

タイヤ粉じんの生態リスク評価に資する有害性の評価

Toxicity evaluation of tire particles in fish and amphipod for their environmental risk assessment

仲山 慶¹, 和田梨奈¹, 山崎雅俊², 宇野誠一², 田上瑠美¹, 後藤哲智¹, 国末達也¹,
倉田 修³, 和田新平³, 天野敦子⁴, 板木拓也⁴, 田中厚資⁵, 高橋勇介⁵, 鈴木 剛⁵

¹ 愛媛大学沿岸環境科学研究センター

² 鹿児島大学水産学部

³ 日本獣医生命科学大学獣医学部

⁴ 産業技術総合研究所地質情報研究部門

⁵ 国立環境研究所資源循環領域

本研究は、環境省・（独）環境再生保全機構の環境研究総合推進費（no. 1-2204: JPMEERF20221004）により実施した。



海洋流出マイクロプラスチックの物理・化学的特性に基づく汚染実態把握と生物影響評価

サブテーマ1

海洋流出MPによる汚染実態把握に関する研究

- MPモニタリング
(表層水, 海岸表層砂, 河口堆積物)
- MPの物理・化学的特性評価
- AIシステムによるMP候補物質の形態評価と分取

サブテーマ2

高懸念MPの生物影響評価に関する研究

- コイを対象とした生物影響評価
- ヨコエビを対象とした生物影響評価
- MP添加剤の分析

- ◆ タイヤ粉
- ◆ 再生ポリプロピレン
- ◆ 化学繊維

タイヤ問題の背景

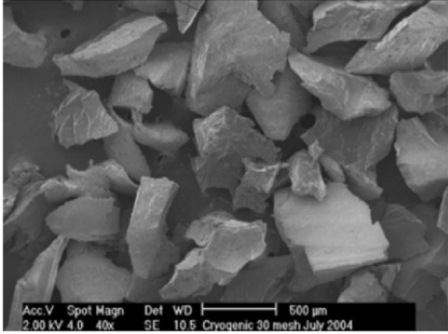
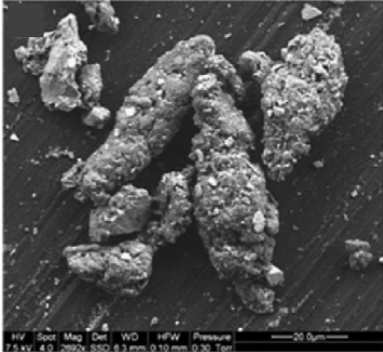
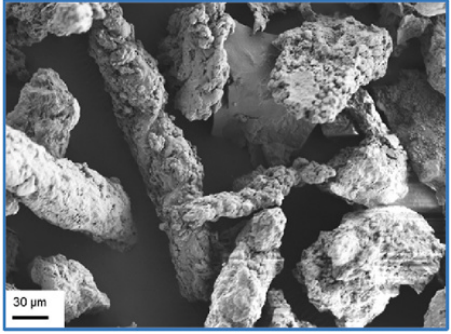
- 陸域から排出されるマイクロプラスチックのうち30～55%はタイヤ由来である。
(Sundt et al., 2014; Lassen et al., 2015; Bertling et al., 2018)
- タイヤ粉じん (TRWP) は藻類, オオミジンコ, ファットヘッドミノーに急性毒性を示さない。
(Marwood et al., 2011)
- タイヤゴムの曝露もマミチヨグとファットヘッドミノーに急性毒性を示さない。
(LaPlaca & Hurk, 2020)
- 酸化防止のために添加されている6PPDの酸化物である6PPD-Qが, 一部のサケ科魚類に対して極めて強い毒性を示す。
(Tian et al., 2020; Hiki et al., 2021; Brinkmann et al., 2022; Hiki et al., 2022)

タイヤ粒子の慢性的な曝露による影響は？

生物影響評価に使用されるタイヤ粉の種類

Table 3

Comparison of materials currently used for testing regarding size, density, shape, composition, advantages and limitations.

