

<平成 30 年度助成>

日常食を介した無機ヒ素摂取による健康影響調査のための 中長期曝露バイオマーカーの検討

小栗 朋子

(国立研究開発法人産業技術総合研究所 安全科学研究部門)

1. 研究目的

自然環境中に広く存在する無機ヒ素は毒性が高く、ヒトの健康に影響を及ぼすものとして、世界各国で健康リスク評価が進められている。

無機ヒ素の主な摂取源は飲料水や食物であり、日本人の場合、米やひじきを介した無機ヒ素摂取が全体の約 90% を占める¹⁾。慢性的な無機ヒ素摂取による健康影響として発がんの他、2 型糖尿病²⁾や、神経発達影響³⁾との関連が懸念されており、今後わが国でも無機ヒ素摂取による健康影響調査を行う必要があると考えられるが、こうした調査を行うにあたり、無機ヒ素の長期的な曝露バイオマーカーが確立していないという問題がある。

尿中無機ヒ素代謝産物濃度は一般に無機ヒ素摂取のバイオマーカーとしてよく用いられているが、無機ヒ素の生物学的半減期は比較的短く、尿中ヒ素レベルが反映するのは採尿の前日付近の曝露である。そのため長期にわたる無機ヒ素摂取状況の調査を必要とする場合には、採尿 1 回分の指標は適さない場合も考えられる。

より長期間の無機ヒ素摂取を反映する指標として、頭髮や体毛、爪中濃度をバイオマーカーとする方法が考えうる。このうち足爪はその形成期間の血中ヒ素レベルを反映し、頭髮等と比較して外部汚染が少ないと考えられていることから、長期的な無機ヒ素摂取のバイオマーカーとして有力な候補である。これまでに地下水ヒ素汚染地域においては、足爪中総ヒ素濃度を用いた疫学調査がいくつか行われている^{2,4)}。

しかしながら、既往文献が示す足爪が反映する曝

露の期間は数ヶ月から数年とばらつきがあり、さらに日本人の場合、海産物を摂取する食習慣に伴って、海産物に多量に含まれる毒性の低い有機ヒ素化合物を日常的に摂取していることから、無機ヒ素摂取のバイオマーカーとして足爪を利用するには総ヒ素ではなく、ヒ素の化学形態も明らかにしていく必要がある。

我々は現在、日本人の日常食を介した無機ヒ素摂取による中長期曝露バイオマーカーを確立することを目的とした研究を進めている。本稿では食事調査から見積もった一日無機ヒ素摂取量と足爪中無機ヒ素代謝産物濃度との関連について統計解析を行い、足爪中無機ヒ素代謝産物濃度の適用可能性について予備的に調べたので報告する。

2. 研究内容

足爪中化学形態別ヒ素の分析法の検討

固体試料である足爪中ヒ素の化学形態別分析を行うために、マイクロ波分解装置を用いた硝酸による密閉分解によって溶液化する方法を採用し、分析法の検討を行った。

足爪試料 25 mg をテフロン製バイアルに精秤後、硝酸 1 mL を添加し、マイクロ波分解装置を用いて 120°C で 30 分、密閉分解を行った。終了後、ホットプレート上で分解液を乾固直前まで加熱して硝酸を揮散し、残渣を純水 2 mL で溶解して 0.45 μm フィルターでろ過したものを検液とした。検液中ヒ素の化学形態別分析は LC-ICP-MS を用いて行った⁵⁾。ICP-MS によるヒ素イオンの検出は $m/z = 75$ を、ArCl による妨害の有無を検出するために $m/z = 77$

を、それぞれモニタリングした。

検討用試料として、ヒ素濃度に値付けされた日本人の頭髪を原材料とした認証標準物質 (NIES CRM No.13 頭髪)、および成人 4 人分の両手足爪により作製したプール爪試料を使用した。

