

S2-09

マイクロコズムを用いた
生態系リスク影響評価
システム手法の開発

研究代表者 福島大学
理工学群共生システム理工学類
教授 稲森悠平

本グループの研究体制と取組内容

サブテーマ2:

マイクロゾムの構成
微生物群と安定性確保
のための操作条件の
最適化およびモデル化

中島敏幸:愛媛大学
川端善一郎:地球環境学
研究所

サブテーマ4:

マイクロゾムを用
いた農薬・有機物
負荷等の生態系に
及ぼす解析評価

鹿野秀一:東北大

福島大研究協力者:
賀数邦彦、熊田 純

マイクロゾムを活用した微生物群
集構造解析、微生物間相互作用系
の食う・食われる(捕食・被食) 関
係の研究のエキスパートから構成
府馬正一・放射線医学総合研究所
林紀男:千葉県立中央博物館

中核 サブテーマ1:

マイクロゾムを用い
た各種化学物質の生
態影響の総合解析評
価およびマニュアル化

稲森悠平・稲森隆平
:福島大学

生態毒性の
食物連鎖系の
相互作用

生態影響の研究を
長年実施している
エキスパートから構成

研究推進の基盤は確立

サブテーマ3:

マイクロゾムを
用いた金属類の
生態系システムに
及ぼす解析評価

村上和仁・千葉工大
杉浦桂:相模女子大

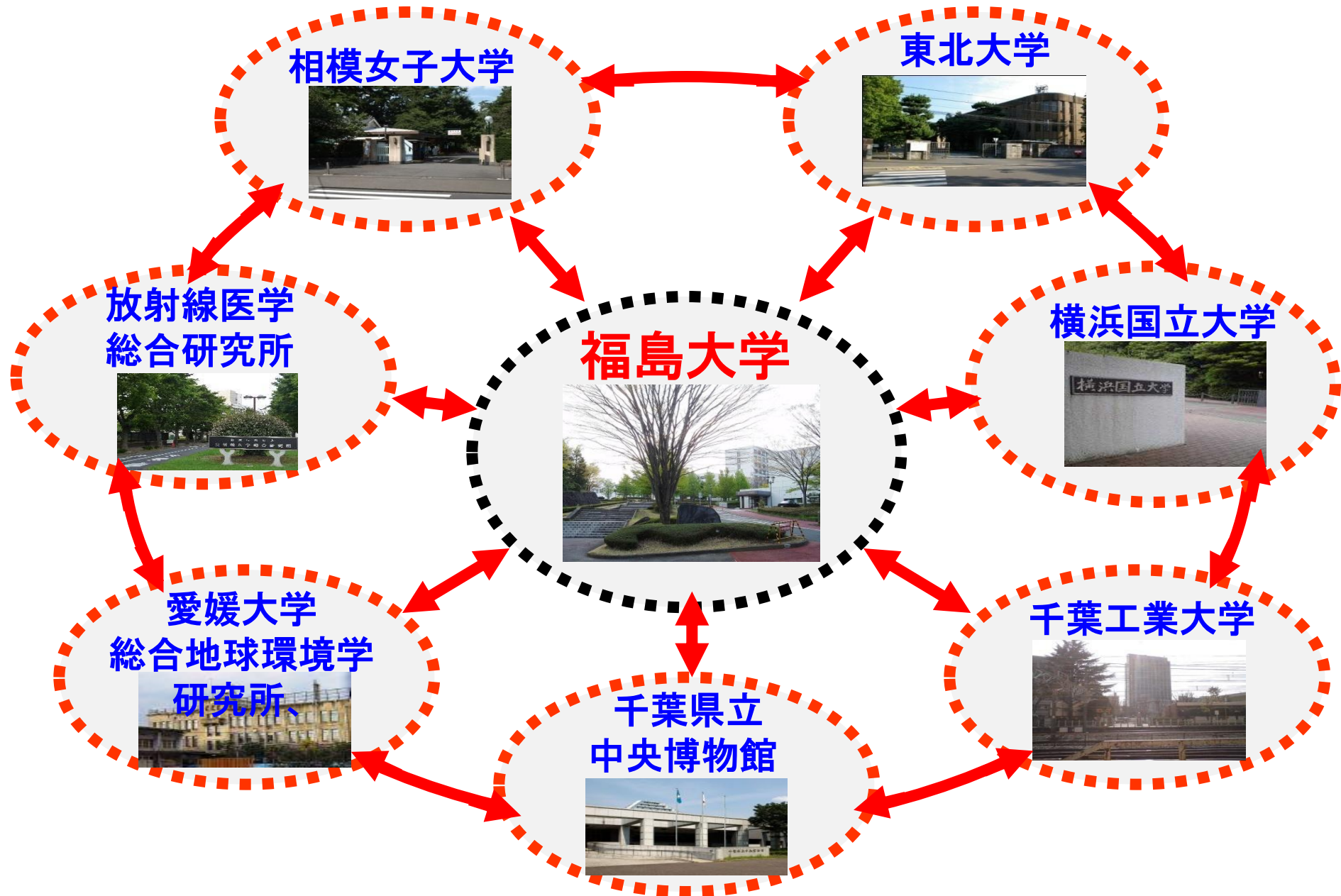
サブテーマ5:

マイクロゾムを用
いた微量汚染化学物
等の低減機能および
生態系システム
に及ぼす解析評価

雨宮隆:横浜国立大学

横浜国大研究協力者:
柴田賢一

本共同研究機関連携による効果的研究推進



生態影響評価試験と単一種試験の特性比較

HC5法: 単一生物種の**最大無影響濃度(NOEC)**の分布曲線を基に生物種の95%を保護する濃度を予測する方法

ECETOC法: 藻類, 甲殻類, 魚の各**NOEC**を求め, それらの最小値を1/10倍する方法

HC5法とECETOC法で求めた**予測無影響濃度(PNEC)**は, **マイクロソズム法・メソソズム法**で求めた**無毒性濃度(MNOAEC)**と大きな差があることが明らかにされつつあり, **生物間相互作用の効果を考慮することが必要不可欠**

