

---

# 第 19 回ヒ素シンポジウム

## 講演要旨集

---

開催日 : 2013 年 11 月 16 日(土)・17 日(日)

会 場 : 九州大学コラボ・ステーション I

(福岡市東区馬出 3-1-1 九州大学 病院キャンパス内)

主 催 : 日本ヒ素研究会

## 大会概要

開催日 : 2013年11月16日(土)・17日(日)

会場 : 九州大学コラボ・ステーションI

(福岡市東区馬出 3-1-1 九州大学 病院キャンパス内)

主催 : 日本ヒ素研究会

協賛 : 日本水産学会

後援 : 大気環境学会、日本衛生学会、日本農芸化学会、日本微量元素学会、  
日本分析学会

会告案内 : 日本産業衛生学会、日本資源素材学会、

日本学術振興会第69委員会、日本鉱業協会、ペットフード協会

### シンポジウム日程

#### 11月16日(土) 第1日目

- 11:30 - 12:30 理事会
- 13:00 - 13:10 開会の辞
- 13:10 - 14:40 一般演題(1-1~1-6)
- 14:40 - 15:40 特別講演 1
- 15:40 - 16:00 休憩
- 16:00 - 17:15 一般演題(1-7~1-11)
- 17:15 - 18:15 特別講演 2
- 18:15 - 18:45 移動
- 18:45 - 懇親会(福岡リーセントホテル)

#### 11月17日(日) 第2日目

- 9:00 - 10:45 一般演題(2-1~2-7)
- 10:45 - 11:45 特別講演 3
- 12:00 - 12:50 ランチオンセミナー
- 13:00 - 14:45 一般演題(2-8~2-14)
- 14:45 - 15:15 総会・奨励賞授賞式
- 15:15 - 15:20 閉会の辞

## 大会組織

### 実行委員会

大会長・実行委員長	久永 明	福岡県立大学
副実行委員長	花岡 研一	水産大学校
実行委員	田中 昭代	九州大学
実行委員	平田 美由紀	九州大学

### 事務局

〒812-8581 福岡市東区箱崎 6-10-1  
九州大学 産学連携棟 I 2階 環境医学研究室  
TEL / FAX: 092-642-7376  
e-mail: vbl2jimu@envmed.med.kyushu-u.ac.jp

### 第19回ヒ素シンポジウム ホームページ

<http://hiso19.med.kyushu-u.ac.jp>

### 日本ヒ素研究会 ホームページ

[http://www.med.osaka-cu.ac.jp/pmenv/hiso/hiso\\_ken/](http://www.med.osaka-cu.ac.jp/pmenv/hiso/hiso_ken/)

## 一般演題発表者および座長の皆様へ

### 1 一般演題発表者の皆様へ

- ・ 発表時間：発表 10 分、討論 3 分、合計 13 分です。
- ・ 座長の指示に従い、発表時間を厳守していただきますようお願いいたします。
- ・ 発表の 30 分前までに、受付にて出席の確認をお願いいたします。
- ・ 発表はパワーポイントで行っていただきます。事務局が用意した PC (Windows 版 PowerPoint2010) または、ご自分の PC をご使用ください。操作は各自でお願いいたします。

#### **【事務局の PC を使用される方は】**

- ・ 発表用のファイルを USB メモリに保存し、持参してください。
- ・ ファイル名の頭に演題番号(1-1 等)をつけてください。
- ・ 持参される USB ファイルは必ず最新の定義ファイルでウイルススキャンを行ってください。
- ・ 可能であれば、11 月 14 日 (木) までに発表用のファイルを事務局 (メールアドレス：vbl2jimu@envmed.med.kyushu-u.ac.jp) まで送付してください。ファイル名の頭に演題番号(1-1 等)をつけてください。なお、この場合もファイルを保存した USB メモリを発表日にご持参ください。

### 2 座長の皆様へ

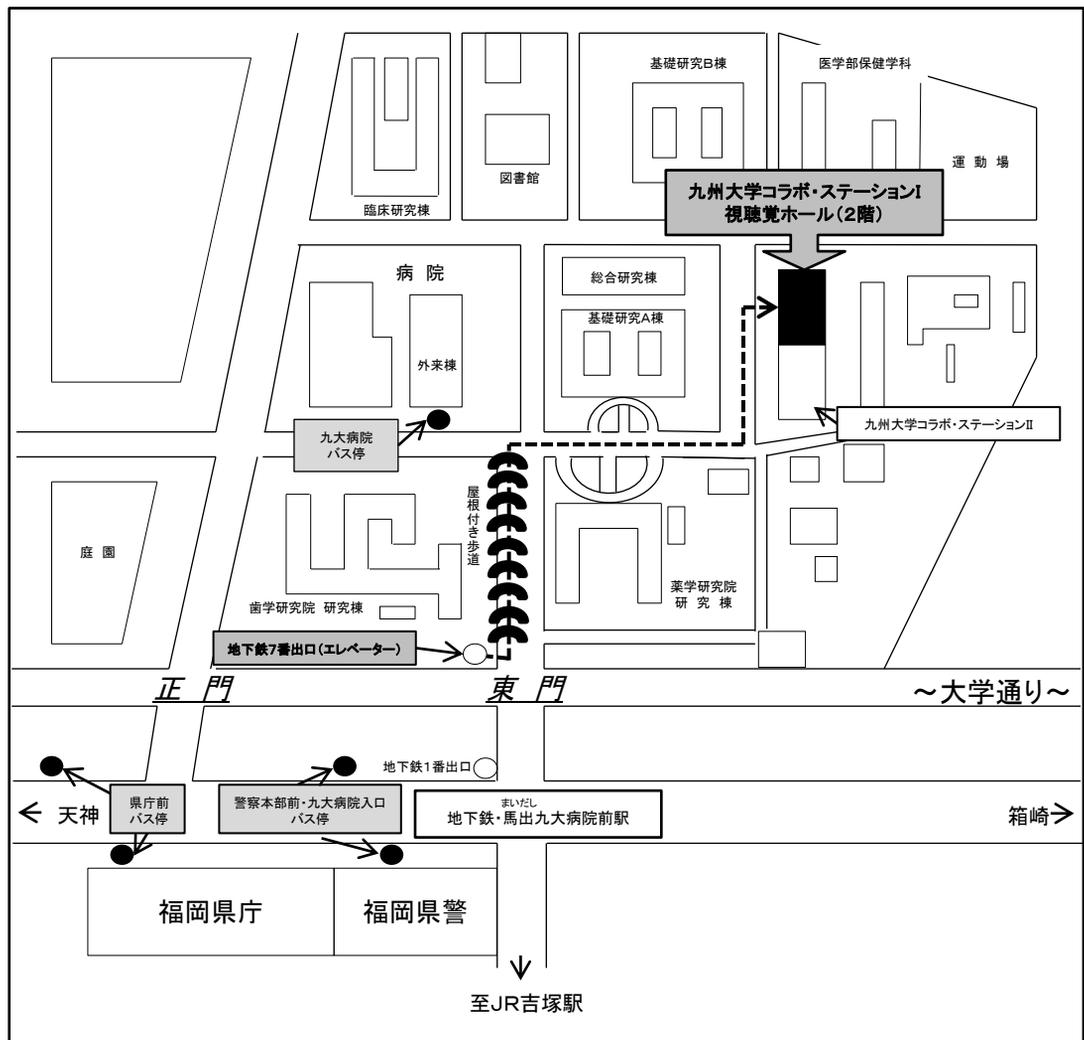
- ・ 前のセッション開始後に次座長席にご着席ください。
- ・ セッション開始の 30 分前までに、受付にて出席の確認をお願いいたします。
- ・ 発表取り消しがあった場合でも、原則として、次発表を繰り上げることなく、プログラムに掲載された時刻通りの進行をお願いいたします。

## ヒ素シンポジウム 開催地・歴代会長

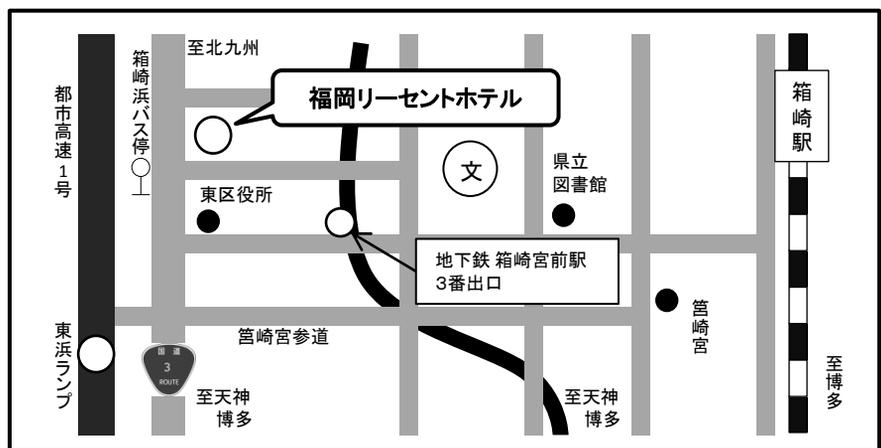
回	年次		開催地	大会長	
				氏名	所属
1	1983年	11月	静岡	松任 茂樹	東海大学短期大学部
2	1985年	11月	静岡	松任 茂樹	東海大学短期大学部
3	1987年	11月	鹿児島	前田 滋	鹿児島大学
4	1989年	11月	東京	菊池 武昭	東京水産大学
5	1991年	11月	下関	田川 昭治	水産大学校
6	1993年	11月	神奈川	山村 行夫	聖マリアンナ大学
7	1995年	11月	福岡	井上 尚英	九州大学
8	1997年	11月	大阪	圓藤 吟史	大阪市立大学
9	1999年	11月	広島	山岡 到保	中国工業技術研究所
10	2001年	11月	東京	貝瀬 利一	東京薬科大学
11	2003年	10月	札幌	神 和夫	北海道立衛生研究所
12	2005年	11月	岩手	千葉 啓子	岩手県立大学短期大学部
13	2007年	11月	静岡	松任 茂樹	東海大学短期大学部
14	2008年	11月	東京	山内 博	北里大学
15	2009年	11月	大阪	鰐淵 英機	大阪市立大学
16	2011年	2月	旭川	吉田 貴彦	旭川医科大学
17	2011年	11月	つくば	平野 靖史郎	国立環境研究所
18	2012年	11月	宮崎	塩盛 弘一郎	宮崎大学
19	2013年	11月	福岡	久永 明	福岡県立大学
20	2014年	12月	千葉	山中 健三	日本大学

# 会場案内図

シンポジウム会場：九州大学コロボ・ステーションI（九州大学病院キャンパス内）



懇親会会場：福岡リーセントホテル（福岡市東区箱崎2-52-1 TEL:092-641-5851）



プログラム(1日目)

平成 25 年 11 月 16 日(土)

理事会

11:30 - 12:30

---

開会の辞

13:00 - 13:10 久永 明 (福岡県立大学)

---

一般演題

(発表 10 分、質疑 3 分)

13:10 - 13:55 座長： 姫野 誠一郎 (徳島文理大学)

---

1-1 魚類の高脂質含量組織における硝酸抽出-HPLC-ICP-MS 分析

○白石直也、臼井将勝、花岡研一  
水産大学校

1-2 日本人における食事からの一日のヒ素摂取量:総ヒ素と水溶性ヒ素化合物

○長谷川恵里<sup>1</sup>、井上葉子<sup>1</sup>、埜 由布子<sup>1</sup>、中臺大幾<sup>1</sup>、千葉啓子<sup>2</sup>、中塚晴夫<sup>3</sup>、  
渡辺孝男<sup>4</sup>、伊与 亨<sup>1</sup>、山内 博<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>北里大学、<sup>2</sup>岩手県立大学、<sup>3</sup>宮城大学、<sup>4</sup>東北文教大学

1-3 日本人における食事からの一日のヒ素摂取量:アルセノシュガーと脂溶性ヒ素化合物

○井上葉子<sup>1</sup>、長谷川恵里<sup>1</sup>、埜 由布子<sup>1</sup>、中臺大幾<sup>1</sup>、千葉啓子<sup>2</sup>、中塚晴夫<sup>3</sup>、  
渡辺孝男<sup>4</sup>、伊与 亨<sup>1</sup>、山内 博<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>北里大学、<sup>2</sup>岩手県立大学、<sup>3</sup>宮城大学、<sup>4</sup>東北文教大学

13:55 – 14:40 座長： 熊谷 嘉人 (筑波大学)

---

#### 1-4 マグロおよびワカメ摂取後の尿中ヒ素代謝物

○畑 明寿<sup>1</sup>、大和田真由<sup>1</sup>、長谷川桃子<sup>1</sup>、山中健三<sup>2</sup>、黒澤英俊<sup>2</sup>、山野優子<sup>3</sup>、  
圓藤陽子<sup>4</sup>、藤谷 登<sup>1</sup>、圓藤吟史<sup>5</sup>

<sup>1</sup>千葉科学大学 危機管理学部、<sup>2</sup>日本大学 薬学部、<sup>3</sup>昭和大学 医学部、<sup>4</sup>関西  
労災病院 産業中毒研究センター、<sup>5</sup>大阪市立大学大学院 医学研究科

#### 1-5 カンボジアヒ素汚染地域における尿中ヒ素化学形態と魚介類摂取量

○姫野誠一郎<sup>1</sup>、森田晴絵<sup>1</sup>、藤森千鶴<sup>1</sup>、宮高透喜<sup>1</sup>、Suthipong Sthiannopkao<sup>2</sup>

<sup>1</sup>徳島文理大学薬学部、<sup>2</sup>東亜大学環境工学部 (韓国)

#### 1-6 海藻類から抽出したヒ素化合物の細胞毒性試験

○埜 由布子、中野瑞穂、井上葉子、長谷川恵里、中臺大幾、伊与 亨、山内 博  
北里大学大学院 医療系研究科 環境医科学群 労働衛生学

### 特別講演1

14:40 – 15:40 座長： 花岡 研一 (水産大学校)

---

#### Occurrence and possible role of arsenolipids in fish and algae

Kevin A. Francesconi

Professor, Institute of Chemistry-Analytical Chemistry,  
Karl-Franzens University Graz

16:00 – 16:30 座長： 吉田 貴彦 (旭川医科大学)

---

1-7 アルシンは経皮吸収されるのか

– ヘアレスマウスを用いた経皮および吸入曝露実験 –

○山野優子<sup>1</sup>、長野嘉介<sup>2</sup>、山中健三<sup>3</sup>、畑 明寿<sup>4</sup>、中館俊夫<sup>1</sup>、圓藤陽子<sup>5</sup>、  
圓藤吟史<sup>6</sup>

<sup>1</sup>昭和大学 医学部 衛生学、<sup>2</sup>長野毒性病理コンサルティング、<sup>3</sup>日本大学 薬学部、<sup>4</sup>千葉科学大学 危機管理学部、<sup>5</sup>関西労災病院 産業中毒研究センター、

<sup>6</sup>大阪市立大学大学院 医学研究科

1-8 アルシン曝露によるヘモグロビン付加体生成

– マウス保存血への in vitro アルシン曝露 –

○山内武紀<sup>1</sup>、山野優子<sup>2</sup>、山中健三<sup>3</sup>、畑 明寿<sup>4</sup>、黒田嘉紀<sup>1</sup>、圓藤陽子<sup>5</sup>、  
圓藤吟史<sup>6</sup>

<sup>1</sup>宮崎大学医学部公衆衛生、<sup>2</sup>昭和大学医学部衛生、<sup>3</sup>日本大学薬学部、<sup>4</sup>千葉科学大学危機管理学部、<sup>5</sup>関西労災病院産業中毒研究センター、<sup>6</sup>大阪市立大学大学院医学研究科

16:30 – 17:15 座長： 山内 博 (北里大学)

---

1-9 *Coriandrum sativum* L.葉抽出物に含有される脂肪族親電子物質による無機三価ヒ素の細胞毒性軽減

○安孫子ユミ<sup>1,2</sup>、溝河真衣<sup>3</sup>、熊谷嘉人<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>筑波大学 医学医療系、<sup>2</sup>日本学術振興会 特別研究員、<sup>3</sup>筑波大学大学院 生命環境科学研究科

1-10 多剤耐性関連タンパク質 2 依存型・非依存型ジフェニルアルシン酸の胆汁排泄に及ぼすセレンの影響

○小林弥生、平野靖史郎

独立行政法人国立環境研究所

1-11 亜ヒ酸による PML の SUMO 化は ARE の活性化を介さない

○平野靖史郎、小林弥生、渡辺喬之、但野美保子  
独立行政法人 国立環境研究所

## 特別講演 2

17:15 - 18:15 座長： 久永 明 (福岡県立大学)

---

ヒ素の代謝: 化学形態と生体影響 - ジメチルヒ素を中心として -

山中健三

日本大学薬学部 教授

9:00 - 9:45 座長： 塩盛 弘一郎 (宮崎大学)

---

2-1 好熱好酸性 鉄硫黄酸化古細菌 *Acidianus brierleyi* を利用したヒ素(As)酸化不動化に関する研究

○森下志織、古賀雅晴、沖部奈緒子、笹木圭子、平島 剛  
九大院・工・地球資源システム工学

2-2 カルシウム/マグネシウム系複合材料のヒ素等の吸着と保持性

○伊藤健一<sup>1</sup>、國西健史<sup>2</sup>、板谷裕輝<sup>2</sup>、鈴木 勝<sup>3</sup>  
<sup>1</sup>宮崎大学 国際連携センター、<sup>2</sup>住友大阪セメント(株)、<sup>3</sup>(株)中研コンサル  
タント

2-3 黄鉄鉱の結晶形態によるヒ素含有量の違い ―白亜紀の海成層を例として―

○須藤 宏、宮口新治、肝付秀隆、細田 宏、黒木瑞昭、大山洋一、島田允堯  
応用地質(株)

9:45 - 10:45 座長： 神 和夫 (北海道立衛生研究所)

---

2-4 イネ根圏微生物が生産する新規ヒ素化合物の同定

○倉俣正人<sup>1</sup>、片岡良太<sup>2</sup>、山崎健一<sup>1</sup>、榊原風太<sup>1</sup>、馬場浩司<sup>1</sup>、石坂真澄<sup>1</sup>、  
安部 匡<sup>1</sup>、高木和広<sup>1</sup>、加茂綱嗣<sup>1</sup>、平舘俊太郎<sup>1</sup>、石川 覚<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>農業環境技術研究所、<sup>2</sup>山梨大

2-5 土壌中のヒ素の溶出に関与する微生物の分離と同定

―バングラデシュのヒ素汚染地において

○松元 賢、ムハマド シヤミム ウディン、黒澤 靖  
九州大学熱帯農学研究センター

2-6 伊吹山山頂で観測したガス状水銀と粒子状物質中のヒ素濃度の関係  
—越境大気汚染を視野に入れた考察—

○永淵 修<sup>1</sup>、木下 弾<sup>2</sup>、菱田尚子<sup>2</sup>、尾坂兼一<sup>1</sup>、中澤 暦<sup>1</sup>

<sup>1</sup>滋賀県立大学 環境科学部環境生態学科、<sup>2</sup>滋賀県立大学大学院環境科学研究科

2-7 ベトナム人における AS3MT 遺伝子の発現量と SNPs の関係

○阿草哲郎<sup>1</sup>、國頭 恭<sup>2</sup>、Nguyen Minh Tue<sup>1</sup>、Vi Thi Mai Lan<sup>3</sup>、Tu Binh Minh<sup>4</sup>、  
Pham Thi Kim Trang<sup>3</sup>、藤原純子<sup>5</sup>、竹下治男<sup>5</sup>、高橋 真<sup>1</sup>、Pham Hung Viet<sup>3</sup>

田辺信介<sup>1</sup>、岩田久人<sup>1</sup>

<sup>1</sup>愛媛大学沿岸環境科学研究センター、<sup>2</sup>信州大学理学部、<sup>3</sup>Hanoi University of Science、<sup>4</sup>United Nations Industrial Development Organization、<sup>5</sup>島根大学医学部

### 特別講演 3

10:45 – 11:45 座長： 島田 允堯 (応用地質(株))

---

#### 土壌中のヒ素の形態とその溶出抑制技術

和田信一郎

九州大学大学院農学研究院 教授

### ランチョンセミナー

12:00 – 12:50 提供： (株)パーキンエルマージャパン

---

#### ICP 質量分析法によるヒ素測定における問題点とその抑制法の紹介

敷野 修

(株)パーキンエルマージャパン EH 分析事業部 無機ビジネス部  
アプリケーションリサーチラボチーム チームマネージャー

13:00 – 13:45 座長： 平野 靖史郎 (国立環境研究所)

---

2-8 ジフェニルアルシン酸の嫌気的変換への硫酸還元菌の関与

Guan Ling<sup>1,\*</sup>、椎谷郁花<sup>2</sup>、久富志穂子<sup>1</sup>、中島真美<sup>3</sup>、藤井邦彦<sup>4</sup>、野中昌法<sup>2</sup>、  
○原田直樹<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 新潟大学大学院自然科学研究科、<sup>2</sup> 新潟大学農学部、<sup>3</sup> 新潟大学機器分析センター、<sup>4</sup> 新潟大学環境安全推進室、

\* 現 新潟大学産学地域人材育成センター

2-9 硫酸還元条件におけるフェニルヒ素化合物の変換生成物の同定

○久富志穂子<sup>1</sup>、Guan Ling<sup>1,\*</sup>、中島真美<sup>2</sup>、藤井邦彦<sup>3</sup>、野中昌法<sup>4</sup>、原田直樹<sup>4</sup>

<sup>1</sup> 新潟大学大学院自然科学研究科、<sup>2</sup> 新潟大学機器分析センター、<sup>3</sup> 新潟大学環境安全推進室、<sup>4</sup> 新潟大学農学部、\*現 新潟大学産学地域人材育成センター

2-10 ヒ素メチル化能を有する *Cellulomonas* sp. K63 株の性質

○宮武宗利、林 幸男

宮崎大学 工学教育研究部

13:45 – 14:45 座長： 田中 昭代 (九州大学)

---

2-11 多臓器発がん性試験法を用いたラットにおけるジフェニルアルシン酸の発がん性の検討

○鰐淵英機、奥村真衣、藤岡正喜、魏 民

大阪市立大学大学院医学研究科 分子病理学

2-12 モンゴル高原の牧草地の井戸水中のヒ素を含む重金属の濃度分布

○永淵 修<sup>1</sup>、尾坂兼一<sup>1</sup>、中澤 暦<sup>1</sup>、菱田尚子<sup>2</sup>、西田友規<sup>2</sup>、島村一平<sup>3</sup>

<sup>1</sup> 滋賀県立大学 環境科学部環境生態学科、<sup>2</sup> 滋賀県立大学大学院環境科学研究科、<sup>3</sup> 滋賀県立大学 人間科学部国際コミュニケーション学科

## 2-13 ネパール・ナワルパラシ郡における慢性砒素中毒発生状況

○谷 正和<sup>1</sup>、Suman Shakya<sup>2</sup>

<sup>1</sup>九州大学大学院芸術工学研究院環境遺産デザイン部門、

<sup>2</sup>ENPHO(Environment and Public Health Organization)

## 2-14 Diphenylarsinic acid (DPAA) 地質汚染浄化対策現場での地波現象による表層汚染の拡大

○檜山知代<sup>1・2</sup>、楡井 久<sup>3</sup>、木村和也<sup>3</sup>

<sup>1</sup>旧大阪市立大学大学院理学研究科、<sup>2</sup>関東建設(株)地質環境部、<sup>3</sup>医療地質研究所

### 総会・奨励賞授賞式

14:45 - 15:15

---

### 閉会の辞

15:15- 15:20 花岡 研一 (水産大学校)

---

# 特別講演

## 特別講演1

### Occurrence and possible role of arsenolipids in fish and algae

Kevin A. Francesconi,<sup>1</sup> Mojtaba S. Taleshi,<sup>1,2</sup> Georg Raber,<sup>1</sup> and Sara  
García-Salgado<sup>3</sup>

1: Institute of Chemistry-Analytical Chemistry, University of Graz, 8010 Graz,  
Austria

2: Faculty of Marine Science, Marine Chemistry, University of Mazandaran, Babolsar,  
Iran

3: School of Civil Engineering, Technical University of Madrid, 28014, Spain

Although the field of biological arsenic chemistry has recently attracted some notoriety, the amazing array of organoarsenic compounds produced by organisms continues to attract interest and encourage ideas of arsenic's serving a possible biochemical role. The most interesting additions to the range of arsenic natural products are the arsenic-containing fatty acids or hydrocarbons, so-called arsenolipids, which are found at significant concentrations in fish oils, in the muscle tissue of fatty fish such as sashimi tuna, and in algae. Another type of lipid, arsenosugar phospholipids, appears to be prominent in algae but these lipids have so far not been identified in fish oils. The arsenolipids of fish oils appear to fall into three broad polarity groups (polar, less-polar, and non-polar) as shown by their solvent partitioning properties and their chromatographic behaviour on reversed-phase HPLC. The dimethylarsinoyl group ( $\text{Me}_2\text{AsO}$ ) imparts considerable polarity to the arsenolipids, which is moderated by increasing carbon chain length, and augmented by various functional groups such as carboxylate in the molecule or by the degree of unsaturation in the carbon chain. Most work has focussed on the polar lipids, resulting in the identification of arsenic containing fatty acids and arsenic hydrocarbons of mid-length carbon chains.

