

ISSN 1345-2819

平成18年度

国立水俣病総合研究センター年報

第27号



環境省

国立水俣病総合研究センター

平成 18 年度国立水俣病総合研究センター年報の刊行にあたって

国立水俣病総合研究センターは、水俣病がわが国の公害の原点であること、歴史的背景と社会的重要性を考え合わせ、水俣病に関する総合的な調査・研究、及び国内・国外の情報の収集、整理、提供を行う機関として昭和 53 (1978)年、熊本県水俣市に設置されました。以後、さまざまな機構改革を経て現在も環境省の機関として活動しています。水俣病は公式に確認されて以来 50 年を経過しました。メチル水銀に関する研究のあり方や研究手法も当センター設立から 30 年近く経過し、大きく変容しています。現在の本センターには、研究機関としての活動とともに、地域への成果の還元や地域に根ざした活動が求められています。

本年報は、平成 18 年度 1 年間の活動実績を報告するものです。このため、研究活動については、研究企画会議で承認された開発研究のみならず、競争的資金による研究や国際共同研究についても概要を報告することとしました。また、業務活動についても具体的に報告することとし、あわせて、これまでの業務活動の年次推移を振り返ってみることとしました。

平成 19 年 3 月 31 日、平成 6 年に臨床部長として着任され、平成 15 年 7 月以来所長として本センターの活動に大きく貢献された衛藤光明前所長が退官されました。衛藤前所長の退官記念講演(平成 19 年 3 月 24 日)についても本年報に収録させていただきました。

平成 19 年度は 5 ヶ年計画で実施している本センターの活動の中間評価年にあたります。これまでの活動の成果を振り返りつつ、今後の活動方向を見定めていくこととなります。

皆様には、本センターの活動に一層のご理解をいただきますとともに、ご教示ご鞭撻を賜りますようお願い申し上げます。

平成 19 年 8 月

環境省 国立水俣病総合研究センター

所長 上家 和子

目 次

I. 国立水俣病総合研究センター概要

1. 組織・運営.....	1
2. 予 算.....	3

II. 研究

1. 開発研究

課題研究1 水俣病に関する研究.....	7
1. 新潟水俣病全剖検例の生化学的・病理学的検討.....	10
2. 水俣病患者の病像に関する研究.....	11
3. メチル水銀中毒の遅発性発症に関する研究.....	14
4. 胎児性・小児性水俣病患者の疫学調査.....	16
5. メチル水銀中毒の神経細胞障害のメカニズムに関する研究.....	19
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.....	21
7-a. メチル水銀の認知機能に及ぼす影響に関する研究.....	22
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.....	23
8. 公害発生地域の社会史に関する研究.....	26
9. 水俣病発生の社会的影響と地域再生に関する研究.....	27
課題研究2 低濃度メチル水銀のリスク評価に関する研究.....	28
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.....	30
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性へ及ぼす影響に関する研究.....	32

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—妊娠中の母体毛髪断片水銀濃度と出産時における児の毛髪、母体血および臍帯水銀濃度との関連—	34
4-a. 胎児期のメチル水銀曝露の健康影響に関する研究	36
4-b. 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	37
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	39
6. 妊娠中生活習慣および出生後発育と臍帯水銀濃度に関する研究	41
課題研究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	43
1. 水俣病におけるバイオマーカーの探索	45
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	47
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	49
4. 環境レベルメチル水銀の生体影響に関する研究—メチル水銀亜急性毒性への影響—	51
5. 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	55
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	57
7. メチル水銀中毒の治療方法に関する研究	60
8. 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	62
9. 水銀曝露におけるメタロチオネイン動態における研究	64
10. 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	67
課題研究4 水銀の環境科学に関する研究	71
1. 水俣湾の水銀耐性菌の遺伝学的研究	73
2. 海域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	75
b. 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	77
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回収技術の開発	78
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	81

5. 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.....	84
6. 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.....	86
2. その他研究	
科学研究費補助金	
1. 胎児期に受けたメチル水銀の神経系及び生理的老化に及ぼす後影響に関する研究.....	88
2. mRNA 監視機構を標的とした遺伝性神経疾患の治療に関する基盤研究.....	89
3. 土壌の理化学特性変化に伴う土中水銀の形態変化とその可溶化について.....	90
国際共同研究	
1. 中国における水銀鉱山労働者における高濃度水銀蒸気曝露と毛髪中メチル水銀濃度.....	95
2. 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.....	96
3. Bordeaux大学およびMarie Curie大学との国際共同研究	
-フレンチギアナ河川汚染による人体への健康影響に関する実験的研究-.....	97
4. タンザニアにおける金採掘に伴う水銀汚染とその健康影響に関する共同研究.....	98
5. 環境試料中、メチル水銀の超微量定量法に関する精度管理と相互比較.....	99
6. 中国における水銀の人為的な環境汚染及び住民の疫学的調査に関する研究.....	100
7. 長江流域の自然環境と地域住民の水銀汚染調査.....	101
8. アジア地域における水銀廃棄物及び金採掘由来水銀汚染に関する研究.....	102
重金属等の健康影響に関する総合研究 研究班構成（国水研関係）.....	103
3. 客員研究一覧.....	104
4. 共同研究一覧.....	105
5. 研究発表一覧.....	106

Ⅲ. 業務

業務1 水俣病対策に関する業務.....	116
1. 水俣病患者のリハビリテーション.....	117
2. 水俣病発生地区住民の健康影響.....	120
3. 水俣病患者の症状経過・生活状況に関する研究.....	121
4. 介護予防等在宅支援モデル.....	122
5. 地方自治体への協力（検診・認定申請書類審査助言）.....	124
業務2 水俣病対策の普及・啓発に関する業務.....	125
1. メチル水銀汚染地域住民の健康増進への取り組み（健康相談、毛髪測定等）.....	126
2. 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.....	128
3. 健康セミナー.....	129
4. 国立水俣病総合研究センター一般公開.....	130
業務3 国際協力に関わる業務.....	131
1. 国際共同研究事業の推進.....	132
2. 開発途上国からの来訪者の研修指導.....	141
3. NIMDフォーラム 2006 II.....	143
4. 世界の水銀汚染地域住民の毛髪の水銀調査.....	144
5. カザフスタン共和国ヌラ川水銀モニタリングに係る技術移転.....	145
業務4 その他	
1. 所内セミナー.....	146
2. 所内研究発表会.....	158
平成18年度人事異動.....	160

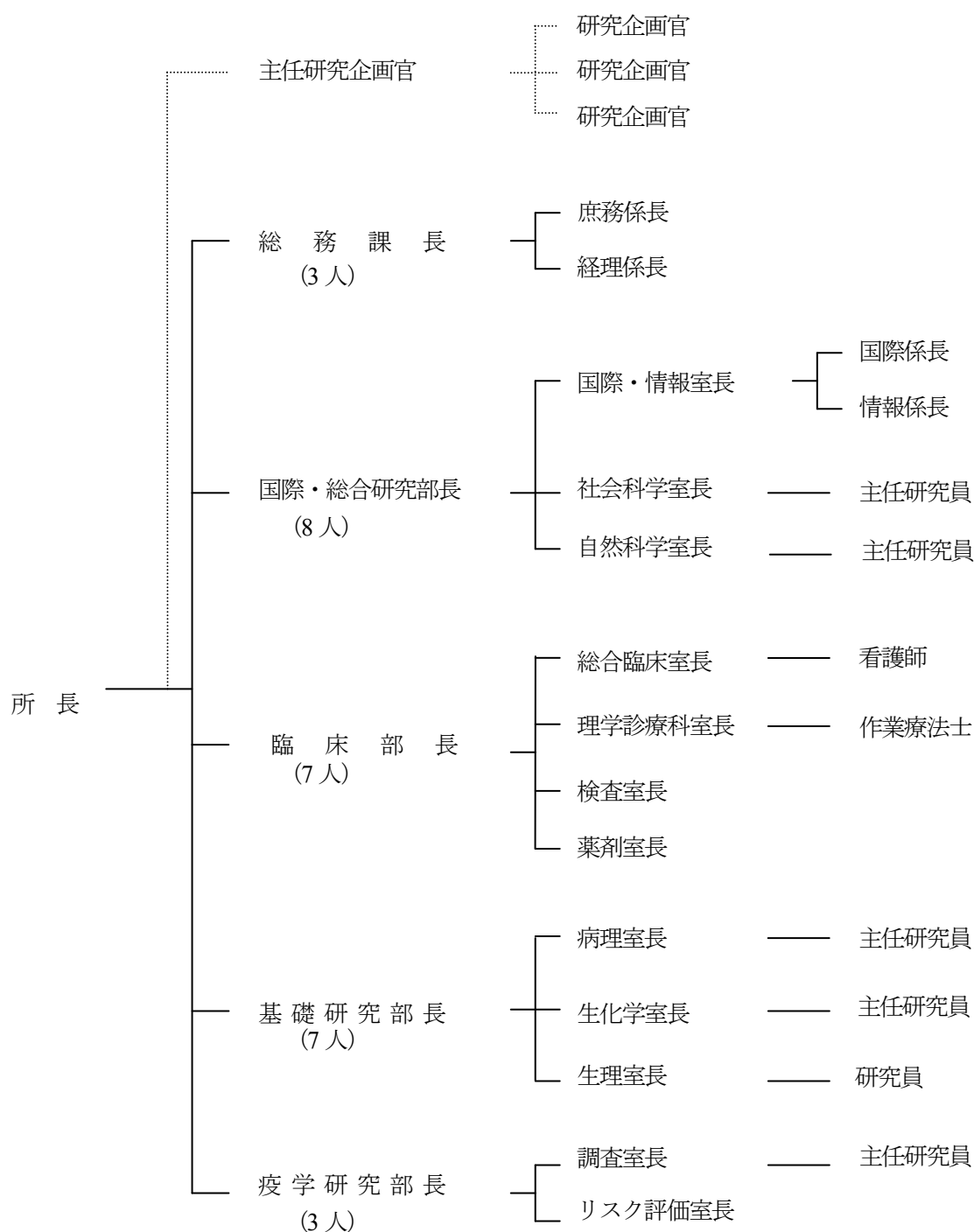
I. 国立水俣病総合研究センター概要

1. 組織・運営

(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 19 年 3 月 31 日現在)

所長	技 官	衛藤 光明	○臨床部		
○総務課			臨床部長	技 官	若宮 純司
課長	事務官	須藤 伸一	臨床総合室長	同	中村 政明
庶務係長	同	川久保康範	理学診療科室長	同	臼杵扶佐子
経理係長	同	下田 貴之	検査室長	同	宮本謙一郎
	同	井上 勉	薬剤室長	同	村尾 光治
	事務補佐員	森 富美子	看護師	同	宮本 清香
	同	坂本まり子	作業療法士	同	遠山さつき
	同	森山 昌子		事務補佐員	古澤美代子
	同	江口 靖夫		同	津下 恵
	同	東田 晃一	○基礎研究部		
○国際・総合研究部			基礎研究部長	技 官	中村 邦彦
国際・総合研究部長	技 官	坂本 峰至	病理室長	同	藤村 成剛
国際・情報室長	事務官	植田 孝次	病理室研究員	同	澤田 倍美
国際係長	同	永井 克博	生化学室長	同	安武 章
情報係長	同	山内 義雄	生化学室主任研究員	同	永野 匡昭
社会科学室長	技 官	蜂谷 紀之	生理室長	同	山元 恵
社会科学室研究員	同	新垣たずさ		事務補佐員	日高くるみ
自然科学室長	同	保田 叔昭		同	荒竹 寛代
自然科学室研究員	同	丸本 幸治	○疫学研究部		
	事務補佐員	小坂 和美	疫学研究部長 (併)	技 官	坂本 峰至
	同	淵上美登利	調査室主任研究員	同	劉 暁潔
	同	塘添ゆかり	調査室研究員	同	本多 俊一
			リスク評価室長	同	松山 明人
				事務補佐員	山口由美子
				同	谷口 陽子

(定員 29 人 現員 29 人)

2. 予 算

(1) 予算

(当初予算 単位：千円)

区 分	平成 14 年度	平成 15 年度	平成 16 年度	平成 17 年度	平成 18 年度
人 件 費	(254,760) 264,965	(76,256) 79,832	(-) -	(-) -	(-) -
事 務 費	(90,750) 97,162	(95,474) 101,740	(102,455) 108,716	(112,619) 118,520	(111,537) 116,295
研 究 費	(281,778) 293,991	(304,044) 318,271	(312,448) 329,138	(380,255) 401,525	(448,671) 463,338
施 設 整 備 費	(0) 0	(297,793) 298,148	(291,311) 291,853	(121,770) 122,047	(285,320) 285,752
計	(627,288) 656,118	(773,567) 797,991	(706,214) 729,707	(614,644) 642,092	(845,528) 865,385

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

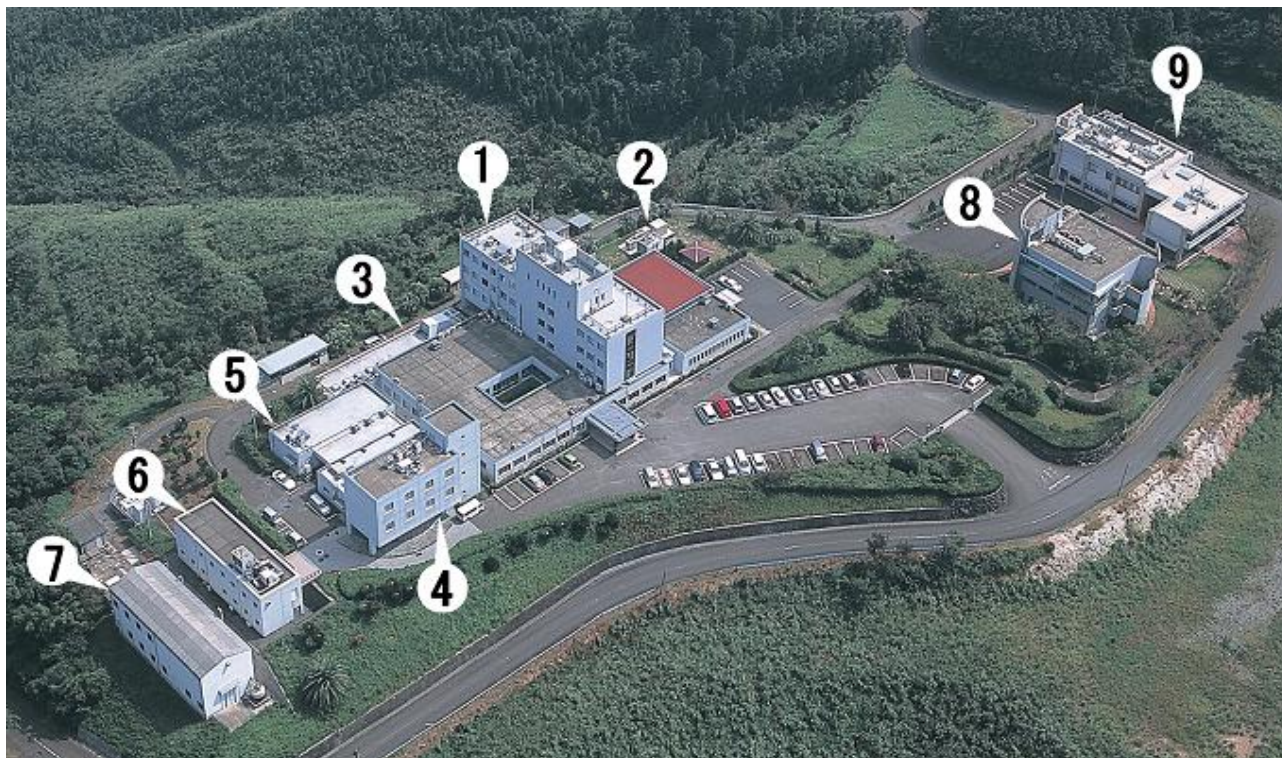
(2) 定員

区 分	平成 14 年度	平成 15 年度	平成 16 年度	平成 17 年度	平成 18 年度
総 務 課	4	4	4	4	4
国際・総合研究部	7	8	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	3	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 ²	昭和53年 3月竣工
小動物実験棟	196.98	〃
車庫	35.94	〃
特殊ガス・プロパン庫	20.32	〃
S P F 動物実験棟	146.38	昭和60年 3月竣工
中大動物実験棟	231.65	昭和61年11月竣工
R I 実験棟	305.80	昭和63年 3月竣工
リサーチ・リソース・バンク	496.78	平成 8年 3月竣工
国際研究協力棟	806.95	平成 9年 7月竣工
廃液処理棟	299.10	平成12年 3月竣工
水俣病情報センター	1808.94	平成13年 3月竣工
共同研究実習棟	894.50	平成17年 5月竣工

(4) 施設配置図



国立水俣病総合研究センター

<所在地> 〒867-0008 熊本県水俣市浜 4058-18

- | | |
|-------------------|--------------|
| 1. 管理研究棟 | 6. アイソトープ実験棟 |
| 2. リハビリ棟 | 7. 特殊廃液処理棟 |
| 3. 臨床棟 | 8. 国際研究協力棟 |
| 4. リサーチ・リソース・バンク棟 | 9. 共同研究実習棟 |
| 5. 動物実験棟 | |



水俣病情報センター

<所在地> 〒867-0055 熊本県水俣市明神町 55-10

【リサーチ・リソース・バンク棟】

本施設は、水俣病に関する過去のメチル水銀中毒実験や熊本県および新潟県の剖検資料を保存して、研究者に研究資料として提供する事を目的として、平成 8 年 4 月に開設されました。1 階の展示室には研究者の最近の研究内容やリハビリテーションで作製された作品等を展示してあります。また、国内外の来訪者に水俣病に関する講義を行うための施設を備えています。2 階には資料の保管および実験室等があります。また、3 階は組織培養室となっています。祭日を除く月曜日から金曜日までの午前 10 時から午後 4 時まで、来訪者に公開しています。

【動物実験棟】

本施設は SPF（特殊病原菌非汚染）動物実験棟、中大動物実験棟及び小動物実験棟の三棟で構成されており、飼育室、P2 レベル飼育室、手術解剖室、行動実験室、生理実験室、処置室、洗浄室を備え、温度、湿度、換気、照明などの環境因子が適切に制御されています。SPF 棟はエアシャワー、オートクレーブ、パスボックス、パスルームなどが備えられ、可能な限りの微生物制御が行われています。このように本施設では SPF 動物を含めて、遺伝子改変マウス、ラット、ウサギ、鳥、サル等の実験動物を収容し実験に利用することが可能になっています。

【アイソトープ実験棟】

放射性同位元素（RI）は多くの分野で幅広く用いられ、有用な研究手法となっています。本施設には 4 つの実験室のほかに暗室、培養室や動物飼育設備があり、*in vitro*（試験管内）から *in vivo*（生体内）まで実験することができます。

【特殊廃液処理棟】

当施設は、水銀を始めとする有害重金属を含む、研究センターにおける実験廃液の無毒化処理をしています。実験廃液を、分別処理方式により 11 種類に分別し、噴霧燃焼ユニット、水銀処理ユニット、砒素・リン酸処理ユニット、重金属処理ユニット、希薄系処理ユニット等の各ユニットで無毒化処理が行われます。特に

水銀に関しては、処理廃水・排煙とも連続モニターで監視して、外部への漏出防止のために万全の態勢が確立されています。

【国際研究協力棟】

水銀汚染に関する国際的な調査・研究を図ることを目的とし、海外からの研究者に研究・宿泊場所等を提供するために、平成 9 年 7 月に開設されました。ここでは、水銀汚染の実態調査や技術移転等を中心とした共同研究を実施するとともに、国際シンポジウムや国際ワークショップ会場としても活用されています。

【共同研究実習棟】

共同研究実習棟では、当センターのリスク評価室および自然科学室のメンバーを中心に、環境中における水銀の動態が研究されています。特に水と土壌、大気中における水銀の動態に焦点をあてて研究を進めています。日常的に水俣湾やその周辺の河川に出かけ、試料サンプリングを行って定期的な水銀モニタリングを行うことも重要な仕事の一つです。また当研究実習棟では、国内研究者専用の宿泊設備（合計 8 室）が併設されています。従って今後、国内研究者との研究活動と共にその活用が大いに期待されています。

【水俣病情報センター】

水俣病情報センターは、国立水俣病総合研究センターの附属施設として平成 13 年に設置されました。水俣病情報センターは、(1)水俣病に関する資料、情報を一元的に収集、保管、整理し、広く提供するとともに、水俣病に関する研究を実施する機能、及び(2)展示や情報ネットワークを通じて研究者や市民に広く情報を提供する機能、ならびに(3)水俣病に関する学术交流等を行うための会議を開催する機能等を備えた施設です。これらの活動を通じて、水俣病についての一層の理解の促進、水俣病の教訓の伝達、水俣病及び水銀に関する研究の発展への貢献を目指しています。

II. 研 究

1. 開 発 研 究

課題研究1 水俣病に関する研究 Research on Minamata Disease

本研究課題は、水俣病の臨床医学的調査および研究を目的としている。

臨床医学的には、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について研究を進めている。

病理学的には、新潟水俣病全剖検例の生化学的・病理学的検討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。

実験的には、メチル水銀のグルタミン酸レセプターを介した脳神経細胞局在性傷害のメカニズムおよびメチル水銀の認知機能に及ぼす影響に関する研究を行っている。

社会学的には、水俣病発生の社会的影響と地域再生の研究や公害発生地域の社会史に関する研究を行っている。

それぞれの研究の平成 18 年度における研究概要を以下に列挙する。

[研究課題名と研究概要]

1) 新潟水俣病全剖検例の生化学的・病理学的検討

新潟県の水俣病関係剖検例 30 例について病理学的、生化学的に再検討を行った。新潟県には、小児水俣病、胎児性水俣病の剖検例はなく、成人例の中で、各々 1 例ずつの急性例、亜急性例の剖検例があった。水俣病認定例 25 例の中に、剖検後水俣病の病変を認めなかった症例が 2 例あった。これらの結果を「新潟水俣病関係 30 剖検例の病理学的・生化学的研究」として、日本衛生学雑誌（日衛誌）62, 70-88 (2007) に報告した。

2) 水俣病患者の病像に関する研究

水俣病患者の症状の経時的変化を多重ロジスティック解析を用いて検討したところ、水俣病患者の症状は、

全体としては変わらないが、種々の疾患や高齢化にともなう症状など様々な症状が経時的に増加していることが判明した。上記の解析に用いた神経学的所見は多くの神経内科医により行われたため、客観性に欠けるといった欠点があるため、剖検所見から判定された結果に基づいて神経学的所見に関する多変量解析を行うことにした。現在、データベースを作成中である。

3) メチル水銀中毒の遅発性発症に関する研究

メチル水銀中毒の遅発性発症の存在および臨床像を明らかにするために、熊本県、新潟県水俣病患者の臨床・疫学データを解析した。その結果、新潟県の横雲橋より上流地域を除く地区では、昭和 40 年 6 月以降阿賀野川の漁獲および川魚の摂取を禁じていることから、メチル水銀中毒の遅発性発症を検討するのに適当な集団であることが判明した。

4) 胎児性・小児性水俣病患者の疫学調査

昭和 25 年以後に生まれた胎児・小児性水俣病患者 39 名（男性 20 名、女性 11 名）の現在と 10 年前の機能障害の程度について調査を行った。同時に、重症心身障害者の調査と比較検討することにより、その特徴を明らかにするとともに、その支援策について検討した。その結果、胎児・小児性水俣病患者では、重症心身障害者と比較して、移動、排尿の介助でより介助を必要とし、食事の介助、入浴では介助の程度があまり変わらないことが判明した。

5) メチル水銀中毒の神経細胞障害のメカニズムに関する研究

グルタミン酸受容体阻害剤を用いた実験より、メチル水銀の標的細胞の主体はグルタメートレセプターであり、グルタメートレセプターのチャンネルが開くこ

とによって毒性が発現することが判明した。インドメサシンで大脳病変が完全に抑制されていたことから、メチル水銀に曝露されると、細胞膜から放出されたアラキドンサンによってグルタメートニューロンの前シナプスからグルタミン酸が過剰に放出されて毒性が発現することが判明した。これに対して小脳は完全には抑制されなかった。小脳顆粒細胞ではメチル水銀投与で NOS が活性化されることや、大脳では NO 産生細胞が全体のせいぜい 1% であるのに対して小脳顆粒系の細胞はそのほとんどが NO 産生細胞であることから、NO によるものと推定された。

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

低濃度メチル水銀の脳への微細な変化の有無を検討するために、ロチェスター大学成人脳 4 例およびセイシェル共和国成人剖検例 4 例の大脳、小脳の病理標本を作製し、ヘマトキシリン・エオシン染色、神経系特殊染色であるクリューバ・バレラ染色、GFAP 染色、ニューロフィラメント染色を施した。また、水銀組織化学反応を行って無機水銀顆粒の沈着の有無を検討した。その結果、光学顕微鏡的検索で、大脳 および小脳共に、セイシェル諸島の剖検例とロチェスター大学の対照例との相違は認めなかった。水銀組織化学反応ではいずれも陰性であった。今後は、ロチェスター大学で、対象例の臨床経過、生活歴および水銀濃度測定結果を参考にして後日公開されることになるものとする。

7) a. メチル水銀の認知機能に及ぼす影響に関する研究

酸化ストレスが A β 産生/沈着および Tau 蛋白質リン酸化/沈着を促進するという報告が多数なされている。メチル水銀は酸化ストレスを引き起こすことから、メチル水銀が A β 産生および Tau 蛋白質リン酸化を促進し、記憶障害を引き起こす可能性がある。これまでに、我々は海馬、海馬傍回での Tau 蛋白質の出現率は新潟水俣病患者に有意に多く、出現部位は、新皮質と古皮質の境界部位であることを明らかにした。現在、メチル水銀の長期間投与モデル動物（マーモセット）を作成して、病理組織を観察しているところである。さらに、

塚田らとの共同研究で、PET による A β 蛋白質の定量法を用いてカニクイサルでメチル水銀投与前後の A β 蛋白質計測を行うことになった。

7) b. Tau 蛋白質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

認知症に深く関与している Tau 蛋白質リン酸化の増悪因子としては環境毒も候補物質と考えられていることから、メチル水銀による Tau 蛋白質のリン酸化と神経変性におよぼす作用についてメチル水銀急性給水モデルを用いて検討した。その結果、メチル水銀曝露は大脳皮質および線条体に Tau 蛋白質リン酸化を引き起こし、神経細胞死を誘導することが示唆された。しかしながら、GSK3 の活性化との関連については明らかではなかった。

8) 公害発生地域の社会史に関する研究

本年度は引き続き水俣病患者・支援者へ水俣病発生当時から聞き取り調査を行うとともに福祉関係者から現在の生活状況について聞き取り調査を行った。また、昨年度の課題として指摘された時間の経過や社会状況の変化によって水俣病に関する写真や映像資料などの公開にあたって実際の報道現場の対応やこれまでの経緯や写真や映像資料の状況について調査したところ、各報道機関で使用されている公開基準の共通の課題（複写やインターネットへの対応など）が判明した。

9) 水俣病発生の社会的影響と地域再生に関する研究

水俣病の社会的影響について解明し、水俣病問題の教訓を後世に伝えるとともに、地域融和と再生を含む地域社会の発展に資するため、関係者および熊本県および鹿児島県内にある 13 の患者団体・支部に対して生活実態や支援ニーズについての聞き取り調査を実施した。この結果、一般的な生活支援への要望、介護や福祉などに関する要望、認定・救済制度への意見・要望、地域における差別の問題や地域融和に関する意見・要望、医師や病院の不足など医療への要望などが出された。これら各団体の意見は、被害者や家族の高齢化等と関連する将来不安を背景としている点で共通性がみられた。その他、高齢化し一人暮らしに

なった患者の生活状況の悪化と支援の必要性を訴える声などが聞かれた。

1. 新潟水俣病全剖検例の生化学的・病理学的検討

Pathological and biochemical studies of all autopsy cases concerned with Niigata Minamata disease

[担当者]

○衛藤 光明 (所長)
高橋 均 (新潟大学)
柿田 明美 (新潟大学)
徳永 英博 (熊本大学)
安武 章 (基礎研究部)
中野 篤浩 (みなまた環境テクノセンター)
澤田 倍美 (基礎研究部)
金城 芳秀 (沖縄県立看護大学)

性例の1例の小脳病変は、コモン・マーモセット実験の急性メチル水銀中毒と極めて類似した、小脳分子層の多発性水腫性病変を認めた。この病変は熊本県の剖検例では見られていない。

[文献]

1) 衛藤光明, 高橋均, 柿田明美, 他: 新潟水俣病関係 30 剖検例の病理学・生化学的研究. 日本衛生学会誌 62, 70-88, 2007.

[期間]

平成 12~18 年度

[背景および目的]

新潟県の水俣病関係剖検例 30 例について病理学的、生化学的に再検討を行い、熊本県の水俣病関係の剖検例との比較検討を行うこと、また、それらの症例を当センターの研究・リソース・バンクに保管することを目的としている。

[方法]

平成 12 年から 18 年まで、新潟大学脳研究所で剖検・保管されている水俣病関係剖検例のプロトコールおよび改めて作製された組織標本を再検索する。また、保管されていたホルマリン固定の脳、小脳、肝臓、腎臓の総水銀、メチル水銀、無機水銀およびセレン濃度を測定する。さらに、脳、小脳、肝臓、腎臓について水銀組織化学反応を施して検索する。

[結果]

下記論文に詳述してあるので参照。

[考察]

新潟県には、小児水俣病、胎児性水俣病の剖検例はない。成人例の中で、各々1例ずつの急性例、亜急性例の剖検例があった。水俣病認定例 25 例の中に、剖検後水俣病の病変を認めなかった症例が 2 例あった。急

2. 水俣病患者の病像に関する研究 Study on the clinical features of Minamata Disease

[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 (熊本大学)
有村 公良 (鹿児島大学)
秋葉 澄泊 (鹿児島大学)
安藤 哲夫 (鹿児島大学)
衛藤 光明 (所長)
高橋 均 (新潟大学)

[期間]

平成 17~21 年度

[背景および目的]

国内では、水俣病の診断基準が大きな社会問題となっている。また、海外でも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。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、研究をおこなって国内の診断基準の問題に一定の方向性を示すとともに、国際貢献を行うことができるように水俣病の診断法を確立するものとする。

[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。また、病理解剖で判定された水俣病認定者と棄却者の神経所見について比較検討を行う。

[進捗状況]

昭和 48 年までの神経検診で水俣病認定者群と、非認定者群について多重ロジスティック解析をおこない、得られた判別式を用いて認定申請者の判別値を計算し、昭和 60 年までに診察をおこなった水俣病認定申請者

中、資料が入手できた熊本県水俣病認定申請者 3303 名 (非認定者 2048 名、認定者 1254 名)、および鹿児島県水俣病認定申請者 1139 名 (非認定者名 865 名、認定者 274 名)、を対象とし認定申請者全体、認定者、非認定者について診察年で時系列解析を行った。なお、各判別式の正診率 (認定者を認定者として判別し、非認定者を非認定者として判別する率) は、91%であった。

熊本

男性 : $\text{logit}(Y) = -4.669 - 0.026a + 2.716b + 3.204c + 1.111d + 2.332e + 2.821f - 3.251g - 4.664h - 4.689i + 1.351j + 3.883k + 2.274l$

女性 : $\text{logit}(Y) = -4.969 - 0.053a + 2.239b + 3.699c + 2.598d - 1.992m - 4.244n + 4.946o + 2.820p + 1.368q$

ただし、a:診察時年齢, b:口周知覚障害, c:運動転換障害, d:指鼻試験障害, e:膝踵試験拙劣, f:深部感覚障害, g:根性分布, h:感覚系左右差, i:バビンスキー徴候, j:ロンベルグ徴候, k:視野狭窄, l:眼球運動障害, m:上肢左右差, n:膀胱直腸障害, o:手袋・靴下型感覚障害, p:歩行障害, q:平均聴力低下とする

鹿児島

男性 : $\text{logit}(Y) = -1.337 - 0.085a + 3.380b + 3.232c + 3.078d + 5.218e - 2.703f$

女性 : $\text{logit}(Y) = -5.875 - 0.065a + 2.438b - 3.867g + 4.444h + 2.787d - 2.458i + 1.767j + 1.766k + 6.009l - 4.836m + 2.521n + 1.369o$

ただし、a:診察時年齢, b:口周囲知覚障害, c:上肢不随意運動, d:指鼻試験障害, e:深部感覚障害, f:上腕二頭筋亢進, g:上肢筋萎縮, h:運動転換障害, i:上肢左右差, j:下肢脱力, k:膝踵試験拙劣, l:手袋・靴下型感覚障害, m:上腕二頭筋低下, n:とう骨反射低下, o:平均聴力低下とする。

その結果、熊本では、認定申請者全体の年次推移を見ると、徐々に低下していた。性・年齢で調整すると、有意に低下していることがわかった。また、性・年齢・処分で調整すると、少し上向きに推移していた。

このように、認定申請者全体の判別値は非認定者と認定者の割合で容易に変化するため、病像を明確にするためには、処分別に推移をみる方が適当であると考えられた。そこで、認定者についてみてみると、性・年齢で調整すると、認定者群の判別値は有意に低下していることがわかった。これに対し、非認定者群の判別値は有意に増加しており、認定者の判別値と逆の方向性をもつことがわかった。そこで、病像が似ている鹿児島県²⁾をみてみると、認定申請者全体の判別値は有意に低下しており、熊本県と同様の傾向を持つことがわかった。また、認定者群と非認定者群の判別値を見てみると、認定者の判別値は、対象期間で徐々に低下していたが、非認定者の判別値は、対象期間で徐々に上昇していた。全年度では有意ではないが、昭和60年(1985年)を除けば、有意であることを考えると、熊本県と同様の傾向を持っていると考えられた。認定者群の判別値については、認定者の追跡調査で症状が改善するとして報告が多いこと^{3) 4)}、症状の重いものや明確なものの方がはやく申請する可能性があることと符号する結果である。これに対し、非認定者群の判別値は、熊本県と同様、認定者の判別値と逆の方向性をもつことがわかったが、この理由については、本研究では明確にすることはわからなかった。

また、対象期間の中間である昭和53年前後で認定者群の神経所見を比較すると、女性では、昭和53年以降に運動転換障害、視野狭窄、眼球運動障害といった判別上重要な因子¹⁾は、負の値をとっており、症状が軽減していることがわかった。また、根性感覚障害や視野非対称といった他疾患によると思われる項目は正の値をとっており、全体として増えていることがわかった。つぎに、男性では、昭和53年以降に運動転換障害、指鼻試験障害、手袋・靴下型感覚障害といった判別上重要な因子¹⁾は、負の値をとっており、全体的に症状が軽減していることがわかった。すなわち、判別上で重要である項目以外の神経項目が加わっていないこと、判別係数の絶対値がほぼ同じ値であることから昭和53年以降の認定者群は、昭和52年以前の認定者群と比較して全体として病像に大きな変化がないものの症状は軽いことがわかった。この際、歩行障害、視野非対称といった項目が全体として増えており、年

が進むにつれて水俣病としての症状が軽減したことに加えて様々な症状を有する認定申請者が増えていると考えられた。また、非認定者群の神経症状を昭和53年前後で比較すると、昭和53年以降の方が運動制限、下肢脱力、膀胱直腸障害、反射左右差、歩行障害、視野非対称、鼓膜の異常所見といった症状が増加していることから加齢影響や他疾患による症状が増加していると考えられた。いいかえれば、諸々の症状をもつものが増えていることから申請が広く行われたことを示すものと考えられた。また、対象期間中、非認定者群の平均判別点が上昇していることから水俣病と類似した症状をもつ疾患が増加していると考えられる。この事実と、認定者群と非認定者群の平均判別点が明確に異なっていることを考え合わせると、判別上重要な因子が軽減し、合併症や加齢性の症状が増加するという診断が容易でない状況にあって、全体として水俣病の症状に関して鑑別が適切に行われたと考えられた。

以上より、経時的にみると、水俣病患者の症状は、水俣病の症状は全体としては、初期の病像を保っているが、種々の疾患や高齢化にともなう症状など様々な症状が経時的に増加していることから、熊本県に関して水俣病の経過をみるための判別式をうるためには、種々の要因を入れて解析するより初期の認定申請者を対象としたほうが望ましいと考えられた。

つぎに、昭和48年までの熊本県水俣病申請者を対象、10年間にわたり神経検診をおこなってきた鹿児島県の非曝露地域住民1200名の神経所見を対照として多重ロジスティック解析を行った。対照地域では、神経所見をあるかないかの0、1データとしたために水俣病診断や経過観察に適切な判別式をえられなかった。

上記は、認定審査の結果をもとにしているため神経専門医の専門的知識が入るといった利点がある一方客観性にかけるといった欠点もある。そこで、ゴールドスタンダードに近いものとして剖検所見から判定された結果に基づいて水俣病神経所見に関する多変量解析をおこなうこととした。現在データベースを作成中である。

[文献]

- 1) 内野誠, 箕田修治, 若宮純司, 他: 水俣病認定患者の追跡調査, 水俣病認定患者における神経症候の多変量解析. 有機水銀の健康影響に関する研究, 49-54, 2000.
- 2) 内野誠, 箕田修治, 若宮純司, 他.: 水俣病の神経症候に関する研究 : 水俣病の神経症候の地域差について. 水俣病検診・審査促進に関する調査研究, 5-12, 2002.
- 3) Uchino M, Hirano T, Satoh H et al: The severity of Minamata Disease declined in 25 years -Temporal profile of the neurological findings analyzed by multiple logistic regression model-Tohoku J Exp Med 205, 53-63, 2005.
- 4) 有村公良, 若宮純司, 中川正法, 他: 水俣病認定患者における神経症状の経時的変化. 有機水銀の健康影響に関する研究, 2001, 73-78.

3. メチル水銀中毒の遅発性発症に関する研究 Study on the late onset of methylmercury poisoning

[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)

[期間]

平成 17~21 年度

[背景および目的]

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、その存在や臨床像については明確ではない。特に、メチル水銀曝露後、老化によって予備能力が減少して発症する可能性が指摘されているが、いいかえれば、曝露者が老化によって発症する可能性があることになる。上記の問題点について検討することは重要な意味をもつ。そこで、熊本県、新潟県の水俣病患者の臨床・疫学的データを解析する。

[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。

[進捗状況]

熊本県、新潟県水俣病患者の疫学データを収集し、四肢末梢のしびれについて検討をおこなった。部位と発症時期が明確に記載されている水俣病患者を対象として発症時期と人数について相関関係をみた。その結果、熊本県では対象者は740例であり、図1のように、昭和52年以前に診察したものは、昭和25年頃から昭和35年のピークにむけて徐々に上昇し、昭和50年頃にむけて徐々に下降してゆくパターンをとっていた。

人数

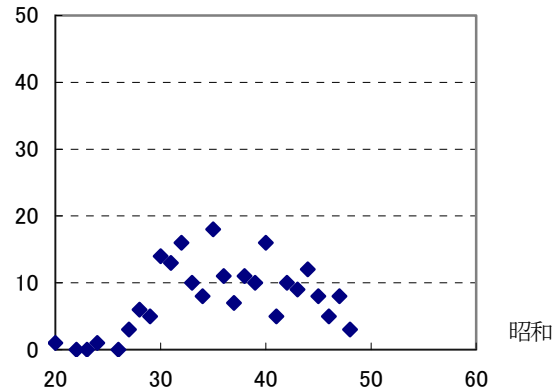


図1. 昭和52年以前に診察した熊本県認定者

人数

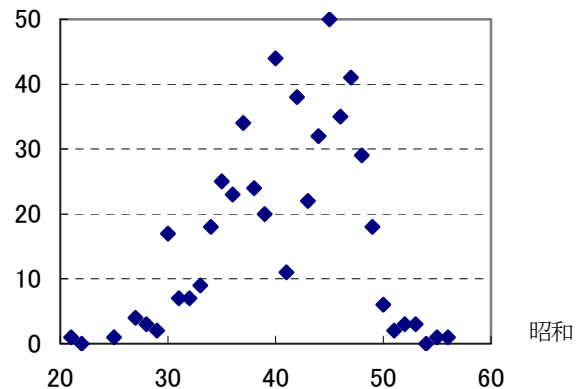


図2. 昭和53年以降に診察した熊本県認定者

これに対し、昭和53年に診察したものは、図2に見るように、図1と同様のパターンをとっていたが、ピークは昭和45年前後にあり、図1より右にシフトしていた。神経症状を昭和52年前後と比較して、昭和52年以前より昭和53年以降の方が軽症であることが判明した昨年度の研究結果と両者のピークと診察年との関係が同じであることを考えあわせると、メチル水銀の曝露量は、昭和52年以前の方が昭和53年以降より集団としては多いことが推定された。また、カーブが緩徐であることから曝露は徐々に起き、徐々に治まっ

たことが推定された。したがって、汚染魚の摂取をやめていない可能性が考えられ、遅発性を検討するには適当な集団ではないことがわかった。つぎに、新潟県をみると、対象者は435例であり、図3のように、豊漁であった昭和37年を除けば、昭和39年から急峻に立ち上がり、40年をピークとして下降していた。このことから曝露は熊本県とは異なり、急激であったと考えられた。新潟県は、昭和40年6月以降阿賀野川の漁獲および川魚の摂取を禁じていることを考えあわせると、遅発性発症を検討するのに適当な集団と考えられる。今後、横雲橋より上流地域では川魚の摂取禁止が十分行き届いておらず、対象から除外して検討する予定である。

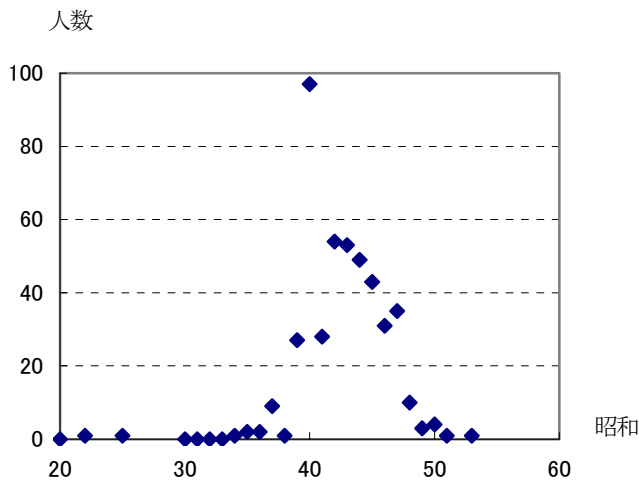


図3. 新潟県認定者

4. 胎児性・小児性水俣病患者の疫学調査 Study of Epidemiology in fetal Minamata disease patients

[担当者]

- 劉 暁潔 (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 (やすらぎ園)
- 有村 公良 (鹿児島大学)
- 蜂谷 紀之 (国際・総合研究部)
- 衛藤 光明 (所長)

[期間]

平成 15~20 年度

[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 50 年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の対策作りに情報提供の資料なると考えられる。

[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 39 名を対象に、現在の健康状態、認知能力、社会への適応能力、日常生活能力、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。

[結果および考察]

調査表に基づき、昭和 25 年以後に生まれ、胎児・小児性水俣病患者 39 名 (男性 20 名、女性 11 名) の現在と 10 年前の機能障害の程度について調査を行った。そ

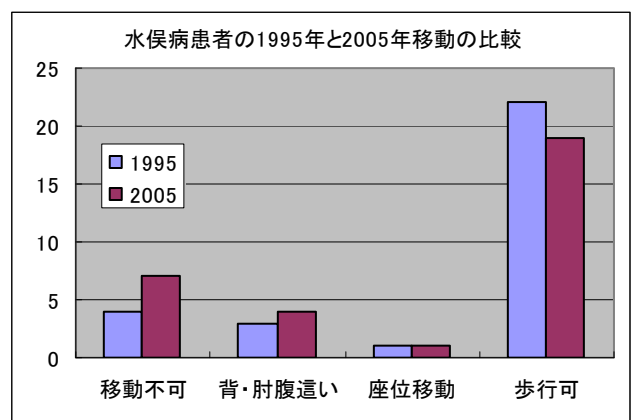
の中に水俣病による中枢神経障害に起因する症状の他に、四肢の疼痛、股関節変形、頸部神経根障害などの重症心身障害児・者に見られる二次障害と類似の障害が加わり、患者の ADL を著しく障害する症例が見られる。これらの二次障害が一般の重症心身障害児や重度肢体不自由児で見られる二次障害と同様であるのか、それとも胎児性水俣病に特有な症状なのかは明らかでない。

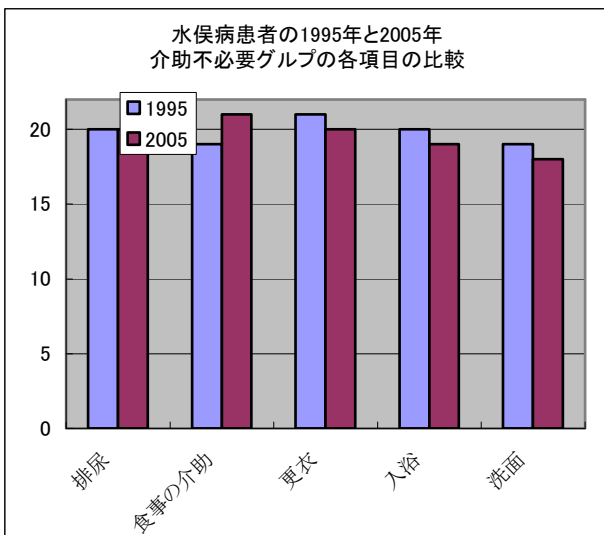
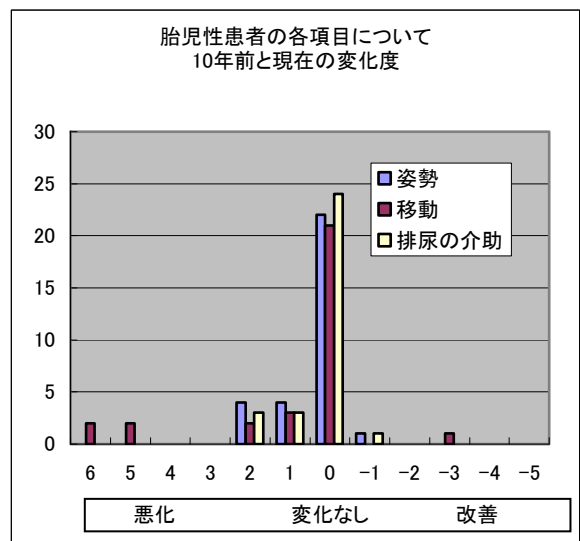
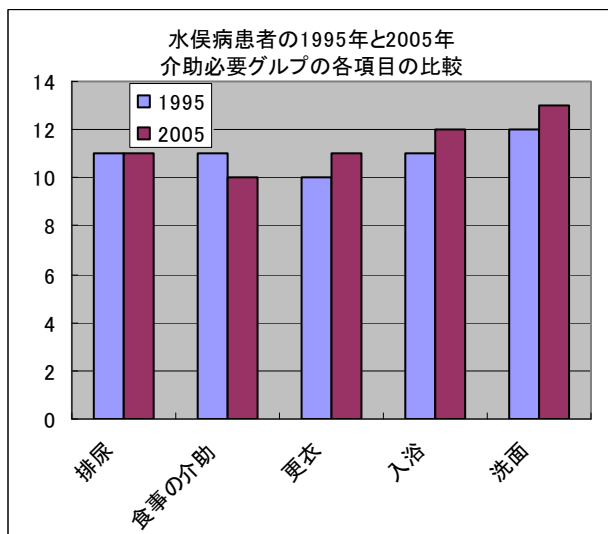
同時に、重症心身障害の施設の協力により、同様な調査を行った。両者を比較検討することにより、その特徴を明らかにするとともに、その支援策について検討する。

患者さんグループは主に三つに分けている。明水園、ほっとはうすと在宅患者である。現在解析済みの一部のデータを纏めた。

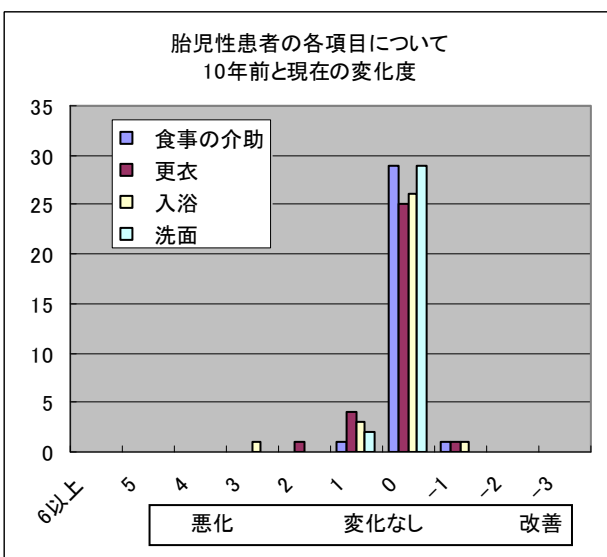
胎児性水俣病患者の調査結果

	移動不可	移動可能 歩行不可	歩行可能
明水園	4	3	7
ほっとはうす	0	1	6
在宅	1	0	9





	移動不可	移動可能 歩行不可	歩行可能
北海道療育園	6	16	7
芦北学園	9	22	1
名護養育園	9	6	3



胎児性患者調査における問題点：患者さんグループは31例について調査が進んだが、実際の調査は現在の社会的背景から、すべての患者の調査が行うことはかなりの困難である。知能検査などの詳細検査は明水園を除き、患者および家族の賛同を得ることが困難筋緊張異常などの臨床医学的問題は在宅患者以外に限られる。得られるデータの範囲内で比較にならざるを得ない。

調査票に基づき、40歳～55歳までの重症心身障害児施設に入所中の症例79名（男性：36名、女性43名）であった。現在と10年前の機能障害の程度について調査を行った。そのうち、沖縄県名護養育園は18名（男性：8名、女性10名）、北海道療育園は29名（男性：12名、女性17名）、芦北学園発達医療センターは32名（男性：16名、女性16名）であった。

両者の諸症状に対して、悪化した人数

人数	患者(31人)	対照(79人)
姿勢	6(19.4%)	12(15.1%)
移動	9(29.0%)	19(24.1%)
排尿の介助	6(19.4%)	10(12.6%)
食事の介助	1(3.2%)	8(10.1%)
更衣	5(16.1%)	13(16.5%)
入浴	4(12.9%)	12(15.2%)
洗面	2(6.5%)	6(7.6%)

5. メチル水銀中毒の神経細胞障害のメカニズムに関する研究 Study on mechanism of neuronal damage by methylmercury poisoning

[担当者]

- 若宮 純司 (臨床部)
- 村尾 光治 (臨床部)
- 宮本謙一郎 (臨床部)
- 中村 政明 (臨床部)
- 米田 幸雄 (金沢大学)
- 上原 孝 (北海道大学)
- 後藤 正道 (鹿児島大学)

[期間]

平成 17~21 年度

[背景および目的]

メチル水銀と NMDA 型グルタミン酸受容体阻害剤である MK-801 の同時投与により、メチル水銀幼若ラットにおける大脳皮質神経細胞障害が顕著に抑制されることがわかった。また、神経細胞障害の分布が NMDA 型グルタミン酸受容体の IIC と一致すること、障害部位は、臨床的には入力系統であることから、メチル水銀による神経細胞障害機序および局在性に興奮毒性作用を有するグルタメートニューロンが関係している可能性が示唆された。そこで、グルタメートニューロンとメチル水銀の脳局在性について関連を検討することとした。

[方法]

ラット、マーモセットを使用し、グルタミン酸受容体阻害剤を投与してメチル水銀の脳障害を抑制するかを検討する。また、メチル水銀の細胞死に関与する薬剤をくみあわせて、そのメカニズムを解明する。

[進捗状況]

本年度は、Wistar 系ラット雄 8 週齢を使用し、メチル水銀単独投与群と、メチル水銀と NMDA レセプターの拮抗剤であるキヌレニンの併用投与群、メチル水銀、キヌレニンと代謝型グルタメートレセプターの拮抗剤である AIDA の併用投与群について、大脳の錐体

細胞および小脳の顆粒細胞について病理組織を検討した。その結果、メチル水銀単独投与群では大脳、小脳とも変性が++~+++であったのに対し、キヌレニン併用投与群では顆粒細胞の変性が±~+、錐体細胞の変性が-~++と変性が抑制されていた。これに対し、キヌレニン・AIDA の併用投与群では顆粒細胞、錐体細胞の変性が±とさらに強く抑制されていた。以上より、メチル水銀の標的細胞の主体はグルタメートレセプターであり、グルタメートレセプターのチャンネルが開くことによって毒性が発現することがわかった。

つぎに、メチル水銀単独投与群と、メチル水銀とサイクロオキシゲナーゼ阻害効果とフォスホオリパーゼ A2 阻害効果も併せ持つインドメサシンの併用投与群について大脳の錐体細胞および小脳の顆粒細胞について病理組織を検討した。その結果、メチル水銀単独投与群では++~+++であったのに対して、インドメサシン併用投与群では小脳には±~+の変性が、大脳には病変は全く見られなかった。現在までにメチル水銀がアラキドンサンを細胞膜より放出させること、また、アラキドンサンはグルタメートニューロンの前シナプスからグルタミン酸を放出させること、アラキドンサンは細胞死を起こさせることが知られている。大脳についてみてみると、インドメサシンで完全に抑制されていたことから、メチル水銀に曝露されると、細胞膜から放出されたアラキドンサンによってグルタメートニューロンの前シナプスからグルタミン酸が過剰に放出されて毒性が発現することがわかった。これに対してインドメサシンでは小脳は完全には抑制されなかった。これは、小脳顆粒細胞ではメチル水銀投与で NOS が活性化されること、大脳では NO 産生細胞が全体のせいぜい 1%であるのに対して小脳顆粒系の細胞はそのほとんどが NO 産生細胞であることより、NO によるものと推定された。NO ラジカル発生時に発現する PDI が大脳には出現していないが、小脳に限局して発現していることや NO によるアポトーシスはインドメサシンでは抑制できないこともよく符号する。しかし、NO が関与する細胞変性はきわめて少ないことがわか

った。キヌレニン・AIDA の併用投与でグルタメートレセプターのチャンネルを開かせないようにして NO を発生させないと、小脳、大脳とも変性は±と同じ程度に抑制されており、メチル水銀がニューロンに取り込まれること、インドメサシンでは完全にメチル水銀の毒性が抑制できることより、取り込まれたメチル水銀がアラキドン산을介して発現したものと考えられた。以上の実験結果が再現性のあるものかどうかについて現在、検討中である。

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

A neuropathological study of autopsy brains contaminated with low level exposure of methylmercury

[担当者]

○衛藤 光明 (所長)

安武 章 (基礎研究部)

澤田 倍美 (基礎研究部)

徳永 英博 (熊本大学)

Gary J. Myers (ロチェスター大学)

John L. O'Donoghue (ロチェスター大学)

[期間]

平成 15~18 年度

[背景および目的]

