HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	無機水銀蒸気暴露ラットの条件行動学的研究
Author(s)	岸, 玲子
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第1196号
Issue Date	1977-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/32605
Type	doctoral thesis
File Information	1196.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

主　論　文

無機水銀蒸気暴露ラットの条件行動学的研究

北海道大学大学院医学研究科博士課程
社会医学系専攻　公衆衛生学教室

岸　　玲子

無機水銀蒸気暴露ラットの条件行動学的研究

緒言

水銀はその独特な性質から産業の場での利用範囲は広い。水銀鉱山、水銀計器計工場等における無機水銀中毒症が職業病として注目されている。北海道の旧イトムカ鉱山での橋場[1]の調査によると鉱内水銀蒸気は0.9～2.7mg/m³の高値で，従業員らに口腔の炎症，精神症状，振せん，失調様症状等の中毒症状が報告されている。

無機水銀には金属水銀の蒸気と水銀塩があるが、Berlinら[2)3)]は水銀蒸気暴露と無機水銀塩投与を比較して臓器中の水銀濃度を測定し、水銀蒸気暴露脳が水銀塩投与脳より数倍から10倍高い水銀濃度を示し、脳への配分の割合が高いことをマウス、ラット、サルなどで確認した。水銀蒸気はその他の無機水銀化合

物と比較するとその中枢神経への水銀の高精性に差があり，精神神経症状を主徴とする慢性無機水銀中毒の発症には水銀蒸気の吸入が大きな役割を果たすと考えられる。

しかし古くから慢性無機水銀中毒の主症状として知られる振せんや，精神不安定については未だその発症機序は殆んど解明されておらず，また重篤な神経症状を呈することで注目をあびた有機水銀中毒との病因的異同や症状の差異についても今なお論議されている。[4)5)]

一方，水銀の環境気中許容濃度（MAC，Maximum Allowable Concentration）は国際的に水銀蒸気に関して0.05 mg/m³と定められた。[6)] これに対しソ連の環境基準は更に低く，両者の相違は主として動物実験による毒性の評価の相違にあり，なかでも行動学的変化を指標とした場合の成績の相違が問題とされている。[7)] 行動の変化は一般に毒性の鋭敏な指標として認められてきているが，無機水銀蒸気に関する実験行動学的研究は数少なく，現在一層研

究が必要とされている。

行動の変化を指標として毒性の評価を行う際に、特に水銀中毒の場合、行動の変化と標的器官である脳の組織内水銀濃度や、神経系の形態学的変化との対応を多角的な調べ、それらの有機的な関連を明らかにすることが重要と思われる。

著者は以上の諸点を考慮し、長期間ラットに水銀蒸気を吸入させ、条件行動の経時的な変化を調べると共に、臓器中水銀濃度および病理組織学的検索を行い、無機水銀蒸気による中枢神経系への作用について検討を行った。

I 実験方法

1. 実験動物

動物は同一週令の Wistar 系雄性ラットを用い、体重 100g を越えると個別ケージに移し同時にハンドリングを開始し、続いて条件行動の訓練を行った。訓練によってラットの条件行動が一定の水準に到達した時，水銀の暴露を開始した。水銀の暴露開始時のラットの体重は平均 150g であった。条件行動の訓練およびテスト時間と水銀暴露時間以外は水と餌（オリエンタル酵母製ラット固形試料）は自由に与えた。

2. 水銀の暴露

水銀蒸気の暴露は容積 1 m^3 の気密性のよく保たれる暴露室内で行われた。ラットには約 3 mg/m^3 の無機水銀蒸気を1日3時間，1週5日間暴露した。小型ファン，エアポンプを用いて暴露室内の水銀蒸気を循環させ，濃度を一定に保つようにした。暴露室内の気中水

銀濃度は，暴露前，暴露中，暴露終了前の最低3回，北川式直空法ガス検知管により測定され，実験は 3.0～3.5mg/m³ （範囲）の濃度で行われた。対照群は水銀の暴露に用いたとほぼ同型の室で空気のみの暴露を同一時間行った。

3. 条件行動実験

3.-1. 実験装置

45(H) × 30(W) × 30(D) cm の透明アクリル製の箱を用いた。床面はステンレス製のグリッドとし，通電時には Constant Current AC source によって 2 mA，400 V の電流を流した。天井中央部に直径 2 cm のアクリル製ポールを固定して，床上 2 cm のアクリで垂直に下した。実験箱の壁（床上 25 cmの高さ）に発光ダイオードをとりつけ，ポールの上部を通って他壁のフォトトランジスタに達する透過光を流し，ラットがこのポールに跳びあがり，光を遮ってトランジスタの出力を off としたと

き電気ショックの呈示を阻止または中止させることができるようにした。条件刺激用のブザーは箱の底部に設置し、装置全体を更に防音箱に入れ外来雑音を遮蔽した。電気ショックの始まり、またはブザーの鳴り始めからラットがポールに登り、透過光を遮るまでの時間を水晶発振器のクロックパルスでカウントしてデイジタルプリンターに記録した。

3.-2. 条件回避行動および条件逃避行動テスト

条件行動は Cook ら[8]の方法にならい、ラットを2群にわけ、条件回避行動（Conditioned Avoidance Response）と条件逃避行動（Conditioned Escape Response）を調べた。条件回避群では電気ショックに先だち条件刺激としてブザーの警告音を15秒間呈示し、その間にラットはポールに登って光を遮ることによりブザーに続く電気ショックを回避できる。他の1群は条件逃避群で電気ショックのみを30秒間与え

、この間に同様の行動による電気ショック からの逃避を学習させた。

条件回避群では音刺激提示により回避行動が完成するまでの時間（Latency of Conditioned Avoidance Responses）と音刺激中に回避行動が行われた回避率（Percent Avoidance Responces）を調べ、条件逃避群についても電気ショック呈示より逃避行動が完成するまでの時間（Latency of Conditioned Escape Responses）と電気ショック呈示中に逃避行動の行われた逃避率（Percent Escape Responses）を調べた。

ラットをテスト箱の中に置いた後，最初の刺激が呈示されるまでの時間は常に10秒で一定し，試行間隔は60秒から120秒の間で実施した。一回のテストは条件回避群は10試行，逃避群は5試行行い、両群とも平均を求めて成績とした。

3.-3. 行動学的変化の判定

条件回避群では回避率が90%以上，すなわ

ち9試行以上成功するまで，逃避群ではlatency
が2秒以内に到達するまで総てのラットを訓練した。本方法による条件回避，逃避行動の獲得は比較的早く，おおよそ一週間でどのラットも回避率90%以上，逃避のlatency は2秒以内に訓練しえた。訓練後14匹のラットを水銀暴露群，12匹を対照群に当てた。

水銀暴露後，条件回避群では回避率が連続4週間以上にわたって50%以下に低下した時に，逃避群ではlatency が連続4週間以上にわたり5秒以上に延長した時に，有意の行動学的変化と認め水銀の暴露をうち切り，以後各群3匹ずつについて行動の回復を調べた。

4. 病理組織学的検索

条件行動の変化発現後，更に4週間暴露を続け，最終の暴露の24時間後に屠殺したラット4匹（条件回避群2匹，条件逃避群2匹）と，暴露うち切り後12週間観察し，行動が正常に回復したラット3匹について検索した

。

動物は Pentobarbital sodium 麻酔下，10％リン酸緩衝ホルマリンを用いて上行大動脈から灌流固定を行い，脳，脊髄，肺，肝臓，腎臓，坐骨神経を剔出した。各臓器はパラフィン包埋法にて切片を作製し，Haematoxylin-Eosin 染色，Nissle 染色，Klüver Barrera 髄鞘染色にて病理組織学的検索を行った。

5. 臓器中水銀量の測定

行動の変化を認めた時期のラット4匹と変化が回復した時期3匹，および対照群10匹について臓器中水銀量の測定を行った。臓器中総水銀の測定は，各組織を Skare[9] の方法に準じて前処理し，平沢原子吸光水銀分析計を用いて還元気化原子吸光分析法で水銀濃度を測定した。この方法の回収率は 99.9％，検出限界は 0.001 μg であった。

