

表1 経過

2000年ごろ	A地区とその周辺で小脳症状、振戦などの中毒症状が出現し始める。
2002年8月	第1例目の患者を診察する。
2003年2月	第3例目の患者を診察する。
3月6日	潮来保健所長宛に水質検査依頼状を書く。
3月17日	患者が医師の依頼状を持って潮来保健所を訪れる。
3月20日	ヒ素検出(総ヒ素量4.5 mg/l)。A地区
4月1日	「茨城県神栖町における飲用井戸を利用していた症状者の健康影響に関する専門委員会」発足。
4月3日	A地区から西1 kmの地点で比較的高濃度汚染地域が判明。B地区
4月14日	ジフェニルアルシン酸検出。
4月16日	茨城県知事が国に要望書。
4月19日	神栖町A地区検診実施。
5月3日	神栖町B地区検診実施。
5月29日	茨城県「小児科専門医ワーキンググループ」発足。
6月6日	「茨城県神栖町における有機ヒ素化合物汚染等への緊急対応策」を閣議了解。 環境省「ジフェニルアルシン酸に係る健康影響等についての臨床検討会」発足。
8月25日	環境省「ジフェニルアルシン酸の健康影響に関する調査研究班」発足。
2004年2月25日	現在医療手帳交付者110名。



図2 茨城県神栖町A地区およびB地区の位置関係と旧日本軍施設と部隊駐留地

表2 茨城県神栖町における有機ヒ素化合物汚染および健康被害に係る緊急措置事業

(目的)	神栖町における有機ヒ素化合物(ジフェニルアルシン酸(DPAA)等)の曝露が確認できる者に対し、健康診査を行うとともに、医療費等を給付することにより、治療を促すことを通じて、当該者に係る症候及び病態の解明を図り、もってその健康不安の解消等に資する。
(対象)	1. 健康管理対象者(A地区:集合住宅居住歴あり)…高濃度曝露者 2. 医療手帳対象者(B地区周辺)…比較的高濃度曝露者 汚染井戸の飲用に供していた住宅に居住し、または居住していた。(居住要件) ジフェニルアルシン酸の曝露が確認された者(生体試料:爪・髪・尿からDPAAが検出された者)。(曝露要件)
(内容)	健康診査 健康管理調査対象者 神経内科診察, 耳鼻咽喉科診察, ジフェニルアルシン酸検査, 脳血流シンチグラフ(2回/年), 頭部MRI(1回/年), 脳波(2回/年), 小児科神経発達検査(小児のみ) 医療手帳対象者 問診, 神経内科診察, ジフェニルアルシン酸検査, 脳血流シンチグラフ(初回のみ以降有所見者) 頭部MRI(初回のみ) 医療給付 ジフェニルアルシン酸等の中毒に関わる自己負担分医療費を給付する。療養手当(医療受診者に毎月) 健康管理調査費 協力金(初年度), 調査費(毎月)

表3 H住宅(A地区)の住民健診結果

H住宅に居住していた11世帯32名中、井戸水を飲用していない2名は無症状で、残り30名中27名(うち小児7名)について健康診断を実施した。	
中枢神経症状:	22名
四肢の協調運動障害:	20名
姿勢時振戦またはミオクローヌス:	16名
睡眠障害(夜驚, 不眠):	8名
視覚障害:	5名
記憶力障害:	5名
精神運動発達遅滞(小児):	4名
末梢神経障害(他の原因による):	4名

診や健康管理の問題が国レベルに移るようになった。

環境省により作成された「茨城県神栖町における有機ヒ素化合物汚染等への緊急対応策」が2003年6月6日に閣議了解された。これによると、居住要件、曝露要件を満たしている者に対して、医療手帳を交付し、成人は一般診察、神経内科診察、耳鼻科診察、頭部MRI、脳血流シンチグラフ、脳波、血中・尿中ジフェニルアルシン酸測定を行い、加えて小児は、小児神

経発達検査、甲状腺機能検査を行うことになった。さらに、A地区の住民は健康管理調査対象者として、一部の検査の施行頻度を多くして、嚴重に健康状態のチェックを数年間行うことになっている。現在(2004年2月25日時点)、医療手帳交付者は110名である(表1)。本中毒では、一部の脳血流シンチグラフは、急性期・亜急性期にみられた症状・症候の責任部位に一致して、脳血流低下がみられる傾向が明らかになった。また、一部の小児を除いて、頭部MRI上、脳萎縮は認められていない。

4. 考察・課題

集合住宅やその周辺に生じた症候群は、症状が比較的均質であること、汚染源と考えられる井戸水の飲用と関連して症状が変化していること、汚染物質であるジフェニルアルシン酸(DPAA)が患者の生体試料から検出されたことなどから、飲用井戸水に混入したDPAAなどが原因であると結論した。症候学的に注目すべき点は、急性期、亜急性期に認められた小脳症状、複視などの脳幹症状、記憶力障害、睡眠

障害や視覚異常などの側頭・後頭葉症状である。これらの症状は、慢性有機水銀中毒、臭化メチル中毒、有機塩素中毒の中樞神経症状に酷似していた。

DPAAの経口摂取によるヒトの中毒報告は皆無である。動物への投与に対する毒性実験報告では、マウス経口投与のLD₅₀は17 mg/kgである²⁾。類似物質のモノフェニルアルソン酸(MPAA)のマウス経口投与のLD₅₀は0.27 mg/kgで、ウサギ経静脈投与LD₅₀は16 mg/kgである。中毒症状の詳細な記述は、類似物質のMPAAによる家畜での急性中毒報告があるのみで、1940年代中ごろ以来、MPAAがブタや家禽における疾病の蔓延防止と飼料効率を高め、体重増加の向上のために飼料添加物として使用されていた。ブタへのMPAA過剰投与の報告もあり、“急性小脳失調症状(協調運動不能、体幹・四肢運動の制御不能、運動失調)が大量摂取後、3～5日後に出現し、中止後、数日以内で速やかに症状が軽快する”とのことで、本症例で認められた症状の特徴にきわめて類似していた。さらに四肢麻痺、皮膚の紅斑、毛並みの乱れ、食欲不振、抑うつ状態が認められ、昏睡や死にいたることもある³⁾。フェニルアルソン化合物(アルサニル酸)の組織蓄積と排泄率を調べた研究では、表4のように中樞神経組織には比較的少量のフェニルアルソン化合物しか蓄積しないが、中樞神経組織からの排泄速度は

表4 フェニルアルソン酸経口摂取による各臓器における残存率³⁾

(投与推奨濃度の10倍; 1g/kg飼料: 1,000ppmを19日連続投与し、中止後 11日の臓器残存率)	
腎臓(8.33 ppm → 1.90)	22 %
肝臓(9.67 → 1.75)	18 %
筋肉(0.92 → 0.31)	34 %
血液(1.94 → 0.45)	23 %
末梢神経(1.57 → 0.61)	39 %
脊髄(0.74 → 0.25)	34 %
脳幹(1.04 → 0.62)	60 %
小脳(1.23 → 0.85)	69 %
大脳(0.82 → 0.51)	62 %

遅いと報告がある。

最大の疑問は、くしゃみ・嘔吐剤のDAやDC(または、その中間分解物のBDPAO)が“なぜ、神栖町の地下水に混入したのか?”であるが、可能性として以下の事例が考えられている。①旧海軍関係の施設があったので、海軍由来のくしゃみ・嘔吐剤が戦後直ぐに地中に破棄された。②旧陸軍が駐留しており、このとき持ち込まれたくしゃみ・嘔吐剤が戦後直ぐに地中に破棄された。③神栖町内は1970年代に砂利の採掘が盛んであり、採掘後の埋戻し客土がくしゃみ・嘔吐剤に汚染されていた、などである(図2)。真相は、現時点では全く不明であり、積極的に進められている環境省の地中調査結果が待たれる。

加えて、臨床・毒性に関する今後の課題として、①後遺障害を含めた症状・症候の経過観察と長期影響、②経皮吸収の有無、③DPAAの体内動態や中樞神経系を含む各臓器への蓄積率と排泄速度、④DPAAの神経組織に対する毒性、⑤胎児毒性の有無、⑥治療法の確立、などを明らかにしなければならない。DPAAは旧軍化学兵器であるくしゃみ・嘔吐剤由来であると考えられ、旧海軍相模工廠跡(寒川町)以外の地域でも、茨城県神栖町と同様の事例が発生する可能性があると思われる。

5. ま と め

茨城県神栖町における飲用井戸水に混入したジフェニルアルシン酸などによる中毒を報告した。急性・亜急性症状は、歩行障害、構音障害、巧緻運動障害などの小脳症状、四肢振戦、ミオクローヌス、複視などの小脳・脳幹症状に加え、睡眠障害(夜驚、不眠)、記憶力障害、視覚異常などの大脳皮質の側頭葉・後頭葉症状である。症状の特徴は原因物質曝露から1～2週間ほど遠ざかると、症状が軽快・消失し、再曝露にて1～2カ月で再び症状が出現することである。臨床医は、数週間で増悪・寛解を繰り返すこれらの症状を診察したときは、有機ヒ素中毒(ジフェニルアルシン酸中毒)も念頭に入れて鑑別診断を進めるべきである。

