有機水銀化合物の体内挙動におよぼす泉浴の影響の放射化学的研究 (第2報¹⁾)
泉浴の水銀体内分布におよぼす影響

川村 熙子

九州大学温泉治療学研究所²⁾

Radiochemical Studies on Effect of Bath. II.¹⁾
Effect of Serial Bath on Distribution of Mercury Compounds in Mice

HIROKO KAWAMURA

Institute of Balneo-therapeutics, Kyushu University²⁾

(Received April 10, 1971)

In order to elucidate the action mechanism of sulfur sludge bath, which showed a specific effect in accelerating urinary excretion of mercury during spa treatment for alkylmercury toxicosis, methyl methylmercuric sulfide isolated from a poisonous shellfish caught in Minamata Bay, was labeled with ^{203}Hg , and this $\text{Me-Me}^{203}\text{HgS}$ and ^{203}Hg acetate were administered to mice. Effect of hot spring bath on the biological distribution of these labeled mercury compounds was examined.

Both labeled mercury compounds showed a marked accumulation in the kidneys after their intraperitoneal administration. Systemic distribution of the sulfide was much more gradual and more homogeneous than that of the acetate. Disappearance of the acetate and sulfide from the organs after their intraperitoneal administration was found to be accelerated by continued bathing in sulfur sludge for 3 weeks but this action appeared more slowly in the sulfide. This accelerative effect was not significant when the bathing was in simple spa water.

When the bathing was made in water containing ^{203}Hg , the amount of mercury in various organs increased with time up to 6th day but the increase became insignificant thereafter. The amount of mercury in the animals given simple spa baths was twice that in the animals given sulfur sludge baths.

When the mice given $\text{Me-Me}^{203}\text{HgS}$ were bathed in sulfur sludge labeled with ^{197}Hg acetate, decrease of ^{203}Hg from the liver was much faster than that from the kidneys and that the accumulation of ^{197}Hg was extremely small, as found by concurrent measurement of ^{197}Hg and ^{203}Hg in the liver and kidneys by a 400-channel pulseheight analyzer.

These results prove that the large amount of mercury excreted into the urine of patients of alkylmercury toxicosis by continued bathing in sulfur sludge is the mercury already accumulated in the body and not due to turnover of mercury in the sulfur sludge.

緒 言

有機水銀化合物の代謝に関する従来の多くの研究は、比較的単純な化合物である RHgX , RHgA , PhHgX , PhHgA ($\text{R}=\text{CH}_3$ -, C_5H_{11} -; $\text{Ph}=\text{C}_6\text{H}_5$ -; $\text{X}=\text{Cl}$,

Br , I ; $\text{A}=\text{CH}_3\text{COO}$ -) について行なわれている。³⁾ 有機水銀化合物としては、これらよりはるかに複雑な体内挙動を示すことが予測される、アルキル水銀中毒症 (水俣病) の原因物質の一つである水俣湾産有毒貝からの単

1) 第1報: 川村熙子, 川上弘泰, 衛生化学, 17, 285 (1971) .

2) Location: 4546, Tsurumihara, Beppu.

3) A. Swensson, K.-D. Lundgren, O. Lindström, A.M.A. Arch. Ind. Health, 20, 432 (1959); etc.

離結晶 methyl methylmercuric sulfide ($\text{CH}_3\text{HgSCH}_3$)⁴⁾ の代謝を詳細に追跡する試みは、いまだなされていない。

著者はまず、この ^{203}Hg -methyl methylmercuric sulfide を合成し、無機水銀化合物として ^{197}Hg -mercuric acetate および ^{203}Hg -mercuric acetate を用い、前報¹⁾ の硫黄鉱泥ならびに単純泉連浴時における、これらの化合物のマウス生体内分布、泉水中水銀の経皮吸収および経皮吸収と排泄との関係について検討した。

実験の部

1. 実験材料

実験動物 ddD 系雄マウス、体重約 20 g、小麦・トウモロコシ・魚粉の混合飼料で飼育中のものを使用した。

^{197}Hg -Mercuric Acetate (^{197}Hg -MA), ^{203}Hg -Mercuric Acetate (^{203}Hg -MA) Commissariat A L'Energie Atomique (仏) 製の希酢酸溶液を paper chromatography (展開溶媒 $n\text{-BuOH} : \text{NH}_4\text{OH} = 100 : 1$, v/v ; $R_f = 0.04$) で純度を確認して試料とした。

^{203}Hg -Methyl Methylmercuric Sulfide (^{203}Hg -MMMS) i) $\text{CH}_3^{203}\text{HgI}$ の合成— Mg 0.05 atom (1.2 g) と CH_3I 0.05 mole (7 g) とを無水エーテル 50 ml 中で反応させ、未反応 Mg を濾去して Grignard 試薬を調製。 $^{203}\text{HgCl}_2$ ⁵⁾ 0.05 mole (14 g) を無水エーテル 80 ml に加え、水銀シールを用いて攪拌還流下に Grignard 試薬を滴加し、さらに 1 hr 還流後、少量の水を加えエーテルを留去。残渣に水 100 ml, conc. HCl 5 ml を加え過剰の HgCl_2 と Mg 化合物とを溶解させ、 $\text{CH}_3^{203}\text{HgI}$ を吸引濾取。 EtOH から再結晶。

ii) $\text{CH}_3^{203}\text{HgSCH}_3$ の合成— $\text{CH}_3^{203}\text{HgI}$ 0.0088 mole (3 g) を acetone 60 ml に溶解し、反応温度を $30\text{--}35^\circ$ に保ち、攪拌しながら、 $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 0.0088 mole (2.11 g) を熱 EtOH 25 ml に溶解した溶液を徐々に滴加、副生成物を濾去。濾液に CH_3I 0.0088 mole (1.25 g) を加え、 $30\text{--}35^\circ$ で攪拌すると無色沈澱を生ずる。氷冷し、晶出終了後濾取。 CHCl_3 または abs. EtOH から数回再結晶、金属光沢ある無色鱗状晶を得た。 mp $110\text{--}130^\circ$ (decomp., subl.). Iodine-azide test +, cuprous salt precipitation test + (sulfide test +). 0.001 % dithi-zone chloroform 溶液を添加すると黄色を呈する。

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 2980, 2870 (C-H), 1154 ($\text{CH}_3\text{-Hg}$), 760 (C-S). 放射化学的純度は paper chromatography (展開溶媒 $n\text{-BuOH} : \text{NH}_4\text{OH} = 100 : 1$, v/v ; $R_f =$

0.75) で確認した。比放射能 $0.38 \mu\text{Ci/mg}$.

