

平成 30 年度 水俣病研究報告書

研究課題名：メチル水銀中毒の神経細胞障害物質，および進行性核上性麻痺（PSP）との関連についての検討

報告者：

新潟大学脳研究所臨床神経科学部門神経内科学分野 金澤雅人

目的：

平成 28 年度までの検討の結果，ラットメチル水銀モデルにおいて，小脳で血管内皮増殖因子 VEGF の発現が亢進し，血液脳関門の破綻が病態を悪化させている可能性が考えられた．昨年引き続き，血液脳関門の破綻により血管内から脳実質に流入する神経細胞を傷害する原因物質の同定を目指した戦略についての検討する．その一方で，慢性期において VEGF は強力に血管を新生させ，さらに神経細胞に対して保護作用も示されている．VEGF を介する障害神経の保護効果の可能性も検討する．

また 2016 年に Movement Disorder 誌において，重金属が PSP 発症リスクを高めることが初めて報告された<sup>1)</sup>．これに関連して，新潟水俣病における PSP 発症の有無について検討する．

方法：

1. メチル水銀が全身において与える影響を，ヒト，動物を問わず，既報について検索を行なう．もし有望な神経細胞障害物質の候補が同定できた場合には，国立水俣病総合研究センターと相談の上，ラットメチル水銀中毒モデルを用いて，ELISA や免疫染色による脳の部位ごとの含有量の比較を行なう計画を行なう．

2. メチル水銀と PSP 発症の関係については，新潟水俣病における PSP の発症の有無を確認するとともに，本邦 PSP においてメチル水銀が危険因子になりうるのかの検討する．

結果：

1. 有望な神経細胞障害物質の候補の検討

米国国立医学図書館文献データベース Pubmed に“methylmercury”と“neurotoxicity”の二つの用語の掛け合わせの検索を行った．’48 年から本年 2

月までに、685 報の文献がヒットした。過酸化酸素（127 報）を介する神経毒性が多く報告され、この1年間でも10報増加していた。

私は、脳内グリア細胞ミクログリアを低酸素低糖処理（OGD）することで、保護的なタイプに修飾できることを報告している<sup>2), 3)</sup>。メチル水銀中毒による神経障害後、ミクログリア/マクロファージが感覚神経周辺に増加し、局所で保護的な成長因子を分泌し、修復に関与する可能性が本年、報告された<sup>4)</sup>。保護的ミクログリアがメチル水銀後に修復に関与するならば、さらに保護的ミクログリアの数を増やすことで症状を改善させる可能性がある。そこで、今回、疾患脳から得たミクログリアを保護的に修飾できるかを検討した。一般的に、初代細胞培養では、胎児や仔由来の細胞を用いる。まず初めに、仔マウスと成体脳梗塞ラット由来ミクログリアを酵素反応で分離した。さらに、OGD 刺激後の培養上清を用い、VEGF のウエスタンブロットを行ったところ、OGD 刺激によって、仔マウス由来・成体ラット由来のミクログリアどちらも VEGF の分泌量が増加した。また、OGD 刺激後の VEGF 分泌量に関して、仔マウス由来と成体ラット由来では、差を認めなかった（図）。

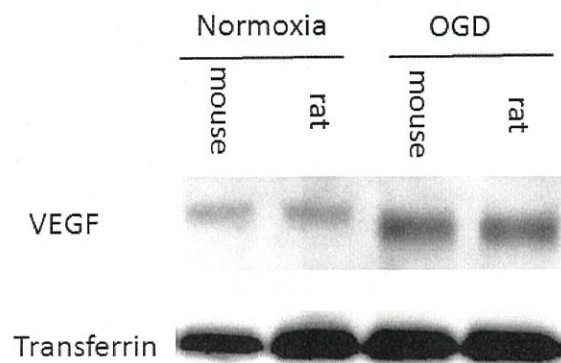


図 仔マウスと成体脳梗塞ラット由来ミクログリアの OGD 刺激後の VEGF 分泌

## 2. メチル水銀中毒と PSP 発症の関連

新潟大学脳研究所神経内科入院患者データベースを用いて、水俣病症例と PSP 症例を検索し、合併例が存在するか検討した。

当科入院症例データベースでは、当科開講'65年から2018年までに13500例の入院例が存在した。うち、水俣病と確定診断した症例は、58例存在し、PSPと診断確定した例は114例存在していた。両者の合併例は認めなかった。