Our preliminary examination of the arsenic compounds in the oil from the blue

whiting, a teleost fish, showed that it contained a relatively large amount of the less polar lipids, the structures of which are unknown. We report an investigation using HPLC/mass spectrometry and accurate MS of the arsenolipids of blue whiting oil, with the focus on the less polar lipid fraction. A total of 12 arsenolipids including 5 new compounds were identified. The polar lipid fraction, which constituted 24% of the total arsenolipid content, contained four known dimethylarsinoyl fatty acids ( $\text{Me}_2\text{As}(\text{O})(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ ;  $n=12$  or  $14$ ) and three known dimethylarsinoyl hydrocarbons with 12 and 14 methylene carbon chain length. The less polar fraction (ca 35% of the total arsenolipids) contained four new dimethylarsinoyl hydrocarbons with longer chain lengths. These compounds were identified by accurate mass spectrometry and analogy to normal hydrocarbons, and one of the compounds was synthesised and shown to be identical with the natural product. The rest of the arsenolipids (ca 40% of total) remained in the non-polar hexane fraction together with the bulk of the fish oil lipids, a complex, heavy mixture of lipids that precluded identification of the relatively small amounts of arsenolipids.

Additionally, we have examined the arsenolipids in five types of edible algae. Although these algae are eaten in many countries, they are particularly popular in Japan. The total arsenic content ranged from 23 – 86  $\mu\text{g/g}$  (dry mass) of which 5-15% was soluble in  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ . Further clean-up of the extracts with  $\text{SiO}_2$  chromatography followed by reversed-phase HPLC with simultaneous elemental- and molecular mass spectrometry (ICPMS and electrospray MS) revealed significant amounts of arsenosugar-containing phospholipids. We report on the presence of arsenolipids in fish and algae, and speculate on a possible role for these compounds in the organisms.

## 略 歷

---

**Name:** Kevin A. Francesconi

**Date of birth:** August 6, 1953

**Institution:** Institute of Chemistry-Analytical Chemistry, Karl-Franzens University Graz

**Title:** Professor

**Academic Record:**

Ph.D. (Organic Chemistry) 1991, The University of Western Australia

M.Sc. 1984, The University of Western Australia

B.Ap.Sc. 1974, Curtin University of Technology

**Appointments:**

February 2002 to present:

Professor of Analytical Chemistry, Institute of Chemistry, Karl-Franzens University, Graz, Austria.

June 2001 to January 2002:

Guest Professor, Institute of Chemistry, Karl-Franzens University, Graz, Austria.

January 1996 to June 2001:

Associate Professor in Ecotoxicology, Institute of Biology, Southern Denmark University, Odense, Denmark.

1980-1996:

Research Scientist/Senior Research Scientist in Environmental Chemistry, Western Australian Marine Research Laboratories, Perth, Australia.

1976-1980:

Analytical Chemist, Western Australian Marine Research Laboratories, Perth, Australia.

**Other Current & Recent Roles:**

- Editor of the Journal Environmental Chemistry (since March 2010)
- Advisory Board member of the Journal of Analytical Atomic Spectrometry (since 2006)
- Member of the Working Group reporting to the European Food and Safety Authority (EFSA) on arsenic in foods (2008/2009)

## 特別講演2

### ヒ素の代謝：化学形態と生体影響 - ジメチルヒ素を中心として -

山中健三

日本大学薬学部環境衛生学研究室

Biological effects of metabolic intermediates, particularly of dimethylated arsenics,  
produced from inorganic arsenics

Kenzo Yamanaka

Nihon University School of Pharmacy

ヒ素は還元を受け、モノメチルアルソン酸(MMA)を経てジメチルアルシン酸(DMA)へと酸化的メチル化代謝を受けることが知られている (図 A)。一方、ヒ素のグルタチオン抱合体が直接メチル化を受けるという代謝機構の存在が近年示された (図 B)。いずれの代謝反応にしても中間代謝物として3価メチル化ヒ素である monomethylarsonous acid (モノメチル亜ヒ素, MMA<sup>III</sup>) ならびに dimethylarsinous acid (ジメチル亜ヒ素, DMA<sup>III</sup>) が生成し、これらが強い細胞ならびに遺伝毒性を示すことから、メチル化代謝が解毒機構ではなく毒性発現機構であると考えられてきた。その結果、皮膚、肺および膀胱に対する発癌性の十分な疫学的証拠があるとして Group1 に分類されている無機ヒ素のみならず、IARC では DMA について動物での発癌性を示す十分な証拠が存在するとして、2012年に DMA ならびに MMA を Group2B に分類し、無機ヒ素のメチル化代謝が発癌機構の一部を担っているものと考えられるようになってきた。

しかし、『3価メチル化ヒ素それ自身のタンパク質や核酸など生体成分との反応性は本当に高いのであろうか?』『その他の代謝活性体は存在しないのであろうか?』このような疑問を研究の出発点として、ヒ素の代謝的活性化機構に関する研究を進めてきた。今回、これまでの研究から得られた知見の一部を紹介したい。

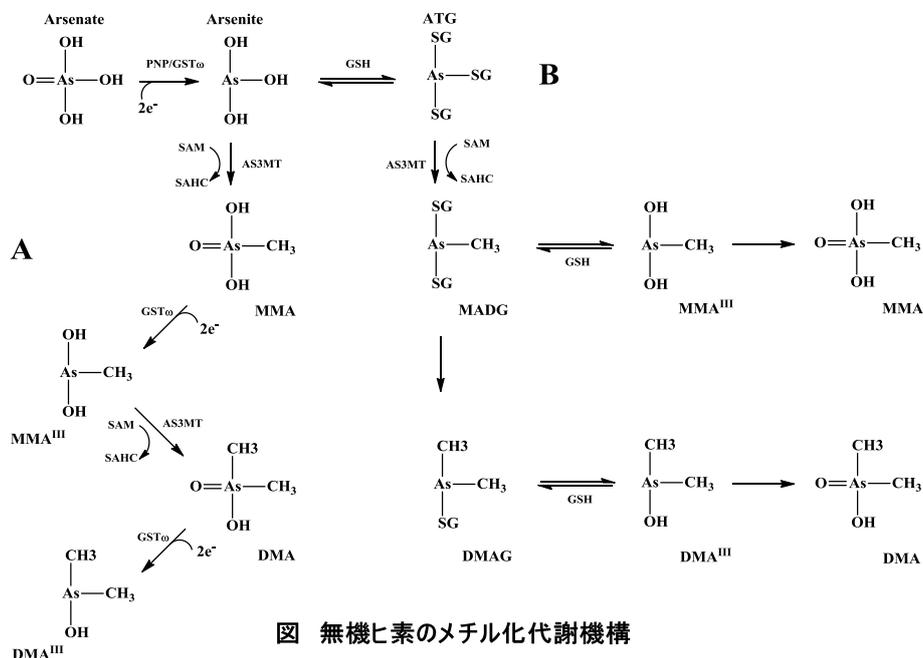


図 無機ヒ素のメチル化代謝機構

## 略 歴

---

### 【氏名】

山中 健三

### 【経歴】

1981年 日本大学理工学部薬学科（現 日本大学薬学部）卒

1983年 日本ヒ素研究会 名誉会員である岡田昌二先生の主催する静岡薬科大学大学院産業衛生学教室で修士課程を修了。この間、ヒ素研究を開始

1983-1985年 ライオン株式会社生物科学研究所 研究員

1985年 日本大学薬学部 助手

1993年 同 専任講師

2000年 同 助教授

2007年～現在 日本大学薬学部環境衛生学研究室 教授

研究経歴：一貫して、ヒ素代謝と毒性発現機構に関する研究を行っております。

## 特別講演3

### 土壌中のヒ素の形態とその溶出抑制技術

○和田 信一郎

九州大学 大学院農学研究院 環境農学部門

#### 1. はじめに

ヒ素に係る環境問題と言えば、まずインドやバングラデシュ、その他海外における高ヒ素濃度の地下水の問題が深刻である。しかし、明らかな健康被害の報告は見当たらないものの、日本においてもヒ素は重要な土壌汚染物質の1つであり、そのウェートは10年前と比較して相対的に大きくなっている。土壌汚染対策法施行2年後の2004年度の環境省の統計によると、日本国内の土壌汚染事例においてトリクロロエチレンの土壌環境基準超過事例が80件、ヒ素が102件であった。2011年の統計によると、トリクロロエチレンが90件、ヒ素が281件である（環境省, 2013）。

このようなことが生じている原因の1つは、建設工事などに伴う、自然由来のヒ素を含む土が問題になっているからである。土壌環境基準の妥当性についての議論もあるが、現在の法律と基準の下では、何らかの対策が求められており、その1つとして溶出抑制技術（安定化技術、不溶化技術ともよばれる）が研究されている。ヒ素の溶出抑制は、選択的なヒ素吸着剤や、ヒ素と反応して難溶性化合物を作る物質を土壌に投入することにより行われる。しかし、溶出抑制技術は必ずしも土壌汚染対策法として市民権を得ていない。それはおそらく、長期的な安定性の予測が難しいからである。溶出抑制技術が信頼を得るには、投入物質の土の中での反応や安定性について理解することが必要である。そしてそのためにはまず、土がどのような物質からできているのかを理解しておくことが重要である。

この報告では、まず土の構成物質について概観し、その上でヒ素の形態、そして最後に溶出抑制技術の現状と課題について考察する。環境中でのヒ素の形態についてはこのシンポジウムでも頻繁に取り上げられているので、ここではむしろ土の構成成分の方に重点を置きたい。

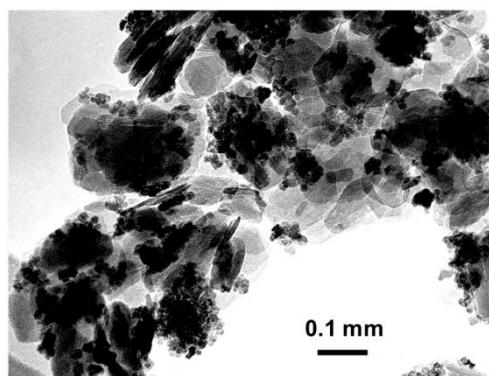
#### 2. 土の構成物質とヒ素の存在形態

土は大小さまざまな粒子から構成されているが、粒径数 mm 以上の粒子の大部分は岩石片であり、数 mm~数十 $\mu\text{m}$  の粒子の多くは造岩鉱物（一次鉱物）粒子である。それよりも粒径が小さくなるにつれて造岩鉱物の割合は急減し、粒径数 $\mu\text{m}$  以下の粒子の大部分は、土が生成するときに新生した二次鉱物粒子である。二次鉱物は、ケイ酸塩鉱物群と酸化物、水酸化物鉱物群に大別することができる。

下の写真は赤色土から分離した粒径 2  $\mu\text{m}$  以下の画分の電子顕微鏡写真であるが、差

し渡し 0.1  $\mu\text{m}$  程度の、薄い層状ケイ酸塩鉱物と粒径 5~10 nm の酸化鉄鉱物（ヘマタイト）の集合体が認められる。ヘマタイトの単位粒子はヘモグロビンとほぼ同じである。

岩石の平均ヒ素濃度は約 1.5 mg/kg, それに対して土では 4.8 mg/kg である (Sposito, 1989)。岩石中ではヒ素は各種ヒ酸鉄鉱物, ヒ酸マンガン鉱物, 硫ヒ鉄鉱, 各種硫化物の固溶体などとして存在する。これらは独立の鉱物粒



子として存在することもあれば, 一次ケイ酸塩鉱物の包含物として存在することもあると考えられる。土の平均ヒ素含量が岩石の平均含量よりも高いのは, ヒ素を含む鉱物の風化によって溶出したヒ酸や亜ヒ酸が二次鉱物に吸着され, 溶脱されにくいからである。

土（岩石片を除いた細粒部分）におけるヒ素の存在形態は, かつては連続抽出法あるいは逐次抽出法とよばれる方法（たとえば Tessier *et al.*, 1979）によって調べられていたが, あるステップで溶出したヒ酸や亜ヒ酸イオンが再分配されるという問題があり

(Kheoian and Bauer, 1987), 結果の解釈は単純ではない。最近では, X線吸収分析がよく用いられており, 電子状態計算も併用した研究から, 微細酸化鉄鉱物上のヒ酸は 2 座配位 2 核内圏表面錯体として存在すること (Sherman and Randall, 2003) など, 分子レベルでの存在形態が明らかにされつつある。しかし, 多くの研究は高レベルの汚染土や人為的にヒ素化合物をスパイクした試料を用いた研究である。土壤溶出量基準をやや超過する程度の汚染土中のヒ素の存在形態や溶出機構に関する実証的な研究は多くない。

### 3. 溶出抑制技術

最近日本でヒ素溶出が問題となっている建設発生土からのヒ素溶出については, 溶出挙動については多くの報告があるが (たとえば大山, 2010), 存在形態や溶出機構に関する報告は少ない。おそらく, 硫ヒ鉄鉱や硫化物鉱物の酸化によるヒ酸の溶出や, 酸化物鉱物に吸着されたヒ酸や亜ヒ酸の溶出の両方が関与していると考えられる。

土からの溶出抑制対策としては, ヒ素を含む一次鉱物の変質の抑制や土に含まれる二次鉱物に吸着されているヒ素の溶出を抑制するというよりも, ヒ素を選択的に吸着する資材を土に混合したり, 盛土の下部に敷設したりする, という方法が提案され施行されている。吸着資材としては様々な物質が提案されているが, 日本においてよく利用されているのは酸化, 水酸化鉄鉱物と酸化マグネシウムである。前者ではフェリハイドライトやシュベルトマナイトがよく利用されており, 後者としては天然のマグネサイトや, 焼成や, 海水から沈殿させたブルサイトを焼成することにより得られるものが利用されている。

酸化, 水酸化物鉱物の溶出抑制作用は, それらの粒子表面における表面錯形成による

ことについてはほぼ異論はない。しかし、これらの鉱物は環境によっては不安定であり、比表面積の小さいゲータイト、やヘマタイトに非常に早く転換することがある。土に混合されたフェリハイドライトやシュベルトマナイトの安定性と土の条件(間隙水の pH, 共存するケイ酸, リン酸などのオキソ酸濃度等) の関係を調べる必要があるであろう。

酸化マグネシウムによるヒ素の溶出抑制効果については多くの施工例があり、効果的であることは明らかである。ただその機構については未知の点が多い。ヒ酸や亜ヒ酸のマグネシウム塩の溶解度は、土壌溶出量基準を満たすほど低くない(和田・森下, 2013)。有力な仮説として、土に混合された酸化マグネシウムの水和によって生成するブルサイト表面での表面錯形成が提案されている(和田・森下, 2013)。しかし、土や鉱物への酸化マグネシウムの添加量が 1~2% の場合には、ブルサイトの生成は確認されない(森下・和田, 2013)。ブルサイトに加えて、酸化マグネシウムと土の鉱物との反応で生じたケイ酸塩鉱物や複水酸化物がヒ酸や亜ヒ酸の溶出抑制に寄与している可能性も否定できない。

今後、土に添加した合成酸化、水酸化物鉱物の土壌環境下での変質挙動、酸化マグネシウムと土との反応および反応生成物の構造やヒ酸との反応性などについて基礎的な研究を行う必要があると考えられる。言うまでもなく、他の溶出抑制資材についても同じことが当てはまる。

#### 引用文献

環境省 (2013) <http://www.env.go.jp/water/dojo.html>

Kheboian, C., Bauer, C. F. (1987) *Anal. Chem.* 59, 1417-1423.

森下智貴・和田信一郎 (2013) 第 48 回地盤工学研究発表会講演集, 2153-2154.

大山将 (2010) 土木学会第 65 回年次学術講演会講演集 III, 537-538.

Sherman, D. M. and Randall, S. R. (2003) *Geochim. Cosmochim. Acta* 67, 4223-4230.

Sposito, G. (1989) *Chemistry of Soils*. Oxford University Press, New York.

Tessier, A., Campbell, P. G. C., Bisson, M. (1979) *Anal. Chem.* 51, 844-851.

和田信一郎・森下智貴(2013) 粘土科学 51, 107-117.

## Forms of arsenic in soils and its stabilization

○Shin-Ichiro Wada

Department of Agro-environmental Sciences, Faculty of Agriculture,  
Kyushu University

Number of soil pollution cases by arsenic (As) has been increasing in Japan, probably because construction surplus soils containing arsenic became the target of regulation. A practical countermeasure is to stabilize (insolubilize) arsenic by incorporating As-specific adsorbent or some materials to form insoluble As-compounds. As a basis for improve reliability of the stabilization technologies, understanding the interactions between stabilizing agents added to soils and indigenous soil components is crucial. Hydroxides of iron are popular stabilizing agents for As but their long term stability in the soil environments seems to have not received due attention. Currently accepted As-stabilizing mechanism of magnesium oxide should be critically re-examined in terms of its high reactivity with soil minerals.

## 略 歴

---

### 【氏名】

和田 信一郎

### 【学歴】

昭和 49 年 3 月 九州大学農学部農芸化学科卒業  
昭和 49 年 4 月 九州大学大学院農学研究科農芸化学専攻 修士課程入学  
昭和 51 年 3 月 同上修了  
昭和 51 年 4 月 九州大学大学院農学研究科農芸化学専攻 博士課程進学  
昭和 51 年 4 月 同上中途退学  
昭和 55 年 1 月 農学博士（九州大学 博士乙 683 号）の学位取得

### 【職歴】

昭和 51 年 4 月 九州大学農学部助手に採用  
平成 4 年 1 月 九州大学農学部助教授に昇任  
平成 12 年 4 月 九州大学大学院農学研究院助教授に配置換  
平成 19 年 4 月 九州大学大学院農学研究院准教授  
平成 21 年 4 月 九州大学大学院農学研究院教授  
現在に至る

### 【兼業等】

平成 7 年 4 月～平成 8 年 3 月 工業技術院東北工業技術研究所流動研究官  
平成 8 年 4 月～平成 9 年 3 月 工業技術院名古屋工業技術研究所流動研究官  
平成 8 年 4 月～平成 12 年 3 月 科学技術庁無機材質研究所客員研究官  
平成 20 年 4 月～ 日本学術振興会鈹物新活用第 111 委員会委員長  
平成 23 年 9 月～ 国土審議会特別委員  
平成 24 年 9 月～ ISO /TC 190 国内委員会委員長

### 【非常勤講師】

北海道大学農学部，岩手大学農学部，東京大学農学生命科学研究科，名古屋大学工学研究科，広島大学理学研究科，島根大学生物資源科学部，福岡大学理学部，鹿児島大学農学部

### 【所属学会】

日本土壤肥料学会  
地盤工学会  
土木学会  
日本粘土学会

# 一般演題

## 魚類の高脂質含量組織における硝酸抽出-HPLC-ICP-MS 分析

○白石直也・臼井将勝・花岡研一(水大校)

## 【目的】

海産生物に含まれるヒ素は、主に毒性の低い水溶性ヒ素化合物として存在する。一方、この水溶性ヒ素化合物に加え、脂溶性のヒ素化合物も存在する。この脂溶性ヒ素化合物に関する研究については水溶性ヒ素化合物と比較して遅れているものの、リン脂質型、脂肪酸型、炭化水素型の化合物等が報告されるようになり注目されている。

本研究で用いた硝酸抽出-HPLC-ICP-MS 法は、抽出率の高い、ヒ素化合物の形態別分析法である。しかし、脂質含量の高い試料においては抽出率が低下する傾向にある。そこで、今回、魚類組織のうち、脂質含量の高い部位を試料として分析を行い、添加する硝酸量の増大がヒ素抽出率に及ぼす効果を検討するとともに、水溶性および脂溶性ヒ素化合物の形態について検討した。

## 【方法】

試料：鮮魚店で購入したアンコウ、クロマグロ大トロおよびサンマを試料として用いた。アンコウの場合には、普通筋を含む6つの部位を採取して分析に供した。また、サンマの場合には、普通筋および血合筋を採取して分析に供した。

脂質の抽出：Folch の方法に準じて水溶性ヒ素化合物画分および脂溶性ヒ素化合物画分を分画した。総ヒ素量の定量：それぞれの試料 0.2~0.3 g に、超微量分析用硝酸 (69 %) を 6 ml 添加した後、マイクロ波分解装置で分解 (800W で 40 分) した。その後、この分解溶液に超純水を加えて 40 ml に定容し、誘導結合プラズマ-質量分析法 (ICP-MS) を用いて試料中の総ヒ素濃度を測定した。硝酸抽出-HPLC-ICP-MS 分析：各試料 0.1 g に、超微量分析用硝酸を 1 ml 添加し、80°C で 1 時間加熱してヒ素化合物を抽出した。この抽出液に、アンモニア水を pH 7 になるまで加え、50 ml に定容した。この溶液を数 ml ろ過した後、HPLC-ICP-MS によりヒ素化合物の形態別分析を行った。分離用カラムには Nucleosil 100-10SA カラムおよび Nucleosil 100SB-10 カラムを用いた。なお、HPLC において、試料の注入に当たってはオートサンプラーを用いた。

## 【結果】

アンコウ各部位を硝酸抽出-HPLC-ICP-MS により分析した結果、どの部位においてもアルセノベタイン (AB) が主要なヒ素化合物として検出されるとともに、ジメチルアルシン酸 (DMAA) も検出された。この他、トリメチルアルシンオキシド (TMAO) やアルセノコリン (AC) も、いくつかの部位から検出された。採取した部位のうち、高脂質含量

組織である肝臓においては、硝酸によるヒ素抽出率が低かった。このため、添加する硝酸量の増大がヒ素抽出率に及ぼす効果を検討した。その結果、添加量の増大に伴って抽出率も増大し、6 ml の添加ではヒ素抽出率は 100% 近くまで改善された。

クロマグロ大トロでは、脂溶性ヒ素化合物画分に存在するヒ素濃度の方が、水溶性ヒ素化合物画分に存在するヒ素濃度より 3 倍程度高かった。硝酸抽出-HPLC-ICP-MS により分析した結果、DMAA、AB および TMAO が検出された。また、それらのうち DMAA の濃度が最も高かった。ただし、この大トロの場合にも、硝酸による抽出率が低かった。そこで、アンコウ肝臓と同様に、添加する硝酸量の増大がヒ素抽出率に及ぼす効果を検討した。その結果、硝酸量の増大と共に抽出率の増大を認めたが、アンコウ肝臓におけるほどの改善は認められなかった。

サンマ血合筋においては、脂溶性ヒ素化合物画分に存在するヒ素濃度の方が、水溶性ヒ素化合物画分に存在するヒ素濃度よりはるかに高かった。サンマ普通筋および血合筋について硝酸抽出-HPLC-ICP-MS により分析した結果、どちらの場合にも、DMAA、AB および TMAO が検出された。また、これらについてもアンコウ肝臓およびクロマグロ大トロと同様、添加する硝酸量の増大がヒ素抽出率に及ぼす効果を検討した。しかし、アンコウ肝臓におけるような抽出率の改善は認められなかった。

今回検出された DMAA や TMAO は、硝酸抽出-HPLC-ICP-MS 分析の結果とクロロホルム-メタノール抽出 (Folch の方法) -HPLC-ICP-MS 分析の結果との比較から、脂溶性ヒ素化合物に由来すると考えた。また、サンマ血合筋に存在するヒ素化合物のかなりの部分が脂溶性であることは、比較生化学的観点から興味深かった。

## Speciation analysis of arsenic compounds in several fish tissues of high lipid content by nitric acid extraction-HPLC-ICP-MS

○Naoya Shiraishi, Masakatsu Usui and Ken'ichi Hanaoka

Department of Food Science and Technology, National fisheries University

Water-soluble arsenic compounds were shown to have many structures. On the other hand, relatively little is known about arsenolipid, mostly because of the limited amounts of these compounds and the difficulty of isolating them. In this study, arsenic was determined through inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) in the acid-digested and diluted solutions of several fish tissues of high lipid content. Each sample was also subjected to an extraction procedure for arsenic, which involved a nitric acid-based partial-digestion method for chemical speciation using HPLC-ICP-MS.

