

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

気道障害性を指標とする室内環境化学物質のリスク評価手法の開発に関する研究

気道内挙動の *in vitro/ in silico* 予測

研究分担者 伊藤一秀 九州大学総合理工学研究院 教授

研究要旨

本年度(2016 年度)は研究初年度(2015 年度)に作成した計算流体力学 CFD (Computational Fluid Dynamics)解析用の数値気道モデルを、頭部や胴体・手足などの幾何形状を詳細に再現した人体幾何形状モデルに統合し、室内環境中で発生した各種の汚染物質による経気道曝露予測を可能とする総合的な数値人体モデル CSP (Computer Simulated Person)を作成した。

この CSP に経気道曝露評価を目的とした生理的薬物動態解析 PBPK (Physiologically Based Pharmacokinetic)モデルを組み込むことで、気道内での汚染物質沈着から気道内粘膜上皮を介して体内へ向かう汚染物質動態を解析する一連の解析モデルを構築した。

A. 研究目的

本研究の目的は、*in vivo* ならびに *in vitro* 試験を補完するもしくは代替可能な数値解析モデル、すなわち *in silico* モデルの開発に主眼がある。特に各種汚染物質の軌道内挙動を正確に予測した上で、健康影響を定量的に評価可能な一連の数値解析モデルの構築を目指すものである。

高い倫理的制約から、実人体(ヒト)を対象とした被験者実験の実施が非常に困難になっている。人体を用いた試験の代替法の一つとして動物実験があるが、こちらも動物愛護の点や倫理的側面で実験実施の制約が増す方向にある。実人体も用いず、サロゲートモデル(実験動物)も用いない代替法として、コンピュータ上に人

体や動物の生理を再現した数値モデル(*in silico model*)の利用があり、近年の画像処理技術と計算機能力の飛躍的向上からも期待が高まっている。

室内環境問題に着目した場合、1990 年代のシックハウス問題から、近年では PM2.5 や PM10 といった浮遊粒子状物質による空気質問題が顕在化し、深刻な健康影響が懸念されている。これらの室内空気質問題は、汚染物質を含む室内空気を呼吸によって体内に輸送する、所謂、経気道曝露の問題である。この室内環境中での経気道曝露問題に取り組むためには、室内環境中での汚染物質輸送と呼吸に伴う気道内の汚染物質輸送を同時に評価することが重要となる。

このような背景のもと、本研究では呼吸器系を送達経路とする吸入毒性試験 (Inhalation Toxicology Study) を実施するための、特に上気道を対象とした数値気道モデル (*in silico* model) の開発を行う。人体を対象としたヒトのモデルの他、小形の実験動物の代替となるラット、イヌ、サルの上気道を対象とした数値気道モデル (*in silico* model) の開発も同時に行う。鼻孔から流入した汚染物質による経気道暴露の問題を人間と実験動物で定量比較するためには、両者の鼻腔内流れ場の相違と、微粒子輸送現象の差違、気道内沈着分布の差違を定量的に把握していることが本質的に重要な課題となる。特に、空気中から鼻腔内表面(細胞組織表面)までの輸送現象把握は、流体力学分野の研究者の貢献が求められている重要かつ緊要の研究課題であり、この点で本研究の意義がある。

研究2年目である2016年度は、研究初年度(2015年度)に作成した計算流体力学 CFD (Computational Fluid Dynamics) 解析用の数値気道モデルを、頭部や胴体・手足などの幾何形状を詳細に再現した人体幾何形状モデルに統合し、室内環境中で発生した各種の汚染物質による経気道曝露予測を可能とする総合的な数値人体モデル CSP (Computer Simulated Person) を作成した。その上で、この CSP に経気道曝露評価を目的とした生理的薬物動態解析 PBPK (Physiologically Based Pharmacokinetic) モデルを組み込むことで、気道内での汚染物質沈着から気道内粘膜上皮を介して体内へ向かう汚染物質動態を解析する一連の解析モデルを構築したので、

その概要を以下に報告する。

B. 経気道曝露に関連する生理的薬物動態解析に関する既往研究

生理的薬物動態解析モデル開発には既に非常に長い歴史があり、また、非常に豊富な研究蓄積がある。例えば、米国 FDA (Food and Drug Administration) では薬剤使用に伴う人体影響を *in vivo* ならびに *in vitro* で評価した上で、総合的なリスク評価を PBPK モデルによるコンピュータシミュレーションで行うという手法(所謂 *in silico*) が 1980 年代より採用されている。本稿では特に経気道曝露に伴う体内での薬物動態に着目して既往研究をレビューし、モデル化の概要に関して整理する。

経気道曝露リスクを定量的に評価するためには、その第一歩として気道幾何形状を形成する粘膜上皮表面と気相側汚染物質の相互作用、即ち沈着(もしくは吸着、もしくは分配(Partitioning)とも呼ばれる)現象の詳細把握が本質的に重要な課題となる。その後、粘膜上皮に沈着した汚染物質の体内への動態をモデル化する、との手順となる。ここでガス相汚染物質を対象とする場合、気道内粘膜上皮とガス相汚染物質の相互作用は吸着現象となるが、粘膜上皮がほぼ飽和状態であれば、液相への収着(吸収)現象が支配的となる。この場合は気道内粘膜上皮がほぼ無限の吸着用量を有する Perfect Sink と見なしても大きな問題は無い(気道上流側の吸着量が大きく評価されるため曝露リスク評価上は安全側となるが、後流側への汚染物質輸送量が過小評価される危険性がある)。通常は分配定数(Partition Coefficient)を用

いた線形型(Henry 型)の吸着等温式を用いて壁面境界条件を与えることが多い。

さて、前述の通り経気道暴露に関する数値解析モデルを構築するためには、気道内の汚染物質輸送を把握した上で、空气中の汚染物質と気道内粘膜上皮との収着・沈着現象を評価し、気道内粘膜上皮から体内へ向かう汚染物質動態を解析する必要がある。このモデル化の程度には各種あり、最も単純なモデルでは CFD 解析上の壁面境界条件(汚染物質と気道内壁の界面)として粘膜上皮(nasal lining)を設定した上で、生体組織(壁面)側として 1 層 1 次元の粘膜層(mucosa)のみを仮定し、血流(blood)やその他の細胞組織は無視して解析する手法がある。この簡易モデルは、特に暴露線量評価に主眼がある場合に、気道内の気相汚染物質濃度に加えて、粘膜上皮への沈着・収着量や沈着・収着相濃度の予測評価を実施する際に適用される。

Keyhani et al (1997)は、鼻腔内での臭気物質輸送モデルを構築するため、粘膜層(Mucosa)と細胞組織層(Tissue)からなる 2 層モデルを提案し、粘膜層表面に収着し、溶解した臭気物質が粘膜層内で一次元拡散するとのモデルを提案している。また、Tian and Longest (2010)は、Keyhani らの研究を発展させて詳細形状を再現した人体気道モデル(上気道)内の CFD 解析と、粘膜層(Mucosa)、細胞組織層(Tissue)、血流(Blood)から形成される気道内壁面モデルの連成解析手法を提案している。気道内壁面モデル内は非定常の一次元拡散方程式で記述されている。このモデルは Air, Mucosa, Tissue, Blood の頭文字を取って AMTB モデルとも呼ばれる。

これらモデル化の発展系として生理的薬物動態解析モデル(Physiologically based Pharmacokinetic;以降 PBPK と表記)がある。PBPK モデルは、化学物質暴露に対する人体の化学的、解剖学的、生理学的反応の総合的な関係記述もので、一般的には、人体を部位(compartment)分割することで、各部位を一様な器官/組織としてモデル化し、部位間は空気流動/血流で接続する、というモデル化となる。人体を複数部位に分割した Multi-node タイプの人体熱モデルと同様のコンセプトである。PBPK モデルとは、部位別の AMTB モデルを統合したものと定義することが出来、PBPK モデルの中で最も単純な一部位モデルとしたものが AMTB モデルとなろう。気道モデル内腔は CFD 解析により汚染物質濃度分布を解析し、気道内壁面に対する沈着・収着フラックスもしくは沈着・収着層濃度を解析する。この沈着・収着フラックスもしくは沈着・収着層濃度が PBPK モデルの壁面境界条件(初期条件)となり、汚染物質の動態解析が実施される。PBPK の各部位内は一般に一次元の反応拡散方程式にてモデル化される。Andersen らが PBPK モデルと CFD との先駆的な連成解析事例を報告している。

