

令和 2 年 9 月 8 日現在

機関番号：87401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K09121

研究課題名(和文) 糖尿病の病態におけるメチル水銀の動態・毒性発現の修飾機構

研究課題名(英文) Modification mechanism of methylmercury toxicokinetics and toxicity under diabetic status

研究代表者

山元 恵 (Yamamoto, Megumi)

国立水俣病総合研究センター・その他部局等・部長

研究者番号：70344421

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：糖代謝異常の病態下におけるメチル水銀(MeHg)の体内動態を明らかにすることを目的として、12週齢の雄の2型糖尿病マウスKK-Ay及びBL/6マウスに0.2, 1, 5 mg Hg/kg BWのMeHgを単回投与し、4, 7, 11, 14日における血液及び組織(脳、腎臓、肝臓、膵臓)中の総水銀濃度を測定後、薬物動態パラメータ(Vd/F, Kel, t1/2, AUC, CL/F, Kp, Kp')による解析を行った。その結果、本実験条件下において、血球、脳、肝臓、腎臓、膵臓におけるMeHgの吸収及び排出能は、KK-AyマウスはBL/6マウスと比べて高い傾向を示すことが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2型糖尿病マウスと正常マウスにおけるMeHgの体内動態に関する初めての比較研究である。糖代謝異常の病態下におけるMeHgの各組織への移行や排出のされやすさの解明につながる。MeHgの標的器官への選択的な分布と、病態下におけるMeHg曝露に対する感受性の理解に役立つ知見であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We compared the toxicokinetics of MeHg in KK-Ay type 2 diabetic mice and C57BL/6J mice to evaluate how metabolic changes associated with diabetes affect MeHg toxicokinetics. A single dose of MeHg (0.2, 1, or 5 mg mercury/kg) was orally administered to 12-week-old KK-Ay and C57BL/6J male mice. Total mercury concentrations in plasma, blood cells, whole blood, and tissues (brain, kidney, liver, and pancreas) were measured after 4, 7, 11, and 14 days, and the toxicokinetics was analyzed using pharmacokinetic parameters (Vd/F, Kel, t1/2, AUC, CL/F, Kp, Kp'). The results indicate that MeHg is more rapidly absorbed in and eliminated from blood cells, brain, liver, kidney, and pancreas in KK-Ay mice under the experimental conditions.

研究分野：環境衛生学・環境毒性学

キーワード：メチル水銀 毒物動態 糖代謝異常 マウス

1. 研究開始当初の背景:

メチル水銀 (MeHg) の感受性要因の一つとして、疾患に伴う代謝異常が指摘されているが、これまで種々の疾患と MeHg の代謝・動態に関する関連についてはほとんど明らかになっていない (1)。糖尿病は神経障害、腎症など様々な障害を引き起こす代謝性疾患であり、世界的な公衆衛生学的問題の一つであるが、これまで糖代謝異常の病態下における水銀の体内動態については明らかになっていない。筆者らの研究において、2 型糖尿病マウス (KK-Ay) と正常マウス (BL/6) に、体重あたり等用量 (5 mg Hg/kg BW) の MeHg を週三回投与すると、数週間後に KK-Ay マウスは神経症状を発症するが、BL/6 マウスにおいて発症は観察されなかった (2, 3)。その一因は、2 型糖尿病における体脂肪量の増加及び脂肪組織における水銀の低蓄積性に伴う各組織における MeHg の体内分布の変化と解釈しており、MeHg の曝露評価・リスク評価において疾患に伴う代謝や体組成の変化は考慮すべき重要な因子であることを示すと考えられる。これまで様々な系統のマウスにおける MeHg の体内動態に関して報告されているが、糖尿病マウスにおける MeHg の動態については報告されていない。特に脳などの各標的器官への MeHg の取り込みや排出に関する詳細な動態解析はほとんど報告されていない。

2. 研究の目的:

2 型糖尿病モデルマウス KK-Ay 及び正常マウス BL/6 の血液及び標的組織(脳、肝臓、腎臓、膵臓)における MeHg の動態を、各種薬物動態パラメータを用いた解析により明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法:

12 週齢の雄の KK-Ay、BL/6 マウスに三濃度の MeHg (0.2 mg, 1, 5 Hg/kg BW) を単回投与し、4d, 7d, 11d, 14d 後の血液及び各組織(脳、腎臓、肝臓、膵臓)中の総水銀 (T-Hg) を測定した。KK-Ay マウス(MeHg 投与または非投与)、BL/6 マウス(MeHg 投与または非投与)の四群について、各群 n=3 の実験を二回実施した。得られた血液及び各組織中の総水銀値を、1 コンパートメントモデルにより、以下のパラメータ (V_d/F , K_{el} , $t_{1/2}$, AUC, CL/F , K_p 値: 組織中水銀値 / 血漿中水銀値, K_p' 値: 組織中水銀値 / 全血中水銀値) を用いて解析した。

