

砒素研究の新たな方向

千葉 啓子

The New Trend of Arsenic Study

Keiko CHIBA

This paper reviews the recent findings regarding the metabolism of arsenic and arsenic-induced gene toxicity and carcinogenesis. It also reported the world-wide trend of the industrial production and demand of available arsenic compounds. Because people perceive arsenic as a harmful element, they think the availability of these compounds is scarce.

Until the present time, arsenic compounds have been used for the purposes of industry, agriculture, and as food additives for domestic animals to increase body weight. In recent decades, demand of arsenical metalloid increase for the semiconductor materials, especially in Japan. Since last year, arsenic compounds have been demonstrated to be scientifically effective as anticancer agents and have been used in the treatment of promyelocytic leukemia.

With the recent studies, there are two advances on the methylation of inorganic arsenic. One of them supports the present advance that the methylation acts as a detoxification mechanism, because the cytotoxic effects of methylated arsenic compounds investigated are lower than inorganic arsenicals. Methylated arsenic compounds induced 100% of cell death as apoptosis. Other study also describes dimethylarsinic acid (DMA) requires intracellular reduced glutathione (GSH) before induction of apoptosis. The second advance states that methylated arsenicals act more toxic than inorganic arsenic. DMA as an oxidative stress, produced the dimethylarsenic radical and dimethylarsenic peroxy radical and these radicals induced genotoxicity and carcinogenicity. Another study also proposes that DNA hypomethylation was caused by the consumption of the methylation of inorganic arsenic and carcinogenic effects that were produced. Furthermore, it demonstrates that methylated trivalent arsenic species were significantly more cytotoxic, and that those compounds are detected in the human urine of the chronic arsenic poisoning patients both in China and West Bengal. These results indicate a need to reevaluate the hypothesis that the methylation of inorganic arsenic is a detoxification mechanism. These studies suggest that role of intracellular GSH is very important for the methylation of inorganic arsenic in mammals.

1. はじめに

“砒素は猛毒である” ぐらいの知識しか持たずに研究に加わった当時、動物実験を通して無機砒素の急性毒性の強さを目の当たりにし、砒素の解毒機序の解明は急務であると痛感した。ちょうど砒素の化学形態別定量が可能となった時期でもあり、無機態や有機態の様々な砒素

について毒性の強さや代謝パターンをハムスターやマウスを用いて検討した。そして、無機砒素に比べメチル基のついた有機砒素では急性毒性の発現が極めて弱いなど、生体影響が大きく異なる事実が明らかになり¹⁷、生体内におけるメチル化は砒素の毒性を低下させる作用、すなわち砒素の解毒機序であることが示唆された。我々はス

ウェーデン、ベルギーなどの研究チームと並んで、メチル化の場（臓器）やメチル基供与体となる物質の解明などに動物実験を繰り返した⁸⁻¹¹。著者らによる「最新のヒ素毒性学」¹²はその頃の国内外における砒素研究の最新情報を総括したものである。砒素はその存在量が微量であるばかりではなく、従来、研究者の数もわずかな“マイナー元素”であった。ところがこの10年弱の間に国内では砒素入りカレー事件が起こり、国外ではアジアや南アメリカで井戸水や鉱山廃水中の砒素による大規模な慢性中毒が発生して人々を驚かせた。砒素は多くの研究者の関心を引き、とくにそれまで砒素に見向きもしなかった若い研究者達が最新の研究手法を導入して、砒素の毒性研究に参入した。ここ数年間、当該分野の主要なジャーナルには砒素を扱った論文が頻繁に登場し、関係学会ではシンポジウムや特集が組まれるなど、今や、砒素は立派な“メジャー元素”に変身した。最近では、砒素のメチル化は必ずしも善ではないかもしれないという、我々旧人類の砒素研究者達が目をむくような説も飛び出し、砒素の毒性軽減の救世主と思われた“メチル化神話”は崩れようとしてきている。「最新のヒ素毒性学」の執筆からすでに7年もの歳月が経過し、ヒソやかにではなく、ハイスピードで研究が進展している証拠を突き付けられた思いである。そこで、本稿ではあらためて近年の砒素研究の進展状況をまとめるとともに、嫌われ金属の代表

格である砒素にも有効利用されている一面があるのを知っていただく意味で、この部分についても合わせて紹介することとした。

2. ヒ素の由来

砒素は自然界のどこにでも存在する金属であるが、その量は比較的少なく、たとえば地殻中の平均含有量は1.5ppm程度で、地殻中金属全体では第20位である。砒素はマグマに由来していることから地殻中の火成岩に広く分布していて、200種類を越える鉱石の構成成分となっている。とくに硫化砒床中で硫砒銅砒 (Cu_3AsS_4)、硫砒鉄砒 (FeAsS)、雄黄 (As_2S_3)、鶏冠石 (As_2S_2)、砒石 (As_2O_3) に多く含有している。堆積岩では頁岩、粘土、リン砒の他、鉄酸化物やマンガン酸化物にも多く含まれている。砒素は自然界を循環するため大気や水中にも分布する (Fig. 1)。火山活動地域や砒素含有量の多い岩石地域では地下水中の無機砒素濃度が高いことが多く、これらの地域の温泉水や井戸水、湧き水などには高濃度の砒素が含まれる場合があり、とくに酸性の温泉水で無機砒素濃度が高いことが知られている¹³。また、雨や大気から淡水・海水中にも移行し、さらに水生プランクトンの体内や藻類に取り込まれる。一方、河川や湖沼水、大気、土壌中には人的発生源によるもの、つまりヒトの生産活動による砒素汚染によって高濃度の砒素が存在す

