

〈資料〉

## 生物試料におけるヒ素の化学形態別分析とその意義

畑 明寿<sup>1)</sup>、藤谷 登<sup>2)</sup>

### Significance of arsenic speciation analysis in biological samples

Akihisa Hata<sup>1)</sup> and Noboru Fujitani<sup>2)</sup>

**Summary** Arsenic analysis in biological samples is carried out in multiple fields of human health, such as occupational health, environmental health, food hygiene, and emergency medicine, and in the development of pharmaceutical products. The toxicity of arsenic compounds is dependent on their chemical structure. Therefore, speciation analysis of arsenic in biological samples is necessary. Mass spectrometry is frequently used for quantitation and identification of arsenic species. Analytical condition, quality control, and sample preparation in mass spectrometry are important for the speciation analysis of arsenic compounds.

**Key words:** arsenic, speciation analysis, mass spectrometry, quality control

#### I. はじめに

ヒ素（元素記号As）は原子番号33、原子量74.9216、周期表15族に属する、「毒」の印象が強い元素である。ヒ素は地殻、土壌、大気、河川水、地下水、海水など自然環境中に普遍的に存在しており、あらゆる生物に含まれている。我々人間も呼吸や飲食を通じて日常的にヒ素に曝露している。本稿では生物試料に含まれるヒ素を分析する意義とそれに関わる分析の概要に

ついて述べる。

#### II. 生物試料におけるヒ素分析の意義

##### 1. ヒ素の毒性と化学形態

ヒ素は大きく無機ヒ素と有機ヒ素に分類される。地殻中では無機ヒ素として存在し、これが火山活動、風化、侵食を受けて水や大気環境へと移行する。プランクトンや動植物に取り込まれた無機ヒ素は代謝され、様々な有機ヒ素化合

<sup>1)</sup>岡山理科大学獣医学部、〒794-8555 愛媛県今治市いこいの丘1-3、TEL：0898-52-9197、e-mail：a-hata@vet.ous.ac.jp

<sup>2)</sup>岡山理科大学生物医科学検査研究センター、〒794-8555 愛媛県今治市いこいの丘1-3、TEL：0898-52-9223、e-mail：nfujitani@edu.kake.ac.jp

<sup>1)</sup>Faculty of Veterinary Medicine, Okayama University of Science. Ikoino-oka 1-3, Imabari, Ehime, 794-8555, Japan, TEL. +81-898-52-9197, e-mail: a-hata@vet.ous.ac.jp

<sup>2)</sup>Biomedical Science Examination and Research Center, Okayama University of Science. Ikoino-oka 1-3, Imabari, Ehime, 794-8555, Japan, TEL. +81-898-52-9223, e-mail: nfujitani@edu.kake.ac.jp

受領日：2019年2月12日

受理日：2019年2月20日

物となる<sup>1,2)</sup>。代表的なヒ素化合物の化学形態を Fig. 1に示した。ヒトの場合、無機ヒ素は主に肝臓でメチル化を受け、モノメチルアルソン酸 (MMA) やジメチルアルシン酸 (DMA) へと代謝された後に尿中排泄される。一般的に海洋生物は陸上生物に比べ有機ヒ素化合物が豊富に含まれる傾向がある。海藻などの海洋植物は無機ヒ素をアルセノシュガー (AsSug) やアルセノリピッド (AsLipid) へと変換して組織に蓄積している。海洋微生物やプランクトンは無機ヒ素をDMAなどに変換しており、これを魚介類が捕食しアルセノベタイン (AsBe) や AsLipidへと代謝して蓄積している<sup>3)</sup>。

ヒ素は毒物としての印象が強い元素であるが、毒性はその化学形態によって大幅に異なる。先ず急性毒性を大まかに見ると、無機ヒ素の毒性は有機ヒ素に比べ強い。その例として、無機ヒ素の中でも亜ヒ酸 (AsIII) の急性毒性は強く、LD50は20 mg/kg bw (ラット・経口) である。一方、有機ヒ素であるAsBeのLD50は>10,000 mg/kg bw (ラット・経口) であり、毒性は極めて弱いといえる<sup>4)</sup>。続いて慢性毒性についてみると、ここでも無機ヒ素が問題となっており、慢性曝露と発がんとの関連が疫学的に示されて

