

脳内アセチルコリンおよび条件行動に及ぼすメチル水銀の影響

村尾 光治

鹿児島大学医学部薬理学講座（主任：福田健夫教授）
国立水俣病総合研究センター

鹿児島大学医学雑誌 第48巻 第2号 別刷
平成8年8月10日発行



脳内アセチルコリンおよび条件行動に及ぼすメチル水銀の影響

村尾 光治

鹿児島大学医学部薬理学講座 (主任: 福田健夫教授)

国立水俣病総合研究センター

(原稿受付日 平成8年4月1日)

Effects of Methylmercury on the Brain Acetylcholine Levels and the Conditioned Avoidance Behavior in Rats and Mice

Koji MURAO

Department of Pharmacology (Director: Prof. Takeo Fukuda, M.D., Ph.D.)

Faculty of Medicine, Kagoshima University, Kagoshima 890, Japan

National Institute for Minamata Disease, Hama 4058-18, Minamata 867, Japan

Abstract

Effects of methylmercuric chloride (MMC) on the brain acetylcholine (ACh) levels and operant behavior were investigated in rats and mice. Acquisition of T-maze or shuttle box avoidance behaviors was significantly suppressed in mice, after daily administration of MMC (6mg/kg/day p.o.) for seven days. ACh levels in the hippocampus was decreased in mice even 3 hours after single oral dose of MMC (6mg/kg). After 3 days of the treatment with MMC (6mg/kg p.o., 6 successive days), ACh levels in all regions tested (cerebral cortex, cerebellum, hippocampus, corpus striatum, diencephalon-mesencephalon and pons medulla) were significantly decreased in mice. *In vitro* study, ACh release from hippocampal slice of MMC treated (6mg/kg p.o.) mice was significantly enhanced by high potassium stimulation.

In rats, daily oral administration of MMC (5mg/kg) for 10 successive days produced significant decrease of ACh levels in 5 regions without pons medulla, and suppressed the retrieval in conditioned avoidance behavior (Sidman type). *In vivo* microdialysis study, ACh release from rats corpus striatum was significantly enhanced by MMC (10^{-6} M) contained perfusate.

From these results, it is concluded that oral administration of MMC decreased brain ACh levels and suppressed conditioned avoidance behavior in rats and mice.

Key Words: methylmercury, acetylcholine (ACh), operant behavior, methylmercury intoxication.

緒 言

水俣病はアセトアルデヒド製造から副生したメチル水銀 (MMC) が工場排水として不知火海に出されて水質を汚染し、食物連鎖から魚介類を経て人体に蓄積したために発症した特異な中毒疾患である。水俣病の原因物質である MMC の毒性は主として中枢神経系にみられ現在まで多くの報告がなされている。最初に有機水銀中毒の臨床的特徴を示した Hunter¹⁾ は、求心性視野狭窄、難聴、構音障害、歩行障害、振戦、日常諸動作の拙劣な

ど知覚障害、運動失調、軽度の精神障害などを報告している。また徳臣晴比古²⁾ は、水俣病の臨床症状の特徴を軽度の精神症状のほか仮面様顔貌、特有な言語障害、歩行失調、書字障害など共同運動障害、振戦、企図振戦、コレア・アテトーシス様運動などの錐体外路症状および小脳症状、求心性視野狭窄、難聴および自律神経症状としている。一方、動物実験の結果から Morganti³⁾ や Salvaterra⁴⁾ は、メチル水銀によりマウスの運動量が低下すること、また佐野憲一⁵⁾ や Hrdina⁶⁾ は、生体内アミンやその関連酵素の変動を検討し、人や実験動物で神

経生化学的な変化や行動変化が起こることを報告している。MMC のそのような神経毒性の作用機序はまだまだ明確ではないがこれらの報告から脳内での神経伝達系に障害が起こるものと推測される。事実 MMC により脳内の神経伝達物質の量的あるいは動態に異常が生じているとの報告もある^{7,9)}。特に、実験動物の行動にたいして中枢神経系のうちコリン作動神経が深く関与していることが報告されている。アセチルコリン (ACh) は重要な神経伝達物質の一つであり、コリン作動神経の異常が脳機能の障害を引き起こすのかもしれない。脳内コリン作動神経系の変化と動物の学習行動の変化に焦点をあてた研究が行われている。Kobayashi ら¹⁰⁾ は、ACh 合成酵素阻害剤を用いて間接的に MMC の ACh 合成能低下作用を報告している。

そこで本論文では、MMC により生じる実験動物の行動変化がコリン作動神経に関連しているのかを検索する目的で、マウス・ラットを用いて MMC による学習行動の変化を観察しながら、脳内 ACh 含量を経時的に測定するとともに、ACh 放出への影響について検討した。

実験方法

1. 使用動物

実験には体重22~24gの6週令 BALB/cA 系雄性マウス (日本クレア) および体重210~240gの8週令 Wistar 系雄性ラット (日本クレア) を用いた。動物は室温23±2℃、湿度55±10%および12時間明暗サイクルの環境下で飼育し、1週間予備飼育した後それぞれの実験に使用した。固形飼料 (CE-2: 日本クレア) および水は自由に摂取させた。

2. 使用薬物

本研究では一部の実験を除き中毒量として塩化メチル水銀 (MMC, 東京化成工業) の総量が25~50mg/kg になるように投与した。具体的には MMC をマウス用に0.6mg/ml、ラット用に5 mg/ml となるように蒸留水に溶かして調整し、それぞれマウスには6 mg/kg/day を7日間、ラットには5 mg/kg/day を5~10日間経口投与した。その他脳内 ACh 量実験、ACh 遊離実験ではマウス・ラットにそれぞれ6 mg/kg、5 mg/kg を1回だけ投与した。

