

(62) DEHP のヒト PBPK モデルパラメータ推定とリスク評価

Estimation of human PBPK model parameters and Risk Evaluation of DEHP

永吉俊介\*安河内健\*\*米田稔\*\*森澤眞輔\*\*

Shunsuke NAGAYOSHI\*, Ken YASUKOUCHI\*\*, Minoru YONEDA\*\*, Shinsuke MORISAWA\*\*

**ABSTRACT** ; To evaluate the internal exposure of DEHP and its major metabolite MEHP, human PBPK model was developed and modified. Parameters in this model were originally derived from PBPK model of rats and parameter adjustment based on the species difference was needed. The amount of exposure and excretion of phthalic acid esters and their metabolites in daily life were measured, and the concentration of DEHP and its metabolites in each organ were calculated. Using reported data that represented the time change of the DEHP concentrations in blood, the model parameters were adjusted. The adjusted PBPK model was verified using other reported data that represented the time change of the amount of MEHP in urine and the measured value of the MEHP amount in excrement. Using this verified PBPK model, some case studies were performed.

**KEYWORDS** ; DEHP, MEHP, PBPK model, Risk Evaluation, species difference

1 序論

環境微量汚染物質の典型例の1つとしてプラスチック可塑剤が挙げられる。可塑剤はプラスチックに柔軟性を与えるために添加されるものであるが、強く結合することが出来ないでプラスチック製品から容易に環境中に放出される。可塑剤の中で最も使用されているフタル酸エステル類は安全性の基準や根拠には曖昧な点が多く、そのもたらす影響が危惧されている。

1970年代、フタル酸エステル類の1つであるフタル酸ジ-2-エチルヘキシル (Di(2-ethylhexyl) Phthalate : 以下 DEHP と記す) の環境汚染が報告され、さらに輸血バッグからの溶出が問題になり、フタル酸エステル類への関心が高まったが、食用品や乳幼児用のおもちゃとして使われるプラスチックへの使用が規制されただけで現在に至っている。

Albro ら<sup>1)</sup>の研究により DEHP の代謝生成物にはフタル酸モノ-2-エチルヘキシル (Mono(2-ethylhexyl) Phthalate : 以下 MEHP と記す) と 2-エチルヘキサノールがあり、さらに MEHP の代謝により種々のフタル酸エステルが生成されることが示された。Poon ら<sup>2)</sup>はラットに DEHP を餌に混ぜて投与し、その精巢毒性に関する研究を行った。この研究により精子形成に関わる精細胞の支持細胞であるセルトリ細胞の空胞化が DEHP 投与によって認められ、DEHP の精巢毒性が指摘された。また DEHP の LOAEL を 37.6mg/kg/day に、DEHP の NOAEL を 3.7mg/kg/day としている。Teirlynck<sup>3)</sup>はラットに DEHP および MEHP を投与することによる精巢毒性に関する研究を行った。この研究により MEHP の代謝によって生成される種々のフタル酸エステル及び 2-エチルヘキサノールには *in vivo* の精巢毒性が認められないことが示された。Keys<sup>4)</sup>はラットにおいて経口摂取、静脈内注入させた DEHP と MEHP の体内動態評価を行うために PBPK モデル (physiologically based pharmacokinetic model) を構築した。

\*タクマ(TAKUMA Co.,Ltd.) \*\*京都大学(Kyoto University)

本研究では日常生活中での DEHP とその代謝生成物である MEHP (フタル酸モノ-2-エチルヘキシル) の曝露量および排泄量を 1 週間測定し、これらを基にして PBPK モデル (生理学的薬物動態モデル) の検証を行い、パラメータの妥当性と変動を評価した。

## 2 DEHP の曝露量と排泄量の測定

### 2. 1 測定目的

ヒト PBPK モデルの妥当性検討のための基礎データを得るため、DEHP と MEHP のヒトの系における流出入量を実際に測定した。過去の報告には排泄量だけを報告したものや、志願者に DEHP を投与して排泄量を報告したものが存在する。前者の場合、曝露量を把握していないため PBPK モデルの検討には適さない。後者の場合は日常では考えられないくらい多い投与量を適用している場合がほとんどで、PBPK モデルの検討に適さないわけではないが、高用量により生体内の挙動が変化するという、いわゆる高濃度から低濃度領域への濃度間外挿の不確実性を含む可能性がある。そこで、日常的な比較的低曝露の条件での曝露量と排泄量を測定することで濃度間外挿の不確実性を考える必要のない検証データを得ようとするのがこの測定の意義でもある。本測定では日変動や曝露量の変化による排泄量の変化を把握するため 1 週間連続測定を行った。

### 2. 2 測定条件

被験者は測定期間前から主に大学研究室内で時間を過ごして環境に順応させ、測定期間中も主に大学研究室内で過ごした。測定する摂取・排泄経路は経口摂取、経気道摂取、尿排泄、糞便排泄である。経皮吸収による摂取経路も想定されるが経皮吸収量を測定することが困難なこと、経皮吸収量は他の摂取経路による曝露量と比べて無視できる程度であることから、経皮吸収量は測定対象外とした。

DEHP、MEHP は表 1 に示す前処理の後に GC/MS (表 2) で内標準法により定量した。

### 2. 3 測定結果

1 週間連続測定による DEHP、MEHP の曝露量と排泄量測定結果を表 3、図 1 に示す。ただし、測定時に試料に添加した安定同位体の GC/MS ピーク面積の小さいものは回収率が低く信頼性に欠ける測定値とみなし