いる<sup>5-8)</sup>。無機ヒ素による発がんには、無機ヒ素メチル化過程で生じる3価DMAや硫化型DMAの関与が疑われている<sup>9-12)</sup>。従来、無機ヒ素のメチル化代謝は解毒機構と考えられてきたが再考が必要となっている。国際がん研究機関 (International Agency for Research on Cancer ; IARC) の発がんリスク分類では、無機ヒ素 (As III、As V) をGroup 1 (ヒトに対して発がん性がある)、無機ヒ素代謝により生じるメチル化ヒ素 (MMA、DMA) をGroup 2B (ヒトに対して発がん性がある可能性がある)、海産動物に多く含まれるAsBeなど代謝を受けない有機ヒ素をGroup 3 (人に対するは発がん性については分類できない (ヒト体内代謝物を除く)) に分類している<sup>13)</sup>。海産食品に含まれるAsSug、AsLipidについては情報が不足しており未評価となっている。以上の通り、ヒ素はその化学形態により全く異なった毒性を示すため、食品に含まれるヒ素のリスク評価を行う場合、毒性の全く異なるAsBeとAsIIIの濃度を合わせた「総ヒ素」を用いて評価することは不適切であることが理解いただけると思う。そのためヒ素分析においては、ヒ素種ごとの化学形態別分析が極めて重要となる。

