

ジフェニルアルシン酸（DPAA）の毒性試験報告書
（第2版）

平成23年6月

環境省総合環境政策局環境保健部 環境安全課

環境リスク評価室

リサイクル適正の表示：紙へリサイクル可

本冊子は、グリーン購入法に基づく基本方針における「印刷」に係る判断の基準にしたがい、印刷用の紙へのリサイクルに適した材料【A ランク】のみを用いて作製しています。

総合 評価値	92	古紙パルプ配合率	100%
		森林認証材パルプ利用割合および間伐材パルプ利用割合	0%
		その他の持続可能性を目指したパルプ利用割合	0%
		白色度	68%
		坪量	66 g/m ²

1. 目次

1.	目次	2
2.	緒言	5
3.	試験リスト	6
4.	ジフェニルアルシン酸 (DPAA) データ	8
5.	試験概要	9
5.1	一般毒性試験	9
5.1.1	DPAA ラット 28 日反復経口毒性試験	9
5.1.2	DPAA ラット 91 日反復経口毒性試験	15
5.1.3	DPAA 新生児ラット 28 日反復経口毒性試験	22
5.1.4	DPAA ラット 7 日反復経皮毒性試験	26
5.1.5	PMAA ラット 28 日反復経口毒性試験	26
5.1.6	MPAA ラット 28 日反復経口毒性試験	30
5.2	生殖毒性試験	30
5.2.1	DPAA ラット催奇形性試験	30
5.2.2	DPAA ラット初期胚発生 (受胎能～着床) に関する試験	30
5.2.3	DPAA ラット出生前後の発生・母動物に関する試験	30
5.2.3	DPAA ラット出生前後の発生・母動物に関する試験 (低用量追加試験)	30
5.3	遺伝毒性試験	30
5.3.1	DPAA 細菌を用いた復帰突然変異試験	30
5.3.2	DPAA ほ乳類細胞を用いた染色体異常試験	30
5.3.3	DPAA ラット小核試験	30
5.4	薬物動態試験	30
5.4.1	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の血液・血漿中濃度試験	30
5.4.2	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の体内分布試験	30
5.4.3	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の排泄・体内残留性試験	30
5.4.4	¹⁴ C 標識 DPAA を用いた <i>in vitro</i> 代謝試験	30
5.4.5	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の胎盤・胎児移行性試験	30
5.4.6	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の乳汁移行性試験	30
5.4.7	¹⁴ C 標識 DPAA を用いた幼若ラット単回投与時の体内分布試験	30
5.4.8	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット 7 日反復投与時の体内分布試験	30
5.4.9	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット脳内分布試験	30

5.4.10	¹⁴ C 標識 DPAA を用いた <i>in vitro</i> 血球移行性試験	30
5.4.11	¹⁴ C 標識 DPAA を用いた <i>in vitro</i> 血漿蛋白結合性試験	30
5.4.12	DPAA ラット 91 日反復経口毒性試験での肝薬物代謝酵素試験	30
5.4.13	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット 21 日反復投与時の脳内分布試験	30
5.4.14	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の胆汁中排泄試験	30
5.4.15	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット単回腹腔内投与時における治療候補物質併用投与時の排泄および体内残留性試験	30
5.4.15	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット反復経口投与時の胎盤・胎児移行性試験（出生前後における反復投与時の児動物への移行）	30
5.5	物質特性試験	30
5.5.1	DPAA 解離定数測定試験	30
5.5.2	DPAA 分配係数測定試験	30
6.	総括	30
6.1	DPAA の体内動態	30
6.1.1	吸収	30
6.1.2	分布	30
6.1.3	代謝	30
6.1.4	排泄	30
6.2	DPAA の一般毒性	30
6.2.1	神経毒性	30
6.2.2	血液・造血器毒性	30
6.2.3	肝毒性	30
6.2.4	その他の影響	30
6.2.5	一般毒性試験における無影響量	30
6.3	DPAA の生殖発生毒性	30
6.4	DPAA の遺伝毒性	30
6.5	DPAA 関連物質（PMAA および MPAA）の毒性	30

【監修】

本報告書は環境省からの請負事業の毒性試験および薬物動態試験の結果に基づき，DPAA 毒性ワーキングチームによる監修を経て作成された。DPAA 毒性ワーキングチームのメンバーを以下に示す。

