原 著

有機溶剤（トリクロロエチレン）の外部暴露量と 内部暴露量の関係

生理学的シミュレーションモデルを用いた解析

金子 誉*, 遠藤 和志*, 佐藤 章夫*

THE RELATIONSHIP BETWEEN EXTERNAL AND INTERNAL DOSES OF TRICHLOROETHYLENE

A Simulation Study Using a Physiological Pharmacokinetic Model

Takashi KANEKO,* Kazushi ENDOH* and Akio SATO*

The relationship between external dose and internal dose of trichloroethylene (Tri) was analyzed by using a physiological simulation model. The external dose of Tri was represented by the time-weighted average (TWA) concentration in inhaled air or by the product of exposure concentration and exposure duration, and the internal dose by the area under the curve (AUC) of Tri blood concentration or by the cumulative amount of total trichloro compounds (TTC) in urine. If TWA concentrations were equal, the internal doses were also equal irrespective of whether Tri exposure was continuous, intermittent, or random. Both AUC of Tri and cumulative amounts of urinary TTC increased linearly with increase of Tri concentration in inhaled air up to 100 ppm. The increase at exposure concentrations between 100 and 500 ppm was non-linear. At concentrations above 500 ppm where Tri metabolism was saturated, AUC increased linearly again but much more sharply than the increase at concentrations below 100 ppm. In contrast, the increase of cumulative amounts approached a plateau along with Tri exposure concentration. If the exposure concentration was below the level when saturation of Tri metabolism did not occur, equal products of Tri concentration and exposure duration resulted in almost the same internal dose. In general, however, the AUC of blood concentration in a high-concentration, short-duration exposure was larger than that of a low-concentration, long-duration exposure, whereas the cumulative amount of TTC was larger in the latter than in the former.

Key words: external dose; internal dose; physiological simulation model; trichloroethylene

I. 緒 言

毒性学の分野においては、“量-影響関係 (dose-effect relationship)” という言葉がよく用いられる。有機溶剤のような吸入物質の場合、その“量”は一般に吸入濃度と吸入時間との積 (ppm×h など) で表わされる (外部暴露量 external dose)。しかし化学物質の“影響 (毒性)”は、化学物質 (あるいはその代謝物) の標的組織に

おける濃度 (内部暴露量 internal dose) によって決まる。したがって化学物質の量-影響関係は、外部暴露量と内部暴露量の関係によって決まるともいえる。

外部暴露量と内部暴露量の関係はつぎに述べる二つの点で重要である。まず第一にヒトの職業性暴露の場合である。産業衛生の分野においては、外部暴露量は時間荷重平均濃度 (time-weighted average concentration, TWA) で表わされることが多い。そして一般に時間荷重平均濃度が等しければ、その生体影響 (内部暴露量) も等しいと考えられている。職場で作業者が吸入する有機溶剤の濃度は、絶えず大きく変動する。このように暴露濃度が著しく変動する場合でも、時間荷重平均濃度が

* 山梨医科大学第一保健学教室

昭和63年12月20日受付

* Department of Environmental Health, Medical University of Yamanashi

Received for publication, December 20, 1988

等しければ、その内部暴露量も常に等しいという原則が当てはまるだろうか。

つぎに動物実験の場合である。動物実験においては化学物質の毒性を証明するために、ヒトでは考えられないような高濃度暴露実験の行われることがある。このような高濃度暴露実験で得られた結果から低濃度暴露における生体影響を予測するためには、外部暴露量と内部暴露量の関係に関する基本的理解が必要である。

上述の問題点を理解するためには、生理学的シミュレーションモデルが有力な手段となる。このモデルを用いると、産業現場における観察や動物実験データからは把握できない有機溶剤の外部暴露量と内部暴露量の一般的関係を理解することができる。本研究では、我々が開発した有機溶剤の体内動態に関する生理学的シミュレーションモデル¹⁾を用いて、トリクロロエチレン (trichloroethylene, Tri) の外部暴露量と内部暴露量の関係を検討した。

II. 方 法

研究に用いた生理学的シミュレーションモデルの詳細は別報¹⁾に述べた。その概要は以下の通りである。このモデルは、肺 (lung compartment, LC), 血流の多い組織群 (vessel-rich compartment, VRC), 血流の乏しい組織群 (vessel-poor compartment, VPC), 筋組織群 (muscle compartment, MC), 脂肪組織群 (fat compartment,

