



# 第 20 回ヒ素シンポジウム

## 講演要旨集



開催日： 2014 年 12 月 6 日（土）  
 会 場： 千葉科学大学マリーナキャンパス  
 （千葉県銚子市潮見町 15－8）  
 主 催： 日本ヒ素研究会



## 第20回ヒ素シンポジウム概要

シンポジウムテーマ：

食品中ヒ素化合物の健康影響に関する最近の知見

開催日：2014年12月6日（土）

会場：千葉科学大学マリーナキャンパス（千葉県銚子市潮見町15-8）

危機管理学部棟2F 防災シミュレーションセンター

主催：日本ヒ素研究会

後援：日本衛生学会、日本微量元素学会、日本薬学会、

日本産業衛生学会

特別講演1 ヒ素と食品安全規制

加地祥文 先生（厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課食品監視分析官）

特別講演2 食事からのヒ素摂取とがん罹患との関連：

多目的コホート研究における検証

津金昌一郎 先生（国立がん研究センターがん予防・検診研究センター長）

特別講演3 食品安全行政におけるヒ素分析の必要性—摂取量推定を中心に—

渡邊敬浩 先生（国立医薬品食品衛生研究所食品部第3室長）

シンポジウム日程

- |               |                |
|---------------|----------------|
| 8:30 ~ 9:20   | 理事会            |
| 9:25 ~ 9:30   | 開会の辞           |
| 9:30 ~ 11:20  | 一般演題（1-7）      |
| 11:30 ~ 12:10 | 特別講演①          |
| 12:10 ~ 12:45 | ランチョンセミナー      |
| 13:00 ~ 14:20 | 特別講演②<br>特別講演③ |
| 14:30 ~ 16:05 | 一般演題（8-13）     |
| 16:05 ~ 16:35 | 総会・奨励賞授賞式      |
| 16:35 ~ 16:40 | 閉会の辞           |
| 16:45 ~ 18:45 | 懇親会            |

## 大会組織

### 実行委員会

大会長・実行委員長	山中 健三	日本大学薬学部
副実行委員長	藤谷 登	千葉科学大学危機管理学部
実行委員	加藤 孝一	日本大学薬学部
実行委員	畑 明寿	千葉科学大学危機管理学部

### 事務局

松島理奈

日本大学薬学部 環境衛生学研究室内

〒274-8555

千葉県船橋市習志野台 7-7-1

Tel/Fax : 047-465-6057

e-mail : [pha.20arsenic-inform@nihon-u.ac.jp](mailto:pha.20arsenic-inform@nihon-u.ac.jp)

### 第20回ヒ素シンポジウム ホームページ

<http://20arsenic.pha.nihon-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 12 分、討論 3 分、合計 15 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 PowerPoint pptx 形式) 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】

- ・12 月 1 日 (月) までに発表用のファイルを事務局 (メールアドレス：[pha.20arsenic-inform@nihon-u.ac.jp](mailto:pha.20arsenic-inform@nihon-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 等) をつけてください。
- ・ファイルの送付が出来ない場合は、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 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。

## 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
21	2015年		徳島	姫野 誠一郎	徳島文理大学

## 会場案内図

シンポジウム会場： 千葉科学大学マリーナキャンパス

危機管理学部棟 2F 防災シミュレーションセンター

連絡先 TEL 0479-30-4744 (担当者：畑 明寿)



## プログラム

平成 26 年 12 月 6 日 (土)

### 理事会

8:30 – 9:20 千葉科学大学マリーナキャンパス 危機管理学部棟 2 階会議室

### 開会の辞

9:25 – 9:30 千葉科学大学学長 赤木靖春

### 一般演題

(発表 12 分、質疑 3 分)

9:30 – 10:15 座長：姫野誠一郎 (徳島文理大学)

#### 1 ワカメに含まれる有機ヒ素化合物抽出法の検討

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

<sup>1</sup>千葉科学大学大学院 危機管理学研究科, <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

#### 2 ジフェニルアルシン酸ばく露による行動異常と小脳アストロサイトにおける 神経・血管作動性ペプチドの異常放出

○根岸隆之<sup>1</sup>, 松永友貴<sup>2</sup>, 高橋理貴<sup>2</sup>, 平野靖史郎<sup>3</sup>, 田代朋子<sup>2</sup>

<sup>1</sup>名城大学薬学部 生理学, <sup>2</sup>青山学院大学理工学部 分子神経生物学,

<sup>3</sup>国立環境研究所環境リスク研究センター

#### 3 メタボローム解析を用いたアルシン曝露のバイオマーカーの探索

○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 公衆衛生学, <sup>2</sup>昭和大学医学部 衛生学,

<sup>3</sup>日本大学薬学部 環境衛生学, <sup>4</sup>千葉科学大学危機管理学部,

<sup>5</sup>関西労災病院・産業中毒センター, <sup>6</sup>大阪市立大学大学院・医学研究科



10:20 – 11:20 座長：平野靖史郎（国立環境研究所）

**4 無機ヒ素曝露の生物学的モニタリングのための測定法の比較：  
GC-MS 法と HPLC-ICP-MS 法**

○竹内靖人<sup>1</sup>，山中健三<sup>2</sup>，奈女良昭<sup>3</sup>，Wang Dapeng<sup>2,4</sup>，Yan An<sup>4</sup>，下田康代<sup>2</sup>，  
川澄八重子<sup>5</sup>，山室堅治<sup>1</sup>，圓藤陽子<sup>6</sup>，住野公昭<sup>1</sup>，圓藤吟史<sup>7</sup>

<sup>1</sup>中央労働災害防止協会 大阪労働衛生総合センター，<sup>2</sup>日本大学薬学部 環境衛生学，

<sup>3</sup>広島大学大学院医歯薬保健学研究院 法医学，<sup>4</sup>蘇州大学医学部 公衆衛生学部，

<sup>5</sup>中央労働災害防止協会 労働衛生調査分析センター，

<sup>6</sup>関西労災病院 産業中毒研究センター，

<sup>7</sup>大阪市立大学大学院医学研究科 産業医学分野

**5 日本人の足爪中ヒ素の化学形態**

北島爽一郎<sup>1</sup>，○吉永淳<sup>2</sup>，小栗朋子<sup>3</sup>，成川知弘<sup>4</sup>

<sup>1</sup>北里大学，<sup>2</sup>東京大学，<sup>3</sup>国立環境研究所，<sup>4</sup>産業技術総合研究所

**6 バングラデシュのヒ素汚染地域における血管障害**

○姫野誠一郎<sup>1</sup>，宮高透喜<sup>1</sup>，Rezaul Karim<sup>1,2</sup>，Khaled Hossain<sup>2</sup>

<sup>1</sup>徳島文理大学薬学部，<sup>2</sup>Rajshahi University (Bangladesh)

**7 コメのヒ素濃度を制御する節の役割**

倉俣正人<sup>1,2</sup>，飯野真心<sup>1</sup>，谷川八大<sup>1</sup>，安部匡<sup>1</sup>，○石川覚<sup>1</sup>

<sup>1</sup>(独)農業環境技術研究所 土壌環境研究領域，<sup>2</sup>KYB

**特別講演 1**

11:30 – 12:10 座長：山中健三（日本大学薬学部）

**ヒ素と食品安全規制**

厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課食品監視分析官 加地祥文先生

**ランチョンセミナー**

12:15 – 12:55 提供：日本ウォーターズ株式会社

**複雑な混合物を網羅的に分離検出する UPLC/ 高分解能 Q-TOF/ インフォマティクス**

○佐藤 太

日本ウォーターズ株式会社

## 特別講演 2

13:00 — 13:40 座長：圓藤吟史（大阪市立大学大学院）

食事からのヒ素摂取とがん罹患との関連：多目的コホート研究における検証  
国立がん研究センターがん予防・検診研究センター長 津金昌一郎先生

## 特別講演 3

13:40 — 14:20 座長：藤谷 登（千葉科学大学危機管理学部）

食品安全行政におけるヒ素分析の必要性—摂取量推定を中心に—  
国立医薬品食品衛生研究所 食品部 第三室長 渡邊敬浩先生

## 一般演題

（発表 12 分、質疑 3 分）

14:30 — 15:15 座長：吉田貴彦（旭川医科大学）

8 酸化水酸化鉄担持ポリアクリルアミドクライオゲルの調製とヒ素吸着剤特性

○黒住 美沙<sup>1</sup>，塩盛 弘一郎<sup>1</sup>，清山 史朗<sup>2</sup>

<sup>1</sup>宮崎大学大学院工学研究科，<sup>2</sup>都城高専 物質工学科

9 亜ヒ酸の生物・化学的連続除去処理に関する研究

○瀬川 奈未<sup>1</sup>，山崎 大輔<sup>2</sup>，石川 奈緒<sup>2</sup>，伊藤 歩<sup>2</sup>，中村 寛治<sup>3</sup>，千葉 啓子<sup>4</sup>，  
海田 輝之<sup>2</sup>

<sup>1</sup>岩手大学大学院工学研究科 社会環境工学専攻，<sup>2</sup>岩手大学工学部 社会環境工学科，  
<sup>3</sup>東北学院大学工学部 環境建設工学科，<sup>4</sup>岩手県立大学 盛岡短期大学部

10 コメの総ヒ素濃度のスクリーニングレベルの検証

○深井 隆行<sup>1</sup>，大柿 真毅<sup>1</sup>，牧野 知之<sup>2</sup>，川崎 晃<sup>2</sup>

<sup>1</sup>(株)日立ハイテクサイエンス，<sup>2</sup>(独)農業環境技術研究所

15:20 — 16:05 座長：鏑淵英機（大阪市立大学大学院）

11 過酸化水素により惹起される新規ヒ素メチル基転移酵素の選択的スプライシング

○角 大悟<sup>1</sup>，竹田智瑛里<sup>1</sup>，姫野誠一郎<sup>1</sup>

<sup>1</sup>徳島文理大学薬学部 衛生化学

## 12 亜ヒ酸に曝露した HEK293 細胞における SUMO 化 PML の 定量解析

○平野靖史郎, 但野美保子, 小林弥生, 宇田川理, 加藤綾華

独立行政法人 国立環境研究所

## 13 ウミガメ類におけるヒ素化合物の蓄積特性

○阿草哲郎<sup>1</sup>, 高木 梢<sup>1</sup>, Todd W. Miller<sup>2</sup>, 久保田領志<sup>3</sup>, 阿南弥寿美<sup>4</sup>, 岩田久人<sup>1</sup>, 田辺信介<sup>1</sup>

<sup>1</sup>愛媛大学 沿岸環境科学研究センター (CMES), <sup>2</sup>Division of Fish and Wildlife, Commonwealth of the Northern Mariana Islands, USA,

<sup>3</sup>国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部, <sup>4</sup>昭和薬科大学 衛生化学

### 総会・奨励賞授賞式

16:05 — 16:35

### 閉会の辞

16:35 — 16:40 第 20 回ヒ素シンポジウム会長 山中健三 (日本大学薬学部)

### 懇親会

16:45 — 18:45

大学内 カフェマリーナ



# 特別講演

## ヒ素と食品安全規制

厚生労働省食品安全部

加地 祥文

我が国における、食品中のヒ素に関する規制は、残念ながら不幸な事件から始まった。

1955年に森永乳業徳島工場で製造された乳児用調製粉乳によるヒ素中毒事件が発生し、被害者1万2000人以上、死亡者130名となった。爾来、60年が経過しようとしている。厚生省は、患者被害者の恒久的救済を図るための仕組みを患者支援団体、森永乳業とともに「ひかり協会」を作るとともに(1973年)、食品規制の法律である食品衛生法の省令(乳及び乳製品の成分規格等に関する省令)を改正し、乳児用調製粉乳に使用する添加物にあっては、薬事法の公定書に記載されている医薬品の基準に合致するものか、記載されていない添加物にあっては個別に厚生大臣の承認が必要とされることとなった。さらに、全粉乳、加糖練乳、調製粉乳を製造する工場においては、高度な知識を有する「食品衛生管理者」を設置しなければならないこととした(食品衛生法改正、1957年)。

食品を原因とするヒ素事件は、1998年に和歌山県で発生した和歌山毒物カレー事件において4名が死亡する事態が発生した。この事例は、本来の食品衛生における事故というより意図的な混入による刑事事件として取り扱われる事案であるが、その後の食品安全対策に、フード・ディフェンス(食品防御)という視点が不可欠となる先駆けとなっている。

一方、我が国は古来、海藻を好んで食してきた民族であるが、世界各国での近來の日本食ブームや海外に居住する日本人の要求によって、日本で採取され、加工された海藻類、特に海苔、ワカメ、昆布の輸出が増大するに伴って、輸入国の食品安全担当部局の検査において、ヒ素がこれらの海藻類から高濃度に検出されたことによって、輸入が差し止められる事態が頻発し、日本食に欠くことのできない食材が欠品したため、外交問題が発生する事態ともなっている。欧米各国では、紙のような食感の海苔の食経験が少なく、従ってこれらの成分についてのバックグラウンドの資料がないため、検査法の如何を問わず、ヒ素が検出された場合は無条件に輸入が禁止される場合が多い。その都度、外交ルートを通じて、我が国での分析データや食品中でのヒ素の存在形態とその毒性(安全性)についての資料を提出して、輸入解除の運びとなるまでに相当の時間と労力を費やさざるを得ない状況にある。

しかし最近では、各国での食品中のヒ素の調査が進んできて、様々な存在形態、存在量、さらに個々の存在形態での毒性等が判明するようになり、あわせて、海藻類、海産物以外の食品での環境汚染によるヒ素の汚染が判明してくるなどの影響で、食品の国際規格を策定する期間であるCodex委員会において、ヒ素の国際基準の策定がすすめられている。本日は、ヒ素に関する食品安全面についてのこれまでの対策と今後の検討すべき課題を紹介していきたい。