低濃度メチル水銀の健康影響は、世界の注目を浴び、特に感受性の強い胎児期の影響に関しては別途研究が進められている。しかしながら、成人に対する影響についての臨床病理学的研究は十分になされていない現状である。この度、米国ロチェスター大学医学部から低濃度メチル水銀の脳への微細な変化の有無を、対照例と比較して検討したいとの共同研究の依頼があった。低濃度のメチル水銀を長期間摂取することにより、人体剖検脳に病変を招来するか否かを検討することを目的とする。

[方法]

セイシェル諸島の成人例剖検例 (60 歳前後) 4 例と米国ロチェスター大学で剖検された成人例(60 歳前後) 4 例を対照として、大脳および小脳のパラフィン切片を送付してもらい、ヘマトキシリン・エオシン染色の他に、神経系特殊染色であるクリューバ・バレラ染色、GFAP 染色、ニューロフィラメント染色を施した。また、水銀組織化学反応を行って無機水銀顆粒の沈着の有無を検討した。

[進捗状況]

光学顕微鏡的検索で、大脳 および小脳共に、セイシェル諸島の剖検例とロチェスター大学の対照例との相違は認めなかった。水銀組織化学反応ではいずれも陰

性であった。その他の情報は ロチェスター大学が把握しており、当方には知らされていないためにこれ以上の結果報告は不可能である。

[考察]

依頼された標本の病理学的検索は終了したが、全ての標本に固定不良による所見と思われる所見が認められたために、詳細な所見の把握が困難であった。水銀組織化学反応も初回の標本で、ホルマリン色素との鑑別を要したが、再送された小脳標本で、脱ホルマリン色素を十分に行った結果、小脳ベルグマン層に見られた色素は水銀顆粒ではなく、ホルマリン色素であることが確認された。今後は、ロチェスター大学で、対象例の臨床経過、生活歴および水銀濃度測定結果を参考にして後日公開されることになると考える。

7-a. メチル水銀の認知機能に及ぼす影響に関する研究 Study on the effect of cognitive impairment by methylmercury

[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)
後藤 正道 (鹿児島大学)
塚田 秀夫 (浜松ホトニクス(株)中央研究所)

てメチル水銀投与を行い、病理組織を観察することとした。現在、血中濃度が $5\sim 8\mu\text{g/L}$ となるように調節しながら、投与中である。

[期間]

平成 17~21 年度

[背景および目的]

酸化ストレスが $\text{A}\beta$ 産生/沈着およびTau 蛋白リン酸化/沈着を促進するという報告が多数なされている。メチル水銀は酸化ストレスを引き起こすことから、メチル水銀が $\text{A}\beta$ 産生およびTau 蛋白リン酸化を促進し、記憶障害を引き起こす可能性がある。現在低濃度メチル水銀の胎児影響が国際的問題となっているが、成人に対するこの毒性は、魚食民である日本人にとって重要かつ早急に解決せねばならない問題である。

[方法]

マーモセットに1年から1.5年間給水にてメチル水銀投与を行い、病理組織を観察する。

[進捗状況]

現在までに新潟水俣病患者と熊本水俣病患者の剖検例について海馬、海馬傍回の $\text{A}\beta$ 蛋白とTau 蛋白の出現の有無について比較すると、脳血管障害者を除けば、Tau 蛋白の出現率は新潟水俣病患者に有意に多いこと、しかも、出現部位は、新皮質と古皮質の境界部位であることがわかった。また、SHSY5Y細胞を用いて無機水銀が酸化ストレスを誘発し、 β アミロイド蛋白の産生とTau のリン酸化を促進するというOlivieriらの報告があり、メチル水銀が $\text{A}\beta$ 蛋白の産生とTau 蛋白のリン酸化を促進している可能性がある。

10歳齢のマーモセットに1年から1.5年間給水で

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 Research on action of methylmercury in neurodegeneration that originates in Tau protein phosphorylation

[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)

[期間]

平成 17~21 年度

[背景と目的]

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、微小官重合抑制による神経変性疾患(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)を引き起こす。リン酸化された Tau 蛋白は、神経原線維変化(NFT) の内容物として残存するか、分解/消化されていると考えられている。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、認知症および情動変化を引き起こす様々な疾患に関連している。しかしながら、上記疾患の個体における進行速度にはバラツキがあり、Tau 蛋白のリン酸化の発症/増悪因子について様々な研究が行われている。発症/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^{1),2)}、砒素³⁾ および無機水銀⁴⁾ 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^{5,6)} については研究が行われていない。一方、ヒトにおけるメチル水銀と Tau 蛋白リン酸化についての報告としては、水俣病剖検例において Tau 蛋白の過剰リン酸化物である NFT の存在が確認されている⁷⁾ が、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⁸⁾ もある。現在、メチル水銀の環境曝露は問題^{9,10)} 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。

[方法]

1. 培養神経細胞

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 Tau 蛋白, Tau 蛋白量および神経細胞死等に対する作用について解析を行った¹¹⁾。

2. 動物実験

マウスにメチル水銀を投与し、大脳のリン酸化 Tau 蛋白, Tau 蛋白量および病理変化等についての解析を行った。

[結果および考察]

1. 培養神経細胞

培養神経細胞を用いた結果については、平成 17 年度年報および国際水銀会議¹²⁾ にて報告済。

2. 動物実験

2-1. メチル水銀慢性給水モデル

メチル水銀慢性給水モデル(10 ppm, 10 ヶ月)を用いた結果については、平成 17 年度年報にて報告済。

2-2. メチル水銀急性給水モデル

マウスにメチル水銀を(30 ppm, 1~8 週間) 給水曝露し、大脳半球の Tau 蛋白, リン酸化 Tau 蛋白および GSK3 活性化について解析を行った。その結果、8 週間曝露群において、7 例中 3 例に Tau 蛋白リン酸化の増加が観察された。その Tau 蛋白リン酸化部位は、Tau 蛋白リン酸化神経疾患と同様の Tau 蛋白リン酸化部位であった (Fig.1)。また、Tau 蛋白リン酸化酵素の一つである GSK3 の活性化について検討した結果、4 週目から 6 週目にかけて GSK3 の活性化が確認されたが、その活性化は 8 週目では認められなかった (Fig. 1)。さらに、Tau 蛋白リン酸化の増加が観察されたマウス脳について NeuN 免疫染色(生存神経細胞に特異的)、TUNNEL 染色(アポトーシス細胞に特異的)を用いて組織学的検討を行った。その結果、本マウス脳は、メ

チル水銀無処置マウス脳と比較して、大脳皮質および線条体に生存神経細胞数の減少が観察された。また、線条体ではアポトーシス神経細胞が観察された (Fig. 2A-F)。一方、海馬では生存神経細胞数の減少、アポトーシス神経細胞に観察されなかった (Fig. 2G-I)。

以上のことから、メチル水銀曝露は大脳皮質および線条体に Tau 蛋白リン酸化を引き起こし、神経細胞死を誘導することが示唆された。しかしながら、GSK3 の活性化との関連については明らかではなかった。

なお、メチル水銀急性給水モデルにおける結果については、北陸大学フロンティア・サテライトミーティング～食品汚染金属の毒性とその防御の分子メカニズム～¹³⁾にて報告済。

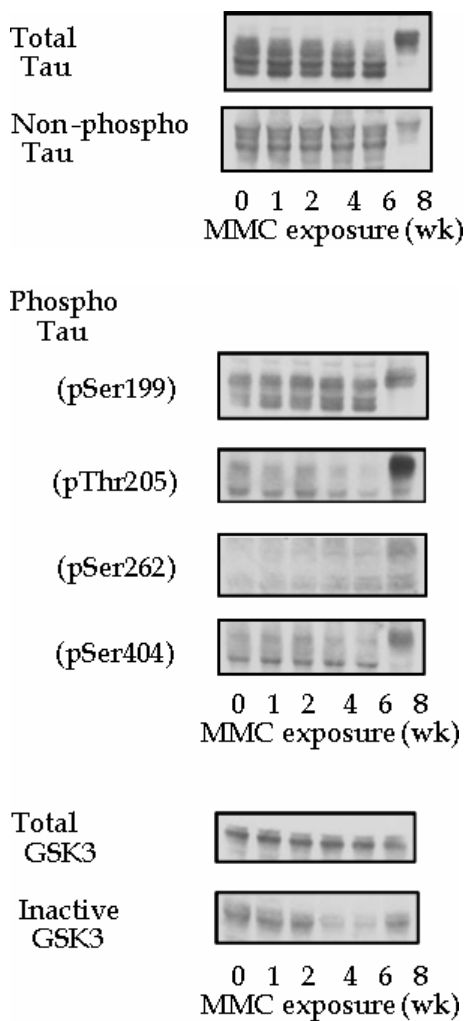


Fig.1 メチル水銀の Tau リン酸化作用および GSK3 活性に対する作用

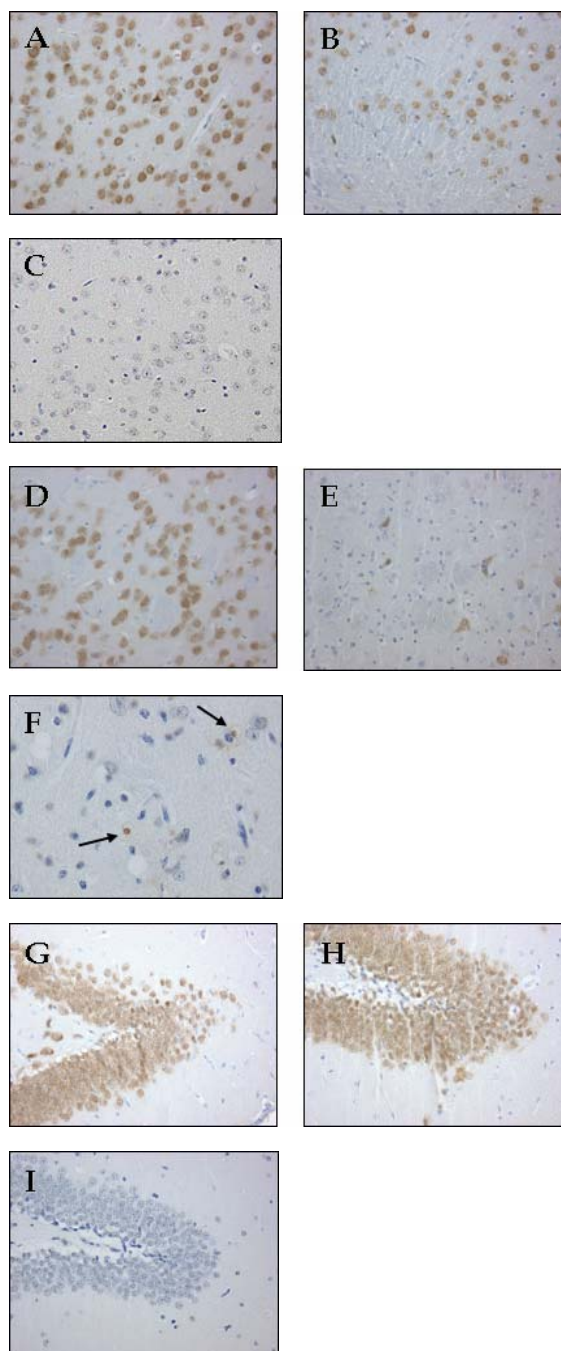


Fig.2 メチル水銀の神経細胞死/神経細胞数に対する作用

- A: 大脳皮質 NeuN 免疫染色 (メチル水銀 0 週間曝露)
- B: 大脳皮質 NeuN 免疫染色 (メチル水銀 8 週間曝露)
- C: 大脳皮質 TUNNEL 染色 (メチル水銀 8 週間曝露)
- D: 線条体 NeuN 免疫染色 (メチル水銀 0 週間曝露)
- E: 線条体 NeuN 免疫染色 (メチル水銀 8 週間曝露)
- F: 線条体 TUNNEL 染色 (メチル水銀 8 週間曝露)
矢印: アポトーシス神経細胞
- G: 海馬 NeuN 免疫染色 (メチル水銀 0 週間曝露)

H: 海馬 NeuN 免疫染色 (メチル水銀 8 週間曝露)

I: 海馬 TUNNEL 染色 (メチル水銀 8 週間曝露)

[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 et al: The environmental toxin arsenite induces tau hyperphosphorylation. *Biochem* 41, 15376-15387, 2002.
- 4) Olivieri G, Brak C, Muller-Spahn F et al: Mercury induces cell cytotoxicity and oxidative stress and increases β -amyloid 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, 他: 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 et al: 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 et al: Methylmercury neurotoxicity in Amazonian children downstream from gold mining. *Environ Health Perspect* 107, 587-591, 1999.
- 11) Takashima A, Noguchi K, Sato K et al: Tau protein kinase I is essential for amyloid β -protein-induced neurotoxicity. *Proc Natl Acad Sci* 90, 7789-7793, 1993.
- 12) Fujimura M, Sawada M, Takashima A: Methylmercury induces Tau degeneration and neuronal cell death via Tau phosphorylation in rat cultured neuron. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, 367-368, 2006.
- 13) 藤村成剛, 澤田倍美, 高島明彦: メチル水銀によるTau蛋白質リン酸化. 北陸大学フロンティア・サテライトミーティング～食品汚染金属の毒性とその防御の分子メカニズム～, 14-15, 2007.

8. 公害発生地域の社会史に関する研究 Social history in Minamata area

[担当者]

- 新垣たずさ (国際・総合研究部)
- 蜂谷 紀之 (国際・総合研究部)
- 坂本 峰至 (国際・総合研究部)

[期間]

平成 17~21 年度

[背景および目的]

発生から 50 年を経た水俣病問題の解決のためには複雑化した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。

水俣病に関する報道写真、写真家の作品は、社会へ鮮烈なメッセージを發し続けてきたことから写真の有効性は大きいといえる。写真は、水俣市立水俣病資料館や新潟県立環境と人間のふれあい館（新潟水俣病資料館）、水俣病情報センターにおいて展示スペースの大半を占め、訪れる人々に水俣病の過去から現在までを語りかけ、負の遺産を伝える手助けとして欠かすことができないものである。

写真をもちいた社会史の聞き取り成果は、社会史を明らかにするだけでなく、当時を知らない人や生活環境の異なる外国人に当時を知る人々の具体的なイメージを提供する素材ともなる。

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。

[方法]

聞き取り調査、文献調査を行う。

聞き取り調査の対象者は、昨年引き続き写真撮影者や水俣病の患者・支援者のほか報道関係者からの聞き取り調査を実施した。

[進捗状況]

今年度はこれまでに引き続き水俣病患者・支援者へ

水俣病発生当時の聞き取り調査を行うとともに福祉関係者から現在の生活状況について聞き取り調査を行った。

また昨年度の課題として指摘された時間の経過や社会状況の変化による水俣病に関する写真や映像資料などの公開方式については、実際の報道現場の対応やこれまでの経緯や写真や映像資料の状況について調査した。

報道機関においては水俣病問題に関する写真や映像、出版物などが各組織の公開基準を基に公開判断が行われ一部活用が行われているが、複写やインターネットへの対応など共通の課題も指摘された。

[文献]

- 1) Kada Y, Tanaka S, Aoyagi-Usui M et al: From Kogai to Kankyo Mondai: Nature, Development, and Social Conflict in Japan. FORING ENVIRONMENTALISM, 109-182, 2006.

9. 水俣病発生の社会的影響と地域再生に関する研究 Study on social impacts of Minamata Disease and on regional restoration

[担当者]

○蜂谷 紀之 (国際・総合研究部)
劉 暁潔 (疫学研究部)
志水 恒雄 (元水俣病資料館長)

[期間]

平成 18~22 年度

[背景および目的]

水俣病は地域住民の健康に深刻あるいは広範囲の被害をもたらしたが、それだけでなく、その発生から現在に至るまでに、地域社会に対しても様々な影響を及ぼし続け、その中には差別や偏見、住民間の対立など等の原因となってきた^{1,2)}。これらの社会的影響について解明し、水俣病問題の教訓を後世に伝えるとともに、地域融和と再生を含む地域社会の発展に資するための調査研究を実施する。このうち、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」において主要な問題点を整理するとともに、平成 15 年度から 3 年間にわたって 51 名の関係者に対する聞き取り調査を実施してきた。これらの調査結果は、情報発信ならびに関連資料整備において活用するとともに、胎児性・小児性患者を中心とする高齢化が進行した被害者の生活実態および生活支援ニーズに関する調査を実施する。

[方法]

関係者に対する聞き取り調査を実施した。また、平成 19 年 7 月～11 月にかけて熊本県および鹿児島県内にある 13 の患者団体・支部に対して生活実態や支援ニーズについての聞き取り調査を実施した。

[結果および考察]

聞き取り調査は平成 18 年度内に患者 2 名に対して実施し、平成 18 年 1 月までの実施対象者は 53 名となった。その内訳 (重複有) は、患者・家族 : 29 名、チソン元従業員 : 9 名、それ以外の市民 : 8 名、元行政関

係者 : 2 名、医療・研究従事者 : 5 名である。

被害者の生活実態調査の準備段階として、生活の実情や支援ニーズについて、13 の患者団体・支部に対して聞き取り調査を実施した。この結果、一般的な生活支援への要望(6 団体)、介護や福祉などに関する要望(6 団体)、認定・救済制度への意見・要望 (6 団体)、地域における差別の問題や地域融和に関する意見・要望 (6 団体)、医師や病院の不足など医療への要望(5 団体)などが出された。これら各団体の意見は、認定患者の団体、'95 年政治解決に応じた団体、最高裁判決後に救済を求めて結成された団体など、その団体の性格により重点の置き方は異なっていたが、被害者や家族の高齢化等と関連する将来不安を背景としている点で共通性がみられた。被害者の救済・解決方法に対する基本的な要望・見解も団体間で相違が見られたが、従来ほとんど声を上げてこなかった認定患者団体を含め、高齢化し一人暮らしになった患者の生活状況の悪化と支援の必要性を訴える声などが聞かれた。

[文献]

- 1) 蜂谷紀之: 科学と社会のかかわりについて考える. 水俣病の 50 年. (水俣病公式確認五十年誌編集委員会編 海鳥社), 155-158, 2006.
- 2) Hachiya N: The history and the present of Minamata disease – Entering into the second half of a century. Japan Med Assoc J 49 (3), 112-118, 2006.

課題研究2 低濃度メチル水銀のリスク評価に関する研究 Research on risk evaluation of low-level methylmercury exposure

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。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。

[研究課題名と研究概要]

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

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るために、一対のコモンマーモセットを用いて交配実験を行い、第一仔(雌雄1匹ずつ)の離乳(生後2ヶ月)から、単一ケージ内の2世代4匹に対して、0.5 ppm Hg/water のメチル水銀給水曝露を開始した。母体は現在、第三仔を妊娠中である。第三仔までを実験対象とした研究の継続を予定している。

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性へ及ぼす影響に関する研究

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した。

3) 魚介類摂食に伴う妊婦・出産年齢女性の水銀曝露評価に関する研究

本研究の目的は母親毛髪断片水銀濃度による妊娠期間中のメチル水銀曝露量変化の推定と児の出生時におけるメチル水銀曝露バイオマーカーとしての児の毛髪、母体血および臍帯水銀濃度との関連について検討した。

4) a. 胎児期のメチル水銀曝露の健康影響に関する研究

水俣市住民18名について、神経学的診察ならびにアンケート調査やインタビューを行なうとともに、臍帯水銀濃度を計測し、各種検査結果と臍帯水銀濃度との相関を検討し、知能テスト(MMS、三宅テスト、Reyテスト、かなひろいテスト)にて有意な相関を得るとともに、電気生理学的検査(ABR、P300)にて相違が見られた。そこで、対象者数を増やして検討する予定である。また、魚介類の水銀濃度とセレンのモル比を検討したところ、フェロー島が1.12-1.70に対し、セイシェル島は0.29であり、調査結果が異なる一員としての可能性が考えられた。今後、さらに検討を加える予定である。

4) b. 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

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の測定¹⁾およびメチル水銀毒性の修飾因子であるDHA、セレン濃度²⁾の測定は重要である。胎児期メチル水銀曝露で出生した仔ラットの認知機能を電気生理学的に評価するためのラット用事象関連電位測定装置の開発を行った。本年度はWistar雌ラットを3週齢よりn-3系不飽和脂肪酸・DHA欠乏飼料および添加飼料で飼育し、10週齢でラットを交配させ、妊娠2日目より19日目までメチル水銀1 mg/kg/dayを経口連続投与し、検討を行なった。

Wistar雌ラットを3週齢よりn-3系不飽和脂肪酸・

DHA 欠乏飼料および添加飼料で飼育し、10 週齢でラットを交配させ、妊娠 2 日目より 19 日目までメチル水銀 1 mg/kg/day を経口連続投与し、生まれた仔の雄ラットが 5 週齢になった時点で、オペラント学習訓練装置及び脳波測定システムを用いて、低濃度メチル水銀胎児曝露における毒性影響評価を行っていく。

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

わが国では、魚介類の摂取と関連するメチル水銀曝露のリスクに対しては、過剰な反応や魚介類摂取の忌避傾向はみられない一方、一般集団の関心は必ずしも十分ではなく、正確な知識や情報の普及も不十分な状況にある。そこで、一般集団を対象とする毛髪水銀測定と情報提供等を活用した支援型リスクコミュニケーションの試行とともにリスク認知に関する調査を行った。

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

本研究は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分析等を分担し、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。

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 Postgeneration effects of low-level methylmercury in common marmosets

[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)

[期間]

平成 15~19 年度

[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く、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な影響の観察されることもある。従来の結果より、コモンマーモセット (成体) は、5 ppm Hg/water のメチル水銀給水曝露では、1 ヶ月前後で血中水銀濃度が 10 ppm 近くまで上昇し、その後、重篤な中毒症状を呈するが¹⁾、0.5 ppm Hg/water では、発症に至るほどの水銀蓄積はおこらず、血中水銀濃度は 2 ppm 前後で安定化する。しかしながら、曝露条件下で出産した出生仔 (F1) には曝露を継続するうちに、生後 6 ヶ月から 1 年の間に血中水銀濃度が 5 ppm を上回り、発症にいたる個体が見受けられる。つまり、単世代曝露では症状発現レベル以下であっても、次世代においては毒性効果が増強されることを示す。しかし、この結果は 1 対の動物のみから得られた結果であるため、ここでは新たな雌雄一対の動物を用いてその再現性について検討する。

[方法]

一対のコモンマーモセットを用いて交配実験を行い、第一仔 (雌雄1匹ずつ) の離乳 (生後2ヶ月) から、単一ケージ内の2世代4匹に対して、0.5 ppm Hg/water のメチル水銀給水曝露を開始した。曝露はその後、第二仔

の出産後も継続している。各個体については、毎月1回、体重測定と同時に脚部静脈より 10 µl を採血し、水銀濃度を測定した。第一仔については、1年を経過した時点血中水銀の上昇が見られなかったため、と殺・解剖して組織試料を得た。

[結果および考察]

各個体の体重と血中水銀濃度を図 1、2 に示す。仔については、生後 2 ヶ月目からの値を示す。親の血中水銀濃度は雌雄とも 2 ppm 前後でほぼ安定しており、少なくとも 3 ppm を超えることはない。第一仔は離乳時から、親と同時にメチル水銀に曝露しているが、曝露 1 ヶ月の血中水銀濃度は親の値より低い。離乳直後は母乳からの水分摂取も一部継続しているためと考えられる。第一仔に関しては、以前の実験で血中水銀濃度の上昇と発症の観察された、生後 1 年の時点においても、血中水銀濃度は親個体のレベルを上回る予兆が見られなかったため、この時点で解剖して組織試料を得た。第二仔は母体内から曝露が継続している点で第一仔とは条件が異なる。離乳直後の第二仔の水銀濃度は親の値より低い値を示す。これは、出産直後は胎内曝露のために母個体の値より高かったと考えられるが³⁾、その後の授乳期間中の母乳からのメチル水銀曝露レベルがきわめて低いためと考えられる。離乳後は、給水から曝露されるために徐々に親のレベルまで上昇して安定する。しかし、血中水銀濃度は生後半の現時点においても、親の値を上回ってはいない。

母体は現在、第三仔を妊娠中である。第三仔までを実験対象とした研究の継続を予定している。

[文献]

- 1) Eto K, Yasutake A, Kuwana T et al: Methylmercury poisoning in common marmosets-A study of selective vulnerability within the cerebral cortex. Toxicol Pathol 29, 1-9, 2001.
- 2) Eto K, Yasutake A, Korogi Y et al: Methylmercury poisoning in common marmosets-MRI findings and

peripheral nerve lesions. Toxicol Phathol 30, 723-734, 2001.

- 3) Sakamoto M, Kakita A, Wakabayashi K et al.:
 Evaluation of changes in methylmercury accumulation in the developing rat brain and its effects: a study with consecutive and moderate dose exposure throughtout gestation and lactation periods. Brain Res 949, 5159, 2002.

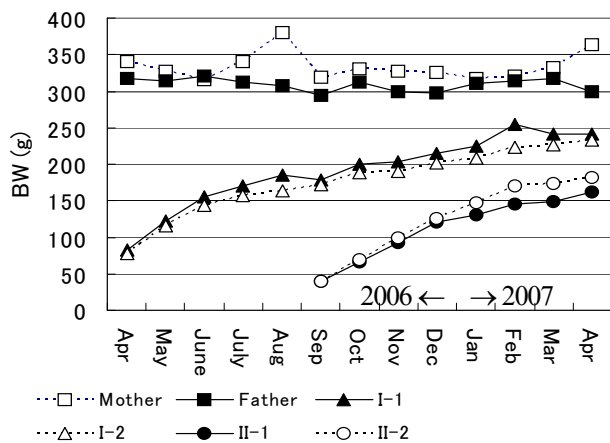


図1：コモンマーモセットの体重変化。
 I-1, 2、II-1, 2はそれぞれ、第一仔、第二仔を示す。

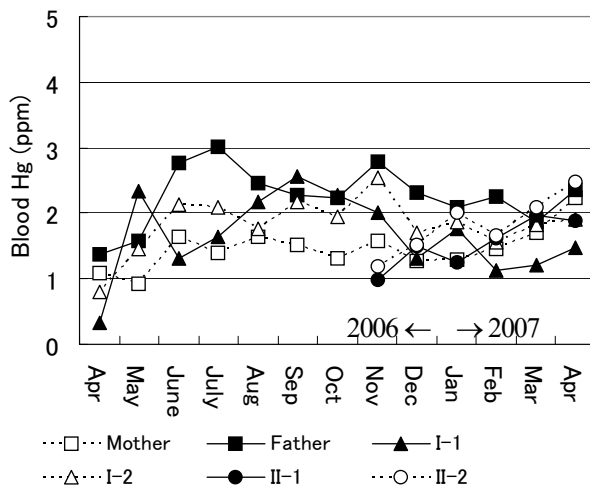


図1：コモンマーモセットの血中水銀濃度の変化。
 I-1, 2、II-1, 2はそれぞれ、第一仔、第二仔を示す。

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性へ及ぼす影響に関する研究

Effects of “spike” exposure of methylmercury on mercury accumulation and neuronal degeneration in the brain

[担当者]

○坂本 峰至 (国際・総合研究部)
柿田 明美 (新潟大学)
衛藤 光明 (所長)
本多 俊一 (疫学研究部)
村田 勝敬 (秋田大学)
仲井 邦彦 (東北大学)
佐藤 洋 (東北大学)

[期間]

平成 17~21 年度

[背景および目的]

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。

[方法]

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。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、脳の水銀量及び組織学的検索の比較を行った。更に、妊娠期間中に 1.0 mg/kg 毎日 20 日間投与する群と 5.0 mg/kg を 5 日に 1 回 (計 4 回) 投与する群を作成し、妊娠 21 日に解剖して、母親と胎児の脳中水銀濃度と組織学的検索を行った。

[研究結果および考察]

0.3 mg/kg/day 群と 2.1 mg/kg/week 群では顕著な体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、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적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。シングル・コンパートメントモデルを用いて 1mg/day every day, 7mg/kg/day once in a week, 14mg/kg/day once in 2 weeks, 21mg/kg/day once in 3 weeks のメチル水銀の摂取が合った場合の体内水銀蓄積量の推計を行った。その結果でも長期に一定連続と多量間欠が続いた場合、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に大きな差が生じないであろうことが推計された。最後に、妊娠期間中に 1.0 mg/kg 毎日 20 日間投与する群と 5.0 mg/kg を 5 日に 1 回 (計 4 回) 投与する群を作成し、妊娠 21 日に解剖して、母親と胎児の脳中水銀濃度と組織学的

検索を行った結果、母親と胎児の脳中水銀濃度には2群間で有意差が無かった。組織学的検索では脳幹部のみに軽微な障害が見られたが2群間の差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。

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
—妊娠中の母体毛髪断片水銀濃度と出産時における
児の毛髪、母体血および臍帯血水銀濃度との関連—

**Exposure assessment of methylmercury on pregnant and child-bearing women
in relation to fish consumption**

**– Changes in mercury concentrations of segmental maternal hair during gestation
and their correlations with other biomarkers of fetal exposure to methylmercury –**

[担当者]

○坂本 峰至 (国際・総合研究部)
窪田 真知 (宗像水光会総合病院)
村田 勝敬 (秋田大学)
仲井 邦彦 (東北大学)
園田 育子 (みなまた環境テクノセンター)
佐藤 洋 (東北大学)

[期間]

平成 17~21 年度

[背景および目的]

メチル水銀は魚介類摂食によって胎児へ影響を及ぼす最もリスクの高い物質の一つである。本研究の目的は母親毛髪断片水銀濃度による妊娠期間中のメチル水銀曝露量変化の推定と児の出生時におけるメチル水銀曝露バイオマーカーとしての児の毛髪、母体血および臍帯血水銀濃度との関連についての検討である。

[方法]

対象とサンプリング

福岡の宗像市に住む計 33 人の 22-39 歳 (平均 29.5 ± 4.2 歳)、に出産の約 1 週間前に本研究への参加に関する同意を得た。臍帯血は出産後直ぐに、母体血は出産翌日の朝食前に採取した。両血液サンプルは少量のヘパリン-Na を含む静脈穿刺後 3000 rpm の遠心 10 min で赤血球と血漿に分けた。内、20 組については全血も分けて採取した。血液サンプルは総水銀分析まで -80°C で保管した。約 50 本の母親の毛髪 (n=33) と児の毛髪 (n=14) も出産時に、後頭部の根元から採取した。母親の毛髪は頭皮側から 1 cm 刻みにし、総水銀を測定した。妊娠期間中にパーマをかけた 3 人に関し

ては、処理前に生えていたと推定される毛髪は解析からは除外した。児の毛髪は非常に軽量であるために全長を水銀分析に用いた。

水銀分析約 0.5 g の赤血球と 10 mg 以上の毛髪について総水銀濃度を Akagi et al. (Akagi, H. et al. 2000)

による冷原始吸光分光光法 (CVAAS) で行った。原理は、サンプルを HNO₃ HClO₄ と H₂SO₄ で加熱分解し酸化した 2 価の水銀へ SnCl₂ 加えて還元し Hg⁰ 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 ± 0.26 μg/g に対し平均 4.53 μg/g という値が得られている。

統計解析：母子のペア間の赤血球中水銀濃度は paired *t*-test で解析した。サンプル水銀濃度間の相関は Pearson and Spearman correlation analysis で求めた。P < 0.05 を統計学的に有意とみなした。

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

[結果および考察]

児と母親の RBC 水銀濃度は強い相関 (r=0.91) を示し前者が約 1.6 倍高かった。妊娠期間中の毛髪断片の水銀濃度の増減は個々で異なっていた。母体 (r=0.84) と臍帯赤血球 (r=0.90) との相関はそれぞれ毛根から 1 cm が最も強かった。毛髪断片の相関係数は毛根から

離れるに従って減少した。児の毛髪幾何平均は母親の毛根から 1 cm とほぼ等しく強い相関 ($r=0.94$) を示した。これらの結果により、毛髪断片の水銀濃度は、妊娠期間中の魚介類摂食量や魚種の違いを反映して個々で変化し、メチル水銀の曝露レベルに関し妊娠時期ごとの重要な情報を得ることが示唆された。また、母親毛髪断片では毛根から 1 cm が出生時における児のメチル水銀曝露バイオマーカーと最も強い相関を示すことが分かった。

4-a. 胎児期のメチル水銀曝露の健康影響に関する研究 Study on fetal effects of methylmercury

[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)
- 福山 茂雄 (福山医院)
- 秋葉 澄泊 (鹿児島大学)
- 安藤 哲夫 (鹿児島大学)
- 赤木 洋勝 (国際水銀ラボ)

[期間]

平成 17~21 年度

[背景および目的]

現在、メチル水銀が胎児期に影響をおよぼす閾値が、母親の毛髪水銀濃度で $10\mu\text{g/g}$ 前後である可能性があげられ、世界的に研究がなされているが一定の結論がでていない状態である。そこで、水俣市住民 18 名について、神経学的診察ならびにアンケート調査やインタビューを行なうとともに、臍帯水銀濃度を計測し、各種検査結果と臍帯水銀濃度との相関を検討し、知能テスト (MMS、三宅テスト、Rey テスト、かなひろいテスト) にて有意な相関を得るとともに、電気生理学的検査 (ABR、P300) にて相違が見られた。そこで、対象者数が得られる沖永良部島住民で同様の検査をおこなうこととした。

[方法]

沖永良部島を対象として生下時状態、現症、知能テスト (MMS、三宅テスト、Rey テスト、かなひろいテスト) 電気生理学的検査 (ABR、ニューロメータ、P300) 血液検査、尿検査、神経学的診察、日常生活動作、愁訴を検査するとともに、二重盲検法で臍帯水銀濃度を検査する。さらに、セイシェルとフェローの研究結果の相違について検討をおこなう。

[進捗状況]

水俣市住民 18 名 (平均 45 ± 3 歳) について、神経学的診察ならびにアンケート調査やインタビューを行なうとともに、臍帯水銀濃度を計測し、各種検査結果と臍帯水銀濃度との相関を検討した。その結果、臍帯のメチル水銀濃度は、 $46-545\mu\text{g/g}$ であったが、知能テストにて、MMS $\rho=-0.73$ 、三宅テスト $\rho=-0.98$ 、Rey テスト $\rho=-0.67$ 、かなひろいテスト $\rho=-0.85$ と有意な逆相関を得た。しかし、十分な対象者数が得られない状況なので、PCB などの影響が少ないこと、魚の摂取量が比較的多いこと、協力性がよいことなどの点でフィールドとして望ましい沖永良部島和泊町にて上記検査をおこなうよう自治体、地元医師会に申し入れ、了承された。

また、セイシェルで得られた魚中のメチル水銀とセレンの分析をおこなった結果、メチル水銀/セレンのモル比は平均 0.29 であった。これに対し、フェローで主に食される鱈、鯨のモル比を DAM の論文にある喫食量から計算すると、最低でも 1.12 となり相当な開きが見られた。フェローとセイシェルでの相反する研究結果の原因の可能性があると考えられた。魚サンプルの計測を最後まで終えた段階で、不飽和脂肪酸量とともに検討を加えたい。

4-b. 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

The development of toxic effect evaluation method in the low level methyl mercury fetus exposure

[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 (鹿児島大学)
- 後藤 正道 (鹿児島大学)
- 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 (熊本大学)
- 守口 徹 (湧永製薬)

[期間]

平成 17~18 年度

[背景および目的]

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の測定¹⁾およびメチル水銀毒性の修飾因子である DHA、セレン濃度²⁾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、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)³⁾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。

[方法]

本年度は、胎児期メチル水銀曝露で出生した仔ラットの認知機能を電気生理学的に評価するためのラット用事象関連電位測定装置の開発を行った。Wistar 雌ラットを 3 週齢より n-3 系不飽和脂肪酸・DHA 欠乏飼料および添加飼料で飼育し、10 週齢でラットを交配させ、

妊娠 2 日目より 19 日目までメチル水銀 1 mg/kg/day を経口連続投与し、生まれた仔の雄ラットが 5 週齢になった時点で、今回開発したオペラント学習装置を用いてラットに 10 KHz (ターゲット刺激) と 5 KHz (ノンターゲット刺激) の 2 種類の音を聞かせて、10 KHz の音を聞いた時だけペダルを押すとミルクが出るように報酬を与える訓練を行った。

[結果および考察]

上記の方法で訓練を行うと約 3 週間後の 8 週齢で 10 KHz の音の時だけペダルを押すという弁別学習が獲得できるようになった。この弁別が可能になった 8 週齢雄ラットをオペラント学習装置に入れ、頭蓋骨にネジ電極を装着して 10 KHz の音を聞かせた時にペダルを押す動作時の脳波を取り込み、A/D 変換器でデジタルに変換された脳波をパソコンに入力し加算平均する脳波測定システムを開発した。我々は従来までの研究で、メチル水銀による胎児毒性である空間記憶・学習障害を n-3 系不飽和脂肪酸・DHA が抑制するということを明らかにしていることから、今後、このオペラント学習訓練装置及び脳波測定システムを用いて、低濃度メチル水銀胎児曝露における毒性影響評価を行っていく予定である。

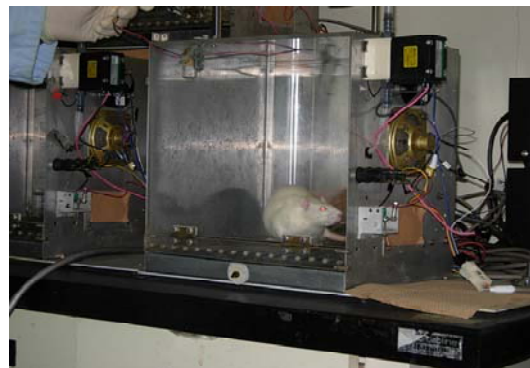


図 1: オペラント学習訓練装置と脳波測定システム

[文献]

- 1) Grandjean P, Weith P, White RF et al: Cognitive deficit in 7-year-old children with prenatal exposure to methylmercury. *Neurotoxi and Teratolo* 19(6), 417-428, 1997.
- 2) Nishikido N, Satoh Y, Naganuma A et al: Effect of maternal selenium deficiency on the teratogenicity of methylmercury. *Toxicol. Lette* 40, 153-157, 1988.
- 3) Chuu JJ, Hsu CJ, Lin-Shiau SY: Abnormal auditory brainstem responses for mice treated with mercurial compound: involvement of excessive nitric oxide. *Toxicology* 162, 11-22, 2001.

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 Study on risk communication of low level exposure to methylmercury

[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)
- 衛藤 光明 (所長)

[期間]

平成 17~21 年度

[背景および目的]

衛生水準の向上および栄養摂取の改善、乳児死亡率の低下と少子化などとも関連して、先進諸国における環境化学物質の健康リスクの問題は、低濃度の胎児影響などに焦点があてられるようになってきている。さらに、情報化の発達や価値観の多様化を背景として、環境化学物質のリスク問題におけるリスクコミュニケーションの重要性が指摘されるようになった。

魚介類等摂取と密接に関連する低濃度メチル水銀の健康リスクについては、胎児期曝露による出生後の神経系の発達影響の可能性が指摘され、魚介類摂取の便益性との関連が重要な課題となっている。一方、栄養摂取における魚介類依存度が高いわが国においては、一般集団のメチル水銀曝露分布の安全マージンは必ずしも十分ではない。このような中、わが国では 2005 年にメチル水銀の暫定耐容摂取量が一部改訂され、一般集団 3.4 $\mu\text{g}/\text{kw}\cdot\text{bw}/\text{週}$ 、妊娠中 2.0 $\mu\text{g}/\text{kw}\cdot\text{bw}/\text{週}$ とされた。また同年 11 月、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する特定魚介類等の摂取注意事項を改訂した。

著者¹⁾らのこれまでの調査によると、わが国では、魚介類の摂取と関連するメチル水銀曝露のリスクに対しては、過剰な反応や魚介類摂取の忌避傾向はみられない一方、一般集団の関心は必ずしも十分ではなく、正確な知識や情報の普及も不十分な状況にある。そこで、一般集団を対象とする毛髪水銀測定と情報提供等を活用した支援型リスクコミュニケーションの試行と

ともにリスク認知に関する調査を行い、環境化学物質の健康影響に関する効果的なリスクコミュニケーションと、消費者の行動変容の支援を通じて、集団の健康リスク回避ならびに、食生活の便益享受を実現するための研究を実施する。

[方法]

2006年9月15日から24日、東京都町田市の和光大学において開催された水俣・和光大学展(主催:和光大学、共催:特定非営利活動法人水俣フォーラム)において、毛髪水銀測定コーナーを設置し、希望者に対する毛髪採取(毛根部3cm)およびFFQ等のアンケート調査を実施した。毛髪提供者に対しては郵送で毛髪総水銀濃度を通知するとともに、結果およびメチル水銀等のリスク情報に関する意識についてのアンケートを郵便で回収した。

毛髪中総水銀濃度は、酸化燃焼-金アマルガム-原子吸光法にて測定した。

[結果および考察]

平成 18 年度は、東京都町田市において 9 月 15 日～24 日にかけて毛髪水銀測定を含むリスクコミュニケーション調査(第一回)を実施した。有効参加数(平均年齢)は 293 (41.7 歳)で、女 172 (42.7 歳)、男 121 (40.4 歳)であった。毛髪水銀濃度の幾何平均は 2.52 ppm (女 2.35 ppm, 男 2.79 ppm)で、全国平均より高くなった。毛髪採取時に回収した一回目のアンケートおよび、毛髪水銀測定結果送付時に配布した第 2 回目のアンケート(2007 年 1 月末時点での中間集計で n=114 名、回収率 38.9%)については現在集計・解析中である。

これまで実施したリスク認知に関するアンケート結果等をふまえて、メチル水銀の健康リスク情報に関する一般的な誤解や問題点、適切な行動変容の支援に必要な情報とその効果的な伝達に関する知見が蓄積し、一般消費者や専門家間におけるリスク認知の差違や問題点が明らかになってきた。これらに基づいて、毛髪

水銀測定参加者向けの効果的なリスク情報の作成・整理を行なうとともに、リスクメッセージ等の情報提供の必要性が指摘された。

[文献]

- 1) 蜂谷紀之, 安武章, 吉田 (黒木) 静香, 他: 魚介類を介したメチル水銀曝露のリスク (6) 日本における胎児期曝露の現状. 日本リスク研究学会2006年度第19回研究発表会, 講演論文集 19, 23-28, 2006.

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

Association of perinatal factors, postnatal developments and methylmercury concentration

[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 (東京慈恵会医科大学)

[期間]

平成 17~19 年度

[背景および目的]

本研究は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分析等を分担し、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。

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。

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)

[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した。妊娠中 (回収率100%) および出産1か月後自記式問診票 (回収率90%) では、妊娠中の生活・健康状況および新生児の状況などを調査した。

採取した臍帯血の一部 (約 1 ml : 全血あるいは血球) についてメチル水銀濃度を測定し, Yasutake¹⁾ らの方法により, 全血中メチル水銀濃度を決定した。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した。

[結果および考察]

臍帯血メチル水銀濃度(n=986)の幾何平均は9.7 μg/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, 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 μg/L) 以上となったのは1例 (0.1%) 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²⁾。

臍帯血メチル水銀濃度から推定される産婦集団の曝露レベルは同地区同年齢の一般女性の毛髪水銀から推定した値と比較的よく一致したが, 妊娠時耐用摂取量の超過頻度は一般女性群の方が2倍以上高いなど, 両者の分布には若干の違いもみられた³⁾。

[文献]

- 1) Yasutake A., Nagano M., Nakano A.: Simple method for methylmercury estimation in biological samples using atomic absorption spectroscopy. *J Health Sci* 51(2), 220-223, 2005.
- 2) Hachiya N., Yasutake A., Sakuma M et al.: Methylmercury concentrations in cord blood and related factors in Tokyo/Sado cohort, 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison USA, 2006.

- 3) 蜂谷紀之, 安武章, 吉田（黒木）静香, 他: 魚介類を介したメチル水銀曝露のリスク（6）日本における胎児期曝露の現状. 日本リスク研究学会2006年度第19回研究発表会, 講演論文集 19, 23-28, 2006.

課題研究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

Research on the effects of methylmercury on cellular systems, leading to the solution of clinical problems

メチル水銀による生体影響、毒性発現の分子メカニズムを解明し、その成果をメチル水銀中毒の初期病態の把握や毒性評価、毒性発現メカニズムに基づいた障害の防御、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する。そのため、培養細胞系、モデル動物を用いて、メチル水銀曝露がもたらす生体ストレス応答やシグナル応答系の変化、遺伝子発現プロファイル、生体内に滞留したメチル水銀の脱メチル化機構、メチル水銀曝露を反映するバイオマーカー、細胞分化や神経再生への影響などについて検討し、その毒性発現メカニズムを明らかにするとともに、メチル水銀の毒性発現や神経再生への影響をブロックする薬剤について検討する。

(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、メチル水銀による酸化ストレスがもたらす遺伝子発現変化、水銀曝露がもたらすメタロチオネイン動態などについて生化学的、分子生物学的、病理学的な検討が進められた。また、環境レベルのメチル水銀の生体機能への影響についてラットを用いて、検討が進められた。

(2) メチル水銀による毒性発現メカニズムの検討

メチル水銀がもたらす生体ストレス応答や遺伝子プロファイル解析、生体内に滞留したメチル水銀の無機化がおよぼす生体影響などを検討し、メチル水銀毒性発現にいたる分子経路についての研究が進められた。

(3) 治療法開発、毒性評価に関する研究

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に関する情報をもとにして、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。また、カニクイ

ザル ES 細胞分化系を用いた毒性評価系についての検討がなされた。

各課題において本年度なされた研究テーマの概要を下記に示す。

[研究課題名と研究概要]

1. 重点的研究課題

1) 水俣病におけるバイオマーカーの探索

メチル水銀中毒において、より特異的なバイオマーカーを同定するために、メチル水銀中毒モデルラットの髄液を採取し、ProteinChip System 解析による発現蛋白のプロファイリングを行った。

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

cDNA 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情報をもとに、細胞内二酸化還元系である thioredoxin 系、glutathione 系への影響、特に selenoenzyme の遺伝子発現変動について検討した。

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

メチル水銀中毒モデルラットを用いて、メチル水銀の *in vivo* における glutathione 系、thioredoxin 系への影響について検討した。また、小脳病変の形成が明らかでない同じモデルラットを用いて、小脳病変へのグリア細胞の関与に関して病理学的検討を行った。

4) 環境レベルメチル水銀の生体影響に関する研究

メチル水銀含有量 0.68 ppb Hg の飼料と、0、0.1 および 0.5 ppm Hg を含む給水で交配を繰り返した F5 世代のラット(9 週齢)を用いて、メチル水銀曝露 (20 ppm Hg/water x 8 weeks) を行い、各組織の水銀、メタロチ

オネイン、過酸化脂質、グルタチオン、抗酸化酵素活性および血漿のBUNおよびクレアチニンを測定した。

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

ヒト正常肝細胞、アストロサイトマ、神経芽細胞腫の各 cell line を用いて、メチル水銀の取り込みと無機化について検討した。メチル水銀の生体内無機化のメカニズムを知るために、活性酸素修飾剤、ヒドロキシラジカル (OH \cdot) 捕捉剤、ミトコンドリアにおける O $_2$ 生成阻害剤 (アジ化ナトリウム) のメチル水銀無機化能への影響について検討した。

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

メチル水銀の低濃度曝露が神経突起形成/伸展に対する作用について、軸索および樹状突起を認識する抗体を用いて生化学的、組織学的に解析するとともに神経突起促進因子である Rac1, CDC42 および神経突起抑制因子である RhoA の発現について Western Blot 法を用いて解析した。

7) メチル水銀中毒の治療方法に関する研究

急性期・慢性期治療について薬物療法・理学療法および作業療法などの機能回復療法についての情報収集を行った。また、メチル水銀中毒脳神経細胞障害におけるアスタキサンチン、カテプシン B 阻害剤である CA074 の防御効果について動物実験を行った。さらに、熟成ニンニク抽出液であるキョーレオピンによるメチル水銀の体外排泄作用について検討した。

8) 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

カニクイザル ES 細胞分化系を用いた環境汚染物質の毒性評価系の確立を目的として、ES 細胞から胚様体 (EB) 分化におけるマーカー遺伝子発現への bisphenol A (BPA) の影響を検討した。BPA の存在下で PAX-6 (内胚葉分化マーカー)、 α -fetoprotein (外胚葉分化マーカー) の発現が促進され、本細胞分化系において環境汚染

物質の影響評価が可能であることが示唆された。

2. 基盤的研究課題

9) 水銀曝露におけるメタロチオネイン動態における研究

金属水銀蒸気曝露による脳の各部位 (海馬、小脳、皮質、髄質) におけるメタロチオネイン (MT) アイソマーの発現量の検討を行うとともに水銀の形態の違い (金属水銀、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について検討した。

10) 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

C57BL マウス (メス、10 週令) を用いてメチル水銀 (30 ppm) を給水曝露し、曝露 1、2、3 週間後に行動学的検索を行った。皮質、線条体、中脳、小脳および脳幹の水銀濃度を測定するとともに、ホルマリン固定後の脳標本を用いて HE 染色、抗 NeuN および抗 GFAP 抗体を用いた免疫組織化学、TUNEL 法を行い、メチル水銀曝露が線条体に及ぼす影響について検討した。

1. 水俣病におけるバイオマーカーの探索 Search for biomarkers for the Minamata Disease

[担当者]

○中村 政明 (臨床部)
安武 章 (基礎部)
若宮 純司 (臨床部)
宮本謙一郎 (臨床部)
村尾 光治 (臨床部)

[期間]

平成 17~21 年度

[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。

[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¹⁾ による発現蛋白質のプロファイリングを行ったところ、haptoglobin と contrapsin-like protease inhibitor 6 が検出された。慢性炎症で上昇する haptoglobin²⁾ は慢性炎症で上昇し、contrapsin-like protease inhibitor 6³⁾ 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、メチル水銀中毒では、炎症による組織の傷害がおこり、防

御機構の一つとしてcontrapsin-like protease inhibitor 6の発現が増加していると考えられた。

今年度は、メチル水銀中毒により特異的なバイオマーカーを同定するために、メチル水銀中毒モデルラットの髄液を採取し、ProteinChip System 解析による発現蛋白質のプロファイリングを行った。

[結果および考察]

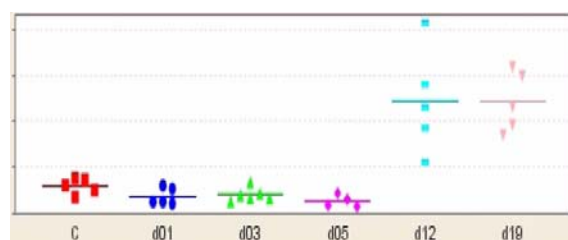
1) メチル水銀中毒モデルラットの髄液の採取

メチル水銀中毒モデルラット (8 週齢雄ラットにメチル水銀 10mg/kg/day で 5 日間投与) において、メチル水銀投与開始後 1 日、3 日、5 日、12 日、19 日 (各 n=5) に髄液を採取した。コントロールとして、メチル水銀未投与のラット (n=5) の髄液を採取した。

2) ProteinChip System 解析による髄液の蛋白質のプロファイリング⁴⁾

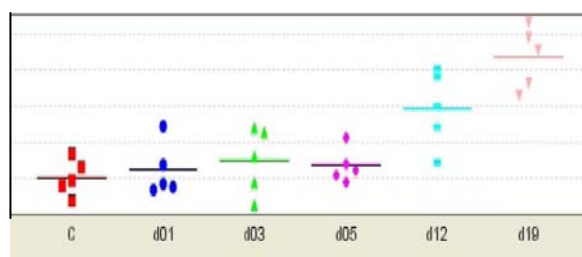
髄液を変性バッファーで希釈後、CM10 チップを用いて解析したところ、以下の五つの発現変化のパターンが認められた。

① 投与 12 日後より発現の上昇を認めるもの



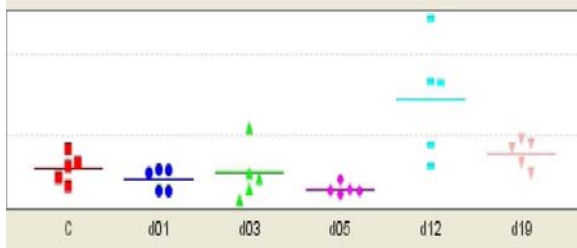
MW: 2792, 32715, 43803, 50845, 64473, 74525, 77506, 86468, 96586, 106473, 127060, 140089

② 投与 12 日後より徐々に発現の上昇を認めるもの



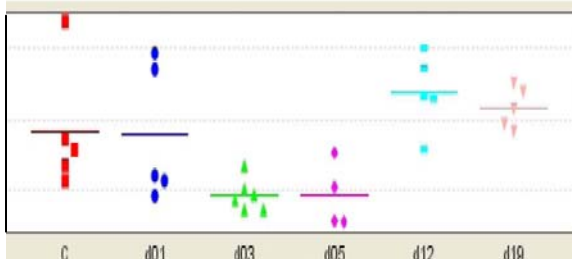
MW: 6000, 6344, 8566, 10277, 27106

③ 投与 12 日後に一過性の発現の上昇を認めるもの



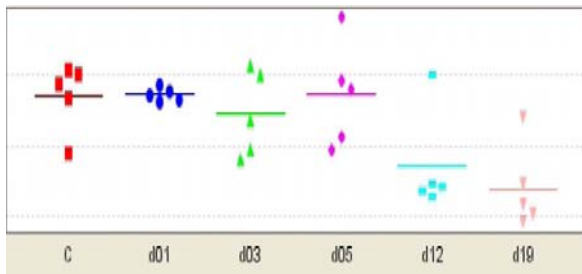
MW: 1028, 1135, 1169, 1198, 1257, 1279, 1436, 1463, 14863, 39449

④ 投与 3-5 日後に一過性の発現の低下を認めるもの



MW: 1184, 22177

⑤ 投与 12 日後より徐々に発現の低下を認めるもの



MW: 6822, 7515, 13603, 13719, 13814, 13912, 14317

次年度は、本年度で得られた髄液発現蛋白のプロファイリングをもとに、メチル水銀中毒により特異的なバイオマーカーを同定する予定である。

[文献]

- 1) Issaq HJ, Veenstra TD, Conrads TP et al: 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 et al: Molecular signatures of sepsis: multiorgan gene

expression profiles of systemic inflammation. *Am J Pathol* 159, 1199-1209, 2001.

- 4) Guerreiro N, Gomez-Mancilla B, Charmont S: Optimization and evaluation of surface-enhanced laser-desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry for protein profiling of cerebrospinal fluid. *Proteome Sci.* 4, 7, 2006.

