

ヒ素及びその化合物に係る健康リスク評価について（案）

1. 物質に関する基本的事項

自然界に存在するヒ素は、単体としてのヒ素、無機及び有機ヒ素化合物に分類される。主な無機ヒ素化合物として、3価のヒ化水素（アルシン）、三塩化ヒ素、三酸化二ヒ素（亜ヒ酸）とそのナトリウム、カルシウム及びカリウムとの塩、5価の五酸化ヒ素とその水和物であるヒ酸とその塩化物、ナトリウム、カルシウム及びカリウムとの塩、金属化合物がある。有機ヒ素化合物には、生物体で合成され、生体試料に存在するモノメチルアルソン酸（MMA）、ジメチルアルシン酸（DMA）、アルセノベタイン、アルセノシュガーがある。そのほか、人工合成物として農薬や顔料として使用されていたシューレグリーン（亜ヒ酸銅）やパリスグリーン（アセト亜ヒ酸銅）、梅毒治療薬として用いられていたサルバルサン（ $C_6H_6AsNO_2$ ）、毒ガス兵器（嘔吐剤、くしゃみ剤）として製造されたジフェニルシアノアルシン、ジフェニルクロロアルシンなど多くの物がある。

表 1 ヒ素及び無機ヒ素化合物

化学物質	別 名	英 名	英名同義語	CAS ReNo.
ヒ素		Arsenic		7440-38-2
五酸化二ヒ素	無水ヒ酸	Arsenic pentaoxide	Arsenic anhydride	1303-28-2
ヒ酸(1/2水和物)		Arsenic acid		7774-41-6
ヒ酸カルシウム		Calcium arsenate		7778-44-1
ヒ酸マンガン		Manganese arsenate		7784-38-5
パリスグリーン		Paris green	Schweinfurt green	12002-03-8
五塩化ヒ素	塩化第二ヒ素	Arsenic pentachloride		22441-45-8
亜ヒ酸ナトリウム	亜ヒ酸ソーダ	Sodium arsenite		7784-46-5
亜ヒ酸カルシウム	亜ヒ酸石灰	Calcium arsenite		27152-57-4
亜ヒ酸カリウム		Potassium arsenite		10124-50-2
三酸化二ヒ素	亜ヒ酸	Arsenic trioxide	Arsenious acid	1327-53-3
ヘキサフルオロ ヒ酸リチウム		Lithium hexafluoroarsenate		29935-35-1
フッ化ヒ素(V)	五フッ化ヒ素	Arsenic pentafluoride		7784-36-3
フッ化ヒ素(III)	三フッ化ヒ素	Arsenic trifluoride		7784-35-2
フッ化ヒ酸石灰		Calcium arsenate fluoride		17068-86-9
ヒ酸銅		Copper arsenate		10103-61-4
ヒ酸鉄		Ferric arsenate		10102-49-5
ヒ酸石灰		Calcium arsenate		7778-44-1
ヒ酸水素二ナトリウム	第二ヒ酸ナトリウム	Disodium hydrogenarsenate		7778-43-0
ヒ酸鉛		Lead arsenate		7784-40-9
ヒ酸亜鉛		Zinc arsenate		13464-44-3
三塩化ヒ素	塩化第一ヒ素	Arsenic trichloride		7784-34-1
ヒ酸ナトリウム	第三ヒ酸ナトリウム	Sodium arsenate		13464-38-5
ヒ酸カリウム		Potassium arsenate		7784-41-0
ヒ化水素	アルシン	Hydrogen arsenide	Arsenic hydride, Arsine	7784-42-1

ヒ素は、原子量74.92の元素で第15族元素の半金属としての性質があり、主に3価と5価の化合物をつくる。単体は通常銀灰色のAs₄の結晶で、比重が5.72、融点が817℃（35.5気圧）、昇華点が615℃である。黄色、黒色の同素体がある。

ヒ化水素は分子量77.95、沸点が-2.5℃の気体で、速やかに酸化される（Merck & Co. Inc. 1996）。

ヒ酸は、分子量141.93、比重2.0～2.5、通常H₃AsO₄・1/2H₂Oの無色吸湿性の結晶で水、アルカリ、グリセリンに溶ける。

三酸化二ヒ素は、分子量197.84、常温で固体、無定形と結晶がある。立方晶系の融点は275℃、単斜晶系の融点は313℃である。沸点は465℃である（Merck & Co. Inc. 1996）。常温の水に2.1 g/100mL溶けるが、溶ける速度は遅い。水に溶けると弱酸の亜ヒ酸（As(OH)₃）になる。また塩酸、硫酸、水酸化ナトリウムに溶解する。

（1） ヒ素及びその化合物の用途・使用実態

ヒ素及びその化合物の主な用途は、わが国では液晶用ガラス原料、化合物半導体・シリコン半導体材料、木材防腐剤、ヒ酸塩（特にヒ酸石灰、ヒ酸鉛）原料、医薬品原料、その他染料の原料などが挙げられる。

平成18年度の国内生産量は、金属ヒ素で推定40t、ヒ酸で約50tであった（化学工業日報社 2008）。輸入量については金属ヒ素、三酸化二ヒ素及びヒ化水素の合計が906t（ヒ素換算）であった（(独)石油天然ガス・金属鉱物資源機構 2008）。

なお、農薬取締法に基づき登録されていた無機及び有機ヒ素化合物の農薬は、1998年までにすべて登録が失効している。

（2） 代謝及び体内動態

ヒ素化合物は、無機及び有機態で自然界に存在する元素であり、食品、水、土壌及び大気中に存在する。主に食品と飲料水から摂取され、職業上の曝露以外では大気からの摂取はわずかである。採鉱による職業曝露では、経気道的に取り込まれた不溶性の硫ヒ鉄鉱を含む微小粒子(1～2 μm)が酸化され亜ヒ酸などの水溶性のヒ素化合物に変換され吸収される(LiuとChen 1996)。気道からの吸収量は主に粒子径と溶解度に依存し、74Asを添加したタバコを喫煙したボランティアの肺における放射活性のクリアランスは二相性であり、75%が2日、残り25%が10日の半減期であった（Hollandら 1959）肺組織クリアランスにおける二相性モデルによると肺に取り込まれたヒ素量の75%は4日の半減期、残りの25%は10日の半減期により肺から排泄される。また、不溶性のヒ素化合物では半減期はかなり延長される（Bruneら 1980）。一方、吸収されずに気道粘膜から除去された粒子は、嚥下されて消化器系から吸収される（日本産業衛生学会 2000）。食品中には無機・有機ヒ素化合物が含まれ、飲料水中には主として無機ヒ素化合物が含まれている。無機ヒ素化合物の経口摂取による消化管からの吸収は、ヒトにおいて55～87%である（U.S.DHHS 2007）。生体内に吸収された無機ヒ素化合物はメチル化代謝され、主として5価メチルヒ素化合物の一つであるジメチルアルシン酸（DMAV）として尿中に排泄される。ヒトでの一般的なヒ素化合物の尿中排泄の割合は、DMAV（約40～75%）、ヒ酸及び亜ヒ酸（約20～25%）さらに他の5価メチルヒ素化合物であるモノメチルアルソン酸（MMAV）（約15～25%）である

(U.S.DHHS 2007)。しかしながら、海藻類や魚介類にはアルセノベタインやアルセノシュガーなどの有機ヒ素化合物が多く含有されており、海産物の摂食によりそれらの有機ヒ素化合物あるいはその代謝物が尿中に排泄される。

代謝によりメチル化されたMMA^VおよびDMA^Vは急性毒性が低く、ヒ素のメチル化は生体における解毒機構と考えられてきた。しかしながら、その中間代謝物である3価メチル化ヒ素(MMA^{III}、DMA^{III})は強い細胞毒性及び遺伝子障害性を示すことから、近年、メチル化代謝は無機ヒ素化合物の解毒というよりはむしろ代謝活性化のプロセスと考えられている。また、インドヒ素汚染地域において、ヒ素中毒症状を呈する住民の尿には無機ヒ素やMMA^V、DMA^VのほかにMMA^{III}とDMA^{III}も検出されることが報告されている(Mandal ら 2001)。図 1に無機ヒ素化合物のメチル化代謝過程を示す。一般的には、ヒ素の3価から5価への酸化にともないメチル基が導入される酸化メチル化反応がヒ素の代謝機構として提唱されている(Challenger 1951; Aposhian ら 2000)。また、近年、図 2に示す3価ヒ素-グルタチオン複合体の形成を介したメチル化機構が報告されている(Hayakawaら 2005)。いずれのメチル化機構もヒ素の酸化還元状態の変動(レドックスサイクル)の中でS-アデノシルメチオニン(SAM)がメチル供与体となり、3価ヒ素メチル転移酵素(AS3MT)をはじめとするメチル基転移酵素による触媒反応であると考えられている(Thomas 2007)。また、その過程で、活性酸素が生じ酸化ストレスを誘発することも報告されている(Huら 2002)。さらに、DMA^{III}のさらなる還元代謝過程で生成するジメチルアルシンと分子状酸素との反応によるヒ素ラジカルなどのフリーラジカルの生成が報告されている(Yamanakaら 1990; Kitchin 2001)。また、尿中にジメチルチオアルシン酸などの含硫ヒ素化合物が検出され、それらはジメチルヒ素と生体内含硫化合物との反応により生成する可能性が指摘されている(Yoshidaら 2003; Ramlら 2007; Naranmanduraら 2007)。このように、無機ヒ素化合物の代謝過程において多様な中間代謝物の生成が指摘されており、これらによる生体影響、特に発がん性との関連が問題視されている。

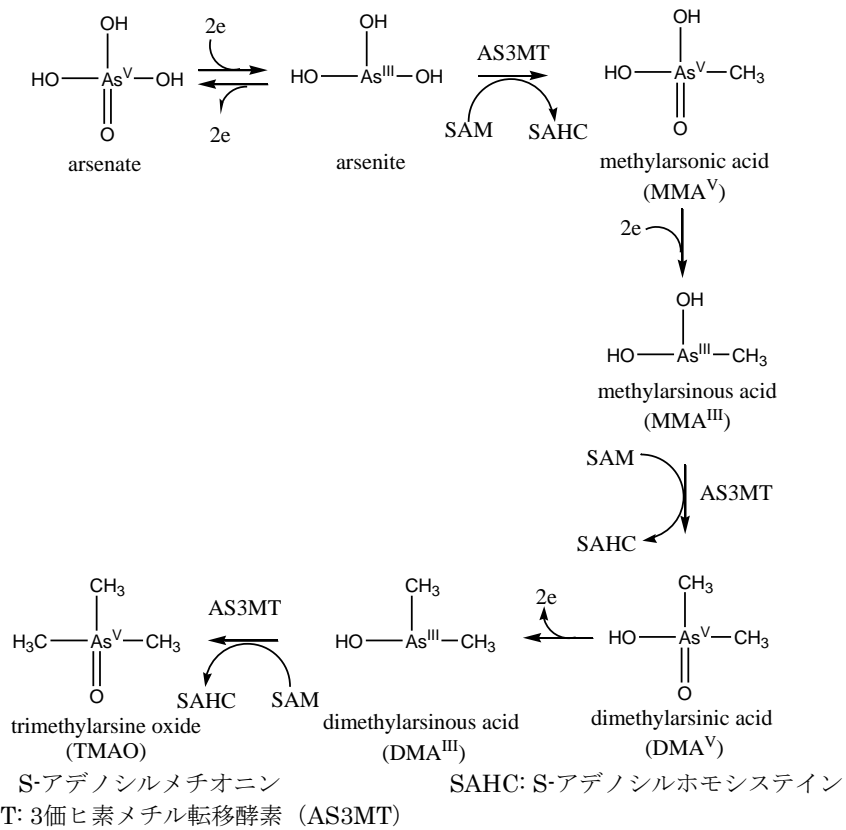


図 1 ヒ素化合物の代謝 (酸化的なメチル化反応)
(Aposhian ら 2000 参考)

