

Arsenic Letter

No. 15



平成 22 年 9 月

日本ヒ素研究会

目 次	ページ
ヒ素研究にその生涯を捧げられた貝瀬利一先生を偲んで 日本ヒ素研究会会長 圓藤 吟史	1
快男児、貝瀬先生の思い出 水産大学校 花岡 研一	2
貝瀬先生追悼文 帝京大学薬学部衛生薬学講座 毒性学教室 教授 越智 崇文	5
最初で最大の恩師～貝瀬先生との思い出～ 東京薬科大学 環境応答生物学研究室 宮下 振一	7
ヒ素の発癌メカニズムー動物モデルを用いた解析ー 大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理学 鰐淵 英機	9
第 16 回ヒ素シンポジウム開催のご案内	18
日本ヒ素研究会役員名簿	19
会費納入のお願い	20
編集後記	21

ヒ素研究にその生涯を捧げられた貝瀬利一先生を偲んで

日本ヒ素研究会会長 圓藤 吟史

東京薬科大学教授、貝瀬利一先生が、2009年11月15日に逝去されました。かねて病氣療養中とはいえ、あまりにも早い帰天で、誠に痛惜の念に堪えず、ここに謹んで哀悼の意を表します。

貝瀬先生は、ヒ素が毒であることを重々承知の上で、ヒ素の魅力に取り憑かれ、その未知なる部分を引き出すことに尽力されたのではないのでしょうか。先生の著書、「ヒ素—毒薬から医薬品へ—」(2009)は、石見銀山、ボヴァリー夫人、和歌山毒物混入事件、森永ヒ素ミルク事件、化学兵器など毒薬としてのヒ素の魔力、強壯剤や不老長寿の薬、ファーラー液、サルバルサンなど薬として使われてきた歴史や、地球環境での動態を紹介した上で、今注目されている亜ヒ酸の急性前骨髄球性白血病治療薬としての薬理作用の解明に積極的に取り組む先生の情熱が伝わってきます。

貝瀬先生は、1972年に東京薬科大学を卒業後、神奈川県衛生研究所に入所され「海産物中ヒ素化合物の存在形態に関する研究」を契機に、ヒ素研究を本格的に開始されました。1994年に母校である東京薬科大学生命科学部助教授に就任されてから先生のヒ素研究は一段と飛躍され、2001年に教授に昇任されました。2007年には「有機ヒ素化合物の環境化学的研究」で第16回環境化学会学術賞を受賞されました。

先生が主催された第10回ヒ素シンポジウムは、10th International Symposium on Natural and Industrial Arsenic Japan と国際学会に切り替えて2001年11月29、30日に開催されました。X. Chris Le (Alberta 大学, Canada)、安田秀世(東京薬科大学)、P. J. Craig (De Monfort 大学, UK)、A. A. Benson (Scripps Institution of Oceanography, U.S.A.)、Amjad Shraim (国立環境研)、K. A. Francesconi (Southern Denmark 大学, Denmark)、W. Goessler (Karl-Franzens 大学, Austria)、岡田昌二 (静岡大学)、W. R. Cullen (British Columbia 大学, Canada)、Fangshi Li (南京工業大学, 中国)の著名なヒ素研究者を招聘されたとともに、多数の演題の中、盛況裡に行われたことが思い出されます。この学会の proceedings は Applied Organometallic Chemistry の特別号 16(8):399-477, 2002 に掲載され、その Preface は Editor-in-Chief でもある Craig 教授自らが執筆されており、貝瀬先生ならびに日本ヒ素研究会会員に対して感謝の意を表しておられました。このように、貝瀬先生はヒ素研究発展のため、国際的にも先導的役割を果たされてこられました。一方、長靴姿や、着流し姿、ヒ素研究会の歌の演奏は世界各地で有名で、貝瀬先生のお人柄をあらわすように、周りはいつも楽しく、多くの研究者が集まっていました。

闘病中も神戸大学で粒子線治療という最先端医療を積極的に受けるなど常に前向きに取り組まれ、一刻も早い快復を確信し、今年の台湾にて開催された国際学会へ参加することを楽しみにされておりました。一層のヒ素研究への情熱をもってヒ素研究の発展のみならず、若いヒ素研究者の養成にも尽力されました。本会の発展にも多大なご貢献を賜り、本当にありがとうございました。

ヒ素研究に一生を捧げられた貝瀬利一先生に敬意を表するとともに、謹んでご冥福をお祈り申し上げます。 合掌

突然の訃報

貝瀬先生ご逝去の報に接した時、決して大袈裟ではなく、世の中の景色が急激に色褪せて行くように感じられた。ちょうど、映画などでよく見るように、カラー画面から白黒画面に転換していき、映像の動きまで止まったような印象である。私だけでなく、貝瀬先生とお付き合いのあった方それぞれにとって、先生の存在は大きかったと想像する。私も、その存在感や発信される刺激の大きさをご生前から意識していたが、実際に失ってみると、思っていた以上であった。

訃報は、1枚のメモによって私に伝えられた。その日、平成21年11月16日（ご逝去の翌日）、私はいつも通りに職場である水産大学校に居た。ちょっとした雑用を片付けた後で研究室に戻ると、ドアに電話交換係からのメモ用紙が貼られていた。メモは「帝京大学、越智先生より」で始まっていた。言い知れぬ不安を感じたまま読み進むと、中程に、「東京薬科大学、かいせ先生が亡くなりました。」と書かれていた。全身に衝撃が走った。そんなことが起こり得るのか。それに、そんな取り返しのつかない事態を伝えるメッセージが、メモ用紙の僅か1行に収まってしまうものなのか。

すぐに、訃報を伝えて下さった越智崇文教授にお電話したが、ご不在でお話しできなかった。なお、越智先生と貝瀬先生とは東京薬科大学でのご同輩であり、また、生涯のご親友である。そうしているうちに、ヒ素研究会会長の圓藤吟史大阪市立大学教授からメールをいただいた。訃報を伝えるメールであると予想して急いで開いたが、完全に文字化けしているため内容が分からない。そこで、お電話して直接お話しを伺った。「現在、情報が錯綜している」とのことであった。

最後の電話

実は、その一週間ほど前に、入院中の貝瀬先生ご本人からお電話をいただいていた。その時の声には、普段のつやがなく、ややしゃべりにくそうな印象もあった。私が、「退院されて自宅療養に入られると聞いてましたが」と言うと、「私もそのつもりだったんだけど、年内は病院に居ることになりそう」だとのことであった。また、「国際シンポジウムを開いて、私にそのオーガナイザーをやられて言われてるんだけど、無理だよー」とも言われた。そして、貝瀬先生は、田川先生のことや宮下君のことについて話された。

田川先生（水産大学校の田川昭治名誉教授、ヒ素研究会名誉会員）については、先日お手紙をいただいたと、貝瀬先生はとても喜んでおられた。すでに発行されていた Arsenic Letter のある号の中で、貝瀬先生はご自分の体調不良に少し触れておられた。このため、田川先生が心配されて貝瀬先生にお手紙を書かれたのだ。貝瀬先生は、かつて、神奈川県衛生研究所におられた頃に、ある学会で田川先生と出会い、互いに意気投合された。その時から、貝瀬先生は、生涯を通じ、田川先生を師とも父とも慕い続けられた。田川先生も、出会いの時のことを「人生、意気に感ずるということがあるんだよ」と、現役時代、部下である私によく言っておられた。この田川先生によるしく伝えてほしいとの主旨であった。