FC), 胃腸管群 (gastrointestinal compartment, GC), 肝 (hepatic compartment, HC) の7つのコンパートメントで構成されている。各コンパートメントにおける溶剤の収支に質量-作用の法則を適用して連立微分方程式を導く。これをコンピューター (Macintosh) で数値解析することによって、その体内動態をシミュレーションした。計算には spread-sheet (Microsoft Excel) プログラムを用いた。このプログラムにはヒトの生理学的パラメーター、Tri の分配比と代謝定数 (最大速度 V_{max} , Michaelis 定数 K_m), Tri の暴露条件が表形式で組み込まれている。任意の暴露条件を設定してプログラムを走らせるとシミュレーションの結果が表として現われる。これを適宜グラフ化してシミュレーション曲線が得られる。

シミュレーションに採用した標準的男性 (体重 70 kg) の生理学的パラメーターおよび Tri の分配比と代謝定数を Table 1 に示した。なおこの男性は暴露中も暴露後も安静状態で過ごすものと仮定した。

内部暴露量として暴露開始後 120 時間の血中 Tri 濃度-時間曲線下面積 (area under the curve, AUC) と尿中代謝物 (総三塩化物 total trichloro compounds, TTC) の排泄速度-時間曲線下面積 (120 時間の累積排泄量に相当する) を用いた。一般に、最終代謝物の尿中排泄量と毒性を発揮する活性代謝物の internal dose とは必ずしも一致しない。しかし尿中代謝物の排泄量と肝毒性の

Table 1. Simulation parameter.¹⁾

Compartment	Volume (l)	Blood flow (l/min)	Partition coefficient
Lung	$V_L^a)$	$Q_C^c)$	—
Vessel-rich	$0.030B_W^{b)}$	$0.379Q_C$	3.42
Vessel-poor	$0.085B_W$	$0.063Q_C$	1.64
Muscle	$0.415B_W$	$0.114Q_C$	1.64
Fat	$0.211B_W$	$0.053Q_C$	68.00
Gastrointestinal	$0.019B_W$	$0.171Q_C$	2.99
Hepatic	$0.023B_W$	$0.069Q_C$	4.40
Arteriovenous shunt	—	$0.151Q_C$	—
Blood/air partition coefficient (λ)			9.92
V_{max} , mg/min			$0.17(B_W)^{0.7}$
K_m , mg/l			2.5
Q_L			Q_C

^{a)} $V_L = (\text{tidal volume}) \times 1/3 + (\text{functional residual capacity}) + (\text{lung volume}) \times (\text{lung/air partition coefficient}) + (\text{arterial blood flow}) \times \lambda$.

^{b)} $B_W = \text{body weight (kg)}$.

^{c)} $Q_C (\text{cardiac output}) = 0.25(B_W)^{0.74}$.

指標である血清 GPT 活性との間に相関関係があるという報告^{2,3)}があり、ここでは代謝物の internal dose として尿中代謝物 (TTC) の累積排泄量を採用した。なお血中濃度は VRC から流出する血液の濃度で代表した (血中濃度 = VRC 濃度 $\times$ 血液/VRC 分配比)。

III. 結 果

1. 連続暴露と断続暴露

標準的男性に 50 ppm の Tri を 8 時間連続的に暴露したときの VRC, MC, FC の溶剤濃度と代謝物の尿中排泄速度の時間的経過を Fig.1 に示した。尿中代謝物はトリクロロエタノール (trichloroethanol, TCE) とトリクロロ酢酸 (trichloroacetic acid, TCA) に分けて示してある。暴露開始とともに VRC の Tri 濃度は急激な立ち上がりを示す。MC と FC における溶剤の濃度上昇は VRC より緩慢である。8 時間の暴露終了時の溶剤濃度の比は VRC:MC:FC=1:0.5:2.5 である。VRC と MC は 8 時間の暴露ではほぼ定常状態にはいるが、FC にはなお Tri を取り込む余地が多分にある。

暴露終了後の VRC と MC の溶剤濃度は暴露中とは鏡像的な関係で低下し始める。VRC では速やかに、MC ではやや緩やかに減少する。しかし FC における濃度減少は非常に緩慢である。暴露終了後 16 時間 (作業者にあっては通常翌日の作業開始時に相当する) の濃度の比は VRC:MC:FC=1:0.5:130 と、FC の濃度が圧倒的に高い。またこの時間帯における各コンパートメントの濃度-時間曲線は片対数プロットで平行になる (データを示さず)。したがってこの時間帯の Tri の消失速度は各コンパートメントでほぼ等しい。すなわち暴露後ある程度時間が経つと、脂肪組織からの Tri の離脱速度が生体内の Tri の動態を律速していることがわかる。

