

メチルシクロペンタジエニルマンガントリカルボニルの健康影響研究の動向^{*1}

Trends in Health-Effect Studies on Methylcyclopentadienyl Manganese Tricarbonyl

加藤 温中^{*3}

Atsunaka KATO

1. はじめに

メチルシクロペンタジエニルマンガントリカルボニル（Methylcyclopentadienyl Manganese Tricarbonyl, 以下、「MMT」という）は、ガソリン中のテトラエチル鉛に代わりオクタン価向上剤として添加される場合がある有機化合物である。この物質は、エンジン内での燃焼によりマンガ（Mn）粒子を形成し、エンジンなどの自動車の部品に沈着したときに汚染防止システムを破壊し、最新の排気規制に適合した新車に悪影響を及ぼす排気を増加させる。さらに、これらの粒子が大気中に排出されたときのヒトへの暴露による神経系への影響が懸念されている。

MMTを使用する自動車の排気管から排出されるマンガ化合物は、主にMn硫酸塩、Mnリン酸塩やMnリン酸塩／硫酸塩混合物の形で微小Mn粒子の排気を生じるといわれている。また、ヒトの中枢神経系はMn中毒の重要な標的であり、パーキンソン病に似た神経学的症状（パーキンソン病様症状）を引き起こすとされている。

このようなことから、MMTの健康影響に関する文献調査を行い、現在の科学的知見を整理した。

2. MMTの物理・化学的性質と暴露影響

国際化学物質安全性カード^{注1), 1)}によると、MMTの分子式は $C_5H_7MnO_3$ で、分子量は218.1である（CAS登録番号：12108-13-3, ICSC番号：1169）。沸点は231.7℃、融点は2.2℃、比重は1.39であり、水に対しては不溶解性である。蒸気圧は6.2Pa（20℃）、引火点は96℃（C.C.）、log Pow（オクタノール／水分配係数）は3.7である。

物理化学的な特徴は、特徴的な臭気のある濃橙色の液体であり、可燃性で、燃焼すると有毒で刺激性のフューム（マンガ酸化物、一酸化炭素など）を生成する。また、光の影響下で分解する。96℃以上では蒸気／空気の爆発性混合気体を生じることがある。

許容濃度は、TLV^{注2)}（Mnとして）：0.2mg/m³（TWA^{注3)}）（皮膚）（ACGIH 2003）である。

体内への吸収経路としては、吸入、経皮、経口摂取があり、吸入の危険性として20℃で気化したとき、空気は汚染されても有害濃度に達しないか、達しても極めて遅く有害濃度に達する。しかし、噴霧もしくは拡散すると極めて急速に有害濃度に達する。

短期暴露の影響としては、眼、皮膚を刺激し、発赤や痛みを生じる。吸入すると腹痛、めまい、頭痛、息苦しさ、吐き気、咳、咽頭痛を生じ、中枢神経系、腎臓、肝臓、肺に影響を与え、組織障害を生じることがある。高濃度の場合、死に至ることがある。

また、水生生物に対して毒性が強い。

3. MMTの文献調査

MMTの健康影響に関する論文を調査するため、インターネット上に公開され、世界的に最も活用されている医学系の文献情報データベースの一つ

注1 国際化学物質安全性カード：International Chemical Safety Cards (ICSC)。国際化学物質安全性計画 (IPCS) が、化学物質の健康や安全に関する重要な情報を簡潔にまとめたもので、工場その他の現場労働者や雇用者に、使用する化学物質の性質に関する情報を提供する手段として整備が進められている。

注2 TLV：threshold limit value. ACGIH（米国産業衛生専門家会議）によって設定された許容濃度。

注3 TWA：time-weighted average（時間加重平均）。TLV-TWA（時間加重平均許容濃度）。

*1 原稿受理 2008年4月23日

*2（財）日本自動車研究所 エネルギー・環境研究部 博士（医学）

であるMedical Literature Analysis and Retrieval System Online^{注4)} (MEDLINE) の情報をPubMed^{注5)} によりキーワード検索を行った。キーワードとして「Methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl」および「MMT」を用いて検索した結果、1974年から2007年12月の間に91件の論文が検索された。

検索された文献の内訳は、総説などが20件、エンジン排気のモニタリングや分析に関する研究が4件、ガソリン蒸気に関する研究が1件、分析法に関する研究が2件、環境中の大気、植物、土壌などのモニタリングに関する研究が12件、疫学研究関連では、MnやPb、Al、Fe、Zn、Cuなどの金属の暴露評価に関する研究が8件、血液中のMn量の測定を行った研究が5件、細胞を用いたIn Vitro試験による研究が3件、動物実験による研究が36件であった。

動物実験に関する文献では、吸入暴露実験による研究では、MMTをラットに吸入暴露した研究が1件、また、MMTの燃焼により生成されたと考えられている硫酸Mn、燐酸Mnあるいはその混合物などをラットなどに暴露した研究が9件あった。MMTを燃料添加剤として使用した燃料を用いたエンジン排気を吸入暴露して影響を調べた研究はPubMedでの文献検索ではなかった。しかし、他の検索により、MMTを使用したエンジン排気をラットとハムスターに吸入暴露した研究が1件あった。

吸入暴露以外の投与方法を用いた研究に関する文献は20件あり、重複した研究を含めるとその内訳は、MMTなどをラット、マウス、ハムスターに腹腔内投与した研究が11件、MMTや塩化Mnをラットやマウスに経口投与した研究が6件、MMTや塩化Mnをラットに静脈内投与した研究が2件、MMTや四酸化Mnを皮下投与した研究が3件、MMTをウサギに皮膚塗布した研究が1件であり、吸入暴露実験に近い投与方法である気管内注入法で硫酸Mn、燐酸Mnや四酸化Mnをラットに投与した研究が1件あった。

