

海産物由来ヒ素化合物の生体影響と体内動態

| | |
|-------|----------------|
| 誌名 | 食品衛生学雑誌 |
| ISSN | 00156426 |
| 著者名 | 宮下,振一 貝瀬,利一 |
| 発行元 | [日本食品衛生学会] |
| 巻/号 | 51巻3号 |
| 掲載ページ | p. 71-91 |
| 発行年月 | 2010年6月 |

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



総説

海産物由来ヒ素化合物の生体影響と体内動態

(平成 22 年 1 月 25 日受理)

宮下 振一* 貝瀬 利一

Biological Effects and Metabolism of Arsenic Compounds Present in Seafood Products

Shinichi MIYASHITA* and Toshikazu KAISE

¹ Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences: 1432-1 Horinouchi, Hachioji, Tokyo 192-0392, Japan; * Corresponding author

Marine organisms contain arsenic at various concentrations, and so human consumption of seafood products results in arsenic intake. Therefore, identification and quantification of all arsenic compounds present in seafood products are important from the viewpoint of food hygiene, because the toxicity of arsenic strongly depends on its chemical form. Hence, determination of total arsenic concentration and speciation analysis of arsenic compounds in seafood products have been extensively performed. This review covers the large number of arsenic compounds identified in seafood products, and summarizes recent findings on their biological effects and metabolism in humans and experimental animals.

(Received January 25, 2010)

Key words: ヒ素 arsenic; 海産物 seafood product; 化学形態 chemical form; 生体影響 biological effect; 毒性 toxicity; 代謝 metabolism

1. はじめに

ヒ素の毒性が高いことはこれまでに起こったさまざまな殺人事件や事故を通じて周知の事実となっている。すでに古代ギリシアやローマではヒ素が殺人や自殺に用いられていたと言われており、またわが国でも森永ヒ素ミルク中毒事件や和歌山毒物カレー事件などのヒ素中毒事件を経験している。その一方で、われわれが呼吸や飲食物の摂取を通じて日常的にヒ素を体内に取り込んでいることはあまり知られていない。実はわれわれは空気中に存在する超微量のヒ素や、飲食物中に種々の濃度で含まれるヒ素を無意識のうちに取り込み、これらを代謝および排泄しながら生活している。また通常的环境下で摂取されるヒ素の多くは、呼吸器や皮膚からの吸収よりもむしろ飲食物の摂取に由来することが知られている。そのため体重 70 kg の成人の体内には常に約 7 mg のヒ素が普遍的に存在すると言われている¹⁾。

一般に陸上植物は根から土壌中のヒ素を吸収し、動物は食物からヒ素を吸収しているため、われわれが日常的に摂取している野菜類、果実類、肉類にはいずれも微量のヒ素 (1 mg As/kg 以下) が含まれている¹⁾。一方、米粒には土壌由来のヒ素が比較的多く蓄積されており、アジア人をはじめとした米を多食する国民への健康影響が懸念されている^{2)~4)}。また海産物、特に魚介類や海苔、昆布、ワカ

メ、ヒジキなどの海藻類は陸上生物に比べて多量のヒ素を含んでおり (数 mg As/kg~百数十 mg As/kg)^{5)~8)}、これらが加工食品となった塩昆布、花かつお、練うになどでもヒ素の多くは残存していることが確認されている⁹⁾。2008 年 11 月、中国においてかつお節を原料とする日本製のだし入り醤油から国家基準値の 6 倍以上のヒ素 (3.15 mg As/kg) が検出され、問題化したことは記憶に新しい。海産物に含まれるヒ素は人工的な汚染に起因するものではなく、海水中に 1.0~1.8 μg As/L 含まれるヒ素を生物濃縮したもの (生物濃縮係数: 最大 100,000)、または食物連鎖を通じて取り込んだものである^{8), 10)}。すなわち海藻類は海水中の無機ヒ素を能動的に生物濃縮しており (生物濃縮係数: 200~6,000)¹⁰⁾、その含有量は一般に有害重金属元素であるカドミウム、水銀、鉛よりも高く¹¹⁾、最大 172 mg As/kg (乾燥重量) に達するものもある¹²⁾。また海藻類は取り込んだ無機ヒ素の大部分を有機ヒ素へと生物変換している^{8), 13)}。魚介類はこれらの海藻類や植物プランクトンを捕食することによりヒ素を生物濃縮しており (生物濃縮係数: 約 900)¹⁰⁾、カキ、イガイ、エビ、ツノガレイなどの一部の海産動物は高濃度のヒ素を含んでいるが、通常は食物連鎖の上位にいる生物ほどヒ素濃度は低いことが知られている。欧米諸国と異なり日本では古くから海藻を好んで食する習慣があり、一日に最大 12 g (褐藻の場合は平均して 2~3 g) の海藻を消費することもあるため¹⁴⁾、海藻から摂取したヒ素による健康影響が懸念されて

* 連絡先

東京薬科大学: 〒192-0392 東京都八王子市堀之内 1432-1

きたが、現在までの疫学調査において海藻の摂食による慢性ヒ素中毒の発症は認められていない。すでに数万年前の貝塚や遺跡から魚骨とともに海藻が発見されていることから、これらの海産物の摂食は縄文時代前期から食生活に定着していたものと思われる。また海藻はナトリウム、マグネシウム、リン、硫黄、カリウム、カルシウムなどの主要元素、ならびに鉄、亜鉛、ヨウ素などの必須微量元素を豊富に含んでおり、さらに消化管から吸収されにくい難消化性多糖類（食物繊維）やビタミンも多く含んでいることから、いわゆる「健康食品」や「ノンカロリー食品」として広く受け入れられており、海藻の摂食と乳癌¹⁵⁾ および結腸直腸癌¹⁶⁾ の発症リスク低減との関連が注目されている。

一般にヨーロッパ、北アメリカ、日本、大洋州諸国の人々はヒ素摂取量が多いと言われており¹⁾、なかでも日本およびスペインの成人は特に多いことで知られる¹⁷⁾。日本人は一日に約 1 mg のヒ素を食物、主に海産物から摂取しており¹⁸⁾、その多くが有機ヒ素化合物のアルセノベタイン $[(\text{CH}_3)_3\text{As}^+\text{CH}_2\text{COOH}]$ であると推定されている¹⁹⁾。アルセノベタインはグリシンベタイン $[(\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{CH}_2\text{COOH}]$ の窒素がヒ素に置き換わったものであり、海産動物に含まれる主要なヒ素化合物として知られているが²⁰⁾、ヒ素汚染地帯に生息するキノコ^{21)~23)} や地衣類（菌類と藻類との共生体）^{23), 24)}、陸上植物^{24), 25)}、鳥²⁶⁾ においてもその存在が確認されており、さらに日本、インド、タイ産のいずれのお米にも微量のアルセノベタインが含まれることが示されている²⁷⁾。

海産物を多食する日本人においてヒ素中毒症状が見られなくても不思議ではないが、幸いこれまでに海産物の摂食によるヒ素中毒例の報告はない。その理由は海産物中のヒ素の多くが毒性の低い有機ヒ素化合物として存在しているためである²⁸⁾。一方、無機ヒ素であるヒ酸 $[\text{As}(=\text{O})(\text{OH})_3]$ および亜ヒ酸 $[\text{As}(=\text{O})\text{OH}, \text{As}(\text{OH})_3]$ はマウスにおける経口投与時の急性毒性が非常に高く²⁹⁾、ヒトに対する発癌性（皮膚、肺、膀胱）が認められている^{*1}。海藻中に含まれる無機ヒ素は通常 1 mg As/kg を超えることはまれであるが¹²⁾、褐藻ヒバマタ目ホンダワラ科のヒジキは例外的に 80 mg/kg を超える無機ヒ素を含んでおり、これらは総ヒ素量の 50~70% を占めていることから、その安全性について盛んに研究されてきた^{12), 28), 30)~36)}。また近年になって一部の有機ヒ素が高い毒性を示すことが明らかになってきている。ジメチルアルシナス酸 $[(\text{CH}_3)_2\text{As}(=\text{O})\text{OH}]$ はチャイニーズハムスター V9 細胞³⁷⁾ およびヒト末梢血リンパ球細胞³⁸⁾ において細胞周期遅延作用を及ぼし、ラットにおいては膀胱発癌性^{39)~41)} や肝発癌プロモーション作用^{41), 42)} を有することが示されている。また三価のメ

チル化ヒ素であるメチルアルソナス酸 $[\text{CH}_3\text{As}(\text{OH})_2]$ およびジメチルアルシナス酸 $[(\text{CH}_3)_2\text{AsOH}]$ はヒト末梢リンパ球細胞において DNA 損傷を引き起こすことが知られ⁴³⁾、さらにメチルアルソナス酸はハムスターの肝臓および豚の心臓においてピルビン酸デヒドロゲナーゼ阻害作用を有することが報告されており⁴⁴⁾、これらの三価のメチル化ヒ素は無機ヒ素よりも細胞毒性および遺伝毒性が高いことが示されている^{43)~45)}。

このようにヒ素の毒性はその化学形態によって大きく異なるため、海産物中に存在するヒ素の化学形態を明らかにすることは食品衛生上重要である⁴⁶⁾。なかでもヒ素化合物の分離に優れた高速液体クロマトグラフィー (High performance liquid chromatography; HPLC) と元素選択的な高感度検出が可能である誘導結合プラズマ質量分析計 (Inductively coupled plasma mass spectrometry; ICP-MS) を連結した HPLC/ICP-MS は代表的なヒ素の化学形態別分析法として広く受け入れられており、主要な水溶性ヒ素化合物の検出限界は数十 $\mu\text{g}/\text{L}$ 以下である。これまで環境中に存在する生物または非生物試料中のヒ素の定量および化学形態別分析が盛んに行われてきたが、特に水圏生態系の生物からは多種多様なヒ素化合物が見いだされており、食物連鎖を通じたヒ素の移行や、生物体内におけるヒ素の化学形態変換が明らかになってきた^{8), 10), 47)}。

本報では、日本人における主要なヒ素摂取源である海産物、特に他の国民と比べて多食していると考えられる海藻および魚介類に焦点を当て、含有されるヒ素の化学形態や生体への影響、ならびに生体内における代謝に関して最近の知見を交えて紹介してみたい。なお、本報では触れないヒ素の化学形態別分析法については多くの総説^{48)~57)} にまとめられているので参考にされたい。またこれまでに報告された海洋環境におけるヒ素の化学形態および動態についてはいくつかの総説^{58), 59)~63)} にも詳しくまとめられているので参照されたい。

2. 海産生物に含まれるヒ素化合物

2.1 水溶性ヒ素化合物

海産生物に高濃度のヒ素が含まれていることは古くから知られており、1926年にはChapmanがカキおよびエビにそれぞれ 3~10, 174 mg As/kg のヒ素が含まれていることを報告している⁶⁴⁾。また 1960~1970 年にかけてLundeは多くの動植物中のヒ素濃度を測定し、エビ、カニ、貝類などの海産無脊椎動物や海藻類は 2~110 mg As/kg のヒ素を含むことや、海産生物は陸上の動植物に比べて明らかにヒ素濃度が高いことを報告している^{5), 65), 66)}。その後、海産生物中には普遍的に高濃度のヒ素が含まれていることが明らかにされ、特にヒ素濃度が高い甲殻類、肉食性巻貝、肉食性魚類、褐藻類におけるヒ素の化学形態についての研究が多くなされた^{7), 67)~69)}。

海産生物中のヒ素はそのほとんどが有機ヒ素化合物の形で存在しており、無機ヒ素化合物は一般に総ヒ素量の約

*1 International Agency for Research on Cancer (IARC) ed. "Some drinking-water disinfectants and contaminants, including arsenic". IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Vol. 84. Lyon, France, 2004.

Table 1. Chemical structures of major water-soluble arsenicals in marine organisms

| No. | Arsenic species | Abbreviation | Chemical structure (fully protonated) |
|-----|--|--------------|---------------------------------------|
| 1 | Arsenite | As(III) | |
| 2 | Arsenate | As(V) | |
| 3 | Monomethylarsonic acid, Monomethylarsonate | MMA(V) | |
| 4 | Dimethylarsinic acid, Dimethylarsinate | DMA(V) | |
| 5 | Trimethylarsine oxide | TMAO | |
| 6 | 5-Dimethylarsinoyl-2,3,4-trihydroxycarboxylic acid | — | |
| 7 | 1-Deoxy-1-dimethylarsinoylribitol-5-sulfate | — | |
| 8 | Tetramethylarsonium ion | TETRA | |
| 9 | Arsenobetaine, Trimethylarsonioacetate | AB | |
| 10 | Arsenocholine | AC | |

Table 2. Chemical structures of major arsenosugars in marine organisms

| No. | Arsenic species | Abbreviation | Chemical structure (fully protonated) |
|------|---|----------------------|---------------------------------------|
| 1 | Dimethylarsinylribosides, Dimethylated arsenosugars, Arsinylribosides | | |
| 1-1 | 5-Dimethylarsinoyl- α/β -ribofuranose ($R_1=O$)* | oxo-OH | $R_2 = \text{OH}$ |
| 1-2 | Oxo-arsenosugar-glycerol ($R_1=O$) | oxo-Gly | $R_2 = \text{glycerol}$ |
| 1-3 | Thio-arsenosugar-glycerol ($R_1=S$) | thio-Gly | $R_2 = \text{glycerol}$ |
| 1-4 | Oxo-arsenosugar-phosphate ($R_1=O$) | oxo-PO ₄ | $R_2 = \text{phosphate}$ |
| 1-5 | Thio-arsenosugar-phosphate ($R_1=S$) | thio-PO ₄ | $R_2 = \text{phosphate}$ |
| 1-6 | Oxo-arsenosugar-sulfonate ($R_1=O$) | oxo-SO ₃ | $R_2 = \text{sulfonate}$ |
| 1-7 | Thio-arsenosugar-sulfonate ($R_1=S$) | thio-SO ₃ | $R_2 = \text{sulfonate}$ |
| 1-8 | Oxo-arsenosugar-sulfate ($R_1=O$) | oxo-SO ₄ | $R_2 = \text{sulfate}$ |
| 1-9 | Thio-arsenosugar-sulfate ($R_1=S$) | thio-SO ₄ | $R_2 = \text{sulfate}$ |
| 1-10 | Oxo-arsenosugar-adenine ($R_1=O$) | — | $R_2 = \text{adenine}$ |
| 1-11 | Thio-arsenosugar-adenine ($R_1=S$) | — | $R_2 = \text{adenine}$ |
| 1-12 | Oxo-arsenosugar-carboxyl ($R_1=O$) | — | $R_2 = \text{carboxyl}$ |
| 1-13 | Thio-arsenosugar-carboxyl ($R_1=S$) | — | $R_2 = \text{carboxyl}$ |
| 1-14 | Oxo-arsenosugar-carbamate ($R_1=O$) | — | $R_2 = \text{carbamate}$ |
| 1-15 | Thio-arsenosugar-carbamate ($R_1=S$) | — | $R_2 = \text{carbamate}$ |
| 2 | Trimethylarsonioribosides, Trimethylated arsenosugars | | |
| 2-1 | Glycerol trimethylarsonioriboside | — | $R = \text{glycerol}$ |
| 2-2 | Sulfate trimethylarsonioriboside | — | $R = \text{sulfate}$ |

* This compound has not yet been identified in marine organisms.

