

平成 31 年度 水俣病研究報告書

研究課題名：メチル水銀中毒の脳血管障害への影響における検討

報告者：

新潟大学脳研究所臨床神経科学部門脳神経内科学分野 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，脳血管の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¹⁾。さらに，VEGF は，脳血管障害でも上昇することを示している²⁾。疫学検討では，メチル水銀中毒は動脈硬化に関係する可能性があり，サイトカインや VEGF を介する動脈硬化が関係する代表疾患脳血管障害への影響も考えられる。今回，メチル水銀と脳血管障害の関係を検討する。

方法：

1. メチル水銀が脳血管に与える影響を，ヒト，動物を問わず，既報について検索を行なう。
2. メチル水銀と脳血管障害の関係については，新潟水俣病における脳血管障害合併の有無を確認するとともに，当科の入院データベースでもメチル水銀が危険因子になりうるのかを検討する。

結果：

1. メチル水銀と脳血管障害の関係

米国国立医学図書館文献データベース Pubmed に“methylmercury”（メチル水銀）と”Stroke”（脳卒中）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 3 月までに，19 報の文献がヒットした。また，本邦の文献データベース医中誌に“メチル水銀”と”脳卒中”の二つの用語の掛け合わせの検索を行った。’49 年から本年 3 月までに，3 報の文献がヒットした。”水銀中毒”と”脳梗塞”の二つの用語の掛け合わせの検索を行うと，2 報の文献がヒットし，1 報は症例報告であった。

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²⁾ ³⁾。メチル水銀中毒による神経障害後，ミクログリア/マクローファージが感覚神経周辺に増加するが，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報告された⁴⁾。また、メチル水銀をミクログリアの細胞培養液に添加すると、組織障害性の炎症性ミクログリア/マクロファージが増加することも示されている⁵⁾。炎症性ミクログリア/マクロファージが病態増悪に関わるのであれば、OGD 刺激保護的マクロファージを増加させることで病態・症状を改善させる可能性がある。ミクログリアは、生体から採取することは困難である。そこで、今回、ミクログリアに性質が類似したマクロファージを含む末梢血単核球に注目した。

人から採血し、遠心分離、抗体を用いて単核球とマクロファージを分離し、OGD 刺激を行った。その後、正常状態と OGD 状態の培養上清を用い、炎症性サイトカインの TNF α と抗炎症性サイトカインの TGF β のウエスタンブロットを行った (図 1)。単核球は、どちらも OGD 後増加したが、TGF β の増加率の方が、TNF α の増加率よりも高度で、TGF β /TNF α の比率は、有意に増加した (図 2)。細胞数を合わせた単核球の刺激では、シグナルが検出されなかった。

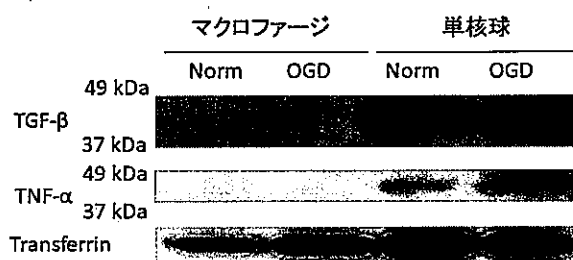


図 1 ヒト由来マクロファージ・単核球の OGD 刺激後の TGF β と TNF α 分泌

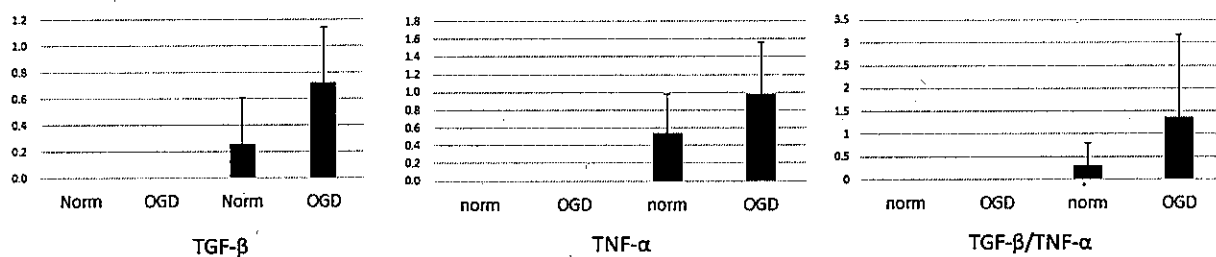


図 2 OGD 刺激後の TGF β と TNF α 分泌の相対比

OGD 刺激単核球は、組織保護的に作用すると考え、脳梗塞後のラットに動脈投与したところ、脳梗塞 28 日後には細胞投与群は、非治療群と比べて、有意に運動感覚機能を改善させた⁶⁾。

