

3. DPAA の代謝及び動態

3.1 吸収

^{14}C でラベルした DPAA (^{14}C 標識 DPAA) 0.3 mg/kg を雄ラットに単回経口投与した結果、投与した放射活性の約 8 割が消化管から吸収され、経口吸収性は比較的高いと考えられた。また、雌に投与したときの血中放射活性との比較から、 ^{14}C 標識 DPAA の体内動態に性差はないものと考えられた³⁾。

皮膚からの吸収に関しては、1,000 mg/kg/day という高用量での経皮毒性試験で DPAA に特徴的な毒性作用（黄色尿や肝臓の腫大など）がみられたことから、わずかではあるが、DPAA は皮膚からも吸収されると考えられた³⁾。

また、環境省による皮下組織及び脂肪を除去した雄のヘアレスラット腹部皮膚又はヒト摘出皮膚を用いた *in vitro* の皮膚透過試験では、図 3-1 に示すように 2-チャンバー拡散セル（有効拡散面積 0.95 cm^2 ）に皮膚を挟んで各セルに 32°C 又は 40°C のリン酸緩衝液（PBS）を満たし、DPAA を角質層側に添加して真皮側に透過した DPAA の濃度を経時的に測定して皮膚透過係数を求めた。

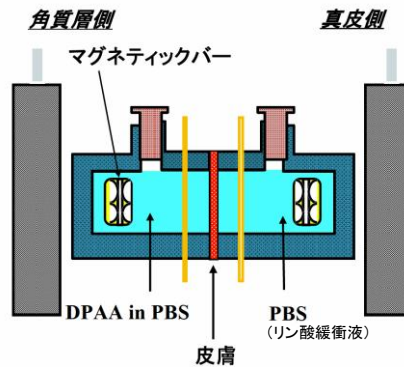


図 3-1 皮膚透過試験用 2-チャンバー拡散セルの模式図

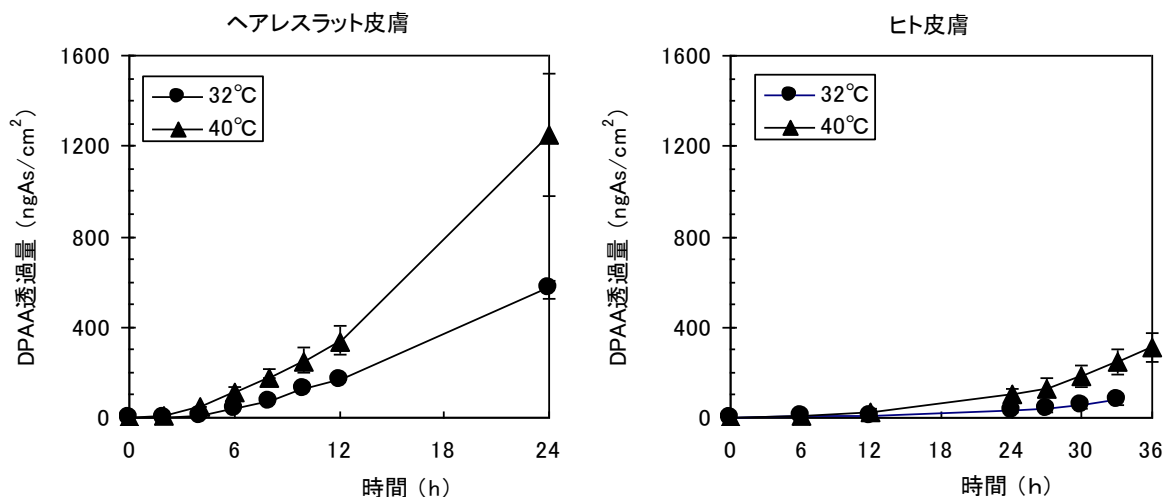


図 3-2 ヘアレスラット皮膚及びヒト皮膚を介した DPAA 累積透過量

図 3-2 に示すように、いずれの皮膚においても温度の上昇に伴う DPAA 累積透過量の増大が認められ、DPAA が真皮側に出現するまでの時間はラット皮膚で約 2 時間、ヒト皮膚で約 6 時間であり、それまでの時間を実験初期として、定常状態とともに皮膚透過係数を算出した。

ヒト皮膚の DPAA 透過係数は表 3-1 に示すようにラット皮膚の値の約 1/2~1/5 と小さく、32°C から 40°C への温度上昇に伴う透過係数の増大はいずれの皮膚も 2~4 倍で一般的な傾向と異なるものではなかった。実験初期の透過係数は定常状態に比べてラット皮膚で 1/13~1/24、ヒト皮膚で 1/8~1/16 であり、入浴時に対応する初期の非定常での透過係数は極めて低い値であった。