3. 行動実験

マウスの行動実験は、シャトルボックス型条件回避学習装置 (アステック) および T 迷路型条件回避学習装置¹¹⁾ を使用した。シャトルボックス型条件回避学習は、1群6匹のマウスについて1日30試行を行い1セッションとした。実験は MMC (6 mg/kg×7日) 投与終了

後7日目から隔日毎に5セッションを行った。試行時間を25秒間とし、5秒間の条件刺激 (音刺激) の後5秒間の無条件刺激 (電気刺激) として2 mA の直流電流を床グリッドを介して通電した。電気刺激中逃避反応があればその時点で刺激は中止した。T 迷路型条件回避学習は、1群7匹のマウスについて、1日10試行を行い1セッションとした。MMC (6 mg/kg×7日) 投与終了後7日目から連日9セッションを行った。T 迷路型装置は、スタートボックス、ランニングエリアおよび左右のゴールエリアの3部分から構成されている。この実験に用いたマウスは予備実験で T 迷路型装置上を30回走らせ、左右のゴールエリアへの走行方向が80%以上偏っている (右走行性あるいは左走行性) マウスのみを選抜して実験にもちいた¹¹⁾。実験では T 迷路のゴールを予備実験の走行性とは反対側に設定した。このスケジュールでは、スタートボックスにマウスを入れるとほぼ同時に条件刺激として音刺激を5秒間与え、この間にマウスがあらかじめ定められたゴールに移動しなければ、その後無条件刺激として2 mA の直流電流を、20秒間床グリッドを通じて与えた。

MMC 投与ラットでの行動実験として、シドマン型の条件回避装置 (アステック) および8方向性放射状迷路装置 (室町機械, BTA-2) を用いた。スキナーボックスを用いたシドマン型の条件回避スケジュールは1試行を30秒とし、条件刺激として音刺激と光刺激を同時に5秒間与え、この間にラットがレバーを押さなければ、無条件刺激として4 mA の直流電流が最高5秒間負荷されるように設定し1群6匹のラットを使用した。8方向性放射状迷路学習は、食餌制限下 (無制限摂食量の80%) のラットが8方向の選択肢を訪れ効率よく8個のペレット餌を全てとる行動を装置の上部に設置した CCD カメラとビデオトレーサーを用いて観察記録し、ラットの行動軌跡および選択肢への進入回数を計測した。空間認知の学習獲得基準はラットがペレットの存在する未選択肢に入り餌を摂取した場合を正選択とし、10分間に正選択が7以上とした。8方向性放射状迷路学習は、MMC (5 mg/kg/day) を5回 (5例)、7回 (10例) および9回 (5例) 経口投与した3群で実施した。

4. ACh 測定法

ACh の測定は1群6匹のマウスおよび1群5匹のラットで行った。マイクロウェーブ (室町機械) の照射 (マウス: 3 kw 1.2秒, ラット: 4 kw 1.4秒) 後、脳を大脳皮質、小脳、線条体、海馬、中脳+間脳および橋+延髄の6部位について行った。0.2N 過塩素酸およびエチルホモコリン (内部標準) を加え、ホモジナイズ後、遠心分離 (10,000g×20分) し、上清を炭酸カリウムで

中和した後10 μ l を電気化学検出器を備えた高速液体クロマトグラフィー (ビーエーエス) で測定した。

5. マウス海馬からの *in vitro* ACh 遊離実験

ACh 遊離実験は、5匹のマウスに MMC 6 mg/kg を1回投与後1、3および24時間経過したマウス海馬スライスを用い、Krebs-Ringer リン酸緩衝液中に37℃で1時間振盪後、左右各一側ずつを低カリウム緩衝液 (K=4.5mM) あるいは高カリウム緩衝液中 (K=50mM) に20分間浸し、組織から遊離されてくる ACh 量を両処置海馬スライス中の残存 ACh 量の差から測定した。また、MMC の細胞膜への直接作用を調べるために MMC10⁻⁶M を緩衝液中の正常マウスからえた海馬スライスに作用させ同様操作で遊離 ACh 量を測定した (n=5)。

6. 脳微小透析法によるラット線条体からの *in vivo* ACh 遊離実験

5匹のラット線条体に脳固定装置を用いてガイドカニューレをあらかじめ埋めこみ、手術1週間後回復をまって脳微小透析用プローブ (CMA/10, 膜長4 mm) を挿入した。フィゾスチグミン (10⁻⁶M) を含む正常 Ringer 液で灌流した時の ACh 量を測定した後、10⁻⁶M MMC 添加 Ringer 液あるいは高カリウム Ringer 液 (51 mM Na⁺, 100 mM K⁺, 23 mM Ca⁺, 155.6 mM Cl⁻) で1分間1 μ l の流速で30分間灌流した灌流液中の ACh 量を電気化学検出器を装備した高速液体クロマトグラフィーで測定した。また、MMC (5 mg/kg/day) を1回経口投与したラット (n=2) についても10⁻⁶Mフィゾスチグミンを含む正常 Ringer 液で灌流後高カリウム Ringer 液で灌流し ACh 遊離を検討した。

7. 統計処理

数値は平均値±標準誤差で示した。また有意差検定は Student の t 検定を用いた。T 迷路型条件回避学習の実験では Mann-Whitney の U 検定を用いた。

