

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 10 日現在

機関番号：27401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26740039

研究課題名(和文)魚種横断的な新規生物蓄積予測モデルの開発

研究課題名(英文)Development of a bioaccumulation model for a variety of fish species

研究代表者

小林 淳(Kobayashi, Jun)

熊本県立大学・環境共生学部・准教授

研究者番号：00414368

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：多様な水生生物に対する有害化学物質の濃度予測モデルの構築を目的とし、ポリ塩化ビフェニル(PCB)、ポリ臭素化ジフェニルエーテル(PBDE)の魚類に対する暴露実験や代謝実験を行った。実環境を想定した暴露実験により、海水魚へのPCB・PBDEの取込み・排出速度定数などのパラメータを取得した。また、PBDEの代謝実験により魚類の脱臭素化、代謝速度に関する知見を得た。有明海河口域を対象に食物網蓄積モデルを構築し、得られたパラメータを組み込んで6種の水生生物の濃度予測を行ったところ、各生物中のPCB・PBDE濃度は実測値とよく一致し、高精度で生物中のPCB・PBDE濃度を予測できることが示された。

研究成果の概要(英文)：This study examined the uptake and depuration rate constants of polychlorinated biphenyl (PCB) and polybrominated diphenyl ether (PBDE) to develop a bioaccumulation model for a variety of aquatic organisms. Bioaccumulation and metabolism experiments were performed to determine the detailed rate constants, which are model parameters. A food web bioaccumulation model for an estuary of the Ariake Sea was constructed. The model incorporating the rate constants was used to predict the PCB and PBDE concentrations of six species of aquatic organisms. The estimated results agreed well with the observed PCB and PBDE concentrations in organisms collected in this area. This model will contribute to the advancement of exposure assessment methods for aquatic organisms.

研究分野：環境解析評価、環境保全対策

キーワード：食物網蓄積モデル 生物蓄積 代謝 速度定数

### 1. 研究開始当初の背景

ポリ塩化ビフェニル (PCB) やポリ臭素化ジフェニルエーテル (PBDE) は毒性、残留性、生物濃縮性、長距離移動性を有することからストックホルム条約にて残留性有機汚染物質 (POPs) に指定されている。これらの有害化学物質による海洋汚染は国境を越えて拡散し、水棲生物を汚染するなど一國に留まらない問題を引き起こすため、それらの環境動態や生物蓄積の予測は環境保全および生態リスク・ヒト健康リスクの管理のために重要である。

水圏生態系に対する PCB・PBDE のリスク評価のために、食物連鎖蓄積モデルを用いた水生生物中の濃度予測は有用であるが、その予測精度は高いとはいえない。予測精度の向上には、対象物質の生体への取り込み、肝臓での代謝、体外への排出に関する速度定数の精緻化が本質的に重要であるが、これらのパラメータ取得に関する既往の実験は現実と乖離している点がある。例えば、現在までに報告されている速度定数の多くはメダカ等の小型魚を対象としており、中・大型魚への適用には検討が必要である。また、化学物質の腸管経由の取り込み速度定数、同化効率を求めた既報の多くは配合飼料を用いて実施されており、実際の餌となる水生生物 (生餌) を与えた際の速度定数の変化などについての研究例は極めて限られている。さらに、既報の大部分は淡水魚を対象としており、私たちが食用として摂取する海水魚についての情報は限られている。PBDE については、魚類の肝臓で代謝 (脱臭素化) されることで、より毒性が強い異性体に変化することが懸念されている。魚種によって代謝能力は異なると考えられ、さらなる知見の集積が必要である。海水魚における PBDE の代謝 (脱臭素化) 能力や代謝速度に関する知見は、生態リスクの観点、生物蓄積の予測精度の観点からも重要であるが、研究例はほとんどない。そのため、生物蓄積モデルや食物網蓄積モデルにおいて代謝速度を考慮せずに解析されることが多く、精度向上にむけての課題となっている。

### 2. 研究の目的

本研究は室内実験を通して PCB および PBDE の体内動態に関するパラメータを取得し、多数の魚種に適用可能な魚種横断的な生物蓄積予測手法を開発することを目的とする。

### 3. 研究の方法

#### (1) 暴露実験によるモデルパラメータの取得

沿岸域において底層の食物連鎖の上位に位置するヒラメを対象に実験を行った。ヒラメは稚魚を購入し、実験時まで学内で飼育した。ヒラメ (1 歳、平均  $83 \pm 22$  g ( $n = 53$ )) に PCB・PBDE を添加した生餌 (キビナゴ) を給餌する経口暴露実験 (給餌率は 1 日当

