

# S4-09 土の摂取による人体暴露のアセスメント(ISO/TS17924)の紹介

— 人体に対するバイオアクセシビリティ・バイオアベイラビリティ評価のための物理的溶出法の選択・応用ガイドライン —

○吉野 満昭<sup>1</sup>・松村 光夫<sup>1</sup>・平田 桂<sup>1</sup>・ISO/TC190部会<sup>1</sup>

<sup>1</sup>一般社団法人土壌環境センター

## 1. はじめに

本稿ではISO/TS17924「土の摂取による人体暴露のアセスメント—人体に対するバイオアクセシビリティ及びバイオアベイラビリティ評価に係る物理的溶出法の選択・応用ガイドライン」(以下、**本技術仕様書**)を紹介し、その中で推奨されている**バイオアクセシビリティ法**と呼ばれる試験方法について、我が国の土壌含有量調査法と比較しながら紹介する。

我が国の土壌含有量調査に係る測定方法(平成15年環境省告示第19号)では1規定塩酸を用いた溶出試験を行うが、これは土壤中に吸着した重金属の体内における溶出を考慮したものであり、同測定方法は本技術仕様書の基本概念であるバイオアクセシビリティそのものである。そこで、本稿ではバイオアクセシビリティ法の概略を説明した後、本技術仕様書で推奨されているバイオアクセシビリティ評価のための物理的溶出法である**バイオアクセシビリティ法**と我が国の土壌含有量調査に係る測定方法とを具体的に比較し、土の摂取による人体暴露のアセスメントを理解する上での一助としたい。ただし、バイオアクセシビリティは溶出試験法の一側面であるため、我が国の土壌含有量調査に係る測定方法を策定するにあたっては、バイオアクセシビリティ以外の様々な観点も検討されたことを併せて紹介する。

## 2. 重金属のヒト体内における溶出、吸収過程とバイオアクセシビリティとは？

直接摂取による重金属の吸収プロセスを大きく4つの連続する過程に分けると

- ①口腔内への摂取(摂食量)
- ②胃、小腸管腔での溶出(溶出量)
- ③胃、小腸上皮細胞膜での吸収(吸収量)
- ④内臓と肝臓での代謝による減少

この過程のうち④を通過した画分が生物学的利用量(バイオアベイラブル量)であり、重金属は血液循環により全身もしくは標的組織に到達し毒性が発現する。図-1は薬剤を経口投与した後の体内動態を模式的に示しており、土壌に吸着した重金属の動態も同様と考えられる。

バイオアクセシビリティ法とはこの過程のうち、①から②に至る間の摂取から消化・溶出過程を範囲とし、③吸収、④代謝による減少は含まない、③、④を含む場合は、バイオアベイラビリティ(生物学的利用率)と言う。我が国の1規定塩酸を用いた酸溶出試験も**バイオアクセシビリティ法**も、②の胃、小腸管腔(主に十二指腸)での溶出過程を考慮している。

本技術仕様書では人の健康リスク評価にあたり、生物学的利用量を考慮する場合は相対的バイオアクセシビリティを用いるのが適当としている。相対的バイオアクセシビリティは、物理的溶出法により測定された重金属溶出量(バイオアクセシブル量)より求められる評価値であり、定義式は以下のとおりである。

$$\text{相対的バイオアクセシビリティ} = \frac{\text{土壌の重金属溶出量}}{\text{毒性試験で用いられた媒体の重金属溶出量}}$$

上記相対的バイオアクセシビリティの定義式に対して、相対的バイオアベイラビリティの定義式は以下のとおりである。

$$\text{相対的バイオアベイラビリティ} = \frac{\text{土壌から体循環血液中への重金属吸収量}}{\text{毒性試験で用いられた媒体から血液中への重金属吸収量}}$$