一方、ご自分の教え子である宮下振一君（現在、東京薬科大学博士課程2年）については、「現

在、宮下君にヒ素についての総説を書かせている。今、私がそれをチェックするのは難しいので、代わりに目を通してくれないか」というものであった。

後から思えば、この電話の内容は私への遺言であった。また、上記の通り、そのお声に強さはなかったが、それまでの貝瀬先生からは聞いたことのない、この世の諸々のことから解放されたような、あるいは、受話器の向こうに笑顔の見えるような、どこまでも穏やかでやさしいお話しぶりであった。

告別式で

訃報の届いた2日後、告別式に伺った。ご遺体と対面するのはつらかったが、貝瀬先生がこの世を去られたことを心に刻みつけるため、参加させていただいた。このつらい式の中での唯一の救いは、祭壇に飾られていた遺影であった。浴衣姿の粋なお写真である。やや、はすに構え、生前にお馴染みだった、悪戯っぽい、ちょっとからかうような笑顔を浮かべておられる。その遺影を見ていると、貝瀬先生は、「アタシ、前から言ってたでしょー。太く短く生きるって。その通りだったでしょ。センセーは、どうすんの？ どう生きるの？ 細く長く生きるの？」と笑いながら問いかけておられるようであった。そうかと思うと、今度は「アタシが死ぬ分けないじゃない。早合点したりして、センセーはホントに慌てん坊なんだからー」といつもの元気な声を出しておられるようにも見えた。本当に、これが後者の通りだったらどんなに良かっただろう。

それにしても、あの告別式で、貝瀬先生はご遺族つまり奥様やお子さん達を心から誇りに思われたと思う。また、嬉しかったことと思う。奥様の毅然とした対応、悲しみに耐える息子さん、悲しみに耐えきれずご出棺の時に泣いていた娘さん。きっと、どれも、旅立って行く貝瀬先生が、見送るご家族のそれぞれに対し、そうであってほしいと願われた姿であったと拝察する。

思えば、貝瀬先生は、よく国際的な学会やシンポジウムに子供さんを同伴された。二人の子供さんは、小学校や中学校の段階で、普通に、外国の研究者たちから可愛がられていた。デンマークで開催されたある国際会議では、たまたま私も出席しており、未だ中学生だった娘さんを紹介していただいた。私の長男と同世代であった。この時、会議中や列車での移動中に、良い親子関係を見せていただいた。良い関係 (good relationship) とは、この時のある懇親会で、前に座っていたオーストリアの親しい研究者が貝瀬先生父娘を見て言った言葉である。ちょっと言い合いになったり、仲良くなったりする父娘を見ながらニコニコしていた。

一般に、人が老年に達してから自分と親との関わり思い返す時、その深さや量を、単に共に生きた時間の長短だけで測ったりはしないだろう。貝瀬先生は、早くこの世を去ってしまわれたが、かけがえのない多くの思い出や影響を子供さん達に残された。私の場合、この後何年生きようと、私の子供たちに与えられものの深さや量は、貝瀬先生にはかなわない。

初対面の時とその後の楽しかった日々

貝瀬先生に初めてお目にかかったのは、昭和60年11月であった。静岡の東海大学短期大学部で松任茂樹先生のオーガナイズにより開催された第2回ヒ素シンポジウムに関わり、前日に開かれた会合の席であった。この会合には、もともと、理事(当時)の田川先生が出席されるはずであった。しかし、当日所用のため、また松任先生のお計らいもあり私が代理で出席した。貝瀬先生は、すでにヒ素化合物の毒性等の研究で名を知られる存在であった。そのため、私は年配の方を想像していた。ところが、貝瀬先生は予想していたよりはるかに若く、澁刺としてやる気満々、

大きな目の印象的な好青年であった。この大きな目には、普通の人とは違う何かが宿っていた。四半世紀にわたる貝瀬先生とのお付き合いの第1日目に見た若いお姿は、今も記憶に鮮やかである。

その後、私は、国内での会合や学会はもちろん、外国でのシンポジウムでも貝瀬先生とよくご一緒させていただいた。この間、私たちとの共同研究の体制も整って行き、貝瀬先生は、一貫してアクティブな研究生活を送られた。人との付き合いにおいても非常にアクティブであり、それは外国においても変わらなかった。外国のシンポジウム会場におられても、観光していても、あるいは移動中の交通機関の中でも大変アクティブであり、かつ人間好きであった。見知らぬ人達を巻き込んで話したり騒いだりするの也非常にお上手であった。

また、貝瀬先生は、ピアノやパイプオルガンを弾きこなされ、いろいろな場所で演奏してこられた。例えば、20年ほど前にオーストリアのザルツブルグで一緒した時には、ある由緒ある教会で、貝瀬先生は昔モーツァルトも弾いたというパイプオルガンを弾かれた。このパイプオルガンを弾くことは、プロのオルガニストにも許されていない。この時には、たまたまそのパイプオルガンの修理が行われていた。そこで、貝瀬先生は修理作業をしていた人に直談判し、臨時の演奏会を、作業員や観光に来ていた人達の前で実現させてしまった。教会だっただけに、その後も貝瀬先生のアクティブさを目の当たりにすると、「欲せよ、さらば与えられん」という言葉が頭に浮かんだ。

ところで、私の家内と貝瀬先生とは面識がない。その代わり、数回、自宅に電話をいただいた時に家内はお声を聞いている。家内は、貝瀬先生と同様、幼い頃からピアノを習っており耳が鋭い。先生からの印象は、大変話し安いだけでなく、信頼できるし、いくらでも話していられるというものだったそうだ。この家内も、貝瀬先生のご逝去に当たってはショックを受け、半年以上たった今でも、亡くなられたことが信じられないと言っている。それほど頻繁に貝瀬先生のことを話題にしていたわけではないのだが、私という人間を通じ、いつのまにか家内にとっても大きな存在になっていたのだろう。

終わりに

シューベルトの「白鳥の歌」は、「白鳥は、死ぬ前にひときわ美しくなく」という伝説からきているという。上にご紹介した最後の電話での貝瀬先生のお話は、私にとって、自らの終わりの近いことを悟った貝瀬先生の白鳥の歌であった。これを聞いたことは、私にとって誠に幸いであった。田川先生や宮下君にもご遺志を伝えることができた。

また、告別式の日、葬祭場の2階で待機しているときに、同じテーブルには宮下君たち現役の学生諸君の他、既に卒業した若き教え子達もずらりと座っていた。壮観であった。先生の場合、研究生活の途中から大学に戻られ、教育活動を開始されたことを思えば、よくここまで多くの人材を育てられたと思う。敬服に価する。

ところで、本号の Arsenic Letter は、貝瀬先生の追悼特別号として編まれたが、現在、国際学術誌 Environmental Chemistry においても貝瀬先生追悼のための特別号が、外国の研究仲間により計画されている。彼らもまた、貝瀬先生のご逝去に当たり、その大きな業績を讃えるだけでなく、深い悲しみを憶えていることをご報告して稿を閉じたい。