AMTB モデルや PBPK モデルを用いて吸入毒性(Inhalation Toxicity)の評価を行う目的は、一つに、環境調整のための閾値やガイドライン値を正しく設定するための基本情報を得ることにある。すなわち、経気道暴露の参照濃度(Reference Concentration: RfC)の整備にあるが、これら数理モデルの精度は Compartment 内の拡散係数や Partition Coefficient の精度に

強く依存する。これらの係数も現時点では単純な水中の値を適用するなど、実人体の細胞組織の厳密なモデル化と実細胞を用いた計測データによる境界条件設定までは到達しておらず、予測精度向上に向けた多くの課題が残されている。

C. CSP に統合する PBPK-CFD モデルの概要

本研究では RA Corley らの煙草煙中に含まれるアルデヒド類を対象とした経気道暴露の PBPK-CFD モデルを基に、気道 (Airway)、粘膜上皮 (Epithelium+Mucus)、上皮組織 (Subepithelium) の 3 層 (正確には CFD 解析で 1 層、PBPK モデルとして 2 層) からなる PBPK-CFD モデルを CSP の数値気道モデルに統合する。本研究で適用する PBPK-CFD モデルの概要を図 1 に示す。図 1 は気道内の内腔 (流体解析領域) と内腔に接する気道粘膜上皮、上皮組織の模式図である。以下、PBPK-CFD の支配方程式を説明する。

C.1. 気道内 CFD 解析による汚染物質濃度場解析

本報での CFD 解析では、特に数値気道モデル内は低 Re 型 k-ε モデルを用いて粘性底層内まで解像した解析を行う。流れ場解析と連成して (1) 式の汚染物質の輸送方程式を解く。

$$\frac{\partial \bar{C}_a}{\partial t} + \frac{\partial \bar{U}_i \bar{C}_a}{\partial x_i} = \frac{\partial}{\partial x_i} \left\{ \left(D_a + \frac{v_i}{\sigma} \right) \frac{\partial \bar{C}_a}{\partial x_i} \right\} \quad (1)$$

ここで、 C_a は気相の汚染物質濃度 [$\mu\text{g}/\text{m}^3$] (ここで m^3 は単位空気体積)、 D_a は汚染物質の分子拡散係数 [m^2/s] を示すが、本報では代表的な室内空気汚染物質

としてホルムアルデヒドを対象とする。 v_i は RANS モデルによる解析で算出される渦動粘性係数、 σ は乱流シュミット数である。

気道内の空気-壁面 (ここでは粘膜上皮) 境界面では (2) 式を壁面条件として与える (粘性底層内での拡散フラックス保存)。

$$D_a \frac{\partial C_a}{\partial n} = D_t \frac{\partial C_t}{\partial n} \quad (2)$$

ここで、 D_t は粘膜上皮内でのホルムアルデヒド拡散係数 [m^2/s] を、 C_t は粘膜上皮内での汚染物質 (ホルムアルデヒド) 濃度 [$\mu\text{g}/\text{m}^3$] (ここでの m^3 は単位粘膜組織体積)、 n は境界面での法線方向座標を示す。また粘膜上皮内での汚染物質濃度は気相濃度を用いて次式で与える。

$$C_t = P_{t,air} C_a \quad (3)$$

ここで、 $P_{t,air}$ は Partition Coefficient [$\text{m}^3(\text{air})/\text{m}^3(\text{tissue})$] と呼ばれ、気相濃度と粘膜上皮相濃度の分配を示す。(3) 式の右辺の濃度 C_t と左辺の濃度 C_a は濃度単位中の対象とする体積 m^3 が空気と粘膜組織で異なるため、 $P_{t,air}$ の単位 [m^3/m^3] は有次元と見なすのが妥当である。この関係を、吸着等温式と見なせば線型モデル (Henry モデル) に相当する。

C.2. 粘膜上皮 (Epithelium+Mucus) 内での汚染物質輸送

気道内の気相から粘膜上皮表面 (気相との界面) に沈着した汚染物質 (本報ではホルムアルデヒドを対象) は、粘膜上皮内で脱水素酵素による代謝クリアランス (Saturable metabolic clearance by aldehyde dehydrogenase enzymes)、組織内高分子と

の非特異的反応(First-order non-specific reactions with Tissue macromolecules)ならびに非特異的結合(Non-specific binding)によるクリアランスの他, 粘膜上皮内を拡散移動する. C_t は前述のとおり粘膜上皮内での汚染物質(ホルムアルデヒド)濃度を示しており, 単位粘膜組織体積 m^3 あたりの汚染物質量として濃度が定義されている.

$$\frac{\partial C_t}{\partial t} = -\frac{(V_{max1C})C_t}{K_{m1} + C_t} - K_f C_t - K_b C_t + D_t \nabla^2 C_t \quad (4)$$

ここで, V_{max1C} [$\mu g/m^3/s$]ならびに K_{m1} [$\mu g/m^3$]は脱水素酵素による代謝クリアランスのモデルパラメータを示す. K_f ならびに K_b は一次反応速度定数 [s^{-1}], D_t は粘膜上皮内でのホルムアルデヒド拡散係数 [m^2/s]を示す. (4)式はいわゆる反応-拡散系と呼ばれる数理構造を示しており, 右辺第一項は Michaelis- Menten 式として良く知られる.

粘膜上皮-上皮下組織の界面では次式で濃度変換する.

$$C_b = P_{bt} C_t \quad (5)$$

ここで, P_{bt} は粘膜上皮-上皮下組織の界面での Partition Coefficient [m^3/m^3]である. C_b は上皮下組織内での汚染物質(ホルムアルデヒド)濃度 [$\mu g/m^3$]を示す.

C.3. 上皮下組織 (Subepithelium)内での汚染物質輸送

粘膜上皮内を拡散移動した汚染物質(ホルムアルデヒド)は, 続いてその下層組織である上皮下組織に輸送される(界面での境界条件はフラックス保存). 上皮下組織内の輸送モデルは, 組織内高分子との非特異的反応ならびに非特異的結合による

クリアランスの他, 血流による上皮下組織外への輸送, 組織内での拡散, より構成される(上皮下組織内でのホルムアルデヒドの代謝クリアランスは非常に小さく一般に無視される).

$$\frac{\partial C_b}{\partial t} = -K_f C_b - K_b C_b - (Q_b/V_b)C_b + D_b \nabla^2 C_b \quad (6)$$

ここで, Q_b は上皮下組織における血流量 [m^3/s], V_b は上皮下組織の体積 [m^3]を示す. D_b は上皮下組織内でのホルムアルデヒド拡散係数 [m^2/s]を示す.

