

## 平成 17 年度年報の発刊にあたって

当センターは、昭和 53 年創設以来 27 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、当センターの「共同研究実験棟」が建設されました。機器の整備も整いつつありますので、来年度からは国内の共同研究や人材育成等において貢献できると考えます。

平成 17 年 7 月に設立された水俣病公式確認 50 年事業実行委員会に参画することになりました。当センターの使命の一つに、公害の原点である水俣病を風化させないための情報発信があります。職員一同真摯にその使命に取り組んで参ります。

平成 17 年 8 月 3～4 日の 2 日間に亘り、「外部研究評価委員会」を開きました。これは研究内容の発表と共に、外部研究者による評価を受け、更に 5 年間の研究指針を決める重要な会議です。長崎大学齋藤 寛学長以下 8 名の委員に評価して頂きました。この結果は「研究評価」報告書として平成 17 年 12 月に公開されました。

国際協力分野では、平成 17 年 12 月 16 日に韓国衛生学会、熊本学園大学との共催で KSEH・Minamata Forum 2005 を開催しました。韓国から 34 名、日本から 18 名の参加でした。平成 18 年 2 月 20～21 日には、「胎児期メチル水銀の曝露と健康影響に関する最近の話題」で、主としてフェロー諸島のコホートスタディを報告して頂き、NIMD Forum 2006 を開催しました。また、WHO(世界保健機構)から 2 名招聘して、最近の当センターの研究内容を報告し、当センターの研究についての理解を深めて頂きました。

ここに平成 17 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 18 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 ) 水俣病に関する研究	3
2 ) 低濃度メチル水銀のリスク評価に関する研究	28
3 ) メチル水銀による生体影響の解明とその臨床応用に関する研究	59
4 ) 水銀の環境科学に関する研究	79
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	101
2 ) 水俣病患者の症状経過・生活状況に関する研究	104
3 ) 国水研の情報発信のためのデータベース作成	105
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	106
5 ) 国際共同研究事業の推進	107
6 ) 開発途上国からの来訪者の研修指導	112
7 ) 世界の水銀汚染地域住民の毛髪の水銀調査・研究	114
8 ) ニカラグア・マナグア湖の水銀汚染に起因する環境汚染および健康影響調査 原題：Environmental Contamination from Mercury in Lake Managua, Nicaragua: Human Health Risk Assessment	116
4 . 研究発表一覧	
1 ) 国際・総合研究部	118
2 ) 臨 床 部	122
3 ) 基礎研究部	126
4 ) 疫学研究部	128

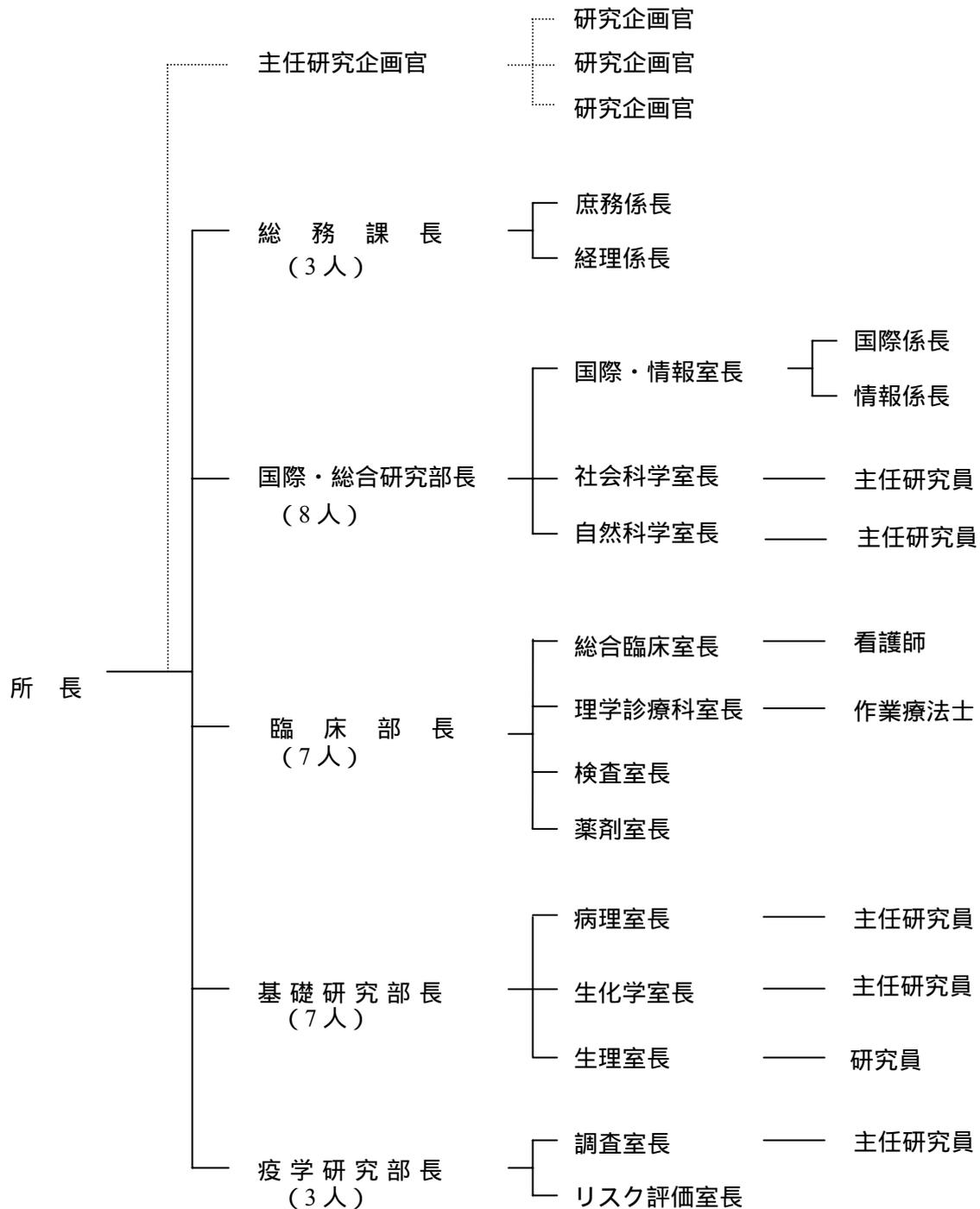
5 . 所内セミナー記録	129
6 . 客員研究員指導記録	134
7 . 所内研究発表会記録	137
8 . 客員研究記録	139
9 . 共同研究記録	140
10 . 委員会名簿	143
11 . 国立水俣病総合研究センターの概要	
1 ) 予 算	145
2 ) 定 員	145
3 ) 主要施設整備状況	146
4 ) 施設配置図	147
附1 . 人事異動	148
附2 . 主な来訪者	149

# 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18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	(委嘱)同	二塚 信	臨床部長	技 官	若宮 純司
研究企画官	(併任)同	町田 宗仁	臨床総合室長	同	中村 政明
同	(委嘱)同	有村 公良	理学診療科室長	同	白杵扶佐子
同	(委嘱)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	須藤 伸一	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		基礎研究部	同	津下 恵
	補佐員	岩本千恵美	基礎研究部長	技 官	中村 邦彦
	同	坂本まり子	病理室長	同	藤村 成剛
	同	宮本 梨恵	病理室研究員	同	澤田 倍美
	同	森山 昌子	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	山元 恵
国際・総合研究部				事 務	
国際・総合研究部長	技 官	坂本 峰至		補佐員	日高くるみ
国際・情報室長	事務官	植田 孝次	疫学研究部		
情報係員	同	山川 伸也	疫学研究部長(併)	技 官	坂本 峰至
社会科学室長	技 官	蜂谷 紀之	調査室主任研究員	同	劉 暁潔
社会科学室研究員	同	新垣たずさ	調査室研究員	同	本多 俊一
自然科学室長	同	保田 叔昭	リスク評価室長	同	松山 明人
自然科学室研究員	同	丸本 幸治		事 務	
	事 務			補佐員	荒川 育子
	補佐員	淵上 重美		同	
	同	淵上美登利			

(定員29人 現員28人)

## 2. 開発研究

### 1. 水俣病に関する研究

#### 研究概要

本研究課題は、水俣病の臨床医学的調査および研究を通じて、水俣病の実態・問題点を明らかにすることを目的としている。

#### (1) 臨床医学的検討

水俣病を診断するための判別式の確立および遅発性発症患者の臨床・疫学的検討、胎児性水俣病患者の臨床症状の経時的な変化や有機水銀中毒と老化の関連性について研究を進めている。

#### (2) 病理学的検討

新潟水俣病全剖検例の生化学的・病理学的検討およ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。

#### (3) メチル水銀の生体に及ぼす影響の検討

亜急性メチル水銀中毒ラットにおけるカテプシンB酵素を介した遅発性神経細胞死に関する研究、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、メチル水銀の認知機能に及ぼす影響に関する研究およびメチル水銀の脳内モノアミン代謝に及ぼす影響に関する研究を行っている。

#### (4) 社会学的検討

水俣地区の再生をサポートするための保健福祉活動と地域再生および公害発生地域の社会史の研究を行っている。

#### [ 研究課題 ]

- |   |                  |
|---|------------------|
| 1. 新潟水俣病全剖検例の生化学的・病理学的検討                | 衛藤 光明 (所長)       |
| 2. 水俣病患者の病像に関する研究                       | 若宮 純司 (臨床部)      |
| 3. メチル水銀中毒の遅発性発症に関する研究                  | 若宮 純司 (臨床部)      |
| 4. 胎児性・小児性水俣病患者の疫学調査                    | 劉 暁潔 (疫学研究部)     |
| 5. メチル水銀中毒の神経細胞局在性障害に関する研究              | 若宮 純司 (臨床部)      |
| 6. 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           | 衛藤 光明 (所長)       |
| 7. a. メチル水銀の認知機能に及ぼす影響に関する研究            | 若宮 純司 (臨床部)      |
| b. Tau蛋白リン酸化に起因する神経変性におけるメチル水銀の作用に関する研究 | 藤村 成剛 (基礎研究部)    |
| 8. メチル水銀の脳内モノアミン代謝に及ぼす影響に関する研究          | 宮本謙一郎 (臨床部)      |
| 9. 公害発生地域の社会史に関する研究                     | 新垣たずさ (国際・総合研究部) |
| 10. 水俣病発生の社会的影響と地域再生に関する研究              | 蜂谷 紀之 (国際・総合研究部) |

## 1) 新潟水俣病全部検例の生化学的・病理学的検討

研究担当者	衛藤 光明 (所長)
	高橋 均 (新潟大・脳研)
	柿田 明美 (新潟大・脳研)
	徳永 英博 (熊本大・医)
	安武 章 (基礎研究部)
	中野 篤浩 (みなまた環境テクノセンタ - )
	澤田 倍美 (基礎研究部)
	金城 芳秀 (沖縄看護大)

### [ 研究の背景および目的 ]

熊本大学医学部で剖検された 450 例の水俣病関係の剖検例に関しては、現在当センターのリサーチ・リソース・バンクで剖検資料を収集して整理を行い全部検例のリストを英文で纏めた著書がある<sup>1)</sup>。本邦における第二の水俣病発生地域である新潟県阿賀野川流域住民の剖検例 30 例の病理標本を収集して、生化学的・病理学的検討を行い、熊本大学医学部の剖検例と同様に全部検例を集約して報告する事を目的とする。

### [ 研究対象および方法 ]

検索対象の年齢、性別、水俣病の病理所見の有無、発症及び死亡時期、水俣病罹患期間をまとめて示した (Table 1)。新潟水俣病の標本は、新潟大学脳研究所 (新大脳研) でパラフィンブロックから改めて作製された。また、ホルマリン固定の脳、小脳、肝臓、腎臓の一部をパラフィンに再包埋して、6 ミクロン切片を作成して水銀組織化学反応を行うと共に、総水銀、メチル水銀、無機水銀濃度を測定し、さらにセレン濃度も測定した。総水銀は 2N NaOH で可溶化した試料を用い、加熱気化金アマルガム法<sup>2)</sup>にて測定した。無機水銀およびメチル水銀の試料は、既報<sup>3,4)</sup> 従って可溶化試料から調整し、同様に加熱気化金アマルガム法にて測定した。セレン濃度は硝酸で灰化後、原子吸光法で測定した。組織切片には、ヘマトキシリン・エオジン染色、Klüver-Barrera 染色、Bodian 染色を施した。脳、小脳の総水銀濃度及びメチル水銀濃度は、別表で示した (Table 2)。臓器水銀濃度測定及び水銀組織化学反応に関しては、臓器の送付がなされた症例のみについて行った (Table 3)。

本研究は、熊本大学の剖検例との比較が必要であるので、双方の概要をまとめて考察した。

### [ 研究結果 ]

本症例は、新潟大学脳研究所で既に剖検診断がなされている。英文で記載されている剖検診断および神経系・一般臓器の所見については省略した。その他、個々の症例の疫学調査、臨床所見は剖検記録を参照して国水研で整理した。さらに、筆頭著者が、新大脳研から送付された上記の染色標本を鏡検して所見をまとめたが、本報告書から除外した。

30 剖検例の中で臨床診断・病理診断共に水俣病であったもの 23 例。水俣病認定症例で水俣病の病理所見の認められないものが 2 例。臨床診断は水俣病の疑い (申請患者) で水俣病の病理所見の認められ

ないものが4例。臨床診断は水俣病の疑い（申請患者）で棄却されたが、水俣病の病理所見の認められたものが1例あった（Table 5）。症例1の21歳、男性の小脳病変で、分子層に小空胞の形成が認められた（図1a, 1b）。これは、コモン・マ・モセットの急性例の病変と酷似していた（図2a, 2b）<sup>5)</sup>。臓器水銀濃度をTable 2に、水銀組織化学反応をTable 3に示した。水銀組織化学反応に関しては、括弧内には強度陽性を3、中等度陽性を2、軽度陽性を1として記載した。NDは実施していないことを示している。セレン濃度については別表（Table 2）に記した。また相関分析（Spearmanの順位相関係数）の結果、肝臓に於いてのみ水銀の化学形（総水銀、メチル水銀、無機水銀）を問わず、水銀とセレンとの間に有意な正の相関関係が得られた（ $n=17$ ;  $p<0.05$ ）。

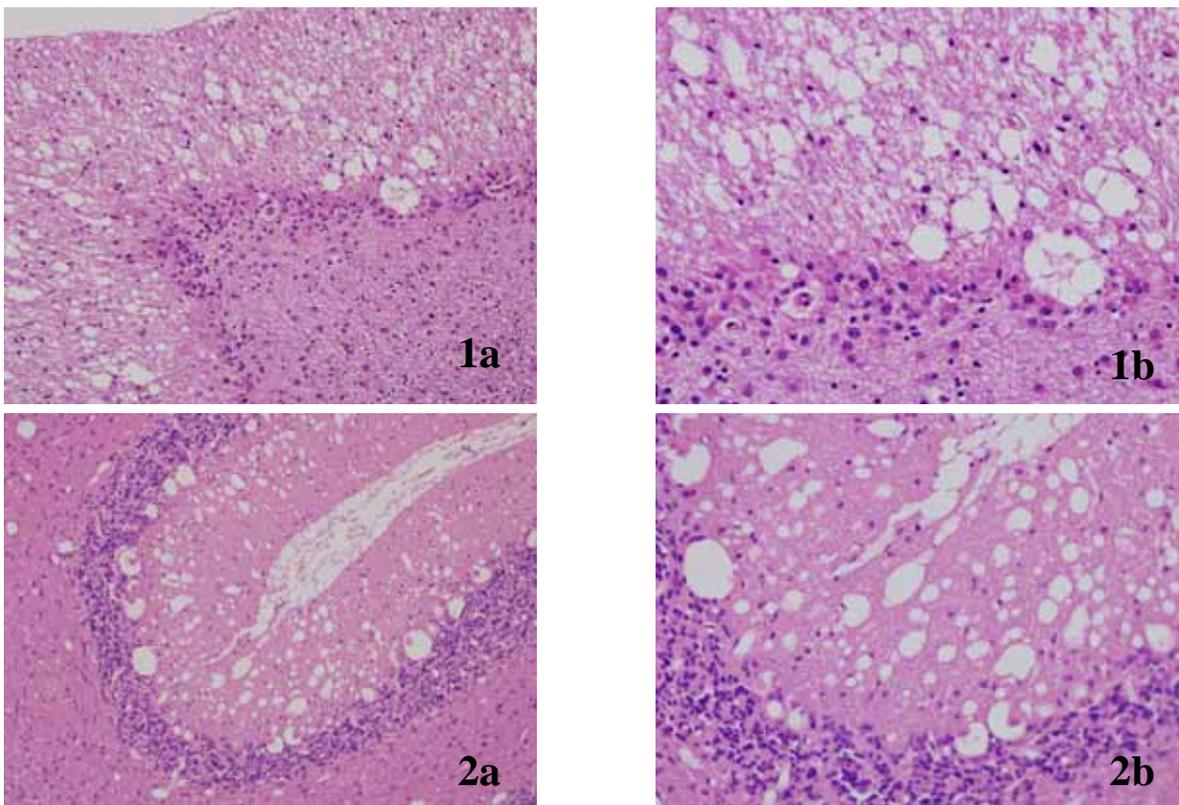


図1a：21歳、男性の小脳。顆粒細胞の著明な脱落とベルグマンガリアの増加。分子層の多発性小空胞が見られる（中拡大、HE染色）。

図1b：図1aの一部拡大（強拡大、HE染色）。

図2a：コモン・マ・モセットのメチル水銀投与実験、急性例。顆粒細胞の中等度減数、プルキンエ細胞の空胞化と脱落及び分子層の多発性小空胞（中拡大、HE染色）。

図2b：図2aの一部拡大（強拡大、HE染色）。

Table 1. Pathological diagnosis and disease duration

No.	Age	Sex	Diagnosis	Onset/death period	Disease duration
1	21	M	MD	1965-02-10/ 1965-03-21	40 days
2	28	M	MD	1965-03-20/1965-06-07	80 days
3	81	F	MD	1964-09/1971-06	8 years
4	72	M	MD	1967/1972	6 years
5	78	M	MD	1965-05/1972-03	7 years
6	56	M	MD	1964-06/1972-11	9 years
7	59	M	MD	1964/1972-12	9 years
8	59	M	MD	1968/1973-01	6 years
9	56	M	MD	1965/1973-05	9 years
10	70	M	MD	1965-06/1973-11	9 years
11	72	M	MD	1968/1974	7 years
12	73	M	no MD	/	/
13	70	M	no MD	/	/
14	48	M	MD	1963/1975-04	13 years
15	79	M	no MD	/	/
16	65	M	no MD	/	/
17	52	M	no MD	/	/
18	52	M	MD	1962-1976-07	15 years
19	72	M	MD	1965-1977-06	13 years
20	75	M	MD	1969-1977-06	9 years
21	67	M	MD	1969-1977-09	9 years
22	74	M	no MD	/	/
23	59	M	MD	1966-01/1978-12	14 years
24	79	M	MD	1967/1979-12	13 years
25	76	M	MD	1969/1979-04	10 years
26	67	M	MD	1960?/1981-03	21 years?
27	86	M	MD	1965-04/1982-12	19 years
28	74	M	MD	1966/1986-02	20 years
29	86	F	MD	1971-1991-06	20 years
30	82	F	MD	1963/1992-05	29 years

M: Male F: Female MD: Minamata disease (pathological diagnosis)

Table 2. Total, methyl and inorganic Hg and Se levels in the tissues ( $\mu\text{g/g}$ ), Niigata Univ. 1999

	Sex (M,F)	Age (Y)	Cerebrum T-Hg	Me-Hg	I-Hg	Se	Cerebellum T-Hg	Me-Hg	I-Hg	Se	Liver T-Hg	Me-Hg	I-Hg	Se	Kidney T-Hg	Me-Hg	I-Hg
1	M	21	17.615	13.670	3.394	0.660	20.921	14.800	5.175	0.725	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	M	28	8.440	5.505	2.752	0.375	9.125	5.938	3.125	0.330	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
3	F	81	0.294	0.169	0.119	0.150	0.234	0.088	0.153	0.115	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4	M	72	0.200	0.028	0.182	0.350	0.406	0.028	0.392	0.370	2.937	0.070	2.867	1.530	14.179	0.224	13.881
5	M	78	0.104	0.075	0.030	0.370	0.126	0.092	0.035	0.260	0.633	0.130	0.474	0.600	2.373	0.076	2.305
6	M	56	0.203	0.127	0.076	0.215	0.203	0.127	0.072	0.470	0.369	0.085	0.280	0.685	0.788	0.076	0.695
7	M	59	0.153	0.038	0.114	0.275	0.225	0.072	0.162	0.295	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
8	M	59	0.098	0.056	0.042	0.225	0.162	0.056	0.112	0.140	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
9	M	56	0.360	0.063	0.298	0.180	0.267	0.075	0.190	0.275	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
10	M	70	0.096	0.064	0.035	0.205	0.107	0.070	0.034	0.225	0.754	0.094	0.631	0.830	0.602	0.043	0.556
11	M	72	0.042	0.024	0.019	0.260	0.053	0.046	0.006	0.365	0.579	0.106	0.487	0.715	0.540	0.020	0.518
12	M	73	0.030	0.019	0.012	0.165	0.028	0.016	0.013	0.115	0.068	0.018	0.051	0.250	0.153	0.023	0.137
13	M	70	0.044	0.025	0.019	0.170	0.049	0.031	0.019	0.260	0.154	0.050	0.106	0.660	1.023	0.037	0.977
14	M	48	1.223	0.106	1.090	0.480	1.425	0.106	1.303	0.560	0.309	0.080	0.223	0.715	21.170	0.080	20.319
15	M	79	0.058	0.031	0.029	0.170	0.048	0.032	0.017	0.150	0.870	0.097	0.749	0.490	0.279	0.032	0.247
16	M	65	0.037	0.021	0.016	0.215	0.029	0.015	0.014	0.255	0.181	0.029	0.152	0.455	0.152	0.019	0.133
17	M	52	0.065	0.047	0.019	0.040	0.079	0.056	0.023	0.080	0.364	0.084	0.248	0.640	1.161	0.049	1.137
18	M	52	0.096	0.057	0.038	0.365	0.098	0.072	0.026	0.345	0.167	0.031	0.137	0.450	0.198	0.020	0.176
19	M	72	0.198	0.153	0.044	0.175	0.108	0.062	0.046	0.260	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
20	M	75	0.274	0.055	0.020	0.255	0.168	0.084	0.093	0.210	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
21	M	67	0.163	0.134	0.024	0.145	0.133	0.103	0.025	0.190	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
22	F	74	0.080	0.051	0.026	0.185	0.086	0.043	0.046	0.255	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
23	M	59	0.128	0.042	0.082	0.210	0.129	0.030	0.102	0.140	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
24	M	79	0.097	0.050	0.050	0.240	0.104	0.051	0.054	0.260	0.497	0.088	0.429	0.670	0.750	0.056	0.696
25	M	76	0.064	0.042	0.023	0.240	0.058	0.040	0.018	0.080	0.381	0.103	0.284	0.335	0.357	0.053	0.310
26	M	67	0.078	0.062	0.017	0.115	0.075	0.053	0.024	0.160	0.410	0.068	0.342	0.370	0.750	0.054	0.690
27	M	86	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.204	0.027	0.182	0.240	0.895	0.034	0.857
28	M	74	0.046	0.031	0.015	0.195	0.092	0.036	0.057	0.255	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
29	F	86	0.050	0.036	0.014	0.225	0.042	0.031	0.010	0.325	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
30	F	82	0.028	0.017	0.010	0.245	0.030	0.021	0.010	0.255	0.191	0.022	0.173	0.475	0.176	0.028	0.150

M: Male, F: Female, Y: Year-old, T-Hg: Total mercury, Me-Hg: Methylmercury, I-Hg: Inorganic mercury, Se: Selenium

Table 3 . Grade of mercury deposition by mercury histochemistry

	Cerebrum			Cerebellum				Liver		Kidney	
	N	P	WM	BG	P	GL	WM	LC	KC	PT	HL
1	3	3	3	3	0	1	3	ND		ND	
2	0	3	2	2	0	1	1	ND		ND	
3	0	0	0	0	0	0	0	ND		ND	
4	0	1	1	2	0	1	2	3	3	2	3
5	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	2
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
7	0	0	0	0	0	0	0	ND		ND	
8	0	0	0	0	0	0	0	ND		ND	
9	2	0	2	2	0	0	1	ND		ND	
10	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2
11	0	0	0	0	0	0	0	1	2	1	2
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
13	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2
14	0	2	2	2	0	1	2	1	1	2	3
15	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
18	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
19	ND			ND				ND		ND	
20	ND			ND				ND		ND	
21	ND			ND				ND		ND	
22	ND			ND				ND		ND	
23	ND			ND				ND		ND	
24	0	0	0	0	0	0	0	2	2	1	2
25	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
26	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2
27	ND			ND				0	0	0	1
28	0	0	0	0	0	0	0	ND		ND	
29	0	0	0	0	0	0	0	ND		ND	
30	0	0	0	0	0	0	0	1	0	ND	

N: Neuron, P: Phagocyte, WM: White matter, BG: Bergman glia, P: Purkinje cell, GL: Granule cell, LC: Liver cell, KC: Kupffer cell, PT: Proximal tubules, HL: Henle's loop ND: not done 0: Negative, 1: Mild positive, 2: Moderate positive, 3: Strong positive

Table 4. Autopsy cases of Minamata disease until 2005  
(Kumamoto University: 450 cases)

Clinical diagnosis		Pathological diagnosis	
MD	42 cases	MD 40 cases	(no MD 2 cases)
MD suspected	408 cases	MD 162 cases	(no MD 246 cases)

Table 5. Autopsy cases of Minamata disease until 2005  
(University of Niigata: 30 cases)

Clinical diagnosis		Pathological diagnosis	
MD	25 cases	MD 23 cases	(no MD 2 cases)
MD suspected	5 cases	MD 1 case	(no MD 4 cases)

Table 6. Classification of the type of autopsy cases in Minamata disease  
(Kumamoto University: 202 cases)

A. Adult case	
1. Acute type (Disease duration; 19 -60 days)	6 cases
2. Subacute type (Disease duration; 70-100 days)	6 cases
3. Prolonged-severe type (Disease duration; 1-11 years)	9 cases
4. Prolonged-mild type (Disease duration; 3-27 years)	15 cases
5. Chronic type (Disease duration is not clear)	156 cases
B. Postnatal case	5 cases
C. Fetal case	5 cases

Table 7. Classification of the type of autopsy cases in Minamata disease  
(University of Niigata: 24 cases)

A. Adult case	
1. Acute type (Disease duration; 40 days)	1 case
2. Subacute type (Disease duration; 80 days)	1 case
3. Prolonged-mild type (Disease duration; 6-29 years)	22 cases
B. Postnatal case	0 case
C. Fetal case	0 case

Table 8. Postnatal case (Kumamoto University)

No.	Autopsy date	Age at onset/death (y: m)	Disease duration (y: m)	Sex	Cerebral lesion
1	1958	2:11/4:5	1:6	F	microscopic sponginess
2	1959	5/8	2:9	F	microscopic sponginess
3	1959	3/7	4	M	<u>macroscopic sponginess</u>
4	1974	5/23	18	F	microscopic sponginess
5	1976	5/15	10	M	microscopic sponginess

Table 9. Fetal case (Kumamoto University)

No.	Autopsy date	Disease duration (Age)	Sex	Brain weight (g)	(%) <sup>a</sup>
1	1961	2y: 6m	F	650	=40
2	1962	6y: 3m	F	630	=50
3	1969	13y	M	1,150	=20
4	1973	12y	M	1,280	=10
5	1987	29y	F	920	=30

<sup>a</sup> Weight reduction (%): Calculated by the formula  $(m - w) \times 100/m$ , where  $w$  is the weight of the patient's brain and  $m$  is the average brain for sex- and age-matched control individuals.

#### [ 考察 ]

新潟水俣病関係剖検例 30 例を、新大脳研との共同研究で総括する事が出来た。熊本大学医学部に収集された症例は、全剖検例 450 例を総括して英文著書として出版している<sup>1)</sup>。新大脳研の水俣病関係の剖検例のジャーナルへの報告は初期の 2 例<sup>6, 7)</sup>に限られている。本研究報告は、新大脳研の剖検例を当センターのリス・チ・リソ・ス・バンクに収集する事を目的として計画されたものであるが、その収集に伴い全症例の検索を進めて行く過程において、臨床診断と病理所見が必ずしも一致するものではないことが確認出来た。同様のことは、熊本大学の症例ですでに経験していたことであった。症例 1 の小脳病変で、分子層に空胞形成が著明であった。この所見は熊本大学の症例では見られなかったが、コモン・マ・モセットの急性メチル水銀中毒実験で同様の所見を認めた<sup>8)</sup>。一例の人体例ではあるが、実験例と同様の病変を確認しえたことは重要と考えている。

水俣病認定審査会では、臨床症状の有無で否定出来ない場合は水俣病と認定されている。病理学的所見の有無は、死後の判定であり、生存者の認定診断とは異なっているので、水俣病申請患者に水俣病病変が認められた症例は、水俣病認定相当として取り扱われてきた。臨床的に重症水俣病の誤診はないと考えられるが、軽症例で、しかも高齢者であったり、重症の合併症があったりして、もはや水俣病の臨床症状の把握が困難な症例は剖検に頼らざるを得なかった状態であった。従って、臨床症状と病理診断は必ずしも一致しないのは止む終えないことと考える。

熊本大学における水俣病関係の剖検例は 450 例である。その内訳は Table 4 に示した。水俣病と認定された症例の剖検例は 42 例に過ぎない。408 例は水俣病認定申請中に亡くなって剖検された症例である。

それに対して、新大脳研の30例の内訳はTable 5に示してあるように、25例が水俣病に認定された後に剖検されたものである。しかし、2例には水俣病病変が確認されなかった。熊本大学でも水俣病認定患者の剖検で2例に水俣病病変が認められなかった<sup>9)</sup>。熊本大学の症例をA) 成人例、B) 小児例、C) 胎児例に分類し、成人例は罹病期間と症状によって5つに分類した (Table 6)。新潟大学の剖検例の中には、小児例及び胎児例は含まれていない。急性例と亜急性例の各々1例を除くと全て長期軽症経過例である (Table 7)。ちなみに、熊本大学の小児例5例の病変は、剖検例の中でもっとも病理学的変化が顕著であり、大脳病変好発部では顕微鏡的海綿状態が見られた。その中の1例は肉眼的にも海綿状態を呈していた (Table 8)。さらに、胎児性水俣病5例の特徴的病変は、全身性である上に、神経系の発達不全である。生後のメチル水銀影響も軽度の病変として確認されることがある (Table 9)。

今回、新大脳研の高橋 均教授 (共同研究員) と柿田明美助教授のご協力を得て、新潟水俣病の全症例を検索する機会が得られた。神経病理学的検索は、熊本大学および新大脳研において、それぞれ、武内忠男熊本大学名誉教授と故小宅洋並びに生田房弘新潟大学名誉教授等による、水俣病病変が大脳の選択的傷害部 (鳥距野、中心後回、中心前回、横側頭回)、小脳の顆粒細胞優位型脱落、脊髄後根神経 (感覚神経) が前根神経 (運動神経) より強い変性病変を呈する一定の傷害パターンを示すという病理所見の把握が、本研究により完全に一致していることを確認できた。

#### [ 謝辞 ]

熊本大学医学部病理学第2講座および新潟大学脳研究所の剖検に関わった教職員並びに齋藤 恒先生をはじめとした、水俣病の臨床に熱心に携われた諸先生に心より感謝申し上げます。

#### [ 引用文献 ]

1. Takeuchi T, Eto K: The Pathology of Minamata Disease – A Tragic Story of Water Pollution. (with Editorial Collaboration of Nakayama H and Sumiyoshi A) ed. by Kyushu University Press, INC. Fukuoka, Japan, 1999.
2. Ohkawa T, Uenoyama T, Tanida K, Ohmae T: Ultra trace mercury analysis by dry thermal decomposition in alumina porcelain tube. *J Hyg Chem* **23**, 13-22, 1977.
3. Yasutake A, Hirayama K: Selective quantification of inorganic mercury in tissues of methylmercury-treated rats. *Bull Environ Contam Toxicol* **45**, 662-666, 1990.
4. Yasutake A, Nagano M, Nakano A: Simple method for methylmercury estimation in biological sample using atomic absorption spectroscopy. *J Health Sci* **51**, 220-223, 2005.
5. Eto K, Yasutake A, Korogi Y, Akima M, Shimozeki T, Tokunaga H, Kuwana T and Kaneko Y: Methylmercury poisoning in common marmosets-MRI findings and peripheral nerve lesions. *Toxicol Pathol* **30**, 723-734, 2002.
6. 小宅 洋: 阿賀野川流域にみられた有機水銀中毒症例の病理. *神経進歩* **13**, 108-112, 1969.
7. 小宅 洋, 田中政春, 久保 宏, 秩父政夫: 有機水銀中毒症の神経病理学的研究 - とくに水銀顆粒の染色と其の分布に着いて -. *神経進歩* **10**, 744-750, 1966.
8. 齋藤光明: 神経病理学より見た水俣病. *精神神経誌* **108**, 10-23, 2006.
9. 齋藤光明, 岡村良一: 有機水銀中毒症の神経病理所見の無い臨床的水俣病の2剖検例. *Neuropathol* **8**, 289-300, 1988.

## 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）
	宮本謙一郎（臨床部）
	中村 政明（臨床部）
	内野 誠（熊本大・医薬）
	有村 公良（鹿児島大・医歯）
	秋葉 澄泊（鹿児島大・医歯）
	安藤 哲夫（鹿児島大・医歯）

### [ 研究目的 ]

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。また、国内では、水俣病の診断基準が社会問題となっている。これに対し、メチル水銀中毒症の臨床症状は必ずしも明確になっておらず、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、水俣病の診断法を確立して国内の問題に一定の結論をだすとともに国際貢献を行うことができる手法を開発する。

### [ 研究対象および方法 ]

熊本県、鹿児島県、新潟県の水俣病認定申請者について、メチル水銀非曝露地域住民の神経所見と比較検討を行う。

### [ 進捗状況 ]

昭和 48 年までの神経検診で水俣病と認定されたものをケース、棄却とされたものをコントロールとして多重ロジスティック解析をおこなって得られた判別式および、昭和 48 年までの神経検診をおこなった水俣病申請者をケース、水俣病非発生地域住民をコントロールとして多重ロジスティック解析をおこなって得られた判別式を用いて、熊本、鹿児島、新潟について申請者全体、認定者、棄却者の判別値の推移を検討した。

この際、棄却者をコントロールとした方法では、専門家による疾病の鑑別が含まれるという利点がある一方、鑑別方法の妥当性が問題となる。これに対し、水俣病非発生地区における神経検診受診者をコントロールとした方法は、診断基準がより客観化される利点があるが、ケースとコントロールの集団特性が問題となる。すなわち、より客観的かつ定量的に水俣病に関する症状経過を含めた病像を検討するためには、集団特性の相違ができるだけ問題とならないようにして解析せねばならない。また、より客観的に水俣病症状を解析するためには水俣病非発生地区における神経検診受診者との比較は有用だが、水俣病申請者のうち水俣病の中核症状がそろい、かつその程度も重症なものは、水俣病非発生地区住民と比較すると、極端に異なるため解析結果が不安定となりやすい。また、水俣病とは考えられないものは、判別を困難にする要因の 1 つである。

ケースを水俣病非発生地区住民、コントロールを水俣病非発生地区住民とするならば、集団特性は問題にならないが、水俣病申請者は何らの神経症状をもつものであるため完全には同じとは言えない。し

かし、メチル水銀の曝露が無作為に生じたのであれば、水俣病申請者をケース、水俣病非発生地区住民をコントロールとしても問題ないと考えられる。この際、ケース、コントロールをできる限り例数を網羅しなければならないことはいうまでもない。

そこで、昨年度までに対象とした、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）、昭和 60 年までの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）、昭和 55 年までの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）水俣病非発生地区である A 町において神経検診を受けた住民 1,352 名であるが、本年度は、さらに入手可能となった熊本県水俣病認定者 445 名および水俣病非発生地区の神経症状有症者で神経検診を受診していなかった 108 名のうち追加検診できた 63 名を追加して対象とした。これにより、熊本県水俣病申請者、水俣病非発生地区住民については入手可能なものはすべて入手したことになる。

また、水俣病申請者から水俣病の中核症状がそろい、かつその程度も重症なものや水俣病とは考えられないものは、先に述べたように、解析を困難にする要素であるため、それを除いた水俣病申請者をケースとし、水俣病非発生地区住民をコントロールとして解析を行うのが妥当であると考えられた。ただし、ケースを決める際は、より客観的な判断で除く必要があると考えられる。本年度は、熊本県の水俣病申請者について上記の方法での解析可能性を論じた。水俣病認定患者の集団特性が同じである鹿児島県水俣病で出されている判別式を用いて判別値 50 点以上 90 点以下のものをケースとし、水俣病非発生地区住民をコントロールとしてケースかコントロールかを従属変数、性・年齢を共変数、神経症状を独立変数として多重ロジスティック解析をおこなった。

その結果、下記の式が得られた。本式の正診率は、100%であった。

$$\text{Logit}(Y)=266.715-5.054a+31.405b+25.600c+31.840d+23.452e-23.626f$$

ただし、a：年令、b：頸部運動制限、c：手袋・靴下型感覚障害、d：視野狭窄、e：聴力障害、  
f：聴力左右差

### 3) メチル水銀中毒の遅発性発症に関する研究

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

#### [ 研究目的 ]

新潟水俣病発生当時に全く自・他覚症状がなかった者で、新たなメチル水銀の曝露がないにもかかわらず、1年くらいの経過で、水俣病が発症する症例が報告されているが、臨床像、機序については、不明な点が多い。そこで、水俣病患者の臨床・疫学的データを解析するとともに、メチル水銀中毒遅発発症ラットを用いて、遅発性神経細胞傷害機序の検討を行う。

#### [ 研究対象および方法 ]

新潟・熊本水俣病患者の臨床・疫学データを解析して発症時期と症状の程度との関係を検討する。また、ラットを用いて、メチル水銀曝露後、脳神経細胞のグルタミン酸受容体の活性化により、リソソーム膜から放出されるカテプシン B 酵素が神経細胞の構成蛋白を緩徐に破壊することが知られているが、これが遅発性神経細胞傷害を引き起こす原因であるか否かを検討する。

#### [ 進捗状況 ]

最近の研究で、脳神経細胞のグルタミン酸受容体の活性化により、リソソーム膜から放出されるカテプシン B 酵素が神経細胞の構成蛋白を緩徐に破壊することが知られているが、これがメチル水銀による遅発性神経細胞傷害に関与しているかどうかを検討するために、本年度は、Wistar 系ラット雄 8 週齢を使用し、メチル水銀を 5mgHg/kg/day で 12 日間連続経口投与群と、メチル水銀と同時に、リソソーム膜から放出されるカテプシン B 酵素の阻害剤である CA074 4mg/kg/day 腹腔内投与群、コントロール群、CA074 単独投与群の 4 群でメチル水銀最終投与後 3 日、5 日、8 日後に解剖し、脳の病理組織化学的検討を行った。

その結果、メチル水銀最終投与後 3 日、5 日後では全群で神経細胞障害の所見は観察されなかった。しかし、投与後 8 日目では、メチル水銀単独投与群では、大脳皮質、プルキンエ細胞、小脳顆粒細胞の変性・脱落の所見が観察された。また、CA074 併用投与群では小脳顆粒細胞の変性・脱落が抑制されていたことから、亜急性メチル水銀中毒ラットの遅発性神経細胞死にカテプシン B 酵素が関与している可能性が考えられた。

#### 4) 胎児性・小児性水俣病患者の疫学調査

研究担当者 劉 曉潔（疫学研究部）  
坂本 峰至（国際・総合研究部）  
加藤たけ子（ほっとはうす）  
岡元美和子（明水園）  
有村 公良（鹿児島大・医歯）  
蜂谷 紀之（国際・総合研究部）  
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50年近く経過しようとしている現在も未解決で困難な問題を多々残している。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い、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。

しかし、胎児・小児性水俣病患者の生活と健康現状を把握していない。そこで、本研究は被害の実態解明に近づきつつ、胎児・小児性患者が望む、日常に必要な質の高い生活支援と介護・医療を導き出し、先進的な社会福祉のモデルを示すことも目的としている。また、これから患者のニーズに応じる安心で暮らせる居場所が創り出せていないが現実である。若年層患者、家族に対する社会参加と介護施設などの情報の提供、さらに、福祉支援対策検討の必要性が緊迫されている。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、障害度合いにあわせ、社会参加支援施設ができるような環境をつくり、患者のニーズに応じて様々の福祉的支援対策を検討すべきと考える。

##### [ 調査対象および方法 ]

水俣市と近郊在住および施設に入所する胎児性・小児性水俣病患者48名を対象に、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。

更に、昭和58年から63年まで保健所の在宅訪問データに基づき現在の健康状態との比較を行い、彼らの健康状態の変化について検討することによって、今後の彼らの症状変化を予測し、これからのどのような支援が必要かを明らかにする。

##### [ 研究成果および考察 ]

今回の調査対象者は昭和25年以後生まれた認定患者である。水俣の重症心身障害施設に入所している14名と水俣市及び周辺在住の調査可能者34名である。現段階では主に在宅患者の34名のうちの22名（在宅患者の65%）を聞き取りと面接調査の協力を得て、明らかになった被害実態・要望・課題は、以

下に中間報告される。

現段階調査の結果によると、この10年間で体調変化がある患者は半数近くになり、彼らの症状の変化は主に運動機能低下で、内訳は立位から座位に変化が2名、座位から臥位に変化が2名、補助器使用になったり、一人で外出できなくなったといった変化が見られた。在宅の患者は一部において福祉制度を活用してはいるが、約半数の認定患者が全く各種の施設を利用せず、様々な困難を抱えながら在宅生活を送っている。その中で最も重度障害を持つ患者は数人であるが、介助の全てが家族に委ねられている状態である。身体的側面から見ると、予測したように全体的に身体機能の低下がみられ健康不安が強いことが示された。このことは介護や外出等、生活自立の低下にもつながり、将来の生活への不安にも大きな影響を与えている。

このような、症状の悪化を見せたのは調査対象者の全員ではなかったが、今後は軽症の人達のフォローも必要で症状悪化への対応が必要と思われた。また、症状の悪化した人達へは詳細なアプローチによりその原因を解明し、その他の人達の将来的な症状悪化に備えることも今後の課題として重要である。

