短 報

金属水銀のヒト赤血球カタラーゼによる取り込み

Uptake of Metallic Mercury by Human Red Cells Having Different Catalase Activities

金属水銀 (Hg^0) の生体内における取り込みにカタラーゼが関与している事実には Kudsk による結晶ウン肝臓カタラーゼの H_2O_2 存在下での金属水銀の取り込み¹⁾, およびヒト血球の金属水銀の取り込み量のカタラーゼ阻害剤による減少の報告²⁾, さらに Magos, 菅田らのヒト血球の金属水銀の取り込みが aminotriazol で阻害される等の研究報告がある³⁾. また, 菅田はアカラセミアマウスを水銀蒸気に暴露し, 組織中の水銀濃度は肺臓に少なく, 肝臓に多い事実を述べた⁴⁾. 筆者らは, aminotriazol 投与無カタラーゼ症のマウスを用いて血液や肺臓のホモジネートの Hg^0 の取り込みの少ない事実等⁵⁾ や, 試験管内で, 日本人の無カタラーゼ血症の赤血球への Hg^0 の取り込み現象が正常人の赤血球による Hg^0 の取り込みよりはるかに少ないこと⁶⁾ を報告し, Hg^0 の酸化に赤血球カタラーゼが関与していることを確認した.

本報では赤血球中のカタラーゼ濃度と水銀の取り込み量との関係を明らかにする目的で正常日本人血とカタラーゼ活性が 1/2 を有するヘテロ接合体の低カタラーゼ血症および無カタラーゼ血症赤血球を用いて水銀の取り込みの研究を行なった.

また glucose-glucose oxidase 系で酵素により H_2O_2 を産生したさいの赤血球の取り込みについて実験を加えて行なったのでその成績を報告する.

実験材料ならびに実験方法

実験に用いたヒトの血液は肘静脈より採血後 3 回洗浄した赤血球を用いた.

インキュベーションは容量 15 ml のワールブルグフラスコの主室に 2 ml の反応液を入れ, 側室に Hg^0 0.1 ml を, また center well に 3% H_2O_2 0.1 ml を加え, シリコンゴム栓で密栓後 80 cycle/min で振盪しながら 37°C でインキュベートした. 水銀の測定は 10 N H_2SO_4 10 ml に反応混合物の適当量と 10% KMnO_4 2 ml を加え, 1 時間加熱分解後原子吸光法で測定した.

カタラーゼ活性の測定は前報のごとく^{5,6)} 過硼酸法を用い, Perborate unit で表わした. ヘモグロビン量の測定はシアンメトヘモグロビン法を用いた.

Fig. 1. The uptake of mercury of normal, hypocatalasemia, and acatalasemia hemolysates of Japanese with or without H_2O_2 .

Table 1. Mercury uptake *in vitro* by human red blood cell suspension with hydrogen peroxide generated by glucose-oxidase systems ($N=5$).

Addition			Hg uptake (mean $\pm$ σ_{n-1})
Glucose 50mM	Glucose oxidase 1 μ g (4.1×10^{-2} unit)	H_2O_2 (3%)	
-	-	-	3.710 $\pm$ 0.241
+	-	-	4.081 $\pm$ 0.389
-	+	-	3.885 $\pm$ 0.252
+	+	-	80.31 $\pm$ 9.320
+	-	+	71.21 $\pm$ 2.130

実験成績

1) カタラーゼ活性度を異にする赤血球の Hg^0 の取り込み

日本人の正常血 (3,600 P.U./g Hb), 低カタラーゼ血 (1,003 P.U./g Hb), 無カタラーゼ血 (10.2 P.U./g Hb) の過酸化水素 (H_2O_2) の添加の有無による Hg^0 の取り込みを Fig. 1 に示す. H_2O_2 添加のさいは, 水銀の取り込みは正常赤血球, 低カタラーゼ血球はほぼ差がなく, 取り込み能力はほぼ飽和の状態になっていると推定される. 無カタラーゼ赤血球の取り込みは明らかに低い. 一方, H_2O_2 を添加しない場合には添加した場合の各 1.7, 0.7, 5.2% に減少を示し, 正常人, 低カタラーゼ血球, 無カタラーゼ血球いずれもカタラーゼ活性度に比例した Hg^0 の取り込みが認められた. 赤血球中に発生すると思われる微量の H_2O_2 の発生機序については, 今後検討し