Ⅱ. 実験結果

1. 一般状態の変化

水銀暴露後，平均7週目で暴露群の総てのラットに被刺激性の亢進がみられ，ラットを手で捕える時，逃げまどう，噛む，脱糞するなどの行動が観察された。他方，同一ケージに2匹以上のラットを入れた時，対照群ではいわゆる「長期隔離ラット間の攻撃行動」[10]がみられたのに対し，水銀暴露群ではラット間の攻撃行動は認められず，動物のある種の"Social behavior"の変化をうかがわせた。振せんは約半数に頭部，躯幹に認められたが発現時期は一定しなかった。有機水銀中毒ラットでみられるという後肢の交叉現象，頭位・姿勢の異常，歩行時のふらつき，うづくまりなどの明らかな運動失調を思わせる症状は認められなかった。しかし条件行動のテスト中，後肢で伸びあがりの姿勢(rearing)をとり，ポールに登ろうとする際に後肢のみの体位

の保持が困難で後方にのけぞるように倒れる症状はしばしば観察された。

水銀暴露群は、対照群に比べ、全例で体重の増加が遅れ、体重増加の停止傾向は、暴露期間の最後に条件行動の変化の発現と前後して観察された（図1）。

暴露の中止により上述の水銀の作用によると思われる諸症状は漸次消失した。

2. 条件行動への影響

水銀暴露後の条件行動の変化：条件回避群と条件逃避行動の変化は個体別のデータを示した（図2，図3）。条件回避行動に変化が現われた時期はラットにより異なるが，暴露後12週ないし41週で回避率は50%から0%に低下し latency も漸次遅延し，暴露の進んだ時期には総てのラットで10秒以上に延長した。条件逃避行動は暴露群で latency の延長がみられ，水銀暴露後16週ないし35週で5秒以上に延長した。逃避率は著変はみ

られないが暴露期間の比較的長かった #22 のラットでは暴露後 38 週目には逃避率は 20 % 以下に低下し、電気ショックからの逃避が困難になった。

条件回避群で条件刺激のブザー呈示中の回避に失敗し、強化刺激として電気ショックを受けた際の電気ショックに対する反応時間（latency）と回避率の関係を調べ、ある回避率における平均反応時間の出現頻度をヒストグラムで示した（図4）。ヒストグラムの分布の型、最頻値、平均値からみると、条件回避行動群ラットの回避率の低下と強化として受ける電気ショックに対する反応時間の間には強い関連が認められた。

暴露うち切り後の条件行動の回復：　水銀の暴露うち切り後、条件行動の回避率は 8 週～12 週で 90 % 以上に回復し、条件逃避行動の latency も 10～12 週で 2 秒以内の暴露開始時のレベルまで回復した。条件行動の変化発現時期が大きなバラツキを示したにもかかわら

ず、暴露うち切り後，どのラットもほぼ一定の回復経過を示したのが特徴的であった。

対照群との比較：　対照群では条件回避行動，条件逃避行動は共に非常に安定しており、全観察期間（45週）を通じて総てのラットが回避率90％以上，逃避群ラットの latency は2秒以内と実験開始時のレベルを維持した。

暴露群の回避率は対照群に比べ明らかに低下しているが，統計学的に、対照群で条件回避の latency の5％信頼限界は個体間で最大のバラツキを示した週でも 5.99±2.00 秒で，条件逃避群の latency は5％信頼限界で 1.93 ± 0.81 秒，1％信頼限界で 1.93±1.27 秒である。　したがって水銀暴露群では対照群のバラツキの範囲をはるかに越えて条件回避行動と逃避行動の変化が認められた。

条件回避行動の回避率が50％以下に低下するのに要した期間（週）と逃避行動の latency が5秒以上に延長するまでに要した期間は対

照群に比べ Fisher の直接確率法[11]を用い、危険率5%で条件回避群の回避率は30週目で有意，条件逃避群の latency は20週目で有意の差となった（表1）。

3. 病理組織学的検索

行動変化の発現後、更に4週間暴露を続け暴露うち切り後，24時間後に屠殺したラットでは、全例に腎臓の尿細管上皮に軽度の変性をみたが，肺，肝臓には変化を認めなかった。水銀の暴露うち切り後12週間経過し，条件行動が正常に回復した時点で屠殺した群では腎臓，肺，肝臓ともに特に所見は認められなかった（図5）。

神経系では、両時期ともに、大脳皮質は後頭葉も含め神経細胞の障害は全く認められなかった。また小脳の顆粒細胞，プルキニエ細胞の障害および髄鞘の変化は認めず，大脳白質，脳幹部の核，脊髄にも著変は認められず、坐骨神経にも障害はなかった。神経系は全

体として正常の細胞構築を示した（図6，図7，図8，図9）

4. 臓器中水銀量

暴露群では測定した全ての臓器に著しい量の水銀の蓄積を認めた（表2）。小脳その他の中枢神経系の各部位では、条件行動の変化発現後更に4週間暴露を続け、暴露終了の24時間後に屠殺した4例の平均は対照群に比べ400～800倍の高濃度であった。脳内分布では全例で小脳に最も高く，ついで脳幹，大脳，脊髄の順に水銀が蓄積し、この傾向はいずれのラットも同様に認められた。

条件行動の異常が認められた時点の中枢神経系の水銀濃度は小脳で 35.19±4.99 μg/g 脳幹 20.68±2.49 μg/g ，大脳 13.60±1.46ug/g ，脊髄 13.20±1.04 μg/g であり，これに対し条件行動が正常に回復した時には，小脳，脳幹，大脳，脊髄で各々，14.94±1.52 μg/g ，8.99±1.31 μg/g ，6.71±1.20 μg/g ，4.75±0.17 μg/g と

各部位で約1/2に減少した。また脳内水銀濃度としては平均すると、行動変化を認めた時期で 20.67±2.53 μg/g であり、行動が正常に回復した時点では 8.85±1.11 μg/g であった。両時期の脳内水銀量はいずれの部位でも明らかに有意の差が認められた。($P < 0.01$)

一方、脳以外の臓器では特に腎臓に高く、90 μg/g を越えた。条件行動の変化を認めた時期のラットでは、対照群に比べ腎臓は約120倍、肺、肝臓ではそれぞれ70倍、130倍の水銀の沈着を認めた。条件行動が正常のレベルに回復した後、測定した群では、腎臓、肺、肝臓の臓器中水銀量は最終の暴露の24時間後屠殺した群の13～18%の濃度に減少しているが、脳の蓄積水銀量は42%の減少にとどまり、暴露終了後12週間も経過しているにもかかわらず、依然高濃度で、他臓器に比べ排泄は遅く、水銀排泄の臓器差が認められた。

IV 考察

水銀の生体への作用については臨床医学的にも中毒学的にも数多くの研究がなされている。無機水銀蒸気および有機水銀化合物による中毒において、最も早く障害が現われるのは中枢神経系であると言われ[11)12)]、症状の精密な分析や毒性の検討に関して実験行動学的方法が近年試みられている。

特に無機水銀蒸気の中枢神経系への影響を行動学的変化から調べたものに Трахтенберг[13)] らによる極めて低濃度し気中濃度が 0.002～0.03 mg/m³ ）暴露下でラットおよびネコのいわゆる motor nutritial reflex をみた実験のほかに、水銀濃度 17 mg/m³ でハトのオペラント行動への影響をみた Armstrong[14)] らの研究および、Beliles らによる 17 mg/m³ でラットの条件行動の変化をみた実験[15)]と 0.1 mg/m³ の比較的低濃度でのハトのオペラント行動に関する実験[16)]がある。Трахтенберг らがラットおよび

ネコで変化を報告している 0.03 mg/m³ に比べかなり高い 0.1 mg/m³ でも Beliles らは行動学的変化を認めず，一致した結論は得られていない。

食餌を強化因子とする行動スケジュールの場合，採用する行動スケジュールによっては食欲不振や飽食などに基づく motivation（動因）の低下が実験結果を修飾することがあり，行動の変化は指標として鋭敏であるだけに方法の吟味が必要である。同時に，行動の変化と脳内蓄積水銀量や神経組織の障害との関連についての検索が十分行われていないことも，前述の行動学的研究の成績の比較や評価を難しくしている原因の一つと思われる。

本研究では電気ショックを強化因子とする陰性強化スケジュールの一つである条件回避行動および逃避行動を用い，ラットに 3 mg/m³ の水銀蒸気暴露で明らかな行動の変化を認めた（図2，図3）。条件回避行動の回避率の低下，latency の延長，および条件逃避行動