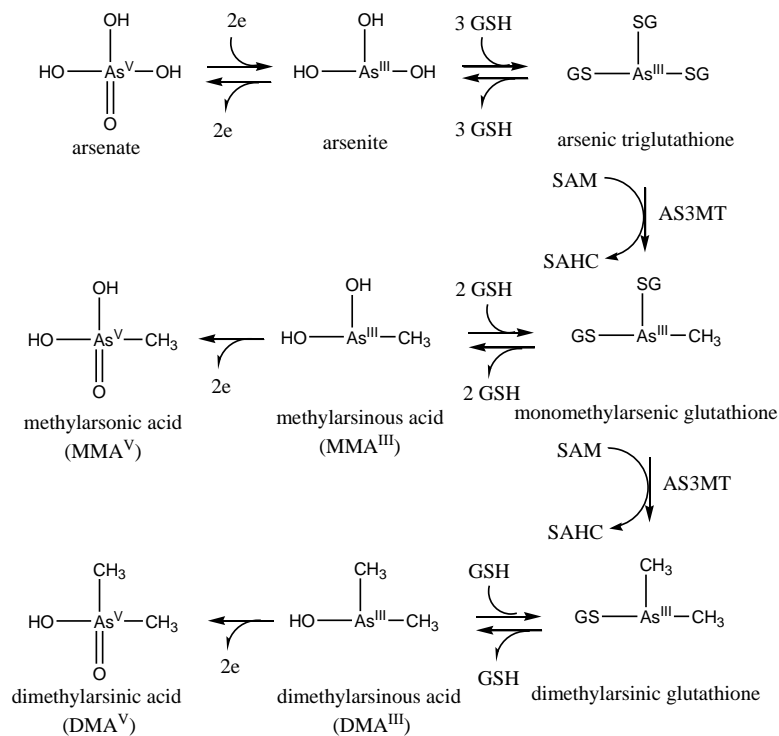


図 2 ヒ素化合物の代謝 (3 価ヒ素-グルタチオン複合体形成を介した反応)
(Hayakawa ら 2005 ; Thomas 2007 参考)

(3) 種差・個体差について

無機ヒ素化合物のメチル化代謝には種差が認められる。マーモセット、チンパンジー及びモルモットでは肝臓のヒ素メチル転移酵素が欠損しておりMMA^V及びDMA^Vの尿中排泄は認められていない。一方、アカゲザル、ウサギ、マウス、ラット及びハムスターは肝臓にヒ素メチル転移酵素が存在し、ヒ素のメチル化代謝能を有している(Goeringら 1999)。また、これら実験動物の尿中に排泄されるMMA^Vの割合はヒトと比較して圧倒的に少なく、MMA^VからDMA^Vへのメチル化が効率的であることが報告されている(Vahter 2000)。マウスへの無機ヒ素化合物投与ではその90%が2日で排泄されるのに対し(VahterとMarafante 1983)、ヒトの生物学的半減期は4日であり(Buchetら 1981)、ヒトのヒ素メチル化代謝能は、実験動物と比較して低い。一方、ラットでは代謝生成したDMA^Vが赤血球に保持されるためヒト、マウス及びハムスターなどの哺乳動物と比較して尿中排泄が遅く、ヒ素が体内に長期間貯留される(Vahter 1981 ; Marafanteら 1982 ; LermanとClarkson 1983)。マウスの系統差について、C57BL、C3H及びB6C3F₁を用い検討されており、ヒ素の経口投与による消化管からの吸収に差異が認められるものの、メチル化代謝には差異が認められていない(Hughesら 1999)。ヒトの個体差については、3価ヒ素メチル転移酵素(AS3MT)などヒ素代謝に関連する酵素の遺伝子多型と尿中メチル化ヒ素排泄との関係が検討されており(Lindbergら 2007 ; Hernándezら 2008)、チリ人においてAS3MT遺伝子のMet287Thrの一塩基多型により尿中MMA^Vの上昇が報告されている(Hernándezら 2008)。

2. 健康影響評価

2-1 発がん性の評価及び遺伝子障害性

(1) 定性評価

a. 発がん性

<発がんに関する疫学研究>

ヒ素を含む粉塵に曝露した労働者、無機ヒ素化合物を含む治療薬を投与された患者、ヒ素濃度の高い飲料水を飲んだ住民でがんが多発していることから、国際がん研究機関(IARC)は、ヒ素及びその化合物については、ヒトで十分な証拠があるとしてグループ1(ヒトに対して発がん性のある物質)に分類し、逐次評価を行っている(IARC 1973 ; 1980 ; 1987 ; 2004 ; 2009 ; Straifら 2009)。

3価の無機ヒ素化合物をホーレル水などの治療薬として投与された患者で多くの皮膚がんが発症したと評価し(IARC 1980)、治療薬としてのヒ素投与後、皮膚がん、肝血管肉腫、大腸がん、腎がん、髄膜腫が合併することを追加している(IARC 1987)。

また、IARCは2004年に飲料水からのヒ素曝露による発がん性の評価をまとめている(IARC 2004)。膀胱がんは台湾、チリ、アルゼンチン、オーストラリアの生態学的研究、台湾、日本、米国のコホート研究、台湾、米国、フィンランドの症例対照研究から、曝露集団で用量-反応関係の証拠があると評価された。肺がんは、台湾、チリ、アルゼンチン、オーストラリアの死亡率

のデータ、台湾、日本、米国のコホート研究、台湾、チリの症例対照研究から、用量－反応関係の証拠があると評価された。皮膚がんは、台湾、メキシコ、チリ、米国の生態学的研究、台湾のコホート研究、米国の症例対照研究から、用量－反応関係の証拠があると評価された。腎がんは、台湾、チリ、アルゼンチン、オーストラリアの生態学的研究、台湾、米国のコホート研究から評価され、高濃度及び長期曝露集団で腎がんのリスクを上げるものの、相対リスクは膀胱がんより低く、用量－反応関係は認められないと評価された。その他、前立腺がんの過剰死亡が南西台湾で報告されている。以上のことから、IARC(2004)は、飲料水のヒ素はヒトの膀胱がん、肺がん、皮膚がんの原因となる証拠が十分あるとしている。

無機ヒ素化合物を含む粉じんの吸入曝露の影響としては、銅製錬所での症例対照研究、コホート研究で呼吸器がんの過剰死亡が認められている。銅、鉛、亜鉛の製錬所近傍の住民で呼吸器がんの過剰死亡が示唆されている。また、ヒ素系殺虫剤製造作業者を対象とした3つの集団で呼吸器がんの過剰死亡が示されている。ヒ酸鉛の散布作業でのコホートでは過剰死亡が認められず、曝露レベルが低いと考えられている。そのほか、銅鉱、金鉱の採掘労働者でのコホートにおける肺がんが報告されている。

吸入曝露によるその他の臓器がんに関しては、米国ワシントン州Tacomaの銅製錬所のコホートで消化管がんの発症率は約20%の増加、腎がんと血液リンパ系の悪性腫瘍は約30%の増加が報告されている（EnterlineとMarsh 1980、1982）一方、米国モンタナ州Anacondaの銅製錬所のコホートでその他の臓器がんの発症率については一貫して増加する傾向は認められなかったとの報告もある（Lee-Feldstein 1983）。

以上のように、ヒ素の経口曝露、吸入曝露とも多臓器において過剰発がんをもたらすが、吸入曝露においては、呼吸器がんの過剰死亡が顕著であり、定量的リスク評価が可能であること、また、本評価が大気汚染による健康リスクを評価することを目的としていることから、吸入曝露による影響を中心に記述する。

① 無機ヒ素化合物の吸入曝露による肺がん死亡を明らかにした疫学的証拠

吸入曝露によるものは、製錬所・鉱山労働者、製錬所・鉱山近隣住民、殺虫剤（ヒ素含有）製造労働者等を対象としたもの等がある。製錬所労働者を対象とした疫学研究から、無機ヒ素化合物の吸入曝露と肺がん発生との関連があるとする十分な証拠があり、また、定量的な評価を行うのに十分な用量－反応関係を示す知見が得られている（表 2～表 5）。一方、製錬所労働者や無機ヒ素化合物を含む殺虫剤の曝露を受けた者を対象とした調査において、内臓がん、特に膀胱がん等の尿路系のがんと関連が認められているものの、用量－反応関係を明らかにするには不十分である。

そこで、作業環境中のヒ素濃度あるいは尿中ヒ素濃度から推定された曝露量と曝露期間の積（通常、累積曝露量と表現されるが、1日の労働時間、年間労働日で換算する前の値であるため、以下「曝露量・年」で表す。）と肺がんの発症または死亡との関係を明らかにした米国ワシントン州Tacoma、米国モンタナ州Anaconda、スウェーデンRönnskärの銅製錬所の3コホートの論文を中心に紹介し、ヒ素曝露による過剰発がん・がん死亡リスクについて検討する。

i. 米国ワシントン州 Tacoma の銅製錬所 (表 2)

ワシントン州Tacomaの銅製錬所において、1946年から1960年までに無機ヒ素曝露を受けた労働者を対象とした研究(PintoとBennet 1963)及び1949～73年まで無機ヒ素曝露を受けた労働者を対象とした研究(EnterlineとMarsh 1982 ; Pintoら 1977 ; Pintoら 1978) などの一連の研究がある。いずれの研究も、製錬業務についていなかった労働者に比べて製錬労働者では呼吸器がんによる死亡率が3～5倍であり、曝露期間を考慮しないで、すべての製錬労働者を対象とした場合でも、がんの死亡率は2倍になっていた。当時の銅製錬所の作業環境における無機ヒ素化合物の濃度は、ほとんどの場合数千 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、最高値は約25,000 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ に達していたとされている(Welchら 1982)。なお、Enterlineは1938年の製錬所内の無機ヒ素化合物の濃度は800～62,400 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であったと報告している。

ii. 米国モンタナ州 Anaconda の銅製錬所 (表 3)

LeeとFraumeni (1969)が、モンタナ州Anacondaの銅製錬作業員で心血管系疾患と肺がんのリスクが増加していることを最初に報告した。その後、追加したコホート研究や症例対照研究がなされた(Lubinら 1981 ; Welchら 1982 ; BrownとChu 1983a,b,c ; Lee-Feldstein 1983, 1986, 1989 ; Lubinら 2000)。

これらの労働者は無機ヒ素化合物以外に二酸化硫黄にも曝露されていたが、15年以上にわたり最高レベルの無機ヒ素化合物曝露を受けていた労働者においては、呼吸器がん死亡率が7倍も高かった。また、曝露開始から呼吸器がんが死亡するまでの潜在期間の長さは、無機ヒ素化合物曝露の長さや強さに関連することも明らかとなっている(LeeとFraumeni 1969 ; Lee-Feldstein 1983)。

なお、無機ヒ素化合物に曝露された労働者における喫煙は、心血管系疾患による死亡率を増加させる可能性があるが、肺がんによる死亡率の増加には関与していないと考えられた(Larramendyら 1981)。

iii. スウェーデン Rönnskär の銅製錬所 (表 4)

Axelssonら(1978)は、症例対照研究でスウェーデン北部のRönnskärの銅製錬所において肺がんが多発していることを最初に報告した。以来、Wall(1980)、Pershagenら(1981)、Pershagenら(1987)、Järupら(1989)、Sandströmら(1989)、JärupとPershagen(1991)、SandströmとWall(1993)などのコホート研究、症例対照研究が報告されている。

iv. ヒ素系殺虫剤製造工場及び散布作業員 (表 5)

米国ミシガン州の無機ヒ素化合物を含有する殺虫剤製造工場における症例対照研究、米国メリーランド州Baltimoreの殺虫剤製造工場でのコホート研究で、肺がんの過剰死亡が報告されている。しかし、米国ワシントン州のWenatchee地域のヒ素系殺虫剤の散布作業員コホートでは、肺がんによる過剰死亡は認められていない。

② その他の吸入曝露の知見

①のほか、吸入曝露による発がんの証拠を示す論文を表 6にまとめた。

肺がんについては、①で紹介した研究以外にもカナダ、オーストラリア、フランス、チリ、ロ

シア、日本など多くの地域で過剰死亡が報告されている (Kusiakら 1991 ; Armstrongら 1979 ; Simonatoら 1994 ; Bulbulyanら 1996 ; Ferreccioら 1996 ; 常俊 2000) 。