文 献

- 1) Pitten FA, Muller G, Konig P et al : Risk assessment of a former military base contaminated with organoarsenic-based warfare agents : uptake of arsenic by terrestrial plants. *Sci Total Environ* 1999 ; 226 : 237-45.
 - 2) Plague MJ : *Prehled Prumyslove Toxikologie ; Organicke Latky, , Czechoslovakia, Avicenum* 1986 ; 1276.
 - 3) Ledet AE, Duncan JR, Buck WB and Ramsey RK : Clinical toxicological, and pathological aspects of arsenalic acid poisoning in swine. *Clin Toxicol* 1973 ; 6 : 439-57.
-

茨城県神栖町のジフェニルアルシン酸等による健康被害

筑波大学大学院 人間総合科学研究科 石井一弘

はじめに

戦後およそ 60 年経つが、近年、戦争直後に不当処理された旧軍化学兵器による健康被害が全国各地または周辺諸国で多発している。2002 年 3 月、旧相模海軍工廠実験部跡地における化学兵器由来の塩素ガスによる呼吸障害及び 9 月に旧相模海軍工廠跡地で工事作業中に起きたマスタードガス中毒、さらに 2003 年 8 月、中国黒竜江省チチハル市で起きたマスタードガス中毒による健康被害は旧軍化学兵器問題の深刻さに加え、新たな国際問題を引き起こしている。2003 年 3 月には、化学兵器には無縁と考えられていた茨城県神栖町で多数の住民が飲用井戸水を介して、化学兵器由来と思われるジフェニルアルシン酸 (DPAA) 中毒に曝露し、社会問題となった。本事案では、被害患者の発見、原因物質同定、行政対応、対策委員会の立ち上げなどは、極めて迅速であったのが、DPAA 中毒は前例がなく、DPAA の生体影響、中毒症状、治療法などの情報が皆無であったことから、対応に苦慮した点多かった。

1. 茨城県神栖町の有機ヒ素化合物による地下水汚染による健康被害

(1) 発見の経緯と臨床症候

2002 年 8 月上旬、茨城県中央部にある病院で第 1 例目の患者を診察した。患者は女学生で、2001 年頃より、小脳症状と思われる“ふらつき”と部活動の柔道が下手になったことが初発症状であった。2002 年春頃から、夜驚のように睡眠中、突然に手足をバタつかせて暴れるなどの症状が出現した。また、手の震えと体のピクつきも自覚した。この女学生の母親も同様の症状がみられ、より重症であった。母娘の入院精査を行ったところ、この母娘は、ほぼ同一症状で小脳失調、四肢の振戦、上肢にミオクローヌス、睡眠障害、記憶力障害などの症状がみられた。また、神経学的所見にて眼振、オプソクローヌス（全方向性の不規則な素早い眼球の不随意運動）を認め、娘は同様に四肢の小脳失調、上肢振戦、ミオクローヌス、夜驚などの睡眠障害をみとめた。この中毒の特徴であるが、入院により、すなわち、曝露から遠ざかると 1～2 週間で症状が著明に軽快・消失し、再曝露（退院）にて 1～2 ヶ月で症状が出現することであった。2003 年 2 月上旬、同じ集合住宅に居住している 3 例目の患者 42 歳女性が歩行時のふらつき・めまい、手の震えを主訴に外来を受診した。母娘の症状と同一で小脳症状、振戦、ミオクローヌスがみられた。この集合住宅が一本の井戸を共用していることがわかり、井戸水汚染が疑われたため、管轄保健所に井戸水の水質検査を依頼した。その後、小児の被害者 2 名を診る機会があり、7 歳の女兒は成人と同様の小脳症状、振戦、ミオクローヌス、夜驚がみられ、1 歳 8

ヶ月の男児は、精神運動発達遅滞、慢性気管支炎で他院外来で治療を受けていた。2児とも井戸水の飲用を中止してから、症状は徐々に軽快した。水質検査の結果、集合住宅井戸（A井戸）から総ヒ素で基準の450倍（4.5mg/L）のヒ素が検出された。その後の周辺井戸の行政水質検査結果、集合住宅井戸（A井戸）から西1km付近の地域に比較的高濃度汚染地域（B地区：約0.45 mg/L）が発見された。（図1）

筑波大学皮膚科大塚、神経内科玉岡と石井が4月19日（A地区）と5月3日（B地区）において住民健診を施行した。その結果、成人では、小脳症状、振戦、ミオクロームスと不眠などの睡眠異常、記銘力障害、視覚異常がみられ、小児では睡眠異常として夜驚と、精神運動発達遅滞が明らかになり、本中毒の症状が明確になった。重要な点は、無機ヒ素中毒症状（腹痛、嘔吐、ショック、貧血、手足のしびれ、ヒ素疹など）とは全く異なり、中枢神経症状が主体であったことである。（表1）

（2）経過

茨城県の対応は、異例の速さであった。JCO事故の教訓から直ちに健康危機管理対策委員会を設置し、4月1日に「茨城県神栖町における飲用井戸水を利用して有症者の健康影響に関する専門委員会」を発足し、対象住民健康診断の実施や飲用井戸水汚染の実態調査を開始した。（表2）行政水質検査により、4月上旬、新たにB地区が見つかり、汚染地域は大きく2地点になった。（図1）その2回の住民健診の結果、小児に精神運動発達遅滞が認められることがわかり、5月29日「小児科専門医ワーキンググループ」が作られ、小児曝露者に対して、現状の把握と治療について専門家による討議が行われた。この間、茨城県知事は国に要望書を提出し、汚染源の特定や健康被害者の健診や健康管理の問題が国レベルに移った。環境省により作成された「茨城県神栖町における有機ヒ素化合物汚染等への緊急対応策」が2003年6月6日に閣議了解されたが、これによると、居住要件、曝露要件を満たしている者に対して、医療手帳を交付し、成人は一般診察、神経内科診察、耳鼻科診察、頭部MRI、脳血流シンチグラフ、脳波、血中・尿中ジフェニルアルシン酸測定を行い、加えて小児は、小児神経発達検査、甲状腺機能検査を施行することになった。さらにA地区の住民は健康管理調査対象者として、一部の検査の施行頻度を多くして、嚴重に健康状態のチェックを数年間行う予定である。現在（2004年12月20日時点）医療手帳交付者は135名である。（表3）

（3）検査所見

高濃度曝露者（A地区）と比較的高濃度曝露者（B地区）とでは、飲水中のDPAA濃度が約10倍異なる点を留意しなければならない。症状・症候の解析では、急性期の小脳症状、振戦、ミオクロームス、記銘力障害、視覚異常、睡眠障害の各症状・症候の出現頻度をA地区（34名）、B地区（67名）で比較したところ、A地区で各症状出現が有意に高かった。（ χ^2 検定： $p < 0.01$ ）小児において、特にA地区では7名中4名に精神運動発達遅滞が認められた。（図2）

尿所見では異常が見られなかった。血液生化学検査では、1名で症状がみられ

ている時期に軽度の肝機能障害がみられた。小児の一部に脳波異常がみられた。一部の曝露者において、頭部 MRI 上、軽度の脳萎縮は認められた。

脳血流シンチグラフの解析では①側頭・後頭部、②小脳、③側頭葉内側部（海馬付近）の血流低下傾向がみられた。この脳血流低下部位は、急性期・亜急性期の症状責任部位に一致していた。全く症状がない曝露者（B地区）でも高率に同部位の脳血流低下が認められた。また、複数の曝露者の尿中 DPAA 及び爪、毛髪中 DPAA を測定し、種々の解析を試みた。曝露中止後約 300 日で尿中 DPAA は検出されなくなった。（図 3）また、爪からは曝露中止後 3 年以上経ても DPAA が検出された。（図 4）A地区、B地区住民に対して、第 2 回目の健診を行っているが、曝露中止から 1 年以上経った今も、慢性期の症状と考えられる症状を示す住民が存在するので、今後も嚴重な追跡調査が必要と思われる。

2. ジフェニルアルシン酸の生成と、その中毒について

（1）有機ヒ素化合物の土壌・水中での安定性

DC や DA は水中では比較的容易に加水分解し、ジフェニルアルシンハイドロオキサイドを経由して、ビス（ジフェニルアルシン）オキサイド（BDPAO）が生成する。さらに分解が進み、ジフェニルアルシン酸が生成するが、BDPAO から DPAA への分解は遅い（図 5）DC は DA に比べ分解速度が若干遅く、この反応により、BDPAO とシアン化水素ができる。あか弾、あか筒のように、結晶状の塊やセルロイドなどの担体と混ぜられた状態では水への溶解性が低いことから、徐々に地下水等に溶出し、加水分解すると考えられる。BDPAO または DPAA は、地下水中で拡散、分解しながら土壌中や地下水中を移動したことが推察されている。