一方、現実には本人の加齢と共に今まで介護を抱えてきた親の高齢化が目立ってきて、しかも両親・家族のほとんどが水俣病の被害を受け、両方にも今後の日常生活や介護面に大きな支障が出てくる。本人の既婚率は低く、これまでも親との暮らしに日常生活の多くを依存せざるを得なかった。親の高齢化により、父親は22世帯のうち15世帯で亡くなっており、存命中の父親の平均年齢は72.6歳である。母親が亡くなった世帯は5世帯であり、平均年齢は74.9歳である。本人とその家族の高齢化と世帯構成の変化による在宅の生活の困難さが一層目立つようになっている。両親の高齢化および疾病に伴い、日常的な生活や介護の面でも大きな支障をきたし、既存の福祉サービスだけでは対応できない側面もあり、親亡き後の生活支援の問題が急務であることが浮き彫りになった。さらに、自立して生活できる社会的対策の乏しさのために、親やきょうだいに頼らざるを得ない状況をあらわしているが、実際には親の高齢化とともに本人と母のみの世帯や一人暮らし世帯が増えている。特に親の死亡後に一人暮らしになる場合は、これからの生活を大きく変化させ、心身の不調を引き起こし、具体的な対応を取れるのが最も深刻な問題である。

今回の調査では、一般就労している人は3人、これまで一般就労の経験がある人たちが6人いる。いずれの場合も、小規模零細企業での不安定な雇用である。福祉就労に係わる者は10人、残り4割の9人が在宅であることを示した。

#### [ 研究の将来計画および課題 ]

胎児・小児性認定患者は112名であり、現在把握できる生存者79名、生存率70.5%であることは、一般の同世代の生存率との比較の必要があると思われる。現在現状を把握できたのはごく一部しか過ぎない。さらに、死亡年齢・原因等を明らかにすることは、胎児性・小児性患者の福祉医療対策に重要なポイントになることが予測され、水俣病被害を丸ごと生きてこられた人々の貴重な記録に迫ることもできる。

また、明らかになったことは、少なくとも胎児性患者も二次障害による急速な機能低下が起こりうるということである。二次障害は患者の日常生活機能を急速に低下させ、本人のみならず、家族など介護者の負担も急激に増大する。これを防ぐためには、二次障害発生以前から継時的に障害についてのチェックアップを行うことが重要であり、このためには胎児性患者、家族に対する情報の提供と支援が必要

である。

今回の調査で、多くの胎児性水俣病患者の年齢が 50 才にさしかかり、神経系に対する加齢の影響が始まること、本来患者の症状は運動障害、認知機能障害など日常生活能力に対する障害が強く、介護の必要性が高いこと、介護を担う家族も高齢化し、将来的に不安が大きく早急に現状の把握と対策を考える必要があることなどを指摘した。また最近胎児性患者の中に急速な症状の悪化を示す症例があることを述べ、緊急な調査が必要と考えられる。

さらに、現存されている患者の面接による聞き取り調査は、極めて困難なことが今回の調査で分かった。水俣病患者の被害実態が未だ解明されず全体像も把握されず、水俣病をめぐる偏見や差別が地域にも残っているなかで、水俣病患者であることを知られることに多くの人が躊躇や戸惑い困惑があることは、当初より予想されていたが厳しい現実である。

## 7) b. Tau 蛋白リン酸化に起因する神経変性におけるメチル水銀の作用に関する研究

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

### [ 研究目的 ]

細胞骨格蛋白であるTau蛋白のリン酸化は加齢と共に神経系で増加し、神経変性による認知症を引き起こす(アルツハイマー病、進行性核上性麻痺、皮質基底核変性症、家族性前頭側頭痲呆、ボクサー脳症など)<sup>1)</sup> 上記のようにTau蛋白のリン酸化は、アルツハイマー病だけではなく、認知症を引き起こす様々な疾患に関連している。しかしながら、上記疾患の進行度にはバラツキがあり、そのリン酸化の増悪因子について様々な研究が行われている。増悪因子としては環境毒も候補物質と考えられ、アルミニウム<sup>2)</sup>、砒素<sup>3)</sup>および無機水銀<sup>4)</sup>について培養神経細胞を用いた研究が行われているが、実際に脳神経系を主な標的期間とするメチル水銀<sup>5, 6)</sup>については研究が行われていない。一方、臨床研究においては、水俣病剖検例においてTau蛋白の過剰リン酸化物である神経原線維変化の存在が確認されているが<sup>7)</sup>、非水俣病患者との比較による統計解析には至っていない。また、認知症の一種であるアルツハイマー病患者においては血中水銀濃度が一般人よりも高いという報告もある<sup>8)</sup>。現在、メチル水銀の環境曝露は問題<sup>9, 10)</sup>になっており、神経変性の増悪因子としてのメチル水銀研究は、曝露地域住民のリスク対策として急務であると考えられる。以上のことから、メチル水銀によるTau蛋白のリン酸化と神経変性におよぼす作用について実験的に明らかにする。

### [ 研究方法 ]

#### (1) 培養神経細胞

培養神経細胞においてはメチル水銀をラット初代培養神経細胞に曝露し、Western Blotting法<sup>11)</sup>を用いてTau蛋白およびリン酸化Tau蛋白量を解析した。また、神経細胞死については生細胞数を測定するMTS法<sup>12)</sup>を用いて解析した。

#### (2) 動物実験

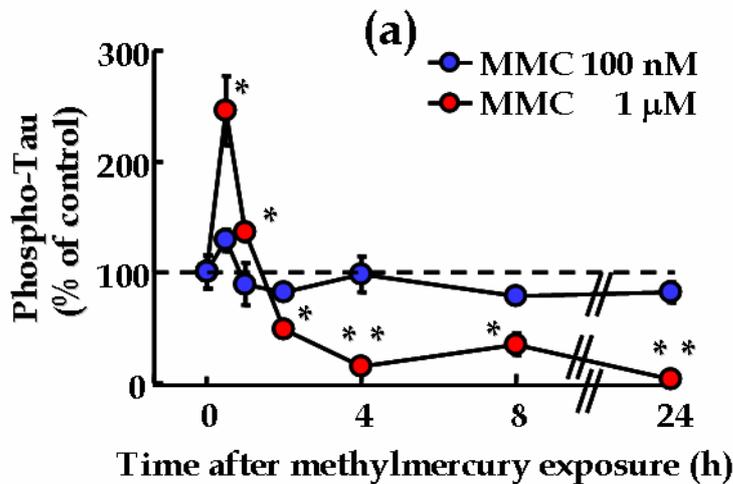
動物実験においてはメチル水銀をC57BLマウスに慢性投与(10 ppm, 10 ヶ月)し、Western Blotting法を用いて大脳のリン酸化Tau蛋白およびTau蛋白量を解析した。また、本実験においては、Y迷路試験<sup>13)</sup>を用いて短期記憶能についても解析した。

### [ 研究成果および進捗状況 ]

メチル水銀は、1  $\mu$ Mの曝露によって、Tau蛋白のリン酸化を一過性(曝露後30分)に増加させることが明らかとなった (Fig.1a-b, 3a-b)。本実験系において1  $\mu$ Mのメチル水銀は、Tau蛋白自体の量を変化させなかったことから、本作用はTau蛋白の増加ではなく、そのリン酸化量の増加であることが証明された (Fig.1c, 3d-e)。また、Tauリン酸化酵素の阻害剤であるLithiumは、Tau蛋白の量を変化させることなく、メチル水銀によって誘発されるリン酸化Tau蛋白の増加を抑制した (Fig.2a, 3a-f)。さらに、1  $\mu$ Mのメチル水銀は、1日の曝露によって神経細胞死を誘発し、Lithiumはその神経細胞死を抑制した (Fig.2b-c)。以

上のことから、メチル水銀は、Tauのリン酸化を介した神経細胞死を誘発することが明らかとなった。また、Tauリン酸化阻害剤であるLithiumは、躁鬱病の治療薬として既に用いられており、メチル水銀中毒の治療薬としても有用である可能性が示された。

さらに、メチル水銀のTauリン酸化作用を *in vivo*で確認するため、C57BLマウスを用いた動物実験を行った。マウスにメチル水銀を慢性投与(10 ppm, 10ヶ月)し、大脳のリン酸化Tau蛋白およびTau蛋白について解析を行った。その結果、メチル水銀の長期曝露によって、リン酸化Tau蛋白は増加しなかったがTau蛋白そのものは減少傾向を示した (Fig.4a-c)。このことから、Tau蛋白当たりのリン酸化量は増加傾向にあると考えられた。なお、本実験においては、短期記憶の指標としてY迷路試験を行い、メチル水銀慢性投与マウスにおいて短期記憶能が低下していることが明らかとなった (Fig. 5)。



Mean +- S.E., \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$  vs basal by Dunnett's t test,  $n=4$

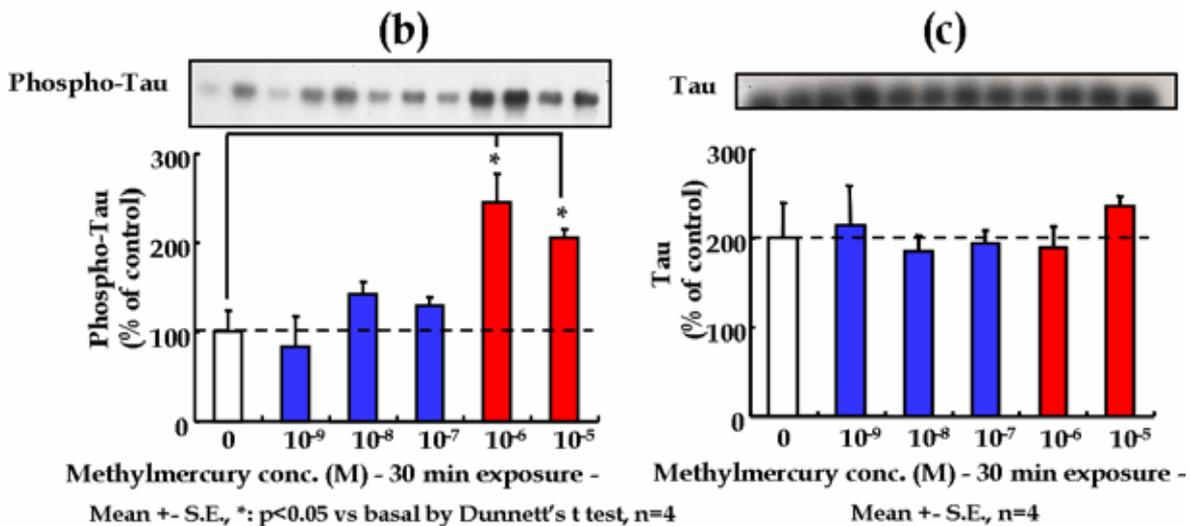


Fig.1 メチル水銀の Tau リン酸化作用

- a: メチル水銀の Tau リン酸化作用(時間経過)
- b: メチル水銀の Tau リン酸化作用(30分),
- c: メチル水銀の Tau 蛋白に対する作用(30分)

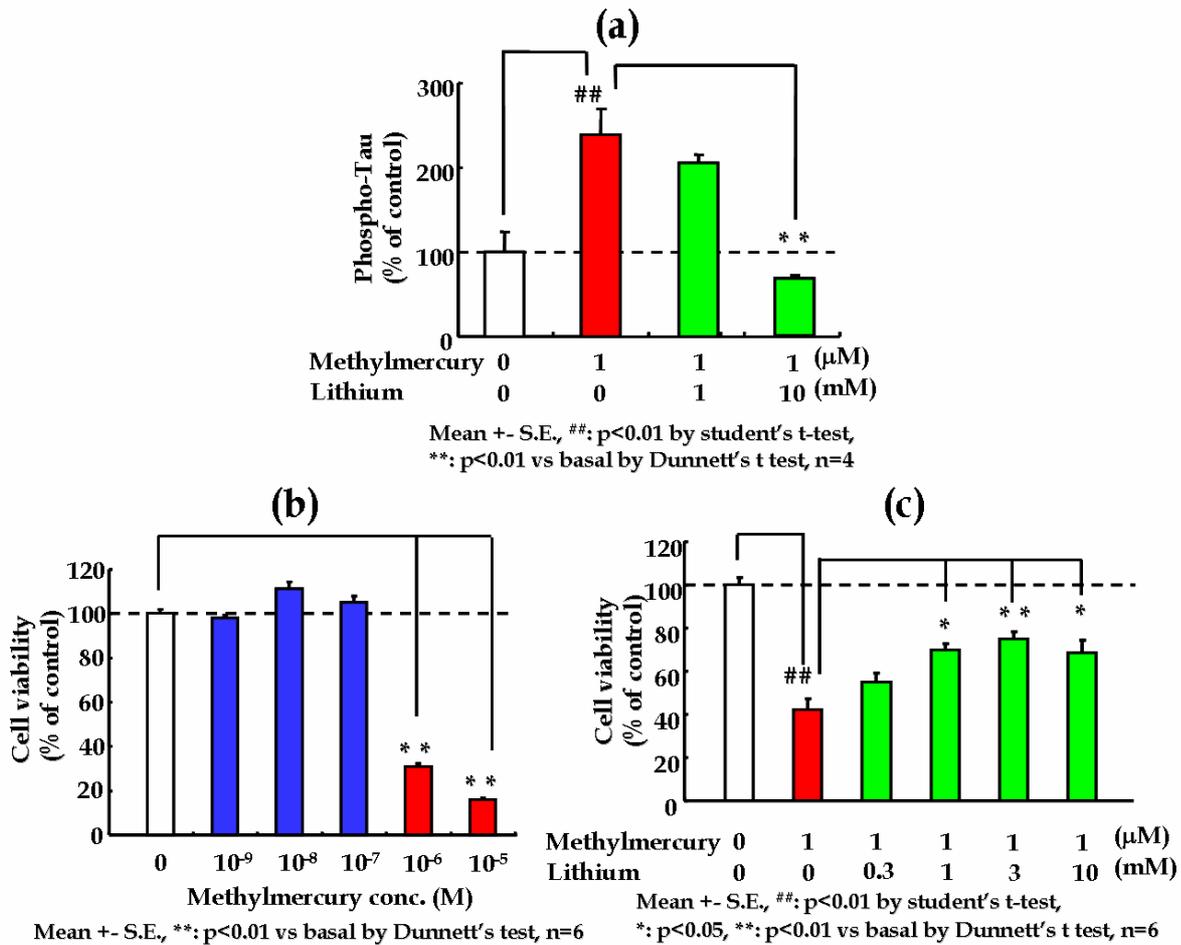


Fig.2 メチル水銀によって誘発されるリン酸化タウ蛋白増加作用および神経細胞死に対する Lithium の抑制作用

- a: メチル水銀によって誘発されるリン酸化タウ蛋白増加作用に対する Lithium の抑制作用(30 分),
- b: メチル水銀による神経細胞死誘発作用(1 日後),
- c: メチル水銀によって誘発される神経細胞死に対する Lithium の抑制作用(1 日後)

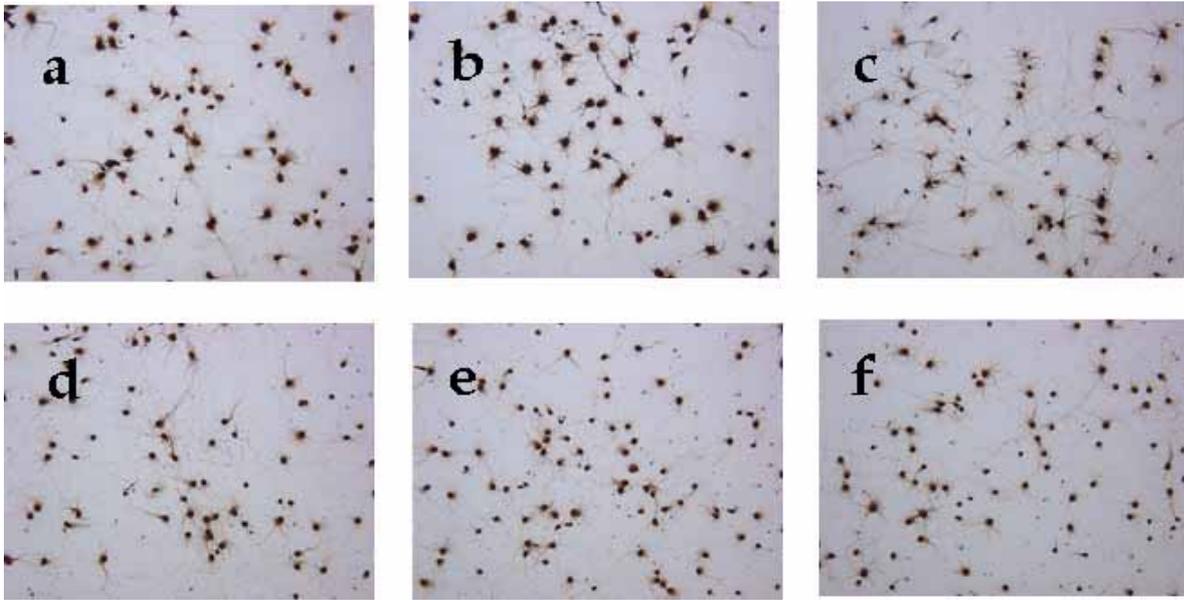


Fig.3 メチル水銀のリン酸化 Tau 蛋白, Tau 蛋白におよぼす作用と Lithium のリン酸化 Tau 蛋白, Tau 蛋白におよぼす作用

- a: メチル水銀無し (リン酸化 Tau, 30 分), b: メチル水銀 1  $\mu$ M (リン酸化 Tau, 30 分),
- c: メチル水銀 1  $\mu$ M + Lithium 10 mM (リン酸化 Tau, 30 分),
- d: メチル水銀無し (Tau, 30 分), e: メチル水銀 1  $\mu$ M (Tau, 30 分),
- f: メチル水銀 1  $\mu$ M + Lithium 10 mM (Tau, 30 分),

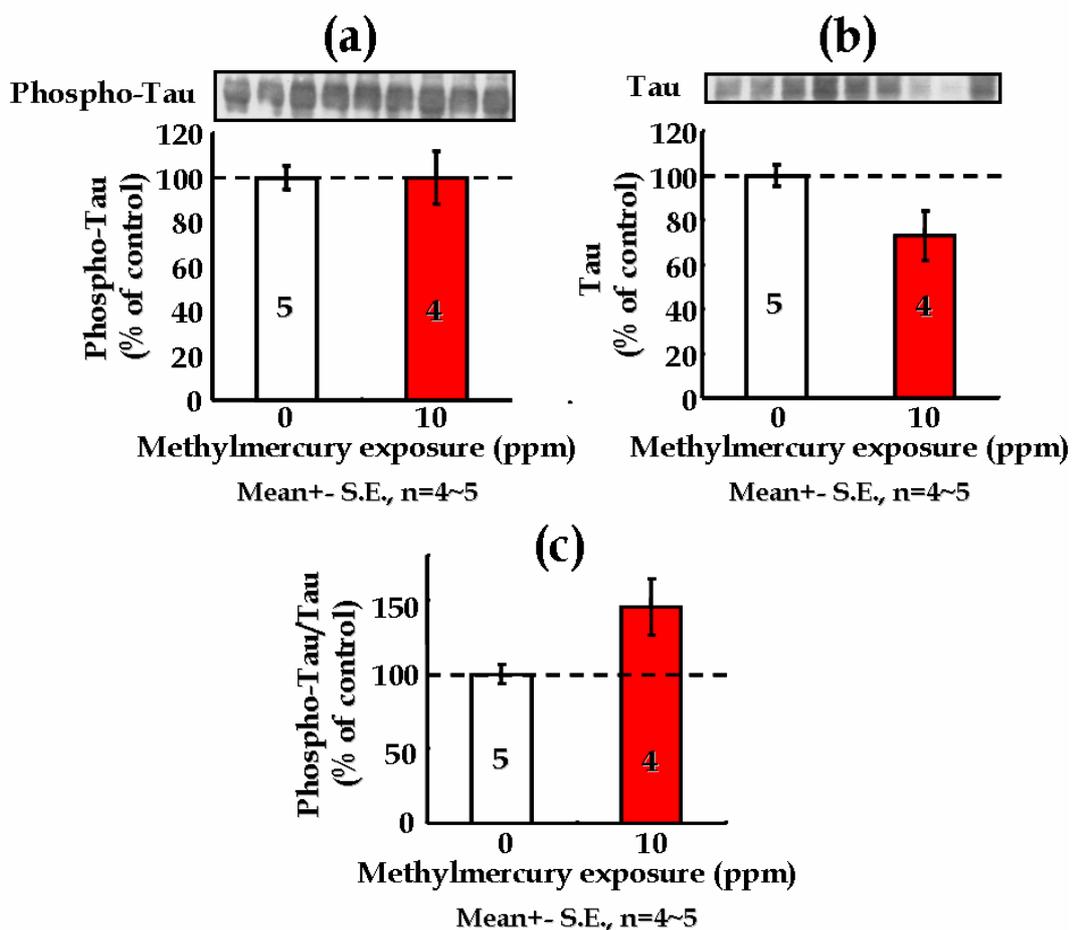


Fig.4 メチル水銀長期曝露によるリン酸化 Tau 蛋白および Tau 蛋白の変化

- a: メチル水銀長期曝露によるリン酸化 Tau 蛋白の変化
- b: メチル水銀長期曝露による Tau 蛋白の変化
- c: メチル水銀長期曝露によるリン酸化 Tau 蛋白当たりのリン酸化量の変化

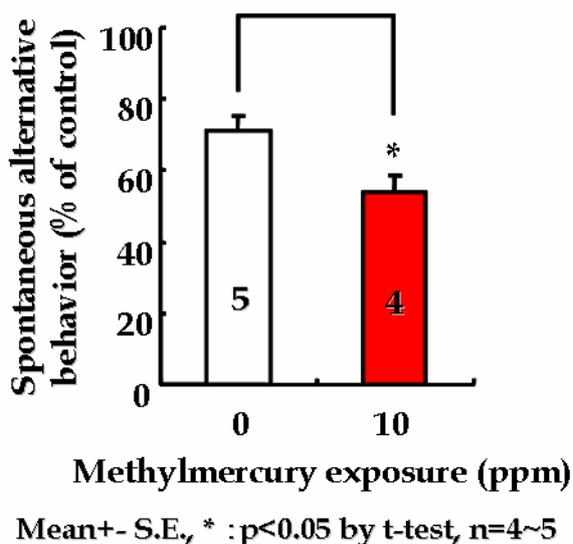


Fig.5 メチル水銀長期曝露による短期記憶能(Y 迷路試験) の変化

[ 引用文献 ]

1. Spillantini MG, Goedert M: Tau protein pathology in neurodegenerative diseases. *Trends Neurosci* **21**, 428-433, 1998.
2. Crapper DR, Krishnan SS, Quittkat S: Aluminium, neurofibrillary degeneration and Alzheimer's disease. *Brain* **99**, 67-80, 1976.
3. Giasson BI, Sampathu DM, Wilson CA, Vogelsberg-Ragaglia V, Mushynski WE, Lee VM-Y: The environmental toxin arsenite induces tau hyperphosphorylation. *Biochem* **41**, 15376-15387, 2002.
4. Olivieri G, Brak C, Muller-Spahn F, Stahelin HB, Herrmann M, Renard P, Brockhaus M, Hock C: Mercury induces cell cytotoxicity and oxidative stress and increases  $\beta$ -amyroid secretion and tau phosphorylation in SHSY5Y neuroblastoma cells. *J Neurochem* **74**, 231-236, 2000.
5. Aschner M, Aschner JL: Mercury neurotoxicity: mechanisms of blood-brain barrier transport. *Neurosci Biobehav Rev* **14**, 169-176, 1990.
6. Kerper LE, Ballatori N, Clarkson TW: Methylmercury transport across the blood-brain barrier by an amino acid carrier. *Am J Physiol* **262**, R761-765, 1992.
7. 衛藤光明, 武内忠男, 滝澤行雄, 佐々木伴子: 水俣病に関する総合的研究. 昭和 58 年度報告書, 63-69, 1984.
8. Hock C, Drasch G, Golombowski S, Muller-Spahn F, Willershausen-Zonnchen B, Schwarz P, Hock U, Growdon JH, Nitsch RM: Increased blood mercury levels in patients with Alzheimer's disease. *J Neural Transm* **105**, 59-68, 1998.
9. Palheta D, Taylor A: Mercury in environmental and biological samples from a gold mining area in the Amazon region of Brazil. *Sci Total Environ* **168**, 63-69, 1995.
10. Grandjean P, White RF, Nielsen A, Cleary D, de Oliveira Santos EC: Methylmercury neurotoxicity in Amazonian children downstream from gold mining. *Environ Health Perspect* **107**, 587-591, 1999.
11. Takashima A, Noguchi K, Sato K, Hoshino T, Imahori K: Tau protein kinase I is essential for amyloid  $\beta$ -protein-induced neurotoxicity. *Proc Natl Acad Sci* **90**, 7789-7793, 1993.
12. Cebers G, Ceber A, Liljequist S: Metabolic inhibition potentiates AMPA-induced  $Ca^{2+}$  fluxes and neurotoxicity in rat cerebellar granule cells. *Brain Res* **779**, 194-204, 1998.
13. Kokkinidis L, Anisman H: Interaction between cholinergic and catecholaminergic agents in a spontaneous alternation task. *Psychopharmacology* **48**, 261-270, 1976.

## 8) メチル水銀の脳内モノアミン代謝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）
	中村 政明（臨床部）
	安藤 哲夫（鹿児島大・医歯）
	後藤 正道（鹿児島大・医歯）
	守口 徹（湧永製薬・ヘルスケア研）
	浜崎 智仁（富山医科薬科大・和漢薬研）
	矢澤 一良（東京海洋大・水産学研）
	宮川 宗之（産業医学総研）
	粟生 修司（九州工大・生命体工学研）

### [ 研究目的 ]

メチル水銀が情動行動に脳内モノアミン代謝系、内分泌系を介して影響を及ぼす可能性が考えられる。特に動物実験で、メチル水銀による攻撃行動に主にセロトニン代謝系を介して影響を及ぼすことはよく知られているが、不飽和脂肪酸、内分泌系との関連での研究は少ない。ヒトの研究でも DHA 濃縮魚油による学生を対象とした介入試験の敵意性・攻撃行動試験の比較で、対照群より DHA 群が敵意性が低下したことが報告され、これは DHA がセロトニン作動性ニューロンの活動低下を改善したことによるという機序が考えられているが詳細な機序は明らかになっていない。また、水俣病患者の性格障害（怒りっぽい、抑うつ）も認められることから、情動面に脳内モノアミン代謝系を介して影響を及ぼしている可能性が考えられる。この研究の目的は、メチル水銀による情動行動に脳内モノアミン代謝、不飽和脂肪酸、内分泌ホルモンが影響しているか明らかにすることである。

### [ 研究対象および方法 ]

本年度は、3 週齢雌ラットに n-3 系不飽和脂肪酸欠乏飼料および添加飼料で 10 週齢まで飼育し、10 週齢で交配させ妊娠したラットの 2 群と同飼料を用いて飼育され、妊娠したラットに妊娠 2 日目より 19 日までメチル水銀 1mg/kg/day を 18 回経口投与し、出産した母親ラットの仔ラットに対する情動行動を観察した。また、Wistar ラット雄 8 週齢にメチル水銀 5mg/kg/day で 10 日間経口投与した翌日に採血し、血漿中のドーパミン、セロトニン濃度の測定を行った。

### [ 研究結果および考察 ]

上記 4 群のうち、n-3 系不飽和脂肪酸欠乏飼料で飼育し、交配した妊娠ラットにメチル水銀を投与した母親ラットは、生まれた仔ラットを食殺する情動行動が認められた。また n-3 系不飽和脂肪酸添加飼料で飼育した母親ラットに同量のメチル水銀を投与した場合は、母親ラットの攻撃行動は認められなかった。これらの結果から、妊娠期にメチル水銀を投与すると母親ラットの脳内モノアミン代謝系が攪乱され、攻撃行動が生じるのを n-3 系不飽和脂肪酸が脳内モノアミン代謝系を改善し、攻撃行動が抑制さ

れた可能性が考えられた。また、成熟期ラットにメチル水銀を投与した場合も脳内モノアミン代謝系が変化することが示唆された。

メチル水銀曝露母親ラットの攻撃行動

	妊娠母親ラット		食殺母親ラット	%
	n	n(A)	n(B)	B/A
n-3 欠乏群	10	4	0	0
n-3 欠乏+Hg 投与群	10	3	2	66.7
n-3 添加群	10	7	0	0
n-3 添加+Hg 投与群	10	2	0	0

メチル水銀投与前後ラット ( 8 W ) の血漿中ドーパミン・セロトニン濃度の変化

	n	ドーパミン ( ng/ml )	セロトニン ( ng/ml )
メチル水銀投与前	3	1.33	18.13
後	3	0.23*	59.47*

\*p<0.05

## 9) 公害発生地域の社会史に関する研究

研究担当者 新垣たずさ(国際・総合研究部)

### [ 研究の背景および目的 ]

水俣病問題の解決のためには、問題の背景を理解し水俣病発生地域の歴史を多角的に把握する必要がある。そこで昭和30年代から現在に至るまでの写真を収集し、これを手がかりに当時の人々の日常生活についての聞き取り調査を行い、水俣病問題の背景を明らかにする。

### [ 研究方法 ]

聞き取り調査、文献調査を行う。聞き取り調査の対象は、これまで水俣地域に関する写真撮影者や水俣・新潟水俣病の患者、支援者、行政関係者から聞き取り調査を実施する。

### [ 研究成果および考察 ]

今年度は、水俣病に関する写真撮影者2名、支援者・行政関係者4名を対象者とした。

聞き取り内容は、写真撮影時の状況や写真・ネガ・フィルムなど現物の所在・保存状況、展示・公開状況について主に質問をした。写真の所在については、カメラや写真の普及状況から限定的であることがわかった。現物の保存、管理については、各個人によって行われているケースが多く、公開については、肖像権者やその遺族の意向を尊重し進められているが、社会状況の変化により公開に関する課題が生じていることが指摘された。

## 10) 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

### [ 研究の背景および目的 ]

水俣病は昭和 20 年代の終わりころから発生し、昭和 30 年代を中心に被害が拡大して世界でも類を見ない規模の公害事件となった。この発生・拡大においては当時の社会・経済・政治状況など様々な要因が複雑に関わっており、また歴史的な過程において地域社会にも深刻な影響を及ぼしてきている。これら地域社会における問題のうち、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」においてその一部を整理してきた。この研究において、関係者の証言・オーラルヒストリーなどの記録を残しておくことの必要性があらためて認識されている。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、その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。

### [ 研究対象および研究方法 ]

調査対象者に対する聞き取り調査を主とする。対象者は八代海沿岸地区の住民や元住民、水俣病問題に関わってきた研究者や行政担当者とする。

### [ 研究報告および考察 ]

平成 17 年度は 9 名に対する聞き取り調査を行った（うち一名は予定を含む）。内訳は、患者・被害者およびその家族 6 名、元チッソ従業員 1 名、教育関係者 1 名、観光業者 1 名、ジャーナリスト 1 名、元市議会議員 2 名である（重複を含む）。患者・被害者には 1968 年以前に認定された 2 名および補償交渉などの被害者救済運動に長年携わってきた 2 名などが含まれた。これらの結果については、昨年度までに得られているものと合わせて調査記録の内容を整理中であり、次年度以降もこれを継続する。このほか、水俣病の発生から被害の拡大に至る問題点ならびに、公式確認から 50 年を経た現状・残された課題について概観した論文（1）を公表した。

### [ 引用文献 ]

1. Hachiya N: The history and the present of Minamata disease -Entering the second half a century-, Japan Med Assoc J **49**, 112-118, 2006

## 2. 低濃度メチル水銀のリスク評価に関する研究

### 研究概要

メチル水銀の曝露によって生ずる健康被害及びリスクの発生の評価は、個体レベルでの生体影響、人口集団レベルでの一般大衆への影響及び胎児などのハイリスク・グループにおける疾病構造や影響の把握が必要となる。特に、胎児に対するメチル水銀の影響検討の重要性は IPCS の勧告でも取り上げられている。我々は、先にメチル水銀汚染が最も激しかった昭和 30 年から 34 年に水俣市、漁民及び水俣病患者の出生性比が逆転し、男児よりも女児の数が多かったことを報告し、その成果が注目された。また、同じように母親の栄養依存の時期ではあるが、胎児期と乳児期では児のメチル水銀負荷量はかなり異なっていることを動物やヒトを用いた研究で明らかにしてきている。胎児期低濃度メチル水銀影響に関するコホート研究はフェロー諸島やセイシェル諸島で日本に先行して行われた。現在、日本でも東北大学、秋田大学、当研究センターを中心に同様の研究が環境省事業として進行中であり、低濃度のメチル水銀のヒト胎児期における曝露やその影響に関する研究は最も重要な研究テーマの 1 つである。加えて、動物を用いた低濃度・微量水銀に関する研究もヒトでのメチル水銀の児への影響を外挿する上でも重要であるが、今までに十分な研究が行われているとは言えない。そこで、低濃度メチル水銀のリスク評価に関する研究重点的研究課題は、ヒトのデータを用いた魚介類摂取に伴う妊婦・出産年齢女性のメチル水銀曝露評価に関する研究。ヒトの脳発達時期におけるメチル水銀曝露のリスク外挿に関する実験疫学的研究。更に、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に関する研究。であり、微量メチル水銀経世代曝露の影響と胎児期メチル水銀曝露影響に関する研究に貢献する基礎的データを得ることを目的としている。

#### [ 研究課題 ]

1. 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 安武 章 (基礎研究部)
2. 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 坂本 峰至 (国際・総合研究部)
3. 魚介類摂取に伴う妊婦・出産年齢女性のメチル水銀曝露評価に関する研究  
- 日本人におけるメチル水銀の胎児曝露バイオマーカーとしての臍帯と他組織水銀値の比較 -  
坂本 峰至 (国際・総合研究部)
4. a.胎児期のメチル水銀曝露の健康影響に関する研究 若宮 純司 (臨床部)  
b.胎児性水俣病患者に関する研究 - メチル水銀の動脈硬化に与える影響 -  
宮本謙一郎 (臨床部)  
c.低濃度メチル水銀胎児曝露における毒性影響評価法の開発 宮本謙一郎 (臨床部)
5. 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 蜂谷 紀之 (国際・総合研究部)
6. 妊娠中生活習慣および出生後発育と臍帯血水銀濃度に関する研究 蜂谷 紀之 (国際・総合研究部)
7. 胎子期におけるメチル水銀曝露によるドーパミンニューロン傷害メカニズムに関する研究  
澤田 倍美 (基礎研究部)

## 1) 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)  
澤田 倍美 (基礎研究部)  
藤村 成剛 (基礎研究部)  
保田 叔昭 (国際・総合研究部)  
衛藤 光明 (所長)

### [ 研究の背景および目的 ]

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、動物実験では長い時間と詳細な観察を必要とするが、場合によっては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、微量曝露によるリスクは世代を経ることによって増強することもあり、後世代で初めて顕著となる影響もありうる (塩化メチル水銀の亜慢性・慢性曝露による生殖器官・中枢神経系及び胎児への影響に関する基礎研究 (平成 11 - 13 年) 参照)。

従来の結果より、0.5 ppm Hg/water のメチル水銀曝露では、コモンマーモセットに発症に至るほどの水銀蓄積はおこらず、出生仔 (F1) にも特に異常は認められない。しかしながら F2、F3 と世代を経ていく過程でそれまで観察されなかった影響が顕在化することも考えられ、そのような影響は、微量曝露の鋭敏な指標となることも期待される。ここでは、同一曝露条件下 (0.5 ppm Hg/water) で交配を繰り返しながら、生後 3 ヶ月の出生仔について、曝露の影響を病理学的、行動学的に観察し、微量曝露影響の指標を把握する。

### [ 研究成果および進捗状況 ]

平成 15 年 12 月に 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、B、共に雄) のうち 1 個体 (A) が平成 16 年 6 月に軽度の神経症状を呈したため水銀曝露を中止した。併せてそれらの半年前に出生していた 1 個体 (C、雄、発症なし) も同時に曝露を中止した。曝露中止後 1 年経過した時点で血中水銀濃度がコントロールレベル近く (< 0.05 ppm) まで低下したため、それらの父親 (曝露を継続、発症なし) も併せて解剖した。組織水銀濃度およびメタロチオネインレベルは下表の通りである。病理については検索中である。

0.5 ppm Hg 曝露コモンマーマーモセットの組織水銀濃度（無機水銀の比率、%）とメタロチオネインレベル

	個体 A	個体 B	個体 C	父親
水銀濃度（ $\mu\text{g/g}$ ）				
大脳	0.30 (38.3)	0.15 (26.9)	0.79 (40.7)	2.70 (3.9)
肝臓	1.99 (45.4)	1.72 (53.2)	9.23 (52.8)	10.13 (46.9)
腎臓	9.15 (80.7)	6.42 (91.2)	44.0 (80.2)	72.3 (79.7)
メタロチオネイン（ $\text{nmol Hg/g}$ ）				
大脳	66.5	57.3	55.1	57.3
肝臓	304	273	493	477
腎臓	61.9	50.8	42.6	101.5

## 2)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

研究担当者 坂本 峰至 (国際・総合研究部)  
柿田 明美 (新潟大・脳研)  
本多 俊一 (疫学研究部)  
劉 曉潔 (疫学研究部)  
衛藤 光明 (所長)  
村田 勝敬 (秋田大・医)  
仲井 邦彦 (東北大・医)  
佐藤 洋 (東北大・医)

### [ 研究要旨 ]

フェロー諸島における住民の水銀曝露では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)が生じていると考えられる。本研究では、メチル水銀の曝露量が積算値としては同じである、一定連続と多量間欠のメチル水銀曝露が及ぼす生体メチル水銀蓄積と中枢神経への影響を検討する。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(0.3、1.5、3.0 mg/kg/day 群)とそれぞれの 7 倍量の 2.1、10.5、21.0 mg/kg を 1 週間に 1 回投与するラット(2.1、10.5、21.0 mg/kg/week 群)を計 6 群作成し、尾静脈からの採血により血液中メチル水銀の変動を 5 週間追跡した。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 21.0 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った波打った体重増減を示した。3.0 mg/kg/day 群と 21.0 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 週間で実験を中止した。各投与レベルで毎日投与群と週に 1 回投与群の間には最終的に有意な体重差は認められなかった。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高く次回の投与前には減少するという“spike”を伴う変動を繰り返したが、双方の平均値は連続投与の週の間中点とほぼ同じ濃度で推移した。最終的な解剖時点における脳の水銀濃度は双方投与法間に有意差は認められなかったが、血液や脳中水銀濃度は 3.0 mg/kg/day 群と 21.0 mg/kg/week 群(3 週間投与)が最も高くなっていた。組織学的検索では、感覚神経線維の傷害は必ずしも濃度依存的ではなく、最も顕著は病変が、1.5 mg/kg/day と 10.5 mg/kg/week 群(5 週間投与)で起っており、比較的高濃度のメチル水銀の長期曝露がより傷害を高めると考えられたが、毎日投与群と週に 1 回投与群の間には明らかな差異は認められなかった。大脳・小脳・脳幹部では、明らかな病変は認められなかった。以上の結果から、メチル水銀の曝露量が同じ積算値の場合、一定量連続曝露と多量間欠曝露でメチル水銀の脳内蓄積量及び組織学的検索で差が生じないことが示唆された。

### [ 研究目的 ]

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<sup>1,2)</sup>。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<sup>3)</sup>と、セイシェル諸島におけるMyersらの研究<sup>4, 5)</sup>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も関わらず、フェロー諸島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、セイシェル諸島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と考えられている<sup>1, 6)</sup>。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、フェロー諸島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 Program<sup>1)</sup>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ヵ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を調べるために、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、21.0 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10 µl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21.0 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。また、組織学的検索を同じプロトコールで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、多量間欠曝露群は最後の投与4日後(B-1)に解剖し、通常組織染色(H&E, Klüver-Barrera, トリクローム, Bodian 染色)に加え、GFAP, ED-1, calbindin 等に対するそれぞれの抗体を用いた免疫組織化学染色を行った。3.0 mg/kg/dayと21.0 mg/kg/weekの群は3週間後に解剖した。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、21.0 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、完全なネンブータ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 21.0 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う波打った体重減少を示した。3.0 mg/kg/day 群と 21.0 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う“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 1 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。

脊髄には、後索から後角において有髄神経線維の脱落とグリオ - シスが認められた(Fig. 4-1)。この病変は頸髄から腰髄にかけてのいずれの部位にも観察され、脊髄全長に亘る変化で、末梢神経、特に後根神経の変性に伴う中枢性の病変であった。後根神経節には、節細胞の脱落が 50%程度に見られ、膠原線維の増加及び衛生細胞の増加を伴っていた(Fig. 4-2)。後根神経は有髄神経の破壊があり Schwann 細胞及び線維芽細胞の増加が認められた(Fig. 4-3)。また、坐骨神経の髄鞘変性と核成分の増加を認めた(Fig. 4-4)。感覚神経線維における傷害の程度を Table 2 にまとめた。個体差を考慮する必要があるが、3.0 mg/kg/day 群と 21.0 mg/kg/week 群 (3 週間投与) よりも 1.5 mg/kg/day と 10.5 mg/kg/week 群 (5 週間投与) の方に病変が強く、0.3 mg/kg/day 群と 2.1 mg/kg/week 群 (5 週間投与) はこれらより明らかに病変が弱かった。一定量連続曝露と多量間欠曝露群の投与方法の違いによる明らかな病変の程度の差を見いだすことは出来なかった。また、大脳・小脳・脳幹部では、明らかな病変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諸島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、セイシェル諸島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 21.0 mg/kg/week 群 10.5 及び 21.0 mg/kg/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回の投与前には減少するという連続投与群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した。そして、算投与量が等しい場合の最終解剖時点での各臓器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が産産時の母親の頭髪の頭皮から 2 cm までの水銀濃度とその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<sup>6)</sup>を説明するものでもある。

一定量連続曝露と多量間欠曝露との間で、病変の程度により、多少個体間で差があり、投与方法の違いによる程度の差を有意なものを見なすことは困難であった。個体差を考慮する必要があるが、0.3 mg/kg/day 群と 2.1 mg/kg/week 群 (5 週間投与) は明らかに病変が弱かったが、3.0 mg/kg/day 群と 21.0 mg/kg/week 群 (3 週間投与) よりも 1.5 mg/kg/day と 10.5 mg/kg/week 群 (5 週間投与) の方で病変が強かった。従って、必ずしも Dose-dependent に病変が出てはいない。これは単に投与量や組織中水銀濃度だけではなく、比較的高濃度のメチル水銀の長期曝露がより傷害を高めた結果によると考えられる。

#### [ 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、血液と脳への水銀の蓄積と神経細胞への影響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神経細胞に及ぼす影響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。また、病変は、必ずしも Dose-dependent に病変が出てはいない。これは単に投与量や組織中水銀濃度だけではなく、比較的高濃度のメチル水銀の長期曝露がより傷害を高めた結果によると考えられる。このことも脳における短期間のメチル水銀の濃度上昇よりも一定濃度以上の水銀濃度がある程度の期間継続して存在することの重要性を示唆しており興味深い結果であった。

#### [ 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.

**Table 1. Mercury concentrations in the brain 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 (G1)	Intermittently dosed rats (G2)	Intermittently dosed rats (G3)
Brain	0.3 mg/kg/day (G1) and 2.1 mg/kg/week (G2 and G3)	1.69 $\pm$ 0.12	1.66 $\pm$ 0.16	1.59 $\pm$ 0.06
	1.5 mg/kg/day (G1) and 10.5 mg/kg/week (G2 and 3)	12.8 $\pm$ 1.58	11.3 $\pm$ 1.34	11.0 $\pm$ 0.96
	3.0 mg/kg/day (G1) and 21.0 mg/kg/week (G2 and G3)	18.0 $\pm$ 0.56	20.3 $\pm$ 2.15	20.2 $\pm$ 1.76

Rats were sacrificed and dissected on day 36 (G1) for daily dosed groups and days 33 (G2) and 36 (G3) for intermittently dosed groups. On day 21, the body weight of rats administered 3.0 mg/kg/day and 21 mg/k/week became lower than at the beginning of the experiment and they were sacrificed and dissected. There were no differences among daily and intermittently dosed groups when the total amount of MeHg added was same.

