

メチル水銀曝露による健康影響に関するレビュー

主任研究者 仲井邦彦（東海学園大学・スポーツ健康科学部・教授）

研究要旨

水俣病の発見（1956年）から今年で67年が経過し、現在の日本で水俣病に相当する健康被害を引き起こすレベルのメチル水銀汚染はもはやない。一方で世界に目を向けると、自然界および人為的起源からの水銀排出が続いており、人為的起源による汚染を抑制するため「水銀に関する水俣条約」が締結された。人の健康影響に着目すると、低レベルのメチル水銀曝露であっても、胎児など感受性が高い集団での影響が公衆衛生学的に重要な課題となり、出生コホート研究の成果が報告されてきた。ただし、近年では成人の一般集団においても低レベルの曝露により様々な健康リスクが報告されており、低レベル曝露による健康リスクの再評価が議論の対象となっている。本研究では、環境と人曝露を中心に過去1年間に出版された科学文献を対象にレビューを実施し重要と思われる課題を整理するとともに、新たにメチル水銀の毒性メカニズムの知見について、動物実験および細胞実験に関する文献レビューに取り組んだ。

環境については、地球規模の水銀汚染、特に発展途上国における小規模金鉱山に関わる汚染と人への曝露影響について整理した。人の健康リスクについては、周産期曝露の影響に関して、出生体重への影響に関するメタ解析の結果が報告され、関連性はないとする結論であった。水俣条約の有効性評価におけるヒトモニタリングについて既存の調査事例を整理したが、人の曝露レベルは低減傾向にあることが示され、その背景には摂取する魚介類の種類と量が重要な要因であることが改めて示された。水俣病の原因物質としてメチル水銀とは異なる代謝物の関与が前年度に報告されており、その文献の引用度調査を実施した。最後に、動物実験などを中心にメチル水銀の毒性メカニズムの整理を目的として系統的なレビューを開始した。

キーワード:メチル水銀、水銀、水俣条約、地球環境問題、毒性メカニズム、レビュー

研究協力者

村田勝敬（秋田大学・名誉教授）
岩田豊人（秋田大学医学系研究科・衛生学公衆衛生学・講師）
荻田香苗（杏林大学医学部・衛生学公衆衛生学・教授）
菅田慎一（杏林大学医学部・衛生学公衆衛生学・助教）
坂本峰至（国立水俣病総合研究センター疫学・所長特任補佐）
原口浩一（国立水俣病総合研究センター疫学・主任研究員）
篠田 陽（東京薬科大学薬学部・公衆衛生学教室、准教授）
秋山雅博（慶應義塾大学薬学部・創薬研究センター・特任講師）
外山喬士（東北大学薬学研究科・代謝制御薬学分野・助教）
岩井美幸（国立環境研究所・環境リスク・健康研究センター・主任研究員）
柳沼 梢（尚絅学院大学総合人間科学系・健康栄養学類・准教授）
龍田 希（東北大学医学系研究科・発達環境医学分野・准教授）
安里 要（東北大学医学系研究科・発達環境医学分野・助手）

I 研究目的

我が国はメチル水銀曝露による重大な健康被害である水俣病を経験したことから、これまでメチル水銀の健康影響に関する様々な情報を発信してきた。さらに、地球規模の水銀汚染の深刻化を受け、水銀利用に関する国際条約である「水銀に関する水俣条約」(Minamata Convention on Mercury) の具体化を推し進め、2013年に水俣条約として熊本で採択・署名された(2017年に発効)。ただし、このメチル水銀の有害性について、曝露量と症候の関連性、安全レベル設定の手法に加え、毒性メカニズムの詳細については未解明な部分が残されている。

そこで本研究では、地球規模の水銀汚染と密接な小規模金鉱山周辺の環境汚染および人の健康影響(主に金属水銀)、一般集団におけるメチル水銀曝露とその健康影響、さらに曝露回避に必要なリスクコミュニケーションに関わる最新情報の収集と整理を実施しレビューすることで、水銀汚染に関わる現代的な課題を明らかにし、日本が行うべき情報発信、国際協力のあり方について基礎的な資料の提供を目指した。なお、人曝露については、胎児期曝露に関連した神経行動学的指標がもっとも鋭敏なアウトカムと考えられることから、胎児期曝露を中心に文献検索を進めたが、最近では成人においても低レベルのメチル水銀曝露と健康指標との関連性が指摘されていることから、成人についてもレビューを実施した。さらに、水俣病の原因物質について、メチル水銀以外の水銀化合物(α -mercury-acetaldehyde)ではないかとする報告が出ており¹、その文献の引用状況について追跡を行った。最後に、メチル水銀の毒性メカニズムについて、これまでの知見を整理しどのような機序が想定されるのかを検討することを目的とし、主に動物実験および細胞実験に関する文献レビューに取り組んだ。

II 研究方法

文献データベースMedline (PubMed) を用いて文献検索しレビューを行った。検索対象は2021年中に検索できた文献とし、発刊が2022年であっても電子版が2021年中に入手できた場合は検索対象とした。さらに、動物実験および細胞系の実験系の知見に基づいて毒性メカニズムの整理を目的とし、過去に遡って文献検索を実施した。文献検索の詳細な方法は、各章で加筆した。

(倫理面への配慮)

本研究は公開された文献を対象とする調査であり、研究対象者への倫理的配慮は必要としない。

III 研究結果

1. 文献数の推移

水銀およびメチル水銀に関する研究文献数の推移を把握することを意図し、国際的な文献データベースであるMedline (PubMed) を活用し、PubMedから提供されている「Results by year」ツールを活用し集計した。

検索対象の雑誌として、PubMedに掲載されている全雑誌について検索するとともに、近年はWeb出版の利便性を悪用した掲載料による利益を意図した出版社が一部に存在することから(predatory publishers)、各分野の主要雑誌を絞った検索も実施した。主要雑誌は次の通り選定した。第1に、直近1000件の水銀関連文献をJournal名でソートし、上位からIFが3.0以上の雑誌を選出した。第2に、その中にEnvironmental Health Perspectives誌および日本衛生学会の英文誌(Environmental Health Preventive Medicine誌)

が漏れることから、この2つの雑誌を追加した。第3に、今回の文献レビューで取り上げられた文献が掲載されている雑誌のうち、IFが3.0以上の雑誌を追加した。その結果、43誌が指標雑誌として選定された (Table 1-1)。

表 1-1 検索対象の主要雑誌のリスト (43 誌) とその Impact Factor

Journal	IF	Journal	IF
1 Nature Reviews Immunology	53.106	23 International Journal of Molecular Sciences	5.924
2 Diabetes Care	19.112	24 Mikrochimica Acta	5.833
3 Nature Communications	14.919	25 Journal of Environmental Sciences	5.565
4 Biosensors and Bioelectronics	10.618	26 Marine Pollution Bulletin	5.553
5 Journal of Hazard Materials	10.588	27 The Journal of Biological Chemistry	5.157
6 Environment International	9.621	28 The Analyst	4.616
7 ACS Applied Materials & Interfaces	9.229	29 Environmental Geochemistry and Health	4.609
8 Environmental Health Perspectives	9.031	30 Metallomics	4.526
9 Environmental Science & Technology	9.028	31 Scientific Reports	4.379
10 Environmental Pollution	8.071	32 Environmental Science and Pollution Research	4.223
11 Science of the Total Environment	7.963	33 Toxics	4.146
12 Food Chemistry	7.514	34 Spectrochimica Acta Part A: Molecular Biomolecular Spectroscopy	4.098
13 Chemosphere	7.086	35 Journal of Trace Elements in Medicine and Biology	3.849
14 The American Journal of Clinical Nutrition	7.045	36 Environmental Toxicology and Chemistry	3.742
15 Analytical Chemistry	6.986	37 Biological Trace Element Research	3.738
16 Journal of Environmental Management	6.789	38 Environmental Health and Preventive Medicine	3.674
17 Analytica Chimica Acta	6.558	39 Materials	3.623
18 Environmental Research	6.498	40 ACS OMEGA	3.512
19 Ecotoxicology and Environmental Safety	6.291	41 International Journal of Environmental Research and Public Health	3.390
20 Talanta	6.057	42 PLOS ONE	3.240
21 Food and Chemical Toxicology	6.023	43 International Archives of Occupational and Environmental Health	3.015
22 Environmental Health	5.984		

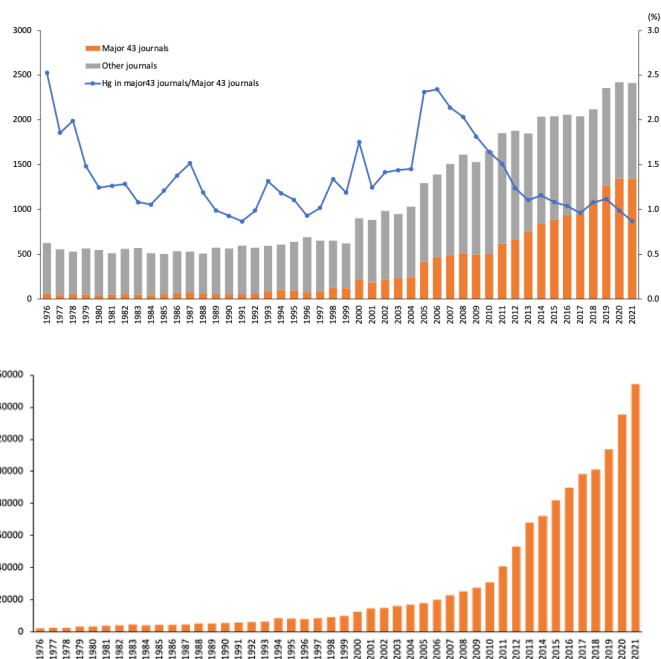


Figure 1-1 PubMedで検索されるメチル水銀関連の文献数の推移. 上段：全雑誌および主要43誌に掲載された水銀関連の文献数と、主要43誌の総文献数に占める水銀関連の文献の割合、下段：43誌に掲載された総文献数（水銀に限らず）の推移を参考として示した。

メチル水銀（および水銀）の文献数の推移について、“mercury”、“methylmercury”および“methyl mercury”により検索を実施した。全雑誌に加え、主要43雑誌の文献数の

推移をFigure 1-1（上段）に示したが、どちらの検索においても文献数は増加が観察された。ただし、雑誌掲載の総論文数も増加しており、43誌に掲載された総文献数の推移をFigure 1-1（下段）に示した。そこで43誌について、総文献数における水銀関連の文献数の割合を計算しFigure 1-1に追加した（折れ線グラフ）。総文献数に占める水銀論文の割合は、例えば2000年1.75%、2010年1.64%、2020年0.99%であり、1~2%程度を占めていること、傾向としては2004~2005年に増加したが、その後は減少する傾向となっていることが示された。2013年10月に締結された水俣条約の締結に向けて水銀関連の文献数が増加し、現在も文献数そのものは増加しているものの、総文献数に占める割合は漸減傾向にあるものと思われた。

主要43雑誌のうち、ヒトを対象とした文献数を“Human”で絞り込んだ推移（Figure 1-2）、そのうち日本から発信された文献数を“Japan [Affiliation]”で絞り込んだ結果（Figure 1-3）をそれぞれ示した。いずれも文献数として増加傾向が示された。全文献に対するヒトを対象とした文献は、2000年33.0%、2010年27.1%、2020年37.4%で、増減する年代はあるものの、2009年以降は増加傾向がみられた。日本に限定した場合は、2000年30.8%、2010年50.0%、2020年34.9%と年代による差が大きかった。日本における2021年の主要43雑誌に掲載された文献数は41報であり、そのうちヒトを対象とした文献は16報（39.0%）であった。

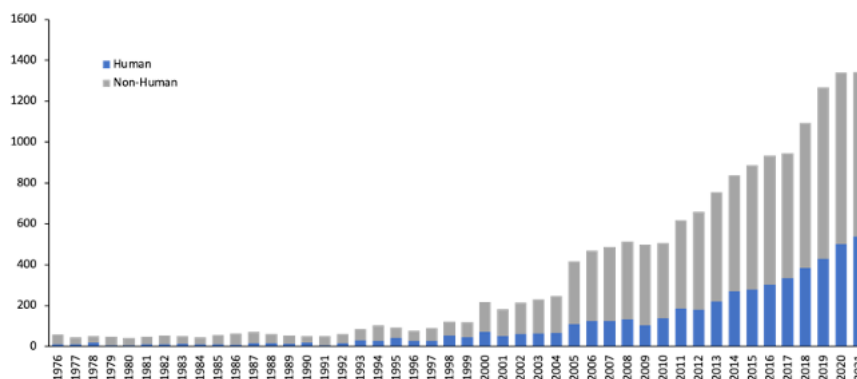


Figure 1-2 主要43雑誌掲載の調査対象別にみたメチル水銀関連のPubMed上の文献数の推移

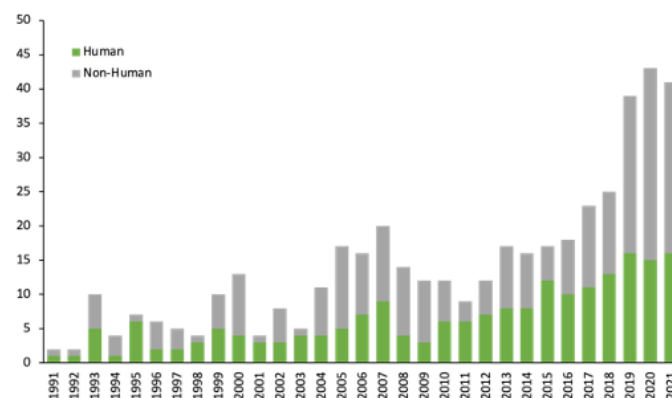


Figure 1-3 主要43雑誌掲載に掲載された日本から発信された調査対象別の文献数の推移

2. 地球環境における水銀汚染

地球規模における水銀汚染について、野生生物における水銀汚染、小規模金鉱山に起因した水銀環境汚染、および水俣条約に関連するレビュー作業を実施した。

2-1) 野生生物

地球環境の生物（野生生物）への水銀の影響のうち、慢性曝露による影響に該当するもので、2021年に発行された3つの文献（アマゾンで自然由来の水銀汚染を受けた水鳥と猛禽類、南極で自然由来の汚染を受けた鳥、石炭灰の流出物等を介して海で水銀汚染を受けた魚に関する文献）についてレビューを実施し報告する。

世界の様々な地域に棲む野生生物の生理、行動、生殖機能に水銀曝露の影響が及んでいることが報告されている。南アメリカの野生生物に関しては、海鳥や海岸線に棲む生物の水銀濃度を調べた報告はあるが、陸内の野生生物を調査したものは少ないのが実情である。

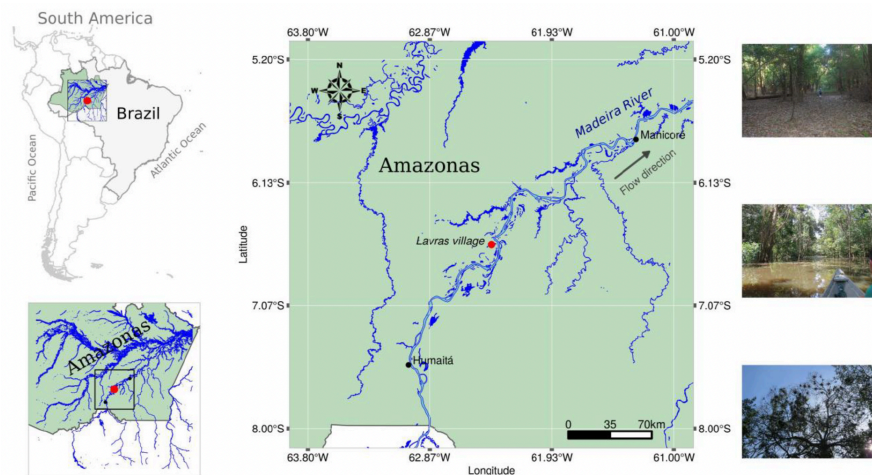


Figure 2-1-1 Study area showing the geographic locations of nest birds in the middle Madeira River (Brazilian Amazon).

Dias Dos Santosら²は、内陸部にあるアマゾン西部のマデイラ川流域 (Figure 2-1-1) で人間活動でなく自然活動由来の水銀汚染が確認された地域に生息する水鳥6種と腐肉食鳥 (Figure 2-1-2) の体内の水銀濃度を調べた。水鳥6種はいずれも河川や湖沼などに生息し、魚や昆虫などを捕食する。クロコンドルは主に水鳥を含む動物の死骸を食べる。2017年7月の低水期に、227個体の水鳥（エリジロサギ85羽、ユキコサギ12羽、ダイサギ70羽、アメリカヘビウ23羽、ナンベイヒメウ28羽、ヒロハシサギ9羽）とクロコンドル30羽を収集し、羽毛、血液、脳、肝臓、腎臓、心臓、筋肉、肺が摘出された。羽毛およびその他の臓器より水銀（冷蒸気原子吸光分光光度計）とメチル水銀（冷蒸気原子蛍光分光計）によって測定した。その結果、第1に、総水銀濃度に関して、筋肉と羽毛の間、もしくは脳と羽毛の間に相関関係が認められ、羽毛の水銀濃度は筋肉や脳への水銀曝露を推定する指標となることが示された。第2に、羽毛中の水銀濃度に関して、クロコンドル（ $9.93 \mu\text{g/g}$ [湿重量/湿重量]）は水鳥（ $3.07 \sim 4.05 \mu\text{g/g}$ [湿重量/湿重量]）より高く、これは食物連鎖上の地位と合致した結果であった。第3に、羽毛の総水銀濃度と体重の間、および羽毛の総水銀濃度と成長段階の間に相関は無かった。つまり体重が大きいほど羽毛中の総水銀濃度が高いことはなく、また成鳥とひな鳥における羽毛中の総水銀濃度の間に有意差はなかった。第4に、羽毛中の総水銀濃度は、内臓、血液、脳の総水銀濃度より高く（羽毛 > 肝臓 > 腎臓 > 肺 > 心臓 > 筋肉 > 血液 > 脳）、各内臓の総水銀濃度（例：肝臓 $2.86 \mu\text{g/g}$ 、腎臓 $1.00 \mu\text{g/g}$ 、脳 $0.29 \mu\text{g/g}$ ）は、陸上野生生物に水銀毒性を与える閾値（肝臓 $23 \mu\text{g/g}$ 、腎臓 $16 \mu\text{g/g}$ 、脳 $3.79 \mu\text{g/g}$ ）より低い値であった。羽毛と筋

肉の総水銀濃度比は、羽毛：筋肉＝16.34：1に対して、家禽類は4:1であり、脳の総水銀濃度に関して、五大湖に棲むハクトウワシのデータを引用し比較すると、本研究の対象鳥の脳の総水銀濃度は $0.119 \mu\text{g/g}$ （以下、湿重量/湿重量）、ハクトウワシは $0.616 \mu\text{g/g}$ であり、低いことが示されている。なお、本論文では統計手法の詳細な記述が省かれているため、上記では検定名やp値の情報を記述していない。



Figure 2-1-2 調査対象となった鳥類（写真出展は Wikipedia による）

南極フルマカモメは過去数十年個体数を減らしている。自然環境に棲む様々な鳥に関して、羽毛、もしくは体内の水銀濃度と生体影響の関連を報告する文献は蓄積されつつあるが、それらの間の関連の有無は種によって異なっていた。そこで、Carravieriらは、産卵前後の南極フルマカモメにおける水銀とBMI（本論文ではSMI [scaled mass index]と表記される）、卵重量、ふ化率などとの関連について調査した³。これまでに、南極フルマカモメへの水銀の影響を調べた報告はない。南極大陸のドロンニングモードランド（南緯71度53分、東経51度10分）を中心とする地域に棲む南極フルマカモメ（Figure 2-1-3）の羽毛の水銀濃度は、 $2.41 \pm 0.83 \mu\text{g/g}$ （平均値±標準偏差）であり、血中の水銀濃度は、 $1.38 \pm 0.43 \mu\text{g/g}$ （平均値±標準偏差）であった。羽毛の濃度は、極地に棲む他の鳥の羽毛の水銀濃度のうち、数種のペンギンの 0.33 から $0.75 \mu\text{g/g}$ （平均値）より高く、トウゾクカモメの $2.91 \mu\text{g/g}$ （平均値）と近い値であり、スジハラアシナガミズナギドリ（ $5.47 \mu\text{g/g}$ （平均値）より低い値であった。ただし、これら先行研究では生体影響は調べられていない。羽毛中の水銀濃度の違いは、生息する地域の生態系と各鳥の換毛形式の違いによるものと考察されている。本研究の対象である南極フルマカモメの水銀濃度はオキアミ類を多く食べるものほど低く、イカ・魚類を食べるものほど高いという食性の違いに依存していた。例として血中の水銀濃度と食性（窒素安定同位体分析による食物連鎖網の位置）に関するデータを示す（Figure 2-1-4）。ただし、測定された水銀濃度と雌親のBMI、卵重量、ふ化率の間に有意な関連は認められなかったことから、著者らは、南極フルマカモメの個体数の減少の要因について、水銀の曝露量ではなく今回調べることができなかった自然環境要因にあると推測している。ただし、今回の解析は、残留性有機汚染化学物質などの体内蓄積量の影響は考慮されていない。さらに、先行研究によると、フロリダに棲む水鳥のダイサギとシロトキにおいて、羽毛中の水銀濃度（4から $13 \mu\text{g/g}$ [平均値]）と雄の営巣行動の間に有意な負の相関が認められ、また、南極に棲む水鳥のユキドリにおいて、血中の水銀濃度（ $2 \mu\text{g/g}$ [平均値]）とコルチコステロン（ヒト以外の動物で副腎から分泌される抗ステロイドホルモン）や雄の行動異常の間にそれぞれ有意な正の相関が認められ、一方、北アメリカに棲むミツユビカモメ、ニシツメドリ、ウミガラスの血中水銀濃度（ 2.9 から $18.6 \mu\text{g/g}$ [平均値]）と生体や行動の間に関連は観

察されなかったことが紹介されており、水銀曝露の影響に関して、南極フルマカモメのふ化後の幼鳥及び親鳥の行動やホルモンの変化を追跡調査する余地が残っていると考えられる。

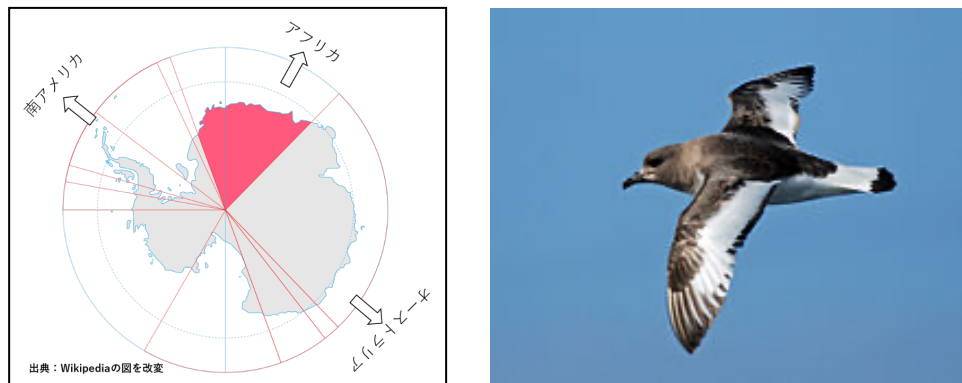


Figure 2-1-3 ドロンニングモードランドおよび南極フルマカモメ (wikipedia)

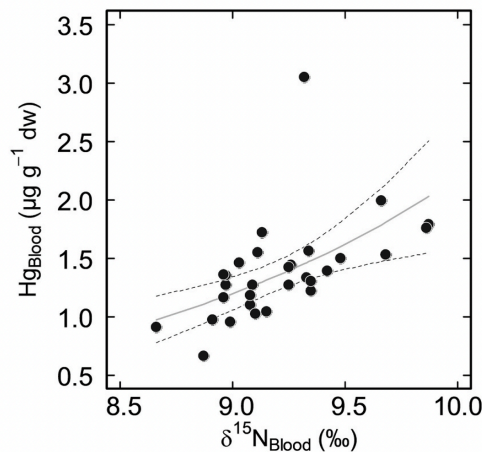


Figure 2-1-4 Relationship between red blood cell Hg concentrations (Hg_{Blood}) and red blood cell $\delta^{15}N$ values ($\delta^{15}N_{\text{Blood}}$) in egg-laying Antarctic petrels from Svarthamaren, Antarctica. Coefficient estimates and confidence intervals of the represented model are given in Table S3.

