

内閣府食品安全委員会
平成15年度食品安全確保総合調査

メチル水銀のリスク評価手法に関する
調査報告書

平成16年3月

東邦大学薬学部

調査研究報告書

メチル水銀のリスク評価手法に関する調査

調査研究者：西垣隆一郎 東邦大学薬学部

調査研究要旨

生理学的薬物動態モデルを用いたメチル水銀暴露によるヒトの妊娠母体から胎児へのメチル水銀の移行及び蓄積過程を定量的に把握する解析手法の検討

1. 調査研究目的

メチル水銀については、魚類の摂取等により低濃度の長期間曝露の影響とともに、妊娠母体の胎児への移行等による健康影響が懸念されている。

本調査では、メチル水銀を例にして、妊娠した母体と胎児への体内蓄積過程を定量的に把握することを目的として、薬学にて用いられる数学モデル（生理学的薬物動態モデル：体を血流で繋いだ各種臓器コンパートメントに分け、各臓器への物質分布をシミュレーションするモデル。Physiologically based pharmacokinetic model : PBPK model）を用いた解析手法の検討を行うものである。

今年度は、薬物動態モデルを用いた解析に必要なデータ等の既存情報の収集・整理と胎児への移行を考慮した既存モデルを用いた体内動態のシミュレーション等を行い、本手法の問題点等の検討を行う。

調査結果については、我が国における適切なリスク評価のための検討の基礎資料とするものである。

2. 調査研究方法

(1) メチル水銀の体内動態に関する情報収集

次のキーワードで Medline 上の文献を検索し、必要な母体と胎児の生理学的パラメーターと、メチル水銀暴露後の臓器中濃度時間推移データを調査した。

“methyl, mercury, pharmacokinetic, fetus, mother, child, transfer, placenta, distribution”

(2) 数理モデルによるシミュレーション

(A) 数理モデル、パラメーターの設定

PBPK モデルは、血流で臓器へ運ばれた薬物が、単純拡散で臓器内へ移行し、

各臓器に特有な分配係数で分布するモデルである。胎盤から胎児への移行を除いて、母体臓器への拡散は素早く完了するとして、血流 (Q) による移行過程が律速であると仮定した perfusion limited モデルを採用した。臓器コンパートメントは血流の大きい Rich な組織群 (RP) と、血流の小さい Slow な組織群 (SP) に大別し、肝、脳、胎盤など、動物で実測値がある臓器は独立させて、その容積 (V) と血流 (Q) の値をそれぞれが属する組織群から差し引くことで微分方程式とマスバランス式を構築した。各臓器内血液から臓器への分布は、組織濃度と組織血液濃度の比である分配係数 (P) で決定される。

薬物体内動態を PBPK モデルで良く用いられるのは、11 個ほどの組織について組織分布と血流を扱い、11 個の連立微分方程式を数値解法で解くものであり、各組織での薬物濃度が実測されているものに対しては、有用性が高い。Luecke (1997) は imipramine, desipramine について、妊娠ラットで各種臓器濃度時間推移について、精度の高い解析結果を報告している。次に、メチル水銀についても解析を行い、妊娠ラット、胎児について有効な結果を報告している。ヒトへの応用では、ヒト各臓器別の濃度実測データが不足しているため、全臓器に均一な組織血液分配係数を代入して計算している。これは全身を 1 個から数個の臓器グループに括るもので、PBPK モデルの有用性が生かされない。

ここでは、ラット、ヒトの報告実測値から一部を適用し、アニマルスケールアップによる妊婦と胎児でのメチル水銀連続摂取での組織中濃度推移の推定を試みた。

a) 半減期

報告されている体内消失半減期、または代謝速度定数から求めた半減期は、ラットでは 10-14 日、ヒトでは 50-70 日、150 日と種差もばらつきもある (Farris, 1993, Smith, 1996, carrier, 2001)。ヒトの代謝酵素活性は、ラット等の動物の 11 分の 1 ほどと小さく、メチル水銀の代謝もヒトでは遅いと考えられる。今回はヒトでの半減期 50 日となる代謝速度定数を代入した。

b) 組織血液分配係数 (P 値 : 組織 / 血液濃度比)

P 値はラットで報告者、組織によって、0.0006 から 332 まで大きく異なるが、これはどの組織の実測値であるのかと、組織容積、組織血流の数値に依存している。メチル水銀は組織内に特異的に結合する部位はなく、P 値が 1 を大きく超えることはないと考えられる。すなわち種差による差異も小さいと考えられる。今回の P 値には、データが各臓器でそろっているラットでの報告値 (Luecke, 1997) を採用した。

c) 臓器重量 (臓器容積) と臓器血流

妊娠中の母体の血液量、肝重量は体重増加に比例して増加する関数で代入した。ヒト妊娠期間中の生理学的パラメーターの増加曲線には、Gompertz 式、多項式、logistic 曲線などの近似式が用いられることがある (Young, 1997)。近似べき乗式を用いてもよいが、式は実測値から見積もった近似であるので、今回は報告されている実測曲線から読み取った数値を用いた (Report of the Task Group on Reference Man, International Commission on Radiological Protection, Pergamon Press)。

