

内分泌攪乱物質によるヒト健康リスク評価枠組みの構築

－ ビスフェノール A を対象にして

2004 年

川本裕子

内分泌攪乱物質によるヒト健康リスク評価枠組みの構築

ー ビスフェノール A を対象にして

2004 年

川本裕子

目 次

第1章 序論	1
1.1 研究の背景	1
1.2 研究の目的	2
1.3 評価対象物質ビスフェノール A (BPA) の用途と性質	3
1.3.1 BPA の生産量・用途	4
1.3.2 BPA の物理化学的性質	4
1.3.3 BPA の毒性	4
1.3.3.1 発ガン性	4
1.3.3.2 生殖毒性	5
1.3.3.3 神経毒性	5
1.3.3.4 内分泌攪乱作用	5
1.3.3.5 BPA の健康リスク評価指標	6
1.3.4 BPA の実験動物における体内動態	6
1.4 本論文の構成	8
第2章 内分泌攪乱物質による健康リスク評価の枠組み	11
2.1 化学物質による健康リスク評価の枠組み	11
2.2 内分泌攪乱物質による健康リスク評価枠組みの構成	12
2.2.1 評価の枠組み	12
2.2.2 外部曝露評価	14
2.2.3 内部曝露評価	15
2.2.4 体内動態評価モデル	16
2.3 ビスフェノール A (BPA) への健康リスク評価枠組みの適用	16
第3章 ビスフェノール A (BPA) の環境中への放出と動態の予測	18
3.1 環境中への BPA 放出量および経路の予測	18
3.1.1 BPA の国内生産量および用途	18
3.1.2 各樹脂からの BPA 溶出	19
3.1.3 環境中への BPA 放出量および経路の予測	20

3.1.3.1	樹脂から環境中への BPA の溶出経路	20
3.1.3.2	樹脂から環境中への BPA 溶出量の見積もり方法	20
3.1.3.3	樹脂から環境中への BPA 溶出量の見積もり結果と考察	21
3.2	BPA の環境中動態	23
3.2.1	BPA の環境中濃度	23
3.2.2	環境中動態モデル	24
3.2.3	BPA の環境中動態モデル (フガシティーモデル)	25
3.2.4	前提条件およびパラメータの設定	30
3.2.5	環境中への BPA 放出量および経路の確認	32
3.2.6	環境中 BPA 濃度予測	32
3.2.6.1	環境中 BPA 濃度経年変化予測	33
3.2.6.2	環境中での BPA の分布	35
3.2.6.3	モデルの精度	35
第4章	ヒトのビスフェノール A (BPA) 摂取量	37
4.1	水道水からの BPA 摂取量	37
4.2	水産物からの BPA 摂取	38
4.3	エポキシ樹脂由来の曝露	38
4.3.1	缶飲料の摂取による曝露	38
4.3.2	食品缶詰の摂取による曝露	39
4.4	ポリカーボネート樹脂由来の曝露	40
4.4.1	ポリカーボネート製食器からの曝露	41
4.4.2	ポリカーボネート製ほ乳瓶からの曝露	42
4.4.3	歯科用ポリカーボネートシーラントからの曝露	42
4.5	塩化ビニル由来の曝露	42
4.6	ヒトの BPA 摂取量	43
第5章	マウスを用いたビスフェノール A (BPA) の体内動態実験	46
5.1	体内動態実験の方法 (全実験共通部分)	46
5.1.1	供試化合物	46

5.1.2	供試動物	46
5.1.3	BPA 投与量および投与方法	47
5.1.4	放射能の測定	47
5.1.5	代謝生成物の測定	47
5.2	懐胎期マウスにおける BPA 単回投与後の吸収および体内分布	47
5.2.1	動物実験方法	48
5.2.2	実験結果	48
5.2.2.1	懐胎期マウスにおける BPA 10 mg/kg 単回投与時の吸収および体内分布	48
5.2.2.2	懐胎期マウスにおける BPA 1 mg/kg の単回投与時の吸収および体内分布	60
5.2.2.3	懐胎期マウスにおける BPA 100 mg/kg の単回投与時の吸収および体内分布	65
5.3	マウスにおける BPA 単回投与時の排泄	71
5.3.1	動物実験方法	71
5.3.2	実験結果	71
5.3.2.1	妊娠 11.5dpc のマウスを用いた 7 日間の排泄実験	71
5.3.2.2	妊娠 15.5 dpc のマウスを用いた 3 日間の排泄実験	75
5.4	マウスにおける BPA 連続投与後の吸収および体内分布	78
5.4.1	動物実験方法	78
5.4.2	実験結果	78
5.5	考察	81

第6章 生理学的薬物動態 (PBPK) モデルを用いた、ビスフェノール A (BPA) のヒト体内動態予測 84

6.1	BPA のマウスにおける PBPK モデルの構築	84
6.1.1	PBPK モデル	84
6.1.2	懐胎期マウスにおける BPA の PBPK モデルの構造	84
6.1.3	パラメータの決定	90
6.1.3.1	生理学的パラメータ	90
6.1.3.2	物理化学的パラメータ	93
6.1.3.3	生化学的パラメータ	96
6.1.3.4	パラメータフィッティング	103
6.1.4	数値シミュレーションによるモデルの検証	108
6.1.4.1	検証に用いる実験	108

6.1.4.2	実験 A (100mg/kg 単回投与) による検証	109
6.1.4.3	実験 B (10mg/kg 連続投与) による検証	110
6.1.5	パラメータ感度解析	111
6.1.6	構築モデルによるマウス全妊娠期間 BPA 曝露シミュレーション	117
6.2	BPA のヒトにおける PBPK モデルへの展開	118
6.2.1	懐胎期ヒトにおける BPA の PBPK モデルの構造	118
6.2.2	パラメータの決定	118
6.2.2.1	生理学的パラメータ	118
6.2.2.2	物理化学的パラメータ	119
6.2.2.3	生化学的パラメータ	119
6.2.3	数値シミュレーション	120
6.2.4	シミュレーション結果	125
6.3	考察	128
第 7 章	ビスフェノール A (BPA) 標的部位における作用	132
7.1	BPA によるバイオマーカー変化	132
7.2	BPA によるバイオマーカー変化を記述する用量-反応モデルの構築	133
7.3	BPA によるヒトへのリスクの評価	135
第 8 章	結論	138
第 9 章	将来の展望—生態系リスク評価への道	144
9.1	生態系リスク評価への道	144
9.2	生態系リスク管理	148

謝辞

第1章 序論

1.1 研究の背景

人類はこれまでに多数の化学物質を作り出し、その恩恵にあずかって、快適かつ便利な生活を享受している。しかし、その一方で我々の生活空間である地球環境にはすでに多くの化学物質が放出され、現在もその状況が続いているのは紛れもない事実である。これらの化学物質の急性毒性および発ガン性、催奇形性、変異原性などの中・長期毒性については、細胞、動物を用いた研究や実験（連続投与毒性試験、発ガン性試験、催奇形性試験、繁殖毒性試験など）が実施され、その安全性の確認を行ってきている。

しかし、近年になって内分泌攪乱物質の存在が不透明な不安を我々に与えた。コルボーンらの「Our Stolen Future」[1](邦訳「奪われし未来」[2])が話題になり、内分泌攪乱物質が一躍クローズアップされて一時期は社会問題とまでなった。

内分泌攪乱物質の特徴は、ホルモン類似の作用を多様に発揮して複雑な生体機能を微量で攪乱させ、生体に様々な障害を及ぼす可能性である。ホルモンとは、我々の体内に存在する化学物質で、分泌器官（視床下部、脳下垂体、消化管、腎臓、精巣、卵巣など）から、身体の恒常性を維持するために微量に分泌され、血液により運搬され標的器官、細胞に特有のホルモン作用を発揮する化学物質の総称である。

内分泌攪乱物質の多くはエストロゲン作用を含めた複雑なホルモン作用を発揮して、生殖系、免疫系、神経系などに影響を与える可能性があると言われている。通常、ホルモンが細胞膜あるいは核のホルモンレセプターに結合することで、核内 DNA に影響を及ぼして、*mRNA* を介したタンパク合成が始まる。これがホルモンとしての作用であるが、内分泌攪乱物質はこの元来のホルモン作用を擬似したり、阻害したりすることで多様な生体影響を発現すると考えられている。これは直接的な作用であるが、間接的にホルモン作用に影響する物質もあると考えられている。そしてこれらの作用は、成体では可逆的に作用するが、胎児及び新生児期では不可逆的に作用し、恒久的な影響を及ぼす恐れがあると指摘されている。

現在、環境省は内分泌攪乱作用が疑われる物質として 67 の化学物質をリストアップしている。様々な化学物質による野生動物を含む生態系への影響が報告されているが、これまでに発表された多くの調査研究は生殖系に及ぼす影響であり、海産巻き貝（イボニシ）、は虫類（ワニ）、鳥類などのメスのオス化、雌雄同体、ふ化率の低下などが報告されている。ヒトに対しては陰ガンの誘導、精子数の減少・精子運動率の低下の他、免疫系や神経系への影響、花粉症、アトピーやシックハウス症候群等にも関与しているのではないかとの疑いがもたれている。しかしこれらの生態系あるいはヒトについて報告されている様々な異変は、内分泌攪乱物質との因果関係を明確に示す状況には未だなく、因果関係を科学的・定量的に把握するには引き続き研究が必要である。

その一方、内分泌攪乱物質がヒトや生態系に及ぼすであろう悪影響に対する社会的関心

はやや落ち着きを呈してきている。しかしそれは、定量的リスク評価が行われた結果ではない。内分泌攪乱物質にまつわる、従来の化学物質では問題にならない低濃度で生物の発生過程に作用し、種の存続に致命的な悪影響をもたらすのではないかという重大な懸念は、科学的根拠に基づいて払拭された訳ではない。

従って、内分泌攪乱物質について今後解決すべき課題は多く残されており、その中で、ヒトにおける健康影響の調査が求められている。

ヒトについての疫学的調査は多く行われてはいるが、依然として特定の化学物質の内分泌攪乱作用による健康影響の「用量・反応関係」は特定されておらず、動物実験でも個体レベルでの明確な用量・反応関係は把握されていない。一方で、内分泌攪乱作用を持つと疑われている物質の投与によって発現が促進あるいは抑制される遺伝子が特定されつつあり、特定の酵素や蛋白の発現量と内分泌攪乱物質曝露量との関係が、実験動物等を使って、把握されつつある。

内分泌攪乱物質がヒトに及ぼす影響を定量的に評価するために解決すべき問題は多く残されており、現時点において直ちにヒトの健康リスクを身体レベルで評価することは不可能であるが、ヒトにおける健康リスクが顕在化する以前にそのリスクを評価し対策を立てる必要がある。

1.2 研究の目的

現在、内分泌攪乱物質がヒトに及ぼす悪影響として問題になりそうな事項を表 1-1 に整理する。「精子数の減少」や「精子の運動能力減少」は極めてわかりやすい「変化」であるものの、それを「悪影響」の指標に採用することはできない。これらの変化が大きくなり、「受精困難」等の症状が無視できなくなって初めて「悪影響」が発生したことになり、例えば「精子数の減少」と「受精困難（子孫の減少、種の存続の危機）」の間には解明すべき大きな問題が残されている。

すなわち現時点では、個体としてのヒトに現れる悪影響を評価のエンドポイント（評価指標）に設定して健康リスクを評価することは困難であるといえる。ここでは、ヒトの臓

表 1-1 環境ホルモンがヒトに及ぼすと考えられる悪影響・変化の例

レベル	考えられる悪影響の例
種・個体	アレルギー、免疫機能の低下、IQの低下、多動、知能・精神発達の遅れ、神経・行動発達の異常、生殖能力の減退・喪失、種の維持能の減退、等。
臓器・組織	精子数の減少、精子運動能力の低下、尿道下裂等の先天異常の増加、停留精巣、精巣癌、乳癌等の癌の増加、子宮内膜症の増加、等。
遺伝子・DNA	突然変異の誘発、特定の遺伝子活性の変化、特定の酵素・タンパクの誘導、等。

器・組織や細胞、遺伝子等に現れる「変化」を評価指標にして、内分泌攪乱物質によるヒト健康リスク評価の枠組みを構築することにする。

またそのリスクに対処する方策をとるためには、リスクを引き起こしている物質の由来やヒトへの曝露経路などを明らかにしておくことが必要である。このため、リスク評価の枠組みには、原因となる内分泌攪乱物質の環境中動態やヒトへの曝露経路の評価も組み込む。

そしてその枠組みに従って、環境中に実在し内分泌攪乱作用が疑われるビスフェノール A を題材とした定量的ヒト健康リスク評価を目指す。

ビスフェノール A については次節で詳述するが、環境省および国土交通省の調査[3,4]において日本国内の多くの水環境で検出されており、国内の広範な汚染が懸念される。また内分泌攪乱作用が疑われている化学物質の中で、ヒトが直接曝露するような使用形態が多く、かつ、真偽が未だ明らかではないものの内分泌攪乱作用が動物を用いて示された例[5]がある物質である。さらに水中生物に対しても低濃度で内分泌攪乱作用があることが巻貝を用いて確認されており[6]、この作用発現濃度と環境水中の濃度が他の物質に比較して乖離度が小さいとされている[3]。このような状況から、リスク評価の観点において優先度の高い物質であると考えられる。

本研究の目的を簡単にまとめると、以下の様である。

- (1) まず、化学物質によるヒト健康リスク評価の従来からの枠組みを振り返るとともに、内分泌攪乱物質によるヒト健康リスク評価の枠組みを明確にする。
- (2) これに基づくビスフェノール A の定量的ヒト健康リスク評価のために用いる、一連の数学モデルの構築を試みる。具体的には、環境中動態モデルを構築し、それを用いて環境中ビスフェノール A 濃度を予測するとともに、ビスフェノール A 放出源を推測する。またヒトのビスフェノール A 摂取量を見積もり、ヒト体内動態を予測する数学モデルを構築して内部曝露量を予測し、これに、ヒト内部曝露量と影響との用量・反応関係を表すモデルを組み合わせることにより、一連の数学的枠組みを作る。そしてこの数学的枠組みに依拠して、ビスフェノール A のヒトにおけるリスク評価を試みる。

1.3 評価対象物質ビスフェノール A (BPA) の用途と性質

ビスフェノール A (以下 BPA と略記する) は合成樹脂の原料として大量に生産され、日常生活の種々の場において使用されている。その生産量は年々増加傾向にある。BPA は弱いながらもエストロゲン作用を示すと言われており、日常的に接する機会の多い化学物質である。

1.3.1 BPA の生産量・用途

BPA の日本国内での生産量は年々増加傾向にあり、特に 1999～2000 年にかけて大幅に生産量が増加した（第 3 章 3.1.1）。2001 年度の国内生産量は 399,415ton であり、国内流通量は 432,128ton であった（経済産業省化学工業統計、財務省貿易統計）。

製造された BPA は、その 73%がポリカーボネート樹脂原料、22%がエポキシ樹脂等の原料、1.5%が樹脂添加剤（塩化ビニル安定剤、難燃剤原料）となる。ポリカーボネート樹脂は食器やほ乳びんなど、エポキシ樹脂は主に缶詰、缶飲料の内部コーティング（被覆）材などに使用されている。

1.3.2 BPA の物理化学的性質

BPA (Bisphenol A, 2,2-bis-(4-hydroxyphenyl)-propane) は、分子量 228.3 のフェノール系有機化合物である。BPA の物理化学的性質を表 1-2 に示す。沸点 251℃ (1.7 kPa)、融点は 152.5℃で、水に難溶性であり、オクタノール/水分配係数 (Log Kow) は 3.3 とされている。

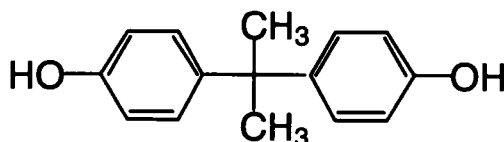


図 1-1 BPA の化学構造

表 1-2 BPA の物理化学的性質

分子量	228.3
沸点 [℃]	251
融点 [℃]	152.5
蒸気圧 [Pa]	5.3×10 ⁻⁶ Pa (20 ℃)
水溶解度	120mg/L(20℃)
Log Kow	3.3

1.3.3 BPA の毒性

1.3.3.1 発ガン性

ラットやマウスを用いた慢性毒性・発ガン性試験では白血病の増加がみられ、発ガン性が示唆されている。しかし、NTP (National Toxicology Program) のテクニカルレポートでは、発ガン性が認められないとの結果がでているため、IARC (International Agency for Research on Cancer) の評価では、ヒトに対する発ガン性の証拠が未だ明らかでないとする「第 3 グループ」に分類されている。

1.3.3.2 生殖毒性

生殖毒性に関しては、いくつかの研究報告がなされているので、それらを列挙する。ここでは従来の生殖毒性の範疇にある報告を挙げ、内分泌攪乱作用によると考えられているものは別項目に記載する。

- 1) SD ラットおよび ICR マウスの妊娠 6-15 日にそれぞれ BPA 0、160、320、640mg/kg·day(ラット)および BPA 0、500、750、1,000、1,250mg/kg·day(マウス)を経口投与したところ、マウスの 1250mg/kg 投与で死胚頻度が有意に増加した。また胎児体重は減少したが奇形頻度変化なかった[7]。
- 2) ラットの妊娠 1-15 日に BPA 80mg、125 mg/kg·day を腹腔内投与したところ、死胚数の減少、胎児体重減少がみられた。また 125mg 投与群において肛門閉鎖胎児の増加傾向および投与量に伴う化骨遅延の増加を認め、催奇形性が疑われるが例数が少なかった[8]。
- 3) Swiss CD-1 マウスを用いた二世世代試験において、BPA 0.25、0.5、1.0%添加飼料を摂取させたところ、F0 世代の 0.5、1.0%群で交尾数、平均胎児数、胎児体重が減少した[9]。

1.3.3.3 神経毒性

妊娠ラットに BPA を 0.1、1 ppm 経口投与したところ、0.1 ppm 投与群で探索行動に、1 ppm の投与群で運動量と探索行動に性差が消失したとの報告がある[10]。脳の構造、働きには生物学的な性差があり、雄は雄特有の、雌は雌特有の脳をもっている。これにより胎児の脳内における神経回路形成時に、胎児が BPA 曝露されることにより行動に変化をきたすことが示唆された。また別の報告では、母ラットに BPA を 40 μ g/kg·BW 投与（交尾前から離乳期まで）した結果、生まれてきた仔に行動異常が見られた[11]。

1.3.3.4 内分泌攪乱作用

ここでは内分泌攪乱作用を、エストロゲン様作用に限定し、研究報告例を記載する。

- 1) BPA は、ヒト乳ガン細胞 MCF-7 を用いた実験において、2~5ppb の曝露濃度で細胞増殖作用を示し、そのエストロゲン活性は 1/5,000~1/17,000（対エストラジオール）と推定される[12]。
- 2) *in vitro* 試験において、BPA は 17 β -エストラジオールと比較すると弱いもののエストロゲン活性を示し、エストロゲンレセプターと結合し、活性化することが明らかになった[13,14]。
- 3) BPA の 2 および 20 μ g/kg をマウスの妊娠 11~17 日に投与したところ、生後 6 ヶ月齢の雄マウスの前立腺重量の増加を認めた。また投与量 2 μ g/kg において、包皮線重量の増加、精囊および精巣上体重量の減少、精子生産効率の低下などの影響がでるとの報告がされた[5,15]。しかし、他の研究者による追調査においては、これらの結果は再現さ

れなかった[16]。

- 4) マウスの妊娠 11～17 日に BPA を 2 および 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ で皮下投与したところ、20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与の F1 雌において、膈開口が有意に早まり発情開始も早かった。また体重減少が見られた。この F1 雌を、BPA 投与無しの雄と交配させたが、その仔 (F2) の数や性比に BPA 投与の影響はなかった。[17]

1.3.3.5 BPA の健康リスク評価指標

従来、化学物質の安全基準を設定するためには、生殖影響試験の他に、発ガン性試験、催奇形性試験および慢性毒性試験等が行われてきた。BPA についても生殖影響試験、慢性毒性試験および発ガン性試験などの各種試験が行われ、生殖影響試験では 50 $\text{mg}/\text{kg}\cdot\text{day}$ で影響がみられず、慢性毒性試験では 50 $\text{mg}/\text{kg}\cdot\text{day}$ でわずかに体重の減少があった他は影響がなかったことから、ラットにおける LOAEL (Lowest Observed Adverse Effect Level ; 最小無毒性量) を 50 $\text{mg}/\text{kg}\cdot\text{day}$ とし、安全係数 1/1,000 を乗じ 50 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{day}$ がヒトの 1 日耐用摂取量 (TDI) とされている。日米欧とも同じ値を採用している。しかし、現在問題視されている内分泌攪乱作用を考慮に入れるならば、TDI は大きく減らされる可能性がある。

1.3.4 BPA の実験動物における体内動態

1) Snyder らの研究[18]

雌の F-344 ラットおよび CD ラットに ^{14}C 標識化合物 $^{14}\text{C}\cdot\text{BPA}$ (100 mg/kg) を経口投与し、その体内分布の比較、BPA のグルクロン酸包合体 (以下 BPA-gluc と記す) の単離とそのエストロゲン活性の分析および、授乳期における経授乳移行による母体から仔への移行について評価した。F-344 ラットは、CD ラットよりも尿中に標識化合物をより多量に排泄した。尿中の主な代謝物は、BPA-gluc であった。授乳期に BPA を投与された CD ラットでは、母乳中に少量の標識化合物 (投与 1h 後: $0.95 \pm 0.66 \mu\text{g BPA eq./ml}$) が含まれていた。生まれた仔の体内の標識化合物濃度は比較的高かった ($44.6 \pm 24.4 \mu\text{g BPA eq./kg}$)。母乳、血漿中には、顕著に BPA-gluc の存在が確認された。BPA-gluc は α 、 β のエストロゲンレセプターの活性化試験において明らかな効果は示さなかったため、グルクロン酸抱合は解毒反応であるとしている。

2) Pottenger らの研究[19]

F-344 ラットにおいて、10 および 100 mg/kg の $^{14}\text{C}\cdot\text{BPA}$ を単回で経口投与(po)、腹腔内投与(ip)、皮下投与(sc)し、BPA の薬物動態、代謝が投与経路に依存することを明らかにした。吸収率と血漿中の $^{14}\text{C}\cdot\text{BPA}$ は、ip、sc と比較して po がかなり低かった。経口投与において血漿中 $^{14}\text{C}\cdot\text{BPA}$ は、主に BPA-gluc によるものであった (68–100%)。腹腔内投与、皮下投与において血漿中 $^{14}\text{C}\cdot\text{BPA}$ は、BPA-gluc によるものであった。BPA-gluc は、主に

尿中に排泄され、未変化体 BPA は、糞中に排泄された。これらの結果から、薬物動態、代謝は投与経路に依存し、BPA のエストロゲン様効果には投与経路による相違があることを指摘した。

3) Upmeier らの研究[20]

メスの DA/Han ラットにおいて、BPA の静脈注射または経口投与した後（10 または 100mg/kg）の薬物動態について調査した。静脈注射後すぐに血漿中 BPA 濃度は 15 μ g/ml に達し、その後すばやく消失し、投与後 24 時間には検出限界以下となった。BPA は経口投与後 10 分には血漿中に存在し、消化管からの吸収が早いことを示した。BPA の吸収率は、10 または 100mg/kg の投与量においてそれぞれ、16.4%、5.6%であった。

4) Takahashi らの研究[21]

懐胎期 F-344 ラットに、1g/kg の BPA を単回経口投与し、その経胎盤胎児移行について調査した。BPA の血液、肝臓、腎臓、胎児中濃度は、投与 20 分後に最高濃度に達し、その後次第に減少した。投与 6 時間後では、最高濃度の 2-5%レベルであった。各臓器における BPA 濃度の減少は、血液中濃度減少と同様の傾向を示した。これらの結果は、母体臓器、胎児における BPA の吸収と分布は非常に早く進行し、胎盤は BPA に対してバリアーとしては機能していないことが明らかになった。

5) Knaak らの研究[22]

BPA の代謝に関しては、ラットを用いた *in vivo* 試験研究成果が報告されており、¹⁴C-BPA を経口投与すると相当早く尿と糞に約 2 : 1 の比で放射能が排泄されてくる。投与後 3 日目までに 70-80%以上が排泄され、8 日間で 90%程度の ¹⁴C-BPA が排泄される。排泄物は大部分が BPA-gluc と BPA の硫酸抱合体であり、糞中の代謝物の約半量がフェノールにさらに 1 個の水酸基が導入されたものであることが、標準物質との比較から推定されている。

6) Yokota らの研究[23]

Wister 系ラットの肝細胞を用いた実験により、体内に入った BPA は、UDP-glucuronosyltransferase によってグルクロン酸抱合されたことが確認された。グルクロン酸抱合は主に肝臓における酵素反応である。

図 1-2 に BPA の生体内における代謝経路を示す。

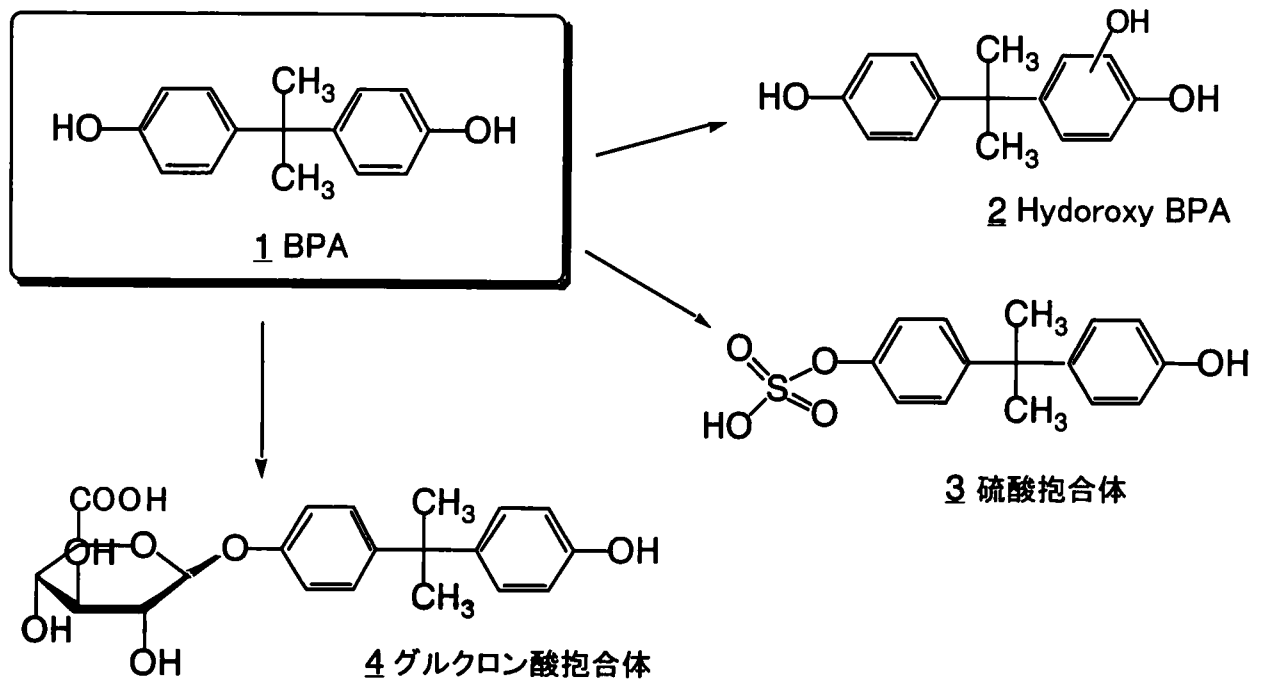


図 1-2 BPA の生体内における代謝経路

7) Elsby らの研究[24]

BPA のラットとヒト肝ミクロソーム系代謝における比較研究が *in vitro* で行われた。メスラット肝細胞を用いた代謝では、主にグルクロン酸抱合体が生成された。ラット肝細胞とヒト肝細胞における BPA 代謝速度 V_{\max} には大きな違いがあり、 V_{\max} はラット 31.6 ± 8.1 、ヒト 5.2 ± 0.3 nmol/min·mg of protein であった。また、NADPH (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate) 存在下でラットまたはヒト肝ミクロソームと BPA を反応させたところ、5-hydroxy BPA が生成された。

1.4 本論文の構成

本論文の構成と簡単な内容を以下に示す。

第 1 章では、本研究の背景にある社会的・科学的状況を述べるとともに、本研究の目的を明確にする。また、本研究においてリスク評価の対象物質とするビスフェノール A について、本研究に関連すると考えられる既得の科学的知見について述べる。

第 2 章では、化学物質によるヒト健康リスク評価の従来からの枠組みを振り返るとともに、内分泌攪乱物質によるヒト健康リスク評価の枠組みを明確にする。

第 3 章では、ビスフェノール A の環境中への放出経路および量と、環境中での動態を、数学モデルを用いて予測する。

第 4 章では、日常におけるヒトの BPA 摂取量を、種々の曝露経路を想定して算定する。

第5章では、ヒトのモデル動物としてマウスを用い、摂取されたビスフェノール A の体内での動態を明らかにする実験を行って、標的臓器での内部曝露レベルを把握する。

第6章では、第5章で得たビスフェノール A の体内動態実験結果を基に、懐胎期マウスにおける生理学的薬物動態 (PBPK) モデルを構築し、これを懐胎期ヒト PBPK モデルに発展させて、ヒト体内でのビスフェノール A の動態を予測する。

第7章では、体内標的臓器におけるビスフェノール A の内分泌攪乱作用の用量・反応関係を数式化し、第6章で予測したヒト内部曝露レベルでの内分泌攪乱作用を予測する。

第8章では、本研究で得られた成果をまとめるとともに、今後の検討すべき課題について述べる。

第9章では、内分泌攪乱物質を含む化学物質によるリスクのうち、本研究で扱わなかった生態系リスクについて、今後の展望を述べる。

参考文献

1. Colborn T. et al. (1996) *Our Stolen Future: Are We Threatening Our Own Fertility, Intelligence, and Survival? -A Scientific Detective Story*, Penguin USA
2. シーア・コルボーン ら (1997) *奪われし未来*, 翔泳社
3. 環境省 (2002) 平成 13 年度 内分泌攪乱化学物質における環境実態調査結果のまとめ
4. 国土交通省 (2002) 平成 13 年度 水環境における内分泌攪乱物質に関する実態調査結果
5. vom Saal F.S. et al. (1998) A physiologically based approach to the study of bisphenol A and other estrogenic chemicals on the size of reproductive organs, daily sperm production, and behavior. *Toxicol Ind Health*, 14, 239
6. Oehlmann J. et al. (2000) Effects of endocrine disruptors on prosobranch snails (Mollusca: Gastropoda) in the laboratory. Part I: Bisphenol A and octylphenol as xeno-estrogens. *Ecotoxicology*, 9, 383-397
7. Morrissey R.E. et al. (1987) The developmental toxicity of bisphenol A in rats and mice. *Fundam Appl Toxicol*, 8, 571-582
8. Hardin B.D. et al. (1981) Testing of selected workplace chemicals for teratogenic potential. *Scan J Work Environ Health*, 7(Suppl 4), 66-75
9. No author name (1997) *Environ Health Perspect*, 105(Suppl 1), 273-277
10. Kubo K. et al. (2001) Exposure to bisphenol A during the fetal and suckling periods disrupts sexual differentiation of the locus coeruleus and of behavior in the rat. *Neurosci Lett*, 304, 73-76
11. Dessi-Fulgheri F. et al. (2002) Effects of perinatal exposure to bisphenol A on play behavior of female and male juvenile rats. *Environ Health Perspect*, 110 Suppl 3, 403-407

12. Perez P. et al. (1992) *Toxicol Appl Pharmacol*, 112, 245-256
13. Krishnan A.V. et al. (1993) Bisphenol-A: an estrogenic substance is released from polycarbonate flasks during autoclaving. *Endocrinology*, 132, 2279-2286
14. Gaido K.W. et al. (1997) Evaluation of chemicals with endocrine modulating activity in a yeast-based steroid hormone receptor gene transcription assay. *Toxicol Appl Pharmacol*, 143, 205-212
15. Nagel S.C. et al. (1997) Relative binding affinity-serum modified access (RBA-SMA) assay predicts the relative in vivo bioactivity of the xenoestrogens-bisphenol A and octylphenol. *Environ Health Perspect*, 105, 70-76
16. Cagen S.Z. et al. (1999) Normal reproductive organ development in CF-1 mice following prenatal exposure to bisphenol A. *Toxicol Sci*, 50, 36-44
17. Honma S. et al. (2002) Low dose effect of in utero exposure to bisphenol A and diethylstilbestrol on female mouse reproduction. *Reprod Toxicol*, 16, 117-122
18. Snyder R.W. et al. (2000) Metabolism and disposition of bisphenol A in female rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 168, 225-234
19. Pottenger L.H. et al. (2000) The relative bioavailability and metabolism of bisphenol A in rats is dependent upon the route of administration. *Toxicol Sci*, 54, 3-18
20. Upmeier A. et al. (2000) Toxicokinetics of bisphenol A in female DA/Han rats after a single i.v. and oral administration. *Arch Toxicol*, 74, 431-436
21. Takahashi O. et al. (2000) Disposition of orally administered 2,2-bis(4-hydroxyphenyl)propane (bisphenol A) in pregnant rats and the placental transfer to fetuses. *Environ Health Perspect*, 108, 931-935
22. Knaak J.B. et al. (1966) Metabolism of bisphenol A in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol*, 8, 175-184
23. Yokota H. et al. (1999) Glucuronidation of the environmental oestrogen bisphenol A by an isoform of UDP-glucuronosyltransferase, UGT2B1, in the rat liver. *Biochem J*, 340, 405-409
24. Elsby R. et al. (2001) Comparison of the modulatory effects of human and rat liver microsomal metabolism on the estrogenicity of bisphenol A: implications for extrapolation to humans. *J Pharmacol Experim Therapeut*, 297, 103-113

第2章 内分泌攪乱物質による健康リスク評価の枠組み

内分泌攪乱物質と言えども、化学物質であることに変わりはない。従来から、広く化学物質に対して、その健康リスクを評価する枠組みが提示されてきた。しかし内分泌攪乱物質は、従来の毒性概念では安全とみなされていた極低用量で、種の存続に関わるような重篤な悪影響を発揮するという新規な特性を持つ物質としてクローズアップされた。このような新たな毒性概念の真偽に関して明確な結論は未だ出ていないが、内分泌攪乱物質に由来からのリスク評価の枠組みが適用可能であるのか、全く新たな特有の枠組みを作る必要があるのかを再考することから始め、内分泌攪乱物質による健康リスク評価の枠組みを明確にする。

2.1 化学物質による健康リスク評価の枠組み

化学物質による健康リスクを評価する枠組み(図 2-1:US.NRC, 1983)¹⁾を援用して、内分泌攪乱物質がヒトに及ぼす悪影響を評価する枠組みを構築する。人に対する健康リスクをリスクが現実の問題になるのに先だって評価し、有効な対策を講じるためには、人についての影響発現データ(疫学調査データ)を使うことはできない。また、動物実験の結果を援用して人に対するリスクを評価するためには、高濃度の物質を与えて行われる実験の成果を現実に問題になる低濃度域に外挿することによる誤差(濃度外挿誤差)や、動物実験の成果を人に外挿する場合に生じる誤差(種差外挿誤差)を克服しなければならない。発癌物質等による健康リスク評価と内分泌攪乱物質による健康リスク評価の相違点を表 2-1 に整理する。

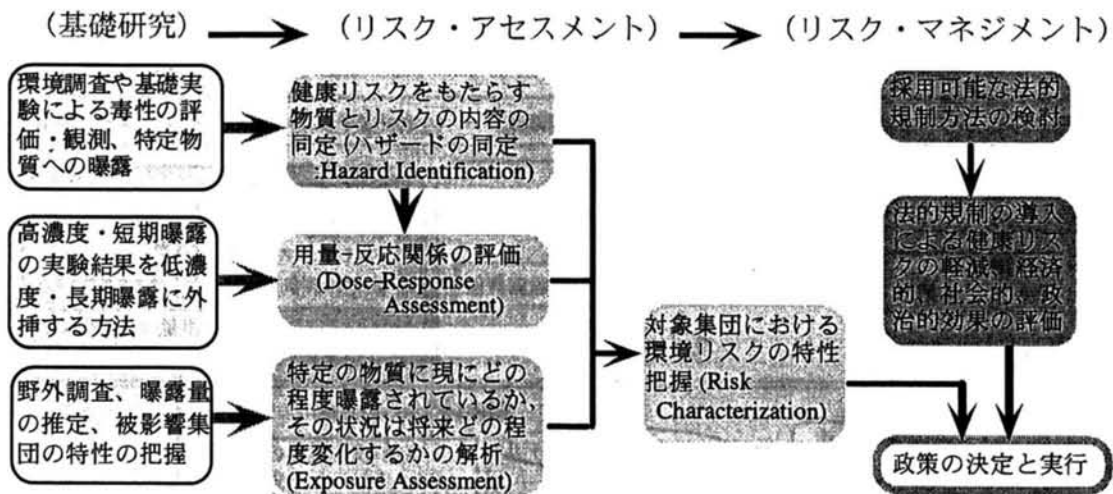


図 2-1 化学物質による健康リスク評価の枠組み
(出典: U.S.NRC, 1983)

表 2-1 内分泌攪乱物質による健康リスク評価と発癌物質による健康リスク評価の比較

	内分泌攪乱物質	発癌物質
対象となる健康リスク	生殖系その他、免疫系、脳への影響等が示唆されている。	癌の誘発、臓器・組織の機能障害、等。
評価のエンドポイント	特定バイオマーカの変化量。	発癌確率。機能障害の発症数、等。
用量・反応関係	疫学調査による把握は現時点では困難。	ヒト「用量・反応関係」を使える物質がある。
外部曝露評価 (環境内動態評価)	環境動態評価モデル、食習慣調査、モニタリングデータ等による通常の方法を適用。	
内部曝露評価	PBPKモデル等により評価する。標的臓器・組織は生殖系、免疫系組織や脳、胎児等。	全ての臓器・組織。但し、物質によって標的臓器・組織が特定される。

2.2 内分泌攪乱物質による健康リスク評価枠組みの構成

2.2.1 評価の枠組み

内分泌攪乱物質がヒトに及ぼすリスクを評価する枠組みを構成する上で考慮すべき基本的な事項に、濃度外挿や種差外挿に伴う誤差を克服する必要があること等、内分泌攪乱物質と発癌物質とで大きな概念上の違いはないといえる。最も大きな問題は、ヒトに対するリスクを評価するといいながら、例えば「精子数の減少」のような、個体としてのヒトに内分泌攪乱物質がもたらす影響（変化）が、現時点では明確でないことである。

幸いにして、最近では分子・細胞生物学的な実験手法を使うことができ、個体レベルでの変化を把握するための動物実験が可能である。これらの手法を組み合わせ、内分泌攪乱物質がヒトに及ぼす健康リスクを評価する枠組みとして図 2-2 を用いることとする。

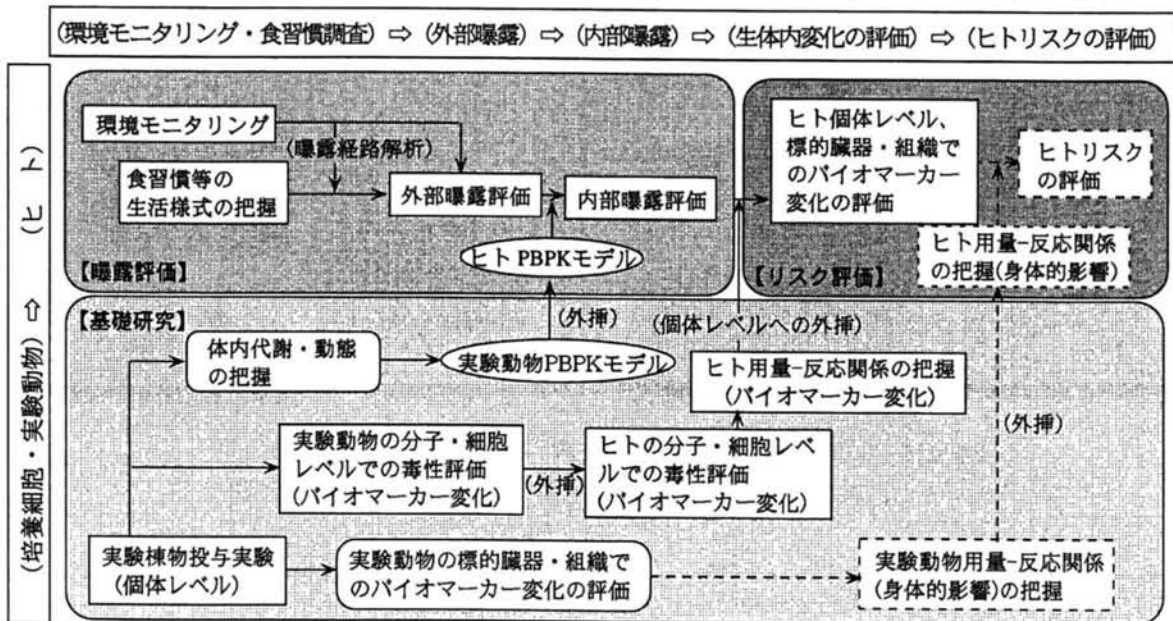


図 2-2 環境ホルモンによるヒト・リスク評価のための枠組み

健康リスク評価の最も基本的な手順は一般に次式で表現することができる。

$$(\text{リスク})_{\text{ヒト}} = \frac{(\text{リスク})_{\text{ヒト}}}{(\text{外部曝露量})_{\text{ヒト}}} \times (\text{外部曝露量})_{\text{ヒト}} \quad (1)$$

上式中の「 $(\text{リスク})_{\text{ヒト}}/(\text{外部曝露量})_{\text{ヒト}}$ 」は、疫学調査によって得られる、ヒトに対する「用量・反応関係」を意味しており、上式はヒトについての用量・反応関係が得られていることを前提にしている。しかし、内分泌攪乱物質のヒトに対する「用量・反応関係」は現時点では事実上入手不可能である。と言うより、これこそが評価すべき対象であり、リスクが顕在化する以前に $(\text{リスク})_{\text{ヒト}}$ を評価しなければならない。従って、内分泌攪乱物質によるヒトへの影響を評価するためには、現時点で把握可能な情報を明らかにして、式(1)が内包する評価構造(図 2-3 参照)を拡張する必要がある。

食品摂取等により経口的にヒトに(外部)曝露された内分泌攪乱物質は消化管において吸収されて臓器組織に移行し、臓器組織において何らかの変化を誘発し、やがてこの「変化」が身体症状に転化し、悪影響として診断されると考えることができる。すなわち、式(1)の「 $(\text{リスク})_{\text{ヒト}}/(\text{外部曝露量})_{\text{ヒト}}$ 」の関係は「 $(\text{リスク})_{\text{ヒト}}/(\text{バイオマーカの変化})_{\text{ヒト}}$ 」、「 $(\text{バイオマーカの変化})_{\text{ヒト}}/(\text{内部曝露量})_{\text{ヒト}}$ 」及び「 $(\text{内部曝露量})_{\text{ヒト}}/(\text{外部曝露量})_{\text{ヒト}}$ 」の関係に分解可能である。そこで、現時点で把握可能な関係を用いてヒトの健康リスクが評価できるように、式(1)を下記のように書き改める。

$$(\text{リスク})_{\text{ヒト}} = \frac{(\text{リスク})_{\text{ヒト}}}{(\text{バイオマーカの変化})_{\text{ヒト}}} \times \frac{(\text{バイオマーカの変化})_{\text{ヒト}}}{(\text{内部曝露量})_{\text{ヒト}}} \times \frac{(\text{内部曝露量})_{\text{ヒト}}}{(\text{外部曝露量})_{\text{ヒト}}} \times (\text{外部曝露量})_{\text{ヒト}} \quad (2)$$

ここで「バイオマーカー」とは、内分泌攪乱物質の曝露により臓器組織、細胞、遺伝子等に現れる変化の「指標」を意味する。例えば、ある種の遺伝子発現の変化(活性化や抑制)、特定の酵素やタンパク質の血中濃度等を用いることができる。

身体的症状に比べるとバイオマーカーの変化ははるかに鋭敏であり、かつヒトと実験動物とで同じバイオマーカーを使える可能性がある。また、「外部曝露量」は、食物や飲料水等と共に経口経路により、あるいは

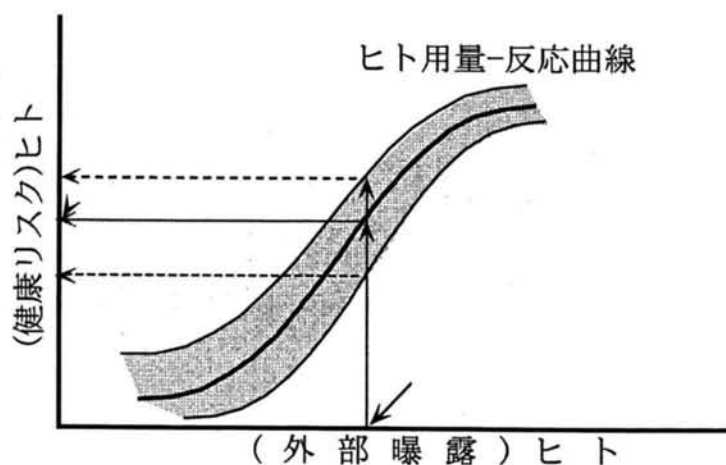


図 2-3 ヒト用量-反応曲線を用いるリスク評価

呼吸（経気道）経路により体内に取り込まれる内分泌攪乱物質の量を、「内部曝露量」は経口・経気道摂取された内分泌攪乱物質の内、臓器組織、細胞にまで到達し、直接にバイオマーカーを変化させる内分泌攪乱物質の量を意味する。多くの場合、「内部曝露量」は臓器組織や血液中の物質濃度で与えられる。

臓器組織そのものを用いる実験の困難さに比較すると、臓器組織の培養細胞を用いる実験は比較的容易である。それ故、培養細胞を用いて行う実験結果をリスク評価に用いるためには、「外部曝露量」ではなく「内部曝露量」に注目する必要がある。

「(リスク)_{ヒト}/(バイオマーカーの変化)_{ヒト}」は、例えば特定の遺伝子発現量（バイオマーカー）の変化が精子数をどの程度減少させるかを表す関係に相当する。この関係をヒトについて確認することは現時点では不可能であるが、動物実験によりこの関係を把握することは可能である。動物実験の結果を利用できるように、再び式(2)を書き改める。

$$\begin{aligned}
 (\text{リスク})_{\text{ヒト}} &= \frac{(\text{リスク})_{\text{ヒト}}/(\text{バイオマーカーの変化})_{\text{ヒト}}}{(\text{リスク})_{\text{動物}}/(\text{バイオマーカーの変化})_{\text{動物}}} \\
 &\quad \times \frac{(\text{バイオマーカーの変化})_{\text{ヒト}}/(\text{内部曝露量})_{\text{ヒト}}}{(\text{バイオマーカーの変化})_{\text{動物}}/(\text{内部曝露量})_{\text{動物}}} \\
 &\quad \times \frac{(\text{リスク})_{\text{動物}}}{(\text{バイオマーカーの変化})_{\text{動物}}} \times \frac{(\text{バイオマーカーの変化})_{\text{動物}}}{(\text{内部曝露量})_{\text{動物}}} \\
 &\quad \times \frac{(\text{内部曝露量})_{\text{ヒト}}}{(\text{外部曝露量})_{\text{ヒト}}} \times (\text{外部曝露量})_{\text{ヒト}} \tag{3}
 \end{aligned}$$

右辺第一項は、単位量のバイオマーカー変化が生体レベルにもたらすリスクの、ヒトと実験動物との間の感度比であり、生体レベルでの「種差」を補正する関係である。右辺第二項は、単位量の内分泌攪乱物質の内部曝露によって誘発されるバイオマーカー変化の、ヒトと実験動物との間の感度比であり、「種差外挿誤差」を補正する関係である。

現時点では「(リスク)_{ヒト}/(バイオマーカーの変化)_{ヒト}」あるいは「(リスク)_{ヒト}/(外部曝露量)_{ヒト}」の関係を把握することは不可能であり、それ故、内分泌攪乱物質がヒトに及ぼす悪影響は「(リスク)_{ヒト}」に代えて「(バイオマーカーの変化)_{ヒト}」を指標（エンドポイント）にして評価することになる。

式(3)の関連する項をそれぞれ消去すると、最終的に(リスク)_{ヒト}=(リスク)_{ヒト}という恒等式に帰結する。従って、式(3)の当否を吟味する必要はない。

2.2.2 外部曝露評価

内分泌攪乱物質の大気中濃度や飲料水中濃度、各種の食物中濃度をモニタリング等により把握し、これに食物等の摂取量を乗じて加算すれば、内分泌攪乱物質の外部曝露量を評価することができる。経気道による外部曝露量を評価する場合には、大気中濃度と大気呼吸量との積に肺における内分泌攪乱物質の沈着率を乗じることになる。

環境中に漏出した内分泌攪乱物質の環境中動態や、食物連鎖などを経ての食物への移行・濃縮を評価するモデル（環境動態評価モデル）を開発することができれば、外部曝露量のより効果的な評価が可能になる。わが国は、飼料用穀物を含めると穀物の70%近くを輸入に頼っていることから、国内環境のみでなく地球環境中での内分泌攪乱物質の動態にも留意する必要がある。

環境動態評価等を健康リスク評価の枠組みに取り込む場合は、(外部曝露量)_{ヒト}を次式のよ
うに拡大することになる。すなわち、

$$(外部曝露量)_{ヒト} = \frac{(外部曝露量)_{ヒト}}{(環境負荷量)} \times \frac{(環境負荷量)}{(物質使用量)} \times \frac{(物質使用量)}{(物質生産量)} \times (物質生産量)$$

「(物質使用量)/(物質生産量)」は、生産された内分泌攪乱物質がどの程度国内で使用・消費されるかを、物質の輸出入を考慮して定めることになる。「(環境負荷量)/(物質使用量)」は、PRTR法等に基づいて事業所毎に届け出られる数値として特定される。事業所内での回収・再利用や処理などの効果が評価される。また「(外部曝露量)_{ヒト}/(環境負荷量)」は、上下水処理や環境中における分解・固定などの効果を考慮し、環境中に放出された内分泌攪乱物質がどの程度ヒトに曝露されるかを評価する、いわゆる曝露評価（図2-2参照）のプロセスに相当する。

2.2.3 内部曝露評価

外部曝露量を内部曝露量に変換するためには、摂取された内分泌攪乱物質が体内臓器・組織にどのように配分・蓄積され、体外に排泄されるかを把握する体内動態評価モデルが必要になる。

そこで、式(3)の「(内部曝露量)_{ヒト}/(外部曝露量)_{ヒト}」の関係を、次式(4)のように分解する。

$$\frac{(内部曝露量)_{ヒト}}{(外部曝露量)_{ヒト}} = \frac{(内部曝露量)_{ヒト}/(外部曝露量)_{ヒト}}{(内部曝露量)_{動物}/(外部曝露量)_{動物}} \times \frac{(内部曝露量)_{動物}}{(外部曝露量)_{動物}} \quad (4)$$

上式の右辺第一項は、ヒトおよび実験動物に投与された単位量の内分泌攪乱物質の臓器・組織への配分量の比、すなわち内分泌攪乱物質体内動態の種差を意味する。この比の値を特定するためには、動物実験データに加えて、ヒトに対する投与実験データが必要になる。しかし、これは入手不可能であり、従って2.2.4に述べる体内動態評価モデルを用いてこの比を関数的に解析する。下図における「外挿」の部分が、モデル上でのこの比を表す。