	Cryogenically milled TPs ^a	TRWPs from road simulators ^b (ISO/TS 22638)	TRWPs from environmental samples ^c
Shape			
Size range	Microsize	Nano- to microsize	Nano- to microsize
Density range	1.2 g/cm ³	1.7–1.9 g/cm ³ , to what extent low density particles are formed is unknown yet	1.3–1.9 g/cm ³
Shape	No elongated shapes, only irregular	Elongated, some irregular	Elongated, some irregular

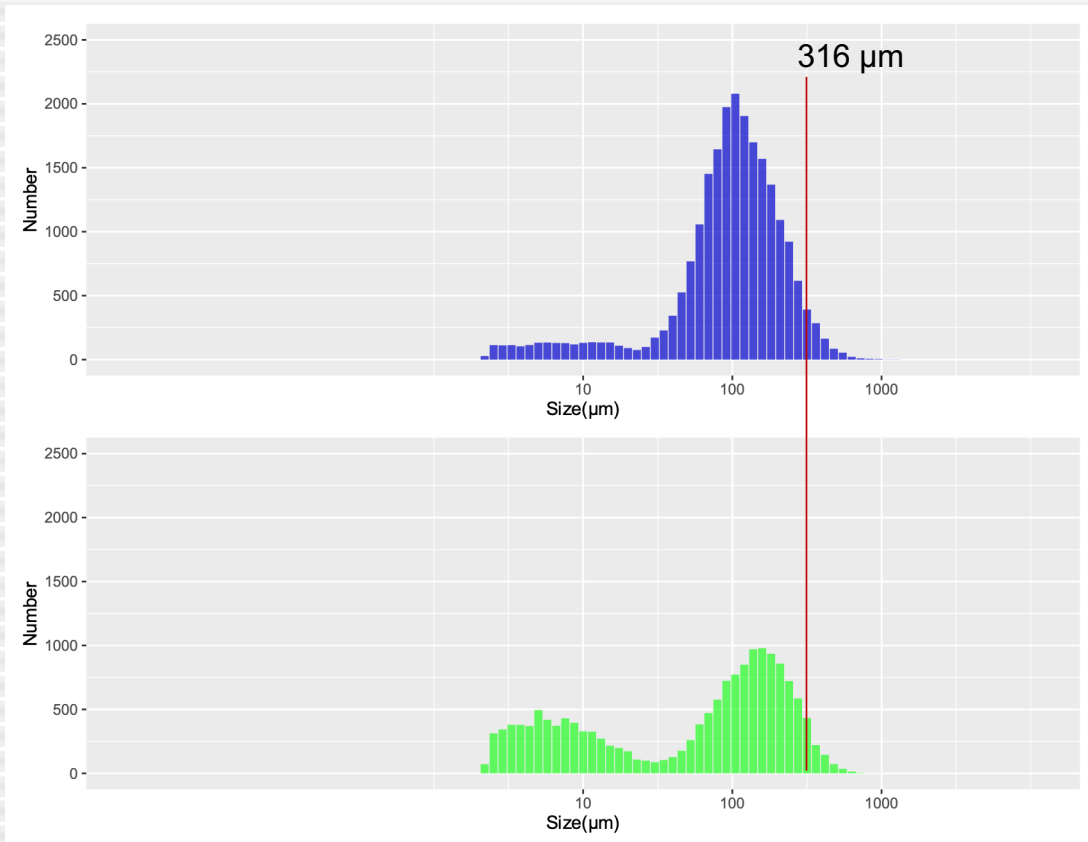
(CC BY; Wagner et al., 2022. Chemosphere)



U. S. Tire Manufacturers Associationから譲渡
(<https://www.ustires.org/cmtt>)

タイヤ粉の形状および粒度分布(モフォロギにて測定)

削り出した
タイヤ粉



- 100 μmに極大があり, 300 μmより小さいものが大部分を占めた。
 - バッチが異なっても, 分布はほぼ一致した。
 - 新品と中古品での有害性の違いを比較する場合に有効な調製方法。
-
- 153 μmに極大があり, 300 μmより小さいものが大部分を占めた。
 - 2~20 μm以下の粒子も相対的に多く含まれていた。
 - 大量に入手が可能。
 - 形状は実際のタイヤ粉じんと大きく異なる(タイヤは北米製)。