(B) シミュレーションの実施

コンピューター・シミュレーション・プログラムには、ACSL を用いた。母体、胎盤、胎児の各組織の妊娠末期までの胎盤重量、胎児重量は、報告値を表としてプログラム中に組み込んだ。ヒトの曝露量は、 $3.3 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/週あるいは $1.6 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/週とした。

3. 解析結果

(1) メチル水銀の体内動態に関する情報収集

40 報を超える文献を収集し、内容要約を作成し、必要な実測値とパラメーターを得た。また、メチル水銀、その他の汚染物質にかかる母体から胎児への移行を考慮した数学モデルを用いた文献等を収集した。

(2) 数理モデルによるシミュレーション

(A) 数理モデル、パラメーターの設定

① 数理モデル

PBPK モデル (Fig. 1) を仮定して以下の速度式を立てた。

消失のない臓器 (f) については次の速度式が成立する。

$$V_f \cdot dC_f/dt = Q_f (C_a - C_f/P_f)$$

肝で代謝消失がある場合は、代謝速度定数 (K_f) を用いて次式が成立する。

$$V_l \cdot dC_l/dt = Q_l (C_a - C_l/P_l) - K_f \cdot V_l \cdot C_l$$

胎児コンパートメントは、胎盤を介して血液が出入りする特殊機能を考慮して、母体の胎盤コンパートメントに連結し、胎盤組織から胎児への移行速度式では拡散が律速過程であると仮定した (Gabrielsson, 1984)。

$$\text{胎盤} : V_p \cdot dC_p/dt = Q_p (C_a - C_p/P_p) - CL_j \cdot (C_p - C_j/P_j)$$

$$\text{胎児} : V_j \cdot dC_j/dt = CL_j \cdot (C_p - C_j/P_j)$$

ここで、大文字は V : 組織容積 (L)、 C : メチル水銀濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)、 Q : 血流 (L/hr)、 P : 分配係数 (組織濃度/組織血液濃度; $P = C/C_v$)、 CL : 拡散

クリアランス (L/hr) を表し、小文字添え字は、a: 血液 (動脈)、p: 胎盤、j: 胎児、v: 組織血液 (静脈) を表す。ここでは組織血液濃度 (Cv) は均一で、組織出口の静脈血液中濃度に等しいという **well stirred model** が仮定されている。

血液から胎盤への分配係数 ($P_p=0.25$)、胎盤から胎児への分配係数 ($P_j=0.2$)、胎盤から胎児への拡散クリアランス ($CL_j=4$) はラットでの報告値を用いた。この拡散クリアランスは、単純拡散による胎盤組織から胎児へのメチル水銀の移行速度を母体血液中濃度で除したもので、クリアランス単位 (流速) をもつ。

プログラム (flowf*.csl) は Appendix B に示した。

②母体と胎児の生理学的パラメーターの見積もり

シミュレーション計算で用いた妊婦母体と胎児の生理学的パラメーターは、報告値を参照した。ヒトでは測定されていないものもあり、一部はラットのものを用いた。母体体重のべき乗式から、心拍出流速 (Qc)、肝容積 (Vl)、肝血流 (Ql) を算出した (Table 1)。

妊婦体重 50kg から 60kg までの増加に、胎盤、胎児のパラメーターを相関させ、妊娠 0、70、140、210、280 日目の値としてプログラム中に表にして組み込んだ。

(B) シミュレーションの結果

母体への経口投与時のシミュレーション曲線を示す (Figure 2-4)。

妊娠中の母体、胎児のメチル水銀は、280 日の満期まで、飽和曲線を描いて増加していく。280 日の時点で、飽和濃度の 9 割ほどに達している。

メチル水銀濃度は、母体血液、肝臓、胎盤、胎児、母体脳の順になっているが、これはラット実測値がこの順であり、それに合わせたラット用分配係数 (P 値) を適用したからであり、ヒト組織、胎児実測値セットがあれば、逆にパラメーターの見積もりが可能である。

このモデルでは胎児の肝、脂肪、脳などの個別臓器中濃度推移の推定は、胎児の組織分配係数が母体のそれと相違ないと仮定して行う。体内消失半減期が数十日と大きいこと、組織分布は血流律速で分布に要する時間はせいぜい数時間であることから、胎児個別臓器中濃度を組み込んだモデルを構築した場合には摂取後の上昇率は変化するが、数日間に渡る増加曲線の形態に大きな変化はないと考えられる。