1%程度を占めていることから、外界から取り込まれた海水または食餌由来の無機ヒ素は高い確率で有機ヒ素へと代謝されている^{7), 8), 47), 68)~71)}。海産生物において初めて有機

ヒ素化合物の存在が確認されたのは1977年であり、Edmondsらはオーストラリアイセエビの筋肉からアルセノベタインを最初に単離し、構造決定を行った⁷²⁾。その

後、同グループは1981~1983年に褐藻コンブ目の *Ekklonia radiata* からアルセノシュガー（ヒ素糖）と総称される一連の有機ヒ素化合物に属する Oxo-arsenosugar-glycerol (oxo-Gly), Oxo-arsenosugar-phosphate (oxo-PO₄), Oxo-arsenosugar-sulfonate (oxo-SO₃) の化学構造を明らかにした^{73), 74)}。それ以降、海産生物において数多くの有機ヒ素化合物が同定されており、食物連鎖の各栄養段階における主要な水溶性ヒ素化合物の化学形態や、これらのヒ素化合物の大まかな代謝経路が明らかになってきた。これまでに海産生物から発見された主要な水溶性ヒ素化合物を Table 1 に、アルセノシュガーを Table 2 に示す。

2.2 脂溶性ヒ素化合物

海産生物中に含まれる水溶性ヒ素に関してはさまざまな情報が得られているが、脂溶性ヒ素については情報が限られており、依然として未知の化学構造を持つ脂溶性ヒ素化合物が多く存在していると予想される。なかでもある種の海藻類や海産動物は無視できない量の脂溶性ヒ素化合物を保有しており、海藻類では総ヒ素量の50%までを脂溶性ヒ素が占めることが明らかとなっている³⁴⁾。これまでに海産生物から発見された脂溶性ヒ素化合物を Table 3 と 4 に示す。脂溶性ヒ素の代表的な存在形態としてはアルセノリピッド（ヒ素脂質, Table 3）が挙げられるが、このアルセノリピッドは1988年にMoritaらによって褐藻のワカメから最初に単離され、oxo-PO₄ (Table 2 の 1-4) の発見以来 Knowles ら⁷⁵⁾ や Edmonds ら⁷⁶⁾ が予想していたとおり、ホスファチジルコリン（レシチン）のコリン残基がアルセノシュガーに置換されたホスファチジルアルセ

ノシュガー (Table 3 の 1-3) として同定された⁷⁷⁾。海産および淡水産生物に含まれるアルセノリピッドは1960年代後半からLundeによって盛んに研究され、その後、いくつかのグループにより構造解析が行われてきたが、そのほとんどが完全な同定には至っておらず、アルカリまたは酸による化学的分解処理や、ホスホリパーゼDによる酵素的分解処理によって得られた水溶性部分の化学構造を基に全体の構造を推定する手法が採られてきた。Irgolicらはヒ素がコリン [(CH₃)₃N⁺CH₂CH₂OH] に含まれる窒素と置換しやすいことから、化学構造内にアルセノコリン [(CH₃)₃As⁺CH₂CH₂OH, Table 1 の 10] を含むリン脂質が存在することを1977年に示唆していたが⁷⁸⁾、その後の研究によってホスファチジルコリンのコリン残基がアルセノコリンに置換されたホスファチジルアルセノコリン (Table 3 の 1-2) がオーストラリアイセエビの消化腺から見出され、さらにホスファチジルアルセノシュガーの存在も確認された⁷⁹⁾。ホスファチジルアルセノコリンはアルセノコリンを経口投与したキボラの筋肉からも見いだされており^{80), 81)}、またホスファチジルアルセノシュガーはワカメのほかには褐藻のコンブにも存在することが報告されている⁸²⁾。一方、Hanaokaらのグループはアルセノベタイン (Table 1 の 9) を主要なヒ素化合物として含むホシザメの各種組織中におけるアルセノリピッドの化学構造について詳細に検討しており、筋肉および肝臓からはそれぞれアルセノコリン含有リン脂質、ジメチル化ヒ素含有スフィンゴ脂質を見いだしている⁸³⁾。その後、同グループは同種のホシザメにおいて少なくとも6種類のアセノリピッドの存在を認め、検討したすべての組織（筋肉、胃、心臓、胆嚢、腸、表皮、脾臓、脳、肝臓、腎臓、骨）からアルカリへの安定性が異なる2種類のアセノコリン含有リン脂質を見だし、さらに筋肉、胃、心臓、表皮、骨においては2種類のアセノコリン含有リン脂質の存在も確認している⁸⁴⁾。また各種組織から見いだされたジメチル化ヒ素含有リン脂質のうち、アルカリ性条件下で加水分解を受け、その後、強酸性条件下に移した場合にもさらなる分解を受けたものは、化学的安定性がホスファチジルコリンなどのグリセロリン脂質と類似していることから、この脂質はホスファチジルコリンのコリン残基がジメチルアルシニン酸 (Table 1 の 4) に置換されたホスファチジルジメチルアルシニン酸 (Table 3 の 1-1) であると推定している⁸⁴⁾。さらに肝臓から見いだされたジメチル化ヒ素含有リン脂質の一種はアルカリ性条件下ならびに酸性条件下のどちらにおいても加水分解を受けなかったが、強アルカリ性条件下では分解を受けたことから、この脂質は類似の化学的安定性を有するスフィンゴミエリンの類縁体であると推定しており、スフィンゴミエリンのコリン残基がジメチルアルシニン酸に置換された化学構造を有すると予想している（アルセノスフィンゴミエリン, Table 3 の 2-1)^{83), 84)}。同様の検討はホシザメ以外にもいくつかの海産動物において行われており、Kohlmeyerらは魚油から強アルカリ性条件下で加水

Table 3. Chemical structures of arsenolipids in marine organisms

| No. | Arsenic species | Chemical structure (fully protonated) |
|-----|--|---------------------------------------|
| 1 | Glycerophospholipids | |
| 1-1 | Phosphatidyl dimethylarsenic acid | |
| 1-2 | Phosphatidylarsenocholine, Glycerylphosphorylarsenocholine, Arsenolecithin | |
| 1-3 | Phosphatidyl dimethylarsinyl-riboside, Phosphatidylarsenosugar | |
| 2 | Sphingophospholipids | |
| 2-1 | DMA(V)-containing sphingomyelin, Arsenosphingomyelin | |

Table 4. Chemical structures of arsenic-containing fatty acids and hydrocarbons in marine organisms

| No. | Arsonic species | Chemical structure (fully protonated) |
|-----|---|---------------------------------------|
| 1 | Arsonic-containing long-chain fatty acids | |
| 1-1 | Compound A | |
| 1-2 | Compound B | |
| 1-3 | Compound C | |
| 1-4 | Compound D | |
| 1-5 | Compound E | |
| 1-6 | Compound F | |
| 2 | Arsonic-containing hydrocarbons | |
| 2-1 | Compound A | |
| 2-2 | Compound B | |
| 2-3 | Compound C* | |

* Structural analog of all-*cis*-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid (DHA, 22:6) in terms of chain length and number of double bonds.

分解を受けないジメチル化ヒ素含有極性脂質を見いだしている⁸⁵⁾。また Kuroiwa らはカツオの眼組織（網膜，脈絡膜，視神経）においてジメチル化ヒ素またはアルセノコリン含有脂質が多く存在することを報告している*2。さらに Shiomura らはスルメイカの肝臓からアルカリへの安定性が異なる2種類のジメチル化ヒ素含有リン脂質および2種類のアルセノコリン含有リン脂質を見いだしている。また前者のうち，アルカリ性条件下で加水分解を受けたものはホスファチジルジメチルアルシン酸であり，加水分解を受けなかったものはジメチルアルシン酸含有スフィンゴミエリン（上述のアルセノスフィンゴミエリンと同一の化学構造）であると推定している⁸⁶⁾。一方，Ebisuda らはワモンアザランの脂肪層からアルカリへの安定性が異なる2種類のジメチル化ヒ素含有脂質を見いだしている。このうち，アルカリ性条件下で加水分解を受けたものは，その後，酸性条件下に移してもさらなる分解を受けなかったことから，グリセロリン脂質とは異なる種類の脂質であると推定され，もう一方のアルカリ性条件下で加水分解を受けなかったものは，強アルカリ性条件下では分解を受けたことから，ジメチルアルシン酸含有スフィンゴミエリンと推定された⁸⁷⁾。

近年になって Rumpler らはドコサヘキサエン酸 (Docosahexaenoic acid; DHA) やエイコサペンタエン酸

(Eicosapentaenoic acid; EPA) などの不飽和脂肪酸やビタミン類を豊富に含むタラ肝油中から一般的な長鎖脂肪酸の末端のメチル基がジメチルアルシノイル基 [(CH₃)₂As (=O)-] に置換された6種類のヒ素含有長鎖脂肪酸 (Table 4 の 1-1~1-6) を単離同定し，これらがいずれも偶数個の炭素鎖を有することや，アルセノリピッドの約20%を占めていることを報告している⁸⁸⁾。この割合は全脂質中の脂肪酸の割合とほぼ同程度であったことから，これらのヒ素含有長鎖脂肪酸は通常の脂肪酸生成における正確性の欠如により，末端のメチル基とジメチルアルシノイル基が置き換わったものであると推定された。その後，Taleshi らはプランクトンを餌とするカラフトシシャモから採取した魚油において，類似した化学構造を有する2種類のジメチルアルシノイルアルカン (Table 4 の 2-1, 2-2) および6つの二重結合を有するジメチルアルシノイルアルケン (Table 4 の 2-3) を単離同定し，これらが魚油に含まれる総ヒ素の約70%以上を占めていることを報告している⁸⁹⁾。また興味深いことに3種類の炭化水素はタラ肝油中の長鎖脂肪酸と同様にいずれも偶数個の炭素鎖を有しており，そのうちの1つはDHAからの誘導体であると推定された。これらのヒ素含有長鎖脂肪酸や炭化水素の発見は脂溶性ヒ素研究の新たな扉を開くものであり，今後，海産生物からの脂溶性ヒ素化合物の単離同定が盛んに行われるものと予想される。

2.3 加工または調理過程における化学形態

これまで新鮮な海産物中に含まれるヒ素の化学形態別分

*2 黒岩貴芳，高津章子，内海 昭。カツオの目組織を中心としたヒ素化学形態別分析。第9回ヒ素シンポジウム講演要旨集，p. 82-83 (1999)。

析は広く行われてきたが、食品として加工または調理される過程や、流通または保管過程における試料の分析報告例は限られている⁶²⁾。

Shibata らはアサクサノリにおいて新鮮藻体、乾燥して市販される海苔、ならびに加熱して焼いた焼き海苔に含まれるヒ素化合物を比較したところ、無機ヒ素およびメチル化ヒ素の含有量や oxo-Gly (Table 2 の 1-2) および oxo-PO₄ の割合に変化は認められなかったと報告している⁹⁰⁾。また他の市販の乾燥海苔においても新鮮藻体と同様なヒ素化合物が含まれていることが確認されている⁹¹⁾。さらに Wei らは海苔に含まれる oxo-Gly および oxo-PO₄ の化学的安定性について検討しており、100℃ で 10 分間の加熱処理ではいずれの化学形態にも変化は認められなかったことから⁹²⁾、アルセノシュガーは通常の調理過程で行われる短時間の加熱処理では安定に存在していると考えられる。一方、魚介類の食品加工あるいは冷凍保存の過程でアルセノベタインがトリメチルアルシンオキシド [(CH₃)₃As(=O), Table 1 の 5] へと部分的に分解されることを示唆する結果が報告されている⁹³⁾。また魚肉およびエビ筋肉を火であぶって焦がした場合、筋肉中に含まれるアルセノベタインはより毒性の高いテトラメチルアルソニウム [(CH₃)₄As⁺, Table 1 の 8] に変換されることが確認されている⁹⁴⁾。Van Elteren らは実際にアルセノベタインおよびメチルアルソン酸 (Table 1 の 3) の化学的安定性について検討しており、160℃ で加熱処理をすることによりアルセノベタインはトリメチルアルシンオキシドおよびテトラメチルアルソニウムに変換され、メチルアルソン酸は亜ヒ酸 (Table 1 の 1) およびヒ酸 (Table 1 の 2) へと変換されたと報告している⁹⁵⁾。またアルセノベタインは強アルカリ性条件下でのマイクロ波^{96), 97)} または光子⁹⁸⁾ の照射によって分解されるという報告もある。しかしながらハンペンに加工されたサメ筋肉あるいは魚肉由来の濃縮エキスにはアルセノベタインのみが含まれていたことから^{99), 100)}、アルセノベタインの分解温度以下での加熱処理は食品衛生上問題ないと考えられる。

一方、海産物を摂食する場合、部位や調理方法によりヒ素の摂取量が異なることにも注意を要する。ヒ素は魚の眼周辺や体表面部に蓄積しやすく¹⁰¹⁾、カツオの眼組織（網膜、脈絡膜、視神経）では高濃度のヒ素が検出されている^{*2)}。またアルセノベタインは鮮度の高い魚ほど総ヒ素量に占める割合が高くなる傾向にあり、冷凍食品、保存食品の順に割合が低下するが、ジメチルアルソン酸および未知ヒ素化合物の割合は増加することが示されている^{102), 103)}。ヒジキ (*Hizikia fusiforme*) は海藻類の中で例外的に無機ヒ素を多く含むため^{28), 30)~33), 104)}、その摂食による健康影響が懸念されており、2001 年 10 月にはカナダ食品検査庁 (Canadian Food Inspection Agency; CFIA) が、つづいて 2004 年 7 月には英国食品規格庁 (Food Standards Agency; FSA) が自国民に対してヒジキの摂食を控えるよう勧告を出したほどである。またヒジキに含まれるヒ素は

乾燥海苔と同様に加工過程においてほとんど化学形態変換が起こらないことが確認されている⁶²⁾。日本では日常の食生活において市販されている干しヒジキを直接食べることはせず、伝統的に 20~30 分間の水戻しや温湯戻しを行ってから調理し、摂食している。このヒジキの水戻しや温湯戻し操作は無機ヒ素の除去に対して極めて有効であることが示されており¹⁰⁵⁾、ヒジキ中ヒ素の 32~60% を除去できることが報告されている³⁵⁾。また著者らの検討結果では、室温で 30 分間の水戻しおよび 90℃ で 20 分間の温湯戻しを行うことにより、ヒジキ中ヒ素の 89~92% が除去できることが確認された³⁶⁾。さらに著者らはヒジキの水戻しおよび温湯戻し過程におけるミネラル成分の溶出についても検討しており、ヒジキに含まれるマグネシウム、カリウム、カルシウム、鉄は 80℃ で 60 分間の温湯戻しを行ってもそれぞれ 50% 以上はヒジキ中に残存していることを明らかにした¹⁰⁶⁾。したがってヒジキの水戻しは無機ヒ素の除去に有効であり、かつミネラル成分の流出に対しては大きな影響を与えない優れた方法であると考えられる。

このようにわれわれが海産物から摂取するヒ素の化学形態やその量は、工場での加工過程や保存環境、ならびに家庭での調理過程に大きく依存している。したがって海産物の食品としての安全性を評価する際には、新鮮な状態だけでなく、加工または調理後の状態におけるヒ素の化学形態についても把握することが重要である。

2.4 生体への影響

海産物中には多種多様なヒ素化合物が種々の濃度で含まれていることはすでに述べたが、われわれはこれらの海産物を日常的に摂食していることから健康への影響が懸念されてきた。そのため無機ヒ素を含めた各種ヒ素化合物の毒性発現機構について盛んに研究がなされてきた。

ヒ素の毒性は疫学調査によっていくつか示されており、世界保健機関 (World Health Organization; WHO) が設定した飲料水の安全基準値 (10 μg As/L) を超える高濃度の無機ヒ素に汚染された飲料水摂取による慢性毒性、生殖発生毒性、発達毒性、遺伝毒性、発癌性が挙げられるが、低濃度の無機ヒ素摂取によるリスクは明確ではない。またヒ素中毒症状としては細胞毒、毛細血管拡張、四肢脱力感、筋反射不全、筋萎縮、脱毛、皮膚の角化、黒色素沈着などととも、消化器系では食欲不振、消化不良、吐き気、嘔吐、下痢などの症状が挙げられ、重症の場合は神経炎や知覚麻痺などを起こすとされている^{107), *3)}。

三価のヒ素化合物である三酸化二ヒ素 [As₂O₃, 水溶液中では水和して亜ヒ酸 (As(OH)₃) の形で存在するため無水亜ヒ酸とも呼ばれる] や亜ヒ酸 [一般に亜ヒ酸ナトリウム (As(=O)ONa) を指す] の毒性は種々のタンパク質あるいは酵素の活性部位に存在するシステイン残基のチオール基 (メルカプト基, SH 基) と結合することによる機能阻害 (Blocking) である¹⁾。実際に亜ヒ酸と酢酸鉛を同時に経口

*3 山内 博, 和歌山カレー毒物事件における集団急性ヒ素中毒. 第 15 回ヒ素シンポジウム講演要旨集, p. 30-31 (2009).