表 3-1 32°C 及び 40°C における実験初期と定常状態の DPAA 透過性の比較

	ヘアレスラット($\times 10^{-8}$ cm/s)		ヒト($\times 10^{-8}$ cm/s)	
	0~2 時間	定常状態	0~6 時間	定常状態
32°C	0.26 \pm 0.08	6.26 \pm 0.42	0.14 \pm 0.10	1.10 \pm 0.28
40°C	1.03 \pm 0.15	13.5 \pm 3.98	0.26 \pm 0.11	4.14 \pm 1.02
増加比	4.0	2.2	2.2	3.8

40°C、0~6 時間でのヒト皮膚の DPAA 透過係数 0.26×10^{-8} cm/s を用いて、DPAA 濃度が 1 mgAs/L の風呂に 10 分間入浴 (体表面積 1.6 m² と仮定) した場合の吸収量を求めると、0.02 μ gAs と算出されるが、これは消化管からの吸収率を 100% と仮定すると、1 mgAs/L の水 0.02 mL を飲んだ場合に相当する。なお、この見積りは DPAA 濃度が定量可能になった 6 時間目のデータを用いていることから、実際の入浴時間 (1 時間以内) では透過係数はさらに低いものと推測され、吸収量は 0.02 μ gAs を下回ると考えられた。

3.2 分布

雌雄のラットに ¹⁴C 標識 DPAA 0.3 mg/kg を単回経口投与した結果、吸収された放射活性は全身諸器官に分布し、特に腎臓に高い割合で分布し、次いで血液、骨格筋、小腸、肝臓及び皮膚に分布した。また、分布速度は緩やかながら、中枢・末梢神経へも分布していた。その後、放射活性はこれらの器官から次第に消失していくが、168 時間後も中枢・末梢神経及び皮膚ではピーク値の 20~40% の放射活性がみられ、他の組織ではピーク値の 10% 以下から検出限界未満であったことから、中枢・末梢神経及び皮膚からの消失は比較的緩やかで、長く留まる傾向が認められた³⁾。雄ラットへの DPAA 5 mgAs/kg (17.5 mg/kg) の単回経口投与では、7 日後の主要組織から投与量の約 11.5% (肝臓で約 1%、他の臓器で 1% 以下) のヒ素が回収され、組織への分布は低かった。しかし、対照群に対する投与群の臓器中ヒ素濃度の比率をみると、他の臓器では 1~10 程度であったのに対し、脳では 1 日後に 62.3、7 日後に 91.1 と顕著に高い値を示した。なお、投与量の約 40% が脂肪組織や爪、体毛などの分析対象外の組織に分布していた可能性が考えられた⁶⁾。

雄ラットに ¹⁴C 標識 DPAA 0.3 mg/kg/day を 7 日間経口投与した結果、放射活性はほぼ全身に分布し、最終投与の 0.5 時間後にピーク値を示して経時的に低下した。最も高い放射活性を示した組織は腎臓で、次いで消化管を除くと大脳、小脳、延髄、脊髄、坐骨神経等の中枢・末梢神経系であったが、最終投与の 336 時間後までに腎臓ではピーク値の 1% 未満まで低下したのに対し、中枢・末梢神経系、皮膚、脂肪からの消失は緩徐で、ピーク値の 10% 以上の放射活性がみられ、特に皮膚ではピーク値の約 28% もあった³⁾。

雄ラットに ¹⁴C 標識 DPAA 1 mg/kg を単回経口投与し、1、3 日後の脳内放射活性の分布を全身オ

ーラジオグラフィーで調べた結果、大脳、小脳、延髄、視神経にほぼ均等に分布していたことから、中枢神経内での部位特異性はないものと考えられた³⁾。また、0.3 mg/kg を単回経口投与した雄ラットの脳分画、脊髄、坐骨神経等の中枢・末梢神経系からの放射活性の消失は緩徐であり、投与後 168 時間でも、それぞれ投与後 24 時間の 17%以上の放射活性が認められ、特に坐骨神経では 40%以上の放射活性が認められ、消失が最も緩徐であった。0.3 mg/kg/day の 21 日間経口投与でも中枢・末梢神経系からの放射活性の消失は緩徐であり、336 時間後もそれぞれ投与後 24 時間の 22%以上の放射活性が認められ、特に脊髄では 40%以上もあり、消失が最も緩徐であった。なお、最終投与後 24、72、168 時間における組織中の放射活性は単回経口投与時に比べて高く、反復投与によって上昇することが示されたが、その上昇率（約 2~9 倍）は血漿の場合と同程度であり、放射活性の血漿から組織への移行性は反復投与により大きく変動しないことが示唆された³⁾。