（2）ジフェニルアルシン酸による土壌汚染の実例および可能性

1995～1996 年に大久野島で土壌・地下水のジフェニルアルシン酸（DPAA）による汚染が明らかになっている。また、2004 年 3 月旧海軍相模工廠跡地にて DPAA による土壌汚染と井戸水汚染が明らかになった。さらに 7 月の時点では何らかの有機ヒ素化合物による井戸水汚染が同地域で 7 カ所発見されたが、ヒトへの健康被害にまでは至っていない。さらにドイツ・ポーランド国境付近には、第 2 次大戦直後にドイツ軍が遺棄した化学兵器によるものと考えられる有機ヒ素化合物（トリフェニルアルシン酸）の高濃度汚染地域がみられるという。¹⁾ さらに、周辺諸国、特に中国では多量の遺棄化学兵器が存在し、保存状態も悪いため、主な内容物である DC や DA による周辺土壌汚染や地下水脈汚染も憂慮される。

（3）ジフェニルアルシン酸の毒性

集合住宅やその周辺に生じた症候群は、症状が比較的均質であること、汚染源と考えられる井戸水の飲用と関連して症状が変化していること、汚染物質である DPAA が患者の生体試料から検出されたことなどから、飲用井戸水に混入した DPAA 等が原因であると結論した。症候学的に注目すべき点は、急性期、亜急性期に認められた小脳症状、複視などの脳幹症状と記憶力障害、睡眠障害や視覚異常などの側頭・後

頭葉症状である。これらの症状は慢性有機水銀中毒、臭化メチル中毒、有機塩素中毒の中樞神経症状に酷似してことである。無機金属類の脳血液関門通過は困難であるが、フェニル基やメチル基の付加により、容易に脳血液関門を通過し、中樞神経症状を引き起こすと考えられる。小児では脳血液関門が未発達のため、無機の金属類も中樞神経内に成人より容易に入り込み、中樞神経系を傷害するとも考えられるが、発達期は生体側の毒物に対する感受性が高い時期でもあるため、低濃度・短期の曝露でも傷害程度が大きい可能性がある。何れにせよ、小児の中樞神経は一般に毒物の影響を受けやすい。

ジフェニルアルシン酸 (DPAA) の経口摂取によるヒトの中毒報告は皆無である。動物投与に対する毒性実験報告では、マウス経口投与 LD 50 は 17mg/kg である。²⁾ 類似物質のモノフェニルアルソン酸 (MPAA) のマウス経口投与 LD 50 0.27mg/kg で、ウサギ経静脈投与 LD 50 16mg/kg である。中毒症状の詳細な記述は、類似物質の MPAA による家畜での急性中毒報告があるのみで、1940 年代中頃以来に MPAA がブタや家禽における疾病の蔓延防止と飼料効率を高め、体重増加の向上のために飼料添加物として使用されていた。ブタへの MPAA 過剰投与の報告もあり、“急性小脳失調症状(協調運動不能、体幹・四肢運動の制御不能、運動失調)が大量摂取後、3～5日後に出現し、中止後、数日以内で速やかに症状が軽快する”とのことで、本症例で認められた症状の特徴に極めて類似していた。さらに四肢麻痺、皮膚の紅斑、毛並みの乱れ、食欲不振、抑うつ状態が認められ、昏睡や死にいたることもある。³⁾ フェニルアルソン化合物(アルサニル酸)の組織蓄積と排泄率を調べた研究では、表のように中樞神経組織には比較的少量のフェニルアルソン化合物しか蓄積しないが、中樞神経組織からの排泄速度は遅いとの報告がある。(表 4)

(4) ジフェニルアルシン酸の生体への吸収・排泄

ジフェニルアルシン酸の最初の中毒例は経口からであった。その後、非経口吸収も疑われたために、環境省にて皮膚吸収実験が行われた。これによると皮膚からの吸収は極少量であり、経口に比較して無視できると結論づけられた。(表 5)しかし、爪・髪などの生体試料にて井戸水使用完全中止群と、部分使用群にて有意差が出ていることから(図 6)、皮膚吸収に限らず、粘膜からの吸収やさらには洗面中の誤飲などの可能性により、生体内に取り込まれていることも考えられる。以上の理由で汚染水を生活用水として使用することは、経口使用の如何に関わらず控えるべきであろう。現在、主要な排泄経路は尿と考えられているが、糞便からの排泄される可能性もあり、DPAA 体内動態に関して今後の研究が待たれる。

(5) ジフェニルアルシン酸中毒の治療法

DPAA 体内摂取中止により、急性期の症状は 1～2 週間で速やかに改善するため、最大の治療法は曝露を中止させることである。尿中から約 300 日経ても検出されることや爪から数年経ても検出され、比較的長期間 DPAA が体内に蓄積していると考えられることから、慢性期症状や DPAA による生体への長期影響は未だ明らかになって

いないものの、DPAA の排泄促進させる薬剤は長期的には有用と考えられる。治療法としては、①ヒ素を体外に排出される薬剤、障害された神経細胞を少しでも元気づかせるものとして、②ビタミン B 複合剤や③ビタミン E 剤も有用である可能性がある。また④めまいや不眠、頭痛などの症状を緩和する薬剤としての対症療法も考慮される。体内の DPAA 排泄を促進させる薬物は明らかになってないが、水俣病のメチル水銀の排泄治療で、発症早期においてのみ有効性が認められたという報告があるチオプロニン(チオラ)は、副作用も比較的軽度であることから有効の可能性がある。

3. 今後の課題

臨床および毒性に関する今後の課題として、①後遺障害を含めた症状・症候の経過観察と長期影響、②DPAA の体内動態や中枢神経系や各臓器への蓄積率と排泄速度、③胎児毒性の有無、④DPAA の神経組織に対する毒性、⑤成長期の神経系に及ぼす影響、⑥DPAA 中毒における客観的生物指標(Biomarker)の検索、⑦治療法の確立、などを研究により明らかにしなければならない。DPAA は旧軍化学兵器であるくしゃみ・嘔吐剤かその原料剤由来であると考えられ、旧海軍相模工廠跡(寒川町)以外の地域でも茨城県神栖町と同様の事例が発生する可能性があると思われる。しかるに臨床医は、数週間で増悪・寛解を繰り返す小脳症状、振戦、ミオクローヌス、睡眠障害(夜驚、不眠)、記憶力障害、視覚異常などの中枢神経症状を主として症状を診察したときは、有機ヒ素(DPAA)中毒も念頭に入れて診断を進めるべきである。