式(4)の右辺第二項「(内部曝露量)_{動物}/(外部曝露量)_{動物}」の関係は、実験動物に内分泌攪乱物質を投与して体内動態を把握することにより特定できる。

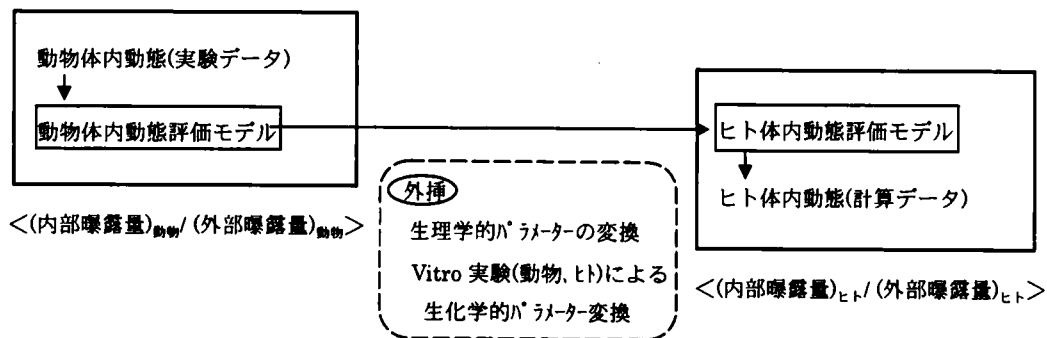


図 2-4 式(4)の概念図

2.2.4 体内動態評価モデル

化学物質等の体内動態を評価するために、しばしば生理学的薬物動態モデル(PBPK モデル、Physiologically-Based Pharmacokinetic Model)が使われる。PBPK モデルは体内の臓器・組織を血流で繋ぐ構造を有し、内分泌攪乱物質の物質収支式を臓器・組織毎に書き下すことにより得られる。従って、内分泌攪乱物質の体内動態は、PBPK モデルを適切な初期・境界条件の下に解くことにより解析・評価される。

PBPK モデルでは、個体の体重や臓器・組織の重量及び体積等の生理学的パラメータ、及び消化管からの物質の吸収速度や代謝速度、排泄速度等の生化学的パラメータ、および血液と臓器・組織との間の物質の分配率等の物理化学的パラメータが使われる。

実験動物に物質を投与し、その臓器・組織内濃度の経時変化を追跡することにより上記の関連パラメータ値を決定すれば「(外部曝露量)_{動物}」を「(内部曝露量)_{動物}」に変換する実験動物 PBPK モデルが完成する。次いで、個体の体重や臓器・組織の重量および体積等の生理学的パラメータ、血清タンパク結合や代謝等に関する生化学的パラメータなどをヒトの値で置換することにより、第一近似のヒト PBPK モデルを得ることができる。

2.3 ビスフェノール A (BPA) への健康リスク評価枠組みの適用

内分泌攪乱物質によるヒトの健康リスクを評価する研究の課題は、ヒトに対するリスクが顕在化する前にその大きさを予測する枠組みを準備し、必要な情報を整えて、リスク評価の事例を提示することである。この課題に答えが提示されることは、環境中に実在する内分泌攪乱物質とヒトの健康リスクとを関係づけるモデルが実際に完成することを意味している。そこで、環境中に存在し内分泌攪乱作用が疑われるビスフェノール A (以下 BPA と略記する) に注目し、前節に述べた、内分泌攪乱物質によるヒトの健康リスクを評価する枠組み (図 2-2 参照) に従って、リスクを評価するためのモデルの作成とリスク評価を試みた。BPA についてのリスク評価の流れを図 2-5 に示しておく。本研究においては、BPA を含む内分泌攪乱物質に関して最も懸念される、生物の発生過程における悪影響に注目するため、懐胎期のヒトを健康リスク評価の対象とする。第 3 章以降に、その内容を述べる。

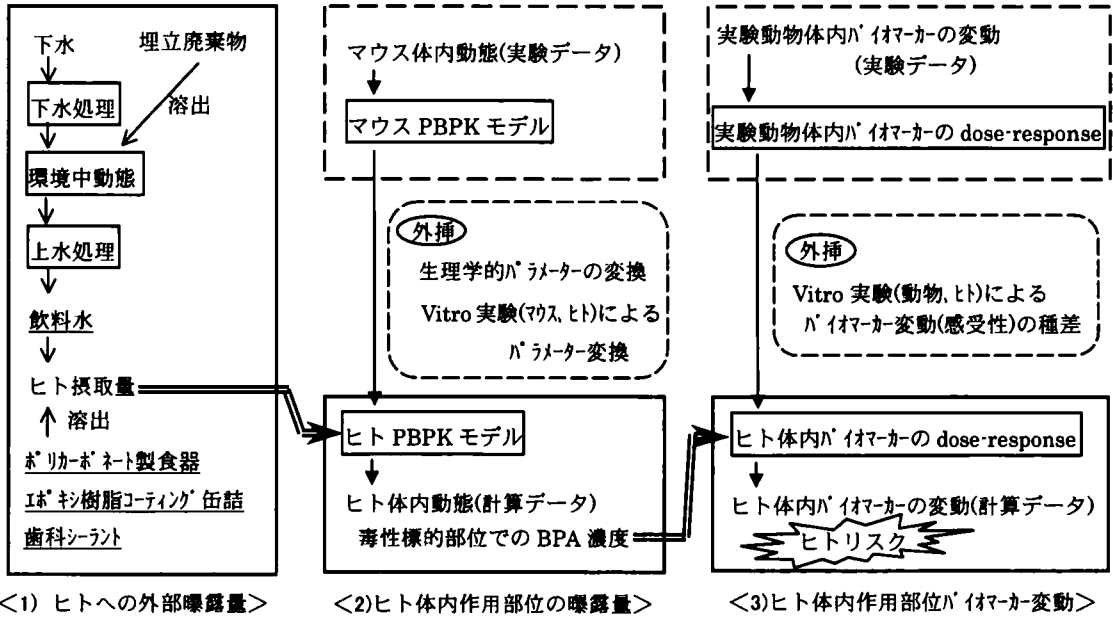


図 2-5 BPA のヒトリスク評価の流れ

第3章 ビスフェノール A (BPA) の環境中への放出と動態の予測

第1章で述べたように、ビスフェノール A (以下 BPA と略記する) は主として樹脂に含まれる。そのためヒトはこの樹脂の直接使用により BPA を摂取するというのが考え得る一つの曝露経路である。しかし環境中で実際に BPA が検出されていることから、飲料水経路でのヒトの BPA 摂取も懸念される場所であり、また、樹脂に含まれていないはずの BPA が如何にして環境中に存在することになっているのかを明らかにすることは、BPA による環境汚染に対策を講じる際に必要なことである。環境中の BPA は、飲料水等を介してヒトに曝露されるだけでなく、環境中の生物に悪影響を与えることも懸念されるからである。

この章では、BPA の環境中への放出量と経路を明らかにすることを試みるとともに、BPA が環境媒体中でどのような動態を示すかを予測する。

3.1 環境中への BPA 放出量および経路の予測

3.1.1 BPA の国内生産量および用途

BPA の日本国内での生産量は年々増加傾向にあり、特に 1999～2000 年度にかけて大幅に生産量が増加した。また、2001 年度の実績は大きく伸びないが、輸出量が大きく減ったため、国内流通量は大きく増加した計算になった。2001 年度の実績は 399,415ton であり、国内流通量は 432,128ton であった。近年の国内生産量および国内流通量の値を表 3-1 に示す。図 3-1 は、国内流通量を図示したものである。ただし、国内流通量は、 $(\text{国内流通量}) = (\text{国内生産量}) - (\text{輸出通関統計}) + (\text{輸入通関統計})$ として算出した。なお、BPA の生産量に関する統計は 1995 年度以前は取られておらず、1996 年度以降しかデータが得られなかった。

表 3-1 BPA の生産および流通に関する統計 (単位: ton)

年度	国内生産量	輸出通関統計	輸入通関統計	国内流通量
1996	250143	34111	45535	261567
1997	267301	47441	42315	262175
1998	279710	62532	41131	258309
1999	355317	71935	48967	332349
2000	385933	73564	33874	346243
2001	399415	12124	44837	432128

出典 国内生産量；経済産業省化学工業統計

輸出入通関統計；財務省貿易統計

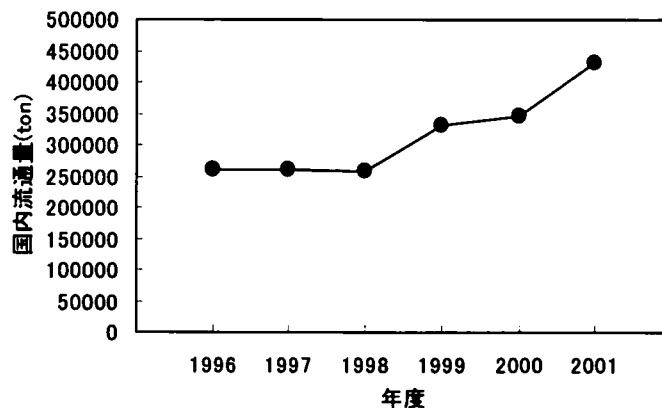


図 3-1 BPA の国内流通量

製造された BPA は、その 73%がポリカーボネート樹脂原料、22%がエポキシ樹脂等の原料、1.5%が樹脂添加剤（塩化ビニル安定剤、難燃剤原料）となる。ポリカーボネート樹脂は食器やほ乳びん、コンパクトディスク（CD）、OA 機器、自動車部品、シートなど、エポキシ樹脂は主に缶詰、缶飲料の内部コーティング（被覆）材、積層板、接着剤、塗料などに使用されている。塩化ビニルは軟質塩ビと硬質塩ビに分けられるが、軟質塩ビは農業用ビニール、電線被膜、床材、繊維、レザーなど、硬質塩ビはパイプ・継手、建材・窓枠、フィルム・シート、波板・平板などに用いられている。軟質塩ビ製品は塩ビ用途の 43.5%、硬質塩ビ製品は 56.5%を占める。

3.1.2 各樹脂からの BPA 溶出

種々の樹脂廃棄物を室温下で水に 2 週間浸漬して BPA の溶出を調べた実験[1]によれば、ポリカーボネート製品廃棄物からの BPA 溶出率は、 1.1×10^{-3} %（食器）、 1.8×10^{-3} %（シート）、 2.3×10^{-3} %（CD）であり、軟質塩ビ製品からは、2.9 %（電線被膜）、2.1 %（合成皮革）、11 %（合成皮革）、硬質塩ビ製品からは 9.7×10^{-3} %であった。溶出率は、いずれも各樹脂の BPA 含有量のうち溶出した割合である。エポキシ樹脂製品からの溶出率は調べられていなかったが、ポリカーボネート樹脂と同じく BPA をモノマーとする樹脂なので、BPA の溶出率はポリカーボネートの場合と同等であると考えことにする。

ここで、BPA の各樹脂への用途割合と、各樹脂からの BPA 溶出率（上記溶出率の平均値を用いた）から、BPA の総溶出量を樹脂間で比較してみると、全種類の樹脂が同じ条件下に置かれたとした場合、軟質塩ビからの溶出量が 95%を占めることが分かった。ただし、BPA 用途のうちの樹脂添加剤には、どのような樹脂にどのような目的で添加されているか全体を明示した報告がないため使用比率 1.5%の内訳が得られず、最悪のケースを想定して、その全てが塩化ビニル安定剤として使われると仮定した。よって、0.65%が軟質塩ビ、0.85%が硬質塩ビの安定剤として用いられているとして計算した。このような仮定の下ではある

が、比率としては極めて低い用途である軟質塩化ビニルからの溶出が支配的であることは、化学物質の樹脂からの溶出には、樹脂中の存在量だけでなく存在形態が大きく影響することを示している。

3.1.3 環境中への BPA 放出量および経路の予測

3.1.3.1 樹脂から環境中への BPA の溶出経路

前項で述べた、軟質塩化ビニルからの溶出量が 95% という値は、全樹脂が同じ条件下に置かれた場合の数値であった。樹脂によって使用される場所が異なれば、水との接触時間も異なり、また環境中への放出経路も異なると考えられるため、実際に各樹脂から環境中へ放出される BPA 量を見積もるためには、各樹脂の用途を考慮に入れる必要がある。

樹脂から BPA が溶出し環境中へ放出される経路としては、①屋外で使用され溶出する、②屋内で使用されて溶出し、下水経由で環境中に放出される、③屋内外で使用され、廃棄後埋立てられ環境中に溶出する、の 3 つが考えられる。このうち、もっとも直接に環境中へ放出される経路は①である。②は、家庭での水による洗浄等、使用時の溶出が想定され、下水は処理される場合とされない場合が考えられる。いずれの用途にあった樹脂とも、いずれ廃棄され③の状態をとる。③は、埋立て時の溶出状態については①と同様であると考えられるが、使用時点と溶出時点の間にタイムラグがあることと、溶出後環境中へ出る前に処理されて BPA が減じられる点が①とは異なる。①、③とも、雨水によって溶出されることが想定される。

軟質塩化ビニルのうち 27% は農業用ビニール、25% は電線被膜として使用され、あわせて半分強が屋外で使用される (①)。残りのうち床材、繊維、レザーとして 32% が使用され、これらは屋内での使用時に溶出する機会はあまりないと思われるため、廃棄後の溶出が主であると考えられる (③)。硬質塩化ビニルには軟質塩化ビニルとほぼ同じ量の BPA が使用されるが、そのうち 95% がパイプ・継手、建材・窓枠、フィルム・シート、波板・平板などであり (①、③)、軟質塩ビに比べるとやや雨水に曝される使用機会は少ないと考えられ、しかも同様に雨水に曝された場合の溶出率は軟質塩ビの 1/100 以下なので、軟質塩ビからの放出量に比べて無視できると考えられる。ポリカーボネートの用途は食器や哺乳瓶、コンパクトディスク (CD)、OA 機器、自動車部品、シートなどであり、屋内での使用が主であると考えられる (②、③)。このうち食器や哺乳瓶としての使用に際しては水との接触機会が多く、第 4 章に述べるようなヒトの直接曝露経路以外に、洗浄などにもなって BPA が下水に入ることが予想される。エポキシ樹脂の用途は缶詰・缶飲料の内部コーティング (被覆) 材、積層板、接着剤、塗料などであり、ポリカーボネートと同様のことが考えられる (②、③)。

3.1.3.2 樹脂から環境中への BPA 溶出量の見積もり方法

これらの考察を基に、各樹脂からの BPA 溶出量を、使用形態を鑑みて見積もると、

- ① (BPA の国内流通量) × (BPA の該当樹脂への用途割合) × (該当樹脂が屋外で使用される比率) × (該当樹脂の BPA 溶出率) × (水との接触時間)
- ② (BPA の国内流通量) × (BPA の該当樹脂への用途割合) × (該当樹脂が屋内で使用される比率) × (該当樹脂の BPA 溶出率) × (水との接触時間) × (下水処理における BPA 未処理率)
- ③ (BPA の国内流通量) × (BPA の該当樹脂への用途割合) × (該当樹脂の BPA 溶出率) × (水との接触時間) × (埋立て浸出水の処理における BPA 未処理率)
- となる。

現在国内流通量は年単位で示されている。廃棄されて③の状態になるまでには流通してからタイムラグがあると考えられるが、多種樹脂製品の使用期間を全て見積もることはほぼ不可能なので、流通の1年後に廃棄されるとして計算した。BPA の国内流通量は年々増加してはいるがオーダーが変わるほどではないので、溶出量をオーダー単位で見積もるのに問題はないと考えられる。ただし、溶出量の年変動は細かく見積もれない。

樹脂の使用期間また埋立て期間は通常単年ではなく複数年にわたる。この計算では使用期間は1年と仮定しているが、埋立てはその翌年以後も継続するので、溶出も継続して起こると考えられる。よって、2年目以後も、樹脂中の残存 BPA から同じ率で溶出するとして計算し、新たに流通したものからの溶出分に加算した。

また、前項に示した溶出率の実験結果は、水に2週間浸漬したときのものであったため、①、②、③ともに溶出率を水との接触時間で補正することが必要である。①および③に関しては雨水による溶出を想定しているため、年間降水時間をこれに用いた。また②に関しては、屋内での使用中に水と接触する代表的なものとしてポリカーボネート食器を考え、洗浄時を想定して、該当樹脂製品が1日1回使用され、各回の洗浄時間は10分として計算した。

下水に入った BPA は、現在の下水処理工程で9割程度除去されることが分かっている[2]。これを埋立て浸出水の処理効率にも当てはめ、従って②、③の水処理における BPA 未処理率を10%とした。また、②の場合、下水道の整備されていない地域もあるため、全国の下水道普及率60% (1999年) を用い、40%相当量の BPA に対しては下水処理を考慮に入れなかった。

屋内・外の使用比率については次のように見積もった。仮にどの樹脂でも屋内・外の使用比率が同じだとすると、やはり軟質塩ビからの溶出の全溶出量への寄与は95%となる。軟質塩ビの寄与が下がるのは、他の樹脂の方が①の比率が高いというときだけであるが、各樹脂の用途から考えてそれは起こらない。従って軟質塩ビの寄与が95%を下回ることはない。そこで軟質塩ビの屋外使用の比率を、実際の軟質塩ビ用途に沿って考え50%とし、他の樹脂の屋外使用比率に関してもより悪い方の状況を想定するとして同じく50%とした。

3.1.3.3 樹脂から環境中への BPA 溶出量の見積もり結果と考察

こうして樹脂からの BPA 溶出量を見積もった結果、BPA の年間流通量の 0.08%程度に当たる量が、初めの 1 年の使用期間（従って①および②の計）に環境中に放出されることになる。前年までに流通し廃棄されたもの（③）を含めて、存在している全樹脂からの溶出を加算して考えた場合には、1 年間に環境中に放出される BPA は、単年の BPA 流通量の 0.1%程度に相当する量となることが分かった。ただし生産量（従って流通量）データが 1996 年以降しか得られないため、2001 年の流通量が使用期間にあり、1996 年から 2000 年までに流通した量が廃棄された状態にあるとして計算した値である。使用時の溶出に関しては、屋内使用時は水との接触時間が屋外より短く、かつ処理を受けた後に環境中に放出されるので、屋外使用時放出分の 2%程度にしかならないことが分かった。廃棄後の溶出についても環境中に出るまでに処理を受けるので、屋内使用時よりは環境への放出分が多いものの、環境中に放出される BPA の大部分は BPA 含有樹脂の屋外使用時に溶出されるものであることが分かった。屋外使用では溶出した BPA が直接環境中に流出するのが問題である。この計算では使用は 1 年間としているが、実際はもっと長いことも考えられ、その場合、樹脂の屋外使用により環境に与える影響はこの計算以上に大きくなる。今回の計算結果である、単年の BPA 流通量の 0.1%程度が毎年環境中に放出されるという値は、比率的には小さいが、この量がリスクとしてどの程度のものであるのか、次章以後で評価する。このとき、やはり軟質塩ビの寄与は前述の通り 95%であり、環境中の BPA を削減するためには、軟質塩ビを始めとする樹脂への添加剤としての使用をまず第一に見直す必要があることを示している。計算からは、屋外にある軟質塩ビ中の BPA は、雨水による溶出により 3 年で半減、5 年では 1/3 に減ることが示された。

また、②の場合の BPA 溶出量（下水処理前）と国民一人当たりの下水量（200L/人/日）から流入下水中 BPA 濃度を見積もると $1.8 \mu\text{g/L}$ となり、実際に調査された流入下水中濃度の範囲（ $0.04 \sim 9.6 \mu\text{g/L}$ ）[2]内ではあるが、家庭系排水中濃度（ $0.31 \sim 0.44 \mu\text{g/L}$ ）[2]よりは高い。ただしこの計算においては、軟質塩ビも 50%は屋内で使用され、1 日当たり 10 分間水と接触すると仮定している。ここでも見積もった流入下水中濃度 $1.8 \mu\text{g/L}$ の 95%は軟質塩ビの寄与によるものであるため、実際には軟質塩ビの屋内使用による水との接触はもっと少ないものと考えられる。

下水中 BPA の他の排出源として考えられるのは BPA や BPA 含有樹脂の製造事業所である。排水等は処理を経て排出されると考えられるが、扱う量が多いため環境中放出量を見積もる際には本来考慮に入れるべきである。しかしこれら企業からの排水等による環境中への BPA 排出量は不明である。ただし、流入下水中 BPA 濃度と事業所排水との関連を調査した結果[2]によれば、事業所排水が流入下水中 BPA 濃度を特に高めていると見られる例は多くはなかったことから、事業所を排出源として考慮しないことによる影響は大きくはないと考えられる。

3.2 BPA の環境中動態

3.2.1 BPA の環境中濃度

BPA の日本国内水環境中濃度について、環境省および国土交通省が調査している。主として河川環境が対象であるが、環境省調査には湖沼、海域、地下水も含まれている。1998年度から調査が開始された。これまでの調査結果から、環境省[3,4,5]および国土交通省[6]による結果を合わせて、BPA の検出率（検出試料数／調査試料数）、検出濃度範囲、平均濃度を表 3-2 に示す。また、水質および底質中濃度の推移を図 3-2 に示す。

表 3-2 環境省および国土交通省による環境実態調査結果

		1998 年度	1999 年度	2000 年度	2001 年度
水質	検出率	0.55 (515/941)	0.48 (301/633)	0.41 (124/302)	0.42 (122/288)
	検出濃度範囲	ND(<0.01)－1.7	ND(<0.01)－ 1.81	ND(<0.01)－ 1.7	ND(<0.01)－ 0.56
	平均濃度*	0.045	0.035	0.034	0.031
底質	検出率	0.42 (78/187)	0.74 (78/106)	0.40 (25/62)	0.56 (34/61)
	検出濃度範囲	ND(<0.2-35)－ 152	ND(<0.2-5)－ 270	ND(<0.2-5)－ 47	ND(<0.2-5)－ 120
	平均濃度	8.9	9.9	5.6	12
水生生物	検出率	0.06 (8/141)			
	検出濃度範囲	ND(<5)－15			
	平均濃度	2.8			
土壌	検出率	0.02 (2/101)			
	検出濃度範囲	ND(<5-15)－ 2700			
	平均濃度	32			

濃度の単位は $\mu\text{g/L}$ または $\mu\text{g/kg}$ 。

* 平均濃度算出の際、ND（検出限界値未満）は検出限界値の 1/2 として計算したため、平均値が検出限界値を下回る場合がある。

日本国内の水環境においては、かなり広範に BPA が存在していることが分かる。BPA 濃度値の評価はさておき、水質および底質について半数近い調査地点で検出されるという検出率は、内分泌攪乱作用が疑われる人工化学物質の中で PCB に次いで高率であった。この検出率には、明らかな経年変化は見られなかった。水質中 BPA 濃度は、全国を平均すると $0.03\mu\text{g/L}$ 程度であるが、調査地点によって、また同一地点でも調査時によってかなりの変動がみられた。水質中濃度に比べ底質中 BPA 濃度は数 100 倍程度と高く、底質中に蓄積さ

れている可能性が示唆された。底質中濃度についても、調査地点や時期によってかなりの変動がみられた。水質・底質中のいずれの濃度にも、明らかな経年変化は見られなかった。

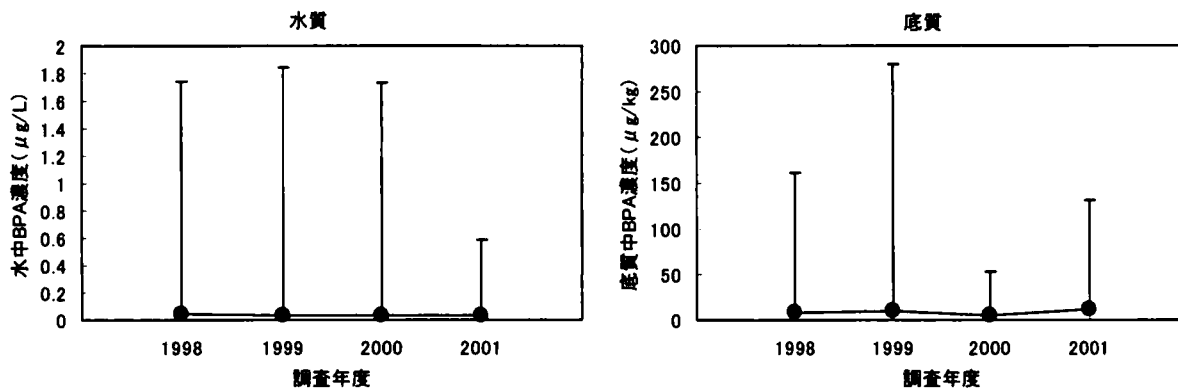


図 3-2 日本国内の水質および底質中 BPA 濃度推移
(●：平均値、I：最大-最小値)

3.2.2 環境中動態モデル

環境中に放出された化学物質は、その物理化学的性質と環境条件に基づいて、種々の機構により環境構成要素に分配される。この結果として環境中に化学物質がどの程度存在しているかを調査するのが環境モニタリングであり、環境中の化学物質濃度を測定し、汚染度合いの現況を知ることができる。

しかしリスク管理という観点からすれば、環境汚染の現況だけでなく、現在の化学物質使用状況が将来の環境に与える影響の予測が必要であり、これには環境中動態モデルの利用が有効である。

BPA の環境中濃度について言えば、3.2.1 に述べたとおり水中および底質中濃度についてはある程度データが出されてきているが、その他の環境媒体中濃度についてはまだ十分に調査されているとは言えない。従って、BPA についての環境中動態モデルを作成すれば、現在から将来にわたる環境汚染の状態を予測することができ、ヒトや生態系へのリスクを評価・管理することに役立つばかりか、未だ明確には把握されていない BPA の環境中放出量と経路について 3.1.3 で述べた見積りを、BPA による現在の環境汚染状況と照らして評価することができる。

環境中動態モデルとしては、Mackay らが提唱したフガシティーモデル[7]がよく知られている。フガシティーモデルの特徴は、モデルを構成するコンパートメントの外に出ようとする傾向を表すフガシティーという状態変数を導入している点である。このモデルでは、各コンパートメントにおける物質収支式を簡単な形式で記述できる。

Morisawa らは、フガシティーモデルを利用して、日本国内における DDTs の環境中挙動を評価するモデルを構築した[8]。このモデルでは、日本の環境に見合う環境条件が設定され、DDTs の環境中濃度値を用いてそれらパラメータが既に検証されている。従って、

DDTs の物理化学的パラメータを BPA の値に置き換えたモデルは、日本国内における BPA の環境中挙動を評価するに妥当であると考えられる。ただし、BPA についてはその蒸気圧から、海洋から大気経由で陸地に戻ってくる経路を考慮に入れる必要がないと考えられ、また海産物からヒトが BPA を摂取することも想定しないため、水圏としては淡水表流水のみを対象とした。また、DDTs については他国で使用されたものが風により流入して来る可能性が考えられたため、系（日本国内）外の大気からの流入プロセスが考慮されていたが、BPA については蒸気圧からそのようなプロセスは考慮に入れる必要がないと判断されたため、モデルから除いた。

これにより、BPA の環境中動態モデルは次項のようになる。

3.2.3 BPA の環境中動態モデル（フガシティーモデル）

フガシティーモデル

ここでは Mackay らが提唱しているフガシティーモデルを用いて国内環境中の BPA 濃度を評価するモデルを構築する。フガシティーモデルの最大の特徴は化学物質の動きを表す指標として、化学物質が環境を構成する各コンパートメントの外に出ようとする傾向をフガシティーという変数を導入して表す点にある。フガシティーを f 、濃度を C としたとき、 f と C は比例関係にあり、

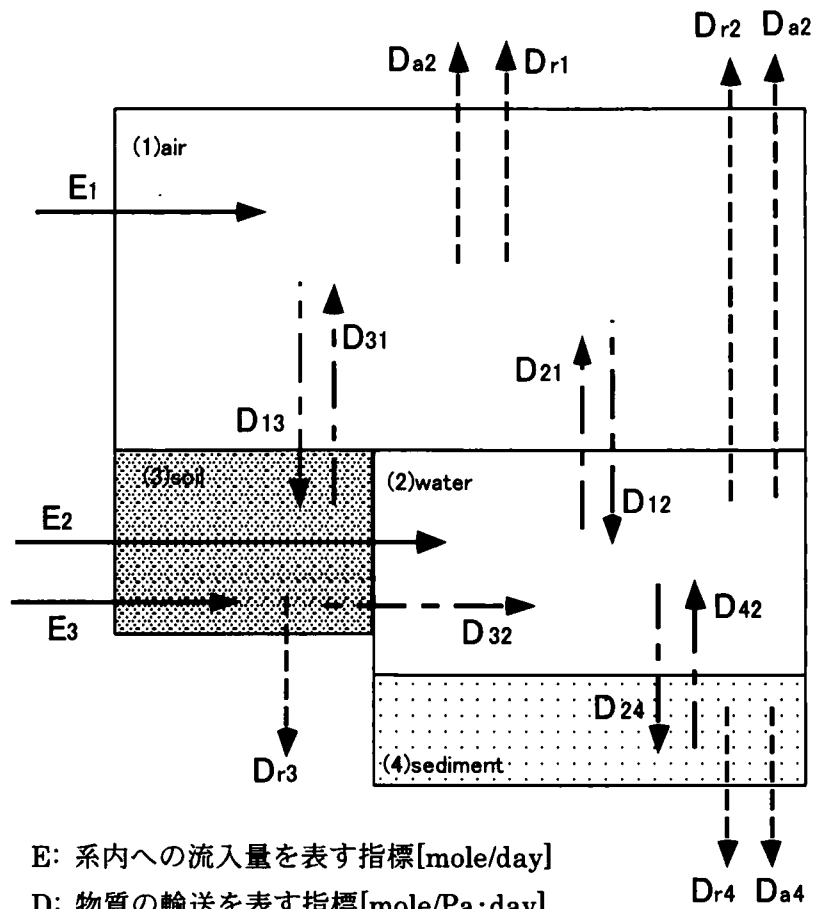
$$C=f \cdot Z \quad (3-1)$$

と書ける。ここで Z は温度・圧力・物質の性質・そしてその物質が存在する環境条件によって決まる値で、 Z Value（単位[mol/m³・Pa]）と呼ばれている。

環境条件の設定

本研究で使用するモデルでは、環境が大気、水、土壌、底質の4つのコンパートメント (compartment) で構成されているとし、物質の挙動は移流、分解反応による損失とコンパートメント間の輸送によって支配されていると考える。以下モデルの説明では大気、水、土壌、底質コンパートメントに関する値について、それぞれ 1-4 の添字によって表現する。本研究で使用する4コンパートメントモデルの概略を図 3-3 に示す。

各コンパートメントの構成要素を6つの相(phase)すなわち、大気相、水相、土壌相、底質相、浮遊物質相、魚相、エアロゾル相によって区分し、それぞれ 1-7 の添字を付して識別する。大気コンパートメントは大気相とエアロゾル相から、水コンパートメントは水相、浮遊物質相と魚相から、土壌コンパートメントは大気相と水相、土壌相から、底質コンパートメントは底質相と水相から成っている。各コンパートメントを構成している大気相、水相、土壌相、底質相、浮遊物質相、魚相、エアロゾル相の Z Value はそれぞれ以下の式($Z=1-7$)で与えられる。



E: 系内への流入量を表す指標[mole/day]
D: 物質の輸送を表す指標[mole/Pa·day]
* a,r の添字はそれぞれ移流(advection)、分解反応(reaction)を示す。

図 3-3 本研究で使用する4コンパートメントモデルの概略

大気相	$Z_1=1/(R \cdot T)$	(Z-1)
水相	$Z_2=1/H=C^s/P^s$	(Z-2)
土壌相	$Z_3=Z_2 \cdot \rho_3 \cdot \phi_3 \cdot K_{oc}/1000$	(Z-3)
底質相	$Z_4=Z_2 \cdot \rho_4 \cdot \phi_4 \cdot K_{oc}/1000$	(Z-4)
浮遊物質相	$Z_5=Z_2 \cdot \rho_5 \cdot \phi_5 \cdot K_{oc}/1000$	(Z-5)
魚相	$Z_6=Z_2 \cdot \rho_6 \cdot L \cdot K_{ow}/1000$	(Z-6)
エアロゾル相	$Z_7=Z_1 \cdot 6 \times 10^6 / P^{s_L}$	(Z-7)

ここで、

R: gas constant (8.314[J/mol·K])

T: absolute temperature[K]

C^s : solubility in water[mol/m³]

P^s :vapor pressure[Pa]

H :Henry's law constant[Pa·m³/mol]

P^s_L :liquid vapor pressure[Pa]

K_{oc} :Sorption Partition Coefficient[-]

K_{ow} :octanol-water partition coefficient[-]

ρ_i :density of phase i[kg/m³]

ϕ_i :mass fraction organic-carbon in phase i[g/g]

L :lipid content of fish[g/g]

また、大気、水、土壌、底質の各コンパートメントにおける各相の存在比率は Mackay らの設定[7]に従った。各コンパートメントの各相の構成比率を表 3-3 に示す。それぞれコンパートメントの Z Value、ZB は以下の式 (ZB-1-ZB-4) で表される。

表 3-3 各コンパートメントを構成する各相の体積比率

phase compartment	大気	水	土壌	底質	浮遊物質	魚	イロワ'ル
Air	1.0						2×10^{-11}
Water		1.0			5×10^{-6}	1×10^{-6}	
Soil	0.2	0.3	0.5				
sediment		0.8		0.2			

$$\text{大気} : Z_{B1} = Z_1 + 2 \times 10^{-11} Z_7 \quad (\text{ZB-1})$$

$$\text{水} : Z_{B2} = Z_2 + 5 \times 10^{-6} Z_5 + 1 \times 10^{-6} Z_6 \quad (\text{ZB-2})$$

$$\text{土壌} : Z_{B3} = 0.2 Z_1 + 0.3 Z_2 + 0.5 Z_3 \quad (\text{ZB-3})$$

$$\text{底質} : Z_{B4} = 0.8 Z_2 + 0.2 Z_4 \quad (\text{ZB-4})$$

移流・分解反応による物質の消失

ある時刻における移流、分解反応によるコンパートメントからの消失量は、消失速度を示す D Value[mol/Pa·day]とフガシィ f[Pa]の積で表現される。移流、分解反応による D Value はそれぞれ次のようにして求められる。土壌そのものは基本的にその場から移動しないと考え、移流による損失は考えない。

$$D_{ai} = V_i \cdot Z_{Bi} / \tau_i \quad (\text{D-1})$$

$$D_{ri} = V_i \cdot Z_{Bi} \cdot \ln(2) / T_{ri} \quad (\text{D-2})$$

ここで、 V_i :コンパートメント i の体積[m³]

τ_i :コンパートメント i の移流滞留時間[day]

T_{ri} :コンパートメント i における分解反応による半減期[day]

コンパートメント間の物質輸送

ある時刻におけるコンパートメント間の物質輸送についても同様に D value とフガシティの積で表現される。各コンパートメント間の輸送の際に考慮するプロセスを表 3-4 に示す。各 D Value は以下の式(D-3-D-18)によって求められる。

表 3-4 4 コンパートメントモデルにおける Intermedia Transport D Values

D value[mol/Pa·day]	輸送プロセス
D ₁₂ (air to water)	拡散、雨滴への溶解、乾燥・湿り沈着
D ₂₁ (water to air)	蒸発
D ₁₃ (air to soil)	拡散、雨滴への溶解、乾燥・湿り沈着
D ₃₁ (soil to air)	蒸発
D ₂₄ (water to sediment)	拡散、沈着
D ₄₂ (sediment to water)	拡散、再浮遊
D ₃₂ (soil to water)	降雨時の流出

1) Air-Water

$$D_{12}=D_{vw}+D_{RW}+D_{QW} \quad (D-3)$$

$$D_{vw}=A_w/(1/U_1 \cdot Z_1+1/U_2 \cdot Z_2) \quad (D-4)$$

$$D_{RW}=U_3 \cdot A_w \cdot Z_2 \quad (D-5)$$

$$D_{QW}=U_4 \cdot A_w \cdot Z_7 \quad (D-6)$$

2) Water-Air

$$D_{21}=D_{vw} \quad (D-7)$$

3) Air-Soil

$$D_{13}=D_{vs}+D_{RS}+D_{QS} \quad (D-8)$$

$$D_{vs}=1/(1/D_s+1/(D_{sw}+D_{sa})) \quad (D-9)$$

$$D_s=U_7 \cdot A_s \cdot Z_1 \quad (D-10)$$

$$D_{sa}=U_5 \cdot A_s \cdot Z_1 \quad (D-11)$$

$$D_{sw}=U_6 \cdot A_s \cdot Z_2 \quad (D-12)$$

$$D_{rs}=U_3 \cdot A_s \cdot Z_2 \quad (D-13)$$

$$D_{qs}=U_4 \cdot A_s \cdot Z_7 \quad (D-14)$$

4) Soil-Air

$$D_{31}=D_{vs} \quad (D-15)$$

5) Water-Sediment

$$D_{24}=U_8 \cdot A_w \cdot Z_2+U_9 \cdot A_w \cdot Z_5 \quad (D-16)$$

6) Sediment-Water

$$D_{42}=U_8 \cdot A_w \cdot Z_2+U_{10} \cdot A_w \cdot Z_4 \quad (D-17)$$

7)Soil-Water

$$D_{32}=U_{11} \cdot A_s \cdot Z_2+U_{12} \cdot A_s \cdot Z_3 \quad (D-18)$$

ここで、

A_w : 水面積[m²]

A_s : 陸地面積[m²]

$D_{ij}(i,j=1\sim 4)$: コンパートメント i から j への物質輸送に関する D Value[mol/Pa·day]

D_{vw} : air-water 間の拡散 (吸収) に関する D Value[mol/Pa·day]

D_{RW} : air-water 間の雨滴への溶解に関する D Value[mol/Pa·day]

D_{QW} : air-water 間の乾燥及び湿り沈着に関する D Value[mol/Pa·day]

D_{vs} : air-soil 間の拡散 (吸収) に関する D Value[mol/Pa·day]

D_s : air-soil 境界層における拡散に関する D Value[mol/Pa·day]

D_{SA} : 土壌内の細穴状気相の拡散に関する D Value[mol/Pa·day]

D_{sw} : 土壌水中の拡散に関する D Value[mol/Pa·day]

D_{RS} : air-soil 間の雨滴への溶解に関する D Value[mol/Pa·day]

D_{QS} : air-soil 間の乾燥及び湿り沈着に関する D Value[mol/Pa·day]

また、 $U_1\sim U_{12}$ [m/day]はコンパートメント間の輸送パラメータであり、それぞれ、

U_1 : Air side, air-water Mass Transfer Coefficient[m/day]

U_2 : Water side, air-water Mass Transfer Coefficient[m/day]

U_3 : Rain rate[m/day]

U_4 : Aerosol deposition rate[m/day]

U_5 : Soil-air phase diffusion Mass Transfer Coefficient[m/day]

U_6 : Soil-water phase diffusion Mass Transfer Coefficient[m/day]

U_7 : Soil-air boundary layer Mass Transfer Coefficient[m/day]

U_8 : Sediment-water Mass Transfer Coefficient[m/day]

U_9 : Sediment deposition rate[m/day]

U_{10} : Sediment resuspension rate[m/day]

U_{11} : Soil-water run-off[m/day]

U_{12} : Soil-solids run-off[m/day]

物質収支

ある時刻における各コンパートメント中 BPA 存在量の時間変化量が、コンパートメントへの流入量と流出量の差に等しいとする物質収支式をたてることにより、次の連立微分方程式が得られる。

$$V_1 \cdot Z_{B1} \cdot (df_1(t)/dt)=E_1+f_2(t) \cdot D_{21}+f_3(t) \cdot D_{31}-f_1(t) \cdot (D_{12}+D_{13}+D_{a1}+D_{r1}) \quad (F-1)$$

$$V_2 \cdot Z_{B2} \cdot (df_2(t)/dt)=E_2+f_1(t) \cdot D_{12}+f_3(t) \cdot D_{32}+f_4(t) \cdot D_{42}-f_2(t) \cdot (D_{21}+D_{24}+D_{a2}+D_{r2}) \quad (F-2)$$

$$V_3 \cdot Z_{B3} \cdot (df_3(t)/dt)=E_3+f_1(t) \cdot D_{13}-f_3(t) \cdot (D_{31}+D_{32}+D_{r3}) \quad (F-3)$$

$$V_4 \cdot Z_{B4} \cdot (df_4(t)/dt) = f_2(t) \cdot D_{24} \cdot f_4(t) \cdot (D_{42} + D_{a4} + D_{r4}) \quad (F-4)$$

ここで、 E_i :コンパートメント i への BPA 放出量[mol/day]

本研究では、これらの連立方程式群を前進差分により数値近似し、計算機を用いて数値解析する。すなわち、 f の関数 $f(t)$ に関して、

$$f(t+s) = f(t) + (df(t)/dt) \cdot s \quad (3-2)$$

の式により数値解析する。ここに、 s は時間の増分である。

3.2.4 前提条件およびパラメータの設定

前提条件

3.2.3 に記述した環境中動態モデルを用いて BPA の数値シミュレーションをするには、環境条件などの前提条件を決めておく必要がある。ここでは具体的には以下のような前提条件を設定する。

- (1) 評価対象の陸地面積は、日本の国土面積 $3.78 \times 10^{11} \text{ m}^2$ とした。水面積は、日本の主な湖沼の合計面積 ($2.21 \times 10^9 \text{ m}^2$ 、理科年表) と一級河川水系の流路面積の合計 ($8.75 \times 10^8 \text{ m}^2$ 、推計) の和とした。一級河川水系の流路面積については、一級河川水系延長の合計 (国土交通省河川局データ) に、仮定した河川幅平均 10 m を掛けて推計値を求めた。
- (2) 温度条件は、日本における年間平均気温として 15°C を設定した。コンパートメントの高さ、密度、有機炭素含有率については基本的に Morisawa ら[8]に従った。水圏の高さ(深さ)に関しては、海洋を対象外としたことから、日本の主な湖沼各々の面積と最大水深(理科年表)の値を用い湖沼を錘形とみなして求めた体積、および一級河川水系の体積(深さを 1 m とした)の合計と、水コンパートメントの体積が一致するように水圏の高さを導き、20m とした。環境を規定する条件設定値は表 3-5 のようである。
- (3) BPA の物理化学的性質は第 1 章の表 1-2 に示した。

表 3-5 本研究における環境条件設定値

	大気	水	土壌	底質	浮遊物質	魚
面積: $A[\text{m}^2]$	3.81×10^{11}	3.09×10^9	3.78×10^{11}	3.09×10^9	—	—
高さ: $h[\text{m}]$	1000	20	0.1	0.01	—	—
密度: $\rho [\text{kg}/\text{m}^3]$	1.2	1000	2400	2400	1500	1000
有機炭素含有率: $\phi [-]$	—	—	0.02	0.04	0.2	—
脂質含有率: $L [-]$	—	—	—	—	—	0.05

パラメータ

環境中における BPA の挙動は、それぞれのコンパートメントにおける分解反応半減期、大気、水、底質コンパートメントにおける滞留時間、そしてコンパートメント間の物質輸

送パラメータによって決定される。本研究で用いる環境中挙動パラメータを表 3-6、表 3-7 に示す。これらのパラメータは基本的に Morisawa ら[8]に従った。ただし、水圏に関して海洋を対象外としたことから、水コンパートメントの滞留時間について、表 3-5 の面積および高さから求めた体積値と一級水系の年平均流量 $17 \times 10^6 \text{ m}^3/\text{h}$ (流量年報) から 3700 時間と算定し、この値を用いた。また大気および底質コンパートメントの滞留時間については、Morisawa らの滞留時間を基準に、各コンパートメントの面積の変化に応じて変えた。すなわち各コンパートメントの面積が変化する (X 倍) と、系外との境界面の面積は、コンパートメントの高さが変わらない場合 $X^{1/2}$ 倍となる。これはこのコンパートメントから系外への移流が $X^{1/2}$ 倍となることを意味する。各コンパートメントの体積は、高さが変わらない場合 X 倍となっているから、滞留時間は $X^{1/2}$ 倍となる。この考え方により、大気、底質の滞留時間をそれぞれ 580 時間、31916 時間と算出した。また、分解反応半減期は BPA の値に置き換え、大気中では Howard らの報告[9]に見られる光分解の半減期 (0.74-7.4 hr) から、より分解しにくい側の値となる 7.4 hr を採用した。水中半減期としては Dorn らの報告[10]から 3.0 days を採用した。土と底質中の BPA 半減期データは得られなかったため、Mackay らが適用している各コンパートメントにおけるフェナントレンの半減期からコン

表 3-6 本研究で用いる滞留時間および分解反応半減期[hr]

	大気	水	土壌	底質
移流滞留時間: τ	580	3700	—	31916
分解反応半減期: T_r	7.4	72	720	2200

表 3-7 本研究で用いる相間輸送パラメータ[m/day]

U1: 気相側物質移動係数	120.0
U2: 液相側物質移動係数	1.2
U3: 降水割合	0.00466
U4: エアロゾル沈着速度	1.44×10^{-8}
U5: 土壌中気相の拡散による物質移動係数	0.48
U6: 土壌中液相の拡散による物質移動係数	2.4×10^{-4}
U7: 土壌中気相境界面の物質移動係数	120.0
U8: 底質-水間の物質移動係数	1.44×10^{-8}
U9: 底質への堆積速度	1.2×10^{-5}
U10: 底質からの再浮遊速度	1.2×10^{-4}
U11: 土壌間隙水流出速度	0.00349
U12: 土壌固相流出速度	1.40×10^{-5}

パートメント間の比を求め、それと同様の比になるように、BPA の大気および水中半減期から土および底質中半減期を決めた。

3.2.5 環境中への BPA 放出量および経路の確認

3.2.3 に記述した環境中動態モデルを用いて、3.1.3 で見積もった、BPA の環境中への放出量および経路を確認した。すなわち、3.1.3 に記載のように、1 年間に環境中に放出される BPA はその年以前に流通したのものからの寄与を含めて考えた場合、単年の BPA 流通量の 0.1%程度に相当するという見積りから、それに当たる BPA 量をモデルにおける環境への負荷量として入力した。BPA の環境への放出先は水圏であるとした。その結果得られる環境各媒体中 BPA 濃度のうち、実測値の豊富な水中濃度について、モデルによる計算結果と実測値を比較した。その結果、計算値は $0.09 \mu\text{g/l}$ 、実測値は 3.2.1 より $0.03 \mu\text{g/l}$ 程度(全国水質中平均濃度)と両者はオーダーで一致し、従って、環境中への放出量はほぼ見積もりの程度であると言える。これはすなわち、その放出のほとんどが、BPA を添加剤として含む軟質塩ビの屋外での使用時に BPA が雨水により溶出されることに起因する、という見積りもほぼ妥当であるということの意味すると考えられる。

塩ビから溶出する BPA の環境への影響については Yamamoto らが樹脂からの BPA 溶出実験の報告[1]中で懸念を述べていることであるが、本研究において、BPA の用途と各樹脂の使用状況を見積もり環境中動態モデルと環境中の BPA 実測値を用いて、それを定量的に確認することができた。しかしその経路について Yamamoto らは、廃棄物埋立地からの浸出水が重要な BPA 汚染源である可能性を述べている[11]が、その中で彼ら自身述べているように、廃棄物埋立地からの浸出水は環境へ放出される前に処理され BPA は大部分除去される[1]ので、塩ビ、とりわけ軟質塩ビから溶出した BPA が環境に負荷を与えるのは、本研究において見積もったように、農業用ビニールや電線被膜として屋外で使用されることによると考えられる。

これが実際に起こっているとすると、それら使用場所周辺で局所的に BPA 濃度が高い可能性が考えられ、通常的环境モニタリングで得られる一般環境水中の BPA 濃度から予想されるよりも大きな影響を、その局所の生物に対して与えていることも懸念される。また、農業用ビニールからの溶出を考えた場合にはその周辺は農地であり、農作物への吸収とそこからのヒトへの取り込みも懸念される。この点について今後、まず軟質塩ビの屋外使用場所周辺における環境中 BPA 濃度の調査などから始める必要があると考えられる。

3.2.6 環境中 BPA 濃度予測

BPA の環境中濃度は、水質および底質中についてはある程度データが出されてきているものの、大気、土壌等他の媒体中の濃度は、定量下限の問題もあって未だ明らかにはなっていないという状況である。また、環境中濃度の経年変化も調査地点毎の濃度の変動が大きいためか明確には分からない状況であり、国内流通量などと何らかの関係性を持つもの

かどうかの検討も未だなされていない。BPA の現在の使用状況が将来の環境に与える影響を予測するためには、過去から現在に至る BPA の使用状況と環境中濃度との関係性に検討を加えておく必要がある。

3.2.6.1 環境中 BPA 濃度経年変化予測

そこで、BPA の国内流通量の経年変化データを基に、3.2.3 の環境中動態モデルを用いて各環境媒体中濃度の経年変化をシミュレーションする。環境中への BPA 放出は、3.1.3 で考察した通り、BPA 含有樹脂から、使用および廃棄状況に応じて複数年にわたり溶出されることによると考えられるが、BPA の国内生産量（従って流通量）のデータが過去 6 年間分しか得られないため、過去に流通した分からの溶出を考慮した溶出量データは数多く得られず、3.1.3 に示したような方法で放出量の経年変化を算出することはできない。しかし 3.1.3 に示したように、2001 年について、過去 6 年にわたる流通分からの溶出を加算した結果、2001 年の BPA 流通量の 0.1% に当たること、またその 8 割はその年に新たに流通した BPA に由来することが分かった。そこで BPA の環境中放出量の経年変化に、過去に流通した樹脂からの溶出分の変動の寄与は小さいと考えて、各年の流通量の 0.1% 相当量を、その年の BPA 環境中放出量と仮定した。

この BPA 環境中放出量を用いて、水質および底質中 BPA 濃度の経年変化を計算した結果を、3.2.1 の表 3-2 に示した実測濃度とともに、図 3-4 に示す。なお、実測濃度の平均値算出において ND（検出限界値未満）は検出限界値の 1/2 として計算したため、平均値が検出限界値を下回る場合がある。まず、計算された濃度値のレベルについては、実測値の平均と比較して水中でやや高め、底質中でやや低めの値ながら、ほぼ一致していると言える。従ってこの環境中動態モデルは日本の平均的な環境中 BPA 濃度を再現・予測するに足ると考えられる。実測濃度が 1998 年度分しか得られていない土壌および水生生物中 BPA 濃度についても経年変化を算出してみたところ、図 3-4 のようになった。土壌中濃度の予測値は実測平均値に比べて極めて低い値となった。しかしこの唯一の実測平均値は、101 試料中で BPA が検出されたわずか 2 試料の値から求められており、かつそのうち 1 試料が極めて高濃度であることに起因していると考えられるため、この 1 試料を特例として除いた他の土壌環境中の BPA 濃度はほぼ全てが検出下限（5~15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）以下であって、計算された 10^{-8} $\mu\text{g}/\text{kg}$ 程度であると予測される。水生生物については 1998 年度の実測平均濃度がよく再現されていた。

いずれの環境媒体中濃度も、計算結果からは国内流通量の変動に同調して変化し、過去数年間増加していると予測された。これに対して実測値は、3.2.1 にも記した通り明らかな経年変化は示さない。これは、調査地点間での濃度差が大きいこと、つまり BPA の放出および環境中動態に地域差が大きく国内で一様な動態を示すわけではないことの現れであると考えられ、国全体を対象にした環境中動態モデルの限界である。しかしこの計算結果から、環境中濃度は放出量の変動を比較的速やかに反映すると考えられるので、仮に BPA の