投与したラットの脳、肝臓、腎臓、小腸においてチオール基および可溶性タンパク質の減少と、ジスルフィド基(-S-S-)の増加が観察されている¹⁰⁸⁾。また三酸化二ヒ素を投与したモルモット、チンパンジー、ヒヒにおいてもヒ素が組織内でタンパク質と結合していることが示されており¹⁰⁹⁾、さらに有機ヒ素のアルサニル酸[4-H₂NC₆H₄As(=O)(OH)₂]を投与したラットでも一部のヒ素が組織と結合していることが報告されている¹¹⁰⁾。

一方、五価のヒ酸[一般にヒ酸水素二ナトリウム(As(=O)(ONa)₂OH)を指す]はSH基との結合能がないため、生体内で三価に還元されて毒性を示すものと推定されているが、リン酸と化学的性質が類似していることから生体内で競合し、酸化的リン酸化の脱共役剤として働くことも知られている¹⁾。したがって電子伝達系の反応が進行しても酸化的リン酸化は起こらないため、アデノシン二リン酸(ADP)からアデノシン三リン酸(ATP)が合成されず、化学的エネルギー源が枯渇する。またヒ酸を投与したマウスおよびラットでは肝ミトコンドリアにおけるヘム合成系酵素(δ -アミノレブリン酸合成酵素、ヘム合成酵素)の選択的な活性阻害や、ウロポルフィリノーゲンI合成酵素の増加に伴う尿中ポルフィリン(ウロポルフィリン、コプロポルフィリン)排泄量の増加が観察されており^{111), 112)}、さらにラットでは肝ミトコンドリアの膨張や、呼吸系への負の影響も確認されている¹¹³⁾。そのほかにも、ヒ酸投与後3週目のラット肝ではピルビン酸脱水素酵素の活性阻害が観察され¹¹⁴⁾、10週目には血清グルタミン酸-シュウ酸アミノ基転移酵素およびアルカリフォスファターゼの活性阻害も確認されている¹¹⁵⁾。

2.4.1 無機ヒ素および単純なメチル化ヒ素化合物の毒性

一般に成人に対する三酸化二ヒ素の中毒量は5~50 mgであり、無機ヒ素の致死量は100~300 mgと推定されている¹⁾。国際連合食糧農業機関[Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations]およびWHOは無機ヒ素の暫定的耐容週間摂取量(Provisional tolerable weekly intake; PTWI)を体重1 kg当たり15 μ gとしているため、体重70 kgの成人に換算すると1,050 μ gとなり、一日に平均して150 μ gまでの無機ヒ素の摂取は許容される計算になる⁴⁾。また米国国立労働安全衛生研究所(National Institute for Occupational Safety and Health; NIOSH)は各ヒ素化合物を経口投与したラットにおける50%致死量(50% lethal dose; LD₅₀)を亜ヒ酸: 41 mg/kg, メチルアルソン酸: 790 mg/kg, ジメチルアルシン酸: 2,600 mg/kgと公表している⁵⁾。著者らのデータによると各ヒ素化合物を経口投与した雄マ

ウスにおけるLD₅₀値は三酸化二ヒ素: 34.5 mg/kg¹⁶⁾、メチルアルソン酸: 1,800 mg/kg, ジメチルアルシン酸: 1,200 mg/kg¹⁷⁾、トリメチルアルシンオキシド: 10,600 mg/kg¹⁸⁾であったが、メチルアルソン酸とジメチルアルシン酸では後者のほうが高い毒性を示した点でNIOSHのデータと異なり、この違いはマウス線維芽細胞BALB/c 3T3株を用いた細胞毒性試験においても観察された¹⁹⁾。また著者らはマウス由来の腹腔および肺胞マクロファージを用いた毒性試験を行ったところ、亜ヒ酸の50%抑制濃度(50% inhibitory concentration; IC₅₀)はいずれも5 μ mol/L (0.65 μ g/mL)であった¹⁴⁾。Harrisonらは純品の三酸化二ヒ素を経口投与した雄マウスおよび雌雄ラットにおけるLD₅₀値をそれぞれ39.4, 15.1 mg/kgと報告しており²⁰⁾、Benckoらは亜ヒ酸またはヒ酸を筋肉投与した雄マウスにおけるLD₅₀値をそれぞれ8.0, 21.0 mg/kgと算出している²¹⁾。さらにPetrickらは亜ヒ酸を腹腔内投与した雄ハムスターにおけるLD₅₀値を14.5 mg/kgと報告している⁴⁴⁾。一方、Leらがまとめた論文⁴⁶⁾によるとラットにおける各ヒ素化合物のLD₅₀値は亜ヒ酸: 14 mg/kg, ヒ酸: 20 mg/kg, メチルアルソン酸: 700~1,800 mg/kg, ジメチルアルシン酸: 700~2,600 mg/kgであり^{118), 122), 123)}、NIOSHのデータと同様にメチルアルソン酸はジメチルアルシン酸よりもわずかに毒性が高いことになる。またラットではヒ酸のほうがメチルアルソン酸よりも肝臓および腎臓への蓄積性が高いことが知られ、ヤギや乳牛では乳汁への移行性も高いことが確認されている¹⁰⁷⁾。このようにメチル化ヒ素の毒性は無機ヒ素よりも大幅に低いため、無機ヒ素のメチル化は解毒的代謝であると考えられてきたが、その後の研究により三価のメチル化ヒ素(メチルアルソナス酸, ジメチルアルシナス酸)は無機ヒ素よりも毒性が高いことが明らかとなり^{44), 124)~128)}、さらにこれらは遺伝子の変異原性は示さないものの、染色体異常誘発性を示すことからヒ素の遺伝毒性の本体候補と考えられるため^{42), 129)~132)}、無機ヒ素のメチル化を解毒的代謝とみなすことに疑問が呈されてきた。実際にメチルアルソナス酸を腹腔内投与したハムスターにおけるLD₅₀値は29.3 μ mol/kg (3.10 mg/kg)であり、亜ヒ酸[LD₅₀=112.0 μ mol/kg (14.5 mg/kg)]よりも3.8倍毒性が高いことが確認されている⁴⁴⁾。またWanibuchiらのグループは五価のジメチルアルシン酸がラットにおいて膀胱発癌性^{39)~41)}ならびに肝発癌プロモーション作用^{41), 42)}を有し、さらに遺伝子改変マウスでは肺発癌性¹³³⁾ならびに皮膚発癌プロモーション作用¹³⁴⁾を有することを報告しており、その発癌性および発癌プロモーション作用の機序に関しては酸化的DNA障害および癌関連遺伝子の発現異常が関与すると考察している。また同グループはメチルアルソン酸およびトリメチルアルシンオキシドがラットにおいて肝¹³⁵⁾および膀胱¹³⁶⁾の発癌プロモーション作用を有することを報告している。さらに中国の慢性ヒ素中毒患者では血中メチルアルソン酸濃度が高い者ほど皮膚症状が強いこ

⁴⁾ World Health Organization ed. Summary of Evaluations Performed by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, First through Forty-ninth Meetings. Geneva, Switzerland, 1956-1997.

⁵⁾ National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) ed. Registry of Toxic Effects of Chemical Substances. Rockville, USA, 1976.

とも疫学調査により示されている¹³⁷⁾。したがって最近では無機ヒ素のメチル化がむしろ毒性発現機構そのものであると考えられるようになってきている。

2.4.2 単純なメチル化ヒ素以外の有機ヒ素化合物の毒性

単純なメチル化ヒ素以外の有機ヒ素化合物についても毒性試験が行われており、Cannonらはアルセノベタインをマウスに腹腔内投与し、LD₅₀値が500 mg/kgよりも大きいことを報告している¹³⁸⁾。また著者らもマウスを用いてアルセノベタインの急性毒性試験を行ったところ、10 g/kg以上の経口投与群でも死亡は観察されず、一過性の運動抑制および呼吸数の減少が観察されたが、1時間後には消失したほかは特記すべき中毒症状は見られなかった^{116), 118)}。さらにLeらがまとめた論文⁴⁶⁾によるとアルセノベタインのLD₅₀値はラットにおいても10 g/kgよりも大きいことになる^{122), 123)}。これらの結果より、アルセノベタインは事実上無毒であろうと推定される。また著者らはアルセノシュガーと並んでアルセノベタインの前駆体と考えられているアルセノコリンの経口投与による急性毒性試験を行ったところ、12 g/kg投与群で呼吸抑制および自発運動抑制が観察され、その後、後肢麻痺が起り、さらに呼吸麻痺による死亡例が観察されたことを報告した^{118), 139)}。このときのプロビット法により算出したLD₅₀値は6,500 mg/kgであった。またIrvinらはラット胎仔を用いてアルセノベタインまたはアルセノコリンの急性および亜急性毒性試験を行っており、どちらも培地への添加濃度が20 μg/mLでも胎仔毒性を示さないことが確認されている¹⁴⁰⁾。さらにトリメチルアルシンオキシドの14.4 g/kg経口投与群では運動失調を伴う興奮状態が観察され、しだいに呼吸抑制が始まり、アルセノコリン同様呼吸麻痺による死亡例が観察された^{117), 118), 141)}。このときのLD₅₀値は10,600 mg/kgであった。またテトラメチルアルソニウムの1.14 g/kg経口投与群では自発運動の増加が観察され、しだいに抑制傾向に代わった後、強直性痙攣および唾液分泌を伴った強い振せんが起り、呼吸麻痺による死亡例が観察された^{118), 142)}。このときのLD₅₀値は890 mg/kgであり、腹腔内投与および静脈内投与によるLD₅₀値はそれぞれ175, 82 mg/kgであった。これらの結果に基づくと、マウスにおける経口投与時のヒ素化合物の急性毒性の強さは亜ヒ酸>テトラメチルアルソニウム>ジメチルアルシン酸>メチルアルソン酸>アルセノコリン>トリメチルアルシンオキシド>アルセノベタインの順であると考えられる。しかしマウス線維芽細胞BALB/c 3T3株を用いた細胞毒性試験で得られたIC₅₀値に基づくと、ヒ素化合物の急性毒性の強さは亜ヒ酸>ヒ酸>ジメチルアルシン酸>メチルアルソン酸>テトラメチルアルソニウム>トリメチルアルシンオキシド=アルセノコリン=アルセノベタインの順になることから¹¹⁹⁾、テトラメチルアルソニウムの毒性は無機ヒ素、メチルアルソン酸、ジメチルアルシン酸よりも低いと考えられている。また著者らはマウス由来の腹腔マクロファージを用いた細胞毒性試験も行っ

ており、亜ヒ酸は強い細胞毒性を示すのに対し、アルセノベタイン、アルセノコリン、トリメチルアルシンオキシドはほとんど毒性を示さないことを報告している¹⁴³⁾。さらに著者らはヒト線維芽細胞を用いた染色体異常誘発性試験を行ったところ、亜ヒ酸>ヒ酸>ジメチルアルシン酸>メチルアルソン酸>トリメチルアルシンオキシドの順に染色分体ギャップおよび断裂を強く誘発することが観察され、特にジメチルアルシン酸は7 mmol/L (0.97 mg/mL)以上の濃度では細胞分裂中期において染色体細紛化を誘発することが認められた¹⁴⁴⁾。またヒト肝癌由来細胞株HepG2を用いた細胞毒性試験ではジメチルアルシン酸は1 mmol/L (0.14 mg/mL)以上で増殖阻害を示すのに対し、ヒトにおけるアルセノシュガー(oxo-Gly)摂取後の尿中代謝物であるOxo-dimethylarsenoacetate [Oxo-dimethylarsinoylacetate, (CH₃)₂As(=O)CH₂COOH], Thio-dimethylarsenoethanol [Thio-dimethylarsinoylethanol, (CH₃)₂As(=S)CH₂CH₂OH], Thio-dimethylarsinoylacetate [Thio-dimethylarsinoylacetate, (CH₃)₂As(=S)CH₂COOH]の細胞毒性はジメチルアルシン酸より少なくとも10倍低く、10 mmol/L以上で増殖阻害を示すことが報告されている¹⁴⁵⁾。

一方、アルセノシュガーの毒性に関する情報は限られており、脂溶性ヒ素の毒性については未解明である。著者らはマウス線維芽細胞BALB/c 3T3株を用いてoxo-Glyの細胞毒性試験を行ったところ、IC₅₀値は6 mmol/L (2 mg/mL)と算出されたが、無機ヒ素のIC₅₀値と比較した場合、急性毒性はヒ酸 [IC₅₀=0.03 mmol/L (0.006 mg/mL)]よりも200倍低く、亜ヒ酸 [IC₅₀=0.005 mmol/L (0.0007 mg/mL)]よりも1,200倍低いことが明らかとなった¹⁴⁶⁾。またマウス由来の腹腔および肺マクロファージを用いた試験を行ったところ、oxo-Glyはμmol/Lレベル(0.33~33 μg/mL)では全く毒性を示さなかったが、1~10 mmol/L (0.33~3.3 mg/mL)では肺マクロファージに対して毒性を示し、IC₅₀値は8 mmol/L (2.6 mg/mL)であった¹⁴⁾。しかしこのときの両マクロファージにおける亜ヒ酸のIC₅₀値は5 μmol/L (0.65 μg/mL)であったため、oxo-Glyの細胞毒性は極めて低いと考えられた。また著者らはヒト線維芽細胞を用いた染色体異常誘発性試験を行ったところ、高濃度存在下(5 mg/mL)では染色分体ギャップおよび断裂が誘発された^{119), 144)}。さらにAndrewesらはoxo-Glyならびに還元した三価のoxo-Glyの毒性についても詳細に検討しており、無機ヒ素およびメチル化ヒ素との毒性の比較も行っている¹⁴⁷⁾。三価のoxo-Glyは五価のoxo-Glyがチオール化合物(システイン、グルタチオン、ジチオエリトリール)またはジチオール化合物(ジメルカプトプロパノール)^{148), 149)}と反応することにより速やかに生成され、正常ヒト表皮角化細胞(Normal human epidermal keratinocytes; NHEK)に対しては五価のoxo-Glyよりも高い毒性を示したが、両oxo-Glyはヒ酸、メチルアルソナス

酸, ジメチルアルシナス酸よりも低い毒性を示した。また三価の oxo-Gly は五価の oxo-Gly と異なりプラスミド DNA にニックを入れることが確認されたが, どちらの oxo-Gly もサルモネラ菌 TA104 株における突然変異誘発性は示さなかった。

2.4.3 ヒ素の毒性に及ぼす共存物質の影響

ヒ素の生体内での挙動や毒性は同時に摂取する元素やタンパク質の種類によって強く影響を受けることが確認されており, 元素の周期表においてヒ素の上に位置するリンや右隣に位置するセレン, さらにヒトにおける必須元素であるヨウ素は生体内でヒ素と類似した挙動を示すことから互いに拮抗している。実際にラット肝ミトコンドリアでは亜ヒ酸の蓄積がリン酸と拮抗することが示されており¹⁵⁰⁾, ラットではヒ酸と同時に摂取した亜セレン酸ナトリウム [Se(=O)(ONa)₂] によって臓器への蓄積が妨げられ¹⁵¹⁾, ヒ素の尿中排泄が 20~30% 増加したことが報告されている¹⁵²⁾。またマウス線維芽細胞では, 亜ヒ酸またはヒ酸を筋肉投与したマウスにおける LD₅₀ 値 (それぞれ 8.0, 21.0 mg/kg) の 1/4 濃度でそれぞれを培地へ添加することにより亜セレン酸の細胞毒性を軽減することが示されており, その作用は亜ヒ酸のほうが強いことが報告されている¹²¹⁾。ヨウ素はヒトにおいて体温を一定に保ち, 数種類の代謝を制御する甲状腺ホルモン (チロキシン) の合成に必須であるが, ヨウ素とともにヒ素を摂取した雌ラットではヒ素が甲状腺に蓄積し, 通常のヨウ素含有量に影響を与えたため, ヒ素の摂取はヨウ素欠乏症の 1 つである甲状腺腫を引き起こしうると考えられている^{153), 154)}。一方, 周期表においてヒ素の下に位置するアンチモンはヒ素と類似した化学的性質を有するが, リンとの拮抗作用は示さない。またラットでは亜ヒ酸と同時に摂取した粉乳飼料中のリンタンパク質 (カゼイン) によってヒ素の吸収が抑制されることが確認されている^{155)~157)}。

2.4.4 ヒ素の必須性

ヒ素の毒性面が目されてきた一方で, 微量のヒ素がわれわれにとって必須である可能性を示唆する報告もある。Anke らは妊娠期から泌乳期の発育盛りのヤギおよびミニ豚を用いてヒ素の欠乏が生体に与える影響を数世代にわたって調べており, ヒ素含量の低い飼料 (35 µg As/kg 未満) で飼育した動物は, 通常の飼料 (350 µg As/kg) で飼育した動物と比べて子宮内での胎仔の成長や乳仔の成長の遅れが観察され, 一度の交尾で受精する確率や妊娠の確率の低下, ならびに乳汁の産生量の低下, さらには流産や死亡率の増加が認められたと報告している¹⁵⁸⁾。またラットにおいてもヒ素の欠乏により成長の遅れや出生率の低下が観察されており, 周産期における胎仔または乳仔の死亡率の増加も確認されている^{159), 160)}。さらにニワトリの雛 (4 週齢) においてもヒ素の欠乏により成長の遅れや足の異常が観察されており, そのほかにも血漿中の尿酸濃度の増加や赤血球およびヘモグロビンの増加が認められている¹⁶⁰⁾。また近年ではヒ素がヒトにおけるメチオニン代謝

に必須であることを示唆する報告もなされている¹⁶¹⁾。なお動物およびヒトにおけるヒ素の必須性に関する報告は Anke ら¹⁶²⁾ や Nielsen¹⁶³⁾ の総説にも詳しくまとめられているので参照されたい。