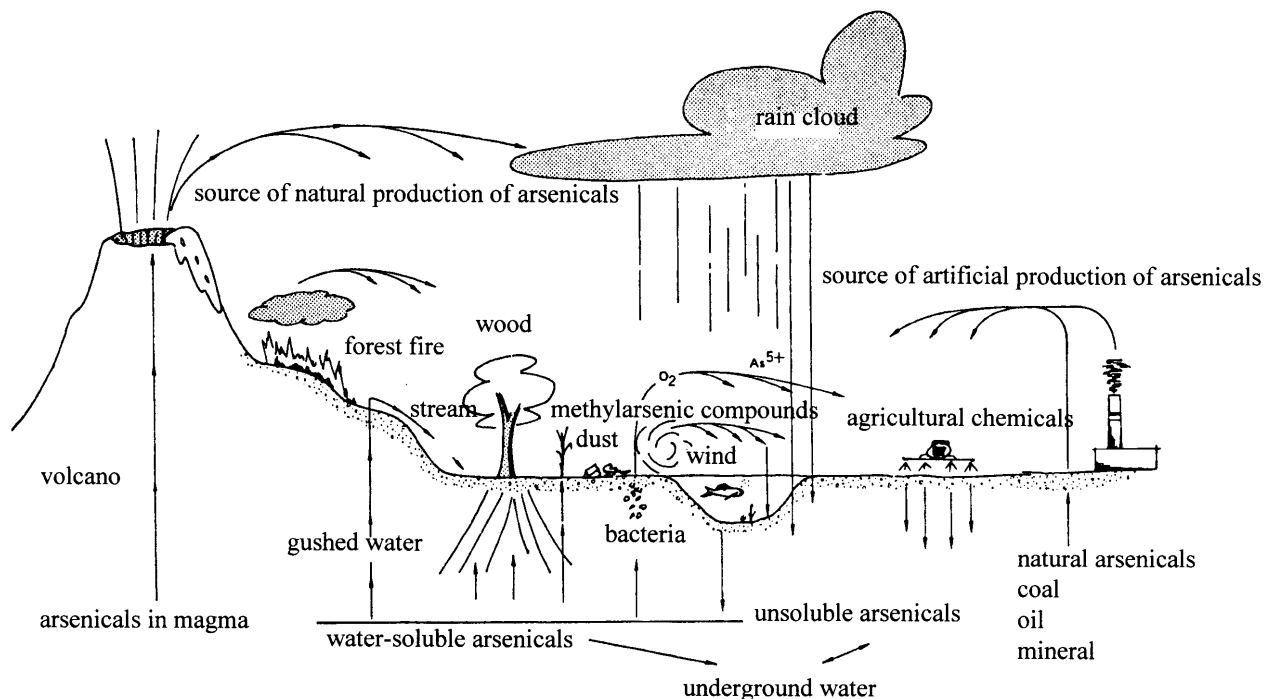


Fig. 1 Environmental Mobilization of Arsenicals

(Cited from Medical Biologic Effects of Environmental Pollutants 16 -Arsenic-, 1985)

る場合がある。このようにして砒素は環境中に様々な形態で存在し、食物連鎖により生物濃縮されていく。特別な暴露がない限り、ヒトの体内に分布している砒素量は食事に由来する。海産物の摂取が多い日本人は、その中に含まれる大量のアルセノベタイン（トリメチル砒素）の影響で、1日の総砒素摂取量が約200 μ gと、肉食主体の欧米諸国に比較して数倍高い¹⁴⁻¹⁸。このため食事性の砒素中毒が懸念されるかもしれないが、アルセノベタインはいわば無毒の砒素であり、海産物の摂取による砒素中毒の報告はない。なお、日本人の砒素摂取量と毒性との関係については「最新のヒ素研究」¹²に述べてあるので、ご一読いただきたい。

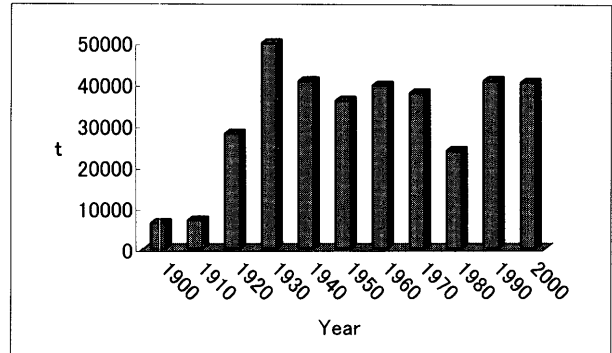
3. 砒素の有効利用

歴史的人物であるナポレオンの砒素による毒殺（他に諸説あり）、砒素入りミルク事件、そして最近では砒素入りカレー事件と、砒素は常に毒物の代名詞的存在であった。この嫌われ金属が我々の生活の中で有用な部分も持ち合わせているということをご存知だろうか？ 砒素の汚名挽回というわけではないが、U.S. Geological SurveyによるMinerals Yearbook¹⁹の最新版をもとに国際的にみた砒素の生産と需要の概要を述べ、砒素が我々の生活にどのように係わっているのかについてまとめた。

a) 生産

現在、世界で生産されている砒素は亜砒酸と金属砒素の2種類である。様々な製品に使用される砒素化合物の大半は亜砒酸を原料として作られることから、亜砒酸の生産量は金属砒素に比べて圧倒的に多い。もともと砒素は銅鉱石などの不純物で、銅精錬の副産物として生産される。銅鉱石の焙焼や精錬工程で酸化され、亜砒酸（三酸化砒素： As_2S_3 ）になる。形状は白色の軽い結晶で、粉塵として飛散しやすい。さらに焙焼を繰り返すと純度99%以上の精製亜砒酸が誕生する²⁰。世界の亜砒酸生産量の推移はFig. 2に示すとおりである。亜砒酸の生産は1930年の約5万tがピークで、その後3~4万tで推移しており、2000年は約4万tであった。2000年度の国別亜砒酸生産量をTable 1に示した。かつて亜砒酸の主要生産国はフランスとスウェーデンであったが、90年代に入り労働問題や環境問題でこれらの国の生産量は減少し、代わって中国での生産量が増加した。アメリカは自国で消費する亜砒酸量の一部をワシントン州タコマ製錬所で精製していたが、1985年に同製錬所の操業が停止したことにより、翌86年から全面的に輸入に依存している。わが国では年間500~700tの亜砒酸を生産していたが、現在では200t程度であり、このうち120tが高純度金属砒

Fig. 2 World Production of Arsenic Trioxide



(Prepared from ref.19)

Table 1 World Production of Arsenic Trioxide in 2000, by Country

Country	t
Belgium	1,500
Chile	8,000
China	16,000
France	1,000
Ghana	5,000
Kazakhstan	2,000
Mexico	3,000
Russia	1,500
Other countries	2,000
Total	40,000

(Calculated from ref.19)

