

日化協LRI研究成果報告会

劣化マイクロプラスチック由来吸着化学物質
の体内動態モデルの構築と影響評価

令和4年8月26日

九州大学農学研究院 水産生物環境学研究室

代表研究者 大嶋雄治

背景

プラスチック

高分子物質を主原料として人工的に有用な形状に形作られた固体

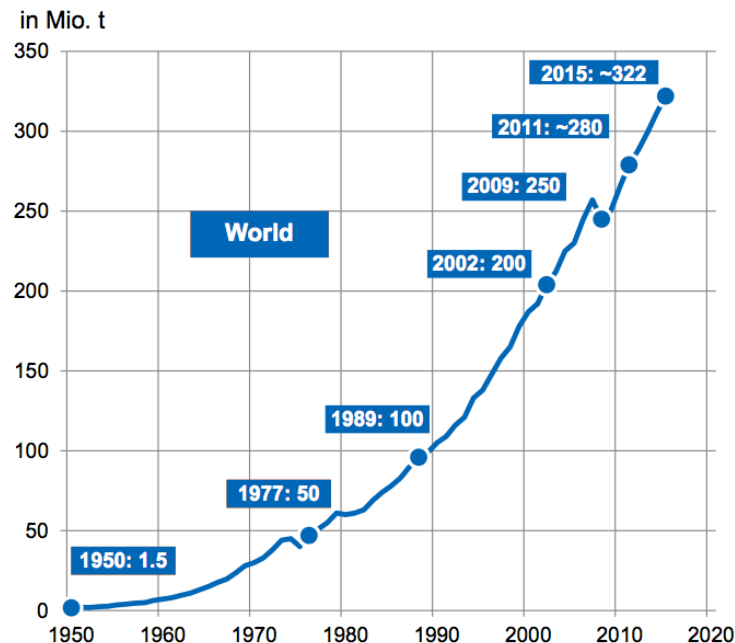
プラスチックの生産量

150万トン/年
(1950年) ➡ 3億2200万トン/年
(2015年)

生産量が年々増加している。
(Plastic Europe, 2016年)

プラスチックごみ

- 2010年、9950万トンものプラスチックごみが沿岸地域で発生した。
(Jambeck et al., 2015年)
- うち、480~1270万トンものプラスチックごみが海洋に流出している。
(Jambeck et al., 2015年)



海洋には多くのプラスチックが存在していると考えられる。

メダカ (*Oryzias latipes*) を用いたMPの体内動態解析

なぜメダカか？

- 科学的バックグラウンドが充実している
- 生物試験の世界標準魚として用いられている
- 海産メダカも使用可能
- 飼育・繁殖が容易である。
- 遺伝子のゲノム解析が進んでいる。



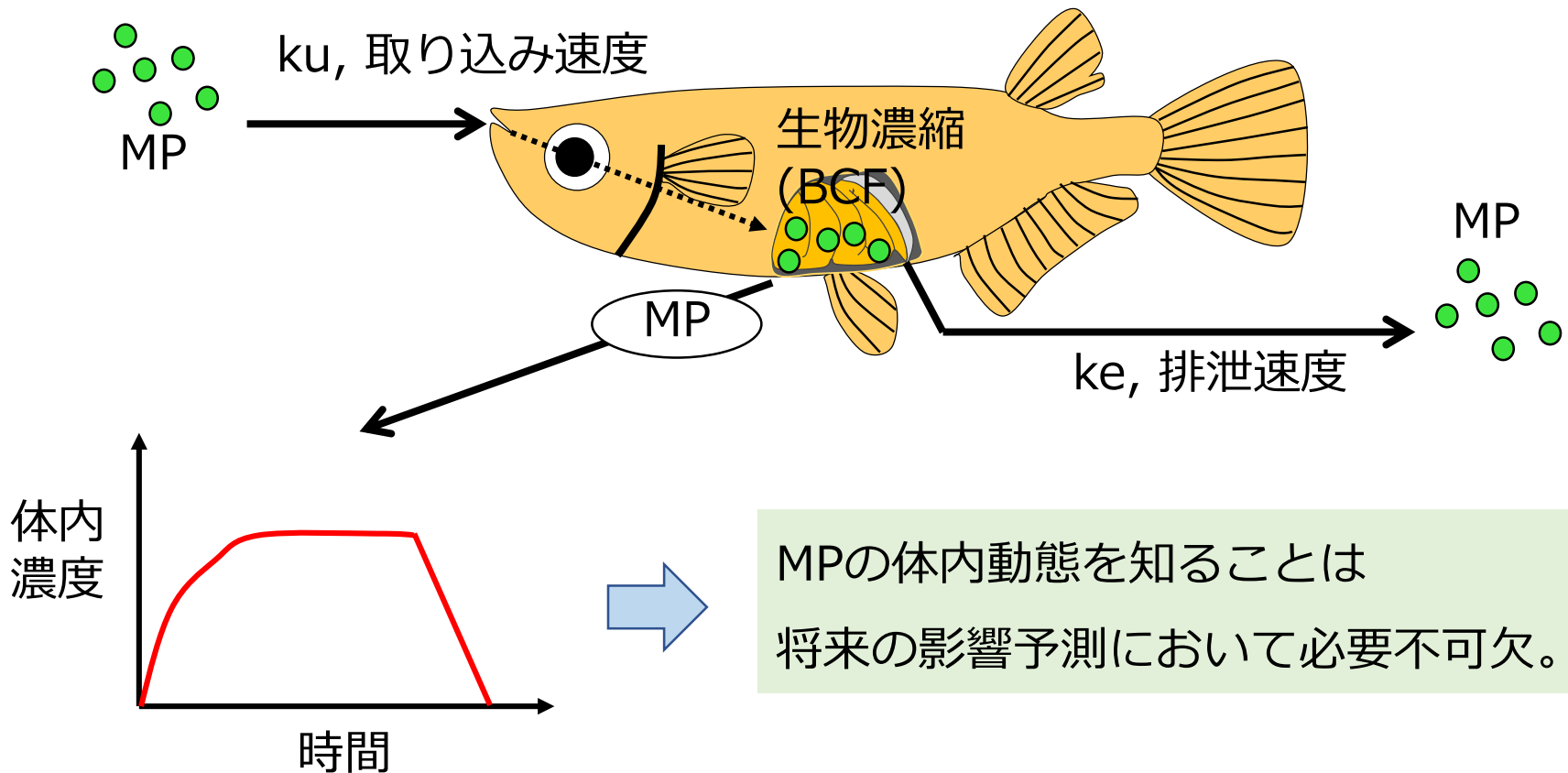
なぜ体内動態解析か？

→ 得られたデータをモデル化 (ベクターモデル)