- | | |
|---------|---|
| 青山 博昭 | 財団法人 残留農薬研究所 毒性部部长 |
| 井上 達 | 独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 新薬審査第一部 テクニカルエキスパート |
| ○ 櫻井 治彦 | 財団法人 産業医学振興財団 理事長
中央労働災害防止協会 労働衛生調査分析センター 技術顧問 |
| 清水 英佑 | 東京慈恵会医科大学 名誉教授 |
| 平野 靖史郎 | 独立行政法人 国立環境研究所 環境リスク研究センター 健康リスク研究室室長 |
| 宮川 宗之 | 独立行政法人 労働安全衛生総合研究所 健康障害予防研究グループ部長 |
| 鰐淵 英機 | 大阪市立大学大学院 医学研究科 教授 |

(座長：○)

2. 緒言

茨城県神栖市において、通常自然界に存在しない有機ヒ素化合物であるジフェニルアルシン酸（以下、DPAA）等による環境汚染に起因すると考えられる健康被害が生じたことを契機として、平成15年6月の閣議了解および同年12月の閣議決定に基づき、環境省においては、緊急措置事業として、DPAAによる症候及び病態について解明を図っているところである。

ラットを用いてDPAAに関する毒性試験を実施した結果、多くの知見を得ることができ、平成18年度11月「ジフェニルアルシン酸（DPAA）の毒性試験報告書」をとりまとめた。また、DPAAが中枢および末梢神経に長く留まる傾向が指摘されたこと、DPAAを出生前後に反復投与した試験において、児動物に行動試験の一部で影響が観察されたこと、DPAAの体外排泄に関して、胆汁からの排泄および体外排泄を促進する治療候補物質について検討する必要性が生じたことなど、追加試験が必要な課題についても明らかとなり、その後も毒性試験を実施し多くの知見が得られた。そこで、この度、毒性試験報告書を改訂することとなった。

なお、本報告書では、環境省が試験機関に直接委託し、実施した毒性試験の結果のみをとりまとめており、他の調査研究においてもDPAAの毒性試験が行われていることに留意する。また、本報告書における試験については、OECDのGLP原則に準拠した基準に適合する試験施設にて実施されたものである。

About this report

In 2003, health damages were observed among residents ingesting diphenylarsinic acid (DPAA) in groundwater in Kamisu City (then Kamisu Town). In the absence of knowledge on the toxicity of DPAA, the Ministry of the Environment commissioned several toxicity and pharmacokinetics tests of DPAA and other related substances, including 28 and 91 day repeated dose tests and reproductive toxicity tests. This report, first published in 2006 and revised in 2011, summarizes the results from these tests conducted by 2011.

3. 試験リスト

コード	試験略名	試験番号
一般毒性試験 (A)		
A-1	DPAA ラット 28 日反復経口毒性試験	B031825
A-2	DPAA ラット 91 日反復経口毒性試験	B041213
A-3	DPAA 新生児ラット 28 日反復経口毒性試験	B041296
A-4	DPAA ラット 7 日反復経皮毒性試験	B040272
A-5	PMAA ラット 28 日反復経口毒性試験	B050132
A-6	MMAA ラット 28 日反復経口毒性試験	B050572
生殖毒性試験 (B)		
B-1	DPAA ラット催奇形性試験	B041215
B-2	DPAA ラット初期胚発生 (受胎能～着床) に関する試験	B041587
B-3	DPAA ラット出生前後の発生・母動物に関する試験	B041589
B-4	DPAA のラット出生前後の発生・母動物に関する試験 (低用量追加試験) *1	SBL801-001
遺伝毒性試験 (C)		
C-1	DPAA 細菌を用いた復帰突然変異試験 (Ames 試験)	B041297
C-2	DPAA ほ乳類細胞を用いた染色体異常試験	B041298
C-3	DPAA ラット小核試験	B041300
薬物動態試験 (D)		
D-1	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の血液・血漿中濃度試験	B041305
D-2	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の体内分布試験	B041306
D-3	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の排泄・体内残留性試験	B041307
D-4	¹⁴ C 標識 DPAA を用いた <i>in vitro</i> 代謝試験	B041308
D-5	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の胎盤・胎児移行性試験	B050299
D-6	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の乳汁移行性試験	B050300
D-7	¹⁴ C 標識 DPAA を用いた幼若ラット単回投与時の体内分布試験	B050301
D-8	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット 7 日反復投与時の体内分布試験	B050302
D-9	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット脳内分布試験	B050303
D-10	¹⁴ C 標識 DPAA を用いた <i>in vitro</i> 血球移行性試験	B041594
D-11	¹⁴ C 標識 DPAA を用いた <i>in vitro</i> 血漿蛋白結合性試験	B041593
D-12	DPAA ラット 91 日反復経口毒性試験での肝薬物代謝酵素試験	B041592
D-13	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット 21 日反復投与時の脳内分布試験*1	B091269
D-14	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット単回投与時の胆汁中排泄試験*1	B091270