鉱泥、温研泉 「紺屋硫黄鉱泥」と、対照として、単純泉に属する九州大学温泉治療学研究所内「温研泉」を使用した。両泉の主要化学成分を Table I に示す。

TABLE I. Principal Components

of Konya-Ködei		and of Onken-Sen	
Moisture content	65 %		
pH	2.2	pH	6.2
Na_2O	1.28 %	cation Na^+	26.42 mg/kg
K_2O	1.16	K^+	0.99
CaO	2.46	Ca^{2+}	28.02
MgO	1.42	Mg^{2+}	13.37
FeO	2.03	Fe^{3+}	0.84
Fe_2O_3	7.32	Al^{3+}	0.40
Al_2O_3	16.87	anion Cl^-	22.71
MnO	0.00	HCO_3^-	81.76
TiO_2	4.15	SO_4^{2-}	103.9
P_2O_5	0.23	HPO_4^{2-}	0.18
SiO_2	43.00	$\text{H}_2\text{SiO}_3(\text{meta})$	16.11 m mole
S	2.20	$\text{HBO}_2(\text{meta})$	3.94
H_2O	10.98	CO_2	80.30
Ra	$0.95 \times 10^{-12} \text{ g/g}$	H_2S	0.272

2. 放射能測定

^{203}Hg の測定には well-type scintillation counter (1 $3/4'' \phi \times 2''$ NaI) を、 ^{197}Hg - ^{203}Hg 同時測定には 400 channel pulse height analyzer (400 channel P.H.A., 日立製 RAH-403 形, well-type 1 $3/4'' \phi \times 2''$ NaI) を使用した。

試料の幾何学的配置による補正ならびに光電ピーク積分値の算出は前報¹⁾ 記載の方法によった。

^{197}Hg (0.0776 MeV)・ ^{203}Hg (0.279 MeV) 同時測定における ^{197}Hg (0.0776 MeV) の光電ピーク (PP) の計測において、 ^{203}Hg (0.279 MeV) から放射される KX 線 (0.073 MeV) のピークが分離できず重なる。ゆえに、 ^{203}Hg 単独の実測による同測定条件下での ^{203}Hg (KX)/ ^{203}Hg (PP) を同時に求め、 ^{197}Hg (PP) の積分値は次式により算出した。

$$^{197}\text{Hg}(\text{PP}) = \{ ^{197}\text{Hg}(\text{PP}) + ^{203}\text{Hg}(\text{KX}) \} - ^{203}\text{Hg}(\text{PP}) \times \frac{^{203}\text{Hg}(\text{KX})}{^{203}\text{Hg}(\text{PP})}$$

^{203}Hg 微弱計数測定に際しては、測定誤差が 5 % 以下となるように至適測定時間を選定した。

放射能減衰に対しては、それぞれ各実験開始日時に補

4) 内田横男, 生化学, **35**, 430 (1963).

5) The Radiochemical Centre (英) 製 $^{203}\text{HgCl}_2$ を非放射性 HgCl_2 で比放射能 0.1 mCi/m mole に希釈。

正した。

3. 実験方法

各実験において、マウスは1群5匹を維持できるように試験開始時の匹数を選び、所定の日に断頭屠殺、解剖。臓器は polyethylene 試験管に入れ、そのまま湿式

で放射能を測定、得られたデータすべてについて、有意水準5%または10%において有意差を検定した。

水銀臓器含量の経時変化 $^{203}\text{Hg-MA}$ 40 $\mu\text{gHg}/2.0 \times 10^4 \text{ cpm}/0.1 \text{ ml H}_2\text{O}$ または $^{203}\text{Hg-MMMS}$ 40 $\mu\text{gHg}/2.1 \times 10^4 \text{ cpm}/0.15 \text{ ml olive oil}$ を各マウスに腹腔内注

TABLE II. Concentration of Mercury in Organs after a Single Intraperitoneal Injection of $^{203}\text{Hg-MA}$

Time after injection (hr)	Specific radioactivity (cpm/g)									
	Blood ($\times 10^2$)	Heart ($\times 10^2$)	Lung ($\times 10^2$)	Spleen ($\times 10^2$)	Brain ($\times 10^2$)	Liver ($\times 10^2$)	Kidney ($\times 10^2$)	Testicle ($\times 10^2$)	Stomach ($\times 10^2$)	Small intestine ($\times 10^2$)
1 hr	7.69 ± 3.09	8.70 ± 0.69	8.69 ± 3.50	5.48 ± 3.15	1.83 ± 0.59	9.85 ± 2.66	8.79 ± 3.20	1.49 ± 0.35	3.79 ± 1.21	7.19 ± 4.68
3 hr	6.32 ± 2.74	9.06 ± 1.64	8.96 ± 2.27	9.63 ^{a)} ± 3.97	1.98 ± 0.23	13.40 ^{b)} ± 2.26	12.91 ^{b)} ± 2.59	1.96 ^{a)} ± 0.58	2.70 ± 1.84	6.40 ± 2.72
6 hr	7.53 ± 2.74	7.72 ^{c)} ± 1.02	8.70 ± 1.91	10.39 ± 5.58	2.19 ^{a)} ± 0.19	13.66 ± 3.46	13.86 ± 4.32	2.77 ^{a)} ± 0.82	3.64 ± 1.81	4.96 ± 2.26
12hr	4.42 ^{d)} ± 0.28	6.44 ^{d)} ± 0.90	8.53 ± 3.98	8.58 ± 0.94	2.24 ± 0.89	16.73 ^{a)} ± 2.95	25.57 ^{b)} ± 7.95	4.42 ^{b)} ± 0.86	2.67 ± 0.68	4.57 ± 1.88
24hr	3.13 ^{d)} ± 0.94	4.28 ^{d)} ± 0.82	7.48 ± 0.66	7.12 ^{d)} ± 1.26	1.99 ± 0.96	10.33 ^{d)} ± 4.54	17.55 ^{d)} ± 2.09	2.91 ^{d)} ± 0.45	2.56 ± 0.50	4.33 ± 1.12
48hr	1.32 ^{d)} ± 0.41	2.08 ^{d)} ± 0.35	4.88 ^{d)} ± 0.54	5.11 ^{d)} ± 0.80	1.48 ± 0.49	12.23 ± 1.90	15.60 ± 2.87	2.08 ^{d)} ± 0.65	1.58 ^{d)} ± 0.48	3.30 ± 1.13
72hr	0.66 ^{d)} ± 0.24	0.71 ^{d)} ± 0.21	4.25 ^{c)} ± 0.70	2.67 ^{d)} ± 0.68	1.35 ± 0.28	9.78 ^{d)} ± 0.89	15.49 ± 4.41	1.30 ^{d)} ± 0.43	0.78 ^{d)} ± 0.19	2.03 ^{d)} ± 0.72

