

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月17日現在

機関番号：84407

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15387

研究課題名（和文）生息海域と深度によるメチル水銀の含有量比較と魚食によるリスク評価

研究課題名（英文）Investigation of methylmercury content in fish for the comparison between habitat sea area and depth and the risk assessment in fish dietary intake

研究代表者

柿本 幸子 (Kakimoto, Sachiko)

地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所・企画部・主任研究員

研究者番号：80291219

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,600,000円

研究成果の概要（和文）：今回、我々は、日本近海で漁獲されたベニズワイガニの総水銀およびメチル水銀の濃度を調査した。また、分子量に基づきメチル水銀濃度を水銀濃度に換算した値と総水銀濃度との比を算出するとその平均値は0.88であり、ベニズワイガニでは、水銀は概ねメチル水銀の形態で蓄積されていた。一般的な日本人の食事でベニズワイガニによるメチル水銀摂取量は、0.013 mg/週未満と試算された。この値は、暫定耐容一週間摂取量の約1/6であり、健康へ直ちに悪影響を与える量でないことがわかった。ベニズワイガニがメチル水銀の汚染指標となり得るかを検証するために、今後、試料サイズ、試料数の増加、試料の漁獲海域を統一する必要がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

一般的な日本人の食事を介してのベニズワイガニのメチル水銀摂取量は、0.013 mg/週未満となり、暫定耐容一週間摂取量の約1/6であり、直ちに健康に悪影響を与える量ではなかった。今回調査した生ベニズワイガニ中の総水銀濃度とメチル水銀濃度との関係を検証した結果、ベニズワイガニでは水銀は概ねメチル水銀の形態（存在比=0.88）で蓄積されていることがわかった。また、体重と総水銀およびメチル水銀濃度に相関が認められた。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated the total mercury (T-Hg) and methylmercury (MeHg) concentrations in red snow crabs (*Chionoecetes japonicus*) caught off the coast of Japan. The mean ratio of MeHg to T-Hg was 0.88. According to our data, the intake of MeHg from eating red snow crab was estimated to be lower than 0.013 mg/week, which was less than one-sixth of the tolerable MeHg intake (0.08 mg/week). It indicated that no adverse effect on health immediately. To verify the use of red snow crab as an indicator of MeHg contamination, further studies are required to unify and expand the sample properties of size, number, and catch area.

研究分野：社会医学

キーワード：総水銀 メチル水銀 ベニズワイガニ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

産業革命以降、環境中の水銀濃度は約 2~3 倍に増加し、さらに現在も増加している。現在、水銀の人為的排出量が最も多いのはアジア地域であり、世界全体の水銀排出量の約 50% を占めている。日本は、アジア大陸の風下に位置し、水銀は、大気、海洋等を通じて、長距離を移動し日本近海まで到達していることが報告されている。海洋へ沈着した水銀の大部分は中深層の微生物により、メチル水銀となる。海洋中のメチル水銀濃度は、その海域に生息する魚介類のメチル水銀濃度に影響を与えると推察される。

各海域のメチル水銀汚染を把握し、それぞれの海域から水揚げされた魚介類摂取によるリスクを評価することは食品衛生上重要である。また、メチル水銀濃度と共にその毒性軽減効果が高いセレノネイン含有量の実態調査を行い、魚食によるメチル水銀暴露の正確なリスク評価を行なうための情報が必要である。

2. 研究の目的

日本近海の水銀汚染分布図を明らかにするために、ベニズワイガニをメチル水銀の汚染指標として使用できるか検証した。また、我が国における食品としてのベニズワイガニのメチル水銀汚染の実態調査を行った。

3. 研究の方法

(1) 試料収集

ベニズワイガニは、メチル水銀が生成される中深層(水深 500~2700 m)に生息し、日本近海で漁獲され、日本人による摂取量も多い。そのことから、ベニズワイガニを汚染指標として選択した。試料は、購入前に販売者に漁獲海域を聞き取り調査し、あるいは、漁業協同組合等で発行している産地証明書を取得して、太平洋側あるいは日本海側で生息したベニズワイガニであるかの特定を行った。また、東北区水産研究所の協力により、市場では東北地方太平洋沖地震の影響により入手困難であった太平洋側の試料を入手した。成体のカニを収集する目的で 600 g 以上のサイズを目安とした。