なお、マンガンの毒性影響に関してはかなりの

知見があり、WHOによる国際化学物質安全性計画での国際簡潔評価文書の「No.12 マンガンおよびその化合物」²⁾ としてまとめられ、国立医薬品食品衛生研究所安全情報部より日本語訳がweb上で公開されている。

4. MMTの健康影響

文献調査により抽出された文献の中から、疫学研究および動物実験研究に関する代表的な文献について紹介する。

4.1 疫学研究

MMTに関する疫学研究では、1970年から1990年にかけてのアンチノック剤およびオクタン価向上剤として用いられていたアルキル鉛の廃止に代わり、MMTが1976年から使用されたカナダにおいて、モントリオール大学のグループが1990年代にヒトへのMn暴露量の推定や血液中のMn量の測定を行っている。

Loranger ら³⁾ は、飲水によるMnや他の金属の摂取をモントリオール大学の修理工場の整備士と労働者で調査し、飲水からのMnの摂取は食物からの摂取の1%であるとし、多重暴露の相互作用を考慮するとヒトにとって重要ではないかとしている。

Zayedら⁴⁾ は、個人エアサンプラーを用いてタクシードライバと修理工場の整備士のMn量を調査し、就業日に整備士はタクシードライバの約10倍 ($0.25 \mu\text{g}/\text{m}^3$) の環境で、閉鎖空間での作業では開放空間での2倍の濃度となった。しかし、これらのMn濃度は、職業および環境中の大気暴露の規制限界以下であるとし、MMTとしてのMnの同定や他の暴露経路の研究が必要であるとしている。

Lorangerら⁵⁾ は、Zayedら⁴⁾ と同様の研究で二つのグループの血液中のMn濃度を測定したところ同じであり、それは正常な大人の範囲内であったとしている。また、毛髪のMn濃度は整備士のほうが約2倍高かったが、内因性の影響か外因性の影響かは不明としている。職業環境や非職業環境の政府の規制やクライテリアにより判断すると、現在の食品、水、空気のMnレベルは、労働者にとって問題とはならないとしている。

また、Lorangerら⁶⁾ は、モントリオールの交通量の多い地域と少ない地域の総Mn濃度と呼吸性Mn濃度を調査し、両方のMn濃度とも交通量の多い地

注4 MEDLINE : Medical Literature Analysis and Retrieval System Online. 医学を中心とする生命科学の文献情報を収集したデータベース。NLM (National Library of Medicine : アメリカ国立医学図書館) に属するNCBI (National Center for Biotechnology Information : 国立バイオテクノロジー情報センター) により運営されている。

注5 PubMed : MEDLINEの文献検索のためのサーチエンジン。

域が有意に高く、Mn濃度は交通量を反映しているとしている。しかし、MnがMMTの燃焼によるものかどうかはこれらの結果からは困難としており、また、総Mnや呼吸性Mnの平均吸入濃度は、米国EPAにより提案されている一般の集団に対する参照濃度^{注6)}よりも2～15倍低かったとしている。

Bolteら⁷⁾は、モントリオールの都市地域と田園地域の屋外と屋内の呼吸性Mnの濃度および住人の血液中Mn濃度を測定した。その結果、屋外のMn濃度は都市地域が田園地域の5倍高く、屋内濃度も都市地域が有意に高かった。しかし、血液中のMn濃度は両地域で差がなかった。

ケベック大学モントリオール校のSmargiassiら⁸⁾は、モントリオールとパリの母親と新生児での臍帯と母親の血液のMnとPbの濃度を比較した。パリの母親と新生児のPb濃度は、ガソリン中にPbがまだ使用されていることもあり、有意に高かった。臍帯血の高濃度Mnの頻度はモントリオールで有意に高かった。しかし、Mnは必須元素であり、Mn摂取に関するモントリオールとパリでの相違かもしれず、MMTからのMn排気と個人Mn暴露との関係を推測する研究が必要であるとしている。

トロント大学のFinkelsteinら⁹⁾は、Mnの工業排気や燃料添加剤としてのMn含有物の使用がパーキンソン病様疾病のリスクを増加するかもしれないことから、カナダのトロントとハミルトンにおける110,000人のコホートを用いて関係を調査した。その結果、トロントにおいてはパーキンソン病様症状と交通由来大気汚染マーカとの間に相関はなかった。一方、製鋼業の工業排気が関連するハミルトンでは浮遊粒子状物質中のMnの10ng/m³増加に対するパーキンソン病様症状のオッズ比は1.034となり、Mnとの関連がみられた。

カナダ以外の地域の研究として、Rollinら¹⁰⁾は、南アフリカでガソリンへのMMTの導入が行われたヨハネスブルグと未導入のケープタウンでの学童の血液中のMn濃度を測定した。その結果、ヨハネスブルグの学校の土壌や塵埃のサンプル中のMn濃度が高く、さらに血液中のMn濃度もケープタウンの学童に比べて有意に高く、血液中のMn濃度は学校

