

3. DPAA の体内動態及び代謝

3.1 吸収

^{14}C で放射ラベルした 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たことから、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、DPAA の体内動態に性差はないものと考えられた⁵⁾。

マウスの脳（線条体）と頸静脈に刺入した微細なチューブ（マイクロダイアリス・プローブ）を通して線条体組織液と血液を 15 分間隔で分画しながら DPAA 32 mg/kg を単回経口投与した結果、DPAA は投与後 15 分以内に線条体組織液と血液の両方に現れ、1 時間半から 2 時間程度で最大濃度に達した後、2 時間程度の半減期でゆっくりと減少した。しかし、線条体組織液の DPAA 濃度は血液の 1/10 と低く、濃度増加もわずかに遅れていたことから、DPAA の脳への移行は制限されているものと考えられた⁶⁻⁸⁾。

皮膚からの吸収に関しては、1,000 mg/kg/day という高用量で実施した経皮毒性試験で 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⁵⁾。

また、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環境省による *in vitro* の皮膚透過試験の結果、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 (DPAA によると考えられる症状が最も早くみられた時期 (平成 12 年 1 月頃) の A 井戸水と同程度) 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 μgAs 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 濃度が皮膚を透過して定量可能になった 6 時間後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 μgAs を下回ると考えられた。

3.2 分布

図 3-1 の DPAA 投与パターン模式図に示すように、出産後の母ラットに 0、20 ppm の濃度で飲水に添加した DPAA を投与し、離乳後は母ラットと同様に 6 週齢まで DPAA を飲水投与した D 群、12 週齢まで DPAA を飲水投与した DD 群、6 週齢まで DPAA を飲水投与した後に水道水を 6 週間投与した DC 群、6 週齢から DPAA を 6 週間飲水投与した CD 群、6 週齢まで水道水を投与した C 群、12 週齢まで水道水を投与した CC 群を設定して 6 週齢時、12 週齢時における血液、小脳のヒ素濃度を測定した。

その結果、図 3-2 に示した全血、血漿、小脳におけるヒ素濃度のグラフから分かるように、DPAA に由来する血液中、小脳中のヒ素濃度は 6 週間以内に平衡状態に達すること、血液中からは 6 週間以内にはほぼ完全に消失すること、小脳中からも 6 週間以内に大部分が消失することが明らかになった⁹⁾。

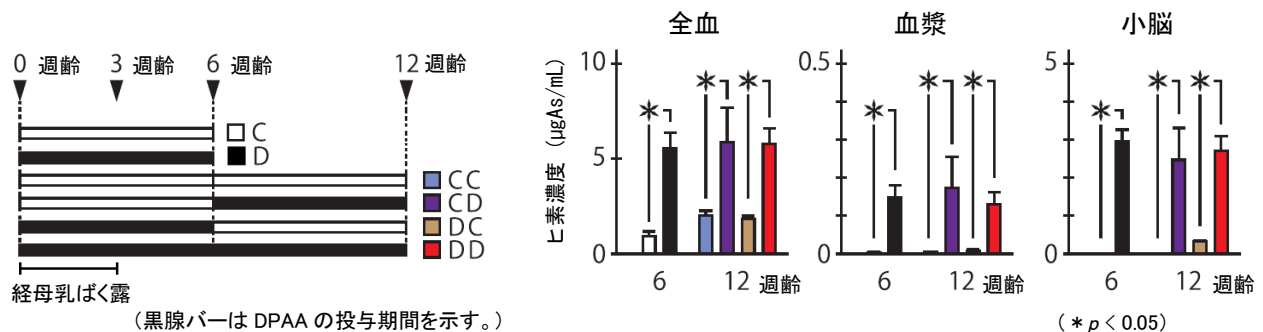


図 3-1 DPAA の投与パターン模式図

図 3-2 血液中及び小脳中のヒ素濃度

雌雄のラットに ^{14}C 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⁹⁾。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¹⁰⁾。

雄ラットに ^{14}C 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⁹⁾。

雄ラットに ^{14}C 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ト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 DPAA の分布に部位特異性はないものと考えられた⁵⁾。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⁵⁾、DPAA 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。

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（第 42 日）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）及び精巣上体（雄）で濃度低下割合の低いことが目立ち、脳が最も高い濃度レベルにあった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の DPAA 濃度が増加（4 倍前後）したのに対し、5 mg/kg/day 群では体内濃度が大きく増加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¹¹⁾、5 mg/kg/day 群では死亡例がみられたことから、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。