HC5法, ECETOC法で求めた**予測無影響濃度(PNEC)**を**マイクロソズム法**で求めた**無毒性濃度(MNOAEC)**で割った値等の比較解析: 評価手法開発

PNEC: ECETOC法 & HC5法 / MNOAEC

PNEC: Predicted no effect concentration, **NOAEC**: No-observed adverse effect concentration, **MNOAEC**:(Microcosm) **ECETOC**: European Center for Eco-toxicology and Toxicology of chemicals

本研究開発の意義と必要性

- 生産者(藻類)・消費者(微小動物)・分解者(細菌類)からなるモデル微生物生態系であるマイクロコズムを生態リスク影響評価システムの新たな手法として構築する。
- 環境リスクを容易にかつ汎用的に解析可能なP/R比★(生産/呼吸比)等を評価指標とした水圏生態系をツールとする環境リスク評価手法を開発する。★ P/R比で生物の回転率・活性影響を比較評価
- マイクロコズムにおける生態環境リスク評価の基礎的データを集積しOECD試験法化を図る。
OECD (Organization for Economic Cooperation and Development (経済協力開発機構))

本研究開発の主たる目標

『**マイクロズム**』をツールとし、**P、R変化**を評価指標とした汎用化可能な**環境リスク評価手法**開発を実施する。

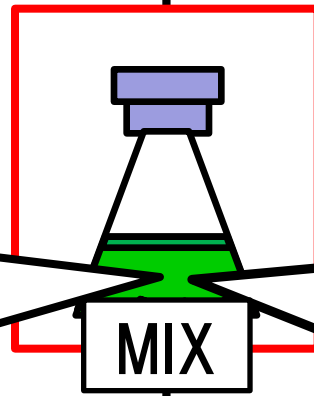
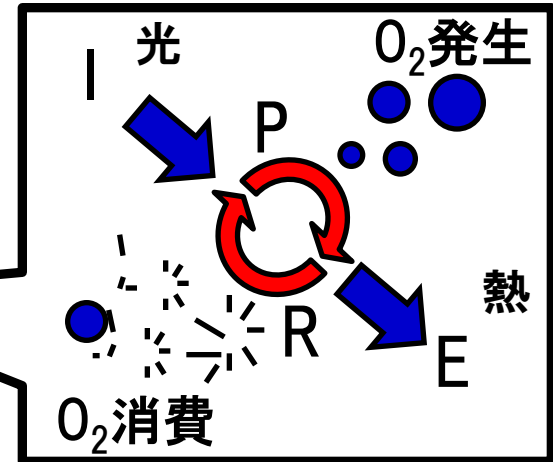
《マイクロズム》

自然生態系の重要要素を内包した安定生態系モデルである。



《P、R変化》

生産(Production)、呼吸(Respiration)はエネルギー、物質循環の指標となる。

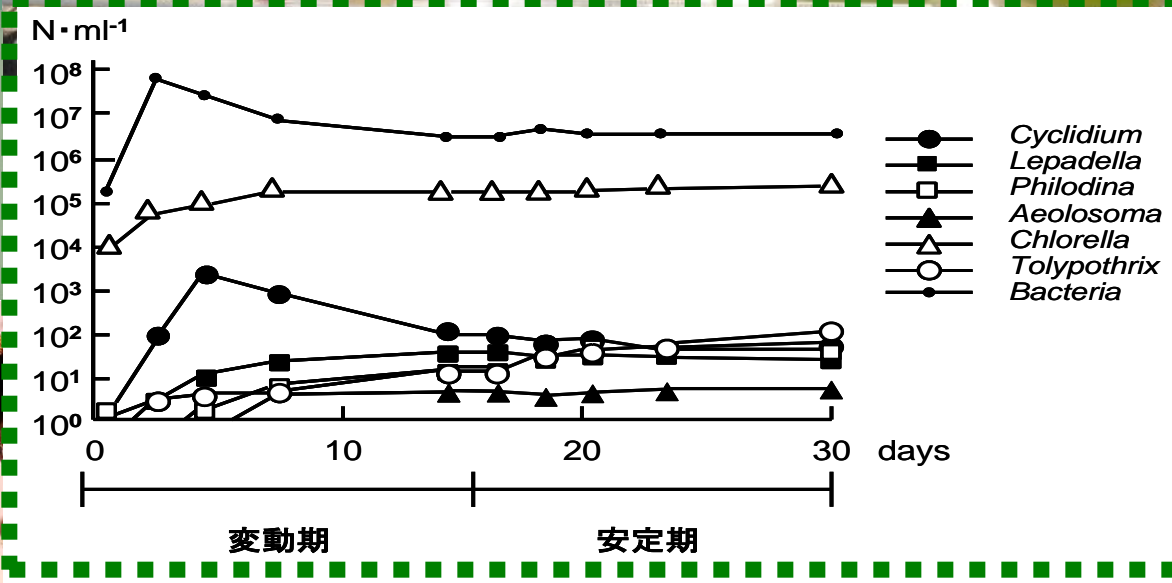
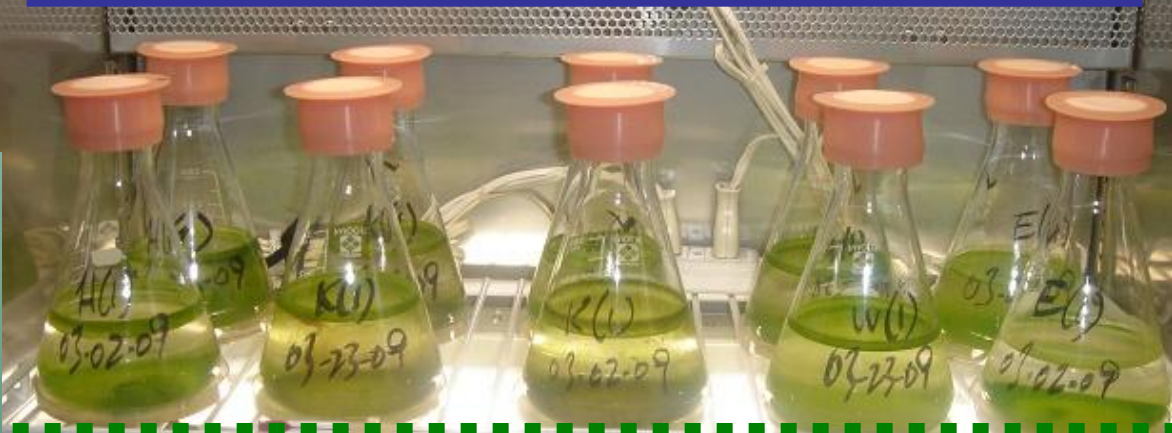
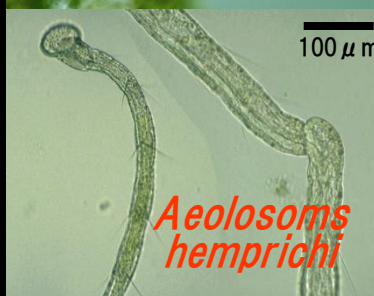
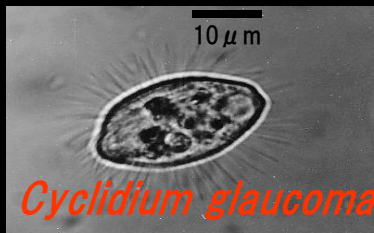
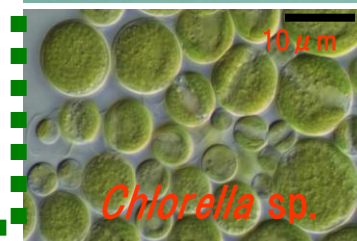
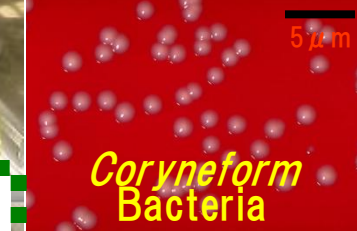
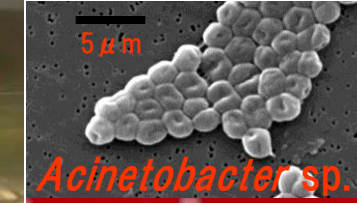