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

Study on the elucidation of the molecules related to the process of methylmercury-intoxication and its clinical application

[担当者]

○臼杵扶佐子 (臨床部)
笹川 昇 (東京大学)

[期間]

平成 17~21 年度

[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傷害の関与が重要であること^{1,3)}を明らかにするとともに、cDNA 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、メチル水銀毒性発現に関与する遺伝子についてさらに検討を加え、メチル水銀曝露後の細胞ストレス応答の情報と合わせ、メチル水銀毒性発現の分子基盤を明らかにす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。

[方法]

メチル水銀曝露 3 時間後から活性酸素種が増加し、24 時間後までにアポトーシスがおこることが明らかになっている培養細胞系^{1,2)}を対象とした。昨年度までの検討で、過酸化水素消去系では catalase mRNA の発現増加がみられる一方、glutathione peroxidase 1 (GPx1) mRNA の発現は低下することが明らかになった。そこで本年度は、GPx1 と同様に selenocysteine を活性基としてもつ thioredoxin reductase (TR) の遺伝子発現について real-time PCR を用いて検討を行うとともに、培地の selenium の濃度を変えた培養条件下で GPx1、TR mRNA 発現変動について検討した。また、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解析によりメチル水銀曝露後の変動が明らかになったグルタチオン代謝系関連の遺伝子で、活性酸素種の消去に関係する glutathione S-transferase, mu 1 (GSTmu1) についても検討を加えた。

[結果および考察]

GPx1 mRNA の発現がメチル水銀曝露 5 時間後にコントロール群の 70%、9 時間後に 30%に低下し、抗酸化剤 Trolox 添加後も発現が低下のままであるのと異なり、TR mRNA の発現は曝露 5 時間後で約 2 倍に増加し、Trolox はこの変化を抑制した。培地の selenium 濃度を増加させると、メチル水銀曝露 5 時間後に GPx1 mRNA の発現はメチル水銀単独投与群に比し約 3 倍に増加し、TR mRNA の発現は約 2 倍に増加した。GST mu 1 mRNA はメチル水銀曝露 9 時間後に約 1.2 倍の発現増加が認められたが、Trolox はこの変化を抑制した。

GPx1 は、終止コドンである UGA に対応する selenocysteine を含んでおり、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 selenocysteine が不足していることが考えられる。細胞内 selenium が不足すると selenocystein tRNA^{[Ser]Sec} が機能せず、UGA codon は premature translation termination codon (PTC) として認知され、その mRNA は mRNA 監視機構である nonsense-mediated mRNA decay (NMD)^{4,5)}により分解される。しかし、最終 exon に存在する PTC に対しては、NMD は無効で aberrant mRNA が生じる。Selenocysteine をコードする UGA codon は、GPx1 では exon 1 に存在するのに対し、TR では最終 exon に存在する。このため、selenium との親和性が高い MeHg 曝露下で、GPx1 mRNA は NMD が作動して低下するのに対し、TR mRNA では NMD が作動せず mRNA は増加したと考えられる。しかし、この mRNA は aberrant mRNA で、TR 活性が低下した aberrant enzyme が生じている可能性があり、今後、TR 活性について検討を加える必要がある。

MeHg は selenium を trap することで selenocysteine の細胞内動態に影響し、selenocysteine を含む selenoprotein mRNA の発現に影響を及ぼすことが考えられる。メチル水銀毒性の病態には酸化ストレス傷害

の関与が重要であるが、メチル水銀による酸化ストレス発生機序を明らかにするために、細胞内二酸化還元系である glutathione 系、thioredoxin 系における selenoprotein の動態について今後さらに検討が必要である。MeHg による酸化ストレスによりメチル水銀毒性発現後期には ER ストレスが生じることをすでに明らかにしている⁶⁾が、今後その発現メカニズムについても検討を進め、メチル水銀毒性発現の分子基盤について明らかにするとともに、メチル水銀毒性発現を抑制する分子経路についてさらに検討をすすめる予定である。

[文献]

- 1) Usuki F, Ishiura S: Expanded CTG repeats in myotonin protein kinase increases oxidative stress. *NeuroReport* 9, 2291-2296, 1998.
- 2) Usuki F, Takahashi N, Sasagawa N et al: Differential signaling pathways following oxidative stress in mutant myotonin protein kinase cDNA- transfected C2C12 cell lines. *Biochem Biophys Res Comm* 26, 739-743, 2000.
- 3) Usuki F, Yasutake A, Umehara F et al: In vivo protection of a water-soluble derivative of vitamin E, Trolox, against methylmercury- intoxication in the rats. *Neurosci Lett* 304, 199-203, 2001.
- 4) Usuki F, Yamashita A, Higuchi I et al: Inhibition of nonsense-mediated mRNA decay rescues the mutant phenotype in collagen VI-deficient Ullrich's disease. *Ann Neurol* 55, 740-744, 2004.
- 5) Usuki F, Yamashita A, Kashima I et al: Specific inhibition of nonsense-mediated mRNA decay components, SMG-1 or Upf1, rescues the phenotype of Ullrich's disease fibroblasts. *Molecular Therapy* 14, 351-60, 2006.
- 6) Usuki F, Fujita E, Sasagawa N: Methylmercury activates ASK1/JNK signaling pathways, leading to apoptosis due to both mitochondria- and endoplasmic reticulum (ER)-generated processes in myogenic cell lines. *Neuro-Toxicology*, in press.

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 *In vivo* study on the molecular mechanism and treatment of methylmercury-intoxication

[担当者]

○臼杵扶佐子 (臨床部)

安武 章 (基礎研究部)

藤村 成剛 (基礎研究部)

樋口 逸郎 (鹿児島大学)

出雲 周二

(鹿児島大学難治ウイルス病態制御研究センター)

[期間]

平成 17~21 年度

[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^{1,3)}。本研究では、*in vitro* の検討で得られたメチル水銀毒性発現に関与する遺伝子について *in vivo* における情報を得るために、メチル水銀中毒モデル動物を作成し、病理変化と対応させた遺伝子発現変動について検討する。さらに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可能性をもつ遺伝子についても検討し、メチル水銀曝露における発現変動についての情報を得、メチル水銀毒性発現に至る分子経路を *in vivo* において明らかにし、その経路を抑制する治療法について検討することを目的とする。

[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以下のメチル水銀中毒モデルラット (n=5)⁴⁾ 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

抽出した total RNA より cDNA を得、昨年度メチル水銀曝露後の mRNA 発現低下を明らかにした glutathione peroxidase 1 (GPx1) と同様に selenocysteine を活性基に含む thioredoxin reductase (TR) およびグルタチオン代謝系関連の遺伝子で活性酸素種の消去に関係する Glutathione S-transferase, mu 1 (GST mu1) mRNA の発現について、real-time PCR を用いて検討した。

さらに、メチル水銀の神経毒性におけるグリア細胞の関与について、メチル水銀投与ラット (20 ppm Hg, 21 日および 28 日間給水曝露; 1 日最大摂取量 600 µg Hg) を用いて、抗 Iba1 抗体、抗 LC3 抗体、抗 GFAP 抗体による小脳の免疫組織化学的検討を行うとともに、電顕検索を行った。

[結果および考察]

1) MeHg の *in vivo* における glutathione 系、thioredoxin 系への影響

TR mRNA の発現はメチル水銀単独投与群ではコントロール群の 200% と増加を認め、Trolox はこの変化を抑制した。また、GST mu1 mRNA の発現は、メチル水銀単独投与群ではコントロール群の 200% と増加を認めたが、Trolox はこの変化を抑制した。

これまでの検討で、過酸化水素を消去する酵素のうち、catalase mRNA はメチル水銀単独投与群ではコントロール群の 160% と増加を認めたが、selenocysteine を活性基に含む glutathione peroxidase 1 (GPx1) はコントロール群の約 70% に低下することが明らかになった。Trolox は catalase mRNA の発現をコントロール群の 80% に抑制したが、GPx1 の発現低下は Trolox 群で回復されなかった。TR は GPx1 と異なり、selenocysteine をコードする UGA codon が最終 exon に存在する。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 selenocysteine が不足し、UGA codon が stop codon として認知され mRNA 監視機構である nonsense-mediated mRNA decay (NMD)^{5, 6)} に認知され、mRNA が分解されるが、最終 exon に UGA

codon が存在する TR では、NMD が作動せず、aberrant mRNA が生じている可能性が考えられた。

2) 小脳病変へのグリア細胞の関与に関する病理学的検討

メチル水銀投与モデルラット (20 ppm Hg, 21 日および 28 日間給水曝露; 1 日最大摂取量 600 µg Hg) において、小脳顆粒層で核の濃染萎縮した顆粒神経細胞が小葉深部で散在しており、小脳病変の形成が確認された (図 1a)。プルキンエ細胞は保たれていたが、ミクログリアの活性化やアストロサイトの膨化・空胞変性が顆粒細胞の変性と連動して生じていた (図 1b)。しかし、その変化は顆粒細胞の変化より広範に生じていて、周囲のシナプス構造変化を伴っていないことから、グリアの障害が先行して生じていることが考えられた。

今後、より早いモデル、すなわち 20 ppm Hg、28 日間給水曝露で小脳、後根神経節、脊髄後索、筋肉、末梢神経病変が明らかになっているメチル水銀中毒モデルラット⁴⁾ の 14 日間曝露モデルを用いて、病理変化の推移について検討を行うとともに、GPx1、TR など selenoprotein mRNA の発現変動、特に TR では、aberrant enzyme の発現について検討していく予定である。

1) [Usuki F, Ishiura S](#): Expanded CTG repeats in myotonin protein kinase increases oxidative stress. *NeuroReport* 9, 2291-2296, 1998.

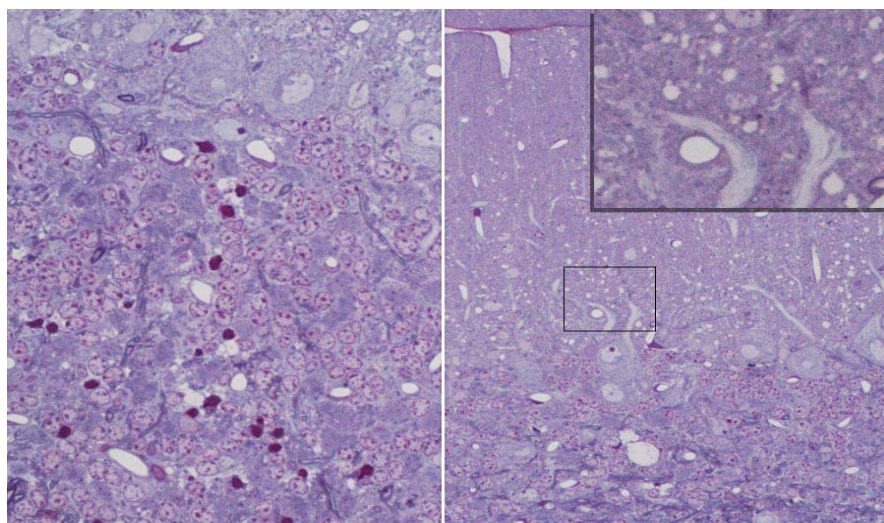
2) [Usuki F, Takahashi N, Sasagawa N et al](#): Differential signaling pathways following oxidative stress in mutant myotonin protein kinase cDNA- transfected C2C12 cell lines. *Biochem Biophys Res Comm* 267, 739-743, 2000.

3) [Usuki F, Fujita E, Sasagawa N](#): Methylmercury activates ASK1/JNK signaling pathways, leading to apoptosis due to both mitochondria- and endoplasmic reticulum (ER)-generated processes in myogenic cell lines. *NeuroToxicology*, in press.

4) [Usuki F, Yasutake A, Umehara F et al](#): In vivo protection of a water-soluble derivative of vitamin E, Trolox, against methylmercury-intoxication in the rats. *Neurosci Lett* 304, 199-203, 2001

5) [Usuki F, Yamashita A, Higuchi I et al](#): Inhibition of nonsense-mediated mRNA decay rescues the mutant phenotype in collagen VI-deficient Ullrich's disease. *Ann Neurol* 55, 740-744, 2004.

6) [Usuki F, Yamashita A, Kashima I et al](#): Specific inhibition of nonsense-mediated mRNA decay components, SMG-1 or Upf1, rescues the phenotype of Ullrich's disease fibroblasts. *Molecular Therapy* 14, 351-60, 2006.



a. 顆粒細胞核の濃染

b. 分子層の空胞変性

図 1 小脳虫部皮質トルイジンブルー・サフラニン染色

4. 環境レベルメチル水銀の生体影響に関する研究 —メチル水銀亜急性毒性への影響—

Studies on biological effects by methylmercury of environmental level — Effect on sub-acute toxicity by methylmercury —

[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)

[期間]

平成 17~21 年度

[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食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¹⁾。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皆無といえる。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²⁾や肥満細胞からのヒスタミン分泌の促進³⁾といった現象が、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としてではなく、ある種の刺激剤として機能する可能性を示唆するものである。このように考えると、微量のメチル水銀が生体に、外部ストレスに対する耐性をもたらす可能性も考えられるが、また逆に、常時微量のメチル水銀に曝露しているがために、外部ストレスに対して感受性が上昇している可能性も否定できない。ここではその確認のために、実験動物(ラット)を用いて、高濃度メチル水銀曝露に対する日常レベルのメチル水銀曝露の影響について検

討する。

[方法]

Wistar 系ラットを、メチル水銀含有量の低いミルクカゼインをタンパク質原料とした飼料 AIN-76 (メチル水銀含有量 : 0.68 ppb Hg) と、0、0.1 および 0.5 ppm Hg/water のメチル水銀—グルタチオン抱合体を含む給水を与えながら交配を繰り返し、F5 世代のラット(オス、9 週齢)を用いて実験を行った。メチル水銀曝露はグルタチオン抱合体として溶解した給水 (20 ppm Hg/water) より行い、一部のラットに体重減少の観察され始めた 8 週間で曝露を停止し、さらにその 1 週間後にエーテル麻酔下でと殺し、組織試料(大脳、小脳、肝臓、腎臓、血液、血漿)を得た。各組織について、水銀、メタロチオネイン、および過酸化脂質 (TBA-RS、2-thiobarbituric acid-reactive substance) レベルを測定し、肝臓と腎臓については、グルタチオンレベルと抗酸化系酵素活性であるグルタチオンパーオキシダーゼ (GPx)、カタラーゼ、スーパーオキシドディスムターゼ (SOD) 活性を測定した。また、血漿に関しては、腎機能障害の指標として、BUN およびクレアチニンレベルを測定した。

[結果および考察]

1) 毒性発現と感受性

8 週間にわたる 20 ppm Hg/water のメチル水銀曝露で、0.1 ppm Hg/water 群では体重の減少 (図 1) や組織水銀濃度 (図 2) にみられるように、多少高い感受性を示したものの、0.5 ppm Hg/water 群においては、コントロール (0 ppm Hg/water) 群との間に感受性の差は観察されなかった。0.1 ppm 群における高感受性理由については不明であるが、少なくとも 0.5 ppm Hg/water という曝露レベルでは、メチル水銀毒性の感受性に影響を及ぼさないことがわかった。

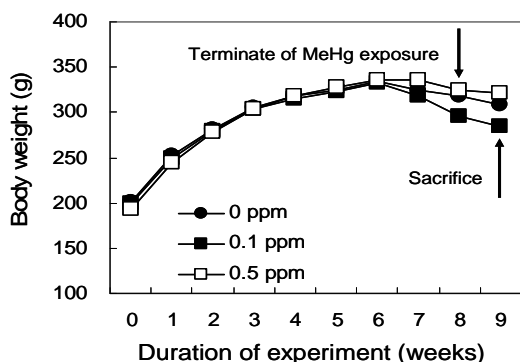


図1: 20 ppm Hg/water のメチル水銀に曝露したラットの体重変動。

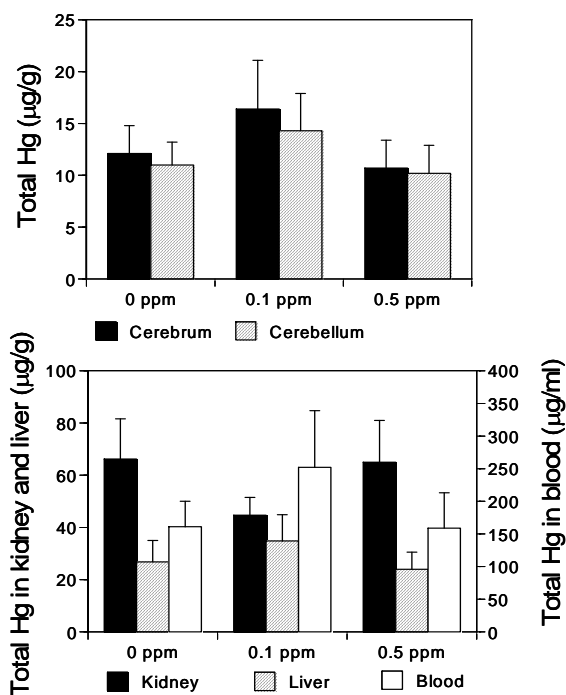


図2: 20 ppm Hg/water のメチル水銀に曝露したラット組織の総水銀濃度。

2) メタロチオネインとグルタチオン

メタロチオネイン (MT) は無機水銀を始めとする各種重金属で誘導され、重金属をキレートすることによってその毒性緩和に寄与する。大脳ではメチル水銀曝露の影響はほとんど観察されないが、小脳ではいずれの群でも上昇傾向にあるのがわかる (図3)。これは、大脳 (無機水銀の比率、0.9~1.4%) に比べて小脳 (無

機水銀の比率、1.6~2.2%) におけるメチル水銀の脱メチル化が亢進していることが一因と考えられるが、MT 誘導に対する感受性の組織間差の可能性も否定できない。腎臓では0 ppm 群のみがメチル水銀処理で顕著な誘導が観察されるが、この群は、曝露前にメチル水銀をほとんど摂取していなかったため、誘導に対する感受性が高まっているためと考えられる。誘導後 (メチル水銀曝露後) のレベルには0.5 ppm 群との間に差が認められない (図3)。しかし、0.1 ppm 群では、メチル水銀曝露後でもそのレベルは比較的 low、毒性効果の表れの一つと考えられる。

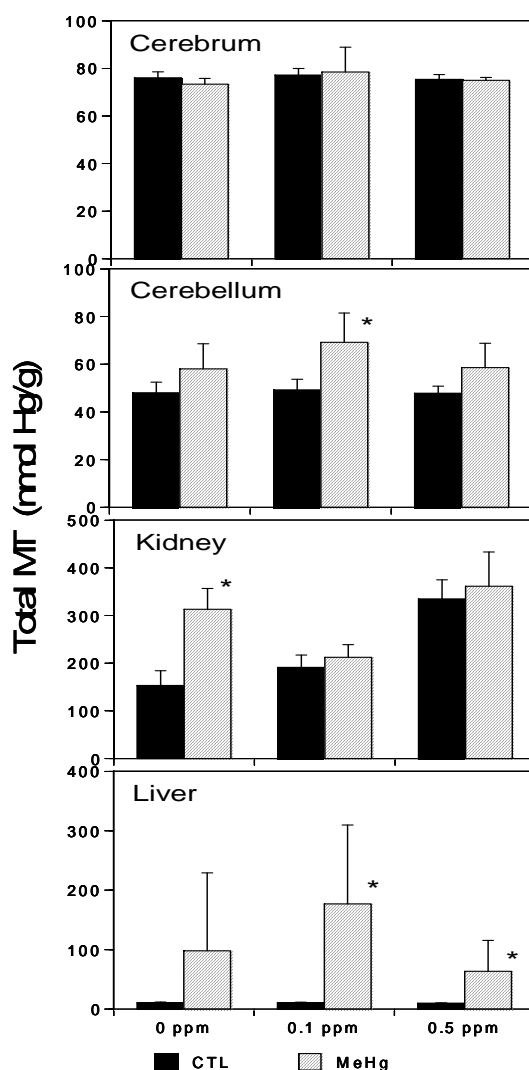


図3: 組織メタロチオネインレベルに対するメチル水銀曝露の影響。

肝臓はいずれの群においても顕著な誘導が観察される。MT は酸化ストレスでも誘導されるため、肝臓における誘導は、派生した無機水銀よりもむしろ、メチル水銀処理による酸化ストレスの上昇が原因と考えられる。

一方グルタチオン (GSH) はメチル水銀と強く結合して細胞外への排出を促進する機能をもっており、げっ歯類の腎臓ではメチル水銀処理で誘導される⁴⁾。メチル水銀曝露後の腎臓における誘導率はMT 誘導 (図3) と同様に 0 ppm 群で最も大きい。誘導後のレベルは 0.5 ppm 群との間に差を認めない (図4)。逆に血液ではレベルの低下がおこるが、ここでも二群間の差はない。しかし、メチル水銀処理後の 0.1 ppm 群では前期二群に比べて低い値を示し、これも毒性効果の表われと解釈できる (図4)。

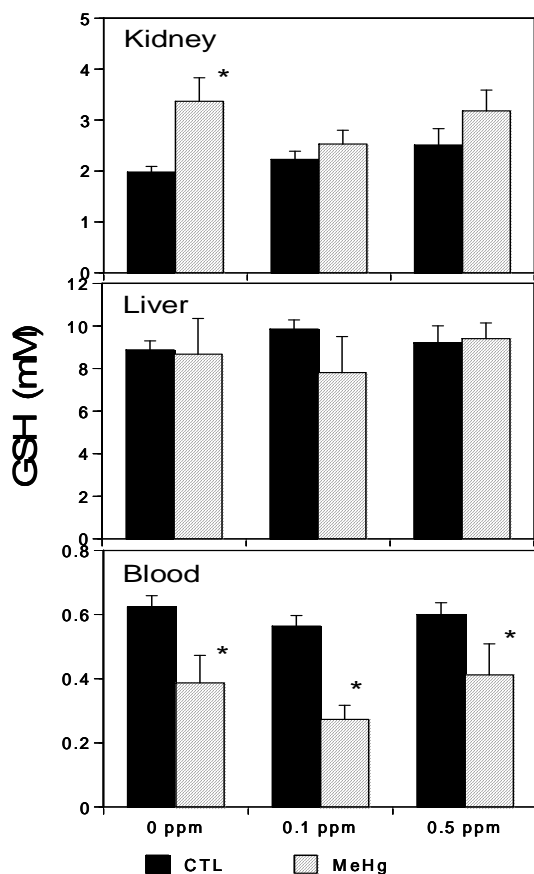


図4：組織グルタチオンレベルに対するメチル水銀曝露の影響。

3) 酸化ストレスと抗酸化系酵素活性

メチル水銀の毒性発現に酸化ストレスの関与している報告は多く、その指標およびその防御系の酵素活性は毒性効果の評価する上で有用である。

活性酸素によって生成する TBA-RS は、ストレス条件下で上昇するが、ここでのメチル水銀処理で上昇の観察されるのは肝臓のみで、腎臓ではむしろ減少傾向にある (図5)。

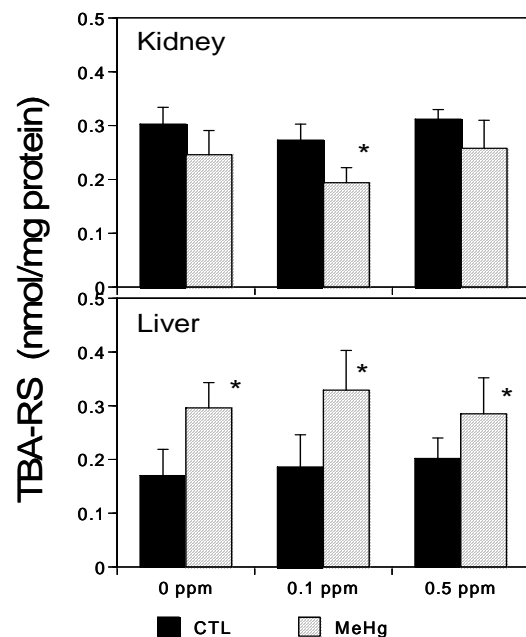


図5：組織過酸化脂質に対するメチル水銀曝露の影響。

活性酸素の抑制に寄与する酵素群のうち、GP x とカタラーゼ活性は、腎臓でメチル水銀による活性低下が顕著で、その程度はやはり 0.1 ppm 群で大きい (図6、7)。一方、肝臓の酵素活性は変動が小さく、GP x 活性にはむしろ上昇の傾向がある (図6)。しかし、SOD 活性 (データは示さない) には曝露の影響が観察されない。

4) 腎機能への影響

げっ歯類の腎臓は、メチル水銀処理によって最も高濃度の水銀が蓄積する臓器であり、機能障害も起こりやすい。血漿中のクレアチニン濃度と BUN (データは示さない) は、いずれの群においてもメチル水銀処理で有意に上昇しており (図8)、腎機能障害を示唆する。

メチル水銀曝露後の腎機能障害は、生体内脱メチル化を受けた無機水銀の蓄積による場合が多いが、急性期にはメチル水銀によってもおこりうる⁵⁾。本実験のラットは、8週間にわたる亜急性曝露であるため、無機水銀による障害である可能性が考えられる。

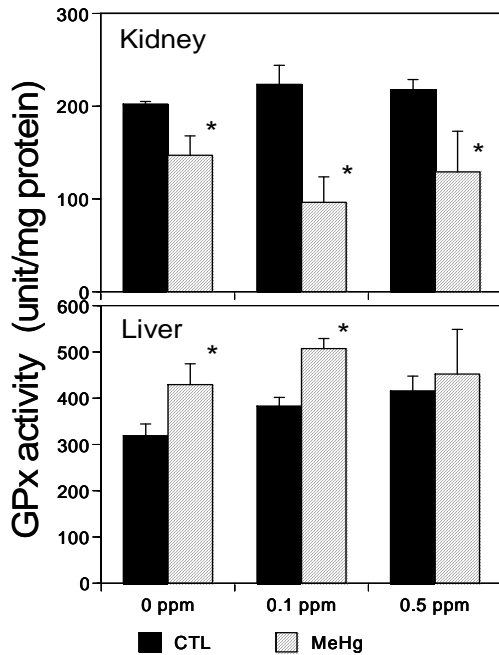


図 6：腎臓と肝臓のグルタチオンパーオキシダーゼ活性に対するメチル水銀曝露の影響。

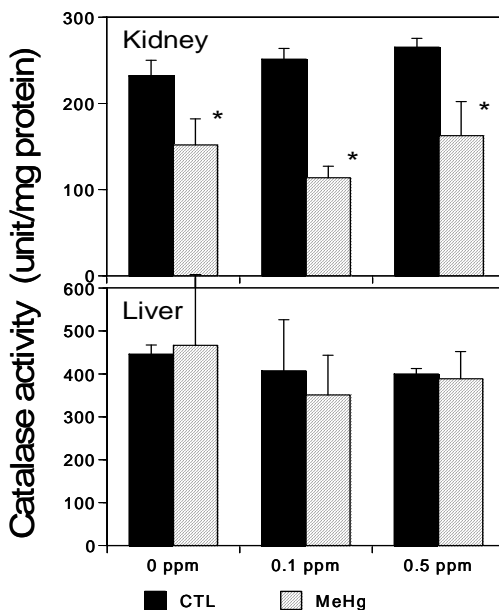


図 7：腎臓と肝臓のカタラーゼ活性に対するメチル水

銀曝露の影響。

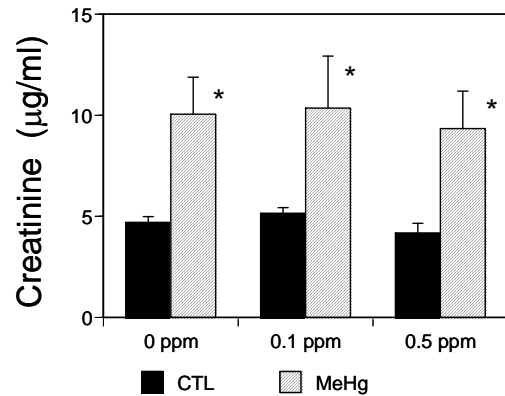


図 8：血漿クレアチニンレベルに対するメチル水銀曝露の影響。

以上の結果より、毒性発現レベル以下のメチル水銀 (0.5 ppm Hg/water) を摂取し続けた場合、高濃度のメチル水銀曝露を受けた時の抵抗性の獲得はみられなかったものの、少なくとも感受性が上昇することはないことが実証された。しかしながら、0.1 ppm Hg/water 群で示された、高感受性がどのような要因によるものであるかについては今後の課題である。

[文献]

- 1) Yasutake A, Matsumoto M, Yamaguchi Y et al: Current hair mercury levels in Japanese for estimation of methylmercury exposure. J Health Sci 50, 120-125, 2004.
- 2) Usuki F, Ishiura S: Expanded CTG repeats in myotonin protein kinase increases oxidative stress. NeuroReport 9, 2291-2296, 1998.
- 3) Graevskaya EE, Yasutake A, Aramaki R et al: Effect of methylmercury on histamine release from rat mast cells. Arch Toxicol 77, 17-21, 2003.
- 4) Yasutake A, Hirayama K: Acute effects of methylmercury on hepatic and renal glutathione metabolisms in mice. Arch Toxicol 68, 512-516, 1994.
- 5) Yasutake A, Hirayama K, Inouye M: Sex difference in acute renal dysfunction induced by methylmercury in mice. Renal Failure 12, 233-240, 1990.

5. 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 Study on biotransformation and elimination of methylmercury in cultured cells

[担当者]

- 永野 匡昭 (基礎研究部)
- 安武 章 (基礎研究部)
- 森 信子 (熊本大学)
- 三浦 郷子 (和光大学)

[期間]

平成 17~21 年度

[背景および目的]

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。MeHg を慢性曝露した動物実験では、この生体内無機化能力 (組織中無機水銀濃度/総水銀濃度) は組織によって異なることが観察されている (腎臓 約 50% > 肝臓 約 20% > 脳 約 3%)。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¹⁾。そこで本研究では、研究対象としてヒト組織由来の細胞株を使用し、MeHg の無機化の検証及びそのメカニズムを検討し、さらにこの無機化能力における組織差について明らかにする。

一方、神経組織および培養細胞での MeHg の排出に関する研究は、ほとんど報告されていない。MeHg に対する神経細胞株の感受性は、蓄積した MeHg の排出能力によって左右され、細胞内グルタチオン含有量が MeHg の感受性を決定する 1 つの要因であることが報告されている¹⁾。そこで、本研究では MeHg の排出機構についても検討し、MeHg 毒性の軽減方法の糸口を見つけることを目的とする。

[方法]

ヒト由来細胞株は、薬物等の代謝を司る肝臓と MeHg の標的器官である脳組織由来のものを用いた：正常肝細胞 (Chang Liver, C. Liver)、神経芽細胞腫 (SK-N-SH) およびグリア芽腫 (U373MG)。

1) MeHg の細胞内総水銀量 (蓄積量) と無機水銀生成量

水銀の測定は、酸化燃焼一金アマルガム法により行った。無機水銀の試料は、従来の方法²⁾に若干の改良を加えて調製した。MeHg の無機水銀への細胞内変換率 (無機化能力) は、細胞内無機水銀濃度/総水銀濃度で表した。

2) MeHg の無機化におけるメカニズム

活性酸素修飾剤 (メチルビオローゲンおよび硫酸鉄)、またはヒドロキシラジカル (OH \cdot) 捕捉剤による無機化能力への影響を検討した。さらに、ミトコンドリアにおける O $_2$ の生成阻害剤 (アジ化ナトリウム) による影響についても検討した。

[結果および考察]

ヒト組織における MeHg の無機化能力が異なることを検証するため、MeHg の曝露濃度は MeHg 毒性に対して最も感受性が高い SK-N-SH の毒性試験の結果に基づいて、1 μ M (最終濃度) で行った。

1) MeHg の細胞内蓄積量と無機水銀生成量

MeHg の細胞への蓄積は曝露後 24 時間にはプラトーに達し (Fig. 1)、細胞内無機水銀量は時間とともに増加した (Fig. 2)。細胞への蓄積量は SK-N-SH が最も多く、無機化能力は C. Liver において最も高かった (Fig. 3)。以上の結果から、MeHg の無機化能力は組織によって異なることを確認し、3 つの細胞株のうち肝臓由来の C. Liver が最も高いことが明らかとなった。

2) MeHg の無機化におけるメカニズム

ラット肝スライスにおける MeHg の無機化は OH \cdot ではなく、ミトコンドリア内膜で生成されたスーパーオキシドアニオン (O $_2$ \cdot^-) が関与することが報告されている³⁾。そこで、MeHg の無機化における O $_2$ 生成剤 (メチルビオローゲン ; 100 μ M) の修飾効果を検討したところ、MeHg の無機化はいずれの細胞においても促進された。次に、生理的条件下での MeHg の無機化における O $_2$ の関与を証明するため、ミトコンドリアにおける O $_2$ 生成阻害剤 (アジ化ナトリウム ; 5-500 μ M) の

MeHgの無機化に及ぼす影響を検討したが、いずれの細胞においても阻害効果は認められなかった。また、MeHgの無機化におけるOH⁻生成剤(鉄イオン; 10 μM)及びOH⁻捕捉剤(マンニトール; 500または1000 μM)の影響についても検討を行ったが、MeHgの無機化へのOH⁻の関与はいずれの細胞においても認められなかった。

ミトコンドリアにおけるO₂生成部位として、電子伝達系の複合体I, III及びIVが知られている。今回用いたO₂生成阻害剤であるアジ化ナトリウムは、電子伝達系において下流の複合体IVに対する阻害剤である。今後はその上流の複合体を阻害する薬物を用いて検討を行ない、ヒトにおけるMeHgの無機化のメカニズムを明らかにしたい。

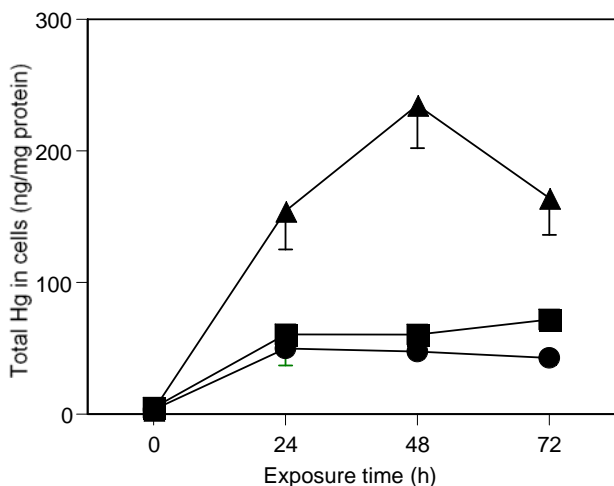


Fig. 1. Hg accumulation in three cell lines after MeHg exposure. ▲, SK-N-SH; ■, C. Liver; ●, U373MG

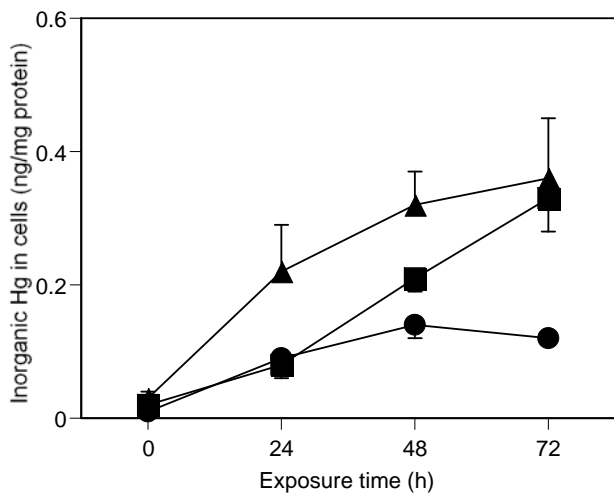


Fig. 2. Degradation of MeHg in three cell lines after MeHg exposure. ▲, SK-N-SH; ■, C. Liver; ●, U373MG

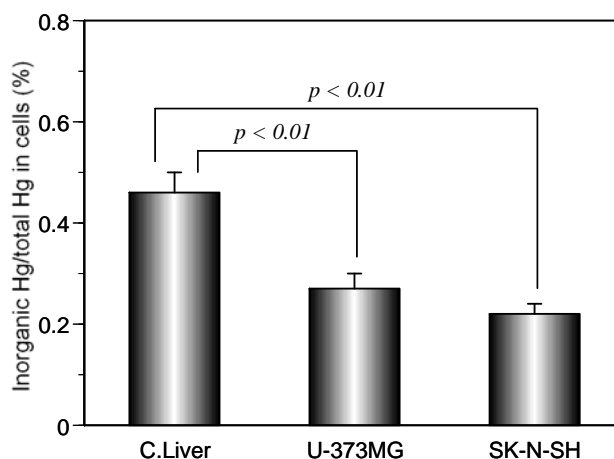


Fig. 3. Degradation of MeHg in three cell lines 72 h after MeHg exposure.

[文献]

- 1) 三浦郷子: メチル水銀の神経毒性とその作用機構. 衛生化学 44, 393-412, 1998.
- 2) Yasutake A, Hirayama K: Selective quantification of inorganic mercury in tissue of methylmercury-treated rats. Bull Environ Contam Toxicol 45, 662-666, 1990.
- 3) Yasutake A, Hirayama K: Evaluation of methylmercury biotransformation using rat liver slices. Arch Toxicol 75, 400-406, 2001.

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

Research on action of methylmercury on nerve reproduction (proliferation and projection formation/progress of neuronal cell) and the medicine treatment

[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)

[期間]

平成 17~21 年度

[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^{1,2)}、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、直接、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)を引き起こし、結果的に神経細胞死を誘発している可能性がある。よって本研究では、低濃度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 signal³⁾, Rho-ROCK signal⁴⁾) の治療効果についても実験的に明らかにする。

[方法]

1. 神経細胞増殖

1-1. 培養神経細胞

メチル水銀を未分化の PC12 細胞に曝露し、増殖活性の変化について生化学的⁵⁾に解析した。

1-2. 動物実験

ddy マウスを用いて脳における BrdU (新生神経細胞の指標)⁶⁾ 陽性細胞の定量を試みた。

2. 神経突起形成/伸展

2-1. 培養神経細胞

メチル水銀をラット初代培養神経細胞に曝露し、Phospho-neurofilament 抗体 (主に軸索を認識する) および Microtubule-associated protein2 抗体 (主に樹状突起を認識する) を用いて神経突起形成/伸展に対する作用を生化学的⁵⁾、組織学的⁷⁾に解析した。同時に神経細胞死誘発作用⁸⁾についても測定した。さらに、低濃度メチル水銀の毒性メカニズムを探求するために、神経突起促進因子である Rac1, CDC42 および神経突起抑制因子である RhoA^{9,10,11)} の発現について生化学的に解析した。

[結果および考察]

1. 神経細胞増殖

培養細胞を用いた結果については、平成 16 年度年報にて報告済。

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、BrdU (新生神経細胞の指標)⁶⁾ 陽性細胞数を多く検出できると報告されている ddy マウス脳において検討を行ったが、現在のところ、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。このことから、神経細胞増殖に関する *in vivo* における検討は中断中である。

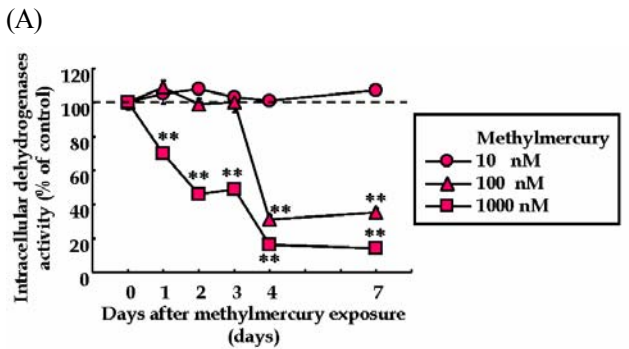
2. 神経突起形成/伸展

低濃度(100 nM)メチル水銀は、神経細胞死誘発作用に先行して、Phospho-neurofilament 量を減少させた (Fig. 1A-B, 2A-B)。一方、メチル水銀は Microtubule-associated protein 2 量も減少させたが、この作用は神経細胞死誘発作用に先行しなかった (Fig. 1C, 2C-D)。このことから、低濃度メチル水銀は樹状突起ではなく、軸索に特異的に作用することによって神経細胞死を誘発することが示唆された。

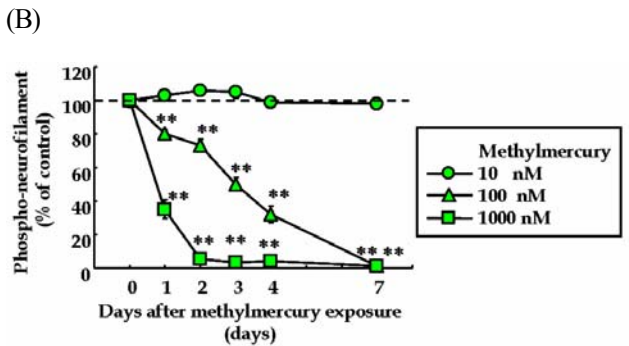
さらに、メチル水銀の低濃度(100 nM)曝露は曝露 1

日目から神経突起促進因子である Rac1 および Cdc42 の発現を抑制したが、神経突起抑制因子である RhoA の発現は抑制しなかった(Fig. 3A)。このことから、メチル水銀は Rac1 発現抑制を介して軸索変性を誘発していることが示唆された。また、曝露4日目では Rac1, Cdc42, RhoA 全ての発現が抑制された (Fig. 3B)。曝露4日目では既に神経細胞死が誘発されていることから、この発現抑制作用は神経細胞死に伴った現象であることが示唆された。

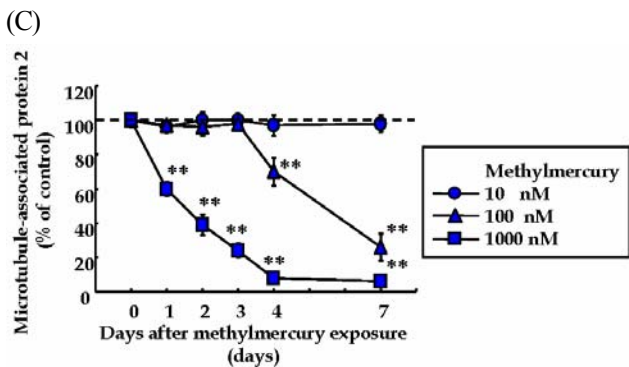
なお、神経突起形成/伸展に関する実験結果の一部 (Rho-ROCK signal の治療効果)は、平成17年度年報および国際水銀会議¹²⁾にて報告済。



Mean±S.E., **: p<0.01 by Dunnett method vs vehicle exposure group, n=6



Mean±S.E., **: p<0.01 by Dunnett method vs vehicle exposure group, n=6



Mean±S.E., **: p<0.01 by Dunnett method vs vehicle exposure group, n=6

Fig.1 メチル水銀の神経突起および神経細胞死に対する作用

- A:メチル水銀の神経細胞死に対する作用
- B:メチル水銀の Phospho-neurofilament に対する作用,
- C:メチル水銀の Microtubule-associated protein 2 に対する作用

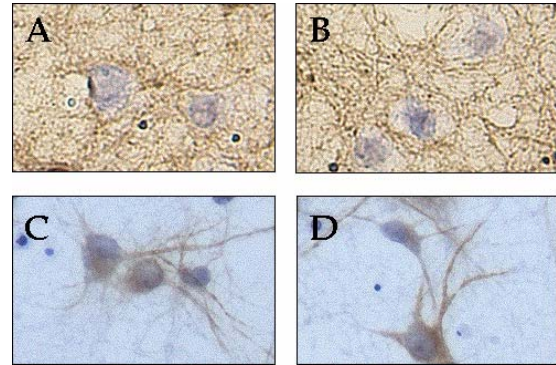
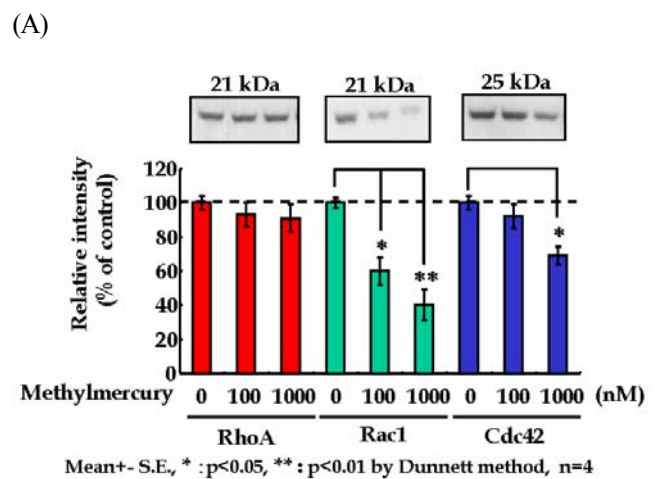


Fig.2 メチル水銀の神経突起に対する作用

- A: Phospho-neurofilament (メチル水銀 0 nM, 1 日目)
- B: Phospho-neurofilament (メチル水銀 100 nM, 1 日目)
- C: Microtubule-associated protein 2 (メチル水銀 0 nM, 1 日目)
- D: Microtubule-associated protein 2 (メチル水銀 100 nM, 1 日目)



Mean±S.E., *: p<0.05, **: p<0.01 by Dunnett method, n=4

(B)

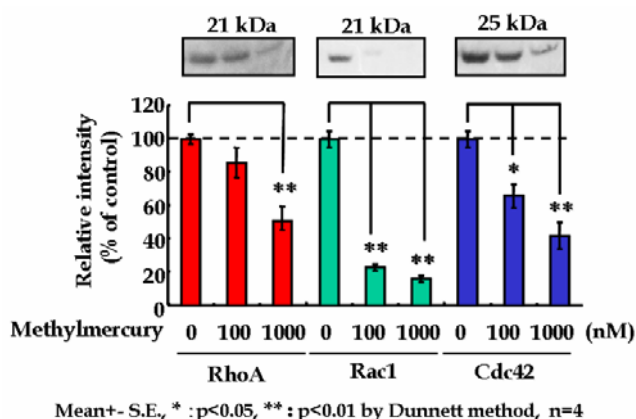


Fig.3 メチル水銀の Rac1, CDC42 および RhoA 発現に対する作用

A: 曝露 1 日目

B: 曝露 4 日目

[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) Kim JS, Chang MY, Yu IT et al: Lithium selectively increases neuronal differentiation of hippocampal neural progenitor cells both in vitro and in vivo. *J Neurochem* 89, 324-336, 2004.
- 4) Fournier AE, Takizawa BT, Strittmatter SM: Rho kinase inhibition enhances axonal regeneration in the injured CNS. *J Neurosci* 23, 1416-1423, 2003.
- 5) Doherty P, Dickson JG, Flanigan TP et al: 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.
- 6) Eriksson PS, Perfilieva E, Björk-Eriksson T et al: Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 4, 1313-1317, 1998.
- 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) Klingman JG, Hartley DM, Choi DW: Automated determination of excitatory amino acid neurotoxicity in cortical culture. *J Neurosci Methods* 31, 47-51, 1990.
- 9) Ridley A, Hall A: The small GTP-binding protein rho regulates the assembly of focal adhesions and actin stress fibers in response to growth factors. *Cell* 70, 389-399, 1992.
- 10) Nobes C, Baverstock J, Saibil H: Activation of the GTP-binding protein Gq by rhodopsin in squid photoreceptors. *Biochem J* 287, 545-548, 1992.
- 11) Waterman-Storer CM, Worthylake RA, Liu BP et al: Microtubule growth activates Rac1 to promote lamellipodial protrusion in fibroblasts. *Nat Cell Biol* 1, 45-50, 1999.
- 12) Fujimura M, Sawada M, Takashima A: Long-term exposure to low-concentration methylmercury induces neuronal cell death via neurite retraction in rat cultured neuron. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, 159, 2006.

7. メチル水銀中毒の治療方法に関する研究 Study on the treatment for methylmercury intoxication

[担当者]

○村尾 光治 (臨床部)
若宮 純司 (臨床部)
宮本謙一郎 (臨床部)
中村 政明 (臨床部)
有村 公良 (鹿児島大学)
内野 誠 (熊本大学)
内山 靖 (群馬大学)
浅山 滉 (長尾病院)

[期間]

平成 17~20 年度

[背景および目的]

現在までに急性期については、水銀排泄促進剤を中心として各種薬物の報告があり、慢性期については、対症療法とリハビリテーションの効力に関する諸所の報告がある。現在までの治療法のマニュアルを体系的に完成させ、世界的なメチル水銀中毒事件に役立つようにする。

[方法]

動物実験の報告をまとめるとともに、ラット、サルを用いて急性期・慢性期について治療薬の組み合わせによる効果を検討する。また、人への治療報告をまとめるとともに水俣病患者への治療効果を判定する。

[結果および考察]

1)本年度の動物実験は、メチル水銀中毒脳神経細胞障害におけるアスタキサンチンの防御効果について検討を行った。方法は、8 週齢の雄性 Wistar ラットを使用し、実験群を MeHg 5 mg/kg/day を 12 日間連続経口摂取させた群、MeHg 投与前の一日前、MeHg 投与と同時に投与及び MeHg 最終投与後 7 日目までアスタリールオイル 50 mg/kg/day、500 mg/kg/day を併用経口投与した群、オリーブ油 1 ml/kg/day 経口投与のコントロール群、アスタリールオイル 500 mg/kg/day 単独経口投

与群の 5 群に分け、MeHg 最終投与後 8 日目に解剖し、4%パラホルムアルデヒド液で還流固定し、病理学的に HE 染色、Nitrotyrosine 染色、TUNEL 染色を行い、ASX の神経細胞障害保護効果を検討した。

その結果、MeHg 中毒ラット脳における病理学的検討では、HE 染色標本で、MeHg 単独投与群では、小脳顆粒細胞・プルキンエ細胞の変性・壊死・脱落及び大脳皮質後頭部視覚野椎体細胞の変性・壊死・脱落が認められ、アスタリールオイル 50 mg/kg/day、500 mg/kg/day 経口投与群では、これらの神経細胞障害の程度が抑制され、ASX の神経細胞障害の防御効果が認められた。また、この場合病理学的に ASX の投与量の差による所見の違いは認められなかった。コントロール群及びアスタリールオイル単独投与群は、明らかな病変は認められなかった。また、Nitrotyrosine 染色については、MeHg+ASX50 併用投与群が MeHg 単独投与群より染色性の低下が認められ、ASX の併用投与で MeHg 投与によるペルオキシナイトライトの産生が抑制され、プルキンエ細胞、大脳皮質の神経細胞が保護されている可能性が考えられた。また、ASX の併用投与で小脳顆粒細胞の TUNEL 陽性細胞が減少した事より、ASX の抗酸化機能によるアポトーシスの抑制が示唆された。また、同じくカテプシン B 阻害剤である CA074 の投与効果についても検討を行った。方法は 8 週齢の雄性 Wistar ラットを使用し、実験群をコントロール群、MeHg 5 mg/kg/day 12 回連続経口投与群、MeHg+CA074(4mg/kg/day)腹腔内併用投与群、CA074 単独投与群で行った。MeHg 最終投与後 8 日目に解剖し、HE 染色標本で大脳皮質、小脳の病理学的検討を行った。その結果、CA074 の併用投与群では、大脳皮質で、著明な椎体細胞の変性・壊死・脱落が抑制された。小脳では顆粒細胞の変性(核濃縮)・壊死・脱落が中等度に抑制された。この事より、ミクログリアより放出されるカテプシン B を CA074 が阻害することより神経細胞傷害を抑制している可能性が考えられた。さらに、熟成ニンニク抽出液であるキョーレオピン(湧永製薬)によるメチル水銀の体外排泄作用を自験で検

討を行った。検討は、5 ml 採血し、すぐに血球と血漿を分離し加熱気化式水銀分析装置で、血漿中・血球中の総水銀濃度を測定した。測定は3回実施した。1回目はキョーレオピンを1日2回(1回1 ml)2ヶ月間飲用し基準値と比較した。2回目はキョーレオピン1日3回飲用前後で測定を行った。3回目は、1日2回2ヶ月間飲用前後で比較した。その結果、1回目の測定では、血球/血漿比が基準値の半分ぐらいの数値であり、2回目、3回目の検討でも同様の比で、飲用前より後で明らかに数値が低下した。このことから、熟成ニンニク抽出液であるキョーレオピンは、熟成ニンニク抽出液中に含まれる成分(γ-メチルSe-セレノシステイン等)が血球中のメチル水銀と通常のL-システインとは別に結合し、血球中から糞等に排泄することより、血球中の水銀濃度を低下させている可能性が考えられた。

2)本年度は急性期治療・慢性期治療について薬物療法・理学療法および作業療法などの機能回復療法についての情報収集を行った。薬物療法については尿中排泄促進剤、腸管排泄剤、血漿交換療法、セレン、神経再生促進剤、抗酸化剤、グルタミン酸受容体拮抗剤などの文献情報をまとめるとともに、対症療法・リハビリテーションに関して現在までの報告を収集している。これまで収集した文献検索およびリハビリテーションを整理し体系的にまとめつつある。これらの情報に関しては、世界で起こりつつある水銀中毒に対して国際貢献できるよう情報構築する。

8. 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

Study on embryotoxicity of environmental pollutants using primate embryonic stem cells

[担当者]

○山元 恵 (基礎研究部)
藤村 成剛 (基礎研究部)

[期間]

平成 17~21 年度

[背景および目的]

環境汚染物質の毒性発現様式は、発生期、成熟期、老齢期の各発達相で異なる。特に発生初期は有害物質に対する感受性が高く、発生初期の曝露は、その後の発達に大きな影響を与える。従来、発生初期における水銀の毒性評価は、齧歯類を主とする動物実験により評価が試みられてきた。ES 細胞 (embryonic stem cell : 胚性幹細胞) は、動物の発生初期段階である胚盤胞に属する内部細胞塊より作られ、初期発生モデルとして有用であり、*in vitro* では種々の細胞へ分化誘導することが可能である。本プロジェクトは、霊長類 ES 細胞の細胞分化系を用いた、動物実験では解析が困難なレベルの水銀の初期発生毒性の解明、特に経胎盤性のメチル水銀等の次世代影響のリスク評価を目的とする。

[方法]

初めに、ES 細胞の細胞分化系を用いた毒性評価系の確立を目的として、水銀化合物に比較して、より弱い生体毒性を持つ bisphenol A (BPA) を用いた検討を行った。

カニクイザル ES 細胞、および ES 細胞から胚様体 (Embryoid Body: EB) へ分化誘導した細胞 (7, 14, 21 days) を、ビスフェノール A (BPA: 0.1 μ M, 10 μ M) に曝露し、得られた各細胞群を用いて、各胚葉分化マーカー遺伝子の mRNA 発現への影響、および ES 細胞未分化能維持関連遺伝子候補への影響について検討した。

検討遺伝子候補として、文献情報等を元に選択した外胚葉 (4 種)、中胚葉 (2 種)、内胚葉 (3 種) 分化マーカー遺伝子発現について、BPA 曝露の影響を検討した。また、ウェスタンブロットを用いたタンパク質発

現のプロファイリング (Power Blot) の結果を受けて、ES/EB 比が高い遺伝子を上位から選出し (14 種)、mRNA 発現の観点からサル ES 細胞未分化能維持関連遺伝子候補のスクリーニングと BPA の影響を検討した。試料として、同一の培養条件において得られたサンプル (培養 4 回分) を用い、real time RT-PCR (SYBR I) を用いた mRNA 発現の解析を行った。

[結果および考察]

0.1、10 μ M BPA の存在下において、21d EB における PAX-6 (内胚葉分化マーカー) の発現が、コントロール (DMSO) に比較して、各々 1.9 倍、2.4 倍促進される傾向を示した。また、 α -fetoprotein (AFP: 外胚葉分化マーカー) の発現が、14d EB において、10 μ M BPA の存在下で 1.5 倍、21d EB において、0.1、10 μ M BPA の存在下で各々 2.4 倍、1.9 倍促進される結果が得られた。

また、ヒト、マウスにおいて ES 細胞未分化マーカー遺伝子として知られている Oct-3/4 をポジティブコントロール遺伝子として、未分化能関連遺伝子候補に関する PCR を行った結果、EB (7d, 14d, 21d) における E-cadherin、argininosuccinate synthetase、Connexin 43、Caveolin-1 の mRNA 発現が、ES 細胞に比較して、各々 12~20%、6~10%、27~30%、12~18% の範囲で保たれるという結果を得た。これらの遺伝子発現に関して、BPA の影響はほとんど見られなかった。Oct-3/4 の発現が、14d 以降、1% 以下であったことを考慮すると、これらの遺伝子は、いわゆる stemness 遺伝子としての可能性は低いものの、ES 細胞の未分化状態から EB 分化への移行に何らかの形で関与している可能性が示唆される。

以上の結果より、化学物質 (BPA) の存在下において、胚葉分化マーカーへの影響を追跡可能であり、また ES 細胞の未分化状態への関与が推定される遺伝子四種類に関して、安定した結果が得られ、サル ES 細胞の EB 分化系を用いて環境汚染物質への生体応答を評価できる可能性を示唆できた¹⁾。本研究において得られた成果は、メチル水銀に関する未知の神経毒性メ

カニズムの解明等に展開予定であり、現在、本 ES 細胞由来の神経幹様細胞からニューロンやアストロサイト等の神経系細胞への分化系確立の検討を行っている。

[文献]

- 1) Yamamoto M, Tase N, Okuno T et al: Monitoring of gene expressions in embryoid body differentiation derived from Cynomolgus monkey embryonic stem cells in the presence of bisphenol A. J Toxicol Sci 32(3), 301-310, 2007.