南フロリダ周辺の海域では、都市部ごみ処理施設や石炭火力施設由来の水銀による海洋汚染が報告されている。同海域に棲むAtlantic Goliath Grouper (ゴリアテグループパー, Figure 2-1-5) は近年大幅に個体数を減少させていたが、その原因として乱獲、海水温の変化、人為起源の環境汚染などが挙げられていた。Malinowskiら⁴は、個体数減少と水銀濃度の関連を調べるために、フロリダ沖でゴリアテグループパー (体長57~219cm、年齢4~19齢) の全血、卵、精子、筋肉、肝臓の水銀濃度を調査した。産卵期前 (5月)、産卵期 (7月から9月)、産卵期後 (10月) に合計510尾捕獲し、試料を採取したのち海に返した。総水銀の平均濃度 (湿重量) は肝臓 ($6.18 \mu\text{g/g}$) > 筋肉 ($1.12 \mu\text{g/g}$) > 精子 ($0.41 \mu\text{g/g}$) > 卵 ($0.39 \mu\text{g/g}$) > 血液 ($0.20 \mu\text{g/g}$) の順に高く、メチル水銀濃度は筋肉 ($1.03 \mu\text{g/g}$) > 精子 ($0.47 \mu\text{g/g}$) > 肝臓 ($0.31 \mu\text{g/g}$) > 卵 ($0.29 \mu\text{g/g}$) > 血液 ($0.18 \mu\text{g/g}$) であった。このうち筋肉中の水銀濃度 ($1.12 \mu\text{g/g}$) は、メバチマダロ $0.69 \mu\text{g/g}$ 、メカジキ $1.00 \mu\text{g/g}$ より高く、メバチ (サバ科) $1.45 \mu\text{g/g}$ より低い値であった。従って、フロリダ沖のゴリアテグループパーは、他魚種と比べて高濃度の水銀に曝露されていると結論された。実験室レベルにおいて、魚類への水銀曝露試験では、曝露量

の増加が胚の死亡率上昇と精子の運動障害の原因となったことが示されており、筋肉組織での総水銀濃度が0.5から1.0 $\mu\text{g/g}$ 以上で観察されている。従って、ゴリアテグループ（筋肉中の濃度1.12 $\mu\text{g/g}$ ）は、生殖毒性を示す濃度の水銀に曝されていると推察された。また、雌の産卵前後における生体水銀濃度の比較により、水銀が卵に移行したと推測されるデータが得られている (Figure 2-1-6)。全血の総水銀濃度は、ヘマトクリット値と負の相関を示し、好中球とリンパ球と正の相関を示し、肝臓の総水銀濃度は肝臓におけるマクロファージ凝集体の数と正の相関を示した。この結果は、ゴリアテグループでは、生体の水銀濃度が増加するにつれ免疫機能に何らかの影響を与えていた可能性がある」と推測された。本研究は、ゴリアテグループが自然界のなかでも比較的高い濃度で水銀に曝露され、その濃度は生殖毒性と免疫毒性をもたらすほど高いことが示唆された。つまり、乱獲や自然環境の変化だけでなく、水銀の曝露もゴリアテグループの個体数減少に影響を与えていることが示唆された。



Figure 2-1-5 ラリアスグループは、太平洋と大西洋に生息する巨大なハタの1種で、50年近く生きることができ、大西洋では繁殖期だけフロリダ近海に集結することが知られる。近年、絶滅が懸念されている。

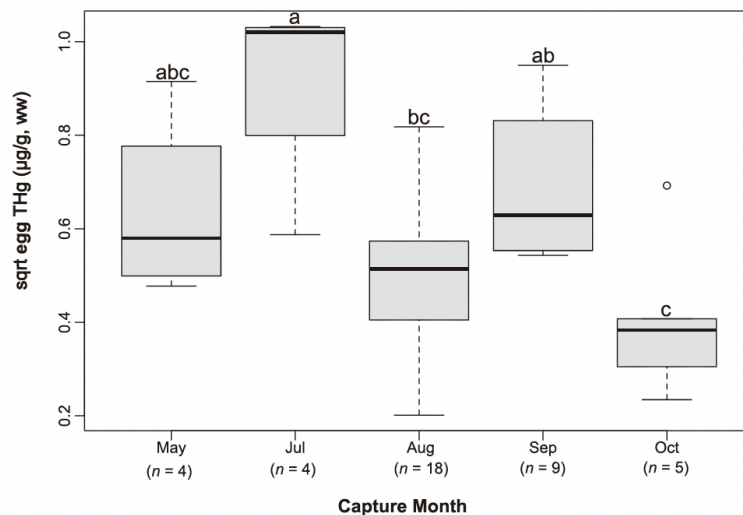


Figure 2-1-6 Boxplots showing significant ($p < 0.05$) differences in mean egg total mercury (THg) concentration ($\mu\text{g/g}$, ww) in Atlantic Goliath Grouper *Epinephelus itajara* by pre-spawning month (May), peak spawning months (July–Sep), and post-peak spawning month (Oct). Different letters mark significant differences. Note: ww=wet weight, THg=total Hg (sum of methyl-Hg and inorganic Hg). Range=vertical dashed lines, median=bold horizontal lines in box, first quartile=area below the line in the box, third quartile = area above the line in the box. The upper and lower ends of the nominal data range is defined as the respective interquartile distance (IQD) ± 1.5 IQD. Open circles=points that fall outside of this range.

2-2) 小規模金鉱山に関連した環境問題

小規模金鉱山における金の精錬作業で水銀が利用される場合があり、その工程で水銀蒸気などとして環境に放出された水銀が地球規模における水銀の重要な汚染源となっている。小規模金鉱山と関連する水銀問題を検索するため、PubMedで {[mercury[Title] or methylmercury[Title]} and {gold mining[all field] or goldmining[all fields]} により検索し文献レビューを行った。2021年中に発刊された文献は41編が確認され、その内訳をFigure 2-2-1に示した。Figure中では、調査地と筆頭著者の国別の集計も行った。



Figure 2-2-1 小規模金鉱山に関連し 2021 年中に発刊された文献の概要. 調査地の国と論文筆頭著者の国別の集計を行った。例：コロンビア 2 編 (同/カナダ) とは、コロンビアで調査が行われた文献が 2 編あり、その筆頭著者はコロンビア 1 編、カナダ 1 編であることを示す。

41編のうち一般的な総説2編、方法論に関する報告1編を除くと、人の健康影響に関する報告6編、人の曝露レベルのモニタリング調査7編、鉱山労働者の曝露レベルなどに関する報告4編、鉱山周辺の環境モニタリング調査に関する報告21編であった。特徴として、①鉱山周辺の住民の曝露レベルまたは健康影響に関する報告はブラジルを筆頭に南米からの報告が中心であること、②アフリカではガーナに関する報告が多いこと、③研究の主体に着目すると筆頭著者の多くは調査地の研究者であること、④日本の研究者が筆頭著者として関与した報告は2編であること、であった。健康影響に関する報告ではブラジルからの文献が5件と多いものの、そのうち4件は同一グループによる報告であり、ブラジルアマゾンのムンドゥルク族居留地で実施した調査結果について、測定指標ごとに報告したものである⁵⁻⁸。41編のうち、スリナム共和国およびムンドゥルク族居留地で実施された疫学調査並びにガーナより報告された環境モニタリングに関する総説について紹介する。

スリナム共和国は南アメリカ北東部に位置し、フランス領ギアナとブラジルなどと接し、面積、人口共に南アメリカで最小の独立国である。経済的には鉱業に強く依存し、輸出の上位はボーキサイト（アルミナ）>金>魚介類・石油となっている。内陸部に小規模水銀鉱山があり、地域住民を汚染していると考えられている。そこで内陸部と首都

周辺で登録された既存のコホート調査の登録者351名を対象として、流産、早産、低体重またはアプガースコア低値から不利な出産結果 (abnormal birth outcome; ABO) を判定して目的変数とし、先住民族 (32%が先住民族) に属するか、毛髪水銀値が高いか、を説明変数として解析した⁹。毛髪水銀の値は、先住民族で7.9 $\mu\text{g/g}$ (IQR 3.7-11.0) に対し、対照群1.4 (0.7-2.3) であり、先住民族で高かった。ただし、多変量解析でABOと関連した指標は、水銀レベルではなく先住民族であり (Table 2-2-1)、その背景には教育歴や社会経済的要因の寄与が大きいことが示唆された。すなわち、水銀曝露の有無との関連性は観察されなかったことが報告されている。実際に、先住民族のグループは、必ずしも水銀汚染がある地域より選ばれているわけではなく、既存のコホート調査のデータを活用して解析した報告と考えられる。

Table 2-2-1 Crude and adjusted odds ratios (OR) with 95% confidence intervals (95% CI) for adverse birth outcomes and for preterm birth.

Adverse Birth Outcomes (Yes vs. No)					Outcome Preterm Birth (Yes vs. No)				
Crude model	μ -Value	Crude OR	95% CI		Crude model	μ -Value	Crude OR	95% CI	
			LB	UB				LB	UB
Indigenous vs. Tribal	0.039	1.72	1.03	2.87	Indigenous vs. Tribal	0.035	1.91	1.05	3.47
Adjusted model with all covariates	μ -value	Adjusted OR	95% CI		Adjusted model with all covariates	μ -value	Adjusted OR	95% CI	
Indigenous vs. Tribal	0.007	3.11	1.36	7.08	Indigenous vs. Tribal	0.017	3.23	1.24	8.44
Paramaribo vs. Interior	0.820	1.12	0.44	2.86	Paramaribo vs. Interior	0.366	1.67	0.55	5.07
Age in years	0.517	0.99	0.94	1.03	Age in years	0.004	0.92	0.87	0.97
Parity no vs. 1+ previous live births	0.319	1.44	0.70	2.97	Parity no vs. 1+ previous live births	0.220	0.58	0.24	1.39
Education primary or not vs. secondary and up	0.649	0.82	0.35	1.92	Education primary or not vs. other	0.793	0.88	0.33	2.35
Household income <1500 vs. other	0.767	0.88	0.39	2.02	Household income <1500 vs. other	0.414	0.67	0.25	1.76
First antenatal visit <12 vs. 12+ weeks	0.541	0.81	0.41	1.61	First antenatal visit <12 vs. 12+ weeks	0.533	0.78	0.36	1.71
Hg exposure	0.119	0.92	0.83	1.02	Hg exposure	0.357	0.95	0.84	1.06
Final adjusted model (stepwise procedure)	μ -value	Adjusted OR	95% CI		Final adjusted model (stepwise procedure)	μ -value	Adjusted OR	95% CI	
Indigenous vs. Tribal	0.001	3.60	1.70	7.63	Indigenous vs. Tribal	0.004	3.43	1.48	7.96
Hg exposure	0.011	0.88	0.80	0.97	Hg exposure	0.027	0.88	0.79	0.99
					Age in years	0.040	0.95	0.91	1.00

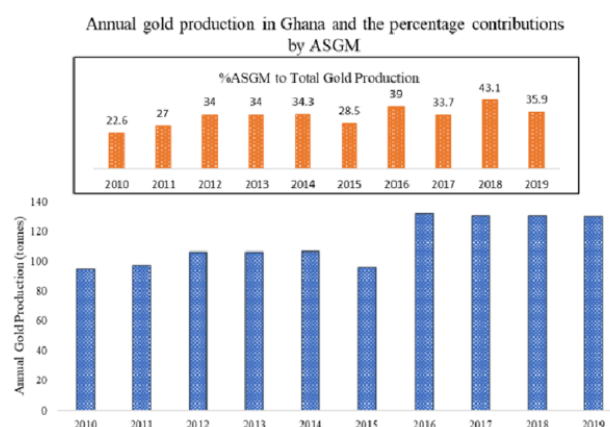


Figure 2-2-2 Annual gold production in Ghana and the percentage contributions by ASGM (Minerals Commission 2019; The Ghana Chamber of Mines 2019)

一方で、ブラジルのパラ州とアマゾナス州、タパジヨス川とマデイラ川周辺に居住する先住民族であるムンドウルク族の居留地での横断調査⁶では、200人の調査参加者に対してインタビューを実施し、毛髪水銀値を測定した (1.4から23.9 $\mu\text{g/g}$ 、6.0 $\mu\text{g/g}$ 以上を曝露群とすると57.9%を占めた)。曝露群 (12歳以上) において、学歴、収入、所属する地域を考慮した多重ロジスティック回帰分析により高血圧 (PR : 1.6; CI95% : 1.3-2.1)

と関連することが示され、アマゾンにおける金の違法採掘を阻止し、先住民の健康を確保することが重要と結論されている。ただし、このムンドゥルク族を対象とした横断調査では、12歳以下（44%を占める）を除く集団で解析を行なっているが、それでも年齢幅が広いこと、さらに三つの村から構成されているが地域差も大きいこと（地域は変数として組み込まれているもの）から、結果の解釈では慎重な取り扱いが必要かもしれない。なお、ムンドゥルク族居留地の報告については、うつ傾向⁵でも紹介する。

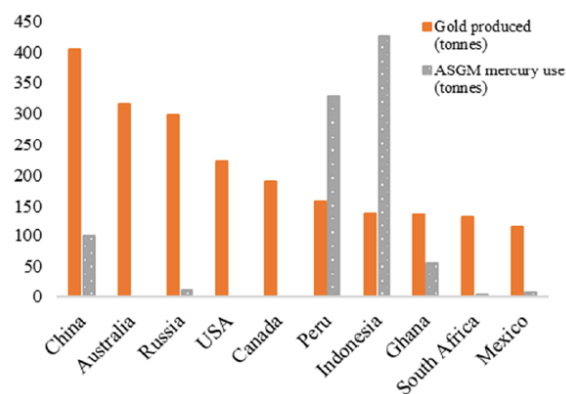


Figure 2-2-3 Top 10 gold mining countries in the world and their average annual Hg use in ASGM (AMAP/UN Environment 2019; The Ghana Chamber of Mines 2019).

ガーナ共和国は西アフリカに位置し、農業（カカオ）と鉱業（金や石油）などの1次産業に依存する産業構造を有し、中でも最大の輸出品は金が占めている（石油が第2位）。Saim¹⁰によりガーナ共和国を含めた金採掘状況が報告されており、金生産は現在も増加しており (Figure 2-2-2)、世界との比較でもガーナによる金生産量は世界8位 (Figure 2-2-3)、アフリカの中では第1位 (Figure 2-2-4) である。ガーナにおける金生産に占める小規模金鉱山の割合の推移は概ね3割くらいである (Figure 2-2-2)。この報告によると、小規模金鉱山が金精錬に占める割合では、インドネシアとペルーが多いことが示されている。一方で、アフリカの中では、スーダンに次いでガーナで小規模金鉱山の割合が多い。

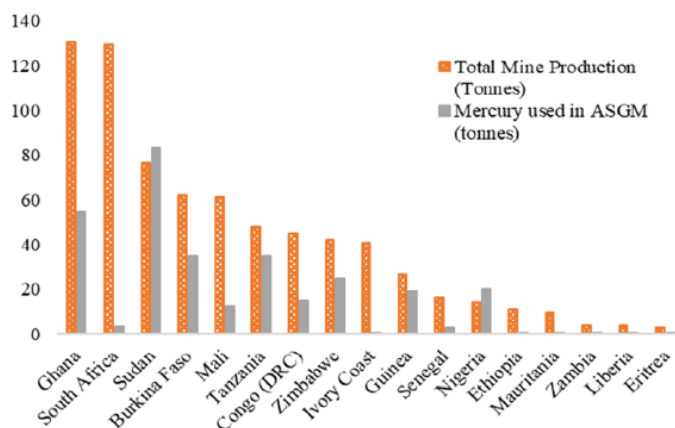


Figure 2-2-4 Top 17 gold mining countries in Africa and their average annual Hg use in ASGM (AMAP/UN Environment 2019; The Ghana Chamber of Mines 2019). Fig. 4 Estimated annual Hg use in Ghana (UNEP 2013; AMAP/UN Environment 2019)

ガーナにおける環境試料中の水銀汚染に加え、水銀鉱山に従事する労働者の58.4%が水銀の職業性曝露の許容値 (blood Hg \geq 5 μ g/L) を超過していること、鉱山周辺の淡水域で採取される魚の60%で1 μ g/gを超え、住民でも水銀曝露があることが述べられている。水銀による環境汚染を抑制するため、ガーナでは小規模鉱山のライセンス化を進めており、1350ある鉱山のうち900余に対してライセンスを発行するとともに、金精錬の非水銀化を進めており、近年は水銀の環境放出がやや減少していることが示されている。ただし、非合法の小規模金鉱山の存在が大きな課題とのことである。

Table 2-3-1 ヒト・バイオモニタリングの実施国とバイオマーカー

国	調査名	バイオマーカー
ベルギー	環境健康調査 (FLEHS)	毛髪
カナダ	健康対策調査 (CHMS)	血液、尿
チェコ共和国	環境衛生モニタリング (CZ-EHMS)	血液、尿、毛髪
フランス	幼少期からの縦断研究 (Elfe) 全国栄養調査 (ENNS)	毛髪
ドイツ	環境保健調査 (GerES) 環境試料バンク (ESB)	血液、尿
韓国	国民環境健康調査 (KNEHS) 国民健康栄養調査 (KNHANES)	血液、尿
スロベニア	全国ヒト・バイオモニタリングプログラム (SLO-HBM)	血液、尿、母乳、毛髪
スウェーデン	食品摂取調査 (Riksmaten)	血液
米国	国民健康栄養調査 (NHANES)	血液、尿

Basuら¹¹のTable S1を一部改変

2-3) 水俣条約および有効性評価

水俣条約の締約国は条約の有効性評価のためにヒト・バイオモニタリングプログラムを実施することが求められており、2021年11月にインドネシアで開催されたCOP4においてもその重要性が再確認されている。全国レベルでのヒト・バイオモニタリングの既実施国は9カ国である (Table 2-3-1)。このうちスウェーデン、韓国および中国から論文として報告されておりレビューを実施した。

スウェーデンでは、食品庁 (Swedish National Food Agency) が全年齢を対象に血液中水銀のモニタリングを行っているが、今回紹介した文献はスウェーデン中部のUppsala市の初産婦の毛髪水銀レベルの継続調査である。全国レベルの代表性はないものの、脆弱な部分集団に焦点を当てたという意味で重要な知見と考えられる。Uppsala大学病院で出産した初産婦655名の毛髪中総水銀の23年間の測定結果を解析し、水銀濃度の変化とその濃度に影響を及ぼす因子が報告されている¹²。母親の毛髪中の水銀濃度の中央値は、1996年が0.38 mg/kg (範囲0.17-1.5)、2019年が0.25 mg/kg (範囲0.03-1.1)であった。この期間、毛髪中総水銀量の年間減少率は-2.5%であった (Figure 2-3-1)。米国NRCのTDIの0.1 μ g/kg体重 (毛髪1 mg/kg相当) を超えた女性は全体の3%未満であった。母親は平均して月に11 \pm 8.2食の魚を摂取しており、魚の摂取量は毛髪中の総水銀と正の相関があっ

た（スピアマン積率相関係数：0.39； $p < 0.001$ ）。魚の総摂取量は、2011年までは増加し（0.32回／月）、その後は減少に転じ（-0.66回／月）、調査期間の大半としては魚の摂取量が増加していたことになる。毛髪中水銀濃度の減少は水銀濃度の低い海産魚や養殖サケの消費の増加によるものと考察されている。毛髪中総水銀および魚の摂取量は、いずれも母親の年齢および教育歴と正の相関があり、妊娠前BMIとは逆の相関であった。これらの傾向は先行研究¹³⁻¹⁵の結果と一致し、スウェーデン中部の都市では魚を介したメチル水銀への曝露は徐々に減少していると結論されている。

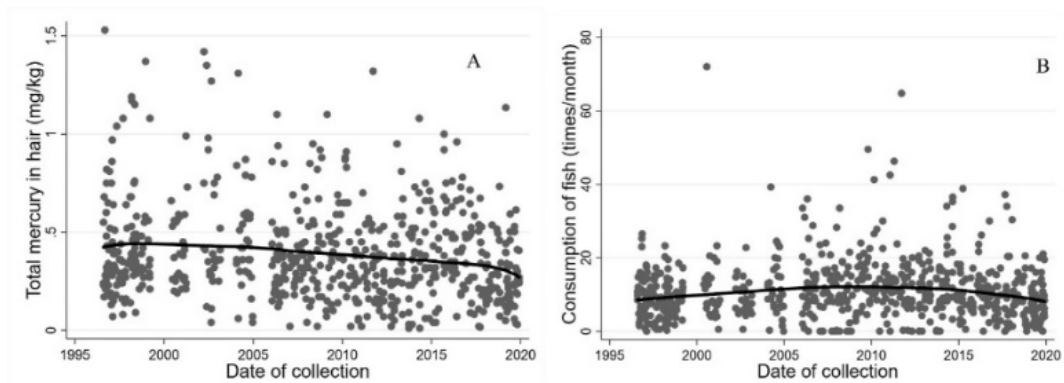


Figure 2-3-1 Scatter plots with smoothed lowess lines indicating decreasing concentrations of total hair mercury (Jonckheere-Terpstra trend test $p < 0.001$) in Swedish primiparous women from 1996 throughout 2019, in combination with B) a trend of increasing total fish consumption up until 2011 ($p < 0.001$) after which it started to decline ($p = 0.001$).