## 略歴

### 【氏名】

加地 祥文

かじ よしふみ

### 【学歴】

1977年（昭和52年）北海道大学獣医学部卒 公衆衛生学専攻

### 【職歴】

1978年（昭和53年）厚生省入省（横浜検疫所駐在官、横浜食品衛生監視員事務所）

1983年（昭和58年）兵庫県 保健環境部食品衛生課

1985年（昭和60年）厚生省 生活衛生局

1999年（平成11年）マレーシア保健省 政策アドバイザー

2002年（平成14年）厚生労働省 健康局 感染症情報管理室長

2004年（平成16年）横浜検疫所 輸入食品・検疫検査センター長

2007年（平成19年）厚生労働省 食品安全部 監視安全課長

2011年（平成23年）小樽検疫所 所長

2013年（平成25年）厚生労働省 食品安全部 食品監視分析官

非常勤講師：東大，北大，東京農工大，酪農学園大学

## 特別講演2

### 食事からのヒ素摂取とがん罹患との関連： 多目的コホート研究における検証

津金昌一郎（ツガネショウイチロウ）・澤田典絵（サワダノリエ）  
国立がん研究センターがん予防・検診研究センター

国際がん研究機関(IARC)によると、ヒ素で汚染された井戸水を飲用している海外のいくつかの地域住民や職業的にヒ素に高濃度曝露されている労働者のデータに基づき、ヒ素および無機ヒ素化合物はヒトに対して発がん性のある因子(グループ1)と判定している。日本では、水道水中のヒ素濃度については厳格な規制が行われている一方、日本人は、ヒ素含有量が多い魚介類や海藻を比較的多く摂取している。特に、日本人がよく摂取するひじきなどには無機ヒ素が含まれている。

われわれは、様々な生活習慣・生活環境とがん・脳卒中・心筋梗塞などの疾病との関係を明らかにし、病気の予防と健康長寿に資するための大規模長期前向き追跡研究である多目的コホート研究を実施している。その中で、1990年と1993年に、国内10保健所管内に居住し、1995年と1998年に行った食物摂取頻度調査を含むアンケートに回答した45-74歳の男女約9万人を2008年まで追跡し、日常的な食事からのヒ素摂取量とがん罹患との関連を検討した。

ヒ素摂取量の計算は、アンケート調査の138食品項目とこれまでに出版されたヒ素平均値が記載されている報告書および論文に共通の項目である75食品(12食品群)を、ヒ素含有食品として選定した。ヒ素摂取量は、75食品に含まれるそれぞれのヒ素量に、アンケートから計算された各食品の摂取量をかけて推計し、その順位により4群に等分して、最も摂取量の少ないグループを基準として、グループ間でがんのリスクを比較した。

無機ヒ素摂取量は、算出されたヒ素摂取量に、食品安全委員会の報告で用いられている無機ヒ素の割合をかけて算出した。無機ヒ素の割合は、米類86%、ひじき73%、ひじき以外の海藻類10%、魚介類5%、それ以外の食品群の無機ヒ素割合は不明のため、報告と同様の方法を用い、100%無機ヒ素であると仮定して算出した。

アンケートから算出された摂取量と、参加者の一部で一定期間に実際に食べた食品をすべて記録する方法で調べた食事記録から算出された摂取量の相関(妥当性)は、総ヒ素、無機ヒ素の順に、男性で0.30、0.33、女性で0.15、0.19だった。この種の研究としては、男性では推定摂取量の順位によるグループ分けがある程度は妥当とみなせるが、女性では低い値であったことに留意を要する。

男性42,029人、女性48,349人、合計90,378人が本研究の対象になり、約11年の追跡



期間中に、男性4,323人、女性2,679人、合計7,002人が何らかのがんに罹患した。

その結果、総ヒ素摂取量と全がんリスクとの関連は見られなかった。部位別では、男性の肺がん(599例)でリスクの上昇がみられたが、統計学的有意な関連ではなく、女性(254例)では関連がみられなかった。同様に、無機ヒ素摂取量と全がんリスクとの関連はみられなかったが、男性の肺がんで量反応関係がある正の関連が認められた。女性では、肺がんで統計学的有意ではない肺がんリスクの上昇がみられた。

ヒ素の肺がんへの影響が喫煙者でより顕著であることが報告されていることから、肺がんと総ヒ素・無機ヒ素摂取量について喫煙状況別に解析を行った結果、男性では喫煙者で総ヒ素・無機ヒ素ともに肺がんリスクの統計学的有意な上昇、非喫煙者では肺がんリスクの低下がみられ、喫煙状況により異なる関連が認められた。

本研究の限界としては、特に女性でヒ素摂取量の妥当性が低かったこと(誤分類)、また、部位によっては症例数が少なかったために、ヒ素とがんとの関連を正確に評価していない可能性もある(偶然、検出力不足)。さらに、ヒ素を含んでいる食品による影響や、ヒ素を多く含む食品を食べる人が共通する他の生活習慣が及ぼす影響を受けた見かけ上の関連である可能性は排除出来ない(交絡)。

今回の研究では75食品という比較的多くの食品からヒ素摂取量を計算し、日本人では一般的な食事摂取レベルで、喫煙男性において、ヒ素摂取と肺がんとの正の関連がみられ、日常の食事から摂取するレベルにおいても影響がある可能性が示唆された。今後、ほかの集団による検証などの研究によるエビデンスの蓄積を経て、日常的な食事からのヒ素摂取による発がん影響についての総合的リスク評価をすることが求められる。

但し、肺がんは、喫煙との関連が強く、今回の研究においても男性では喫煙者においてのみヒ素との関連が示されているので、肺がんを予防するためには、まずは禁煙をすることが重要である。

**【文献】** Sawada N, et al. Dietary arsenic intake and subsequent risk of cancer: the Japan Public Health Center-based (JPHC) Prospective Study. *Cancer Causes Control* 2013 ;24:1403-15.

## 略歴

### 【氏名】

津金 昌一郎 (つがね しょういちろう)

独立行政法人国立がん研究センター がん予防・検診研究センター センター長

### 【学歴】

1981年：慶應義塾大学医学部卒業

1985年：同大学大学院修了(医学博士)

### 【職歴】

1986年：国立がんセンター研究所疫学部研究員

1994年：臨床疫学研究部長

2003年：がん予防・検診研究センター予防研究部長

2013年：独立行政法人国立がん研究センター がん予防・検診研究センター センター長。

### 【研究領域】

がんの疫学研究(がんの原因究明と予防に関する研究)など



### 特別講演3

## 食品安全行政におけるヒ素分析の必要性—摂取量推定を中心に—

国立医薬品食品衛生研究所 渡邊敬浩

食品衛生法の第一条には、「飲食に起因する衛生上の危害の発生を防止し、もって国民の健康の保護を図ること」と書かれています。これが我が国における食品安全行政(国民の健康にとって害とならないように食品の生産や流通を管理していくこと)における基本的な考え方(理念)だろうと思います。一方、世界に目を向けると、食品安全に関わる国際的な政府間組織として、FAOとWHOが共同で組織するCodex委員会があります。Codex委員会は、国際食品規格(Codex規格)を策定し、またCodex規格の実効に必要な各種関連文書を発効します。Codex委員会における手続きの一切を規定したProcedural manualには、Codex規格の策定と関連文書の発行の目的が、「These food standards and related texts aim at protecting consumer's health and ensuring fair practice in the food trade」であると明記されています。Codex委員会は政府間組織であり、食品安全とともに公正な食品貿易も重要なタスクとするため、Codex規格の策定目的において「fair trade」も同時に取り扱っています。しかし、食品安全という観点に絞れば食品衛生法と理念を共有しています。国によって文化や経済等に違いはありますが、こと食品安全に関しては、ヒトが食べずには生きられず、また食品がグローバルに流通するようになったことから、各国内だけのこととしてだけではなく、国と国との間でも共有する理念(目的)を達成するために、協調して整合した取り組みが求められる、行政にとっては極めて根本的な課題です。

食品安全行政の実行には、原則があります。その原則とは、科学的根拠に基づき、施策を策定・実効させ、実効後は効果を監視し施策を見直すことです。またこれらの行動を、科学的根拠に基づいて合理的に説明することが同時に求められます。ここでいう科学的根拠とは、国民の健康にとって害とならない食品の生産と流通に資する適正なデータと、その解析・評価の結果です。具体的に言えば、1)どのような食品に目的有害物質がどのくらいの量含まれているのかを知るためのデータ(サーベイランスデータ)、2)目的有害物質のどれくらいの量にヒトは暴露されているのかを知るためのデータ(摂取量推定値)、3)施策実効後の目的有害物質の量の変化(含まれている食品の種類及びその量の変化)を知るためのデータ(モニタリングデータ)の取得、解析、評価が必要となります。これらデータの他、目的有害物質の毒性に関するデータ(ハザードの特性解析のためのデータ)がそもそも必要となります。また、施策の一つとして食品規格が策定される場合には、その実効のための検査に不可欠なデータ(サンプリングの策定や分析法の妥当性確認に必要なデータ)が求められます。

事件や事故、公害の歴史があるため、ヒ素に対する一般的な認識は、「少しでも摂取したらすぐさま死んでしまう」といった、非常に恐ろしいものなのかも知れません。不

幸にして、そのような毒性がヒ素にあることも間違いはないのですが、公衆衛生の問題とは異質であり、食品安全行政の守備範囲には含まれません。食品安全行政では、例えば日常的な食事を通じて一生涯という長期間にわたりヒ素を摂取し続けた時の発がんのリスクがどのくらいになるのかを推定し、その発がんリスクを増加させないためには、食品の濃度をどのくらいに管理すれば良いのかといったことを課題にします。一般に、このような課題に取り組むにあたり、食品の生産・製造において意図的に使用する農薬といった化学物質の管理は比較的容易です。日常的に摂取し続けても健康に害のない濃度でしか食品には残留しないように、**good agricultural practice(GAP)**等によって、使用方法等を制限することができます。また、意図して使用する化学物質に関する食品規格の設定は、食品の生産・製造段階での正しい使用と管理を前提としており、検査はその確認を主目的としていると解釈することができます。さらに、事前に健康への影響を評価するため現在ではそのような事が起こる可能性は低いと思いますが、仮に使用後に高い毒性が明らかになったとしても、使用そのものを禁止することができます。物質の安定性によっては、環境への残留が問題になる場合もありますが、使用を禁止すれば必ずヒトへの暴露量は減少していきます。

天然にそもそも存在する有害物質の場合には、その発生が止められず、食品への汚染を予防するのにも限界があります。そのような有害物質については、**ALARA(As Low As Reasonably Achievable)**の原則に従った管理が検討されます。合理的に達成可能なより低濃度で管理するということがですが、この合理的に達成可能な水準を明らかにするための科学的根拠として、サーベイランスデータ(実態調査データ：オカランスデータ)が不可欠となります。2014年7月に開かれたCodex総会において、精米の無機ヒ素濃度を**0.2 mg/kg**とすることが決められました。この精米の国際食品規格が議論された際にも、精米中の無機ヒ素濃度に関するオカランスデータが我が国をはじめとする加盟各国から提供されました。提供されたデータの統計学的な解析の結果とALARAの原則に基づき、**0.2 mg/kg**という濃度は設定されています。今後は、食品規格の実効のために、精米中の無機ヒ素を分析するための方法、つまりは検査で使用する分析法が、国際的に議論されるでしょう。また、検査の実施以降も、食品規格を満たした精米は流通し摂食されますから、健康危害リスクの変化をより直接的に監視するための無機ヒ素摂取量の推定が、今まで以上に求められるようになるだろうとも予想しています。さらに、食品からの無機ヒ素の摂取源は精米には限りません。そのため、様々な食品、食事を通じた無機ヒ素摂取量の推定が必要とされ、分析法を含めた手法開発が、今後の重要課題であると考えています。

本講演では、食品安全行政と科学との関係について概観した後、私たちが30年以上に亘り実施している摂取量推定研究の紹介を通じ、食品安全行政に資するヒ素の分析に現在求められている事について考えていければと思います。

## 略歴

### 【氏名】

渡邊 敬浩(わたなべ たかひろ)

### 【学歴】

筑波大学生物化学系生物物理化学専攻 博士課程修了 理学博士 平成13年 3月

### 【職歴】

筑波大学生物科学系 日本学術振興会 特別研究員 自平成11年 1月  
至平成13年 3月

国立医薬品食品衛生研究所 科学技術振興事業団 自平成13年 4月  
機能生化学部 第1室 重点研究支援協力員 至平成13年 9月

国立医薬品食品衛生研究所 自平成13年10月  
食品部 第3室 研究員 至平成17年 9月

国立医薬品食品衛生研究所 自平成17年10月  
食品部 第3室 主任研究官 至平成20年 7月

国立医薬品食品衛生研究所 自平成20年 8月  
食品部 第3室 室長 至現在

### 【学会等】

日本食品衛生学会編集委員会委員  
日本適合性認定協会食品分科会委員  
Codex委員会 分析サンプリング法部会delegate (2006～)

### 【書籍】

食品分析結果の正しさ～信頼性保証の実践とその意味～ 林純薬工業  
渡邊敬浩 松田りえ子

# 一般演題

## ワカメに含まれる有機ヒ素化合物抽出法の検討

○長谷川桃子<sup>1</sup>, 畑明寿<sup>1</sup>, 黒澤英俊<sup>2</sup>, 山中健三<sup>2</sup>,  
 山野優子<sup>3</sup>, 圓藤陽子<sup>4</sup>, 圓藤吟史<sup>5</sup>, 藤谷登<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 千葉科学大学大学院 危機管理学研究科, <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

海藻にはアルセノシュガー (AsSug) やアルセノリピッド (AsLip) などの有機ヒ素化合物が豊富に含まれているが、これらの摂取による健康リスクは不明な点が多い。リスク評価にはヒ素の化学形態別含有量を知ることが不可欠であるが、海藻からのヒ素抽出法は確立されていない。AsSugやAsLipの化学構造は酸やアルカリにより変化する可能性があることから、抽出には化学的に温和な条件が求められる。今回、ワカメ (*Undaria pinnatifida*) を被験食品とし、細胞壁分解酵素による前処理と抽出溶媒としてメタノールを用いた抽出法の検討を行ったので報告する。

### 2 方法

被験食品：湯通し塩蔵乾燥ワカメ（国産）を粉末状にして試料に用いた。湿式灰化を行い総ヒ素量を求め、この値を100%として抽出法におけるヒ素回収率を算出した。酵素処理の検討：リン酸緩衝液にアルギン酸リアーゼ(A)とセルラーゼ(C)を添加し、次の4種類の酵素液を作成した；A(+ )C(+), A(+ )C(-), A(-)C(+), A(-)C(-)。各酵素溶液にワカメを加え37℃で6時間インキュベート後、遠心上清の総ヒ素量をICP-MSにて測定した。