り体重の 1%) を行った。暴露期間は 13 日間、排泄期間は 112 日間とした。対照区のヒラメには上記化学物質を添加していない餌を与えた。魚類試料の分析部位は全身とし、ホモジナイズ後、ヘキサソル/ジクロロメタン混合溶液 (1:1) により抽出し、22% 硫酸シリカゲル等で精製後、高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計により定性・定量を行った。

#### (2) 魚類肝ミクロソームを用いた PBDE の脱臭素化実験

野外で採取したスズキ、ボラ、養殖場で入手したコイの肝臓からミクロソームを得て、PBDE 各異性体の脱臭素化に関する実験を行った。本研究では、2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether (#47)、2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether (#99)、2,2',4,4',5,5'-hexabromodiphenyl ether (#153)、2,2',4,4',5,6'-hexabromodiphenyl ether (#154)、2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-decabromodiphenyl ether (#209) を対象とし、これらの化学物質をミクロソームに添加し、24 時間インキュベーションを行い、脱臭素化物や代謝速度を調べた。

#### (3) 食物網蓄積モデルの構築

多様な水生生物への PCB・PBDE の蓄積を予測するために Arnot and Gobas (2004) の方法を参考に食物網蓄積モデルを構築した。(1) 暴露実験により得られた PCB・PBDE の取り込み速度定数、排泄速度定数、(2) 魚類肝ミクロソームを用いた PBDE の脱臭素化実験および文献値から整理した代謝速度定数がモデルの重要なパラメータとなっている。

モデルの予測精度の検証は、筆者らが以前実施した有明海河口域を対象とし、当該調査で得た水・底質中の PCB・PBDE 濃度の実測値を入力値とし、生物中の PCB・PBDE 濃度の実測値をモデル予測濃度 (出力値) の検証材料として用いた。

### 4. 研究成果

#### (1) 暴露実験によるモデルパラメータの取得

魚体中の総 PCB 濃度は、暴露開始直前 (day 0) では  $6.0 \pm 1.3$  ng/g-wet であったが、暴露 13 日目 (day 13) では  $390 \pm 170$  ng/g-wet まで増加した。その後、排泄期間において経時的に緩やかに減少した。排泄期間の魚体中濃度の経時変化から 46 異性体の排泄速度定数および体内半減期を求めたところ、それぞれ  $0.005 \sim 0.043$  1/day、16 ~ 145 日であった。

次に取り込み期間の魚体中濃度の経時変化および排泄速度定数をもとに解析したところ、腸管経由の PCB の取り込み速度定数は  $0.0039 \sim 0.022$  kg-food/kg-organism/day ( $n = 43$ )、腸管経由の同化効率は 32 ~ 118% ( $n = 43$ ) であった (図 1)。本研究の結果は、配合飼料を給餌した淡水魚の数値 (ニジマス、40 ~ 61%,  $n = 92$ ) (Buckman et al., 2004) と比較してやや高く、野外で採取した生餌を淡水魚 (コイ) に与えた実験における数値 (Liu et al.,

2010)と類似した値を示した。これらのことから、淡水魚・海水魚によらず、生餌を摂取した場合には同化効率が配合飼料よりも高くなること、また淡水魚・海水魚で同化効率は大きく違わないことが示唆された。生餌と配合飼料とでの構成成分の違い、魚種による消化能力の違いが同化効率に影響していると推察される。本研究の実験結果を用いて同化効率の予測式を導出したところ、本研究における予測式の傾きの数値は既存の予測式 (Arnot and Gobas, 2004) の約 2/3 であった。両式で同化効率の推定値を比較した結果、本研究の推定値は既存の予測式による推定値の約 1.5 倍となったことから、配合飼料を用いた実験に基づく既存の予測式では同化効率を過小評価する可能性が示された。本研究により得られた推定式を用いることで、PCB 等の疎水性化学物質のより実態に近い取り込みを再現でき、精度の高い推定を行うことが可能となった。