実験結果

1. マウスの行動実験

1) シャトルボックス型条件回避学習に及ぼす MMC の影響を Fig. 1 に示した。MMC 投与 (6 mg/kg×7日) マウスでは、正常マウスに比べ条件刺激示後の体の動きが鈍く反応時間が延長している印象があった。4~5セッションでは正常群は80%以上の回避反応習得を示したが、MMC 投与群は50~60%の回避反応習得しか占めさず有意な低下がみられた。しかし、これらのマウスでも運動麻痺による逃避反応抑制は認められなかつ

た。

2) T 迷路型条件回避学習に及ぼす MMC の影響を Fig. 2 に示した。正常群は、10試行中の正反応が7~8セッションで80%以上を示したが、MMC 投与群は正反応が8セッションを通じて40%以下であった。

2. ラットの行動実験

1) シドマン型条件回避学習への MMC の影響を Fig. 3 に示した。このテストは、スキナーボックスを用い80%以上の回避反応を獲得したラットに MMC 5

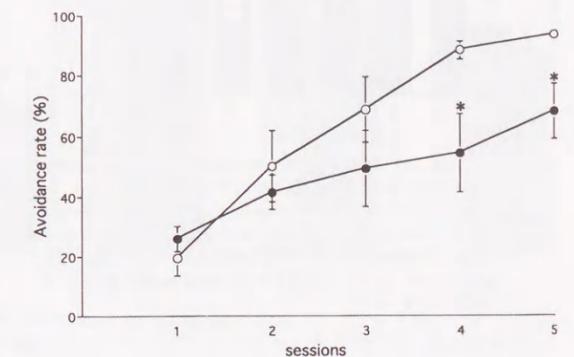


Fig. 1 Effects of MMC on acquisition of conditioned avoidance behavior (Shuttle box) in mice. MMC (6mg/kg/day p.o.) was given 7 successive days. Conditioned avoidance behavior was began 7 days after last dose of MMC. One session consists of 30 trials and performed every other day. ○: control (n=6), ●: MMC (n=6), *: p<0.05.

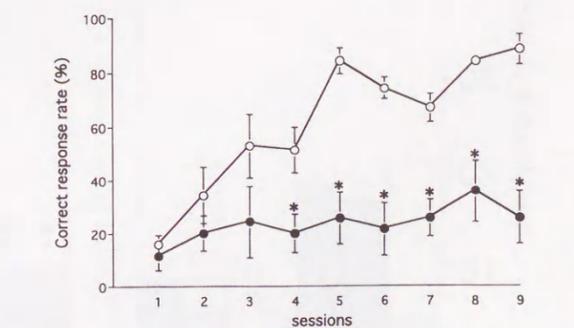


Fig. 2 Effects of MMC on acquisition of conditioned avoidance behavior (T-maze) in mice. MMC (6mg/kg/day p.o.) was given 7 successive days. Conditioned avoidance behavior was began 7 days after last dose of MMC. One session consists of 10 trials and performed 9 successive days. ○: control (n=7), ●: MMC (n=7), *: p<0.05.

mg/kg/day を 10 日 間 連 日 経 口 投 与 し、その 影 響 を 観 察 し た。Fig. 3 に 示 す よう に、MMC 投 与 5 日 目 から 条 件 回 避 反 応 保 持 の 低 下 が み ら れ、投 与 終 了 後 2 日 目 (12 日 目) か ら は 条 件 逃 避 反 応 を 示 さ ない ラ ッ ト が 現 れ た。し

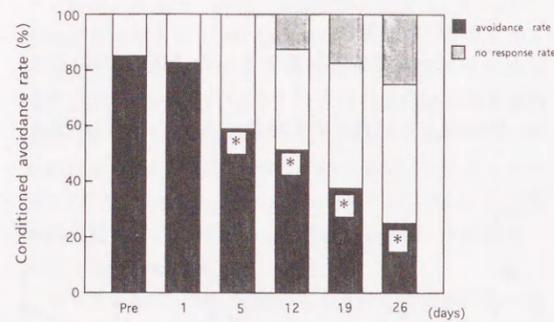


Fig. 3 Effects of MMC on memory of conditioned avoidance behavior (Sidman type) in rats. After acquisition of conditioned avoidance behavior, MMC (5mg/kg/day, p.o.) was given 10 successive days. Memory of operant behavior was tested pre- and 1st- to 26th-day of MMC treatment (n=6). *: p<0.05 (vs pre).

かし、この 12 日 目 に は 運 動 麻 痺 に よ る 運 動 障 害 は 認 め ら れ な っ た。

2) 8 方 向 性 放 射 状 迷 路 学 習 へ の MMC の 影 響 は、MMC 投 与 終 了 後 1 週 間 で、5 mg/kg 5 回 投 与 ラ ッ ト で は 正 常 ラ ッ ト と ほ と ん ど 変 わ ら ず 影 響 が み ら れ な っ た。7 回 お よ び 9 回 投 与 群 で は 正 選 択 数 が 投 与 日 数 の 増 加 に 伴 い し だ い に 減 少 し た が、い ず れ も 統 計 的 に 有 意 な 差 は 見 ら れ な っ た。