素精製に用いられている。金属砒素は主として亜砒酸などの精製ヒ素化合物を還元して得られるが、精製過程で生じるアルシンを熱解離しても製造される。わが国はエレクトロニクス用の高純度金属砒素（99.999%以上）の数少ない産出国であり、昨年度の生産量は約150tで世界の高純度金属砒素生産量の70~75%のシェアを保っている²¹。

b) 需要

アメリカは最大の亜砒酸消費国であり、世界の亜砒酸需要はアメリカの動向に大きく左右されている。1900年以降のアメリカにおける亜砒酸需要の推移をTable 2に示した。自国生産をストップし、輸入に全面的に依存するに至った状況を考慮しても、同国の亜砒酸需要は経年的にみて増加傾向にあるといえる。昨年度は世界で生産された亜砒酸の約60%がアメリカに輸出された。この大量に輸入される亜砒酸のアメリカでの用途について、昨年度の同国における亜砒酸の用途別の需要状況をTable 3に示した。木材防腐用の工業薬品としての用途が圧倒的

Table 2 Annual Transition of Demand for Arsenic Trioxide in U.S.

yr	Apparent demand in U.S. t	% of World production
1900	1,980	32.1
1910	1,954	28.7
1920	10,467	37.5
1930	19,157	38.6
1940	21,748	53.8
1950	22,047	61.7
1960	17,886	45.5
1970	17,943	47.8
1980	11,320	47.9
1990	20,500	50.7
2000	24,000	60.0

(Prepared from ref.19)

に多く、同国の亜砒酸需要の伸びはこの工業薬品製造の増加によるところが大きい¹⁹。一方、わが国の亜砒酸の需要合計は670 tで、世界の1.4%に過ぎない。需要量の30%が国内生産され、残りは輸入されている²¹。主にガラス用やエレクトロニクス用高純度金属砒素の原料として使用されるほか、亜鉛精錬にも用いられている。アメリカに比べわが国では亜砒酸の工業・農業関係への需要は極めて少ない。

c) 用途

①工業薬品

有限の天然資源である木材をできる限り長持ちさせるためには防腐剤や防虫剤が必要になるが、この原料に砒素が使用されている。クロム、銅、砒素を混合したクロム化砒酸銅 (Chromated Copper Arsenate : CCA) は真空下で加圧して木材に散布すると木材繊維に沈着して処理材から浸出し難くなる。主に建築用やデッキ用木材に対して使用され、前述のとおり、アメリカでは亜砒酸需要の80%以上が木材防腐剤用で占められている。クロ

Table 3 U.S. Demand Pattern of Arsenic Trioxide in 2000

	t	%
Agricultural chemicals	1,000	4.2
Glass	700	2.9
Wood preservatives	21,000	87.5
Nonferrous alloys and electronics	800	3.3
Other	500	2.1
Total	24,000	100.0

(Calculated from ref.19)

ムや砒素の安全性²²に関して、近年、CCA製造工場周辺における大気汚染や工場従業員の健康問題^{23,24}、さらに海浜地帯で使用した場合の海水汚染などの環境問題²⁵が懸念されるようになり、CCAの代替品の開発が急がれた。そこで新たにAmmoniacal Copper Quaternary (ACQ)が開発されたが、ACQはCCAと同程度の防腐効果が挙げられるものの生産コストが20%近くアップし、経済性に問題が生じた。また、以前から線路枕木や電柱用木材の防腐剤として用いられてきたクレオソートやPentachlorophenol (PCP)の使用も検討されたが、両製品の臭いに難点があることから、いずれの場合もCCAの代替品になり得ていない。その後、代替品の開発は進んでおらず、現在もCCAに依存した状況であるが、環境問題への配慮などもあり、CCA使用量の伸びは以前に比べて若干鈍くなってきたようである。

②農業薬品

従来、砒素の農業用途は広範囲に及んでいて、亜砒酸を原料として砒酸カルシウム、砒酸銅、砒酸鉛などの砒素系農薬が製造され、殺虫剤、除草剤、殺菌剤、洗羊液、綿花乾燥剤などに使用されていた。アメリカでは1973年までは農業用途の方が工業薬品用途よりも多く、年間1万5千~2万tの需要があった。しかし、環境中を可動する砒素の半分近くは農薬の使用により生じる可能性があり、また、ブドウ園労働者に農薬中の砒素による皮膚がんなどが認められたため²⁶、その後、殺虫剤や除草剤に多用されていた砒酸カルシウムと砒酸鉛は使用禁止となり、砒素の農業用途は減少した。現在は主として綿花乾燥用に砒酸が使用されている。アメリカでは砒素系農薬の登録に関する事務は農務省 (ESDA)が行っており、また、作物防護に用いる砒素系農薬の全使用量は環境保護庁 (EPA)に記録が保管されている。

③ガラス用

ガラスに砒素を加えるとガラスの流動性が増して気泡が消失するため、砒素は消泡剤として有用である。また酸化還元剤、脱色剤としても働く。ガラス中に存在する鉄はガラス熔融時に酸化されて酸化鉄になるが、わずかな量の鉄でもガラスを赤褐色に着色してしまう。この時、ガラスに0.2~1%の亜砒酸を添加すると高温時亜砒酸は酸化して五酸化砒素となり、赤褐色の酸化鉄を無色の一酸化鉄に還元し、脱色する。

近年、セレン化砒素ガラスが開発されている。セレンは単体でもガラス化するが、砒素を加えると安定したガラス状態になる。セレン化砒素ガラス赤外透過窓板、レーザープリンター、複写機感光体などに広く使用されていて、今後も需要が伸びるものと思われるが、砒素とセレンは共に毒性が取り沙汰されている元素でもあることから

ら、今後、詳しい毒性試験が必要と考えられる²⁷。

④金属砒素

金属砒素は低純度金属砒素と高純度金属砒素に分けられ、前者は添加金属として冶金用に、後者はエレクトロニクス用に使用されている。鉛に0.01～0.5%の低純度金属砒素（95%）を加えると鉛の硬度が増大する。また、微量の砒素を銅に添加すると耐腐蝕性を高めることができるほか、銅の高温特性が向上する。一方、高純度金属砒素（99.999%以上）はガリウム砒素（GaAs）やインジウム砒素（InAs）などの半導体素材合成用として用いられる。これらⅢ－Ⅴ系化合物半導体はおもに光通信用の電子デバイスに使用されている。最近、GaAsの優れた高周波性能を採用した携帯電話の開発が行われ、携帯電話向けGaAsの需要が高まっている²⁸。