The numerals present 95% confidence limits of population mean estimated by t-test.

a) indicates significant increase $p < 0.10$

b) indicates significant increase $p < 0.05$

c) indicates significant decrease $p < 0.10$

d) indicates significant decrease $p < 0.05$

TABLE III. Concentration of Mercury in Organs after a Single Intraperitoneal Injection of $^{203}\text{Hg-MMMS}$

Time after injection (hr)	Specific radioactivity (cpm/g)									
	Blood ($\times 10^2$)	Heart ($\times 10^2$)	Lung ($\times 10^2$)	Spleen ($\times 10^2$)	Brain ($\times 10^2$)	Liver ($\times 10^2$)	Kidney ($\times 10^2$)	Testicle ($\times 10^2$)	Stomach ($\times 10^2$)	Small intestine ($\times 10^2$)
1 hr	15.49 ± 4.13	12.06 ± 2.82	17.78 ± 2.60	29.77 ± 7.73	3.06 ± 0.64	19.41 ± 5.63	4.35 ± 0.81	6.55 ± 3.00	14.14 ± 11.50	31.07 ± 9.00
3 hr	12.38 ^{a)} ± 1.09	15.84 ^{b)} ± 4.32	29.68 ^{c)} ± 9.06	22.96 ^{a)} ± 6.47	4.33 ^{c)} ± 1.35	16.35 ± 2.14	9.20 ^{c)} ± 1.02	6.76 ± 0.87	9.12 ± 3.12	30.67 ± 10.30
6 hr	11.04 ^{d)} ± 0.76	15.49 ± 8.56	20.39 ^{d)} ± 4.45	17.66 ± 8.77	4.90 ± 1.17	17.00 ± 1.86	11.16 ^{c)} ± 1.02	7.28 ± 3.20	5.93 ^{a)} ± 3.14	16.39 ^{d)} ± 4.36
12hr	10.22 ± 2.51	14.02 ± 5.74	20.29 ± 7.30	16.16 ± 9.24	6.19 ± 1.59	18.28 ± 2.59	13.37 ± 3.59	8.65 ± 7.74	4.47 ± 2.43	14.44 ± 1.41
24hr	8.01 ^{a)} ± 1.02	11.70 ± 6.19	19.39 ± 2.16	15.21 ± 2.97	6.19 ± 0.34	24.23 ^{c)} ± 3.02	11.16 ± 2.11	12.95 ± 5.25	6.31 ± 1.89	14.27 ± 2.54
48hr	6.52 ^{a)} ± 1.63	11.46 ± 1.67	20.93 ± 2.77	15.13 ± 4.83	7.15 ^{b)} ± 1.37	25.50 ± 2.22	9.49 ^{a)} ± 0.36	13.66 ± 3.44	5.31 ± 2.45	11.12 ^{d)} ± 2.09
72hr	6.34 ± 1.20	12.92 ± 2.35	21.25 ± 3.42	14.26 ± 1.34	9.33 ^{c)} ± 2.21	28.16 ^{c)} ± 3.98	8.49 ^{a)} ± 1.34	13.50 ± 5.29	5.09 ± 0.99	8.43 ^{a)} ± 3.26

a) indicates significant decrease $p < 0.10$

b) indicates significant increase $p < 0.10$

c) indicates significant increase $p < 0.05$

d) indicates significant decrease $p < 0.05$

Fig. 1. Change of Mercury Content in Organs after a Single Intraperitoneal Injection of $^{203}\text{Hg-MA}$

A : x : kidney
 o : liver
 ● : brain
 △ : stomach
 ▲ : small intestine

B : x : blood
 o : heart
 ● : lung
 △ : spleen
 ▲ : testicle

note : Two scales are shown on the ordinate in Fig. A (α) kidney only).

Fig. 2. Change of Mercury Content in Organs after a Single Intraperitoneal Injection of $^{203}\text{Hg-MMMS}$

A : x : kidney
 o : liver
 ● : brain
 △ : stomach
 ▲ : small intestine

B : x : blood
 o : heart
 ● : lung
 △ : spleen
 ▲ : testicle

note : Two scales are shown on the ordinate in Fig. A (α) kidney only).