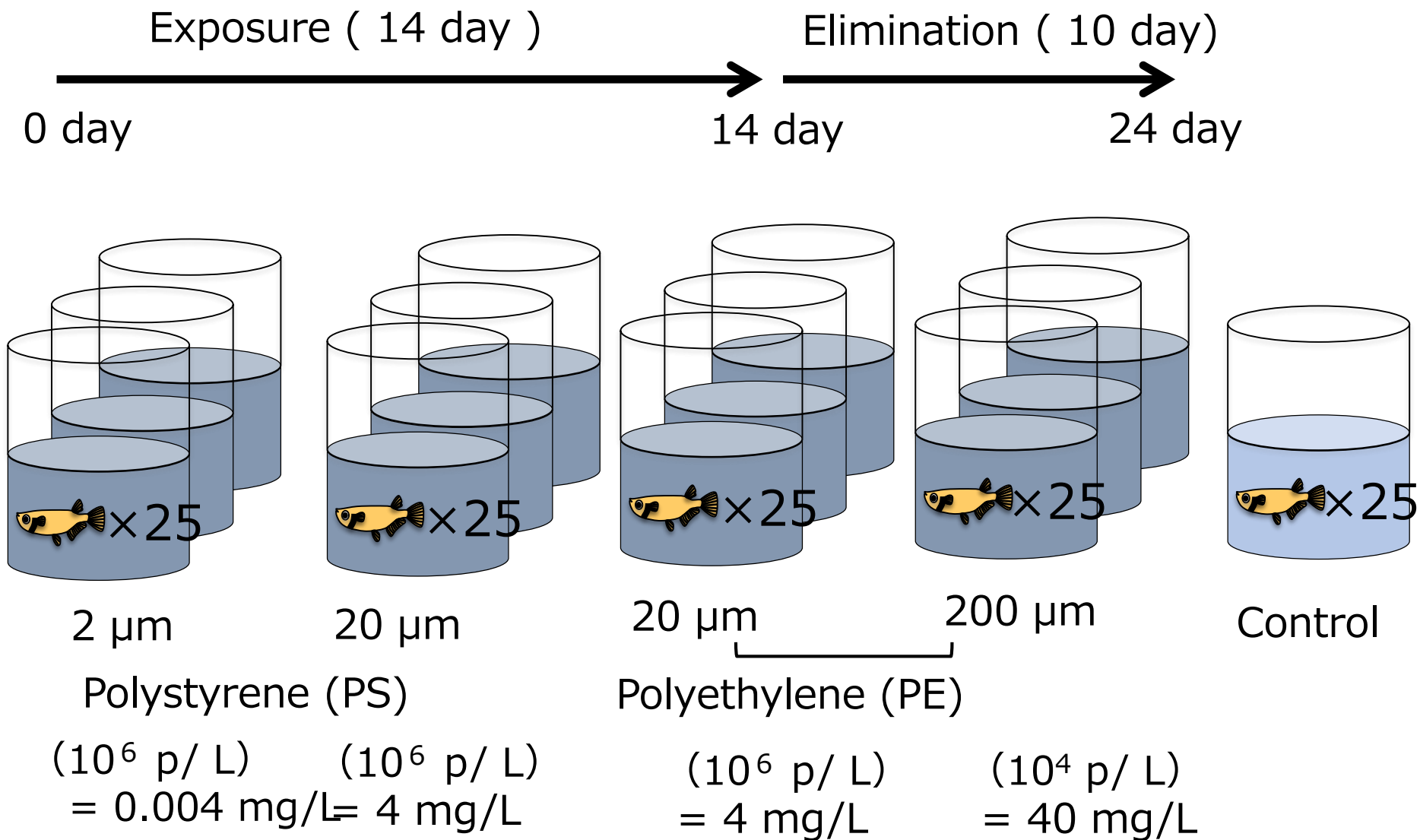
→ 予測

MPの蓄積・体内動態

MPの取り込み・蓄積・排出等の挙動についてはほとんど分かっていない。



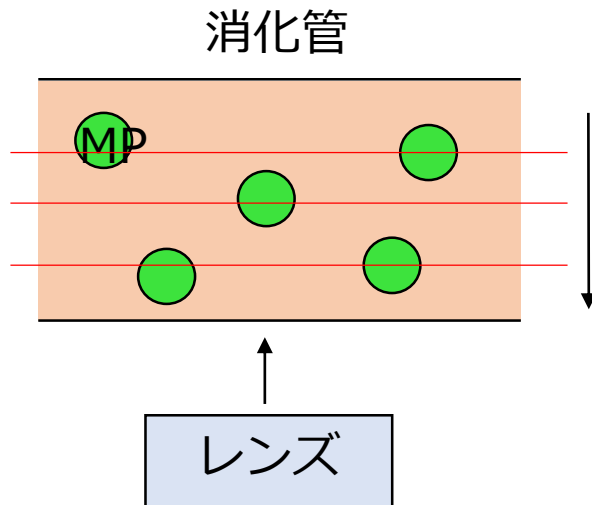
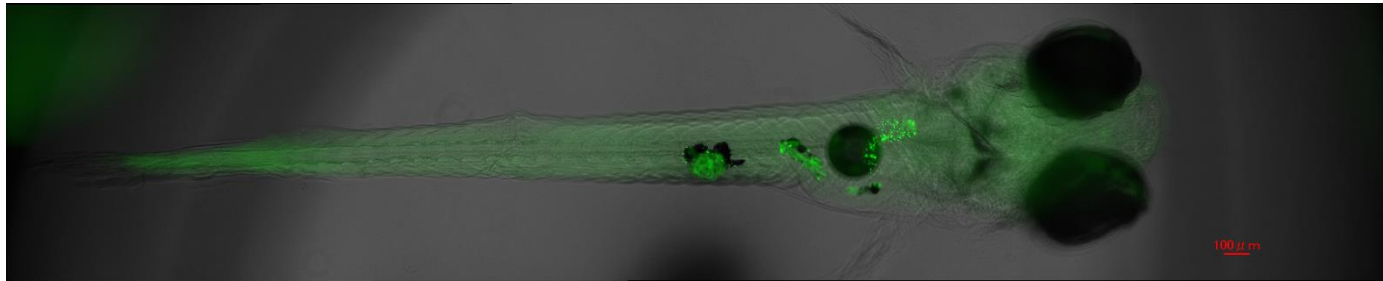
2, 20, 200 μmMP の曝露試験



実験方法

消化管に存在するマイクロプラスチックの計測

蛍光顕微鏡を用いて蛍光標識されたマイクロプラスチックを観察し、消化管の中に存在するマイクロプラスチックの個数を計測した。



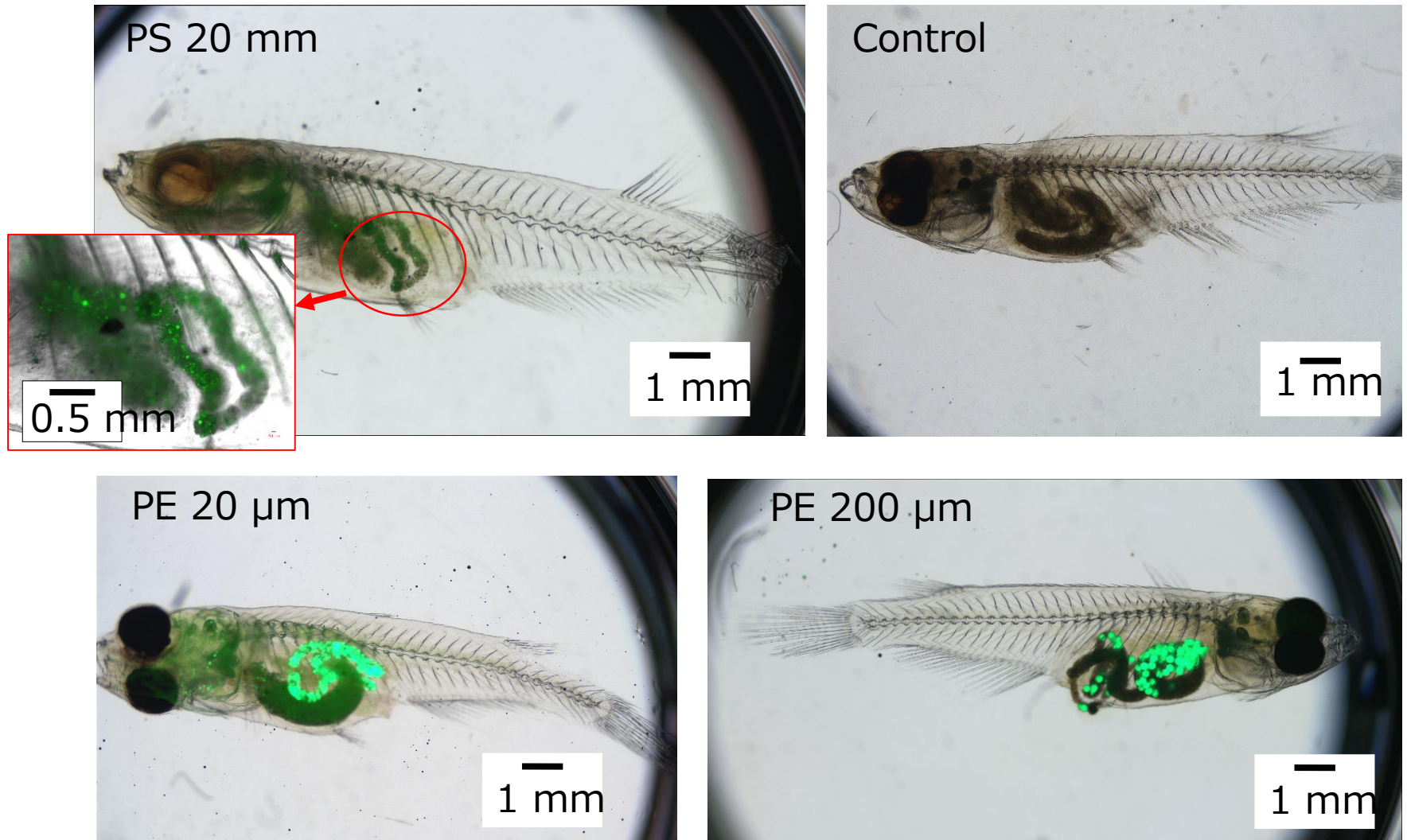
フォーカスの位置を変更しながらMPを観察し計測。



(BZ-X810, Keyence)

MPを取り込んだメダカ（蛍光および明視野のオーバーレイ）

すべての暴露区において、メダカの消化管内にMPが取り込まれていた。



2, 20, 200 μ mMPs曝露試験の結果

Y. Liu et al.

Ecotoxicology and Environmental Safety 212 (2021) 6

Uptake and depuration kinetics of microplastics with different polymer types and particle sizes in Japanese medaka (*Oryzias latipes*)

Yangqing Liu^a, Xuchun Qiu^{a,b}, Xinning Xu^a, Yuki Takai^a, Hijiri Ogawa^a, Yohei Shimasaki^a, Yuji Oshima^{b,c,*}

^aLaboratory of Marine Environmental Science, Department of Bioscience and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka 819-0395, Japan
^bInstitute of Environmental Health and Ecological Safety, School of the Environment and Safety Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212013, PR China
^cInstitute of Nature and Environmental Technology, Kansai University, Suita-shi 565-0871, Japan