図 1. 神栖町の DPAA 汚染地区の周辺図。



図2. A地区、B地区間での各症状の出現頻度比較

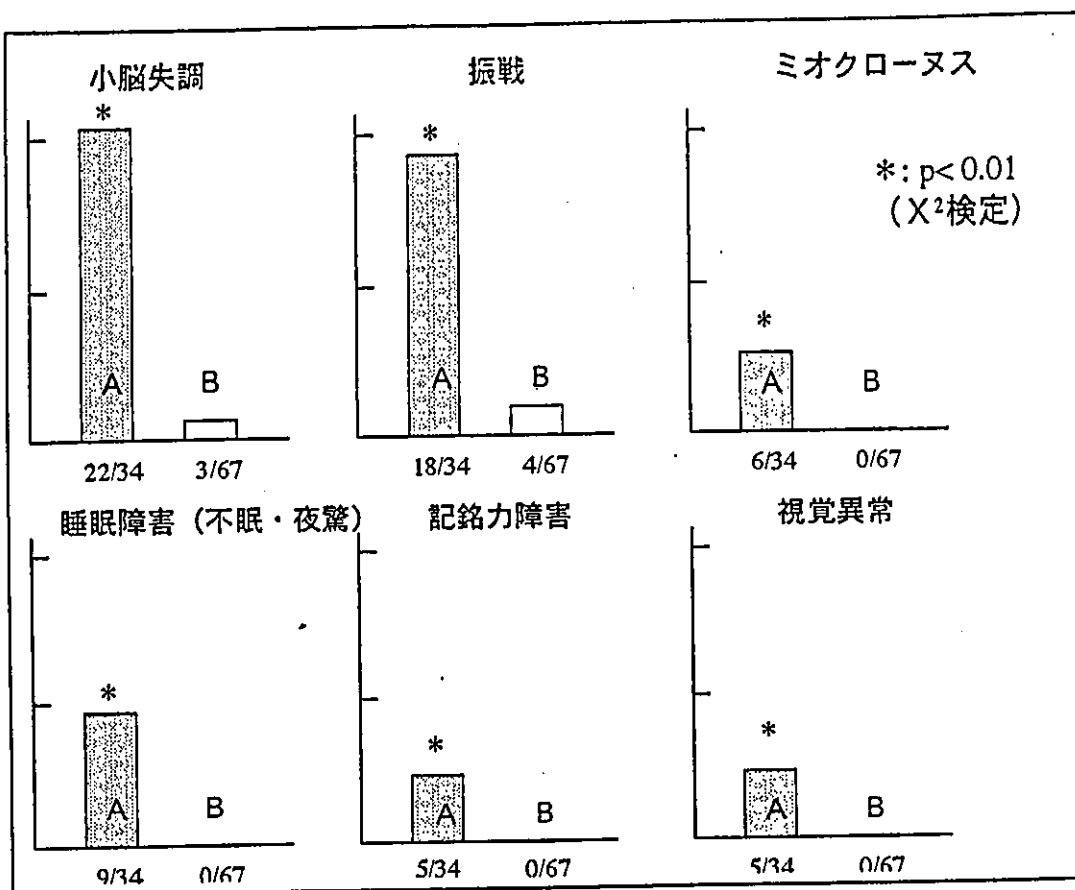


図3. 井戸水の飲水中止期間と尿中DPAA排泄

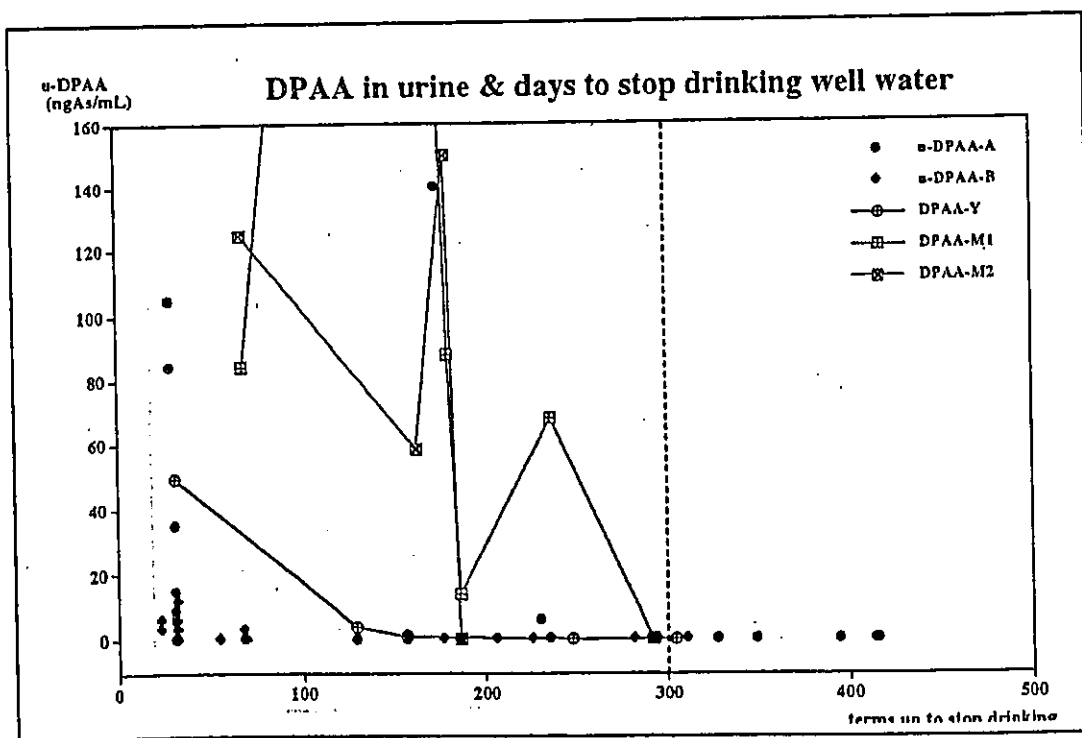


図4. 井戸水飲水中止期間と爪中DPAA濃度

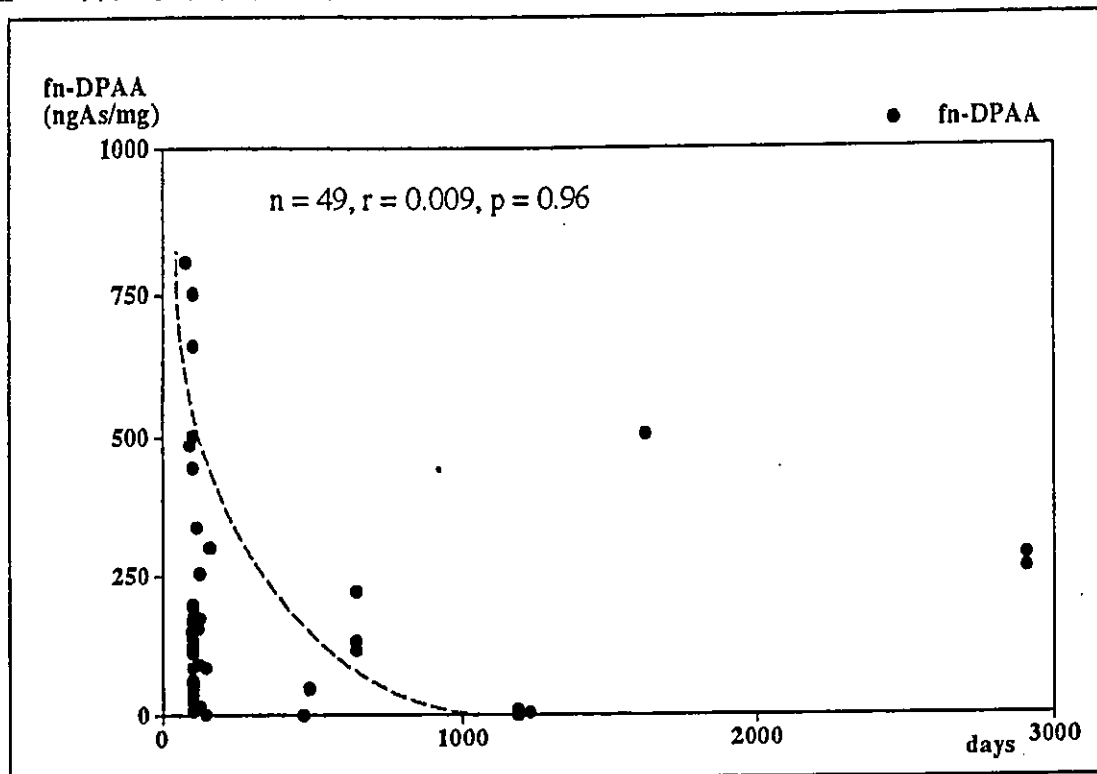


図5. Diphenylchloroarsine (DA), Diphenylcyanoarsine (DC) の分解過程。
 今回、枠内のBDPAO, DPAA が GC/MS にて検出されている。
 また、Monophenylarsonic acid (MPAA) も検出されている。

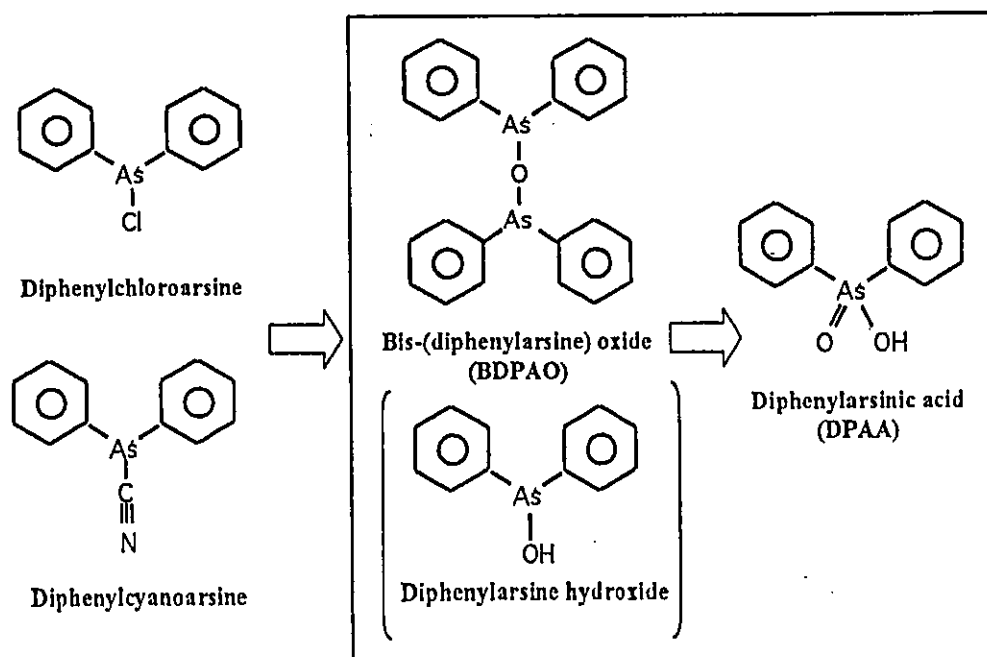


図6-1. 井戸水部分使用群と完全中止群間の尿中 DPAA 濃度 (ヒ素換算)