薬物動態試験 (D)		
D-15	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット単回腹腔内投与時における治療候補物質併用投与時の排泄および体内残留性試験 ^{*1}	B090271
D-16	¹⁴ C 標識 DPAA を用いたラット反復経口投与時の胎盤・胎児移行性試験 (出生前後における反復投与時の児動物への移行) ^{*1}	B101275
物質特性試験 (E)		
E-1	DPAA 解離定数測定試験	D050031
E-2	DPAA 分配係数測定試験	D050032

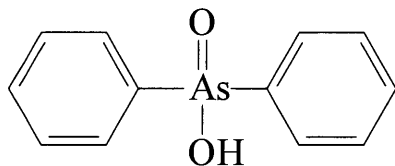
*1：平成 18 年度 11 月に作成した「ジフェニルアルシン酸 (DPAA) の毒性試験報告書」以降に実施した追加試験

4. ジフェニルアルシン酸 (DPAA) データ

Diphenylarsinic acid (DPAA)

分子式 : $C_{12}H_{11}O_2As$

構造式 :



分子量 : 262

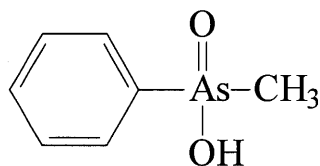
性 状 : 常温において白色の固体

融 点 : 170°C

また, DPAA の関連物質であるフェニルメチルアルシン酸 (PMAA) およびモノフェニルアルソン酸 (MPAA) の情報を以下に示した.

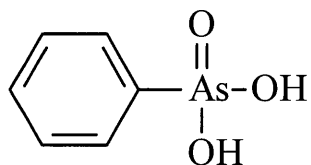
Phenylmethylarsinic acid (PMAA)

構造式 :



Phenylarsonic acid (MPAA)

構造式 :



5. 試験概要

5.1 一般毒性試験

5.1.1 DPAA ラット 28 日反復経口毒性試験

コード番号： A-1

試験番号： B031825

DPAA を 0, 0.3, 1.2 および 5.0 mg/kg の用量（用量設定試験の結果から設定）で雌雄の SD 系ラット [Crj:CD(SD)IGS, SPF] に 28 日間反復経口投与し、現れる生体の機能および形態の変化を観察し、その毒性と回復性を評価した。

群構成

群名	投与期間終了後解剖		回復期間終了後解剖	
	雄	雌	雄	雌
対照	5	5	5	5
0.3 mg/kg	5	5	—	—
1.2 mg/kg	5	5	—	—
5.0 mg/kg	5	5	5	5

観察・測定項目

一般状態

投与期間は 1 日 2 回（投与前，投与後約 30 分）観察した。その他の期間は 1 日 1 回午前中に観察した。

行動検査

以下に示す詳細な症状観察は、投与開始前日に 1 回、投与期間中に毎週 1 回、いずれも午後に行った。機能検査および自発運動量の測定については、第 4 週の午後に 1 回実施した。投与期間中の検査で被験物質の影響が疑われる変化が認められたため、回復期間中にも同様に詳細な症状観察を毎週 1 回午後に、機能検査および自発運動量の測定を第 6 週の午後に 1 回実施した。なお、いずれの検査においても雌については 5.0 mg/kg 群に生存例が存在しなかったため、対照群を含めて検査は実施しなかった。

自発運動量の測定時にはオートクレーブ滅菌したポリカーボネート製ケージ（TR-PC-200, 265W×426D×200H mm, トキワ科学器械株式会社）内に個別飼育とし、自発運動量の測定を除いて、各動物に動物番号とは無関係な検査番号をランダムに付加したブラインド検査とするとともに、可能な限り当該試験の投与および観察に従事していない者が実施した。

