

3. リスク評価グループ Risk Assessment Group

メチル水銀曝露に対するハイリスクグループとして、高濃度の水銀に曝露した集団、及び水銀に対する高感受性のグループが挙げられる。リスク評価グループは、環境汚染に起因する水銀のヒトへの曝露評価及び健康影響を総合的に研究する。特にメチル水銀の高濃度曝露集団及び胎児・小児や疾病を持つ脆弱性の高い集団を対象とし、メチル水銀の曝露とリスク評価並びに健康影響の解明を、セレンを始めとする各種交絡因子を考慮に入れた疫学的研究と実験的研究の両面から実施する。

当グループの各研究に関する令和 5 年度研究概要は以下の通りである。

[研究課題名と概要]

[1] 水俣病における水銀とセレンの共存及びメチル水銀の胎・乳児影響に関する研究(基盤研究)

坂本峰至(所長特任補佐)

メチル水銀毒性におけるセレンの保護的役割: 水俣病の再解析とラットモデルからの洞察

魚介類の摂取による神経毒であるメチル水銀の曝露は地球規模の健康リスクをもたらしている。1950 年代に日本で発生したメチル水銀中毒(水俣病)では、患者の肝臓と腎臓のセレン濃度が上昇していたため、当初はセレン中毒と間違われた。しかし、メチル水銀中毒におけるセレンの作用機序は、いまだ解明されていない。そこで我々は、メチル水銀毒性及び予防におけるセレンの役割を解明するために、水俣病関連試料を再調査した。水俣病患者は、汚染された魚介類を介してメチル水銀とセレンに共曝露され、その結果、臓器特異的にセレンが蓄積し、脳の水銀/セレン(Hg/Se)モル比が顕著に上昇した。メチル水銀とセレノメチオニンを用いたラット実験では、メチル水銀が肝臓と腎臓のセレン濃度を上昇させ、脳の Hg/Se モル比が顕著に上昇することが示された。メチル水銀とセレノメチオニンを、水俣湾の貝類で観察されたのと同様の Hg/Se モル比 3.15 で投与しても、メチル水銀毒性は防御されなかった。しかし、Hg/Se モル比を

1 にして投与すると、脳の Hg/Se が有意に減少し、脳内水銀濃度が発症閾値に達したにもかかわらず、ラットは保護された。したがって、魚介類中の Hg/Se モル比は、ヒトにおける魚介類由来のメチル水銀毒性を予防する上で極めて重要である可能性がある。

本研究成果は、国際・国内学会で発表を行っており、現在、病理学的検索結果を加えて投稿準備中である。(科研費 JSPS19K12353)

[2] メチル水銀曝露に対するハイリスクグループの曝露評価システムの強化(基盤研究)

山元 恵(国際・総合研究部)

(1) 高脂肪食 (HFD) の給餌による雌の糖代謝異常 (Diet-Induced Obesity: DIO) マウスモデルを用いた一連の実験(マウスへの給餌。交配。解剖・組織処理。水銀分析)を終え、採取した試料(血液、組織)の総水銀分析を行った。メチル水銀移行は、Kp 値(母体又は胎仔の各組織中の総水銀量/母体血漿中の総水銀量)を用いて評価した。軽度の糖代謝異常の病態下において、母親の Kp 値は脳で Ctrl 群 \geq HFD 群、腎臓で \approx 、肝臓で Ctrl 群 $>$ HFD 群であった。胎児の Kp 値は、脳では Ctrl 群 \geq HFD 群、腎臓では Ctrl 群 $>$ HFD 群、肝臓では Ctrl 群 $>$ HFD 群、胎盤では Ctrl 群 \geq HFD 群であった。現在、統計解析及び論文執筆中である。

(2) 糖代謝異常(妊娠糖尿病、糖尿病合併妊娠)の病態下における母児の各生体試料(毛髪、血液、胎盤組織、臍帯組織)における水銀に関する研究を産業医科大との共同研究で進めている。今年度、検体採取を終え、得られた試料中の分析前処理、総水銀分析を行っている。

[3] 開発途上国における水銀の曝露評価と技術移転(基盤研究)

山元 恵(国際・総合研究部)

(1) ベトナムの妊婦におけるメチル水銀曝露の実態把握を目的として、ベトナム・ハノイの一般の妊婦を

対象とした曝露評価を行った。母の毛髪水銀の平均値は 0.47 µg/g、胎便中の総水銀の平均値は 20.8 ng/g dw、毛髪水銀と胎便の水銀値の相関係数は 0.46 であった。臍帯血、臍帯組織の入手が困難な場合、メチル水銀の出生前曝露の指標として胎便が利用可能と考えられた。魚介類(9 種類、n=5)における総水銀・メチル水銀濃度の測定を行った結果、総水銀値は 2~60 ng/g、メチル水銀値は 1~56 ng/g、メチル水銀/総水銀は 91.2~98.4% であった。ハノイにおいて主に食されている魚介類は淡水魚で比較的水銀値が低い魚種が多かった。

(2) インドネシア・Jember 地域の ASGM に伴う水銀汚染の予備調査を行った。調査対象地域を視察し、金採掘作業従事者の作業時における水銀への曝露評価を実施した。マスク(作業従事者:3名、調査担当者:6名)、毛髪(作業従事者:2名)、爪(作業従事者:1名)を入手し、総水銀を測定した。

(3) 開発途上国への水銀分析の技術移転及び水銀汚染に関する実態把握や調査研究に関する予備検討を行った。

•Dodoma 大学, タンザニア。東京医科歯科大学 (WHO 協力センター:JPN-73)の大学院生

•Diponegoro 大学, インドネシア

•Jember 大学, インドネシア

•Rajshahi 大学, バングラデシュ

[4] 高濃度水銀蓄積動物種におけるメチル水銀及び必須微量元素の曝露実態と用量-反応関係に関する研究 (基盤研究)

寶來佐和子(環境・保健研究部)

メチル水銀毒性に対する生体防御機構の解明を目的として、水銀高蓄積種であるフイリマングースを用いて、(1) 水銀及び必須微量元素の母仔間移行、(2) 水銀及び必須微量元素の濃度依存的な脳内分布とセレンタンパク質発現の変化、(3) マングースのほかに鯨類と太地町住民の血液を用いたセレン化合物(セレンタンパク、セレン含有酵素)濃度と水銀濃度の関係を解析し、メチル水銀耐性を有する種における水銀とセレン及びその他必須微量元素の用量-反応関係の特徴を明らかにする。

(1) に関して昨年度収集及び Hg を含む微量元素を測定した沖縄産フイリマングース母-胎仔 27 ペアの母親の全血、胎仔肝臓、大脳、全血のデータに関して再解析を実施した。胎仔肝臓、大脳、全血中水銀濃度は、胎仔体重の増加に伴う有意な変化はみられなかった。一方、肝臓において、O/THg (%)が胎仔体重増加に伴い有意に減少したことから ($p < 0.05$)、胎仔期から肝臓での有機水銀の無機化が生じていることが明らかとなった。次に母親から胎児への水銀曝露の指標とされているHgの胎仔血/母体血 (FB/MB) 比と胎仔臓器中濃度との関係を解析したところ、肝臓 ($p < 0.05$) と大脳 ($p < 0.01$)で有意な負の相関を示した。この結果から、FB/MB比が高くなれば、胎仔臓器中 Hg 濃度は減少することが推測できることが示された。次にFB/MB比のばらつきの原因を解明するために、FB/MB比と母体全血及び胎仔全血中 Hg 濃度との関係を解析したところ、母体全血中 Hg 濃度とFB/MB比間で、有意な負の相関がみられた ($p < 0.0001$)。胎仔全血中 Hg 濃度とFB/MB比間において、母親の Hg 曝露の程度によって、傾きが異なることが明らかとなった。これらの結果から、母親の Hg 曝露が低いほど、FB/MB比のばらつきは大きくなることが示唆された。

(2) に関して、Hg はおもに脈絡叢と側脳室壁アストロサイトに Se と共局在していたものの、HgSe ではない可能性が示された。本研究結果は、Devabathini, P, Fischer, D.L., Chen, S., Pattammattel, A., Bury, G., Antipova, O., Huang, X., Yong S. Chu, Y., Horai, S., Pushkar, Y. (2023): High resolution imaging of Hg/Se aggregates in the brain of wild terrestrial species (Small Indian Mongoose) – insight into intracellular Hg detoxification, Environ. Chem. Lett. 上記にまとめられ、論文発表された。

(3) に関して、フイリマングースとマウスの尿中セレン代謝物の比較を実施した。マウスの尿中セレン代謝物が SeSugarB であり、TMSe も検出された一方、マングースのセレン代謝物は、SeSugarB の割合は低く、TMSe もほとんど検出されなかった。一方、SeSugarA と未知物質の割合がマウスよりも高かった。このことは、マウスよりも体内セレンの生理的要求量

が高く、それは Hg の曝露の影響を受けていることが推察された。体内 Hg レベルとの関係解析を来年度の課題とする。

行い、測定結果について簡単な解説を付けた上で各個人に通知した。また、毛髪水銀に関する研修を実施した。

[5] コモンマーモセットにおけるメチル水銀による神経症状の評価及び毒性発現とセレン化合物の関連(基盤研究)

片岡知里(環境・保健研究部)

- (1)メチル水銀曝露マーモセットにおける神経行動障害の定量的評価系の確立 :メチル水銀の投与によりマーモセットに運動機能障害が誘導されることを報告した先行研究 (Yamamoto *et.al.*, J. Toxicol. Sci. 2012) の曝露条件を基に、マーモセットにメチル水銀を投与して(メチル水銀 1.5 mg Hg/kg BW を 2 週間投与後、2~3 週間非投与)、運動(自発運動及び歩行)の様子をビデオカメラで撮影した。動画解析の結果、メチル水銀投与開始後 2 週間~3 週間目にかけてマーモセットの自発運動量の減少と移動速度の低下を、メチル水銀投与開始後 3 週間~4 週間目にかけて歩幅の減少とストライド時間の延長を示す結果が得られた。
- (2)メチル水銀曝露に伴う神経行動障害の責任病巣の解明:実験条件下のマーモセットの脳の免疫染色を行った結果、運動機能が顕著に低下した個体において小脳及び視床における Iba1 の発現量が亢進しており、細胞傷害が生じていたことが明らかになった。一方で、運動機能に殆ど変化が見られなかった曝露個体における Iba1 の発現量はコントロール個体と同程度であり、小脳及び視床における細胞傷害と運動機能の変化に関連が見られた。

[業務課題名と概要]

[6] 毛髪水銀分析を介した情報提供(業務)

永野匡昭(基礎研究部)

本業務は、環境中の水銀に対する理解を深めていただくために、国水研及び付属施設である水俣病情報センターへの来訪者等に対して実施しているものである。

2023 年は希望者 278 名に対して毛髪水銀測定を

■リスク評価グループ

[1]水俣病における水銀とセレンの共存及びメチル水銀の胎・乳児影響に関する研究 (RS-23-05) Studies on coexisting of mercury and selenium in Minamata disease and effects of methylmercury to fetus and breast-feeding infants

[主任研究者]

坂本峰至(所長特任補佐)
研究の総括、実験全般の実施

[共同研究者]

