

水銀高蓄積野生動物種における体内水銀と必須微量元素の母子間比較

寶來 佐和子（環境省 国立水俣病総合研究センター）、江口 藍（環境省 国立水俣病総合研究センター）、国末達也（愛媛大学 沿岸環境科学研究センター）

研究目的

微量元素による環境汚染は産業の発展において危惧すべき問題の一つとして挙げられる（Kershaw and Hall, 2019）。ATSDR は、ヒトの健康に最も重大な潜在的脅威をもたらす有害な環境化学物質をランク付けしており、数多く存在する化学物質のなかで、1 位から 3 位にヒ素、鉛、水銀、7 位にカドミウムがランクインしている（The ATSDR 2022 Substance Priority List）。母体の血液に含まれる重金属類は胎盤を通過することから、母体環境の変化に脆弱であることが考えられる発達途中の胎児（仔）へのこれら重金属類の影響が懸念される。母子間移行に関する研究は、血液を用いたものは数多く存在する一方、母親の曝露によって、どの程度胎児（仔）の臓器に蓄積するかに関する報告は僅少である（Vuoti et al., 2022）。

本研究の対象動物種であるファイリマングース(*Herpestes auropunctatus*) 体内の水銀レベルは、数種の海生哺乳類と同様に比較的高値を示し、水銀に対する防御機構の一種だと考えられる有機水銀の無機化と水銀とセレンの関係も同様のパターンを示す（Horai et al., 2006; Horai et al., 2022）。しかしながら水銀による毒性影響の報告はみとめられていない。これらのことから、本種を水銀高蓄積野生動物のモデル動物とみなし、自然曝露による母仔間の微量元素移行に関する基礎的知見を得ることを目的とした。

研究内容

試料

ファイリマングース成獣 50 検体（オス 5 検体、メス 45 検体）、そのうちのメス 10 検体の胎仔 26 匹を分析に供試した。成獣から肝臓、腎臓、大脳、全血、肺を、胎仔から肝臓、腎臓、大脳、全血、肺を収集した。分析まで、 -80°C で保存した。

方法

微量元素分析方法

全血以外の臓器組織は、凍結乾燥機（FDU-12AS ; ASONE , Osaka Japan）を用いて乾燥させ（ -45°C , 24 時間）、その後、均一な粉末にしたものを乾燥試料として扱った。乾燥試料約 0.1 g を秤量したものに HNO_3 を 3 mL 添加し、加熱分解を行い、超純水で約 25 g に希釈した。その溶液試料を ICP-MS (Agilent 7500cx) を用いて (Mg、V、Cr、Mn、Fe、Co、Cu、Zn、As、Se、Mo、Cd、Pb) の測定を行った。また Hg 分析は Yoshimoto et al. (2016) の方法に従って溶液試料を作成し、加熱気化原子吸光法にて T-Hg および O-Hg を測定した。

統計解析

GraphPad Prism 9.5 を用いて、2 変量解析（体重 - 濃度間関係、元素間関係、臓器間関係、母親全血 - 胎仔臓器中濃度間関係）に Spearman の順位相関係数検定を、2 群間の有意差検定（母 - 胎仔臓器中濃度、雌雄、胎仔脳/母血 O-Hg 濃度比 1 群-2 群）に、Mann-Whitney 検定を用いた。有意水準は $p < 0.05$ とした。

研究成果（結果と考察）

母仔臓器中総水銀と有機水銀濃度を比較した結果、母親で有意に総水銀濃度が高値を示した臓器は肝臓 ($p < 0.0001$) と腎臓 ($p < 0.0001$) であり、有機水銀は腎臓 ($p < 0.01$) のみであった。上記以外の臓器である大脳、肺、全血の有意差はみられなかった。このことから、肝臓と腎臓の総水銀濃度と腎臓の有機水銀濃度は、年齢蓄積性を示すことが示唆された。