たいと考えている。

2) Oxidase 系で発生させた H_2O_2 とカタラーゼによる Hg^0 の取り込み

次に生体内に近い状態を想定し、正常赤血球に、細菌や蜜蜂の咽頭腺に含まれるオキシダーゼ系で酵素活性の強い glucose-glucose oxidase 系⁷⁾ により発生させた H_2O_2 によっても正常赤血球カタラーゼが水銀を摂取するか否かを検討した。その成績は Table 1 に示すごとく、酵素による微量かつ持続的な H_2O_2 の発生によって Hg^0 が取り込まれることが認められた。glucose 単独および glucose oxidase 単独では Hg^0 の取り込みはほとんど認められなかった。

考 案

今回の研究によってヒト赤血球中に存在するカタラーゼの濃度によって Hg^0 の取り込みの差異があり、カタラーゼの濃度-取り込みの間に正の関係がある事実が明らかとなったことは、ヒト赤血球カタラーゼと Hg^0 の酸化との関係を示すものと考える。 H_2O_2 を添加しない生体内に近い場合の Hg^0 の取り込みについては、Magos ら³⁾ もメチレンブルー添加の条件の下での取り込みの事実を認めているが、今後この事実について詳しい検討を行なう必要があると考える。

また、酵素による H_2O_2 の生成のモデルとして glucose-glucose oxidase とカタラーゼによって、赤血球に Hg^0 の取り込みが促進されることは、このような過程によって Hg^0 が赤血球ないし組織に固定され、血液脳関門への通過を防げていると考える。今後、各種の細胞内 oxidase や細胞内カタラーゼを用いて実験を行なう予定である。

結 論

日本人の正常血球、低カタラーゼ血球、無カタラーゼ血球により、過酸化水素添加、無添加の二つの条件の下に金属水銀の取り込みを調べ、とくに過酸化水素無添加の場合、血球中のカタラーゼ濃度と金属水銀の取り込み量との間に、正の関係の成立することが認められた。

また、酵素による H_2O_2 の発生のモデルとして glucose-glucose oxidase 系で H_2O_2 を産生させ、カタラーゼの存在する赤血球においても、金属水銀が取り込まれることが認められた。

本研究費の一部は、文部省科学研究費補助金の課題番号 557143 によった。

文 献

- 1) Kudsk, F. N. : Biological oxidation of elemental mercury. In Mercury, Mercurials and Mercaptans (ed. by Miettinen, J. K.), 355-371, Charles C. Thomas, Springfield, 1973.
- 2) Kudsk, F. N. : Factors influencing the *in vitro* uptake of mercury vapour in blood, Acta Pharmacol. Toxicol., 27 : 161-172, 1969.
- 3) Magos, L., Sugata, Y. and Clarkson, T. W. : Effects of 3-amino-1,2,4-triazol on mercury uptake by *in vitro* human blood samples and by whole rats, Toxicol. Appl. Pharmacol., 28 : 367-373, 1974.
- 4) 菅田安男 : 金属水銀の生体内酸化と脳・胎児への水銀の分布について, 日本衛生学雑誌 (第45回日本衛生学会総会号), 30 : 52, 1975.
- 5) Ogata, M. and Ikeda, M. : Mercury uptake by acatalasemia mice and their erythrocytes, lung and liver homogenates, Int. Arch. Occup. Environ. Health, 41 : 87-93, 1978.
- 6) Ogata, M., Ikeda, M. and Sugata, Y. : *In vitro* mercury uptake by human acatalasemic erythrocytes, Arch. Environ. Health, 34 : 218-221, 1979.
- 7) Schepartz, A.I. and Subers, M. H. : The glucose oxidase of honey. I. Purification and some general properties of the enzyme, Biochim. Biophys. Acta, 85 : 228-237, 1964.

緒方正名, 剣持堅志, 広田 昇, 内藤元久

岡山大学医学部公衆衛生学教室

Masana OGATA, Katashi KENMOTSU,

Noboru HIROTA and Motohisa NAITO

Department of Public Health, Okayama University Medical School, Okayama, 700 Japan

昭和55年9月24日受付

通信先 : 緒方あて, Reprint requests to M. Ogata