表 1 各試料の摂取方法と前処理方法

| 被験者   | 男性 1 人 (年齢 23、身長 173cm、体重 60kg)                                                                                                                      |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 食品、糞便 | 摂取した食品の 1/10 を広口瓶に収集してホモジナイズ<br>サンプル 30g を超臨界 CO <sub>2</sub> 抽出 (60min)<br>抽出油層を n-ヘキサンに溶かし GPC カラムで精製                                              |
| 飲料水   | 陰膜方式を用いて全量をサンプルとし、<br>固相抽出カートリッジを用いて固相抽出後、GPC カラムで精製                                                                                                 |
| 呼吸    | フィルタをセットしたマスクを装着し呼吸を吹きつける (1hr)<br>フィルタをアセトン溶媒で超音波洗浄                                                                                                 |
| 吸気    | フィルタをセットしたホルダーをポンプで吸引 (8L/min, 1hr)<br>フィルタをアセトン溶媒で超音波洗浄                                                                                             |
| 尿     | 排泄毎に全量を広口瓶に収集<br>pH を 4.85-4.90 に調節後 $\beta$ -glucuronidase/aryl sulfatase を加えて<br>振とう (16hr, 37°C) しグルクロン酸抱合体を分解<br>固相抽出カートリッジを用いて固相抽出後、誘導体化 (エチル化) |

表 2 GC/MS 測定条件

|              | 原試料                                                | 原以外の試料                             |
|--------------|----------------------------------------------------|------------------------------------|
| 導入部温度        | 初期温度 110°C (1分)<br>昇温速度 80°C/分<br>最終温度 280°C (4分)  | 280°C                              |
| カラム温度        | 初期温度 110°C (1分)<br>昇温速度 10°C/分<br>最終温度 280°C (12分) | 35°C (5分)<br>10°C/分<br>280°C (10分) |
| インターフェイス温度   | 280°C                                              | 300°C                              |
| SIM 測定 (m/z) | 149, 153, 177, 181, 212                            | 149, 153, 212                      |

表 3 DEHP、MEHP の曝露量と排泄量測定結果

|         | 1日目 | 2日目 | 3日目 | 4日目  | 5日目  | 6日目  | 7日目  | 平均   |
|---------|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|
| 摂取 DEHP | 552 | 208 | 484 | 208  | 439  | 478  | 269  | 377  |
| 排泄 DEHP | -   | -   | -   | 35   | 98.8 | 160  | 23.2 | 79.3 |
| 排泄 MEHP | -   | -   | -   | 1.66 | 0.59 | 0.46 | 1.09 | 0.95 |

(単位:  $\mu$ g)

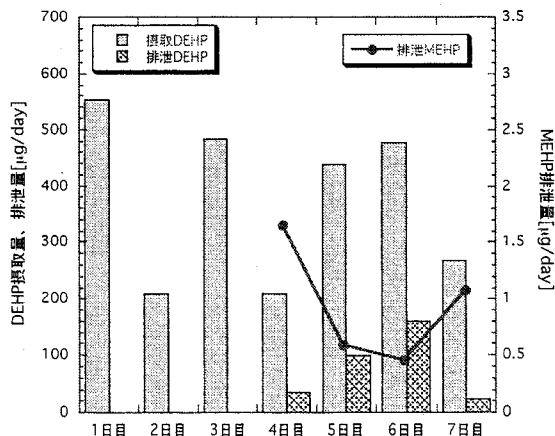


図 1 DEHP、MEHP の曝露量と排泄量測定結果

である程度信頼できる測定値のみを取り上げると 1~3 日目の排泄 DEHP、MEHP は排除される。本測定結果を用いてヒト PBPK モデルの妥当性検討のための基礎データとする。DEHP の摂取量に比べて MEHP の排泄量は 1/400 程度であった。体内においてはほぼ平衡状態に達しており、摂取した DEHP がほとんど排泄されているとすると MEHP として排泄されるのはごく一部で、MEHP からさらに代謝されて排泄されていると考えられる。

### 3 DEHP のヒト PBPK モデルの構築

ラットについて構築された PBPK モデル<sup>4)</sup>をヒトに外挿することで得られた PBPK モデル<sup>6)</sup>の代謝パラメータを用いてフィッティングした PBPK モデル<sup>7)</sup>を基本とした(図2)。

PBPK モデルのコンパートメント*i*に対する支配方程式は一般的に式(3.1)で記述される。

$$V_i \frac{dC_i}{dt} = Q_i \left( C_a - \frac{C_i}{P_i} \right) \quad (3.1)$$

$V_i$ : コンパートメント*i*の体積 [L]

$C_i$ : 対象物質のコンパートメント*i*における濃度 [mg/L]

$Q_i$ : コンパートメント*i*の血流量 [L/hour]

$C_a$ : 動脈血流量 [L/hour]

$P_i$ : コンパートメント*i*における組織/血液分配係数 [-]