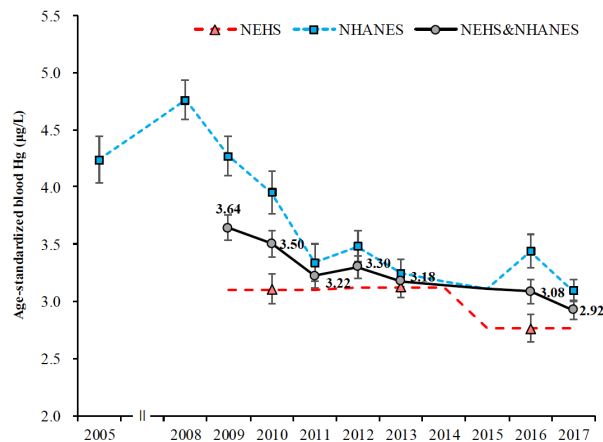


Figure 2-3-2 Geometric mean profile of blood Hg concentration in integrated data using method 1; KNEHS, Korean National Environmental Health Survey; KNHANES, Korea National Health and Nutrition Examination Survey.

韓国国立環境研究所（KNIER）が実施する国民環境健康調査（NEHS）と、韓国疾病管理予防センター（KCDC）が実施する国民健康栄養調査（NHANES、米国NHANESと区別するため、本報告ではKNEHSまたはKNHANESと記載する）を統合して、曝露レベル（血液中総水銀濃度）の年ごとの傾向と最新の分布が報告されている¹⁶。KNEHSとKNHANESのヒト・バイオモニタリングプログラムは2005年から実施されており、これらのプログラムでは十分な人口規模の無作為抽出が行われており、標本が全国を代表するように設計されている。水俣条約の第22条に基づく有効性評価、とくに地理的、時間的変化の評価に有用である。血中水銀および鉛を年齢で標準化した幾何平均値は、2008年にはそれぞれ $3.64 \mu\text{g/dL}$ および $2.06 \mu\text{g/L}$ であったが、2017年にはそれぞれ $2.92 \mu\text{g/dL}$ および $1.55 \mu\text{g/L}$ に減少した

(Figure 2-3-2)。しかしながら、米国の血中水銀濃度 ($0.68 \mu\text{g/L}$) および鉛濃度 ($0.92 \mu\text{g/dL}$) と比較すると、依然として高いレベルにあった。特に、血中水銀濃度の参照値 $5 \mu\text{g/L}$ (ドイツHBM-Iの参照値) を超える割合は調査対象者の20.8%であった。超過率は、男性、高年齢、喫煙、飲酒、高収入、教育水準の高さと関連して高くなった。年齢に関しては、60歳台までは直線的に増加し、70歳台以降は減少するという傾向が見られた。このことから、今後もバイオモニタリングを継続し、水銀を含む有害金属の削減と曝露管理を行う必要があると結論されている。

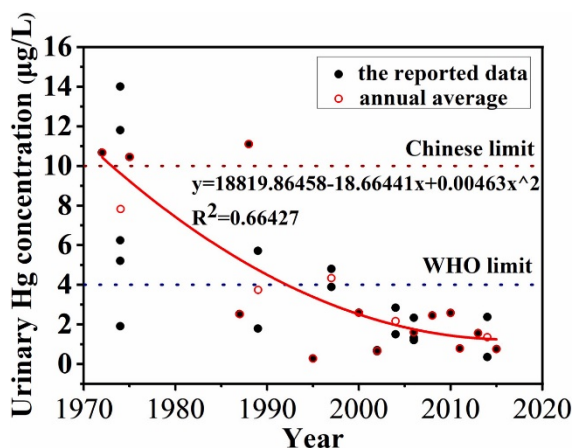


Figure 2-3-3 The temporal trend of urinary Hg in the general public in China from 1970s to 2010s.

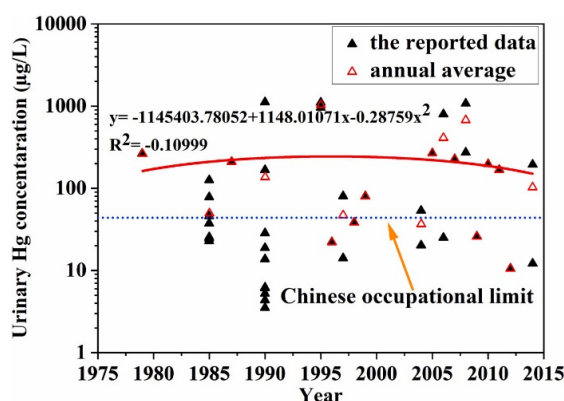


Figure 2-3-4 The temporal trend of urinary Hg levels in occupationally exposed people in China from 1970s to 2010s.

中国より、1970～2010年代に報告された尿中水銀レベルを一般市民と職業曝露者ごとに集計し、時間的傾向を解析した総説が報告されている¹⁷。中国の一般市民の尿中水銀濃度は、その92.3%が中国保健当局の推奨する参照値 $10.0 \mu\text{g/L}$ (PRC Ministry of Health 1996) を下回っており、76.9%が世界保健機関 (WHO) の推奨する基準値 ($4.0 \mu\text{g/L}$) を下回っていた。過去40年間に徐々に低下し1970年代の1/4に低下した (Figure 2-3-3)。尿中水銀濃度の低下には市街地の水銀発生源であった非鉄金属の精練工場の移転が寄与したのではないかと考察されている。一方で、職業曝露者の多くは尿中水銀濃度が一般市民の参照値 ($10.0 \mu\text{g/L}$) を超えており、半数は中国の職業衛生基準で定めた職業曝露限界 $35.0 \mu\text{g/g creatinine} \approx 43.8 \mu\text{g/L}$ (PRC Ministry of Health 2006) を超えていた (Figure 2-3-4)。職業曝露者の尿中水銀濃度は1970年代から上昇し、その後ゆっくりと低下した。クロルアルカリ製造での水銀の不使用や労働条件の改善が寄与したこ

と、ただし職業曝露者からは高濃度の尿中水銀が今でも検出されていることから、注意が必要であることが考察として述べられている。なお、中国の参照値などは以下による。

WS/T 26, “Urine. Determination of mercury. Cold atomic absorption spectrometric method-II”, 1996, Ministry of Health, PRC.

WS/T 265, “Biological limit value for occupational exposure to mercury”, 2006, Ministry of Health, PRC.

ところで、尿中の総水銀濃度からは主に無機および金属水銀への直近（1-2ヵ月）の曝露に関する情報が得られる。尿の採取は、毛髪と同様、容易でかつ非侵襲である。さらに分析費用が比較的安価である。そのため資源の乏しい環境にも適している。有効性評価のガイダンス案でも、小規模金採掘鉱（ASGM）、クロルアルカリ工場、歯科診療所の労働者、あるいは特定製品の利用者（歯科用アマルガム、一部の美白クリーム、壊れた蛍光灯やその他の廃棄物など）の曝露集団の特定に推奨されている。中国の総説で得られた情報は、ASGM、クロルアルカリ産業といった特定汚染源からの水銀負荷の状況を理解するうえで有用であり、水銀に関する水俣条約の実施に関する今後の有効性評価の基礎となるものと考えられた。

Table 3-1-1 胎児期曝露に関する疫学調査の報告. 上段が神経発達を指標とする研究で、下段はその他のアウトカムで整理した。

Authors	Country	n	Age	Index	Exposure	Outcome	Results P
神経発達指標							
1 Strain JJ. et al.	Seychelles	1237	7y	maternal hair	Median 2.89 ppm	BNT, CBCL, SRS, SCQなど	関連なし
2 Nyanza EC. et al.	Northern Tanzania	439	6, 12m	maternal blood	Median 1.2 µg/L	MDAT	負の関連あり
3 Garí M. et al.	Polad	436	7y	maternal hair	Median 0.18 µg/g	SDQ, IDS	行動と負の関連あり、IQと関連なし
4 Rothenberg SE. et al.	China	264, 190	12, 36m	maternal hair	Median 0.40 µg/g	BSID-II	負の関連あり
5 Lee KS. et al.	South Korea	726	4, 6y	maternal blood	GM 2.49 µg/L	KEDI-WISC	関連なし
6 Julvez J. et al.	6コホートを統合	1298	6-11y			CPM, ANT, N-Back task	正の関連あり
その他の指標							
7 Wang G. et al.	US	1512	21y	maternal blood	Median 3.4 (早発病) µg/l 2.0 µg/l	思春期早発症	思春期早発症と関連あり
8 Cediel Ulloa A. et al.	Seychelles	406	7y	maternal hair	Median 3.52 ppm	唾液中のDNAのメチル化	CpG部位のメチル化と関連あり
9 Carrasco P. et al.	Spain	1347	4y	cord blood, hair	GM 8.23 µg/L (cord), 0.97 µg/g (hair)	アレルギー症状	アレルギーとの関連なし
10 Lozano M. et al.	Spain	742, 385	9, 11y	child hair		CBCL, CPRS-R:S	Postnatalの影響を調べた論文
11 Pan WK. et al.	Peru	250	36-48m	maternal / cord blood		今後検討	コホートのプロトコル論文
12 Iwai-Shimada M. et al.	Japan	468	-	maternal / cord blood	maternal blood median 4.66 ng/g		無機とメチルの割合

3. 人への曝露と健康影響

3-1) 胎児期曝露の影響

メチル水銀に対して神経系の感受性が高く、特に発達期にある中枢神経系が影響を受けやすいことがわかっている。このため、低濃度の曝露であっても、胎児はメチル水銀曝露による健康影響が懸念される。かつて、メチル水銀曝露による胎児性水俣病が報告され、母親には健康影響が観察されない場合でも、生まれた子どもに重篤な神経障害が見られることがわかった。胎児のメチル水銀に対する感受性が高いことを示す事例の1つといえる。このため、胎児期の低濃度曝露に起因する健康影響は、メチル水銀を巡る環境保健学の中で重要な課題となっており、世界各国で妊娠女性および出生した子を対象とした疫学調査が実施されている。

2021年に、胎児対象とする疫学研究について、PubMedを用いて[exposure and methylmercury and child development]と検索すると27編が抽出され、さらに[prenatal exposure]で絞り込むと13編となった。そのうち神経発達を取り扱う文献は6編であった。

残り7編のうち、プロトコル論文を除く6編はその他の指標を取り扱う文献であった。Table 3-1-1に神経発達指標とその他の指標に分けて整理した。

デンマーク領フェロー諸島では、住民のタンパク源として鯨を多食していた。この地でGrandjeanらによる疫学調査が進められており、胎児期のメチル水銀曝露は、7歳、14歳、22歳における言語、記憶、注意、運動などの能力が低下することが報告された。このことから、胎児期のメチル水銀曝露の健康影響は生涯に渡って観察されると考えられている¹⁸。一方、Davidsonらは魚介類を多食するインド洋の島国であるセイシェル共和国で疫学調査を進めており、メチル水銀の曝露レベルが上昇すると子どもの発達に関する得点が向上することを報告した¹⁹。ここからフェローのグループとセイシェルのグループの論争が始まった。魚介類には脳の発達に重要な役割を持つことが期待されるn-3系多価不飽和脂肪酸（PUFA）が豊富に含まれており、セイシェル共和国で摂取されている魚介類にはn-3系PUFAが多いことが知られる。このn-3系PUFAで調整するとメチル水銀の負の影響が観察された²⁰。セイシェルの調査では、魚の摂取によるリスクだけでなくベネフィットにも着目した第2の栄養調査（NC2）が立ち上げられている。NC2は、2008年1月～2011年1月の期間に、妊娠14週以降の妊娠女性を調査に登録し、出生児の成長を追跡する出生コホート調査であり、これまでのNC2の研究成果を概観すると、胎児期のメチル水銀曝露の影響は観察されず、n-3系PUFAが増加すると生後20ヶ月時の発達検査の結果に好影響であることが報告されている²¹。

Table 3-1-2 Summary statistics for MeHg biomarkers and mother and child characteristics among pregnant women and their children, and DNA methylation in the children at seven years of age. (SD, standard deviation.)

Variables	N	Mean	SD	Min	Median	Max
Maternal hair Hg (ppm)	406	4.70	4.19	0.12	3.52	31.66
Maternal age (year)	406	26.56	5.92	16.27	25.65	44.84
Maternal BMI at 20 months (kg/m ²)	391	26.84	6.41	15.26	26.01	49.60
Hollingshead SES at 7 yrs	406	32.82	10.78	14	32	63
Gestational age at birth (week)	405	38.95	1.64	30	39	41
Weight at birth (kg)	406	3.16	0.52	1.10	3.19	5.20
GRIN2B CpG1 (%)	396	4.23	2.32	0	4.75	10.06
GRIN2B CpG2 (%)	396	4.76	2.03	0	5.07	9.05
GRIN2B CpG3 (%)	396	1.47	2.14	0	0	7.41
GRIN2B CpG4 (%)	396	2.27	2.50	0	0	8.40
NR3C1 CpG1 (%)	379	0.84	1.57	0	0	5.81
NR3C1 CpG2 (%)	378	0.22	1.00	0	0	10.67
NR3C1 CpG3 (%)	348	2.64	2.37	0	3.22	10
NR3C1 CpG4 (%)	348	0.54	1.72	0	0	21.43
NR3C1 CpG5 (%)	317	0.07	0.53	0	0	5.63
BDNF CpG1 (%)	390	0.47	1.09	0	0	13.76
BDNF CpG2 (%)	389	3.05	2.02	0	3.29	15.58
BDNF CpG3 (%)	382	2.54	2.21	0	3.04	15.88
BDNF CpG4 (%)	378	0.20	0.91	0	0	9.39
BDNF CpG5 (%)	377	0.64	1.27	0	0	7.65

以上の経緯からフェロー諸島およびセイシェル共和国で進められている疫学調査の研究成果は注視しておく必要があるだろう。2021年において、フェロー諸島での疫学調査からは報告は見当たらなかったものの、セイシェル共和国の疫学調査からは2編の文献が発表されている（両文献ともNC2のデータによる）。Strainら²²は、1,237名の7歳について、メチル水銀の胎児期曝露と7歳の発達指標の解析を実施している。胎児期メチル水銀曝露レベル、n-3およびn-6系PUFAの状態と、14種の発達検査や行動調査を実施し解析を行なったもので、胎児期のメチル水銀曝露の指標として出産時の母親の毛髪を使用した

(中央値2.89, 範囲0.01-31.66 $\mu\text{g/g}$)。n-3 (中央値0.27, 範囲0.12-0.63 mg/mL) およびn-6PUFA (中央値1.09, 範囲0.42-2.70 mg/mL) は妊娠28週時に非絶食血液を用いて測定を実施した。胎児期メチル水銀曝露および母親のPUFAの状態は7歳児の発達との間に関連性は観察されなかった。ただし、n-6とn-3の比については、比が増加するにつれて発達との間に正の関連性が観察されており、特に、n-6PUFAが高い場合に正の関連性が示されている。

もう一報では、胎児期におけるメチル水銀曝露が、7歳児の神経系関連遺伝子のメチル化の関連性を調べた研究である²³。NC2に登録された対象者のうち、妊娠中の魚の摂取量が多かった妊娠女性とその児406組を対象とし、出産時の毛髪総水銀と7歳時の唾液より、神経栄養因子 (BDNF)、グルタミン酸受容体サブユニット (GRIN2B)、グルココルチコイド受容体 (NR3C1) をコードする神経系関連遺伝子のDNAメチル化を評価した (Table 3-1-2)。胎児期のメチル水銀曝露は神経系関連遺伝子のメチル化の上昇と関連していることがわかり、神経発達に影響を及ぼすと考えられた。

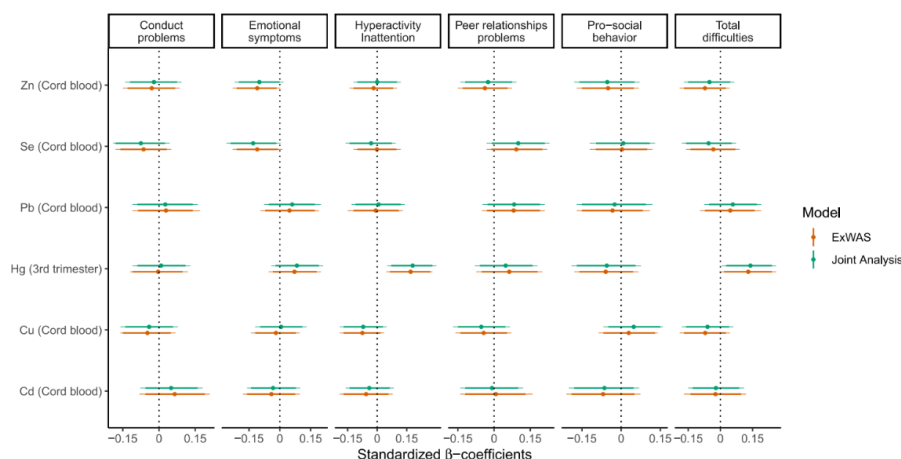


Figure 3-1-1 Standardized beta-coefficients from multivariate linear regression models accounting for metals and micronutrients in cord blood (except for Hg in hair at 3rd trimester of pregnancy) globally (Joint Analysis) and separately (ExWAS) on the behavioral scales (SDQ) in children at 7 years of age. Models are adjusted by child's sex and age at examination, household status, SES, maternal educational level, maternal age, parity at child's birth, pre-pregnancy BMI, alcohol consumption and cotinine values at 1st trimester of pregnancy.

フェロー諸島およびセイシェル共和国以外の文献についてまとめる。ポーランドで進められている出生コホート調査では、臍帯血中鉛、カドミウム、セレン、亜鉛、銅および妊娠末期に採取した毛髪中総水銀 (中央値 0.18 $\mu\text{g/g}$, 範囲 0.011-1.3 $\mu\text{g/g}$) と、学齢期の436名について母親が回答した行動や情緒に関する質問票 (SDQ) および知能検査 (IDS) のとの関連性が調べられている²⁴。子どもの性別、調査時年齢、世帯年収、社会経済的条件 (SES)、母親学歴、母親年齢、出生順位、母の妊娠前BMI、飲酒歴、妊娠初期のコチニンにより調整したところ、毛髪総水銀はSDQの多動・不注意尺度の得点と関連したが、IDSとの間には関連性は観察されなかった (Figure 3-1-1およびFigure 3-1-2)。ポーランドでは一般に魚介類の摂取量は少なく、対象集団の水銀の曝露レベルは日本人の半分以下であったが、行動指標には負の影響、知能には影響がないことが観察されている。低い曝露レベルにおいても行動指標で負の影響が観察されたことについて、彼らは胎児期の水銀曝露に関して安全なレベルは存在しない可能性を示唆するとともに、

脳の発達に有益な栄養素であると考えられるn-3系PUFAの摂取源が魚介類であることから魚介類の摂取方法について注意が必要であることを考察している。

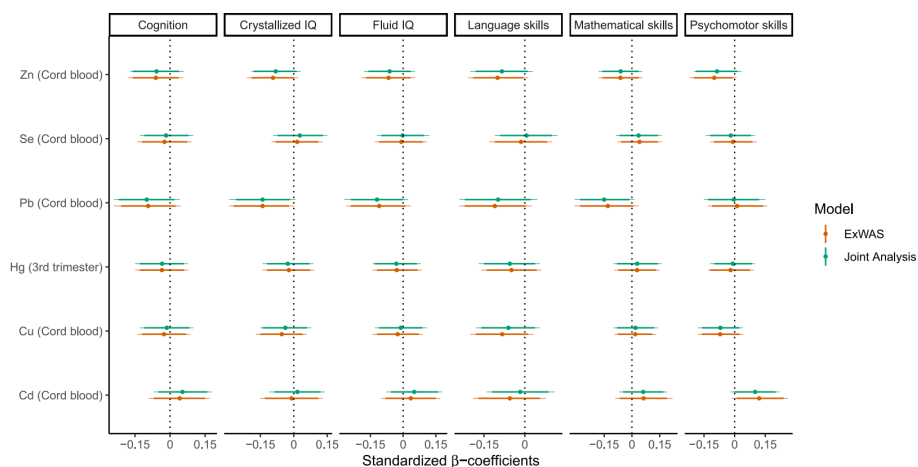


Figure 3-1-2 Standardized beta-coefficients from multivariate linear regression models accounting for metals and micronutrients in cord blood (except for Hg in hair at 3rd trimester of pregnancy) globally (Joint Analysis) and separately (ExWAS) on the intelligence and development scales (IDS) in children at 7 years of age. Models are adjusted by child's sex, household status, SES, maternal educational level, maternal age, parity at child's birth, pre-pregnancy BMI, alcohol consumption, cotinine values at 1st trimester of pregnancy and examiner.