Fig.2 は 1 時間おき (断続的) に 100 ppm の Tri を 1 時間ずつ計 4 回暴露したときの VRC, MC, FC の Tri 濃度曲線と代謝物 (TCE と TCA) の尿中排泄速度曲線を示している。暴露濃度の 100 ppm-0 ppm-100 ppm という急激な変化に対応して VRC は速やかに反応する。MC も比較的速やかに反応するが、FC は反応しきれない。TCE と TCA の尿中排泄速度はともに Tri 暴露の断続によってあまり大きな影響を受けない。しかし、暴露終了後は連続暴露の場合と同様に各コンパートメントの Tri 濃度も尿中代謝物の排泄速度も指数関数的に減少していく。

この断続暴露は先の連続暴露の場合と同様に 8 時間の時間荷重平均濃度は 50 ppm である。各コンパートメントの Tri 濃度および代謝物の尿中排泄速度を連続暴露と

Fig.1. Tissue Tri concentration and rate of urinary TCE and TCA excretion during and after a 50-ppm $\times$ 8-h continuous Tri exposure. VRC, vessel-rich compartment; MC, muscle compartment; FC, fat compartment.

Fig.2. Tissue Tri concentration and rate of urinary TCE and TCA excretion during and after four 100-ppm $\times$ 1-h intermittent Tri exposures. VRC, vessel-rich compartment; MC, muscle compartment; FC, fat compartment.

断続暴露の間で比較してみた (Table 2)。暴露終了後 16 時間では各コンパートメントの Tri 濃度および代謝物の尿中排泄速度には両暴露間で大きな差は認められなくなる。

また血中 Tri 濃度-時間曲線下面積 (血中 Tri の AUC), 尿中代謝物の排泄速度-時間曲線下面積 (累積排泄量) にも両暴露間で大きな差は認められない (Table 3)。すなわち、時間荷重平均濃度が 50 ppm 近辺にあるかぎり、断続暴露の内部暴露量は連続暴露のそれにほぼ等しいと考えることができる。

2. ランダム暴露における内部暴露量

暴露濃度の時間的変動が内部暴露量におよぼす影響を検討した。標準的男性に、16 段階のそれぞれ異なる濃度 (0 ppm 2 回, 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm 2 回, 50 ppm 4 回, 75 ppm 3 回, 110 ppm, 150 ppm)

Table 2. Tissue Tri concentration and rate of urinary TCE and TCA excretion 16 hours after the end of exposure. Comparison between continuous and intermittent exposures.

Exposure	VRC mg/l	MC mg/l	FC mg/l	TCE mg/h	TCA mg/h
Continuous	0.047	0.023	6.00	4.80	0.78
Intermittent	0.049	0.024	6.20	4.80	0.77

Table 3. AUC of Tri concentration in blood and cumulative amounts of urinary TTC. Comparison between continuous and intermittent exposures.

Exposure	AUC mg/l×h	TTC mg
Continuous	7.71	332
Intermittent	7.53	336

の Tri を 30 分ずつ合計 8 時間暴露したものとする。暴露パターンは、16 段階の暴露濃度をランダムに配列したパターン、漸増パターン（最初の暴露濃度が最低で、次第に上昇して終了時にピークがくる）、漸減パターン（最初の暴露濃度が最高で、次第に減少して終了時に最低となる）、漸増漸減パターン（暴露の中間時に濃度のピークがある）である。いずれの場合も 8 時間暴露の時間荷重平均濃度は 50 ppm である。暴露開始後 120 時間の血中 Tri の AUC および尿中代謝物（TTC）の累積排泄量はこれらの暴露においてほぼ等しい（Fig.3）。すなわち、この程度の暴露濃度では暴露パターンが大きく異なっても、時間荷重平均濃度が等しければ内部暴露量はほぼ同じである。

3. 暴露濃度と内部暴露量

種々の濃度の Tri を 8 時間連続して暴露した場合の暴露開始後 120 時間の血中 Tri の AUC と尿中代謝物（TTC）の累積排泄量を Fig.4 に示す。暴露濃度が 100 ppm 以下では、血中 Tri の AUC も尿中代謝物の累積

Fig. 3. Internal doses of Tri (AUC of blood Tri concentration) and its metabolites (cumulative amounts of urinary TTC) in Tri exposures of various patterns. Run 1, random exposure; Run 2, ascending pattern; Run 3, descending pattern; Run 4, ascending and descending pattern. The 8-h time weighted average concentration of each exposure is 50 ppm.