考察とまとめ：

1. 有望な神経細胞障害物質の候補の検討

文献上は、メチル水銀中毒に対して、過酸化酸素異常に対する治療が候補となるかもしれないことが明らかとなった。抗酸化物質 $\alpha$ リポ酸内服で、メチル水銀による神経障害が軽減する可能性が示されており<sup>5)</sup>、同物質は、サプリメントとして販売もされている。今後の検討につなげたい。

2. メチル水銀中毒と PSP 発症の関連

重金属マンガン、鉛がパーキンソン症状発症をきたすことが報告されている<sup>6)</sup>。姿勢時振戦は、慢性メチル水銀中毒全例で認めるという報告がある<sup>7)</sup>一方で、動作緩慢、歩行障害等のパーキンソン症状は、これまで明らかではない。

2016年、PSP発症に関して、環境因子の関連が初めて報告された<sup>1)</sup>。これは、米国での多施設症例対照研究で、危険因子として井戸水の飲水期間が示されたものである。また、Caparros-Lefebvreらにより、フランスにてPSPの多発発症が報告された<sup>8)</sup>。この報告では、予測されるより12.3倍発症率が高かった。報告された92例のうち13例は、病理所見も検討され、PSPとして矛盾なかった。どちらの報告も、原因については不明であるが、後者は、産業廃棄物や金属との関連が疑われている。ただし、当科入院PSP例においては、水俣病合併例は存在しなかった。日本におけるPSP発症率は1~2人/10万人/年と推定されている。当科のPSPと診断した症例数は、下越地域の100万人弱の医療圏をカバーする症例数であり、下越地域でのPSP発症と水俣病の因果関係は明らかではないと考えた。さらに、本邦の文献検索サービス医中誌でも1960年から本年において、”水俣病”と”PSP”の検索語では、会議録も含めて、合併例の報告はされていなかった。以上から、本邦において、メチル水銀中毒とPSP発症には関連に乏しいと考えた。

本研究の結果は、今後の水俣病の病態の解明、および治療の開発に大きく貢献するものと考えられる。

## 文献

- 1) Litvan I, Lees PS, Cunningham CR, et al. Environmental and occupational risk factors for progressive supranuclear palsy: Case-control study. *Mov Disord* 2016; 31: 644-652.
- 2) Kanazawa M, Miura M, Toriyabe M, et al. Microglia preconditioned by oxygen-glucose deprivation promote functional recovery in ischemic rats. *Sci Rep* 2017; 7: 42582.
- 3) Kanazawa M, Ninomiya I, Hatakeyama M, et al. Microglia and monocytes/macrophages polarization reveal novel therapeutic mechanism against stroke. *Int J Mol Sci* 2017;18: E2135.
- 4) Shinoda Y, Ehara S, Tatsumi S, et al. Methylmercury-induced neural degeneration in rat dorsal root ganglion is associated with the accumulation of microglia/macrophages and the proliferation of Schwann cells. *J Toxicol Sci* 2019; 44: 191-199.
- 5) Yang T, Xu Z, Liu W, et al. Alpha-lipoic acid reduces methylmercury-induced neuronal injury in rat cerebral cortex via antioxidation pathways. *Environ Toxicol* 2017; 32: 931-943.
- 6) Lucchini RG, Guazzetti S, Zoni S, et al. Neurofunctional dopaminergic impairment in elderly after lifetime exposure to manganese. *Neurotoxicology* 2014; 45: 309-17.
- 7) Yamanaga H. Quantitative analysis of tremor in Minamata disease. *Tohoku J Exp Med.* 1983; 141: 13-22.
- 8) Caparros-Lefebvre D, Golbe LI, Deramecourt V, et al. A geographical cluster of progressive supranuclear palsy in northern France. *Neurology.* 2015; 85: 1293-1300.