2.5 生体内における代謝

一般にヒ素はヒトにおいて経口, 経気道, 経皮的に吸収されるが, その多くは胃から吸収され, 血流に乗って全身を巡り, 主に肝臓, 腎臓, 脾臓, 肺に分布する。一方, 亜ヒ酸を投与したラットでは血中にその大部分が蓄積しており, そのうち 80~95% は赤血球に局在してヘモグロビン分子に結合していることが確認されている^{164), 165)}。これらの赤血球およびヘモグロビンは脾臓で破壊されるため, 各臓器の単位重量当たりのヒ素量としては脾臓が最も高い^{156), 165)}。またヒ酸を筋肉投与したラットにおいても同様な傾向が見られており, 投与翌日には投与したヒ素の約 60% が血中において見いだされ¹⁶⁶⁾, 生物学的半減期は 83.6 日と算出されている¹⁶⁷⁾。

2.5.1 ヒ素の排泄

生体内に吸収されたヒ素の代謝または排泄過程は一般に尿, 血液, 毛髪, 爪に含まれるヒ素の総ヒ素測定および化学形態別分析結果を基に推定されており, 特に毛髪および爪では有意なヒ素の蓄積が観察されている¹⁶⁸⁾。これは毛髪および爪に豊富に含まれるケラチンのチオール基とヒ素代謝物の水酸基 (OH 基) の親和性が高いことに由来し, S-As 結合が形成されるためである。尿中排泄はヒ素の主要な排泄経路であるため¹⁶⁹⁾, 尿中に存在する毒性化学種 (亜ヒ酸, ヒ酸, メチルアルソン酸, ジメチルアルシン酸) 濃度は無機ヒ素曝露によるバイオマーカーと考えられている。また尿は容易に採取でき, かつその量も比較的多いという分析上の利点があるが, 対照的に血液, 毛髪, 爪には欠点があり, 血液ではヒ素のクリアランスが非常に速く¹⁷⁰⁾, 毛髪および爪におけるヒ素含量は外界からの汚染を受けやすいことが知られている¹⁷¹⁾。一方, 日本をはじめとした先進諸国において種々のヒ素化合物を含む海産物の加工食品を日常的に摂取している人では, 尿中ヒ素代謝物の分析結果の解釈は慎重に行われる必要がある。特に無機ヒ素やジメチルアルシン酸はアジア人の主食である米にも多く含まれており^{2), 3)}, 海藻やイガイなどのアルセノシュガーを多く含む食品の摂取によっても尿中ジメチルアルシン酸濃度が有意に増加することが知られている^{92), 169), 172)~174)}。またアルセノベタインはヒ素を含む食品を 3 日間食べなかったヒトの尿からでも検出されていることから¹⁷⁵⁾, 生体内でごくわずかに蓄積されている可能性も考えられる。なおヒトの尿中ヒ素代謝物の分析結果は Brima らの総説にも詳しくまとめられているので参考にされたい¹⁶⁸⁾。

2.5.2 ヒ素の排泄に及ぼす共存物質の影響

ヒ素汚染地域の妊婦では尿中セレン濃度の増加が尿中ヒ素濃度またはジメチルアルシン酸割合の増加と相関があることが示されている¹⁷⁶⁾。またバングラデシュ人の大人で

は葉酸やホモシステインの摂取がヒ素のメチル化に影響を及ぼすことが示唆されており、尿中の無機ヒ素およびメチルアルソン酸割合はそれぞれ尿中クレアチニン濃度、血漿中ホモシステイン濃度と相関を示し、さらにジメチルアルソン酸割合は尿中クレアチニンおよび血漿中葉酸濃度と相関を示すことが確認されている¹⁷⁷⁾。

2.5.3 無機ヒ素化合物の代謝

一般にヒトにおける無機ヒ素の代謝機構は Challenger が提唱した還元および酸化のメチル化による代謝機構が古くから支持されており、生体内に吸収されたヒ素は亜ヒ酸へと還元された後、酸化のメチル化を受けてメチルアルソン酸へと変換され、さらにメチルアルソナス酸へと還元された後、酸化のメチル化を受けてジメチルアルシン酸へと変換されるものと考えられてきた¹⁷⁸⁾。また五価から三価への還元はチオール化合物またはジチオール化合物によって行われることが知られ^{148), 179)}、生体内ではこの反応を還元酵素が触媒している可能性も示唆されている^{128), 180)}。

しかしながら近年になって Hayakawa らは亜ヒ酸およびメチルアルソナス酸の酸化のメチル化の代わりにメチル基転移酵素 [Arsenic(III) methyltransferase (AS3MT, 旧名 Cyt19)] を用い、かつ三価のグルタチオン抱合体である Arsenic triglutathione [ATG, As(SG)₃] および Monomethylarsonic diglutathione [MADG, CH₃As(SG)₂] を経由した新たな代謝機構を提唱している¹⁸¹⁾。この代謝機構では亜ヒ酸はグルタチオン (GSH) 存在下で ATG へと変換された後、AS3MT が S-adenosylmethionine (SAM) からのメチル基転移を触媒することにより ATG が MADG へとメチル化され、さらに MADG は SAM および AS3MT により Dimethylarsinic glutathione [DMAG, (CH₃)₂AsSG] へとメチル化される。生成した MADG および DMAG は加水分解を受けてそれぞれメチルアルソナス酸、ジメチルアルシナス酸へと変換され、さらにこれらが酸化されることにより最終代謝産物であるメチルアルソン酸、ジメチルアルシン酸が生成すると考えられている。またこの代謝経路におけるグルタチオンとの反応の一部をグルタチオン S-トランスフェラーゼオメガ1 (GSTO1) が担っていることが示唆されている¹⁸²⁾。実際に亜ヒ酸を静脈内投与したラットでは、主にメチルアルソン酸やジメチルアルシン酸が尿中に排泄されるが、胆汁中には ATG および MADG が排泄され、ジメチル化ヒ素はほとんど検出されないことが報告されている¹⁸³⁾。また ATG および MADG は化学的に不安定であるため、容易に加水分解を受けてそれぞれ亜ヒ酸、メチルアルソナス酸に変換されることが知られており、さらにメチルアルソナス酸はラットの排泄後の胆汁中において過酸化水素によりメチルアルソン酸に酸化されることが確認されている¹⁸⁴⁾。一方、高濃度のグルタチオンは胆汁中における ATG および MADG の加水分解を防ぐ働きがあり、毒性の高い三価のヒ素化合物の発生を抑えていると予想される¹⁸⁴⁾。また実際の生体内では摂取した無機ヒ素の速やかな排泄と無機ヒ

素のメチル化が並行して行われていると考えられており、総ヒ素量の 50% 以上を無機ヒ素が占めるヒジキを摂食したヒトにおいて尿中排泄ヒ素を経時的に調べた結果によると、ヒ酸および亜ヒ酸の最大濃度はヒジキ摂食後 10 時間後であったが、メチルアルソン酸、ジメチルアルシン酸、アルセノベタインは 21 時間後に観察されている¹⁷⁴⁾。

ジメチルアルシナス酸がヒトの尿中代謝物として検出されたという報告例はこれまでもいくつか存在し^{185)~188)}、特に無機ヒ素による地下水汚染地域住民の尿からは代謝物としてメチルアルソナス酸¹²⁴⁾ およびジメチルアルシナス酸が見いだされている^{186), 189)~191)}。しかし Feldmann らのグループは 2004 年までに行われた研究において検出されたジメチルアルシナス酸がジメチルモノチオアルシン酸との誤認である可能性を指摘している¹⁹²⁾。その理由としては溶液試料中のジメチルアルシナス酸が極めて不安定であることや^{169), 193)}、分析に用いられた陰イオン交換カラム (Hamilton PRP-X100, Shodex Asahipak ES-502N 7C) による HPLC 分離条件ではジメチルアルシナス酸とジメチルモノチオアルシン酸は同じ保持時間を示すことを挙げている。実際に Yoshida らはジメチルアルシン酸を経口投与したラットの尿から、代謝されずに排泄されたジメチルアルシン酸およびトリメチルアルシノキッドを検出したが、ジメチルアルシナス酸は存在しないことを確認しており、さらに腸内細菌由来のジメチルモノチオアルシン酸 (旧名 M-2) を見いだしている^{194), 195), *6)}。またこのジメチルモノチオアルシン酸はジメチルアルシン酸よりも高い細胞毒性を示しており、その毒性は活性酸素種 (Reactive oxygen species; ROS) の生成によるものと推定された¹⁹⁵⁾。一方、Aposhian らはこれまでに尿中代謝物として検出されたメチルアルソナス酸およびジメチルアルシナス酸は、尿中に存在する食餌由来の還元作用を示す物質の影響によるものと推測している¹⁹⁶⁾。このように尿試料は複雑なマトリックス成分を含んでいるため、尿中ヒ素代謝物の分析結果の解釈は慎重に行う必要があり、最終的な化合物の同定には液体クロマトグラフィー質量分析計 (LC/MS) の使用が有効であると思われる。また HPLC/ICP-MS を用いた化学形態別分析の場合には、ヒ素と硫黄の両方をモニターすることによりチオアナログとの誤認を防ぐことが重要である。

2.5.4 有機ヒ素化合物の代謝

一般に有機ヒ素は無機ヒ素に比べて吸収されやすいことが知られているが、吸収されたメチル化ヒ素は臓器や組織との親和性が低いため、無機ヒ素よりも速く尿中へと排泄される⁵⁹⁾。われわれの尿からは高い確率でアルセノベタインが検出されるが、これは食品由来であり、海産動物の摂食量を反映していると考えられる^{62), 197)}。また現在ではさまざまな加工食品に海産物由来の食品や抽出物が添加され

*6 鰐淵英機. 動物モデルを用いたヒ素の発がん性と発生機構の解明. 第15回ヒ素シンポジウム講演要旨集, p. 10-13 (2009).

Table 5. Chemical structures of arsenic metabolites excreted into urine after ingestion of seafood products

| No. | Arsenic species | Abbreviation | Chemical structure (fully protonated) |
|-----|--|--------------|---|
| 1 | Monomethylarsonous acid, Monomethylarsonite | MMA(III) | $\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{As}-\text{OH} \\ \\ \text{OH} \end{array}$ |
| 2 | Dimethylarsinous acid, Dimethylarsinite | DMA(III) | $\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{As}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ |
| 3 | Dimethylmonothioarsinic acid, Dimethylarsinothioic acid | — | $\begin{array}{c} \text{S} \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{As}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ |
| 4 | Oxo-dimethylarsenoacetate, Oxo-dimethylarsinoylacetate (R=O) | oxo-DMAA | $\begin{array}{c} \text{R} \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{As}-\text{CH}_2-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ |
| 5 | Thio-dimethylarsenoacetate, Thio-dimethylarsinoylacetate (R=S) | thio-DMAA | $\begin{array}{c} \text{R} \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{As}-\text{CH}_2-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ |
| 6 | Oxo-dimethylarsenoethanol, Oxo-dimethylarsinoylethanol (R=O) | oxo-DMAE | $\begin{array}{c} \text{R} \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{As}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ |
| 7 | Thio-dimethylarsenoethanol, Thio-dimethylarsinoylethanol (R=S) | thio-DMAE | $\begin{array}{c} \text{R} \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{As}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ |
| 8 | Oxo-dimethylarsenopropanoic acid (R=O) | oxo-DMAP | $\begin{array}{c} \text{R} \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{As}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ |
| 9 | Thio-dimethylarsenopropanoic acid (R=S) | thio-DMAP | $\begin{array}{c} \text{R} \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{As}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ |
| 10 | Oxo-dimethylarsenobutanoic acid (R=O) | oxo-DMAB | $\begin{array}{c} \text{R} \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{As}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ |
| 11 | Thio-dimethylarsenobutanoic acid (R=S) | thio-DMAB | $\begin{array}{c} \text{R} \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{As}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ |

ているため、直接海産物を摂取していなくてもアルセノベタインやアルセノシュガーを摂取している可能性は極めて高い。

これまでいくつかの研究グループは海産物に含まれるヒ素化合物がどのように代謝されるかを詳細に解明するために、合成したアルセノベタインやアルセノシュガー、あるいは海産動物や海藻類を摂取したヒトの尿中ヒ素代謝物の排泄パターンを調査している。これまでに尿中から発見された特徴的なヒ素代謝物を Table 5 に示す。

2.5.4.1 アルセノベタイン

アルセノベタインは化学的に安定な化合物であり、反応性に乏しいため生体内で代謝を受けないことが知られており^{58), 60), 198)}、ヒトでは投与されたアルセノベタインの大部分は48時間以内にアルセノベタインとして排泄されることが確認されている¹⁹⁹⁾。またマウスでも投与されたアルセノベタインの98.5%は二日以内にアルセノベタインとして尿中に排泄されており、ヒトと同様に代謝が起こらないことが示されている¹⁹⁹⁾。Leらはアルセノベタインを主要なヒ素化合物として含むカニやエビなどを摂取したヒトにおいて尿中ヒ素濃度が増加したことや、取り込んだヒ素の約70%が37時間以内に尿中にアルセノベタインとして排泄されたことを報告している¹⁶⁹⁾。またGoesslerらはタラの摂取により尿中のアルセノベタイン濃度が大幅に増加し、さらにジメチルアルシン酸濃度も増加したことを確認している²⁰⁰⁾。同様にBuchetらはアルセノベタインを主要なヒ素化合物として含み、かつジメチルアルシン酸やアルセノシュガーを含むムラサキイガイを摂取したヒトにおいて尿中のジメチルアルシン酸が大幅に増加したことを報告している²⁰¹⁾。またLaiらもイガイを摂取したヒトにおいて類似の尿中排泄パターンを確認しており、主要なヒ素代謝物としてアルセノベタイン、ジメチルアルシン酸、ならびに比較的大量の未知ヒ素化合物を報告している¹⁷⁵⁾。これらの魚や二枚貝の摂取に伴う尿中ジメチルアルシン酸濃度の増加は、ジメチルアルシノイル基を有するアルセノ

シュガーなどが代謝された可能性や、アルセノベタインの一部が腸内細菌により代謝された可能性を示唆している⁶²⁾。またヒトを含む哺乳類ではアルセノベタインが生体内でトリメチルアルシンオキドやテトラメチルアルソニウムへと代謝される可能性も示唆されている¹⁹⁴⁾。

一方、Goesslerらはヒトの体内でトリメチルアルシンからアルセノベタインが生合成される可能性を示唆しており、実際にトリメチルアルシンに曝露されたヒトの尿においてヒ酸、メチルアルソン酸、ジメチルアルシン酸、アルセノベタイン濃度の増加を確認している²⁰⁰⁾。しかしながらYamauchiらはトリメチルアルシンを曝露したマウスおよびハムスターにおいてトリメチルアルシンオキドへの代謝を確認したが、アルセノベタインは検出していない²⁰²⁾。また著者らはマウスを用いてトリメチルアルシンオキドの体内動態を検討したところ、ほとんど代謝を受けずに尿中に排泄されたことを報告し¹¹⁷⁾、Yamauchiらもトリメチルアルシンオキドを経口または腹腔内投与したハムスターを用いて同様の結果を報告している¹⁴¹⁾。したがってEdmondsはヒトの生体内においてトリメチルアルシンからアルセノベタインが生合成される可能性は極めて低いと考えており、Goesslerらが報告した尿中ヒ素代謝物濃度の増加は無機ヒ素やアルセノベタインを含む食品の摂取に由来するものであると考察している²⁰³⁾。

2.5.4.2 アルセノシュガー

アルセノシュガー(oxo-Gly)を経口投与したヒトでは、48時間以内に投与されたヒ素の81%が尿中に排泄されたことが報告されている¹⁴⁵⁾。また尿中には少なくとも12種類のヒ素代謝物が存在し、尿中総ヒ素量の88%はジメチルアルシン酸(51%)、Thio-dimethylarsenoacetate(19%, Table 5の5)、Thio-dimethylarsenoethanol(10%, Table 5の7)、Oxo-dimethylarsenoacetate(2%, Table 5の4)、Oxo-dimethylarsenoethanol(4%未満, Table 5の6)、oxo-Gly(1%)が占めており、さらに微量成分としてはジメチルアルシナス酸(Table 5の2)、ジメチル

モノチオアルシン酸 (Table 5 の 3), トリメチルアルシンオキシド, oxo-Gly のチオアナログ [Thio-arsenosugar-glycerol (thio-Gly, Table 2 の 1-3)] の存在も確認された^{145), 187)}. oxo-Gly は 100 mmol/L 塩酸溶液中における半減期が 17 時間と比較的長いことから, 経口投与された oxo-Gly はそのままの形で胃から吸収されると考えられており, また尿中代謝物として検出された thio-Gly は oxo-Gly を子羊の肝臓ホモジネートと一晩室温で培養することにより生成されることが確認されている²⁰⁴⁾. アルセノシュガーを多く含む海藻やイガイ¹⁷²⁾ を摂食したヒトでは尿中のジメチルアルシン酸濃度の増加が見られることから, アルセノシュガーの摂取は無機ヒ素摂取時と類似した尿中排泄パターンを示すと考えられている^{92), 169), 173), 174)}, 個人差も大きいことが指摘されている¹⁶⁹⁾. また Van Hulle らは 3 種類のアルセノシュガー [oxo-Gly, oxo-PO₄, oxo-SO₃ (Table 2 の 1-6)] およびジメチルアルシン酸を主に含む褐藻 *Laminaria* sp. を摂食したヒトの尿からジメチルアルシン酸以外にもメチルアルソン酸や Oxo-dimethylarsenoethanol を代謝物として検出している²⁰⁵⁾. アルセノシュガーと無機ヒ素の尿中排泄パターンの類似性は海藻を主食とするヒツジにおいても指摘されており, Feldmann らは海藻を摂食させたヒツジにおいて血液および尿中総ヒ素量に占めるジメチルアルシン酸の割合が 95% まで増加することを報告している^{206), 207)}. またその他の代謝物としてジメチルモノチオアルシン酸および Thio-dimethylarsenoacetate が尿中に排泄されたことを確認している^{192), 208)}. さらに Lu らはアルセノシュガーの主要な代謝産物であるジメチルアルシン酸, またはジメチルアルシン酸とジメルカプトプロパンスルホン酸塩の混合物を餌に混ぜて摂取させたラットのいずれの尿からも代謝物としてジメチルアルシナス酸やトリメチルアルシンオキシドを見だし, さらにジメルカプトプロパンスルホン酸塩はジメチルアルシン酸からトリメチルアルシンオキシドへのメチル化を阻害することを報告している²⁰⁹⁾.