雌雄のラットに 0.3、1.2、5 mg/kg/day の DPAA を 28 日間経口投与して翌日（第 29 日）の体内 DPAA 濃度を調べるとともに、5 mg/kg/day 群については 14 日間の回復期間後の体内濃度も測定した。その結果、図 3-3 に示すように、いずれの投与群でも脳神経系の DPAA 濃度は体内組織の中で最も高い水準にあり、他には小腸、腎臓なども相対的に高かった。最終投与から 14 日経過後（5 mg/kg/day 回復群）の濃度低下をみると、体外排出に伴う体毛の濃度増加を除くと、脳神経系（雌雄）及び精巢上体（雄）で濃度低下割合の低いことが目立ち、脳が最も高いレベルにあることは大きな特徴と考えられた。また、0.3、1.2 mg/kg/day 群では投与量にほぼ比例して組織中 DPAA 濃度が増加（4 倍前後）し、5 mg/kg/day 群では体内濃度が急増して多くの組織で想定される濃度よりも一桁高かった（30 倍前後）が⁷⁾、5 mg/kg/day は死亡がみられるような投与量であることから、全身状態の悪化による排泄機能の低下を反映した結果であることも考えられた。

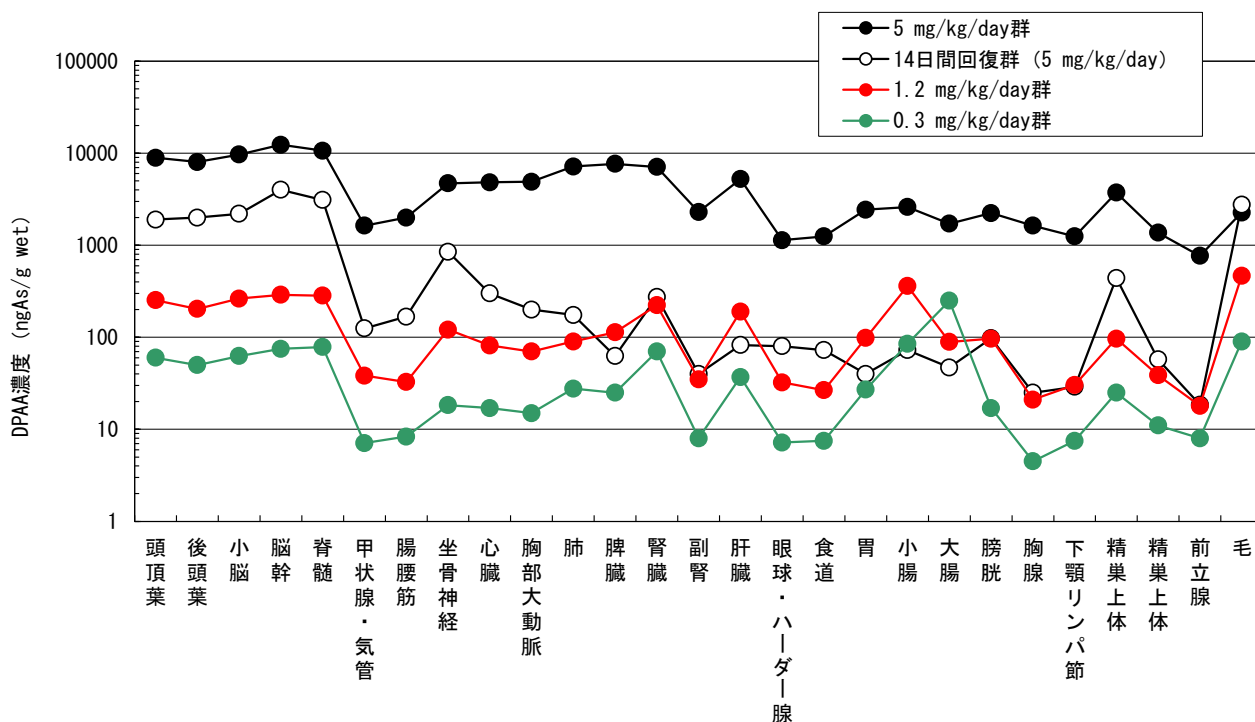


図 3-3 (1) DPAA を 28 日間投与した雄ラットの組織中 DPAA 濃度

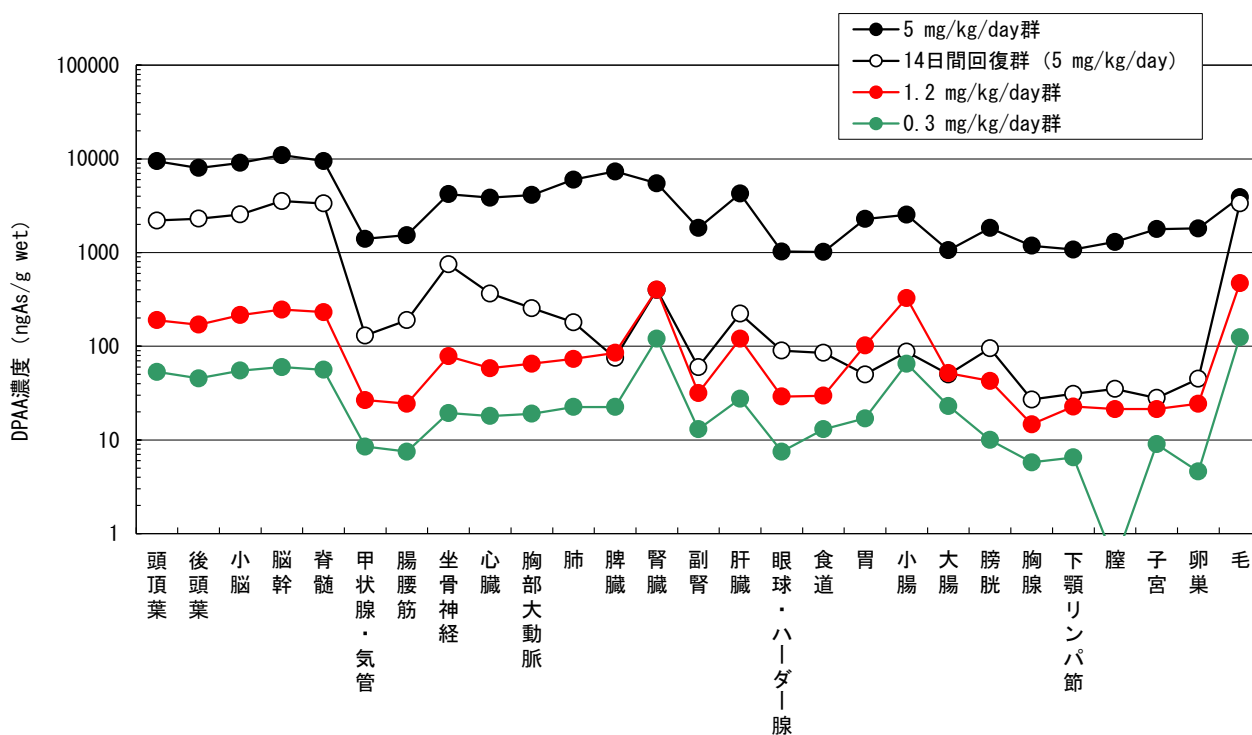


図 3-3 (2) DPAA を 28 日間投与した雌ラットの組織中 DPAA 濃度

雄ラットに 0.01、0.03、0.1、0.3、1 mg/kg/day の ^{14}C 標識 DPAA を 28 日間経口投与して 168 時間 (7 日間) 後の体内濃度を調べた結果、図 3-4 に示すように各組織中の DPAA 濃度は投与量の増加に伴って増加した。1 mg/kg/day 群の組織中 DPAA 濃度に対する各群の濃度比を求めると表 3-2 の通りであり、0.01~1 mg/kg/day の範囲では組織中の DPAA 濃度は投与量にほぼ比例するものと考えられた⁸⁾。