ラットの報告データ (Luecke, 1997) では、胎児臓器濃度は血中濃度に臓器分

配係数を乗じた濃度で血中濃度と平行に推移しており、ヒト胎児でも血中濃度より低濃度で胎児濃度と平行に推移すると考えられる。

(3) 総合解析

- ・数学モデルによる解析に用いることができるデータがどの程度あるのか文献調査した。その結果、現時点で、十分なヒトの母体及び胎児の臓器毎のデータセットが見当たらなかった。

- ・モデルの設計上の問題点を確認するため、ラットとヒトとの胎児の数、脳の成長等に種間の違いがあるものの、それらを同一とする等の仮定を置いた上で、モデル、パラメーターの設定を行った。すなわち、組織分配係数には種差がないとしてラットのデータを用い、肝代謝能には大きな種差があるのでヒトのデータを用い、ヒト胎児重量増加は報告値を用いた。モデル設計上の問題はなく、シミュレーションの実施が可能であった。今後は、メチル水銀の体内での代謝、腎排泄の寄与や、妊娠時までの継続曝露を考慮したモデルの改良、胎盤から胎児への移行速度式の改良、胎児の各組織を独立させたモデルなどによる改良が必要である。

- ・また、パラメーターフィッティングによってヒト組織分配係数や、肝代謝能を見積もるためには、ヒトでのデータが必要であり、特に蓄積を扱う場合には長期継続投与データが必要である。既存のデータ（動物のデータ）で行うシミュレーションについては、ヒトのパラメーターではない点を認識しておくことも重要である。

References

Carrier, G.

A toxicokinetic model for predicting the tissue distribution and elimination of organic and inorganic mercury following exposure to methyl mercury in animals and humans. I. Development and validation of the model using experimental data in rats.

Toxicol Applied Pharmacol., 171(1), 38-49, 2001

Farris, Fred E.

Physiological Model for the Pharmacokinetics of Methyl Mercury in the Growing Rat

Toxicol. Applied Pharmacol., 119, 74-90, 1993

Gabrielsson, J. L.

A physiologically based pharmacokinetic model for theophylline in the pregnant and nonpregnant rat.

J. Pharmacokin. and Biopharmaceut., 12, 149-165, 1984

Luecke, Richard H.

A computer model and program for xenobiotic disposition during pregnancy

Comput. Method and Programs in Biomed., 53, 201-224, 1997

Smith, J. C.

Methyl mercury pharmacokinetics in man: a reevaluation.

Toxicol. Appl. Pharmacol., 137(2), 245-52, 1996

Young, John F.

Physiological Constants for PBPK Models for Pregnancy

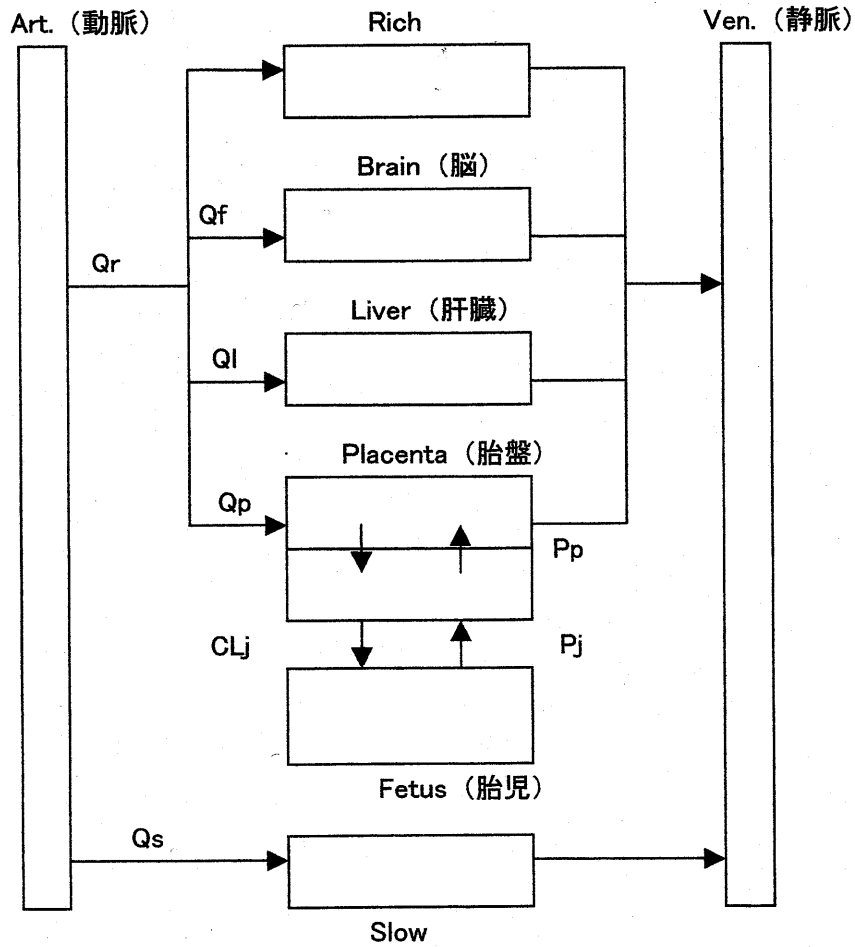
J. Toxicol. Environ. Health, 52, 385-401, 1997