生態系をシステム全体の変化から比較評価することが可能になる。

基礎的データの集積、試験法のマニュアル化によって、従来法の問題点を克服した手法としてOECD試験法化、国際標準化を目指す。

マイクロゾウム構成生物

・完全種構成既知・高い再現性・高い安定性・各種条件の操作が可能・生態系機能の基本要素を含有



水圏モデル生態系マイクロコズム試験条件

環境リスク評価対象物質

重金属・農薬・藍藻毒・界面活性剤・放射線

添加時期：マイクロコズム培養開始16日目(安定期)

実験系：添加系(負荷系)および非添加系(対照系)

マイクロコズム培養方法

培地：TP培地(Taub+polypepton)

容器：300ml容三角フラスコ

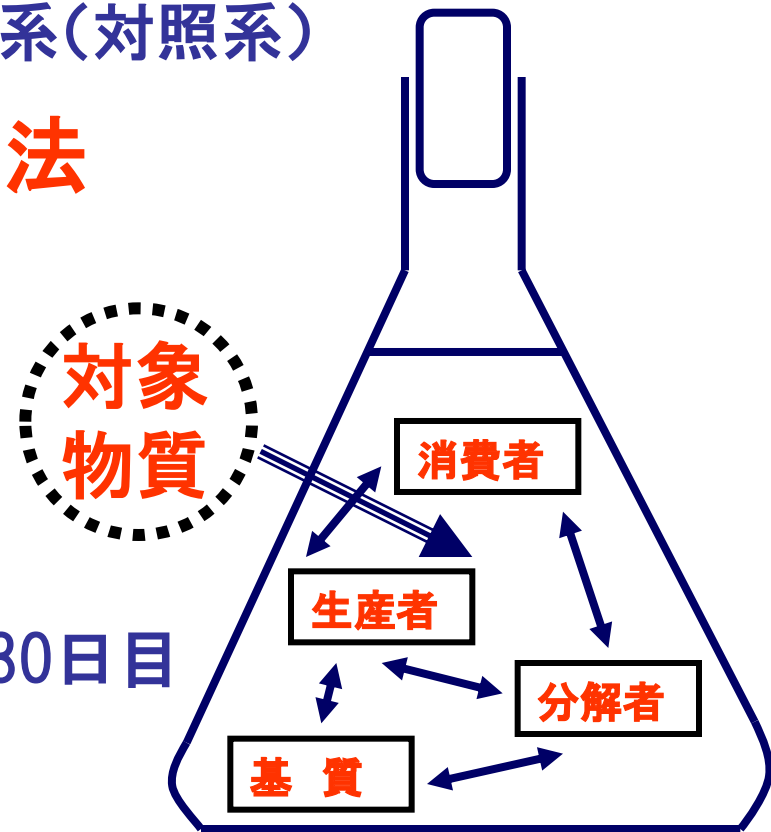
温度：25℃

照度：2,800lux(明12hr. 暗12hr.)

