

ダイオキシンの健康影響と規制手法に関する研究

分担研究者 西垣 隆一郎 東邦大学薬学部教授

研究要旨

生理学的薬物動態モデルを用いたTCDDの母体から胎児へ、母乳から乳児への移行動態を解析する。

A. 研究目的

ダイオキシン汚染による健康影響の評価を行い、規制水準の算出の基礎データを得る。特に次世代への影響についての評価の基準となる母子間ダイオキシン移行と蓄積を、生理学的薬物動態（PBPK）モデルを用いて評価する手法を検討する。

B. 研究方法

以下のキーワードでダイオキシン関係の文献を集める。

(1) 血液、組織、胎児、母乳、乳児での濃度とその時間推移

(2) 濃度推移の生理学的薬物動態モデルによる解析

(3) PBPKモデルで、母子間のダイオキシン移行動態の解析とシミュレーションを行い、報告値との比較からモデルの妥当性を評価する。

C. 研究結果

ダイオキシンの体内動態のPBPKモデルによる解析は1980年から報告が増加し、血流、組織血液濃度比（または組織分布容積、濃縮率、分配率）を導入することにより、脂肪、肝臓などのダイオキシンが高濃度で長期にわたって蓄積する臓器中濃度時間推移を見積もることが可能になった。

さらに、aromatic hydrocarbon receptor（Ah受容体）や cytochrome P 4 5 0 酵素（CYP1A2）への結合（Anderson et al., 1993, Wang et al., 1997）、酵素代謝速度過程の非線形性の導入、酵素誘導、組織重量増加の関数化、組織取り込みなどの in vitro 生化学的データの蓄積、dispersion model の採用によって、精度を増しているが、ますます複雑になり、計算に必要なヒト、動物データの質と量への要求も高くなっている。

胎児への移行：胎児を母体の1つの臓器と考え、さい帯血流を介して胎児へのダイオキシンの分布と蓄積を考えることが可能である。必要なパラメータと操作手順は、

(1) 母体のPBPKパラメーターの検索または算出

(2) ダイオキシンの血液胎盤透過率の検索

(3) 成人の体内動態パラメータからの胎児のパラメータの算出

(4) 予測値の精度評価

母乳を通しての移行：乳汁への分泌と、哺乳摂取と2経路で解析する。

(1) 母体乳汁へのダイオキシン分泌移行をPBPKモデルで見積もる。

ラットで母乳を飲んでいる仔の血液脂肪中のダイオキシン濃度は、母体のそのの

1.5-3.6倍との報告がある (Abraham et al., 1998)。ヒトで、母乳を飲んでいる乳児は、そうでない乳児に比べ、脂肪組織、肝臓中のダイオキシン濃度が数倍高いとの報告がある (Kreuzer et al., 1997)。

(2) 乳児の哺乳摂取を入力関数として P B P K モデルを組み立てる。

D. 考察

(1) 種差：臓器濃度、胎児濃度など、1部の実測値と生理学的パラメータはラット、マウスなどの実験動物でしか測定できない。ヒトへは $X = AW^n$ などの体重 (W) のべき乗式から算出するため、精度が上がらない。1部の肝代謝能など、ヒトでは他動物に比べ、10分の1以下と極端に少ないものもある。肝細胞の TCDD 結合蛋白の誘導に必要な濃度は、ヒトはラットの10倍であるという報告がある (Schrenk et al., 1995)。

(2) 胎児の特殊性：胎児血液は胎盤を通して母体から供給されている。そこには血液胎盤関門があり、有害物質の排除をしている。ダイオキシンの透過率をヒトで正しく見積もることは困難である。胎児の組織、特に肝臓でのダイオキシンの結合と代謝能を、成人の値から見積もることに是非がある。

(3) 乳児の生理学的パラメータを成人の値から見積もることに是非がある。

(4) 見積もった薬物動態学パラメータの精度：

組織血液濃度比 (分配率、濃縮率) は脂肪で 100 (Wang et al., 1997)、375 (ラット、Leung et al., 1990, Andersen et al., 1993) から 800 と測定者と動物により大きな分布を持つ。この変動がパラメータ見積りと、濃度時間推移推定にどの程度影響するのか sensitivity test が必要である。

(5) P D P K モデルでの見積りと、肝蛋

白増加、濃度依存性などの非線形部分を1部線形近似したモデルでの見積りと比較し、単純化を試みる。

(6) 吸収、代謝、乳汁分泌、臓器血流、組織移行などの速度定数は hr から day の単位で表されるが、脂肪組織での蓄積濃度推移や消失半減期は month から year の単位で表される。時間尺の差違とパラメータの精度との関係に注意を払う必要がある。

E. 結論

以上の考察から、ラット、マウス、ヒトにおいて、胎児と乳児でのダイオキシン蓄積を、P D P K モデルを用いて相当精度で見積もることは可能である。

F. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

研究要旨: TCDD の PBPK モデル(生理学的な薬物動態モデル)についての調査・研究

A. 研究目的

平成11年度の「ダイオキシンの耐容一日摂取量(TDI)」(厚生省、環境庁)においては、TDIが体内負荷量(血中濃度)に基づき算出されている。このような体内負荷量に基づくTDIの算出は、WHO(1998年)の方法に従ったものであるが、最近では、毒性発現臓器での濃度を推定し、それに基づく評価が広く受け入れられるところとなっている。この方法はPBPK(Physiologically Based Pharmacokinetic)モデルと言い、体内を各種臓器コーパートメントに分け、各臓器への物質分布をシミュレーションするモデルである。臓器濃度に基づく評価方法は、動物からヒトへの外挿などの精度を高めることとなり、より正確なTDI算出やリスクアセスメントを可能とすると期待できる。

本年度は、まず、このようなPBPKモデルの最新の知見を得ることを目的に調査・研究を実施した。具体的には、TCDD(2,3,7,8-TCDD)に焦点を絞り、この物質に関するPBPKモデルの公表された文献を調査するとともに、これらのコンピュータ・プログラミングの基礎検討を行った。

B. 調査・研究手法

1) 調査

TCDDのPBPKモデルに関連した公表文献を以下の方法で収集した。

<調査データベース>

CAplus(STNデータベース:化学文献を1967年より収録)

<キーワード1>

TCDD(CAS番号:1746-01-6)

<キーワード2>

PBPK, pharmacokinetics 等

本調査で得られた文献は64件あり、これらを収集し、重要と思われる文献を選抜した。

2) PBPK コンピュータ・プログラミング技法の構築

TCDDのPBPKモデルにおける権威者であるAndersen博士からプログラムを譲り受け、これに基づきプログラムの基礎検討を行った。

本プログラムは、M&A社のACSL(Advanced Continuous Simulation Language)で作成されたものである。ACSLは、欧米におけるこの種の研究で最も良く用いられるシミュレーションのためのコンピュータ・ソフトでもある。

C. 研究結果

1) TCDDに関するPBPKモデルの公表文献の調査

1-1) WHOにおける体内負荷量の算出法とPBPKモデル

厚生省・環境庁の評価した平成11年度「ダイオキシンの耐容一日摂取量(TDI)」¹⁾は基本的にWHOの手法^{2,3)}に基づくものである。WHOのアプローチは以下の通りである。

まず、薬物動態的な観点から、投与量とこれを長期間投与した場合の血中濃度、即ち、体内負荷量との関係が以下とする理論に従っている。

$$d[\text{血中濃度}]/dt = [\text{投与量}] - k \cdot [\text{血中濃度}]$$

ここで、kは血中からの消失速度定数を意味する。

上記式の意味するところは、単位時間あたりの血中濃度の増減は、(投与量)による増加と血中からの消失割合($k \cdot [\text{血中濃度}]$)で決まるとするものである。

この際、長期間の投与で血中濃度が平衡に達していると仮定すると、血中濃度の増減はゼロとなる。これを式で示すと、

$$d[\text{血中濃度}]/dt = 0$$

となり、従って、

$$0 = [\text{投与量}] - k \cdot [\text{血中濃度}]$$

となる。ここでの血中濃度を体内負荷量とすると

$$[\text{体内負荷量}] = [\text{投与量}] / k \quad \dots(1)$$

となる。

一般的に消失速度定数 k を半減期で表すことが多い。その半減期とkとの関係は、以下で示すことができる。

$$[\text{血中濃度}] = A \cdot \exp(-k \cdot t) \quad (t: \text{時間})$$

従って、 $t_{1/2}$ 時間で血中濃度が半減する場合(半減期= $t_{1/2}$)には以下となる。

$$\begin{aligned} [\text{血中濃度}_1] / [\text{血中濃度}_{1/2}] &= \exp(-k \cdot (0 - t_{1/2})) \\ 2 &= \exp(k \cdot t_{1/2}) \\ \ln(2) &= k \cdot t_{1/2} \end{aligned}$$