射し、注射後、1, 3, 6, 12, 24, 48, 72 hr 経過後に断頭。血液採取後、心、肺、脾、脳、肝、腎、睾丸、胃、小腸（胃、小腸は内容物含有のまま）を摘出し、各臓器の ^{203}Hg 含量を測定した。

連浴による水銀臓器分布の変動 ^{203}Hg -MA 60 μg Hg / 2.4×10^4 cpm / 0.1 ml H_2O または ^{203}Hg -MMMS 60 μg Hg / 2.0×10^4 cpm / 0.15 ml olive oil を腹腔内注射したマウスを3群に分ける。

- A : 対照群（自然放置）
 Bm : 鉍泥連浴群
 Bo : 温研泉連浴群（以下同記）

B群のマウスを1匹ずつ金網製円筒容器に入れ、浴条件 37° , 10 min で、毎日定時刻に1回、3週間、下半身浴を行なわせる。浴後マウスを Ca-EDTA (20% Ca-EDTA : Ringer's solution = 1 : 100, v/v) と水で数回洗

淨し、scintillation survey meter で表皮に ^{203}Hg が附着していないことを確認した後、乾燥。連浴 1, 3, 6, 9, 14, 21 日に A, Bm, Bo 群を同時に解剖し、血液、心、肺、脾、脳、肝、腎、睾丸、胃、小腸の ^{203}Hg を定量。ただし、Bo 群はA群と有意の差が認められなかったので、14日にて実験を終止した。

^{203}Hg 附加泉浴での経皮吸収 鉍泥と温研泉とを ^{203}Hg -MA 3.7 μg Hg / 5.2×10^3 cpm / ml で標識。Bm 群は金網製円筒容器に、Bo 群は底に小穴を開けたガラス製円筒容器に入れ、毎日 37° , 15 min, 10 日間、下半身浴を行なわせ、浴後マウスを前記実験と同様に処理。連浴 1, 3, 6, 10 日に Bm, Bo 群を同時に解剖。血液、心、肺、脾、脳、肝、腎の ^{203}Hg を測定した。

連浴時の水銀臓器含量と経皮吸収との関係 A, Bm 群の各マウスに ^{203}Hg -MMMS 50 μg Hg / 6.4×10^4 cpm /

TABLE IV. Distribution of ^{203}Hg -MA during Serial Bath

		Specific radioactivity (cpm/g)									
Day	Group	Blood ($\times 10^2$)	Heart ($\times 10^2$)	Lung ($\times 10^2$)	Spleen ($\times 10^2$)	Brain ($\times 10^2$)	Liver ($\times 10^2$)	Kidney ($\times 10^3$)	Testicle ($\times 10^2$)	Stomach ($\times 10^2$)	Small intestine ($\times 10^2$)
1	A	11.78 ± 2.52	7.36 ± 3.32	14.28 ± 1.78	21.22 ± 8.44	4.14 ± 0.79	32.34 ± 12.46	25.94 ± 6.44	7.30 ± 5.20	9.86 ± 6.74	23.12 ± 9.48
	Bm	18.41 ^{a)} ± 1.93	11.22 ^{a)} ± 1.12	18.72 ^{a)} ± 2.30	24.88 ± 2.42	4.27 ± 0.98	33.68 ± 13.24	22.76 ± 4.46	8.13 ± 2.10	8.99 ± 5.44	21.48 ± 4.32
	Bo	10.31 ± 3.24	7.02 ± 1.94	15.50 ± 3.14	20.46 ± 4.09	4.07 ± 0.50	31.83 ± 3.52	25.47 ± 6.74	5.38 ± 1.25	10.05 ± 1.64	18.45 ± 3.93
3	A	2.92 ± 1.35	5.98 ± 2.39	12.00 ± 6.24	10.30 ± 3.20	3.34 ± 2.62	32.58 ± 9.50	34.72 ± 7.80	5.16 ± 1.13	4.35 ± 1.80	6.48 ± 3.02
	Bm	2.05 ± 1.07	3.54 ^{b)} ± 1.36	7.32 ^{c)} ± 2.46	6.78 ^{b)} ± 1.07	2.13 ^{b)} ± 0.18	22.72 ^{b)} ± 6.74	28.98 ± 4.10	3.19 ^{b)} ± 0.45	2.62 ^{c)} ± 1.09	5.15 ± 1.02
	Bo	3.42 ± 1.09	4.87 ± 1.29	10.02 ± 1.83	13.51 ^{d)} ± 2.34	3.16 ± 0.41	31.21 ± 2.93	30.91 ± 4.65	4.70 ± 1.22	4.14 ± 1.59	6.63 ± 1.78
6	A	1.04 ± 0.35	3.91 ± 1.07	6.30 ± 1.84	7.60 ± 4.28	2.22 ± 0.47	23.40 ± 7.92	24.96 ± 5.24	4.53 ± 1.77	3.86 ± 0.98	3.24 ± 0.90
	Bm	1.33 ± 0.87	2.62 ^{c)} ± 1.30	4.06 ^{b)} ± 2.22	3.86 ^{b)} ± 0.86	1.52 ^{b)} ± 0.29	12.60 ^{b)} ± 4.10	20.30 ± 7.96	2.03 ^{b)} ± 0.92	2.41 ^{b)} ± 0.40	2.60 ^{c)} ± 0.28
	Bo	3.06 ^{a)} ± 0.56	4.98 ^{a)} ± 0.31	5.80 ± 1.07	11.91 ^{a)} ± 1.22	2.44 ± 0.30	22.77 ± 3.44	24.15 ± 2.99	3.87 ± 0.89	5.36 ^{a)} ± 1.04	3.83 ± 1.18
9	A	0.81 ± 0.26	2.81 ± 1.12	3.46 ± 1.05	3.58 ± 1.55	1.44 ± 0.24	12.92 ± 3.40	16.20 ± 3.60	2.44 ± 1.86	1.29 ± 0.72	1.43 ± 0.23
	Bm	0.55 ± 0.46	1.55 ^{c)} ± 1.33	2.28 ^{d)} ± 0.49	2.56 ± 1.00	1.03 ^{d)} ± 0.10	10.18 ± 3.86	13.50 ± 3.08	2.13 ± 1.00	1.00 ± 0.32	1.23 ^{b)} ± 0.15
	Bo	1.59 ^{a)} ± 0.60	2.18 ± 0.31	3.22 ± 0.87	3.72 ± 0.63	1.23 ± 0.28	12.71 ± 2.25	12.64 ± 2.76	2.58 ± 0.66	1.54 ± 0.19	1.19 ^{c)} ± 0.27
14	A	0.60 ± 0.18	1.98 ± 0.38	2.76 ± 0.71	2.87 ± 0.40	0.81 ± 0.09	6.06 ± 2.08	5.98 ± 2.26	1.77 ± 0.34	0.86 ± 0.21	0.60 ± 0.24
	Bm	0.33 ^{b)} ± 0.12	1.20 ^{b)} ± 0.28	2.05 ^{b)} ± 0.35	2.24 ^{b)} ± 0.63	0.61 ^{b)} ± 0.21	4.76 ± 1.32	6.94 ± 2.06	1.69 ± 0.29	0.86 ± 0.21	0.65 ± 0.12
	Bo	0.51 ± 0.17	1.65 ± 0.34	2.21 ± 0.59	3.65 ± 1.22	1.16 ± 0.51	8.25 ^{a)} ± 1.47	6.68 ± 1.97	1.80 ± 0.39	1.52 ^{a)} ± 0.31	1.48 ^{a)} ± 0.39