CMTT

タイヤ粉からの抽出物を対象とした*in vitro*バイオアッセイ

メーカーおよび新品と中古でのプロファイルには大きな違いは無い。



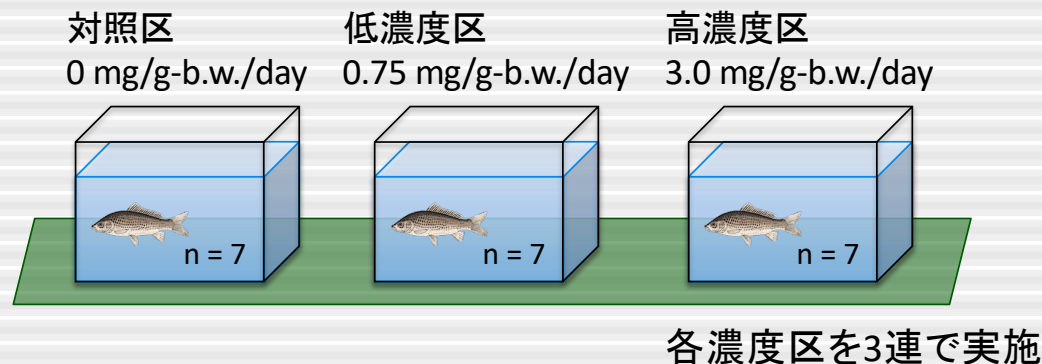
評価指標	バージン PP	製品A 新品	中古	製品B 新品	中古	CMTT
Cytotoxicity	1	2	1	2	2	2
AhR agonist	1	5	6	5	5	6
ER α agonist	1	1	1	1	1	1
PXR agonist	1	5	4	5	4	5
AR antagonist	1	2	2	2	2	3
PR antagonist	1	2	2	3	3	3
Nrf2 activity	1	5	4	5	5	3
p53 activity	1	1	1	1	1	1

活性の有無を8段階で評価したもの(1は原液でも活性無し)。

コイを対象とした試験

項目	内容
体サイズ	試験開始前の平均体重約1.8 g
飼育水槽	45 cmガラス製水槽(32 L容)
水量	20 L
個体数	7個体/tank
換水	40 L/day(サイフォンで滴下)
水温	23~24°C
照明	明期15時間, 暗期9時間
飼料	コイ用マッシュ(科学飼料研究所)
給餌量	魚体重の3%(1週間ごとに再計算)
給餌回数	1日に1回(10:00~11:00)
試験期間	4週間(成長阻害・血液毒性), 2週間(血液毒性)
投与物質	CMTT

主な試験条件はOCED TG215に準拠した。



【観察項目】

- 体長
- 体重
- 全血球数(≒赤血球数)
- ヘモグロビン濃度
- ヘマトクリット値
- 組織学的観察
体腎, 消化管, 肝組織, 脾臓

DO: >7.0 mg/L
pH: 7.7~8.2

実施した試験の概要

項目	CMTT投与試験1	CMTT投与試験2	劣化CMTT投与試験
評価項目	成長阻害・血液毒性の調査	血液毒性の閾値の調査	劣化したCMTTの影響の調査
劣化処理	なし	なし	キセノンランプ促進耐候性試験機 放射照度: 0.51 W/m ² , 340 nm 温度: 80°C 照射期間: 8週間
試験期間	4週間曝露 + 1週間回復	2週間曝露	2週間曝露
添加量	0, 2.5, 10%	0, 0.625, 1.25, 2.5%	0, 1.25, 2.5, 5%
投与量	0, 0.75, 3.0 mg/g-b.w./day	0, 0.19, 0.38, 0.75 mg/g-b.w./day	0, 0.38, 0.75, 1.5 mg/g-b.w./day
反復	3連	2連	2連
組織切片	H&E染色、漂白 ベルリン青染色	なし	なし

CMTT曝露によるコイの成長および血液への影響(4週間曝露+1週間回復)

体重

ヘモグロビン濃度

ヘマトクリット値

非開示情報

- ✓ CMTTを添加した飼料をコイに4週間与えても、成長には影響しなかった。
- ✓ ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値は両濃度区で有意に低下した。全血球数(≒赤血球数)は変化しなかった。
- ✓ ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値の低下は、1週間の回復期間後には改善した。