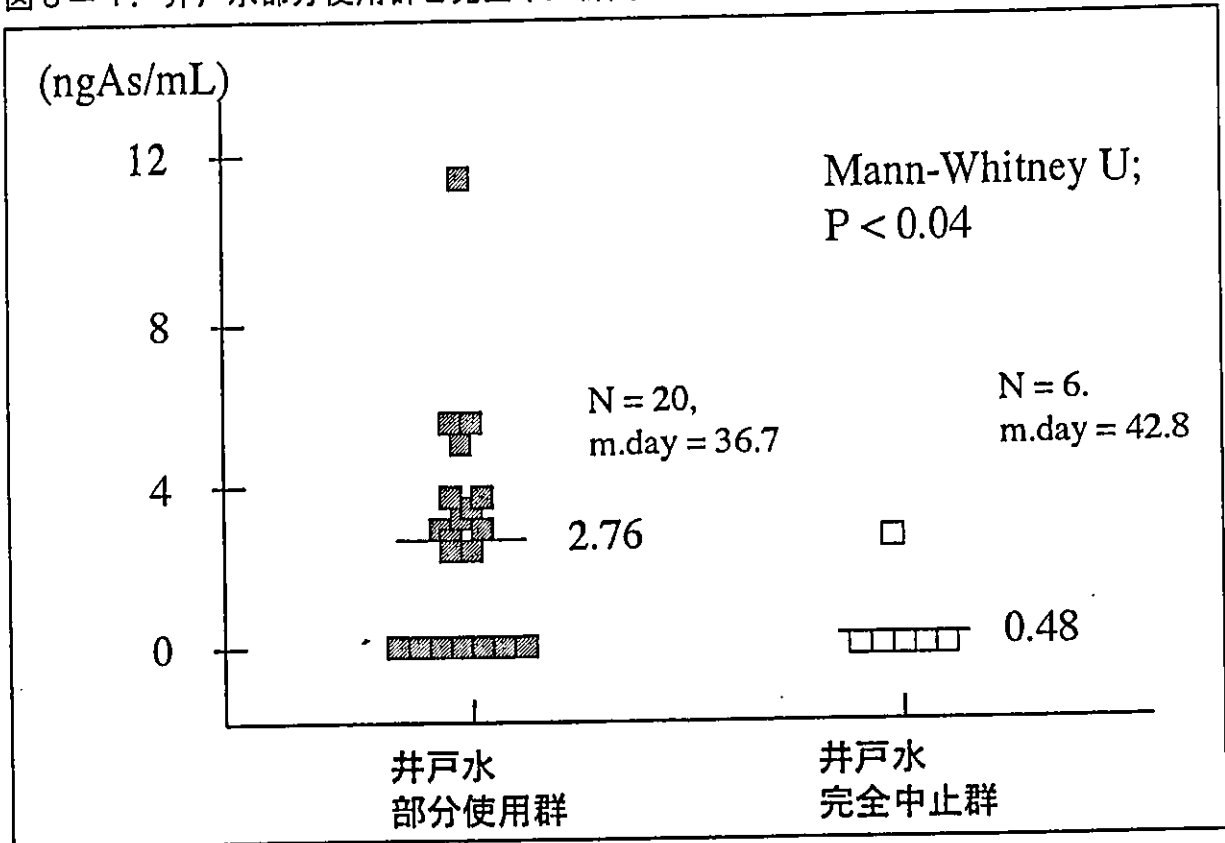


図6-2. 井戸水部分使用群と完全中止群間の手爪中 DPAA 濃度 (ヒ素換算)

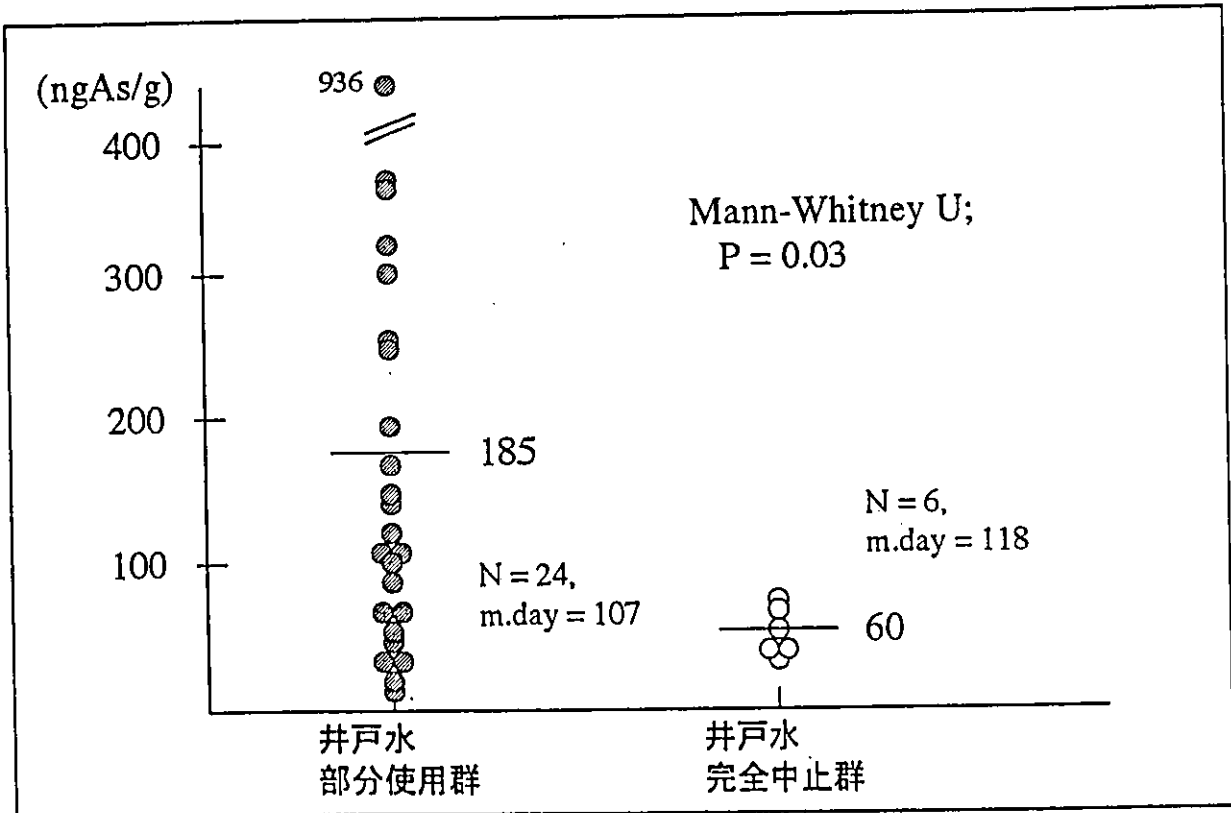


表1. A地区（H住宅）の住民検診結果.

H住宅（A地区）の住民健診結果

H住宅に居住していた11世帯32名中、井戸水を飲用していない2名は無
 症状で、残り30名中27名（うち小児7名）について健康診断を実施した.

中枢神経症状	：	22名
四肢の協調運動障害	：	20名
姿勢時振戦またはミオクローヌス	：	16名
睡眠障害（夜驚，不眠）	：	8名
視覚障害	：	5名
記銘力障害	：	5名
精神運動発達遅滞（小児）	：	4名
末梢神経障害（他の原因による）	：	4名

表2. 経過

平成14年8月	1例目の患者を診察する.
平成15年2月	3例目の患者を診察する. 井戸水汚染を疑う.
3月17日	患者が医師の依頼状を持って潮来保健所を訪れる.
3月20日	ヒ素検出（総ヒ素量4.5mg/L）. A地区
4月1日	「茨城県神栖町における飲用井戸を利用していた症状者の健康影響に関する専門委員会」発足.
4月3日	A地区から西1kmの地点で比較的高濃度汚染地域が判明. B地区
4月14日	ジフェニルアルシン酸検出.
4月16日	茨城県知事が国に要望書.
4月19日	神栖町A地区検診実施.
5月3日	神栖町B地区検診実施.
5月29日	茨城県「小児科専門医ワーキンググループ」発足.
6月6日	「茨城県神栖町における有機ヒ素化合物汚染等への緊急対応策」を閣議了解. 環境省「ジフェニルアルシン酸に係る健康影響等についての臨床検討会」 発足.
8月25日	環境省「ジフェニルアルシン酸の健康影響に関する調査研究班」発足.
平成16年9月	食用米からジフェニルアルシン酸が検出される.
12月	手帳交付者が135名となる.

表3. 茨城県神栖町における有機ヒ素化合物および健康被害に係る
緊急措置事業 (2003年6月6日閣議了解)

(目的) 神栖町における有機ヒ素化合物(ジフェニルアルシリン酸(DPAA)等)の曝露が確認
できる者に対し、健康診査を行うとともに、医療費等を給付することにより、治療を促すことを通じて、当該者に係る症候及び
病態の解明を図り、もってその健康不安の解消等に資する。

(対象)

1. 健康管理対象者 (A地区: 集合住宅居住歴あり) ……高濃度曝露者
2. 医療手帳対象者 (B地区周辺) ……比較的高濃度曝露者
汚染井戸の飲用に供していた住宅に居住し、または居住していた。(居住要件)
ジフェニルアルシリン酸の曝露が確認された者(生体試料; 爪・髪・尿からDPAAが検出された者)。(曝露要件)

(内容)

健康診査

健康管理調査対象者

神経内科診察、耳鼻咽喉科診察、ジフェニルアルシリン酸検査、脳血流シンチグラフ(2回/年)、
頭部MRI(1回/年)、脳波(2回/年)、小児科神経発達検査(小児のみ)

医療手帳対象者

問診、神経内科診察、ジフェニルアルシリン酸検査、脳血流シンチグラフ(初回のみ以降有所見者)
頭部MRI(初回のみ)

医療給付

ジフェニルアルシリン酸等の中毒に関わる自己負担分医療費を給付する。療養手当(医療受診者に毎月)

健康管理調査費

協力金(初年度)、調査費(毎月)

表4. ブタの各臓器におけるアルサニル酸残存率(投与推奨濃度の10倍; 1g/kg
飼料: 1000ppmを19日連続投与し、中止後11日の臓器残存率)

腎臓	(8.33ppm → 1.90)	22%
肝臓	(9.67 → 1.75)	18%
筋肉	(0.92 → 0.31)	34%
血液	(1.94 → 0.45)	23%
末梢神経	(1.57 → 0.61)	39%
脊髄	(0.74 → 0.25)	34%
脳幹	(1.04 → 0.62)	60%
小脳	(1.23 → 0.85)	69%
大脳	(0.82 → 0.51)	62%

Lédet AE et al. Clin. Toxicol. 1973.