丸本倍美(基礎研究部)、原口浩一(国際・総合研究部)、安武 章(元基礎研究部)、山元 恵(環境・保健研究部)、板井啓明(東京大学)
生体・環境試料の生化学・組織学的分析
中村政明(臨床部)
認定患者の臨床症状と病理所見確認
衛藤光明(介護老人保健施設樹心台)、竹屋元裕(熊本大学)、中野篤浩(元基礎研究部)、斎藤芳郎、外山喬士(東北大学)、遠山千春(東京大学)、Chan HM(カナダ・オタワ大)、Domingo JL(スペイン・ロビーラ・イ・ビルジリ大学)、Balogh SJ(米国・Moyau Consulting Engineering and Science)
病理検索及び研究助言等

[区分]

基盤研究

[重点項目]

メチル水銀曝露の健康影響評価と治療への展開

[グループ]

リスク評価

[研究期間]

2020年度－2024年度(5ヶ年)

[キーワード]

水俣病(Minamata disease)、セレン(Selenium)、水銀/セレンモル比(mercury/selenium molar ratio)、メチル水銀(Methylmercury)、胎児(Fetus)

[研究課題の概要]

1. 水俣病における水銀とセレン共存に関する研究:
水俣病発生当時の環境と患者臓器に関する歴史的試料を新規に分析することで水銀濃度と連動して上昇したセレン濃度の実証を行い、水俣病発症におけるセレンの役割を考察する。更に、ラット実験を実施することで、患者や発症したネコの肝臓・腎臓にセレンが高濃度に蓄積した機序を明らかにし、メチル水銀毒性防御に必要なセレンのモル比についての新知見を得る。
2. メチル水銀の胎・乳児影響に関する研究:
脳の感受性の高い胎・乳児期における母親から児へのメチル水銀の移行とその健康リスクに関する研究を行い、児の脳をメチル水銀の影響から守るために必要な情報発信を行う。

[背景]

1. 水俣病の原因物質が水銀、後にメチル水銀であると究明される前に、発症した猫や患者の肝臓・腎臓に高濃度のセレンが検出され、セレンが原因物質ではないかと疑われた時期があった。喜田村(当時:熊本大学)らは、猫の肝臓中のセレンは致死量を超える高濃度に相当すると熊本医学会雑誌に報告した。しかし、チッソは製造工程でセレンを使用しておらず、患者やネコ臓器に高濃度セレンが検出された謎と水俣病でセレンが発症に果たした役割は未解明である。
2. 水俣病は、出生前後の発達期の脳がメチル水銀毒性に対する感受性が高いことを世界に知らしめた。そこで、胎・乳児期における胎盤・母乳経由のメチル水銀移行と健康リスク評価を行う。

[目的]

1. 水俣病発生当時の歴史的試料の新規分析による水銀濃度と連動して上昇したセレンの研究:

水俣病関連の歴史的保存試料を用いて総水銀とセレンの新規解析を行い、当時の環境試料と水俣病認定患者臓器におけるセレン濃度の上昇を実証する。更に、当時の魚介類と水俣病患者臓器の総水銀/セレン(Hg/Se)モル比を検討することで、水俣病発症におけるセレンの役割を考察する。加えて、飲水にメチル水銀と餌に自然界由来の有機のセレノメチオニン(SeMet)を添加し、それぞれ単独及び同時に投与することで、患者臓器にセレン濃度が上昇した機序とメチル水銀毒性を防御するために必要なセレンのモル比について検討を行う。

2. メチル水銀の胎・乳児影響に関する研究:

- (1) 大脳における高感受性の窓(Vulnerable window)に関する研究; 胎児性水俣病の外挿研究として、大脳に特異的に病変を引き起こす新生仔ラットを用いた動物実験を行い、組織学、生化学及び行動科学的検索を行う。
- (2) 母体血と臍帯血における総水銀、無機水銀、セレンの赤血球/血漿分布に関する研究; 母体血と臍帯血の比較で、胎児の脳の感受性を修飾する可能性のある背景要因としての赤血球や血漿のメチル水銀濃度、及びセレンの栄養状態を示す血漿中セレン濃度を検討する。
- (3) 母乳が児のメチル水銀負荷量におよぼす影響に関する研究; 妊娠中にメチル水銀曝露、又は非処理の母親ラットから生まれた新生仔を母仔交叉哺育(Cross-fostering)し、仔の組織中水銀濃度へ及び母乳の寄与度を検討する。

[期待される成果]

1. 水俣病当時の環境や患者臓器におけるメチル水銀曝露に連動して上昇したセレン濃度が実証される。更に、上昇したセレン濃度が水俣病発症に果たした役割とセレン濃度上昇の機序及びメチル水銀毒性を防御するために必要なセレンのモル比についての情報発信が可能となる。
2. 胎・乳児における発達期の脳をメチル水銀の影響から守る為のリスクマネージメントに貢献する情報が発信される。

[年次計画概要]

1. 2020 年度

- (1) 水俣病発生当時の歴史的試料の新規分析による水銀濃度と連動して上昇したセレンの研究:
 - 1) 水俣病発生当時のジチゾン比色法と現在の原子吸光法で測定した総水銀濃度を比較する。
 - 2) 歴史的保存試料の解析により環境の各曝露パスイニにおける水銀とセレンの分析を行う。
- (2) メチル水銀の胎・乳児影響に関する研究:
 - 1) 大脳における高感受性の窓に関する研究; 胎児性水俣病の外挿研究として、メチル水銀投与により、大脳に特異的に病変を引き起こす新生仔ラットを用いて、組織学的、生化学的、行動科学的検索を行う。
 - 2) 母体血と臍帯血における総水銀、無機水銀、セレンの赤血球/血漿分布に関する研究; 母体血と臍帯血の比較で、胎児の脳のメチル水銀に対する感受性を修飾する可能性のある背景要因としての赤血球や血漿のメチル水銀濃度及びセレンの存在状態を検討する。
 - 3) 母乳が児のメチル水銀負荷量に及ぼす影響に関する研究; 授乳期のラット仔の血液、脳、肝、腎の組織中水銀濃度へ及び母乳の寄与度を、出生時の母仔交叉哺育(Cross-fostering)で検討する。

2. 2021 年度

- (1) 水俣病発生当時の歴史的試料の新規分析による水銀濃度と連動して上昇したセレンの研究; 水俣病患者 13 名の大脳、小脳、肝臓、腎臓及び対照 20 名の臓器の比較で、患者臓器におけるメチル水銀曝露に連動して上昇したセレン濃度を実証する。更に、Hg/Se モル比の検討で上昇したセレン濃度が水俣病発症に果たした役割を考察する。加えて、ラットへの長期・高濃度のメチル水銀投与の予備実験を実施し、臓器におけるセレン濃度の分布に及ぼす影響を検討する。
- (2) 母体血と臍帯血における総水銀、無機水銀、セレンの赤血球/血漿分布に関する研究; 胎児の発達期の脳はメチル水銀曝露に対し高感受性である。更に、その感受性を修飾する可能性のある背景要因について検討し、論文掲載を目指す。

(3) 母乳が児のメチル水銀負荷量に及ぼす影響に関する研究；母乳由来のメチル水銀移行と児におけるメチル水銀蓄積への寄与度を検討し、論文掲載を目指す。

3. 2022 年度

水俣病発生当時の歴史的試料の新規分析による水銀濃度と連動して上昇したセレンの研究；水俣病患者の脳、小脳、肝臓、腎臓における水銀、セレン及び Hg/Se モル比に関して、患者の発症時期から解剖までの期間及び解剖年との関連を考慮した解析を行う。また、水俣病でメチル水銀とセレンが同時曝露されたことを想定して、高濃度のメチル水銀又はセレンを単独及び同時にラットに投与する実験を行い、脳、肝、腎臓における水銀とセレン濃度の分布を検証する。更に、工場内で採取された底質と廃棄物残渣の数を増やして水銀とセレン濃度を分析することで工場内におけるセレンの排出源の有無を検討する。

4. 2023 年度

水俣病発生当時の歴史的試料の新規分析による水銀濃度と連動して上昇したセレンの研究；本年度は、患者と対照の臓器における Hg/Se モル比を重点的に検討し、脳や小脳の Hg/Se モル比 1 で患者と対照を判別できる可能性を探る。また、発症から死亡までの期間が 100 日未満を急性、1 年以上を亜急性と仮定して患者の脳と小脳の Hg/Se モル比の経時的変動を検討する。

ラット実験では、(1) 水俣湾の汚染魚介類の Hg/Se のモル比=3 を反映するように、飲水にメチル水銀 40 ppm と餌に SeMet 5 ppm となるように添加し、それぞれ単独及び同時に 4 週間与えた (各群 n=8)。

ラット実験(2)では、Hg/Se のモル比=3 又は=1 となるように飲水にメチル水銀 15 ppm と餌に SeMet 2.1ppm 又は 6.5 ppm を添加し、それぞれ単独及び同時に 8 週間与えた (各群 n=14)。

ラット実験(1)では、水俣湾の貝類で観察された水銀濃度と Hg/Se モル比=3 でラットに投与することで、汚染された水俣魚介類の毒性確認と SeMet の保護作用及び患者臓における特異的セレン濃

度上昇の背景を確認する。ラット実験 (2)では、メチル水銀毒性に対する、高いセレンの保護効果を期待して、Hg/Se モル比を 1 で投与して、メチル水銀毒性に対する SeMet の顕著な保護効果とその結果生じる脳中 Hg/Se 比の変動を検討する。

以上、水俣病におけるセレン上昇の結果を纏めて投稿準備を進めている。更に、その論文を投稿し、英文ジャーナルに掲載させることで水俣病に関する新知見として情報発信し、国際学会等でも成果を発表する。

加えて、依頼原稿である WHO 協会:プラネタリーヘルス叢書一人と地球といのちシリーズ(大阪大学出版会)に“水俣病に学び続ける”を執筆する。

[2023 年度の研究実施成果の概要]

水俣病発生当時の歴史的試料の新規分析による水銀濃度と連動して上昇したセレンの研究；

図 1 に急性患者と亜急性患者の脳、小脳、肝臓、腎臓の Hg/Se モル比を示した。

急性患者の Hg/Se モル比は肝臓や腎臓より脳、小脳で顕著な上昇を示した。このことから、脳と小脳の Hg/Se モル比の顕著な上昇が、水俣病で脳に特異的に傷害を引き起こす一因であることが示唆された。

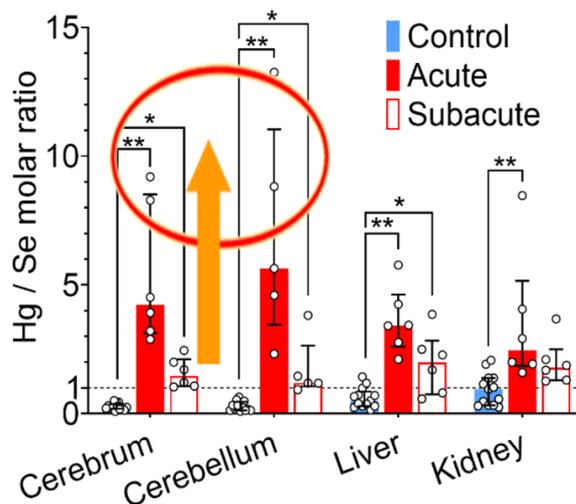


図 1. 急性患者と亜急性患者の脳、小脳、肝臓、腎臓の Hg/Se モル比

図 2 に Hg/Se のモル比=3 と 1 となるように飲水にメチル水銀 (15 ppm) と餌に SeMet (2.1 ppm 及び 6.5 ppm) を調整しそれぞれ単独及び同時に 8 週間投与したラット群の体重変化を示した (各群 n=8)。