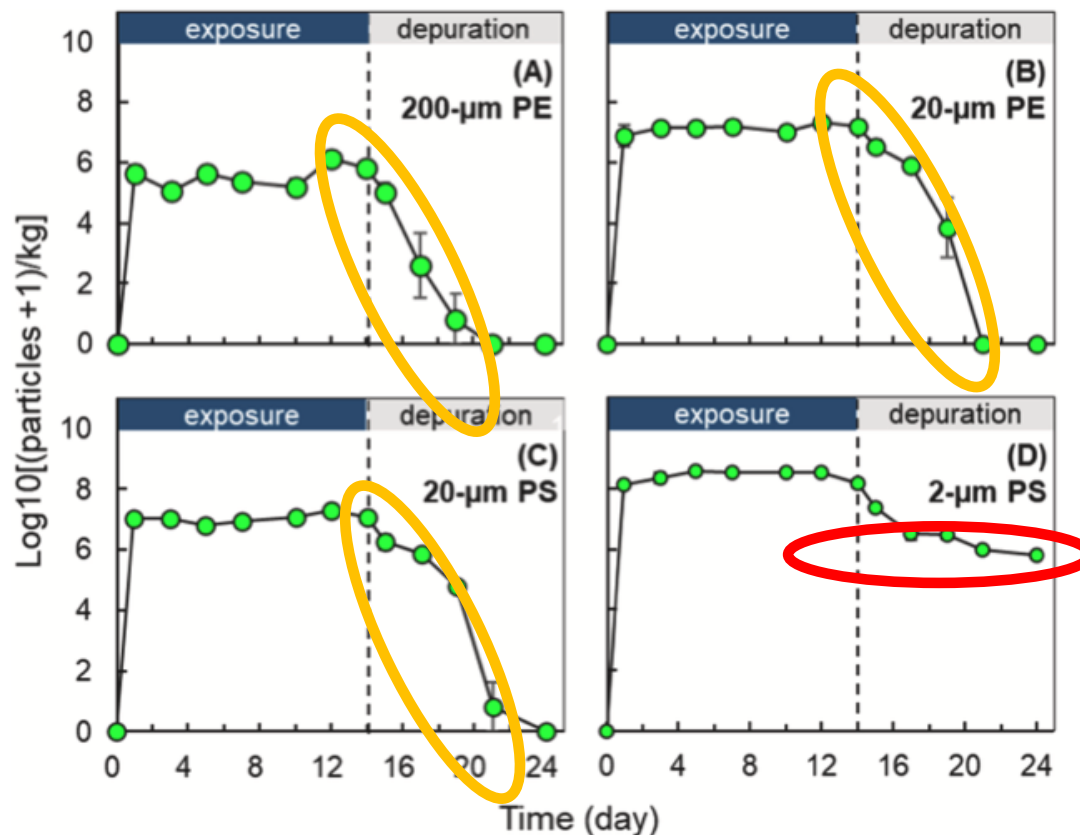


Fig. 5. The concentration of microplastics (MPs) in the Japanese medaka (*Oryzias latipes*). (A) PE-MPs with a diameter of 200 μ m; (B) PE-MPs with a diameter of 20 μ m; (C) PS-MPs with a diameter of 20 μ m; (D) PS-MPs with a diameter of 2 μ m. Data are shown as mean \pm SD ($n = 5$). The experiment consisted of a 14-day uptake phase (blue bar) and a 10-day depuration phase (gray bar). In some instances, the errors are small and obscured by the symbols.

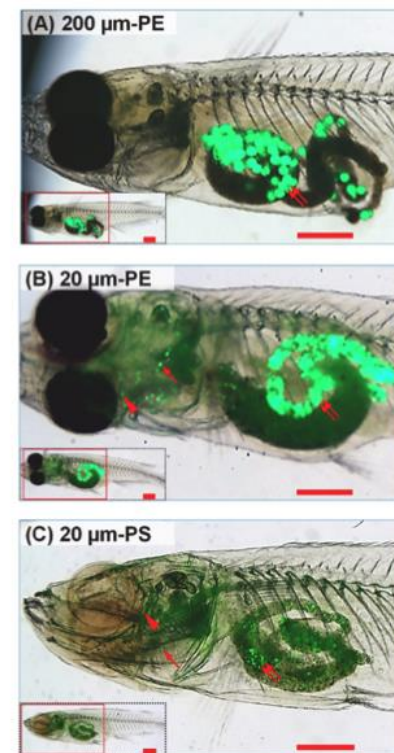


Fig. 3. Representative images of medaka (*Oryzias latipes*) collected during the exposure phase under the visual field of a GFP filter ($\lambda_{em} = 525/50$ nm and $\lambda_{ex} = 470/40$ nm). (A) PE-MPs with a diameter of 200 μ m; (B) PE-MPs with a diameter of 20 μ m; (C) PS-MPs with a diameter of 20 μ m. The inner figure shows whole-body images. The typical fluorescent signals of MPs are indicated by the double arrow (gastrointestinal tract), single arrow (gill), and arrowhead (head). Bar = 1.0 mm.

MPは急速に体から出て行く・(2 μ m PS-MPを除く)

2, 20, 200 μm MPs曝露試験の結果

Uptake and depuration kinetics of microplastics with different polymer types and particle sizes in Japanese medaka (*Oryzias latipes*)

Yangqing Liu^a, Xuchun Qiu^{a,b}, Xinning Xu^a, Yuki Takai^a, Hijiri Ogawa^a, Yohei Shimasaki^a, Yuji Oshima^{a,c,*}

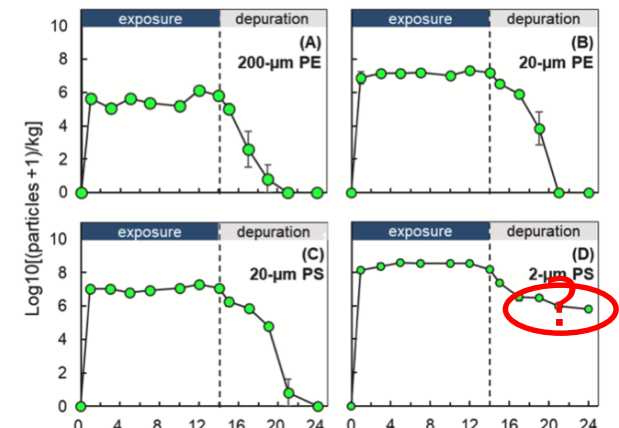
^a Laboratory of Marine Environmental Sciences, Department of Bioscience and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka 819-0395, Japan
^b Institute of Environmental Health and Ecological Security, School of the Environment and Safety Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212013, PR China
^c Institute of Nature and Environmental Technology, Kanazawa University, Kanazawa 920-1192, Japan

Table 2

Pharmacokinetic parameters of microplastics (MPs) in Japanese medaka (*Oryzias latipes*)^a.

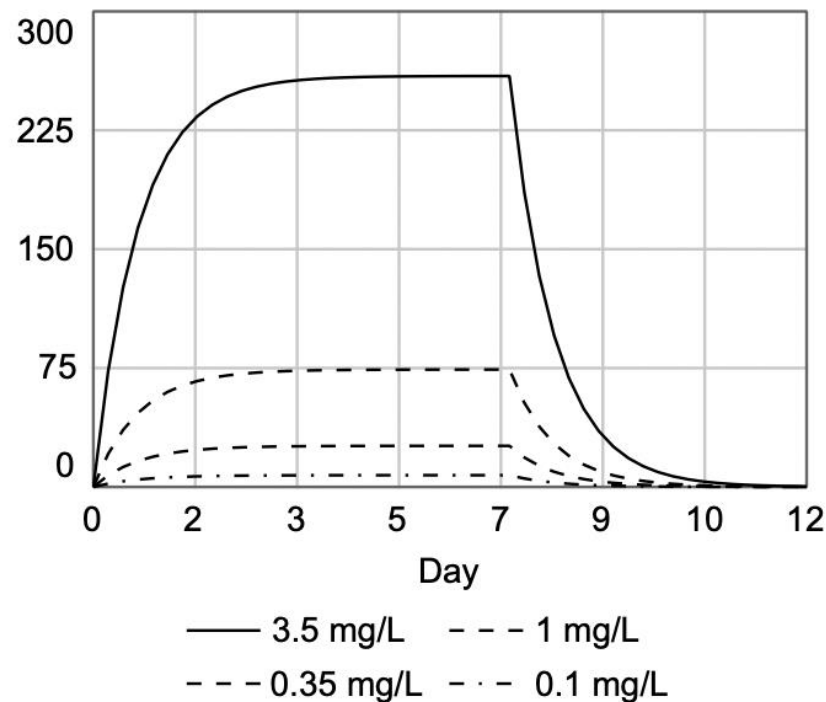
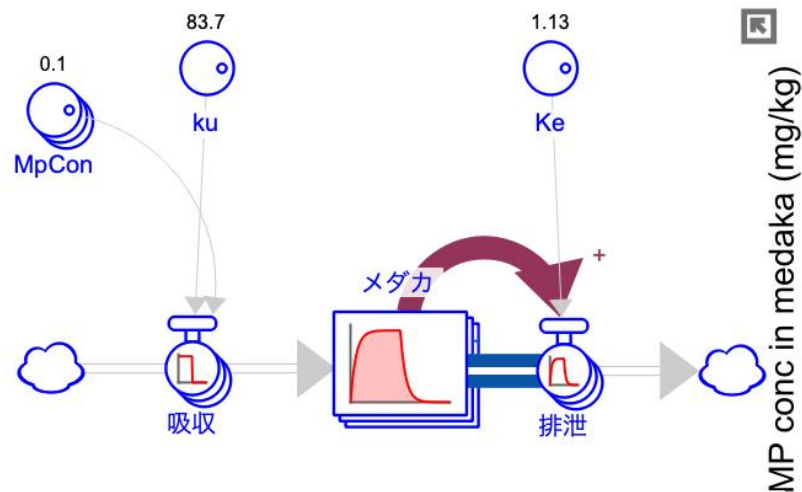
Parameter (unit)	200 μm PE	20 μm PE	20 μm PS	2 μm PS
BCF (L/kg)	74.4	25.7	16.8	139.9
k_u (L/kg/day)	83.7	26.7	15.8	106.1
k_e (/day)	1.13	1.04	0.94	0.76
$T_{1/2}$ (/day)	0.62	0.67	0.74	0.91
MRT (/day)	0.90	1.00	1.12	1.33

