
「水俣湾の水銀耐性菌の遺伝学的研究」
- (24) 九州大学大学院理学府附属臨海実験所助手 森 敬介
(国際・総合研究部 保田 叔昭)
「水俣湾その他の潮間帯生態系における水銀レベルの現況（全国調査）」
- (25) 九州大学大学院理学府博士課程3年 新垣 誠司
(国際・総合研究部 保田 叔昭)
「水俣湾の生態系における水銀レベルの現状」
- (26) 九州大学大学院理学府博士課程3年 横尾 誠
(国際・総合研究部 保田 叔昭)
「水俣湾その他の潮間帯生態系における水銀レベルの現況（含全国調査）」

- (27) 九州大学大学院理学府博士課程1年 栗元 美代子
(国際・総合研究部 保田 叔昭)
「水俣湾その他の潮間帯生態系における水銀レベルの現況 (含全国調査)」
- (28) 九州大学大学院理学府博士課程1年 前泊 大心
(国際・総合研究部 保田 叔昭)
「水俣湾その他の潮間帯生態系における水銀レベルの現況 (含全国調査)」
- (29) 九州大学大学院理学府博士課程1年 Kakasukasen Andreas Roeroe
(国際・総合研究部 保田 叔昭)
「水俣湾その他の潮間帯生態系における水銀レベルの現況 (含全国調査)」
- (30) 九州大学大学院理学府天草臨海実験所技術職員 田中 健太郎
(国際・総合研究部 保田 叔昭)
「水俣湾その他の潮間帯生態系における水銀レベルの現況 (含全国調査)」
- (31) 東京大学大学病院総合文化研究科生命環境科学系助手 笹川 昇
(臨床部 臼杵 扶佐子)
「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」
- (32) 東京大学大学病院総合文化研究科生命環境科学系博士課程1年 三橋 弘明
(臨床部 臼杵 扶佐子)
「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」
- (33) 沖縄県立看護大学情報科学系助手 金城 芳秀
(疫学研究部 坂本 峰至)
「魚介類摂取に伴うメチル水銀低濃度曝露におけるリスク評価に関する研究＝一般成人における基礎的検討＝」

10. 委員会名簿

各委員会名簿（平成16年度）

平成16年4月1日

	総務課	主任研究 企画官	国際・総合 研究部	臨床部	基礎研究部 疫学研究部	施設長等
医療廃棄物管理 委員会	三橋 英夫		中村 邦彦	◎若宮 純司	中野 篤浩	
放射線実験棟運営 委員会	三橋 英夫		中村 邦彦	◎臼杵扶佐子	永野 匡昭	中野 篤浩
放射線安全委員会	三橋 英夫		中村 邦彦	村尾 光治	◎足立 達美 山口 雅子	
学術委員会	山内 義雄	中野 篤浩	◎蜂谷 紀之	宮本 清香	劉 曉潔	
図書・文献委員会	須貝 一春		山川 伸也	◎若宮 純司	足立 達美	
機器整備委員会	川久保康範		中村 邦彦	宮本謙一郎	◎坂本 峰至	
動物実験施設 委員会	須貝 一春		保田 叔昭	◎村尾 光治	永野 匡昭	中野 篤浩
動物倫理 安全委員会	川久保康範		蜂谷 紀之	◎宮本謙一郎	山口 雅子	
研究倫理審査委員会	三橋 英夫	中野 篤浩	蜂谷 紀之	黒木 静香	安武 章	◎衛藤 光明
組替 DNA 実験安全委員会	三橋 英夫			◎臼杵扶佐子	安武 章	中村 邦彦
リサーチ・リソー ス・バンク運営 委員会	山内 義雄		山川 伸也	宮本 清香	劉 曉潔	◎衛藤 光明
国際研究協力棟 運営委員会	山内 義雄		馬場 清	宮本謙一郎	中野 篤浩	◎中村 邦彦

コンピューター 環境整備委員会	川久保康範		山川 伸也	若宮 純司	◎足立 達美	
定期刊行物編集 委員会	山内 義雄	◎中野 篤浩	馬場 清 蜂谷 紀之	黒木 静香	山口 雅子	
化学物質及び 廃棄物管理委員会	川久保康範		松山 明人	臼杵扶佐子	◎安武 章	
情報センター 運営委員会	山内 義雄		馬場 清	宮本 清香 黒木 静香	劉 曉潔	◎中村 邦彦
国際共同研究 推進室	川久保康範		蜂谷 紀之 馬場 清	宮本謙一郎	坂本 峰至	◎中村 邦彦
研究企画室	三橋 英夫	◎中野 篤浩	保田 叔昭 蜂谷 紀之	臼杵扶佐子	安武 章 坂本 峰至	

※ ◎は委員長及び室長

※ 任期は平成 17 年 3 月 31 日までとする

1 1. 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	平成 12 年度	平成 13 年度	平成 14 年度	平成 15 年度	平成 16 年度
人 件 費	(252,161) 257,656	(250,977) 260,226	(254,760) 264,965	(76,256) 79,832	(ー) ー
事 務 費	(95,000) 101,401	(97,319) 104,899	(90,750) 97,162	(95,474) 101,740	(102,455) 108,716
研 究 費	(295,088) 278,702	(268,666) 282,560	(281,778) 293,991	(304,044) 318,271	(312,448) 329,138
施 設 整 備 費	(0) 0	(0) 0	(0) 0	(297,793) 298,148	(291,311) 291,853
計	(642,249) 637,759	(616,962) 647,685	(627,288) 656,118	(773,567) 797,991	(706,214) 729,707