攪拌：静置

測定：0、2、4、7、14、16、18、20、23、30日目

測定項目：DO(連続測定)、個体数



生態系とマイクロコズムのP/R比等の相似性

自然生態系の生態遷移

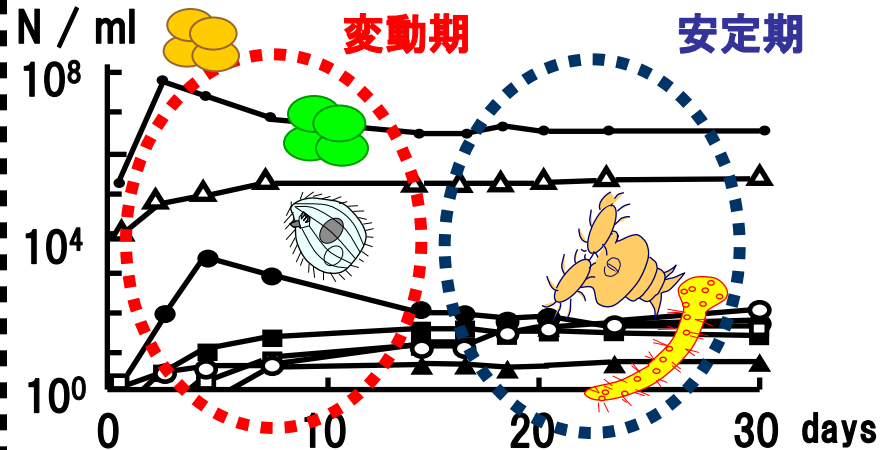
(E.P.Odum, *Science*, 1969)

・自然生態系とマイクロコズムの生態遷移には多くの類似点がある。

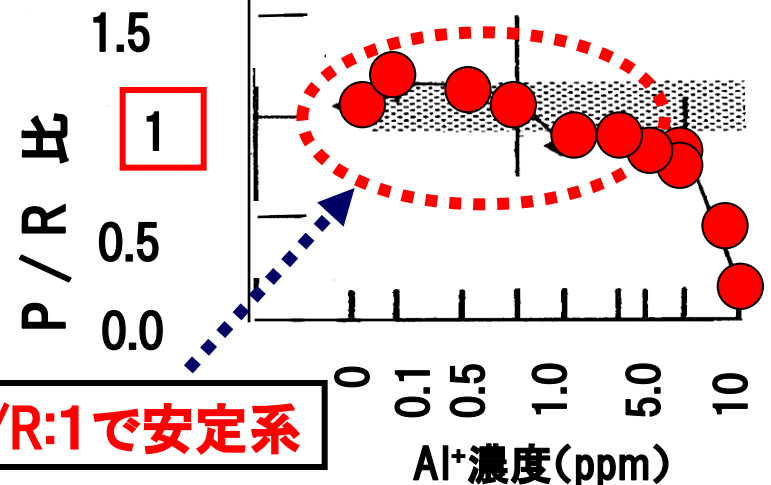
・生産者(藻類), 捕食者(微小動物), 分解者(細菌類)を主とする微生物ループから構成されるマイクロコズムは、生物間相互作用, 物質循環に関して自然生態系の多くの特徴を有している。

