

た DPAA が体毛中に排出されて再分布した可能性も考えられた^{8,9)}。

一方、乳汁については、雌ラットに¹⁴C 標識 DPAA 0.3 mg/kg を単回経口投与した乳汁移行性試験で DPAA の乳汁中濃度は血漿中濃度を超えることはなく、血漿中とほぼ同程度の半減期で消失したことから、DPAA は特に乳汁中に排泄されやすい物質ではないと考えられた³⁾。

なお、DPAA の体外排泄を促進する薬剤としてコレスチミド（陰イオン交換樹脂製剤）の利用が考えられたが^{13,14)}、コレスチミドを反復経口投与した雄ラットに DPAA 0.1 mg/kg を単回腹腔内投与³⁾ 又は 1 mgAs/kg を単回経口投与¹⁵⁾ した試験では DPAA の排泄率に大きな変化はなく、組織によっては体内残留性は低下する傾向がみられたが、排泄促進効果は低いものと考えられた。

4. 動物実験等による DPAA の毒性

4.1 急性毒性

DPAA の急性毒性については、NIOSH(米国国立労働安全衛生研究所)の RTECS[®](Registry of Toxic Effects of Chemical Substances[®]) にマウスに単回経口投与したときの半数致死濃度 (LD₅₀) として 17 mg/kg という値が収録されていたが¹⁶⁾、これはロシアの図書を引用したチェコの毒性データ集が出典となっており、同データ集を確認したところ、MoDL = 0.017 g/kg¹⁷⁾ と記載されていた。MoDL は mouse oral dosis letalis (マウス経口致死量) の略で、マウスに 17 mg/kg を経口投与した時に死亡がみられたということの意味しており、致死率は不明 (LD₅₀ は間違い) であった。なお、これをヒ素換算すると、DPAA の分子量が 262.14、ヒ素の原子量が 74.92 であるため、4.9 mgAs/kg (= 17 ÷ 262.14 × 74.92) となる。

LD₅₀ に関しては、値のみの報告という論文も多く、毒性の概要を知る上では有用であっても、信頼性の評価が困難な場合が少なくない。このため、信頼性があると思われる WHO (2001) の EHC 224 に収録された無機ヒ素化合物の LD₅₀ を表 4-1 に、有機ヒ素化合物の LD₅₀ を表 4-2 に示す¹⁸⁾。

無機ヒ素化合物についてみると、亜ヒ酸 (強制経口投与) の 20 mg/kg、亜ヒ酸ナトリウムの (筋肉内注射) の 14 mg/kg が最小レベルの LD₅₀ であるが、亜ヒ酸では餌に混ぜて投与した場合には約 10 倍、ゼラチンカプセルに入れて投与した場合には約 20 倍大きく、投与方法による差が大きい。

一方、無機ヒ素化合物の代謝産物であるモノメチルアルソン酸 (MMA) やジメチルアルシン酸 (DMAA)、トリメチルアルシンオキサイド (TMAO)、海産物などに多く含まれるアルセノベタインなどの有機ヒ素化合物の LD₅₀ は無機ヒ素化合物の値よりも概ね 10 倍以上大きいが、MMA では雌ラットの齢、DMA ではラットの性の違いで LD₅₀ に倍以上の差がみられている。

表 4-1 EHC 224 に収録のあった無機ヒ素化合物の LD₅₀ (急性)

無機ヒ素化合物	動物種	齢	性	経路	LD ₅₀ (mgAs/kg)	LD ₅₀ (mg/kg)	出典
亜ヒ酸	マウス	幼若	雄	経口	26-39	34.1-52.5	Harrison <i>et al.</i> (1958)
亜ヒ酸	マウス	離乳児	雄	経口	26	34.5	Kaise <i>et al.</i> (1985)
亜ヒ酸	ラット	成体	雄・雌	経口	15	20	Harrison <i>et al.</i> (1958)
亜ヒ酸	ラット	成体	雄・雌	経口 ^a	145	188	Harrison <i>et al.</i> (1958)
亜ヒ酸	ラット	成体	雄・雌	経口 ^b	293	385	Done & Peart (1971)
亜ヒ酸ナトリウム	ラット	成体	雄・雌	経口 ^b	24	42	Done & Peart (1971)
亜ヒ酸ナトリウム	マウス	幼若	雄	筋肉内	8	14	Bencko <i>et al.</i> (1978)
ヒ酸ナトリウム	マウス	幼若	雄	筋肉内	21	87	Bencko <i>et al.</i> (1978)
亜ヒ酸ナトリウム	ラット	幼若	不明	腹腔内	4-5 ^c	9.7-10.9 ^c	Franke & Moxon (1936)
ヒ酸ナトリウム	ラット	幼若	不明	腹腔内	14-18 ^c	34-44 ^c	Franke & Moxon (1936)
ヒ酸カルシウム	ラット	成体	雌	経口	53	298	Gaines (1960)
ヒ酸鉛	ラット	成体	雌	経口	231	1,050	Gaines (1960)
ヒ酸カルシウム	ラット	成体	雌	経皮	> 400	> 2,400	Gaines (1960)
ヒ酸鉛	ラット	成体	雌	経皮	> 500	> 2,400	Gaines (1960)

注：a は餌に混ぜて投与、b はゼラチンカプセルに入れて投与した試験、c は LD₇₅ 値を示す。

経口；強制経口投与 (a、b 以外)、筋肉内；筋肉内注射、腹腔内；腹腔内投与、経皮；皮膚塗布

表 4-2 EHC 224 に収録のあった有機ヒ素化合物の LD₅₀ (急性)

有機ヒ素化合物	動物種	齢	性	経路	LD ₅₀ (mg/kg)	出典
MMA	ラット	成体	雄	経口	1,101	Gaines & Linder (1986)
MMA	ラット	成体	雌	経口	961	Gaines & Linder (1986)
MMA	ラット	離乳児	雌	経口	> 2,200	Gaines & Linder (1986)
MMA	マウス	離乳児	雄	経口	1,800	Kaise <i>et al.</i> (1989)
DMAA	ラット	成体	雄	経口	1,315	Gaines & Linder (1986)
DMAA	ラット	成体	雌	経口	644	Gaines & Linder (1986)
DMAA	ラット	離乳児	雄	経口	1,433	Gaines & Linder (1986)
DMAA	マウス	離乳児	雄	経口	1,800	Kaise <i>et al.</i> (1989)
TMO	マウス	離乳児	雄	経口	10,600	Kaise <i>et al.</i> (1989)
アルセバチン	マウス	離乳児	雄	経口	>10,000	Kaise <i>et al.</i> (1985)
テトラメチルアルソニウムクロライド	マウス	離乳児	雄	経口	580	Shiomi <i>et al.</i> (1988b)
テトラメチルアルソニウムイodate	マウス	離乳児	雄	経口	890	Shiomi <i>et al.</i> (1988b)

DPAA は自然界には通常存在しない有機ヒ素化合物で、そのばく露は DPAA を含む井戸水の飲用にほぼ限られることから、飲水投与による LD₅₀ の比較が望まれるが、そのようなデータは得られなかった。

4.2 短～中期毒性

DPAA を反復投与した一般毒性試験（短～中期毒性）結果の概要を付録の別表 1 に示した。

また、DPAA の関連物質であるモノフェニルアルソン酸 (MPAA) の結果を別表 2 に、フェニルメチルアルシン酸 (PMAA) の結果を別表 3 に示した。

ラットでは 5 mg/kg/day を 28 日間強制経口投与すると雄は 10 匹中 3 匹（以下、3/10 匹と記載する。このうち 1 匹は事故死、1 匹は回復期間 3 日目）、雌は 6/10 匹が死亡したが³⁾、雄マウスでは 5 mg/kg/day を 5 週間強制経口投与しても死亡はなく^{19, 20)}、さらにマウスの標準的な飲水量 0.19 L/kg/day²¹⁾ による用量換算値ではあったが、飲水に添加して経口投与（飲水投与）した雄マウスでは約 6、19 mg/kg/day の 27 週間経口投与でも死亡はそれぞれ 1/10 匹、3/10 匹と少なかった²⁴⁾。

神経系への影響は高用量群のラット^{3, 22, 23)}、マウス^{19, 20, 24, 25)}、カニクイザル^{12, 26)} でそれぞれ認められている。しかし、5 mg/kg/day の経口投与でラットには 10～15 日でほぼ全数に神経学的異常（振戦）が現れたが^{3, 22)}、マウスでの出現は遅く、約 5 週間後になって全数にみられた¹⁹⁾。また、2 mg/kg/day の経口投与で雄ラットには 71 日目から神経学的異常（振戦）が現れ、78 日目以降は約半数でみられるようになったが、雌ラットには神経学的異常の出現はなく³⁾、雄ラットへの飲水投与（1.8 mg/kg/day）では 21 週間の投与でも振戦などの神経症状はみられなかった²⁷⁾。雌サルでは 2 mg/kg/day の 100 日間の経口投与で 1/2 匹にミオクローヌス様の症状が投与後に複数回みられただけであり^{12, 26)}、妊娠 50 日の雌サルに 1 mg/kg/day を約 100 日間経口投与した試験¹²⁾、雌雄のサルに 1 mg/kg/day を 28 日間経口投与した試験¹⁰⁾ では行動の変化や神経症状はなかった。

肝臓への影響については、ラットでは 28 日間経口投与の 5 mg/kg/day 群、91 日間経口投与の 2 mg/kg/day 群、マウスでは 5 週間経口投与の 5 mg/kg/day 群で重量の増加、GOT や GPT、ALP、総

ビリルビンなどの肝臓及び胆道系障害を示唆する数値の上昇、肝臓組織の変性がみられている^{3,19)}。サルでは2 mg/kg/dayの100日間の経口投与でもこれらの酵素活性の数値に異常はなかったが^{12,26)}、1 mg/kg/dayを28日間経口投与した雌雄のサルでは組織の変性(胆管増生、グリソン鞘の炎症性細胞浸潤)がみられた²⁸⁾。

ラットでは28日間経口投与の1.2、5 mg/kg/day群、91日間経口投与の2 mg/kg/day群で赤血球数やヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の低下などの貧血傾向がみられた。しかし、28日間投与では血液の酸素運搬能低下を代償する網赤血球数の増加はみられず、骨髄の造血細胞数が減少していたのに対し、91日間投与では網赤血球数は増加したものの骨髄に異常はなく、相反する反応を示していた³⁾。一方、サルでは2 mg/kg/dayの100日間経口投与でも血液への影響はみられていない^{12,26)}。