次に母親と胎仔で有機水銀濃度に有意差がみられなかった大脳に焦点を当て、体内有機水銀の供給源となる全血と大脳中の有機水銀濃度の関係を解析し、成獣（青プロット）と胎仔（オレンジ）で比較した（図 1）。両者とも強い正の相関を示した一方、傾きは、成獣よりも胎仔で小さかった。このことは胎仔期脳における有機水銀の取り込みは、成獣のそれよりも小さいことを意味し、従って胎仔期の血液 - 脳関門はすでに機能していることが示唆された。

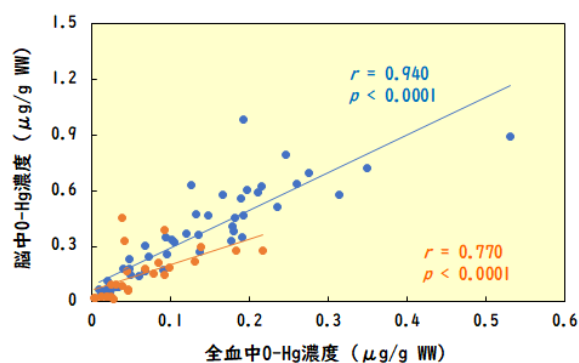


図1 成獣と胎仔における全血と脳中有機水銀濃度の関係

母親の曝露によってどのような元素が胎仔に蓄積しうるかを明らかにするため、母親全血と胎仔臓器（肝臓・大脳）との関係を解析したところ、総水銀、有機水銀、コバルト、ヒ素が両臓器で、鉛は大脳において正の相関を示した。有機水銀の標的器官が中枢神経系であることから、母親の全血と胎児大脳中有機水銀濃度の関係をさらに解析した（図 2）。ヒト母親毛髪における胎児への無影響濃度 11ppm を血液中濃度に変換した 0.044ppm を超過した 6

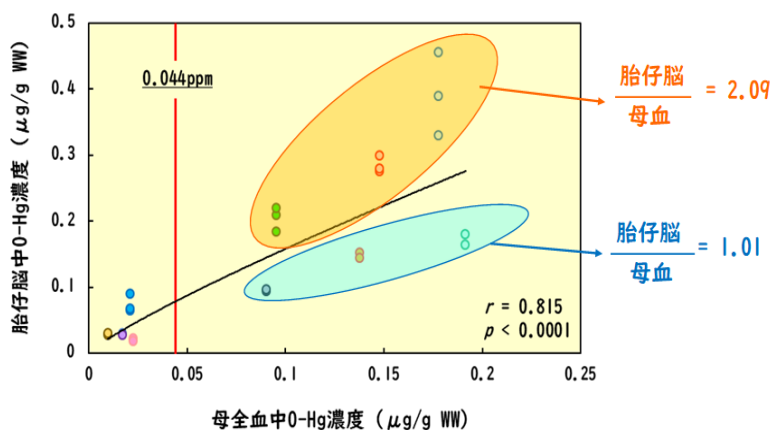


図2 母親全血と胎仔脳中有機水銀濃度の関係

ペアに注目すると、胎仔脳/母血比が約2のグループと約1のグループが存在した(図2)。これら2群間の微量元素濃度や蓄積パターンを比較解析することで、有機水銀の脳への移行のし易さとし難さの特徴を明らかにできると考えた。両群の肝臓および脳における微量元素濃度を比較したところ、胎仔脳/母血比≒2の群における脳中総水銀と有機水銀濃度が胎仔脳/母血比≒1の群よりも有意に高値を示し、これは予想通りの結果であった(図3上)。

一方、肝臓では、これら濃度以外に、Hg/Seモル比と有機水銀/総水銀(%)が胎仔脳/母血比≒2の群で有意に高値を示し、ヒ素濃度が胎仔脳/母血比≒1の群で有意に高値であった(図3下)。そこで、これらについてさらに解析を進めた。これまで成獣肝臓においてHgとSeの正の相関が報告されてきたが、胎仔においても有機水銀とセレン間で正の相関がみられた(図4右上)。