**Table 2. Degrees of the degeneration in the sensory nerve fibers of five 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.**

MMC treatment	Degrees of the degeneration				
0.3mg/kg/day (Daily)	0	0	0	0	0
2.1mg/kg/week (Intermittently)	0.5	0	0	0.5	0.5
1.5 mg/kg/day (Daily)	3	3	3	3	3
10.5 mg/kg/week (Intermittently)	3	3	3	3	3
3.0 mg/kg/day (Daily)	2	2	2	2	2
21.0 mg/kg/week (Intermittently)	1	1	1	1	1
Control	0	0	0	0	0

Rats were sacrificed and dissected on day 36 for daily dosed and for intermittently dosed groups.

Degree of the degeneration; 0: within normal, 0.5: slight, 1: mild, 2: moderate, 3: severe

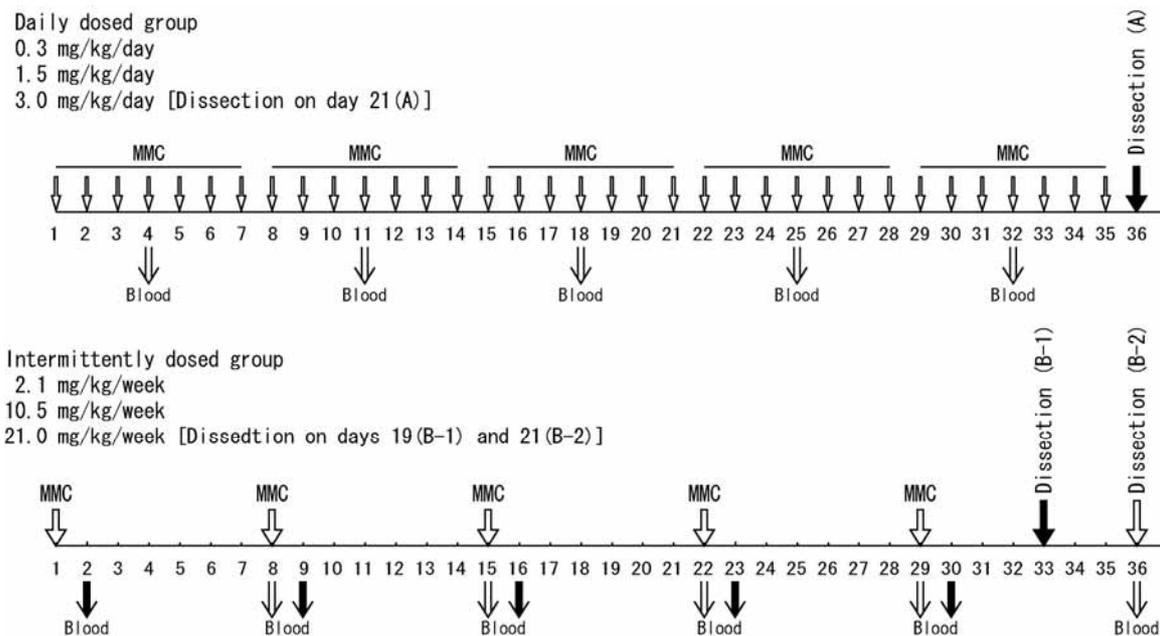


Fig. 1. Protocol of methylmercury administration, blood sampling and dissection

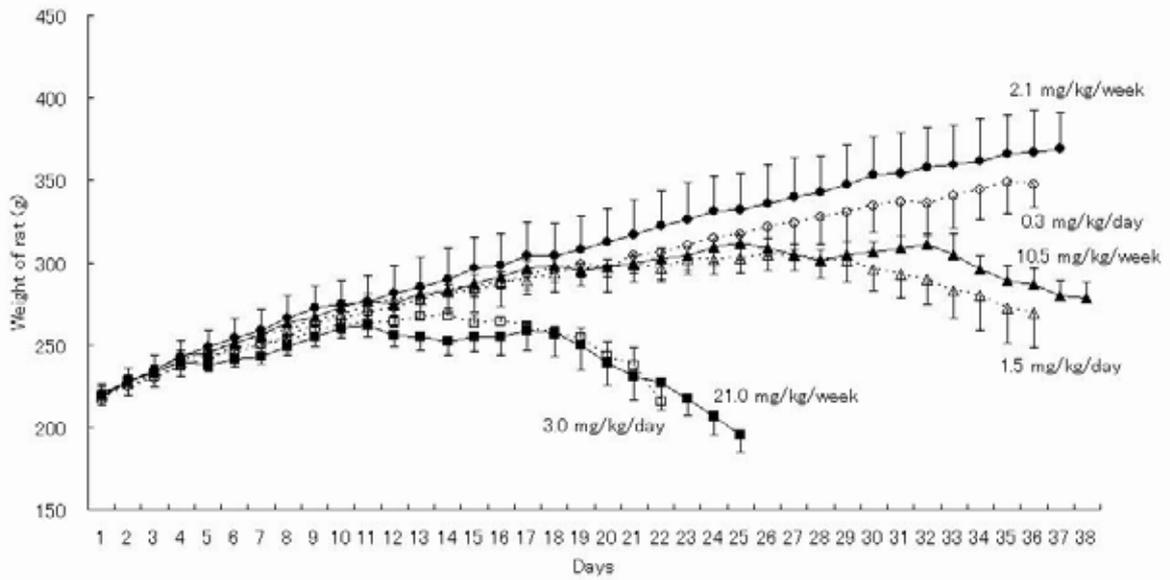


Fig. 2. Changes in body weight of rats with daily (0.3, 1.5 and 3.0 mg/kg/day) and intermittent (2.1, 10.5 and 21.0 mg/kg/week) dosage of methylmercury.

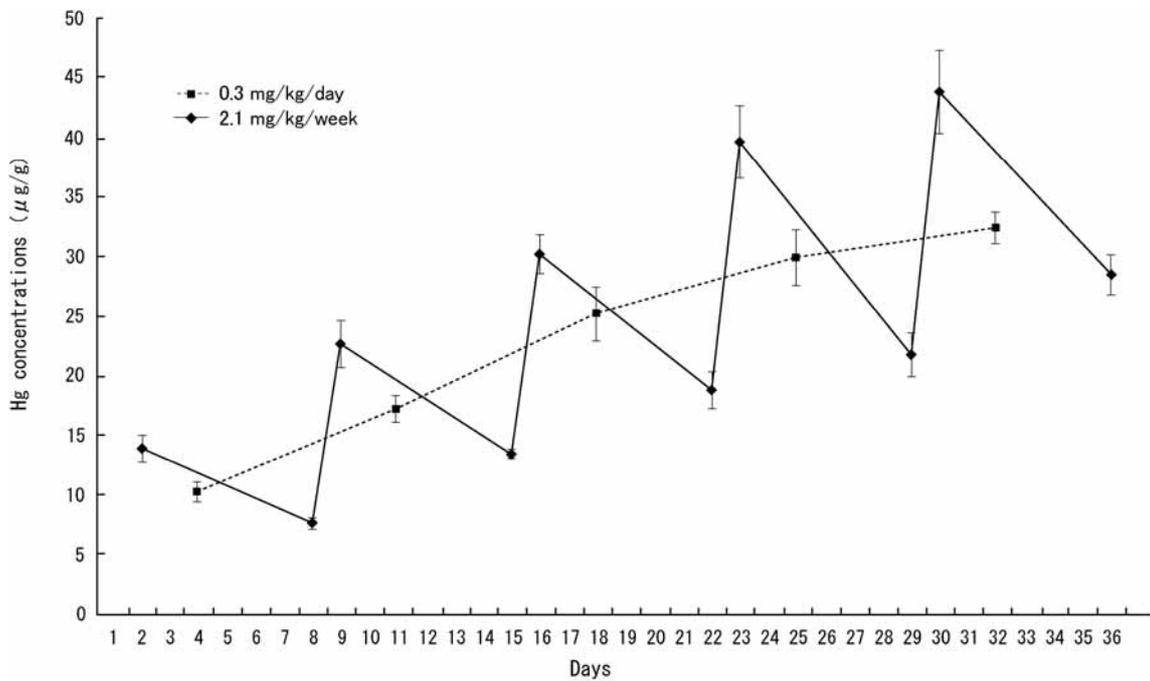


Fig. 3-1. Changes in mercury concentrations in blood of rats treated with daily (0.3 mg/kg/day) and intermittent (2.1 mg/kg/week) dosage of methylmercury.

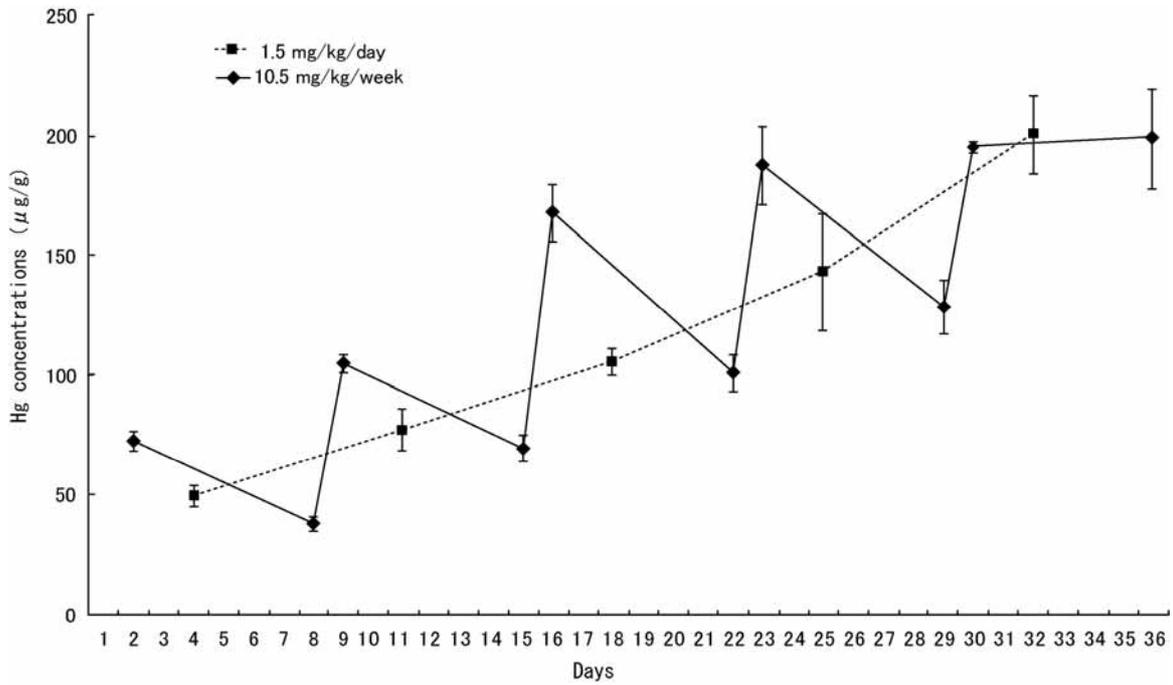


Fig. 3-2. Changes in mercury concentrations in blood of rats treated with daily (1.5 mg/kg/day) and intermittent (10.5 mg/kg/week) dosage of methylmercury.

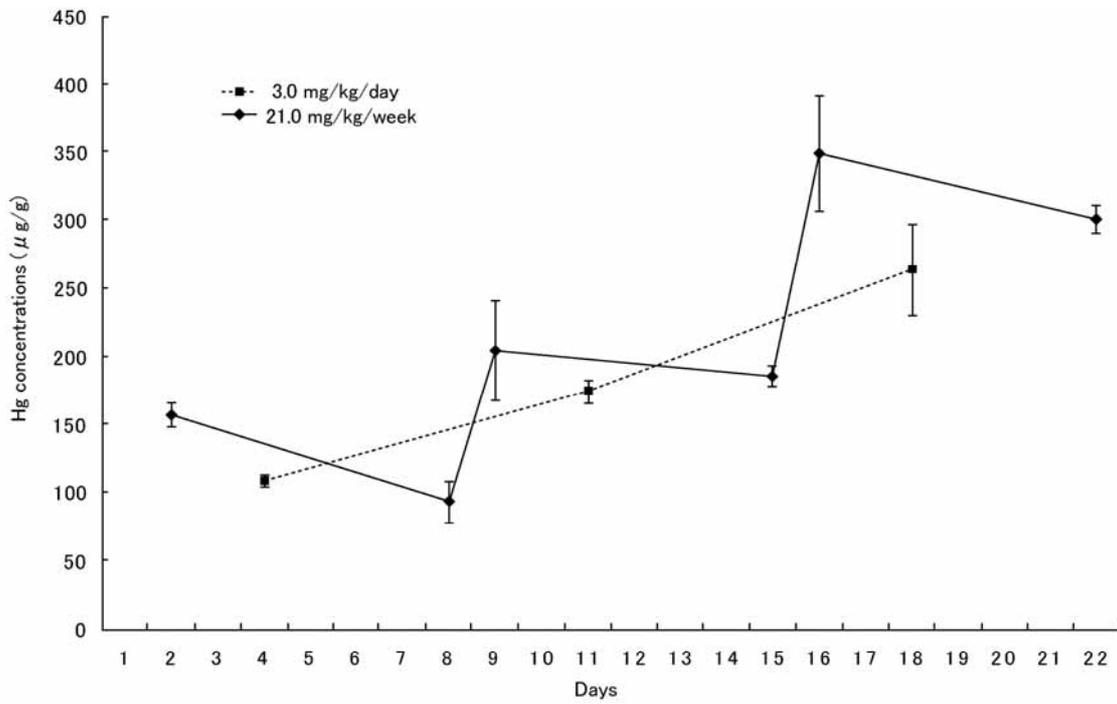


Fig. 3-3. Changes in mercury concentrations in blood of rats treated with daily (3.0 mg/kg/day) and intermittent (21.0 mg/kg/week) dosage of methylmercury.

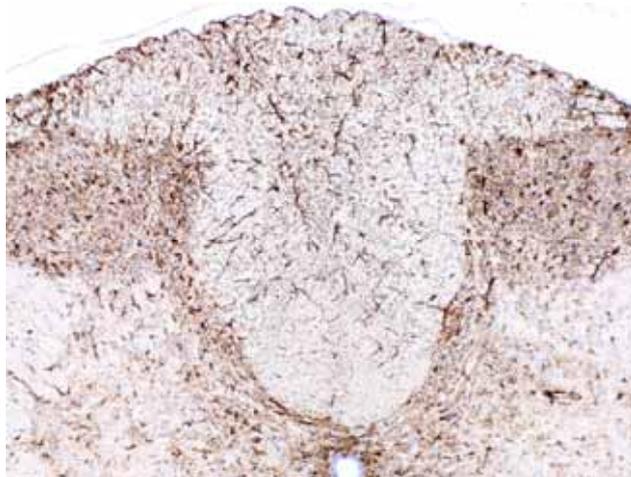


Fig.4-1: Bilateral posterior horns and a posterior column of the spinal cord in methylmercury-treated rat. (Glial fibrillary acidic protein stain).

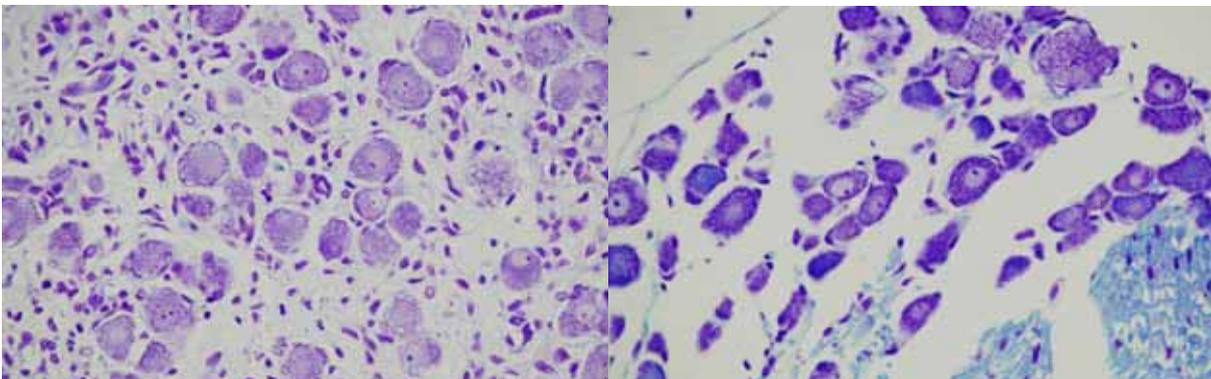


Fig. 4-2. Posterior root ganglion of methylmercury-treated rat (left) and control (right). (Klüver-Barrera stain).

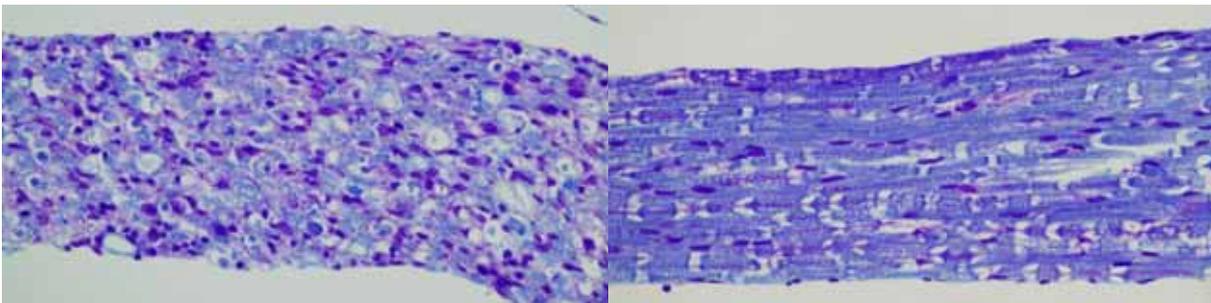


Fig. 4-3. Posterior root nerve of methylmercury-treated rat (left) and control (right). (Klüver-Barrera stain).

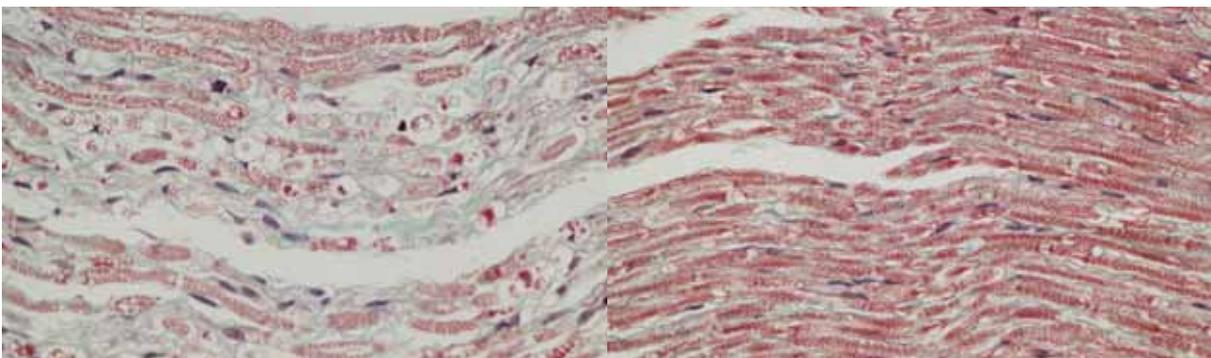


Fig. 4-4. Sciatic nerve of methylmercury-treated rat (left) and control (right). (Trichromatic stain).

### 3) 魚介類摂食に伴う妊婦・出産年齢女性のメチル水銀曝露評価に関する研究

- 日本人におけるメチル水銀の胎児曝露バイオマーカーとしての臍帯と他組織水銀値の比較 -

研究担当者	坂本 峰至 (国際・総合研究部)
	劉 曉潔 (疫学研究部)
	本多 俊一 (疫学研究部)
	衛藤 光明 (所長)
	佐藤 洋 (東北大・医)
	村田 勝敬 (秋田大・医)
	窪田 真知 (宗像水光会総合病院)
	赤木 洋勝 (国際水銀ラボ)
	仲井 邦彦 (東北大・医)
	金城 芳秀 (沖縄看護大)

#### [ 研究目的 ]

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が、最近はより低濃度の曝露による児の微細な発達の影響が注目されている。たとえば UNEP は人体や環境への水銀の影響等に関する情報を国際的に取りまとめる方針を明らかにしている。食事等を介して低濃度メチル水銀に曝露した人集団についての疫学調査としては、これまでフェロー諸島及びセイシェル諸島などにおいて、胎児期曝露後の小児集団についてのコホート研究が行われてきている。しかしながら、これらの研究においては発達影響の有無について相反する結論が得られている。一方、マグロをはじめとする海産魚介類を多食する我が国においてこの影響を調査することは、単に日本国内のみならず、国際的貢献の一つとしてもきわめて大きな意義を有する。平成 15 年 6 月の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会乳肉水産食品・毒性合同部会に於ける検討等の結果“水銀を含有する魚介類の摂食に関する注意事項”が出された。その文書中にも“今後とも、魚介類の中の水銀濃度及び摂取状況等を把握するとともに、胎児への影響に関する研究等を行い、その結果を踏まえ、今回の摂食に係る注意事項の内容を見直すものとする。”と明記されている。国内における、胎児期の低濃度メチル水銀曝露と小児の詳細な発達影響の関連性についてのコホート研究は東北大学医学系研究科保健医学分野教室を中心に環境省事業として平成 14 年度からスタートしている。

本年度は、日本人におけるメチル水銀の胎児曝露バイオマーカーとしての臍帯と他組織水銀値の比較について検討を行った。胎児はメチル水銀曝露の high-risk group として知られている<sup>5, 26)</sup>。その理由としては、発達期の脳はそれ自体の感受性が高い<sup>5, 22, 26)</sup> 上に、メチル水銀は血液胎盤関門を容易に通過して、母体より胎児により高い濃度で水銀が蓄積する<sup>5, 19, 20, 24, 26)</sup> ことによる。そこで、妊婦へのメチル水銀の曝露影響は日本や魚介類を多食する国々では解明しなければ重要な問題である<sup>7, 9, 14, 16, 18, 26)</sup>。水俣病は水俣の化学工場が排出したメチル水銀によって引き起こされた神経性疾患で現在までに 2000 人以上が水俣病と認定されている。更に、胎児は胎盤を介して母親からメチル水銀に曝露され、母親が全く症状が無いかあっても軽度であるのに、重篤な脳性小児麻痺様の症状を引き起こした<sup>12)</sup>。胎児性水俣病患者の発生は 1955-59 年の汚染が最も激しかった時代であった<sup>11)</sup>。その当時、水俣市では男児の出生性比の低

下も観察されている<sup>21)</sup>。その後、大規模なコホート研究がSeychelles<sup>14, 15)</sup> and Faroe Islands<sup>7, 8, 9)</sup> の魚介類や鯨類を多食する国で行われた。これらの研究は、メチル水銀の曝露量は、ほぼ等しいが異なった結果を導き出している<sup>18)</sup>。そこで、これらの研究よりはるかに高い曝露量であった水俣病における研究は、その後開発された神経発達を評価する新たな手法等を用いて研究することによって、重要な示唆が得られるものと考えた。幸いに、日本では出生時の臍帯を記念として大切に保管する風習がある。臍帯は乾燥しており、細菌等によるメチル水銀の減少も起こらず臍帯中のメチル水銀を測定することにより出生時のメチル水銀曝露量を推定できる<sup>2, 17)</sup>。しかし、日本では過去に、赤チン(マーキュロクロム)を臍帯切り離し後に使用しており、マーキュロクロムは溶液中で乖離して水銀イオンになるのでメチル水銀でなく総水銀を測定すると異常に高い値が出てくるので注意が必要である。本研究では現在の日本人のメチル水銀の胎児曝露バイオマーカーとしての臍帯と他組織水銀値の測定し、組織間の濃度関係を明らかにする。

## [ 研究方法 ]

### 対象とサンプリング

合計 116 名の特別な水銀の曝露のない健常な 19 歳から 41 歳の妊婦 (平均年齢  $30.0 \pm 5.0$  歳) から研究参加のインフォームドコンセントを得た。サンプルは対馬 (30 cases)、福岡市 (68 cases) と東京都葛飾区 (18 cases) で母体及び臍帯血液、臍帯、毛髪を出産時に集めた。サンプルは使用まで  $-80^{\circ}\text{C}$  で保管した。胎児側 1cm の臍帯は生理食塩水で血液をすすぎ、生理食塩水を除くために何度もキムタオルにはさんで押えた。更に、 $40^{\circ}\text{C}$  で 3 日間乾燥させ、重さの変動がなくなったことを確認した後に鋏で細かく刻んだ。水銀測定に際しては  $0.1 \sim 0.2$  g of の組織に 0.5 ml の水を前もって加えた。本研究は、NIMD 倫理・安全委員会の許可を得て行っている。

### 水銀測定

総水銀濃度の測定は赤血球約 0.5 g を用い cold vapor atomic absorption spectrophotometry (CVAAS) 法でした。原理は、サンプルを  $\text{HNO}_3$   $\text{HClO}_4$  と  $\text{H}_2\text{SO}_4$  で加熱分解し酸化した二価の水銀へ  $\text{SnCl}_2$  を加えて還元し  $\text{Hg}^0$  と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。メチル水銀は試料を  $\text{KOH}$ -Ethanol で可溶化後、dithizone-toluene で抽出したのち、精製後 GC-ECD で測定を行った。検出限界は  $0.01$  ng/g である<sup>1)</sup>。

### 統計解析

3 地区の総水銀とメチル水銀濃度は one-way analysis of variance (ANOVA) で解析した。3 地区で各試料の水銀濃度の相関が殆ど同じであったので、すべてのデータをあわせて相関は Pearson and Spearman correlation analysis で行った。ついになっている 2 組のデータの平均値の差は paired t-test で行った。p 値が 0.05 以下のものを統計学的に有意とみなした。

## [ 研究結果 ]

Table 1 に毛髪の日本における 3 地区の総水銀、臍帯組織、母体血、臍帯血の総水銀 とメチル水銀 を

示した。すべての水銀濃度で3地区間で差が認められた( $p < 0.01$ )。水銀濃度は葛飾区で最も高く、続いて福岡、対馬の順であった。3地区で各試料の水銀濃度の相関が殆ど同じであった(Fig. 1-4)。臍帯組織の幾何平均濃度は総水銀が91.7 ng/g、メチル水銀が83.1 ng/gであった。臍帯組織のメチル水銀% (メチル水銀 / 総水銀  $\times 100$ ) は $90.6 \pm 10.4\%$ であった。臍帯血の総水銀とメチル水銀の幾何平均値はそれぞれ9.81 ng/g、9.32 ng/gで母体血より約2倍高い( $p < 0.01$ )値(5.18 and 4.77 ng/g)であった。Fig.1 母体血と臍帯血の総水銀の相関を示した。メチル水銀%は母体血が95.2%、臍帯血では92.5%で前者が有意に高かった。Table 2 にすべての試料の総水銀とメチル水銀の相関係数を示した。すべての相関係数が有意であった( $p < 0.01$ )。Fig. 2 に臍帯組織の総水銀とメチル水銀の相関を示した。Fig. 3 に臍帯血と母体血の総水銀の相関を示した。Fig. 4 は臍帯組織メチル水銀と毛髪総水銀の相関である。

#### [ 考察 ]

メチル水銀は胎児の脳に最もリスクの高い物質の1つであり、胎児への曝露は母親の魚介類の摂食を介しておこる。メチル水銀は胎児期に胎盤を介してシステイン・メチル水銀包合体として胎盤を移行すると考えられている<sup>3, 13)</sup>。そして、臍帯血は胎児の最も優れたメチル水銀曝露指標であると考えられている<sup>18)</sup>。加えて、臍帯組織中メチル水銀も優れたメチル水銀曝露指標であると考えられている<sup>2, 17)</sup>。そこで、本研究では臍帯組織の総水銀とメチル水銀と他の組織の水銀濃度との関連について検討し、臍帯組織中水銀濃度の意義を検討した。

幸いに、日本人は出生時の臍帯を保存する風習を持っており、それを利用して過去のメチル水銀曝露量が推定可能となる。臍帯組織は主に妊娠後期 1/2 ~ 1/3 に形成され、臍帯血は胎児循環を行っている。メチル水銀の生物学的半減期が45 days<sup>23)</sup>であることから判断すると、臍帯血だけでなく臍帯組織も妊娠後期の胎児のメチル水銀負荷量を表すと考えられる。臍帯血と臍帯組織は高い相関を示したことに加えて、臍帯組織の約90%がメチル水銀であることから臍帯組織メチル水銀だけで無く総水銀も胎児へのメチル水銀曝露の優れた指標となると考えられる。実際に、臍帯血に加えて臍帯中の総水銀が胎児の発達のpredictorとして有用であることが最近Grandjean ら<sup>7)</sup>によって明らかにされている。

日本の各地で水銀濃度が異なることは安武らの研究で明らかになっており、その違いは東京都やその近辺でマグロの消費が高いことから原因であろうと考えられている<sup>27)</sup>。しかしながら、各資料での相関は地域と関連無く同様であったので、3地区のデータをすべて合わせてレンジを広げられるという利点を利用して解析を行った。臍帯組織中の総水銀幾何平均値は91.7 ng/gでFaroe Islands study<sup>6, 7)</sup>の約1/2であった。

一定条件化では毛髪/血液水銀濃度比は約250<sup>26)</sup>である。しかしながら、今回その比は約350であった。このことは、ヘマトクリット値が妊娠期、特に、妊娠後期で急激に低下すること<sup>4)</sup>で説明できよう。すなわち、約90%の水銀が赤血球に存在するからである<sup>10, 20, 25)</sup>。母体血(92.5%)と臍帯血(95.2%)のメチル水銀%の違いも我々が指摘しているように<sup>20)</sup>ヘマトクリット値の違いで説明できる。

母親の毛髪や血液の水銀濃度も児のメチル水銀曝露の指標にはなり得る。しかし、母親の指標は母親自身の曝露量を示すものであり、児のメチル水銀曝露量の評価にある程度のばらつき (variability) が生じる可能性がある。我々の最近の研究でも、個々の臍帯血/母体血の比は1.08 ~ 2.19と53組のペアではばらついた。Stern and Smith<sup>24)</sup>も各集団での臍帯血/母体血のばらつきを指摘している。Grandjean et al.<sup>7, 9)</sup> 臍帯血や臍帯組織の水銀濃度が児の発達と負の相関を呈することを報告しているが、母親の毛髪ではそ

れを認めていない。特に、毛髪に関しては根元からの長さ、パーマ処理による水銀の脱落、および外部からの付着の因子も考慮しなくてはならなくなっている。因子分析による解析で、臍帯血、母体血、臍帯組織の水銀濃度が非常に近接したデータグループと認識されたにもかかわらず、毛髪水銀濃度はそれグループから外れていた。臍帯組織総水銀と母体血総水銀との相関および臍帯組織総水銀と臍帯血総水銀との相関は共に  $r = 0.91$  と高かったが、臍帯組織総水銀と母体血総水銀との相関は  $r = 0.64$  と低かった。重回帰分析で、胎児の最も優れたメチル水銀曝露指標<sup>18)</sup> であると考えられている対数臍帯血総水銀値(Y)を従属変数、対数毛髪総水銀X(1)、対数臍帯組織総水銀X(2)、対数母体血総水銀X(3)を独立変数として解析した結果、

$$Y = 0.054 \times X(1) + 0.35 \times X(2) + 0.55 \times X(3) - 0.25 \quad (p < 0.01, R = 0.92)$$

となった。これらの結果より臍帯組織水銀濃度（総水銀やメチル水銀）から毛髪水銀濃度を推定するには無理があるが、臍帯組織水銀濃度（総水銀やメチル水銀）から母体血や臍帯血の水銀濃度を下式より推定することは可能であろう。

フェロー諸島の臍帯組織中水銀濃度は幾何平均で  $0.21 \mu\text{g/g}$ <sup>8, 9)</sup> で、胎児性水俣病患者の臍帯組織中メチル水銀濃度が  $0.15 \sim 5.3 \mu\text{g/g}$  (median  $1.63 \mu\text{g/g}$ ) であったことから、胎児性水俣病患者の水銀曝露量は今回の調査の約 22 倍、フェロー諸島と比べて約 8 倍高かったと考えられ、臍帯組織メチル水銀濃度から推定される胎児性水俣病患者における出生時の母体総血濃度は約  $100 \text{ ng/g}$ 、臍帯血総水銀濃度は  $200 \text{ ng/g}$  である。

これらの結果は、臍帯組織の総水銀やメチル水銀が児のメチル水銀曝露指標として十分に意義がありことを示している。更に、保存臍帯のメチル水銀濃度を測ることにより当時の水俣で生まれた児の個々のメチル水銀曝露量評価も可能となり、過去を振り返って量・反応（あるいは影響）関係を調べる現存する唯一の指標とも言え、その重要性は高い。

#### [引用文献]

1. Akagi H, Castillo ES, Cortes-Maramba N, Francisco-Rivera AT, Timbang TD: Health assessment for mercury exposure among schoolchildren residing near a gold processing and refining plant in Apokon, Tagum, Davao del Norte, Philippines. *Sci Total Environ* **259(1-3)**, 31-43, 2000.
2. Akagi H, Grandjean P, Takizawa Y, Weihe P: Methylmercury dose estimation from umbilical cord concentrations in patients with Minamata disease. *Environ Res* **77(2)**, 98-103, 1998.
3. Aschner M, Clarkson TW: Mercury 203 distribution in pregnant and nonpregnant rats following systemic infusions with thiol-containing amino acids. *Teratology* **36(3)**, 321-328, 1987.
4. Bollini A, Hernandez G, Bravo Luna M, Cinara L, Rasia M: Study of intrinsic flow properties at the normal pregnancy second trimester. *Clin Hemorheol Microcirc* **33(2)**, 155-161, 2005.
5. Choi BH: The effects of methylmercury on the developing brain. *Prog Neurobiol* **32(6)**, 447-470, 1989.
6. Dalgard C, Grandjean P, Jorgensen PJ, Weihe P: Mercury in the umbilical cord: Implications for risk assessment for Minamata disease. *Environ Health Perspect* **102(6-7)**, 548-550, 1994.
7. Grandjean P, Budtz-Jorgensen E, Jorgensen PJ, Weihe P: Umbilical cord mercury concentration as biomarker of prenatal exposure to methylmercury. *Environ Health Perspect* **113(7)**, 905-908, 2005.
8. Grandjean P, Budtz-Jorgensen E, White RF, Jorgensen PJ, Weihe P, Debes F, et al: Methylmercury exposure

- biomarkers as indicators of neurotoxicity in children aged 7 years. *Am J Epidemiol* **150(3)**, 301-305, 1999.
9. Grandjean P, Weihe P, White RF, Debes F, Araki S, Yokoyama K, et al: Cognitive deficit in 7-year-old children with prenatal exposure to methylmercury. *Neurotoxicol Teratol* **19(6)**, 417-428, 1997.
  10. Group SE: Methylmercury in fishes. A toxicological-epidemiological evaluation. Report of a group of experts. 1970.
  11. Harada M: Congenital Minamata disease: intrauterine methylmercury poisoning. *Teratology* **18(2)**, 285-288, 1978.
  12. Harada M: Minamata disease: methylmercury poisoning in Japan caused by environmental pollution. *Crit Rev Toxicol* **25(1)**, 1-24, 1995.
  13. Kajiwara Y, Yasutake A, Adachi T, Hirayama K: Methylmercury transport across the placenta via neutral amino acid carrier. *Arch Toxicol* **70(5)**, 310-314, 1996.
  14. Myers GJ, Davidson PW, Cox C, Shamlaye CF, Palumbo D, Cernichiari E, et al: Prenatal methylmercury exposure from ocean fish consumption in the Seychelles child development study. *Lancet* **361(9370)**, 1686-1692, 2003.
  15. Myers GJ, Davidson PW, Cox C, Shamlaye CF, Tanner MA, Choisy O, et al: Neurodevelopmental outcomes of Seychellois children sixty-six months after in utero exposure to methylmercury from a maternal fish diet: pilot study. *Neurotoxicology* **16(4)**, 639-652, 1995.
  16. Myers GJ, Marsh DO, Davidson PW, Cox C, Shamlaye CF, Tanner M, et al: Main neurodevelopmental study of Seychellois children following in utero exposure to methylmercury from a maternal fish diet: outcome at six months. *Neurotoxicology* **16(4)**, 653-664, 1995.
  17. Nishigaki S, Harada M: Methylmercury and selenium in umbilical cords of inhabitants the Minamata area. *Nature (London)* **258**, 324-325, 1975.
  18. NRC. National Research Council: Toxicological Effects of Methylmercury. Washington, DC. National Academy Press, 2000.
  19. 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(14)**, 3860-3863, 2004.
  20. Sakamoto M, Kubota M, Matsumoto S, Nakano A, Akagi H: Declining risk of methylmercury exposure to infants during lactation. *Environ Res* **90(3)**, 185-189, 2002.
  21. Sakamoto M, Nakano A, Akagi H: Declining Minamata male birth ratio associated with increased male fetal death due to heavy methylmercury pollution. *Environ Res* **87(2)**, 92-98, 2001.
  22. Sakamoto M, Nakano A, Kajiwara Y, Naruse I, Fujisaki T: Effects of methyl mercury in postnatal developing rats. *Environ Res* **61(1)**, 43-5, 1993.
  23. Smith JC, Farris FF: Methyl mercury pharmacokinetics in man: a reevaluation. *Toxicol Appl Pharmacol* **137(2)**, 245-252, 1996.
  24. Stern AH, Smith AE: An assessment of the cord blood:maternal blood methylmercury ratio: implications for risk assessment. *Environ Health Perspect* **111(12)**, 1465-1470, 2003.
  25. Svensson BG, Schutz A, Nilsson A, Akesson I, Akesson B, Skerfving S: Fish as a source of exposure to

mercury and selenium. *Sci Total Environ* **126(1-2)**, 61-74, 1992.

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

27. Yasutake A, Matsumoto M, Yamaguchi M, Hachiya N: Current hair mercury levels in Japanese for estimation of methylmercury exposure. *J Health Sci* **50(2)**, 120-125, 2004.