の教室の塵埃中のMn濃度と有意に相関していた。

Gulsonら¹¹⁾は、2001年にオーストラリアで導入されたMMTに関連して、環境と幼児の暴露に対する評価のため6ヵ月ごとに4年間の縦断研究^{注7)}を行っている。シドニーの大通りから種々の距離に居住する幼児(0.29～3.9歳、男性56人、女性57人)の環境サンプル(空気、住居などの降下煤塵、土壌など)や幼児の血液、尿、手拭などを調査している。PbとMnに対する最初の3回の6ヵ月ごとの結果では、PbおよびMnとも家庭と託児所で相違はなく、交通暴露ではPbと明確な関係があった。屋外での遊びの前後の手拭では、PbとMn濃度は遊び後がPb、Mnとも有意に高かったが、交通暴露との間に有意な相関はなかった。また、血液中のPbおよびMn濃度に男女差はなく、降下煤塵との関連がみられたが、MMTの使用と関連する環境サンプルあるいは血液サンプルでのMnの増加を検出できてはいない。

4.2 動物実験研究

4.2.1 吸入暴露実験

MMTの吸入暴露実験では、Hinderer¹²⁾が、ラットにMMTの蒸気を1時間および4時間吸入暴露した。その結果、LC₅₀^{注8)}は1時間暴露で62mg Mn/m³(247mg MMT/m³)、4時間暴露で19mg Mn/m³(76mg MMT/m³)であった。ラットは吸入暴露により体重減少を示し、体重の回復には暴露後14日間かかった。高濃度のMMT暴露によりラットは呼吸困難を呈し、また、結膜炎も見られた。

MMTを燃料添加剤として用いた燃料でのエンジン排気の吸入暴露実験では、Mooreら¹³⁾がラットとハムスターに紫外線照射あるいは非紫外線照射したエンジン排気(カリフォルニアサイクル、非紫外線照射:131μg/m³ Mn, 紫外線照射:117μg/m³ Mn)を1日8時間、56日間暴露した。ハムスタ

注6 参照濃度: Reference Concentration (RfC)。一生涯にわたる毎日摂取または暴露してもヒトの健康に有害な影響が生じるリスクがないと考えられる1日の摂取用量また暴露濃度の推定値。

注7 縦断研究: 発達に伴う変化を検討する疫学研究の方法で、同一の対象者を一定期間継続的に追跡し、いくつかの時点で測定を行って変化を検討する。長期にわたって行なうため発達の連続性や安定性を問題にできる反面、労力や費用は大きく、しかも大きな集団を追跡することは困難で、追跡期間の途中でもさまざまな原因で対象集団がさらに小さくなる可能性が高い。

注8 LC₅₀: 50% Lethal Concentration. 半数致死濃度。ガスまたは水に溶解した状態の化学物質に暴露された生物の半数(50%)が試験期間内に死亡する濃度で、化学物質の急性毒性の強さを示す代表的な指標。

ーは正常な発達のために適切な標準飼料 ($42.2 \mu\text{g Mn/g}$) を与えた。ラットは2グループに分けられ、1グループは標準飼料で飼育したコントロールラットと紫外線照射排気暴露ラット、他のグループはMn欠乏飼料 ($5 \mu\text{g Mn/g}$) で飼育したコントロールラット、紫外線照射排気暴露ラットおよび非紫外線照射排気暴露ラットであった。暴露後、ハムスターの呼吸器の終末気管支の立方上皮の肥厚がみられたが、暴露期間の延長でも悪化しなかった。肺傷害の発生率は、照射排気暴露で21%、非照射排気暴露で14%、清浄空気暴露で6%であった。Mnの臓器への蓄積に関しては、コントロールラットでの標準飼料とMn欠乏飼料での飼育を比較すると、2ヵ月目でMn欠乏飼料飼育ラットは脳、肝臓、腎臓で有意に低く、心臓、肺では有意差はなかった。Mn欠乏飼料飼育ラット間では、照射排気暴露ラットの脳、肝臓、肺が、非照射排気暴露ラットの脳、肝臓、心臓でMn濃度の有意な増加がみられた。また、標準飼料で飼育した照射排気暴露ラットの脳、肝臓、肺で有意な増加が、心臓で有意な減少がみられた。

MMTに関連する吸入暴露実験ではカナダのモントリオール大学のグループが、金属MnやMn化合物である燐酸Mn、硫酸Mn、あるいは燐酸Mnと硫酸Mnの混合物（燐酸Mn／硫酸Mn）をラットに暴露し、特に中枢神経系への影響を観察している。

Normandinら¹⁴⁾は、燐酸Mn ($30, 300, 3,000 \mu\text{g/m}^3$) をラットに1日6時間、週5日、13週間暴露し、生体内蓄積や神経病理学的や神経行動学的変化を調査した。その結果、脳のすべての部位でMn濃度が増加し、嗅球^{注9)}と線条体^{注10)}で量依存性があり、肺でも同様であった。線条体と淡蒼球^{注11)}における神経細胞の消失や自発運動と震戦に変化はなかった。

Salehiら^{15), 16)}は、燐酸Mn／硫酸Mnを同様の暴露条件で暴露した結果、 $3,000 \mu\text{g/m}^3$ 暴露での血液、

腎臓、肺、精巣および脳（線条体、淡蒼球、嗅球、前頭皮質、小脳）でMn濃度の増加が観察され、肺と嗅球のMnには量依存性があった。神経細胞の消失が $3,000 \mu\text{g/m}^3$ 暴露での淡蒼球や線条体で有意に異なっていた。自発運動も $3,000 \mu\text{g/m}^3$ 暴露で増加した。しかし、震戦は各暴露ともに観察されなかった。 $300, 3,000 \mu\text{g/m}^3$ 暴露では実験終了時に体重の有意な減少を示した。