即ち、

$$k = \ln(2) / t_{1/2}$$

である。これを上記式(1)に代入すると、体内負荷量は次式となる。

$$[\text{体内負荷量}] =$$

$$[\text{投与量}] \cdot [\text{半減期}] / \ln(2) \quad \dots(2)$$

また、一定の体内負荷量を示す投与量は式(2)の逆数となり以下でも表せる。

$$[\text{投与量}] =$$

$$[\text{体内負荷量}] \cdot \ln(2) / [\text{半減期}] \quad \dots(3)$$

以上の(1)、(2)、(3)式が WHO・厚生省で用いられた薬物動態の式である。

厚生省では、動物で最小毒性の体内負荷量を 86 ng/kg とし、ヒトで半減期7.5年、吸収率0.5を仮定してTDIを算出している。

上記の方法は、個体全体を1つのコンパートメントに見立てた1-コンパートメント・モデルと見なすことができる。後述する PBPK モデル、即ち、多種コンパートメント・モデルとの主な違いは表1の通りである。

1-コンパートメント・モデルと比較して、PBPK モデルでは、多種のコンパートメント(肝臓、脂肪などの臓器を仮定)を用いており、各種臓器での負荷量の推定が可能となる。

また、消失速度定数kや蛋白への結合、誘導、レセプター結合など、体内での物質挙動の各種パラメータをコンパートメントごとに導入することができ、この点、より精度の高いアプローチが可能となる。このため、PBPK モデルは、1-コンパートメント・モデルに比較して、動物からヒトへの外挿、高濃度から低濃度への外挿、さらに、投与経路の違いなどをより精度良く予測できるモデルとなると期待できる。

表1. WHO でのモデルと PBPK モデルの主な違い

	WHO/厚生省モデル	PBPK モデル
コンパートメントの数	1種類のみ	多種
物質の消失などのパラメータの設定	消失速度定数kのみ	各コンパートメントごとにパラメータを設定 例:代謝定数、蛋白結合定数 Ahレセプター結合定数など
肝臓/脂肪分布の挙動の違いなどの解析	不可	可能

1-2) PBPK モデルの概要

PBPK(Physiologically Based Pharmacokinetic)モデルとは、肝臓、脂肪など体内の臓器をコンパートメントで表し、コンパートメント間を血液でつなぎ、生体内の各臓器の物質挙動をシミュレーションするモデルである。物質の挙動は、血液の流速・量、各臓器の大きさ、血液と各コンパートメント(臓器)との分配、さらに、各コンパートメントでの吸収・代謝・排泄定数といった生理学的パラメータに支配されており、これらを厳密に定義することにより生体内の物質挙動をより精度良く表せるとするものである。

ここでは、投与量ではなく、体内での濃度、とりわけ、毒性発現臓器への到達濃度が推定でき、これに基づく用量-反応関係を評価することが可能となる。これにより、動物実験データからヒトへの外挿、高投与量から低投与量への外挿、さらに、経口投与、経皮投与、吸入曝露の投与経路の違いの補正などがより精度よく行えらる。

代表的なPBPKモデルのコンパートメントの設定例を図1に示す。

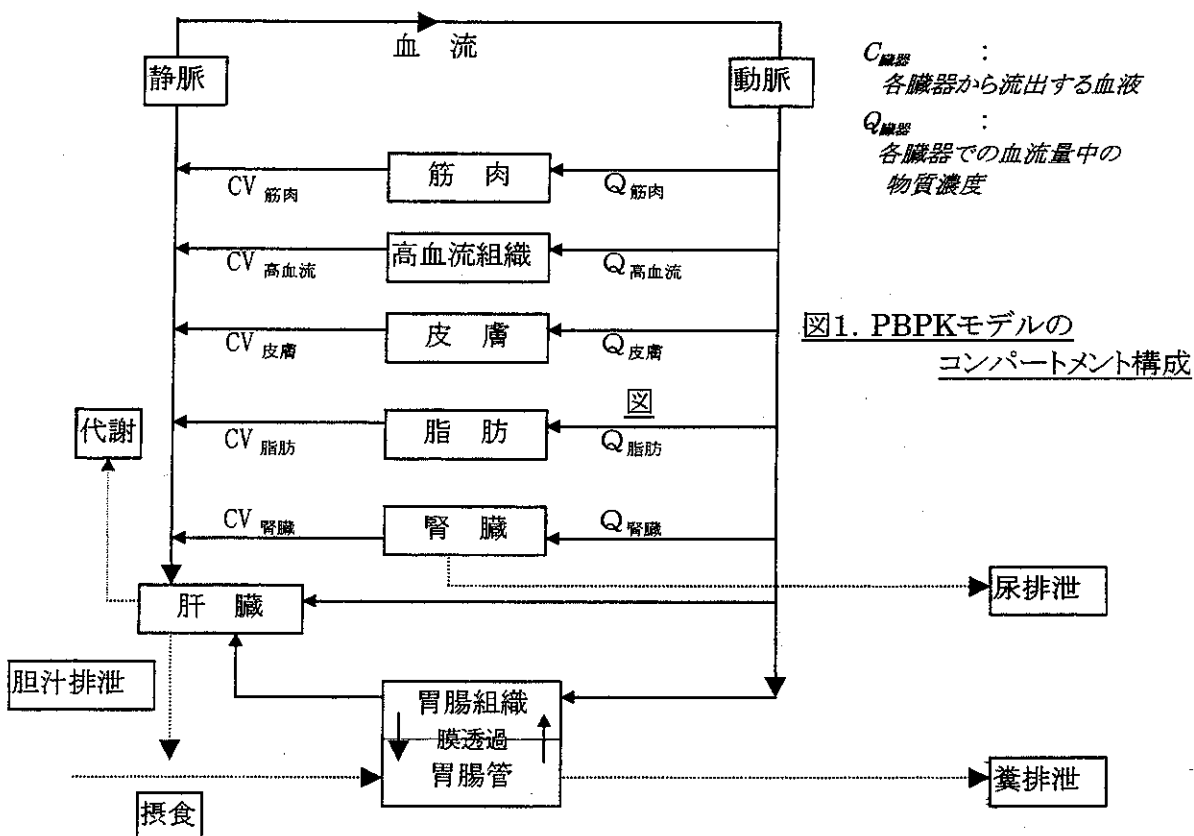
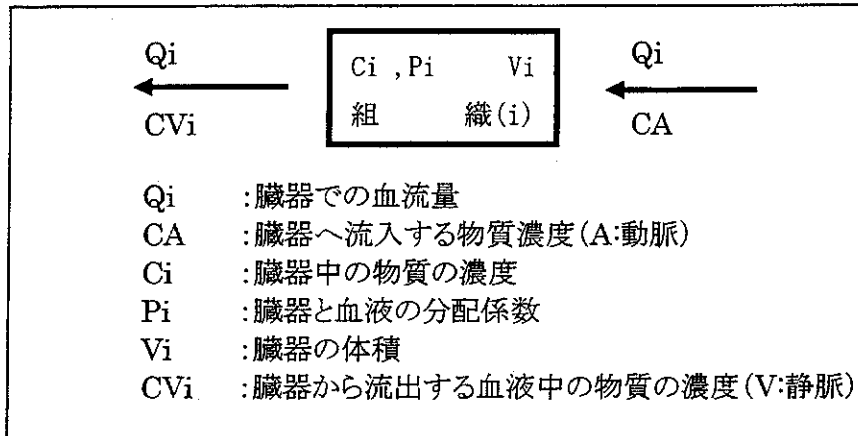