⑤動物飼料添加物

アメリカをはじめ欧米では、1940年代の中頃から主にブタや家禽用飼料の添加物として砒素化合物を使用してきた。アメリカでは食品添加物法の中で、有機砒素剤のアルサニル酸など4種類の置換フェニルアルソン酸を飼料添加物として分類している²⁹。これらのヒ素化合物は単品、あるいはトウモロコシ粉や炭酸石灰などの希釈物と混合して販売されていて、飼料や飲料水に添加して用いられる。疾病蔓延の防止を目的に医薬品的な役割を果たしており、例えば、飼料重量の0.01～0.05%程度のアルサニル酸を添加すると、貧血、白血病、寄生虫病、湿疹などが予防できるほか、体重増加などの成長促進効果も得られると報告されている²⁹。しかし、フェニルアルソン系飼料添加物の動物に対する有効濃度や安全限界値には幅がみられ、過剰摂取による毒性の発現や中毒の発生が懸念される。また、添加された砒素剤が食用の畜肉に残留することはないかという不安も残る。これに対して推奨される砒素添加飼料の投与中止時期はブタや家禽で屠殺5日前とされ、FDAではこれを但し書きとしてつけるように義務づけている。なお、その後、砒素剤無添加の飼料に切り替えることで食用として全く問題がないとされており、その理由としてはフェニルアルソン化合物の代謝速度が早く、ブタや家禽の尿中に急速に排泄されるため、砒素の体内残留物も急速に減少するとの報告に基づいたものである³⁰。

⑥医薬品

砒素は長い間、梅毒、回帰熱、寄生虫疾患に対する医薬品として使用されてきたが、砒素含有薬剤の長期投与による慢性砒素中毒患者が発生し³¹、また、今日ではペニシリンをはじめ砒素剤に代わる優れた抗生物質の出現によって医薬品としての用途は少なくなった。しかし、1997年に*Blood*などに発表された亜砒酸の抗白血病作用

に関する論文^{32,33}はこれまで経験的にいわれていた砒素の白血病に対する有効性を科学的に実証したものとなり、これを契機に砒素の薬理作用に関する研究が活発になった³⁴。

4. “砒素の毒性とメチル化の関係”をめぐり最近の動向

現在の砒素研究は、いわば第三世代を迎えたといえる。1973年にBraman et al.³⁵によって砒素の化学形態別の定量法が確立された時期を境にして、それ以前は主に急性砒素中毒に関する臨床症状の解明や治療法の確立が中心となった時代であった。化学形態別の定量法の確立から1990年代の半ばまでの約20年間には砒素化合物の体内動態の解明が急速に進んだ。化学形態別の分析により、ヒトの尿からメチルヒ素化合物が検出される^{1,24}と、無機砒素以外の砒素の体内動態に大いに関心が持たれるようになった。哺乳動物に無機砒素を投与すると、体内で還元型グルタチオン（GSH）により1度全てAs³⁺に還元された後、メチル化されてモノメチルアルソン酸（Monomethylarsonic acid : MAA⁵⁺）やジメチルアルシン酸（Dimethylarsinic acid : DMA⁵⁺）に変換される。種々のヒ素化合物の投与実験が行われ、ジメチル態を最終点としたこの無機砒素の代謝は多くの哺乳動物で共通した作用であることが証明された^{28,9}。その後、動物実験が繰り返され、一部の動物ではDMA⁵⁺がさらにメチル化をうけてトリメチルアルシノキサイド（Trimethylarsine oxide : TMAO）に変換されることが明らかにされた³⁶。これらの結果は砒素の代謝に関する最も基本的な知見であると同時に、メチル基のついた有機砒素では無機砒素に比べ急性毒性の発現が極めて弱いことから、砒素のメチル化は解毒機構と考えられた。そしてメチル基転移反応はメチル基供与体としてS-アデノシルメチオニン（S-adenosylmethionine : SAM）が関与し、酵素反応として行われることが示唆された³¹。当時の研究者たちは砒素の解毒機序をひたすら追求した。

20世紀に地球規模で発生した環境問題の一つに、砒素の環境汚染による大規模な中毒が挙げられる。アジアや南アメリカなどの国で発生し、いずれの地域も深刻な砒素汚染の現状を示しているが、これらの発生源は必ずしも同一ではない。ガンジス河流域のインド・西ベンガル地方やバングラデシュでは砒素を含む砂が広範囲に堆積層を形成しており、地下水の砒素汚染に繋がった。この地下水の飲用によって、例えばバングラデシュでは約100万人が砒素暴露を受け、このうち慢性砒素中毒患者は20万人といわれている³⁷。また、中国・内モンゴル地区では井戸水が砒素で汚染され、数10万人の中毒患者を出し

ている³⁸。タイ国南部のロンピブン村では錫鉱山の開発により、錫精錬過程で不純物の砒素が環境中に廃棄され、高濃度のヒ素が河川や土壌を介して地下水に流入した³⁹。さらに中国・貴州省の住民にみられる慢性砒素中毒は石炭の燃焼によるものである。この地域では古くから癩子病（らしびょう）の名でその存在が知られていたものであるが、同省では付近で産出する石炭に高濃度の砒素が含まれ、これを閉めきった室内で暖房や調理・穀物乾燥などに使用したため砒素中毒が発生した⁴⁰。飲料水や室内空気中の砒素汚染は数10年の長期暴露に及ぶ場合も多く、遺伝子傷害の可能性や発癌が懸念されている。このことは砒素の専門家だけでなく多くの研究者たちをも触発した。近年の砒素研究はアグレッシブにさえ感じるほどで、今日に至るまでのわずか1～2年の間に、冒頭に述べた“砒素のメチル化は必ずしも善ではないかもしれない”という従来の認識を覆すような仮説も発表された。このような状況のもと、Sakurai et al.はこれまでの砒素の代謝や毒性に関する実験結果をふまえ、新たに無機砒素 (As^{3+}) と有機砒素 (DMA^{5+}) 暴露による細胞死の違いに着目した実験を行い、砒素のメチル化は従来の説どおり解毒機構であると述べている⁴¹。すなわち、ラット正常培養肝細胞の *in vitro* 毒性実験で As^{3+} の50%細胞致死濃度 (LC_{50}) が $5 \sim 35 \mu\text{M}$ であるのに対して DMA^{5+} の LC_{50} 値は $1.5 \sim 5 \text{mM}$ と高いだけでなく、 As^{3+} によって誘導された細胞死の大部分が *necrosis* を起こし、炎症性因子を細胞外に撒き散らしながら死ぬのに対して、 DMA^{5+} により誘導された細胞死は100% *apoptosis* で、炎症性因子の細胞外放出は認められないことを報告している。この DMA^{5+} による *apoptosis* の誘導には細胞内で GSH と結合することが必須条件で、形成された GSH-DMA 複合体が代謝過程で不安定な radical 分子を生じ、*apoptosis* を誘導すると推定している。 DMA^{5+} が選択的に細胞の *apoptosis* を誘導することで生体の炎症反応を回避しているとすれば、砒素のメチル化は一種の解毒機序と考えられると述べている。