a) indicates significant increase $p < 0.05$, vs. control (A)

b) indicates significant decrease $p < 0.05$, vs. control (A)

c) indicates significant decrease $p < 0.10$, vs. control (A)

d) indicates significant increase $p < 0.10$, vs. control (A)

0.15 ml olive oil を腹腔内注射. Bm 群を金網製円筒容器に入れ, $^{197}\text{Hg-MA}$ $0.039 \mu\text{gHg}/5.0 \times 10^3 \text{ cpm/ml}$ 標識鉱泥に, 毎日 37° , 15 min, 6 日間, 下半身浴を行なわせ, 浴後マウスを前実験同様に処理, 連浴 1, 3, 6 日に肝, 腎の ^{203}Hg (0.279 MeV) および ^{197}Hg (0.0776 MeV) を 400 channel P.H.A. で同時測定した.

結 果

1. 水銀臓器含量の経時変化 (Table II—III, Fig. 1—2)

以後の連浴実験の条件設定に資する目的で, ^{203}Hg 臓

器含量の経時変化を 72 時間観測した.

MA および MMMS 共通にみられる特徴は, 腎への顕著な蓄積である. MA では, この傾向が特に著しく, 腎以外の諸臓器中 Hg 含量は腎の 1/10 以下にすぎない. 一方, MMMS では, 腎中 Hg は MA の約 2/3 であるが肝には 2—3 倍, 他の各臓器にも 2—3 倍以上の Hg を保持し, MA より均等な臓器分布が認められた.

Hg 含量最高値は, MA では投与 3—12 時間後に現われ, 以後は減少しはじめているが, MMMS では, それよりも少し遅れて, 投与後 24 時間までに最高値を示し,

TABLE V. Distribution of ^{203}Hg -MMMS during Serial Bath

Day		Specific radioactivity (cpm/g)									
Group		Blood ($\times 10^2$)	Heart ($\times 10^2$)	Lung ($\times 10^2$)	Spleen ($\times 10^2$)	Brain ($\times 10^2$)	Liver ($\times 10^2$)	Kidney ($\times 10^3$)	Testicle ($\times 10^2$)	Stomach ($\times 10^2$)	Small intestine ($\times 10^2$)
1	A	13.33 ± 4.85	18.10 ± 3.88	24.66 ± 2.96	23.87 ± 4.39	8.87 ± 1.14	27.89 ± 5.14	10.18 ± 1.50	11.59 ± 3.66	9.78 ± 2.07	17.93 ± 2.98
	Bm	12.83 ± 2.35	15.15 ± 4.97	23.41 ± 5.49	24.58 ± 5.05	7.62 ^{a)} ± 0.58	32.16 ± 11.21	8.46 ^{a)} ± 1.34	11.01 ± 2.16	10.16 ± 5.78	16.33 ± 1.25
	Bo	13.89 ± 1.46	19.23 ± 1.93	25.56 ± 3.15	24.68 ± 2.40	8.91 ± 1.29	28.19 ± 6.03	11.38 ± 2.23	11.97 ± 2.25	9.92 ± 1.79	19.02 ± 3.83
3	A	11.72 ± 5.25	19.16 ± 2.50	24.75 ± 3.08	18.68 ± 6.79	9.74 ± 1.72	33.05 ± 8.16	9.55 ± 1.52	18.56 ± 3.62	6.34 ± 2.29	13.61 ± 2.63
	Bm	13.61 ± 2.21	21.76 ± 3.31	26.85 ± 5.39	25.36 ^{a)} ± 5.05	10.52 ± 2.09	35.53 ± 3.20	9.69 ± 1.48	16.84 ± 5.36	10.55 ± 3.96	14.62 ± 2.22
	Bo	16.63 ^{a)} ± 3.27	19.61 ± 4.98	30.32 ^{a)} ± 6.15	21.82 ± 3.35	9.87 ± 1.72	41.65 ^{a)} ± 6.90	8.27 ^{b)} ± 0.72	14.26 ^{b)} ± 4.43	13.15 ^{c)} ± 3.73	21.15 ^{c)} ± 4.21
6	A	5.63 ± 1.35	15.18 ± 3.48	16.84 ± 3.01	16.44 ± 4.21	8.81 ± 0.96	24.64 ± 4.43	8.24 ± 0.40	11.65 ± 3.45	6.84 ± 0.78	13.06 ± 1.07
	Bm	11.86 ^{c)} ± 3.77	12.93 ± 4.77	19.80 ± 3.21	19.69 ± 4.79	8.71 ± 2.45	22.37 ± 5.46	7.41 ± 1.94	12.20 ± 4.43	6.81 ± 1.12	13.14 ± 7.36
	Bo	6.42 ± 1.42	16.19 ± 2.30	19.54 ± 2.38	18.61 ± 4.23	10.50 ^{c)} ± 1.68	25.41 ± 6.07	9.21 ± 1.65	18.39 ^{c)} ± 4.87	4.06 ^{a)} ± 0.68	18.67 ^{c)} ± 4.81
9	A	7.03 ± 2.14	13.16 ± 3.60	12.42 ± 1.89	12.83 ± 1.96	7.59 ± 1.52	20.86 ± 3.83	7.51 ± 0.60	10.97 ± 3.09	6.95 ± 1.89	13.29 ± 3.11
	Bm	8.15 ± 2.77	11.56 ± 2.08	13.94 ± 3.90	13.28 ± 5.26	7.50 ± 1.64	17.67 ± 6.91	6.57 ^{a)} ± 1.06	13.11 ± 2.67	2.90 ± 1.47	13.33 ± 5.77
	Bo	7.16 ± 1.31	13.40 ± 2.22	12.65 ± 2.93	13.06 ± 2.26	7.72 ± 1.16	21.21 ± 2.95	7.65 ± 1.06	11.18 ± 3.53	7.07 ± 1.85	13.63 ± 3.22
14	A	5.74 ± 0.44	7.56 ± 1.02	11.63 ± 3.27	8.91 ± 2.49	7.28 ± 2.91	14.30 ± 6.14	6.14 ± 2.03	7.52 ± 0.88	5.10 ± 1.73	8.51 ± 4.23
	Bm	3.27 ^{d)} ± 1.12	4.66 ^{d)} ± 1.01	7.32 ^{d)} ± 1.41	4.27 ^{d)} ± 1.25	3.23 ^{d)} ± 1.00	9.93 ± 2.71	4.92 ± 1.30	6.44 ^{b)} ± 0.97	2.11 ^{d)} ± 0.99	4.70 ^{b)} ± 2.56
	Bo	4.68 ^{b)} ± 1.38	8.76 ^{a)} ± 1.42	8.28 ^{d)} ± 1.53	8.55 ± 1.78	5.23 ± 1.36	13.16 ± 2.79	6.01 ± 1.68	5.70 ^{d)} ± 1.53	2.63 ^{d)} ± 1.11	6.25 ± 2.56
21	A	2.44 ± 0.89	6.01 ± 0.84	7.47 ± 1.92	6.91 ± 0.69	2.88 ± 0.56	6.08 ± 1.45	2.96 ± 0.91	4.49 ± 1.43	2.61 ± 1.06	3.42 ± 1.37
	Bm	1.56 ^{d)} ± 0.50	2.88 ^{d)} ± 0.83	4.83 ^{d)} ± 0.62	3.70 ^{d)} ± 0.38	1.57 ^{d)} ± 0.36	3.14 ^{d)} ± 0.50	1.76 ^{d)} ± 0.26	2.46 ^{d)} ± 0.55	1.81 ± 1.00	3.41 ± 0.90
	Bo	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —

a) indicates significant increase $p < 0.10$, vs. control (A)

b) indicates significant decrease $p < 0.10$, vs. control (A)

c) indicates significant increase $p < 0.05$, vs. control (A)

d) indicates significant decrease $p < 0.05$, vs. control (A)

その後、腎では徐々に減少、肝は脳とともに注射72時間後になっても、なお、増加し続けている。脳への蓄積はMAでは実際上認められず、MMMSでは72時間常に蓄積過程にあった。その他の臓器中のMAの減少速度は、MMMSよりもはるかに速いことが確認された。

2. 連浴による水銀臓器分布の変動 (Table IV—V, Fig. 3—4)

^{203}Hg -MA または ^{203}Hg -MMMS 投与マウスを硫黄鉱泥および温研泉に3週間連浴させた場合の ^{203}Hg 臓器分布の変動を追跡した。

水銀の自然排泄(A群) 連浴を行わず自然飼育にまかせた対照群(A)のみについてみれば、2—3週間にわたるMAおよびMMMS含量の推移は、MAでは投与6日後には既に肝および腎以外の各臓器からは大部分消失し、9日以後にはわずかに残存するにすぎなかった。肝および腎ではやや遅れて6—14日に著しく減少し

ているのが認められた。

これに反し、MMMSは投与後6日間に著明に減少したのは血液のみで、心、肺、脾、肝、睾丸、胃および小腸においては6—21日間にわたって徐々に減少し続け、脳においては14—21日によりやく有意の差が現われた。腎では1—21日間を通じ、MAよりもはるかに緩やかな勾配で直線的に減少していることが判明した。

鉱泥連浴の影響(Bm—A群) MAでは連浴3日後には早くも浴効果が現われ、血液および腎を除く各臓器中Hgに対照群との差が認められ、観察期間を通じて常に排泄促進の傾向が確認された。血液および腎でも減少を示したが、統計的に結論しうるほどの差異を認めるには至らなかった。このことは各臓器から血中へ、さらに腎に集結して排泄されるという、臓器の機能と排泄過程からすれば当然のことと思われる。

MMMSにおける鉱泥浴の影響は、連浴3日頃には、

Fig. 3. Distribution of ^{203}Hg -MA during Serial Bath

Fig. 4. Distribution of ^{203}Hg -MMMS during Serial Bath

A群に比し Bm 群にかえて高値のものもあるが、14日後には各臓器とも Bm 群に有意な減少を示し、21日後もなお浴効果が持続している。

以上の結果から、鉍泥連浴は遅速・多少の相違はあっても、MA および MMMS いずれに対しても排泄促進効果を示しているものと考えられる。

温研泉連浴の影響(Bo $\leftrightarrow$ A群) MA および MMMS いずれも、連浴による臓器中 Hg 含量の減少には有意差は認められなかった。血液、胃および小腸など、連浴初期には対照群のそれより増加をさえ示している。この傾向は MMMS の方に、より著しいものがあつた。

3. ^{203}Hg 附加泉浴での体内蓄積 (Table VI, Fig. 5)