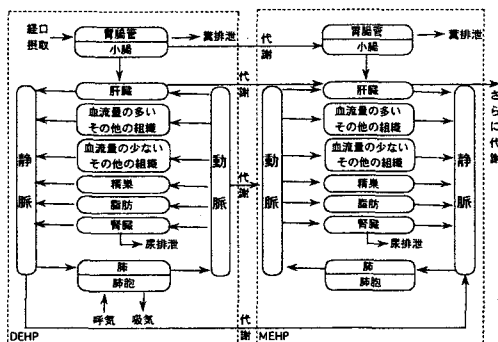


図2 DEHP、MEHP のヒト PBPK モデル

Koch ら<sup>8)</sup>は志願者に安定同位体で標識された D4-DEHP48.1mg を経口投与し、安定同位体で標識された尿中代謝物および血清中濃度を追跡した。追跡した尿中代謝物は D4-MEHP の他に D4-5oxo-MEHP と D4-5OH-MEHP である。志願者の特徴は年齢 61 歳、身長 175cm、体重 75kg であり、投与は D4-DEHP をバターに混ぜ、パンに塗って食べるという方法で行われた。この実験値を利用してヒト PBPK モデルパラメータのフィッティングを行った(図3、表4)。この際、ヒトの生理的な要素、生化学的な要素はその個体によってある程度変動することが予想される。個体差を評価する手法としてモンテカルロシミュレーションを採用した。ただし、代謝や排泄の変動に関する情報はほとんど利用できないので、情報が存在するパラメータについて検討し、各パラメータは所定の平均値と標準偏差に基づいて正規分布するものとして、100 回のモンテカルロシミュレーションにより生体内での DEHP および MEHP の体内動態の変動を解析する。変動を考慮したパラメータをその平均値と標準偏差とともに表5に示す。モンテカルロシミュレーションの回数は多いほど望ましいが本研究では計算時間の制約から 100 回とした。100 回のモンテカルロシミュレーションでも誤差 1 割程度でのおおよその比較は可能である。以下の図のパーセンタイルの求め方はこの方法に基づく。ヒトとラットの種差を考慮したパラメータ設定を行うため、ヒトでは MEHP のグルクロン酸抱合体が多いことに注目し、MEHP の標準体と抱合体の統合的なパラメータを考慮すると、MEHP の各臓器への

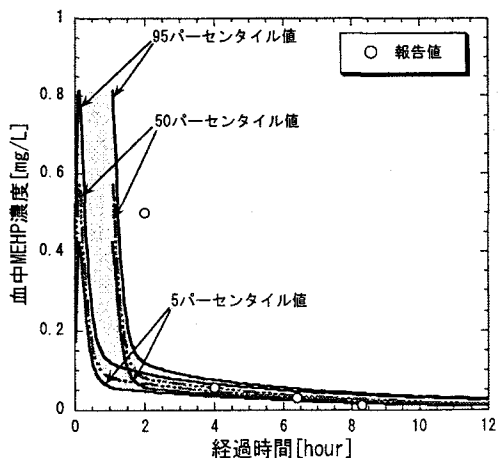


図3 パラメータフィッティング結果

分配係数が変化する。このことと、ラットに比べてヒトの DEHP(MEHP)代謝活性が低いと言われている<sup>11)</sup> こと、および Koch らの実験における摂取方法に起因する吸収の時間遅れを考慮することで血中濃度、尿排泄量の時間変化を概ね再現することができた。

表4 フィッティングしたパラメータとそのヒト/ラット比

| M<br>E<br>H<br>P | パーティション | 肝臓<br>腎臓             | $P_{li}^M$<br>$P_{k}^M$ | フィッティング前                 | フィッティング後               | ラット                     | ヒト/ラット比      |
|------------------|---------|----------------------|-------------------------|--------------------------|------------------------|-------------------------|--------------|
|                  |         |                      |                         | 21.6<br>15.0             | 2.0<br>30.0            | 21.6<br>15.0            | 0.093<br>2.0 |
| 薬物動態学的定数         |         | Michaelis-Menten速度定数 | $V_{max}^M$             | $0.024 \times BW^{0.75}$ | $0.4 \times BW^{0.75}$ | $12.0 \times BW^{0.75}$ | 0.033        |
|                  |         | Michaelis-Menten速度定数 | $K_m^M$                 | 0.5                      | 0.2                    | 0.5                     | 0.40         |

表5 個体変動を考慮したパラメータ<sup>9) 10)</sup>

| パラメータ       |          | 平均値   | 標準偏差  | パラメータ          |          | 平均値   | 標準偏差 |
|-------------|----------|-------|-------|----------------|----------|-------|------|
| 体重[kg]      | BW       | 64.26 | 9.639 | 心拍出量 [L/hr]    | $Q_c$    | 312.0 | 46.8 |
| 体重に占める重さ[%] |          |       |       | 心拍出量に占める出量 [%] |          |       |      |
| 小腸          | $V_{si}$ | 0.91  | 0.273 | 肝臓             | $Q_{li}$ | 25.0  | 7.50 |
| 肝臓          | $V_{li}$ | 2.57  | 0.771 | 精巣             | $Q_t$    | 1.3   | 0.39 |
| 精巣          | $V_t$    | 0.01  | 0.003 | 脂肪             | $Q_f$    | 5.0   | 1.50 |
| 脂肪          | $V_f$    | 21.42 | 6.426 | 腎臓             | $Q_k$    | 19.0  | 5.70 |
| 腎臓          | $V_k$    | 0.44  | 0.132 |                |          |       |      |
| 動脈          | $V_a$    | 3.95  | 1.185 |                |          |       |      |
| 静脈          | $V_v$    | 3.95  | 1.185 |                |          |       |      |
| 肺           | $V_{lb}$ | 0.76  | 0.228 |                |          |       |      |

#### 4 PBPK モデルの検証

##### 4. 1 報告値を用いた PBPK モデルの検証

Schmid ら<sup>12)</sup> は 2 人の志願者に対して、DEHP30mg の単回経口投与実験を行った。2 人の志願者の体重と年齢はそれぞれ 61kg、47 歳と 71kg、34 歳である。DEHP の投与方法に関しては詳しく記載されていなかった。測定したのは尿中に排泄された MEHP を含む代謝物であり、MEHP の排泄量を表 6 に示す。これらの結果から得られた尿中に排泄された MEHP 量により、パラメータフィッティングした PBPK モデルを検証した (図 4)。図 4 より、Schmid らによる高濃度急性曝露実験について測定値と PBPK モデルの計算値の良好な一致を得たと言える。