(1) 詳細な症状観察

(a) ホームケージ内での観察

ホームケージ内での動物の様子を静かに1分間観察した。

検査項目：振戦，間代性痙攣，強直性痙攣，呼吸

(b) ハンドリング時の観察

動物の体軀をやさしく背側から掴み，ケージから取り出して観察した。

検査項目：ケージからの取り出し易さ，ハンドリングに対する反応，攻撃性，皮膚（外傷，皮膚の色調），被毛（被毛の汚れ），眼（眼球突出，眼瞼閉鎖状態），粘膜（結膜の色調），分泌物，流涙，流涎，立毛，瞳孔径

(c) オープンフィールドでの観察

オープンフィールドの中心に動物をおいてから静かに2分間観察した。オープンフィールドに動物を入れる前に，その床を硬く搾った布で水拭きした。

検査項目：立ち上がり，覚醒度，排尿，排便，体位・姿勢，呼吸，運動協調性，歩行の異常，振戦，間代性痙攣，強直性痙攣，常同行動，異常行動

(2) 機能検査

(a) 刺激に対する反応性

オープンフィールド内で検査した。

検査項目：接近反応，接触反応，聴覚反応，テールピンチ反応，空中正向反射

(b) 握力測定

デジタルフォースゲージ（DPS-5，株式会社イマダ）を用いて測定した。

検査項目：前肢握力，後肢握力

なお，第4週の検査において，一部の動物（動物番号：10405，10409および50406）が握力測定装置を握らなかったため，データが欠失した。また，雄の第6週の検査では5.0 mg/kg群の動物数が2例であったことから，統計学的解析を実施しなかった。

(3) 自発運動量の測定

自発運動量測定装置（SUPERMEX，室町機械株式会社）を用いた。投与後の観察終了後，ポリカーボネート製ケージに動物を移し，ケージ馴化を行った。測定直前に新たなポリカーボネート製ケージに交換し，1時間測定した。なお，測定値は測定開始から10分毎に集計した。なお，雄の第6週の検査では5.0 mg/kg群の動物数が2例であったことから，統計学的解析を実施しなかった。

体重

全例の体重を投与期間中は第1，8，15，22および28日に，回復期間中は第29，36および42日に電子天秤（PB3002-S，メトラー・トレド株式会社）を用いて測定した。また，計画解剖日ならびに死亡動物については死亡発見時にも測定した。

摂餌量

ケージごとに風袋込み重量を電子天秤（PB3002-S，メトラー・トレド株式会社）を用いて測

定し、第1～8, 8～15, 15～22, 22～27, 29～36 および 36～41 日の測定日間における1匹あたりの1日平均摂餌量を算出した。摂餌量は測定期間の終了日で表示した。

血液学的検査

投与および回復期間終了後の計画解剖日（第29および43日）に全対象動物を前日の夕方より絶食し、チオペンタールナトリウム（ラボナール、田辺製薬株式会社）を腹腔内投与して麻酔し、後大静脈より採血した。採取した血液を用いて次に示す項目を測定した。プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間の項目の測定には、凝固阻止剤として3.2w/v%クエン酸三ナトリウム水溶液を使用し、遠心分離（12000 rpm, 約12000 g, 3分間, 約4°C）して得られた血漿を用いた。その他の項目の測定には、凝固阻止剤 EDTA-2K で処理した血液を用いた。

項目	方法	測定機器
赤血球数 (RBC)	球状化処理二次元レーザーFCM法	(a)
ヘモグロビン濃度 (Hb)	シアンメトヘモグロビン法	(a)
ヘマトクリット値 (Ht)	球状化処理二次元レーザーFCM法	(a)
平均赤血球容積 (MCV)	RBC と Ht より算出	-
平均赤血球血色素量 (MCH)	RBC と Hb より算出	-
平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	Hb と Ht より算出	-
網赤血球数 (Ret)	RNA 染色によるレーザーFCM法	(a)
血小板数 (PLT)	球状化処理二次元レーザーFCM法	(a)
プロトロンビン時間 (PT)	光散乱検出方式	(b)
活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)	光散乱検出方式	(b)
白血球数 (WBC)	酸性界面活性剤によるレーザーFCM法	(a)
WBC 分類 (WBC Diff.)	ペルオキシダーゼ染色による FCM 法および酸性界面活性剤によるレーザーFCM法	(a)

測定機器：

(a), ADVIA120 (バイエル メディカル株式会社)

(b), CA-510 (シスメックス株式会社)

血清生化学的検査

各計画解剖時に採取した血液の一部を室温で約30分間以上静置後、遠心分離（3000 rpm, 2050 g, 10分間, 約4°C）し、得られた血清を用いて次の項目を測定した。