モル比=3 の投与は、体重変動と発症に対する抑制効果は認められなかった。一方、モル比=1 の投与では脳中 Hg 銀濃度はメチル水銀単独と同様であったにも関わらず、顕著な体重抑制と発症抑制が確認された。現在、病理像を確認中である。

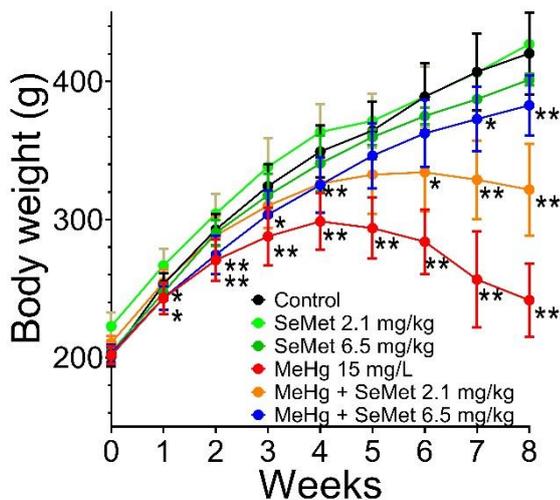


図 2. Hg/Se のモル比=3 又は 1 となるように飲水にメチル水銀 15 ppm と餌に SeMet 2.1 ppm 及び 6.5 ppm を添加し、それぞれ単独及び同時に 8 週間飼育したラット群の体重変化

図 3 に 4 週と 8 週における各臓器における Hg/Se モル比を示した。結果はモル=1 投与のデータのみを示した。

SeMet の添加はメチル水銀単独投与群と比較して脳中 Hg/Se モル比を顕著に低下させた。このメチル水銀に SeMet を添加することで起こる脳の Hg/Se モル比の顕著な低下が、SeMet 添加で起こるメチル水銀の毒性抑制の機序の一つであることが示唆された。

以上の実験結果を纏めると、曝露するメチル水銀濃度に加えて、その Hg/Se モル比がメチル水銀の毒性発現・防御に重要であり、少量のセレン添加では効果が無く、等モル以上のセレン添加が必要と推察

された。この結果は、通常のセレンモル濃度が水銀モル濃度より高い魚介類摂取ではメチル水銀中毒は発生しない可能性を示唆した。

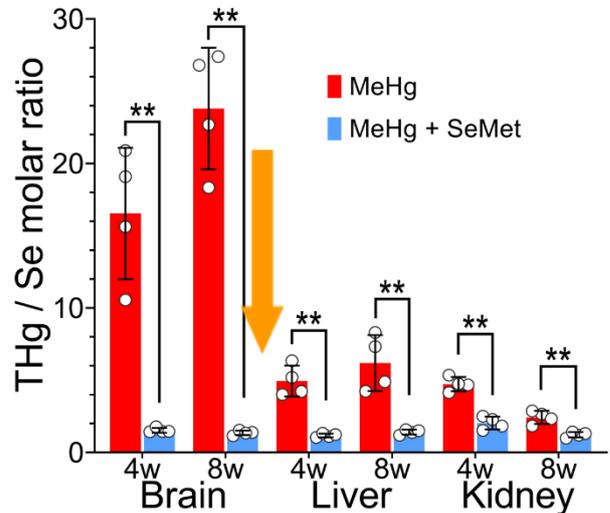


図 3. 4 週と 8 週におけるラットの脳、肝臓、腎臓における Hg/Se モル比

更に、メチル水銀と SeMet 等モル投与群は、脳内水銀濃度が約 20 ppm に達しても発症せず、SeMet 添加による脳における Hg/Se モル比の顕著な減少が、メチル水銀毒性発症の抑制に繋がったと考えられた。

本研究は、従来の亜セレン酸を用いた研究と異なり、毒性が低く腸管吸収と脳内移行性が高い SeMet 使用で解明された新規成果と考える。

現行の米国環境保護庁、欧州食品安全機関、日本食品安全委員会などによる魚介類含有水銀のリスク評価は、魚介類のメチル水銀や総水銀濃度のみに基づいて実施されており、共存するセレンの防御効果を考慮していないことから、魚に含まれる水銀の健康リスクを過大評価している可能性が有る。

一連の研究成果は、魚介類に含まれる水銀のリスク評価実施には、共存するセレンの含有量と Hg/Se モル比を加えた多面的評価が重要であることを示した。

[備考]

本研究の一部は JSPS 科研費 JP19K12353 の助成を受けたものである。

[研究期間の論文発表]

- 1) Nakamura M, Tatsuta N, Murata K, Nakai K, Iwata T, October T, Sakamoto M, Yamamoto M, Itatani M, Miura Y, Koriyama C: Neurodevelopmental associations of prenatal and postnatal methylmercury exposure among first-grade children in the Kinan region, Japan. *Environ Res.* 2023 Oct 15;235:116688.
- 2) Oliveira RB, 他 2 名, Sakamoto M, Bourdineaud JP: Fish consumption habits of pregnant women in Itaituba, Tapajós River basin, Brazil: risks of mercury contamination as assessed by measuring total mercury in highly consumed piscivore fish species and in hair of pregnant women. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2022 Jul 7;73(2):131-142.
- 3) Sakamoto M, Haraguchi K, 他 2 名, Nakamura M, Murata K: Plasma and red blood cells distribution of total mercury, inorganic mercury, and selenium in maternal and cord blood from a group of Japanese women. *Environ Res.* 2021 May; 196: 110896.
- 4) Sakamoto M, Haraguchi K, Tatsuta N, Marumoto M, Yamamoto M, Nakamura M: Breast milk contribution to tissue mercury levels in rat pups examined by cross-fostering at birth. *Environ Res.* 2022 Jan 19; 208: 112772. Online first.
- 5) Marumoto M, Sakamoto M, 他 2 名: Organ-specific accumulation of selenium and mercury in Indo-Pacific bottlenose dolphins (*Tursiops aduncus*). *Acta Vet Scand.* 2022 Jan 27; 64(1): 1.
- 6) Sakamoto M, 他 3 名, Yamamoto M, Nakamura M: Methylmercury exposure during the vulnerable window of the cerebrum in postnatal developing rats. *Environ Res.* 2020 Sep; 188: 109776.
- 7) 坂本峰至, 柿田明美, 中村政明: 「メチル水銀」脳の発生とその異常 *CLINICAL NEUROSCIENCE* 2020 ; 38(12): 1594-1597.

[研究期間の学会等発表]

- 1) 坂本峰至, 丸本倍美, 原口浩一, 外山喬士, 斎藤芳郎, 遠山千春, Balogh SJ, 中村政明: 水俣病

患者臓器で上昇したセレン濃度の実証とラット実験による機序の検討. *メタルバイオサイエンス研究会* 2023, 岐阜. 2023. 10.

- 2) 坂本峰至: 水俣病に学び続ける. *メタルバイオサイエンス研究会* 2023, 岐阜. 2023. 10. (部会賞受賞講演)
- 3) 坂本峰至, 丸本倍美, 中村政明, 原口浩一, 衛藤光明: チョソ排水口変更が引き起こした水俣病患者発生の拡散: 患者脳病変を指標とした解析当時のジチゾン比色法水銀濃度の問題点. 令和 5 年度メチル水銀ミーティング, 東京. 2023.12.
- 4) 坂本峰至, 丸本倍美, 原口浩一, 中村政明: 水俣病関連試料の再解析で明らかになったメチル水銀毒性防御におけるセレンの役割. 第 94 回日本衛生学会学術総会, 鹿児島, 2024. 3.
- 5) 坂本峰至. メチル水銀の胎児影響. 第 49 回日本毒性学会年会. 招待講演. 札幌市. 2022. 6.
- 6) 坂本峰至. 水俣病から学び続けること. *日本 WHO 協会* 第 21 回関西グローバルヘルスの集い. 招待講演. オンラインセミナー. 2022. 7.
- 7) 坂本峰至, 丸本倍美, 原口浩一, 遠山千春, 中村政明. メチル水銀毒性のセレンによる抑制: 水俣病患者臓器の水銀とセレンの分析から得られた新知見. *メタルバイオサイエンス研究会* 2022. 京都市. 2022.10.
- 8) 坂本峰至, 丸本倍美, 原口浩一, 中村政明. 水俣病の再解析で検討するセレン濃度上昇と意義. 令和 4 年度メチル水銀研究ミーティング. 東京. 2023. 1.
- 9) 坂本峰至. 水俣病再評価によって得られたメチル水銀毒性に対するセレンの保護的役割への新知見. 第 93 回日本衛生学会学術総会 シンポジウム. 招待講演. 東京. 2023. 3.
- 10) 坂本峰至, 丸本倍美, 原口浩一, 他 4 名, 中村政明: 水俣病患者臓器におけるセレン濃度上昇. 令和 3 年度メチル水銀研究ミーティング, Web meeting. 2022. 2.
- 11) 坂本峰至, 原口浩一, 龍田 希, 丸本倍美, 山元 恵, 中村政明: 母乳のラット仔組織水銀濃度への寄与: 出生時の母仔交叉哺育研究. 第 92 回日

本衛生学会学術総会, 2022.03.

- 12) 仲井邦彦, 坂本峰至 (10th), 原口浩一 (11th), 他 11 名: メチル水銀曝露による健康影響に関するレビュー. 令和 3 年度 水俣病に関する総合的研究, Web meeting, 2022. 2.
- 13) Sakamoto M: Health hazard of mercury and its countermeasures. UNEP Online Training Programme #1, Web meeting, 2020.12. (基調講演)
- 14) 坂本峰至, 丸本倍美, 他 4 名, 中村政明: 高濃度メチル水銀曝露に連動して上昇するセレン: 水俣病関連試料と動物実験による検証. 第 6 回日本セレン研究会 生命金属に関する合同年会 (ConMetal 2020), Web meeting, 2020.11.
- 15) 坂本峰至, 丸本倍美, 原口浩一, 他 4 名, 中村政明: 水俣病における濃度メチル水銀曝露に連動して上昇するセレン濃度: 水俣病関連保存試料による検証. 令和 2 年度メチル水銀研究ミーティング, Web meeting, 2021.1.
- 16) 坂本峰至, 原口浩一, 中村政明, 他 4 名: 日本人の母体血と臍帯血における総水銀、無機水銀、セレンの赤血球/血漿分布. 第 91 回日本衛生学会学術総会, Web meeting, 2021.3.