また、肺がん以外のがんについては、Anacondaの製錬作業員での消化器がん (Lee-Feldstein 1983) 、Tacomaでの結腸がん (EnterlineとMarsh 1982) 、 Rönnskärでの脳、神経系の腫瘍 (Wall 1980)、白血病・骨髄腫、佐賀関銅製錬所での肝がん、結腸がん (TokudomeとKuratsune 1976)、フランス金鉱コホートでの結腸がん (Simonatoら 1994)、亜ヒ酸ナトリウムの洗羊液製造工場労働者での皮膚がん (HillとFanning 1948)、ヒ素系殺虫剤を曝露したぶどう栽培兼ぶどう酒醸造業者での皮膚がん (Roth 1958)がある。このように、金鉱、銅製錬所、ヒ素系殺虫剤製造工場の労働者などの発がんが報告されているが、曝露量あるいは曝露年数が不明のため、曝露量・年の把握ができない。

その他、職業的な曝露以外の曝露による健康影響については、一般的に比較的高濃度の無機ヒ素化合物に曝露されていることが予想される製錬所近隣住民についての多くの疫学調査が実施されているが、製錬所から居住地までの距離と肺がん発生の増加との間には関連が認められていない (BlotとFraumeni 1975 ; Newmanら 1976 ; PershagenとVahter 1979 ; Romら 1982)。その後、いくつかの研究では喫煙習慣や職業的要因を考慮しても銅製錬所の近隣に居住する人の肺がんのリスクが高いことを認めた報告があるが (Brownら 1984 ; Cordierら 1983 ; Matanoskiら 1981 ; Ottら 1974)、Frostら (1987)は製錬所近隣住民の肺がんリスクは低く、明白な肺がんリスクの増加は認められないとしている。また、BuchetとLison (1998)は、ベルギー北部の亜鉛製錬所周辺 (ヒ素の年平均気中濃度 $0.3 \mu\text{g-As}/\text{m}^3$ 、飲料水中濃度 $20\sim 50 \mu\text{g-As}/\text{L}$) の住民において、がんの過剰死亡は認められなかったとしている。

国内では、宮崎県土呂久鉱山及び島根県笹ヶ谷鉱山の操業に伴う周辺住民への健康影響が報告されており、肺がん、膀胱がんによる死亡が高率で認められた (常俊 2000) 。しかしながら、これらの症状は無機ヒ素化合物を含む土壌、河川水、地下水からの複合的な曝露によるものであり、特定の曝露経路と健康影響の関連について定量的な評価を行うことは困難であると考えられる。

表 2 ヒトの疫学に関する概要<米国ワシントン州 Tacoma の銅製錬所>

EnterlineとMarsh (1982) は、1940～1964年の間に1年以上Tacomaの銅製錬所で働いた白人男性2,802人を1941～76年の間観察し、計104名の呼吸器がん死亡を認めた。ワシントン州の白人男性と比較してSMR（ここではSMRは観察値/期待値×100とする）を求めたところ、尿中濃度から求めた曝露量・年との関連が認められた。その他の器官では、呼吸用保護具を使用していない1930年以前に雇用された群で、大腸がんが観察値12、SMR 208.5 ($p < 0.05$)と有意な上昇を認めた。

なお、曝露量・年は、Pintoら (1977)の式 気中濃度($\mu\text{g}/\text{m}^3$) = $0.304 \times$ 尿中濃度($\mu\text{g}/\text{L}$) から求められている。

曝露量・年(尿)		曝露量・年 $\mu\text{g}/\text{m}^3 \cdot \text{年}$	呼吸器がん				
($\mu\text{g}/\text{L} \cdot \text{年}$)	区分平均値		観察人年	観察値	期待値	SMR	EMR
<500	302	91.8	10,902	8	3.96	202.0	3.71×10^{-4}
500-1,500	866	263	21,642	18	11.36	158.4	3.07×10^{-4}
1,500-3,000	2,173	661	14,623	21	10.33	203.2**	7.30×10^{-4}
3,000-7,000	4,543	1,381	13,898	26	14.12	184.1**	8.55×10^{-4}
7,000<	13,457	4,091	9,398	31	12.74	243.3**	19.43×10^{-4}
合計			70,464	104	52.47	198.2	7.31×10^{-4}

EMR:肺がんの過剰絶対危険度 (the excess absolute lung cancer mortality risk)

** $p < 0.01$

EnterlineとMarsh(1982)及びVirenとSilvers (1994) より作成

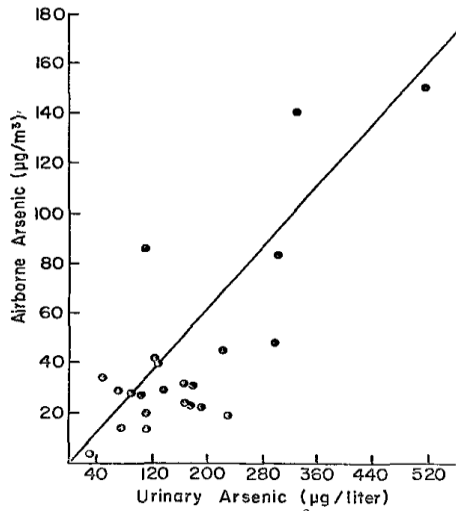
潜伏期間10年を考慮すると次のようになる。

曝露量・年 $\mu\text{g}-\text{As}/\text{m}^3 \cdot \text{年}$	10年のlag		
	観察人年	呼吸器がんの観察値	呼吸器がんの期待値
91.8	27802	10	6.4
263	16453	22*	12.5
661	11213	26**	11.5
1,381	9571	22*	12.4
4,091	5423	24**	9.7

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

また、銅製錬所でヒ素と同時に曝露していた二酸化硫黄と肺がん死亡との関係性を評価した。ヒ素が同程度の濃度 ($7,500 \mu\text{g}/\text{m}^3$) で、二酸化硫黄の濃度が異なる ($5 \sim 20 \text{ppm}$ 及びほとんど曝露なし) 2つの作業部門の呼吸器がん死亡には、有意差は認められなかった。

Pintoら（1976；1977）は、三酸化二ヒ素に曝露した労働者24人の気中ヒ素濃度と尿中ヒ素の関係を明らかにした。気中濃度が300 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 以下であれば尿中濃度は500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 以下で、平均気中ヒ素濃度が53 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ では尿中ヒ素が152～200 $\mu\text{g}/\text{L}$ に増加するとした。24名の労働者の気中曝露量と尿中ヒ素量の関係から、 $\text{気中濃度}(\mu\text{g}/\text{m}^3) = 0.304 \times \text{尿中濃度}(\mu\text{g}/\text{L})$ が導かれている。なお、尿中ヒ素は海産物摂取により増加することから、サンプリング開始の2日前から魚を摂取しないよう指導がされている。



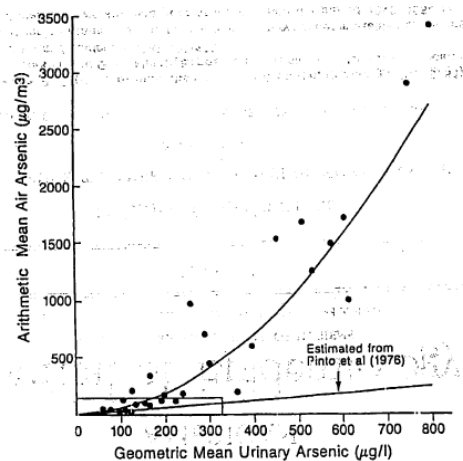
※（尿中濃度 224 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、気中濃度 295 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ）の点は除かれている。

Enterlineら(1987)は、1940～1964年に1年以上Tacomaの銅製錬所で働いた白人男性労働者2,802人のコホートの再解析を行った。

1938年以降の事業場年報の気中ヒ素濃度と、1948年以降の尿中ヒ素濃度から曝露量が推計された。1971年以前の気中濃度はスポット・テープで採取され、それ以降は個人サンプラーで採取されている。Pintoら(1977)の直線回帰式は気中濃度が比較的低い作業場の労働者を対象に求めたものであったことから、尿中濃度が高い場合には気中濃度を低く見積もっているとして、11箇所の気中濃度の算術平均と尿中ヒ素濃度の幾何平均の28例の関係から次式を求めた。

$$\text{気中濃度} = 0.0064 \times (\text{尿中濃度})^{1.942}$$

気中濃度のデータがない例については、尿中濃度からこの式を用いて曝露量を求め、職歴から曝露量・年が計算された。1938年以前の曝露については1938年の曝露量を用いた。個々の労働者の曝露量・年は作業場毎のそれぞれの作業歴で($\mu\text{g}/\text{m}^3 \times \text{年}$)を計算したところ、低曝露群で高いSMRを示し、呼吸器がん死亡との用量-反応関係は、気中ヒ素濃度に基づいた場合は下に凹の関係となり、尿中ヒ素濃度に基づいた場合は線形となった。



Tacoma の銅製錬所労働者の尿中ヒ素濃度と気中ヒ素濃度の関係

曝露量・年 ($\mu\text{g}/\text{m}^3 \cdot \text{年}$)	観察人年	呼吸器がん		
		観察死亡数	SMR	EMR
< 750	424.5	9	136.4	1.47
750-1,999	1,370.1	15	169.9	3.95
2,000-3,999	2,955.0	19	184.0*	6.47
4,000-7,999	5,784.5	21	204.9**	9.29
8,000-19,999	11,412.0	23	221.0**	13.36
20,000-44,999	29,558.2	13	264.0**	22.96
45,000<	57,375.0	4	338.5	41.96
	計	104	195.2	7.31

EMR: the excess absolute lung cancer mortality risk $\times 10^4$

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Enterlineら(1987)及びVirenとSilvers (1994) より作成

Enterlineら(1995)は、Tacomaの製錬作業に1940～64年に1年以上従事した2,802人のコホートで、1941～86年まで観察期間を延長した。コホートの98.5%の生死、1,583名の死亡、うち96.6%の死亡証明書が確認された。死亡の期待値は同年齢同年代のワシントン州白人男性の疾患別死亡率から求めた。SMRは、全がんが143.1、大腸がんが161.8、呼吸器がんが209.7（そのうち気管支・気管・肺がんでは214.1）で、それぞれ $p < 0.01$ で有意であった。また、骨がんのSMRは455.6で $p < 0.05$ で有意であった。全がん、大腸がん、呼吸器がん、気管支・気管・肺がん、骨がんの観察値は、それぞれ395、38、188、182、5であった。直腸がんの観察値とSMRは、15、176.0、腎がんのそれらは11、163.5、肝胆がんのそれらは1、21.2であったが、いずれも有意な差は認められていない。呼吸器がんのリスクは曝露量・年に伴って増加し、最も高い曝露群でSMRが315.7($p < 0.05$)であった。

曝露期間別のSMRでは、曝露20年未満では呼吸器がん（そのうち気管支・気管・肺がん）のみに有意な増加($p < 0.05$)が認められた。20年以上の曝露群では呼吸器がんのSMRは曝露20年未満の176.0 ($p < 0.01$)から213.8($p < 0.01$)に増加し、全がんでは119.1から146.7($p < 0.01$)、大腸がんでは76.8から172.5($p < 0.01$)といずれも有意な増加がみられ、また尿中のヒ素濃度から推定した曝露量・年が多いほどSMRが高くなることが明らかにされている。

曝露量・年とSMRの関係は指数関係にあるとし、 $SMR=1+10.5$ （曝露量・年）^{0.279}を導きだした。

曝露量・年 ($\mu\text{g}/\text{m}^3\cdot\text{年}$)	平均曝露量・年 ($\mu\text{g}/\text{m}^3\cdot\text{年}$)	観察人年	呼吸器がん		
			観察数	期待値	SMR
< 750	405	20,445	22	14.29	154.0
750-	1,305	19,111	30	17.10	175.5**
2,000-	2,925	15,805	36	17.17	209.7**
4,000-	5,708	13,747	36	17.00	211.7**
8,000-	12,334	10,934	39	15.48	252.0**
20,000-	28,326	4,114	20	7.04	284.0**
45,000-	58,957	761	5	1.58	315.7*

* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$

表 3 ヒトの疫学に関する概要<米国モンタナ州 Anaconda の銅製錬所>

LeeとFraumeni(1969)は、モンタナ州Anacondaの銅製錬所で1938～56年に1年以上働いていた白人男性労働者8,047名を対象に1938～64年の間観察し、ヒ素の吸入曝露によって肺がんリスクが上昇することを最初に報告した。

Welchら(1982)は、Anacondaの銅製錬所で1956年以前に1年以上働いていた製錬作業員8,047名から1,800名を抽出して対象とし、1938～63年の間観察した。肺がんのSMRは、低濃度曝露群 (< $100\mu\text{g}/\text{m}^3$) が138と有意でないが、中濃度曝露群 ($100\sim 499\mu\text{g}/\text{m}^3$) が303($p < 0.01$)、高濃度曝露群 ($500\sim 4,999\mu\text{g}/\text{m}^3$) が375($p < 0.01$)、超高濃度曝露群 ($5,000\mu\text{g}/\text{m}^3$ 以上) が704($p < 0.01$)と有意に上昇していた。また、曝露量・年では2,000～12,000 $\mu\text{g}/\text{m}^3\cdot\text{年}$ の群でSMRが400($p < 0.01$)と有意な上昇がみられた。

ヒ素の時間加重平均曝露量、曝露量・年とSMRの間に用量-反応関係が認められた。交絡因子として二酸化硫黄、アスベストを調べたが影響はなかった。対象のうち喫煙者は81.6%で、非喫煙者の肺がんのSMRが低かったものの、喫煙と肺がんの関連はヒ素曝露と肺がんの関連ほど強くなかった。

Higginsら(1982)は、LeeとFraumeni(1969)のAnacondaの銅製錬所の作業員8,047名から1,800人を抽出して対象とし、1977年まで追跡している。対象はLeeとFraumeni(1969)が高曝露として分類した作業員すべてと、対象の20%は残りのコホートからランダム抽出している。その結果、呼吸器がんによる死亡数は80であった。期待値はモンタナ州白人男性から求めた。精錬所内の18の作業部門については1943～65年の実測値から平均濃度を求めている一方、他の17の作業部門については実測値がなく、これら部門の平均濃度は推定によるものである。個人曝露量は1978年までの職歴で推計された。1,800人のうち80.5%は喫煙習慣があり、16%は非喫煙者であった。1955～78年の米国の非喫煙率は24～36%である。高曝露者の非喫煙率は15.1%で、他の曝露者の16.3%と差はなく、非喫煙者においてもヒ素の高度曝露群で呼吸器がんが増加していた。

U.S.EPA(1984)は、この論文からユニットリスク $4.90 \times 10^{-3}/(\mu\text{g}/\text{m}^3)$ を導いている。

曝露量・年 ($\mu\text{g}/\text{m}^3 \cdot \text{年}$)	平均曝露量・年 ($\mu\text{g}/\text{m}^3 \cdot \text{年}$)	観察人年	呼吸器がん		
			観察数	期待値	SMR
<500	250	13845.9	4	5.8	69
500-2,000	1,250	10713.0	9	5.7	158
2,000-12,000	7,000	11117.8	27	6.8	397**
12,000 \leq	16,000	9015.5	40	7.3	548**

** $p < 0.01$

Lee-Feldstein(1983)は、Anacondaの銅製錬所に1957年以前に雇用され1年以上勤務した労働者8,047名を対象に1938～77年の間観察した。気中濃度はMorris (1975) の1943～58年の56地点、702サンプルのデータから推計された。対象者は雇用期間と曝露レベルで高濃度、中等度、低濃度の3群に分け、それぞれ気中濃度は11,270、580、290 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ と見積られた。なお、高濃度の作業域では呼吸用保護具を装着したため、高濃度群の曝露濃度は11,270 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ より低い。また、雇用年数によって、コホート1 (25年以上曝露、平均勤務年数 39年)、コホート2 (15年以上25年未満曝露、勤務年 20年)、コホート3 (15年未満曝露) を用いた。

結果は全コホートで192,476人年、302名の呼吸器がんを含む3,522名の死亡を認めた。期待値をアイダホ州、ワイオミング州、モンタナ州の白人男性の年齢補正で計算したところ、呼吸器がんのSMRは285($p < 0.01$)であった。その他のがんでは消化器がんの観察値が167、期待値133.58、SMR 125 ($p < 0.01$) であった。

また、銅製錬所でヒ素と同時に曝露していた二酸化硫黄と肺がん死亡との関係性を評価した。大きなSMRを示したのは、1924年以前に初雇用された労働者では、中濃度のヒ素と高濃度の二酸化硫黄に曝露した群 (SMR 931) と高濃度のヒ素と中濃度の二酸化硫黄に曝露した群 (SMR 636) であった。また、1925年以降に初雇用された労働者では、高濃度のヒ素と中濃度の二酸化硫黄に曝露した群 (SMR 497) であった。著者らは、この研究においてヒ素が呼吸器がんの過剰発症の第一要因であったと結論はできず、ヒ素と二酸化硫黄の相互作用である可能性も否定できないが、二酸化硫黄への同時曝露がないヒ素系殺虫剤製造工場の疫学研究の結果を考慮すると、肺がん発症の主要な要因はヒ素であり、二酸化硫黄によりその効果が強められたとしている。

U.S. EPA (1984) は、この論文から高曝露を除いてリスク分析を行い、1年間の環境曝露の1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ は、 $1\mu\text{g}/\text{m}^3 \times (24/8\text{時間}) \times (365/240\text{日}) = 4.56\mu\text{g}/\text{m}^3$ の労働環境曝露に対応すると計算し、ユニットリスク $2.80 \times 10^{-3}/(\mu\text{g}/\text{m}^3)$ を求めている。

また、WHO (1987) においても、この論文から低濃度群、中濃度群、高濃度群のユニットリスクをそれぞれ $3.9 \times 10^{-3}/(\mu\text{g}/\text{m}^3)$ 、 $5.1 \times 10^{-3}/(\mu\text{g}/\text{m}^3)$ 、 $3.1 \times 10^{-3}/(\mu\text{g}/\text{m}^3)$ と算出し、コホート全体のユニットリスクを3つの幾何平均から $4.0 \times 10^{-3}/(\mu\text{g}/\text{m}^3)$ としている。

コホート	最大ヒ素曝露	曝露量・年 $\mu\text{g}/\text{m}^3 \cdot \text{年}$	観察 人年	呼吸器がん		
				観察値	期待値	SMR
コホート 1 25 年以上曝露	高濃度(11,270)	36,064	2,400	13	2.5	520
	中濃度(580)	18,560	6,837	49	7.0	700
	低濃度(270)	9,280	14,573	51	16.3	313
コホート 2 15-25 年曝露	高濃度	22,250	2,629	9	1.3	692
	中濃度	11,600	6,509	13	4.0	325
	低濃度	5,800	12,520	16	8.6	186
コホート 3 15 年未満曝露	高濃度	5,973	6,520	11	2.4	458
	中濃度	3,074	24,594	31	9.3	333
	低濃度					

出典：U.S. EPA (1984)

BrownとChu(1983a)は、LeeとFraumeni(1969)とLee-Feldstein (1983) の論文を用いて、発がんプロセスの各段階での年齢特異性を考慮した。BrownとChu(1983b)は、ヒ素は発がんプロセスの遅い段階で決定的に働くとした。その仮説に基づき多段発がんモデルの最後から2番目の段階でヒ素曝露が働くとして、リスクは次の式に従うとした。

$$r(d,t_0)=C[(d+t_0)^{k-1}-t_0^{k-1}]$$

ここでdは曝露期間、 t_0 は曝露開始年齢、Cとkは未知変数で、Cは曝露量に依存し、kは曝露の時間効果に依存する。BrownとChu(1983b)は、55歳以前に銅製錬所を離職した人はこのモデルから外れることに注目した。

また、BrownとChu(1983b)はヒ素及び二酸化硫黄への曝露と肺がん死亡との関係を別々に評価したところ、両物質とも交絡因子を調整していない肺がん死亡との関係が認められたが、交絡因子を調整すると二酸化硫黄では曝露量との関係が認められなくなった。

Lee-Feldsteinら(1989)は、Anacondaの銅製錬所の製錬労働者8,045名を対象に1938～77年の期間で症例対照研究を行っている。肺がんで死亡した労働者302名を症例として、出生時期、死亡時期、初回雇用時期をマッチさせた対照を選定した。累積曝露量 ($\mu\text{g}/\text{m}^3 \cdot \text{月}$) の推定は、Morris (1978) のデータを用いて気中ヒ素の高濃度域 (算術平均 $61,990 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、幾何平均 $21,650 \mu\text{g}/\text{m}^3$)、中濃度域 (算術平均 $7,030 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、幾何平均 $260 \mu\text{g}/\text{m}^3$)、低濃度域 (算術平均 $380 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、幾何平均 $190 \mu\text{g}/\text{m}^3$) に分類して行った。また、時間加重平均濃度 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) を算術平均濃度及び幾何平均濃度の両方に基づいて推定した。1925年以前に雇用された労働者では、呼吸器がん死亡と最高曝露濃度、累積曝露量、時間加重平均濃度のいずれとも関連が認められた。1925～47年に雇用された労働者では、時間加重平均濃度と最も強く関連していた。この群では、雇用後31.9年の低濃度曝露者に対する雇用後16.9年の高濃度曝露者の呼吸器がんの相対リスク (RR) は6.0であった。

Lubinら(2000)は、LeeとFraumeni(1969)のコホートから2名の女性と追跡不能者の計31名を除いて、1957年以前に雇用されて1年以上勤務した白人男性労働者8,014名からなるコホートを1938～89年まで追跡した。その結果、446名の呼吸器がんを含む4,930名(63%)の死亡が確認された。観察終了時に生死の不明な者は1,175名(15%)で、そのうち1900年以前に生まれた81名を死亡、1900年以降に生まれた1,094名を生存とみなした。

有意に高い死因とSMRの一覧、及び推計曝露量別呼吸器がんのRRの一覧を以下に記載する。446名の呼吸器がんのSMRは155 (95%CI : 141-170) で、用量-反応関係が認められた。

死因 (ICD 8)	観察値	SMR	95%CI
全死因	5011	114	111-117
全がん(140-209)	1010	113	107-121
呼吸器系がん(160-164)	446	155	141-170
肺、気管支、胸膜(162-163)	428	158	144-174
神経系、感覚器の疾患(320-389)	56	131	101-170
がん以外の呼吸器系の疾患(460-519)	455	156	142-212
肺気腫(492)	93	173	141-212
消化管の疾患(520-577)	219	114	100-130
肝硬変(571)	102	121	100-147
老衰及びその他の診断名不明確の病態(780-799)	97	226	185-277
外因性(800-998)	416	135	123-149

労働衛生管理として1943～58年の作業環境濃度の702のデータが記録されている。これらのデータをもとに、ヒ素推定曝露量の軽度290 µg/ m³、中等度580 µg/ m³、重度11,300 µg/m³の場所にわけ、さらに労働者の曝露域で働いた年数 (曝露時間、軽度L年、中等度M年、重度H年)で時間加重平均 (TWA) した。その際、曝露が重度の作業領域では、近年では呼吸用保護具を付けるようになったことから、その保護具の効果λを考慮し (着用時は防塵効果90%と見なしλ=0.1、非着用はλ=1.0と想定)、推計曝露量・年を 式 $290 \times L + 580 \times M + 11300 \times \lambda \times H$ で求めた。

なお、1943年以前は作業環境の測定データはなく、また29作業領域のうち半数以上は測定されていない。また、測定は労働衛生管理が必要な時及びプロセス変更時に行われ、ヒ素が有害と考えられるときにその職場で測定されている。測定地点はランダムではない。