・特に重要なことは、成熟した安定な生態系とマイクロコズムでは、P(生産)/R(呼吸)比は1に近まる。

生物個体数遷移



P/R比に及ぼす金属の影響

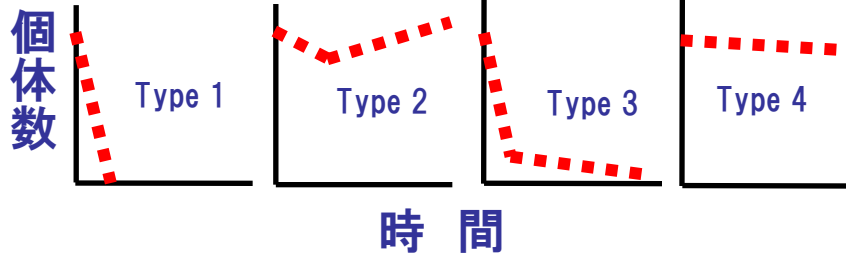


P/R:1で安定系

マイクロコズムにおけるP/R比評価法

評価の視点

- a. 測定が簡単
- b. 生態系評価が可能
- c. 測定の数値化によって影響を視覚化可能
- d. システム全体の変化を測定可能

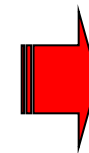


P/R比の有効性

P / R比の特性

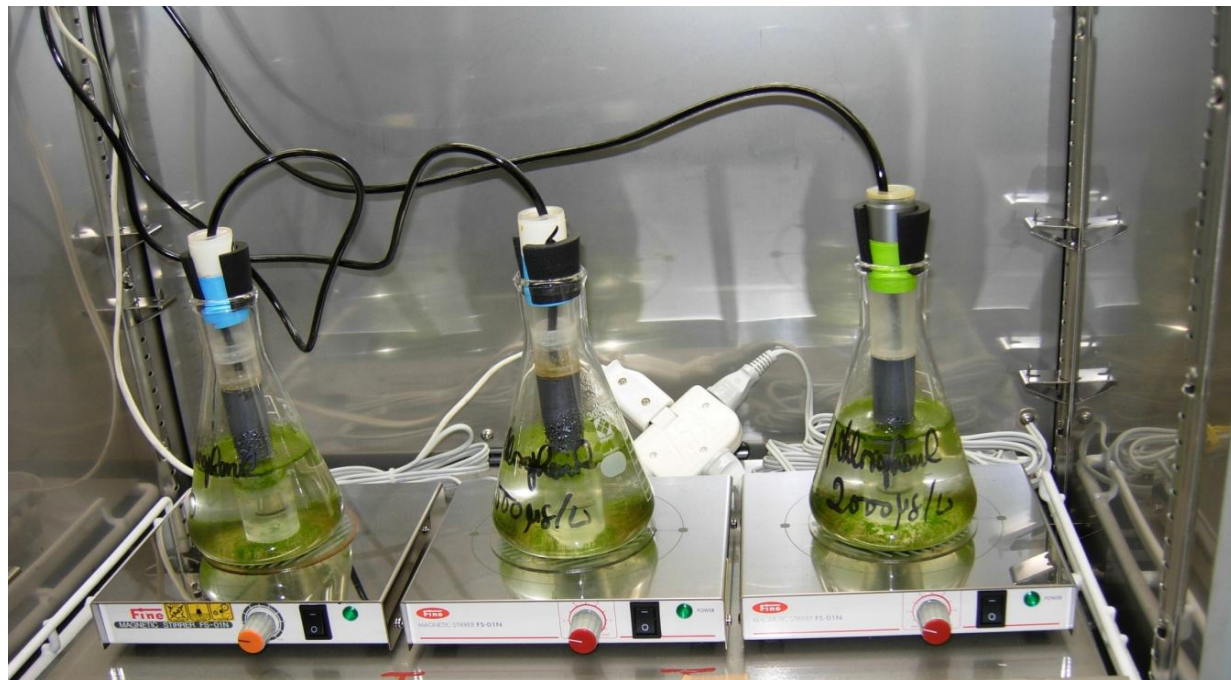
- ① マイクロコズムの評価の視点 a~d の条件を満足
- ② 湖沼生態系とマイクロコズムの類似性の指標
- ③ 群集構造の変化と対応関係
- ④ 経時変化が、マイクロコズムの回復力を表現
- ⑤ 1より小さい場合はマイクロコズムが崩壊するという単純な説明が可能
- ⑥ 異なるマイクロコズムを比較することが可能
- ⑦ 単一生物, 生態系, 人間自然複合系等の基本

に適応が可能



汎用化

マイクロコズム構成生物の呼吸量と生産量 からの有害化学物質の影響評価技法の開発

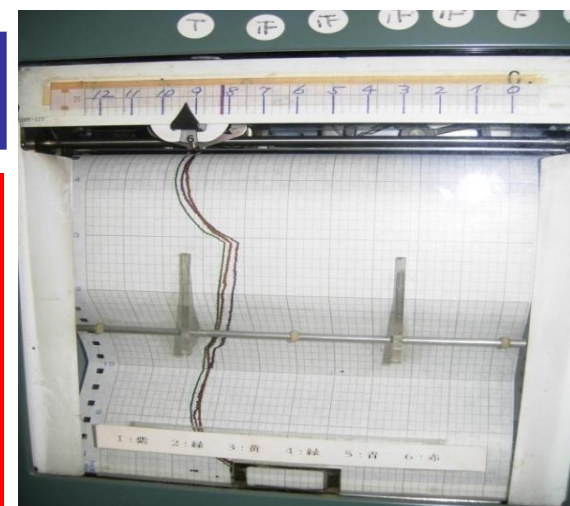


マイクロコズム内のDO電極による計測

1日連続で溶存酸素(DO)を測定、単位時間のDOの上昇・減少を実測し単位時間の補正

呼吸量(R) : 夜間の酸素吸収量の2倍 (A)

生産量(P) : 日中の酸素発生量 + A/2



マイクロコズムにおけるP/R比:原理・解析法

P/R比の原理・測定手法

➤ 酸素明暗瓶法

① P/R比はマイクロコズム内の有機物(炭素)の生産量と消費量のバランスを表す。

② 有機物生産量と消費量は酸素の増加量と減少量から見積もることが可能である。

⇒ 光合成: $\text{CO}_2 + \text{水} \rightarrow \text{有機物} + \text{O}_2$

生産量を酸素増加量で見積もる。

⇒ 呼吸: $\text{有機物} + \text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2 + \text{水}$

消費量を酸素減少量で見積もる。

簡易であり、評価法として
精度が高く優れている。

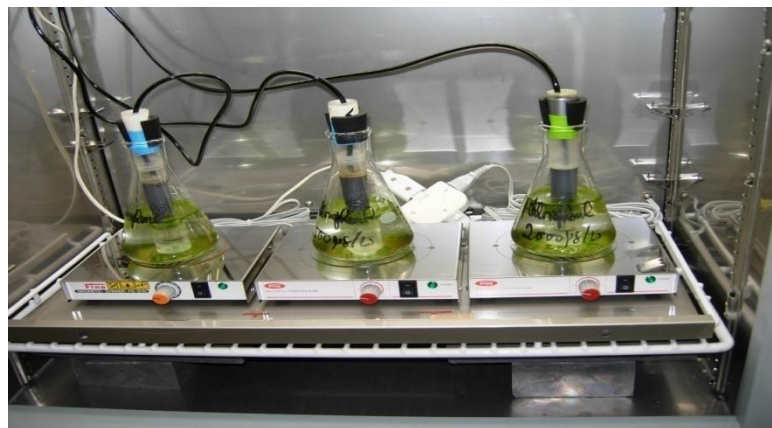
➤ その他の測定法...

・ ^{14}C (または ^{13}C)添加法: 同位体炭素を用いて炭素循環(生産量, 消費量)を求める方法である。

・ 光学測定法: 光合成量を藻類生体内の蛍光物質(クロロフィル等)の量から推定する方法である。

測定が煩雑であり、高価な設備も必要

実験・解析方法



Step1: 酸素電極を用いて溶存酸素量を測定する。

Step2: 夜間の酸素減少量(A/2)から, 1日の呼吸量(R)を求める: 炭素消費量に相当する。 ⇒ $R=A$

Step3: 日中の酸素増加量(B: 炭素生産量に相当)と, 酸素減少量(A/2)から, の生産量(P)を求める。 ⇒ $P=A/2+B$

Step4: 様々な試験制御下において, P/R比を評価・解析する。

⇒ $P/R=1$ に近いほどマイクロコズムの物質(炭素)循環は安定である。

マイクロコズム試験のエンドポイント に対する標準化

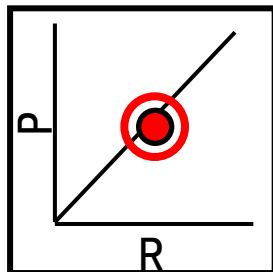
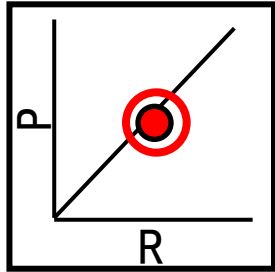
◎P/R比と生物個体数の両面から相互解析して
評価することが重要