# 水俣病、緑内障におけるヘッドマウント型視野計を用いた 両眼開放視野に関する研究

新潟大学大学院医歯学総合研究科視覚病態学分野

福地健郎

## はじめに

水俣病患者および緑内障患者は視野が悪化することにより生活の質（QOL）、視覚の質（QOV）が低下する。その評価のための視野検査は通常、片眼遮蔽、座位を維持した状態で片眼 10 分程度の時間を要する。本研究で用いるヘッドマウント型視野計（アイモ®）は、持ち運びも可能で自由な体位かつ短時間での検査が可能であり、座位保持が困難な水俣病患者にも使用可能である。また、両眼開放で日常視に近い状態の視野の把握が可能でより QOV を反映した検査となる可能性がある。

水俣病患者、緑内障患者での検討を行う前段階としてまずは健常者での検討を行った。

## 対象

健常者ボランティア 20 名 40 眼（男性 17 名、女性 3 名）を対象とした。平均年齢は 23.0 ± 4.9 歳であった。

## 方法

アイモ®によって測定モード 24-2（中心から 24 度内視野）を用いて両眼開放下と片眼遮蔽下の 2 つの条件で測定を行った。測定の際、片眼遮蔽では、検査しない眼をガーゼで覆い、遮蔽する眼の順番はランダムに半数ずつ振り分けた。検査への慣れを考慮し、条件（両眼開放下と片眼遮蔽下）の順番もランダムに半数ずつ振り分けた。また、疲労による影響を考慮し、2 つの条件下での検査は別日に行うか 3 時間以上の間隔をあけて施行した。測定の後、Miles test により被験者の利き目を調べた。得られた検査結果をもとに、それぞれの条件下での実測閾値感度の違いを利き目と非効き目に分けて検討した。また、図 1 のように全体視野、上半分視野、下半視野、中心視野、周辺視野に分けて領域ごとに同様の検討を行った。中心窩閾値についても検討を加えた。

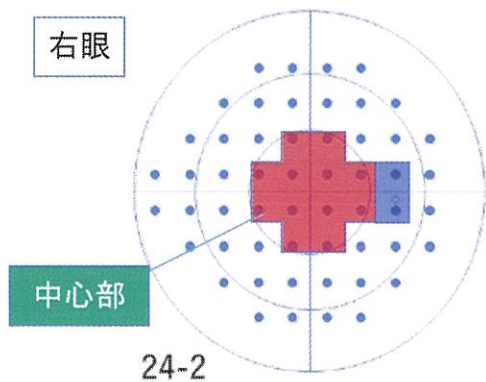


図 1

### 結果

視野領域ごとの結果を表 1 に示す。非効き目においては、全ての領域で片眼遮蔽よりも両眼開放の方が平均感度が有意に高い結果となった。利き目における全体視野、下半視野、中心視野では片眼遮蔽よりも両眼開放の方が感度が有意に高い結果となった。利き目で有意差が出なかった上半視野と周辺部もその傾向はあった。中心窩閾値は両眼開放でも片眼遮蔽でも有意差はなかった。

利き目	条件	平均値(db)	P値	非利き目	条件	平均値(db)	P値
全体	両眼開放	28.65±1.37	0.040	全体	両眼開放	29.00±1.60	0.0088
	片眼遮蔽	27.90±1.94			片眼遮蔽	27.86±2.44	
中心窩閾値	両眼開放	32.8±2.5	0.31	中心窩閾値	両眼開放	33.8±2.9	0.37
	片眼遮蔽	32±3.4			片眼遮蔽	33±2.2	
上半分	両眼開放	28.12±1.53	0.11	上半分	両眼開放	28.57±1.56	0.0076
	片眼遮蔽	27.43±2.07			片眼遮蔽	27.6±2.10	
下半分	両眼開放	29.17±1.46	0.039	下半分	両眼開放	29.43±1.84	0.019
	片眼遮蔽	28.36±2.00			片眼遮蔽	28.12±2.98	
中心部	両眼開放	30.89±1.40	0.020	中心部	両眼開放	31.4±1.24	0.00081
	片眼遮蔽	30.02±1.67			片眼遮蔽	29.78±2.21	
周辺部	両眼開放	27.98±1.49	0.051	周辺部	両眼開放	28.28±1.76	0.045
	片眼遮蔽	27.26±2.09			片眼遮蔽	27.28±2.58	