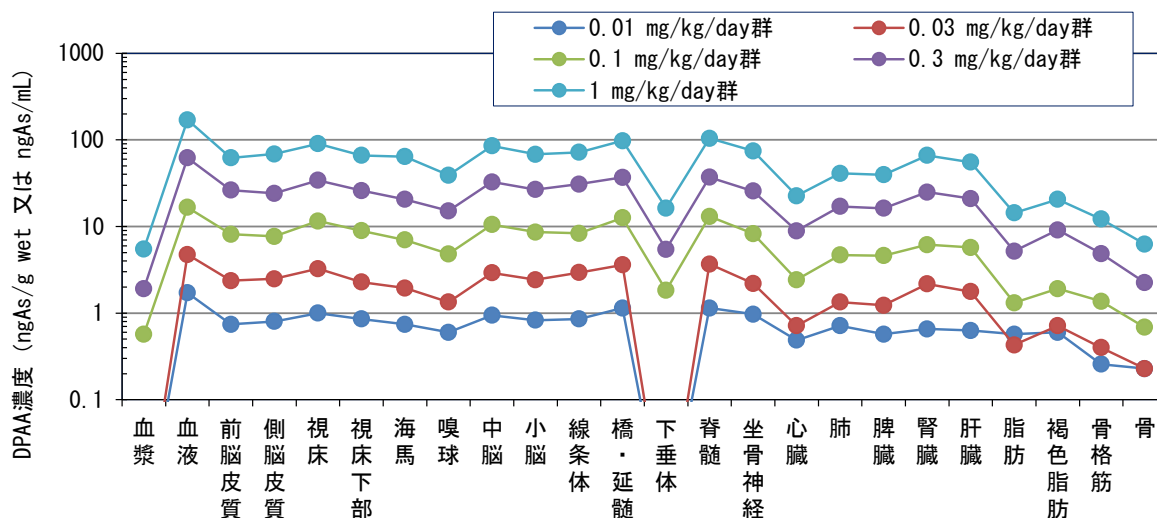


図 3-4 DPAA を 28 日間投与した雄ラットの組織中 DPAA 濃度 (168 時間後)

表 3-2 1 mg/kg/day 群の組織中 DPAA 濃度に対する各群の濃度比

投与量 (mg/kg/day)	0.01	0.03	0.1	0.3	1
組織中 DPAA 濃度の比	0.010~0.040	0.028~0.041	0.091~0.14	0.32~0.44	1.00

雄ラットに 1 mg/kg/day の ^{14}C 標識 DPAA を 28 日間経口投与して 24、72、168、336 時間後の体内濃度を調べた結果、図 3-5 に示すように 72 時間後の DPAA 濃度は視床下部、坐骨神経、脂肪、骨で増加し、血漿、血液、下垂体、骨格筋では比較的軽度の低下であったが、中脳や小脳を含むその他の組織では 24 時間後の約 8 割、腎臓では約 6 割まで低下した。168 時間後には脂肪、坐骨神経、視床下部、血液でやや高かったものの、その他の組織では 24 時間後の約 4 割まで低下した。しかし、その後の低下は緩慢であり、24 時間後の 2 割未満は血漿、嗅球、腎臓のみであった⁸⁾。