の latency の延長がいずれも水銀暴露群にのみ発現し、その程度は暴露期間に平行して強く変化し、水銀の暴露中止と共に回復がみられたことから、本実験で観察された行動学的変化が水銀蒸気暴露による結果であることは明白である。

17 mg/m^3, 1日2時間という非常に高濃度の暴露の場合[15]は暴露後3週間で条件回避行動に変化がみられたが、暴露条件が 3 mg/m^3 1日3時間の本実験においては行動の変化の発現時期はより遷延し、7匹のラット間の個体差も大きかった。一般に水銀の体内への取り込みおよび排泄の速さは個体差が非常に大きいと言われ、慢性暴露の場合ほど中毒症状の発症の差は大きくなると考えられるが、

Armstrong らの FR（定律強化）, FI（定時間隔強化）両学習スケジュールでの行動の変化の発現時期も3～30週と非常なバラツキをみせており、これは行動毒性そのもののとらえ方が「薬物による行動の変化が個体差の正

常範囲を越える場合」[17]という、いわば「機能的毒性」[17]であることもその一因と考えられる。

本研究では、行動学的変化が現われた後、更に4週間水銀の暴露を続け、行動の変化が確定したのち暴露をうち切ったが、暴露終了後の回復は図2，図3にみるように，6匹のラットでほゞ同じ傾向を認め，10週間前後で正常のレベルに回復した。Miller[18]らも作業者が水銀の暴露中止後4～6ヵ月で振せんや tapping performance の著しい改善をみたと述べているが、水銀蒸気暴露による行動学的変化が暴露から離れることにより比較的早期に回復することが本実験でも認められた。

今回の条件回避行動テストでは Beliles らの観察した回避率のほかに回避の latency をも求めたが，行動の変化をより詳細に分析してみると、図2では回避率の低下とほゞ平行して回避の latency の遅延が認められ、これは総てのラットで共通に認められる。

条件回避行動と条件逃避行動のどちらに早く水銀蒸気の影響が現われたかについては，同じ群内の個体間のバラツキが大きいため速断はできないが，図4にみるように条件回避群で回避率の低下した時期には同じ群のラットで強化刺激として電気ショックを受けた際の逃避に要する平均反応時間も同様に遅延の傾向が認められた。すなわち回避率の低下とショックからの逃避時間の延長はパラレルの関係が認められた。このことから水銀蒸気暴露による条件回避行動と条件逃避行動は，ほゞ同時期に影響を受け漸次強くその変化が現われると推定される。

条件回避行動が薬物により抑制された場合[19),20)]の意味づけについてはいろいろな説があるが，無機水銀中毒では一般に聴覚障害や視野狭窄，末梢知覚障害はみられない[21)]といわれており，今回の実験中，ラットは条件刺激のブザー音が入ると共に動きが激しくなりブザーを感知していたのは確かとみられ，また無条件

刺激の電気ショックを足に受けると必ず逃げまどいの症状がみられたことなどから、本実験で観察された水銀蒸気による条件回避行動と逃避行動の抑制は、条件刺激に対する感受性の低下や無条件刺激に対する鎮痛作用ではなく、むしろ回避行動そのものが拙劣になるような中枢性の運動機能の低下や情動の変化と考えるのが妥当と思われる。

水銀中毒の毒性を考える上で，水銀の組織への配分量と組織の側の感受性との関連は重要である。

無機水銀蒸気はイオン化された水銀に比べ脂溶性が大きく，肺胞膜からの拡散および血液から組織への移行が容易であるとされ，[22] Magos[23]は水銀蒸気を in vitro で血漿，赤血球に投与して Hg^{++}（イオン化水銀）への酸化の速度をみているが吸入された水銀蒸気の赤血球でのイオン化の速度は概して遅いと述べている。

著者は水銀蒸気を平均 30 週にわたってく

り返し暴露を続けたが，表2にみるような非常に高濃度の水銀蓄積を認めた。脳内水銀濃度は高く，部位別では小脳が最も高い。ついで脳幹，大脳，脊髄の順に蓄積性が認められた。これに対しメチル水銀などのアルキル水銀の場合，脳内では大脳が最も高くついで小脳，脳幹の順である[24]。このように無機水銀蒸気とアルキル水銀では脳内分布が異なるが，無機水銀中毒症といわゆる有機水銀中毒症との臨床症状の差異を考えるとこの脳内分布の差は興味深い。

慢性の繰り返し暴露の場合，血液や腎臓などの臓器内水銀量は数日から数週間の比較的早い時期に平衡状態に達するのに比べ，脳の蓄積水銀量が，その収支の平衡状態に達するのはかなり遅れる[25]。Ashe らは種々の濃度の水銀蒸気をウサギに繰り返し暴露し，脳，腎臓，肝臓，血液中の水銀の濃度変化をみているが，6 mg/m³ ，1日7時間，週5日の暴露では腎臓の水銀濃度は第1週目には既に 70 μg/g

であり第4週目以降は100　200 μg/g　の平衡状態に達し、これは暴露の最後までほぼ同じ濃度を保つ。これに対し脳の水銀濃度は第1週目では1 μg/g，第4週目で5 μg/g，第10週目で20 μg/gと漸次上昇を続け、他臓器に比べ、平衡状態に達するのは遅い。

本実験で観察された回避率の低下やlatencyの延長が早くても暴露後12週目以降に発現し、その後暴露期間と平行して行動学的変化も漸次強くなり、水銀の暴露うち切り後、10週前後で正常のレベルに回復している事実は行動学的変化が脳内水銀の蓄積および減少との関連のもとに現われることを示唆しているように思われる。

脳へ蓄積した水銀がある濃度を越えると中毒症状を起し始める。すなわちcritical level（臨界濃度）が存在することは既にメチル水銀については明らかにされ[26][27]，その濃度は8 μg Hg/g以上といわれる。無機水銀蒸気について臨界濃度を調べた報告はこれまでないが、

本実験では条件回避(逃避)行動に明らかに変化を認めた時点での脳内濃度は 20.67±2.53 μg/g であり，脳内濃度 8.85±1.11 μg/g の時期では条件行動は正常のレベルまで回復することを示した。メチル水銀の場合，8 μg Hg/g の臨界濃度では既に中枢神経系は不可逆的な障害を起していることが確認されており[27]，本実験の結果は無機水銀蒸気の場合，有機水銀中毒に比べて，いわゆる脳の臨界濃度はやや高いことを示唆している。

臓器中の水銀濃度の変化を更に詳しく検討してみると，水銀の暴露をうち切った後12週目のラットの臓器中水銀濃度は暴露後24時間の平均濃度に比べて腎では13～18%にその蓄積水銀量は減少している。肺，肝臓でも同様の減少を認めるが，小脳をはじめとする脳内水銀量は依然高く，およそ42%の減少にとどまっている。それぞれのラットの暴露動向が少しずつ異なる点はあるが，他臓器に比較して一旦脳に蓄積した無機水銀はその排泄は

極めて遅いことは明らかであろう。これはヒトの場合でも同様で、約10年間水銀鉱山の鉱山夫として働いた2症例では、その後10年間全く水銀蒸気に暴露されていないにもかかわらず、死亡時の脳内水銀量はかなりの高値を示し、特に後頭葉、側頭葉、黒質、小脳などでは数10 ppm に上ると報告されている。[28)29)] 脳内で水銀がいろいろな部位に存在していることはマイクロオートラジオグラフィーによっても確かめられている。[30)]

さて本実験では、比較的高濃度の水銀蒸気を平均30週の長期にわたって繰り返し暴露しラットに明らかに行動上の変化を認めたにもかかわらず、腎尿細管上皮に軽度の変性を認めた他には、神経病理学的に、光顕レベルでは、脳および脊髄にはみるべき変化は認められなかった。無機水銀中毒の病理組織学的研究は少なく、特に中枢神経系の作用を系統的にみたものは、ほとんどない。[28)] 前述の水銀作業者の2剖検例では死亡時相大な振せん加認。

められ、高濃度の脳内水銀濃度を示しているにもかかわらず、神経病理学的に特記すべき異常所見は認められていない。これに対し重篤な神経症状を呈することで知られる有機水銀中毒症では、病理組織学的に大脳及び小脳の神経細胞の脱落や脱髄等の著明な変化がみられる。[31]