Table 1 Geometric means and 25th-75th percentiles of total mercury (THg) in hair and total and methylmercury (MeHg) in cord tissue, maternal blood and cord blood in three districts in Japan

(ng/g)	Hair	Cord tissue		Maternal blood		Cord blood	
Districts	THg	THg	MeHg	THg	MeHg	THg	MeHg
Tsushima n=30	1453 (1157 - 1950)	64.0 (46.7 - 87.9)	54.6 (38.1 - 71.8)	4.62 (3.02- 7.55)	3.98 (2.75 - 5.95)	9.13 (6.37 - 12.4)	8.38 (5.84 - 10.7)
Fukuoka n=68	1954 (1170 - 2293)	97.0 (80.6 - 125)	89.3 (75.8 - 121)	4.9 (3.65 - 6.44)	4.61 (3.61 - 5.73)	9.27 (7.03 - 13.9)	8.93 (6.57 - 11.5)
Katsushika n=17	2120 (1810 - 2990)	137.7 (94.5 - 207)	130.8 (95.5 - 197)	7.91 (5.42 - 11.3)	7.54 (5.21 - 10.3)	13.9 (8.87 - 20.9)	11.4 (8.13 - 20.1)
Total n=115	1624 (1175 - 2195)	91.7 (63.5 - 127)	83.1 (57.1 - 122)	5.18 (3.63 - 7.34)	4.77 (3.5 - 6.54)	9.81 (6.96 - 13.6)	9.32 (6.56 - 13.4)
MeHg (%) Mean ± SD			90.6 ± 10.4		92.5 ± 8.1		95.2 ± 5.5

Table 2 Correlation coefficients of logarithmic total mercury (THg) in hair and total and methylmercury (MeHg) in cord tissue, maternal blood and cord blood in the total of three districts in Japan

r	Hair	Cord tissue		Maternal blood		Cord blood	
	THg	THg	MeHg	THg	MeHg	THg	MeHg
Hair-THg	1						
CT-Hg	0.641	1					
CT-MeHg	0.626	0.975	1				
MB-THg	0.648	0.809	0.799	1			
MB-MeHg	0.654	0.846	0.839	0.981	1		
CB-THg	0.651	0.848	0.815	0.888	0.885	1	
CB-MeHg	0.646	0.873	0.839	0.882	0.888	0.992	1

All the correlation coefficients were significant ( $P < 0.01$ )

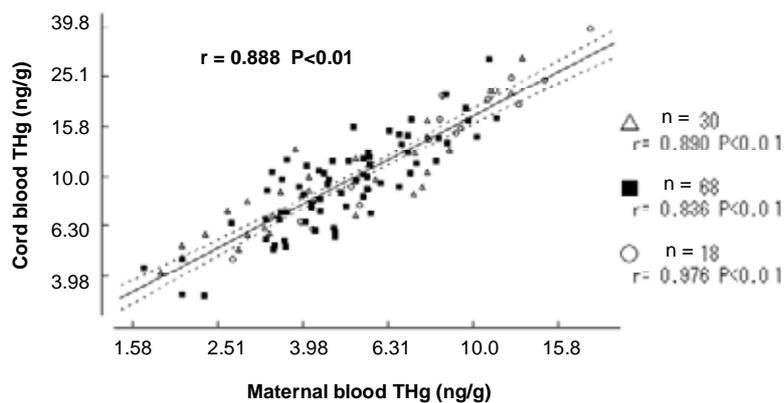
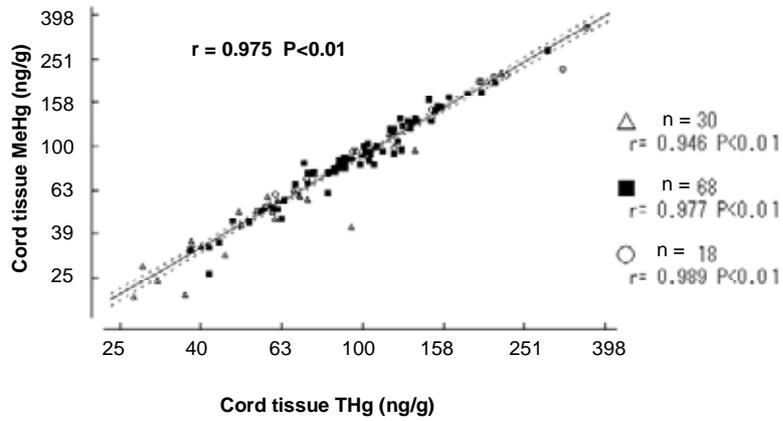
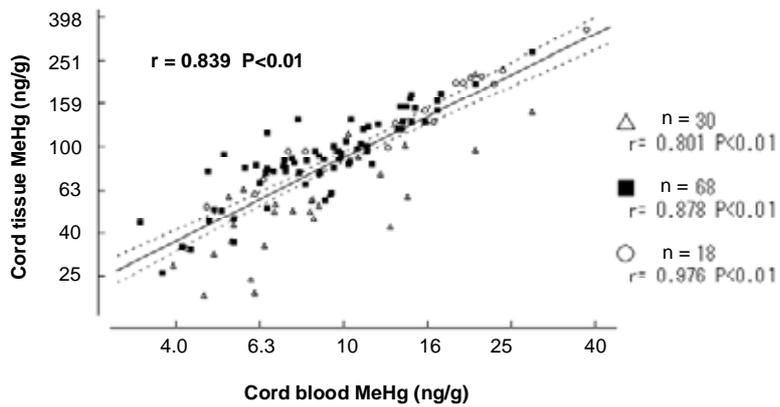


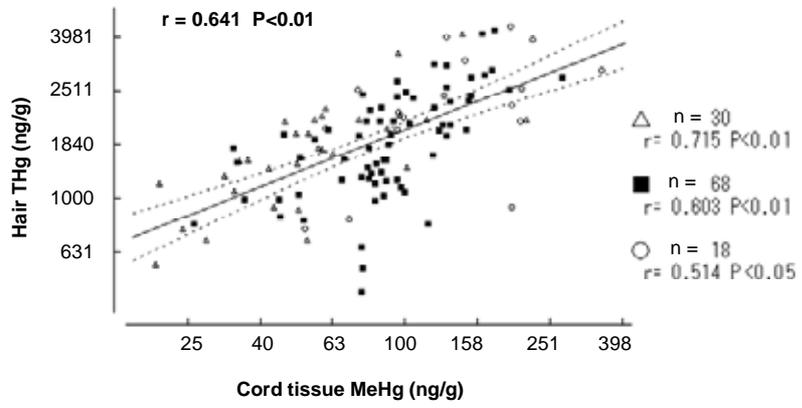
Figure 1. Correlation between total mercury (THg) in maternal blood and cord blood



**Figure 2.** Correlation between total mercury (THg) and methylmercury (MeHg) in cord tissue



**Figure 3.** Correlation between methylmercury (MeHg) in cord blood and cord tissue



**Figure 4.** Correlation between cord tissue methylmercury (MeHg) and hair total mercury (THg)

#### 4 ) b. 胎児性水俣病患者に関する研究 - メチル水銀の動脈硬化に与える影響 -

研究担当者	宮本謙一郎（臨床部）
	若宮 純司（臨床部）
	中村 政明（臨床部）
	村尾 光治（臨床部）
	岡元美和子（明水園）
	松葉佐 正（芦北学園）
	後藤 正道（鹿児島大・医歯）
	丸山 征郎（鹿児島大・医歯）
	鍛冶 利幸（北陸大・薬・環境科学）

##### [ 研究目的 ]

胎児性水俣病患者の加齢による臨床症状の変化で、運動機能の急速な低下が見られるとして、早急な実態解明と対策の必要性が指摘されている。胎児性水俣病患者の現在の病態については、体系的に実態が把握されておらず、加齢による健康影響評価も十分なされていないのが現状である。胎児性水俣病患者の加齢による血管の老化度を測定する目的で、血圧脈波検査装置で、血管の硬さとつまりを実測した結果、胎児性患者 10 名中(男性 6 名、女性 4 名、寝たきり、歩行不能者)5 名に年齢相応よりも高い血管の硬化が認められ、対照群である同世代の重度心身障害者施設入所中の脳性小児麻痺患者 10 名(男性 6 名、女性 4 名、寝たきり、歩行不能者)を同測定装置で計測した結果では、明らかな血管の変化は認められなかった。最近、Fetal Origin of Adult Disease という新しい学説が注目され、妊娠中に喫煙した母親や妊娠中にダイエットした低栄養の母親から生まれた子供は、40 代以降壮年期になった場合、加齢による老化と併せて生活習慣病や動脈硬化が発現するリスクが非喫煙者や非ダイエット者の母親より生まれた子供より高いことが報告されている。また、ヒトの血管内皮細胞を用いた培養実験でもメチル水銀は、内皮細胞の移動や内皮細胞の形成・構築が dose-dependent に抑制することも明らかになっている。以上の理由で、胎児期にメチル水銀の曝露を受けた場合、血管の老化が加齢によって加速される可能性も考えられる。そこで、現在壮年期になっている胎児性水俣病患者の血管の動脈硬化度を測定し、メチル水銀の胎児期曝露が神経系の傷害だけでなく、出生後の胎児性水俣病患者の壮年期における血管系にも影響を及ぼすのか検討を行う。

##### [ 研究対象および方法 ]

平成 18 年度は、平成 15 年度に血圧脈波検査装置を用いて明水園に入園中の胎児性水俣病患者の動脈硬化度の測定を行ったのに引き続いて、2 回目の測定を胎児性水俣病患者 10 名(男性 40 代 5 名、50 代 1 名、女性 40 代 4 名、寝たきり、歩行不能者)、小児性水俣病患者 1 名(女性 50 代、歩行不能)で行った。また、対照として、重度心身障害者施設に入所中の脳性麻痺患者 10 名(男性 40 代 6 名、女性 40 台 4 名、寝たきり、歩行不能者)を測定した。

#### [ 研究結果および考察 ]

胎児性水俣病患者 10 名中 5 名が年齢相応より高い血管の硬化が認められた。また、小児性水俣病患者 1 名では高度の血管のつまりが認められた。一方、対照群である同世代の重度心身障害者施設の脳性小児麻痺患者 10 名では、明らかな血管の変化は認められなかった。平成 15 年度と平成 17 年度に行った血圧脈波測定装置の測定結果は、再現性において解離する結果が得られた。これは、測定対象の胎児性水俣病患者が半分程入れ替わっていることにもよると考えられるが、平成 15 年度は測定機器メーカーが行っている通りの測定方法で、大人用のカフを使って測定を実施したが、胎児性水俣病患者の足は細いため、大人用のカフでは大きすぎ、血圧測定において見かけ誤差が生じたため、血管のつまりとして測定装置がデータを出した可能性も考えられる。それで、再現性を検討するために、平成 17 年度は、子供用の小さいカフを使って測定した結果、血管のつまりは認められず、年齢相応よりも高い血管の硬化が認められた。平成 17 年度の測定結果を参考にして、同一の胎児性水俣病患者における動脈硬化度を血圧脈波装置で次年度再測定を行う予定である。次年度動脈硬化度の再測定を行って再現性が得られないなら、次年度で研究を終了する予定である。再現性が得られれば今後血圧脈波検査装置による血管の動脈硬化度の測定の胎児性水俣病患者の対象者数を増やすとともに、直接的に血管の硬化度が画像で定量的に解析できる超音波診断装置を使用して動脈硬化度を測定していく予定である。

#### 4 ) c. 低濃度メチル水銀胎児曝露における毒性影響評価法の開発

研究担当者	宮本謙一郎（臨床部）
	若宮 純司（臨床部）
	中村 政明（臨床部）
	村尾 光治（臨床部）
	安藤 哲夫（鹿児島大・医歯）
	後藤 正道（鹿児島大・医歯）
	中野 篤浩（みなまた環境テクノセンター）
	谷川 富夫（水俣総合医療センター）
	村山 伸樹（熊本大・工・電気システム）
	守口 徹（湧永製薬・ヘルスケア研）

##### [ 研究目的 ]

低濃度メチル水銀毒性の胎児影響を検討する上で、臍帯や臍帯血におけるメチル水銀濃度、DHA、セレン濃度の測定は重要である。しかし、現在の出生した子の臍帯、臍帯血における精度の高いメチル水銀濃度、DHA、セレン濃度の日本の正常値は少ないのが現状である。また、臍帯や臍帯血中の微量蛋白・遺伝子を質量分析装置やマイクロアレイ装置で分析することより、低濃度メチル水銀毒性のバイオマーカーとして有用な情報が得られると考えられる。また、実験的に胎児期低濃度メチル水銀曝露における胎児影響を、メチル水銀濃度、DHA、セレン濃度の測定と高次脳機能を電気生理学的に聴性脳幹反応 (ABR) 及び事象関連電位(P300)を用いて評価し、メチル水銀 / セレンまたは DHA 比と高次脳機能との関係を検討することも重要と考えられる。以上の事から、出生した新生児の臍帯、臍帯血を用いて、メチル水銀、セレン、DHA の分析を行い、平均値を算出する。

##### [ 研究対象および方法 ]

本年度は、Wistar ラット雌 3 週齢より、n-3 系不飽和脂肪酸欠乏飼料及び添加飼料の 2 群及び同群の飼料で飼育し妊娠したラットに妊娠 2 日目から 19 日目まで 18 回メチル水銀 1 mg/kg/day を経口連続投与した 2 群の計 4 群を対象に胎児性水俣病モデルラットを作成し、メチル水銀の胎児影響評価指標として、高架式十字迷路、明暗反応試験、水迷路試験を行った。

##### [ 研究結果および考察 ]

メチル水銀の胎児影響評価指標として、高架式十字迷路、明暗反応試験、水迷路試験を行った結果では、各指標とも 4 群間で有意な変化は認められなかった。

また、以前開発していたラットの事象関連電位 P300 測定用のオペラント学習装置を改良して学習訓練を行い、10KHz のターゲット刺激と 5KHz のノンターゲット刺激を与えた場合、2 種類の音の弁別ができることを確認した。

## 5) 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ついては神経系の発達影響をはじめとする胎児影響が主要な課題となっている。栄養素摂取における魚介類依存性の高いわが国においては、このようなメチル水銀の耐容摂取限界に対する安全マージンは必ずしも十分ではなく、魚介類摂取に関するリスク - 便益解析が重要な課題となっている。国際的には 2003 年に JECFA はメチル水銀の暫定週間耐容摂取量を従来の約半分以下に引き下げた。わが国でも 2005 年に食品安全委員会は、一般集団の暫定週間耐容摂取量を  $3.4 \mu\text{g}/\text{kw}\text{-bw}/\text{週}$  に据え置く一方、妊娠中の新基準として  $2.0 \mu\text{g}/\text{kw}\text{-bw}/\text{週}$  を決定した。これを受けて厚生労働省は、妊娠中および妊娠しているかもしれない人に対して特定魚介類の摂取ガイドラインの改訂を行った。耐容摂取量の新たな基準値は低濃度のメチル水銀の影響から胎児を守るためには十分な基準とみなされる一方、毛髪水銀調査の結果から推定されるように、これらの曝露レベルはわが国の一般消費者集団では日常的な食生活によって発生し得る曝露レベルである。例えば、全国の毛髪水銀調査から推定されるメチル水銀曝露量によると、全国の出産年齢女性の約 15% が妊娠中の耐容摂取量を超えていることが推定され、また全集団の約一割、出産年齢女性の 1~2% 程度が一般集団の耐容摂取量を超えて曝露していると考えられる。さらに、人口規模の大きい首都圏などでは曝露レベルは全国平均よりかなり高い。一方、これら魚介類摂取を介したメチル水銀のリスクについての情報は一般消費者には普及しているとは言えず、必要な場合に効果的な行動変容に結びついていないかについては問題が大きい。

疾病や死亡をエンドポイントとする従来型の健康リスクに対しては、十分な安全マージンを前提とした安全摂取限界量ならびに、限界量以内の集団曝露を確保するための市場管理等を含む一律規制が行われる。一方、低濃度水銀の健康影響については、測定技術の進歩や母子保健の向上などを背景として、問題となる健康影響は相対的に軽微化しつつある。このようなリスク問題に対しては従来型の法的規制を中心とした政策的対応では限界が生じる。そこで、このような問題に対するリスクコミュニケーションのアプローチとして、わが国一般集団における高リスク群の存在実態の調査・究明、および一般消費者集団におけるリスク認知の現状とその問題点の解明などをおこない、より効果的なリスクコミュニケーションのあり方を探るとともに、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践的・推進する。

### [ 研究対象および方法 ]

平成 17 年度においては、平成 18 年 1 月 13 日~23 日にかけて大阪府貝塚市の水俣・貝塚展会場にお

いて約 125 名を対象に毛髪水銀測定を含むリスクコミュニケーション調査を実施した。この調査では問診票による食事摂取頻度調査およびアンケートによる意識調査を実施し、加熱気化法による毛髪総水銀濃度の測定ならびに結果の告知を行う。また、厚生労働省の魚介類摂取に関する新指針（案）の発表直後の平成 17 年 8 月には、水俣病情報センターにおいて、一般来館者を対象に新指針の認知等に関する予備的な調査を実施した。京都大学環境衛生学教室ならびに宮城教育大学との共同研究では、メチル水銀曝露量の比較的高い宮城県の漁村において地元自治体との協同で、一般住民の毛髪水銀測定および食生活改善指導を含むリスクコミュニケーション事業を 2004 年から展開しているが、平成 17 年度においては 7 月および 12 月に毛髪採取を、また 5 月および 10 月の 2 回に住民対象の勉強会を実施した。

#### [ 研究成果および考察 ]

貝塚調査においては、125 名の毛髪収集ならびに毛髪水銀の分析、第 1 回目のアンケート調査票の回収を行った。平均年齢は女 38.8 歳 (n=65)、男 40.5 歳 (n=57) で、毛髪水銀濃度の幾何平均は女 1.51 ppm、男 2.22 ppm で、毛髪水銀レベルはほぼ全国平均並みであった。毛髪水銀濃度と関連する要因のうち、魚種別摂食傾向を比較的好く食べる魚の頻度で見ると上位 5 種は、サケ：75.8%、サンマ：58.3%、魚加工品：56.7%、サバ：54.2%、マグロ：53.3%の順となった。これらの参加者には魚介類を介した低濃度メチル水銀暴露のリスク認知等に関する第 2 回目のアンケートを送付して、さらに 3 月には意見交換会を実施したが、これらで得られた内容については解析中である。

水俣病情報センターでおこなった魚介類摂取に関する新指針の認知等に関する予備的な調査では、2005 年 8 月 12 日の厚生労働省新指針の認知状況などについて調べた。この調査の直前に行われた新指針の発表について知っていたのは 38% で、この認知状況に性差は見られなかった。指針の対象が妊娠女性に限られることに対して納得できるとしたのは全体の約 28% で、以前に本研究で実施した川崎・札幌調査よりも増加していた。行動影響については、全体の 48% が魚の食べ方は変わらないと答え、注意事項にある魚の食べ方に注意するものが 32% であった一方、魚食に不安を感じるものが 17% あったが、魚の摂取全般を控えるとしたものは 3% のみであった。上記いずれの集計についても、性・年齢間で有意の差は見られなかった。メチル水銀のリスクに関連した基本知識の認知度については、「体内の水銀は絶えず排泄されており蓄積し続けることはない」と「体内のメチル水銀の量は食べる魚の種類や量を変えればある程度変えることができる」の 2 つは、妊娠中に食べる魚種を自ら管理することにより、胎児へのメチル水銀曝露を減らすことができるという、厚労省摂取指針の考え方の前提でもある。また、「魚に含まれるメチル水銀の量は魚の種類や大きさに決まり、どこの海で獲れたものかはあまり関係ない」も摂取指針の有効性と密接に関連するものと言える。しかしながら、4 項目いずれについても、知識の普及度は 20% ~ 40% であった。これら基本的な情報に対する消費者の理解は十分でなかったが、この背景には、ダイオキシン・PCB などの難分解性・蓄積性の環境化学物質の情報が、メチル水銀のリスク情報と混同されていたためと考えられ、魚介類とメチル水銀に関する十分で正確な情報の普及の必要性が指摘される。

宮城県におけるリスクコミュニケーション事業においては、これまでに延べ住民 288 人の参加が得られた。このうち、2004 年 12 月の第 1 回目と 2005 年 7 月の第 2 回の毛髪調査に両方に参加した 38 名についてみると、毛髪水銀濃度の平均値は 1 回目が  $4.81 \pm 2.83$  ppm、2 回目が  $5.10 \pm 3.71$  ppm となり、メ

チル水銀曝露量については、1 回目の調査の直後に開催した住民対象の勉強会「じょうずに魚を食べてメチル水銀を減らそう」および、食生活改善指導の効果はみられなかった。

[ 引用文献 ]

1. 蜂谷紀之，安武 章，山口雅子，宮本清香，衛藤光明：魚介類を介したメチル水銀曝露のリスク(5) 耐容摂取基準の見直しと問題点. 日本リスク研究第 18 回研究発表会，日本リスク研究学会講演論文集 **18**，139-144，2005.
2. 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リスク(4)出産年齢女性の曝露とリスクコミュニケーション. 第 64 回日本公衆衛生学会総会，日公衛誌 **52** (supl)，641，2005.

## 6) 妊娠中生活習慣および出生後発育と臍帯血水銀濃度に関する研究

研究担当者 蜂谷 紀之 (国際・総合研究部)  
安武 章 (基礎研究部)  
浦島 充佳 (東京慈恵会医科大)

### [ 研究目的 ]

東京慈恵会医科大学などと共同で実施する臍帯血コホート研究 (コホート研究代表者: 浦島充佳) において, 臍帯血中メチル水銀濃度の測定を分担し, 妊婦の生活習慣とメチル水銀曝露の関係, 子どもの成長に及ぼす妊娠中メチル水銀曝露の影響の有無および各種環境要因の作用に対する交絡因子としてのメチル水銀曝露の関与について追究するものである。

臍帯血コホート研究は前向きコホート調査によって, 妊婦の生活習慣 (食生活・社会経済因子など) および臍帯血中微量物質 (重金属, サイトカイン, トリプトファンなど) と子どもの発達成長との関連を調べる。

### [ 研究方法 ]

東京都・千葉県内および新潟県佐渡島の産院外来や母子学級において, 2002年6月からインフォームドコンセントの得られた母子986組をコホート登録者とした。これらについて臍帯血を採取するとともに, 妊娠中, 生後1か月時, 同6か月時, 同1歳時, 同2歳時, 同3歳時において, 自記式問診調査票による生活習慣および Child Behavior Check-List (CBCL) により小児発育状況を追跡する。採取した臍帯血の一部 (約1ml: 全血あるいは血球) についてメチル水銀濃度を測定し, 全血中メチル水銀濃度を決定する。一次エンドポイントを CBCL スコアとし, コホート研究代表者のもとに集積される臍帯血中の (水銀以外の) 重金属濃度をはじめとする各種環境要因とともに, 臍帯血中メチル水銀濃度の影響について統計学的解析を実施する。

なお, コホート研究の主要な共同研究者のうち, 本共同研究者以外のものは以下の通りである。衛藤義勝, 田中忠夫, 池谷美紀, 林良寛 (以上, 東京慈恵会医大), 千葉百子 (順天堂大), 久保正勝 (柏病院), 森本紀 (オートクリニックフォーミズ), 布山雄一 (葛飾赤十字産院), 岡崎実 (佐渡総合病院)

### [ 平成 17 年度研究報告 ]

本年度は採取した臍帯血のメチル水銀濃度を測定するとともに, 妊娠中および出産1か月後 (回収率90%) の自記式調査票により, 妊娠中の生活・健康等の状況および新生児の状況などを調査した。

その臍帯血メチル水銀濃度の幾何 (算術) 平均は 9.7 (11.1)  $\mu\text{g/L}$  であった。母体血: 臍帯血濃度比を 1:1.4 (1.2-1.7) としてわが国のメチル水銀暫定的耐容週間摂取量 (PTWI) レベルと比較すると, 妊娠時および一般集団の PTWI に対してそれぞれ, 17.4 (24.8-10.0) % および 3.0 (6.6-1.5) % が超過したが, 胎児影響の最大無作用量相当レベル (臍帯血濃度で 52.8-74.8  $\mu\text{g/L}$ ) 以上は 1 例 (0.1%) であった。多変量解析の結果, 臍帯血メチル水銀濃度は, 母親の総魚介類・マグロ・赤身魚摂取などと相関したほか, 母親のアレルギー既往, 低出生体重児を除く新生児の保育器使用などと有意に関連した。

臍帯血メチル水銀濃度から推定される集団の曝露レベルは毛髪水銀調査のもとほぼ一致した。胎児影響の有無については長期的追跡の必要性が指摘される。

[ 引用文献 ]

1. 蜂谷紀之, 安武 章, 作間未織, 木場一雄, 山田佐知子, 浦島充佳: 東京・佐渡コホートにおける臍帯血メチル水銀濃度の分布およびその関連因子. 日本衛生学会第 76 回総会, 日本衛生学雑誌 61, 253, 2006.

## 7) 胎子期におけるメチル水銀曝露によるドーパミンニューロン傷害メカニズムに関する研究

研究担当者 澤田 倍美 (基礎研究部)  
藤村 成剛 (基礎研究部)  
安武 章 (基礎研究部)

### [ 研究目的 ]

メチル水銀の主要な標的器官は神経系であり、特に胎児期においては感受性が高いとされている。近年、低濃度のメチル水銀曝露による人体への影響が懸念され、特に胎児期に低濃度のメチル水銀に曝露された際には様々な神経疾患が引き起こされる可能性が示唆されている。

これまでの研究により、メチル水銀曝露により神経伝達物質の異常が引き起こされ、特にドーパミン (DA) ニューロンはメチル水銀による感受性が高いことが報告されている。胎子期におけるメチル水銀曝露によりドーパミンニューロンの数的異常、機能的異常が引き起こされることが推察されるがその詳細は不明である。本研究ではドーパミンニューロンが発生する胎子期に焦点を絞り、そのメカニズムを検索することを目的とする。

合わせて、本研究の基礎データを収集することを目的としてメチル水銀中毒患者の剖検例の脳標本の中脳黒質を中心として検索する。

### [ 研究方法 ]

妊娠 10 – 16 日の C57BL マウスへメチル水銀給水曝露 (30 ppm) し、妊娠 16 日目に帝王切開にて胎子を取り出し、その後脳を検索に用いた。病理組織学的検索は HE 染色および抗 tyrosine hydroxylase 抗体を用いた免疫組織化学を行った。また、脳は中脳を含まない前部および中脳を含む後部に分け、HPLC 法にてドーパミン量を測定した。

合わせて、胎児性水俣病患者 3 例の中脳の病理組織標本の再検索を行った。

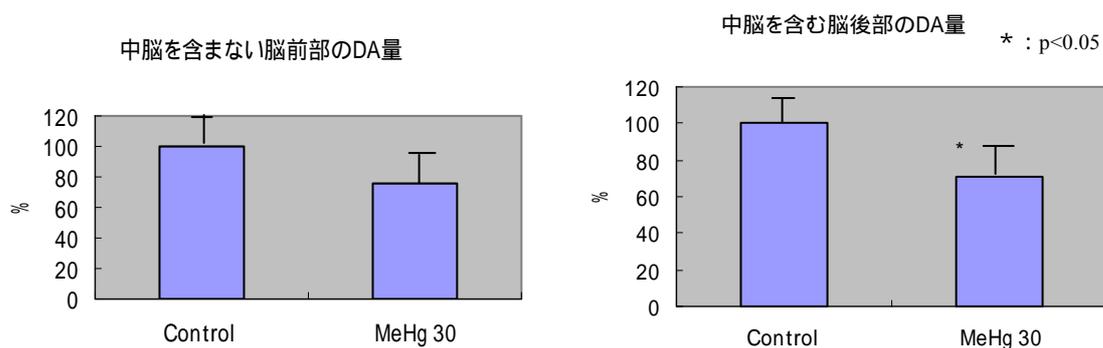
### [ 研究結果および考察 ]

#### マウス胎子の病理学的検索結果

HE 染色：コントロール群および曝露群ともに著変は認められなかった。

抗 tyrosine hydroxylase 抗体を用いた免疫組織化学：コントロール群と比較して曝露群において軽度に染色性が低下していた。

HPLC 法：曝露群の胎子において、中脳を含む脳後部において DA 量が有意に減少していた。また、中脳を含まない脳前部においても減少する傾向にあった。



これまでの検索により、胎子期曝露マウスにおいて組織学的に著変が認められず、神経細胞の壊死も観察されなかった。抗 tyrosine hydroxylase 抗体を用いた免疫組織化学において、曝露群の胎子では軽度に染色性が低下し、また、HPLC 法における測定においても DA 量の低下が認められた。以上の結果から、メチル水銀曝露によって、神経細胞に壊死および分化異常が起こるのではなく、DA ニューロン自体の機能低下が起こっていることが示唆された。今後は胎子期の DA 量低下が生後も継続するのか否か、また、DA 量の低下が何故引き起こされるのかに注目して検索していきたい。

#### 胎児性水俣病患者における病理検索

中脳黒質ニューロン内のメラニン顆粒の減少が、検索した 3 例において認められた。

Autopsy case No.	Age	Sex	Lesions in the Substantia nigra
3567	2y6m	F	+
3794	6y3m	F	+
5539	13y	M	+

今後は胎児性患者の症例数を増やすとともに、小児性および成人性患者の検索も行っていきたい。

### 3 . メチル水銀による生体影響の解明とその臨床応用に関する研究

#### 研究概要

体内に取り込まれたメチル水銀による生体影響を解明し、その成果をメチル水銀中毒がもたらす傷害の防御、修復のための新たな治療法開発へと発展させることを目的として、培養細胞系、モデル動物を用いた以下の研究が行われた。

#### (1) メチル水銀に対する生体応答の検討

メチル水銀曝露による初期病態を反映するバイオマーカー探索、メチル水銀曝露が神経細胞の増殖および伸展に及ぼす影響、水銀によって誘導されるメチオニンの動態などについて生化学的、分子生物学的、病理学的な検討が行われた。また、日常レベルのメチル水銀の生体機能への影響（寄与）について、ラットを用いた検討が進められた。さらに、メチル水銀をはじめとする環境毒性物質が初期発生に及ぼす影響について明らかにするために、その評価法開発のためのサル ES 細胞の細胞分化系を用いた基盤研究がすすめられた。

#### (2) メチル水銀による毒性発現メカニズムの検討

メチル水銀毒性発現にいたる分子経路について知見を得るために、メチル水銀による酸化ストレスがもたらす遺伝子プロファイル解析、遺伝子発現変化についての検討が進められた。また、生体内に滞留したメチル水銀の無機化メカニズムを解明するために、培養細胞を用いた検討がなされた。

#### (3) 治療法開発に関する研究

メチル水銀曝露による生体影響や毒性発現メカニズムの解明などをもとにしてメチル水銀中毒がもたらす傷害の防御、修復についての治療法開発に関する基盤研究が行われた。

#### 〔研究課題〕

1. 水俣病におけるバイオマーカーの探索 中村 政明（臨床部）
2. メチル水銀毒性発現の分子基盤の解明とその臨床応用に関する研究 臼杵扶佐子（臨床部）
3. モデル動物を用いたメチル水銀毒性発現の分子経路の解明と治療に関する研究  
臼杵扶佐子（臨床部）
4. 環境レベルメチル水銀の生体影響に関する研究 安武 章（基礎研究部）
5. 培養細胞を用いたメチル水銀の生体内無機化及び排出機構の解明 永野 匡昭（基礎研究部）
6. 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 藤村 成剛（基礎研究部）
7. メチル水銀中毒の治療方法に関する研究 村尾 光治（臨床部）
8. メチル水銀排泄剤の開発に関する研究 宮本謙一郎（臨床部）
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 村尾 光治（臨床部）
10. 霊長類 ES 細胞を用いた環境有害物質の毒性評価法の開発 山元 恵（基礎研究部）
11. 水銀曝露におけるメタロチオネイン動態における研究 中村 政明（臨床部）
12. 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 安武 章（基礎研究部）

## 1) 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。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 ]

昨年度、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<sup>1)</sup>による発現蛋白のプロファイリングを比較検討したところ、水俣病の早期診断に有用と考えられるバイオマーカー候補 (分子量13,033と55,548) を検出した。本年度は、この際に解析を行ったサンプル前処置条件 (陰イオン交換チップQ10を用いて50mM Phosphate Buffer pH 7.0で洗浄したサンプルを解析) をもとに、陰イオン交換チップによる血清の精製条件を検討する。次にSDS-PAGEで泳動後、PVDF膜に転写し、目的とするバンドを切り出し、N-terminal sequencingを施行することで、マーカー候補の同定を行う。

### [ 研究結果および考察 ]

#### 1) 陰イオン交換チップによるサンプル血清の精製

陰イオン交換チップに血清サンプルを吸着後、NaCl濃度の異なる elution buffer で溶出後、SDS-PAGEによるバンドの検出を行った。図1で示すように、NaCl濃度300mMと500mMを含む elution buffer で溶出したサンプルで、水銀投与群に有意に発現が増加しているバンドを検出することが出来た。

#### 2) N-terminal sequencing によるマーカー候補の同定

図1でみられた水銀投与群に有意に発現が増加しているバンドを切り出し、N-terminal sequencing を施行したところマーカー候補を同定することができた。

バンド1 : haptoglobin  $\beta$  chain

バンド2 : contrapsin-like protease inhibitor 6  
(fibrinogen  $\beta$  chain)

バンド 3 : serum amyloid A4 (predicted)  
(haptoglobin  $\alpha$  chain)

バンド 4 : haptoglobin  $\alpha$  chain

慢性炎症で上昇するhaptoglobin<sup>2)</sup>が検出されたことから、メチル水銀中毒の病態に炎症が関与している可能性が考えられた。また、contrapsin-like protease inhibitor 6<sup>3)</sup>は、敗血症などの全身感染症の際に発現の増加がみられることから、組織の傷害を防いでホメオスタシスを促進することが考えられている。有機水銀中毒モデルにおいても同様の防御機構の一つとして発現が増加していると考えられた。

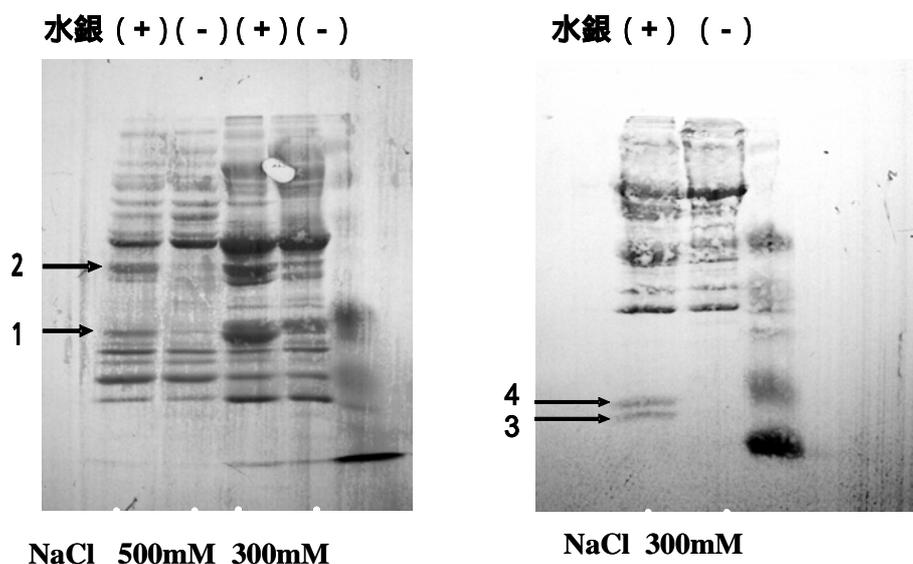


図 1 : 陰イオン交換チップによるバイオマーカー候補分子の精製

[ 引用文献 ]

1. Issaq HJ, Veenstra TD, Conrads TP, Felschow D: The SELDI-TOF MS approach to proteomics: protein profiling and biomarker identification. *Biochem Biophys Res Commun* **292**, 587-592, 2002.
2. Wassell J: Haptoglobin: function and polymorphism. *Clin Lab* **46**, 547-552, 2000.
3. Chinnaiyan AM, Huber-Lang M, Kumar-Sinha C, Barrette TR, Shankar-Sinha S, Sarma VJ, Padgaonkar VA, Ward PA: Molecular signatures of sepsis: multiorgan gene expression profiles of systemic inflammation. *Am J Pathol* **159**, 1199-1209, 2001.

## 2) メチル水銀毒性発現の分子基盤の解明とその臨床応用に関する研究

研究担当者 白杵扶佐子 (臨床部)  
三橋 弘明 (東京大・生命環境)  
笹川 昇 (東京大・生命環境)

### [研究の背景および目的]

これまで、メチル水銀毒性の病態に酸化ストレスの関与が重要であることを明らかにし、DNA マイクロアレイを用いて網羅的な遺伝子発現プロファイルの解析を行ってきた。本研究では、このメチル水銀曝露により発現が変動する遺伝子群の情報をもとに、毒性発現の分子メカニズムや遺伝子多型の情報と合わせ、メチル水銀特異的に変動する遺伝子発現について明らかにするとともに、メチル水銀毒性発現に影響して生体応答の個体差をひきおこす分子遺伝学的背景に関する基礎的知見を得ることを目的とする。その知見をもとに、培養細胞系を用いてメチル水銀毒性発現を抑制する分子経路の検討を行う。

### [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<sup>1-4)</sup>。この培養細胞系の中から、CTG リピート数 160 個のメチル水銀高感受性の変異株を対象とした。メチル水銀曝露後に抗酸化剤 Trolox を添加した場合のアポトーシス抑制効果について経時的な検討を行った。DNA マイクロアレイによる網羅的な遺伝子発現プロファイルの解析結果より選択した catalase と glutathione peroxidase 1 (GPx1) のメチル水銀曝露後の遺伝子発現について、Real-time PCR を用いて経時的な検討を行い、過酸化水素による酸化ストレス負荷後の変化と比較検討した。

### [研究結果および考察]

これまでの検討から、対象としている培養細胞系ではメチル水銀曝露 24 時間後までにアポトーシスがおこるが、活性酸素群は曝露 3 時間後から増加することが明らかになっている。メチル水銀曝露後に抗酸化剤 Trolox を添加した場合のアポトーシス抑制効果について経時的に検討したところ、曝露 3 時間後の Trolox 添加による細胞生存率 (曝露 24 時間後) は 80 % であったが、5 時間後では 40 %、7 時間後では 25 % と低下した。この情報及びこれまで検討してきた酸化ストレスに関連するシグナル伝達系 ASK1 や SAPK/JNK 活性化の経時変化から 0.4  $\mu$ M メチル水銀曝露 5 時間後、9 時間後に total RNA を抽出し、catalase および GPx1 遺伝子発現について検討を行った。

Catalase の発現は、メチル水銀曝露 9 時間後で 150 % に増加したが、GPx1 の発現は曝露 5 時間後に曝露前の 60 %、9 時間後に 40 % に低下した。抗酸化剤 Trolox は、メチル水銀曝露による活性酸素群の発生及びアポトーシスを抑制するが、GPx1 遺伝子の発現低下は抑制しなかった。同じ培養細胞系を用いて、過酸化水素による酸化ストレス負荷時における catalase、GPx1 遺伝子発現の変化を検討した。この系では過酸化水素添加後 6 時間でアポトーシスが認められた。添加 3 時間後 catalase の発現は 5 倍に増

加したが、GPx1 の発現変動は認められなかった。

GPx1 は、UGA codon に対応するselenocysteine を含んでいて、その発現は細胞内seleniumに依存する。メチル水銀は組織内selenium含量には影響を与えないが、seleniumとの親和性が高いことからseleniumをtrapすることで細胞内selenocysteineが不足していることが考えられる。そのためselenocystein tRNA<sup>[Ser]Sec</sup>が機能せず、GPx 1 発現が低下しているものと思われた。

[ 引用文献 ]

1. Usuki F, Ishiura S, Saitoh N et al: Expanded CTG repeats in myotonin protein kinase suppresses myogenic differentiation. NeuroReport **8**, 3749-3753, 1997.
2. Usuki F, Ishiura S: Expanded CTG repeats in myotonin protein kinase increase susceptibility to oxidative stress. NeuroReport **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.

### 3) モデル動物を用いたメチル水銀毒性発現の分子経路の解明と治療に関する研究

研究担当者 白杵扶佐子（臨床部）  
三橋 弘明（東京大・生命環境）  
安武 章（基礎研究部）  
永野 匡昭（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）

#### [ 研究の背景および目的 ]

メチル水銀中毒の病態発現における酸化ストレス、ERストレスの関与についてこれまで明らかにしてきた<sup>1-5)</sup>。本研究では、メチル水銀毒性発現に至る分子経路を*in vivo*においてモデル動物を用いて明らかにし、その経路を抑制する治療法について検討する。さらに、*in vitro*の検討で得られたメチル水銀感受性に影響して症状発現の個体差をひきおこす遺伝子に関して、メチル水銀曝露における発現変動についての情報を得ることを目的とする。

#### [ 研究方法 ]

メチル水銀曝露と同時に抗酸化剤Troloxを投与し、メチル水銀投与群と同程度の組織内水銀含量にもかかわらず病理変化が抑制されることをすでに明らかにしたメチル水銀中毒モデルラット<sup>1)</sup>を用いて、以下のモデル（n=5）の凍結soleus muscleよりtotal RNAを抽出した。

- 1) メチル水銀投与群（20 ppm Hg, 28 日間給水曝露; 1日最大摂取量 600 μg Hg）
- 2) Trolox 投与群（1と同じメチル水銀給水曝露 + Trolox (2.5 mg/kg) 腹腔内投与 5日/週）
- 3) Control 群

培養細胞系におけるメチル水銀曝露後の DNA マイクロアレイを用いた網羅的な遺伝子発現プロファイルの解析結果より選択した glutathione peroxidase 1 (GPx1) 及び catalase の遺伝子発現についてβ-actinを内部コントロールとして検討した。Catalase は Real-time PCR にて、GPx1 は primer の問題から Real-time PCR 解析が困難で、Northern Blot 解析を行った。

#### [ 研究結果および考察 ]

Catalase の発現はメチル水銀単独投与群ではコントロール群の 160 %の増加を認めたが、Trolox は 80 %にこの変化を抑制した。一方、GPx1 の発現は、メチル水銀単独投与群でコントロール群の約 70 % に低下していたが、この低下は Trolox 群でも同様であった。

GPx1 は、UGA codon に対応するselenocysteine を含むたんぱく質で、その発現は細胞内seleniumに依存する。メチル水銀は組織内selenium含量には影響を与えないが、seleniumとの親和性が高いことからseleniumをtrapすることで組織内のselenocysteineが不足していることが考えられる。Trolox投与群では組織内水銀含量はメチル水銀単独投与群とほぼ同程度である<sup>1)</sup> ことからメチル水銀単独投与群と同様にselenocystein tRNA<sup>[Ser]Sec</sup>が機能せず、GPx1 のmRNA発現が低下しているものと思われた。今後さらに、

メチル水銀中毒モデルラットのGPx1 遺伝子発現の組織差について検討するとともに、glutathione peroxidase類似の作用を有する抗酸化剤ebselenの投与実験を行い、病理変化および遺伝子発現変動について検討する予定である。

[ 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, Ishiura S: Expanded CTG repeats in myotonin protein kinase increase susceptibility to oxidative stress. *NeuroReport* **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. 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.
5. 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.