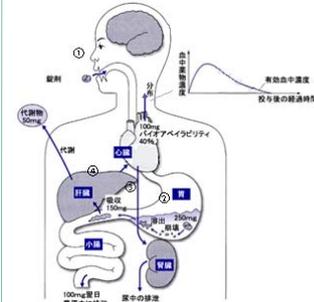
相対的バイオアベイラビリティは生物学的利用量そのものを比較しているが、実際に生物学的利用量を測定することは困難であるため、本技術仕様書では相対的バイオアクセシビリティを人の健康リスク評価に用いることとしている。

本技術仕様書において、胃腸管内に混入した土壌に含まれる重金属の溶出・吸収過程の化学反応性、反応速度論的な考え方について、胃及び小腸におけるPbSO<sub>4</sub>の挙動を例とした検討がなされている(図-2)。ここでは、重金属が体内で土壌から溶脱することによって起こる化学的・生物学的プロセスは、土壌と汚染物質の化学的特性と同様にその重金属の溶解/輸送/吸収の現象であると考えられることから、そのプロセスについて消化管で連続的に起こっている重金属の化学変化に関する化学反応速度論を考える必要性が示唆されている。

鉛は通常胃中で鉛イオン(Pb<sup>2+</sup>)として溶存しているが、胃中でのpHが低く、高い塩濃度下ではPbSO<sub>4</sub>として胃液中に留まる。一方、食物あるいは土壌に由来する水酸化リン酸カルシウム[Ca<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>OH]のようなリン酸塩は、胃中のpHが低ければリン酸イオン[H<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>]として溶けるが、胃中のpHが高ければ溶解は遅くなり、完全に溶解しないとされている。胃中で解離して小腸に入った鉛イオン(Pb<sup>2+</sup>)とリン酸イオン(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub><sup>-</sup>は、リン酸鉛[Pb<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>]と塩化リン酸鉛[Pb<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>Cl]を生成するが、リン酸鉛の方が非常に速く析出するとされている。

この過程で胃の通過が(断食条件の下等で)速い場合、水酸化リン酸カルシウムは胃で溶けて、弱アルカリ性になるため、それ以上溶解をしなくなるとともに塩化リン酸鉛から解離した鉛の析出物の生成を妨げるようになるとされている。

このような胃腸管内の環境を想定してバイオアクセシビリティ法では表-2に示すように、胃の環境または小腸の環境を想定した規格化が検討されている。



※日本臨床薬理学会ホームページより転載、一部改変  
図-1 薬剤を経口投与した後の体内動態

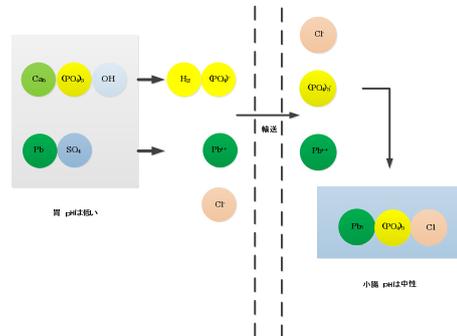


図-2 硫酸鉛の胃での解離と小腸での塩析出例

表-2 胃腸管内の環境を想定したバイオアクセシビリティ法の諸条件

	一次消化作用	主要な添加薬品	pH	滞留時間	汚染物質の溶解作用
胃	蛋白質と脂質の消化	塩酸 プロテアーゼ リパーゼ	1~5	8分~3時間	①酸が対象金属のオキサイド、硫化物、炭酸塩等の不安定無機質を溶解 ②溶解した有機物質と汚染物質の化合
小腸	オリゴ糖、蛋白質、脂質及びその他の可溶性成分の消化	胆汁 プロテアーゼ リパーゼ オリゴサッカロース 胰リン酸化酵素	4~7.5	2~10時間	①溶解した有機物質と汚染物質の化合 ②腸イオン金属が胆汁酸と結合したことによる可溶化 ③高いpH及びリン酸によって沈殿した金属