表6 30mg 単回経口投与実験時の MEHP 排泄量

| 志願者1      |             | 志願者2     |             |
|-----------|-------------|----------|-------------|
| 排泄期間[hr]  | MEHP排泄量[mg] | 排泄期間[hr] | MEHP排泄量[mg] |
| 0.0-2.5   | 0.047       | 0-12     | 0.24        |
| 2.5-18.5  | 0.22        | 12-24    | 0.14        |
| 18.5-23.5 | 0.012       | 24-36    | 0.019       |
| 23.5-26.0 | 0.0045      | 36-58    | 0.014       |
| 26.0-33.5 | 0.0070      |          |             |
| 33.5-44.5 | 0.0070      |          |             |
| 44.5-48.5 | 0.0013      |          |             |

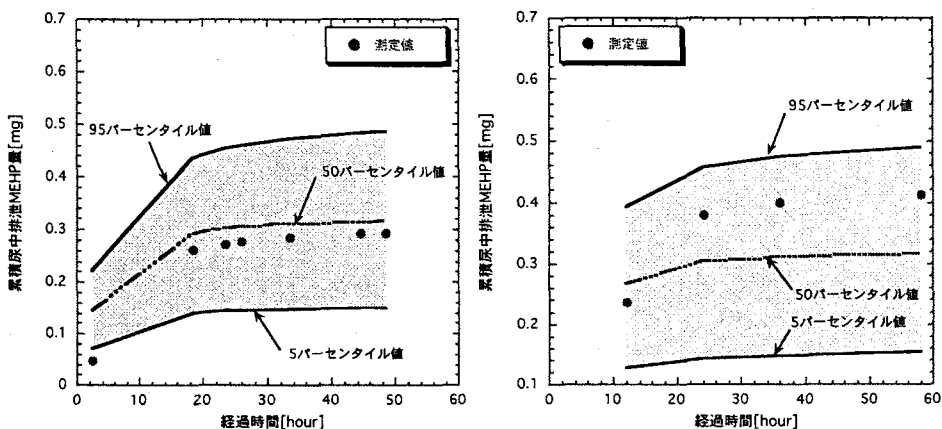


図4 報告値を用いたPBPKモデルの検証 (左: 志願者1 右: 志願者2)

#### 4. 2 実測値を用いたPBPKモデルの検証

パラメータフィッティングしたPBPKモデルの妥当性を2-3で求めた実測値により検証した(図5)。図5で示した測定値は1週間測定の平均値であり、エラーバーはその標準偏差である。図5より、高濃度急性曝露に対する検証だけでなく、2-3の日常生活での低濃度慢性曝露におけるデータに対しても、測定値と計算値との良好な一致を得たと言える。

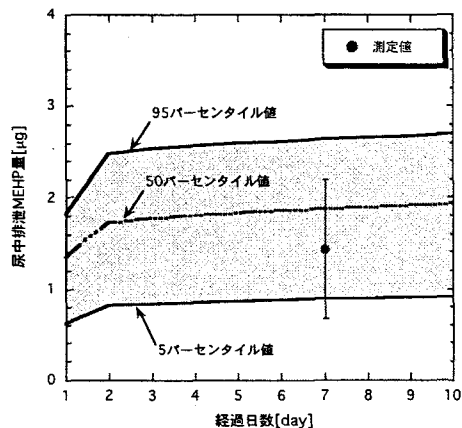


図5 実測値を用いたPBPKモデルの検証

#### 4. 3 パラメータの感度解析

DEHPとMEHPの排泄量と精巣中、血中濃度およびMEHPの2次代謝量を対象としてPBPKモデルパラメータの感度解析を行った。

パラメータ $x_i$ が対象評価値 $y$ に与える感度は式(4.1)で定義する。

$$S_i = \frac{\partial \ln y}{\partial \ln x_i} = \frac{x_i}{y} \cdot \frac{\partial y}{\partial x_i} \approx \frac{x_i}{y} \cdot \frac{\Delta y}{\Delta x_i} \quad (4.1)$$

$S_i$ : パラメータの感度 [-]       $x_i$ : パラメータの数値

$y$ : 対象評価値 (精巣・血中濃度、代謝量、排泄量)

上記のように定義した感度の数値が正の場合、当該パラメータが増加(減少)したときに対象評価値は増加(減少)し、感度の数値が負の場合、当該パラメータが増加(減少)したときに対象評価値は減少(増加)する。

微小変化の幅を標準偏差で代用すると、対象評価値の変動係数は式(4.2)のように導ける。

$$Cv_y = \frac{\sigma_y}{y} = S_i \cdot \frac{\sigma_{x_i}}{x_i} = S_i \cdot Cv_{x_i} \quad (4.2)$$

$\sigma_{x_i}$ : パラメータ $x_i$ の標準偏差

$\sigma_y$ : 対象評価値 $y$ の標準偏差

$Cv_{x_i}$  : パラメータ  $x_i$  の変動係数 [-]

$Cv_y$  : 対象評価値  $y$  の変動係数 [-]