抽出溶媒の検討：ヒ素抽出に適したMeOH濃度を検討するため、0、50、100% MeOHを抽出溶媒として用いた。上記酵素処理サンプルに抽出溶媒を加え振盪抽出を行い、遠心上清を回収した。沈殿に再び抽出溶媒を加え、計3回振盪抽出を繰り返した。回収した上清はエバポレーターで濃縮した後、MilliQ水に溶解させ分析サンプルとした。

ヒ素分析：総ヒ素分析はICP-MS法、ヒ素化学形態別分析はHPLC-ICP-MSとHPLC-ESI-Q-TOF-MS法を用いて行った。HPLCにおけるヒ素化合物の分離にはイオン交換カラムを用いた。

### 3 結果

被験食品であるワカメの総ヒ素含有量は25.50mg/kg dryであった。酵素処理の検討の結果、最もヒ素溶出量の高い条件はA(+ )C(+ )で、溶出率は45.5%であった。抽出溶媒の検討の結果、ヒ素抽出率の高い条件は100% MeOHを用いた場合であった。



A(+)/C(+)処理ワカメに100%MeOH抽出を行った際の抽出率が最も高く、抽出率は88.8%となった。ワカメ抽出液のHPLC-ICP-MS分析の結果、少なくとも4つのヒ素化合物ピークが検出された。HPLC-Q-TOF-MSによる精密質量測定とMS/MS分析の結果、2つのピークはAsSug 328 (C<sub>10</sub>H<sub>21</sub>AsO<sub>7</sub>)とAsSug 482 (C<sub>13</sub>H<sub>28</sub>AsO<sub>12</sub>P)と同定された。また他の1つのピークにはarsenic-hydrocarbon 388 (As-HC388, C<sub>21</sub>H<sub>45</sub>OAs)とarsenosugar-phospholipid 1012 (As-PL1012, C<sub>49</sub>H<sub>94</sub>O<sub>14</sub>PAs)の質量数と一致する物質が含まれていた。

#### 4 考察

アルギン酸リアーゼとセルラーゼによる前処理と100% MeOHによる抽出により約90%のヒ素抽出率を得ることができた。本法は化学的に温和な条件下で行うため、ヒ素化学形態別分析に適した抽出法と考えられる。また、この方法はワカメと同様の細胞壁をもつ海藻の有機ヒ素化合物抽出にも応用できる可能性がある。

#### The extraction method of organoarsenic compounds from wakame seaweed

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

<sup>1</sup>Chiba Institute of Science, <sup>2</sup>Nihon University, <sup>3</sup>Showa University,

<sup>4</sup>Japan Labour Health and Welfare Organization, <sup>5</sup>Osaka City University

Seaweeds are a source of arsenosugars (AsSug), which are possibly toxic substances. Therefore, it is essential to assess the risk of intake of AsSug. However, the main method used to date is not particularly efficient in extracting arsenic compounds from wakame (*Undaria pinnatifida*). In order to develop a high recovery-rate extraction method without altering the chemical structure of the arsenic compounds, we examined the efficacy of a combined enzymatic treatment and MeOH extraction method. After treatment with cellulase and alginate lyase and extraction with 100% MeOH, we extracted 88.8% of the arsenic compounds in wakame without arsenic species alteration. Four peaks were detected using HPLC-ICP-MS, two of them corresponding to AsSug 328 (C<sub>10</sub>H<sub>21</sub>AsO<sub>7</sub>) and AsSug 482 (C<sub>13</sub>H<sub>28</sub>AsO<sub>12</sub>P). HPLC-ESI-Q-TOF-MS analyses suggested that the other one peak could correspond to arsenic-hydrocarbon 388 (C<sub>21</sub>H<sub>45</sub>OAs) and arsenosugar-phospholipid 1012 (C<sub>49</sub>H<sub>94</sub>O<sub>14</sub>PAs). This method can be used to extract arsenic compounds from brown algae with strong cell walls.

## ジフェニルアルシン酸ばく露による行動異常と小脳アストロサイトにおける神経・血管作動性ペプチドの異常放出

○根岸 隆之<sup>1</sup>、松永友貴<sup>2</sup>、高橋理貴<sup>2</sup>、平野靖史郎<sup>3</sup>、田代朋子<sup>2</sup>

<sup>1</sup>名城大学 薬学部 生理学, <sup>2</sup>青山学院大学 理工学部 分子神経生物学,

<sup>3</sup>国立環境研究所 環境リスク研究センター

ジフェニルアルシン酸 (DPAA) は2003年に茨城県神栖市 (当時神栖町) において発生したヒ素による井戸水汚染事故の原因物質であり、旧日本軍の毒ガス弾を合成する際の間接原料またはそれらの分解産物と考えられている。この汚染事故では井戸水を生活利用していた住民が小脳症状を主徴とする神経症状を特徴的に訴え、臨床的には脳血流量の低下がみられた (現在は一部の症例を除き寛解している) が、DPAAがこのように特徴的に神経症状と脳血流量低下を引き起こすメカニズムは不明である。そこで本研究ではラットを用いて、DPAAが神経症状を引き起こすメカニズムの解明を試みた。

まず、DPAAが神経系の細胞に対してどのような影響を与えるのかをラット小脳由来初代培養神経系細胞を用いて*in vitro*で評価した。DPAAは濃度依存的に細胞毒性を示した ( $IC_{50} = 30 \mu M$ )。DPAAによる細胞毒性の濃度依存性・時間依存性を評価した後、顕著な細胞死は発生しない濃度および時間である  $10 \mu M$  で24時間ばく露した際の細胞の遺伝子発現をDNAマイクロアレイにより網羅的に評価したところ、酸化ストレスに応答して発現することが知られるHemeoxygenase-1やHsp70の発現上昇が確認された。また、神経細胞や血管をコントロールするペプチドである、MCP-1、CCL2等の発現上昇がみられた。一方で神経細胞に特異的な遺伝子についてはその遺伝子発現は影響を受けなかった。これらの遺伝子発現変化をみせる細胞種を特定するために免疫細胞化学染色を用いて評価したところ、アストロサイトにおいてDPAAによるこれらのタンパク質発現変化が確認された。これらの変化が*in vivo*でも見られるか検証するために9週齢のラットにDPAAを飲水投与 ( $100 \text{ mg DPAA/L}$ ) により21日間ばく露したところDPAAばく露ラット小脳において酸化ストレス応答因子の発現上昇とともにアストロサイトの活性化と上述の神経・血管作動性ペプチドの発現上昇が確認された。また行動学的にはDPAAによる歩行障害がみられた。以上のことから、DPAAは小脳においてアストロサイトを活性化し、種々の神経・血管作動性ペプチドを過剰に放出することによって神経機能および脳血流制御を攪乱している可能性が考えられた。

続いて、*in vivo*においてより低濃度でより長期のDPAAばく露がどのような異常をもたらすかを検証するためにラットにおいて生後直後から  $20 \text{ mg DPAA/L}$  で飲水投与を行った (生後21日の離乳までは母体を介した経乳曝露)。DPAAばく露ラットは生後6週齢および生後12週齢においてオープンフィールドテストにおいて多動を示し、

また受動的回避学習能力試験の成績は低値を示した。これらの結果より、亜慢性の低濃度DPAAばく露はラットにおいて顕著な行動学的異常を引き起こすことが明らかとなった。また興味深いのは生後6週齢までDPAAばく露を行いそれ以降は対照群と同じくDPAAを含まない水道水で6週間飼育した12週齢のラットは多動は示さなかったが受動的回避学習能力試験の成績は低値であった。このことはDPAAによる多動は可逆的障害であるのに対し学習能力障害は非可逆的障害であることを示している。

以上のように本研究ではDPAAにより生じる神経症状の発症メカニズムを検証・解明するためにラットが有用なモデル動物となること、また*in vitro*と*in vivo*を組み合わせることによりDPAAの影響が他の有機ヒ素化合物と異なり神経系に特徴的に影響を及ぼすこと、またその機序の一端を明らかにした。

・参考文献

- Developmental subchronic exposure to diphenylarsinic acid induced increased exploratory behavior, impaired learning behavior, and decreased cerebellar glutathione concentration in rats. Negishi T, Matsunaga Y, Kobayashi Y, Hirano S, Tashiro T. *Toxicol Sci.* 2013 Dec;136(2):478-86
- Diphenylarsinic acid increased the synthesis and release of neuroactive and vasoactive peptides in rat cerebellar astrocytes. Negishi T, Takahashi M, Matsunaga Y, Hirano S, Tashiro T. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2012 Jun;71(6):468-79.

## Diphenylarsinic acid-induced abnormal behaviors in rats and aberrant releases of neuroactive and vasoactive peptides in rat cerebellar astrocytes

Takayuki Negishi<sup>1</sup>, Yuki Matsunaga<sup>2</sup>, Masaki Takahashi<sup>2</sup>, Seishiro Hirano<sup>3</sup>,  
Tomoko Tashiro<sup>2</sup>

<sup>1)</sup> Department of Physiology, Faculty of Pharmacy, Meijo University,

<sup>2)</sup> Department of Chemistry and Biological Science, Aoyama Gakuin University,

<sup>3)</sup> Research Center for Environmental Risk, National Institute for Environmental Studies

Diphenylarsinic acid (DPAA) had been one of the arsenic chemicals contaminating the well water in Kamisu, Ibaraki, in 2003, which was a degradation and/or ingredient product of emetic weapons synthesized during World War II. People using the well water suffered from some neurological symptoms suggestive of cerebellar dysfunction. Here, we investigated the adverse effects of DPAA exposure in rats, and tried to elucidate the biological mechanism of DPAA-induced adverse effects leading to cerebellar symptoms. DPAA exposure in rats induced behavioral abnormalities and oxidative stress in cerebellum. Further, cerebellar astrocytes were affected by DPAA and they irregularly secreted vasoactive and neuroactive peptides such as MCP-1 and CCL2. These results indicated some evidence that DPAA could induce cerebellar symptoms in the Kamisu accident and demonstrated partially its biological mechanism in rats.

## メタボローム解析を用いたアルシン曝露のバイオマーカーの探索

○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 公衆衛生学, <sup>2</sup> 昭和大学医学部 衛生学,

<sup>3</sup> 日本大学薬学部 環境衛生学, <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

毒物に指定されている気体のヒ素化合物であるアルシン( $\text{AsH}_3$ )による中毒事故が精錬業等の従事者において散発的に認められる。しかし、アルシンに対して許容濃度は設定されているものの管理濃度は設定されていないため、産業現場におけるリスク管理の観点からも、バイオマーカーの開発は急務である。ただし、食物を通じて日常的にヒ素を摂取しているため、食事性のヒ素曝露に影響されないバイオマーカーである必要がある。そこで、本研究ではアルシンを吸入させた急性曝露マウスと三酸化二ヒ素を経口投与した慢性曝露マウスの血漿を用いてメタボローム解析を行い、バイオマーカー候補を探索すると共に、両曝露群の代謝物を比較することを目的とした。

### 2 方法

5 mgの亜ヒ酸を中性水素化ホウ素ナトリウムで還元して発生させたアルシンをHos:HR-1マウスに曝露して得られた血漿を吸入曝露サンプルとし、BALB/cマウスに0.1  $\mu\text{g}/\text{日}$ で三酸化二ヒ素を30日間経口投与したマウスから得られた血漿を慢性曝露サンプルとした。また、各々に対する対照群を作製した。これらを除タンパク後に乾固し、90%メタノールで溶解後、高速液体クロマトグラフィー質量分析計でメタボローム解析を実施した。

### 3 結果および考察

コントロールと比較して、曝露群で有意に血中濃度が変化した物質はアルシン急性曝露群においてはポジティブモードで48種、ネガティブモードで36種検出された。経口慢性曝露群ではそれぞれ43種と39種検出された。これらのうち、データベース検索により候補化合物が得られた物質は、アルシン急性曝露群ではそれぞれ16種、21種であり、さらに生理学的な意義が明らかなものは、核酸の代謝物や胆汁酸成分等であった(血中濃度は有意に低下)。また、経口慢性曝露群で候補化合物が得られた物質は各々21種、12種であった。アルシン急性曝露群と経口慢性曝露群に共通した物質は1種のみ検出されたが、生理学的意義が明らかになっている物質ではなかった。

アルシン曝露では、肝臓におけるヒ素代謝や溶血によって血中に遊離するヘモグロビンの代謝に負荷がかかるため、血中の核酸代謝物や胆汁酸成分濃度は上昇することが予想されたが、むしろ低下していた。これらの生理学的意義やメカニズムについては今後検討する必要がある。また、アルシン急性曝露群と経口慢性曝露群の両群に共通して血中濃度に変化が認められた物質は1種類のみであったことから、食事性のヒ素曝露に影響を受けないアルシンの曝露マーカーを開発可能であることが示唆された。本研究で得られたバイオマーカー候補物質の有用性については、今後検討する必要がある。

### Exploratory screening for biomarkers of arsine exposure via metabolome analysis

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:** Acute arsine (AsH<sub>3</sub>) intoxication sporadically occurred in specific workplace such as refining plants. However, the control concentration for arsine is not established, and it is essential to develop the biomarker of arsine exposure which is not affected by arsenic exposure by food intake. The aim of this study was to explore candidates of exposure marker via metabolome analysis.

**Materials and Methods:** Blood plasma was separated from four groups of mice (i.e. arsine inhaled mice, corresponding control, mice orally administered with arsenic trioxide for 30 days and corresponding control). Those were deproteinized, dried up, collected with 90% methanol and analyzed via liquid chromatography mass spectrometry.

**Results and Discussion:** The 84 substances whose level in the plasma was changed significantly in exposed mice were detected in arsine exposed mice, and 82 were in arsenic trioxide exposed mice. The substances whose candidates were presented by a database search were 37 and 33, respectively, and only a candidate was detected commonly. Thus, the possibility of developing exposure marker insensitive to oral intake of arsenic was indicated. In order to establish the exposure marker of arsine, further study to elucidate usefulness of the obtained candidates is essential.