一方、脳では相関関係は示されなかった。また、ヒ素と有機水銀濃度間できわめて強い負の相関が示された(図4左上)。胎仔脳/母血比≒1と≒2の2群間でヒ素とセレン濃度の関係を解析したところ、どちらも相関は見られなかったものの、傾きが類似していた(図4左下)。

また、両群でセレン濃度に違いがないことも見てとれた。ヒ素濃度と総水銀に対する有機水銀の割合(%)の関係を解析すると、両群とも相関はなかったもの

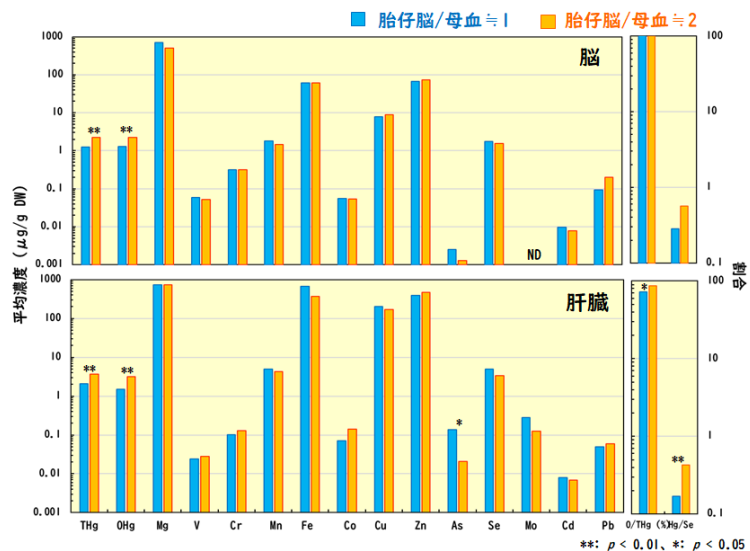


図3 2群間における胎仔脳および肝臓中元素濃度の比較

の相関が報告されてきたが、胎仔においても有機水銀とセレン間で正の相関がみられた(図4右上)。一方、脳では相関関係は示されなかった。また、ヒ素と有機水銀濃度間できわめて強い負の相関が示された(図4左上)。胎仔脳/母血比≒1と≒2の2群間でヒ素とセレン濃度の関係を解析したところ、どちらも相関は見られなかったものの、傾きが類似していた(図4左下)。