## 3. バイオアクセシビリティ法の具体的方法

我が国の土壌含有量調査に係る測定方法の策定にあたっては、汚染土壌を直接摂取することによるリスクの観点から、土壌環境中の化合物の形態変化及び土壌からの対象物質の体内摂取を考慮し、一定の安全性を見込むものの全量分析までは行わないような分析法として検討された。

ここで検討条件と内容は、①酸濃度:胃内のpH 1-2を模擬した酸の種類と濃度 ②固液比:胃内の1日あたりの胃酸分泌液量及び土壌の1日あたりの摂取量を踏まえた固液比 ③試験温度:反応時間、体温、操作性 ④試験時間:胃内の滞留時間等であった。これらの検討結果を踏まえて土壌汚染対策法では次のような抽出条件で試験を行うよう定められた。

- ① 酸濃度 :1.0 mol/l塩酸
  - ② 固液比 :固液比は1:30-1:50
  - ③ 試験温度:実用的な室温25℃
  - ④ 試験時間:胃内の滞留時間と同様に2時間
- なお、六価クロム及びシアンについては0.1 mol/lまたは1.0 mol/l塩酸によって種々の土壌から安定して抽出できないと考えられたため、六価クロムについては水抽出法、シアンについては弱酸性での蒸留法によって試験するよう定められた。

上記内容をふまえ、我が国の土壌含有量調査に係る測定方法(平成15年環境省告示第19号)と本技術仕様書で推奨されている方法との比較を表-3にまとめた。基本的には土壌含有量調査に係る測定方法で考慮されている項目よりも本技術仕様書で設定されている項目が多く、腸での溶解(アルカリ抽出)、酵素の影響、胆汁の影響等が考慮されていることが大きな違いである。ただし、土壌含有量調査に係る測定方法においても胃での溶解は本技術仕様書と同等に考慮されていると言える。その他の共通事項については、比較的類似している部分も多い。

表-3 バイオアクセシビリティの測定に係わる検液作成方法比較

項目	方法	ISO/TS 17924 recommendations	平成15年環境省告示第19号(六価クロム、シアン化合物は対象外)
乾燥、破碎		40℃以下で風乾もしくはオーブン、粒径250μm以下	風乾し、中細粒、木屑等を除去、土塊、固粒を粗砕、粒径2mm以下
酸抽出(胃)	試薬	塩酸、水酸化ナトリウム	1規定塩酸
	pH	1.0-2.5の範囲とする。(1.2推奨)	—
アルカリ抽出(腸)	時間	通常:2時間(断食状態:1時間)	2時間
	試薬	塩酸、水酸化ナトリウム	—
酵素	pH	5.5以上とする。(6.3推奨)	—
	時間	2時間	—
酵素		ヒトの胃腸管でみられる酵素	—
胆汁他		胆汁を添加する。キムス(粥状液)を添加する。	—
温度		37℃	室温(おおむね、25℃)
酸化還元		通常、酸化雰囲気とする。(酵素や六価クロムは還元雰囲気相当。)	—
振とう		end-over-end(回転式)	振とう回数:毎分約200回 振とう幅:4-5cm 振とう時間:2時間連続
液固比		100	重量体積比3%
遠心分離		3000rpm、5分	10-30分静置、必要に応じ遠心分離
濾過		推奨なし(知見が不十分)	0.45μmメンブレンフィルター使用

## 4. おわりに

本稿では、ISO/TS 17924(土の摂取による人体暴露のアセスメント)の内容を紹介した。本稿に紹介されているバイオアクセシビリティ・バイオアベイラビリティという言葉自体は日本ではあまり一般的ではないのだが、土壌汚染による人への健康影響を考える上では非常に重要なことであり、その考え方自体は日本でも採用されているケースも多いと考えられる。ISO/TC190部会の活動を通じて、ISO規格及びバイオアクセシビリティ・バイオアベイラビリティに対する理解の一助となれば幸いである。