4. 研究成果:

血液及び組織中の T-Hg 濃度の経時的変化

血漿、血球、全血、脳、肝臓、腎臓、膵臓の T-Hg 濃度の経時的変化を図 1 に示す。T-Hg 値は、すべての MeHg 曝露群で経時的に直線的に減少していた。血球中の Hg 値は常に血漿より高い推移を示しており、血球が MeHg の体内循環におけるキャリアとして大きな役割を果たすことを示している。

血液及び組織における MeHg の毒物動態パラメータ

KK-Ay マウスと BL/6 マウスの各毒物動態パラメータの解析結果を表 1 に示す。 V_d/F は、すべての MeHg 用量で、KK-Ay マウスの血漿、血球、及び全血において BL/6 マウスより高かった。 K_{el} は、ほぼすべてのサンプルと MeHg 用量で KK-Ay マウスの方が高かった。 $t_{1/2}$ は、ほぼすべてのサンプルにお

いて BL/6 マウスで高かった。t_{1/2} は BL/6 マウスの脳で最も高い値を示し、KK-Ay マウスの血球で最も低い値が観察された。AUC はほとんどのサンプルにおいて KK-Ay マウスの方が低い値を示した。CL/F は、すべてのサンプルにおいて KK-Ay マウスの方が高かった。

血液及び組織の K_p 値の経時的変化

本実験条件下における K_p 値の経時的変化を図 2 に示す。血球からの MeHg の排出は、実験期間を通じて KK-Ay マウスでより顕著であった。さらに、全血で観察されたパターンは、血球で観察された結果と同様であった。KK-Ay マウスの脳 K_p 値は、11 日目まで徐々に増加し、その後プラトーであった。BL/6 マウスでは、値は 14 日目まで増加した。K_p 値は、4 日目以降、KK-Ay マウス < BL/6 マウスであった。肝臓の K_p 値は、両系統のマウスでほぼ同様に増加した。腎臓の K_p 値は、KK-Ay マウスではほぼ一定の値を示したが、BL/6 マウスでは増加した。膵臓の K_p 値は、KK-Ay マウスでは経時的に減少する傾向が見られたが、BL/6 マウスでは一定の傾向を示した。

血液及び組織における K_p 値の経時的変化

K_p 値の経時的変化を図 3 に示す。KK-Ay マウスの脳 K_p 値は、11 日目まで増加し、その後プラトーに達した。一方、BL/6 マウスでは実験期間を通じて増加していた。脳 K_p 値のレベルとパターンは両系統のマウスで同様であった。肝臓 K_p 値は、KK-Ay マウスでは経時的に増加する傾向があり、BL/6 マウスでは、K_p 値は実験期間を通じてほぼ一定であった。腎臓では、両系統のマウスとも K_p 値が増加する傾向が見られた。膵臓 K_p 値は両系統のマウスにおいてほぼ一定でパターンは類似していたが、KK-Ay マウスでは 11 日後に低下する傾向を示した。

以上の結果より、KK-Ay と BL/6 マウスとの比較において MeHg の各組織への吸収、排出パターンには顕著な違いが見られ、単回投与された MeHg の血球、脳、肝臓、腎臓、膵臓における吸収及び排出は、BL/6 マウスと比べて KK-Ay マウスにおいて高い傾向を示すことが明らかになった。また、血球 K_p 値のマウス系統間の違いは、血漿と血球の間の MeHg の移行様式が各組織への選択的な分布に顕著に影響を与える可能性を示していた。本研究において得られた知見は、MeHg の標的器官への選択的分布や、病態下における MeHg 曝露に対する感受性の理解に役立つものと考えられる。

< 引用文献 >

1. World Health Organization. (2008). Guidance for identifying populations at risk from mercury exposure. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
2. Yamamoto, M., Yanagisawa, R., Motomura, E., Nakamura, M., Sakamoto, M., Takeya, M., & Eto, K. (2014). Increased methylmercury toxicity related to obesity in diabetic KK-Ay mice. *Journal of Applied Toxicology*, 34(8), 914-923.
3. Yamamoto, M., Motomura, E., Yanagisawa, R., Hoang, V. A. T., Mogi, M., Mori, T., ... Eto, K. (2019). Evaluation of neurobehavioral impairment in methylmercury-treated KK-Ay mice by dynamic weight-bearing test. *Journal of Applied Toxicology*, 39(2), 221-23.