3. 脳 内 ACh 含 量

1) マウスの脳内 ACh 量: MMC 6 mg/kg を 1 回 経 口 投 与 後 の 脳 内 各 部 位 に お け る 3, 24 時 間 後 の ACh 量 の 経 時 変 化 を Fig. 4 に 示 し た。3, 24 時 間 後 で は 海 馬 に お い て ACh の 有 意 な 低 下 が み ら れ た。MMC 6 mg/kg を 1 日 1 回 7 日 間 経 口 投 与 後 の 脳 内 各 部 位 に お け る 2, 9, 16 日 の ACh 量 は、Fig. 5 に 示 す よう に 投 与 終 了 後 9 日 目 で は 大 脳 皮 質、海 馬、間 脳 + 中 脳、橋 + 延 髄 で 有 意 な 低 下 が み ら れ、同 16 日 目 で は そ れ ら の 傾 向 は 著 し く、測 定 部 位 全 部 で 有 意 な 低 下 が み ら れ た。

2) ラットの脳内 ACh 量: MMC 5 mg/kg/day を 10 日 間 経 口 投 与 し た ラ ッ ト の 脳 内 ACh 量 は 投 与 終 了 後 10 日 目 で Fig. 6 に 示 す よう に 橋 + 延 髄 を 除 く 脳 内 各 部 位

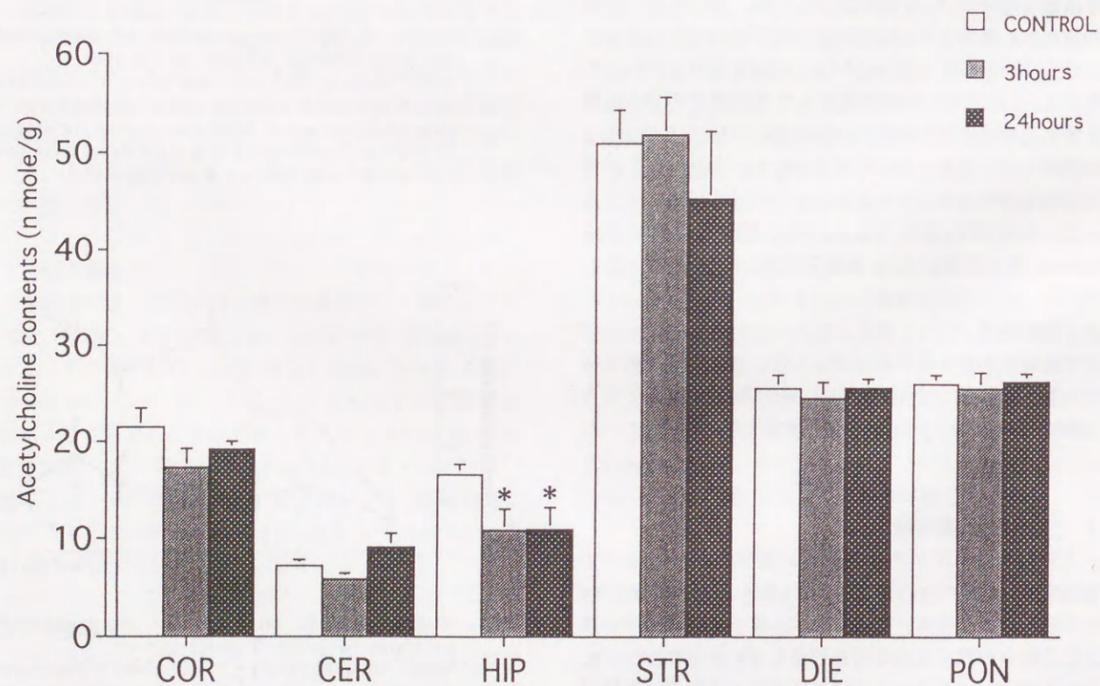


Fig. 4 Effects of single dose of MMC on ACh contents in various regions of the mouse brain. ACh contents in various regions of the mouse brain were determined after 3 and 24 hours of MMC (6mg/kg p.o.) administration (n=6). COR: cerebral cortex, CER: cerebellum, HIP: hippocampus, STR: corpus striatum, DIE: diencephalon and mesencephalon, PON: pons and medulla, *: p<0.05, **: p<0.01.