この他、ラットでは28日間経口投与の5 mg/kg/day群、91日間経口投与の2 mg/kg/day群で胸腺への影響が認められ、免疫系への影響を精査するために実施したリンパ球サブセット解析ではDPAAに起因した変化は認められなかった³⁾。

新生児期にDPAAを投与した時の影響については、生後4日齢のラットに28日間強制経口投与した試験で、0.3、1 mg/kg/day群の雄の赤血球数が有意に低かったが、赤血球の変化は軽微なもので、正常と考えられる範囲を逸脱するようなものではなく、この時期は赤血球数が急激に増加する時期に当たるが、造血系器官への影響や代償作用による変化もみられなかった。この他には、1 mg/kg/day群の雌雄で肝臓組織、雌で体重や肝臓重量への影響などがみられたが、行動の変化や神経症状の出現はなく、DPAAは若齢動物に対して特別に強い毒性作用を有するとは考えられなかった³⁾。

これらのことから、DPAAの主要な標的組織は中枢・末梢神経系、肝臓及び胆道系、血液と考えられたが、DPAAの毒性には種差があり、ラットの感受性が最も高く、血液影響もラットに特異的であることが示唆された。

DPAA投与中止後の回復性については、ラットの28日間経口投与、91日間経口投与の試験で回復期間終了時にはDPAAによって発現した変化のほとんどで、消失、変化の程度や発現の減少がみられ、回復性が認められたことから、回復性は良好と考えられた。ラットの28日間投与では5 mg/kg/day群で14日間の回復期間終了時にも1/2匹に振戦がみられたが、91日間投与の2 mg/kg/day群では2週間内に振戦は消失した³⁾。

DPAAの関連物質であるMPAAの28日間経口投与では、中枢・末梢神経系への影響は最高用量群(15 mg/kg/day)の2/10匹で死亡前日に振戦がみられただけであり、PMAAの28日間経口投与では最高用量群(5 mg/kg/day)でも中枢・末梢神経系への影響はみられなかったが、肝臓への影響がともに最高用量群でみられた。これらの結果から、DPAA及び関連物質の毒性を比較すると、DPAA>PMAA>MPAAの順であった³⁾。

なお、経皮吸収による影響については、1,000 mg/kg/dayという高用量での7日間皮膚塗布で黄色尿や肝臓の腫大などのDPAAによると考えられる毒性作用はみられたが、中枢・末梢神経系への影響は出現しなかった³⁾。

4.3 長期毒性

DPAA を反復投与した一般毒性試験（長期毒性）結果の概要を付録の別表 4 に示した。

雌雄のラットに 0、5、10、20 ppm の濃度で DPAA を 1 年間飲水投与した試験では、飲水量から求めた投与量は雄で 0、0.26、0.48、0.95 mg/kg/day、雌で 0、0.35、0.70、1.35 mg/kg/day であり、いずれの群にも一般状態への影響はなく、神経症状は出現しなかった。20 ppm 群の雌で肝臓及び脾臓の重量増加、ALP、 γ -GTP の上昇に有意差を認め、雌雄の全数で総胆管の拡張や上皮過形成、開口部の狭窄がみられた。なお、20 ppm 群でみられた雄の血小板増加、雌のヘマトクリット値減少は有意差のある変化であったが、どちらも用量相関性がなく、変動も軽微なため、毒性学的意義は乏しいと考えられた²⁹⁾。

また、雌雄のラットに 0、5、10、20 ppm の濃度で DPAA を 2 年間飲水投与した試験では、飲水量から求めた投与量は雄で 0、0.23、0.45、0.91 mg/kg/day、雌で 0、0.32、0.65、1.3 mg/kg/day であり、いずれの群にも神経症状の出現はなかったが、20 ppm 群の雌で黄疸がみられ、同群の雌で生存率、雌雄で最終体重は有意に低かった。肝臓の絶対重量及び相対重量は雄の 10 ppm 以上の群及び雌の 20 ppm 群で有意に増加し、死亡又は瀕死となって屠殺した 20 ppm 群の雌 33/51 匹で総胆管開口部の狭窄とそれによる総胆管の拡張、肝内胆管の増生を認め、79 週までに死亡又は瀕死となって屠殺した 20 ppm 群の雄 4 匹中の 3 匹でも総胆管の拡張がみられた^{29,30)}。

これらの結果から、DPAA はラットの胆道系に毒性を示し、DPAA による胆道系障害に対する感受性は雌の方が高いことが明らかとなった^{29,30)}。

このように、短～中期間の DPAA 投与（1.2～5 mg/kg/day）でラットにみられた血液、神経系、肝臓及び胆道系への影響のうち、長期間の DPAA 投与（0.66～1.35 mg/kg/day）で認めた影響は肝臓及び胆道系への影響だけであった。

4.4 生殖・発生毒性（次世代への影響）

DPAA の生殖・発生毒性（次世代への影響）試験結果の概要を付録の別表 5 に示した。

ラットでは外表系や内臓系、骨格系の奇形や変異の発生率に有意な増加はなく³⁾、サルでも形態異常はみられていないことから¹²⁾、DPAA には催奇形性はないものと考えられた。

生殖能に対する影響については、交尾前 14 日から交尾期間を経て妊娠 7 日目まで強制経口投与したラットの 3 mg/kg/day 群で状態悪化に伴う二次的な交尾率の低下がみられたが、受胎率には影響はなかった。また、初期胚発生への影響として黄体数、着床数及び生存胚数の低下、早期死亡胚数、着床前後ならびに総胚死亡率の増加が認められ、原因として雌雄の状態悪化に伴う変化と雌雄生殖器への直接的・間接的な影響により生じた変化の可能性が考えられた³⁾。

妊娠期及び授乳期に母体を介して DPAA にばく露された新生児に対する影響については、ラットでは生存率や一般状態、体重、生後形態分化、反射反応性、運動協調機能、学習機能、生殖機能のいずれにも影響はなかった。妊娠 7 日目から分娩を経て授乳 20 日目まで強制経口投与したラットの児（F₁）を用いて生後 4～5 週齢時に実施したオープンフィールド試験では、測定項目（行動潜時、区画移動数、立ち上がり回数、身繕い又は洗顔回数、脱糞数、排尿回数）のうち、雄では最低

用量の 0.1 mg/kg/day 群を含めた全ての投与群で立ち上がり回数と身繕い又は洗顔回数が有意に減少したが、雌では最高用量の 1 mg/kg/day 群を含めた全ての投与群でいずれの項目にも有意な影響はなかった。しかし、8~9 週齢時に別の児で実施した試験では雄の 0.3、1 mg/kg/day 群、雌の 0.1、0.3 mg/kg/day 群で立ち上がり回数が有意に減少した。このため、妊娠 7 日目から 0、0.01、0.03、0.1 mg/kg/day を同様に経口投与したラットの児で 4、8 週齢にオープンフィールド試験を実施して再検討した結果、4 週齢の試験時に 0.1 mg/kg/day 群の雌で立ち上がり回数が有意に減少した以外には、いずれの群の検査項目にも有意な差はなく、初回の試験時に 0.1 mg/kg/day 群でみられた 4 週齢時の変化は雌雄が逆転し、8 週齢の変化には再現性がなかった。オープンフィールド試験は、神経毒性・発達神経毒性の評価において、活動性や探索行動を測定する試験としてしばしば用いられるものの、スクリーニング試験として位置付けられるものであり、各測定項目の意味付けは困難であるが、0.03 mg/kg/day では同試験で通常使用されるいずれの測定項目にも影響のないことが確認された³⁾。

妊娠 50 日目から出産までの約 100 日間に 1 mg/kg/day を強制経口投与してばく露させたサルの子で、生後 30~40 日に実施した神経機能検査（握力、疼痛反応、聴覚反応、瞳孔反応）に影響はみられなかった¹²⁾。一方、授乳期間を通して 5 mg/L の濃度で親に飲水投与し、母乳を介して DPAA をばく露させたマウスの児では、7 週齢以降に実施した回転棒試験で 7 日間のトレーニング日数に伴う成績の向上（回転棒から落下するまでの時間の延長、落下回数の減少）は対照群に比べて劣り、明暗試験法及び高架式十字迷路試験で不安感受性の亢進がみられたと報告されている²⁵⁾。マウスでは母乳を介した DPAA の影響として児の情動性の変化が示唆されているが、ラットでは乳汁を介した DPAA の移行は多くないことから、他の行動試験方法などを組み合わせた総合的な評価が必要と考えられた。

4.5 遺伝子傷害性

in vitro 試験系では、ネズミチフス菌 (TA100、TA1535、TA98、TA1537)、大腸菌 (WP2*uvrA*/pKM101) の 5 菌株を用いた復帰突然変異試験では、代謝活性化系 (S9 mix) 添加の有無にかかわらず陰性の結果が得られ、DPAA は変異原性を有さないと考えられた³⁾。

チャイニーズハムスター肺細胞株 (CHL/IU 細胞) を用いた染色体異常試験では、S9 mix 添加の有無によらず染色体構造異常を誘発し、染色体構造異常の D₂₀ 値（分裂中期細胞の 20% に異常を誘発させるために必要な用量）は短時間処理法の S9 mix 無添加の条件下で 0.93 mg/mL、S9 mix 添加の条件下で 0.92~0.99 mg/mL、連続処理法 24 時間処理で 0.11 mg/mL であった。しかし、数的異常については、短時間処理法 S9 mix 添加の条件下で用量依存性のない誘発がみられたが、その他の条件で数的異常細胞の出現頻度は 5% 未満であった³⁾。また、チャイニーズハムスター肺線維芽細胞株 (V79 細胞) でも 24、48 時間処理の高濃度域で染色体構造異常を誘発したが、それほど高頻度ではなかった。数的異常については 24 時間処理で誘発されなかったが、48 時間処理では低い頻度で誘発がみられた。なお、有糸分裂指数の上昇を引き起こした条件では、時間及び濃度依存的に分裂期細胞の中心体異常及びこれらに関連した紡錘体異常の誘発がみられた^{31,32)}。

in vivo 試験系では、ラットの雌雄に DPAA を経口投与して実施した小核試験では、骨髄細胞の小

核頻度は対照群と有意差がなく、DPAA は小核誘発性を有さない（陰性）と考えられた³⁾。

4.6 発がん性

DPAA を反復投与した発がん性試験結果の概要を付録の別表 6 に示した。

雄ラットに発がん性のあるジエチルニトロソアミン (DEN) 0、200 mg/kg を腹腔内投与した 2 週間後から 0、5、10、20 ppm の濃度で DPAA の飲水投与を開始し、DPAA 投与開始の 1 週間後に肝臓の 2/3 を部分切除して 6 週間 DPAA の投与を続けた結果、肝臓の前がん病変の指標である GST-P 陽性細胞巢は DEN 処置群でのみ観察され、DEN 処置した 20 ppm (1.6 mg/kg/day) 群でその数と面積は有意に増加した。この結果から、DPAA は肝発がんを促進する（プロモーター）作用があると考えられた。なお、DPAA の肝発がん促進作用機序に薬物代謝酵素の CYP1B1 の誘導が関与する可能性が示唆され、酸化 DNA 障害は DPAA の肝発がん促進作用には関与しないと考えられた²⁷⁾。