■リスク評価グループ(基盤研究)

[2]メチル水銀曝露に対するハイリスクグループの曝露評価システムの強化(RS-23-06)

Enhancement of the exposure assessment system for groups at high risk of methylmercury exposure

[主任研究者]

山元 恵(国際・総合研究部)
研究の総括、実験全般の実施

[重点項目]

メチル水銀曝露の健康影響評価と治療への展開

[共同研究者]

中村政明(臨床部)
研究デザインのサポート
坂本峰至(所長特任補佐)
研究デザインのサポート
片岡知里(環境・保健研究部)
実験全般
寶來佐和子(環境・保健研究部)
実験のサポート

[グループ]

リスク評価

堀内正久(鹿児島大学)

研究デザインのサポート

柳澤利枝(国立環境研究所)

動物実験のサポート

茂木正樹(愛媛大学)

動物実験のサポート

中野篤浩(元基礎研究部長)

水銀分析法、研究デザインのサポート

秋葉澄伯(鹿児島大学)

統計解析のサポート

郡山千早(鹿児島大学)

統計解析のサポート

柴田英治(産業医科大学)

ヒト試料収集

辻 真弓(産業医科大学)

ヒト試料収集、統計解析のサポート

周東 智(北海道大学)

研究デザイン及びデータ解析のサポート

[研究期間]

2020年度-2024年度(5ヶ年)

[キーワード]

メチル水銀 (methylmercury)、感受性 (susceptibility)、病態 (disease state)、胎児・新生児 (fetus, newborn)、糖代謝異常 (disturbance of glucose metabolism)

[研究課題の概要]

病態下におけるメチル水銀の代謝・動態・毒性発現を明らかにする。特に糖代謝異常に関連するメチル水銀への感受性の変化や感受性要因の明確化を目的として、ヒトと実験動物を対象に研究を行う。

[背景]

1. メチル水銀への感受性の個人差を生じる要因の一つとして、疾患に伴う代謝異常が挙げられる¹⁾。世界の成人人口の約5~6%が糖尿病に罹患しており、若年層や低・中所得国における有病率の急速な増加は公衆衛生上の大きな問題となっているが²⁾、糖代謝異常の病態下におけるメチル水銀の代謝・動態・毒性発現に関しては明らかになっていない。
2. Western Pacific 地域(日本、韓国、中国など)における糖代謝異常合併妊娠の頻度は約12%と推定されているが³⁾、糖代謝異常の病態下の妊婦におけるメチル水銀の代謝・動態や母児移行については明らかになっておらず、リスク評価・管理についても行われていない。

[区分]

基盤研究

3. 母親の糖代謝異常と水銀の関連については、・妊娠糖尿病の母親から出産した児の胎便中の水銀値は高い傾向を示した⁴⁾、・臍帯血中のメチル水銀と母親の糖代謝異常(妊娠糖尿病・糖尿病合併妊娠)には有意な相関はなかった⁵⁾、・母親の毛髪水銀値と妊娠糖尿病の罹患は負の相関を示した⁶⁾、・母親の血中水銀値と妊娠糖尿病のリスクは正の相関を示した^{7,8)}など、様々な知見が報告されており、一致した見解は得られていない。
4. 「水銀に関する水俣条約」の有効性評価の一環として、様々な集団、特にハイリスクグループのリスク評価・管理に資する基礎データが求められている⁹⁾。
5. これまで糖代謝異常の病態下におけるメチル水銀の代謝・動態や毒性発現の解明を目的として、KK-Ay2型糖尿病モデルマウスとBL/6マウスへのメチル水銀の連続投与による比較実験を行い、2型糖尿病に特徴的な体組成(体脂肪率の上昇等)に伴うメチル水銀の組織への蓄積の促進や組織の脆弱性により、KK-Ayマウスは早期に毒性発現することを報告した^{10,11)}。

[目的]

1. 病態下におけるメチル水銀の代謝・動態・毒性発現を明らかにする。特に糖代謝異常に関連するメチル水銀への感受性の変化や感受性要因の明確化を目的として、ヒトと実験動物を対象に研究を行う。
2. 感受性要因(疾患由来の代謝異常)を考慮した妊娠期の母親及び新生児に対する精度の高いメチル水銀の曝露評価、リスク評価・管理の強化に資する基礎データを得る。

[期待される成果]

病態下、特に糖代謝異常がメチル水銀の代謝・動態や毒性発現へ及ぼす影響の一端が明らかになる。「水銀に関する水俣条約」の有効性評価の一環として、ハイリスクグループのリスク評価・管理に資する基礎データが得られる。

[年次計画概要]

1. 2020年度

- (1) 2型糖尿病マウスにおけるメチル水銀の体内動態に関するデータ解析を進め、論文化を行う。
- (2) 糖代謝異常の母マウス・新生仔マウスにおけるメチル水銀の代謝・動態に関して、雌の糖代謝異常モデルマウスの確立を行う。本モデルを用いて、妊娠・出産及びメチル水銀の投与条件に関する検討を行う。
- (3) 糖代謝異常(妊娠糖尿病、糖尿病合併妊娠)の病態下における母児の各生体試料(毛髪、血液、胎盤組織、臍帯組織)採取を進め、得られた検体の水銀分析を行う。

2. 2021年度

- (1) 雌の糖代謝異常モデルマウスの妊娠・出産とメチル水銀の曝露・評価系に関する条件を確立し、メチル水銀の母から新生仔移行に関するデータを得る。
- (2) ヒト試料収集、食事アンケート調査、水銀分析、元素分析を進める。

3. 2022年度

- (1) 前年度までに得た糖代謝異常モデルマウスにおけるメチル水銀の母から胎仔移行に関するデータを得る。
- (2) ヒト試料収集、食事アンケート調査、水銀分析、元素分析等を進める。

4. 2023年度

- (1) 前年度までに得た糖代謝異常モデルマウスにおけるメチル水銀の母から胎仔移行に関するデータを基に試験を行い、水銀分析及び統計解析後に論文化する。
- (2) ヒト試料に関して、食事アンケート調査、水銀値、元素データの相関解析を行い、論文化する。

5. 2024年度

糖代謝異常モデルマウスにおいてメチル水銀の母仔移行に影響を及ぼす可能性のある物質に関する

知見の検討を行う。

[2023 年度の研究実施成果の概要]

[1] 高脂肪食 (HFD) の給餌による雌の糖代謝異常 (Diet-Induced Obesity: DIO) マウスモデルを用いた一連の実験(マウスへの給餌。交配。解剖・組織処理。水銀分析)を終え、採取した試料(血液、組織)の総水銀分析を行った。メチル水銀移行は、Kp 値(母体又は胎仔の各組織中の総水銀量/母体血漿中の総水銀量)を用いて評価した。軽度の糖代謝異常の病態下において、母親の Kp 値は脳で Ctrl 群 \geq HFD 群、腎臓で \approx 、肝臓で Ctrl 群 $>$ HFD 群であった。胎仔の Kp 値は、脳では Ctrl 群 \geq HFD 群、腎臓では Ctrl 群 $>$ HFD 群、肝臓では Ctrl 群 $>$ HFD 群、胎盤では Ctrl 群 \geq HFD 群であった。現在、統計解析及び論文執筆中である。

[2] 糖代謝異常(妊娠糖尿病、糖尿病合併妊娠)の病態下における母児の各生体試料(毛髪、血液、胎盤組織、臍帯組織)における水銀に関する研究を産業医科大との共同研究で進めている。今年度、検体採取を終え、得られた試料中の分析前処理、総水銀分析を行っている。

[備考]

本研究に関連する外部研究資金として、科研費：基盤研究(C)(令和3年-令和5年度)「糖代謝異常の病態下におけるメチル水銀の母仔移行に関する研究」に採択されている。

[研究期間の論文発表]

- 1) Sakamoto M, Kakita A, Sakai K, Kameo S, Yamamoto M, Nakamura M. (2020): Methylmercury exposure during the vulnerable window of the cerebrum in postnatal developing rats. *Environ. Res.* 188:109776.
- 2) David J, Muniroh M, Nandakumar A, Tsuji M, Koriyama C, Yamamoto M. (2020): Inorganic mercury-induced MIP-2 expression is suppressed by N-acetyl-L-cysteine in RAW264.7 macrophages.

Biomed. Rep. 12(2):39-45.

- 3) Muniroh M, Gumay AR, Indraswari DA, Bahtiar Y, Hardian H, Bakri S, Maharani N, Karlowee V, Koriyama C, Yamamoto M. (2020): Activation of MIP-2 and MCP-5 expression in methylmercury-exposed mice and their suppression by N-Acetyl-L-Cysteine. *Neurotox. Res.* 37(4):827-834.
- 4) Yamamoto M, Yanagisawa R, Sakai A, Mogi M, Shuto S, Shudo M, Kashiwagi H, Kudo M, Nakamura M, Sakamoto M. (2021): Toxicokinetics of methylmercury in diabetic KK-Ay mice and C57BL/6 mice. *J. Appl. Toxicol.* 41(6):928-940.
- 5) Oguro A, Fujita K, Ishihara Y, Yamamoto M, Yamazaki T. (2021): DHA and its metabolites have a protective role against methylmercury-induced neurotoxicity in mouse primary neuron and SH-SY5Y cells. *Int. J. Mol. Sci.* 22(6):3213.
- 6) Sakamoto M, Haraguchi K, Tatsuta N, Marumoto M, Yamamoto M, Nakamura M. (2022): Breast milk contribution to tissue mercury levels in rat pups examined by cross-fostering at birth. *Environ Res.* 208:112772.
- 7) Oguro A, Fujiyama T, Ishihara Y, Kataoka C, Yamamoto M, Eto K, Komohara Y, Imaoka S, Sakuragi T, Tsuji M, Shibata E, Kotake Y, Yamazaki T. (2023): Maternal DHA intake in mice increased DHA metabolites in the pup brain and ameliorated MeHg-induced behavioral disorder. *J. Lipid Res.* 64(11):100458.
- 8) Ishitsuka K, Tsuji M, Yamamoto M, Tanaka R, Suga R, Kuwamura M, Sakuragi T, Shimono M, Kusuhara K. (2023): Association between maternal fish consumption during pregnancy and preterm births: the Japan Environment and Children's Study. *Environ. Health Prev. Med.* 28:47.

[研究期間の学会発表]

- 1) 山元 恵, 柳澤利枝, 酒井敦史, 茂木正樹, 周東智, 首藤正親, 柏木葉月, 工藤めぐみ, 中村政明, 坂本峰至:KK-Ay 糖尿病マウスと C57BL/6 マウス