## 日本人における食事からの一日のヒ素摂取量： 総ヒ素と水溶性ヒ素化合物

○長谷川 恵里<sup>1</sup>、井上 葉子<sup>1</sup>、塙 由布子<sup>1</sup>、中臺 大幾<sup>1</sup>、千葉 啓子<sup>2</sup>、  
中塚 晴夫<sup>3</sup>、渡辺 孝男<sup>4</sup>、伊与 亨<sup>1</sup>、山内 博<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>北里大学、<sup>2</sup>岩手県立大学、<sup>3</sup>宮城大学、<sup>4</sup>東北文教大学

### 1 はじめに

日本人は欧米人に比較してヒ素化合物の摂取量の多いことは推測されているが、そのヒ素の摂取量を化学形態別に評価した研究成果は僅かである。ヒ素化合物は海産物に高濃度含有しているが、野菜・果実・肉類・乳製品等のヒ素濃度は低いことが知られている。近年、魚介類には水溶性ヒ素化合物のみならず、脂溶性ヒ素化合物（As-lipid）の存在を証明する報告が数例なされ、また、ヒジキを除く海藻類には複数のアルセノシュガー（As-sug）の存在が示唆されている。

本研究は、日本人の農業従事者（対照群）と漁業従事者（海産物多食者群）より陰膳方式にて採取した食事を用いて、総ヒ素、水溶性ヒ素化合物、As-sug、As-lipid をそれぞれ測定した後、総ヒ素および As-sug を除いた水溶性ヒ素化合物について摂取動向を検討した。

### 2 研究方法

対象者は対照群 68 名と海産物多食者群 60 名の住民の成人男女である。食事は朝食、昼食、夕食、間食を陰膳方式にて採取した。食材別に秤量した後、一食事ごとにミキサーにて粉碎し、総ヒ素、水溶性ヒ素、As-sug（unknown）、脂溶性ヒ素化合物をそれぞれ測定した。総ヒ素濃度は食事試料をユニシール容器にて酸分解し、ICP-MS（Perkin Elmer 社製）にて測定した。水溶性ヒ素化合物（無機ヒ素（ $iAs^{3+}$ 、 $iAs^{5+}$ ）、モノメチル化ヒ素（MMA）、ジメチル化ヒ素（DMA）、アルセノベタイン（AsB））は超純水にて抽出し、逆相カラム（MG、資生堂）を装着した HPLC-ICP-MS にて測定した。

### 3 結果と考察

対照群と海産物多食者群における海藻類摂取量はそれぞれ 11.1、53.6 g/day、そして魚介類摂取量はそれぞれ 61.2、121 g/day であった。

一日の総ヒ素摂取量は対照群が 175 $\mu$ g/day、海産物多食者群が 517 $\mu$ g/day であり、約 3 倍の差が示された。また、朝食、昼食、夕食、間食の各食における総ヒ素摂取量を比較すると、海産物多食者群と対照群ともに摂取パターンは類似しており、両群とも夕食、朝食、昼食、間食の順で多い傾向が示された。

食事試料から検出したヒ素は  $iAs^{3+}$ 、 $iAs^{5+}$ 、MMA、DMA、AsB など 6 種類であり、両群に共通していた。これら水溶性ヒ素化合物の総ヒ素に占める割合は対照群と海産物多食

者群において、それぞれ 41、43%で類似していた。さらに、その割合を化学形態別に比較してみると、対照群が  $iAs^{3+}$  3% ;  $iAs^{5+}$  3% ; MMA 2% ; DMA 4% ; AsB 29%、海産物多食者群が  $iAs^{3+}$  1% ;  $iAs^{5+}$  1% ; MMA 1% ; DMA 3% ; AsB 37%であった。本研究から、海産物多食者の一日の無機ヒ素摂取量は  $12.6 \pm 2.79 \mu\text{g/day}$  で比較的少なく、また、無機ヒ素+MMA+DMA の中毒性ヒ素も  $32.6 \pm 22.4 \mu\text{g/day}$  で、大部分が AsB ( $190 \pm 204 \mu\text{g/day}$ ) であった。すなわち、海産物多食者の一日の総ヒ素摂取量は  $517 \pm 376 \mu\text{g}$  と多量であったが、中毒性ヒ素の割合は約 6%であり、その主体は無毒のヒ素である AsB であった。これらの結果は都市部住民で行った先行研究に類似していることも明らかとなった。

#### Daily intake of arsenic compounds in the Japanese diet: total-arsenic and water-soluble arsenics

○Eri Hasegawa<sup>1)</sup>, Yoko Inoue<sup>1)</sup>, Yuko Hanawa<sup>1)</sup>, Hiroki Nakadai<sup>1)</sup>, Keiko Chiba<sup>2)</sup>, Haruo Nakatsuka<sup>3)</sup>, Takao Watanabe,<sup>4)</sup> Toru Iyo<sup>1)</sup> and Hiroshi Yamauchi<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Kitasato University Graduate School of Medical Sciences, <sup>2)</sup> Iwate Prefectural University, <sup>3)</sup> Miyagi University, <sup>4)</sup> Tohoku Bunkyo College

Total daily intake of arsenic, water-soluble arsenic compounds and arsenolipids (As-lipids) was determined in duplicate diet samples collected from Japanese agricultural workers (control group, n=68) and fishery workers who eat a lot of seafood (fishery group, n=60). Meals were classified into breakfast, lunch, supper and snacks. Arsenic was evaluated were total-arsenic and water-soluble arsenic compounds ( $iAs^{3+}$ ,  $As^{5+}$ , monomethylated arsenic, dimethylated arsenic, arsenobetaine (AsB)).

Daily seaweed consumption was 11.1 g/day in the control group and 53.6 g/day in the fishery group. Seafood consumption was 61.2 and 120.6 g/day, respectively.

Daily intake of total arsenic was 175 and 517  $\mu\text{g/day}$  in the control and fishery groups, respectively, indicating an approximately 3-fold higher intake in the fishery workers. Arsenic intake patterns were similar in the two groups, with the highest intake at supper (45%), followed by breakfast (30%) and then lunch. Water-soluble arsenic was about 40% of total arsenic, and this was also similar in the two groups. However, the concentration in the fishery group was about 3 times higher than that in the control group. The percentage of AsB in the total arsenic was 29% in the control group and 37% in the fishery group.

Thus, subjects who ate large amounts of seafood were likely to have high total-arsenic and AsB.

## 日本人における食事からの一日のヒ素摂取量： アルセノシュガーと脂溶性ヒ素化合物

○井上 葉子<sup>1</sup>、長谷川 恵里<sup>1</sup>、塙 由布子<sup>1</sup>、中臺 大幾<sup>1</sup>、千葉 啓子<sup>2</sup>、  
中塚 晴夫<sup>3</sup>、渡辺 孝男<sup>4</sup>、伊与 亨<sup>1</sup>、山内 博<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>北里大学、<sup>2</sup>岩手県立大学、<sup>3</sup>宮城大学、<sup>4</sup>東北文教大学

### 1 はじめに

日本人は欧米人に比較してヒ素化合物の摂取量の多いことは推測されているが、そのヒ素の摂取量を化学形態別に評価した研究成果は僅かである。ヒ素化合物は海産物に高濃度含有しているが、野菜・果実・肉類・乳製品等のヒ素濃度は低いことが知られている。近年、魚介類には水溶性ヒ素化合物のみならず、脂溶性ヒ素化合物 (As-lipid) の存在を証明する報告が数例なされ、また、ヒジキを除く海藻類には複数のアルセノシュガー (As-sug) の存在が示唆されている。

本研究は、日本人の農業従事者 (対照群) と漁業従事者 (海産物多食者群) より陰膳方式にて採取した食事を用いて、総ヒ素、水溶性ヒ素化合物、アルセノシュガー (As-sug)、As-lipid をそれぞれ測定した後、As-sug と As-lipid の摂取動向について検討を試みた。とくに、海産物多食者におけるヒ素の摂取動向に注目した。

### 2 研究方法

対象者は対照群 68 名と海産物多食者群 60 名の住民の成人男女である。食事は朝食、昼食、夕食、間食を陰膳方式にて採取した。食材別に秤量した後、一食事ごとにミキサーにて粉碎し、総ヒ素、水溶性ヒ素、As-sug (unknown)、脂溶性ヒ素化合物をそれぞれ測定した。測定試料の処理方法は、①総ヒ素濃度はユニシール容器にて酸分解、②水溶性ヒ素化合物 (無機ヒ素 ( $iAs^{3+}$ ,  $iAs^{5+}$ )、モノメチル化ヒ素 (MMA)、DMA、アルセノベタイン (AsB)、As-Sug) は超純水に抽出、③As-Lipids はヘキサン抽出して揮発濃縮した油脂分を①と同様に総ヒ素として求めた。①と③については ICP-MS (Perkin Elmer 社製) にて測定した。②については逆相カラム (MG, 資生堂) を接続した HPLC-ICP-MS (Perkin Elmer 社製) にて測定した。As-sug (unknown) は総ヒ素から、水溶性ヒ素と As-Lipids を差引いた値である。なお、As-sug は、Dr. Francesconi が提供している As-sug の標準物 (4 形態) を用いて、陰イオンカラム (PRP-X100, Hamilton) を装着した HPLC-ICP-MS にて測定した。

### 3 結果と考察

対照群と海産物多食者群における海藻類摂取量はそれぞれ 11.1、53.6 g/day、そして魚介類摂取量はそれぞれ 61.2、121 g/day であった。As-sug 摂取量は、対照群と海産物多食者群では 80.2 と 245  $\mu\text{g/day}$  であり、約 3 倍の差であった ( $p < 0.01$ )。食事から取り込

まれる As-sug の形態は 1 と 3 型の多い傾向が示唆された。As-sug と海藻類摂取量との間には有意な相関関係が両群ともに認められた( $p<0.01$ )。特に、海産物多食者群の朝食で顕著であった。As-lipid 摂取量は、対照群と海産物多食者群では 22.7 と 48.8  $\mu\text{g/day}$  であり、約 2 倍の差であった( $p<0.01$ )。As-lipid と魚介類摂取量との間には有意な相関関係が海産物多食者群の朝食と夕食において認められたが( $p<0.01$ )、対照群には認められなかった。

海産物多食者群においては、海藻類摂取により複数の As-sug の摂取、そして、魚介類の摂取から As-lipid の摂取量も増加している傾向を明らかとした。

### Daily intake of arsenic compounds in the Japanese diet: arsenosugars and arsenolipids

○Yoko Inoue<sup>1)</sup>, Eri Hasegawa<sup>1)</sup>, Yuko Hanawa<sup>1)</sup>, Hiroki Nakadai<sup>1)</sup>, Keiko Chiba<sup>2)</sup>, Haruo Nakatsuka<sup>3)</sup>, Takao Watanabe,<sup>4)</sup> Toru Iyo<sup>1)</sup> and Hiroshi Yamauchi<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Kitasato University Graduate School of Medical Sciences, <sup>2)</sup> Iwate Prefectural University, <sup>3)</sup> Miyagi University, <sup>4)</sup> Tohoku Bunkyo College

Total daily intake of arsenic, water-soluble arsenic compounds and arsenolipids (As-lipids) was determined in duplicate diet samples collected from Japanese agricultural workers (control group,  $n=68$ ) and fishery workers who eat a lot of seafood (fishery group,  $n=60$ ). Meals were classified into breakfast, lunch, supper and snacks. The amount of arsenosugars (As-sugars) was calculated by subtracting water-soluble arsenic ( $i\text{As}^{3+}$ ,  $\text{As}^{5+}$ , monomethylated arsenic (MMA), dimethylated arsenic (DMA), arsenobetaine (AsB)) and As-lipids from total arsenic. As-sugars were classified into 4 types using As-sugar standards. Lipids were extracted from food samples with hexane and the amount of As-lipids was determined. Daily seaweed consumption was 11.1 g/day in the control group and 53.6 g/day in the fishery group. Seafood consumption was 61.2 and 120.6 g/day, respectively.

Daily intake of As-sugar was 80.2 and 245  $\mu\text{g/day}$  in the control and fishery groups, respectively, also showing an approximately 3-fold higher intake in the fishery workers. Of the 4 types of As-sugar, types 1 and 3 were most frequently detected. As-sugar intake significantly correlated with seaweed consumption in the two groups ( $p<0.01$ ). Daily intake of As-lipids was 22.7 and 48.8  $\mu\text{g/day}$  in the control and fishery groups, respectively. These data show an approximately 2-fold higher intake in the fishery group, and As-lipid intake significantly correlated with seafood consumption in this group ( $p<0.01$ ).

Thus, subjects who ate large amounts of seaweed and seafood were likely to have high As-sugar and As-lipid intake.

## マグロおよびワカメ摂取後の尿中ヒ素代謝物

○畑 明寿<sup>1</sup>、大和田 真由<sup>1</sup>、長谷川 桃子<sup>1</sup>、山中 健三<sup>2</sup>、黒澤 英俊<sup>2</sup>、  
山野 優子<sup>3</sup>、圓藤 陽子<sup>4</sup>、藤谷 登<sup>1</sup>、圓藤 吟史<sup>5</sup>

<sup>1</sup>千葉科学大学 危機管理学部、<sup>2</sup>日本大学 薬学部、<sup>3</sup>昭和大学 医学部、

<sup>4</sup>関西労災病院 産業中毒研究センター、<sup>5</sup>大阪市立大学大学院 医学研究科

## 1 はじめに

海産食品は様々なヒ素化合物を含んでいるが、摂取による健康リスクは不明な点が多い。我々は海産食品摂取後の尿中ヒ素代謝物について知見を得るため、ボランティアにおけるマグロおよびワカメ摂取後の尿中ヒ素分析を行った。

## 2 方法

海産食品の摂取：千葉県内で購入した生食用メバチマグロ赤身および湯通し塩蔵ワカメ乾燥品を供試海産食品とした。インフォームドコンセントを得た健常人9名が被験者となり、4名がマグロ刺身300g、5名が水戻しワカメ300gを1回の食事で摂取した。その後5日間全ての尿を採取し、排尿時刻と尿量を記録した。なお、摂取の前後5日間は海産食品摂取を制限した。

ヒ素分析：海産食品は凍結乾燥し分析用試料とした。総ヒ素分析は、試料をマイクロウェーブ分解装置にて湿式灰化した後、ICP-MS分析を行った。ヒ素化学形態別分析は、抽出溶媒に50%メタノールを用いたビーズ破碎処理を行い、得られた抽出液のHPLC-ICP-MS、HPLC-TOF/MS、HPLC-MS/MS分析を行った。尿は測定時まで凍結保存し、海産食品抽出液と同様に化学形態別分析を行った。

## 3 結果および考察

摂取したマグロとワカメの総ヒ素含量はそれぞれ2.6 mgと0.6 mgであった。マグロ抽出液からは arsenobetaine (AsBe) と未同定ヒ素、ワカメ抽出液からは arsenosugar 328 (AsSug328)、AsSug482 と未同定ヒ素が検出された。マグロおよびワカメ摂取後5日間で、各々に含まれるヒ素の約40%と30%が尿中に排泄された。マグロ摂取者尿中ヒ素の80%以上はAsBe、約10%が dimethylarsinic acid (DMA)、そしてわずかに未同定ヒ素が認められた。AsBeの時間あたり尿中排泄量はマグロ摂取4時間後、DMAは摂取9時間後に最大となった。ワカメ摂取者尿からはDMA、oxo-dimethylarsenoethanol、oxo-dimethylarsinoylacetate と未同定ヒ素が検出された。DMAは尿中ヒ素の約60%を占め、他のヒ素化合物は被験者間のばらつきが大きかった。DMAの時間あたり尿中排泄量はワカメ摂取24時間後に最大となった。

マグロおよびワカメ抽出液から無機ヒ素、monomethylarsonic acid やDMAは検出されなかったことから、被験者尿中DMAは海産食品のAsSug類や未同定ヒ素に由来

すると考えられる。DMA の尿中排泄量はマグロ摂取から約 24 時間後に摂取前の値へと戻った。一方、ワカメは摂取から約 90 時間後となり差がみられた。

### **Arsenic metabolites in urine after ingestion of tuna and wakame seaweed**

○Akihisa Hata<sup>1</sup>, Mayu Owada<sup>1</sup>, Momoko Hasegawa<sup>1</sup>, Kenzo Yamanaka<sup>2</sup>, Hidetoshi Kurosawa<sup>2</sup>, Yuko Yamano<sup>3</sup>, Yoko Endo<sup>4</sup>, Noboru Fujitani<sup>1</sup>, Ginji Endo<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Chiba Institute of Science, <sup>2</sup> School of Pharmacy, Nihon University, <sup>3</sup> School of Medicine, Showa University, <sup>4</sup> Kansai Rosai Hospital, Japan Labour Health and Welfare Organization,

<sup>5</sup> Graduate School of Medicine, Osaka City University

Seafood contains high levels of various arsenic compounds, but their relative toxicities have not been fully evaluated thus far. To evaluate the risk of dietary arsenic, we conducted a tuna and wakame seaweed ingestion experiment.

After refraining from seafood consumption for 5 days, 4 volunteers ingested 300 g of sashimi tuna, and 5 volunteers ingested 300 g of wakame. Arsenic metabolites in the urine were monitored over a 5-day period after ingestion. The arsenic contents in tuna and wakame were measured after bead-beating treatment with 50% methanol. Speciation analyses of arsenic were performed by HPLC-ICP-MS, HPLC-TOF/MS, and HPLC-MS/MS.

The total amount of arsenic ingested from tuna and wakame was 2.6 and 0.6 mg, respectively. Arsenobetaine (AsBe) and unidentified arsenic compounds were detected in the methanol extract of tuna, whereas arsenosugar 328 (AsSug328), AsSug482, and unidentified arsenic species were detected in the wakame extract. Approximately 40% and 30% of arsenic ingested from tuna and wakame, respectively, were excreted via urine during the 5-day observation period. The identified urinary arsenic species after tuna intake were AsBe and dimethylarsinic acid (DMA). AsBe and DMA comprised approximately 80% and 10% of the total urinary arsenic, respectively. The urinary excretion rate of AsBe and DMA reached a peak at 4 h and 9 h after tuna ingestion, respectively. The identified urinary arsenic species after wakame intake were DMA, oxo-dimethylarsenoethano, and oxo-dimethylarsinoylacetate. DMA comprised approximately 60% of the detected arsenic species. The urinary excretion rate of DMA reached a peak at 24 h after wakame intake.

Neither DMA nor inorganic arsenic was detected in the seafood extracts; thus, urinary DMA may have been produced metabolically after tuna and wakame intake from unidentified arsenic species and AsSugs, respectively. The levels of urinary DMA after tuna intake returned to the levels before intake after approximately 24 h. In contrast, the levels of urinary DMA after wakame intake returned to the levels before intake after approximately 90 h.

## カンボジアヒ素汚染地域における尿中ヒ素化学形態と魚介類摂取量

○姫野誠一郎<sup>1</sup>、森田晴絵<sup>1</sup>、藤森千鶴<sup>1</sup>、宮高透喜<sup>1</sup>、Suthipong Sthiannopkao<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>徳島文理大学薬学部、<sup>2</sup>東亜大学環境工学部（韓国）

### 1. 背景と目的

アジアの各地で地下水のヒ素汚染が問題になっているが、カンボジアのヒ素汚染地域での調査報告は限られている。ヒ素の摂取源として、地下水のみならず、穀物や魚介類がある。カンボジアの人々における動物性タンパク質摂取量の80%以上は魚介類由来である。魚介類に含まれるヒ素化合物はヒ素の曝露指標として用いられる尿中ヒ素濃度に影響を及ぼすことが予想される。本研究では、カンボジアのメコン川流域におけるヒ素汚染地域の住民から飲料水、毛髪、爪、尿を採取し、ヒ素汚染の実態を明らかにすること、および、魚介類の摂取状況を調査して、尿中ヒ素濃度に及ぼす魚介類摂取の影響を明らかにすることをめざした。

### 2 方法

対照地域はカンボジアのベトナム国境に近いメコン川流域の4村落(KT, CK, PC, PS)とした。KTはヒ素汚染のない対照群として選んだ。それぞれの村落から約50名の住民を選び、毛髪、爪、尿を採取した。また、井戸水を採取した。アンケート調査により、摂取している魚の種類と量を調査した。ヒ素濃度はICP-MSで測定した。尿中ヒ素代謝物の化学系別の分析にはHPLC-ICP-MSを用いた。

### 3 結果および考察

CK, PC, PSの3村落の井戸水中ヒ素濃度は平均で500 ppbを超えていた。井戸水は、主に洗濯、水浴び、食器洗いのみで用い、飲用には使用していない、ということになっている。しかし、料理、炊飯などにヒ素を用いている村落もあった。井戸水中のヒ素濃度と毛髪、爪のヒ素濃度は有意に相関していた。また、毛髪中ヒ素濃度と爪中ヒ素濃度も高い相関を示したことから、井戸水のヒ素を体内に取り込んでいることが推察された。

しかし、尿中ヒ素濃度は4つの村落間でほとんど差がなかった。そこで、尿中ヒ素代謝物を測定したところ、非汚染地域のKTのみ、アルセノベタイン濃度が高かった。しかし、聞き取り調査では、ほとんどの村落でほぼ毎日魚を摂取していた。そこで、どのような種類の魚を摂取しているのか再度アンケート調査を行ったところ、KTではわずかながら海産魚類を摂取しているが、ヒ素汚染地域の村落では、ほとんど淡水魚のみを摂取して



いることがわかった。約 60 種類のカンボジアの魚介類について総ヒ素濃度を測定したところ、淡水魚のヒ素濃度は全体的に低かった。

したがって、カンボジアのように、海産魚類と淡水魚類の両方を摂取している地域においては、尿中ヒ素濃度はヒ素曝露の指標として適していないと考えられる。また、今後、淡水魚のヒ素の化学形態について解析を進める必要がある。

### Urinary arsenic metabolites and fish consumption among the residents in arsenic-polluted areas in Cambodia

○Seiichiro Himeno<sup>1</sup>, Harue Morita<sup>1</sup>, Chizuru Tohmori<sup>1</sup>, Hideki Miyataka<sup>1</sup>, Suthipong Sthiannopkao<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Molecular Nutrition and Toxicology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokushima Bunri University, Japan, <sup>2</sup>Department of Environmental Engineering, Don-A University, Korea

Consumption of arsenic (As)-polluted well water causes a variety of health hazards in Asian countries. Human samples including hair, nail, and urine have been utilized to assess the exposure levels of As. Speciation of urinary As metabolites can provide information on the capacity of methylation of inorganic As in the body as well as the consumption of fish products. In the present study, we examined As concentrations in hair, nail, urine, and well water collected from the residents living in four villages (3 in As-polluted area and 1 in non-polluted area) in Cambodia. The average concentrations of As in well water in As-polluted villages exceeded 500 ppb, which is 50-fold of the WHO recommendation (10 ppb). The concentrations of As in well water showed significant correlations with those in hair and nail. On the other hand, urinary As concentrations among four villages were almost similar. Speciation analysis of urinary As metabolites by HPLC-ICP-MS showed that the concentrations of arsenobetaine in non-polluted village were much higher than those in other villages. A nutritional survey showed that the residents in As-polluted areas eat freshwater fish exclusively, while those in a non-polluted area eat both marine fish and freshwater fish. These data suggest that urinary arsenic concentration may not be a good indicator for arsenic exposure, especially in Cambodia where people eat both freshwater fish and marine fish as a major source of animal protein.