(n=20)

(n=20)

表 1

## 考察

アイモ®において、両眼開放下での単眼感度は片眼遮蔽下よりも高くなるという結果であった。若山らは日本視野学会学術集会 2017 で、健常者において、両眼開放下で測定した単眼感度は、遮蔽下よりも高かったと報告しており、今回の我々の結果と合致する。健常者において、片眼を遮蔽すると反対眼に両眼視野闘争や blankout といった抑制反応が覚されることがあると言われている<sup>1)</sup>。両眼視野闘争とは左右眼に提示した図形が周期的に知覚交替し、一眼に提示した図形のみが優位に見える間、他眼に提示した図形への意識は抑制される現象である。blankout とは片眼遮蔽などにより左右眼の輝度に差異が出た場合に生じる知覚現象であり、遮蔽後に暗黒感を感じるたり、感度が落ちる現象である。これらの現象が、両眼開放と片眼遮蔽の実測閾値感度と関連している可能性がある。また、両眼開放下での測定点の提示パターンは左右にランダムであったのに対し、片眼遮蔽下では片眼にしか提示されない。片眼遮蔽下では単眼の酷使による疲労が生じ、それが感度に影響した可能性もある。加えて、ガーゼで片眼を遮蔽するというのは非日常的な状況であり、両眼開放という日常視に近い状態での検査では心理的ストレスが軽く、それが感度に影響した可能性も考えられる。

視野感度に関しては両眼開放、片眼遮蔽の条件で差が見られたが、中心窩閾値には有意差が認められなかった。この原因は不明である。

今回は緑内障患者、水俣病患者に対する研究の前段階として、まずは健常者を対象として検討を行った。緑内障に対する報告としては、優位眼の視覚情報処理が優先されるため、単眼刺激と両眼ランダムで差を生じるというものがある。また、それぞれの検査点での左右の感度差によってもどちらの条件で感度が高くなるか異なってくるとの学会報告もあるが、まだ詳細なことは分かっていないのが現状である。現在、我々も緑内障患者、水俣病患者に対象を拡大して症例の集積を行っている。

なお、今年度の研究成果については 2018 年 10 月 27 日～30 日にシカゴで行われた学会 American Academy of Ophthalmology 2018 にて発表を行うとともに、研究に関する最新の情報収集を行った。

## 参考文献

- 1) Spry PG et al. The effect of ocular dominance on visual field testing. *Optom Vis Sci.* 2002; 79(2): 93-7.

平成 30 年度水俣病研究事業

研究者 堀井 新（新潟大学大学院医歯学総合研究科耳鼻咽喉科頭頸部外科学分野教授）

研究協力者 高橋 邦行（新潟大学大学院医歯学総合研究科耳鼻咽喉科分野准教授）

#### 研究要旨①

聴覚伝導路を用いた感覚代行システムによる平衡リハビリトレーニングの検討

##### A) 研究目的：

感覚代行とは、最新の医工連携技術により、失われた感覚機能を他の残された感覚受容体や感覚伝達系で代替する画期的な技術である。主に視覚系や聴覚系で進められ、視覚障害者では視覚の役割を健全な触覚や聴覚で代行させている。われわれは聴覚伝導路を利用した感覚代行技術を用いて体平衡を維持するトレーニングを臨床応用したい。

##### B) 研究方法：

聴覚伝導路を利用した感覚代行技術に注目し、平衡機能患者にジャイロセンサーを組み込んだステレオヘッドホンを着用し、ジャイロセンサーでとらえた平衡感覚をヘッドホンから左右方向のピッチとボリュームの程度で聴覚情報として入力し、それに合わせて体平衡を維持するトレーニングの有効性を検討する。

##### C) 研究結果

長岡技術科学大学工学部助教、和田森 直先生と医工連携を図り、デバイス開発やリハビリメニュー、治療評価について、具体的な共同研究の役割として、和田森先生が感覚代行システムと新規平衡状態評価のデバイス、患者の治療コンプライアンス向上目的にスマートフォンアプリ「i めまい日記」の開発を行い、当科では適応症例の選定、リハビリ指導、感覚代行デバイスの性能や感覚代行リハビリの治療評価を行う。