貝瀬利一先生 追悼文

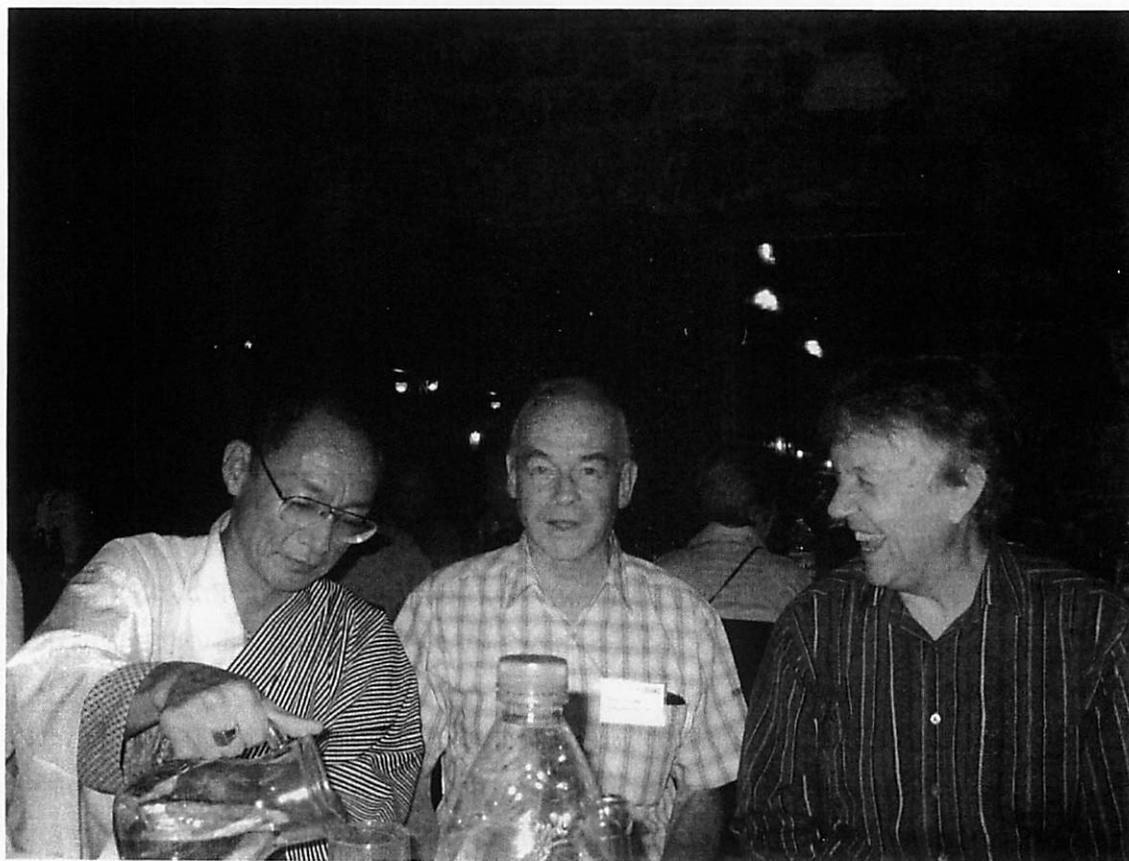
帝京大学薬学部衛生薬学講座 毒性学教室
教授 越智崇文

昨年11月15日、貝瀬さんの訃報に接し驚きを禁じ得ませんでした。亡くなる一月前に電話で話した折に、台湾で開かれる予定の国際ヒ素シンポジウム 2010 の話が出て、参加するつもりだと言っておりましただけに、突然の悲報にただ驚くばかりでした。

貝瀬さんと私は東京薬科大学の同期で、同じクラス仲間でありました。仲の良いクラスで、中でも貝瀬さんはその朗らかな人柄故、誰にも愛され、目立つ存在でした。我々は異なるクラブに属しておりましたが、勉学に関してはお互い意識し合い、ライバル同士であったように思います。試験時にはどちらがより早く答案を提出して退室するか、半ば競争をしていた時期もありました。尤も、成績がいいのは決まって貝瀬先生でした。そんな時期がありましたが、あることで私が貝瀬先生にはかなわないと感じたことがありました。ある日の午後、大学の最上階の講堂からピアノの旋律が流れてきまして、その音に惹かれて階段を上っていくと、なんと貝瀬さんがピアノに向かい、ショパンの「幻想即興曲」を軽やかに弾いているではないですか、とても驚いてしまいました。その後ベートーベンのソナタやショパンのピアノ協奏曲第一番のサビの部分などをよく聞かせていただきました。

大学卒業後、貝瀬さんは神奈川県立衛生研究所に職を得、その後のヒ素研究の基礎を築いていたようです。一方、私は大学院に進学し、培養細胞レベルの化学物質の毒性、遺伝毒性の研究を選びました。こうしてお互いに専門分野の知識と技術を習得しあって17年の後、貝瀬さんは環境化学における興味をヒ素代謝物の生物学的影響に広げ、私を必要としました。こうして我々の共同研究が1993年に始まりました。最初の共同研究は、種々のヒ素化合物の培養細胞毒性と、防御物質グルタチオン枯渇の影響を調べるものでしたが、この仕事は1994年の *Experientia* に掲載され、沢山の別刷請求が届いたことを覚えています。その後も、メチル化ヒ素化合物による染色体の構造異常やアポトーシス、細胞分裂異常、中心体異常、紡錘体異常誘発作用などを明らかにすることが出来ました。これらの研究成果は海外の学会でも発表の機会があり貝瀬さんとは何度かご一緒しました。例によって彼持ち前の社交性により多くのヒ素研究者と親交をもつに至ったようですが、オーストリアはグラーツ大学の故 Irgolic 教授をはじめ W. Goessler, K. Francesconi とも親しくされていたようです。何度かご一緒した海外での思い出はいろいろありますが、2000年に北ギリシャ（マケドニア）のテッサロニキで開かれた学会の後、帰国前にアテネの観光スポットの一つであるリカピトスの丘に登りました。そこから見えるアクロポリスの丘に建つライトアップされたパルテノン神殿は幻想的で、我々を幸せな気分させました。その折、ギリシャ伝統料理のムサカに舌鼓をうちながら貝瀬さんは大変機嫌良く、同席した私としましても最高に楽しかった忘れられない思い出です。2007年に、クレタ島で開かれた ICEBAMO でも貝瀬さんとご一緒でしたが、学会主催のパーティには例によって着物姿で参加し、そのあと日本からの参加者の方たちとイラクリオンの町の中心部を闊歩した折にも外国人観光客の人気の的でした。貝瀬さんの人柄の一端が窺える写真をここに紹介します。学会主催のパーティーでの三人のショッ

トです。そういえば貝瀬さんの遺影も着物姿でした。好きだったんですね着物が。貝瀬さん安らかに眠りください。合掌。



最初で最大の恩師 ～貝瀬先生との思い出～

東京薬科大学 環境応答生物学研究室

宮下振一

私は学部4年時に先生が教授を務める環境動態化学研究室に所属して以来、約4年間、厳しさと優しさを併せ持った指導を受けてきました。また、1人暮らしをしている私にとって先生は第2の父親のような存在であり、休日に酒場へと連れて行ってもらったこともありました。先生と私は共に短髪で眼鏡をかけていたために、一緒にお店に入ると必ずと言っていい程「息子さんですよねぇ？」と尋ねられ、先生が少し照れながら「まあ、そんなもんです！」と言うのがお決まりのパターンになっていました。先生はお酒を飲むといつも「遊ぶ時は思いっきり遊ぶ！研究する時は思いっきり研究する！」と言って、しっかりとメリハリをつけた研生活を送ることが大切だと教えてくれました。また、先生は敢えて学生を高級なお店に連れて行き、「君も将来こういう所で遊べるようになりなさい！」と言って大人の男の粋な遊びを体験させてくれました。