CMTTを投与したコイの組織学的観察

腸管

体腎

肝臓

脾臓

非開示情報

対照区

明瞭な変化は認められなかった。

糸球体のメサンギウム域における単核生細胞のわずかな増加

肝細胞の軽度の膨化および空胞(脂肪滴)の減少

ヘモジデリンの沈着

CMTT
10%添加

コイの末梢血中ヘモグロビン濃度の低下を引き起こすCMTT曝露濃度の閾値

CMTTの曝露試験



ヘモグロビン濃度は2.5%区のみで有意に低下

LOEL 2.5% (0.75 mg/g-b.w./day)

NOEL 1.25% (0.375 mg/g-b.w./day)

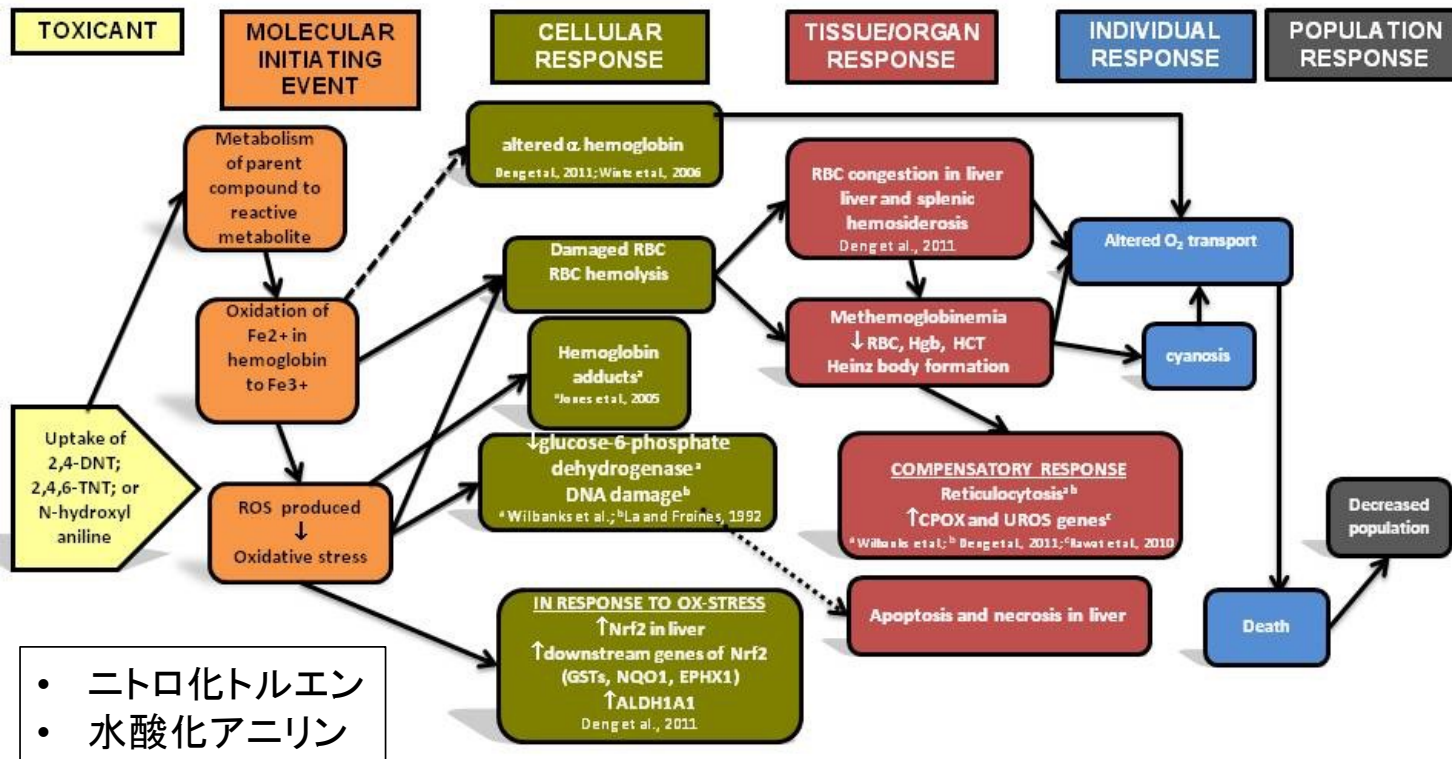
UV照射で劣化させたCMTTの曝露試験



UV照射で劣化させたCMTTは貧血を引き起こさない
タイヤへの添加剤由来の化合物が原因である可能性

CMTTの曝露で貧血が生じる原因

AOP: 31 (Oxidation of iron in hemoglobin leading to hematotoxicity)



