

30:10907-10912, 1997.

38) 山内博:哺乳動物における砒素代謝、  
Biomed Res Trace Elements 11: 25-  
34, 2000.

39) Yamauchi H, Yamamura Y:

Metabolism and excretion of orally  
administered arsenic trioxide in the  
hamster. Toxicology 34: 113-121,  
1985.

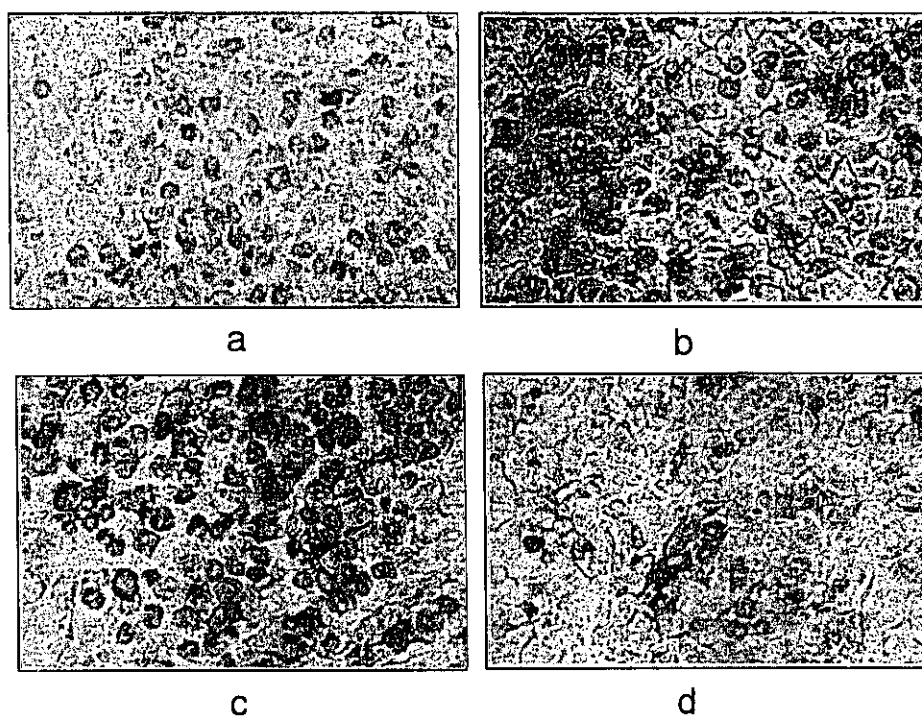


Figure 1. Appearance of apoptotic cells in brains of fetuses after a single oral administration of arsenic trioxide in pregnancy. Apoptosis was detected by TUNEL in fetal brain. a: control, b: at 12 hr after administration, c: at 24 hr after administration, d: at 48hr after administration.

図1 三酸化二砒素投与後における胎仔の脳組織中アポトーシス細胞の変化  
a: 対照群    b: 12時間目    c: 24時間目    d: 48時間目

表1 三酸化二砒素投与後における胎仔の脳中砒素濃度

Group	Concentrations of arsenic in brain (ng As / g wet wt.)			
	iAs	MA	DMA	IMD
<b>Mother</b>				
control	1.76 ± 0.61	2.41 ± 1.40	8.57 ± 1.43	12.7 ± 0.68
12h	8.03 ± 1.05**	3.15 ± 1.16	8.80 ± 3.22	20.0 ± 5.23
24h	2.12 ± 1.14	1.30 ± 0.85	8.78 ± 4.76	12.2 ± 5.77
48h	3.03 ± 0.26	1.67 ± 0.56	8.84 ± 4.12	13.5 ± 4.33
<b>Fetus</b>				
control	2.33 ± 0.91	1.92 ± 0.59	3.69 ± 0.71	7.94 ± 1.38
12h	5.03 ± 1.37**	2.38 ± 0.78	16.7 ± 4.90***	23.7 ± 5.18***
24h	2.87 ± 0.89	2.49 ± 0.76	18.5 ± 3.18***	23.9 ± 3.04***
48h	3.18 ± 0.63	2.68 ± 1.01	18.2 ± 4.76***	24.0 ± 5.75***

Arsenic concentrations in brain tissue were obtained from three mother rats and 6 fetuses in each group.

Value: mean ± standard deviation.

iAs: inorganic arsenic; MA: methylated arsenic; DMA: dimethylated arsenic;

IMD: iAs+MA+DMA.

Significance in each group is in comparison with control values : \*, p < 0.05,

\*\*; p < 0.01 and \*\*\*; p < 0.001.

# 厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

## 分担研究報告書

### 急性砒素中毒の生体影響と発癌性リスク評価に関する研究

分担研究者 坂部 貢 東海大学医学部助教授

現所属：北里研究所病院医長

#### 研究要旨

妊娠ラットの一次免疫中枢、特に胸腺におけるTリンパ球の分化・成熟に、急性投与された砒素がどのような影響を与えるかについて、未熟リンパ球のサイトカイン反応性・サブセット解析・アポトーシス解析を中心として検討した。その結果、以下のことが判明した。

1) 妊娠ラットの胸腺Tリンパ球 (TC) のサイトカイン (IL-2) 反応性は、砒素投与により有意に抑制された。抑制率は、投与後12時間で最大となった。また、最も抑制を受けたのは、CD8<sup>+</sup>であった。

2) 妊娠ラットの胸腺におけるTCサブセットの解析の結果、砒素の投与はCD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> (double positive)TCのネガティブ選択を促進した。

また、double positive細胞の相対的減少率は、サイトカイン反応性と同様、投与後12時間で最大となった。上記の理由から、砒素投与により、CD4<sup>+</sup>の相対的増加が認められた。

3) 妊娠ラットの胸腺の電子顕微鏡も含めた、詳細なる組織細胞化学的解析を行った。その結果、妊娠ラットでは、砒素非投与群においても、正常非妊娠ラットよりTCのアポトーシス像が有意に増加はしていたが (2-3cells/100cells)、砒素投与により、アポトーシス細胞の出現率が著明に増加した (9-12cells/100cells)。またその出現率は、1)、2)の結果と同様、投与12時間後で最大であった。

これらの結果より、妊娠時の砒素曝露は、一次免疫中枢としての胸腺に重大な影響を、特に「自己と非自己の選択能力」という免疫系の要と考えられているポイントで致命的な影響を与えることが判明した。

#### A. 研究目的

和歌山カレー事件における急性砒素中毒は記憶に新しいが、急性砒素中毒患者の中には、妊婦も含まれていた。しかし、妊婦における急性砒素中毒の病態生理、特に免疫毒性についての情報は皆無に等しい。

そこで今回の研究分担では、未だ不明の点が多い妊娠時の免疫系に対する砒素の毒性作用を、胸腺Tリンパ球の細胞内情報伝達因子の変動から検討し、アポトーシスと関連させることにある。

#### B. 研究方法

9週齢の雌性 Wister Rat(日本チャールスリバー)に亜ヒ酸ナトリウム (LD<sub>50</sub> 1/4 量 ; 三酸化二砒素として 8.5mg/kg) を経口投与し、0時間、12時間、24時間、48時間後の胸腺を取り出して常法通り、セルストレーナーを用いてリンパ球分画を分離し、ただちに培養系に供した。10%AB血清下RPMI1640にサイトカイン (IL-2) を添加し72時間培養した。72時間培養後、細胞を回収し、Cキナーゼ活性、ADR活性、p34cdc2キナーゼ活性発現量を測定した。Cキナーゼ活性は、超音波破碎より得られたCキナーゼ分画とC1ペプチドを反応させ、C1ペプチドのリン酸化の量を調べることにより検討した。ADR活性は、リンパ球より抽出したADR分画を、アフリカツメガエルの脾細胞と反応させ、脾細胞のTdr取り込み量を測定することにより検討した。P34cdc2キナーゼの発現量は、特異的モノクローナル抗体を用いて、イムノブロット法により検討した。

