

氏名(本籍)	あら い よし ひろ 新井 淑 弘 (群 馬 県)
学位の種類	博 士 (生物工学)
学位記番号	博 乙 第 1878 号
学位授与年月日	平成 14 年 11 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	無機水銀の生体影響に関する研究 —運動負荷が無機水銀毒性に及ぼす影響と無機水銀による神経細胞死について—
主査	筑波大学教授 工学博士 松村 正 利
副査	筑波大学教授 工学博士 田 中 秀 夫
副査	筑波大学教授 薬学博士 下 條 信 弘
副査	筑波大学教授 工学博士 國府田 悦 男

論 文 の 内 容 の 要 旨

無機水銀の主な標的臓器として肺、腎臓および神経系があげられる。水銀毒性の発現には、その臓器における水銀の蓄積性と、水銀に対する感受性が関与している。また、水銀暴露による毒性発現には個人差が大きく出ることが指摘されている。このような個人差の原因は、先天的な要因と後天的な要因に大別することができる。ヒトの生理的条件を変化させる後天的要因として運動負荷がある。しかし、水銀毒性の発現に及ぼす運動負荷の影響を明らかにした研究は見られない。

このような背景から、本研究の第 1 章では、長期運動負荷が水銀の体内蓄積量や、各臓器中の蓄積性を変化させる因子であるか否かを検討した。水泳により 9 週間運動トレーニングしたマウスと運動トレーニングしないで飼育したマウスを水銀蒸気に暴露した。その後、水銀の蓄積量や各臓器中の濃度を経時的に測定し、水銀の体内蓄積量および臓器中水銀濃度について検討を行った。その結果、水銀の総取り込み量や排出量に関しては運動負荷を与えたマウスと与えないマウスの間で差は見られなかった。しかし、運動を負荷していないマウスに比べ、運動を負荷したマウスでは血液や脳内での水銀濃度が高くなることや、腎臓での濃度が低くなることなどが示された。これらの結果から、運動負荷が水銀の生体内動態を変化させる因子であることが明らかになった。

第 2 章では長期的な運動負荷が無機水銀による腎障害の発症に影響を及ぼすか否かを検討した。水泳により長期運動負荷を与えたマウスと運動負荷を与えずに飼育したマウスに塩化第二水銀を投与して、水銀の腎臓内蓄積量や尿中の蛋白と糖を経時的に測定して、腎機能障害について検討を行った。さらに、このときの腎障害発症に活性酸素種による細胞膜障害が関与しているか否かをあわせて検討を行った。尿検査の結果、無機水銀投与前の長期運動負荷は無機水銀による腎障害を変化させる因子であることが明らかになった。しかし、腎臓中の過酸化脂質量は水銀投与によって変化せず、この投与条件での腎障害発生時には脂質の過酸化が主な腎機能障害の原因ではないことが示唆された。

第 3 章では、NGF により神経細胞様に分化した PC12 細胞を塩化第二水銀に暴露して、水銀濃度と細胞の生存率との関係を検討した。PC12 細胞の生存率は培地中に添加した水銀の濃度に依存して低下した。その際、細胞を光学顕微鏡で観察した結果、低濃度の水銀に暴露した時に見られる PC12 細胞は小体状になり細胞死を起こすことが観察された。これまでは、無機水銀による神経細胞死は壊死によるものであるという説が主なものであった。し

かしこの研究では、PC12細胞を低濃度の水銀に暴露すると Apoptosis 様の細胞死が起こることが考えられた。そこでさらに、低濃度の塩化第二水銀に暴露した時のPC12細胞の細胞死は細胞死に先行する蛋白合成を必要とする細胞死であるか否かを検討した。NGFにより神経細胞様に分化させたPC12細胞を塩化第二水銀に暴露した時に起こる細胞死、RNA合成阻害剤、蛋白合成阻害剤もしくはエンドヌクレアーゼ阻害剤の添加で抑制できるか否かについて検討を行った。その結果、低濃度の水銀への暴露で見られる細胞死は、蛋白合成阻害剤の添加で抑制されたため、細胞死に先行する蛋白の合成を必要とする細胞死であることが示唆された。しかし、高濃度の水銀への暴露では、各種阻害剤による細胞死の抑制効果は見られなかった。

これらのことから、現在までほとんど検討が行われてこなかった、無機水銀の毒性発現に対する運動負荷の影響を評価することの重要性を指摘することができた。また、無機水銀の神経細胞への影響は比較的低濃度の暴露から現れ、高濃度暴露時とは違う細胞死機構が存在することが明らかになった。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は無機水銀暴露による毒性発現に個体差が生じる原因として、運動負荷が関与するか否かを検証することを目的とした。動物実験により、水銀暴露前の長期運動トレーニングによる生理状態の変化が、臓器中の水銀蓄積性を変化させ、標的臓器である腎臓の水銀に対する感受性を変化させることにより、水銀毒性の発現に影響していることを明らかにした。

また、神経系の株化細胞（PC12）を用いて無機水銀暴露による神経細胞死について検討を行った結果、無機水銀暴露による神経細胞死は、暴露された水銀濃度によってその様式が異なることを明らかにした。さらに、低濃度の無機水銀暴露では、神経細胞死に蛋白合成を必要とする apoptosis 様の細胞死が起こることを明らかにした。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。