- 1) マイクロコズムの培養開始から安定期に達するのが
2週間(14日間)である。
 - 2) マイクロコズム構成微生物は、一度定常期に達すると
その後は、一定の個体数を保ちながら系を維持する。
⇒ すなわち、2週間後に安定系が構築されなければ
その後は系の回復は見込めない。
- ・ 以上より、**添加後2週間**(16日目添加であれば30日目)
を**エンドポイント**とし、**その間の変動特性**から**評価する**
のが**妥当**である。

マイクロコズムのP/R変動パターン解析法

①系の維持

添加直後

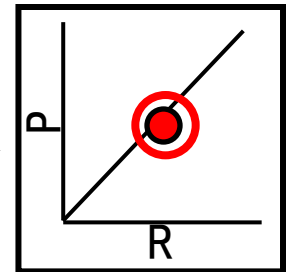
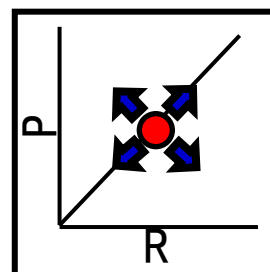


添加後

負荷が閾値以下で影響が非常に小さい、又は全くない状態。**安定系の維持。**

②系の回復

添加直後

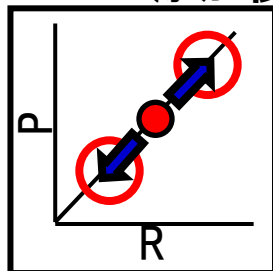
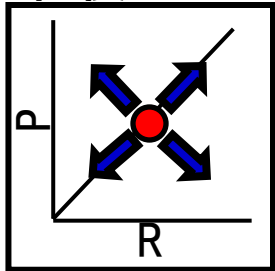


添加後

負荷により**一時的**に攪乱が起きる。その後、**元の安定系に回復。**

③系の転移

添加直後

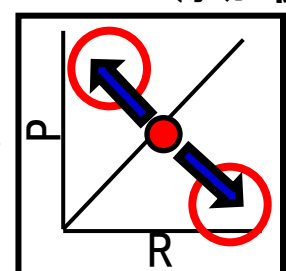
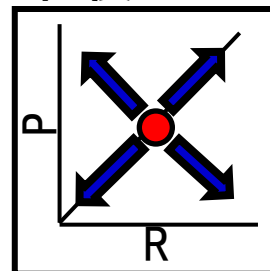