胸腺Tリンパ球のサブセットの解析は常法通り、抗CD4、抗CD8抗体を用いた、フローサイトメトリー法を用いた。

胸腺組織の組織細胞化学的解析は以下の方法によった。取り出した胸腺の左葉は、免疫組織化学的解析に供するため、パラフォルムアルデヒド (PFA) 溶液に浸漬固定し、右葉は、電子顕微鏡的解析に供するために、グルタルアルデヒド (GA) 溶液に浸漬固定した。PFA固定組織は、5-25% ショ糖緩衝液に順次浸漬させ、PFAを取り除いた後、OCTコンパウンドに包埋、液体窒素を用いて急速凍結した。凍結包埋した組織は、クリオスタットを用いて薄切し、シランコー

トスライドガラスに貼りつけた。窒素ガスを用いて十分乾燥の後PBSにて切片を緩衝化し、アポトーシス初期シグナルの解析のために、7A6抗原の免疫組織化学に供した。イソペ法により内因性ペルオキシダーゼ活性を取り除いた後PBS洗浄し、一次抗体として抗7A6マウスモノクローナル抗体を4℃で17時間反応させた。PBSで十分洗浄後、二次抗体として、ビオチン化抗マウスポリクローナル抗体を2時間反応、引き続いてアビチン化HRPを30分反応、過酸化水素加ジアミノベンチジン溶液にて陽性部位を可視化した。左葉は常法通りエボン包埋し、超薄切片を作成、透過型電子顕微鏡にて観察した。

(倫理面への配慮)

実験動物の屠殺に際しては、米国NIHの指針に従い倫理面に考慮した上で本研究を遂行した。

### C. 研究成果

Cキナーゼ活性 (G1→Sシグナル伝達因子) は、0時間後と比して12時間後の胸腺で最も抑制されたが、24時間後と48時間後では有意な差は認められなかった。ADR活性 (S期促進因子) も0時間後と比して12時間後で有意に抑制されたが、Cキナーゼ活性同様、24時間後、48時間後とは有意差は認められなかった。一方、p34cdc2キナーゼ活性 (M期遂行促進因子) は、0時間後と比して、12時間後、24時間後、48時間後で有意の抑制が認められたが、12-48時間後の間では有意差は認められなかった。さらに、これらの因子の抑制が認められた細胞を、Tリンパ球の分画でみると、CD4リン

パ球は殆ど影響を受けず、CD8リンパ球に強く作用することが判明した。

分化・成熟過程にある胸腺リンパ球のサブセットの解析から、砒素投与によって、double positive リンパ球のnegative selection が促進することが判明した。

アポトーシスの初期シグナルである7A6抗原の発現は、12時間後で有意に増加した。7A6抗原陽性細胞は2-4個がクラスターを形成し、周囲の非陽性細胞との明らかな相違を認めた。陽性細胞のクラスターは、マクロファージに囲まれるように認められ、発達した無構造の食べ込み小胞と思われる構造も認められ、明らかに砒素の胸腺リンパ球毒性（アポトーシスを誘導する）が確認された。

透過型電子顕微鏡による観察では、砒素投与群に、胸腺リンパ球のアポトーシス小体、ブレブ形成が明らかに観察され、免疫組織化学的解析の結果を支持した。

#### D. 考察

今回の研究結果は、各種化学物質によって惹起される胸腺微小環境の変化、すなわち胸腺リンパ球のアポトーシスが、砒素によっても高頻度に生じることを、初めて明らかにしたものである。

また、抑制性・細胞障害性Tリンパ球（CD8）の活性をより強く抑制することは、極めて興味深い事実であり、結果、ヘルパーTリンパ球の活性を上昇させ、種々の免疫応答性を攪乱する可能性を示唆した。さらに、砒素は、サイトカインによってスイッチオンされたCD8リンパ球の細胞内情報伝達のカスケードにおいて、特に、Cキナーゼ活性を抑制し、

引き続きそれに連動したADR活性を二次的に抑制させたと考えられた。

#### E. 結論

今回の実験結果より、砒素が免疫系の細胞に対して、選択的抑制作用のあることが明らかとなった。

# 厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

## 分担研究報告書

### 急性砒素中毒の生体影響と発癌性リスク評価に関する研究

分担研究者 中井 泉 東京理科大学教授

#### 研究要旨

和歌山における急性砒素中毒患者及び中国内モンゴル地方の慢性砒素中毒患者の生検試料の放射光蛍光 X 線分析を行った。急性中毒における毛髪の伸長方向の分析の結果、砒素の大量摂取に対応する急峻なピークが認められ、砒素濃度が通常的生活レベルに回復するまでに 1 ヶ月程度要することがわかった。また、毛髪断面のマイクロビームを用いた分析より、砒素中毒の場合には砒素は毛髪周辺部に分布することが明らかとなった。一方、これまで分析が困難とされた慢性中毒患者の皮膚試料について放射光蛍光 X 線分析法を適用したところ、真皮側に砒素が濃集していることがはじめて明らかとなった。

#### A. 研究目的

砒素は農薬や殺虫剤として使用されたり、半導体工業における砒素化合物の需要が高まるなど人間の生活環境に密接な関係にある。砒素化合物は古くから毒性を持つことが知られていたが、生体内には微量に存在しており、1975 年には砒素が必須微量元素として考えられるようになった<sup>1)</sup>。また砒素は食品全般に含まれており、特に海藻類や魚介類中には多く含まれるが<sup>2)</sup>、こういった食品の摂取からは砒素中毒は発生しない。これは砒素の化学形態の違いにより大きく毒性が異なるためである。生体試料から検出される砒素化合物について見てみると、例えばマウスの経口投与での LD<sub>50</sub>(mg/kg)は無機砒素(34) > メチル化砒素(1200) > ジメチル化砒素(1800) > アルセノベタイン(トリメチル化砒素)(10000)の順になる<sup>3)</sup>。更に無機砒素

でもアルシン > 3 価無機砒素 > 5 価無機砒素の順に毒性が高い。このように無機砒素と有機砒素とでは大きく毒性が異なり、食品から人間が摂取する砒素の大半は有機砒素であるために問題が生じないと考えられる。しかし、何らかの形で摂取する砒素が無機砒素である場合、人体に対して重大な問題となる。

今日ではインドのベンガル地方や中国の内モンゴル及び山西省等のアジア諸国では無機砒素に飲料水が汚染された地域があり、この水を使用することにより大量の慢性砒素中毒患者が発生している。また、電子産業や半導体産業においてアルシンや GaAs、InAs 等の砒素化合物が使われるようになり、人為的砒素暴露が起こる可能性が高くなっている<sup>3-5)</sup>。

このように砒素中毒が現在においても問題になっており、多くの研究がなされてきた。体内組織にみられる砒素の化学

種の中で無機砒素は、体内でより毒性の低いメチル化砒素へと代謝されることが知られている。これらの代謝物及び摂取された砒素は主に尿や糞便、汗等に排出される。排出経路としては頭髪や皮膚も報告され、また毛髪や皮膚のほかに肝臓や脳、肺などの体内器官にも蓄積、影響を与えている<sup>6-8)</sup>。しかし、その代謝機構や蓄積の過程等詳細については不明な部分が多い。また蓄積が起きている器官での砒素の分布は臓器を細かく分割した部分毎の報告例はあるが<sup>9)</sup>臓器全体の分布についての研究は不足している。そこで摂取された砒素が各器官中のどの部分に蓄積しているかを明らかにすることは砒素の影響が生じるメカニズムを知る上で重要な知見を得ることになる。

組織中の砒素の分布を調べるためには従来法のように組織試料を分解し、臓器中の平均濃度を求めるのでは不十分であり、非破壊でかつ微小領域毎の測定が不可欠である。また生検試料中の砒素濃度は微量であるため、高輝度な X 線が必要とされる。放射光蛍光 X 線分析は波長可変であるため特定の元素に対して選択的励起が可能で、組織の形状を維持したまま微小領域の分析ができ、上記の条件を満たす手法である。そこでイメージングにより砒素の組織内分布を測定する手法として放射光蛍光 X 線分析を採用した。