先生はお祭り好きで破天荒な性格ではありましたが、実はとても学生思いであり、特に学生の就職活動を積極的に支援しておられました。また、先生は携帯電話を肌身離さず持ち歩き、グッドマークやピースマークを多用したメールで学生と友達のように連絡を取り合っていました。先生は研究に関して学生の自由な発想を尊重しており、「これだけ設備が整っているのだから、自分がしたいように好きなだけ研究をしたらいい！」と言って、研究計画から発表までいつも自由にやらせてくれました。その一方で、先生は結論の導き方やその解釈に関しては人一倍慎重であり、「それは本当なのか？」、「それ以外の可能性はないのか？」と何度も尋ね、論理展開の矛盾を厳しく追及することにより、真実を明らかにすることの大変さを教えてくれました。先生は自分の教え子だけではなく、学会などで偶然知り合った学生や、他の研究室に所属するガッツのある学生に対しても公平に愛情を注ぎ、辛抱強く成長を見守ってくれました。

先生は国内だけでなく海外にも多くの友人がおり、「彼らは苦楽を共にしてきたダチ公です！君も若い内にダチ公と呼び合えるような友人をたくさん作って下さい！」と誇らしげに話しておられました。また、先生は自分が日本人であることに常に誇りを持っており、特に国際学会の懇親会では必ず着流しで参加し、多くの外国人から「一緒に写真を撮ってくれ！」と頼まれ、いつも笑顔で応じておりました。さらに、先生は日本人の勤勉さや礼儀正しさをとても大切にしており、「誰かに世話になった際には忘れずに感謝の気持ちを伝えること！」、「身の回りにいる人ほど親切にすること！」、「誰に対しても頭を下げてお辞儀ができる謙虚さが大切だ！」と教えてくれました。

先生は親からの資金援助が乏しい学生に対して、なんとかしてアルバイト代を与えられるよう尽力し、「お金のことは心配しなくていい！そんな時間があるなら研究を頑張れ！」と言って研究に専念させてくれました。また、先生は私が年に数回しか実家に帰っていないことを知ると、「親を大切にしろ！」、「たまにはお父さんを飲みを誘ってみたらどうだ？」と言って

気遣ってくれました。

晩年、入退院を繰り返していた先生に「体調はどうですか？」と尋ねるといつも「全然大丈夫です！私の心配をする時間があるなら研究を頑張ってください！」と言って最後まで気丈に振る舞っておられました。先生は私にとって最初で最大の恩師であります。先生と過ごした4年間はあまりに充実していて、全ての思い出をここに記すことは到底できません。月並な台詞ですが、私の心の中にはいつも先生がいて「どんどん研究を進めて世界をアッと言わせるいい成果を出してください！頑張れ！ウッス！」と言っているような気がしています。

ヒ素の発癌メカニズムー動物モデルを用いた解析ー

鰐淵英機、魏民、梯アンナ

大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理学

福島昭治

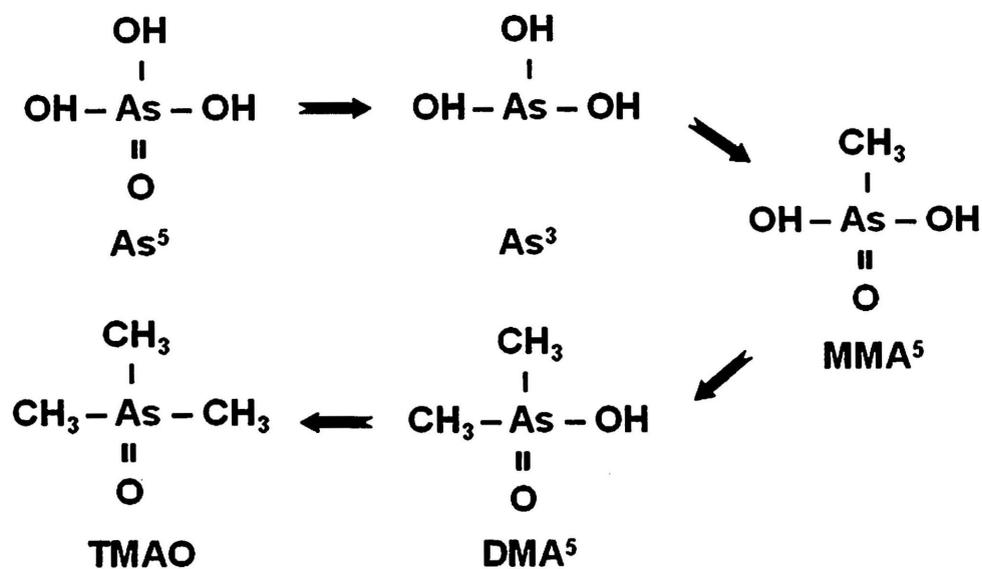
日本バイオアッセイ研究センター

はじめに

ヒ素は自然環境中に広く分布する半金属性元素である。ヒ素による急性中毒では、消化器症状が主体で、下痢、嘔吐が出現するが、慢性に曝露されると角化症、黒皮病などの皮膚障害、末梢血管障害、肝障害、さらには皮膚がん、膀胱がん、肝がん、肺がんなどを発生させる。現在、井戸水を介するヒ素汚染によりアジア諸国、中南米諸国における慢性ヒ素中毒の危険に曝されている人々の人口は約 9000 万人にも及ぶと言われている。すなわち、慢性のヒ素曝露からの潜在的ながんの発生リスクがこれらの地域で高まっており、世界的な問題となっている。しかしながら、動物実験においてヒ素の発がん性はまだ十分には検証されていない。現在、国際癌研究機関 (IARC) によりヒト発がん物質と認定されている化学物質のうち、無機ヒ素だけが唯一動物実験による発がん性の裏付けがなされていない。本稿では、我々の実験動物を用いたヒ素発がん性の解明に関する研究成果を紹介し、ヒ素発がんのメカニズムについて考察する。

ほ乳類におけるヒ素代謝経路と細胞毒性

環境中で土壌や井戸水に存在するヒ素は主に 5 価の無機ヒ素で、ほ乳類に摂取されると速やかに 3 価の無機ヒ素を経て、メチル化されモノメチルアルシン酸(MMA)、ジメチルアルシン酸(DMA)へと代謝され尿中に排泄される。ラットにおいてはさらにトリメチルアルシンオキサイド(TMAO)へと代謝される (図 1)。また、培養細胞に対する毒性を見てみると、無機ヒ素は細胞毒性が強いものに対して、有機化されたヒ素の細胞毒性は弱くなり無毒化されていく。一方、mitotic arrest や tetraploid formation などの染色体毒性はむしろ有機ヒ素、特に DMA で強いことが示されている(表 1)。すなわち、メチル化されることで、無機ヒ素の細胞毒性は弱まるが、却って染色体毒性が強くなり、発がんの危険性が高まったとも考えられる。



As⁵: arsenate As³: arsenite MMA⁵: monomethylarsonic acid
 DMA⁵: dimethylarsonic acid TMAO: trimethylarsine oxide