添加後

負荷により**一時的**に攪乱が起こる。その後、種の脱落、構成比が変化し、**異なる安定系を構築。**

④系の崩壊

添加直後



添加後

負荷により大きな攪乱が起こる。多数の構成種が死滅し、**回復不能。**系が**崩壊**する。

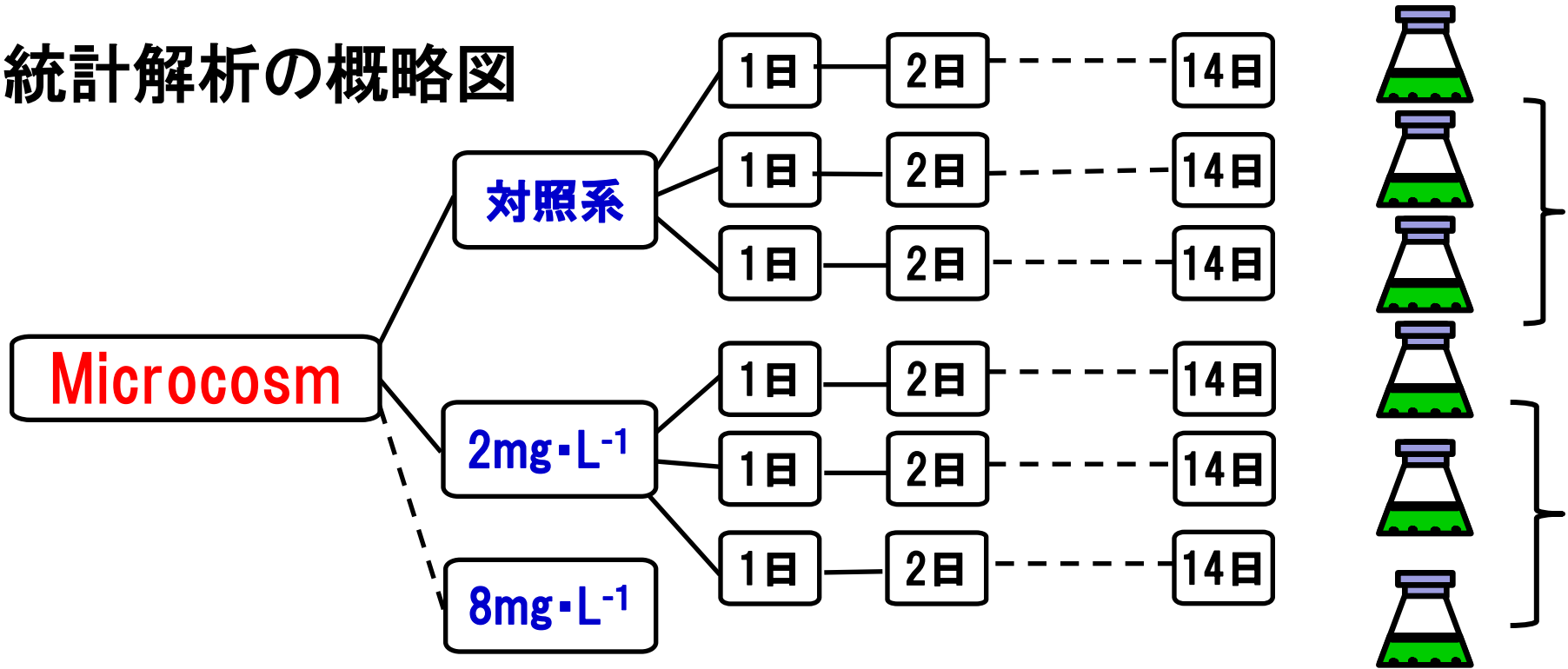
生産、呼吸量からの統計解析評価

枝分かれ型分散分析

動物実験等の毒性試験における時系列データ評価に多く使用されている方法で、同様、フラスコ間差等解析に分散分析を用いた。

フラスコ間差を確率変数(ランダム効果)とみなした計算法

統計解析の概略図



枝分かれ型分散分析とは、マイクロコズムの集団から、ランダムに対照系、添加系に振り分け、フラスコ間の差を確率的な変数として計算する分散分析法である。

マイクロコズム：枝分かれ型分散分析評価

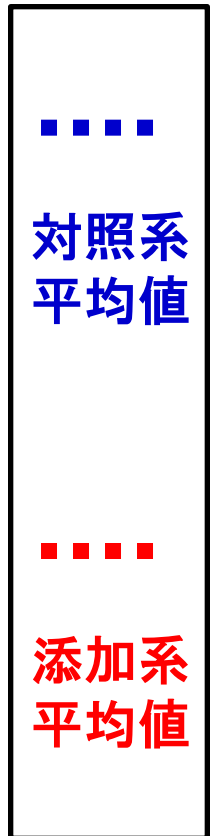
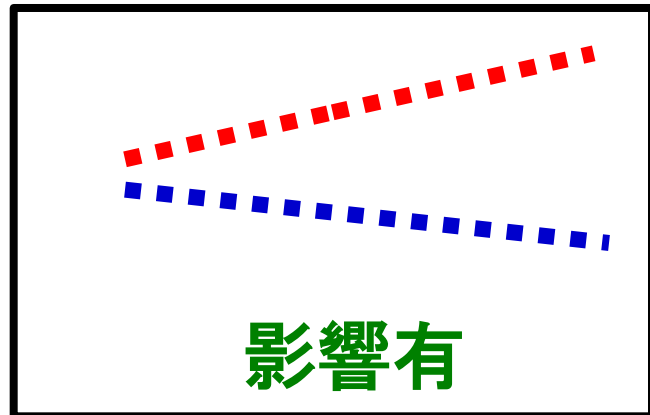
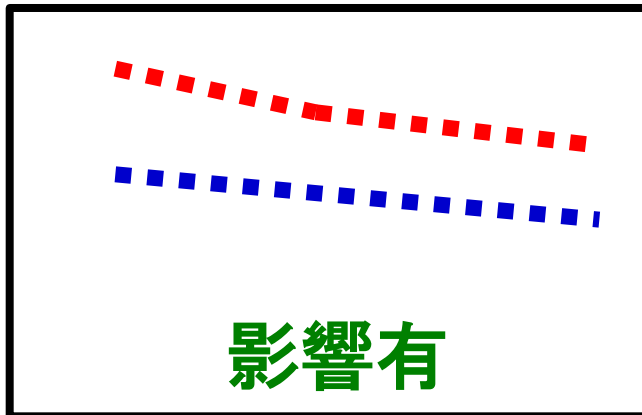
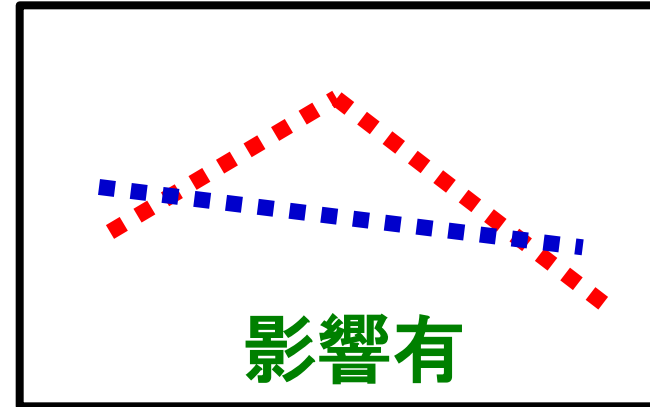
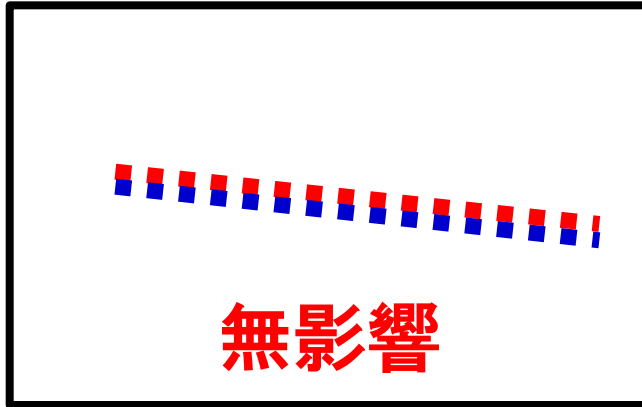
時間的変動の差なし

