

令和 5 年 9 月 25 日現在

機関番号：87401

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18H03386

研究課題名（和文）ファイリマンガースにおける水銀およびその他微量元素の母子間移行と関連遺伝子の探索

研究課題名（英文）Transfer of mercury and other trace elements between dam and fetus, and search of related gene expression in the small Indian mongoose.

研究代表者

寶來 佐和子（Horai, Sawako）

国立水俣病総合研究センター・その他部局等・室長

研究者番号：60512689

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,300,000円

研究成果の概要（和文）：水銀レベルの高い沖縄産ファイリマンガース母-胎仔29ペアの母子間移行を解析した結果、ヒト同様、母体血と胎仔全血中の有機水銀濃度に強い正の相関関係が見られた一方、本種胎仔は、ヒトよりも母親からの水銀移行が低いことが示唆された。解析により、胎仔脳への低い水銀移行の要因に、胎仔肝臓の有機水銀の無機化とヒ素濃度が関与していることが推察された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ファイリマンガースはヒトと同様に、飼育管理された動物ではない。自然環境下で化学物質の複合曝露を受け、系統や週令も不明である。今回、母親の微量元素の曝露レベルの違いによる胎仔の体内応答の一端を明らかにすることができた。本研究結果をもとに、ハイリスクアニマルの特定や、微量元素の胎仔体内レベルの推定に貢献できると期待する。

研究成果の概要（英文）：The Small Indian mongoose is listed as one of the world's 100 worst alien species, and in the areas where it is introduced, it is subject to extermination in order to prevent destruction of the native ecosystem. The purpose of which was to elucidate the characteristics of dam-to-fetus transfer due to exposure to trace elements in the natural environment.

As a result of analyzing 29 pairs of dams with high mercury levels and their fetuses, a strong positive correlation was observed between the concentration of organic mercury in maternal whole blood and fetal blood, as in humans. Mongoose fetuses were suggested to transfer less mercury from their mothers than humans. From the analysis, it was inferred that the mineralization of organic mercury and the arsenic concentration in the fetal liver were involved as factors for low mercury transfer to fetus brain.

研究分野：環境保健

キーワード：水銀高蓄積種 微量元素 水銀 セレン ヒ素

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

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

本研究の対象動物種であるフイリマンゲース(*Herpestes auropunctatus*) 体内の水銀レベルは、数種の海生哺乳類と同様に比較的高値を示し、水銀に対する防御機構の一種だと考えられる有機水銀の無機化と水銀とセレンの関係も同様のパターンを示す (Horai et al., 2006; Horai et al., 2022)。このような蓄積パターンの存在および、水銀による毒性影響がみとめられていないことから、本種も水銀に対するなんらかの防御機構を有することが考えられる。このような水銀高蓄積野生動物種における水銀およびその他微量元素の母子における血液やその他臓器組織間移行に関する詳細な研究は、我々の知るところ例がない。

### 2. 研究の目的

本種を水銀高蓄積野生動物のモデル動物とみなし、自然曝露による母子間の微量元素移行に関する基礎的知見を得ることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### 3.1. 試料

フイリマンゲース成獣 50 検体 (オス 5 検体、メス 45 検体) そのうちのメス 10 検体の胎仔 26 匹を分析に供試した。成獣から肝臓、腎臓、大脳、全血、肺を、胎仔から肝臓、腎臓、大脳、全血、肺を収集した。分析まで、 $-80^{\circ}\text{C}$  で保存した。

#### 3.2. 微量元素分析方法

全血以外の臓器組織は、凍結乾燥機 (FDU-12AS ; ASONE , Osaka Japan) を用いて乾燥させ ( $-45^{\circ}\text{C}$  , 24 時間) その後、均一な粉末にしたものを乾燥試料として扱った。乾燥試料約 0.1 g を秤量したものに  $\text{HNO}_3$  を 3 mL 添加し、加熱分解を行い、超純水で約 25 g に希釈した。その溶液試料を ICP-MS (Agilent 7500cx) を用いて (Mg, V, Cr, Mn, Fe, Co, Cu, Zn, As, Se, Mo, Cd, Pb) の測定を行った。また Hg 分析は Yoshimoto et al. (2016) の方法に従って溶液試料を作成し、加熱気化原子吸光法にて T-Hg および O-Hg を測定した。

#### 3.3. 統計解析

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

### 4. 研究成果

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

次に母親と胎仔で有機水銀濃度に有意差がみられなかった大脳に焦点を当て、体内有機水銀の供給源となる全血と大脳中の有機水銀濃度の関係を解析し、成獣 (青プロット) と胎仔 (オレンジ) で比較した (図 1)。両者ともそれぞれ強い正の相関を示したことから、両者とも全血中の有機水銀濃度の上昇により、大脳中の有機水銀濃度も上昇することが示唆された。また両者における 2 変量間の傾きは、有意差はみられなかったものの、胎仔の方が成獣よりも大きい傾向がみられた。このことにより、胎仔の方が成獣よりも血中の有機水銀が脳に移行しやすいことが示唆された。