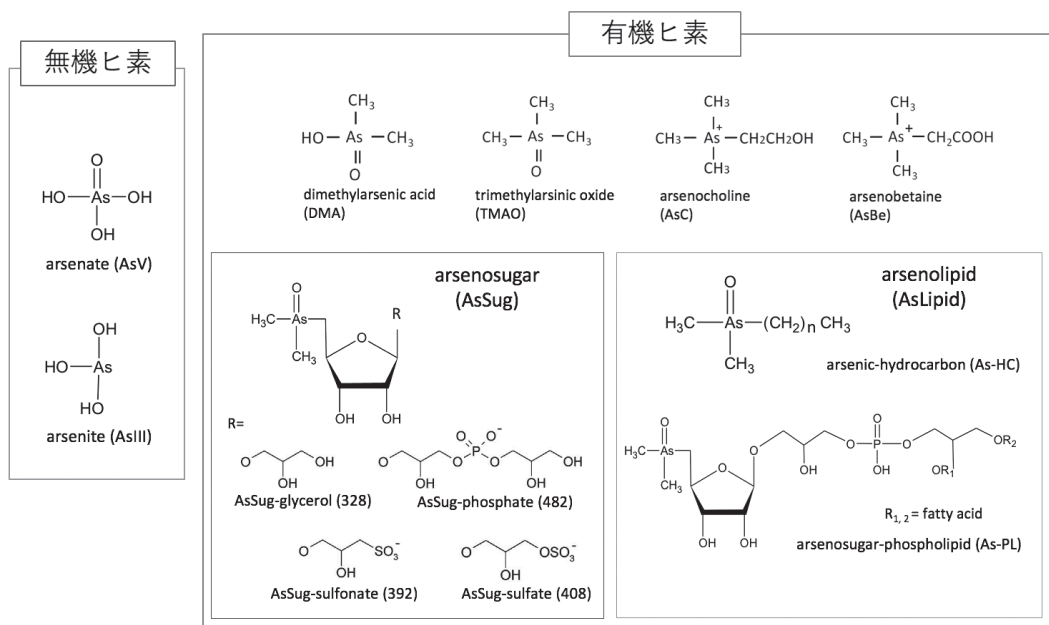


Fig. 1 代表的なヒ素化合物の化学形態

## 2. ヒ素の工業利用

ヒ素は古くから工業材料や医薬品として活用されており、我々の生活に欠かせない元素である。かつては農薬や殺虫剤、ガラス製造などに使用されてきた。近年は半導体の性能を向上させるための添加剤などに用いられている。現在、産業用のヒ素は海外からの輸入が大半を占めるが、1920～1950年代には宮崎県の土呂久鉦山、鳥根県の笹ヶ谷鉦山にて硫砒鉄鉦を焼いて亜ヒ酸の製造が盛んに行われていた。これによりヒ素を含む煙は鉦山周辺の環境を汚染し、住民に慢性ヒ素中毒症などの深刻な健康被害をもたらした歴史がある。産業用としては主に無機ヒ素化合物が取り扱われており、このような職場では曝露対策を講じる必要がある。直接ヒ素を扱わない職場であっても、金属製錬や石炭火力発電などヒ素を含む鉦石を取り扱う作業所ではヒ素が飛散するため対策が必要となる。ヒ素およびその化合物を取扱う場合は労働安全衛生法により規定が設けられており、特殊健診の際には医師の判断により、尿中ヒ素の生物学的モニタリングが実施される。生物学的モニタリングとは有害物質に曝露している労働者の血液や尿などに含まれる対象の化学物質または代謝物を測定し、個人の曝露の程度を推定するものである。一般的な臨床検査と同様、生物学的モニタリングを行うには、指標物質（バイオマーカー）、安定性のある分析法、指標値が不可欠となる。なお無機ヒ素とその代謝物は主に尿に排泄されるため分析試料には尿が用いられる。米国では、指標物質として尿中無機ヒ素、MMA、DMAの合計値となっている<sup>14)</sup>。我々は日本に適した指標物質を検討するため、日本人の尿中ヒ素の組成を調査した。その結果、職業性無機ヒ素曝露が無い者でも尿から多量のDMAが検出されることを明らかにした<sup>15)</sup>。これは、日本では海産食品の摂取習慣があり、海産食品に含まれるAsSugやAsLipがDMAへと代謝されるためである。そこで、海産食品摂取の影響を受け難くするため無機ヒ素とMMAの合計値を指標物質として用いることを提案し、これを精度良く分析する条件の開発と<sup>16)</sup>、指標値の提案を行った<sup>17)</sup>。

## 3. 医薬品としての利用

ヒ素の医薬品としての歴史はヒポクラテスの

時代から記録されており、西洋医学と東洋医学の両方で感染症や悪性腫瘍などの治療に利用されてきた。近代の医薬品としては梅毒治療薬のサルバルサンが有名で、有効成分は有機ヒ素化合物である。ヒ素による副作用があるものの、抗生物質が開発されるまで多用されていた。現代では急性前骨髄球性白血病治療剤のトリセノックスに無機ヒ素化合物、末梢性T細胞リンパ腫治療剤グリナバルシンに有機ヒ素化合物が有効成分として利用されている。

## 4. ヒ素急性中毒と救急医療

1998年の和歌山カレー毒物混入事件を契機に、中毒起因物質を究明するための分析装置が国内73箇所の救命救急センターに導入された。主な分析項目は日本中毒学会が推奨する15品目であり、その中にはヒ素も含まれている<sup>18)</sup>。中毒分析の体制を備えている医療施設は平成26年度診療報酬改定では急性薬毒物中毒加算が行われており、『急性中毒が疑われる患者の原因物質について、日本中毒学会が作成する「急性中毒標準診療ガイド」における機器分析法に基づく機器分析を当該保険医療機関において行い、必要な救命救急管理を実施した場合に算定する。』とされている。分析業務は主に医師、薬剤師、臨床検査技師が担っており、卒前教育に取り入れている教育機関もある<sup>19)</sup>。

## 5. 地下水からの無機ヒ素曝露

自然由来の無機ヒ素曝露問題の代表的なものとして、地層から溶出した無機ヒ素に汚染された地下水の飲用や農業利用によるものがあり、アルゼンチン、チリ、中国、台湾、インド、バングラデシュ、メキシコ、アメリカなど、世界各地で数千万人が慢性曝露を受けている。特にバングラデシュとインド西ベンガル州は健康被害が大規模なものとなっており、曝露実態を知るための調査が各地で実施されている。我々もバングラデシュの井戸水と住民の尿中ヒ素分析に参加した経験があり、その結果を基にバングラデシュ政府が実施している無機ヒ素曝露低減策の有効性の検証を行った<sup>20)</sup>。また、尿中ヒ素化合物の化学形態別分析の結果から、無機ヒ素曝露の生物学的モニタリングにおける指標物質の検討を行った<sup>21)</sup>。

## 6. 地下水からの有機ヒ素曝露

2003年、茨城県神栖市にて地下水の有機ヒ素汚染による健康被害（主に神経症状）が発覚した。原因となったヒ素は自然界には存在しない有機ヒ素化合物のジフェニルアルシン酸（DPAA）であった。DPAAは毒ガスの原料としても利用されていたヒ素化合物で、何者かにより土中に不法投棄され、これが地下水に混入したと報告されている。DPAAの毒性について基礎的なデータは乏しく、発症メカニズム、治療法などを探るための研究が行われている<sup>22)</sup>。