組織中水銀量が著しく高いにもかかわらず、病理組織学的には神経系に著変を認め得ず条件行動の変化は暴露の約10週後、全く正常のレベルにまで回復し可逆的であった。従って無機水銀蒸気による中枢神経系への作用は機能的障害にとどまり、有機水銀とは毒性が相違すると考えられる。

本研究では実験行動学的方法を用いて無機水銀蒸気の毒性の検討を行い、器質的な変化を伴わないにも拘らず、行動学的変化は認められ、中毒の発現および消失についての経時的な観察が可能であり、また条件回避行動の回避率や逃避率および latency を指標に用い

ることにより毒性の定量化も望める。

以上の所見から、条件行動学的手法は、毒性の鋭敏な指標として許容濃度やいわゆる no effet level の設定等に今後ますます利用できると思われる。また本実験の対照群では45週経過後も実験開始時のレベルを維持しており、今後この方法でより低濃度で慢性の影響を検索する場合にも有効な方法になりうると考えられる。

Ⅳ まとめ

無機水銀蒸気を長期間暴露させたラットの条件行動の変化を研究し、併せてこれと脳内水銀量および病理組織学的変化との関連を検討し、次の知見を得た。

1) 3 mg/m^3, 1日3時間, 1週5日間の無機水銀蒸気暴露で条件回避行動および逃避行動は著明に抑制された。条件回避行動の回避率は暴露後12～41週で50%から0%に低下し回避のlatencyも漸次延長し10秒を越えた。逃避のlatencyは16～35週で5秒以上に延長した。

2) 無機水銀蒸気による条件行動の変化は暴露中止後、水銀の体内からの排泄に伴い10週前後で完全に回復し、可逆的であった。

3) 条件行動に明らかな異常を認めた時点の脳内水銀量は約20 μg/gで、条件行動の変化が正常に回復した時点では8 μg/gであった。脳内水銀濃度が8 20 μg/g程度の間でラッ

トの回避（逃避）行動は抑制されると考えられる。

4) 水銀の脳内分布は小脳に最も高く，ついで脳幹，大脳，脊髄の順であった。暴露うち切り後，脳からの水銀の排泄は腎臓，肝臓および肺に比べ遅く，排泄の臓器差を認めた。

5) 病理組織学的に光顕レベルの検索では神経系に変化は認められなかった。

6) 実験行動学的手法を用いることにより無機水銀蒸気の中枢神経系に及ぼす影響を明らかにしえた。

参考文献

1) 橋場亮二：鉱山水銀中毒に関する研究 第1報～第5報，北海道医学雑誌，29；282－341，1954.

2) Berlin, M., Jerksell, L.G., and von Ubisch, H. : Uptake and retention of mercury in the mouse brain, Arch. Environ. Health, 12;33-42, 1966.

3) Berlin, M., Fazackerley, J., and Nordberg, G. : The uptake of mercury in the brain mammals exposed to mercury vapor and to mercury salt, Arch. Environ. Health, 18;719-729, 1969.

4) Kark, R.A.P., Poskanzer, D.C., Bullock, J.D., and Boylen, G. : Mercury poisoning and its treatment with N-Acetyl-D,L-penicillamine, The New England J. of Med., 285;10-16, 1971.

5) 香川 順，土屋健三郎，石川昭，片桐鎮夫，外山敏夫：急性水銀蒸気中毒－暴露後，特異な尿中濃度と臨床症状を示した4症例，産業医学，16(1)，11～22，1974

6) Report of international comitee : Maximal allowable concentration of mercury compound, Arch. Environ. Health, 19;891-905, 1969.

7) Friberg, L. and Vostal, J. Mercury in the Environment, an epidemiological and toxicological appraisal. P130~139 , CRC Press, Cleveland, Ohio. 1972.

8) Cook, L., and Weidley, E.: Behavioral effect of some psychopharmacological agents, Ann. N. Y. Acad. Sci., 66;740-752, 1957.

9) Skare, I. : Microdetermination of mercury in biological samples. part . Automated determination of mercury in urine, fish and blood samples, Analist, 97;148-155,1972.

10) Yen, C. Y., Stranger, R. L., and Millman, N. : Ataractic suppression of isolation-induced aggressive behavior, Arch. Int. Pharmacodyn., 123;179-185. 1958.

11) 柏木 力訳，増山元三郎監修，D．メインランド著，医学統計の基礎－臨床医学のための，P291～318，岩波書店，東京，1972

12) 鈴木純美：無機水銀中毒・有機水銀中毒，職業病とその対策，P318～320，労働生社，東京，1969，

13) Трахтенберг,И.М.:Хроническое воздействие ртути на организм /современный аспект проблемы меркуриализма и его профилактики/, здоров'я, Киев, P 223-244, 1969

14) Armstrong, R.D., Leach, L.G., Belluscio, P.R., Maynard, E.A., Hodge, H.G., and Scott, J.K, : Behavioral changes in the pigeon following inhalation of mercury vapor, A.M.A. Am. Ind. Hyg. Assoc. J., 24; 366-375, 1963.

15) Beliles, R.P., Clark, R.S, and Yuile, C.L. : The effect of exposure to mercury vapor on behavior of rat, J. Toxicol. Appl. Pharmacol., 12;15-21, 1968.

16) Beliles, R.P., Clark, R.S., Bellusio P.R., Yuile, C. L., and Leach, L.J. : Behavioral effect in pigeons exposed to mercury vapor at a concentration of 0.1mg/m , Am. Ind. Hyg. Assoc. J., 28;482-484, 1967.

17) Thompson, t., and Schuster, C.R. : Behavioral Pharmacology, Prentice-Hall Inc, Englewood Cliffs, P 215, 1968.

18) Miller, J.M., Chaffin, D.B., and Smith, R.G. : Subclinical psychomotor and neuromuscular chages in workers exposed to inorganic mercury, Amer. Ind. Hyg. Assoc. J., 36;725-733, 1975.

19) Irwin, S., Correlation in rats between the locomoter and avoidance suppresant potencies of eight phenothiazine tranquilizers, Arch. Int. Pharmacodyn., 132; 279-286, 1961.

20) Gollub, L.R., and Brady,J.V. : Behavioral pharmacology, Ann. Rev. Pharmacology, 5;236-240, 1965.

21) 諏訪 望，高畑直彦：慢性無機水銀中毒の臨床，神経進歩，13；89～92，1969

22) Hughes, W. L., : A physicochemical rationale for the biological activity of mercury and its compounds, Ann. N. Y. Acad, Sci., 65;454-460, 1957.

23) Magos, L. : Mercury - blood interaction and mercury uptake by the brain after vapor exposure, Environ. Res., 1;323-337, 1967.

24) Suzuki, T., Miyama, T. and Katsunuma, H. : Differences in mercury content in the brain after injection of methyl, phenyl or inorganic mercury, Proc. 16th Int. Cong. Occup. Health, Tokyo, 1969, Abstract 563-565.

25) Ashe, W.F., Largent, E.J., Dutra, F.R., Hubbard, D.M., and Blackston, M. : Behavior of mercury in the animal organism following inhalation, Ind. Hyg. & Occup. Med., 7;19-43, 1953.

26) Suzuki, T. and Miyama, T. : Neurological symptoms and mercury concentration in the brain of mice fed with methylmercury salt, Ind. Health, 9;51-58, 1971.

27) Berglund, F. and Berlin, M. : Risk of methylmercury

cumulation in man and animals and the relation between body burden of methylmercury and toxic effect, in Chemical Fallout, edited by Miller, M.W., and Berg, G.G, P. 258-273, C. C. Thomas, Springfield, ILL. 1969.

28) Takahata, N., Hayashi, H., Watanabe, S., and Anso, T. : Accumulation of mercury in the brains of two autopsy cases with chronic inorganic mercury poisoning, Folia Psychiatr. Neurol. Jap., 24;58-69, 1970.

29) Watanabe, S., Mercury in the body 10 years after long term exposure to mercury, Proc. 16th Int. Cong. Occup. Health, Tokyo, 1969, Abstract 553-554.

30) Cassano, G.B., Viola, P.L., Ghetti, B., and Amaducci, L. : The distribution of inhaled mercury (Hg) vapors in the brain of rats and mice, J. Neuropath & Exper. Neurol., 28;308-320, 1969.

31) Hunter, D., Bomford, R.R., and Russel, D.S. : Poisoning by methylmercury compounds, Q. J. Med., 9;193-213, 1940.