## 海藻類から抽出したヒ素化合物の細胞毒性試験

- 塙 由布子、中野 瑞穂、井上 葉子、長谷川 恵里、中臺 大幾、伊与 亨、  
山内 博  
北里大学大学院 医療系研究科 環境医科学群 労働衛生学

### 1 はじめに

国際癌研究機関(IARC)は無機ヒ素やジメチル化ヒ素化合物をグループ1の発癌物質としている。2004年以降、英連邦諸国をはじめ多くの国においてヒジキの摂取禁止の法的な規制が取られ始めた。その背景の一つとして、飲料水(井戸水)の無機ヒ素汚染からアジアや中南米諸国を中心に大規模な慢性ヒ素中毒が発生しており、食材からの過剰なヒ素摂取に危惧が持たれている。従来から、海産物には高濃度なヒ素化合物が含有していることは知られている。そのなかで、魚介類に含有するアルセノベタインは無毒のヒ素であると理解されている。一方、市販されている海藻類に含有する無機ヒ素やジメチル化ヒ素化合物のアルセノシュガー(As-sug)に関する毒性の情報は限られている。

本研究は、国際食である日本食に必要な不可欠な出汁をとる昆布、そして寿司の海苔などに含有するヒ素化合物の毒性について、市販されているヒジキ、昆布、海苔から抽出した試料を用いて細胞毒性試験にて検討を試みた。

### 2 方法

市販されているヒジキ、昆布、海苔を研究試料(3地域で一群)とした。海藻類は室温で一中夜(8時間)かけて超純水にて抽出し調製した。ヒ素の化学形態別測定は、Perkin Elmer社製のHPLC-ICP-MS法により行った。As-sugはHamilton社製のPRP-X100(4.1 mm i.d. x 250mm, 5 $\mu$ m)カラムを用い測定した。細胞はEJ-1(ヒト膀胱移行上皮がん細胞)を用いた。各ヒ素試料は培地に添加した濃度を10 $\mu$ Mに調整し、24と48時間培養した。細胞生存率はCell countingkit-8(DOJIN)法にて測定、アポトーシス細胞はヘキスト33422により染色し蛍光顕微鏡観察、そして細胞内活性酸素はDCFH-DAにより染色しマルチプレートリーダーおよび蛍光顕微鏡観察によりそれぞれ評価した。

### 3 結果と考察

ヒジキからは無機ヒ素(3価と5価)と微量なジメチル化ヒ素が検出され、As-sugの含有は認められなかった。昆布や海苔に含有しているヒ素化合物の主体はAs-sugであったが、Dr. Francesconiが提供しているAs-sugの標準物(4形態)に照合すると、昆布のAs-sugはタイプ1と2、3、そして海苔のAs-sugはタイプ1と3であり、As-sug

の含有傾向がやや異なっていた。なお、As-sug のタイプ 4 は全ての海藻類から検出されなかった。

CCK-8 法で求めた細胞生存率は対照群に比較しヒジキと海苔の値は有意に低下が示されたが( $p < 0.01$ )、昆布では示されなかった。細胞内活性酸素は対照群に比較してヒジキ、海苔、昆布の順で出現する有意な傾向を認めた( $p < 0.001$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ )。アポトーシス細胞の出現は対照群に比較しヒジキが有意に顕著であったが( $p < 0.01$ )、しかし昆布や海苔からこれらの結果は認められなかった。

本研究から、ヒジキに含有している無機ヒ素の毒性は、昆布や海苔に含有している As-sug に比較して、その作用は強く出現する傾向を明らかにした。昆布や海苔に含有している As-sug の形態はやや異なったが、3 種類のバイオマーカーを用いて毒性を比較評価したが、昆布がやや弱い傾向を確認した。この研究では市販の海藻類をそれぞれ 3 地域から用いたが、いずれの海藻も地域差が認められなかった。

### Cytotoxicity assay of arsenic compounds extracted from seaweed

○Yuko Hanawa, Mizuho Nakano, Yoko Inoue, Eri Hasegawa,  
Hiroki Nakadai, Toru Iyo and Hiroshi Yamauchi

Department of Occupational Medicine, Environmental Medicine, Kitasato University  
Graduate School of Medical Sciences, Sagamihara, Japan

A cytotoxicity assay was performed after extracting arsenic compounds from commercial hijiki, tangle and laver at room temperature using ultrapure water. EJ-1 (human bladder transitional cell carcinoma) cells were used in the assay. Arsenic compounds ( $10 \mu\text{M}$ ) were added to these cells and incubated for 24 or 48 h. The effects on cells were evaluated based on cell viability, number of apoptotic cells, and the level of intracellular reactive oxygen species.

Mostly inorganic arsenic was detected in hijiki, whereas arsenic detected in tangle and laver was in the form of As-sugars. As-sugars 1, 2 and 3 were detected in tangle and As-sugars 1 and 3 in laver, indicating a difference in the components of the two seaweed types.

The findings also suggested that hijiki has stronger effects than tangle and laver. Hijiki and laver extracts had slightly stronger effects in the CCK-8 cytotoxicity assay, and hijiki extract produced higher levels of intracellular reactive oxygen species and more apoptotic cells compared to tangle and laver extracts. Collectively, these findings show that inorganic arsenic contained in hijiki has stronger effects than As-sugars contained in tangle and laver.

## アルシンは経皮吸収されるのか

- ヘアレスマウスを用いた経皮および吸入曝露実験 -

○山野優子<sup>1</sup>、長野嘉介<sup>2</sup>、山中健三<sup>3</sup>、畑 明寿<sup>4</sup>、中館俊夫<sup>1</sup>、圓藤陽子<sup>5</sup>、圓藤吟史<sup>6</sup>  
<sup>1</sup>昭和大学 医学部 衛生学、<sup>2</sup>長野毒性病理コンサルティング、<sup>3</sup>日本大学 薬学部、  
<sup>4</sup>千葉科学大学 危機管理学部、<sup>5</sup>関西労災病院 産業中毒研究センター、  
<sup>6</sup>大阪市立大学大学院 医学研究科

## 1 はじめに

アルシン  $\text{AsH}_3$  は、特にガリウムヒ素などの半導体製造に使用され強い急性毒性を示す。ヒトでの死因の主な原因は溶血を伴う腎臓損傷と言われているが、メカニズムや経皮吸収の有無も明らかではない。我々は、マウスへのアルシンの曝露実験を行い、経皮吸収の有無の確認、毒性のメカニズムについて明らかにすることを目的とした。

## 2 方法

雄性ヘアレスマウス 5 週齢を用い、容積約 2.5 L 曝露装置内で、三酸化二ヒ素を  $\text{NaBH}_4$  で還元して無機アルシンを発生させた。曝露は全身吸入および経皮曝露(各 n=4) 5 分間とし、曝露直後、3、6 時間後に尾静脈より血液を採取し、ヘマトクリット(Ht) 値、血中総ヒ素濃度(ICP-MS)を測定した。また、肝臓、腎臓、脾臓、肺を 6 時間後に摘出、組織切片を作製し、HE および Hb 免疫染色し組織学的検索を行った。

## 3 結果および考察

アルシンの曝露濃度は 300-320ppm の範囲で安定した値が得られた。吸入群は、体表面(皮膚)は紫色に変色し動きが鈍くなったが、経皮群は特に変化は観察されなかった。Ht 値は、吸入群では曝露直後  $52.0 \pm 1.4\%$ 、3 時間後  $15.8 \pm 2.5\%$ 、6 時間後  $8.3 \pm 1.3\%$  と有意に低下し、血漿は赤色を呈して激しい溶血が起きたことが示された。しかし、経皮群の Ht 値は対照群と同程度であった。血中総ヒ素濃度は、吸入群は  $9.0-14.2\text{mg/L}$  となり対照群( $<2.0\text{mg/L}$ )に比して有意に高濃度検出されたが、経皮群では  $0.9-1.1\text{mg/L}$  で対照群と同程度であった。病理組織学的検査では、吸入群にのみ腎臓、肝臓および脾臓に変化がみられた。腎臓では、近位尿細管上皮の細胞質内にエオジン好性の球状物質が多量に沈着し、肝臓のクッパー細胞と脾臓の網内系細胞にも認められた。エオジン好性球状物質はいずれの臓器も Hb 免疫染色に陽性であった。

以上から、アルシンには経皮吸収は認められず、吸入曝露により速やかに吸収され、溶血を引き起こすことが示唆された。次いで、放出された Hb が特に腎臓の近位尿細管に蓄積した結果、腎機能障害を引き起こすものと推測された。

## ***In vivo* study of arsine exposure in hairless mice: percutaneous absorption vs. whole-body inhalation**

○Yuko Yamano<sup>1</sup>, Kasuke Nagano<sup>2</sup>, Kenzo Yamanaka<sup>3</sup>, Akihisa Hata<sup>4</sup>,  
Toshio Nakadate<sup>1</sup>, Yoko Endo<sup>5</sup>, Ginji Endo<sup>6</sup>

<sup>1</sup> School of Medicine, Showa University, <sup>2</sup>Nagano Toxicologic-Pathology Consulting, <sup>3</sup>School of Pharmacy, Nihon University, <sup>4</sup>Chiba Institute of Science, <sup>5</sup>Kansai Rosai Hospital, Japan Labour Health and Welfare Organization, <sup>6</sup>Graduate School of Medicine, Osaka City University

Arsine (AsH<sub>3</sub>) is widely used in the semiconductor industry. Primary cause of death in exposure to workers is kidney damage due to hemolysis, but the mechanism and potential for percutaneous absorption are unclear. Mice were exposed to arsine to detect percutaneous absorption and determine the toxicity mechanism.

Arsine gas was generated by reduction of arsenic trioxide with NaBH<sub>4</sub>. Male 5-week-old Hos:HR-1 hairless mice (n=4 each) were subjected to single percutaneous or whole-body inhalation exposure of arsine gas (ca. 300 ppm) for 5 minutes. Total arsenic in blood (T-As) was determined using an ICP-MS, and hematocrit values (Ht) were measured. Histopathological examination was performed 6 h after exposure, and liver, spleen, kidneys, and lungs were subjected to immunohistochemical hemoglobin (Hb) and HE staining.

Mice subjected to whole-body inhalation at 320 ppm had reddening around the eyes, purple skin, and listless behavior. No changes were observed in the percutaneous exposure group at 310 ppm. Ht values in the inhalation group decreased significantly ( $p<0.02$ ), down to 16% after 3 h, and all blood samples were hemolyzed. T-As in the inhalation group was 9.0-14.2 mg/L, significantly higher than in the control group ( $<2.0$  mg/L,  $p<0.02$ ). In contrast, Ht and T-As in the percutaneous group were comparable to control group values. Histopathological changes were only noted in the inhalation group, with marked deposition of eosinophilic globules in the proximal convoluted tubules of the kidney, Kupffer cells of the liver, and red pulp in the spleen. No changes were noted in the lungs. Immunohistochemically, these eosinophilic globules reacted positively to hemoglobin antibody.

In the present study, arsine was not absorbed through the skin. Findings for exposure to arsine further suggest that hemolysis occurs first, followed by release of Hb and accumulation in the proximal tubules of the kidney, ultimately leading to renal dysfunction.

## アルシン曝露によるヘモグロビン付加体生成

- マウス保存血への *in vitro* アルシン曝露 -

○山内 武紀<sup>1</sup>、山野 優子<sup>2</sup>、山中 健三<sup>3</sup>、畑 明寿<sup>4</sup>、黒田 嘉紀<sup>1</sup>、  
圓藤 陽子<sup>5</sup>、圓藤 吟史<sup>6</sup>

<sup>1</sup>宮崎大学医学部公衆衛生、<sup>2</sup>昭和大学医学部衛生、<sup>3</sup>日本大学薬学部、<sup>4</sup>千葉科学大学危機管理学部、<sup>5</sup>関西労災病院産業中毒研究センター、<sup>6</sup>大阪市立大学大学院医学研究科

## 1 はじめに

半導体などの製造に使用されているアルシンの急性毒性である溶血のメカニズムは明らかではない。前演題の通り、マウスへのアルシン曝露実験を行った結果、Ht 値の有意な減少および腎臓の近位尿細管のヘモグロビン (Hb) 陽性顆粒の顕著な沈着を認め、激しい溶血が起きることを確認した。そこで、溶血メカニズム解明を目的として、マウス保存血を用いた *in vitro* アルシン曝露実験を行い、曝露サンプル特異的な物質の検出を試みた。

## 2 方法

ヒ素量として 2 mg の亜ヒ酸から亜鉛還元により発生させたアルシンを雄性 ICR マウス保存血 5ml に 10 分間曝露し、90 分間放置後、遠心分離により得られた血漿をサンプルとした。また、アルシン曝露時に合わせて空気導入 (通気) したサンプルについては直ちに遠心分離して血漿サンプルとした。なお、非曝露血漿および超純水で溶血させた血球をコントロールとした。マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間質量分析計 (MALDI-TOF) を用いてこれら 4 つのサンプルを解析した。解析にあたってはマトリックスとしてシナピン酸を使用した。また、これら 4 つのサンプルに対して抗グロビン抗体を用いた免疫沈降反応を実施し、得られた溶出液中の全ヒ素を誘導結合プラズマ質量分析計 (ICP-MS) で定量した。

## 3 結果および考察

MALDI-TOF の結果、アルシン曝露サンプルに特異的なピークが 15.0 kDa に 2 つ、15.7 kDa に 1 つ確認できた。分子量からこれらはグロビンとヒ素の付加体であると考えられたため、抗グロビン抗体を用いた免疫沈降反応を行った。ICP-MS による分析の結果、コントロールサンプルからはヒ素が検出されなかったが、アルシン曝露サンプルでは反応後の溶出液よりヒ素が検出されたことから、ヒ素とグロビンが付加体を形成していることが強く示唆された。ただし本研究においては、付加体形成と溶血の因果関係が明らかではないため、今後検討していく必要がある。

Possible Production of arsenic adduct due to the exposure of  
mouse preserved blood to arsine *in vitro*

○Takenori Yamauchi<sup>1</sup>, Yuko Yamano<sup>2</sup>, Kenzo Yamanaka<sup>3</sup>, Akihisa Hata<sup>4</sup>,  
Yoshiki Kuroda<sup>1</sup>, Yoko Endo<sup>5</sup>, Ginji Endo<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Medicine, Miyazaki University, <sup>2</sup>School of Medicine, Showa University,  
<sup>3</sup>School of Pharmacy, Nihon University, <sup>4</sup>Chiba Institute of Science, <sup>5</sup>Kansai Rosai  
Hospital, Japan Labour Health and Welfare Organization, <sup>6</sup>Graduate School of  
Medicine, Osaka City University

**Background:** Arsine ( $AsH_3$ ), widely used in the semiconductor industry, is one of the most acutely toxic forms of arsenic, and its inhalation causes rapid and severe hemolysis as mentioned in the previous presentation. However, the underlying mechanism is unclear. In order to elucidate it, we examined preserved mouse blood exposed to arsine and tried to confirm the substances specific for exposed samples.

**Materials and Methods:** Banked blood derived from male ICR mice was exposed to arsine generated via zinc reduction of arsenic trioxide with or without aeration. After exposure, the blood plasma (BP) was separated by centrifugation. BP from non-treated blood was used as a control. The supernatant separated from blood cell lysate was also used as a control. Each sample was mixed with sinapinic acid as matrix and matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF) analysis was conducted on all samples. Furthermore, immunoprecipitation assay was performed on all of the samples and the total arsenic contained in eluate was quantified by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS).

**Results and Discussion:** As a result of MALDI-TOF, three  $m/z$  peaks specific for arsine exposed samples were confirmed. Two of them were observed at 15 kDa and the other was at 15.6 kDa. According to their molecular weights, they were estimated to be arsenic adducts with globin chains and the immunoprecipitation assay was conducted with anti-globin antibody in order to identify the arsenic binding protein. As a result of analysis by ICP-MS, arsenic was detected in the eluate derived from arsine exposed samples though it was not in the control samples. Therefore, the production of arsenic adducts with globin was strongly indicated in reaction to arsine exposure. On the other hand, the causal relationship between hemolysis and the production of arsenic adducts remained to be elucidated and further study will be necessary.

## *Coriandrum sativum* L.葉抽出物に含有される脂肪族親電子物質による無機三価ヒ素の細胞毒性軽減

○安孫子 ユミ<sup>1,2</sup>, 溝河 真衣<sup>3</sup>, 熊谷 嘉人<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>筑波大学 医学医療系, <sup>2</sup>日本学術振興会 特別研究員、

<sup>3</sup>筑波大学大学院 生命環境科学研究科

### 1 はじめに

*Coriandrum sativum* L. 葉 (CSL) は東南アジアを始めとする国々で広く摂取される。1936年に Carblom によって脂肪族アルデヒドである decanal や 2-decenal が CSL 抽出物の主成分であることが報告された。さらにガスクロマトグラフィー等の技術の進歩により、高精度に植物油成分を分析することが可能となり、CSL は 2-decenal のような不飽和アルデヒド類を含む脂肪族親電子物質を豊富に含有することが明らかとなった。当研究室の先行研究において、親電子物質が、第二相薬物代謝酵素群および第三相トランスポーター群を包括的に制御する Keap1/Nrf2 システムを活性化し、本活性化を介して無機三価ヒ素の毒性を軽減することを報告してきた (Shinkai Y et al, FEBS Lett, 2006)。同様に、CSL に含まれる脂肪族親電子物質は Nrf2 を活性化し、無機三価ヒ素の毒性を軽減すると想定される。そこで本研究では、CSL 中の Nrf2 活性化成分を UPLC-MS<sup>E</sup> 解析を駆使して同定し、無機三価ヒ素に対する細胞保護効果を示すことを目的とした。

### 2 方法

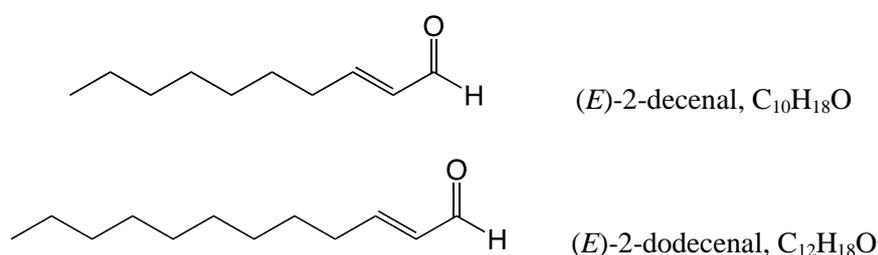
CSL 抽出物 (CSE) の分離 : ヘキサン抽出画分を分取用液体クロマトグラフィーで分離した。脂肪族親電子物質の同定 : 脂肪族親電子物質を 2-diphenylacetyl-1,3-indandione-1-hydrazone で誘導体化し、UPLC-MS<sup>E</sup> 解析を行った。細胞 : HepG2 細胞を用いた。Nrf2 の活性化および下流タンパク質の発現 : ウェスタンブロット法およびリアルタイム PCR 法にて検出した。細胞毒性 : MTT 法で測定した。

### 3 結果および考察

CSE に HepG2 細胞を曝露したところ、Nrf2 の活性化およびその下流タンパク質であるヘムオキシゲナーゼ (HO-1) の誘導が見られた。事前に CSE をグルタチオンで処理すると、Nrf2 の活性化が抑制されたことから、CSE による Nrf2 の活性化には親電子物質が関与していることが示唆された。CSE 中の Nrf2 活性化成分を同定するために、CSE を分取用液体クロマトグラフィーにて I~V 分画に分離し、各分画に HepG2 細胞を曝露したところ、何れの分画でも Nrf2 の活性化が見られた。この結果を支持するように、

II には(*E*)-2-decenal (C10), III には(*E*)-2-undecenal (C11), IV には(*E*)-2-dodecenal (C12) と(*E*)-2-tridecenal (C13), V には(*E*)-2-tridecenal が同定され, I を除く何れの分画にも  $\alpha$ ,  $\beta$  不飽和アルデヒド構造を持つ 2-アルケナールを基本骨格とした C10~C13 の炭素数の異なる脂肪族親電子物質が含まれていたことが明らかになった. さらに, 同定された 2-アルケナール類の Nrf2 活性化能を検討するため, CSE の構成比において主要な成分である(*E*)-2-decenal と(*E*)-2-dodecenal に HepG2 細胞を曝露したところ, 曝露濃度依存的な Nrf2 の活性化および HO-1 の誘導が認められた. 次に, CSE および本脂肪族親電子物質は無機三価ヒ素の毒性を軽減するか否かを検討したところ, CSE および本脂肪族親電子物質の前処理群は, 対照群と比較して無機三価ヒ素による細胞毒性を有意に軽減した.

今回の検討から, *C. sativum* は, Nrf2 活性化能を有する(*E*)-2-decenal や(*E*)-2-dodecenal のような 2-アルケナールを基本骨格とした炭素数の異なる複数の脂肪族親電子物質を含有する植物であることが分かった. また, 本研究で用いた UPLC-MS<sup>E</sup> 解析および Nrf2 活性化の検討により, 植物中の脂肪族親電子物質を容易に探索することが可能である. Nrf2 の活性化は, 無機三価ヒ素の解毒・排泄に関与する下流遺伝子群の発現を誘導することが知られている. CSE および本脂肪族親電子物質は, 本転写因子の活性化を介して無機三価ヒ素の解毒・排泄を促進することで, 本細胞毒性を軽減するのかもしれない.



#### Reduction of arsenic-induced cytotoxicity by aliphatic electrophile from *Coriandrum sativum* L. leaf extract in HepG2 cells

○Yumi Abiko<sup>1,2</sup>, Mai Mizokawa<sup>3</sup>, Yoshito Kumagai<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>JSPS Research Fellow, <sup>2</sup>Faculty of Medicine, University of Tsukuba, <sup>3</sup>Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba

We found there are aliphatic electrophiles, which possess different carbon number with  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated aldehyde moiety, such as (*E*)-2-decenal or (*E*)-2-dodecenal that can activate Nrf2 and reduce arsenic-induced cytotoxicity in *Coriandrum sativum* L. leaf extract.