また, 上皮下組織の下端の境界条件は次式で与える.

$$\frac{\partial C_b}{\partial x} = 0 \quad (7)$$

D. PBPK-CFD 連成解析にむけた予備解析

数値気道モデル内の CFD 解析と汚染物質濃度場解析((1)式)と連成して, (2)式から(7)式を解析することで非定常の経気道曝露リスクの定量評価が可能となる. しかしながら, 例えば空気-粘膜上皮の境界面で Partition Coefficient を用いた(3)式の平衡を仮定した上で, (2)式のフラックス保存を境界条件として与えるためには, 拡散条件を満足する非常に短いタイムステップにて解析を行う必要がある(本解析条件では $\Delta t < 10^{-5}$ [s]). 一般に, 経気道曝露に関連する汚染物質(ホルムアルデヒド)輸送現象は, 気道内腔の空気側の移流拡散抵抗と比較して, 生体粘膜組織側の反応拡散抵抗が支配的であり, 粘膜組織側の反応拡散速度が全体の輸送現象を律速する. そのため, 人体モデルを含む室内環境解析と気道粘膜組織内の PBPK 解

析は、気相-粘膜上皮の界面濃度を介して、両者を分離して解析する Quasi-Coupling による計算手法を採用することが計算負荷低減の観点では有効となる。この数値解析手法を用いる場合には、特に人体モデルを含む室内環境側の濃度解析の際には、気道内粘膜上皮相の界面濃度を含めて全ての汚染物質濃度を気相(空気)側の体積基準で定義した気相換算濃度で再定義することが簡便である。気道内粘膜上皮相側の界面濃度を気相換算濃度とする場合、(3)式の左右の濃度次元が同一となるため、この場合の Partition Coefficient $P_{t,air}$ は無次元となる。

さて、空気-粘膜上皮の境界面での濃度定義点を図 2 に簡略化して示す。本節ではこの境界面濃度を算出するために予備的な感度解析を実施し、粘膜上皮相濃度の気相換算濃度と無次元の Partition Coefficient $P_{t,air}$ を推定する。

気相ならびに粘膜上皮の境界濃度は、図 2 に示すとおり気相濃度 $C_{a,0}$ と粘膜上皮濃度 $C_{t,0}$ の 2 種類で表現される。壁面表面濃度を算出するため、本解析では ($C_{a,0}^{n+1} + C_{t,0}^{n+1} \approx C_{a,0}^n + C_{t,0}^n$, n は反復計算のステップ)を仮定し、(3)式を用いて次式を設定した。

$$C_{a,0}^{n+1} = \frac{1}{1 + P_{t,air}} (C_{a,0}^n + C_{t,0}^n)$$

$$C_{t,0}^{n+1} = \frac{P_{t,air}}{1 + P_{t,air}} (C_{a,0}^n + C_{t,0}^n)$$

上式を拡散条件を満たすタイムステップ $\Delta t = 10^{-5}$ [s] の条件で、気相内腔と気道粘膜組織を再現した非定常 1 次元解析を実施した。その際、気道内腔の空気層の他、粘膜上皮層 ($L_t = 0.0665$ mm) ならびに上皮

下組織層 ($L_b = 0.015$ mm) を設定した上で、組織層は各々法線方向に 5 分割以上することで(4)式ならびに(6)式を離散化した上で代数的に解く。気道内腔をモデル化した気相側は、粘性底層を想定し、移流を無視して拡散項のみを解く。汚染物質の境界条件として、気相側にホルムアルデヒド濃度 $C_{in} = 1.0$ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (気相濃度) を一定値として与えた。この 1 次元非定常解析による定常濃度分布解析結果を図 3 に示す。

気相 - 粘膜上皮相間の Partition Coefficient として RA Corley ら¹⁵⁾の推定値 $P_{t,air} = 101.5 [\text{m}^3(\text{air}) / \text{m}^3(\text{tissue})]$ を用いた場合の、気道内腔側の気相と粘膜上皮相の界面濃度は、定常時には各々 $C_{0,a} : 0.0183$ $[\mu\text{g}/\text{m}^3(\text{air})]$, $C_{0,t} : 1.8631$ $[\mu\text{g}/\text{m}^3(\text{tissue})]$ となった。

この気相側ならびに粘膜上皮側の界面濃度の値より、全てを気相換算濃度で統一した場合の無次元 Partition Coefficient を定義することが出来る^{注 1)}。ここでは、気相側の界面濃度である $C_{a,0}$ の算出結果と、粘膜上皮相側の界面近傍第 1 セル濃度 $C_{a,1}$ との比を取ることで、粘膜相側の反応拡散抵抗を加味した無次元の $P_{t,air}$ を算出すると、0.16 [-] と同定された。

(8) 前述のとおり、(1)式から(7)式を気道内の 3 次元的な幾何形状を考慮した上で連成解析する計算負荷は甚大となる。そのため、(3)式の分配定数を気相側濃度次元のみで記述した無次元 Partition Coefficient を用いることで、気道内の CFD 解析と PBPK モデルを分離して解析する Quasi-Coupling による計算手法を採用することも可能となる。

E. モデル室内を想定した PBPK- CSP- CFD 連成解析の概要

本研究では室内に設置された建材から放散されるホルムアルデヒドを想定し、モデル室内でのホルムアルデヒドの濃度分布解析と数値人体モデル CSP を用いた経気道暴露濃度予測を行う。解析対象空間と数値気道モデルを統合した数値人体モデルを図 4 に示す。

数値気道モデルを統合した数値人体モデル周囲ならびに内部のメッシュ分割は数値気道内では PBPK モデルと連成させるために、粘膜上皮層($L_t=0.0655$ mm)ならびに上皮組織層($L_b=0.015$ mm)を設定し、各々法線方向に 5 分割以上することで(4)式ならびに(6)式を離散化した上で代数的に解く。界面濃度は(8)式ならびに(9)式を適用して解く。本節での解析は 4 節で示した無次元 Partition Coefficient を用いた CFD-CSP-PBPK の Quasi-Coupling ではなく、全てを完全連成した解析を実施する。

CFD 解析の境界条件ならびに数値解析条件を表 2 に整理して示す。PBPK モデルの各モデルパラメータは RA Corley らの計算事例を参考に決定した表 1 に示した条件と同一。

模擬的な置換換気を想定した給気口からは換気回数 $ACH=12\text{ h}^{-1}$ に相当するホルムアルデヒド濃度ゼロの新鮮空気を供給する($V_{in,r}=0.1\text{ m/s}$)。対象とする汚染物質であるホルムアルデヒドは、清浄空気供給量とホルムアルデヒド発生量のみから算出されるモデル室内の完全混合濃度が $100\mu\text{g}/\text{m}^3$ となる場合を想定し、床面に一定発生量(一定フラックス)を与えた。CFD

の条件として、本解析では定常呼吸を仮定し、人体モデルの鼻孔面に一定流入(7.5 L/min)を強制対流として与えた。また、数値人体モデルには 2 Node model を人体熱モデルとして組み込んでいる(数値気道モデル内の熱・水蒸気解析と完全連成)。

F. 数値解析結果

図 5 は人体周辺及び呼吸域における流れ場解析結果を示している。人体熱モデル(2-Node model)との連成解析を行っているため、その結果として人体発熱により人体周辺、特に頭頂部に熱上昇流が確認される。また基礎代謝時の平均定常呼吸量(吸引)を鼻孔面に与えたが、鼻孔面からの吸引気流が人体周辺の熱上昇流に与える影響は比較的狭い領域に留まっているものの、頭部の皮膚表面近傍では複雑な流れ場の形成が確認できる。人体周辺環境と共に呼吸器内(気道内)の流れ場も同時に解析している。

図 6(1)には人体周辺の温度分布解析結果を図 6(2)には床面から発生したホルムアルデヒドの室内濃度分布解析結果を示す。流れ場解析結果と同様に、人体発熱に起因する頭頂部周辺の熱上昇流の存在と、室平均温度より低い温度で床面位置より供給された供給空気による緩やかな温度成層形成の様子も確認できる。ホルムアルデヒド濃度分布に関しては、人体モデル位置を境として給気口側では低濃度となっており、人体モデル背後では天井面に沿って設置された排気口に向けて床面から発生したホルムアルデヒドが高濃度域を形成しており、室内には強い不均一分布が形成されている。人体モデ