更に生物試料の場合、バックグラウンドが高く、目的元素の絶対量が少ないことが多い。したがって汚染を免れるためにも試料に薬品等の処理を加える事は避ける必要がある。そこで本研究では主として凍結切片を乾燥させただけの試料を用い、ほぼそのままの各臓器の砒素分布を調べることを目的とした。

本研究は代謝経路として砒素の蓄積が知られる頭髪及び皮膚を扱った。砒素代謝のメカニズムを解明する上で有効な知見を得るため、これらに含まれる砒素の分布の特定を行った。また、砒素中毒による胎児への催奇性が報告されており<sup>10)</sup>、人間の胎児への影響についての知見を得るため臍帯の測定を行った。

## B. 研究方法

### 1. 試料

本研究において測定を行った生検試料とその調整方法について以下に記す。

#### 1-1. 毛髪

まずはじめに伸長方向の一次元分析を行った。測定対象は、和歌山の砒素混入カレー事件にて発生した急性砒素中毒患者の毛髪 4 点(うち 1 点は新生児)、半導体産業従事者の毛髪 2 点である。一本の毛髪の両端をこよりに固定し、図 1 のように作成したホルダーに取り付け、毛髪の根元側から毛先側に向かって一次元分析を行った。ただし半導体産業従事者の毛髪については伸長方向が不明である。

次に、毛髪断面のマイクロビームによるイメージングを、和歌山の急性砒素中毒患者の毛髪 2 点、日本人健常者の毛髪 1 点、洗浄後に亜ヒ酸粉末を付着させた日本人健常者の毛髪 1 点について行った。薄片試料を作る際に毛髪をエタノール水溶液に浸析させることで洗浄を行った。その後、樹脂に包埋し、ミクロトームを用いて約 20~40 $\mu\text{m}$  の薄片を作成した。薄片はアクリルホルダーにメンディングテープで固定し、測定に用いた。

#### 1-2. 皮膚

中国内モンゴル地方の慢性砒素中毒患

者からパンチバイオプシーによって採取された皮膚及びそのコントロール各 2 点について OCT コンパウンドに包埋した。これをクライオスタットで温度 $-15^{\circ}\text{C}$ にした中で、ミクロトームを用いて厚さ  $80\mu\text{m}$  に切り出し、アクリルホルダーに張ったマイラー膜上に固定した。図 2 に示した矢印方向のように表皮側から真皮側へ向かって二次元分析を行った。

### 1-3. 臍帯

和歌山の急性砒素中毒患者のうち砒素摂取時妊娠中であった患者の出産後の臍帯 4 点を小片にし、テフロン容器に移した。これを約  $60^{\circ}\text{C}$  の乾燥機中で 8 時間乾燥させた。その後アクリルホルダーに張ったマイラー膜上にグリコールテフタレートで固定したものを測定に用いた。

### 2. 放射光蛍光 X 線分析

測定はつくばの高エネルギー加速器研究機構のフォトンファクトリー(PF)の BL-4A にて行った。

通常の測定の場合、BL-4A ではベンディングマグネットにより発生した X 線を Si(111)二結晶モノクロメータにて単色化し、4 象限スリットでビームサイズを調整した。測定範囲気は真空であり、試料から発生した蛍光 X 線を Si(Li)半導体検出器で検出した。試料はコンピュータ制御による XY ステージ上に固定し、二次元に動かして測定を行った。

マイクロビームの場合は多層膜モノクロメータで単色化した X 線を K-B ミラーで集光し、大気中にてイメージングを行った。測定装置の配置を図 3 及び 4 に示す。

### 3. データ解析

得られた蛍光 X 線スペクトルから各元素に対応するピークの積分強度を求め、以下に示すような解析を行った。

毛髪及び皮膚の一次元分析は各元素の蛍光 X 線強度を測定点の位置と対応させて表示した。毛髪の一次元分析は伸長方向での変化を測定し、毛髪断面の一次元分析では断面のイメージング(二次元分析参照)の図上で毛髪の中を通るように X 線を走査させた。

毛髪断面の二次元分析は各元素の蛍光 X 線強度を色調によって図示した。各図の元素毎に X 線強度の最低値は青色、最高値は赤色で表示した。

## C. 研究結果及び考察

### 1. 毛髪

急性患者の毛髪の一次元分析の結果を図 5 に示す。急性中毒に特有な砒素の濃集部分に着目すると、砒素のピークは、時間の経過順で先に小さいピークが、その後大きなピークが見られる。ピークが分かれる理由の一つとして砒素の形態について考察する。体内に摂取された無機砒素はメチル化砒素(MA)、ジメチル化砒素(DMA)、トリメチル化砒素(TMA)の形態へ順次代謝されることが知られており、主として DMA へ変化するといわれている<sup>3,7,8)</sup>。代謝された砒素も含め摂取した砒素全体としては大半は尿中から排泄され、無機砒素の多くはこの経路から排出される。その他の砒素の一部は毛髪へ蓄積されるが蓄積性は化学形態の差により異なる傾向があり、主に無機砒素と DMA が蓄積することが認められている<sup>8)</sup>。したがって時間の経過順及び量から考えて毛髪中の砒素ピークが分かれるのは化学形態の差によるものである可能



性が示唆される。

これに対し、他の元素の挙動に着目すると、砒素が多くみられる部分では銅の含有量も増加している。硫黄及び亜鉛に関してはこの部分で逆に減少している。更に硫黄は砒素の濃集が終了した後もしばらく減少したままであった。ところがこの現象は過去の同様な研究において複数の毛髪試料では必ずしも顕著に表れてはいない<sup>11)</sup>。また、毛髪は生成時の体内環境により成分組成が変化しやすいものであるため、砒素の摂取以前であっても含有量に変動があり必ずしも相関があると結論付けられるものではない。しかし、比較的高暴露者ではこの傾向がみられる。砒素は細胞中のSH基と結合し、結果的に細胞代謝にとって重要な酵素の阻害を生ずると考えられている<sup>10)</sup>。毛髪の生成は、繊維小のうの中で起こる。まず、上皮細胞が小のうの低部で成長を始め、球状組織のすぐ上方に達するまで成長し、成長した上皮細胞のタンパク質中のSH基が酸化を受けてジスルフィド結合を形成し、これにより構造を安定化する<sup>12)</sup>。このように毛髪の生成にはSH基が重要な役割をはたしており、砒素が硫黄と結合するため砒素の影響を受けてその量が増加していると考えられる。

急性中毒患者の場合、鉄、ニッケル、クロムが周期的に変化している部分が見られることがあった。他の急性砒素中毒患者にはみられないため、これは試料測定環境からの汚染あるいは被験者の生活環境由来のものであると考えられる。

半導体産業従事者（以下職業性暴露者と記述）の1次元分析結果を図6及び7に示す。職業性暴露者の毛髪は急性中毒患者の場合と異なり特徴的な元素変動

は見られない。砒素及びガリウムが毛髪のどの場所においてもほぼ一定して観測された。ガリウムには臓器・及び組織への特異的な蓄積性は認められておらず<sup>3)</sup>、ここで見られるガリウムは外部からGaAsとして付着したものであると考えられる。また過去の報告と比較すると<sup>11)</sup>、慢性砒素中毒患者の毛髪よりも含有している砒素の量が多いにも係わらず、被験者が中毒症状を呈していないことから今回計測された砒素の多くは外部からの付着したものであると言える。したがって外部環境に由来する砒素の量の評価対象として毛髪が有効であると思われる。また、砒素が毛髪中にほぼ均一に分散しており、外部環境から毛髪が砒素に汚染される過程を理解する手掛かりになると考えられる。

急性砒素中毒患者の毛髪断面蛍光X線イメージング及びその一次元分析の結果を図8、9に、表面に三酸化二砒素を人為的に塗付した健常者の毛髪断面を図10、その一次元分析の結果を図11に示す。また、対照実験として健常者の毛髪に対して同様の分析を行った結果を図12に示す。図8の結果から、砒素が毛髪の外縁部に濃集している事が明らかとなった。また硫黄は全体に、亜鉛はやや内部に存在する。これらに関しては健常者の毛髪においても同様な結果が得られた。銅に関しては検出量が少なく、バックグラウンドとの差異が明らかではない。図10では銅が毛髪の外縁部に含まれていることがわかる。これは慢性中毒患者における銅元素の分布と同様な結果である<sup>11)</sup>。