## 多剤耐性関連タンパク質 2 依存型・非依存型

## ジフェニルアルシン酸の胆汁排泄に及ぼすセレンの影響

○ 小林 弥生、平野 靖史郎  
独立行政法人国立環境研究所

## 1 はじめに

茨城県神栖市の地下水を汚染したジフェニルアルシン酸 (DPAA) は、通常自然界には存在しない為、毒性学的知見は少ない。生体内に摂取されたヒ素は、代謝され様々な化学形へと変化するが、その過程において、GSH が非常に重要な役割を果たしている。我々はこれまでに、DPAA を投与したラットにおいて、胆汁中に 5 価の DPAA が 3 価に還元され、かつグルタチオン抱合された化学形で排泄されることを明らかにした。無機ヒ素化合物を投与されたラットにおいて、ATP 依存性の有機アニオントランスポーター MRP2/cMOAT (multidrug resistance protein 2 / canalicular multispecific organic anion transporter) を介して、ヒ素-グルタチオン抱合体が胆汁中に排泄されることが分かっている。また、セレンは水銀やヒ素のような有害金属の毒性を減弱することが報告されている。そこで、本研究は DPAA 投与後のヒ素の体内分布と胆汁排泄における亜セレン酸の影響を調べることを目的とした。さらに、MRP2/cMOAT が発現していない EHBR (Eisai hyperbilirubinemic rat) に関しても同様の実験を行い、通常レベルの MRP2/cMOAT が発現している SD (Sprague-Dawley) ラットを対照として用いることによって、ヒ素およびセレンの代謝における MRP2/cMOAT の役割についても検討した。

## 2 方法

7 週齢になるまで精製食を与えて飼育した SD および EHBR を 1 群 3 匹で対照群、DPAA 単独投与群、亜セレン酸単独投与群、DPAA・亜セレン酸同時投与群に群分けした。対照群には生理食塩水、ヒ素およびセレン投与群にはそれぞれ 1.0 mg As/kg b.w.、1.0 mg Se/kg b.w. の用量になるように単回尾静脈投与した。胆汁は 30 分毎に 3 時間まで氷上で採取し、3 時間後に解剖を行い、血液および肝臓を採取した。ヒ素の測定は、試料を硝酸と過酸化水素で湿式灰化した後誘導結合プラズマ質量分析計 (ICP-MS) で測定した。胆汁中の還元型 (GSH) および酸化型グルタチオン (GSSG) は、高速液体クロマトグラフィーで両グルタチオンを分離し、エレクトロスプレーイオン化質量分析計に導入し、絶対検量線法で定量した。

## 3 結果および考察

DPAA 投与群で比較した際に、EHBR におけるヒ素の胆汁排泄は SD ラットと比較し

て有意に低下していた。我々は、DPAA を投与したラットの胆汁中の主要なヒ素の化学形は DPAA の GSH 抱合体であることを明らかにしている。このことから、DPAA の腸肝循環にも MRP2/cMOAT が重要な役割を担っていることが示唆された。一方で、セレンの胆汁排泄に関しては、セレン投与群で EHBR は SD ラットに比べ、有意に低下していたが、約 2 µgSe/mL のセレンが継続的に排泄していたことから、セレンの肝臓から胆汁への排泄には、MRP2/cMOAT を介した排泄経路と介さない経路が存在することが示唆された。また、DPAA と亜セレン酸の同時投与群と、それぞれの単独投与群を比較すると、亜セレン酸はヒ素の胆汁排泄を有意に低下させ、DPAA は投与 30 分後においては、セレンの胆汁排泄を上昇させたものの、その後は有意に低下させた。亜ヒ酸はセレンの胆汁排泄を増加させ、また亜セレン酸はヒ素の胆汁排泄を促進させたという報告があることから、DPAA と亜ヒ酸では、セレンとの相互作用に相違があると推定される。ラットに亜ヒ酸を投与すると、胆汁中に GSH が高濃度に排泄される。SD ラットにおいて、DPAA を投与した場合においても、亜ヒ酸と同様にヒ素の胆汁排泄に伴って GSH が胆汁中に排泄されていた。一方、亜セレン酸単独投与時の胆汁中 GSH 濃度は対照群と有意差がみられなかったが、セレンの胆汁排泄に伴って、GSSG の胆汁排泄がその他の群と比較して有意に上昇していた。肝臓中のヒ素濃度に有意差はないものの、亜セレン酸との同時投与で低下しており、またセレンの肝臓中濃度は DPAA との同時投与で有意に低下していたことから、相互的に肝臓への蓄積を軽減している可能性が推定された。全血中のヒ素濃度は、亜セレン酸の同時投与によってほとんど影響がみられなかったが、セレンの全血中濃度は SD ラットにおいて、DPAA との同時投与で有意に上昇していた。以上のように、DPAA と亜セレン酸の単独投与と比較し、同時投与で胆汁への排泄や、体内分布が変化したことから、DPAA と亜セレン酸の相互作用が推定された。

Effect of selenium on multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2/ cMOAT) -dependent and -independent biliary excretion of diphenylarsinic acid in rats.

○Yayoi Kobayashi, Seishiro Hirano  
National Institute for Environmental Studies

It has been reported that in diphenylarsinic acid (DPAA)-administered rats, DPAA-GSH complex is the major arsenic metabolite in bile. The effects of selenium on tissue distribution and biliary excretion of arsenic were investigated after co-administration of selenite and DPAA in rats. Selenite significantly reduced the biliary excretion of arsenic. On the other hand, DPAA significantly increased the biliary excretion of selenium in 30 min after the administration and then significantly reduced the biliary excretion. The interaction of selenite and DPAA was suggested in this study.

## 亜ヒ酸による PML の SUMO 化は ARE の活性化を介さない

○平野靖史郎・小林弥生・渡辺喬之・但野美保子  
独立行政法人 国立環境研究所

### 1. はじめに

亜ヒ酸を曝露した細胞において、核内タンパク質である PML (Promyelocytic leukemia) に、small ubiquitin-like modifier が結合すること (SUMO 化) が知られている。遺伝子転座により、レチノイン酸レセプターと PML の融合タンパク質 (PML-RARA) が生じることが原因で発症する急性前骨髄性白血病 (APL) は、亜ヒ酸の投与よりその多くが治癒しうるが、これは PML がまず SUMO 化され、その後 PML-RARA が Ubiquitin-Proteasome 系により分解を受けるためであると考えられている。これらの効果は、亜ヒ酸が PML の RING finger と呼ばれるシステインに富むドメインに結合することにより現れるものと推測されるが、亜ヒ酸を曝露した細胞における酸化ストレスが原因となる可能性も指摘されている。本研究では、PML を強制発現させた細胞、antioxidant responsive element (ARE) 作動性ルシフェラーゼ遺伝子を安定的に発現させた細胞を用いて、亜ヒ酸による PML の SUMO 化と ARE の活性化との関係について調べた。

### 2. 方法

HEK293 と CHO-K1 細胞に、リポフェクタミン (LTX) を用いて PML (transcript variant 5) を遺伝子導入した後、G418 耐性細胞を選択することにより PML 安定発現株を得た (以下 HEK-PML、CHO-PML とする)。細胞における PML と SUMO の発現量は、氷冷した RIPA で細胞を処理し、ライゼートを RIPA 可溶性画分と不溶性画分に分けた後、ウェスタンブロット法を用いて調べた。亜ヒ酸を曝露した細胞における RIAP 可溶・不溶性画分のヒ素含有量を、それぞれ湿式灰化した後、ICP-MS を用いて測定した。また、亜ヒ酸に曝露した細胞を固定後、0.1% の Triton X-100 で処理し、抗 PML 抗体と Alexa594-conjugated anti-mouse IgG を反応させた後、Alexa488-conjugated anti-SUMO2/3 で蛍光二重染色し、さらに核を DAPI で対比染色した。一方、antioxidant responsive element をルシフェラーゼの上流域に持つ pGL4.37 luc2P/ARE/Hygro を CHO-K1 に遺伝子導入し、Hygromycin B で耐性株を選択して安定細胞株 (CHO-ARE) を得た。CHO-ARE 細胞を亜ヒ酸に曝露した後、ARE の活性をレポーター遺伝子アッセイ法により調べた。

### 3. 結果

亜ヒ酸に曝露した細胞において、PML は極めて特徴のある変化を示した。曝露 2 時間後には RIPA 可溶性画分 PML がほぼ消失し、SUMO 化を受けるとともに RIPA 不溶性画

分へと移行した。また、この PML の変化は、0.1 $\mu$ M (7.5 ppb) という極めて低い亜ヒ酸の曝露によっても起こることが確認された。一方、亜ヒ酸を曝露した CHO-ARE における ARE の活性化は、亜ヒ酸曝露 4 時間後から起こり、また 1 $\mu$ M 以上の濃度から観察されるにとどまった。これらのことから、PML の SUMO 化には、ARE の活性化は必要ないことが示唆された。蛍光免疫染色の結果より、PML と SUMO は核質(Nucleosome)全体に存在するが、亜ヒ酸の曝露により PML が核内の小体 (Nuclear body) 限局的に強く染まり、SUMO もこの PML 小体内に存在することが確認された。PML を発現していない HEK293 や CHO-K1 と、PML を遺伝子導入した HEK-PML あるいは CHO-PML 細胞間では、細胞のヒ素濃度に違いがなかったことより、今回の実験における PML の発現量は、細胞内のヒ素の蓄積に影響を及ぼす程度ではないことが分かった。

#### **4. 考察**

PML にはシステインに富む RING finger ドメインが存在する。RING のシステインに富む領域の一部の配列を除去した deletion mutant では、SUMO 化をはじめとした亜ヒ酸による PML の変化が見られない (今回の発表データには含まれない)。亜ヒ酸を曝露した細胞における、PML の SUMO 化は、ARE の活性化の前に起こっていたこと、より低い亜ヒ酸濃度により起こっていたことより、ARE の活性化が直接 PML の SUMO 化を起こしているとは考えにくい。以上のことより、ヒ素は RING finger のシステイン残基に直接作用し、SUMO 化を誘導するのではないかと考えられる。また、本研究に用いた PML transcript variant 5 は分子内に SIM (SUMO-interacting motif) を持っていないので、SUMO 化した PML が、SIM 配列を持つ他の核タンパク質と結合することにより、RIPA 不溶性の複合体を形成し特徴ある PML 小体を形成するのではないかと考えられる。

#### **SUMOylation of PML induced by arsenite is independent of activation of ARE.**

○Seishiro Hirano, Yayoi Kobayashi, Takayuki Watanabe, and Mihoko Tadano  
National Institute for Environmental Studies

Promyelocytic leukemia (PML) transcript variant 5 was stably transfected into HEK293 and CHO-K1 cells (HEK-PML and CHO-PML). In a separate experiment CHO cells that were stably transfected with an antioxidant response element (ARE) - driven luciferase reporter gene (CHO-ARE). Those cells were exposed to arsenite and time-course and dose-dependent changes in SUMOylation of PML was compared to those of ARE activation. The SUMOylation of PML occurred faster and at lower concentration than ARE activation in response to exposure to arsenite, suggesting that SUMOylation of PML is not a consequence of ARE activation. However, cellular accumulations and distribution of arsenic in those cells were not affected by the overexpression of PML in the current study.

好熱好酸性 鉄硫黄酸化古細菌 *Acidianus brierleyi* を利用した

## ヒ素(As)酸化不動化に関する研究

○森下志織、古賀雅晴、沖部奈緒子、笹木圭子、平島剛

九大院・工・地球資源システム工学

## 1. はじめに

銅製錬プロセスにおいて高濃度ヒ素 (As) を含む製錬廃液の処理が課題としてある。電解液中に存在する As(III)は、電気銅品位に影響を及ぼし、なおかつ生体に対する毒性が高いため、系内より As(III)を安定的に回収する技術の確立が急務である。本研究では、Fe(II) および As(III)をそれぞれ数千 ppm 含み、pH 1.0-2.0、温度 60-70°C とする銅製錬実廃液からの As(III)の処理が課題であり、この条件にて生育可能と考えられた好熱好酸性鉄硫黄酸化古細菌 *Acidianus brierleyi* に注目し、その As(III)耐性株を利用することで、As(III)を酸化・不動化することを目的とした。

## 2. 実験方法

500mL 三角フラスコに、9K 基本培地 (g/L;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ : 3.0, KCl: 0.1,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ : 0.5,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ : 0.5,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ : 0.01, pH1.5) の 10 倍濃縮溶液を 20 mL、Fe(II)濃度 9.0-36.0 mM、As(III)濃度 6.5, 13.0 mM となるように添加し、全量を 200 mL とした (pH 1.5  $\text{H}_2\text{SO}_4$ )。Yeast extract を用いる場合は 0.01(w/v)% を培地に添加した。植菌培地には *Ac. brierleyi* を初期細胞密度  $1.0 \times 10^7$  及び  $1.0 \times 10^8$  cells/ml にて植菌し、100 rpm、70°C の条件で振盪実験を行なった。定期的にサンプリングを行ない、pH、Eh、細胞密度、Fe(II)/Fe 濃度、As(III)/As 濃度の測定を行なった。固体残渣は XRD、SEM、EPMA、Raman spectroscopy を用いて分析した。

## 3. 実験結果・考察

Fe(II)を含まない培地では、*Ac. brierleyi* による微生物学的な As(III)酸化反応が確認され、特に yeast extract の添加によってその効果が顕著に現れた。また、Fe(II)及び yeast extract 含有培地では、*Ac. brierleyi* によって酸化された Fe(III)の還元反応と As(III)の酸化反応がカップリングすることで As(III)の酸化は更に加速された。一方で、Fe(II)の代わりに Fe(III)を含む無菌対照実験では、Fe(III)の還元反応と As(III)の酸化反応とのカップリングが起こらなかったことから、*Ac. brierleyi* の細胞表面における EPS (細胞外多糖)内に蓄積された Fe(III)を介して、前記のカップリングが進行したと考えられる。As(V)は Fe(III)との共沈反応を生じるが、初期ヒ鉄モル比  $\text{Fe(II)/As(III)} = 1.4$  では、As は scorodite ( $\text{FeAsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )として析出した。この初期ヒ鉄モル比を固定したまま、より実廃液に近い 18.0 mM Fe(II), 13.0 mM As(III)という条件で As(III)の酸化・不動化実験を試みた結果、8 日間で約 95%の As を不動化できた。Scorodite はその熱力学的安定性、高密度性、低い鉄要求性の面から廃棄に際して理想的な不動化形態であると言える。

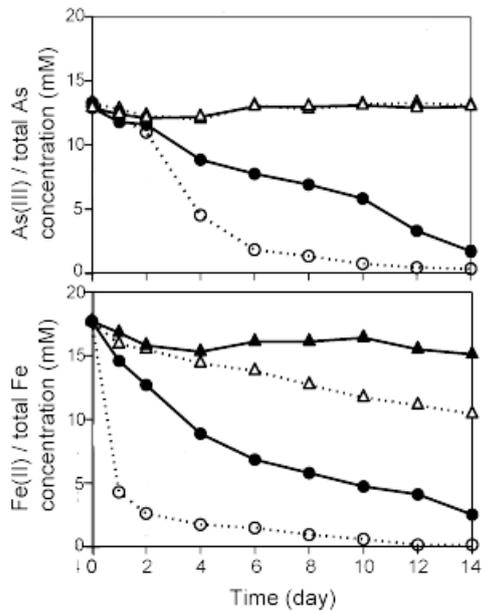


Fig.1 Changes in concentrations of As(III) and Fe(II)(●,▲)/total As and Fe (○,△) in *Ac. brierleyi* cultures (●,▲) and sterile control cultures (○, △). The initial culture conditions were  $[As(III)]_{ini} = 13.0$  mM,  $[Fe(II)]_{ini} = 18.0$  mM.

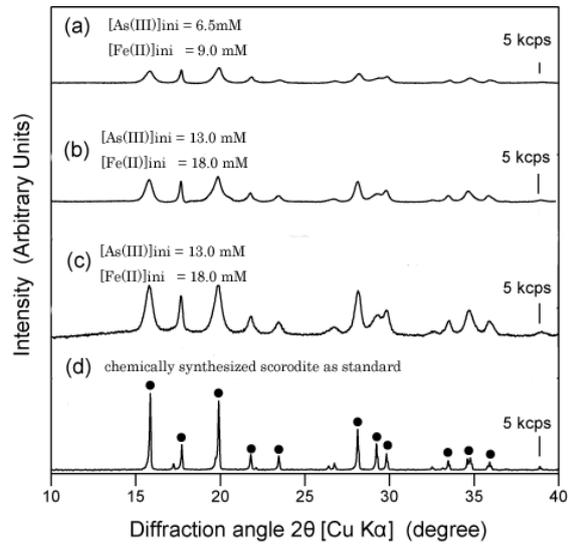


Fig.2 XRD patterns of the secondary minerals formed in *Ac. brierleyi* cultures. Initial culture conditions were: (a), (b)  $1.0 \times 10^7$  cells/ml, 0.01% (w/v) yeast extract; (c)  $1.0 \times 10^8$  cells/ml, 0.01% (w/v) yeast extract. The symbol ● is assigned to scorodite (JCPDS 37-0468)

## Oxidation and immobilization of arsenite (As(III)) from copper refinery waste water using thermo-acidophilic iron-oxidizing archaeon, *Acidianus brierleyi*

○ Morishita S, Koga M, Okibe N, Sasaki K, Hirajima T

Department of Earth Resources Engineering, Faculty of Engineering,  
Kyushu University

Scorodite ( $FeAsO_4 \cdot 2H_2O$ ) is a thermodynamically stable mineral with advantages as an arsenic disposal compound. With an aim to immobilize highly toxic As(III) contained in the copper refinery process solution, eventually in the form of scorodite, the use of thermo-acidophilic iron-oxidizing archaeon, *Acidianus brierleyi*, was investigated. The extent of As(III) oxidation by *Ac. brierleyi* became greater at elevated culture As(III) concentrations, especially in the presence of yeast extract. Microbial growth on yeast extract was also implied to facilitate As(III) oxidation by Fe(III) on cell surface. When the initial Fe(II)/As(III) ratio was set at 1.4 in the presence of yeast extract, both ions were readily oxidized and 95% of As was precipitated as crystalline scorodite. The molar ratio of microbially-oxidized Fe(II) and As(III) was an important factor to determine the type of the secondary mineral formed. This study demonstrates, for the first time, the applicability of an one-step bioprocess which crystallizes scorodite from an As(III)-bearing copper refinery process solution.

## カルシウム/マグネシウム系複合材料のヒ素等の吸着と保持性

○伊藤 健一<sup>1</sup>, 國西 健史<sup>2</sup>, 板谷 裕輝<sup>2</sup>, 鈴木 勝<sup>3</sup>

<sup>1</sup>宮崎大学 国際連携センター、<sup>2</sup>住友大阪セメント(株)、<sup>3</sup>(株)中研コンサルタント

## 1 はじめに

土壤汚染対策では、8~9割が掘削除去される傾向にあり、所管する環境省では対策コスト低減、汚染土壤の拡散抑制などの観点から原位置処理を推進している。重金属類に対しては、重金属類を保持する材料を汚染土壤に混合することで重金属類の地下水への溶出・拡散を抑制する不溶化処理が、法的に示された代表的かつ合理的な対策技術である。しかし、処理後も土壤中に重金属類が残ること、不溶化材料に明確な基準や長期的安定性の評価方法、施工マニュアルなどが無いことから、その有効性と安全性に対する認知と安心が得られずに普及が進まない。不溶化が安心できる対策技術として普及するためには、材料や施工などに関するルールが必要であり、そのためには不溶化材料の効果や作用機構の明確化、長期的な効果・安全性の評価に関する知見の集積が重要である。そこで、近年の不溶化材料に代表的なCaやMgを使用した不溶化材料の一つを例として、重金属類処理後の材料中での重金属類の分配と作用機構の推定による不溶化効果の安定性について検討を行った。

## 2 材料・試験方法

材料には、CaとMgが主体の無機Ca/Mg系複合材料(住友大阪セメント(株)製マジカルフィックス(MFX)、以下Ca/Mg材料)を用いた。重金属類は土壤汚染で頻度の高いAs、F、Pbを対象とした。Na<sub>2</sub>HAsO<sub>4</sub>・7H<sub>2</sub>O、PbCl<sub>2</sub>、NaFの各水溶液とCa/Mg材料を液固比100:1で24時間、200rpmで振とうしてCa/Mg材料にAs、F、Pbをそれぞれ吸着させた。各重金属類の濃度は、AsとFは50mmol/Lの水溶液とし、Pbは溶液中で析出しやすいことから、HClとNaOHでpH約5に調整して溶解後、0.45μmのメンブレンフィルターでろ過して析出分を除去した飽和鉛水溶液を用いた。処理後、0.45μmのメンブレンフィルターで固液分離し、液相と凍結乾燥した固相を回収した。液相は各金属類を測定して吸着量を求めた。Ca/Mg材料と各重金属類を吸着した固相については、逐次抽出分析と抽出残渣のXRDおよびSEM/EDS分析により、Ca/Mg材料中の各重金属類の分配、および鉱物組成と元素分布を分析・観察し、その存在状態を推察した。抽出画分は、STEP1:水溶性画分(溶媒:イオン交換水)、STEP2:イオン交換態画分(1.0mol/L MgCl<sub>2</sub>溶液)、STEP3:炭酸塩態画分(0.11mol/L CH<sub>3</sub>COOH溶液)の3段階を行った。

## 3 結果と考察

吸着処理による各重金属の除去率と吸着量はそれぞれAs:34.4%・129 mg/g、F:

63.5%・58.8 mg/g、Pb : 100%・3.81 mg/g であり、処理後の pH は 10~11.8 を示した。逐次抽出では、STEP1 の水溶性画分への分配は 3 種とも収着量全体の約 2%以下と小さく、不溶化材料としての雨水や土壌浸透水、地下水への拡散を抑制する基本的な効果が確認された。STEP2 のイオン交換態画分では F、STEP3 の炭酸塩態画分では As と Pb についてそれぞれ 20~27%程度の分配が確認された。また、STEP3 で数%(w/w)の残渣を残して各試料はほぼ溶解し、Ca/Mg 材料が炭酸塩鉱物を主とすることが示唆された。一方、各重金属類の約 70%以上は STEP3 後の微量の残渣に比較的難溶性の形態で分配することが示唆された。XRD 分析の結果、Ca/Mg 材料では Ca と Si の化合物と高い As 吸着と安定性で知られる鉱物シュベルトマナイト ( $\text{Fe}_8\text{O}_8(\text{OH})_6\text{SO}_4 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ) が得られた。As はこのシュベルトマナイトへ吸着されていると考えられた。F 収着後は鉱物フルオライト ( $\text{CaF}_2$ ) の存在が確認され、F が  $\text{CaF}_2$  で存在することが示唆された。Pb 収着後は Ca と Si の化合物と Mg の化合物が観察された。SEM/EDS の結果、XRD 結果を裏付けるように、As は Fe と近い分布を、F は明らかに Ca と重なる分布を示した。また Pb は Fe、S と近い分布を示し、鉄鉱物に分配される可能性が推察された。

## 5 まとめ

本検討から、Ca/Mg 材料は Fe や S を微量に含む Ca と Mg 主体の炭酸塩であり、収着された重金属類は、20~27%が比較的可溶性のイオン交換態や炭酸塩態で存在するが、収着したうちの約 70%以上が、As では含有するシュベルトマナイトへの吸着、F ではフルオライトの形成、Pb ではシュベルトマナイトや非晶質鉄鉱物等の Fe 酸化物への分配により、安定的に存在すると考えられる。

### カルシウム/マグネシウム系複合材料のヒ素等の吸着と保持性

#### Sorption and Stability of Ca/Mg Compounded Material for Arsenic, Fluorine and Lead

○Kenichi Ito<sup>1</sup>, Kenji Kuninishi<sup>2</sup>, Yuki Itaya<sup>2</sup>, Masaru Suzuki<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Center for International Relations, University of Miyazaki, <sup>2</sup>Sumitomo Osaka Cement Co., Ltd., <sup>3</sup>Chuken Consultant Co., Ltd.

As for on-site countermeasure for heavy metals, the immobilization is one of the most reasonable treatments according to related guidelines. The implementation is less than excavation and removal with risk of a secondary pollution and increase of waste by reason of insufficient scientific basis. Consequently, the stability of As, F and Pb adsorbed in Ca/Mg compounded material were verified by a sequential extraction method and mineralogical analysis such as XRD and SEM/EDS as a case study for the scientific basis in order to a progress of immobilization.