一方、無機砒素の代謝により生成されるメチル化砒素は善玉的存在ではなく、遺伝子傷害性や腫瘍形成作用を有し、猛毒に近い細胞毒性を示すものもあるという研究報告がなされている。無機砒素は疫学調査からヒトの皮膚、肺に対する発癌物質であることが確定している (IARC 報告⁴²) にもかかわらず、動物実験による発癌性の確認は未だなされていない。Yamanaka et al. はその打開策として、無機砒素の生体内代謝で生成されるメチル化砒素化合物、とくに DMA^{5+} に着目し、マウスを用いた DMA^{5+} 経口投与実験を行った。その結果、高濃度 (1500mg/kg) の DMA^{5+} 投与により肺特異的な

DNA ダメージを誘発した。これは DMA^{5+} 投与によって標的臓器の肺の内部に酸化傷が起これ、dimethylarsenic peroxy radical が生成されたことによると考えた。このフリーラジカルが砒素の発癌に重要な役割を果たしていると推定している⁴³⁻⁴⁴。酸化ストレスによる酸化障害によって標的臓器中で 8-ヒドロキシデオキシグアノシン (8-OHdG) の生成が増加することが知られているが、 DMA^{5+} 投与後のラット肝⁴⁵ や砒素摂取により誘発された Bowen 病患者の皮膚腫瘍組織⁴⁶ において 8-OHdG の生成が増加したことが確認されており、砒素が生体内で活性酸素種生成に関与していることが強く示唆された。その後、UV など 5 種類の発癌物質との併用実験により DMA^{5+} に発癌プロモーション作用があることが Yamamoto et al.⁴⁷、Yamanaka et al.⁴⁸ の実験により報告された。さらに Yamanaka et al. は 4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO) による短期肺発癌実験モデルを利用したジメチル砒素の発癌影響評価を行い、発癌プロモーション作用のみならず、ジメチル砒素のプログレッション作用をも確認している⁴⁹。しかしながら、これらの発癌実験ではきわめて高濃度の DMA^{5+} 投与量が用いられている。低濃度 DMA^{5+} 暴露の設定は非常に難しいと予想されるが、早期にこの実験系を確立し、ヒトの発癌に外挿可能な実験条件下で、砒素の発癌におけるメチル化砒素の関与について検討が進むことを期待したい。

1997年に Zhao et al. はラットの正常肝細胞を用いた実験で、無機砒素のメチル化に伴ない S-アデノシルメチオニン (SAM) がメチル基供与体として使われると、同じく SAM を必要とする DNA のメチル化が抑制され、DNA が安定した構造を維持できなくなり癌化することを報告した⁵⁰。また、同年に Mass et al. によって、培養ヒト肺癌細胞を用いた実験で無機砒素のメチル化に SAM が使われることで、DNA のメチル化がアンバランスになり、癌抑制遺伝子 *p53* の上流 341bp までの転写領域で過メチル化が顕著となって癌化する可能性が強いことが報告された⁵¹。これらはいずれもヒ素のメチル化と DNA のメチル化が競合することで、DNA のメチル化に必要な SAM が減少し癌化の原因となる仮説を想定している。SAM が砒素のメチル化においてメチル基供与体として重要な役割を演じていることに異論はないものの、著者の研究グループもかつてマウスやハムスターを用いて砒素のメチル化機構の解明を試みた際に、生体内の SAM の欠乏あるいは枯渇は容易に起こるものではないことを観察しており¹⁰⁻¹¹、砒素の発癌を SAM の欠乏から説明することは難しいように思われる。Mass et al. もこれ以降、SAM 欠乏による癌化を裏付ける報告は行っていな

い。ところで、Massの研究グループを始め、現在、最も精力的に砒素の研究に取り組んでいる研究者達の多くはアメリカの国立衛生保健研究所 (NIH) やEPAに所属している。これはアメリカが第一線級の研究者を動員し、国家規模で砒素の生体影響を再評価しようという姿勢の顕われと受け取れる。そして、一昨年、Styblo et al. により画期的な報告がなされた。彼らはこれまで化学的な不安定さから合成が難しく、純品が精製されていなかった3価のメチル砒素化合物の monomethylarsonous acid (MAA³⁺) と dimethylarsinous acid (DMA³⁺) を自分達のラボで合成することに成功し、合成MAA³⁺ およびDMA³⁺を用いてヒト肝細胞などで *in vitro* の細胞毒性試験を行った。その結果、これら3価のメチル砒素化合物のうち、とくにMAA³⁺はAs³⁺に匹敵する強い毒性を示すことを報告した⁵²⁻⁵³。しかし、Fig. 3に示すようにMAA³⁺ (図中ではMMA^{III}) はメチル化の過程で生じる中間体であり、非常に不安定な物質で生成後、瞬時に5価に酸化されるか、メチルアルシナガスに気化してしまい、実験系では可能であっても生体内では実際に存在が確認されることはないと思われた。ところが、同年にLe et al.が砒素のキレート剤を前投与することにより、中国内モンゴル地区の慢性砒素中毒患者の尿からMAA³⁺とDMA³⁺を検出することに成功し、検出されたMAA³⁺濃度はMAA⁵⁺濃度の約2倍であったことを報告して人々を驚かせた⁵⁴⁻⁵⁵。さらに今年になってMandal et al.は分析機器の改良によって、インド・西