2. メチル水銀中毒と脳血管障害発症の関連

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、水俣病症例と脳血管障害症例を検索し、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2019年までに14000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、脳梗塞と診断した例は930例、脳出血と診断した例は290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改善候補の検討

文献上は、メチル水銀中毒に対して、ミクログリア、マクロファージが治療を介在する可能性が明らかとなった。臨床応用を考え、末梢血単核球の効果を検討したところ、脳血管障害の治療応用の可能性を示した。今後、その作用機序の詳細を解明していく方針である。

2. メチル水銀中毒と脳血管障害発症の関連

長期間のメチル水銀の暴露と考えられる毛髪の水銀濃度高値は、脳血管障害のリスクを1.68倍高めることが、1871人のフィンランド人男性のデータで示されている⁷⁾。その一方、メチル水銀摂取の原因は、魚の摂食であり、それに伴いエイコサペンタエン酸やドコサヘキサエン酸を摂取することでも、リスクは軽減すると考えられている⁸⁾。具体的な魚の種類は不明であるが、週一度の摂取であれば、水銀摂取と脳血管障害発症には関係はないのかもしれない。

当科入院脳血管障害例においては、水俣病合併例は存在しなかった。当科の脳血管障害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としては少ないが、下越地域での脳血管障害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、“メチル水銀”と“脳血管障害”の検索語では、明確な合併例の報告はされていなかった。“水銀中毒”と“脳梗塞”では、1例剖検例の報告があったが、例数も少なく、明確な因果関係は論じていなかった⁹⁾。以上から、本邦において、メチル水銀中毒と脳血管障害発症には関連に乏しいと考えた。

本研究の結果は、今後の水俣病の治療の開発に貢献するものと考えられる。

文献

- 1) Takahashi T, Fujimura M, Koyama M, et al. Methyl mercury causes blood-brain barrier damage in rats via upregulation of vascular endothelial growth factor expression. *Plos one* 2017; 12: e0170623
- 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) Hoshi T, Toyama T, Shinozaki Y, et al. Evaluation of M1-microglial activation by neurotoxic metals using optimized organotypic cerebral slice cultures. *J Toxicol Sci.* 2019; 44: 471-479.
- 6) Hatakeyama M, Kanazawa M, Ninomiya I, et al. A novel therapeutic approach using peripheral blood mononuclear cells preconditioned by oxygen-glucose deprivation. *Sci Rep* 2019; 9: 16819.
- 7) Virtanen JK, Voutilainen S, Rissanen TH, et al. Mercury, fish oils, and risk of acute coronary events and cardiovascular disease, coronary heart disease, and all-cause mortality in men in eastern Finland. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005; 25: 228-233.
- 8) Houston MC. Role of mercury toxicity in hypertension, cardiovascular disease, and stroke. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2011; 13: 621-627.
- 9) 衛藤 光明, 岡村 良一. 有機水銀中毒症の神経病理所見の無い臨床的水俣病の2剖検例. *神経病理学* 1988; 8: 289-300.

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

水俣病をはじめとする中枢神経系疾患や、緑内障、網膜色素変性などの眼疾患では視野が障害され、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。

対象

今回の研究の対象は新潟大学医歯学総合病院眼科通院中の（水俣病：削除、実際にはいないので）広義・POAG 患者 13 名（男性 7 名、女性 6 名）である。平均年齢は 65.5 ± 10.8 歳、等価球面度数は右眼が $-3.7 \pm 4.5D$ 、左眼が $-4.0 \pm 4.0D$ であった。ハンフリー視野計（測定モード 24-2）の平均偏差（MD）は右眼が $-14.5 \pm 6.9dB$ 、左眼が $-16.6 \pm 4.2dB$ 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。アイモ®による両眼開放下での MD 値により Better Eye (BE) と Worse Eye (WE) に分類し、図 1 のように全体視野、上半分、下半分、中心視野、周辺視野に分けて領域ごとに、両眼開放と片眼遮蔽で視野感度に違いがあるのかを検討した。また、MD に関しても、両条件で比較をした。

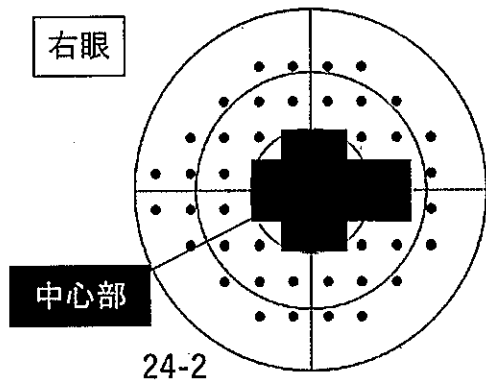


図 1

結果

視野領域ごとの両眼開放、片眼遮蔽での視野感度の結果を表 1 に示す。視野全体・下半分・周辺部の比較では、BE で実測閾値の平均値に有意差を認め、両眼開放の方が有意に高かったが、WE では有意差を認めなかった。MD の比較では、BE で両眼開放の方が有意に高かったが、WE では有意差を認めなかった。