図1. PBPKモデルのコンパートメント構成

PBPKモデルの各コンパートメント(i)における物質収支の関係式(最も代表的なもの)は、右式で表される。

$$V_i \cdot dC_i/dt = Q_i \cdot (CA - CV_i) \dots(4)$$

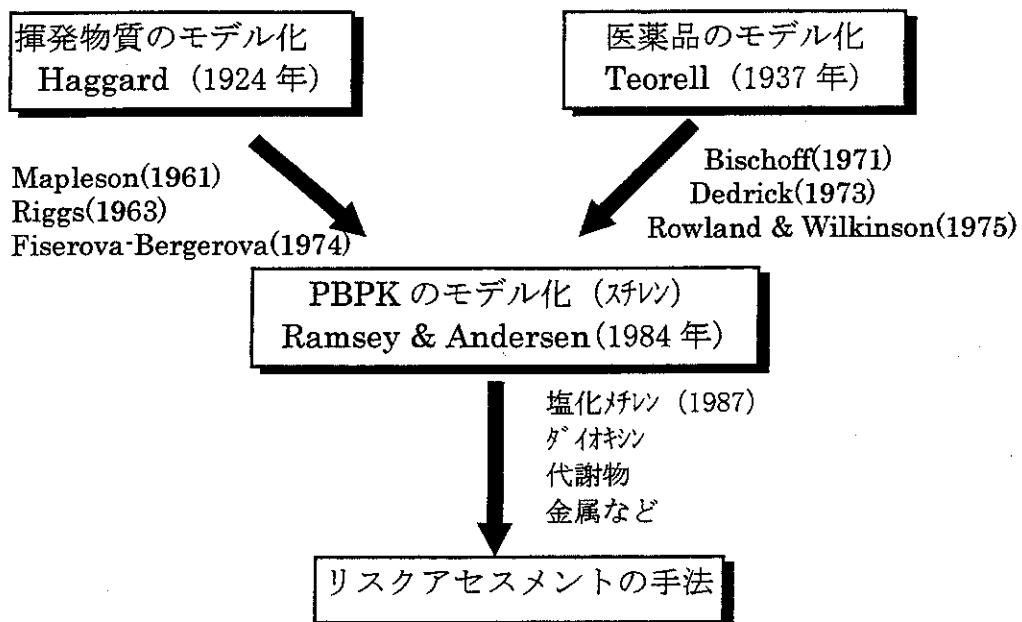
$$CV_i = C_i/P_i$$



本 PBPK モデルの原型は、揮発性物質をモデル化した Haggard(1924)の報告⁴⁾や医薬品をモデル化した Teorell(1937)の報告⁵⁾に見ることができる。しかし、リスクアセスメントを目的とした近代的な PBPK モデルは Ramsey

と Andersen(1984)のスチレンのモデル⁶⁾が最初である。この手法を用いた塩化メチレンの発癌性のリスクアセスメント⁷⁾は、規制(米国EPA)にも取り入れられるところとなり、現在では、各種の化学物質のリスクアセスメントに広く用いられている。

PBPK モデルの歴史



1-3) TCDD に関する PBPK モデルの最近の動向

TCDD に関して各種のアプローチが行われている。これにより、ヒトにおける脂肪中濃度の推定、肝臓中濃度の推定など数多くの結果報告も示されている。しかし、ここでは、結果やデータではなく、あくまで PBPK モデルの技法のみに注目して、その最新の動向を調査することとした。

①. 物質濃度の表記法 — 通常表記 (C) と fugacity 表記 (f) —

PBPK モデルの物質濃度の表記法として、通常の濃度を濃度として表記する方法と濃度を fugacity で表記する方法が用いられている。

ここでの fugacity とは圧力の単位をもつ熱力学的パラメータである。コンパートメントから物質が出ていこうとする圧力に相当する。fugacity と物質濃度 (C) との関係は、以下の式で表される。

$$C = Z \cdot f$$

ここで、C は濃度 (mole/m³)、Z は fugacity capacity (mole/pa/m³)、f は fugacity (pa) を意味する。Z は単位圧力当たりの物質の分配能力 (capacity) を意味しており、各コンパートメントの脂肪/水の割合を反映した値である。

この fugacity による物質濃度の表記は、気相での挙動が重要となる地球環境でのシミュレーションのために Mackey (1979)⁹⁾ により導入された概念である。

PBPK モデルへの最初の適用は、Patterson と Mackey (1986)⁹⁾ によってなされており、また、kissel と Robarge (1988)¹⁰⁾ によって TCDD のモデルが導入されている。その後、Webster と Connett (1991)¹¹⁾、

Lawrence と Gobas (1997)¹²⁾ 等の報告がある。

物質収支の関係式においては、通常の濃度 (C) を用いるところを、 $C = Z \cdot f$ に置き換えると fugacity 表記のモデルとなる。

fugacity 表記モデルでは、地球環境モデルと一貫したシミュレーションが可能となり、また、気相での挙動が中心となるような揮発性物質、ガスなどを扱う場合には、有利なモデルとなる。しかし、酵素反応などが中心となるモデルでは、その速度式が複雑となる可能性があり、また、fugacity の値が著しく小さくなる場合には計算しづらくなる欠点がある。

但し、原理的には、通常表記のモデルと全く同じであり、そのモデル化も通常モデルの影響を受けながら開発されている。従って、以下には同等なモデルとして扱った。

②. 酵素誘導式の導入

ダイオキシン類の PBPK モデルの研究として、初期的には Lutz ら (PCBs, 1977)¹³⁾、Tuey と Hatthew (PCBs, 1980)¹⁴⁾、King ら (TCDF, 1983)¹⁵⁾、kissel と Robarge (TCDD, 1988)¹⁰⁾ 等の報告がある。これら報告は、いずれも臓器と血液の分配係数を主体としたモデルである。従って、脂肪/血液の分配係数、肝臓/血液の分配係数が直接反映したシミュレーションとなり、通常は、脂肪中濃度が高く、肝臓中濃度が低くなる。仮に、肝臓での分配係数を脂肪より高く設定すると、肝臓中濃度は高くなる。しかし、この傾向は、投与量を変化させても同様であり、肝臓中の濃度を高く設定したモデルは、いずれの投与量でも高く、逆に、脂肪での濃度が高いモデルは、いずれの投与量でも高くなる。