表5. DPAA皮膚透過係数

DPAAラット皮膚透過係数: 6.26×10^{-8} cm/S (32°C)、 13.5×10^{-8} cm/S (40°C)

DPAAヒト皮膚透過係数: 1.10×10^{-8} cm/S (32°C)、 4.14×10^{-8} cm/S (40°C)

文献

- 1) Pitten FA, Muller G, Konig P, et al. Risk assessment of a former military base contaminated with organoarsenic-based warfare agents: uptake of arsenic by terrestrial plants. *Sci Total Environ.* 1999; 226:237-45.
- 2) Plague. MJ, Prehled Prumyslove Toxikologie; Organické Latky, , Czechoslovakia, Avicenum, 1986; 1276.
- 3) Ledet AE, Duncan JR, Buck WB and Ramsey RK. Clinical toxicological, and pathological aspects of arsenalic acid poisoning in swine. *Clin. Toxicol.* 1973; 6: 439-457.

Quantitative measurement of histamine H₁ receptors in human brains by PET and [¹¹C]doxepin

Hideki Mochizuki^{a,b}, Yuichi Kimura^{b,*}, Kenji Ishii^b, Keiichi Oda^b, Toru Sasaki^b,
Manabu Tashiro^a, Kazuhiko Yanai^a, Kiichi Ishiwata^b

^aDepartment of Pharmacology, Tohoku University School of Medicine, Sendai, Japan
^bPositron Medical Center, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, Tokyo, Japan

Received 11 May 2003; received in revised form 4 August 2003; accepted 30 August 2003

Abstract

The aim of this study is to establish a method for quantitative measurement of histamine H₁ receptor (H₁R) in human brain by PET and [¹¹C]doxepin ([¹¹C]DOX). The estimated parameters with a two-compartment model were stable for the initial values for parameter estimation but those with a three-compartment model were not. This finding suggests that the H₁R measured by the [¹¹C]DOX and PET can be evaluated with a two-compartment model. © 2004 Elsevier Inc. All rights reserved.

Keywords: Compartment model; Histamine H₁ receptor; PET; [¹¹C]doxepin

1. Introduction

Histamine neurons are exclusively located in the tubero-mammillary nucleus of hypothalamus, and diffusely project their fibers to almost all areas of brain. They are thought to be involved in the regulation of various physiological functions such as wakefulness and cognition through at least four histamine receptor subtypes: G protein coupled H₁ (G_{q/11}), H₂ (G_s), H₃ (G_i) and H₄ (G_i) [8,23,27,28]. H₁ and H₂ receptors are located at the postsynaptic sites of the histamine neurons, and H₃ receptors are functioning as an autoreceptor. H₃ receptor-activation inhibits the release of neural histamine. It was reported that impairments of cognition and motor functions and sedation were caused by H₁ antagonists [8]. Histamine H₁ receptors (H₁R) are important for cortical activation as well as H₂ receptors [17,21]. The precise functions of H₄ receptor in brains have been scarcely understood since it was found recently. Antihistaminic drugs are often used to relieve allergies, coughs and colds, but they elicit sedation and affect cognition and behavior through the cortical inactivation [1,20,22]. Therefore, many studies have been carried out to develop anti-

histaminic drugs that do not penetrate the blood brain barrier (BBB). The blockade of H₁R in brains is cause of sedation. Therefore, it is important to evaluate the occupancy of H₁R by antihistamine in order to verify the side effects of antihistaminic drugs on the central nervous system (CNS). In vivo imaging techniques such as single photon emission computed tomography (SPECT) and positron emission tomography (PET) can provide a clear understanding of physiological processes in the human brain. Therefore, the therapeutic efficacies of drugs on the CNS have been extensively investigated in term of the receptor occupancy in the living human brain [4,24]. As for the H₁R occupancy by antihistaminic drugs, PET with [¹¹C]doxepin ([¹¹C]DOX) has been used to evaluate objectively their possible side effects due to the penetration through BBB [26].

For quantitative PET measurement of receptor density, an appropriate model to describe the underlying kinetic of the individual radioligand should be developed because the model is different among the ligands used, even though their target receptor is the same [6,9]. Most of receptor imaging studies underwent the compartment model analysis with a nonlinear curve fitting algorithm to evaluate receptor density [7,9]. So far the evaluation of H₁R density by [¹¹C]DOX and PET was performed by usually established methods such a graphical analysis with a three-compartment

* Corresponding author. Tel.: +81-3-3964-3241 ex.3506; fax: +81-3-3964-2188.

E-mail address: ukimura@ieec.org (Y. Kimura).

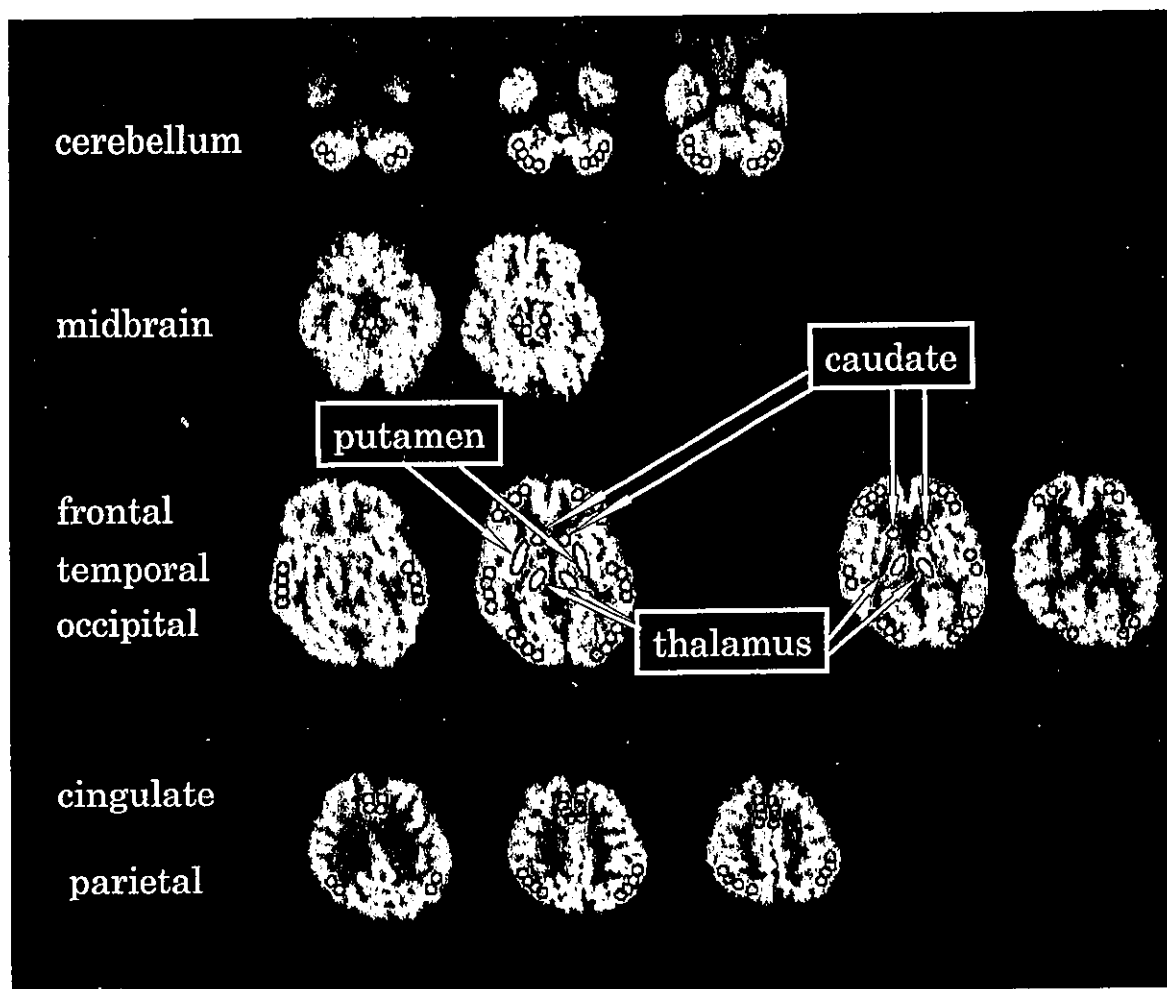


Fig. 1. The ROI placements: Several circles were placed to cover the cerebellum, frontal, parietal, temporal, occipital and cingulate cortices; and the thalamus, caudate, putamen and midbrain.

model [10] and a static image at the later phase [31]. However, the rationale of these analyses has not been verified yet. Thus, in this paper we investigated the applicability of two- and three-compartment models to the quantitative evaluation of HIRs in human brains by using [^{11}C]DOX and PET.