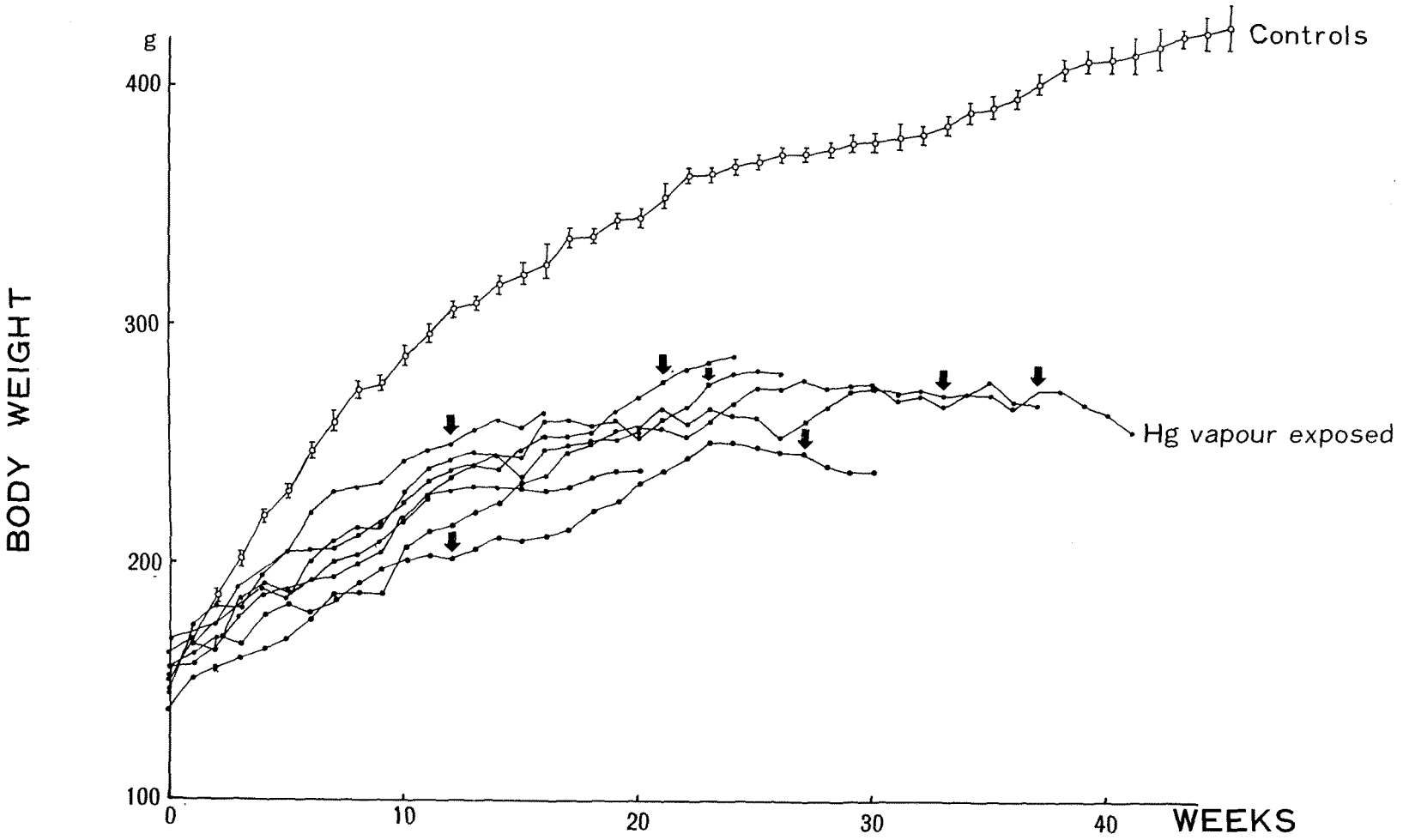

Fig. 1. Change of body weight during mercury vapour exposure. Controls indicates mean growth curve and standard error of 12 rats.

⬇ Sigtificant behavioural change

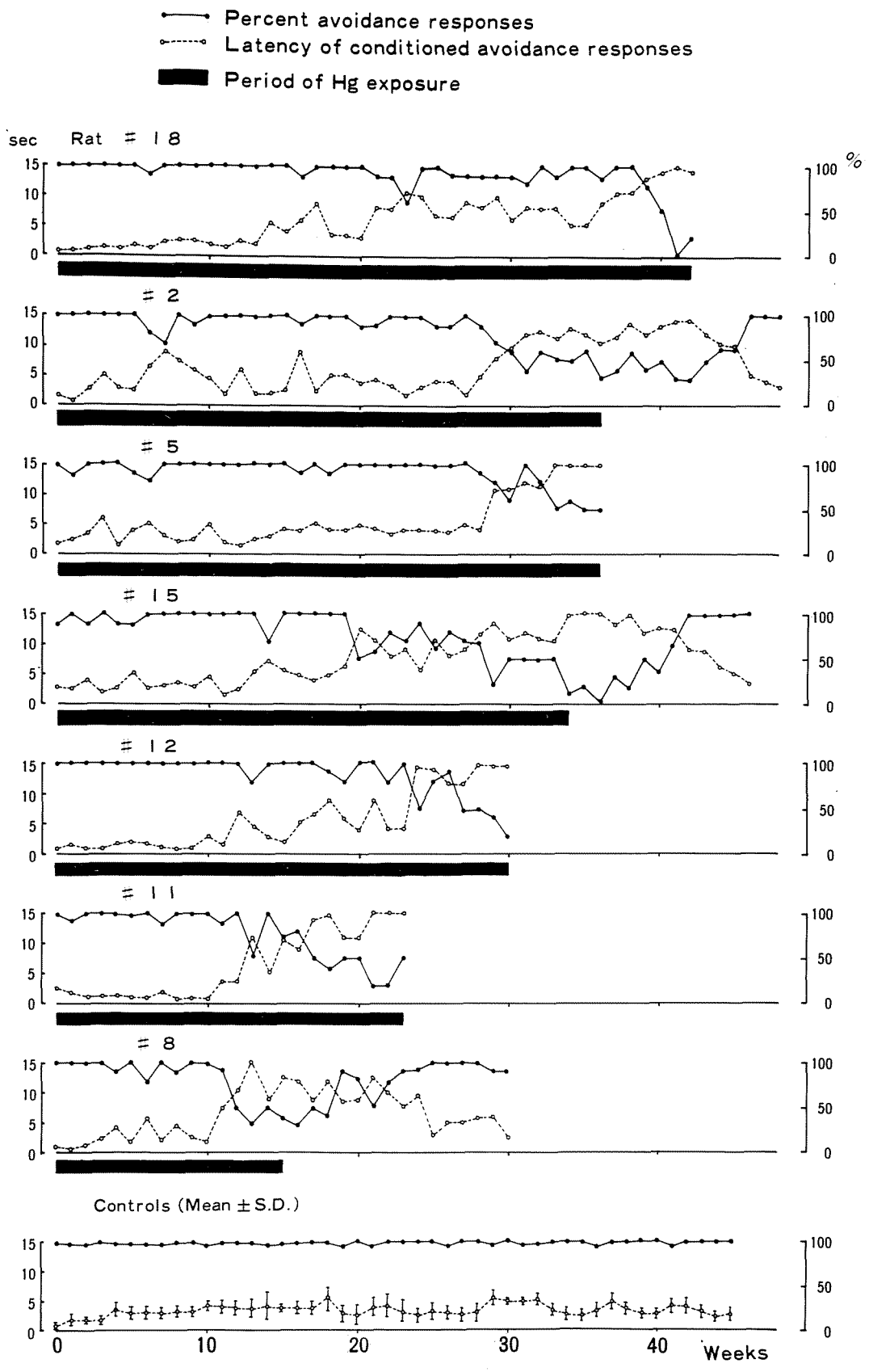

Fig 2. Changes in Conditioned Avoidance Responses.