図 1. ラットにおけるヒ素の代謝経路

	As ⁵	As ³	MMA ⁵	DMA ⁵	TMAO	AsBe
Cytotoxicity	+++	++++	++	+	±	-
Induction of mitotic arrest	+	-	+++	++	+	-
Induction of tetraploids	-	-	-	++	++	-
Mutagenicity	-	-	-	-	-	-

表 1. 培養細胞に及ぼすヒ素の毒性

動物モデルを用いたヒ素の発がん性の証明¹⁾

我々は無機ヒ素の代謝経路に着目し、本来は無毒化が目的のメチル化（有機化）が逆に遺伝子障害性を惹起することに着目し、無機ヒ素の生体内での代謝産物である DMA のラットでの発がん促進作用を明らかにする²⁾とともに、ラット膀胱発がん性を世界で初めて証明し³⁾、世界のヒ素発がんの実験を有機ヒ素研究に引き寄せた。また、遺伝子改変マウスを用いた発がん実験で、DMA の皮膚発癌促進作用⁴⁾及び肺発癌性⁵⁾を明らかにした。

1. ラット多臓器中期発がん性試験法を用いた DMA の発がん促進作用の検討²⁾

ラット多臓器中期発がん性試験を用いて、DMA の発がん修飾作用の検討を試みた。この試験法は発がん二段階法に基づき開発されたモデルで、発がん物質の多くは、発がんイニシエーション作用とともにプロモーション作用を持つことから、プロモーション期に被験物質を投与し、対照群との腫瘍発生の比較からプロモーション作用を検討することにより発がん物質をスクリーニングする試験法である。その結果、DMA は 50ppm から膀胱発がんを促進し、また、肝、腎では 200ppm から、さらに甲状腺では 400ppm で発がん促進作用を示した (図 2)。一方、発がんイニシエーション処置をせずに DMA を 25 週間投与しても、がんの発生は見られなかった。

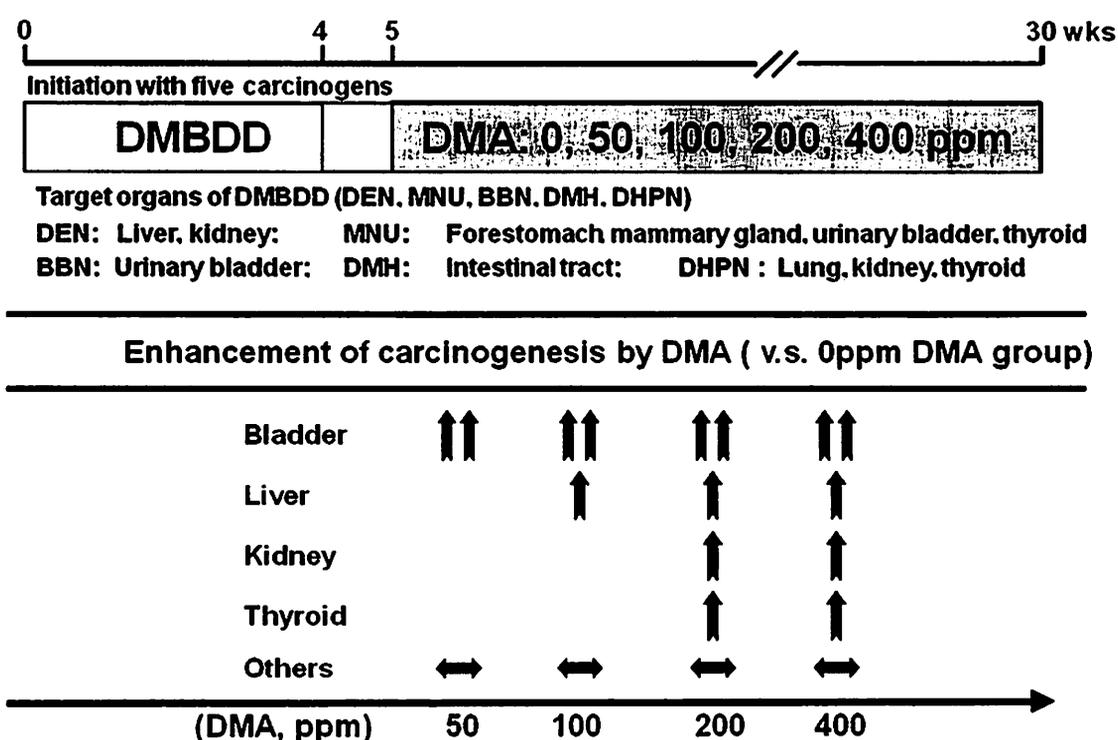


図 2. DMA のラット発がん促進作用 (多臓器中期発がん性試験法)

2. ラット膀胱中期発がん性試験法を用いた DMA の膀胱発がん促進作用の検討¹⁾

ラット膀胱発がん促進作用について、実際の汚染地下水でのヒ素濃度に近い 2ppm という低濃度から、100ppm の高濃度までの DMA の用量反応性を検討した。その結果、DMA は 10ppm から膀胱発がん促進作用を用量反応性に示すことが示された (図 3)。さらに、DMA を単独に投与したラットの膀胱粘膜において細胞増殖能の指標である BrdU 標識率が増加を示し、その機序に細胞増殖促進作用が関連することが明らかとなった。また、この DMA 投与による膀胱粘膜上皮の細胞増殖の亢進は、走査型電子顕微鏡を用いた膀胱粘膜上皮の観察においても確認された。