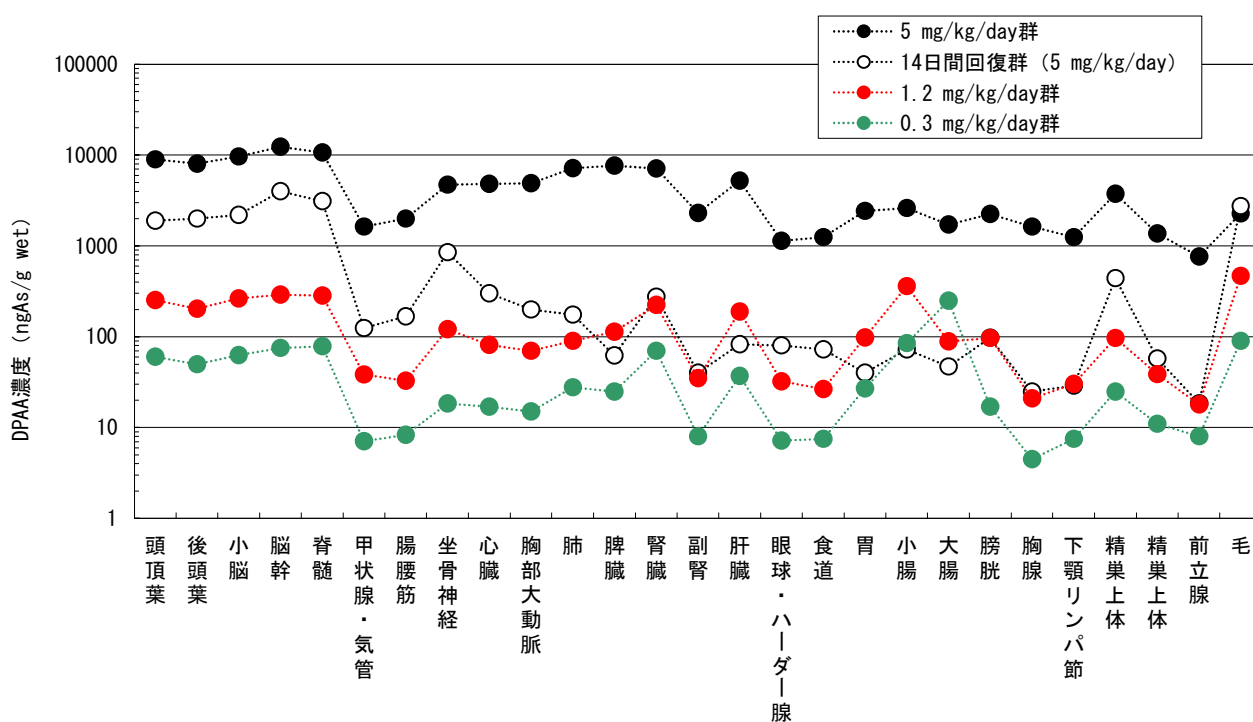


図 3-3 (1) DPAA を 28 日間投与した雄ラットの組織中 DPAA 濃度

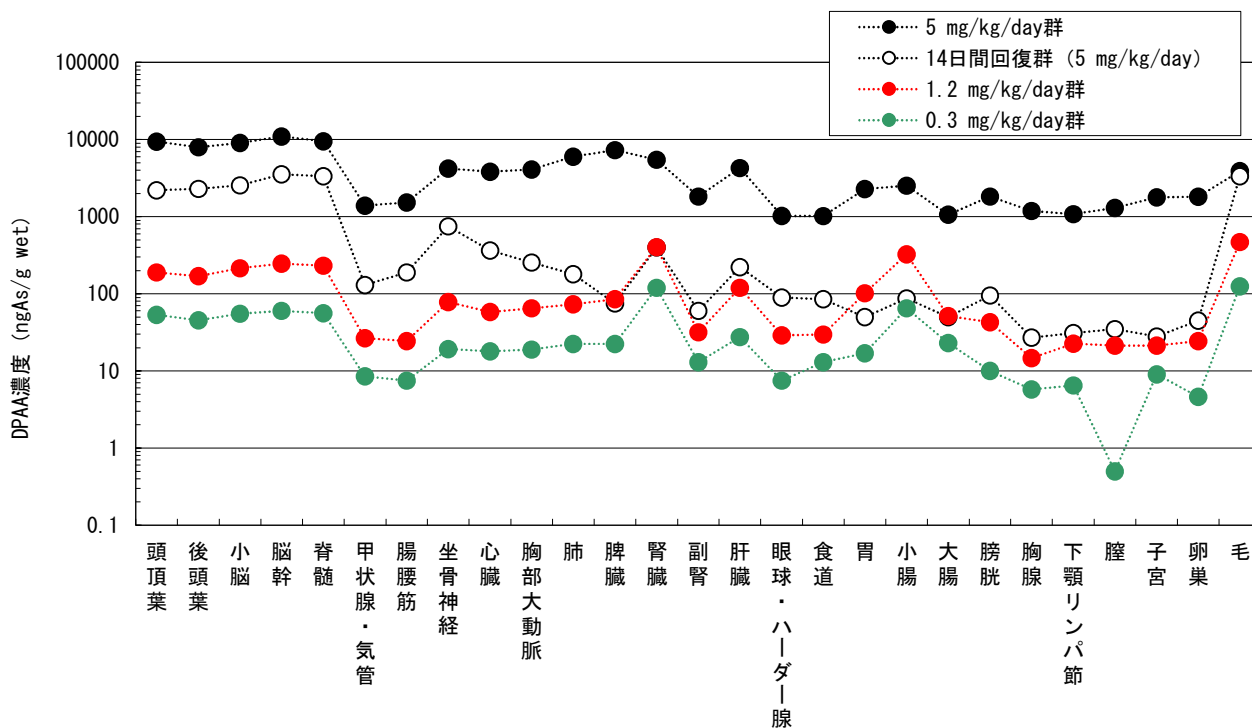


図 3-3 (2) DPAA を 28 日間投与した雌ラットの組織中 DPAA 濃度

雄ラットに 0.01、0.03、0.1、0.3、1 mg/kg/day の ¹⁴C 標識 DPAA を 28 日間経口投与して 168 