ルの設置向きと(濃度ゼロの新鮮空気が供給される)給気口の位置関係より、人体モデル呼吸域のホルムアルデヒド濃度は室平均濃度と比較して相対的に低い濃度となっている。

図 7(1)は呼吸域から鼻腔を中心とした領域のホルムアルデヒド濃度分布解析結果を示す。鼻孔周囲まで輸送されてきたホルムアルデヒドは定常呼吸にて鼻腔内に輸送されるものの、鼻腔内粘膜上皮に吸着することで鼻腔内の空気中ホルムアルデヒド濃度は急激に低下し、鼻腔(Nasal cavity)の後流側に位置する鼻咽頭部(Nasopharynx)付近では鼻孔面位置での濃度と比較して 1/100 程度以下の濃度レベルとなった。定常呼吸を仮定した本解析条件のもとでは、鼻孔より気道内に流入したホルムアルデヒドは過半が鼻腔内壁に吸着し、咽頭、気管、気管支を經由して肺胞まで到達する割合は非常に低いことが明らかとなった(しかしながら、気管支第四分岐位置でのホルムアルデヒド濃度はゼロではなく、長期曝露に伴う積算暴露量は無視できない)。図 7(2)は気道モデルの特に鼻腔に着目した場合の粘膜上皮表面に対するホルムアルデヒドの吸着フラックスの分布を示す。鼻孔ならびに鼻腔での吸着フラックスが相対的に大きな値になっており、この領域からの体内吸収が支配的となる様子が確認できる。

本研究では、図 8 に示すように鼻腔・口腔から気管支第四分岐までの気道モデルを鼻腔(Nasal Cavity)、口腔(Oral Cavity)、咽頭・喉頭(Pharynx/Larynx)、気管(Trachea)、気管支(Main Bronchi)、細気管支(2bronchi+bronchioles)の領域に分割し、各

部位の特性を示す部位別調整係数 (V_{maxC} , region-specific adjustment factor)を各々の気道部位に適用し、各部位別に PBPK 解析を実施した。ここでは、代表的な解析事例として鼻腔(Nasal cavity)、鼻咽頭(Nasopharynx)、喉頭(Larynx)における PBPK 解析結果を図 9 に示す。本解析では、図 7 の結果からホルムアルデヒドによる経気道曝露の Hot-spot と思われる気道内の 3 箇所を部位として選定し、PBPK 解析を行っている。図 9 に示す PBPK 解析結果は、各気道内部位別平均濃度 $C_{o,a}$ 及び(3)式を用いて算出した粘膜上皮相濃度 $C_{o,t}$ を境界条件として、(4)式ならびに(6)式を部位別に解析した粘膜組織内の定常ホルムアルデヒド濃度分布(本報では一次元で解析)である。図 9 の縦軸濃度は粘膜相濃度であり、粘膜組織の単位体積(m^3)あたりのホルムアルデヒド濃度を示している。空気が流通する内腔と接する粘膜上皮面で高濃度となり、組織内での各反応と血流輸送によりホルムアルデヒド濃度が徐々に低下していく様子が確認できる。例えば、図 9 (1)に示す鼻腔(Nasal cavity)の結果では、気相-粘膜上皮層境界での粘膜上皮相ホルムアルデヒド濃度 $21.4\mu g/m^3$ (tissue)に対し、粘膜上皮層-粘膜下組織境界での濃度は $15.0\mu g/m^3$ (tissue)となっており、粘膜上皮層で 30%程度ホルムアルデヒド濃度が低下する。粘膜下組織ではほぼ一定の濃度プロファイルとなった。鼻咽頭(Nasopharynx)、喉頭(Larynx)でも組織内のホルムアルデヒド濃度分布は鼻腔(Nasal cavity)の場合と相似であるが、気相-粘膜上皮層境界でのホルムアルデヒド濃度が大きく低下していること

が分かる。

表3には、気道内各部位における脱水素酵素による代謝、非特異的反応、非特異的結合及び血流輸送によるホルムアルデヒド分解量を一覧として示す。各組織内での代謝によるクリアランスと血流輸送分がホルムアルデヒド濃度低下に支配的に寄与していることが分かる。

G. 結語

本年度(2016年度)は研究2年目として、研究初年度(2015年度)に作成した計算流体力学 CFD 解析用の数値気道モデルを、頭部や胴体・手足などの幾何形状を詳細に再現した人体幾何形状モデルに統合し、室内環境中で発生した各種の汚染物質による経気道曝露予測を可能とする総合的な数値人体モデル CSP (Computer Simulated Person)を作成した。

この CSP に経気道曝露評価を目的とした生理的薬物動態解析 PBPK (Physiologically Based Pharmacokinetic)モデルを組み込むことで、気道内での汚染物質沈着から気道内粘膜上皮を介して体内へ向かう汚染物質動態を解析する一連の解析モデルを構築した。解析の一例として、床材から放散されたホルムアルデヒドを想定した場合の経気道曝露濃度予測と PBPK モデルを用いたホルムアルデヒドの体内吸収メカニズムに関する予備的な解析結果の一例を報告した。

本年度の解析結果では、室のホルムアルデヒドの完全混合濃度(排気口位置での濃度)は $100.0\mu\text{g}/\text{m}^3_{(\text{air})}$ であるのに対し、室の体積平均濃度は $91.1\mu\text{g}/\text{m}^3_{(\text{air})}$ となり、10%程度の差違がある。鼻呼吸を想定した

場合の鼻孔開口面でのホルムアルデヒド平均濃度は $62.7\mu\text{g}/\text{m}^3_{(\text{air})}$ となっており、この濃度は室の完全混合濃度や体積平均濃度とも異なる値となる。更に、気道内各部位での気相-粘膜上皮相の界面濃度は $2.81 \times 10^{-7}\mu\text{g}/\text{m}^3_{(\text{air})}$ から $0.21\mu\text{g}/\text{m}^3_{(\text{air})}$ 程度の分布を有している。

今回の解析では、換気システムや呼吸を含めて定常状態を仮定しており、単純化された条件での解析事例であるものの、室内環境中のホルムアルデヒド濃度と、呼吸域濃度、鼻呼吸の場合の鼻孔面濃度、さらには気道内粘膜上皮相濃度の関係を定量的に議論した先駆的な経気道曝露シミュレーションの事例となろう。

また、室平均濃度や気道内の実質的な曝露濃度に有意な差が存在することは、本研究で示した CSP-CFD-PBPK 解析手法が、制御対象や規制対象とすべき経気道曝露の参照濃度(Reference Concentration: RfC)の合理的決定のための有効な情報を提供できる可能性を示しているとも読める。

本研究で示した経気道曝露濃度予測シミュレーションは典型的な *in Silico* モデルであるが、数値解析モデルの宿命としてその予測精度検証が必要である。人体を対象とした *in Silico* モデルの場合、倫理的制約から被験者実験の実施が困難であるため、本研究で示した数値解析モデルの予測精度向上のためには、まずは境界条件として与える PBPK の各モデルパラメータの精度向上が必須であり、その上で、各種の誤差を最小化した数値解析手法の採用が重要となろう。室内環境側要素や人体生理、呼吸現象の非定常化を

含めて、これらの点は次年度の課題としたい。

また、研究所年度(2015年度)に作成したラット、イヌ、サル、ヒトを対象とした数値気道モデルを対象として、気道内換気効率の検討を実施するため、定常吸気時ならびに定常呼気時の気道内空気到達時間(Age of Air)分布の解析手法の可能性を検討した。定量的な結果と相互比較結果に関しては次年度の最終報告として整理する予定である。

H. 研究発表

1. 論文発表

Nguyen Lu Phuong, Masato Yamashita, Sung-Jun Yoo, Kazuhide Ito, Prediction of convective heat transfer coefficient of human upper and lower airway surfaces in steady and unsteady breathing conditions, *Building and Environment*, 100, 2016, pp172-185

Kazuhide Ito : Toward the development of an *in silico* human model for indoor environmental design, *Proceedings of the Japan Academy- Series B*, Vol.92, No.7, 2016, pp 185-203

Kazuhide Ito, Koki Mitsumune, Kazuki Kuga, Nguyen Lu Phuong, Kenji Tani, Kiao Inthavong, Prediction of convective heat transfer coefficients for the upper respiratory tracts of rat, dog, monkey, and humans, *Indoor and Built Environment*, 2016, Accepted (DOI: 0.1177/1420326X16662111)