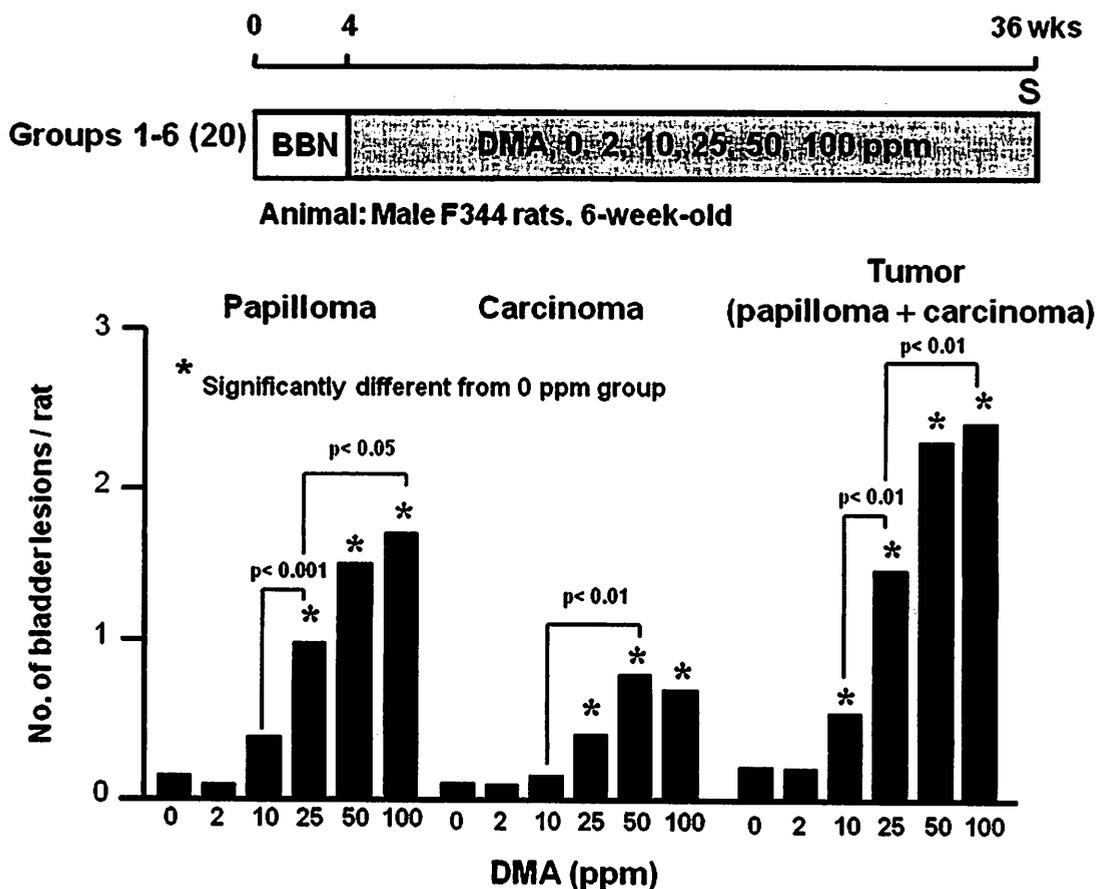


図3. DMAのラット膀胱発がん促進作用（膀胱中期発がん性試験法）

3. ラット肝中期発がん性試験法を用いたDMAのラット肝発がん促進作用の検討¹⁾

DMAのラット肝発がん促進作用を比較的低濃度の25ppmから100ppmまでラット肝中期発がん性試験法で検討した。その結果、DMAは25ppmから用量反応性に肝前がん病変のマーカであるGST-P陽性細胞巢の数、面積ともに増加させ、肝発がんを促進することが明らかになった（図4）。また、ラット肝における酸化的DNA傷害の指標である8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG)を測定した結果、DEN処置、無処置に関わらずDMA投与により肝DNAの8-OHdGの形成が増加することが示され、DMA投与により酸化的ストレスが惹起されることが示された。さらに、細胞増殖の指標であるornithine decarboxylase (ODC)がDMA投与により増加することが示され、細胞増殖亢進が関与することも明らかとなった。

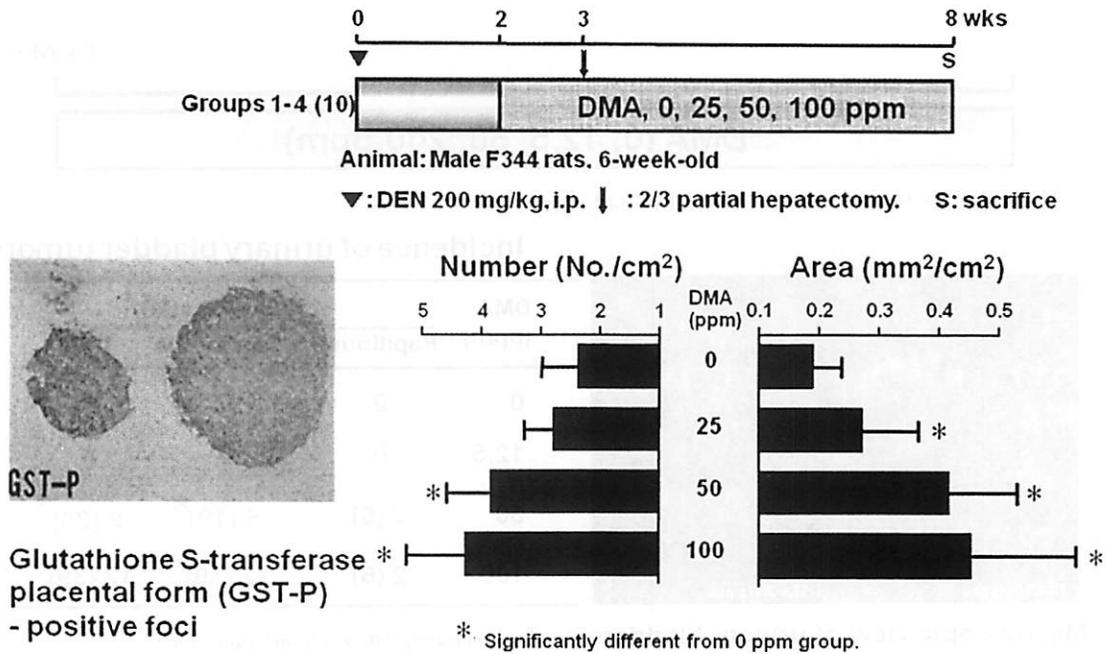


図4. DMA のラット肝発がん促進作用 (肝中期発がん性試験法)

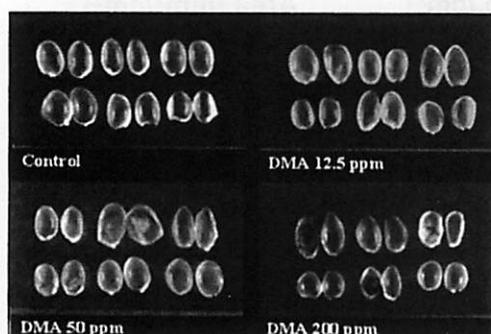
4. DMA のラット 2 年間発がん性試験³⁾

これまでの実験から DMA のラットへの発がん性が強く示唆された為、DMA のラット 2 年間発がん性試験を施行した。その結果、50ppm で膀胱癌が 19%、乳頭腫とあわせた腫瘍では 26%で、200ppm では膀胱癌、腫瘍がそれぞれ 39%発生し、12.5ppm と対照群では腫瘍の発生は見られなかった (図 5)。このことから、DMA はラット膀胱に発がん性を示すことが世界で初めて証明された。膀胱以外の臓器では、明らかな発がん性は認められなかった。2 年間 DMA を投与されたラット膀胱上皮では細胞増殖能の指標である BrdU 標識率が用量相関性に増加を示し、DMA の膀胱発がん細胞増殖能の亢進が関与していることが明らかとなった。また、DMA を 8 週間投与したラット膀胱の DNA の 8-OHdG 形成は対照群に比較し、有意に増加を示し、膀胱においても酸化的 DNA 傷害が惹起されていることが明らかとなった。

DMA (0, 12.5, 50, 200 ppm)

Animal: 10-week-old, 144 male F344 rats

Incidence of urinary bladder tumors



DMA (ppm)	Incidence(%)		
	Papilloma	Carcinoma	Total
0	0	0	0
12.5	0	0	0
50	2 (6)	6 (19)*	8 (26)*
100	2 (6)	12 (39)*	12 (39)*

Macroscopic view of urinary bladders

* Significantly different from 0 ppm group.