時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¹²⁾。

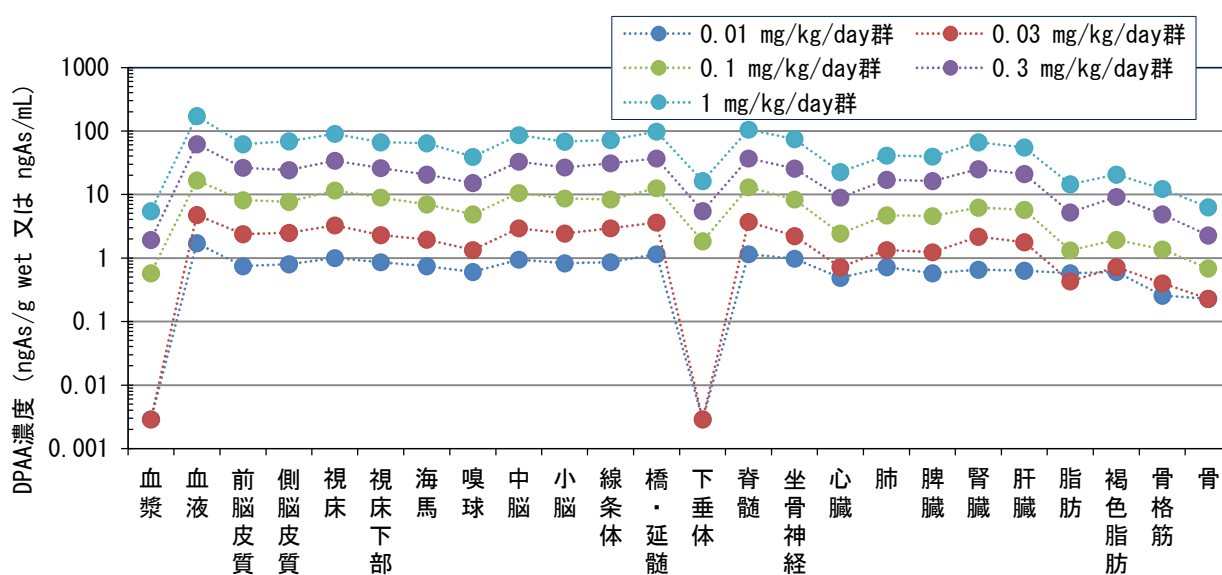


表 3-2 1 mg/kg/day 群の組織中 DPAA 濃度に対する各群の濃度比

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、336 時間後に血漿、嗅球、腎臓のみが 24 時間後の 2 割未満まで低下した¹²⁾。