アルセノシュガーからジメチルアルシン酸への分解過程を調べる研究も行われており, Edmonds らは濃塩酸および高温条件下において oxo-SO₃ からジメチルアルシン酸への分解を確認している⁷³⁾. 一方, 実験的に胃酸を模した環境下や 78 mmol/L 硝酸または塩酸環境下では oxo-Gly, oxo-PO₄, oxo-SO₃, Oxo-arsenosugar-sulfate (oxo-SO₄, Table 2 の 1-8) のリボースの 1 位の加水分解が起こり, 側鎖の取れた 5-dimethylarsinoyl- α/β -ribofuranose (oxo-OH, Table 2 の 1-1) が生成しやすいことが報告されており^{169), 205), 210)}, また嫌気的条件下に置かれたマウス腸内細菌 (ミクロフローラ) においてはアルセノシュガーが無機ヒ素, メチルアルソン酸, ジメチルアルシン酸に分解されることが確認されている²¹⁰⁾. したがってヒトの胃腸内環境におけるアルセノシュガーからジメチルアルシン酸への分解は主に酵素または微生物によるものと予想され

る¹⁶⁹⁾, それを直接的に支持するデータは今のところ見当たらず, 代謝過程のどの段階でジメチルアルシン酸が生成しているのかは不明である. またアルカリ性条件下でのアルセノシュガーの化学的安定性についても検討されており, oxo-Gly および oxo-SO₃ は 2.5% 水酸化トリメチルアンモニウムを用いた 60°C, アルカリ性条件下では 8 時間まで安定であったが, oxo-PO₄ および oxo-SO₄ はジメチルアルシン酸または oxo-Gly へと分解されることが確認され, さらに 253 mmol/L 水酸化ナトリウム条件下でも同様な分解物が観察されている²¹¹⁾.

2.5.4.3 アルセノリピッド

Schmeisser らはタラ肝臓およびタラ肝油に含まれるアルセノリピッドの体内動態を詳細に検討しており, 体内に取り込まれたアルセノリピッドは速やかに水溶性の形に代謝されて尿中に排泄されると報告している²¹²⁾. 実際にアルセノリピッドおよびアルセノベタインがそれぞれ総ヒ素量の 77, 13% 含まれるタラ肝臓を摂食したヒトでは, 7~15 時間後に尿中排泄ヒ素濃度のピークが観察され, 66 時間後には摂取したヒ素の約 90% が尿中に排泄された. また主要なヒ素代謝物としてはジメチルアルシン酸 (尿中総ヒ素量の 73%) が検出されたが, そのほかにもアルセノリピッド由来の水溶性ヒ素代謝物 (10%), 未変化のアルセノベタイン (15%), 微量の未知ヒ素化合物が検出され, アルセノリピッド由来の水溶性ヒ素代謝物の中には Oxo-dimethylarsenopropanoic acid [oxo-DMAP, Table 5 の 8], Thio-dimethylarsenopropanoic acid [thio-DMAP, Table 5 の 9], Oxo-dimethylarsenobutanoic acid [oxo-DMAB, Table 5 の 10], Thio-dimethylarsenobutanoic acid [thio-DMAB, Table 5 の 11] が含まれていた. 一方, アルセノリピッドのみが含まれるタラ肝油を摂食したヒトでは, 6 時間後に尿中排泄ヒ素濃度のピークが観察され, 主要なヒ素代謝物としてはジメチルアルシン酸が検出されたが, そのほかにもタラ肝臓を摂食した場合と同様に 4 種類のヒ素含有脂肪酸 (oxo-DMAP, thio-DMAP, oxo-DMAB, thio-DMAB) が検出された. さらにアルセノリピッドおよびアルセノベタインがそれぞれ総ヒ素量の 25, 59% 含まれるタラ肝臓ならびにアルセノリピッドのみが含まれるタラ肝油を同時に摂食したヒトでは, 6.5~15 時間後に尿中排泄ヒ素濃度のピークが観察され, タラ肝臓のみを摂食した場合と同様に 65 時間後には摂取したヒ素の約 90% が尿中に排泄された. また主要なヒ素代謝物としてはジメチルアルシン酸 (尿中総ヒ素量の 41%) が検出されたが, そのほかにもアルセノリピッド由来の水溶性ヒ素代謝物 (5%), 未変化のアルセノベタイン (51%), 微量の未知ヒ素化合物が検出され, アルセノリピッド由来の水溶性ヒ素代謝物の中にはタラ肝臓またはタラ肝油のみを摂食した場合と同様に 4 種類のヒ素含有脂肪酸 (oxo-DMAP, thio-DMAP, oxo-DMAB, thio-DMAB) が含まれていた. また興味深いことに, アルセノリピッドを摂取した際のヒ素の尿中排泄速度は一般にアルセノシュガーを摂

取した場合と比較して速いことが示された。近年になってタラ肝油中には6種類のヒ素含有長鎖脂肪酸が存在することが明らかとなっていることから⁸⁸⁾、脂溶性ヒ素化合物の中で少なくとも長鎖脂肪酸型ものはアルセノシュガーよりも尿中排泄速度が速いと考えられる。

一方、Fukudaらは代表的なアルセノリピッドとしてホスファチジルアルセノコリンを合成し、これを経口投与したマウスの尿および糞中に排泄された水溶性ヒ素代謝物の分析を行っている*7。その結果、投与されたホスファチジルアルセノコリンはほとんどが腸管で吸収されて尿中へと排泄されたが、一日当たりの排泄ヒ素量は投与量の約10%程度であり、一般に水溶性ヒ素化合物を投与した場合と比べて尿中排泄速度は遅いことが確認された。また尿中に排泄された主要なヒ素代謝物はアルセノベタインおよびアルセノコリンであったが、ホスファチジルアルセノコリンを投与後一日目はアルセノベタインが優勢であり、その後はアルセノコリンが優勢であった。

海産生物からはヒ素含有長鎖脂肪酸やホスファチジルアルセノコリン以外にもグリセロリン脂質型（ホスファチジルアルセノシュガー、ホスファチジジメチルアルシナス酸）またはスフィンゴリン脂質型（アルセノスフィンゴミエリン）の脂溶性ヒ素化合物が発見されていることから（2.2参照）、今後はこれらについても同様に体内動態を調べる必要がある。

3. おわりに

本報では海産物に含まれるヒ素の化学形態や生体への影響、ならびに生体内における代謝に関して最近の知見を交えて概説した。1977年にEdmondsらがオーストラリアイセエビからアルセノベタインを発見して以来、さまざまな有機ヒ素化合物が海産生物から見いだされており、なかでもアルセノシュガーはその側鎖のバリエーションの豊富さから代謝経路に関する研究が盛んに行われてきた。このアルセノシュガーはこれまで植物プランクトンや海藻類における主要なヒ素代謝物として認識されてきたが、実は魚介類や甲殻類⁶⁶⁾、ならびに陸上起源のラン藻からも見いだされている⁷⁷⁾。また海産動物における主要なヒ素化合物として認識されてきたアルセノベタインは、海藻類やキノコ、米、鳥などの陸上生物からも見いだされており^{21), 23)~27), 213)}、これらのヒ素化合物の地球生態系における分布域の広がりが今後も注目される。また興味深いことに、代表的なアルセノシュガーの一種である oxo-Gly はマウス由来の腹腔マクロファージに対して細胞生存率を上げる作用を示すことが報告されており¹⁴⁾、その他の有機ヒ素化合物が積極的な生理作用を有するかどうかについても今後の研究の進展が期待される。

一方、海産物を多食するわれわれの生体内におけるヒ素

の毒性や代謝機構についても盛んに研究がなされてきた。特に海産物に多く含まれるアルセノベタインやアルセノシュガーの体内動態については早くから注目されたが、現在でもいくつかの未知ヒ素代謝物が存在することが示されており^{145), 174), 175), 187)}、それらの化学構造、毒性、代謝経路についてのさらなる研究が必要であろう。特にアルセノシュガーの毒性および体内動態に関しては oxo-Gly のみが研究対象とされており、その他の種々の側鎖を持ったアルセノシュガーについては未解明である。また近年になって新たなタイプの水溶性ヒ素化合物が見いだされており、その代表的なものとして As=S や As-S 結合を有する既知の有機ヒ素化合物のチオアナログが挙げられる。Suzuki らのグループは単純なメチル化ヒ素のチオアナログの毒性および代謝経路について興味深い結果を報告しており、ヒト表皮癌細胞 A431 株を用いた毒性試験において五価のジメチルモノチオアルシナス酸 [LD₅₀=10.7 μmol/L] は三価の亜ヒ酸 (LD₅₀=5.49 μmol/L) やジメチルアルシナス酸 (LD₅₀=2.16 μmol/L) に匹敵するほどの毒性を示し、その毒性は細胞内への取り込み量の多さと分布域の広さ、ならびに細胞内活性酸素種 (ROS) の増加に由来することを確認している²¹⁴⁾。また同グループはジメチルモノチオアルシナス酸が弱酸性条件下で非酵素的に安定なグルタチオン抱合体を形成することを示し、三価のヒ素化合物以外にもグルタチオン抱合体を作れるものが存在することを明らかにした²¹⁵⁾。さらに同グループはラット血球中におけるジメチルモノチオアルシナス酸の代謝経路についても詳細に研究しており、この化合物はグルタチオンと十分量の硫化物の両存在下においてより毒性の低いジメチルジチオアルシナス酸 [(CH₃)₂As(=S)SH] に変換される場合と、酵素的な加水分解を受けてジメチルアルシナス酸に変換された後、グルタチオン存在下でジメチルアルシナス酸に還元され、さらにヘモグロビンと結合して存在するか、あるいは ROS の産生によりジメチルアルシナス酸に酸化される場合があることを報告している²¹⁶⁾。一方、同グループは血球中のジメチルアルシナス酸が硫化物イオン存在下でジメチルモノチオアルシナス酸に変換されることを確認しており²¹⁷⁾、さらに Schmeisser らはジメチルアルシノイル基を有するアルセノシュガーも硫化水素との反応により容易にチオアナログに変換されることを報告していることから、この変換は生体内における非特異的な代謝反応であると考えられる²¹⁸⁾。したがって水溶性ヒ素の毒性発現機構を理解するためには、チオアナログを含めた水溶性ヒ素代謝の全体像を把握することが重要である。またそれに伴い、ヒ素曝露の生物学的モニタリングにおけるバイオマーカーについての新たな解釈が必要になるかもしれない。

これまで分析報告例の多い水溶性ヒ素とは対照的に、脂溶性または非抽出性ヒ素については情報が少ないのが現状である。特にある種の海藻類や海産動物では無視できない量の脂溶性ヒ素が含まれており、これらの中には oxo-Gly や oxo-PO₄ を基本骨格として有するものが存在すること

*7 福田庄子, 寺澤実咲, 嶋倉邦嘉, 塩見一雄. ホスファチジルアルセノコリンの合成およびマウスにおける代謝. 第13回ヒ素シンポジウム講演要旨集, p. 18-19 (2007).

から、その化学構造やアルセノシュガー生成との関連が注目される。またヒ素は窒素やリンと同族元素であるため化学的性質が類似しており、生物学的に関連する pH 範囲ではヒ酸とリン酸は類似した電荷および化学形態を示すことから、リン脂質や核酸などの既知のリン酸含有化合物の生成過程においてヒ酸が代用される可能性は高いと考えられる²¹⁹⁾。実際にワカメ⁷⁷⁾やオーストラリアイセエビ⁷⁹⁾などではホスファチジルコリンのコリン残基がアルセノコリンやアルセノシュガーに置換されたアルセノリピッドが見いだされており、今後も新たなヒ素置換体が発見されるものと予想される。生物体内でのヒ素代謝機構の全体像およびその意義を理解するためには、水溶性ヒ素だけでなく脂溶性ヒ素についての新たな知見が重要であり、これにより海産生物がアルセノシュガーやアルセノリピッドなどの複雑な有機ヒ素化合物を生成する意義の解明が期待できる。

終わりに臨み、ご校閲を賜りました花岡研一教授（独立行政法人 水産大学校）に深謝いたします。

引用文献

- 1) The Pharmaceutical Society of Japan ed. "Hiso (Arsenic)". Eiseishikenho Chukai 2000). (Methods of Analysis in Health Science 2000). Tokyo, Kanehara Shuppan, 2000, p. 398-399. (ISBN 4-307-47033-8)
- 2) Williams, P. N., Price, A. H., Raab, A., Hossain, S. A., Feldmann, J., Meharg, A. A. Variation in arsenic speciation and concentration in paddy rice related to dietary exposure. *Environ. Sci. Technol.*, **39**, 5531-5540 (2005).
- 3) Nagaoka, M. H., Nishimura, T., Matsuda, R., Maitani, T. Evaluation of a nitric acid-based partial-digestion method for selective determination of inorganic arsenic in rice. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **49**, 95-99 (2008).
- 4) Zhao, F. J., Ma, J. F., Meharg, A. A., McGrath, S. P. Arsenic uptake and metabolism in plants. *New Phytologist*, **181**, 777-794 (2009).
- 5) Lunde, G. Analysis of arsenic and selenium in marine raw materials. *J. Sci. Food Agric.*, **21**, 242-247 (1970).
- 6) Tanaka, Y., Ikebe, K., Tanaka, R., Kunita, N. The contents of heavy metals in foods. V. The extent and average contents of heavy metals in vegetable foods. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **18**, 75-85 (1977).
- 7) Adachi, S., Matsue, M., Kawai, H., Hosogai, Y., Ninomiya, T., Okada, T. Survey on arsenic, selenium, fluorine, and iodine in seaweeds. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **19**, 491-495 (1978).
- 8) Francesconi, K. A., Edmonds, J. S. Arsenic and marine organisms. *Adv. Inorg. Chem.*, **44**, 147-189 (1997).
- 9) Ikebe, K., Tanaka, Y., Tanaka, R., Kunita, N. The contents of heavy metals in foods. IV. The heavy metal contents in processed foods. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **18**, 62-74 (1977).
- 10) Cullen, W. R., Reimer, K. J. Arsenic speciation in the environment. *Chem. Rev.*, **89**, 713-764 (1989).
- 11) Munilla, M. A., Gomez-Pinilla, I., Rodenas, S., Larrea, M. T. Determination of metals in seaweeds used as food by inductively coupled plasma atomic-emission spectrometry. *Analysis*, **23**, 463-466 (1995).
- 12) Almela, C., Algora, S., Benito, V., Clemente, M. J., Devesa, V., Suner, M. A., Velez, D., Montoro, R. Heavy metals, total arsenic and inorganic arsenic contents of algae food products. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 918-923 (2002).
- 13) Matschullat, J. Arsenic in the geosphere—A review. *Sci. Total. Environ.*, **249**, 297-312 (2000).
- 14) Sakurai, T., Kaise, T., Ochi, T., Saitoh, T., Matsubara, C. Study of *in vitro* cytotoxicity of a water soluble organic arsenic compound, arsenosugar in seaweed. *Toxicology*, **122**, 205-212 (1997).
- 15) Funahashi, H., Imai, T., Mase, T., Sekiya, M., Yokoi, K., Hayashi, H., Shibata, A., Hayashi, T., Nishikawa, M., Suda, N., Hibi, Y., Mizuno, Y., Tsukamura, K., Haya-kawa, A., Tanuma, S. Seaweed prevents breast cancer? *Jpn. J. Cancer Res.*, **92**, 483-487 (2001).
- 16) Hoshiyama, Y., Sekine, T., Sasaba, T. A case-control study of colorectal cancer and its relation to diet, cigarettes and alcohol consumption in Saitama prefecture Japan. *Tohoku J. Exp. Med.*, **171**, 153-165 (1993).
- 17) Parr, R. M., Abdulla, M., Aras, N. K. et al. "Dietary intakes of trace elements and related nutrients in eleven countries: preliminary results from an IAEA coordinated research programme". *Trace Elements in Man and Animals TEMA-7*. Momcilovic, B., ed. Zagreb, Croatia, 1991, p. 13.
- 18) Shimbo, S., Hayase, A., Murakami, M., Hatai, I., Higashikawa, K., Moon, C. S., Zhang, Z. W., Watanabe, T., Iguchi, H., Ikeda, M. Use of a food composition database to estimate daily dietary intake of nutrient or trace elements in Japan, with reference to its limitation. *Food Addit. Contam.*, **13**, 775-786 (1996).
- 19) Yamauchi, H., Fowler, B. A. "Toxicity and Metabolism of Inorganic and Methylated Arsenicals". *Arsenic in the Environment, Part II: Human Health and Ecosystem Effects (Advances in Environmental Science and Technology, Vol. 27)*. Nriagu, J. O., ed. New York, USA, John Wiley & Sons, Inc., 1994, p. 35-53. (ISBN 0-471-30436-0)
- 20) Peshut, P. J., Morrison, R. J., Brooks, B. A. Arsenic speciation in marine fish and shellfish from American Samoa. *Chemosphere*, **71**, 484-492 (2008).
- 21) Byrne, A. R., Slejkovec, Z., Stijve, T., Fay, L., Goessler, W., Gailer, J., Irgolic, K. J. Arsenobetaine and other arsenic species in mushrooms. *Appl. Organomet. Chem.*, **9**, 305-311 (1995).
- 22) Kuehnelt, D., Goessler, W., Irgolic, K. J. Arsenic compounds in terrestrial organisms II: Arsenocholine in the mushroom *Amanita muscaria*. *Appl. Organomet. Chem.*, **11**, 459-470 (1997).
- 23) Koch, I., Wang, L., Ollson, C.A., Cullen, W. R., Reimer, K. J. The predominance of inorganic arsenic species in plants from Yellowknife, Northwest Territories,