Report of the Task Group on Reference Man, International Commission on Radiological Protection, Pergamon Press

Table 1 モデルで用いたパラメーター

	パラメーター	略号	単位	値 (0 to 6720hr (280日))
体重	体重	BW	kg	50 to 60
容積	肝臓(比率)	Vlc		0.375 (未使用)
	肝臓	Vl	kg	0.0085 to 0.017
	脳(比率)	Vfc		0.07 to 0.08
	脳	Vf	kg	$Vf=BW \cdot Vfc$
	脳中血液	Vfb	kg	$Vfb=0.025 \cdot Vf$
	低血流組織	Vs	kg	$Vs=0.82 \cdot BW - Vf$
	高血流組織	Vr	kg	$Vr=0.09 \cdot BW - Vl$
	血液(比率)	Vbc		$Vbc=0.077$
	血液	Vb	kg	$Vb=BW \cdot Vbc$
	胎盤	Vp	kg	0.03 to 0.6
	胎児	Vj	kg	0.15 to 3
血流	血流全体(比率)		Qcc	
	血流	Qc	L/hr	
	肝臓(比率)	Qlc		$Qlc=0.25$
	肝臓	Ql	L/hr	
	脳(比率)		Qfc	$Qfc=0.09$
	脳	Qf	L/hr	$Qf=Qfc \cdot Qc$
	低血流組織	Qs	L/hr	$Qs=0.24 \cdot Qc - Qf$
	高血流組織	Qr	L/hr	$Qr=0.76 \cdot Qc - Ql$
	胎盤	Qp	L/hr	0.025 to 0.5
分配	肝臓	Pl		0.206
係数	脳	Pf		0.084
	低血流組織	Ps		0.282
	高血流組織	Pr		0.282
速度	吸収	Ka	/h	0.2 ($t_{2/1}=3.5h$)
定数	代謝定数	Kf	/h	0.000575
その他	投与量	dose	μ/kg	$3.3 \mu g/kg/w = 3.3 \times 50/7 \mu g/d$
				$1.6 \mu g/kg/w = 1.6 \times 50/7 \mu g/d$

Fig.1 PBPK Model



生体を血流が豊富で速い組織群 (Rich) と遅い (Slow) 組織群に分け、それぞれに組織重量 (容積: V) と、組織血流 (Q) を振り分ける。注目する組織 (脳、肝、胎盤) は Rich な組織群の中で独立させる。組織へのメチル水銀移行は血流律速 (perfusion limited) を仮定する。胎盤組織から胎児への移行には、拡散 (diffusion) 過程を仮定する。

シミュレーション例

Case I

妊婦（体重 50-60kg）が、 $3.3 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{w}$ で暴露される。

Fig. 2 母体血液、肝、脳、胎盤、胎児での濃度推移：対数プロット

Case II

一般人（体重 50kg）が、 $3.3 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{w}$ で暴露される。

Fig. 3 母体血液、肝、脳での濃度推移：対数プロット

Case III

妊婦（体重 50-60kg）が、 $1.6 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{w}$ で暴露される。

Fig. 4 母体血液、肝、脳、胎盤、胎児での濃度推移：対数プロット

Case IV

一般人（体重 50kg）が、 $1.6 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{w}$ で暴露される。