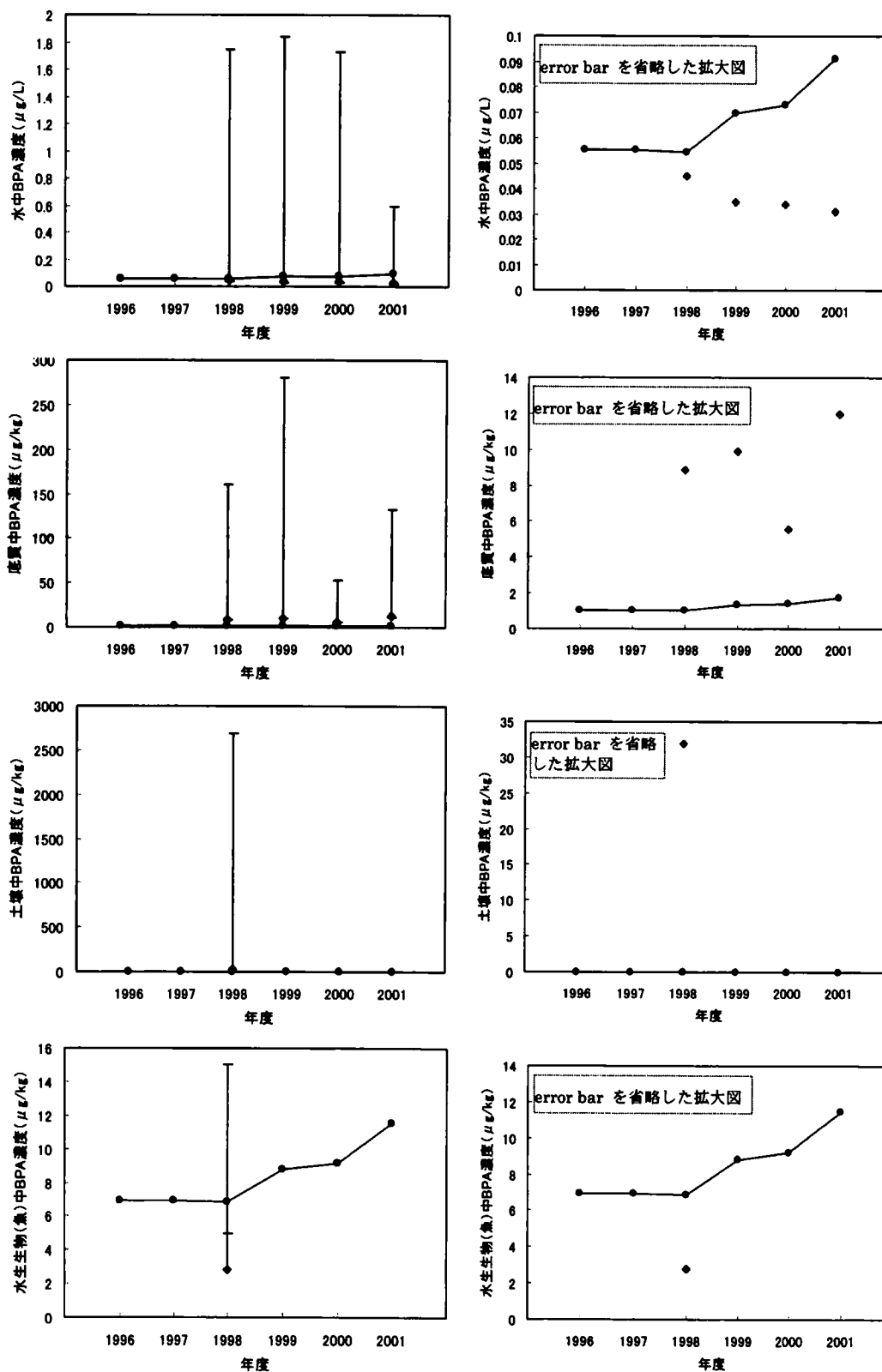


図 3-4 水・底質・土壌・水生生物中 BPA 濃度の経年変化

(●: 計算値、◆: 実測値の平均、I: 実測値の最大-最小値(error bar))

放出がなくなったとすると、以後環境中への残留はあまりないと予想される。

3.2.6.2 環境中での BPA の分布

計算の結果より、各環境媒体中の BPA 存在比率を求めた。日本国内において環境中に放出された BPA は、その 97.7%が水中に、2.3%は底質に存在し、大気および土壌中にはほとんど存在しないと予測された。実測濃度のあまり得られていない土壌・大気を含めて BPA の分布を考えても、BPA はやはりほとんど水・底質中にあることが示され、現在のところ実測値の平均と比較して水中でやや高め、底質中でやや低めの値となっているものの、いずれにせよ BPA は大部分が水環境中に存在すると考えられる。このことは、環境中 BPA によるヒトへのリスクを考える場合には飲料水または水産物を介した経路を、また生態系リスクにおいては水生生物を、重点的に考える必要があることを示している。

3.2.6.3 モデルの精度

現在のところ、環境中動態モデルによる BPA 濃度計算値は、実測値の平均と比較して水中でやや高め、底質中でやや低めの値となっている。より精度の高い環境中濃度予測のためには、BPA に関するパラメータのうちまだ詳細な検討を加えられていない土壌・底質中反応半減期を正確に求める等の改良を加える必要がある。

参考文献

1. Yamamoto T. et al. (1999) Quantities of bisphenol A leached from plastic waste samples. *Chemosphere*, 38, 2569-2576
2. 国土交通省 都市・地域整備局下水道部 (2001) 平成 12 年度 下水道における内分泌攪乱化学物質に関する調査報告書
3. 環境省 (2002) 平成 13 年度 内分泌攪乱化学物質における環境実態調査結果のまとめ
4. 環境省 (2002) 平成 13 年度 内分泌攪乱化学物質における環境実態調査結果 (水環境) について
5. 環境省 (2002) 平成 13 年度 内分泌攪乱化学物質における曝露経路調査結果について
6. 国土交通省 (2002) 平成 13 年度 水環境における内分泌攪乱物質に関する実態調査結果
7. Mackay D. et al. (1997) Illustrated handbook of physical-chemical properties and environmental fate for organic chemicals -Volume 5-, CRC Press LLC, Boca Raton, FL
8. Morisawa S. et al. (2002) The dynamic performances of DDTs in the environment and Japanese exposure to them: a historical perspective after the ban. *Risk Anal*, 22, 245-263
9. Howard P.H. (1989) Handbook of environmental fate and exposure data, Vol.I, Lewis

Publishers, Chelsea, MI

10. Dorn P.B. et al. (1987) Degradation of bisphenol A in natural waters. *Chemosphere*, 16, 1501-1507
11. Yamamoto T. et al. (2001) Bisphenol A in hazardous waste landfill leachates. *Chemosphere*, 42, 415-418

第4章 ヒトのビスフェノール A (BPA) 摂取量

第3章で述べたように環境中に放出されて主として水中に存在するビスフェノール A(以下 BPA と略記する) は、飲料水を介してヒトに摂取されると考えられる。また水産物を介した摂取も懸念される。さらに、BPA は主として樹脂に使用されるため、社会的に問題になってもいたように、日常的に使用する樹脂製品から BPA が溶出してヒトに曝露されることも考えられる。樹脂製品に関しては、BPA が溶出しないよう、代替材料や製品の開発努力が続けられているが、このような状況を踏まえ、本研究では現時点で考えられる曝露経路毎に、BPA への曝露レベルを把握することを試みた。

4.1 水道水からの BPA 摂取量

浄水処理前後の BPA 濃度変化が表 4-1 の様に報告されている[1]。同表の数値を用いて算定した BPA 処理効率を図 4-1 に示す。ただし、ND を検出下限値の 1/2 (1.5 ng/L) としている。

表 4-1 浄水場毎原水および給水栓水中 BPA 濃度

浄水場	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
原水	ND	0.008	0.008	0.003	0.007	0.010	0.060	0.003	0.020	0.020	0.008	0.150	0.160
給水栓水	ND	ND	0.007	ND	ND	0.004	ND	0.003	ND	ND	0.005	ND	0.007
浄水場	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	
原水	ND	ND	0.010	0.004	0.007	0.070	0.010	0.009	0.120	0.010	ND	ND	
給水栓水	ND	ND	ND	ND	0.003	0.004	0.006	0.008	0.007	ND	ND	ND	

BPA 濃度の単位は $\mu\text{g/L}$ 、ND は検出下限値 $0.003(\mu\text{g/L})$ 以下を意味する。

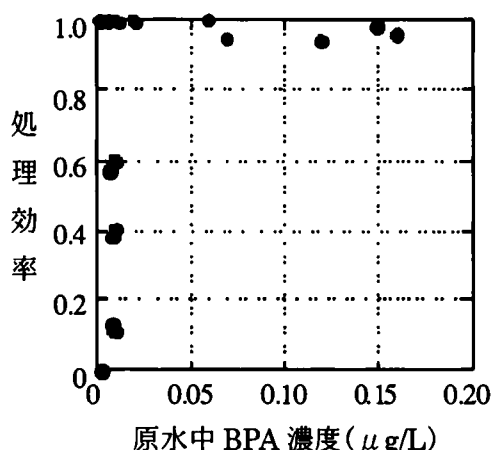


図 4-1 浄水処理による BPA の処理効率

図より、浄水処理によって処理水中の BPA 濃度はほぼ検出下限濃度以下にまで処理されるが、低濃度では処理効率が減少しているのが分かる。浄水処理によって給水栓水中 BPA が

検出限界濃度 (0.003 $\mu\text{g/L}$) 以下にまで除去されるとすると、水道水からの BPA 曝露量は、一人当たりの飲用量を 2L/day と仮定すると、最大で 0.006 $\mu\text{g/day}$ となる。

水道用資器材からの BPA 溶出については、通水 1 ヶ月および 6 ヶ月経過後に BPA 溶出が認められた器材があるものの、溶出量は経時的に減少しており、通水 1 年後には溶出が認められなかったという報告[2]があることから、水道水からの曝露量には算定しないこととする。

4.2 水産物からの BPA 摂取量

第 3 章における水生生物中 BPA 濃度の実測平均値 (2.8 $\mu\text{g/kg}$ 、1998 年度) を用い、日本人一人当たりの魚介類摂取量 0.0969kg/day (1995 年国民栄養調査) を元に水産物からの BPA 摂取量を算出すると、0.271 $\mu\text{g/day}$ となった。ただし、摂取する魚介類は全て淡水産であると、生物個体全体が可食と仮定した。

4.3 エポキシ樹脂由来の曝露

エポキシ樹脂は末端に反応性のエポキシ基を 2 個以上持つ熱硬化性の合成樹脂で、代表的なタイプとしては BPA とエピクロロヒドリンとの縮合反応により製造される、いわゆる BPA 型エポキシ樹脂がある。エポキシ樹脂は塗料、構造用接着剤、プリント基板、コンポジット、その他幅広い用途に硬化剤と組み合わせて供される。

4.3.1 缶飲料の摂取による曝露

缶飲料・缶詰の内部被覆塗料として使用された場合、エポキシ樹脂から内容物へ BPA が溶出する可能性がある。河村[3]の報告に基づき、缶飲料 1 缶あたりに含まれる BPA 量を推定した結果を表 4-2 に示す。缶飲料からの BPA 摂取量はコーヒー缶、紅茶缶、茶缶、アルコール缶の順で多い。一日あたりの摂取量は缶飲料を飲む量に依存するが、仮に毎日コーヒー缶(250g)を一缶消費する場合、曝露量は最大で 53.3 $\mu\text{g/day}$ となる。

表 4-2 缶飲料に含まれる BPA 量の推定値

缶飲料の種類	経路	媒体	BPA 濃度(ng/mL)			摂取量(g)	BPA 摂取量(μg /缶)	
			最小値	最大値	平均値		最大値	平均値
コーヒー缶	被覆材から溶出	液体	ND	213	41	170-250	36.2-53.3	8.7-10.3
紅茶缶	被覆材から溶出	液体	ND	90	20	280-340	25.2-30.6	5.6-6.8
茶缶	被覆材から溶出	液体	ND	22	7	340	7.48	2.4
アルコール缶	被覆材から溶出	液体	ND	13	1	350-500	4.55-6.5	0.35-0.50
清涼飲料缶	被覆材から溶出	液体	ND	ND	-	190-350	-	-

ND は 2 ng/mL 以下であることを示す。

缶からの溶出量が多いコーヒー、紅茶、茶缶については、それぞれの生産量から国民一人あたり一日に消費する缶飲料の量を求め、平均一日あたりの BPA 曝露量を算出する。アルコール缶は BPA が検出された検体数の割合がコーヒー、紅茶、茶缶と比較して少なく、検出数も一つのみであるので、国民一人あたり一日に摂取する曝露量は求めないこととする。日本国内の人口は一億 2500 万人とする。缶飲料の生産量[4]は 1999 年のものを使用し、結果を表 4-3 に示す。

表 4-3 日本人一人当たり BPA 摂取量の推計結果

種 類	年間生産量 (kL)	缶飲料摂取量 (mL/人・日)	BPA 最大溶出 濃度(ng/mL)	BPA 摂取量 (μ g/人・日)
コーヒー缶	2,600,000	59.4	213	12.652
紅 茶 缶	901,000	20.6	90	1.854
緑 茶 缶	661,000	15.1	22	0.332

表 4-3 から、コーヒー缶内面被覆材から溶出する BPA の摂取量は最大で $12.652 \mu\text{g/day}$ と評価され、他の飲料による曝露と比較するとコーヒー缶飲料を飲むことによる曝露がいかに大きいかかわかる。コーヒー缶飲料は日本国民の主要な曝露経路の 1 つであると考えられる。

製缶業界ではエポキシ樹脂から溶出する BPA 問題に対処するために、BPA 含有量の低いエポキシ樹脂を使用したり、缶内面にエポキシ樹脂の代わりにポリエステルフィルムを蒸着させたタルク缶を開発し、徐々にタルク缶へ移行が進んでいる。ただし、タルク缶であっても蓋の部分に塩ビ塗装が用いられている場合は蓋部分から BPA が溶出することがあり、タルク缶だから BPA は全く溶出しないというわけではない。炭酸飲料については、缶の性質上、タルク缶にはできないため、内面塗料を BPA の溶出が少ない水性塗料に変えることで対処されている。

4.3.2 食品缶詰の摂取による曝露

中澤[5]の報告によると食品缶詰中の BPA 量は表 4-4 のようになる。缶詰の種類によって BPA の検出数に明らかな差が認められる。検出数が果実缶と比較して多い野菜缶、および肉・魚介缶詰は製造工程において厳しい加熱処理工程を必要とし、果実缶と比較して相対的に長時間におよぶ殺菌のための加熱を行なう。この処理工程の際に、缶内面のエポキシ塗装から BPA が溶出すると考えられている。

食品缶詰の特色の一つに、食品の種類ごとに固形分・液相分・油相分の割合が異なることが挙げられる。野菜缶からの BPA の溶出は、そのほとんどが固形分から検出され、肉・魚介缶詰では、油相部分から固形分以上の BPA が検出される。そのため、食品の種類によって BPA の溶出量が異なる。食品缶詰からの BPA の曝露量は缶飲料と比較してほぼ同程度であり、食品缶詰もまた日本国民の主要な BPA 曝露経路であると考えられる。缶詰食品

生産量から国民一人あたり一日に消費する食品缶詰量を算定し、日本人の平均 BPA 曝露量を推定し、結果を表 4-5 に示す。一缶当たりの内容量を 250g と仮定、缶詰食品生産量は 2000 年のデータ[4]を使用した。

表 4-4 食品缶詰中 BPA 含有量

缶詰の種類	検体数	検出数	BPA 量(μ g/缶)	
			最小値	最大値
果 実 缶	17	1	1.5	1.5
野 菜 缶	34	28	1.0	14.2
肉・魚介缶詰	21	18	2.4	22.6

表 4-5 日本人一人一日当たりの BPA 摂取量推定値

食 品 名	年間生産量 (トン)	食品缶詰摂取量 (g/人・日)	BPA 含有量 (μ g/缶)	BPA 摂取量 (μ g/人・日)
スイートコーン	29149	0.666	6.3	0.017
ト マ ト	14443	0.330	7.1	0.009
グリーンピース	786	0.018	6.9	0.000
パ イ ン	3605	0.082	1.8	0.001
イ ワ シ	15416	0.352	22.6	0.032
サ ン マ	9886	0.226	1.2	0.001
ツ ナ	69470	1.586	5.0	0.032
サ ー モ ン	6104	0.139	1.7	0.001
カ ニ	4709	0.108	5.8	0.002
赤 貝	3414	0.078	10.6	0.003
ヤ キ ト リ	2056	0.047	6.4	0.001
ミートソース	22742	0.519	10.2	0.021
コーンビーフ	2463	0.056	151	0.034
アスパラガス	307	0.007	0.85	0.000
マッシュルーム	4971	0.113	0.95	0.000

(注)一缶当たり内容量を 250g とし、一缶あたり BPA 含有量は報告された最大値を使用

表 4-5 から、缶詰食品による BPA の日本人一人あたり平均の最大曝露量はコーンビーフ缶詰、イワシ缶詰、ツナ缶詰で高く、それぞれ $0.034 \mu\text{g/day}$ 、 $0.032 \mu\text{g/day}$ 、 $0.032 \mu\text{g/day}$ となった。缶詰食品単位重量当たりの BPA 含有量は缶飲料の場合に匹敵するが、缶詰食品摂取量が缶飲料摂取量に比べて少ないため、缶詰食品からの BPA 摂取量は缶飲料よりも少なくなることが分かった。

4.4 ポリカーボネート樹脂由来の曝露

ポリカーボネートは、主鎖中に炭酸エステル結合 O-R-OCO を持つ線状高分子で、グリ

コールまたは 2 価のフェノールにホスゲンまたは炭酸エステルを反応させて作られ、通常ポリカーボネートといえ、2 価のフェノールとして BPA を用いたものを指す。ポリカーボネートは耐熱性、寸法安定性、耐衝撃性に優れているほか透明性があることから、エンジニアプラスチックとして多用されている。身近なところでは、音楽用の CD やパソコンの CD-ROM の基盤、ほ乳びん、業務用食器などにも使われている。原料に BPA を使用することから、食器等使用時に BPA が食品、スープ等へと溶出する可能性がある。

4.4.1 ポリカーボネート製食器からの曝露

文部科学省[6]によると、1999 年 10 月～2000 年 12 月の調査でポリカーボネート製食器からの BPA 溶出量は試験項目：水、溶出温度：95℃、溶出時間：30 分の条件下で平均 1.5 ppb であった（表 4-6）。渡辺[7]によると、水を用いた試験では温度が高いほど溶出量が多くなる。よって、給食器から溶出する BPA 量は 95℃、30 分の条件時が最も多い。また、溶出溶媒の種類による溶出量の差は微小である。

児童一人当たり一回の給食で曝露される BPA 量は、給食器からの平均 BPA 溶出量を 1.55ng/mL、給食 1 回で使用される給食器の合計容積量 1.1L（深皿 700mL、汁椀 400mL、小皿 210mL、容積合計 1.31L のうち 85%使用）とすると、1.65 μ g/回である。

一般食器類における BPA の溶出は、渡辺[7]によると、水 95℃、30 分間保持の条件で 40/54 品目から検出され、BPA 溶出量は白色系食器で 0.3～68.1(平均 10.7)ng/mL であり、その他の食器では ND～0.8(平均 0.3)ng/mL である。白色系の製品にはチタンが含まれているが、

表 4-6 ポリカーボネート製給食器からの BPA 溶出濃度

溶出溶媒	総検体数	溶出濃度(ppb)	
		平均値	最大値
水	610	1.55	28.69
4%酢酸水	609	1.03	20.37
n-ヘプタン	610	0.84	33.21
20%エタノール	610	1.70	30.68

酸化亜鉛、酸化チタンおよび酸化鉄(III)等の金属酸化物は樹脂を劣化させ、BPA 溶出量を増加させるという報告がある。一般食器類から溶出する BPA の曝露量は、食器中溶媒の量を 400mL と仮定すると、白色系食器（平均溶出量 10.7ng/mL）で 4.28 μ g/回、その他の食器（平均 0.3ng/mL）で 0.12 μ g/回となる。

ポリカーボネート製食器から溶出する BPA への曝露量を要約すると表 4-7 のようになる。ポリカーボネート製食器を給食に使用している学校は減少傾向にある。現在ではポリカーボネート製給食器から溶出する BPA に曝露される可能性は低いと考えられる。

表 4-7 ポリカーボネート製食器から溶出する BPA への曝露量

ポリカーボネート製食器	経路	媒体	溶出濃度	媒体量	BPA 量
給食器	媒体へ溶出	食品(固体・液体)	1.55ng/mL	1100mL	1.705 μ g
一般食器類(白色系)	媒体へ溶出	食品(固体・液体)	10.7ng/mL	400mL	4.280 μ g
一般食器類(その他)	媒体へ溶出	食品(固体・液体)	0.3ng/mL	400mL	0.120 μ g

4.4.2 ポリカーボネート製ほ乳瓶からの曝露

ポリカーボネート製ほ乳瓶から溶出する BPA 量は、渡辺[7]によると水温 95℃、室温で 30 分放置の条件下では 0.3~0.5ng/mL の範囲で継続的に BPA の溶出が認められ、乳幼児の一日ほ乳量を 800g、ほ乳瓶からの BPA 溶出量を 0.3ng/mL とすると、乳幼児による BPA 摂取量 0.240 μ g/day と推測されている。既にポリカーボネート代替素材によるほ乳瓶が開発されており、ほ乳瓶から BPA を摂取する機会は減少していくと考えられる。

4.4.3 歯科用ポリカーボネートシーラントからの曝露

虫歯予防のために用いられる治療の一つにシーラント（予防填塞）がある。歯の表面には無数に溝があるが、この溝には食べ物の残りや歯垢が溜まりやすく、虫歯が生じやすい。歯ブラシでは溝の内部まで磨くのに困難を伴うことが多いので、虫歯になりそうな溝はあらかじめ埋めてしまい、虫歯を予防しようとするのがシーラントである。コンポジット充填材やシーラント充填材は、基材モノマーに Bis-GMA が使用される。Bis-GMA は BPA とグリシジルメタクリレートとを 1:2 で付加反応させて作られる。Bis-GMA 中に BPA が未反応の状態では混ざっている場合、充填材表面が磨耗することにより BPA が摂取される。

歯科用ポリカーボネート中から唾液への BPA 溶出量は、本郷[8]によると 37℃において一週間に人口唾液へ溶出した BPA 量は 6.8~129.1ng/g、6 週間の累積 BPA 溶出量は 27.5~529.4ng/g である。歯科材料からの BPA 溶出量は時間が経過するにつれて減少することが確認されており、12 週間の総溶出量が 11.6 μ g/g と最も多かったブラケットについて一日あたりの BPA 摂取量を算定すると、12 個のブラケットを矯正用に装着したとしてブラケット重量 216mg、12 週間での BPA 総溶出量は 2.5 μ g、12 週間均等に溶出しているとする と 0.030 μ g/day となる。

4.5 塩化ビニル由来の曝露

BPA は塩ビの安定剤として使用されており、塩ビは空気遮断性が高いことから医療用のチューブ、点滴などに使用されている。医療用機器として腎機能患者の治療に使用されている血液透析器から曝露される BPA 量は、関澤[9]らによると透析回当たり 0.860 μ g/回（3 回/週）と推定されている。

4.6 ヒトの BPA 摂取量

以上、検討した各経路からの BPA 曝露量を表 4-8 に整理する。第 1 章に紹介したように、現時点でのヒトに対する一日あたり BPA 許容摂取量は $50 \mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{day}$ とされている。表 4-8 は、いずれの曝露経路であっても、単一経路では BPA の経口摂取量は $50 \mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{day}$ を超えそうにないことを示唆している。しかし、内分泌攪乱物質による生体影響の機構はなお未解明であり、動物実験等ではより低濃度でも影響が出現することが確認されている。いくつかの曝露経路が重なれば、ヒトにおいても BPA 曝露量が累積することを想定すると、現時点での BPA 曝露量評価結果は、曝露レベルが無条件に安心できる程度には低くはないと解釈するべきであると思われる。

表 4-8 各種曝露経路からの BPA 曝露量評価値の一覧

曝 露 源		曝 露 経 路	媒 体	一日媒体 摂取量	BPA 濃度	BPA 摂取量 ($\mu\text{g}/\text{day}$)
環 境	水 道 水	水 道 水	飲料水	2L	3ng/L	0.006
	水 生 生 物	水 産 物	水産物	96.9g	$2.8 \mu\text{g}/\text{kg}$	0.271
缶 飲 料	コ ー ヒ ー 缶	被覆材から溶出	缶飲料	59.4mL	213ng/mL	12.652
	紅 茶 缶	被覆材から溶出	缶飲料	20.6mL	90ng/mL	1.854
	緑 茶	被覆材から溶出	缶飲料	15.1mL	22ng/mL	0.332
食 品 缶 詰	スイートコーン	被覆材から溶出	食 品	0.666 缶	$6.3 \mu\text{g}/\text{缶}$	0.017
	ト マ ト	被覆材から溶出	食 品	0.330 缶	$7.1 \mu\text{g}/\text{缶}$	0.009
	グリーンピース	被覆材から溶出	食 品	0.018 缶	$6.9 \mu\text{g}/\text{缶}$	0.000
	パ イ ン	被覆材から溶出	食 品	0.082 缶	$1.8 \mu\text{g}/\text{缶}$	0.001
	イ ワ シ	被覆材から溶出	食 品	0.352 缶	$22.6 \mu\text{g}/\text{缶}$	0.032
	サ ン マ	被覆材から溶出	食 品	0.226 缶	$1.2 \mu\text{g}/\text{缶}$	0.001
	ツ ナ	被覆材から溶出	食 品	1.586 缶	$5 \mu\text{g}/\text{缶}$	0.032
	サ ー モ ン	被覆材から溶出	食 品	0.139 缶	$1.7 \mu\text{g}/\text{缶}$	0.001
	カ ニ	被覆材から溶出	食 品	0.108 缶	$5.8 \mu\text{g}/\text{缶}$	0.002
	赤 貝	被覆材から溶出	食 品	0.078 缶	$10.6 \mu\text{g}/\text{缶}$	0.003
	ヤ キ ト リ	被覆材から溶出	食 品	0.047 缶	$6.4 \mu\text{g}/\text{缶}$	0.001
	ミートソース	被覆材から溶出	食 品	0.519 缶	$10.2 \mu\text{g}/\text{缶}$	0.021
	コーンビーフ	被覆材から溶出	食 品	0.056 缶	$151 \mu\text{g}/\text{缶}$	0.034
	アスパラガス	被覆材から溶出	食 品	0.007 缶	$0.85 \mu\text{g}/\text{缶}$	0.000
	マッシュルーム	被覆材から溶出	食 品	0.113 缶	$0.95 \mu\text{g}/\text{缶}$	0.000
食 器 等	PC 製給食器	食品へ溶出	食 品	1100mL	1.55ng/mL	1.705
	PC 製食器(白色系)	食品へ溶出	食 品	400mL	10.70ng/mL	4.280
	PC 製食器(その他)	食品へ溶出	食 品	400mL	0.30ng/mL	0.120
	PC 製哺乳瓶	飲料へ溶出	飲 料	800mL	0.3ng/mL	0.240
医 療	歯科用 PC (ブラケット)	唾液へ溶出	唾 液	-	-	0.030
	血液透析器	血液へ溶出	血 液	-	-	$0.860 \mu\text{g}/\text{回}$

多くの日本人が日常的に BPA に曝露されると思われる水道水飲用による平均曝露量は

0.006 $\mu\text{g/day}$ を超えないと推定された。これは、他の経路による曝露量に比較すると小さいと言える。同じ水環境由来である水産物からの BPA 曝露量は、0.271 $\mu\text{g/day}$ であり、水道水飲用による BPA 曝露に比べるとかなり高く、また樹脂からの溶出による他の曝露経路と比較しても高いレベルにあると言える。BPA 摂取量の合計値に占める比率は高くはないが、内臓等も含め生物個体全てを食す仮定の下での計算値であるものの、日常的に淡水産物を摂取することによる BPA 曝露にも注意を払う必要があると考えられる。

個人の食習慣により大きく変動すると思われる、水道水飲用以外の経路による BPA 曝露量をエポキシ樹脂、ポリカーボネート樹脂および塩化ビニル樹脂の用途に注目して推定した。最も曝露量が多かったのは缶コーヒー（エポキシ樹脂を内部被覆材として使用）飲用による 12.6 $\mu\text{g/day}$ であった。

ポリカーボネート樹脂、エポキシ樹脂ともに、代替素材の開発等により BPA 曝露量の低減が図られており、曝露量は表 4-8 に示したよりも徐々に低くなってきていると考えられる。ただし、直近の変化に対応した曝露量を確定することは困難であり、従って本研究では表 4-8 の時点での曝露を元にヒト健康リスクを算定する。表 4-8 の値は、近年日本人が長年に亘って曝露してきた値であると考えられる。

本研究で評価するヒトの健康リスクでは懐胎期女性を対象とするため、表 4-8 から PC 製給食器と哺乳瓶を除いた BPA 摂取量の合計 (20.129 $\mu\text{g/day}$) を用いた。より危険性の高いヒトという観点から血液透析の対象者を考え、週 3 回すなわち 1 日当たり 0.5 回透析を受けるとして計算した。

この試算による 1 日当たりの BPA 摂取量は、現時点でのヒトに対する許容摂取量 50 $\mu\text{g/kg}\cdot\text{day}$ (体重を 60kg とすると、3mg/day) の 150 分の 1 程度であるが、特殊な食習慣を有する場合などには、BPA 曝露経路の累積効果により曝露量が大きくなり、許容摂取量により近付くと考えられる。また、現在の許容摂取量も、ラットによる毒性試験の結果 (50 mg/kg で体重減少) から動物種差、個体差などの不確実性を考慮して導き出されたものではあるが、従来の毒性概念にはなかった極低容量での内分泌攪乱作用が疑われている現状、また内分泌攪乱作用における種差・個体差がどの程度かの知見が不十分である現状からすると、150 分の 1 という数字は決して小さくはないと考えられ、BPA の優先的なリスク評価が求められる。また、ここで検討した以外の曝露経路をも含めた調査研究、および最近の産業界における BPA 曝露量低減措置がヒト健康リスク軽減に与えた効果の検討も必要であると考えられる。

参考文献

1. 国包章一 (1999) 内分泌かく乱化学物質の水道水からの暴露等に関する調査研究 平成 10 年度厚生科学研究費補助金報告書
2. 国包章一 (2001) 内分泌かく乱化学物質の水道水中の挙動と対策等に関する研究 平

成 12 年度厚生科学研究費補助金統括研究報告書

3. 河村葉子 (2003) 食品用器具・容器包装からの暴露 環境ホルモン学会 第 10 回講演会テキスト
4. 日本缶詰協会資料 (www.jca-can.or.jp)
5. 中澤裕之 (2000) HPLC を用いた缶詰食品中のビスフェノール A およびビスフェノール A 関連物質の分析 平成 11 年度厚生科学研究費報告書
6. 文部科学省報道発表資料 (www.mext.go.jp/b_menu/houdou/13/09/010905.htm)
7. 渡辺悠二 (1999) ポリカーボネート食器、食品缶詰等からの溶出に関する調査研究 (ビスフェノール A 等フェノール化合物の曝露に関する調査研究) 平成 10 年度厚生科学研究費報告書
8. 本郷敏雄 (2000) 歯科用ポリカーボネート中の BPA の分析 平成 11 年度厚生科学研究費報告書
9. 関澤 純、配島由二、土野利江 (2001) ビスフェノール A 重合樹脂成型血液透析器仕様のリスク・ベネフィット分析 日本リスク研究学会第 14 回研究発表会講演論文集、Vol.14、73-76

第5章 マウスを用いたビスフェノール A (BPA) の体内動態実験

これまでに述べたように、ビスフェノール A (以下 BPA と略記する) は生物への影響が世代を越えて波及することが懸念されている内分泌攪乱物質であるから、懐胎期や授乳期における経胎盤、経授乳による母体から子への化学物質の移行に注目しなければならない。

第1章に述べたように、これまでに実験動物における BPA の薬物動態に関するいくつかの報告はあるものの、長期間にわたる BPA 曝露による母体から胎児への経胎盤、経授乳移行については明らかになっておらず、その母体における体内動態にも未解明な部分が多々あり、さらなる研究が求められている。

よって本章では、懐胎期における BPA の母体からの経胎盤胎児移行に注目し、まずは実験動物を用いて、懐胎期マウスにおける BPA の体内動態を把握することを試みる。これまで明らかにされていない胎児体内における BPA 分布の詳細な検討も試みる。さらに、母体内における動態データも詳細に把握して、それらの実験データを、次章で述べる懐胎期マウスにおける生理学的薬物動態モデル (PBPK モデル) 構築の基とした。

5.1 体内動態実験の方法 (全実験共通部分)

5.1.1 供試化合物

^{14}C 標識化合物 (Ring- ^{14}C)-BPA (以下 ^{14}C -BPA と記す) は、Perkin Elmer Life Science, Inc. で合成されたものを使用した。 ^{14}C -BPA の比放射能は 44.15 mCi/mmol であり、放射化学的純度は 99% 以上、性状は、0.99 ml-BPA/ml のエタノール溶液である。非標識 BPA はナカライテスク株式会社製を使用した。30% 過酸化水素水は三徳化学工業株式会社の製品を使用した。シンチレータであるハイオニックフローTMそしてウルチマゴールド^{TMLLT}、組織溶解剤であるソルエン-350^Rは、いずれもパッカードジャパン株式会社製の試薬を使用した。その他の化学薬品については、ナカライテスク株式会社または和光純薬工業株式会社の特級以上のグレードのものを使用した。 β -グルクロニダーゼは大腸菌由来であり (比活性 1,000,000–5,000,000 U/g-protein ; 性状は凍結乾燥粉末)、ナカライテスク株式会社製のものを使用した。

薄層クロマトグラフ用のプレートには、和光純薬工業株式会社の Silicagel 70 F₂₅₄ Plate-wako を使用した。

5.1.2 供試動物

供試動物として妊娠 11.5 または 15.5 dpc (交配を行い、プラグ確認した日を 0.5 dpc とし、妊娠日数を換算) の ICR (Institute of Cancer Research) 系マウス (日本クレア株式会社、8 週齢、体重: 実験開始時 48–58 g) を用いた。購入後のマウスは、水および固形飼料 (オリエンタル酵母工業株式会社) を自由に摂取させ、恒温恒湿 (温度 23℃、湿度 55%)、明暗周期 12 時間の条件下で 1 週間予備飼育した後実験に用いた。

5.1.3 BPA 投与量および投与方法

¹⁴C-BPA（エタノール溶液）をオリーブオイルに乳濁させ、1または10 mg/5ml/kg で経口ゾンデ針を用いて、強制的にマウスに経口投与した。100 mg/5ml/kg の投与液は、¹⁴C-BPA（エタノール溶液）と9倍量の非標識BPAを混合して比放射能約4.4 mCi/mmolの¹⁴C-BPAとした後、エタノール溶液をオリーブオイルに乳濁させた投与液を用いた。

5.1.4 放射能の測定

試料をシンチレータであるハイオニックフロー™またはウルチマゴールド™LLTに溶解し、液体シンチレーション計数装置（Wallac, system1000(PC)）により、試料中¹⁴Cを測定した。得られた放射能値は「BPA換算値（mg BPA eq.）」として表した。ここにBPA換算値とは、得られた放射能値と比放射能、BPA分子量から算出したBPA当量である。

5.1.5 代謝生成物の測定

¹⁴C-BPAを10 mg/kg投与した懐胎期ICRマウスの血清、肝臓、胎児、排泄実験で採集した尿、糞を対象に、サンプル中の¹⁴C-BPAを薄層クロマトグラフィ(以下TLCと記す)にて成分分画した。代謝生成物は、主にグルクロン酸抱合体であると考えられたので、各サンプルを、β-グルクロナターゼを加えて処理し、すなわちグルクロン酸抱合体からグルクロン酸基を外し、未処理の場合との比較を行い、グルクロン酸抱合体の存在量を測定した。各サンプル100 μl(血清は20 μl、組織の場合はPBSを用いた20%ホモジネート)に対して、その容積と等量の0.5 Mリン酸緩衝液(pH=6.8)およびβ-グルクロナターゼ1mgを添加し、37℃で24時間振とうし、その総容積の2倍量のメタノールを用いて3回抽出作業を行い、抽出物を乾燥した後、TLCにて分画を行った。すなわち、各分析試料をTLCプレート（ガラスプレート、20×20cm）に湿布し、展開溶媒として酢酸エチル：メタノール：水=95：4：1（体積比）を用いて展開（16cm）した。展開後のTLCプレートを保護膜で多い、イメージングプレート（BASMS2040、富士写真フィルム）にコンタクトし、バイオイメージングアナライザ（FUJIX Bas2000、富士写真フィルム）を用いて、各サンプル中の未変化体および代謝生成物の放射能比を計数し、存在比率を算出した。

5.2 懐胎期マウスにおけるBPA単回投与後の吸収および体内分布

懐胎期ICRマウスにBPAを単回経口投与し、各臓器・組織、血液中濃度の経時変化を追跡し、懐胎期マウスにおけるBPAの体内動態、胎児への移行量を調査した。また、胎児の雄雌別の臓器中濃度の差や、子宮内位置による胎盤、羊水、胎児BPA濃度の差異についても検討を行った。

5.2.1 動物実験方法

妊娠 15.5 dpc のマウスに、それぞれ 3 種類の投与量、1、10 および 100 mg/kg の ^{14}C -BPA を経口投与した後、飼育ケージに収め、自由に水と餌を与えた。その後、所定時間毎にマウス（1 匹または 2 匹）を解剖し、体内臓器・組織、血液中の BPA の濃度を測定した。

母体血液は投与のそれぞれ 5、10、15、20、30 分、1、3、6、9 および 24 時間後に眼窩静脈叢にガラスキャピラリーを刺入して、約 0.4–0.6 ml を採取し、ソルエン-350^R/IPA(1:1、体積比)溶液 0.5 ml、30%過酸化水素水 0.2 ml、ハイオニックフローTM 5 ml を加え放射能の測定を行った。投与 20 分、1、3、6 および 24 時間後にそれぞれジエチルエーテル麻酔下、頸静脈より採血致死させ、母体については肝臓、胆のう、膵臓、顎下腺、消化管（胃・小腸・盲腸・大腸）、卵巣、子宮、腎臓、脾臓、大腿骨（骨髄）、リンパ腺、心臓、肺、脳（大脳・小脳・脳幹）、皮膚、筋肉、腎脂肪、腸間膜脂肪、乳腺、胎盤を摘出した。胎児については右側子宮角から雄と雌を 1 匹ずつ取りだし羊水、消化管、生殖器、腎臓、肝臓、脳を摘出した。また、左側子宮角の胎児は、そのすべてを取りだし、各胎児ごとにその重量の 2 倍量の PBS を加え、テフロンホモジナイザーを用いて、ホモジナイズした。右側子宮角からの雄雌胎児の選別基準は、子宮角の中央部を優先した。ただし、中央部に同一性が集中していた場合は、卵管側または子宮角側へ交互に移動して、異なる性の胎児があった時点でその胎児を選択した。また、変性（死亡）している胎児は選択外とした。

母体または胎児から摘出した各臓器・組織と、ホモジナイズした胎児組織に組織溶解剤ソルエン-350^R 0.5 ml を加え、50℃で一晩加熱した後、ハイオニックフローTM 5ml を加え、組織内放射能濃度を測定した。放射能濃度は「BPA 換算値/臓器体積」で算出した。臓器体積は、その密度を 1 g/ml とし臓器重量から体積を算出した。

5.2.2 実験結果

5.2.2.1 懐胎期マウスにおける BPA 10 mg/kg 単回投与時の吸収および体内分布

1) 母体の血液および各臓器・組織中放射能濃度の変化

図 5-1 に血液・血清中放射能濃度の結果を示す。BPA は、投与 5 分後にはすでに血液中に存在し、投与 15 分後には最高濃度（3.36 mg BPA eq./L）に達した。その後、急激に減少し、投与後 1 時間には最高濃度の 4% の濃度（0.15 mg BPA eq./L）となった。その後、再び上昇し、投与 6 時間後には 2 度目のピークとなった（0.48 mg BPA eq./L）。この濃度の上昇は、腸肝循環に起因すると考えられる。腸肝循環とは、肝臓から胆汁を介して消化管へと排泄された薬物が消化管で再度吸収され肝臓に入るというサイクルのことを言う。BPA 肝灌流実験で胆汁排泄されるのは BPA-gluc がほとんどで未変化体 BPA は極めて少ないことが報告[1]されており、本実験においても胆汁を介して消化管にはいるのは BPA-gluc であると考えられる。一般にグルクロン酸抱合体は水溶性が高いためそのままの形では消化管から吸収されにくい。しかし、大腸内 β -グルクロニターゼの働きにより脱抱合されると脂溶性となり消化管から吸収されて肝臓に戻ると考えられており、6 時間後のピークは、

脱抱合された未変化体 BPA による濃度の上昇であると考えられる。

母体血液を遠心分離 (3,000rpm×10 分、4℃) して血清を分離し、その血清中放射能濃度も測定した。血清中放射能濃度推移の経時変化の傾向は、血液中濃度の推移と同様であった。体内における BPA の輸送は血液を介して行われ、各臓器・組織への BPA の移行は血液中に存在する BPA 成分が支配的であると考えられる。そこで本研究では血清中の ^{14}C -BPA 成分の分画を TLC 分析にて行った。図 5-2 に血清における薄層クロマトグラフを示す。未変化体 BPA と代謝生成物の存在割合および存在濃度を表 5-1 および 5-2 に示す。図 5-2 において、 $R_f=0.82$ は未変化体 BPA、 $R_f=0.75$ は未同定代謝生成物でありここで M1 とする。 $R_f=0.21$ は M2 とする。原点付近に存在する代謝生成物は複数であり、BPA-gluc と M1-gluc はここに存在するが、他にも代謝生成物は存在し、Others とする。血清中の主要成分は BPA-gluc であり投与 20 分後では 70% 程度を占めていた。また、未変化体 BPA は数%の存在比率であった。BPA の消化管からの吸収は速やかで、吸収された BPA のほとんどが肝臓において代謝を受けると考えられる。また、投与 3 時間後から投与 6 時間後にかけて未変化体 BPA の濃度が増加しており、腸肝循環に伴う未変化体 BPA の再吸収を裏付ける結果となった。

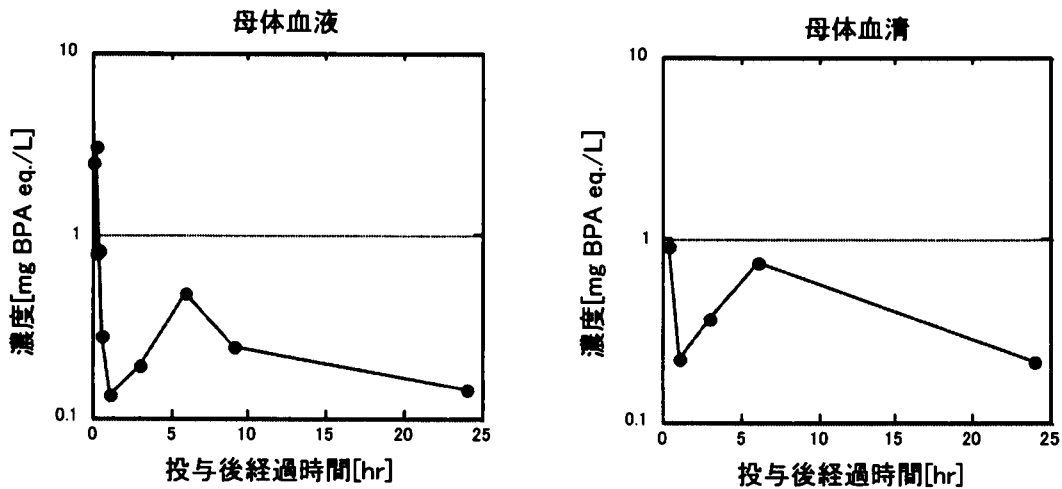


図 5-1 BPA10 mg/kg 単回投与時の母体血液および血清中放射能濃度

表 5-1 BPA10mg/kg 単回投与時の母体血清中の未変化体 BPA および代謝生成物の存在割合

時間 (hr)	0.333	1	3	6	24
未変化体 BPA	0.57	1.15	3.55	4.08	1.68
M1	ND ^{a)}	ND	ND	0.71	0.74
M2	ND	ND	ND	1.87	2.35
BPA-gluc	71.92	29.04	64.44	68.42	32.52
M1-gluc	3.74	7.83	3.48	3.52	13.94
その他	23.03	61.98	28.53	20.83	49.22
放射能濃度 (100%) (mg BPA eq./L)	0.91	0.22	0.37	0.74	0.22

a) ND : 検出限界以下

表 5-2 BPA10mg/kg 単回投与時の母体血清中未変化体 BPA および代謝生成物の濃度 (mg BPA eq./L)

時間(hr)	0.333	1	3	6	24
未変化体 BPA	0.01	0.00	0.01	0.03	0.00
M1	ND ^{a)}	ND	ND	0.01	0.00
M2	ND	ND	ND	0.01	0.01
BPA-gluc	0.65	0.06	0.24	0.50	0.07
M1-gluc	0.03	0.02	0.01	0.03	0.03
その他	0.21	0.14	0.10	0.15	0.11

a) ND : 検出限界以下

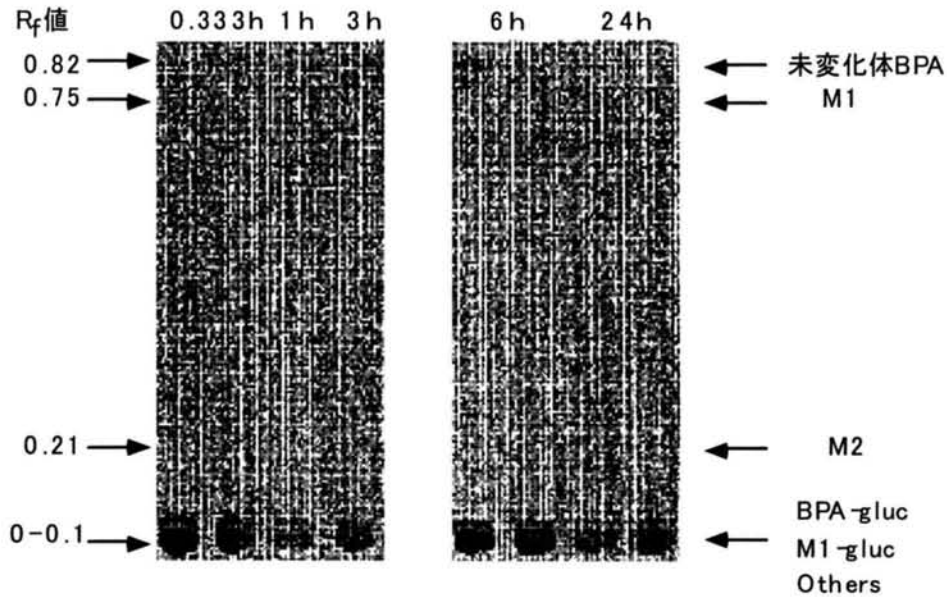


図 5-2 懐胎期 ICR マウスへの BPA 10 mg/kg 単回投与後の母体血清における薄層クロマトグラフ

次に母体の各臓器・組織中放射能濃度を図 5-3、表 5-3 に示す。母体の各臓器中濃度は、血液中濃度と同様の推移を示し、投与 20 分後と、6 時間後とに計二つのピークを示した。肝臓、腎臓、胃、小腸、膵臓、皮膚、脂肪中濃度は、投与 20 分後に最高となり、その他の臓器、組織については 6 時間後に最高値を示した。2 度目のピーク以降、濃度は緩やかに減少した。全体的に消化管、肝臓、腎臓で濃度が高く、続いて脂肪、膵臓および子宮で高かった。胎盤、羊水に関しては、血中濃度より低い値ではあるが、移行がみられた。投与 20 分後と投与 6 時間後における BPA の成分は違いがあると考えられるが、血清中 ^{14}C -BPA の成分分析の結果、投与 6 時間後に未変化体 BPA の濃度が最高値を示したため、各臓器に関しても、投与 6 時間後において未変化体 BPA の濃度は増加していると考えられる。

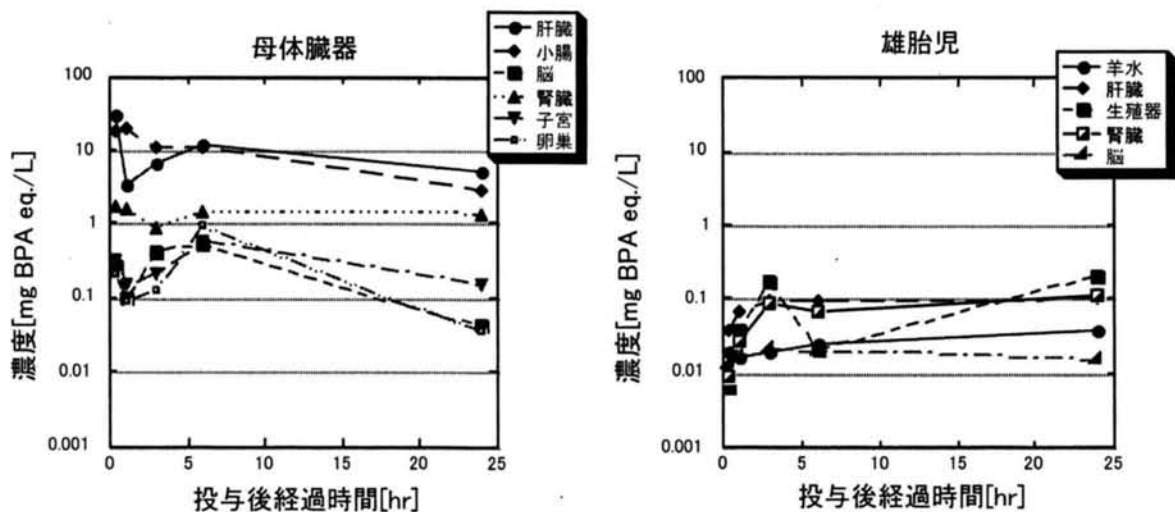


図 5-3 BPA10mg/kg 単回投与時の母体および胎児の臓器・組織中放射能濃度

表 5-3 BPA10mg/kg 単回投与後の母体組織中放射能濃度

組織	濃度 (mg BPA eq./L)				
	0.33hr	1hr	3hr	6hr	24hr
血液	0.834	0.136	0.193	0.483	0.142
血清	0.907	0.222	0.366	0.738	0.217
肝臓	28.705	3.474	6.494	12.350	4.955
胆嚢	19.196	123.657	230.713	322.599	67.238
胃	54.666	25.484	20.664	4.842	0.495
小腸	17.589	20.038	11.020	11.126	2.903
盲腸	1.494	1.401	1.424	20.755	7.454
大腸	1.130	5.150	1.294	13.760	2.716
膵臓	5.898	1.183	0.379	0.526	0.234
顎下腺	0.250	0.224	0.201	0.421	0.063
卵巣	0.216	0.087	0.124	0.978	0.036
子宮	0.331	0.155	0.210	0.566	0.155
腎臓	1.736	1.593	0.902	1.423	1.298
脾臓	0.148	0.054	0.198	0.200	0.055
大腿骨 (骨髄)	0.121	0.384	0.067	0.298	0.054
リンパ腺	0.265	0.143	0.106	0.258	0.093
心臓	0.340	0.145	0.770	0.274	0.050
肺	0.443	0.188	0.177	0.532	0.125
大脳	0.109	0.027	0.033	0.114	0.016
小脳	0.066	0.048	0.016	0.156	0.011
脳幹	0.065	0.023	0.370	0.120	0.012
皮膚	0.717	0.182	0.340	0.504	0.148
筋肉	0.135	0.072	0.063	0.314	0.043
乳腺	0.276	0.114	0.210	0.279	0.065
腎脂肪	0.399	0.071	0.058	0.246	0.052
腸間膜脂肪	4.448	10.764	0.800	0.952	2.522
胎盤 ^{a)}	0.228 ± 0.149	0.084 ± 0.006	0.116 ± 0.027	0.302 ± 0.277	0.109 ± 0.031
羊水	0.014 ± 0.015	0.030 ± 0.110	0.012 ± 0.005	0.106 ± 0.136	0.049 ± 0.009

a)胎盤および羊水は、母体1匹から複数(10前後)得られるため全数を測定に供し、放射能濃度は「平均値±標準偏差(以下SDと記す)」で表記した。

肝臓中 ^{14}C -BPA の成分分画を TLC 分析にて行った。図 5-4 に肝臓における薄層クロマトグラフを示す。表 5-4 および 5-5 に肝臓における未変化体 BPA および代謝生成物の存在割合と存在濃度を示す。肝臓における代謝物と未変化体 BPA の存在比率はおよそ 1:1 であった。図 5-4 において、代謝物は、少なくとも 7 つ確認され、 $R_f=0.54$ は代謝生成物でありここで M3 とし、 $R_f=0.41$ を M4 とする。肝臓中の主な代謝生成物は BPA-gluc であった。未変化体 BPA の濃度は投与 20 分において最も高かった。BPA の消化管からの吸収は速やかであると考えられる。また、投与 6 時間後にかけて未変化体 BPA 濃度は増加しており、腸肝循環により消化管に戻され、さらに脱抱合された、未変化体 BPA の再吸収を示していると考えられる。