Alicia Murga, Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito, Multi-stage downscaling procedure

to analyze the impact of exposure concentration in a factory on a specific worker through CFD, *Indoor and Built Environment*, 2016, Accepted (DOI: 10.1177/1420326X16677331)

Ping Wang, Wenhao Chen, Jiawen Liao, Toshiki Matsuo, Kazuhide Ito, Jeff Fowles, Dennis Shusterman, Mark Mendell, Kazukiyo Kumagai : A Device-independent Evaluation of Carbonyl Emissions from Heated Electronic Cigarette Solvents, *PLOS ONE* 12(1): e0169811, 2017

Kazuhide Ito : *In silico* human model for fluid-initiated indoor environmental design, *Indoor and Built Environment*, 2017; 26 (3) Accepted (DOI:10.1177/1420326X17697290)

Kazuki Kuga, Kazuhide Ito, Sung-Jun Yoo, Wenhao Chen, Ping Wang, Jiawen Liao, Jeff Fowles, Dennis Shusterman, Kazukiyo Kumagai, First- and second-hand smoke exposure assessment from e-cigarettes using integrated numerical analysis of CFD and a computer-simulated person with a respiratory tract model, *Indoor and Built Environment*, 2017, Accepted (DOI: 10.1177/1420326X17694476)

Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito, Numerical Prediction of Tissue Dosimetry in Respiratory Tract using Computer Simulated Person integrated with physiologically based pharmacokinetic (PBPK)-computational fluid dynamics (CFD) Hybrid Analysis, *Indoor and*

Built Environment, 2017, Accepted
(DOI: 10.1177/1420326X17694475)

2. 学会発表

Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito, Numerical Prediction of Airway Tissue Dosimetry using PBPK-CFD Hybrid Model integrated into Computer Simulated Person, *Indoor Air 2016*, The 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Belgium, Paper ID:697

Kazuki Kuga, Toshiki Matsuo, Sung-Jun Yoo, Kazuhide Ito, Wenhao Chen, Ping Wang, Jiawen Liao, Jeff Fowles, Dennis Shusterman, Kazukiyo Kumagai, Numerical Prediction of Contaminant Distributions in Human Respiratory Tract for Exposure Assessment to E-Cigarettes, *Indoor Air 2016*, The 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Belgium, Paper ID:748

Yusuke Sano, Alicia Murga, Yoichi Kawamoto, Kazuhide Ito, Dynamic downscaling analysis of air quality from urban to human scale: Part 1 Integration of WRF and CFD to predict wind pressure coefficient distribution, *Indoor Air 2016*, The 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Belgium, Paper ID:722

Alicia Murga, Yusuke Sano, Yoichi Kawamoto, Kazuhide Ito, Dynamic downscaling analysis of air quality

from urban to human scale: Part 2 Exposure concentration analysis in a Large Factory Space, *Indoor Air 2016*, The 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Belgium, Paper ID:721

Koki Mitsumune, Kazuki Kuga, Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito, Computational modeling of airflows and gas-phase contaminant dispersion in the respiratory tracts of dog, monkey, and humans, IAQVEC 2016, South Korea, Paper ID:1274

Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito, PBPK-CSP-CFD Hybrid Analysis for Estimating Indoor Air Quality and Airway Tissue Dosimetry, IAQVEC 2016, South Korea, Paper ID:1313

Ji-Woong Kim, Kazuki Kuga, Shin-ichiro Aramaki, Nguyen Lu Phuong, and Kazuhide Ito, Flow Visualization in a Realistic Replica a Model of Monkey Respiratory Tract using Particle Image Velocimetry, IAQVEC 2016, South Korea, Paper ID:1484

松本秀真, 久我一喜, 劉城準, 伊藤一秀: 咳由来の飛沫・飛沫核の輸送モデルとCFD-CSPとの連成解析, 日本建築学会九州支部研究発表会・研究報告, 2017.3, pp 385-388

久我一喜, 伊藤一秀: e-Cigaretteを対象とした経気道暴露シミュレーション(第3報) 総合的な経気道曝露評価のための下気道モデル: 日本建築学会九州支部研究発表会・研究報告, 2017.3, pp 297-280

劉 城準, 伊藤一秀: 呼吸器系詳細形状を
再現した **Computer Simulated Person**
の開発 (第 1 報) (第 3 報)

PBPK-CSP-CFD 連成解析による経気
道曝露リスクの定量評価: 日本建築
学会九州支部研究発表会・研究報告,
2017.3, pp 293-296

光宗航基, 伊藤一秀: ラット・イヌ・サ
ル・ヒトを対象とした上気道内流れ
場と換気効率解析: 日本建築学会九
州支部研究発表会・研究報告, 2017.3,
pp 301-304