## 7. 食品に含まれるヒ素

食品安全委員会は平成25年に食品中のヒ素の健康影響評価を行い、日本において食品を通じて摂取したヒ素による明らかな健康被害が認められていないため、特段の措置は必要とは考えられないが、ヒ素に毒性があることは明らかであるので、関係する行政機関に対して食品のヒ素汚染の実態把握、リスク低減法の研究の充実を要請した。さらに有害性評価を行うためには日本の通常生活におけるヒ素摂取量とその影響を調べる疫学調査の必要性、有機ヒ素についてさらなるデータ蓄積が必要、との評価を示した<sup>23)</sup>。食品に含まれるヒ素は自然に存在するヒ素が農産物や海産食品に移行したものである。現在、日本人は食品を通じて摂取する総ヒ素のうち、ほとんどを魚介類、海藻類、米から摂取している。無機ヒ素については米と海藻のヒジキからの摂取割合が高いことが判明している<sup>24)</sup>。

## 8. 食品からの無機ヒ素曝露

ヒ素のように意図せずに食品に含まれる有害化学物質については、「生産から消費の段階で適切な措置を講じて合理的に可能な範囲で食品に含まれる量を減らすべき」というのが、国際的に合意された考え方である。ヒジキについては調理法の工夫（ゆでこぼし作業）により含有する無機ヒ素を大幅に低減させることが可能とされている<sup>25)</sup>。米については生育方法の改良や新品種の開発などによる無機ヒ素の低減対策が検討されている<sup>26)</sup>。なお精米中の無機ヒ素の規格は、国際的な食品規格を定めているコーデックス委員会の規格では0.2 mg/kgとされている。日本国内における食品関連のヒ素の規制として

は、食品衛生法により農作物の残留農薬（現在ヒ素を有効成分とした農薬は日本では登録されていない）、ミネラルウォーター、食品添加物、包装容器等の設定がある。一方、米、海産食品、畜産食品に対するヒ素の規格は無い。

## 9. 食品からの有機ヒ素曝露

海産食品に豊富に含まれるAsSugやAsLipidは、それ自体の毒性はいずれも弱いとされている。しかしながらこれら有機ヒ素は人の体内で代謝され、様々な代謝物が生じることが判明している<sup>27-29)</sup>。我々は諸外国に比べ海産食品を多量に摂取している。そのため有機ヒ素摂取の健康リスク評価が必要と考えられる。評価に必要な情報としては、食品中のヒ素化学種ごとの含有量、その食品の1日あたり摂取量、含まれるヒ素の代謝・排泄メカニズム、代謝中間体や代謝産物の毒性などが挙げられ、情報の蓄積が進められている。

## Ⅲ. 生物試料中ヒ素分析の概要

無機ヒ素およびヒ素化合物はその毒性により環境衛生、食品衛生、労働衛生分野において様々な規制の対象となっており、基準値はヒ素元素の濃度として10 ppb～数ppmと微量である。分析対象となる生物試料には、分析装置の感度変動やアーチファクトの原因となるタンパク質、糖質、脂質などのマトリックスが多く含まれている。また近年ではヒ素の化学形態別分析も不可欠となりつつある。本項では生物試料におけるヒ素の化学形態別分析法とその精度管理を中心に述べる。

### 1. 分析装置

生物試料中の総ヒ素濃度を測定する場合、水素化物発生（HG）-原子吸光度法（AAS）、誘導結合プラズマ（ICP）-質量分析装置（MS）、蛍光X分析装置（XRF）のような元素分析装置が利用される。いずれの装置も分析原理による長所と短所がある。例えば、現在、生物試料のヒ素分析に広く用いられるICP-MSの場合、高感度かつダイナミックレンジが広いことが長所として挙げられる。一方、測定対象元素のイオンと質量電荷数比（ $m/z$ ）がオーバーラップす