2. Materials and methods

2.1. Subjects

Five healthy male volunteers, 21–27 years old, participated in this study. No subjects had any previous history of psychiatric disorders. No anatomical abnormalities were found in the MRI images. They were asked to abstain from medication a week before the study, and from tobacco, caffeine, grapefruit and beverages including grapefruit that modulate the concentration of antihistamines in plasma [15] on the experimental day. Written informed consent was obtained from the subjects. The study was approved by the

respective Ethics Committees of the Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology and of Tohoku University School of Medicine, and performed in compliance with relevant laws.

2.2. Radiosynthesis of [^{11}C]DOX

[^{11}C]DOX was synthesized by [^{11}C]methylation of the demethyl doxepin with [^{11}C]methyl triflate [11] with some modifications. Briefly, [^{11}C]methyl triflate was prepared as reported previously [12], then it was bubbled in 0.25 ml of acetone containing 0.25 mg of demethyl doxepin and 10 μl of 1 M NaOH at room temperature. Then, 1.3 ml of 0.1 M HCl/CH₃CN/50 mM CH₃CO₂NH₄ (50/22.5/27.5, v/v) was added to the reaction mixture and the solution was applied to high-performance liquid chromatography (HPLC): column, YMC-Pack ODS-A (10 mm inner diameter \times 250 mm length, YMC Co., Kyoto, Japan); eluent, CH₃CN/50 mM CH₃CO₂NH₄ (45/55, v/v); and flow rate, 5 ml/min. A fraction containing the [^{11}C]DOX was collected. After adding 50 μl of 250 mg/ml ascorbate, the fraction was evaporated to dryness, and the residue was dissolved in a physiological

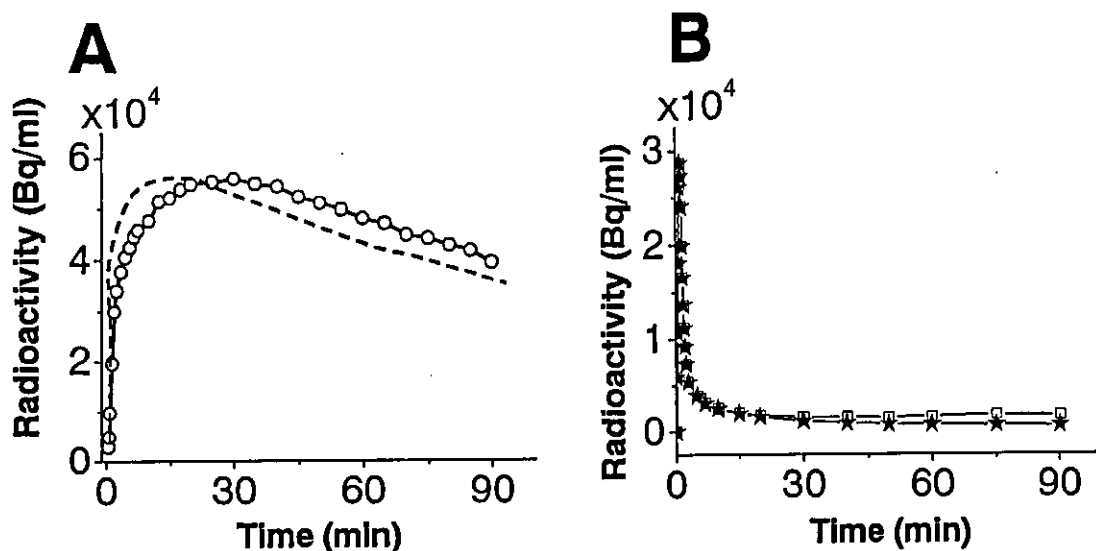


Fig. 2. Typical time-activity curves of whole-brain (tTAC) after intravenous injection of [^{11}C]doxepin into a subject: circle, tTAC measured; solid line, tTACs estimated with the two-compartment model; and dashed line, tTAC estimated with three-compartment model (A) and time-activity curves of plasma (pTAC): square, pTAC measured; and star, pTAC metabolite-corrected (B).

saline solution. The [^{11}C]DOX solution was filtered through a $0.22\ \mu\text{m}$ membrane filter. The radiochemical yields was $1930 \pm 620\ \text{MBq}$, and the specific activity was $84 \pm 43\ \text{TBq/mmol}$. The radiochemical purity was over 99%, and neither ^{11}C -methylated DOX [11] nor starting materials were included.

2.3. Pet measurements

Dynamic scans in two-dimensional mode were performed using Headtome-V (Shimadzu Co., Kyoto, Japan), which acquires 63 slices having 128-by-128 voxels each at transverse resolutions of 4.5 mm full width of half maximum (FWHM) and at axial resolution of 5.8 mm FWHM. PET images were reconstructed with a filtered backprojection algorithm. Corrections were applied to dead time, detector uniformity and photon attenuation. The frame arrangement was: 10 sec \times 6 frames, 30 sec \times 3 frames, 60 sec \times 5 frames, 2.5 min \times 5 frames and 5 min \times 14 frames, totally 90 min. The injected radioactivity dose of [^{11}C]DOX was $493 \pm 109\ \text{MBq}$ and the cold mass $23 \pm 16\ \text{nmol}$ (mean \pm SD). Arterial blood was sampled every 10 sec for the first 150 sec post-injection, and afterward at 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 75 and 90 min post-injection.

2.4. Measurement of labeled metabolites in plasma

Metabolite analysis was carried out using six plasma samples obtained 3, 10, 20, 30, 40 and 60 min after the injection [13] with a slight modification. The plasma samples were treated with CH_3CN containing trichloroacetic acid, and divided into the acid-soluble and acid-precipitable fractions. Over 96% of the total activity was recovered in the acid-soluble fraction. The acid-soluble fraction was an-

alyzed by HPLC: column, Nova-pak C18 equipped with an RCM 8 \times 10 compression module (Waters); eluent, $\text{CH}_3\text{CN}/50\ \text{mM}\ \text{CH}_3\text{CO}_2\text{NH}_4$ (45/55, v/v); flow rate, 2 ml/min. The recovery of the radioactivity in the HPLC analysis was essentially quantitative. Percentages of the unchanged [^{11}C]DOX were 98.9 ± 0.5 , 97.9 ± 1.5 , 92.0 ± 3.9 , 79.5 ± 8.6 , 71.3 ± 7.6 and 51.6 ± 8.9 at 3, 10, 20, 30, 40 and 60 min, respectively.

2.5. Data analysis

Regions of interest (ROIs) were drawn on the frontal, temporal, occipital, parietal and cingulate cortices and the thalamus, caudate nucleus, putamen, cerebellum and mid-brain to derive average time activity curves in the tissues (tTACs) (Fig. 1).

Usually, the receptor density can be evaluated as binding potential ($\text{BP} = k_3/k_4$) in the kinetic analysis using a three-compartment model proposed by Mintun [19]. If an equilibrium state is accomplished quickly, the receptor density can be represented using a distribution volume ($\text{DV} = K_1/k_2$) [16]. Dynamics of the ligands are different individually [26]. That is, an appropriate model for the evaluation of the receptor density depends on not only the receptor but also the ligand used. Therefore, two- and three-compartment models were applied to the kinetic analysis for [^{11}C]DOX in terms of stability of estimates against the initial values for parameter estimation because non-linear curve fittings could require the stability. To investigate the stability of model estimation, initial values of K_1 , k_2 , k_3 , and k_4 were varied from 0.1 to 0.4, respectively. Bv was fixed 0.

The models were estimated with ordinary nonlinear curve fitting algorithm of Newton's method [3]. Delay between tTAC and the plasma time activity curve (pTAC) was