以上を用いて、各臓器・組織中濃度や代謝量、排泄量の各評価指標に関して影響を与えるパラメータを明らかにするため、各パラメータの変動の範囲を考えることで各評価指標の変動係数を評価した（表 7）。ここで考慮する評価値の変動幅には体重や臓器の大きさなどの個体差の変動幅に起因するものと代謝速度や排泄速度などの不確実性を含むパラメータ変動幅に起因するものが存在する。個体差間変動に関するパラメータ変動幅はモンテカルロシミュレーションにて使用した標準偏差を用いた。不確実性を含んだパラメータに関する変動幅に関するデータは存在しないので 4-1 における同一個体差に関する MEHP の排泄速度の変動幅を不確実性を含んだパラメータでの  $1\sigma$  の変動範囲であると考えて、各パラメータの変動幅を評価した。各評価指標の内、精巣中 MEHP 濃度は精巣が主として DEHP の影響を受ける器官の一つと考えられるため、また尿中排泄 MEHP 濃度は実測値を得やすいため、特にこの 2 つの評価指標の感度解析結果を図 6 に示す。これらの結果より、体重や臓器の大きさなどの個体差に起因する各評価指標の変動に比べて代謝速度や排泄速度などの不確実性を含むパラメータに起因する各評価指標の変動の方がかなり大きいことが明らかとなった。

表 7 個体差変動パラメータに起因する対象評価値の変動係数

| パラメータ          |     | 尿DEHP    | 尿MEHP    | 糞便DEHP  | 糞便MEHP   | 代謝量      | 精巣DEHP   | 精巣MEHP   | 静脈DEHP   | 静脈MEHP   |
|----------------|-----|----------|----------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 体重 [kg]        | BW  | 7.2E-02  | 2.8E-02  | 3.6E-02 | -6.6E-06 | 2.8E-03  | -7.2E-02 | -1.2E-01 | -7.6E-02 | -1.2E-01 |
| 体重に占める重さ [%]   |     |          |          |         |          |          |          |          |          |          |
| 小腸             | Vsi | 2.2E-02  | -1.8E-05 | 3.0E-01 | -5.5E-05 | -2.7E-05 | 2.2E-02  | 1.5E-05  | 2.3E-02  | 5.6E-06  |
| 肝臓             | Vli | -8.8E-02 | 1.8E-04  | -       | -        | 1.6E-04  | -8.9E-02 | 8.3E-04  | -9.2E-02 | 8.1E-04  |
| 小腸             | Vt  | -1.2E-07 | -        | -       | -        | -        | 6.6E-06  | 4.3E-04  | 3.7E-07  | 1.5E-05  |
| 脂肪             | Vf  | -6.8E-02 | -2.6E-02 | -       | -        | -1.1E-02 | -7.0E-02 | -3.5E-02 | -7.3E-02 | -3.5E-02 |
| 腎臓             | Vk  | 3.0E-01  | 2.9E-01  | -       | -        | -1.3E-03 | -7.8E-05 | -1.0E-03 | -8.2E-05 | -1.0E-03 |
| 動脈             | Va  | -8.8E-05 | -1.2E-05 | -       | -        | -3.7E-06 | -7.5E-05 | 7.5E-04  | -8.2E-05 | 5.0E-04  |
| 静脈             | Vv  | -1.3E-04 | -1.9E-05 | -       | -        | -5.7E-06 | -1.1E-04 | 1.2E-03  | -1.2E-04 | 1.2E-03  |
| 肺              | Vlb | -2.2E-05 | -2.8E-06 | -       | -        | -8.7E-07 | -1.9E-05 | 1.9E-04  | -2.0E-05 | 1.2E-04  |
| 心拍出量 [L/hr]    | Qc  | -5.4E-02 | 4.4E-03  | -       | -        | -5.5E-03 | -5.2E-02 | 1.2E-02  | -4.9E-02 | 1.2E-02  |
| 心拍出量に占める出量 [%] |     |          |          |         |          |          |          |          |          |          |
| 肝臓             | Qli | -4.5E-03 | 2.7E-02  | -       | -        | -1.8E-03 | -5.7E-03 | -3.9E-02 | -6.0E-03 | -3.9E-02 |
| 精巣             | Qt  | -        | 3.8E-06  | -       | -        | -3.5E-07 | -4.4E-05 | -2.0E-03 | -3.9E-05 | -1.6E-03 |
| 脂肪             | Qf  | -1.0E-01 | -2.2E-02 | -       | -        | -9.1E-03 | -1.0E-01 | -3.7E-02 | -1.1E-01 | -3.7E-02 |
| 腎臓             | Qk  | 2.7E-05  | 2.6E-03  | -       | -        | -1.7E-05 | -5.7E-04 | -2.5E-02 | -6.0E-04 | -2.5E-02 |