るイオンのスペクトル干渉が問題となる。ヒ素イオン ( $^{75}\text{As}^+$ ) の場合では二価イオン ( $^{150}\text{Sm}^{++}$ ,  $^{150}\text{Nd}^{++}$ ) や試料中マトリックスやプラズマ由来の多原子イオン ( $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ ,  $^{40}\text{Ca}^{35}\text{Cl}^+$ ) の干渉が生じ、対策を取らない場合には偽高値となる。特に尿や血液、海産食品はClイオンが高濃度に含まれるため、キャリアーガスのアルゴン (Ar) と装置内で反応し $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ が生成されやすい。このようなスペクトル干渉の低減には、コリジョン・リアクションセルやマスシフト法などの技術が利用される<sup>30)</sup>。生物試料の多くはマトリックス濃度が高くイオン化効率が変化して感度が変動する。そのため、正確な定量値を得るためには標準添加法や内部標準法を用いる。

ICP-MSは高温 (6,000~10,000 K) のプラズマをイオン源として用いており、導入された化合物は原子化されイオンとなる。従って化合物の化学構造に関する情報は失われる。そこでヒ素種ごとの化学形態別測定の場合、高速液体クロマトグラフ (HPLC) とICP-MSを結合させたHPLC-ICP-MSが用いられる。生物試料のヒ素分析に多用されているHPLCの分離モードはイオン交換および逆相クロマトグラフィーである。ヒ素種の同定と定量は、各ヒ素種標準物質のリテンションタイムとピーク面積を用いる。海産食品や尿には複数のヒ素化合物が含まれており、クロマトグラムのリテンションタイムが近接する場合も珍しくない。そのため我々は、分離モードの異なる陰イオン交換と陽イオン交換カラムを複数用いてヒ素種の確認を行っている。またヒ素化合物がHPLCカラム充填剤に吸着することもあるため、総ヒ素分析値と化学形態別分析の合計値を比較して乖離がないことを確認している。

なお、ICP-MSに導入できる移動相には注意が必要となる。標準仕様のICP-MSでは有機溶媒濃度が高い移動相はプラズマを不安定にさせるほか、煤が装置内部のサンプリングコーンに付着しMSへの試料導入を妨げてしまうため不適である。高濃度の有機溶媒を導入する場合は専用の導入系を利用する必要がある。ほかにも不揮発性成分の濃度にも注意が必要である。例えばHPLC分析の移動相として多用されるリン酸緩衝液を長時間導入するとサンプリングコーンに塩が析出し正確な分析ができない。

上述のとおり、ICP-MSに導入された化合物の化学構造情報は失われてしまう。そのためHPLC-ICP-MS分析において標準物質が無いヒ素化合物の同定は不可能である。我々が海産食品や、これを摂取した者の尿中ヒ素分析を行った際、HPLC-ICP-MSクロマトグラムに検出されたピークの半数近くが標準物質のリテンションタイムと一致しない未知のヒ素化合物であった。そこでHPLC-ICP-MSに加え、化学構造の解析を得意とする液体クロマトグラフィー (LC) -MSを併用することとした。ヒ素化合物の分析には、MS/MS測定が可能な三連四重極型 (いわゆるタンデムマス) や四重極飛行時間型 (Q-TOF) LC-MSを用いている。後者は精密質量の測定が可能で、化合物組成と構造推定に有効となる。LC-MSは不揮発性成分を含む移動相が使用できないため、HPLC-ICP-MSのHPLC条件を移行できるとは限らない。我々は両装置に導入可能な酢酸-酢酸アンモニウム緩衝液や炭酸アンモニウム溶液を移動相に用いている。またLC-MSもマトリックスにより感度の変動が生じるため<sup>31)</sup>、対策を要することになる。

## 2. 標準物質

濃度のトレーサビリティが確保されたヒ素化合物の標準液は限られている。総ヒ素濃度の定量用としては、試薬メーカーからJCSSヒ素標準液 (原子吸光・ICP分析用) が販売されている。ヒ素種の化学形態別分析用としては、産業技術総合研究所 計量標準総合センターにてヒ酸 (AsV)、DMA、AsBe標準液が開発され頒布されており、試料中ヒ素化合物の同定と定量に用いられる。この他のヒ素化合物については、市販のヒ素化合物から標準液を自家調整することになる。ただしAsSugやAsLipidは市販されていない。AASやICP-MSではヒ素化合物の化学形態により分析感度が異なることから<sup>32)</sup>、標準物質の充実が望まれる。

## 3. 精度管理

生物および環境試料は様々なマトリックスを含むため、純粋な標準物質を用いて正確な分析値を求めることは難しい。そのような場合、分析試料と近い組成の標準物質 (組成標準物質)