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

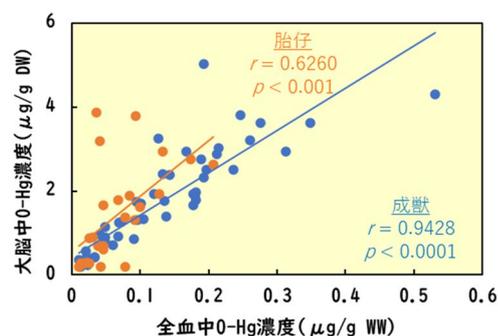


図1 成獣と胎仔における全血および大脳中  
有機水銀濃度の関係

0.044ppm を超過した 6 ペアに注目すると、胎仔脳/母血比が約 2 のグループと約 1 のグループが存在した(図 2)。これら 2 群間の微量元素濃度や蓄積パターンを比較解析することで、有機水銀の脳への移行のし易さとし難さの特徴を明らかにできると考えた。両群の肝臓および脳における微量元素濃度を比較したところ、胎仔脳/母血比 $\approx$ 2 の群における脳中総水銀と有機水銀濃度が胎仔脳/母血比 $\approx$ 1 の群よりも有意に高値を示し、これは予想通りの結果であった(図 3 上)。一方、肝臓では、これら濃度以外に、Hg/Se モル比と有機水銀/総水銀(%)が胎仔脳/母血比 $\approx$ 2 の群で有意に高値を示し、ヒ素濃度が胎仔脳/母血比 $\approx$ 1 の群で有意に高値であった(図 3 下)。そこで、これらについてさらに解析を進めた。これまで成獣肝臓において Hg と Se の正の相関が報告されてきたが、胎仔において有機水銀とセレン間で正の相関がみられた(図 4 右上)。一方、脳では相関関係は示されなかった。また、ヒ素と有機水銀濃度間できわめて強い負の相関が示された(図 4 左上)。胎仔脳/母血比 $\approx$ 1 と $\approx$ 2 の 2 群間でヒ素とセレン濃度の関係を解析したところ、どちらも相関は見られなかったものの、傾きが類似していた(図 4 左下)。また、両群でセレン濃度に違いがないことも見てとれた。ヒ素濃度と総水銀に対する有機水銀の割合(%)の関係を解析すると、両群とも相関はなかったものの、胎仔脳/母血比 $\approx$ 1 の群では、総水銀に対する有機水銀の割合が低い傾向がみられた。これらのことから、胎仔脳中有機水銀レベルには、肝臓での有機水銀の無機化能とヒ素濃度が関与している可能性が推察された。ヒ素と水銀間の関係性に関して、私たちが調べた限りこれまでに報告はない。本研究の成果の一つは、水銀高蓄積種であるフィリマングースの母仔間において、母親の有機水銀曝露が胎仔脳中レベルにどの程度反映するかを明らかにすることができたことである。今後の課題として、鯨類など、ほかの水銀高蓄積種において、有機水銀とヒ素を中心とした母胎仔間の関係を明らかにすることが、ハイリスクアニマル特定の要因になることを検証する必要がある。