9. 水銀曝露におけるメタロチオネイン動態における研究 Metallothionein dynamic study by mercury exposure

[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)

[期間]

平成 17~21 年度

[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。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 β -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¹⁾。

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²⁾。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。

また、三種の水銀化合物、金属水銀 (Hg(0))、無機水銀 (Hg(II))、メチル水銀 (MeHg) はそれぞれ、体内分布と毒性を異にする。このうち、無機水銀は組織メタロチオネイン (MT) を誘導するが、他の二種には直接的な誘導作用はない。しかし、生体内ではメチル水銀は脱メチル化反応で³⁾、また金属水銀は酸化反応によって無機水銀に変化するので²⁾、その結果として MT の誘導に関与することが考えられる。そこで、水銀の形態の違いによる MT アイソマーの誘導についても検討した。

[方法]

金属水銀曝露における MT アイソマーの役割を明ら

かにするために、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) の組織 MT 誘導を mRNA およびタンパクレベルで検討した。

また、マウス (C57BL/6N) を三種の水銀化合物に曝露し、6 時間後の組織 MT 誘導を mRNA およびタンパクレベルで検討した。

[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

曝露 1 時間後~8 時間後をピークに MT-I 優位の発現の増加を認めたが、経過とともに MT-I と MT-II 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。

MT アイソマーの脳での発現を詳細に検討するために、in-situ hybridization の検討を行った。これまで、3 種類のプローブを用いて、hybridization 温度やプローブ量を変えながら検討を行い、最適な条件が見出されたため、次年度は曝露前、曝露終了 1 時間後、8 時間後の脳での MT アイソマー発現の局在の違いを明らかにする予定である。

2) 水銀の形態 (金属水銀、メチル水銀、無機水銀) によるマウス組織の MT 誘導

【水銀蓄積】

- a. MeHg と Hg (0) は血液脳関門を通過して速やかに脳にとりこまれるが、Hg (II) はほとんど取り込まれなかった。
- b. MeHg 処理は、全ての組織において最も高い水銀蓄積をもたらした。
- c. しかし、無機水銀のみの濃度は、その比率がどの組織においても 1% 以下であるため、水銀化合物中最も低かった。

【MT mRNA の誘導】

大脳と小脳

- a. 大脳では水銀処理による MT mRNA の誘導はほとんどおこらないが、小脳では、全ての水銀化合物

による MT-I, II mRNA の誘導が観察された (Fig. 1)。水銀濃度には両組織で大きな差は認められないため、水銀化合物による MT 誘導に対する感受性は、大脳より小脳で高いと考えられた。

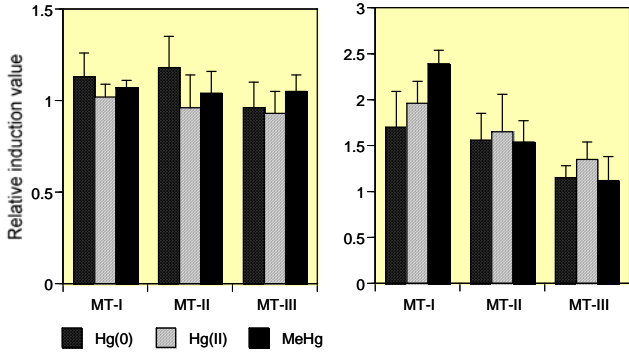


Fig.1 水銀の形態による脳の MT mRNA 誘導
肝臓と腎臓

a. 肝臓では Hg (II) と MeHg 処理によって、腎臓では Hg (0) と Hg (II) 処理によって MT-I, II の誘導が顕著であった (Fig. 2)。

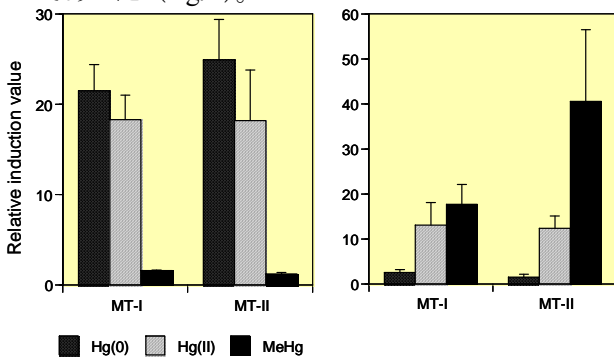


Fig.2 水銀の形態による肝臓、腎臓の MT mRNA 誘導
b. 腎臓では、MT-mRNA の誘導と蓄積した無機水銀濃度に良好な相関が観察されるが、肝臓ではこのような相関はなく、Hg (II) 処理群に比べて、MeHg 処理群では誘導が大きく、Hg (0) 処理群では誘導が小さかった (Fig. 3)。

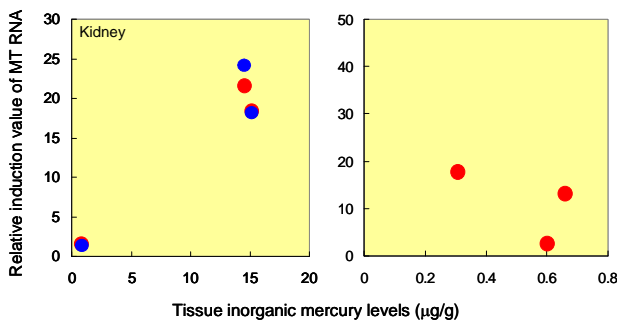


Fig.3 組織無機水銀蓄積量と MT mRNA 誘導との相関
● : MT-I; ● : MT-II

MeHg 処理群の肝臓では、無機水銀による直接的な誘導の他に、MeHg を介した他の経路 (酸化ストレスなど) があるのかもしれない。また、Hg (II) 群と Hg (0) 群とでは、両水銀化合物で、水銀の組織内あるいは細胞内での分布の違いが考えられた。

【タンパク MT レベル】

a. 脳の総 MT レベルは、水銀化合物によりほとんど影響されないが、Hg (0) 処理により、小脳でわずかな上昇が認められた (Fig. 4)。

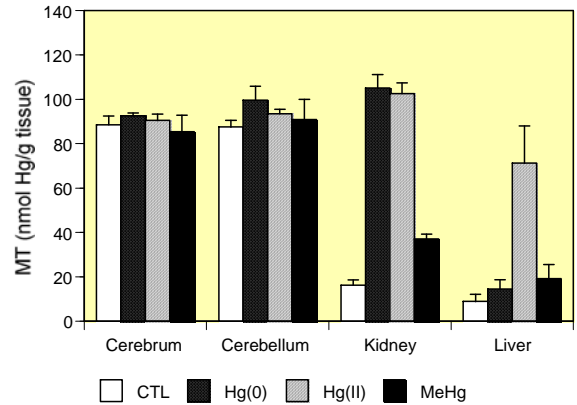


Fig.4 水銀の形態による組織 MT 蛋白の誘導

b. 腎臓では全ての水銀化合物で、肝臓では Hg (II) と MeHg 処理で総 MT レベルの有意な上昇が観察されるが (Fig. 4)、RNA レベルと同様に、肝臓では蓄積水銀濃度と誘導率との間に相関は認められなかった (Fig. 5)。

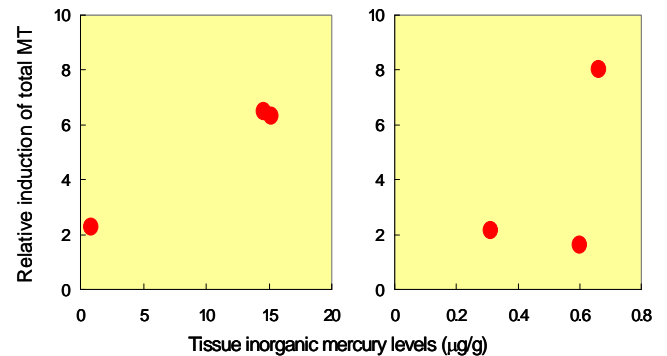


Fig.5 組織無機水銀蓄積量と MT 蛋白誘導との相関

以上の検討から、

- ① 三種の水銀化合物による MT の誘導は、その様式 (誘導率/蓄積濃度) に組織によっては顕著な差があった。
- ② これは、化合物ごとの細胞内分布の違い、あるいは、同時に誘導される他種遺伝子の関与によるものか

もしれない。

次年度は、水銀の形態によるMT誘導の違いのメカニズムを検討する予定である。

[文献]

- 1) Coyle P, Philcox JC, Carey LC et al: Metallothionein: the multipurpose protein. *Cell Mol Life Sci* 59, 627-647, 2002.
- 2) Yasutake A, Nagano M, Hirayama K: Alterations of metallothionein isomers in Hg(0)-exposed rat brain. *Arch Toxicol* 77, 12-16, 2003.
- 3) Yasutake A, Hirayama K: Evaluation of methylmercury biotransformation using rat liver slices. *Arch Toxicol* 75, 400-406, 2001.

10. 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 Research on the fetal dopamine neuron injury mechanism by methylmercury exposure

[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)

[期間]

平成 17~21 年度

[背景および目的]

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。しかし、そのメカニズムは分かっていない。昨年度、メチル水銀に曝露された胎子において、DA 量が減少することを報告した。また、中脳および線条体には明らかな神経細胞の壊死および減少は認められず、DA 量の減少は神経細胞の減少よりもむしろ細胞機能低下によるものであることが示唆された。

今年度は胎子期にメチル水銀を曝露され DA 量の減少したマウスには生後、どのような臨床症状、行動学的変化および病理組織学的変化が観察されるのか調べることを目的としていた。しかしながら、コントロール群も含めて食殺が多く上記の目的の実験を行うことが出来なかった。よって、今年度は成マウスにおいて、メチル水銀曝露により黒質および線条体へはどのような影響が認められるのかを知ることを目的として実験を行った。

[方法]

C57BL マウス、メス、10 週令へメチル水銀を給水曝露 (30 ppm) し、曝露 1、2 および 3 週間後に剖検した。剖検時には脳を採取し、水銀濃度測定用には皮質、線条体、中脳、小脳および脳幹に分けて採材し凍結保存した。病理標本作製用には脳を 10% 中性緩衝ホルマリンにて固定した。病理組織学的検索は HE 染色、抗 NeuN 抗体および抗 GFAP を用いた免疫組織化学、TUNEL 法を行った。また、それぞれの剖検日前日には行動学的検索としてオープンフィールドテストおよび高架式十字迷路を行った。

[結果]

臨床症状

マウスは曝露 2 週間後からケージ内を激しく動き回り始め、所謂多動を示すようになった。同時期より体重が徐々に減少し、削瘦を呈する時期には運動量が減少し沈鬱となった。曝露 3 週間後には半数が死亡した。

行動学的検索

オープンフィールドテスト：曝露 20 日後に自発運動量がコントロールに比べ有意に増加した (図 1)。立ち上がり行動には変化はみられなかった (図 2)。曝露 13 日後には身づくろい回数がコントロールに比べ有意に減少し、糞便数が有意に増加した。

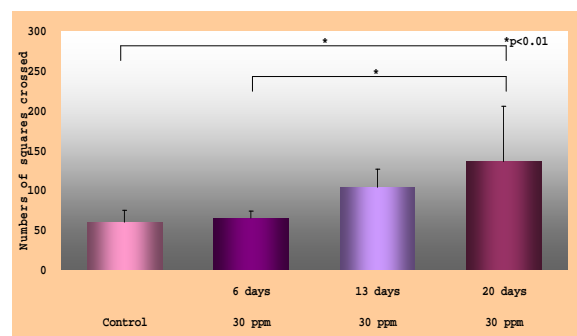


図 1：自発運動量の変化

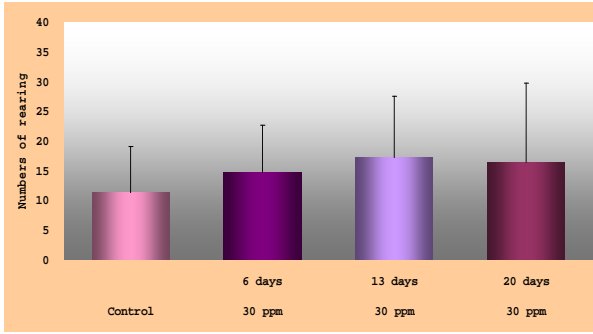


図2：立ち上がり行動数

高架式十字迷路：曝露 20 日後にオープンアームおよびクローズドアーム両方への侵入回数がコントロールに比べ有意に増加した (図3)。しかし、オープンアームに侵入する回数および留まる時間には変化はみられなかった (図4)。

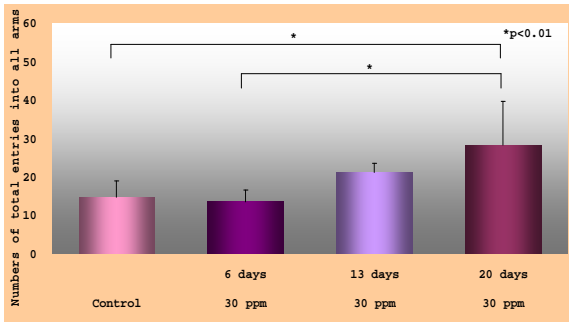


図3：オープンおよびクローズドアームへの侵入回数

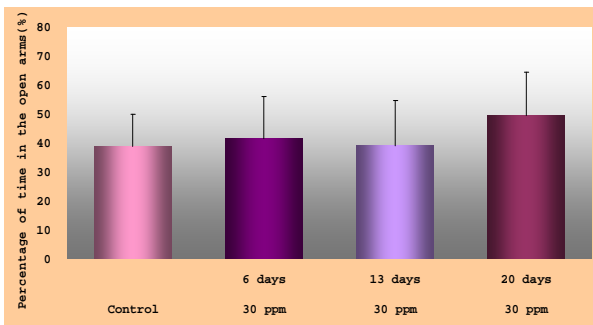


図4：オープンアームに留まる割合

剖検所見

被毛粗剛、削瘦

病理学的検索結果

HE 染色：曝露 1 週間後の線条体においてごく少数の神経細胞の壊死が認められた。曝露 3 週間後には壊

死した神経細胞は多数となり、反応性アストログリアの増殖が認められた。大脳皮質深層においては、曝露 2 週間後に少数の神経細胞の壊死およびアストログリアの増殖が認められ、曝露 3 週間後には壊死細胞数が増加し、アストログリアの増殖が重度となった (図 5)。黒質には病変は認められなかった。

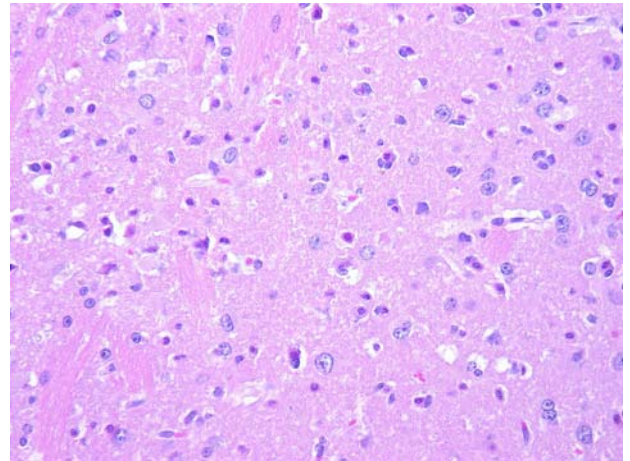


図5：曝露 3 週間後の線条体 (HE 染色)

抗 NeuN 抗体を用いた免疫組織化学：コントロール個体では多数の陽性像が認められるのに対し (図 6)、曝露 2 週間後には線条体における陽性像が減少し、3 週間後にはごく少数の陽性細胞が認められるだけとなった (図 7)。大脳皮質深層においては、曝露 3 週間後に陽性細胞の減少が明らかとなった。

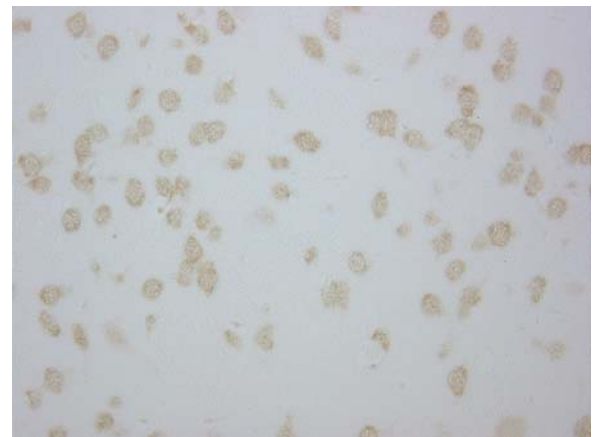


図6：コントロールの線条体 (抗 NeuN 抗体)

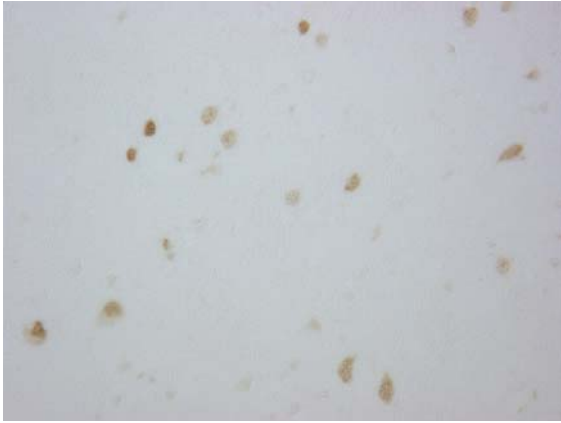


図7：曝露3週間後の線条体（抗 NeuN 抗体）

抗 GFAP 抗体を用いた免疫組織化学：曝露 2 週間後には、線条体および皮質深層において多数の陽性細胞が観察された。曝露 3 週間後では染色性がより強くなり肥大した反応性のアストログリアが多数認められた（図 8 および 9）。



図 8：曝露3週間後の線条体（抗 GFAP 抗体）

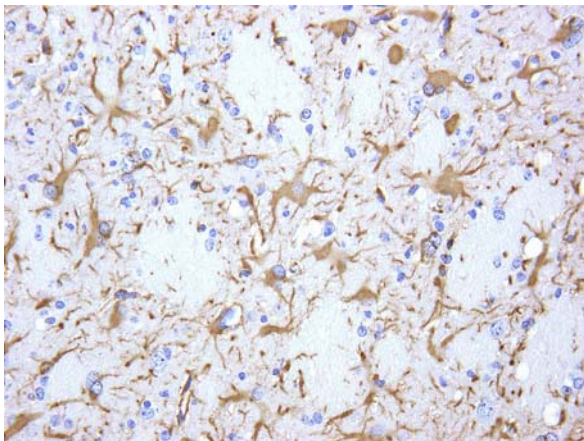


図 9：曝露3週間後の線条体（抗 GFAP 抗体）

TUNEL 法：曝露 2 週間後より TUNEL 陽性細胞が線条体において観察され、3 週間後にも多数の陽性細胞が観察された（図 10 および 11）。大脳皮質において陽性細胞は認められなかった。

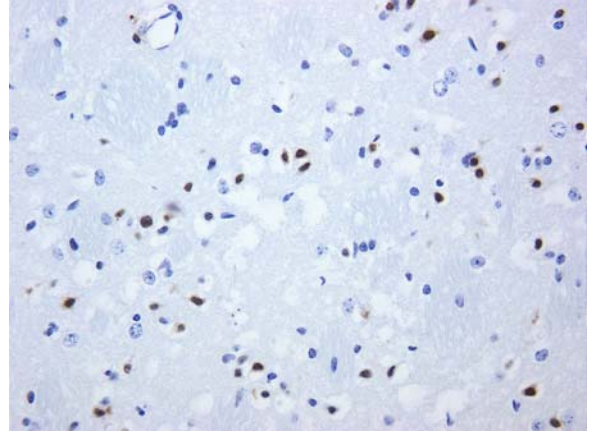


図 10：曝露2週間後の線条体（TUNEL 染色）

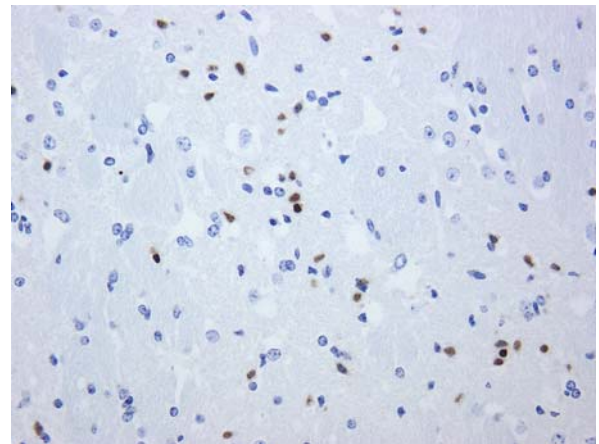


図 11：曝露3週間後の線条体（TUNEL 染色）

水銀濃度測定結果

曝露 1 週間後には部位による水銀濃度に有意差は認められなかった（図 12）。曝露 2 週間後の脳内水銀濃度は線条体において皮質、脳幹および小脳より有意に高かった（図 13）。また、皮質において小脳より水銀濃度が有意に高かった。

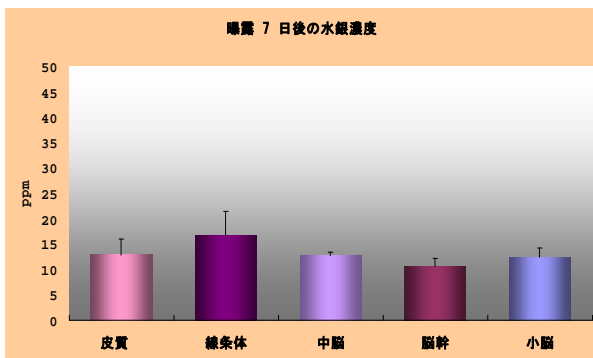


図 12 : 曝露 1 週間後の脳内水銀濃度

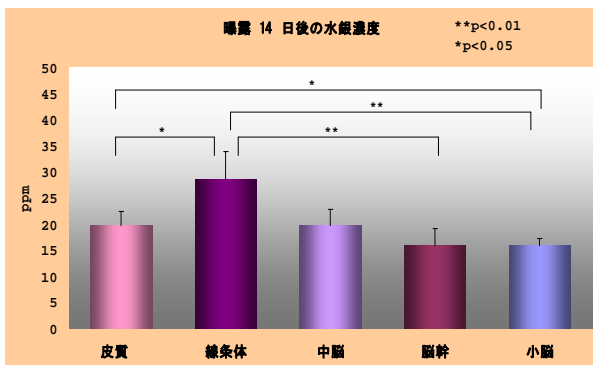


図 13 : 曝露 2 週間後の脳内水銀濃度

[考察]

メチル水銀曝露により、線条体および大脳皮質深層の神経細胞の消失が認められた。線条体の HE 染色において明らかな神経細胞の壊死が多数観察され、TUNEL 陽性細胞も認められたことから、線条体の小型神経細胞消失は壊死もしくはアポトーシスによって引き起こされていることが示唆された。

行動学的にはオープンフィールドテストにおいて自発運動量の増加が観察された。前頭葉皮質、線条体および海馬の神経細胞の消失に伴い自発運動量の増加が引き起こされることが知られている¹⁾。メチル水銀曝露により、線条体および大脳皮質の神経細胞が消失したため、自発運動量増加が引き起こされたと考えられる。

病変が形成された線条体および皮質において他の脳内の部位よりも水銀濃度が高かった。組織傷害が引き起こされた結果、水銀濃度が上昇するのか、もしくは水銀濃度の上昇が他の部位よりも早い結果、線条体および皮質において病変が形成され易いのか今後の

検討課題である。

[文献]

- 1) Starkstein SE, Moran TH, Bowersox JA et al: Behavioral abnormalities induced by frontal cortical and nucleus accumbens lesions. Brain Res 473, 74-80, 1988.

課題研究 4 水銀の環境科学に関する研究 Research on environmental sciences of mercury

環境中の水銀は常にその分布と化学形を変化させながら到る所に存在する。すなわち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、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もある。

本研究課題はこういった環境中の水銀に関するあらゆる事象を取り扱う。

それぞれの研究の平成 18 年度における研究概要を以下に列挙する。

[研究課題名と研究概要]

1) 水俣湾の水銀耐性菌の遺伝学的研究

海底に存在する細菌のうち水銀の化学形を修飾する性質を持つものを水銀耐性菌と名づけ、その遺伝学的な研究を続けてきた。その結果このような細菌は水銀汚染により何らかの遺伝的な変化を受けて水銀汚染環境下で出現すると推察された。水銀の化学形を修飾する酵素の遺伝子もほぼ特定している。

今年度は水俣湾と非汚染 2 地区から採取した *Bacillus* 属細菌 615 株について 2 価の水銀イオンによる最小発育阻止濃度を調べた。その結果、いずれの地点においても $0.5\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下の低濃度で発育が阻まれた。水俣湾の水銀濃度レベルが非汚染地区と同等になってきていることと関連する結果である。

一方水銀の揮発化に関与するレダクターゼの遺伝子は、すべての由来の細菌が保持していることも今回明らかになった。

2) 海域生態系における水銀の動態

水俣湾転石海岸の水銀平面分布を調べている。今回はそこで生活する無脊椎動物のうち、植物食性の腹足類(スガイ)に含まれる水銀について分析した。メチル水銀の含有量の多寡は底質の水銀濃度およびその偏差の幅と相関する傾向にあり、底質のメチル水銀濃度の解析が必要であることがわかった。

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、河川から採取した底生生物の解析を進めているが、水俣湾と同様に、その濃度分布は底質の総水銀濃度や偏差の幅と相関する傾向にあった。

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

本技術の一部である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ている。

今年度は、加熱処理によって発生した水銀元素の回収に関与する冷却システム(冷却チラー)のもつ問題点を改善し、回収効率を高めることができた。問題となっているのは、冷却チラー内部の冷却水が加熱処理に伴って発生する亜硫酸ガスにより酸性化することであった。そこでこれまでとは異なった脱硫添加剤を検索しそのうちのひとつが有効であることを見出した。またその処理方法にも工夫を加え、一定の成果を得た。

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

水俣湾において、月ごとに、表層、中層、下層そして底質直上から海水を採取し、赤木法によって総水銀およびメチル水銀分析を実施した。

その結果、総水銀については統計学的に見て年間を通して一定の濃度で推移していた。一方メチル水銀に関しては、7月から8月にかけて数値が急激に上昇していた。その原因については現在検討中である。

5) 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

水銀の化学形を修飾する性質を持つ細菌(水銀揮発化細菌)を利用したバイオテクノロジーによる水銀汚染物処理技術の開発を行っている。今年度は、電気透

析法による水銀の回収技術と、それに水銀揮発化細菌を担体として加えた装置について検討した。

その結果、二重イオン交換膜を備えた電極を用い、それに菌の担体を付加した装置が、水銀回収に良い成績を上げることを見出した。

6) 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

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。今年度はこの手法を実際の環境試料に適用し、従来のジチゾン抽出-GC-ECD 検出法の成績と比較し、またいくつかの改良を施して高感度化を試みた。

得られた値の従来法との相関はかなり高く、検出器として蛍光分析を加えれば十分実用になる手法であることがわかった。

1. 水俣湾の水銀耐性菌の遺伝学的研究

Genetic study on mercury-resistant bacteria in Minamata Bay

[担当者]

- 中村 邦彦 (基礎研究部)
- 中村 政明 (臨床部)
- 古川 謙介 (九州大学)
- 矢木 修身 (日本大学)
- 清野 正子 (北里大学)

[期間]

平成 17~19 年度

[背景および目的]

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、いろいろな種類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割合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る^{1,2)}。

特に、水俣湾のヘドロから採取した 1428 株の細菌のうち、19 株の細菌は、使用した 7 種全ての水銀化合物を揮発したが、対照地点の 3176 株では、このような特殊な水銀揮発化細菌は存在していなかった³⁾。これらの細菌は、水銀汚染により何らかの遺伝的な変化を受けて、水銀汚染環境で特異的に出現して来ているものと思われる。

細菌の水銀揮発化遺伝子群は、*merR*, *merT*, *merA*, *merB* などで構成されている。塩化第二水銀などの 2 価の水銀イオンの場合は、*merA* 遺伝子により作られる酵素 (レダクターゼ) によって揮発性の水銀蒸気に変換される。有機水銀化合物の場合は、最初に、*merB* 遺伝子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 価の水銀イオンを先程同様に、レダクターゼによって、水銀蒸気に変換される^{4,5)}。

そこで、水俣湾に特異的に出現している水銀揮発化細菌の水銀揮発化遺伝子の塩基配列などの構造を研究し、水銀汚染によりどのような遺伝的な変化が起き、どのようにして水銀揮発化細菌が出現してくるのか

を明らかにする。

[方法]

水俣湾、湯の児および米ノ津の底質から採取し、昨年度細菌学的分類を行った *Bacillus* 属細菌について 2 価の水銀イオンに対する最小発育阻止濃度や水銀揮発化遺伝子の有無などについて検討を行った。

最小発育阻止濃度は、細菌を人工海水液体培地の入った試験管で 24 時間 30 度で一昼夜しんとう培養し、この菌を 20, 10, 5, 1 および 0.5 μg/ml の濃度で塩化第二水銀を含む人工海水培地で 24 時間培養して、発育の有無により決定した。

水銀揮発化反応の測定は、前培養した細菌を塩化第二水銀を 0.2 μg/ml の濃度で含む人工海水培地で、24 時間培養後、培地からの水銀の減少量を、水銀分析計で行った。

水銀揮発化遺伝子の有無は、細菌を培養し、遠心機で集菌して DNA を分離し、この DNA 中の水銀揮発化遺伝子を PCR で増幅し、これにラジオアイソトープでラベルしたアメリカのボストン港から採取された水銀揮発化細菌の *merA* 遺伝子 DNA をプローブにしてハイブリダイゼーションを行い黒いスポットの有無で調べた。

[結果および考察]

水俣湾、湯乃児および米ノ津から、採取した 213, 202 および 200 株の計 615 株の *Bacillus* 属細菌をについて 2 価の水銀イオンに対する最小発育阻止濃度を調べた。

水俣湾、米ノ津および湯の児の底質から採取した *Bacillus* 属細菌の最小発育阻止濃度は、ほとんどの細菌で 0.5 □□/ml 以下の低い濃度であることが明らかになった。また、対照地点の湯の児では、5 □□/ml の水銀濃度で発育する水銀耐性の高い細菌が出現していた (表 1)。これらのことは、現在では、高濃度の水銀に長期間汚染された水俣湾は、対照地点と同程度まできれいになって来たことを示唆していた。

表 1. 水俣湾、米ノ津および湯の児の底質から採取した *Bacillus* 属細菌の最小発育阻止濃度の分布

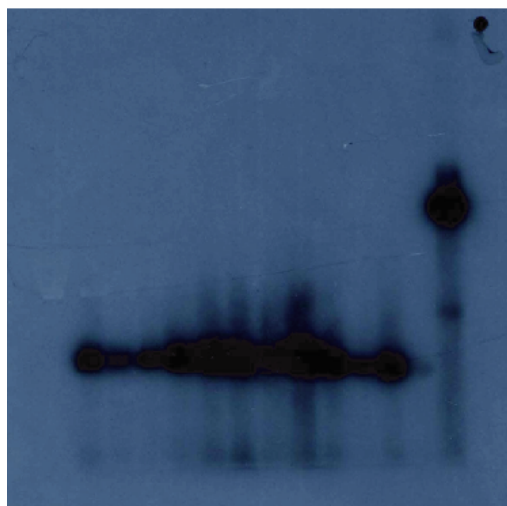
最小発育阻止濃度	10-	5-	1-	0.5-
水俣 (213)		2 (1.0%)	66 (31.0%)	145 (68.0%)
米ノ津 (202)		2 (1.0%)	42 (20.8%)	158 (78.2%)
湯の児 (200)	3 (1.5%)	7 (3.5%)	38 (19.0%)	152 (76.0%)

また、これら 615 株の *Bacillus* 属細菌が、2 価の水銀イオンを揮発できるか否かについて調べたところ、ほとんどの細菌が水銀を揮発することが判明した。

さらに、これらの細菌について、ラジオアイソトープでラベルしたボストン港の水銀揮発化細菌の *merA* 遺伝子 DNA をプローブにしてハイブリダイゼーションを行ったところ、水俣湾、米ノ津、湯の児の細菌のほとんどが黒いスポットを形成し、水銀揮発化遺伝子を保持していることも明らかになった (図 1)。

図 1. 米ノ津から採取した *Bacillus* 属細菌とボストン港のから採取した *Bacillus* 属細菌の水銀揮発化遺伝子のハイブリダイゼーション

31 30 29 28 26 25 23 22 21 20 19 18 *merA*



21-31: PCR で増幅した米ノ津から採取した細菌の *merA* 遺伝子 DNA

merA: プローブとして用いられたアメリカのボストン港の底質から採取された水銀耐性 *Bacillus* 属細菌の *merA* 遺伝子 DNA

[文献]

- 1) Nakamura K, Sakamoto M, Uchiyama H et al: Organomercurial-volatilizing bacteria in the mercury-polluted sediment of Minamata Bay, Japan. Appl Environment Microbiol 56, 304-305, 1990.
- 2) 中村邦彦: 海洋水銀汚染と微生物. 環境科学会誌 5, 1-14, 1992..
- 3) Nakamura K, Silver S: Molecular analysis of mercury-resistant *Bacillus* isolates from sediment of Minamata Bay, Japan. Appl Environ Microbiol 60, 4596-4599, 1994.
- 4) Rochelle PA, Wetherbee MK, Olson BH: Distribution of DNA sequences encoding narrow- and broad-spectrum mercury resistance. Appl Environ Microbiol 57, 1581-1589, 1991.
- 5) Bogdonova E, Minakhin L, Bass I et al: Class II broad-spectrum mercury resistance transposons in Gram-positive bacteria from natural environments. Res Microbiol 152, 503-514, 2001.

2. 海域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

Kinetics of mercury in marine ecosystem

Kinetics of mercury in the inter-tidal zone benthos ecosystem

[担当者]

○保田 叔昭 (国際・総合研究部)
森 敬介 (九州大学)

[期間]

平成 17~20 年度

[背景および目的]

水俣湾では過去に大規模な水銀汚染を経験したが、湾内の汚染された底質は埋立地に密封され、1997年には県から安全宣言が出された。ただし、底質や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く、環境中での水銀動態を調べるうえで都合がよい。そこで、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。

[方法]

前年度まで水銀の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を、潮位毎に8地点ずつ測定した。今年度は底質と同時に採集した底生生物の水銀分布を測定している。

1997年以來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ヶ所のステーションにおいてその転石海岸の低潮帯に棲息するスガイ(植物食性)およびゴカイ(雑食性)をそれぞれ30個体ずつ採集し、サイズと重量を測定したのち凍結乾燥し、前後の重量比から水分含量を計算した。なお、ゴカイは凍結前に腸管を開き、内容物を廃棄しておく。これらの試料についてそれぞれ総水銀およびメチル水銀を定量する。ただし、スガイは、腹足の筋肉のみを試料とし、草食性底生生物の水銀分布を調べるための標準試料として使えるかどうか検討した。

[結果]

付図にあるとおり、底質のメチル水銀および総水銀濃度が他より際だって高い恋路島湾内(stK)では、スガイの水銀濃度の体重に対する分布が大きくばらついている。この傾向は対岸(stG)でも多少認められる。一方底質の水銀レベルが自然界により近い湾外の二つのステーションでは、いずれも平均値付近に密に分布していた。stKとstGの試料における水銀分布は底質に含まれる水銀の影響を受けている可能性がある。これが試料の取り扱いと関連する人工的な影響なのかどうかは今のところわからないが、底質の水銀濃度の高い場所で採取した底生生物の水銀分布は常に同様の傾向を示すことは経験上確かである。底生生物を示標として用いる場合には必ずメチル水銀濃度を測定しておく必要がある。

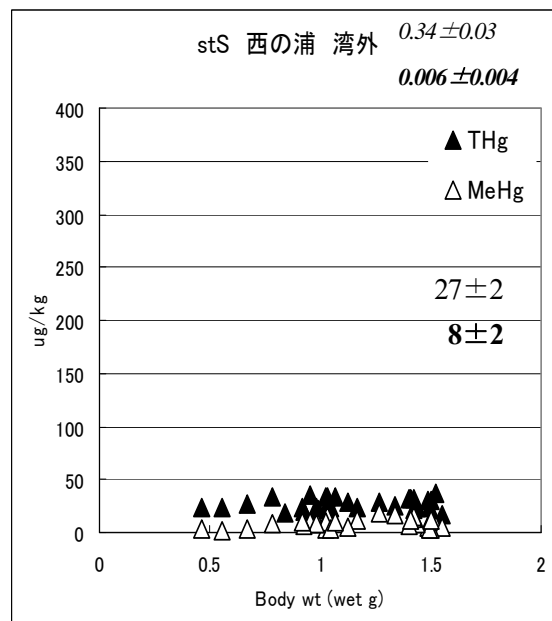
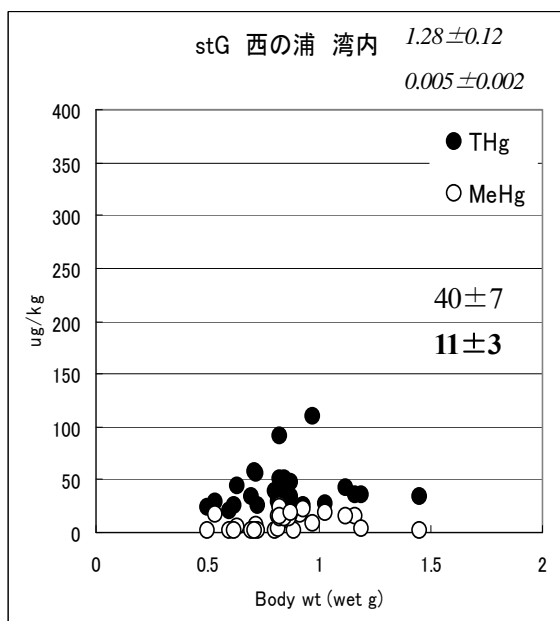
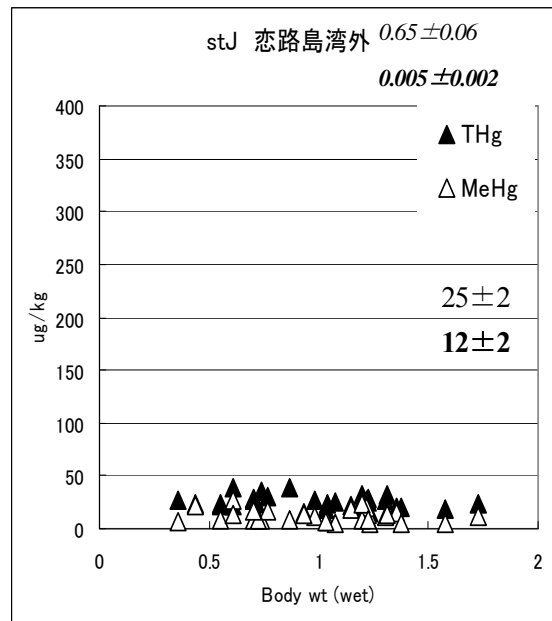
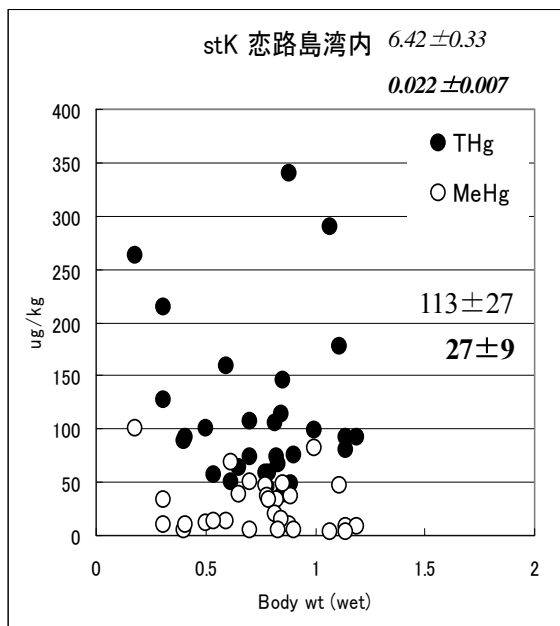
なお、前年度の報告に記載していたメチル水銀測定に関するガスクロマトグラフの妨害ピークの除去対策に思いのほか手間取り、年が改まる寸前まで満足の行く測定結果が得られなかった。測定操作の全ての段階を一つずつ見直した結果、原因が複数みつき、それぞれにしかるべく対策を行なうことでかろうじて妨害ピークを最小限にとどめることができるようになった。今回のデータはこの過程の中で得られたもので、付図に掲げたデータのうち前半部つまりstKとstJのものは、なお検討が必要である。ただし大幅に狂うほどではない。

ゴカイについては、いま試料の前処理にかかろうとしているところである。

付図 各ステーションにおける、スガイ腹足の水銀値の体重に対する分布

グラフ内の数字は平均値 (μg/kg、上：総水銀、下：メチル水銀)

ステーション名の横の数字は底質の水銀値(mg/kg、上：総水銀、下：メチル水銀)



b. 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
Kinetics of mercury in the inter-tidal zone benthos ecosystem

[担当者]

○保田 叔昭 (国際・総合研究部)
 マルクス・ラスート (サム・ラトゥランギ大学)

[期間]

平成 17~20 年度

[背景および目的]

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。

[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、鉱滓として水銀を放出したり、金の精製に水銀を使ったりする事による、環境中への水銀放出が懸念されている。

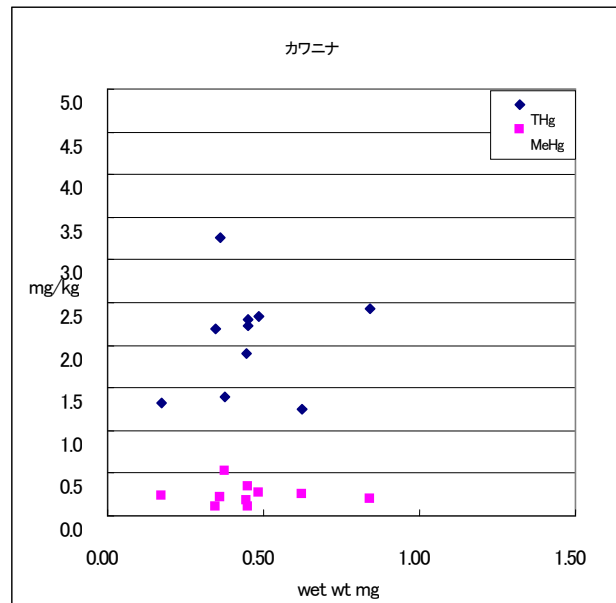
本研究では環境中に放出された金属水銀のメチル化と生態系への蓄積が実際にどのように進行していくのかをモニターすることを目的として実施している。対象地域は、比較的アクセスに有利な場所にあるタラワアン地区を選定し、昨年度は陸水から海水までの領域にまたがって水銀分布調査をおこなった。今年度は河川のうち水銀濃度が対照地区（総水銀濃度 0.008mg/kg）より高かった地区(4.3mg/kg)とその河川の流入する海岸(0.4mg/kg)とでベントス類を採集し、水銀分布を調べた。対照地は Kotabunan という地区である。

[結果]

河川では、タニシ(n=10)、リング貝(n=5)、カワニナ(n=10)いずれも草食を基本とした雑食性)において比較的高い総水銀濃度 (2.3±0.7, 0.5±0.3, 2.1±0.4 mg/kg) を示した。メチル水銀濃度を測定してみたところ、リング貝で 0.06±0.02mg/kg、カワニナで 0.24±0.08mg/kg を示し、水俣湾での結果と同様に底質の高い総水銀濃度が底生生物の水銀濃度とその大きな偏差に反映していることを示している。

海岸では、アマガイ(雑食、n=10)、ウミニナ (腐肉食、n=10) 等の総水銀値を測定した。結果はそれぞれ、1.3±0.8、0.4±0.1mg/kg であった。底質の総水銀濃度が上記河川のステーションほど高くないので、淡水貝より低い値になっているが、偏差は比較的大である。これはメチル水銀濃度においても同様であった。

付図 カワニナの水銀値の体重に対する分布



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 その水銀回収技術の開発

Purification of mercury polluted soil, sediment and wastes by using the low temperature thermal treatment as a remediation technology, and development of scrubbing technology of vaporized mercury which was removed by purification

[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)

[期間]

平成 15~21 年度

[背景および目的]

本研究の目的は水銀により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ことにある。また本開発技術の早期実用化を図ることによって、回収した水銀のリサイクルおよび処理物の有効活用が可能となり循環型社会の形成に貢献できる。既に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。現在国内数箇所で活用されており、日々廃蛍光管の処理が鋭意行われている。しかしその一方で、本システムは種々大小の問題を抱えていることも事実である。具体的な例を挙げると、廃蛍光管本体を処理する際、特殊添加剤として使用する硫化鉄が熱変成を起こすことに起因する問題がある。即ち廃蛍光管を加熱処理する際、処理によって発生する元素状の金属水銀を含む排ガスの回収処理は、プラント内の冷却チラーによって最初行われるが、経時的にチラー内部の冷却水が pH1~2 程度の強酸性となってしまうため、冷却チラー本体を腐食する危険性がある。一般の湿式スクラバーの場合、苛性ソーダなどの添加で pH 調整が行われるが、冷却チラーの場合、本方法では冷却効果が損なわれるため、水銀の回収効率が低下する。そこでこの改善を目的として

検討したので、その結果についてまとめる。

[方法]

チラー内部溶液の pH 低下に関する原因について、加熱処理プロセス等を検討した結果、特殊反応添加剤として添加している硫化鉄が原因となる可能性が大きいことがわかった。硫化鉄は一般に水分を含む大気中で 200℃以上に加熱されると加熱変性し、鉄は四三酸化鉄 (Fe₃O₄) を経てヘマタイト (酸化鉄、Fe₂O₃) となり、硫黄成分については元素状の硫黄となって析出することが報告されている¹⁾。しかし図-1 に示す室内実験系を用いて、硫化鉄 1g 程度を単独で 300℃1 時間連続で加熱した結果、蒸留水 100ml を入れた第 1 ガス洗浄瓶の pH は明らかに酸性側 (2.8) を呈した。また、第 1 ガス洗浄瓶内の蒸留水 100ml に 1%塩化バリウム溶液 2ml を添加して、同様の実験を繰り返したところ、時間の経過とともに溶液は白色を呈し白濁した。本白色は排ガス中の硫黄成分と溶液中のバリウムイオンが反応し、微細な硫酸バリウム沈殿生成されたためと考えられた²⁾。本実験結果より加熱処理によって硫化鉄の一部は酸化されて亜硫酸ガス (SO₂) となり、この亜硫酸ガスが水に溶解することによって亜硫酸 (H₂SO₃) を生じ、瞬時に溶液中で硫酸 (H₂SO₄) を生成しているものと予測された³⁾。

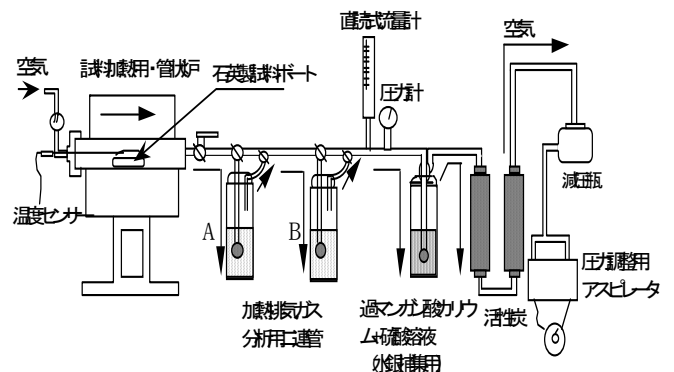


図-1 加熱実験系 (加熱温度 300℃、空気流量 500ml/min、装置内圧力 - 弱減圧)

次のステップとして、硫酸バリウムによって白濁した溶液にグリセリンを適宜添加し比濁吸光分析による簡易定量分析を実施した。その結果、300°C1時間の連続加熱で、硫化鉄に含まれる硫黄成分の内約0.5%が酸化されることが判った。そこで硫化鉄が加熱処理により自動的に酸化し、その一部が大気中へ亜硫酸ガスとして放出される反応を抑制できれば、冷却チラー内部溶液の酸性化を防ぐことが可能となると考え、これを実現することを目的として、本システムに適した脱硫材料の選定実験等を行った。

[結果および考察]

表ー1 添加剤スクリーニング実験結果

	処理内容	温度 (°C)	空気	
			流量 ml/min	pH
1	添加剤の加熱	300	500	2.6
2	同上	250	500	3.5
3	同上	200	500	3.6
4	添加剤0.5g+消石灰0.05g	250	500	3.7
5	添加剤0.5g+消石灰0.05g	300	500	3.6
6	添加剤0.5g+消石灰0.1g	300	500	3.6
7	添加剤0.5g+生石灰0.05g	250	500	3.3
8	添加剤0.5g+生石灰0.05g	300	500	3.3
9	添加剤0.5g+生石灰0.1g	300	500	3.4
10	添加剤0.5g+炭酸ナトリウム0.05g	250	500	3.4
11	添加剤0.5g+炭酸ナトリウム0.05g	300	500	3.5
12	添加剤0.5g+炭酸ナトリウム0.1g	300	500	3.6
13	添加剤0.5g+過炭酸ナトリウム0.05g	250	500	4.5
14	添加剤0.5g+過炭酸ナトリウム0.05g	300	500	5.1
15	添加剤0.5g+過炭酸ナトリウム0.1g	300	500	5.1
16	添加剤0.5g+過炭酸ナトリウム詰ま管01g	250	300	6.2
17	添加剤0.5g+過炭酸ナトリウム詰ま管01g	300	300	6.1

表ー1 に図-1 の加熱実験系を用いた実験結果を示す。その結果、表ー1 より硫化鉄単独の加熱処理(0.5g)では加熱温度を上げるにつれて(200°C、250°C、300°C)、連結管内部の蒸留水の pH が低くなり、300°C加熱では1

時間後に2.6 となり、200°Cの加熱条件では3.6 となった。これは加熱温度が低いと硫化鉄の加熱変性が、300°C加熱に比べ少ないことに起因して、亜硫酸ガスの生成量が減少したことによると考えられる。そこで上述の結果を受けて、加熱時に発生する亜硫酸ガスを固定するために、脱硫材として現在広くもちいられている、消石灰、炭酸ナトリウムの他に、過炭酸ナトリウムを加えた計3種類の材料を用いて、加熱温度、添加材量をそれぞれ数段階に変化させ組み合わせたスクリーニング実験を実施した。その結果、各種実験に用いた選定材料中、加熱1時間後の連結管内部の蒸留水 pH が、5.1 となった過炭酸ナトリウム以外はすべての添加剤で3.3~3.7 となり、多少、薬剤添加による pH 上昇の抑制効果は認められたが大きな効果は認められず、その全てで硫酸バリウムの白濁が確認された。

唯一添加効果を確認した過炭酸ナトリウムは、他の3種選定材料とは全く異なる化学的性質を有している。本物質は単純なアルカリ性物質ではなく、炭酸ナトリウムに2分子の過酸化水素(H₂O₂)が付加されたアダクトと呼ばれる化学物質であり、酸素系漂白剤として一般家庭用洗剤等に広く用いられているものである。本物質は塩素系化学物質ではないため加熱しても有害な塩素の発生がなく、過酸化水素(H₂O₂)に由来する酸化力も保有することから、乾燥気流中における固気反応において亜硫酸ガスが酸化されることを、本検討当初から期待していた。また実験ではさらなる亜硫酸ガスの排出抑制効果を期待して、直接混合加熱方式ではなく、本物質を第一ガス洗浄管に至るまでのガラス管内部に封入し、加熱排気ガスのみを通過させたところ1時間後の連結管内部の蒸留水 pH は6以上となりほとんど蒸留水の pH は最初と比べ変化がなかった。本反応によって生成する物質およびその量については現在検討中であるが、過酸化水素による酸化反応で亜硫酸ガスが酸化され硫酸イオンとなり、炭酸ナトリウムが反応系に存在していれば容易に硫酸ナトリウムを生成すると報告されている⁵⁾ことから、最終的に本反応では、過酸化水素によって亜硫酸ガスが酸化された後、硫酸ナトリウムが生成していることが予測された。硫酸ナトリウムの溶解度は20°C1気圧で19.4gであるので、10回加熱実験を繰り返した後の過炭酸ナトリウ

ム約 1g に蒸留水 20ml を加えたところの容易に溶解し、また本溶液に 1%塩化バリウム溶液数的滴下したところ白濁を生じたことから硫酸イオンを検出できた。最終的にはX線粉末回折解析等を利用した構造確認および化学量論的な反応生成物の定量による理論反応式が必要となるが、現象論として本選定剤を用いることによりは排ガス中の亜硫酸ガスは固気反応によって化学的に固定できる。

[文献]

- 1) 玉虫文一, 富山小太郎, 小谷正雄, 他: 岩波理化学辞典, 1420, 1971.
- 2) 木村健次郎, 三宅泰雄: 無機定性分析 (共立出版) . 262-263.
- 3) 硫黄酸化物小委員会: 硫黄酸化物 (日本化学会編 丸善) , 10-13, 1976.
- 4) 安池慎治: 石膏ボード廃棄物のリサイクルに関する現状調査・分析. 電中研報告 報告書番号 V0419.
- 5) 玉虫文一, 富山小太郎, 小谷正雄: 岩波理化学辞典, 1427, 1971.