無機ヒ素摂取量と足爪中ヒ素の化学形態の関連

成人男女 39 名を対象に、対象者各自に足指 10 本すべての爪を爪切りで切ってもらい、それをチャック付きのポリ袋に入れて提供してもらった。収集した足爪試料は水とアセトンで超音波洗浄後、家庭用爪切りを用いてできるだけ細かく切断し、試料ごとに均一になるように混合したものを分析用試料とした。食事調査は秤量記録法を用い、任意の 7 日間に朝起きてから夜寝るまでに食べた「めし (米飯)」と「ひじき」をキッチンスケールで秤量し、記録用紙に記入してもらった。足爪採取と食事調査は対象者 39 名に対して、各タームに 1 回 (2019 年 6 月から 10 月、10 月から 2020 年 1 月、2020 年 1 月から 3 月)、計 3 回行った。

無機ヒ素摂取の指標として足爪中の無機ヒ素 (iAs) とモノメチルアルソン酸 (MMA) 濃度合計値 (iAs+MMA)⁶⁾ を適用した。一日無機ヒ素摂取量は「めし¹⁾」と「ひじき⁷⁾」中無機ヒ素濃度の文献値と、秤量記録から得られた食物摂取重量の積から求めた。統計解析には SPSS ver.12J を用いた。

3. 研究成果

足爪中化学形態別ヒ素分析法の検討

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⁸⁾。予備実験として固体試料である NIES CRM No.13 頭髪およびプール爪試料を硝酸分解により溶液化し、LC-ICPMS を用いてヒ素の化学形態別分析を行った。

頭髪 CRM から検出されたのは As (V) のみであり、As (III)、MMA、DMA、AB およびトリメチルアル

シンオキシド (TMA₃O) といったヒ素種は検出されなかった。頭髪 CRM 中 As (V) 濃度は 0.10 ± 0.03 As $\mu\text{g/g}$ (n=3) であり、CRM に付与されている総ヒ素の参考値 $0.10 \mu\text{g/g}$ と一致した。プール爪試料からは As (V) および DMA が検出された。頭髪 CRM およびプール爪試料への添加回収試験の結果、一部の有機ヒ素で分解が見られたものの、曝露指標とする As (V)、As (III)、MMA への影響はなく、回収率は良好であったことから、硝酸分解は足爪中ヒ素の化学形態別分析を行うための前処理法として適切であると判断された。

無機ヒ素摂取量と足爪中ヒ素の化学形態の関連

本報では 2019 年 6 月から 10 月までに成人男女 39 名 (男性 20 名、女性 19 名) (44 ± 14 歳) から採取した足爪試料および食事記録について解析を行った。

足爪中 iAs+MMA 濃度は中央値で 0.152 ($0.101 - 5.70$) $\mu\text{g As/g}$ (最小-最大値) であった。一日無機ヒ素摂取量は、7 日間のめし・ひじき摂取量の平均値にそれぞれの無機ヒ素濃度の文献値^{1,7)} を掛け合わせた値の合計値とした。一日無機ヒ素摂取量は中央値で $9.96 \mu\text{g/日}$ ($0 - 139 \mu\text{g/日}$)、体重あたりの一日無機ヒ素摂取量は 0.161 ($0 - 1.64 \mu\text{g/kg/日}$) であった。なお 7 日間の調査中にひじきを食べた人は 39 名中 13 名であり、調査期間中一度もめしを食べていなかった人は 39 名中 1 名含まれていた。足爪中 iAs+MMA 濃度、体重あたりの一日 iAs 摂取量は対数正規分布に近似するとみなし、対数変換した値を統計解析に用いた。

食事量および体重は一般に男性の方が多いこと、無機ヒ素の代謝には性差があるという報告⁹⁾ があることから、足爪中 iAs+MMA 濃度を従属変数、性別を固定因子とし、体重あたりの一日無機ヒ素摂取量を共変数として共分散分析 (ANCOVA) を行ったところ、性別による有意な差は見られなかった ($p=0.32$)。そこで成人男女 39 名を 1 つの集団として解析を行うこととし、体重あたりの一日無機ヒ素摂取量と足爪中 iAs+MMA 値について Pearson の相