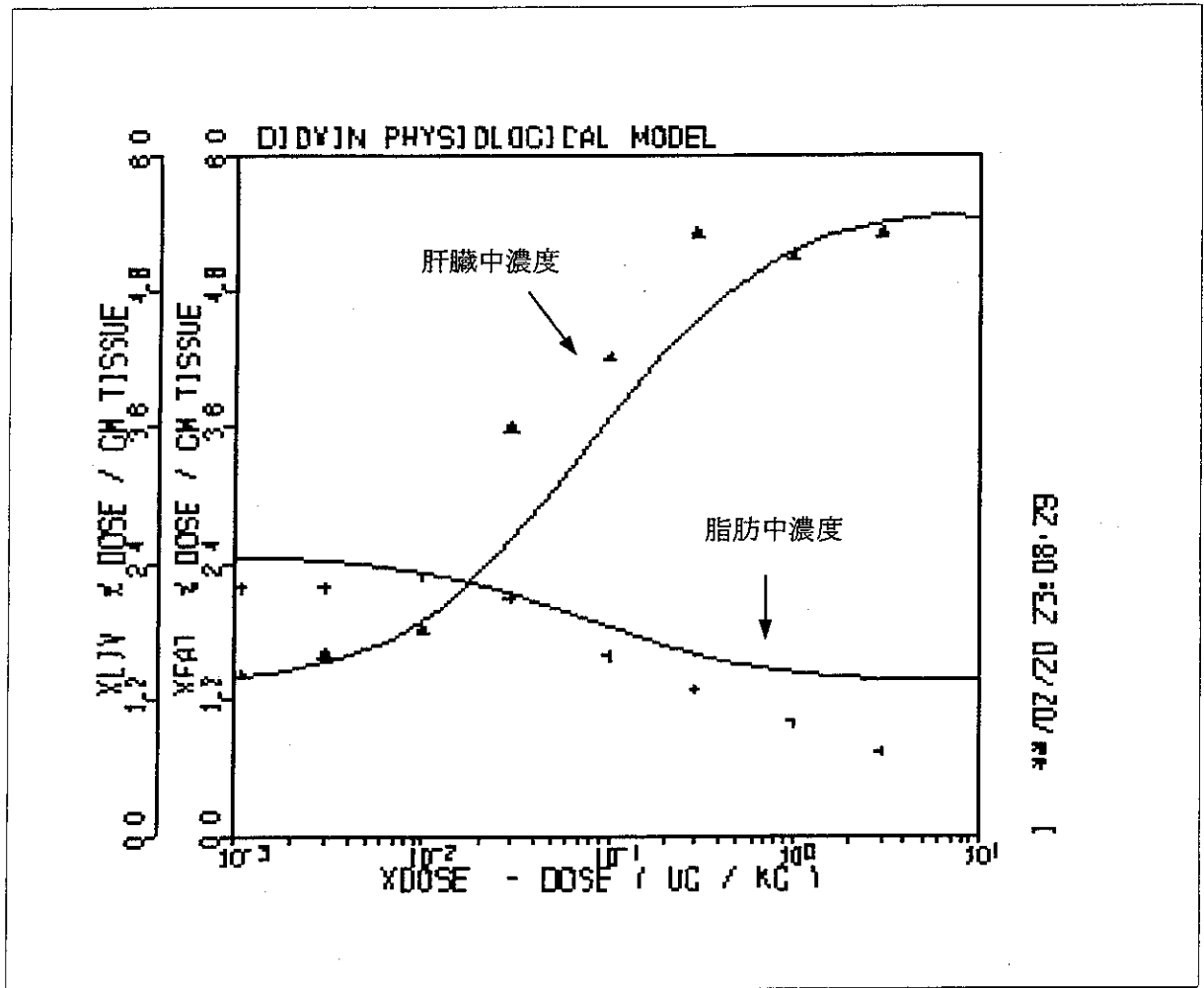


図2. TCDDの投与量と肝臓および脂肪中濃度の関係 (Abrahamらの実験データに基づくシミュレーション, 1988) ¹⁶⁾

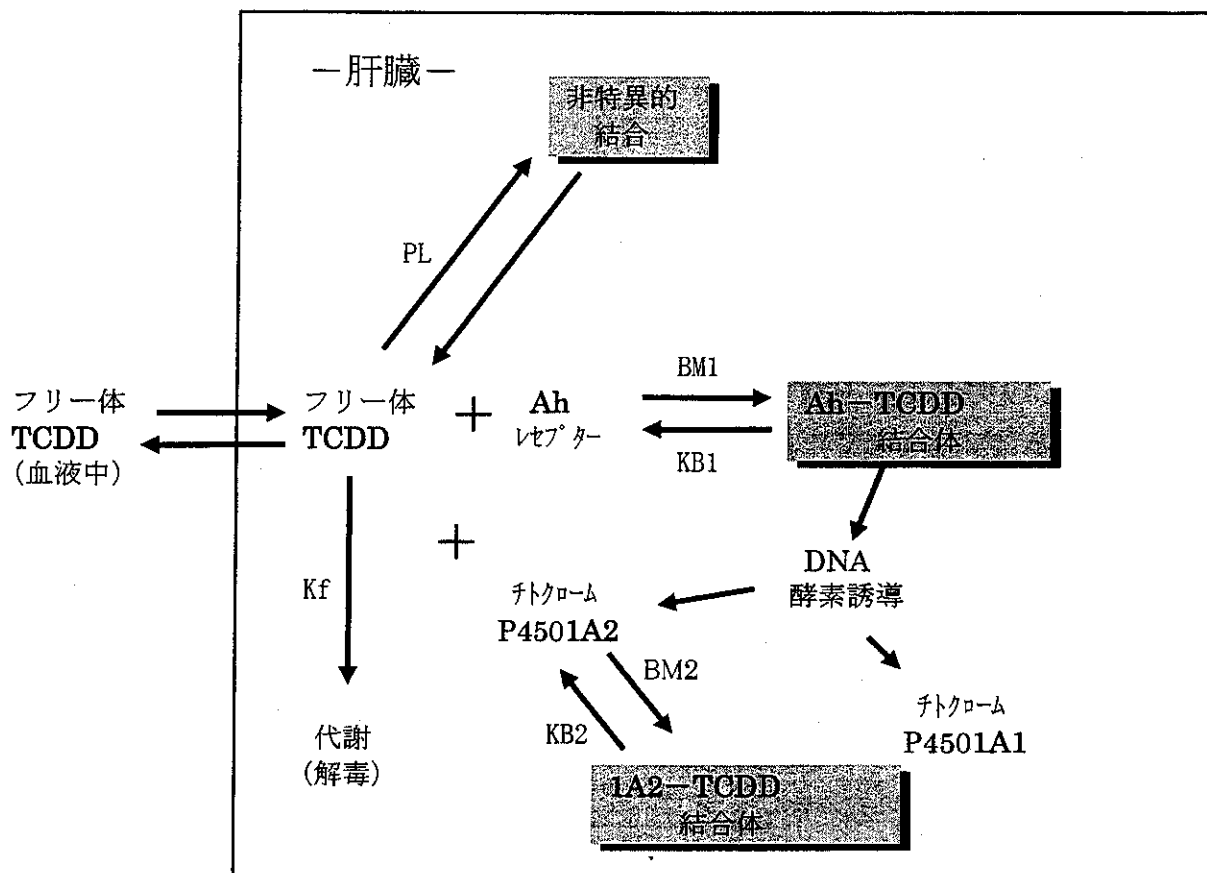
しかし、実際の実験データでは、必ずしもこのような傾向とはならないことがわかってくる。典型的なデータとして Abraham ら(1988)¹⁶⁾が実施したラットに皮下投与した実験があり、ここでは、10 ng/kg 以下の投与量では、脂肪中濃度が肝臓中濃度を上回るが、10 ng/kg を上回る濃度を投与すると、投与量に比例して肝臓中の濃度が増加し、脂肪中濃度を大きく上回るといった逆転現象がみられる(図2)。このような現象は、従来型の PBPK モデルでのシミュレーションは困難となる。また、マウスで Ah レセプターを有する C57BL/6J 系では肝臓中

濃度が高く、Ah レセプターを有しない DBA/2J 系では肝臓と脂肪中濃度がほぼ同等であるといった実験データ¹⁷⁾とも相まって、新たなモデルが構築されることとなる。これらモデルの基礎は、Leung ら(マウス, 1988)¹⁷⁾、Leung ら(マウス, 1990)¹⁸⁾、Leung ら(ラット, 1990)¹⁹⁾、Andersen と Greenlee(ラット/マウス, 1991)²⁰⁾、Andersen ら(ラット/マウス, 1993)²¹⁾によって築かれた。その典型的なモデルは以下の通りである。

まず、肝臓でのみ特異的な現象であるとし、そこでは、Ah レセプターと TCDD が結合し、

酵素誘導を行う(チトクローム P450,1A1 および 1A2)。次に、誘導された酵素(P450 1A2)の量に比例した酵素-TCDD の結合が起こり、

見かけ肝臓での TCDD 量が増大するとするモデルである。これを図示すると以下のようになる。



また、肝臓における物質収支の関係式は、以下のようになる。

まず、肝臓中の TCDD の濃度変化は、肝臓に流入する物質濃度 (CA) と流出する物質濃度 (CV_L) から以下のように求められる。

$$V_L \cdot dC_L/dt = Q_L \cdot (CA - CV_L) \quad (\text{式 4 参照})$$

肝臓においては、TCDD が代謝され、一部が消失(代謝速度定数:Kf)する。これを考慮すると、

$$dC_L/dt =$$

$$Q_L \cdot (CA - CV_L)/V_L - Kf \cdot C_L \dots (5)$$

となる。ここでの CV_L(フリーの TCDD)の計算は、以下のステップで行うことができる。

まず、肝臓全体の TCDD 存在量を、非結合量、Ah-TCDD 結合量、1A2-TCDD 結合量をあわせたもの(AL)で表わす。

$$AL = CV_L \cdot P_L \cdot V_L + BM1 \cdot CV_L / (KB1 + CV_L) + BM2 \cdot CV_L / (KB2 + CV_L) \dots (6)$$

この式の第1項は、肝臓/血液の分配係数(PL)に従った非特異的結合を意味する。第2項は、Ah レセプターへの結合量を意味し、B

M1は Ah レセプターの存在量、即ち、最大結合量、KB1は結合定数を示す。また、第3項は、チトクロームP4501A2 への結合量を意味し、BM2T は 1A2 の存在量、即ち、最大結合量、KB2 は結合定数を示す。ここでの BM2T は、Ah-TCDD により酵素誘導され増加すると考えられる。

これを式で示すと以下のようになる。

$$BM2T = \frac{BM20 + BM2I \cdot CV_L^n}{KB1^n + CV_L^n} \quad \dots(7)$$

BM20 は、1A2 の平常値、BM2I は 1A2 の最大誘導量を意味し、n乗で表される式は、Hill の速度論式である。

さて、式(6)から TCDD 存在量(AL)と肝臓中の濃度(C_L)、フリーの肝臓中濃度(CV_L)の関係を求めると以下のようになる。

$$C_L = \frac{AL}{V_L} = \frac{CV_L \cdot P_L \cdot V_L + BM1 \cdot CV_L / (KB1 + CV_L) + BM2T \cdot CV_L / (KB2 + CV_L)}{V_L}$$