累積曝露 十分位	推計平均 曝露量・年 (µg/ m ³ ・年)	λ=0.1				λ=1.0			
		観察者 数	観察 人年	RR	95%CI	観察者 数	観察 人年	RR	95%CI
1	900	26	30,130	100		26	28,098	100	
2	3,200	24	28,526	110	60-200	24	26,717	099	60-180
3	6,400	25	20,256	126	70-230	25	21,759	103	60-180
4	8,700	26	10,834	195	110-350	26	9,696	214	120-390
5	9,600	25	7,093	253	140-460	25	6,106	255	140-460
6	11,100	25	5,971	301	170-550	24	6,253	237	130-430
7	12,600	26	5,709	214	120-390	27	6,446	174	100-320
8	15,800	25	4,250	278	150-510	25	6,369	336	190-610
9	23,200	25	4,907	372	200-680	25	5,067	274	150-500
10	158,400	25	3,194	404	220-740	25	4,389	396	220-710

呼吸器がんの過剰相対リスクは気中ヒ素の吸入曝露量の増加に伴い直線的に増加することから、直線モデルから、過剰相対リスクは0.21/(mg/m³-yr)、λ=0.11(95%CI:0.06-0.18) と見積もられた。

表 4 ヒトの疫学に関する概要<スウェーデン Rönnskär の銅製錬所>

Axelssonら(1978)は、Rönnskärの銅製錬所労働者で1960～76年に30～74歳で死亡した369症例について症例対照研究を行ったところ、対照に比べて肺がんは5倍、心血管疾患が2倍高く、白血病・骨髄腫はわずかに高かった($p < 0.02$)。

Wall (1980) は、Rönnskärの銅製錬所で1928～66年に雇用されて3ヶ月以上勤務した労働者3,919名を対象に、1928～1976年の間追跡調査したところ、ヒ素曝露作業では肺がん、胃がん及び脳神経系のがんの過剰死亡がみられた。これらの労働者の肺がん死亡率は、製錬所近隣の住民の5倍であった。5年以上焙焼作業に従事した50歳以上の労働者の寿命は、銅製錬所の全労働者より3年、スウェーデン男性より5年短かった。

Pershagenら(1981)は、Rönnskärの銅製錬所労働者のうち、肺がんによる死亡者228名を対象に症例対照研究を行った。肺がんの死亡率比rate ratioは喫煙群で14.7、非喫煙群で1.2であり、呼吸器がんのリスクは喫煙により増加するとしている。

Järupら(1989)は、Rönnskärの銅製錬所において1927～67年に3ヶ月以上従事した3,916人の男性を対象に、1947～81年まで追跡調査を行った。そのうち15名(0.4%)が生死不明であった。1950年以前は有効な死亡率データがないが、全死亡者1,275名のうちその期間の死亡者は89名であり、寄与率は7%と低い。製錬所内の作業領域における気中ヒ素濃度の測定は1945年に初めて行われ、1950年から常時測定された。1945～50年以前の濃度は、生産統計からヒ素取扱量を推定して、作業領域ごとの気中ヒ素濃度を推定した。個人曝露量はこれらの作業環境中濃度と作業歴から算出された。全労働者の肺がんのSMRは372 (95%CI : 304-450) であった。肺がんの死亡率はヒ素の累積曝露量と正の関連があるが、曝露期間との間に関連は見られなかった。二酸化硫黄の推定曝露量と肺がんの間では用量-反応関係は認められなかった。

累積曝露量 μg/ m ³ ・年	肺がん死亡 観察数	SMR	95%CI
250 以下	14	271	148-454
250- 1,000	13	360	192-615
1,000-5,000	17	238	139-382
5,000- 15,000	15	338	189-558
15,000-50,000	29	461	309-662
50,000-100,000	6	728	267-1585
100,000 以上	12	1137	588-1986
計	106	372	304-450

Järup ら (1989); Sandström ら (1989)

JärupとPershagen (1991)によると、Rönnskärの銅製錬所で1927～67年に3ヶ月以上従事した男性労働者を対象にしたコホート内症例対照研究において、喫煙とヒ素曝露との関係で、15,000 μg/ m³・年以下の累積曝露群では喫煙者と非喫煙者にほとんど差は認められなかった。また、1940年以前、1940～49年、1949年以降に雇用された労働者にSMRの違いはほとんどなかった。このことは曝露レベルが同程度の場合、観察期間が長くても明らかなリスクは上昇していないことを意味している。コホートの一部においても、コホート全体においても、死亡率は平均曝露強度に応じて大きくなるが、曝露期間とは明確な傾向は認められていない。また、銅製錬所でヒ素と同時に曝露していた二酸化硫黄と肺がん死亡との関係性を評価したところ、二酸化硫黄に曝露した全群で肺がん死亡リスクは上昇したが、二酸化硫黄への累積曝露との用量-反応関係は認められなかった。

Järup(1992)は、1940年以前の曝露を再評価したところ、低曝露者から中曝露者までは肺がんのSMRがわずかに増加したのみであり、相当の頑健性があることが示された（累積曝露量が $250\mu\text{g}/\text{m}^3 \cdot \text{年}$ 未満の群で肺がんSMR 272(95%CI:145-465)、 $250 \sim 1,500\mu\text{g}/\text{m}^3 \cdot \text{年}$ の群で301(95%CI:218-404)。一方で、高曝露者での肺がんのSMRは大きく増加した（同 $1,500 \sim 100,000\mu\text{g}/\text{m}^3 \cdot \text{年}$ の群で同500 (95%CI : 348-695)、 $100,000\mu\text{g}/\text{m}^3 \cdot \text{年}$ 以上の群で1151(95%CI : 595-2011)）。その結果、曝露反応関係の強さは減少した。

SandströmとWall (1992)は、Rönnskärのコホート(n = 6,334)をさらに1987年まで延長して、肺がんの発症率と死亡率がさらに低下することを認めたが、依然スウェーデン男性と比較して肺がん発症率は高い。

表 5 ヒトの疫学に関する概要<ヒ素系殺虫剤製造工場及び散布作業員>

Ottら (1974) は、米国ミシガン州の無機ヒ素化合物（ヒ酸鉛、ヒ酸マグネシウム、アセトヒ酸銅）を含有する殺虫剤の製造工場労働者の死亡173例と、同工場でヒ素とアスベストに曝露しないで死亡した1,809例を死因別に比較し、ヒ素曝露量と呼吸器がん用量-反応関係を認めている。その他、リンパ血液系の悪性新生物（白血病を除く）が観察値5、期待値1.3、その比 385 ($p < 0.01$)であった。ただし、コホート研究でないので疫学研究としての評価は低い。

D : 総曝露量 ($\mu\text{g}/\text{m}^3 \cdot \text{年}$)	観察値	期待値	比 (観察値/ 期待値)
41.8	1	1.77	56
125	2	1.01	198
250	4	1.38	290
417	3	1.36	221
790	3	1.70	176
1544	2	0.97	206
3505	3	0.77	390
6451	5	0.79	633
29497	5	0.72	694

総曝露量は、 $(d \text{ mg} \times 1000\mu\text{g}/\text{mg}) / \{(4 \text{ m}^3/\text{日}) \times (21 \text{ 日}/\text{月}) \times (12 \text{ 月}/\text{年})\}$ で求められた。

Mabuchiら (1979 ; 1980) は、米国メリーランド州Baltimoreの殺虫剤製造工場、男性1,050名、女性343名を1946~77年の間観察し、性、年齢、年代を揃えたBaltimoreの白人と比較し、23名の肺がんが観察されSMRが168($p < 0.05$)であったと報告している。

米国ワシントン州のWenatchee地域のヒ素系殺虫剤の散布作業員コホートでは肺がんによる過剰死亡が認められず、曝露レベルが低かったためと考えられている (Nelssonら 1973 ; Wicklundら 1988 ; Tollestrupら 1995)。

表 6 ヒトの疫学に関する概要（その他の吸入曝露の知見）

<p>カナダのオンタリオ州の金鉱の採掘労働者のコホート研究で、1945年以前に金鉱採掘に従事し、ウラニウム、ニッケルは取扱っていない労働者4,184名の肺がんのSMRは140 (95%CI: 122-159) であった。労働者はヒ素の他に、ラドン、ディーゼル排気に曝露していたと考えられる(Kusiakら 1991)。</p>
<p>オーストラリア西部の金鉱の採掘労働者1,974名のコホート研究で、13～14年間観察を行った。呼吸器がんのSMRは140 (59例、P<0.05) であった。胃がんのSMRは40(4例)、結腸及び直腸がんは80 (9例)、膀胱がんのSMRは60 (2例) であった。労働者はヒ素に曝露していたが、交絡因子としてラドン、ディーゼル排ガスの影響が考えられる(Armstrongら 1979)。</p>
<p>フランスSalsigneの金鉱及び製錬所で1954年以降に3ヶ月以上働いた労働者1,330名のコホート研究で1972～87年の間観察した結果、肺がんのSMRは213であった。胃がんのSMRは115(3例)、腎がん0、膀胱がん74 (1例) であった。労働者はヒ素の他に、ラドン、シリカに曝露していたと考えられる(Simonatoら 1994)。</p>
<p>Sobelら (1988)は、米国のヒ素含有殺虫剤製造工場労働者のコホート研究 (Ottら 1974) を拡張して611人について調査を行った。肺がんのSMRは225 (95%CI: 156-312) で有意な増加が認められた。</p>
<p>TokudomeとKuratsune (1976)は、大分県佐賀関の銅製錬所労働者839人を1949～71年の間観察したコホート研究で、肺がんの観察数10、期待値0.40、SMRが2,500と高い死亡率を認めた。これらの肺がん死亡者は、労働者の中でもヒ素への曝露が最も多いと考えられる製錬作業員であった。その他、肝がん (観察数11、期待値3.26、SMR337、p<0.01)、結腸がん (観察数3、期待値0.59、SMR508、p<0.05) についても過剰死亡が認められた。</p>
<p>米国ユタ州の銅製錬労働者を対象にした肺がんの相対死亡率は、同じ製錬所の非製錬作業員やユタ州全域のおよそ3倍である。リスクはヒ素の累積曝露量、硫酸、鉛、銅と互いに関連し、また喫煙による違いは認められなかった。この製錬所の研究はEnterlineら (1995) が報告している8箇所の銅製錬所のコホート研究の一部で、曝露開始から20年以内では肺がんのSMR170 (観察値11)、20年以上ではSMR108 (観察値39) であった (Enterlineら 1995)。この研究で、相当量のヒ素に曝露したのはユタ州の製錬所のみであり、唯一肺がんによる過剰死亡が認められている (Rencherら 1977)。</p>
<p>チリ北部の銅鉱山及び銅製錬所内の労働者において1987～91年に肺がんが32人発生し、性、年齢をマッチさせた対照と比較した結果、ヒ素に曝露する様々な作業場の中でも製錬作業に従事していた労働者は他の作業場の労働者に対して肺がん死亡のオッズ比が5.7であった (Ferrecchioら 1996)。</p>
<p>無機ヒ素化合物 (亜ヒ酸ナトリウム) を含有する殺虫剤製造労働者において皮膚がんと呼吸器がんの発生が増加した(Perryら 1948)。</p>
<p>米国メリーランド州Baltimoreの無機ヒ素化合物 (ヒ酸鉛、ヒ酸カルシウム、ヒ酸ナトリウム) を含有する殺虫剤製造工場において15年以上勤務した労働者を対象に1960～70年の間調査した結果、男性では呼吸器がん、リンパ系及び造血系の悪性腫瘍による死亡率が有意に増加した(Baetjerら 1975)。</p>

ロシアの化学肥料工場において1945～85年の間に2年以上勤務した従業員（男性2,039人、女性2,957人）を1965～90年の間観察した結果、製造工程に従事した男性において全群と比較しても有意差はなかったが、20年以上の潜伏期間を考慮すると、全がん（SMR 143）、肺がん（SMR 186）の過剰死亡が見られた。労働者はヒ素の他に、窒素酸化物、二酸化硫黄に曝露していたと考えられる(Bulbulyanら 1996)。ただし、喫煙等の影響が考慮されていない。