(2) 総水銀およびメチル水銀分析法の性能評価

ベニズワイガニは、我が国における水銀の暫定的規制の対象外であるが、暫定的規制値での濃度で添加試料を調製し(添加濃度:総水銀:0.4 mg/kg とその 1/2 程度の濃度である 0.2 mg/kg、メチル水銀:0.3 mg/kg) 分析した。性能評価では、分析者 1 名が 2 併行の分析を、5 日間実施する枝分かれ実験計画を採用した。食品中の金属に関する試験法の妥当性評価ガイドラインに従って分析法の真度、併行精度および室内精度を推定し、目標値と比較して妥当性を確認した(添加試料:n=10、ブランク試料:n=5)。

(3) ベニズワイガニ中の総水銀含有量実態調査

生ベニズワイガニの他に、入手の容易な茹でベニズワイガニの総水銀含有濃度も調査した。生ベニズワイガニ (n=39) および茹でベニズワイガニ (n=41) 中の総水銀濃度を測定した。

(4) ベニズワイガニ中のメチル水銀として存在する水銀の割合

収集した試料のうち、生ベニズワイガニ 39 試料中の総水銀濃度と、メチル水銀濃度を分子量に基づき(水銀/メチル水銀 = 200.59/215.62) 水銀濃度に換算した値との比を計算した。

(5) 総水銀およびメチル水銀と体重との相関

試料体重を横軸に、総水銀およびメチル水銀濃度を縦軸にプロットし、相関係数と p 値を求めた。

(6) ベニズワイガニのメチル水銀汚染指標としての利用

収集した生ベニズワイガニを日本海側と太平洋側に分けてメチル水銀の汚染指標として利用できるか検討を試みた。

(7) ベニズワイガニの食事を介しての摂取による健康リスク

FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA, 2006) による勧告、メチル水銀暫定耐容一週間摂取量 (PTWI) 0.0016 mg/kg 体重を基に、日本人の一般的な食事から摂取されるメチル水銀量による健康リスクを計算した。

(8) 固相抽出法

ベニズワイガニがメチル水銀の汚染指標となり得るかを判断するため、さらに多くの試料を分析する必要がある。そこで、固相カートリッジカラムを用いた迅速、簡便な新規メチル水銀分析法を検討した。

(9) セレノネインの分析

メチル水銀の毒性に拮抗作用があるセレノネインについて、LC-MS/MS での分析を検討した。セレノネイン標準品は市販されておらず、文献を参考に LC-MS/MS 分析条件を構築した。その条件を用いてセレノネインが含まれる魚類酵素処理食品を分析した。

4. 研究成果

(1) 試料収集

カニ類は寿命が長く肉食性であり、深海性魚介類であることから、重金属の汚染指標としての有効性が示唆されている。産地証明書で確認した北海道、青森県、秋田県、岩手県、山形県、宮城県、新潟県、富山県、兵庫県、鳥取県の生ベニズワイガニ 49 試料、茹でベニズワイガニ

41 試料を収集した。10 脚ある完全体の試料体重において、生ベニズワイガニは 320~1150 g (中央値 : 680 g)、茹でベニズワイガニは、450~870 g (中央値 : 605 g) であった。

(2) 総水銀およびメチル水銀分析法の性能評価

我が国の分析法妥当性ガイドラインに基づき、総水銀およびメチル水銀分析法の妥当性確認を行った。その結果、「食品中の金属に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」第 0926003 号の目標値(真度 80~110%、併行精度<10%、室内精度<15%)を満たした。

(3) ベニズワイガニ中の総水銀含有量実態調査

収集した試料のうち、生ベニズワイガニ(39 試料)および茹でベニズワイガニ(41 試料)中の総水銀はそれぞれ 0.03~0.56 mg/kg (平均値 : 0.21 mg/kg)、0.02~0.74 mg/kg (平均値 : 0.27 mg/kg) であった。今回の調査により得られたベニズワイガニ中の総水銀濃度は、既報のカニ(blue crab, edible crab 等)の濃度と比較すると、特に高いものではないと考えられた。

(4) ベニズワイガニ中でのメチル水銀として存在する水銀の割合

一般的な魚類では、総水銀量に占めるメチル水銀量の割合が 9 割であると報告がある一方、クロカジキにおいては多くがセレン化水銀として存在するともいわれている。ベニズワイガニに含まれる水銀の形態に関する報告が少ないため、メチル水銀として存在する水銀の割合(存在比)についても検証(39 試料)した。その結果、0.77~0.99 (平均値 : 0.88) となり、ベニズワイガニでは水銀は概ねメチル水銀の形態で蓄積されていることがわかった。

(5) 総水銀およびメチル水銀と体重との相関

総水銀およびメチル水銀と、体重との間に相関が認められた。総水銀は、 $R=0.488$ 、メチル水銀は、 $R=0.490$ となり、それぞれの p 値は 0.01 以下であった。このことから、海洋の中深層に生息し、寿命の長いベニズワイガニは、生息域の餌等から取り込んだ水銀を経年的に体内に蓄積することが示唆された。Taylor らの論文によると他のカニ類も、高濃度に水銀を含有する餌を摂食することにより体内の水銀濃度が高くなり、成長すると共に脱皮する頻度が少なくなるため、含有する水銀濃度は高くなると報告している。我々の報告もこの結果と同様であった。