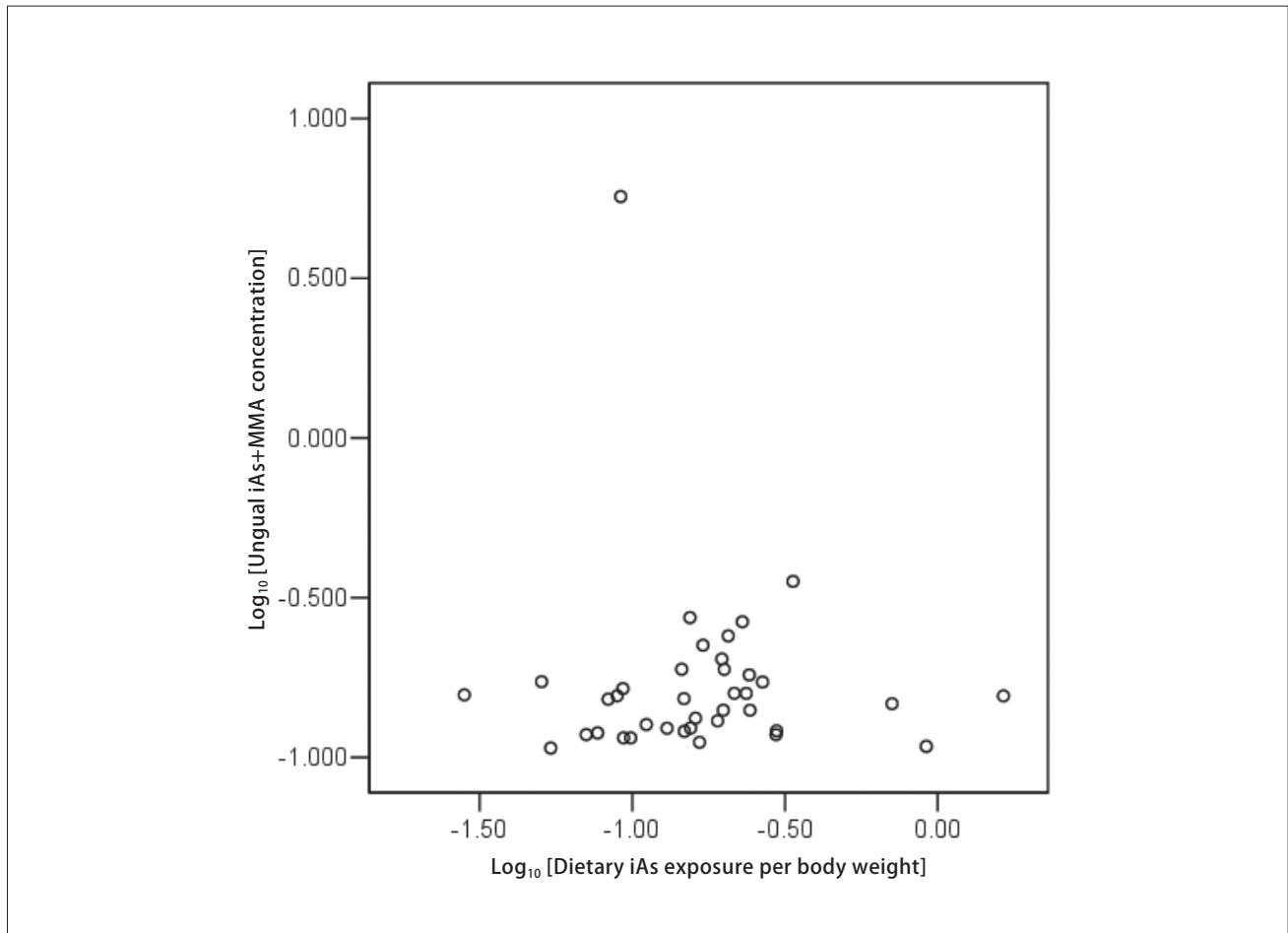


図1 一日無機ヒ素摂取量と足爪中iAs+MMA濃度の関連

関分析を行ったところ、両者に有意な関連は見られなかった ($r=-0.054$, $p=0.74$)。しかしながら図1を見る限り、一日無機ヒ素摂取量が少ない人は全体的に足爪中iAs+MMA濃度も少なく見えることから、全く関連性がないとは言い難いと考えられる。今回このような結果になった理由として、一日無機ヒ素摂取量の代表性の低さや、食事調査の時期と採取した足爪の形成時期の違いが挙げられる。今後は、採取した残りのサンプルの分析を進めてn数を増やすことで、より信頼性の高いデータを得た上で、一日無機ヒ素摂取量と足爪中無機ヒ素代謝産物濃度との関連性を評価していく予定である。