- におけるメチル水銀の体内動態. 第 91 回日本衛生学会学術総会, Web 会議, 2021. 3.
- 2) 大黒亜美, 藤田健太, 石原康宏, 山元 恵, 山崎岳:ドコサヘキサエン酸 (DHA) 代謝物のメチル水銀毒性に対する神経細胞保護作用の検討. 令和 2 年度メチル水銀研究ミーティング, Web 会議, 2021. 1.
 - 3) 山元 恵:水銀の環境保健～実験研究・調査研究によるアプローチ～. 令和 3 年度日本衛生学会・若手研究者の会, Web 会議, 2021. 9. 教育講演
 - 4) 清野正子, 中村亮介, 大城有香, 浦口晋平, 白畑辰弥, 小西成樹, 岩井孝志, 小林義典, 田辺光男, 山元 恵, 高根沢康一:メチル水銀毒性に対するオレオノール酸 3-グルコシドの保護効果. *メタルバイオサイエンス研究* 2021, 横浜, 2021.10.
 - 5) 大黒亜美, 藤田健太, 石原康宏, 山元 恵, 山崎岳:メチル水銀毒性軽減におけるドコサヘキサエン酸及びその代謝物の作用解明. *メタルバイオサイエンス研究会* 2021, 横浜, 2021.10.
 - 6) 柳澤利枝, 小池英子, 鈴木武博, 嶋田 努, 山元 恵:メチル水銀およびポリ塩化ビフェニルの妊娠期低用量複合曝露による仔への影響. 第 92 回日本衛生学会学術総会, Web meeting, 2022. 3.
 - 7) 山元 恵: 糖代謝異常の病態下におけるメチル水銀の毒性発現及び動態. フォーラム 2022 衛生薬学・環境トキシコロジー, 熊本, 2022. 8. 招待講演
 - 8) 山元 恵: メチル水銀の胎児期曝露に関する実験研究および曝露評価. 第 94 回日本衛生学会学術総会, 鹿児島, 2024. 3.
 - 9) Yamamoto M, Kataoka C, Yanagisawa R, Tsuji M, Shibata E, Yokooji T, Mori N, Horiuchi M, Shuto S, Nakamura M, Sakamoto M: Maternal transfer of methylmercury in high-fat diet-induced obese mice with glucose metabolism disorder. 63rd Society of Toxicology, Salt Lake City, USA. 2024. 3.
 - 2) World Health Organization. (2016): Global report on diabetes.
 - 3) 宮越 敬. (2020): アジア各国での妊娠糖尿病の現状. *産科と婦人科*. No.87(5),505-509.
 - 4) Peng S, Liu L, Zhang X, Heinrich J, Zhang J, Schramm KW, Huang Q, Tian M, Eqani SA, Shen H. (2015): A nested case-control study indicating heavy metal residues in meconium associate with maternal gestational diabetes mellitus risk. *Environ. Health*. 14:19.
 - 5) Wells EM, Herbstman JB, Lin YH, Jarrett J, Verdon CP, Ward C, Caldwell KL, Hibbeln JR, Witter FR, Halden RU, Goldman LR. (2016): Cord blood methylmercury and fetal growth outcomes in Baltimore newborns: Potential confounding and effect modification by omega-3 fatty acids, selenium, and sex. *Environ. Health Perspect*. 124:373-379.
 - 6) Valvi D, Oulhote, Y, Weihe P, Dalgård C, Bjerve KS, Steuerwald U, Grandjean P. (2017): Gestational diabetes and offspring birth size at elevated environmental pollutant exposures. *Environ. Int*. 107:205-215.
 - 7) Wang Y, Zhang P, Chen X, Wu W, Feng Y, Yang H, Li M, Xie B, Guo P, Warren JL, Shi X, Wang S, Zhang Y. (2019): Multiple metal concentrations and gestational diabetes mellitus in Taiyuan, China. *Chemosphere*. 237:124412.
 - 8) Tatsuta N, Iwai-Shimada M, Nakayama SF, Iwama N, Metoki H, Arima T, Sakurai K, Anai A, Asato K, Kuriyama S, Sugawara J, Suzuki K, Yaegashi N, Kamijima M, Nakai K; Japan Environment and Children's Study Group. (2022): Association between whole blood metallic elements concentrations and gestational diabetes mellitus in Japanese women: The Japan environment and Children's study. *Environ. Res*. 212:113231.
 - 9) Basu N, Horvat M, Evers DC, Zastenskaya I, Weihe P, Tempowski J. (2018): A State-of-the-Science Review of Mercury Biomarkers in Human Populations Worldwide between 2000 and 2018.
- [文献]
- 1) World Health Organization. (2008): Guidance for identifying population at risk from mercury exposure.

Environ. Health Perspect. 126:106001.

- 10) Yamamoto M, Yanagisawa R, Motomura E, Nakamura M, Sakamoto M, Takeya M, Eto K. (2014): Increased methylmercury toxicity related to obesity in diabetic KK-Ay mice. *J. Appl. Toxicol.* 34:914-923.
- 11) Yamamoto M, Motomura E, Yanagisawa R, Hoang VAT, Mogi M, Mori T, Nakamura M, Takeya M, Eto K. (2019): Evaluation of Neurobehavioral Impairment in Methylmercury-Treated KK-Ay Mice by Dynamic Weight-Bearing Test. *J. Appl. Toxicol.* 39:221-230.

■リスク評価グループ(基盤研究)

[3]開発途上国における水銀の曝露評価と技術移転(RS-23-07)

Exposure assessment of mercury in developing countries and technology transfer

[主任研究者]

山元 恵(国際・総合研究部)
研究の総括、研究全般の実施

[重点項目]

メチル水銀曝露の健康影響評価と治療への展開
国際貢献

[共同研究者]

坂本峰至(所長特任補佐)
疫学研究デザインのサポート
片岡知里(環境・保健研究部)
水銀分析、データ解析
寶來佐和子(環境・保健研究部)
微量元素分析
郡山千早(鹿児島大学)
疫学研究デザイン、サンプルの収集、統計解析
秋葉澄伯(鹿児島大学名誉教授)
疫学研究デザイン、統計解析のサポート
中野篤浩(元基礎研究部長)
水銀分析法の改良のサポート
田端正明(佐賀大学名誉教授)
水銀分析法の改良のサポート
Hung The Dang (Hanoi University of Public Health, Vietnam)
サンプルの収集、食事調査
Hang Thi Minh Lai (National Institute of Occupational and Environmental Health, Vietnam)
サンプルの収集、食事調査
Do Thi Thu Hien (National Hospital of Dermatology and Venereology, Vietnam)
サンプルの収集、食事調査
Nha Ba Pham (Bach Mai Hospital, Vietnam)
サンプルの収集、食事調査
Muflihatul Muhiroh (Diponegoro University, Indonesia)
サンプルの収集、食事調査

[グループ]

リスク評価

[研究期間]

2020年度-2024年度(5ヶ年)

[キーワード]

水銀曝露 (mercury exposure)、胎児 (fetus)、人力小規模金採掘 (artisanal and small-scale gold mining : ASGM)、開発途上国 (developing countries)、メチル水銀分析 (methylmercury analysis)

[研究課題の概要]

開発途上国(ベトナム、インドネシア等)における水銀の曝露評価研究を行い、対象国における水銀のバイオモニタリングシステム、水銀分析の技術移転を行う。

ベトナム: 妊娠期の母親及び新生児におけるメチル水銀の曝露状況の把握を行う。出産可能年齢の女性への魚介類摂取に関するガイドランスの策定に必要な基礎資料を得る。

インドネシア: 水銀汚染が懸念される地域(金採掘等)に関する実態調査を行う。

[背景]

1.「水銀に関する水俣条約」の有効性評価の一環として、様々な集団、特にハイリスクグループのリスク評価・管理に資する基礎データが求められている。
2.メチル水銀曝露に対して感受性の高い胎児へのリスク管理において、妊婦における魚介類摂取を通じたメチル水銀の曝露評価は、世界共通の課題であり、特に魚介類の摂取量の多い国や地域におい

[区分]

基盤研究

て重要な公衆衛生学的課題である。近年ベトナムにおいては魚食量が増加しているにも関わらず、妊娠可能年齢の女性を含む住民における食事(魚食)を通じたメチル水銀曝露状況はほとんど把握されていない。

- 3.これまでの研究において、生物試料中の総水銀・メチル水銀の簡易分析法を開発し^{2,3)}、本法の公衆衛生への応用の一環として、市販の魚介類(エビ)中の水銀及びセレンに関する実態調査を行った⁴⁾。また、ハノイの一般住民を対象とした毛髪水銀レベルと魚介類摂取の関連に関する疫学研究を行い、ベトナムにおける魚食とメチル水銀の曝露状況に関する初めての研究として発表した⁵⁾。
- 4.インドネシアにおいて、水銀汚染が懸念される地域(金採掘等)があるが、曝露評価や汚染に関する実態調査はほとんど行われていない。

[目的]

- 1.「水銀に関する水俣条約」の有効性評価の一環として、様々な集団、特にハイリスクグループのリスク評価・管理に資する基礎データを得る。
- 2.ベトナムにおける住民、特に妊娠可能年齢の女性におけるメチル水銀曝露評価システムを確立し、リスク管理に必要な基礎的データを得る。
- 3.インドネシアにおいて、水銀汚染が懸念される地域(金採掘等)に関する実態を把握し、必要に応じて対策を講じる。

[方法]

- 1.ベトナムにおける妊娠可能年齢層を含む住民の毛髪、爪を採取する。併せて魚食を中心とした食事・栄養アンケート調査(food frequency questionnaire: FFQ)を実施する。
- 2.採取した試料(毛髪・爪など)における水銀及びセレン等の元素分析を行う。
- 3.居住地域、性、及び魚介類の摂取状況等ごとのメチル水銀の曝露評価を行う。毛髪の水銀濃度、その他の修飾因子(セレン等)の相関を調べ、日本での先行研究⁶⁾と比較解析する。

- 4.インドネシアの金採掘に伴う水銀汚染が懸念される地域において、先行研究^{5,6)}に準じてヒト試料収集を行い、水銀の曝露・リスク評価を行う。

[期待される成果]

- 1.ベトナムにおける住民、特に妊娠可能年齢の女性におけるメチル水銀曝露評価システムが確立され、リスク管理に必要な基礎的データが得られる。
- 2.インドネシアにおいて水銀汚染が懸念される地域(金採掘等)に関する実態が把握され、対策を講じることが可能になる。
- 3.「水銀に関する水俣条約」の有効性評価の一環として、ハイリスクグループのリスク評価・管理に資する基礎データが得られる。

[年次計画概要]

1. 2020 年度

- (1)ベトナム・ハノイの妊婦を対象としたメチル水銀の曝露評価に関して、2019年度末までにリクルートした検体(毛髪・爪・便)を入手し、水銀・元素の分析を行う。併せてFFQについて整理する。
- (2)インドネシアにおける水銀の曝露評価に関する調査候補地に関して、現地カウンターパートと予備情報を収集する。

2. 2021 年度

- (1)ベトナム・ハノイからサンプル(毛髪・爪・便)の運搬を行い、得られた試料の水銀及び元素の分析を行う。
- (2)インドネシアにおける水銀の曝露評価に関する調査候補地に関する情報収集を進める。併せて共同研究者と COVID-19 蔓延下における水銀の曝露評価に関する新規なプロトコルの確立を試みる。

3. 2022 年度

- (1)ベトナム・ハノイにおけるサンプル中の水銀とその他の各因子(元素、魚食量等)との相関を解析し、論文化を行う。

- (2) ベトナムの調査対象地域の候補として、魚介類の多食地域に関する予備調査を行う。
- (3) インドネシアにおいて、調査対象地域を決定し、カウンターパートとの共同研究締結、対象集団のリクルート、疫学研究手続を行う。

4. 2023 年度

- (1) ベトナムにおける魚介類の多食地域の調査に関して、カウンターパートとの共同研究締結、対象集団のリクルート、疫学研究手続を行う。
- (2) インドネシアにおいて、生体試料採取のセットアップ、生物試料収集、食事アンケートの実施を行う。

5. 2024 年度

- (1) ベトナムにおける魚介類の多食地域の調査に関して、生体試料(毛髪・血液等)採取のセットアップ、生物試料収集、食事アンケートを実施する。
- (2) インドネシアにおいて、サンプル中の水銀分析、元素分析、各因子間の相関解析、論文化を行う。

[2023年度の研究実施成果の概要]

- (1) ベトナムの妊婦におけるメチル水銀曝露の実態把握を目的として、ベトナム・ハノイの一般の妊婦を対象とした曝露評価を行った。母の毛髪水銀の平均値は 0.47 µg/g、胎便中の総水銀の平均値は 20.8 ng/g dw、毛髪水銀と胎便の水銀値の相関係数は 0.46 であった。臍帯血、臍帯組織の入手が困難な場合、メチル水銀の出生前曝露の指標として胎便が利用可能と考えられた。魚介類(9種類。n=5)における総水銀・メチル水銀濃度の測定を行った結果、総水銀値は 2~60 ng/g、メチル水銀値は 1~56 ng/g、メチル水銀/総水銀は 91.2~98.4% であった。ハノイにおいて主に食されている魚介類は淡水魚で比較的水銀値が低い魚種が多かった。
- (2) インドネシア・Jember 地域の ASGM に伴う水銀汚染の予備調査を行った。調査対象地域を視察し、金採掘作業従事者の作業時における水銀への曝露評価を実施した。マスク(作業従事者:3名、調