Fig. 5 母体血液、肝、脳での濃度推移：対数プロット

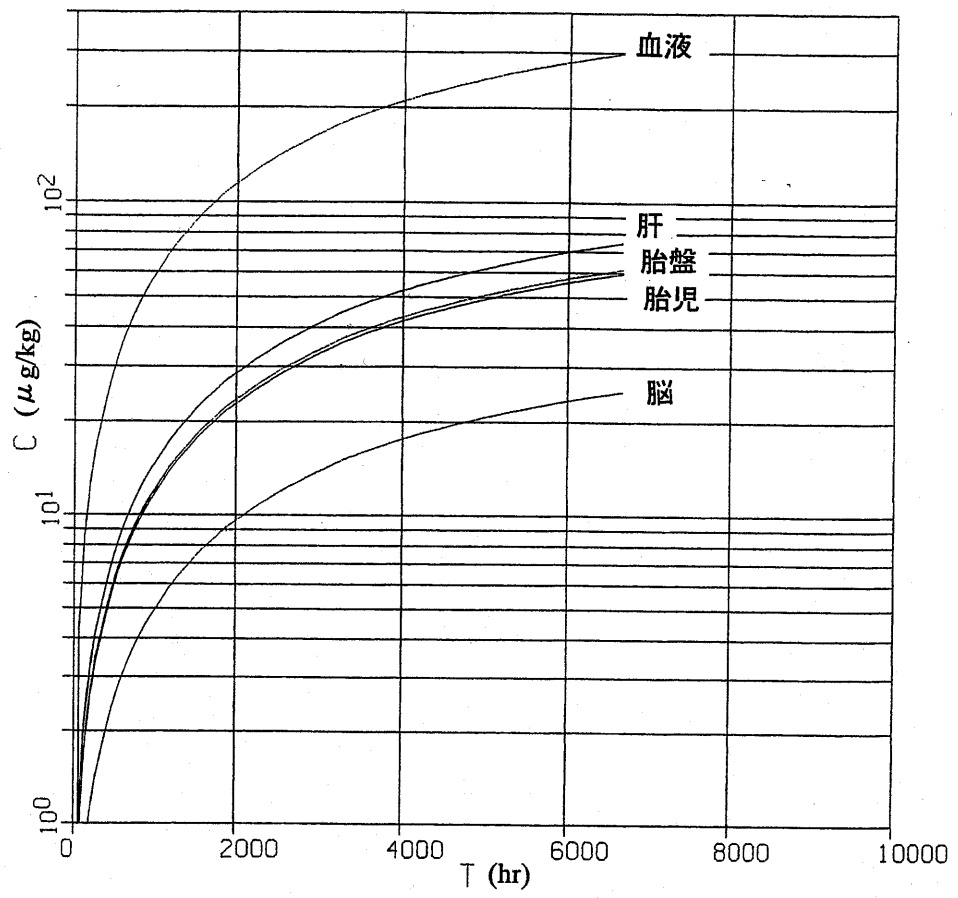


Fig.2 $3.3 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{w}$ 妊婦 50-60kg

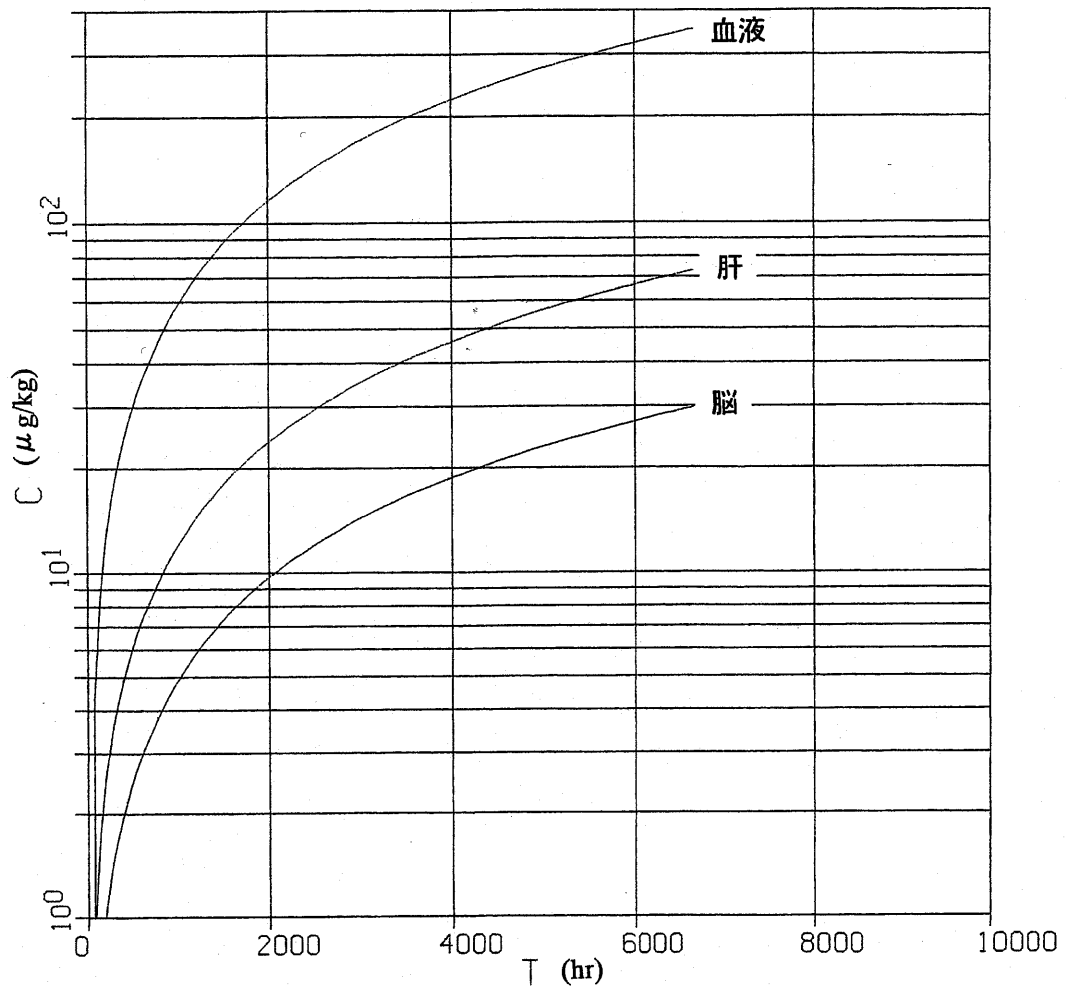


Fig.3 $3.3 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{w}$ 一般人 50kg

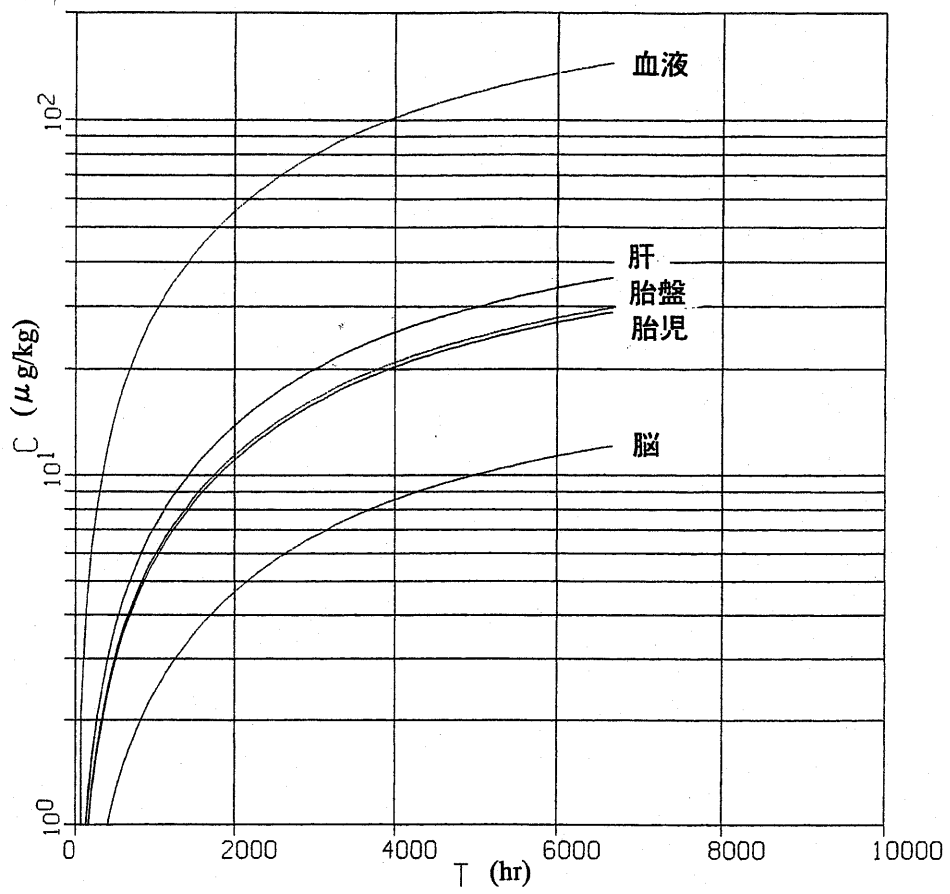


Fig.4 $1.6 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{w}$ 妊婦 50-60kg