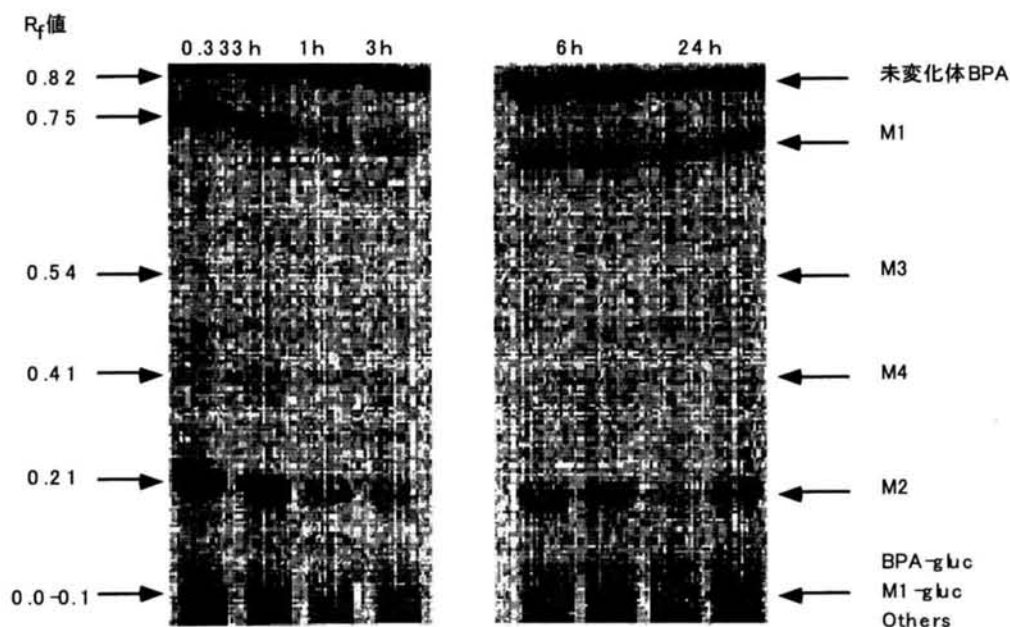


図 5-4 懐胎期 ICR マウスへの BPA 10 mg/kg 単回投与後の母体肝臓における薄層クロマトグラフ

表 5-4 BPA10mg/kg 単回投与時の母体肝臓中の未変化体 BPA および代謝生成物の存在割合 (%)

時間 (hr)	0.333	1	3	6	24
未変化体 BPA	60.51	55.13	59.36	58.39	29.77
M1	3.17	2.95	2.18	3.86	7.32
M2	5.33	3.17	2.01	1.87	2.35
M3	0.05	ND ^{a)}	ND	ND	ND
M4	0.89	ND	ND	ND	ND
BPA-gluc	24.38	11.34	7.00	9.72	9.53
M1-gluc	0.10	ND	0.36	0.38	0.23
Others	2.57	27.04	29.09	25.54	47.32
放射能濃度 (100%) (mg BPA eq./L)	28.71	3.47	6.49	12.35	4.96

a) ND : 検出限界以下

表 5-5 BPA10mg/kg 単回投与時の母体肝臓中の未変化体 BPA および代謝生成物の濃度 (mg BPA eq./L)

時間(hr)	0.333	1	3	6	24
未変化体 BPA	17.37	1.92	3.85	7.21	1.48
M1	0.91	0.10	0.14	0.48	0.36
M2	1.53	0.11	0.13	0.23	0.12
M3	0.01	ND ^{a)}	ND	ND	ND
M4	0.26	ND	ND	ND	ND
BPA-gluc	7.00	0.39	0.45	1.20	0.47
M1-gluc	0.03	ND	0.02	0.05	0.01
その他	0.74	0.94	1.89	3.15	2.34

a) ND : 検出限界以下

2) 胎児組織中放射能濃度の変化

胎児組織中放射能濃度を、図 5-3、表 5-6 に示す。BPA は、投与 20 分後にはすでに胎児体内に存在していた。胎児全身濃度は投与後徐々に上昇し、投与 24 時間後には最高濃度 (0.066 mg BPA eq./L) に達した。母体血液中濃度と比較すると、0.45 倍低い値であった。さらに母体臓器・組織中放射能濃度の推移と比べると、胎児全身濃度、胎児臓器中濃度のピークは母体よりも遅れて現れ、投与 24 時間後においてもなお増加傾向にある臓器もみら

れた。このことから、胎児における BPA のクリアランスは母体よりも遅いことが考えられる。24 時間後の時点での胎児各臓器中の濃度を同時点での母体各臓器中濃度と比較すると、肝臓、消化器、腎臓では 1 オーダー程度低かったが、生殖器、脳では母体と同程度での分布が見られた。このことから、胎児では母体に比べて、生殖器系と脳への移行が大きいと言える。胎児臓器中放射能濃度に雌雄差がみられるか否かの検討を行ったが、明らかな性差はみられなかった。

表 5-6 BPA 10 mg/kg 単回投与後の胎児臓器・組織中放射能濃度

組織	濃度 (mg BPA eq./L)				
	0.33hr	1hr	3hr	6hr	24hr
胎児全身	0.016 ± 0.002	0.035 ± 0.002	0.043 ± 0.003	0.050 ± 0.006	0.066 ± 0.005
胎児♂					
羊水	0.020	0.016	0.020	0.026	0.038
胎盤	0.141	0.088	0.127	0.139	0.108
肝臓	0.039	0.071	0.093	0.093	0.108
消化器系	0.020	0.042	0.045	0.061	0.052
生殖器系	0.006	0.036	0.166	0.022	0.200
腎臓	0.009	0.028	0.087	0.067	0.113
脳	0.012	0.017	0.020	0.020	0.015
胎児♀					
羊水	0.006	0.014	0.015	0.017	0.048
胎盤	0.127	0.107	0.131	0.169	0.115
肝臓	0.043	0.068	0.102	0.109	0.115
消化器系	0.016	0.045	0.057	0.075	0.121
生殖器系	0.009	0.014	- a)	- a)	0.063
腎臓	0.006	0.029	0.110	0.103	0.107
脳	0.011	0.017	0.021	0.022	0.017

a) 臓器重量が測定できず欠損値となった箇所

b) 胎児は、母体 1 匹から複数 (10 前後) 得られるため全数を測定に供し、放射能濃度は「平均値±SD」で表記した。

胎児全身組織における薄層クロマトグラフを図 5-5 に、胎児全身組織における未変化体 BPA および代謝生成物の存在割合および存在濃度を表 5-7 および 5-8 に示す。図 5-5 において $R_f=0.61$ は代謝生成物であり M5 とする。未変化体 BPA は投与 0.33 時間後において 60% を占めており、母体血清中の代謝生成物存在割合と比べると、未変化体 BPA としての胎児への移行率が高いことが示された。また、投与 24 時間後には未変化体 BPA の存在割合および濃度が増えており、未変化体 BPA の濃度は投与 24 時間後において最も高かった。

腸肝循環に伴う未変化体 BPA の再吸収による影響を受けていると考えられる。

表 5-7 胎児全身中未変化体 BPA および代謝生成物の存在割合 (%)

時間 (hr)	0.333	1	3	6	24
未変化体 BPA	62.75	13.34	10.53	7.15	18.80
M1	ND ^{a)}	ND	ND	ND	5.49
M2	ND	ND	ND	ND	ND
M3	ND	ND	ND	ND	1.88
M4	ND	ND	ND	ND	ND
M5	ND	ND	ND	ND	4.84
BPA·gluc	19.29	47.32	50.60	50.20	4.32
M1·gluc	3.53	ND	10.76	6.98	31.38
その他	2.56	39.34	28.11	27.31	28.92
放射能濃度(100%) (mg BPA eq./L)	0.016	0.035	0.043	0.050	0.066

a) ND : 検出限界以下

表 5-8 胎児全身中の未変化体 BPA および代謝生成物の濃度 ($\times 10^{-3}$ mg BPA eq./L)

時間 (hr)	0.333	1	3	6	24
未変化体 BPA	10.04	4.67	4.53	3.58	12.41
M1	ND ^{a)}	ND	ND	ND	3.62
M2	ND	ND	ND	ND	ND
M3	ND	ND	ND	ND	1.24
M4	ND	ND	ND	ND	ND
M5	ND	ND	ND	ND	3.19
BPA·gluc	3.09	16.56	21.76	25.10	2.85
M1·gluc	0.56	ND	4.63	3.49	20.71
その他	0.41	13.77	12.09	13.66	18.69

a) ND : 検出限界以下

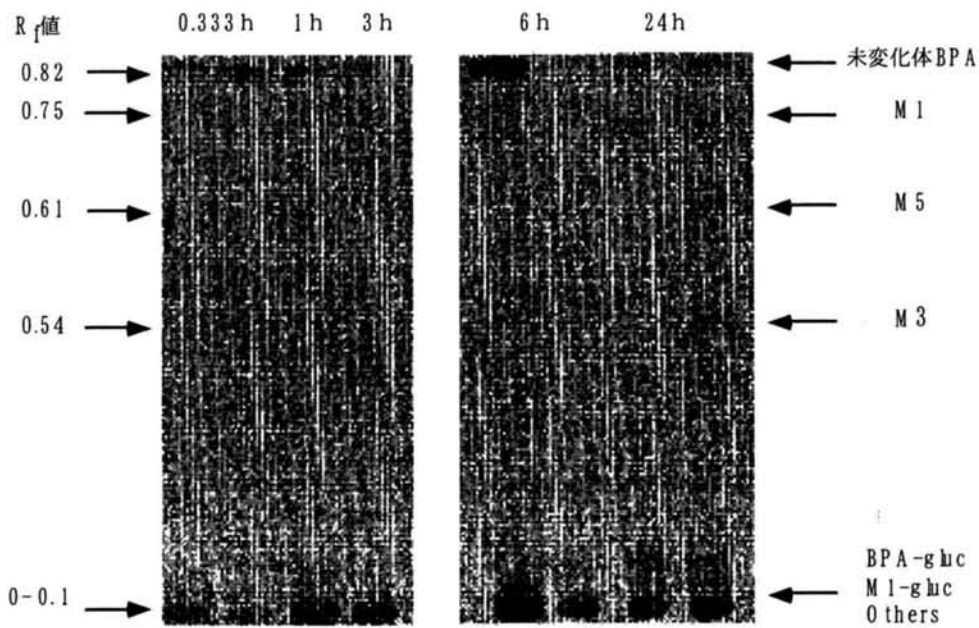


図 5-5 懐胎期 ICR マウスへの BPA 10mg/kg 投与後の
胎児全身組織における薄層クロマトグラフ

羊水、胎児全身および胎盤中放射能濃度が、子宮内位置により異なるか否かを検討した。結果を表 5-9 に示す。いずれも、ほとんど同じ濃度を示し、子宮内位置の違いによる明らかな濃度差はみられなかった。

表 5-9 BPA10 mg/kg 投与後の子宮内位置別の羊水、胎児全身および胎盤中放射能濃度

組織	濃度 (mg BPA eq. /L)					
	子宮角からの位置 ^{a)}	1st	2nd	3rd	4th	5th
羊水						
0.333h (n=2)		0.004	0.020	0.059	0.029	0.013
		0.027	0.011	0.005	×	×
1h		0.013	0.026	0.015	0.031	0.015
3h		0.008	×	×	0.019	0.015
6h		×	0.035	0.035	0.020	0.021
24h (n=2)		0.064	0.065	0.051	0.053	0.045
		0.039	0.053	0.037	0.047	
胎児全身						
0.333h (n=2)		0.016	0.015	0.015	0.015	0.024
		0.016	0.018	0.017	0.018	0.019
1h		0.036	0.034	0.031	0.037	0.036
3h		0.044	0.046	0.041	0.039	0.046
6h		0.059	0.049	0.053	0.053	0.052
24h (n=2)		0.063	0.069	0.057	0.070	0.058
		0.068	0.070	0.069	0.068	
胎盤						
0.333h (n=2)		0.476	0.566	0.366	0.445	0.355
		0.124	0.161	0.112	0.111	0.115
1h		0.088	0.076	0.081	0.087	0.090
3h		0.096	0.105	0.095	0.112	0.101
6h		0.135	0.148	0.164	0.161	0.148
24h (n=2)		0.105	0.083	0.074	0.096	0.069
		0.135	0.169	0.128	0.122	

a) 子宮角から5番目までの羊水・胎児・胎盤について記した。

b) 羊水が採取できなかった。

3) 薬物速度論パラメータ

母体血中放射能濃度と、胎児全身放射能濃度から薬物濃度・時間曲線下面積 (AUC) と平均滞留時間 (MRT) を算出した。結果を表 5-10 に示す。

表 5-10 BPA10mg/kg 単回投与における母体血液と胎児の薬物速度論パラメータ

	AUC(mg·hr/L)	MRT(hr)
母体血液	6.70	7.98
胎児	1.28	20.35

ここで AUC とは、薬物濃度・時間曲線下面積 (The area under the tissue concentration time curve) のことであり、血中薬物濃度・時間曲線を時間 0 から∞まで積分したものであり、血中薬物濃度曲線と横軸との間で囲まれる面積を表している。今回、血中、胎児中濃度およびその測定時間 t を用いて台形公式により算出した。AUC は、摂取した薬物量の mass 指標であり、MRT は摂取した薬物の保有時間指標となる。MRT は平均滞留時間 (Mean resident time) であり、摂取した薬物が存在する平均時間を表す。MRT は、AUMC (血中薬物濃度とその測定時間との積・時間曲線を時間 0 から∞まで積分したもの) を AUC で除し、算出される。

AUC を比較すると、母体の方が大きい値を示しており曝露される量は母体の方が多いことが分かる。しかし、胎児の MRT が母体よりも大きくなっており、胎児が BPA により長い時間、曝露されやすい状況にあることを示している。

5.2.2.2 懐胎期マウスにおける BPA 1 mg/kg の単回投与時の吸収および体内分布

1) 母体における臓器、組織中放射能濃度の変化

図 5-6 に血液・血清中放射能濃度の結果を示す。BPA は、投与 5 分後にはすでに血液中に存在し、投与 15 分後にはピーク濃度 (0.17 mg BPA eq./L) に達した。その後、急激に減少したが、投与 1 時間後には再び上昇し最高濃度 (0.19 mg BPA eq./L) となった。その後、血中濃度は緩やかに減少した。

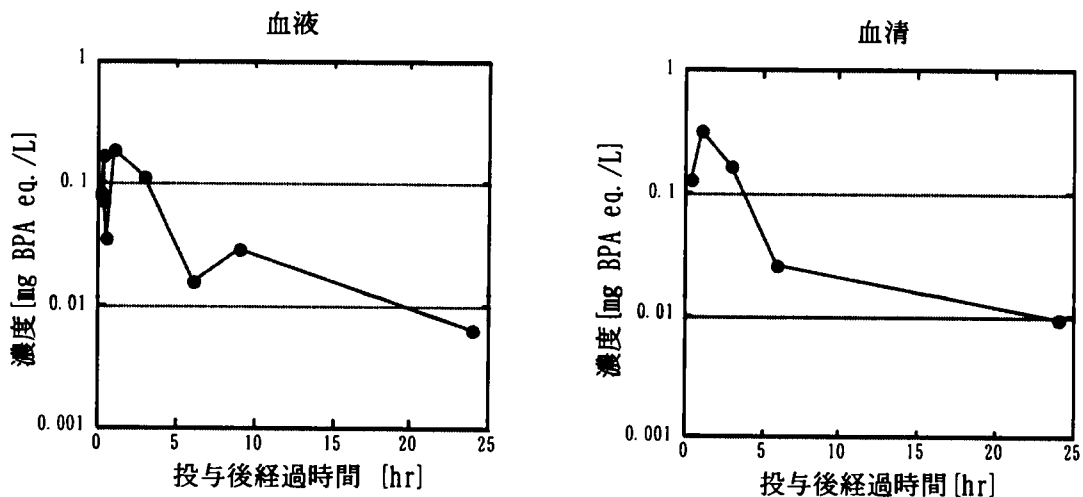


図 5-6 BPA1mg/kg の単回投与後の母体血液・血清中放射能濃度

次に母体の各臓器・組織中放射能濃度を表 5-11 および図 5-7 に示す。母体の各臓器中濃度においても血液中濃度と同様の推移を示した。ほとんどの臓器において、投与 1 時間後に最高濃度となった後、次第に減少した。濃度測定結果は、10 mg/kg 投与時と比較すると 1 オーダー程度低い値を示した。全体的な傾向として消化管、肝臓、腎臓で濃度が高く、続いて脂肪、肺および子宮で高かった。胎盤、羊水に関しては、血中濃度より低い値ではあるが、移行していた。他の臓器は、投与 24 時間後には減少傾向にあるのに対して、腎臓、子宮、羊水に関しては一定か、または増加傾向を示した。

表 5-11 BPA1mg/kg 単回投与後の各母体臓器・組織中放射能濃度

組織	濃度 (mg BPA eq. /L)				
	0. 33hr	1hr	3hr	6hr	24hr
血液	0. 0730	0. 1896	0. 1100	0. 0160	0. 0060
血清	0. 1270	0. 3228	0. 1649	0. 0263	0. 0092
肝臓	2. 2924	3. 6043	2. 4345	0. 8302	0. 2570
胆嚢	83. 9426	99. 6463	172. 8480	52. 2425	4. 3807
胃	2. 3535	2. 7158	0. 7246	0. 5459	0. 1378
小腸	1. 5530	6. 1818	3. 4078	1. 6051	0. 2301
盲腸	0. 0268	0. 0682	0. 8579	3. 8840	0. 6941
大腸	0. 0250	0. 0448	0. 5419	0. 7367	0. 1337
膵臓	0. 0422	0. 1029	0. 7882	0. 0164	0. 0064
顎下腺	0. 0270	0. 1078	0. 0417	0. 0110	0. 0059
卵巣	0. 0388	0. 0244	0. 0402	0. 0082	0. 0026
子宮	0. 1303	0. 5548	0. 1970	0. 0698	0. 1050
腎臓	0. 0426	0. 1148	0. 0615	0. 0131	0. 0133
脾臓	0. 0167	0. 0361	0. 0386	0. 0097	0. 0062
大腿骨 (骨髄)	0. 0121	0. 0327	0. 0142	0. 0083	0. 0014
リンパ腺	0. 0397	0. 5215	0. 0272	0. 0079	0. 0008
心臓	0. 0280	0. 0703	0. 0296	0. 0098	0. 0018
肺	0. 0479	0. 0986	0. 0594	0. 0137	0. 0054
大脳	0. 0058	0. 0121	0. 0055	0. 0008	0. 0002
小脳	0. 0078	0. 0177	0. 0088	0. 0020	0. 0003
脳幹	0. 0074	0. 0200	0. 0074	0. 0008	0. 0004
皮膚	0. 0443	0. 0615	0. 0748	0. 0146	0. 0074
筋肉	0. 0127	0. 0308	0. 0237	0. 0089	0. 0012
乳腺	0. 0255	0. 0786	0. 0457	0. 0196	0. 0053
腎脂肪	0. 0136	0. 0687	0. 0462	0. 0053	0. 0048
腸間膜脂肪	0. 0606	0. 1556	0. 5577	0. 5335	0. 0301
胎盤 ^{a)}	0. 0188 ±0. 0007	0. 0579 ±0. 0014	0. 0392 ±0. 0037	0. 0113 ± 0. 0019	0. 0057 ±0. 0011
羊水	0. 0190 ±0. 0372	0. 0002 ±0. 0004	0. 0040 ±0. 0027	0. 0008 ± 0. 0010	0. 0020 ±0. 0009

a) 胎盤および羊水は、母体 1 匹から複数 (10 前後) 得られるため全数を測定に供し、放射能濃度は「平均値±SD」で表記した。

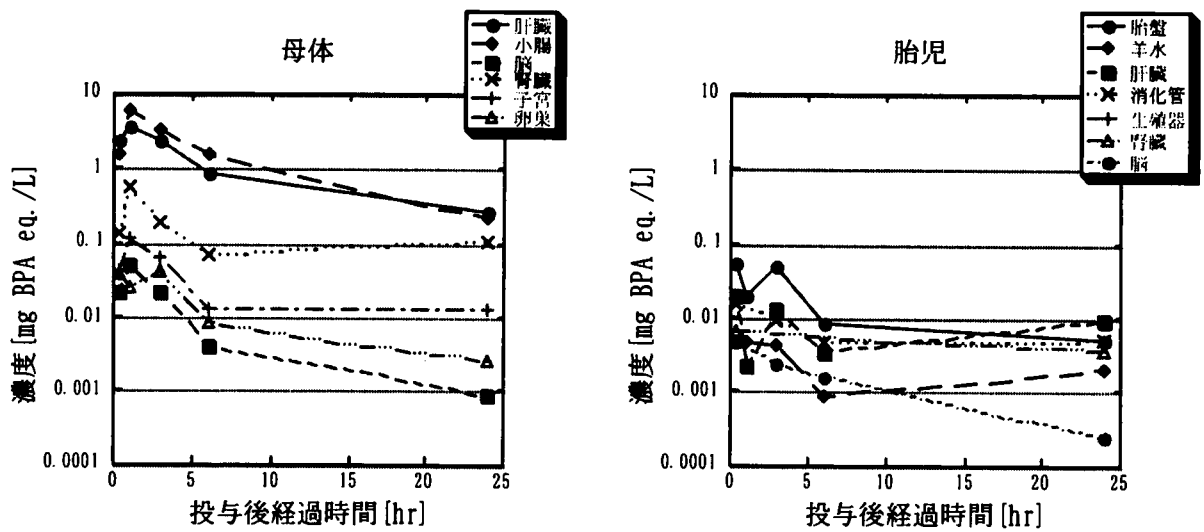


図 5-7 BPA1 mg/kg 単回投与後の母体および胎児の臓器・組織中放射能濃度

2) 胎児における放射能濃度変化

表 5-12、図 5-7 に胎児組織中放射能濃度の測定結果を示す。 ^{14}C -BPA は低濃度ではあるが投与 20 分後には胎児中に存在していた。胎児全身濃度は、その後徐々に増加し、3 時間後には最高濃度に達した (0.0094 mg BPA eq./L)。その後緩やかに減少したが、投与 24 時間後には再び増加傾向を示した。

胎児臓器間について比較すると、肝臓、消化器系器官中の濃度が高かった。生殖器、腎臓中濃度は検出限界以下の値を示すことが多かった。

表 5-12 BPA1mg/kg 単回投与後の胎児組織中放射能濃度

組織	濃度 (mg BPA eq. /L)				
	0.33hr	1hr	3hr	6hr	24hr
胎児全身 ^{b)}	0.0015 ± 0.0002	0.0073 ± 0.0002	0.0094 ± 0.0008	0.0023 ± 0.0016	0.0037 ± 0.0005
胎児♂					
羊水	ND ^{a)}	0.0045	0.0042	ND	0.0021
胎盤	0.0521	0.0190	0.0487	0.0083	0.0053
肝臓	0.0191	0.0023	0.0128	0.0034	0.0090
消化器系	0.0149	ND	0.0089	ND	0.0050
生殖器系	ND	ND	ND	ND	ND
腎臓	0.0068	ND	ND	ND	0.0036
脳	0.0047	ND	0.0025	ND	0.0003
胎児♀					
羊水	ND	0.0003	0.0040	0.0003	0.0013
胎盤	0.0219	0.0565	0.0360	0.0094	0.0067
肝臓	0.0026	0.0105	0.0167	0.0045	0.0086
消化器系	ND	0.0052	0.0099	0.0022	0.0064
生殖器系	0.0428	ND	ND	ND	ND
腎臓	ND	ND	0.0257	ND	ND
脳	0.0000	0.0026	0.0043	0.0008	0.0003

a) ND：検出限界以下

b) 胎児は、母体 1 匹から複数 (10 前後) 得られるため全数を測定に供し、放射能濃度は「平均値±SD」で表記した。

また、胎盤、胎児、羊水中の放射能濃度が、子宮内位置により異なるか否かを検討した。測定結果を表 5-13 に示す。いずれの位置においても、ほぼ同じ濃度を示し、子宮内位置の違いによる明らかな濃度差はみられなかった。

表 5-13 BPA1 mg/kg 単回投与後の子宮内位置別の羊水、胎児全身および胎盤中放射能濃度

組織	濃度 (mg BPA eq. /L)					
	子宮角からの位置 ^{a)}	1st	2nd	3rd	4th	5th
羊水						
0. 333h		0. 0747	0. 0008	0. 0002	0. 0001	ND
1h		× ^{b)}	0. 0008	×	0. 0002	0. 0001
3h		0. 0034	0. 0018	0. 0035	0. 0034	0. 0018
6h (n=2)		ND ^{c)}	0. 0002	×	0. 0001	ND
24h (n=2)		0. 0015	0. 0018	0. 0019	0. 0016	0. 0025
		0. 0016	0. 0023	0. 0031	0. 0029	0. 0015
		0. 0023	0. 0013	0. 0014	0. 0014	0. 0018
胎児						
0. 333h		0. 0017	0. 0014	0. 0014	0. 0012	0. 0016
1h		×	0. 0071	×	0. 0073	0. 0073
3h		0. 0096	0. 0093	0. 0109	0. 0085	0. 0086
6h (n=2)		0. 0013	0. 0012	×	0. 0011	0. 0012
24h (n=2)		0. 0040	0. 0039	0. 0050	0. 0040	0. 0045
		0. 0042	0. 0042	0. 0040	0. 0047	0. 0040
		0. 0043	0. 0028	0. 0038	0. 0039	0. 0033
胎盤						
0. 333h		0. 0198	0. 0181	0. 0194	0. 0183	0. 0186
1h		×	0. 0585	×	0. 0596	0. 0564
3h		0. 0353	0. 0424	0. 0395	0. 0421	0. 0443
6h (n=2)		0. 0128	0. 0101	×	0. 0077	0. 0107
24h (n=2)		0. 0100	0. 0096	0. 0085	0. 0072	0. 0066
		0. 0085	0. 0050	0. 0052	0. 0076	0. 0051
		0. 0055	0. 0063	0. 0060	0. 0065	0. 0048

a)子宮角から 5 番目までの胎児について記した。

b)胎児死亡

c) ND : 検出限界以下

3) 薬物速度論パラメータ

母体血中濃度と、胎児全身濃度から薬物濃度-時間曲線下面積 (AUC) および平均滞留時間 (MRT) を算出した。結果を表 5-14 に示す。

表 5-14 BPA1 mg/kg 単回投与後の母体血液と胎児の薬物動態速度論的パラメータ

	AUC(mg BPA eq.・hr/L)	MRT(hr)
母体血液	0.91	5.98
胎児	0.09	15.8

AUC は母体の方が大きい値を示した。1 mg/kg 投与の場合でも、胎児の MRT が母体よりも大きくなっており、胎児における BPA 消失速度は遅く、胎児がより長時間 BPA に曝露されやすい状況にあることを示している。

5.2.2.3 懐胎期マウスにおける BPA 100 mg/kg の単回投与時の吸収および体内分布

1) 母体の各臓器・組織中放射能濃度の変化

図 5-8 に血液・血清中放射能濃度の測定結果を示す。BPA は、投与 5 分後にはすでに血液中に存在し、投与 10 分後にはピーク濃度 (10.29 mg BPA eq./L) に達した。その後、急激に減少し、投与後 30 分には最高濃度 (11.5 mg BPA eq./L) となった。その後、急激に減少し、1 時間後には最高濃度の 4% (0.45 mg BPA eq./L) にまで減少した。しかし、再び緩やかに増加し、9 時間後には 2 度目のピークを示した。この場合も腸肝循環の影響を受けたものと考えられる。

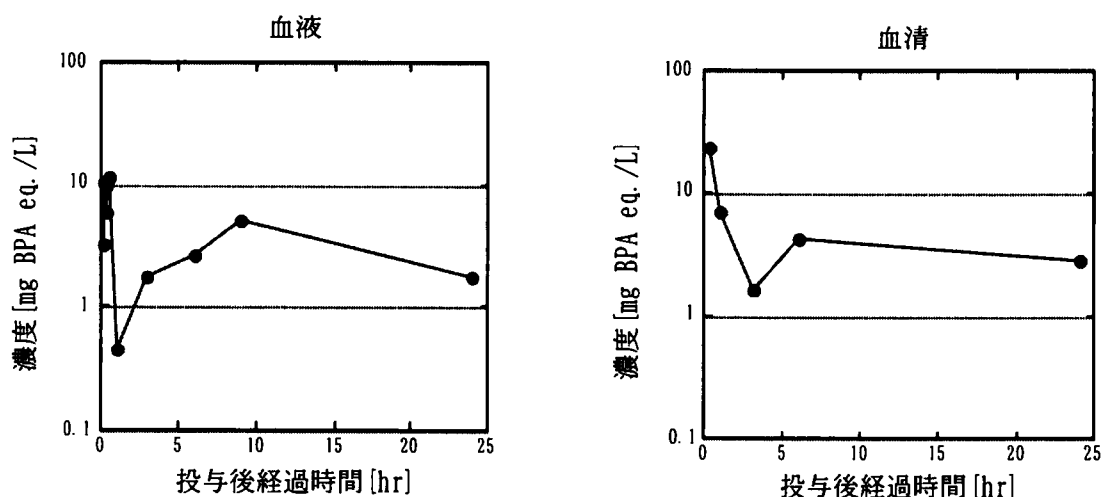


図 5-8 BPA 100 mg/kg 単回投与後の血液、血清中放射能濃度

次に母体の各臓器・組織中放射能濃度を表 5-15、図 5-9 に示す。母体各組織中濃度は、投与 20 分後に最高となり、その後減少するが、再び 6 時間後にピークを示した。6 時間以

降の減少は非常に緩やかであり、濃度があまり減少しない臓器が多く見られた。

全体的に消化管、肝臓、腎臓で濃度が高く、続いて脂肪、肺、子宮および膀胱で高かった。胎盤、羊水に関しては、母体血中濃度より低い値となったが、羊水は投与 24 時間後においても緩やかな増加傾向を示していた。

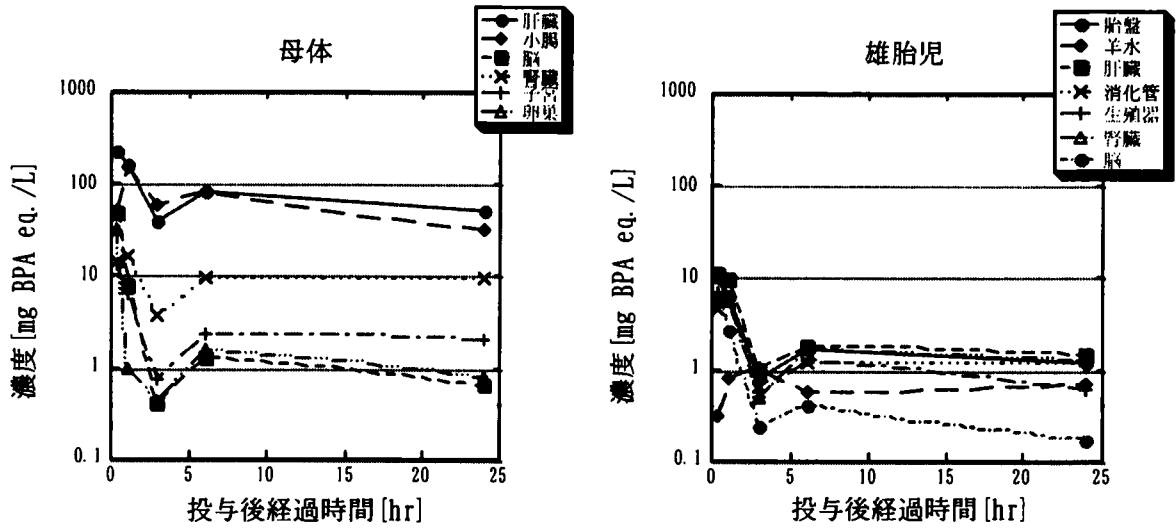


図 5-9 BPA100 mg/kg の単回投与後の母体および胎児臓器・組織中放射能濃度

表 5-15 BPA 100 mg/kg の単回投与後の母体組織中放射能濃度

組織	濃度 (mg BPA eq. /L)				
	0. 33hr	1hr	3hr	6hr	24hr
血液	9. 99	0. 45	1. 77	2. 70	1. 75
血清	23. 24	7. 05	1. 64	4. 17	2. 77
肝臓	232. 88	158. 63	38. 14	84. 09	52. 14
胆嚢	1017. 10	3058. 51	2375. 75	3869. 34	1329. 65
胃	387. 46	266. 37	198. 11	141. 65	10. 61
小腸	50. 20	150. 42	56. 81	82. 22	32. 02
盲腸	26. 15	17. 96	88. 24	297. 59	69. 27
大腸	16. 42	13. 07	58. 23	152. 56	30. 08
膵臓	42. 84	11. 89	0. 83	1. 88	0. 85
顎下腺	32. 70	17. 46	0. 65	1. 45	0. 60
卵巣	31. 41	0. 97	0. 43	1. 52	0. 79
子宮	13. 24	6. 46	0. 75	2. 31	2. 09
腎臓	14. 46	15. 86	3. 73	9. 78	9. 80
脾臓	13. 14	3. 23	0. 75	0. 86	0. 50
大腿骨(骨髄)	6. 88	1. 51	1. 29	0. 85	0. 58
リンパ腺	19. 99	3. 58	0. 35	1. 27	0. 82
心臓	20. 53	3. 36	0. 56	1. 64	0. 60
肺	24. 22	5. 38	0. 85	3. 25	1. 32
大脳	15. 44	2. 61	0. 09	0. 35	0. 13
小脳	17. 85	2. 58	0. 11	0. 50	0. 17
脳幹	16. 07	2. 80	0. 20	0. 40	0. 34
皮膚	7. 71	4. 57	0. 99	1. 87	2. 41
筋肉	10. 87	2. 80	4. 68	0. 53	0. 47
乳腺	14. 46	4. 48	7. 35	1. 27	1. 36
腎脂肪	10. 95	3. 26	0. 30	0. 75	0. 55
腸間膜脂肪	51. 15	26. 14	145. 04	14. 07	4. 20
胎盤 ^{a)}	11. 02 ±3. 11	6. 94 ±0. 44	1. 01 ±0. 51	1. 65 ±0. 24	1. 13 ±0. 61
羊水	0. 49 ±0. 58	0. 63 ±0. 16	0. 21 ±0. 16	0. 41 ±0. 26	0. 46 ±0. 14

a)胎盤および羊水は、母体1匹から複数(10前後)得られるため全数を測定に供し、放射能濃度は「平均値±SD」で表記した。

2) 胎児における放射能濃度変化

胎児全身および臓器・組織中放射能濃度の測定結果を、図 5-9 および表 5-16 に示す。胎児全身中の BPA は、母体への投与 20 分後には最高濃度 (7.25mg BPA eq./L) に達し、その後緩やかに減少する。そして、6 時間後に再びピーク濃度 (0.88mg BPA eq./L) を示した。その後、濃度は一定の値を示している。胎児臓器中濃度に関しては、肝臓、消化管、腎臓の濃度が高かった。生殖器、脳中脳度は、胎児臓器中では低かったものの母体の脳と同程度の濃度であった。

また、雄雌の差による明らかな濃度差はみられなかった。

表 5-16 BPA100 mg/kg の単回投与後の胎児組織中放射能濃度

組織	濃度 (mg BPA eq./L)				
	0.33hr	1hr	3hr	6hr	24hr
胎児全身 ^{a)}	7.25 ± 1.54	3.93 ± 0.33	0.48 ± 0.06	0.88 ± 0.08	0.60 ± 0.12
胎児♂					
羊水	0.31	0.80	1.05	0.71	0.58
胎盤	10.34	6.29	0.82	1.63	1.18
肝臓	11.01	9.82	0.98	1.78	1.42
消化器系	4.62	5.58	0.66	1.19	1.24
生殖器系	6.85	6.00	0.49	1.29	0.59
腎臓	10.32	5.52	0.51	1.70	1.31
脳	5.98	2.61	0.23	0.41	0.17
胎児♀					
羊水	0.35	0.55	0.16	0.33	0.52
胎盤	10.04	6.68	0.74	1.84	1.30
肝臓	10.69	8.13	0.89	1.88	1.42
消化器系	6.82	5.88	0.58	1.35	1.74
生殖器系	19.48	8.23	0.91	0.84	0.40
腎臓	7.98	5.35	0.68	1.66	0.74
脳	6.30	2.53	0.25	0.39	0.16

a) 胎児は、母体 1 匹から複数 (10 前後) 得られるため全数を測定に供し、放射能濃度は「平均値 ± SD」で表記した。

さらに、胎盤、胎児、羊水中の BPA 濃度が、子宮内位置により異なるか否かを検討した。測定結果を表 5-17 に示す。いずれも、ほとんど同じ濃度を示し、子宮内位置の違いによる明らかな濃度差はみられなかった。

表 5-17 BPA100 mg/kg 単回投与後の子宮内位置別羊水、胎児全身および胎盤中放射能濃度

組織	濃度 (mg BPA eq. /L)					
	子宮角からの位置 ^{a)}	1th	2th	3th	4th	5th
羊水						
0. 333h (n=2)		0. 55	0. 44	× ^{b)}	0. 46	2. 69
		0. 25	0. 46	0. 30	0. 71	0. 43
1h		0. 47	0. 51	0. 84	0. 56	0. 67
3h		0. 14	0. 11	0. 70	0. 24	0. 15
6h (n=2)		0. 27	0. 41	0. 34	0. 25	1. 03
		0. 42	0. 34	0. 64	0. 36	0. 29
24h (n=2)		0. 44	0. 45	0. 44	0. 41	0. 43
		×	0. 49	0. 91	0. 56	0. 27
胎児						
0. 333h (n=2)		7. 13	6. 81	×	7. 30	7. 43
		7. 07	4. 52	4. 63	4. 26	4. 34
1h		3. 85	3. 78	3. 79	4. 04	3. 68
3h		0. 54	0. 55	0. 53	0. 39	0. 60
6h (n=2)		0. 96	0. 95	0. 81	0. 69	0. 81
		1. 02	0. 90	0. 89	0. 78	0. 88
24h (n=2)		0. 61	0. 79	0. 81	0. 65	0. 68
		×	0. 53	0. 48	0. 59	0. 64
胎盤						
0. 333h (n=2)		12. 96	14. 95	×	12. 73	13. 70
		9. 80	8. 41	9. 18	8. 44	9. 37
1h		7. 21	6. 97	6. 71	7. 70	6. 72
3h		0. 81	0. 96	0. 65	2. 28	0. 70
6h (n=2)		1. 91	1. 37	2. 03	1. 74	1. 46
		1. 68	1. 67	1. 54	1. 50	1. 42
24h (n=2)		1. 41	1. 37	1. 32	1. 14	3. 30
		×	1. 05	0. 79	1. 39	0. 87

a) 子宮角から 5 番目までの胎児について記した。

b) 胎児死亡

3) 薬物速度論パラメータ

母体血中濃度と、胎児全身濃度から薬物濃度・時間曲線下面積（AUC）と平均滞留時間（MRT）を算出した。結果を表 5-18 に示す。

表 5-18 BPA100 mg/kg の単回投与後の母体血液と胎児の薬物動態速度論的パラメータ

	AUC(mg BPA eq.・hr/L)	MRT(hr)
母体血液	79.65	17.67
胎児	24.69	14.12

100 mg/kg 投与の場合においては、AUC、MRT ともに母体血液の方が大きい値を示している。母体の MRT は、100 mg/kg 投与の場合が最も大きく、投与量が増加すると BPA の体内保持時間が長くなると考えられる。また、母体 MRT は投与量が増加するとともに MRT は増加したが、胎児においては投与量に依存した MRT の変動はみられなかった。胎児 MRT は 10 mg/kg の際に最も長く、1 mg/kg および 100 mg/kg の両投与量には大きな違いはなかった。

図 5-10 は 1、10 および 100 mg/kg における母体血液および胎児全身の AUC を投与量の関数として、プロットした結果である。この投与量範囲では、AUC はほぼ線形増加を示している。

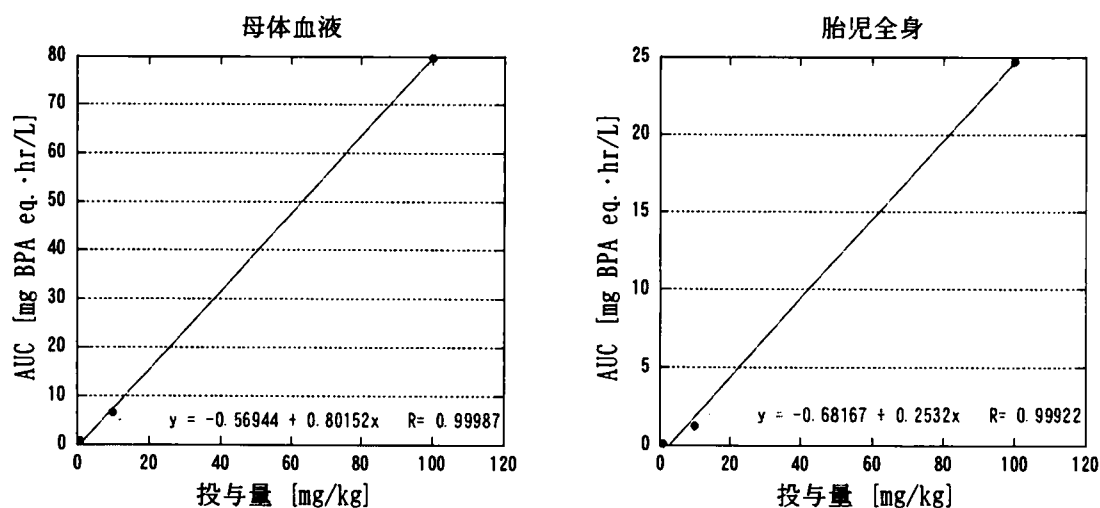


図 5-10 BPA の単回経口投与における投与量と母体血液および胎児 AUC との関係

5.3 マウスにおける BPA 単回投与時の排泄

懐胎期 ICR マウスの個体を対象にして BPA の物質収支関係の把握を試みる。さらに、尿および糞中への BPA の排泄率および排泄速度を求め、PBPK モデルに必要とされるパラメータを決定するためのデータを得る。

なお、Snyder[2]や Pottenger[3]らの研究において、非妊娠ラットを用いた 7 日間におよぶ排泄実験の結果から、93%以上が尿・糞中に排泄され、呼気中にはほとんど排泄されないことが確認されているため、本研究では呼気中排泄率は測定しなかった。

5.3.1 動物実験方法

10 mg/kg の ^{14}C -BPA を単回経口投与後、妊娠 11.5dpc のマウスは 1 週間、15.5dpc のマウスは 3 日間、温度 23℃、湿度 55% の条件下で 1 匹ずつに尿糞分離ケージに入れ、飼育を行った。各実験に用いた動物の数は 3 匹とした。

尿・糞は投与後 24 時間毎に分別採集した。各採取区間におけるケージ洗浄水は尿試料に含めた。尿試料からは 1ml 分取し、ウルチマゴールド™LLT 5ml を加え、放射能を測定した。また、糞はその重量の 5 倍量の水を加え、攪拌機を用いて十分に混合した後 100mg 分取し、ソルエン-350 を 0.5ml、イソプロピルアルコール（以下 IPA と記す）0.25ml、30% 過酸化水素水を 0.1ml、ハイオニックフロー™ 5ml を加え、放射能を測定した。さらに、測定終了後に ICR マウスに致死量のジエチルエーテルを与え死亡させたあと、母体全身を破砕機を用いてホモジナイズした。ホモジナイズした組織 10 mg に、ソルエン-350^R 1 ml を加え、50℃で一晩加熱させた後、ハイオニックフロー™ 5 ml を加え、放射能を測定した。尿および糞中の排泄率は、それぞれに含まれる放射能値の投与量に対する比で示した。

5.3.2 実験結果

5.3.2.1 妊娠 11.5dpc のマウスを用いた 7 日間の排泄実験

妊娠 11.5 dpc のマウスに 10 mg/kg の ^{14}C -BPA を単回経口投与後、1 週間に渡り飼育を行い、経時的に尿糞中排泄率を測定した結果を、表 5-19、図 5-11 に示す。

投与した放射能の 45-66% が、尿・糞中で確認され、1 週間後には体内にほとんど残っていなかった (<1%)。しかし、回収率は 77% 程度と低かった。ケージの洗浄が不十分であったか、試料を採取するときにサンプル中の濃度が均一になっておらず偏っていた等の原因が考えられる。本研究において呼気中排泄率を測定していないが、呼気中に排泄された可能性もあるので、今後の研究において呼気中排泄率を測定する必要がある。

表 5-19 妊娠 11.5 dpc の ICR マウスへの BPA 10 mg/kg 単回投与 7 日後の尿・糞中における放射能排泄率と体内残存率

サンプル	%dose
尿	29.34 ± 17.78
糞	50.35 ± 19.57
母体	0.25 ± 0.12
計	77.08 ± 9.27

図 5-11 は尿中および糞中排泄率を全ての時間において累加した結果である。尿中には 4 日目までで 30% dose が排泄され、その後の排泄は少量である。また、糞中には 3 日目までで 30% が排泄され、その後の排泄は少量であった。BPA は 4 日目まででその大部分が体外に排泄され、7 日目にはほとんど体内に残っていないと考えられる。

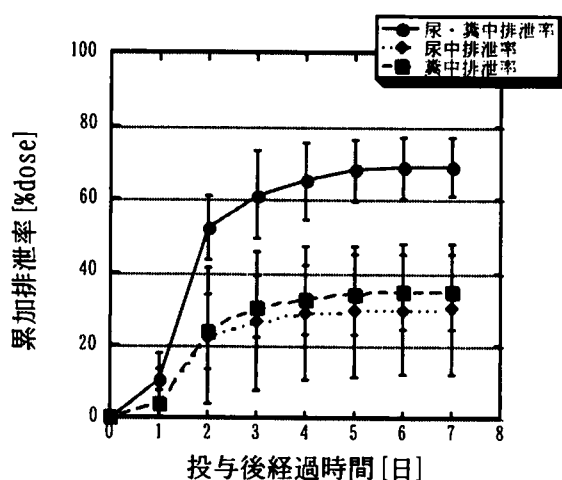


図 5-11 妊娠 11.5 dpc の ICR マウスへの ^{14}C -BPA 10 mg/kg 投与後の尿・糞中への累加排泄率(%dose)

表 5-20 および 5-21 に TLC 分析にて測定した尿・糞中の未変化体 BPA および代謝生成物の存在割合および排泄率を、図 5-12 および 5-13 に尿および糞における薄層クロマトグラフを示す。TLC 分析によると尿中 ^{14}C 成分は、その大成分が代謝生成物であり、90% を占めていた (表 5-20)。未変化体 BPA は尿中にはほとんど排泄されていなかった (<2% dose)。代謝生成物では M1-gluc が最も多く代謝生成物のうち 20-44% を占めていた。

糞中 ^{14}C の主要成分は未変化体 BPA であり 30-50% を占めていた。投与後の時間が経過する共に、糞中の未変化体 BPA の存在比率は少なくなり、7 日目には代謝物が 80% を占めていた。投与初期には吸収されなかった未変化体 BPA が糞中に排泄され、また 7 日目までには体内に残存している BPA はそのほとんどが代謝物に変換されたためと考えられる。糞

中の代謝生成物では BPA-gluc が最も多かった。

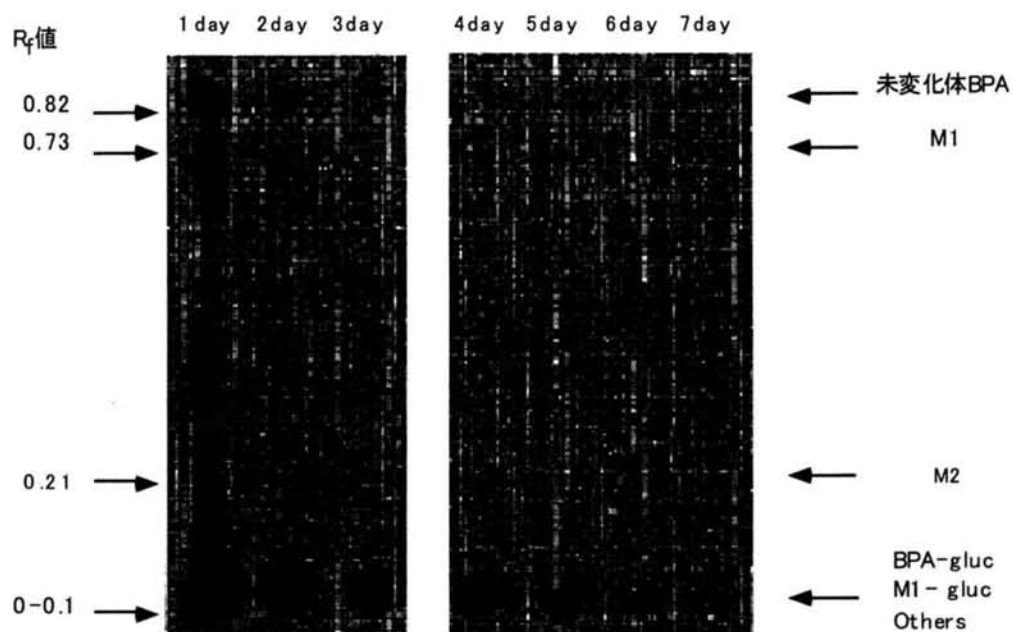


図 5-12 尿における薄層クロマトグラフ

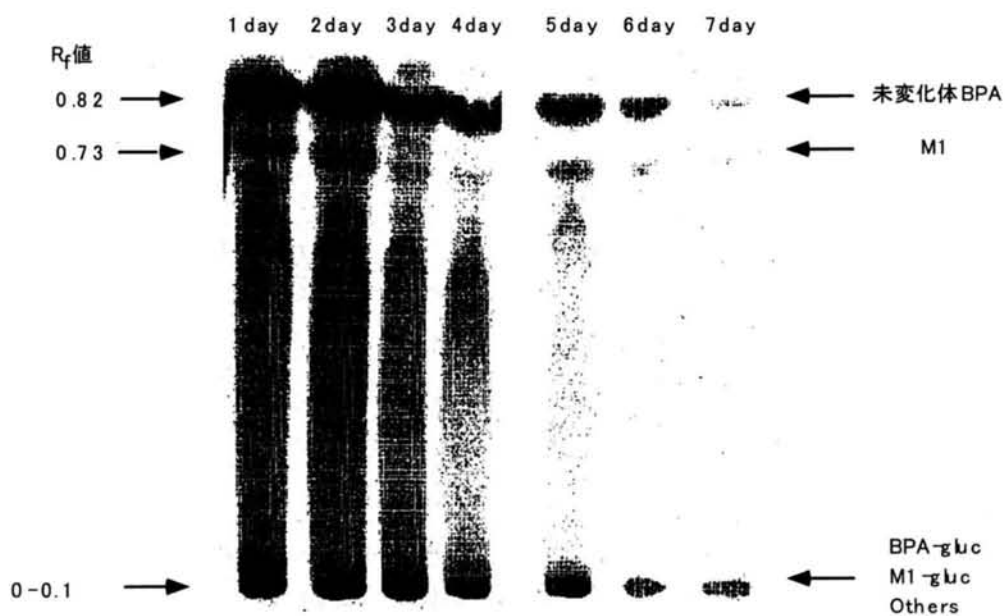


図 5-13 糞における薄層クロマトグラフ

表 5-20 妊娠 11.5 dpc の ICR マウスへの BPA 10 mg/kg 単回投与後の尿および糞中の未変化体 BPA および代謝生成物の存在割合

		未変化体 BPA および代謝生成物の存在割合 (% ^{a)})						
時間 (日)		1	2	3	4	5	6	7
尿	未変化体 BPA	1.65	0.22	ND ^{b)}	ND	1.68	ND	ND
	M1	1.45	0.4	9.44	13.48	3.86	ND	ND
	M2	10.42	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	BPA-gluc	18.05	12.16	7.97	7.94	3.5	8.84	6.51
	M1-gluc	28.87	29.92	34.23	19.18	39.07	44.34	34.49
	その他	39.56	57.30	48.36	59.40	51.89	46.82	59.00
糞	未変化体 BPA	59.96	69.75	45.24	28.05	26.31	35.01	10.63
	M1	1.95	1.41	ND	13.57	5.45	12.61	ND
	M2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	BPA-gluc	11.24	10.48	21.24	36.21	37.63	21.24	12.09
	M1-gluc	1.42	0.57	1.36	ND	0.89	ND	13.01
	その他	25.7	17.79	32.15	22.17	29.72	31.14	64.27

a)尿・糞各々の放射能を 100%とした。 b) ND : 検出限界以下

表 5-21 妊娠 11.5 dpc の ICR マウスへの BPA 10 mg/kg 単回投与後の尿および糞中の未変化体 BPA および代謝生成物の排泄率 (%dose)