图1-a

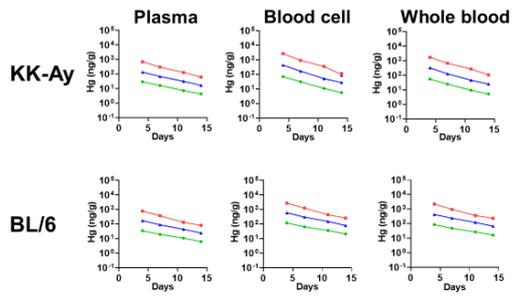


图1-b

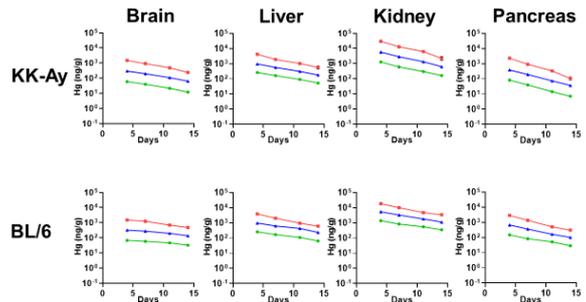


图2-a

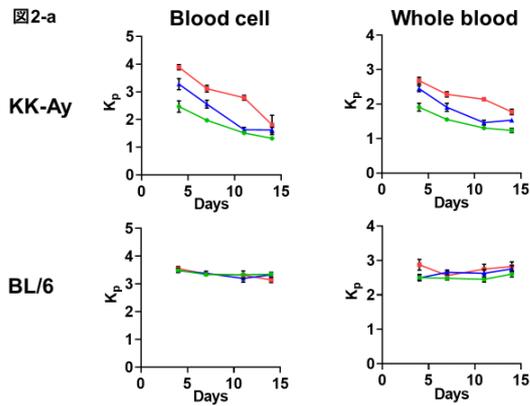


图2-b

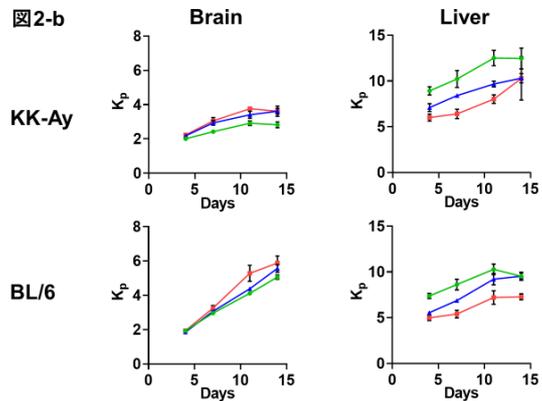


图2-c

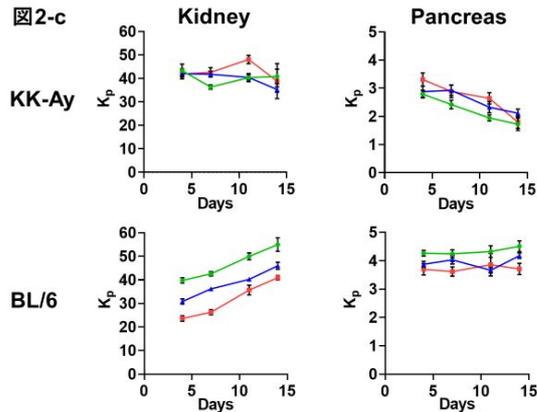


图3-a

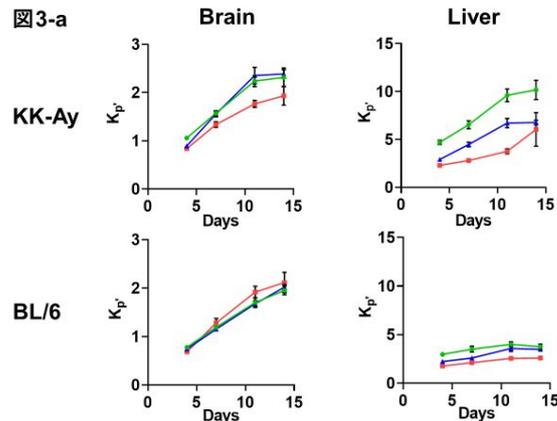


图3-b

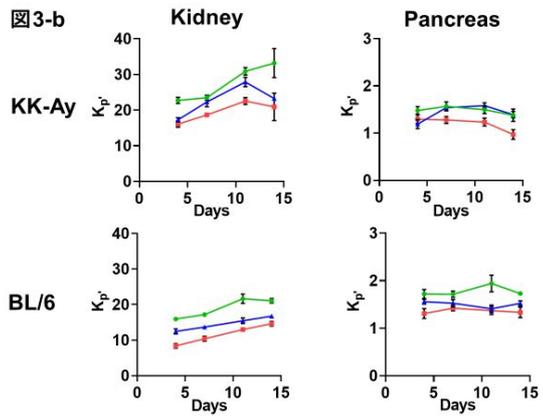


表 1.