常俊（2000）は、宮崎県土呂久鉦山の周辺住民の健康影響について報告している。土呂久鉦山では亜ヒ酸の生産が行われたが、それに伴い大気中にヒ素が排出され、土壌や水質が汚染された。鉦山の操業停止の15年後における認定患者の死因は、悪性新生物が31.8%、肺がんが15.9%であった。操業停止後35年では、肺がんは全死亡の20%（宮崎県平均の4.9倍）、膀胱がんは2.5%（宮崎県平均の6.3倍）、膀胱以外の泌尿器系のがんは1.3%（宮崎県平均の3.3倍）であり、肺がん、膀胱がんによる死亡が高率であった。

Yoshikawaら（2008）は、全国264の調査対象市町村を大気中ヒ素濃度によって10のパーセンタイルグループに分類し、厚生労働省の健康マップの市町村別の肺がん、胃がん、肺炎、脳血管及び心疾患のSMRと比較した。大気中ヒ素濃度は1997年以降については環境省有害大気汚染物質モニタリングのデータ、それ以前は大気中ヒ素濃度が測定されていた3県のデータを用いた。大気中ヒ素濃度と肺がんのSMRは、男性では大気中ヒ素濃度1.77ng/m³以上、女性では1.60ng/m³以上の地域において有意な正の相関を示した。特に、最も高い10分位（濃度2.70ng/m³以上、平均4.69 ng/m³、標準偏差4.25 ng/m³）の27地域では、全国平均に比べてSMRが男113.4（95%CI108.9-118.4）、女122.3（114.8-131.2）と有意（*p* < 0.01）に高かった。一方、胃がん、肺炎、脳血管及び心疾患などとヒ素濃度との間に有意な相関関係は認められなかった。なお、たばこ消費量（成人の住民一人当たりの年間たばこ税収で代用）は、各パーセンタイルグループで有意差はなかった。また、大気汚染物質である二酸化硫黄、二酸化窒素及び浮遊粒子状物質の濃度は、ヒ素濃度とそれぞれのSMRとの間の相関関係には影響しなかった。ただし、生態学的研究であるためSMRと肺がんのリスク因子である喫煙などの交絡因子などとの関係は考慮されない。さらに、住民の中にはヒ素に職業曝露した銅製錬作業員などの労働者も含まれている。また、1996年以前の大気中ヒ素濃度については3つの県の測定データしかなく、潜伏期を考えるならば曝露評価については不確実性がある。大気中ヒ素濃度は1980年代後半から低下傾向にあることから、ヒ素曝露量を過小に見積もっている可能性がある。

<発がんに関する動物実験>

発がんに関する主要な知見を表 7に示す。

ヒ素化合物の吸入曝露の発がん実験の報告はないが、無機ヒ素化合物の気管内投与実験で、呼吸器でのがん、肺腺腫などがみられたことから、実験動物への経気道曝露によってがんを誘発する可能性があると考えられる。また、経胎盤曝露では児動物の肝がん、肺がん、下垂体腫瘍、卵巣腫瘍、子宮腫瘍の発生頻度の有意な増加がみられ、発がん性を示す限られた証拠が存在する。なお、体内へ取り込まれた無機ヒ素化合物はメチル化代謝され多様な中間代謝物を生成するが、それらのうち5価有機ヒ素化合物について経口及び経皮投与の発がん性が認められている。3価有機ヒ素化合物の発がん試験の報告はない。

以上のことから、無機ヒ素化合物については実験動物への発がん性についていくつかの研究が報告さ

れているのみであり、IARC(2004)が「無機ヒ素化合物の発がん性は限られた証拠がある」と結論した時点から状況は変化してない。有機ヒ素化合物については、IARC(2004)が「有機ヒ素化合物DMAVの発がん性は十分な証拠がある」と結論しており、さらにMMAV及びトリメチルアルシンオキサイド(TMAO)についても経口投与による発がん促進作用が認められている。経気道と経口・経皮による体内への取り込み経路の違い、種による代謝の違いや生体影響の違いについては考慮すべき点があるものの、DMAV、MMAV及びTMAOは無機ヒ素化合物の中間代謝物であり、無機ヒ素化合物曝露が発がんを引き起こす可能性が示唆される。

表 7 動物実験に関する概要

無機ヒ素化合物

気管内投与実験

<p>シリアンゴールデン・ハムスターに三酸化二ヒ素を週に1回、15週間気管内投与（総量で3.75 mg-As/kg）した実験では、6.4%の動物に喉頭がん、気管がん、気管支がんあるいは肺がんを認めたと報告している。なお、対照群には悪性腫瘍の発生は認められなかった。さらに、ヒ素とベンゾ[a]ピレンを同時に投与した場合、それぞれを単独で投与した場合に比べてより多くの肺の病変（腺腫、乳頭腫、腺腫様の病変）が認められた(Pershagenら 1984)。</p>
<p>シリアンゴールデン・ハムスターに三硫化二ヒ素あるいはヒ酸カルシウムを週に1回、15週間気管内投与（総量で3.75 mg-As/kg）した実験では、肺腺腫の発生頻度は対照群、三硫化二ヒ素群、ヒ酸カルシウム群でそれぞれ0、3.6%、11.4%で、対照群に比較してヒ酸カルシウム群では有意に増加した。なお、対照群及び投与群ともに悪性腫瘍の発生は認められなかった(PershagenとBjörklund 1985)。</p>
<p>シリアンゴールデン・ハムスターに三酸化二ヒ素、ヒ酸カルシウムあるいは三硫化二ヒ素を週に1回15週間気管内投与（総量で3.75 mg-As/kg）し、その後無処置に飼育した一生涯試験では、良性と悪性を合わせた肺腫瘍の発生頻度は対照群、三酸化二ヒ素群、ヒ酸カルシウム群及び三硫化二ヒ素群でそれぞれ4.8%、5.8%、28%、4.5%で、対照群に比較してヒ酸カルシウム群で有意に増加した。肺悪性腫瘍は対照群、三酸化二ヒ素群、ヒ酸カルシウム群では1例ずつ認められた(Yamamotoら 1987)。</p>

経口投与実験

<p>雄K6/ODCトランスジェニックマウスに亜ヒ酸ナトリウムを5ヶ月間飲水投与した実験では、対照群及び10 ppm群での皮膚腫瘍の発生頻度はそれぞれ0、15%で、亜ヒ酸ナトリウム投与群で増加傾向を示した(Chenら 2000)。</p>

経胎盤投与実験

<p>C3Hマウスの妊娠8～18日に、亜ヒ酸ナトリウムを0、42.5、85 ppmの濃度で飲水投与した。出生した雌雄児動物は実験期間中無処置に飼育し、雄マウスは74週齢、雌マウスは90週齢に屠殺した。その結果、雄マウスにおいて、肝がん及び良性と悪性を合わせた下垂体腫瘍の発生頻度は対照群に比較して42.5ppm群及び85 ppm群で対有意に増加した。雌マウスにおいて、肺がん及び良性と悪性を合わせた卵巣腫瘍の発生頻度は85 ppm群で有意に増加した(Waalkesら 2003)。</p>
--

C3Hマウスの妊娠8～18日に、亜ヒ酸ナトリウムを0、42.5、85 ppmの濃度で飲水投与し、出生した雌雄児動物に4～25週齢まで皮膚発がんプロモーターである12-*o*-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)を塗布投与した実験では、TPA投与にかかわらず、対照群と比較して雄マウスでは肝がんと下垂体腫瘍の有意な増加、雌マウスでは卵巣腫瘍の有意な増加が認められた。しかし、いずれの群においても皮膚腫瘍の発生はみられなかった(Waalkesら 2004)。

CD1マウスの妊娠8～18日に、亜ヒ酸ナトリウムを0、85 ppmの濃度で飲水投与し、出生した雌児動物の90週齢時における卵巣、子宮及び下垂体腫瘍の発生頻度が対照群と比較して有意に増加した(Waalkesら 2006)。

有機ヒ素化合物

経口投与実験 (DMA^v)

ラット多臓器中期発がん性試験を用いてDMA^vの発がん修飾作用を検討した実験では、雄F344ラットにイニシエーション処置として5種類の発がん物質 (diethylnitrosamine (DEN)、N-butyl-N-(hydroxybutyl)nitrosamine (BBN)、N-methyl-N'-nitrosourea、dihydroxy-di-N'-propylnitrosamine (DHPN)、1,2-dimethylhydrazine) を4週間飲水投与し、1週間の休薬後DMA^vを0、50、100、200、400 ppmの濃度で25週間飲水投与した。その結果、DMA^vは50 ppm以上で膀胱発がんを促進し、また、肝、腎では200 ppmから、さらに甲状腺では400 ppmで発がん促進作用が認められた。一方、発がんイニシエーション処置をせずにDMA^vを25週間投与しても、がんの発生は見られなかった(Yamamotoら 1995)。

ラット膀胱二段階発がんモデルを用いてDMA^vのラット肝発がん促進作用を検討した実験では、雄F344ラットにイニシエーション処置としてBBNを4週間飲水投与し、その後DMA^vを0、2、10、25、50、100 ppmの濃度で32週間飲水投与した。その結果、10 ppm群以上で膀胱腫瘍の発生は有意に増加し、DMA^vの膀胱発がん促進作用が認められた(Wanibuchiら 1996)。

DMA^vのラット肝発がん促進作用について、ラット肝中期発がん性試験法(伊東法)を用いて0、25、50、100 ppmの3用量で検討した結果、DMA^vは25 ppm以上で用量-反応性に肝前がん病変のマーカーである胎盤型グルタチオンS-トランスフェラーゼ(GST-P)陽性細胞巢の数、面積ともに増加させ、DMA^vの肝発がん促進作用が認められた(Wanibuchiら 1997)。

DMA^vのラット肺発がん促進作用について、ラット肺中期発がん性試験法を用いて検討した実験では、雄F344ラットに肺発がん物質DHPNを飲水投与した後、DMA^vを0、100、200、400 ppmの濃度で30週間飲水投与した。その結果、肺腫瘍の発生は各群間に有意な差は認められず、DMA^vはラット肺発がんに影響を及ぼさなかった(Seikeら 2002)。

飲水投与によるDMA^vの2年間発がん性試験では、雄F344ラットにDMA^vを0、12.5、50、200 ppmの濃度で飲水投与した。その結果、50 ppm群で膀胱がんが19%、乳頭腫とあわせた腫瘍が26%発生し、200 ppm群では膀胱がん、腫瘍がそれぞれ39%発生し、12.5 ppm群と対照群では腫瘍の発生はみられなかった。これらの結果より、DMA^vは雄ラット膀胱に発がん性を有することが示された。膀胱以外の臓器では発がんは認められなかった(Weiら 1999 ; Weiら 2002)。