		未変化体 BPA および代謝生成物の排泄率 (%dose)							
時間 (日)		1	2	3	4	5	6	7	計
尿	未変化体 BPA	0.03	0.02	ND ^{a)}	ND	0.02	ND	ND	0.06
	M1	0.03	0.03	0.27	0.24	0.05	ND	ND	0.62
	M2	0.21	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.21
	BPA-gluc	0.37	0.93	0.23	0.14	0.04	0.03	0.01	1.76
	M1-gluc	0.59	2.28	0.99	0.34	0.49	0.16	0.07	4.92
	その他	0.81	4.37	1.4	1.06	0.65	0.17	0.11	8.57
糞	未変化体 BPA	13.15	8.12	1.29	0.82	0.95	0.18	0.02	24.54
	M1	0.43	0.16	ND	0.40	0.20	0.07	ND	1.25
	M2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	BPA-gluc	2.48	1.22	0.60	1.06	1.36	0.11	0.03	6.85
	M1-gluc	0.31	0.07	0.04	ND	0.03	ND	0.03	0.42
	その他	5.66	2.07	0.911	0.65	1.07	0.16	0.13	10.66

a) ND : 検出限界以下

5.3.2.2 妊娠 15.5 dpc のマウスを用いた 3 日間の排泄実験

妊娠 15.5dpc のマウスに 10 mg/kg の ^{14}C -BPA を単回経口投与後、3 日間に渡り飼育を行い、経時的に尿・糞中排泄率を測定した結果を表 5-22、図 5-14 に示す。

^{14}C -BPA 全投与量のうち 26%が尿中に、55%が糞中に排泄され、3 日後には体内にほとんど残ってはいなかった。投与後 3 日目までで、投与量の 81%が排泄されていた。また、体内残存量も 1%未満と、ほとんど残っていなかったことから、妊娠後期において摂取された BPA は 3 日間でそのほとんどが体外排泄されると考えられる。

表 5-22 妊娠 15.5 dpc の ICR マウスへの BPA 10 mg/kg 単回投与 3 日後の尿・糞中放射能排泄率と体内残存率

サンプル	%dose
尿	26.17
糞	55.12
母体	0.36
計	81.65

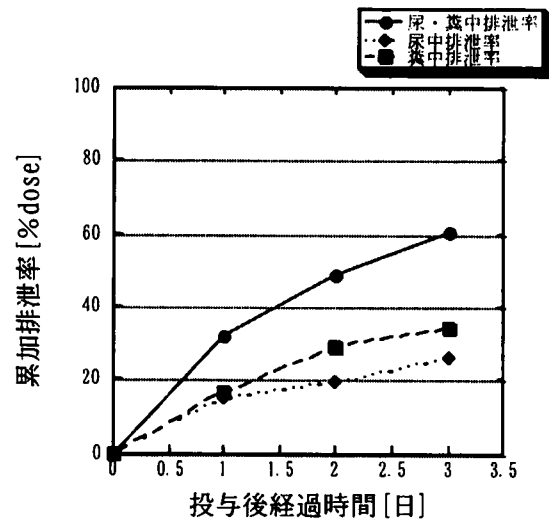


図 5-14 妊娠 15.5 dpc の ICR マウスへの BPA 10 mg/kg 単回投与後の尿・糞への排泄率 (%dose)

表 5-23 および 5-24 に、TLC 分析にて測定した尿および糞における未変化体 BPA および代謝生成物の存在割合および排泄率を示す。尿および糞についての薄層クロマトグラフを図 5-15 に示す。TLC 分析によると尿中 ^{14}C 成分は、98%が BPA 代謝生成物であり、未変化体 BPA はほとんど存在していなかった (<2%)。代謝生成物としては、M1-gluc が 30%

近くを占めており、BPA·gluc は、10・27%であった。糞中 ¹⁴C 成分は、65%が未変化体 BPA であり、代謝物は 35%程度であった。

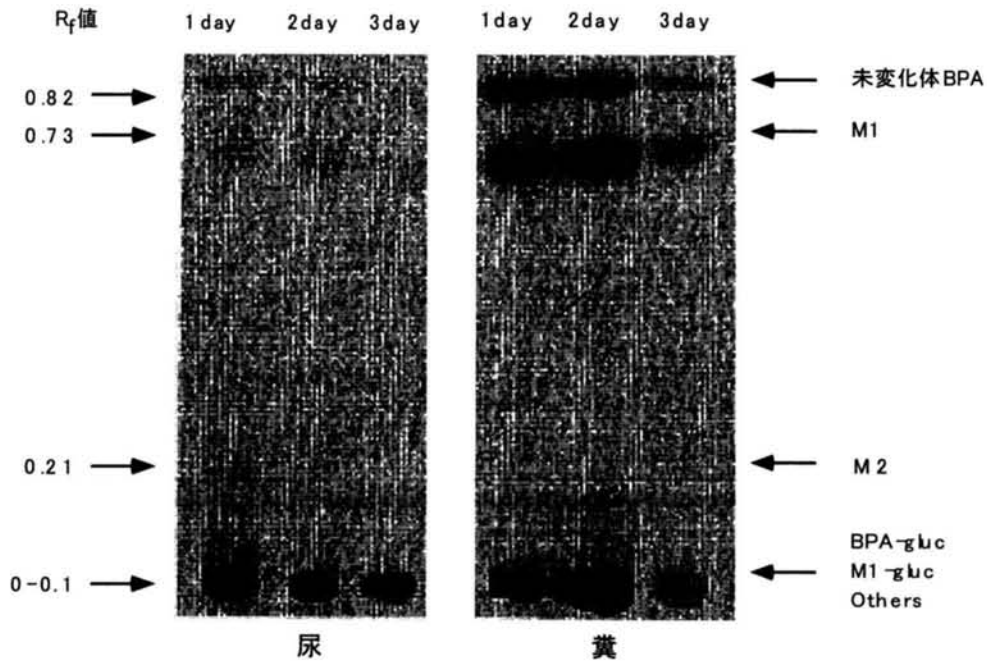


図 5-15 尿および糞 TLC の結果

表 5-23 妊娠 15.5 dpc の ICR マウスへの BPA 10 mg/kg 単回投与後の尿および糞中の未変化体 BPA および代謝生成物の存在割合

		尿および糞中の未変化体 BPA および代謝生成物の存在割合 (% ^a)			
		時間 (日)	1	2	3
尿	未変化体 BPA		0.22	0.41	1.05
	M1		0.24	0.74	1.15
	M2		ND ^b	ND	ND
	BPA·gluc		27.14	10.55	11.90
	M1·gluc		31.64	29.67	27.90
	その他		40.76	58.63	58.00
糞	未変化体 BPA		66.52	52.37	65.63
	M1		9.42	5.39	11.28
	M2		ND	ND	ND
	BPA·gluc		6.91	22.34	19.04
	M1·gluc		ND	ND	ND
	その他		17.15	19.9	4.05

a) 尿・糞各々の放射能を 100%とした。 b) ND：検出限界以下

表 5-24 妊娠 15.5 dpc の ICR マウスへの BPA 10 mg/kg 単回投与後尿および糞中の未変化体 BPA および代謝生成物の排泄率

		尿および糞中の未変化体 BPA および代謝生成物の排泄率 (%dose)			
時間 (日)		1	2	3	計
尿	未変化体 BPA	0.02	0.01	0.10	0.13
	M1	0.02	0.02	0.11	0.15
	M2	ND ^{a)}	ND	ND	ND
	BPA-gluc	2.78	0.26	1.10	2.08
	M1-gluc	3.24	0.74	2.59	6.88
	その他	4.18	1.47	5.38	11.03
	糞	未変化体 BPA	15.00	23.29	1.05
	M1	2.12	2.40	0.18	2.70
	M2	ND	ND	ND	ND
	BPA-gluc	1.56	9.94	0.30	14.92
	M1-gluc	ND	ND	ND	ND
	その他	3.87	8.85	0.06	12.78

a) ND : 検出限界以下

非妊娠 F344 ラットを用いた BPA 単回投与後の尿中主要代謝生成物は BPA-gluc であるとの報告[2]があるが、本実験における BPA の主要代謝生成物は、BPA-gluc ではなく M1-gluc であった。このことから、動物種、妊娠の有無などにより代謝活性が異なることが考えられる。

5.4 マウスにおける BPA 連続投与後の吸収および体内分布

懐胎期マウスにおいて、BPA を繰り返し投与したときの各組織・臓器、血液中の BPA 濃度を把握する。このデータに照らし構築した PBPK モデルの妥当性を検証するためのデータを得る。

5.4.1 動物実験方法

10mg/kg の ^{14}C -BPA を妊娠 15.5dpc の ICR マウスに 1 日 1 回 3 日間経口投与した。投与後は、飼育ケージに収め、温度 23℃、湿度 55% の条件下で飼育を行った。水と餌は自由に与えた。

血液は初回投与 0.33、24、24.33、48、48.333、54 時間後にそれぞれ採血し、臓器・組織については、54 時間後に単回投与時と同様の臓器、組織を摘出した(5.2.1 節参照)。サンプル調整は、単回投与時と同様に行った(5.2.1 節参照)。

5.4.2 実験結果

懐胎期 ICR マウスに 10 mg/kg の ^{14}C -BPA を 3 日間連続投与したときの、各臓器、組織、血液中 ^{14}C -BPA 濃度推移を経時的に測定した結果を以下に示す。また、10 mg/kg 単回投与時の濃度との比較も行った。

1) 母体組織における放射能濃度変化

母体血液中放射能濃度測定結果を図 5-16 に示す。血液中濃度は、初日投与と二日目投与の 20 分後の濃度はあまり変わらないが、3 日目投与後は前者と比較すると 1.5 倍高い濃度を示していた。

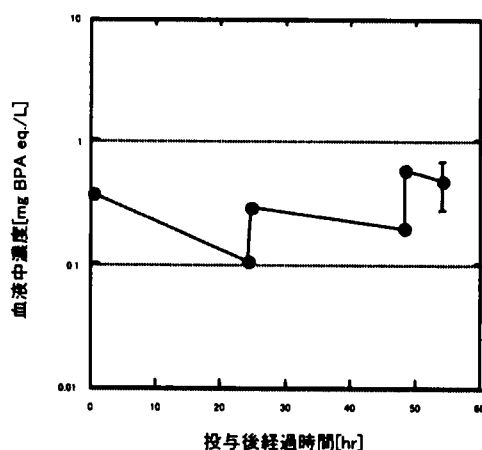


図 5-16 懐胎期 ICR マウスへの BPA 10 mg/kg 3 日間連続投与後の母体血液中放射能濃度変化

3回目の投与6時間後の各臓器中濃度の測定結果を表5-25に示す。胆のう、腎臓、乳腺、に関しては連続投与時の方が1.7-2.4倍程度濃度は高かった。その他の臓器については単回投与時の濃度と変わらなかった。

表 5-25 BPA 連続投与後の母体臓器・組織および血液中放射能濃度

組織	濃度 (mg BPA eq./L)	
	3回目投与の6hr後 (初回投与54hr後) (平均値±SD, n=3)	単回投与の6hr後
血液	0.479 ± 0.206	0.483
血清	0.663 ± 0.255	0.738
肝臓	15.358 ± 3.823	12.350
胆嚢	562.110 ± 638.017	322.599
胃	10.131 ± 9.212	4.842
小腸	12.988 ± 10.883	11.126
盲腸	56.572 ± 60.178	20.755
大腸	5.176 ± 0.520	13.760
膵臓	0.626 ± 2.050	0.526
顎下腺	0.191 ± 0.184	0.421
卵巣	0.204 ± 0.098	0.978
子宮	0.389 ± 0.192	0.566
腎臓	2.723 ± 0.713	1.423
脾臓	0.252 ± 0.453	0.200
大腿骨 (骨髄)	0.176 ± 0.142	0.298
リンパ腺	0.013 ± 0.090	0.258
心臓	0.188 ± 0.091	0.274
肺	0.300 ± 0.165	0.532
大脳	0.052 ± 0.070	0.114
小脳	0.058 ± 0.048	0.156
脳幹	0.043 ± 0.017	0.120
皮膚	0.554 ± 0.230	0.504
筋肉	0.139 ± 0.137	0.314
乳腺	0.677 ± 1.069	0.279
腎脂肪	0.156 ± 0.181	0.246
腸管膜脂肪	2.202 ± 4.756	0.952
胎盤 ^{a)}	0.370 ± 0.432	0.302
羊水	0.035 ± 0.155	0.106

a) 胎盤および羊水は、各母体から複数 (10前後) 得られるが全数を測定に供し、放射能濃度は「平均値±SD」で表記した。

2) 胎児組織中の放射能濃度変化

胎児組織中放射能濃度測定結果を表 5-26 に示す。母体と異なり、胎児中濃度は単回投与時に比べると、全体的に濃度が高くなっていることがわかる。一般に妊娠後期になると母体から胎児への薬物の胎盤通過性が高まると言われている。さらに単回投与時の胎児組織中放射能の消失は母体に比べて遅く、MRT も母体と比べて大きかったことから、胎児における BPA のクリアランスは小さいことが考えられる。これらの要因から、連続投与したことによって胎児体内に BPA が蓄積し、濃度が高くなっていたと考えられる。

表 5-26 連続投与時の胎児組織中放射能濃度

組織	濃度 (mg BPA eq. /L、平均値±SD、n=3)	
	3回目投与の6hr後 (初回投与から54hr後)	単回投与の6hr後
胎児	0.226 ±0.099	0.050
胎児♂		
羊水	0.185 ±0.099	0.026
胎盤	0.233 ±0.086	0.139
肝臓	0.200 ±0.371	0.093
消化器系	1.751 ±1.054	0.061
生殖器系	0.283 ±0.085	0.022
腎臓	0.234 ±0.034	0.067
脳	0.027 ±0.014	0.020
胎児♀		
羊水	0.288 ±0.069	0.017
胎盤	0.241 ±0.114	0.169
肝臓	0.478 ±0.168	0.109
消化器系	3.879 ±17.539	0.075
生殖器系	52.163	- a)
腎臓	0.265 ±0.113	0.103
脳	0.028 ±0.004	0.022

a) 臓器重量が測定できず濃度測定を行えなかった。

次に、胎盤、胎児、羊水中の BPA 濃度が、子宮内位置により異なるか否かを検討した。結果を表 5-27 に示すいずれも、ほとんど同じ濃度を示し、子宮内位置の違いによる明らかな濃度差はみられなかった。

表 5-27 懐胎期 ICR マウスへの BPA10 mg/kg 連続投与後の子宮内位置別羊水、胎児
全身および胎盤中放射能濃度

組織	濃度 (mg BPA eq. /L)					
	子宮角からの位置 ^{a)}	1th	2th	3th	4th	5th
羊水						
6h (n=3)		0.039	0.011	0.001	0.028	-
	- b)		0.006	× c)	0.019	0.004
		0.033	0.013	0.012	0.032	1.232
胎児						
6h (n=3)		0.229	0.258	0.276	0.264	0.286
		0.144	0.128	×	0.124	0.140
		0.296	0.347	0.331	0.327	0.350
胎盤						
6h (n=3)		0.362	0.329	0.288	0.270	0.309
		0.164	0.148	×	0.161	0.225
		0.488	0.412	0.315	0.404	0.355

a) 子宮角から 5 番目までの胎児について記した。

b) 羊水が採取できなかった。

c) 胎児死亡

5.5 考察

5.2 節では、懐胎期 ICR マウスに BPA の単回投与を行い、母体および胎児体内における BPA の吸収および体内分布について検討した。本実験における結果から、母体臓器・組織、および胎児の臓器・組織における BPA の吸収と体内分布は非常に速やかであることが確認された。

母体臓器において、最も濃度が高かったのは肝臓、胆のう、消化管であった。BPA10 mg/kg 単回投与において、母体臓器中放射能濃度のピークは二つ存在し、投与 20 分後および 6 時間後であった。6 時間後のピークは腸肝循環に起因すると考えられる。この腸肝循環のサイクルに BPA が流入すると、胆汁を介して消化管へ運ばれる。運ばれた BPA には、消化管にて再吸収され体内に戻されるものもあり、体外への排出が遅くなる。投与 6 時間後にみられた濃度上昇は消化管で脱抱合された未変化体 BPA の再吸収であると考えられる。母体に BPA を 3 日間に渡って連続投与を行ったが、単回投与群と比較して、各臓器中放射能濃度は大きな差はなく、母体臓器において蓄積性はないものと考えられる。

BPA は、投与 20 分後には胎児中に存在しており、BPA は容易に胎盤を通過することが明らかになった。胎盤は未変化体 BPA および代謝生成物に対してバリアーとはなっていないことが確認された。これらの速やかな吸収・分布は他の実験結果[4]と一致した。胎児全身濃度は母体血液よりも低い濃度であった。しかし、ピークは母体より遅れて現れ、体内からの BPA の消失は遅く、投与 24 時間後においてもなお増加傾向にあったことから、移行量は小さいものの、胎児へ移行した BPA は胎児体内から排泄されにくく、蓄積する可能性がある。また、投与後初期における ^{14}C 主要成分は母体血清中では BPA-gluc であったが、胎児体内においては未変化体 BPA であることも明らかになった。胎盤中には β -グルクロニダーゼが存在して脱抱合を行うことが報告されており[5,6,7]、本実験においても胎盤中でのこの酵素が BPA-gluc を BPA へと戻す働きをすることにより胎児中の未変化体比率を高めている可能性が考えられる。投与 24 時間後において、母体臓器中放射能濃度と胎児臓器中濃度を比較すると、肝臓、腎臓および消化管に関しては、母体に比べて胎児臓器中濃度は、1 オーダー程度低かったが、生殖器や脳は母体と同程度に移行がみられ、胎児は母体に比べてこれらの臓器への BPA 移行割合が高いといえた。生殖器および脳は、胎児における毒性作用部位と考えられ、それら器官への高い移行率は BPA の毒性を発現させてしまうことが懸念される。

さらに、5.4 節における BPA10 mg/kg の 3 日間の連続投与実験において、母体臓器中放射能濃度は単回投与後の濃度との大きな差は見られなかったが、胎児組織中濃度は単回投与後の放射能濃度と比較すると、胎児全身濃度は 1.5 倍、臓器中濃度は、消化器系器官、生殖器系器官濃度は 10 倍上昇しており、胎児への高い移行率と蓄積性が示す結果となった。MRT(平均滞留時間)は、投与された化学物質の臓器・組織における保持時間を示す。小さい MRT は、化学物質の消失が速いことを示すが、BPA 10 mg/kg 投与群において、算出された母体血液 MRT は、7.98[hr]であったにも関わらず胎児全身 MRT は 20.93[hr]と 2.5 倍ほど大きく、胎児の BPA クリアランスは小さく、胎児はより長い時間曝露されやすい状況にあると言える。

生物にとって BPA に対して最もリスクが高いと考えられているのは妊娠中母胎内の胎児に対してである。経胎盤移行による胎児の BPA 曝露は、新生児に対して何らかの影響を与えることが懸念されている。本研究では、ICR マウスにおいて母体から胎盤を介した速やかな胎児への移行および蓄積性が認められ、また、投与後初期における ^{14}C 主要成分は母体血清中では BPA-gluc である一方、胎児体内においては未変化体 BPA であることも明らかになった。従来毒性は示さないと考えられてきた低用量曝露による BPA のエストロゲン活性メカニズムは明らかになってはいないが、本研究において確認された BPA の胎児への速やかな移行および蓄積性は、この種のリスクにとって重要な情報である。胎児のウィンドウ期、すなわち内分泌攪乱物質に対して感受性が高いと考えられている時期に、母体が BPA を摂取し、母体から胎児へ BPA が移行することにより、毒性が発現してしまう恐れもあると考えられる。

5.3節では、懐胎期 ICR マウスに BPA10 mg/kg 単回投与を行い、排泄率などを測定した。妊娠 11.5 dpc の ICR マウスにおいて、BPA は投与 1 週間後には体内にほとんど残っておらず、大部分が体外へ排泄された。投与量の 30%が尿中に排泄された。尿中の主な ¹⁴C 成分は、代謝生成物であり、未変化体 BPA の存在割合はそれに比べて非常に低く、投与量の 1%程度であった。尿中 ¹⁴C の主成分は未同定代謝生成物であり、BPA-gluc は 2 番目に多く生成されていた。糞中には投与量の 40%が排泄されており、その主な ¹⁴C 成分は未変化体 BPA であり、投与量の 24%であった。未変化体 BPA が糞中の主な成分であるのは、一つには小腸にて吸収されなかった ¹⁴C-BPA がそのまま消化管を移動して糞中に排泄されたことが考えられる。糞中未変化体 BPA の全てが吸収されなかった ¹⁴C-BPA であると仮定すると、BPA の体内への吸収率は 70%であると考えられる。もう一つの可能性は、一度吸収された BPA が肝臓に達し、代謝された後胆汁を介して消化管へと排出され、消化管内のβグルクロニターゼによって未変化体 BPA に戻され、小腸では吸収されずに結果として糞中に排泄されたという可能性である。

BPA の実験動物における排泄に関して、尿中 ¹⁴C の主成分は BPA-gluc であるとの報告 [2,3]があったが、本研究における結果はそれらの結果とは異なった。これは、使用した実験動物種差や妊娠の有無による代謝活性の相違に起因していると考えられる。

参考文献

1. Yokota H. et al. (1999) Glucuronidation of the environmental oestrogen bisphenol A by an isoform of UDP-glucuronosyltransferase, UGT2B1, in the rat liver. *Biochem J*, 340, 405-409
2. Snyder R.W. et al. (2000) Metabolism and disposition of bisphenol A in female rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 168, 225-234
3. Pottenger, L. H. et al. (2000) The relative bioavailability and metabolism of bisphenol A in rats is dependent upon the route of administration. *Toxicol Sci*, 54, 3-18
4. Takahashi O. et al. (2000) Disposition of orally administered 2,2-bis(4-hydroxyphenyl)propane (bisphenol A) in pregnant rats and the placental transfer to fetuses. *Environ Health Perspect*, 108, 931-935
5. Kushari, J. et al. (1980) Studies on β-glucuronidase of the developing human placenta. *Gynecol Obstet Invest.*, 11, 119-127
6. Paigen, K. (1989) Mammalian β-glucuronidase: genetics, molecular biology, and cell biology. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol*, 37, 155-205
7. Sperker, B. (1997) The role of β-glucuronidase in drug disposition and drug targeting in humans. *Clin Pharmacokinet*, 33, 18-31

第6章 生理学的薬物動態 (PBPK) モデルを用いた、ビスフェノール A (BPA) のヒト体内動態予測

第5章に述べた実験データを基に、懐胎期のマウスにおける生理学的薬物動態 (PBPK) モデルを新たに構築した。それを基に、懐胎期のヒトに対する PBPK モデルを構築し、胎児をはじめとする各臓器、組織へのビスフェノール A (以下 BPA と略記する) の移行、蓄積量を予測した。

6.1 BPA のマウスにおける PBPK モデルの構築

6.1.1 PBPK モデル

PBPK モデルは生理学的薬物動態モデルと呼ばれ、化学物質の体内動態を評価する数理モデルの一つとして用いられている。このモデルでは、対象動物の生理学的パラメータ (組織体積、組織血流量など) および対象物質の物理化学的パラメータ (組織/血液分配率など) を用いて生体内での動態を解析することができる。このモデルでは生体がいくつかのコンパートメントから成り立つとみなし、これらが血流によって連結されていると考える。それぞれのコンパートメントにおける対象物質に質量保存則を適用して連立微分方程式を導く。これを解くことによって標的臓器における対象物質の蓄積量や濃度を算出することができる。

6.1.2 懐胎期マウスにおける BPA の PBPK モデルの構造

本研究では、O'Flaherty らが提案した懐胎期マウスにおける PBPK モデル[1]を改良し、BPA の体内動態を評価する PBPK モデルを構築する。このモデルは、肝臓、胆嚢、小腸、大腸、腎臓、脂肪、脳、子宮、乳腺、胎盤、胎児、その他の血流の良い組織、血流の少ない組織、血液の 14 のコンパートメントから成り立っており、小腸、大腸、胆嚢、胎児以外の母体臓器は血流で結ばれている。小腸、大腸と胆嚢には臓器組織の存在は考えず、BPA を内包する容器として扱った。第6章の実験結果から推定される腸肝循環のメカニズムを表現するため、腸管は小腸と大腸の2つのコンパートメントに区分し、BPA 代謝物は小腸にて脱抱合を受けて BPA に戻され、再吸収されるとした。母体と胎児の間に血流はなく、胎児は胎盤の胎児側組織である絨毛を介して母体血液と物質の交換をする。胎児血液と母体血液は、絨毛上皮細胞層と血管壁によって隔てられている。従ってこの母体胎盤-胎児間の物質移行を拡散機構により表した。それぞれのコンパートメントにおいて BPA およびその代謝物について質量保存則を適用することにより以下の連立微分方程式を得た。

BPA の連立微分方程式は以下の通りである。ここでは BPA は肝臓のみで代謝されるとしている。前節の実験結果にあるように、マウスにおける代謝物は複数存在するが、主要代謝物は BPA のグルクロン酸抱合体 (BPA-gluc) である。モデルにおいては代謝物をまとめて BPA-gluc と表す。BPA-gluc に関するパラメータは排泄速度定数以外全てフィッティン

グにより定めるので、複数の代謝物に対する複合的なパラメータであると考えることに問題は無い。排泄速度定数は、尿糞中の代謝物濃度の合計から求めるので、これに関してもモデル構成上の矛盾はない。また BPA の物理化学的性質から経気道排泄される可能性は無視できるので、体外排泄は尿・糞排泄経路のみによりなされるとする。

$$\text{Kidney} \quad V_{KI} \frac{dC_{KI}}{dt} = Q_{KI} \left(C_a - \frac{C_{KI}}{P_{KI}} \right) - KE_{KI} C_{KI} V_{KI}$$

$$\text{Well perfused tissues} \quad V_{WP} \frac{dC_{WP}}{dt} = Q_{WP} \left(C_a - \frac{C_{WP}}{P_{WP}} \right)$$

$$\text{Poorly perfused tissues} \quad V_{PP} \frac{dC_{PP}}{dt} = Q_{PP} \left(C_a - \frac{C_{PP}}{P_{PP}} \right)$$

$$\text{Uterus} \quad V_U \frac{dC_U}{dt} = Q_U \left(C_a - \frac{C_U}{P_U} \right)$$

$$\text{Brain} \quad V_{BR} \frac{dC_{BR}}{dt} = Q_{BR} \left(C_a - \frac{C_{BR}}{P_{BR}} \right)$$

$$\text{Fat} \quad V_F \frac{dC_F}{dt} = Q_F \left(C_a - \frac{C_F}{P_F} \right)$$

$$\text{Mammary tissues} \quad V_{MT} \frac{dC_{MT}}{dt} = Q_{MT} \left(C_a - \frac{C_{MT}}{P_{MT}} \right)$$

Liver

$$V_{LI} \frac{dC_{LI}}{dt} = Q_{LI} \left(C_a - \frac{C_{LI}}{P_{LI}} \right) - \frac{dMET}{dt} + K_{aASG} + 0.1K_{aALG} - K_b C_{LI} V_{LI}$$

Small intestine

$$\frac{dA_{SG}}{dt} = DOSE - K_{aASG} + K_{b2ABI} - KE_{SG} A_{SG}$$

Large intestine

$$\frac{dA_{LG}}{dt} = KE_{SG}A_{SG} - 0.1K_aA_{LG} - KE_{LG}A_{LG} + K_dA_{LG}$$

Gall-bladder

$$\frac{dA_{Bl}}{dt} = K_bC_{LI}V_{LI} - K_{b2}A_{Bl}$$

Placenta

$$V_{PL}\frac{dC_{PL}}{dt} = Q_{PL}\left(C_a - \frac{C_{PL}}{P_{PL}}\right) + PA1\frac{C_{EF}}{P_{EF}} - PA2\frac{C_{PL}}{P_{PL}}$$

Embryo/Fetus

$$V_{EF}\frac{dC_{EF}}{dt} = PA2\frac{C_{PL}}{P_{PL}} - PA1\frac{C_{EF}}{P_{EF}}$$

Arterial blood

$$V_{BL}\frac{dC_{BL}}{dt} = \sum Q_{ti}\left(\frac{C_{ti}}{P_{ti}} - C_a\right)$$

ただし、

$$MET = \frac{V_{max} \times fs \times SB \times V_{LI} \times C_{LI} / P_{CLI}}{K_m + fs \times SB \times C_{LI} / P_{CLI}}$$

ここで、

V_{ti} : 臓器 ti の容積 (L)

Q_{ti} : 臓器 ti へ流入する血液流量 (L/hr)

C_{ti} : 臓器 ti 中の BPA 濃度 (mg/L)

P_{ti} : BPA の臓器組織/血液分配率 (-)

C_a : 母体血液中の BPA 濃度 (mg/L)

A_{ti} : 臓器 ti 中の BPA 量 (mg)

KE_{ti} : 母体の組織 ti からの BPA の排泄速度定数 (1/hr)

K_a : 腸管における BPA の吸収速度定数 (1/hr)

$PA1, PA2$: 胎盤・胎児間の BPA の拡散係数 (L/hr)

$DOSE$: BPA の経口投与量 (mg/hr)

MET : BPA 代謝反応速度(mg/hr)

V_{max} : 最高反応速度(mg/hr/L)

fs : BPA の血清タンパク非結合率 (-)

SB : BPA の血清/血液濃度比 (-)

また、BPA·gluc に対する連立微分方程式は以下の通りである。

$$\text{Kidney} \quad V_{KI} \frac{dC^g_{KI}}{dt} = Q_{KI} \left(C^g_a - \frac{C^g_{KI}}{PG_{KI}} \right) - KE_{KIG} C^g_{KI} V_{KI}$$

$$\text{Well perfused tissues} \quad V_{WP} \frac{dC^g_{WP}}{dt} = Q_{WP} \left(C^g_a - \frac{C^g_{WP}}{PG_{WP}} \right)$$

$$\text{Poorly perfused tissues} \quad V_{PP} \frac{dC^g_{PP}}{dt} = Q_{PP} \left(C^g_a - \frac{C^g_{PP}}{PG_{PP}} \right)$$

$$\text{Uterus} \quad V_U \frac{dC^g_U}{dt} = Q_U \left(C^g_a - \frac{C^g_U}{PG_U} \right)$$

$$\text{Brain} \quad V_{BR} \frac{dC^g_{BR}}{dt} = Q_{BR} \left(C^g_a - \frac{C^g_{BR}}{PG_{BR}} \right)$$

$$\text{Fat} \quad V_F \frac{dC^g_F}{dt} = Q_F \left(C^g_a - \frac{C^g_F}{PG_F} \right)$$

$$\text{Mammary tissues} \quad V_{MT} \frac{dC^g_{MT}}{dt} = Q_{MT} \left(C^g_a - \frac{C^g_{MT}}{PG_{MT}} \right)$$

Liver

$$V_{LI} \frac{dC^g_{LI}}{dt} = Q_{LI} \left(C^g_a - \frac{C^g_{LI}}{PG_{LI}} \right) + \frac{dMET}{dt} + K_a G A^g_{SG} + 0.1 K_a G A^g_{LG} - K_b G C^g_{LI} V_{LI}$$

Small intestine

$$\frac{dA^g_{SG}}{dt} = -K_a G A^g_{SG} + K_b G A^g_{BI} - K E_{SGG} A^g_{SG}$$

Large intestine

$$\frac{dA^g_{LG}}{dt} = K E_{SGG} A^g_{SG} - 0.1 K_a G A^g_{LG} - K E_{LGG} A^g_{LG} - K_d A^g_{LG}$$

$$\text{Gall-bladder} \quad \frac{dA^{s_{BI}}}{dt} = K_{bG}C^{s_{LI}}V_{LI} - K_{b2G}A^{s_{BI}}$$

Placenta

$$V_{PL}\frac{dC^{s_{PL}}}{dt} = Q_{PL}\left(C^{s_a} - \frac{C^{s_{PL}}}{PG_{PL}}\right) + PAG1\frac{C^{s_{EF}}}{PG_{EF}} - PAG2\frac{C^{s_{PL}}}{PG_{PL}}$$

$$\text{Embryo/Fetus} \quad V_{EF}\frac{dC^{s_{EF}}}{dt} = PAG2\frac{C^{s_{PL}}}{PG_{PL}} - PAG1\frac{C^{s_{EF}}}{PG_{EF}}$$

$$\text{Arterial blood} \quad V_{BL}\frac{dC^{s_{BL}}}{dt} = \sum Q_{ti}\left(\frac{C^{s_{ti}}}{PG_{ti}} - C^{s_a}\right)$$

ここで、

V_{ti} : 臓器 ti の容積 (L)

Q_{ti} : 臓器 ti へ流入する血液流量 (L/hr)

$C^{s_{ti}}$: 臓器 ti 中の BPA-gluc 濃度 (mg/L)

PG_{ti} : BPA-gluc の臓器組織/血液分配率 (-)

C^{s_a} : 母体血液中の BPA-gluc 濃度 (mg/L)

$A^{s_{ti}}$: 臓器 ti 中の BPA-gluc 量 (mg)

KE_{tiG} : 母体の組織 ti からの BPA-gluc の排泄速度定数 (1/hr)

K_{aG} : 腸管における BPA-gluc の吸収速度定数 (1/hr)

$PAG1, PAG2$: 胎盤・胎児間の BPA-gluc の拡散係数 (L/hr)

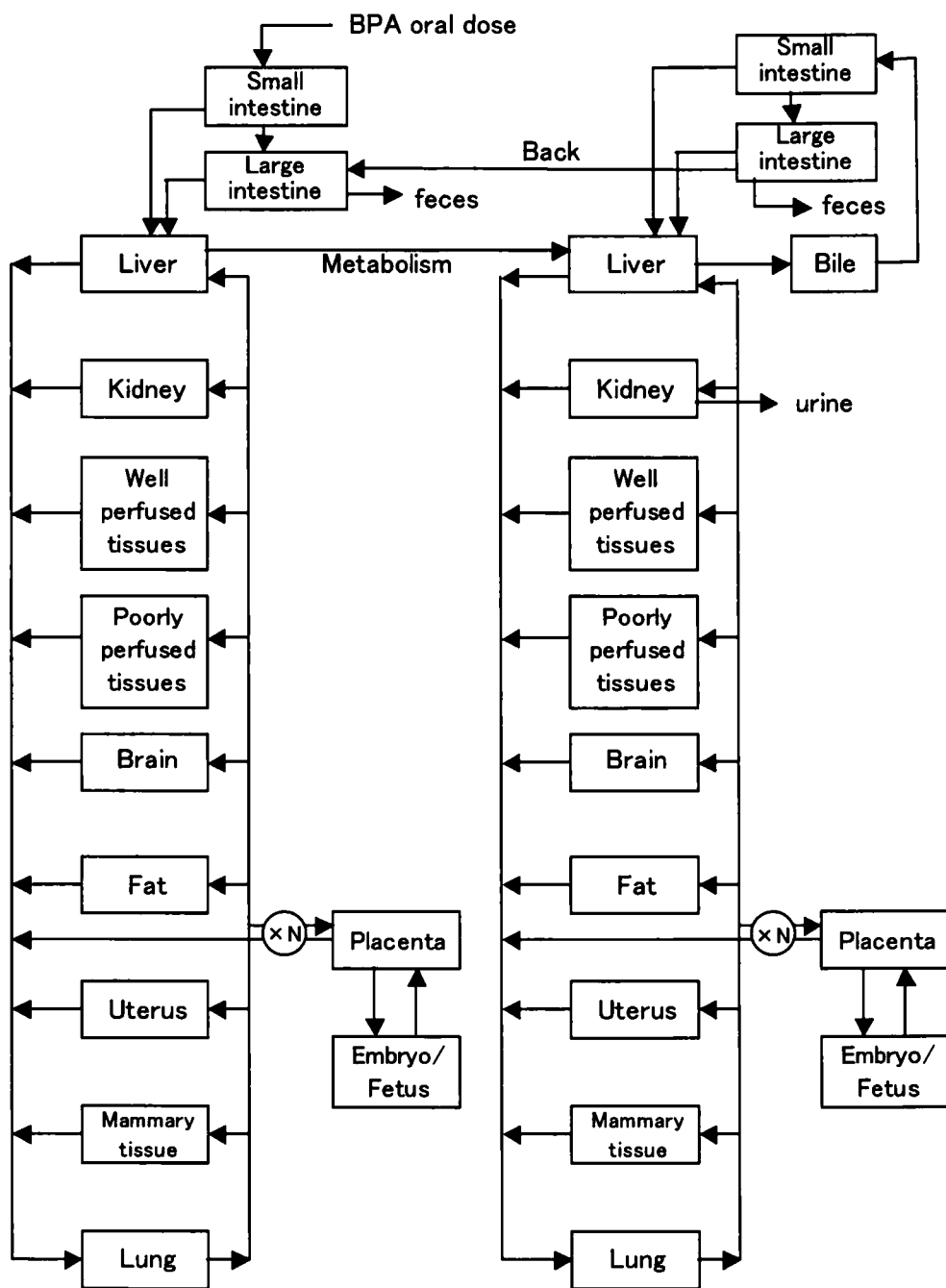


図 6-1 懐胎期における BPA の PBPK モデルの構造

6.1.3 パラメータの決定

6.1.3.1 生理学的パラメータ

1) 臓器容積

各臓器組織容積が全身容積中に占める割合（臓器マスバランス）は Brown らの文献値[2]を参照し、下式により各臓器組織の容積を算出した。

$$V_{ti} = \{PWBODY - N(V_{PL} + V_{EF})\}MB_{ti}$$

ここで、 V_{ti} ：臓器 ti の容積 (L)

$PWBODY$ ：懐胎期マウスの体重 ($kg \doteq L$)

N ：胎児数（第5章の実測データの平均より $N=16$ ）

V_{PL} ：胎盤の容積 (L)

$$AGE < 6 \quad V_{PL} = 0$$

$$6 \leq AGE < 9 \quad V_{PL} = 8(AGE-6)/10^6$$

$$9 \leq AGE \quad V_{PL} = \{24\exp(-0.23(AGE-9))+1650(\exp(0.01(AGE-9))-1)\} / 10^6$$

V_{EF} ：胎児の容積 (L)

$$AGE < 6 \quad V_{EF} = 0$$

$$6 \leq AGE < 9 \quad V_{EF} = (0.1206 \times AGE)^{4.53} / 10^6$$

$$9 \leq AGE < 15 \quad V_{EF} = (0.1206 \times AGE)^{4.53} + (1.5(AGE-9))^{2.8} / 10^6$$

$$15 \leq AGE \quad V_{EF} = (0.254 \times AGE - 3.326) / 10^3$$

(AGE: 妊娠日数、着床は6日)

MB_{ti} ：臓器 ti の組織容積が全身容積に占める割合 (-)

胎盤と胎児の妊娠日数による容積変化は O'Flaherty らのラットを対象とする式[1]を参考に、マウスとラットの妊娠日数の違いを考慮して定めた。

MB_{ti} は、非妊娠時の臓器マスバランス M_{ti} [2]を基に、妊娠による容積変化を組み込んで、以下の様に算出した[1]。

非妊娠時臓器マスバランス

$$M_{KI}=0.017$$

$$M_{WP}=0.012$$

$$M_{PP}=0.768$$

$$M_U=0.002$$

$$M_{BR}=0.017$$

$$M_F=0.07$$

$$M_{MT}=0.01$$

$$M_{LI}=0.055$$

$$M_{BL}=0.049$$

妊娠時臓器マスバランス

$$MB_{KI} = \frac{M_{KI}}{M_U \times 0.077 \times (AGE - 3)^{1.6} + M_F \times 0.0165 \times 15 + M_{MT} \times 0.27 \times 15 + M_{GI} \times 0.0255 \times (AGE - 6)}$$

$$MB_{WP} = \frac{M_{WP}}{M_U \times 0.077 \times (AGE - 3)^{1.6} + M_F \times 0.0165 \times 15 + M_{MT} \times 0.27 \times 15 + M_{GI} \times 0.0255 \times (AGE - 6)}$$

$$MB_{PP} = \frac{M_{PP}}{M_U \times 0.077 \times (AGE - 3)^{1.6} + M_F \times 0.0165 \times 15 + M_{MT} \times 0.27 \times 15 + M_{GI} \times 0.0255 \times (AGE - 6)}$$

$$MB_U = \frac{M_U \times \{1 + 0.077 \times (AGE - 3)^{1.6}\}}{M_U \times 0.077 \times (AGE - 3)^{1.6} + M_F \times 0.0165 \times 15 + M_{MT} \times 0.27 \times 15 + M_{GI} \times 0.0255 \times (AGE - 6)}$$

$$MB_{BR} = \frac{M_{BR}}{M_U \times 0.077 \times (AGE - 3)^{1.6} + M_F \times 0.0165 \times 15 + M_{MT} \times 0.27 \times 15 + M_{GI} \times 0.0255 \times (AGE - 6)}$$

$$MB_F = \frac{M_F \times (1 + 0.0165 \times AGE)}{M_U \times 0.077 \times (AGE - 3)^{1.6} + M_F \times 0.0165 \times 15 + M_{MT} \times 0.27 \times 15 + M_{GI} \times 0.0255 \times (AGE - 6)}$$

$$MB_{MT} = \frac{M_{MT} \times (1 + 0.27 \times AGE)}{M_U \times 0.077 \times (AGE - 3)^{1.6} + M_F \times 0.0165 \times 15 + M_{MT} \times 0.27 \times 15 + M_{GI} \times 0.0255 \times (AGE - 6)}$$

$$MB_{LI} = \frac{M_{LI} \times \{1 + 0.0255 \times (AGE - 6)\}}{M_U \times 0.077 \times (AGE - 3)^{1.6} + M_F \times 0.0165 \times 15 + M_{MT} \times 0.27 \times 15 + M_{GI} \times 0.0255 \times (AGE - 6)}$$

$$MB_{BL} = \frac{M_{BL}}{M_U \times 0.077 \times (AGE - 3)^{1.6} + M_F \times 0.0165 \times 15 + M_{MT} \times 0.27 \times 15 + M_{GI} \times 0.0255 \times (AGE - 6)}$$

2) 血流量

血流量は、非妊娠時における各臓器への血流量の全血流量に占める割合（血流バランス）の文献値[2]を基に、妊娠による血流量変化[1]を組み込んで、以下の式で表現する。

$$Q_{ti} = PQ \times QB_{ti}$$

ここで、 Q_{ti} : 臓器 ti への血流量 (L/hr)

QB_{ti} : 臓器 ti への血流量の全血流量に占める割合 (-)

PQ : 母体臓器への全血流量 (L/hr)

$$AGE < 6 \quad PQ = Q$$

$$6 \leq AGE < 9 \quad PQ = Q + 0.75N \times 0.55(AGE-6)/24$$

$$9 \leq AGE \quad PQ = Q + 0.75N \times 1.65 \exp(-0.23(AGE-9))/24$$

ただし、

$$Q = 16.5(PWBODY - N(V_{PL} + V_{EF}))^{0.75}$$

胎盤への血流量 Q_{PL} は別途、

$$AGE < 6 \quad Q_{PL} = 0$$

$$6 \leq AGE < 9 \quad Q_{PL} = 0.25N \times 0.55(AGE-6)/24$$

$$9 \leq AGE < 11 \quad Q_{PL} = 0.25N \times 1.65 \exp(-0.23(AGE-9))/24$$

$$11 \leq AGE \quad Q_{PL} = 0.25N \times 1.65 \exp(-0.23(AGE-9))/24 + N(0.1207(AGE-11))^{4.36}/24$$

と表した。

QB_{ti} は、非妊娠時の血流バランス $QQB_{ti}[2]$ を基に、妊娠による変化を組み込んで、以下の様に算出した。

非妊娠時血流バランス

$$QQB_{KI} = 0.017$$

$$QQB_{WP} = 0.061$$

$$QQB_{PP} = 0.669$$

$$QQB_U = 0.002$$

$$QQB_{BR} = 0.017$$

$$QQB_F = 0.07$$

$$QQB_{MT} = 0.01$$

$$QQB_{LI} = 0.055$$

妊娠時血流バランス

$$QB_{KI} = \frac{QQB_{KI}}{QQB_U \times 0.077 \times (AGE-3)^{1.6} + QQB_F \times 0.0165 \times 15 + QQB_{MT} \times 0.27 \times 15 + QQB_{GI} \times 0.0255 \times (AGE-6)}$$

$$QB_{WP} = \frac{QQB_{WP}}{QQB_U \times 0.077 \times (AGE - 3)^{1.6} + QQB_F \times 0.0165 \times 15 + QQB_{MT} \times 0.27 \times 15 + QQB_{GI} \times 0.0255 \times (AGE - 6)}$$

$$QB_{PP} = \frac{QQB_{PP}}{QQB_U \times 0.077 \times (AGE - 3)^{1.6} + QQB_F \times 0.0165 \times 15 + QQB_{MT} \times 0.27 \times 15 + QQB_{GI} \times 0.0255 \times (AGE - 6)}$$

$$QB_U = \frac{QQB_U \times \{1 + 0.077 \times (AGE - 3)^{1.6}\}}{QQB_U \times 0.077 \times (AGE - 3)^{1.6} + QQB_F \times 0.0165 \times 15 + QQB_{MT} \times 0.27 \times 15 + QQB_{GI} \times 0.0255 \times (AGE - 6)}$$

$$QB_{BR} = \frac{QQB_{BR}}{QQB_U \times 0.077 \times (AGE - 3)^{1.6} + QQB_F \times 0.0165 \times 15 + QQB_{MT} \times 0.27 \times 15 + QQB_{GI} \times 0.0255 \times (AGE - 6)}$$

$$QB_F = \frac{QQB_F \times (1 + 0.0165 \times AGE)}{QQB_U \times 0.077 \times (AGE - 3)^{1.6} + QQB_F \times 0.0165 \times 15 + QQB_{MT} \times 0.27 \times 15 + QQB_{GI} \times 0.0255 \times (AGE - 6)}$$

$$QB_{MT} = \frac{QQB_{MT} \times (1 + 0.27 \times AGE)}{QQB_U \times 0.077 \times (AGE - 3)^{1.6} + QQB_F \times 0.0165 \times 15 + QQB_{MT} \times 0.27 \times 15 + QQB_{GI} \times 0.0255 \times (AGE - 6)}$$

$$QB_{LI} = \frac{QQB_{LI} \times \{1 + 0.0255 \times (AGE - 6)\}}{QQB_U \times 0.077 \times (AGE - 3)^{1.6} + QQB_F \times 0.0165 \times 15 + QQB_{MT} \times 0.27 \times 15 + QQB_{GI} \times 0.0255 \times (AGE - 6)}$$

$$QB_{GI} = \frac{QQB_{GI}}{QQB_U \times 0.077 \times (AGE - 3)^{1.6} + QQB_F \times 0.0165 \times 15 + QQB_{MT} \times 0.27 \times 15 + QQB_{GI} \times 0.0255 \times (AGE - 6)}$$

3)消化管内移動速度

小腸および大腸中を内容物が移動する速度を、消化管内滞留時間の文献値[3]を基に設定した。大腸内移動速度定数はすなわち糞中排泄速度定数と同等と見なせる。

4)胆汁分泌

胆嚢から小腸への胆汁分泌は摂食時に起こると考えられているが、マウスの摂食はヒトほど規則的ではなく時期を確定できない。マウスにBPAを単回投与後、短時間間隔で血中濃度を調べた予備的検討において、約3時間周期での血中濃度の変動が見られたため、BPA投与時を含め投与後3時間毎に、胆嚢内の胆汁全量が小腸へ分泌されるとした。

6.1.3.2 物理化学的パラメータ

BPAの組織/血液分配率については現在報告例がないので、懐胎期ICRマウス臓器を用い

て実験的に測定し、各臓器・組織における BPA の組織/血液分配率を決定した。

1)方法

BPA の組織/血液分配率は、Jepson らが行った手順[4]に従って測定した。懐胎期マウス (8 週齢、妊娠 15.5dpc) から血液、肝臓、膵臓、皮膚、小腸、脾臓、心臓、脳、乳腺、脂肪、腎臓、肺、卵巣、子宮、羊水、胎盤、胎児を摘出した。各臓器は細かく刻み、その 250 mg (脂肪は 200 mg、卵巣は 30 mg) をバイアル瓶に入れ、¹⁴C-BPA 溶液 (0.1mg/mL・リン酸生理食塩水 (以下 PBS と記す)) を添加し、37℃で 18 時間振とうした。肝臓については 24 時間振とうの分析も行った結果、BPA の組織への移行は 18 時間までに平衡に達していると判断し、振とう時間を 18 時間に設定した。リファレンスとして、臓器は添加せず化合物溶液のみを入れたバイアル瓶も用意し、同様の操作を行った。

振とう後、遠心分離 (3,000rpm×10 分、20℃) し、上清を分離した。その上清を遠心限外ろ過 (3,000rpm×3 分、20℃) した。限外ろ過にはセントリフリーおよび MPS ろ過ユニットを用いた。分画分子量は 30,000 であった。そのろ液 1ml にウルチマゴールド™LLT 5ml を加え、PBS 中の BPA 濃度を測定し、BPA の組織中及び PBS 中の濃度を求めた。ここで、組織/PBS 分配率は以下の式を用いて算出した。

$$P_{T/S} = \frac{C_T}{C_S} = \frac{(C_R V_R - C_S V_S) / V_T}{C_S}$$
$$C_S = C_{S,F} \frac{C_{R,U}}{C_{R,F}}$$

ここで

$P_{T/S}$: 組織/PBS 分配率

C_T : 組織中の BPA 濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

C_S : PBS 中の BPA 濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

C_R : リファレンス溶液の BPA 濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

V_R : リファレンス溶液の体積 (mL)

V_S : サンプル溶液の体積 (mL)

V_T : 組織の体積 (mL)

$C_{S,F}$: ろ過した PBS 中の BPA 濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

$C_{R,U}$: ろ過していないリファレンス溶液の PBS 中の BPA 濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

$C_{R,F}$: ろ過したリファレンス溶液の PBS 中の BPA 濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

上記の式で算定した組織/PBS 分配率を血液/PBS 分配率で割ることによって、組織/血液分配率を決定した。

2)結果

各臓器・組織における BPA の組織/血液分配率を算出した結果を表 6-1 に示す。BPA の組織/血液分配率は、卵巣が最大で心臓、肺、肝臓、脳の順に大きかった。最も低い値を示したのは小腸であった。それぞれの値をみると、1 前後を示すものが多かった。BPA のオクタノール/水分配係数は 3.32 であり、親油性の性質を示すにも関わらず、組織/血液分配率は小さく、生体組織への移行・蓄積性はあまり高くないと考えられる。

表 6-1 in vitro 実験により決定した BPA の組織/血液分配率

臓器	分配率	臓器	分配率
肝臓	1.29	胎盤	0.75
羊水	0.07	胎児	0.28
膵臓	0.41	乳腺	0.84
皮膚	0.55	子宮	0.53
小腸	0.17	卵巣	2.05
脾臓	0.97	脂肪	1.06
心臓	1.64	腎臓	0.72
脳	1.28	肺	1.39

肝臓での BPA 分配率については、in vitro 実験から得た上表の分配率を用いたシミュレーションでは肝臓中濃度の in vivo 実験値を再現できなかったため、フィッティングにより約 310 倍の値である 384 とした。肝細胞には能動的に薬物を取り込む各種トランスポーターの存在が考えられているが、BPA と各臓器組織の物理化学的相互作用のみを考慮する上記 in vitro 実験ではその機構が反映されない。従ってこの in vitro 実験値よりも高率で BPA が組織に分配されることは科学的に妥当と考えられる。

本研究の PBPK モデルでは、BPA-gluc は複数の代謝物をまとめて総括的に代表しているが、その主要構成物質は BPA-gluc (BPA のグルクロン酸抱合体) そのものである。以下で述べる方法により決定した BPA-gluc そのものの組織/血液分配率を基にして、モデル上の総括的 BPA-gluc の組織/血液分配率パラメータを、フィッティングにより決定した。

BPA-gluc そのものの組織/血液分配率は、化学物質の構造 (炭素数や官能基の種類・数) によりその物性を推定する「有機概念図」という手法[5]を採用し、まず水/オクタノール分配係数を推定した。次いで、オクタノール/水分配係数から組織/血液分配率を推定する Poulin らが開発した手法[6]を用いて組織/血液分配率を推定した。Poulin らの手法とは、化学物質の組織への分配量を赤血球と血漿への分配量の合計で除し、組織/血液分配率を予測するものである。組織、赤血球および血漿への移行は、それぞれの組織に含まれる中性

脂肪、リン脂質および水への移行（溶解度）の加算関数として表せる。各組織中の中性脂肪と水へは、 Kow （オクタノール/水分配係数）と1の比で化学物質が移行すると考える。リン脂質は、0.3の率で中性脂肪、0.7の率で水の性質を持つとして化学物質が移行すると考える。これを式で表すと以下のようなになる。化学物質の組織への分配量（ P_t ）は、

$$P_t = (Kow \times F_{nt}) + (1 \times F_{wt}) + (Kow \times 0.3 \times F_{pt}) + (1 \times 0.7 \times F_{pt})$$

で与えられる。

ここで F は、組織重量中に中性脂肪（ nt ）、水（ wt ）、リン脂質（ pt ）が占める率を表す。同様に、赤血球および血漿への化学物質の分配量（ P_e および P_p ）は、

$$P_e = (Kow \times F_{ne}) + (1 \times F_{we}) + (Kow \times 0.3 \times F_{pe}) + (1 \times 0.7 \times F_{pe})$$

$$P_p = (Kow \times F_{np}) + (1 \times F_{wp}) + (Kow \times 0.3 \times F_{pp}) + (1 \times 0.7 \times F_{pp})$$

で与えられる。

血液中の赤血球および血漿画分の構成比は、赤血球が0.37、血漿が0.63であるから、組織/血液分配率（ P_{tb} ）は、

$$P_{tb} = P_t / (0.37 \times P_e + 0.63 \times P_p)$$

となる。

この手法を用いて推定した分配率を基に、シミュレーションで用いる BPA-gluc の組織/血液分配率は *in vivo* 実験結果を良好に説明できるようにフィッティングにより選定した。

その他、BPA の物理化学的性質に基づくパラメータについては、第1章の表 1-2 に掲げる値を用いた。

6.1.3.3 生化学的パラメータ

1) 血清タンパク結合に関するパラメータ

方法

マウス（Bala C/CM XX）血清、ラット（Wistar）血清、ヒト血清（いずれもコスモバイオ株式会社より購入）各種につき、 ^{14}C -BPA を 0.1、1、10 $\mu g/ml$ となるように添加した（各濃度 $n=3$ ）。濃度は、第一節のマウス体内動態実験における血清中 ^{14}C 濃度の範囲に合わせて設定した。 ^{14}C -BPA はあらかじめ設定濃度の 100 倍濃度のエタノール溶液として調製しておき、これを血清の 1% 量添加した。この ^{14}C -BPA 血清溶液をセントリフリー™（アミコン）に各 0.9 ml 入れ、遠心限外ろ過（3000 rpm × 3分）により約 10% 相当のろ液を得た。このうち 50 μl にウルチマゴールド™LLT 5ml を加え、放射能測定によりろ液中の BPA 濃度（ C_f ）を求めた。一方、ろ過前の ^{14}C -BPA 血清溶液についても、体内動態実験の血清試料と同様に放射能を測定して、血清中 BPA 濃度（ C_t ）を求めた。血清タンパク非結合率は、この両者の比（ C_f/C_t ）として算定した。

結果

上記方法により算定した、BPA と血清タンパクとの非結合率を表 6-2 に示す。

表 6-2 BPA と血清タンパクとの非結合率 (%、平均±S.D.)