## 無機ヒ素曝露の生物学的モニタリングのための測定法の比較： GC-MS法とHPLC-ICP-MS法

○竹内靖人<sup>1</sup>, 山中健三<sup>2</sup>, 奈女良昭<sup>3</sup>, Wang Dapeng<sup>2,4</sup>, Yan An<sup>4</sup>, 下田康代<sup>2</sup>, 川澄八重子<sup>5</sup>, 山室 堅治<sup>1</sup>,  
圓藤陽子<sup>6</sup>, 住野公昭<sup>1</sup>, 圓藤吟史<sup>7</sup>

<sup>1</sup>中央労働災害防止協会 大阪労働衛生総合センター, <sup>2</sup>日本大学 薬学部 環境衛生学,

<sup>3</sup>広島大学大学院 医歯薬保健学研究院 法医学, <sup>4</sup>蘇州大学 医学部 公衆衛生学部,

<sup>5</sup>中央労働災害防止協会 労働衛生調査分析センター, <sup>6</sup>関西労災病院 産業中毒研究センター,

<sup>7</sup>大阪市立大学大学院 医学研究科 産業医学分野

### 【目的】

現在、ヒ素の形態別分析はHPLC-ICP-MSを用いた方法が一般的であるが、この方法は測定にかかるコストが高額となるため、多数の検体を分析するには不向きである。我々は、より汎用性の高いGC-MSを用いた尿中の無機ヒ素 (iAs : As(III) + As(V)) およびモノメチルアルソン酸 (MMA) の分析法を開発し、一昨年の本シンポジウム (第18回) で報告した。今回、GC-MS法の信頼性評価のために、ヒ素曝露者 (86名) の尿を用いて、GC-MS法とHPLC-ICP-MS法による測定値の比較を行った。

### 【方法】

<対象>無機ヒ素曝露作業者 (日本人, 60名) およびヒ素汚染水を摂取した無機ヒ素曝露住民 (中国人, 26名) から尿を採取し、分析まで冷凍で保存した。

<GC-MS分析>GC-MS分析は、我々が開発した方法 (Takeuchi A et al., 2012) に従って行った。すなわち、尿 (2ml) に SnCl<sub>2</sub> 塩酸溶液 (50 mg/ml, 0.4 ml) と KI 水溶液 (20%, 0.2 ml) を加え還元し、BAL (2, 3-ジメルカプト-1-プロパノール) 水溶液 (0.2%, 0.2 ml) を加え、誘導体化した後、ジクロロメタンで抽出し、GC-MS (GC 7890A + 5975C inert XL, Agilent) で分析を行った。

<HPLC-ICP-MS分析>HPLC-ICP-MS分析は、既報の方法 (Suzuki Y et al., 2009) に従って行った。すなわち、尿をMilliQ-水で5倍希釈し、0.22 μmのメンブレンフィルターで濾過した後、HPLC-ICP-MS (HP1100 + 7500a, Agilent) で分析を行った。分析カラムは陰イオン交換カラム (IonPac AS22, Dionex) を用いた。

<統計解析>同一尿をGC-MS法とHPLC-ICP-MS法で分析し、測定値の比較を行った。定量下限以下の測定値は、定量下限の1/2の値 (両方法とも : 0.5 μg/l) を用いて解析を行った。

### 【結果】

日本人作業者および中国人住民のiAs, MMAおよび総ヒ素 (T-As : iAs, MMA, ジメチルアルシン酸およびアルセノベタインを含む) 濃度の分布を表1に示した。それぞれにおけるGC-MS法およびHPLC-ICP-MS法による (iAs + MMA) 値の回帰式が一致したことから、全86名における回帰式を求め、図1に示した。両数値は1 : 1の対応で非常に良好な相関関係が認められた ( $\log y = 1.037 \log x - 0.161$  ( $x = \text{HPLC-ICP-MS}$ ,  $y = \text{GC-MS}$ ,  $n = 86$ ,  $R^2 = 0.941$ ))。

### 【考察】

GC-MS法による測定値は、HPLC-ICP-MS法と1 : 1の対応で良好な相関関係を示したことから、GC-MS法の信頼性が確認された。GC-MS法は、比較的簡単な前処理でiAsおよびMMAを選択的にかつ高感度で分析でき、コストパフォーマンスも高いため、無機ヒ素曝露のモニタリングに有益な方法と考えられる。

## (参考文献)

Takeuchi A et al., J Occup Health 2012; 54: 434–40, Suzuki Y et al., J Occup Health 2009; 51: 380–5

## (謝辞)

本研究の一部は、日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究(B) (No.22390165)によるものである。

表1 日本人作業者および中国人住民のiAs, MMAおよびT-As濃度(HPLC-ICP-MS法)

	日本人作業者 (n=60)	中国人住民 (n=26)
iAs	<1.0-55.3	7.0-101.6
MMA	<1.0-20.8	6.2-167.8
T-As	19.2-380.4	25.0-687.0

Concentrations in  $\mu\text{g/l}$  as As.

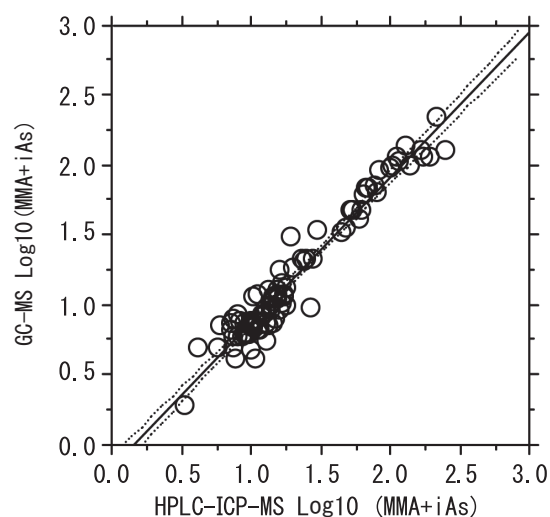


図1 GC-MS法とHPLC-ICP-MS法の比較

## Comparison of analytical methods for biological monitoring of inorganic arsenic exposure: GC-MS and HPLC-ICP-MS

Akito Takeuchi<sup>1</sup>, Kenzo Yamanaka<sup>2</sup>, Akira Namera<sup>3</sup>, Wang Dapeng<sup>2,4</sup>, Yan An<sup>4</sup>, Yasuyo Shimoda<sup>2</sup>,  
Yaeko Kawasumi<sup>5</sup>, Kenji Yamamuro<sup>1</sup>, Yoko Endo<sup>6</sup>, Kimiaki Sumino<sup>1</sup>, Ginji Endo<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Osaka Occupational Health Service Center, Japan Industrial Safety and Health Association (JISHA),

<sup>2</sup>Nihon University, <sup>3</sup>Hiroshima University, <sup>4</sup>Soochow University, <sup>5</sup>Occupational Health Research and  
Development Center, JISHA, <sup>6</sup>Kansai Rosai Hospital, <sup>7</sup>Osaka City University

**[Objectives]** In our previous study, we reported an analytical method for the simultaneous determination of inorganic arsenic (iAs) [As(III) and As(V)] and monomethylarsonic acid (MMA) in urine by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) for the biological monitoring of iAs exposure. In order to validate this GC-MS method, we analyzed iAs and MMA levels of human urines with two different exposure types using high-performance liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry (HPLC-ICP-MS) method and this GC-MS method and the relationship was analyzed. **[Methods]** The subjects were 60 Japanese workers exposed to iAs by inhalation and 26 Chinese people exposed to iAs by drinking arsenic polluted water. Their urine samples were analyzed both by HPLC-ICP-MS and GC-MS. **[Results]** The Japanese workers generally eat seafood and their urinary total arsenic (T-As), including iAs, MMA, dimethylarsinic acid and arsenobetaine, ranged from 19.2 to 380.4  $\mu\text{g/L}$ . The Chinese people habitually drink iAs contaminated water and their T-As ranged from 25.0 to 687.0  $\mu\text{g/L}$ . The relationship of urinary sum of iAs and MMA levels measured by HPLC-ICP-MS and GC-MS was as follows;  $\log y = 1.037 \log x - 0.161$  ( $x = \text{HPLC-ICP-MS}$ ,  $y = \text{GC-MS}$ ,  $n = 86$ ,  $R^2 = 0.941$ ). **[Conclusion]** This method is robust, selective and cost-effective. The values obtained by this method are significantly consisted with those by HPLC-ICP-MS method. This method is useful for the biological monitoring of not only occupational exposure but also oral exposure to iAs.

## 日本人の足爪中ヒ素の化学形態

北島爽一郎<sup>1</sup>, ○吉永淳<sup>2</sup>, 小栗朋子<sup>3</sup>, 成川知弘<sup>4</sup>

<sup>1</sup>北里大学 <sup>2</sup>東京大学 <sup>3</sup>国立環境研究所 <sup>4</sup>産業技術総合研究所

### 1. はじめに

無機ヒ素 (iAs) は、その発がん性の他、さまざまな慢性毒性も懸念されている。今後わが国でもiAsへの慢性曝露による健康影響に関する疫学調査を行う必要があると考えられる。しかし、こうした調査を行うにあたり、iAs への慢性曝露の指標が確立していないという問題がある。

尿中 iAs およびその代謝産物濃度は iAs 曝露のバイオマーカーとしてよく用いられるが、iAs の生物学的半減期は比較的短いので、尿中ヒ素が反映するのは採尿の前日付近の曝露である。地下水汚染地域やアメリカで長期曝露のバイオマーカーとして足爪の総ヒ素濃度を用いた疫学調査がいくつか行われている [1,2]。足爪が用いられるのは、その形成期間の血中ヒ素レベルを反映すると考えられ、また頭髪などに比較してヒ素の外部汚染が少ないと考えられているからである。しかしながら、海産物を介して多種多様な有機ヒ素を日常的に摂取する日本人において、iAs 摂取量のバイオマーカーとして足爪中ヒ素濃度が適切であるかどうかについては慎重な検討が必要である。

日本人の iAs への慢性曝露を調べるための生体試料として足爪を用いる可能性を調べることが目的とし、足爪中ヒ素の化学形態分析法の基礎的検討を行なった結果と、日本人の足爪中に検出されたヒ素化学種について報告する。

### 2. 方法

固体試料である足爪中ヒ素の化学形態分析を行うために、硝酸による密閉分解によって溶液化する手法を採用した。分解後、ホットプレート上で酸を揮発させ、精製水でメスアップし、逆相カラムを用いたイオン対クロマトグラフィーによる LCICPMS 法 [3] で形態別の定性・定量を行った。予備実験に用いた足爪は大学関係者である成人男性から採取した。

### 3. 結果と考察

メチルアルソン酸(MMA)、ジメチルアルシン酸(DMA)、アルセノベタイン(AB)等、日本人の体内に検出される主要な有機ヒ素化合物は難分解性であることが知られている [4] が、今回採用した溶液化法で化学形態が変化せず、回収率がほぼ100%であることを、各々の標準



液を使用して確認した。しかしAs(III)は完全にAs(V)に酸化されていた。したがってこの方法ではiAsの価数別の定量はできず、総iAsとして定量されることになる。

予備実験として、日本人成人(男性) 2名の足爪を酸分解により溶液化し、LCICPMSにより形態分析を行った。2名に共通して検出されたのはiAs、MMA、DMAであり、2例中1例でTMAOが検出された。なおMMA、DMA、TMAOは、足爪試料溶液に標準添加をして確認をした。2名の足爪中総ヒ素濃度(すべての形態の合計)は、147と85 ng/gであり、そのうちiAsがそれぞれ103、54 ng/gと最も濃度が高かった。まだ予備実験の段階であるが、足爪中にABが検出されないことは注目される。日本人の血中にはABのみが検出レベルであり [5]、また尿中にも高い濃度で検出されることは周知のとおりである。血中から足爪にABは移行しないことが示唆される。これはABのケラチンへの親和性が低いことによるものかもしれない。DMAはiAsだけでなくヒ素糖の分解産物であることを考慮すると、尿同様[6]、足爪中もiAs+MMAをiAsへの慢性曝露のバイオマーカーとして使用することが適切であると考えられ、今後iAs摂取量との関連を調べていく予定としている。

[1] Heck et al. *Environ Health Perspect* **117**, 1718 (2009) [2] Pan et al. *Am J Epidemiol* **178**, 1563 (2013) [3] Narukawa et al. *Appl Organomet Chem* **20**, 565 (2006) [4] Jin et al. (1983) *Bunseki Kagaku* **32**, E171. [5] Shibata et al. *Appl Organomet Chem* **8**, 249 (1994) [6] Hata et al. *J Occup Health* **49**, 217 (2007)

### Speciation of arsenic in toenail of the Japanese

S. Kitajima<sup>1</sup>, J. Yoshinaga<sup>2</sup>, T. Oguri<sup>3</sup>, T. Narukawa<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Kitasato Univ. <sup>2</sup> Univ of Tokyo <sup>3</sup> Natl Inst Environ Stud <sup>4</sup> Adv Ind Sci Technol

Speciation analysis of As in toenail was carried out. After toenail was digested with HNO<sub>3</sub> in a closed digestion vial, acid was evaporated and the residue was dissolved in purified water for LCICPMS analysis. Decomposition of methylarsonic acid (MMA), dimethylarsinic acid (DMA) or arsenobetaine (AB) did not take place by this procedure except for As(III), which was completely oxidized to As(V). Preliminary analysis of two toenail samples from adult male Japanese by this procedure detected iAs, MMA and DMA in both of the subjects and TMAO in one of the subjects, but AB was not detected in the two subjects. Although AB is predominant species detected in body fluids of the Japanese, it was indicated that AB is not taken into toenail matrix probably due to low affinity to keratin. Sum of iAs and MMA concentrations in toenail is considered suitable biomarker of long-term inorganic As exposure.