Table 3-1-3 Multiple-exposure elastic net for the associations between prenatal and postnatal exposures to four metals and IQ in ENET model.

Period	Metals	B
Prenatal	Pb($\mu\text{g}/\text{dL}$)	0
	Cd($\mu\text{g}/\text{L}$)	0
	Hg($\mu\text{g}/\text{L}$)	0
	Mn($\mu\text{g}/\text{dL}$)	0
4y	Pb($\mu\text{g}/\text{dL}$)	0
	Cd($\mu\text{g}/\text{L}$)	0
	Hg($\mu\text{g}/\text{L}$)	0
	Mn($\mu\text{g}/\text{dL}$)	-2.146
6y	Pb($\mu\text{g}/\text{dL}$)	-1.225
	Cd($\mu\text{g}/\text{L}$)	0
	Hg($\mu\text{g}/\text{L}$)	-0.319
	Mn($\mu\text{g}/\text{dL}$)	0

Regression coefficient represent the change in mean outcome variables per increment; All models were adjusted for maternal education level, exposure to ETS during pregnancy, maternal age, and maternal IQ. The cross-validated optimum penalization was $\alpha = 0.644$, $\lambda \text{ min} = 1.210$, (RMSE = 12.444) for children' IQ.

韓国で進められている出生コホート調査では726名を対象に出産時の母親の血液の血中水銀、鉛、カドミウムおよびマンガン分析し、6歳児の知能 (KEDI-WISC) との関連性が検討されている²⁵。水銀の曝露レベルは、母体血 (GM) 2.49 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、4歳1.98 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、6歳1.63 $\mu\text{g}/\text{L}$ であった (Table 3-1-3)。統計解析ではBKMR, quantile g-computation models, ENET modelという手法が用いられている。これらの解析では、4種の金属を同時に曝露指標として取り上げることができるだけでなく、3回のタイミング (出産時、4歳、

6歳)で測定した曝露指標を同時に扱うことが可能とのことである。母親のIQ、妊娠中の喫煙状況、母親の学歴、母親の年齢、フタル酸エステル類の濃度、調査時の環境タバコ煙曝露状態で調整したところ、出産時、4歳および6歳の血中水銀はいずれも知能に影響を及ぼさなかったことを報告している。一方で、4歳と6歳時の血中マンガンが6歳の知能に負の関連性が認められ、マンガンはprenatal exposureよりもcurrent exposureの影響が大きい可能性が示されている。新しい統計解析の方法を取り入れることで、どの時期のどの金属曝露が有害なのかを調べることが可能とされており参考となる。

胎児期におけるメチル水銀曝露が出生児の体格におよぼす影響を調べたメタ解析の文献が報告されている²⁶。胎児期および出生後早期の環境はその後の健康状態や疾病に影響することが以前より知られており、胎内での適切な発育が将来の健康状態につながる重要な要素である。胎内の環境は、母親の栄養状態や化学物質などの環境因子の曝露などが関与し、有害な環境物質としてメチル水銀も候補である。胎児期におけるメチル水銀曝露が出生児の体格におよぼす影響に関する論文は多く存在するが、統合した研究は存在しない。そこで、このレビューでは、(1) 出生前の水銀曝露と出生児の体格の結果に関する研究を系統的に検索すること、(2) 既存のエビデンスの質を評価すること、(3) エビデンスを統合し、研究の質やその他の方法論の違いによる差異などについてAlbatross plotを用いた系統的レビューをすることの3点を目的とした。Embase、Medline (PubMed)、PsycINFO、Scopusにて論文を検索を実施し、動物実験の論文は除外し、論文が発表された年や言語については制限を設けなかった。合計193論文が該当し、2名の研究者が論文を査読し、重複論文、動物実験論文、曝露指標が生体試料ではない論文、ケースレポートなどを除外し、最終的に27論文(17カ国)が抽出された。メチル水銀の曝露指標は8種類(母親の毛髪、児の毛髪、臍帯血、全血、血清、赤血球、尿、胎盤)であった。まずアウトカムを体重とした場合、結果に一貫性は観察されなかった(Figure 3-1-3)。一貫性が観察されなかった理由として、曝露指標の違いや曝露レベルの違い、交絡要因の違いなどが考えられた。そこで、交絡要因をできる限り揃えることとした。胎児の成長に影響をおよぼす要因をまとめたところ、1) 母親の学歴や社会経済要因、2) 魚摂取量/PUFA、3) 母親の妊娠時の喫煙状況があり、27論文のうち解析時にこれらの変数で調整している論文を選定したところ、12論文が該当した。その12論文についてAlbatross plotを用いてまとめたところ(Figure 3-1-4)、12論文すべてで負の影響が観察され、そのうち有意な負の関連性が示された論文は5論文であった。全体としては関連性はないと結論された。次に、身長および頭囲に着目すると、全血中の水銀を曝露指標とした場合、統計学的に有意な関連性はないことがわかった。交絡要因を揃えた解析も行ったが、結果は同じであった。以上より、体重では負の関連性を報告した論文が見出されるものの、メタ解析では水銀と体重の関連を示す強い証拠にはならないと結論された。関連性が見出されなかった理由として、曝露指標が8種類と多いことや、曝露レベルの違いなどが挙げられる。

Albatross plotは、対象者数やp値からみた影響の大きさ、また曝露指標の違いを可視化することができ、解釈しやすく便利な方法であると考えられる。その一方、論文中に曝露レベルが高い集団で体重と水銀の間に負の関連性が認められる傾向があったことが記載されているが、水銀の曝露レベルの違いは考慮されない点が残念である。さらに、メタ解析で採用された論文の1つは東北コホートの論文²⁷であるが、男児と女児の合計では関連性が観察されず、このメタ解析でも関連性がない論文として引用されている。しかしながら、原著では男児と女児で分けた場合に男児でのみ水銀と体重との間に負の関

連性が認められている。一般的に男児の方が胎児期の水銀曝露に対して感受性が高いとも言われていることを考慮すると、層別解析などを含めた詳細なメタ解析が必要と考えられる。

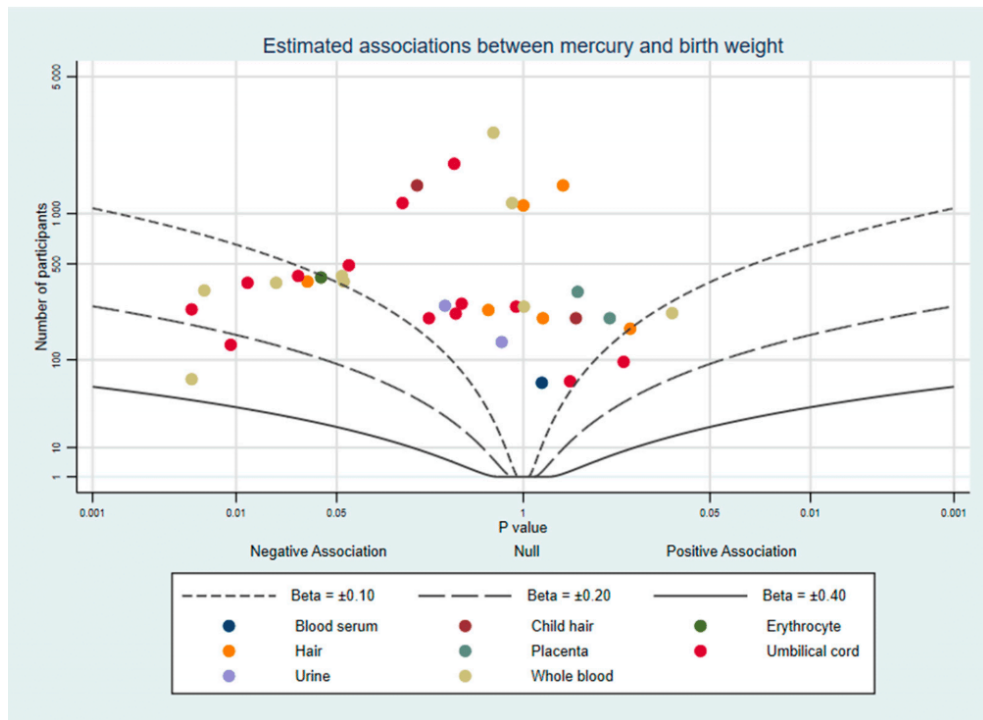


Figure 3-1-3 Albatross plot of the estimated effect of mercury exposure on birth weight.

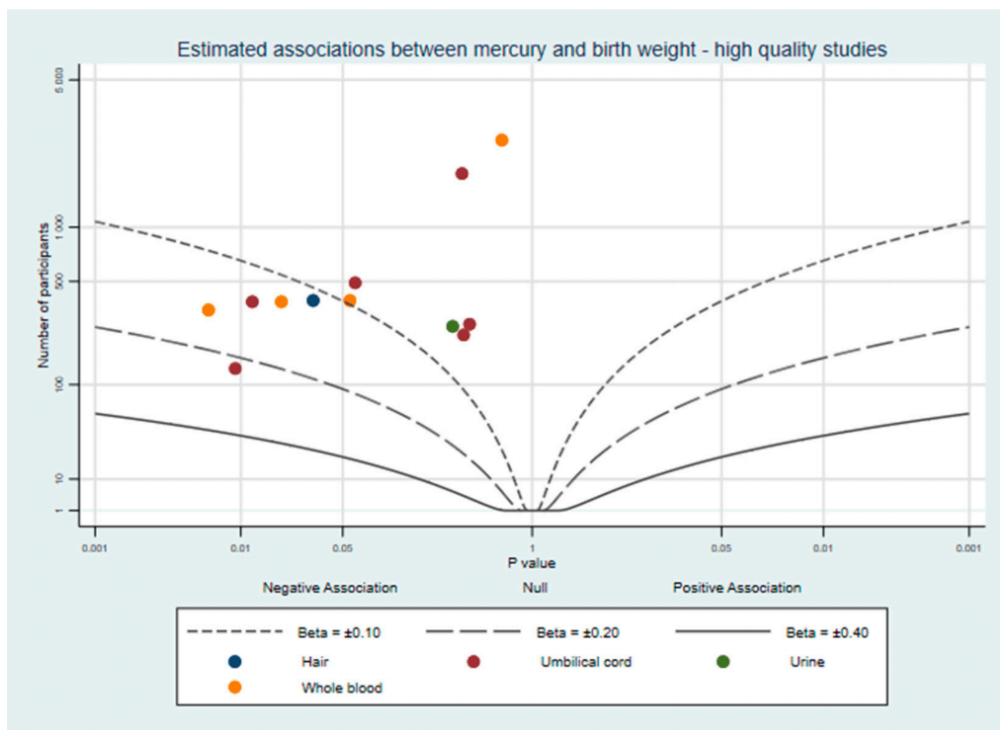


Figure 3-1-4 Albatross plot of the estimated effect of mercury exposure on birth weight, from studies which adjusted for maternal socio-economic status or education, fish or fatty acid intake, and ma-ternal smoking status.

3-2) 成人への影響

2021年に公表されメチル水銀曝露の成人への健康影響に関する文献検索を実施した。PubMedで“methylmercury toxicity”（もしくはtoxicityに代えて種々の臓器組織名）により検索して得られた全てについて報告する。前年度より文献数は減ったが、実験動物や培養細胞において検討されているような様々なバイオマーカーへの影響はまだ成人集団に適用されてはならず、疫学研究の主流になっている大規模集団では曝露推定量が一般に高くはないことから検討課題に取り上げられにくくなっていることが想定された。

米国民レベルの水銀曝露で、成人の2型糖尿病発症に影響が認められるかについて米国民健康栄養調査NHANESデータで検討された（Figure 3-2-1）²⁸。公表年次2005-2006、2007-2008、2009-2010、2011-2012、2013-2014、2015-2016および2017-2018年において20歳を超え、血中総水銀、メチル水銀のデータを有し、糖尿病を判定できるデータが揃っている者（総水銀30,994人の平均 $1.57\mu\text{g/L}$ 、メチル水銀15,327人の平均 $1.38\mu\text{g/L}$ ）を対象として重みつきロジスティック回帰分析を実施したところ、公表年次、年齢階級、人種、BMIのみ（モデル1）か、これらに加えて高血圧、貧困レベル、教育、婚姻状況、レクリエーション活動、24時間思い出し法による栄養摂取量（総エネルギーの他、アルコール、セレン、n-3系脂肪酸(EPA+DHA)など）、eGFRを交絡要因として調整したモデル（モデル2）で、総水銀第3四分位、第4四分位で第1四分位に比して男女とも糖尿病有症者（診断を受けたかHbA1c 6.5%以上、空腹時血糖126 mg/dL以上もしくは2時間値200 mg/dL以上）が少なくなる関連性が認められた。メチル水銀では男女を合わせた集団にモデル1のみを適用すると、第3四分位（ $0.58\text{--}1.43\mu\text{g/L}$ ）および第4四分位（ $>1.43\mu\text{g/L}$ ）で第1四分位に比して有病者が少なくなった。著者らはこの関連が何らかの交絡による可能性は否定できないものの、水銀・メチル水銀曝露により抗酸化ストレス系が動員された可能性もありうると述べている。

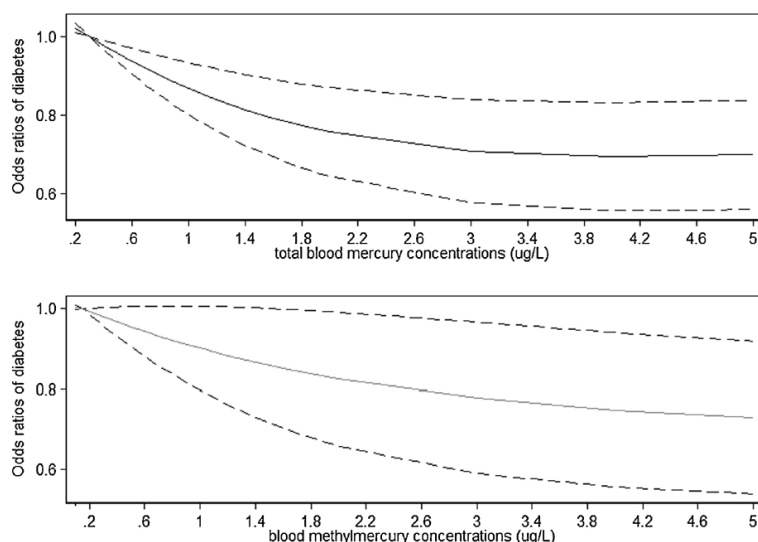


Figure 3-2-1 The exposure–response analyses between total blood mercury and blood methylmercury and diabetes. The middle line and upper and lower line represent the estimated odds ratio and its 95 % confidence interval, respectively.

関連して、ノルウェー母父子コホート研究に参加して2004～2009年に出産し糖尿病未発症等の条件に合致する母親60,831人を対象として、妊娠22週で行った255食品摂取頻度調査の魚食と糖尿病発症との関連を検討した論文で、Cox比例ハザードモデルにより lean fish（タラ、カマス他）摂取に（治療薬投与で判定された）糖尿病発症を減らす関連が

認められたことが報告されている²⁹。魚摂取量から推定された長鎖n-3PUFAには関連性が認められず、魚摂取量から推定されたメチル水銀摂取量（総水銀）はEFSAの耐容週間摂取量（TWI）より低かった。メチル水銀をはじめとする有害化学物質の影響を直接検討した研究ではないが、著者らはTWIにもとづいてfatty fish（サバ、ニシン他）摂取によるPCB、ダイオキシン曝露に警鐘を鳴らしている。

カナダ極地方でピロリ菌感染者の慢性胃炎が南部より重症である原因がメチル水銀と関連するののかについて、3地区からの内視鏡検診参加者のうち80人を対象として検討した報告がある³⁰。性別、年齢、週あたり魚・鯨食回数、セレン-水銀モル比、毛髪水銀（<0.25、0.25-0.49、0.50-0.99、 $\geq 1 \mu\text{g/g}$ ）を調整したモデル（Table 3-2-1）では、毛髪水銀最小区分に対して0.50-0.99 $\mu\text{g/g}$ では重症慢性胃炎（38%）が減少し、年齢増加により萎縮あり（29%）が増えるという関連性が認められただけであったが、性別、魚・鯨食回数、魚・鯨からのセレン摂取量を調整したモデルでは、セレンのいずれのレベル（0、2、4、6 $\mu\text{g/kg}$ 体重/週）でも、重症慢性胃炎と萎縮の調整リスクはいずれの毛髪水銀レベルでも減少し、セレン摂取量が増えるほど減少していた（Table 3-2-2）。対象者が少なくセレン摂取量等の推定精度も十分でない中で、メチル水銀とセレンの相互作用によって現れた効果である可能性を著者らも認めている。

Table 3-2-1 Odds ratios for the effects of participant characteristics on prevalence of gastric pathology outcomes among 80 participants from 3 western Canadian arctic communities, 2016.

	Unadjusted		Adjusted ^a	
	OR	95%CI	OR	95%CI
Severe Chronic Gastritis				
Sex	Reference	0.51, 1.11	Reference	0.14, 0.96
Male	0.75		0.36	
Female				
Total Fish/Whale Consumption	0.83	0.64, 1.08	1.03	0.60, 1.76
Per unit increase (meals/week)				
Molar Ratio Se:Hg	0.98	0.97, 1.00	0.98	0.95, 1.02
Per 1.0 increase				
MeHg in Hair ($\mu\text{g/g}$)	Reference	0.69, 1.51	Reference	0.80, 1.65
<0.25 (Low)	1.02	0.40, 0.42	1.15	0.27, 0.44
0.25-0.49 (Medium low)	0.41	0.06, 2.49	0.35	0.02, 2.50
0.50-0.99 (Medium high)	0.37		0.22	
≥ 1 (High)				
Gastric Atrophy				
Sex	Reference	0.50, 0.56	Reference	0.31, 0.66
Male	0.53		0.45	
Female				
Age	1.02	1.01, 1.03	1.03	1.01, 1.04
Per one-year increase				
Total Fish/Whale Consumption	1.12	0.65, 1.92	1.24	0.76, 2.02
Per unit increase (meals/week)				
Molar Ratio Se:HgPer 1.0 increase	0.99	0.92, 1.06	1.00	0.99, 1.02
MeHg in Hair ($\mu\text{g/g}$)	Reference	0.75, 2.15	Reference	0.65, 2.95
<0.25 (Low)	1.27	0.20, 2.05	1.39	0.11, 1.18
0.25-0.49 (Medium low)	0.63	0.20, 9.90	0.36	0.12, 5.52
0.50-0.99 (Medium high)	1.42		0.80	
≥ 1 (High)				
Intestinal Metaplasia				
Sex	Reference	0.12, 1.87		
Male	0.47			
Female				
Age	1.05	1.00, 1.10		
Per one-year increase				
Total Fish/Whale Consumption	1.10	1.07, 1.12		
Per unit increase (meals/week)				
Molar Ratio Se:HgPer 1.0 increase	0.98	0.89, 1.09		
MeHg in Hair ($\mu\text{g/g}$)	Reference	0.37, 8.16		
<0.25 (Low)	1.73	0.25, 15.23		
0.25-0.49 (Medium low)	1.96	0.23, 31.20		
0.50-0.99 (Medium high)	2.65			
≥ 1 (High)				

^a Adjusted for all model covariates

^b bw = Body Weight

Note: Models do not contain a product term for the interaction between MeHg and Se

Table 3-2-2 Odds of severe chronic gastritis and gastric atrophy for methylmercury levels in hair at specified values of estimated selenium intake, adjusted for sex and total fish consumption frequency among 80 participants from 3 arctic communities, 2016^a.