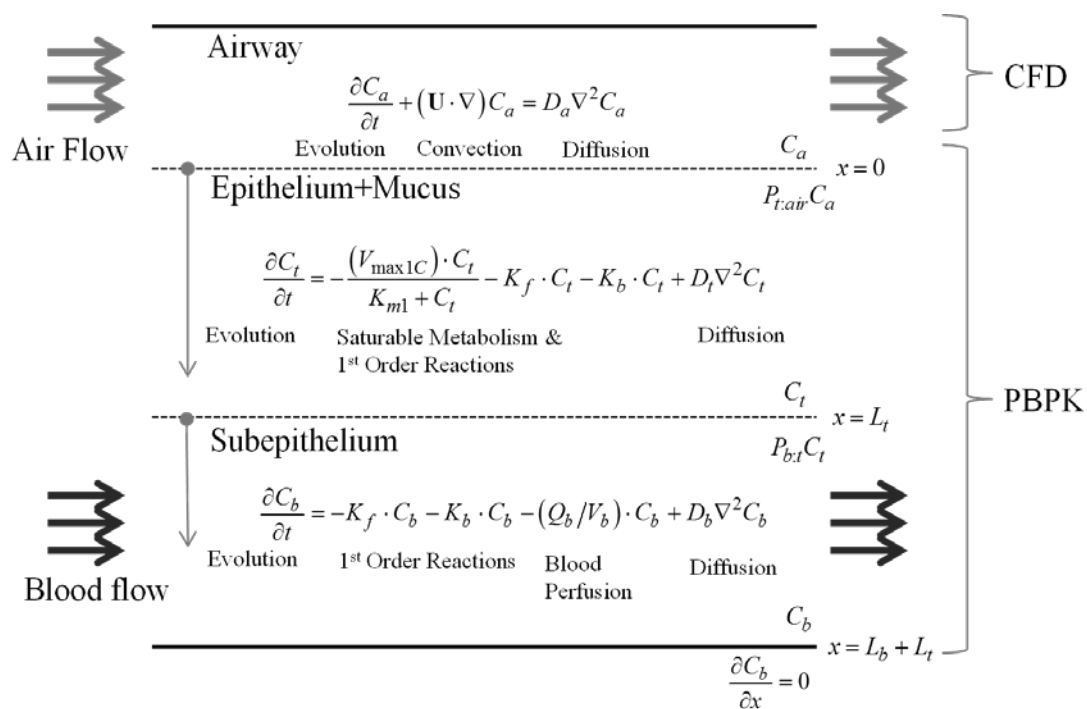


図1 ホルムアルデヒドを対象とした一次元 PBPK-CFD モデルの概要

表1 PBPK-CFD モデルで用いる物性値一覧

Target chemicals	Formaldehyde (HCHO)
Diffusivity	$D_a = 0.15 \times 10^{-4}$ [m ² /s] (Formaldehyde in Air)
	$D_t = 8.08 \times 10^{-10}$ [m ² /s] (Epithelium+mucus)
	$D_b = 1.62 \times 10^{-9}$ [m ² /s] (Sub-epithelium)
Formaldehyde concentration	C_a (in Air), C_t (in Epithelium+mucus), C_b (in sub-epithelium)
Partition Coefficient	$P_{t,air} = 101.5$ [m ³ /m ³] (Tissue: air), $P_{b,t} = 1.0$ [m ³ /m ³] (Tissue: blood)
Metabolism	$K_{m1} = 2.01 \times 10^5$ [μg/m ³], $V_{max1C} = 1.96 \times 10^7$ [μg/m ³ /s]
	$K_f = 1.8 \times 10^{-2}$ [s ⁻¹]
V_{maxC} region-specific adjustment factor	1.0 (Nose), 0.25 (Mouth, Pharynx, Larynx, Trachea, Bronchi), 0.5 (Bronchioles)
Non-specific binding	$K_b = 1.07 \times 10^{-7}$ [s ⁻¹]
Blood flow	$Q_b = 9.868 \times 10^{-5}$ [m ³ /s] (=5920.6 [mL/min])
Compartment 1 (Mucus+Epithelium)	Surface area of Nasal Cavity (18.97×10^{-3}), Oral Cavity (5.96×10^{-3}), Pharynx/Larynx (11.05×10^{-3}), Trachea (4.54×10^{-3}), Main Bronchi (3.37×10^{-3}), 2bronch+bronchioles (8.73×10^{-3}) [m ²]
	$V_b = 3.4479 \times 10^{-3}$ [m ³], $L_t = 6.55 \times 10^{-5}$ [m]
Compartment 2 (Subepithelium)	$V_b = 0.7896 \times 10^{-3}$ [m ³], $L_b = 1.5 \times 10^{-5}$ [m]

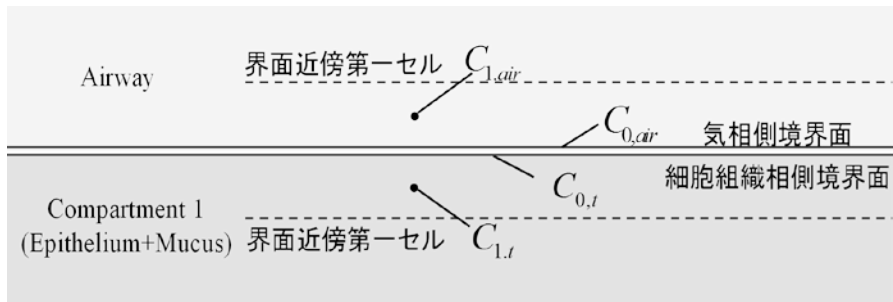


図2 気相-粘膜上皮層のホルムアルデヒド濃度の定義

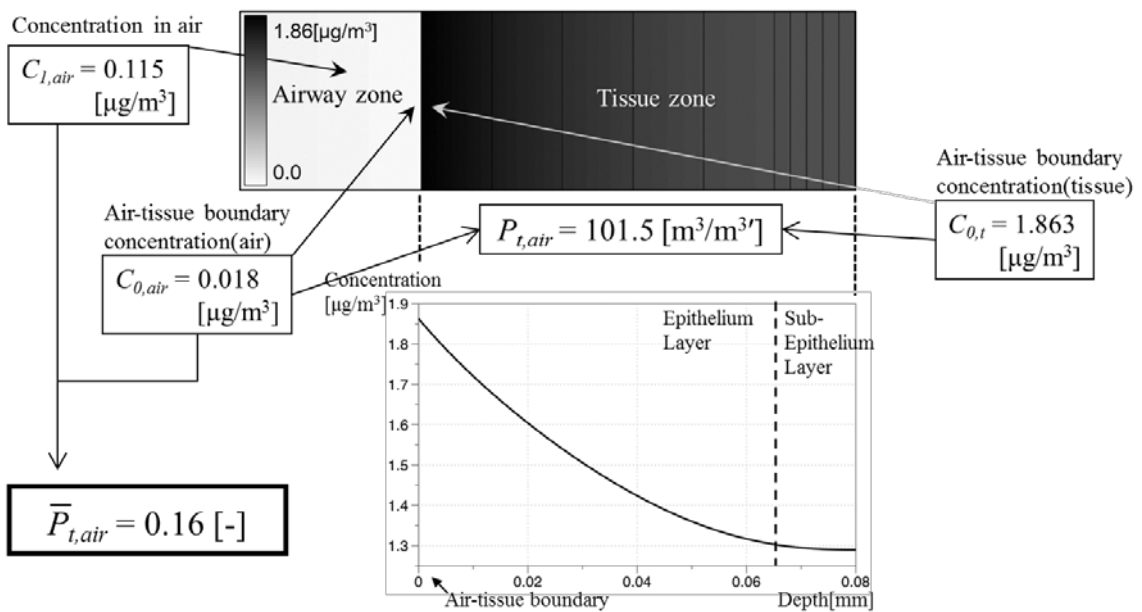
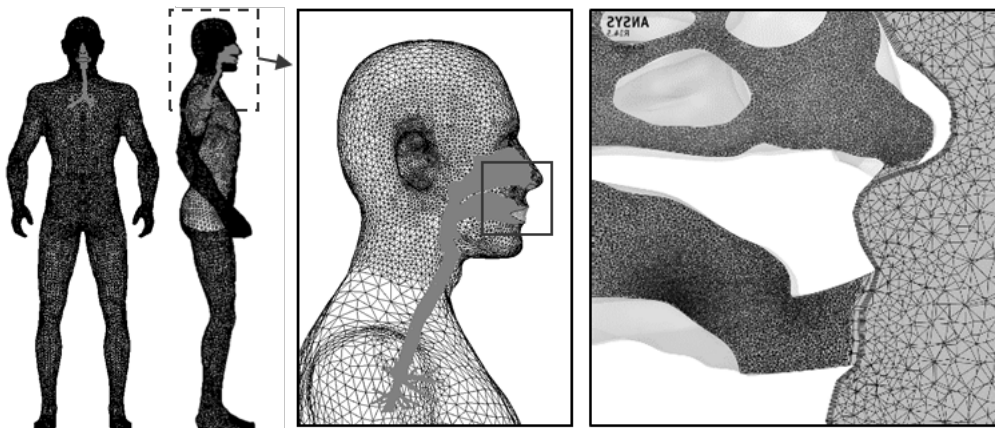
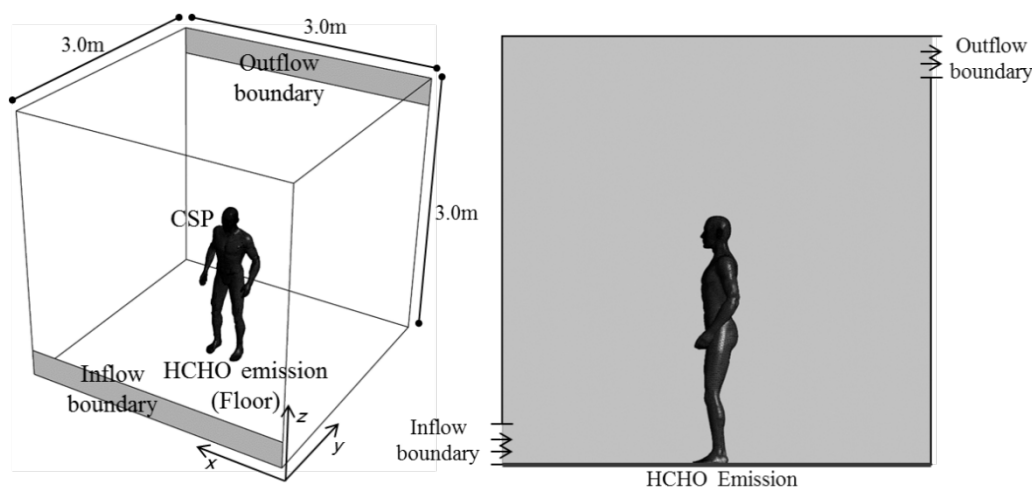