BPA 設定濃度(μ g/ml)	0.1	1	10
マウス	3.48*	3.20±0.16	2.83±0.30
ラット	5.01±0.39	4.53±0.13	4.38±0.85
ヒト	2.97±0.44	2.71±0.18	2.37±0.13

* 欠落値が1つあり、2つのデータの平均。

全動物種につき、設定濃度が高いほど非結合率が低い傾向が見られたが、t 検定の結果、これは統計的に有意な差ではなかった。よって、この濃度範囲において BPA と各種血清タンパクとの結合に濃度依存性はないと判断し、マウス PBPK モデルのパラメータとして3濃度についての非結合率を平均した値 (3.17%) を用いた。また、この濃度範囲において濃度依存性がないことから、ヒトの血中で予想されるようなより低濃度の領域においても同じ値を適用しても問題ないと考え、ヒトについてもこの3濃度での非結合率の平均値 (2.68%) を用いることにした。

血清タンパクとの結合が体内動態に大きく影響するのは代謝の段階においてであるが、本研究のモデルでは BPA-gluc の更なる代謝を考慮しないため、BPA-gluc のタンパク結合に関するパラメータは必要とされない。

2)代謝に関するパラメータ

本研究では、BPA は肝臓のみで代謝されるとしている。前節の実験結果にあるように、マウスにおける代謝物は複数存在するが、主要代謝物は BPA-gluc である。しかし本研究のモデルにおいては代謝物をまとめて BPA-gluc と表す。ただしこの濃度は、全代謝物濃度の合計とする。BPA-gluc に関するパラメータは排泄速度定数以外全てフィッティングにより定めるので、複数代謝物による複合的なパラメータであると考えることに問題はない。排泄速度定数は、尿糞中の代謝物濃度の合計から定めるので、これに関しても矛盾はない。

よって、BPA の代謝に関するパラメータを実験から求める場合も、BPA の減少のみを測定し、代謝物の区別は問題としなかった。

方法

マウス (CD-1、雌) およびラット (SD、雌) の肝臓 S9 画分は CED 社より購入した。ヒト女性の S9 は In Vitro Technologies 社より購入した。実験方法は、In Vitro Technologies 社の標準操作法に従った。すなわち、氷浴上で試験管に S9 をタンパク量にして 250 μ g、50 mM リン酸緩衝液 (pH 7.4) を 357.5 μ l、最終濃度の 100 倍濃度の 14 C-BPA アセトニトリル溶液を 5 μ l 添加し、これを 37°C 水浴に移した。同時に NRS (NADPH Regenerating System) 液も 37°C 水浴で温め始め、5 分後、NRS 液を 125 μ l ずつ各試験管に入れて反応

を開始した。4℃に冷却したメタノール 0.5 ml を添加することにより反応を終結し、試験管を氷浴上に 30 分以上置いた後遠心分離 (1000g×5 分) して、上清を分離した。NRS 液は、2% NaHCO₃、1.7 mg/ml NADP、7.8 mg/ml グルコース・6・リン酸、1.5 units/ml グルコース・6・リン酸デヒドロゲナーゼ、1.9 mg/ml UDPGA (Uridine 5'-diphosphoglucuronic acid)、100 μg/ml PAPS (3'-Phosphoadenosine 5'-phosphosulfate) から成る。分離した上清のうち 300 μl、および沈殿にメタノールを 200 μl 加えて攪拌と遠心分離をすることにより得た上清 2 回分を合わせて窒素気流下乾固し、第 5 章で述べたマウス体内動態実験の血清サンプルと同様に TLC にて代謝物を分画し、¹⁴C-BPA 濃度を測定した。

まず、マウスおよびラット S9 については 25 μM、ヒト S9 では 75 μM となるように ¹⁴C-BPA を添加し (各反応時間につき n=1)、反応開始から 5、10、15、20、30 分、および 1、2、4 時間後に反応を終結して ¹⁴C-BPA 濃度を測定した。これにより反応が直線的に進行し初速度が測定できる反応時間を設定した。

次に、各動物種につき濃度 5、10、20、50、100、200、500 μM となるように ¹⁴C-BPA を添加し (各濃度 n=3)、上述の通り設定した反応時間の後に ¹⁴C-BPA 濃度を測定した。

結果

反応時間設定の実験における、各動物種 S9 の反応のタイムコースは図 6-2 のようであった。BPA の代謝率は、BPA の初期濃度と各時点での濃度の差分から求めている。この図より、いずれの動物種 S9 においても反応開始後少なくとも 10 分までは反応が直線的に進行していると見なせると判断し、初速度を測定するための反応時間を 10 分に設定した。

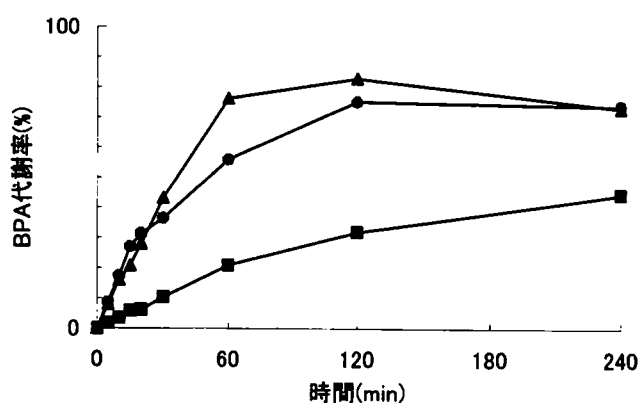


図 6-2 各動物種 S9 による BPA 代謝反応のタイムコース
(●: マウス、▲: ラット、■: ヒト)

種々濃度における BPA 代謝の初速度は図 6-3 のようになった。高濃度域では初速度が低下しており、基質阻害によるものと考えられたが、200 μM までにおいてはミカエリス-メンテン型の反応であることが見てとることができる。そこで 200 μM までのデータを用い、初速度

と BPA 濃度それぞれの逆数をプロットする Lineweaver-Burk Plot (図 6-4) により、ミカエリス定数 K_m (μM) と最高反応速度 V_{max} (nmole/min/mg protein) を求めた。Lineweaver-Burk Plot における傾きが K_m/V_{max} 、y 切片が $1/V_{\text{max}}$ である。各動物種についてのこれらの値をまとめたものが表 6-3 である。ただし本実験においては、これらは種々の酵素反応を複合した包括的な値である。

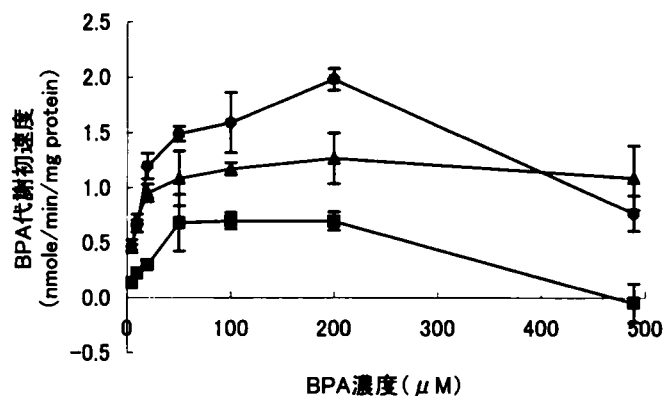


図 6-3 各動物種 S9 による BPA 代謝反応の、種々 BPA 濃度における初速度 (●: マウス、▲: ラット、■: ヒト)

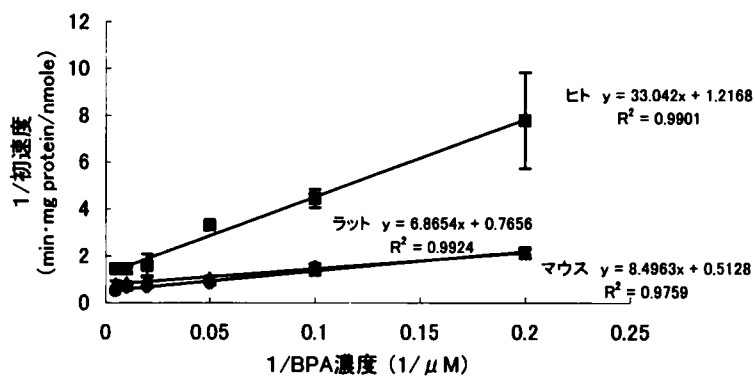


図 6-4 各動物種 S9 での Lineweaver-Burk Plot (●: マウス、▲: ラット、■: ヒト)

表 6-3 各動物種 S9 による BPA 代謝反応の K_m および V_{max}

	K_m (μM)	V_{max} (nmole/min/mg protein)
マウス	16.57	1.95
ラット	8.97	1.31
ヒト	27.15	0.82

これらの結果から、ヒトではマウスに比べてBPAの代謝が遅いと考えられる。PBPKモデルのパラメータとしては、単位を変換し、マウスでは $K_m : 3.78 \text{ mg/L}$ 、 $V_{max} : 1.97 \times 10^3 \text{ mg/hr/L}$ 、ヒトでは $K_m : 6.20 \text{ mg/L}$ 、 $V_{max} : 8.29 \times 10^2 \text{ mg/hr/L}$ の値を用いた。

代謝反応に関与するBPAは、血清中のタンパクに結合していないBPAであると通常考えられることから、前述のように反応式を以下のように記した。

$$MET = \frac{V_{max} \times f_s \times SB \times V_{LI} \times C_{LI} / PC_{LI}}{K_m + f_s \times SB \times C_{LI} / PC_{LI}}$$

ここで、MET：代謝反応速度(mg/hr)

V_{max} ：最高反応速度(mg/hr/L)

f_s ：血清タンパク非結合率（－）

SB：血清/血液濃度比（－）

V_{LI} ：肝臓容積(L)

C_{LI} ：肝臓中BPA濃度(mg/L)

PC_{LI} ：肝臓組織/血液分配比（－）

3) 尿中排泄速度定数 KE_{ki}

化学物質の排出速度 (dX/dt) は体内コンパートメントに残存する化学物質質量に比例するとの基本仮定を設定すると、

$$-\frac{dX}{dt} = KX \quad (6-1)$$

と表現できる。

ここで、

K:組織からの排出速度定数 (1/hr)

X:組織中の化学物質質量 (mg)

D: 当該組織への化学物質の投与量 (mg)

また、(6-1) 式の一般解を

$$X = D \exp(-K t) \quad (6-2)$$

とし、(6-2) 式を (6-1) 式に代入すると

$$-\frac{dX}{dt} = KD \exp(-K t) \quad (6-3)$$

を得る。対数表示すると

$$\log\left(-\frac{dX}{dt}\right) = -\frac{K}{2.303}t + \log(KD) \quad (6-4)$$

となる。ゆえに、化学物質の排出速度 (dX/dt) を化学物質投与後の経過時間 t に対して片対数

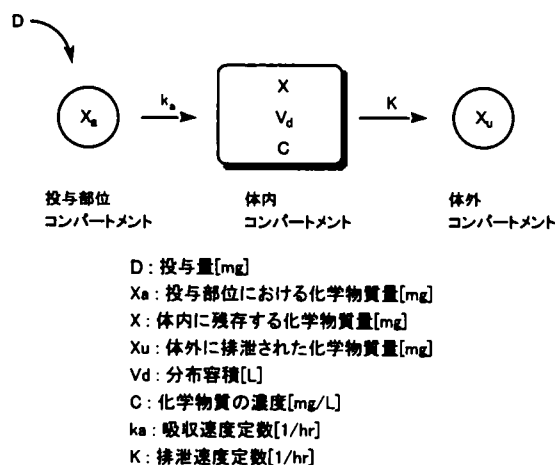


図6-5 化学物質の体内への吸収および排泄の概念図

プロットすると、直線が得られ、その直線の勾配から排泄速度定数Kの値を求めることができる。

以上の操作を、第5章の排泄実験で得られた尿中排泄データに対して行い（マウスの個体を全体として1つのコンパートメントとみなすこととなる）、BPA-glucの尿中排泄速度定数を3.2（1/hr）と算出した。実際のモデルで採用するパラメータの値はこの値を基にフィッティングにより定めた。

未変化体BPAは、排泄実験の尿中にほとんど存在しなかったことから、モデルにおいても未変化体BPAは尿中には排泄されないとした。

4) 胆汁排泄速度定数 K_b

SDラットを用いたInoueらの研究[7]によると、肝臓に吸収されたBPAの65%が1時間以内にグルクロン酸抱合されてBPA-glucとなり、そのBPA-glucは主に胆汁中に排泄され、未変化体BPAは肝静脈中に排泄され、胆汁中には未変化体BPAはほとんど排泄されないことが報告されている。

以上より、未変化体BPAの胆汁排泄はないと仮定する。BPA-glucの胆汁排泄速度定数は、in vivo実験値を説明できるようにフィッティングにより定めた。

5) 吸収速度定数 K_a

化学物質の投与部位からの体内コンパートメントへの吸収速度 (dX_a/dt) は、投与部位に存在する化学物質質量に比例し、化学物質の排泄速度は体内コンパートメントに残存する化学物質質量に比例するとの基本仮定を設定すると、体内コンパートメント中の化学物質質量の経時変化は次式で表現することができる。

$$\frac{dX_a}{dt} = -K_a X_a \quad (6-5)$$

$$\frac{dX}{dt} = K_a X_a - KX \quad (6-6)$$

ここで

X_a : 投与部位における化学物質質量 (mg)

X : 投与部位につながるコンパートメント中の化学物質質量 (mg)

K_a : 吸収速度定数 (1/hr)

(6-5) 式の一般解を

$$X_a = X_a^0 \exp(-K_a t) \quad (6-7)$$

とし、投与量を D [mg]、投与部位からの化学物質の吸収率を F [-]とすると $X_a^0 = FD$ となる

から

$$X_a = FD \exp(-K_a t) \quad (6-8)$$

となる。(6-6) 式を変形し、(6-8) 式を代入すると

$$\frac{dX}{dt} = K_a X_a - KX = K_a FD \exp(-K_a t) - KX \quad (6-9)$$

一般解を

$$X = -FD \left(\frac{K_a}{K_a - K} \right) \left\{ \exp(-K t) - \exp(-K_a t) \right\} \quad (6-10)$$

とする。

化学物質の体内での分布容積を V_d (L)、血中化学物質濃度を C (mg/L) とすると、化学物質量は $X = V_d C$ で与えられる。(6-10) 式を用いて血中化学物質濃度 C を表すと

$$C = \frac{K_a F D}{V_d (K_a - K)} \left\{ \exp(-K t) - \exp(-K_a t) \right\} \quad (6-11)$$

となる。

一般に体内への移行・蓄積が問題となる化学物質の吸収速度は体内からの消失速度より早いので、 $K_a > K$ という関係式が成り立ち、(6-11) 式は次のように近似できる。

$$C (\equiv C_1) = \frac{K_a F D}{V_d (K_a - K)} \exp(-K t) \quad (6-12)$$

対数表示すると

$$\log C_1 = -\frac{K}{2.303} t + \log \left(\frac{K_a F D}{V_d (K_a - K)} \right) \quad (6-13)$$

次に、(6-12) 式から (6-11) 式を辺々相引くと

$$C_1 - C (\equiv C_2) = \frac{K_a F D}{V_d (K_a - K)} \exp(-K_a t) \quad (6-14)$$

対数表示すると

$$\log(C_1 - C) = \log C_2 = -\frac{K_a}{2.303} t + \log \left(\frac{K_a F D}{V_d (K_a - K)} \right) \quad (6-15)$$

となる。(6-14) 式より $C=C_1 \cdot C_2$ という関係式が導かれる。すなわち (6-11) 式で表される直線 C とは、実は、 C_1 から C_2 を差し引くことで得られる直線である。化学物質の経口投与後に得られる $\log(\text{血中化学物質濃度}) \cdot \text{時間}$ 曲線の終末部分における直線部分を縦軸方向に向かって外挿して得られる直線 ((6-12) 式で示される直線) から実際の血中濃度の測定値を引くことにより第 2 の直線 ((6-15) 式で示される直線) が得られる。この第 2 の直線の勾配から、吸収速度定数 K_a を算出することができる。

以上の操作を、第 5 章の BPA の 10mg/kg-BW 単回投与実験データに対して行い (マウスの個体を全体として 1 つのコンパートメントとみなす)、小腸における吸収速度定数 K_a を 3.24 (1/hr) と算出した。実際のモデルシミュレーションで用いる値は、これを基に、*in vivo* 実験値を説明できるようフィッティングにより修正して用いた。なお、以上の手順の設定には「薬物動態学」[8]を参照した。

小腸における BPA-gluc 吸収速度定数はパラメータフィッティングにより求めた。

また、大腸における吸収は一般に小腸より低いと考えられており、その吸収速度定数を小腸の 10 分の 1 に設定した。

6.1.3.4 パラメータフィッティング

前節までに確定していないパラメータについては、モデルによる計算値を、第 5 章で行った妊娠 15.5dpc マウスへの BPA10 mg/kg 単回投与実験のデータと比較しながらパラメータを変動させ、実験値を良好に表現できる数値に決定した。BPA の設定パラメータ値を表 6-6 に、BPA-gluc の設定パラメータ値を表 6-7 に示す。

表 6-6 本研究で設定した懐胎期 (15.5dpc) ICR マウスの BPA に対するパラメータ値

Body weight(kg)	PWBODY	0.056
Cardiac output(L/hr)	PQ	本文(6.1.3.1)参照
Percent of cardiac output(-)		
Kidney	QB _{KI}	本文(6.1.3.1)参照
Well perfused tissues	QB _{WP}	
Poorly perfused tissues	QB _{PP}	
Uterus	QB _U	
Brain	QB _{BR}	
Fat	QB _F	
Mammary tissue	QB _{MT}	
Liver	QB _{LI}	
Placenta	QB _{PL}	
Partition coefficient(-)		
Kidney	P _{KI}	0.858
Well perfused tissues	P _{WP}	1.43
Poorly perfused tissues	P _{PP}	0.682
Uterus	P _U	0.693
Brain	P _{BR}	1.34
Fat	P _F	1.16
Mammary tissue	P _{MT}	0.957
Liver	P _{LI}	384
Placenta	P _{PL}	0.880
Embryo/Fetus	P _{EF}	0.308
Pharmacokinetic constants		
Absorption rate constant(1/hr)	K _a	10.0
Excretion rate constant from Kidney(1/hr)	KE _{KI}	0.0
Gastric emptying rate for small intestine(1/hr)	KE _{SG}	0.40
Gastric emptying rate for large intestine(1/hr)	KE _{LG}	0.08
Biliary excretion rate from liver(1/hr)	K _b	0.0
Biliary excretion rate from gall-bladder(1/hr)	K _{b2}	0.0
Metabolic max reaction rate(mg/hr)	V _{max}	1970
Michaelis constant(mg/L)	K _m	3.78
Unbound fraction in serum(-)	F _s	0.0317
Deconjugate rate in large intestine(1/hr)	K _d	-
Embryo/Fetus to Placenta diffusion coefficient(L/hr)	PA1	2.0×10 ⁻⁵
Placenta to Embryo/Fetus diffusion coefficient(L/hr)	PA2	5.2×10 ⁻⁵

表 6-7 本研究で設定した懐胎期 (15.5dpc) ICR マウスの BPA·gluc に対するパラメータ値

Body weight(kg)	PWBODY	0.056
Cardiac output(L/hr)	PQ	本文(6.1.3.1)参照
Percent of cardiac output(-)		
Kidney	QB _{KI}	本文(6.1.3.1)参照
Well perfused tissues	QB _{WP}	
Poorly perfused tissues	QB _{PP}	
Uterus	QB _U	
Brain	QB _{BR}	
Fat	QB _F	
Mammary tissue	QB _{MT}	
Liver	QB _{LI}	
Placenta	QB _{PL}	
Partition coefficient(-)		
Kidney	PG _{KI}	3.18
Well perfused tissues	PG _{WP}	0.271
Poorly perfused tissues	PG _{PP}	0.387
Uterus	PG _U	0.581
Brain	PG _{BR}	0.125
Fat	PG _F	0.220
Mammary tissue	PG _{MT}	0.270
Liver	PG _{LI}	6.76
Placenta	PG _{PL}	0.680
Embryo/Fetus	PG _{GEF}	0.0580
Pharmacokinetic constants		
Absorption rate constant(1/hr)	K _{aG}	0.1
Excretion rate constant from Kidney(1/hr)	KE _{KIG}	7.5
Gastric emptying rate for small intestine(1/hr)	KE _{SGG}	0.40
Gastric emptying rate for large intestine(1/hr)	KE _{LGG}	0.08
Biliary excretion rate from liver(1/hr)	K _{bG}	8.59
Biliary excretion rate from gall-bladder(1/hr)	K _{bG2}	10000(毎 3 時間)
Metabolic max reaction rate(mg/hr)	V _{max}	-
Michaelis constant(mg/L)	K _m	-
Unbound fraction in serum(-)	F _s	-
Deconjugate rate in large intestine(1/hr)	K _d	2.4
Embryo/Fetus to Placenta diffusion coefficient(L/hr)	PAG1	6.6×10^{-14}
Placenta to Embryo/Fetus diffusion coefficient(L/hr)	PAG2	3.3×10^{-6}

構築した PBPK モデルによる計算結果と、第 5 章の 10mg/kg 単回投与実験で得られた各臓器中濃度を図 6-6 に比較する。点で示すものが実験値で、実線で示すものがシミュレーション結果である。濃度は放射能から換算した BPA 換算濃度 (mg BPA eq./L) であり、総濃度とは、BPA 濃度と BPA-gluc 濃度との総和である。

血液中総濃度の推移から見て、シミュレーション結果は実験値に比べ投与直後の吸収がやや遅いと見られる結果となっている。最初のピーク出現時点が実測ピーク位置から少し遅れているが、ピーク濃度レベルは適切に再現されている。初ピーク以降の濃度推移に関しては、経時変化パターンを含め濃度レベルも良好に再現できている。腸肝循環によると考えられる投与後 6 時間付近の 2 回目の濃度上昇およびその後の緩やかな濃度減少も良好に再現することができた。

胎児以外の臓器における実験結果については、解剖時点設定の制約から、血液中濃度の初ピークに対応するピークを捉えることができていないと考えられる。シミュレーション結果では実験値には見られない高ピークを示しているが、血液中濃度推移から考えてこれは適切であると考えられる。投与後 6 時間付近の 2 回目の濃度上昇およびその後の緩やかな濃度減少も、血液中濃度推移と同様、良好に表せた。

また代謝物成分分析まで行った血液、肝臓、胎児において、総濃度のみならず BPA および代謝物の濃度まで良好に表現できており、代謝に関するパラメータや成分毎のパラメータ設定も良好であると考えられる。ただし胎児においては、他臓器に比べ、特に BPA-gluc 濃度の推移でシミュレーション結果と実験値にやや乖離が見られ、これはモデル上各種代謝物を BPA-gluc に代表させた 1 種類のパラメータで表していることによる限界かもしれない。しかし、他臓器と全く異なる動きを示した胎児中濃度推移の実験結果を、母体-胎児間に拡散機構を仮定することにより、比較的適切に再現できた。

図には示さなかった他の臓器中総濃度や、尿糞中の BPA および代謝物排泄についても、構築したモデルは実験値を良好に再現した。

血液を始め各種臓器における投与後 6 時間付近に出現する 2 回目の濃度上昇、およびその後の緩やかな濃度減少に腸肝循環の機構を仮定し、腸管に小腸と大腸の 2 つのコンパートメントを設定して、代謝物は小腸で大腸で脱抱合を受け BPA に戻され再吸収されるとするモデルを構築した。仮定したこれらの機構が体内濃度推移にどの程度寄与しているかを見るため、胆汁中への BPA-gluc の排泄はそのままに、大腸における脱抱合の機構がないと仮定した場合（腸肝循環なし）のシミュレーション結果を、腸肝循環があるとした元のモデルのシミュレーション結果および実験値と併せて図 6-7 に示す。

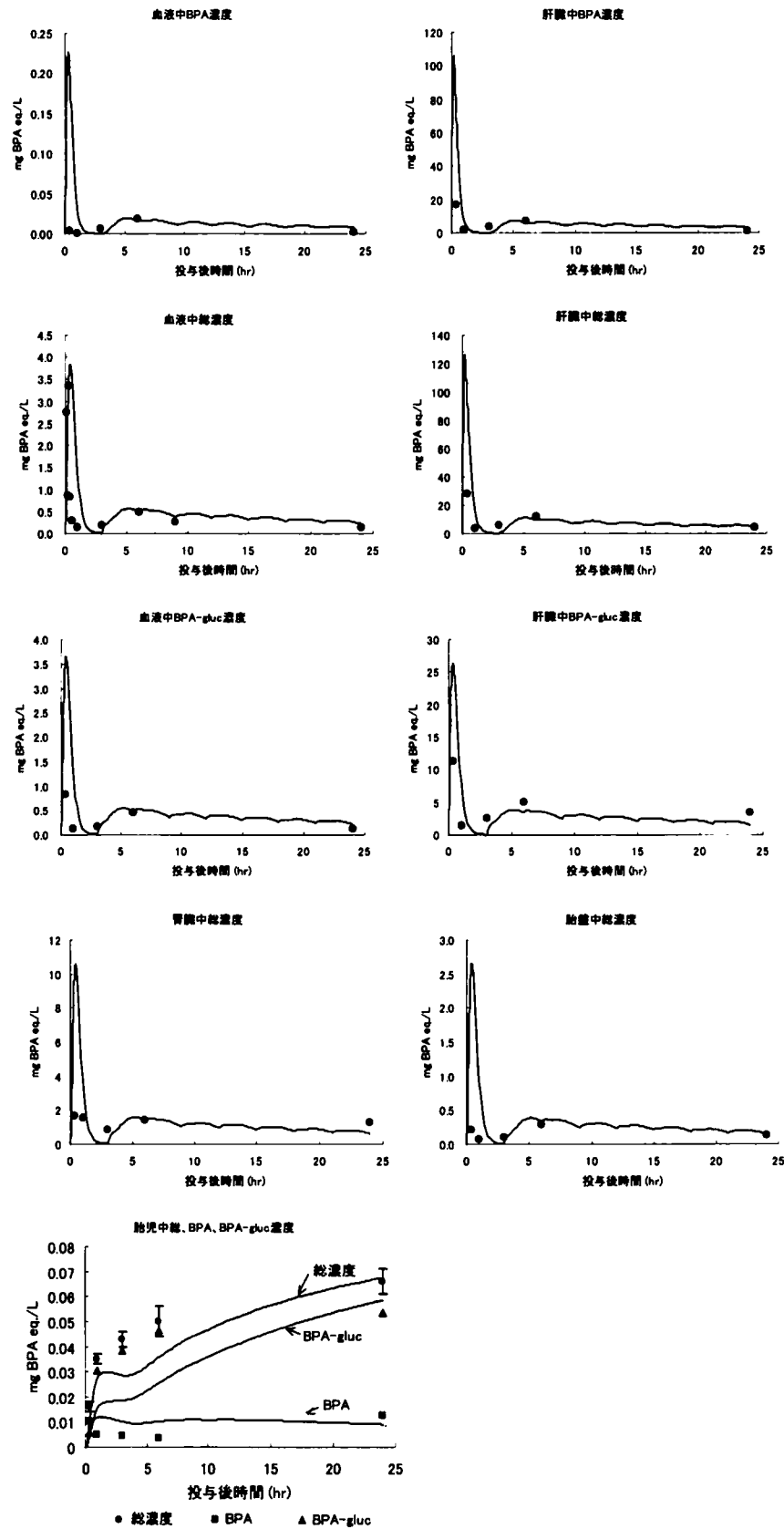


図 6-6 懐胎期マウスへの BPA10mg/kg 単回投与後各臓器中濃度シミュレーション
(—:シミュレーション結果、●▲■:実験値)

腸肝循環がないと仮定すると、血液中総濃度において実験で見られた2回目の濃度上昇は再現することはできず、特に血液中BPA濃度では初ピーク後の濃度再上昇は全く表現できなくなった。また胎児中濃度においても、実験で得られた持続的な濃度上昇および緩やかな濃度減少は腸肝循環がないと仮定すると再現できなくなった。これらより、腸肝循環は体内からのBPAの消失の遅れ、すなわち体内曝露量の増加に寄与していると考えられ、この機構をモデルに組み込むことは重要であると考えられた。

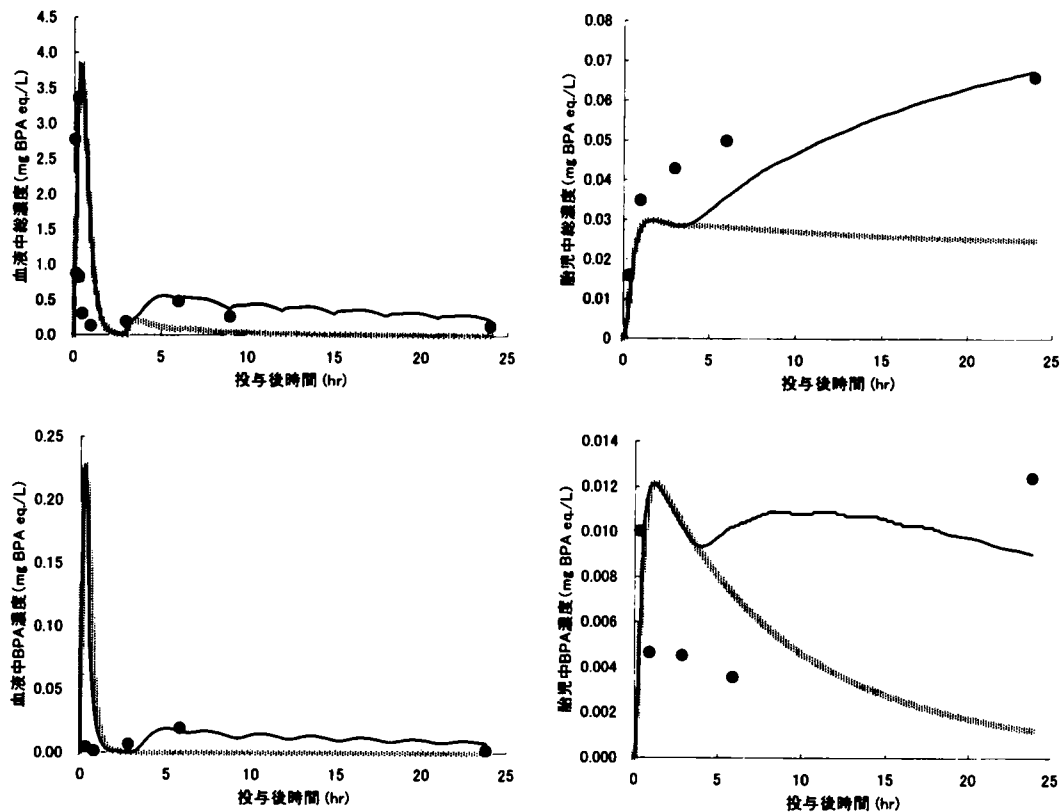


図 6-7 腸肝循環がある場合とない場合のシミュレーション比較

— 懐胎期マウスへのBPA10mg/kg 単回投与

(— : 腸肝循環なし、— : 腸肝循環あり、● : 実験値)

6.1.4 数値シミュレーションによるモデルの検証

6.1.4.1 検証に用いる実験

第5章で行った妊娠 15.5dpc マウスへのBPA100mg/kg 単回投与実験のデータ、および妊娠 15.5dpc から 17.5dpc まで3日間 10mg/kg/day の投与量で繰り返し投与した実験結果を、モデルによる計算値と比較することによりモデルを検証した。表 6-5 に検証実験の実験条件を整理して示す。

表 6-5 マウスの BPA 投与実験条件

	投与量 (mg/kg)	投与経路	投与期間
A	100	経口投与	1日
B	10	経口投与	3日

6.1.4.2 実験 A (100mg/kg 単回投与) による検証

投与量を 100mg/kg に設定し、6.1.3 節までに構築した PBPK モデルを用いてシミュレーションを行った。シミュレーション結果と実験結果とを、図 6-8 に比較する。

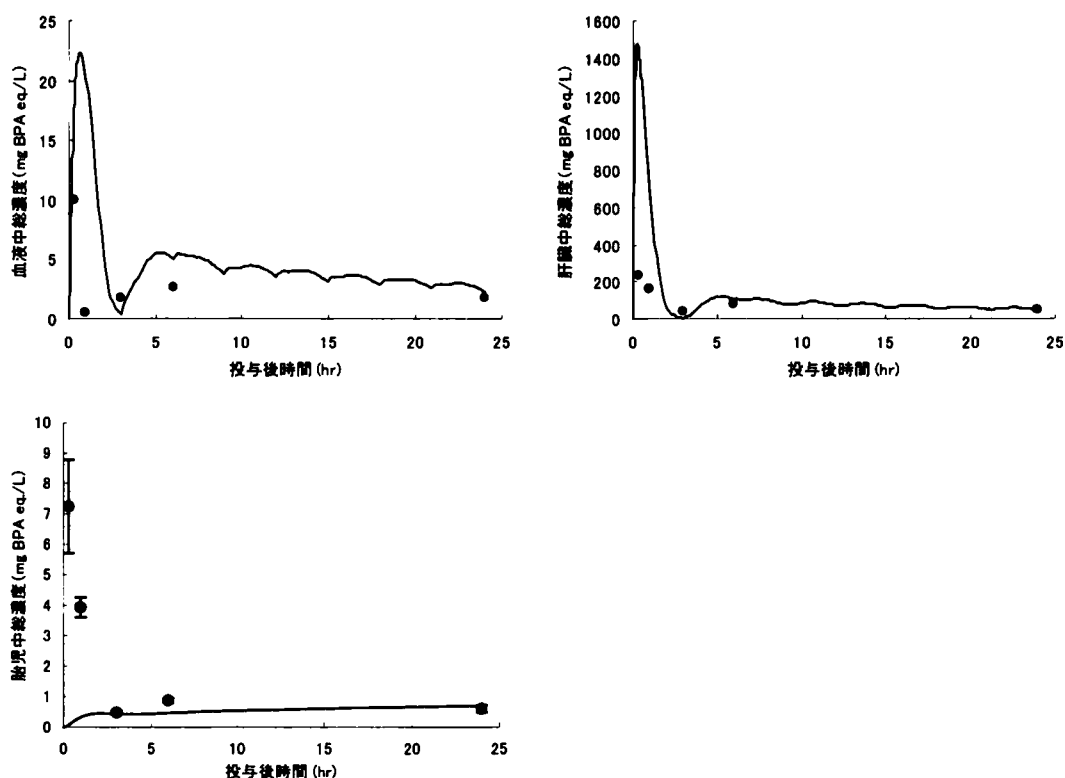


図 6-8 懐胎期マウスへの BPA100mg/kg 単回投与後各臓器中濃度シミュレーション (—:シミュレーション結果、●:実験値)

血液および肝臓中総濃度について、10mg/kg 単回投与に対するシミュレーションと同様、初ピークの出現時点がやや遅いものの、濃度レベルでは実験値をほぼ良好に再現した。胎児中総濃度については、投与直後の実験値が 10mg/kg 投与後とは異なる推移を示している。シミュレーション結果は 10mg/kg 投与時と同様の推移を示したため投与直後の濃度推移を適切に表すことはできなかったが、投与後時間が経過してからの濃度レベルは良好に再現できた。

より低い用量である 1mg/kg を単回投与した場合のシミュレーション (図 6-9) においても、投与直後の胎児中総濃度推移において実験値との間にやや乖離が見られた。この投与

量においても、実験値が投与直後には 10mg/kg 投与後とは異なる推移を示しており、母体血液・胎児間には単純な拡散機構を超えたより複雑な機構が働いており、その機構が濃度に対して非線形に応答する可能性が考えられる。またモデル上各種代謝物を BPA-gluc に代表させた 1 種類のパラメータで表しているが、母体血液・胎児間の機構が代謝物毎に異なる濃度依存性を示す可能性も考えられる。より精密なモデルを構築するためには、この機構の実験的解明とモデルへの導入が必要となると考えられるが、本研究で構築したモデルに用いた単純な拡散機構によっても投与後時間が経過してからの胎児中曝露量レベルは良好に予測できると考えられる。

構築したモデルは、フィッティングに用いた実験条件の 10 倍から 1/10 倍の曝露量に対しても、体内曝露レベルを比較的良好に予測できるモデルであると言える。

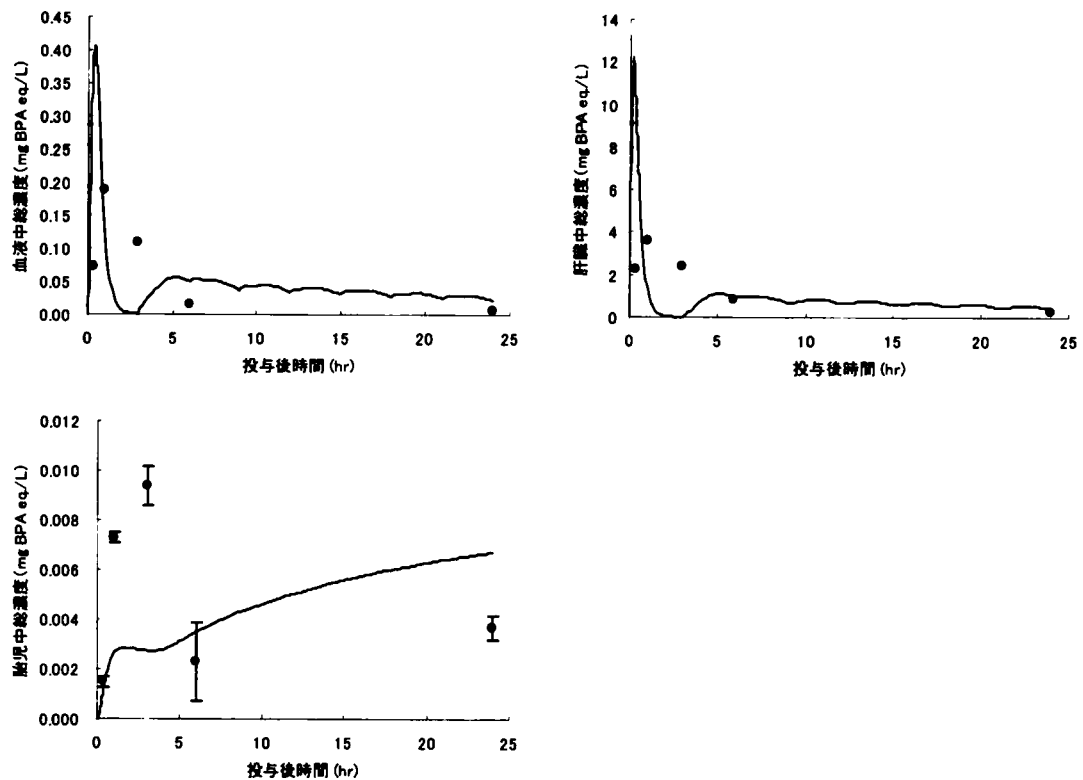


図 6-9 懐胎期マウスへの BPA1mg/kg 単回投与後各臓器中濃度シミュレーション
(—:シミュレーション結果、●:実験値)

6.1.4.3 実験 B (10mg/kg 連続投与) による検証

妊娠 15.5dpc から 17.5dpc までの 3 日間に 10mg/kg/day を繰り返し投与した場合の体内濃度を、構築した PBPK モデルを用いてシミュレーションした。シミュレーション結果と実験結果とを図 6-10 に示す。

血液、肝臓、胎児中総濃度のいずれについても、3 回連続投与後の濃度レベルがシミュレーションによりほぼ良好に再現された。胎児における BPA およびその代謝物の蓄積傾向

が母体に比べて高いことを実験により示したが、構築したモデルはこの現象を良好に再現した。

以上の検証により、構築したモデルは懐胎期マウスにおける BPA 連続曝露後の体内曝露レベル予測に用いるに足ると判断できる。

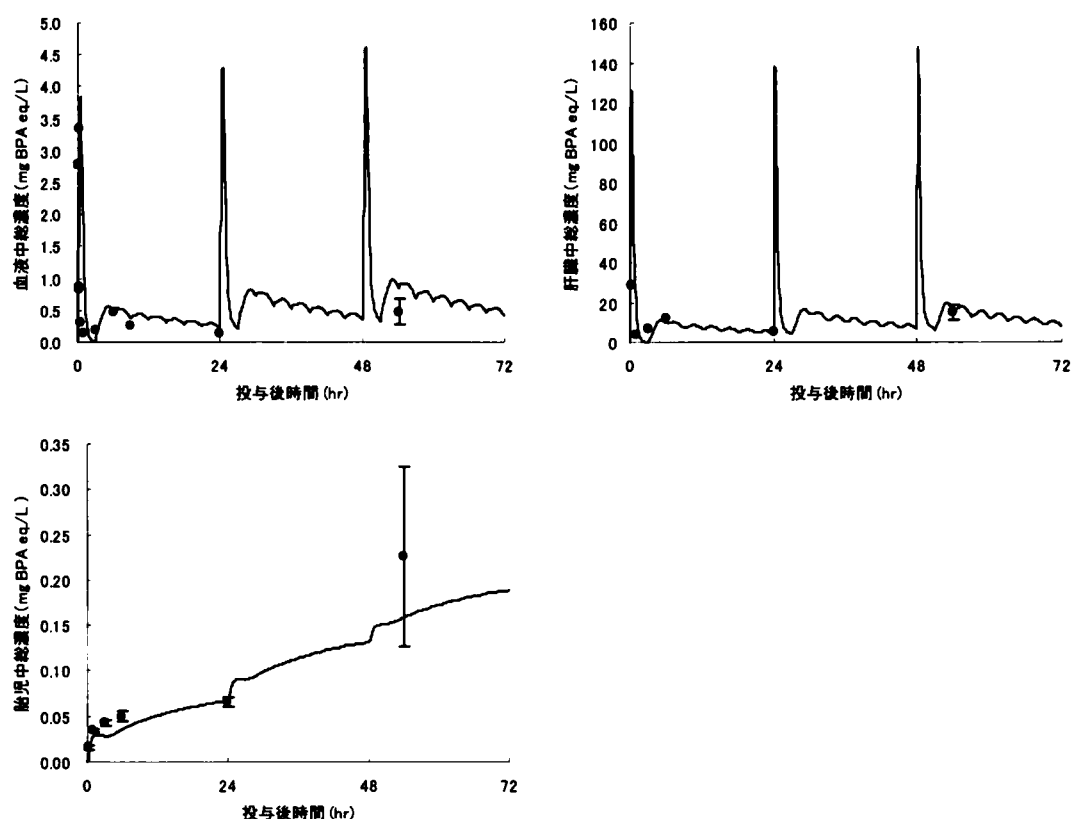


図 6-10 懐胎期マウスへの BPA10mg/kg/day 3 回連続投与後臓器中濃度シミュレーション
(—：シミュレーション結果、●：実験値)

6.1.5 パラメータ感度解析

構築した懐胎期マウス PBPK モデルのパラメータのうち、フィッティングにより定めた主要パラメータの感度を解析する。各パラメータを同率変化させた場合にシミュレーション結果に与える影響の大きさを解析する。ここではパラメータを一律に 10 倍もしくは 1/10 倍の値に変え、マウスに BPA を 10 mg/kg 単回投与後の血液中 BPA 濃度、血液中 BPA-gluc 濃度、胎児中 BPA 濃度、胎児中 BPA-gluc 濃度のシミュレーション結果における変化の程度を解析した。結果を図 6-11 に示す。

血液中 BPA 濃度の初ピーク出現後の推移には、BPA に関するパラメータのみならず

BPA-gluc に対するパラメータも影響を及ぼしており、シミュレーションにおける血液中濃度推移にはモデルに組み込んだ腸肝循環機構が影響を及ぼしていることが示唆される。BPA-gluc 胆汁排泄速度の低下は、通常であれば尿排泄速度の低下と同様に、体内からの BPA 消失の遅延に寄与し、血液中 BPA 濃度は上昇すると考えられる。しかし、BPA-gluc 胆汁排泄速度定数を 1/10 にすることにより血液中 BPA 濃度は逆に低下した。これは排泄された胆汁中 BPA-gluc が血液中 BPA 濃度を高めていることを意味し、モデルにおける腸肝循環が作用し実験結果の再現に寄与していることが分かる。初ピークの変動要因は、ほぼ BPA 吸収速度定数のみであると考えられた。母体・胎児間の拡散係数の変動は、想定した変動範囲においては、母体血液中濃度には全く影響しなかった。

胎児中 BPA および BPA-gluc 濃度には、各々の母体・胎児間拡散係数のみならず、母体内の動態に大きな感度を有するパラメータが高い感度で影響を与えることが分かった。

各種パラメータの 10 倍もしくは 1/10 倍の変動は、血液中 BPA 濃度、血液中 BPA-gluc 濃度、胎児中 BPA 濃度、胎児中 BPA-gluc 濃度に相反する影響を与える場合もあったが、この中から実験値を良好に再現するパラメータをフィッティングにより設定することができた。