このため、0、5、10、20 ppm の濃度でラットに 2 年間 DPAA を飲水投与した試験を実施したが、雌雄のラットで発生率の有意な増加を示した腫瘍はなかったことから、DPAA にはラットに対する発がん性はないと判断された³⁰⁾。ただし、DPAA は肝発がん促進作用を有すると示唆されたこと、複数の動物種で実施した試験結果から発がん性が評価されることに留意が必要である。

4.7 細胞毒性

これまで、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) といったあか剤（くしゃみ剤）成分そのもの、その関連物質の DPAA、MPAA、PMAA などの有機ヒ素化合物に関する情報は限られたものしかなく、これらの毒性について同一の生物種・試験系により同一機関で試験し、相対的に評価した事例は少なかった。このため、あか剤とその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の合計 18 種類のヒ素化合物について毒性試験を行い、それらの毒性を相対的に比較することとした。この場合、ラットなどの実験動物を用いて死亡をエンドポイントにした急性毒性試験の実施も考えられたが、評価の主目的が毒性の相対比較であること、ヒ素の毒性は細胞内のチオール (SH) 基との結合による細胞代謝の阻害と考えられることなどから、動物愛護の精神も考慮し、細胞毒性試験により評価を行うこととした。

細胞毒性試験では幾つかの細胞種を候補としたが、再現性や取り扱い性を考慮し、最も多用されている細胞種の一つであるヒト子宮頸癌細胞株 (HeLa 細胞) を採用し、異なった濃度でヒ素化合物を含む培地で HeLa 細胞を 24 時間培養した後、細胞内脱水素酵素活性を測定した³³⁾。

各ヒ素化合物について、細胞内脱水素酵素活性の阻害曲線より算出した 50% 阻害濃度 (IC₅₀) 及び DPAA の IC₅₀ を基準とした相対毒性 (DPAA の IC₅₀ / ヒ素化合物の IC₅₀) を表 4-3、図 4-1 に示す。

HeLa 細胞では、DPAA の細胞毒性は無機ヒ素化合物の代謝物である有機ヒ素化合物のジメチルアルシン酸 (DMAA) とほぼ同じであり、ヒ素化合物の原子価状態（三価及び五価）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は強いという結果であった。

表 4-3 細胞毒性試験結果 (HeLa 細胞)

分類	化合物名	化学式	As の価数	IC ₅₀ (mg/L)	相対毒性 ^a
あか剤	ジフェニルクロロアルシン(DA)	C ₁₂ H ₁₀ AsCl	三価	0.801	200
	ジフェニルシアノアルシン(DC)	C ₁₃ H ₁₀ AsN	三価	0.567	280
関連する有機ヒ素化合物	ジフェニルアルシン酸(DPAA)	C₁₂H₁₁AsO₂	五価	157	1
	モノフェニルアルソン酸(MPAA)	C ₆ H ₇ AsO ₃	五価	> 201	< 0.78
	フェニルアルシンオキシド(PAO)	C ₆ H ₅ AsO	三価	0.0557	2,800
	ビス(ジフェニルアルシン)オキシド ^b (BDPAO)	C ₂₄ H ₂₀ As ₂ O	三価	0.707	220
	フェニルメチルアルシン酸(PMAA)	C ₇ H ₉ AsO ₂	五価	25.2	6.2
	トリフェニルアルシン(TPA)	C ₁₈ H ₁₅ As	三価	200	0.78
	トリフェニルアルシンオキシド(TPAO)	C ₁₈ H ₁₅ AsO	五価	460	0.34
無機ヒ素化合物	三酸化二ヒ素(亜ヒ酸)	As ₂ O ₃	三価	1.64	96
	亜ヒ酸ナトリウム	NaAsO ₂	三価	1.68	93
	五酸化二ヒ素(ヒ酸)	As ₂ O ₅	五価	26.9	5.8
	ヒ酸カルシウム	Ca ₃ As ₂ O ₈	五価	> 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	五価	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	五価	886	0.18
	ジメチルアルシン酸(DMAA)	C ₂ H ₇ AsO ₃	五価	151	1.0
	アルセノベタイン(AsBe)	C ₅ H ₁₁ AsO ₂	五価	— ^b	— ^b
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	五価	1,410	0.11

注：a) DPAA の IC₅₀ を 1 としたときの相対値で、有効数字 2 ケタで表示した。

b) 最大濃度でも 20%以上の細胞内脱水素酵素活性阻害がないため、IC₅₀ が算出されなかった。

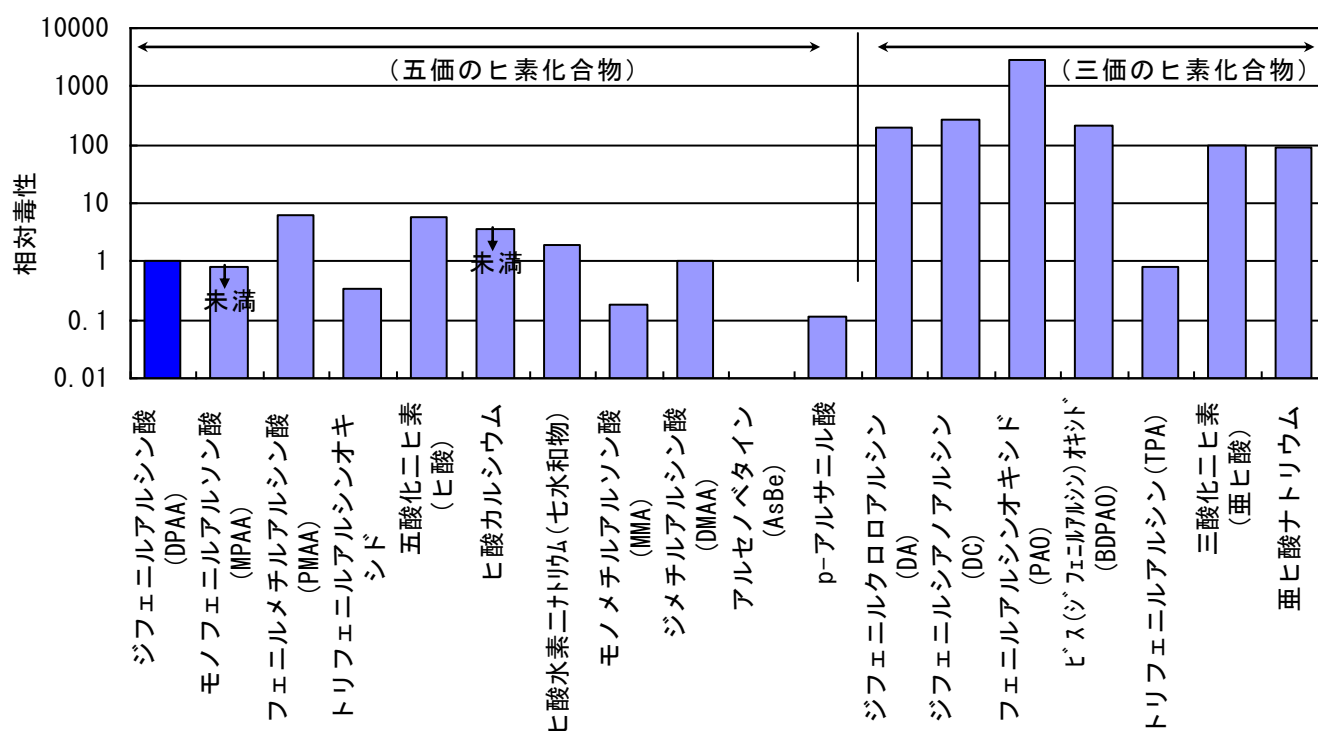


図 4-1 ヒ素化合物の HeLa 細胞に対する相対毒性 (DPAA の細胞毒性に対する相対値)

このように、三価のヒ素化合物の方が DPAA を含む五価のヒ素化合物の細胞毒性よりも高いという結果は、図 4-2 に示したラット心臓微小血管内皮細胞株 (RHMVEC 細胞)³⁴⁾、マウス初代肝細胞³⁵⁾ を用いた細胞毒性試験でも認められている。RHMVEC 細胞では、HeLa 細胞に比べて全般的に細胞毒性は強く現れていたが、DPAA の細胞毒性は五価の無機ヒ素化合物 (ヒ酸ナトリウム) と同程度であり、マウス初代肝細胞では五価と三価の無機ヒ素化合物の間であった。

また、RHMVEC 細胞、マウス初代肝細胞に対する細胞毒性と細胞内ヒ素取り込み量の検討では両者の間に良い相関がみられ、五価に比べて三価のヒ素化合物の細胞毒性が高いのは、三価のヒ素化合物の細胞内への取り込み率が高いことに起因しているものと考えられている^{34,35)}。