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

Hydrosphere influences of mercury pollution which are from sediments which are polluted less than 25ppm by mercury in Minamata Bay and Minamata River.

[担当者]

○松山 明人（疫学研究部）
富安 卓滋（鹿児島大学）
井村 隆介（鹿児島大学）
宮本 旬子（鹿児島大学）
矢野真一郎（九州大学）
埴田 彰秀（長崎大学）
赤木 洋勝（国際水銀ラボ）
江口 朋美（国際水銀ラボ）
ミレナホバット（ジョセフステファン研究所）

[期間]

平成 16-21 年度

[背景および目的]

水俣湾の水銀汚染底質が封じ込められた埋立地では、現在も尚周辺環境の整備とともに土木的修復工事が継続されている。しかし、埋立地に埋設処理されたものは水銀濃度として 25mg/kg 以上の底質等であり、これ以下のものは浚渫されずそのまま環境中に放置された。また最近では、水俣湾で捕獲された底生魚類可食部の総水銀およびメチル水銀濃度が上昇する傾向をみせており、その原因究明が大きな課題となっている¹⁾。本課題は海洋中に残された 25ppm 以下の水銀を含む底質の経年的な動的变化と化学的变化を定量的に評価することによって、現在の水銀含有底質がどのような影響を与え続けているのかを把握することが目的である。またさらに、水俣湾埋立地に埋設された水銀濃度として 2000ppm を超えるような大量の底質や、過去において水俣市内の随所に埋設処理されたとされる、チッソ由来の水銀を含有するカーバイド残渣の行方とその自然環境に対する影響など、前述の海洋環境に水銀が与える影響把握と同様にこれらも重要な研究ポイントとして考えている。本報告ではこれまで毎月九州大学工

学部、長崎大学工学部と共に継続実施している、水俣湾 3 箇所（恋路島横、裸瀬、湾央）での水銀濃度を含む水質モニタリングデータについてまとめ、その概要の一部について報告する。

[方法]

・水質測定項目

海水の水質測定項目は以下の通りとした。

＜室内水質測定項目＞

総水銀、メチル水銀、SS 中総水銀、SS 量

＜船上水質測定項目＞

比重、塩分、水温、濁度、溶存酸素濃度(DO)、pH
船上での測定は全て、センサー法により測定した。

・海水試料の採取

図-1 に示す 3 観測点において海水試料採取は表層水 [0m]、中層水 [6m]、下層水 [10m]、底質直上水 [海底面より上方 1m の位置] の 4 層とした。ただし恋路島付近のステーション 3 は、水深が他と比べて極めて浅いため表層水、中層水、底質直上水、3 層からの海水試料採取とした。最も水深の深いポイント是一般に地元で裸瀬とよばれている付近の近傍に設定したステーション 1 で、底質直上水の推進はおよそ 21m である。採水は予め特殊水深センサーによって各層の水深を確認の後、小型吸引ポンプを用いて海水を各々 2 L ずつ採水した。また同時に船上から海水中へ、同時多成分計測センサーを投入し pH、塩分等を測定した。ポンプ利用により採取した海水はすべて褐色のガラス瓶に保存した。時間的な都合で試料の前処理等が当日のうちに終了しないと想定された場合は、年間を通して 15℃以下に設定された試料室で採取を保存し、極力早い時期に試料処理を全て実施した。尚、定期採水については毎月 20 日前後の大潮を試料採取日と設定した。本報告では昨年度実施された 2 月から 12 月までの計 9 回分の観測データを対象としている。

・水銀分析試料の作成

通常の水銀に関する分析操作は、試料採取終了後すぐに実験室へ移動の後、試料から1Lを分取し0.45 μ メンブランフィルターを用いて吸引ろ過を行った。本濾過水1Lを用いて総水銀およびメチル水銀分析のための抽出操作を、ジチゾン-トルエン抽出-ECD・GC法（以降赤木法と呼ぶ）により行った¹⁾。ジチゾン-トルエン溶液による抽出後、試料を二つに分け一つは総水銀分析用とし、もう片方はメチル水銀分析用とした。50mlメスフラスコに分取された総水銀用の試料は、エバポレータを用いて乾固させた後、硫酸-硝酸-過塩素酸による加熱分解を適宜行った。分解終了後、メスフラスコ標線まで蒸留水を加え冷原子吸光分析用の試料とした。メチル水銀用のジチゾン抽出試料は赤木法に準じ、ただちに1N水酸化ナトリウム溶液による過剰ジチゾンの除去を行い最終的に0.05mlトルエン溶液にまでメチル水銀を濃縮後ECD-GC（Electron Capture type Detector GC）用の試料とした。

2-3 測定地点と採水層

図-1に示すSt.1~3の3地点から、毎月定期的に採水した。



図-1 水俣湾定期採水ポイント

[結果および考察]

図-2に総水銀濃度、図-3にメチル水銀の月別経時変化を示す。

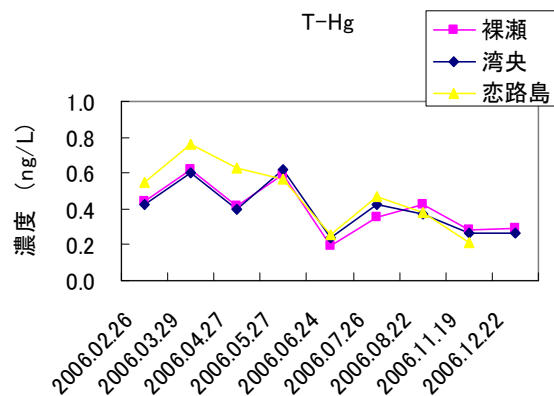


図-2 水俣湾海中における総水銀濃度経時変化

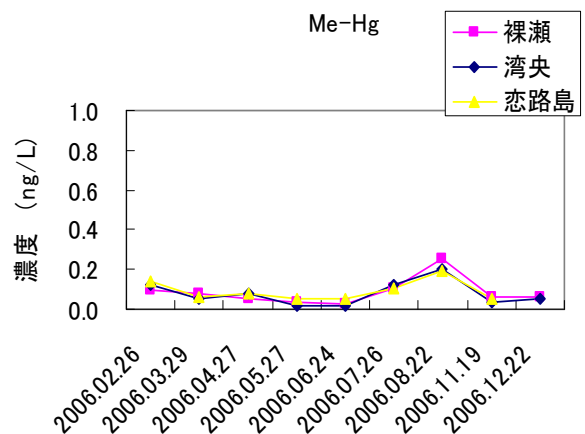


図-3 水俣湾海中におけるメチル水銀濃度経時変化

図-2, 3に示したグラフは3観測点で得られた各分析データの月別全体平均値で示した。各水深別の月別挙動は反映されていないが、全体的な傾向として3観測点ともに同様の傾向を示した。総水銀は夏場から冬場にかけて濃度が減少していく傾向をみせるが、実際には水深別で数値が変動していることから統計解析の結果有意な差で減少しているとは言い難い。またメチル水銀は全体的に一定の傾向を示すが、7月から8月にかけての夏場に数値が急激に上昇している。この原因が何であるのかについて、海水の水質測定項目等との相関関係を把握しながら現在検討中であるが、昨年この時期にちょうど大雨が多かったため河川等からの雨水流入による影響が海水中のメチル水銀生成能にどのように影響しているかが注目される。図-4に3観測点全体の分析データを含めた総水銀濃度およびメチル水銀濃度に関する相関関係を示した。

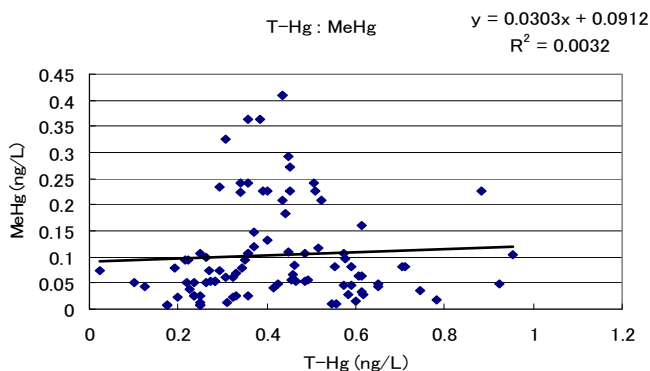


図-4 海水中総水銀濃度およびメチル水銀濃度に関する相関関係

図-4 より海水中における総水銀濃度およびメチル水銀濃度の間には、相関関係が全く認められなかった。即ち、海水中におけるメチル水銀は総水銀濃度以外の要因によってその生成が制御されている可能性が大きいことが示唆された。尚水中における総水銀濃度とメチル水銀濃度との相関関係については、筆者らが行った水銀汚染土壌の溶出試験結果においても同様の結果が得られており、総水銀濃度およびメチル水銀濃度の間には相関関係が認められていない³⁾。

[文献]

- 1) 金田一充章, 松山明人: 過去 26 年間に亘る水俣湾生息魚の総水銀濃度に関する変化. 水環境学会誌 28(8), 529-533, 2005.
- 2) Akagi H, Nishimura H: Speciation of mercury in the environment. In: Suzuki T, Imura N, Clarkson TW (eds.) Advances in mercury toxicology. Plenum Press, New York, 1991.
- 3) Matsuyama A, Yasuda Y, Yasutake A et al: Relationship of between leached total mercury and leached methylmercury from soil, which was polluted by Mercury Containing wastewater from Organic Chemical Factory in China. Bull Environ Contam Toxicol 75, 1234-1240, 2005.

5. 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 Development of mercury removal method from mercury-contaminated samples using mercury-volatilizing bacteria

[担当者]

- 中村 邦彦 (基礎研究部)
- 岩原 正宣 (崇城大学)
- 葛西健太郎 (崇城大学)

[期間]

平成 17~19 年度

[背景および目的]

水銀の環境汚染は、世界の多くの国々で報告され、その対応が緊急な課題になっている。環境中の水銀の処理は、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。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することにより、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る。

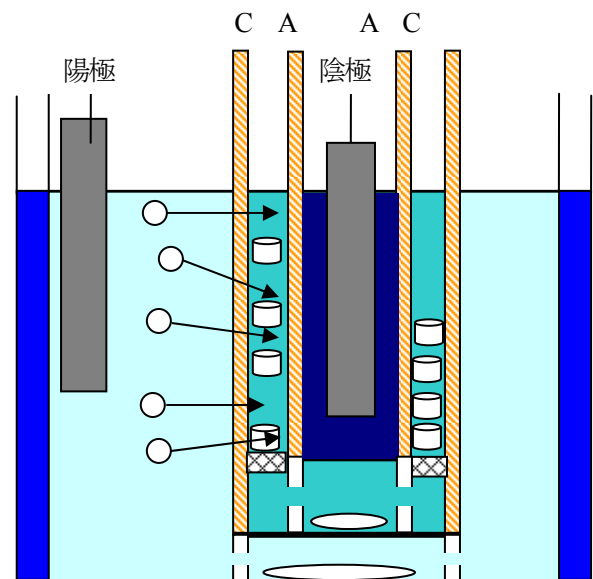
近年、重金属や化学物質の環境汚染に対して、バイオレメディエーション技術が開発されるようになってきた^{1,2)}。バイオレメディエーションとは、一般に、生物の生物機能を利用して、環境から汚染物質を取り除き環境を修復する技術である。細菌を利用したバイオレメディエーションは、主に3つの技術がある。第一の技術は、2価の水銀イオンやメチル水銀などの水銀化合物を細菌の酵素により揮発性の金属水銀蒸気に変換し、その環境から除去するものである(バイオボラタリゼーション)^{3,4)}。第二の技術は、細菌の酵素により水銀化合物を金属水銀に変換するが、培養条件等により液状金属水銀として沈殿することを利用したものである⁵⁾。第三の技術は、細菌が水銀を細菌細胞内に濃縮する性質を利用したものである⁶⁾。

そこで、水俣湾から採取した水銀揮発化細菌を利用し、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う。

[方法]

下図の円筒状二重イオン交換膜電極装置を用い水銀の陽極槽からの除去について検討した。陽極槽には、25 $\mu\text{g/ml}$ の濃度の塩化第二水銀溶液1000 ml、濃縮層には、0.001%のL-システイン溶液200 ml、陰極層には、蒸留水を50 mlを入れ、電機泳動を行い、水銀分析計で陽極槽および濃縮槽の水銀量の変化を測定した。また、濃縮槽に水銀揮発化細菌を固定した担体を入れ、細菌による水銀除去についても検討した。

円筒状二重イオン交換膜電極装置



- : Hg^{2+} C: 円筒状カチオン膜 A: 円筒状アニオン膜
- : 陽極槽 ■: 濃縮槽 ■: 陰極槽 ■: 冷却槽
- ⊗: プラスチックネット ⊞: ステンレスネット □: 担体

[結果および考察]

電気透析による2価水銀イオンの陽極槽から濃縮槽への移行および細菌による濃縮槽の水銀の除去について24時間検討した。細菌を固定した担体がない場合は、電気透析により24時間で、陽極槽の25 $\mu\text{g/ml}$ の濃度

の水銀が濃縮槽に 125 $\mu\text{g/ml}$ の濃度まで濃縮された。また、水銀揮発化細菌を固定した担体を加えたものでは、濃縮された水銀の約 50%が細菌の揮発化反応により減少していることが判明した。

このことにより、電気透析法と細菌の水銀揮発化反応を利用した水銀除去法が、実験室レベルで開発され、将来の水銀除去のためのバイオリアクターへの応用の可能性が示唆された。

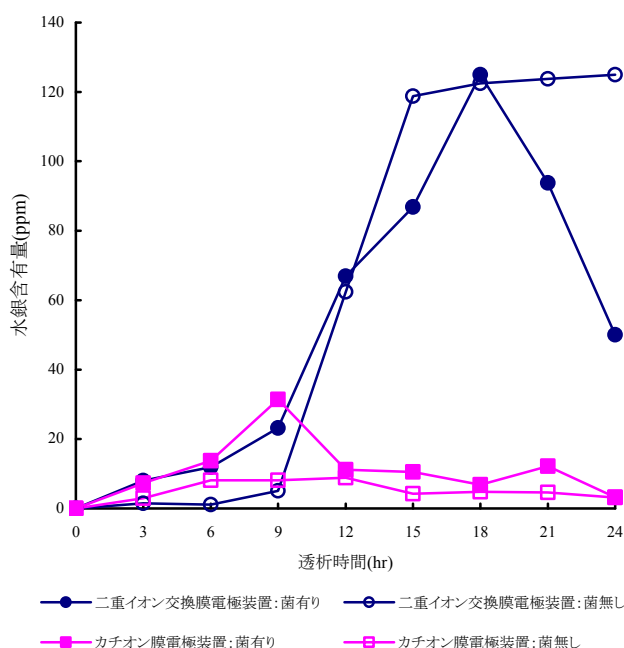


図 1. 濃縮槽における水銀量の経時変化

[文献]

- 1) 芳生秀光, 清野正子: 水銀汚染浄化のための新規バイオテクノロジー. 環境バイオテクノロジー学会誌 2, 95-102, 2002.
- 2) 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.
- 3) Nakamura K, Hagimine H, Sakai M et al: Removal of mercury from mercury-contaminated sediments using a combined method of chemical leaching and volatilization of mercury by bacteria. Biodegradation 10, 443-447, 1999.
- 4) Morishita K, Nakamura K, Tuchiya K et al: Removal of

methylmercury from a fish broth by *Alteromonas macleodii* isolated from Minamata Bay. Japanese J Wat Treat Biol 42, 45-51, 2006.

- 5) Wogoner-Dbler I, Cansterin H, Li Y et al: Removal of mercur from chemical wastewater by microorganisms in technical scale. Environ Sci Technol 34, 4628-4634, 2000.

- 6) 清野正子, 芳生秀光: 水銀耐性遺伝子を利用した水銀のバイオレメディエーション. ファルマシア 39, 841-845, 2003.

6. 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 Development of a new analytical method for determination on low level methyl-Hg concentration and investigation of methylation and demethylation processes on atmospheric Hg

[担当者]

- 丸本 幸治 (国際・総合研究部)
- 松山 明人 (疫学研究部)
- 赤木 洋勝 (国際水銀ラボ)
- 佐久川 弘 (広島大学)
- 竹田 一彦 (広島大学)

[期間]

平成 17~21 年度

[背景および目的]

本課題では、大気中における水銀のメチル化・脱メチル化及び大気中メチル水銀の沈着過程の実態を明らかにすることを最終的な目的とし、その第一歩として大気中に極めて低濃度に存在するメチル水銀を定量するための超高感度分析法の開発を行なっている。開発の流れとして、はじめに環境試料のなかでもメチル水銀含有量が比較的多く (数~数十 ng g^{-1})、またメチル水銀の保証値を有する標準試料が市販されている土壌・堆積物試料を対象として新規分析法を提案し、その妥当性を評価する。次に新規分析法の高感度化をはかるとともに、より低濃度 (数十~数百 pg L^{-1}) のメチル水銀を含む降水及び河川水、海水等の天然水試料と大気試料へ適用する。前年度は、当センターで開発されたジチゾン抽出法¹²⁾を基に、アルカリ性 Sn^{2+} による無機水銀除去法を組み合わせたメチル水銀分析法を新規に提案し、その妥当性を土壌・堆積物の標準試料を用いて評価した。なお、本法はメチル水銀のみを同定して測定できるわけではないため、他の有機水銀が共存した場合に正の誤差を生じる。しかしながら、一般環境中において最も安定して存在する有機水銀はメチル水銀であることが知られており³⁾⁻⁵⁾、他の有機水銀化合物の影響は小さいことが予想される。

今年度は、開発した方法を再検討することにより感度の向上をはかるとともに、高感度化した方法を実際の土壌・堆積物試料へ適用し、得られた分析値を従来

のジチゾン抽出-GC-ECD (Gas chromatography - Electron capture detector) 検出法¹²⁾ (以下、従来法) による値と比較して、分析法の妥当性を評価した。

[方法]

昨年度開発した分析法の手順は以下のとおりである。まず、従来法と同様の手順で環境試料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 5ml に抽出し、アルカリ洗浄により過剰のジチゾンを除いた。次に、ジチゾンを除いたトルエン溶液 3ml または 3.5ml を量りとり、トルエン溶液に含まれるメチル水銀を Na_2S を含む 0.1N NaOH - エタノール (1 : 1) 混合溶液 (以下、 Na_2S 混合溶液) 2ml に逆抽出した。この Na_2S 混合溶液には無機水銀の一部も抽出される。続いて、 Na_2S 混合溶液を約 0.1ml の HCl で pH2 以下とし、溶液中に存在する過剰の S 成分を H_2S として追い出した後、強い還元力をもつアルカリ性 Sn^{2+} (3% in 2.5mol L^{-1} NaOH) 0.4ml を添加することにより Na_2S 混合溶液中に移行した無機水銀のみを還元気化させて除去した。過剰の Sn^{2+} を Na_2S 水溶液の添加により SnS_x として沈殿除去した後、上澄み液 2.5ml のうちの 1ml を HNO_3 - HClO_4 - H_2SO_4 存在下、230°C で加熱処理することによりメチル水銀を水銀イオン (Hg^{2+}) へと変換させた。最後に、酸処理によって得られた溶液を 50ml に定容し、その一定量 (10ml) を酸性 Sn^{2+} による還元気化-原子吸光分析計 (HG201、三双製作所) に導入して溶液内に含まれる Hg^{2+} を測定した。

[結果および考察]

昨年度に開発した方法の高感度化をはかるとともに、まずトルエン溶液から Na_2S 混合溶液へメチル水銀を逆抽出するときの Na_2S 混合溶液量について検討した。その結果、 Na_2S 混合溶液 1ml で逆抽出してもメチル水銀はほぼ 100%抽出できることがわかった。しかし、無機水銀として HgCl_2 を数百 ng 以上添加した場合に、その除去効率が 99.0%~99.9%まで大きく変動するこ

とが判明した。なお、 HgCl_2 100ng を添加した場合の除去効率はほぼ 100%であった。大量の無機水銀が共存した場合にその除去効率が変動する要因は明らかではないが、 Na_2S 混合溶液の量を減らしてメチル水銀の濃縮率を高めたことにより、同時に抽出される一部の無機水銀濃度も上昇し、アルカリ性 Sn^{2+} によって除去されにくくなったと考えられる。環境試料中では無機水銀が大半を占めるため、本法における無機水銀の除去効率の変動はメチル水銀を分析するときの大きな誤差要因となる。そこで、この現象を回避するために、メチル水銀を抽出した Na_2S 混合溶液 1ml に 0.1N NaOH 0.5ml を加えて十分攪拌した後、アルカリ性 Sn^{2+} を添加した。その結果、無機水銀として HgCl_2 300ng と 500ng を添加したときの除去効率は 99.5%以上となり、ほぼ安定した値が得られるようになった。次に、酸による加熱処理に供する Na_2S 混合溶液の量について検討した結果、液量を 1.5ml まで増やせることがわかった。一方、液量を 2ml 以上とすると、酸を加えて加熱処理をしてもメチル水銀が十分に水銀イオンに変換されなかった。

以上の結果から、分析手順を次のように変更した。

- ① ジチゾン除去したトルエン溶液からメチル水銀を逆抽出する際の Na_2S 混合溶液量を 2ml から 1ml に減らしてメチル水銀の濃縮率を高めた。
- ② 酸分解に供するメチル水銀のみを含む Na_2S 混合溶液の量を 1ml から 1.5ml に増やした。

また、より高感度な分析を行なうために、酸処理後に得られた溶液を定容するときの量を 50ml から 25ml に減らし、水銀分析計に導入する試料溶液量を最大 20ml まで増やした。これらの分析手順の変更により分析感度は約 4 倍高くなり、乾燥した土壌・堆積物試料 100mg を分析した場合の検出限界濃度 (3σ) は、前年度に報告した値 $2\sim 3\text{ng g}^{-1}$ よりも改善されて 1ng g^{-1} 以下となった。

図 1 に高感度化した方法を実際の土壌及び堆積物試料へ適用し、従来法により得られた値と比較した結果を示した。図より、両者の値は誤差 20% の範囲内で一致しており、試料の不均一性を考慮すれば満足できる結果といえる。

本法は検出器として用いている原子吸光分析計をそれよりも 100 倍近く感度の高い原子蛍光分析計に変更することが可能であり、さらなる高感度化が期待される。

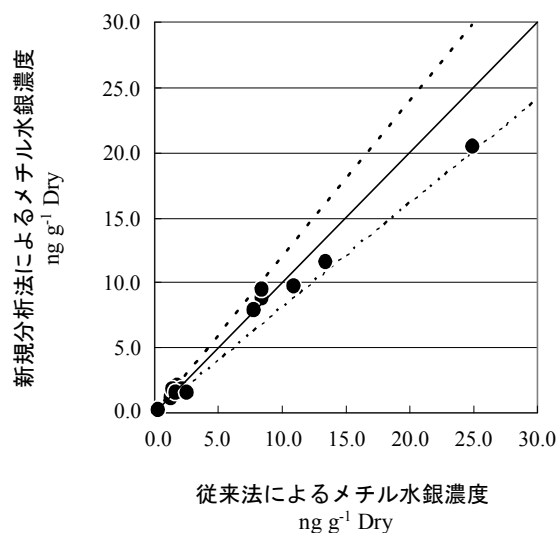


図 1 高感度化した新規分析法と従来法によって得られた土壌・堆積物中メチル水銀の分析値の比較 (図中の点線は $\pm 20\%$ の誤差範囲を表す。)

[文献]

- 1) Akagi H., Nishimura H.: Speciation of mercury in the environment. In *Advances in Mercury Toxicology*, edited by Suzuki T, Nobumasa I, Clarkson T W, 53-76, 1991.
- 2) 環境省環境保健部: 水銀分析マニュアル. 2004
- 3) Benes P, Havlik B: Speciation of mercury in natural waters In *The Biogeochemistry of Mercury in the Environment*, edited by Nriagu JO, 175-202, 1979.
- 4) Suzuki T, Nobumasa I, Clarkson TW: Overview. In *Advances in Mercury Toxicology*, edited by Suzuki T, Nobumasa I, Clarkson TW, 1-33, 1991.
- 5) Hintelmann H, Hempel M, Wilken, RD: Observation of unusual organic mercury species in soils and sediments of industrially contaminated sites. *Environ Sci Technol* 29, 1845-1850, 1995.

2. その他研究

科学研究費補助金

1. 胎児期に受けたメチル水銀の神経系及び生理的老化に及ぼす後影響に関する研究

Delayed effects of prenatal exposure to methylmercury on nervous system and physiological aging

[担当者]

○坂本 峰至 (国際・総合研究部)

高岡 慈 (協立クリニック)

加藤たけ子 (ほっとはうす)

中村 政明 (臨床部)

劉 曉潔 (疫学研究部)

村田 勝敬 (秋田大学)

[期間]

平成 18~20 年度

[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年が経過した。しかし、最近メチル水銀汚染が激しかった時期に生まれた胎児性・小児性水俣病患者はすでに壮年層に入り、元来の運動障害が最近になって急激に悪化した例の報告が注目を集めた。すなわち、胎児期に曝露されたメチル水銀の影響が加齢に伴って、生理的加齢とは異なった形で顕然化するいわゆる“後影響”の解明が急務となってきている。胎児性水俣病患者は、特に介護を負担してきた両親の高齢化も進み、将来の介護の問題が深刻に迫っている状態にある。また、典型的な症状を持つ胎児性患者のみならず、現在それほど問題なく生活している胎児性患者でもメチル水の影響が加齢に伴って顕然化する可能性がある。そこで、胎児期に受けたメチル水銀の加齢に伴って出現する後影響に関する研究は重要な緊急課題である。また、胎児期に受けたメチル水銀曝露は生理的老化自体を早めている可能性もある。そこで、我々はその影響を胎児期にメチル水銀曝露を受けた患者に関して症状生理学的、血液生化学的の面から検討する。

[方法]

本年度は、ほっとはうすおよび協立病院に通う胎児

性水俣病患者さん8名を研究対象として、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。以下に述べる解析は、本年度および昨年度の対象者を併せて行った。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なった。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^2)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。

[結果および考察]

性・年齢を共変量とした共分散分析を行うと、胎児性水俣病患者群20名の左右両手のふるえ強度と1-6Hzのふるえ強度、および左手の10-14Hzのふるえ強度は対照者群29名と比べ有意に増加していた($p<0.05$)。また、反応時間検査を実施できた7名の胎児性水俣病患者と対照者群29名で比較すると、胎児性水俣病患者群の反応時間は左右とも有意に遅延していた($p<0.01$)。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(6Hz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いる。

2. mRNA 監視機構を標的とした遺伝性神経疾患の治療に関する基盤研究

Study on the therapeutic approach targeted to mRNA surveillance mechanism to rescue genetic neurological disorders

[担当者]

○臼杵扶佐子 (臨床部)

山下 暁朗 (横浜市立大学)

[期間]

平成 18~19 年度

[研究概要]

nonsense-mediated mRNA decay (NMD)は、premature translation termination codon (PTC)を含む変異 mRNA を排除する mRNA 監視機構とされている。PTC は、多くの遺伝性疾患の原因遺伝子で認められるのみならず、正常の場合でも転写異常によって生じ、また selenocysteine をコードする UGA codon が selenium の欠乏により PTC として認知される。PTC を有する変異 mRNA は NMD により分解されるため、その変異蛋白質は作られないことが多い。本研究の目的は、神経疾患の病態への NMD の関与および NMD を標的とした治療の可能性について明らかにすることにある。

本研究では、collagen VI $\alpha 2$ 遺伝子にフレームシフト変異により PTC が生じた Ullrich 病の患者繊維芽細胞をモデル細胞とした。NMD を抑制するために、NMD における重要な機能をもつ mRNA helicase である Upf1 とその生理的なリン酸化酵素である SMG-1¹⁾ 及び SMG-1 の結合蛋白質である p130 を標的として siRNA を作成した。siRNA を細胞内に発現させ、Western Blot により Upf1、SMG-1、p130 のノックダウンを確認した。いずれのノックダウン細胞でも NMD 活性の指標である Upf1 のリン酸化低下^{1, 2)} が認められ NMD は特異的に抑制されたが、p130 のノックダウンでは Upf1 のリン酸化低下は mild であった。Real-time PCR を用いた変異 collagen VI $\alpha 2$ mRNA の発現変化は、いずれも 1.5 倍以上であった。collagen VI の三鎖構造を認識する抗体を用いた免疫染色で、non-silencing siRNA 導入の control 細胞では欠損していた collagen VI の三鎖構造が認められた。患者繊維芽細胞では fibronectin receptor の発現低下が認めら

れるが、NMD 抑制細胞では fibronectin receptor の発現が回復した。

短期的な NMD 抑制が細胞機能に及ぼす影響について、細胞増殖能、アポトーシス初期マーカーである γ H2AX の発現、細胞周期プロファイルについて検討したが、いずれのノックダウン細胞でも control 細胞と有意差を認めなかった。腫瘍細胞である HeLa 細胞においては細胞増殖能の抑制や γ H2AX の発現増加を認めたことから、非腫瘍細胞と腫瘍細胞における NMD の機能には差があることが考えられた。

NMD は、PTC を有し NMD が負に作用している Ullrich 病など劣性遺伝病の治療標的となる可能性が考えられる^{3, 4)}。今後、長期的な NMD 抑制が細胞機能に及ぼす影響について検討し、表現型を改善する最適な NMD の抑制法についてさらに検討していく必要がある。

(文献)

- 1) Yamashita A, Ohnishi T, Kashima I et al.: Human SMG-1, a novel phosphatidylinositol 3-kinase-related protein kinase, associates with components of the mRNA surveillance complex and is involved in the regulation of nonsense-mediated mRNA decay. *Genes & Dev* 15, 2215-2228, 2001
- 2) Ohnishi T, Yamashita A, Kashima I et al.: Phosphorylation of hUpf1 induces formation of mRNA surveillance complexes containing hSMG-5 and hSMG-7. *Mol Cell* 12, 1187- 1200, 2003
- 3) Usuki F, Yamashita A, Higuchi I et al.: Inhibition of nonsense-mediated mRNA decay rescues the mutant phenotype in collagen VI-deficient Ullrich's disease. *Ann Neurol* 55,740-744, 2004
- 4) Usuki F, Yamashita A, Kashima I et al.: Specific inhibition of nonsense-mediated mRNA decay components, SMG-1 or Upf1, rescues the phenotype of Ullrich's disease fibroblasts. *Molecular Therapy* 14, 351-360, 2006.

3. 土壌の理化学特性変化に伴う土中水銀の形態変化とその可溶化について

Solubilization of mercury in soils and chemical changing of mercury species in soils by variety changes of basic characteristics of soils

[担当者]

○松山 明人 (疫学研究部)
富安 卓滋 (鹿児島大学)
井村 隆介 (鹿児島大学)

[期間]

平成 17~18 年度

[背景および目的]

我が国の公害問題に関する原点ともいえる水俣病の原因物質、水銀による環境汚染は、アフリカ等の発展途上国で実施されている金属水銀を用いた金鉱石の簡易精錬などを通じ、現在、世界的な拡がりを見せている。一般に環境中へ放出された水銀は、長期間に亘って自然界に滞留、循環を繰り返しながら広範囲に汚染を拡大していくことが報告されている¹⁾。自然界は大きく大気圏、水圏、土壌圏、岩石圏の4種に分類されるが、普段から特に生物の生活に密着している意味で重要な圏は、大気、水、土壌圏である。本研究では、特にこの土壌圏が水銀によって汚染された場合を想定して研究を進めた。土壌はその生成過程や母材となる鉱物の種類によって、大きくその基盤特性が異なる。更に土壌中には無数の微生物やそれを捕食する小動物が生息しており、その土壌基盤特性も相まって世界各地の土壌によってその特性は生物、化学的反応特性も加え多種多様性を極める。そのような中、容易に自然界で有機化され、生物に対する蓄積性が強く且つ毒性が極めて強い有機水銀へ変化する水銀は、重金属の中で特別な存在であるといっても過言ではない。現在、わが国の環境省により施行されている土壌汚染対策法では、土壌に関する重金属の環境基準が設けられており、水銀については総水銀および有機水銀の含有量および溶出量基準値が設定されている²⁾。しかし本対策法は、国内の土地売買や改変に伴って土壌および地下水の調査を行うことが義務付けられているに留まっており、長期的見地から水銀汚染土壌がどのように安定

し変化していくのかを踏まえて評価する観点が現状として備わっていない。そこで本課題研究では、世界各国より水銀汚染土壌を入手し、これらを用いて各種化学分析や解析を行い、その基盤土壌特性と汚染物質である水銀との関係について検討した。また、無機水銀添加によって人為的に作成された、模擬水銀汚染土壌4種類を用いてインキュベーション実験を行い、各土壌中の水銀に関する時系列化学変化を追跡し、土壌中にある水銀の化学的挙動について検討した。以上本研究は、文部科学省科学研究補助金(基盤研究C)の交付を受け、H17年度~H18年度の2年間に亘って実施されたものである

[方法]

本研究を遂行するために以下に述べる内容の実験を行った。

<1>水銀汚染土壌からの水銀の溶出量と水銀含有量の関係について

世界5カ国(中国、ニカラグア、タンザニア、ガーナ、フィリピン)より水銀汚染土壌試料を入手したが、現地での水銀汚染履歴を明確に把握でき且つ、100試料を越す系統だった試料採取ができたのは、最終的に中国水銀汚染土壌のみであったことから、中国土壌試料を用いて各種化学分析による検討を進め、総合的な解析を行った。

(分析項目)

a)土壌中総水銀含有量、b)メチル水銀含有量、c)総水銀溶出量、d)メチル水銀溶出量、e)各種土壌基盤特性 pH,EC,有機物含有量等

(分析方法)

a),b),d)については、赤木法³⁾による分析を行った。c)については、公定法⁴⁾による分析とした。他e)については、電極法(pH,EC)およびTyurin法(有機物含有量)により測定した。

<2>国内 4 土壌を用いた模擬水銀汚染土壌の作成とウェザリングによる安定化処理に伴う経時的な土壌特性変化について

我が国を代表する 4 土壌種（黒ぼく土、酸性褐色森林土、赤黄色土、シラス）をそれぞれ入手し、模擬汚染土壌（総水銀濃度 100ppm となるように塩化第二水銀溶液を直接噴霧添加した）を、H17 年 11 月より約半年間に亘って 20℃恒温室内で培養した。

(分析項目)

- a) 土壌中総水銀含有量、b)メチル水銀含有量
- b) 総水銀溶出量、d)メチル水銀溶出量

(分析方法)

分析法は上記 1. と同様とした。

<3> 模擬水銀汚染土壌を用いた、環境要因別組み合わせインキュベーション実験

人為的にインキュベーション環境を変えることが可能な環境インキュベータを用いて、光、温度、土壌水分などの環境要因を適宜段階的に、組み合わせたインキュベーション実験を、<2>で作成した培養土壌 3 種類（黒ぼく土、酸性褐色森林土、赤黄色土）を用いて実施した。表-1 に具体的な要因の組み合わせを示す。

表-1 各種要因の組み合わせ

土壌数	光	温度	土壌含水比
3 種	25,000 lux (曇天午前 10 時太陽光) *24h 連続で照射	27℃ (2000～2005 年 8 月の日平均気温 東京)	80
			60
3 種		6℃ (2000～2005 年 1 月の平均気温 東京)	80
			60
3 種	ゼロ lux	27℃ (2000～2005 年 8 月平均気温 東京)	80
			60
3 種		6℃ (2000～2005 年 1 月の平均気温 東京)	80
			60

(分析項目)

- c) 土壌中総水銀含有量、b)メチル水銀含有量
- d) 総水銀溶出量、d)メチル水銀溶出量

(分析方法)

分析法は上記 1. と同様とした。

[結果および考察]

1. 水銀汚染土壌からの水銀の溶出量と水銀含有量の関係について

当該地域の土壌の理化学的性質はアルカリ土壌であり、我が国の一般的な土壌とは異なる特性を有するが、化学形態別水銀の溶出特性に大きな違いがあることがわかった。すなわち、土壌中における総水銀およびメチル水銀含有量の相関は非常に高く、単相関係数で $r = 0.89$ (図-1) を示した。

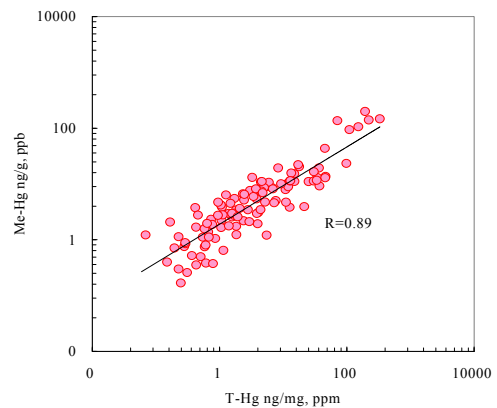


図-1 土壌中総水銀及びメチル水銀含有量の相関
しかし各土壌の溶出試験結果で得られた水銀溶出量の関係で見ると、その特性は明らかに異なり総水銀とメチル水銀の間には全く相関関係が認められなかった (図-2、 $r = 0.16$)。

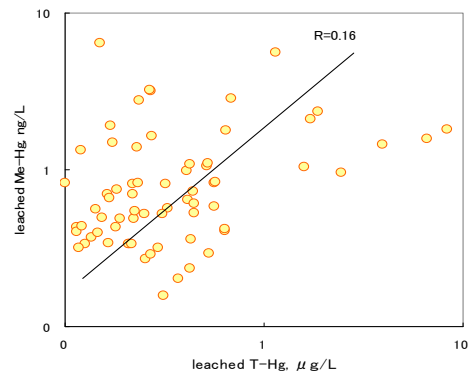


図-2 総水銀及びメチル水銀溶出濃度に関する相関

さらに、土壌中の総水銀濃度および溶出総水銀濃度との関係でみた場合、相関関係は認められたが (図-3、 $r=0.56$)、土壌中のメチル水銀濃度および溶出してくるメチル水銀濃度との間には相関関係が認められまでには至っていない (図-4、 $r=0.36$)。これらのことは土壌中における水銀の挙動が、単純な水銀の濃度勾配のみで支配されていないことを示していると考えられた。

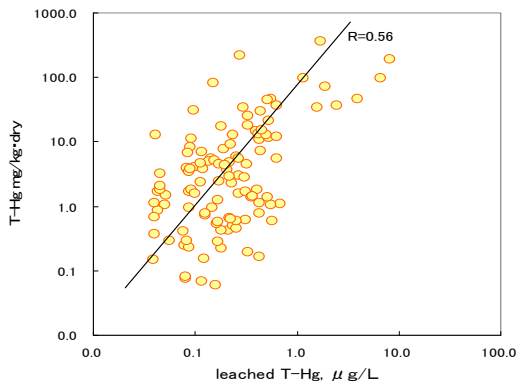


図-3 総水銀含有量及び総水銀溶出量に関する相関

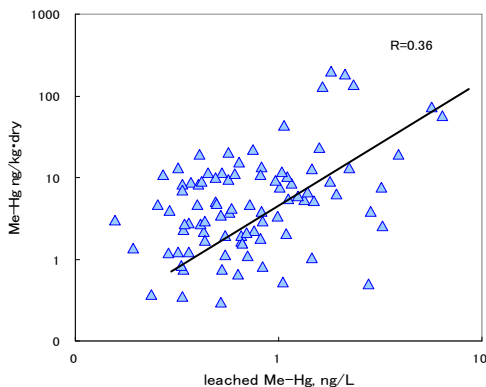


図-4 メチル水銀含有量及びメチル水銀溶出量に関する相関

上記を受けて土壌からの水銀の溶出に関して総水銀については、土壌中の総水銀含有量と正の相関を示す傾向があると認められるが、メチル水銀の場合は当てはまらないことから、有機物含有量を除く他の土壌基盤特性との相関関係について検討する必要がある。最終的に pH、強熱減量などとの相関は全く認められなかったが、EC との間には相関が認められた。その結果を図-5 に示す。この結果より、EC および点線で示されたメチル水銀溶出濃度との間には比較的強い相関関係が認められた ($r=0.69$)。

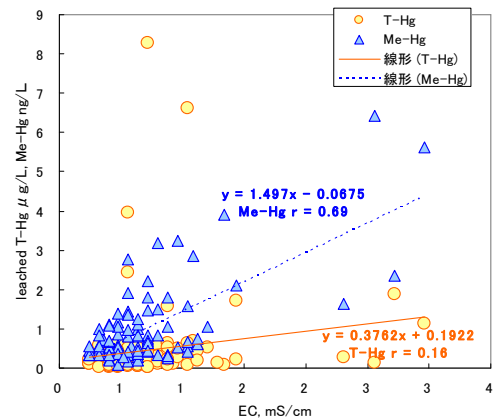


図-5 EC (電気伝導度) 及び水銀溶出量に関する相関

しかし一方、実線で示された総水銀溶出濃度との間には、全く相関関係は認められなかった ($r=0.16$)。このことは前述した土壌からの総水銀溶出特性とは全く異なり、メチル水銀の溶出特性は前述どおり、土壌中の水銀含有量とは大きな関係がなく、むしろ土壌中の水溶性電解質濃度等が、土壌からのメチル水銀溶出特性に影響を与えている可能性が大きいことを示唆していると考えられる。

2. 国内4土壌を用いた模擬水銀汚染土壌の作成とその経時的な土壌特性変化について

	Ignition loss	pH		EC
	%	H ₂ O	KCl	mS/cm
黒ぼく土	19.8	6.0	5.0	0.32
褐色森林土	10.5	4.5	3.8	0.24
赤黄色土	3.8	4.7	3.6	0.48
シラス	0.1	6.1	4.7	0.08

表-2 国内土壌の基盤特性

表-2に今回模擬汚染土壌作成に用いた国内を代表する4土壌の基盤特性を示す。黒ぼく土上から順番に有機物含有量が少なくなり、pHは全体として弱酸性領域となっている。これら各土壌に塩化第二水銀添加し、模擬水銀汚染土壌を作成したが、黒ぼく土中のメチル水銀濃度が急上昇した。(図-6)最終的にこれに準じて褐色森林土、赤黄色土、シラスの順番でメチル水銀が

土壤中中で生成された。一般的な見解として土壤中における無機水銀の有機化（メチル化）は、土壤中の有機物量と正の相関があることが知られており⁵⁾、このことと本実験結果は一致した。

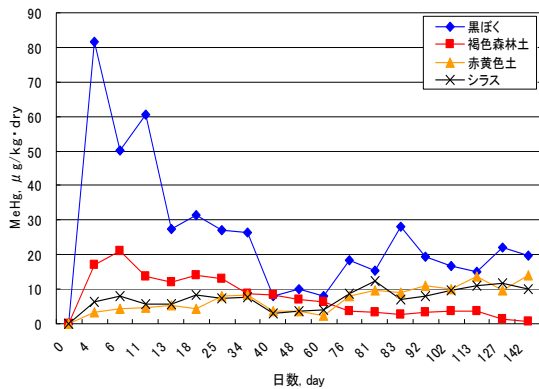


図-6 模擬水銀汚染土壌、メチル水銀含有量経時変化

一方、総水銀濃度は褐色森林土を除いて全般的にほぼ一定（100ppm）の濃度をもって推移したが、褐色森林土の場合は経時的に土壤中の総水銀濃度が減少し始め、培養期間6ヶ月後にはおよそ1/5の濃度にまで低下した（図-7）。この原因についてはいまのところ明確ではないが、褐色森林土中に生息していた微生物の還元作用によって二価水銀が還元され大気中へ気化した可能性が大きい⁶⁾。

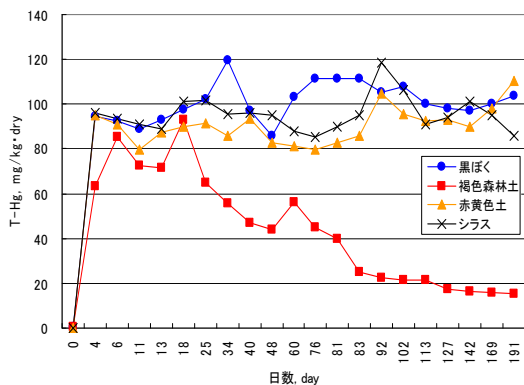


図-7 模擬水銀汚染土壌、総水銀含有量経時変化
各土壌からの水銀溶出については総水銀の場合、赤黄色土およびシラスが、水銀添加直後から水銀の溶出が始まり、特に赤黄色土では添加した水銀量の約半量

が全期間を通じて溶出した。シラスは赤黄色土ほどではないが、全期間を通じておよそ1/5程度が毎回溶出した。しかし黒ぼく土および褐色森林土は水銀添加直後を含めて最後まで、そのほとんどが溶出しなかった。可溶性メチル水銀については、試料量が少ないこともあり全試料を分析できなかったが、傾向として黒ぼく土、および褐色森林土が溶出する傾向が認められる。しかし今回の検討では、実験途中で突発的にメチル水銀の溶出が起きていることが確認されているのみであり、その詳細については更に検討の必要がある。

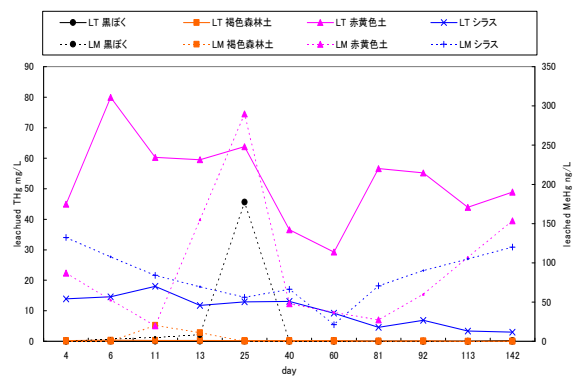


図-8 模擬水銀汚染土壌・総水銀、メチル水銀溶出量経時変化

3. 模擬水銀汚染土壌を用いた、環境要因別組み合わせインキュベーション実験

ウェザリングによる安定化処理によって一時的に安定化している土壌であっても、周辺環境の急激な変化により、土壌中にある水銀は容易に化学変化をおこすことが示唆された。即ち総水銀濃度については、全体実験期間を通して大きな変化は認められていないが、メチル水銀の生成量については大きな差異が認められた。ただし土壌の種類によって変化の出方は一定しておらず、その傾向は基盤土壌特性に大きく影響されていることが予想された。総じた結果として、最も影響が大きかった環境要因は培養温度条件であり、この条件に光の有無などの条件が付加されることによって、土壌中の水銀に関する挙動も大きく変化することがわかった。図-9,10 に培養温度条件 27℃、8℃の実験結果を示す。それぞれの実験条件で、メチル水銀の土壌中における生成の傾向が異なり、培養温度 27℃の場合

は、赤黄色土が時間の経過と共にメチル水銀の生成量が増加する傾向がある。これに対し 8°C の温度条件では、黒ぼく土にメチル水銀生成のピークが実験半ばで観察され、一度安定化している土壌であっても、環境条件の変化によって容易に土壌環境は変化することがわかった。

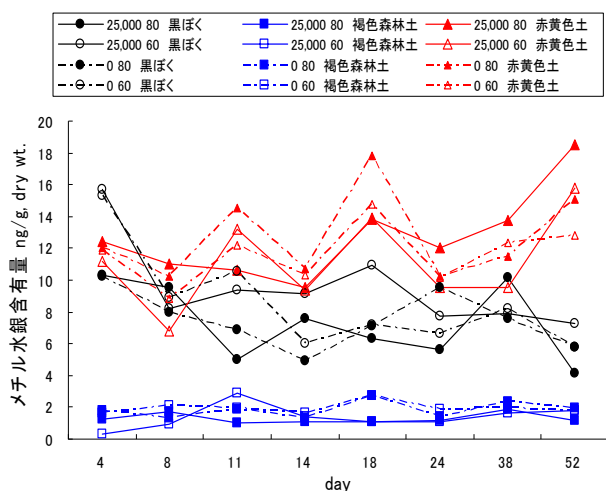


図-9 培養温度 27°Cにおけるメチル水銀生成量経時変化

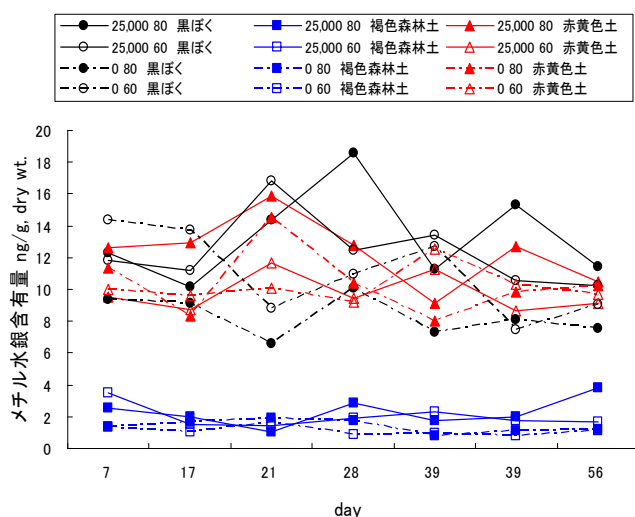


図-10 培養温度 8°Cにおけるメチル水銀生成量経時変化

まとめ

本研究全体を通じて、土壌中の総水銀含有量とその溶出量にはある程度の相互関連は認められたが、メチル水銀については、土壌中の化学形態別含有量および総水銀溶出量との間に相関関係は認められなかった。唯

一、土壌中の EC (電気伝導度) とその溶出特性に相関があることが認められた。しかし影響を及ぼしている土壌中のイオン性物質や有機物に関して、具体的に特定されていないため、この現象については解明できていない。さらに本結果は中国、貴州省より得た水銀汚染土壌試料のみから得られた結果であることから、国内外水銀汚染土壌の採取等を含め今後さらに研究の幅を広げる必要がある。また国内水銀模擬汚染土壌を用いたインキュベーション実験では、安定化処理を半年間実行している最中においても、各土壌の基盤特性に準じて、水銀の化学形態変化が土壌中で確認された。またインキュベーション実験結果では、ウェザリングによる安定化処理直後の状態であっても急激な環境変化を与えることにより、再度化学変化が土壌中で急激に起こりうることを示された。現在、我が国では環境省土壌汚染対策法により、水銀に関する土壌環境基準値が含有量で 15mg/kg・dry、総水銀溶出量で 0.0005mg/L と定められている。今回のインキュベーション実験では、模擬汚染土壌の水銀濃度を 100mg/kg・dry に設定したので、高濃度水銀汚染土壌を想定しているが、海外での環境基準は日本における基準よりも更に 5 倍から 10 倍程度低いことから、低濃度水銀汚染領域における実験検討も今後更に必要となることが予想される。

[文献]

- 1) 日本化学会: 環境汚染物質シリーズ水銀 (丸善), 3-11, 1977.
- 2) 環境省環境法令研究会: 環境六法 (中央法規), 2019-2220, 2009.
- 3) Akagi H, Nishimura H: Speciation of mercury in the environment. In: Suzuki T, Imura N, Clarkson TW (eds) Advances in mercury toxicology. Plenum Press, New York, 53, 1991.
- 4) 環境省環境法令研究会: 環境六法 (中央法規), 660-663, 2006.
- 5) 大村平: 多変量解析のはなし (日科技連), 15-33, 1985.
- 6) 中村邦彦: 海洋水銀汚染と微生物. 環境科学界誌 5, 1-14, 1992.