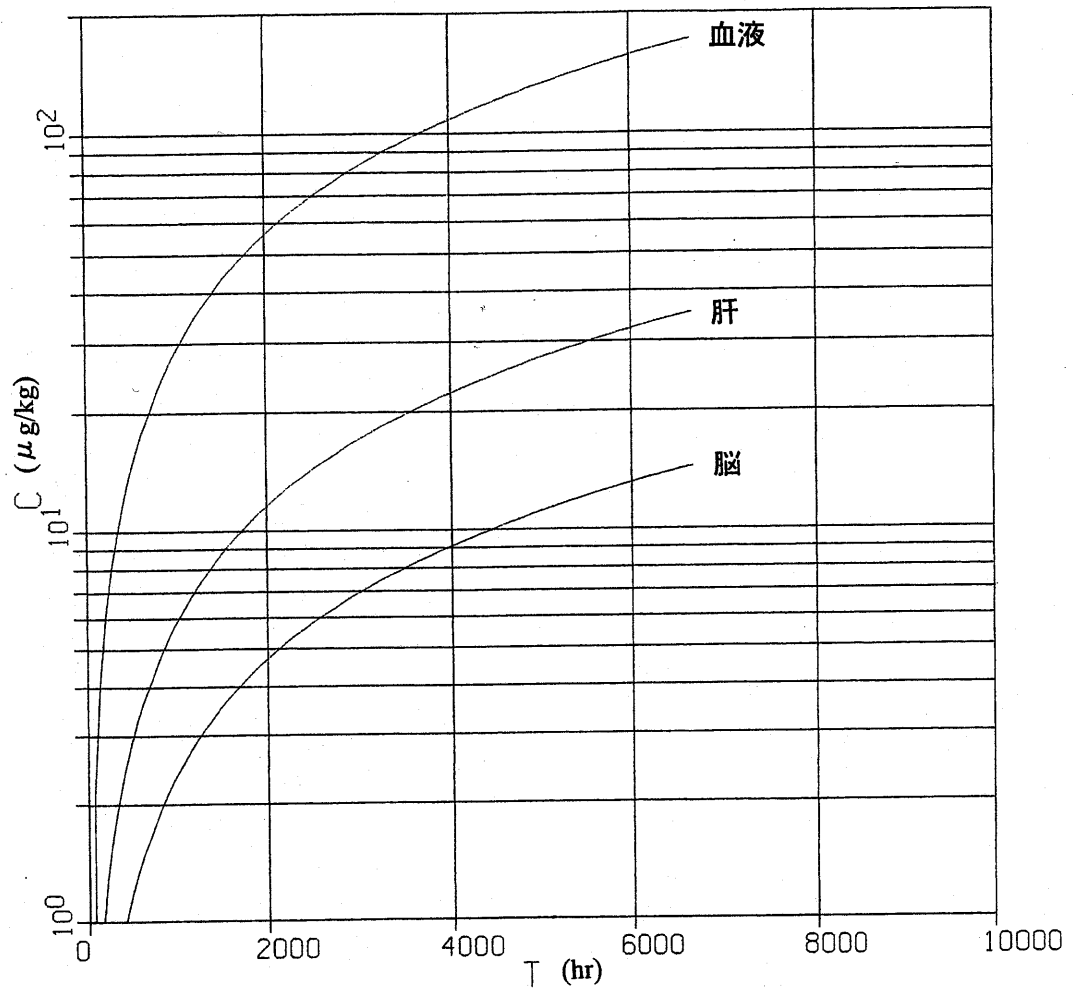


Fig.5 $1.6 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{w}$ 一般人 50kg

Appendix A ACSL コマンドプログラム

! flowf55.cmd for flowf70-76

! set pp=0.25

! set pj=0.2

! set clj=4

prepare t, ca1, cf1, cl1, as, ar, ab, mr, al, af, ca, cl, cf, ap,
aj, cp, cj

end

start

plot /log /lo=1 /data=dpj1 ca, cl, cf, cp, cj /same

plot /log /lo=1 /data=dpj1 ca, cl, cf /same

plot ca, cl, cf, cp, cj /same

plot ca, cl, cf /same

plot cp, cj /same

plot ar, as, mr

plot ab, al, af

plot aj, ap /same

Appendix B ACSL メインプログラム

! flowf55.csl placenta and taiji 2004 no binding, % dose, single dose,
general

! pregnanncy for 280d=6720h

program

INTEGER index

PARAMETER (indexmax=280)

DIMENSION dose(indexmax), DoseTime(indexmax)