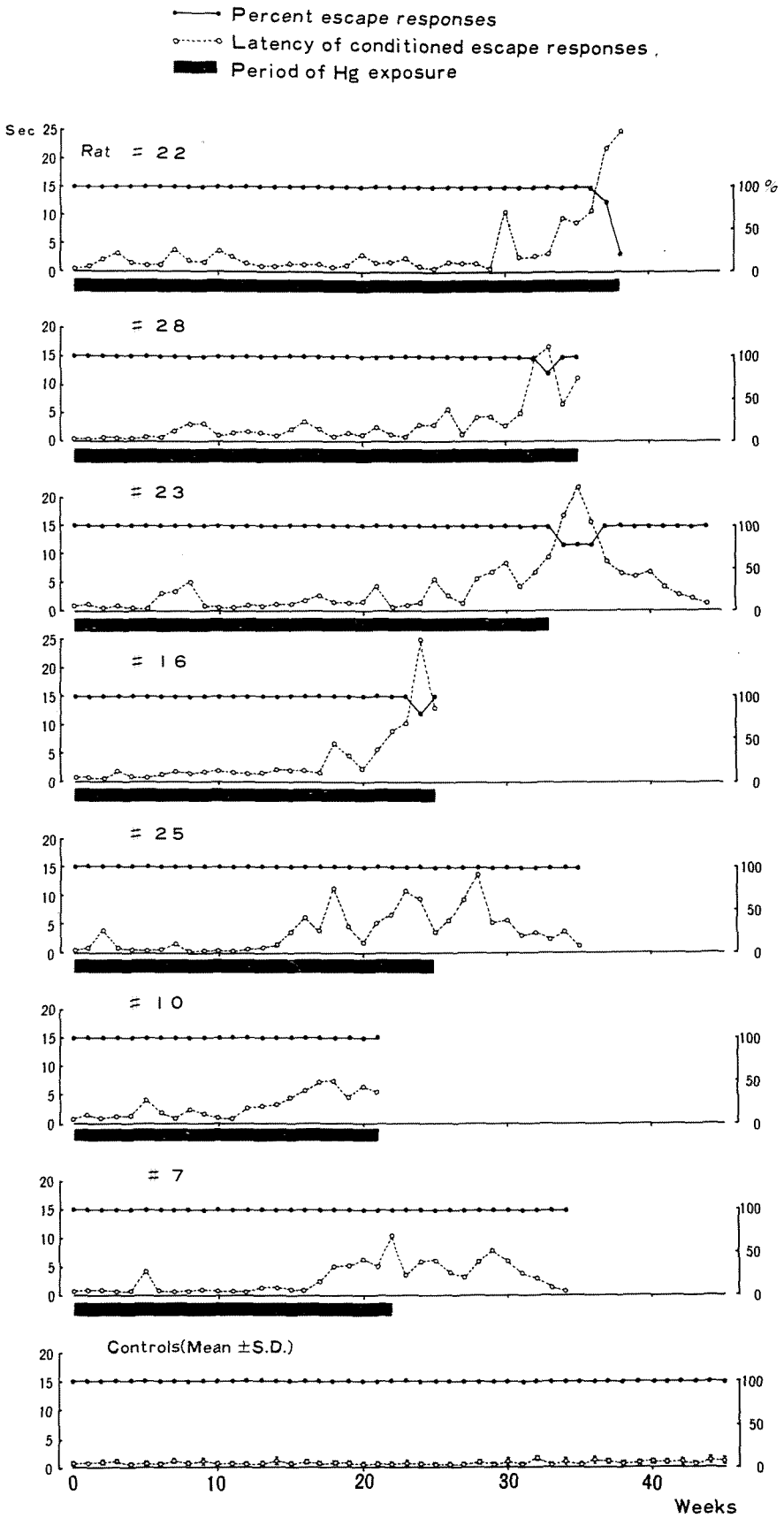

Fig3. Changes in Conditioned Escape Responses.

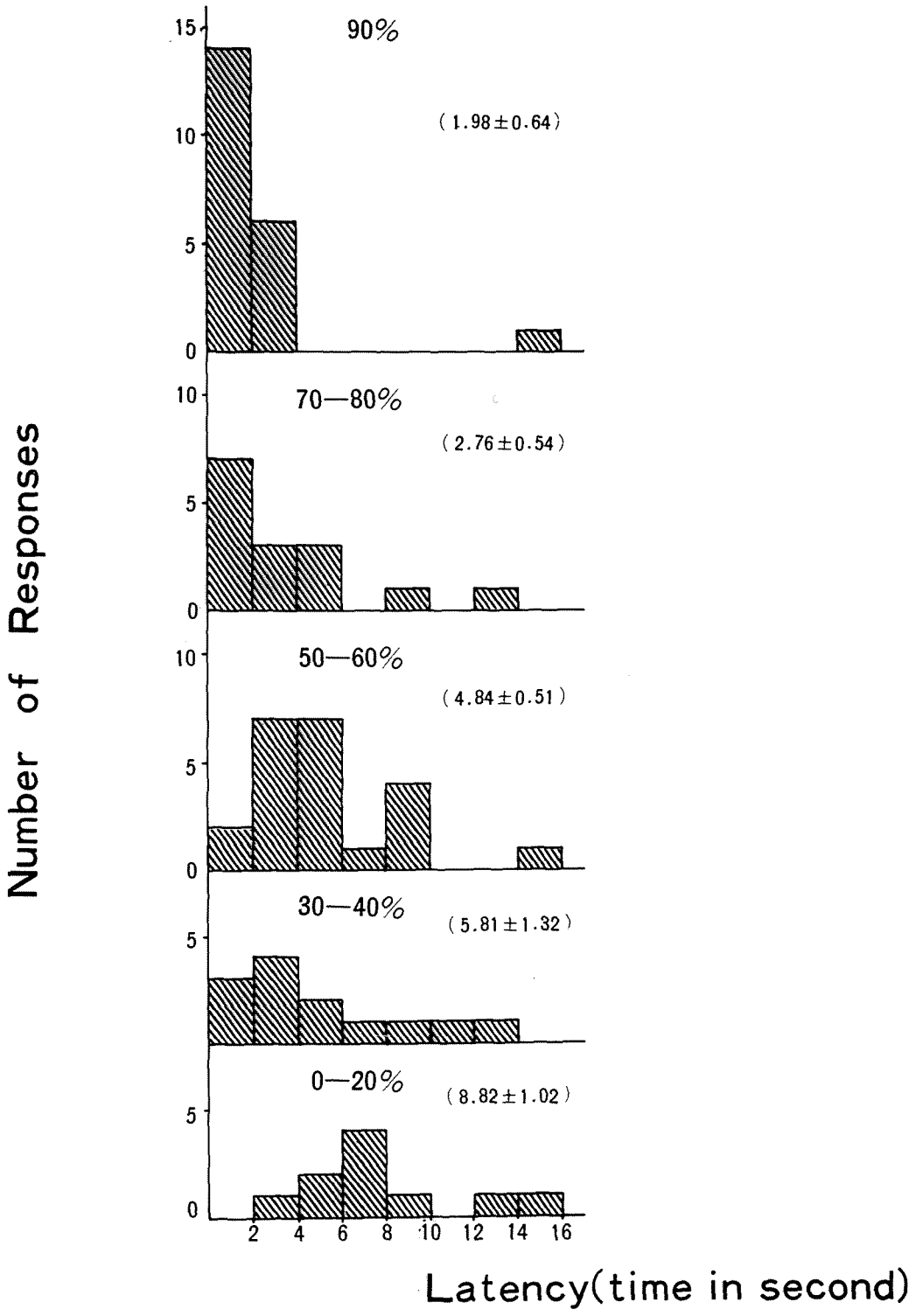

Fig. 4 Histograms of latency to escape the electric shock received as rein forcements in conditioned avoidance responses. Number of responses represent the combined data of 7 rats exposed Hg vapour. Number in parentheses are means and S.E. of latency.