査担当者:6名)、毛髪(作業従事者:2名)、爪(作業従事者:1名)を入手し、総水銀を測定した。

- (3) 開発途上国への水銀分析の技術移転及び水銀汚染に関する実態把握や調査研究に関する予備検討を行った。
- Dodoma 大学, タンザニア。東京医科歯科大学 (WHO 協力センター:JPN-73) の大学院生
 - Diponegoro 大学, インドネシア
 - Jember 大学, インドネシア
 - Rajshahi 大学, バングラデシュ

[備考]
なし

[研究期間の論文発表]

- 1) Haraguchi K, Sakamoto M, Matsuyama A, Yamamoto M, Hung DT, Nagasaka H, Uchida K, Ito Y, Kodamatani H, Horvat M, Chan HM, Rand M, Cirtiu CM, Kim BG, Nielsen F, Yamakawa A, Mashyanov N, Panichev N, Panova E, Watanabe T, Kaneko N, Yoshinaga J, Herwati RF, Suoth AE, Akagi H. (2020): Development of human hair reference material supporting the biomonitoring of methylmercury. *Anal. Sci.* 36(5):561-567.
- 2) Yoshino K, Mori K, Kanaya G, Kojima S, Henmi Y, Matsuyama A, Yamamoto M. (2020): Food sources are more important than biomagnification on mercury bioaccumulation in marine fishes. *Environ. Pollut.* 262:113982.
- 3) Kataoka C, Yoshino K, Kashiwada S, Yamamoto M. (2021): Do polystyrene beads contribute to accumulation of methylmercury in oysters? *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 81:36-45.
- 4) Yoshino K, Yamada K, Tanaka M, Tada Y, Kanaya G, Henmi Y, Yamamoto M. (2022): Subtidal benthic communities in Minamata Bay, Japan, approximately 30 years after mercury pollution remediation involving dredging disturbance. *Ecol. Res.* 37:137-150.

5) Muniroh M, Bakri S, Gumay AR, Dewantiningrum J, Mulyono M, Hardian H, Yamamoto M, Koriyama C. (2022): The First Exposure Assessment of Mercury Levels in Hair among Pregnant Women and Its Effects on Birth Weight and Length in Semarang, Central Java, Indonesia. *Int. J. Environ. Res. Public Health*.27;19(17):10684.

[研究期間の総説・書籍]

山元 恵, 丸本幸治.(2021): 地域発の分析化学「水俣発の水銀分析法」ぶんせき. 日本分析化学会. No.1, 21-22.

[研究期間の学会発表]

- 1) 山元 恵, 片岡知里, 寶來佐和子, 坂本峰至, 郡山千早, 辻 真弓, Hung Dang The, Hang Thi Minh Lai, Do Thi Thu Hien, Nha Ba Pham: ベトナムの妊婦における水銀の曝露評価. 令和 5 年度メチル水銀研究ミーティング, 東京. 2023.12.
- 2) Yamamoto M: Current situation and issues surrounding the health effects of mercury. University of Jember: International Seminar on Heavy Metal Contamination-A Crucial Health Issue in Agromedicine, Jember, Indonesia. 2023.12. 招待講演

[文献]

- 1) Basu N, Horvat M, Evers DC, Zastenskaya I, Weihe P, Tempowski J. (2018): A State-of-the-Science Review of Mercury Biomarkers in Human Populations Worldwide between 2000 and 2018. *Environ. Health Perspect.* 126:106001.
- 2) Miyamoto K, Kuwana T, Ando T, Yamamoto M, Nakano A. (2010): Methylmercury analyses in biological materials by heating vaporization atomic absorption spectrometry. *J. Toxicol. Sci.* 35: 217-224.
- 3) Yoshimoto K, Anh HT, Yamamoto A, Koriyama C, Ishibashi Y, Tabata M, Nakano A, Yamamoto M. (2016): Simple analysis of total mercury and methylmercury in seafood using heating vaporization

atomic absorption spectrometry. *J. Toxicol. Sci.* 41:489-500.

4) Hoang VAT, Sakamoto M, Yamamoto M. (2017): Mercury and selenium levels, and their molar ratios in several species of commercial shrimp in Japan regarding the health risk of methylmercury exposure. *J. Toxicol. Sci.* 42:509-517.

5) Hoang VAT, Do HTT, Agusa T, Koriyama C, Akiba S, Ishibashi Y, Sakamoto M, Yamamoto M. (2017): Hair mercury levels in relation to fish consumption among Vietnamese in Hanoi. *J. Toxicol. Sci.* 42:651-656.

6) Sakamoto M, Chan HM, Domingo JL, Oliveira RB, Kawakami S, Murata K. (2015): Significance of fingernail and toenail mercury concentrations as biomarkers for prenatal methylmercury exposure in relation to segmental hair mercury concentrations. *Environ. Res.* 136:289-294.

■リスク評価グループ(基盤研究)

[4]高濃度水銀蓄積動物種におけるメチル水銀及び必須微量元素の曝露実態と
用量－反応関係に関する研究－(RS-23-14)

Relationship between the exposure level and dose-response of methylmercury and essential trace
elements in mammals with high mercury levels

[主任研究者]

寶來佐和子(環境・保健研究部)
研究の総括、実験全般の実施

[グループ]

リスク評価

[共同研究者]

山元 恵(環境・保健研究部)

研究全般のサポート

中村政明(臨床部)

研究デザインのサポート

坂本峰至(所長特任補佐)

研究デザインのサポート

藤村成剛(基礎研究部)

研究デザインのサポート

国末達也(愛媛大学)

海生哺乳類試料の提供

郡山千早(鹿児島大学)

統計解析のサポート

中田勝士(やんばる野生生物保護センター)

沖縄でのマンガース調査のサポート

小椋康光(千葉大学)

セレン分子種測定 of サポート

田中佑樹(千葉大学)

セレン分子種測定 of サポート

Robert T Sugihara (USDA, APHIS)

マンガース調査のサポート

María José Navarrete Talloni (Ross University)

組織病理学的手法のサポート

[区分]

基盤研究

[重点項目]

メチル水銀曝露の健康影響評価と治療への展開

[研究期間]

2021 年度－2024 年度(4 ヶ年)

[キーワード]

メチル水銀 (methylmercury)、母仔間移行
(transfer from dam to fetus)、環境モニタリング
environmental monitoring)、ヒ素 (arsenic)、セレン
(selenium)

[研究課題の概要]

本研究はメチル水銀及び必須微量元素の自然環境曝露下における体内レベルと用量－反応の関係に着目し、濃度依存的なメチル水銀の胎盤を介した母仔間移行、脳内分布、血液中の水銀とセレンタンパク質との関係性に関する研究を水銀高蓄積野生陸上哺乳類であるフイリマンガースの臓器組織・胎仔試料及び数種の海生哺乳類の血液・筋肉試料を用いて遂行する。

本研究はメチル水銀毒性に対する生体防御機構の一端を解明することを目指す。

[背景]

魚食習慣のあるヒト集団において、血液中の水銀とセレンは正の相関を示す¹²⁾。セレンは抗酸化作用を示すことや、水銀毒性の減弱が報告されているものの、セレンのメチル水銀による神経毒性に対する保護効果に関しては未解明である¹²⁾。体内のセレンはセレノシステイン、セレノメチオニン、セレノプロテインなど様々な化学形態で存在し、メチル水銀の代謝や蓄積、輸送に関与する可能性が考えられている。哺乳類の血漿において、セレンはおもにセレノプロテ

ン P、GPx3、アルブミンの 3 種の分子に含まれる¹⁾。水銀高曝露集団と対照群の血漿中セノプロテイン P、GPx3、アルブミンに結合するセレンと水銀濃度を比較した結果、対照群のアルブミンに結合するセレンと水銀の割合は水銀高曝露群より高かった。一方、水銀高曝露集団のセノプロテイン P と GPx3 に結合するセレンと水銀の割合は、対照群より約 2 倍高かったことが報告された¹⁾。このことから、彼らは水銀曝露レベルが低い状態ではアルブミンにセレンを貯蔵し、水銀曝露レベルが上昇することで、セノプロテイン P と GPx3 の発現上昇により、セレンと水銀が両者に結合する割合が上昇することを示唆している。また、海生哺乳類を捕食するイヌイット成人の血液中セノネイン、セノプロテイン P、GPx3 が測定されており、赤血球中セレン濃度の上昇にセノネインの寄与が大きいことが報告されている⁴⁾。これらのことから、メチル水銀曝露による血液中セレン分子種の分布変化が、水銀毒性軽減に寄与する可能性が推察される。

水銀を高蓄積する数種の海生哺乳類の肝臓や筋肉、脳などで HgSe 粒子の検出が報告されている^{2,5,10)}。このように水銀蓄積種では脳でも HgSe 粒子が観察されたことから、セレンによるメチル水銀毒性防御作用は脳にも存在する可能性が示唆された。

Sakamoto et al. (2018) は、総水銀の臍帯血/母親血液比は約 2 と胎児で高く、セレンのそれは 1.14 と、わずかに母親の比率が高かったことを報告している⁹⁾。水俣病発症以前(1927-1935)と水俣病発症後(1953-1959)の臍帯中セレンと水銀のモル濃度比(Se/Hg)は、水俣病発症前は 60 前後と、セレンの存在比が高かったものの、発症後は 1 を下回り、水銀の存在比がセレンを上回ったことが報告されている⁶⁾。このように、胎児(仔)にはセレンを貯蔵する主な臓器が存在しないため、母親からのセレン供給が滞るとセレン酵素活性阻害とそれに伴う障害が懸念される⁸⁾。動物実験において、母親の高濃度のメチル水銀曝露は、胎児へのセレン供給⁷⁾や脳内 GPx 活性¹¹⁾を減少させることが報告されている。これらのことから、自然環境下でのメチル水銀曝露による、母親と胎児(仔)間の Hg/Se 比を調査することは、胎児(仔)のリスク評価にきわめて重要となる。

これまでの研究において、フイリマングースは海生哺乳類と同レベルの水銀を体内に保持していることが判明した³⁾。本種は駆除対象動物であるため、比較的多くの母-胎仔ペアサンプルの入手が可能である。

自然環境曝露下での比較的高いメチル水銀曝露による野生動物の脳内水銀分布に関する報告例は極めて少ない。我々の先行研究において、本種脳内の水銀は、主に側脳室及び第三脳室、小脳第四脳室周辺にセレンと共局在し、その化学形態は HgSe に極めて類似していた。

[目的]

水銀高蓄積種であるフイリマングースを用いて、①フイリマングースを用いた水銀及び必須微量元素の母子間移行、②フイリマングースを用いた水銀及び必須微量元素の濃度依存的な脳内分布とセレンタンパク質発現の変化、③水銀高蓄積種の血液と筋肉試料を用いたセレン分子濃度と水銀濃度の関係を解析し、メチル水銀耐性を有する種における水銀とセレン及びその他必須微量元素の用量-反応関係の特徴を解明することを目的とする。

[期待される成果]

自然曝露下での母親の水銀曝露による胎児への曝露の態様を明らかにすることが可能となる。

母親の水銀曝露レベルの違いが、胎児の脳内水銀・セレン分布と、セレンタンパク質の発現に及ぼす影響を明らかにすることで、自然環境下での胎児に影響を及ぼしうる母親の水銀曝露レベルが明らかとなる。