図 5. DMA のラット膀胱発がん性 (2 年間発がん性試験)

5. ODC トランスジェニックマウスにおける DMA の皮膚発がん促進作用⁴⁾

皮膚発がん感受性の高い ODC トランスジェニックマウスを用いて DMA の皮膚二段階発がん性試験で皮膚発がんへの影響を検討した。その結果、皮膚発がん物質の 7,12-dimethylbenz [α] anthracene (DMBA) でイニシエートした群において、DMA をクリームに混ぜて塗布した群では、皮膚発がんプロモーターの 12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) と同程度の皮膚発がん促進作用を示した。イニシエーションのない群では DMA を投与しても 20 週では、皮膚発がんは見られなかった。このことから、DMA は K6/ODC トランスジェニックマウスに皮膚発がん促進作用を有することが明らかとなった。

6. p53 ノックアウトマウスを用いた DMA の発がん性試験¹⁾

p53 遺伝子を不活化した p53 ノックアウトマウスが発がん感受性の高い動物として発がん性試験に導入されることが検討されている。そこで、p53 ノックアウトマウスを用いて、DMA のマウス発がん性を検討してみた結果、p53 ノックアウトマウスおよび wild type マウスの DMA 投与群ではそれぞれの対照群と比較し、有意に早期から自然発生腫瘍の発生が用量相関性に認められた。また、200ppm の DMA が投与された p53 ノックアウトマウスでは 1 匹あたりの総腫瘍数、wild type マウスでは 50 および 200ppm の DMA 投与群で腫瘍の発生頻度と総腫瘍数が対照群に比較し、有意に増加していた。すなわち、このことから、DMA は p53 ノックアウトマウスおよび wild type C57BL/6J マウスにおいて発がん性が明らかとなった。しかし、この DMA の発がん性は臓器特異的なものではなかった。

7. OGG1 ノックアウトマウスを用いた DMA の発がん性試験⁵⁾

これまで、DMA の発がん性機序の一つに酸化 DNA 障害が関与することを明らかにしてきた。さらなる機序解明のために、酸化 DNA 傷害により形成される 8-OHdG を修復する OGG1 遺伝子を変異、失活させた OGG1 遺伝子 mutant マウス (OGG1^{-/-})

又は OGG1^{+/+}) を用いて、DMA の発がん性試験を試みた。DMA 投与群での腫瘍発生率はそれぞれ OGG1^{-/-}で 100%、OGG1^{+/+}で 50%であり、有意差は認めないもののミュータントマウス群で高い傾向を示した。DMA 投与 OGG1^{+/+}では肺腫瘍が 50%と最も多く、次にリンパ腫が 40%であった。肺腫瘍の発生個数は OGG1^{+/+}に比べて有意に上昇していた。これらのことから、DMA は OGG1^{+/+} において肺発がん性を示し、その機序に酸化的 DNA 傷害が関与していることが明らかになった。

8. MMA、DMA、TMAO の肝発がん促進作用と酸化的 DNA 傷害⁶⁾

有機ヒ素化合物の MMA および TMAO のラット肝発がん性及び影響を DMA と同様にラット肝中期発がん性試験で検討した。その結果、MMA、TMAO も DMA と同様に GST-P 陽性細胞巢の数および面積を増加させ、ラット肝発がんを促進することが明らかになった。また、MMA、DMA、TMAO とともに肝の 8-OHdG 形成の増加をもたらした。さらに、これらの有機ヒ素化合物は肝ミクロゾームの総 P450 量を著明に増加させ、CYP2B1 蛋白の増加 (ウエスタン・ブロッティング法) と CYP2B1/2 gene の発現の増加 (RT-PCR 法) が確認された。これらのことから、これらの有機ヒ素化合物が P450 特に、CYP2B1 により代謝され、ヒドロキシ・ラジカルを発生させている可能性が示唆された。

9. MMA、TMAO のラット 2 年間発がん性試験^{7,8)}

MMA のラット 2 年間発がん性試験では、MMA は膀胱の粘膜の過形成と肝臓の前がん病変のマーカーである GST-P 陽性細胞巢を増加させるものの、膀胱がんの発生や肝腫瘍の発生は有意ではなかった⁷⁾。また、TMAO の 2 年間発がん性試験では、TMAO は 200ppm で肝腺腫の発生を有意に増加させた⁸⁾。

10. DMA 誘発膀胱癌の分子病理学的解析⁹⁾

DMA で 2 年間の投与で発生した膀胱癌について、パラフィン切片から DNA を抽出し、p53 遺伝子、k-ras 遺伝子、H-ras 遺伝子、β-catenin 遺伝子の遺伝子変異および 18 のマイクロサテライト・マーカーを用いた microsatellite instability (MSI) を検索した。その結果、2 例に k-ras 遺伝子に変異を認めるのみで、他に変異は全く認めなかった。これは遺伝毒性発がん物質である BBN で誘発された膀胱癌に p53 遺伝子変異や MSI の不安定性が高頻度に認められるのとは、対照的であった。また、免疫組織化学的に cyclin D1、cyclooxygenase-2 (COX-2)、p27kip1、p53 の発現を検討した結果、cyclin D1、COX-2 の過剰発現が過形成病変と腫瘍において、また、p27kip1 の発現低下が腫瘍で認められた。p53 は発現は認められなかった。

11. MMA、DMA、TMAO 投与によるラット肝および膀胱の遺伝子発現の網羅的解析¹⁰⁾

DMA、MMA、TMAO 投与 15 日目から肝臓においてミクロゾーム分画の OH⁻の形成が見られ、核の酸化的 DNA 損傷のマーカーである 8-OHdG 形成レベルの上昇が認められた。また、Phase I および phase II 代謝酵素の活性化による酸化的 DNA 傷害および細胞増殖の上昇がラット肝臓の TMAO、MMA および DMA の発がん性に関与すると考えられた。一方、膀胱においては、DMA 投与にのみ Phase I および phase II 代謝酵素の活性化による酸化的 DNA 傷害および細胞増殖の上昇がみられた。

考察

我々のこれらの実験から DMA はラットに対し、膀胱発がん作用があることが明らかにされた。

また、肝、腎、甲状腺に対しては発がん促進作用があることも明らかにされた。一方、遺伝子改変マウスにおける DMA の発がん実験より、DMA の皮膚発がん促進作用と肺発がん性が明らかにされた。これらの動物実験の結果は、ヒ素のヒトへの発がん性を十分に証明するものであると評価され、IARC は 2004 年にげっ歯類における DMA の発がん性を明示した。

DMA の発がん機序は、DMA による酵素誘導による酸化 DNA 傷害と細胞増殖の亢進が関与している。また、酸化ストレスは烏脚病の原因となる血管障害のメカニズムにも関与している可能性が考えられて、ヒ素の慢性中毒症における酸化ストレスの発生がこれら病態を考えるうえで重要であると示唆される。

近年、無機ヒ素曝露者の尿中や皮膚において、8-OHdG の形成の増加が報告されはじめており、また、ヒトにおいても有機ヒ素代謝の過程で産生される MMA(III)や DMA(III)に関心が集まっている。これらは MMA や DMA が代謝される時に生ずる 3 価の有機ヒ素で反応性が高く細胞毒性、遺伝子毒性も DMA や MMA に比べても非常に高いと考えられ、現在、その発がん機序との関連が注目されている。また、慢性ヒ素中毒症の治療および予防に抗酸化剤を含めた酸化ストレス予防剤が有効であるかどうかを明らかにすることは、世界中の多数の慢性ヒ素曝露の人々のリスクマネジメントにおいて重要と考えられ、我々は動物実験を用いてその有効性についての研究を精力的に進めている。