- ニトロ化トルエン
- 水酸化アニリン

<https://aopwiki.org/aops/31>

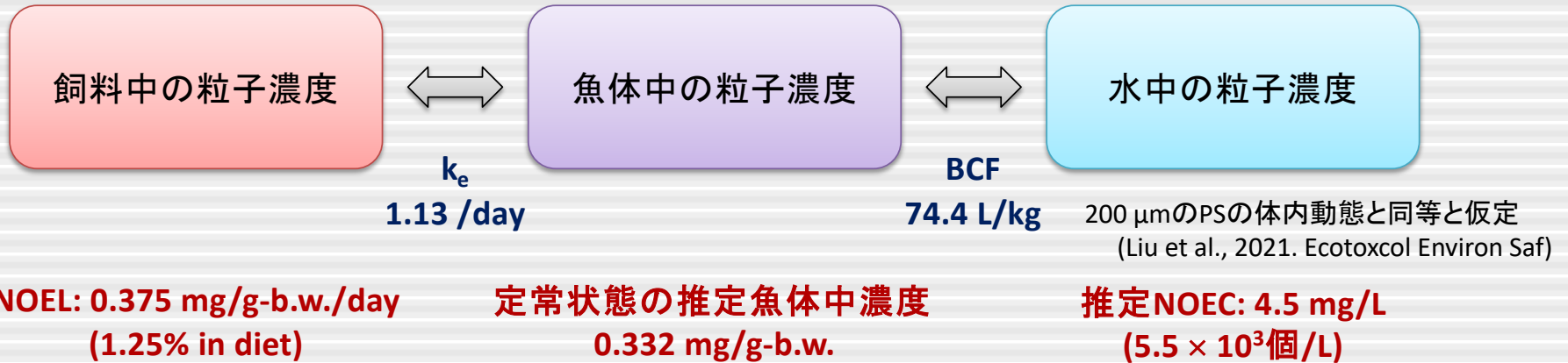
- ニトロ化トルエンや水酸化アニリンが血液毒性を引き起こすAOPが提案されている (AOP: 31)。
- アニリン骨格を持つ化合物には、貧血を引き起こすものが多く存在する。 (Asai et al., 2021. Food Chem Toxicol)
- 8週間のUV照射でCMTTに含まれる化合物の濃度は著しく低下する (未公開データ)。
- UV照射で劣化させたCMTTはコイに貧血を引き起こさない。

添加剤に起因する化合物による影響だと予想されるが、PE粒子が貧血を引き起こすとの報告もある。 (Hamed et al., 2022. Chemosphere; Yu et al., 2023. Chemosphere)

コイを対象としたタイヤ粉投与試験のまとめ

観察項目	結果	考察
成長等	<ul style="list-style-type: none">試験終了時の体長および体重は投与区間で違いがなかった。成長率や飼料効率についても、タイヤの投与による影響は観察されなかった。腸管に異常は観察されなかった。肝細胞において脂肪滴と思われる空胞が減少した。血液中のトリグリセライドの濃度は変化しなかった。	<ul style="list-style-type: none">他のMPsの曝露で観察されているような腸管のダメージは生じない(Espinosa-Ruiz et al., 2023)。魚類の肝臓には脂肪を蓄える機能があり、タイヤの投与でその量が減少するが、成長を阻害するような影響ではない。
血液性状	<ul style="list-style-type: none">ヘモグロビン濃度とヘマトクリット値が低下した。全血球数には変化がなかった。MCV, MCH, MCHCは変化しなかった。脾臓にてヘモジデリンの沈着が観察された。	<ul style="list-style-type: none">出血あるいは溶血が生じている可能性がある。ヘモジデリンの沈着が増加したことは、赤血球がダメージを受けていたことと一致する。PEの曝露でヘモグロビン濃度とヘマトクリット値が低下するとの報告も(Yu et al., 2023)。
体内分布	<ul style="list-style-type: none">腸管内以外の部分ではタイヤ粒子は観察されなかった(漂白した切片でメラニンとは区別)。	<ul style="list-style-type: none">肝組織や体腎でタイヤ粒子が観察されなかったことから、粒子そのものより、添加剤の影響である可能性が高い。