Table 1. Duration of Hg exposure required for 50% reduction in conditioned avoidance response and prolonged latency in conditioned escape response

Weeks of Exposure	Conditioned Avoidance Response[a]	Conditioned Escape Response[b]
15	2/7	0/7
20	3/7	4/7 ※
30	5/7 ※	5/7 ※
35	6/7 ※※	7/7 ※※
41	7/7 ※※	

a) Number of rats with 50% reduction

b) Number of rats with prolonged latency

※ Significantly different from control animals ($P < 0.05$)

※※ Significantly different from control animals ($P < 0.01$)

TABLE 2 Distribution of Hg in tissues after Hg vapour exposure

VAPOUR EXPOSED GROUP	Number of rats	Duration of Exposure	Time after Exposure	Cerebrum	Brain stem	Cerebellum	Spinal cord	Sciatic Nerve	Lung	Liver	Kidney
Rats with behavioural changes	4	7 months	24 hrs	13.15[a]	19.20	31.12	10.20	1.92	2.40	6.00	96.94
		8	24 hrs	11.18	18.04	27.38	14.40	1.79	7.14	2.99	90.0
		9	24 hrs	12.26	17.40	32.45	14.80	1.08	4.91	3.85	99.6
		10	24 hrs	17.83	28.07	49.80	13.40	2.49	11.04	2.75	101.22
		means ± S.E.		13.60±1.46	20.68±2.49	35.19±4.99	13.20±1.04	1.82±0.29	6.37±1.83	3.90±0.74	96.94±2.48
Rats after normal recove	3	6 months	12 weeks	8.53	7.95	14.85	3.93	0.62	0.54	0.62	3.40
		7	12 weeks	6.72	11.59	17.62	5.70	1.03	1.21	0.57	17.21
		8	12 weeks	4.88	7.42	12.36	4.62	0.46	1.11	0.91	.99
		means ± S.E		6.71±1.20	8.99±1.31	14.94±1.52	4.75±0.52	0.70±0.17	0.95±0.21	0.70±0.11	12.20±3.29
Control Group	10	means ± S.E.		0.03±0.01	0.03±0.00	0.04±0.01	0.03±0.01	0.09±0.02	0.05±0.01	0.05±0.02	0.80±0.15

a) Each value represents μg Hg/g (wet wt) of tissue.

Fig. 5. Tubules in the rat (#10) kidney. Epithelium in the tubules show subtle change. Numerous droplets scatter in the cells of the tubules. H.E. stain × 370

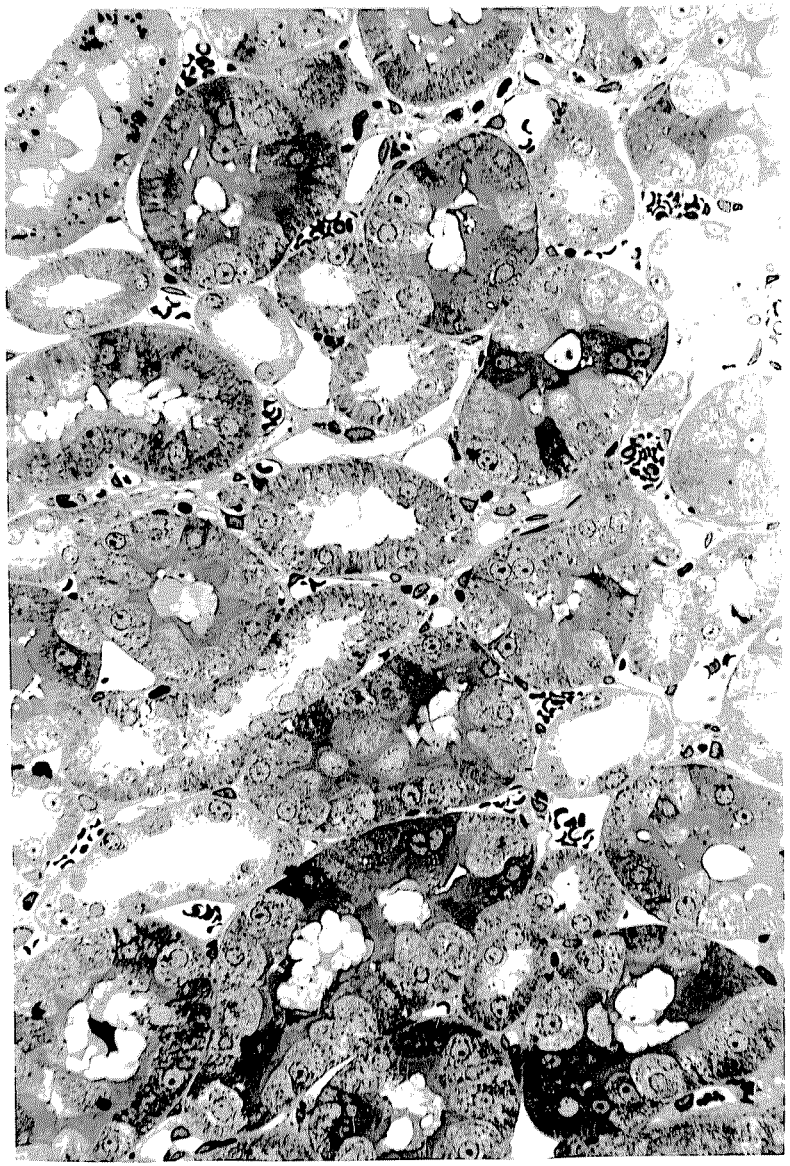

Fig. 6. Cerebral occipital cortex of the rat #5. The cell structure of neurons are well preserved. Klüver- Barrera stain × 70

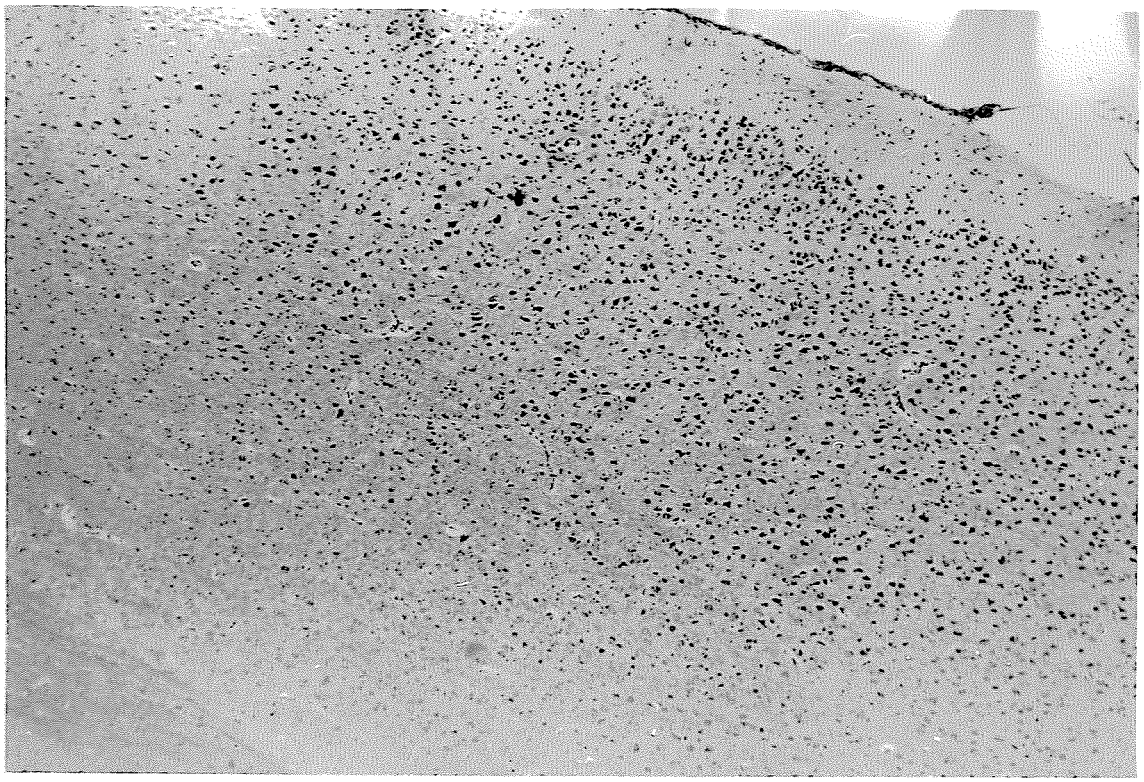

Fig. 7. Cerebellar cortex of the rat #5. No disappearance of the Purkinje cells and the granular cells are seen. Klüver- Barrera stain ×180