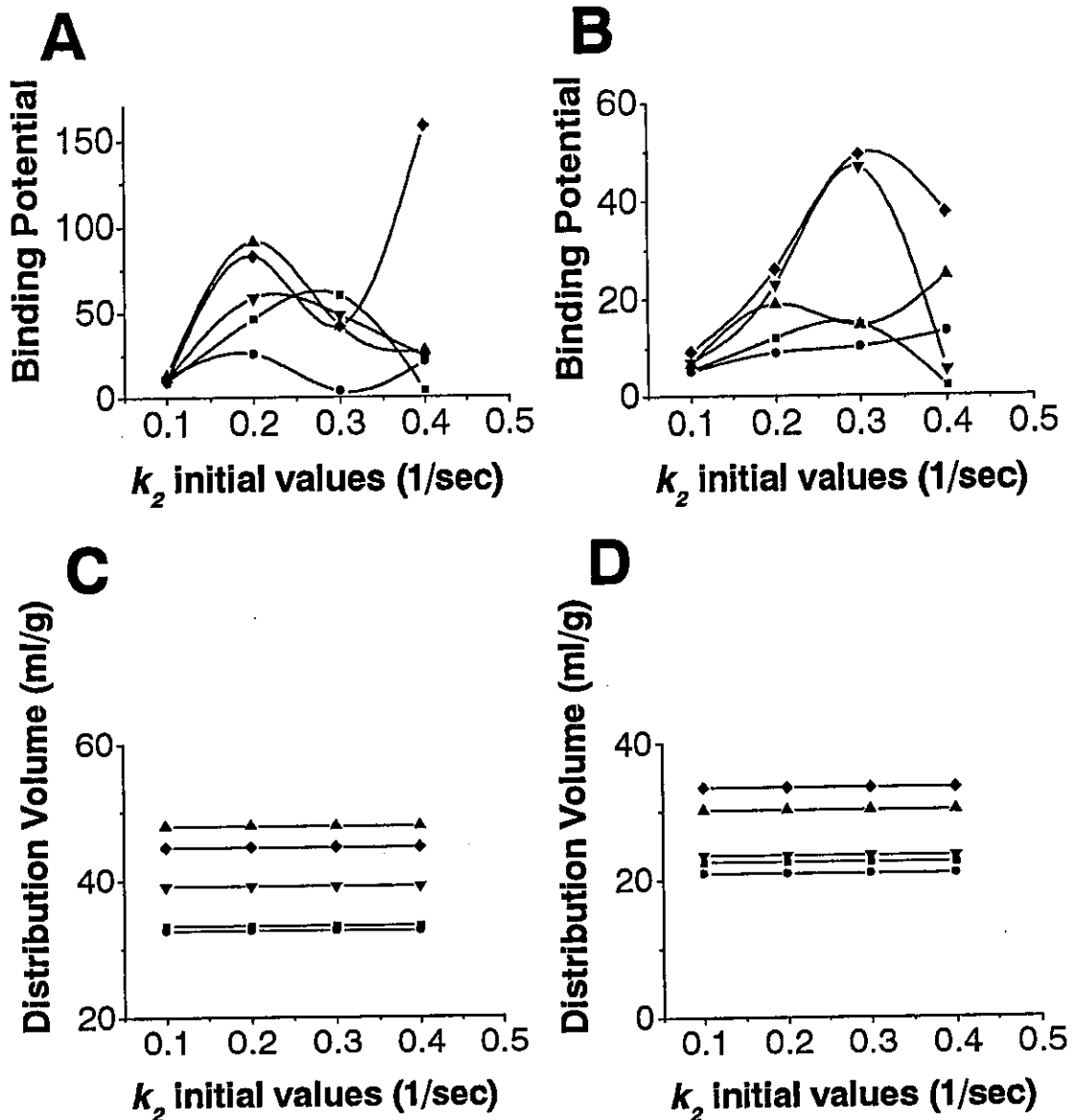


Fig. 3. Stability between initial value for parameter estimation and estimate. Upper (A and B) and lower (C and D) denote the dependency in the three- and two-compartment model, respectively. The left column (A and C) originated from the right cingulate cortex being rich in histamine H_1 receptor (HIRs), and the right column (B and D) from the right cerebellum being poor in HIRs. Results of all five subjects were superimposed.

estimated using an averaged tTAC of the whole-brain and it was assumed to be common among subjects. In addition, Akaike information criterion (AIC) was used to identify which model fit better for the averaged tTAC in the whole brain [2].

3. Results

3.1. Comparison of two- and three-compartment models

Fig. 2 shows the estimated TAC in a whole-brain in the two- and three-compartment model (Fig. 2A) and pTACs for total radioactivity and unmetabolized [^{11}C]DOX (Fig. 2B).

The dependency of BP or DV for an initial value is

shown in Fig. 3. In a three-compartment model, BP is largely altered in both the HIR-rich cingulate cortex and HIR-poor cerebellum. In the two-compartment model, DV is much more stable regardless of the initial guess. These findings were common for all of parameters. In addition, AICs in the two-compartment model were smaller in all regions than those in the three-compartment model. A typical AIC was 421 for a two-compartment model and 603 for a three-compartment model.

3.2. Distribution volume in each brain region

DV in 10 brain regions was estimated with a two-compartment model. DV in each brain region is summarized in

Table 1
Distribution volume (DV) observed in the present study and histamine, H₁ receptor (HIR) density in autopsied human brains

Brain areas	Present PET study DV (ml/g)	Post-mortem brain studies Histamine H ₁ receptor density (pmol/g)		
		Chang [5]	Kanba [14]*	Yanai [30]
frontal cortex	37	4.3	19.1	3.6
temporal cortex	40	3.4	23.5	3.3
parietal cortex	37	4	16.6	
occipital cortex	32	1.8	13.2	1.8
cingulate cortex	37	3.8	22.3	
thalamus	35	0.9	4.3	1
caudate nucleus	34	1.3	5.3	
putamen	36	0.9	4.4	
midbrain	27		2.2	
cerebellum	26	0.4	1.6	0.3

* Fourth column: we calculated HIR density with the HIR density in the hypothalamus (7 nmol/g) and % of hypothalamus in each brain region reported by Kanba et al.

Table 1 with the previous reports of HIR density in autopsy studies of the human brain [5,14,29].

The DV had a good correlation with the HIR densities in the cortical regions ($r = 0.91$), while a less correlation was found when taking account of data in all brain regions ($r = 0.73$) (Fig. 4).

Since the cerebellum has a very low density of HIRs (Table 1), it is reasonably considered that the DV in the cerebellum corresponds to that reflecting the non-specific binding of [¹¹C]DOX in the brain. Therefore, the difference between each DV and cerebellar DV reflects the specific

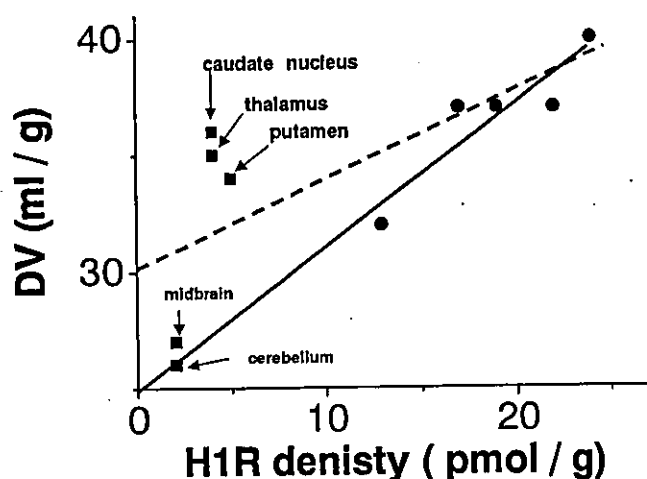


Fig. 4. The relationship between the DV of [¹¹C]DOX obtained in the present PET study and HIR density measured by using [³H]DOX in the autopsy study [14]. Circles show five cortical regions. Squares show the thalamus, caudate nucleus, putamen, midbrain and cerebellum. Dashed line is the linear regression with all brain regions ($Y = 0.4 * X + 30$, $r = 0.74$). Solid line is the linear regression with the five cortical regions ($Y = 0.6 * X + 25$, $r = 0.91$). The discrepancy between the cortical and subcortical regions would be probably due to the unevenness of the non-specific bindings among these structures.

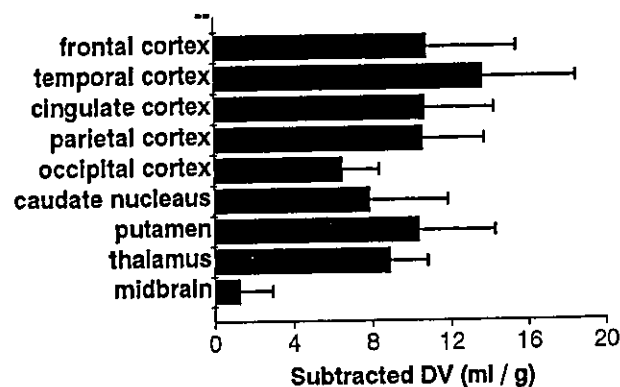


Fig. 5. The specific distribution volume (DV) of [¹¹C]DOX in the human brain. The specific DV was determined by the difference between DV in each brain region and that in the cerebellum, and expressed the mean \pm SD ($n = 5$).

binding of [¹¹C]DOX in each region. The subtracted DVs in the other regions are shown in Fig. 5.

4. Discussion

4.1. Determination of compartment model

A compartment model for receptor analysis should be determined according to the behavior of radiopharmaceutical in the target organs. Usually the behavior is described with a three-compartment model and a binding potential [19]. If there is only a low level of free and non-specifically bound ligands in tissue and if rapid equilibration occurs between a free and non-specifically bound compartment and a specifically bound compartment, a two-compartment model is suitable for kinetic analysis [16]. In this study, the selection was settled on the point of view of stability in the parameter estimation and from the information available in the measured tTAC. In this case, the three-compartment model did not give stable estimates. BP fluctuated greatly with the change of initial values for K_1 , k_2 , k_3 and k_4 (Figs. 3A and 3B). On the other hand, a stable DV could be obtained regardless of the initial values in the two-compartment model (Figs. 3C and 3D). It means that the free [¹¹C]DOX pool is negligible and the free radioligand is indistinguishable from the bound radioligand pool in the three-compartment model.

The validity of the two models was also evaluated by AIC. The AIC of the two-compartment model was always smaller than that of the three-compartment model. The model with the smaller AIC value is more valid to describe the behavior of radioligand in the brain. Thus, our statistical criterion also indicates that the two-compartment model is more suitable than the three-compartment model for quantitative analysis of the [¹¹C]DOX binding to HIRs if non-linear curve fitting is used for calculation.

For quantitative analysis we used the metabolite-cor-