等濃度の ^{203}Hg -MA で標識した鉍泥および温研泉に10日間連浴させて、 ^{203}Hg の臓器への蓄積を調べた。

各泉、各臓器とも、回を重ねるに従って、水銀含量の増加が認められるが、6日以後は、さらに連浴を重ねても、ほとんどその増加がみられなくなった。このことは ^{65}Zn , ^{90}Sr および ^{35}S 附加連浴で観察されていると同様に、いわゆる“慣れの現象”⁷⁾によって、減少した経皮吸収量と水銀の排泄量とが一定の平衡に達したものと解される。

Bo 群の血液、肝および腎中 ^{203}Hg の比放射能は、常に Bm 群における対応値の約2倍である。浴中 Hg 濃度が等しい場合には、泥浴に比べ単純泉からの方が経皮吸収されやすく、一方、水銀の排泄作用は泥浴処理の方がまさっているためと考えられる。

経皮吸収された Hg は、腹腔内注射による前記諸実験と同様、腎に最も多く、ついで、肝に蓄積されている。

6) 川上弘泰, 九大温研報, 10, 1 (1958).

7) 八田 秋, 川上弘泰, 野崎秀俊, 九大温研報, 13, 46 (1961).

TABLE VI. Accumulation of ^{203}Hg in Organs during Serial Bath Labelled with ^{203}Hg -MA

Day	Group	Specific radioactivity (cpm/g)					
		Blood	Heart	Lung	Spleen	Liver	Kidney
1	Bm	—	—	—	—	—	—
	Bo	trace	trace	trace	—	trace	trace
3	Bm	16.2 ± 6.8	trace	trace	trace	16.4 ± 3.4	79.4 ± 20.6
	Bo	32.0 ± 4.5	trace	97.6 ± 28.9	trace	40.7 ± 8.8	226.3 ± 60.2
6	Bm	18.6 ± 5.7	trace	trace	trace	31.1 ^{a)} ± 3.4	150.0 ^{a)} ± 35.8
	Bo	40.8 ± 11.9	trace	124.8 ± 30.0	trace	78.3 ^{a)} ± 18.9	323.1 ^{a)} ± 70.8
10	Bm	19.1 ± 6.7	trace	trace	trace	35.6 ± 8.1	150.3 ± 20.9
	Bo	40.7 ± 5.7	trace	80.6 ^{b)} ± 22.0	trace	78.0 ± 14.3	321.6 ± 55.0

a) indicates significant increase at 5 % level

b) indicates significant increase at 10 % level

心、肺および脾にも微弱活性が検出されたが、測定誤差 5 %以下の規制のもとでは量的把握が困難であった。

4. 連浴時の臓器水銀含量と浴水中の水銀との関係 (Table VII—VIII, Fig. 6)

^{203}Hg -MMMS を腹腔内投与したマウスを、前報¹⁾の鉍泥中既存水銀量の約2倍に相当する ^{197}Hg -MA で標識した鉍泥に6日間連浴させ、肝と腎とについて ^{203}Hg と ^{197}Hg との経時的変動を測定した。

A群に比し、Bm群では肝および腎ともに ^{203}Hg の減

note: Two scales are shown on the ordinate (a) kidney only).

Fig. 5. Accumulation of ^{203}Hg in Organs during Serial Bath Labelled with ^{203}Hg -MA

少はより速かで、特に肝では有意の減少を示している。経皮吸収された ^{197}Hg の臓器蓄積は、きわめて急峻であるが、比放射能 ^{197}Hg : 1.3×10^5 cpm/ μgHg , ^{203}Hg : 1.3×10^3 cpm/ μgHg から Hg 重量に換算すれば (Table VIII), ^{197}Hg 蓄積量は ^{203}Hg 消失量に比して、きわめて

TABLE VII. Effect of ^{197}Hg -MA Transition upon ^{203}Hg -MMMS Distribution

Bathing day	Specific radioactivity (cpm/g)					
	Liver ($\times 10^2$)			Kidney ($\times 10^3$)		
	A- ^{203}Hg	Bm- ^{203}Hg	Bm- ^{197}Hg	A- ^{203}Hg	Bm- ^{203}Hg	Bm- ^{197}Hg
1 st	41.54 ± 4.62	—	—	25.15 ± 2.60	—	—
3 rd	45.75 ± 4.80	44.47 ± 3.64	24.76 ± 5.07	23.25 ± 5.29	23.87 ± 6.42	10.76 ± 1.73
6 th	40.50 ± 7.52	36.10 ± 4.60	52.48 ± 6.36	21.31 ± 2.89	19.44 ± 2.71	21.65 ± 5.84

TABLE VIII. Effect of ^{197}Hg -MA Transition upon ^{203}Hg -MMMS Distribution

Bathing day	Hg concentration ($\mu\text{g/g}$)					
	Liver			Kidney		
	A- ^{203}Hg	Bm- ^{203}Hg	Bm- ^{197}Hg	A- ^{203}Hg	Bm- ^{203}Hg	Bm- ^{197}Hg
1 st	3.246	—	—	19.650	—	—
3 rd	3.574	3.474	0.019	18.165	18.650	0.084
6 th	3.164	2.820	0.041	16.650	15.188	0.169

Fig. 6. Effect of ^{197}Hg -MA Transition upon ^{203}Hg -MMMS Distribution

僅少であることから、マウス体内で両 Hg の競合が行なわれたとしても、その ^{203}Hg 排泄への寄与はさして大きなものとは考え難い。

したがって、先に述べた、鉱泥連浴によってアルキル水銀中毒患者の尿中に排泄された多量の水銀は、主として既に体内に蓄積されていた水銀であって、鉱泥中水銀の turn over によるものではない、という鉱泥浴による排泄機構の疑点を明らかにすることができた。

考 察

重金属中毒に対して硫黄泉がきわめて有効であることは、経験的によく知られている。⁸⁾

事実、九州大学温泉治療学研究所において、アルキル水銀中毒患者に硫黄泥浴を主体とする治療を施したところ、尿中水銀排泄量が顕著に増大し、それに伴って各症状が好転した例も確認されている。しかし、これは臨床単に尿中水銀量を観察したにすぎず、硫黄泥浴による水銀体内分布の変動、排泄機構などの根本的検討はこれまで試みられていない。著者は、これらの基礎的事項を究明する目的で、 ^{203}Hg -MA または ^{203}Hg -MMMS 投与