が被験物質の値付けや分析方法の妥当性確認などに用いられる。これは臨床化学分野における各種血液成分の測定と同様である。ヒ素の値付けがされた組成標準物質は、国内では国立環境研究所（NIES）や産総研（NMIJ）等で研究開発が行われており、玄米、白米、ひじき、魚肉、ヒト尿などが入手可能である。近年では総ヒ素だけでなく、化学形態別分析用として無機ヒ素（AsV、III）やDMAの値付けがされた標準物質も開発されている。

#### 4. 試料調整

総ヒ素分析とヒ素種の化学形態別分析では試料調整法が大きく異なる。ここでも我々が尿や海産食品中のヒ素分析で経験した内容に少し触れながら概要を述べたい。なお、ヒ素濃度の規制値が示されている食品等については試料調整法と分析条件が示されているのでそちらを参照していただきたい。

総ヒ素分析の場合、基本的には試料中ヒ素の溶液化とマトリックス分解のため、熱と酸を用いた灰化が行われる。ヒ素の沸点は低く乾式灰化の場合揮発する恐れがあるため、湿式灰化が用いられる。サンプル量が少ない場合は密閉容器に試料と酸を加えマイクロウェーブにより加熱分解する方式が適しており、家庭用電子レンジに対応した分解容器もある。酸の種類は、ヒ素との反応性や試料の種類を考慮して選択する。尿や海産食品等の場合、我々は硝酸と過酸化水素を用いている。海産食品は凍結乾燥したものをミルミキサーと乳鉢で粉末化したものを用いる。分解した試料液を定容し、標準添加法または内部標準法により定量を行う。実試料の測定に先立ち、予め精度管理用の組織標準物質を用いて試料調整の妥当性を確認しておく必要がある。

化学形態別分析用の試料調整は、試料の性状と分析対象のヒ素種に合わせた条件検討を要する。尿や血清などの液体試料は適当に希釈し、HPLCサンプル用フィルターでろ過するだけで分析が可能である。固形試料中のヒ素化合物は抽出して溶液化する必要がある。その際、無機ヒ素やMMA、DMA、AsBeは熱や酸に強いが、AsSugやAsLipidは酸やアルカリで分解され易いため、化学的に温和な条件で抽出を行う。また、

多くのヒ素種は水溶性が高く水やメタノールによる抽出が可能であるが、AsLipidは水溶性が低いいため低極性溶媒を使用する。このように分析対象とするヒ素種の化学的性状に応じた方法を選択しなければならない。

例えば米の無機ヒ素を検出対象とする場合は、抽出溶媒として硝酸を用い、加熱により抽出する<sup>33)</sup>。海産食品のAsSugを分析対象とする場合は抽出溶媒として水やメタノール、AsLipidの場合はクロロホルムなどを用い、振盪や超音波による抽出が行われる。魚介類の組織が強固で抽出効率が低い場合は、タンパク分解酵素を用いることで抽出効率が改善できる場合がある<sup>34)</sup>。我々はワカメに含まれるヒ素の化学形態別分析を行った際に、抽出工程で大変苦労をした経験がある。ワカメの細胞は強固な細胞壁とその外側にある粘液の層で保護されているため細胞が破壊され難く、振盪や超音波、ビーズ破碎などの物理的破碎の効果は低かった。そこで酵素により粘液の主成分であるアルギン酸と細胞壁のセルロースを分解し、抽出効率を大幅に改善させることができた<sup>35)</sup>。

分析試料からのマトリックス除去、脱塩、対象成分の濃縮には固相抽出が用いられる。生物試料中ヒ素化合物の検出において、LC-MSはICP-MSに比べマトリックスの影響を受け感度が低下しやすいため、固相抽出によるクリーンアップと濃縮は分析に有効である。ただし、生物試料に含まれる様々なヒ素化合物を、単一の条件で均しく固相に捕捉できる訳ではなく、目的の化学種を定め個別に条件を検討することになる。

HPLC-ICP-MSによる化学形態別分析ではヒ素種ごとに検量線を作成し定量を行う。分析対象であるヒ素と同時に内部標準とする元素（ゲルマニウムなど）も測定し、感度補正に用いる。これに加え、精度管理試料を用いて試料調整から分析に至るまでの条件の妥当性を確認することで、より正確で精度の高い定量データを得ることができる。