^a PE: Polyethylene MPs; PS: Polystyrene MPs; BCF: bioconcentration factor; k_u : uptake rate constant; k_e : elimination rate constant (estimated from data 14–19); $t_{1/2}$: biological half-life; MRT: mean residence time.



20, 200 μm MPのBCFは<100と推定された。体内残留性はない

メダカ体内MP濃度の予測 (将来の環境濃度)



0.1, 0.35, 1, 3.5 mg/L 200 um MPに曝露されたメダカで予想される体内のMPの体内濃度 (Qiu et al 2021 $ku = 83.7$, $ke = 1.13$ を使用)

2066年の海洋環境 (予想濃度 1 mg/L) では魚体中の濃度は74 mg/Lになる可能性がある



Uptake and depuration kinetics of microplastics with different polymer types and particle sizes in Japanese medaka (*Oryzias latipes*)

Yangqing Liu^a, Xuchun Qiu^{a,b}, Xinning Xu^a, Yuki Takai^a, Hijiri Ogawa^a, Yohei Shimasaki^a, Yuji Oshima^{a,c,*}

^a Laboratory of Marine Environmental Science, Department of Bioscience and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka 819-0395, Japan
^b Institute of Environmental Health and Ecological Security, School of the Environment and Safety Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212015, PR China
^c Institute of Nature and Environmental Technology, Kanazawa University, Kanazawa 920-1192, Japan

Ecotoxicology and Environmental Safety 212 (2021) 112007

Y. Liu et al.

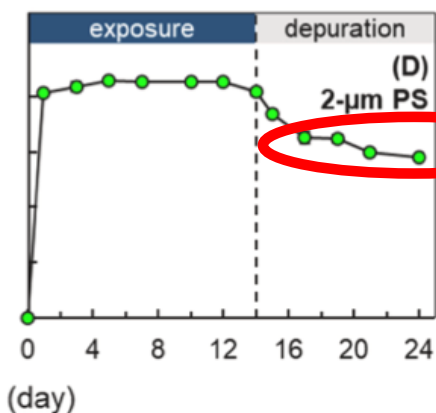


Fig. 4. (A) PE-MPs with a diameter of 200 µm; (B) PE-MPs with a diameter of 10 µm; (C) PE-MPs with a diameter of 2 µm; (D) PE-MPs with a diameter of 0.2 µm. The data are shown as mean ± SD (n = 5). The experiment consisted of a 14-day exposure phase followed by a 10-day depuration phase. The errors are small and obscured by the symbols.

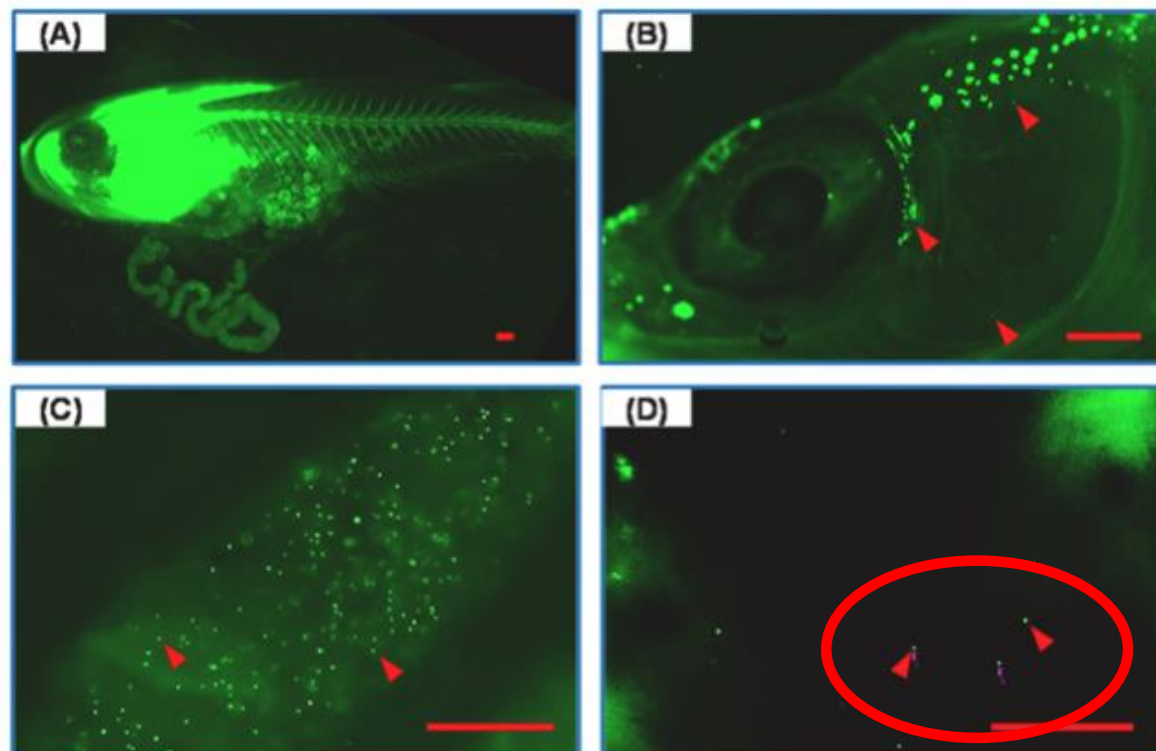


Fig. 4. Typical fluorescent signal in the head and gastrointestinal tract of medaka (*Oryzias latipes*) exposed to 2 µm polystyrene microplastics (MPs) under the visual field of a GFP lens ($\lambda_{em} = 525/50$ nm and $\lambda_{ex} = 470/40$ nm). (A) representative whole-body image; (B) MPs in the head of fish sampled on day 1; (C) MPs in gastrointestinal tract of fish sampled on day 7; (D) MPs in the gastrointestinal tract of fish sampled on day 24 (the last day of the depuration phase). The typical fluorescent signal is indicated by an arrowhead. Bar = 1.0 mm.

MPは急速に体から出て行くが 消化管内に残留する



Bioaccumulation and reproductive effects of fluorescent microplastics in medaka fish

Mona Assas^{a,b}, Xuchun Qiu^{a,c}, Kun Chen^c, Hijiri Ogawa^a, Hai Xu^c, Yohei Shimasaki^b, Yuji Oshima^{a,d,*}