これを CV_L でまとめると、

$$CV_L = \frac{C_L \cdot V_L}{\{P_L \cdot V_L + BM1 / (KB1 + CV_L) + BM2T / (KB2 + CV_L)\}}$$

$$+ BM2T \cdot CV_L / (KB2 + CV_L) \} \dots(8)$$

となる。

以上より、式(5)および式(8)が肝臓中での TCDD の物質収支を表した関係式となる。

これら関係式により、TCDD の低濃度投与 (<10 ng/kg) では、酵素誘導が起らず、肝臓中濃度が脂肪中濃度を上回ることはない。しかし、高投与量 (>10 ng/kg) では、酵素誘導が起り、酵素結合物の増加により、肝臓中濃度が脂肪中濃度を上回る。

本式の導入より、実験結果をより正確に反映させたシミュレーションが可能となっている。

③. 膜透過モデル(Diffusion limited モデル)の導入

PBPK モデルにおける血液から臓器への物質移動は、分配係数に従って一瞬の内に起こる(flow limited モデル)と考えるのが一般的である。しかし、TCDD の場合、脂溶性が高く、膜からのその移動は若干遅くれる可能性が予想される。実際、動物実験の TCDD 投与直後の体内濃度変化は、モデルでの推定結果より遅れる傾向が見られる(図 3: 脂肪中濃度)。

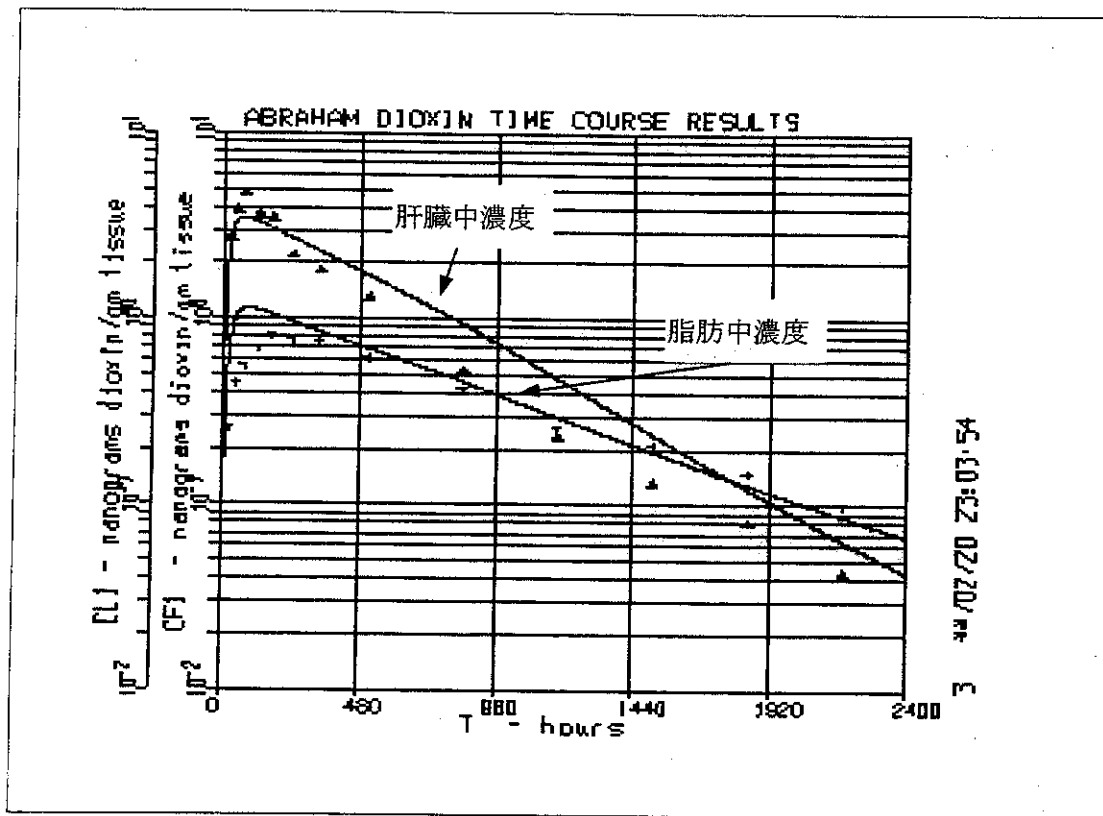
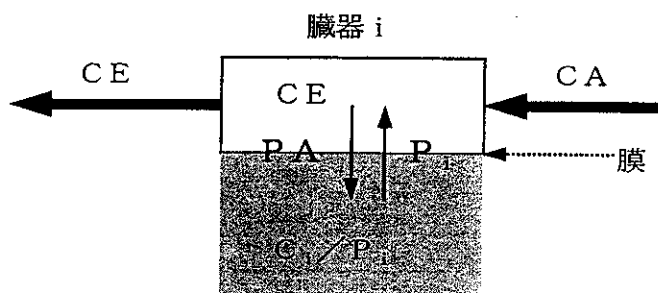


図3. TCDDの投与後時間と肝臓および脂肪中濃度の関係 (Abrahamらの実験データに基づくシミュレーション, 1988)¹⁶⁾

このような、投与初期の TCDD 体内取り込みの遅れをより精度良くシミュレーションするため、Andersen ら(1993)²¹⁾、Buckley(1995)²²⁾、Wang ら(1997)²³⁾等は膜透過を考慮したモデル (Diffusion limited モデル)の導入を図っている。

その概念は以下の通りである。

即ち、血液から臓器への取り込みは、一旦膜を介した透過により引き起こされるとする理論に従うものである。その理論のスキームを以下に示した(臓器*i*の例)。



物質収支の関係式は、式(4)を改変した以下の式で表わされる。

$$V_i \cdot dCE/dt = Q_i \cdot (CA - CE) - PA \cdot (CE - C_i/P_i) \quad \dots(9)$$

$$V_i \cdot dC_i/dt = PA \cdot (CE - C_i/P_i) \quad \dots(10)$$

この式の意味するところは、膜の透過率 (PA) を介して TCDD の物質移動が引き起こされるとするものであり、膜透過率 (PA) が、血液流量 (Q_i) より小さい場合、その物質移動は遅れを生じることとなる。これにより、投与初期の実験結果をより正確に反映させたシミュレーションが可能となっている。

④. その他最新の PBPK モデルの技法

最新の技法としては、まず、注目されるのは Andersen ら(1997)^{24, 25)}によって開発された肝臓の分画化モデルである。ここでは、肝臓の部位によって 1A1、1A2 の酵素誘導能が異なるとする実験データに基づき、肝臓を5つのコンパートメントに分画化しモデル化している。また、PBPK モデルをさらに発展させ、毒性メカニズムをモデルに取り入れたモデル、即ち、PBPD モデル (Physiologically Based Pharmacodynamics) も開発されている。Helfand と Mancy(1993)²⁶⁾は TCDD の発癌メカニズム・モデル²⁷⁾を取り込んだ新たなモデルを提案しており、Mill と Andersen(1993) は TCDD の発癌プロモータ作用に注目したモデルを提唱している。

一方、これらとは別に、PBPK モデルで用いる各種パラメータの精度についての研究も行われており^{23, 28)}、これらモデルの限界、適用範囲、感度分析などについても検討されているところである。

1-4) PBPK モデルの主な文献-具体的手法

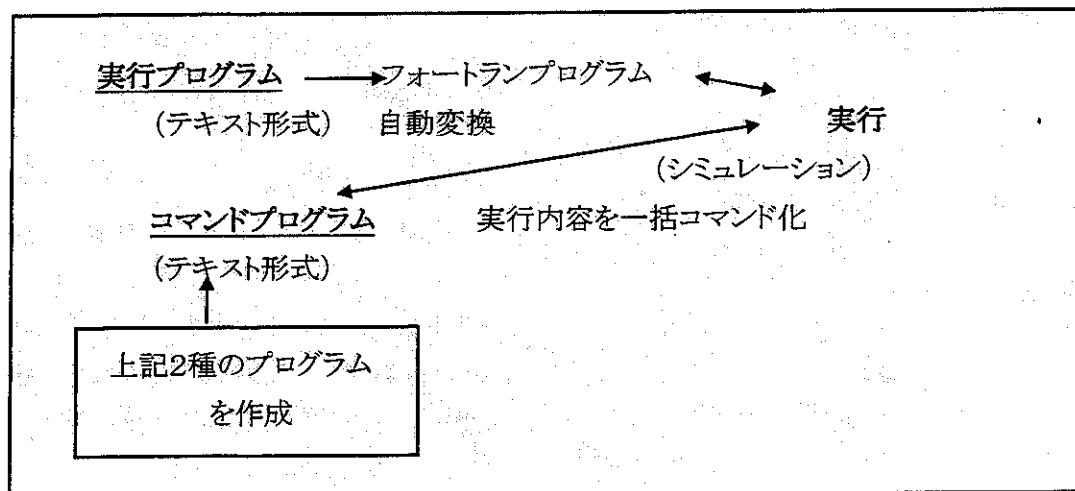
Appendix I には主要な PBPK モデルの実例7件について示した。

2) TCDD に関する PBPK コンピュータ・プログラムの基礎検討

TCDD のコンピュータ・プログラムとしては、Andersen らの開発したプログラムを導入し検討することとした。本プログラムは、ACSL を用いたプログラムである。