#### IV. まとめ

本稿では生物試料に含まれるヒ素を分析する意義とそれに関わる分析の概要について解説し

た。生物試料におけるヒ素の分析は、労働衛生、環境衛生、食品衛生、救急医療、医薬品開発などの分野で行われている。ヒ素化合物の毒性はその化学形態に依存するため、化学形態別分析が不可欠とされている。近年、これにはHPLCを連結した質量分析装置が多用されている。生物試料におけるヒ素の化学形態別分析には、試料調整、分析条件の設定、精度管理が重要であり、これまで積み重ねられてきた生物試料分析の知見がきわめて有用となる。

COI報告書に記載したとおり、本論文内容に関連する著者（ら）の利益相反:なし

#### 文献

- 1) Hellweger FL and Lall U: Modeling the effect of algal dynamics on arsenic speciation in Lake Biwa. *Environ Sci Technol*, 38: 6716-23, 2004.
- 2) Khairul I, Wang QQ, Jiang YH, Wang C and Naranmandura H: Metabolism, toxicity and anticancer activities of arsenic compounds. *Oncotarget*, 8: 23905-23926, 2017.
- 3) Taylor V, Goodale B, Raab A, Schwerdtle T, Reimer K, Conklin S, Karagas MR, and Francesconi KA: Human exposure to organic arsenic species from sea-food. *Sci Total Environ*, 580: 266-282, 2017.
- 4) JECFA. 2011a. Food Additives Series: 63 [http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241660631\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241660631_eng.pdf) (accessed. Jan 2019)
- 5) Wu MM, Kuo TL, Hwang YH and Chen CJ: Dose-response relation between arsenic concentration in well water and mortality from cancers and vascular diseases. *Am J Epidemiol*, 130: 1123-32, 1989.
- 6) Kurttio P, Pukkala E, Kahelin H, Auvinen A and Pekkanen J: Arsenic concentrations in well water and risk of bladder and kidney cancer in Finland. *Environmental health perspectives*, 107: 705-710, 1999.
- 7) Chen CL, Chiou HY, Hsu LI, Hsueh YM, Wu MM, Wang YH and Chen CJ: Arsenic in drinking water and risk of urinary tract cancer: a follow-up study from northeastern Taiwan. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 19: 101-110, 2010.
- 8) Coglianor VJ, Baan R, Straif K, Grosse Y, Lauby-Secretan B, El Ghissassi F, Bouvard V, Benbrahim-Tallaa L, Guha N, Freeman C, Galichet L and Wild CP: Preventable exposures associated with human cancers. *J Natl Cancer Inst*, 103: 1827-1839, 2011.
- 9) Kligerman AD, Doerr CL, Tennant AH, Harrington-Brock K, Allen JW, Winkfield E, Poorman-Allen P, Kundu B, Funasaka K, Roop BC, Mass MJ and DeMarini DM: 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.
- 10) Leffers L, Ebert F, Taleshi MS, Francesconi KA and Schwerdtle T: In vitro toxicological characterization of two arsenosugars and their metabolites. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57: 1270-1282, 2013.
- 11) Mandal BK, Ogra Y and Suzuki KT: 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.
- 12) Naranmandura H, Ogra Y, Iwata K, Lee J, Suzuki KT, Weinfeld M and Le XC: Evidence for toxicity differences between inorganic arsenite and thioarsenicals in human bladder cancer cells. *Toxicol Appl Pharmacol*, 238: 133-140, 2009.
- 13) International Agency for Research on Cancer (IARC): IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans 100C Arsenic and arsenic compounds. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2012.
- 14) American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH): Documentation of biological exposure index: arsenic, suppl. Cincinnati: ACGIH, 1996.
- 15) Hata A, Endo Y, Nakajima Y, Ikebe M, Ogawa M, Fujitani N and Endo G: HPLC-ICP-MS speciation analysis of arsenic in urine of Japanese subjects without occupational exposure. *J Occup Health*, 49: 217-223, 2007.
- 16) Suzuki Y, Shimoda Y, Endo Y, Hata A, Yamanaka K and Endo G: Rapid and effective speciation analysis of arsenic compounds in human urine using anion-exchange columns in HPLC-ICP-MS. *J Occup Health*, 51: 380-385, 2009.
- 17) Hata A, Kurosawa H, Endo Y, Yamanaka K, Fujitani N, Endo G: A biological indicator of inorganic arsenic exposure using the sum of urinary inorganic arsenic and monomethylarsonic acid concentrations. *J Occup Health*, 58: 196-200, 2016.
- 18) 吉岡敏治, 郡山一明, 植木真琴, 遠藤容子, 後藤京子, 近藤留美子, 奈女良昭, 屋敷幹雄: 薬毒物分析の指針に関する提言. *中毒研究*, 12: 437-41, 1999.
- 19) 友田吉則: 中毒医療に貢献できる薬剤師の育成日臨救急医学会誌 (JJSEM), 20: 689-694, 2017.
- 20) Habib A, Hayashi T, Sato K, Hata A, Ikebe M, Rahman F, Hassan P, Endo Y and Endo G: Effectiveness of arsenic mitigation program in Bangladesh-relation-