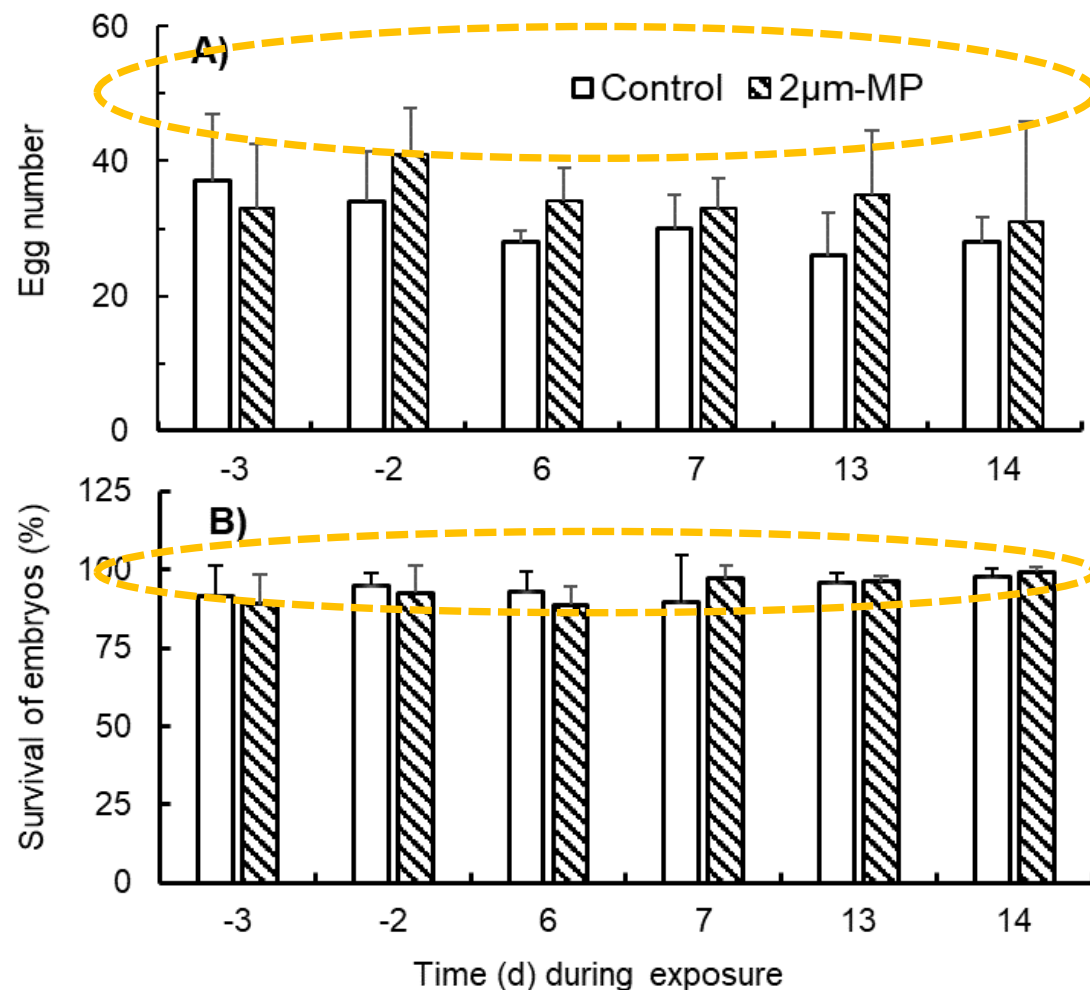


Figure 7. Effect of microplastics (MPs) exposure on reproduction of Japanese medaka (*O. latipes*). (A) Number of embryos collected; (B) survival of embryos to hatching (Assas et al, 2020).

2 µm MP(10⁷p/L, 44 µg/L)に曝露したメダカの産卵数と次世代の生存率再生産へ影響はなかった

2µm MP(10⁷p/L, 44 µg/L)に曝露したメダカ消化管における遺伝子発現変動

List of genes in Japanese medaka (*O. latipes*) that significantly changed in expression from MPs exposure ($P < 0.01$ and false-discovery rate [FDR] < 0.01). The fold change (FC) value represents the change in gene expression between control and exposed groups (Assas et al, 2020)

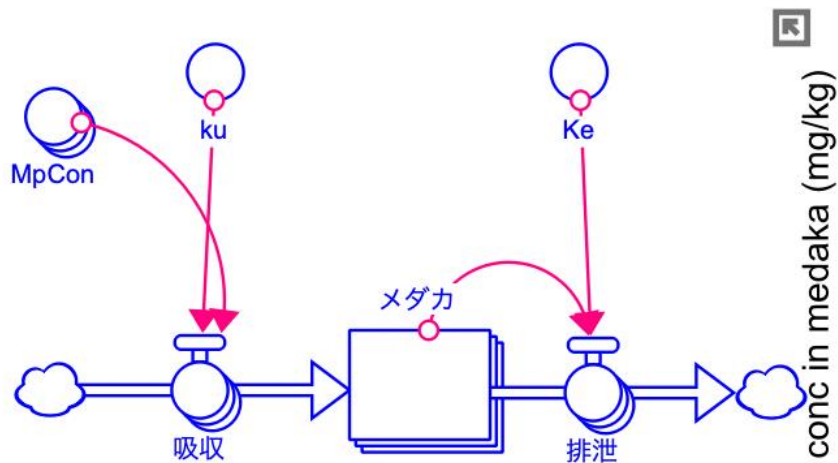
Seq-Name	Description	logFC	p-Value	FDR
ENSORLT00000045133	Cadherin 3	6.42	3.61E-06	8.02E-03
ENSORLT00000031811	Unknown	6.39	1.23E-07	4.58E-04
ENSORLT00000031379	Chromatin modeling	5.25	3.90E-05	4.38E-02
ENSORLT00000042619	Sulfotransferase family, cytosolic, 6b, member 1	4.27	5.49E-13	6.15E-09
ENSORLT00000044335	Cadherin 3	4.05	1.85E-07	5.18E-04
ENSORLT00000036258	Cadherin 3	1.93	1.04E-05	1.30E-02
ENSORLT00000016162	Arsenite methyltransferase	-1.09	4.81E-05	4.80E-02
ENSORLT00000017443	Trans-golgi network vesicle protein 23 homolog B	-1.25	6.21E-06	9.95E-03
ENSORLT00000044553	Nucleotide binding	-1.41	5.14E-05	4.80E-02
ENSORLT00000021695	Cathepsin Bb	-1.92	4.29E-06	8.02E-03
ENSORLT00000046774	Retrovirus-related Pol polyprotein from transposon 412	-2.20	7.94E-06	1.11E-02
ENSORLT00000028145	Yippee-like a	-5.08	1.49E-08	8.37E-05

Cadherin:細胞接着系遺伝子の発現上昇
 = 何らかの物理的刺激？腸内環境への影響

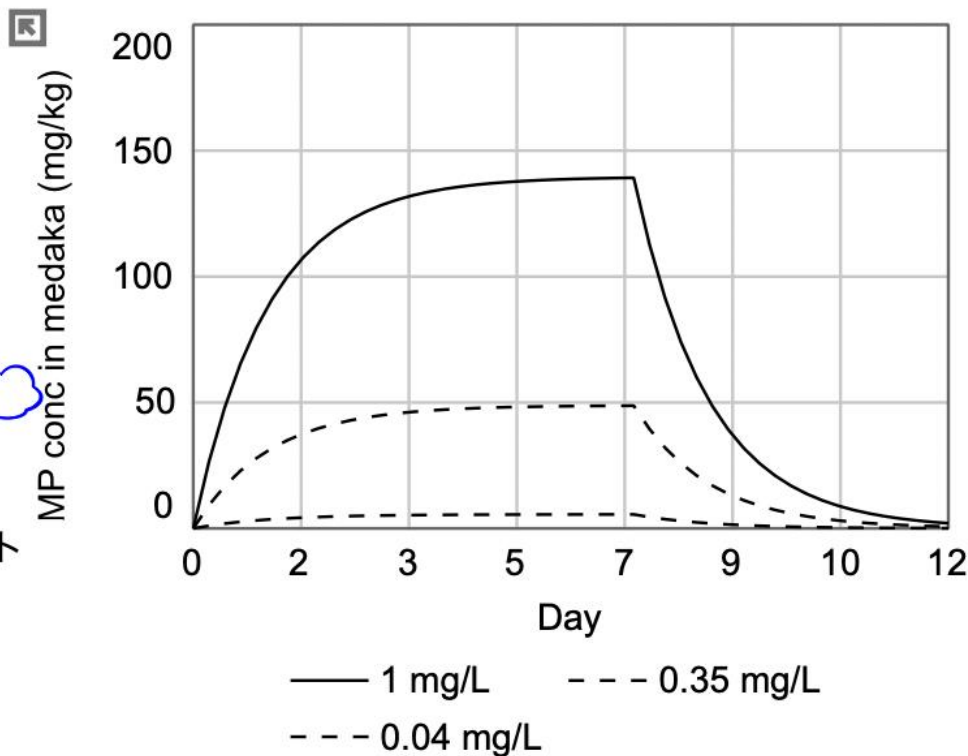
Marine Pollution Bulletin 158 (2020) 111446
 Contents lists available at ScienceDirect
Marine Pollution Bulletin
 Journal homepage: www.elsevier.com/locate/marpolbul

Bioaccumulation and reproductive effects of fluorescent microplastics in medaka fish
 Mona Assas^{a,b}, Xuechun Qiu^{a,c}, Kun Chen^a, Hijiri Ogawa^a, Hai Xu^a, Yohel Shimaaki^a, Yuji Oshima^{a,d}

メダカ体内MP濃度の予測 (消化管内遺伝子変動した濃度)



