

緒言

生活環境下では、ヒトの健康に影響を及ぼすおそれのある様々な一般化学物質が存在し、日々ヒトは一般化学物質に曝露され続けている。近年高感度分析により、ヒトの血中および尿中等から種々の一般化学物質が濃度情報として検出されているが、安全性が懸念される化学物質の経口曝露量の情報は十分ではない。このような化学物質の多様なリスクは、化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）に基づき、一般にげっ歯類に経口投与した際の生死や組織への影響等の結果から、体重当たりの投与量を用いて評価される。しかし、これらの評価には動物とヒトとの間の種差が画一的に取り扱われ、それらの生体内動態の差異はほとんど考慮されていない。

以上の背景から、化学物質の経口曝露量および生体内濃度を双方向に繋ぎ、ヒト体内動態を考慮した複合的な化学物質のリスク評価手法が重要である。ヒト型モデル動物である免疫不全マウスにヒト肝細胞を移植したマウス（ヒト肝キメラマウス）は、肝臓の種差を考慮することなくヒト型肝代謝を再現でき、薬物動態研究等に広く利用され始めている。複雑な生理学的薬物動態（PBPK）モデルは、極めて煩雑ながらも医薬領域での活用が始められている。これらヒト肝キメラマウスおよび消化管吸収（ k_a ）、全身循環分布容積（ V_1 ）および肝代謝消失（ $CL_{h, int}$ ）に着目した簡易 PBPK モデルを組み合わせることは、化学物質の経口曝露量と生体内濃度を双方向に予測し、体内動態を考慮したリスク評価の新汎用手法となる可能性がある。そこで本研究では、ヒト型モデル動物および簡易 PBPK モデルを活用し、ヒト由来生体試料から検出され得る化学物質を取り上げ、血中、肝中および尿中濃度を予測し、ヒト体内動態を加味する化学物質のリスク評価手法の検討を目的とした。

1. 動物の血中薬物濃度推移を再現する簡易 PBPK モデルによる肝中および尿中濃度の推定

合成樹脂原料スチレン¹⁾、工業用溶媒プロモベンゼン誘導体^{2,3)}、可塑剤フタル酸エステル類^{4,5)}および合成中間体アニリン誘導体^{6,7)}等に注目し、酸解離定数および油水分係数等の物質固有記述子を ChemBioDraw や Percepta 等のソフトウェアを用いて算出した。化合物の血中タンパク質非結合率および血球血漿分配率等を Simcyp ソフトウェアあるいは医薬領域での既報計算式より求め、PBPK モデル用入力パラメータ値に利用した。

注目した化学物質をラットおよびヒト肝キメラマウスに経口投与（25 mg/kg–250 mg/kg）した際の血漿中濃度を分離分析により実測した。得られた実測血漿中濃度を基に、PBPK モデル用入力パラメータ値（ k_a , V_1 , および $CL_{h, int}$ ）をフィッティング計算により算出し、動物 PBPK モデルを構築した。これら動物モデルより出力した化学物質の血中仮想投与曲線は実測血中濃度を再現した（図 1）。血中濃度と同時に出力できる化学物質の肝中濃度を検証するため、プロモベンゼン誘導体経口投与 2 時間後のヒト肝キメラマウスの肝臓を摘出し、1 時点にて実測したところ、PBPK モデルが出力する肝中仮想投与曲線と概ね一致した。併せて出力される尿中濃度を実証するため、ヒト肝キメラマウスにフタル酸ジイソノニル経口投与後の尿試料を実測したところ、一次代謝物であるフタル酸モノエステル体および側鎖の酸化的代謝物が分離定量され、実測尿中濃度は動物 PBPK モデルより出力した予測尿中排泄結果と概ね同様であった。

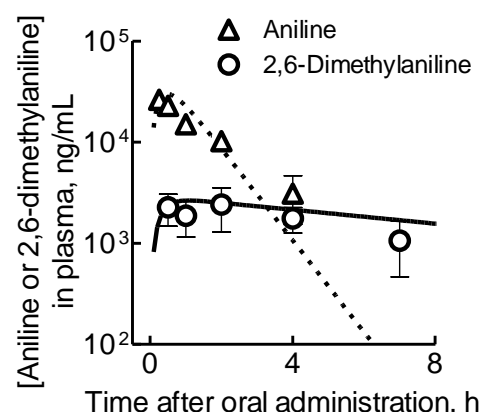


図1. アニリンおよび2,6-ジメチルアニリンのヒト肝キメラマウス血中薬物濃度

以上より、注目化学物質の動物血中濃度を基に、簡易 PBPK モデルを用いて物質量から生体内濃度を求める前向き予測手法は、化学物質の血中濃度の再現に加え、肝中および尿中濃度の予測を可能とした。