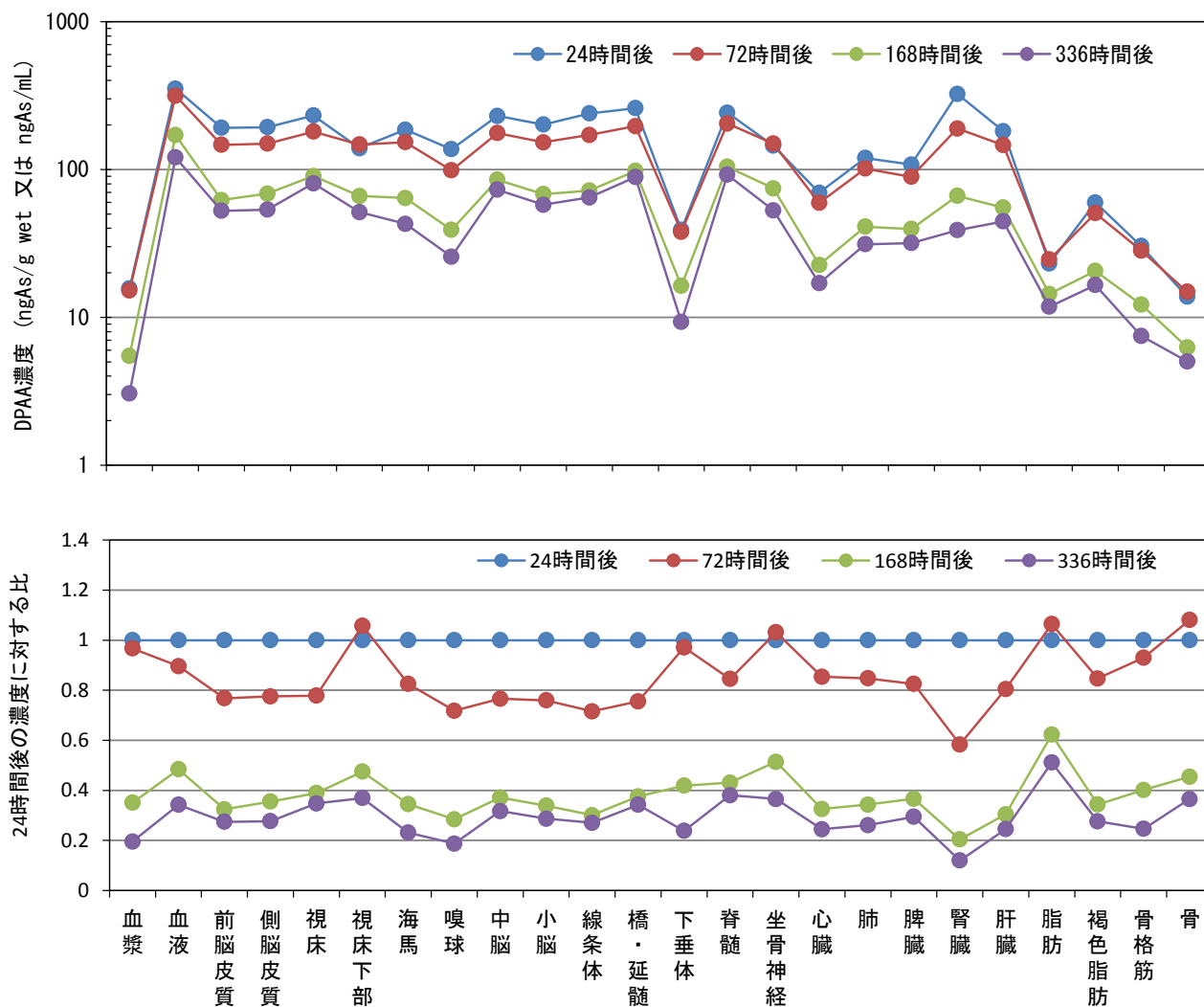


図 3-5 DPAA 1 mg/kg/day を 28 日間投与した雄ラットの組織中 DPAA 濃度の経時変化

妊娠 18 日目の雌ラットに ^{14}C 標識 DPAA 0.3 mg/kg を単回経口投与した結果、 ^{14}C 標識 DPAA の体内分布には性差又は妊娠にかかる大きな変動はみられず、乳腺や卵巣、子宮への分布も低かった。また、胎児の全身及び組織中の放射活性は胎盤中と同レベル又はそれ以下、胎児への放射活性の移行は投与量の 0.02% 未満であったことから、DPAA の胎児への移行は胎盤により制限されていると考えられた。胎児においても中枢神経系への移行は緩徐であり、血中濃度に対する脳中濃度の比率が母ラットで約 52% (大脳) であったのに対し、胎児では約 23% と低く、胎児では DPAA の中枢神経系への移行性は低いと考えられた³⁾。

妊娠 7 日から授乳期を通して母ラットに ^{14}C 標識 DPAA 0.1 mg/kg/day を経口投与し、最終投与から 1 日後の放射活性を全身オートラジオグラフィーで調べた結果、児の体内レベルは母ラットに比

べて低かったものの、消化管内容物、中枢神経系、腎臓及び肝臓に放射活性がみられ、性差はなかった。また、1、3、7日後の児の組織中放射活性を調べた結果、いずれの時点においても、最も高い放射活性は延髄でみられた。中枢神経系からの放射活性の消失は緩徐であり、7日後の雄の児では1日後に比べて約41～52%、雌の児では約45～53%の放射活性が中枢神経系にあったが、その他の組織では雄の児で検出限界値未満～約33%、雌の児で検出限界値未満～約38%まで低下した。このことから、妊娠期間及び授乳期間に反復投与されたDPAAは母ラットから児に移行するが、その分布の程度は母ラットよりも低く、出生後のDPAAの消失は中枢神経系においてより緩徐であると考えられた³⁾。

生後4日の新生児ラット雄に¹⁴C標識DPAA 0.3 mg/kgを単回経口投与した結果、放射活性の大部分は消化管(内容物を含む)に存在したが、吸収された放射活性はほぼ全身に分布し、消化管を除くと特に血液及び肝臓に高い割合で分布した。投与72時間後には成熟ラットの血液、心臓、肺、肝臓、腎臓の放射活性はピーク値の約4～9%、脳では約50%まで低下したが、新生児ラットでは血液、心臓、肺、肝臓、腎臓の放射活性はピーク値の約30～50%の低下で、脳ではピーク値とほぼ同程度の放射活性がみられた。ラットでは腎系球体の形成は生後8～14日と考えられていることから、生後4日の新生児ラットでは腎臓からの排泄機能が未熟のため、腎臓ではなく血液や肝臓に分布したものと考えられた³⁾。