国際共同研究

1. 中国における水銀鉱山労働者における高濃度水銀蒸気曝露と毛髪中メチル水銀濃度 High exposure of Chinese mercury mine workers to elemental mercury vapor and increased methylmercury levels in their hair

[担当者]

○坂本 峰至 (国際・総合研究部)
Xinbin FENG (中国地球科学院)
Ping LI (中国地球科学院)
Guangle QIU (中国地球科学院)
Hongmei JIANG (中国地球科学院)
吉田 稔 (八戸大学)
岩田 豊人 (秋田大学)
劉 暁潔 (疫学研究部)
村田 勝敬 (秋田大学)

[期間]

平成 18 年度

[背景および目的]

今研究の目的は中国における水銀鉱山で水銀蒸気 (Hg⁰) 曝露への適切な防御具無しで働いている水銀採掘者と精錬作業者の水銀への曝露レベルを把握することである。加えて、毛髪中メチル水銀濃度から彼らのメチル水銀取り込み量を推定する。

[方法]

曝露群として中国南西部に位置する貴州省における 26 名の水銀鉱夫と精錬作業員、非曝露群として同州に居住する鉱山から 200 km 以上離れている 48 名の対照者に本研究に参加する同意を得た。水銀鉱山作業員の内 16 名は水銀石の精錬に従事していた。尿中の総水銀、毛髪中の総水銀とメチル水銀を測定するために 2 ml の尿と 40-50 本の毛髪を 2005 年 7 月 23 - 27 日に収集した。尿の保存のためには 2 ml の尿に 1 ml の硝酸を試料採取後直ぐに添加した。曝露群として 26 名の水銀採掘者と精錬作業員の水銀鉱山作業員、非曝露群として 48 名の対照者の尿中総水銀と毛髪中のメチル水銀を測定した。

[結果および考察]

非曝露群では幾何平均で尿中総水銀は 2.48 µg/g creatinine、2.08 ng/ml、毛髪中総水銀とメチル水銀はそれぞれ 0.71 と 0.60 µg/g であった。一方、曝露群の幾何平均は尿中総水銀で 258 ng/ml, 226 µg/g creatinine 毛髪総水銀で 20.0 µg/g と高い値であった。特に、精錬作業員の尿中水銀濃度の幾何平均値は高かった (320 ng/ml, 338 µg/g creatinine) ぐ、最も高い精錬作業員の尿中総水銀濃度は 3662 ng/ml (4577 µg/g creatinine) に達した。毛髪水銀濃度も精錬作業員で高い値を示した (幾何平均値 29.1 µg/g)。曝露群の毛髪メチル水銀幾何平均値 (1.97 µg/g) は非曝露群 (0.60 µg/g) の約 3 倍であった。毛髪中メチル水銀は精錬作業員、採掘者および非曝露群で約 6%, 20%, 85% であった。曝露群の最も高いメチル水銀濃度は 3.91 µg/g であった。尿と毛髪の水銀濃度は曝露群で有意な相関 ($r=0.62$; $p<0.05$) が見られたが、非曝露群では見られなかった。更に、非曝露群では毛髪中の総水銀の約 85% 以上がメチル水銀で、総水銀とメチル水銀との間に正の相関 ($r=0.86$) があったが、曝露群では相関が見られなかった。本調査は、中国の水銀鉱山で働く精錬作業員が非常に高い水銀蒸気に曝露されていること及び水銀鉱山作業員が非曝露群より高いメチル水銀に曝露されていることを示した。この、曝露群において増加している毛髪中メチル水銀の起因については更なる検討が必要と考えられる。

2. 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

Environmental contamination from mercury in Lake Managua, Nicaragua: Human health risk assessment

[担当者]

○保田 叔昭 (国際・総合研究部)
松山 明人 (疫学研究部)

[期間]

平成 15~19 年度

[研究概要]

(1) 背景および目的

米州開発銀行 (IADB)・ジャパンプログラムの要請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。

要請の内容は、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してほしい、というものである。

(2) 実績

業務は現地における環境調査の技術協力と研究室における水銀分析の技術移転、そして水俣病に関する教訓の普及からなっている。

これまでに現地へ4回赴き、対照地区の選定を含めて、底質・土壌、井戸水、湖水、魚、そして住民の頭髮の組織的な採取と水銀分析を実施した。また、UNANから、二人の研究者を招聘し、水銀分析と水俣病に関する技術移転および講義を実施した。

試料の分析の結果、工場跡地の土壌と井戸水に比較的高い総水銀値が検出された。また井戸水にはメチル水銀も含まれていた。隣接する湖の湖岸の底質においてもメチル水銀が検出されている。また工場と湖との間の土地における土壌では、一部にかなり高い総水銀地が検出された。

一方、湖の魚については、雑食魚について 0.03ppm

程度の低い値が得られた。ただ、対照地区の値と比較すると有意に高い。また、湖の直近の住民について食生活に関するアンケートを実施し、同時に頭髮を採取してメチル水銀濃度を測定したところ、住民のほとんどが湖の魚を摂取しており、その頭髮水銀値は対照地区のそれより有意に高い値を示した。しかしその平均値は最も高い集団(103名、工場に最も近い地区の住民)で0.25ppmであり、日本人の平均値の1/10程度であった。ただし対照地区は0.08ppmであったので、それよりは高く、水銀蓄積が認められた。

3. Bordeaux大学およびMarie Curie大学との国際共同研究 -フレンチギアナ河川汚染による人体への健康影響に関する実験的研究-

An international joint research with Bordeaux University and Pierre et Marie Curie University -Experimental research on influence of French Guiana river pollution to human health-

[担当者]

○藤村 成剛 (基礎研究部)
澤田 倍美 (基礎研究部)
安武 章 (基礎研究部)
J. P. Bourdineaud (Bordeaux 大学)
W. H. Rostene (Pierre et Marie Curie 大学)

[期間]

平成 18~20 年度
(派遣: 平成 18 年 9 月 1 日~9 月 14 日)
(招聘: 平成 18 年 9 月 24 日~9 月 30 日)

[研究概要]

近年、南米フレンチギアナの河川領域では金採掘が広範な範囲で行われており、その金採掘に伴う環境汚染物質(主に水銀)による魚貝汚染が問題になっている。実際に地域住民は汚染魚を摂取しており、人体への水銀汚染の指標である毛髪水銀値は高値を示し、汚染地域住民の健康影響(下肢の協調運動異常、認知障害等)についての報告もある。その対策として、現状把握としての現地調査の継続も対策手段の一つであるが、基礎実験手法を用いた汚染魚の健康影響および毒性発症メカニズムの解明も対策として重要だと考えられる。

以上の背景から「フレンチギアナ河川汚染による人体への健康影響に関する実験的研究」として、当研究センターの藤村、澤田研究員、安武室長は、仏国・Bordeaux 大学の J.P.Bordinaurd 等および Pierre et Marie Curie 大学の W.Rostene 等と共同研究を行う計画である。今回、その打合せのため藤村が渡仏し、研究ミーティングを行った。さらに J.P.Bordinaurd を招聘し、国水研の共同研究者との研究ミーティングを行った。

1. 仏国における Bordeaux 大学グループおよび Pierre et Marie Curie 大学グループとのミーティング(派遣)

Bordeaux 大学グループと研究分担についてミーティングを行った。動物実験は Bordeaux 大学にてフレンチギアナ河川において採取した汚染魚肉をマウスに給餌し、2 ヶ月および 6 ヶ月の時点で行動解析および解剖を行い、解剖後のサンプルを各研究室に送付して生化学的・遺伝子工学的解析を行うこととなった。国水研では、脳組織病変の確認および脳組織中のモノアミン定量を実施する。さらに、JP. Bourdineaud 等が行っている「ゼブラフィッシュを用いた水銀暴露の影響に関する研究」および W.Rostene 等が行っている「培養神経細胞を用いた水銀暴露モデルにおける Chemokine の作用に関する研究」についても“「フレンチギアナ河川汚染による人体への健康影響に関する実験的研究」の一環として共同研究を行いたい”との提案を受け、共同研究として実施することとした。国水研ではそれぞれ、ゼブラフィッシュにおける脳組織病変の確認および培養神経細胞中のタンパク質等の確認を実施する。

また、藤村は Bordeaux 大学・神経認知研究部において「Methylmercury induces Tau degradation in vitro and in vivo」、Bordeaux 大学・Arcachon 施設および Pierre et Marie Curie 大学・Inserm 施設において「Minamata disease」のタイトルでセミナーを行った。

2. 日本における JP. Bourdineaud とのミーティング(招聘)

澤田研究員、安武室長と共に今後の実験計画について JP. Bourdineaud とミーティングを行った。国水研では、フレンチギアナ河川において採取した汚染魚肉給餌とメチル水銀単独給餌の比較のための動物実験を行い、認知・情動変化および一般症状の確認を行うと共に脳組織病変の確認および脳組織中のモノアミン定量を実施することとなった。

また、JP. Bordinauld は国水研にて「Mercury contamination: laboratory and field insights -The case of the French Guiana-」のタイトルで、セミナーを行った。

4. タンザニアにおける金採掘に伴う水銀汚染とその健康影響に関する共同研究 A Collaborative Study on Mercury Pollution and Its Health Effects due to Gold Mining in Tanzania

[担当者]

○松山 明人 (疫学研究部)

Justinian Ikingura (ダルエスサラーム大学)

[期間]

平成 18 年度 (招聘: 平成 18 年 6 月 30 日~8 月 5 日)

[研究概要]

今回、タンザニア国との国際共同研究を実施するため、同国より University of Dar es Salaam より地質学教室教授の Dr Ikingura 氏を招聘した。

本国際共同研究では、タンザニア・ビクトリア湖周辺地域において 1980 年代初期より盛んに行われている金採掘に伴う水銀汚染を研究対象としている。発展途上国における小規模金採掘現場では、金属水銀を用いた金の簡易精錬が、広く世界的に実施されており、環境中での水銀汚染が大きく懸念されている。上述を受けて本共同研究では、金属水銀などの無機水銀が、環境中でメチル水銀へと変化するメカニズムおよび、メチル水銀暴露による人体および生態系の汚染の実態を把握するところに大きな目的がある。これまでの当センターおよび同国間の国際共同研究は、今回招聘した同氏をはじめとして、これまで複数回に亘って同国研究者が当センターに来日している。昨年平成 17 年度は Dr Jean Mujumba が同大学より来日され、ヴィクトリア湖周辺の水銀汚染土壌および底質およそ 60 試料について、各種化学分析および総水銀、メチル水銀の定量が当センターで行われている。今回は、さらに同国より土壌試料 78 試料、底質試料 44、植物体試料 46、魚 35 試料がが当センターに、持ち込まれこの試料について各種分析を行った。水銀に関する分析は今回は行わず、主に総水銀分析による定量を実施した。また試料は全体として水銀汚染地域ではない箇所から採取されており、対照区としての取り扱いとなった。その結果について、表-1 に示す。

表-1 環境試料分析結果

	Total-mercury		
	(n)	(ng/g)	±SD
Fish			
(wet)	35	22.51	19.61
Plant			
(dry)	46	12.23	11.38
Sediment			
(dry)	44	21.74	31.53
Soil			
(dry)	78	16.72	8.12

結果として、対照区から採取された試料は全般的に総水銀濃度が低く、魚試料では平均値でおよそ 0.02ppm となり、我が国の基準である総水銀濃度 0.4ppm を大幅に下回る結果となった。これと同様に土壌試料も平均値でおよそ総水銀の濃度 0.02ppm であった。我が国の一般土壌中における天然の水銀存在量はおよそ 0.1ppm 程度とされていることから、この数値と比較する限り、水銀によって汚染されていないタンザニアの対照区は、水銀に関してたいへん清浄な状態に保たれていることがわかった。

5. 環境試料中、メチル水銀の超微量定量法に関する精度管理と相互比較

Comparative study on analytical quality control in mercury analysis and speciation in environmental samples

[担当者]

○松山 明人 (疫学研究部)

丸本 幸治 (国際総合研究部)

Steve Balogh

(Metropolitan Council Environment Services)

[期間]

平成 18 年度 (招聘:平成 19 年 3 月 1 日~4 月 24 日)

[研究概要]

平成 18 年度日本学術振興会外国人招へい研究者(短期)制度の活用のもと、米国から Dr Steve Balogh 氏を当センターに招聘することが出来た。同氏を招聘できたことにより、環境中のメチル水銀定量については現在世界で広く用いられているエチレーションを、当センターで開発されたジチゾン抽出-ECD・GC法(赤木法)によるメチル水銀定量法に加え新たに導入することが出来た。具体的な研究経過としては当初、エチレーションを導入するに当たり、文献調査により当センターで予め準備していたエチレーション用の分析器具等の導入を試みたが、その結果は分析精度的な問題も含め不調であった。そこで来日後同氏と共に本課題に関する研究討議を繰り返し実施しながら、既存分析システムの細部について検討しなおし、その結果として残せる部分はそのまま生かしながら、新たに米国 Brooksland corp よりエチレーション用の専用器具を緊急に取り寄せることにより対応した。その結果、共同研究に実用上十分なエチレーション分析システムが製作され、共同研究を実施することができた。今回エチレーション導入するにあたり、同氏より標準分析フローの他、以下に示す内容等について技術的な指導を受け、貴重な分析上のノウハウを得ることができた。

- ① エチレーション実施に伴う液体試料の保存方法
- ② 分析用器具の洗浄方法
- ③ テトラエチルホウ酸ナトリウム(エチル化

剤)の調製方法

④ 不溶になったエチル化剤の廃棄方法

⑤ テナックストラップの保存方法

⑥ アルゴンガス流量の設定と純化方法

⑦ DORM2(メチル水銀標準試料、魚肉粉末)

アルカリ条件で溶解させた、標準試料溶液の作成方法。

上述をふまえ、第一段階として通常、これまで赤木法で用いているメチル水銀システイン溶液がエチレーションの標準溶液として妥当であるかどうかの検討を行った。結果として、検量線を作成するためメチル水銀システイン溶液および上記 DORM2 溶液を、蒸留水に同濃度となるように添加してエチレーション実験を行い分析した結果、メチル水銀システイン溶液および DORM2 溶液共に検量線の相関係数は $r = 0.999$ 、 $r = 0.999$ となり数値的には全く問題はなかったが、1 次回帰式による勾配は DORM2 溶液を使用した場合に比べ、明らかにメチル水銀システイン溶液検量線の傾きが低くなった。そこでこの 2 種類の検量線の精度を評価することを目的として、DORM2 溶液を用いたエチレーションによる添加回収試験を実施し、それぞれの検量線について正確性を比較した。その結果、DORM2 溶液による検量線ではメチル水銀濃度が (4.41mg/kg) となり分析保証値 (4.47mg/k g-MeHg) に合致したが、メチル水銀システイン溶液を用いた検量線では、分析保証値に比べ 40%程度含有量が高くなる結果となった。これよりエチレーションによる検量線は、赤木法で用いているメチル水銀システイン溶液利用によるものではなく、DORM2 溶液利用による検量線の方がより正確であることが判った。この原因については未だ明確ではないが、システイン溶液の場合、システイン成分と水銀の結合力が強固であるため、通常のエチレーション法では十分にエチル化できなかつたためと考えられた。今後、本原因の究明と同時に、検量線の共有化を図るため、DORM2 による赤木法の検量線も検討する。

6. 中国における水銀の人為的な環境汚染及び住民の疫学的調査に関する研究 Research on the artificial environmental pollution of the mercury and epidemiological of residents in China

[担当者]

- 劉 曉潔 (疫学研究部)
- 王 偉 (中国環境科学研究院)
- 劉 争 (瀋陽薬科大学)

[期間]

平成 17~21 年度
(派遣：平成 18 年 6 月 7 日~6 月 17 日)

[背景と目的]

世界第 2 位の石炭産出国である中国は、エネルギー消費と硫黄酸化物排出においても世界第 3 位である。また石炭は中国の大部分の都市のエネルギー構成の中で相当な比率を占めている。そのため、石炭による大気汚染が中国の都市汚染の主役といえる。最新の研究報告により、中国における年間石炭燃焼により大気中の水銀の排出量は 296 トンと報告されている。石炭燃焼による水銀汚染の現状報告があったが、健康影響については不明で、今後の研究課題とのことである。

中国東北地区は主要石炭産地および工業都市として繁栄し、現在も石炭の産地として発展し続けている。火力発電の排煙には水銀などの有害物質が含まれる。これらの地域の石炭を測定した結果は、水銀の濃度が 0.27~0.52 mg/Kg である。中国における石炭中の水銀の含有量は 0.01~1.0mg/Kg であり、平均値は 0.15 mg/Kg である、世界の石炭の平均水銀値は 0.012 mg/Kg である。中国における地域の石炭の水銀含有量はかなりハイレベルである。特に東北地方は発電以外に年間 4~5 カ月間の暖房のために石炭を使用する。石炭による水銀汚染現状は全く把握できない状態であり、現地との共同研究を開始する。

[方法]

現場の従業員と周囲地域住民の血液・尿や頭髪などをサンプリングし、健康影響や疫学的な実態調査を通じて、その水銀環境汚染源と健康被害との関連性を検

証することも重要な目標としている。

現場の従業員と周囲地域住民のアンケート調査および尿や頭髪サンプリングし、健康影響や疫学的な実態調査を通じて、その Hg 環境汚染源と健康被害との関連性を検証することも重要な目標としている。

[結果]

- 1.炭鉱の従業員 50 名の血液・尿・頭髪・爪を採集した。
 - 2.火力発電所の従業員 125 名も同様なサンプリングをした。
 - 3.漁村部の漁民の頭髪 30 名を採取した。
- 現在サンプルを分析とデータの解析を行っている。

[考察]

中国政府は経済発展と連携する深刻な環境汚染に対して、かなり認識し、注目にきている。現在各分野の研究者は、水銀及びその他の重金属の汚染に関する問題を重視、特に環境分野には曝露背景の把握のために広範囲の研究を開始している。

今回の共同研究において、対象の選択、サンプリング方法などお互いに検討した上で、今後中国における水銀汚染状況の把握のために共同研究を継続する予定である。

7. 長江流域の自然環境と地域住民の水銀汚染調査 Investigation on mercury pollution in natural environment and regional inhabitants

[担当者]

○劉 暁潔 (疫学研究部)
田 考聡 (重慶医科大学)

[期間]

平成 17~21 年度
(派遣：平成 18 年 10 月 25 日~11 月 7 日)

[背景と目的]

中国近海の汚染状況や対策をまとめた報告書「中国海洋環境保護」では、経済発展が著しい沿岸海域で汚染が深刻化して、渤海、黄海、東、南両中国海などに面した 1 万 8,000km を超える長大な海岸線を有し、近海の海水汚染が深刻に拡大している。長江（揚子江）河口から東シナ海にかけて汚染が最も深刻化している実態が明らかになっている。また海洋環境汚染の悪化傾向に歯止めをかけることができていない。

四川（しせん）省・広元（こうげん）市を流れる嘉陵江は、有機水銀汚染により魚介類が全滅と報告がある。嘉陵江で体を洗う地元の住民も、全身がかゆくなるなどの中毒症状が出ているという。汚染源となっているのは錬金工場。工場では、掘り出した金鉱石に水と水銀を混ぜ合わせ、機械を使って粉末状にするという、大量の水銀を含んだ廃水は、工場のある溪谷から河川を通じて下流域に流れ込み、土壌に蓄積される。長い月日を経て嘉陵江にも流れ出たため、現地住民の生活を脅かし始めたとされる。68 の金鉱から 1 年間で嘉陵江に流れ込む固形廃棄物は、80 万トンに上るといいうデータも示されている。昔を知る人々は、「水がきれいだった頃、川には魚があふれていたものだ。生活も川に頼っていた。しかし、今は水も飲めない、魚一匹を見るのも難しい」と嘆き顔だ。

中国の国家環境保護総局は、中国近海の汚染状況や対策をまとめた報告書「中国海洋環境保護」を発表、経済発展が著しい沿岸海域で赤潮が頻発、特に長江（揚子江）河口から東シナ海にかけて汚染が深刻化している実態が明らかになった。四川（しせん）省・広元（こ

うげん）市を流れる嘉陵江は、有機水銀汚染により魚介類が全滅と報告がある。特に舟山列島付近が好漁場として知られている。この地域は、伝統的にも魚の主体とする食習慣が残っていると考えられ、水銀汚染現状が把握できず、水銀のモニタリングにより東シナ海沿岸地域の水銀汚染防止対策を早期確立させることを期待する。

[方法]

現場の従業員と周囲地域住民の血液・尿や頭髪などをサンプリングし、健康影響や疫学的な実態調査を通じて、その水銀環境汚染源と健康被害との関連性を検証することも重要な目標としている。

舟山諸島及び四川省重慶の周辺長江流域の魚介類調査を行う。上海交通大学と共同研究の経緯があつて講演を依頼された。汚染地域と周辺及び都市部の住民の食事に関するアンケートを取る共に住民の毛髪及び魚介類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。

[結果]

長江流域の舟山諸島と重慶流域の魚類 60 検体、重慶市住民と漁村部の漁民などの頭髪 174 名を採取した。現在サンプルの測定とデータ分析を行っている。

[考察]

中国政府は経済発展と共に長江流域の深刻な水系汚染に対して、かなり認識している。現在各分野の研究者は、水銀及びその他の重金属の汚染に関する問題を重視、特に環境分野には曝露背景の把握のために広範囲の研究を開始している。今回の共同研究において、対象の選択、サンプリング方法などお互いに検討した。今後、中国における水銀汚染状況の把握のために共同研究を継続する予定である。

8. アジア地域における水銀廃棄物及び金採掘由来水銀汚染に関する研究

Research on mercury pollution caused by mercury waste and gold mining in the Asian region

[担当者]

○本多 俊一 (疫学研究部)

Ming Hung Wong (香港バプテスト大学)

Ty Sotheavun (カンボジア環境省)

Baatar Tumenbayar

(モンゴルサンフロンティアプログレス)

Marcello M. Veiga (国連工業開発機関)

[期間]

平成 18 年度

[研究概要]

(1) 中国における水銀廃棄物に関する汚染調査—電気電子機器廃棄物:香港バプテスト大学と共同研究(平成 18 年 6 月)

中国広東省グイユには世界中から違法に電気電子機器が輸入され、防具を使用せず手作業による解体、及び基盤の加熱処理を行っている。その加熱処理に伴う揮発性有害物質の健康影響を調べるために、毛髪及び尿中の水銀分析調査を行った。分析結果(平均値)は、尿中の総水銀:12.4 mg·Hg/g·Cr、毛髪中の総水銀:0.5 µg·THg/g であり、水銀曝露影響は確認できなかった。しかし、この違法な解体作業は数年前から本格的に行われており、今後の長期的な健康影響評価が必要である。

(2) カンボジアにおける水銀汚染調査:カンボジア環境省と共同研究(平成 18 年 8 月)

カンボジアは急速な経済発展に伴う環境汚染が表面化しているが、貧困層が大部分を占めているため、環境保護対策は殆ど行われていない。本研究ではカンボジアにおける水銀汚染を把握するために、漁民、廃棄物従事者及び一般住民の毛髪中の水銀測定、及び魚介類の総水銀及びメチル水銀の測定及びデータ解析を行った。毛髪試料中の水銀濃度において、漁村(トンレサップ湖)の妊娠可能な女性(15~45 歳)の幾何平均は 2.64 µg·THg/g であり、日本女性の幾何平均(2.47 µg·THg/g)よりも高かった。また、その漁村で採取し

た魚介類の総水銀平均値は 0.11 µg·THg/g であった。現時点では水銀汚染は低レベルであるが、水銀汚染源と予想される上流域に存在している化学工場や金採掘場の活動が活発であることから、今後の定期的なモニタリング調査及び汚染源の同定を行い、水銀汚染を未然に防ぐ必要がある。

(3) モンゴルにおける水銀汚染曝露調査:モンゴルサンフロンティアプログレスと共同研究(平成 19 年 2 月)

モンゴルには金鉱脈が存在しており、遊牧民による小規模な金-水銀アマルガムによる金回収が多数行われている。アマルガムはゲル(移動式住宅)の中で加熱処理を行っており、水銀蒸気曝露による健康影響が危惧されている。今回の研究では、遊牧民金採掘者を対象にして、毛髪中の総水銀及びメチル水銀の測定を行った。WHO の基準値を超えた水銀値は見られなかったが、金採掘事業は拡大の傾向にあるので、今後の継続的なモニタリング調査が必要である。

(4) GEF/UNDP/UNIDO 世界水銀プロジェクト:UNIDO と共同研究(平成 19 年 1 月~3 月まで試料分析及びデータ解析)

世界水銀プロジェクトは 2002 年から世界 6 ヶ国で金鉱山由来の水銀汚染調査を行っている。本研究ではその一部(インドネシア、中央カリマンタン地域金鉱山)を担当し、そこで採取された毛髪及び魚試料の総水銀・メチル水銀の分析、及びその疫学統計解析を行った。その結果、金-水銀アマルガム加熱処理の影響を受けている金採掘者の家族(特に妊娠可能な女性)の総水銀濃度が著しく高く、水銀曝露影響及びその児への影響が危惧される。また、この水銀曝露群は、水銀蒸気直接曝露及び金採掘残渣汚染由来魚介類の摂食によるメチル水銀曝露も予想される。世界水銀プロジェクトは水銀未使用の金採掘環境適正技術の導入を試みており、今後の継続的な調査及び介入が必要である。

重金属等の健康影響に関する総合研究 研究班構成 (国水研関係)

I. 水俣病検診・審査促進に関する調査研究 (水俣病患者や汚染地域等に関する研究)

研究班名	班長名	研究課題名	主任研究者	研究協力者 (国水研)
水俣病患者の健康問題に関する研究班	内野 誠 (熊本大学大学院医学薬学研究部神経内科学分野・教授)	水俣病認定患者の神経症候の経時的推移に関する研究	内野 誠 (熊本大学大学院医学薬学研究部神経内科学分野・教授)	若宮 純司
		胎児性水俣病患者の機能障害とその対策に関する研究	有村 公良 (鹿児島大学大学院医歯総合研究科・助教授)	劉 暁潔 坂本 峰至
水俣病発生地域住民の健康問題に関する研究班	二塚 信 (九州看護福祉大学・学長)	水俣病発生地域住民の健康雄状態 (生活習慣病) に関する解析	北野 隆雄 (熊本大学大学院医学薬学研究部・講師)	若宮 純司
		患者と発生地区・非発生地区住民の健康問題の比較に関する研究	秋葉 澄伯 (鹿児島大学大学院医歯総合研究科・教授)	若宮 純司
		水俣病発生地域住民の神経所見と加齢の影響に関する研究	中川 正法 (京都府立医科大学大学院神経病態制御学・教授)	若宮 純司

II. 水俣病に関する総合的研究 (水銀の生体影響及び環境修復に関する研究)

研究班名	班長名	研究課題名	主任研究者	研究協力者 (国水研)
水銀による環境汚染問題の現状と今後の対応に関する研究班	佐藤 洋 (東北大学大学院医学系研究科・教授)	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研究レビュー	佐藤 洋 (東北大学大学院医学系研究科・教授)	坂本 峰至
水銀が神経等に与える影響に関する研究班	高橋 均 (新潟大学脳研究所病態神経科学部門病理学分野・教授)	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析	高橋 均 (新潟大学脳研究所病態神経科学部門病理学分野・教授)	坂本 峰至
		ヒトの脳発達時期におけるメチル水銀の“spike” (短期ピーク) の影響に関する研究		坂本 峰至
		メチル水銀に対する感受性決定要因とその作用メカニズムに関する研究	森 信子 (熊本大学医学部保健学科・助手)	安武 章 永野 匡昭

3. 客員研究一覧

研究課題名 (所属部・担当者名)	客員研究員名 (所属機関・職名)
低濃度メチル水銀胎児期曝露における毒性評価法の開発 (臨床部・宮本 謙一郎)	村山 伸樹 (熊本大学大学院自然科学研究科・教授)
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 (臨床部・臼杵 扶佐子)	出雲 周二 (鹿児島大学大学院医歯薬学総合研究科附属難治ウイルス病態制御研究センター・教授)
環境レベルメチル水銀の生体影響に関する研究 (基礎研究部・安武 章)	井上 稔 (尚絅大学生活科学部・教授)
神経細胞の増殖および伸展に対するメチル水銀の作用 (基礎研究部・藤村 成剛)	足立 達美 (千葉科学大学薬学部衛生/公衆衛生学・助教授)
メチル水銀中毒の治療法に関する研究 (臨床部・村尾 光治)	内山 靖 (群馬大学医学部保健学科・教授) 浅山 滉 (特定医療法人順和長尾病院・副院長)
水銀曝露におけるメタロチオネイン動態に関する研究 (臨床部・中村 政明)	吉田 稔 (八戸大学人間健康学部・教授)
水俣湾の水銀耐性菌の遺伝学的研究 (基礎研究部・中村 邦彦)	古川 謙介 (九州大学大学院農学研究院生物機能科学部門・教授) 清野 正子 (北里大学薬学部大学院薬学研究科・講師) 内山 裕夫 (筑波大学大学院生命環境科学研究科・教授)
微生物を利用した液状バイオマスからの水銀の除去技術の開発 (基礎研究部 中村 邦彦)	岩原 正宜 (崇城大学生物生命学部応用微生物工学科・教授)
胎児期に受けたメチル水銀の神経系及び生理的老化に及ぼす後影響 (国際・総合研究部・坂本 峰至)	村田 勝敬 (秋田大学医学部社会環境医学講座環境保健学分野・教授)

4. 共同研究一覧

研究課題名 (所属部・担当者名)	共同研究員名 (所属機関・職名)
低濃度メチル水銀胎児期曝露における毒性評価法の開発 (臨床部・宮本 謙一郎)	中野 篤浩 (株式会社みなまた環境テクノセンター・顧問)
水俣湾の水銀耐性菌の遺伝学的研究 (基礎研究部・中村 邦彦)	古川 謙介 (九州大学大学院農学研究院生物機能科学部門・教授) 清野 正子 (北里大学薬学部大学院薬学研究科・講師)
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 (疫学研究部・松山 明人)	岡田 和夫 (有限会社ES・技術顧問) 赤木 洋勝 (有限会社国際水銀ラボ・所長)
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) に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 (疫学研究部 松山 明人)	富安 卓滋 (鹿児島大学理学部地球環境科学科・教授) 井村 隆介 (鹿児島大学理学部地球環境科学科・助教授) 矢野 真一郎 (九州大学大学院工学研究院環境都市部門・助教授) 彗田 彰秀 (長崎大学工学部社会開発工学科・教授) 金田一 充章 (有限会社ガイア水俣)

5. 研究発表一覧

課題研究 1

【学術刊行物（和文・査読有）】

衛藤光明, 高橋均, 柿田明美, 徳永英博, 安武章, 中野篤浩, 澤田倍美, 金城芳秀: 新潟水俣病関係 30 剖検例の概要報告—病理学的・生化学的研究—. 日本衛生学雑誌 62, 70-88, 2007.

劉曉潔, 坂本峰至, 加藤たけ子, 岡元美和子, 有村公良: 胎児性水俣病患者の現在のActivity of Daily Living (ALD) 実態と 15 年前との比較及びコミュニケーション障害に関する研究. 日本衛生学雑誌 62, 905-910, 2007.

【学術刊行物（和文・査読無）】

蜂谷紀之: 科学と社会のかかわりについて考える. 水俣病の 50 年(水俣病公式確認五十年誌編集委員会編 海鳥社), 155-158, 2006.

【学術発表（国内）】

衛藤光明, 高橋均, 柿田明美, 安武章, 中野篤浩, 澤田倍美, 徳永英博: 水俣病（メチル水銀中毒症）の病理学的研究—新潟水俣病剖検例を中心として—. 第 47 回日本神経病理学会総会学術研究会, 岡山, 2006. 5.

有村公良, 劉曉潔, 坂本峰至, 加藤たけ子, 岡元美和子, 平山清武, 松葉佐正, 平元東, 納光弘, 三田勝巳, 秋葉澄伯, 泉川良範, 赤滝久美, 平本東: 胎児性水俣病患者の機能障害とその対策に関する研究. 水俣病患者の健康問題に関する研究班, 東京, 2006.10.

藤村成剛, 澤田倍美, 高島明彦: メチル水銀によるTau蛋白質リン酸化. 北陸大学フロンティア・サテライトミーティング～食品汚染金属の毒性とその防御の分子メカニズム～, 仙台, 2007.2.

【学術発表（国外）】

Eto K, Yasutake A, Takahashi H, Kakita A, Sawada M, Tokunaga H: Pathological studies of all human autopsy cases concerned with Minamata disease (methylmercury poisoning) in Japan until 2005. Perspective of Environmental Health Issue in Asia-Pacific Region, Korean Society of Environmental Health International Conference 2006, Busan, Korea, 2006.6.

Eto K, Yasutake A, Sawada M, Tokunaga H: Sensory disturbance of Minamata disease (methylmercury poisoning) patients: From the neuropathological point of view (poster). 8th International Conference on Mmercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006.8.

Eto K, Yasutake A, Takahashi H, Kakita A, Sawada M, Tokunaga H: A pathological study of Minamata disease (methylmercury poisoning) in Japan (poster). 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006.8.

Fujimura M, Sawada M, Takashima A: Methylmercury induces Tau degeneration and neuronal cell death via Tau phosphorylation in rat cultured neuron. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006.8.

Eto K, Asano S: Acute inorganic mercury vapor inhalation poisoning of the lung. Environmental Pathology Symposium X X VI Congress of the International Academy of Pathology, Montreal, Canada, 2006.9.

Eto K, Yasutake Y, Takahashi H, Kakita A, Sawada M, Tokunaga H: Pathological studies of all human autopsy cases concerned with Minamata disease (methylmercury poisoning) in Japan compared with those of other countries until 2005 (poster). X X VI Congress of the International Academy of Pathology, Montreal, Canada, 2006.9.

【その他】

Eto K: Speech of welcoming ceremony. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006.8.

課題研究 2

【学術刊行物（英文・査読有）】

Coluccia A, Borracci P, Giustino A, Sakamoto M, Carratù MR: Effects of low dose methylmercury administration during the postnatal brain growth spurt in rats. *Neurotoxicology and Teratology* 29 (2), 282-287, 2007.

Mergler D, Anderson AH, Chan LHM, Mahaffey KR., Murray M, Sakamoto M, Stern AH: Methylmercury Exposure and Health Effects in Humans: A Worldwide Concern. The Panel on Health Risks and Toxicological Effects of Methylmercury. *AMBIO* 3-11, 2007.

Ohno T, Sakamoto M, Kurosawa T, Dakeishi M, Iwata T, Murata K: Total mercury levels in hair, toenail, and urine among women free from occupational exposure and their relations to renal tubular function. *Environ Res* 103(2), 191-7, 2007.

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 the Japanese population. *Environ Res* 103(1), 106-11, 2007.

【学術刊行物（和文・査読有）】

坂本峰至, 赤木洋勝: 無機・有機水銀. *水環境ハンドブック*, 352-355, 2006.

劉曉潔, 坂本峰至, 加藤たけ子, 岡元美和子, 有村公良: 胎児性水俣病患者の現在のActivity of Daily Living (ALD) 実態と15年前との比較及びコミュニケーション障害に関する研究. *日本衛生学雑誌* 62, 905-910, 2007.

【学術発表（国内）】

蜂谷紀之, 安武章, 吉田（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 (6) 日本における胎児期曝露の現状. *日本リスク研究学会 2006 年度第 19 回研究発表会*, つくば, 2006.12.

坂本峰至, 窪田真知, 村田勝敬, 仲井邦彦, 園田育子, 佐藤洋: 妊娠期間中における母親毛髪断片中水銀濃度と出生時における児の毛髪、臍帯血、母体血中水銀濃度との関連について. *第 77 回日本衛生学会総会*, 大阪, 2007.3.

【学術発表（国外）】

Sakamoto M: "Mercury as a global pollutants". *The International Seminar on Environmental Health*, Icheon, Korea, 2006. 5.

Sakamoto M: Effects of Mercury on fetus. *Korean Society of Environmental Health International Conference 2006*, Busan, Korea, 2006.6.

Miyamoto K, Wakamiya J, Murao K, Egashira N, Moriguchi T: Effects of a n-3 system unsaturated fatty acid intake on the higher brain function of fetal type minamata disease model rat. International Society for the Study of Fatty Acids&lipids Meetings, Cairns, Australia, 2006.7.

Hachiya N, Yasutake A, Sakuma M, Koba K, Urashima M: Methylmercury concentrations in cord blood and related factors in Tokyo/Sado cohort. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006.8.

Hachiya N, Yasutake A: Methylmercury exposure in current Japanese: A estimation by hair mercury analysis. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006.8.

Sakamoto M, Honda S, Eto K: Effects of “Spike” (Short-term Peak) Exposure to Methylmercury on Mercury Accumulation and Neuronal Degeneration in the Brain. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006.8.

Sakamoto M, Kubota M, Murata K, Nakai K, Satoh H: Relationships of Fatty Acids, Amino Acids and Methylmercury Profiles between Maternal and Fetal Blood; Risks and Benefits of Fish Consumption to Fetus. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006.8.

Sakamoto M, Kubota M: Difference in Methylmercury Exposure to Offspring Gestation and Breastfeeding; Animal and Human Studies. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006.8.

Sakamoto M, Murata K, Nakai K, Satoh H: Comparison of Mercury Concentration Between Umbilical Cord tissue and Other Biomarkers of Fetal Exposure to Methylmercury in Japanese Population. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006.8.

Suzuki K, Nakai K, Sakamoto M, Murata K, Okamura K, Sakai T, Ohba T, Sugawara N, Shimada M, Kakamura T, Kurokawa N, Kameo S, Satoh H: Tohoku Study of Child Development, a cohort Study to Examine the Effects of Perinatal Exposures to Methylmercury and Environmentally Persistent Organic Pollutants on Neurobehavioral Development in Japanese Children: The Association of Neonatal Neurobehavioral Status with Maternal Hair Mercury Concentration. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006. 8.

課題研究 3

【学術刊行物（和文・査読有）】

臼杵扶佐子: メチル水銀による酸化ストレスと神経細胞死. 医学のあゆみ 別冊 酸化ストレス Ver. 2 フリーラジカル医学生物学の最前線 (吉川敏一編集), 431-434, 2006.

【学術発表（国内）】

永野匡昭, 安武章, 臼杵扶佐子, 森信子, 三浦郷子: 培養細胞を用いたメチル水銀の無機化反応及びそのメカニズム. フォーラム 2006 衛生薬学・環境トキシコロジー, 東京, 2006.10.

宮本謙一郎, 若宮純司, 村尾光治, 矢澤一良: メチル水銀中毒の脳神経細胞障害におけるアスタキサンチンの防御効果. 第2回アスタキサンチン研究会, 札幌, 2006.9.

村尾光治, 若宮純司, 宮本謙一郎: メチル水銀のカニクイザルにおける胎児毒性. 第80回日本薬理学会年会, 名古屋, 2007.3.

【学術発表（国外）】

Fujimura M, Sawada M, Takashima A: Long-term exposure to low-concentration methylmercury induces neuronal cell death via neurite retraction in rat cultured neuron. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006.8.

Murao K, Wakamiya J, Miyamoto K: Behavioral toxicity of prenatal methylmercury exposure in *Macaca fascicularis*. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006.8.

Nagano M, Yasutake A, Miura K, Mori N: Demethylation of methylmercury and the mechanism in cell lines. 25th Annual Meeting on Metal Toxicology; CHALK TALK 2006 – Korea/Japan Joint Meeting on Biometals, Jeju, Korea, 2006.8.

Nakamura M, Yasutake A: Selective induction of metallothionein isomers by mercury compounds. 25th Annual Meeting on Metal Toxicology; CHALK TALK 2006- Korea/Japan Joint Meeting on Biometals -, Jeju, Korea, 2006.8.

Yamamoto M, Tase N, Shimozawa N, Shibata H, Kondo Y, Okuno T, Arizono K, Terao K: Effect of bisphenol A on selected differentiation marker genes in embryoid bodies derived from *Cynomolgus* monkey embryonic stem cells. 46th Society of Toxicology Annual Meeting, Charlotte, USA, 2007.3.

課題研究 4

【学術刊行物（英文・査読有）】

Matsuyama A, Yasuda Y, Yasutake A, Liu X, Jen P, Luri L, Li. M, An Y, Qu L: Detailed Pollution Map of an Area Highly Contaminated by Mercury Containing Wastewater from an Organic Chemical Factory in People's Republic of China. Bull Environ Contam Toxicol, 77(1), 82-87, 2006.

Morishita K, Nakamura K, Yuchiya K, Nishimura K, Iwahara M, Yagi O: Removal of methylmercury from a fish broth by *Alteromonas macleodii* isolated from Minamata Bay. Japanese J Wat Treat Biol 42(2) 45-51, 2006.

【学術発表（国外）】

Akagi H, Ikingura J, Matsuyama A, Tomiyasu T, Horvat M: Analytical approaches for evaluation of mercury transformation and partitioning in aquatic systems. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006.8.

Marumoto K, Matsuyama A, Akagi H: Determination of organomercury in soil and sediment using atomic absorption spectrometry. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006.8.

Mashanov N, Yasutake A, Ryzhov V, Sholupov S, Matsuyama A, Marumoto K, Pitirimov P: Variation of atmospheric mercury in Minamata area, What are the main causes? 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006.8.

Matsuyama A, Yasuda Y, Qu L: Relationship between leached mercury and soil characteristics for the mercury contaminated soil which were obtained in Guizhou China. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006.8.

Sakata M, Marumoto K, Narukawa M, Asakura K: Mass balance study of mercury in Tokyo bay. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006.8.

Tomiyasu T, Matsuyama A, Eguchi T, Marumoto K, Oki K, Akagi H: Speciation of mercury in bottom water in Minamata bay. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006. 8.

Tomiyasu T, Matsuyama A, Imura R, Miyamoto J, Horvat M, Kotnik J, Fajon V, Gibicar D, Akagi H: Distribution of mercury in river water and sediment near Idrija mercury mine, Slovenia. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006. 8.

その他研究

【学術刊行物（英文・査読有）】

Honda S, Hylander L, Sakamoto M: Recent advanced in evaluation of health effects on mercury with special reference to methylmercury - A minireview. *Environ Health Prev Med* 11(4), 171-176, 2006.

Imagawa T, Yamamoto E, Sawada M, Okamoto M, Uehara M: Expression of lactate dehydrogenase-A and -B messenger ribonucleic acids in chick glycogen body. *Poult Sci* 85(7), 1232-8, 2006.

Iwata T, Sakamoto M, Feng X, Yoshida M, Liu X, Dakeishi M, Li P, Qiu G, Jiang H, Nakamura M, Murata K: Effects of mercury vapor exposure on neuromotor function in Chinese miners and smelters. *Int Arch Occup Environ Health* 70(5), 381-387, 2007.

Li J, Tian B, Liu T, Liu H, Wen X, Honda S: Status quo of e-waste management in mainland China. *J Mater Cycles Manag* 8(1), 13-20, 2006.

Loi V, Anh L, Duc T, Gian T, Mon P, Huy T, Thong N, Boudou A, Sakamoto M, Bay D: Contamination by cadmium and mercury of the water, sediment and biological component of hydrosystems around Hanoi. *J Chemistry* 44, 382-386, 2006.

Matsuyama A, Yasuda Y, Yasutake A, Liu X, Jen P, Luri L, Li. M, An Y, Qu L: Detailed Pollution Map of an Area Highly Contaminated by Mercury Containing Wastewater from an Organic Chemical Factory in People's Republic of China. *Bull Environ Contam Toxicol*, 77(1), 82-87, 2006.

Sakamoto M, Feng X, Li O, Qiu G, Jiang H, Yoshida M, Iwata T, Liu X, Murata K: High exposure of Chinese mercury mine workers to elemental mercury vapor and increased methylmercury levels in their hair. *Environ Health Prev Med* 12(2), 66-70, 2007.

Sakashita N, Ando Y, Haraoka K, Terazaki H, Yamashita T, Nakamura M, Takeya M: Severe congestive heart failure with cardiac liver cirrhosis 10 years after orthotopic liver transplantation for familial amyloidotic polyneuropathy. *Pathol Int* 56(7), 408-412, 2006.

Sako Y, Usuki F, Suga H: A novel therapeutic approach for genetic diseases by introduction of suppressor tRNA. *Nucleic Acids Symposium Ser (Oxf)* 50, 239-40, 2006.

Tabata H, Anwar M, Horai S, Nakano A, Wakamiya J, Nakagawa M, Yamada K: Toenail Arsenic Levels among Residents in Amami-Oshima Island, Japan. *Environmental Sciences* 13(3), 149-160, 2006.

Teraoka H, Kumagai Y, Iwai H, Haraguchi K, Ohba T, Nakai K, Satoh H, Sakamoto M, Momose K, Masatomi H, Hiraga T: Heavy metals contaminations status of Japanese Cranes (*Grus Japonensis*) in east Hokkaido, Japan- Extensive mercury pollution. *Environ Toxicol Chemistry* 26, 307-312, 2007.

Ueda M, Ando Y, Hakamata Y, Nakamura M, Yamashita T, Obayashi K, Himeno S, Inoue S, Sato Y, Kaneko T, Takamune N, Misumi S, Shoji S, Uchino M, Kobayashi E: A transgenic rat with the human ATTR V30M: a novel tool for analyses of ATTR metabolisms. *Biochem Biophys Res Commun* 352(2), 299-304, 2007.

Ueda M, Ando Y, Nakamura M, Yamashita T, Himeno S, Kim J, Sun X, Saito S, Tateishi T, Bergström J, Uchino M: FK506 inhibits murine AA amyloidosis: possible involvement of T cells in amyloidogenesis. *J Rheumatol* 33(11), 2260-2270, 2006.

Usuki E, Yamashita A, Kashima I, Higuchi I, Osame M, Ohno S: Specific inhibition of nonsense-mediated mRNA decay components, SMG-1 or Upf1, rescues the phenotype of Ullrich's disease fibroblasts. *Molecular Therapy* 14, 351-360, 2006.

Yamamoto M, Charoenraks T, Pan-Hou H, Nakano A, Apilux A, Tabata M: Electrochemical behaviors of sulfhydryl compounds in the presence of elemental mercury. *Chemosphere* 49, 477-484, 2007.

Yasutake A, Hachiya N: Accumulation of inorganic mercury in hair of rats exposed to methylmercury or mercuric chloride. *Tohoku J Exp Med* 210, 301-306, 2006.

【学術刊行物（和文・査読有）】

臼杵扶佐子: Nonsense-mediated mRNA decay (NMD) を標的とした治療の可能性. *臨床神経* 46, 939-41, 2006.

衛藤光明, 高橋均, 柿田明美, 徳永英博, 安武章, 中野篤浩, 澤田倍美, 金城芳秀: 新潟水俣病関係 30 剖検例の病理学的・生化学的研究. *日本衛生学雑誌* 70-88, 2007.

劉曉潔, 坂本峰至, 加藤たけ子, 岡元美和子, 有村公良: 胎児性水俣病患者の現在のActivity of Daily Living (ALD) 実態と15年前との比較及びコミュニケーション障害に関する研究. *日本衛生学雑誌* 62(3), 905-910, 2007.

【学術発表（国内）】

臼杵扶佐子: Nonsense-mediated mRNA decay (NMD) を標的とした治療の可能性. シンポジウム 筋ジストロフィー治療の新戦略 第47回日本神経学会総会, 東京, 2006.5.

Yamashita A, Usuki E, Kashima I, Izumi N, Higuchi I, Osame M, Ohno S: Inhibition of nonsense-mediated mRNA decay rescues the phenotype of Ullrich's disease fibroblasts. 第8回日本RNA学会, 淡路, 2006.7.

安武章: 低タンパク食によるマウス胸筋の構造変化. 第9回メタロチオネイン(MT)ノックアウトマウス研究会, 三沢, 2006.9.

柳沢泰任, 藤村成剛, 祐田泰延, 足立達美: 無機水銀の生体内動態に及ぼす食餌性タンパク質量の影響. フォーラム 2006 衛生薬学・環境トキシコロジー, 東京, 2006.10.

小松祥太, 山崎岳, 宗綱栄二, 山元恵, 小南思郎: ラット海馬エストロゲン合成系酵素mRNAへのメチル水銀の影響. 環境ホルモン学会 第9回研究発表会, 東京, 2006.11.

佐古祐介, 臼杵扶佐子, 菅裕明: サプレッサー-tRNAの導入による遺伝性疾患の新規治療法の開発. 第33回核酸化学シンポジウム, 大阪, 2006.11.

蜂谷紀之, 安武章: メチル水銀あるいは塩化水銀曝露したラット体毛への無機水銀の蓄積. 第77回日本衛生学会総会, 大阪, 2007.3.

吉田稔, 佐藤雅彦, 渡辺知保, 安武章: 発育期の水銀蒸気曝露が神経行動に及ぼす影響と遺伝的修飾. 第77回日本衛生学会総会, 大阪, 2007.3.

【学術発表 (国外)】

Eto K, Yasutake A, Sawada M, Tokunaga H: Sensory disturbance of Minamata Disease (methylmercury poisoning) Patients: From the neuropathological point of view. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006.8.

Eto K, Yasutake A, Takahashi H, Kakita A, Sawada M, Tokunaga H: A pathological study of Minamata Disease (methylmercury poisoning) in Japan. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006.8.

Matsuyama A, Yasuda Y, Qu L: Relationship between leached mercury and soil characteristics for the mercury contaminated soil which were obtained in Guizhou China. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006.8.

Marumoto K, Matsuyama A, Akagi H: Determination of organomercury in soil and sediment using atomic absorption spectrometry. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006.8.

Sakamoto M, Feng X, Liu X, Li P, Yoshida M, Iwata T: Mercury Pollution in a Mercury Mining Area, Guizhou Province (II) : High Urinal Hg Levels in Mercury Mine Smelters. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006.8.

Sawada M, Fujimura M, Yasutake A, Eto K: Trigeminal nerve pathology and its pathogenesis in methylmercury-intoxicated rats. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006. 8.

Yamamoto M, Charoenraks T, Pan-Hou H, Nakano A, Apilux A, Tabata M: Electrochemical behaviors of sulfhydryl compounds in the presence of elemental mercury. 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Madison, USA, 2006.8.

Yasutake A: Selective induction of metallothionein isomers by mercury compounds. 25th Annual Meeting on Metal Toxicology; CHALK TALK 2006 -Korea/Japan Joint Meeting on Biometals-, Jeju, Korea, 2006.8.

Sakamoto M: High exposure of Chinese mercury mine workers to elemental mercury vapor and their increased hair methylmercury levels: preliminary report: the International Symposium on Environmental Geochemistry, Beijing, China, 2006.9.