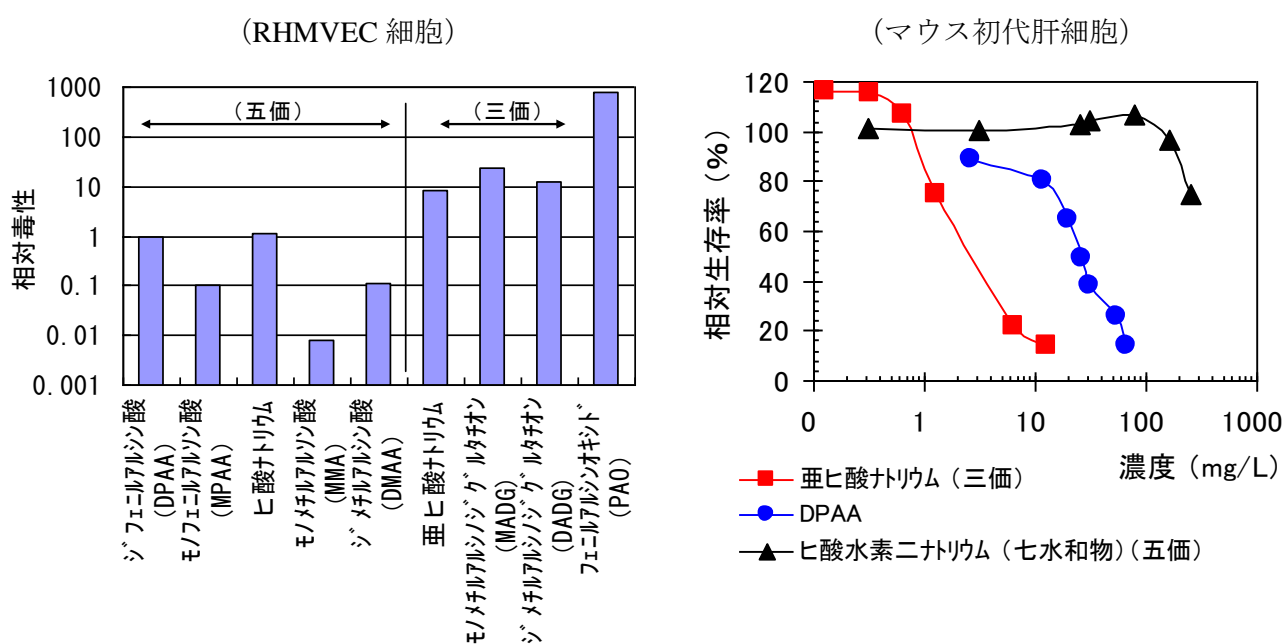


図 4-2 RHMVEC 細胞及びマウス初代肝細胞に対するヒ素化合物の相対毒性

4.8 グルタチオン抱合体の代謝と毒性

無機ヒ素化合物の主要な尿中代謝物はモノメチルアルシニン酸 (MAA)、ジメチルアルシニン酸 (DMAA) であるが、ヒ素とグルタチオン (GSH) の複合体が胆汁中に排泄されることがラットで認められており^{36, 37, 38, 39, 40, 41, 42)}、三価に還元されたヒ素と GSH の複合体を中間代謝物とした代謝経路が新しく推定されている⁴¹⁾。GSH とは、生体内の酸化還元反応に関与するとともに、有害化学物質とグルタチオン抱合を形成して細胞外に排出する解毒作用にも関与する物質で、細胞外にも存在するが、細胞内には 100~1,000 倍高濃度で含まれている。

ヒトの肝癌細胞株 (HepG2 細胞) を用いた試験では、細胞内 GSH の枯渇処理は DPAA や DMAA の細胞毒性を低下させ、三価の無機ヒ素の細胞毒性を増強したが、培養液への GSH 添加は DPAA の細胞毒性を増強し、GSH 枯渇によって増強された無機ヒ素の細胞毒性を低下させ、GSH が DPAA の細胞毒性を修飾することが示唆された^{31, 32)}。このため、DPAA と GSH の抱合体 (以下、DPAG と略す; ヒ素は三価) を合成して細胞毒性を検討した結果、DPAG の細胞毒性は DPAA の約 1,000 倍高く、細胞内 GSH の枯渇処理で増強され、培養液への GSH 添加で低下した^{43, 44, 45)}。DPAG の細

胞内への取り込みは DPAA に比べて早く、また量も約 10 倍多く、GSH の添加で取り込みは顕著に抑制され、枯渇処理で増加した。一方、DPAA の細胞内取り込み量は GSH の枯渇処理や添加の影響を受けなかったことから、GSH による DPAA の細胞毒性の変化は DPAA の細胞内取り込み量が増加したことによるものではなかった。培養液中の DPAG は GSH 存在下では比較的安定であるが、非存在下では不安定で急速に分解されるため、DPAG の分解によって生じた毒性・細胞透過性の高い不安定な中間体が細胞毒性の原因物質ではないかと考えられている^{44,46)}。

飼料中のヒ素濃度を低減させた精製飼料を投与し、体内ヒ素バックグランド値を減少させたラットに DPAA 1 mgAs/kg を単回経口投与した試験では、胆汁中から DPAA と共に DPAG が検出され、胆汁中に排泄されるヒ素化合物のうち、約 85~95%が DPAG であった。また、精製飼料投与ラットの血液を用いた試験から、5 価の DPAA と比較し、3 価の DPAG の方が迅速に赤血球に取り込まれていることが分かった。このことは、DPAG が加水分解され、グルタチオン抱合がはずれることにより生成した 3 価のジフェニルヒ素化合物が赤血球中のタンパク質と結合したと考えられることから、生体内で、より生体物質との反応性が高い 3 価のジフェニルヒ素化合物へと DPAA がグルタチオンを介して還元されることが示唆された¹⁵⁾。

GSH 及び GSH 抱合体の代謝分解に係わる酵素 (γ -GTP) の阻害剤 (GGsTopTM) による影響をラットで検討した結果、対照群の尿中からは DPAA のみが検出されたのに対して、GGsTopTM 投与群の尿中からは DPAA 以外にも DPAG が検出された。これは、GGsTopTM 投与群の腎臓では γ -GTP 活性が有意に低下し、GSH 濃度は有意に増加していたことから、DPAG が安定して尿中に排泄されたものと考えられた。これらの結果から、 γ -GTP 活性阻害剤による GSH 濃度の増加が DPAG の安定性に重要な働きをしていると推測され⁴⁷⁾、DPAG の細胞毒性は細胞内 GSH の枯渇処理で増強され、培養液への GSH 添加で低下したこと^{43,44,45)}、 γ -GTP 活性阻害剤による効率的な GSH 濃度の増加はヒ素の毒性軽減に寄与する可能性が示唆された⁴⁷⁾。

4.9 神経系への影響機序

DPAA をばく露した HepG2 細胞のタンパク質を網羅的に解析した結果、唯一発現の低下したタンパク質は興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸の供給に関わる重要な酵素であるグルタミナーゼ (GAC) であり、その発現量は濃度、時間に依存して低下し、グルタミン酸産生における主要酵素と考えられているリン酸活性化型グルタミナーゼ (PAG) の活性低下を伴っていた。グルタミナーゼの低下はヒトの子宮頸癌細胞株 (HeLa) や神経芽細胞腫株 (SH-SY5Y) でもみられ^{48,49)}、HepG2 細胞では DPAA 以外にも MPAA や PMAA で抑制作用がみられたが、三価の無機ヒ素やジメチルヒ素化合物、BDPAO、DPAG、DPAA や MPAA、PMAA の水酸基をメチル基で置換した化合物 (DPMAO、PDMAO)、MPAA のフェニル基にアミノ基を導入した化合物 (*p*-アルサル酸) では有意な変化はなかった。このため、少なくともフェニル基と水酸基がヒ素化合物によるグルタミナーゼの抑制には必要であることを示唆するものと考えられ、DPAA による脳神経系への影響に関与している可能性が示唆された⁵⁰⁾。しかし、ラット胎児大脳皮質細胞 (初代培養) でグルタミナーゼの発現抑制を認めたものの、0、7.5、15、30 ppm の濃度で DPAA を 49 週間まで飲水投与したマウスで行動異常と小脳

内グルタミンアーゼ活性低下の関係を明確にすることはできなかった⁵¹⁾。

一方、DPAA 15 mg/kg を単回又は 5 mg/kg/day を 5 週間強制経口投与した ICR マウスの脳で唯一みられた組織病理学的変化は小脳のプルキンエ細胞を主とした核濃縮で、ニトロ化ストレス及び酸化ストレスに対する陽性反応を示したプルキンエ細胞の頻度は大きく増加していた。また、2.5~15 mg/kg を単回投与した 24 時間後の酸化ストレスは小脳で用量に依存して有意に増加したが、大脳などの他の組織での増加はなく、小脳では活性酸素種を消去するグルタチオンペルオキシダーゼ活性の有意な上昇もみられた。これらの結果と三価のジフェニルヒ素化合物やジメチルヒ素化合物を用いた *in vitro* 試験の結果から、DPAA が還元されてできた三価のジフェニルヒ素化合物が小脳で酸素分子の存在下に小脳皮質に豊富にある一酸化窒素と反応してニトロ化ストレスを誘発する活性種を生じるメカニズムが示唆され、酸化性ストレスについてもこの活性種に起因する可能性が考えられた。一酸化窒素は小脳の神経調節と血液循環に関係する重要な細胞内及び細胞間の分子メッセンジャーであるため、DPAA による小脳の機能障害は酸化ストレス及びニトロ化ストレスによるプルキンエ細胞の損傷やプルキンエ細胞内の一酸化窒素濃度の低下にもとづくものと考えられ、一酸化窒素濃度の低下にともなう小脳の血流量低下も合理的に説明できるとされている²⁰⁾。

ラットの小脳神経系細胞（初代培養）に DPAA を 48 時間ばく露したところ、約 30 μ M の濃度で細胞数は 50% 減少したが、ヒ酸水素二ナトリウムでは 100 μ M のばく露でも有意な細胞毒性は観察されなかった。しかし、神経芽細胞腫株（Neuro2a）では 100 μ M の DPAA でも約 30% の細胞数減少であったのに対し、100 μ M のヒ酸水素二ナトリウムでは約 80% の減少がみられ、細胞によって毒性は異なった。また、小脳顆粒細胞に 50 μ M の DPAA を 48 時間ばく露したところ、細胞数は 70% 減少したが、抗酸化剤である *N*-アセチルシステイン（NAC）を添加すると 20% の減少に軽減され、NAC のみをばく露した時とほぼ同じ細胞数の減少であったことから、小脳顆粒細胞に対する DPAA の神経毒性には酸化ストレスの関与が強く示唆された⁵²⁾。