雌のカニクイザルにDPAA 2 mg/kgを単回投与した結果、1、4時間後の脳脊髄液中のヒ素濃度は対照群の約1.5倍、2.6倍であったことから、DPAAは脳内に移行する可能性が示唆された。また、妊娠50日目の雌のカニクイザルにDPAA 1 mg/kg/dayを98～121日間経口投与した結果、高濃度のヒ素が血液中(赤血球に約71%、血漿に約29%)に検出され、単回投与では赤血球中の割合は投与1時間後で約17%、4時間後で約14%であったことから、反復投与によってDPAAが赤血球に蓄積することが示唆された。投与後198～237日が経過すると、血液中のヒ素濃度は対照群よりも有意に高かったものの、ほぼ同じくらいにまで低下したが、血液中のヒ素の約80%が赤血球に分布していた^{9,10)}。

雌雄のカニクイザルにDPAA 1 mg/kg/dayを28日間経口投与し、0、1、6、12ヶ月後にDPAAの体内濃度を測定した結果、図3-6に示すように投与直後のDPAA濃度は中枢神経系(脳、脊髄)、坐骨神経、腎臓、肝臓で高く、投与中止後も中枢神経系に高濃度に残留する傾向がみられ、坐骨神経では中枢神経系と非神経系臓器の中間的な残留性がみられた。このように、DPAA濃度は中枢神経系で高く、非神経系組織で低いという点でラットの結果(図3-3、3-4、3-5)と類似していた。しかし、ラットに1 mg/kg/dayや1.2 mg/kg/dayを28日間投与した結果と比べると、投与直後のサルのDPAA濃度はラットに比べて中枢神経系及び坐骨神経で高く、その他の組織でやや低いという傾向にあり、投与から1ヶ月が経過した時点でさえ、サルの中枢神経系及び坐骨神経におけるDPAA濃度は最終投与から1日後のラットと同レベルであった。このように、サルの中枢神経系及び坐骨神経におけるDPAAの蓄積性は高く、ラットのそれらと比べても高いことが分かった¹¹⁾。

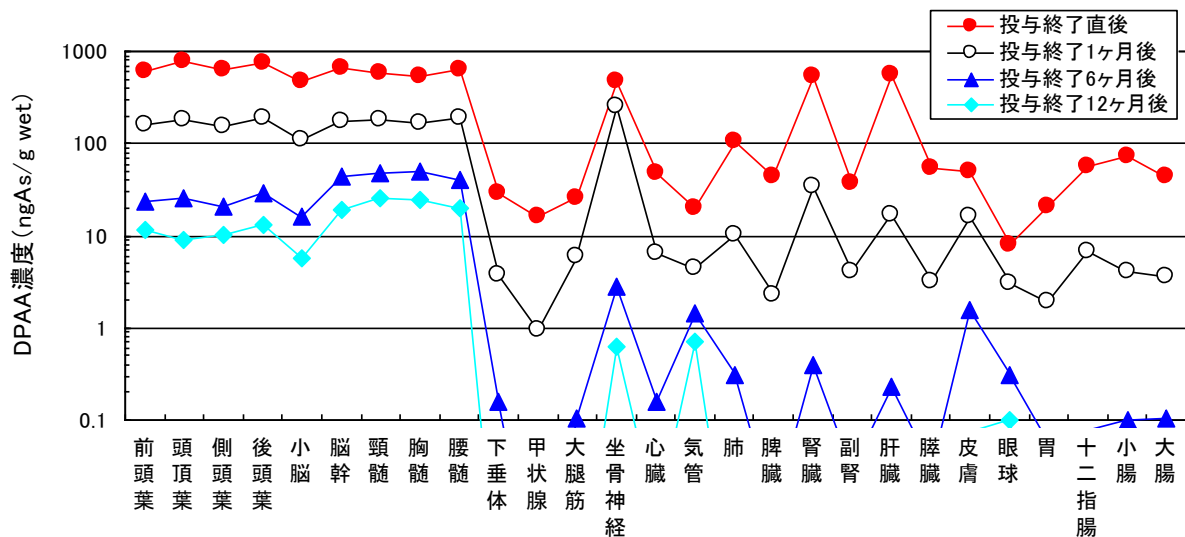


図 3-6 DPAA 1 mg/kg/day を 28 日間投与したサルの組織中 DPAA 濃度の経時変化

ヒト及びラットの血液、血漿を用いた *in vitro* 試験では、添加した DPAA の約 2 割が血球成分と、約 6 割が血漿タンパクと結合しており、種差は認められなかった³⁾。