## 黄鉄鉱の結晶形態によるヒ素含有量の違い —白亜紀の海成層を例として—

○須藤 宏・宮口新治・肝付秀隆・細田 宏・黒木瑞昭・大山洋一・島田允堯  
応用地質株式会社

### はじめに

地下水・土壌汚染による環境問題では、自然由来重金属等のうちで特にヒ素 (As) が検出される事例が極めて多い。As の起源としては、鉱化変質帯からなる地質の場合には硫ヒ鉄鉱 ( $\text{FeAsS}$ , 46wt%As) などの As 鉱物が特定されるが、わが国に広く分布する‘海成層’ (海底に堆積後、埋没して固結した地層) の場合は簡単ではない。一般に地層中では、As は吸着態または硫化物態として存在し、前者は主にゲーサイト ( $\text{FeOOH}$ ) に吸着し、後者は黄鉄鉱 ( $\text{FeS}_2$ ) の S の一部を置換して存在すると考えられてきた。そのため、従来から新鮮な岩石中に黄鉄鉱が認められると、それらが As の溶出源と見なされ、一律に As 溶出防止のための対策を行う傾向があった (島田, 2009)。

演者らは、中生代白亜紀の海成層である四万十累層群に含まれる黄鉄鉱について電子プローブマイクロアナライザ (EPMA) による定性・定量分析を行った結果、黄鉄鉱中の As 含有量と結晶形態との間に興味ある関係を認めたので、ここに報告する。

### 方 法

分析した試料 (岩石) は、九州・沖縄地方および関東地方に分布する四万十累層群中の泥岩 (頁岩 (けつがん) も含む) および粘板岩である。サンプル数は 10 個、分析を行った黄鉄鉱の研磨片は 27 個、この研磨片からの EPMA 分析点数は計 119 点である。

EPMA 分析は、日本電子製 JCXA-733 型および JXA-8530F 型を用いて行い、定量分析は照射電子線径 1~3  $\mu\text{m}$ 、測定時間 1 点につき 120 秒で行った。

### 結果および考察

- ① 試料中の黄鉄鉱は、正六面体または正八面体状等の多角形状をなし肉眼でも金属光沢が確認できる程の大きさ (数十~数百  $\mu\text{m}$  径) の塊状型と、顕微鏡下でしか認められない微細球状 (20 $\mu\text{m}$  径程度以下) を示すフランボイダル型とがある (図-1)。
- ② 黄鉄鉱中のヒ素含有量： 塊状型は  $0.02 \pm 0.04 \text{ wt}\%$  ( $n=54$ )、最大値 0.17 wt% を示したが、フランボイダル型は  $0.10 \pm 0.11 \text{ wt}\%$  ( $n=65$ )、最大値 0.53 wt% で、後者の方が明らかに高く、結晶形態によって As 含有量に明瞭な違いを示した (図-2)。
- ③ 海成層の泥岩はフランボイダル型の黄鉄鉱を特徴的に含むのに対し、それが変成作用を受けて粘板岩化したものは、フランボイダル型が消失し塊状型だけのものが多い。
- ④ 海成層が堆積後に次第に埋没し、地下深所に達して温度・圧力が上昇する変成作用などを受けると、含まれていた黄鉄鉱 (フランボイダル型) は再結晶し、As をほとんど含まない均質で純粋な化学組成 ( $\text{FeS}_2$ ) を示す塊状型に変化すると考えられる。
- ⑤ その過程で、S の一部を置換していた As は系外に出て、別の硫化物相 (輝コバルト鉱,  $\text{CoAsS}$ ) などを形成するが、超微細粒子で量も黄鉄鉱に比べてはるかに少ない。

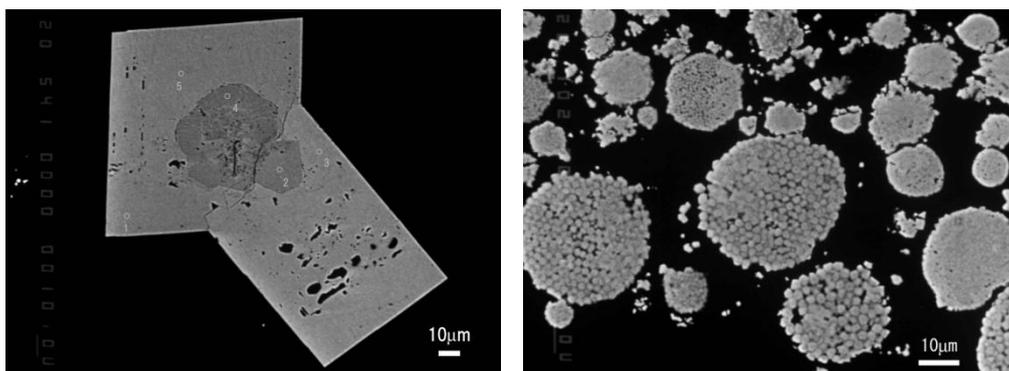


図-1. 黄鉄鉱の EPMA 組成像 (BSE 像) . 左) 塊状型, 右) フランボイダル型

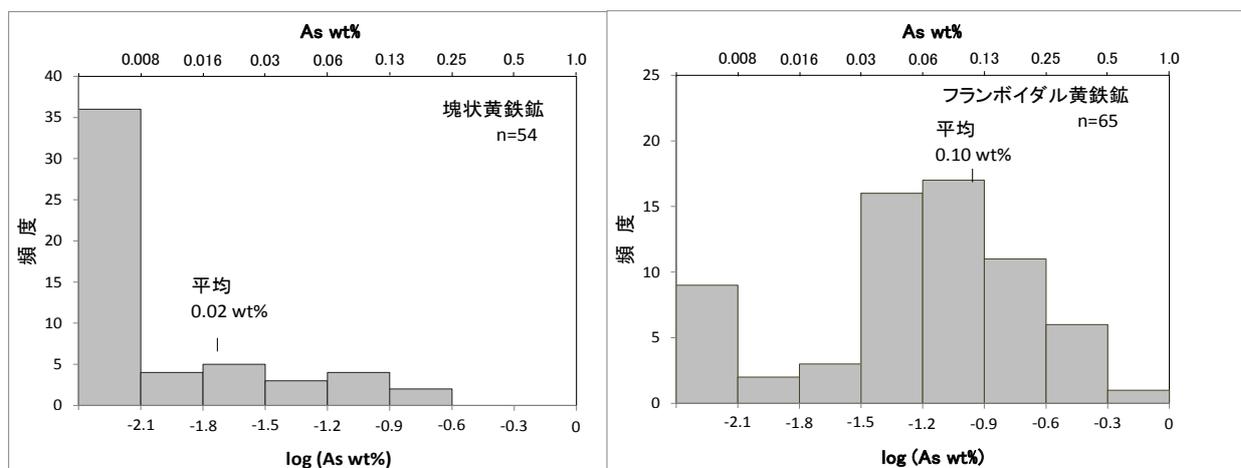


図-2 黄鉄鉱の結晶形態別 As 含有量ヒストグラム (須藤ほか, 2012)

引用文献 島田允堯 (2009) 応用地質技術年報, No. 29, 31-59. 須藤 宏ほか(2012) 日本地質学会第 119 回学術大会講演要旨, 160.

### Difference of Arsenic(As) Contents in Pyrite by the Crystal Forms — As an Example of Cretaceous Marine Sedimentary Rocks —

○Hiroshi SUDO, Shinji MIYAGUCHI, Hidetaka KIMOTSUKI, Hiroshi HOSODA,  
Mizuaki KUROKI, Youichi OYAMA and Nobutaka SHIMADA  
OYO Corporation

Marine sedimentary rocks were collected from the Shimanto Supergroup, distributed in Kyushu-Okinawa and Kanto districts. These rocks usually contain pyrite grains which are classified into massive- and framboidal-type. EPMA analyses indicate that the As content of framboidal-type found essentially in mudstone takes the value of  $0.10 \pm 0.11 \text{ wt\%}$  ( $n=54$ ), while that of massive-type in slate  $0.02 \pm 0.04 \text{ wt\%}$  ( $n=65$ ). The difference of As contents in pyrite by the crystal forms is considered due to the recrystallization of framboidal- to massive-type.

## イネ根圏微生物が生産する新規ヒ素化合物の同定

○倉俣正人<sup>1</sup>、片岡良太<sup>2</sup>、山崎健一<sup>1</sup>、榊原風太<sup>1</sup>、馬場浩司<sup>1</sup>、石坂真澄<sup>1</sup>、安部匡<sup>1</sup>、  
高木和広<sup>1</sup>、加茂綱嗣<sup>1</sup>、平舘俊太郎<sup>1</sup>、石川覚<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>農環研、<sup>2</sup>山梨大

## 1. はじめに

コメに蓄積するヒ素は無機ヒ素だけでなくメチル化されたヒ素の一種であるジメチルアルシン酸 (DMA) も存在する。イネによる無機ヒ素のメチル化に関しては未だ解明されていないが、近年土壌微生物によってメチル化されたヒ素をイネが直接吸収している可能性が高いことが示唆されている。そこで微生物によるヒ素代謝に注目し、イネ根圏でヒ素をメチル化する細菌の分離と同定を試みた。前回の発表では、イネ根圏に無機ヒ素をメチル化する細菌だけでなく、新規の有機ヒ素化合物 (uAs1 と仮称) を合成する細菌の存在も明らかにした。今回はその uAs1 の化学構造の同定、ならびにイネや微生物に対する影響について調査を行った。

## 2. 方法

イネ根圏から分離した無機ヒ素を新規の有機ヒ素化合物に変換する細菌、*Burkholderia gladioli* GSRB05 株を、亜ヒ酸を含む R2A 培地で大量培養し、その菌体を含む培養液から uAs1 の精製を行った。uAs1 の精製にはイオン交換およびゲル濾過クロマトグラフィーを用いた。精製した uAs1 の化学構造を明らかにするため <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C-NMR およびそれらの二次元 NMR 解析を行った。また、イネによる uAs1 の吸収とヒ素感受性大腸菌を用いた毒性試験を行った。ヒ素の化学形態別分析では逆相イオンペアクロマトグラフィーによる HPLC-ICP-MS で分析した。

## 3. 結果と考察

高分解能 LC/MS/MS によって分子式が C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>NAs と同定された uAs1 は、NMR 解析の結果からモノメチルヒ素の部分構造を持つアミノ酸誘導体であることが分かった。本化合物の構造は、除草剤であるピアラフォスの構成成分であるホスフィノスリシン (PPT) と非常に類似する構造であったことから、アルシノスリシン (AST) と命名した。また、それら構造の類似性から AST の合成経路は PPT のものと類似する可能性が考えられる。

イネおよびヒ素感受性大腸菌による AST の吸収を調べたところ、どちらにもほとんど吸収され無いたことが分かった。しかし、同様に分離した *arthrobacter* 属の細菌が AST を分解することから、AST はイネには吸収されず、土壌微生物群集内で循環する 1 つ化学形態であることが示唆される。今後は生合成経路および AST の毒性を明らかにするた

め、合成遺伝子の単離と機能解析を行う予定である。

## **Identification of a novel arsenic compound produced by a rhizobacterium isolated from the rice root**

Masato Kuramata<sup>1</sup>, Ryota Kataoka<sup>2</sup>, Kenichi Yamazaki<sup>1</sup>, Futa Sakakibara<sup>1</sup>, Koji Baba<sup>1</sup>, Masumi Ishizaka<sup>1</sup>, Tadashi Abe<sup>1</sup>, Kazuhiro Takagi<sup>1</sup>, Shuntaro Hiradate<sup>1</sup>, Tsunashi Kamo<sup>1</sup> and Satoru Ishikawa<sup>1</sup>

<sup>1</sup> National Institute for Agro-Environmental Sciences

<sup>2</sup> University of Yamanashi

Arsenic (As) chemical form in rice grain contains not only inorganic As (iAs) but also dimethylarsinic acid (DMA), which is one of methylated arsenicals. Although the source of DMA accumulated in rice grains has not yet been clear, recent studies have indicated that rice plants can directly absorb DMA produced by soil bacteria. Therefore, we investigated the existence of bacteria involving in As methylation in the rice rhizosphere. In our previous study, we showed two types of bacteria: the one producing DMA from iAs and the other producing a novel organoarsenic compound (temporary referred as 'uAs1'). Here we characterized the chemical structure and effects of uAs1 on rice plants or other bacteria.

uAs1 was purified from the As containing culture (R2A) of *Burkholderia gladioli* strain GSRB05 by ion-exchange and size-exclusion chromatography methods. Using HR-LC/MS/MS, we determined that the molecular formula of uAs1 is a C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>NAs. Moreover, the analysis of <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C-NMR and 2D-NMR elucidated that the chemical structure of uAs1 is amino acid derivative with a monomethylated As partial structure. So, uAs1 was named as 'Arsinothricin' (AST) because of the high similarity with the structure of phosphinothricin (PPT) which is a residue of bialaphos that is well-known as a herbicide. On the basis of their structural similarity, it is possible that the biosynthesis pathway of AST may be similar to that of PPT.

A uptake experiment showed that a little amount of AST was absorbed by rice plant or As-sensitive *E. coli* strain. We separated a bacterium belonging to *Arthrobacter* sp. by which AST was degraded. Thus, AST is a chemical form that could be metabolized in rhizobacterial communities. Isolation and functional analysis of AST biosynthesis genes are necessary to elucidate the biosynthesis pathways and its cytotoxicity in further investigation.

## 2-5

# 土壤中のヒ素の溶出に関与する微生物の分離と同定—バングラデシュのヒ素汚染地において

○松元 賢<sup>1</sup>、ムハマド シャミム ウディン<sup>1</sup>、黒澤 靖<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九州大学熱帯農学研究センター

### 1 緒言

ヒ素化合物の変換と微生物の関与について、亜ヒ酸を酸化する亜ヒ酸酸化菌およびヒ酸を還元するヒ酸還元菌の働きにより、ヒ素を遊離することが知られている。Uddin and Kurosawa (2011) は、バングラデシュのヒ素汚染土壌からピート土壌を採取し、化学肥料を土壌に投入後、一定の時間が経過すると、アンモニア性窒素の増加とともにヒ素が溶出される現象を発見し、化学肥料の成分のうち窒素が微生物の活性を高め、土壌の還元化による高濃度アンモニアの増加とヒ素の溶出に微生物学的な関連性があることを示唆した。

そこで、バングラデシュのヒ素汚染土壌で表土とピート土壌を採取し、これらに含まれる窒素を利用している土壌微生物について分離と同定を行ない、これらの微生物とヒ素の溶出との関連性について考察した。

### 2 材料および方法

実験に供試した土壌は、2010年にバングラデシュのヒ素汚染地帯（ジョジョール県）の地下ボーリングにより採取した。そして、表土と約10メートルのピート層を含む土壌をサンプリングした。土壌微生物の分離は、5グラムの土壌に45mlの蒸留水を加え懸濁した溶液を作成し、10倍および100倍の希釈液を段階的に作成した。次に各希釈液5mlを窒素利用微生物の分離培地45mlの中に入れ、振とう培養により1ヶ月間培養した後、炭酸カルシウムを含まない分離培地上で培養した。培地から生育したコロニーを単離し、コロニーの形態観察および16SリボソームDNAの塩基配列による微生物同定を行った。

### 3 結果及び考察

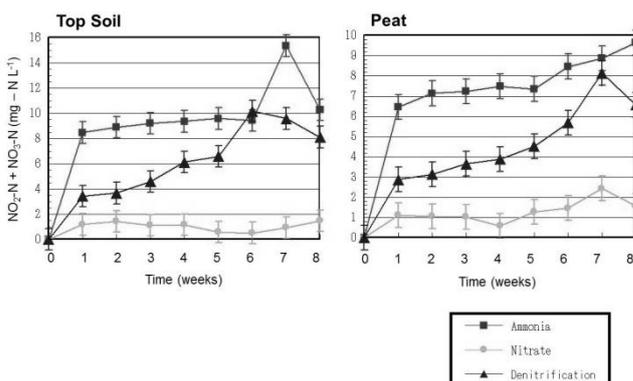


Fig. 1. Accumulation of soluble nitrogen in top soil and peat in Bangladesh

まず、各種窒素利用微生物を培養した培養液中の硝酸態窒素の濃度について測定した結果を示す。表土およびピート土壌いずれの土壌からも、このように微生物の活性を示す硝酸態窒素が検出され、培養時間とともに一定の増加傾向を示した (Fig. 1.)。

特に、アンモニア酸化培地、脱窒菌培地では硝酸態窒素の濃度が増加しているのに対して、亜硝酸酸化培地では、硝酸態窒素の増加は比較的低い傾向を示した。

次に、表土およびピート土壌から各種窒素利用微生物の菌数を測定した結果について述べる。いずれの土壌からも培養日数の経過とともに、菌が増殖している傾向が認められた (Fig. 2.)。特に、アンモニア酸化培地の菌の増殖は顕著であり、表土よりピート土壌の方が増殖している傾向を示した。

さらにこれらの菌種を同定するために、コロニーの形態観察と 16S リボソーム DNA の塩基配列解析を行った結果、アンモニア酸化細菌 2 種、(*Nitrosomonas europaea* and *Nitrosovibrio tenuis*) および、脱窒菌 2 種 (*Pseudomonas aeruginosa* and *P. denitrificans*) を同定することができた (Fig. 3.)。また、DGGE による電気泳動では、その他のアンモニア酸化菌および脱窒菌の関与が示唆されたが、本研究では菌種の同定には至らなかった。

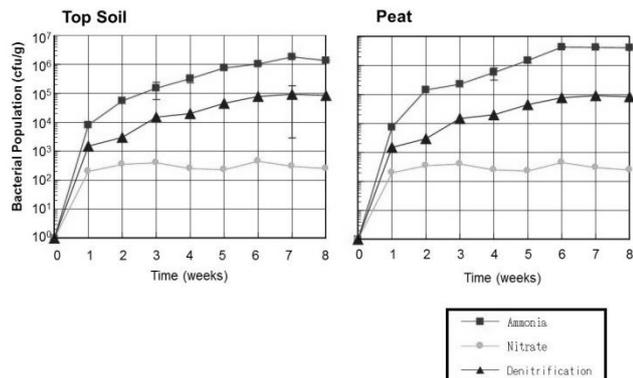


Fig. 2. Bacterial populations of nitrogen available bacteria from top soil and peat in Bangladesh

今回同定できた土壌細菌はいずれの菌種も嫌気性細菌で従属栄養の細菌であることが明らかとなった。これらの菌種は、表土およびピート土壌から共通に分離され、数・密度ともに検出頻度が極めて高い傾向にあった。本実験で同定した菌と有機物の分解微生物との関連性については明らかになっていないが、アンモニア性窒素を利用している二次的な従属栄養細菌である可能性が示唆された。

今後は、亜硝酸酸化細菌やヒ素還元細菌などとの関連性について明らかにし、ヒ素溶出の微生物的な作用機構について明らかにしていく予定である。

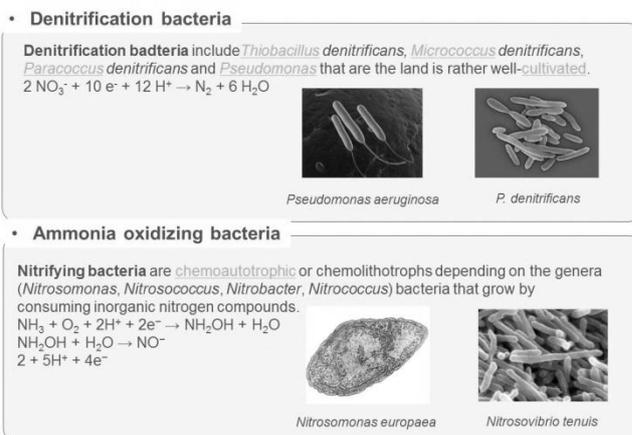


Fig. 3. Characters of ammonia oxidizing bacteria and denitrification bacteria from top soil and peat in Bangladesh

### Isolation and identification of microorganisms on the release of arsenic in soils. - A case study in an arsenic-contaminated area in Bangladesh.-

○Masaru Matsumoto<sup>1</sup>, Shamim Uddin<sup>1</sup>, Kiyoshi Kurosawa<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Institute of Tropical Agriculture, Kyushu University

Nitrogen available microorganisms in the peat sediments of an arsenic (As) contaminated area in Bangladesh was examined. As ligation mechanisms with correlation of microbiological function is unknown and scientifically unclear. For the first step, we failed to obtain an ammonia oxidizing and nitrite oxidizing bacteria, but could isolate only denitrification bacteria belonging to the strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas denitrificans*. Furthermore, we found the two species of ammonia oxidizing bacteria, belonging to the strains of *Nitrosomonas europaea* and *Nitrosovibrio tenuis*. These bacteria were isolated from As polluted soils of both top soil and peat. Our results revealed that these nitrogen available microorganisms were related to the activation of As release mechanisms at the microbiological levels.

## 伊吹山山頂で観測したガス状水銀と粒子状物質中のヒ素濃度の関係

### ー越境大気汚染を視野に入れた考察ー

○永淵修<sup>1</sup>、木下弾<sup>2</sup>、菱田尚子<sup>2</sup>、尾坂兼一<sup>1</sup>、中澤暦<sup>1</sup>

<sup>1</sup>滋賀県立大学 環境科学部環境生態学科、<sup>2</sup>滋賀県立大学大学院環境科学研究科

#### 1 はじめに

大気中の水銀は、95%以上はガス状の金属水銀として存在している。一方、ヒ素は粒子状物質に吸着して存在している。これら毒性のある金属元素の我が国への長距離越境輸送を捉えるためには山岳での調査が重要になる。しかし、日本では、高地や山岳における大気中金属元素のモニタリングデータは極めて少ない。そこで、本研究では大気境界層と自由大気境界の高度において、大気中水銀と粒子状物質中ヒ素をモニタリングし、大陸からの長距離輸送とその起源について検討した。

#### 2 方法

調査地点は、滋賀県と岐阜県の県境に位置する伊吹山（標高 1377m）の山頂付近（1348 m）である。伊吹山は、周辺に伊吹山より高い山は存在しない単独峰であり、大都市域からも離れている。さらに、若狭湾と伊勢湾を結ぶ最も狭い地域に位置しており、若狭湾からは北西の気塊、伊勢湾からは南東の気塊が流入しやすい地点となっている。山頂付近は、大気境界層と自由大気境界の境目にある。ここに、水銀アクティブサンプラーとマルチカスケードインパクターを設置した。観測は、2009年4月～2011年12月である。測定項目は、粒子状水銀とガス状金属水銀及び粒子状成分中の金属元素（Al, V, Cr, Mn, Ni, Zn, As, Se, Mo, Cd, In, Sb, Te, Pb）である。

#### 3 結果および考察

観測期間中のガス状水銀濃度は  $0.52 \text{ ng/m}^3 \sim 9.81 \text{ ng/m}^3 (1.87 \pm 0.52 \text{ ng/m}^3)$  で推移した。観測した期間では春季に高濃度が出現する確率が高かった。但し、冬季の伊吹山は積雪量が多く、山頂で観測することは困難であったので、上記の濃度の比較は春季から秋季の結果である。北半球の中緯度地域のガス状金属水銀のバックグラウンド値は  $1.2 \text{ ng/m}^3$  程度であり、伊吹山山頂での結果をみると、太平洋側からの気塊の時はバックグラウンド値前後で推移し、大陸からの気塊の時は、すべての場合ではないが、高濃度になるのは大陸からの気塊の時だけであった。この大陸から気塊が流入した時だけを抽出し、ガス状金属水銀と粒子状水銀と PM2.5 と PM10 中の金属元素の関係を検討した。

その結果、ガス状水銀と PM2.5 と PM10 に含まれる As、Te、In と強い相関が認められた。このことから伊吹山に長距離輸送されるガス状水銀、ヒ素は石炭燃焼起源であると推測された。他の金属元素では Zn、Cd、Pb も粒子中の濃度は高かったが、ガス状金属水銀との相関は弱かった。このことから Zn、Cd、Pb は、石炭燃焼以外の起源であることが推測された。

Relationship between Hg(0) and As in atmosphere observed  
at the summit of Mt. Ibuki

○Osamu Nagafuchi<sup>1</sup>, Hazumu Kinoshita<sup>2</sup>, Naoko Hishida<sup>2</sup>, Kenichi Osaka<sup>1</sup>, Koyomi Nakazawa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>School of Environmental Science, University of Shiga Prefecture,

<sup>2</sup>Environmental Science Graduate school, Graduate School of the University of Shiga Prefecture

More than 95 % of mercury exists as a gaseous form in the atmosphere. On the other hand As exist with particulate matter in the atmosphere. To study mountainous site to understand long range transport of these toxicological heavy metal is important. However, in Japan, the concentration of these heavy metals which is observed at mountainous site is very limited. In this study, we observed particulate matter and As concentration in the atmosphere. The study was conducted with altitude of atmospheric boundary layer and free atmosphere. Then, we discuss about the long range transport from Asian continent and its origin.