- ship between arsenic concentrations in well water and urine. *Osaka City Med J*, 53: 97-103, 2007.
- 21) Hata A, Yamanaka K, Habib A, 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*, 17: 235-245, 2012.
  - 22) 環境省: ジフェニルアルシン酸による健康影響について-茨城県神栖市における有機ヒ素化合物汚染-改訂第4版, <https://www.env.go.jp/chemi/report/h26-03/index.html>, 2018.
  - 23) 内閣府食品安全委員会: 化学物質・汚染物質, 食品中のヒ素, <http://www.fsc.go.jp/fsciis/evaluation-Documents/show/kya2009031900k>, 2013.
  - 24) Oguri T, Yoshinaga J, Tao H and Nakazato T: Inorganic arsenic in the Japanese diet: daily intake and source. *Arch Environ Contam Toxicol*, 66: 100-112, 2014.
  - 25) 農林水産省: ヒジキに含まれるヒ素の低減に向けた取組. [http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/kome/k\\_as/maff\\_hijiki.html](http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/kome/k_as/maff_hijiki.html) (accessed. Jan 2019)
  - 26) 荒尾知人: 農産物に含まれるカドミウム・ヒ素とそのリスク管理措置. *化学と生物*, 53(5): 330-334, 2015.
  - 27) Raml R, Goessler W, Traar P, Ochi T and Francesconi KA: Novel thioarsenic metabolites in human urine after ingestion of an arsenosugar, 2',3'-dihydroxypropyl 5-deoxy-5-dimethylarsinoyl-beta-D-ribose. *Chem Res Toxicol*, 18: 1444-1450, 2005.
  - 28) Raml R, Raber G, Rumpler A, Bauernhofer T, Goessler W and Francesconi KA: Individual variability in the human metabolism of an arsenic-containing carbohydrate, 2',3'-dihydroxypropyl 5-deoxy-5-dimethylarsinoyl-beta-D-ribose, a naturally occurring arsenical in seafood. *Chem Res Toxicol*, 22: 1534-1540, 2009.
  - 29) Schmeisser E, Goessler W and Francesconi KA: Human metabolism of arsenolipids present in cod liver. *Anal Bioanal Chem*, 385: 367-376, 2006.
  - 30) 山田憲幸, 高橋純一: コリジョン・リアクションセル技術の進展 -トリプル四重極型ICP-MSへ. *分析化学*, 67: 249-279, 2018.
  - 31) 望月直樹: 食の安全におけるLC-MS/MS分析の問題点. *薬学雑誌*, 131: 1019-1025, 2011.
  - 32) 成川知弘, 黒岩貴芳, 千葉光一: 原子スペクトル分析におけるヒ素化合物の化学形態に依存する分析感度差. *分析化学*, 58: 185-195, 2009.
  - 33) 独立行政法人農業環境技術研究所有害化学物質リスク管理リサーチプロジェクト: HPLC-ICPMSによる米(玄米・精米)中ヒ素化合物の形態別分析の標準作業手順書(SOP). Ver.1.1: 2016. <http://www.naro.affrc.go.jp/archive/niaes/techdoc/arsenic/>
  - 34) Branch S, Ebdon L and O'Neill P: Determination of arsenic species in fish by directly coupled high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. *J Anal At Spectrom*, 9: 33-37, 1994.
  - 35) Hata A, Hasegawa M, Kurosawa H, Yamanaka K, Yamano Y, Endo Y, Fujitani N and Endo G: Improving the efficiency of organoarsenic extraction from seaweeds. *Food Safety*, 2: 160-170, 2014.