## バングラデシュのヒ素汚染地域における血管障害

○姫野誠一郎<sup>1</sup>, 宮高透喜<sup>1</sup>, Rezaul Karim<sup>1,2</sup>, Khaled Hossain<sup>2</sup>

<sup>1</sup>徳島文理大学薬学部, <sup>2</sup>Rajshahi University (Bangladesh)

### 1. 背景と目的

バングラデシュでは地下水のヒ素汚染により数千万人が井戸水からヒ素を摂取しており、皮膚障害のみならず、様々な健康障害が起こっている。また、世界各地のヒ素汚染地での報告から、ヒ素への曝露によって動脈硬化や血圧上昇が起こる可能性が指摘されている。ヒ素曝露によって心臓血管系疾患の罹患率、死亡率が高まるとの報告もある。しかし、これらの疫学調査においては、ヒ素曝露レベルとの用量-反応関係が必ずしも明確ではない。また、血管障害に関わる血液生化学的なデータもほとんど報告されていない。そこで、バングラデシュ西部のヒ素汚染地域の住民から血液、毛髪、爪などの生体試料、および、井戸水を収集し、ヒ素への曝露レベルを複数の指標で検討するとともに、血管障害に関与する様々な血液生化学的指標の変化を調べた。

### 2. 方法

バングラデシュ西部のヒ素汚染地域の住民 (218人)、及び、北西部の非汚染地域の住民 (106人) から血液、毛髪、爪を採取した。また、日常的に使用している井戸水を採取した。採取に当たっては、Rajshahi大学倫理委員会の承認、および、住民個人から同意を得ている。飲料水、および生体試料中総ヒ素濃度はICP-MSで測定した。血液中の生化学的指標として、コレステロール (Total, LDL, HDL)、酸化LDL、CRP、ICAM-1、および、VCAM-1を測定した。

### 3. 結果および考察

対照群とヒ素汚染群を比べた場合、ヒ素汚染群で酸化LDLが高く、逆にHDL-コレステロールが低かった。また、血圧はヒ素汚染群の方が高かった。炎症の指標であるCRP、血管内皮細胞でのICAM-1、VCAM-1の発現を反映する血中遊離ICAM-1、VCAM-1のレベルはいずれもヒ素汚染群で高かった。飲料水、毛髪、爪のヒ素濃度からヒ素汚染群をLow, Medium, Highの3群に分けて解析すると、いずれの指標を用いた場合も、ヒ素曝露レベルの濃度依存的に上記の血液生化学的指標が変化した。また、酸化LDL / HDLの比はヒ素の曝露指標、および、CRP、ICAM-1、VCAM-1と有意な正の相関を示した。<sup>1)</sup>

これまでに、酸化ストレスの亢進、炎症性サイトカイン、酸化LDLなどは、血管内皮細胞における接着因子ICAM-1、VCAM-1の発現を促進し、動脈硬化の進展につながるということがわかっている。ヒ素への曝露によるCRPの上昇、酸化LDLの上昇は、体内での酸化ストレスと炎症性変化を示唆しており、その結果として動脈硬化につながる血管内皮細胞の変化が生じているものと考えられる。本研究者らは、すでに同じ地域で

の調査により、血管内皮細胞でのendothelinの発現を反映する血中big-endothelinレベルがヒ素曝露レベルに応じて上昇することを報告している。<sup>2)</sup> さらに、血液中VEGF濃度もヒ素曝露レベルに相関して上昇することを見いだしている。<sup>3)</sup> これら一連の研究により、ヒ素曝露による酸化ストレス、炎症の亢進により、血管内皮細胞の変化、動脈硬化の進展、血圧の上昇が引き起こされている可能性を、ヒトの集団において初めて示すことができた。

#### Association of arsenic exposure with biochemical indicators for development of atherosclerosis in Bangladesh

○Seiichiro Himeno<sup>1</sup>, Hideki Miyataka<sup>1</sup>, Rezaul Karim<sup>1,2</sup>, Khaled Hossain<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 Biochemistry and Molecular Biology, Rajshahi University, Bangladesh

Consumption of arsenic-polluted well water causes a variety of health hazards in Asian countries, especially in Bangladesh. Epidemiological studies have suggested a high prevalence of cardiovascular diseases among arsenic-exposed people, but the mechanism remains unclear. We collected blood, hair, nail, and water samples from the residents in arsenic-polluted areas and non-polluted areas in Bangladesh, and analyzed the relationship between blood biochemical indicators including total cholesterol, LDL-, and HDL-cholesterol, and oxidized LDL-cholesterol, CRP, ICAM-1, and VCAM-1, and the levels of arsenic in water, hair, and nail as exposure indicators. We found that arsenic exposure caused increased levels of oxidized LDL, CRP, ICAM-1, and VCAM-1, and a decreased level of HDL-cholesterol among arsenic-exposed residents. When the exposure levels were divided into low, medium, and high groups, there were significant dose-response relationships between arsenic exposure indicators and the above-mentioned blood biochemical indicators, especially oxidized LDL/HDL ratios. We also found that arsenic exposure enhanced plasma big-endothelin levels and VEGF levels among arsenic-exposed residents. These data suggest that arsenic exposure induces oxidative and inflammatory changes in the endothelial cells, leading to the development of atherosclerosis and hypertension.

1) Karim M.R., et al., *Toxicol. Sci.* 135, 17-25. (2013)

2) Hossain E., et al., *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 259, 187-194. (2012)

3) Rahman M., et al., *Chemosphere* 120, 336-342. (2015)

## コメのヒ素濃度を制御する節の役割

倉俣正人<sup>1,2</sup>, 飯野真心<sup>1</sup>, 谷川八大<sup>1</sup>, 安部 匡<sup>1</sup>, 〇石川 覚<sup>1</sup>

<sup>1</sup>(独)農業環境技術研究所 土壤環境研究領域, <sup>2</sup>KYB

### 1 はじめに

2014年7月、コーデックス委員会において、精米に含まれるヒ素の最大基準値が無機ヒ素で0.2 mg/kgになることが採択された。一方、昨年度農林水産省が実施した国産玄米および精米中のヒ素の含有実態調査によると、無機ヒ素の平均濃度(調査点数: 600)は玄米で0.14mg/kg、精米で0.12mg/kgであり、調査点数のうち13点で0.2mg/kgを超していた。これは国産精米の約2%がコーデックス基準値を超過していることになり、今後水稻のヒ素吸収を抑制する対策技術が喫緊の課題と言える。

コメに含まれるヒ素の中で亜ヒ酸(As(III))は主要な形態であり、水稻はケイ酸トランスポーターを介して亜ヒ酸を吸収していることが報告されているが、その吸収・移行に関しては未だ十分に解明されていない。そこで本研究では、玄米へのヒ素集積が著しく高まったイネの変異体を用いて、コメへのヒ素集積における生理作用と関連する遺伝子の特定を行った。

### 2 方法

イオンビーム照射したコシヒカリ変異体(第2世代の約3,000個体)と原種のコシヒカリの幼苗を高ヒ素土壌(土壌ヒ素濃度: 8.0 mg/kg)の入ったポットに移植し、登熟期まで栽培した。各個体の玄米総ヒ素濃度をICP-MSで分析し、コメのヒ素濃度に変異が生じた個体を選抜した。選抜した変異体をヒ素濃度の異なる土壌で栽培し、部位別に総ヒ素濃度を比較した。形態別のヒ素集積における節の影響を見るため、第1節下で切除した穂、および第1節より上で切除した穂を亜ヒ酸とジメルアルシン酸(DMA)の水溶液で穂培養を行い、玄米の形態別ヒ素濃度をHPLC-ICPMSで測定した。マイクロアレイによる網羅的な遺伝子発現解析を実施するとともに、高ヒ素変異体とハバタキ品種の雑種第2世代の集団を用いて、高ヒ素に関わる遺伝解析(QTL解析)を行い、候補となる遺伝子を特定した。

### 3 結果および考察

約3,000個体の中から、コシヒカリよりも玄米ヒ素濃度が4倍程度高い変異体を選抜した。部位別にヒ素濃度を比較したところ、節へのヒ素集積において高ヒ素変異体はコシヒカリよりも明らかに低く、約1/10濃度であった。穂培養試験を行ったところ、高ヒ素変異体は節の有無に関わらず玄米の無機ヒ素濃度が高いままであったが、コシヒカ

リは節を切除することで明らかに玄米の無機ヒ素濃度が増加した。このことからコシヒカリは節にヒ素を高蓄積することで玄米へのヒ素集積を制御している一方、高ヒ素変異体はその集積能が機能してないことが考えられた。QTLによる遺伝解析の結果、高ヒ素変異体とコシヒカリとのヒ素集積能の違いを示す原因遺伝子は第4染色体の長腕に座乗していることがわかった。QTL領域内に含まれる遺伝子の発現解析の結果、ABCトランスポーターに属するOsABCC1の発現がコシヒカリに比べて高ヒ素変異体で100倍以上高まっていた。シーケンス解析の結果、高ヒ素変異体はOsABCC1を含むゲノム領域で転座が起こっており、OsABCC1の機能が欠損していることが予想された。

### Role of node controlling As concentration in rice grains

Masato Kuramata<sup>1,2</sup>, Manaka Iino<sup>1</sup>, Hachidai Tanikawa<sup>1</sup>, Tadashi Abe<sup>1</sup>,  
Satoru Ishikawa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National Institute for Agro-Environmental Sciences,  
<sup>2</sup>KYB

Recently, international criteria for inorganic As in rice grains has been decided to be 0.2mg/kg polished rice by the Codex. According to a survey of inorganic As in polished rice by the MAFF in 2013, approximately 2% in 600 samples that collected within Japan exceeded the 0.2 mg/kg. Therefore, it is urgent matter to reduce As concentration in rice grains. Although rice As (III) are taken up by the rice roots via silicon transporters, the details related to As transport system in rice have not fully been understood. In this study, we selected the rice mutant with significantly high As in the grains and studied the physiological and genetic mechanisms controlling grain As.

We screened a high-As mutant (has-kmt1) from 3,000 M<sub>2</sub> plants grown in As-polluted soil. The grain As concentration was approximately 4-times higher in the has-kmt1 than in the wild type Koshihikari. Contrarily, the As concentration of node I in has-kmt1 was approximately 1/10 of that in the WT. This result suggests that the node I is an important role for controlling the As concentration in rice grains. The QTL analysis showed that the gene responsible for difference in grain As level between the has-kmt1 and the WT was located on the long-arm of chromosome 4. Sequence analyses revealed the mutation of *OsABCC1*, which encodes the multidrug resistance-associated protein (MRPs), in the has-kmt1.

## 酸化水酸化鉄担持ポリアクリルアミドクライオゲルの調製と ヒ素吸着剤特性

○黒住美沙<sup>1</sup>, 塩盛弘一郎<sup>1</sup>, 清山史朗<sup>2</sup>

<sup>1</sup>宮崎大学大学院工学研究科,<sup>2</sup>都城高専 物質工学科

### 1 はじめに

水溶性高分子を凍結状態で重合または架橋することで得られるクライオゲルは、多孔質であり、吸着材やフィルターなどの分離材料への応用が検討されている。本研究では、ポリアクリルアミド(PAA)クライオゲルへ酸化水酸化鉄微粒子をゲル内部に包括・担持させることにより水中のヒ素イオンを除去する吸着剤の調製を行った。クライオゲルの調製方法および条件が得られたクライオゲルと酸化水酸化鉄の構造等におよぼす影響を検討し、ヒ素の吸着除去に最適な調製条件を明らかにした。

### 2 方法

#### 2.1 沈殿物添加による酸化水酸化鉄担持PAAクライオゲルの調製

FeCl<sub>3</sub>水溶液とNa<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液またはNaOH水溶液を混ぜて調製した酸化水酸化鉄沈殿物を、脱酸素蒸留水に混ぜ、アクリルアミド、ビスアクリルアミドおよびペルオキシソ二硫酸アンモニウム水溶液を溶解し、0~1°Cまで冷却後、N,N,N',N'-テトラメチルエチレンジアミンを加え、-15°Cで一晩凍結・重合させ、温水中で解凍することで酸化水酸化鉄担持PAAクライオゲルを得た。

#### 2.2 As(V)吸着実験

調製した鉄酸化物担持PAAクライオゲルをサンプル管に入れ、As(V)溶液を添加し48時間振とうさせた。その後、溶液とクライオゲルを分け、溶液中のAs濃度をICPにより測定した。使用したゲルは凍結乾燥を行い、乾燥重量を測定するとともに電子顕微鏡で観察した。

### 3 結果および考察

#### 3.1 酸化水酸化鉄担持PAAクライオゲルの構造

得られたクライオゲルの外観とSEM画像をFig.1(a)(b)に示す。クライオゲルは、全体に大きな連結した細孔が生成した多孔質体であることがわかる。また、細孔内に約1.0μm以下の微細な粒子の凝集が観察できた。

#### 3.2 酸化水酸化鉄担持PAAクライオゲルによるAs(V)の吸着

沈殿物添加法および含浸担持法1)で調製したクライオゲルおよび酸化水酸化鉄沈殿物のAs(V)の吸着等温線をFig.2に示す。酸化水酸化鉄沈殿物そのものよりも、クライオゲルに担持したもののほうが高い吸着量を示し、ゲル中の酸化水酸化鉄の微粒子はAs(V)の吸着能が高いことがわかった。また、沈殿物添加法クライオゲルの方が、含浸担持法クライオゲル1)よりも吸着量が高かった。

### 3.3 PAAクライオゲル中の酸化水酸化鉄微粒子の構造

調製法の異なるクライオゲル及び沈殿物のXRD測定結果をFig.3に示す。酸化水酸化鉄に対するピークが観察された。最も吸着量の高い沈殿物添加法クライオゲルの場合はピークが不明瞭で幅が広いことから、微粒子はアモルファス状態であると考えられる。

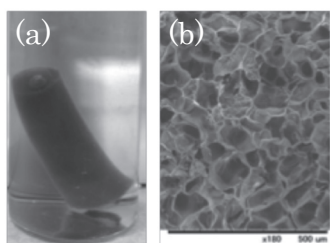


Fig. 1 (a) FeOOH担持PAAクライオゲル  
(b) (a)のSEM画像

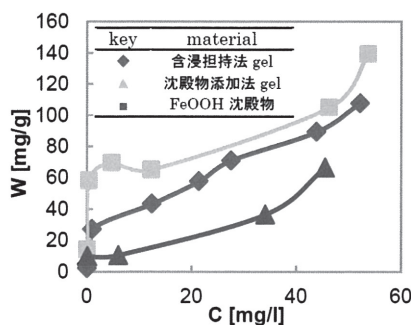


Fig.2 調製法の異なるクライオゲル  
および沈殿物のAs(V)の吸着等温線  
(1.0M-FeCl<sub>3</sub>/1.0M-Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)

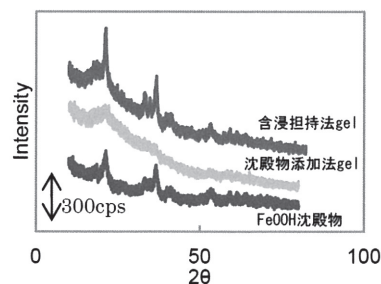


Fig.3 調製法の異なるクライオゲル  
と沈殿物のXRD測定結果

参考文献 1) M. Kurozumi, *et al.*, 化学工学会第46回秋季大会, ZD2P28 (2014)

## Preparation of Arsenic Adsorbent using Polyacrylamide Cryogel containing Iron hydroxide oxide fine Particles and Its Adsorption Properties of As(V)

Misa Kurozumi<sup>1</sup>, Shiro Kiyoyama<sup>2</sup>, Koichiro Shiomori<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Miyazaki, <sup>2</sup>Miyakonojo NTC

Cryogel is super-macroporous material prepared by freezing of polymer or monomer solution at low temperature. The hybrid material of cryogels and iron hydroxide oxide particles, which have affinity to arsenic, are expected as a safe removal adsorbent of arsenic ions from aqueous solutions. In this study, polyacrylamide cryogels containing iron hydroxide oxide particles were prepared by freezing monomer solution of acrylamide with cross-linker *N,N*-methylenebis(acrylamide), iron hydroxide oxide particles formed by mixing iron(III) chloride solution and alkaline aqueous solution, and polymerizing initiated by *N,N,N,N*-tetramethyl ethylene diamine and ammonium peroxodisulfate at sub-zero temperatures. The iron hydroxide oxide particles formed were observed on the surface of the cryogel wall. The cryogel was successfully adsorbed arsenic(V) at both low and high concentrations of arsenic(V). The cryogel containing amorphous particles had larger amount of adsorbed arsenic(V) than that of the cryogel containing crystalline particles.