## ベトナム人における AS3MT 遺伝子の発現量と SNPs の関係

○阿草哲郎<sup>1</sup>, 國頭 恭<sup>2</sup>, Nguyen Minh Tue<sup>1</sup>, Vi Thi Mai Lan<sup>3</sup>, Tu Binh Minh<sup>4</sup>,  
Pham Thi Kim Trang<sup>3</sup>, 藤原純子<sup>5</sup>, 竹下治男<sup>5</sup>, 高橋 真<sup>1</sup>,  
Pham Hung Viet<sup>3</sup>, 田辺信介<sup>1</sup>, 岩田久人<sup>1</sup>

<sup>1</sup>愛媛大学沿岸環境科学研究センター, <sup>2</sup>信州大学理学部, <sup>3</sup>Hanoi University of Science,

<sup>4</sup>United Nations Industrial Development Organization, <sup>5</sup>島根大学医学部

## 1 はじめに

無機ヒ素による地下水汚染は世界各地で顕在化しており、地下水を飲用する地域住民に皮膚障害やがんなどの健康影響がみられている。一方、このような慢性ヒ素中毒の発症に個人差・集団差がみられており、その要因の1つとして、無機ヒ素の代謝能力の感受性差の関与が指摘されている。

生体内に取り込まれた無機ヒ素は、還元・メチル化され、主に尿から体外へ排泄される。これらの過程で、無機ヒ素のメチル化には arsenic (+3 oxidation state) methyltransferase (AS3MT) が重要な役割を果たす。また、AS3MT には遺伝子多型が数多く存在しており、そのうちのいくつかはメチル化活性に影響することが報告されている。このことから、ヒ素中毒の感受性には AS3MT の遺伝子多型が関与すると推察される。

我々は無機ヒ素代謝の遺伝的感受性差を明らかにするため、これまでにベトナムのヒ素汚染地域住民を対象に尿中ヒ素化合物を分析し、そのヒ素化合物組成から推定したヒ素代謝能力と AS3MT の一塩基多型 (SNPs) の関係について調査してきた。その結果、尿中ヒ素化合物組成と AS3MT のいくつかの SNPs で有意な相関関係が認められた。しかしながら、AS3MT 遺伝子の SNPs と発現量の関係については解析してこなかった。そこで本研究は、AS3MT 遺伝子の発現量と SNPs の関係について解析した。

## 2 方法

2006-2008 年、ベトナムの紅川流域から地下水と住民の尿・血液を採取した。地下水中の総ヒ素を ICP-MS で、尿中のヒ素化合物 (inorganic arsenic (IA; arsenate + arsenite)、monomethylarsonic acid (MMA)、dimethylarsinic acid (DMA)、arsenobetaine (AB)) を HPLC/ICP-MS で定量した。AS3MT の 18SNPs (AS3MT 03963、04602、04740、05913、06144、07395、08979、09749、12390、12590、14215、14458、27215、35587、35803、35991、37853、37950) は、血液から DNA を抽出した後、PCR/RFLP 法により判定した。血中 AS3MT mRNA の発現量は、total RNA を抽出した後、リアルタイム PCR により定

量した。

### 3 結果および考察

地下水中ヒ素濃度は $<0.1 - 502 \mu\text{g/L}$ であり、一部の地下水から WHO の飲料水の安全基準値 ( $10 \text{ g/L}$ ) を超える濃度のヒ素が検出された。飲用水中総ヒ素濃度とヒト尿中 DMA・MMA・IA 濃度の間に有意な正の相関関係がみられたことから、地下水を經由した地域住民のヒ素曝露が示唆された。

血中 AS3MT mRNA 発現量と尿中ヒ素化合物組成には有意な相関は認められなかった。しかしながら、AS3MT の SNPs 解析の結果、6 つの SNPs が血中 AS3MT mRNA 発現量と有意に関係することが示された。すなわち、AS3MT の 04740CC・07395AA・12590CC・35803TT・35991AA・37853AA は、各遺伝子型の中で最も低い AS3MT 発現量を示した。また、これらの SNPs のうち AS3MT07395・12590・35803・35991・37853 の結果は、以前に報告した尿中ヒ素化合物組成と AS3MT の SNPs で見られた関係と一致した。

#### Relationship between expression level and SNPs of AS3MT in Vietnamese

○Tetsuro Agusa<sup>1</sup>, Takashi Kunito<sup>2</sup>, Nguyen Minh Tue<sup>1</sup>, Vi Thi Mai Lan<sup>3</sup>, Tu Binh Minh<sup>4</sup>,  
Pham Thi Kim Trang<sup>3</sup>, Junko Fujihara<sup>5</sup>, Haruo Takeshita<sup>5</sup>, Shin Takahashi<sup>1</sup>, Pham Hung Viet<sup>3</sup>,  
Shinsuke Tanabe<sup>1</sup>, Hisato Iwata<sup>1</sup>

Center for Marine Environmental Studies, Ehime University<sup>1</sup>, Faculty of Science, Shinshu  
University<sup>2</sup>, Hanoi University of Science<sup>3</sup>, United Nations Industrial Development  
Organization<sup>4</sup>, Shimane University Faculty of Medicine<sup>5</sup>

To understand associations of mRNA expression level and 18 single nucleotides polymorphisms (SNPs) in arsenic [+3 oxidation state] methyltransferase (AS3MT), we investigated local residents from arsenic-contaminated areas of Vietnam. Total arsenic concentration in groundwater was in the range of  $<0.1 - 502 \mu\text{g/L}$ . Concentrations of dimethylarsinic acid, monomethylarsonic acid, and inorganic arsenic in human urine were positively correlated with total arsenic levels in the groundwater, suggesting that people in these areas may be exposed to arsenic through the groundwater. Analysis of 18 SNPs of AS3MT revealed that AS3MT 04740CC, 07395AA, 12590CC, 35803TT, 35991AA, and 37853AA genotypes showed significant reduction of blood AS3MT mRNA expression levels.

## ジフェニルアルシン酸の嫌気的変換への硫酸還元菌の関与

Guan Ling<sup>1,\*</sup>, 椎谷郁花<sup>2</sup>, 久富志穂子<sup>1</sup>, 中島真美<sup>3</sup>,  
藤井邦彦<sup>4</sup>, 野中昌法<sup>2</sup>, 〇原田直樹<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 新潟大学大学院自然科学研究科, <sup>2</sup> 新潟大学農学部, <sup>3</sup> 新潟大学機器分析センター  
<sup>4</sup> 新潟大学環境安全推進室, \* 現 新潟大学産学地域人材育成センター

## 1 はじめに

茨城県神栖町（現神栖市）においてジフェニルアルシン酸（DPAA）を原因物質とする土壌・地下水汚染並びに中毒事件が起きてから10年余が経過した。DPAAは遺棄化学兵器に多く含まれるCLARK I（ジフェニルクロロアルシン）やCLARK II（ジフェニルシアノアルシン）の合成原料であるとともに、これらの芳香族ヒ素化合物から環境中で容易に生成する代謝物でもある。本研究では、DPAAの環境中での挙動、特に土壌におけるDPAAの嫌気的変換に焦点をあて、土壌化学性の影響と硫酸還元菌の関与について検討したので報告する。

## 2 土壌化学性とDPAA変換

水田土壌2サンプル（グレイ土：中国チチハル及び新通土壌）及び畑地土壌2サンプル（モリソル：中国黒河土壌、砂丘未熟土：五十嵐土壌）を供試し、これらにDPAAを添加、湛水して嫌気条件としてDPAAの濃度変化を比較した。その結果、畑地土壌よりも水田土壌で速やかにDPAAが消失した。土壌EhとDPAA濃度の間には明確な関連はなかった。一方、DPAAの消失速度が最も遅かった五十嵐土壌に、硫酸根を炭素源とともに添加するとDPAAの変換が著しく促進されることが判明し、その変換生成物はジフェニルチオアルシン酸（DPTA）と推定された。この現象は、硫酸還元の特異的阻害剤であるモリブデン酸の添加により抑制された。以上の結果は、土壌の土着硫酸還元菌が嫌気条件下でのDPAA変換の一部を担っていることを示唆するものであった。

## 3. DPAA変換における硫酸還元菌の関与

次に硫酸還元条件におけるDPAA変換を担う嫌気性微生物の単離を限界希釈法と嫌気平板培養法を用いて試みた。その結果、DPAAをDPTAに変換可能な複合微生物系を複数獲得した。全ての複合微生物系には硫酸還元菌である*Desulfotomaculum acetoxidans*が含まれていることが分子生態学的方法によって明らかとなった。その一方で、同じ土壌培養液から得られたDPAAを変換できない複合微生物系からは、硫酸還元菌に特異的な機能遺伝子である亜硫酸還元酵素遺伝子*dsrAB*が検出されなかった。さらに*Desulfovibrio aerotolerans* JCM 12613<sup>T</sup>をDPAAを含む培地で生育させたとこ

ろ、複合微生物系同様に DPAA の消失と DPTA の生成が認められた。以上のことから、本研究で認められた DPAA から DPTA への嫌気的変換には *D. acetoxidans* や *D. aerotolerans* などの硫酸還元菌が関与していると考えられた。

## Participation of sulfate-reducing bacteria in anaerobic transformation of diphenylarsinic acid

Ling Guan<sup>1,\*</sup>, Ayaka Shiiya<sup>2</sup>, Shihoko Hisatomi<sup>1</sup>, Mami Nakajima<sup>3</sup>, Kunihiro Fujii<sup>4</sup>, Masanori Nonaka<sup>2</sup>, Naoki Harada<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Science and Technology, Niigata University

<sup>2</sup>Faculty of Agriculture, Niigata University

<sup>3</sup>Center for Instrumental Analysis, Niigata University

<sup>4</sup>Office for Environment and Safety, Niigata University

A decade after the arsenic poisoning incident due to illegally-dumped diphenylarsinic acid (DPAA) occurred in Kamisu, Ibaraki, has gone. DPAA is also known as a toxic intermediate metabolite of diphenylcyanoarsine and diphenylchloroarsine that were produced as chemical warfare agents and were buried in soil after the World Wars. In this study, we investigated the fate of DPAA in anaerobic soil cultures and found that, when exogenous sulfate was added together with a carbon source, transformation of DPAA was enhanced and diphenylthioarsinic acid (DPTA) was formed as a main metabolite. Four microbial consortia capable of transforming DPAA to DPTA were obtained. Sequencing for bacterial 16S rRNA gene clone libraries constructed from the consortia revealed that all the positive consortia contained *Desulfotomaculum acetoxidans* species. The transformation of DPAA to DPTA was also carried out in a pure culture of a known sulfate-reducing bacterial strain, *Desulfovibrio aerotolerans* JCM 12613<sup>T</sup>. These facts indicate that sulfate-reducing bacteria can generally participate in thionation of DPAA under anaerobic soil conditions.

## 硫酸還元条件におけるフェニルヒ素化合物の変換生成物の同定

○久富志穂子<sup>1</sup>, Guan Ling<sup>1,\*</sup>, 中島真美<sup>2</sup>, 藤井邦彦<sup>3</sup>, 野中昌法<sup>4</sup>, 原田直樹<sup>4</sup>

<sup>1</sup>新潟大学大学院自然科学研究科、<sup>2</sup>新潟大学機器分析センター、<sup>3</sup>新潟大学環境安全推進室、<sup>4</sup>新潟大学農学部、\*現 新潟大学産学地域人材育成センター

### 1 はじめに

地中に埋設されたヒ素を含む遺棄化学兵器による土壌や地下水の汚染が世界的に問題となっている。ジフェニルアルシン酸 (DPAA) は嘔吐剤・くしゃみ剤である CLARK I 及び II の分解過程で生成することが知られ、我が国においては 2003 年に茨城県神栖市で井戸水のヒ素汚染による中毒事件の原因物質となった。DPAA は嫌気的条件下で比較的早く脱フェニルやメチル化等の代謝を受けることが報告されているが、最近の我々の研究で硫酸還元条件では DPAA が迅速に変換されることが明らかとなった。そこで本研究では硫酸還元条件でのフェニルヒ素化合物の変換生成物について検討を行った。

### 2 方法

土壌培養実験 新潟大学農学部五十嵐圃場で採取した砂丘未熟土に DPAA 溶液を添加して模擬 DPAA 汚染土壌 (10.7 mg-As/kg 土壌) を作製した。これに炭素源としての稲わら (3.51 g-C/kg-土壌) と  $\text{SO}_4^{2-}$  (425 mg-S/kg-土壌) を加え、湛水条件下で静置培養 (30°C、3 週間) し、硫酸還元条件とした。この土壌培養液中のヒ素種の形態を LC/ICP-MS にて分析し、検出された未知ヒ素化合物の構造を LC/TOF-MS を用いた高分解能マススペクトル解析により推定した。各ヒ素種の分離には逆相カラムを用い、LC/ TOF-MS のイオン化は ESI+モードで行った。

フェニルヒ素化合物と硫化水素の化学反応 0.1 mM DPAA溶液に  $\text{Na}_2\text{S}$  を 50 mM とするように添加後、0.1 N HCl を加えて pH7 に調整し、発生した  $\text{H}_2\text{S}$  と DPAA を暗所 30°C で 4 日間反応させた。またフェニルメチルアルシン酸 (PMAA)、ジフェニルメチルアルシン酸 (DPMAO) についても同様に  $\text{H}_2\text{S}$  と反応させた。得られた反応生成物について上記と同様にヒ素種の形態分析と構造推定を行った。

### 3 結果および考察

稲わらと  $\text{SO}_4^{2-}$  の添加により土壌中の DPAA は初期濃度の 11% まで顕著に減少した。LC/ICP-MS 分析の結果、土壌場溶液中から未知ヒ素化合物 (U1) が検出された。また、DPAA と  $\text{H}_2\text{S}$  の反応生成物からも土壌培養と同様に U1 の生成が確認された。U1 と、DPAA と  $\text{H}_2\text{S}$  の主反応生成物の構造を LC/TOF-MS 分析で比較した結果、主なイオンはともに  $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{AsS}$  及び  $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{AsOS}$  と推定され、これらはジフェニルチオアルシン

酸 (DPTA) の分子イオンとその脱水によるフラグメントイオンと推定された。また、フェニルヒ素化合物のフェニルメチルアルシン酸 (PMAA)、ジフェニルメチルアルシンオキシド (DPMAO) についても、 $H_2S$  との反応によって DPAA と同様にチオ化することが確認された。

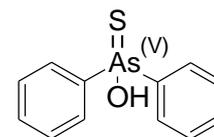


図 ジフェニルチオアルシン酸(DPTA)

以上の結果から、硫酸還元条件の土壌において DPAA をはじめとするフェニルヒ素化合物はチオ化され易いことが示された。

### Identification of metabolites transformed from phenylarsenicals under anaerobic sulfate-reducing conditions

○Shihoko Hisatomi<sup>1</sup>, Ling Guan<sup>1\*</sup>, Mami Nakajima<sup>2</sup>, Kunihiko Fujii<sup>3</sup>,  
Masanori Nonaka<sup>4</sup>, Naoki Harada<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Science and Technology, Niigata University, <sup>2</sup>Center for Instrumental Analysis, Niigata University, <sup>3</sup>Office for Environment and Safety, Niigata University, <sup>4</sup>Faculty of Agriculture, Niigata University, \*Center for Fostering Innovative Leadership

Diphenylarsinic acid (DPAA) is a toxic phenylarsenical compound often found around sites contaminated with phenylarsenic chemical warfare agents, diphenylcyanoarsine or diphenylchloroarsine, which were buried in soil after the World Wars. This research concerns identification of metabolites transformed from phenylarsenicals under anaerobic sulfate-reducing conditions. In LC/ICP-MS analysis, the retention time of the metabolite produced from DPAA in sulfate-reducing soil was identical to that of a major phenylarsenical compound synthesized by chemical reaction of DPAA and  $H_2S$ . Moreover the mass spectra for the two compounds measured using LC/TOF-MS were similar. Subsequent high resolution mass spectral analysis indicated that two major ions observed on both mass spectra were attributable to  $C_{12}H_{10}AsS$  and  $C_{12}H_{12}AsOS$ . These findings strongly suggest that the latter ion is the molecular-related ion ( $[M+H]^+$ ) of diphenylthioarsinic acid (DPTA;  $(C_6H_5)_2AsS(OH)$ ) and the former ion is its dehydrated fragment. Moreover, other phenylarsenicals, phenylmethylarsinic acid (PMAA) and diphenylmethylarsine oxide (DPMAO) were also thionated by reaction with  $H_2S$ . Thus, our results reveal that phenylarsenicals can easily be thionated under sulfate-reducing soil conditions.

## ヒ素メチル化能を有する *Cellulomonas* sp. K63 株の性質

○宮武 宗利、林 幸男  
宮崎大学 工学教育研究部

### 1 はじめに

有毒な無機ヒ素は人体に影響を与えないように、地下水や土壌、工場廃水など生活環境から各種処理方法で除去回収されている。しかし、回収された無機ヒ素は現在人と隔離するような方法（固化・埋設）で処理されており、特別な保管や保存施設を準備しなければならず、長期にわたるモニタリングも必要とする。そのため近い将来、保管場所の確保やランニングコストが問題になってくることは明白である。

そこで、回収された無機ヒ素を無害化することができれば、人と隔離する必要がなくそのまま自然に還元することが出来るようになる。無機ヒ素の無害化処理方法としては、無機ヒ素のアルセノベタインへの変換がある。現在、無機ヒ素のアルセノベタインへの変換については色々と研究がなされているが、現時点では変換効率が低い、処理方法にコストがかかるなど実用化には至っておらず、低コストでアルセノベタインへの変換効率が高い処理技術の開発が望まれている。

本研究では、無機ヒ素のアルセノベタインへの変換において、大量に調製でき抽出も容易である微生物を利用したメチル化反応がコスト面から最も現実的であると考え、これまで宮崎県内をはじめとして各地の土壌、地下水、河川水、汚泥などから高活性ヒ素メチル化酵素を持つ細菌の分離を行ってきた。今回、ヒ素メチル化能を有する *Cellulomonas* sp. K63 株を宮崎県内の土壌より分離することができたので、本菌株のヒ素のメチル化特性について検討した。

### 2 方法

培地には R2A 培地（日本製薬(株)）を使用した。ヒ素は 3 価のヒ素 (As(III)) として亜ヒ酸ナトリウム（和光純薬(株)）を、5 価のヒ素 (As(V)) としてヒ酸二ナトリウム（和光純薬(株)）を各種濃度で添加した。前培養は 30°C、24 時間、100 strokes/min の条件で実施した。本培養は前培養の培地を新たな培地に 2.0 v/v% 接種して行なった。好氣的培養は 30°C、100 strokes/min で振とう培養した。嫌氣的培養は上部を窒素で置換した後、30°C で静置培養した。所定の時間ごとに培養液の濁度を測定した後、遠心分離（10,000rpm、15 分間）により菌体と培養上清に分け、培養上清中のヒ素濃度を形態別に測定した。

培養液の濁度は紫外分光光度計にて 600nm で測定し菌株の増殖度とした。ヒ素の定量分析は形態別に還元気化 - 超低温捕集 - 原子吸光装置と高速液体クロマトグラフ質

量分析装置を用いて測定した。

### 3 結果および考察

無機ヒ素をメチル化する機能を有した微生物として、*Cellulomonas* sp. K63 株を宮崎県内の土壌から分離した。K63 株は、好氣的培養に比べて嫌氣的培養では対数増殖期に入るまでの誘導期が長く定常期に達するまでに時間を要した。K63 株は、200 mg As/L のヒ素を含む培地では増殖が見られず、好氣的、嫌氣的培養とも As(III)より As(V)の方が菌の増殖を抑制することが分かった。

K63 株は 50.0 mg As/L までの As(III)を培地に添加した場合に好氣、嫌氣の両方で効果的に無機ヒ素をメチル化した。As(V)を培地に添加した場合にはあまりメチル化が進まず、As(III)のときとは逆に好氣的より嫌氣的の方がメチル化有機ヒ素化合物の割合が高くなった。このことから、K63 株は As(V)を As(III)に還元する機能が弱いと考えられる。メチル化有機ヒ素化合物の割合は 5.0 mg As/L の As(III)を添加した場合に、好氣的培養時に 90.1%で最大であった。また、どの条件においても培養液全体のヒ素量が培地に添加したヒ素量と変化しなかったことから、揮発性のメチル化有機ヒ素化合物は生成していないことが分かった。

謝辞 本研究は、科研費 (23510099) の助成を受けたものである。

#### Characteristics of arsenic methylating bacterium *Cellulomonas* sp. strain K63

○Munetoshi MIYATAKE and Sachio HAYASHI

Faculty of Engineering, University of Miyazaki,

Biomethylation of arsenic is usually considered as a detoxification of arsenic because toxicity of most organic methylated arsenic is much less than that of inorganic arsenic. We investigated the feasibility of a novel bioremediation using an arsenic methylating bacterium. An arsenic methylating bacterium *Cellulomonas* sp. strain K63, isolated from soil in Miyazaki, was evaluated for growth characteristics and arsenic metabolism. The growth of strain K63 was inhibited in 200 mg As/L arsenic medium. Strain K63 metabolized arsenite (<50.0 mgAs/L) to nonvolatile species such as monomethylarsonic acid, dimethylarsinic acid, trimethylarsenic oxide and arsenobetaine effectively. The percent of organic methylated arsenic excreted into the medium by strain K63 showed 90.1% of total arsenic compounds when strain K63 was cultured aerobically in the medium containing 5.0 mgAs/L of arsenite for five days.