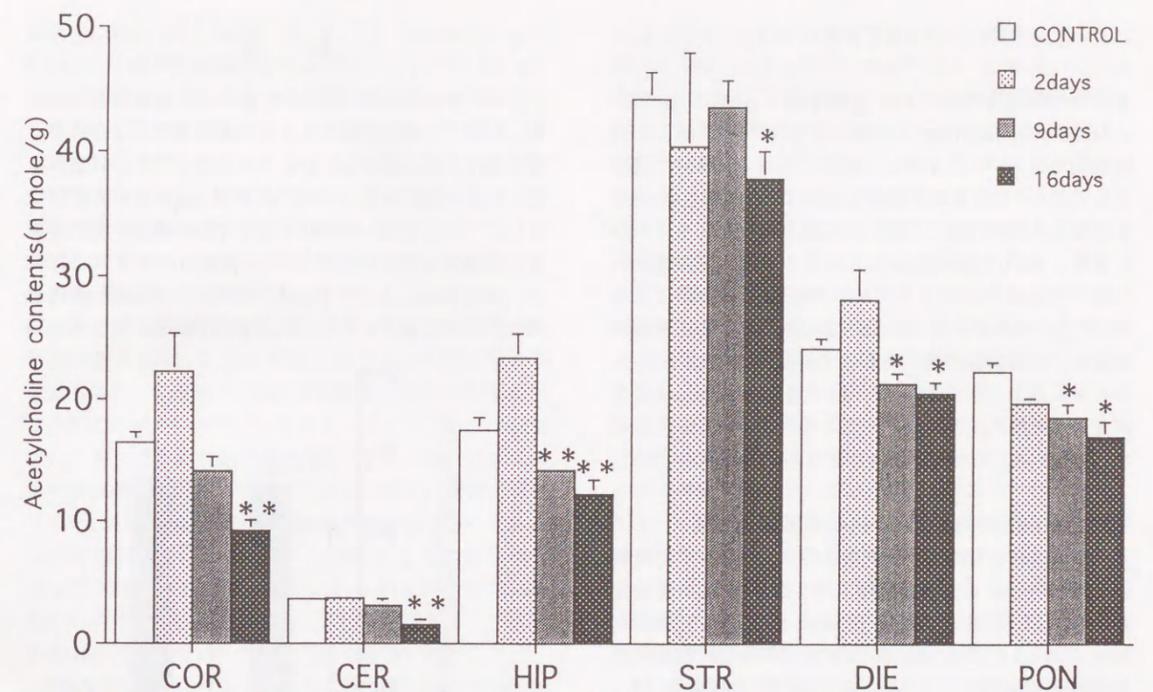


Fig. 5 Effects of repeated dose of MMC on ACh contents in various regions of the mouse brain. ACh contents in various regions of the mouse brain were determined after 2, 9 and 16 days of MMC (6mg/kg/day, p.o., 7 days) treatment (n=6). Abbreviation: see legend of Fig. 4. *: p<0.05.

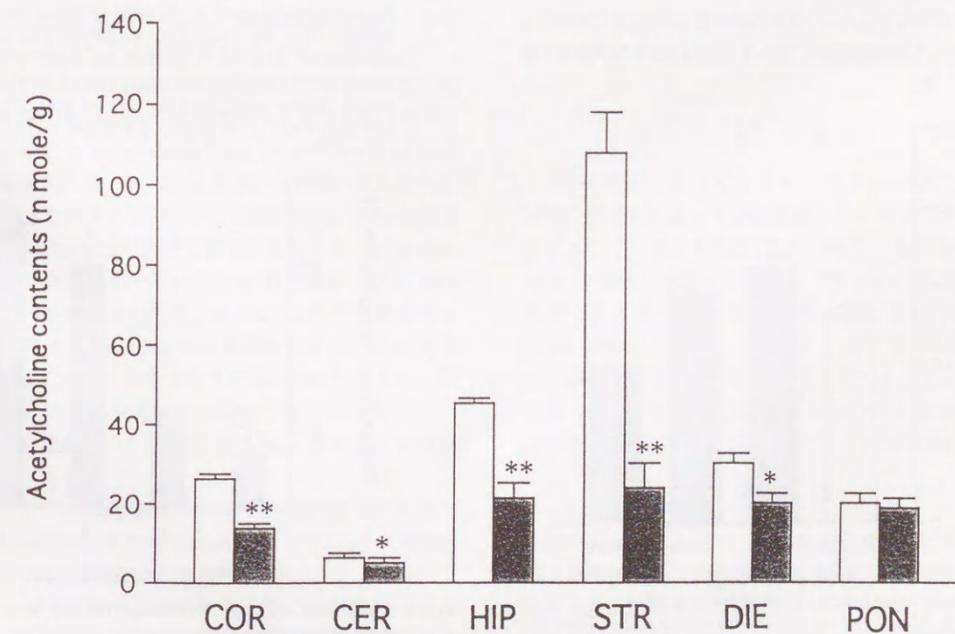


Fig. 6 Effects of repeated dose of MMC on ACh contents in various regions of the rat brain. MMC (5mg/kg/day, p.o.) was given 10 successive days. Ten days after last dose, ACh contents of various regions of the rat brain were determined (n=5). Abbreviation: see legend of Fig. . *: p<0.05, **: p<0.01.

において正常群に比べ有意に低下していた。

4. マウス海馬からの ACh 遊離実験

MMC 6 mg/kg/day 1 回経口投与後 1, 3 および 24 時間後海馬スライスを用いて高カリウム (50mM) 刺激による ACh の遊離率を検討したところ, Fig. 7 に示すように 1 回経口投与では, 1 時間後に海馬スライスから有意な ACh 放出増加がみられた。一方, 7 日間投与では, Fig. 8 に示すように 9, 16 日目で正常群より有意な増加がみられ, 有機水銀中毒の進行とともに神経細胞膜においては放出能が高まっていることが観察された。Fig. 9 に示すように 10^{-5} ~ 10^{-8} M の MMC を *in vitro* で直接マウス海馬スライスに作用させた時の ACh 遊離率は, 10^{-6} M 以上で有意な増大が起こることが認められた。

5. ラット線条体からの *in vivo* ACh 遊離実験

脳微小透析法を用いたラット線条体における ACh 遊離に及ぼす MMC の影響を観察した。正常ラット線条体からの ACh 遊離量は正常 Ringer 液で 7.5 ± 0.8 pmol/10 μ l であった。この値は高カリウム Ringer 液灌流で 44.0 ± 9.6 pmol/10 μ l に上昇した。MMC の線条体 ACh 放出への影響を直接観察するため 10^{-4} M MMC 添加 Ringer 液で灌流した場合, ACh 遊離の増加が認められた ($4.4 \rightarrow 23.8$ pmol/10 μ l)。一方, MMC 投与ラットでは MMC 5 mg/kg を 1 回経口投与したラット線条体からの高カリウムによる ACh 遊離量は 1 日後で 20.8 ± 12.1 pmol/10 μ l と約半分に減少し, その後も段階的に減少していった。

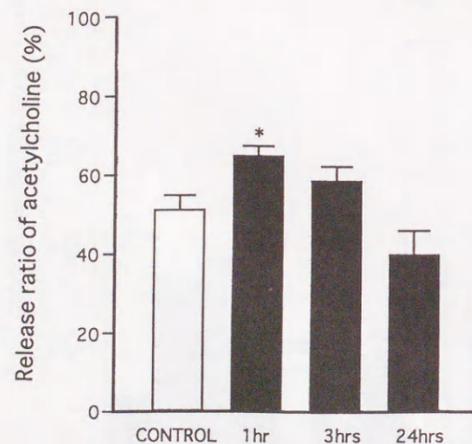


Fig. 7 ACh release by high potassium stimulation from hippocampal slice of MMC treated mice. ACh release by high potassium stimulation from the hippocampal slice of MMC (6mg/kg, p.o.) treated mouse was investigated 1, 3 and 24 hours after the treatment (n=5). *: p<0.05.