砒素に関しては慢性中毒患者においても毛髪外縁部にみられるという結果が過

去に得られていた<sup>11)</sup>。しかし、慢性中毒患者は日常的に砒素含有水を経口摂取しており、外縁部の砒素が果たして内部から代謝されたものであるかという問題が残されていた。今回対象となった急性中毒患者は経口のみで砒素を摂取し、その他の砒素環境は一般的な日本人と変わらないと考えられる。図 12 から人種的な違いのない健常者では砒素が分布として検出されないことから、急性中毒患者の砒素は内部代謝によるものであることが明確になった。慢性の場合にも同様な機構で代謝されている可能性が高い。

内因性、外因性共に砒素は毛髪断面の外縁部に濃集していることがわかった。さらに両者の蓄積部位を明らかにするために他の元素の分布と一次元的な関係を表したものが図 9 である。この図から内因性の場合には毛髪の最外部ではあるが硫黄が存在する部位、つまりは毛髪上に砒素のピークが見られる。これに対し、図 11 では砒素のピークは硫黄の存在する部分の外側にあり、外因性の方が内因性より外側に分布することがわかった。さらに、図 10 から明らかのように砒素の分布に偏在が認められる。これにより、急性及び慢性中毒患者の毛髪断面分析の結果見られた砒素は内因性の暴露によるものであり、代謝の結果蓄積したものであることが確認された。また、外部からの砒素が経口摂取による砒素と区別できることが示された。このことは砒素暴露の可能性のある環境を評価する際に本分析法の応用が有効であることがわかる。図 10 及び 11 の結果では毛髪に付着させた三酸化二砒素の量が多く、切片作成の際、砒素が刃の移動方向に沿って塗り伸ばされている。したがってより明確な

差異を見出すために今後外部付着の砒素試料の調整が課題となる。

## 2. 皮膚

皮膚は体表側から表皮、真皮、皮下組織に順に層状構造になっている<sup>13)</sup>。慢性中毒患者の皮膚の一次元分析の結果(図 13,14,15)から砒素の濃集が表皮側から 200 $\mu\text{m}$  の付近に認められた。表皮の厚みはおよそ 150 $\mu\text{m}$  であるため、砒素は表皮との境界に近い真皮側に存在することがわかった。また、コントロールとした皮膚からは砒素が検出されなかった。したがって上記の砒素は中毒による体内での代謝の結果、蓄積したものであると確認できた。砒素が皮膚に影響を与えることは知られており、砒素中毒の症例として皮膚の疾患が挙げられる<sup>14)</sup>。

表皮は真皮との境界付近に存在する基底層から細胞が生じ、古い細胞を押し上げていくかたちで細胞が日々入れ替わっていく<sup>13)</sup>。これに対し真皮は網状構造を取り表皮のような速さでの入れ替わりはない。したがって真皮に砒素が存在する期間は長く、蓄積性が高いと考えられる。

患者の皮膚ではや Cu、Fe などの金属元素も同様に境界付近に濃集が見られた。患者の皮膚の二点とも鉄の濃集が砒素よりも真皮側にみられた。ただし分析サンプル数が二点であるため、個人差の影響に関しては更なる測定が必要である。現在の測定のスレップ幅では皮膚中の微細な組織の何処に砒素が蓄積しているか明瞭ではない。組織の同定にこのようなピーク位置が指標となる可能性がある。また、皮膚と毛髪は非常に近い組織であり、毛髪への蓄積との関係が見出せることも考えられる。

## 3. 臍帯

これらの試料は急性中毒発症時に妊娠中であった方から出産後に提供いただいたものである。図 16 及び 17 に結果を示す。臍帯中から砒素が検出された。また、4 つの試料のうち 1 試料は砒素が検出されていないことから砒素が通常臍帯に含まれているのもであるとは考えにくく、中毒由来の砒素と思われる。

胎盤は胎児と言う母体から見た異物を免疫系の排除機構から保護する役目をもつと考えられており、胎盤の存在により妊娠中母体と胎児の血液は直接交じり合うことはなく、胎盤中の絨毛において母体の血液から酸素や栄養素、抗体タンパク質時にはウィルスや薬物などを受け取り、胎児側からは二酸化炭素や老廃物が放出される<sup>13)</sup>。この過程の後、胎児の血液は臍帯を通過して胎児へと運ばれる。このように臍帯は、胎盤によって母体と隔てられた胎児へ直接つながるものであり、胎盤の胎児側の組織であるこの部位に砒素が存在していることから、胎盤を通過した砒素が胎児へと移行することを示している。胎児が摂取した砒素の身体影響については未知な部分が多いが、砒素の移行が明らかになったことにより、新生児への長期的な治療・観察が必要といえる。中毒における催奇性が直接的に砒素に原因していることも考えられる。

#### D. 結論

急性砒素中毒患者の毛髪一次元分析から、砒素の濃集に伴い他の金属元素の量が増加する傾向が観測された。また職業性暴露者毛髪からはガリウムと共に砒素の存在が定常的に認められた。

急性砒素中毒患者の毛髪断面二次元イメージングから砒素が毛髪の外縁部に濃

集していることが明らかとなった。対照実験から外部汚染の砒素と区別が可能であるといえる。

慢性砒素中毒患者の皮膚では、表皮から真皮への元素量の変化の知見を得ることができ、砒素は表皮と真皮の境界付近に濃集していることが明らかになった。

急性中毒患者の臍帯からは砒素が検出され、砒素が胎児へ移行する事が初めて見いだされた。

以上の生体試料の分析において生体中の砒素をはじめとする微量元素の分布に関して有用な知見が得られた。放射光蛍光 X 線分析が生体中の微量元素の分析に有効であることを示している。本法によって生体組織での形態学的知見と元素分布との対応が明確になり、微量元素の組織中における役割の解明への貢献が期待できる。

#### 【参考文献】

- 1) 木村優：微量元素の世界，裳華房，p78-119(1990)
- 2) 山内博、山村行夫，日本公衛誌，27，647-653 (1980)
- 3) 山内博，産衛誌，39，A53-A54(1997)
- 4) P.Apostol,L.Alessio,L.Romeo,J.P.Buchet and R.Leone *Journal of Toxicology and Environmental Health*,52,331-342(1997)
- 5) A.Peyster and J.A.Silvers, *American Industrial Hygiene Association Journal*, 56,337-383(1995)
- 6) H.J.Sánchez, C.Pérez and R.D.Pérez, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*124,140-142 (1997)
- 7) H.Yamauchi and B.A.Fowler, *Arsenic in the Environment,Part II,Human Health and Ecosystem*

*Effects*, p35-53, Wiley, New York  
(1994)

8) 山内博, 日衛誌, 49, 973 - 973(1995)

9) T.N.Nagaraja and T.Desiraju,  
*Human & Experimental Toxicology*,  
**13**,353-356 (1994)

10) 桜井弘: 金属は人体になぜ必要か なければ困る銅・クロム・モリブデン...,  
p160-164, 講談社(1996)

11) 片岡正樹, 東京理科大学 1998 年度  
卒業論文 (1999)

12) 三田達: 高分子大辞典, 丸善(1994)

13) 山田英智、市川厚、黒住一昌監訳:  
ブルーム・フォーセット 組織学[II],  
廣川書店(1991)

14) 山村秀夫監訳: 中毒ハンドブック 第  
11 版, p282-285, 廣川書店(1990)