- Canada. Environ. Sci. Technol., **34**, 22-26 (2000).
- 24) Kuehnelt, D., Lintschinger, J., Goessler, W. Arsenic compounds in terrestrial organisms. IV. Green plants and lichens from an old arsenic smelter site in Austria. Appl. Organomet. Chem., **14**, 411-420 (2000).
- 25) Geislinger, A., Goessler, W., Kosmus, W. Organoarsenic compounds in plants and soil on top of an ore vein. Appl. Organomet. Chem., **16**, 245-249 (2002).
- 26) Koch, I., Mace, J. V., Reimer, K. J. Arsenic speciation in terrestrial birds from Yellowknife, Northwest Territories, Canada: The unexpected finding of arsenobetaine. Environ. Toxicol. Chem., **24**, 1468-1474 (2005).
- 27) Mandal, B. K., Suzuki, K. T., Anzia, K. Impact of arsenic in foodstuffs on the people living in the arsenic-affected areas of West Bengal, India. J. Environ. Sci. Health A, **42**, 1741-1752 (2007).
- 28) Yasui, A., Tsutsumi, C., Toda, S. Selective determination of inorganic arsenic(III), (V) and organic arsenic in biological materials by solvent extraction-atomic absorption spectrophotometry. Agric. Biol. Chem. (Tokyo), **42**, 2139-2145 (1978).
- 29) Nordstrom, D. K. Worldwide occurrences of arsenic in ground water. Science, **296**, 2143-2145 (2002).
- 30) Yamauchi, H., Yamamura, Y. Urinary inorganic arsenic and methylarsenic excretion following arsenate-rich seaweed ingestion. Sangyo Igaku, **21**, 47-54 (1979).
- 31) Shinagawa, A., Shiomi, K., Yamanaka, H., Kikuchi, T. Selective determination of inorganic arsenic(III, V) and organic arsenic in marine organisms. Nippon Suisan Gakkaishi, **49**, 75-78 (1983).
- 32) Whyte, J. N. C., Englar, J. R. Analysis of inorganic and organic-bound arsenic in marine brown algae. Bot. Mar., **26**, 159-164 (1983).
- 33) Yasui, A., Tsutsumi, C., Toda, S. Some characteristics of water-soluble arsenic compounds in marine brown algae, HIJIKI (*Hijikia fusiforme*) and ARAME (*Eisenia bicyclis*). Agric. Biol. Chem. (Tokyo), **47**, 1349-1351 (1983).
- 34) Morita, M., Shibata, Y. Chemical form of arsenic in marine macroalgae. Appl. Organomet. Chem., **4**, 181-190 (1990).
- 35) Hanaoka, K., Yoshida, K., Tamano, M., Kuroiwa, T., Kaise, T., Maeda, S. Arsenic in the prepared edible brown alga hijiki, *Hizikia fusiforme*. Appl. Organomet. Chem., **15**, 561-565 (2001).
- 36) Ichikawa, S., Kamoshida, M., Hanaoka, K., Hamano, M., Maitani, T., Kaise, T. Decrease of arsenic in edible brown algae *Hijikia fusiforme* by the cooking process. Appl. Organomet. Chem., **20**, 585-590 (2006).
- 37) Endo, G., Kuroda, K., Okamoto, A., Horiguchi, S. Dimethylarsenic acid induces tetraploids in Chinese hamster cells. B. Environ. Contam. Tox., **48**, 131-137 (1992).
- 38) Iwami, K., Kuroda, K., Endo, G. Induction of mitotic arrest and aneuploidy by organic arsenic compounds in human lymphocytes. Appl. Organomet. Chem., **11**, 743-749 (1997).
- 39) Wei, M., Wanibuchi, H., Fukushima, S. Urinary bladder carcinogenicity of dimethylarsinic acid in male F344 rats. Carcinogenesis, **20**, 1873-1876 (1999).
- 40) Wei, M., Wanibuchi, H., Yoshida, K., Endo, G., Nakae, D., Fukushima, S. Carcinogenicity of dimethylarsinic acid in male F344 rats and genetic alterations in induced urinary bladder tumors. Carcinogenesis, **23**, 1387-1397 (2002).
- 41) Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Wei, M., Yunoki, T., Fukushima, S. 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. Pharm., **221**, 295-305 (2007).
- 42) Wanibuchi, S., Nakae, D., Konishi, Y., Fukushima, S. Promotion of rat hepatocarcinogenesis by dimethylarsinic acid: association with elevated ornithine decarboxylase activity and formation of 8-hydroxydeoxyguanosine in the liver. Jpn. J. Cancer Res., **88**, 1149-1154 (1997).
- 43) Mass, M. J., Tennant, A., Roop, B. C., Cullen, W. R., Styblo, M., Thomas, D. J., Kligerman, A. D. Methylated trivalent arsenic species are genotoxic. Chem. Res. Toxicol., **14**, 355-361 (2001).
- 44) Petrick, J. S., Jagadish, B., Mash, E. A., Aposhian, H. V. Monomethylarsonous acid (MMA(III)) and arsenite: LD₅₀ in hamsters and *in vitro* inhibition of pyruvate dehydrogenase. Chem. Res. Toxicol., **14**, 651-656 (2001).
- 45) Lin, S., Del Razo, L. M., Styblo, M., Wang, C., Cullen, W. R., Thomas, D. J. Arsenicals inhibit thioredoxin reductase in cultured rat hepatocytes. Chem. Res. Toxicol., **14**, 305-311 (2001).
- 46) Le, X. C., Ma, M. Speciation of arsenic compounds by using ion-pair chromatography with atomic spectrometry and mass spectrometry detection. J. Chromatogr. A, **764**, 55-64 (1997).
- 47) Francesconi, K. A., Edmonds, J. S. "Arsenic in the Sea". Oceanography and Marine Biology: An Annual Review, Vol. 31. Ansell, A. D., Gibson, R. N., Barnes, M., eds. London, UK, UCL Press, 1993, p. 111-151.
- 48) Francesconi, K. A., Edmonds, J. S., Morita, M. "Determination of Arsenic and Arsenic Species in Marine Environmental Samples". Arsenic in the Environment, Part I: Cycling and Characterization (Advances in Environmental Science and Technology, Vol. 26). Nriagu, J. O., ed. New York, USA, John Wiley & Sons, Inc., 1994, p. 189-219. (ISBN 0-471-57929-7)
- 49) Tao, H. Trace elemental speciation by chromatography/inductively coupled plasma mass spectrometry. Bunseki Kagaku, **46**, 239-263 (1997).
- 50) Benramdane, L., Bressolle, F., Vallon, J. J. Arsenic speciation in humans and food products: A review. J. Chromatogr. Sci., **37**, 330-344 (1999).
- 51) Guerin, T., Astruc, A., Astruc, M. Speciation of arsenic and selenium compounds by HPLC hyphenated to specific detectors: A review of the main speciation techniques. Talanta, **50**, 1-24 (1999).

- 52) Gong, Z., Lu, X., Ma, M., Watt, C., Le, X. C. Arsenic speciation analysis. *Talanta*, **58**, 77-96 (2002).
- 53) Tanner, S. D., Baranov, V. I., Bandura, D. R. Reaction cells and collision cells for ICP-MS: A tutorial review. *Spectrochim. Acta B*, **57B**, 1361-1452 (2002).
- 54) McSheehy, S., Szpunar, J., Morabito, R., Quevauviller, P. The speciation of arsenic in biological tissues and the certification of reference materials for quality control. *TrAC-Trend. Anal. Chem.*, **22**, 191-209 (2003).
- 55) Francesconi, K. A., Kuehnelt, D. Determination of arsenic species: A critical review of methods and applications, 2000-2003. *Analyst*, **129**, 373-395 (2004).
- 56) Leermakers, M., Baeyens, W., Gieter, M. De, Smedts, B., Meert, C., Bisschop, H. C. De, Morabito, R., Quevauviller, Ph. Toxic arsenic compounds in environmental samples: Speciation and validation. *TrAC-Trend. Anal. Chem.*, **25**, 1-10 (2006).
- 57) Nakazato, T. Analytical methods for speciation of organic arsenicals. *Biomed. Res. Trace Elements*, **18**, 63-72 (2007).
- 58) Shibata, Y., Morita, M., Fuwa, K. Selenium and arsenic in biology: Their chemical forms and biological functions. *Adv. Biophys.*, **28**, 31-80 (1992).
- 59) Shiomi, K. Chemical form, toxicity and metabolism of arsenic contained in marine organisms. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **33**, 1-10 (1992).
- 60) Francesconi, K. A., Edmonds, J. S. "Biotransformation of Arsenic in the Marine Environment". *Arsenic in the Environment, Part I: Cycling and Characterization (Advances in Environmental Science and Technology, Vol. 26)*. Nriagu, J. O., ed. New York, USA, John Wiley & Sons, Inc., 1994, p. 221-261. (ISBN 0-471-57929-7)
- 61) Shiomi, K. "Arsenic in Marine Organisms: Chemical Forms and Toxicological Aspects". *Arsenic in the Environment, Part II: Human Health and Ecosystem Effects (Advances in Environmental Science and Technology, Vol. 27)*. Nriagu, J.O., ed. New York, USA, John Wiley & Sons, Inc., 1994, p. 261-282. (ISBN 0-471-30436-0)
- 62) Shibata, Y., Morita, M. Chemical forms of arsenic in the environment—With special emphasis in the marine environment. *Biomed. Res. Trace Elements*, **11**, 1-24 (2000).
- 63) Hanaoka, K. Studies on arsenic circulation in marine ecosystems. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **70**, 284-287 (2004).
- 64) Chapman, A. C. The presence of compounds of arsenic in marine crustaceans and shell fish. *Analyst*, **51**, 548-563 (1926).
- 65) Lunde, G. Activation analysis of bromine, iodine, and arsenic in oils from fishes, whales, phyto-, and zooplankton of marine and limnetic biotopes. *Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie*, **52**, 265-279 (1967).
- 66) Lunde, G. Activation analysis of trace elements in fishmeal. *J. Sci. Food Agric.*, **19**, 432-434 (1968).
- 67) Shimokawa, K., Horibe, N., Teramachi, M., Mori, H. Arsenic content in dried edible seaweeds on the market. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **12**, 330-332 (1971).
- 68) Tagawa, S., Kojima, Y. Arsenic content and its seasonal variation in seaweed. *Suisan Daigakko Kenkyu Hokoku*, **25**, 67-74 (1976).
- 69) Jin, K., Ogawa, H., Taga, M. Wet digestion method for the determination of total arsenic in marine organisms. II. Digestion method of marine organisms for determination of total arsenic by atomic absorption spectrometry. *Bunseki Kagaku*, **32**, E259-E264 (1983).
- 70) Adachi, S., Kawai, H., Hosogai, Y. Gel-filtration profile of arsenic compounds in water extracts of seaweeds. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **21**, 13-17 (1980).
- 71) Kaise, T., Watanabe, S., Ikeda, H. Chemical form of arsenic in marine algae. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **21**, 58-63 (1980).
- 72) Edmonds, J. S., Francesconi, K. A., Cannon, J. R., Raston, C. L., Skelton, B. W., White, A. H. Isolation, crystal structure, and synthesis of arsenobetaine, the arsenical constituent of the western rock lobster *Panulirus longipes cygnus* George. *Tetrahedron Lett.*, **18**, 1543-1546 (1977).
- 73) Edmonds, J. S., Francesconi, K. A. Arseno-sugars from brown kelp (*Ecklonia radiata*) as intermediates in cycling of arsenic in a marine ecosystem. *Nature (London)*, **289**, 602-604 (1981).
- 74) Edmonds, J. S., Francesconi, K. A. Arsenic-containing ribofuranosides: isolation from brown kelp *Ecklonia radiata* and nuclear magnetic resonance spectra. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1: Organic and Bio-Organic Chemistry (1972-1999)*, **10**, 2375-2382 (1983).
- 75) Knowles, F. C., Benson, A. A. The biochemistry of arsenic. *Trends Biochem. Sci.*, **8**, 178-180 (1983).
- 76) Edmonds, J. S., Francesconi, K. A. Transformations of arsenic in the marine environment. *Experientia*, **43**, 553-557 (1987).
- 77) Morita, M., Shibata, Y. Isolation and identification of arseno-lipid from a brown alga, *Undaria pinnatifida* (Wakame). *Chemosphere*, **17**, 1147-1152 (1988).
- 78) Irgolic, K. J., Woolson, E. A., Stockton, R. A., Newman, R. D., Bottino, N. R., Zingaro, R. A., Kearney, P. C., Pyles, R. A., Maeda, S., McShane, W. J., Cox, E. R. Characterization of arsenic compounds formed by *Daphnia magna* and *Tetraselmis chuii* from inorganic arsenate. *Environ. Health Persp.*, **19**, 61-66 (1977).
- 79) Edmonds, J. S., Shibata, Y., Francesconi, K. A., Yoshinaga, J., Morita, M. Arsenic lipids in the digestive gland of the western rock lobster *Panulirus cygnus*: An investigation by HPLC ICP-MS. *Sci. Total Environ.*, **122**, 321-335 (1992).
- 80) Francesconi, K. A., Edmonds, J. S., Stick, R. V. Accumulation of arsenic in yelloweye mullet (*Aldrichetta forsteri*) following oral administration of organoarsenic compounds and arsenate. *Sci. Total Environ.*, **79**, 59-67 (1989).
- 81) Francesconi, K. A., Stick, R. V., Edmonds, J. S. Glycerylphosphorylarsenocholine and phosphatidylarsenocholine

