

DEHP の摂取量及び排泄量データに基づくヒト PBPK モデルの検証

京都大学大学院 学生会員 ○安河内 健

京都大学大学院 正会員 米田 稔

京都大学大学院 フェロー 森澤 眞輔

1. 本研究の目的

プラスチック可塑剤として生産量・使用量ともに最も多い DEHP（フタル酸ジエチルヘキシル）は内分泌攪乱物質の 1 つに数えられその環境中挙動や生体内分布、代謝に注目されている。一方、DEHP の代謝産物 MEHP においては精巣毒性が疑われている。同じく可塑剤として DBP（フタル酸ジブチル）があるが、生産量で比べると、DEHP の方が DBP よりもはるかに多く DEHP の曝露レベルは DBP よりも高いと考えられる。

本研究では実際に DEHP、MEHP のヒトの系における流出入量の測定法を確立すると共にその測定法を用いて実際に測定し、その測定結果を用いてラット PBPK モデルから外挿することにより得た DEHP のヒト PBPK モデルの妥当性の検討をし、また DBP の代謝についても定量的検討を試みた。

2. 実験方法

2. 1 食品中 DEHP、DBP 定量方法

摂取した食品の 1/10 ずつをすり合わせガラス瓶に採取し密閉して 1 日分を超臨界 CO₂ 抽出装置で 60min 抽出した。抽出液の油脂に n-ヘキサンを加えて GPC カラムで精製し、GC/MS を用いて定量した。

2. 2 飲料水中 DEHP、DBP 定量方法

摂取した飲料水と同じものを用意し、固相抽出カートリッジ(バリアン abselutTM ネクサス)に一定流速で通水し、ジクロロメタン+アセトン(6:1)20ml で溶出した後、GPC カラムで精製し、GC/MS を用いて定量した。

2. 3 経気道吸入 DEHP、DBP 定量方法

図 1 に示すエムポアディスク(3M 社製 C18FF)を用い、ディスクホルダーにポンプを接続して 8L/min で空気を吸引し、DEHP、DBP をディスクに吸着させた後、ディスクをアセトンで超音波洗浄して洗浄液を GC/MS を用いて定量した。

2. 4 経気道排出 DEHP、DBP 定量方法

吸気と呼気が別経路となったマスク(ハンスドルフ社製)の呼気口にエムポアディスクを接続し、マスクを装着したまま呼吸して、呼気中 DEHP、DBP をディスクに吸着させた。このディスクをアセトンで超音波洗浄し、洗浄液を GC/MS を用いて定量した。

2. 5 尿中排出 MEHP、MBP、DEHP、DBP 定量方法

採取した尿全量に β -glucuronidase/aryl sulfatase を加え 37℃に保ちつつ 16h 振り混ぜグルクロン酸抱合体の分解を行った。酵素分解した尿を固相抽出カートリッジに一定流速で通水し、ジクロロメタン+アセトン(6:1)6ml で溶出した後、窒素吹き付けで乾燥させトリエチルアミン 25 μ l、トリエチルオキシニウムテトラフルオロボレーのジクロロメタン溶液 0.25ml を加えエチル化を行った。これを窒素吹き付けで乾燥させ水 1ml を加え、n-ヘキサン 3ml で抽出し、GC/MS を用いて定量した。

2. 6 糞便中排泄 DEHP、DBP 定量方法

採取した糞便を超臨界 CO₂ 抽出装置で 60min 抽出し GPC カラムで精製後 GC/MS で定量した。

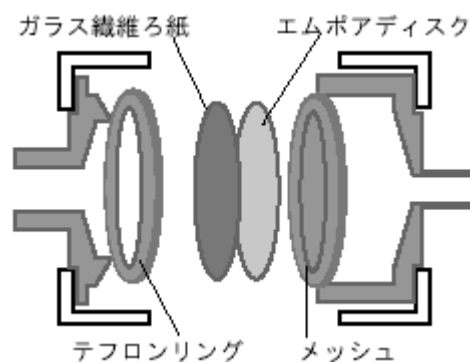


図1 エムポアディスク

キーワード DEHP、MEHP、摂取量、排泄量、PBPK モデル

連絡先 〒606-8317 京都府京都市左京区吉田本町 京都大学大学院工学研究科都市環境工学専攻環境リスク工学講座
TEL 075-753-5156 FAX 075-753-5066