<p>混餌投与によるDMAVの2年間発がん性試験では、雌雄F344ラットにDMAVを0、2、10、40、100 ppmの濃度で混餌投与した。その結果、雄ラットの膀胱において、乳頭腫は10及び40 ppm群で1例ずつ、がんは2及び100 ppm群でそれぞれ1例と2例、雌ラットの膀胱において、100 ppm群で乳頭腫とがんがそれぞれ4例と6例が認められた。なお、雌雄の対照群ともに腫瘍の発生はみられなかった。また、膀胱以外の臓器では発がん性は認められなかった。これらの結果より、DMAVはラット膀胱に発がん性を有することが示唆された(Arnoldら 2006)。</p>
<p>雄ddYマウスに肺がんイニシエーターである4-nitroquinoline 1-oxideを皮下投与し、その後DMAVを0、200、400 ppmの濃度で25週間飲水投与した実験では、肺腫瘍発生率は対照群と比較してDMAV投与群で増加傾向を示し、肺腫瘍の個数は対照群と比較して400ppm群で有意に増加した。よってDMAVはddYマウスに肺がん促進作用を有することが示唆された(Yamanakaら 1996)。</p>
<p>雄A/JマウスにDMAVを0、50、200、400ppmの濃度で飲水投与した実験では、実験開始後25週に、肺腫瘍の発生頻度、個数及び大きさは各群間に有意な差はなかったが、実験開始後50週に、肺がんの発生頻度は200及び400ppm群で対照群に比較して有意に増加した。また、良性と悪性腫瘍を合わせた腫瘍の個数は400ppm群で対照群に比較して有意に増加した(Hayashiら 1998)。</p>
<p>雄K6/ODCトランスジェニックマウスにDMAVを0、10、100 ppmの濃度で5ヶ月間飲水投与した実験では、皮膚腫瘍の発生頻度はそれぞれ0、8、22%で、統計学的に有意な差はないが増加傾向を示した(Chenら 2000)。</p>
<p>雄p53ノックアウトマウス及び野生型マウスに、DMAVを0、50、200 ppmの濃度で80週間飲水投与した実験では、p53ノックアウトマウス及び野生型マウスのDMAV投与群ではそれぞれの対照群と比較し、早期から腫瘍の発生が有意に認められた。また、200 ppmのDMAVが投与されたp53ノックアウトマウスでは1匹あたりの総腫瘍数、野生型マウスでは50及び200ppmのDMAV投与群で腫瘍の発生頻度と総腫瘍数が、それぞれの対照群に比較して有意に増加していた。しかし、腫瘍は、悪性リンパ腫及び白血病、皮下線維肉腫、骨肉腫、肺腫瘍など多くの臓器で認められ、特定の臓器での有意な増加は認められなかった。これらの結果より、DMAVはp53ノックアウトマウス及び野生型C57BL/6Jマウスに発がん性を有することが示された (Salimら 2003)。</p>
<p>酸化DNA傷害修復酵素であるOGG1のノックアウトマウス及び野生型マウスに、DMAVを0、200 ppmの濃度で72週間飲水投与した実験では、OGG1ノックアウトマウスにおける肺腫瘍の発生頻度及び個数は、対照群に比べDMAV投与群で有意に増加した。一方、野生型マウスにおいては、肺腫瘍の発生はみられなかった。これらの結果から、DMAVはOGG1ノックアウトマウスの肺に発がん性を示すことが示唆された(Kinoshitaら 2007)。</p>
<p>雌雄B6C3F₁マウスにDMAVを0、8、40、200、500 ppmの濃度で2年間混餌投与した実験では、DMAVの発がんへの影響はみられなかった(Arnoldら 2006)。</p>

経口投与実験 (MMAV及びTMAO)

<p>ラット肝中期発がん性試験を用いてMMAV及びTMAOのラット肝発がん性に及ぼす影響を0、100 ppmの濃度で検討した結果、対照群に比べMMA及びTMAO投与群ではGST-P陽性細胞巢の数及び面積が有意に増加し、ラット肝発がんを促進することが明らかとなった(Nishikawaら 2002)。</p>
<p>飲水投与によるMMAVのラット2年間発がん性試験では、雄F344ラットにMMAVを0、50、200 ppmの濃度で飲水投与したが、発がんはみられなかった(Shenら 2003a)。</p>

混餌投与によるMMA^Vのラット2年間発がん性試験では、雌雄F344ラットにMMA^Vを0、50、400、1300ppm(1300ppm群では雌雄とも死亡する動物数が急激に増加したため53週に1000 ppmに変更、雄についてはさらに60週に800 ppmに変更)の濃度で混餌投与したが、発がんはみられなかった(Arnoldら 2003)。

雄F344ラットにTMAOを0、50、200 ppmの濃度で2年間飲水投与した実験では、対照群に比較して200ppmで肝腺腫の発生が有意に増加した(Shenら 2003b)。

雌雄B6C3F₁マウスにMMA^Vを0、10、50、200、400 ppmの濃度で2年間混餌投与した実験では、MMA^Vの発がんへの影響はみられなかった(Arnoldら 2003)。

経皮投与実験 (DMA^V)

雄K6/ODCトランスジェニックマウスを用いた皮膚二段階発がん性試験によりDMA^Vの皮膚発がんへの影響を検討した結果、皮膚発がん物質の7,12-dimethylbenz[α]anthraceneでイニシエートした群において、DMA^Vを200 ppmの濃度でクリームに混ぜて塗布した群では、皮膚発がんプロモーターのTPAと同程度の皮膚発がん促進作用を示した。非イニシエーション群ではDMA^Vの有無にかかわらず、皮膚腫瘍の発生はみられなかった(Morikawaら 2000)。

b. 遺伝子障害性

無機ヒ素化合物は、一般に、突然変異を指標とした試験では陰性であるが、染色体異常を指標とした試験では陽性である。代謝及び体内動態の項に示したように、体内に吸収された無機ヒ素化合物はメチル化代謝過程において多様な中間代謝物を生成することから、それら代謝物を含めた遺伝子障害性が検討され、無機ヒ素化合物よりもその中間代謝物である3価メチルヒ素の方が遺伝子障害性を強く示すことが指摘されている(Kleinら 2007)。近年、一部のヒ素化合物は、突然変異、染色体異常及びDNA損傷性のみならず、酸化ストレスの誘発あるいは遺伝子発現等の細胞機能調節に影響を与えることが明らかにされた。表 8にそれらに係る代表的な報告を示す。

微生物を用いた復帰変異試験や動物細胞のHPRT遺伝子変異試験等の突然変異を指標とした試験において、無機ヒ素化合物は陰性を示すが、メチルヒ素の一つであるジメチルアルシンは酸素存在下で大腸菌に突然変異を誘発する(Yamanakaら 1989)。また、DNA鎖切断を指標とした評価において、メチルヒ素化合物は、無機ヒ素化合物と比較して直接的な遺伝子障害性を示す。(Tezukaら 1993 ; Massら 2001 ; Andrewesら 2003)。一方、染色体異常、姉妹染色体分体交換及び形質転換の誘発に関しては、多くの動物細胞において報告されており(U.S.DHHS 2007)、形質転換誘発能は5価無機ヒ素化合物(ヒ酸)よりも3価無機ヒ素化合物(亜ヒ酸)の方が強い(Barrettら 1989)。また、DMAV、MMAV、TMAOにおいても染色体異常が報告され(Eguchiら 1997)、メチルヒ素と無機ヒ素化合物の遺伝子障害性を比較した場合、ヒ酸は5価メチルヒ素より、また、3価メチルヒ素は亜ヒ酸より遺伝子障害性が強い (Kligermanら 2003)。in vivo 試験による遺伝子障害性の評価では、in vitro 試験と比較してデータは少ないものの、無機ヒ素及び有機ヒ素化合物で遺伝子障害性が認められている(Yamanakaら 1989 ; Tinwellら 1991 ; Dasら 1993 ; Brownら 1997 ; Katoら 2003)。吸入曝露による検討では、マウスにおいて無機ヒ素化合物は胎児に染色体異常を誘発させることが報告されている(Nagymajtényiら 1985)。ヒトに対する遺伝子障害性を示すデータは無機ヒ素曝露によるもので(IARC 2004)、職業的な吸入曝露により染色体異常や小核形成の誘発が示されている(Beckmanら 1977 ; Vuyyuriら 2006)。

最近、ヒ素化合物による発がん機構は、変異原性や染色体異常などの直接的な遺伝子障害性のみならずエピジェネティック、すなわち、遺伝子の変異を伴わない遺伝子発現調節異常等の観点から多面的に検討され、ヒ素化合物はタンパク質への結合による生体機能調節、DNA methylationによる遺伝子発現調節、DNA修復及び酸化ストレスの誘発による遺伝子障害等に寄与する可能性が報告されている (Basuら 2001 ; Kitchin 2001 ; Hughes 2002 ; Huangら 2004 ; HughesとKitchin 2006 ; KitchinとWallace 2007 ; SalnikowとZhitkovich 2008)。

以上のように、ヒトに対するデータは十分ではないが、動物実験及びin vitro 実験において、無機ヒ素化合物の生体内代謝中間体であるメチルヒ素化合物は強力な遺伝子障害作用を有することから、メチル化代謝物が発がん性を有する可能性が示唆されている。したがって、無機ヒ素化合物はメチル化代謝の活性化を介して遺伝子障害を誘発するものと判断できる。加えて、無機および一部の有機ヒ素化合物は変異原性や染色体異常などの直接的な遺伝子障害性のみならず遺伝子発現障害など多岐にわたり障害性を示す。

表 8 遺伝子障害性及び細胞機能調節に関する概要

in vitro 遺伝毒性試験

<p>Yamanakaら(1989)は、DMA^VをE. coli B株と3時間密封試験管内で反応させると、変異原性が誘発することを明らかにした。これは、DMA^Vの還元代謝物であるガス状のジメチルアルシンと酸素との反応に起因する。</p>
<p>Massら(2001)は、プラスミドDNA(phiX174)を用いたDNA切断試験において、30mM methylarsoarsine(MMA^{III})及び150μM iododimethylarsine(DMA^{III})を2時間作用させることでDNAを切断することを明らかにした。無機ヒ素化合物及び5価メチルヒ素にはDNA切断作用は認められなかった。また、ヒト末梢血リンパ球を用いたコメット(SCG)アッセイにおいて亜ヒ酸と比較してMMA^{III}で77倍、DMA^{III}は386倍のDNA切断作用が認められた。</p>
<p>Andrewesら(2003)は、モノメチルアルシン、ジメチルアルシン及びトリメチルアルシンなどガス状ヒ素によるプラスミドDNA (pBR 322 及び phiX174) の切断を明らかにした。生体におけるジメチルアルシンの生成について検討した結果、DMA^{III}の還元から生成する可能性が示唆された。</p>
<p>Tezukaら(1993)は、ヒト肺胞II型(L-132)細胞に10mM DMA^Vを曝露することで、DNA鎖切断が誘発されることを明らかにし、また、DMA^V曝露の初期過程におけるDNA付加体の形成がこれに寄与している可能性を示唆した。</p>
<p>Barrettら(1989)は、シリアンハムスター胎児細胞に対する亜ヒ酸(0.8~10μM)及びヒ酸(10~96μM)の曝露が曝露量依存的に形質転換を誘発することを示し、亜ヒ酸はヒ酸の10倍の作用を有することを明らかにした。</p>
<p>Eguchiら(1997)は、チャイニーズハムスターV79細胞に有機ヒ素化合物を曝露させたところ、DMA^V(7.2mM)及びTMAO (7.4mM)は四倍体形成を、MMA^V(3.6mM)、DMA^V及びTMAOは有糸分裂停止を誘発することを明らかにした。</p>
<p>Kleinら(2007)によれば、MMA^{III}及びDMA^{III}は、<i>gpt</i>遺伝子を導入したチャイニーズハムスター細胞G12株において、ほぼ線形の用量-反応関係の変異原性を示したが、有意な変異原性が認められたのはMMA^{III}が強い毒性を示す濃度のみであった。DMA^{III}を処理した場合の細胞生存率(5~7%)はMMA^{III}に比べて大幅に低く強い変異原性を示したが、有意差は認められなかった。また、誘発されたG12変異体の<i>gpt</i>導入遺伝子の欠失頻度は、MMA^{III}で79%、DMA^{III}で77%であった。</p>
<p>Kligermanら(2003)は、無機(ヒ酸及び亜ヒ酸)・有機(MMA^{III}、MMA^V、DMA^{III}及びDMA^V)の6種のヒ素化合物について遺伝子障害性を比較した結果、MMA^{III}及びDMA^{III}はマウスリンパ球細胞L5178Y/TK(+/-)に対し変異原性を示すことを明らかにした。また、DMA^{III}は紡錘体異常を示したことから染色体異数体形成の究極活性種である可能性を示唆し、ヒ酸はMMA^V及びDMA^Vより、また、MMA^{III} 及びDMA^{III}は亜ヒ酸より作用が強いことを示した。</p>

in vivo 遺伝毒性試験

ヒト

<p>Beckmanら(1977)は、スウェーデン北部の製錬所のヒ素曝露労働者9人から血液試料を採取し、リンパ球の染色体異常を観察した結果、他の化合物の曝露による効果は否定できないが、対照群と比較してヒ素曝露労働者において染色体異常の頻度が上昇することを示した。</p>

Vuyyuriら(2006)は、インド南部のガラス工場労働者(200名)の血液試料について白血球のコメットアッセイならびに口腔粘膜細胞の小核誘発試験を実施したところ、労働者のヒ素血中濃度は56.76 µg/Lと対照(11.74µg/L)に比較して高く、コメット法及び小核試験で遺伝子障害の誘発が認められた。