## 亜ヒ酸の生物・化学的連続除去処理に関する研究

○瀬川 奈未<sup>1</sup>, 山崎 大輔<sup>2</sup>, 石川 奈緒<sup>2</sup>, 伊藤 歩<sup>2</sup>, 中村 寛治<sup>3</sup>, 千葉 啓子<sup>4</sup>,  
海田 輝之<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 岩手大学大学院工学研究科社会環境工学専攻, <sup>2</sup> 岩手大学工学部社会環境工学科,  
<sup>3</sup> 東北学院大学工学部環境建設工学科, <sup>4</sup> 岩手県立大学盛岡短期大学部

### 1 はじめに

地下水中のヒ素 (As) の摂取による健康被害はアジア地域をはじめとして世界的に深刻である. Asの除去は凝集や吸着による処理の効率を上げるために, 地下水中のAsの主要存在形態である亜ヒ酸 (As(III)) をヒ酸 (As(V)) に酸化させる前処理が必要である. 本研究では, 活性汚泥から亜ヒ酸酸化能を有する細菌群を集積培養し, 曝気装置・酸化剤・凝集剤不使用の経済的な地下水中のAs除去手法の開発を目的とし, Down-flow Hanging Sponge (DHS) リアクターを用いてAs(III)の生物学的酸化とFe(II)の酸化を利用したAs共沈連続除去の可能性について検討した.

### 2 実験方法

図-1に前培養及び連続除去実験の装置の概略を示す. 亜ヒ酸酸化細菌群の付着担体として, 円筒形のスポンジ(ポリウレタン製, 直径約3 cm, 長さ約3 cm, 体積約21.2 cm<sup>3</sup>, 空隙率約0.98) を用い, 25個釣り下げた. 装置は二系統作製し, 目的に応じた溶液をリアクター上部から下部へ流入させた. 前培養では, 滞留時間を1 hとし, 培養液(As(III)濃度100 mg/L) を約一週間循環させ, スポンジに細菌群を固定化した. 連続除去実験では, 滞留時間を2 hとし, 流入水のpHは7.0 ± 0.2に調整した. 流入As(III)及びFe(II)は流量比1 : 1で流入させ, 流入As(III)濃度0.5 mg/Lに対して流入Fe(II)濃度2 mg/L (Fe/As = 4) 及び15 mg/L (Fe/As = 30) と設定し, 各Fe/As比によるAs除去率を比較した. 水温は25 °Cとした.

### 3 結果および考察

図-2に例として流入As(III)濃度0.5 mg/Lに対して流入Fe(II)濃度0 mg/L (図中の条件(i)期間) または15 mg/L (図中の条件(ii)期間), 滞留時間 2 hとした場合の流入水と流出水の形態別As濃度の経時変化を示す.

図-2の条件(i)の0~15日目において, 0.5 mg/Lで流入したAs(III)が, 流出口ではほぼ0 mg/Lとなっており, 一方, 流入口ではほとんど検出されなかったAs(V)が, 流出口ではAs(III)初期濃度と同程度

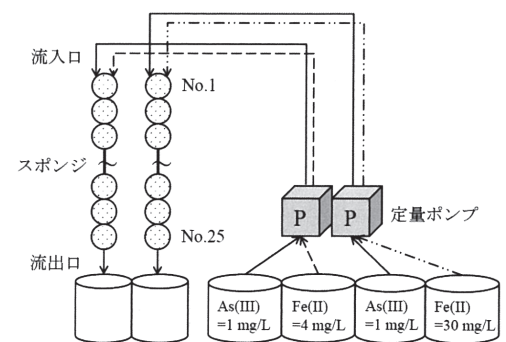


図-1 連続除去実験の装置の概略



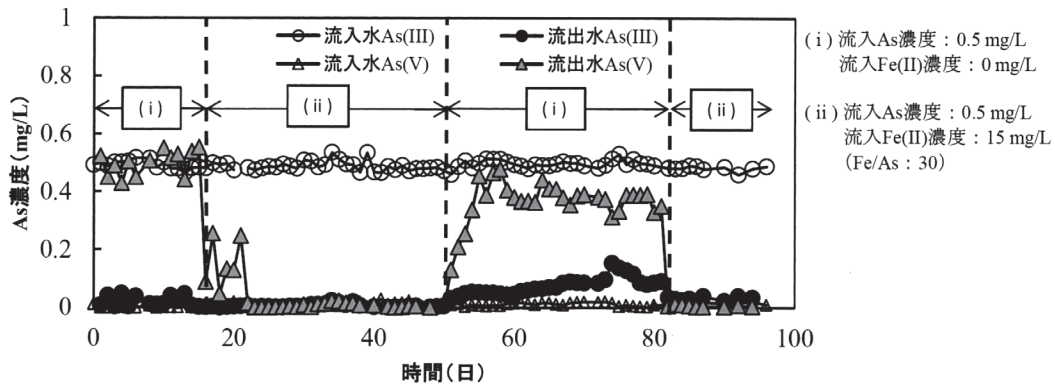


図-2 流入水と流出水の形態別 As 濃度の経時変化

の値で検出された. このことから, リアクター内に亜ヒ酸酸化能を有した細菌群が固定化され, かつAs(III)のAs(V)への酸化活動が行われていることが確認された. 条件(ii)の22~50日目では, 最大99.7%, 平均97.5%のAsを除去することができ, Asの水道水質基準値0.01 mg/L付近まで除去することができた. 再度, 条件(i)とした51~82日目では, リアクター内に残留したFeにより若干量のAsは除去されたが, Feが連続的に流入していないためAsはほとんど除去されなかった. 83日目以降を条件(ii)とした場合, 平均93.9%のAs除去率が確認された. なお, 本実験における条件(ii)での流出水は, 平均約90%のAsが除去されていたが, Feは常に水道水質基準値0.3 mg/Lを上回る量が検出されたため, 本リアクターによるAs及びFeの両方の除去の効率化を図ることが今後の課題である.

### Bio-chemical continuous removal of arsenite

Nami Segawa<sup>1</sup>, Daisuke Yamazaki<sup>2</sup>, Nao Ishikawa<sup>2</sup>,

Ayumi Ito<sup>2</sup>, Kanji Nakamura<sup>3</sup>, Keiko Chiba<sup>4</sup>, and Teruyuki Umita<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Graduate school of Civil and Env. Eng., Iwate Uni., <sup>2</sup>Department of Civil and Env. Eng., Iwate Uni., <sup>3</sup>Dep. of Civil and Env. Eng., Tohoku Gakuin Uni., <sup>4</sup>Iwate Pref. Uni.

The health impairment caused by ingestion of the arsenic in groundwater is serious especially in Asian areas. Ferrous iron (Fe(II)) is detected in groundwater with arsenic. In order to improve the efficiency of coagulation or adsorption process for arsenic removal, arsenite (As(III)) which is a predominant form in groundwater needs to be oxidized to arsenate (As(V)) as a pretreatment. In this research, arsenite-oxidizing bacteria are enriched from activated sludge. For the purpose of developing an economical arsenic removal method without an aeration equipment, an oxidizer, and a flocculant, a Down-flow Hanging Sponge reactor with fixed arsenite-oxidizing bacteria was examined. As a result, when the inflow concentrations of As(III) and Fe(II) were 0.5 mg/L and 15 mg/L, respectively, the average arsenic removal efficiency was about 97.5%. This efficiency was correspondent to the water quality standard for drinking water value of 0.01 mg/L.

## コメの総ヒ素濃度のスクリーニングレベルの検証

○深井 隆行<sup>1</sup>, 大柿 真毅<sup>1</sup>, 牧野 知之<sup>2</sup>, 川崎 晃<sup>2</sup>

<sup>1</sup>(株)日立ハイテクサイエンス, <sup>2</sup>(独)農業環境技術研究所

### 1 はじめに

コメ（精米及び玄米）のヒ素（As）濃度に関する国際基準（Codex規格）が検討されていたが、本年7月の第37回Codex総会にて、精米中の無機ヒ素の最大基準値として0.2 mg/kgが採択された。コメのヒ素に関する基準は無機ヒ素で設定されたが、総ヒ素によるスクリーニングが有効と考えられる。

コメ中の総ヒ素濃度分析には、原子吸光分光分析(AAS)、誘導結合プラズマ発光分光分析(ICP-OES)および誘導結合プラズマ質量分析(ICP-MS)が有用だが、試料前処理を要する事が課題だった。一方、試料前処理を要しない蛍光X線分析(XRF)は近年、高感度化が進み、その利点を活かして、コメ中のカドミウム濃度のスクリーニング分析に適用され、既に生産・加工・流通現場で実運用されている。

本研究では、蛍光X線分析をコメの総ヒ素濃度分析のスクリーニングに適用するため、スクリーニングレベルの評価を行った。

### 2 方法

装置は、空冷式タングステン管球（最大管電圧50 kV、最大管電流1000  $\mu$ A）、電子冷却式半導体検出器（液化窒素不要）を装着したEA1300VX（日立ハイテクサイエンス）を用いた。検量線作成用の試料には白米および玄米認証標準物質（NMIJ CRM 7502-a、7531-a、7532-a、7533-a）を用い、ヒ素濃度に対する蛍光X線のネット強度をコンプトン散乱線強度で除した強度値により検量線を作成した。この検量線を用いて、米粉および米粒試料の真度を評価した。さらに、基準値0.2 mg/kgに対してその半分0.1 mg/kg以上をスクリーニングレベルに設定した際に必要な測定時間を見積もった。

### 3 結果および考察

まず、作成した検量線の直線性は良好で $R^2=0.999$ であった。また測定時間600秒における総ヒ素の検出限界は0.06 mg/kg、定量下限は0.2 mg/kgであった。

次に、基準値0.2 mg/kgに近い濃度の米粉試料で測定時間600秒の5回繰返し測定を行い、その平均値と標準値との比較から、真度は100%であることがわかった。

さらに、上記試料を測定時間150秒、300秒、600秒、900秒、1200秒、1800秒の各5回繰返し測定から標準偏差 $\sigma$ を求め、測定時間と $2.575\sigma$ （正規分布の両側98%に対応）の関係から、設定したスクリーニングレベルに必要な測定時間を決定した。その結果、スクリーニングレベルを0.1 mg/kgと設定した場合、1検体あたりに要する測定

時間は約180秒と見積もられ、分析値が0.1 mg/kg未満であれば、総ヒ素濃度が0.2 mg/kgを超える可能性は極めて低いと判断できる。この手法を用いることにより、コメ中の総ヒ素濃度を簡易迅速にスクリーニングできることが確認された。

## Verification of Screening Level of Total Arsenic Concentration in Rice

Takayuki Fukai<sup>1</sup>, Masataka Ohgaki<sup>1</sup>, Tomoyuki Makino<sup>2</sup>, Akira Kawasaki<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hitachi High-Tech Science Corporation,

<sup>2</sup>National Institute for Agro-Environmental Sciences

At the 37th session of Codex Alimentarius Commission in this July, the maximum limit of 0.2 mg/kg for inorganic arsenic (As) in polished rice was adopted. Although the limit has been set only for inorganic As, screening for total As is considered effective.

For the analysis of total As, atomic absorption spectroscopy (AAS), inductively coupled plasma emission spectroscopy (ICP-OES) and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) are useful. However it is not easy to analyze by the above methods as sample preparation is required, whereas we succeeded in analyzing the concentration of As in rice at 0.1 mg/kg order by using the new high sensitive X-ray fluorescence (XRF) spectrometer. The XRF analysis has already been applied for the screening of cadmium (Cd) in rice without complicated sample preparation.

As a result of evaluation of the trueness and the screening level in XRF analysis, we concluded that the XRF analysis plays an important role for screening 0.2 mg/kg As in rice.

## 過酸化水素により惹起される新規ヒ素メチル基転移酵素の選択的スプライシング

○角 大悟<sup>1</sup>, 竹田智瑛里<sup>1</sup>, 姫野誠一郎<sup>1</sup>

<sup>1</sup>徳島文理大学薬学部 衛生化学

### 1 はじめに

無機ヒ素はヒトの体内に入るとヒ素メチル基転移酵素 (AS3MT) によりメチル化され, 尿中に排泄されることが明らかとなっている. 当研究室では, 肝がんHepG2細胞においてAS3MT mRNAにエキソン3あるいはエキソン4と5が欠落したスプライスフォーム ( $\Delta 3, \Delta 4,5$ ) を検出し, これらのmRNAから翻訳されるタンパク質にはAS3MTの酵素活性が無いことを見出している. 本研究では, 無機ヒ素を曝露した細胞において酸化ストレスが誘発されることを考慮し, 過酸化水素曝露後の細胞内におけるAS3MT mRNAの選択的スプライシングについて検討を行った.