図3 無次元 Partition coefficient, $P_{t,air}$ [-]の算出手順の概要



(1) 数値人体モデル周辺のメッシュ分割概要

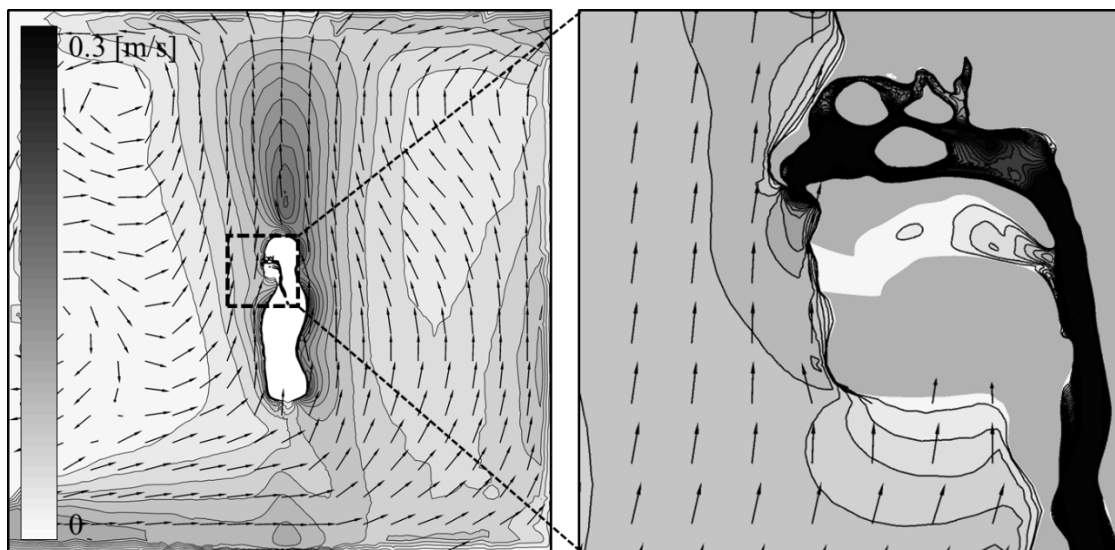


(2) 単純室モデルの概要

図4 数値人体モデルを中心とした解析対象空間の概要

表2 数値解析・境界条件の一覧

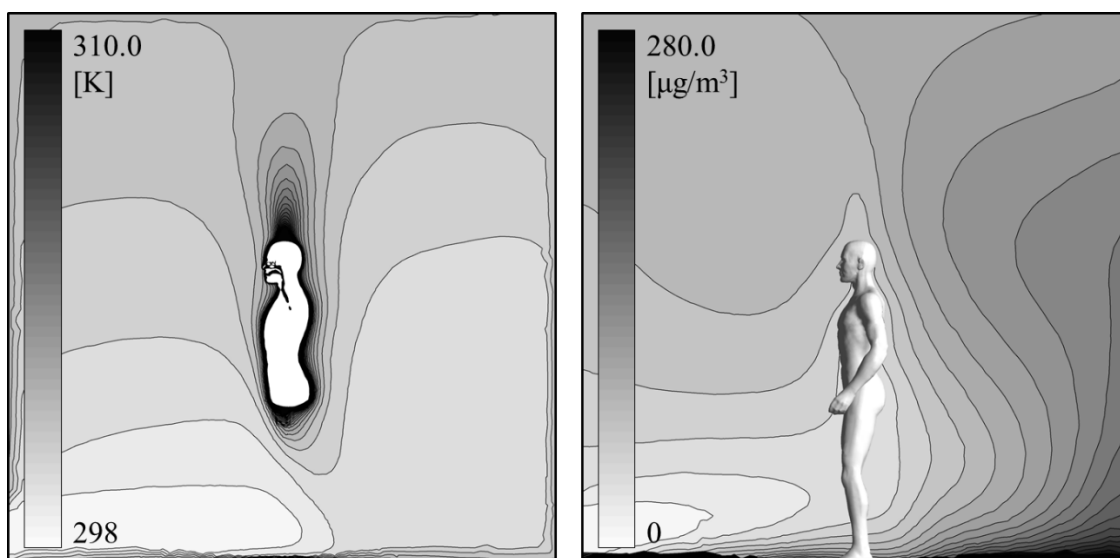
Turbulence Model	Low Re Number Type $k-\varepsilon$ model (Abe- Kondoh- Nagano Model, 3D Cal.)
Mesh	Virtual Airway (inside respiratory tract):7.6 million Analytical domain around the CSP:2.4 million
Algorithm	SIMPLE (Unsteady)
Scheme	Convection Term: QUICK
Inflow boundary (Airway model)	$Q_{in} = 7.5 \text{ L/min}$ (Steady), $k_{in}=3/2 (U_{in} \times 0.05)^2$, $\varepsilon_{in}=C_{\mu}^{3/4} k_{in}^{3/2} l_{in}$ T_{air} , φ_{in} : feedback from CSP simulation
Inflow boundary (Room model)	Velocity Inlet, $V_{in,r} = 0.1\text{m/s}$ $T_{in,r} = 298\text{K}$, $\varphi_{in,r} = 50\% \text{RH}$
Outflow boundary (Airway model)	Boundary type : Pressure boundary Backflow condition : 309.8K, 99% RH Backflow contaminant concentration : 0
Outflow boundary (Room model)	$U_{out} = k_{out} = \varepsilon_{out} = \text{Gradient zero}$
Wall treatment (Airway model)	Velocity: no slip Temperature ; $T_{wall \text{ surface}}$: calculated by 2-node model(T_{cr}) Humidity ; $\varphi_{wall \text{ surface}} = 99\% \text{RH}$, Contaminant: $P_{t,air} = 0.16[-]$
Wall treatment (Virtual Manikin)	Velocity: no slip Temperature and humidity: calculated by 2-node model(T_{sk}) Contaminant: Gradient zero
Wall treatment (Room model)	Velocity: no slip Temperature, humidity and contaminant: Gradient zero (adiabatic)
Contaminant generation	Formaldehyde emission from floor surface: Fixed Flux (Perfectly mixed $C_{out}=100.0[\mu\text{g}/\text{m}^3]$)
Others	Radiation model: S2S model, Ray tracing method Metabolic rate $M=75.5\text{W}/\text{m}^2$, Body weight $W=65\text{kg}$ Body surface area $BSA= 1.745\text{m}^2$



(1) CSP 周辺流れ場

(2) 呼吸域周辺流れ場

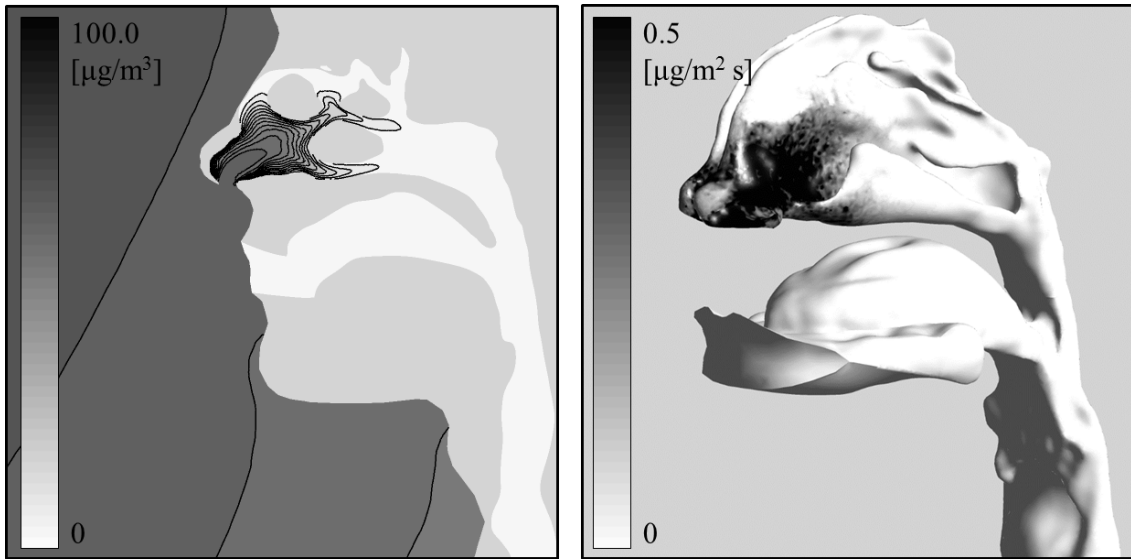
図 5 数値人体モデル周辺の流れ場解析結果



(1) 温度場解析結果

(2) ホルムアルデヒド濃度分布解析結果

図 6 数値人体モデル周辺の温度場ならびにホルムアルデヒド濃度分布解析結果



(1) 呼吸域・鼻腔内のホルムアルデヒド濃度分布 (2) 気道内吸着フラックス分布
 図7 呼吸空気のホルムアルデヒド濃度分布と鼻腔内粘膜上皮に対するホルムアルデヒドの吸着フラックス分布解析結果