#### 4) 環境レベルメチル水銀の生体影響に関する研究

研究担当者 安武 章 (基礎研究部)  
 永野 匡昭 (基礎研究部)  
 澤田 倍美 (基礎研究部)

##### [ 研究の背景および目的 ]

メチル水銀は自然環境に広く、特に魚介類を含む水棲動物の体内には比較的高濃度に存在し、ヒトへの曝露もそれらの摂取が主な経路となっている。その結果ヒトの体内には、魚介類の常食者のみならず、全く摂取しない(と回答する)ケースにおいても、なにがしかの水銀が常時存在することが毛髪分析から証明される。そしてその値は、魚介類常食者においては、わが国の安全基準値である 5 ppm を超えることも珍しくない。しかし、そのような常食者においてさえ、日常の食生活で摂取されるメチル水銀量では神経症状の発現する可能性は極めて低いといえる。このような症状発現レベルをはるかに下回るメチル水銀が体内でどのような機能を持ちうるかについては、これまでに少なくとも実験動物あるいはヒトでの報告例はない。しかしながら細胞実験では、一時的な活性酸素の上昇や肥満細胞からのヒスタミン分泌の促進といった現象が、毒性発現レベルをはるかに下回る極めて低濃度のメチル水銀負荷で報告されている。このことは微量メチル水銀が、生体内でストレス源ではなく、ある種の刺激剤として機能している可能性を示唆するものであり、ひいては微量のメチル水銀によって生体が、外部ストレスに対する耐性を獲得しうることを意味する。ここではその確認のために、実験動物(ラット)を用いて、日常レベルのメチル水銀の生体機能への影響(寄与)について検討する。

##### [ 研究成果および進捗状況 ]

平成 17 年 8 月にラットを導入し、ミルクカゼインをタンパク質原料とした飼料 AIN-76 を用いて交配を開始した。ラットは 3 群に分け、それぞれ、0、0.1 および 0.5 ppm Hg を含む給水で飼育している。9 月末に F1 の出生を得、12 月～翌年 1 月にかけて F2 の出生を得た。さらに 3 月に F2 の交配を予定している。まだ本来のデータが得られる時期ではないが、AIN-76 飼料と F1 ラット(オス)組織中の水銀濃度の測定を行った(下表)。

##### 飼料中の水銀濃度 (µg/g)

	Total Hg	MeHg	% of MeHg
AIN-76	1.47 ± 0.33	0.675 ± 0.325	46
CE-2	7.62 ± 1.02	6.40 ± 1.20	84

##### 組織中の水銀濃度 (µg/g or µg/ml)

組織	0 ppm	0.1 ppm	0.5 ppm	CE-2
血液	0.0065 ± 0.0006	1.02 ± 0.20	4.19 ± 0.51	0.0244 ± 0.0031
大脳	0.0018 ± 0.0003	0.071 ± 0.009	0.290 ± 0.022	0.0030 ± 0.0004
小脳	0.0074 ± 0.0012	0.078 ± 0.008	0.332 ± 0.034	0.0034 ± 0.0001
肝臓	0.0151 ± 0.0061	0.152 ± 0.028	0.627 ± 0.102	0.0074 ± 0.0012
腎臓	0.0247 ± 0.0047	2.04 ± 0.38	8.42 ± 0.90	0.0569 ± 0.0162

## 6) 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<sup>1,2)</sup>、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。

### [ 研究方法 ]

#### (1) 神経細胞増殖

培養神経細胞においてはメチル水銀をPC12細胞(ラット由来神経様細胞)に曝露し、生細胞数および死細胞数を測定するLDH法<sup>3)</sup>および生細胞数を測定するMTS法<sup>4)</sup>を用いて細胞増殖能に対する作用を解析した。動物実験においてはF344ラットおよびC57BKマウスにメチル水銀を飲水曝露(40 ppm)し、増殖神経細胞の指標であるBrdU免疫染色<sup>5)</sup>を用いて神経細胞増殖能に対する作用解析を試みた。

#### (2) 神経突起形成/伸展

メチル水銀をラット初代培養神経細胞に曝露し、リン酸化ニューロフィラメント抗体(軸索を認識する)を用いて神経突起形成/伸展に対する作用を生化学的<sup>6)</sup>、組織学的<sup>7)</sup>に解析した。また、神経細胞死については生細胞数を測定するMTS法を用いて解析した。

### [ 研究結果および考察 ]

#### (1) 神経細胞増殖

メチル水銀は未分化PC12細胞(神経細胞に分化していない未分化の細胞)において、細胞死を誘発する濃度(1 μM)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。なお、メチル水銀は分化PC12細胞(神経細胞に分化した細胞)においては、増殖抑制作用を示さず、細胞死のみを誘導した。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、神経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Lithium<sup>8)</sup>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。Lithiumは躁鬱病の治療薬として

既に用いられており、メチル水銀中毒の治療薬としても有用である可能性が示された。

(以上の結果については、平成16年度研究成果報告にて報告済)

さらに、メチル水銀の神経細胞増殖に対する作用を *in vivo* で確認するため、ラットおよびマウスにおいて検討を行ったが、現在のところラットおよびマウスにおいてBrdU陽性細胞が殆ど確認できず、*in vivo* におけるメチル水銀の作用についての検討には至っていない。

## (2) 神経突起形成/伸展

メチル水銀は短期曝露(1日)によって、低濃度(100 nM) から神経突起退縮作用を示し、高濃度(1 μM) で神経細胞死を誘発した (Fig.1a-c, 3a-c)。さらにメチル水銀の長期曝露(5日) では、低濃度でも神経細胞死が誘発された (Fig.1a-c, 3g)。また、神経突起伸展作用を有するRho kinase阻害薬(Y-27632)<sup>9)</sup> は、低濃度メチル水銀の短期曝露による神経突起退縮を抑制したが、高濃度メチル水銀による神経細胞死は抑制しなかった (Fig.2a-b, 3a-f)。さらに本阻害薬は低濃度メチル水銀の長期曝露による神経突起退縮および神経細胞死を抑制した (Fig.2a-b, 3g-h)。以上のことから、低濃度メチル水銀の長期曝露は、神経突起退縮作用を介した神経細胞死を誘発することが明らかとなった。また、Rho-kinase抑制剤が本評価系において神経細胞死を抑制したことからRho-ROCK signalの抑制はメチル水銀中毒の治療法として有用である可能性が示された。

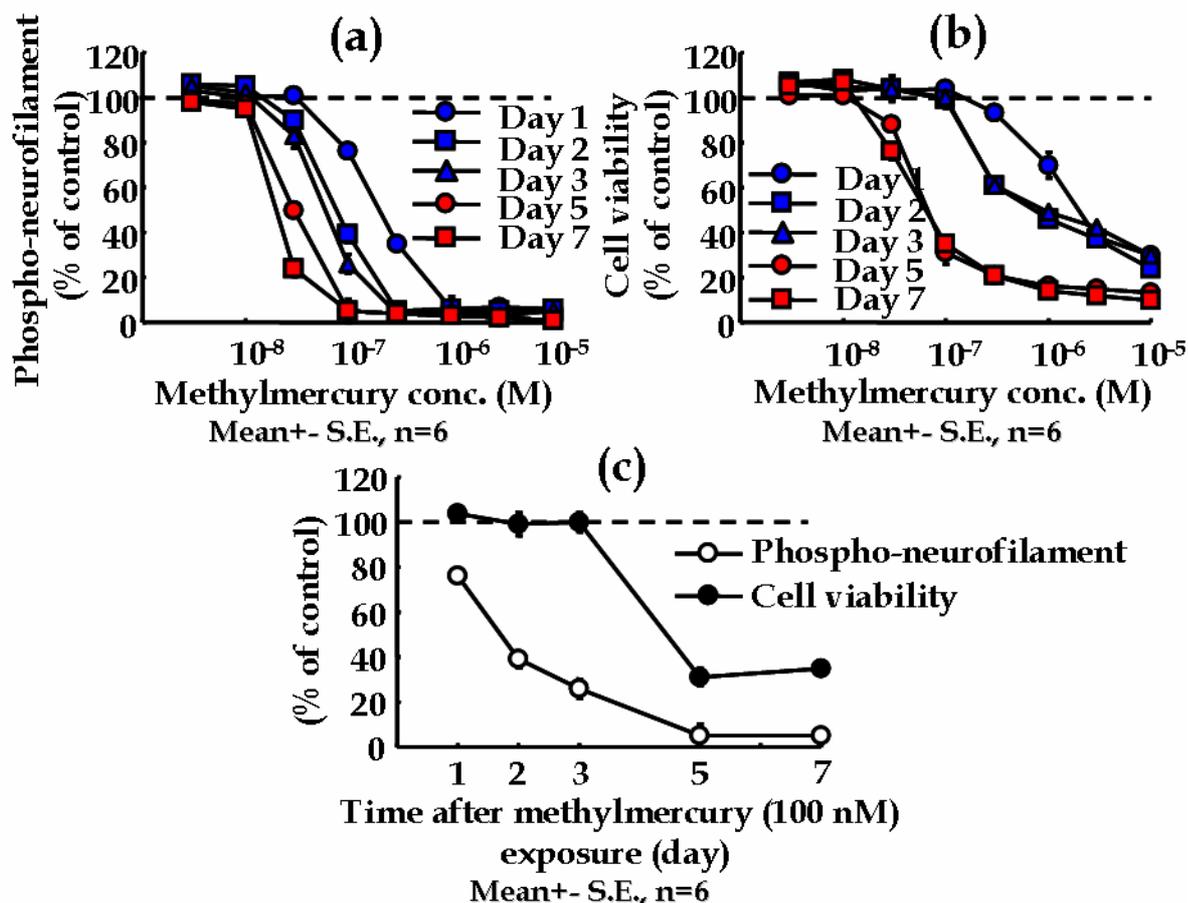


Fig.1 メチル水銀の神経突起退縮作用および神経細胞死誘発作用

a: メチル水銀の神経突起退縮作用, b: メチル水銀の神経細胞死誘発作用,

c: メチル水銀 100 nM 曝露における神経突起退縮作用および神経細胞死誘発作用

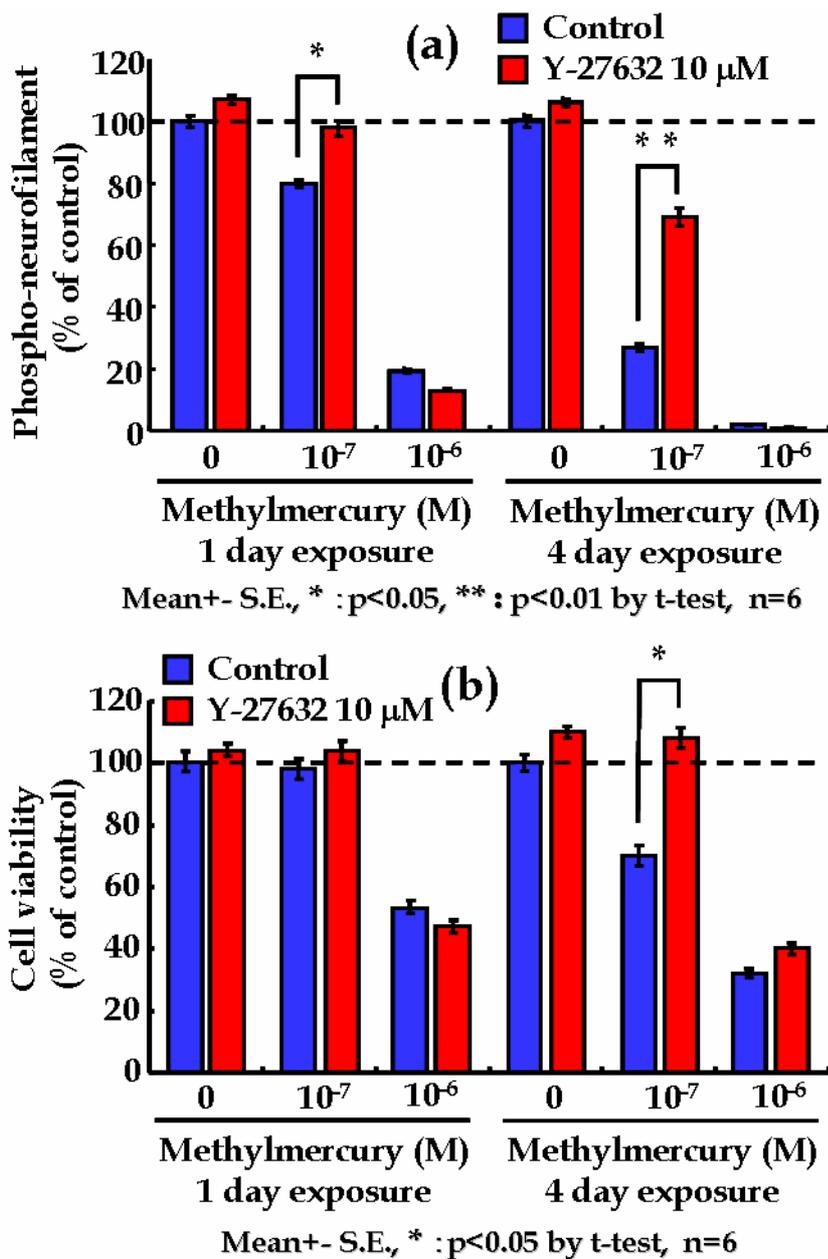


Fig.2 メチル水銀によって誘発される神経突起退縮および神経細胞死に対する Rho kinase 阻害薬 (Y-27632)の抑制作用

- a: メチル水銀による神経突起退縮作用に対する Rho kinase 阻害薬 (Y-27632)の抑制作用,
- b: メチル水銀による神経細胞死誘発作用に対する Rho kinase 阻害薬 (Y-27632)の抑制作用

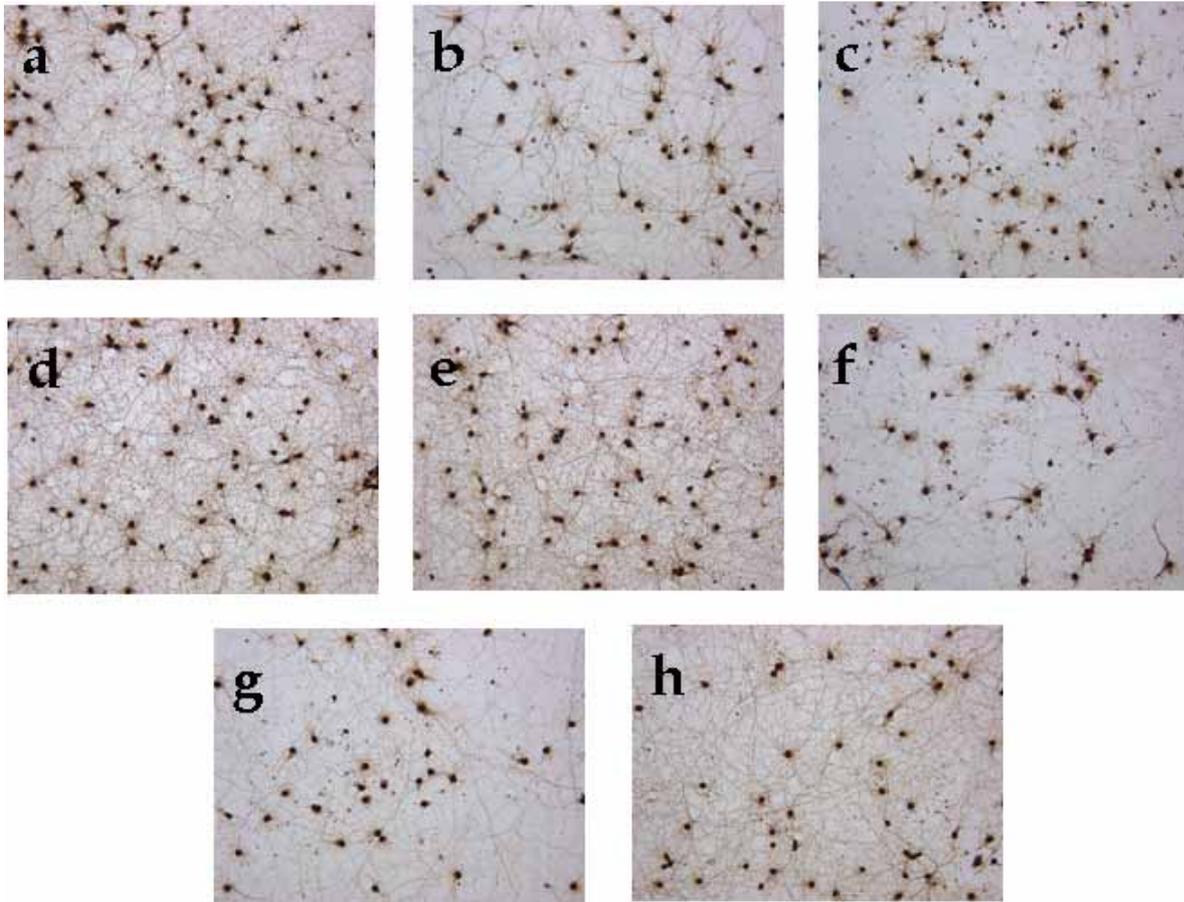


Fig.3 メチル水銀の神経突起退縮作用および Rho kinase 阻害薬 (Y-27632) の神経突起退縮に対する抑制作用

- a: メチル水銀無し (1 日目), b: メチル水銀 100 nM (1 日目), c: メチル水銀 1  $\mu$ M (1 日目)  
 d: メチル水銀無し + Y-27632 10  $\mu$ M (1 日目), e: メチル水銀 100 nM + Y-27632 10  $\mu$ M (1 日目),  
 f: メチル水銀 1  $\mu$ M + Y-27632 10  $\mu$ M (1 日目),  
 g: メチル水銀 100 nM (5 日目), h: メチル水銀 100 nM + Y-27632 10  $\mu$ M (5 日目),

[ 引用文献 ]

1. Aschner M, Aschner JL: Mercury neurotoxicity: mechanisms of blood-brain barrier transport. *Neurosci Biobehav Rev* **14**, 169-176, 1990.
2. Kerper LE, Ballatori N, Clarkson TW: Methylmercury transport across the blood-brain barrier by an amino acid carrier. *Am J Physiol* **262**, R761-765, 1992.
3. Klingman JG, Hartley DM, Choi DW: Automated determination of excitatory amino acid neurotoxicity in cortical culture. *J Neurosci Methods* **31**, 47-51, 1990.
4. Cebers G, Cebere A, Liljequist S: Metabolic inhibition potentiates AMPA-induced  $Ca^{2+}$  fluxes and neurotoxicity in rat cerebellar granule cells. *Brain Res* **779**, 194-204, 1998.
5. Kuhn HG, Dickinson-Anson H, Gage FH: Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. *J Neurosci* **16**, 2027-2033, 1996.

6. Doherty P, Dickson JG, Flanigan TP, Walsh FS: Quantitative evaluation of neurite outgrowth in cultures of human foetal brain and dorsal root ganglion cells using an enzyme-linked immunoadsorbent assay for human neurofilament protein. *J Neurochem* **42**, 1116-1122, 1984.
7. Topalli I, Etgen AM: Insulin-like growth factor-I receptor and estrogen receptor crosstalk mediates hormone-induced neurite outgrowth in PC12 cells. *Brain Res* **1030**, 116-124, 2004.
8. Hedgepeth CM, Conrad LJ, Zhang J, Huang HC, Lee VM, Klein PS: Activation of the Wnt signaling pathway: a molecular mechanism for lithium action. *Dev Biol* **185**, 82-91, 1997.
9. Hirose M, Ishizaki T, Watanabe N, Uehata M, Kranenburg O, Moolenaar WH, Matsumura F, Maekawa M, Bito H, Narumiya S: Molecular dissection of the Rho-associated protein kinase (p160ROCK)-regulated neurite remodeling in neuroblastoma NaE-115 cells. *J Cell Biol* **141**, 1625-1636, 1998.

## 9) 金採掘労働者の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（みなまた環境テクノセンター）  
後藤 正道（鹿児島大・医歯）  
及川 定一（パラ連邦大・熱帯医研）

### [ 研究目的 ]

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、ラットに金属水銀あるいはメチル水銀を負荷し、水銀中毒ラットモデルを作成する。作成した水銀中毒ラットに治療薬を与え、ラット血中・脳内の水銀量を分析装置で測定するとともに、脳病理標本作製し、臨床症状の改善効果を検討する。本年度は実験的にセレノメチオニンについてラットで水銀排泄効果を検討した。7 週零ウイスター系雄性ラットに 0.5 mg/kg の無機水銀を 5 日間皮下投与、あるいはメチル水銀 5mg/kg を 10 日間経口投与した。同時に 1 mg/kg のセレノメチオニンを 14 日間経口投与し、血中水銀量・脳内水銀量および脳の病理組織を検討した。

### [ 研究成果および考察 ]

無機水銀モデルでは血中水銀・脳内水銀・脳病理標本で治療効果を見出さなかったが、メチル水銀モデルでは血中水銀・脳内水銀で水銀の排泄効果は認められなかったが、脳病理標本は脳・小脳でメチル水銀単独で障害がみられたが、セレノメチオニンの処置でそれらの傷害は抑制された。また、メチル水銀の中毒症状である後肢交差もみられなかった。このことからセレノメチオニンがメチル水銀毒性に対して有効であることが分かった。

## 10) 霊長類 ES 細胞を用いた環境有害物質の毒性評価法の開発

研究担当者 山元 恵 (基礎研究部)  
藤村 成剛 (基礎研究部)

### [ 研究目的 ]

水銀を初めとする環境有害物質の毒性発現は、発生期、成熟期、老齢期の各年齢相で異なり、また臓器や細胞の種類、個体によっても異なる。特に発生初期は有害因子に対する感受性が高く、その後の発達に大きな影響を与える。ES細胞 (embryonic stem cell: 胚性幹細胞) は、初期胚から樹立された、分化の多能性を持つ細胞であり、*in vitro*では種々の細胞へ分化誘導することが可能である。

従来、発生初期における環境有害物質の毒性評価は困難であり、ES細胞の細胞分化系を用いた毒性評価法の開発は、特に、*in vivo*実験の困難な経胎盤性の有害物質の発生毒性のスクリーニングに有用であると考えられる。

本研究においては、サルES細胞を用いて、水銀を初めとする環境有害物質の毒性評価法の開発を目的とする。サルES細胞の長所として、マウス細胞と比較した際のヒト細胞との高い相関性や、ヒトES細胞に伴う厳密な倫理問題等の回避といった点があげられる。

### [ 研究結果および考察 ]

田辺製薬株式会社および独立行政法人医薬基盤研究所霊長類医科学研究センターにおいて、カニクイザル ES 細胞が樹立、継代されている。初めに、本細胞の当研究所への導入を行い、基本的な培養および継代保存を行った。

続いて、ES細胞の初期分化モデルとして胚様体 (Embryoid Body: EB) 形成法を用いた細胞分化の系を用いて、水銀化合物に比較してマイルドな毒性を持つ環境有害物質と考えられている、0.1  $\mu$ M、10  $\mu$ M bisphenol A (BPA) を、7、14、21 日間曝露を行い、得られた細胞を遺伝子発現解析に供した。

NIH (USA) の stem cell information を元に、外胚葉 (4 種)、中胚葉 (1 種)、内胚葉 (3 種) 分化マーカー遺伝子について real time PCR を行い、遺伝子発現への影響を検討した。その結果、計 3 種類の遺伝子発現に関して BPA が影響を及ぼす可能性を示す結果を得た。

併せて、外部共同研究者が、ES細胞および 12~16 日培養の EB を用いて行った免疫学的手法を基本技術とするタンパク質発現のプロファイリングにより、ES/EB の割合の高い遺伝子 (14 種) を ES細胞未分化能維持関連遺伝子候補として選出した。選出した遺伝子について、real time PCR を行い、遺伝子発現の観点から ES細胞の未分化能維持に関与すると考えられる候補遺伝子を 4 種類選出することができた。これら候補遺伝子には、従来報告のないサル ES細胞未分化能維持関連遺伝子遺伝子も含まれている。

これらの結果は、EB 分化系を用いて環境有害物質の初期発生への影響評価を行うことが可能であることを示唆していると思われる。現在、再現性の確認実験を行っている。

## 11) 水銀曝露におけるメタロチオネイン動態における研究

研究担当者 中村 政明（臨床部）  
安武 章（基礎研究部）  
澤田 倍美（基礎研究部）  
藤村 成剛（基礎研究部）

### [ 研究の背景および目的 ]

メタロチオネイン (MT) は三つのアイソマーからなり、亜鉛の代謝調節作用や活性酸素スカベンジャー作用の機能を持つ<sup>1)</sup>。三つのアイソマーのうち、MT-IIIは、MT-I/IIと異なり、脳に特異的に発現し、上記の作用に加え、軸索成長抑制作用やnitric oxideや アミロイドによる神経毒性の防御効果などの特異的な機能を有する。

これまで、我々は脳に移行しやすい金属水銀蒸気でラットを曝露することにより、脳 MT が効果的に誘導されることを明らかにしてきた。そこで、金属水銀蒸気の曝露による脳 MT アイソマーの動態を遺伝子レベル（発現量および産生部位）および蛋白レベルで解析することで、水銀曝露時における MT の役割を明らかにすることを本研究の目的とする。

### [ 研究方法 ]

まず用量依存性を検討するため、金属水銀蒸気の曝露ラットを作成し、脳の各部位における MT アイソマーの発現量の変化をリアルタイム RT-PCR 法を用いて明らかにする。また、マウスを用いて、水銀の形態（水銀蒸気、メチル水銀、無機水銀）による肝臓および腎臓での MT アイソマーの発現量の変化についても検討する。

### [ 研究結果および考察 ]

#### 1) 金属水銀蒸気の曝露による脳の各部位における MT アイソマーの発現量の検討

金属水銀曝露 1 時間、8 時間、24 時間、72 時間後の脳の各部位（海馬、小脳、皮質、髄質）のリアルタイム RT-PCR 法を用いて MT アイソマーの発現量の変化を検討した。図 1 に示すように、曝露 1 時間後～8 時間後をピークに MT-1 優位の発現の増加を認めたが、経過とともに MT-1 と MT-2 の発現の増加率の差はみられなくなった。MT-III に関しては、曝露後徐々に減少する傾向がみられた。

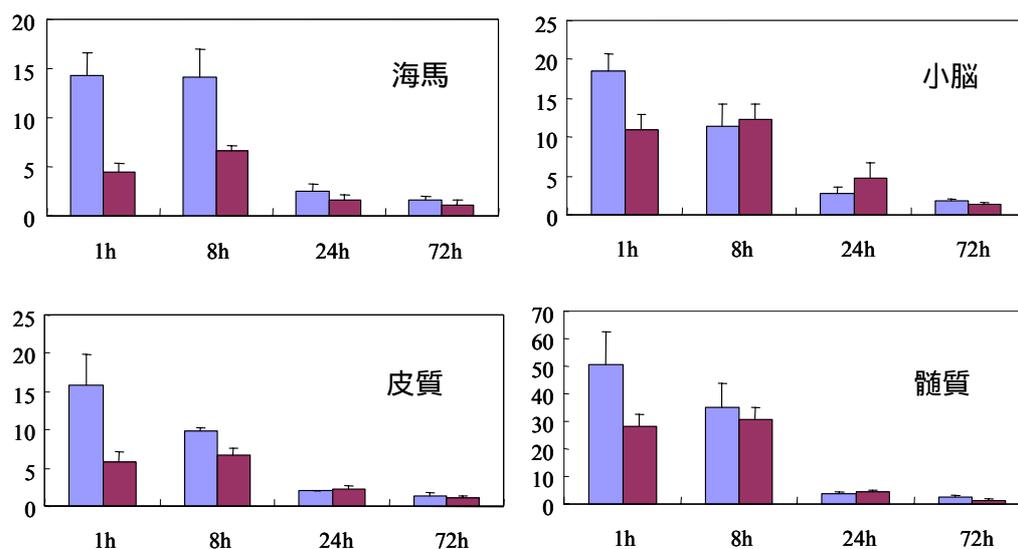


図 1：金属水銀蒸気の曝露による脳の各部位における MT アイソマーの発現量の変化

■ MT1      ■ MT2

2) 水銀の形態 (水銀蒸気、メチル水銀、無機水銀) による肝臓および腎臓での MT アイソマーの発現量の検討

図 2 に示すように、水銀の形態により肝臓および腎臓の MT 誘導に差を認めた。今後、MT アイソマーの発現を規定する因子の解析を行っていく予定である。

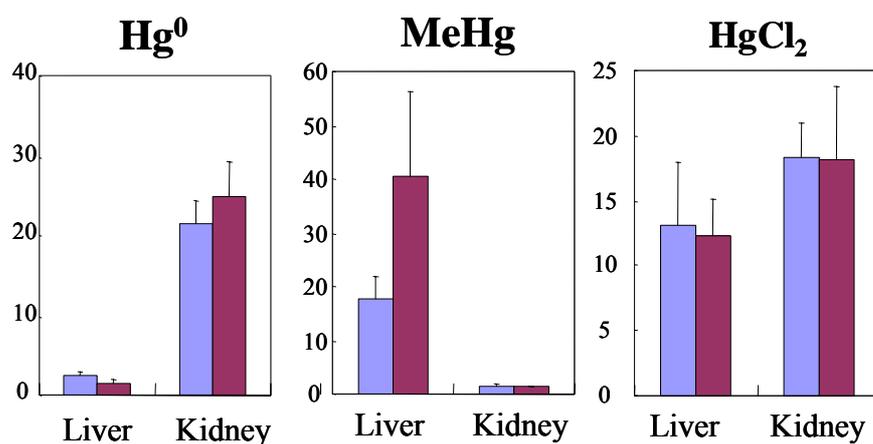


図 2：各種水銀に対する肝臓および腎臓の MT 誘導

■ MT1      ■ MT2

[ 引用文献 ]

1. Coyle P, Philcox JC, Carey LC, Rofe AM: Metallothionein: the multipurpose protein. Cell Mol Life Sci **59**, 627-647, 2002.

## 12) 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）  
澤田 倍美（基礎研究部）  
衛藤 光明（所長）  
高橋 好文（愛知学院大）

### [ 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。

### [ 平成 17 年度研究報告 ]

16年度に3頭（AM、雄；AF、雌；BM、雄）に対して、左右3対の奥歯（計6本）にアマルガムを充填し、毎月呼気と血液中の水銀濃度を測定した。

#### 呼気中の水銀濃度：

呼気中水銀濃度は個体を40 cm x 20 cm x 40 cmのプラスチックボックス中に入れ、大気中水銀濃度自動測定装置を用いて、10分毎のボックス中平均濃度を4～6時間にわたって測定した。測定データの例を図1に示す。AMとBMは測定開始の前半に高値を示すが、徐々に低濃度へと収束していく。これは通常ケージからボックスに移すことによって精神的ストレスを生じ、それが原因となって普段以上の咀嚼活動を行うためと考えられる。咀嚼活動によりアマルガム表面が物理的に刺激され、それが水銀の蒸発を促すわけである。つまり、呼気中の水銀濃度はアマルガム中の水銀量のみならず、動物個体の個性（咀嚼癖）にも依存することになる。測定回数ごとに多少の変動はあるが、時間の経過とともに呼気中の水銀濃度は徐々に減少していくが（図2）、これはアマルガム自体の抜け落ちとも大きく関係している。実際に時間の経過とともにアマルガムの抜け落ちが観察され、1年後のアマルガム数は、AM: 3/6; AF: 1/6; BM: 3/6であり、1個体あたり少なくとも半分は抜け落ちていた。

#### 急性曝露モデル：

歯科アマルガムからの曝露は慢性微量であり、水銀の組織分布等が急性曝露時とは異なることも考えられる。それを確認する目的で、同等の血中水銀濃度をもつ急性曝露モデルを0.1 mg Hg/m<sup>3</sup>の水銀蒸気に3時間曝露することによって作成した。

#### 組織水銀分布：

AFが2005年4月に2仔を出産（うち1仔はその日のうちに死亡）したので、その発育を待って4ヶ月齢で、AM、AF、BMおよび急性曝露モデルとともに解剖し、生化学測定用および病理検索用の試料を作成

した。アマルガム充填後、約1年目にあたる。組織中の水銀濃度を表1に示す。アマルガム充填個体では、残存アマルガムの数に依存した差が認められる。F1個体では母親（AF）よりも血中で約1/3、他の組織ではひと桁あるいはそれ以上低い水銀濃度を示すことから、生後4ヶ月間の排泄もあるかもしれないが、胎盤を通しての胎児への移行率はメチル水銀ほど大きくないと考えられる。また、急性曝露個体では、アマルガム由来の慢性曝露条件よりも、肝臓や腎臓への局在の大きいことが認められる。

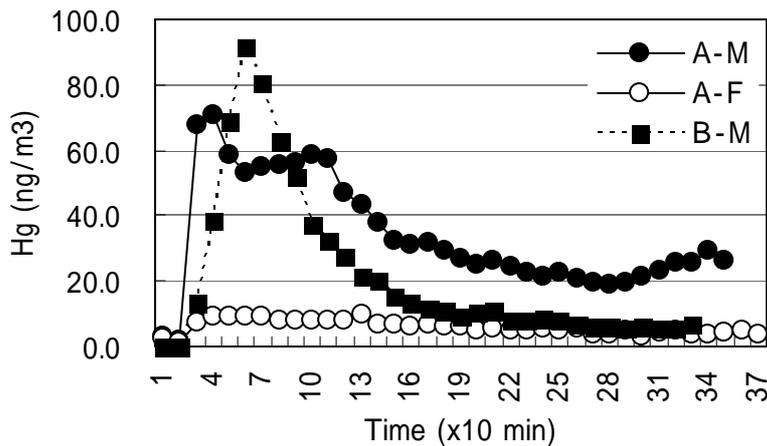


図1. 測定中の呼気水銀濃度の実測データ。後半の安定した部分の平均値を測定値とした。  
(2005年1月測定分)

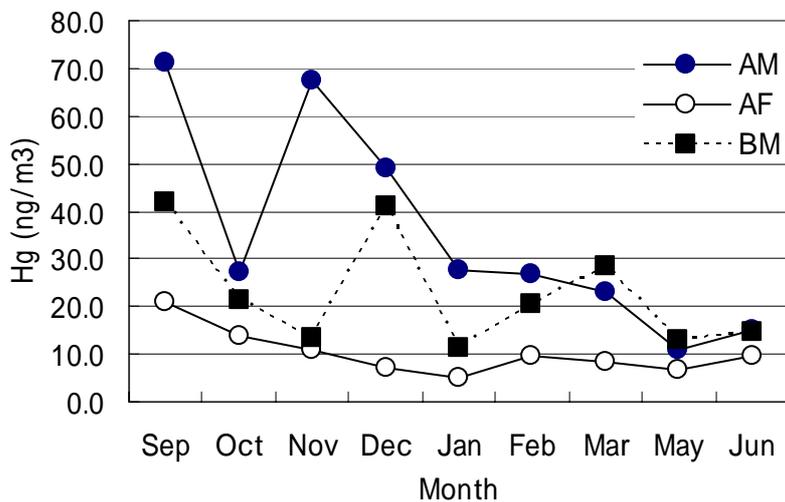


図2. 呼気中水銀濃度の推移。

表1. アマルガム充填あるいは水銀蒸気曝露マーマセット組織中の水銀濃度( ng/ml or ng/g )

	血液	大脳	肝臓	腎臓
AM	5.82	8.84	81.9	457
AF	1.12	14.6	55.5	113
BM	2.69	8.08	51.2	253
F1	0.44	1.65	3.85	12.8
急性曝露	2.86	10.4	93.6	1035

## 4. 水銀の環境科学に関する研究

### 研究概要

本研究課題は環境中の水銀に関するあらゆる事象を取り扱う。周知のとおり、環境中の水銀は地球規模で拡散移動し、メチル化を受けて生態系に入り、食物連鎖網の順位に従って蓄積する。これらの現象の研究は、それぞれに水銀の物性に起因するさまざまな困難を抱えており、現在世界中の水銀研究者の議論が集中するところである。

日本における水銀研究の本拠として、本研究課題に集まる期待も小さくない。

それぞれの研究の平成 17 年度における研究概要を以下に列挙する。

1. 水俣湾の水銀耐性菌の遺伝学的研究 中村 邦彦（基礎研究部）  
昨年度は、水俣湾底質から採取した水銀耐性が弱く 2 価の水銀イオンを揮発できるバチルス属細菌 68 株に解析を行ったところ、水銀耐性が高い細菌の水銀揮発化遺伝子と同じような構造をした水銀揮発化遺伝子 *mer* オペロンを持っていることが判明した。そこで、本年度は、このような細菌が水銀汚染により水俣湾で特異的に出現しているか否かについて検討するため、水銀汚染のない対照地点の湯乃児と米ノ津よりバチルス属の細菌を分離し、これらの細菌の細菌学的分類および塩化第二水銀に対する最小発育阻止濃度について検討した。また、水俣湾から採取した、5 株の水銀耐性の強い *Bacillus* 属の細菌の水銀揮発化遺伝子の構造についても解析した。
2. 海域生態系における水銀の動態 保田 叔昭（国際・総合研究部）  
水俣湾転石海岸の水銀平面分布を調べた。メチル水銀の分布は総水銀の分布のパターンと異なる個所があった。また、メチル水銀濃度は恋路島湾側では平均 26ppb に達することがわかった。  
一方、インドネシア、セレベス島北部の金鉱山地帯における水銀環境調査では、全体として水銀の残留分布量は大変低いものの、河川から河口の海岸へ至るラインに水銀濃度の高い個所があり、また魚への水銀蓄積も見られたため、今後の調査がまたれる。
3. 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 松山 明人（疫学研究部）  
本技術を用いた廃蛍光管処理システムについて、処理後の廃棄物中の残留水銀量を土壌汚染対策法に記載されている水銀含有量基準および溶出量基準以下とするべく処理条件の検討を行った結果、500 にて 2 種の添加剤を用い一定の送風条件を用いることで目標が達成できた( 特許出願中 )。
4. 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 松山 明人（疫学研究部）  
従来 2L の試料を用いていた水の水銀メチル水銀定量について、種々の改良を加えたところ、200ml の試料で十分な測定精度と感度を得ることができた。
5. 生物を用いた環境中メチル水銀の解毒機構解明に関する研究 永野 匡昭（基礎研究部）  
高濃度の水銀蓄積が報告されている海産ほ乳類について、肝臓内にあると想定される解毒機構について研究中である。肝の水銀は主としてミトコンドリア膜にありその 80%は無機水銀である。

したがってミトコンドリア膜の脱メチル化機構の解明が急務であり、その検出法の検討を続けている。

6. 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

中村 邦彦（基礎研究部）

昨年度に引き続き、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。電気透析装置を使用し2価水銀イオンの陽極槽から濃縮層への移行を検討した結果、35Vの電圧で効率的な水銀の陽極槽か濃縮槽への移行が観察された。また、25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度の塩化第二水銀水溶液1リットルを陽極槽に入れ、24時間電気透析を行った結果、活性炭フィルターの上層部より1.63mg、下層部より2.2 $\mu\text{g}$ の気化した水銀が回収された。さらに、電気透析だけでは、除去できない濃縮槽内の2価の水銀イオンを、将来的に水銀揮発化細菌を用いて除去するための基礎実験として、多くの微生物を付着できる熱帯魚飼育用の石への吸着を検討した。

7. メチル水銀の超高感度分析法の開発と大気中水銀のメチル化・脱メチル化反応過程の解明

丸本 幸治（国際・総合研究部）

大気及び降水中のメチル水銀を信頼性高く定量するための超高感度分析法として、従来のジチゾン-硫化ナトリウム二段抽出法に改変を加え、硫化ナトリウム中でアルカリ条件下、塩化スズによる還元反応を起こさせて無機水銀を気化により除去する手法を開発した。その結果、ECD-ガスクロマトグラフを用いず、還元気化法でメチル水銀の測定が可能になった。今後さらに感度をあげて実用化する。

8. 大気中水銀蒸気のマニタリングおよび環境循環量の推定法に関する研究

松山 明人（疫学研究部）

ロシア LUMEX 社製 RA-915 を用いて主として水俣周辺の大気中水銀濃度の測定を行っており、一定の成果を得た。今年度は研究の最終段階として測定器の精度を再確認するため、日本インストルメント製の HG-2 との間で測定値の比較を行い、相互に同等の精度をもって測定ができることを確認した。また、ポジティブコントロールとして、霧島地区において火山の影響を調べた。

## 1) 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 (基礎研究部)
	中村 政明 (臨床部)
	古川 謙介 (九州大・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)
	清野 正子 (北里大・薬)

### [ 研究目的 ]

これまでの研究で、高濃度の水銀に長期間汚染された水俣湾では、種々の水銀化合物に耐性のある水銀耐性菌の割合や、これらの水銀化合物を揮発性の金属水銀蒸気に変換・分解できる水銀揮発化細菌の出現頻度が水銀汚染のない対照地点に比べて、かなり高いことが明らかになっています。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うけて、水銀汚染環境で特異的に出現して来ているものと思われる。

細菌の水銀揮発化遺伝子は、*merR*, *merT*, *merA*, *merB* などで構成されています。有機水銀化合物の揮発化反応は、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 *merA* の産物であるレダクターゼによって、水銀蒸気に変換され行われます。

そこで、水俣湾の水銀耐性菌の水銀揮発化遺伝子の構造等を研究し、水銀汚染によりどのような遺伝的变化が起き、どのようにして水銀耐性細菌が出現してくるのかを明らかにする目的で研究を行っています。

### [ 研究対象および方法 ]

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。

### [ 研究成果 ]

昨年度は、水俣湾底質から採取した水銀耐性が弱く 2 価の水銀イオンを揮発できるバチルス属細菌 68 株に解析を行ったところ、水銀耐性が高い細菌の水銀揮発化遺伝子と同じような構造をした水銀揮発化遺伝子 *mer* オペロンを持っていることが判明しました。そこで、本年度は、このような細菌が水銀汚染により水俣湾で特異的に出現しているか否かについて検討するため、水銀汚染のない対照地点の湯乃児と米ノ津よりバチルス属の細菌を分離し、これらの細菌の細菌学的分類および塩化第二水銀に対する最小発育阻止濃度について検討しました。また、水俣湾から採取した、5 株の水銀耐性の強い *Bacillus* 属の細菌の水銀揮発化遺伝子の構造についても解析を行いました。

平成 17 年の 9 月に船で、エックマンパーゼ式の採泥器を用い、湯乃児と米ノ津の底質を採取し、それぞれ約 200 株のバチルス属の細菌を分離し、これらの細菌の細菌学的分類と塩化第二水銀に対する最小

発育阻止濃度について検討しました。湯乃児から採取した177株のバシルス属の細菌は、*B. megaterium*(56株)、*Bacillus pumilus*(11株)、*B. firmus* (1株)、*B. licheniformis*(2株)、*B. circulans*(2株)、*B. subtilis*(8株)、*B. coagulans*(7株)、*Brevibacillus laterosporus*(3株)、*B. cereus group* (8株)および未分類80株であることが判明しました。米ノ津から採取した194株の *Bacillus* 属の細菌は、*B. megaterium*(64株)、*Bacillus pumilus*(58株)、*B. firmus* (3株)、*B. licheniformis*(3株)、*B. circulans*(1株)、*B. subtilis*(2株)、*B. coagulans*(4株)、*B. cereus group* (10株)および未分類51株であることが判明しました。また、これらの細菌の塩化第二水銀に対する最小発育阻止濃度は、湯乃児の細菌の75.7%、米ノ津の細菌の78.4%が0.5 µg/mlであることが明らかになり水銀耐性が弱い細菌が多数出現していることが判明しました。

また、水俣湾から採取した、5株の水銀耐性の強いバシルス属の細菌の水銀揮発化遺伝子群の塩基配列をシークエンスを行い検討したところ、この5株すべてで、酵素レダクターゼの遺伝子である *merA* 遺伝子の435番目のイソロイシンの箇所にアデニンの挿入がみとめられ、437番目のスレオニンの箇所でシトシンの欠失が認められました。

## 2) 海洋生態系における水銀の動態

### a. 潮間帯底生生物食物連鎖網における水銀の動態

### 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

研究担当者 保田 叔昭 (国際・総合研究部)  
森 敬介 (九州大・理学府)

#### [ 研究の背景および目的 ]

過去に甚大な水銀汚染を経験した水俣湾では、汚染源の化学工場が水銀の排出を停止してすでに久しく、湾内の汚染された底質も埋立地に密封されているが、生態系に含まれる水銀は他の地域に比べるとなおいくぶん高い値を示す。この差に関して、他の地域と比較しながら、海洋生物の生態系を中心とした海洋環境について調査を行ない、水銀の動態を明らかにすることが本研究の目的である。

#### [ 研究対象および方法 ]

生態系移行の端緒である底質に含まれるメチル水銀の量と、その生態系への移行性を調べるため、以下のとおり底質の水銀分布の調査から研究を始めている。

前年度まで底生生物の生息環境に関する情報を入手する目的で低潮帯の底質および間隙水を採取し、水銀分析を行ってきた。今年度からはさらに中潮帯および高潮帯を調査に含め、サンプル数も増やしてより詳しい分布状況を明らかにする。すなわち、1997 年以来隔年に実施してきた水俣湾の潮間帯底生生物群集調査において対象としている 4 ケ所のステーションにおいてその転石海岸の低・中・高各潮帯における水銀分布を調べた。各潮帯毎に 8 ケ所、50cm 四方の枠 (コドラート) を置きその内部のベントスを採集した後の底質を中央と四隅の計 5 ケ所からとって四分法で混合しその一部を試料として研究室へ持ち帰った。試料の一部を取り、総水銀およびメチル水銀濃度、含水率、強熱減量を測定した。