MeHg in Hair	Estimated Se Intake from Fish/Whale			
	0 ($\mu\text{g}/\text{kg}$ bw/week)	2 ($\mu\text{g}/\text{kg}$ bw/week)	4 ($\mu\text{g}/\text{kg}$ bw/week)	6 ($\mu\text{g}/\text{kg}$ bw/week)
Severe Chronic Gastritis				
<0.25 ($\mu\text{g}/\text{g}$)				
Adjusted Odds				
95%CI	0.65 0.64, 0.67	0.51 0.50, 0.51	0.50 0.50, 0.50	0.50 0.50, 0.50
0.25–0.49 ($\mu\text{g}/\text{g}$)				
Adjusted Odds				
1	0.64 0.63, 0.65	0.57 0.51, 0.62	0.52 0.47, 0.57	0.51 0.48, 0.53
0.5–0.99 ($\mu\text{g}/\text{g}$)				
Adjusted Odds				
95%CI	0.61 0.52, 0.70	0.53 0.50, 0.57	0.51 0.49, 0.53	0.50 0.50, 0.51
≥ 1 ($\mu\text{g}/\text{g}$)				
Adjusted Odds				
95%CI	0.71 0.67, 0.75	0.50 0.50, 0.50	0.50 0.50, 0.50	0.50 0.50, 0.50
Gastric Atrophy				
<0.25 ($\mu\text{g}/\text{g}$)				
Adjusted Odds				
95%CI	0.61 0.55, 0.67	0.50 0.50, 0.50	-0.50 0.50, 0.50	0.50 0.50, 0.50
0.25–0.49 ($\mu\text{g}/\text{g}$)				
Adjusted Odds				
95%CI	0.60 0.57, 0.63	0.55 0.45, 0.65	0.52 0.42, 0.62	0.51 0.45, 0.57
0.5–0.99 ($\mu\text{g}/\text{g}$)				
Adjusted Odds				
95%CI	0.53 0.50, 0.57	0.56 0.53, 0.59	0.59 0.56, 0.63	0.63 0.57, 0.70
≥ 1 ($\mu\text{g}/\text{g}$)				
Adjusted Odds				
95%CI	0.67 0.63, 0.71	0.57 0.49, 0.64	0.51 0.49, 0.53	0.50 0.50, 0.50

^aThese values are plotted in Figure 1

メチル水銀曝露とうつ尺度指標との関連性に関する報告がある⁵。アマゾン南部タパジヨース川中流域のムンドウルク族居留地で違法小規模金採掘による水銀汚染が居留民の健康に及ぼす影響を横断調査した論文において、3か村で12歳以上全員に呼びかけて集められた109人（年齢 27.4 ± 13.8 歳（平均値 \pm 標準偏差）、男51.4%）に対し毛髪総水銀が測定され（範囲 $2.0 \sim 22.8 \mu\text{g}/\text{g}$ 、平均 $8.4 (\pm 4.2) \mu\text{g}/\text{g}$ ）、家庭訪問による聞き取りに高齢者用うつ尺度短縮版（GDS-SF）が含まれた。ポワソン回帰分析の結果、毛髪水銀高値（ $\geq 10 \mu\text{g}/\text{g}$ 、30人）はGDS得点高値（気分、やる気の障害、37人）と有意な関連は認められなかった（ $p=0.072$ ）ものの、年齢、所得、聞き取り時に得られた別の項目「苛立つ（nervousness）」「怒りっぽい（irritability）」を考慮すると、毛髪水銀値が高いとうつスケールのスコアが上昇した（ $p=0.024$ ）（Table 3-2-3）。この結果については、毛髪水銀高値の者が少ない村への在住とGDS得点高値の者が少ないこととの関連が認められている（ $p=0.003$ ）ことが水銀曝露とGDS得点との関連の一貫性を支持するとも考えられるが、GDS得点は被験者の主観に基づくこと、調査は違法小規模金採掘の影響調査であることが説明されており情報バイアスの存在を否定できないという限界がある。またnervousness、irritabilityを曝露要因の毛髪水銀と共に独立変数に含めている理由が不可解である。従って水銀曝露とうつ傾向（厳密には気分障害と表現されるものかもしれない）との関連を示唆する文献ではあるが、エビデンスとするにはデータ解析が不適切である。

メチル水銀曝露とうつ病との関連性を解析した研究報告は少なく、先行研究としてはNHANES（2011–2016、血中メチル水銀四分位範囲 $0.13 \sim 0.99 \mu\text{g}/\text{L}$ ）において検討されて

いるが、関連性は認められていない³¹。ただ、最近になってうつ病の発生機序として神経炎症仮説（ミクログリア仮説）が提唱されている³²。後述のように、実験動物を用いた研究ではメチル水銀曝露に関連した毒性メカニズムにおいて炎症が重要なキーワードとして浮上しており、炎症とメチル水銀との間に関連性が示唆される。メチル水銀曝露とうつ傾向またはうつ病についても引き続き情報収集が必要と考えられた。

Table 3-2-3 Clinical and sociodemographic variables, according to GDS-SF scores ≥ 4 (adjusted Poisson regression model). Sawré Muybu Indigenous Land, Pará, Amazon, Brazil, 2019.

GDS-SF ≥ 4		
Variables	PR-Adjusted (CI 95%)	p-Value
Hg Level		
Hg < 10 $\mu\text{g/g}$	1.0	
Hg $\geq 10 \mu\text{g/g}$	1.8 (1.1-3.0)	0.024
Nervousness		
No	1.0	
Yes	2.1 (1.3-3.3)	0.003
Irritability		
No	1.0	
Yes	3.0 (1.9-4.9)	0.001
Regular Income		
Yes	1.0	
No	1.1 (0.6-1.9)	0.766
Age range		
≥ 30 years	1.0	
20 to 29 years	1.4 (0.8-2.5)	0.219
12 to 19 years	0.7 (0.4-1.5)	0.400

3-3) 水銀のリスクコミュニケーション

PubMed検索において、2021年に公表された人と水銀リスクをキーワードとして抽出された文献のうち、水銀毒性のリスクコミュニケーションに有用と考えられる原著論文3編を選定した。それぞれの文献について着目した主な知見は以下の通りである。これらの成果や知見は、専門家のみならず社会一般の人々にも水銀リスクについて周知する際に役立つと思われる、レビューを行った。

- 1) 子どもの水銀曝露リスクを回避するために推奨される魚類摂食習慣
- 2) 水銀汚染地域住民のリスク認識が魚摂取に関する適応行動に及ぼす影響
- 3) 水銀排出シナリオに基づく世界的な健康被害コストのシミュレーション予測

子どもたちの食の安全を図るには、魚介類の摂食に伴うリスクとベネフィットの両面を評価し、適切なリスクコミュニケーションを推進することが重要である。Baroneら³³は、地中海地域で一般的によく消費されている16種類の魚類について、総水銀、メチル水銀、セレン濃度を測定するとともに、子どもの摂取量に関する各種指標を欧州食品安全機関（EFSA）や既存文献値に基づいて算定した。2019年の5～7月に南イタリア・プーリア州の中央市場で魚16種類を購入し、各魚種8～20匹・総計152標本の筋組織中濃度を原子吸光光度計とガスクロマトグラフを用いて分析した。総水銀の濃度範囲は0.03～0.64 $\mu\text{g/g}$ 、メチル水銀濃度では0.02～0.55 $\mu\text{g/g}$ であり、総水銀に対するメチル水銀比率が最も低いのがカタクチイワシ（アンチョビ）で66.7%、最も高いのがハガツオの92.9%であった。測定したどの魚種においても欧州の規制値を超えてはいなかったものの、生態ピラミッ

ド上位のビンチョウマグロ、メカジキ、タイセイヨウクロマグロなどの大型肉食魚では、メチル水銀濃度が米国環境保護庁（EPA）の規制値 $0.3 \mu\text{g/g}$ を超えるレベルであった。

総水銀、メチル水銀、セレンの推定一日当たり摂取量（EDI）及び推定週間摂取量（EWI）は、次の式と値を用いて魚種ごとに算定した〔 $\text{EDI}=(\text{C} \times \text{IR})/\text{BW}$ （C：組織中濃度、IR：1日当たり消化量、すなわち3.0～9.9歳児平均値として 38.2g/日 、BW：同平均体重 26.2kg 、 $\text{EWI}=\text{EDI} \times 7$ ）。EFSAが勧告する暫定週間許容摂取量（PTWI）は総水銀 $4 \mu\text{g/kg}$ 体重/週、メチル水銀 $1.3 \mu\text{g/kg}$ 体重/週であり、算定EWIは総水銀ではビンチョウマグロ、メカジキ、タイセイヨウクロマグロでPTWIを超えており、メチル水銀では多くの魚種（上記3魚種のほかサバ、エイ、ハガツオなど計11種）で超過していた。栄養素セレンのEDIは、最小値がヨーロッパマイワシで $0.21 \mu\text{g/kg}$ 体重/日、最大値がタイセイヨウクロマグロで $0.82 \mu\text{g/kg}$ 体重/日となり、米国食事摂取基準のセレン一日当たり推奨摂取量（4～8歳児のRDA； $30 \mu\text{g/日}$ ）を基準とすると、推定寄与率は各魚種 $0.71\sim 2.75\%$ 内にとどまった。セレン・水銀モル比は全ての魚種で1を超えており、深海魚類で比は大きくなる傾向にあったが（Figure 3-3-1）、魚の大きさや捕獲場所・季節など他の因子にも影響を受けるとされる。水銀毒性緩和効果を反映する指標として、セレン健康便益値〔算定式； $\text{HBVSe} = [(\text{Se} - \text{Hg})/\text{Se}] \times (\text{Se} + \text{Hg})$ 〕が用いられているが、今回の魚種のHBVSeは、最小値がマイワシ1.89、最大値がタイセイヨウクロマグロ6.47となった（Figure 3-3-1の灰色帯）。HBVSeも生態ピラミッド上位の大型魚類で比較的高いことが示され、地中海の魚類には潜在的な水銀有害影響を軽減するのに十分なセレン量が含有されていると考えられた。

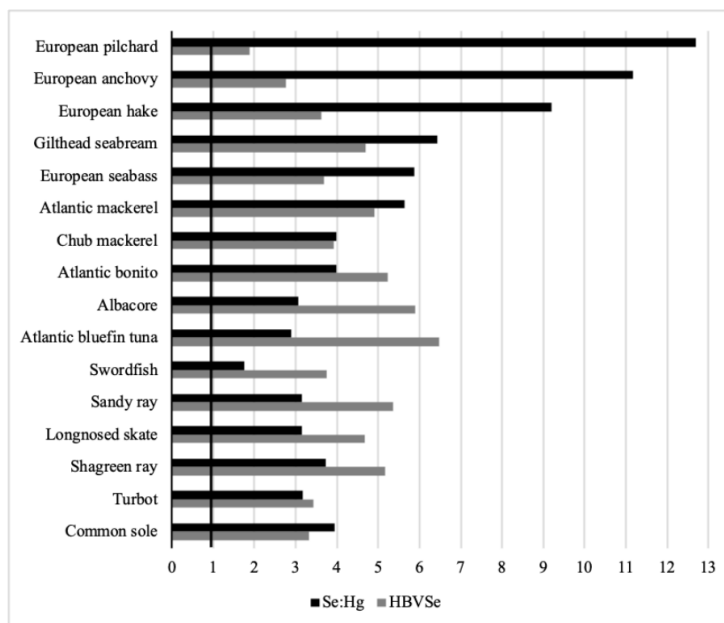


Figure 3-3-1 Se:Hg molar ratios and Se health benefit values (HBV_{Se}) of the studied fish species. Dark line: Se:Hg molar ratio > 1.

魚摂取をやみくもに制限することで栄養面のベネフィットが大きく損なわれないよう、著者らは魚種ごとの消費制限量について検討し、月間の許容摂取回数を推計した。1日の最大許容魚消費量は次式〔 $\text{CR}_{\text{lim}}=(\text{Rfd} \times \text{BW})/\text{C}$ （Rfd：EPAのメチル水銀耐容摂取量 $0.1 \mu\text{g/kg}$ 体重/日、BW：幼児平均体重 16kg 、C：各魚可食部のメチル水銀濃度）により算定し、さらに各魚類の安全な月間の摂取回数 CR_{mm} を次式で推計した〔 $\text{CR}_{\text{mm}}=(\text{CR}_{\text{lim}} \times \text{Tap})/\text{MS}$ 、

Tap:月の平均曝露日数30.44日、MS:幼児1回あたり摂取量0.114kg]。その結果、幼児が魚料理を食べても良いとされる月当たりの回数は、イワシは21回、メルルーサやアンチヨビでは7~11回となった一方、メカジキやマグロなどでは1、2回程度が最適であることがわかった (Figure 3-3-2)。

大型肉食魚類を多く摂取すると、小児や妊婦などでは水銀曝露に伴う健康悪影響の懸念が生じるため、魚の適切な摂食量を勧告することが望ましい。魚種別の摂取上限等のガイドラインが公表されていないのであれば、月当たりの許容摂取回数などのわかりやすい情報を地域住民に伝えることが水銀リスクの回避に役立つと思われる。

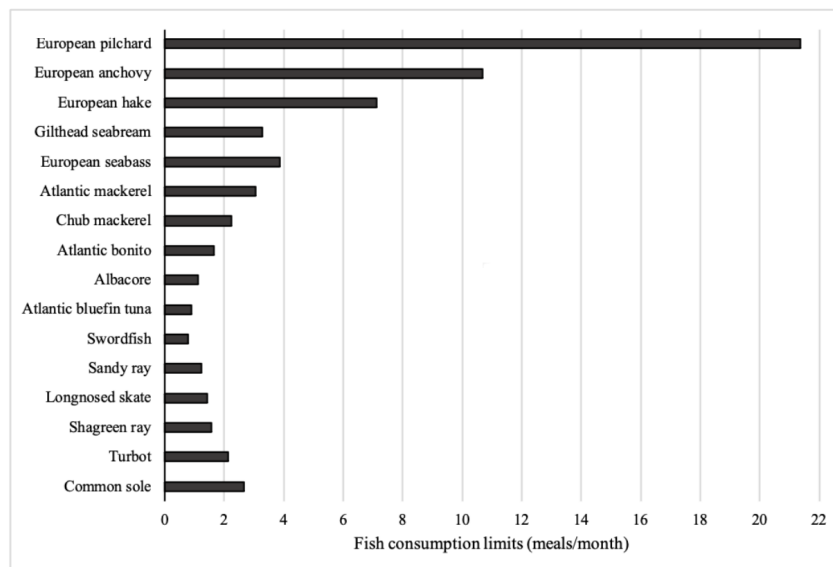


Figure 3-3-2 Maximum allowable fish consumption rate in meals/month (CR_{mm}) for children without adverse health effects.

環境汚染リスクを正しく認知することは、一般市民が消費行動を変え、健康的な生活習慣を身に付けることにつながる。消費者である市民が汚染リスクをどのように認識しているかを把握することは、環境汚染物質曝露に伴う健康被害を軽減するためにも重要と考えられる。Ferreira-Rodríguezら³⁴は、将来水銀の蓄積とメチル化による健康被害が危惧される米国南東部地域に焦点をあて、住民の意識調査とシミュレーション・マッピングを行った。調査地はオクラホマ州南東端部の水銀汚染地帯であり、4つの地区の地域住民 (Figure 3-3-3; 橙色) に対して意識調査を行うとともに、キアミチ川の10箇所 (同; 黒点) において4種類・計21匹の淡水魚を捕獲して可食部組織中の水銀濃度を全自動水銀測定装置 (DMA-80; Milestone) により分析した。測定の結果、2種の魚で平均水銀濃度がオクラホマ州ガイドラインの摂取耐容上限値 (1.5 μg/g) を超えており、4種全てで米国環境保護庁 (EPA) の魚介類の暫定規制値 (0.46 μg/g) を超過していた。住民の水銀曝露量が許容される基準を超えている可能性があり、湖の魚のみならず川魚を水銀モニタリングプログラムに組み入れることが今後求められると述べている。

住民の意識調査は2015年6~8月に、汚染地区ごとに無作為抽出した計237名 (年齢16~46歳、有効回答者数; 女性120名、男性84名) 対し、インタビュー方式で実施された。分析に使用した項目は、性・年齢、人種、収入、教育歴、川の汚染と魚の摂取に関する認識、淡水魚の摂取頻度、普段食べる魚の大きさ・量等であった。「環境汚染源として最も重視する有害物質」への回答では、水銀 (45.8%) が最多であり、次いで殺虫剤

(36.6%)、除草剤（グリフォサート；17.6%）の順であった。教育歴や居住地区を調整した順序ロジスティック回帰分析では、出産可能期の女性で環境汚染リスクに関する認知度が高く、2つの相反する仮想シナリオ、つまり地域の水銀汚染が将来悪化するか改善するかにより、魚の摂取頻度を変えようとする意識が女性でより強いことがわかった。汚染魚の摂り過ぎによる健康悪影響について認識していた住民は多かったが、安全な食習慣を実行していたのは一部の女性のみであり、汚染魚摂取対策と適応行動に関する健康教育をさらに押し進めていくことが望まれる。

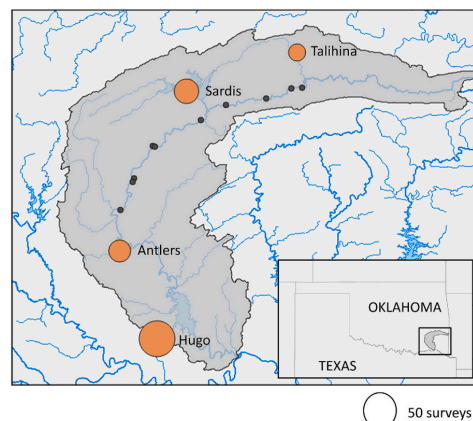


Figure 3-3-3 Geographical distribution of fish sampling points (black dots) in the Kiamichi River and social sampling locations (orange dots) by number of face-to-face surveys (i.e., by diameter of circles scaled to 50 surveys as shown in inset). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

本調査対象地域を含め、湖や川の魚が水銀汚染の脅威にさらされている5地帯を世界地図上に示した (Figure 3-3-4)。値1 (赤→青色) に近い地域ほど気候変動シナリオに伴う平均気温の上昇が見込まれ、生物多様性、水銀蓄積、気候変動の複合的及び相互的な影響を受けやすいと推測された。グローバルな視点でのシミュレーションで、南米、中央アフリカ、東南アジア、インド等のよく知られた水銀汚染地帯と対比することができ、米国南東部も将来の水銀環境負荷の増大を憂慮すべき地域に該当することが示唆された。

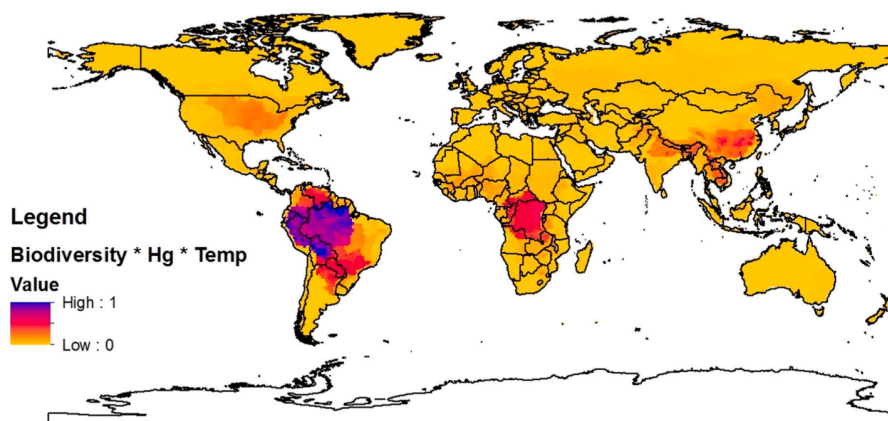


Figure 3-3-4 Regions of the world where the most freshwater fish species are predicted to be exposed to the highest increment of mercury stress; i.e., mercury deposition and methylation. Warmer areas (value 1) indicate higher mercury stress as a combination of biodiversity, mercury deposition and projected temperature increase for that region.

現行の水銀に関する勧告値では、水銀汚染の実態と魚消費量から想定される健康被害を反映しきれていない可能性がある」と著者らは指摘している。将来の気候変動を前提とした水銀汚染問題への適応戦略を練るために、現地実測データ、住民の意識、食習慣・消費行動を統合して分析し、それらを基に警告システムが構築されるべきであると結論している。

水銀は大気、水域、土壌、生態系を循環し、地球環境全体に影響を及ぼし得る有害金属であり、2017年に水俣条約が発効して以来、水銀排出コントロールの世界的な動向に関心が集まっている。Zhangら³⁵は、気候-大気-大陸-海域-生態系を包括した曝露リスクモデルを開発し、排出された水銀への曝露によるグローバルな健康影響について、様々な対策シナリオのもとでシミュレーション分析と将来予測を行った。メチル水銀の低濃度長期曝露による集団への潜在的な健康影響の指標として、米国や欧州、中国等での大規模疫学研究で着目されている知能指数（IQ）と循環器疾患死亡を取りあげ、将来予測の主要アウトカムとして評価した。環境中水銀曝露レベルは、大気、土壌、海洋プランクトンのそれぞれについて、空間的沈着と分布を各対策シナリオに基づいて予測し、パラメータ化した。

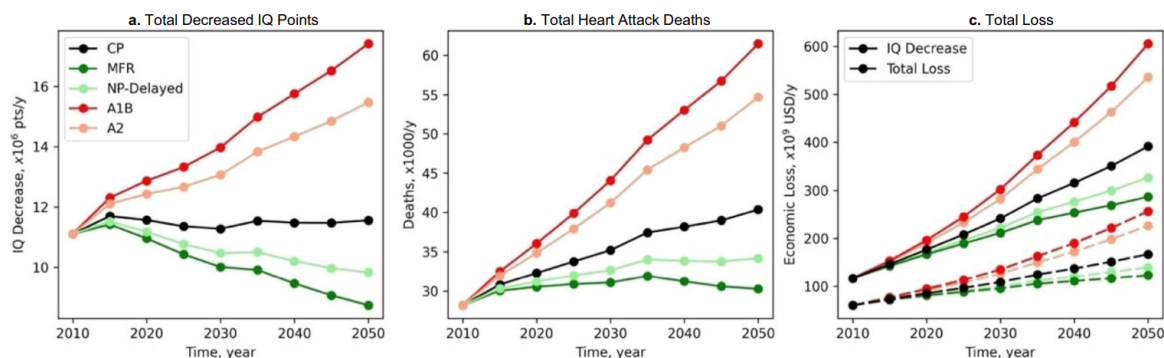


Figure 3-3-5 Global health impact of methylmercury (MeHg) food exposure at present-day.(a) Per-fetus intelligence quotient (IQ) decrement; (b) Fatal heart attack deaths; (c) Economic loss from IQ decrease; (d) Value of statistical life (VSL) loss from fatal heart attacks; (e) Total loss from MeHg exposure (the sum of (c) and (d)). Economic losses are in United States (US) dollars (2020 value and adjusted by purchasing power parity). The gray area indicates missing data and the color scale of (c)–(e) is in the logarithmic scale.