- は感度が小さく変動範囲が数値に現れていないことを示す。

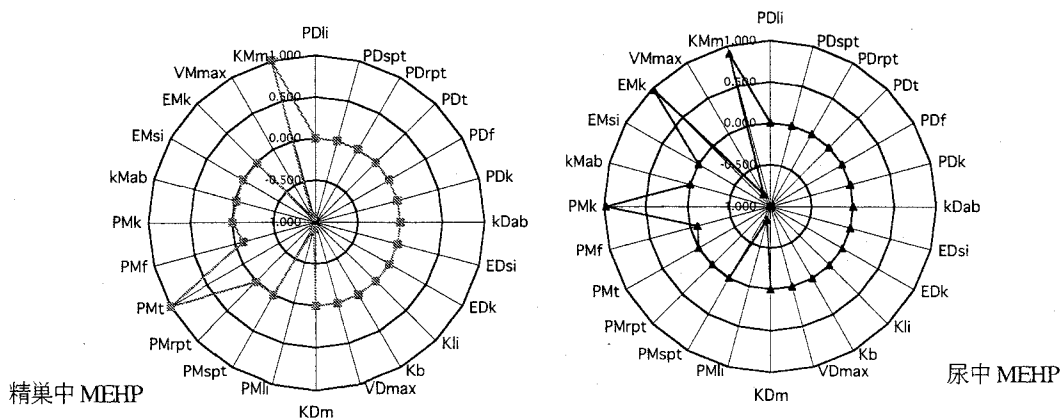


図 6 各パラメータの感度

表 8 図 6 における記号とパラメータの対応

| パーティション[-](DEHP) |                                                | パーティション[-](MEHP) |                                                |
|------------------|------------------------------------------------|------------------|------------------------------------------------|
| Pdli             | Liver 肝臓                                       | Pmli             | Liver 肝臓                                       |
| PDspt            | Slowly Perfused Tissues 血流量の少ない組織              | PMspt            | Slowly Perfused Tissues 血流量の少ない組織              |
| PDrpt            | Rapidly Perfused Tissues 血流量の多い組織              | PMrpt            | Rapidly Perfused Tissues 血流量の多い組織              |
| PDt              | Testes 精巣                                      | PMt              | Testes 精巣                                      |
| PDF              | Fat 脂肪                                         | PMf              | Fat 脂肪                                         |
| PDk              | Kidney 腎臓                                      | PMk              | Kidney 腎臓                                      |
| 薬物動態学的定数(DEHP)   |                                                | 薬物動態学的定数(MEHP)   |                                                |
| kDab             | Absorption Rate Constant 吸収速度定数[1/hr]          | kMab             | Absorption Rate Constant 吸収速度定数[1/hr]          |
| EDsi             | Fecal Excretion Rate Constant 糞便中排泄速度定数[1/hr]  | EMsi             | Fecal Excretion Rate Constant 糞便中排泄速度定数[1/hr]  |
| EDk              | Urinary Excretion Rate Constant 尿中排泄速度定数[1/hr] | EMk              | Urinary Excretion Rate Constant 尿中排泄速度定数[1/hr] |
| Kli              | 肝臓代謝速度定数[1/hr]                                 | VMmax            | 代謝速度定数                                         |
| Kb               | 血中代謝速度定数[1/hr]                                 | KMm              | Michaelis-Menten速度定数                           |
| VDmax            | 代謝速度定数                                         |                  |                                                |
| KDm              | Michaelis-Menten速度定数                           |                  |                                                |

## 5 PBPK モデルを使用した事例研究

### 5. 1 標的組織中の濃度

毒性標的組織として精巣を採用し、日常的な曝露を設定したヒト精巣中濃度を算出するとともに、ラットの PBPK モデル<sup>4)</sup> を使ってラット精巣濃度を調査し、ヒトと比較した (表 9)。日常生活レベル曝露でのヒト精巣中濃度とラット LOAEL レベルの DEHP 投与時のラット精巣中濃度比は DEHP で 0.011、MEHP で 7.3 となった。ラット LOAEL レベル曝露によるラット臓器負荷量と日常曝露レベルによるヒト臓器負荷量が近いことから、種差による感受性の違いが存在しても日常生活で DEHP に曝露される事によってヒトにおいて生殖毒性が発現する可能性は否定できない。この日常生活曝露レベルで生殖毒性が発現する可能性のある計算濃度と、培養細胞における DEHP/MEHP の LOAEL<sup>13)</sup> <sup>14)</sup> の 10 $\mu$ M とを比較すると、培養細胞における LOAEL の方が  $4 \times 10^3 \sim 10^5$  程度大きい。この PBPK モデルでの計算値と LOAEL とを単純に比較することはできないにしても、この差は現在の評価手法で考慮される種差・感受性の違いや安全係数より大きく、日常的な DEHP 曝露による毒性発現の可能性があるため、安全側から評価すると現在考慮されている種差や安全係数では不十分である可能性がある。また、培養細胞を用いた毒性評価試験によって生体影響を評価するにはさらなる検討が必要である。

表 9 ラットとヒトの精巣中平衡濃度の比較

| ラット                         |           |                             |           | ヒト                                   |           |
|-----------------------------|-----------|-----------------------------|-----------|--------------------------------------|-----------|
| LOAEL [37.6mgDEHP/kgBW/day] |           | NOAEL [3.76mgDEHP/kgBW/day] |           | 日常生活 (実測値[377 $\mu$ gDEHP/day] : 表3) |           |
| DEHP [nM]                   | MEHP [nM] | DEHP [nM]                   | MEHP [nM] | DEHP [nM]                            | MEHP [nM] |
| 6.01                        | 0.341     | 0.594                       | 0.0388    | 0.0676                               | 2.50      |

### 5. 2 透析患者の体内動態

Dine らは透析治療を受けている患者 11 名に対し、透析治療直前から透析終了の 4 時間後まで、患者に投与する前の血液透析液と患者に投与された後の血液透析液に含まれる DEHP の濃度を測定した (Dine, 2000)。PBPK モデルを利用することで、このとき透析治療により受ける DEHP の曝露は 50mg/4hour であることが分かった。このような曝露を受けた場合、精巣中での DEHP 濃度は 50 パーセントイル値で最高 35.5 $\mu$ M となり培養細胞の LOAEL<sup>13)</sup> である 10 $\mu$ M を越え、この状態が透析治療開始から 18 時間続くことが明らかとなった (図 7)。