### 2 方法

細胞: ヒト肝癌由来HepG2細胞を用いた. mRNA量: 半定量RT-PCR法を用いた. タンパク質量: 核タンパク抽出後, Western blot法で検出. ヒ素の化学形態: HPLC ICP-MSで検討した.

### 3 結果および考察

AS3MT mRNAの選択的スプライシングを網羅的に検出するために, エキソン2 (Ex2) とEx11に結合するprimerを作製し, 過酸化水素に曝露されたHepG2細胞から抽出したmRNAを用いてRT-PCRを行った. その結果, 過酸化水素曝露濃度依存的に240 bpのmRNA量が上昇した. このmRNAの塩基配列を決定したところ, Ex3からEx9が欠損したAS3MT mRNA ( $\Delta 3-9$ ) であることが明らかとなった. さらに, この新規スプライスフォームの誘発が過酸化水素曝露に特異的であるか検討するために, 他の酸化ストレス曝露後の $\Delta 3-9$ 発現を検討したところ, *tert*-ブチルヒドロペルオキシド, クメンヒドロペルオキシドに曝露されたHepG2細胞では $\Delta 3-9$ は検出されなかった. 次に, 過酸化水素による $\Delta 3-9$ の産生に関わる因子を同定するために, AS3MT mRNAのEx2, 3, 9, 10に注目し, スプライシングに関与するタンパク質群あるいはそれらが結合しうる配列をデータベースで探索したところ, エキシソンの認識に関わるserine-arginine rich (SR) proteinのなかでもSRp40がAS3MT mRNAの4つのエキソンに共通して結合する可能性が高いことが推測された. そこで過酸化水素に曝露されたHepG2細胞から核画分を抽出し, 抗SR抗体でWestern blotを行ったところ, 過酸化水素曝露によりSRp40タンパク質量が減少した. 過酸化水素曝露によるSRp40タンパク質量の減少を明らかにするために, ユビキチン-プロテアソーム経路の阻害剤であるMG132を同時に曝露したところ, 過酸化水素によるSRp40タンパク質量の減少が抑制された. このことから, 過酸化水素によ

るSRp40タンパク質量の減少にユビキチン-プロテアソーム経路が関与していることが示唆された。一方で、当研究室では2つのスプライスフォーム ( $\Delta 3$ ,  $\Delta 4,5$ ) において酵素活性が無いことを報告している。Ex3あるいはEx4とEx5が欠落しただけで酵素活性を失うことから、Ex3からEx9が欠損した $\Delta 3-9$  mRNAから翻訳されるタンパク質もAS3MTの酵素活性が無いと推測される。そこで、HepG2細胞を過酸化水素に曝露し選択的スプライシングを惹起させた後、亜ヒ酸を添加しHPLC ICP-MSでヒ素の化学形態を測定した。その結果、過酸化水素曝露によりHepG2細胞のヒ素メチル化能が低下することが明らかとなった。

以上の結果から、過酸化水素曝露によりAS3MT mRNAの選択的スプライシングが惹起されることを見出した。今後、新規スプライスフォームとヒ素メチル化能低下との相関性について検討を進めたい。

## Hydrogen peroxide induces alternative splicing of arsenic methyltransferase

Daigo Sumi<sup>1</sup>, Chieri Takeda<sup>1</sup>, Seiichiro Himeno<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokushima Bunri University,

In this study, we examined whether oxidative stress induces alternative splicing of arsenic methyltransferase mRNA. The results indicated that hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) triggers a novel alternative splicing of AS3MT mRNA, which is skipped exons from 3 to 9 in HepG2 cells. The database for searching putative splicing factor on the exon 2, 3, 9 and 10 of AS3MT mRNA revealed that SRp40 protein was floated as the common candidate for regulation of exon-exon binding of AS3MT mRNA. Thus, we examined whether the levels of SRp40 protein was decreased in  $H_2O_2$ -exposed HepG2 cells. The results indicated that SRp40 protein was decreased by  $H_2O_2$  exposure. In addition, we found that decrease in the levels of SRp40 protein by  $H_2O_2$  exposure was due to the ubiquitin-proteasome pathway.

We found that  $H_2O_2$  triggers a novel alternative splicing of AS3MT mRNA. Hereafter, we would like to confirm the relationship between the levels of spliced form of AS3MT mRNA and the decrease of methylation capacity.

## 亜ヒ酸に曝露したHEK293細胞におけるSUMO化PMLの定量解析

○平野靖史郎, 但野美保子, 小林弥生, 宇田川 理, 加藤綾華  
独立行政法人 国立環境研究所

### 1. はじめに

PML (Promyelocytic leukemia) とレチノイン酸レセプターとの融合タンパク質 (PML-RARA) の生成により発症する急性前骨髄性白血病に対し、亜ヒ酸は極めて高い治癒効果を示すが、これはPML-RARAがsmall ubiquitin-like modifierにより修飾され (SUMO化)、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。我々はこれまでの研究結果から、亜ヒ酸がPMLのRING fingerドメインに結合することによってPMLが構造変化を起こし、この変化がSUMO化のトリガーとなるという作業仮説を立て研究を進めている。本研究では、亜ヒ酸以外の他の金属元素がPMLのSUMO化を誘発する可能性についてまず検討し、さらに亜ヒ酸曝露後の細胞におけるSUMO化PMLの定量解析を行った。

### 2. 方法

HEK293細胞に、リポフェクタミン(LTX)を用いてPML (transcript variant<sup>5</sup>)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 (HEK-PML)を得た。同様の方法を用いて、RING fingerドメインを欠失変異させたPMLを安定的に発現するHEK293細胞 (HEK-PML $\Delta$ RING)も作製した。これまでの研究において、氷冷したRIPAで細胞を溶解後、遠心してRIPA可溶性画分と不溶性画分に分け、さらに不溶性画分をDNase処理することによりSUMO化されたPMLを感度良くウェスタンブロット法で検出できることが分かっており、今回のPMLやSUMO化PMLの定量的解析にも本方法を踏襲した。HEK-PML細胞に、亜ヒ酸の他、銅、亜鉛、カドミウム、アンチモン、ビスマスを曝露し、ウェスタンブロット法やドットブロット法でPMLやSUMO化PMLを解析した。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抗体と抗SUMO2/3抗体で蛍光二重染色した後に核をDAPIで対比染色して検鏡した。

### 3. 結果

亜ヒ酸に曝露した細胞において、PMLはRIPA可溶性画分から不溶性画分に移行し、またその多くがSUMO化されたPMLとして検出された。同様の変化が、3価のアンチモンを曝露した場合に観察されたが、同族のビスマスや、銅、カドミウム、亜鉛の重金属を曝露しても、このような変化は全く観察されなかった。PMLのSUMO化にはSUMO2/3とSUMO1がともに関与していたが、SUMO1の単分子は、亜ヒ酸の曝露によりRIPA可溶性画分から消失していたことから、細胞内におけるほぼすべてのSUMO1がPMLに結合したことが分かった。HEK-PML細胞において、ヒ素の曝露により一度RIPA不

溶となりSUMO化されたPMLが、培地から亜ヒ酸を取り除くことにより脱SUMO化される割合やRIPA可溶性画分に再分布する割合を、ドットプロット法で定量的に調べた。培地から亜ヒ酸を取り除くことにより、SUMO化されたPMLは徐々に脱SUMO化されたが、亜ヒ酸の曝露により一度RIPA不溶性画分に移行したPMLが脱SUMO化に伴い可溶性画分に再分布することは無かった。一方、HEK-PML $\Delta$ RING細胞では、亜ヒ酸を曝露することにより、PMLがRIPA不溶性画分へ移行することもSUMO化を受けることもなく、またPMLとSUMO2/3の免疫染色においても核内にPML nuclear bodyは認められなかった。

#### 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が、亜ヒ酸が結合することにより、まずPMLが構造的変化を起こすのではないかと考えられる。このことは、RING配列を除去したHEK-PML $\Delta$ RING細胞では、SUMO化をはじめとした亜ヒ酸曝露によるPMLの変化が見られないことから裏付けられる。また、培地から亜ヒ酸を除去したHEK-PML細胞において、脱SUMO化されたPMLが依然としてRIPA不溶性画分に回収されたことから、PMLがSUMO化を受けることによりRIPA不溶性となるのではなく、亜ヒ酸が結合することにより起こるPMLの構造的変化がRIPA不溶性の原因ではないかと考えられる。また、亜ヒ酸とアンチモンを曝露した場合においてのみ、PMLが大きな変化を起こすことは、半金属元素の生体影響を考える上で大変興味深い。

#### **Quantitative analyses of SUMOylated PML following exposure to arsenite in PML-transfected HEK293 cells.**

○Seishiro Hirano, Mihoko Tadano, Yayoi Kobayashi, Osamu Udagawa,  
and Ayaka Kato

National Institute for Environmental Studies

Promyelocytic leukemia (PML) transcript variant 5 or its RING-deleted gene was stably transfected into HEK293 cells (HEK-PML and HEK-RING $\Delta$ PML, respectively). Following exposure to arsenite PML was recovered in RIPA-insoluble fraction rather than in RIPA-soluble fraction and PML in the RIPA-insoluble fraction was mostly SUMOylated in HEK-PML cells, whereas those changes were not observed in HEK-PML $\Delta$ RING cells. PML was detected as puncta in nuclei in HEK-PML cells, but not in HEK-PML $\Delta$ RING cells. Those results indicate that RING finger domain is requisite for arsenite-induced SUMOylation of PML and formation of PML nuclear bodies. The similar changes were observed when HEK-PML cells were exposed to trivalent antimony, although zinc, copper, cadmium, and trivalent bismuth did not cause those changes in PML.

## ウミガメ類におけるヒ素化合物の蓄積特性

○阿草哲郎<sup>1</sup>, 高木 梢<sup>1</sup>, Todd W. Miller<sup>2</sup>, 久保田領志<sup>3</sup>,  
阿南弥寿美<sup>4</sup>, 岩田久人<sup>1</sup>, 田辺信介<sup>1</sup>

<sup>1</sup>愛媛大学・沿岸環境科学研究センター (CMES),

<sup>2</sup> Division of Fish and Wildlife, Commonwealth of the Northern Mariana Islands, USA,

<sup>3</sup> 国立医薬品食品衛生研究所・生活衛生化学部, <sup>4</sup> 昭和薬科大学・衛生化学

### 1 はじめに

海洋生態系においてヒ素は様々な化学形態で存在し、その毒性や挙動は形態によって大きく異なることが知られている。近年の分析技術の進展により、海洋低次生物におけるヒ素化合物の分布・形態は明らかにされつつあるが、高次生物を調査した研究はきわめて少ない。これまでに、本研究グループはイルカやアザラシ、アホウドリ等の海棲高次生物の肝臓中ヒ素濃度を分析し、ウミガメ類のヒ素濃度が相対的に高いことを明らかにした。このことから、ウミガメ類は特異的なヒ素の蓄積特性を持っていることが考えられた。本研究は、タイマイとアオウミガメを対象に、臓器／組織・胃内容物・胆汁・尿中のヒ素化合物を分析し、両種におけるヒ素化合物の体内分布・生物蓄積性について考察した。また、窒素 ( $\delta^{15}\text{N}$ )・炭素 ( $\delta^{13}\text{C}$ ) 安定同位体比も分析し、ウミガメ類の摂餌とヒ素化合物蓄積の関係について解析した。

### 2 試料および方法

沖縄県石垣島のタイマイ・アオウミガメから肝臓・腎臓・筋肉・脾臓・肺・眼球・胃・腸・胃内容物・胆汁・尿をサンプルとして分取した。総ヒ素濃度は、サンプルを酸分解した後、水素化物発生原子吸光光度計 (HG-AAS) で測定した。また、ヒ素化合物は、サンプルからメタノール／水 (9:1 v/v) で抽出し、高速液体クロマトグラフ／誘導結合プラズマ質量分析計 (HPLC/ICP-MS) で定性・定量した。 $\delta^{15}\text{N}$ および $\delta^{13}\text{C}$ は、筋肉を対象にガスクロマトグラフ／燃焼／同位体比質量分析計 (GC/C/IR-MS) で測定した。

### 3 結果および考察

タイマイとアオウミガメにおける総ヒ素の体内分布を解析したところ、両種において筋肉が最も高いヒ素濃度を示した。また、タイマイの臓器・組織中総ヒ素濃度はアオウミガメよりも有意に高く、低次生物に匹敵するレベルであった。臓器・組織中のヒ素化合物は、両種ともにアルセノベタイン (AB) が主成分であった。興味深いことに、タイマイからはトリメチルアルシンオキシサイド (TMAO) が検出された。以上のことから、タイマイは特異的なヒ素の蓄積・代謝機構をもつことが示唆された。



胃内容物からは、未同定の水溶性ヒ素化合物と非抽出ヒ素(抽出後の残さ中ヒ素)が有意に検出された。一方、胃内容物中ABとジメチルアルシン酸(DMA)濃度は、臓器・組織よりもかなり低値であったことから、餌由来のABとDMAはウミガメ類で生物濃縮されていることが示唆された。アオウミガメにおいて、総ヒ素濃度は尿よりも胆汁の方が高く、また胆汁中ヒ素のほとんどがABであった。さらに、腸の前部から後部にかけてAB濃度が増加していたことから、ABが胆汁排泄されていると推察された。

栄養段階の指標となる $\delta^{15}\text{N}$ は、アオウミガメではAB濃度と正の相関を、逆にタイマイでは非抽出ヒ素濃度と負の相関をそれぞれ示した。このことは、両種において摂餌する餌組成が体内のヒ素化合物の蓄積に強く依存することを示唆する。

### **Accumulation of arsenicals in sea turtles**

Tetsuro Agusa<sup>1</sup>, Kozue Takagi<sup>1</sup>, Todd W. Miller<sup>2</sup>, Reiji Kubota<sup>3</sup>,  
Yasumi Anan<sup>4</sup>, Hisato Iwata<sup>1</sup>, Shinsuke Tanabe<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Center for Marine Environmental Studies (CMES), Ehime University, Japan

<sup>2</sup>Division of Fish and Wildlife, Commonwealth of the Northern Mariana Islands, USA

<sup>3</sup>Division of Environmental Chemistry, National Institute of Health Sciences, Japan

<sup>4</sup>Laboratory of Chemical Toxicology and Environmental Health,  
Showa Pharmaceutical University, Japan

We analyzed arsenic (As) compounds in the organs/tissues, stomach and intestine contents, bile, and urine of green (*Chelonia mydas*) and hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) to understand As accumulation through intake and excretion. Stable isotopes of  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  were also measured for understanding the feeding behavior dependent accumulation of As. In both species, total As concentration was the highest in muscle among the organs/tissues. Arsenobetaine (AB) was a major compound in most organs/tissues of both turtles. High concentration of trimethylarsine oxide (TMAO) was detected in hawksbill turtles. Major As species in gastrointestinal contents were unknown water-soluble As, followed by unextracted As. Concentrations of AB and dimethylarsinic acid (DMA) in the tissues were higher than those in the stomach contents (prey items), indicating high bioaccumulation of these arsenicals. In green turtles, AB concentration was high in bile and increased throughout the gastrointestinal tract, suggesting significant biliary excretion of AB.  $\delta^{15}\text{N}$  was positively correlated with AB level in green turtles, whereas a negative relationship between residual As and  $\delta^{15}\text{N}$  was observed in hawksbill turtles. This study indicates feeding behavior-dependent accumulation of As compounds in both turtle species.