- line in yelloweye mullet (*Aldrichetta forsteri*) following oral administration of arsenocholine. *Experientia*, **46**, 464–466 (1990).
- 82) Devalla, S., Feldmann, J. Determination of lipid-soluble arsenic species in seaweed-eating sheep from Orkney. *Appl. Organomet. Chem.*, **17**, 906–912 (2003).
- 83) Hanaoka, K., Goessler, W., Yoshida, K., Fujitaka, Y., Kaise, T., Irgolic, K. J. Arsenocholine- and dimethylated arsenic-containing lipids in starspotted shark *Mustelus manazo*. *Appl. Organomet. Chem.*, **13**, 765–770 (1999).
- 84) Hanaoka, K., Tanaka, Y., Nagata, Y., Yoshida, K., Kaise, T. Water-soluble arsenic residues from several arsenolipids occurring in the tissues of the starspotted shark *Mustelus manazo*. *Appl. Organomet. Chem.*, **15**, 299–305 (2001).
- 85) Kohlmeyer, U., Jakubik, S., Kuballa, J., Jantzen, E. Determination of arsenic species in fish oil after acid digestion. *Microchim. Acta*, **151**, 249–255 (2005).
- 86) Ninh, T. D., Nagashima, Y., Shiomi, K. Water-soluble and lipid-soluble arsenic compounds in Japanese flying squid *Todarodes pacificus*. *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 3196–3202 (2007).
- 87) Ebisuda, K., Kunito, T., Fujihara, J., Kubota, R., Shibata, Y., Tanabe, S. Lipid-soluble and water-soluble arsenic compounds in blubber of ringed seal (*Pusa hispida*). *Talanta*, **61**, 779–787 (2003).
- 88) Rumpler, A., Edmonds, J. S., Katsu, M., Jensen, K. B., Goessler, W., Raber, G., Gunnlaugsdottir, H., Francesconi, K. A. Arsenic-containing long-chain fatty acids in cod-liver oil: A result of biosynthetic infidelity? *Angew. Chem. Int. Ed.*, **47**, 2665–2667 (2008).
- 89) Taleshi, M. S., Jensen, K. B., Raber, G., Edmonds, J. S., Gunnlaugsdottir, H., Francesconi, K. A. Arsenic-containing hydrocarbons: natural compounds in oil from the fish capelin, *Mallotus villosus*. *Chem. Commun.*, **39**, 4706–4707 (2008).
- 90) Shibata, Y., Jin, K., Morita, M. Arsenic compounds in the edible red alga, *Porphyra tenera*, and in nori and yakinori, food items produced from red algae. *Appl. Organomet. Chem.*, **4**, 255–260 (1990).
- 91) Lai, V.W.-M., Cullen, W. R., Harrington, C. F., Reimer, K. J. The characterization of arsenosugars in commercially available algal products including a *Nostoc* species of terrestrial origin. *Appl. Organomet. Chem.*, **11**, 797–803 (1997).
- 92) Wei, C., Li, W., Zhang, C., Van Hulle, M., Cornelis, R., Zhang, X. Safety evaluation of organoarsenical species in edible *Porphyra* from the China Sea. *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 5176–5182 (2003).
- 93) Norin, H., Christakopoulos, A., Sandstroem, M., Ryhage, R. Mass fragmentographic estimation of trimethylarsine oxide in aquatic organisms. *Chemosphere*, **14**, 313–323 (1985).
- 94) Hanaoka, K., Goessler, W., Ohno, H., Irgolic, K. J., Kaise, T. Toxic arsenical in roasted muscles of marine animals. *Appl. Organomet. Chem.*, **15**, 61–66 (2001).
- 95) Van Elteren, J. T., Slejkovec, Z. Ion-exchange separation of eight arsenic compounds by high-performance liquid chromatography UV decomposition hydride generation atomic fluorescence spectrometry and stability tests for food treatment procedure. *J. Chromatogr. A*, **789**, 339–348 (1997).
- 96) Le, X.C., Cullen, W. R., Reimer, K. J. Decomposition of organoarsenic compounds by using a microwave oven and subsequent determination by flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry. *Appl. Organomet. Chem.*, **6**, 161–171 (1992).
- 97) Le, X. C., Cullen, W. R., Reimer, K. J. Determination of urinary arsenic and impact of dietary arsenic intake. *Talanta*, **40**, 185–193 (1993).
- 98) Cullen, W. R., Dodd, M. The photo-oxidation of solutions of arsenicals to arsenate: A convenient analytical procedure. *Appl. Organomet. Chem.*, **2**, 1–7 (1988).
- 99) Tagawa, S., Matsuura, A., Hanaoka, K., Kaise, T. Isolation and identification of arsenobetaine from the concentrated extracts of skipjack tuna *Euthynnus pelamis* and albacore *Thunnus alalunga*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, 113–116 (1988).
- 100) Yoshida, K., Hanaoka, K., Kaise, T., Harada, K. An arsenic compound in Hanpen prepared from the ordinary muscle of starspotted shark *Mustelus manazo*. *Fish. Sci.*, **64**, 499–500 (1998).
- 101) Lunde, G. Occurrence and transformation of arsenic in the marine environment. *Environ. Health Persp.*, **19**, 47–52 (1977).
- 102) Velez, D., Ybanez, N., Montoro, R. Percentages of total arsenic represented by arsenobetaine levels of manufactured seafood products. *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 1289–1294 (1995).
- 103) Velez, D., Ybanez, N., Montoro, R. Monomethylarsonic and dimethylarsinic acid contents in seafood products. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 859–864 (1996).
- 104) Tagawa, S. Confirmation of arsenate, arsenite, methylarsonate, and dimethylarsinate in an aqueous extract from a brown seaweed, *Hizikia fusiforme*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **46**, 1257–1259 (1980).
- 105) Nagaoka, M. H., Hanaoka, K., Usui, M., Nishimura, T., Maitani, T. Nitric acid-based partial-digestion method for selective determination of inorganic arsenic in Hijiki and application to soaked Hijiki. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **49**, 88–94 (2008).
- 106) Miyashita, S., Kinoshita, K., Yamashita, Y., Okazaki, E., Kaise, T. Decrease of mineral components in Hijiki by soaking in water and warm water. *Trace Nutrients Research*, **23**, 42–46 (2006).
- 107) Kimura, S., Furukawa, Y. Arsenic as an inorganic pollutant. *Kagaku no Ryoiki, Zokan*, **126**, 137–146 (1980).
- 108) Antov, G., Zlateva, M. Changes in the number of sulfhydryl groups and soluble proteins in some internal organs of white rats under the combined effect of lead and arsenic. *Trudove na Instituta po Khigiena, Okhrana na Truda i Profesionalni Zabolyavaniya*, **22**, 155–165 (1974).
- 109) Lowry, O. H., Hunter, F. T., Kip, A. F., Irvine, J. W. Jr.

- Radioactive tracer studies on arsenic injected as potassium arsenite. II. Chemical distribution in tissues. *J. Pharmacol. (Paris)*, **76**, 221-225 (1942).
- 110) Winkler, W. O. Identification and estimation of the arsenic residue in livers of rats ingesting arsenicals. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **45**, 80-91 (1962).
 - 111) Woods, J. S., Fowler, B. A. Effects of chronic arsenic exposure on hematopoietic function in adult mammalian liver. *Environ. Health Persp.*, **19**, 209-213 (1977).
 - 112) Woods, J. S., Fowler, B. A. Altered regulation of mammalian hepatic heme biosynthesis and urinary porphyrin excretion during prolonged exposure to sodium arsenate. *Toxicol. Appl. Pharm.*, **43**, 361-371 (1978).
 - 113) Fowler, B. A., Woods, J. S., Schiller, C. M. Ultrastructural and biochemical effects of prolonged oral arsenic exposure on liver mitochondria of rats. *Environ. Health Persp.*, **19**, 197-204 (1977).
 - 114) Schiller, C. M., Fowler, B. A., Woods, J. S. Effects of arsenic on pyruvate dehydrogenase activation. *Environ. Health Persp.*, **19**, 205-207 (1977).
 - 115) Mahaffey, K. R., Fowler, B. A. Effects of concurrent administration of lead, cadmium, and arsenic in the rat. *Environ. Health Persp.*, **19**, 165-171 (1977).
 - 116) Kaise, T., Watanabe, S., Itoh, K. The acute toxicity of arsenobetaine. *Chemosphere*, **14**, 1327-1332 (1985).
 - 117) Kaise, T., Yamauchi, H., Horiguchi, Y., Tani, T., Watanabe, S., Hirayama, T., Fukui, S. A comparative study on acute toxicity of methylarsonic acid, dimethylarsinic acid and trimethylarsine oxide in mice. *Appl. Organomet. Chem.*, **3**, 273-277 (1989).
 - 118) Kaise, T., Fukui, S. The chemical form and acute toxicity of arsenic compounds in marine organisms. *Appl. Organomet. Chem.*, **6**, 155-160 (1992).
 - 119) Kaise, T., Ochi, T., Oya-Ohta, Y., Hanaoka, K., Sakurai, T., Saitoh, T., Matsubara, C. Cytotoxicological aspects of organic arsenic compounds contained in marine products using the mammalian cell culture technique. *Appl. Organomet. Chem.*, **12**, 137-143 (1998).
 - 120) Harrison, J. W. E., Packman, E. W., Abbott, D. D. Acute oral toxicity and chemical and physical properties of arsenic trioxides. *AMA Archives of Industrial Health*, **17**, 118-123 (1958).
 - 121) Bencko, V., Rossner, P., Havrankova, H., Puzanova, A., Tucek, M. "Effects of the Combined Action of Selenium and Arsenic on Mice *versus* Suspension Culture of Mice Fibroblasts". *Industrial and Environmental Xenobiotics (in vitro versus in vivo Biotransformation and Toxicity)*. Fouts, J. R., Gut, I., eds. Oxford, Excerpta Medica, 1978, p. 312-316.
 - 122) Penrose, W. R. Arsenic in the marine and aquatic environments. Analysis, occurrence, and significance. *Crit. Rev. Environ. Contr.*, **4**, 465-482 (1974).
 - 123) Andreae, M. O. "Arsenic Compounds in the Environment". *Organometallic Compounds in the Environment*. Craig, P. J., ed. Harlow, UK, Longman, 1986, p. 198-228.
 - 124) Aposhian, H. V., Gurzau, E. S., Le, X. C., Gurzau, S. M., Healy, S. M., Lu, X., Ma, M., Yip, L., Zakharyan, R. A., Maiorino, R. M., Dart, R. C., Tircus, M. G., Gonzalez-Ramirez, D., Morgan, D. L., Avram, D., Aposhian, M. M. Occurrence of monomethylarsonous acid in urine of humans exposed to inorganic arsenic. *Chem. Res. Toxicol.*, **13**, 693-697 (2000).
 - 125) Hughes, M. F., Del Razo, L. M., Kenyon, E. M. Dose-dependent effects on tissue distribution and metabolism of dimethylarsinic acid in the mouse after intravenous administration. *Toxicology*, **143**, 155-166 (2000).
 - 126) Petrick, J. S., Ayala-Fierro, F., Cullen, W. R., Carter, D. E., Aposhian, H. V. Monomethylarsonous acid (MMA(III)) is more toxic than arsenite in Chang human hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharm.*, **163**, 203-207 (2000).
 - 127) Styblo, M., Del Razo, L. M., Vega, L., Germolec, D. R., LeCluyse, E. L., Hamilton, G. A., Reed, W., Wang, C., Cullen, W. R., Thomas, D. J. Comparative toxicity of trivalent and pentavalent inorganic and methylated arsenicals in rat and human cells. *Arch. Toxicol.*, **74**, 289-299 (2000).
 - 128) Thomas, D. J., Styblo, M., Lin, S. The cellular metabolism and systemic toxicity of arsenic. *Toxicol. Appl. Pharm.*, **176**, 127-144 (2001).
 - 129) Yamanaka, K., Hayashi, H., Tachikawa, M., Kato, K., Hasegawa, A., Oku, N., Okada, S. Metabolic methylation is a possible genotoxicity-enhancing process of inorganic arsenics. *Mutat. Res.*, **394**, 95-101 (1997).
 - 130) Kitchin, K. T. Recent advances in arsenic carcinogenesis: Modes of action, animal model systems, and methylated arsenic metabolites. *Toxicol. Appl. Pharm.*, **172**, 249-261 (2001).
 - 131) Ahmad, S., Kitchin, K. T., Cullen, W. R. Plasmid DNA damage caused by methylated arsenicals, ascorbic acid and human liver ferritin. *Toxicol. Lett.*, **133**, 47-57 (2002).
 - 132) Kligerman, A. D., Doerr, C. L., Tennant, A. H., Harrington-Brock, K., Allen, J. W., Winkfield, E., Poorman-Allen, P., Kundu, B., Funasaka, K., Roop, B. C., Mass, M. J., DeMarini, D. M. Methylated trivalent arsenicals as candidate ultimate genotoxic forms of arsenic: Induction of chromosomal mutations but not gene mutations. *Environ. Mol. Mutagen.*, **42**, 192-205 (2003).
 - 133) Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Morimura, K., Wei, M., Nakae, D., Arai, T., Minowa, O., Noda, T., Nishimura, S., Fukushima, S. Carcinogenicity of dimethylarsinic acid in Ogg1-deficient mice. *Cancer Sci.*, **98**, 803-814 (2007).
 - 134) Morikawa, T., Wanibuchi, H., Morimura, K., Ogawa, M., Fukushima, S. Promotion of skin carcinogenesis by dimethylarsinic acid in keratin (K6)/ODC transgenic mice. *Jpn. J. Cancer Res.*, **91**, 579-581 (2000).
 - 135) Nishikawa, T., Wanibuchi, H., Fukushima, S. 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 oxygen species mechanism. *Int. J. Cancer*, **100**, 136-139 (2002).
 - 136) Wanibuchi, H., Salim, E. I., Kinoshita, A., Shen, J., Wei, M., Morimura, K., Yoshida, K., Kuroda, K., Endo, G., Fukushima, S. Understanding arsenic carcinogenicity by

- the use of animal models. *Toxicol. Appl. Pharm.*, **198**, 366-376 (2004).
- 137) Yoshida, T., Yamauchi, H., Sun, G. F. Chronic health effects in people exposed to arsenic *via* the drinking water: Dose-response relationships in review. *Toxicol. Appl. Pharm.*, **198**, 243-252 (2004).
- 138) Cannon, J. R., Sauders, J. B., Toia, R. F. Isolation and preliminary toxicological evaluation of arsenobetaine the water-soluble arsenical constituent from the hepatopancreas of the western rock lobster. *Sci. Total Environ.*, **31**, 181-185 (1983).
- 139) Kaise, T., Horiguchi, Y., Fukui, S., Shiomi, K., Chino, M., Kikuchi, T. Acute toxicity and metabolism of arsenocholine in mice. *Appl. Organomet. Chem.*, **6**, 369-373 (1992).
- 140) Irvin, T. R., Irgolic, K. J. Arsenobetaine and arsenocholine: Two marine arsenic compounds without embryotoxicity. *Appl. Organomet. Chem.*, **2**, 509-514 (1988).
- 141) Yamauchi, H., Takahashi, K., Yamamura, Y., Kaise, T. Metabolism and excretion of orally and intraperitoneally administered trimethylarsine oxide in the hamster. *Toxicol. Environ. Chem.*, **22**, 69-76 (1989).
- 142) Shiomi, K., Horiguchi, Y., Kaise, T. Acute toxicity and rapid excretion in urine of tetramethylarsonium salts found in some marine animals. *Appl. Organomet. Chem.*, **2**, 385-389 (1988).
- 143) Sakurai, T., Kaise, T., Matsubara, C. Immunotoxicity of organic arsenic compounds in murine animals. *Appl. Organomet. Chem.*, **10**, 727-732 (1996).
- 144) Oya-Ohta, Y., Kaise, T., Ochi, T. Induction of chromosomal aberrations in cultured human fibroblasts by inorganic and organic arsenic compounds and the different roles of glutathione in such induction. *Mutat. Res.-Fund. Mol. M.*, **357**, 123-129 (1996).
- 145) Raml, R., Goessler, W., Traar, P., Ochi, T., Francesconi, K. A. Novel thioarsenic metabolites in human urine after ingestion of an arsenosugar, 2',3'-dihydroxypropyl 5-deoxy-5-dimethylarsinoyl- β -D-ribose. *Chem. Res. Toxicol.*, **18**, 1444-1450 (2005).
- 146) Kaise, T., Oya-Ohta, Y., Ochi, T., Okubo, T., Hanaoka, K., Irgolic, K. J., Sakurai, T., Matsubara, C. Toxicological study of organic arsenic compound in marine algae using mammalian cell culture technique. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **37**, 135-141 (1996).
- 147) Andrewes, P., Demarini, D. M., Funasaka, K., Wallace, K., Lai, V. W.-M., Sun, H., Cullen, W. R., Kitchin, K. T. Do arsenosugars pose a risk to human health? The comparative toxicities of a trivalent and pentavalent arsenosugar. *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 4140-4148 (2004).
- 148) Cullen, W. R., McBride, B. C., Reglinski, J. The reduction of trimethylarsine oxide to trimethylarsine by thiols: A mechanistic model for the biological reduction of arsenicals. *J. Inorg. Biochem.*, **21**, 45-60 (1984).
- 149) Francesconi, K. A., Edmonds, J. S., Stick, R. V. Synthesis, NMR spectra and chromatographic properties of five trimethylarsonioribosides. *Appl. Organomet. Chem.*, **8**, 517-523 (1994).
- 150) Harris, E. J., Achenjang, F. M. Energy-dependent uptake of arsenite by rat liver mitochondria. *Biochem. J.*, **168**, 129-132 (1977).
- 151) Levander, O. A., Baumann, C. A. Selenium metabolism. VI. Effect of arsenic on the excretion of selenium in the bile. *Toxicol. Appl. Pharm.*, **9**, 106-115 (1966).
- 152) Dutkiewicz, T. Experimental studies on arsenic absorption routes in rats. *Environ. Health Persp.*, **19**, 173-177 (1977).
- 153) Sharpless, G. R., Metzger, M. Arsenic and goiter. *J. Nutr.*, **21**, 341-346 (1941).
- 154) Kotyzova, D., Eybl, V., Mihaljevic, M., Glattre, E. Effect of long-term administration of arsenic(III) and bromine with and without selenium and iodine supplementation on the element level in the thyroid of rat. *Biomed. Pap.*, **149**, 329-333 (2005).
- 155) Nozaki, S. Arsenic metabolism. VI. Effect of components of milk on arsenic tolerance in the digestive tract. *Nippon Yakurigaku Zasshi*, **68**, 857-868 (1972).
- 156) Tamura, S., Nozaki, S., Tsuzuki, S. Arsenic metabolism. IV. Effect of food on arsenic tolerance in the digestive tract. *Nippon Yakurigaku Zasshi*, **68**, 586-601 (1972).
- 157) Nozaki, S. Arsenic metabolism. VII. Added arsenite in the diet and the resulting content in each organ, as well as the effect of the diet. *Nippon Yakurigaku Zasshi*, **69**, 201-212 (1973).
- 158) Anke, M. "Arsenic". Trace Elements in Human and Animal Nutrition, Vol. 2. Mertz, W., ed. Orlando, Florida, Academic Press, 1986, p. 347-372.
- 159) Nielsen, F. H., Givand, S. H., Myron, D. R. Evidence of a possible requirement for arsenic by the rat. *Fed. Proc.*, **34**, 923, 1975.
- 160) Nielsen, F. H., Uthus, E. O. "Arsenic". Biochemistry of the Elements, Vol. 3 (Biochemistry of the Essential Ultratrace Elements). Frieden, E., ed. New York, USA, Plenum Press, 1984, p. 319-340.
- 161) Uthus, E. O. Arsenic essentiality: A role affecting methionine metabolism. *J. Trace Elem. Exp. Med.*, **16**, 345-355 (2003).
- 162) Anke, M., Muller, R., Schafer, U. Recent progress in exploring the essentiality of the non-metallic ultratrace element arsenic to the nutrition of animals and man. *Biomed. Res. Trace Elements*, **16**, 188-197 (2005).
- 163) Nielsen, F. H. Nutritional requirements for boron, silicon, vanadium, nickel, and arsenic: Current knowledge and speculation. *FASEB J.*, **5**, 2661-2667 (1991).
- 164) Hove, E., Elvehjem, C. A., Hart, E. B. Arsenic in the nutrition of the rat. *Am. J. Physiol.*, **124**, 205-212 (1938).
- 165) Hunter, F. T., Kip, A. F., Irvine, J. W. Jr. Radioactive tracer studies on arsenic injected as potassium arsenite. I. Excretion and localization in tissues. *J. Pharmacol. (Paris)*, **76**, 207-220 (1942).
- 166) Lanz, H. Jr., Wallace, P. C., Hamilton, J. G. Metabolism of arsenic in laboratory animals with arsenic⁷⁴ as a tracer. University of California Publications in Pharma-