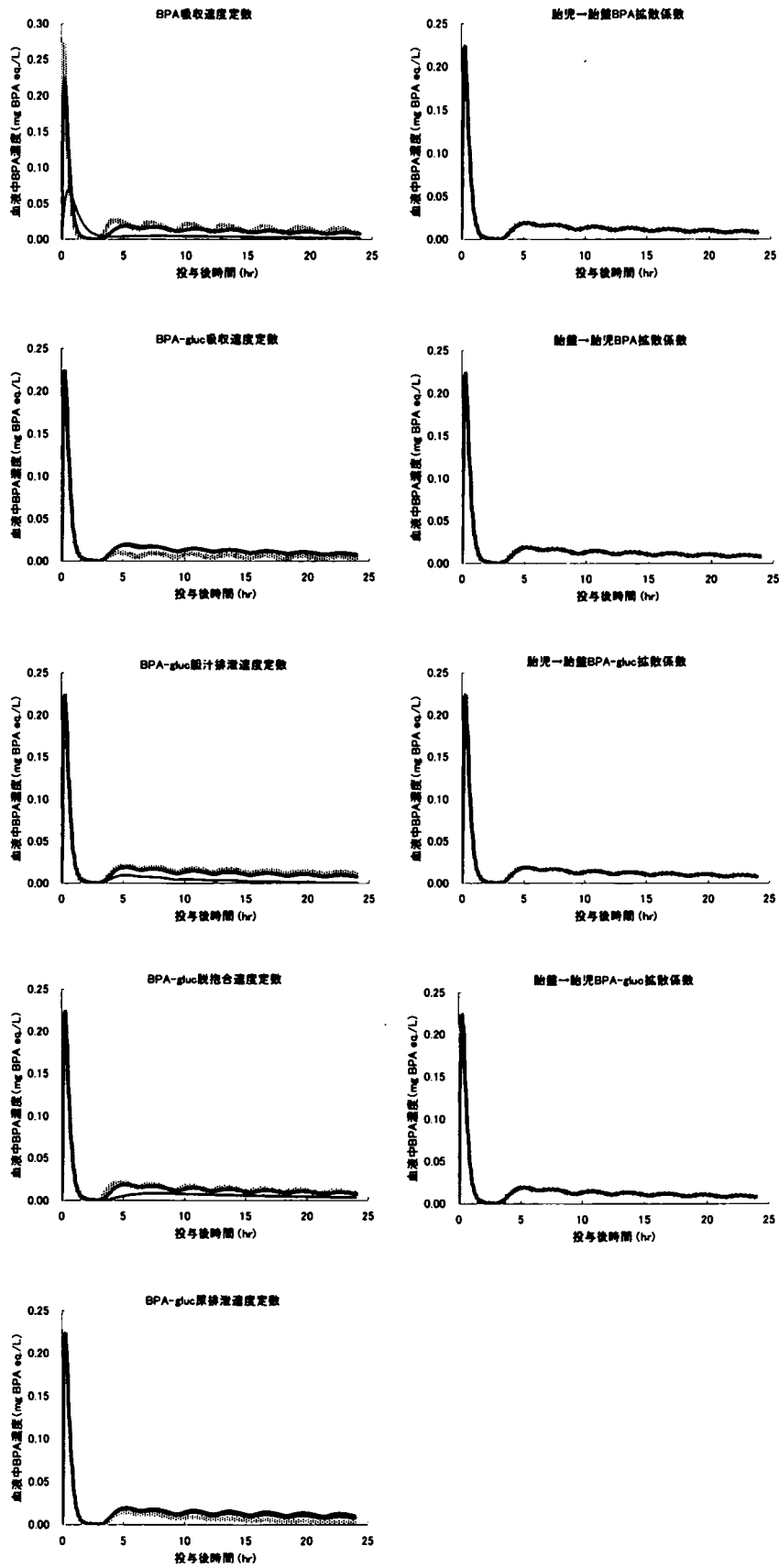


図 6-11(A) マウス PBPK モデルの血液中 BPA 濃度に対するパラメータ感度解析
 (— : 10 倍値パラメータ、- - : 基準値、... : 1/10 倍値パラメータ)

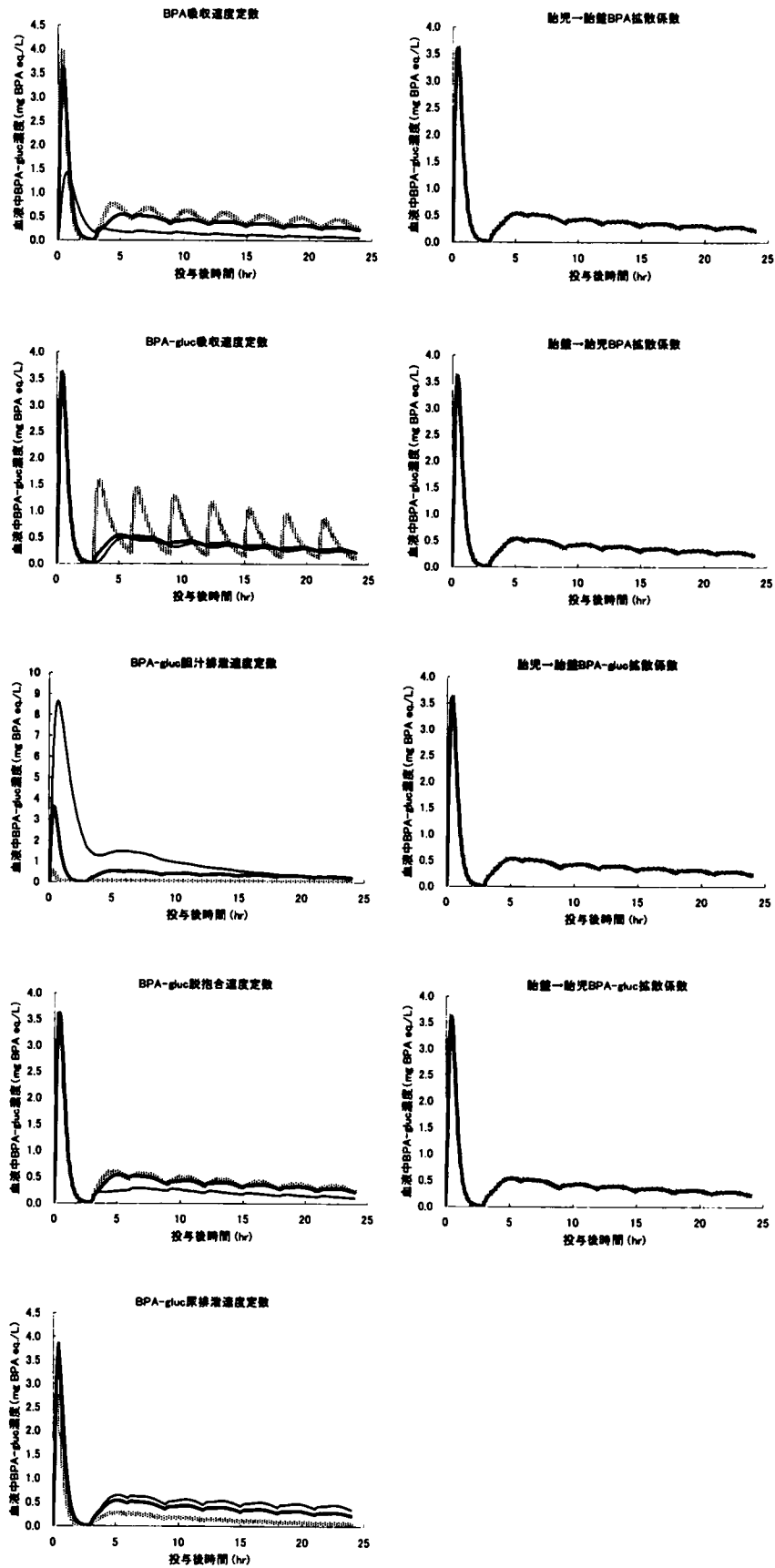


図 6-11(B) マウス PBPK モデルの血液中 BPA-gluc 濃度に対するパラメータ感度解析
 (—: 10 倍値パラメータ、—: 基準値、---: 1/10 倍値パラメータ)

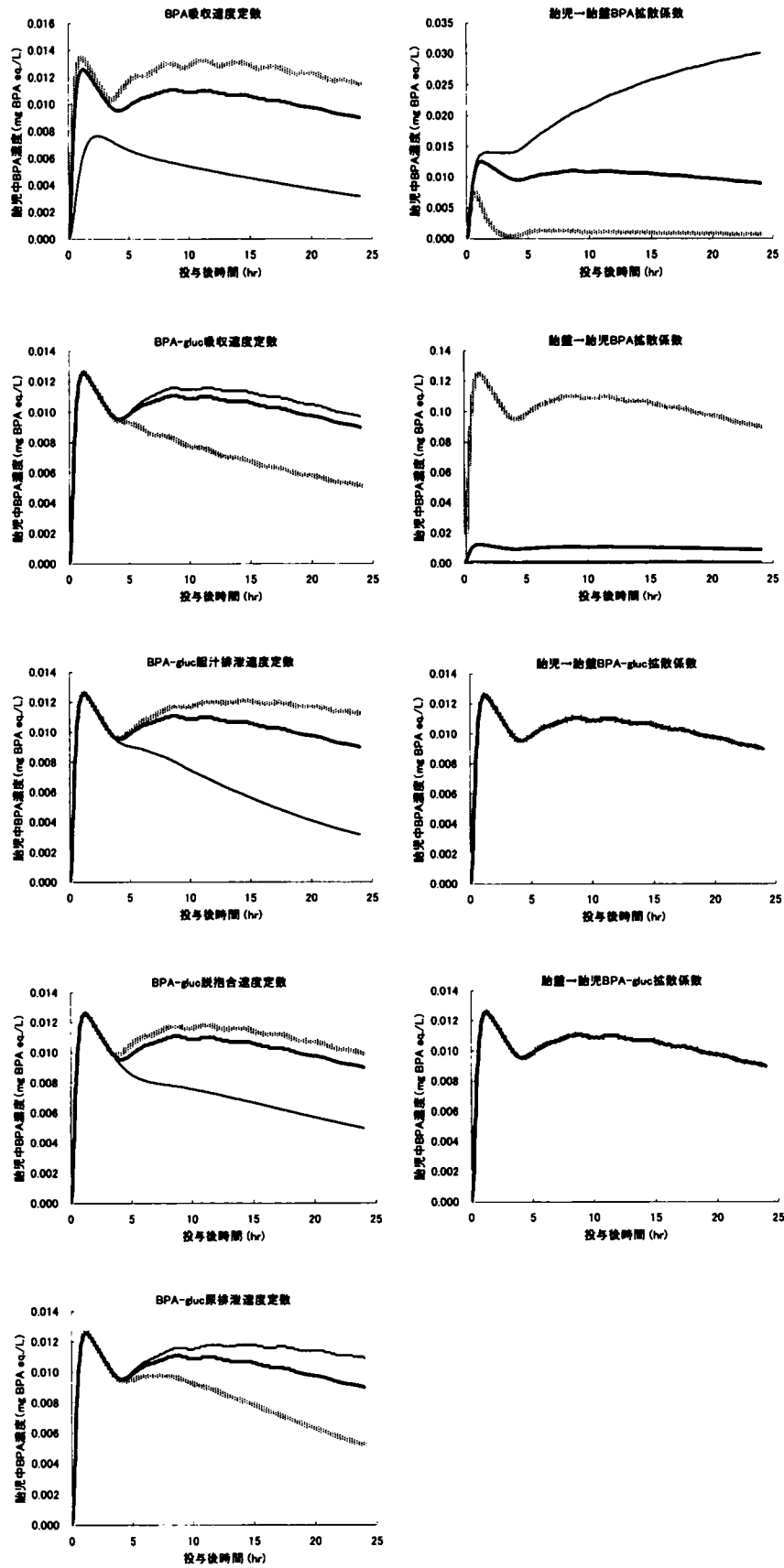


図 6-11(C) マウス PBPK モデルの胎児中 BPA 濃度に対するパラメータ感度解析
 (—: 10 倍値パラメータ、---: 基準値、····: 1/10 倍値パラメータ)

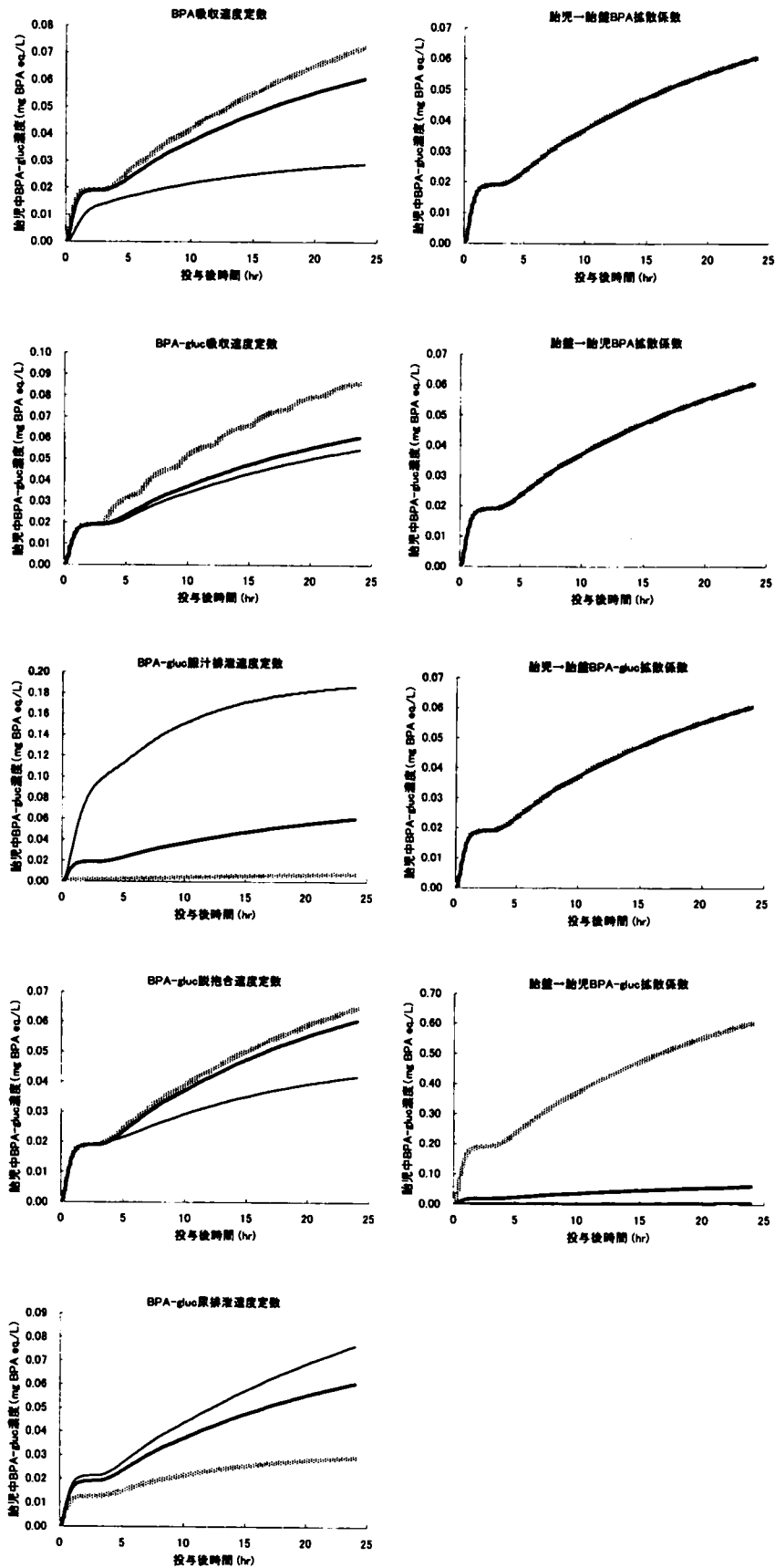


図 6-11(D) マウス PBPK モデルの胎児中 BPA-gluc 濃度に対するパラメータ感度解析
 (—: 10 倍値パラメータ、- - -: 基準値、· · ·: 1/10 倍値パラメータ)

6.1.6 構築モデルによるマウス全妊娠期間 BPA 曝露シミュレーション

構築した PBPK モデルを用い、妊娠全期間（20 日間とする）を通じてマウスに BPA 10mg/kg/day を繰り返し投与した場合の体内濃度をシミュレーションした。シミュレーション結果を図 6-12 に示す。

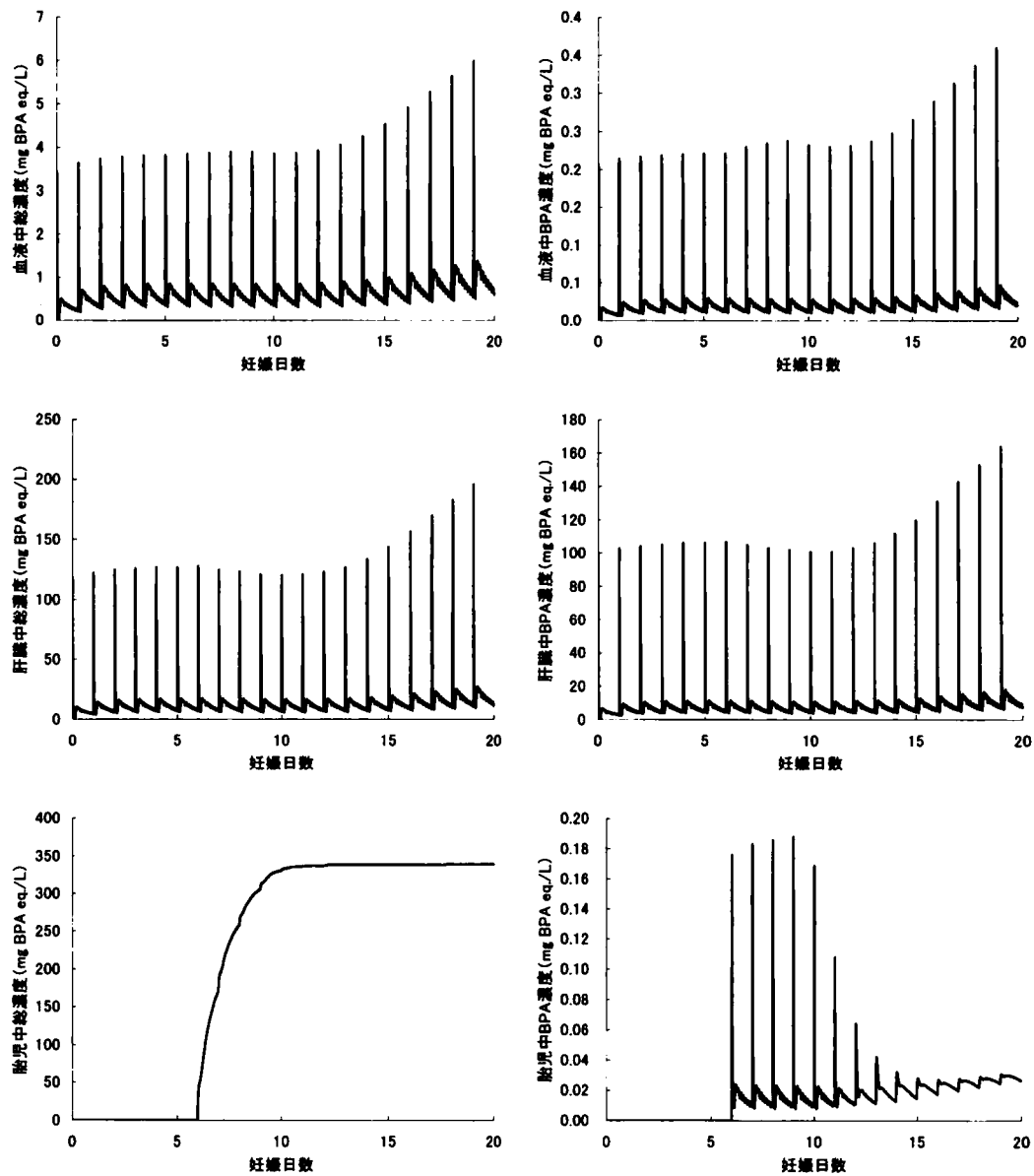


図 6-12 懐胎期マウスへの全妊娠期間にわたる BPA10mg/kg/day 連続投与後臓器中濃度シミュレーション

血液および肝臓においては総濃度、BPA 濃度ともに、妊娠日数の経過に伴い同様の変化パターンを示した。この変化パターンは、異なる妊娠日数における 10mg/kg 単回投与シミュレーション（データ示さず）でも見られ、妊娠日数の経過に伴う血流量、胎盤・胎児の

成長等の生理的変動に伴う各回投与後の濃度レベルの変動がその主たる要因である。先行する投与により臓器組織中に残存した BPA 等が、新たに投与された BPA 等の動態に影響を及ぼす等の、連続投与による影響は小さいと考えられる。

胎児においては、各回投与後の BPA 濃度推移が妊娠日数により著しく異なった。妊娠終盤（15 日以降）においてはフィッティングや検証に用いた実験結果を良好に再現しているが、着床（6 日）後初期においては、投与直後に高ピークを示した。このシミュレーション結果が示す妊娠経過に伴う変化は、投与を重ねた妊娠終盤において、同時期における単回投与の実験結果と一致していることから、連続投与によるものではなく、妊娠による生理的変動に伴うものであると推測される。胎児中総濃度のシミュレーション結果は、着床後に投与を重ねるに伴って BPA および代謝物が著しく蓄積する様を示した。胎児中 BPA 濃度のシミュレーション結果と胎児中総濃度を比較することにより、著しい蓄積は BPA 代謝物によるものと考えられる。これは妊娠 15 日目から 17 日目までの 3 回連続投与実験およびシミュレーションの結果から予想されるよりはるかに高濃度の蓄積であった。BPA に関しては代謝物によるリスクは BPA に比べ低いとされるが、妊娠初期における胎児への物質移行性が妊娠終盤とは著しく異なり、妊娠初期には胎児の化学物質曝露の危険性が高い可能性が示された。本研究においては妊娠経過による生理的変動として注目すべき胎盤機能の変化、すなわちモデルにおける母体・胎児拡散係数の妊娠経過に伴う変化についても、今後検討するべきであると考えられる。

6.2 BPA のヒトにおける PBPK モデルへの展開

6.2.1 懐胎期ヒトにおける BPA の PBPK モデルの構造

懐胎期ヒトの PBPK モデルの構造は、6.1.2 に述べた懐胎期マウスの PBPK モデルの構造と同じとした。モデルを表す連立微分方程式もマウスの PBPK モデルと同じものを使用した。動物種差が考えられるパラメータをヒトのものへ変換することにより種差外挿を図った。用いる記号および単位もマウスに対する PBPK モデルと同じである。

6.2.2 パラメータの決定

6.2.2.1 生理学的パラメータ

1) 臓器容積

臓器容積には Brown ら[2]による報告値を用い、妊娠に伴う容積変化については Haddad ら[9]のデータから変化式を以下のように導出して適用した。

胎盤

$$MB_{PL} = 0.858/280 \times AGE$$

胎児

$$\text{AGE} < 98 \quad \text{MB}_{\text{EF}} = 0.0311 \times \text{PWBODY} \cdot 1.710$$

$$98 \leq \text{AGE} \quad \text{MB}_{\text{EF}} = 0.6716 \times \text{PWBODY} \cdot 38.954$$

乳腺

$$\text{MB}_{\text{MT}} = (9.6 \cdot 4.4) / 280 \times \text{AGE} + 4.4$$

AGE : 妊娠日数 (日)

PWBODY : 懐胎期ヒトの体重 (kg=L)

2) 血流量

血流量には Brown ら[2]による報告値を用い、また胎盤への血流量変化を表す文献データは得られなかったため、胎盤の容積変化に比例して変化するものとした。

胎盤への血流量 (L/hr)

$$\text{QB}_{\text{PL}} = 0.5 / 280 \times \text{AGE}$$

乳腺への血流量 (L/hr)

$$\text{QB}_{\text{MT}} = (4.7 \cdot 2.8) / 280 \times \text{AGE} + 2.8$$

3) 消化管内移動速度

マウスの場合と同様に、ヒトにおける消化管内滞留時間の文献値[3]を基に設定した。

4) 胆汁分泌

胆嚢から小腸への胆汁分泌は、1日3回の食事時に胆嚢内全量が分泌されるとした。

6.2.2.2 物理化学的パラメータ

BPAの物理化学的性質に基づくパラメータは化学物質に固有なので、ヒトのPBPKモデルにもマウスのPBPKモデルと同じ値を用いた。組織/血液分配率についても、ヒトとマウスとでは動物種差が比較的小さいと考えられているため、第1近似としてマウスと同じ値を用いた。

6.2.2.3 生化学的パラメータ

血清タンパク結合に関するパラメータおよびBPA代謝に関するパラメータは、6.1.3.3に記載のとおり、ヒトのタンパクを用いた実験によって定めた。脱抱合反応速度定数については、文献[3]によるβグルクロニダーゼ活性の種差に、腸内容物量の違い(体重比例とする)を考慮して、マウスの0.45倍の値を適用した。BPAの尿中および胆汁排泄速度定数には、尿および胆汁の排泄速度文献値[3]の種差に、腎臓および肝臓の臓器容積の違いを考慮

して、各々マウスの 1.7 倍および 0.038 倍の値を適用した。吸収速度定数にはマウスで定めた値を用いた。

以上のようにして設定したパラメータ値を、表 6-8 および 6-9 に示す。

6.2.3 数値シミュレーション

第 4 章に述べたとおり、ヒト成人が日常的に曝露される BPA 量は、約 20 $\mu\text{g}/\text{day}$ と見積もられ、またその大部分が食品および食器を介して経口的に摂取されと考えられた。従ってヒトの BPA 曝露は一日 3 回の食事時 (7:00、12:00、19:00) に起こるとし、各回均等量摂取されとした。本研究で構築した BPA の懐胎期ヒトにおける PBPK モデルを用い、全妊娠期間を通じてこの摂取量で BPA に曝露され続けた場合の体内動態をシミュレーションする。

表 6-8 本研究で設定した懐胎期ヒトの BPA に対するパラメータ値

Body weight(kg)	PWBODY	55→65
Percent body weight(-)		
Kidney	MB _{KI}	0.4
Well perfused tissues	MB _{WP}	16.6·MB _{MT} ·MB _{PL} ·MB _{EF}
Poorly perfused tissues	MB _{PP}	36.9
Uterus	MB _U	0.9
Brain	MB _{BR}	2.0
Fat	MB _F	32.7
Mammary tissue	MB _{MT}	4.4→9.6
Liver	MB _{LI}	2.6
Placenta	MB _{PL}	0→0.858
Embryo/Fetus	MB _{EF}	本文(6.2.2.1)参照
Cardiac output(L/hr)	PQ	15.0(PWBODY) ^{0.74}
Percent of cardiac output(-)		
Kidney	QB _{KI}	17.0
Well perfused tissues	QB _{WP}	12.5·QB _{MT}
Poorly perfused tissues	QB _{PP}	22.0
Uterus	QB _U	0.5
Brain	QB _{BR}	12.0
Fat	QB _F	8.5
Mammary tissue	QB _{MT}	2.8→4.7
Liver	QB _{LI}	27.0
Placenta	QB _{PL}	0→0.5
Partition coefficient(-)		
Kidney	P _{KI}	0.858
Well perfused tissues	P _{WP}	1.43
Poorly perfused tissues	P _{PP}	0.682
Uterus	P _U	0.693
Brain	P _{BR}	1.34
Fat	P _F	1.16
Mammary tissue	P _{MT}	0.957
Liver	P _{LI}	384
Placenta	P _{PL}	0.880
Embryo/Fetus	P _{EF}	0.308

(continued)

Pharmacokinetic constants		
Absorption rate constant(1/hr)	K_a	10.0
Excretion rate constant from Kidney(1/hr)	KE_{KI}	0.0
Gastric emptying rate for small intestine(1/hr)	KE_{SG}	0.25
Gastric emptying rate for large intestine(1/hr)	KE_{LG}	0.03
Biliary excretion rate from liver(1/hr)	K_b	0.0
Biliary excretion rate from gall·bladder(1/hr)	K_{b2}	0.0
Metabolic max reaction rate(mg/hr)	V_{max}	829
Michaelis constant(mg/L)	K_m	6.20
Unbound fraction in serum(·)	F_s	0.0268
Deconjugate rate in large intestine(1/hr)	K_d	-
Embryo/Fetus to Placenta diffusion coefficient(L/hr)	PA1	2.0×10^{-5}
Placenta to Embryo/Fetus diffusion coefficient(L/hr)	PA2	5.2×10^{-5}

(→ は、妊娠 1 日から 280 日(最終日)までの変動幅を示す。)

表 6-9 本研究で設定した懐胎期ヒトの BPA-gluc に対するパラメータ値

Body weight(kg)	PWBODY 55→65	
Percent body weight(-)		
Kidney	MB _{KI}	0.4
Well perfused tissues	MB _{WP}	16.6·MB _{MT} ·MB _{PL} ·MB _{EF}
Poorly perfused tissues	MB _{PP}	36.9
Uterus	MB _U	0.9
Brain	MB _{BR}	2.0
Fat	MB _F	32.7
Mammary tissue	MB _{MT}	4.4→9.6
Liver	MB _{LI}	2.6
Placenta	MB _{PL}	0→0.858
Embryo/Fetus	MB _{EF}	本文(6.2.2.1)参照
Cardiac output(L/hr)		
	PQ	15.0(PWBODY) ^{0.74}
Percent of cardiac output(-)		
Kidney	QB _{KI}	17.0
Well perfused tissues	QB _{WP}	12.5·QB _{MT}
Poorly perfused tissues	QB _{PP}	22.0
Uterus	QB _U	0.5
Brain	QB _{BR}	12.0
Fat	QB _F	8.5
Mammary tissue	QB _{MT}	2.8→4.7
Liver	QB _{LI}	27.0
Placenta	QB _{PL}	0→0.5
Partition coefficient(-)		
Kidney	P _{KI}	3.18
Well perfused tissues	P _{WP}	0.271
Poorly perfused tissues	P _{PP}	0.387
Uterus	P _U	0.581
Brain	P _{BR}	0.125
Fat	P _F	0.220
Mammary tissue	P _{MT}	0.270
Liver	P _{LI}	6.76
Placenta	P _{PL}	0.680
Embryo/Fetus	P _{EF}	0.0580

(continued)

Pharmacokinetic constants		
Absorption rate constant(1/hr)	K_a	0.1
Excretion rate constant from Kidney(1/hr)	KE_{KI}	12.75
Gastric emptying rate for small intestine(1/hr)	KE_{SG}	0.25
Gastric emptying rate for large intestine(1/hr)	KE_{LG}	0.03
Biliary excretion rate from liver(1/hr)	K_{BG}	0.324
Biliary excretion rate from gall-bladder(1/hr)	K_{BG2}	10000(毎食事時)
Metabolic max reaction rate(mg/hr)	V_{max}	-
Michaelis constant(mg/L)	K_m	-
Unbound fraction in serum(-)	F_s	-
Deconjugate rate in large intestine(1/hr)	K_D	1.09
Embryo/Fetus to Placenta diffusion coefficient(L/hr)	PAG1	6.6×10^{-14}
Placenta to Embryo/Fetus diffusion coefficient(L/hr)	PAG2	3.3×10^{-6}

(→ は、妊娠 1 日から 280 日(最終日)までの変動幅を示す。)

6.2.4 シミュレーション結果

日常的にBPAを経口摂取している懐胎期ヒトの、任意の1日および全妊娠期間の臓器中BPAおよびBPA-gluc濃度のシミュレーション結果を図6-13および6-14に示す。

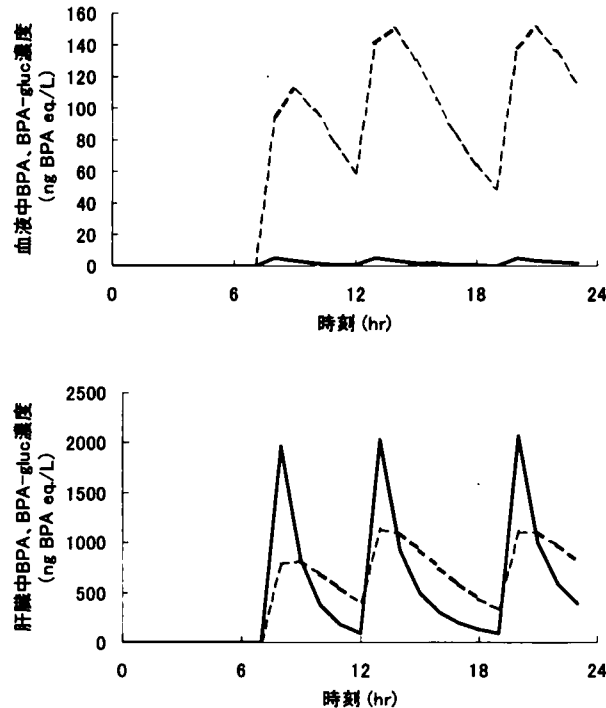


図 6-13 懐胎期ヒトの日常的BPA曝露による臓器中濃度の日内シミュレーション
(—:BPA、--:BPA-gluc)

図6-13より、設定した一日3回の食事時(7:00、12:00、19:00)のBPA摂取毎に血液中BPAおよび代謝物濃度は上昇し、摂取後1・2時間でピークに達した後、次のBPA摂取前まで減少を続けると予測された。シミュレーション結果からは、血液中BPA濃度は総濃度(代謝物を含むBPA関連物質の総濃度)の数%程度であり、これはマウスにおける実験値と同程度であった。

同様のBPA曝露を全妊娠期間にわたって繰り返した懐胎期ヒトの体内曝露レベルシミュレーション結果(図6-14)から、血液、肝臓、胎盤中BPA濃度には、BPAの繰り返し摂取による体内動態の変化も、妊娠による生理的变化の影響も大きくは見られず、全妊娠期間を通して同様の幅での濃度変化を繰り返すと予測された。胎児中BPA濃度は妊娠初期にBPA摂取の繰り返しにより急速に蓄積を重ね、数日の経過後に定常値に到達すると予測された。

体内曝露のシミュレーション結果をヒトの臨床データと比較する。過去に報告された日本人の血清中BPA濃度は0.21-2.4 ng/mL[10,11,12]であり、ヘマトクリット値を0.4としてこの血清中濃度を血液中濃度に換算すると0.13-1.4 ng/mLである。シミュレーション結

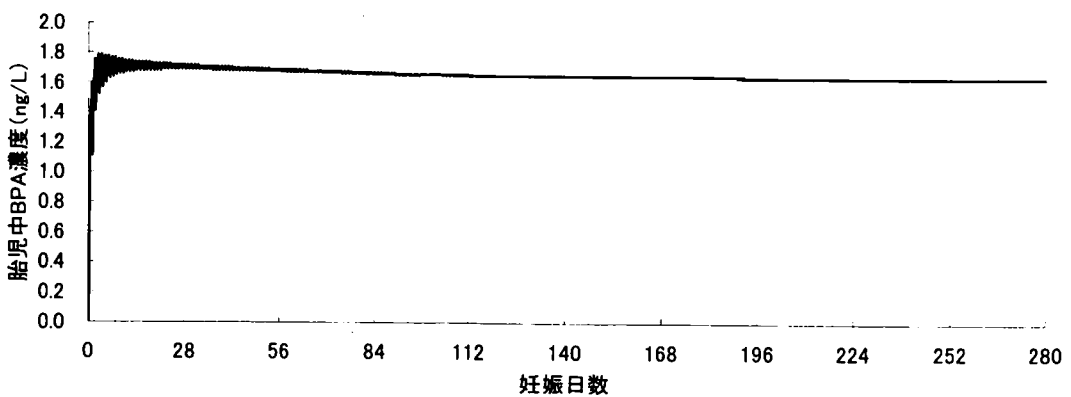
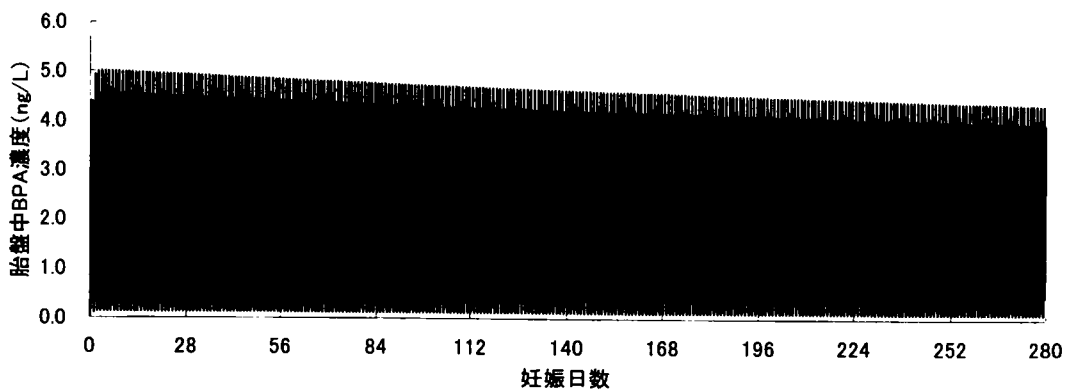
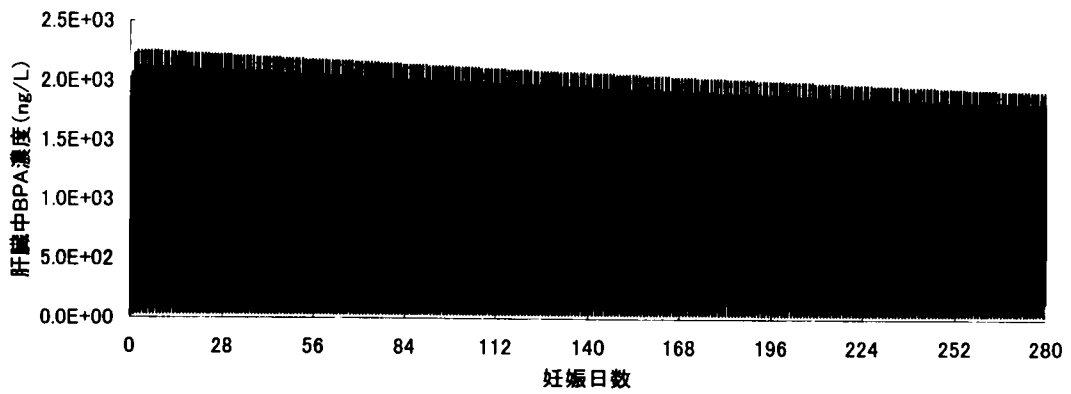
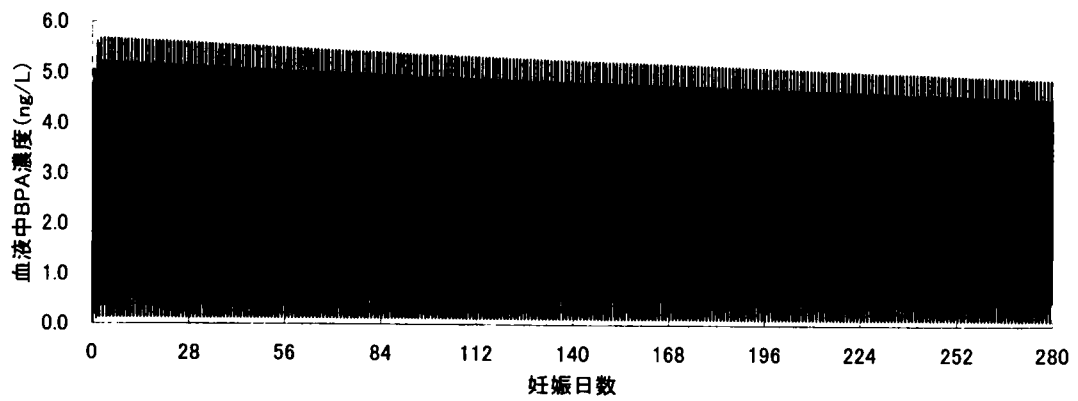


図 6-14 懐胎期ヒトの全妊娠期間にわたる日常的 BPA 曝露による臓器中濃度シミュレーション

果からは、母体血液中 BPA 濃度は最大 5 ng/L (5 pg/mL) 程度までの幅を変動するが、これは実測値に比べ 2・3 オーダー程度小さい。胎児血液中 BPA 濃度としては 9.2 ng/mL の報告[13]があるが、シミュレーションによる胎児中 BPA 濃度もこれより 3 オーダー程度低い値となった。ヒトの日常的 BPA 摂取量 0.11 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{一食}$ (20.129 $\mu\text{g}/\text{day}$ の 1/3 量、ヒト体重 60 kg とする) をマウスに単回投与したとして、10mg/kg 投与の場合のマウス血液中 BPA 濃度から単純計算により血液中濃度を見積もると、最大 2ng/L 程度までを変動することとなり、ヒト血液中 BPA 濃度のシミュレーション結果と同程度の値となる。マウス PBPK モデルは投与量が 10mg/kg の 1/10 と低い場合でも実験値を良好に再現しており、これから推定して、同構造のモデルを低濃度側に適用することによる誤差の可能性は高くはないと考えられる。それよりも、マウスとヒトとの種差が大きいパラメータが、本モデルにおいて考慮したもの以外にある可能性が高いと考えられる。

例えば代謝に関するパラメータとして、肝臓 S9 画分タンパク量当たりの BPA 代謝活性を各動物種に対し実験的に求めて適用したが、肝臓中の S9 画分タンパク含有量が動物種毎に得られなかったため、両種にラットの値を適用した。ヒトの S9 画分タンパク量がマウスに比べ著しく少ないとすると、本ヒトモデルは BPA 代謝を過大に見積もっていることになり、血液中 BPA 濃度を現実より低く予測することになる。仮にヒトの肝臓中 S9 画分タンパク量をマウスの 2 オーダー低い値に設定してシミュレーションすると、血液中 BPA 濃度は線形には増加しないものの 2 オーダー高い値で定常値となり、臨床データの最低値レベルとなった。しかし、ヒトの肝臓中 S9 画分タンパク量がマウスより 3 オーダー低いと仮定してシミュレーションすると、BPA の代謝は実質的には起こらなくなり、血液中 BPA 濃度は BPA 摂取を重ねるに従い単調に増加し続け、妊娠期間の最期 (280 日間 BPA 摂取後) には 8 ng/mL となった。さらに長期の曝露では曝露期間に応じて単調に血液中 BPA 濃度が高まることになり、臨床データがある程度の範囲内に収まっていることを考えると、S9 画分タンパク量が 3 オーダー低いという仮定は適切でないと考えられる。従って、肝臓中 S9 画分タンパク量の種差を最大に見積もったとしても、臨床データの最低値レベルまでしか到達し得ない。

そこで、種差を考慮すべきパラメータの一つが仮に肝臓中 S9 画分タンパク量だとしても、さらに別のパラメータにも種差を見積もるべきであると考えられる。マウスにおける BPA の肝臓移行にトランスポーターの介在を仮定し、BPA の物理化学的肝臓/血液分配率より高率に肝臓に分配されるモデルを構築したが、このトランスポーターにも種差がある可能性が考えられ、機構の実験的解明を含め、種差の詳細な推定が必要であると考えられる。仮にヒトにおいてはトランスポーターが介在せず、BPA の物理化学的肝臓/血液分配率に従って肝臓に分配されるとすると、BPA の肝臓/血液分配率がマウスより 2 オーダー程度低いことになるが、この仮定の元ではヒト血液中 BPA 濃度は臨床データの最低値レベルとなった。

よって、肝臓中 S9 画分タンパク量と BPA の肝臓/血液分配率という 2 つのパラメータに種差を設定することにより、本モデルによる血液中 BPA 濃度予測値が臨床データ範囲を満

たすことは可能であると考えられる。パラメータの実験的推定が必要であるとともに、これらのパラメータの変動によって大きく影響を受ける肝臓中 BPA 濃度についても、検証すべきヒト臨床データがあればモデルの現実性の向上につなげることができる。

ラットとサルにおける BPA の体内動態の種差を実験的に検討した研究[14]においても、同用量の BPA を経口投与後の血液中 BPA 濃度はサルの方が 2・3 オーダー高いと報告されており、BPA 体内動態の動物種差は *in vivo* 実験でも証明されている。よって本研究で構築したマウスに対する PBPK モデルをヒトに対して展開するためには、上述の 2 つのパラメータ以外にも、体内曝露総量の決定因子である吸収速度定数等も含め、種々パラメータの種差をより詳細に検討する必要があると考えられる。重要な課題を残すこととなったが、BPA の体内動態に種差が極めて大きく、ヒトの BPA 体内曝露レベルはマウスから予測されるよりかなり高いことが本研究におけるシミュレーション結果から示唆され、ヒトにおける BPA の体内動態予測にはより慎重さが必要であることが分かった。

一方、臨床データがどのような曝露状態に置かれた個人について得られたのかは明らかではない。ヒトに対する個別の曝露状況を踏まえた臨床データ、疫学調査の進展が望まれる。

6.3 考察

本章では、まず、懐胎期マウスの体内における BPA の動態を評価する PBPK モデルを構築した。文献値、実験的方法およびフィッティングにより各種パラメータを決定し、フィッティングに用いた 10 mg/kg 単回投与実験を始め、その 10 倍および 1/10 倍量単回投与実験、10 mg/kg 投与量での 3 日間連続投与実験の結果を良好に再現するモデルが構築できた。実験結果から関与が推察された腸肝循環機構をモデルに組み込んだことにより、実験により確認した血液中濃度の 2 回目のピークおよび濃度減少の遅延、胎児中濃度における持続的な濃度上昇および減少の遅延を再現することができ、この機構をモデルに組み込むことは重要であると考えられた。代謝物成分分析を行った血液、肝臓、胎児において、総濃度のみならず BPA および代謝物の濃度までを良好に表現できており、代謝に関するパラメータや成分毎のパラメータ設定もマウスにおいては良好であると考えられた。ただし胎児では、他臓器に比べ、特に BPA-gluc 濃度の推移でシミュレーション結果と実験値にやや乖離が見られ、これはモデル上各種代謝物を BPA-gluc に代表させた 1 種類のパラメータで表していることによる限界かもしれない。しかし、実験において他臓器と全く異なる推移を示した胎児中濃度を、モデルにおいて母体-胎児間に拡散機構を仮定することにより、比較的適切に再現できた。投与量を変えた場合のシミュレーション結果と実験値とを比較することにより、BPA 投与直後の濃度推移予測には、母体血液-胎児間により複雑な機構を考える必要性等が考えられたが、投与後に到達する胎児中曝露量レベルは、本研究で構築したモデルにより良好に予測できた。

このようにして構築し検証したマウス PBPK モデルを用い、全妊娠期間を通じて BPA に曝露された懐胎期マウスの体内濃度の変化をシミュレーションした。血液、肝臓を始めとする母体各臓器、胎児のいずれにおいても、妊娠日数の経過による生理的变化に伴うと考えられる BPA 投与後濃度推移の変化パターンの推定結果を示した。BPA の体内動態に、妊娠による生理的变化は少なからず影響を与えると予測された。また、胎児中 BPA 代謝物は妊娠終盤に比べ初期において急速に蓄積すると予測され、BPA 代謝物によるリスクは一般的に BPA 自体に比べ低いとされるものの、妊娠初期における胎児への物質移行性が妊娠終盤とは著しく異なり、妊娠初期には胎児の化学物質曝露の危険性が高い可能性が示された。ただし、妊娠経過による生理的变化として本研究においては未検討である胎盤機能の変化、すなわち母体-胎児間拡散係数の妊娠経過に伴う変化についても、今後検討すべきであると考えられる。

本研究の最終目的は、BPA のヒト健康リスク評価であり、そのために BPA のヒト内部曝露量評価が必要である。ヒトに関して BPA 投与実験を行うことは無論できず、PBPK モデルによりヒト体内動態を予測する必要がある。幸いにして BPA を日常的に摂取しているヒトの血液等限られた臓器に関しては実測値があるため、PBPK モデルにより予測した血液中 BPA 濃度等を実測値と比較することにより、このモデルによる他の臓器中 BPA 濃度予測の妥当性をある程度検証することができる。

ヒト PBPK モデルの構造はマウスと同構造とし、動物種差の考えられるパラメータを文献値および実験的方法によりヒトのものへ変換することによりヒト PBPK モデルを構築した。生化学的パラメータである、BPA の血清タンパク結合率と肝酵素による代謝に関するパラメータの決定に当たっては、*in vitro* 実験を行い、マウスおよびヒトについて各パラメータを定めた。血清タンパク結合率には大きな動物種差は見られなかったが、肝臓 S9 画分タンパクによる代謝についてはヒトではマウスより代謝速度が小さいと判断される結果であった。従って、この実験によって各動物種について定めたパラメータを用いることは、PBPK モデルを用いた動物種差間外挿のために重要であると考えられた。

BPA 摂取量は、第 4 章で見積もった 1 日当たりの摂取量を、1 日 3 回の食事時に各回等分に摂取するとして計算した。この摂取量で懐胎期ヒトが全妊娠期間にわたって BPA に曝露され続けた場合の臓器中 BPA および BPA-gluc 濃度をシミュレーションした。

シミュレーション結果より、血液中 BPA および代謝物濃度は各食事時の BPA 摂取毎に上昇し、摂取後 1 - 2 時間でピークに達した後、次の BPA 摂取前まで減少を続けると予測された。血液中 BPA 濃度は総濃度の数%程度であり、これはマウスにおける実験値と同程度であった。血液、肝臓、胎盤中 BPA 濃度には、BPA の繰り返し摂取による体内動態の変化も、妊娠による生理的变化の影響も大きくは見られず、全妊娠期間を通して同様の幅での濃度変化を繰り返すと予測された。胎児中 BPA 濃度は妊娠初期に BPA の連続摂取により急速に蓄積を重ね、数日の後に定常値に到達すると予測された。

ヒト体内曝露レベルのシミュレーション結果は、母体血液中 BPA 濃度の臨床データより

2-3 オーダー程度小さく、胎児中 BPA 濃度でも報告値より 3 オーダー程度小さい値であった。この乖離の原因として、マウスとヒトとの種差が大きいパラメータが、本モデルにおいて考慮したもの以外にある可能性が高いと考えられる。

例えば代謝に関するパラメータとして、肝臓 S9 画分タンパク量当たりの BPA 代謝活性を各動物種に対し実験的に求めて適用したが、肝臓中の S9 画分タンパク含有量が動物種毎に得られなかったため、両種にラットの値を適用した。ヒトの S9 画分タンパク量がマウスに比べ著しく少ないとすると、本ヒトモデルは BPA 代謝を過大に見積もっていることになり、血液中 BPA 濃度を現実より低く予測することになる。

またマウスにおける BPA の肝臓移行にトランスポーターの介在を仮定し、BPA の物理化学的肝臓/血液分配率より高率に肝臓に分配されるモデルを構築したが、このトランスポーターに種差がある可能性が考えられ、機構の実験的解明を含め、種差の詳細な推定が必要であると考えられる。その他に体内曝露総量の決定因子である吸収速度定数等も含め、種々パラメータの種差をより詳細に検討する必要がある。重要な課題を残すこととなったが、BPA の体内動態に種差が極めて大きいことが本研究におけるシミュレーション結果から示唆され、ヒトにおける BPA の体内動態予測にはより慎重さが必要があることが分かった。

一方、臨床データがどのような曝露状態に置かれた個人について得られたのかは明らかではない。ヒトに対する個別の曝露状況を踏まえた臨床データ、疫学調査の進展が望まれる。

参考文献

1. O'Flaherty E.J. et al. (1992) A physiologically based kinetic model of rat and mouse gestation: Disposition of a weak acid. *Toxicol Appl Pharmacol*, 112, 245-256
2. Brown R.P. et al. (1997) Physiological parameter values for physiologically based pharmacokinetic models. *Toxicology and Industrial Health*, 13, 407-484
3. Davies B. et al. (1993) Physiological parameters in laboratory animals and humans. *Pharmaceutical Research*, 10, 1093-1095
4. Jepson G.W. et al. (1994) A partition coefficient determination method for nonvolatile chemicals in biological tissues. *Fundam Appl Toxicol*, 22, 519-524
5. 甲田善生 (1984) 有機概念図、三共出版
6. Poulin P. et al. (1995) An algorithm for predicting tissue: blood partition coefficients of organic chemicals from n-octanol: water partition coefficient data. *J Toxicol Environ Health*, 46, 117-129
7. Inoue H. et al. (2001) Bisphenol A glucuronide, a major metabolite in rat bile after liver perfusion. *Drug Metabolism and Disposition*, 29, 1084-1087
8. 高田寛治 (2000) 薬物動態学、じほう