現在における食物由来（主に米と魚介類）のメチル水銀曝露による世界的な潜在影響を、新生児IQの低下ポイント（Figure 3-3-5a）、心臓発作による超過死亡数（同b、IQ低下から換算した経済的損失（同-c）、致命的心臓発作から換算した統計的生命損失（VSL）（同-d）、cとdを合計したメチル水銀曝露による総損失（同-e）のそれぞれについてシミュレーションした（経済的損失は2020年の購買力で調整した米ドル価値で算定、カラースケールはすべて対数表示、灰色エリアは欠損データを示す）。新生児IQ低下による経済損失高は、米国が最も高く120億ドルとなり、次いで中国73億ドル、日本62億ドル、ロシア29億ドルになると見積もられた。（2つのアウトカムを統合した経済損失高（e）は、1位が米国（210億ドル）、2位中国（150億ドル）、3位ロシア（120億ドル）、4位日本（93億ドル）と推計された。

人為的水銀排出を規制する5つの対策シナリオに基づいて、2050年までの経時的・世界的なIQ低下および心臓発作による超過死亡を包括的モデリングによりシミュレーションしたところ、現行の政策シナリオ（CP；排出量不変～3%低下）では、年間のIQ低下

ポイントはほぼ一定であり、実行可能な範囲で最大限排出削減するMFRシナリオ、および新政策が遅延（2035年目標のMFRシナリオが2050年まで遅延すると想定）したNP-Delayedシナリオでは、IQ低下度が年々減少し、2050年にはCPシナリオと比べそれぞれ24%、15%低減した（Figure 3-3-6）。一方、メチル水銀曝露関連の心臓発作超過死亡数は、現行のCPシナリオでは2050年までに2010年の水準より48%増加し、また、産業削減規制が全く行われず排出量が増加し続けるA1Bシナリオでは、さらに120%の増加率が予測された。

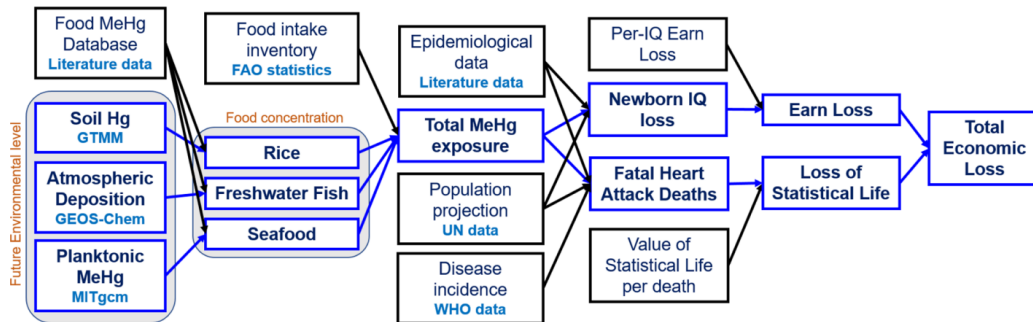


Figure 3-3-6 Trajectories of global annual health effects associated with different future emission scenarios.(a) Total intelligence quotient (IQ) decrements of newborns; (b) Total heart attack deaths; (c) Economic valuation of health effects: total valuation (solid lines) and from IQ decrements (dashed lines). Five scenarios are included: A1B (business as usual), A2 (divided world scenario), CP (current policy), NP-Delayed (new policy delayed), and MFR (maximum feasible reduction).

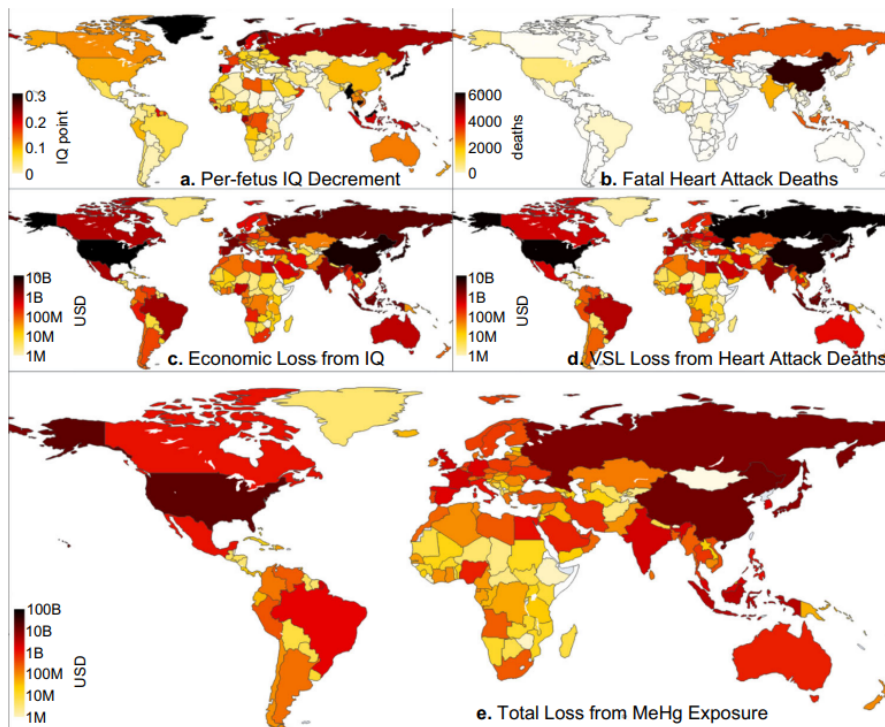


Figure 3-3-7 Diagram for the approach and data sources for methylmercury exposure and risk calculation in this study. Blue frames represent model calculated variables, while black ones are for literature data.

本研究で用いられたメチル水銀曝露とアウトカム・リスク推計に関するアプローチ及びデータベース類（Figure 3-3-7）は、保管データを更新しオンラインデータも活用することで、水俣条約で必要とされた水銀排出コントロールの効果を将来評価する際に有用なツールとなり得ると著者らは述べている。結論として、現行の政策シナリオのまま

は、2010～2050年間の水銀曝露に伴う健康影響へのコストは総額19兆ドル（2020年当時米ドル換算、モンテカルロ法を使用；95%信頼区間：4.7-54兆ドル）まで上ると推計された。水銀排出量の削減規制が遅れると健康に関わるコストが大きく増大することを世界中の人々に知らしめるべきである。水銀は地球規模で循環する環境汚染物質であり、国際的な協力のもとで、利用できる最高の技術による確実かつ円滑な削減の推進が望まれる。

3-4) その他

カナダのSaskatchewan研究所のJamesら¹は、シンクロトロン高エネルギー分解能蛍光検出-X線吸収分光法により、歴史的な猫717の小脳標本の水銀化合物を検索し、水俣病の原因物質はメチル水銀でなく、 α -mercury-acetaldehydeではないかと報告したことを前年度で紹介した。簡単に解説すると、Figure 3-4-1に示すように、アセトアルデヒド製造工程で投入された水銀がメチル水銀に変換される工程で、メチル水銀（図中の5）の前駆体である化合物（3または4）がより主要な生成物ではないかとする見解である。この仮説に対する批判についても前年度にまとめたが、この知見が事実とすると、メチル水銀の毒性を巡る議論の見直しが必要となる。まだ仮説の段階であると考えられるが、このJamesらの文献がその後どのように引用されているのかを、Web of Scienceによる被引用調査より整理したところ、これまでに18本の文献で引用されており、その内訳は、論文発刊時のCommentが2件とそのReplyで2件、原著者らによる自己引用2件（いずれも方法論）、他の著者による分析法の引用7件、そしてメチル水銀/水銀の有害性または健康影響に触れる文献5件であった。この5件について紹介する。

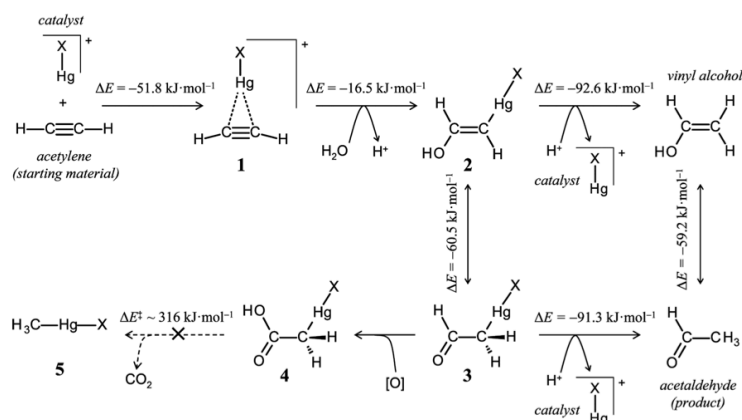


Figure 3-4-1 Chemistry of the Chisso chemical plant and potential side products. DFT computed energy changes (ΔE in kJ mol^{-1}) are shown adjacent to each of the central reactions. The suggested loss of CO_2 from 4 to form methylmercury 5 is chemically very unlikely due to the very high activation energy ΔE^\ddagger of 316 kJ mol^{-1} . X represents a general substituent of mercury, like chloride, which was used for computations. The oxidation 3 to 4 might occur in the environment after waste emission had occurred.

Sakerによる水俣病とメチル水銀に関する総説³⁶の中で、 α -mercury-acetaldehydeに関する話題が取り上げられ、少なくとも2つの理由から更なる解析が必要であると述べられている。第1に、猫717標本は60年以上もホルマリンで保存されており、脱メチル化反応の可能性が否定できないこと、第2にTsubaki and Irukayama³⁷は水俣病患者を含む試料からメチル水銀を検出していることを挙げ、この点はJames論文に対するコメント³⁸⁻³⁹でも問題提起されていることが紹介されている。ただし、メチル水銀が存在したとしても、

水俣病において α -mercuri-acetaldehyde がなんらかの役割を演じた可能性は残ることも述べられている。

Dackら²⁶による体格指標のメタ解析（前述）では一般集団におけるメチル水銀の周産期曝露と出生児の体重などの体格指標値に関するメタ解析が行われ、メチル水銀曝露と体格指標との間に明確な関連性が確認できなかったというのが結論となっている。その理由について、①水俣病と異なり一般集団ではメチル水銀の曝露レベルが低いこと、さらに、②James論文を引用し、水俣病と一般集団の曝露では原因物質が異なっていた可能性が述べられている。

Novoら⁴⁰による毒性メカニズムの総説は、主にニューロンとグリア細胞におけるメチル水銀の影響に焦点を当て、細胞、動物、および人間の研究について見解をまとめたものである。その中で、水俣病を紹介する段落冒頭で、“The deadly consequences of organic mercury compounds have been demonstrated by mass-poisonings of human populations [29]”と記述し（Ref#29=James論文）、その後もメチル水銀の流れの中で再引用されている。James論文は水俣病の原因物質がメチル水銀ではなく α -mercuri-acetaldehyde とする主張であり、メチル水銀の毒性機構を概説する総説の内容とやや矛盾する。おそらく著者らは水俣病およびJames論文の間に潜む議論をよく理解していないと推測される。

アルミニウムと水銀の複合曝露の総説⁴¹の中で引用されているが、水銀も主にチメロサールに焦点を当てている。その前書きで水俣病の原因に触れ、メチル水銀が原因と考えられるものの、 α -mercury-acetaldehydeの関与の可能性が触れられている。

最後に、Web of Scienceによる被引用調査からはフィクションの中で水俣病を論じた評論での引用と想像される記録があるが、現物を入手できず詳細は不明である⁴²。

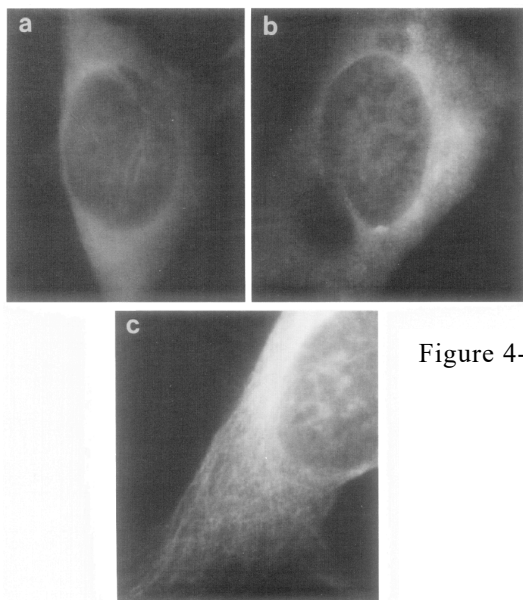


Figure 4-1-1 Immunofluorescence photomicrographs showing the distribution of microtubules in mouse glioma exposed to 5×10^{-6} M CH_3Hg^+ (a and b) or 2×10^{-3} M Cr^{3+} (c). Cells were incubated with 5×10^{-6} M CH_3Hg^+ for 30 min (a), and 1 hr (b) or with 2×10^{-3} M Cr^{3+} for 1 hr (c) at 37°C and fixed with formaldehyde (3.7%) as described under Methods. (a-c) $\times 1500$.

4. 毒性メカニズム

文献データベースMedline(PubMed)を用いて文献検索レビューを行った。対象は、in vitro（試験管内）および培養細胞、動物実験レベルでメチル水銀の毒性について研究しているものとした。

4-1) チューブリンの重合阻害を介したメチル水銀毒性発現機構

チューブリンは、1970年代頃から哺乳動物細胞においてメチル水銀の結合標的として考えられており、有糸分裂や神経細胞をはじめとした細胞骨格の形成と維持にはチューブリン重合が必須であることから、メチル水銀によるチューブリン重合異常がメチル水銀の毒性に関わる可能性が考えられていた。そこでVogelら⁴³は、牛またはラットの脳から精製したチューブリンに対して、塩化メチル水銀を添加し、チューブリンの重合について吸光度、電子顕微鏡、電気泳動で確認した。また、メチル水銀の結合については、放射性同位体メチル水銀とエルマン法で確認した。本実験結果から、チューブリンの重合は15 μ Mのメチル水銀で、50%、30 μ Mのメチル水銀で100%阻害されることが明らかとなった。エルマン法でのチオール基の検討から、メチル水銀30 μ M程度でチューブリンダイマー中のチオール基2箇所にもメチル水銀が結合することが示された。

また、Miuraら⁴⁴は、10~50 μ Mのメチル水銀によってin vitroでチューブリンの重合が阻害されることを確認しただけでなく、培養マウスグリオーマを用い、メチル水銀による細胞増殖の阻害に伴って細胞内チューブリン重合が阻害されることを免疫染色法で明らかにし(Figure 4-1-1)、このような作用は、カドミウム、銅、クロムなどの金属で細胞増殖が抑制される条件では認められず、メチル水銀に特有であることを示した。

Clarkson⁴⁵は、チューブリン重合が細胞分裂に必須であることに着目し研究をすすめ、生後2日のマウスに対してメチル水銀を3-8 mg/kg投与することで、脳における細胞分裂が(特に雄のマウスで)阻害されることを報告している。その他、1970-80年代を中心にメチル水銀によるチューブリン重合阻害に関する研究が多数報告されており、メチル水銀によるチューブリン中のチオール基への共有結合が、その重合を阻害することで神経細胞の分裂を阻害することが示唆されてきた。

4-2) 抗酸化タンパク質群の阻害を介した酸化ストレスの惹起

1990年代には、複数の研究からメチル水銀が酸化ストレスを惹起することが示されてきた。Yeeら⁴⁶はC57BL/6マウスを用いて、メチル水銀を2.5 mg/kgで毎日腹腔内投与し、3-14日にかけて脳内のスーパーオキシドラジカルや過酸化水素が増加することを報告している。本研究では、ミトコンドリアおよび細胞質中のスーパーオキシドディスムターゼ(SOD)の活性も低下することを見出しており、上記酸化ストレス亢進の一因であると著者らは考えている。

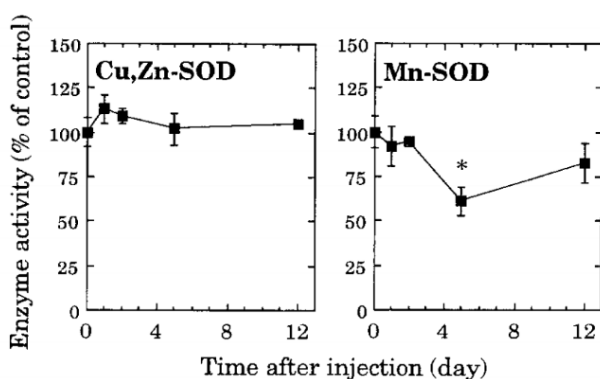


Figure 4-2-1 Alterations in Cu,Zn- and Mn-SOD activities of mouse brain after single injection of MMC. Animals were given MMC (10 mg/kg) by subcutaneous administration. Animals were killed at 1, 2, 5 and 12 days and SOD activities were determined as described in Section 2. Each data is the mean \pm S.D. of three animals. *, significantly different ($P < 0.05$).

また、Shinyashikiら⁴⁷は、10 mg/kgのメチル水銀を単回皮下投与し、2日後に脳内水銀が最高濃度 $1.89 \pm 0.2 \mu\text{g/g}$ に到達し、その後5日目にかけて脳内のCu, Zn-SOD活性（細胞質に存在するSOD）への影響はなかったが、Mn-SOD（ミトコンドリア局在型のSOD）活性の一過的な低下が認められることを報告した(Figure 4-2-1)。ミトコンドリアは細胞の酸素の90%以上を消費し、活性酸素種を産生する細胞内小器官であるため、Mn-SODの阻害はミトコンドリアからのROS増加に寄与すると考えられ、これがメチル水銀毒性発現機構の一端である可能性があり、Mn-SODの発現増加でメチル水銀毒性は軽減されると考えられる。

Naganumaら⁴⁸は、Hela細胞に対してGSH-peroxidase、Catalase、Cu, Zn-SODおよびMn-SODを高発現させ、その後10-500 μM のメチル水銀で処理して細胞死を誘導する実験を行った。GSH-peroxidase(GPx)、Catalase、Cu, Zn-SOD はメチル水銀による細胞死に関係しなかったが、Mn-SOD の過剰発現によってメチル水銀の細胞毒性が軽減されることを報告した。このことは、メチル水銀毒性に対する防御に Mn-SOD が重要であることを示しており、更にミトコンドリア中のスーパーオキシドの形成がメチル水銀の細胞毒性のメカニズムに関与している可能性を示唆している。メチル水銀によるMn-SODの阻害機構としては、Cys196へのメチル水銀の共有結合であることが、等電点電気泳動とシンクロトロン放射光X線分析(IFE-AGE/SR-XRF)によって示されている⁴⁹。

GPxの活性低下についても複数からの報告がなされている。Carvalhoらは40 mg/Lの濃度でメチル水銀を飲水に混入し、自由飲水投与で15-17日間マウスを飼育し、脳内のGSH量、TBARS量（酸化ストレスマーカー）、およびプルキンエ細胞傷害について検討した⁵⁰。その結果、脳内でプルキンエ細胞傷害に伴いGPx活性の低下とTBARSの増加が認められた。一方、本条件のメチル水銀投与自体は、GSHの低下を引き起こしておらず、GPxの活性の低下は、基質の不足だけでは説明つかないと考えられる。

Post-transcriptional Effect of MeHg on Selenoenzymes

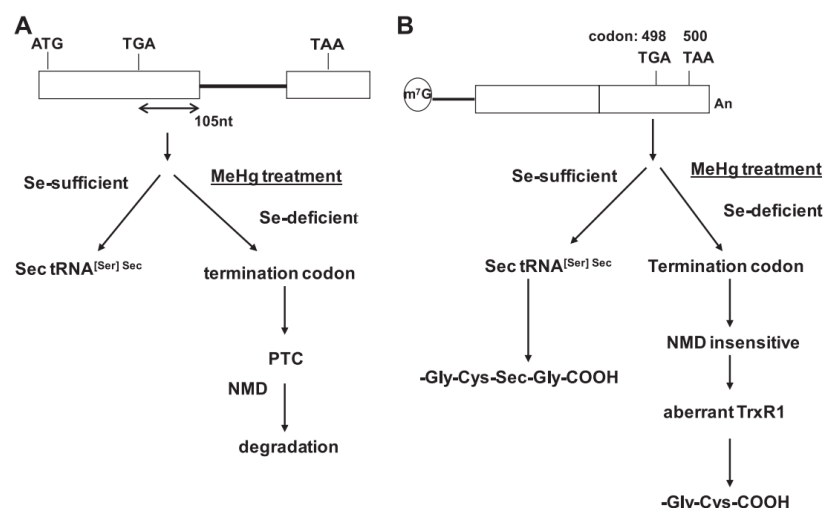


Figure 4-2-2 A model for the post-transcriptional effect of MeHg for antioxidant selenoenzymes. A, GPx1 cDNA. The UGA codon encoded for Sec resides 105 nucleotides upstream of the sole exon-exon junction. When a UGA codon is recognized as a nonsense codon under selenium deficiency, GPx1 mRNA should be a natural substrate for NMD. B, TrxR1 cDNA. The Sec codon UGA-498 resides in the last exon on TrxR1 mRNA, so TrxR1 mRNA cannot be a sub-strate for NMD even when a UGA codon is recognized as a nonsense codon under selenium deficiency.