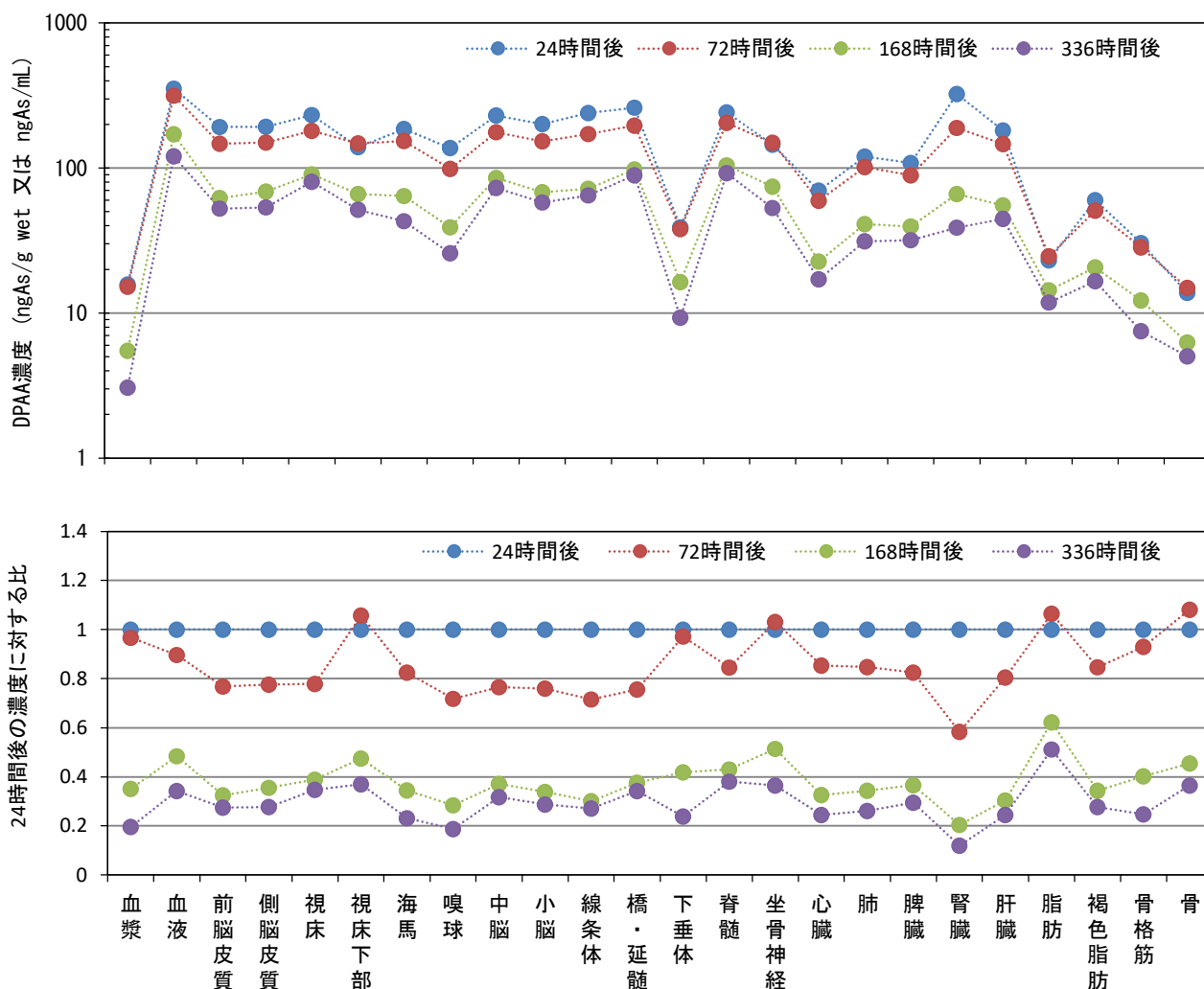


図 3-5 DPAA 1 mg/kg/day を 28 日間投与した雄ラットの組織中 DPAA 濃度の経時変化

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であり、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⁵⁾。また、雌ラットに妊娠 7 日から妊娠 19 日まで DPAA 0.25、0.5、1 mg/kg/day を経口投与し、妊娠 20 日に帝王切開して母ラット及び胎児の血液、脳の DPAA