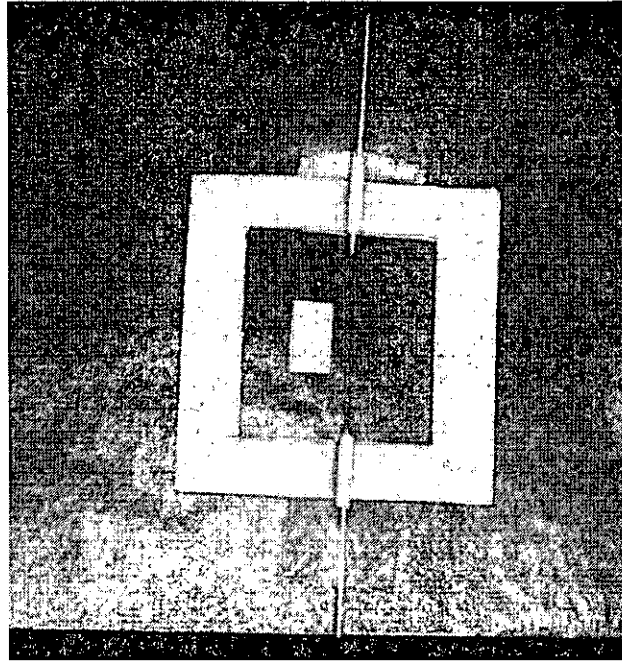


図1 一次元分析用毛髪サンプル



矢印の方向に分析  
青いラインは1mm方眼紙

図2 慢性ヒ素中毒患者の皮膚測定サンプル

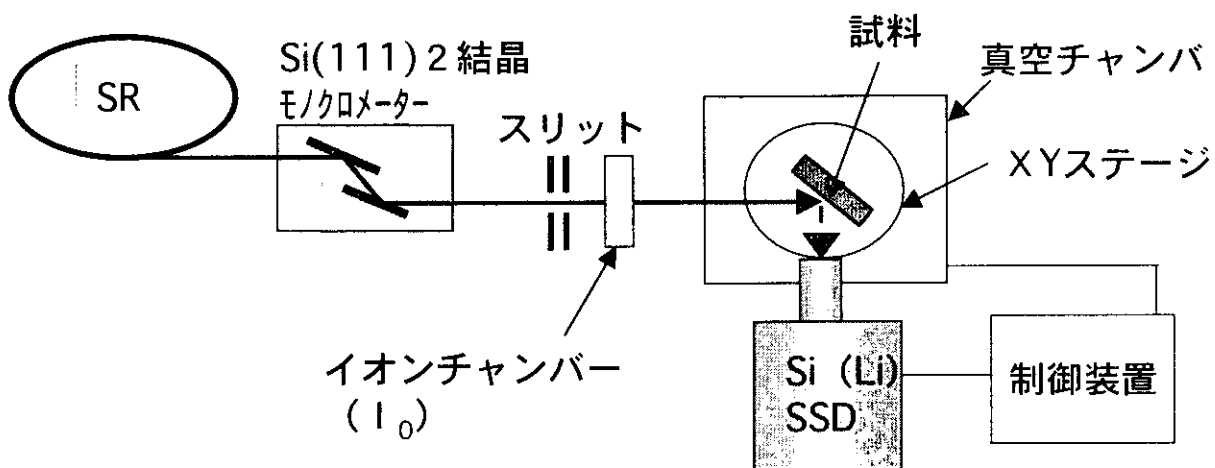


図3 放射光蛍光X線分析システムの構成

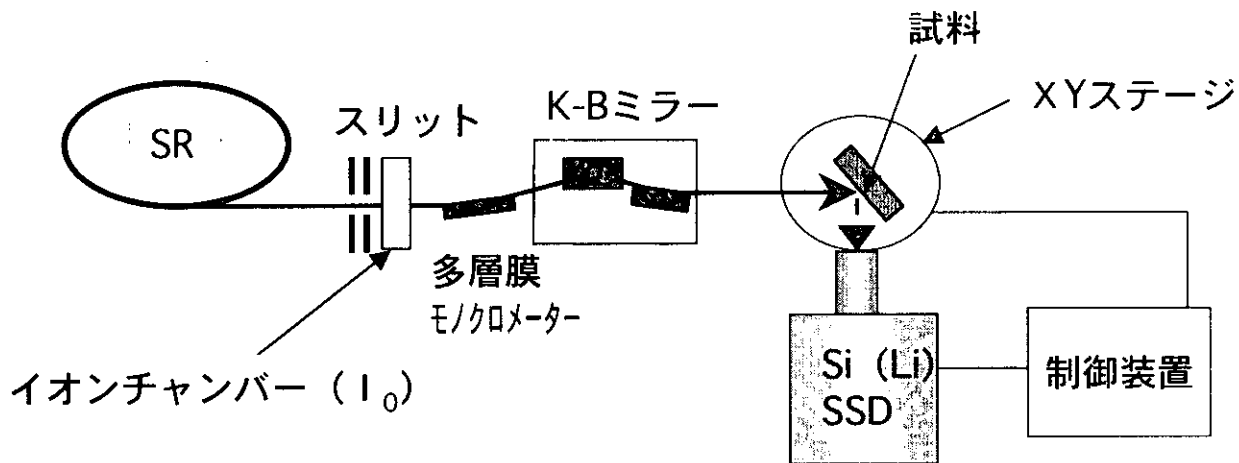


図4 放射光マイクロビーム蛍光X線分析システムの構成