(6) ベニズワイガニのメチル水銀の汚染指標としての利用

生ベニズワイガニ 49 試料の漁獲海域を日本海側と太平洋側に分類すると、日本海側は 20 試料、太平洋側が 29 試料であった。日本海側のカニの体重は 590~1150 g (中央値 : 800 g) であった。太平洋側は、脚が欠落していないカニが 16 試料で、その体重は 320g~690g (中央値 : 525 g) であった。また、脚が欠落したカニは 13 試料であり、脚が欠落しているためカニの体重は不明であった。生ベニズワイガニ 49 試料中のメチル水銀濃度は、0.03~0.54 mg/kg (平均値 : 0.18 mg/kg) であった。日本海側、太平洋側それぞれの漁獲海域において、漁獲地が統一されておらず偏りが認められること、また試料数が十分ではなく、両漁獲海域の試料で体重に差が見られたため、現時点では、両漁獲海域のカニに含まれるメチル水銀濃度の有意差検定を実施することができなかった。

(7) ベニズワイガニの食事を介しての摂取による健康リスク

JECFA によるとメチル水銀の暫定耐容一週間摂取量 (PTWI) は、0.0016 mg/kg である。日本人成人の平均的な体重である 50 kg で換算すると、0.08 mg/week となる。この量は、生ベニズワイガニだと約 0.43 kg、茹でのベニズワイガニだと約 0.34 kg までの摂食となる。2016 年度の我が国の国民栄養調査によると、日本の一般的な食事によるエビ・カニ類の一週間の摂取量は、約 0.024 kg であり、本研究で得られたメチル水銀の最高濃度である 0.54 mg/kg により算出したメチル水銀の摂取量は約 0.013 mg となる。この数値は、暫定耐容一週間摂取量の約 1/6 であり、直ちに健康に影響を与える量ではなかった。

(8) メチル水銀の固相抽出法

ベニズワイガニを試料として用い、分析値を比較したところ、新規法は従来法の 9 割程度の定量値を示した。前処理に要する時間は 6 時間で、従来法の半分程度に短縮できた。

(9) セレノネインの分析

メチル水銀の毒性をより正確に評価することを目的として、メチル水銀の毒性に拮抗作用があるセレノネインの分析法確立を試みた。セレノネインを含有するサバの酵素処理した食品を前処理して測定したが、夾雑物質のためうまく測定することはできなかった。セレノネイン標準品は市販されていないため、構造が類似するエルゴチオネイン標準品を用いてエルゴチオネインの LC-MS/MS 分析条件を確立し、その条件を参考にセレノネイン分析法を確立することを考えた。その結果、エルゴチオネイン標準品を用いて MS 分析条件を確立した。しかし、エルゴチオネインは水溶性が高く、逆相系 LC カラムでは保持されなかった。そこで今後、イオン交換系の性質を持つ順相系 LC カラムを用い、エルゴチオネイン分析法を検討することとした。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 2 件)

Sachiko Kakimoto, Masato Yoshimitsu, Kazuhiko Akutsu, Kyohei Kiyota, Takuya Fujiwara, Takahiro Watanabe, Keiji Kajimura and Tetsuo Yamano
Concentrations of total mercury and methylmercury in red snow crabs (*Chionoecetes japonicus*) caught off the coast of Japan, Marine Pollution Bulletin, 査読あり、2019、

145、1-4、<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.04.062>

柿本幸子、吉光真人、阿久津和彦、清田恭平、藤原拓也、昌山 敦、高取 聡、渡邊敬浩、梶村計志、山野哲夫、魚介類中メチル水銀のフェニル誘導体化 GC/MS 分析法の妥当性確認、大阪健康安全基盤研究所研究年報、査読あり、平成 29 年度、第 1 号、36-40

〔学会発表〕(計 2 件)

柿本幸子、吉光真人、阿久津和彦、渡邊敬浩、梶村計志、メチル水銀分析法の妥当性確認とベニズワイガニ中の含有量について、地方衛生研究所全国協議会近畿支部理化学部会研修会、大阪、2016、11 月

柿本幸子、吉光真人、阿久津和彦、渡邊敬浩、服部努、梶村計志、ベニズワイガニ中の総水銀およびメチル水銀分析法の妥当性確認と実態調査、環境化学討論会、静岡、2017、6 月

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。