濃度を測定した結果、母ラットに比べて胎児の血中濃度は約 1/3、脳中濃度は約 1/10 と低かった¹³⁾。一方、妊娠期に無機ヒ素を経口投与したマウスの報告では、出生直後の新生児及び母マウスで脳中ヒ素のほとんどが代謝物のジメチルアルシン酸であったが、脳中ヒ素濃度は新生児>母マウスの関係にあった¹⁴⁾。これらの結果から、妊娠期に経口投与（摂取）した無機ヒ素に比べて、DPAA の胎児の脳への移行は厳しく制限されていることが示唆された。

妊娠 7 日から授乳期を通して母ラットに ¹⁴C 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 日後の約 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⁵⁾。

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⁵⁾。

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^{15) 16)}。

雌雄のカニクイザルに DPAA 1 mg/kg/day を 28 日間経口投与し、投与終了から 5 日後、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 5 日後の 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およそ中間の組織残留性がみられた。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、5 日後のサル 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^{17) 18)}。

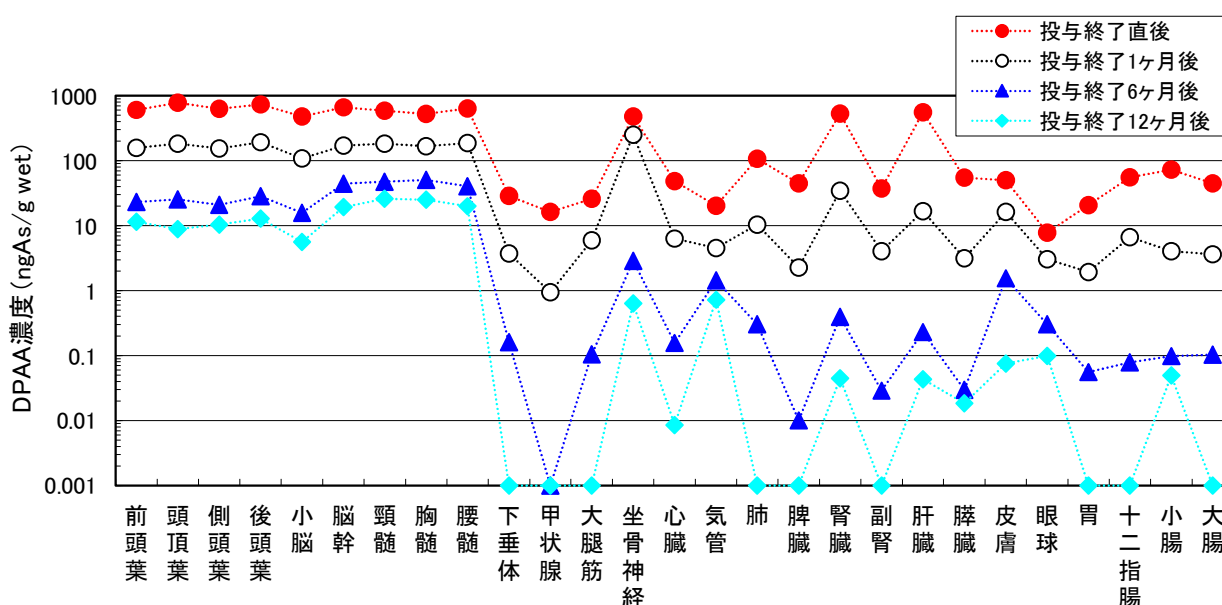


図 3-6 DPAA 1 mg/kg/day を 28 日間投与したサル組織中 DPAA 濃度の経時変化

なお、ヒト、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、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⁵⁾。

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⁹⁾。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 DPAA ととも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 種類検出された¹⁰⁾。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¹⁹⁾。

DPAA を強制経口投与したマウスの血液を経時的に測定したところ、3 時間後に DPAA のメチル化体がわずかに検出された²⁰⁾。

DPAA 1 mg/kg/day を約 100 日間経口投与した雌ザルでは、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に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¹⁵⁾。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 (DPAG ; ヒ素は三価、4.8 節参照) 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²¹⁻²²⁾。

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、DPAA の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⁵⁾。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⁵⁾。

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²²⁾。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¹⁰⁾。

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¹⁶⁾。また、1 mg/kg/day を 98~121 日間経口投与した試験結果^{15-16, 23)}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^{11, 16)}。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 倍にもなり、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¹⁵⁻¹⁶⁾。

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⁵⁾。

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²⁴⁻²⁵⁾、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⁵⁾又は 1 mgAs/kg を単回経口投与²¹⁾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 (GGsTop™)、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²⁶⁾、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も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²⁷⁻²⁸⁾。