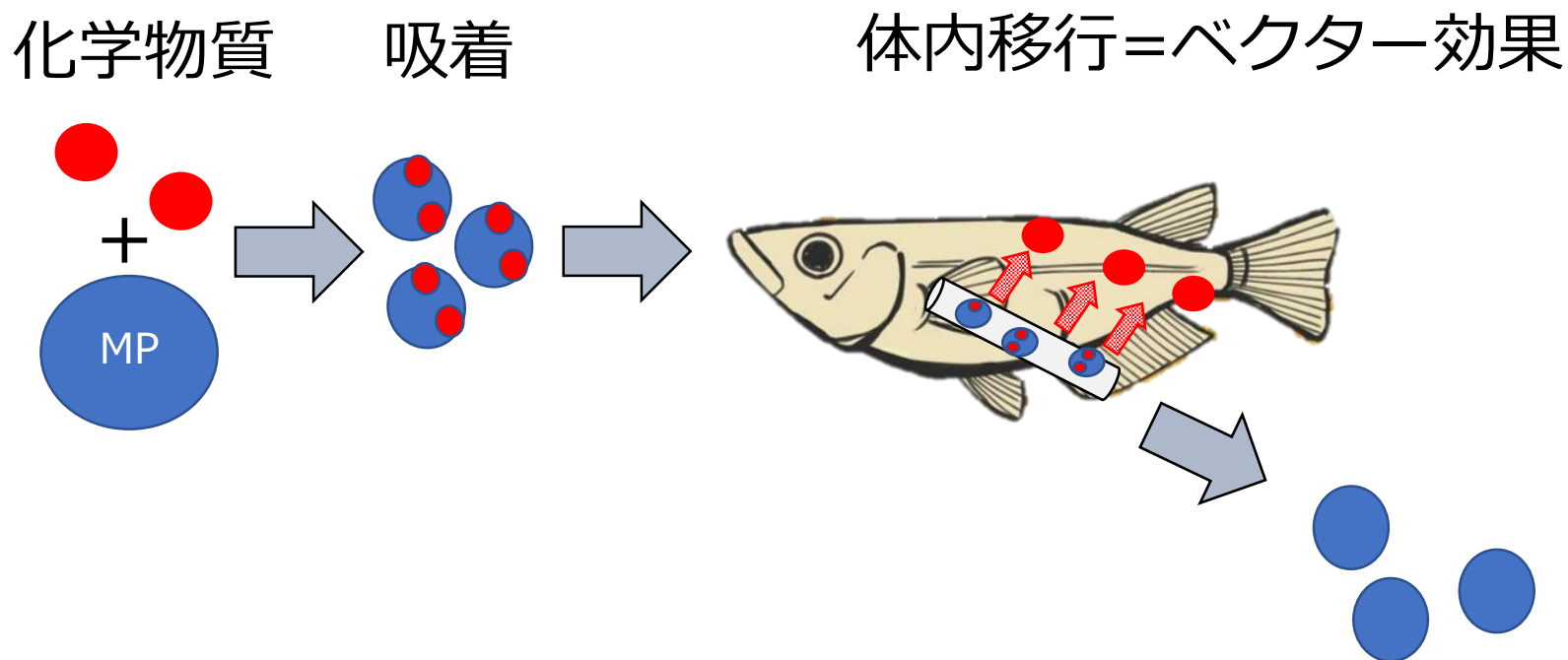
2 μm マイクロプラスチックの1-コンパートメントモデル(曝露時)



0.04, 0.35, 1 mg/L 2 μm MPに曝露されたメダカで予想される体内のMPの体内濃度 (Qiu et al 2021
 $k_u = 106$, $k_e = 0.76$ を使用)

2 μm MP(10^7 p/L, 44 $\mu\text{g/L}$)に曝露したメダカで消化管内細胞接着系遺伝子変動する体内濃度は5.56 mg/kgと予想される。

MPによる化学物質蓄積へのベクター効果とその劣化による影響





Polycyclic aromatic hydrocarbons affiliated with microplastics in surface waters of Bohai and Huanghai Seas, China^{*}

Lei Mai, Lian-Jun Bao, Lei Shi, Liang-Ying Liu, Eddy Y. Zeng^{*}

School of Environment and Guangdong Key Laboratory of Environmental Pollution and Health, Jinan University, Guangzhou 510632, China



X. Tan et al. / Chemosphere 221 (2019) 834–840

839

Table 2

Concentrations of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) carried on microplastics from different sampling sites.

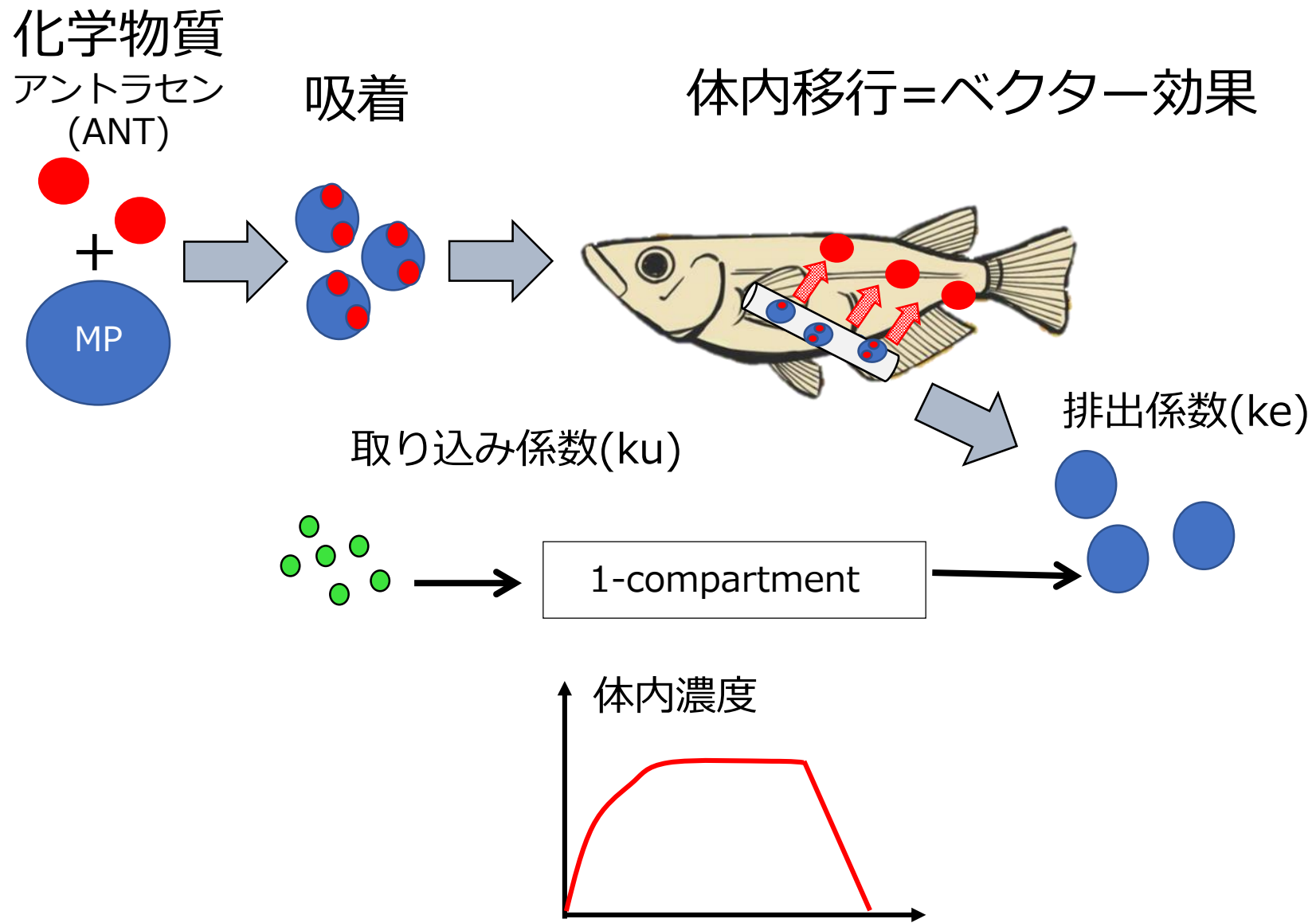
Type (ng/g)	Feilaixia			Portuguese Coast (Frias et al., 2010)	Huanghai and Bohai Sea (Zhang et al., 2015)	Santos (Fisner et al., 2013)	Mumbai Coast (Jayasiri et al., 2014)
	EPS	PE	PP	Pellets	Pellets	Pellets	Pellets
Nap	29.2	18.7	23.4	–	31.7–83.8	10.8–30.8	200–400
Acy	23.6	16.4	9.8	0.7–15.9	6.3–32.4	3.58–6.00	<100
Ace	3.6	4.1	1.8	5.6–29.6	2.8–20.4	<2.06	800–1100
Flu	1.7	<LOD ^a	<LOD	5.3–23.9	<LOD	<3.98	1600–1900
Phe	45.6	37.8	25.6	14.6–87.1	17.7–672.6	2.67–13.0	1000–1300
Ant	3.7	3.0	6.4	1.3–15.5	2.1–154.3	2.29–34.2	1200–1700
Fla	28.7	32.3	42.6	17.8–118.6	4.3–69.8	2.82–11.2	800–1200
Py	2.7	9.4	3.6	19.7–319.6	<LOD	2.15–30.0	400–500
B[a]A	34.3	19.1	23.6	<51.4	<265.2	1.28–8.28	200–400
Chr	89.6	65.0	39.5	<162.1	2.6–684.5	4.37–153	1100–1500
B[b]F	11.8	32.4	10.2	95.7	2.7–192.0	–	<100
B[k]F	26.8	14.5	11.4	<36.6	2.5–132.9	–	<100
B[a]P	12.6	10.8	4.7	<285.1	0.2–418.2	<19.8	300–500
I[cd]P	41.7	33.6	37.9	<103.5	<191.6	–	<200
D[ah]A	14.9	19.5	7.3	<54.4	<LOD	2.72–22.3	600–1000
B[ghi]P	56.8	47.6	34.6	<68.6	<197.7	–	<100
ΣPAHs	427.3	364.2	282.4	75–1334.8	136.3–2384.2	130–27,735	35.4–46191.6

Notes:

^a Below the limit of quantitation; the microplastic weights when calculated PAHs concentration are as follows, Feilaixia (EPS, PE, PP is about 2–3 g), Portuguese Coast (about 2 g), Santos (about 1 g), Huanghai and Bohai Sea and Mumbai Coast are not mentioned in related articles.