Normandinら¹⁷⁾は、金属Mn、燐酸Mn、燐酸Mn／硫酸Mnを同様の暴露条件で暴露した結果、脳のMn濃度は燐酸Mnおよび燐酸Mn／硫酸Mn暴露で有意に高かった。また、燐酸Mn／硫酸Mn暴露は自発運動量に関連する総歩行数が減少した。

Tapinら¹⁸⁾は、硫酸Mnを同様の暴露条件で暴露した結果、 $300, 3,000 \mu\text{g/m}^3$ 暴露での血液、腎臓、肺、精巣および脳でMn濃度が増加した。また、総歩行数はすべての暴露濃度で有意に減少した。

モントリオール大学のグループの研究以外では、米国のCIIT（Chemical Industry Institute of Toxicology）でモントリオール大学と同様にMMTの燃焼により自動車の排気管から排出され则认为される燐酸Mnや硫酸Mnなどのラットへの吸入暴露実験を行っている。

Vitarellaら¹⁹⁾は、燐酸Mn ($0, 0.03, 0.3, 3\text{mg Mn/m}^3$) をラットに6時間／日、5日／週（10回暴露）あるいは7日／週（14回暴露）暴露し、量反応関係を調査した。その結果、 3mg Mn/m^3 の10、14回暴露後に、嗅球、肺、大腿骨および骨格筋のMn濃度の増加が観察され、 0.3mg Mn/m^3 の14回暴露後の嗅球、線条体および肺でもMnの増加が観察された。また、 3mg Mn/m^3 の10回暴露後のみに、赤血球細胞と血漿のMn濃度が増加した。

Dormanら²⁰⁾は、比較的可溶性の硫酸Mnと不溶性の四酸化Mnを同様の暴露条件でラットに週7日暴露（14回暴露）を行い量反応関係を調査した。その結果、全身のMnのクリアランス率が、硫酸Mnと四酸化Mnの 3mg Mn/m^3 暴露で増加した。また、組織内のMn濃度の増加は、硫酸Mnの暴露では、肺、嗅球、大腿骨で 0.3mg Mn/m^3 暴露以上でみられ、 3mg Mn/m^3 暴露では線条体、精巣、肝臓および胆汁でもみられた。四酸化Mnの暴露では、肺で 0.3mg Mn/m^3 暴露以上でみられ、 3mg Mn/m^3 暴露では嗅球、大腿骨、線条体、胆汁でもみられた。硫酸Mnの 3mg Mn/m^3 暴露は同様の濃度の四酸化

注9 嗅球：嗅神経入力を受け、嗅覚情報処理に関わる脊椎動物の脳の構造。終脳の先端に位置する。

注10 線条体：終脳の皮質下構造で、大脳基底核の主要な構成要素のひとつ。運動機能への関与が最もよく知られている。

注11 淡蒼球：脳の皮質下構造のひとつで大脳基底核の一部。外節と内節とに区別されるが、どちらも共にGABA作動性の大型の投射ニューロンを含んでいる。ミエリンの髄鞘を被った軸索が通過するため、青白い外見を呈し、淡蒼球と呼ばれる。

化Mn暴露と比較して、Mn濃度が肺で低く、嗅球と線条体で高くなり、溶解性Mnの暴露は非溶解性Mnの暴露より脳への蓄積が高くなることを示した。

4.2.2 その他の投与方法による実験

吸入暴露実験以外のラット、マウスなどの実験動物への投与方法による実験研究では、MMTそのものを用いた研究が比較的多く、そのほとんどが1970～1980年代に行われている。

Coxら²¹⁾は、MMTをラットに腹腔内投与した。その結果、LD₅₀は12.1mg/kgであった。

Gianutsosら²²⁾は、MMT (5ml/kg) をマウスに1回皮下投与した。その結果、1日以内に脳のMn濃度は増加し、さらに、その後21日間維持された。

Gianutsosら²³⁾は、マウスに塩化Mn (4%) を6ヵ月間食餌とともに経口投与し、また、MMT (5ml/kg) を3週間 (11回) 皮下投与した。その結果、両処置とも脳内の線条体と嗅結節でのドーパミン濃度が減少し、線条体のGABA含量が増加した。しかし、小脳のGABA含量は変化しなかった。また、MMT投与マウスでは黒質のGABA含量も増加した。コリンアセチルトランスフェラーゼ^{注12)}活性は両投与とも変化しなかった。

Yongら²⁴⁾は、高濃度のMMT (50mg MMT/kg, 5ml/kg) を繰り返し (75回) ラットに5ヵ月間皮下投与し、パーキンソン病の動物モデルの作製を試みた。その結果、脳内のMn量が有意に増加したが、線条体のドーパミン量やチロシンヒドロキシラーゼ^{注13)}活性の減少は引き起こさず、ドーパミン作動性黒質^{注14)}線条体ニューロンは破壊されなかった。

Halatekら²⁵⁾は、MMT (5mg/kg) を1回腹腔内へ投与し、12, 24, 48時間後および7日後の肺の形態

学的変化や生化学的変化を調べた。その結果、12時間後には、肺のI型上皮の空胞化と細胞質の腫脹が観察され、肺のGSH-Sトランスフェラーゼ (GST)^{注15)}の増加を示した。24時間後には、腫脹した滑面小胞体の膜や細胞質の空胞化したクララ細胞が観察され、24, 48時間後の気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中のクララ細胞蛋白が、それぞれ58, 55%減少した。また、BALF中の総蛋白が5, 7倍に増加した。さらに、24, 48時間後には、ヒアルロン酸^{注16)}の有意な上昇がみられた。48時間後には、分裂したII型上皮やクララ細胞が観察された。7日後には、肺胞壁中には線維芽細胞、マクロファージ、膠原線維、弾性線維が、肺胞腔内には好中球、リンパ球、肺胞マクロファージが観察された。これらのことから、MMTの毒性は、気管支上皮、特にクララ細胞やII型上皮の傷害や修復に重要な役割を演じ、これらの細胞の抗酸化状態によっているとしている。