## 多臓器発がん性試験法を用いたラットにおける

## ジフェニルアルシン酸の発がん性の検討

○鰐淵 英機、奥村 真衣、藤岡 正喜、魏 民  
大阪市立大学大学院医学研究科 分子病理学

## 1. はじめに

これまでに我々はラットの1年間慢性毒性試験および2年間発がん性試験を実施し、ジフェニルアルシン酸(DPAA)は単独ではラットの胆道系に毒性を示すが、発がん性を示さないことを明らかにしてきた。DPAAの発がん修飾作用については、これまでにラット肝中期毒性試験(ラット中期肝発がん性試験法)により、DPAAがラット肝発がん促進作用を有することが明らかとなったが、肝臓以外の諸臓器に対するDPAAの発がん修飾作用は明らかとなっていない。本研究では、ラット中期多臓器発がん性試験法を用いてDPAAの全身諸臓器に対する発がん修飾作用を検討する。

## 2. 方法

6週齢雄性F344ラットを用いて、実験開始日より100mg/kg b.w. diethylnitrosamine (DEN)を腹腔内投与、第2、5、8、11日に20mg/kg b.w. N-methylnitrosourea (MNU)を腹腔内投与、第14、17、20、23日に40mg/kg b.w. dimethylhydrazine (DMH)を皮下投与した。さらに、これらの投与と並行して第1~2週に0.05% N-butyl-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN)を、また第3~4週に0.1% N-Bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN)をそれぞれ飲料水投与し、イニシエーション処置(DMBDD処置)とした。実験開始第5週目からDPAAを0、5および20 ppmの用量で27週間飲水投与した。解剖屠殺後、標的臓器について病理組織学的解析を行った。また肝臓については前がん病変の指標であるGlutathione S-transferase (GST-P)陽性細胞巢の定量解析を行った。

## 3. 結果および考察

肝臓の前がん病変マーカーであるGST-P陽性細胞巢の数および面積について定量的に評価した結果、DMBDD単独投与群と比較してDMBDD→20 ppm DPAA投与群で有意な増加が認められた。組織病理学的解析の結果、肝臓においてDMBDD→20 ppm DPAA投与群において胆管腫の数および発生頻度がDMBDD単独処置群有意に増加した。一方、大腸、肺、甲状腺、膀胱における腫瘍の数および発生頻度に有意な変化はみられなかった。

ラットの多臓器発がん性試験では、ラット肝前がん病変の指標である GST-P 陽性細胞巢の発生個数および面積ともに、DMBDD 単独投与群と比較して DMBDD→20 ppm DPAA 投与群で有意に増加した。この結果は以前に行われたラット中期肝発がん性試験法と一致し、DPAA の肝発がん促進作用が確認された。また、胆管腫の発生頻度および数が DMBDD 単独投与群と比較して DMBDD→20 ppm DPAA 投与群において有意に増加したことから、胆管発がん促進作用を有することが示唆された。一方、大腸、肺、甲状腺、膀胱などに対して発がん促進作用を有しないことが明らかとなった。

Evaluation of carcinogenicity of DPAA in a rat medium-term multi-organ  
carcinogenicity bioassay

○Hideki Wanibuchi

Department of Pathology, Osaka City University Graduate School of Medicine

Diphenylarsinic acid (DPAA), a chemical warfare-related neurotoxic organic arsenical, is present in the groundwater and soil in some regions of Japan due to illegal dumping. Inorganic arsenic is carcinogenic in humans and its organic arsenic metabolites are carcinogenic in animal studies, raising serious concerns about the carcinogenicity of DPAA. The purpose of the present study is to evaluate carcinogenicity of DPAA using a multi-organ carcinogenesis model. Male F344 rats were given five carcinogens to initiate multi-organ carcinogenesis during the first 4 weeks of experiment. From week 5, rats were administered with DPAA in the drinking water at doses of 0, 5 and 20 ppm for 27 weeks, respectively. At the end of the week 32, the number and area of GST-P positive foci, a preneoplastic lesion in rats, was significantly increased in the 20 ppm DPAA group compared with control group. We also found that the number and incidence of cholangioma were significantly increased in the 20 ppm DPAA group. No promotion effects of DPAA were observed in other organs. These findings indicate that DPAA exerts promotion effects on hepatocellular and biliary carcinogenesis in rats.

## モンゴル高原の牧草地の井戸水中のヒ素を含む重金属の濃度分布

○永淵 修<sup>1</sup>、尾坂兼一<sup>1</sup>、中澤 暦<sup>1</sup>、菱田尚子<sup>2</sup>、西田友規<sup>2</sup>、島村一平<sup>3</sup>

<sup>1</sup>滋賀県立大学 環境科学部環境生態学科、<sup>2</sup>滋賀県立大学大学院環境科学研究科

<sup>3</sup>滋賀県立大学 人間科学部国際コミュニケーション学科

### 1 はじめに

内陸アジアに位置するモンゴル高原は、「乾燥」と「寒冷」が特徴の典型的な大陸性のステップ気候であり、人々は家畜を放牧しながら、移動する遊牧世界を展開してきた。ところが近年、深刻なモンゴル高原の遊牧世界の存在基盤を揺るがすような大きな変化が起こっている。それは、地下資源開発の急速な進行である。現在、モンゴル国では、世界最大級の炭鉱や多くの金鉱山が見つかっている。2009年のデータによると、モンゴル国において鉱業がGDPに占める割合はすでに28.2%に達し、農牧業の18.8%を凌駕している。モンゴルはもはや「遊牧の国」ではなく「地下資源の国」なのである。このような地下資源開発は中国内モンゴルや青海省などの地域でも起こっている。そこで本研究では、地下資源開発に伴う地下水汚染について、特に牧民と家畜が使用する井戸水の金属汚染状況について検討した。

### 2 方法

調査地点は、南ゴビのオユートルゴイ銅金鉱山(モンゴル国南ゴビ県ハンボクト郡)、タワントルゴイ炭鉱(モンゴル国南ゴビ県ツォグトツェツィー郡)の近郊の井戸水と高山内の地下水である。調査は2012年8月29日から9月10日の期間に行った。分析項目は主要イオン(イオンクロマトグラフィー)と金属元素(Al, V, Cr, Mn, Ni, Zn, As, Se, Mo, Cd, In, Sb, Te, Pb ; ICP/MS)である。

### 3 結果および考察

調査した地下水中のイオン濃度は図1に示すとおりであり、我が国の一般的地下水と比較して高濃度である。一方、地下水金属元素の濃度は図2に示すとおりである。金属元素もイオン濃度と同様に我が国より高い濃度である。特にヒ素についてはWHOのガイドラインに近い値か超える値であった。WHOのガイドラインはヒトが一生飲み続けてもヒトの健康に影響を生じさせない濃度である。しかし、この地下水はヒトだけでなく家畜も飲用している。この家畜のリスクについては全く評価されてない。さらに、この地域の牧草地の地下水のこれらの濃度が、大規模鉱山の大量の地下水くみ上げによ

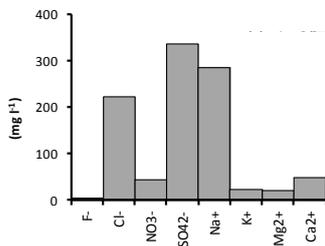


図 1 地下水中のイオン濃度の平均値

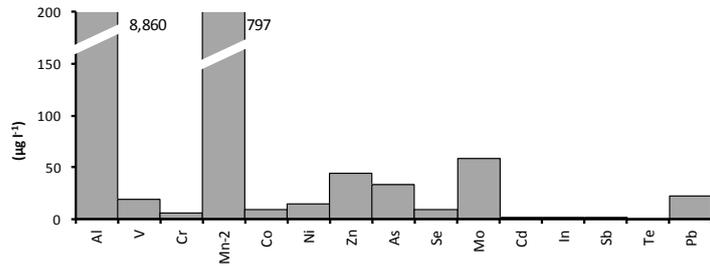


図 2 地下水中の重金属濃度の平均値

る影響なのか、これが本来の濃度であるのかもわかってない。しかし、牧民への聞き取り調査から最近家畜の病気、死亡の割合が増加しているとの情報がえられている。ここでは、大規模鉱山開発による周辺地下水の影響について検討した内容を報告する。

#### Distribution of heavy metal concentration in well water at Mongol Plateau

○Osamu Nagafuchi<sup>1</sup>, Kenichi Osaka<sup>1</sup>, Koyomi Nakazawa<sup>1</sup>, Naoko Hishida<sup>2</sup>, Yuki Nishida<sup>2</sup>, Ippei Shimamura<sup>3</sup>

<sup>1</sup>School of Environmental Science, University of Shiga Prefecture,

<sup>2</sup>Environmental Science Graduate school, Graduate School of the University of Shiga Prefecture

The mining industry (gold, coal, and copper etc) that covers tremendous territory and developed thanks to the techniques power gives a big economy benefits. However, in reality, it negatively impacts on the water, air, soil, and fauna and flora, native people lifestyle, their traditional economy form, religion and national culture heritage safety. Dust, water and air pollution, which are the main negative subsequent caused by mining industry, makes the lack of drinking water for human and livestock, decreases grass growth and harms livestock pasture. The dust badly harms the human and domestic animal health as the native people confirm. Moreover, gold mining causes air pollution with heavy metals including mercury that has serious influence on human health, if the appropriate treatments are not provided. All these reasons have made the native people life difficult and have lead to the lost of the traditional culture and special economy style.

### ネパール・ナワルパラシ郡における慢性砒素中毒発生状況

○谷 正和<sup>1</sup>、Suman Shakya<sup>2</sup>

<sup>1</sup>九州大学大学院芸術工学研究院環境遺産デザイン部門、<sup>2</sup>ENPHO (Environment and Public Health Organization)

#### 1 はじめに

ネパールの国土の南部テライ平原地方の各地では、インド、バングラデシュのガンジス川流域と同様に地下水砒素汚染が広がっている。テライにはネパール総人口の48%にあたる1300万人が居住し、その人口の90%以上が地域にある約100万本の管井戸から飲料水を得ているといわれる。そのテライ地方の中央部に位置するナワルパラシ郡は、特に砒素汚染が深刻で、ネパールの基準値である50 ppbを超える砒素濃度の井戸が14.2%、総人口56万人のうち8万人が砒素に汚染された水を摂取しているといわれている。本稿では現地調査によるデータを分析し、ナワルパラシ郡の砒素汚染地における慢性砒素中毒発生の状況を報告する。

#### 2 方法

本報告で用いたデータは2011年から2013年まで九州大学大学院芸術工学研究院がENPHOの協力を得て、国際協力機構(JICA)の草の根協力事業として実施した「ネパール国ルンビニ県ナワルパラシ郡における地域社会の砒素汚染対策能力向上事業」の対象地56村で実施した世帯調査、井戸調査の一部である。このデータセットには5798世帯、32944人が記録された。世帯調査は調査員が各世帯を訪問し、調査票による聞き取りによって記録した。井戸調査は各村にあるすべての井戸を対象に、事業スタッフの指導のもと住民が砒素測定野外キットを使って測定したものである。慢性砒素中毒患者の同定には、まず、世帯調査の際に砒素中毒に典型的な皮膚症状(メラノーシスとケラトーシス)の有無を聞き記録した。そして、「砒素キャンプ」を対象地域内の皮膚症状を持つ住民が多いとみられる数か所で開催し、そこで専門の医師が診断を行った。医師の診断は全域で行えなかったため、本稿では皮膚症状による「疑い患者」数を分析に使用した。

昨年の砒素シンポジウムの報告では、カースト・民族などの社会集団ごとの慢性砒素中毒発症数、頻度を分析し、高位カーストでは発症が少なく、テライ地方の先住民族であるタルーの発症率が突出していることを明らかにした。本稿では、村を分析単位として、疑い患者数、その属性、井戸の砒素汚染をまとめ、分析を試みた。

#### 3 結果と考察

疑い患者数は56村全体で392人、対象村の人口は32944人であるので、患者数は

1000人あたり11.9人である。性別では、同じく1000人あたりの発症数が、女性10.4人、男性13.3人と男性が多い。村ごとにみると、疑い患者が最も多い村は61人、10人以上の疑い患者が記録されている村は12村ある。1000人あたりの発症数では、最高が164.4人、全体の発症数の11.9人より多い村は14村であった。

患者発生数を井戸水の砒素濃度の村別平均値の関係をみると、井戸水の砒素濃度が高いと疑い患者も多いということが一般的な傾向であるが、以下のことが指摘できる。まず、単純疑い患者数、1000人あたりの発症数ともに、砒素濃度が200ppbを超えると急に上昇すること、さらに、同程度の砒素濃度の村間でも砒素中毒発生には一定の偏差が見られることである。

これらの傾向の示唆することは、慢性砒素中毒発症は飲料水中の砒素によるものであることは疑いないものの、砒素の曝露量と少なくとも目に見えるような皮膚症状の発症は直線的な関係ではなく、一定の濃度を超えると可能性が高まるような関係である。また、砒素が発症の第一原因ではあるものの、それ以外の社会的、行動的要因が発症と関連していることも示唆された。

## The state of arsenicosis occurrences in Nawalparasi District, Nepal

○Masakazu Tani<sup>1</sup>, Suman Shakya<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Environment and Heritage Design, Faculty of Design, Kyushu University, <sup>2</sup> ENPHO (Environment and Public Health Organization)

Arsenic contamination of groundwater spreads in the Terai Plain of Nepal causing serious health calamity. This paper analyzes the state of arsenicosis occurrences in Nawalparasi District in the Terai, where arsenic contamination is most severe. Data used in the analysis are based on household and tubewell surveys conducted in 56 villages in 2012 as part of an arsenic mitigation project sponsored by JICA and implemented by Faculty of Design, Kyushu University with cooperation of ENPHO (Nepal). The dataset include 5798 households, and 32944 individuals. Of all, there are 392 suspected patients, and 11.9 patients in 1000 people. The relationship between patient occurrence and arsenic contamination of each village suggests that (1) villages where arsenic level is more than 200 ppb has much more patients than those less 200 ppb, and that (2) at the same time, there is certain range of discrepancy in the level of patient occurrence among villages with similar arsenic contamination levels. This may suggest that other factors, such as social and behavioral ones, also affect arsenicosis while arsenic contamination of drinking water is undoubtedly primary cause.

## Diphenylarsinic acid (DPAA) 地質汚染浄化対策現場での

### 地波現象による表層汚染の拡大

○檜山知代<sup>1,2</sup>、楡井 久<sup>3</sup>、木村和也<sup>3</sup>

<sup>1</sup>前大阪市立大学大学院理学研究科、<sup>2</sup>関東建設(株)地質環境部、<sup>3</sup>医療地質研究所

E-mail: nireihisashi@msn.com

#### 1. はじめに

2011年東北地方太平洋沖地震では、東関東地域でも人工地層(楡井、1993)に関わる地波現象・液状化・流動化現象(以下、液流動化現象と呼ぶ)などで多くの地質災害が発生した。そして、DPAA地質汚染が発生した神栖市でも地波現象・液流動化現象が発生した。特に、神栖市には、砂利採取跡地を山砂や有害廃棄物で埋立てられた人工地層が多く分布している。したがって、地波現象・液流動化現象にともなう噴砂・噴水で有害砒素物質の噴出も心配されてきていた。

#### 2. 調査および結果

地波の形態を図-1に、地波峰線・噴砂噴水分布と砒素分析試料採取地点を図-2に示した。最高値を示した試料採取地点は、綱矢板矩形形の西角から西側に向かって1.2mであった。また、西側に濃度の低減が認められた(図-3)。

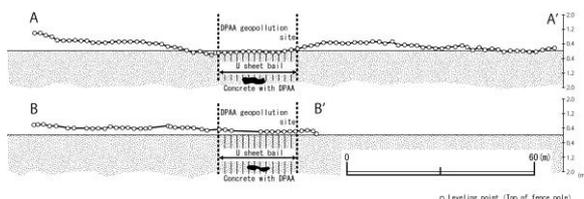


図-1 地波現象形態を示す測量用フェンスポール先端分布(図-2を参照)と有機ヒ素混入コンクリート塊の掘削範囲・地波の峰線位置

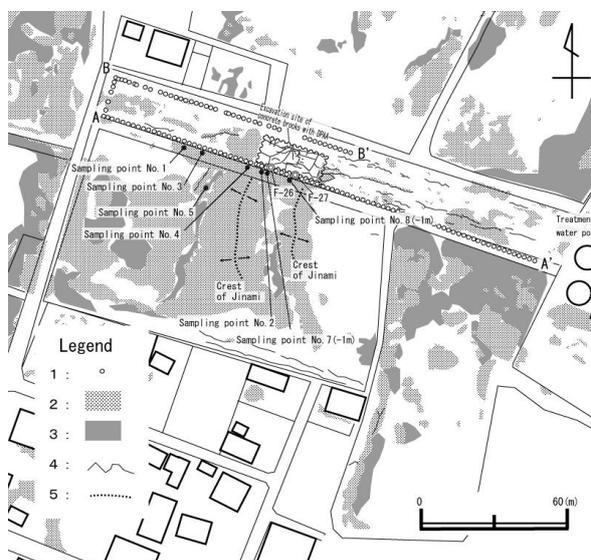


図-2 地波・噴砂・噴水の分布と分析用試料採取地点

- 凡例 1: 測量をしたフェンス・ポール  
 2: 噴砂の分布 3: 噴水の分布  
 4: 亀裂 5: 地波の峰線(波頭)  
 黒丸: 試料採取地点  
 F: 地表面下1mの試料採取地点近くの地下水観測井

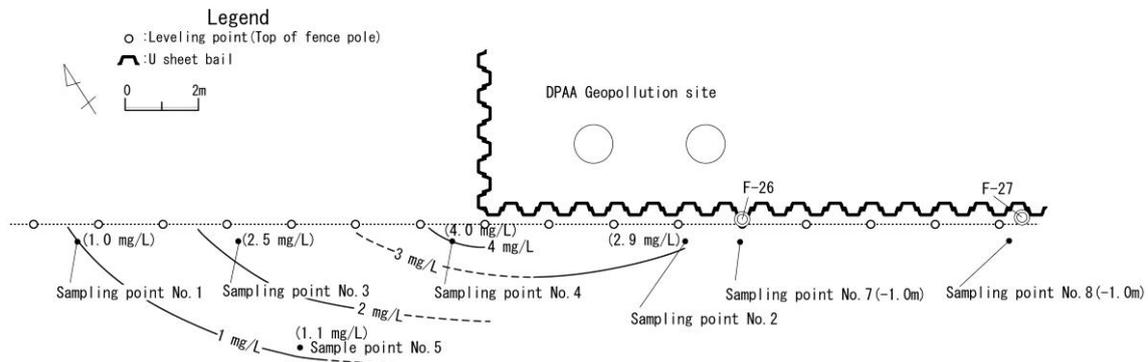


図-3 砒素分析用の噴砂採取地点および表面下-1.0m 深度採取地点（F観測井近くの2地点）（mg/L）内の値は砒素溶出値

### 3. まとめ

2011年東北地方太平洋沖地震による地波現象をはじめとした液流動化現象は、環境省のDPAA地質汚染現場でも認められ、この噴砂・噴水によって表層での汚染が拡大した。この現場では、環境省・土壤環境センター推奨の画一的な無単元調査法での調査・対策で行われ、汚染範囲を綱矢板で囲む対策が行われてきた。

全国的にも人工地層上のVOCs地質汚染現場を持つ事業所は多い。それらの現場は、前述の調査・対策法や汚染範囲を綱矢板で囲む対策が取られてきた。はたして、2011年東北地方太平洋沖地震で、神栖市における環境省のDPAA地下水汚染浄化現場と同じく汚染拡大現象が発生していないかが心配である。

## Re-pollution by Ground Wave ‘Jinami’ at the Remediation Site of Diphenylarsinic acid (DPAA) Geopollution(GP)

Tomoyo Hiyama<sup>1,2</sup>, Hisashi Nirei<sup>3</sup>, Kazuya Kimura<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Osaka City University, <sup>2</sup>Kanto Construction Co.,Ltd.,

<sup>3</sup>Medical Geology Research Institute (MGRI).

### Abstract

The 2011 off the Pacific coast of Tohoku Earthquake hit the area facing the Pacific Ocean including Kamisu City where is located DPAA Geopollution site. There, serious geological hazards occurred by Liquefaction, Fluidization and Ground wave ‘Jinami’ in Man-made Strata.

In the result, As concentration in sand of sand volcano is revealed high at remediation site of DPAA geopollution site. The site is cleaning up by Ministry of the Environment, Japan.

ラ ン チ ョ ン  
セ ミ ナ ー

# ランチオンセミナー

## ICP 質量分析法によるヒ素測定における問題点とその抑制法の紹介

○敷野 修

株式会社パーキンエルマージャパン

### 1 はじめに

ICP 質量分析法 (ICP-MS) は高感度で多元素を瞬時に測定できることから、半導体、環境、生体、金属材料、食品など様々な分野で使用されている。

一方、ICP-MS においてプラズマ源であるアルゴンやサンプルマトリックスなどに起因するスペクトル干渉は最大の問題点である。

パーキンエルマー社製の ICP 質量分析装置 “NexION 300 シリーズ” は内蔵のコリジョンリアクションセルであるユニバーサルセル (UC) 内に種々のガスを導入することにより、多くのスペクトル干渉が除去できることが報告されている。

ヒ素の測定に関しては、 $^{75}\text{As}$  に対する  $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$  や  $^{40}\text{Ca}^{35}\text{Cl}$  などのスペクトル干渉が知られており、これらも除去することが可能である。

更に、検量線用標準液や前処理法による定量値への影響が指摘されており、これはヒ素の形態により感度が異なることが大きな原因である。

ここでは、ユニバーサルセル (UC) の原理および効果や精確な定量値を得るために必要な前処理法などについて紹介する。

### 2 装置および特長

#### ① マイクロウェーブ試料分解装置 “Titan MPS”

ICP 質量分析装置に導入されるサンプルは一般的には液体である。したがって、固体試料の場合には、何らかの方法により溶液化する必要がある。

マイクロウェーブ試料分解装置は完全密閉方式であるため、外部からの汚染や金属の蒸発損出が少ない。

また、高温・高圧の条件下での処理が可能であるため、分解能力が高い。

Titan MPS は温度、圧力の制御が可能であり、より安全に処理が可能である。



図 1. マイクロウェーブ試料分解装置 “Titan MPS”

## ② ICP 質量分析装置 “NexION 300 シリーズ”

NexION 300 シリーズに搭載されたユニバーサルセル内に He や NH<sub>3</sub>、CH<sub>4</sub>、O<sub>2</sub> ガスを導入することにより、種々のスペクトル干渉を除去することが出来る。

<sup>75</sup>As に対する <sup>40</sup>Ar<sup>35</sup>Cl や <sup>40</sup>Ca<sup>35</sup>Cl などを除去する際、He ガスを用いた場合には衝突確率の差を利用することにより除去が可能であり、NH<sub>3</sub>、CH<sub>4</sub>、O<sub>2</sub> ガスを用いた場合には反応性の差を利用することにより除去が可能である。

それぞれ特長があるため目的に合わせて選択することが可能である。



図 2. ICP 質量分析装置  
“NexION 300 シリーズ”

## 3 アプリケーション例

### ① 無機ヒ素の形態 (As (III) および As(V)) による感度差とその抑制方法について

As (III) および As(V) を ICP-MS で測定した場合、感度に差が生じることが報告されている。

ユニバーサルセルを用いたこの感度差の除去法について紹介する。

### ② 海産物サンプル中のヒ素の測定例と前処理における注意点について

特に海産物中のヒ素は有機形態のヒ素が多くを占めている。検量線に用いる標準液には無機ヒ素を用いることが多いため、サンプル中のヒ素を無機化することで、より精確な定量が可能であった。

精確な結果を得るための測定方法について紹介する。

## 4 参考文献

- ・ 日本分析化学会第 55 年会講演要旨集 P1008、敷野 修、成川知弘
- ・ 日本分析化学会第 58 年会講演要旨集 P2003、敷野 修、古川 真、成川知弘
- ・ 分析化学 Vol.58, No.4, pp.185-195、成川知弘、黒岩貴芳、千葉光一
- ・ 国際ヒ素シンポジウム 2006 講演要旨集
- ・ Talanta Vol73, 1,15 (2007),157-165; Tomohiro Narukawa, Takayoshi Kuroiwa, Koichi Chiba

本シンポジウムの趣旨にご賛同とご理解を賜り、協賛いただきました各位に厚くお礼申し上げます。

第19回ヒ素シンポジウム  
大会長 久永 明

## 協賛企業

## 広告

一般財団法人 九州環境管理協会  
株式会社 アビオス  
株式会社 ニコンインステック  
DOWA エレクトロニクス 株式会社  
アジレント・テクノロジー 株式会社  
アステック 株式会社  
株式会社 アントンパール・ジャパン  
株式会社 ジーンネット  
株式会社 パーキンエルマー・ジャパン  
新川電機 株式会社

## ランチョンセミナー

株式会社 パーキンエルマー・ジャパン

## 飲物提供

大塚製薬 株式会社