考 察

MMC が水俣病の原因物質であることが証明されて以来, MMC の毒性に関する多くの動物実験がなされて, 神経毒性に関してもしだいにその詳細が明らかにされてきている。Berthouand らは MMC 4 mg/kg を 60 日間投与したマウスでは中毒症状として体重の減少や後肢の脱力が発現することを報告した¹²⁾。田頭らはマウスに比較的大量の MMC を経口投与し中毒症状の発現と脳内濃度との相関を観察した¹³⁾。中毒時の神経症状としては協

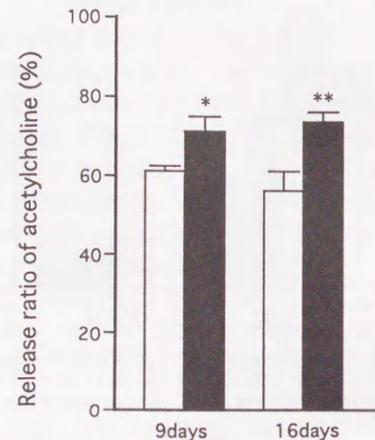


Fig. 8 ACh release by high potassium stimulation from hippocampal slice of MMC treated mice. MMC (6mg/kg/day, p.o., 7 days) was given 7 successive days. ACh release by high potassium stimulation from hippocampal slice of MMC treated mouse was investigated on second and 9th day of last dose (n=5). *: p<0.05, **: p<0.01.

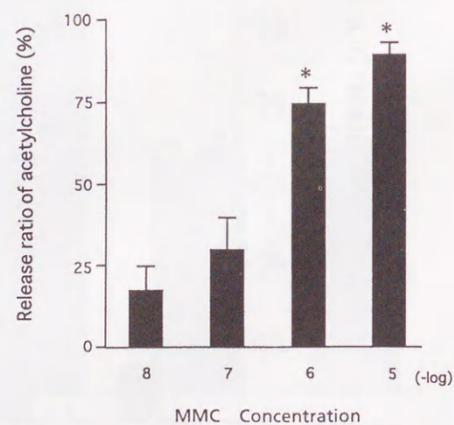


Fig. 9 Effect of MMC on ACh release from the hippocampal slice of mouse *in vitro*. Effect of MMC (10^{-5} ~ 10^{-8} M) contained perfusate on ACh release from hippocampal slice was investigated (n=5).

調運動の障害, 後肢の麻痺¹⁴⁾などのほか, 末梢神経のニューロパシー¹⁵⁾や神経筋接合部の障害^{16), 17)}などの報告の他, open-field での行動変化や自発運動の減少^{3), 4)}などの行動異常も報告されている。今回の研究ではこれらの身体的症状が発現しないような量の MMC をラットおよびマウスに投与し, これまであまり報告の無い条件行動 (operant behavior) の変化を観察した。

マウスを用いた条件回避学習習得実験では MMC 6 mg/kg/day を 7 日間経口投与することによって, シヤトルボックス型条件回避学習では投与終了後 11 日目から習得の低下が現れはじめ 13 日, 15 日目には有意な低下が認められた。T 迷路型でも条件回避反応習得の著明な低下が認められた。またラットでもスキナーボックスを用いたシドマン型条件回避反応は, MMC 5 mg/kg/day を 10 日間連続経口投与することによってその保持が障害された。しかし 8 方向放射状迷路学習では MMC 5 mg/kg 9 回経口投与によっても, 10 分間の正選択数には有意な差が認められなかった。これらの実験から MMC は身体的中毒症状が発現しないような状態でも, ラットの放射状迷路学習以外の条件行動を著明に抑制した。

MMC によるこのような条件回避学習反応の習得や保持の抑制についてはこれまであまり報告がない。

ヒトの学習, 記憶, 想起には脳内の ACh が最も強く関係していることが報告されている^{18), 19)}。動物実験においても, Bartus はサルで scopolamine による記憶の障害の発現を報告している²⁰⁾。Mattingly はラットで scopolamine による条件行動の障害を報告し²¹⁾, Yamazaki らは scopolamine による T 迷路正解数の減少が physostigmine で改善されることを観察した²²⁾。これらのことは ACh が動物においても学習や記憶に重要な役割を果たしていることを示している。そこで今回の実験ではマウスを用い脳を 6 部位に分け, MMC 投与による脳内 ACh 量の変化を測定するとともに, *in vitro* 実験として海馬スライスからの ACh 遊離および *in vivo* 線条体での脳微小透析法による ACh 遊離の実験を行った。その結果, 6 mg/kg の 1 回投与によって 3 時間後から海馬 ACh 量の有意な低下が認められた。また, 同量の MMC を 7 日間連続経口投与すると 23 日後には, 海馬を含む測定した全部の部位で ACh 量の低下が観察された。

