

中枢神経障害発症における各種水銀化合物の複合影響の解明 (メタボロミクス法を用いたメチル水銀並びに水銀蒸気の複合曝露による 脳内因子プロファイル解析)

李辰竜 (生命薬学ユニット)

中枢神経障害を主症状とする水俣病が発生して以来、水銀の環境汚染に伴う健康被害は世界各国で大きな関心事になっている。最近、ブラジル・アマゾン川流域において金採掘に伴う水銀汚染によって健康被害が発生しており、アフリカ、アジア、東欧の金産出国でも同様な問題を抱えている。アマゾン川流域の小規模金採掘場において、金抽出に使用される金属水銀による環境汚染、そしてそれを使用する作業員への水銀蒸気曝露による健康影響とともに、その地域に住む幼少児の健康影響が問題視されている。金採掘地域の河川や土壌中からメチル水銀が検出され、この地区で採取された穀類のメチル水銀濃度が高いことが報告されていることから、魚介類摂取とともに米食によるメチル水銀曝露も懸念されている。小規模金採掘場周辺に住む幼少児は水銀蒸気曝露に加えてメチル水銀曝露も受けることになる。したがって、水銀蒸気またはメチル水銀単独曝露による影響評価のみならず、複合曝露による健康影響に関する研究が必要とされる。なお、生体内での様々な生理活性の調節には、DNAやRNA、タンパク質のような高分子物質のみならず、アミノ酸、有機酸あるいは脂肪酸といった低分子物質が深く関与している。低分子物質の解析はアルツハイマー病、自閉症または直腸がんの原因究明あるいは診断に用いられている。水銀のような有害物質の毒性発現機構にも、細胞内低分子物質の量的変動が関与している可能性が考えられる。そこで本研究では、メタボローム解析を用いて、金属水銀蒸気とメチル水銀の単独または複合曝露によって変動する低分子物質の同定を試みた。

4週齢(離乳直後)のC57BL/6J系統雌性マウスを、金属水銀蒸気またはメチル水銀に4週間単独および複合曝露させた。金属水銀蒸気は平均 0.162 mg/m^3 (最小 0.101 mg/m^3 、最大 0.252 mg/m^3)濃度で毎日8時間ずつ曝露し、メチル水銀は 5 ppm メチル水銀含有飲料水の自由摂取で曝露させた。曝露終了の翌日にエーテル麻酔下で脳、小脳および腎臓を回収した。回収した臓器の一部を用いて還元気化原子吸光度法により、水銀レベルを測定した。メタボローム解析は、オタワ大学(カナダ)のChan博士グループに依頼し、変動した低分子物質を質量分析機で解析した。

曝露終了後の脳内水銀レベルは、メチル水銀単独曝露群で $292.78 \pm 67.67 \text{ ng/g}$ 、金属水銀蒸気曝露群で $832.28 \pm 51.96 \text{ ng/g}$ 、複合曝露群で $1029.69 \pm 78.66 \text{ ng/g}$ を示し

た。小脳における水銀レベルは、メチル水銀単独曝露群で $224.97 \pm 54.91 \text{ ng/g}$ 、金属水銀蒸気曝露群で $1064.68 \pm 17.84 \text{ ng/g}$ 、複合曝露群で $1194.59 \pm 64.12 \text{ ng/g}$ を示した。また、腎臓の水銀レベルは、メチル水銀単独曝露群で $2872.15 \pm 305.02 \text{ ng/g}$ 、金属水銀蒸気曝露群で $4351.43 \pm 347.40 \text{ ng/g}$ 、複合曝露群で $6049.81 \pm 652.01 \text{ ng/g}$ を示した。いずれの臓器においても複合曝露群では、それぞれ単独曝露群に比べて水銀蓄積の有意な増加が示された。

それぞれ臓器内の変動低分子物質を網羅的に解析した結果、小脳ではメチル水銀曝露群において27物質が対照群に比べ量的変動を示し、金属水銀蒸気曝露により18物質の量的変動が認められた。複合曝露によっても28物質の量的変動が示された。大脳では、メチル水銀により25物質が、金属水銀蒸気により24物質が、また複合曝露により21物質が対照群に比べそれぞれ量的変動を示した。腎臓の場合、メチル水銀曝露により21物質が、金属水銀蒸気曝露により18物質が、また複合曝露により21物質の量的変動が示された。まだ1次スクリーニングの結果であるが、小脳においてAcetylphosphateがメチル水銀特異的な量的増加を示し、金属水銀蒸気によってはCarbarylが量的増加を、Cytidineが減少を示した。大脳では3-Hydrocarfuranの量が金属水銀蒸気特異的に減少した。また、腎臓においてはD-Galactosamine、Phenylacetyl glycineおよびErdosteineの量が金属水銀蒸気曝露により減少し、D-Urobilinがメチル水銀曝露により、O-Phospho-L-homoserineが複合曝露により量的な減少を示した。興味深いことに、CytidineはRNAを構成するヌクレオシドの一つであり、Cytidineの脱アミン化酵素(cytidine deaminase)が発がんに関係があると報告もされている。また、Erdosteineはチオール誘導体の一つであり、抗酸化作用を持つことや、シスプラチン誘導性の腎毒性や肝毒性に対して保護作用を示すことも報告されている。

今回のスクリーニングにおいて量的変動を示した低分子物質が水銀化合物の毒性発現に及ぼす影響を詳細に検討することで、水銀中毒による中枢神経障害の発現機構の解析に重要な手がかりを提供できるものと期待される。

研究成果発表

なし