3.3 代謝

ヒト及びラットの肝ミクロソーム・肝細胞を用いた *in vitro* 代謝試験では、DPAA はいずれにおいても代謝を受けず、種差は認められなかった。また、DPAA 0.1、0.3、0.8、2.0 mg/kg/day を 91 日間経口投与した雌雄ラットの肝薬物代謝酵素を測定した結果、DPAA はいずれの薬物代謝酵素も誘導しないことが明らかとなった³⁾。一方、雄ラットに DPAA 5 mgAs/kg (17.5 mg/kg) を単回経口投与した試験では、2 日目以降の尿中に微量ではあるが未知の化合物が検出された。このため、1 mgAs/kg/day (3.5 mg/kg) 前後に減らして 14 日間投与したところ、4 日目以降の尿中からごくわずかながら未知の代謝物が 2 種類検出され⁶⁾、これらの未知の代謝物は芳香環に水酸化を受けたものと推測され、DPAA が脱フェニル化を受けたものではなかった¹²⁾。

DPAA 1 mg/kg/day を約 100 日間経口投与した雌サルでは、投与期間内の血液から遊離の DPAA とタンパク質に結合した DPAA が検出され、タンパク質には三価の状態では結合していたと考えられたが、主要な尿中代謝物は遊離の DPAA であった⁹⁾。また、DPAA 1 mgAs/kg を単回経口投与した雄ラットでは、胆汁中から DPAA、グルタチオン (GSH) と DPAA の抱合体 (以下、DPAG と略す；ヒ素は三価) が検出され、胆汁中に排泄されたヒ素化合物の約 85~95%が DPAG であったが、糞尿中ではほぼすべてが遊離の DPAA であり、DPAG は検出されなかった^{13,14)}。

3.4 排泄

雄ラットに ¹⁴C 標識 DPAA 0.1 mg/kg を単回静脈内投与した結果、168 時間で投与量の 63.0%が尿中に、38.0%が糞中に排泄されたことから、主な排泄経路は尿中排泄で、胆汁排泄も関与することが示唆された。また、0.3 mg/kg の単回経口投与では 168 時間で投与量の 99.5% (尿中に 48.2%、糞中に 51.3%) が排泄され、その約 8 割が 24 時間までに排泄されたことから、排泄は比較的速やかであると考えられたが、前述したように微量の DPAA は中枢・末梢神経及び皮膚に長く留まる傾向

がみられた³⁾。さらに 0.3 mg/kg の単回経口投与では、48 時間で投与量の 43.8% が尿中に、26.7% が糞中に排泄された。なお、胆汁への移行は 13.4% であった³⁾。

雄ラットに DPAA 1 mgAs/kg/day (3.5 mg/kg/day) を単回経口投与した結果、72 時間で投与したヒ素の 61% が尿中に、27% が糞中に排泄されたが、尿中に排泄されたヒ素の 90% が 24 時間以内の排泄であった¹⁴⁾。一方、雄ラットに DPAA 5 mgAs/kg (17.5 mg/kg) を単回経口投与した試験では、7 日間で投与したヒ素の 23.0% が尿中に、26.5% が糞中に排出されたが、1 mgAs/kg/day (3.5 mg/kg/day) 前後に減らして反復経口投与した試験では、14 日間の尿中排泄は投与量の約 1.2% と単回投与時を下回った⁶⁾。

雌サルに DPAA 2 mg/kg を単回経口投与した試験では、24 時間で尿中に投与量の約 40%、糞中に約 17% のヒ素が排泄された¹⁰⁾。また、1 mg/kg/day を 98~121 日間経口投与した試験結果^{9, 10, 15)} から、投与期間内の 24 時間における排泄を概算すると、毎日の投与量の約 34% が尿中に、約 53% が糞中に排泄されていたと推定された。

体毛や爪、妊娠動物の乳汁も 1 つの排泄経路と考えられ、体毛については反復投与したラットやサルで濃縮して蓄積されることが示されている^{7, 10)}。DPAA 1 mg/kg を 98~121 日間経口投与した雌サルでは、体毛のヒ素濃度は対照群と比較して投与開始後 41~91 日に約 5 倍、投与終了後 198~237 日に約 19 倍も高く、サルの赤血球の寿命は 86~105 日であることから、赤血球中に蓄積されていた 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^{9, 10)}。

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^{16, 17)}、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¹³⁾ 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。

また、GSH の代謝分解に係わる酵素（ γ -GTP）の阻害剤（GGsTopTM）、GSH 代謝酵素阻害剤、ヒ素キレート剤の排泄促進効果も低いと考えられたが¹⁸⁾、DPAA と亜セレン酸を同時投与した場合に、ヒ素とセレンの胆汁排泄が有意に低下し、また肝臓中のヒ素とセレン濃度ともに低下していた。無機ヒ素とセレンとが複合体を形成することが知られているが、無機ヒ素と同様に亜セレン酸が DPAA と複合体を形成することにより、肝臓における DPAA の蓄積を低下させている可能性が考えられる^{19, 20)}。