DPAA をばく露したラットの小脳神経系細胞（初代培養）及び 100 ppm の濃度で DPAA を 21 日間飲水投与（約 5 mg/kg/day）したラットの小脳について網羅的遺伝子発現解析を行った結果、どちらの場合も酸化ストレス応答遺伝子、血管収縮作用を有する分泌性ペプチド遺伝子、血管新生に重要な役割を果たす分泌性ペプチド遺伝子で有意な発現上昇が観察され、DPAA に反応して酸化ストレス応答遺伝子タンパクを発現するのは神経細胞でなくアストロサイトであることも明らかとなった²²⁾。そこで、小脳神経系細胞からアストロサイトを主とする培養系を確立し、DPAA ばく露の影響を評価した結果、これらの遺伝子の発現上昇及び細胞外へのペプチド分泌上昇がみられ、この他にも血管拡張性ペプチド遺伝子、前駆体の一部が脳内血圧上昇作用を有する遺伝子にも同様の変化がみられた²³⁾。これらの結果から、脳内に浸入した DPAA はアストロサイト内で酸化ストレスの上昇と同時に神経・血管作動性ペプチドの産生・分泌異常を引き起こし、神経症状の発症や脳血流量変化に寄与する可能性が示唆された^{22,23)}。

5. 健康影響

高濃度のヒ素（4.5 mgAs/L。その後の検査で 1.3～2.1 mgAs/L の DPAA）が検出された A 井戸のある住宅は平成 2 年頃に建設された戸建ての集合賃貸住宅である。平成 8 年以降は 13 世帯計 36 人が居住したことがあり、うち 3 人が既に死亡していた。また、2 世帯 3 人のうち、2 人は A 井戸水を飲用しておらず、他の 1 人も平成 13 年春に転出していた。従って、11 世帯 30 人が A 井戸水を継続的に飲用していた履歴があり、ヒ素による地下水汚染が確認された平成 15 年 3 月時点での居住者は 14 人であった。

5.1 健康影響調査

(a) 神経系を中心とした自覚症状

平成 15 年 4 月に、A 井戸の水を飲用していた 11 世帯 30 人中 28 人、A 井戸から西方に約 1 km 離れ、比較的高濃度のヒ素（0.14～0.43 mgAs/L。その後の検査で 0.10～0.23 mgAs/L の DPAA）が井戸水から検出された地点（B 地点）の 12 世帯 44 人中 35 人、A 井戸の概ね半径 300 m 以内の 88 世帯 185 人を対象として、神経系を中心とした 26 項目の症状について出現状況の調査が茨城県潮来保健所で実施された⁵³⁾。図 5-1 に示す 5 群を比較したところ、A 井戸水を飲用していた人（以下、A 井戸水飲用者）で訴えが有意（ $p < 0.01$ ）に多かった症状は 20 項目あり、図 5-1 に示す通りであった。

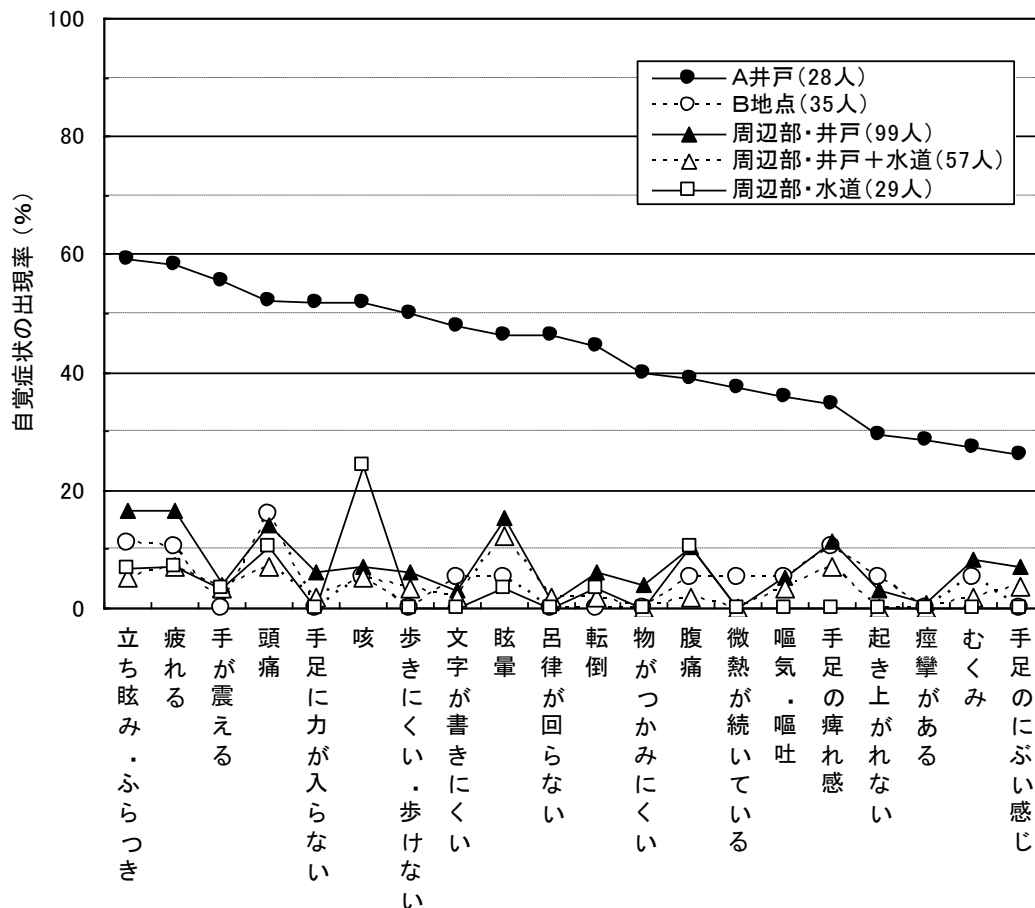


図 5-1 住民にみられた神経系自覚症状などの飲用水別出現率

(A 井戸水飲用者で有意に高かった 26 項目中 20 項目の自覚症状を出現率が高い順に図示した。)

A井戸水飲用者では、立ち眩み・ふらつき、疲れる、手が震える、頭痛、手足に力が入らない、咳、歩きにくい・歩けないが50%以上の出現率でみられ、文字が書きにくい、眩暈、呂律が回らない、転倒、物がつかみにくいも40%以上の出現率でみられた。一方、B地点の井戸水飲用者では頭痛、立ち眩み・ふらつき、疲れる、手足の痺れ感が10~16%の出現率でみられたが、これらの出現率は周辺部の井戸水飲用者と同程度であり、A井戸水飲用者のようにいくつかの症状がそろった人はみられなかった。この調査はDPAAによる地下水汚染が報道されてから実施されたため、報道によるバイアスの影響も考えられるが、この点を考慮してもA井戸水飲用者での出現率は高いと考えられる。

これらの訴えの多かった症状については、A井戸水飲用者の12名が転居や入院等によって飲用を中止すると比較的短期間(1~2週間)で症状が軽快・消失し、退院等で再飲用すると1~2ヶ月で再び症状が出現した。また、A井戸から水道水に飲用水を切り換えて以後、現居住者についても症状の改善がみられている。

A井戸水を飲用していない居住者2人では、自覚症状はみられなかった^{53,54)}。

(b) 健康診査による臨床所見

A井戸水飲用者30人中27人については平成15年4月、B地点の36人については5月に神経内科専門医及び皮膚科専門医による診察が実施され、皮膚科学的には明らかな所見はなかった^{53,54)}。

A井戸水飲用者では、他医療機関での過去の診断情報なども加えると、表5-1に示すように30人中22人に中枢神経症状の所見があり、眩暈、ふらつきや四肢の協調運動障害などの小脳症状が20人、姿勢時振戦又はミオクローヌスが16人、睡眠障害(夜驚や不眠)が9人、視覚障害が5人、記銘力障害が5人であった。また、12歳以下の小児7人中4人で精神遅滞がみられた⁵⁵⁾。

一方、B地点の36人では、小脳症状が4人(11%)、うち2人に姿勢時振戦又はミオクローヌスの所見があったが、2人は他の疾病の治療中で、他の1人も軽度の振戦であった⁵³⁾。

その後、A地区、B地区の134人にまで健康診査の対象者を拡大しても中枢神経系症状の有所見者数にはほとんど増加はなく、A井戸水飲用者の有所見者数は明らかに多く、有所見率はB地点と比べると有意($p < 0.01$)に高かった⁵⁶⁾。

表 5-1 健康診査による臨床所見の概要

臨床所見	A井戸水飲用者(30人)	B地点(36人)
中枢神経症状	22人(73%)	4人(11%)
・小脳症状(眩暈、ふらつき、四肢の協調運動障害など)	20人(67%)	4人(11%)
・姿勢時振戦又はミオクローヌス	16人(53%)	2人(5.6%)
・睡眠障害(夜驚や不眠)	9人(30%)	—
・視覚障害	5人(17%)	—
・記銘力障害	5人(17%)	—
・精神遅滞	小児7人中4人	—

(c) 生体試料中のヒ素濃度

A井戸水飲用者では、平成15年4月17日又は19日に採取した27人中10人の尿から5.8~104 ngAs/gのDPAAが検出され、いずれも3月時点での居住者であった。また、6月7日に採取した毛髪では25人中12人で3.3~942 ngAs/g、手爪では18人中11人で141~2,067 ngAs/gのDPAAが検出され、このうち4人は1~2年前に転居していた人達であった。

B地点では、5月3日に36人の尿を採取してジフェニルアルシン化合物を測定したところ、17人からジフェニルアルシン化合物が検出された⁵³⁾。

5.2 DPAAによる健康影響と考えられる初期症状

DPAAによる健康影響と考えられる初期症状は、ふらつき、四肢の協調運動障害（小脳症状）、姿勢時振戦、ミオクロームス等が考えられる。

5.3 DPAAによる健康影響と考えられる症状出現の時期

A井戸水飲用者の間では、平成13~14年頃にDPAAによると考えられるふらつきなどの症状が初めて出現（初発）したという人が多くみられた。このため、A井戸水飲用者30人を対象に、DPAAによると考えられる症状の初発時期の推定を実施した。なお、A井戸の近傍にあって、A井戸よりもDPAAの投棄地点に近い位置（地下水流の上流側）にある住宅（X住宅）でもDPAAによる小脳症状と考えられる症例が平成12年にみられ、その後、平成12年6月に井戸水から水道水への転換が行われている。しかし、X住宅井戸の汲み上げ深度や汲み上げ能力が分っておらず、DPAA濃度が不明であるため、以下の分析から除外した。