ベンガル地方の慢性砒素中毒患者の尿からキレート剤の投与なしにMAA³⁺とDMA³⁺を検出したことを報告した⁵⁶。これらの報告は少なくとも砒素の暴露を受けた患者では体内にMAA³⁺とDMA³⁺が存在することを証明しており、砒素のメチル化の毒性軽減説は再評価する必要があることを指摘している。患者の尿からこれらの物質を検出するためには高感度のHPLC/ICP-MSやHPLC-HGAFDなどの分析機器が必要であり、簡易的手法とはいえないが、今後3価のメチル砒素の定量は慢性砒素暴露の新しいバイオマーカーとなる可能性が強く示唆された⁵⁷。

ここ数年間に発表された多くの論文の中から、砒素の代謝や毒性研究を扱ったものを一部紹介したが、結局無機砒素のメチル化は善か悪か決定的な証拠になる論文はみつけれなかった (動物投与実験などは長いもので2年以上の歳月をかけるため、なかなか結果が得られないことも理由の1つかもしいない)。無機砒素のメチル化は古来、海洋生物が持ち合わせていた生体防御機構の1つであり、進化の過程で生物が陸に上がってからも保存されてきたものである。海産物には多量の砒素が含まれるにもかかわらず、日常生活でそれらを食べたために砒素中毒が発生したという報告はない。魚貝類は海水中の無機砒素を取り込むと無毒のアルセノベタイン (トリメチル砒素) に変換するためである⁵⁸。我々は魚貝類の摂取を介してばかりでなく、自然界に様々な形で存在する砒素に毎日暴露されているが、通常の状態では生体は砒素を“取り込み”、“メチル化し”、“排泄する”代謝パターンを円滑にこなしている。しかし、慢性中毒患者のように高濃度の無機砒素暴露を長い間受けた場合、メチル化がアンバランスになり、毒性の強い種類のメチル砒素化合物が大量に生成されて中毒作用を示すのではないだろうか。そして、正常なメチル化か毒性発現かを采配するのがGSHによる酸化還元反応ではないだろうか。Pi et al.は中国の飲水型慢性砒素中毒患者を対象にした調査から、患者の血清中GSH量が健康人に比較して有意に低下していることを報告した⁵⁹。また、Sakurai et al.のDMA⁵⁺投与によるapoptosisの誘導実験でも、はじめにDMAが細胞内でGSHと結合する必要があることを確認しており⁴¹、還元型GSHが砒素の代謝に重要な役割を果たしていることが十分示唆される。最新の技法と精密な機器、それに優れた頭脳が存在する今日、砒素代謝や毒性に関するこれらの問題が解決をみるのも間近なことかもしれない。

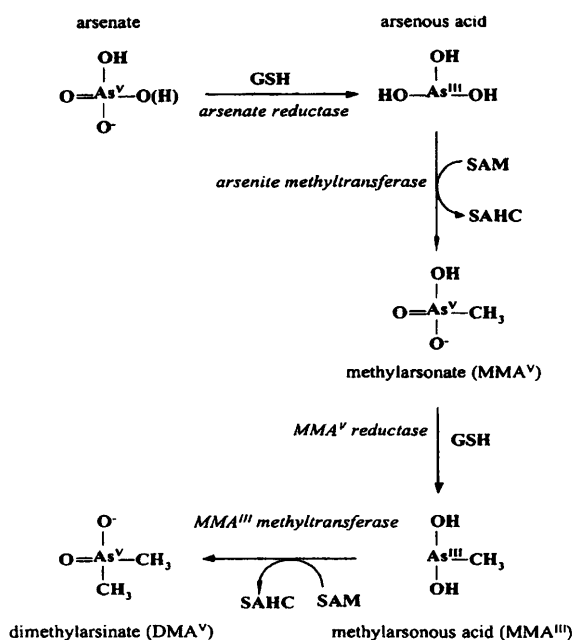


Fig. 3 Inorganic Arsenic Biotransformation
(cited from ref.60)

5. おわりに

近年、国内外で起こったヒ素に関する事件や環境汚染を発端に、ヒ素の代謝や遺伝子毒性、発癌性などに関する研究が飛躍的な進展をみせた。本稿はそれらの研究結果の概要とともに、今日、有効利用されている砒素化合物の生産と需要の世界動向をあわせて紹介したものである。

砒素は嫌われ金属の代名詞的存在であるために、有効利用されている一面はほとんど知られていないが、アメリカをはじめ欧米では工業・農業製品、飼料添加物として砒素化合物は広く使用されてきた。また、近年、砒素化合物は半導体素材として、とくにわが国で需要が伸びている。さらに白血病の治療に薬効があることが最近科学的に証明された。

今日、無機砒素のメチル化に関して2つの方向性がみられる。一方は従来の無機砒素のメチル化は解毒作用であるとする説を支持するもので、 As^{3+} や DMA^{5+} の暴露が細胞に与えるダメージの違いを観察し、 DMA^{5+} により誘導される細胞死は100% apoptosisであり、生体の炎症反応を回避する意味で解毒作用と考えられ、これには細胞内でGSHと結合することが必須であることを明らかにしている。他方、無機砒素のメチル化は以前から考えられてきた解毒作用ではなく、むしろ毒性増強に働いている可能性を示唆する説が発表されている。無機砒素の代謝で生成されるジメチル砒素が酸化ストレスとしてフリーラジカルを生成することで、発癌や遺伝子傷害作用に関与する可能性が示唆されている。また、砒素のメチル化とDNAのメチル化が競合し、DNAのメチル化に必要なSAMが減少して癌化するメカニズムも提唱された。さらに、3価のメチル砒素は無機砒素に匹敵する毒性を示すことが証明された。これらのメチル砒素は慢性砒素中毒の患者の尿中にも存在することが明らかにされ、砒素のメチル化の毒性軽減説は再評価する必要があることを指摘している。これらの研究成果の概要を紹介しながら、“メチル化は善か悪か”の問いの答えを模索したが、なかなか決定的な評価をくだすには至らなかった。おそらく、このカギとなっているのが、GSHなどの還元物質が作る細胞内の還元環境であろうと推測される。1日も早くこれらを解明することが中毒対策ばかりではなく、砒素の安全な有効利用のためにも重要であり、砒素の研究に携わるものの命題であることを痛感した。

参考文献

1) 山内博, 山村行夫: 5 価ヒ素に富む海藻食品摂取後の尿中無機ヒ素およびメチル化ヒ素の動態, 産業医学, 21, 47~54 (1979)

2) Yamauchi, H. and Yamamura, Y : Dynamic changes of inorganic arsenic and methylarsenic compounds in human urine after oral intake as arsenic trioxide, *Ind. Health*, 17, 79~83 (1979)