MMC による脳内各部位での ACh 量の低下についてはすでに Hrdina ら⁶⁾や Kobayashi ら¹⁰⁾によって報告され, これが MMC による行動異常に密接に関係していることが示唆されている^{7), 23)}。その機序については choline 取り込みの抑制²⁴⁻²⁶⁾や ACh 遊離の促進²⁶⁾あるいは ACh の合成酵素である cholineacetyltransferase 活性の抑制^{22), 23)}などの報告がある。また海馬の ACh が

学習や記憶と密接に関係しているらしいことに関して, Walsh らは ACh neuron の選択的 neurotoxin である AF64A を海馬に注入したラットでは条件行動が抑制されることを観察した²⁷⁾。また Murai らも AF64A によって海馬 ACh を低下させたマウスでは long-term memory が抑制されることを報告している²⁸⁾。このようにラットやマウスを用いた実験で海馬の ACh と学習や記憶が密接に関係することをみた報告が数多く見られる²⁹⁻³²⁾。条件行動実験のなかで 8 方向放射状迷路学習だけが MMC の投与によって影響を受けなかった。Wenk らも ACh の合成酵素を阻害しても放射状迷路学習には影響しなかったことを報告している³³⁾が, それがどの様な理由によるのかは不明である。反対に AF64A によって海馬と大脳皮質の ACh を減少させたラットで放射状迷路の学習を抑制したという報告もある²⁷⁾。いずれにしても, 今回の実験で海馬の ACh 量が MMC 投与後短時間のうちに低下したことや, 海馬切片から MMC によって ACh の遊離が起こること, さらに線条体の微小循環による ACh の放出の事実, MMC による条件行動の抑制を裏付ける現象であると思われる。

MMC の ACh 以外の中枢神経系への作用に関しては, 少量長期投与によって小脳のノルエピネフリンの増加を認めた報告³⁴⁾や, 小脳のベンゾジアゼピン結合部位の増加を認めた報告³⁵⁾, あるいは *in vitro* の実験で大脳皮質からのセロトニン遊離の促進³⁶⁾や視床下部でのセロトニン取り込みの抑制をみた報告³⁷⁾などがあるが, いずれも ACh 系への作用に比べるとそれほど重要とは思われない。

結 論

今回の研究によって, 1) マウスおよびラットへの MMC の投与によって中枢神経とくに海馬の ACh が減少すること, 2) MMC により海馬および線条体での ACh の遊離が促進されること, 3) マウスではシヤトルボックス型および T 迷路型条件回避反応の学習を MMC が抑制すること, 4) ラットでは MMC はシドマン型条件回避反応の保持の低下を起すこと, および 5) これらの条件行動抑制作用は MMC による神経学的症状が発現しない状態で現れること, が明らかとなった。

謝 辞

稿を終えるにあたり, 丁寧なご指導と御校閲を賜った鹿児島大学医学部薬理学教室の福田健夫教授に深謝致し, 教室員各位の御協力に御礼申し上げます。さらに, 本研究を御指導・御助言いただきました国立水俣病研究センターの藤崎 正前基礎研究部長に感謝致します。