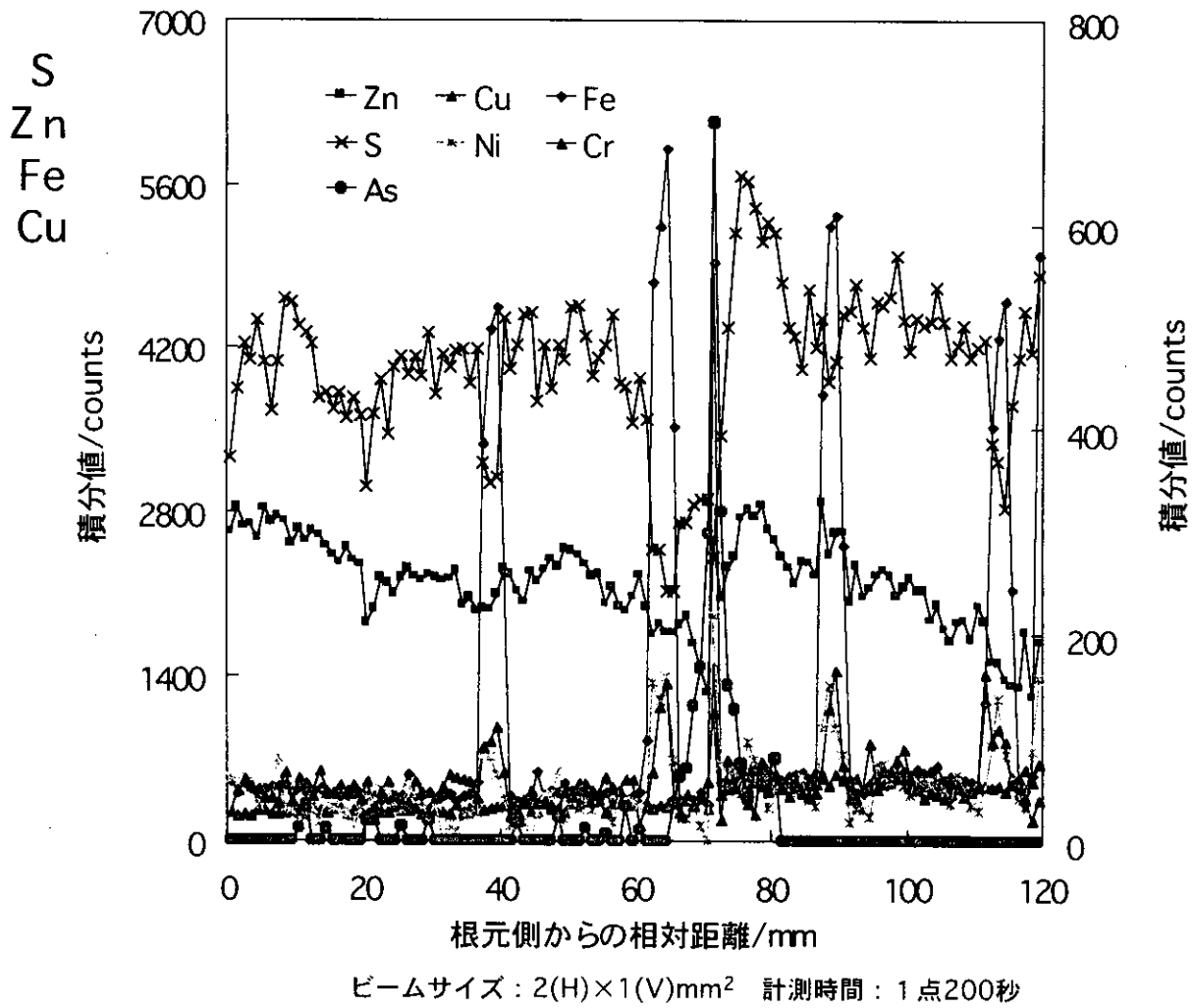


図5 急性ヒ素中毒患者(A)の毛髪伸長方向一次元分析

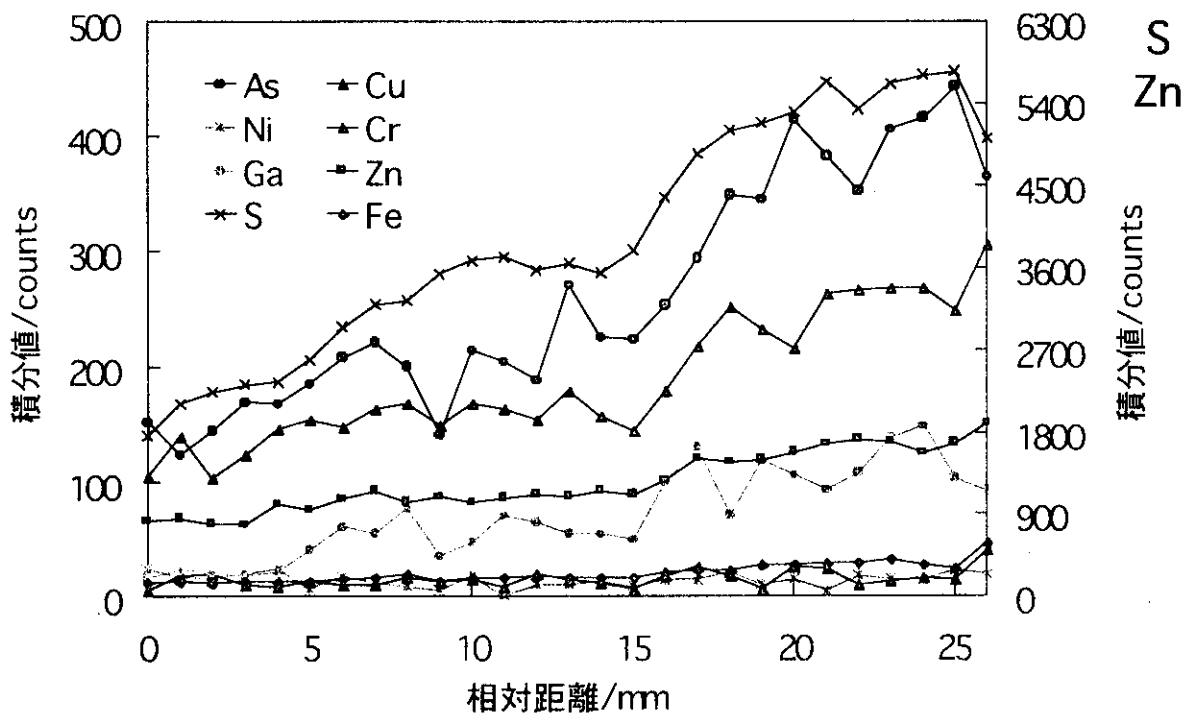


図6 半導体産業従事者(B)の毛髪一次元分析

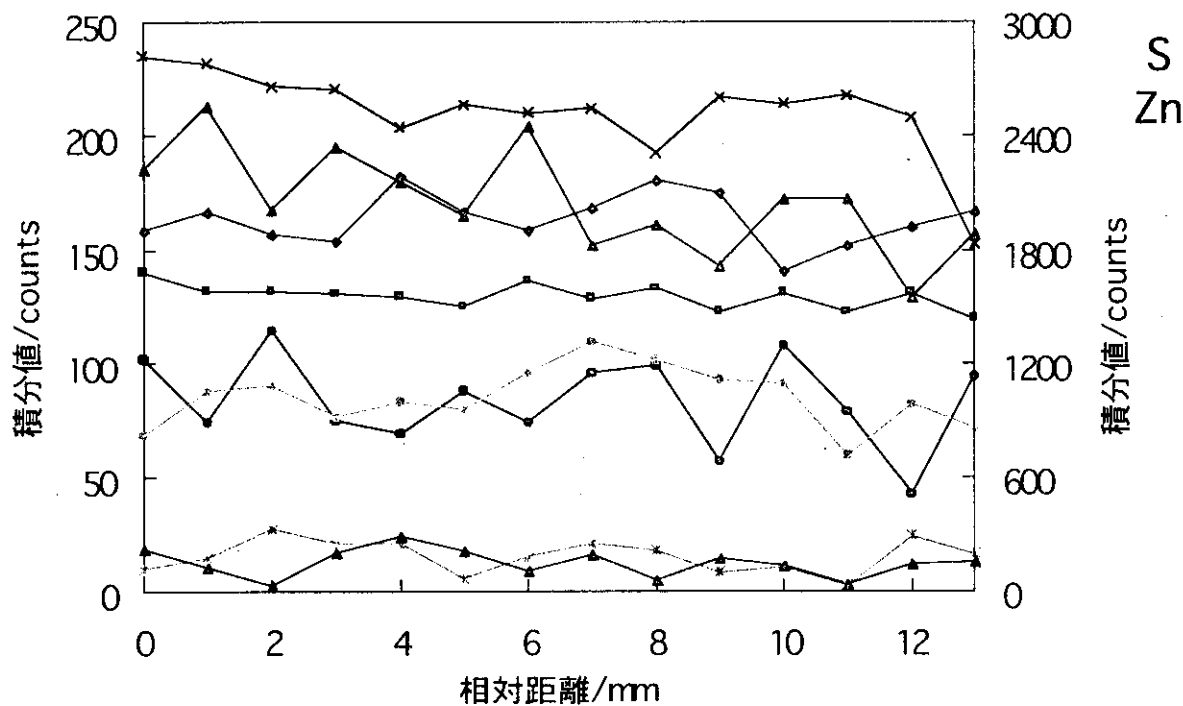


図7 半導体産業従事者(C)の毛髪一次元分析



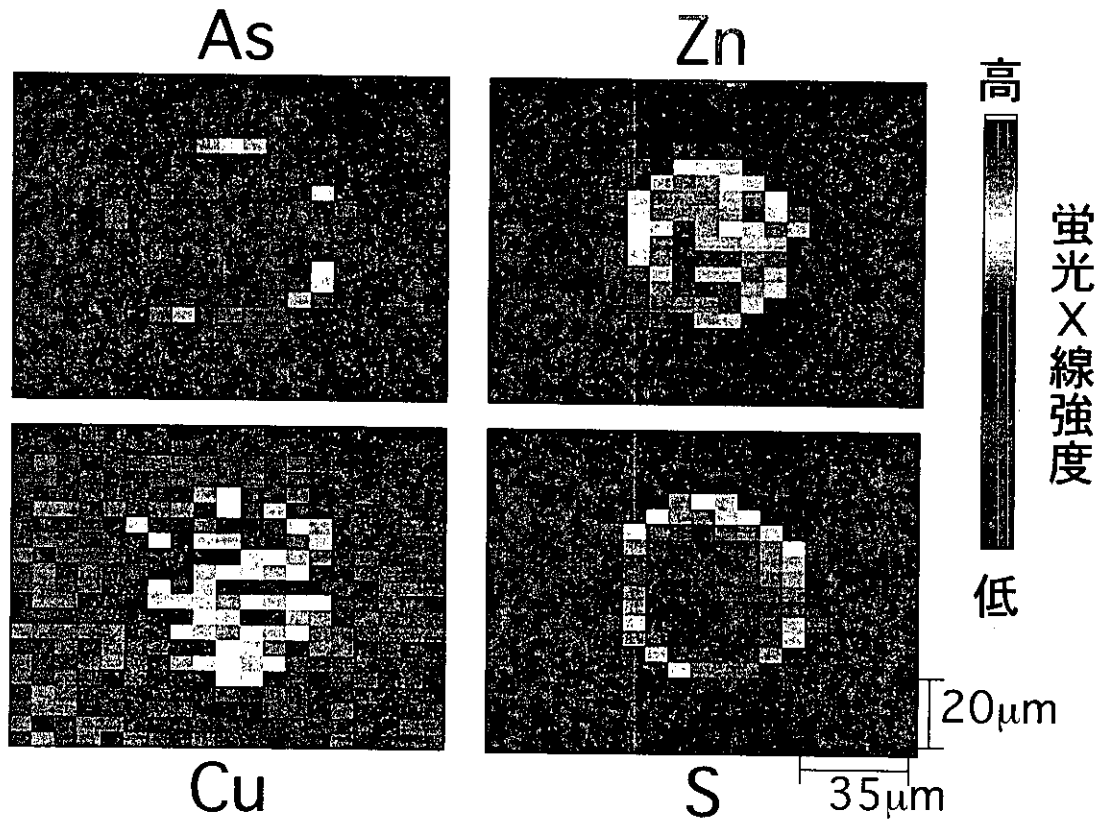