3) Yamauchi, H. and Yamamura, Y : Metabolism and excretion of orally administered dimethylarsinic acid in the hamster, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 74, 134~140 (1984)

4) Yamauchi, H. and Yamamura, Y : Metabolism and excretion of oral ingested trimethylarsenic in man, *Bull. Contam. Toxicol.*, 32, 682~687 (1984)

5) Yamauchi, H., Kaise, T. and Yamamura, Y : Metabolism and excretion of orally administered arsenobetaine in the hamster, *Bull. Contam. Toxicol.*, 36, 350~355 (1986)

6) Yamauchi, H., Yamato, N. and Yamamura, Y : Metabolism and excretion of orally and intraperitoneally administered methylarsonic acid in the hamster, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 40, 280~286 (1988)

7) Yamauchi, H., Kaise, T., Chiba, K. and Yamamura, Y : Metabolism and excretion of orally and intraperitoneally administered trimethylarsine oxide in the hamsters, *Toxicol., Environ. Chem.*, 22, 69~76 (1989)

8) Marafante, E. and Vahter, M. : The effect of methyltransferase inhibition on the metabolism of [^{74}As] arsenite in mice and rabbits, *Chem.-Biol. Interactions*, 50, 49~57 (1984)

9) Buchet, J.P. and Lauwerys, R. : Study of factors influencing the in vivo methylation of inorganic arsenic in rats, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 91, 65~74 (1987)

10) Chiba, K., Yamauchi, H., Yamato, N. and Yamamura, Y. : Methylation of arsenic trioxide in hamsters with liver damage induced by long-term administration of carbon tetrachloride, *Appl. Organomet. Chem.*, 2, 309~314 (1988)

11) 千葉啓子, 山内 博, 益子まり, 山村行夫: 無機ヒ素のメチル化に関するS-アデノシルメチオニンの効果, 日衛誌, 45, 613~618 (1990)

12) 千葉啓子, 山内 博, 吉田勝美: 最新のヒ素毒性学, 聖マ医大誌, 23, 819~832 (1995)

13) 山内 博, 山村行夫, 原子 昭: 陸水中砒素の化学形態, 日本公衛誌, 31, 357~362 (1984)

砒素研究の新たな方向 (千葉啓子)

- 14) 石崎睦雄 : 市販食品中ヒ素濃度と日本人のヒ素摂取量, 日衛誌, 34, 605~611 (1979)
- 15) 池辺克彦, 田中之雄, 田中涼一 : 蔭膳方式による15金属元素の一日摂取量について, 食衛誌, 29, 52~57 (1988)
- 16) Mohri, T., Hisanaga, A. and Ishinishi, N. : Arsenic intake and excretion by Japanese adult : A 7-day duplicate diet study, Food Chem. Toxicol., 28, 521~529 (1990)
- 17) Yamauchi, H., Chiba, K., Mashiko, M. et al. : Intake of different chemical species of dietary arsenic by the Japanese, and their blood and urinary arsenic levels. Appl. Organomet. Chem. 6, 383~388 (1992)
- 18) Buchet, J.P., Lauwerys, R., Vandevoorde, A. and Pycke, J.M. : Oral daily intake of cadmium, lead, manganese, copper, chromium, mercury, calcium, zinc and arsenic in Belgium : A duplicate meal study, Fd. Chem. Toxic., 21, 19~24, (1983)
- 19) Minerals Yearbook : Volume I. Metals and Minerals : Mineral Commodity Summaries -Arsenic (2001)
- 20) 石黒三郎 : 精錬廃煙から砒素の回収とその利用, 浮選, 23, 13~18 (1976)
- 21) 石黒三郎, 田辺 誠 : 新金属の実績と見通し - 高純度砒素, 金属時評, No.1796, 60~63 (2001)
- 22) Mason, R.W. and Edward, I.R. : Acute toxicity of combinations of sodium dichromate, sodium arsenate and copper sulphate in the rat, Com. Biochem. Physiol., 93, 121~125 (1989)
- 23) Larsen, E.H., Moseholm, L. and Nielsen, M.M. : Atmospheric deposition of trace elements around point sources and human health risk assessment. II : Uptake of arsenic and chromium by vegetables grown near a wood preservation factory, The Science of the Total Environment, 126, 263~275 (1992)
- 24) Nygren, O., Nilsson, C.A. and Lindahl, R. : Occupational exposure to chromium, copper and arsenic during work with impregnated wood in joinery shops, Ann. Occup. Hyg., 36, 509~517 (1992)
- 25) Brown, C.J. and Eaton, R.A. : Toxicity of chromated copper arsenate (CCA)-treated wood to non-target marine fouling communities in Langstone Harbour, Portsmouth, UK, Marine Pollution Bulletin, 42, 310~318 (2001)
- 26) Roth, F. : The sequelae of chronic arsenic poisoning in Moselle vintners, German Med. Monthly, 2, 172~175 (1957)
- 27) 石黒三郎 : セレン化ヒ素ガラスの毒性, Arsenic Letter, No.6, 4~9 (2001)
- 28) Feed Additive Compendium, Vol.13, Minneapolis: The Miller Publishing Company, 330 (1974)
- 29) Frost, D.V. : Arsenicals in biology-retrospect and prospect, Fed. Proc., 26, 194~208 (1967)
- 30) Moody, J.P. and Williams, R.T. : The metabolism of 4-hydroxy-3-nitrophenole arsonic acid in hens, Food Cosmet. Toxicol., 2, 707~715 (1964)
- 31) Fierz, Z. : Katamnestiche Untersuchungen über die Nebenwirkungen der Therapie mit anorganischem Arsen bei Hautkrankheiten, Dermatologica, 131, 41~58 (1965)
- 32) Chen, G.Q., Shi, X.G., Tang, W. et al. : Use of arsenic trioxide (As_2O_3) in the treatment of Acute Promyelocytic Leukemia (APL) : I. As_2O_3 exerts dose-dependent dual effects on APL cells, Blood, 89, 3345~3353 (1997)
- 33) Shen, Z.X., Chen, G.Q., Ni, J.H. et al. : Use of arsenic trioxide (As_2O_3) in the treatment of Acute Promyelocytic Leukemia (APL) : II. Clinical efficacy and pharmacokinetics in relapsed patients, Blood, 89, 3354~3360 (1997)
- 34) Wang, Z.Y. : Arsenic compounds as anticancer agents, Cancer Chemother Pharmacol., 48, 72~76 (2001)
- 35) Braman, R.S. and Foreback, C.C. : Methylated forms of arsenic in the environment, Science, 182, 1247~1249 (1973)
- 36) Marafante, E., Vahter, M., Norin, H. et al. : Biotransformation of dimethylarsenic acid in mouse, hamster and man, J. Appl. Toxicol., 7, 111~117 (1987)
- 37) Nickson, A., McArthur, J., Burgess, W. et al. : Arsenic poisoning in Bangladesh groundwater, Nature, 395, 338 (1998)
- 38) 吉田貴彦, 山内 博 : 最近の中国における砒素中毒について, Biomed Res Trace Elements, 11, 45~53 (2000)
- 39) Foy, H.M., Tarmapai, S., Eamchan, P. et al. :