マウスに硫黄泥連浴を行なわせ、 ^{203}Hg 臓器分布の変動を測定し、その結果、硫黄泉の重金属解毒作用をさらに確実なものにすることができた。もちろん、MMMS の浴効果発現は MA よりも遅れるという多少の相違はあるが、硫黄泥連浴群では、無機水銀およびメチル水銀ともに、対照群に比較して各臓器中水銀含有量の顕著な減少が認められた。かつ、全化学成分がわずか 400mg/kg という、温泉としては最も含有成分の少ない単純温泉に属する温研泉に連浴させた群では、対照群との間に臓器中水銀含量の減少は見られなかった。つまり、硫黄泥連浴群は、温研泉連浴群と比較しても、明らかに臓器からの水銀排泄促進作用が認められたのである。この事実は、水とか浴温による温熱作用などの物理的生理作用をも含めた、一般的な温泉浴の生体反応⁹⁾のみでは充分な説明ができない。

温泉と淡水との異なる第一の点は、いうまでもなく化学的作用である。温泉を飲み、あるいは吸入する場合には、粘膜を介して温泉成分がよく体内に吸収される。泉浴の場合にも、淡水浴と同様に皮膚の表面から体成分の一部が分泌されるが、それと同時に ^{35}S , ^{14}C , ^{24}Na , ^{45}Ca , ^{59}Fe , ^{65}Zn など、泉水成分のほとんどすべてのものが、従来の予想以上に経皮吸収され、^{6,10)} 皮膚を介して、生体内物質と泉水成分との交換が絶えず行なわれつつ、ある平衡状態へ漸次近づいていくことが知られている。¹¹⁾ こうして体内に吸収された大量の無機イオンが、いかにして有機結合に組み込まれるか、生化学的にイオン固定の最初の段階は、まだ不確実なことであり、したがって、硫黄泉の重金属解毒作用を dimethylcysteine (Penicillamine), dimercaprol (BAL), 2-mercapto-propionyl glycine (Thiola) などの重金属解毒剤と、直ちに関連づけることは危険である。しかし、著者の実験ならびに臨床例に認められた硫黄泥浴の水銀排泄促進作用は、単純泉浴との比較実験からみても、主として、この thiol 作用によるものと考えられる。なお、補助的作用として、泉浴後にみられる体内水分の移動、ことに細胞内外での移動は、組織細胞内に蓄積された重金属の細胞外への移行を促進し、thiol 作用を容易にすることも合わせ考えるべきである。

一方、Mn, Fe, Cu, Zn などの経皮吸収はすでに確認されているが、⁶⁾ よりイオン半径、原子量大なる重金

8) J. Kühnau, *Zschr. Angewandte Bäder Klimatherapie*, **1**, 1 (1955).

9) 八田 秋, 九大温研報, **20**, 179 (1968).

10) H. Drexel, *Arch. Phys. Therap.*, **8**, 1 (1956); 丸山理一, 日本温泉気候誌, **21**, 1 (1957); 大島良雄, 温泉科学, **7**, 1 (1955).

11) 八田 秋, 九大温研報, **13**, 1 (1961).

属においても、前記のように経皮吸収され、生体内の金属と泉水中既存の金属との間で *turn over* の可能性が考えられた。ひいては、硫黄泥連浴期間に観察されたアルキル水銀中毒患者の尿中水銀排泄量の増加も、体内に蓄積されていた水銀の排泄というよりは、むしろ、硫黄泥中既存の水銀が *turn over* しているにすぎないのではないかと、との疑惑が生じた。

この疑問点を明らかにするため、著者は、生体内 ^{203}Hg と硫黄泥中 ^{197}Hg との競合実験を試みた。実験に使用した浴よりも水銀含有量のはるかに少ない自然鉱泥、および、これより、また、さらに少ない温研泉¹²⁾からの経皮吸収は、きわめて微々たるものと予想されるが、水銀のような重金属すらも経皮吸収され、吸収された水銀は腹腔内注射された水銀と同様に、腎、ついで肝に多く見出された。さらに、経皮吸収された ^{197}Hg の臓器分布量は ^{203}Hg の消失量に比して、きわめて僅少であることが確認され、生体内で両 Hg の競合が行なわれたとしても、臓器よりの ^{203}Hg 排泄に対する ^{197}Hg の阻害効果は無視しうるものと推定される。

これらのことから、硫黄泥連浴により、アルキル水銀中毒患者の尿中に排泄された多量の水銀は、主として既

に体内に蓄積されていた水銀であって、硫黄泥中水銀の *turn over* によるものではないことが確証された。

結 論

水銀と生体との反応の第一に SH 酵素の阻害が考えられ、著者の実験からも硫黄を高濃度に含む硫黄泥浴は、SH 解毒剤同様、水銀の排泄促進に有効であることが実証された。また、泉水中の水銀は他の多くの化学成分とともに経皮吸収され、投与された水銀とほぼ等しい体内分布を示すことが明らかとなった。しかし、この経皮吸収された水銀と既に体内蓄積されている水銀との競合作用は極微であり、硫黄泥浴の水銀解毒機構は、やはり硫黄泉特有の重金属解毒作用を主体として、副次的に、体内水分移動、自律神経作用、正常化作用、微量成分の効果など、温泉浴の一般的な作用機序が統合された結果であると考えられる。

謝辞 終りに臨み、終始御懇篤なる御指導を賜った川上弘泰助教授に深謝の意を表します。また、本研究に当り、終始、御鞭撻下さった西海枝東雄教授に深甚の謝意を表します。最後に IR スペクトル測定を担当された九州大学薬学部分析室の諸氏に感謝します。

12) 川上弘泰, 小田敏之, 川村熙子, 大分県温泉調査研究会報告, 19, 15 (1968).