2. ヒト由来の生体試料から検出され得る化学物質のリスク評価

注目した化学物質におけるヒト肝キメラマウスの PBPK モデル用入力パラメータ値を外挿し、ヒト PBPK モデルを構築した。フタル酸ジイソノニルエステル、フタル酸ジブチルエステル、アニリンおよび 2,6-ジメチルアニリンの既報ヒト尿中バイオモニタリング濃度から、ヒト PBPK モデルを用いて経口曝露量を後ろ向きに予測し、耐容一日摂取量 (TDI) と比較した。フタル酸ジイソノニルの予測経口曝露量は TDI を下回っていた一方、フタル酸ジブチルエステル、アニリンおよび 2,6-ジメチルアニリンの予測経口曝露量は TDI と同程度もしくは超過することが示唆された (表 1)。別途各化学物質の単位経口曝露量当たりの既報尿中バイオモニタリング濃度と肝クリアランス値との関係を調査したところ、見かけの逆相関の関係が認められた。これらのことより、生活環境下におけるヒトへの化学物質曝露量は様々であるが、ヒト尿中に化学物質が濃度として検出される要因の一つに、個別物質の遅い肝代謝消失があると推察された。

表1. 化学物質のヒト尿中バイオモニタリング報告濃度および後ろ向き予測した経口曝露量

Analyte in urine	Reported biomonitoring, mean/median (95th) concentrations in urine, ng/mL	Chemical	Estimated daily doses by reverse dosimetry, mean/median (95th) doses, µg/kg/day	TDI, µg/kg/day
Sum of oxidized monoisononyl phthalate	5.3 (33)	Diisononyl phthalate	0.23 (1.4)	150
Total monobutyl phthalate and its glucuronide	30 (149)	Dibutyl phthalate	1.2 (6.1)	5 -10
Aniline	6.0 (13.7)	Aniline	11 (26)	7
2,6-Dimethylaniline	3.8 (13.3)	2,6-Dimethylaniline	8.3 (29)	Not available

以上、ヒト血中あるいは尿中より検出される化学物質の既報バイオモニタリング濃度からヒト PBPK モデルを用いて経口曝露量を求める後ろ向き予測手法は、化学物質の肝代謝消失を加味したヒト体内動態を考慮するリスク評価を可能とし得ることを示唆した。

結論: ヒト型モデル動物および簡易 PBPK モデルを組合わせた本研究は、化学物質の動物血中濃度推移を基に、血中濃度の再現に加えて、肝中および尿中濃度を予測することを可能とし、化学物質の動物への経口曝露量から生体試料中濃度を前向きに予測する手法となることを明らかにした。さらに本研究は、生活環境下における化学物質のヒト生体試料中濃度からヒト PBPK モデルを用いて経口曝露量を後ろ向きに予測することを可能とし、肝代謝消失を加味したヒト体内動態を考慮するリスク評価手法となり得ることを示唆した。以上、ヒト型モデル動物および小腸、肝臓、全身循環および/または腎からなる簡易 PBPK モデルを活用し、化学物質のヒト経口曝露量および生体内濃度を双方向に予測する本研究成果は、着目したアニリン等をはじめとするベンゼン環構造を母核とした類縁化学物質等のヒト肝代謝消失を考慮するリスク評価の新手法となることが期待される。

謝辞：本研究は日本薬学会長井記念薬学研究奨励および日本学術振興会特別研究員奨励の支援を受けた。

本研究の誌上発表

1) [Miura T. et al.](#), Human plasma and liver concentrations of styrene estimated by combining a simple physiologically based pharmacokinetic model with rodent data, *J. Toxicol. Sci.*, 44, 543-538, 2019; 2) [Miura T. et al.](#), Different hepatic concentrations of bromobenzene, 1,2-dibromobenzene, and 1,4-dibromobenzene in humanized-liver mice predicted using simplified physiologically based pharmacokinetic models as putative markers of toxicological potential, *Chem. Res. Toxicol.*, 33, 3048-3053, 2020; 3) [Miura T. et al.](#), Metabolic profiles of tetrabromobisphenol A in humans extrapolated from humanized-liver mouse data using a simplified physiologically based pharmacokinetic model, *Chem. Res. Toxicol.*, 34, 522-528, 2021; 4) [Miura T. et al.](#), Human urinary concentrations of monoisononyl phthalate estimated using physiologically based pharmacokinetic modeling and experimental pharmacokinetics in humanized-liver mice orally administered with diisononyl phthalate, *Xenobiotica*, 49, 513-520, 2019; 5) [Miura T. et al.](#), Steady-state human pharmacokinetics of monobutyl phthalate predicted by physiologically based pharmacokinetic modeling using single-dose data from humanized-liver mice orally administered with dibutyl phthalate, *Chem. Res. Toxicol.*, 32, 333-340, 2019; 6) [Miura T. et al.](#), Differences in pharmacokinetics and haematotoxicities of aniline and its dimethyl derivatives orally administered in rats, *Biol. Pharm. Bull.*, 44, 1784-1789, 2021; 7) [Miura T. et al.](#), Forward and reverse dosimetry for aniline and 2,6-dimethylaniline in humans extrapolated from humanized-liver mouse data using simplified physiologically based pharmacokinetic models, *J. Toxicol. Sci.*, 47, 531-538, 2022.