# ランチヨン セミナー

# 複雑な混合物を網羅的に分離検出する UPLC/高分解能Q-TOF/インフォマティクス

○佐藤 太

日本ウォーターズ株式会社

## 1 はじめに

土壌などの環境試料や血液、臓器などの生体試料は、多数の化合物が幅広い濃度範囲で存在し、非常に複雑な組成を持つ混合物である。そのような試料中の目的成分を測定するためには、様々な分離精製や選択性の高い検出方法が必要となる。一方で、複雑な混合物を網羅的に測定し、得られた多数のデータを情報処理技術により解析を行い、有意義な知見を得る所謂オミクスの手法が多く分野で試みられている。目的成分を特定せずに網羅的な測定を行う際には、選択性の高い精製や検出方法を用いることが出来ないため、機器測定の際における分離が重要となる。

本セミナーでは、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）の分離効率を飛躍的に高めたUPLC、微細な質量の違いによる分離検出が可能な高分解能TOF/Q-TOF、及び検出された多数のピークから質量情報を抽出し、統計学的な処理を行うソフトウェアといった、従来は困難であった複雑な混合物の網羅的な測定及び解析を可能にするための基盤技術について紹介する。

## 2 UPLC

HPLCは、分離カラムに使用される充填剤の粒子径を、小さくかつ均一にすることで分離を向上させてきた。弊社が2004年に発表したUPLCは、 $2\mu\text{m}$ 以下の充填剤を充填したカラムに高い線速度で移動相を流すことにより、分離の向上と分析時間の短縮を両立させている。クロマトグラフィーにおける分離の向上は、個々のピークの純度を高めることを意味しており、ピークから抽出される質量スペクトルの質を高めることになる。また、分析時間が短縮されると、繰り返し測定の数を増やすことができるため、統計処理の信頼性の向上に資することとなる。HPLCにおいては、充填剤の粒子系を小さくする技術進化と共にカラムの内径を小さくすることにより、溶媒消費量を減少させると同時に、検出可能な感度を向上させる改良も行われてきた。カラム内径を、数mmから数百 $\mu\text{m}$ にすると、同様の線速度を維持するために必要な移動相の流速は、数百 $\mu\text{L}/\text{min}$ から数 $\mu\text{L}/\text{min}$ に低下する。これによりLC/MSにおけるイオン化の効率が高くなり、検出可能な濃度を1桁以上向上できる。従来は、数 $\mu\text{L}/\text{min}$ の流速で、高いカラム分離と安定したイオン化を実現すること



図-1 UPLC M-Class

が難しく、技術の習得に時間が必要であった。弊社が今年販売を開始したIonkeyは、UPLCの充填剤を内径150 $\mu$ mのカラムに充填し、イオン化のためのスプレーヤーと一体化したもので、従来からの技術的な難点を克服し、低流速化とUPLCの利点を両立させることが可能となっている。

### 3 高分解能Q-TOF

飛行時間型質量分析計 (TOF) は、質量分解能が高く、質量分析範囲が広いことから低分子から高分子まで幅広い化合物の定性分析に利用されている。一方で、従来はレスポンスの直線性が維持される範囲が狭く、定量的な測定では不向きとされてきた。しかしながら、近年の技術的進歩により、分解能の飛躍的向上 (3-6万) と定量性の改善 (直線性範囲が4桁) が実現している。更に、操作性と検出感度も向上してきたことにより、網羅的な検出と検出したピークの定量的な解析が可能となってきた。

環境試料や生体試料中には、数千から数十万の化合物が含まれている可能性がある。UPLCのピーク分離能 (ピークキャパシティで数百) のみで、これらを分離することは難しいが、高分解能TOFによる質量分離を組み合わせると、保持時間と質量の2次元で高いピークキャパシティを得ることができる。

### 4 インフォマティクス

UPLCや高分解能TOFによる高い化合物の分離能は、得られる情報の飛躍的な増大を意味している。このような膨大なデータを解析するには、情報処理の技術を活用する必要がある。オミクス解析では、数十から数百の測定データを処理する必要があるが、多数の試料から検出したピークの強度を試料間で正確に比較するためには、ピーク検出の基準が一定である必要がある。弊社のメタボローム及びプロテオーム解析用のソフトウェアProgenesisQI/QIPは、保持時間、質量、強度の3次元データを画像として処理することにより、処理の速度と堅牢性を高めている。さらに、全試料の保持時間を自動的に一致させる処理を行った後に、全試料データを3次元データとして重ね合わせ、ピーク検出を行う。これにより、ピーク検出の基準が試料によって変化することがない、確実な強度比較を行うことができる。

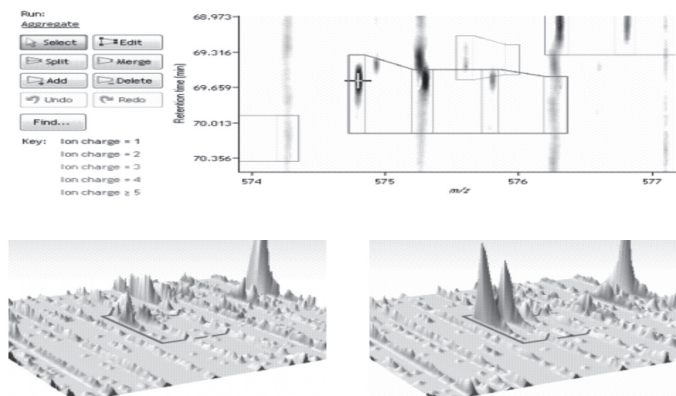


図-2 Progenesis QI/QI for Proteomics の解析結果画面例

MEMO

---

MEMO

---

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20回ヒ素シンポジウム  
大会長 山中 健三

### 協賛企業

株式会社 アイエスアイ  
株式会社 アサヒ理化製作所  
アステック株式会社  
株式会社 池田理化  
株式会社 エル・エム・エス  
株式会社 大澤商会  
小松電子株式会社  
株式会社 高長  
バイオタージ・ジャパン株式会社  
和光純薬工業株式会社

### ランチオンセミナー

日本ウォーターズ株式会社



# 業界初の方式による超純水製造装置が 医療、研究分野の発展に貢献。

## Medical Solution —医療／研究機器—

### 「うるぴゅあ」が実現する最高の超純水

#### 業界初！光触媒を利用した高性能な超純水

比抵抗値以外にも水質の性能要求が高まるなか、業界初の光触媒を利用した有機物分解により、安全・安心・高性能な超純水の製造に成功しました。

#### 約40%OFF。ランニングコストを大幅削減！

セルフメンテナンスを可能にし、ランニングコストを約40%ダウン(年間)。ひと目で判るディスプレイ表示で、交換のタイミングを自動でお知らせします。

#### 毎分3リットルの圧倒的な採水量。 貯めて使える超純水は、洗浄や少量生産にも最適

20L内蔵の標準タイプから60L～150Lの外付けタンク品までをラインナップ。  
※超純水の製造能力は12L/時

#### 1/3という今までにない省スペース

水道水から直接超純水を製造する一体型。他社製品と比べ体積比は3分の1という省スペース。フレキシブルな採水口など、使いやすさにもこだわりました。  
※採水口のオプション設定あり。



国内特許取得  
第4298603号

米国特許取得  
US 7,384,614 B2  
US 7,438,819 B2

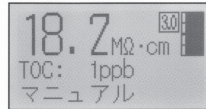


#### 小松電子オリジナル技術の導入



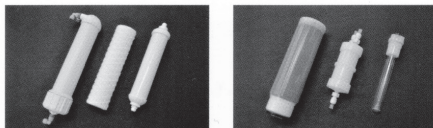
性能・メンテナンス・コストで優位

#### 見やすいディスプレイ



※TOC表示は、オプション選択時

#### セルフ交換で簡単メンテナンス



#### OPTION

##### TOC内蔵

TOC計を内蔵し、表示パネルに採水時のTOC値を表示します。

##### 通信機能

後部パネルにLAN端子を装備し、TCP/IPによるリモート監視機能を追加します。  
※ローカルネットワークでの専用アプリケーションを付属します。

##### 追加採水口

本体採水口に加え、約2mの延長採水口を追加します。(単独操作可能)  
※同時採水はできません。

#### <販売元>

#### <製造元>



本社：〒923-8642 石川県小松市安宅町甲135  
TEL. 050-3366-2019 FAX. 0761-21-1756

東京営業所：〒105-0013 東京都港区浜松町2-3-24 若松ビル  
TEL. 03-3436-7958

URL <http://ul-pure.komatsu-ec.co.jp>

E-mail. [ul-pure@komatsu-ec.co.jp](mailto:ul-pure@komatsu-ec.co.jp)



# Wakogel® 60Nシリーズ

- 分取・精製に汎用されている細孔径 6nm の破碎状中性シリカゲル。
- 粒子径は3種類。保持が大きく、幅広い用途で使用可能。

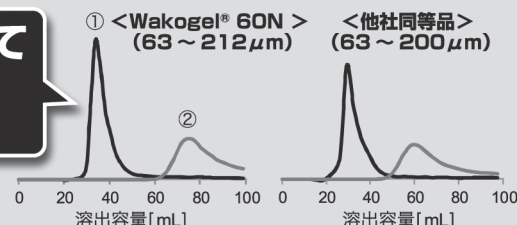
## 物性

細孔径	細孔容量	比表面積	物性
6 nm	0.85 mL/g	550 m <sup>2</sup> /g	6.5 ~ 7.5

(参考値)

## アゾベンゼンとp-メトキシアゾベンゼンの分離

他社同等品と比べて  
保持が大きく、  
バンドもシャープ



\*分取条件で各フラクションを分取後、各フラクションをHPLC分析し、得られたピークを分取条件の溶出容量にトレースした。

### 【分取条件】

Column : φ 1.5cm × 30 cm カラム管  
(1.5cmの高さまで充てん: 約 13g)  
Eluent : Toluene/n-Hexane = 2/1 (v/v)  
Detection : UV 330nm  
Sample : ① Azobenzene 1mg/mL  
② p-Methoxyazobenzene 1mg/mL  
Sample load : 0.5mL

### 【分析条件】

Column : Wakopak® Wakosil® 5SIL-120  
φ 4.6mm × 250mm  
Eluent : Toluene/n-Hexane = 1/1 (v/v)  
Injection vol. : 10 μL  
Flow rate : 1.0 mL/min. at 40°C  
Detection : UV 330nm

コードNo.	品名	規格	容量
235-02695	Wakogel® 60N, 150 ~ 425 μm	カラムクロマトグラフ用	500g
238-02705	Wakogel® 60N, 63 ~ 212 μm	カラムクロマトグラフ用	500g
235-02715	Wakogel® 60N, 38 ~ 100 μm	カラムクロマトグラフ用	500g

2kg, 10kg, 25kg 包装もご用意。

ご購入に際し製品情報 (適用法規・保管条件など) のご確認は、当社総合カタログおよび検索サイト (siyaku.com) をご参照ください。

サンプル(500g入り)を  
ご用意しています。  
この機会に是非お試しください。

## 和光純薬工業株式会社

本社 : 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号  
東京本店 : 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号  
営業所 : 北海道・東北・筑波・藤沢・東海・中国・九州

問い合わせ先

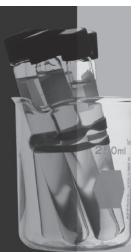
フリーダイヤル: 0120-052-099 フリーファックス: 0120-052-806

URL: <http://www.wako-chem.co.jp>

E-mail: [labchem-tec@wako-chem.co.jp](mailto:labchem-tec@wako-chem.co.jp)

## 試薬 / 実験機材の総合ディーラー

試薬メーカーとの連携で、新製品の開発を完全サポート



<http://www.takacho.biz>

# 研究者の皆様と共に 85 年



近年、科学技術の発展は目覚しくそれに伴い、バイオサイエンスの分野においても各種の新製品が開発され、めまぐるしく進歩を遂げております。

弊社は試薬のトップメーカー各社との緊密な連携により、エンドユーザーのニーズに適した試薬や機材の紹介・納入を迅速かつ確実に実行することをモットーとして営業活動を行っております。

## 株式会社 高長

〒113-0021 東京都文京区本駒込 5-2-10

本社 TEL 03-3941-7161 FAX 03-3946-3980  
 多摩営業所 TEL 0425-74-8371 FAX 0425-74-8372  
 柏営業所 TEL 0471-41-0081 FAX 0471-41-0082  
 福島営業所 TEL 024-525-3881 FAX 024-525-3882  
 川崎営業所 TEL 044-221-5155 FAX 044-221-5156