Fig. 4. Internal doses of Tri (AUC of blood Tri concentration) and its metabolites (cumulative amounts of urinary TTC) in exposures to Tri at various concentrations.

排泄量も暴露濃度の上昇とともに直線的に増加する。しかし 100 ppm をこえると血中 Tri の AUC が加速度的な上昇を続ける (500 ppm をこえると再び直線的に増加する) のに対し、代謝物の尿中排泄量の増加は次第に減速する。

上記の暴露条件における暴露終了直後の血中 Tri 濃度と代謝物の尿中排泄速度を Fig. 5 に示す。血中 Tri 濃度曲線の形状は Fig. 4 の血中 Tri の AUC 曲線とあまり変わらない。しかし代謝物の尿中排泄速度曲線は、Fig. 4 の累積排泄量のそれと多少異なる。すなわち暴露濃度が 100 ppm までは直線的に増加するが、暴露濃度が上昇するにしたがってその増加率が次第に減少し、500 ppm 以上ではほとんど定常状態にはいる。Tri の代謝は、100 ppm までは 1 次反応にしたがうが、500 ppm 以上では 0 次反応に近くなり、その間の濃度では非線形反応に近似するといえる。見かけ上の K_m は 100 ppm 前後にある。

4. 高濃度・短時間暴露と低濃度・長時間暴露の比較
暴露濃度と暴露時間の積 (外部暴露量) が等しければ内部暴露量も等しくなるかどうか検討した。外部暴露量として 400 (ppm × h), 800 (ppm × h), 1,600 (ppm × h), 3,200 (ppm × h) の 4 段階を設定した。暴露時間は 0.5, 1, 2, 4, 8, 16 時間の 6 段階を選び、暴露濃度は暴露時間との積が上記の 4 段階の値 (400, 800, 1,600, 3,200) となる濃度 (ppm) を用いた。暴露開始後 120 時間の血中 Tri の AUC および尿中代謝物 (TTC) の累積排泄量を各暴露間で比較した (Fig. 6)。血中 Tri の AUC は、高濃度・短時間暴露の方が低濃度・長時間暴露より高い傾向にあった。しかし尿中代謝物 (TTC) の累積排泄量は、逆に低濃度・長時間暴露の方が高濃度・短時間暴露より多かった。

Fig. 5. Tri concentration in blood and rate of urinary TTC excretion at the end of 8-h exposure to Tri at various concentrations.

Fig. 6. Relationship between external and internal doses of Tri when external dose (concentration × time) was fixed at the same level. a. AUC of Tri concentration in blood. b. Cumulative amounts of urinary TTC.

IV. 考 察

代謝が飽和しない低濃度の暴露では、暴露の連続、断続を問わず、また暴露パターンにも関係なく、時間荷重平均濃度で表わされる外部暴露量が等しければ内部暴露量もほぼ等しい (Table 3, Fig. 3)。このとき用いた 8 時間の時間荷重平均濃度は 50 ppm である。現行の Tri の許容濃度も 50 ppm であり、この近辺の暴露濃度におい

ては、外部暴露量が等しければ内部暴露量もほぼ等しいと考えることができる。

しかし有機溶剤の代謝は一般に飽和現象をとまなう⁴⁾。尿中代謝物 (TTC) の累積排泄量 (Fig. 4) も代謝物の尿中排泄速度 (Fig. 5) も、暴露濃度が上昇するにしたがって次第に直線からはずれる。直線性が認められるのは暴露濃度が 100 ppm 以下の場合だけである。高濃度暴露 (500 ppm 以上) では生体の Tri 代謝が完全に限界に達している。