- Chronic arsenic poisoning from well in a mining area in Thailand, *Asia Pac. J Public Health*, 6, 150~152 (1992-3)
- 40) Finkelman, R.B., Belkin, H.E., Zhen, B. : Health impacts of domestic coal use in China, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 96, 3427~3431 (1999)
- 41) Sakurai, T., Kaise, T. and Matsubara, C. : Inorganic and methylated arsenic compounds induce cell death in murine macrophages via different mechanisms, *Chem. Res. Toxicol.*, 11, 273~283 (1998)
- 42) IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Suppl 7. Overall evaluations of carcinogenicity. Updating of IARC monographs Vol 1~42, 29~33 (1987), World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.
- 43) Yamanaka, K., Hasegawa, A., Sawamura R. et al. : Dimethylated arsenics induce DNA strand breaks in lung via the production of active oxygen in mice, *Biochem Biophys. Res. Commun.*, 165, 43~50 (1989)
- 44) Yamanaka, K., Hoshino, M., Okamoto, M. et al. : Induction of DNA damage by dimethylarsine, a metabolite of inorganic arsenics, is for the major part likely due to its peroxy radical, *Biochem Biophys. Res. Commun.*, 168, 58~64 (1990)
- 45) Wanibuchi, H., Hori, T. and Meenakshi, V. : Promotion of rat hepatocarcinogenesis by dimethylarsinic acid : Association with elevated ornithine decarboxylase activity and formation of 8-hydroxydeoxyguanosine in the liver. *Jpn. J. Cancer Res.*, 88, 1149~1154 (1997)
- 46) Matsui, M., Nishigori, C., Toyokuni, S. et al. : The role of oxidative DNA damage in human arsenic carcinogenesis : Detection of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine in arsenic-related Bowens disease, *J. Invest. Dermatol.*, 113, 26~31 (1999)
- 47) Yamamoto, S., Konishi, Y., Matsuda, T. et al. : Cancer induction by an organic arsenic compound, dimethylarsinic acid (cacodylic acid), in F344/DuCrj rats after pretreatment with five carcinogens, *Cancer Res.*, 55, 1271~1276 (1995)
- 48) Yamanaka, K., Mizol, M. and Kato, K. : Oral administration of dimethylarsinic acid, a main metabolite of inorganic arsenic, in mice promotes skin tumorigenesis initiated by dimethylbenz(a)anthracene with or without ultraviolet B as a promoter, *Biol. Pharm. Bull.*, 24, 510~514 (2001)
- 49) Yamanaka, K., Ohtsubo, K., Hasegawa, A. et al. : Exposure to dimethylarsinic acid, a main metabolite of inorganic arsenic, strongly promotes tumorigenesis initiated by 4-nitroquinoline 1-oxide in the lungs of mice, *Carcinogenesis*, 17, 767~770 (1996)
- 50) Zhao, C.Q., Young, M.R., Diwan, B.A. et al. : Association of arsenic-induced malignant transformation with DNA hypomethylation and aberrant gene expression, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94, 10907~10912 (1997)
- 51) Mass, M.J. and Wang, L. : Arsenic alters cytosine methylation patterns of the promoter of the tumor suppressor gene *p53* in human lung cells: a model for a mechanism of carcinogenesis, *Mutat. Res.*, 386, 263~277 (1997)
- 52) Styblo, M., Del Razo, L.M., Vega, L. et al. : Comparative toxicity of trivalent and pentavalent inorganic and methylated arsenicals in rat and human cells, *Arch. Toxicol.*, 74, 289~299 (2000)
- 53) Mass, M.J., Tennant, A., Roop, B.C., Cullen, W.R. et al. : Methylated trivalent arsenic species are genotoxic, *Chem. Res. Toxicol.*, 14, 355-361 (2001)
- 54) Le, X.C., Ma, M. and Cullen, W.R. et al. : Speciation of key Arsenic metabolic intermediates in human urine, *Anal. Chem.*, 72, 5172-5177 (2000)
- 55) Le, X.C., Ma, M. and Cullen, W.R. : Determination of monomethylarsonous acid, a key arsenic methylation intermediate, in human urine, *Environ. Health Perspect.*, 108, 1015~1018 (2000)
- 56) Mandal, B.K., Ogra, Y. and Suzuki K.T. : Identification of dimethylarsinous and monomethylarsonous acids in human urine of the arsenic-affected areas in west Bengal, India, *Chem. Res. Toxicol.*, 14, 371~378 (2001)
- 57) Del Razo, L.M., Styblo, M., Cullen, W.R. and

砒素研究の新たな方向 (千葉啓子)

- Thomas, D.J. : Determination of trivalent methylated arsenicals in biological matrices, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 174, 282~293 (2001)
- 58) Francesconi, K.A. and Edmonds, J.S. : Biotransformation of arsenic in the marine environment, *Adv. Environ. Sci. Technol.*, 26, 221~261 (1994)
- 59) Pi, J., Kumagai, Y., Sun, G. et al : Decreased serum concentrations of nitric oxide metabolites among Chinese in an endemic area of chronic arsenic poisoning in inner Mongolia, *Free Radic. Biol. Med.*, 28, 1137~1142, 2000
- 60) Zakharyan, R.A., Sampayo-Reyes, A., Healy, S. M. et al. : Human monomethylarsonic acid (MMAv) reductase is a member of the glutathione-S-transferase superfamily, *Chem. Res. Toxicol.*, 14, 1051-1057 (2001)