2-1) ACSL を用いたコンピュータ・プログラム

Andersen ら PBPK を研究する主要な研究者は、コンピュータ・ソフト、ACSL(Advanced Continuous Simulation Language)を使用してプログラムを作成している。本ソフトは non-linear な微分方程式の計算(シミュレーション)のための言語である。そのプログラムはテキスト形式で入力し、これをフォートラン言語に自動変換した後、実行する。プログラムの作成は極めて容易であり、シミュレーションの実行速度も著しく速い特徴がある。



本ソフトを使用すると、極めて短時間で計算でき、また、微分方程式の導入、修正、追加、さらに、実測データとの比較、表、グラフ化なども著しく容易となる。微分方程式の積算方式も、各種の手法(9種類、Runge-Kutta 法など)が備わっており、目的に応じて使い分けができる。即ち、微分方程式の算出時間が速いもの、遅いもの、精度の高いもの、低いものがあり、目的に応じて適切な手法を選択でき、また、これら手法を複数使用することにより、シミュレーションの精度確認もできる。これとは別に、シミュレーション結果を積算して統計処理するツールもあり、統計的解析も可能である。

実行プログラム例(CSL)およびコマンドプログラム例(CMD)は Appendix II に示す。実行プログラムでは、DERIVATIVE の項が最も重要であり、基本的には、ここに微分方程式を入力すれば、プログラムが実行可能となる。他に INITIAL の項があるが、これは、初期値や微分方程式の各係数を定義するためのものである。通常、この種のモデルでは、シミュレーション結果を見ながら、初期値や係数を変化させ、その影響を評価するといったプロセスを経るのが一般的である。先に微分方程式の初期値や係数を定義しておく、実行後にコマンドで初期値、係数を変更させ(コマンド例 <s>:SKM=10 → KM 値を 10 に SET し直す)、再実行することができる。このため、実際のプログラムでは、INITIAL の項にあらゆる初期値、係数が定義されるのが一般的である。

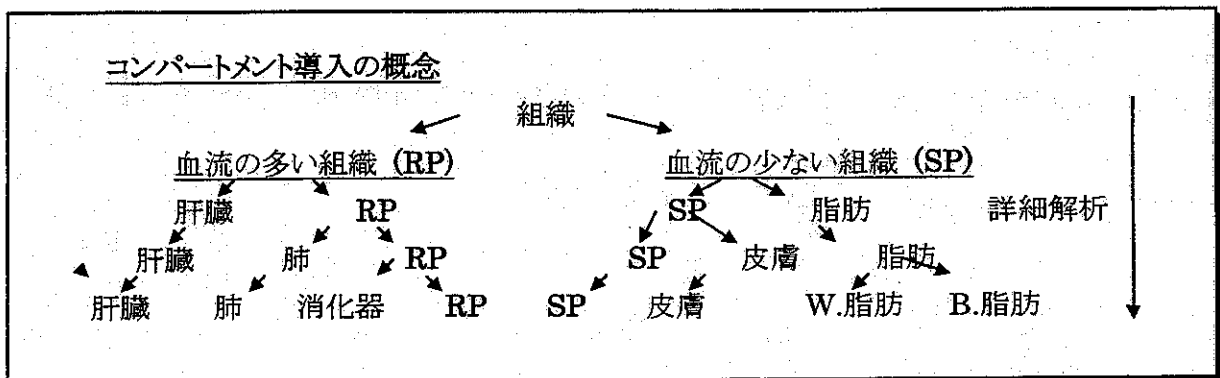
一方、コマンドプログラムでは、様々なコマンド処理(S:係数の再セット、START:プログラム実行、PL:結果のプロットなど)を一括して実行するための「実行コマンド」を定義することができる。また、実測データもデータファイルとして保管でき、実測データとシミュレーション結果を同時にプロットする「実行コマンド」を定義することもできる。

このような実行プログラム、コマンドプログラムは TEXT ファイルであり、ワープロでも作成できる。また、コマンドプログラムを工夫することにより、様々なシミュレーションを「実行コマンド」一つで動かすことができる(例:RAT と入力→ラットのシミュレーション結果の表示、次に HUMAN と入力→ヒトのシミュレーション結果を合わせて表示)。

2-2) コンピュータ・プログラミング技法

Andersen らのプログラムは、コンパートメントの設定法、動物からヒトへの外挿法について以下の概念を導入している。

- a) コンパートメント設定についての基本的概念
 コンパートメントの設定の基本的概念は、まず、血流の多い組織(RP)と血流の少ない組織(SP)を全体として設定し、必要に応じて追加コンパートメントを設定するといった手順で行われる。そのコンパートメントの追加の基準を下図に示す。



例えば、新たに肝臓コンパートメントを設定する場合、まず、先に設定していた RP から肝臓を削除し、肝臓を追加するといった方法がとられる。この方法の利点は、RP を $RP (= RP - \text{肝臓})$ と宣言すれば、後のすべての RP を用

いた物質収支の関係式が変換できるところにある。また、コンパートメントの設定概念も一見して理解しやすく、マウス、ラット、ヒトの比較などを目的とした複雑モデルでは、このようなコンパートメントの概念が必須となる。

各コンパートメントの臓器重量設定例

$VR = VRC \cdot BW - VG - VL$	(血流の多い組織重量の設定: RP-消化器-肝臓)
$VG = VGC \cdot BW$	(消化器重量の設定)
$VL = VLC \cdot BW$	(肝臓重量の設定)
$VS = VSC \cdot BW - VF$	(血流の少ない組織重量の設定: SP-脂肪)
$VF = VFC \cdot BW$	(脂肪重量の設定)

b) 動物からヒトへの外挿の基本的概念

動物からヒトへの外挿の基本的な概念は、体重(BW)をベースとして各種パラメータが変化するとする仮定に従っている。

まず、臓器重量(V)は、基本的には体重に比例すると仮定している。但し、動物種により、臓器比率(VC)が若干異なる場合がありこれも補正できる形をとっている。

基礎代謝エネルギーと関係するパラメータ、即ち、血流(Q)、呼吸率(QP)、代謝速度(V_{max})は体重の 3/4 乗に比例するとし、また、時間の単位であるパラメータ、即ち、K値は体重の 1/4 乗に比例するとしている。

このように、各パラメータを体重をベースに設定することにより、動物-ヒトの外挿が容易に行えるようになる。

体重に基づく各パラメータの設定

臓器容量: $V = VC \cdot BW^{1.00}$ (VC: 体重当りの割合)

血流: $Q = QC \cdot BW^{0.75}$ (QC: 体重当りの割合)

呼吸率: $QP = QPC \cdot BW^{0.75}$ (QPC: 体重当りの割合)

代謝: $V_{max} = VM \cdot BW^{0.75}$ (mg/hr)

$K_m = KM \cdot BW^{1.00}$ (mg/L)

$K = Ki / BW^{0.25}$ (/hr)

