

有機ヒ素化合物の細胞毒性試験の結果（速報）について

1. 目的

茨城県神栖市や神奈川県平塚市の地下水等からジフェニルアルシン酸(DPAA)等の有機ヒ素化合物が検出されているが、あか剤（くしゃみ剤）成分そのものであるジフェニルクロロアルシン（DA）やジフェニルシアノアルシン（DC）を含め、関連する有機ヒ素化合物の毒性を同一の試験系により相対的に評価した事例は少ない。

そこで、あか剤に関連する有機ヒ素化合物、無機ヒ素化合物及びその代謝物である有機ヒ素化合物等を用いて細胞毒性試験を実施し、IC50値(50% Inhibition Concentration：細胞内脱水素酵素活性の50%阻害濃度)により相対的な毒性評価を試みた。

2. 試験概要

ヒ素化合物等によって生じる細胞毒性を評価するため、ヒト子宮頸がん細胞(HeLa)に異なる濃度の被験物質を含む培地を加えて24時間培養した後、市販の細胞増殖測定キット(WST-8法)を用いて細胞内脱水素酵素活性を計測した。

WST-8は細胞内脱水素酵素により還元され、水溶性ホルマザンを生成する。生成されるホルマザン量は細胞内脱水素酵素活性に依存し、それらは直線的な比例関係にある。被験物質の毒性によって細胞増殖が抑制された場合、あるいは、細胞死が誘発され細胞数が減少した場合には、ホルマザン生成量が減少する。したがって、このホルマザンの生成量を吸光度(450nm)により測定することで、対照群に対する相対的な生細胞数を測定することができる。

本試験では、あか剤に関連する有機ヒ素化合物、無機ヒ素化合物及びその代謝物である有機ヒ素化合物等について細胞毒性試験を実施し、測定された吸光度を被験物質濃度の対数についてプロットし、対照群に対して吸光度が50%となる濃度(IC50値)を算出した。

3. 細胞毒性試験結果（速報）

細胞毒性試験から得られた阻害曲線より算出したIC50値及びジフェニルアルシン酸(DPAA)のIC50値を基準とした相対毒性値を表-1に示す。

ヒ素化合物の原子価状態(三価および五価)で毒性を比較したところ、明らかに五価に比べて三価のヒ素化合物の方が毒性が強い結果であった。

なお、細胞毒性試験の結果を評価するための補完情報を得るために、別途、理化学試験を実施しており、これまでに調製液中の被験物質の安定性について確認した。培地中の被験物質の安定性及び培地及び細胞内の被験物質ヒ素濃度の確認については、現在試験を実施している。

表 - 1 細胞毒性試験結果 (速報)

分類	化合物名	化学式	As の 価数	IC50 (mg/L)	相対毒性 ¹⁾
あか剤 及び関連する 有機ヒ素化合物	ジフェニルクロロアルシン (DA)	C ₁₂ H ₁₀ AsCl		0.801	200
	ジフェニルシアノアルシン (DC)	C ₁₃ H ₁₀ AsN		0.567	280
	ジフェニルアルシン酸 (DPAA)	C ₁₂ H ₁₁ AsO ₂		157	1
	フェニルアルソン酸 (PAA)	C ₆ H ₇ AsO ₃		>201	<0.78
	フェニルアルシンオキシド (PAO)	C ₆ H ₅ AsO		0.0557	2800
	ビス(ジフェニルアルシン)オキシド (BDPAO)	C ₂₄ H ₂₀ As ₂ O		0.707	220
	フェニルメチルアルシン酸 (PMAA)	C ₇ H ₉ AsO ₂		25.2	6.2
	トリフェニルアルシン (TPA)	C ₁₈ H ₁₅ As		200	0.78
	トリフェニルアルシンオキシド (TPAO)	C ₁₈ H ₁₅ AsO		460	0.34
無機ヒ素化合物	亜ヒ酸	As ₂ O ₃		1.64	96
	亜ヒ酸ナトリウム	NaAsO ₂		1.68	93
	五酸化二ヒ素(ヒ酸)	As ₂ O ₅		26.9	5.8
	ヒ酸カルシウム	Ca ₃ As ₂ O ₈		>42.2	<3.7
	ヒ酸水素二ナトリウム(七水和物)	Na ₂ HAsO ₄ · 7H ₂ O		83.6	1.9
無機ヒ素化合物 の代謝物である 有機ヒ素化合物	モノメチルアルソン酸 (MMA)	CH ₅ AsO ₃		886	0.18
	ジメチルアルシン酸 (DMAA)	C ₂ H ₇ AsO ₃		151	1.0
	アルセノベタイン (AsBe)	C ₅ H ₁₃ AsO ₂		算出されず ²⁾	-
かつて飼料添加剤 として使用された 有機ヒ素化合物	p-アルサニル酸	C ₆ H ₈ AsNO ₃		1410	0.11

1) DPAA の IC50 値を 1 としたときの相対値で、有効数字 2 ケタで表示

2) 被験物質最大濃度で 20% 以上の細胞内脱水素酵素活性阻害がないため、IC50 が算出されず

3) 別途実施したラットを用いた毒性試験では、DPAA、PAA、PMAA をそれぞれ 28 日間反復経口投与した結果、無影響量 (NOEL) はそれぞれ 0.3mg/kg/day、5.0mg/kg/day、1.2mg/kg/day であった