この際、健康診査による臨床所見は認められたものの自覚症状がなかった人、症状の訴えはあったがDPAAを含む井戸水の飲用開始以前からの症状を訴えた人、一過性の出現で終わっていた人、既往症などによる他の要因も懸念される人などがあったことから、症状の増悪傾向や複数の症状の出現、井戸水の飲水中止による症状の改善傾向、医療機関での受診情報などの比較的客観性を伴った中枢神経系の症状をもとにして初発時期を推定した。また、小児では成人と比べて曖昧な部分が多く、バリエーションが非常に広いことから、成人での発症状況も考慮しながら小児の初発時期を推定した。なお、初発症状に関しては、既往症との区別がつかないケースもあったが、安全側に立って評価を行い、初発時期についても早めの時期に推定した。また、DPAAのばく露を受けてから症状が出現するまでに時間のズレがあると考えられるが、その点を考慮しても安全側の評価となっている。

図5-2の上段にDPAAによると考えられる症状の初発時期の累積分布を、下段にA井戸詳細地下水汚染シミュレーション現況再現解析結果より得られたA井戸水のDPAA推定濃度の推移を示す。

なお、井戸水の飲用期間は世帯や個人ごとに異なるが、具体的な飲用期間を記載すると個人が特定される可能性があることから、平成11年には既に飲用していた人、平成13年秋季以降に飲用を開始した人の2群に分けて累積分布を表記した。また、下段のDPAA推定濃度の推移には、A井戸詳細地下水汚染シミュレーション現況再現解析において、汚染源でのDPAAの初期濃度を10,000

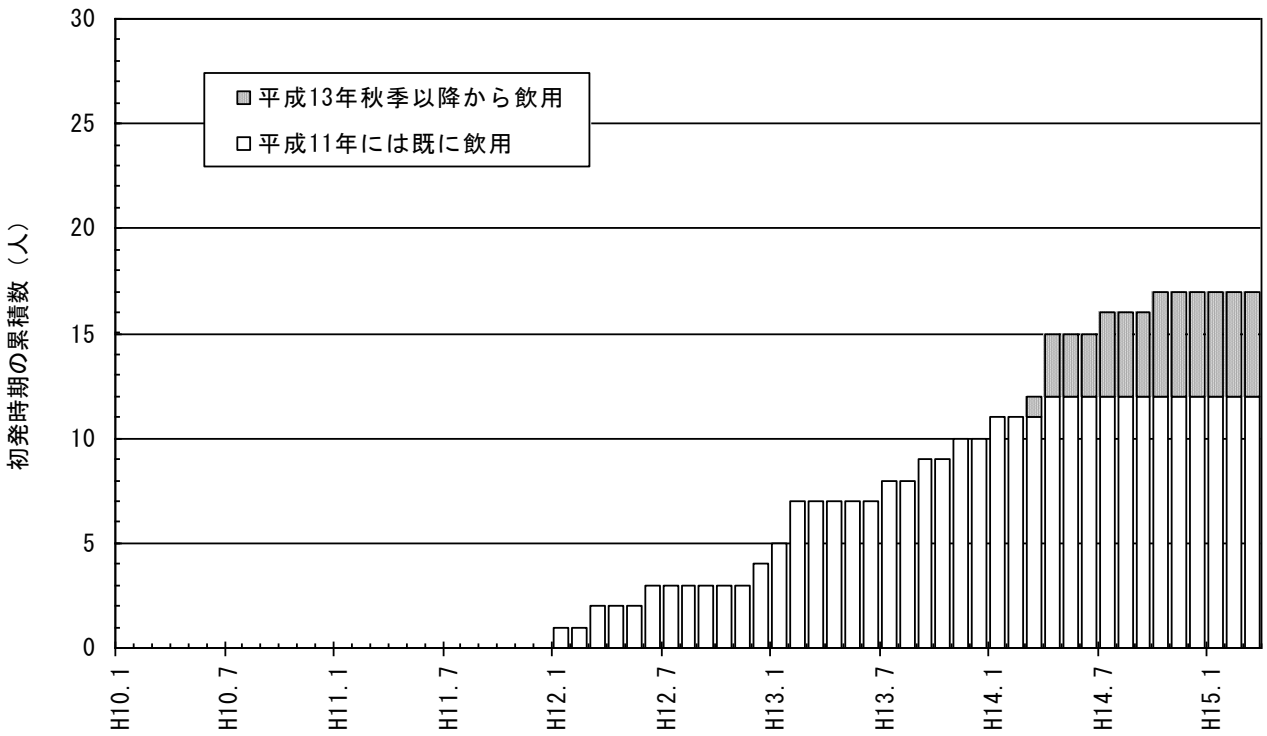
mgAs/L、3,200 mgAs/L 及び 1,000 mgAs/L の 3 つのケースを設定して、A 井戸の地下水汚染を再現した結果を示した。上記解析によれば、現況の地下水汚染濃度及び汚染分布から勘案すると、3 つのケースのうち、3,200 mgAs/L のケースが現況の汚染状況を再現するには妥当であったことが明らかになっている。

個人の特定を避けるために分けた 2 群のうち、早い時期から A 井戸水を飲用していた人の中で、DPAA によると考えられる症状が最も早くみられた人の初発時期は平成 12 年 1 月頃で、その時点での A 井戸水の DPAA 推定濃度は 1.1 mgAs/L (0.14~2.4 mgAs/L の範囲) であった。以後、徐々に他の人でも症状がみられるようになり、半数以上の人に症状がみられるようになったのは平成 13 年 2 月で、DPAA 推定濃度は 1.9 mgAs/L (0.2~5.1 mgAs/L の範囲内) であり、最も遅かった人の初発時期は平成 14 年 4 月であった。累積人数の変化には増加と停滞を繰り返す断続的なパターンがみられた。

一方、平成 13 年秋季以降に A 井戸水の飲用を開始した人の中で早い人は約 5 ヶ月で症状が現れており、その時の DPAA 推定濃度は 2.6 mgAs/L (0.4~4.7 mgAs/L の範囲) で、DPAA 濃度が高かったことから比較的短期間での発症に結びついたと考えられる。

また、初発時期について、小児と成人とで明らかな差は示唆されなかった。

DPAA によると考えられる症状の初発時期累積分布



A 井戸水の DPAA 推定濃度 (A 井戸詳細地下水汚染シミュレーション現況再現解析)

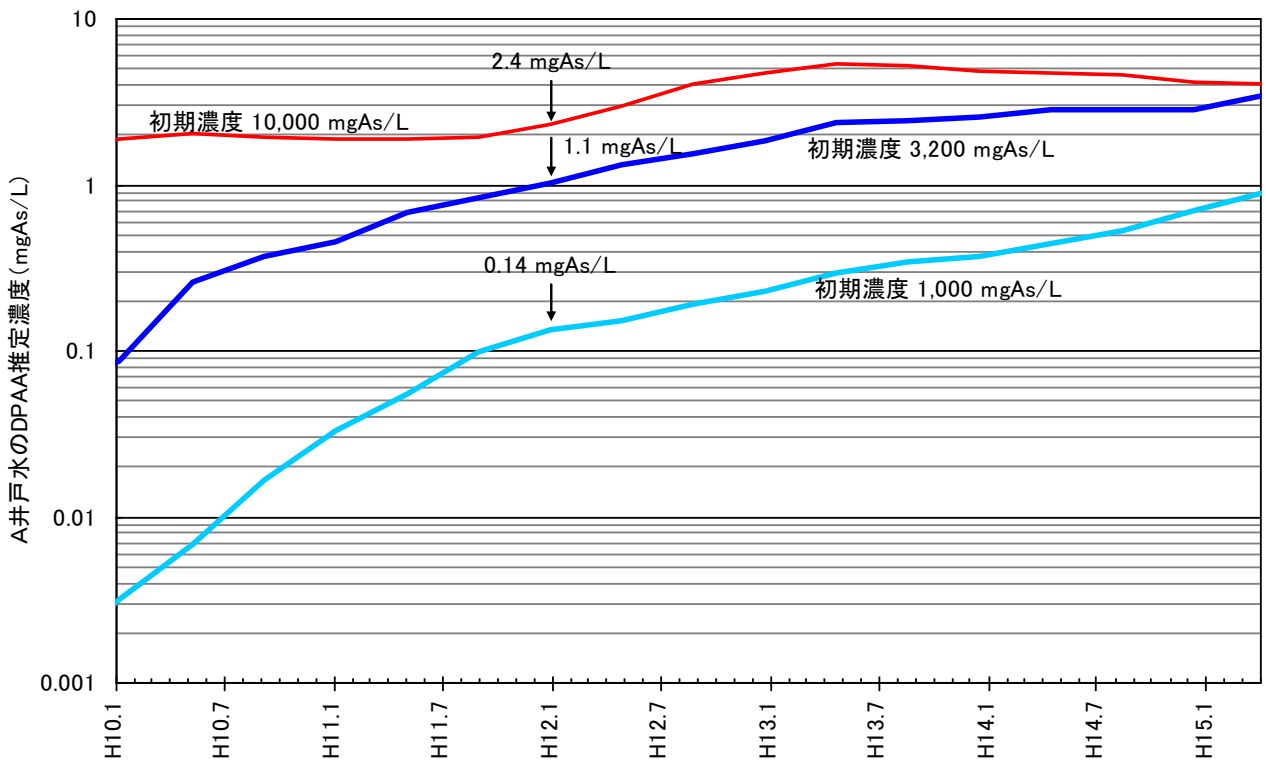


図 5-2 DPAA によると考えられる中枢神経症状の初発時期累積分布と DPAA 推定濃度の推移 (臨床所見はあったが、自覚症状のなかった人など、初発時期の推定困難なケースは除外した。初期濃度 3,200 mgAs/L のケースが現況の汚染状況を再現するには妥当であった。)

5.4 DPAA 摂取量と初発時期

A 井戸水の 1 日当たりの飲水量については、水、お茶・コーヒー等、ご飯、汁物、水割り等として健康診査時などに聞き取りで調査がなされていたが、いずれも単位は杯（カップ数）であり、具体的な量は不明であった。このため、下記の資料を参考にして各 1 杯当たりの水量を年齢別に設定し、表 5-2 に示すように A 井戸水の 1 日当たりの総飲水量（L/day）を求め、これと症状のみられた人では初発時期、症状のみられなかった人では飲水中止時の DPAA 推定濃度とを乗じ、健康診査時の体重又は標準体重（BMI=22）で除して 1 日体重 1 kg 当たりの DPAA 摂取量（ $\mu\text{gAs/kg/day}$ ）を算出した。