Komuraら^{26), 27)}は、マウスにMMT (0.5 g/kg) あるいは塩化Mn (2.0 g/kg) を食餌を介して12ヵ月間慢性投与した。MMT投与および塩化Mn投与とコントロールとの間に摂餌量の差はなかったが、MMT投与により有意に体重が抑制され、Mn含量は腎臓で最も高く、続いて肝臓、甲状腺、前立腺であった。MMT投与の血液中のMn濃度はコントロールの8倍であり、尿中の排泄は、毎日の経口摂取の5.4%であった。MMT投与の小脳のノルメ

注14 黒質：Substantia Nigra。中脳の一部を占める神経核。黒質は緻密部と網様部（および外側部）とにより大きく二群に大別されるが、いずれも大脳基底核を構成する中心的な要素である。緻密部ドーパミン作動性ニューロンの長い樹状突起はGABA作動性の線条体入力を受ける。緻密部のニューロンはまた網様部のGABA作動性ニューロンの軸索側枝からの抑制性入力を受けている。これらのニューロンは軸索を黒質線条体路に沿って線条体に投射し、神経伝達物質のドーパミンを分泌する。ドーパミン作動性軸索はまたその他の大脳基底核を構成する神経核にも投射しており、それらには淡蒼球、黒質網様部、視床下核などが含まれる。黒質緻密部ニューロンの変性がパーキンソン病の主たる病理であると見なされている。遺伝性のパーキンソン病も少数存在するが、多くの例についてはドーパミン作動性ニューロンが死ぬ理由は明らかになっていない。

注15 GSH-Sトランスフェラーゼ：還元型グルタチオンと種々の親電子化合物を抱合させる酵素。グルタチオン (Glutathione, GSH) は細胞内の主要な抗酸化成分であり、また、毒物などを細胞外に排出することで、細胞を内的、外的な環境の変化から守る役割を果たしている。

注16 ヒアルロン酸：ムコ多糖の一種。関節、硝子体、皮膚、脳など広く生体内の細胞外マトリックスに見られる。

注12 コリンアセチルトランスフェラーゼ：Choline acetyltransferase。アセチルCoAとコリンからアセチルコリンを合成する酵素。コリン作動性神経細胞に分布している。アセチルコリンは神経伝達物質で、副交感神経や運動神経の末端から放出され、神経刺激をある種のシナプスを通して伝える役目を果たしている。骨格筋や心筋、内臓筋の筋繊維のアセチルコリンの受容体に結合すると収縮を促進する。自律神経のうち副交感神経を刺激し、脈拍を遅くし、唾液の産生を促す活性がある。

注13 チロシンヒドロキシラーゼ：チロシンをドーパミンに変換する酵素。メラニン、ドーパミン、ノルアドレナリン、アドレナリンの前駆体として重要な物質L-ドーパはパーキンソン病治療に有効。

タネフリン^{注17)} レベルはコントロールに対して有意に増加し、Mn濃度と相関した。小脳中のMn濃度はMMT投与が塩化Mn投与やコントロールに対して有意に増加した。

Zhengら²⁸⁾ は、ラットに塩化Mn (6.0mg Mn/kg) やMMT (20mg MMT/kg : 5.6mg Mn/kg) の経口単回投与を行い、MMTによるMnの血漿濃度は塩化Mnより37倍高いことを示した。

McGinleyら²⁹⁾ は、ラットにMMT (4mg/kg) を皮下投与した結果、投与後1.5~96時間の間に血液、肺、肝臓、腎臓のMn濃度が増加し、3~6時間でピーク濃度となった。血液中のMn濃度に対して、肺、肝臓、腎臓では13, 4, 4倍高かった。

Clayら³⁰⁾ は、有機Mnの毒性におけるメチル側鎖の役割を調べるため、シクロペンタジエニルマンガントリカルボニル (CMT) とMMTの急性の肺毒性への影響を比較した。ラットにCMTあるいはMMTを皮下投与 (0.5, 1.0, 2.5mg Mn/kg) し、24時間後の気管支肺胞洗浄パラメータを測定した。両方の化合物の肺毒性反応は、乳酸脱水素酵素のわずかな増加とともに、アルブミンと蛋白の含量が大きく増加したのが特徴的であり、CMTはMMTより約2倍強かった。この相違はCMTにできない代謝の解毒経路であるメチル側鎖の酸化によるのかもしれないとしている。肺のMn含量はCMT, MMTのどちらもかなり増加した。ヘプタン抽出研究によると、Mnは非脂質可溶性形の中に蓄積されており、ヘプタン可溶性のものMMTあるいはCMTよりむしろ代謝産物の蓄積を示唆した。肺のMn含量と毒性の間の強い関係が観察され、CMTあるいはMMT代謝産物の蓄積と毒性との間の因果関係を示唆した。ピペロニルブトキシド^{注18)} はCMTあるいはMMTに起因する肺毒性やMn蓄積の両方を消失し、両方の現象はモノオキシゲナーゼ^{注19)} 代謝産物によることを示唆した。肺の非蛋