哺乳動物

Tinwellら(1991)は、亜ヒ酸ナトリウム、亜ヒ酸カリウム及びホーレル水をマウス(BALB/c、CBA及びC57BL6)に腹腔内投与(～10 mg/kg)したところ、投与24時間後にマウス骨髄細胞において小核の誘発を明らかにした。

Dasら(1993)は、亜ヒ酸ナトリウム(2.5 mg/kg)をSwiss albino マウスに投与し、24時間後に染色体異常を誘発することを明らかにした。

Nagymajtényiら(1985)は、妊娠開始から9、10、11、12日にヒ素(28.5 mg/m³)を4時間吸入曝露したマウスの胎児(18日)に染色体異常の誘発を認めた。

Yamanakaら(1989)は、1500mg/kgのDMA^VをICRマウスに経口投与した結果、投与12時間後から肺特異的なDNA鎖切断を観察した。

Brownら(1997)は、387mg/kgのDMA^VをCDラットに経口投与した結果、肺特異的なDNA損傷を観察した。

Katoら(2003)は、10.6mg/kgのDMA^VとGSHを同時にマウス尾静脈投与した結果、24時間後、末梢血網状赤血球に小核の誘発を観察した。この誘発にはDMA^Vのさらなる還元代謝が寄与すると推定した。

その他の細胞機能に係る障害

タンパクへの結合による細胞機能調節

3価ヒ素化合物は、タンパク質のSH基と結合することにより、酵素活性の阻害や細胞障害を引き起こす(Johnstone 1963 ; Cullenら 1984)。

3価ヒ素化合物(亜ヒ酸、MMA^{III}、DMA^{III})は細胞機能の調節(レドックス、DNA転写、DNA修復、細胞増殖など)に寄与するタンパクと結合し、それらの複合的な作用により発がん性を示すと考えられている(KitchinとWallance 2007)。

DNA methylation による遺伝子発現調節

遺伝子プロモーター領域に起こるDNAの過剰メチル化はその遺伝子発現を抑制することが知られており、S-アデノシルメチオニン(SAM)がメチル供与体として利用される。ヒ素化合物のメチル化代謝過程においてもSAMが用いられるので、無機ヒ素曝露によるSAMの枯渇がDNAメチレーションを抑制(DNA hypomethylation)し、遺伝子発現を上昇させると考えられている(Zhaoら 1997 ; Chenら 2004)。

亜ヒ酸曝露によるラット肝上皮細胞(TRL 1215)の悪性形質転換は、DNAメチル化の低下によるがん遺伝子(c-myc)の発現上昇による(Chenら 2001)。

ヒ素曝露したヒト膀胱がん患者の足爪中のヒ素濃度(≥0.26µg/g)ががん抑制遺伝子RASSF1A及びPRSS3のプロモーターの過剰メチル化に相関することから、ヒ素化合物によるDNAの過剰メチル化が腫瘍形成に寄与すると考えられる(Marsitら 2006)。

ヒ素曝露患者の血液試料から抽出したDNAを用いてがん抑制遺伝子p53のDNAの過剰メチル化を検討した結果、DNAの過剰メチル化はヒ素曝露濃度依存的に認められた。非ヒ素関連皮膚がんと比較してヒ素曝露に関連した皮膚がんにおいて、p53のDNAの過剰メチル化は認められるものの、有意差は認められなかった(Chandaら 2006)。

DNA 修復への影響

無機ヒ素化合物は一般的に変異原性を示さないが、E. coli WP2株において0.2mMの亜ヒ酸曝露が紫外線(5.6J/m²)による突然変異を増強する(Rossman 1981)。

Maierら(2002)は、亜ヒ酸(2.5μM)及びベンゾ[a]ピレン(BaP)(0.5μM)のマウス肝がん (Hepa-1) 細胞への同時曝露の影響を検討した結果、亜ヒ酸曝露では、BaP-DNA付加体生成がBaP単独曝露と比較して18倍上昇することを明らかにした。

OkuiとFujiwara(1986)は、チャイニーズハムスターV79細胞に対しUV(2.5及び5.0 J/m²)照射し、ただちに亜ヒ酸(0.5μg/ml)及びヒ酸(5μg/ml)を24時間曝露したところ、突然変異頻度が上昇することを明らかにした。この作用は、ピリミジンダイマーの除去修復に対する無機ヒ素化合物の阻害作用であること(co-mutagenic)を示した。

LiとRossman(1989)、YagerとWiencke (1997) 及びHuら(1998)は、無機ヒ素化合物は他の変異原物質の遺伝子障害作用を増強する(co-mutagenesis)ことを示した。これは、無機ヒ素化合物によるDNA修復酵素の阻害あるいは遺伝子発現制御によるものと推定した。

Walterら(2007)は、MMA^{III}及びDMA^{III}は無機ヒ素化合物よりもpoly(ADP-ribose) polymerase (PARP-1)などDNA修復酵素を強力に阻害する可能性を示した。

Piatekら(2008)は、MMA^{III} は、DNA除去修復に寄与する複合体(ZnXPAzf)のzinc fingerから、Zn(II)を遊離し修復阻害することを示した。これは、MMA^{III}のzinc finger 部位での高い-SH親和性によることを推定した。

Shenら(2007)は、MMA^{III}がDNA修復の強力な阻害作用を有することを示した。これは、p53のセリン15のリン酸化の阻害を介したp53の誘導抑制による。

酸化ストレスの誘発

Wanibuchiら(1997)、Yamanakaら(2001)及びMizoiら(2005)は、ヒ素化合物の曝露による発がんの最も有力なメカニズムとして酸化ストレスの誘発を挙げ、主要代謝生成物であるDMA^V投与動物(マウス及びラット)の肺、肝臓、皮膚あるいは尿中で8-oxodGの生成が増加することを明らかにしている。

Yamanakaら(2003)は、DNA塩基の酸化機構の1つとしてDMA^Vの還元代謝物であるDMA^{III}と酸素との反応で生成するジメチルヒ素過酸化体が起因する可能性を示した。

Anら(2005)は、DMA^V投与によるマウスの肺発がん促進作用は肺がんの標的細胞であるクララ細胞での過酸化脂質(4-ヒドロキシノネナール)の特異的な生成に起因することを指摘した。

Kinoshitaら(2007a)は、8-oxodGの除去酵素(OGG-1)を欠損したマウスに200ppmのDMA^Vを72週間飲水投与した場合、腫瘍の形成が野生種と比較して有意に増加することを明らかにした。

Matsuiら(1999)及びAnら(2004)は、ヒトのヒ素曝露によるボーエン病及び皮膚がんの皮膚組織において、8-oxodGの生成が有意に上昇することを免疫組織学的に明らかにした。

<p>Yamanakaら(1990)は、DMA^Vの還元代謝物であるジメチルアルシンと酸素との反応により生成するジメチルヒ素ラジカル及びジメチルヒ素過酸化ラジカルがヒト肺胞II型上皮培養(L-132)細胞のDNA鎖を切断することを示した。</p>
<p>Kitchin (2001)は、DMA^Vのさらなる代謝活性化には酸素が必要であり、このことがヒ素による発がん標的部位が肺、皮膚、膀胱であることと相関する可能性を示した。</p>
<p>Ahmadら(2000)は、DMA^{III}がフェリチンからの鉄の遊離を介し活性酸素種を生成することを明らかにした。</p>
<p>Nesnowら(2002)は、DMA^{III}によるプラスミドDNAの切断はヒドロキシラジカルの生成に起因する可能性を示した。</p>
<p>Liuら(2001)は、亜ヒ酸をヒトーハムスターハイブリット(AL)細胞に曝露した結果、その細胞内にスーパーオキシドに由来するヒドロキシラジカルの生成を認めた。</p>
<p>Huら(2002)は、ヒ素化合物による細胞内レドックスの変化によりAP-1やNF-κBなどの酸化ストレスに影響を受ける転写因子が制御され、これらの作用ががん関連遺伝子<i>c-jun</i>や<i>c-fos</i>の転写あるいはアポトーシスの阻害や細胞増殖など多くの遺伝子の発現に寄与することを示した。</p>
<p>ヒ素化合物は、グルタチオンの枯渇、チオレドキシシン還元酵素及びグルタチオン還元酵素などの阻害により間接的に細胞の酸化ストレスを上昇させる作用があり、これらの作用はヒ素化合物とタンパク中のSH基との親和性に起因する。(Linら 1999 ; ChouchaneとSnow 2001)</p>

遺伝子発現のプロファイリング

<p>cDNAマイクロアレーを用い、ヒ素曝露により変動する遺伝子のプロファイルが、<i>in vivo</i>及び<i>in vitro</i>で行われ、ヒ素化合物による遺伝子転写の変動は、転写因子へのヒ素化合物の結合、酸化ストレス誘発に起因した転写因子の活性変化、あるいはDNAプロモーター領域のメチル化によると考えられ、細胞増殖因子、DNA修復酵素、がん抑制遺伝子産物などの合成に影響する。(Su ら 2006 ; Kinoshitaら 2007b ; Ahlbornら 2007)</p>

(2) 定量評価

国際機関等による定量的リスク評価の結果を表9にまとめた。

米国ワシントン州Tacomaの銅製錬所、米国モンタナ州のAnacondaの銅製錬所及びスウェーデンRönnskärの銅製錬所、及び米国ミシガン州のヒ素系殺虫剤製造工場における疫学研究において、ヒ素曝露濃度と肺がんのSMRの間には用量-反応関係が認められており、定量的な評価を十分行うことができると考える。

U.S.EPAは、1984年に米国の2つのコホート研究 (Anaconda及びTacoma) を用いて、発がん性には閾値がないとして線形外挿モデルを用いてリスク推定を行い、ユニットリスクを $4.29 \times 10^{-3}/(\mu\text{g}/\text{m}^3)$ と決定している。

WHOでも、WHO大気質ガイドライン第1版 (WHO欧州事務局 1987) において米国のAnaconda及びTacomaコホートについて検討し、ユニットリスクを $3.0 \times 10^{-3}/(\mu\text{g}/\text{m}^3)$ と設定している。

無機ヒ素化合物への吸入曝露と肺がん死亡との関連については多くの知見により明らかであ

るものの、Tacomaコホートでの尿中ヒ素濃度による気中ヒ素濃度の推定、Anacondaの銅製錬所での呼吸用保護具を使用した状態での曝露量の推定については、その精度に議論が残り、いずれも曝露の再評価が行われている。Tacomaコホートについては曝露評価を見直して再解析を行った論文（Enterlineら 1987）が発表された。また、同時期にスウェーデンのRönnskärコホートについて用量-反応解析を行った論文（Järupら 1989 ; Järup 1992）が発表された。

VirenとSilvers（1994）は、これらの曝露再評価やRönnskärコホートの論文を用いてU.S.EPA（1984）と同じ手法でリスク推定を試みた結果、過去のTacomaコホート研究においては曝露量が過小に評価されていたため、最新の曝露評価データを用いて算出したユニットリスク $1.43 \times 10^{-3}/(\mu\text{g}/\text{m}^3)$ はU.S.EPA（1984）の推定より小さくなったこと、また、U.S.EPA（1984）の評価を最新のデータを用いて見直すべきことを述べている。

その後、WHO大気質ガイドラインが第2版（WHO欧州事務局 2000）に改訂された際は、このVirenとSilvers（1994）が算出したユニットリスクを参照して、極めて近いユニットリスク値 $1.5 \times 10^{-3}/(\mu\text{g}/\text{m}^3)$ をガイドラインとして設定している。

一方、欧州委員会ヒ素・カドミウム・ニッケル化合物ワーキンググループは、Anaconda及びRönnskärコホートで肺がん死亡の有意な増加が認められた最も低い累積曝露量からLOAELを仮定し、連続曝露への補正及び安全係数を用いて影響の認められない濃度 $4 \sim 13 \text{ng}/\text{m}^3$ を算出している。

なお、Anacondaのコホートについてはその後も曝露の再評価を行ったLubinら（2000）が発表されていることから、リスク定量評価の実施においては新たな知見を考慮することを検討すべきである。