2-3) 導入プログラムを用いた検討

Andersen らのプログラムは、各種あり以下には、その内の一つを用いた検討例を示す。

a) プログラムは Appendix III に示した。ラットに TCDD を皮下投与した後の体内濃度(肝臓、脂肪)を推定するモデルである。そのモデルの構成は Appendix IV (b)、モデルの物質収支の関係式は(c)、モデルの採用したパラメータは(d)に示した。このモデルでは、動物体重が時間とともに増加し、その脂肪含量も時間とともに変化する仮定を設けている。0-2400 時間までのラット体重変化、脂肪含量の変化は図4 (Appendix IV) に示した。また、本モデルを用いて TCDD 投与後の脂肪中濃度、肝臓中濃度変化をシミュレーションした結果を図5 (Appendix IV) に示した(図3と同じ)。ここでの投与量は $0.3 \mu\text{g}/\text{kg}$ を仮定した。この結果、肝臓では、投与後約3日間(72 時間)で最大濃度(3 ppt)となり、以降減少した。脂肪でも同様なパターンを示すが、最大値は肝臓より低い値となった(1 ppt)。これらと合わせて動物での実験データ¹⁶⁾も示しているが、実験データをほぼ反映したシミュレーションとなっている。但し、脂肪の経時変化は、若干実験データより早いシミュレーションとなる。この理由は、本モデルに diffusion limited を導入していないためであろう。また、投与量を 0.01 から $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ まで変化させ、シミュレーションした結果を図6 (Appendix IV) に示した(図2と同じ)。ここでは、投与後 2400 時間目の肝臓中濃度、脂肪中濃度を投与量に対してプロットした。合わせて実験データも図に表示した。 $0.01 \mu\text{g}/\text{kg}$ 以下の投与量では、肝臓中濃度が脂肪中濃度を上回ることがないが、 $0.01 \mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の投与量では、投与量に比例して肝臓中濃度が増加し、脂肪中濃度の6-7倍となった。

このように、PBPK コンピュータ・プログラム

により、ほぼ文献通りのシミュレーション結果が得られることを確認した。

D. 考察

TCDD のリスクアセスメントを実施するための PBPK モデルについて、公表された文献を調査・研究した。今回の調査・研究において、最新の PBPK モデルの傾向と方向性が明らかとなり、新たなモデルを構築するための基礎検討が達成できたと考える。

最新のモデルにおいては、Ah レセプターを介した酵素誘導、蛋白結合など、TCDD に関する科学的知見を十分に反映させた手法が取り入れられている。また、動物からヒトへの外挿においても多くの報告があり、精度の高いモデルが見受けられた。これらは、WHO・厚生省のTDIの算出方法に比較して、より有効な方法であると考えられた。

これらモデルの開発においては、単に、予測できる、できないといった結果のみならず、そのパラメータの精度分析、手法の感度分析、さらに、モンテカルロ法など確率論的手法によるモデルの検証が行われている。このような検証が今後の一つの課題となると思われる。

本研究は、これらの情報を踏まえモデルの開発を目指すものであるが、モデルとして、とりわけ、注目されるのは、Andersen らの開発しているモデルである。ここでは、肝臓の局所に注目し、部位により酵素誘導が異なるとする理論に基づきリスクアセスメントを実施している。今後が期待される。また、さらにモデルを一歩進め、肝発癌2段階メカニズムを取り入れたようなPBPDモデルも開発途上にある。

本年度の研究においては、既存モデルの調査・研究に合わせてプログラムの導入とそのコンピュータ技法の検討も行った。ここでは、改良すべき課題を含めてコンピュータ・プログラミングの観点からも今後の課題を確認したところである。

以上、本年度の調査・研究によって、今後開発すべきPBPKまたはPBPDモデルの基礎検討を達成できたと考える。

E. 結論

本年度の調査・研究として、まず、公表されたPBPKモデルの技法の解析を実施した。これにより、Ahレセプターを介した蛋白誘導モデル、膜透過モデルなど高度な技法を有した有効なモデルがあることを確認した。また、これとは別に、PBPKコンピュータ・プログラムの導入とその検証を実施し、ほぼ満足できる成果を得た。

これらにより、次年度以降の新たなモデル開発のための基礎検討ができたと考える。

F. 研究発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

なし

H. 引用文献

1. 厚生省・環境庁(1999):「ダイオキシンの耐容一日摂取量(TDI)について」(平成11年6月)
2. WHO (1998): "Executive summary - assessment of the health risk of dioxins: re-evaluation of the Tolerable Daily Intake (TDI), May 25-29 1998, Geneva (1998)
3. Zeilmaier, M. J. & Van Eijkeren, J. C. H.(1998): "Calculation of the TDI for TCDD by means of toxicokinetic /toxico-dynamic modeling-WHO's approach -" in "The calculation of human toxicity thresholds of 2,3,7,8-TCDD: A physiologically based pharmacokinetic modeling approach", RIVM report No. 601503.010
4. Haggard, H.W. (1924): The absorption, distribution, and elimination of ethyl ether., *J. Biol. Chem.*, 59, 753
5. Teorell, T. (1937): Kinetics of distribution of substances administered to the body., *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 57, 226
6. Ramsey, J.C. & Andersen, M.E. (1984): A physiologically based description of the inhalation pharmacokinetics of styrene in rats and humans., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 73, 159
7. Andersen, M.E. et al. (1987): Physiologically based pharmacokinetics and risk assessment process for methylene chloride., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 87, 185-205
8. Mackey, D. (1979): Finding fugacity feasible, *Environ. Sci. Tech.*, 13, 1218-1223
9. Patterson, S. & Mackey, D. (1986): A Pharmacokinetic model of styrene inhalation using the fugacity approach, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 82, 444-453
10. Kissel, J.C. & Robarge, G.M. (1988): Assessing the elimination of 2,3,7,8-TCDD from humans with a physiologically based pharmacokinetic model, *Chemosphere*, 17, 2017-2027
11. Webster, T. & Connett, P. (1991): Estimating bioconcentration factors and half lives in humans using physiologically based pharmacokinetic modelling: 2,3,7,8-TCDD, *Chemosphere*, 23, 1763-1768
12. Lawrence, G.S. & Gobas, F.A.P.C. (1997): A pharmacokinetic analysis of interspecies extrapolation in dioxin risk assessment, *Chemosphere*, 35, 427-452
13. Lutz, R.J. et al. (1977): A preliminary pharmacokinetic model for several chlorinated biphenyls in the rat., *Drug Metab. Disp.*, 5, 386
14. Toney, D.B. & Matthews, H.B. (1980): Use of a physiological compartment model for the rat to describe the pharmacokinetics of several chlorinated biphenyls in the mouse, *Drug Metab. Disp.*, 8, 397-403
15. King, F.G. et al. (1983): Physiological Model for the pharmacokinetics of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran in several species, *Toxicol. Appl.*

- Pharmacol., 67, 390-400
16. Abraham K. et. al. (1988): Pharmacokinetics and biological activity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin, *Arch. Toxicol.*, 62, 359-368
 17. Leung, H-W. et. al. (1988): A physiologically based pharmacokinetic model for 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in C57BL/6J and DBA/2J mice, *Toxicol. Lett.*, 42, 15-28
 18. Leung, H-W. et. al. (1990): Pharmacokinetics of [125I]-2-iodo-3,7,8-trichloro-dibenzo-p-dioxin in mice: analysis with a physiological modeling approach, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 103, 411-419
 19. Leung, H-W. et. al. (1990): A Physiological pharmacokinetic description of the tissue distribution and enzyme-inducing properties of 2,3,7,8-tetrachloro-dibenzo-p-dioxin in the rat, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 103, 399-410
 20. Andersen, M.E & Greenlee, W.F. (1991): Biological determinants of TCDD pharmacokinetics and their relationship to a biological-based risk assessment, In Banbury Report No 35, pp 291-307
 21. Andersen, M.E et. al. (1993): Modeling receptor-mediated processes with dioxin: implication for pharmacokinetics and risk assessment, *Risk Anal.*, 13, 25-36
 22. Buckley, L.A. (1995): Biologically-based models of dioxin pharmacokinetics, *Toxicology*, 102, 125-131
 23. Wang, X et. al. (1997): Determination of parameters responsible for pharmacokinetic behavior of TCDD in female Sprague-Dawley rats, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 147, 151-168
 24. Andersen, M.E. et. al. (1997): Estimating minimal effective inducing doses (ED01s) of TCDD in livers of rats and human using physiologically based pharmacokinetic modeling, *Organohalogen Comp.*, 34, 311-316
 25. Andersen, M.E. et. al. (1997): Regional hepatic CYP1A1 and CYP1A2 induction with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin evaluated with a multicompartemt geometric model of hepatic zonation, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 144, 145-155
 26. Helfand, J.S. & Mancy, K.H. (1993): Carcinogenesis risk assessment model for environmental chemicals, *Wat. Sci. Tech.*, 27, 279-286
 27. Moolgavkar, S.H. (1988): Biologically motivated two stage model for cancer risk, *Toxicol. Lett.*, 43., 139-150
 28. Mills, J.J. & Andersen, M.E. (1993): Dioxin hepatic carcinogenesis: biologically motivated modeling and risk assessment, *Toxicol. Lett.*, 68, 177-189
 29. Edler, L. & Portier, C.J. (1992): Uncertainty in physiological pharmacokinetic modeling and its impact on statistical risk estimation of 2,3,7,8-TCDD, *Chemosphere*, 25, 239-242
 30. Zeilmaker, M.J. & Van Eijkeren, J. C. H. (1998): The calculation of human toxicity thresholds of 2,3,7,8-TCDD: a physiologically based pharmacokinetic modeling approach, RIVM, Netherlands