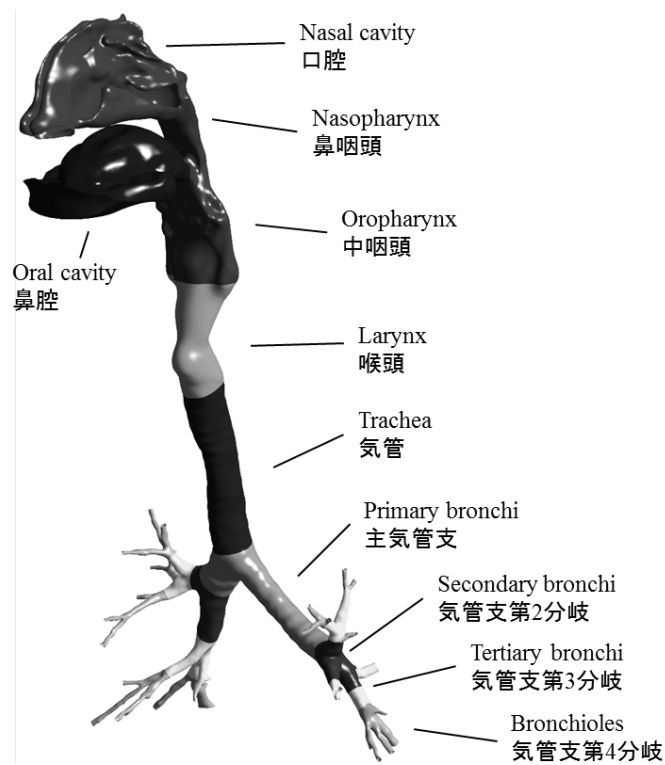
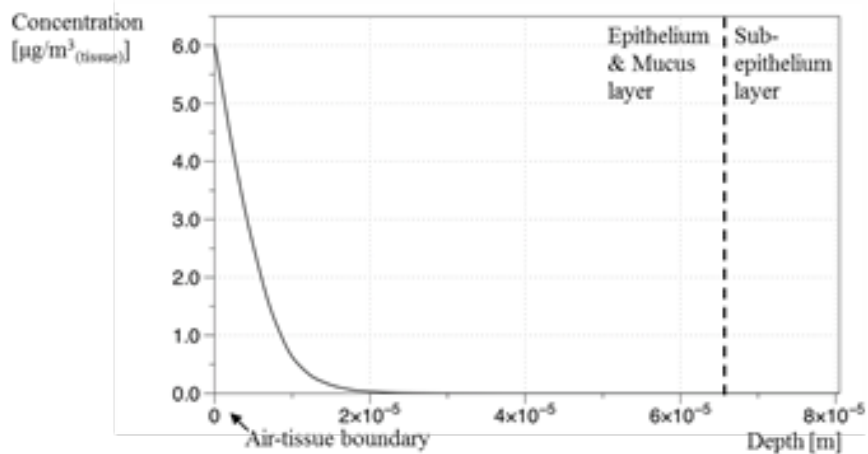
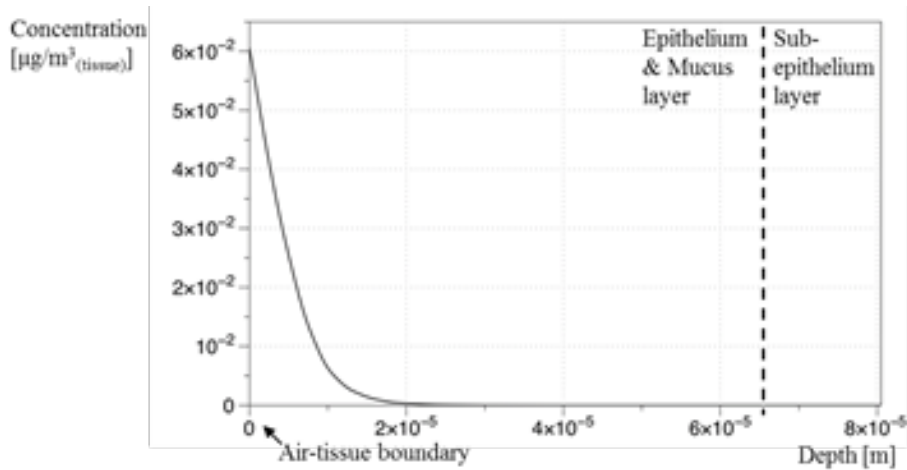


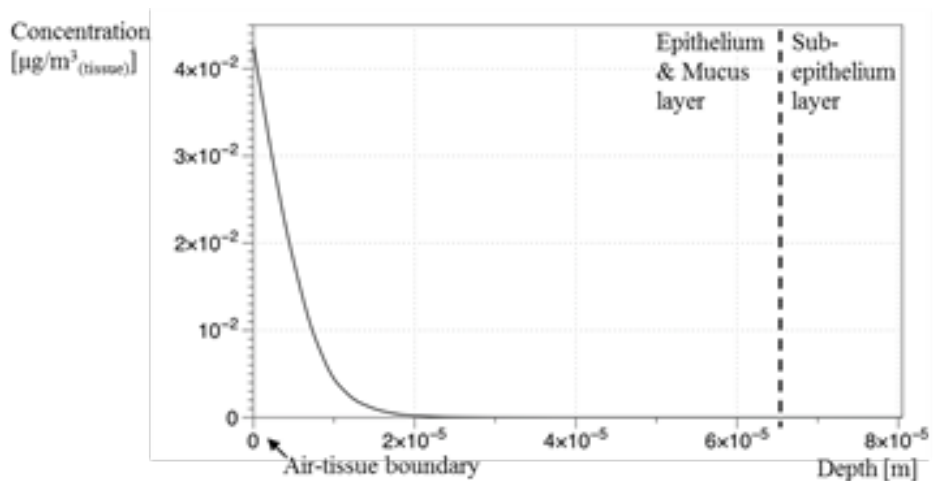
図8 数値気道モデルの部位分割の概要(10 部位分解)



(1) Nasal cavity



(2) Nasopharynx



(3) Larynx

図9 気道粘膜組織内のホルムアルデヒド濃度分布
(鼻腔 : nasal cavity, 鼻咽頭 : nasopharynx, 咽頭 : Larynx)

表3 ホルムアルデヒドの経気道暴露を想定した場合の PBPK 解析結果[$\mu\text{g}/\text{m}^3/\text{s}$]

	Epithelium + Mucus layer		Sub-epithelial layer	
	Saturable metabolic clearance $\frac{(V_{\max}C) \cdot C_t}{K_{m1} + C_t}$	1 st order reaction $(K_f + K_b) \cdot C_t$	1 st order reaction $(K_f + K_b) \cdot C_b$	Blood perfusion $(Q_b/V_b) \cdot C_b$
Nasal cavity	17.05	3.15×10^{-3}	0	0
Nasopharynx	0.17	3.16×10^{-5}	0	0
Larynx	1.21×10^{-1}	2.23×10^{-5}	0	0
Oropharynx	9.62×10^{-2}	1.78×10^{-5}	0	0
Trachea	8.01×10^{-2}	1.48×10^{-5}	0	0