マングースと鯨類の血液と筋肉における水銀、セレン濃度、及び両者に結合したセノプロテイン P、GPx3、セノアルブミン濃度を測定し、比較解析することで、水銀耐性を獲得するためのセレン挙動の条件を明らかにすることが可能となる。

これらの結果は、水銀曝露レベルが高い動物種において、水銀の無毒化機構を明らかにするための基礎的知見を得ることが可能となる。またこれらの知見は、実験動物では得られない貴重な情報になると期

待している。

[年次計画概要]

1. 2024年度

- (1) テーマ③のための沖縄でのマンガースサンプリングを実施する。
- (2) テーマ③のための鯨類サンプリングと、両種の尿と血液中セレン分子種の測定を確立する。

[2023年度の研究実施成果]

テーマ①に関して昨年度収集及びHgを含む微量元素を測定した沖縄産フイリマンガース母-胎仔27ペアの母親の全血、胎仔肝臓、大脳、全血のデータに関して再解析を実施した。胎仔肝臓、大脳、全血中水銀濃度は、胎仔体重の増加に伴う有意な変化はみられなかった。一方、肝臓において、O/THg(%)が胎仔体重増加に伴い有意に減少したことから($p < 0.05$)、胎仔期から肝臓での有機水銀の無機化が生じていることが明らかとなった。次に母親から胎児への水銀曝露の指標とされているHgの胎仔血/母体血(FB/MB)比と胎仔臓器中濃度との関係を解析したところ、肝臓($p < 0.05$)と大脳($p < 0.01$)で有意な負の相関を示した。この結果から、FB/MB比が高くなれば、胎仔臓器中Hg濃度は減少することが推測できることが示された。次にFB/MB比のばらつきの原因を解明するために、FB/MB比と母体全血及び胎仔全血中Hg濃度との関係を解析したところ、母体全血中Hg濃度とFB/MB比間で、有意な負の相関がみられた($p < 0.0001$)。胎仔全血中Hg濃度とFB/MB比間において、母親のHg曝露の程度によって、傾きが異なることが明らかとなった。これらの結果から、母親のHg曝露が低いほど、FB/MB比のばらつきは大きくなることが示唆された。

テーマ②に関して、Hgはおもに脈絡叢と側脳室壁アストロサイトにSeと共局在していたものの、HgSeではない可能性が示された。本研究結果は、Devabathini et al. (2023)としてまとめられ、論文発表された。

テーマ③に関して、フイリマンガースとマウスの尿中セレン代謝物の比較を実施した。マウスの尿中セ

レン代謝物がSeSugarBであり、TMSeも検出された一方、マンガースのセレン代謝物は、SeSugarBの割合は低く、TMSeもほとんど検出されなかった。一方、SeSugarAと未知物質の割合がマウスよりも高かった。このことは、マウスよりも体内セレンの生理的 Requirement が高く、それはHgの曝露の影響を受けていることが推察された。体内Hgレベルとの関係解析を来年度の課題とする。

[備考]

本研究に関連する外部研究資金として、科研費：基盤研究(C)(令和5年-令和7年度)「セレンが関与しうる水銀毒性に対する感受性の個体差要因の究明」、愛媛大学化学汚染・沿岸環境研究拠点(LaMer)2023年度共同利用・共同研究「水銀高蓄積種の陸上/海生哺乳類における体内水銀と必須微量元素の母子間比較」(課題番号:23-16)に採択されている。

[研究期間の論文発表]

- 1) Devabathini, P., Fischer, D.L., Chen, S., Pattammattel, A., Bury, G., Antipova, O., Huang, X., Yong S. Chu, Y., Horai, S., Pushkar, Y. (2023): High resolution imaging of Hg/Se aggregates in the brain of wild terrestrial species (Small Indian Mongoose) – insight into intracellular Hg detoxification, Environ. Chem. Lett., DOI: 10.1007/s10311-023-01666-3 (Online First)

[研究期間の学会発表]

- 1) 寶來佐和子、中田勝士、城ヶ原貴通、江口藍、藤村成剛、国末達也、山元恵:水銀高蓄積野生動物種における水銀およびその他微量元素の母子間移行-フイリマンガースを例に-, 第31回環境化学討論会, 徳島, 2023年5月30日-6月2日
- 2) 寶來佐和子、中田勝士、城ヶ原貴通、江口藍、藤村成剛、国末達也、山元恵:水銀高蓄積野生動物種における水銀およびその他微量元素の母子間移行の特徴. 第94回日本衛生学会学術総会, 鹿児島, 2024年3月7日-3月9日.

[文献]

- 1) Chen C, Yu H, Zhao J, Li B, Qu L, Liu S, Zhang P, Chai Z (2006) The Roles of Serum Selenium and Selenoproteins on Mercury Toxicity in Environmental and Occupational Exposure. *Environ. Health Persp.*, 114, 297-301.
- 2) Gajdosechova Z, Lawan MM, Urgast DS, Raab A, Scheckel KG, Lombi E, Kopittke PM, Loeschner K, Larsen EH, Woods G, Brownlow A, Read FL, Feldmann J, Krupp EM (2016) In vivo formation of natural HgSe nanoparticles in the liver and brain of pilot whales. *Scientific Reports.*, 1-11.
- 3) Horai S, Minagawa M, Ozaki H, Watanabe I, Takeda Y, Yamada K, Ando T, Akiba S, Abe S, Kuno K (2006) Accumulation of Hg and other heavy metals in the Javan mongoose (*Herpestes javanicus*) captured on Amamioshima Island, Japan. *Chemosphere.*, 65, 657-665.
- 4) Little M, Achouba A, Dumas P, Ouellet N, Ayotte P, Lemire M (2019) Determinants of selenoneine concentration in red blood cells of Inuit from Nunavik (Northern Québec, Canada). *Environ. Int.*, 127, 243-252.
- 5) Nakazawa E, Ikemoto T, Hokura A, Terada Y, Kunito T, Tanabe S, Nakai I (2011) The presence of mercury selenide in various tissues of the striped dolphin: evidence from μ -XRF-XRD and XAFS analyses. *Metallomics*, 3, 719-725.
- 6) Nishigaki S and Harada M (1975) Methylmercury and selenium in umbilical cords of inhabitants of the Minamata area. *Nature.*, 258, 324-325.
- 7) Parizek J, Ostadalova I, Kalouskova J, Babicky A, Pavlik L, Bibr B (1971) Effect of mercuric compounds on the maternal transmission of selenium in the pregnant and lactating rat. *J. Reprod. Fert.*, 25, 157-170.
- 8) Ralston NVC, Raymond LJ (2018) Mercury's neurotoxicity is characterized by its disruption of selenium biochemistry. *BBA-General Subjects*, 1862, 2405-2416.
- 9) Sakamoto M, Chan HMC, Domingo JL, Koriyama C, Murata K (2018) Placental transfer and levels of mercury, selenium, vitamin E, and docosahexaenoic acid in maternal and umbilical cord blood. *Environ. Int.*, 111, 309-315.
- 10) Sakamoto M, Itai T, Yasutake A, Iwasaki T, Yasunaga G, Fujise Y, Nakamura M, Murata K, Chan HM, Domingo JL, Marumoto M (2015) Mercury speciation and selenium in toothed-whale muscles. *Environ. Res.*, 143, 55-61.
- 11) Watanabe C, Yin K, Kasanuma Y, Satoh H (1999) In utero exposure to methylmercury and Se deficiency converge on the neurobehavioral outcome in mice. *Neurotoxicol. Teratol.*, 21 (1), 83-88.
- 12) 村田勝敬, 吉田 稔, 坂本峰至, 岩井美幸, 柳沼 梢, 龍田 希, 岩田豊人, 苅田香苗, 仲井 邦彦 (2011) メチル水銀毒性に関する疫学的研究の動向. *日衛誌*, 66, 682-695.

■リスク評価グループ(基盤研究)

[5]コモンマーモセットにおけるメチル水銀による神経症状の評価及び毒性発現と
セレン化合物の関連(RS-23-15)

Evaluation of methylmercury-induced neurological symptoms and the association of selenium
compounds with toxicity in common marmosets

[主任研究者]

片岡知里(環境・保健研究部)
研究全般の実施

[共同研究者]

山元 恵(環境・保健研究部)
研究全般のサポート
寶來佐和子(環境・保健研究部)
実験のサポート
中村政明(臨床部)
研究デザインのサポート
坂本峰至(所長特任補佐)
研究デザインのサポート
衛藤光明(元国水研所長)
病理解析のサポート
菰原義弘(熊本大学)
病理解析のサポート
佐々木えりか(実験動物中央研究所)
マーモセットの病態解析のサポート
井上貴史(実験動物中央研究所)
マーモセットの病態解析のサポート
塚本晃海(実験動物中央研究所)
マーモセットの病態解析のサポート
郡山千早(鹿児島大学)
統計解析のサポート
Laurie Chan (University of Ottawa, Canada)
研究デザインのサポート
荻原直道(東京大学)
動画解析のサポート

[区分]

基盤研究

[重点項目]

メチル水銀曝露の健康影響評価と治療への展開

[グループ]

リスク評価

[研究期間]

2021 年度－2024 年度(4 ヶ年)

[キーワード]

メチル水銀 (methylmercury)、脳 (brain)、神経毒性 (neurotoxicity)、セレン (selenium)、コモンマーモセット (common marmoset)

[研究課題の概要]

高濃度メチル水銀を曝露したコモンマーモセット(水俣病モデル)において、神経症状、脳の各部位における病変と細胞傷害マーカーの発現、水銀濃度、セレノプロテインの分布の関連を解析し、神経病変の局在性の解明に関する知見を得る。

更にセレン化合物の投与による毒性軽減に関する検討を行う。

[背景]

1. 水俣病の発症機序の解明には、神経機能障害と病変部位との関連について詳細な解析が必要である。水俣病患者の脳における病変の出現部位には局在性が見られるが、組織中の水銀濃度と病変の程度は必ずしも一致しておらず、病変の局在性をもたらす要因の解明は、水俣病の発症機序の解明において残された課題の一つである。
2. コモンマーモセットは、脳高次機能に関してヒトと類似しており、これまで脳高次機能の研究や、神経変性疾患研究(パーキンソン病、脊髄損傷、多発性硬

化症等)のモデル動物として用いられている。メチル水銀を投与したコモンマーモセットの脳、小脳、末梢神経において、ヒトに類似する病変が惹起されることから、コモンマーモセットは水俣病の発症機序の解析に適したモデル動物であることが報告されている¹⁾。