BE	条件	平均値	P値	WE	条件	平均値	P値
全体	両眼開放	15.8±5.5	0.02	全体	両眼開放	13.1±3.4	0.32
	片眼遮蔽	14.1±6.3			片眼遮蔽	13.8±4.8	
上半	両眼開放	13.2±9.1	0.88	上半	両眼開放	9.7±8.6	0.76
	片眼遮蔽	13.0±8.6			片眼遮蔽	9.3±6.6	
下半	両眼開放	18.4±7.7	0.007	下半	両眼開放	16.5±7.8	0.5
	片眼遮蔽	16.5±8.7			片眼遮蔽	17.0±8.4	
中心部	両眼開放	18.2±4.7	0.11	中心部	両眼開放	15.1±3.6	0.4
	片眼遮蔽	16.5±6.4			片眼遮蔽	16.3±5.6	
周辺部	両眼開放	15.1±6.1	0.02	周辺部	両眼開放	12.5±4.0	0.34
	片眼遮蔽	13.3±6.4			片眼遮蔽	13.1±5.0	
MD	両眼開放	-11.7±5.4	0.02	MD	両眼開放	-14.8±3.4	0.29
	片眼遮蔽	-13.5±6.4			片眼遮蔽	-14.1±4.8	

表 1

考察

(水俣病：削除) 今回の研究では視野障害を伴う疾患として緑内障患者を対象として検討を行った。その結果、アイモ®での両眼開放下での better eye 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。Worse eye では両眼開放と片眼遮蔽の条件で差を認めなかった。緑内障患者では両眼開放と片眼遮蔽での感度に違いが出る可能性が示唆された。熊谷らは第 29 回緑内障学会で、片眼遮蔽、両眼開放の条件で better eye では片眼遮蔽に比して両眼開放でやや感度が上昇する傾向があるのに対し、worse eye では両眼開放の視野感度は片眼遮蔽時より有意に低かったと報告している。これは今回の我々の結果と類似している。それに対して、若山らは第 122 回日本眼科学会総会で、両眼が異常の緑内障患者では、両眼開放下と片眼遮蔽下では視野感度に差を認めなかったと報告している。

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¹⁾。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。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。これらの健常者で見られる現象が、水俣病、緑内障患者ではどのような影響を及ぼしているのか現在のところ詳細は不明である。

本研究内容は第 30 回緑内障学会で発表した。

国内学会への参加、発表に加え、海外学会にも参加し、視覚生理学に関する情報の収集を行っているが、アイモ®は日本発の視野計であるため、海外学会での発表はまだ限られているのが現状である。今後、症例数を増やして検討を行い、さらに研究を進めていきたい。

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 31 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装着し、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」の開発を行った。

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すことができる。このような感覚代行装置の試作品が完成した。

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。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

慢性めまいに対する診断方法確立とリハビリテーション介入による治療効果判定

A) 研究目的：

メチル水銀中毒による平衡障害は慢性のふらつきを訴える。一般に 3 か月以上めまい、ふらつきを訴える慢性めまいでは、理学的所見に乏しく、診断が困難である。診断のための簡便な問診票を作成し、診断を容易にするとともに、それぞれの疾患に応じたリハビリテーションを開発する。

B) 研究方法：

過去 3 年間の慢性めまい患者について、めまいの持続時間、めまい誘発要因など問診から情報を抽出し、さらに、眼振検査、重心動揺計による体平衡障害の検査結果を照らし合わせ、慢性めまいの診断に適切な問診票を作成する。その後、作成した問診票の妥当性を検証するために前向きで検討する。同時に、前庭リハビリテーションの介入による平衡障害改善への効果について、疾患ごとに検討し、適切なリハビリ内容を構築する。簡便に診断が可能な問診票の作成により、慢性的なふらつきを訴える水俣病の診断に際して、より簡便に他疾患を

除外できようになると考えられる。

C) 研究結果

当科を受診した慢性めまい 158 例の解析を行ったところ、持続性知覚性姿勢誘発めまいがもっとも多く、心因性めまい、一側末梢前庭障害であり、3 疾患で全体の 76% としめた。これらに対して、当科で作成した問診表と平衡機能検査、聴力検査をあわせて作成したフローチャートを用いて分類したところ、3 疾患の検出率は 82.7% と診断ツールとして有用であることが示された。

D) 考察・まとめ

今後はさらに症例を蓄積しつつ、作成したフローチャートを用いて診断し、有用性と妥当性を検証する。さらに、3 疾患、水俣病を含む慢性めまいについて、疾患ごとに適切なリハビリを構築する手がかりとなりうる。鑑別診断として重要なこれらの診断を容易に診断できるようになり、水俣病健診にとって有用な知見が得られた。