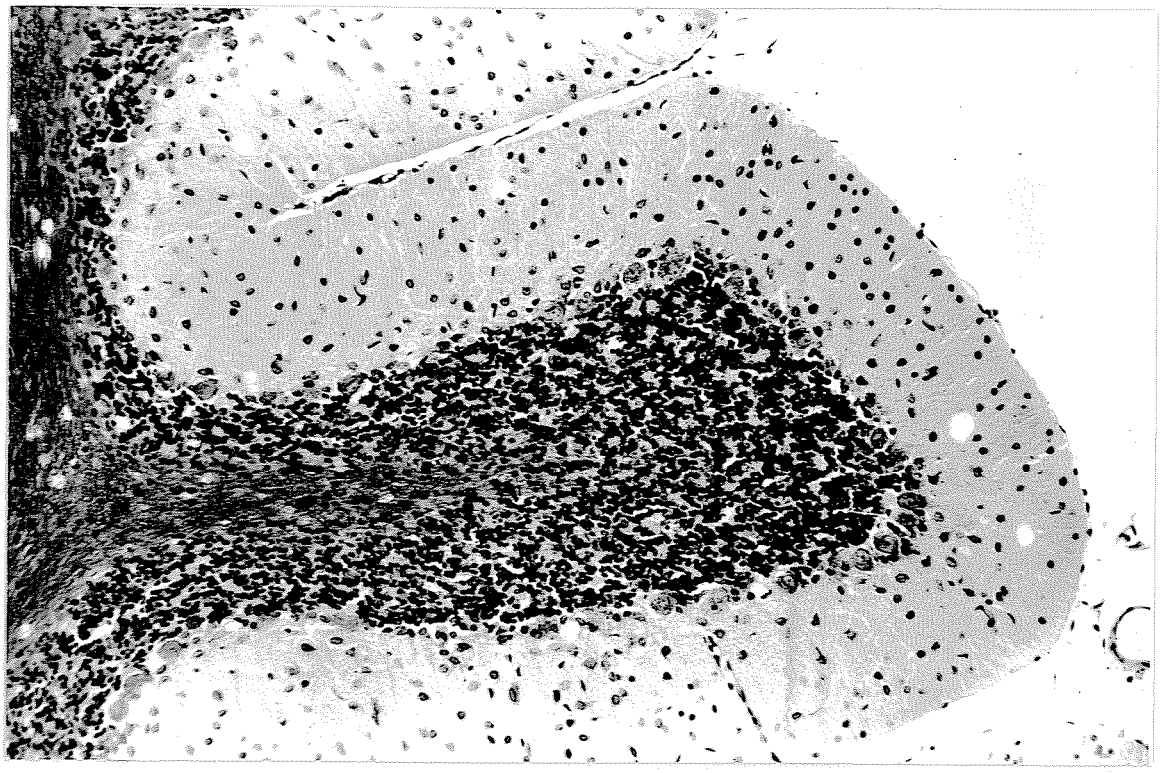

Fig. 8. Anterior horn in spinal cord (cervical region) of the rat #5. The anterior horn cells are preserved without any outstanding degeneration. Klüver-Barrera stain × 190

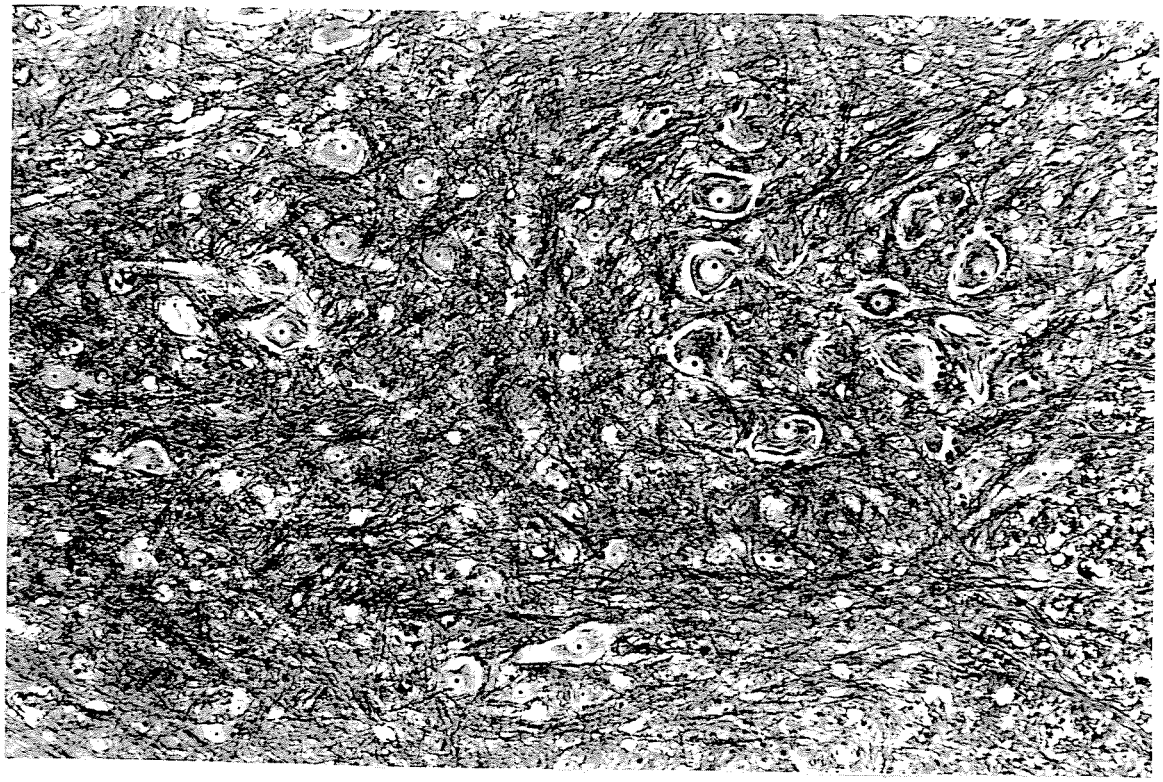
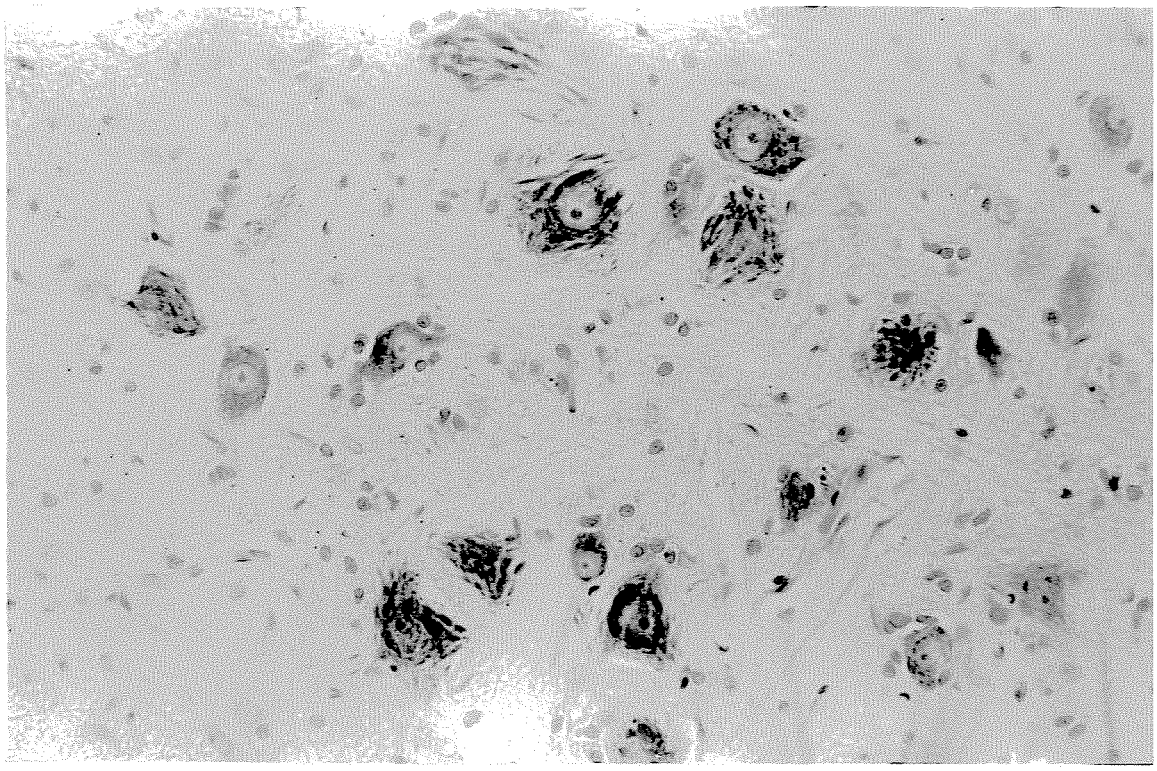
Fig. 9. Anterior horn in spinal cord (cervical region) of the rat #5. The anterior horn cells are well preserved. Nissl's stain × 370