#### [ 研究成果 ]

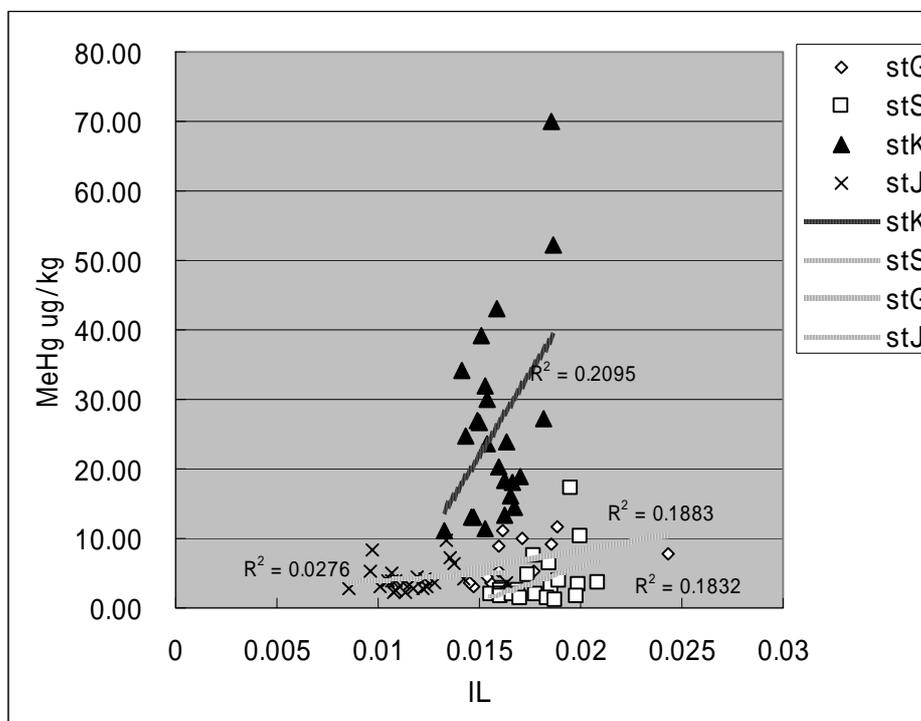
ステーションによって水銀の濃度に差があった。最も高かったのは恋路島湾側の海岸で、24 ケ所の平均が総水銀で  $4.96 \pm 0.50$  mg/kg、メチル水銀で  $25.9 \pm 5.8$   $\mu$ g/kg であり、自然界の値の 1000 倍あるいは 200 倍前後となっていた。一方湾外の海岸では、水銀濃度は自然界の値の 10 倍から 100 倍程度に低下していた (下表)。平面分布については、総水銀の分布とメチル水銀の分布にいくらか違いがあった。総水銀の分布は総じて低潮帯ほど高く、海中からの打ち上げが想定された。ところが、メチル水銀は、特に恋路島湾側では必ずしも潮位に従わず、中潮帯や高潮帯に高い値が分布していた。この傾向は西の浦湾側でも見られた。しかし湾外の海岸では、低潮位側に向かっていくぶん濃度が挙がる傾向があった。これは、湾内側で低潮帯のメチル水銀が波に洗い去られていると同時に、湾外では多少メチル水銀が海中から打ち上げられていることを示すのかもしれないが、さらに研究が必要である。いずれにせよ、現在においても水俣湾海岸の底質でメチル水銀が ppb のレベルで存在することが示された。

なお、恋路島湾外をのぞく海岸においては、350 にて得られた強熱減量とメチル水銀濃度との間には正の相関が見られた ( $R=0.43 \sim 0.45$ ) が、総水銀濃度にそれはなかった。

総水銀 メチル水銀		低潮帯	中潮帯	高潮帯
		湾内	恋路島(stK)	6.42 ± 0.33 <b>22.3 ± 7.12</b>
	西の浦(stG)	1.28 ± 0.12 <b>4.90 ± 2.46</b>	1.36 ± 0.23 <b>7.61 ± 4.79</b>	1.46 ± 0.37 <b>8.28 ± 2.39</b>
湾外	恋路島(stJ)	0.65 ± 0.06 <b>5.12 ± 1.63</b>	0.62 ± 0.08 <b>3.04 ± 0.50</b>	0.57 ± 0.04 <b>4.53 ± 1.39</b>
	西の浦(stS)	0.34 ± 0.03 <b>5.87 ± 4.25</b>	0.18 ± 0.02 <b>3.10 ± 0.73</b>	0.09 ± 0.01 <b>2.14 ± 0.27</b>
対照	五島	0.005		
		<b>0.08</b>		

採集: '05 3月  
 平均値 ± 95%信頼限界 mg/kg  
 n=8 (\*4)  
μg/kg

付図 強熱減量とメチル水銀濃度の相関



## 2) c. インドネシア・セレベス島北部における、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)  
マルクス・ラスート (サムラトゥランギ大)

### [ 研究目的 ]

水銀に関する環境調査の一つとして、金採掘に伴う水銀放散とそのメチル化による生態系への蓄積を追跡し、水銀動態を調査する。

### [ 研究対象および方法 ]

インドネシア・セレベス島北部、ミナハサ州においては、従来金採掘が盛んで、企業による大規模採掘から、個人による小規模採掘まで全地域にわたるといっても過言ではない。そのうち大部分が鉱滓として水銀を放出したり、金の精製に水銀を使う事により、環境中への水銀拡散に關与している。

本研究は、プイヤット湾における海中鉱滓投棄に伴う水銀放出に関する環境調査をきっかけとして始められた。この調査はすでに終了し、カナダのグループによる海底の底質の水銀分布調査と組み合わせて報文を作成しているところである。プイヤット湾の水銀値は日本の基準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。

しかし本来の目的である水銀の環境中での動態の調査に関しては、調査すべき地域が随所に存在している。本研究では比較的アクセスに有利な場所にあるタラワン地区を対象地区として選定し、陸水から海水までの領域にまたがって水銀分布調査を開始した。対照地として、前回まで Bajo 地区を選んで調査したが、新たに企業による金採掘が開始される計画があるため、今回から、さらに西へ移動して Kotabunan という地区を対照地とした。

### [ 研究成果および進捗状況 ]

タラワン地区においては鉱山領域に端を発する河川にそって河口周辺の海岸まで底質と魚の採取を行い、メチル水銀濃度の解析を行っている。底質のメチル水銀解析については、空気の混入が濃度の変動要因になるとの報告があるため、今回は極力空気を排除する採取法と、窒素雰囲気下で試料を混合調整する手法を導入した。ただ、別項で述べたとおり、低濃度メチル水銀の定量に妨害ピークの影響を避けるべく、その解決を優先させているため、測定は総水銀のみにとどまっている。図1は底質の総水銀濃度を示す。また図2は魚の総水銀濃度を示している。これを見ると、海域で生態系への水銀蓄積が見られ、採掘現場から海域までのどこかで水銀のメチル化が起きていることを示している。

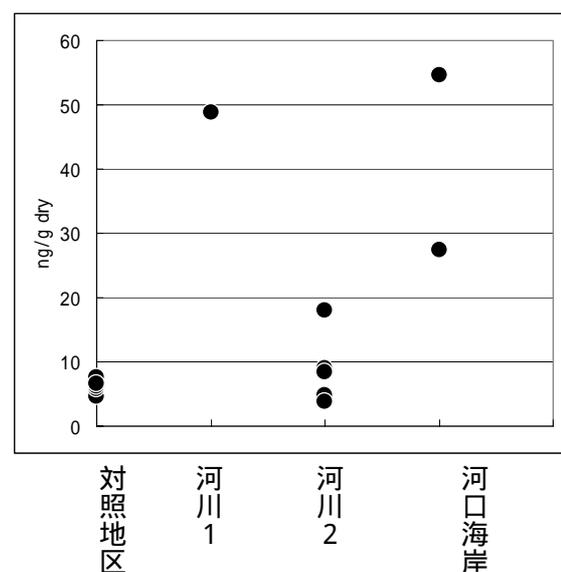
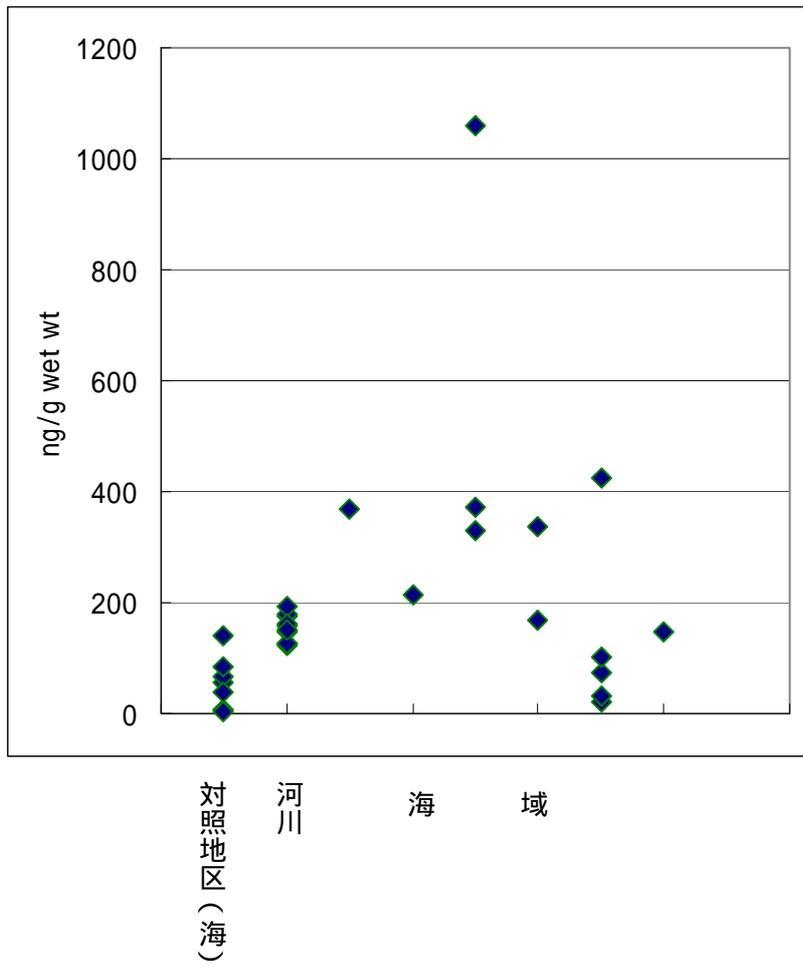


図2 タラワアン地区魚類総水銀濃度分布



### 3) 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 (疫学研究部)  
赤木 洋勝 (国際水銀ラボ)  
岡田 和夫 (国際水銀ラボ)  
江口 朋美 (国際水銀ラボ)

#### [ 研究の背景および目的 ]

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、300以下の低温度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。また本開発技術の早期実用化を図り、回収した水銀のリサイクルおよび処理物の有効活用を実施することによって循環型社会の形成に貢献することを目的とする。これまで水銀汚染土壌の浄化を目的として開発された低温加熱処理技術は、水銀含有産業廃棄物処理用 (主に廃蛍光管) に一部改良され既に実用化されている。しかしその一方で、本システムは種々大小の問題を現在抱えていることも事実である。例えば、実際の処理現場で、廃蛍光管本体だけでなくそれに付随するプラスチック部品が混入することから、特殊添加剤の効果が低減するなど。他にも本技術による廃蛍光管の加熱処理後、必ず副産物として発生する、高濃度に水銀を含有した八口燐酸カルシウムを主体とする蛍光物質 (以後パウダーと呼ぶ) の処理をどのように行うかなど大きな問題を抱えている。そこで今年度は、本パウダー処理に対しての、基礎的検討を各種実施することとした。以下にこれまで行った実験結果より主たる内容を抜粋しまとめる。

#### [ 研究方法 ]

##### < 供試物質 >

実験に用いたパウダーは、現実に本処理技術も用いて処理を行っている金沢に本拠地を置く産業廃棄物処理業者より提供されたものを用いた。提供されたパウダーは既にガラス屑等は十分に除去されており目視上は十分に均一化されている状態であった。本供試パウダーの水銀含有量は平均値で 384mg / kg、溶出量は 0.18mg / L であった。過去において取り扱ったものと比較して、本供試パウダー中の水銀含有量、溶出量はともに大きい値を示した。

##### < 実験方法 >

加熱処理実験は、これまでと同様、図 1 に示す加熱実験系を用いて行った。本加熱実験系は事前に加熱温度および装置内空気流量を設定しておけば、自動的に制御が行われる仕組みとなっている。

##### < 実験条件 > ・加熱温度 300、400、500

- ・装置内圧力 ほぼ常圧 (装置内ガスが漏れない程度)
- ・装置内流量 500ml、1000ml
- ・加熱時間 60min で一定
- ・試料量 10g / 回 ・添加剤 硫化鉄および特殊金属化合物 0.5、1%重量比で添加。

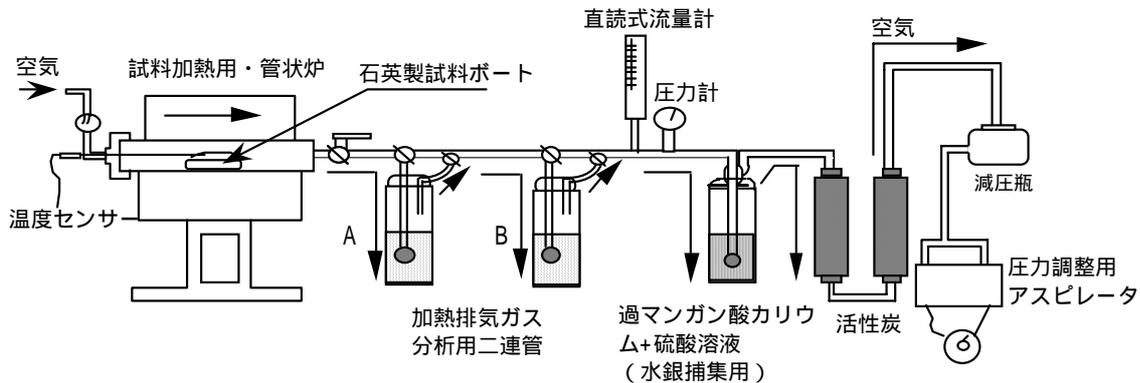


図 1 室内加熱実験系

上記の各種加熱実験条件で、パウダーに対する加熱処理実験をおこなった。尚、実験の評価は処理前後における水銀の総水銀量変化、および水銀溶出量値の変化により行うこととした。試料の総水銀測定は赤木法による湿式加熱分解の後、10%塩化第一スズ添加による冷原子吸光分析により行った。水銀溶出量は環境省告示第13号に基づいて前処理を行った後、上澄み液を0.45μフィルターを用いてろ過を行った。ろ過後、ろ液適量(20ml)を容器に正確に分取し、硝酸、硫酸、5%過マンガン酸カリウム溶液、5%ペルオキシ二硫酸カリウム溶液の適量を順次加え90~95のオイルバスで2時間連続で加熱分解処理を行った。加熱分解処理終了後、加熱処理液に5%塩化ヒドロキシルアミンを適量加え過マンガン酸カリウムを失活させた後、本液より適量を水銀測定セルへ分取して10%塩化第一スズ溶液添加し、溶液中の水銀を還元させ冷原子吸光分析により定量した。分析値は、すべて2回繰り返しの平均値である。

[ 研究結果 ]

表-1に実験結果をまとめる。実験結果より加熱温度を上げることおよび特殊添加剤を用いるにつれて、含有水銀量の低下とともに、溶出水銀量の低下が顕著に認められる。しかし結果として、300の加熱条件では装置内空気流量を増加させ且つ添加剤を使用しても、産業廃棄物処理基準さえ満足させることはできなかった。唯一500以上に加熱し2種類の添加剤を加え、且つ装置内空気流量を1000ml/minとした場合のみ、国内土壌汚染対策法に定められた含有量(15mg/kg)および溶出量(0.0005mg/L)基準値を満足させることができた。一般に土壌の場合、低温加熱処理に有効に働く鉄化合物(得に硫化物)およびケイ酸塩化合物が元から土壌中に豊富に含有されているため、加熱処理時に別途加えた特殊添加剤の効果と相まって加熱処理による水銀の除去効果は当然得やすいと考えられる。しかしパウダーの場合は、95%を超えるそのほとんどがりん酸カルシウムを主体とするものであり、土壌とは全くことなる特性を有していることから、これまでの加熱温度300設定では十分ではなく、さらなる加熱が必要になったものと予想される。本結果に関する詳細検討はこれからの課題となるが、少なくとも添加剤を加え加熱温度を500以上に上げることによって、パウダーの水銀含有量および溶出量を低減させ、土壌汚染対策法に定められた環境基準値を満足させることが可能であることが確認できた。

表 - 1 加熱処理実験結果						
試料初期値		水銀濃度 384mg / kg		溶出水銀濃度 0.18mg / L		
加熱温度	装置内空気流量	添加剤の有無	水銀濃度 mg / kg	水銀濃度 mg / L	含有量除去率 (%)	溶出量除去率 (%)
300	500ml/min	BL	123.9	0.088	67.7	51.1
		FeS 1 %	65.9	0.011	82.8	93.9
		FeS 1 % 添加剤 1%	71.2	0.021	81.5	88.3
	1000ml / min	BL	129.8	0.091	66.2	49.4
		FeS 1 %	61.2	0.019	84.1	89.4
		FeS 1 % 添加剤 1%	66.9	0.011	82.6	93.9
400	500ml/min	BL	99.3	0.04	74.1	77.8
		FeS 1 %	57.3	0.0073	85.1	95.9
		FeS 1 % 添加剤 1%	59.2	0.0071	84.6	96.1
	1000ml / min	BL	90.6	0.019	76.4	89.4
		FeS 1 %	48.7	0.0047	87.3	97.4
		FeS 1 % 添加剤 1%	44.6	0.0039	88.4	97.8
500	500ml/min	BL	50.2	0.0096	86.9	94.7
		FeS 1 %	36.1	0.0023	90.6	98.7
		FeS 1 % 添加剤 1%	15.8	0.0011	95.9	99.4
	1000ml / min	BL	39.4	0.0065	89.7	96.4
		FeS 1 %	11.2	0.0021	97.1	98.8
		FeS 1 % 添加剤 1%	9.87	0.0004	97.4	99.8

#### 4) 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(疫学研究部)  
富安 卓滋(鹿児島大・理)  
井村 隆介(鹿児島大・理)  
宮本 旬子(鹿児島大・理)  
矢野信一郎(九州大・工)  
畠田 彰秀(長崎大・工)  
赤木 洋勝(国際水銀ラボ)  
江口 朋美(国際水銀ラボ)  
M ホーバット(Jステファン研究所)

##### [ 研究の背景および目的 ]

一昨年より水俣湾3箇所の他、水俣各所においてモニタリングステーション10箇所を設定し、水環境のモニタリングをこれまで継続してきた。実際には井戸水等で水量が十分確保できない場所や、水俣湾親水護岸近傍などを中心に、ピンポイントでの水採取を余儀なくされるところも少なくない。これらの場合、これまで実施してきたような1Lを超える水試料採取は、基本的に困難であることから、100ml~200ml程度の水量で総水銀およびメチル水銀を正確に定量できなければならない。そこで今回、この要求を満足するべくこれまで行ってきたジチゾン抽出-GCECDの手法を見直し一部改良することによって、従来の測定感度を約10倍程度向上させ、水量として100~200ml程度でも総水銀およびメチル水銀を十分定量可能であることを見出したので、その主要な結果について以下にまとめる。

##### [ 研究方法 ]

分析手法自体は従来の分析法と比較して大きな変更はないが、細部を詳細に詰めなおし試薬の調製方法や試薬の保存方法等を変更することによって、最終的にGC-ECDによって得られるピークをこれまで以上に純化した。

##### [ 研究結果 ]

これまでの水試料分析法(赤木法)と異なる点をまとめ、大まかな全体流れを図1のフローチャートにまとめて示す。

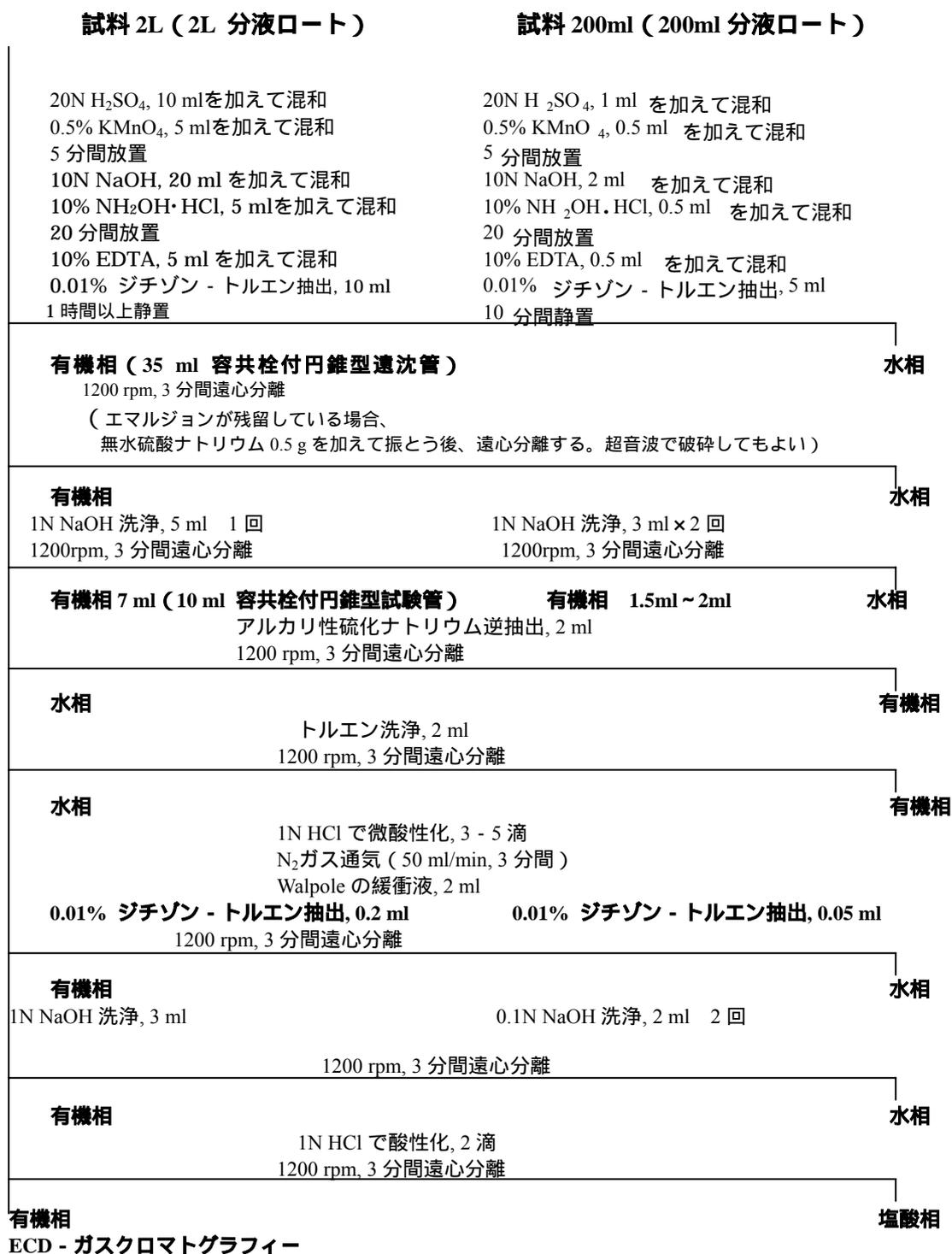


図 1 水試料中メチル水銀の分析法

図 - 1 に示す水中のメチル水銀分析手順に沿って 200ml 容で標準検量線を作成した。その結果を図 2 に示す。ベースとなる海水は、毎月実施されている水俣湾定期観測の際に採取された 3 箇所の海水を同量ずつ混合し 1L としたものをを用いた。

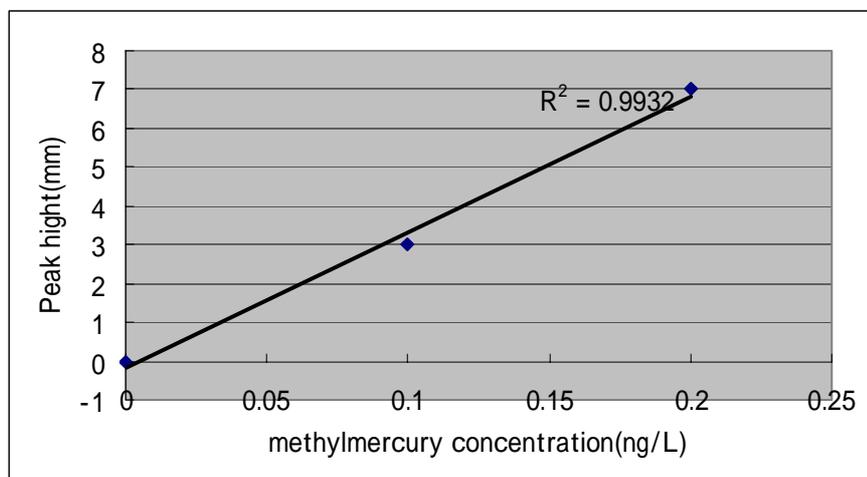


図 1 200ml メチル水銀定量用検量線

本改良法を利用することによって、図 1 程度の分析精度を得ることができる。現在、従来法との精度の相違を把握するため、昨年度（平成 16 年）1 月より毎月採取し別途九州大学にて凍結保存されている水俣湾海水試料をもととして、近日中に再分析実験を行い分析精度に関する評価を実施する予定である。本方法が確立されれば、およそ 200ml 程度の水量で水中のメチル水銀および総水銀濃度を同時に定量できることとなり、人工的実験環境下における水中のメチレーション実験などに応用が可能となる。ただし、低容量化したことにより室内環境からのクロスコンタミネーションの影響が従来法の適用に比べより大きくなることから、試薬のみならず容器の保存方法や洗浄法なども全て特殊な方法に変更しなければならないため特別な管理体制が別途必要とである。

## 6) 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

研究担当者 中村 邦彦 (基礎研究部)  
岩原 正宣 (崇城大・工)

### [ 研究目的 ]

水銀の環境汚染は、世界の多くの国々で緊急な課題になっていました。環境中の水銀処理は、埋め立てなどの封じ込め等により行われているが、これらの方法では、完全に無害化するわけではないため、根本的解決にはつながらないと思います。水銀で汚染された環境に生息している微生物、特に細菌の中には水銀と種々の相互作用を行い、水銀を分解し揮発化させることにより、自然界の清浄化作用を行っている細菌が存在していることが知られています。そこで、これら細菌を利用し、バイオテクノロジーの手法を活用し、将来的に、水銀汚染物の処理技術の開発を目的に研究を行います。

### [ 研究対象および方法 ]

水銀揮発化細菌を利用し、水俣湾のヘドロや水銀化合物を含んだバイオマス等からの水銀除去技術の開発を行います。

### [ 研究成果 ]

昨年度に引き続き、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ました。

#### 電気透析による水銀濃縮実験

以下の電気透析装置(図1)を使用し2価水銀イオンの陽極槽から濃縮層への移行を20Vと35Vの電圧を用いて検討した結果、35Vの電圧で効率的な水銀の陽極槽から濃縮層への移行が観察されました(図2および3)。

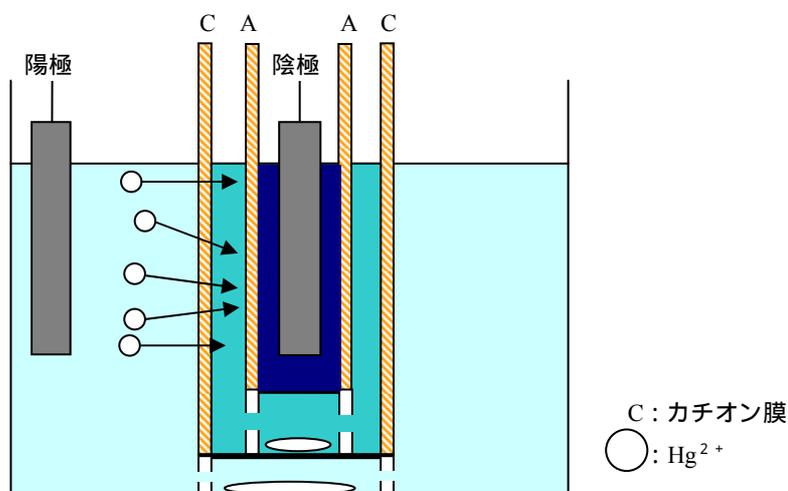


図1. 電気透析装置

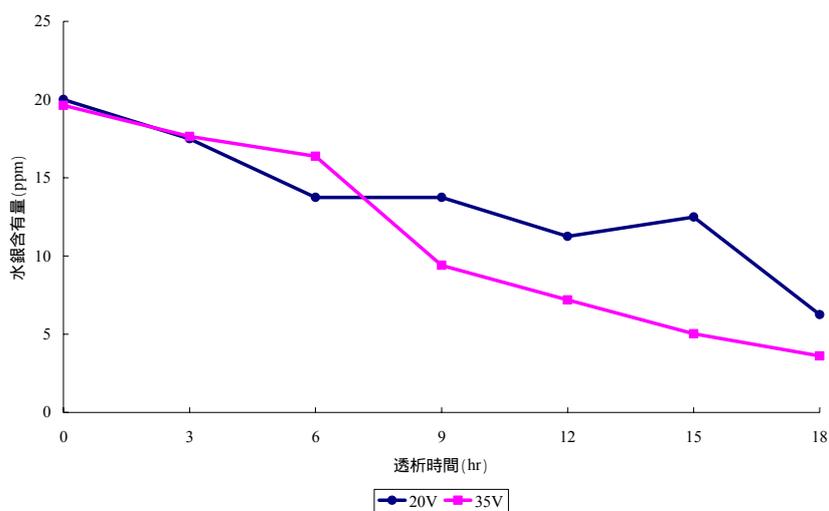


図 2. 陽極槽の水銀濃度変化

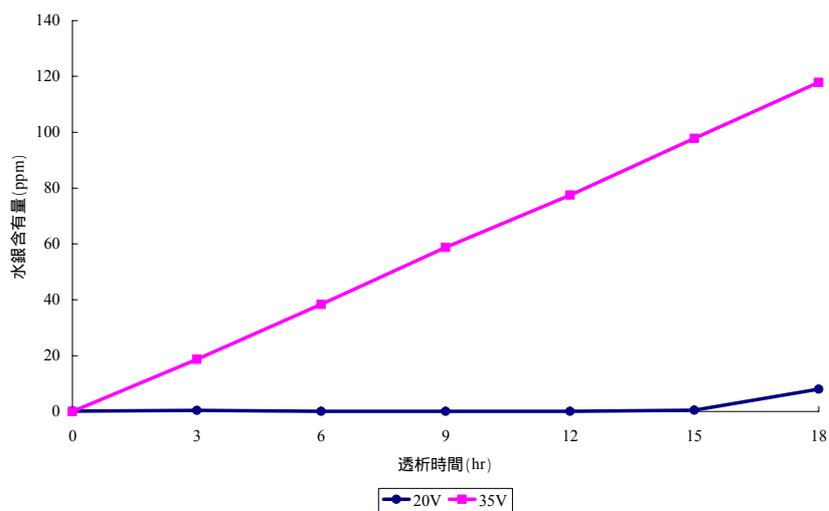


図 3 . 濃縮層の水銀濃度変化

電気透析だけでは、除去できない濃縮槽内の 2 価の水銀イオンを、将来的に水銀揮発化細菌を用いて除去するための基礎実験として、多くの微生物を付着できる熱帯魚飼育用の石への吸着を検討しました。30 グラムの 3 種類の石（円柱・円筒・8 の字状）を細菌の培養液にステンレスの網かごに入れて、石への細菌付着を調べた結果、8 の字状の石への吸着が最もよい結果が得られました。

電気透析法による塩化メチル水銀の陽極槽への移行について検討したところ、メチル水銀は、2 価の水銀イオンと違い、急速な濃縮槽への移行は観察されませんでした。

## 7) メチル水銀の超高感度分析法の開発と大気中水銀のメチル化・脱メチル化反応過程の解明

研究担当者 丸本 幸治 (国際・総合研究部)  
松山 明人 (疫学研究部)  
佐久川 弘 (広島大・生物圏科学)  
竹田 一彦 (広島大・生物圏科学)  
N. Mashyanov (St. Petersburg state Univ.)  
赤木 洋勝 (国際水銀ラボ)

### [ 研究の背景および目的 ]

揮発性の高い金属である水銀は、化石燃料の燃焼やごみ焼却、金属精錬等の人為的要因及び火山活動や海面、土壌からの揮発等の自然的要因によって大気中へ放出される<sup>1,2)</sup>。大気中に放出された水銀の一部は降水による湿性沈着及びガスの拡散や粒子の重力沈降による乾性沈着を介して地表へと到達し、主に水域内において生物毒性の高いメチル水銀化合物へと変化する<sup>3)</sup>。また最近の研究結果から、大気及び降水中にはメチル水銀がわずかながら存在していることが明らかとなった<sup>4,5)</sup>。そのため、水銀の人の健康リスクを評価する上で、大気中における水銀の発生源に関する情報はもちろんのこと、大気中水銀のメチル化反応及びメチル水銀の沈着過程等の知見も必要不可欠である。しかしながら、現在のところこれらの情報は不足している。とりわけ大気浮遊粒子中のメチル水銀の測定例はほとんどない<sup>6)</sup>。この理由の一つには、大気及び降水中のメチル水銀濃度が極めて低いため、高い信頼性をもったデータが得られにくいことが挙げられる。

本研究では、当センターで開発された環境中メチル水銀の分析法であるジチゾン トルエン抽出 ガスクロマトグラフ分離 電子捕獲検出法 (以下、ECD-GC法)<sup>7)</sup>を改良し、大気浮遊粒子中に極めて低濃度で存在すると考えられるメチル水銀を定量することを目的とした。しかしながら、現在のところメチル水銀の保証値を有する大気浮遊粒子の標準試料がないため、分析方法の妥当性を正確に評価することが困難である。そこで、今年度はメチル水銀の保証値を有する標準試料がいくつか市販されている土壌及び堆積物を対象としてECD-GC法の改良を行ない、改良法の妥当性を評価した。ECD-GC法では、メチル水銀を最終的にトルエン溶液に移行させ、他の水銀化合物や共存物質からメチル水銀のみを分離するためにECD-GCを使用している。これは環境中のメチル水銀を分離・定量する上で極めて信頼性の高い方法であるが、ECD-GCへのトルエン溶液の注入量に制限があるため、メチル水銀を数十 $\mu$ lのトルエン溶液まで濃縮してもそのうちの数 $\mu$ lしか装置へ注入できない。一方、総水銀の一般的な分析方法である還元気化-原子吸光分析法 (以下、CV-AAS法) に使用される原子吸光分析計はECDに比べて感度は劣るが、数十mlの溶液中の水銀分析が可能である。そこで、GCを使用してメチル水銀と他の化合物を分離するよりも早い段階、つまりECD-GCにメチル水銀を含む溶液を注入する以前の処理段階でメチル水銀を分離し、CV-AAS法で定量する方法を検討した。

### [ 研究方法 ]

本研究により開発した分析法の概要は以下のとおりである。はじめに、ECD-GC法と同様に土壌中のメチル水銀及び無機水銀の一部をジチゾン トルエン溶液に抽出し、過剰のジチゾン除去した後、

Na<sub>2</sub>S溶液に逆抽出した。次に、Na<sub>2</sub>S溶液を酸性にして溶液中に存在する過剰のS分をH<sub>2</sub>Sとして追い出した後、強い還元力をもつアルカリ性SnCl<sub>2</sub>を添加することによりNa<sub>2</sub>S溶液中に移行した無機水銀のみを還元気化させた。続いて、過剰のSnを除去した後、Na<sub>2</sub>S溶液中に残ったメチル水銀をHNO<sub>3</sub> - HClO<sub>4</sub> - H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>存在下、230 °Cで加熱処理することにより水銀イオン(Hg<sup>2+</sup>)へ変換した。得られた溶液中のHg<sup>2+</sup>を酸性Sn<sup>2+</sup>によるCV-AAS法を用いて定量した。

#### [ 研究結果および考察 ]

両性金属であるSnは強アルカリ性下でSnO<sub>2</sub><sup>2-</sup>として存在し、その還元力は酸性下のSn<sup>2+</sup>よりも強い。そのため、HgI<sub>4</sub><sup>2-</sup>等の極めて安定な無機水銀化合物も還元できることが報告されている<sup>8)</sup>。本法を検討するにあたって、まずアルカリ性SnCl<sub>2</sub>の添加によってメチル水銀が還元気化せず定量的に回収できることを、アルカリ性SnCl<sub>2</sub>の添加前と添加後の水銀量を比較することにより確認した。次に、アルカリ性SnCl<sub>2</sub>の添加による無機水銀の除去率を調べた。その結果、無機水銀の除去率はSnCl<sub>2</sub>溶液のアルカリ濃度に大きく依存することがわかり、無機水銀の除去率が最も高くなる最適なアルカリ濃度を決定した。なお、SnCl<sub>2</sub>濃度は3%とした。

本分析法によるブランク値の変動幅から求めた検出限界濃度(3σ)は2 ng g<sup>-1</sup>(試料の乾燥重量100mgの場合)であった。この値はECD-GC法による検出限界値0.3 ng g<sup>-1</sup>に比べて6-7倍程度高かった。しかし、添加する試薬量や分析に供する溶液量を変更することによりECD-GC法と同程度の検出限界値を得ることが可能である。本分析法の妥当性をメチル水銀の保証値を有する堆積物標準試料BCR-CRM580及びIAEA405を用いて評価した。その結果、本法による測定値はCRM-580:72ng g<sup>-1</sup>、IAEA405:5.4ng g<sup>-1</sup>であり、保証値(CRM-580:75.5±2.4ng g<sup>-1</sup>、IAEA405:5.49±0.53ng g<sup>-1</sup>)と誤差の範囲で一致した。このことから、本分析法が環境中のメチル水銀の分析法として有効であることが確認された。ただし、本分析法ではエチル水銀も検出されることがわかっており、今後他の有機水銀化合物(フェニル水銀やチメロサルなど)が検出されるかどうかを調べる必要がある。しかしながら、環境中に存在する有機水銀のほとんどはメチル水銀であることが知られており、他の有機水銀化合物の分析値への影響は小さいと考えられる。本分析法は、検出器として原子吸光分析計よりも数十倍高い検出感度をもつ原子蛍光分析計を使用することができ、さらに低濃度のメチル水銀を定量できると考えられる。

#### [ 引用文献 ]

1. Nriagu JO, Pacyna JM: Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *Nature* **333**, 134-139, 1988.
2. Nriagu JO: A global assessment of natural sources of atmospheric trace metals. *Nature* **338**, 47-49, 1989.
3. U. S. EPA : Mercury study report to congress, Volume : Executive summary. EPA452/R-97-003, 1997
4. Mason RP, Lawson NM, Sullivan KA: Atmospheric deposition to the Chesapeake bay watershed – regional and local sources. *Atmospheric Environment* **31**, 3531-3540, 1997.
5. Lee YH, Wangberg I, Munthe J: Sampling and analysis of gas-phase methylmercury in ambient air. *The Science and Total Environment* **304**, 107-113, 2003.
6. Huang JH, Klemm O: Atmospheric speciation of ionic organotin, organolead and organomercury compounds

in NE Bavaria (Germany). *Atmospheric Environment* **38**, 5013-5023, 2004.

7. Akagi H, Nishimura H: Speciation of mercury in the environment. In *Advances in Mercury Toxicology*, edited by Suzuki T, Nobumasa I, Clarkson TW, 53-76, 1991.
8. 梅崎芳美, 岩本和子: フレームを用いない原子吸光法による水中微量水銀の定量 - 無機、有機水銀の分別定量について - *分析化学* **20**, 173-179, 1971.