タイヤの生態リスク評価試行

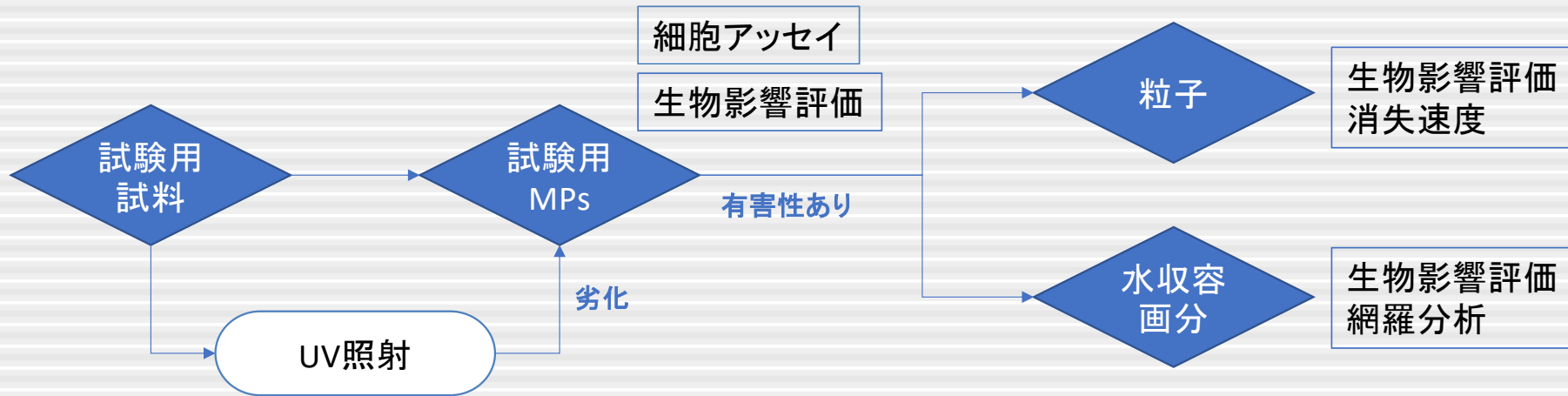


- 底質中の実測タイヤ粒子濃度: 400–155,000 mg/kg (<15.5%)
- 表層水中の推定タイヤ粒子濃度: 0.03–17.9 mg/L (Road runoff中の濃度の10分の1)
- 表層水中の実測タイヤ粒子濃度: 0.09–6.4 mg/L

(Reviewed by Wik & Dave, 2009. Environ Pollut)

粒子濃度だけで比較すると環境中濃度は影響閾値に近い。しかしながら、毒性影響が主に添加剤由来の化合物に起因するのであれば、それらの化合物は時間経過とともにタイヤ粉から消失(溶出, 揮発, 分解等)するため、粒子の存在量のみに基づくリスク評価は過大評価になるかもしれない。

現在進行中のプロジェクト



底生生物への影響評価
食物網を介した曝露量の推定



謝辞

CMTTの分譲

U. S. Tire Manufacturers Association

Mr. Neil Kotras

Ms. Sarah Amick

Ms. Jamie McNutt

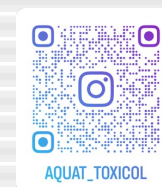
技術供与

高橋 真樹子(愛媛大学 学術支援センター)

池内 五十鈴(愛媛大学 学術支援センター)

研究費

- 環境研究総合推進費(1-2204: JPMEERF20221004)



<https://www.aquatic-toxicology.com/>