MeHg dose	Parameter	Plasma		Blood cell		Whole blood		Brain		Liver		Kidney		Pancreas	
		KK-Ay	BL/6	KK-Ay	BL/6	KK-Ay	BL/6	KK-Ay	BL/6	KK-Ay	BL/6	KK-Ay	BL/6	KK-Ay	BL/6
0.2 mg Hg/kg	Vd/F (mL)	251.3	134.2	88.4	38.6	121.5	55.1	-	-	-	-	-	-	-	-
	K _{el} (/day)	0.19	0.17	0.26	0.17	0.23	0.16	0.16	0.07	0.16	0.14	0.20	0.13	0.24	0.16
	t _{1/2} (day)	3.6	4.2	2.7	4.1	3.0	4.3	4.4	9.7	4.4	5.1	3.4	5.2	2.9	4.4
	AUC (ng*day/mL)	195.2	237.8	416.9	812.8	329.9	595.3	442.5	647.1	1917	1964	7876	10190	493.3	1039
	CL/F (mL/day)	48.2	22.3	22.5	6.5	28.5	8.9	21.2	8.2	4.9	2.7	1.2	0.5	19.1	5.1
1 mg Hg/kg	Vd/F (mL)	265.9	124.4	71.1	35.6	101.1	50.7	-	-	-	-	-	-	-	-
	K _{el} (/day)	0.21	0.19	0.28	0.20	0.25	0.18	0.15	0.09	0.16	0.13	0.22	0.15	0.24	0.19
	t _{1/2} (day)	3.4	3.6	2.5	3.5	2.7	3.8	4.5	8.1	4.3	5.2	3.2	4.5	2.9	3.7
	AUC (ng*day/mL)	864.1	1116	2405	3840	1836	2881	2223	2974	6771	7409	35674	38045	2393	4349
	CL/F (mL/day)	54.6	24.0	19.6	7.0	25.7	9.3	21.2	9.0	7.0	3.6	1.3	0.7	19.7	6.2
5 mg Hg/kg	Vd/F (mL)	235.7	126.3	51.7	34.8	87.9	45.8	-	-	-	-	-	-	-	-
	K _{el} (/day)	0.24	0.23	0.31	0.24	0.27	0.23	0.18	0.12	0.18	0.19	0.24	0.17	0.29	0.23
	t _{1/2} (day)	2.9	3.0	2.3	2.9	2.6	3.1	3.9	5.9	3.8	3.7	2.9	4.1	2.4	3.0
	AUC (ng*day/mL)	4130	4673	14544	16175	9811	12967	10485	12726	26104	25052	174161	121270	12682	17231
	CL/F (mL/day)	56.0	28.8	15.9	8.3	23.6	10.4	22.1	10.6	8.9	5.4	1.3	1.1	18.2	7.8

Vd/F, volume of distribution/bioavailability; K_{el}, elimination rate constant per day; t_{1/2}, terminal elimination half-life; AUC, area under the curve; CL/F, total clearance/bioavailability.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yamamoto M, Yanagisawa R, Sakai A, Mogi M, Shuto S, Shudo M, Kashiwagi H, Kudo M, Nakamura M, Sakamoto M.	4. 巻 -
2. 論文標題 Toxicokinetics of Methylmercury in Diabetic KK-Ay Mice and C57BL/6 Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Applied Toxicology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） -	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

国際学会 (Society of Toxicology, USA) における研究成果発表を予定していたが、COVID-19に伴う開催中止のため、キャンセルとなった。
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	中村 政明 (Nakamura Masaaki) (50399672)	国立水俣病総合研究センター・その他部局等・部長 (87401)	
連携 研究者	茂木 正樹 (Mogi Masaki) (20363236)	愛媛大学・医学(系)研究科・准教授 (16301)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携 研究者	柳澤 利枝 (Yanagisawa Rie) (70391167)	国立環境研究所・環境健康研究センター・主任研究員 (82101)	