白SH化合物^{注20)} (NPSH) レベルはCMTあるいはMMTいずれも投与24時間後に2倍に増加した。NPSHの枯渇は投与後1.5あるは6時間で観察されなかった。この反応のメカニズムは不明確だが、肺細胞のなかで無機Mnを放出する不安定な化合物になるCMTあるいはMMTの代謝によるものかもしれないとしている。

Fishmanら³¹⁾ は、MMT (100~200mg/kg) をプロピレングリコールやコーンオイルに溶解しマウスに腹腔内投与した。その結果、発作活動に関するLD₅₀がコーンオイルよりプロピレングリコールでのMMTで低く、発作活動を示したマウスの脳のMn量は多かった。塩化Mnを投与したマウスでも脳のMn量は増加したが、発作活動はみられなかった。また、致死的な発作を誘発しない濃度のMMT (25, 50mg/kg) は、マウスの脳にGABA^{注21)} の蓄積を引き起こさなかったが、クロライドチャンネルにリンクするGABA-A受容体のリガンド^{注22)} である[3H]-TBOBの結合を抑制した。このことから、MMTあるいは代謝産物そして非元素Mnは発作活動の原因であり、発作活動はクロライドチャンネルにリンクしたGABA-A受容体でのMMTの抑制影響の結果であるとしている。

Gwiazdaら³²⁾ は、神経変性疾患の初期段階での高齢者のMnによる毒性リスクを検討するため、パーキンソン病ラットモデルを用いて神経化学的、

注20 SH化合物：システインやグルタチオンなどSH基をもつ物質の総称。SH基は酸化還元反応を行い、しばしば酵素の活性中心にあって触媒反応に関与するとともに、蛋白質分子内ジスルフィド結合を形成して構造維持に働く。

注21 GABA：γ-アミノ酪酸 (Gamma-Aminobutyric Acid) の頭文字。神経の働きを鎮めるアミノ酸。不安を鎮める、睡眠、けいれんを鎮める、筋肉の緊張を解く、などの働きがある。GABAは、大脳皮質や小脳、海馬、脳幹部にある抑制性の神経伝達物質であり、不安やけいれんとの関係があると考えられている。GABAに対応する受容体にはA, Bの2種類があるが、GABA-A受容体はベンゾジアゼピン受容体と共合している。ベンゾジアゼピン受容体は、GABAを受け取るGABA受容体とクロライドチャンネルとの複合体として存在している。ベンゾジアゼピン受容体に作用することで、GABAの働きを助け、間接的に脳神経の興奮を鎮めることができる。

注22 リガンド：Ligand. 特定の受容体 (Receptor) に特異的に結合する物質のこと。リガンドが対象物質と結合する部位は決まっており、選択的または特異的に高い親和性を発揮する。例えば、酵素タンパク質とその基質、ホルモンや神経伝達物質などのシグナル物質とその受容体などが顕著な例である。特にタンパク質と特異的に結合するリガンドは、微量であっても生体に対して非常に大きな影響を与える。

注17 ノルメタネフリン：ノルアドレナリンの代謝産物。ノルアドレナリンは生体内で交感神経節後線維および脳内ノルアドレナリン性線維において神経刺激伝達物質として働いているカテコールアミンの一種。

注18 ピペロニルブトキシド：一部の毒物分解になっている重要な肝臓酵素を阻害する。ネズミで肝臓のマикроソームのオキシダーゼを阻害することが示されており、人間でも影響を与える。

注19 モノオキシゲナーゼ：一原子酸素添加酵素。酸素分子を基質に組み入れる反応のなかで、酸素分子の1原子を基質に組み入れ、1原子が水となる反応を触媒する酵素。

行動学的影響を評価した。低Mn投与（4.8mg Mn/kg, 3回腹腔内投与/週, 5週間）は運動機能の30～60%の有意な減少を引き起こし、前パーキンソン病状態で悪化した。Mnは線条体のドーパミン^{注23)}に影響を及ぼさないが、両方の線条体で16, 22%の線条体のGABAの有意な増加と前頭皮質での有意ではないが4%の増加がみられた。高濃度Mn投与がドーパミン減少を示している以前の研究を考慮すると、これは、線条体のGABAの増加が低濃度暴露でのMn蓄積による毒性の進展を示唆しており、GABAレベルは線条体のドーパミンレベルの前に悪影響を受けるとしている。また、これらの変化は、前パーキンソン病状態で運動機能障害を悪化した。

5. まとめ

MMTに関連する健康影響研究を文献調査した結果、1970年代から1980年代にかけてはMMTそのものの毒性研究が実験動物を用いて行われ、1990年代以降には自動車燃料添加剤としての使用に伴い、主に燃焼により排出されると考えられるMn化合物の呼吸器系あるいは中枢神経系への毒性影響研究が実施されている。また、MMTの燃焼により大気中に排出されたMnのヒトなどへの暴露評価や疫学研究も同時に実施されている。

疫学研究では、交通量と血液中のMn濃度などとの関連を調査している。カナダのモントリオールやトロント、あるいはオーストラリアのシドニーでは関連がみられなかったが、南アフリカのヨハネスブルグでの調査では相関がみられた。しかし、いずれの研究でもMMTに由来するMn濃度としては同定しておらず、Mnの起源に関する研究の必要性があるとしている。