## 8) 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 (疫学研究部)  
安武 章 (基礎研究部)  
丸本 幸治 (国際・総合研究部)  
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、日本、アメリカ等をはじめとする先進諸国では原子力発電の補助発電技術として、中国等では主要な発電技術として石炭火力による発電が採用され現在行われている。この発電に使われる石炭には通常、微量の水銀が含まれているため発電プロセスの燃焼過程でその大半が加熱によって蒸散し、特別な水銀除去装置を設置しない限りそのまま大気中へ移行する。このことが起因して、水銀による大気汚染が広範囲にわたって進行し、環境中における水銀の循環に大きな影響を及ぼしている可能性が指摘され最近、世界的な大きな話題となっている。他方、日本では良質な国内炭の生産が、相次ぐ炭鉱の閉山に伴って入手しづらくなっているため、発電に必要な石炭のほとんどは中国で産出されたものが輸入され用いられている。一般に中国炭に含有される水銀含有量は他産と比較して多いため、国内の石炭火力発電の操業により大気中へおよそ 0.64 t / 年程度が、わが国では放出されていると、電力中央研究所の研究報告で予測されている。

水俣には、発生源としての形態は前述の石炭火力発電とは異なるが、過去に高濃度の水銀を埋設した水俣湾埋立地および水俣湾が存在していることから、本課題ではこれらを土壌、水圏から大気中へ移行する水銀の各種検討に関するモニターフィールドとして位置付け検討してきた。これまでの検討で、水俣においては国内大気バックグラウンドレベルと同等或いはそれ以下であることが既に証明されている。そこで今年度は、LUMEX 社製 RA-915 (以降 RA-915 と呼ぶ) による気中水銀測定データを収集するだけでなく観測データの精度についての的をしぼり、その正確性について検討することとした。

### [ 研究方法 ]

電力中央研究所等国内で活用され、これまで国内大気中水銀測定で最も実績のある日本インストルメント社製 HG-2 システム (以降 HG-2 と呼ぶ) およびそれに準じた気中水銀測定方法を比較対照として定め、RA-915 による測定結果と比較検討することとした。具体的には、人工的に大気を水銀によって汚染させた部屋を用意し、その中で気中水銀の測定を 2 種類の異なる分析装置で連続的に行うこととなった。

その結果を図—1 に示す。

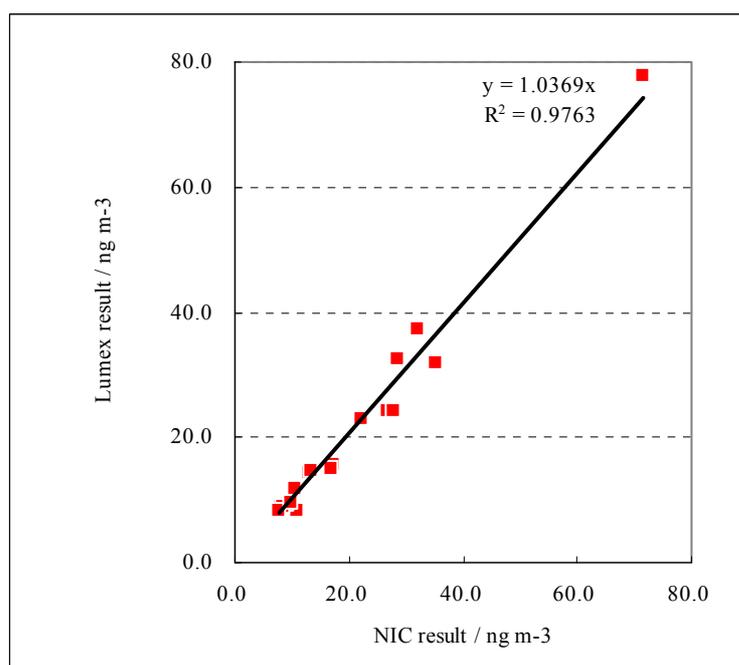


図 - 1 Lumex 社製 RA915 と日本インスツルメンツ社製 AM-2 の大気中水銀濃度の観測値の比較

結果として、双方の気中水銀測定結果は概ね良好であり、気中水銀濃度が異なる場合であってもほぼデータの互換性について確認することができた。双方の測定結果で多少の測定変動は生じているが、原子量の重い気中水銀の測定であり測定誤差の範囲であると考えられる。したがって本結果より RA-915 による測定結果の妥当性が証明されたこととなり、これまで測定した結果等の有効活用が期待される。また今回、RA-915 による気中水銀測定の一環として、火山地域における気中水銀測定も同時に実施した。設定した測定場所は霧島である。測定結果を表 1 に示す。

表 - 1 南九州地方における大気中の水銀濃度

地点	平均濃度 ng m <sup>-3</sup>	標準偏差	最大値	最小値
水俣市周辺	2.26	0.32	2.90	1.63
大口市周辺	1.56	0.30	2.26	0.87
栗野岳（八幡地獄）	11.0	3.28	23.0	3.69
霧島（地獄谷）	15.4	7.49	46.8	3.43

本結果より、火山地域における気中水銀濃度が他地域と比べて圧倒的に濃度が高く、およそ 5 倍から 7 倍程度にまで達することがわかった。本結果は、従来一般的な事実として知られる内容と合致するものであり、今後の研究の展開が期待される。

最後に平成 15 年度より実施した本研究課題は、今年度をもって終了することとする。3 年間にわたり、本研究を継続したことによって新規に導入したロシア LUMEX 社製 RA-915 の有用性とその正確性が確

認され、今後の研究展開に対して大いに有用であることがわかった。今後は別の特定テーマを打ち出し、  
気中水銀のモニタリングと循環モデルの構築を目標として研究を継続する予定である。

### 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	黒木 静香（臨床部）
	宮本 清香（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を取り入れた外来リハビリテーションと訪問看護リハビリテーションを今年度も実施した。

リハビリテーションの内容として、運動療法（関節可動域訓練、筋力維持・強化訓練）、作業療法（スキルスクリーン・革細工・ウール細工・ビーズ細工、音楽、ガラス細工、タイルモザイク等々）、ADL訓練を患者のレベルに応じて取り入れている。各々の患者に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・行為をもつことで精神的な充足感や意欲が得られ、能力向上につながっていると思われる。

胎児性患者は50歳代前後で老齢変化が加わり身体能力の低下がみられてきているが、今年度特筆すべきは、慢性期で年月を経る毎に低下してきていた体幹保持能力がジストニーを伴う胎児性患者1名で改善したことである。それに伴い体幹屈曲や移動・移乗動作も向上した。これは、筋肉に投影される身体反射を利用した療法手技（「水俣地区OT、PTのための特別セミナー」で当センターを訪問され診察された脇元幸一理学療法士による施療手技）によるものと考えられる。黒木は直接指導を受けてその手技を研修し、毎回のリハビリにとりいれ継続した療法を行ってきた。現在、その理学療法に加え、身体能力の維持・向上を目的として、車椅子フットペダルの手での引き上げや、立位訓練、作業療法等の療法プログラムを行っている。患者はジストニーによる頸椎症があり、進行防止を目的としてネックカラーの着用を行うとともに車椅子にヘッドギアの取り付けを行った。また、ジストニーや痙性、筋短縮による腱付着部痛に対し服薬管理を行うとともに、他の症状に応じた病院紹介も例年と同様行った。

明水園から今年度も2人の胎児性患者が外来リハビリに参加されたが、当センターでのリハビリを非常に楽しみにされている。

訪問リハビリテーションでは、成人型水俣病患者の脳血管障害後のリハビリ、ケアを今年度も行った。筋力の低下や浮腫が見られ、それに対応したリハビリテーションプログラムを行っている。今年度前半は、筋力向上・浮腫の軽減が見られたが、後半になって患者の介護者に対する依存が強くなってきた。自立意欲の減退による介護者への依存に加え、加齢による影響もありADL能力の低下が見られている。

今年度初めての試みとして、患者の作品写真を集めたものをカレンダーにして配布した。患者自ら多数の知人に配布されるなど、非常に好評であった。

## 2. 水俣病健康相談室

### (1) 健康相談

水銀汚染地区に在住の高齢者3～4名の方が平成17年6月より月に2回、健康相談室に来て、作業療法をしながら神経内科医師に自分自身の病気に関する症状、検査結果などを相談されている。落ち着いた環境の中でゆっくり話をきいてもらえる安心感から好評である。また、他県から以下のような質問(メールや電話)が寄せられ、メールや郵便により返信した。

- ・50歳代男性：身体の不調(手足のしびれや感覚異常など)があり、その症状と水銀に関することを教えてほしい。
- ・40歳代男性：他機関で毛髪水銀値を測定し「高レベル」といわれた。幼少時より難聴もあるので、毛髪水銀値より判ることを教えてほしい。
- ・30歳代女性：自分の子供が自閉症である。毛髪水銀値測定実施希望と「水銀と自閉症の関係について」知りたい。
- ・20歳代女性：研究中に誤って酢酸フェニル第二水銀を衣服に付着した。その後嘔吐感や口内や指先のしびれがある。適切な処置について知りたい。
- ・イギリスの作家：胎児性水俣病患者の現況(日常生活・リハビリの状況など)について知りたい。

### (2) 毛髪水銀値測定

情報センター来館者1,141名の毛髪水銀値測定を行った。毛髪水銀値を測定していることが小中・高校間にも知られてきており、毎年アンケート送付依頼による測定を希望する学校もある。今年度は501名が郵送依頼であった。結果については修学旅行などで情報センターに来館した時に手渡しを希望するケースが多かった。

### (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下記のような質問が58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 | 15名 |
| ・毛髪測定や毛髪と水銀の関係について   | 11名 |
| ・水銀に関する一般的なこと        | 10名 |
| ・魚と水銀値の関係(食事)        | 8名  |
| ・水銀中毒の対処法、治療、予防      | 5名  |
| ・体内の水銀の動き            | 4名  |
| ・他の金属や環境問題           | 2名  |
| ・その他                 | 3名  |

### (4) 健康セミナー

本年度は、平成17年6月に第5回「人間ドッグの話」(59名参加)、平成17年10月に第6回「脳卒中の話」(81名参加)、平成18年2月に第7回「これからの季節に気をつけたい病気の話」として花粉症や鳥(新型)インフルエンザの脅威(84名参加)を水俣市葦北郡医師会との共催で実施した。今年度は新聞に折込みチラシを入れて広報を図るとともに、送迎バスを運行して交通手段のない中・高齢者が参加しやすいように配慮した。毎回好評で、参加者のアンケート回答者では次回も参加したい人が66

名(94%)と多く、「老人会・婦人会・区長などを通して回覧板で回覧し、住民に広く知らせた方がよい」などの意見もみられ検討していきたい。

### 3. 水俣市南部もやい直しセンター(愛称:おれんじ館)

水俣市南部地域に在住の65歳以上の高齢者、または軽度の障害もしくは虚弱の方を対象に健康の維持増進、並びに孤立感の解消を図り、住民の福祉の向上に寄与することを目的に設立されたおれんじ館へH17年4月から再度、神経内科医師・作業療法士・看護師の3名で月2回訪問している。(前回はH10年4月~H12年12月まで)

内容としては、作業療法を中心にした作品づくりである。生き甲斐や楽しみを感じながら作業をしつつ、不安解消のための健康相談もできる場所の提供を目的にしている。利用者人数は毎回10~15名で、和気あいあいと訓練作業が行われている。

4月からは介護保険制度も介護予防へと制度改定することになっており、今までの活動を基盤として、水銀汚染地区の住民の方々の身体的および精神的援助を積極的に行っていく予定である。

## 2 . 水俣病患者の症状経過・生活状況に関する研究

研究担当者	若宮 純司（臨床部）
	宮本謙一郎（臨床部）
	村尾 光治（臨床部）
	中村 政明（臨床部）
	北野 隆雄（熊本大・医薬）
	有村 公良（鹿児島大・医歯）
	内野 誠（熊本大・医薬）
	秋葉 澄泊（鹿児島大・医歯）
	安藤 哲夫（鹿児島大・医歯）

### [ 研究目的 ]

水俣病の症状経過、生活状況については、実態が明らかでないが、現在までの予備調査では、回復可能な機能障害がそのままになっていたり、生活環境から生活の質を下げたりしている患者が多くいる可能性があることがわかった。そこで、生活状況、肉体的状況、精神的状況、社会的状況について追跡調査を行い、症状経過と生活の実態、抱える問題点を明確にする。

### [ 研究対象および研究方法 ]

熊本県（芦北・水俣3町、御所浦町など）および鹿児島県（東町、出水市など）、新潟県（新潟市）に在住の水俣病患者、および当該地区在住の住民を対象として生活状況、肉体的状況、精神的状況、社会的状況について追跡調査を行い、症状経過と生活の実態、抱える問題点を明確にする。

### [ 研究成果および進捗状況 ]

MDS + CAPs、厚生省介護度判定表、PGC モラールスケール、現在の生活で不満な点、支障点、改善してほしい点、国水研に望むことを調査項目とした。現在、118名を調査し終え、データベースを作成中であるが、成人性水俣病で要望が多かったのは、入浴介助、デイケアへの参加を増やす、話相手がほしい、温泉に自由にゆきたい、病院にゆく交通費がほしい、将来の不安（特に健康面）がある、家族からは面倒をみるのにかなりの時間がさかれて自由な時間がないであった。胎児性患者4名をまわったが、家族から、両親が高齢化して思うような援助ができない、買い物など日常生活に必要なことも満足にできない、遠出ができない、両親が死んだ場合に胎児性の子供の面倒をみる人がいないことを全員があげていた。

上記をもとに、胎児性については出入り自由であり、生活しようと思えば、一生生活できる療養場所が必要なこと、成人性水俣病患者については、温泉に自由にゆくことができ、デイケアをする場所を増やすことが必要との結論に達した。ただし、実施主体が国水研の場合、うまくゆかない。自治体が主体となって行っている介護保険制度の補助的役割をになうことが必要であろうと思われた。本結果については、患者のためになり、臨床部として伸びる施策として地域の健康管理に関するシステムセンター構想とともに支援センター構想として環境省に要望を提出した。

### 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）

#### [ 研究成果および進捗状況 ]

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 931 件、和書 3,375 件、雑誌が洋雑誌 42,896 件、和雑誌 205,828 件、水銀関連文献が国内論文 8,081 件、国外論文 25,827 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。

本年度は、水銀関連文献 574 件のイメージ入力を済ませた。来年度は、残り 480 件の入力をすませる予定である。誤入力された書誌事項について件 DB を修正したが、未修正のものと、情報源がないものについて、文献情報が収集できた時点で随時修正してゆく予定である。また、現在、重複文献を整理しているが、これができ次第、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 坂本 峰至（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）

### [ 研究成果および進捗状況 ]

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17年度は前年度に引き続き、「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）」、「KSEH-MINAMATA フォーラム 2005」及び「NIMD フォーラム 2006」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17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

来館者集計

平成18年3月末現在、本年度中30,042名、延べ148,444名

講堂利用状況

平成18年3月末現在、本年度中118回、延べ500回

資料室における資料収集状況

平成18年3月末現在、本年度中177点、延べ3,156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)  
坂本 峰至 (国際・総合研究部)  
保田 叔昭 (国際・総合研究部)  
丸本 幸治 (国際・総合研究部)  
臼杵扶佐子 (臨床部)  
宮本謙一郎 (臨床部)  
中村 邦彦 (基礎研究部)  
安武 章 (基礎研究部)  
山元 恵 (基礎研究部)  
松山 明人 (疫学研究部)  
劉 曉潔 (疫学研究部)  
本多 俊一 (疫学研究部)

### [ 研究成果および進捗状況 ]

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 17 年度においては、「環境水銀汚染ワークショップ」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、8 カ国に延べ 15 名の研究員を海外に派遣した。

#### < 在外研究員の招聘 >

平成 17 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、8 カ国 1 国際機関 (WHO) から計 12 名の在外研究員を招聘した。

平成 17 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
大韓民国 ソウル市	国際・総合研究部長 坂本 峰至	韓国における国際環境保健会議への参加	標記会議において水俣病および水銀に関する発表を行った。	H17.6.2-6.6
ブラジル連邦共和国 ポルトアレグレ市	所長 衛藤 光明	「世界環境デー」における講演	6月5日の世界環境デーにちなみ、6月6日に開催されたりオグランドスル医師協会主催講演会において、水俣病に関する歴史的観点、発症機構、臨床症状およびその治療について講演を行った。	H17.6.3-6.10
中華人民共和国 貴州省貴陽市	国際・総合研究部長 坂本 峰至 疫学研究部調査室主任研究員 劉 曉潔	「貴州省における小規模金採掘活動による水銀汚染の健康影響研究」実施	貴州省における小規模金採掘による金採掘従事者および周辺農民の健康影響を、水銀汚染地域の土壌調査をはじめ、金採掘者や地域住民の毛髪、尿、血漿などを集めて調査を行った。	H17.6.20-7.1
アメリカ合衆国 マディソン市	国際・総合研究部長 坂本 峰至	「環境水銀汚染ワークショップ」出席	坂本国際・総合研究部長が本会議より招聘を受け、エキスパートパネリストとして、メチル水銀の健康影響に関する発表を行った。パネリストの発表は2006年の第8回国際水銀会議（ICMGP）での基調演説に用いられる予定である。	H17.7.12-7.20
スロベニア共和国 リュブリャナ市他 国立ジョセフステファン 研究所	疫学研究部リスク評価室長 松山 明人	スロベニア・イドリア川水銀汚染調査	イドリア川流域における水銀鉱山（現在は休止）による、鉱山周辺から市街地に至るまでの広域の水銀汚染に対し、環境中の水銀汚染に対し、環境中での水銀の有機化を定量的に把握し、かつ有機化の尺度となる要因を導くための、汚染調査を実施する。	H17.9.19-9.27
ブラジル連邦共和国 レシフェ市、ベレン市 パラ大学医学部熱帯医学 センター	臨床部検査室長 宮本 謙一郎	第14回ブラジル毒性学会議出席 「アマゾン河水銀汚染地域漁村住民の健康影響に関する研究」の発表他	これまで国際協力機構（JICA）の支援で、アマゾン河水銀汚染地域漁村住民の健康影響調査及び現地研究者・技術者への高感度水銀分析技術移転を行ってきた。今回の共同研究は、第14回ブラジル毒性学会議への発表参加を通して、アマゾン河水銀汚染地域漁村住民の健康影響について現地の研究者と質疑応答・討論を行い今後の研究計画を構築する。また、会議終了後、ベレン市のパラ大学医学部熱帯医学センターの水銀実験室において、当センターで開発した水銀分析の技術移転を行う。	H17.10.7-10.25

用務地・機関	派遣者	用務名	用務	派遣期間
インドネシア マナド市 サム・ラトゥランギ大学	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、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	インドネシア・セレベス島でさかに行なわれている金採掘現場では、鉱滓を近郊の沿岸に誘導、投棄している。 鉱滓放出部にあたるブイヤット湾の底質、生態系そして住民の各試料を採取して水銀濃度を調査する。	H17.10.22-11.3
中華人民共和国 廈門市 廈門大学医学院	疫学研究部調査室主任研究員 劉 曉潔 疫学研究部調査室研究員 本多 俊一	東シナ海における水銀汚染のモニタリング	東シナ海沿岸地域の水銀汚染防止対策の早期確立を目指すため、離島地域と都市部の住民の食事に関するアンケートと共に住民の毛髪を100検体を目標として採集し、その水銀値を測定することにより住民のメチル水銀曝露状況を把握する。	H17.10.30-11.10
アメリカ合衆国 ホノルル市	基礎研究部長 中村 邦彦	2005 環太平洋国際化学会議	会議内・第五領域の Treatment of Persistent Organic Pollutants (頑固な有機系汚染物質の処理)のセッションで「水俣湾より採取したアルテロモナス属細菌を利用した魚煮汁からのメチル水銀の除去」という演題をポスター発表する。	H17.12.14-12.23
ニカラグア共和国 マナグア市	国際・総合研究部自然科学室長 保田 叔昭 疫学研究部リスク評価室長 松山 明人	ソロトラン湖(マナグア湖)の水銀汚染・健康影響調査	過去に廃棄された苛性ソーダ工場の残留水銀に起因する湖の環境汚染が住民の健康に及ぼす影響を調査するために、ニカラグア自治大学に調査班が設けられた。その班員の研究活動を支援して、自立的な環境モニタリング体制確立の援助をすること及び水銀分析技術伝達を実施する。	H18.1.16.-2.20
アメリカ合衆国 サクラメント市	基礎研究部生理室長 山元 恵	サルES細胞を用いた環境有害物質の毒性評価法の開発に関する共同研究	ヒトに外挿可能な発生初期における環境有害物質の毒性評価モデルの構築を目的として、サル由来のES細胞の細胞分化系を用いた毒性評価法の開発を行う。	H17.2.1.-2.10
イタリア バーリ市	国際・総合研究部宇長 坂本 峰至	発達中のラット脳へのメチル水銀影響	出張者はラット新生仔の脳の発達期にメチル水銀を投与して、脳の広範に広がる神経傷害ラットの作成に成功している。この手法を用いてラットの神経行動学的研究をバーリ大学と共同で行うものである。	H17.3.12.-3.18

平成 17 年度 国際共同研究事業等一覧 / 招聘

氏名・国名	所属機関	職名	招聘期間	研究テーマ	受入担当者
Jean-Pierre Havard フランス	ギアナ連帯協会	Chairman 委員長	H17.6.12-6.19	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	基礎研究部長 中村 邦彦
Markus Talintukan Lasut インドネシア	University of Sam Ratulangi サム・ラトゥランギ大学	Senior Lecturer 講師	H17.6.18-7.20	インドネシアセレベス島北部地区における 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ついて	国際・総合研究部自然科学室 長 保田 叔昭
Alice Momoyo Ata Sakuma ブラジル	Institute Adolfo Lutz – Public Health Laboratory アドルフォ・ルズ公衆衛生研究所	Coordinator of Atomic Spectroscopy Laboratory Ph. D. 原子吸光実験室統括官	H17.7.1-7.31	マッドグロス州ヒベラ地域の水銀汚染 の健康影響に関する研究	臨床部検査室長 宮本 謙一郎
Ricardo Bezerra ブラジル	Federal University of Para パラ連邦大学	Assistant Professor 助教授	H17.7.31-9.24	発達中のラット脳へ及ぼすメチル水銀 の影響	国際・総合研究部長 坂本 峰至
Patricia Leung 米国	スタンフォード日本センター	インターンシップ	H17.7.4-9.9	SCTI プログラムインターンシップ	国際・総合研究部国際・情報室 長 馬場 清 臨床部理学診療科室長 白杵 扶佐子
Li Wang 中国	Management Department of Snake Island and Laotieshan National Natural Reserve 遼寧蛇島老鉄山国家級自然保護 区管理所	Vice Section Chief, Senior Engineer 副所長、教授級高級工程師	H17.8.9-8.19	水銀分析に関する質管理	国際・総合研究部長 坂本 峰至 疫学研究部調査室主任研究員 劉 曉潔
Elizaveta Emanuilovna Graevskaya ロシア	Dept.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	H17.9.26-10.27	メチル水銀中毒におけるヒスタミンの 関与	基礎研究部生化学室長 安武 章
Jean Kokulamuka T. Mujumba タンザニア	Department of Geology, Faculty of Science, University of Dar es Salaam ダル・エス・サラーム大学 理学部地質学科	Principal Laboratory Scientists I ( Analytical Chemist ) 研究室長 (分析化学)	H17.12.4-12.28	ビクトリア湖周辺にある金採掘場から 排出された水銀による環境汚染に関す る研究	疫学研究部リスク評価室長 松山 明人
Nikolay Mashyanov ロシア	Institute of the Earths Crust of St Petersburg State University サンクトペテルブルグ大学 地球科学研究所	Head of Laboratory 研究施設長	H18.1.16.-1.27	水俣湾埋立地周辺における気中及び天然 水中の水銀計測に関する共同研究	国際・総合研究部自然科学室 研究員 丸本 幸治

氏名・国名	所属機関	職名	招聘期間	研究テーマ	受入担当者
Jin Ping Cheng 中国	School of Environmental Science and Engineering, Shanghai Jiao Tong University 上海交通大学 环境科学与工程学院	Lecturer 講師	H17.1.23.-2.22	上海地域環境水銀汚染の調査研究	疫学研究部主任研究員 劉 曉潔
Antero T. Aitio フィンランド	Finnish Institute of Occupational Health, Department of Industrial Hygiene and Toxicology フィンランド労働衛生研究所 工場衛生中毒学部門	Chief doctor 主任医師	H17.2.19-2.22.	NIND フォーラム及びワークショップ出席等	所長 衛藤 光明
Tim Meredith WHO	International Programme on Chemical Safety, WHO 世界保健機構 化学物質国際基準部門	Coordinator 調整役	H18.2.19.-2.22.	NIMD フォーラム及びワークショップ出席等	所長 衛藤 光明

## 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)  
坂本 峰至 (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)  
中村 邦彦 (基礎研究部)  
松山 明人 (疫学研究部)

### [ 研究成果および進捗状況 ]

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 17 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 122 名、15 集団研修コースを受け入れ、衛藤光明所長 (5 回)、坂本峰至国際・総合研究部長 (9 回)、馬場清国際・総合研究部国際・情報室長 (1 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 (2 回)、中村邦彦基礎研究部長 (1 回)、松山明人疫学研究部リスク評価室長 (2 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、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17年度見学者受入一覧

No.	見学日		研修名	相手先	演題	担当者	人員
	日	曜日					
1	平成17年6月2日	木	「環境負荷物質の分析技術及びリスク評価」コース	JICA兵庫国際センター	環境水銀汚染について	保田室長	8人
2	平成17年6月16日	木	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および臨床病理学的所見について	衛藤所長	6人
					環境中の水銀と世界の水銀汚染問題	坂本部長	
					汚染土壌の復元技術について	松山室長	
3	平成17年6月24日	金	第20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	8人
4	平成17年6月30日	木	第7回「フィリピン都市及び産業環境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	9人
					環境中の水銀と世界の水銀汚染問題	中村部長	
5	平成17年7月6日	水	平成17年度地域流域環境管理コース	(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	8人
6	平成17年9月2日	金	第3回「産業廃水処理技術」コース	(財)北九州国際技術協力協会	水俣病及び水銀の人体への影響について	坂本部長	6人
7	平成17年10月4日	火	平成17年度JICA研修 「地方自治体による環境再生・保全行政」	水俣市役所	水俣病について	坂本部長	8人
					水俣病の悲劇から得られる教訓	蜂谷室長	
8	平成17年10月19日	水	ボリビア鉱山環境センター研修 チリ鉱害防止指導体制強化研修	(財)国際鉱物資源開発協力協会	水俣病及び水銀の人体への影響について	衛藤所長	4人
9	平成17年10月27日	木	平成17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	水俣病の悲劇から得られる教訓	蜂谷室長	8人
					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	
10	平成17年11月9日	水	平成17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	坂本部長	10人
					環境中の水銀モニタリング	保田室長	
					水銀分析実習(毛髪)	松山室長	
11	平成17年11月15日	火	平成17年度JICA集団研修「持続可能な発展のための職業環境保健マネジメント」コース	産業医科大学	水俣病の歴史と世界の水銀汚染	坂本部長	11人
12	平成17年11月16日	水	第6回「生活排水対策」コース	(財)北九州国際技術協力協会	水俣病及び水銀の人体への影響について	坂本部長	10人
13	平成17年12月2日	金	平成17年度 インドネシア地方分析官のための環境管理能力向上コース	JICA兵庫国際センター	水俣病の歴史と世界の水銀汚染	坂本部長	4人
14	平成18年2月24日	金	JICA研修 平成17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	水俣病の歴史と世界の水銀汚染	坂本部長	10人
15	平成18年3月30日	木	平成17年度JICA国別研修「工業及び都市環境管理」 第3回「CP及び循環型社会の推進」コース	(財)北九州国際技術協力協会	水俣病の歴史と世界の水銀汚染	坂本部長	12人

## 7. 世界の水銀汚染地域住民の毛髪の水銀調査・研究

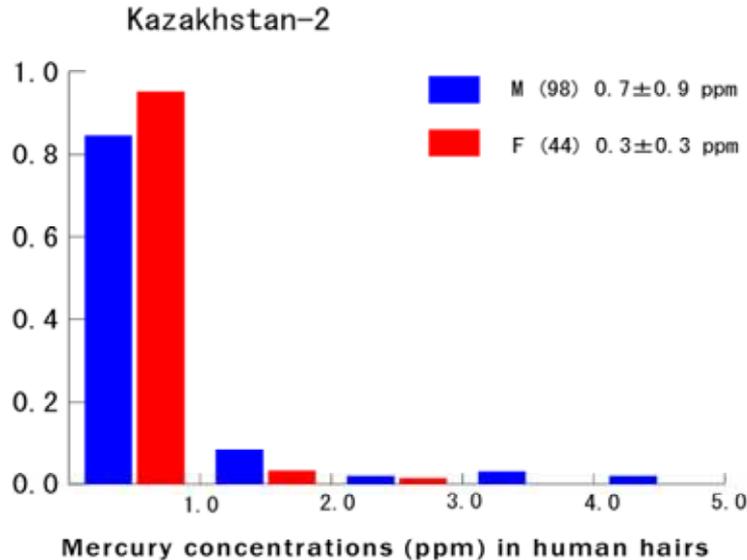
担当者 中村 邦彦（基礎研部）  
中村 政明（臨床部）  
藤村 成剛（基礎研究部）  
松山 明人（疫学研究部）  
衛藤 光明（所長）

### [ 研究成果および進捗状況 ]

本年度は、カザフスタン、韓国およびフランス領ギニアの3カ国から、毛髪の提供があり、これらの毛髪の水銀値を測定しました。

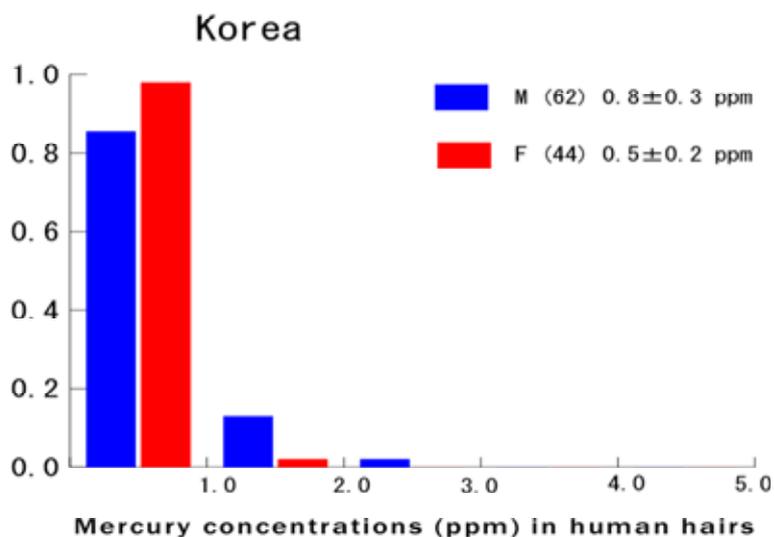
#### 1. カザフスタン（試料数：142 男；98 女；44）

毛髪は、過去に水銀汚染が報告されたヌラ川流域住民の現在の水銀汚染状況を調査しているイギリスのサザンプトン大学より提供されました。総水銀量は、男性で平均 0.7 ppm、女性で平均 0.3 ppm と低い値を示しました。また、男女とも 80%以上の人の毛髪の水銀値は 1 ppm 以下であり、5 ppm を越える毛髪はありませんでした。



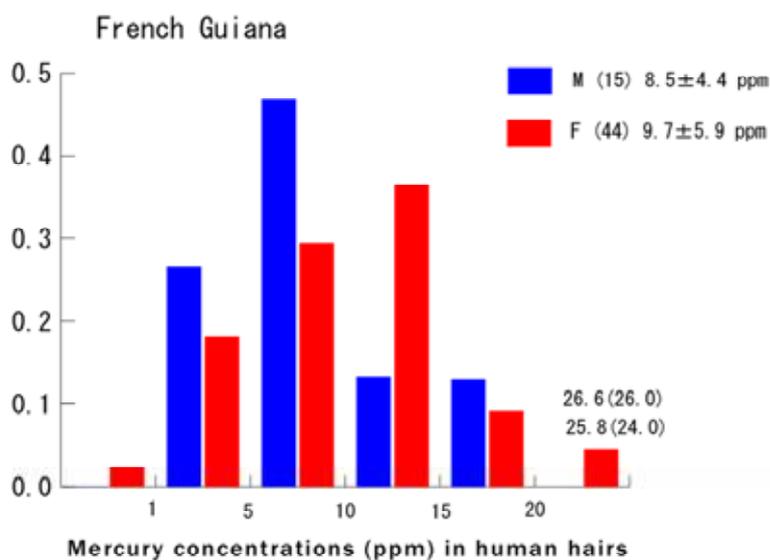
#### 2. 韓国（試料数：106 男；62 女；44）

8歳から11歳までの小学生の毛髪106人分について、水銀量を測定した。総水銀量は、男子で平均 0.8 ppm、女子で平均 0.5 ppm と低い値を示しました。また、男女とも 80%以上の人の毛髪の水銀値は 1 ppm 以下であり、3 ppm を越える毛髪は、ありませんでした。



### 3. フランス領ギアナ (試料数: 59 男; 15 女; 44)

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 8.5 ppm、女性で平均 9.7 ppm と非常に高い値を示しました。特に、2 歳と 37 歳の子供と女性で、総水銀量がそれぞれ、26.6 および 25.8 ppm、メチル水銀値は、それぞれ、26.0 および 24.0 ppm と極めて高い値を示しました。現在、この地域では、水銀の危険性がかなり住民に浸透しはじめてきており、魚の摂取に気を使い始めてきています。毛髪中の水銀濃度が極めて高い点で、今後、この地域の住民の毛髪の水銀値の測定を引き続き行う予定です。



## 8 . ニカラグア・マナグア湖の水銀汚染に起因する環境汚染および健康影響調査

原題：Environmental Contamination from Mercury in Lake Managua, Nicaragua: Human Health Risk Assessment

業務担当者 保田 叔昭（国際・総合研究部）  
松山 明人（疫学研究部）

### [ 業務概要 ]

#### 1) 経緯

平成 14 年 12 月 20 日に来所した、米州開発銀行 (IADB)・ジャパンプログラム事務局長岡田要氏の要請(下記)を受けて実施されるものであり、国際共同研究推進室、国際共同研究案件及び個別専門家の派遣要請業務の一つである。

要請内容：1960 年前後に設立された米州開発銀行へは、日本からも毎年 1 兆円規模の援助・貸付が行なわれているが、これまで日本が主導する援助活動は一切なされてこなかった。ぜひ日本の経験(ここでは負の経験)を生かして環境分野において有効な援助を実施したい。

については、現在ニカラグアの首都マナグア市近郊、マナグア湖畔の廃工場(クロルアルカリプラント跡地)に起因すると見られる湖の水銀汚染について、ニカラグア自治大学(UNAN)が取り組んでいる環境汚染調査へ専門家を派遣して協力をしていただきたい。

#### 2) 経過

平成 15 年 2 月 14 日 UNAN 水資源研究センター(CIRA)所長、S. Montenegro 氏来所。調査対象であるマナグア湖と廃工場に関する統括的な説明および正式な協力依頼。

平成 15 年 5 月 9 日 マナグアより汚染現場で採取された底質の乾燥試料送付。松山による水銀測定の結果最大 62ppm の総水銀が検出された。

平成 15 年 9 月 21-25 日 IADB から、本プロジェクトを三段階のフェーズに分けて実施するという方針が出された。フェーズ 1 では、現場の現状把握とフェーズ 2 の実施計画を提出することが要請された。

そこで、保田および松山の 2 名が現地へ派遣され、CIRA の調査要員および IADB 担当者と今後の調査方針について協議。同時に CIRA における研究設備を視察し今後必要になる施設・設備について検討。また、汚染現場の現状を調査した。その結果、総水銀およびメチル水銀の分析装置を早急に導入すべきこと、対照地区を選定すべきこと、そして現場と対照地区の土壌、水、底質および魚を採取しておよその汚染状況を把握すべきことの 3 点をフェーズ 2 の課題としてあげた。

平成 16 年 1 月 19-25 日 フェーズ 2 の方針を受けて、保田、松山の 2 名がマナグアへ派遣され、試料の採取等を実施した。分析は試料を持ち帰って国水研で実施した。同時に現地調査要員の中から国水研において技術移転を実施する人員との間で協議を行なった。

平成 16 年 8 月 16 日-9 月 10 日 CIRA から 3 名の研究者を国水研へ招聘し、水俣病の医学および水銀の分子形別分析技術に関して研修を行なった。

### 3) 今年度実績(フェーズ3)

上記フェーズ2の成果を受け、組織的な土壌試料採取の計画を立案したが、工場跡地の地権者より立ち入りを謝絶する旨の返答があり、またCIRAにおける水銀分析態勢も補強の必要があったため、平成17年1月に予定していた現地調査を延期せざるをえない状況となった。その後、現地ニカラグア、CIRAにおいてメチル水銀分析を可能ならしめるための装置導入等の設備充実作業が実施され、新たに純窒素生成装置を備えたガスクロマトグラフの導入が行われるなど、一定の成果を見た。そこで延期していた現地調査を、汚染源である工場跡地をのぞく周辺の土壌についての系統的な試料採取を実施すべく平成18年1月16日より5週間の日程で国水研担当者2名が渡航した。同時にマナグア湖の魚を多食する傾向にある湖畔の住民について、対照地区を含めて毛髪水銀の分布を調査すべく、試料採取を実施した。

土壌試料については、まず100mメッシュの各交点の試料を計30個採取し総水銀濃度を測定して濃度分布を得た。それに基づいて比較的濃度の高かった工場直近北西部の土壌を50mメッシュの交点ごとに採取した。現在総水銀濃度の分析中である。これらの試料についてはさらにメチル水銀濃度の分析を追加実施する予定である。

## 4 . 研究発表一覧

### 1 . 国際・総合研究部

#### 1 ) 学術刊行物による発表

- (1) Hachiya N  
The history and the present of Minamata disease -Entering the second half a century-  
Japan Med Assoc J, **49**, 112-118, 2006.
- (2) Sakamoto M, Murata K, Nakai K, Satoh H  
Difference in methylmercury exposure to fetus and breast-feeding offspring: a mini-review.  
Kor J Env Hlth **31**, 179-186, 2005.
- (3) Sakamoto M, Yasutake A, Satoh H  
Methylmercury exposure in general populations of Japan, Asia and Oceania. Dynamics of mercury pollution on regional and global scales: atmospheric processes and human exposures around the world.  
N Pirrone & KR Mahaffey (Eds) Springer, 125-146, 2005.
- (4) Eslami B, Koizumi A, Ohta S, Inoue K, Aozasa O, Harada K, Yoshinga T, Date C, Fujii S, Fujimine Y, Hachiya N, Hirokawa I, Koda S, Kusaka Y, Murata K, Nakatsuka H, Omae K, Saito N, Shimbo S, Takenaka K, Takeshita T, Todoriki H, Wada Y, Watanabe T, Ikeda M  
Large-Scale Evaluation of the Current Level of Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) in Breast Milk from 13 Regions of Japan  
Chemosphere **63**, 554-561, 2006.
- (5) Dakeishi M, Nakai K, Sakamoto M, Iwata T, Suzuki K, Liu XJ, Ohno T, Kurosawa T, Satoh H, Murata K  
Effects of hair treatment on hair mercury - the best biomarker of methylmercury exposure.  
Environ Health Prev Med **10(4)**, 208-212, 2005.
- (6) Iwata T, Nakai K, Sakamoto M, Dakeishi M, Satoh H, Murata K  
Factor affecting hand tremor and postural sway in children.  
Environ Health Prev Med **11(1)**, 17-23, 2006.

- (7) Koizumi A, Yoshinaga T, Harada K, Inoue K, Morikawa A, Muroi J, Inoue S, Eslami B, Fujii S, Fujimine Y, Hachiya N, Koda S, Kusaka Y, Murata K, Nakatsuka H, Omae K, Saito N, Shimbo S, Takenaka K, Takeshita T, Todoriki H, Wada Y, Watanabe T, Ikeda M  
Assessment of human exposure to polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in Japan using archived samples from the early 1980s and mid-1990s  
Environ Res **99**, 31-39, 2005.
- (8) Murata K, Sakamoto M, Nakai K, Dakeishi M, Iwata T, Liu XJ, Satoh H  
Subclinical effects of prenatal methylmercury exposure on cardiac autonomic function in Japanese children.  
Int Arch Occup Environ Health, **79**, 379-386, 2006.
- (9) 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)**, 1-7, 2005.
- (10) Wada Y, Koizumi A, Yoshinaga T, Harada K, Inoue K, Morikawa A, Muroi J, Inoue S, Eslami B, Hirose A, Hirose A, Fujii S, Fujimine Y, Hachiya N, Koda S, Kusaka Y, Murata K, Nakatsuka H, Omae K, Saito N, Shimbo S, Takenaka K, Takeshita T, Todoriki H, Watanabe T, Ikeda M.  
Secular Trends and Geographical Variations in the Dietary Intake of Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) Using Archived Samples from the Early 1980s and 1990s in Japan  
J Occup Health **47**, 236-241, 2005.
- (11) 坂本峰至、赤木洋勝  
水銀の毒性と健康影響  
廃棄物学会誌 **16**, 185-190, 2005.

## 2) 学術研究会における発表

- (1) Honda S, Sakamoto M, Akiyoshi K, Eto K  
Effects of “Spike” (Short-Term Peak) Exposure to Methylmercury on Mercury Accumulation and Neuronal Degeneration in the Brain.  
NIND Forum 2006 -Recent Topics of Fetal Methylmercury Exposure and Its Effects-  
Feb 2006, Minamata, Japan.

- (2) Sakamoto M, Kaneoka T, Murata K, Nakai K, Satoh H, Akagi H  
Correlations between Mercury Concentrations in Umbilical Cord  
Tissue and other Biomarkers of Fetal Exposure to Methylmercury in Japanese Population.  
NIND Forum 2006-Recent Topics of Fetal Methylmercury Exposure and Its Effects-  
Feb 2006, Minamata, Japan.
- (3) Sakamoto M, Murata K, Nakai K, Satoh H  
Difference in methylmercury exposure to fetus and breast-feeding offspring.  
Apr 2005, Miryang, Korea.
- (4) Murata K, Sakamoto M, Liu X, Takaoka S, Okamoto M, Iwata T, Dakeishi M, Eto K  
Neuromotor Dysfunction in Patients with Fetal Minamata Disease  
NIND Forum 2006-Recent Topics of Fetal Methylmercury Exposure and Its Effects-  
Feb 2006, Minamata, Japan.
- (5) Saito N, Koizumi A, Harada K, Inoue K, Inoue S, Yoshinaga T, Date C, Fujii S, Fujimine Y, Hachiya N,  
Hirosawa I, Koda S, Kusaka Y, Murata K, Nakatsuka H, Ohta S, Omae K, Shimbo S, Takenaka K, Takeshita  
T, Todoriki H, Wada Y, Watanabe T, Ikeda M  
Historical and geographic aspects of perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate in human serum in  
Japan, 2005  
International Fluoros Symposium  
Aug 2005, Toronto, Canada.
- (6) Suzuki K, Nakai K, Ohba T, Murata K, Sakamoto M, Satoh H  
Tohoku Study of Child Development, a Cohort Study to Examine the Effects of Perinatal Exposure to  
Methylmercury, PCBs or Dioxins on Child Development; the Association of Neonatal Neurobehavioral  
Status with Maternal Hair Mercury Concentration and Fish Intake.  
NIND Forum 2006-Recent Topics of Fetal Methylmercury Exposure and Its Effects-  
Feb 2006, Minamata, Japan.
- (7) 蜂谷紀之、安武 章、黒木静香、宮本静香、永野匡昭、衛藤光明  
「魚介類を介したメチル水銀曝露（４）出産年齢女性の曝露とリスクコミュニケーション」  
第 64 回日本公衆衛生学会総会 平成 17 年 8 月（札幌）
- (8) 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（５）耐容摂取基準の見直しと問題」  
日本リスク研究学会第 18 回研究発表会 平成 17 年 11 月（吹田）

- (9) 蜂谷紀之、安武章、作間未織、木場一雄、山田佐知子、浦島充佳  
「東京・佐渡コホートにおける臍帯血メチル水銀濃度の分布およびその関連因子」  
日本衛生学会第76回総会 平成18年3月(宇部)
- (10) 坂本峰至、村田勝敬、佐藤 洋、仲井邦彦、赤木洋勝  
「日本人における胎児へのメチル水銀暴露に関する臍帯水銀値とその他の指標との比較」  
第76回日本衛生学会総会 平成18年3月(山口)
- (11) 坂本峰至、本多俊一、村田勝敬、佐藤 洋、仲井邦彦  
「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環境に関する研究」  
第76回日本衛生学会 平成18年3月(山口)
- (12) 高橋 均、坂本峰至、劉 曉潔、本多 俊一  
「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：メチル水銀の“spike”(短期-ピク)が脳の水銀蓄積や神経変性に及ぼす影響に関する研究」  
平成17年度重金属等の健康影響に関する総合研究 平成17年10月(東京)
- (13) 高橋 均、柿田明美、坂本峰至、豊島靖子  
「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17年度重金属等の健康影響に関する総合研究 平成17年10月(東京)
- (14) 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、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17年度重金属等の健康影響に関する総合研究 平成17年10月(東京)

## 2 . 臨床部

### 1 ) 学術刊行物による発表

- (1) Nakamura M, Ando Y, Sasada K, Haraoka K, Ueda M, Okabe H, Motomiya Y  
Role of extracellular superoxide dismutase (EC-SOD) in patients under maintenance hemodialysis.  
Nephron Clin Pract **101**, c109-c115, 2005.
- (2) Nakamura M, Yamashita T, Ueda M, Obayashi K, MD, Sato T, Ikeda T, Washimi Y, Hirai T, Kuwahara Y, Yamamoto T, Uchino M, Ando Y  
Neuroradiologic and clinicopathologic features of oculoleptomeningeal type amyloidosis.  
Neurology **65**, 1051-1056, 2005.
- (3) Ando Y, Nakamura M, Araki S  
Transthyretin-related familial amyloidotic polyneuropathy.  
Arch Neurol **62**, 1057-1062, 2005.
- (4) Araki-Sasaki K, Ando Y, Nakamura M, Kitagawa K, Ikemizu S, Kawaji T, Yamashita T, Ueda M, Hirano K, Yamada M, Matsumoto K, Kinoshita S, Tanihara H  
Lactoferrin Glu561Asp facilitates secondary amyloidosis in the cornea.  
Br J Ophthalmol **89**, 684-688, 2005.
- (5) Futatsuka M, Kitano T, Shono M, Nagano M, Wakamiya J, Miyamoto K, Ushijima K, Inaoka T, Fukuda Y, Nakagawa M, Arimura K, Osame M  
Long-Term Follow-Up Study of health Status in Methylmercury-Polluted Area.  
Environ Scien **12**, 239-282, 2005.
- (6) Kawaji T, Ando Y, Nakamura M, Yamamoto K, Ando E, Takano A, Inomata Y, Hirata A, Tanihara H  
Transthyretin synthesis in rabbit ciliary pigment epithelium.  
Exp Eye Res **81**, 306-312, 2005.
- (7) Kawaji T, Ando Y, Nakamura M, Yamashita T, Wakita M, Ando E, Hirata A, Tanihara T  
Ocular amyloid angiopathy associated with familial amyloidotic polyneuropathy ATTR Y114C.  
Ophthalmology **112**, 2212, 2005.