文献

1. Wanibuchi, H., Salim, E.I., Kinoshita, A. et al.: Understanding arsenic carcinogenicity by the use of animal models. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2004, 198: 366-76.
2. Yamamoto, S., Konishi, Y., Matsuda, T. et al.: Cancer induction by an organic arsenic compound, dimethylarsinic acid (cacodylic acid), in F344/DuCrj rats after pretreatment with five carcinogens. *Cancer Res.* 1995, 55: 1271-6.
3. Wei, M., Wanibuchi, H., Yamamoto, S. et al.: Urinary bladder carcinogenicity of dimethylarsinic acid in male F344 rats. *Carcinogenesis.* 1999, 20: 1873-1876.
4. Morikawa, T., Wanibuchi, H., Morimura, K. et al.: Promotion of skin carcinogenesis by dimethylarsinic acid in keratin (K6)/ODC transgenic mice. *Jpn J Cancer Res.* 2000, 91: 579-81.
5. Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Morimura, K. et al.: Carcinogenicity of dimethylarsinic acid in Ogg1-deficient mice. *Cancer Sci.* 2007, 98: 803-14.
6. Nishikawa, T., Wanibuchi, H., Ogawa, M. et al.: Promoting effects of monomethylarsonic acid, dimethylarsinic acid and trimethylarsine oxide on induction of rat liver preneoplastic glutathione S-transferase placental form positive foci: a possible reactive species mechanism. *Int. J. cancer.* 2002, 100: 136-139.
7. Shen, J., Wanibuchi, H., Salim, E.I. et al.: Induction of glutathione S-transferase placental form positive foci in liver and epithelial hyperplasia in urinary bladder, but no tumor development in male Fischer 344 rats treated with monomethylarsonic acid for 104 weeks. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2003, 193: 335-345.
8. Shen, J., Wanibuchi, H., Salim, E.I. et al.: Liver tumorigenicity of trimethylarsine oxide in male Fischer 344 rats--association with oxidative DNA damage and enhanced cell proliferation. *Carcinogenesis.* 2003, 24: 1827-35.
9. Wei, M., Wanibuchi, H., Morimura, K. et al.: Carcinogenicity of dimethylarsinic acid in male F344 rats and genetic alterations in induced urinary bladder tumors. *Carcinogenesis.* 2002, 23: 1387-97.
10. Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Wei, M. et al.: Elevation of 8-hydroxydeoxyguanosine and cell proliferation via generation of oxidative stress by organic arsenicals contributes to their carcinogenicity in the rat liver and bladder. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2007, 221: 295-305.

第 16 回ヒ素シンポジウム開催のご案内

大会長：吉田貴彦（旭川医科大学健康科学講座）

開催日：2011 年 2 月 5 日（土）午後 1 時頃～6 日（日）午後 4 時頃

会場：サンアザレア（旭川市）北海道旭川市 5 条通 4 丁目

特別講演Ⅰ 熊谷嘉人（筑波大学大学院）

「ヒ素の感知・応答センサーおよびリスク軽減因子としての Keap1/Nrf2 システム」

特別講演Ⅱ 孫 貴範（中国医科大学）

「The Historical and Present Situation of Arsenicosis Reseach of Past 15 Years in China」

参加費：会員 2,000 円、学生 1,000 円、一般 5,000 円

懇親会費：事前申込（会員・一般）4,000 円、事前申込（学生）3,000 円、当日 5,000 円

演題募集：詳しくは第 16 回ヒ素シンポジウムホームページをご覧ください。

<http://www.asahikawa-med.ac.jp/dept/mc/healthy/hiso16/>

演題申込締切り 10 月 29 日（金）

抄録締切り 11 月 30 日（火）

事務局：〒078-8510 旭川市緑が丘東 2 条 1 丁目

旭川医科大学医学科健康科学講座内

担当：中木 良彦

TEL：0166-68-2402 FAX：0166-68-2409

E-mail：his016@asahikawa-med.ac.jp（@を半角に変換してお送り下さい。）

日本ヒ素研究会役員名簿

会長	圓藤吟史（大阪市立大学医学部）
副会長	神 和夫（北海道立衛生研究所） 花岡研一（水産大学校） 山中健三（日本大学薬学部）（新任）
顧問	塩見一雄（東京海洋大学海洋科学部） 眞柄泰基（北海道大学大学院工学研究科）（新任）
理事	大木 章（鹿児島大学工学部） 黒岩貴芳（産業技術総合研究所） 千葉啓子（岩手県立大学盛岡短期大学部） 田辺公子（宮崎大学工学部） 久永 明（福岡県立大学人間社会学部） 安井明美（食品総合研究所） 山内 博（北里大学医療衛生学部） 山岡到保（産業技術総合研究所） 吉田貴彦（旭川医科大学） 吉永 淳（東京大学新領域創成科学研究科） 鰐淵英機（大阪市立大学医学部） 平野靖史郎（国立環境研究所環境リスク研究センター）（新任） 熊谷嘉人（筑波大学人間総合科学研究科）（新任） 田中昭代（九州大学医学研究院）（新任）
監事	高橋 章（東海大学短期大学部）
名誉会員	A. A. Benson (University of California) Peter J. Craig (De Monfort University) John S. Edmonds (University of Graz) 井上尚英（九州大学名誉教授、浅木病院パーキンソン病療育センター長） 岡田昌二（静岡県立大学名誉教授） 田川昭治（水産大学校名誉教授） 戸田昭三（東京大学名誉教授） 前田 滋（鹿児島大学名誉教授、前鹿児島工業高等専門学校長） 松任茂樹（東海大学短期大学部） 石黒三郎（元古河機械金属株式会社顧問）（新しく推挙）

役員は所属を公開しても問題ないと判断し、氏名と所属の両方を記載致しました。

会費納入のお願い

●一般会員

平成 22 年度分の会費 3,000 円

●学生会員

平成 22 年度分の会費 2,000 円

●団体会員

平成 22 年度分の会費 20,000 円

下記の銀行口座にお振込いただければ幸いです。

※日本ヒ素研究会の会計年度は 1 月 1 日～12 月 31 日です。

会費振込先

【銀行名】 三菱東京 UFJ 銀行 阿部野橋西支店

【口座番号】 普通 1079027

【口座名義】 日本ヒ素研究会 会長 圓藤吟史

編集後記

日本ヒ素研究会の機関誌「Arsenic Letter」の第15号をお届けいたします。
前任編集委員の貝瀬先生がお亡くなりなされたことから、本号より鰐淵が発行を任されましたが、全く不慣れなため発行が遅れてしまい、会員の皆様にはご迷惑をお掛けしたことを心からお詫び申し上げます。

今回は、貝瀬先生を偲んでの追悼文を、圓藤吟史会長、花岡研一副会長、越智崇文先生、宮下振一先生に書いていただきました。貝瀬先生のご冥福を心よりお祈りいたします。

前回の理事会で、新副会長に山中健三先生が就任し、また新理事として平野靖史郎先生、熊谷嘉人先生、平田美由紀先生が選出されました。

本年度のシンポジウムは第16回ヒ素シンポジウムとして、旭川医科大学の吉田貴彦先生が冬の旭川で開催いたします。会員の皆様の振るっての参加をお待ちしております。

最後に、今回の Arsenic Letter の発行に当たっては、大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理学の井浦孝子秘書をはじめとした教室員のお手伝いをいただきました。ここに記して感謝申し上げます。

なお、ヒ素研究会や Arsenic Letter に関するご意見、ご要望があればいつでもご遠慮なくヒ素研究会事務局までお寄せください。

〒545-8585

大阪市阿倍野区旭町 1-4-3

大阪市立大学大学院医学研究科

産業医学分野（環境衛生学教室）内

ヒ素研究会事務局

TEL : 06-6645-3751

FAX : 06-6646-0722

ホームページ : http://medwebsv.med.osaka-cu.ac.jp/pmenv/hiso_index.html