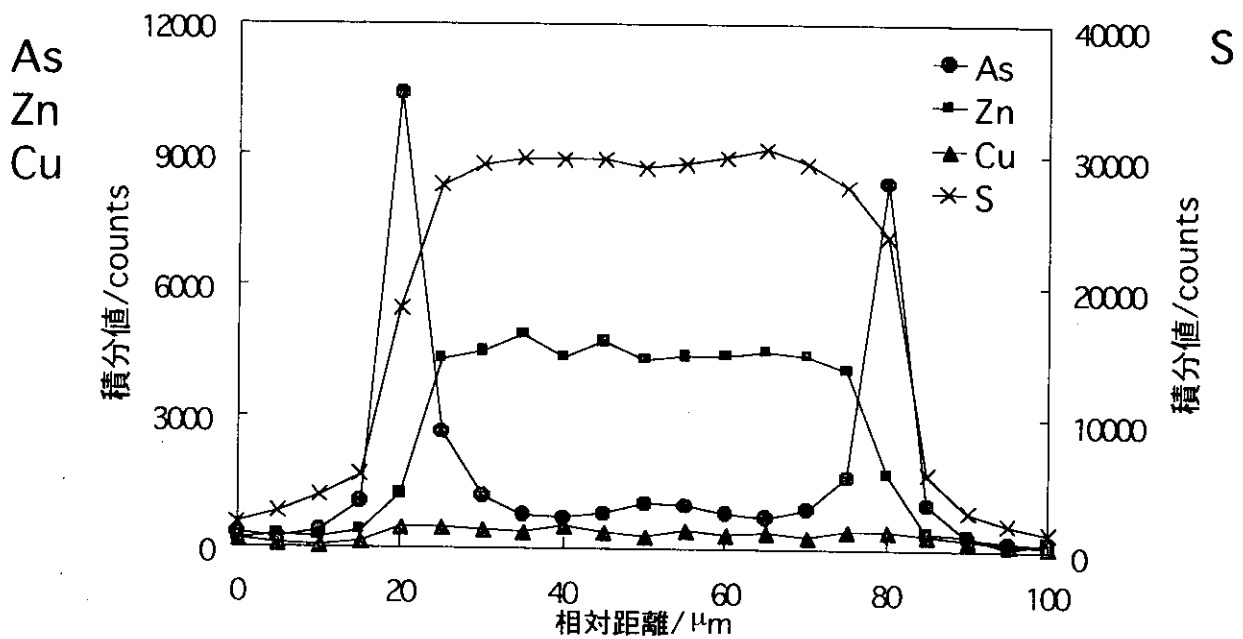


図8 急性ヒ素中毒患者(D)の毛髪断面イメージング



ビームサイズ: 7(H) × 5(V) $\mu$ m<sup>2</sup> 測定時間: 1点100秒

図9 急性ヒ素中毒患者(D)の毛髪一次元分析

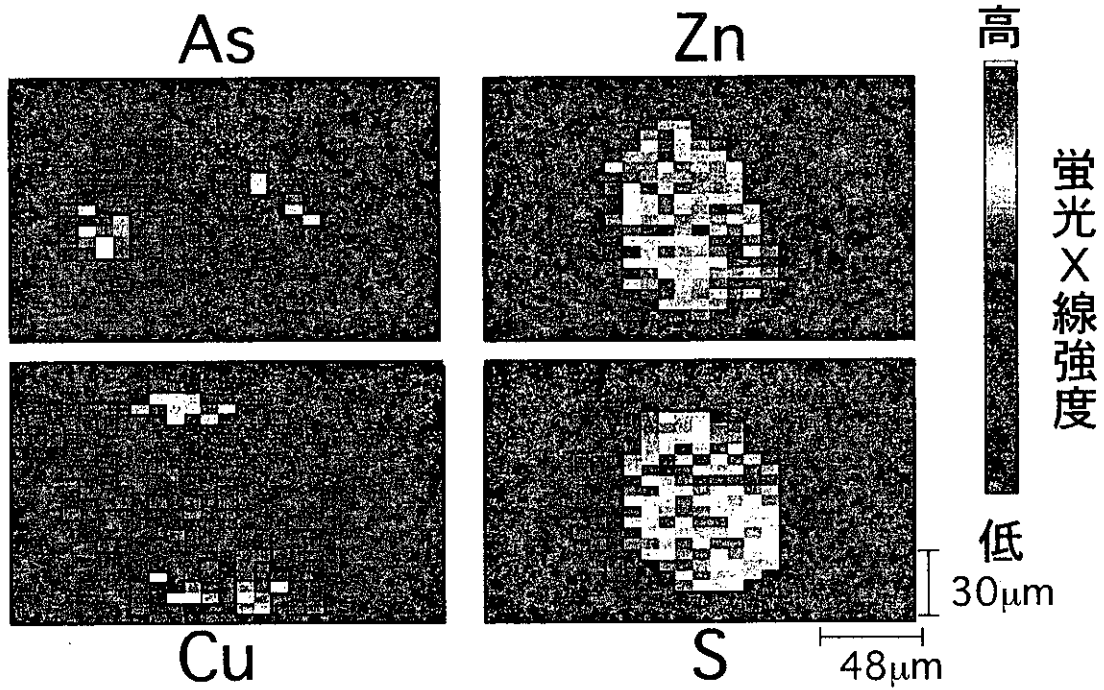
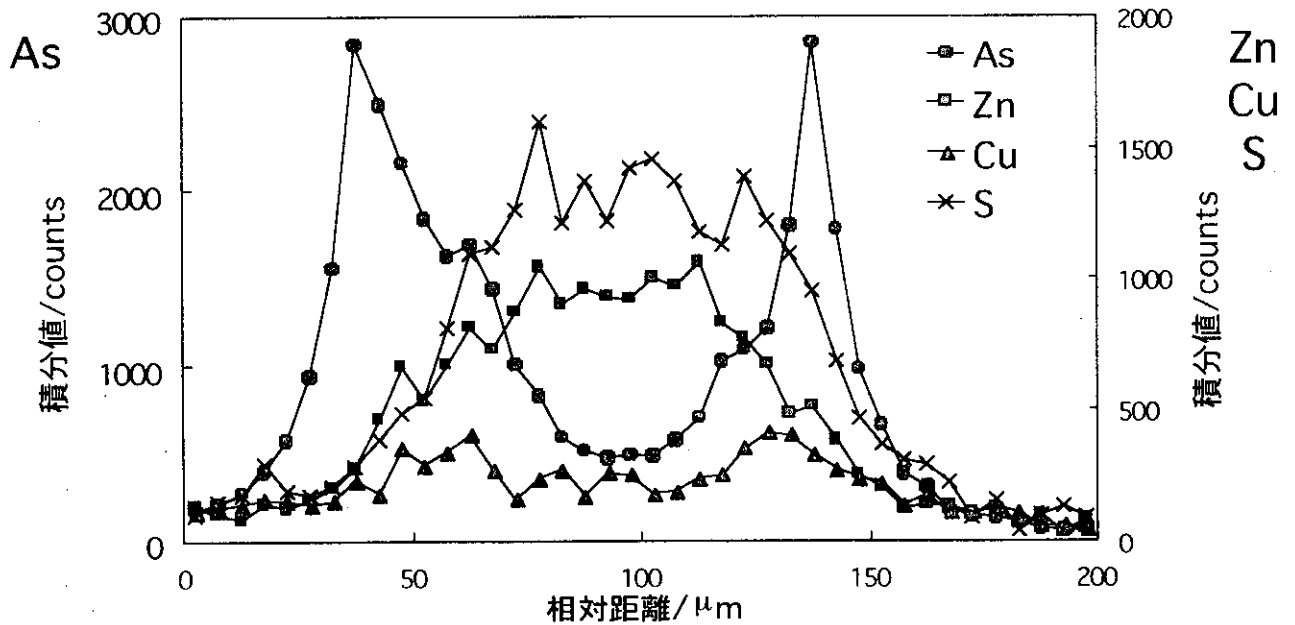