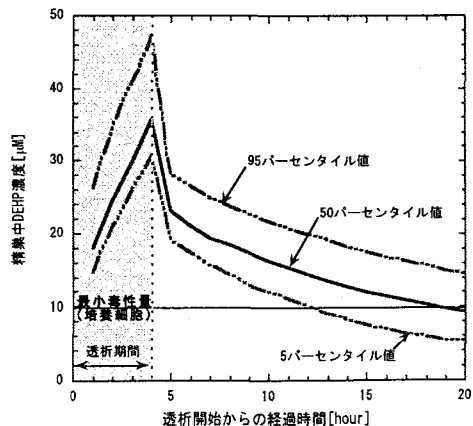


図 7 透析治療患者の  
精巣中 DEHP、MEHP 濃度の推移

### 5. 3 曝露経路の違いによる体内挙動の変化

曝露量として TDI ( $140\mu\text{g/kgBW/day}$ )<sup>15)</sup> を想定し、全て経口摂取あるいは経気道摂取するとして各臓器・組織における体内蓄積濃度を算出した (図 8)。各エラーバーは 5 パーセンタイル値-95 パーセンタイル値である。ヒトが DEHP を摂取した場合、経口摂取の場合は多くが肝臓で代謝され血中へ移行するが、経気道の場合は肺から直接血中へ移行するという違いがある。図 8 に示すように特に DEHP 濃度において、経口摂取に比べて経気道摂取の方が体内蓄積性の高いことが分かった。

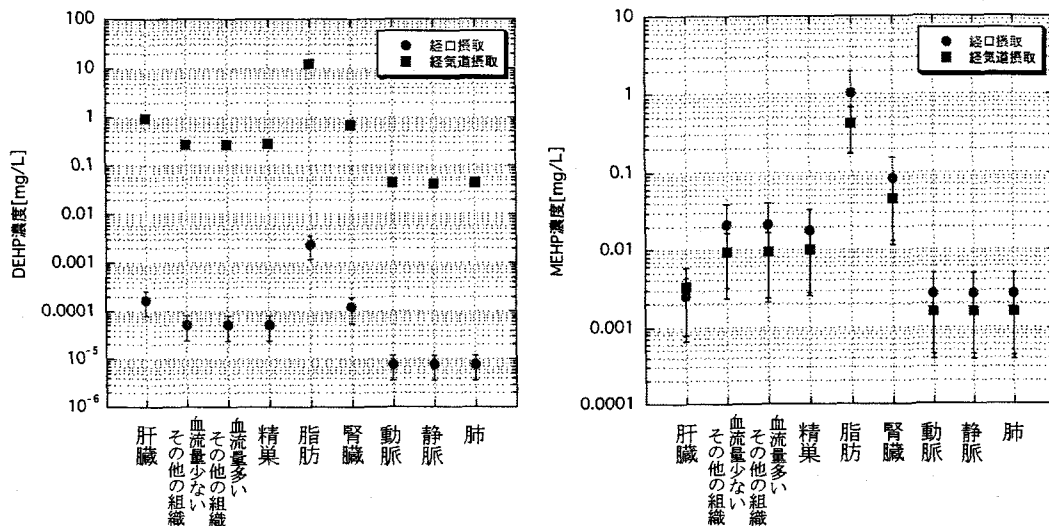


図 8 曝露経路の違いによる蓄積性の差異

### 5. 4 尿中濃度からの曝露量推定

曝露経路として経口摂取のみを考慮し、曝露量として TDI ( $140\mu\text{g/kgBW/day}$ ) とのその 1/10 ( $14\mu\text{g/kgBW/day}$ ) と 10 倍 ( $1400\mu\text{g/kgBW/day}$ ) および  $5\mu\text{g/kgBW/day}$  と  $50\mu\text{g/kgBW/day}$  を与え、個体差変動を考慮したモンテカルロシミュレーションによって尿中排泄 MEHP 量を求めると図 9 のようになる。よって、1 日当たり尿中に排泄される MEHP 量を測定すれば、図 9 に示す尿中排泄 MEHP 量と曝露量との定量的関係を用いておおよその DEHP 経口摂取量が把握できることになる。図 9 に基づくと、5 パーセンタイル値で 1 日尿中排泄 MEHP 量が  $20\mu\text{g}$  ほどであれば、TDI ( $140\mu\text{g/kgBW/day}$ ) 程度の経口曝露が疑われる。

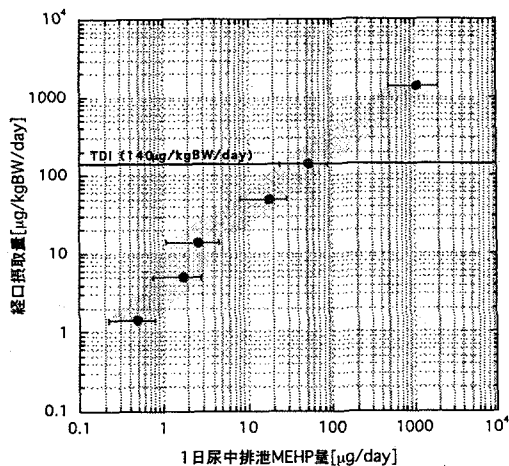


図 9 1 日尿中排泄 MEHP 量と  
曝露量との関係

## 6 結論

- 1) 日常的な生活のもとでの曝露量は DEHP  $377\mu\text{g/day}$  となり、尿中の排泄量は DEHP  $79.3\mu\text{g/day}$ 、MEHP  $0.95\mu\text{g/day}$  となった。(表 3)
- 2) 個体間変動を考慮した DEHP とその代謝生成物である MEHP の PBPK モデルを構築した。
- 3) ヒトとラットの種差を考慮したパラメータ設定を試みることで、吸収の時間遅れを考慮することで、Koch