- cology, **2**, 263–282 (1950).
- 167) Urakubo, G., Hasegawa, A., Nakaura, S. Fate of poisonous metals in experimental animals. V. Body retention and excretion of arsenic. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* (J. Food Hyg. Soc. Japan), **16**, 334–336 (1975).
- 168) Brima, E. I., Haris, P. I., Jenkins, R. O., Polya, D. A., Gault, A. G., Harrington, C. F. Understanding arsenic metabolism through a comparative study of arsenic levels in the urine, hair and fingernails of healthy volunteers from three unexposed ethnic groups in the United Kingdom. *Toxicol. Appl. Pharm.*, **216**, 122–130 (2006).
- 169) Le, X. C., Cullen, W. R., Reimer, K. J. Human urinary arsenic excretion after one-time ingestion of seaweed, crab, and shrimp. *Clin. Chem.*, **40**, 617–624 (1994).
- 170) Chung, J. S., Kalman, D. A., Moore, L. E., Kosnett, M. J., Arroyo, A. P., Beeris, M., Guha Mazumder, D. N., Hernandez, A. L., Smith, A. H. Family correlations of arsenic methylation patterns in children and parents exposed to high concentrations of arsenic in drinking water. *Environ. Health Persp.*, **110**, 729–733 (2002).
- 171) Johnson, L. R., Farmer, J. G. Use of human metabolic studies and urinary arsenic speciation in assessing arsenic exposure. *B. Environ. Contam. Toxicol.*, **46**, 53–61 (1991).
- 172) Le, X. C., Ma, M. Short-column liquid chromatography with hydride generation atomic fluorescence detection for the speciation of arsenic. *Anal. Chem.*, **70**, 1926–1933 (1998).
- 173) Ma, M., Le, X. C. Effect of arsenosugar ingestion on urinary arsenic speciation. *Clin. Chem.*, **44**, 539–550 (1998).
- 174) Matsuura, H., Asano, M., Hasegawa, T., Umemura, T., Haraguchi, H. Speciation and excretion patterns of arsenic metabolites in human urine after ingestion of edible seaweed, *Hizikia fusiforme*. *B. Chem. Soc. Jpn.*, **78**, 1977–1981 (2005).
- 175) Lai, V. W.-M., Sun, Y., Ting, E., Cullen, W. R., Reimer, K. J. Arsenic speciation in human urine: Are we all the same? *Toxicol. Appl. Pharm.*, **198**, 297–306 (2004).
- 176) Christian, W. J., Hopenhayn, C., Centeno, J. A., Todorov, T. Distribution of urinary selenium and arsenic among pregnant women exposed to arsenic in drinking water. *Environ. Res.*, **100**, 115–122 (2006).
- 177) Gamble, M. V., Liu, X., Ahsan, H., Pilsner, J. R., Ilievski, V., Slavkovich, V., Parvez, F., Levy, D., Factor-Litvak, P., Graziano, J. H. Folate, homocysteine, and arsenic metabolism in arsenic-exposed individuals in Bangladesh. *Environ. Health Persp.*, **113**, 1683–1688 (2005).
- 178) Challenger, F. Biological methylation. *Chem. Rev.*, **36**, 315–361 (1945).
- 179) Jiang, G., Gong, Z., Li, X., Cullen, W. R., Le, X. C. Interaction of trivalent arsenicals with metallothionein. *Chem. Res. Toxicol.*, **16**, 873–880 (2003).
- 180) Vahter, M. Mechanisms of arsenic biotransformation. *Toxicology*, **181–182**, 211–217 (2002).
- 181) Hayakawa, T., Kobayashi, Y., Cui, X., Hirano, S. A new metabolic pathway of arsenite: Arsenic–glutathione complexes are substrates for human arsenic methyltransferase Cyt19. *Arch. Toxicol.*, **79**, 183–191 (2005).
- 182) Chowdhury, U. K., Zakharyan, R. A., Hernandez, A., Avram, M. D., Kopplin, M. J., Aposhian, H. V. Glutathione-S-transferase-omega [MMA(V) reductase] knockout mice: Enzyme and arsenic species concentrations in tissues after arsenate administration. *Toxicol. Appl. Pharm.*, **216**, 446–457 (2006).
- 183) Kala, S. V., Neely, M. W., Kala, G., Prater, C. I., Atwood, D. W., Rice, J. S., Lieberman, M. W. The MRP2/cMOAT transporter and arsenic–glutathione complex formation are required for biliary excretion of arsenic. *J. Biol. Chem.*, **275**, 33404–33408 (2000).
- 184) Kobayashi, Y., Hirano, S. Effects of endogenous hydrogen peroxide and glutathione on the stability of arsenic metabolites in rat bile. *Toxicol. Appl. Pharm.*, **232**, 33–40 (2008).
- 185) Gailer, J., Madden, S., Cullen, W. R., Denton, M. B. The separation of dimethylarsinic acid, methylarsonous acid, methylarsonic acid, arsenate and dimethylarsinous acid on the Hamilton PRP-X100 anion-exchange column. *Appl. Organomet. Chem.*, **13**, 837–843 (1999).
- 186) Mandal, B. K., Ogura, Y., Suzuki, K. T. Identification of dimethylarsinous and monomethylarsonous acids in human urine of the arsenic-affected areas in West Bengal, India. *Chem. Res. Toxicol.*, **14**, 371–378 (2001).
- 187) Francesconi, K. A., Tanggaard, R., McKenzie, C. J., Goessler, W. Arsenic metabolites in human urine after ingestion of an arsenosugar. *Clin. Chem.*, **48**, 92–101 (2002).
- 188) Suzuki, K. T., Mandal, B. K., Ogra, Y. Speciation of arsenic in body fluids. *Talanta*, **58**, 111–119 (2002).
- 189) Le, X. C., Lu, X., Ma, M., Cullen, W. R., Aposhian, H. V., Zheng, B. Speciation of key arsenic metabolic intermediates in human urine. *Anal. Chem.*, **72**, 5172–5177 (2000).
- 190) Del Razo, L. M., Styblo, M., Cullen, W. R., Thomas, D. J. Determination of trivalent methylated arsenicals in biological matrices. *Toxicol. Appl. Pharm.*, **174**, 282–293 (2001).
- 191) Valenzuela, O. L., Borja-Aburto, V. H., Garcia-Vargas, G. G., Cruz-Gonzalez, M. B., Garcia-Montalvo, E. A., Calderon-Aranda, E. S., Del Razo, L. M. Urinary trivalent methylated arsenic species in a population chronically exposed to inorganic arsenic. *Environ. Health Persp.*, **113**, 250–254 (2005).
- 192) Hansen, H. R., Raab, A., Jaspars, M., Milne, B. F., Feldmann, J. Sulfur-containing arsenical mistaken for dimethylarsinous acid [DMA(III)] and identified as a natural metabolite in urine: Major implications for studies on arsenic metabolism and toxicity. *Chem. Res. Toxicol.*, **17**, 1086–1091 (2004).
- 193) Gong, Z., Lu, X., Cullen, W. R., Le, X. C. Unstable trivalent arsenic metabolites, monomethylarsonous acid and dimethylarsinous acid. *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **16**, 1409–1413 (2001).
- 194) Yoshida, K., Kuroda, K., Inoue, Y., Chen, Y., Wani-buchi, H., Fukushima, S., Endo, G. Metabolites of ar-

- senobetaine in rats: Does decomposition of arsenobetaine occur in mammals? *Appl. Organomet. Chem.*, **15**, 271-276 (2001).
- 195) Yoshida, K., Kuroda, K., Zhou, X., Inoue, Y., Date, Y., Wanibuchi, H., Fukushima, S., Endo, G. Urinary sulfur-containing metabolite produced by intestinal bacteria following oral administration of dimethylarsinic acid to rats. *Chem. Res. Toxicol.*, **16**, 1124-1129 (2003).
- 196) Aposhian, H. V., Aposhian, M. M. Arsenic toxicology: Five questions. *Chem. Res. Toxicol.*, **19**, 1-15 (2006).
- 197) Ritsema, R., Dukan, L., Navarro, T. R. I., Leeuwen, W. V., Oliveira, N., Wolfs, P., Lebret, E. Speciation of arsenic compounds in urine by LC-ICP MS. *Appl. Organomet. Chem.*, **12**, 591-599 (1998).
- 198) Vahter, M. Species differences in the metabolism of arsenic compounds. *Appl. Organomet. Chem.*, **8**, 175-182 (1994).
- 199) Vahter, M., Marafante, E., Dencker, L. Metabolism of arsenobetaine in mice, rats and rabbits. *Sci. Total Environ.*, **30**, 197-211 (1983).
- 200) Goessler, W., Schlagenhaufen, C., Kuehnelt, D., Greschnig, H., Irgolic, K. J. Can humans metabolize arsenic compounds to arsenobetaine? *Appl. Organomet. Chem.*, **11**, 327-335 (1997).
- 201) Buchet, J. P., Lison, D., Ruggeri, M., Foa, V., Elia, G. Assessment of exposure to inorganic arsenic, a human carcinogen, due to the consumption of seafood. *Arch. Toxicol.*, **70**, 773-778 (1996).
- 202) Yamauchi, H., Kaise, T., Takahashi, K., Yamamura, Y. Toxicity and metabolism of trimethylarsine in mice and hamsters. *Fund. Appl. Toxicol.*, **14**, 399-407 (1990).
- 203) Edmonds, J. S. Can humans metabolize arsenic compounds to arsenobetaine? *Appl. Organomet. Chem.*, **12**, 515-517 (1998).
- 204) Hansen, H. R., Jaspars, M., Feldmann, J. Arsinothioyl-sugars produced by *in vitro* incubation of seaweed extract with liver cytosol analysed by HPLC coupled simultaneously to ES-MS and ICP-MS. *Analyst*, **129**, 1058-1064 (2004).
- 205) Van Hulle, M., Zhang, C., Schotte, B., Mees, L., Vanhaecke, F., Vanholder, R., Zhang, X. R., Cornelis, R. Identification of some arsenic species in human urine and blood after ingestion of Chinese seaweed *Laminaria*. *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **19**, 58-64 (2004).
- 206) Feldmann, J., John, K., Pengprecha, P. Arsenic metabolism in seaweed-eating sheep from Northern Scotland. *Fresen. J. Anal. Chem.*, **368**, 116-121 (2000).
- 207) Hansen, H. R., Raab, A., Francesconi, K. A., Feldmann, J. Metabolism of arsenic by sheep chronically exposed to arsenosugars as a normal part of their diet. I. Quantitative intake, uptake and excretion. *Environ. Sci. Technol.*, **37**, 845-851 (2003).
- 208) Hansen, H. R., Pickford, R., Thomas-Oates, J., Jaspars, M., Feldmann, J. 2-Dimethylarsinothioyl acetic acid identified in a biological sample: The first occurrence of a mammalian arsinothioyl metabolite. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **43**, 337-340 (2004).
- 209) Lu, X., Arnold, L. L., Cohen, S. M., Cullen, W. R., Le, X. C. Speciation of dimethylarsinous acid and trimethylarsine oxide in urine from rats fed with dimethylarsinic acid and dimercaptopropane sulfonate. *Appl. Organomet. Chem.*, **75**, 6463-6468 (2003).
- 210) Gamble, B. M., Gallagher, P. A., Shoemaker, J. A., Wei, X., Schwegel, C. A., Creed, J. T. An investigation of the chemical stability of arsenosugars in simulated gastric juice and acidic environments using IC-ICP-MS and IC-ESI-MS/MS. *Analyst*, **127**, 781-785 (2002).
- 211) Gamble, B. M., Gallagher, P. A., Shoemaker, J. A., Parks, A. N., Freeman, D. M., Schwegel, C. A., Creed, J. T. An investigation of the chemical stability of arsenosugars in basic environments using IC-ICP-MS and IC-ESI-MS/MS. *Analyst*, **128**, 1458-1461 (2003).
- 212) Schmeisser, E., Goessler, W., Francesconi, K. A. Human metabolism of arsenolipids present in cod liver. *Anal. Bioanal. Chem.*, **385**, 367-376 (2006).
- 213) Soeroes, Cs., Kienzl, N., Ipolyi, I., Dernovics, M., Fodor, P., Kuehnelt, D. Arsenic uptake and arsenic compounds in cultivated *Agaricus bisporus*. *Food Control*, **16**, 459-464 (2005).
- 214) Naranmandura, H., Ibata, K., Suzuki, K. T. Toxicity of dimethylmonothioarsinic acid toward human epidermoid carcinoma A 431 cells. *Chem. Res. Toxicol.*, **20**, 1120-1125 (2007).
- 215) Suzuki, N., Naranmandura, H., Hirano, S., Suzuki, K. T. Theoretical calculations and reaction analysis on the interaction of pentavalent thioarsenicals with bio-relevant thiol compounds. *Chem. Res. Toxicol.*, **21**, 550-553 (2008).
- 216) Naranmandura, H., Suzuki, N., Suzuki, K. T. Reaction mechanism underlying the *in vitro* transformation of thioarsenicals. *Toxicol. Appl. Pharm.*, **231**, 328-335 (2008).
- 217) Naranmandura, H., Suzuki, K. T. Formation of dimethylthioarsenicals in red blood cells. *Toxicol. Appl. Pharm.*, **227**, 390-399 (2008).
- 218) Schmeisser, E., Raml, R., Francesconi, K. A., Kuehnelt, D., Lindberg, A., Soeroes, C., Goessler, W. Thioarsenosugars identified as natural constituents of mussels by liquid chromatography-mass spectrometry. *Chem. Commun.*, **16**, 1824-1825 (2004).
- 219) Wolfe-Simon, F., Davies, P. C. W., Anbar, A. D. Did nature also choose arsenic? *Int. J. Astrobiol.*, **8**, 69-74 (2009).