III. 業 務

業務 1 水俣病対策に関する業務

Activities on Measures against Minamata Disease

近年、水俣病は政治的解決に向けて大きく動き出している。臨床部は、この動きを受けて、関係機関として積極的に水俣病対策に関する業務を行っている。患者のリハビリテーションやリハビリテーションの啓蒙活動を強化するとともに、在宅療養患者の療養状況調査を含めた追跡調査や療養指導をおこなっている。また、水俣病解決にむけた行政機関の活動にできるかぎりの協力をおこなうなど水俣病解決に向けて積極的に活動している。概要としては、下記のとおりである。

[業務名と業務概要]

1) 水俣病患者のリハビリテーション

理学診療科室は、胎児性・小児性を中心とした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リハビリテーションを行うとともに水俣病の啓蒙活動を実施した。中でも本年度新しく導入した手織機 SAORI により作業意欲、機能訓練意欲、活動全般に対する意欲を向上させることができたことは特筆に価する。こうした活動の成果として、本年度は、外来リハ利用者が 11 名になり、「ほっとはうす」利用者 2~3 名が月に 1 度利用されるなど対象者を増やしつつある。また、外来リハビリテーションの啓蒙活動として、パンフレットを用いての来訪者への説明や一般公開での地域住民への説明、東京青山の国連大学での患者作品の展示、自前カレンダーの配布、外来リハ便りなど機会をとらえては、外来リハでの活動や患者作品の紹介、健康に関する情報を市民に知らせている。

2) 水俣病発生地区住民の健康影響

水俣病発生地区では手袋・靴下型感覚障害の有症率が高いという報告があるが、実態は不明である。そこで、水俣病発生地区（海浜地区）と海浜に近い水俣病非発生地区において、神経内科専門医による神経検診や定量的に判断できる方法を用いて感覚障害の特徴を

検討している。

3) 水俣病患者の症状経過・生活状況に関する調査

さらに、水俣病患者の症状経過と生活の実態、抱える問題点を明確にするため生活状況、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っているが、水俣病対策にとって貴重な資料になるものと期待される。

4) 介護予防等在宅支援モデル

総合臨床室は、水俣病被害者やその家族に有効な在宅支援のあり方について検討している。新潟については、健康づくりプログラムを提案した。関西については、健康不安等への対応を行った。水俣では、障害者介護予防在宅支援モデル研究事業を展開している。特に、芦北では、あそび Re パークを設立し、地域における自立支援や介護予防の向上を目指している。

5) 地方自治体への協力（検診・認定申請書類審査助言）

総合臨床室は、一昨年から交付され始めた新保健手帳の交付基準や審査書類作成のためのサポート審査に関する助言を行っている。また、水俣病審査を促進するため、水俣病認定審査に必要な検診を理学診療科医師とともにおこなっている。さらに、水俣病発生地域環境福祉推進室、ふれあいのまちづくり推進委員会、健康調査分析検討事業検討委員会への事業協力など地方自治体にできるかぎりの協力をおこなっている。

1. 水俣病患者のリハビリテーション Rehabilitation for patients with Minamata Disease

[担当者]

遠山 さつき (臨床部)

宮本 清香 (臨床部)

○臼杵 扶佐子 (臨床部)

[業務内容]

本年度も引き続き、胎児性・小児性を中心とした水俣病患者に対する外来リハビリテーション(外来リハ)および訪問リハビリテーション(訪問リハ)を作業療法士1名、看護師1名、医師1名で実施した。さらに水俣病公式確認50年の節目の年にあたり、今もなお続く問題として水俣病の啓蒙活動を実施した。

(1) 水俣病患者に対する外来リハ

デイケアを取り入れた外来リハを、月曜日と水曜日の週二回、以下の内容で実施した。患者の日常生活の場での訪問指導も適宜行った。また、ジストニーや痙性、筋短縮による腱付着部痛に対する服薬管理、症状に応じた検査や病院紹介も例年通り行った。本年度の参加者を後に表に示した。

・物理療法

疼痛や筋緊張の緩和を目的に温熱療法や電気治療を実施。また、本年度よりリラクゼーション機器を新たに導入したが、疲労の緩和に有効であった。

・運動療法

筋力の維持、向上、筋萎縮予防、関節拘縮予防のため、器具を用いた筋力増強訓練や徒手での関節可動域訓練を実施。また、筋肉に投影される身体反射を利用した療法手技を用いて疼痛緩和、身体能力向上のための徒手療法を継続的に実施した。

・ADL 訓練

日常生活に必要な動作指導、嚥下状況に合わせた介護食の紹介や嚥下指導などを実施。介護食の導入により食事のむせが減少し、食事のための道具(障害者用スプーンなど)使用も増加した。これらの取り組みは患者の機能維持とQOLの向上につながっている。

・手工芸

QOLの向上を目的に、楽しみながら脳機能の賦活、巧緻動作、協調運動の維持・向上につなげるための手工芸を用いた訓練を実施。患者は完成作品を家族や知人にプレゼントするといった目的を持って作業に取り組んでいる。また、作品をみた方からの作製依頼もあり、作業への意欲向上につながっている。

・レクリエーション

季節の行事を取り入れ、当センター職員との交流の場を提供。さまざまな催し物や活動を通して、楽しみながら身体および精神機能の維持・向上のための訓練を図ることができている。

本年度は、開設当初から外来リハを利用されている方のご家族よりご自身も利用したいとの申し出があり、友人(新保健手帳保持者)も含め3名が新しく参加となった。また、当センター研究員の紹介により1名が新しく参加された。さらに、1月末の「ほっとはうす」からの見学後、「ほっとはうす」利用者2~3名が月に1度外来リハを利用された。

外来リハ参加者の中で、感覚障害が重度であるため、これまでは作業が思い通りに進まず「自分にはできないことがない」と意欲の低下を招いていた利用者に対し、本年度新しく SAORI という手織り機を導入した。この手織り機の導入により自己の達成感や満足感を高めることができ、作業に対する意欲だけでなく、機能訓練意欲や活動全般に対する意欲の向上が得られた。



楽しみながら手指の巧緻性や協調性の訓練が行えるよう、作業療法として手工芸作品づくりを行っています



各々の症状と個々の能力に合わせて組んだプログラムをもとに、外来リハビリテーションを行っています

今年度のリハ利用者

性別	年齢	通所期間	
女	51	23年	車椅子
女	52	22年	
女	56	21年	車椅子
男	55	20年	
女	56	18年	車椅子
男	51	13年	車椅子
男	53	10ヶ月	
男	69	10ヶ月	
女	60	10ヶ月	
女	53	5ヶ月	
女	48	4ヶ月	

(平成19年3月31日現在)

(2) 水俣病患者に対する訪問リハ

成人型水俣病患者の脳血管障害後のリハビリテーション、介護者のケアを昨年度に引き続き実施した。しかし、本年9月に後遺症、認知症の悪化のため明水園へ入所されたため、訪問リハは終了した。同時に当外来リハを利用されていた三女も、主たる介護者であった母の入所に加え、ご家族の介護疲れもあり、介護力が望めない状況となったため、同園へ入所された。同園へは、これまでの経過、症状および

その対処方法、障害特性に応じた環境調整などの情報提供を行った。現在では明水園訪問時に状況把握を行っている。

(3) 啓蒙活動

・外来リハビリテーションパンフレットの作製

当センターにおける外来リハの存在をより多くの方々に知って理解していただくために作製した。日本語版と英語版を作製し、来訪者に外来リハの活動を理解していただくために活用している。

・センター公開時の外来リハ紹介・説明

10月に行われた一般公開では、地域の方々に外来リハの紹介と説明を行った。見学後のアンケートでは良い反響が多く寄せられ、なかでも患者が長い期間をかけて訓練の一環として作った作品に感銘を受けられ方が多く、外来リハの意義、必要性を理解していただくことができた。

・東京での作品展示

11月には東京青山の国連大学（GEIC/地球環境パートナーシッププラザ）にて患者の作品を2週間展示する機会を得た。作品だけではなく、作製過程の紹介などリハビリテーションの重要性を多くの方々に理解していただく機会となった。また、東京での作品展示は患者への良い刺激となり、訓練へのモチベーションの向上にもつながった。

・2007年カレンダーの作製

今年度は、患者の作品だけではなく外来リハで行っているさまざまな活動も盛り込み、リハビリテーション活動を広く理解していただくという目的を持って、カレンダーを作製した。患者自ら多くの方に配布された他、他の施設からの送付依頼もあるなど、外来リハでの活動を多くの方々に理解していただく契機となった。

・外来リハたよりの発行

外来リハでの活動や患者作品の紹介の他、健康に関する情報提供を行った。



手織り機 SAORI



東京での作品展示

2. 水俣病発生地区住民の健康影響

Study on health effects of the inhabitants in the Minamata Disease outbreak area

[担当者]

- 若宮 純司 (臨床部)
- 宮本謙一郎 (臨床部)
- 村尾 光治 (臨床部)
- 北野 隆雄 (熊本大学)
- 二塚 信 (九州看護福祉大学)
- 安藤 哲夫 (鹿児島大学)
- 秋葉 澄伯 (鹿児島大学)

[業務内容]

熊本県では、水俣病の認定審査が再開されることになった。また、認定基準をみなおし、感覚障害のみを認定基準にすることが水俣病発生地域の調査を根拠として求められている。しかし、水俣病発生地域住民の実態は明確ではなく、これに答えることができない。水俣病発生地区住民のメチル水銀による影響の実態を明確にすることは、上記の問題にきわめて重要なことである。当研究所でなければ明確に出来ない観点で実態を明確にする。

(進捗状況)

水俣病では手袋・靴下型の感覚障害が生じることが知られている。水俣病発生地区では手袋・靴下型感覚障害の有症率が高いという報告があるが、実態は不明である。そこで、水俣病発生地区（海浜地区）と海浜に近い水俣病非発生地区において、神経内科専門医が住民検診を受診した 65 歳以上の方を神経検診したところ、対照地区と手袋・靴下型感覚障害の有症率は、水俣病非発生地区が 1.0%であるのに対して水俣病発生地区では 1994 年では 15.1%、1998 年では 6.0%と有意に高く、他の神経症状は有症率に有意差なかった。これは御所浦でおこなった二宮らの報告ほど高くはないが、水俣病非発生地区と比較すると、水俣病発生地区では有意に高かった。この時、手袋・靴下型感覚障害と他の神経症状とは有意な相関はなかったことから手袋・靴下型のみが生じている状態であった。

これに対して、定量的に判断できる方法を用いて感

覚障害を検討するため、1998 年の水俣病発生地区の神経検診で神経検診と同時にニューロメータを使用して検診をおこなった。ニューロメータは、開発以来 20 年が経過するが、AAEM にてその有用性が認められ、その後の評価も高い検査法で、アメリカでは一般臨床に使用されている機器であるが、ニューロメータを用いて知覚閾値を測定すると、水俣病発生地区の手袋・靴下型感覚障害の有症率は 1.5%と水俣病非発生地区と同じ有症率であった。今後、客観的かつ定量的診断法による検討が必要である。

3. 水俣病患者の症状経過・生活状況に関する研究

Study on the living conditions and the progression of the symptoms of the Minamata Disease patients

[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 (熊本大学)
- 有村 公良 (鹿児島大学)
- 内野 誠 (熊本大学)
- 秋葉 澄泊 (鹿児島大学)
- 安藤 哲夫 (鹿児島大学)

[業務内容]

水俣病患者は生活支援を求めており、昨年、水俣病患者への福祉支援モデル事業が開始された。現在、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、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。本研究は、水俣病対策として胎児性を含む水俣病患者への福祉政策をおこなうにあたり、貴重な資料となるものである。

(進捗状況)

熊本県（芦北・水俣3町、御所浦町など）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。具体的には、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、データベース化した。現在、素解析が終わり、詳細な解析をおこなっている。今後、神経所見や検査をおこなう予定である。

4. 介護予防等在宅支援モデル

Home support model study including care prevention

[担当者]

- 中村 政明 (臨床部)
- 宮本 清香 (臨床部)
- 遠山さつき (臨床部)
- 衛藤 光明 (所長)

[業務内容]

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。さらに老化に伴い、水俣病患者の日常生活能力の低下と共にそれを支える家族の負担が指摘されている。しかしながら、メチル水銀の影響による神経症状の緩和や介護予防については、これまであまり取り組みがなされていないのが現状である。そこで、本研究では、水俣病被害者やその家族などの高齢化に対応するために有効な在宅支援のあり方について検討する。

メチル水銀の曝露を受けたと考えられる者 (認定患者や総合対策事業の対象者など) のうち、介護予防などの観点からの取り組みの必要性が認められた者であり、かつ研究への協力につき了解が得られた者を対象として、以下の事業を施行した。ただし、水俣病被害者が差別を受けず、地域との共生をはかる目的で、高齢者であれば自由に参加できるようにした。

1) 新潟: 医学的検査、体力測定および問診より、個々の状況に適した運動、栄養、休養について「健康づくりプログラム」を提案し、3ヶ月実践するコースを実施する。実施前後の変化を比較検討し、有効な介護予防のあり方、効果的なリハビリテーション法を探る。

本年度は、8名 (水俣病関連手帳保有者1名を含む) が参加した。

2) 関西: メチル水銀のばく露を原因として起こる様々な健康不安等への対応を行うとともに、被害者のニーズを把握し今後の支援方策の検討などに資することを目的として、水俣病に関する相談窓

口を設置する。具体的には、① 健康相談、② 福祉相談、③ 水俣病に係る行政施策に関する相談を行う。

本年度は、66名の相談を受けた。

3) 水俣: (1) 高齢者介護予防など在宅支援モデル研究事業

主に水俣病患者を含む高齢者を対象として、地域における自立支援や介護予防の観点からの支援プログラムの調査研究とニーズの調査・分析などを行なう。

- ① 地域リビングの設置 (水俣病患者多発地域を含めた地域公民館: 袋・湯の児地域等)
- ② 高齢者及び家族等のニーズ調査・分析 (アンケート及びヒアリング等)
- ③ 地域リーダー等の人材育成
- ④ 精神面におけるリラグゼーションのための音楽療法の実施
- ⑤ 介護予防体操等機能訓練および介護予防レクリエーションの実施
- ⑥ 高齢者の日常生活の中に取り入れやすい運動メニューの開発
- ⑦ 介護や生活面など総合的な相談事業の実施

(2) 障害者介護予防在宅支援モデル研究事業

主に水俣病患者を含む神経症状や身体障害を有する者が、地域住民との交流により地域においてより良い生活を送るための機能回復・介護支援プログラムの調査研究事業を行なう。

本年度は、102名 (水俣病関連手帳保有者9名を含む) が参加した。また、平成19年3月8日から14日まで、熊本学園大学水俣学研究センターとの協同により、「誰もが安心して暮らせるまちづくりのための生活実態調査」を行った。

4) 芦北: 主に水俣病患者を含む高齢者を対象として、身体機能面、認知機能面、精神面に対する働きかけにより、より良い生活を送るための機能回復・

介護支援プログラムの調査研究事業を行なう。

具体的には、以下の五つの部門からなる「あそび Re パーク」を設立し、地域における自立支援や介護予防の向上を目指す。

あそびリテーション部門＝ 自発運動・自動運動の促通

介護予防・健康増進研修講話部門 ＝ 専門スタッフの知識・技術の向上およびボランティアリーダーの育成

じょぶんか！カラダ部門＝『身体機能面』における介護予防体操&レクリエーション

じょぶんか！アタマ部門＝『脳・機能面』における認知症対策体操&レクリエーション

音♪リラックス部門＝『精神面』におけるリラクゼーション等の実施

本年度は、714名（水俣病関連手帳保有者 144名を含む）が参加した。

なお、水俣・芦北地区に関しては、『調査書』（① 日常生活での不自由な点、② 現在および過去に罹患した病気、③ 地域行政・福祉への要望に関する簡単なアンケート）を申し込み時に配布し、メチル水銀曝露による老化への影響の検討およびニーズ調査を実施した。



水俣市では、地域住民の交流の場として、「地域リビング」を公民館に設置し、編み物教室やからおけ教室、逆デイサービスなどのサービスを行っている。



介護予防 健康増進 研修・講話部門



じょぶんか！ アタマ部門



芦北では、あそび Re パークを設置し、楽しみながら健康増進・認知症予防に取り組んでいる。

5. 地方自治体への協力（検診・認定申請書類審査助言）

Cooperation with a local government

[担当者]

- 中村 政明（臨床部）
- 蜂谷 紀之（国際・総合研究部）

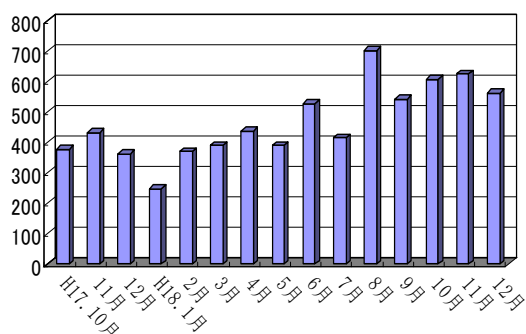
[業務内容]

本事業は、地方自治体が主体となる水俣病に関連する行政事業業務が円滑に運営されるよう支援することを目的とする。

1. 新保健手帳に関する業務

平成17年10月から新保健手帳の審査・交付が開始されたが、当センターも当初より本手帳の基準や審査書類の作成のサポートを行った。

さらに、平成17年10月から熊本県から要請を受けた新保健手帳の審査に関する助言を行っている。



平成18年末までの新保健手帳申請者数

2. 水俣病認定審査に必要な検診

水俣病認定審査には、眼科・耳鼻科的検査、神経内科の診察・検査が必要であるが、神経内科医による診察が滞っているのが現状である。そこで、平成18年10月より、月に一度神経内科専門医による申請者の検診を開始した。

平成19年4月から水俣病認定審査会が再開されることもあり、次年度から、検診数の増加を行う予定である。

3. 「水俣病発生地域環境福祉推進室」への協力

水俣病発生地域環境福祉推進室員として、「水俣病発

生地域環境福祉推進室」の事業の協力を行っている。本年度は、平成18年10月16日と11月8日の2回、水俣市で開催され、水俣病被害者の要望を聴取すると共に、水俣病発生地域の再生・融和を目指す当センターおよび自治体の各種事業の実施状況の確認および各自自治体の今後の事業展開に関わる意見・要望を承った。

4. 水俣市が主催する「ふれあいのまちづくり推進委員会」への参画

平成19年度1月19日に水俣市社会福祉協議会が住民参画による地域福祉の推進のために設立した「ふれあいのまちづくり推進委員会」に参加し、当センターの地域への溶け込みの促進を図るとともに、高齢者や水俣病を含む障害者などの体力・運動機能の維持・回復を側面からサポートしている。

現在、月に一度のペースで活動を行っている。

5. 「健康調査分析検討事業検討委員会」への出席

平成18年10月から平成19年3月まで熊本県が主催した「健康調査分析検討事業検討委員会」にオブザーバーとして参加した（ただし、最後の会議には出席していない）。

業務2 水俣病対策の普及・啓発に関する業務

Dissemination of Minamata disease measures and enlightenment for health promotion

水俣病対策の普及・啓発に関する業務では、まず、水俣市明神の水俣病情報センター等を活用し、水俣病に関する資料・情報の収集・保管および提供等を通じて、水俣病問題や水銀の健康影響についての理解の推進、並びに水俣病問題の教訓および関連情報の発信を図るとともに、メチル水銀旧汚染地域等の住民の健康増進に寄与することを目指した。

[業務名と業務概要]

1) メチル水銀汚染地域住民の健康増進への取り組み(健康相談、毛髪測定等)

水俣病情報センター内の健康相談室で月2回、作業療法を行いながら、神経内科医による健康相談を実施した。さらに水俣市内および鹿児島県内の公民館で、地域の高齢者等を対象にリハビリや健康に関する指導・相談および簡易な物理療法・作業療法を定期的に行った。

水俣病情報センターの一般来訪者に対しては、希望者に毛髪水銀値測定を実施し、合わせて関連情報を提供することで、水銀の健康問題に対する意識を高めさせることを企図した。これには、県内はもとより九州内外他県からの修学旅行や外国からの見学者を含む多数の利用者があった。パンフレット「水銀と健康」第3版を発行した。

2) 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

前年度に引き続き、「水俣病関連資料総合調査事業」を推進し、関連団体の協力の下、「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」等の事業を実施した。

3) 健康セミナー

前年度に引き続き、水俣市葦北郡医師会との共催で、3回の健康セミナーを水俣病情報センターにて開催した。平成18年度においては、「腰痛・膝痛の話」、「気をつけたい目の話(中高年からの目の症状)」、「ス

トレスの話」のテーマで実施した。袋地区を含む水俣市内および津奈木地区などから、毎回69名～154名の一般住民が参加した。

4) 国立水俣病研究センター一般公開

研究センターの研究内容、施設紹介等を行うとともに、地域住民との交流を図ることを目的として、平成18年10月17日(火)および20日(金)の両日、午前・午後の合計4回にわたって研究センターを一般に公開した。延べ117名の参加があり、研究内容および施設紹介を通じて、研究センターの機能等についての一般の理解を深めることができた。

1. メチル水銀汚染地域住民の健康増進への取り組み（健康相談、毛髪測定等）

Project on health enhancement in methylmercury polluted area

[担当者]

- 宮本 清香（臨床部）
- 遠山さつき（臨床部）
- 中村 政明（臨床部）

[業務内容]

本業務は、1) 健康相談やリハビリをメチル水銀汚染地域の高齢者の希望者に対して積極的に施行していくことで、メチル水銀汚染地域の高齢者の健康増進に寄与する、2) 水銀による健康影響に関する情報発信を目的とする。

1. 健康相談

気軽に健康相談ができる雰囲気を作り、不安の軽減や解消ができるように、H17年6月から2回/月（第2・第4木曜日）は情報センター内の健康相談室で作業療法を行いながら、神経内科医による健康相談も行っている。毎回3名の方が参加されているが、この方々が地域の公民館活動やデイサービスでも健康相談室の話題を提供されており、機会があれば参加したいという希望もあった。

健康相談室来訪者人数

年	H13	H14	H15	H16	H17	H18
人数	7	7	3	4	36	65

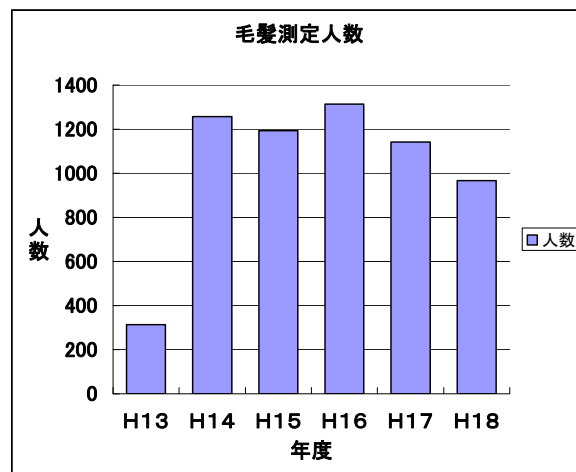
さらに、本年度は、地域に根ざした健康相談にも取り組んだ。H19年3月には水俣市の公民館に出掛け、生きがい作りに参加されている高齢者20名にリハビリや健康に関する指導・相談を行った。またH19年3月からは4回/月（毎週金曜日）鹿児島県I地区の住民を対象に公民館で健康相談及び簡易な物理療法・作業療法を行っている。こちらには毎回12～13名の方が参加されており、会話を楽しみながらのリハビリ訓練は好評であり、口コミで参加人数も増加している。

2. 毛髪水銀値測定

水銀による健康影響に関心のある情報センター来訪者に、毛髪水銀値を測定し、情報を提供すること

でさらに水銀に対する意識を高めてもらうことを目的に、平成13年9月より健康相談室で毎週木曜日に実施している。

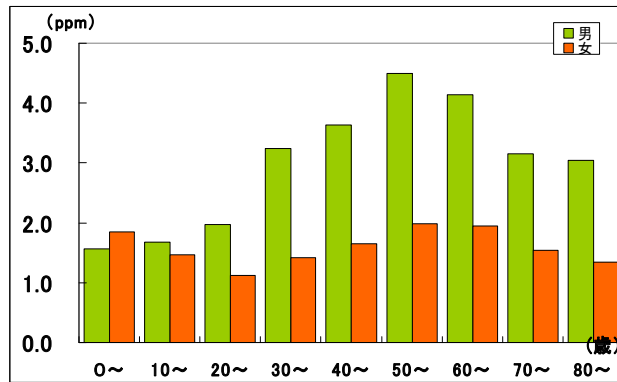
九州県内はもとより他県からの修学旅行や外国からの見学者も測定希望が多く、学校によっては事前学習のため毎年郵送による依頼もある。アンケート用紙に質問項目を設けたところ水銀や健康に関する様々な質問が寄せられたため、平成15年2月に「水銀と健康」のパンフレットを初版し、H16年3年には第2版、少しずつ改定を加えながらH19年1月には第3版を発行した。「水銀と健康」のパンフレットを配布し始めてから質問の数も減少しており、事前に送付依頼をして、内容について学習してくる学校もある。またJICAなど外国からの視察もあるためH17年8月には英語版「Mercury and health」も作成した。水銀に関する情報発信の役割を今後も継続していくつもりである



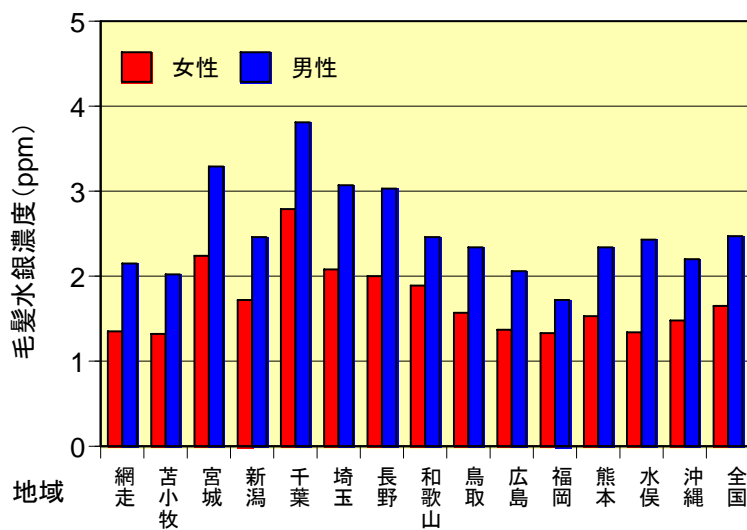
毛髪水銀値測定者数

質問件数

年	H13	H14	H15	H16	H17	H18
人数	35	137	81	95	58	42



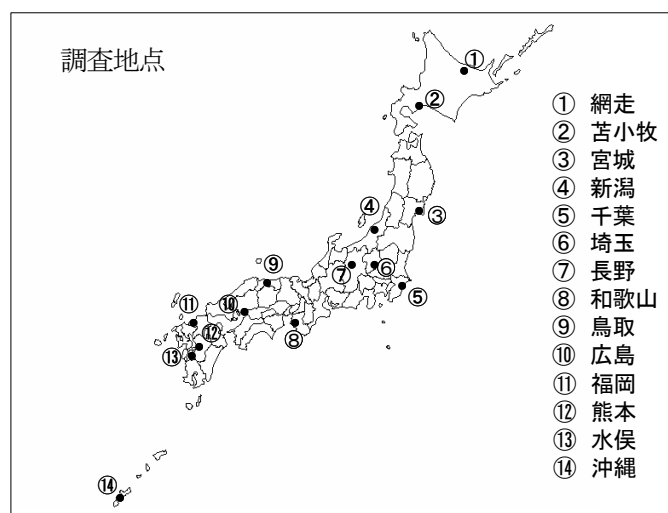
日本人来館者の年代別平均値



国立水俣病総合研究センター調査
(2000年~2004年)

有効対象者数:
女性、3470名
男性、5623名

毛髪水銀濃度の地域差 (男女平均値)



2. 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

Organaization of documents and materials on Minamta disease and development of information accessing and utilizing systems

[担当者]

- 坂本 峰至 (国際・総合研究部)
- 山内 義雄 (国際・総合研究部)
- 永井 克博 (国際・総合研究部)
- 蜂谷 紀之 (国際・総合研究部)
- 保田 叔昭 (国際・総合研究部)

[業務内容]

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18年度は前年度に引き続き、「水俣病関連資料総合調査事業」を推進し、(財)水俣病センター相思社、水俣病被害者の会全国連絡会、水俣病研究会、新潟水俣病共闘会議に加え、新たにチッソ水俣病関西訴訟を支援する会の協力も得て、「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」等の積極的な推進を図るとともに、「水俣病関連資料の寄贈及び購入」を進めた。また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「健康セミナー（水俣市芦北郡医師会との共催）」や「NIMDフォーラム2006Ⅱ」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18年度水俣病情報センターの情報収集、提供活動の概要について

①来館者集計

平成19年3月末現在、本年度中32,111名、
累計180,555名

②講堂利用状況

平成19年3月末現在、本年度中121回、
累計621回

③水俣病関連資料総合調査事業における資料収集状況

平成19年3月末現在

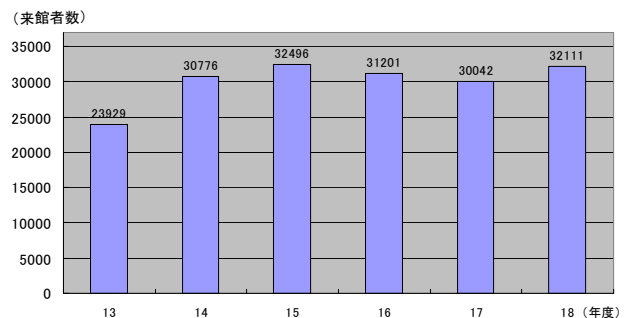
データベース化 累計134,122件

デジタル化 累計17,439件

映像資料等 累計564件

聴き取り調査 累計53件

第一資料室所蔵資料 累計4,956件



水俣病情報センター来館者数

3. 健康セミナー The healthy seminar

[担当者]

- 中村 政明 (臨床部)
- 宮本 清香 (臨床部)
- 遠山さつき (臨床部)
- 山内 義雄 (国際・総合研究部)
- 永井 克博 (国際・総合研究部)

[業務内容]

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、水俣病被害者の高齢化に伴い、水俣病の症状に加え、common diseaseの合併による日常生活能力の低下が問題になってきている。そこで、common diseaseに関して正しい知識を提供することを目的に、当センターでは common diseaseに関する健康セミナーを水俣市葦北郡医師会との共催で行っている。

平成18年度は前年度に引き続き、水俣市葦北郡医師会との共催で3回実施した。水俣病被害者を含むより多くの方に参加していただけるよう、新聞に折り込みチラシを入れ広報を図ると共に、水俣病被害者の多い津奈木地区と袋地区には送迎バスを運行した。送迎バスは交通手段のない中・高齢者には特に好評で、回数を重ねるごとに参加者も増加しており（参考資料を参照）、今後も是非継続してほしいという要望と共に感謝の言葉も聞かれた。次年度も多くの方に参加していただくよう創意工夫をしていきたいと考えている。

本年度に施行した健康セミナーのテーマと参加人数

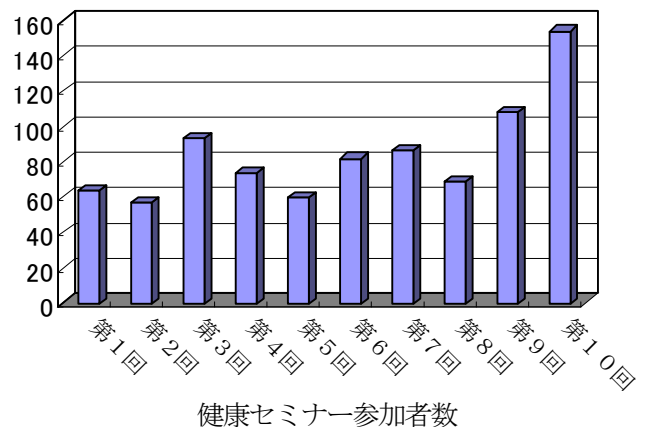
- ・第8回「腰痛・膝痛の話」：(H18年7月) 参加者69名
- ・第9回「気をつけたい目の話（中高年からの目の症状）」：(H18年11月) 参加者108名
- ・第10回「ストレスの話」：(H19年1月) 参加者154名

(参考)

① これまでの健康セミナーのテーマ：

- 第1回 …「頭痛」
- 第2回 …「肝炎」
- 第3回 …「老化と痴呆」
- 第4回 …「生活習慣病」
- 第5回 …「人間ドッグ」
- 第6回 …「脳卒中」
- 第7回 …「花粉症と鳥インフルエンザ」

② これまでの健康セミナーの参加人数：



4. 国立水俣病総合研究センター一般公開 NIMD-Facility Open Day

[業務内容]

1. 実施日

平成 18 年 10 月 17 日 (火)、20 日 (金)

10:00~12:00 及び 14:00~16:00 の 2 回

2. 目的

水俣病公式確認 50 年の節目にあたり、当センターの研究内容、施設紹介等を行い地元住民と交流を図ることを目的として実施。

3. 参加実績

①平成 18 年 10 月 17 日 (火) 56 名

②平成 18 年 10 月 20 日 (金) 61 名

計 117 名

4. 概要

- ①所長挨拶
- ②当センター紹介ビデオ上映
- ③パネル等展示品説明
- ④当センター屋上から不知火海等の展望
- ⑤リハビリテーション室の見学及び説明
- ⑥共同研究実習棟の見学及び説明
- ⑦毛髪水銀濃度測定

5. アンケート結果 (回答者 70 名)

(主な回答のみ記載。)

①「国立水俣病総合研究センター」を知っていましたか？

- ・内容まで知っていた。・・・19 名
- ・名前だけは知っていた。・・・44 名
- ・全く知らなかった。・・・3 名

②どんなところだと思っていましたか？

- ・水俣病の医学的研究を行っているところ。
- ・水銀に関しての研究と発信をするところ。
- ・水俣病の原因及び水銀のメカニズムについて研究を行っているところ。

③第一印象はどうでしたか？

- ・清潔で環境がとても良いところ。
 - ・大きくて立派な建物。
 - ・景色のよい立地で近代的。
- ④見学後の印象は？
- ・想像していたよりいろいろな活動・研究をしていて驚いた。
 - ・水俣病や水銀についてより一層理解することが出来た。
 - ・研究者の努力や最先端の研究を行っていて驚いた。
- ⑤当センターで気に入った所は？
- ・屋上からの展望。
 - ・リハビリテーションで作成した水俣病患者の各種作品等。
 - ・職員の対応。
- ⑥当センターに対しての意見や要望は？
- ・研究結果を関係住民に知らせて欲しい。(広報誌等を通じて。)
 - ・学生を含めた一般公開を定期的に行って欲しい。
 - ・水俣病に関する勉強会を開催して欲しい。



業務3 国際協力に関わる業務

Affairs on International Cooperation

当センターは世界に向けて水俣病の教訓を発信し、環境と人の健康に係わる分野国際的貢献を行なう為に国際協力に関わる以下の事業を行なっている。

[業務名と業務概要]

1) 国際共同研究事業の推進

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発展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。

2) 開発途上国からの来訪者の研究指導

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なっている。

3) NIMD Forum 2006 II

当センターは 1997 年以降、ほぼ毎年、国内外の専門家を招聘しNIMD内部研究者との研究発表及び意見交換の場として国際フォーラム(NIMD Forum と呼称)を開催している。2006 年 11 月の NIMD Forum 2006 II が 8 回目の開催となった。

4) 世界の水銀汚染地域住民の毛髪の水銀調査

毛髪は、タンザニアの金鉱の労働者の毛髪の水銀汚染状況を調査しているデンマークの研究者より提供された。総水銀量は、男性で平均 1.4 ppm、女性で平均 0.6 ppm の値を示した。また、毛髪の水銀値の最高値は、男性で、総水銀値で 9.9 ppm であり、このメチル水銀値は 0.7 ppm であった。

フランス領ギアナ（試料数：92 男；36 女；56）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 7.6 ppm、女性で平均 8.5 ppm と非常に高い値を示した。

5) カザフスタン共和国ヌラ川水銀モニタリングに係る技術移転

カザフスタン国のヌラ川上流域に位置するテルミタウ市では、1998 年まで約 50 年間にわたって水銀を触媒として使用するアセトアルデヒド工場が操業していた。同政府ではヌラ川水系及びその流域における水銀汚染状況を正確に把握し、評価するためのモニタリング技術の習得が急務となっており、その技術移転を国際協力機構（JICA）を通じて当センターが協力している。

1. 国際共同研究事業の推進

Cooperation of research in the international organization

[業務内容]

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 18 年度においては、「国際水銀会議 2006 (米国、マディソン)」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、10 カ国に延べ 33 名の研究員を海外に派遣した。

<在外研究員の招聘>

平成 18 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、15 の国や国際機関等から延べ 20 名の在外研究員を招聘した。

平成 18 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 韓国国立環境研究所 ・釜山市 韓国国立放送大学	所長 衛藤 光明 国際・総合研究部長 坂本 峰至	・韓国国立環境研究所での国際会議における発表と共同研究立ち上げの打合せ ・韓国環境保健学会主催の「アジア太平洋地域における環境保健研究の展望」における講演	韓国国立環境研究所での国際会議「健康な生活のための環境保健科学の新しい方向性」における発表（坂本：地球環境汚染物質としての水銀）及び今後のセンターとの共同研究立ち上げの打合せを行った。 韓国環境保健学会主催の「アジア太平洋地域における環境保健研究の展望」における講演（衛藤：水俣病の病理、坂本：メチル水銀の胎児影響）を行った。	H18.5.31-6.5
中華人民共和国 ・北京市 精華大学、等 ・香港市 香港バプテスト大学、等	疫学研究部調査室研究員 本多 俊一	「中国における有害廃棄物環境不適正処理による水銀汚染モニタリング及び曝露評価」実施	北京では、在中華日本大使館、清華大学、環境センターなどの訪問、及び北京郊外の環境汚染地域の視察を行った。 香港では、香港バプテスト大学、香港大学、及びサンプリングのための漁村部、病院などの訪問・調査を実施した。	H18.6.7-6.18
中華人民共和国 ・北京市 中国環境科学研究院 ・瀋陽市	疫学研究部調査室主任研究員 劉 曉潔	「中国における水銀の人為的な環境汚染及び住民の疫学的調査に関する研究」実施	中国のエネルギー消費は 76% 石炭に頼っている。火力発電の排煙には水銀などの有害物質が含まれており、中国東北地区の主要石炭の産地として発展を続けている鞍山、本溪市の石炭の水銀含有量はかなりハイレベルである。それらの地域の現場の従業員と周辺地域住民のアンケート調査及び尿や頭髮のサンプリングをし、健康影響や疫学的な実態調査を通じて、その Hg 環境汚染源と健康被害との関連性を検証した。	H18.6.7-6.17
オーストラリア連邦 ・ケアンズ市 国際脂肪酸・脂質学会	臨床部検査室長 宮本 謙一郎	「第 7 回国際脂肪酸・脂質会議」出席	本会議は脂肪酸・脂質が生化学、生理学的に生態に及ぼす影響を研究している研究者が発表を行う国際学会で、世界中から多くの研究者が会議に参加し討論を行った。 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での共同研究者で涌永製薬ヘルスケア研究所 守口 徹室長から、今回の国際脂肪酸・脂質会議では、シンポジウムや演題発表が本研究課題を実施していく上で必ず有用な情報が得られ、役に立つ事を示唆された。	H18.7.22-7.30

用務地・機関	派遣者	用務名	用務	派遣期間
アメリカ合衆国 ・ウィスコンシン州 マディソン市 米国地質調査所、等 ・ニューヨーク州ロ チェスター ロチェスター大学医学部	所長 衛藤 光明	・「国際水銀会議 2006」(ICMGP 2006) 出 席 ・「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」実施	マディソンで行われる第 8 回会議 ICMGP での発表を行った。 米国ロチェスター大学において、2004 年にブレインカッティング を済ませているセイシェル諸島及びロチェスター大学の剖検例の組 織標本の病変を先方大学の神経病理学者とともに検討した。	H18.8.5-8.15
アメリカ合衆国 ・ウィスコンシン州 マディソン市 米国地質調査所水資源 学科 ウィスコンシン・マデ イソン大学水文学セン ター	国際・総合研究部長 坂本 峰至 国際・総合研究部社会科学室長 蜂谷 紀之 基礎研究部生理室長 山元 恵 基礎研究部病理室長 藤村 成剛 臨床部薬剤室長 村尾 光治 基礎研究部病理室研究員 澤田 倍美 国際・総合研究部自然科学室研究員 丸本 幸治 総務課庶務係長 川久保 康範 研究企画官 佐藤 礼子 疫学研究部リスク評価室長 松山 明人	「国際水銀会議 2006」(ICMGP 2006) 出席	マディソンで行われた第 8 回「地球環境汚染物質としての水銀国 際会議(ICMGP)」に参加した。本会議は、水銀問題に関する幅広 い分野の研究者が一堂に会し、最新の研究成果を発表する世界 最大規模の国際学術会議であり、水俣で開催された第 6 回会議で は、433 人の水銀研究者の参加を得、535 演題の発表が実施され た。 本会議の演題は、「生物地球科学」「採掘の影響」「汚染地帯の 統一的管理」「汚染管理と回復」「水銀汚染の社会経済的影響」「最 新の分析化学」等 15 の分野それぞれについて発表が行われた。	H18.8.5-8.14 (佐藤、松山に ついては、 H18.8.5-8.13)
ニカラグア共和国 ・マナグア市 国立ニカラグア自治大学	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	「ニカラグア、マナグア湖水銀汚染対策に 関する実行計画策定」実施	ニカラグア共和国マナグア市近郊マナグア湖畔にある苛性ソー ダ製造工場跡地および周辺土壌・底質の水銀汚染を対象とした汚 染対策実行計画作成および分析指導を行った。	H18.8.28-9.15

用務地・機関	派遣者	用務名	用務	派遣期間
カンボジア王国 ・プノンペン市 ・シエムリアプ州 シエムリアプ郡 カンボジア王国環境省 汚染制御局	疫学研究部調査室研究員 本多 俊一	「カンボジア王国における水銀含有産業 廃棄物輸入事件のフォローアップ調査並 びに有害廃棄物環境不適正処理における 水銀汚染モニタリング及び暴露評価」実施	1998 年末に問題となった台湾からの水銀入り産業廃棄物がカン ボジアへ輸出され、運搬をたずさわった男性が急死し、その産業廃 棄物が置き去りにされた村の住民は健康を害したという事件があっ た。カンボジア国内で発生した水銀含有産業廃棄物のその後の健 康影響調査を目的とし、カンボジア王国環境省汚染制御局とともに 「事件」のあった村において体内水銀濃度を指標とし、住民健康調 査及び有害廃棄物環境不適正処理における水銀汚染モニタリング を行った。	H18.8.12-8.31
大韓民国 ・済州島済州市 チョークトック 2006 運営委員会	臨床部総合臨床室長 中村 政明 基礎研究部生化学室長 安武 章 基礎研究部生化学室主任研究員 永野 匡昭	「第 25 回金属毒性学会議；チョークトー ク 2006－生体金属に関する韓国/日本合同 会議－」出席	日韓の金属毒性、生理作用等に携わる研究者がそれぞれの研 究内容を発表し、討議を行った。 中村政明 「水銀蒸気で誘導される脳の MT アイソマーの解析」 について発表。 安武章 「水銀化合物によるメタロチオネインアイソマーの選択的 誘導」について発表。 永野匡昭 「培養細胞におけるメチル水銀の生体内無機化機構 とそのメカニズム」について発表。	H18.8.28-8.31
フランス共和国 ・アルカション市 ボルドー大学	基礎研究部病理室長 藤村 成剛	「水銀の水質生態系とヒトに及ぼす影響」 に関する共同研究実施	メチル水銀の生体に及ぼす作用を解明し、水銀中毒患者の治療 及び今後の水銀汚染対策を行うことが目的である。 メチル水銀の生体に及ぼす作用の解明、具体的には、齧歯類に メチル水銀を投与し、その際の遺伝子、蛋白の変化を生化学的、 遺伝子学的、組織化学的に解明した。	H18.8.31-9.14
カナダ ・ケベック州モントリ オール市 アメリカ-カナダ病理ア カデミー	所長 衛藤 光明	「第 26 回国際病理アカデミー」出席	国際病理学会において 33 の項目で、キーノートレクチャーでは 「結核」「アルツハイマー病」「癌の形態的・分子病理学的診断」「血 管内皮・特に動脈硬化の病因」の他、「シンポジウム」「ショートコ ース」「ロングコース」「スライドセミナー」が催された。 1) 「2005 年までの外国における剖検例と本邦における水俣病 (メチル水銀中毒)の剖検例を比較した病理学的研究」(ポスターセ ッション) 2) 「急性無機水銀の肺内吸入中毒症」(シンポジウム)	H18.9.14-9.24

用務地・機関	派遣者	用務名	用務	派遣期間
中華人民共和国 ・北京市 中国科学院地球科学研究所	疫学研究部長 坂本 峰至	・「第7回環境地球化学国際会議」出席 ・「水銀鉱山作業従事者の水銀曝露・健康影響調査」に関する打合せ	会議出席・発表。 貴州省における水銀鉱山作業従事者、特に精錬に関わっている作業従事者の水銀曝露量と健康被害について中国科学院地球化学研究所から研究協力依頼があり、そのための打合せを行った。	H18.9.23-9.28
中華人民共和国 ・舟山市 ・重慶市 重慶医科大学 ・上海市 上海交通大学	疫学研究部調査室主任研究員 劉 曉潔	・「舟山調査」実施 ・重慶医科大学にて「長江流域の自然環境と地域住民の水銀汚染調査」実施 ・上海交通大学において講演	舟山諸島及び四川省重慶の周辺長江流域の魚介類の調査を行った。汚染地域と周辺及び都市部の住民の食事に関するアンケートを取ると共に住民の毛髪及び魚介類を目標として採集し、その水銀値を測定する事により住民のメチル水銀曝露状況を把握。また調査の結果は、共に長年共同研究を実施している上海交通大学で講演した。	H18.10.25-11.7
カザフスタン共和国 ・アスタナ ・カラガンダ JICA 派遣	疫学研究部リスク評価室長 松山 明人	「カザフスタン、ヌラ川流域水銀環境モニタリングプロジェクト」実施	ヌラ川の水銀汚染モニタリングを実施するため、現地緊急所に常駐している分析スタッフに対し、水銀に関する分析精度管理が十分ではなく、また高度な試料の採取技術も保有していないことから、当センターの正確な分析技術と的確な試料採取技術を技術供与することを目的とし、プロジェクトを実施した。	H18.12.4-12.15
アメリカ合衆国 ・カリフォルニア州 デービス市 カリフォルニア大学デービス校環境毒性学部	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」実施	2006 年 2 月にカリフォルニア大学デービス校環境毒性学部のラボを 1 週間訪問し、新規プロジェクト立ち上げに伴う実験上の問題点について解決する事ができた。今回の訪問で本プロジェクトの基盤を確立、さらに別件で新規の水銀の環境毒性学に関する共同研究プロジェクトを立ち上げる打合せ及び具体策の確立を進めた。 本プロジェクトにおいて、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った。	H19.1.27-2.5
ベトナム社会主義国 ・ホーチミン 化学技術研究所 ・ハノイ ベトナム自然科学・技術研究所	疫学研究部長 坂本 峰至	「水銀分析に関する質管理及びバッテリー工場作業従事者の水銀曝露と健康被害に関する調査」実施	ベトナムの化学技術研究所(ホーチミン)と自然科学・技術研究所(ハノイ)で実験の尿サンプルを用いて水銀分析のクロスチェックを行い、彼らの技術の質を高め、独自で水銀研究が行えるようにした。 加えて、ハノイとホーチミンの現地の水銀を使った電池工場での健康影響に関して、水銀曝露状況調査と健康被害調査を行うための下準備を行った。	H19.1.28-2.4

用務地・機関	派遣者	用務名	用務	派遣期間
アメリカ合衆国 ・ウィスコンシン州 マディソン市 ウィスコンシン大学マ ディソン校薬理学科	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」実施	8 月水銀国際会議の際、ウィスコンシン大学マディソン校薬理学 科のラボを訪問し、現プロジェクトについて研究打合せを行い、有 意義なアイデアを得た。今回訪問する事により、そのアイデアを当 プロジェクトに導入するための、より具体的な研究手法に関する情 報を得た。 昨年度から当研究センターにおいて開始した新規プロジェクトの 立ち上げに伴うメールによる情報交換のみでは困難な問題点を、 実際に実験を行うことや、ラボメンバーとの情報交換を行うことにより 解決することを目的とした。また、現在当研究センターに存在しない 技術の導入や情報収集を行った。	H19.2.10-2.25
カザフスタン共和国 ・アスタナ市 JICA 派遣	国際・総合研究部自然科学室研究員 丸本 幸治	JICA 技術協力プロジェクト「カザフスタン 国ヌラ川流域水銀環境モニタリングプロ ジェクト」参加	カザフスタン共和国カラガンダ州を流れるヌラ川流域の工場地帯 にある A/O カーバイド工場の操業開始以降、河川堆積物及び河岸 土壌の水銀汚染が始まり、カラガンダ州テメルタウ市近くの同工場 排水口から下流域(首都アスタナ等含む)における水銀汚染が確認 されている。かかる水銀汚染に対応すべく、カザフスタン国政府より 日本政府に対し、水銀分析・モニタリング能力向上に向けての技術 協力の要求がなされた。本派遣において、ヌラ川の水質及び底質 中の水銀汚染モニタリング計画立案指導、及び水銀分析値の信頼 性向上指導を目的とした。	H19.3.20-5.4
アメリカ合衆国 ・ノース・カロライナ州 シャーロット市 アメリカ毒性学会	基礎研究部生理室長 山元 恵	「アメリカ毒性学会 2007 年会」出席	毒性分野で、世界一の規模の学会であり、環境有害物質のみな らず、その他薬品等の毒性学も含めた内容が発表された。 本会議では、「サル ES 細胞由来胚葉体を用いた発生毒性のスク リーニング」について発表した。	H19.3.24-3.31
中華人民共和国 ・北京市朝陽区 日中友好環境保全セン ター	疫学研究部調査室研究員 本多 俊一	「第 3 回廃棄物不法越境移動防止アジアネ ットワーク会議」出席	会議出席。 このネットワーク会議には、アジアの 10 カ国が参加し、各国のバ ーゼル条約担当官が各国の有害廃棄物越境移動問題及びその対 策などの議論を行い、参加国間での不法越境移動防止ネットワ ークの確立、情報交換、環境適正管理に関する協力体制を築きあげ ることを目的とした。	H19.3.25-3.31

平成 18 年度 国際共同研究事業等一覧 / 招聘

氏名	所属機関	職名	招聘期間	研究テーマ	受入担当者
Justinian Rwezaula Ikingura タンザニア	University of Dar es Salaam ダル・エス・サラーム大学	Professor 教授	H18.6.27-8.7	タンザニアにおける金採掘に伴う水銀汚染とその健康影響	疫学研究部リスク評価室長 松山 明人
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	H18.7.10-8.2	インドネシア・セレベス島北部域における、金採掘鉱滓等による海域汚染の実態調査	国際・総合研究部自然科学室長 保田 叔昭
Jean-Paul Bourdineaud フランス	Universite de Bordeaux ボルドー大学	Professor 教授	H18.9.24-9.30	水銀の水質生態系とヒトに及ぼす影響	基礎研究部病理室長 藤村 成剛
Elizaveta E. Graevskaya ロシア	Department of Biophysics, Faculty of Biology, Moscow State University モスクワ大学生物学部	Senior researcher 主任研究員	H18.10.6-11.4	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
Kim Guen Bae 韓国	Environmental Epidemiology Division, National Institute for Environmental Research 韓国国立環境研究所	Researcher 研究員	H18.10.31-11.30	「韓国における水銀汚染状況調査研究」 NIMD フォーラムにおける講演	国際・総合研究部長 坂本 峰至
Marcello Mariz Veiga カナダ	GEF/UNDP/UNIDO Global Mercury Project UNIDO(国連工業開発機構)地球規模での水銀対策プロジェクト	Chief Technical Advisor チーフ技術アドバイザー	H18.11.25-12.3	「小規模金採掘に伴うアジアの水銀汚染対策」 NIMD フォーラムにおける講演	国際・総合研究部長 坂本 峰至
Loi Duc Vu ベトナム	Vietnamese Academy of Science and Technology Institute of Chemistry ベトナム自然科学・技術研究所	Researcher 研究員	H18.11.26-12.6	「水銀分析に関する質管理及びバッテリー工場作業従事者の水銀曝露と健康被害に関する調査」 NIMD フォーラムにおける講演	国際・総合研究部長 坂本 峰至
Ming Hung Wong 中国	Croucher Institute for Environmental Sciences, Hong Kong Baptist University 香港バプテスト大学クラウチャー環境科学研究所	Professor 教授	H18.11.26-11.30	NIMD フォーラムにおける講演	所長 衛藤 光明

氏名	所属機関	職名	招聘期間	研究テーマ	受入担当者
Xinbin Feng 中国	State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences 中国科学院地球化学所	Associate Director 副所長	H18.11.26-11.30	NIMD フォーラムにおける講演	所長 衛藤 光明
Guibin Jiang 中国	State Key Laboratory of Environmental Chemistry and Ecotoxicology, Research Centre for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences 中国科学院生態環境科学研究センター	Professor 教授	H18.11.26-11.29	NIMD フォーラムにおける講演	所長 衛藤 光明
Tengku Hanidza Tengku Ismail マレーシア	Department of Environmental Sciences, Faculty of Environmental Studies, Universiti Putra Malaysia マレーシア・プトラ大学研究学部	Lecturer 講師	H18.11.26□11.30	NIMD フォーラムにおける講演	所長 衛藤 光明
Ana Trinidad Francisco-Rivera フィリピン	Environmental and Occupational Health Office, National Center for Disease Prevention and Control, Department of Health フィリピン保健省国立疾病予防調整センター	Supervising Health Program Officer 健康プログラム監督官	H18.11.27-11.30	NIMD フォーラムにおける講演	所長 衛藤 光明
Keith Bentley オーストラリア	Centre for Environmental Health オーストラリア環境保健センター	Principal Researcher 主席研究者	H18.11.26-12.1	NIMD フォーラムにおける講演	所長 衛藤 光明
Rachmadi Purwana インドネシア	Department of Environmental Health, Faculty of Public Health, University of Indonesia インドネシア大学公衆衛生学部	Lecturer 講師	H18.11.26-11.30	NIMD フォーラムにおける講演	所長 衛藤 光明
Supriyanto Margono インドネシア	Directorate of Environmental Health, Directorate General Disease Control and Environmental Health, Ministry of Health, Indonesia インドネシア健康省総合疾病管理・環境健康課環境健康室	Head of Sub Directorate of Waste Control インドネシア保健省総合疾病管理長及び廃棄物削減小委員長	H18.11.26-11.30	NIMD フォーラムにおける講演	所長 衛藤 光明

氏名	所属機関	職名	招聘期間	研究テーマ	受入担当者
Baatar Tumenbayar モンゴル	Sans Frontiere Progres (NGO) Mongolia モンゴルサンフロンティアプログレス	Researcher 研究員	H19.2.5-2.19	モンゴル国における人体水銀曝露モニタリング	疫学研究部調査室研究員 本多 俊一
Ms.BAHKHMATOVA Yelena カザフスタン	Karaganda, Hydrometeorology Center 水文気象庁カラガンダ水文気象センター	Engineer chemist 技術職員	H19.2.14-3.9	JICA 研修「平成18年度カザフスタン国別研修「水銀分析」に係る研修	疫学研究部リスク評価室長 松山 明人
Ms.GILDEBRANDT Viktoriya カザフスタン	Karaganda, Hydrometeorology Center 水文気象庁カラガンダ水文気象センター	Engineer chemist 技術職員	H19.2.14-3.9	JICA 研修「平成18年度カザフスタン国別研修「水銀分析」に係る研修	疫学研究部リスク評価室長 松山 明人
William Rostene フランス	Universite de Pierre et Marie Curie ピエール・エ・マリ・キュリー大学	Director 理事	H19.2.26-2.28	水銀の水質生態系とヒトに及ぼす影響	基礎研究部病理室長 藤村 成剛
Steven Balongh 米国	Metropolitan Council Environment Services メトロポリタン都市環境研究所	Principal Researcher 主任研究員	H19.3.1-4.24	環境試料中-メチル水銀の超微量定量法に関する精度管理と相互比較	疫学研究部リスク評価室 松山 明人

2. 開発途上国からの来訪者の研修指導 Providing Training for developing countries

[担当者]

永井 克博 (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)
若宮 純司 (臨床部)
松山 明人 (疫学研究部)
安武 章 (基礎研究部)

[業務内容]

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18年度においては、アジア(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107名、15集団研修コースを受け入れ、

衛藤光明 所長 (4回)、
坂本峰至 国際・総合研究部長 (5回)、
蜂谷紀之 国際・総合研究部社会科学室長 (4回)、
保田叔昭 国際・総合研究部自然科学室長 (3回)、
中村邦彦 基礎研究部長 (2回)、
若宮純司 臨床部長 (1回)
松山明人 疫学研究部リスク評価室長 (3回)
安武 章 基礎研究部生化室長 (1回)

がそれぞれ対応し、水俣病に関する講義、環境中の水銀と世界規模から見た水銀汚染の講義、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18年度見学受入等一覧

	見学日		研修名	相手先	演題		
					演題	担当者	人員
1	平成18年6月2日	金	JICA 研修 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	7人
2	平成18年6月15日	木	JICA 研修 環境中の有害汚染物質対策コース	(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	中村部長	
					汚染土壌の復元技術について	松山室長	
3	平成18年7月5日	水	JICA 研修 フィリピン都市及び産業環境における環境管理・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	8人
					環境中の水銀と世界の水銀汚染問題	坂本部長	
4	平成18年9月1日	金	第4回「産業廃水処理技術Ⅱ」コース	(財)北九州国際技術協力協会	水俣病及び水銀の人体への影響について	坂本部長	8人
5	平成18年10月17日	火	チリ共和国鉱害防止指導体制強化協力事業カウンターパート研修員	(財)国際鉱物資源開発協力協会	貴研究センター及び水銀公害概要、有機水銀分析施設等見学等	安武室長	3人
6	平成18年10月24日	火	第2回農村医学コースⅡ	(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
					水俣病の臨床病理学的研究について	衛藤所長	
7	平成18年10月25日	水	水環境モニタリングコース	環境調査研修所	水俣病について(水銀の人体への影響について)	中村部長	9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	
8	平成18年11月6日	月	住民との協働による環境都市づくり(公害の経験から)	水俣市環境対策課	水俣病について(水銀の人体への影響について)	坂本部長	9人
					水俣病の悲劇から得られる教訓	蜂谷室長	
9	平成18年11月10日	金	JICA 研修「持続可能な発展のための職業環境保険マネージメント」	(財)北九州国際技術協力協会	水俣病に関する臨床的メカニズム	若宮部長	10人
10	平成18年11月29日	水	生活排水対策コースⅡ	(財)北九州国際技術協力協会	水俣病の歴史について	蜂谷室長	8人
11	平成18年12月15日	金	第1回「中東地域産業環境対策コース」	(財)北九州国際技術協力協会	水俣病について	衛藤所長	9人
12	平成19年1月18日	木	JICA 研修 アルジェリア国「環境モニタリングキャンペーン・ディベロプメント」カウンターパート研修	アルジェリア ONEDD 局長	世界の水銀汚染問題の現状	坂本部長	1人
					水俣湾浚渫事業と土壌修復技術	松山室長	
13	平成19年2月23日	金	JICA 研修平成18年度「中・東欧地域産業環境対策コース」	(財)北九州国際技術協力協会	水俣病についての説明、髪の毛分析、資料館見学	坂本部長	10人
14	平成19年3月9日	金	JICA 兵庫「インドネシア地方環境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	「水俣病汚染・環境中の水銀と世界の水銀汚染問題」	保田室長	8人
15	平成19年3月13日	火	JICE 研修「マケドニア国工業関連土壌汚染管理能力向上計画調査」のカウンターパート研修	三菱マテリアル資源開発(株)「JICE 日本国際協力センター」	水俣病総合研究センターの活動と施設見学	蜂谷室長	3人

3. NIMDフォーラム 2006 II NIMD Forum 2006 II

[業務内容]

国立水俣病総合研究センター(以下、NIMD: National Institute for Minamata Disease)は1997年以降、ほぼ毎年、国内外の専門家を招聘しNIMD内部研究者との研究発表及び意見交換の場として国際フォーラム(NIMD Forum と呼称)を開催しているおり、2006年11月のNIMD Forum 2006 IIが8回目の開催となった。

NIMD内におけるForumの位置づけは以下のとおりである。

- ・ 世界の水銀研究者とのネットワーク形成の場
- ・ 世界における水銀汚染・最新の水銀研究についての国内への発信の場
- ・ 国立水俣病総合研究センター(とくに若手研究者)からの研究成果発信の場
- ・ 海外とくに発展途上国の研究者への水銀研究の普及の場

今回のNIMD Forumは“Current Issue on Mercury Pollution in the Asia-Pacific Region (アジア・太平洋地域における現在の水銀問題)”というテーマでと11月28日29日の2日に分けて、カナダ、香港、韓国、オーストラリア、マレーシア、ベトナム、インドネシア、中国及びフィリピンから合計9カ国11名の研究者を招聘して行われた。国内からはNIMDの研究者に加え4名の研究者が参加した。

11月28日の午前中のセッションIでの発表はGEF/UNDP/UNIDOのグローバル・マーキュリー・プロジェクト/カナダ・ブリティッシュコロンビア大学のMacello Vaga博士が6カ国の小規模金採掘現場における水銀汚染を減少させるために実際に行っていることについて映像を交えての紹介があった。NIMDの坂本峰至博士は世界規模での汚染物質としての水銀問題及びメチル水銀曝露に於けるハイリスク・グループとしての胎児へのメチル水銀の移行や感受性の高さについて発表した。香港バプチスト大学のMing Hung Wong博士は中国南部における住民の魚介類摂取と毛髪や母乳の水銀濃度との相関について、また、毛髪の水銀や鉛の濃度について内陸部と海浜部との比較についての