3. 測定結果

被験者（男性）1名を用いて1日の流出入量を測定した結果を表1に示す。糞便については測定日に排泄が行われなかったため測定を行えなかった。

表 1 測定結果（単位:μM/day）

	DEHP	MEHP	DBP	MBP
経口摂取	1.4	-	※	-
経気道摂取	1.5×10^{-2}	-	4.7×10^{-2}	-
尿中排泄	※	1.7×10^{-2}	※	0.66

※…BGと有意な差がなかったため検出限界以下とした

…測定行わず

4. PBPK モデルを用いた測定結果の検討

4. 1 シミュレーション

本研究で用いたモデルの概略図を図2に示す。

DEHP、MEHP の摂取量及び排泄量データの測定結果を用いて、ラットより得た代謝速度データなどをヒト PBPK モデルに適用した場合の有効性を検証した。測定した排出量データは体内濃度が平衡状態に達した状態の値であると仮定し、測定結果と同じ条件で毎日摂取が行われたとしてモデルシミュレーションにより 365 日まで計算した。結果を表2に示す。

尿中 MEHP 排泄量の実測値とシミュレーション結果とを比較すると明らかにオーダーが違う。霊長類においてはげっ歯類よりも代謝活性が低いということが知られている。そこで

Michaelis-Menten 式の速度定数を小さくすることによりパラメータフィッティングを行い MEHP 尿中排泄量を大きくした。パラメータ改良後のシミュレーション結果を表3に示す。

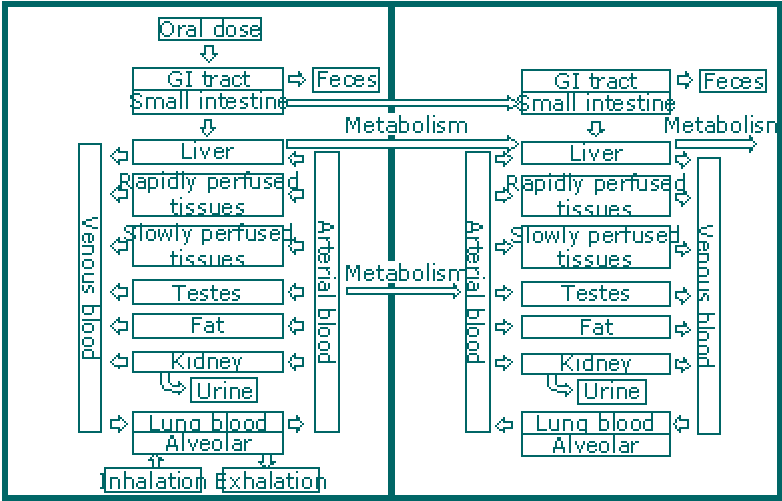
げっ歯類よりも代謝速度を遅くすることで尿中に排泄される MEHP の実測値とシミュレーション結果は良好に一致した。また、摂取した DEHP のほとんどは MEHP の代謝産物となるという結果になっている。しかし、より正確なパラメータフィッティングを行うためには尿中 MEHP 濃度のみではなく、糞便中濃度や MEHP 代謝量などの測定データを用いたパラメータフィッティングが必要となる。

4. 2 考察

フタル酸エステル類の中で生産量が最も多いDEHPは当然曝露レベルも高くなると考えられるがその代謝産物であるMEHPはMEPやMBPなど他のフタル酸エステル類の代謝産物より尿中濃度は低いという測定結果が報告されている(Environmental Health Perspectives 2000 年 10 月号)。本研究測定結果でも同じような結果が得られた。そこで、ヒト尿中に含まれる MEP、MBP は DEP や DBP 由来ではなく DEHP の代謝産物である MEHP 由来が大部分であり DEHP のばくろにより MEHP だけでなく MEP や MBP も生成されている可能性が考えられる。

5. まとめ

DEHP のヒト PBPK モデルの改良についてはラットより得た代謝速度の値を下げることで尿中 MEHP 実測値とシミュレーション結果はオーダーで一致した。しかし、DEHP のヒト体内における代謝経路を明らかにし、より正確なモデルを構築するには、DEHP、MEHP 及びその他フタル酸エステル類の尿中、糞便中、血中濃度の測定を行う必要があり、環境の変化等による濃度変化の対応を追うためにも、連続した測定が求められる。



DEHP の体内動態 MEHP の体内動態

図 2 PBPK モデル概略図

表 2 シミュレーション結果（単位:μM/day）

	1 日尿中 MEHP 排泄量	1 日 MEHP 代謝量
365 日目	3.4×10^{-5}	1.4

表 3 パラメータ改良後シミュレーション結果（単位:μM/day）

	1 日尿中 MEHP 排泄量	1 日 MEHP 代謝量
365 日目	1.7×10^{-2}	1.4