Francoら⁵¹はマウス（雄性Swissマウス）に40 mg/Lのメチル水銀を21日間自由飲水投与することで、脳内のGPx活性が50-60%低下することを見出した。また培養神経細胞（SH-SY5Y）を用いることで、mercaptosuccinic acid（GPx阻害剤）はメチル水銀の毒性を増強することが示された。一方、Usukiら⁵²は、ラットにメチル水銀を4週間投与することで、脳内のGPx1のmRNAが低下することを報告している。GPxは活性中心にセレノシステインを持つ特殊なタンパク質であり、セレノシステインはUGAの終止コドンにコードされて特殊な方法でタンパク質に翻訳される。セレンが減少した場合、UGAコドンが終止コドンとして認識され、ナンセンス変異RNA分解経路（NMD）によりRNAが減少するため、本機構の関与が考えられる（Figure 4-2-2）。一方、上記条件においてチオレドキシン還元酵素（TrxR）はタンパク質発現が変動しないものの、活性が低下することを見出しており、セレノシステインが無いTrxRが翻訳された可能性を提唱している。

Stringariら⁵³は、妊娠期のマウスへのメチル水銀投与が胎児の脳における酸化ストレス関連因子へ与える影響を検討し報告している。妊娠マウスへメチル水銀を自由飲水投与させ（1, 3, 10 mg/Lの濃度で、妊娠1日目から出産まで投与。その後は21日まで通常の水で飼育）、経時的な出生児脳のGSH量、GPx活性、GR活性を測定した。出生児の脳におけるGSH量、GR活性は、出生直後ではメチル水銀投与群と非投与群の差はなかったものの、11-21日目にかけて、有意に低下した。GPx活性は、産まれた直後から有意に低下していた（3 mg/L以上）。母乳中のセレン濃度にメチル水銀が与える影響が気になったが、それらは測定されていなかった。また、マウス小脳顆粒細胞にGPx1を過剰発現することでメチル水銀による細胞死が抑制されたことから、GPx1はメチル水銀の神経傷害に保護的な役割を担っていると考えられる⁵⁴。興味深いことに、メチル水銀300 nMを3日間前処理することで過酸化水素やt-B00Hへの感受性が増加したことから、メチル水銀は抗酸化系を阻害することで、酸化ストレス感受性を増加させることも示唆された。なお、精製GPxタンパク質の活性にメチル水銀が与える影響が検討されており⁵⁵、メチル水銀はGPx活性中心であるセレノシステインと結合することで、その酵素活性を阻害していると考えられるが、その結合は検証されていない。

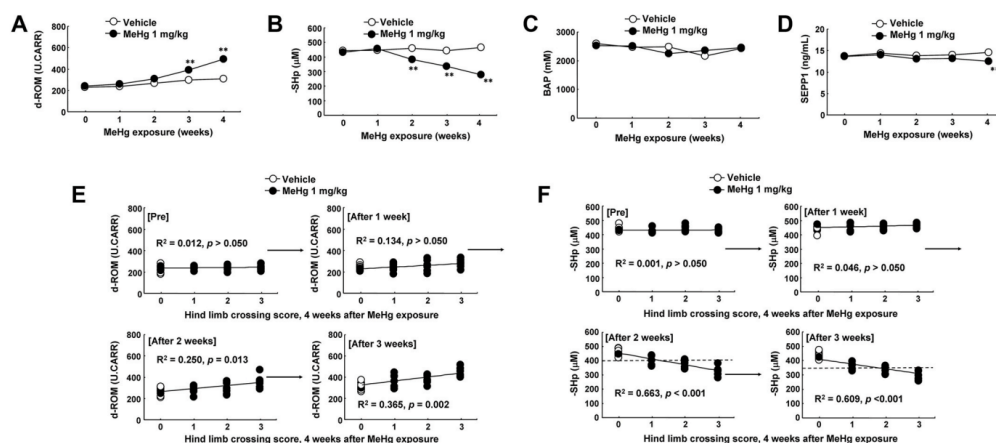


Figure 4-2-3 (a-d) Time course analyses of plasma d-ROM (a), -SHp (b), BAP (c), and SEPP1 (d) levels in rats. The values represent means \pm SEMs for vehicle (n = 8) and MeHg-exposed rats (n = 24). **Significantly different from MeHg-exposed rats by one-way ANOVA followed by Dunnett's multiple comparison test ($p < 0.01$). (e, f) Time course study on Pearson's correlation analysis between d-ROM (e) or -SHp (f) and hind limb crossing sign score after 4 weeks of MeHg exposure in individual MeHg-exposed rat.

最近では、Fujimuraら⁵⁶によってメチル水銀による神経障害を予測するマーカーを検討するため、ラットでの後肢交差を指標とし、それに先駆けて変化する血漿中バイオマーカーの探索を行った。その結果、血漿チオール抗酸化能 (-SHp)が、症状の1週間前に低下しており、その後の中毒症状と相関することが明らかとなった。メチル水銀の毒性発現に先立って、血漿中のtransthyretinが低下し、毒性に伴って、アルブミンやセレノプロテインPの量が低下した (Figure 4-2-3)。セレノプロテインPはセレン輸送体であるため、上記、GPxの活性阻害に寄与する可能性もある。Transthyretinは、肝臓から分泌されて脳に到達する分泌タンパク質であり、一部の神経疾患患者で低下していることが知られているが、メチル水銀との関係は報告がほとんどなく、これから明らかにする必要がある課題である。また、セレノプロテインPは、血漿中総セレン量の53%のセレン占める主要な含セレンタンパク質であり、血液脳関門をトランスサイトシスによって通過して脳へセレンを輸送するのに重要なキャリアープロテインである。セレノプロテインPのノックアウトマウスでは脳におけるセレン量が低下し、GPxの発現も低下することが知られている。メチル水銀によるセレノプロテインPの発現低下が上記したような脳内のGPx活性低下につながっているのか、興味を持たれる。

4-3) ADAM proteaseの活性化を介した神経細胞分化抑制作用

Notch受容体を介したシグナル伝達は、発生過程において神経細胞の分化に重要な役割を担っている。Notchは分泌型のADAMファミリープロテアーゼで切断されて、Notchの細胞内ドメインが核移行し、転写因子群のコアクチベーターとして作用し、神経幹細胞を未分化状態に維持する役割を担う。ADAM proteaseはメタロプロテアーゼの一種であり、活性中心の亜鉛イオンは、プロペプチド中に存在するシステイン残基のチオールへ配位することで活性が抑制されている。Blandら⁵⁷は、ショウジョウバエの培養神経細胞をメチル水銀で処理し、Notchの限定分解 (ADAM proteaseによる) についてウエスタンブロット法で検討した。ADAMの活性化の関与については、その阻害剤 (GM6001) により検討した。その結果、メチル水銀 (10 nM, 12 hr) 処理により、限定分解を受けたNotchが増加し、その下流因子であるE(spl)M γ の発現が増加した。本増加は、Notch siRNAおよびADAM protease阻害剤であるGM6001により阻害されたことから、メチル水銀はADAM proteaseを活性化させることで、Notchシグナルを活性化させることが示された。著者らは、プロペプチド中のチオール基にメチル水銀が結合することで、亜鉛イオンからプロペプチドが遊離することでADAM proteaseが活性化し、NotchシグナルをONにする機構を提唱している。

一方、本論文ではメチル水銀によるADAM proteaseの活性化について直接検討はしていない。ADAM阻害剤によりメチル水銀によるNotchの活性化が抑制されることは結果から示されているが、メチル水銀によるADAM proteaseのチオール基への結合を介した活性化については、まだ検討の余地があると考えられる。また、上記はショウジョウバエ由来細胞での検討であり、哺乳動物では不明のままである。そこで、Tammら⁵⁸は、SDラット由来の初代神経幹細胞をメチル水銀で処理し、上記と同様の検討を行った。本研究ではNotchの活性化をレポーターアッセイによっても評価している。その結果、メチル水銀により、限定分解されたNotch (Notch intercellular domain; NICD) が2.5 nMから10 nMにかけて濃度依存的に増加し、Notchによる転写活性化に応答してGFPを発現するレポータープラスミドを導入した場合、GFPの発現も増加した。また、ADAM protease阻害剤のGM6001は、上記を阻害したことから、メチル水銀はADAM proteaseの活性化を介して、哺乳動物細胞

でもNotchシグナルを活性化させると考えられる (Figure 4-3-1)。以上より、メチル水銀が神経細胞の分化成熟のプロセスを阻害する機構が示唆されている。

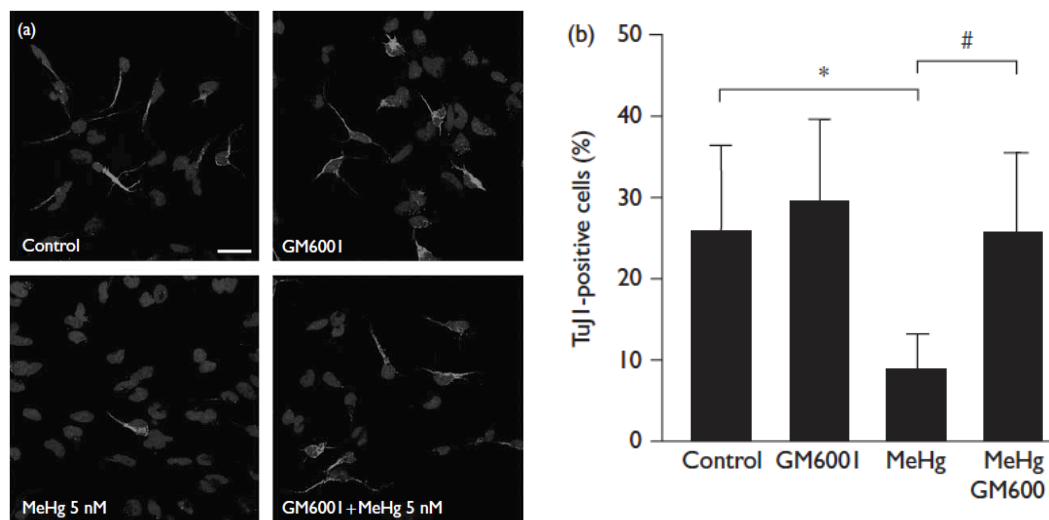


Figure 4-3-1 Pretreatment with the metalloprotease inhibitor GM6001 (20 mM) before methylmercury (MeHg) exposure (5 nM) decreases the inhibitory effect of MeHg on neuronal formation, as assessed by the number of TuJ1-positive neuronal cells. (a) Confocal micrographs of neural stem cells (NSCs) allowed to differentiate for 7 days and subsequently stained with TuJ1 antibody and Hoechst 33342. (b) Quantification analysis showed the aforementioned decrease to be significant. Values are mean \pm SD (n.3). *P and #P < 0.05 (analysis of variance; Fisher's protected least significant difference test). Scale bar, 20 μ m.

4-4) アミノアシルtRNA合成酵素の阻害によるタンパク質合成阻害

メチル水銀によるタンパク質合成阻害についても1980年代から注目されて研究が行われている。メチル水銀はポリソームの凝集を引き起こし、タンパク質合成が阻害されることがこれまでの研究から示されてきたが、その直接的な因果関係は不明のままであった。Cheungら⁵⁹は、メチル水銀を投与したラットの脳を用いて、in vivoおよびin vitroでのtRNA合成とアミノ酸のタンパク質への導入効率について検討を行った。メチル水銀(40 nmol/g)を腹腔内投与した生後10-20日のラット仔から脳を取り出し、ホモジナイズ後、トリチウムラベルのアミノ酸を添加し、そのタンパク質への導入を、cell free protein synthesis系を用いてin vitroで検討した。また、ポリリボソーム形成について、分画法で検討した。tRNAへのアミノ酸の導入についてもトリチウムラベルのアミノ酸(フェニルアラニン)での検討を行った。その結果、メチル水銀は、タンパク質へのアミノ酸導入を阻害し、また、tRNAの合成も阻害した。これは、ポリソームの阻害(ペプチド鎖の身長阻害)とtRNA合成酵素の二重の阻害によるものと考えられる。具体的には伸長因子eEF1とeEF2、およびアミノアシルtRNA合成酵素の阻害である。メチル水銀はtRNA合成阻害を引き起こすことで、タンパク質へのアミノ酸導入を阻害することが示唆された。

4-5) 神経細胞のイオンチャネル攪乱

カルシウムは細胞の生死や神経伝達のシグナル伝達で重要な役割を果たす。Ca²⁺動態の破綻は、最終的に細胞死を引き起こす。Freitasら⁶⁰はメチル水銀がカルシウムの取り込

みに与える影響を検討しており、ラット脳のマクロソーム画分に対して、塩化メチル水銀を添加し、 ^{45}Ca （放射性同位体）とインキュベート後、 $0.45\ \mu\text{m}$ フィルターでろ過することで、フィルター上に残った放射性同位体を取り込まれたものとして検出した。その結果、マクロソーム画分へのカルシウム流入阻害は、 $2\text{--}6\ \mu\text{M}$ のメチル水銀で認められ、 $100\ \mu\text{M}$ のGSH添加によって完全に回復した。また、カルシウムを取り込んだマクロソームからの、カルシウム放出も、メチル水銀（ $1\text{--}10\ \mu\text{M}$ ）で阻害が認められた。これらは、カルシウム依存的なシグナル伝達を攪乱することで、神経機能障害に関わる可能性を示唆している。Siroisら⁶¹は、カルシウムが比較的高濃度存在する小脳の顆粒細胞において、メチル水銀の影響を検討している。ラット小脳顆粒細胞をメチル水銀で処理し、ホールセルパッチクランプ法により測定した。パッチクランプでは、外液にバリウム（カルシウムチャンネルを通過する）を添加することで、カルシウムチャンネル選択的な活性を調べることができる。そこで、メチル水銀で処理した細胞におけるバリウムによる電位変化をカルシウムチャンネル活性として、検討している。その結果、カルシウムチャンネルのPeak Currentがメチル水銀濃度依存的に低下することが示された。これは、メチル水銀がカルシウムチャンネルを阻害することを細胞レベルで示唆している。Pengら⁶²は、HEK293細胞にL型カルシウムチャンネルを発現させ、その活性にメチル水銀が与える影響を検討している。本研究では、 $0.125\text{--}0.5\ \mu\text{M}$ のメチル水銀で処理濃度と時間依存的にL-type Ca channel 依存的Ca電流が小さくなり、阻害されていることが示唆された。なお、この効果はメチル水銀をwashoutしても持続する点で興味深い。

4-6) メチル水銀投与マウスの海馬におけるトランスクリプトーム解析

上記で紹介したメカニズム研究が、実際のメチル水銀投与動物の脳内で認められるかは不明であり、それを検討するために網羅的なアプローチを実施している研究に着目した。培養細胞レベルでメチル水銀の影響を調べたトランスクリプトーム解析（RNA-sequenceおよびmicro array）の例は多数存在するが、現在、メチル水銀投与マウスの脳内で、RNA-sequenceによりトランスクリプトーム解析を報告しているのは、調べた限り1例だけであった。Mellingenら⁶³は、 $0.28\ \text{mg}/\text{kg}$ （低用量；摂餌量換算で $0.04\ \text{mg MeHg}/\text{kg bw}/\text{day}$ ）もしくは $5\ \text{mg}/\text{kg}$ （高用量；摂餌量換算で $0.67\ \text{mg MeHg}/\text{kg bw}/\text{day}$ ）のメチル水銀混餌を調整し、77日間BALBcマウス（2-3週齢）を飼育し、海馬のRNA-sequence解析とプロテオーム解析を行った。海馬のタンパク質およびRNA発現レベルは、低用量メチル水銀投与マウス（20タンパク質／294RNA転写物）と高用量メチル水銀投与マウス（61タンパク質／876RNA転写物）の両方で有意に変化していた。また、これらの発現量の違いの大部分は投与量に依存していた。細胞内の酸化的ホメオスタシスの維持に重要な抗酸化物質であるcatalaseとSODの発現量が低濃度と高濃度の両方で上昇した結果から、著者らの結論として、これらはメチル水銀曝露の指標になることが示唆された。

ところで、この研究で得られたデータは開示されており、独自にGene ontology (GO) 解析（変動したそれぞれの遺伝子に対するタグ情報を集計し統計解析したもの）により再解析を行うことが可能である。RNA-seqデータの再解析を以下に示す順序で実施した。Metalomics中で公開されているfastqファイルをダウンロードし、まずFastQCを用いてダウンロードしたfastqファイルのクオリティチェックを実施し、Trimmomaticによりアダプター配列を除去した。続いて、NCBIからマウスリファレンスゲノム配列（GRCm39）をダウンロードし、SAMtoolsによりリファレンスゲノムへのマッピングを行い、インデックスファイルを作成した。このとき、Bowtie2を用いてリボソームRNAにマッピングさ

れるリードを除去した。次に、STARを用いて各ゲノム領域にリードをマッピングし、featureCountsによってリードカウントを行った。発現差異遺伝子の抽出にはRパッケージによるDESeq2を用い、Wald検定によって二群間比較を実施した。

その結果、高用量で変化していた遺伝子のうち $P < 0.01$ 以下で有意に変動した70種のG0-タームの内47が炎症関連であった (Figure 4-6-1)。一方、低用量で変化していた遺伝子数は少なく、 $P < 0.01$ で変動したG0-タームは19種であり、その内7種が炎症関連であった (図引用、添付excelデータの表)。変動していた遺伝子の中には、上記で紹介した研究で示された、抗酸化系や、カルシウムシグナルに関わるものも一部含まれていた。また、本研究では生後2-3週のマウスを用いて77日曝露後の影響を検討しているため、妊娠期曝露などの影響は反映しておらず、神経幹細胞の成熟等は今後の検討が必要であると考えられる。以上より、遺伝子発現レベルで網羅的にメチル水銀による脳内影響を検討すると、炎症がダイナミックな生体応答として観察され、これが、低濃度-高濃度域に関わらず認められる主要な応答であると考えられる。メチル水銀が動物や細胞レベルで炎症性サイトカインを増加させることは、近年複数の報告から明らかになっており、次年度のレビューでは本症状にフォーカスして詳細に調べたい。

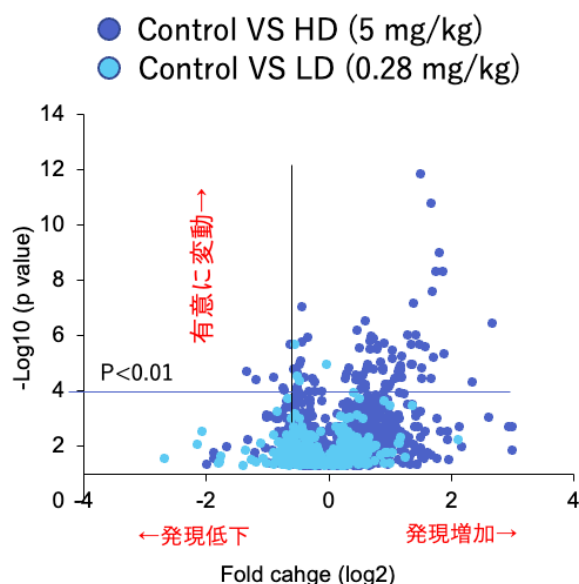


Figure 4-6-1 トランスクリプトーム解析の公開データに基づき独自に Gene ontology (GO) 解析した結果

IV 考察

メチル水銀に関する科学文献について、文献数の推移、環境（野生生物、小規模金鉱山、水俣条約）、人の曝露と健康影響（胎児期曝露、成人での曝露、リスクコミュニケーション）、動物実験などの知見に基づく毒性メカニズムについて文献レビューを進めた。

文献数について、水銀研究への科学的な寄与について考えると、文献数の多寡のみがその判断基準とはなり得ず、質の高い文献数を増やすことが重要であり、少なくとも Impact Factorが高い雑誌への掲載や、被引用数なども考慮されるべきであろう。今回、水銀文献の掲載数、Impact Factor、本レビューでの掲載状況を考慮し、43誌からなる指標を準備し、PubMed掲載の全雑誌と43誌で水銀論文の文献数の推移を検討した。科学論文の数が急増している中で、水銀研究は概ね1%前後を占めているものの、近年は相対的に漸

減している傾向が示唆された。水銀汚染は地球環境問題の1つであり、SDGsの視点においても重要な課題と考えられる。国際社会への情報発信力も大切であると考えられ、“文献数”も研究活動を推測する上で重要な指標であることには間違いない。今後とも日本からの質の高い情報発信が期待された。

小規模金鉱山を巡る水銀の環境汚染では、インドネシア、ペルー、ガーナ、スーダンなどの地域で環境汚染が重大な課題であることが示されているが、実際にガーナなどからは多くの報告が発表されており、インドネシアについては日本から二つの報告が行われていた。ただし、人の健康影響についてはブラジルとスリナム共和国からの報告に限られ、ブラジルの知見も一つの調査事例に由来する同一グループからの報告であった。小規模金鉱山に関わる健康影響について、さらなる知見の集積が必要と考えられた。

水俣条約の有効性評価について、どのような指標を用いて評価を行うのかが現在検討されているところであるが、まだ決定されていない。その中で、既存の縦断的な調査のデータ活用が期待される（Table 2-3-1）が、残念ながらその中に我が国の調査事例は含まれていない。既存のデータより、現在でも人の曝露レベルは低減傾向になることが改めて示された。その背景には、摂取する魚介類とその汚染度が密接である。仮に人の曝露レベルをモニタリングし有効性評価を行う場合、魚摂取の変数をどのように取り込むのかが重要な要因となると考えられた。