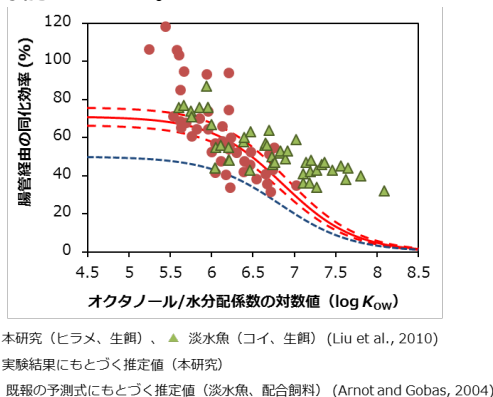


図1 腸管経由のPCB同化効率とオクタノール/水分係数との関係

## (2) 魚類肝ミクロソームを用いたPBDEの脱臭素化実験

スズキとボラにおけるPBDEの代謝特性を明らかにするためにそれぞれの肝ミクロソームを用いてPBDE異性体の代謝実験を行った。#209の代謝実験においては、スズキでは#197、#206、#207、#208と未知物質(8臭素化物)の生成が確認されたが、ボラでは#208と2種の未知物質(8臭素化物)のみの生成にとどまった。また、#183の代謝実験においては、スズキでは#153と#154が生成されたが、ボラでは#154がわずかに生成される程度であった。これらの結果より、#209、#183などの高臭素化合物については、ボラよりもスズキの脱臭素化の能力が高いことが示唆された。#154の代謝実験においては、両魚種ともに代謝物は観察されなかった。なお、哺乳類ではCYP450によって水酸化PBDEが生成されることが報告されている。#153も両魚種で顕著な脱臭素反応は見られなかった。#99の代謝実験においては、スズキでは脱臭素化物がほとんど見られなかったが、ボラでは脱臭素化物として#47が確認された。この結果より、#99については、スズキよりもボラの

脱臭素化の能力が高いことが示唆された。既報の結果も合わせて魚類のPBDEの脱臭素反応を整理すると、ボラ、コイ、マコガレイ (Mizukawa et al., 2013) などの底棲魚類では#183から#154、#153への脱臭素化は見られなかったが、#99から#47への脱臭素化が見られた。対照的にスズキやニジマス、サケなどの魚類では#99から#47への脱臭素化はみられなかったが、#183から#154、#153への脱臭素化が見られた。このように生息域によって魚類の脱臭素化の特異性が異なることが示唆された。また、代謝速度を得るためにスズキ・コイを対象に#209の実験を行い、文献値とも合わせてPBDE異性体の代謝速度について整理した。

## (3) 食物網蓄積モデルの構築

有明海の河口域を対象に6種の生物(スズキ、ボラ、マハゼ、ハゼクチ、甲殻類、多毛類)に対するPCB(2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl, #52)の食物網蓄積のシミュレーションを行った結果を図2に示す。いずれの生物においても予測値は実測値の1/10~10倍の範囲に収まっており、本研究の食物網蓄積モデルの予測精度は比較的高いことが示された。予測値は、多毛類、甲殻類において実測値とやや離れる傾向にあったが、スズキ、ボラ、マハゼにおいては実測値とよく一致した。また、スズキの成長に伴うPCB(#52)の体内濃度の変化を予測したところ、当歳魚におけるPCB濃度の急激な増加から成長に伴って体重が増加し、体内のPCB濃度が減少する傾向(成長希釈)まで再現することが可能であった。

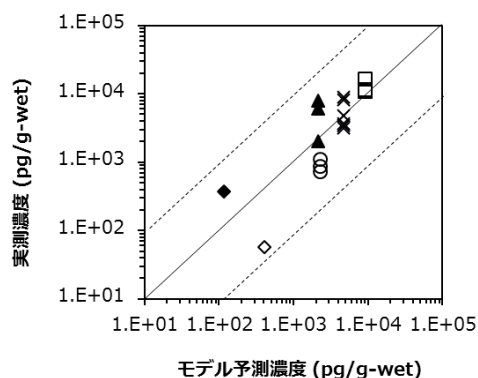


図2 食物網蓄積モデルによる各種生物中のPCB(#52)濃度の予測結果と実測値の比較 (ボラ、×スズキ、マハゼ、○ハゼクチ、甲殻類、多毛類)

PBDE(#47)についても概して良好な予測精度を示したが、代謝過程をモデルに含めない場合は、ボラを除き実測値よりも予測値の方が高く、体内中PBDE濃度をやや過大に推定する傾向にあった(図3(a))。一方、(2)で取りまとめた代謝過程をモデルに含めた場合では、ボラを除く3魚種で予測値と実測値がよい一致を示した(図3(b))。このよう

に代謝過程を食物網蓄積モデルに含めることで、予測精度が向上することが明らかとなった。本手法を用いることで多様な水生生物に対して、PCB のような疎水性化学物質、PBDE のような疎水性を持ちながらも代謝（脱臭素化）されるような化学物質の体内濃度を効率的に予測できることが示された。