らによるヒトの実測データにおける血中濃度、尿排泄量の時間変化を概ね再現することができた。パラメータフィッティングによってラットに対する Keys<sup>5)</sup> のパラメータ値から変更したのは MEHP の肝臓、腎臓への分配係数、MEHP に関する 2 つの Michaelis-Menten の代謝速度定数である。その結果、各パラメータのヒト/ラット比はそれぞれ、0.093、2.0、0.033、0.40 となり (表 4)、ヒトを含む霊長類はラットを含む齧歯類と比べて DEHP(MEHP)代謝活性が低いという知見<sup>11)</sup> と一致した。

- 4) 感度解析を行うことで精巢中 MEHP、尿中 MEHP 濃度に関して影響を与えるパラメータを明らかにし、またパラメータの変動の範囲を考えることで様々な評価指標の変動係数を評価した。その結果、体重や臓器の大きさなどの個体差に起因する各評価指標の変動に比べて代謝速度や排泄速度などの不確実性を含むパラメータに起因する各評価指標の変動の方がかなり大きいことが明らかとなった。
- 5) 求めたヒト PBPK モデルを用いた評価により、以下のことが明らかとなった。日常生活で DEHP に曝露される事によって生殖毒性が発現する可能性は否定できない。透析治療により DEHP50mg/4hour の曝露を受けた場合、精巢中での DEHP 濃度は培養細胞の LOAEL<sup>13)</sup> である 10 $\mu$ M を越える。全て経口摂取あるいは経気道摂取とした場合、経口摂取に比べて経気道摂取による DEHP の体内蓄積性が高い可能性があり、経口摂取のみを考慮した健康リスク評価指標ではなく、経気道摂取による体内蓄積性を考慮した評価指標設定の必要性が示唆された。1 日尿中排泄 MEHP 量が 20 $\mu$ g ほどであれば、TDI (140 $\mu$ g/kgBW/day) 程度の経口曝露が疑われる。(図 9)

#### (参考文献)

- 1) Albro, P. W. (1986) "Absorption, metabolism, and excretion of di(2-ethylhexyl) phthalate by rats and mice." *Environ Health Perspect* 65: 293-8.
- 2) Poon, R., P. Lecavalier, et al. (1997) "Subchronic oral toxicity of di-n-octyl phthalate and di(2-Ethylhexyl) phthalate in the rat." *Food Chem Toxicol* 35(2): 225-39.
- 3) Teirlynck, O., J. M. Kaufman, et al. (1988) "Testicular toxicity induced by single dosing of di- and mono-(2-ethylhexyl) phthalate in the rat." *Toxicol Lett* 40(1): 85-91.
- 4) Keys, D. A., D. G. Wallace, et al. (1999) "Quantitative evaluation of alternative mechanisms of blood and testes disposition of di(2-ethylhexyl) phthalate and mono(2-ethylhexyl) phthalate in rats." *Toxicol Sci* 49(2): 172-85.
- 5) Dirven, H. A., P. H. van den Broek, et al. (1993) "Determination of four metabolites of the plasticizer di(2-ethylhexyl)phthalate in human urine samples." *Int Arch Occup Environ Health* 64(8): 555-60.
- 6) 永吉俊介, 米田稔, 森澤眞輔, PBPK モデルによる DEHP 及び MEHP のヒト体内動態評価, 日本内分泌攪乱化学物質学会, 第 5 回研究発表会要旨集, pp.382,(2002)
- 7) 安河内健, 米田稔, 森澤眞輔, DEHP の摂取量及び排泄量データに基づくヒト PBPK モデルの検討, 土木学会第 58 回年次学術講演会, 講演概要集, pp.435-436(2003)
- 8) Koch, H. M., H. M. Bolt, et al. (2003) "Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) metabolites in human urine and serum after a single oral dose of deuterium-labelled DEHP." *Arch Toxicol*.
- 9) Allen, B. C., T. R. Covington, et al. (1996) "Investigation of the impact of pharmacokinetic variability and uncertainty on risks predicted with a pharmacokinetic model for chloroform." *Toxicology* 111(1-3):289-303
- 10) Thomas, R. S., P. L. Bigelow, et al. (1996) "Variability in biological exposure indices using physiologically based pharmacokinetic modeling and Monte Carlo simulation." *Am Ind Hyg Assoc J* 57(1): 23-32.
- 11) 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会、毒性・器具容器包装合同部会 (2002)"器具及び容器包装の規格基準の改正並びにおもちゃの規格基準の改正について." 厚生労働省審議会議事録
- 12) Schmid, P. and C. Schlatter (1985) "Excretion and metabolism of di(2-ethylhexyl)phthalate in man." *Xe*

nobiotica 15(3): 251-6.

- 1 3) Lamb, J. C. t., R. E. Chapin, et al. (1987) "Reproductive effects of four phthalic acid esters in the mouse." Toxicol Appl Pharmacol 88(2): 255-69.
- 1 4) 独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構 (2002)"フタル酸エステルが牛の卵巣顆粒層細胞および卵子に及ぼす影響." 動物衛生研究成果情報 平成 14 年度
- 1 5) 厚生労働省食品保健部基準課 (2000) "毒性・器具容器包装合同部会の審議結果概要 フタル酸ジ (2-) エチルヘキシル (DEHP) の毒性について." 厚生労働省行政情報—食品衛生調査会関係資料.