人の健康影響に着目した研究の中で、これまで小児神経発達が研究の中心課題となっていたが、近年はさまざまなアウトカムが解析対象となっていた。さらに、血液中の元素を同時に複数測定する技術が進歩したこともあり、水銀以外の金属類（例えば、鉛、ヒ素、カドミウムやスズなど）を同時に測定している研究が増えたこと、さらに prenatal exposureに加え、current exposureを考慮する文献が増えたことが特徴と考えられた。その中でセイシェルで進められているコホート研究より、胎児期のメチル水銀曝露は、子どものエピジェネティック・プログラミングを変化させる可能性があることが示され、メチル水銀の曝露評価や影響評価におけるゲノム解析の重要性を示唆するものと考えられた。

水俣病の原因物質はメチル水銀であることがこれまで定説とされてきたが、昨年、この定説に問題提起を行う文献が発表された¹。その文献の引用を調査したところ複数の文献で引用されていることを確認した。メチル水銀の有害性に関して、高レベルの曝露事例である水俣病と、低レベルの曝露である一般集団の健康影響には乖離があり、例えばセレンなどの関与が考察されてきたところである。仮に、水俣病ではメチル水銀に加え他の水銀化合物の関与があったとすると、さらに状況は複雑となる。水俣病における原因物質の同定は非常に困難な課題であるが、水銀および水俣病に関する基礎的な研究の重要性が改めて重要と考えられた。

メチル水銀による神経傷害の分子機構については、メチル水銀中毒症状が指摘された1960-70年代から数多くのモデルが提唱されてきた。それらは、メチル水銀によるタンパク質中のチオール基の結合を介した、様々な酵素活性阻害や、神経機能の阻害に起因する例が報告されており、メチル水銀の毒性発現機構は生体分子に対する多重標的性によって複雑なものとなっていると考えられる。近年、トランスクリプトームやプロテオーム、メタボロームといった生命現象を総体として捉える技術の発展に伴い、メチル水銀毒性発現機構を総体として理解しようとする研究も数例ながら報告されている。今回、その一例を再解析することで、メチル水銀により脳内で炎症がメジャーな応答として観察されることが示唆された。メチル水銀による炎症の活性化については、最近複数の報

告がなされているため、本現象にフォーカスしたレビュー調査をさらに実施する計画である。

V 結論

メチル水銀および水銀に関連して、文献数の推移、環境と小規模金鉱山の水銀汚染、人の健康影響とリスクコミュニケーション、水俣病の原因物質に関わる議論、および毒性メカニズムについて文献レビューを進めた。小規模金鉱山における水銀利用に関連して、環境およびヒト曝露が引き続き重大な課題であることが確認された。ヒト曝露では胎児期曝露と出生体重との関連性についてメタ解析が報告され、関連性は認められなことが述べられていた。疫学調査から因果関係を結論することは慎重であるべきであるが、引き続き情報収集が重要と考えられた。また、水俣病の原因物質としてメチル水銀とは異なる化学物質を候補とする議論があり、水銀および水俣病に関する基礎的な研究の重要性を改めて示唆するものと考えられた。本年度よりメチル水銀の毒性メカニズムに関するレビュー作業を開始し、主な作用機序の仮説について紹介した。今後さらにシステムチックレビューを進めるとともに、臓器または個体レベルでの理解が必要と考えられた。

VI 次年度以降の計画

文献データベースMedline (PubMed) での検索を中心に科学文献を選択しレビューを継続する。対象として、人の健康影響を理解する上で重要と考えられる文献を選択する。さらに、人の曝露回避を考慮したリスクコミュニケーションに加え、水俣条約とその有効性評価および小規模金鉱山に関連した人健康影響についても検索を行う。人での健康影響については、その毒性メカニズムの理解が重要と考え、動物実験や細胞実験を中心に毒性メカニズムの整理を引き続き行う。検索年は2022年1月～12月に検索可能な文献を対象とし、毒性メカニズムでは過去に遡って作業を継続する。

人の健康影響とリスクコミュニケーション

- ① メチル水銀に関わる健康影響について、感受性が高いと考えられる胎児・小児に加え、成人を対象とする疫学的な知見について、情報収集を実施する。
- ② メチル水銀の有害性やリスク回避に関するリスクコミュニケーションについてレビューを行う。また、母乳を介する曝露評価についても情報の収集を行う。

水俣条約と有効性評価

- ③ 水俣条約の有効性評価に関して、人でのモニタリングに関連する文献に着目する。なお、環境または野生生物の分野で重要文献が検索された場合はレビューを行う。

小規模金鉱山に関連する人体曝露

- ④ 小規模金鉱山に関連する人体汚染および環境汚染に着目しレビューを実施する。

動物実験および細胞系

- ⑤ 動物実験及び細胞系における知見に基づき毒性メカニズムに関するレビューを継続する。個別の標的分子から俯瞰的にメチル水銀毒性を理解するためin vitro-in vivoにおけるレビュー作業を実施しており、今後は動物モデルやヒトへの外挿W0を目指す。

その中でも、網羅的なパスウェイ解析で炎症がメジャーな表現型として現れることが示唆されたことから、次年度では、脳の炎症にも着目する。

その他

- ⑥ Pubmed上で検索可能な文献数の推移について観察を行う。
- ⑦ 前述のJames論文の引用状況についても引き続き観察を行う。

本研究に関する現在までの研究状況、業績

該当なし。

引用文献

1. James AK, Nehzati S, Dolgova NV, et al. Rethinking the Minamata Tragedy: What Mercury Species Was Really Responsible? *Environ Sci Technol.* 2020;54(5):2726-33.
2. Dias Dos Santos AN, Recktenvald M, de Carvalho DP, et al. Mercury in birds (aquatic and scavenger) from the Western Amazon. *Environ Res.* 2021;201:111574.
3. Carravieri A, Warner NA, Herzke D, et al. Trophic and fitness correlates of mercury and organochlorine compound residues in egg-laying Antarctic petrels. *Environ Res.* 2021;193:110518.
4. Malinowski CR, Stacy NI, Coleman FC, et al. Mercury offloading in gametes and potential adverse effects of high mercury concentrations in blood and tissues of Atlantic Goliath Grouper *Epinephelus itajara* in the southeastern United States. *Sci Total Environ.* 2021;779:146437.
5. Achatz RW, de Vasconcellos ACS, Pereira L, Viana PVS, Basta PC. Impacts of the Goldmining and Chronic Methylmercury Exposure on the Good-Living and Mental Health of Munduruku Native Communities in the Amazon Basin. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(17).
6. Basta PC, Viana PVS, Vasconcellos ACS, et al. Mercury Exposure in Munduruku Indigenous Communities from Brazilian Amazon: Methodological Background and an Overview of the Principal Results. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(17).
7. Oliveira RAA, Pinto BD, Rebouças BH, et al. Neurological Impacts of Chronic Methylmercury Exposure in Munduruku Indigenous Adults: Somatosensory, Motor, and Cognitive Abnormalities. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(19).
8. Perini JA, Silva MC, Vasconcellos ACS, Viana PVS, Lima MO, Jesus IM, et al. Genetic Polymorphism of Delta Aminolevulinic Acid Dehydratase (ALAD) Gene and Symptoms of Chronic Mercury Exposure in Munduruku Indigenous Children within the Brazilian Amazon. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(16).
9. Baldewsingh GK, Hindori-Mohangoo AD, van Eer ED, Covert HH, Shankar A, Wickliffe JK, et al. Association of Mercury Exposure and Maternal Sociodemographics on Birth Outcomes of Indigenous and Tribal Women in Suriname. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(12).
10. Saim AK. Mercury (Hg) use and pollution assessment of ASGM in Ghana: challenges and strategies towards Hg reduction. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2021;28(44):61919-28.
11. Basu N, Horvat M, Evers DC, Zastenskaya I, Weihe P, Tempowski J. A State-of-the-Science Review of Mercury Biomarkers in Human Populations Worldwide between 2000 and 2018. *Environ Health Perspect.* 2018;126(10):106001.

12. Kippler M, Gyllenhammar I, Glynn A, Levi M, Lignell S, Berglund M. Total mercury in hair as biomarker for methylmercury exposure among women in central Sweden- a 23 year long temporal trend study. *Environ Pollut.* 2021;268(Pt A):115712.
13. Cusack LK, Smit E, Kile ML, Harding AK. Regional and temporal trends in blood mercury concentrations and fish consumption in women of child bearing Age in the united states using NHANES data from 1999-2010. *Environ Health.* 2017;16(1):10.
14. Taylor DL, Williamson PR. Mercury contamination in Southern New England coastal fisheries and dietary habits of recreational anglers and their families: Implications to human health and issuance of consumption advisories. *Mar Pollut Bull.* 2017;114(1):144-56.
15. Trdin A, Snoj Tratnik J, Mazej D, Fajon V, Krsnik M, Osredkar J, et al. Mercury speciation in prenatal exposure in Slovenian and Croatian population - PHIME study. *Environ Res.* 2019;177:108627.
16. Seo JW, Hong YS, Kim BG. Assessment of Lead and Mercury Exposure Levels in the General Population of Korea Using Integrated National Biomonitoring Data. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(13).
17. He L, Liu F, Zhao J, Liu Q, Cui L, Yu YL, et al. Temporal trends of urinary mercury in Chinese people from 1970s to 2010s: A review. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2021;208:111460.
18. Debes F, Weihe P, Grandjean P. Cognitive deficits at age 22 years associated with prenatal exposure to methylmercury. *Cortex.* 2016;74:358-69.
19. Davidson PW, Myers GJ, Cox C, Axtell C, Shamlaye C, Sloane-Reeves J, et al. Effects of prenatal and postnatal methylmercury exposure from fish consumption on neurodevelopment: outcomes at 66 months of age in the Seychelles Child Development Study. *Jama.* 1998;280(8):701-7.
20. Strain JJ, Davidson PW, Bonham MP, Duffy EM, Stokes-Riner A, Thurston SW, et al. Associations of maternal long-chain polyunsaturated fatty acids, methyl mercury, and infant development in the Seychelles Child Development Nutrition Study. *Neurotoxicology.* 2008;29(5):776-82.
21. Strain JJ, Yeates AJ, van Wijngaarden E, Thurston SW, Mulhern MS, McSorley EM, et al. Prenatal exposure to methyl mercury from fish consumption and polyunsaturated fatty acids: associations with child development at 20 mo of age in an observational study in the Republic of Seychelles. *Am J Clin Nutr.* 2015;101(3):530-7.
22. Strain JJ, Love TM, Yeates AJ, Weller D, Mulhern MS, McSorley EM, et al. Associations of prenatal methylmercury exposure and maternal polyunsaturated fatty acid status with neurodevelopmental outcomes at 7 years of age: results from the Seychelles Child Development Study Nutrition Cohort 2. *Am J Clin Nutr.* 2021;113(2):304-13.
23. Cediël Ulloa A, Gliga A, Love TM, Pineda D, Mruzek DW, Watson GE, et al. Prenatal methylmercury exposure and DNA methylation in seven-year-old children in the Seychelles Child Development Study. *Environ Int.* 2021;147:106321.
24. Garí M, Grzesiak M, Krekora M, Kaczmarek P, Jankowska A, Król A, et al. Prenatal exposure to neurotoxic metals and micronutrients and neurodevelopmental outcomes in early school age children from Poland. *Environ Res.* 2022;204(Pt B):112049.
25. Lee KS, Kim KN, Ahn YD, Choi YJ, Cho J, Jang Y, et al. Prenatal and postnatal exposures to four metals mixture and IQ in 6-year-old children: A prospective cohort study in South Korea.

- Environ Int. 2021;157:106798.
26. Dack K, Fell M, Taylor CM, et al. Mercury and Prenatal Growth: A Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18:20210703.
 27. Tatsuta N, Kurokawa N, Nakai K, Suzuki K, Iwai-Shimada M, Murata K, et al. Effects of intrauterine exposures to polychlorinated biphenyls, methylmercury, and lead on birth weight in Japanese male and female newborns. *Environ Health Prev Med*. 2017;22(1):39.
 28. Zhang J, Wang J, Hu J, Zhao J, Li J, Cai X. Associations of total blood mercury and blood methylmercury concentrations with diabetes in adults: An exposure-response analysis of 2005-2018 NHANES. *J Trace Elem Med Biol*. 2021;68:126845.
 29. Øyen J, Brantsæter AL, Nøstbakken OJ, Birkeland KI, Haugen M, Madsen L, et al. Intakes of Fish and Long-chain n-3 Polyunsaturated Fatty Acid Supplements During Pregnancy and Subsequent Risk of Type 2 Diabetes in a Large Prospective Cohort Study of Norwegian Women. *Diabetes Care*. 2021;44(10):2337-45.
 30. Walker EV, Girgis S, Yuan Y, Goodman KJ. Community-driven research in the Canadian Arctic: dietary exposure to methylmercury and gastric health outcomes. *Int J Circumpolar Health*. 2021;80(1):1889879.
 31. Rossa-Roccor V, Karim ME. Are US adults with low-exposure to methylmercury at increased risk for depression? A study based on 2011-2016 National Health and Nutrition Examination Surveys (NHANES). *Int Arch Occup Environ Health*. 2021;94(3):419-31.
 32. Miller AH, Raison CL. The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target. *Nat Rev Immunol*. 2016;16(1):22-34.
 33. Barone G, Storelli A, Meleleo D, Dambrosio A, Garofalo R, Busco A, et al. Levels of Mercury, Methylmercury and Selenium in Fish: Insights into Children Food Safety. *Toxics*. 2021;9(2).
 34. Ferreira-Rodríguez N, Castro AJ, Tweedy BN, Quintas-Soriano C, Vaughn CC. Mercury consumption and human health: Linking pollution and social risk perception in the southeastern United States. *J Environ Manage*. 2021;282:111528.
 35. Zhang Y, Song Z, Huang S, Zhang P, Peng Y, Wu P, et al. Global health effects of future atmospheric mercury emissions. *Nat Commun*. 2021;12(1):3035.
 36. Sarker A. Ecological perspectives on water, food, and health security linkages: the Minamata case in Japan. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2021.
 37. Tsubaki T, Irukayama K. Minamata disease. Methylmercury poisoning
 38. in Minamata and Niigata, Japan. Amsterdam, The Netherlands: North-Holland Publishing Company; 1977.
 39. Balogh SJ, Tsui MT. Comment on "Rethinking the Minamata Tragedy: What Mercury Species was Really Responsible?". *Environ Sci Technol*. 2020;54(13):8482-3.
 40. Tohyama C. Comment on "Rethinking the Minamata Tragedy: What Mercury Species Was Really Responsible?". *Environ Sci Technol*. 2020;54(13):8486-7.
 41. Dack K, Fell M, Taylor CM, Havdahl A, Lewis SJ. Mercury and Prenatal Growth: A Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(13).
 42. Novo JP, Martins B, Raposo RS, Pereira FC, Oriá RB, Malva JO, et al. Cellular and Molecular Mechanisms Mediating Methylmercury Neurotoxicity and Neuroinflammation. *Int J Mol Sci*. 2021;22(6).
 43. Dórea JG. Neurotoxic effects of combined exposures to aluminum and mercury in early life

- (infancy). *Environ Res.* 2020;188:109734.
44. Tan J. Screening Japan: Kazuo Ishiguro's Early Japan Novels and the Way We Read World Literature. *Mfs-Modern Fiction Studies.* 2021;67(1):89-122.
 45. Vogel DG, Margolis RL, Mottet NK. The effects of methyl mercury binding to microtubules. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1985;80(3):473-86.
 46. Miura K, Inokawa M, Imura N. Effects of methylmercury and some metal ions on microtubule networks in mouse glioma cells and in vitro tubulin polymerization. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1984;73(2):218-31.
 47. Clarkson TW. Metal toxicity in the central nervous system. *Environ Health Perspect.* 1987;75:59-64.
 48. Yee S, Choi BH. Methylmercury poisoning induces oxidative stress in the mouse brain. *Exp Mol Pathol.* 1994;60(3):188-96.
 49. Shinyashiki M, Kumagai Y, Homma-Takeda S, Nagafune J, Takasawa N, Suzuki J, et al. Selective inhibition of the mouse brain Mn-SOD by methylmercury. *Environ Toxicol Pharmacol.* 1996;2(4):359-66.
 50. Naganuma A, Miura K, Tanaka-Kagawa T, Kitahara J, Seko Y, Toyoda H, et al. Overexpression of manganese-superoxide dismutase prevents methylmercury toxicity in HeLa cells. *Life Sci.* 1998;62(12):P1157-61.
 51. Kumagai Y, Homma-Takeda S, Shinyashiki M, Shimojo N. Alterations in Superoxide Dismutase Isozymes by Methylmercury. *Applied Organometallic Chem.* 1997;11(8):635+43.
 52. Carvalho MC, Franco JL, Ghizoni H, Kobus K, Nazari EM, Rocha JB, et al. Effects of 2,3-dimercapto-1-propanesulfonic acid (DMPS) on methylmercury-induced locomotor deficits and cerebellar toxicity in mice. *Toxicology.* 2007;239(3):195-203.
 53. Franco JL, Posser T, Dunkley PR, Dickson PW, Mattos JJ, Martins R, et al. Methylmercury neurotoxicity is associated with inhibition of the antioxidant enzyme glutathione peroxidase. *Free Radic Biol Med.* 2009;47(4):449-57.
 54. Usuki F, Yamashita A, Fujimura M. Post-transcriptional defects of antioxidant selenoenzymes cause oxidative stress under methylmercury exposure. *J Biol Chem.* 2011;286(8):6641-9.
 55. Stringari J, Nunes AK, Franco JL, Bohrer D, Garcia SC, Dafre AL, et al. Prenatal methylmercury exposure hampers glutathione antioxidant system ontogenesis and causes long-lasting oxidative stress in the mouse brain. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2008;227(1):147-54.
 56. Farina M, Campos F, Vendrell I, Berenguer J, Barzi M, Pons S, et al. Probucol increases glutathione peroxidase-1 activity and displays long-lasting protection against methylmercury toxicity in cerebellar granule cells. *Toxicol Sci.* 2009;112(2):416-26.
 57. Hirota Y, Yamaguchi S, Shimojoh N, Sano KI. Inhibitory effect of methylmercury on the activity of glutathione peroxidase. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1980;53(1):174-6.
 58. Fujimura M, Usuki F, Unoki T. Decreased plasma thiol antioxidant capacity precedes neurological signs in a rat methylmercury intoxication model. *Food Chem Toxicol.* 2020;146:111810.
 59. Bland C, Rand MD. Methylmercury induces activation of Notch signaling. *Neurotoxicology.* 2006;27(6):982-91.
 60. Tamm C, Duckworth JK, Hermanson O, Ceccatelli S. Methylmercury inhibits differentiation of rat neural stem cells via Notch signalling. *Neuroreport.* 2008;19(3):339-43.

61. Cheung MK, Verity MA. Experimental methyl mercury neurotoxicity: locus of mercurial inhibition of brain protein synthesis in vivo and in vitro. *J Neurochem.* 1985;44(6):1799-808.
62. Freitas AJ, Rocha JB, Wolosker H, Souza DO. Effects of Hg²⁺ and CH₃Hg⁺ on Ca²⁺ fluxes in rat brain microsomes. *Brain Res.* 1996;738(2):257-64.
63. Sirois JE, Atchison WD. Methylmercury affects multiple subtypes of calcium channels in rat cerebellar granule cells. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2000;167(1):1-11.
64. Peng S, Hajela RK, Atchison WD. Effects of methylmercury on human neuronal L-type calcium channels transiently expressed in human embryonic kidney cells (HEK-293). *J Pharmacol Exp Ther.* 2002;302(2):424-32.
65. Mellingen RM, Myrmel LS, Lie KK, Rasinger JD, Madsen L, Nøstbakken OJ. RNA sequencing and proteomic profiling reveal different alterations by dietary methylmercury in the hippocampal transcriptome and proteome in BALB/c mice. *Metallomics.* 2021;13(5).

A review on health effects of methylmercury exposure in humans

Kunihiko Nakai

School of Sport and Health Science, Tokai Gakuen University

Keywords: Methylmercury, Mercury, Minamata Convention, Global Environmental Issues, Toxicity Mechanism, Review

Abstract

There is no longer any level of methylmercury pollution in Japan today that causes health hazards like Minamata disease. On the other hand, mercury is still being emitted globally from nature and anthropogenic activities, and the health consequences of low-level mercury exposure in fetuses and children have been not already solved. In particular, mercury pollution from artificial small-scale and gold mining (ASGM) activities is a global problem in developing countries. In this context, a review of the literature focused on mercury contamination in the environment and the health effects associated with exposure to methylmercury and mercury at lower levels. Moreover, a new search for animal and cell experiments was conducted to examine the toxicity mechanism of methylmercury.

Regarding the environment, we summarized global mercury pollution related to ASGM in developing countries and the impact on human exposure. Regarding human health risks, the results of a meta-analysis on the effects of perinatal exposure on birth weight were reported, and it was concluded that there was no relevance. On human monitoring in the effectiveness assessment of the Minamata Convention, it has been shown that the exposure level of humans is declining, and the type and amount of fish and shellfish ingested are important factors behind this. The involvement of metabolites different from methylmercury was proposed as the candidate causative agent of Minamata disease in the previous year, and a citation survey of the literature was conducted. Finally, a systematic review was started with the aim of organizing the toxic mechanism of methylmercury for animal/cell experiments.

Based on the above findings, there are still many unresolved issues concerning methylmercury and mercury toxicity and contamination. Further efforts are expected to continue to review the publications in order to sort out the trends of these publications and contribute to promoting research in Japan.