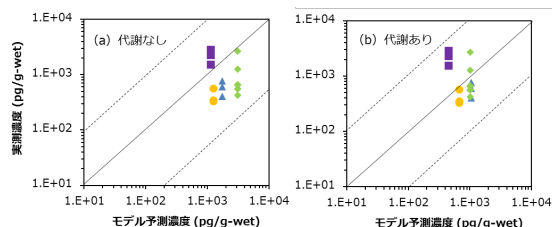


図 3 食物網蓄積モデルによる各種生物中の PBDE (#47) 濃度の予測結果と実測値の比較 (ボラ、スズキ、マハゼ、ハゼクチ)

#### < 引用文献 >

- Arnot and Gobas (2004) A food web bioaccumulation model for organic chemicals in aquatic ecosystems. *Environ. Toxicol. Chem.* 23, 2343–2355.
- Buckman, A.H., Brown, S.B., Hoekstra, P.F., Solomon, K.R., Fisk, A.T. (2004) Toxicokinetics of three polychlorinated biphenyl technical mixtures in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ. Toxicol. Chem.* 23, 1725–1736.
- Liu, J., Hafner, G.D., Drouillard, K.G. (2010) The influence of diet on the assimilation efficiency of 47 polychlorinated biphenyl congeners in Japanese koi (*Cyprinus carpio*). *Environ. Toxicol. Chem.* 29, 401–409.
- Mizukawa, K., Yamada, T., Matsuo, H., Takeuchi, I., Tsuchiya, K., Takada, H. (2013) Biomagnification and debromination of polybrominated diphenyl ethers in a coastal ecosystem in Tokyo Bay. *Science of the Total Environment*, 449, 401–409

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計0件)

[学会発表](計9件)

- 中村亮輔, 小林淳, 魚類肝ミクロソームによるデカ臭素化ジフェニルエーテルの代謝速度に関する検討, 第 26 回環境化学討論会, 平成 29 年 6 月 7 日~9 日, 静岡県コンベンションアーツセンター  
吉本未来, 原健斗, 小林淳, 沿岸域にお

ける有害化学物質の食連鎖蓄積評価手法開発—アミノ酸窒素安定同位体比を用いて, 環境毒性化学とメダカに関する研究会 around 九州, 平成 28 年 9 月 7 日~9 日, 熊本大学

橋本奈央, 西田みなみ, 櫻井健郎, 内山幸子, 小林淳, 海産底生魚におけるポリ塩化ビフェニルの腸管経路の同化効率, 第 25 回環境化学討論会, 平成 28 年 6 月 8 日~10 日, 朱鷺メッセ新潟コンベンションセンター

西田みなみ, 橋本奈央, 石原史隆, 内山幸子, 小林淳, 海産魚類におけるポリ塩化ビフェニルの体内分配に脂質が及ぼす影響, 第 25 回環境化学討論会, 平成 28 年 6 月 8 日~10 日, 朱鷺メッセ新潟コンベンションセンター

吉本未来, 山田勝雅, 岡村和磨, 櫻井健郎, 小林淳, アミノ酸窒素安定同位体比を用いた残留性有機汚染物質の食物連鎖蓄積の解明, 第 25 回環境化学討論会, 平成 28 年 6 月 8 日~10 日, 朱鷺メッセ新潟コンベンションセンター

石原史隆, 水川薫子, 小林淳, 海産魚類におけるポリ臭素化ジフェニルエーテルの脱臭素化特性, 第 25 回環境化学討論会, 平成 28 年 6 月 8 日~10 日, 朱鷺メッセ新潟コンベンションセンター

吉本未来, 山田勝雅, 岡村和磨, 小林淳, 閉鎖性水域におけるアミノ酸窒素安定同位体比を用いたポリ塩化ビフェニルの食物連鎖蓄積の評価, 第 5 回環境同位体学シンポジウム, 総合地球環境学研究所, 平成 27 年 12 月 25 日

吉本未来, 山田勝雅, 岡村和磨, 小森田智大, 櫻井健郎, 小林淳, 閉鎖性水域におけるアミノ酸窒素安定同位体比を用いたポリ塩化ビフェニルの食物連鎖蓄積の評価, 第 24 回環境化学討論会, 札幌コンベンションセンター, 平成 27 年 6 月 24 日~26 日

小林淳, 小森田智大, 石橋弘志, 食物網蓄積モデルを用いた残留性有機汚染物質の生態リスク評価の検討, 第 24 回環境化学討論会, 札幌コンベンションセンター, 平成 27 年 6 月 24 日~26 日

[その他]

ホームページ等

<http://www.pu-kumamoto.ac.jp/~kklab/index.html>

1

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

小林淳 (KOBAYASHI, Jun)

熊本県立大学・環境共生学部・准教授

研究者番号: 00414368