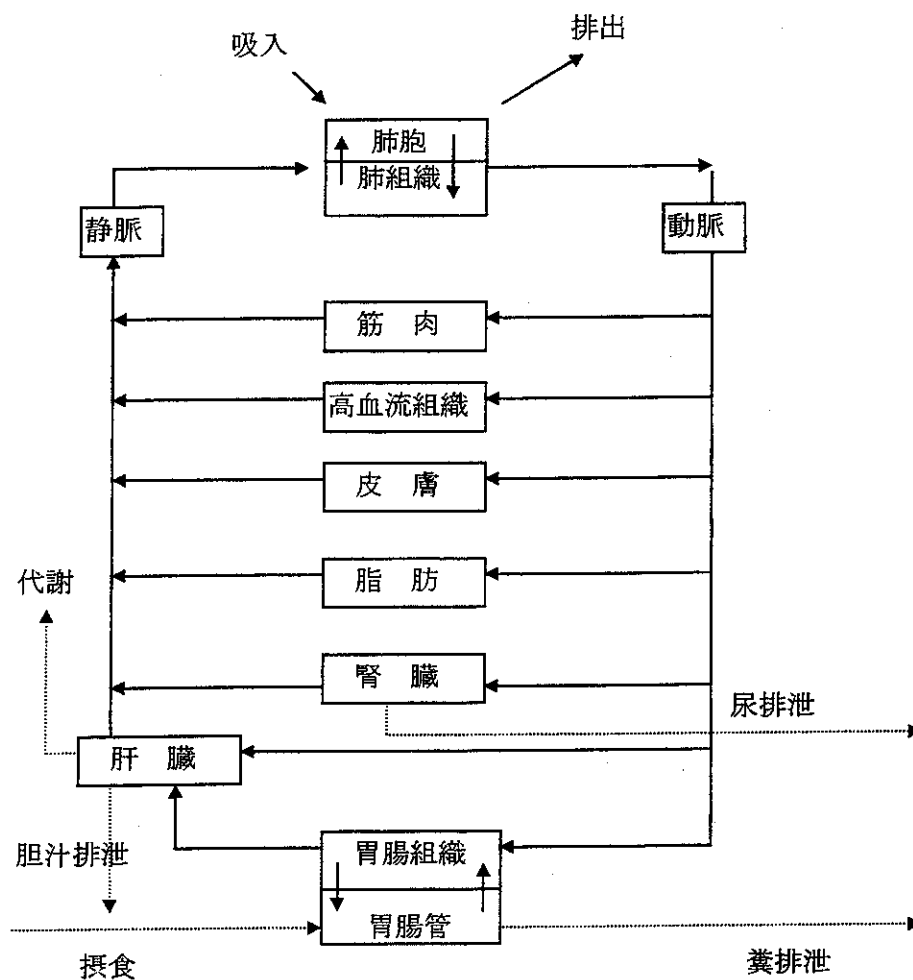
Appendix I

①. Kissel と Robarge のモデル(1988)¹⁰⁾

a) fugacity 表記による最初の TCDD モデル

本モデルを用いヒトが 50 pg/day の割合で TCDD を経口摂取した場合の脂肪中濃度を 7.7 ppt と推定している。

b) モデルの構成



c) モデルの物質収支の関係式

肺胞

$$\frac{df_{alv}}{dt} = (Q_{alv} \cdot z_{alv} \cdot (f_{air} + f_{alv}) + (Q_{ven} \cdot Z_{ven} \cdot f_{ven}) + (Q_{art} \cdot Z_{art} \cdot f_{art})) / (Z_{alv} \cdot V_{alv} + Z_{art} \cdot V_{art})$$

脂肪、皮膚、筋肉、高血流組織

$$\frac{df_i}{dt} = (Q_i \cdot (Z_{art} \cdot f_{art} - Z_{ven} \cdot f_i)) / (V_i \cdot Z_i)$$

動脈

$$\frac{df_{art}}{dt} = \frac{df_{alv}}{dt}$$

静脈

$$\frac{df_{ven}}{dt} = ((Q_{liver} + Q_{urine}) \cdot f_{liver} + (Q_{fat} \cdot f_{fat}) + (Q_{skin} \cdot f_{skin}) + (Q_{muscle} \cdot f_{muscle}) + (Q_{rich} \cdot f_{rich}) + (Q_{kidney} - G_{urine}) \cdot f_{kidney}) - (Q_{ven} \cdot f_{ven}) / V_{art}$$

肝臓

$$\frac{df_{liver}}{dt} = ((Q_{guttissue} + Q_{bile} + Q_{urine}) \cdot Z_{ven} \cdot f_{guttissue} + (Q_{liver} - Q_{guttissue}) \cdot Z_{art} \cdot f_{art} - (Q_{liver} + Q_{urine}) \cdot Z_{ven} \cdot f_{liver} - Q_{biler} \cdot Z_{bile} \cdot f_{liver} - Q_{liver} \cdot Z_{art} \cdot V_{liver} \cdot f_{liver}) / (V_{liver} \cdot Z_{liver})$$

腎臓

$$\frac{df_{kidney}}{dt} = ((Q_{kidney} \cdot Z_{art} \cdot f_{art}) - (Q_{urine} \cdot Z_{urine} \cdot f_{kidneys}) - ((Q_{kidneys} - Q_{urine}) \cdot Z_{ven} \cdot f_{kidneys})) / (V_{kidneys} \cdot Z_{kidneys})$$

胃腸管

$$\frac{df_{gutlumen}}{dt} = ((Q_{gutlumen} \cdot Z_{food} \cdot f_{food}) + (G_{bile} \cdot Z_{bile} \cdot f_{liver}) - (G_{feces} \cdot Z_{gutlumen} \cdot f_{gutlumen}) + (D_{gut} \cdot (f_{guttissue} - f_{gutlumen}))) / (V_{gutlumen} \cdot Z_{gutlumen})$$

胃腸組織

$$\frac{df_{guttissue}}{dt} = ((Q_{guttissue} \cdot Z_{art} \cdot f_{art}) - ((Q_{guttissue} + G_{bile} + G_{urine}) \cdot Z_{ven} \cdot f_{guttissue}) + (D_{gut} \cdot (f_{gutlumen} - f_{guttissue}))) / (V_{guttissue} \cdot Z_{guttissue})$$

d) モデルで採用した各パラメータ

	パラメータ	単位(1)		単位(2)	
体重	体重	kg	70	—	—
体積	胃腸組織	L	1.15	Kg/L	1.04
	肝臓	L	1.49	Kg/L	1.04
	静脈	L	2.59	Kg/L	1.06
	脂肪	L	13.4	Kg/L	0.92
	皮膚	L	2.31	Kg/L	1.10
	筋肉	L	26.2	Kg/L	1.04

(つづき)

	パラメータ	単位(1)		単位(2)	
	高血流組織	L	2.6	Kg/L	1.04
	動脈	L	2.59	Kg/L	1.06
	腎臓	L	0.22	Kg/L	1.05
血流	胃腸組織	mL/min/g	0.84	—	—
	肝臓	mL/min/g	0.90	—	—
	脂肪	mL/min/g	0.024	—	—
	皮膚	mL/min/g	0.079	—	—
	筋肉	mL/min/g	0.033	—	—
	高血流組織	mL/min/g	0.56	—	—
	腎臓	mL/min/g	4.1	—	—
分配	胃腸組織	—	10	—	—
	肝臓	—	25	—	—
	静脈	—	1	—	—
	脂肪	—	300	—	—
	皮膚	—	30	—	—
	筋肉	—	4	—	—
	高血流組織	—	10	—	—
	動脈	—	1	—	—
	腎臓	—	7	—	—

胃	胃内容物	取り込み (g/day)	流速 (mL/day)	Z/Z _{blood}
	肉	137	—	15.0
	dairy products	192	—	15.0
	魚	27	—	15.0
	穀物・野菜	274	—	0.00005
	脂肪・油	50	—	300
	水	2000	—	0.00005
	胆汁	—	500	0.5
	胃液	—	6500	0.00005