謝辞

本研究の遂行にあたり、研究助成を賜りました公益財団法人 浦上食品・食文化振興財団に厚く御礼を申し上げます。

参考文献

- 1) Oguri T, Yoshinaga J, Tao H, Nakazato T. Inorganic arsenic in the Japanese diet: daily intake and source. Arch Environ Contam Toxicol. 2014;66(1): 100-12.
- 2) Pan WC, Seow WJ, Kile ML, Hoffman EB, Quamruzzaman Q, Rahman M, et al. Association of low to moderate levels of arsenic exposure with risk of type 2 diabetes in Bangladesh. Am J Epidemiol. 2013;178(10):1563-70.
- 3) Rahman A, Vahter M, Smith AH, Nermell B, Yunus M, El Arifeen S, et al. Arsenic exposure during pregnancy and size at birth: a prospective cohort study in Bangladesh. Am J Epidemiol. 2009;169(3):304-12.
- 4) Heck JE, Andrew AS, Onega T, Rigas JR, Jackson BP, Karagas MR, et al. Lung cancer in a U.S. population with low to moderate arsenic exposure. Environ Health Perspect. 2009;117(11):1718-23.
- 5) Narukawa T, Kuroiwa T, Yarita T, Chiba K. Analytical sensitivity of arsenobetaine on atomic spectrometric analysis and the purity of synthetic arsenobetaine. Appl Organomet Chem. 2006;20(9):565-72.
- 6) Hata A, Yamanaka K, Habib MA, Endo Y, Fujitani N,

- Endo G. Arsenic speciation analysis of urine samples from individuals living in an arsenic-contaminated area in Bangladesh. *Environ Health Prev Med.* 2012;17(3):235-45.
- 7) Nakamura Y, Narukawa T, Yoshinaga J. Cancer risk to Japanese population from the consumption of inorganic arsenic in cooked hijiki. *J Agric Food Chem.* 2008;56(7):2536-40.
- 8) Jin K, Ogawa H, Taga M. Study on Wet Digestion Method for Determination of Total Arsenic in Marine Organisms by Continuous-Flow Arsine Generation and Atomic-Absorption Spectrometry Using Some Model Compounds. *Bunseki Kagaku.* 1983;32(6):E171-E6.
- 9) Lindberg AL, Ekstrom EC, Nermell B, Rahman M, Lonnerdal B, Persson LA, et al. Gender and age differences in the metabolism of inorganic arsenic in a highly exposed population in Bangladesh. *Environ Res.* 2008;106(1):110-20

Relation between dietary inorganic arsenic exposure and inorganic arsenic metabolites in the toenails of Japanese subjects

Tomoko OGURI

*Research Institute of Science for Safety and Sustainability,
National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)*

Inorganic arsenic (iAs) is a ubiquitous metalloid that has been shown to exert multiple adverse health outcomes. However, there are limited data on the long-term exposure of individuals to the iAs through diet, particularly in Japan. Herein, we evaluated the association between diet and toenail arsenic concentrations (a long-term biomarker of exposure). From June 2019 to October 2019, from 20 male and 19 female subjects in Japan, we collected a set of 7-day diet records and toenail samples of the following day after diet recording. The concentrations of the As species in the toenail samples were determined using liquid chromatography-ICP mass spectrometry. The sum of the concentrations of iAs and methylarsonic acid (MMA) contained in a toenail sample was used as a measure of iAs exposure. Daily dietary iAs exposure was estimated to be 0.161 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ (median), while the median of the sum of the iAs and MMA concentrations in the toenail samples was 0.151 $\mu\text{g As}/\text{g}$. An analysis of covariance found no significant gender difference in the regression coefficients ($P > 0.05$). Preliminary data indicate that daily dietary iAs exposure has no significant relationship with the sum of the concentrations of iAs and MMA in the toenail ($P > 0.05$). Further studies are necessary to confirm these findings.