9. Haddad S. et al. (2001) Characterization of age-related changes in body weight and organ weight from birth to adolescence in humans. *J Toxicol Environ Health, Part A*, 64, 453-464
10. Inoue K. et al. (2000) Determination of bisphenol A in human serum by high-performance liquid chromatography with multi-electrode electrochemical detection. *J Chromat B*, 79, 17-23
11. Ikezuki Y. et al. (2000) Determination of bisphenol A concentrations in human biological fluids reveals significant early prenatal exposure. *Human Reprod*, 17, 2839-2841
12. Takeuchi T. et al. (2002) Serum bisphenol A concentrations showed gender differences, possibly linked to androgen levels. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 291, 76-78
13. Schonfelder G. et al. (2002) Parent bisphenol A accumulation in the human maternal-fetal-placental unit. *Environ Health Perspect*, 110, A703-707
14. 根岸隆之ら (2003) ラットとサルにおけるビスフェノール A の薬物動態における種差の検討、および妊娠前期、中期、後期サルにおけるビスフェノール A の母体-胎児分布。
環境ホルモン学会 第6回研究発表会 要旨集, 345

第7章 ビスフェノール A (BPA) 標的部位における作用

第1章で述べたようにビスフェノール A (以下 BPA と略記する) には内分泌攪乱作用が疑われている。ヒトについての疫学的調査が行われてはいるが、依然として特定の化学物質の内分泌攪乱作用による健康影響の「用量-反応関係」は特定されていない。BPA についても、尿道先天異常男児の母親の血中 BPA 濃度が正常児の母親に比べて2倍高い値を示すという興味深い報告[1]があるものの、この因果関係さえ未だ明確ではない。一方で、内分泌攪乱作用を持つと疑われている物質の投与によって発現が促進あるいは抑制される遺伝子が特定されつつあり、特定の酵素や蛋白の発現量を始めとする細胞応答 (バイオマーカー) と内分泌攪乱物質曝露量との関係が、実験動物等を使って把握されつつある。その変化が個体としての生物にどの程度の悪影響をおよぼすかについて現時点では未だ明らかではないため、第2章で述べたように、現時点では生物個体に現れる悪影響ではなく、バイオマーカーの変化を指標としてリスクを評価する。

バイオマーカー変化の用量-反応関係における「用量」は、第6章にて予測したヒトの標的部位における内部曝露量である。

7.1 BPA によるバイオマーカー変化

現在までに、BPA 曝露により変化するバイオマーカーとして報告があるものから、いくつかを以下に紹介する。

- 1) 雄マウス膵臓由来のランゲルハンス細胞を BPA 存在下で培養すると、転写因子である cAMP-responsive element binding protein が活性化された。[2]
- 2) 幼若雄ラット精巣由来のセルトリ細胞を BPA 存在下で培養すると、lactate とインヒビン B の産生が増加した。[3]
- 3) 卵巣除去マウスに BPA を投与すると、子宮において Insulin-Like Growth Factor I (IGF-I) の mRNA レベルが上昇し、IGF-I レセプターを介したシグナル伝達が活性化された。ただし作用は弱い。[4]
- 4) 妊娠および授乳期に BPA を投与されたマウスの仔の脳内の神経伝達物質(ドーパミン、ノルエピネフリン、セロトニン)は、雌で減少した。また、神経成長因子に応答してドーパミン等を産生することが知られている、ラット好クロム細胞腫由来細胞 PC12 でも、BPA 濃度に依存したドーパミン産生の減少が見られた。[5]
- 5) 妊娠および授乳期に BPA を投与されたラットの雄仔の脳において、neurofilament protein-L (NF-L) と NF-M の発現量が減少した。[6]
- 6) 妊娠期に BPA を投与されたラットの雌胎仔の子宮および卵巣中遺伝子の発現量をマイクロアレイにより調べたところ、7000 中 398 の遺伝子で変動があった。[7]
- 7) 妊娠期に BPA を投与されたラットの生後7日目の雄仔の小脳重量は減少した。また、

初代小脳培養細胞は、BPA 曝露によって生存率が低下した。[8]

- 8) マウスセルトリ細胞系 TTE3 細胞は BPA により生存率が低下した。その際、ストレス応答遺伝子 Chop-10 の転写が最も高く活性化された。Chop-10 は、小胞体のカルシウムイオン濃度変化に伴う細胞死に関与していると言われている。BPA は、エストロゲンレセプターを介さず、セルトリ細胞小胞体のカルシウムイオン濃度を変化させることにより雄生殖機能を攪乱する可能性がある。[9]

これらの報告には、既知のエストロゲンレセプターを介すると推測される変化、もしくは実験的にエストロゲンレセプターの関与が示されているものもあるが、他の機構によると考えられているもの、また機構の明らかでないものもある。このことは、生体が BPA に応答する現象やその機構がミクロな視点では明らかになりつつあるものの、それが生物個体への「内分泌攪乱」作用につながるか否かという点、またそのメカニズムが未だ明確でないことを示している。

また、報告されている研究成果の大多数が、未だ BPA との用量・反応関係を定量的に示す段階には至っていない。ヒトにおけるリスクを評価するには第 2 章に述べたような方法をとることが必要であり、そのためにはヒトの内部曝露量に対するバイオマーカー変化を定量的に把握しなければならない。それを実験的に行うことは、必然的に *in vitro* の系においてヒト細胞または組織を用いて BPA に対するバイオマーカー変化を定量的に捉えるということになるが、そのような報告はまだない。

7.2 BPA によるバイオマーカー変化を記述する用量・反応モデルの構築

7.1 に述べた通り、ヒト細胞または組織を用いて BPA 曝露に対するバイオマーカー変化を定量的に捉えた報告はまだない。そこで、実験動物の細胞または組織を用いて BPA 曝露に対するバイオマーカー変化を量的に把握した用量・反応関係に、ヒト・実験動物間の感受性の比を掛けて、ヒトにおける用量・反応関係とする方法を提案した (第 2 章)。しかし、実験動物におけるバイオマーカー変化にも未だ用量・反応関係を示せるほど定量的といえる報告は数少なく、本研究では、7.1 に紹介した現時点までの報告例の中から、細胞への曝露量 (内部曝露量) とバイオマーカー変化との関係が定量的に示されているという観点、およびバイオマーカー変化と生物個体への影響との因果関係がより明確であるという観点から、7) および 8) に報告されている BPA 作用を例としてヒトに対するリスクを評価することとした。

ヒト・実験動物間の感受性の比は、7) および 8) の実験動物と同種の細胞およびバイオマーカーを用いたヒトでのデータが得られないことが前提である以上、感受性の差の原因と考えられる機構に基づいて推定するしか方法がない。ところがあいにく、8.1 にも述べた通り機構まで明確になっているものは未だ少なく、7) の BPA に対する小脳細胞の反応も、介するレセプター等が未知である。8) の chop-10 遺伝子も、BPA による活性化の機構までは分

かっていない。

ここでは、内分泌攪乱作用をもたらす代表例であるエストロゲンレセプターの感受性については種差があまりないという報告[10]があるため、7)、8)の事象においても種差がないと仮定し、ヒト・実験動物間の感受性の比として「1」を設定した。

また、これらの実験で用いられている細胞は胎児由来ではないが、現時点では、胎児の細胞も同等の感受性を持つと仮定する。一般に胎児では成人に比較して感受性が高いと言われている。また本研究における評価の対象が、重要な発生段階にある胎児への内分泌攪乱リスクであることから、この、胎児と成人との感受性の違いというものは本来考慮に入れられるべきものである。しかし現在までのところこれに関する研究例はなく、今後明らかにしていかなければならない課題であると考え。感受性と一般に言われるものが、この内分泌攪乱作用において実際に意味することは何であるかを明らかにすることから始めなければならないが、それにはまず、内分泌攪乱作用の機構が解明されることが必要である。

結局、7)の報告において、BPA 曝露によるラット小脳細胞の生存率低下の用量-反応関係は図 7-1 (報告データを再プロット) のように示すことができることから、ヒトにおいても

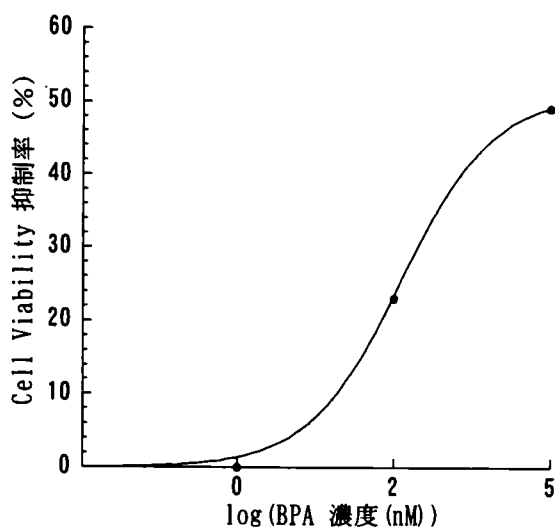


図 7-1 BPA によるラット初代小脳培養細胞の生存率低下

この用量-反応関係を適用することにする。ロジスティック曲線で近似した結果、この関係は、

$$Y = 51.011 / \{1 + 1072.4 \exp(-3.4075 X)\} \quad (R = 0.998) \quad (7-1)$$

の式で示される。

8)の報告においては、BPAによるマウスセルトリ細胞系 TTE3 細胞生存率低下の用量-反応関係は図 7-2 のように示すことができるから、ヒトにおいてもこの用量-反応関係を適用する。BPA 濃度 25 μ M で曝露された場合生存率は低下しなかったと報告されていたため、この濃度を閾値と考え、これ以上の濃度範囲で線形に近似した。その結果、用量-反応関係は、

$$\begin{array}{ll} X < 25 & Y = 0 \\ 25 \leq X < 400 & Y = 0.2428 X - 4.8333 \quad (R^2 = 0.970) \end{array} \quad (7-2)$$

の式で示される。

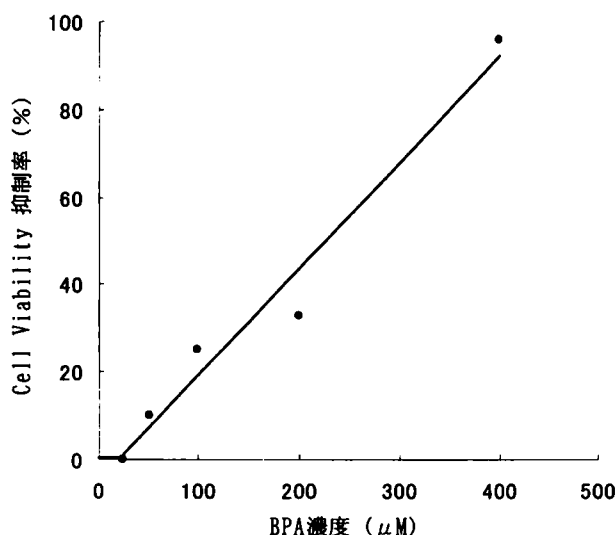


図 7-2 BPA によるマウスセルトリ細胞の生存率低下

7.3 BPA によるヒトへのリスクの評価

ヒトを始めとする生物において BPA の悪影響が最も懸念されるのは胎児である。本研究において、胎児移行も含めた BPA の懐胎期ヒト体内動態予測を目的として PBPK モデルを構築した。しかし第 6 章に述べたシミュレーション結果から明らかになったように、BPA の体内動態には動物種差が極めて大きく、本研究において構築したヒト PBPK モデルは、残念ながら現時点ではヒト成人の血液中 BPA 濃度実測値を再現できておらず、本モデルを胎児や母体内他臓器の BPA 曝露レベル予測に用いるには、今後の詳細なパラメータ種差外挿を待たなければならない。

本研究の目的の一つは、BPA のヒト健康リスク評価のための実用的な数学的枠組みを構築することである。ここでは、ヒト胎児の BPA 曝露量としては唯一得られている胎児血液

中 BPA 濃度実測値である 9.2 ng/mL (=40 nM) [11] の値を用いて、前節で構築した用量-反応モデルを用いた BPA の胎児へのリスク評価の実例を示すことにする。第 5 章の実験結果で、胎児の脳および生殖器系臓器中 BPA 濃度は、全身中濃度の数倍から数分の一倍程度の幅で推移していたため、胎児の脳および生殖器中濃度は胎児全身中濃度と同じであると見なすことにする。

このようにして、(7-1)式を用いると、ヒト胎児小脳の細胞は 9 % 傷害される、という予測結果となる。またセルトリ細胞への影響では、閾値 (25 μ M) 未満に相当するので、ヒト男性胎児の生殖器中セルトリ細胞は傷害されない、と予測される。すなわち、懐胎期にある女性は、一般的な生活を送る中で BPA に日常的に曝露されており、その胎児に蓄積する BPA によって、胎児小脳の細胞は 9 % 傷害されるリスクがあるということである。一方、男性胎児生殖器中セルトリ細胞が傷害されるリスクはないという予測結果である。

細胞の傷害をエンドポイントとした場合、胎児生殖器より小脳でリスクが高い。この予測された細胞傷害という影響が、ヒト胎児・新生児個体にどのようなリスクを及ぼすかについて現時点で明確に言及することはできないが、胎児期に BPA に曝露されたマウス新生仔においては生後 1 週間で小脳の重量が減少していること、また離乳期まで曝露されたラットにおいては行動や運動量に見られる性差が消失することが報告されており[8]、ヒト胎児における小脳細胞の傷害が、発育・発達途上にある脳神経系に機能上何らかの影響を与える可能性は充分考えられる。傷害が起こる細胞が 9 % という値については、細胞応答の動物種差および成人と胎児との差を詳細に検討し、今後精度を高める必要があるが、一般的な生活を送る女性胎内の胎児に起こる傷害としては看過できない程度であると思われる。

参考文献

1. Fumiki Hirahara (2002) Fetal Exposure to Endocrine Disruptors during Human Pregnancy in Japan. *Program & Abstracts / International Symposium on Environmental Endocrine Disruptors 2002*, 82
2. Quesada I. et al. (2002) Low doses of the endocrine disruptor Bisphenol-A and the native hormone 17 β -estradiol rapidly activate the transcription factor CREB. *The FASEB Journal express article*, August 21
3. Monsees T.K. et al. (2000) Sertoli cells as a target for reproductive hazards. *ANDROLOGIA*, 32, 239-246
4. Klotz D.M. et al. (2000) Activation of a uterine insulin-like growth factor I signaling pathway by clinical and environmental estrogens: requirement of estrogen receptor α . *Endocrinology*, 141, 3430-3439
5. Funae Y. et al. (2001) Effects of Bisphenol A on monoamine neurotransmitters. *Jpn J Pharmacol*, 85(Suppl 1), 34P

6. Tateishi Y. et al. (2001) Alterations in differentiation and development of the central nervous system and reproductive organs of neonatal male rats following prenatal and lactational exposure to bisphenol A. *Environmental Sciences: an International Journal of Environmental Physiology and Toxicology*, 8, 257-258
7. Naciff J.M. et al. (2002) Transplacental exposure to estrogens induces a distinctive gene expression profile in the fetal uterus of the rat. *Toxicologist*, 66(1-S), 296-297
8. 藤田正一ら (2002) 哺乳類の生殖および行動異常に関するマイクロアレイ解析結果 平成 13 年度科学研究費補助金特定領域研究(A)(1) 研究課題番号 : 12055101 研究成果報告書, 99-103
9. Tabuchi Y. et al. (2003) cDNA microarray analysis reveals chop-10 plays a key role in Sertoli cell injury induced by bisphenol A. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 305, 54-61
10. Harris H.A. et al. (2002) The ligand binding profiles of estrogen receptors α and β are species dependent. *Steroids*, 67, 379-384
11. Schonfelder G. et al. (2002) Parent bisphenol A accumulation in the human maternal-fetal-placental unit. *Environ Health Perspect*, 110, A703-707

第8章 結論

本研究では、内分泌攪乱物質によるヒト健康リスク評価の枠組み、およびビスフェノール A（以下 BPA と略記する）を題材とした定量的ヒト健康リスク評価の実例を構築することを目指した。

まず、化学物質によるヒト健康リスク評価の従来からの枠組みを振り返るとともに、内分泌攪乱物質によるヒト健康リスク評価の枠組みを明確にした。

ヒトへのリスク評価指標として、現時点では、個体レベルに現れる変化ではなく、臓器・組織や細胞、遺伝子等に現れる変化を用いた。また、リスクを引き起こしている物質の由来やヒトへの曝露経路などを明らかにしておくことは、ヒトの BPA 曝露量算定の目的のみならず、リスクに対処する方策をとるためにも必要であるため、リスク評価の枠組みには、原因となる内分泌攪乱物質の環境中動態やヒトへの曝露経路の評価も組み込んだ。

この枠組みに従って、環境中に実在し内分泌攪乱作用が疑われる BPA を題材とした定量的ヒト健康リスク評価の実例を構築することを試みた。

BPA の定量的ヒト健康リスクの評価は、まだ完了に至ったとは言えないが、BPA のヒト健康リスク評価のための一連の数学モデルを提示することができた。具体的には、環境中動態モデルを構築し、それを用いて環境中 BPA 濃度を予測するとともに、BPA 放出源を推測した。またヒトの BPA 摂取量を見積もり、ヒト体内動態を予測する数学モデルを構築して内部曝露量を予測し、これに、ヒト内部曝露量と影響との用量・反応関係を表すモデルを組み合わせて、一連の数学的枠組みを作り、BPA のヒトにおけるリスク評価を実践した。

本研究の遂行を通して、より正確なヒトへのリスク評価のためにはまだまだ未解明の科学的事実が多く、種々の実験的研究成果を待たなければならないところが大きい、ということが分かった。しかし、未解明の事象には仮定を導入し数学的に結果を導くことができるのが、数学モデルを用いる利点であり、この点を利用してひとまずヒトへのリスク算定を試みた。ヒト健康リスクを個体レベルで定量的に予測するところまでは未到達であるが、個別分野において現時点で明らかになっている科学的成果を数学的に統合し、ヒト臓器における細胞レベルで、内分泌攪乱作用が懸念される BPA によるリスクを予測する実例を作ることに成功した。

また、ヒト体内動態モデル構築に当たって実施した、懐胎期マウスを用いた BPA 体内動態実験により、BPA の母体から胎児への移行が速やかであるのみならず、胎児体内における分布も非常に速いこと、母体血液中主要 BPA 成分は代謝物である BPA グルクロン酸抱合体であるが、胎児では BPA 未変化体が主であること、胎児中濃度のピークは母体より遅く現れ消失は遅いこと、BPA を 3 日間繰り返し投与すると母体での濃度変化はあまりないが胎児では増加が見られ、胎児での蓄積の可能性が示唆されたこと、などの新たな事実を明らかにした。

以下に、各章における成果をまとめる。

第1章

本研究の背景となる社会的・科学的情勢を確認し、本研究の目的を設定した。

第2章

化学物質によるヒト健康リスク評価の従来からの枠組みを振り返るとともに、内分泌攪乱物質によるヒト健康リスク評価の枠組みを明確にした。

第3章

BPA の環境中への放出経路および量と、環境中での動態を、数学的モデルを用いて予測することを試みた。以下の成果を得た。

- 1) BPA の生産量、使用樹脂、樹脂用途、樹脂からの BPA 溶出特性などから、環境中への BPA 放出量および経路を見積もった結果、添加剤として BPA を含む軟質塩ビの屋外使用時に、雨水により BPA が溶出されて環境中に放出されるのが主たる経路であると考えられた。
- 2) 日本国内における BPA の環境中動態モデルを、フガシティーモデルを用いて構築した。
- 3) 構築した環境中動態モデルを用いて環境中 BPA 濃度を予測した。
- 4) 環境中 BPA 濃度の予測値は実測値とおおよそ一致し、1)の見積もりが妥当であることが示唆された。

第4章

日常におけるヒトの BPA 摂取量を、種々曝露経路を想定して算定した。以下の成果を得た。

- 1) 日常におけるヒトの BPA 摂取量は、成人で約 20 $\mu\text{g/day}$ と算定された。
- 2) 種々曝露経路の中で、缶飲料（特に缶コーヒー）や缶詰の内部被膜エポキシ樹脂からの BPA 摂取量が多かった。環境水に由来する水道水中の BPA は浄水処理によって減少しており、水道水を介した摂取は極めて少ないことが示された。

第5章

懐胎期ヒトのモデル動物として懐胎期マウスを用い、摂取された BPA の体内での動態を明らかにする実験を行って、標的臓器での内部曝露レベルを把握することを試みた。以下の成果を得た。

- 1) 懐胎期マウスへの ^{14}C -BPA 単回投与実験の結果、母体における BPA の吸収・分布・排泄、および胎児への移行と胎児における分布は非常に速やかであった。
- 2) 母体臓器中濃度は、肝臓、腎臓、消化管で高かった。
- 3) 母体血液中および多くの臓器において、 ^{14}C 濃度は投与 20 分後の他 6 時間後にもピー

クを示した。投与6時間後のピークは腸肝循環に起因すると考えられた。

- 4) 胎児中 ^{14}C 濃度のレベルは母体の 1/10 程度であったが、母体から胎児への移行は速やかで、投与 20 分後には移行が確認された。胎児中濃度のピークは母体より遅く現れ、投与 24 時間後でもなお増加傾向にあった。胎児への移行量は小さいものの消失は遅く、胎児体内に蓄積する可能性が示唆された。
- 5) ^{14}C -BPA の 3 日間連続投与により、母体では単回投与時と比べて ^{14}C 濃度はあまり変化しなかったが、胎児では増加が見られ、胎児での蓄積性がさらに示唆された。
- 6) 胎児中の ^{14}C 主要成分は未変化体 BPA であり、母体血液中では BPA-gluc であるのと相違があった。胎盤中で BPA-gluc が脱抱合され、胎児中で未変化体比率が高まる可能性が考えられた。また同時に、胎児における BPA 代謝能が低いことを示唆した。
- 7) 母体に摂取された BPA は主に糞中に排泄され (34%)、投与後 1 週間でそのほとんどが体外に排出された (1 週間後の体内残存量 1% 未満)。

第 6 章

第 5 章で得た BPA の体内動態実験結果を基に、懐胎期マウスにおける PBPK (生理学的薬物動態) モデルを構築し、これを懐胎期ヒト PBPK モデルに発展させて、ヒト体内での BPA の動態を予測することを試みた。以下の成果を得た。

- 1) PBPK モデルにおける生化学的パラメータである、BPA の血清タンパク結合率と肝酵素による代謝に関するパラメータの決定のため、*in vitro* 実験を行い、マウスおよびヒトについて各パラメータを定めた。血清タンパク結合率には大きな動物種差は見られなかったが、代謝についてはヒトではマウスより遅いと判断される結果であった。従って、この実験によって各動物種について定められたパラメータを用いることは、PBPK モデルを用いた動物種差間外挿のために重要であると考えられた。
- 2) 第 5 章で得た実験結果を基に、懐胎期マウスにおける BPA の PBPK モデルを構築した。フィッティングに用いた 10 mg/kg 単回投与実験を始め、その 10 倍および 1/10 倍量単回投与実験、10 mg/kg 投与量での 3 日間連続投与実験の結果を良好に再現するモデルが構築できた。腸肝循環機構をモデルに組み込んだことにより、血液中濃度の 2 回目のピークおよび濃度減少の遅延、胎児中濃度における持続的な濃度上昇あるいは減少の遅延が再現でき、この機構をモデルに組み込むことは重要であると考えられた。モデルにおける母体-胎児間に拡散機構を仮定することにより、実験において他臓器と全く異なる推移を示した胎児中濃度を比較的適切に再現でき、投与後に収束する胎児中曝露量レベルは良好に予測できると考えられた。
- 3) 構築した懐胎期マウスの PBPK モデルを基に、生理学的パラメータおよび生化学的パラメータをヒトの値に外挿し置換することにより、懐胎期ヒトにおける PBPK モデルを構築した。
- 4) 構築した懐胎期ヒト PBPK モデルを用いて、第 4 章で見積もったヒトの日常的 BPA 摂

取量を、1日3回の食事時に各回等分に摂取し続けた場合のBPA内部曝露量を予測した。血液中BPAおよび代謝物濃度は各食事時のBPA摂取毎に上昇し、摂取後1・2時間でピークに達した後、次のBPA摂取前まで減少を続けると予測された。血液、肝臓、胎盤中BPA濃度には、BPAの繰り返し摂取による体内動態の変化も、妊娠による生理的变化の影響も大きくは現われず、全妊娠期間を通して同様の濃度変化を繰り返すと予測された。胎児中BPA濃度は妊娠初期にBPA摂取の繰り返しにより急速に蓄積を重ね、一定値に収束すると予測された。シミュレーション結果をヒトの臨床データと比較すると、母体血液中BPA濃度で実測値より2・3オーダー程度低く、胎児中BPA濃度でも実測値より3オーダー程度低い値であった。この乖離の原因として、マウスとヒトとの種差が大きいパラメータが、本モデルにおいて考慮したもの以外にある可能性が高いと考えられる。例えば、肝臓中代謝酵素含有量、BPAの能動的肝臓移行機構、吸収速度等であり、機構の実験的解明を含め、種差の詳細な見積もりが必要であると考えられる。重要な課題を残すこととなったが、BPAの体内動態に種差が極めて大きく、ヒトのBPA体内曝露レベルはマウスから予測されるよりかなり高いことが本研究におけるシミュレーション結果から明らかとなり、ヒトにおけるBPAの体内動態予測にはより慎重さが必要であることが分かった。

第7章

体内標的臓器におけるBPAの内分泌攪乱作用の用量・反応関係を数式化し、第6章で予測したヒト内部曝露レベルでの内分泌攪乱作用を予測することを試みた。以下の成果を得た。

- 1) BPAの生物内部曝露量とその内分泌攪乱作用の関係が定量的に把握されている研究報告を求めて調査した。その結果、胎児期にBPAに曝露されたラット新生仔の小脳重量減少、およびBPAによる小脳培養細胞の生存率低下についての報告、また、マウスセルトリ細胞のBPAによる生存率低下の報告が、現時点でのヒトリスク評価事例への利用に相当であると考えられた。
- 2) 選択した報告中のデータから、用量・反応関係を表す数式を導出した。
- 3) 構築したヒトPBPKモデルをヒト内部曝露レベル予測に用いるには、今後のより詳細なパラメータ種差外挿が必要であることが第6章で明らかになった。ここではヒト胎児におけるリスク評価の枠組みに従った実例を作ることに主眼を置き、ヒト胎児血液中BPA濃度実測値として得られている値を用いてリスク算定を試みた。その結果、一般的な生活で懐胎期女性に曝露されているBPAは、胎児小脳の細胞を9%傷害するという結果となった。この予測された細胞傷害という影響が、ヒト胎児・新生児個体にどのようなリスクを及ぼすかについて明確に言及することはできないが、胎児期にBPAに曝露されたマウス新生仔においては生後1週間で小脳の重量が減少していること、また離乳期まで曝露されたラットにおいては行動や運動量に見られる性差が消失することが報告されており、ヒト胎児における小脳細胞の生存率低下が、発育・発達途上にある

脳神経系に機能上何らかの影響を与える可能性は充分考えられる。傷害が起こる細胞が9%という値については、細胞応答の動物種差および成人と胎児との差を詳細に検討し、今後精度を高める必要があるが、一般的な生活を送る女性胎内の胎児に起こる傷害としては看過できない程度であると思われる。

- 4) BPA の発生源からヒト胎児におけるリスクまでの一連の定量的評価を目指した枠組みに従って、定量的リスク評価の実例を示すことに成功した。

今後、より正確な BPA の定量的ヒト健康リスク評価のためには、以下の課題に取り組む必要がある。

- 1) 環境中動態モデルによる BPA 濃度計算値は、実測値の平均と比較して水中でやや高め、底質中でやや低めであった。モデル精度向上のため、BPA に関するパラメータのうちまだ詳細な検討を加えられていない土壌・底質中反応半減期を正確に求める等の改良を加える必要がある。
- 2) 環境中への BPA 放出の起源として、軟質塩ビの屋外使用時における BPA 溶出が主たるものと見積もられた。よって農業用ビニール、電線被膜など軟質塩ビの屋外使用場所周辺は BPA 汚染が懸念され、このような場所での環境中 BPA 濃度の実態調査が必要と考えられた。この実測は、BPA 放出起源の見積もりおよび環境中動態モデルの妥当性を実験から確認することにもなる。
- 3) 構築した懐胎期マウスの PBPK モデルは、実験結果を比較的良好に再現した。しかし、母体・胎児間の物質移行には、本研究で設定した単純な拡散機構より複雑な機構を考え、さらにその機構の妊娠経過に伴う変化を考慮することにより、胎児の BPA 曝露レベルをさらに精度高く予測することが可能になると考えられる。
- 4) 構築した懐胎期ヒト PBPK モデルによる血液および胎児中 BPA 濃度予測値は、臨床データに比べ2・3オーダー程度低く、本研究においてマウスとヒトとの動物種差を見積もったパラメータ以外にも、種差を考慮する必要があると考えられた。本研究におけるシミュレーション結果から、BPA の体内動態にはマウスとヒトとの動物種差が極めて大きいことが明らかとなり、より慎重な動物種差外挿が必要である。
- 5) 3)で述べた母体・胎児間の物質移行機構、4)で述べた体内動態における動物種差ともに、モデルに改良を加えるのに先立ちその機構を実験的に解明する必要がある。
- 6) BPA のリスク発現機構を、実験動物においてさらに詳細かつ定量的に解明するとともに、ヒトとの種差を明らかにする必要がある。

以上のように、本研究では、内分泌攪乱物質によるヒト健康リスク評価の枠組みを明確にし、BPA のヒト健康リスク評価のための一連の数学モデルを提示することができた。ヒト健康リスクを個体レベルで定量的に予測するところまでは未到達であるが、個別分野において現時点で明らかになっている科学的成果を数学的に統合し、ヒト臓器における細胞

レベルで、内分泌攪乱作用が懸念される BPA によるリスクを予測する実例を作ることに成功した。このことは、本研究で提示したヒト健康リスク評価の枠組みを活用することにより、今後の各分野における実験的研究の進展と相まって、より個体レベルに近く、より正確なヒト健康リスク評価が可能になることを示している。ここまでの数学的枠組みを準備できたことは、各分野における研究の日々の進展に伴いヒト健康リスク評価の精度が即時に向上することを意味し、現実にはヒト個体レベルでの悪影響が顕在化する前にそれを予測することに貢献できると考える。

第9章 将来の展望－生態系リスク評価への道

9.1 生態系リスク評価への道

本研究では、内分泌攪乱物質によるヒトへのリスク評価を扱った。しかし化学物質による悪影響は全ての生物に現れることが懸念され、事実、内分泌攪乱物質についても、第1章に述べたように、野生生物の生殖系に悪影響を与えている可能性が高いことが報告されている。ヒトは食物連鎖の高位に位置し、生物濃縮された化学物質の摂取が懸念される一方、環境中の化学物質に曝される危険性は、種々の衛生設備や科学的知識に護られているヒトよりも環境中に生息する野生生物の方が高いと考えられる。

ヒトは、他の生物を摂取することで生命を維持しているという意味において、他の生物がいなければ生存できない。しかし栽培・養殖技術が発達している現在、その意味だけにおいては野生生物がいなくても生きていけると言える。だがそもそも地球はヒトだけのためにあるわけではなく、ヒトは地球という大きな自然の中の一生物種として生かしてもらっている存在であるし、また野生生物の棲む自然があることでヒトは精神的安らぎという恩恵も受けている。このようなことから、ヒトへのリスク評価の観点から食餌としての他生物への化学物質移行を考慮するだけでなく、ヒト以外の生物それ自身のためのリスク評価もなすべき課題である。野生生物の棲家を汚してきたのはヒトであり、自分たちだけをそれらから衛生的に安全に護っていれば良いというものではあるまい。自分たちを護るための科学的知識や知恵を、野生生物を護るためにも使わなければならない。

これに対し現状はと言えば、日本では新規化学物質の製造・輸入に対して化学物質審査規制法で審査・規制がなされているが、これはヒトの健康にのみ着目したものであり、生態毒性は考慮されておらず製造者に生態毒性データの取得も求められていない。農業に関しては別の法律（農業取締法）で規制されているが、ここでも中心はヒトの健康であり、ヒトが摂取するという観点から他生物に対する基準が設けられているに過ぎない。すなわち水産動植物や家畜への被害防止のための基準はあるが、野生生物や生態系に対する影響を評価するシステムは築かれていない。こういった生態系に対する日本の法体制の不備に関しては近年改善を目指す動きがある。化審法については特に2002年になってOECD環境保全成果レビューにおいて、化学物質管理政策の目的に生態系保全を含むよう規制を拡大する等の勧告がなされたこともあり、国際的な動向に配慮しつつ、国内においても、新規化学物質の事前審査制度のあり方や環境生物への化学物質の有害性を考慮した新たな制度のあり方に関して、検討が進められている。

OECD加盟の他国においては生態影響が考慮されているようである。その中心は、藻類（生産者）、ミジンコ類（一次消費者）、魚類（二次消費者）を対象とした急性毒性であるが、製造・輸入量が増すとミミズ、陸生植物、鳥類といった陸棲生物など他生物の試験や長期毒性試験の追加を要求することのできる国もある（EU等）。

これらの国、特にEUでは日本に比べかなり生態影響に配慮されていると言えるが、し

かしいずれも個別の生物種に対する影響にとどまっている。個々の生物種に有害であるということはそれ自体悪影響であるし、複雑に絡み合った生態系において他の生物種に何らかの影響を伝播し得ることが推測はできる。しかしどのような因果関係でどの程度にかということまでは現在の法規制の下では求められていないし明らかにもできない。これは研究レベルでも同じであり、生態影響に関する文献を探しても、その大部分は個別の生物種への影響に関するものである。様々な生物種が持ちつ持たれつ程良いバランスを保っている生態系において、個別生物種への影響がどれぐらいであれば互いにカバーし合えるのだろうか。どのぐらいになると生態‘系’全体が現在の状態に維持されなくなるのだろうか。

これはヒトへの影響と対比させて考えることができる(図 9-1)。ヒトでも体内の個々の器官に悪影響があればそれ自体悪である。ヒトでのリスク評価においても、組織や細胞に代表させて個々の器官への影響を独立に見るというルートがあり(in vitro 実験)、これは個別の生物種を用いて影響を見ることに対比できる。しかしヒトの場合には、実験動物を代替としてであるが、様々な器官が影響し合う生体という複雑な‘系’において、体内のバランスを保とうとするホメオスタジスが働く中においての化学物質の影響を見るルートを持っている。ヒトのリスク評価にはあって生態系リスク評価にないのは、この後者のルートである。無論、マイクロコズムは、実際の生態系ほど複雑ではないにしても模擬生態‘系’における影響評価の実験方法として存在しており、未だ一般的には用いられていないこの方法を生態系リスク評価に取り入れていくのも一法である。しかし環境媒体も含めて生態系を模したマイクロコズム実験は規模も大きく、多数の物質について気軽に利用できるものでもない。

ここに数理モデルが有効であると考えられる。Exposure model (Bioconcentration model, Bioaccumulation model など)と言われるモデルがある。これは、化学物質が環境中と生物間、また食物連鎖を通じて生物種間を移動し、各生物種体内に蓄積する様を記述するモデルであり、ヒトの体内動態モデルに匹敵する、いわば生態系内動態モデルと言える。ヒト体内動態モデルにおいて各臓器中の化学物質濃度が予測できたように、この Exposure model (生態系内動態モデル)を用いれば、各生物種における化学物質濃度が予測できる。例としては CATS[1]、BIOMAG[2]、BKH model[3,4]、また Gobas のモデル[5]などがあり、オランダでは規制に用いられてもいる。(ただしオランダでは、注目する生物種の曝露濃度をこれにより計算し、それと毒性発現濃度を比較することでリスクを見積もっており、生物種毎のリスクを評価している。また他研究でもこのように、ある生物種のリスクを評価していることが多い。)

一方、ecological model は文字通り生物や生態系を生物学的・生態学的に記述したモデルであり、個体に着目したものと個体群を単位として扱うもの、そして多くの生物種からなる生態系を対象とするものがあるが、生態‘系’リスクを評価するためには、この生態系の ecological model を用いなければならない。モデルの性質としては、Leslie の行列モデルのような生息数統計モデル[6]と生物エネルギー論モデルがあるが、生息数統計モデルは一

生物種に着目するため、生態系を対象とした ecological model は生物エネルギー論で記述

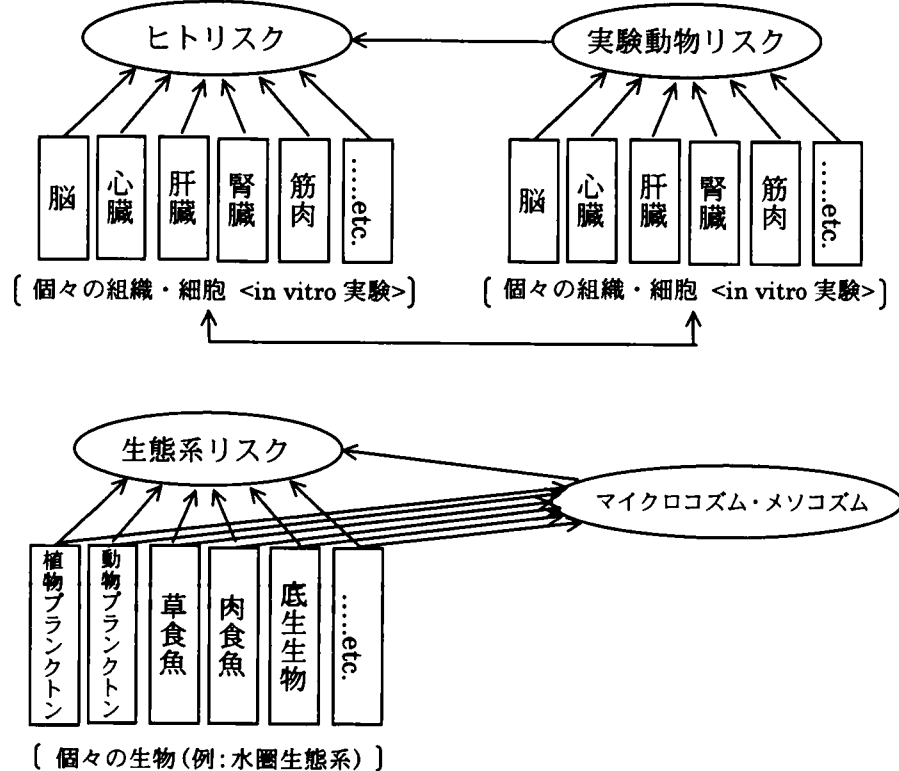


図 9-1 ヒトリスク評価と生態系リスク評価の対比

されたモデルであり、光合成、食物摂取、呼吸、排泄、成長、繁殖などの生理学的プロセスを、それらを速度論的に表すパラメーターを用いて表現する[7]。このパラメーターに化学物質への曝露量とその影響との exposure-response の関係 (ecotoxicological model) を組み込み、環境中動態モデルおよび exposure model と統合すれば、図 9-2 のように、第 2 章の図 2-5 に記したヒト健康リスク評価モデルと同様に生態‘系’リスクを評価し得るモデルが構築できる。化学物質が生態系を汚染して、一あるいは複数生物種の生理学的プロセスに与えた影響の、生態系内での波及を予測し得ることになる。私は、例えば内分泌攪乱物質の生殖への影響に注目する場合、繁殖のパラメーターの変化をモデルに組み込むことが有用なのではないかと考えている。

現在までのところ、この exposure model と ecological model はそれぞれ別個に生態リスク評価研究に用いられていることが多い。前者では、食物連鎖を介した bioaccumulation を考慮して生物種中の濃度を算出した後、値をその生物種の毒性参照値 (toxicity reference value) などと比較することにより、生物種毎のリスクを評価している[8]。後者では、化学物質が個々の生物種に与える影響が食物連鎖を通して生態系内を伝播する様を表したモデルにより生態系のリスクを評価しているものの、生物種への影響は水中濃度等の体外 (外部曝露) 濃度との関係だけで考えられており、bioaccumulation が考慮に入られていない

[7].

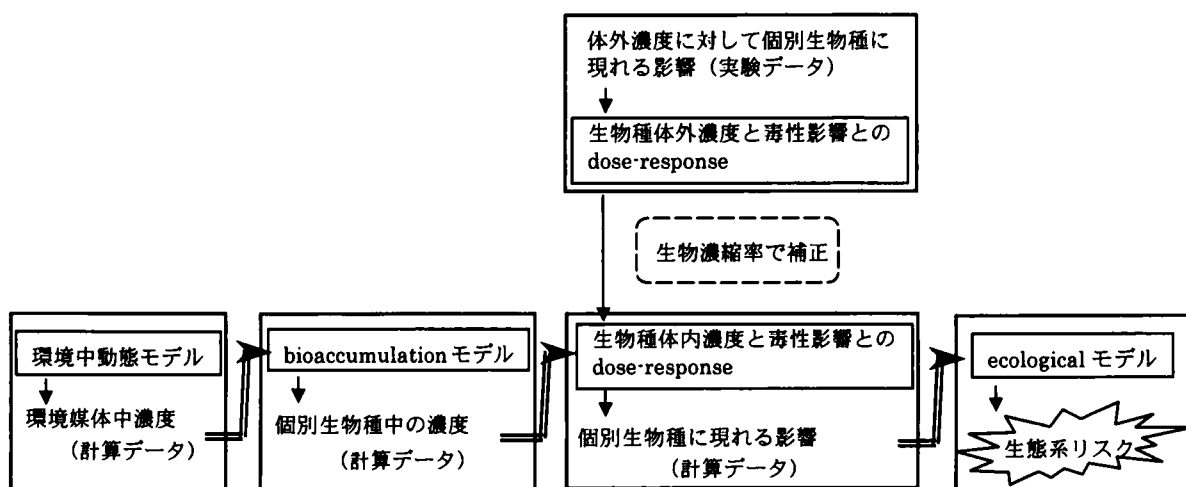


図 9-2 生態系リスク評価モデルの概念図

そこでこれらを統合することにより、より実際の生態系の仕組みを反映した生態‘系’リスク評価モデルが構築できると考える。しかし化学物質の影響が実験により求められる際、実際には外部曝露濃度しか知られない場合が多いと考えられるため、このような場合、統合モデルにおいて必要な生物種体内濃度と影響との関係は、実験により得られる外部曝露量と影響との関係を生物濃縮率で補正することにより導くことになると考えている。またもちろん、様々なパラメーターを決定するためには、多くの測定データや単一生物種を用いた毒性影響を調べる実験が必要であり、数学モデルによる生態系リスク評価はその上にこそ成り立つものであることは言うまでもない。

このようにして生態系リスク評価モデルを構築する一方、生態系リスク評価のエンドポイントとして個々の生物種への影響を捉えるだけでなく、ヒトの全身状態に当たるような生態系全体の健全性を示す尺度を開発し、これを数理モデルと組み合わせて生態‘系’リスクを評価する手法を編み出すことができると考えている。生態系の健全性は、ヒトの全身状態のように実際には測定したり目で見たり判断したりすることができないため、モデルの利用に依ることしかできないと考える。

ここで、ヒトリスク評価に翻って、ecological model に対応する部分は、実は本研究では、未だ臓器に起こるバイオマーカー変動と現れる症状との関係が明らかでないためモデルが未構築であり、また他に報告例もないが、ガンに関しては、発ガンモデルとして細胞に起こった変異がガンに結びつく様がモデル化されており、また神経系の発達への影響が神経細胞の増殖・分化をモデル化することにより示されている例がある[9]。これら二つは、細胞の増殖・分化に着目したモデルであるという点で共通する。ヒトへの内分泌攪乱作用に関しても、その詳細なメカニズム、例えばシグナル伝達機構などが今後より明らかになってくればタンパクの結合を量論的に表す等によりモデル化が可能になるものと考えられる。

9.2 生態系リスク管理

生態系リスクがあると考えられた場合には、それら生物への影響濃度を視野に入れて事業所等からの排出規制をすることがまず第一に考えられるが、他に第3章に述べたように、最終製品からの溶出により環境を汚染する可能性も考えて、製品からの溶出データの取得・届出、および用途の届出をも行ってはどうかと考える。届出により汚染がなくなるわけではないが、PRTRにより事業所での物質の出入りを把握するだけでなく、特に屋外使用時における最終用途での溶出という環境への出口まで化学物質を追跡しておくことは、化学物質の管理に重要であると考えられる。ヒトへのリスクという観点からは、医農薬以外の化学物質についても、ヒトが曝露しそうなものについては、食品衛生法、有害家庭用品規制法などにより曝露経路が管理されているが、生態系に対しての同様な管理がない。つまり野生生物の曝露経路は管理されていないと思われるからである。

参考文献

1. Traas T.P. et al. (1995) Hazardous Concentrations for Ecosystems: Calculation with CATS Models. *Report 719102037. Dutch National Institute of Public Health and Environment (RIVM), Bilthoven, The Netherlands*
2. Gorree M. et al. (1995) BIOMAG: a model for biomagnification in terrestrial food chains. The case for cadmium in the Kempen, The Netherlands. *Science of the Total Environment*, 168, 215-223
3. Balk F. et al. (1992) Methode voor de schatting van milieurisico's in de Gelderse Uiterwaarden. *BKH-report 2339J/G2. BKH Consulting Engineers, Delft, The Netherlands, 85pp*
4. Kooistra L. et al. (2001) A procedure for incorporating spatial variability in ecological risk assessment of Dutch river floodplains. *Environmental Management*, 28, 359-373
5. Gobas F.A.P.C (1993) A model for predicting the bioaccumulation of hydrophobic organic chemicals in aquatic food-webs: application to Lake Ontario. *Ecological Modelling*, 69, 1-17
6. Gleason T.R. et al. (2001) Risks of endocrine-disrupting compounds to wildlife: Extrapolating from effects on individuals to population response. *Human and Ecological Risk Assessment*, 7, 1027-1042
7. Bartell S.M. (1990) Ecosystem context for estimating stress-induced reductions in fish populations. *American Fisheries Society Symposium*, 8, 167-182
8. Leuven R.S.E.W. et al. (2002) Riverine landscape dynamics and ecological risk

assessment. *Freshwater Biology*, 47, 845-865

9. Faustman E.M. et al. (1999) Biologically based dose-response models for developmental toxicants: Lessons from methylmercury. *Inhalation Toxicology*, 11, 559-572

謝辞

長期間かかりましたが、ようやく博士学位論文を書き上げることができました。京都大学大学院工学研究科工業化学専攻修士課程を修了後、6年間勤務した化学メーカーを退職して、京都大学大学院工学研究科環境地球工学専攻博士後期課程に入学したのは、自らの専門性を「化学と生物」から、より「環境」へとシフトさせ、環境をより良くすることに貢献できる足掛かりを見つけたい、との思いからでした。

私にとって、「環境」という言葉は、まず自然環境を思い浮かばせるように思います。幼い頃、野の草や花、虫や魚に触れて遊んだ私には、特に都市部において自然が身近に無く、子どもたちに自然と触れ合う機会が少ない現状は、憂慮すべきことに思われます。またもう一つ「環境」という言葉から私の頭に浮かぶのは、途上国の都市環境です。学部生の頃、初めて訪れたいわゆる発展途上国、インドとタイで、私たちにはとても触れる気になれない汚い河の水で沐浴をし、口をすすぐ人々の姿がありました。大気も排気ガスで汚染し放題、道路の側溝の水は真黒な状況に、この人々の生活環境を良くすることに役立てたら、と思いました。

そういったことがベースにあり、ちょうど私の学部時代からクローズアップされてきていた地球温暖化やオゾン層の破壊などの地球環境問題は、「環境を護りたい」という使命感を私に抱かせました。そもそも大学入学に当たっても、「化学→公害」という図式が一度頭に浮かんだものの、「いやいや、それを解決するのもまた化学」と思ったものです。そのような私は、化学という基本的学問は、環境問題解決にきっと役立つものと思っていました。しかし、自分がそれに関われる場が与えられるかどうかは、また別問題です。一度企業に就職した後も、待っていればいつかそのような機会がやってきた可能性もゼロではなかったかもしれません。でも、私は自分の足で、そこに近付くことを試みてみようと思いました。環境分野をより専門的に学べば、私が環境問題解決に貢献できる機会は増すと思いました。この判断が良かったのかどうか、何しろ私の独りよがりのプランであって、結果のいまだ出ていない現段階では何とも言えません。でも、ありがたいことに環境地球工学専攻環境リスク工学講座に受け入れていただいたことで、私の試みの機会は与えていただくことができました。

それから5年、環境リスク工学講座に居させていただいたおかげで、河川でのフィールド調査や、環境中動態モデル・薬物体内動態モデルなどの数学モデルを扱う知識と経験を新たに得ることができました。でも、私個人の力量に任せられていた部分も大きく、私の能力不足により、入学時に思い描いていたほどには私の専門領域を広げることができなかったのは残念です。自然環境への思いを基に、生態系リスクの分野にももっと入り込んでいけていたら、と思います。

指導教官でありました、京都大学大学院工学研究科環境地球工学専攻環境リスク工学講座の森澤眞輔教授には、適時適切なお指導・ご鞭撻を賜りましたことを感謝申し上げます。また本論文を審査いただきました、京都大学大学院地球環境学堂の松井三郎教授ならびに

京都大学大学院工学研究科都市環境工学専攻の内山巖雄教授に御礼申し上げます。環境リスク工学講座の米田稔助教授には、特に数学モデル計算に当たって、私の初歩的な質問にも常にご親切にお付き合いいただき、丁寧にご指導いただきました。同講座中山亜紀助手には、私の入学時よりご親切に対応いただき、特に実務面において様々なサポートをいただきました。一緒に研究を行った同講座の松山和琴さん、森川正浩くん、佐竹星爾くん、北中陽子さんのおかげでこの論文をまとめることができました。同時期に研究室に在籍した他の学生の方々から教えていただくことも多く、また楽しく過ごさせていただきました。皆様ありがとうございました。

また、動物実験に際しまして多大なご協力をいただきました、京都大学大学院農学研究科応用生物科学専攻動物機能開発学講座生体機構学分野の眞鍋昇助教授、杉本実紀助手、他同分野の方々、京都大学医学部放射線同位元素総合センターの宮武秀司さんに深く感謝の意を表します。

私の科学的思考の根源や研究に対する姿勢は、学部4回生および修士課程時を過ごした工業化学専攻工業生化学講座で培われたものと思います。また、その後勤務しました住友化学工業株式会社におきまして、化学物質の安全性（リスク）評価、特に変異原性と薬物体内動態について、実験手技から規制対応実務まで学ばせていただくことができました。また、博士後期課程進学後に1年間米国に交換留学する機会を持つことができ、水系生態系内の物質動態調査や数学モデルの基礎を学ぶことができました。これらの知識や経験は、本研究の遂行に大きく寄与していると思います。この間にお世話になりました方々に、遠いところからですがこの場で感謝申し上げたいと思います。

最後に、勤めを辞めて学生となり、収入があるわけでも家事に専念するわけでもない私が希望実現に向かってみるのができたのは、夫の協力があつたからこそです。感謝の気持ちなど感じられないような喧嘩も多々ありましたが、やはり夫のおかげでしょう。ありがとう。そして、愛息青汰。いろいろ手を煩わせてくれるあなたが論文作成に役立ったなんてことはあり得ませんが、生後間もなくからベビーベッドの横でワープロに向かっていて、あなたに眼をかけてあげられたのは100%を欠いていたかもしれません。ひょっとして寂しい思いや不快な思いをしたときがあつたとしたら、ごめんなさい。協力してくれてありがとう。

この学位論文が私の未来につながることを期待して・・・。

2004年 3月 川本裕子