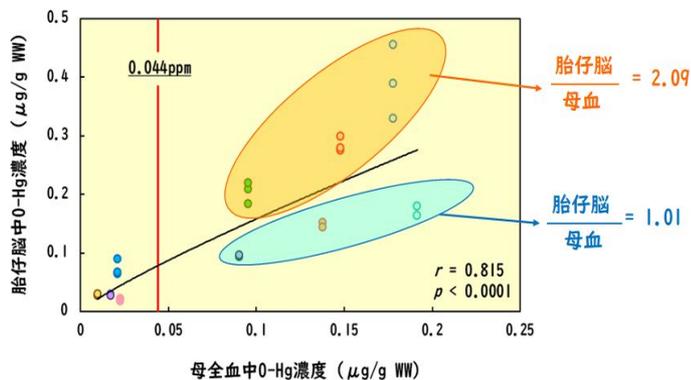


図2 母親全血と胎仔脳中有機水銀濃度の関係

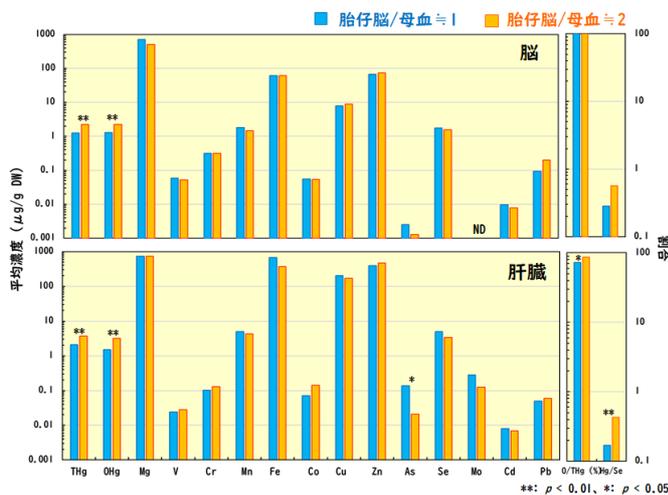


図3 2群間における胎仔脳および肝臓中元素濃度の比較

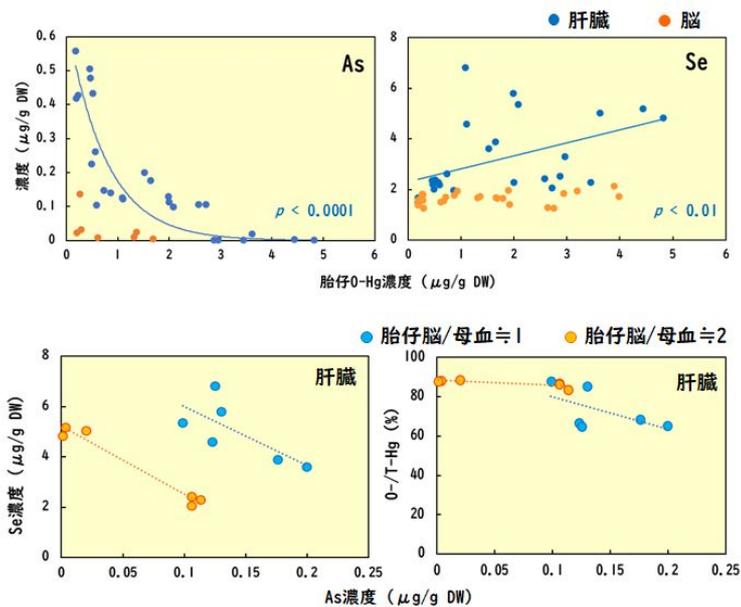


図4 胎仔における0-HgとAs・Se濃度の関係

今後の課題として、鯨類など、ほかの水銀高蓄積種において、有機水銀とヒ素を中心とした母胎仔間の関係を明らかにすることが、ハイリスクアニマル特定の要因になることを検証する必要がある。

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

本研究において、当初の計画では、沖縄だけでなく、ハワイ、カリブ諸島、モーリシャスの本種を用いた微量元素の母仔間移行の特徴を明らかにする予定であったが、コロナウイルス感染

拡大防止対策の影響で、海外調査を延期せざるを得なかった。また、遺伝子探索も大幅に遅延した。最終年にハワイとカリブ諸島、モーリシャスの個体を入手することができたことから、今後、測定と解析を継続し、総括していく所存である。

#### 参考・引用文献

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

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

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

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

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

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 1件）

1. 著者名 Sawako Horai, Yumi Abiko, Takamitsu Unoki, Yasuhiro Shinkai, Masahiro Akiyama, Katsushi Nakata, Tatsuya Kunisue, Yoshito Kumagai	4. 巻 295
2. 論文標題 Concentrations of nucleophilic sulfur species in small Indian mongoose ( <i>Herpestes auropunctatus</i> ) in Okinawa, Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemosphere	6. 最初と最後の頁 なし
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.chemosphere.2022.133833	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 竇来佐和子
2. 発表標題 水銀高蓄積野生動物種における水銀およびその他微量元素の母子間移行 フィリマングースを例に
3. 学会等名 第2回環境化学物質3学会合同大会（第31回環境化学討論会）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	国末 達也  (Kunisue Tatsuya)  (90380287)	愛媛大学・沿岸環境科学研究センター・教授   (16301)	
研究分担者	杉山 晶彦  (Sugiyama Akihiko)  (00432609)	岡山理科大学・獣医学部・教授   (35302)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	中田 勝士  (Nakata Katsushi)	(株)南西環境研究所・自然環境室・主任	
研究協力者	山田 文雄  (Yamada Fumio)	森林総合研究所・野生動物研究領域	
研究協力者	巨 悠哉  (Watari Yuya)	森林総合研究所・野生動物研究領域・主任研究員	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
カナダ	モントリオール大学			
米国	農務省	パデュー大学		
その他の国・地域	セントキッツ島	ロス大学		