発表を行った。韓国国立環境研究所のGuen Bae Kim博士は韓国における血液や尿中水銀レベル調査の結果や韓国における水銀管理政策についての発表を行った。NIMDの保田叔昭博士は中国・貴州省における化学工場からの排水による環境の水銀汚染に関して行った研究成果について発表を行った。

午後からのセッションIIではオーストラリアのKeith Bentley博士がパプアニューギニアStrickland-Fly川流域住民の伝統的食事に関連した血液や毛髪の水銀濃度に関する発表がなされた。プラ・マレーシア大学のTengku Hanidza Tengku Ismail博士はマレーシアの四地区における横断的毛髪中水銀濃度調査に関する研究発表を行った。ベトナムの化学・技術院のVu Duc Loi博士は金採掘やバッテリー工場での作業における無機水銀曝露に関する調査研究発表を行った。NIMDの本多俊一博士は廃棄物管理に関連したカンボジアにおける現在の水銀レベルに関する発表を行った。インドネシア環境省のSupriyanto Margono博士は、ミナハサのブイヤット湾における水銀汚染問題についての報告を行った。八戸大学の吉田稔博士は小規模体温計工場における作業の水銀蒸気への曝露とその健康影響に関する研究成果を発表した。最後に中国科学院のGuibin Jiang博士が中国における水銀汚染問題について石炭燃焼、魚介類、穀物と多方面からのレビューを行った。

11月29日のセッションでは中国科学院のXinbin Feng博士が中国貴州省の水銀鉱山地域における水銀汚染に関する研究成果を発表した。秋田大学の岩田豊人博士は同じく中国貴州省の水銀鉱山地域における水銀曝露に伴う運動神経系への影響に関する発表を行った。フィリピンの疾病予防対策センターのAna Trinidad F. Rivera氏はマニラにおける私立の学校で起った金属水銀を床にこぼした事件に関するレポートとして、実際に行われた作業と学んだことについての報告があった。インドネシア大学のRachmadhi Purwana博士はインドネシアの金採掘に伴う水銀汚染の実態と対策について講演した。

4. 世界の水銀汚染地域住民の毛髪の水銀調査

Mercury determination in hair samples of inhabitants living in mercury-polluted area in the world

[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)

[業務内容]

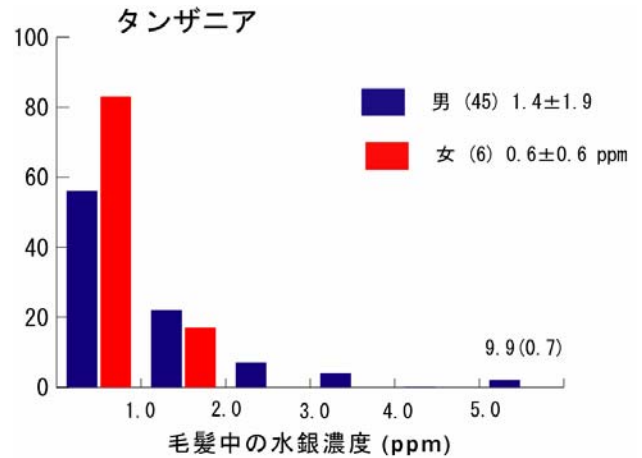
本調査の目的は、開発途上国の水銀汚染が疑われる地域住民の毛髪の水銀値を調査し、世界の水銀汚染の現状を把握することにある。このことにより、調査地区の住民の水銀汚染に対する不安を払拭するとともに、毛髪中の水銀値（総水銀およびメチル水銀）の高い地域に対しては、現地に赴き、疫学的調査等を行い水銀汚染に対処する。

開発途上国で水銀汚染の疑われている住民の毛髪を、開発途上国の水銀研究者や国際機関等の協力を得て、採取し、国水研に送付してもらう。また、インターネットなどで、開発途上国の研究者に宣伝し、水銀汚染地域の住民の毛髪を送ってもらう。送ってもらった毛髪は、水銀分析計により総水銀値を測定し、その地域における水銀汚染を調査するとともにこの結果は、毛髪を提供してくれた研究者に報告する。

本年度は、タンザニアおよびフランス領ギニアの2カ国から毛髪を提供があり、これらの毛髪の水銀値を測定した。

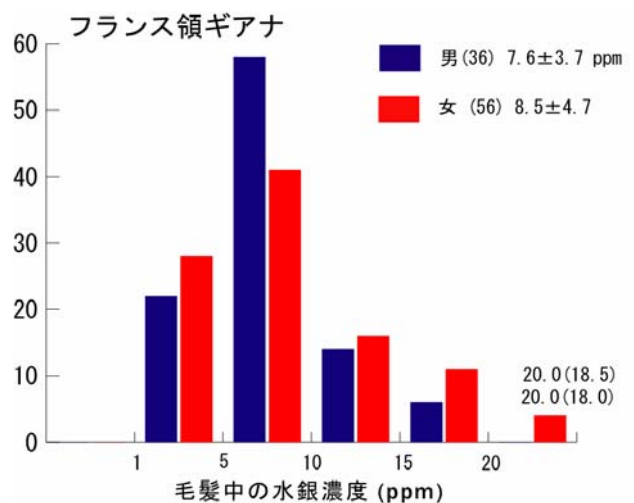
1. タンザニア (試料数: 51 男; 45 女; 6)

毛髪は、タンザニアの金鉱の労働者の毛髪の水銀汚染状況を調査しているデンマークの研究者より提供された。総水銀量は、男性で平均 1.4 ppm、女性で平均 0.6 ppm の値を示した。また、毛髪の水銀値の最高値は、男性で、総水銀値で 9.9 ppm であり、このメチル水銀値は 0.7 ppm であった。



2. フランス領ギニア (試料数: 92 男; 36 女; 56)

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 7.6 ppm、女性で平均 8.5 ppm と非常に高い値を示した。特に、27歳と28歳の女性で、総水銀量がそれぞれ、20.0 および 20.0 ppm、メチル水銀値は、それぞれ、18.5 ppm および 18.0 ppm と極めて高い値を示した。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る。毛髪中の水銀濃度が極めて高い点で、今後も、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ある。



5. カザフスタン共和国ヌラ川水銀モニタリングに係る技術移転

Training on mercury monitoring technology in Nura river basin in Republic of Kazakhstan

[担当者]

- 松山 明人 (疫学研究部)
- 丸本 幸治 (国際・総合研究部)
- 赤木 洋勝 (国際水銀ラボ)
- 水野 輝海 (テクノ中部)

[業務内容]

1. 背景

カザフスタン国のヌラ川上流域に位置するテルミタウ市では、1998年まで約50年間にわたって水銀を触媒として使用するアセトアルデヒド工場が操業していた。同工場で使用された水銀量は非公式データながら3000トン以上といわれている。また、操業停止までその排水処理施設から近傍のヌラ川水系に流出した水銀量は約150トンとされ、排水による環境汚染が深刻な問題となっている。カザフスタン政府では首都の移転に伴って首都アスタナ市の水源をヌラ川の下流に位置するイントマック貯水池から供給することを計画しており、その安全性の評価が重要な課題となっている。そこで、同政府ではヌラ川水系及びその流域における水銀汚染状況を正確に把握し、評価するためのモニタリング技術の習得が急務となっており、その技術移転を国際協力機構（JICA）を通じて当センターに要請してきた。当センターでは上記の要請に応じて、カザフスタン共和国のカウンターパート機関である水文気象庁カラガンダ水文気象センターの技術職員を対象に、国内における水銀分析研修と現地における環境試料中の総水銀分析及びサンプリング手法等の水銀モニタリング技術に関する研修を実施した。

2. 日本国内における水銀分析研修

期間：平成19年2月15日～3月9日

実施内容：カウンターパート機関の技術職員2名を当センターに受け入れ、水銀の生物・環境モニタリングおよび環境影響評価のための化学分析手法、並びに分析値の精度管理に関する研修を実施した。とりわけ、当センターで長年にわたって開発され改良を重ねてきた高精度の水銀分析手法についての化学的内容の理解

に重点を置き、それらの手法を実際の各種試料に適用して分析技術の向上を図った。研修の結果、研修員は正確な水銀分析値を得る上で重要な要素となる器具の洗浄法から各種試料の前処理、測定に至るまでのノウハウを体得し、ヒト毛髪等の生物試料及び土壌、天然水等の環境試料中に含まれる水銀を正確かつ迅速に分析できる知識と技術を習得した。このことは、水銀の保証値を有する標準試料を取り扱ったときにその分析値が保証値と誤差範囲内で一致したことによって確認した。

3. 現地における水銀分析研修及びサンプリング技術研修、並びにラボ環境調査

期間：平成19年3月20日～5月4日

実施内容：現地に当センター職員1名及び民間会社職員2名を専門家として派遣し、カウンターパート機関の技術職員6名とサンプリング要員2名を対象として研修を実施した。本研修では、国内での研修と同様に当センターで開発された水銀分析手法の習得に重点を置いた。しかし、水銀分析研修と並行して実施したラボ環境調査の結果、水銀分析に使用する現地の蒸留水及び各種酸試薬（硝酸、硫酸、過塩素酸）に、水銀を分析する上で重大な分析誤差を生じるほどの水銀が混入していることが判明した。比較的高い総水銀濃度を有する土壌、底質等の試料を取り扱った場合には、試薬の汚染による影響が小さく、高精度の分析手法についてのノウハウを伝達することができた。また、同一試料を研修員と専門家がそれぞれ分析して比較した結果、その分析値がほぼ一致したことから、研修員が水銀分析技術を十分に習得したことを確認できた。一方、低濃度の水銀しか含まない河川水については試薬中の水銀汚染の影響を強く受けて実試料中の総水銀濃度を正確に分析することができなかった。今後は、現地への酸蒸留装置及び超純水製造装置の供与及び試薬管理技術の伝達を行い、試薬及び蒸留水の精製等のラボ環境の整備に重点をおいた技術移転が必要である。

業務4 その他

1. 所内セミナー

■平成18年6月15日

「金属感受性に関わる遺伝子群」解明への細胞遺伝学的アプローチ

広島大学原爆放射線医科学研究所

ゲノム障害病理研究分野

助教授 信國 好俊

水銀、カドミウム、ヒ素等の金属毒性に関しては、これまで多くの研究によって様々な知見が得られてきた。しかしながら、金属毒性の発生メカニズムとその標的分子、感受性を規定する遺伝子群については未だ十分には解明されていない。近年、酵母を用いた遺伝生化学的な解析によって、有機水銀の感受性に関与する遺伝子あるいはカドミウムによるゲノムの不安定性発生機序について興味ある報告がなされるようになってきたが、動物（動物細胞）においては方法論的に難しく、新たな解析システムの開発が求められている。

マウスにおいては系統的な遺伝子機能の解析を目指して、化学変異原あるいは挿入変異法を用いた大規模な『saturated mutagenesis』プロジェクトが進められている。変異マウスは個体レベルで遺伝子機能を解析できるという利点がある一方、遺伝子の種類によっては致死的で変異マウスを得ることができない、あるいは変異マウス個体由来の培養体細胞ではその後の解析が困難なことが多々ある。また、一度に多くの変異についてのスクリーニングや検討が必要な場合には、マウスを用いた実験系では不適切あるいは実際上不可能である。

そのような背景のもとに、我々はこれまで動物細胞において機能遺伝子群を系統的に解明することを可能とする細胞遺伝学的アプローチの開発と検討を行ってきた。そして、「大規模ランダムジーントラップ挿入変異細胞ライブラリー」を作製し、これを用いたジフテリア毒素耐性機構の解析によって、がん抑制遺伝子OVCA1は翻訳伸長因子eEF-2のジフタマイドの生合成経路の構成成分であることの解明と共に、細胞内コレステロール代謝輸送に関与する既知あるいは新規

の遺伝子群を複数同定することに成功した。「大規模ジーントラップ挿入変異細胞ライブラリーを用いた機能遺伝学的アプローチ」は、通常の実験環境でも培養細胞系で変異細胞を分離することさえできれば、その変異の責任遺伝子群を比較的簡単に一括して解明することができる。同時に責任遺伝子の破壊された変異細胞を得ることができるので、これを用いた生化学的あるいは細胞生物学的な解析も可能になる。

この機能遺伝学的アプローチを用いて、(1) 金属の急性細胞障害毒性の標的分子およびその感受性決定に関与する遺伝子群、ならびに(2) 金属の慢性毒性としてのゲノム不安定性の発生とその感受性決定に関与する遺伝子群の解明を目指し研究を進めている。金属毒性の標的分子、感受性決定に関与する遺伝子群を解明することで、金属毒性防御機構の理解を深めると共に、金属毒性に対する治療あるいは予防対策を考えていく上での新たな展開が可能になると考えている。

■平成18年6月30日

「アジアの地下水由来の砒素汚染—バングラデシュにおける人類生態学調査を中心に」

国立環境研究所 所長 大塚 柳太郎

演者は国立環境研究所に勤務しているが、2005年3月まで東京大学(大学院医学系研究科国際保健学専攻)において人類生態学の研究・教育に従事していた。今回提供する話題は、その際に行った南アジアにおける砒素汚染に関する調査研究に基づいている。

地下水中の砒素汚染による健康被害は、アジアとラテンアメリカの広域でみられているが、南アジアのインド、バングラデシュ、ネパールにおいて深刻の度を増している。バングラデシュを例にとると、1970年頃まで表層水を飲料にすることに起因する下痢などの感染症により、年間に30万にも上る乳幼児死亡が発生しており、ユニセフなどの国際機関の援助を受け井戸の建設が進んだ。ところが、1992年にはじめての砒素中

毒患者が認定され、その原因が地下水中の自然の砒素と考えられたことから砒素濃度の測定が本格化した。英国地質学協会が行った全国調査により、危険地域が国土の大半におよぶことが判明した。リスク人口は、全国民の1/4~1/3にあたる3,500~5,000万と推測されている。

地下水中の砒素による健康影響は長期におよぶ汚染井戸水の飲用により起こり、循環器系への影響も報告されているものの、最も広範にみられるのは色素沈着(melanosis)、角質化(keratosi)を中心とする皮膚症状である。そして、皮膚症状が重篤化すると皮膚がん、さらには肺がん・膀胱がんなどの内臓がんに移行する。なお、飲料水の砒素(total arsenic)の安全基準はWHOや米国EPAでは10 µg/Lとしているのに対し、バングラデシュやネパールでは50 µg/Lを暫定基準として採用している。

演者を代表者とする研究は、東京大学・マサチューセッツ工科大学(MIT)・スイス連邦工科大学(ETH)からなるAlliance for Global Sustainability(AGS)のプロジェクトとして行われた。MITからは地質学(水文学)の専門家、ETHからは砒素除去にかかわる化学の専門家が加わり、東京大学を中心とする日本の研究者が健康・生活にかかわる部分を担当した。日本人研究者は、人類生態学だけでなく皮膚科学、栄養学、環境社会学などの専門家からなり、バングラデシュで最初の患者が認定されたナワブガンジ地域での調査、さらに2002年からはネパール(テライと呼ばれる低地帯)での調査研究を行ってきた。バングラデシュおよびネパールの研究者とも共同研究をし、両国からは留学生などの受け入れも並行して進められた。

主たる研究結果は以下のようにまとめられる。

- (1)対象者が飲用する井戸水中の砒素濃度と尿中砒素濃度には高い相関がみられた。尿中砒素濃度と皮膚症状にも相関はみられたが、濃度が同一の場合には男性で症状が重篤化した。この原因は不明であるが、体内でのメチレーションの性差による可能性が考えられた。
- (2)飲料水以外にも食物経由での砒素摂取量が予想以上に多く、特に主食である飯に含まれる砒素の総量は飲料水由来の砒素の総量の半分にも達していた。
- (3)栄養状態と皮膚症状との関連が予測されてきたが、

ネパール調査により砒素の曝露量が体重低下を引き起こす可能性の高いことが見出された。

(4)MITの研究者により、同一の水深から井戸水を大量に汲み上げると、その水深を中心に砒素濃度が上昇することが示された。

(5)住民の意識調査によると、砒素中毒に関する知識不足さらには対処方法が不十分なため、問題が深刻化しているにもかかわらず対策が進んでいなかった。また、住民の健康・環境・経済に関する意識調査によると、最も深刻に受け止められているのは貧困からの脱却や職不足という経済問題であった。

地下水中の砒素濃度は、井戸水の汲み上げ量の増加に伴い上昇するという結果が正しいとすると、砒素による健康影響は将来さらに悪化する可能性が高い。一方、特にバングラデシュでは人口密度がきわめて高く(ネパールでも低地は同様)、今後の人口増を想定すれば、稲の収量増大は死活問題であり、そのためには水田の灌漑面積の増大が不可欠である。したがって、持続的で安全性の高い水供給という視点からは、飲料水・調理用水としての水、灌漑用水としての水、さらには非飲用生活用水としての水を区分して考える必要がある。短期的には、(1)掘抜き井戸(tubewell)とともに掘り井戸(dugwell)をつくり、後者を調理用・飲用に利用する、(2)掘り抜き井戸の水を飲用・調理に利用する場合には濾過装置をつける、長期的には、(1)灌漑用水として井戸水ではなく表層水の利用を拡大し、(2)飲用・調理用を含め雨水の利用を促進し、(3)さらには栄養改善を含む健康教育を推進することなどが必要となろう。

■平成18年8月25日

「個別化医療に向けた創薬-医薬品開発の成功確度を高める手法としての pharmacogenomics-」

三菱ウェルファーマ(株)創薬本部研究部門
薬物動態研究所開発薬動Aグループ
副主任研究員 堀川 隆司

2005年にFDAが抗がん剤・CAMTOSARについて、世界で初めて特定のSNPsを明記して投薬量の調節を行うよう表示することを求めたように、従来の「万人

向けの医療」から患者の個人的体質に合わせた個別化医療（テーラーメイド医療）が可能となっている。また、臨床治験の段階から適切な被験者の層別化が可能となり医薬品の成功確度が高まる可能性が高くなりつつある。この成功例として米国に住む黒人を対象にした臨床試験 African-American Heart Failure Trial (A-HeFT) に基づいて認可された心不全治療薬・BiDil の黒人専用の適用が挙げられる。本セミナーにおいて、医薬品を創製する上での薬物動態 (Pharmacokinetics) の現状とヒトゲノム情報を利用した Pharmacogenomics の利用について、近年の日米のレギュレーションを踏まえて発表する。

■平成 18 年 11 月 21 日

「化学発癌とダイオキシンの関係について」

東京大学大学院医学系研究科疾患生命工学センター
健康/環境医工学部門 助教授 大迫 誠一郎

1997 年国際癌研究機構 (IARC) はダイオキシン (2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin; TCDD) を、曝露することによってヒトに対して発癌性があると断言できる物質、あるいは疫学データで十分な知見があると判断できる物質として、グループ 1 の発癌性物質に分類することを決定した。しかし、実験動物レベルにおける、数十年間のダイオキシン類を用いた発癌実験データには、なおこの物質が発癌性物質であるのかに関して多くの疑問を残すものが少なくない。実際、TCDD ならびに TEF の高いダイオキシン類自体に変異原性はなく、発癌プロモーション活性があるか異論のある研究者も少なくない。TCDD は受容体 (アリールハイドロカーボン受容体; AhR) の活性化後、典型的酸化酵素であるシトクローム P450 1A1 (CYP1A1) 遺伝子を第一に強く転写誘導する。この酵素は、種々の変異原物質 (ベンツピレン (BaP)、ジメチルベンゾアントラセン (DMBA)、etc) をエポキシ体に変換し、グアニシアダクトを形成させる酵素として有名である。したがって、環境中における変異原物質の複合曝露において、TCDD ならびにダイオキシン類は変異原物質の発癌作用を増強させるはずであるとの予想が容易に付く。だが、乳癌モ

デルであるラットに対する DMBA 曝露実験では、明らかに TCDD が腫瘍のプロパゲーションを抑制するとのデータがある (Holcomb and Safe, 1994)。また有名な Kociba らの長期慢性曝露実験でも乳腺腫瘍のみならず、子宮癌、脾臓アデノーマの自然発生を TCDD は抑制する結果を示している (Kociba *et al.*, 1978)。一方、TCDD を胎児期曝露された個体に成熟後に DMBA を投与すると、対照群より高い頻度で乳癌が発生する (Brown *et al.*, 1998)。これは近年日本でも報告された PCB126 の低用量胎児期曝露によって生まれた個体の DMBA 誘発発癌実験でも確認されている (Muto *et al.*, 2001; Wakui *et al.*, 2006)。ただ、この報告では依然体内負荷量の高い個体、すなわち PCB126 が体内にまだ十分に存在している場合は逆に発癌を抑制するという結果も同時に提示している。これらのデータを総括すると、成熟個体におけるダイオキシン類曝露による生体側の変化では変異原物質による発癌は抑制され、逆に胎児曝露で生まれた個体では発癌性物質に対する感受性が増加する、すなわち、成熟個体曝露と胎児期曝露では正反対の発癌リスクがあるという結論になる。これは実際の個体内においては、上記の TCDD による CYP1A1 の活性化が変異原物質の代謝活性化を増強するとの考えは適応できず、また、TCDD による化学発癌感受性の上昇は個体発生過程で何らかの機構により刷り込まれた個体の変調が原因であることを示していると思われる。

本セミナーでは、化学発癌とダイオキシンの関係について研究の歴史的な推移を再考しつつ、演者のデータを提示しながら、環境汚染物質の複合曝露と化学発癌に関して考察する。

■平成 19 年 2 月 2 日

「蛋白質ジスルフィドイソメラーゼの S-ニトロシル化：孤発性神経変性疾患との関わり」

北海道大学大学院薬学研究院薬理学研究室
助教授 上原 孝

小胞体に存在する蛋白質ジスルフィドイソメラーゼ (PDI) は脳虚血/低酸素ストレスに応じて up-regulate さ

れる内在性細胞死抵抗因子であり、ユビキチン様蛋白質ユビキリン/PLIC と結合・協調し変性蛋白質の除去に関わり細胞死を抑制することを明らかにしてきた。元来、PDI は自身のイソメラーゼ活性を介して、S-S 結合を有する蛋白質の成熟（正しい S-S 結合の構築）に深く関与する一方、未熟・変性蛋白質を正常に折り畳むシャペロン機能も持ち合わせている。PDI は *in vivo*, *in vitro* において脳虚血/低酸素ストレスをはじめとした ER ストレスによる神経細胞死を抑制するものの、一酸化窒素(NO)によるアポトーシスに対しては無効であった。これは PDI の活性中心の Cys 残基に NO が結合(S-ニトロシル化)することによって、酵素活性が消失することに起因していると推定した。そこでこの可能性について検討し、以下のような知見を得た。

S-ニトロシル化PDI(SNO-PDI)はNO ドナーや種々の薬物刺激で NOS 依存的に細胞内で産生された NO によっても形成されることがわかった。変異体を用いた解析から、PDI の N 末端および C 末端に存在するチオレドキシシン様ドメイン中に存在する活性に必至な Cys 残基が標的であった。この修飾は PDI の酵素活性（イソメラーゼ/シャペロン活性）を著しく低下させた。初代培養神経細胞を NMDA 処理した際にも SNO-PDI が認められ、このとき、細胞死に先んじたポリユビキチン化蛋白質の蓄積と UPR の活性化(*xbp-1* のスプライシングと *chop* 誘導)が起こった。PDI の過剰発現はこれらを顕著に抑制した。さらに、ER ストレスやプロテアソーム抑制薬による細胞死に対して PDI は抑制的に働き、この効果は細胞死を引き起こさない濃度の NO ドナー処理によって消失した。興味深いことに、SNO-PDI はヒト弧発性神経変性疾患患者（パーキンソン病、アルツハイマー病、ハンチントン舞踏病）脳においても強く検出された。

これまでに、野生型パーキンソンは S-ニトロシル化されて活性化し、自身のポリユビキチン化を介して分解が亢進し、最終的に基質である変性蛋白質が蓄積することを見出している。以上より、神経細胞における酸化ストレス、とくに NO による蛋白質 S-ニトロシル化は蛋白質の品質管理を担う小胞体ならびに周辺部での酵素の機能を著しく変化させることにより変性蛋白質の蓄積をもたらす、その結果、神経細胞死ならびに神経

変性疾患を惹起することが示唆された。

最近得られた PDI 以外の小胞体に存在するシャペロン分子に関する知見を紹介し、蛋白質の酸化（S-ニトロシル化）と神経細胞死との因果関係ならびに神経変性疾患発症機構を考察する予定である。

(1)Tanaka, S., Uehara, T., & Nomura, Y. (2000) *J. Biol. Chem.* **275**, 10388-10393.

(2)Ko, H.S., Uehara, T., & Nomura, Y. (2002) *J. Biol. Chem.* **277**, 35386-35392.

(3)Yao, D., Gu, Z., Nakamura, T., Shi, Z., Ma, Y., Gaston, B., Palmer, L.A., Rockenstein, E.M., Masliah, E., Uehara, T., & Lipton, S.A. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 10810-10814.

(4)Uehara, T., Nakamura, T., Yao, D., Shi, Z., Gu, Z., Ma, Y., Masliah, E., Nomura, Y., & Lipton, S.A. (2006) *Nature* **441**, 513-517.

■平成 19 年 2 月 7 日

「Toxicogenomics 手法を利用したカドミウムの毒性発現に関与する遺伝子の同定」

愛知学院大学薬学部衛生薬学講座

教授 佐藤 雅彦

これまでカドミウムによる健康影響としては、産業職場でのカドミウム曝露や環境汚染によるカドミウムの過剰摂取などによって腎、骨、呼吸器、循環器および胎児などに障害が認められていた。特にわが国では、環境汚染により長期間カドミウムを経口摂取した高齢経産婦に腎障害と骨軟化症を主症状とするイタイイタイ病が多発したことはよく知られているが、今日では産業職場や環境汚染によるカドミウム中毒はほとんど認められていない。しかしながら、その一方で、カドミウムはコメなどの食品を介して生涯にわたって身体に取り込まれ、しかも体内残留性が非常に高いため体内カドミウム蓄積量は加齢とともに上昇する。このようなことから、最近では微量カドミウムの長期摂取が一般人の健康に障害を与える可能性が指摘され、国際的な問題となっている。微量カドミウム摂取による慢性毒性として、腎機能障害や胎児障害（低体重、低身長）などが挙げられるが、それらの毒性発現メカニズ

ムはほとんど明らかにされていない。

我々は、カドミウムの腎毒性および胎児毒性の発現メカニズムを解明することを目的に、DNA マイクロアレイ法、リアルタイム RT-PCR 法並びに RNA 干渉法などを利用して、カドミウムによって変動する遺伝子の解析およびその遺伝子発現の変動と毒性発現との関係についてマウスや培養細胞を用いて検討を進めている。本セミナーでは、カドミウムの毒性発現に関与する遺伝子について最近の研究成果を紹介する。

■平成 19 年 2 月 23 日

「歯科用アマルガムと水銀」

愛知学院大学歯学部歯科理工学講座

助教授 高橋 好文

アマルガムとは Hg と他の金属との合金である。歯科用アマルガムは Ag を主成分とするアマルガム用合金と Hg との組み合わせであり、ペースト状の練和物を窩洞に填塞する。アマルガム修復は操作が簡便で物理的性質が比較的良好なために多用されていたが、環境への水銀汚染や生体への有害性が危惧され、その使用頻度は減少している。アマルガム硬化体に存在する水銀は金属間化合物 (Ag_2Hg_3 , Sn_8Hg) の形で存在しているため、Hg そのものよりも安定であるが、アマルガムから Hg がイオン、蒸気としてリリースすることが知られている。アマルガムに関する講演要旨を以下に述べる。

(1)低銅型および高銅型アマルガムを人工唾液（無機成分のみ）に 37°C、62rpm の条件で 10 週間浸漬後、人工唾液中の Ag, Sn, Cu, Hg を測定すると、Ag は 0.05～0.07ppm, Sn は 0.91～3.63ppm, Cu は 0.05～0.17ppm, Hg:0.08～0.11ppm の範囲であった。

(2)高銅型アマルガムの粉末を 10wt%および 20wt%の割合で飼料に添加し、この飼料でラットを 8 週間飼育すると、脳、肝臓、腎臓中に水銀の取り込みを認めた。水銀の臓器内分布は腎臓に多く、次いで肝臓、脳の順であった。比較として 10ppm および 20ppm の硝酸水銀を投与したラットの脳、肝臓、腎臓にも水銀の取り込みを認め、蒸留水投与群よりも高い水銀濃度を示したが、アマルガム粉末投与群よりは低く、その濃度は

脳では 1/3～1/7、肝臓では 1/10～1/16、腎臓では 1/2 であった。硝酸水銀投与群の臓器内分布は腎臓に多く、ついで肝臓、脳の順であったが、肝臓と脳の水銀濃度は同程度であった。また、20wt%アマルガム粉末投与群の肝臓、腎臓について HE 染色による病理組織検索を行ったが、無処置の対照群と比較して特に組織学的な変化は認められなかった。

(3)アマルガム修復が母親および胎児の発育に及ぼす影響を調べるために、妊娠ラットの 4 本の歯牙に高銅型アマルガムとガラスイオノマーセメントを充填し、母親の発育曲線、エサおよび水の摂取量を調べた結果、母親の発育曲線は無処置の対照群よりも低い値を示したが、ガラスイオノマーセメント群とは近似していた。アマルガム充填群の胎児の体重 (Ave.3.79g, n=79) は、無処置の対照群 (Ave.3.83g, n=85)、ガラスイオノマー充填群 (Ave.3.80g, n=87) と同程度であった。

(4)ラットに高銅型アマルガムを 1 歯充填すると、母親の臓器（脳、肝臓、腎臓、肺）と血液成分（全血、血漿、血球）中の水銀量は無処置の対照群よりも有意に多く、胎児の脳、肝臓、腎臓、全血中にも水銀の取り込みがみられたが、有意な取り込みは肝臓と全血であった。水銀の臓器内分布は母親と胎児では異なり、母親では腎臓に多く、胎児では肝臓に多く認めた。

(5)妊娠ラットに高銅型アマルガムを 1 歯、2 歯、4 歯充填すると、母親の脳、肝臓、腎臓および胎盤、胎児の肝臓および腎臓中の水銀濃度は、アマルガムの面積および妊娠 15 日目のラット呼気中-24 時間水銀量と有意な相関を認めた。

(6)高銅型アマルガムを 1 歯、2 歯および 4 歯充填したラットを代謝ケージに入れ、代謝ケージ内の空気を水銀モニターで 24 時間連続測定するとともに、ビデオカメラで 24 時間観察し、水銀量とラットの行動との関連性について検討した結果、エサの摂取時に著明な水銀量の増大を認めた。

(7)各世代への影響を調べるため、第 1 世代の妊娠ラットに高銅型アマルガムを 4 歯充填し、第 2 世代、第 3 世代の臓器（脳、肝臓、腎臓、肺、脾臓）と血液中水銀量を測定した結果、第 2 世代の水銀量は無処置の対照群よりも多かったが、第 3 世代では同程度であった。

(8)妊娠ラットに高銅型アマルガムを 4 歯充填し、母乳

中の水銀量を測定した結果、無処置の対照群よりも多く、その量は2〜3倍であった。授乳期の新生児の臓器（脳、肝臓、腎臓）と血液中水銀量は対照群よりも多かった。

(9)ラットに高銅型アマルガムを1歯、2歯、4歯充填後、6ヶ月飼育し、臓器と血液中の総水銀とメチル水銀を測定した結果、総水銀に対する割合は減少するが、各臓器（大脳、小脳、肝臓、腎臓）中のメチル水銀はアマルガムの充填歯数とともに増加する傾向を認めた。また、血液中のメチル水銀濃度は対照群と同程度であった。また、これらの試料について水銀の組織学的検索を写真エマルジョン法で行った結果、腎臓では主に近位尿細管に水銀顆粒を認めたが、肝臓では不明であり、これは量—反応が原因と考えられる。

■平成19年2月28日

「環境中に存在する低分子化合物による神経細胞死メカニズムの解明」

広島大学大学院医歯薬学総合研究科
生体機能分子動態学研究室
講師 古武 弥一郎

多くの疾患は遺伝的素因と環境因子の相互作用により発症すると考えられている。我々は化学物質の神経毒性を解明し、疾患における何らかの寄与を明らかにすることを目標に研究を進めている。本セミナーでは、代表的な神経変性疾患であるパーキンソン病 (PD) 発症に関与する可能性のあるテトラヒドロイソキノリン誘導体と、海洋汚染化学物質トリブチルスズの神経毒性に着目し、神経細胞死メカニズムや病態との関連について行った研究について発表する。

パーキンソン病関連低分子化合物に関する研究

神経毒 MPTP 摂取により PD に酷似した症状、病理学的所見を示すことが発見されて以来、MPTP と化学構造の似た神経毒が PD 発症に関係する神経毒として注目されてきた。これらの多くは環境中に存在し、体内に摂取されて脳に蓄積する可能性があると考えられている。我々は、新規神経毒として 1-benzyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (1BnTIQ) に着目して研究を行い、1) 脳脊髄液中から検出される脳内在性物質であるこ

と、2) PD 患者脳脊髄液中で増加していること、3) マウス、サルに投与すると PD 様症状を呈すること、4) 中脳線条体切片共培養系において細胞体の萎縮を経て神経細胞死を引き起こすこと、5) 細胞死メカニズムとしてミトコンドリア呼吸鎖 complex I 阻害と、神経伝達物質ドパミンの不可逆的な減少が重要であること、6) 1BnTIQ 誘導体の一部は脳からの薬物排出を担う P 糖タンパク質の基質となることを明らかにしてきた。1BnTIQ 以外にも多くの TIQ 誘導体が 1BnTIQ と共通の上記性質を持っていることも明らかとなっている。

最近、1BnTIQ の光親和性プローブを用いて 1BnTIQ が β -tubulin と結合することを見出したので、これについても発表する予定である。

地域特異的パーキンソンニズムに関する研究

PD 以外の関連疾患における原因神経毒候補として、カリブ諸島において摂取されている熱帯植物から TIQ 誘導体である reticuline, N-methylcoculaurine を検出した。また、これらが神経細胞死を誘導することを明らかにした。現在この地域のヒトサンプル中からの検出を試みており、熱帯植物中のこれら神経毒がこの地域特異的パーキンソンニズムの原因である可能性を追求している。

海洋汚染化学物質トリブチルスズに関する研究

TIQ 誘導体に加えて、海洋汚染化学物質トリブチルスズ (TBT) の神経毒性についても研究を行った。グルタミン酸受容体を豊富に発現している大脳皮質初代培養神経細胞において、環境レベルに近い濃度の 500 nM TBT によるグルタミン酸放出と引き続いて起こる神経細胞死の詳細を調べた。その結果、グルタミン酸放出には、早い段階での ATP 減少とそれにより起こる AMP-activated kinase (AMPK) の活性化が必要であることが明らかとなった。AMPK を阻害すると、ATP が減少しているにもかかわらず、グルタミン酸放出とそれに続く細胞死が抑制されることは興味深い結果であると考えられる。

また、ヒトで検出される濃度とほぼ同じ 20 nM TBT を培養 2 日目から 10 日目まで 9 日間慢性暴露した大脳皮質培養神経細胞において、正常細胞では細胞死を起ささない濃度のグルタミン酸により細胞死が起き

ることが明らかとなった。このメカニズムについて検討を行ったところ、グルタミン酸受容体の1種、AMPA受容体を構成するGluR2の発現が減少しており、これによりAMPA受容体のCa²⁺透過性が亢進している可能性が考えられた。

■平成19年3月23日

「神経疾患における活性酸素傷害とその制御」

熊本大学大学院医学薬学研究部病態情報解析学
教授 安東由喜雄

神経疾患における活性酸素傷害は、その病態に重要な影響を及ぼすことが広く知られ、さまざまな研究が行われている。今回のセミナーでは、神経疾患における活性酸素傷害に関する病態解析と、治療研究について、以下の項目について興味深いレクチャーが行われた。

- (1) SOD誘導体の開発と脳浮腫病態の制御
- (2) 有機水銀投与ラットにおける小脳顆粒層の変性機構の解析
- (3) 家族性アミロイドニューロパチー (FAP) における活性酸素傷害と治療
- (4) FAPの治療研究
 - (a) Cr³⁺のアミロイド形成抑制作用
 - (b) アミロイドーシスの新たな診断法および診断試薬の開発
 - (c) FAPの肝移植
 - (d) FAPの遺伝子治療
 - (e) FAPの抗体治療

■平成19年3月24日

「神経難病 [筋萎縮性側索硬化症]: その神経病理学的研究をとおして思うこと」

新潟大学脳研究所 所長 高橋 均

筋萎縮性側索硬化症 (Amyotrophic lateral sclerosis;

ALS) は、Charcot's diseaseともいわれるようにCharcotによってその臨床病理が確立された神経変性疾患である。孤発性、世界中むらなく3~5/100,000の罹病率、通常2~3年で死に至る病である。

●多系統を侵す疾患

ALSは真にMotor neuron disease(MND)なのであるか?それは、現在、病理学的には完全なまでに否定された概念である。ALSの脊髄を先入観なく観察すれば、MND?はごく自然な疑問である。そこでは、正常にみえるのは後索だけ、といっても過言ではなく、前側索を含め、皮質脊髄路以外の線維路にも軽度ながら変性が存在しているようにみえる。また、臨床的には比較的古くから痴呆を伴うALSの存在が知られていた。その側頭葉では、特徴的な分布を示す神経細胞脱落とユビキチン陽性の神経細胞内封入体の出現が指摘されている。ALSは病理形態学的には明らかに多系統を侵す疾患なのである。

●前頭側頭葉変性

よくわからない痴呆の症例ですが、との剖検依頼に、「この例は、Alzheimer病とは異なる前頭側頭葉痴呆(frontotemporal dementia)で、そこにはALS with dementiaと同じ所見があります」となると、主治医は「この例には、ALSの症状は全くありませんでしたが、」となる。あるいは、進行性の筋力低下で発症、経過が長ずるにつれて前頭・側頭葉に萎縮が明らかになる。筋力低下はあっても筋の萎縮はあるのか、ないのか。筋電図の所見はどうか。また、痴呆の有無は。そこには、ALSと関連するfrontotemporal lobar degenerationという概念が広がっている。

●ユビキチンノパチーからproteinopathy of TDP-43へ

今日、ALSは、MNDから多系統を侵す疾患であるとの認識を経て、さらに、また違った観点から見直されてきている。それは下位運動ニューロンと非運動ニューロンに共通して出現する胞体内凝集体の存在である。この凝集体、ユビキチンに陽性である。ごく最近、これらの凝集体がTDP-43という核内蛋白に陽性であることが同定された。ALSは臨床的には古典的な例(いわゆるCharcot's disease)がもつとも多いことに変わりはなく、依然としてMNDという側面が強調されて然るべきかもしれない。しかし、今日では、病理形態学的には“ALSはひとつのTDP-43プロテインノパチーという広いスペクトルを有する疾患”と考えて矛盾するものではない。

(1) Neumann M, et al. Ubiquitinated TDP-43 in

frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 2006, 314: 130-133

(2)Arai A, et al. TDP-43 is a component of ubiquitin-positive inclusions in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 351: 602-611

(3)Tan C-F et al. TDP-43 immunoreactivity in neuronal inclusions in familial amyotrophic lateral sclerosis with or without SOD1 gene mutation. *Acta Neuropathol* 2007; in press



(特別寄稿)

退官ご挨拶 ―平成 18 年度を振り返って―

衛藤 光明

平成 18 年は水俣病公式確認 50 年にあたり、水俣市・熊本県・当研究センターで実行委員会を結成して様々な行事を催しました。5 月 1 日の水俣病犠牲者慰霊式典では、例年を遙かに上回り、1,000 名以上の参加者のもとに粛々と執り行われました。当センターも写真パネル展示、一般市民へのセンターの公開を行いました。センター公開に際しては、多数の水俣市民の皆様のご参加を得て私達の日頃の研究内容への興味を示して頂き感謝申し上げます。また、市民の皆様へのサービスとして、毛髪水銀濃度の測定を致しましたところ大変喜んで頂く事が出来ました。今後ともお気軽にセンターを訪問して頂きたいと思えます。公式確認から 50 年を経過した現在でも水俣病犠牲者への償いが十分なされていない状態は異常としか言えません。早期解決を願って止みません。

本年度は水俣市・芦北郡医師会との共催の健康セミナーを 3 回開催致しました。第 8 回は「腰痛・膝痛」、第 9 回は「眼科疾患」、第 10 回は「ストレス」のテーマでしたが、回を重ねるに従って参会される方々が多くなり約 200 名に達するようになりました。今後も継

続する予定ですので振り返ってご参加下さいますようお願い申し上げます。

平成 18 年 8 月にはアメリカ合衆国ウイソコンシン州マディソンで国際水銀会議が催され、当センターから 9 名参加致しました。各自の研究発表も無事済ませると共に、新しい情報を得ることが出来ました。開会式では、水俣市で行われている水俣病公式確認 50 年のイベントと、子供達の水銀禍への思いを示した会場内の絵画展示に関する紹介をする機会を与えられ、無事大役を終える事が出来ました。学会参加の所員一同で、水俣病の情報発信の役目を果たしてくる事ができたと思えます。

平成 18 年 11 月にはアジア・オセアニア地区およびカナダ国から水銀汚染調査やその健康影響に携わっている研究者を招待してフォーラムを開催致しました。メチル水銀のみならず無機水銀中毒の被害が報告され、当センターの海外への指導・支援がさらに必要であることを実感致しました。

今後とも皆様の当センターへのご理解とご支援の程心よりお願い申し上げます。

衛藤光明所長退官記念講演 「約40年にわたる水俣病の病理学に関する追跡的研究」

1. はじめに：水俣病に係わることになったいきさつ (1968～1969年)

水俣病の公式確認は1956年5月1日、その原因がメチル水銀であることが政府統一見解として発表されたのは1968年9月でした。私は同年3月に熊本大学医学部を卒業致しました。卒業後の進路決定に際して、神経病理学に興味のあった私は、武内教室が水俣病の病理学的研究をしており、武内忠男教授が1959年以来熊本大学医学部第1次水俣病研究班で一貫して有機水銀中毒を唱え、最初に論文を発表しておられたことを知って勉学の場として魅力ある教室と思われました。当時の故松本英世助教授に、水俣病の末梢神経病変について、標本の作製という基礎の基礎から教わりました。

2. 水俣病患者を剖検して (1970～1974年)

1969年に、日吉フミコさんが一人の漁師さんを連れてこられました。その方が認定されず保留になっていると激怒してのことでした。末梢神経病変の確認を生存者で行うことは倫理的に極めて困難でしたが、武内先生は被検者のメリットが優先されるとのお考え。生検を決意され、対照例のないことを気にしておられましたが、当時34歳の水俣病認定患者さんが陽性対照として生検を申し出てくれましたので敢えて生検を断行しました。現在正常例の無いことを重大な瑕疵であるが如く避難する向きがあることは残念なことです。日吉さんの連れてこられた患者さんは、約1カ月後に胃潰瘍からの大量出血で亡くなられ剖検されました。驚いた事に典型的な水俣病病変が、大脳、小脳、末梢神経に認められたのです。結局、この漁師さんは、臨床所見、病理所見等の総合的な判断に基づき、水俣病と認定されました。病理学的重要性と責任とを認識させられました。1974年、ある患者さんの剖検の機会がありました。幼小児期に発症して約20年間植物状態で過ごし20歳半ばで亡くなられた女性でした。当時は原因不明であったために、ご家族は病気のお子さんに栄養をつけるためにと沢山の魚を食べさせました。その魚には多量のメチル水銀が含まれていたのです。重篤な

水俣病病変を確認し、怒りを抑えきれませんでした。剖検を許可して下さったご家族に心より弔意と感謝を申し上げます。この方の剖検が私に一生を水俣病の病理学的研究に捧げる決意をさせたと思っています。

3. 熊本大学医学部第2次水俣病研究班について (1973～1974年)

入局後4年のころ、まだハンター・ラッセル症候群に相当しない軽症水俣病患者が沢山いるようであるとのことで、武内教授を班長として熊本大学医学部の8教室に呼びかけ、第2次水俣病研究班が結成されました。メチル水銀の最も濃厚な汚染地区を対象に、1972年～1973年に「10年後の水俣病に関する疫学的、臨床医学的ならびに病理学的研究」を行いました。研究班が有明地区を対照地区（水銀汚染のない地域）としましたが、詳しい調査がなされない前に、有明地区における水俣病類似患者の存在を取り上げたマスメディアの報道が、第3水俣病事件を引き起こしました。これをきっかけとしていわゆる水銀パニックが起りましたが、その後、全ての環境汚染に対する対策が講じられるようになったと考えます。

4. 水俣病認定審査会委員就任の頃 (1974年11月～1984年10月)

第2次水俣病研究班の成果が、軽症水俣病の発掘と認定に大きく貢献しましたが、当時の研究班員であり、水俣病審査会の員であった精神科の立津教授、眼科の筒井教授、病理の武内教授は県知事から罷免される結果になり、後任として私は審査会委員となりました。当時認定申請者が申請中に亡くなられることが多くなり、病理解剖の診断結果を審査会に報告する立場でした。米国留学を機に審査委員を辞めることになりました。

5. 国立水俣病研究センター創設 (1978年10月)

第2次水俣病研究班の実績報告以来、当時の環境庁に動きが出始め、1973年5月に三木武夫環境庁長官が

水俣市に赴き、水俣に研究センターを設立する旨発表しました。10月には「水俣病治療研究センター（仮称）設立準備懇談会」が設置されました。私はこの時病理解剖室の設計に携わりました。立派な解剖室はできましたが、環境庁は認定患者以外は剖検してはいけないとのことで、これまでに一例も水俣病関係の剖検はなされていません。1978年10月に「国立水俣病研究センター」が設立されました。

6. 米国ワシントン大学神経病理学講座へ留学 (1984年9月1日～1985年8月31日)

1984年、米国シアトル市・ワシントン州立大学医学部に1年間留学しました。その当時、Cheng-Mei Shaw教授はアカゲザルでメチル水銀中毒実験をしていました。教授は、私に「水俣病の大脳病変の局在性が起こるのは何故か。アカゲザルでは大脳の深い脳溝の周囲に病変があるよ。その事実で水俣病の大脳病変の局在性を説明出来るがその病変がいつに起こるのかを調べるべきだ。」と言われました。その宿題を持ったまま帰国しました。

7. 国立予防衛生研究所（現：国立感染症研究所）へ 出向（1988年4月1日～1994年3月）

米国留学をきっかけに、それまで第2病理学教室のみで行ってきた水俣病関係の剖検は、熊本大学医学部の全ての病理学教室で対応することになりました。米国から帰国後は私がブレインカッティングを行い、熊本県で設置した病理解剖検討会で検討することになりました。私は、当時申請患者さんの全てを一手に引き受けていましたが、医学部全体の支援によって私の出向が可能になり、1988年に国立予防衛生研究所（予研）に転出致しました。熊本大学を出た直後に、熊本県から裁判証人になって欲しいと依頼されました。最初は福岡高等裁判所でしたが、一度証人になると、次から次へと裁判所に出廷せざるをえませんでした。約2年間は、裁判の主尋問、反対尋問、さらにその打ち合わせ等で研究所では義務的な検定関係の仕事以外は時間が取れなくなりました。当時予研では、感染症研究部門は新宿（戸山）へ、検定関係部門が武蔵村山に移転を前に、毎週、毎週会議が開かれており研究が出来る

状況ではありませんでした。

8. 国立水俣病研究センター（現：国立水俣病総合研究センター）へ赴任（1994年4月）

1994年に当研究センターに参りました。研究センターでは以前からコモン・マーモセットという小型サルを飼育していました。コモン・マーモセットでは大脳には二つの脳溝しかないが、その深い脳溝周囲の変化を観察することが出来るであろうとの期待から、当研究センターの安武 章生化学室長らと共にコモン・マーモセットの実験を開始した結果、メチル水銀中毒の初期大脳病変として脳浮腫が生じるものの、頭蓋骨は広がらないため、深い脳溝の周囲皮質が圧迫されて血行障害がおこり、脳の神経細胞に異常をもたらすことが解明されました。また、末梢神経病変も確認され、初期病変は軸索変性であることも証明出来ました。これらの貴重な研究結果は水俣病の病態に貢献するものと思われます。

今後は世界で進められている研究課題—低濃度メチル水銀の胎児への影響の有無—の解明が待たれます。

9. 最近の論文等の業績について

九州大学出版社から、「稀少疾患で将来に残しておきたい書物」として、水俣病が推薦されて、九州大学の中山宏明教授、宮崎大学の住吉昭信教授のご協力を得て、武内忠男先生との共著である“Minamata Disease-A tragic story of water pollution (1999)”が出版されました。この書物は100年後にも読まれる貴重な遺産となるであろうと考えています。水俣病の大脳病変の局在性を、コモン・マーモセットで解明できたことから、水俣病患者の視野狭窄の病因も解明できました。すなわち、視野の支配領域は後頭葉鳥距野の前位部が周辺視野を、後部位が中心視野をつかさどるために、深い脳溝のある前位部が髄質の脳浮腫によって、より強く当該皮質の循環障害をもたらすという理論で説明が可能になりました。また、末梢神経病変が、カニクイザルでは証明出来なかったにも関わらず、コモン・マーモセットでその初期病変を軸索変性であること、また、長期経過で末梢神経が再生していることを確認し、人体例と同

様の病変が証明できたことは重要です。この論文は Toxicologic Pathology (2002) に掲載されました。

10. 国水研在職中の国際学会参加記録

国水研に赴任した年の1994年の11月末開催されたリオ・デ・ジャネイロにおける「国際水銀ワークショップ」を皮切りに、公私あわせて16回の海外旅行を経験しました。その中でも、昨年(2006年)8月5日から11日まで米国ウイスコンシン州マディソンで開かれた「第8回国際水銀会議」の開会式で、水俣病公式確認50周年の日本でのイベントの紹介と世界6カ国から集められた、子供達の水銀中毒への思いの絵画が会場に展示されていました。展示に参加した水俣の小学生から高校生の紹介を兼ね約10分間の講演を行いました。大役に変緊張しましたが、無事終わることが出来ました。

11. おわりに (謝辞)

国水研在職の13年間、研究職員、事務職員、研究補助職員の皆様にご支援頂きました事、衷心より感謝申し上げます。環境省(庁)および熊本県庁の水俣病関係者の皆様方、水俣病の病理学的研究でご指導・ご鞭撻下さいました恩師武内忠男先生はじめ、旧熊本大学医学部病理学第二講座の先生方、Cheng-Mei Shaw 教授にお礼申し上げます。また、米国留学を勧めて下さった神経内科学荒木淑郎名誉教授、眼科学岡村良一名誉教授に深甚の謝意を述べたいと思います。これまで、熊本水俣病、新潟水俣病患者に関わった多くの方々の、影になり日向になり激励して頂いた関係者の皆様に感謝申し上げます。

平成19年3月31日

国立水俣病総合研究センター
所長 衛藤 光明



2. 所内研究発表会

- 平成 18 年 6 月 20 日
 - 衛藤 光明 (所長)
「水俣病 (メチル水銀中毒症) の病理学的研究 - 新潟水俣病剖検例を中心として -」
 - 蜂谷 紀之 (国際・総合研究部)
「水俣病の 50 年」
 - 山元 恵 (基礎研究部)
「金属水銀と SH 化合物の相互作用に関する電気化学的解析」

- 平成 18 年 7 月 18 日
 - 澤田 倍美 (基礎研究部)
「高濃度メチル水銀曝露マウスにおける病理学および行動学的検索」
 - 安武 章 (基礎研究部)
「毛髪中の無機水銀」
 - 坂本 峰至 (疫学研究部)
「妊娠期間中の母親毛髪中水銀濃度と児の毛髪、臍帯血、母体血中水銀濃度との関連に関する研究」

- 平成 18 年 10 月 31 日
 - 中村 邦彦 (基礎研究部)
「水俣湾の *Bacillus* 属細菌の水銀揮発化遺伝子」
 - 宮本 清香 (臨床部)
「外来リハビリ及び健康相談室の現状と今後の方針」
 - 藤村 成剛 (基礎研究部)
「Long-Term Exposure to Low-Concentration of Methylmercury Induces Neuronal Cell Death via Neurite Degeneration in Rat Cultured Neuron」

- 平成 18 年 12 月 5 日
 - 中村 政明 (臨床部)
「水俣病におけるバイオマーカーの探索」

- 平成 19 年 1 月 12 日
 - 宮本謙一郎 (臨床部)
「メチル水銀中毒の脳神経細胞障害におけるアスタキサンチンの防御効果」
 - 若宮 純司 (臨床部)
「水俣病神経所見の解析」
 - 村尾 光治 (臨床部)
「Behavioral toxicity of prenatal methylmercury exposure in *Macaca Fascicularis*」

■ 平成 19 年 1 月 30 日

永野 匡昭（基礎研究部）

「メチル水銀の脱メチル化反応における細胞間比較とそのメカニズムの検討」

本多 俊一（疫学研究部）

「妊娠ラット母体及び児へのメチル水銀曝露評価，及び水銀含有害廃棄物不適正処理における水銀汚染調査」

臼杵扶佐子（臨床部）

「メチル水銀による酸化ストレス傷害 -Glutathione 系, Thioredoxin 系への影響-」

■ 平成 19 年 3 月 16 日

劉 暁潔（疫学研究部）

「中国沿岸部住民の頭髮水銀レベル」

丸本 幸治（国際・総合研究部）

「原子吸光法による環境試料中メチル水銀分析法の高感度化」

松山 明人（疫学研究部）

「国内を代表する 4 土壌を用いた土壌中メチレーションの検討（途中経過）」

新垣たずさ（国際・総合研究部）

「公害発生地域の社会史について」

保田 叔昭（国際・総合研究部）

「ECD-GC によるメチル水銀測定時の妨害ピークについて」

平成 18 年度人事異動

年月日	新 職 名	氏 名	異動事由	備 考
18. 4. 1	国際・総合研究部 情報係長	山内 義雄	採 用	
18. 4. 1	総務課庶務係長	川久保 康範	配置換	総務課経理係長
18. 4. 1	総務課経理係長	下田 貴之	配置換	環境省地球環境局環境保全対策課 環境協力室
18. 4. 1	環境省自然環境局総務課	田中 秀志	配置換	総務課経理係
18. 4. 1	総務課経理係	井上 勉	配置換	環境省大臣官房会計課
18. 4. 1	環境省水・大気環境局総務課	山川 伸也	配置換	国際・総合研究部情報係
18. 4. 15	国際・総合研究部国際係長	永井 克博	配置換	関東地方環境事務所環境対策 課課長補佐
18. 9. 1	(独) 国立病院機構東京医療セ ンター作業療法士	黒木 静香	配置換	臨床部理学診療科室
18. 9. 1	臨床部理学診療科室	遠山 さつき	採 用	
19. 3. 31		衛藤 光明	定年退職	所長