図10 亜ヒ酸塗布毛髪断面イメージング



ビームサイズ：8(H)×5(V)μm<sup>2</sup> 測定時間：1点3秒

図11 亜ヒ酸塗布毛髪断面の一次元分析

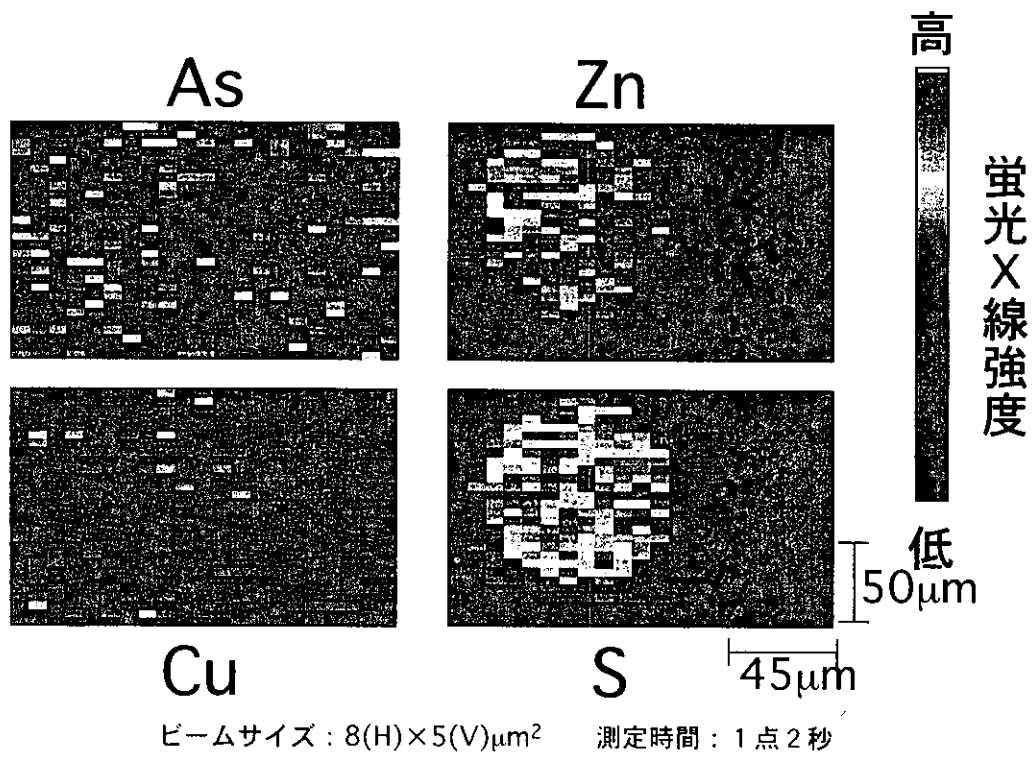


図12 健康者の毛髪断面

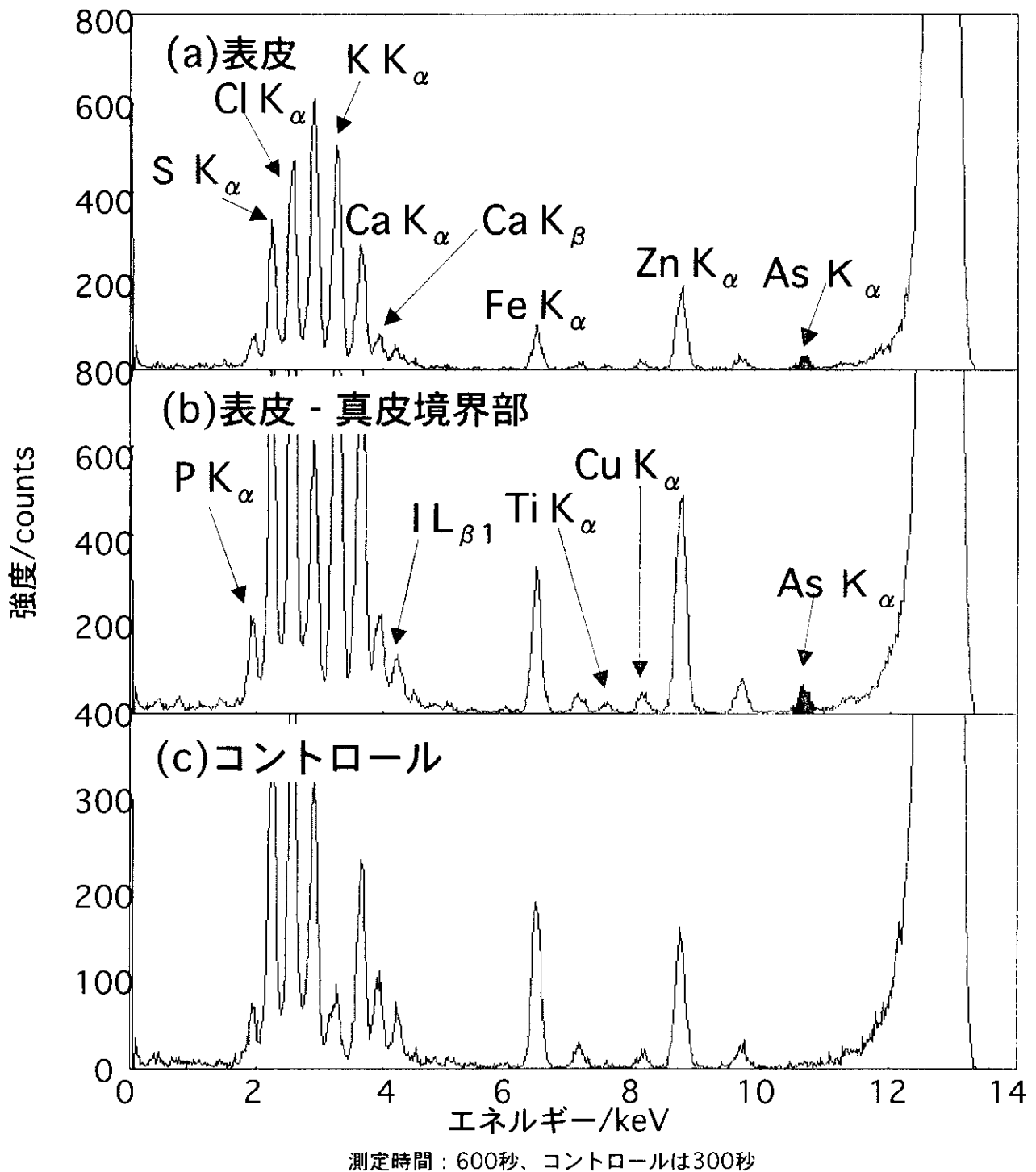


図13 慢性ヒ素中毒患者皮膚の蛍光X線スペクトル