動物実験研究では、MMTそのものやMMTを燃料添加剤として使用したエンジン排気による吸入

暴露実験の報告はそれぞれ1件のみであり、MMTが燃料添加剤として使用されたときの燃焼生成物と考えられているMn化合物による小動物への吸入暴露実験が数多く行われている。MMTの蒸気のラットに対する1時間暴露のLC₅₀は247mg MMT/m³、4時間暴露のLC₅₀は76mg MMT/m³であり、呼吸困難や結膜炎が暴露後も残った。MMT添加エンジン排気では、呼吸器の気道への影響がみられ、排気の光化学反応生成物に対する影響はさらに強まった。Mn化合物の研究によると、燐酸Mn、硫酸Mn、燐酸Mn/硫酸Mnあるいは四酸化Mnの暴露により、肺および脳の嗅球や線条体などでMn濃度の増加が量反応関係を伴ってみられている。また、四酸化Mnのような不溶性のMn化合物よりも硫酸Mnのような溶解性Mnのほうが脳への蓄積が高いことが示されている。

実験動物への吸入暴露以外の経路での投与方法による実験では、MMTそのものの投与により、主にMnによる生体内でのメカニズムを調査する研究が多い。種々の投与方法によるMMTの生体への影響では、脳や肺、腎臓、肝臓、血液、甲状腺、前立腺など多岐の臓器にMnの蓄積がみられている。MMTの脳への影響は、振戦などのパーキンソン病様症状を誘発すると考えられる錐体外路系^{注24)}の黒質線条体ニューロンの破壊はみられていないが、高濃度Mn投与による線条体のドーパミンの減少、低濃度Mn投与によるGABAの減少など、運動に関わる錐体外路系の生理学的影響が観察されている。また、MMT投与によるMn蓄積濃度の高い肺への影響では、肺胞壁への炎症細胞浸潤、線維化、肺胞壁のⅠ型上皮や細気管支上皮のクララ細胞の変性、Ⅱ型上皮の増生など、肺組織の炎症反応の亢進と修復がみられている。

Walsh³³⁾は総説のなかで、HEI (Health Effect Institute) はいくつかの懸念を要約し、(1)ある環

注23 ドーパミン：中枢神経系に存在する神経伝達物質で、アドレナリン、ノルアドレナリンの前駆体でもある。運動調節、ホルモン調節、快の感情、意欲、学習などに関わる。セロトニン、ノルアドレナリン、アドレナリン、ヒスタミン、ドーパミンを総称してモノアミン神経伝達物質と呼ぶ。またドーパミンは、ノルアドレナリン、アドレナリンと共にカテコール基をもつためカテコールアミンとも総称される。パーキンソン病では黒質線条体のドーパミン神経が減少し、筋固縮、振戦、無動などの運動症状が起こる。また、抗精神病薬などドーパミン遮断薬の副作用としてパーキンソン症状が起こることがある。

注24 錐体外路系：随意運動が起こるとき全身の筋をバランスよく動かして運動を円滑にする。例えば、歩くとき随意運動は足に起こっているが、「無意識に」腕を振ったり体幹をひねったりしてバランスをとる運動も同時に起こっている。このような調節は錐体外路系が担っている。錐体外路系は脳のさまざまな部分が協調して統合しており、どこが中枢かは必ずしも明確でない。特に重要と考えられている部分は、線条体、淡蒼球、中脳の赤核と黒質、そして小脳である。これらを含む数多くの経路が存在し、それらはニューロン環を形成して互いに連絡している。

境下で、マンガンは脳に蓄積する、(2)慢性暴露は生涯にわたって不可逆性の神経毒性傷害を引き起こす、(3)マンガンは比較的低濃度で神経行動学的影響を引き起こすかもしれない、そして(4)これらの影響はマンガン含有粒子の吸入後に起こる(食餌によるマンガンの神経毒性影響ははるかにまれである)、という大きな証拠があるということを記述している。

以上より、MMTそのものあるいは燃料添加物として燃焼された後に生成され则认为られる物質のヒトあるいは実験動物に及ぼす毒性影響は、過去の研究報告で示されているMnによる毒性影響を示唆しているとも考えられる。しかし、燃料添加物として使用されたときの燃焼生成物の同定やエンジン排気全体としての健康影響、大気中でのMnのMMTによる寄与や中枢神経系におよぼすメカニズム、長期間暴露による影響、パーキンソン病との関連などについては未解明の問題が多く残されており、今後の包括的な研究の進展が待たれる。