動物実験においてはしばしば高濃度暴露実験が行われるが、この高濃度暴露実験で得られた結果から低濃度暴露におけるヒトの生体影響 (risk) を外挿によって予測することは難しい。前述のとおり高濃度暴露では化学物質の代謝が飽和されていることが多いからである。例えば、Fig. 4 において $50 \text{ ppm} \times 8 \text{ h}$ と $1,000 \text{ ppm} \times 8 \text{ h}$ の暴露開始後 120 時間の内部暴露量を比較すると、20 倍の暴露濃度の上昇によって血中 Tri の AUC は約 40 倍も増加するが、尿中代謝物 (TTC) の累積排泄量は約 9 倍の増加を示すに過ぎない。すなわち外部暴露量を用いて直線的な外挿を行うと、母物質が毒性を発揮する場合には risk を過小評価し、代謝活性化機構が介在する毒性の場合には risk を過大評価する可能性がある⁵⁾。

ところで内部暴露量の指標として用いた血中 Tri の AUC と尿中代謝物 (TTC) の累積排泄量が、高濃度・短時間暴露と低濃度・長時間暴露とで逆の関係を示すことは興味深い (Fig. 6)。“暴露濃度と内部暴露量”の項で述べたように、血中 Tri の AUC と尿中代謝物 (TTC) の累積排泄量では、暴露濃度の上昇にともなう増加率が異なる。すなわち暴露濃度が高くなり代謝が飽和されるようになると、血中 Tri の AUC は加速度的に上昇し始めるが、尿中代謝物 (TTC) の累積排泄量の増加は逆に頭打ちになる。これが、外部暴露量が同じであっても高濃度・短時間暴露で血中 Tri の AUC が高くなり、低濃度・長時間暴露で尿中代謝物 (TTC) の累積排泄量が多くなる理由である。

動物実験における Tri の肝毒性は、高濃度・短時間暴

露より低濃度・長時間暴露で強く発生するという報告²⁾がある。Tri による肝毒性は、その活性代謝物によって引き起こされる^{3,6)}。前述のシミュレーションの結果は、低濃度・長時間暴露でより強く Tri による肝毒性が発生するというこの動物実験の結果を支持している。

高濃度・短時間暴露と低濃度・長時間暴露における内部暴露量を各暴露レベルで検討すると、比較的低レベル (例えば $400 (\text{ppm} \times \text{h})$) では両者の内部暴露量にあまり差は認められない。しかし暴露レベルが増加するにしたがって ($800 (\text{ppm} \times \text{h})$, $1,600 (\text{ppm} \times \text{h})$, $3,200 (\text{ppm} \times \text{h})$)、高濃度・短時間暴露と低濃度・長時間暴露における内部暴露量の差が次第に顕著になってくる。すなわち“暴露濃度と暴露時間の積が一定であれば内部暴露量も等しい”という原則は暴露濃度が低いときには成り立つが、暴露濃度が高くなると成立しなくなる。高濃度暴露では代謝が飽和されているからである。

文 献

- 1) 遠藤和志, 金子 誉, 佐藤章夫. 有機溶剤の体内動態に関する生理学的シミュレーションモデル—トリクロロエチレン体内動態の spreadsheet プログラムによる解析. 産業医学 1989; 31: 335-341.
- 2) Nakajima T, Okino T, Okuyama S, et al. Ethanol-induced enhancement of trichloroethylene metabolism and hepatotoxicity: Difference from the effect of phenobarbital. Toxicol Appl Pharmacol 1988; 94: 227-237.
- 3) Moslen MT, Reynolds ES, Szabo S. Enhancement of the metabolism and hepatotoxicity of trichloroethylene and perchloroethylene. Biochem Pharmacol 1977; 26: 369-375.
- 4) Andersen ME. Saturable metabolism and its relationship to toxicity. CRC Critical Reviews in Toxicology, 1981; 105-150.
- 5) Watanabe PG, Young JD, Gehring PJ. The importance of non-linear (dose-dependent) pharmacokinetics in hazard assessment. J Environ Pathol Toxicol 1977; 1: 147-159.
- 6) Miller RE, Guengerich FP. Metabolism of trichloroethylene in isolated hepatocytes, microsomes, and reconstituted enzyme systems containing cytochrome P-450. Cancer Res 1983; 43: 1145-1152.

著者への通信先: 金子 誉, 〒409-38 山梨県中巨摩郡玉穂町下河東 1110 山梨医科大学第一保健
学教室 Reprint requests to Department of Environmental Health, Medical University of
Yamanashi, Tamaho, Yamanashi, 409-38 Japan (T. Kaneko)