文 献

- 1) Hunter D and Russell DS. Forcal cerebral and cerebellar atrophy in a human subject due to organic mercury compounds. *J Neurol Neurosurg Psychiat* 1954; 17: 235-41.
- 2) 徳臣晴比古. 水俣病の臨床. 有馬澄雄編集. 水俣病. 東京: 青林舎, 1979: 273-90.
- 3) Morganti J, Lown B, Salvaterra P and Massaro E. Effects on open-field behavior of mice exposed to multiple doses of methyl mercury. *Gen Pharmac* 1976; 7: 41-4.
- 4) Salvaterra P, Lown B, Morganti J and Massaro E. Alterations in neurochemical and behavioral parameters in the mouse induced by low doses of methyl mercury. *Acta Pharmacol Toxicol Copenh* 1973; 33: 177-90.
- 5) 佐野憲一, 下条信弘, 鈴木将之, 山口誠哉. メチル水銀投与ラットの脳内水銀分布と脳内アミンの変動. *日本衛生学雑誌* 1987; 42: 821-6.
- 6) Hrdina PD, Peters DA and Singhal RL. Effect of chronic exposure to cadmium, lead and mercury on brain biogenic amines in the rats. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1976; 15: 483-93.
- 7) Kobayashi H, Yuyama A, Matsusaka N, Takeno K and Yanagiya I. Neuropharmacological effects of methylmercury in mice with special reference to the central cholinergic system. *Japan J Pharmacol* 1981; 31: 711-8.
- 8) Burg R, Northington FK and Shamoo A. Methylmercury inhibition of rat brain muscarinic receptors. *Toxicol Appl Pharmacol* 1980; 53: 285-92.
- 9) Tsuzuki Y. Effect of chronic methylmercury exposure on activities of neurotransmitter enzymes in rat cerebellum. *Toxicol Appl Pharmacol* 1981; 60: 379-81.
- 10) Kobayashi H, Yuyama A, Matsusaka N, Takeno K and Yanagiya I. Effects of methylmercury on brain acetylcholine concentration and turnover in mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 1980; 54: 1-8.
- 11) Sabel BA. Gm1 ganglioside treatment bahavioral recovery from bilateral brain damage. *Science* 1984; 225: 340-2.
- 12) 田頭栄治郎, 浦野知子, 柳浦才三. 塩化メチル水銀の毒性(1). *日薬理誌* 1980; 76: 169-77.
- 13) Berthound HR, Garman RH, Weiss B. Food intake, body weight and brain histopathology in mice following chronic methymercury treatment. *Toxicol Appl Pharmacol* 1976; 36: 19-30.
- 14) Sakamoto M, Nakano A, Kajiwarra Y, Naruse I, Fujisaki T. Effects of methylmercury in postnatal developing rats. *Environ Res* 1993; 61: 43-50.
- 15) Fehling C, Abdulla M, Brun A, Dictor M, Schutz A, Skerfving S. Methylmercury poisoning in the rats: a combined neurological, chemical, and histo-pathological study. *Toxicol Appl Pharmacol* 1975; 33: 27-37.
- 16) Levesque PC, Atchison WD. Effect of alteration of nerve terminal Ca^{2+} regulation on incerased spontaneous quantal release of acetylcholine by methylmercury. *Toxicol Appl Pharmacol* 1988; 94: 55-65.
- 17) Traxinger DL, Atchison WD. Comparative effects of divalent cations on the methylmercury-induced alterations of acetylcholine release. *J Pharmacol Exp Ther* 1987; 240: 451-9.
- 18) Davis KL, Mohs RC, Tinklenberg JR, Pfefferbaum A, Hollister LF and Koppel BS. Physostigmine: improvent of long-term memory processes in normal humans. *Science* 1978; 201: 272.
- 19) Drachman DA. Memory and cognitive function in man, does the cholinergic system have a specific role? *Neurology* 1977; 27: 783-90.
- 20) Bartus RT. Evidence for direct cholinergic involvement in the scopolamine induced amnesia in monkeys: effects of concurrent administration of physostigmine and methylphenidate with scopolamine. *Biochem Behav* 1978; 9: 833-6.
- 21) Mattingly BA. Scopolamine disrupts leverpress shock escape learning in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1986; 24: 1635-8.
- 22) Yamazaki N, Nomura M, Nagaoka A, Nagawa Y. Idebenone improves learning and memory impairment induced by cholinergic or serotonergic dysfunction in rats. *Arch Gerontol Geriatr* 1989; 8: 225-39.
- 23) Dwivedi C, Raghunathan R, Joshi BC, Foster HW Jr. Effect of mercury compounds on cholineacetyl transferase. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1980; 30: 381-4.
- 24) Kobayashi H, Yuyama A, Matsusaka N, Takeno K, Yanagiya I. Effects of methylmercury chloride on various cholinergic parameters in vitro. *J Toxicol Sci* 1979; 4: 351-62.
- 25) O'Kusky JR, McGeer EG. Methylmercury-induced movement and postural disorders in developing rats: high affinity uptake of choline, glutamate and gamma-aminobutyricacid in the cerebral cortex and caudate-putamen. *J Neurochem* 1989; 53: 999-1006.
- 26) Levesque PC, Hare MF, Atchison WD. Inhibition of mitochondrial Ca^{2+} release diminishes the effectiveness of methylmercury to release acetylcholine from synaptosomes. *Toxicol Appl Pharmacol* 1992; 115: 11-20.
- 27) Walsh TJ, Tilson HA, DeHaven DL, Mailman RB, Fisher A, Hanin I. AF64A, a cholinergic neurotoxin, selectively depletes acetylcholine in hippocampus and cortex, and produces long-term passive aviodance and radial-arm maze deficits in the rat. *Brain Res* 1984; 321: 91-102.
- 28) Murai S, Saito H, Masuda Y, Odashima J, Itoh T. AF64A disrupts retrieval process in long-term memory of mice. *Nuroreport* 1995; 6: 349-52.
- 29) Micheau J, Destrade C, Jaffard R. Physostigmine reverses memory deficits produced by pretraining electrical stimulation of the dorsal hippocampus in mice. *Behav Brain Res* 1985; 15: 75-81.
- 30) Sigala S, Imperato A, Rizzonelli P, Casolini P, Missale C, Spano P. L-alpha-glycerylphosphorylcholine antagonizes scopolamine-induced amnesia and enhances hippocampal cholinergic transmission in the rat. *Eur J Pharamacol* 1992; 211: 351-8.
- 31) Ohno M, Yamanmoto T, Watanabe S. Blockade of hippocampal M_1 muscarinic receptors impairs working memory performance of rats. *Brain Res* 1994; 650: 260-6.
- 32) Chrobak JJ, Hanin I, Schmechel DE, Walsh TJ. AF64A-induced working memory impairment: behavioral, neurochemical and histological correlates. *Brain Res* 1988; 463: 107-17.
- 33) Wenk G, Sweeney J, Hughey D, Carson J, Olton D. Cholinergic function and memory: extensive inhibition of choline acetyltransferase fails to impair radial maze performance in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1986; 25: 521-6.
- 34) Lindstrom H, Luthman J, Oskarsson A, Sundberg J, Olson L. Effects of long-term treatment with methylmercury on the developing rat brain. *Environ Res* 1991; 56: 158-69.
- 35) Concas A, Corda MG, Salis M, Mulas ML, Milia A, Corongiu FP, Biggio G. Biochemical changes in the rat cerebellar cortex elicited by chronic treatment with methylmercury. *Toxicol Lett* 1983; 18: 27-33.
- 36) Oudar P, Caillard L, Fillion G. In vitro effect of organic and inorganic mercury on the serotonergic system. *Pharmacol Toxicol* 1989; 65: 245-8.
- 37) Tuomisto J, Konmulainen H. Release and inhibition of uptake of 5-hydroxytryptamine in blood platelets in vitro by copper and methylmercury. *Acta Pharmacol Toxicol Copenh* 1983; 52: 292-7.