上段 () 書きは補正後予算額

※ 平成 15 年度の一部及び 16 年度の人件費については、環境調査研修所において計上されている。

2. 定 員

区 分	平成 12 年度	平成 13 年度	平成 14 年度	平成 15 年度	平成 16 年度
総 務 課	4	4	4	4	4
国際・総合研究部	7	7	7	8	8
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	3	3
計	29	29	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	496.78	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
水 俣 病 情 報 セ ン タ ー	1808.94	平成 13 年 3 月竣工

※施設配置図の挿入（旭印刷に保管）

附 1. 人事異動

年月日	新 職 名	氏 名	異動事由	備 考
16. 4. 1	環境省環境保健部企画課 課長補佐	渡邊 正夫	配置換	疫学研究部解析室長
16. 4. 1	環境省特殊疾病対策室 室長補佐	手塚 英明	配置換	国際・総合研究部 国際・情報室長
16. 4. 1	大臣官房政策評価広報課 地方環境対策調査室	永井 克博	配置換	国際・総合研究部国際係長
16. 4. 1	厚生労働省大臣官房 会計経理室	山崎 学	配置換	国際・総合研究部 国際・情報係員
16. 4. 1	国際・総合研究部 国際・情報室長	馬場 清	配置換	環境調査研修所庶務課 庶務係長
16. 4. 1	国際・総合研究部 国際・情報係員	山川 伸也	配置換	自然環境局総務課 自然保護事務所管理指導室
16. 4. 1	総務課経理係主査	川久保康範	配置換	厚生労働省大臣官房会計課 経理室
16. 4. 1	主任研究企画官	二塚 信	委 嘱	熊本大学医学部教授
16. 4. 1	研究企画官	有村 公良	委 嘱	鹿児島大学医学部助教授
16. 4. 1	研究企画官	永沼 章	委 嘱	東北大学薬学部教授
16. 4. 1	研究企画官	山本 圭子	併 任	環境省環境保健部
16. 6. 1	大臣官房秘書課	須貝 一春	配置換	総務課経理係員
16. 6. 1	総務課経理係員	田中 秀志	配置換	大臣官房総務課
16. 6.30		山口 雅子	退 職	基礎研究部生理室研究員
16. 7. 1	環境省自然環境局 自然環境計画課指導係長	奥山 英史	配置換	総務課経理係長
16. 9. 1	臨床部総合臨床室長	中村 政明	採 用	
16. 9. 1	基礎研究部 生理室長	藤村 成剛	採 用	
16. 12. 1	国際・総合研究部自然科学室 研究員	丸本 幸治	採 用	
16. 3.31		中野 篤浩	退 職	基礎・疫学研究部長
16. 3.31		足立 達美	退 職	基礎研究部病理室主任研究員

附 2. 主な来訪者（敬称は省略させていただきました）

平成 16 年 4 月	9 日	平成 15 年度アルジェリア「固形廃棄物管理」国別研修コース	12 名
6 月	3 日	JICA 環境負荷物質の分析技術及びリスク評価コース	10 名
	17 日	平成 16 年度有害金属等汚染対策コース	9 名
	25 日	第 19 回「産業環境対策」コース	9 名
7 月	1 日	第 6 回 JICA 国別特設「フィリピン都市および産業環境における環境 対処能力向上」コース	12 名
	14 日	韓国済州道環境分野公務員先進環境施設視察	15 名
8 月	18 日	人権教育職員研修（水東小学校）	8 名
	19 日	ブラジル国別案件（鉱山環境技術：鉱山保安、鉱害、環境対策）	4 名
	27 日	平成 16 年度「（第 2 回）産業廃水処理技術Ⅱ」コース	11 名
9 月	9 日	JICA「草の根技術協力事業」	5 名
	15 日	チリ共和国鉱害防止指導体制強化協力事業	5 名
	27 日	平成 16 年度 JICA 集団研修「産業医学コース」	13 名
10 月	5 日	地方自治体による環境再生・保全行政（水俣病の経験と教訓）」	12 名
	6 日	JICA 第 5 回「生活排水対策コース」	10 名
11 月	4 日	平成 16 年度 JICA 集団研修水環境モニタリングコース	12 名
	4 日	平成 16 年度 JICA 集団研修第 5 回農村医学コース	11 名
	19 日	久留米大学学生見学	19 名
12 月	10 日	参議院行政監視委員会調査室視察	2 名
1 月	20 日	チリ共和国鉱害防止指導体制強化協力事業 C/P 研修	4 名
2 月	2 日	カザフスタン共和国環境保護省副大臣視察他 3 名	4 名
	4 日	平成 16 年度環境行政実務研修部局別研修	12 名
	25 日	JICA 研修平成 16 年度「中・東欧産業環境対策コース」	11 名
3 月	2 日	JICA「環境と開発と女性セミナー」	13 名
	23 日	九州大学大学院工学研究院生見学	19 名
	31 日	平成 16 年度アルジェリア国別研修「工業及び都市環境管理」 第 2 回「産業環境対策」コース	12 名