DO 10 I=1, indexmax

dose(I)=3.3*50/7

DoseTime(I) = (I-1)*24

10..CONTINUE

initial

index= 1

total= 0.0

constant qcc=14

constant qlc=0.25

constant qf=32 ! qfc=0.134 brain

constant vlc=0.0214

constant pl=0.206

constant pf=0.084

constant ps=0.282

constant pr=0.282

constant kf=0.000575 ! kfc=0.002 ! metabolism

constant pdose=3.3 ! dose per oral mcg per kg bw

constant mw=1

constant ka=0.2 ! absorption rate const

constant vbc=0.077 ! vb=3.85


```

constant   bw0=50
constant   vf=1.07           ! brain vol

! constant   vp1=0.2         ! plac=12.5kg x1/3=4kg  5.2%
! constant   vj1=1          ! 26.4%
! constant   qp1=7          ! ql 64x 1/3x 1/3

constant   pp=0.25         ! partition to placenta 0.8
constant   pj=0.2         ! partition to taiji 1
constant   clj=4           ! clearance to taiji l/hr < qp1=21 4
! dose=pdose*bw           ! mcg, for %of dose
! mdose=pdose*bw0*1000/mw ! nmoles former dose

! constant   bm1=0         ! binding in liver
! constant   kb1=0

constant   tstop=6720
constant   points=100
cint=tstop/points

! tables of parameters
table bw, 1, 5/0, 1680, 3360, 5040, 6720, 50, 50.5, 52, 56, 60 / !
body weight
! table vfc, 1, 5/0, 1680, 3360, 5040, 6720, / ! brain volume
! table qc, 1, 5/0, 1680, 3360, 5040, 6720, / ! heart output
! table vl, 1, 5/0, 1680, 3360, 5040, 6720, / ! liver volume
! table ql, 1, 5/0, 1680, 3360, 5040, 6720, / ! liver blood flow

table vp, 1, 5/0, 1680, 3360, 5040, 6720, 0.002, 0.025, 0.166, 0.33, 0.5
/ ! placenta volume
table qp, 1, 5/0, 1680, 3360, 5040, 6720, 0.1, 1.05, 7, 14, 21
/ ! placenta blood volume
table vj, 1, 5/0, 1680, 3360, 5040, 6720, 0.01, 0.125, 0.83, 1.66, 2.5
/ ! taiji volume

end ! of initial

```

dynamic

algorithm alg1=2

derivative

procedural

days=t/24

! vfc1=vfc(t) ! brain vol

bw1=bw(t)

! qc1=qc(t)

! vl1=vl(t)

! ql1=ql(t)

qp1=qp(t) ! (bw1-bw0)*21/12 ! =qp(t)

vp1=vp(t) ! (bw1-bw0)*0.052 ! =vp(t)

vj1=vj(t) ! (bw1-bw0)*0.264 ! =vj(t)

qc=qcc*bw1**0.74

ql=qlc*qc

! qf=qfc*qc

qs=0.24*qc

qr=0.76*qc-ql -qf -qp1

vl=vlc*bw1

! vf= vf1*bw1

vs=0.82*bw1

vr=0.09*bw1-vl-vf-vp1-vj1 ! blood volume 1/13 of bw

vb=vbc*bw1

! vfb=vf*0.07 ! blood content of brain

! kf= kfc/bw1**0.3 ! metabolic rate

! cvl=0.0 ! cl=0

end ! of procedural

```

rnr=-ka*mr          ! remaining +dose
mr=integ(rnr, 0.0) +total

ras=qs*(ca-cs/ps)   ! slow
as=integ(ras, 0.0)  ! amount nmoles
cs=as/vs

rar=qr*(ca-cr/pr)   ! rich
ar=integ(rar, 0.0)
cr=ar/vr

raf=qf*(ca-cf/pf)   ! brain, not fat
! raf=qf*(ca-cfb)-clf*(ca-cfb) ! diffusion, no
af=integ(raf, 0.0)
cf=af/vf
! cf1=cf/10/dose    ! sub.1 means ng/g tissue

ral=ql*(ca-cl/pl)-ram ! liver
al=integ(ral, 0.0)
! liv=al/dose/vl/10 ! % mdose/g liver
cl=al/vl
! cl1=cl/10/dose

rap=qp1*(ca-cp/pp)-clj*(cp/pp-cj/pj) ! placenta
ap=integ(rap, 0.0)
cp=ap/vp1
! cp1=cp/10/dose

raj=clj*(cp/pp-cj/pj) ! taiji
aj=integ(raj, 0.0)
cj=aj/vj1
! cj1=cj/10/dose

! procedural        ! liver binding

```

```

! cvl=a1/pl          ! no binding
! end

ram=kf*cl*vl/pl     ! matabolised
am=integ(ram, 0. 0)

rvb=qf*cf/pf+ql*cl/pl+qs*cs/ps+qr*cr/pr-rmr+qp1*cp/pp  ! vein
rab=rvb-qc*ca      ! artery
ab=integ(rab, 0. 0)
ca=ab/vb           ! blood concentration
! ca1=ca/10/dose

tmass=af+a1+as+ar+am+mr+ab+ap+a j

termt(t. ge. tstop)

IF(t .GE. DoseTime(index)) THEN
  total= total+ dose(index)
  index= index+ 1
TERMT(index .GT. indexmax, 'Index Limit')
endif

end ! of derivative
end ! of dynamic
end ! of program

```