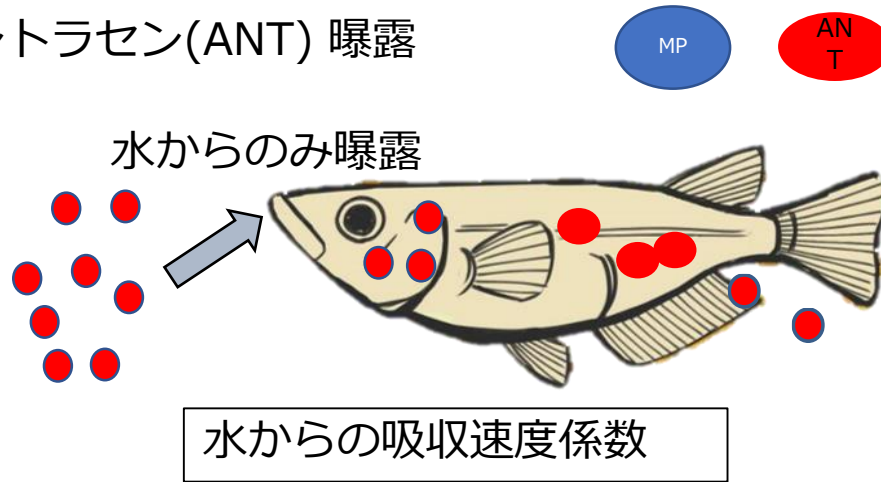
Anthracene (ANT)をモデル物質として用いた

MPによる化学物質蓄積へのベクター効果は起こるか？

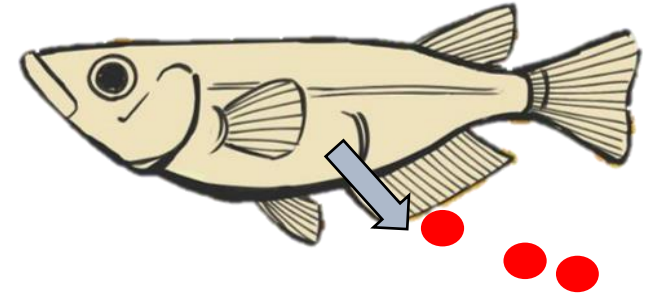


ベクター効果検証実験とシミュレーション

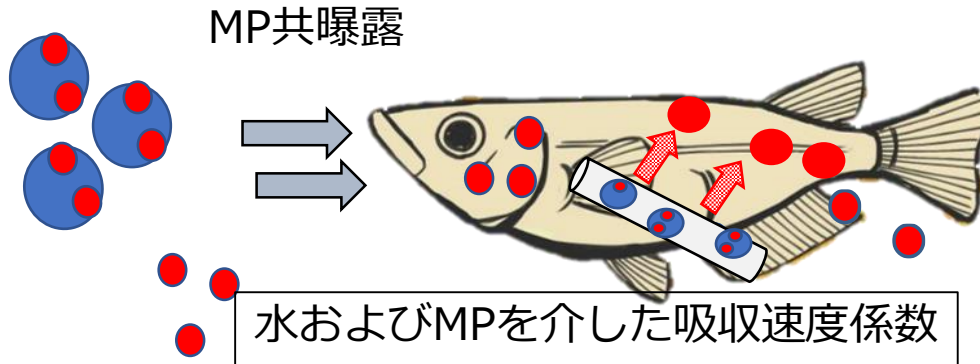
I) アントラセン(ANT) 曝露



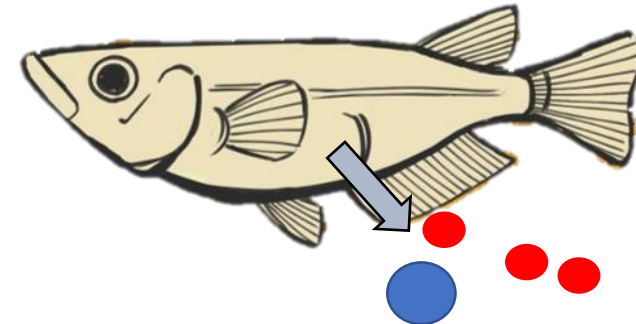
排泄



II) アントラセン(ANT)の水+MP同時曝露



排泄

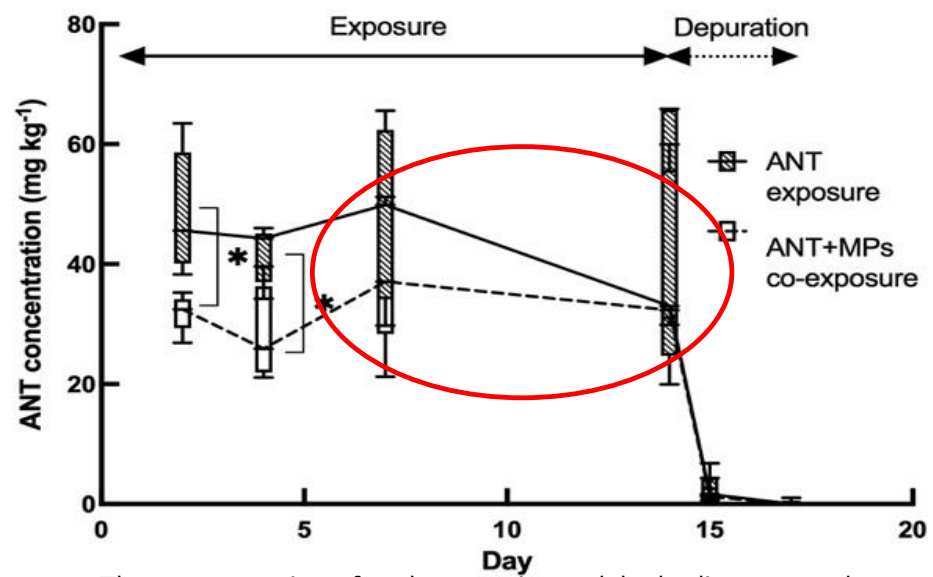


III) シミュレーションでMPを介した吸収を推定しベクター効果を評価

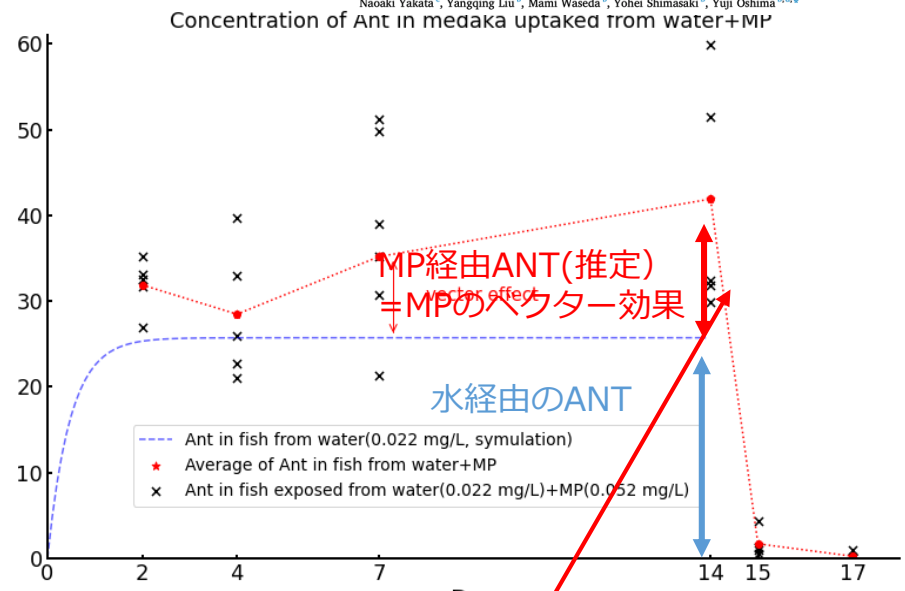
粒状PE (高結晶度、低分子)とANTを同時曝露したメダカにおける体内ANT濃度