参考文献

- 1) <http://www.nihs.go.jp/ICSC/icssj-c/icssj1169c.html>
- 2) <http://www.nihs.go.jp/hse/cicad/full/no12/full12.pdf>
- 3) Loranger, S. et al. : Manganese in drinking water and its contribution to human exposure, *Rev Epidemiol Sante Publique*, Vol.42, No.4, p.315-321 (1994)
- 4) Zayed, J. et al. : Occupational and environmental exposure of garage workers and taxi drivers to airborne manganese arising from the use of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl in unleaded gasoline, *Am Ind Hyg Assoc J*, Vol.55, No.1, p.53-58 (1994)
- 5) Loranger, S. and Zayed, J. : Environmental and occupational exposure to manganese: a multimedia assessment, *Int Arch Occup Environ Health*, Vol.67, No.2, p.101-110 (1995)
- 6) Loranger, S. and Zayed, J. : Environmental contamination and human exposure to airborne total and respirable manganese in Montreal, *J Air Waste Manag Assoc*, Vol.47, No.9, p.983-989 (1997)
- 7) Bolté, S. et al. : Human exposure to respirable manganese in outdoor and indoor air in urban and rural areas, *J Toxicol Environ Health A*, Vol.67, No.6, p.459-467 (2004)
- 8) Smargiassi, A. et al. : A comparative study of manganese and lead levels in human umbilical cords and maternal blood from two urban centers exposed to different gasoline additives, *Sci Total Environ*, Vol.290, No.1-3, p.157-164 (2002)
- 9) Finkelstein, MM. and Jerrett, M. : A study of the relationships between Parkinson's disease and markers of traffic-derived and environmental manganese air pollution in two Canadian cities, *Environ Res*, Vol.104, No.3, p.420-432 (2007)
- 10) Röllin, H. et al. : Blood manganese concentrations among first-grade schoolchildren in two South African cities, *Environ Res*, Vol.97, No.1, p.93-99 (2005)
- 11) Gulson, B. et al. : Changes in manganese and lead in the environment and young children associated with the introduction of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl in gasoline--preliminary results, *Environ Res*, Vol.100, No.1, p.100-114 (2006)
- 12) Hinderer, RK. : Toxicity studies of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT), *Am Ind Hyg Assoc J*, Vol.40, No.2, p.164-167 (1979)
- 13) Moore, W. et al. : Exposure of laboratory animals to atmospheric manganese from automotive emissions, *Environ. Res*, Vol.9, No.3, p.274-284 (1975)
- 14) Normandin, L. et al. : Assessment of bioaccumulation, neuropathology, and neurobehavior following subchronic (90 days) inhalation in Sprague-Dawley rats exposed to manganese phosphate, *Toxicol Appl Pharmacol*, Vol.183, No.2, p.135-145 (2002)
- 15) Salehi, F. et al. : Bioaccumulation and locomotor effects of manganese phosphate/sulfate mixture in Sprague-Dawley rats following subchronic (90 days) inhalation exposure, *Toxicol Appl Pharmacol*, Vol.191, No.3, p.264-271 (2003)
- 16) Salehi, F. et al. : Neuropathology, tremor and electromyogram in rats exposed to manganese phosphate/sulfate mixture, *J Appl Toxicol*, Vol.26, No.5, p.419-426 (2006)
- 17) Normandin, L. et al. : Manganese distribution in the brain and neurobehavioral changes following inhalation exposure of rats to three chemical forms of manganese, *Neurotoxicology*, Vol.25, No.3, p.433-441 (2004)
- 18) Tapin, D. et al. : Bioaccumulation and locomotor effects of manganese sulfate in Sprague-Dawley rats following subchronic (90 days) inhalation exposure, *Toxicol Appl Pharmacol*, Vol.211, No.2, p.166-174 (2006)
- 19) Vitarella, D. et al. : Pharmacokinetics of inhaled manganese phosphate in male Sprague-Dawley rats following subacute (14-day) exposure, *Toxicol Appl Pharmacol*, Vol.163, No.3, p.279-285 (2000)
- 20) Dorman, DC. et al. : Influence of particle solubility on the delivery of inhaled manganese to the rat brain: manganese sulfate and manganese tetroxide pharmacokinetics following repeated (14-day) exposure, *Toxicol Appl Pharmacol*, Vol.170, No.2, p.79-87 (2001)
- 21) Cox, DN. et al. : Comparison of the toxicity of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl with that of its two major metabolites, *Toxicol Lett*, Vol.39, No.1, p.1-5 (1987)
- 22) Gianutsos, G. et al. : Brain manganese accumulation following systemic administration of different forms, *Arch Toxicol*,

- Vol.57, No.4, p.272-275 (1985)
- 23) Gianutsos, G. and Murray, MT. : Alterations in brain dopamine and GABA following inorganic or organic manganese administration, *Neurotoxicology*, Vol.3, No.3, p.75-81 (1982)
 - 24) Yong, VW. et al. : Chronic organic manganese administration in the rat does not damage dopaminergic nigrostriatal neurons, *Neurotoxicology*, Vol.7, No.1, p.19-24 (1986)
 - 25) Halatek, T. et al. : Pulmonary response to methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl treatment in rats: injury and repair evaluation, *Histol Histopathol*, Vol.21, No.11, p.1181-1192 (2006)
 - 26) Komura, J. and Sakamoto, M. : Disposition, behavior, and toxicity of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl in the mouse, *Arch Environ Contam Toxicol*, Vol.23, No.4, p.473-475 (1992)
 - 27) Komura, J. and Sakamoto, M. : Chronic oral administration of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl altered brain biogenic amines in the mouse: comparison with inorganic manganese, *Toxicol Lett*, Vol.73, No.1, p.65-73 (1994)
 - 28) Zheng, W. et al. : Comparative toxicokinetics of manganese chloride and methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT) in Sprague-Dawley rats, *Toxicol Sci*, Vol.54, No.2, p.295-301 (2000)
 - 29) McGinley, PA. et al. : Disposition and toxicity of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl in the rat, *Toxicol Lett*, Vol.36, No.2, p.137-145 (1987)
 - 30) Clay, RJ. and Morris, JB. : Comparative pneumotoxicity of cyclopentadienyl manganese tricarbonyl and methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl, *Toxicol Appl Pharmacol*, Vol.98, No.3, p.434-443 (1989)
 - 31) Fishman, BE. et al. : Neurotoxic effects of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT) in the mouse: basis of MMT-induced seizure activity, *Toxicology*, Vol.45, No.2, p.193-201 (1987)
 - 32) Gwiazda, RH. et al. : Low cumulative manganese exposure affects striatal GABA but not dopamine, *Neurotoxicology*, Vol.23, No.1, p.69-76 (2002)
 - 33) Walsh, MP. : The global experience with lead in gasoline and the lessons we should apply to the use of MMT, *Am J Ind Med*, Vol.50, No.11, p.853-860 (2007)