3. 成人の水俣病患者の脳病変では、神経病変の局在性(鳥距野、中心前回、中心後回、横側頭回等の選択的な組織傷害)が観察されている。脳における選択的な組織傷害の解明の一環として、高濃度メチル水銀を曝露したコモンマーモセット(水俣病モデル)の脳において、急性期の脳浮腫発生に由来する脳溝周囲の皮質の圧迫と、局所の循環障害に依存したメチル水銀の毒性作用の増強、及び神経細胞の選択的な傷害が報告されている²⁾。同様の実験条件下のコモンマーモセットにおいて、軽度の運動失調や脳における病変が観察されている。また急性期の脳浮腫発生に水のチャンネルタンパク質:AQP4 発現が関与する可能性³⁾ や、タンパク質の網羅的解析により、メチル水銀の脳神経毒性に関与し得るバイオマーカーが報告されている^{4,5)}。
4. 必須微量元素であるセレンは、生体内で水銀と相互作用することにより、メチル水銀の生体影響を修飾・軽減することが報告されている。これまでメチル水銀を投与した新生仔ラット(胎児性水俣病モデル)にセレンメチオニンを投与することにより、脳神経毒性発現が抑制されることが報告されている⁶⁾。また、本モデルラットの脳においてセレン含有酵素であるglutathione peroxidaseやthioredoxin reductaseの活性が抑制されることが報告されている⁷⁾。
5. 水俣病に関する歴史的試料(アセトアルデヒド精留塔ドレイン由来廃液の投与実験に供されたネコの臓器、水銀汚染魚(真鯛)、水銀汚染貝(ヒバリガイモドキ)、水俣湾の汚泥)における総水銀及びセレン濃度を測定した結果、それぞれの対照試料よりも水銀汚染試料において総水銀及びセレン濃度が高値を示したことが報告されている。また、水銀汚染ヒバリガイモドキにおける総水銀濃度とセレン濃度の関連を解析した結果、総水銀とセレンの濃度が高い相関($r=0.89$)を示すことが報告されている⁸⁾。

6. 霊長類の脳の各部位におけるセレン含有酵素及びセレノプロテインの分布とメチル水銀曝露に伴う神経病変との関連については明らかになっていない。

[目的]

1. メチル水銀中毒コモンマーモセット(水俣病モデル)における神経症状の半定量的な評価を行い、神経病変との関連を明らかにする。
2. 上記モデルを用いてメチル水銀曝露に伴う神経病変と脳のセレノプロテインの分布との関連について解析を行い、神経病変の局在性の解明に寄与し得る知見を得る。
3. セレン化合物(セレン酵母)の投与によるメチル水銀曝露に伴う脳神経毒性発現の抑制を試みる。

[方法]

1. 先行研究³⁾において確立されたプロトコールに準じて、メチル水銀の急性曝露による水俣病モデルマーモセットを作製する。本モデルマーモセットにおける運動機能障害を、行動試験(歩行試験及び運動機能試験)により半定量的に評価する。
2. 方法 1 で作製したモデルマーモセットの脳の各部位における病変を、神経細胞、アストロサイト、及びミクログリアのマーカーを用いた免疫組織化学により評価する³⁾。
3. 脳の各部位における総水銀及びメチル水銀濃度を測定する⁹⁾。
4. 脳の各部位におけるセレン含有酵素及びセレノプロテインの発現を測定する。
5. 方法 1 に準じてメチル水銀を投与したコモンマーモセットにおける脳神経毒性発現(運動失調等)に対するセレン酵母による抑制効果を検討する。

[期待される成果]

1. メチル水銀中毒コモンマーモセット(水俣病モデル)における神経症状と神経病変との関連が明らかになる。
2. マーモセットの脳の各部位におけるセレノプロテインの分布とメチル水銀曝露に伴う神経病変の解析

を通じて、ヒトにおけるメチル水銀曝露に伴う神経病変の局在性の解明に寄与し得る。

3. セレン化合物の投与によるメチル水銀曝露に伴う脳神経毒性発現の抑制が期待される。

[年次計画概要]

1. 2021 年度

- (1) コモンマーモセットを用いてメチル水銀の急性曝露による水俣病モデルを作製し、神経症状を半定量的に評価する。
- (2) 免疫組織化学的解析を中心に、神経細胞やマイクログリア等のマーカーを用いた神経病変の評価を行う。
- (3) 脳の各部位における総水銀及びメチル水銀濃度を測定する⁹⁾。
- (4) 脳の各部位におけるセレン含有酵素及びセレノプロテインの発現を測定する。

2. 2022 年度

- (1) 2021 年度の結果を基に本試験を実施する。

3. 2023 年度

- (1) 2022 年度までに取得したデータの解析を行い、結果をまとめて論文化する。
- (2) セレン化合物(セレン酵母)の投与によるメチル水銀の毒性軽減に関する予試験を行う。

4. 2024 年度

- (1) セレン化合物(セレン酵母)の投与試験の本試験を実施する。論文化を行う。

[2023年度の研究実施成果の概要]

メチル水銀の投与によりマーモセットに運動機能障害が誘導されることを報告した先行研究(Yamamoto *et.al.*, J. Toxicol. Sci. 2012) の曝露条件を基に、マーモセットにメチル水銀を投与して(メチル水銀 1.5 mg Hg/kg BWを2週間投与後、2～3週間非投与)、運動(自発運動及び歩行)の様子をビデオカメラで撮影した。動画解析の結果、メチル水銀投与開始後2週間～3週間目にかけてマーモセットの自発

運動量の減少と移動速度の低下を、メチル水銀投与開始後3週間～4週間目にかけて歩幅の減少とストライド時間の延長を示す結果が得られた。

また、脳の免疫染色を行った結果、運動機能が顕著に低下した個体において小脳及び視床におけるIba1の発現量が亢進しており、細胞傷害が生じていたことが明らかになった。一方で、運動機能に殆ど変化が見られなかった曝露個体におけるIba1の発現量はコントロール個体と同程度であり、小脳及び視床における細胞傷害と運動機能の変化に関連が見られた。

[備考]

なし

[研究期間の論文発表]

なし

[研究期間の学会発表]

- 1) 片岡知里, 井上貴史, 菰原義弘, 坂本晃海, 佐々木えりか, 衛藤光明, 中村政明, 山元 恵: コモンマーモセットにおけるメチル水銀による神経症状の評価. 令和5年度メチル水銀研究ミーティング, 東京. 2023.12.

[文献]

- 1) 衛藤光明, 安武 章, 澤田倍美, 徳永英博, 興梶征典. (2007): 「水俣病の病理－メチル水銀毒性－」病理と臨床. 25(8): 776-779.
- 2) Eto K, Yasutake A, Kuwana T, Korogi Y, Akima M, Shimozeki T, Tokunaga H, Kaneko Y. (2001): Methylmercury poisoning in common marmosets—a study of selective vulnerability within the cerebral cortex. Toxicol. Pathol. 29:565-573.
- 3) Yamamoto M, Takeya M, Ikeshima-Kataoka H, Yasui M, Kawasaki Y, Shiraishi M, Majima E, Shiraishi S, Uezono Y, Sasaki M, Eto K. (2012): Increased expression of aquaporin-4 by methylmercury in the brain of common marmoset. J. Toxicol. Sci. Aug;37(4):749-763.

- 4) Shao Y, Yamamoto M, Figeys D, Ning Z, Chan HM. (2015): Proteomic analysis of cerebellum in common marmoset exposed to methylmercury. *Toxicol. Sci.* Jul;146(1):43-51.
- 5) Shao Y, Yamamoto M, Figeys D, Ning Z, Chan HM. (2016): Proteome profiling reveals regional protein alteration in cerebrum of common marmoset (*Callithrix jacchus*) exposed to methylmercury. *Toxicology.* Mar;347-349:29-39.
- 6) Sakamoto M, Yasutake A, Kakita A, Ryufuku M, Chan HM, Yamamoto M, Oumi S, Kobayashi S, Watanabe C. (2013): Selenomethionine protects against neuronal degeneration by methylmercury in the developing rat cerebrum. *Environ. Sci. Technol.* Mar;47(6):2862-2868.
- 7) Sakamoto M, Kakita A, Sakai K, Kameo S, Yamamoto M, Nakamura M. (2020): Methylmercury exposure during the vulnerable window of the cerebrum in postnatal developing rats. *Environ Res.* Sep;188:109776.
- 8) 坂本峰至「水俣病における水銀とセレンの共存及びメチル水銀の胎・乳児影響に関する研究」2020年次報告書
- 9) Yoshimoto K, Anh HT, Yamamoto A, Koriyama C, Ishibashi Y, Tabata M, Nakano A, Yamamoto M. (2016): Simple analysis of total mercury and methylmercury in seafood using heating vaporization atomic absorption spectrometry. *J. Toxicol. Sci.* 41(4):489-500.

■リスク評価グループ(業務)

[6]毛髪水銀分析を介した情報提供(CT-23-05)

Information service using hair mercury analysis

[主任担当者]

永野匡昭(基礎研究部)
業務統括、水銀分析

[共同担当者]

蜂谷紀之(元国水研職員)
データ解析
水俣病情報センター職員
来館者の毛髪採取

ずいぶん体内に取り込まれ、その一部が毛髪にも排泄される。したがって、毛髪水銀分析は水銀を身近なものとして捉え、自身の MeHg の摂取状況を知る上で手軽で有用な手段である。これまで、国水研では来訪者や情報センター来館者のうち、希望者を対象として毛髪の水銀分析を行ってきた。更に、本業務は中期計画 2015 より「8. 広報活動と情報発信機能の強化及び社会貢献の推進(3)水銀に関する情報発信の推進」に盛り込まれ、本中期計画でも継続されている。

[区分]

業務

[目的]

本業務は、毛髪水銀分析の結果の通知を通して微量の MeHg 摂取に関する情報発信を行い、MeHg を含む環境中の水銀について啓発を促すことを目的としている。

[重点項目]

メチル水銀曝露の健康影響評価と治療への展開

[期待される成果]

環境中の水銀に関して理解の普及に貢献できる。

[グループ]

リスク評価

[年次計画概要]

1. 2020 年度

国水研来訪者及び情報センター来館者のうち、希望者の毛髪水銀分析を行い、結果の通知を通して微量のメチル水銀摂取に関する情報発信を行う。これと並行して 2014-2019 年のデータを解析する。

2. 2021 年度

引き続き、毛髪水銀分析を介して微量のメチル水銀摂取に関する情報発信を行う。また、2014-2019 年のデータを解析し、現代日本人における毛髪中水銀濃度に関する論文を執筆する。

3. 2022-2023 年度

毛髪水銀分析を介して微量のメチル水銀摂取に関する情報発信を行うとともに、「日本人の毛髪中水銀濃度と魚介類摂取量との関連性」に関する論文の完成・受理を目指す。

[業務期間]

2020 年度-2024 年度(5 年間)

[キーワード]

メチル水銀(Methylmercury)、毛髪水銀(Hair mercury)、情報提供(Information service)

[業務課題の概要]

環境中の水銀について啓発を促すため、国立水俣病総合研究センター(国水研)来訪者及び付属施設である水俣病情報センター(情報センター)来館者のうち、希望者に対して毛髪水銀を分析し、魚介類由来のメチル水銀(MeHg)による健康影響に関する情報提供を行う。

[背景]

MeHg は微量ではあるが、主に魚食を通して絶え

4. 2024 年度

引き続き、毛髪水銀分析を介して微量のメチル水銀摂取に関する情報発信を行う。「毛髪中水銀濃度と地域差」に関する論文を作成し受理を目指す。

[2023 年の業務実施成果の概要]

2023 年は新型コロナウイルス感染症の位置づけが変更となり、毛髪水銀測定希望者等は情報センターで 130 名、国水研では 148 名の計 278 名と昨年の 2 倍を上回った。毛髪水銀測定希望者等の内訳は学校行事関係者が 36 名、学校行事関係者を除く情報センターでの希望者が 94 名、総務課を通じて依頼を受けた地方自治体等からの依頼が 27 名、国水研受付(一般公開のイベント参加者を含む)は 121 名であった。

また、毛髪水銀に関する研修を 3 件実施した(うち 1 件は英語で対応)。さらに、情報センターの常設展示フルリニューアルにともない、毛髪水銀測定に関する展示文の校正を行った。

[業務期間の論文発表]

なし

[業務期間の学会発表]

なし