Quantifying the vector effects of polyethylene microplastics on the accumulation of anthracene to Japanese medaka (*Oryzias latipes*)

Xuchun Qiu^{a,b}, Souvannasing Saovany^b, Yuki Takai^b, Aimi Akasaka^c, Yoshiyuki Inoue^c, Naoaki Yakata^a, Yangqing Liu^a, Mami Waseda^a, Yohei Shimasaki^b, Yuji Oshima^{b,d,e}



The concentration of anthracene in medaka bodies exposed to 0.1 mg L⁻¹ for 14-day exposure and 3-day depuration in ANT exposure and ANT+MP co-exposure groups (n=5)



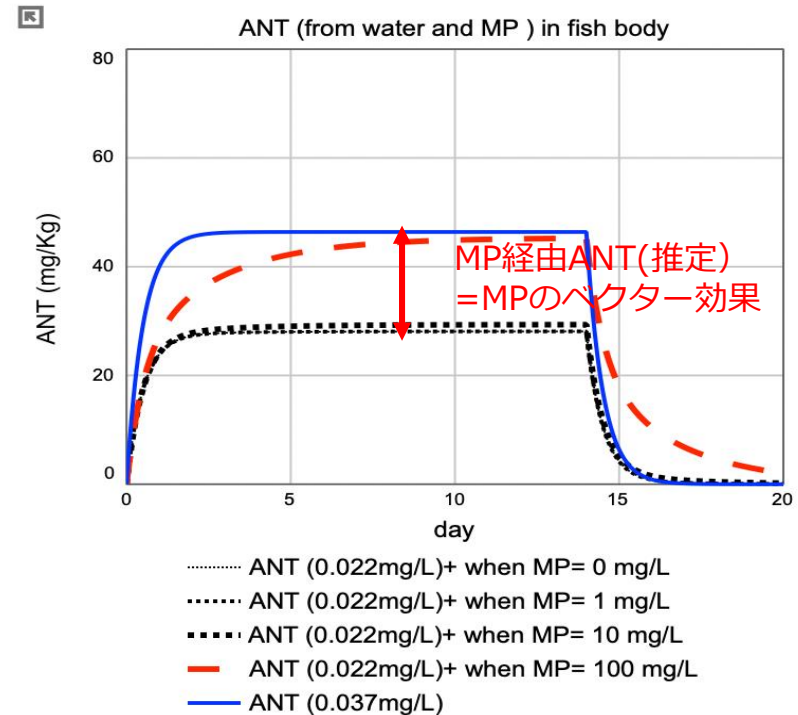
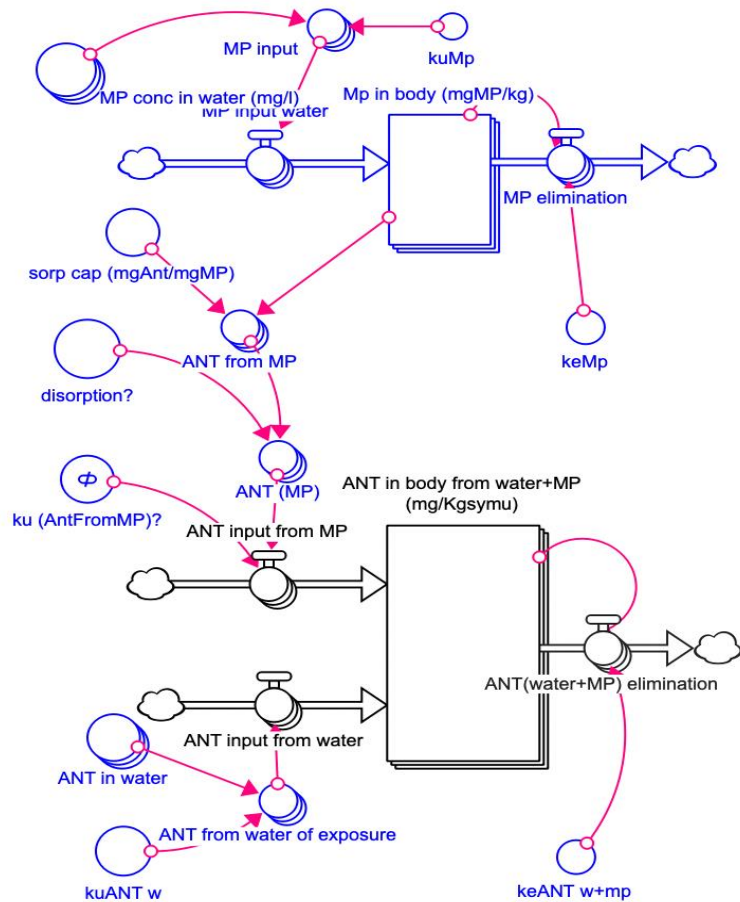
Simulation of ANT concentration in fish bodies from ANT exposure and ANT+MP co-exposure group

Table 1
 Pharmacokinetic parameters of anthracene (ANT) in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) in the ANT exposure and ANT-MPs co-exposure groups.

Parameters	ANT exposure	ANT-MPs co-exposure
ANT in water (on day 14; mg/L)	0.037	0.074 (containing MPs)
ANT in medaka (on day 14; mg/kg)	42.8	41.1
Bioconcentration factor (BCF; L/kg)	1170	556 (containing MPs)
Uptake rate constant (k_{up} ; L/kg/day)	2432	1078
Depuration rate constant (k_e ; /day)	2.08	1.94

水中ANT濃度はANT+MP区で水曝露区の0.6倍低いにもかかわらず、ANT魚体濃度が水曝露区とANT+MP区でほぼ同じ
 ↓
 MPに吸着したANTが体内で放出されたと考えられる
 (ベクター効果)

ベクター効果におけるMP濃度の影響



0, 1, 10, 30, 100 mg/L 58 μ mPE-MPとアントラセン(0.022 mg/L)を共曝露した場合の体内濃度変化のシミュレーション

(水中ANT濃度(0.022mg/L)およびMPに吸着したANT濃度 (0.00053 mgAnt/mgMP) は一定と仮定)

ANTにおける58 μ mPSMPベクター効果はMP濃度が高いと起こる

MPの劣化がベクター効果へ及ぼす影響

ベクター効果に影響を及ぼす予想因子

- 劣化度
- MP濃度
- 粒径・形状
- 化学物質の種類



蛍光モデルPE粒子
(環境中のMPとは形状
や劣化が異なる)

実環境のMPと標品では分子量、結晶度が異なる場合がある

まとめ

- MPのベクター効果がANTで確認された。
- 劣化によるベクター効果は影響を受けにくい。
- マイクロプラスチック由来吸着化学物質の体内動態モデルが構築できた。
- 化学物質の種類、MPのサイズや濃度に対応できるモデルに発展させ、実環境中でのベクター効果の推定を行う。

本研究は以下の研究支援により行われた

- 日本化学工業協会LRI (19_R05-01)
- 環境研究総合推進費(SII-2-2(2), JPMEERF18S20206)
- CERI 共同研究

1. Assas, M., Qiu, X., Chen, K., Ogawa, H., Xu, H., Shimasaki, Y., Oshima, Y., 2020. Bioaccumulation and reproductive effects of fluorescent microplastics in medaka fish. *Mar. Pollut. Bull.* 158, 111446.
2. Liu, Y., Qiu, X., Xu, X., Takai, Y., Ogawa, H., Shimasaki, Y., Oshima, Y., 2021. Uptake and depuration kinetics of microplastics with different polymer types and particle sizes in Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 212, 112007.
3. Qiu, X., Saovany, S., Takai, Y., Akasaka, A., Inoue, Y., Yakata, N., Liu, Y., Waseda, M., Shimasaki, Y., Oshima, Y., 2020. Quantifying the ベクター effects of polyethylene microplastics on the accumulation of anthracene to Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Aquat. Toxicol.* 228, 105643.
4. Takai, Y., Tokusumi, H., Sato, M., Inoue, D., Chen, K., Takamura, T., Enoki, S., Ueno, Y., Kang, I.J., Shimasaki, Y., Qiu, X., Oshima, Y., 2022. Combined effect of diazepam and polystyrene microplastics on the social behavior of medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere* 299, 134403.
5. 大嶋雄治, 島崎洋平, 2020, メダカにおけるマイクロプラスチックの動態とその影響. *マテリアルライフ*, 32, 1-5.
6. 大嶋雄治, 2020, 生物によるマイクロプラスチックの細粒化とその体内動態. *環境技術*, 49, 1-5.
7. マイクロプラスチックを介した化学物質の蓄積における劣化と形状の影響. 2022, 大嶋雄治、島崎洋平、高井優生、内田祐紀哉. *日本接着学会誌*, 58, 44-49.
8. マイクロプラスチックのメダカ体内動態とそのベクター効果の推定 大嶋雄治、島崎洋平. 2022, *科学と工業*, 95 (12), 377-382.