- (8) Nakamura T, Watanabe H, Hirayama M, Inukai A, Kabasawa H, Matsubara M, Mitake S, Nakamura M, Ando Y, Uchino M, Sobue G  
CADASIL with NOTCH3 S180C presenting anticipation of onset age and hallucinations.  
J Neurol Sci **238**, 87-91, 2005.
- (9) Obayashi K, Hanyu O, Miida T, Ando Y, Nakamura M, Zhu Y, Okada M  
Circadian rhythm of protein C in human plasma: Useful marker of autonomic function in liver.  
Clin Auton Res **15**, 57-58, 2005.
- (10) Saito S, Ando Y, Nakamura M, Ueda M, Kim J, Ishima Y, Akaike T, Otagiri M  
Effect of Nitric Oxide in Amyloid Fibril Formation on Transthyretin-Related Amyloidosis.  
Biochemistry **44**, 11122-11129, 2005.
- (11) Sato T, Ando Y, Susuki S, Mikami F, Ikemizu S, Nakamura M, Suhr O, Anraku M, Kai T, Suico MA, Shuto T, Mizuguchi M, Yamagata Y, Kai H  
Chromium (III) ion and thyroxine cooperate to stabilize the transthyretin tetramer and suppress in vitro amyloid fibril formation.  
FEBS Lett **580**, 491-496, 2006.
- (12) Yamashita T, Ando Y, Katsuragi S, Nakamura M, Obayashi K, Haraoka K, Ueda M, Xuguo S, Okamoto S, Uchino M  
Muscular amyloid angiopathy with amyloidogenic transthyretin Ser50Ile and Tyr114Cys.  
Muscle Nerve **31**, 41-45, 2005.
- (13) 衛藤光明  
神経病理学より見た水俣病  
精神神経誌 **108**, 10-23, 2006.
- (14) 中村政明、安東由喜雄  
診療現場における遺伝子検査の最前線  
生物試料分析 **28**, 385-391, 2005.
- (15) 安東由喜雄、中村政明  
家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP) と髄液  
臨床検査 **49**, 415-418, 2005.

- (16) 岩下眞一、鳥居 勇、山田聡子、坂口里美、藤岡豊泰、谷川富夫、宮本謙一郎、浅山 滉  
手根管症候群の電気生理検査 - 感覚神経の順行・逆行法による障害部位の検討  
検査と技術 **33(6)**, 507-513, 2005.
- (17) 立石多貴子、中村政明、植田光晴、姫野真悟、山下太郎、山内露子、西一彦、森邦子、阿曾沼弘、  
猪俣裕紀洋、安東由喜雄  
栄養サポートチーム (NST) における栄養アセスメント蛋白と炎症マーカーの活用法の実際  
臨床病理 **53**, 825-831, 2005.
- (18) 本宮善恢、今井康樹、中村政明、安東由喜雄  
酸化ストレス-貧血—そして“透析ライフ”.  
医薬ジャーナル **41**, 2275-2280, 2005.

## 2) 学術研究会における発表

- (1) Usuki F  
Central role of oxidative stress in methylmercury-cytotoxicity  
NIMD FORUM 2006 Joint Workshop on WHO and NIMD  
Feb 2006, Minamata, Japan.
- (2) 白杵扶佐子、山下暁朗、樋口逸郎、大野茂男  
「siRNA を用いた Nonsense-mediated mRNA decay (NMD)抑制による Ullrich 病細胞機能の回復」  
第 46 回日本神経学会総会 平成 17 年 5 月 (鹿児島)
- (3) 衛藤光明、安武 章、徳永英博、宮本謙一郎、保田叔昭、金子陽介  
「カニクイサルとコモン・マ - モセットのメチル水銀中毒神経系病変の相違」  
第 46 回日本神経病理学会総会学術研究会 平成 17 年 5 月 (宇都宮)
- (4) 中村政明、宮本謙一郎、村尾光治、若宮純司、安東由喜雄、衛藤光明  
「母体が摂取したメチル水銀と n-3 系多価不飽和脂肪酸の胎児の神経発達に及ぼす影響」  
第 46 回日本神経学会総会 平成 17 年 5 月 (鹿児島)
- (5) 中村政明、安東由喜雄  
遺伝性難病の新しい診断法の開発と展望  
第 1 回九州遺伝子検査研究会 平成 17 年 9 月 (福岡)

- (6) 宮本謙一郎、岩下眞一、山田聡子、谷川富夫、浅山 滉  
「腓骨神経の骨頭下におけるインチング法による障害部位の検討」  
第 35 回日本臨床神経生理学会・学術大会 平成 17 年 11 月（福岡）

### 3) その他

- (1) Eto K  
Minamata disease: Historic aspects, toxicological mechanism, signs and symptoms and treatment.  
Special lecture in Associacao Medica do Rio Grande do Sul.  
June 2005, Port Alegre, Brazil.

### 3 . 基礎研究部

#### 1 ) 学術刊行物による発表

- (1) Cho Y, Zheng W, Yamamoto M, Liu X, Hanlon PR, Jefcoate CR  
Differentiation of pluripotent C3H10T1/2 cells rapidly elevates CYP1B1 through a novel process that overcomes a loss of Ah Receptor.  
Arch Biochem Biophys **439**, 139-53, 2005
- (2) Hirano S, Kobayashi Y, Hayakawa T, Cui X, Yamamoto M, Kanno S, Shraim A  
Accumulation and Toxicity of Monophenylarsenicals in Rat Endothelial Cells.  
Arch Toxicol **79**, 54-61, 2005.
- (3) Shimada H, Nagano M, Funakoshi T, Imamura Y  
Effects of Chelating Agents on Distribution and Excretion of Terbium in Mice.  
Toxicology Mechanisms and Methods **15**, 181-184, 2005.
- (4) Takamura Y, Shimada H, Kiyozumi M, Yasutake A, Imamura Y  
A possible mechanism of resistance to cadmium toxicity in male Long-Evans rats.  
Environ Toxicol Pharmacol **21**, 231-234, 2006.
- (5) Yoshida M, Watanabe C, Kishimoto M, Yasutake A, Satoh M, Sawada M, Akama Y  
Behavioral changes in metallothionein-null mice after the cessation of long-term, low-level exposure to mercury vapor.  
Toxicol Letters **161**, 210-218, 2006.
- (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 ) 学術研究会における発表

- (1) Morishita K, Nakamura K, Tsuchiya K, Nishimura K, Iwahara K, Yagi O  
Removal of methylmercury from a fish broth by *Alteromonas macleidii* isolated from Minamata Bay  
PACIFICHEM 2005 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies  
Dec 2005, Honolulu, USA.

- (2) Taniguchi M, Yasutake A, Oumi M  
Protective function of metallothionein in comparison with glutathione against oxidative stress  
5<sup>th</sup> International Conference on Metallothionein.  
Oct 2005, Beijing, China.
- (3) 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の除去・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)
- (4) 和才昌史、藤原秀彦、古川謙介、中村邦彦  
「水俣湾由来水銀耐性退化株の mer 遺伝子の多様性」  
日本農芸化学会関西・中四国・西日本支部合同大会 平成17年10月(大阪)
- (5) Yamamoto M, Cui X, Matsumura F, Hirano S  
「Effect of Arsenite on key transcription factors for macrophage differentiation in U937 Promonocytic Leukemia Cells」  
第78回日本生化学会 平成17年10月(神戸)
- (6) 安武 章、平山紀美子  
「グルタチオン代謝とメチル水銀毒性」  
北陸大学学術フロンティア・サテライトミーティング：メチル水銀の毒性研究は今  
平成17年11月(水俣)

### 3) その他

- (1) 安武 章  
「毛髪分析からメチル水銀のリスクコミュニケーションへ」  
九州大学生化学懇親会 平成17年6月
- (2) 安武 章  
「メチル水銀曝露指標としての毛髪」  
摂南大学薬学部特別講義 平成17年7月
- (3) 安武 章  
「毛髪分析を用いたメチル水銀のリスクコミュニケーション：魚の水銀は安全か？」  
福岡女子大学かすみ祭特別講演会 平成17年11月

## 4 . 疫学研究部

### 1 ) 学術刊行物による発表

- (1) Matsuyama A, Yasuda Y, Yasutake A, Liu XJ, Pin J, Li L, Mei L, Yumin A, Liya Q  
Relationship Between Leached Total Mercury and Leached Methylmercury from Soil Polluted by Mercury in Wastewater from an Organic Chemical Factory in the People's Republic of China  
Bull Environ Contam Toxicol **75(6)**, 1234-1240, 2005.
- (2) Cheng J, Hu W, Ma L, Wang W, Liu XJ, Qu L.  
Biological Health Effects of Mercury Pollution in Guizhou Wangshan Mercury Mine.  
Journal of Shanghai Jiaotong University **39(11)**, 1909-1912, 2005.
- (3) Cheng J, Yuan T, Yang L, Hu W, Zheng M, Wang Wa, Liu XJ, Qu L.  
Neurobiological disruptions induced in brains of the rats fed with mercury contaminated rice collected from experimental fields in Guizhou Province, China.  
Chinese Science Bulletin **50(21)**, 2441-2447, 2005.

## 5 . 所内セミナー記録

### 1 . 環境ストレスによる生体傷害と食品成分による予防の可能性

独立行政法人国立環境研究所環境健康研究領域

領域長 高野 裕久

(平成 17 年 6 月 13 日)

我々人類にとって「疾患」や「老化」は不可避の事象であり、不老長寿の妙薬は未だこの世に存在しない。「疾患」、「老化」、「健康影響」をもたらす、あるいは増悪する二大要因として、遺伝因子と環境因子が列挙される。遺伝因子は、我々人類が祖先から脈々と受け継いできた遺伝子により規定される要因である。常染色体優性遺伝等の遺伝形式により、遺伝因子のみでも「疾患」の原因となる。一方、多くの人を悩ますアレルギー、高血圧や糖尿病等の「疾患」は common diseases と呼称されるが、これらの「疾患」に悩む人々には取りたてて大きな染色体や遺伝子群の変異は見当たらないことが多い。しかし、「体質」という言葉に表わされるように、「疾患」になりやすい個人とそうでない個人が存在することは、臨床的にもしばしば経験されてきた。最近、一塩基多形(single nucleotide polymorphism: SNP)の概念が導入され、我々の遺伝子を形成する膨大な数の核酸のうち、たった一つの核酸の種類が変異することにより、common diseases へのなりやすさが規定されるという考え方が広まってきた。ある疾病に対し高感受性であることが図らずも遺伝子で規定されてしまった人々に、様々な外的要因が加わることにより、「疾患」が発病したり増悪したりしやすいという理論である。実は、これらの人々に「疾患」をもたらす直接的な外的要因こそが、環境因子に他ならないのである。

環境因子には、広義の環境因子と狭義の環境因子の二種類が存在する。広義の環境因子には、感染症をもたらすウイルスや細菌、アレルギー疾患をもたらすダニや花粉等のアレルゲン、糖尿病や肥満と密接に関連する食習慣や運動等の生活習慣といった多くの要因が包括される。一方、狭義の環境因子は、大気、水、土壌の汚染、いわゆる公害をきたす諸物質が包含される。広義の環境因子はもちろん、狭義の環境因子も多くの「疾患」や「健康影響」の発現に関与することが明らかになってきている。

本日の講演では、狭義の環境因子による「疾患」や「健康影響」の増悪と、広義の環境因子を用いたその予防軽減の可能性という、相対するようにも見える二つの側面を紹介したい。

### 2 . 環境発がん物質の閾値：頂上征服への一途上

大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理学

教授 福島 昭治

(平成 17 年 7 月 29 日)

現在、発がん物質、特に遺伝毒性発がん物質には閾値がないという考えが定説となっている。このこ

とが正しいかどうかを科学的に証明することが極めて重要な課題であり、新しい手法による発がん実験を行った。

## 1. 遺伝毒性発がん物質

### 1) ラット肝における低用量発がん性

(1) ヘテロサイクリックアミンの発がん性: 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx)は、ラットに肝がんを発生させる。実験では、21日齢の雄性ラット 1180 匹を用いて MeIQx の低用量を最大 32 週間混飼投与した。肝前がん病変の指標である glutathione S-transferase placental form (GST-P)陽性細胞巢の発生は 0.001 ~ 1 ppm では全く増加せず、10 ppm で軽度増加、100 ppm で有意な増加を示した。(平坦-立ち上がり曲線)。また、MeIQx-DNA 付加体は極めて低用量の曝露で形成され、8-OHdG の形成レベルは 0.1 ppm 以上で増加した。さらに H-ras 遺伝子の変異頻度は 10 ppm 以上の MeIQx 投与で増加した。また lacI 遺伝子導入トランスジェニックラット、すなわち Big Blue ラット肝では MeIQx 10 ppm 以上で lacI 遺伝子変異頻度の増加を、100 ppm で GST-P 陽性細胞巢の増加を認めた。したがって、これらの現象から推察すると MeIQx の発がんには閾値が存在することが強く示唆された。

(2) N-ニトロソ化合物の発がん性: diethylnitrosamine (DEN)のラット肝発がん性を検討した。21日齢の雄性 F344 ラット約 1960 匹に種々の低用量の DEN 含有飲料水を 16 週間投与した。肝における GST-P 陽性細胞巢の発生は 0.01 ppm までは 0 ppm 群と差がなく、0.1 ppm 以上で有意な増加を示した(平坦-立ち上がり曲線)。また、Big Blue ラット肝では 0.001 ppm 以上で lacI 遺伝子変異頻度の増加を、1 ppm で GST-P 陽性細胞巢の増加を認めた。

さらに、dimethylnitrosamine についても、同様の方法で検討したところ、陽性細胞巢の発生は 0.1 ppm までは 0 ppm 群と差がなく、1 ppm 以上で有意な増加を示した。

### 2) ラット大腸における低用量発がん性

ヘテロサイクリックアミンである 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)のラット大腸発がん性を検討した。6週齢の雄性 F344 ラット約 1760 匹に種々の用量の PhIP を 16 週間混飼投与した。大腸における前がん病変の指標である aberrant crypt foci の発生は 10 ppm までは 0 ppm 群と差がなく、50 ppm から 400 ppm にかけて有意な増加を示した(平坦-立ち上がり曲線)。PhIP-DNA 付加体形成は 0.01 ppm 以上で有意な増加を示した。

## 2. 非遺伝毒性発がん物質

phenobarbital (PB)は変異原性陰性の肝発がん物質である。6週齢の雄性ラットを用いて、ラット肝中期発がん性検索法にて低用量発がん性を検討した。PB は高用量では GST-P 陽性細胞巢および腫瘍の発生を用量に相関して増加させたが、低用量域では対照群のそれより減少し(J字型曲線、ホルミシス現象)。PB の作用には閾値が存在することが明らかになった。また、この現象には 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine の形成、ならびに肝細胞の増殖とアポトーシスが関与していた。

さらに、 $\alpha$ -BHC や DDT のラット肝発がんにおいてもホルミシス現象がみられた。

以上、遺伝毒性発がん物質の発がん性には閾値、少なくとも実際的な閾値が存在すると結論する。ま

た、非遺伝毒性発がん物質にはホルミシス現象が示され、確実に閾値の存在することが判明した。今後、閾値に関する“データの蓄積”とともに低用量発がんの複合効果についての検討が望まれる。

### 3 . ナノテクノロジーと健康影響

独立行政法人国立環境研究所環境健康研究領域

上席研究官 小林 隆弘

(平成 17 年 8 月 22 日)

#### はじめに

ナノテクノロジーは生活などに大きな変革をもたらす潜在力を持つ。多種多様のナノ材料が開発され、ナノ粒子の生産も拡大しつつある。ナノ粒子が人や他の生物の体内に入る機会が増える可能性が高まる一方で、人の健康や環境中にある生物にどのような影響を及ぼすのかについては未解明の部分が多い。ナノ粒子に曝露される可能性、粒子が小さくなると毒性の点で何が問題となるのか、内外の動向や今後の課題を概観する。

#### 生体にナノ粒子が入る機会増大

ナノ粒子の製造や製造後の操作、製品の製造、製品の消費、廃棄などの過程において、ナノ粒子が発生することが報告されている。従ってナノ粒子に曝露される可能性はあると考えられる。適切な防止策やリスク不安を回避するためにも早急に曝露評価を行う必要がある。

#### 小さい粒子ほど生体影響は大？

生体影響を考えると、粒径が極めて小さくなると何が問題になるのであろうか。ナノ粒子表面の物理・化学的性状、体内挙動などと毒性の関連が問題となる。粒子の質量が同じ場合、粒径が小さいと表面積が極めて大きくなる。粒子表面が酸化作用あるいはラジカル様作用を持つたり、毒性の化学物質を吸着している粒子の場合、粒子が小さくなり表面積が大きくなると毒性が強くなることが示唆された。ナノ粒子が体内に入った場合、大きい粒子とは体内挙動が異なる。小さい粒子の方が体の中に留まる量が多いこと、肺を通り抜け全身に影響を及ぼすことなどが報告されていることから、毒性が強くなる可能性がある。

#### 影響評価は緊急な研究課題

カーボン・ナノチューブ、フラーレン、二酸化チタンなど生産の急激な伸びが予想される粒子の生体影響についても未解明の部分が多い。有害性があるかどうかの段階である報告が多いことから、曝露量や濃度や用量-反応（影響）関係を早急に検討しリスク評価をすることが重要である。

#### 欧米で活発なリスク評価・毒性研究

米国は国家ナノテクノロジー戦略のもとでナノ材料の健康および環境に及ぼす影響の研究に多額の資

金を投じ、分子・細胞レベルでの研究、環境との相互作用、環境中での運命、曝露や毒性評価の検討を始めた。欧州連合（EU）では「NANO SAFE プロジェクト」を始め、ナノ粒子の製造から消費までのナノ粒子のライフサイクルの過程でのリスク評価が行われた。また、危険を未然に防ぐ指針の作成、規制や対策のための勧告を行っている。英国では「ナノサイエンスとナノテクノロジー：機会と不確実性」という表題の報告書が提出されている。健康や生態系への影響のみならず、社会的影響の評価の検討も進んでいる。

#### リスク不安にも注視が必要

日本では研究や開発が中心で、影響評価については検討されていなかった。総合科学技術会議の資源配分の方針に影響評価の取り組みの重要性が記載された。曝露濃度や用量-反応（影響）関係が出ていない段階で、有害性の情報を提供するときに、どのようにすればリスク不安が起きないようにできるかについても、慎重に検討することが必要である。

#### 4．有機スズ化合物によるステロイドホルモン生合成の攪乱作用 - 脳と副腎への影響 -

広島大学総合科学部物質科学講座

助教授 山崎 岳

（平成 17 年 9 月 8 日）

環境汚染物質が内分泌系を攪乱し、いわゆる環境ホルモン作用を引き起こす場合のメカニズムとしては、汚染物質がホルモンレセプターに結合する機構が良く研究されている。しかし生理的なホルモンの生合成が阻害または活性化された場合も、体内のホルモン量を変動させることにより内分泌系は大きく攪乱されるであろう。

そこで、環境汚染物質によるステロイドホルモン生合成の攪乱作用を調べた。

まず代表的なステロイドホルモン産生臓器である副腎を用い、低濃度でステロイドホルモン分泌を阻害するような環境ホルモン物質を探索した。ウシ副腎皮質束・網状層の初代培養細胞にいくつかの環境汚染物質を作用させ、主要な副腎皮質ホルモンであるコルチゾル分泌への影響を調べた。その結果、トリブチルスズ、トリフェニルスズ、ジブチルスズ、ノニルフェノールが、野生生物の体内に存在しうる濃度でコルチゾル分泌を低下させた。

トリブチルスズ（TBT）は船底防汚塗料や魚網の汚染防止剤として大量に使用されており、巻貝類にインポセックスを引き起こす環境ホルモン物質である。そこで TBT を用いて、ステロイドホルモン分泌の阻害メカニズムを詳細に解析した。

ウシ副腎皮質培養細胞の各種ステロイドホルモン分泌量、ステロイド合成酵素活性、酵素量、mRNA 量を定量したところコルチゾルの分泌は 30nM の TBT で半減したが、その際反応中間体の 17 $\alpha$ -OH プロゲステロン分泌が増加し、全ホルモン合成量は変化しなかった。この処理ではステロイドホルモン合成酵素のうち P450C21 と P45011 $\beta$ , P45017 $\alpha$ の酵素活性、酵素量、mRNA 量が低下しており、これらの酵素発現の転写レベルでの特異的な阻害が示唆された。TBT 濃度が 100nM 以上になると、StAR 蛋白質の発現が低下し、全ステロイドホルモン合成活性が低下した。10 $\mu$ M以上の TBT は酵素活性を直接阻害

したが、その濃度では細胞が死滅した。

トリフェニルスズ、ジブチルスズ、ノニルフェノールも TBT と同様の機構で副腎のステロイドホルモン生合成を攪乱した。これらの環境汚染物質は野生生物の体内で検出される程度の濃度で、特異的なステロイド合成酵素の転写を阻害し、ホルモンの生合成を攪乱する可能性がある。

TBT は血液-脳関門を通過し、脳に蓄積しやすい。そこで、脳で合成されるステロイドホルモン物質であるニューロステロイドへの TBT の影響を、ニューロステロイドが記憶や学習に重要な役割をはたしている海馬を用いて調べた。実験にはラット海馬のスライス培養を行い、TBT を作用させた後に real-time RT-PCR 法を用いてニューロステロイド合成酵素及び、エストロゲンレセプター(ER)の mRNA 量変化を測定した。

海馬を 0.1  $\mu$ M TBT で処理すると、P45017、P450arom mRNA 量は約 2 倍に増加した。1  $\mu$ M TBT では P45017 mRNA 量は激減し、ER および 3 $\beta$ -HSD mRNA 量は増加した。17 $\beta$ -水酸化ステロイド脱水素酵素-3 (17 $\beta$ -HSD-3)、17 $\beta$ -HSD-4, ER の mRNA 量については有意な影響は見られなかった。これらの結果は 0.1  $\mu$ M の TBT は脳内の重要なニューロステロイドであるエストラジオール合成を活性化し、1  $\mu$ M ではエストラジオール合成の低下と ER 量の増加を引き起こすことを示唆している。

TBT は脳においても低濃度でニューロステロイド生合成を攪乱する可能性がある。

## 6 . 客員研究指導記録

### 1 . 培養細胞を用いたメチル水銀の生体内無機化および排出機構の解明

三浦 郷子 (和光大学経済学部 教授)

体内に取り込まれたメチル水銀 (MeHg) は、時間の経過とともに無機水銀に変換され、その大部分が糞便から無機水銀として排泄される。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。これらのことから、MeHg の無機化反応は MeHg の排泄促進の一助になっているように思えるが、その役割や意義は不明である。本研究では MeHg の無機化反応の役割等及びその排出機構について明らかにし、MeHg 毒性の軽減方法の糸口を見つけたいと考えている。

研究対象として、ヒト由来正常肝細胞 (以下、C. Liver)、neuroblastoma 細胞 (以下、SK-N-SH) 及び glioblastoma 細胞 (以下、U-373MG) を用いた。MeHg の無機化反応の役割等を明らかにするため、本年度は MeHg に対する細胞の感受性、細胞への MeHg の取り込み量及び細胞内無機水銀量について比較検討を行った。その結果、細胞内における無機水銀の生成は、細胞への MeHg の取り込み量と関係があるものの、細胞自体の脱メチル化能に依存することが明らかとなった。今後は MeHg の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考えている。

### 2 . メチル水銀の胎児期曝露の後影響に関する疫学研究

An epidemiological study on the aftereffect of prenatal exposure to methylmercury

村田 勝敬 (秋田大学医学部 教授)

近年のメチル水銀研究は、低濃度メチル水銀曝露がどのような影響を胎児に及ぼすかという点に関心が向けられ、メチル水銀曝露による影響評価 (リスク評価) が魚多食集団を研究対象として実施されている。わが国でも同様の低濃度メチル水銀曝露の健康影響に関する調査が既に始まっている。これらの研究途上で、水俣病患者で病理学的に明らかにされた脳内におけるメチル水銀の蓄積部位と神経機能障害部位との関係が徐々に解明されつつある。これに対して、水俣周辺地域における低濃度メチル水銀曝露による健康影響の評価は現在途についたばかりである。

水俣周辺地域はかつて汚染魚の摂食を介した高濃度曝露地域であったことから、胎児性水俣病患者さんの同意を得てポジティブ・コントロールとしての検索をおこなうことにより、低濃度メチル水銀曝露による健康影響評価を補強できる可能性がある。また、そのような調査で得られる結果は患者さんの今後の健康管理や日常介護における必要な情報も含まれるので、患者さん自身にとっても大いにメリットがある。

本年度は、明水園に入所している胎児性水俣病患者さん 12 名 (年齢 45 ~ 55、平均 49 歳) と、水俣市

およびその周辺に住んでいる性・年齢がマッチした健常者 28 名（40～56、平均 50 歳）を研究対象として、メチル水銀曝露の神経運動機能（特に、手のふるえおよび身体重心動揺）に及ぼす影響を調べた。

ふるえおよび身体重心動揺の検査はデンマーク製神経行動検査システム (CATSYS 2000) を用いて、一人の検査者により行われた。ふるえは被験者に加速度センサー内蔵の検出器を 16.4 秒間把持してもらい、これにより平均ふるえ強度 (m/s<sup>2</sup>) を算出し、同時にスペクトル解析することにより、ふるえ周波数 1-6、6-10、10-14Hz の成分パワースペクトルを算出した。身体重心動揺検査では、被験者の身体重心を床面に置いた板（重心動揺計）に投影し、その前後方向および左右方向の移動距離や移動面積を計測した。

性・年齢を共変量とした共分散分析を行うと、6-10Hz および 10-14Hz の手のふるえ強度は胎児性水俣病患者 12 名と対照群 28 名の間に有意な差を認めなかったが ( $P>0.1$ )、患者群の 1-6Hz のふるえ強度は対照者 28 名と比べ有意に大きかった ( $P<0.05$ )。特に、1-6Hz のふるえ強度の割合（右手 42.6%、左手 38.3%）は対照群（右手 30.7%、33.7%）より有意に高かった。この結果、患者群の平均中心周波数は対照群より有意に低い値であった。次に、開眼で直立姿勢をとることができる患者 5 名で身体重心動揺検査を行うと、0-1Hz と 2-4Hz の左右方向の動揺成分、1-2Hz と 2-4Hz の前後方向の動揺成分および身体重心移動面積は患者群の方が対照群 28 名より大きかった ( $P<0.05$ )。

以上の結果より、胎児性水俣病患者の神経運動機能障害は低い周波数（6 Hz 未満）の振戦を特徴とすると考えられた。Yamanaga (1983) も成人型水俣病患者のふるえの中心周波数が正常対照群よりも低いことを報告しており、ふるえの測定が胎児期のメチル水銀曝露者に特徴的である可能性が示唆された。

### 3. ラット新生仔脳の発達時期ごとメチル水銀曝露が脳幹誘発電位に及ぼす影響の比較検討

川崎 安亮（鹿児島大学農学部 助教授）

ラットでは成獣に多量のメチル水銀を投与したときに小脳、大脳皮質及び末梢神経に病変を生じるのみで、胎児期に母親にメチル水銀を投与しても脳幹部のみに神経細胞傷害を引き起こし、ヒトの胎児性水俣病のモデルとしては適していないとされてきた。坂本らは、ヒトでは脳の発達のピークは出産前の 3 ヶ月間で脳のメチル水銀に対する感受性もその時期が最も高いと言われているが、ラットではそのピークが出生後にあることに注目し、新生仔期のラットにメチル水銀を投与することによって、ヒト水俣病で見られたような影響が観察できるのではないかと考え、脳の発達の前、中、後期に相当する出生後 1、14、35 日齢から 10 日間に渡りメチル水銀を投与し、それぞれの投与時期で出現する症状が全く異なることを明らかにした。脳及び末梢神経の組織学的検索を行った結果は、脳の発達前期曝露では脳幹部に軽度の神経障害が出現し、脳の発達中期に曝露では大脳皮質に高度の傷害、脳の発達後期曝露では小脳及び末梢の後根神経節に高度の障害が出現するということが明らかになった。今回はこの脳の発達の異なる時期にメチル水銀 7 mg/kg/day を 10 日間連続投与したラットの約 6 ヶ月齢時点において脳幹誘発電位を調べる。本研究は、脳のどの発達時期におけるメチル水銀が脳幹誘発電位へどのような影響を与えるのかを評価する上で有益な情報が得られると期待する。

#### 4 . 抗酸化剤を用いたメチル水銀中毒の病態と治療に関する研究

出雲 周二 ( 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 教授 )

8 週令の雄ラットを用いてメチル水銀モデルラット ( 10 mg MeHgCl/kg, 4 日間カテーテル曝露 ) を作成し、抗酸化剤 Ebselen の治療効果について検討した。Ebselen ( 1 mg/kg あるいは 10 mg/kg ) は腹腔内投与した。投与終了後 7 日目に解剖し、4 %パラホ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、メチル水銀投与群で擬陽性であった。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。組織内総水銀含量の検討では、Ebselen による水銀排泄は認められなかった。今後、小脳虫部、後根神経節、脊髄後索病変についてティッシュアレー標本を作製し、カスパーゼ染色や ssDNA 染色によるアポトーシス、自己貪食細胞死の程度について比較検討する。脊髄後根神経についてはエポ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、Ebselen の病理変化に及ぼす効果について検討を進める。

## 7. 所内研究発表会記録

- 平成 17 年 6 月 21 日
  - 山元 恵 (基礎研究部)  
「U937 白血病細胞のマクロファージ分化におけるキー転写因子へのヒ素の影響」
  - 安武 章 (基礎研究部)  
「原子吸光法を用いたメチル・無機・総水銀の分別測定を試み」
  - 衛藤 光明 (所長)  
「カニクイサルとコモン・マーモセットのメチル水銀中毒神経系病変の相違」
  
- 平成 17 年 7 月 19 日
  - 藤村 成剛 (基礎研究部)  
「メチル水銀は Tau リン酸化を介して神経障害を誘発する?」
  - 蜂谷 紀之 (国際・総合研究部)  
「メチル水銀の耐容週間摂取基準値の見直しとリスクコミュニケーション」
  
- 平成 17 年 9 月 27 日
  - 中村 邦彦 (基礎研究部)  
「水俣湾の水銀耐性菌の分子生態学的な挙動」
  - 黒木 静香 (臨床部)  
「精神的ストレスの客観的評価法の開発」
  - 坂本 峰至 (国際・総合研究部)  
「メチル水銀のハイリスクグループ (食品安全委員会発表)」
  
- 平成 17 年 10 月 25 日
  - 本多 俊一 (疫学研究部)  
「アジア太平洋地域における有害廃棄物適正管理」
  - 宮本 清香 (臨床部)  
「毛髪水銀値ソフトの補正值の検討」
  
- 平成 17 年 11 月 29 日
  - 宮本謙一郎 (臨床部)  
「DHA の情動行動に及ぼす影響 - メチル水銀中毒症との関連 - 」
  - 村尾 光治 (臨床部)  
「トレハロースによるメチル水銀中毒発症予防法の可能性」
  - 劉 曉潔 (疫学研究部)  
「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 17 年 12 月 14 日
  - 若宮 純司（臨床部）
    - 「水俣病感覚障害の診断」
  - 永野 匡昭（基礎研究部）
    - 「ヒト由来培養細胞を用いたメチル水銀の生体内無機化機構の解明」
  - 中村 政明（臨床部）
    - 「水銀蒸気で誘導される MT アイソマーの解析」
  
- 平成 18 年 1 月 24 日
  - 白杵扶佐子（臨床部）
    - 「メチル水銀毒性発現に及ぼす食餌の影響」
  - 丸本 幸治（国際・総合研究部）
    - 「原子吸光分析計を用いた有機水銀定量法の検討 土壤/堆積物試料への適用 」
  
- 平成 18 年 3 月 28 日
  - 澤田 倍美（基礎研究部）
    - 「メチル水銀曝露ラットにおける三叉神経病理およびその病理発生に関する研究」
  - 新垣たずさ（国際・総合研究部）
    - 「水俣病に関する社会史的研究について」
  
- 平成 18 年 4 月 4 日
  - 松山 明人（疫学研究部）
    - 「水銀汚染土壌からの水銀の溶出特性」
  - 保田 叔昭（国際・総合研究部）
    - 「水俣湾潮間帯のメチル水銀分布」

## 8 . 客員研究記録

- (1) 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」
- (2) 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  
(国際・総合研究部 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」
- (3) 独立行政法人国立環境研究所環境健康研究領域上席研究官 小林隆弘  
(基礎研究部 山元 恵)  
「霊長類 ES 細胞を用いた環境有害物質の毒性評価法の開発」
- (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) 鹿児島大学農学部獣医学科家畜生理学助教授 川崎 安亮  
(国際・総合研究部 坂本 峰至)  
「ヒト脳発達期におけるメチル水銀曝露のリスク外挿に関する実験疫学的研究」
- (6) 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科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 白杵 扶佐子)  
「モデル動物を用いたメチル水銀毒性発現の分子経路の解明と治療に関する研究」

## 9 . 共同研究記録

- (1) 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)  
「水俣湾の潮間帯生態系における水銀レベルの現況」
- (2) 九州大学大学院理学府附属天草臨海実験所技官 田中 健太郎  
(国際・総合研究部 保田 叔昭)  
「水俣湾の潮間帯生態系における水銀レベルの現況」
- (3) 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」
- (4) 九州大学大学院理学府修士課程2年 栗元 美代子  
(国際・総合研究部 保田 叔昭)  
「水俣湾の潮間帯生態系における水銀レベルの現況」
- (5) 九州大学大学院理学府修士課程2年 前泊 大心  
(国際・総合研究部 保田 叔昭)  
「水俣湾の潮間帯生態系における水銀レベルの現況」
- (6) 九州大学大学院理学府修士課程2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)」
- (7) 元市立水俣病資料館館長 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)」
- (8) 独立行政法人国立環境研究所大気中微小粒子状物質(PM2.5)・ディーゼル排気粒子(DEP)等の大気中粒子状物質の動態解明と影響評価プロジェクト研究員 小池 英子  
(基礎研究部 山元 恵)  
「メチル水銀毒性の予防および軽減に関する研究」

- (9) 北里大学薬学部公衆衛生学専任講師 清野 正子  
(基礎研究部 中村 邦彦)  
「水俣湾の水銀耐性菌の遺伝学的研究」
- (10) 九州大学大学院農学研究院生物機能科学部門応用微生物学講座教授 古川 謙介  
(基礎研究部 中村 邦彦)  
「水俣湾の水銀耐性菌の遺伝学的研究」
- (11) 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  
(国際・総合研究部 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」
- (12) 秋田大学医学部社会環境医学講座環境保健学分野助手 嶽石 美和子  
(国際・総合研究部 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」
- (13) 東北大学大学院医学系研究科医科学修士課程社会医学講座環境保健医学分野 大葉 隆  
(国際・総合研究部 坂本 峰至)  
「毛髪総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)」
- (14) 長崎大学工学部社会開発工学科教授 冨田 彰秀  
(疫学研究部 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」
- (15) 九州大学大学院工学研究院環境都市部門助教授 矢野 真一郎  
(疫学研究部 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」
- (16) 九州大学大学院工学府海洋システム工学専攻修士課程2年 田井 明  
(疫学研究部 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」
- (17) 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」

- (18) 鹿児島大学理学部地球環境科学科助教授 富安 卓滋  
(疫学研究部 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」
- (19) 鹿児島大学理学部地球環境科学科助教授 井村 隆介  
(疫学研究部 松山 明人)  
「水俣地域の水環境中における水銀動態調査」
- (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) 愛媛大学沿岸環境科学研究センター科学技術振興研究補助員 池本 徳孝  
(基礎研究部 安武 章)  
「海洋哺乳動物肝臓におけるメチル水銀の解毒機構」

## 10. 委員会名簿

### 各委員会名簿（平成17年度）

平成17年5月1日

	総務課	主任研究 企画官	国際・総合 疫学研究部	臨床部	基礎研究部	施設長等
医療廃棄物管理委員会	須藤 伸一		坂本 峰至	若宮 純司	中村 邦彦	
放射線実験棟運営 委員会	須藤 伸一		坂本 峰至	白杵扶佐子	永野 匡昭	中村 邦彦
放射線安全委員会	須藤 伸一		松山 明人	白杵扶佐子	永野 匡昭	中村 邦彦
学術委員会	山内 義雄		蜂谷 紀之	宮本 清香	藤村 成剛	
図書・文献委員会	田中 秀志		山川 伸也	若宮 純司	澤田 倍美	
機器整備委員会	川久保康範		劉 暁潔	村尾 光治	藤村 成剛	
動物実験施設委員会	田中 秀志		保田 叔昭	村尾 光治	澤田 倍美	中村 邦彦
動物倫理安全委員会	川久保康範		蜂谷 紀之	宮本謙一郎	澤田 倍美	
研究倫理審査委員会	須藤 伸一		蜂谷 紀之	黒木 静香	安武 章	衛藤 光明
組換えDNA実験 安全委員会	須藤 伸一		劉 暁潔	中村 政明	山元 恵	中村 政明
リサーチ・リソース・バンク 運営委員会	山内 義雄		丸本 幸治	宮本 清香	安武 章	衛藤 光明
国際研究協力棟 運営委員会	山内 義雄		馬場 清	黒木 静香	山元 恵	坂本 峰至
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	藤村 成剛	
定期刊行物編集委員会	山内 義雄	中村 邦彦	新垣たずさ	黒木 静香	永野 匡昭	
化学物質及び 廃棄物管理委員会	川久保康範		松山 明人	村尾 光治	安武 章	

情報センター運営委員会	山内 義雄		馬場 清	中村 政明	山元 恵	坂本 峰至
国際共同研究推進室	川久保康範		坂本 峰至 馬場 清	宮本謙一郎	山元 恵	
研究企画室	須藤 伸一	中村 邦彦	保田 叔昭 蜂谷 紀之	白杵扶佐子 宮本謙一郎	藤村 成剛 山元 恵	
NIMD フォーラム 2006	田中 秀志		坂本 峰至 馬場 清	中村 政明	藤村 成剛	

は委員長及び室長、施設長  
任期は平成 18 年 3 月 31 日までとする。

## 11. 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 13 年度	平成 14 年度	平成 15 年度	平成 16 年度	平成 17 年度
人 件 費	( 250,977 ) 260,226	( 254,760 ) 264,965	( 76,256 ) 79,832	( - ) -	( - ) -
事 務 費	( 97,319 ) 104,899	( 90,750 ) 97,162	( 95,474 ) 101,740	( 102,455 ) 108,716	( 112,619 ) 118,520
研 究 費	( 268,666 ) 282,560	( 281,778 ) 293,991	( 304,044 ) 18,271	( 312,448 ) 329,138	( 380,255 ) 401,525
施 設 整 備 費	( 0 ) 0	( 0 ) 0	( 297,793 ) 298,148	( 291,311 ) 291,853	( 121,770 ) 122,047
計	( 616,962 ) 647,685	( 627,288 ) 656,118	( 773,567 ) 797,991	( 706,214 ) 729,707	( 614,644 ) 642,092

上段( )書きは補正後予算額

平成 15 年度の人件費については、平成 15 年 7 月分より環境調査研修所において計上されているため、6 月(3 ヶ月分)までの予算額を記載

### 2. 定 員

区 分	平成 13 年度	平成 14 年度	平成 15 年度	平成 16 年度	平成 17 年度
総 務 課	4	4	4	4	4
国際・総合研究部	7	7	8	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	3	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 <sup>2</sup>	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
共 同 研 究 実 習 棟	894.50	平成 17 年 5 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
17. 4. 1	基礎研究部長	中村 邦彦	配置換	国際・総合研究部長
17. 4. 1	国際・総合研究部長	坂本 峰至	配置換	疫学研究部調査室長
17. 4. 1	疫学研究部リスク評価室長	松山 明人	配置換	国際・総合研究部 自然科学室主任研究員
17. 4. 1	基礎研究部病理室長	藤村 成剛	配置換	基礎研究部生理室長
17. 4. 1	基礎研究部生理室長	山元 恵	配置換	(独)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
17. 4. 1	国際・総合研究部 社会科学室研究員	新垣たずさ	配置換	(独)国立環境研究所環境健康研究 領域疫学・国際保健研究室研究員
17. 4. 1	基礎研究部 病理室研究員	澤田 倍美	採 用	
17. 4. 1	主任研究企画官	二塚 信	委 嘱	九州看護福祉大学学長
17. 4. 1	研究企画官	有村 公良	委 嘱	鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科助教授
17. 4. 1	研究企画官	永沼 章	委 嘱	東北大学大学院 薬学研究科教授
17. 5. 1	総合環境政策局 環境経済課課長補佐	三橋 英夫	配置換	総務課長
17. 5. 1	総務課長	須藤 伸一	配置換	大臣官房廃棄物・リサイクル対策部 産業廃棄物課適正処理・不法投 棄対策室室長補佐
17. 7. 1	疫学研究部調査室研究員	本多 俊一	採 用	
17.10. 1	研究企画官	町田 宗仁	併 任	環境保健部特殊疾病対策室
18. 3. 1	環境保健部企画課主査	馬場 清	配置換	国際・総合研究部 国際・情報室長
18. 3. 1	国際・総合研究部 国際・情報室長	植田 孝次	配置換	(独)国立環境研究所総務部 施設課営繕係長
18. 3.31		山内 義雄	退 職	総務課庶務係長

## 附2．主な来訪者（敬称は省略させて頂きました）

平成 17 年 6 月	2 日	「環境負荷物質の分析技術及びリスク評価」コース	10 名
	16 日	有害金属等汚染対策コース	9 名
	17 日	福岡大学大学院研修	12 名
	24 日	第 20 回「産業環境対策」コース	10 名
	30 日	第 7 回「フィリピン都市及び産業環境における環境対処能力向上」コース	11 名
7 月	6 日	平成 17 年度地域流域環境管理コース	8 名
9 月	2 日	第 3 回「産業廃水処理技術」コース	8 名
10 月	4 日	平成 17 年度 JICA 集団研修「地方自治体による環境再生・保全行政」	10 名
	19 日	ボリビア鉱山環境センター研修 チリ鉱害防止指導體制強化研修	6 名
	27 日	平成 17 年度 JICA 集団研修「農村医学コース」	10 名
11 月	9 日	平成 17 年度 JICA 集団研修「水環境モニタリング」コース	12 名
	15 日	平成 17 年度 JICA 集団研修「持続可能な発展のための職業環境保健マネジメント」コース	13 名
	16 日	第 6 回「生活排水対策コース」	12 名
12 月	2 日	平成 17 年度インドネシア地方分析官のための環境管理能力向上コース	6 名
	9 日	久留米大学水俣現地研修	19 名
	15 日	KSEH（韓国環境衛生学会）表敬訪問	34 名
1 月	27 日	平成 17 年度環境行政実務研修部局別研修	17 名
2 月	24 日	JICA 研修平成 17 年度「中・東欧地域産業環境対策コース」	11 名
	28 日	平成 17 年度水俣病経験の普及啓発セミナー	20 名
3 月	23 日	九州大学大学院工学府国際環境システム工学特別コース現地研修	23 名
	30 日	平成 17 年度アルジェリア国別研修「工業及び都市環境管理」 第 3 回「クリーナープロダクション（CP）及び循環型社会の推進」コース	12 名