[参考] 平成 6 年幼児健康栄養調査 東京都衛生局健康推進部健康推進課⁵⁷⁾
 平成 14 年度児童生徒の食事状況調査（独）日本スポーツ振興センター健康安全部⁵⁸⁾
 平成 15 年度国民健康・栄養調査 厚生労働省⁵⁹⁾

表 5-2 A 井戸水の飲用状況と中枢神経系症状の有無（飲水量の多い順）

No.	1 日当たりの飲水量（単位；杯）					総飲水量 (L/day)	中枢神経 症状の有無
	水	お茶等	ご飯	汁物	水割り等		
1	4	12	3	1	0	3.1	(+)
2	4	4	2	4	4	2.6	(+)
3	10 ^a	0	0	0.5	0	2.1	(+)
4	6	0	2	4	0	2.0	(+)
5	0	9	2	2	0	1.9	(+)
6	1	9	1	1	0	1.8	(+)
7	6	0	2	2	0	1.7	(+)
8	0	5	1	4	0	1.5	(+)
9	0	5	2	4	0	1.4	(+)
10	1	15 ^a	0	1	0	1.2	(+)
11	4	0	1	2	0	1.2	(+)
12	2.5	0	3	2	0	1.1	(+)
13	2	3	1	0	0	1.0	(-)
14	3	0	1	1	0	0.9	(+)
15	3	0	1	1	0	0.9	(-)
16	2	0	1	2	0	0.8	(+)
17	2.5 ^a	0	3	0	0	0.8	(+)
18	2	3	0	0	0	0.8	(-)
19	0	2	2	2	0	0.8	(-)
20	0	1.5	0.5	0	2	0.7	(+)
21	0	3	1	0	0	0.6	(+)
22	0	2	1	1	0	0.6	(+)
23	0	0	2	2	0	0.4	(+)
24	0	0	1	1	1.5	0.4	(+)
25	0	0	0	1	0	0.4	(+)
26	0	2	1	0	0	0.4	(-)
27	2	0	1	0.5	0	0.3	(+)
28	2	0	1	0.5	0	0.3	(-)
29	0	0	1	1	0	0.2	(-)
30	0	0	0	1	0	0.2	(-)

注：a は飲用量（L）をカップ単位に換算して記載を合わせた。

(+)：あり、(-)：なし

表中の No. は医療手帳の番号とは異なる。

この結果、中枢神経系症状の有無と 1 日当たりの総飲水量 (L/day) との間には統計学的に有意な関連 ($p<0.05$) がみられたが、1 日体重 1 kg 当たりの DPAA 摂取量 ($\mu\text{gAs/kg/day}$) との間には有意な関連はなかった。DPAA の摂取量が極端に多いか、又は極端に少ない人達に限ってみると、症状の有無と DPAA 摂取量との間には対応した関係がみられたが、残りの人達では症状のみられなかった人よりも少ない DPAA 摂取量で症状がみられたというケースが多く、DPAA による症状が出現する摂取量を推定することはできなかった。また、症状のみられた人では初発時期、症状のみられなかった人では飲用中止時期までに摂取した DPAA の累積量を求め、これと症状の有無との関連を検討し、さらに、入院に伴う飲水の中止 (排泄)、退院による再摂取 (再蓄積) という動的变化を踏まえた検討も試みたが、DPAA 摂取量と症状の有無について、明らかな結果は得られなかった。

このように症状の有無と DPAA 摂取量との関係から、DPAA による症状が出現する摂取量を推定できなかったが、その原因として、個人の感受性の違いの他にも、飲水量推定の不確かさがあり、聞き取り調査時の回答が過去の平均的な飲水量を十分に反映したものでなかったこと、1 杯の量が各人で異なっていたこと、煮物などの水分 (DPAA) が濃縮された副菜の摂取が聞き取りに含まれていなかったことなどが要因として考えられた。

5.5 生体試料中の DPAA 濃度と症状の有無

A 井戸水飲用者では、平成 15 年 4 月 19 日に採取した尿から約 6~104 ngAs/g の DPAA が検出されたが、いずれも 3 月時点での居住者で、1 年以上前に転居し、A 井戸水を飲用しなくなっていた人達では未検出であった。また、6 月 7 日には毛髪や手爪、足爪を採取して DPAA 濃度の測定が行われており、転居者の試料でも量的には少ないが、DPAA が検出されていた。このような測定は、生体試料中の DPAA をバイオマーカーとしたものであり、ばく露の有無や程度の推定に有効である。一般的に血液中や尿中からの消失 (排泄) は速いが、毛髪や爪では血液中から移行したものが濃縮して蓄積 (保存) されるため、ある程度の時間が経過した後も高濃度で検出されることが多い。

図 5-3 は、3 月時点での居住者のうち尿と手爪の測定値があった 10 人 (12 歳以下の小児 2 人を

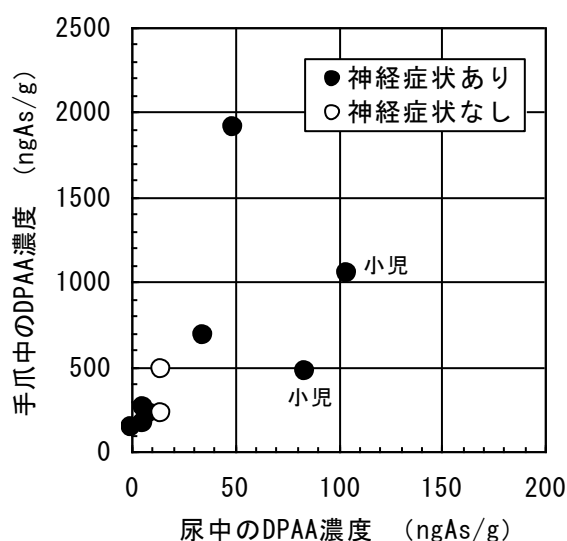


図 5-3 DPAA の尿中濃度 (4 月 19 日採取) と手爪中濃度 (6 月 7 日採取) の関係

含む) の DPAA 濃度を神経症状の有無で分けて示したものである。

これらの人では飲用中止後の時間経過が異なるため単純な比較には注意が必要だが、おおむね尿中濃度の 10 倍程度の濃度で手爪から検出される傾向がみられた。

また、これらの測定値は必ずしも症状がみられた時期のものではないことに注意が必要だが、症状のみられなかった人(図中の白丸)の値は 10 人のほぼ中間にあり、そのうち 1 人の手爪中濃度は他の 1 人よりも約 2 倍程度高かった。この人の A 井戸水の飲用は 1 日に汁物として 1 杯程度であったが、1 日 2 回の入浴やシャワーが習慣となっていたことから、手爪に DPAA が付着・残存して高濃度になった可能性がある。

図 5-4 は A 井戸水飲用中止後の経過日数と血清中 DPAA 濃度の関係を示しているが、これは病院での検査時に採取された血液の分析データを担当医から提供されたもので、小児を含む 8 人(A~H)のうち、E から H の 4 人は 1 点のデータのみで、F は症状のみられなかった人である。

A 井戸水の飲水量は各人で異なるため、飲用中止時の血清中 DPAA 濃度には相当のバラツキがあったと考えられたが、飲用中止後の血清中濃度は比較的小さなバラツキで減少していた。

図 5-5 は A 地区、B 地区に対象者を拡大して実施している生体試料のモニタリング調査における井戸水飲用中止後の経過日数と尿中 DPAA 濃度の関係を示しており、A~H は図 5-4 と同じ人、I、J は比較的高濃度で検出された人を示している。

A、B、E、H の 4 人では尿中 DPAA 濃度は経時的に減少していたのに対し、D、I、J の 3 人では大きく増加している時期がみられ、この間に何らかの DPAA ばく露があったものと考えられた。また、D、I では尿中の DPAA 濃度のごく短期間に急激に減少した時期がみられた。

このため、A~H の 8 人のうち、飲用中止後の DPAA 再ばく露の可能性があった D を除いた 7 人で血清中 DPAA 濃度の半減期を求めると 21.4 日(95%信頼限界値 15.6~34.1 日)であった。また、D を除く 7 人で尿中 DPAA 濃度の半減期を求めると 21.0 日(95%信頼限界値 15.0~35.3 日)で、ほぼ血清中の半減期と一致した。

図 5-6 は井戸水飲用中止後の経過日数と毛髪、手爪、足爪中の DPAA 濃度の関係を示しているが、いずれも初期には非常に大きな DPAA 濃度のバラツキがみられ、その後、DPAA 濃度は減少するものの、比較的長期間にわたって検出されており、DPAA の再ばく露を示唆するデータもあった。

このように、毛髪や爪の DPAA 濃度に大きなバラツキがあった原因として、井戸水の飲水量が異なっていたことも考えられるが、上述したように井戸水の使用によって毛髪や爪に DPAA が吸着し、残存した可能性も大きいと考えられた。さらに毛髪では人によって長さが大きく異なるため、分析用に採取した毛髪中の DPAA 濃度がいつの時期の体内 DPAA 濃度を反映したものか不明であると考えられた。

髪や爪から検出された DPAA 濃度は体内から移行したものに加えてそれらの表面に吸着・残存していたものの総量であるため、DPAA ばく露の有無を知る上では有用な情報ではあったが、症状の有無との関係について行った検討では明らかな結果は得られなかった。