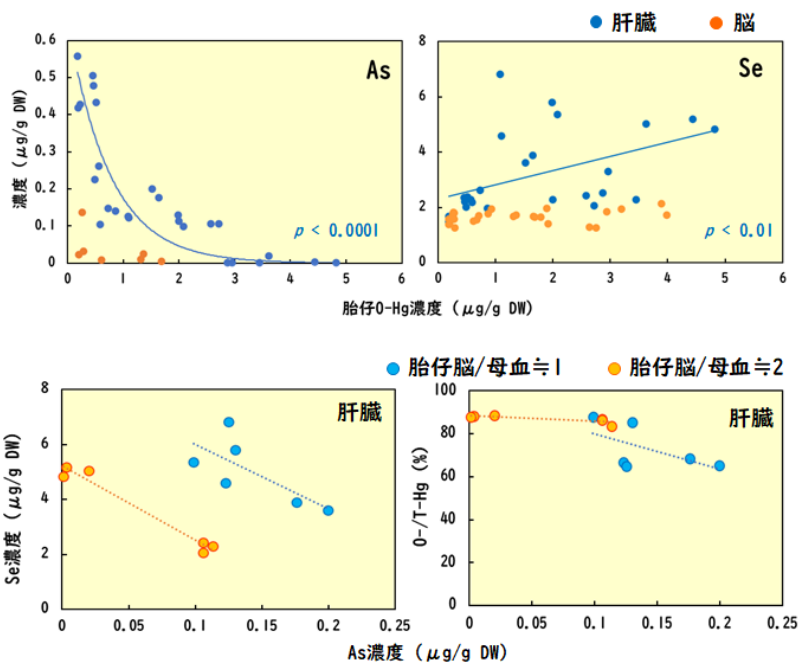


図4 胎仔におけるO-HgとAs・Se濃度の関係

の、胎仔脳/母血比≒1 の群では、総水銀に対する有機水銀の割合が低い傾向がみられた。これらのことから、胎仔脳中有機水銀レベルには、肝臓での有機水銀の無機化能とヒ素濃度が関与している可能性が推察された。ヒ素と水銀間の関係性に関して、私たちが調べた限りこれまでに報告はない。今後、胎仔肝臓における有機水銀の代謝と脳内レベルの関係に焦点を当て、現象の究明に取り組みたい。

本研究で供試したマングースは飼育管理されていないため、胎仔の週齢が不明であり、収集される胎仔の発育ステージにもばらつきがあった。そこで、まず胎仔大脳と肝臓における体重と臓器濃度との関係を解析し、それらの結果をもとに交絡因子となりうる関係性を排除し、解析を行った上での上記報告である。また、胎仔脳/母血比≒1 と 2 の群における体重差および雌雄差の関係因子は除外した。

参考・引用文献

Kershaw, J., and Hall, A. (2019) Mercury in cetaceans: Exposure, bioaccumulation and toxicity. *Sci. Total Environ.*, 694.

Yoshimoto, K., Thi Van Anh, H., Yamamoto, A., Koriyama, C., Ishibashi, Y., Tabata, M., Nakano, A., Yamamoto, M., (2016) Simple analysis of total mercury and methylmercury in seafood using heating vaporization atomic absorption spectrometry. *J. Toxicol. Sci.*, 41.

Vuoti, E., Palosaari, S., Peräniemi, S., Tervahauta, A., Kokki, H., Kokki, M., Tuukkanen, J., Lehenkari, P. (2022) In utero deposition of trace elements and metals in tissues. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 73127042.

Horai, S., Minagawa, M., Ozaki, H., Watanabe, I., Takeda, Y., Yamada, T., Ando, T., Akiba, S., Abe, S., Kuno, K. (2006) Accumulation of Hg and other heavy metals in the Javan mongoose, *Herpestes javanicus*, captured on Amamioshima Island, Japan. *Chemosphere*, 65:657-65.

Horai, S., Abiko, Y., Unoki, T., Shinkai, Y., Akiyama, M., Nakata, K., Kunisue, T., Kumagai, Y. (2022) Concentrations of nucleophilic sulfur species in small Indian mongoose (*Herpestes auropunctatus*) in Okinawa, Japan. *Chemosphere*, 295.

成果発表

論文発表

Horai S., Murakami S., Sakoda A., Nakashita, R., **Kunisue K.**, Ishimori Y.: Environmental monitoring of trace elements and evaluation of environmental impacts to organisms near a former uranium mining site in Nigyo-toge, Japan. *Environ. Monit. Assess.*, 2022; 194: 415.

学会発表

1. 寶來佐和子, 怒和亜里寿, 児玉芽依, 山田格, 田島木綿子, 松石隆, 国末達也: 鯨類を指標生物とした水銀汚染の経年変化解析, 第30回環境化学討論会, ハイブリッド開催, 富山, 2022年6月14日-16日.

今後の問題点

水銀高蓄積種であるフィリマンダースの母仔間において、母親の有機水銀曝露が胎仔脳中レベルにどの程度反映するかを明らかにすることができた。今後、鯨類など、ほかの水銀高蓄積種における有機水銀の母胎仔間の関係を明らかにすることが、ハイリスクアニマル特定の要因になることを検証する必要がある。