感覚代行装置は、①頭や体に取り付けたセンサから取得した偏倚、傾きなどの平衡情報取得する検出系と、②その平衡情報を中枢神経へ代行伝達する伝達系、③平衡情報を伝達信号へ変換および各系を制御する制御系の 3 つから構成される。傾いた方向から音が聞こえるように変換した「立体音響」をイヤホンから出力し、例えば、身体の右方への傾きを感覚代

行装置の加速度検出装置が感知すると、右方向から「立体音響」の音が聞こえる。この「立体音響」の音信号が内耳を介して中枢へと伝わる。被験者は、立体音響の方向から自分の体の傾きを立体的に理解し、傾きと逆方向へ体の向きを修正することで体平衡を正しい位置に戻ることができる。このような感覚代行装置を用いて平衡訓練を行う。

感覚代行システムを用いた平衡訓練の効果をよりの確に評価するためには、偏倚の平衡情報を取得するセンサが必要となる。現在、立位静止姿勢における静的体平衡を測定する目的で重心動揺計がすでに臨床で用いられているが、「動的状態」、すなわち歩行や体動時の平衡情報の取得は困難であった。しかし、シート状の圧力センサを靴の中敷きのように装着すれば、歩きながら足底圧を測定することが可能となり、この装置を用いて動的な体平衡機能を定量的に測定し、重心動揺計による作用中心点のデータと比較することで検証し、歩行時における作用中心点の推定を行い、臨床応用を目指す。

また、めまい患者の感覚代行訓練に対する意欲向上のために、「めまい日記」による症状の記録と新規動的体平衡測定装置からの平衡機能状態を同時に視覚的に表示できるスマホアプリ「iめまい日記」を開発する。

現在、上記の計画で試作機を作成中で、綿密な連携をとってシステム開発を行っている。また、同時に適応症例を選定しながら治療前の平衡状態を外来診療の中で行い、感覚代行という新たな準備を進めている。

#### D) 考察・まとめ

本研究により、これまで難治とされてきた慢性めまいに対する新規治療開発の礎となるともに、慢性めまいのメカニズム解明に寄与し、水俣病あるいは水俣病の鑑別診断や治療に資する知見に繋がり、高齢化の進む水俣病患者の健康対策に資すると考えている。

#### 研究要旨②

前庭機能障害における各半規管の非侵襲的な機能的診断法の確立

##### A) 研究目的：

メチル水銀中毒による平衡障害の診断のためには末梢前庭障害を除外する必要がある。末梢性平衡機能障害は前庭障害として一律にされてきたが、平衡を司る末梢器官には3本の半規管、前庭内の球形嚢、卵形嚢が存在する。本研究では末梢性平衡障害における詳細な障害部位診断法を確立することを目的とする。

B) 研究方法：

昨年、新規に導入した video Head Impulse Test (vHIT)、前庭誘発筋電位(VEMP)を用いた検査体制を遂行する。平衡機能障害症例と対照としての正常被験者に対して video Head Impulse Test を用いた部位診断を行い、他の平衡機能検査との相関、相違などの解析を行う。

C) 研究結果

正常被験者への vHIT 検査は昨年より継続して行っており、27 名に施行した。外来を受診した慢性めまい症例に対する vHIT 検査は、100 例以上に施行し、多くの症例を蓄積することができた。臨床症例に対しては vHIT だけでなく VEMP をはじめとする各種平衡機能検査も行っている。今回の研究から、従来の検査と比較して、vHIT は、外側半規管の評価に関しては、簡便かつ鋭敏に半規管麻痺の低下が確認できることが判明した。今後はさらに症例を蓄積しつつ、従来の検査との結果の一致率などの解析を行う。

D) 考察・まとめ

正常被験者、臨床症例に対する vHIT 検査を行った。3つの半規管のうち、外側半規管機能の低下について、従来の検査に比べてより簡便かつ鋭敏に、機能評価ができることがわかった。高齢者が多い水俣病症例に対して、非侵襲的な検査を確立することは重要である。本研究により、評価の難しい慢性めまい・平衡障害における前庭機能障害の詳細な診断を確立することで、水俣病に伴う平衡機能障害の診断がより正確に行えるようになると思われる。