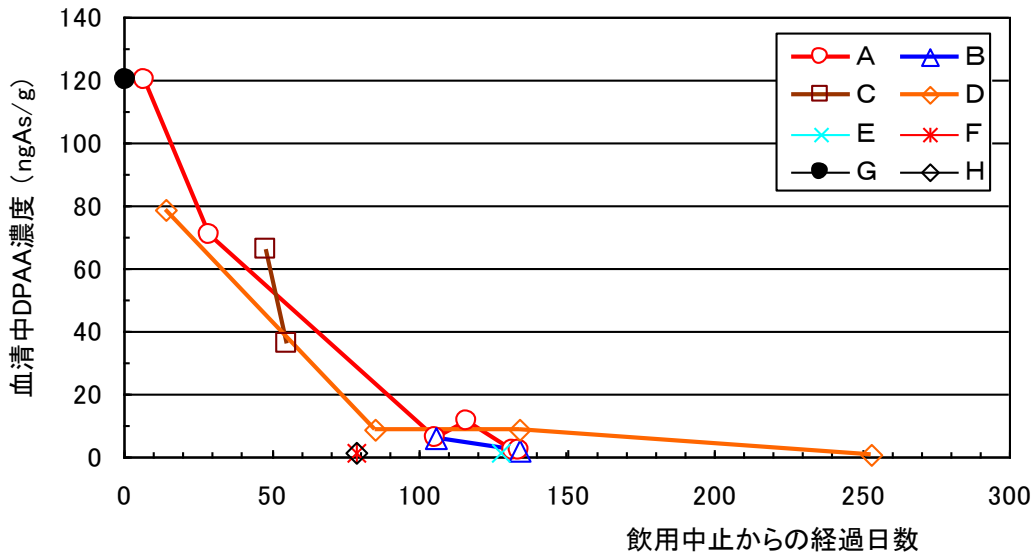


図 5-4 A 井戸水飲用中止後の経過日数と血清中 DPAA 濃度

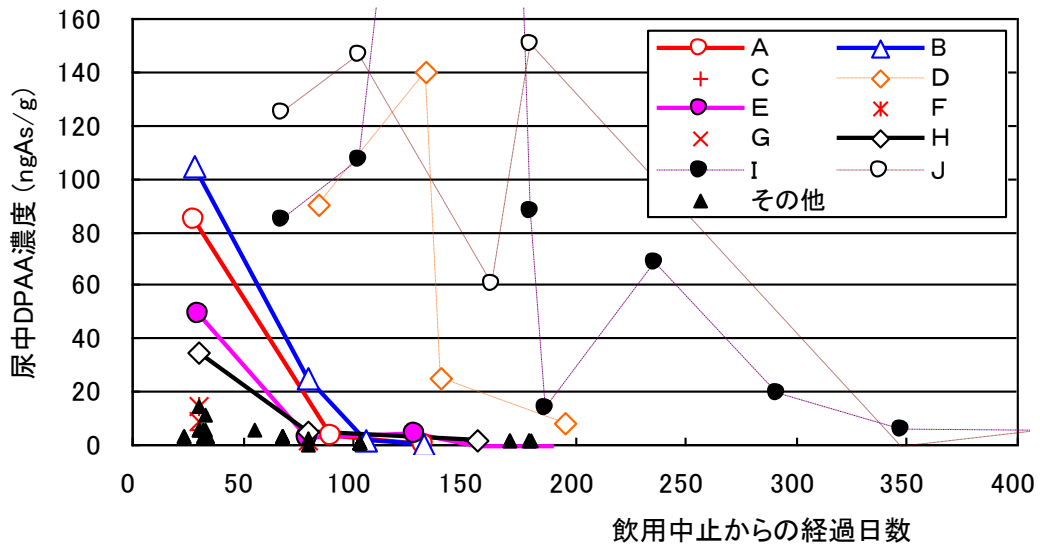


図 5-5 井戸水飲用中止後の経過日数と尿中 DPAA 濃度

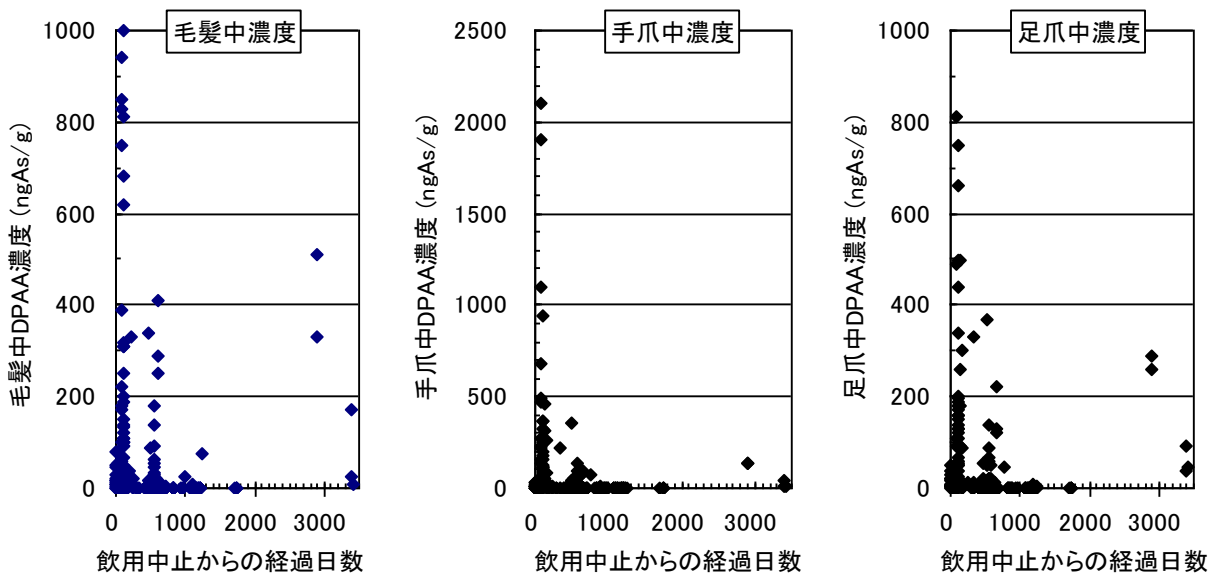


図 5-6 井戸水飲用中止後の経過日数と毛髪、手爪、足爪中の DPAA 濃度

5.6 頭部画像解析と症状の有無

上述したように、毛髪や爪、尿、血液中の DPAA 濃度はばく露の有無を示すバイオマーカーとして有用であったが、毛髪や爪ではそれらの表面に付着・残存したものと体内から移行したものととの区別が困難であり、さらに尿や血液では経過日数に伴う濃度変化が大きく、飲用期間中の尿中、血液中濃度の推定ができなかったことから、これらの生体試料中濃度と症状の関係は不明であった。

一方、平成 15 年 6 月以降に実施した頭部画像解析による脳血流シンチグラフ検査では、小脳、海馬、側頭後頭葉で血流低下が認められ、小脳症状（眩暈、ふらつき）、海馬症状（記銘力障害、睡眠障害）のみられた A 井戸水飲用者で同部位血流低下の出現率が高く、比較的高濃度の DPAA を含む井戸水を飲用していて症状のみられなかった人でも軽度の血流低下が認められた⁶⁰⁾。

これまでの検査結果を総括すると小脳、後頭葉では、どのデータベースを用いても、また定性的、半定量的、定量的解析法においても血流低下が証明され、脳幹は血流低下が指摘される場合もあったが、海馬での血流低下は証明されなかった⁶¹⁾。経時的な変化については図 5-7 に示したように検査した A 井戸飲用者の 15 人全員で血流低下の改善がみられ、早い人では飲用中止から 1,000 日前後、遅い人でも 2,000 日前後から改善傾向が強く現れていたが、脳部位間の血流改善パターンには違いがみられなかった^{61, 62)}。A 井戸飲用者以外で検査した 26 人についても、DPAA の再ばく露が疑われる数人を除くと概ね 1,000 日頃から回復する傾向がみられた。そこで、回復傾向がみられるようになる前のデータ（1,000 日以内）に注目し、A 井戸飲用者と A 井戸飲用者以外で比較すると、A 井戸飲用者で脳血流は有意に低かった⁶³⁾。

また、定性的な評価ではあるものの、A 井戸水を飲用していた小児（5 歳以上の 6 人）にみられた小脳の血流低下についても、平成 21 年以降の調査で改善が認められている^{64, 65)}。

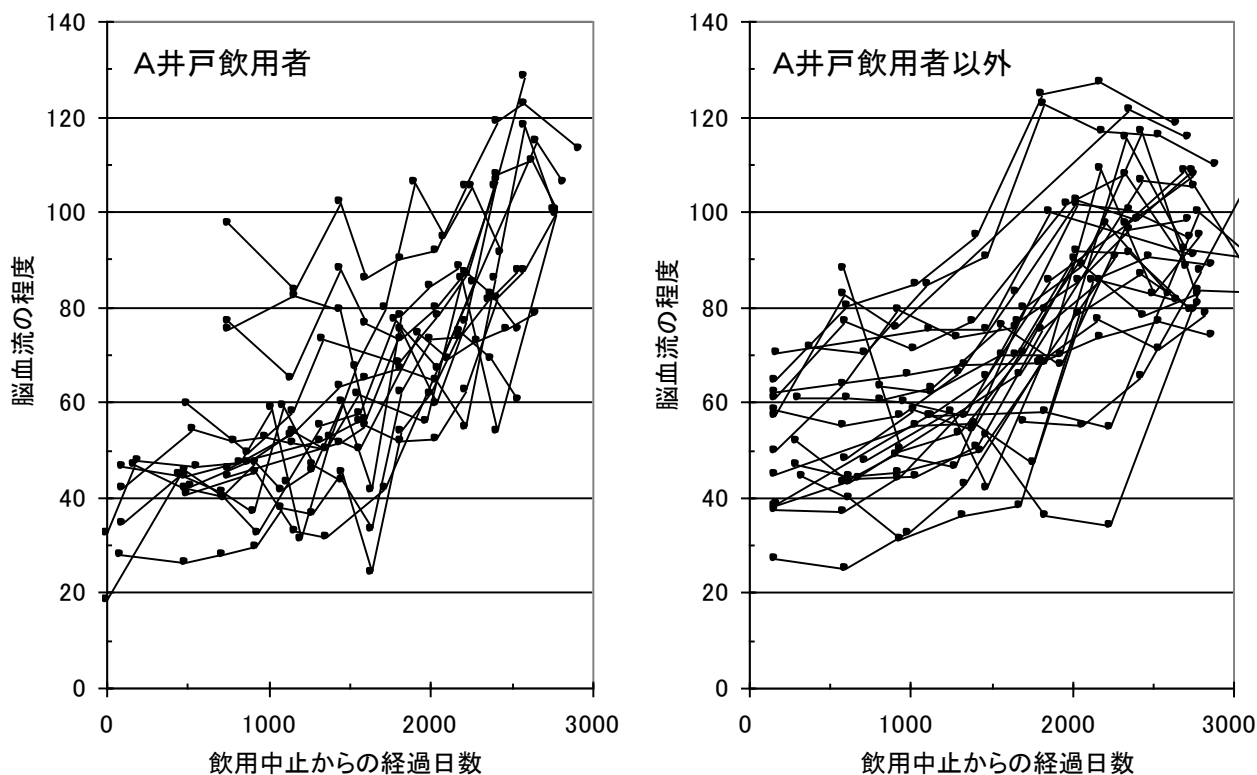


図 5-7 井戸水飲用中止後の経過日数と小脳の脳血流低下度