時間的変動の差あり

生産・呼吸量等の平均値

平均値の差なし

平均値の差あり




時間

界面活性供試化学物質

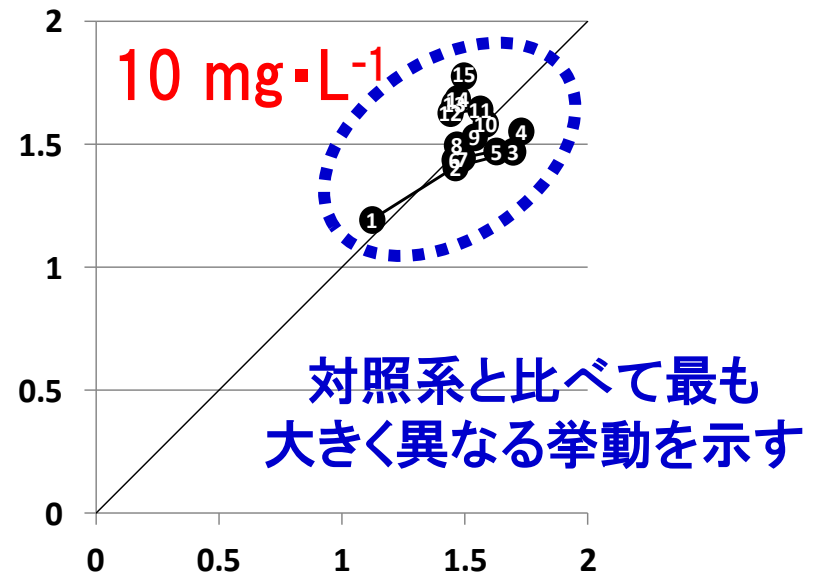
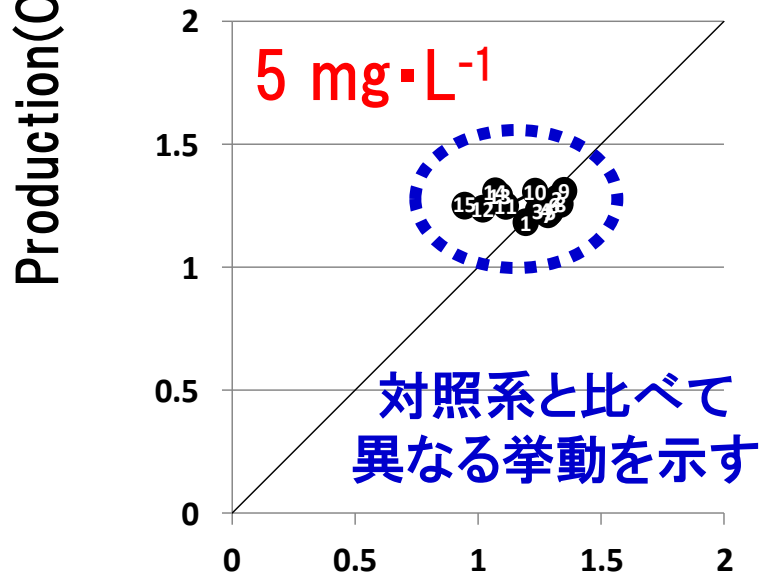
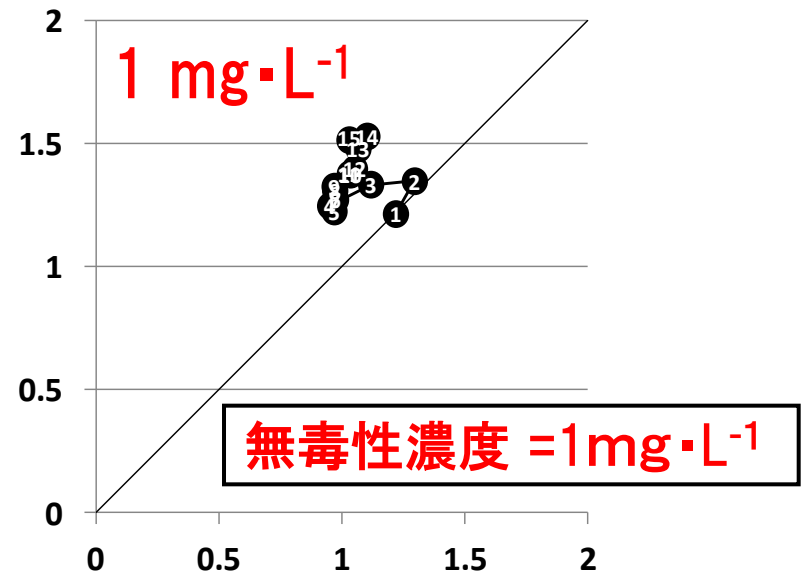
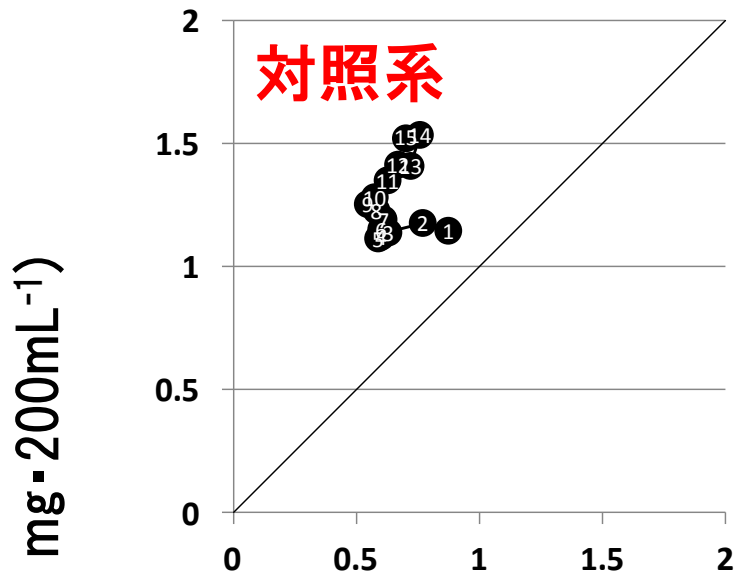
LAS

AE

SDS

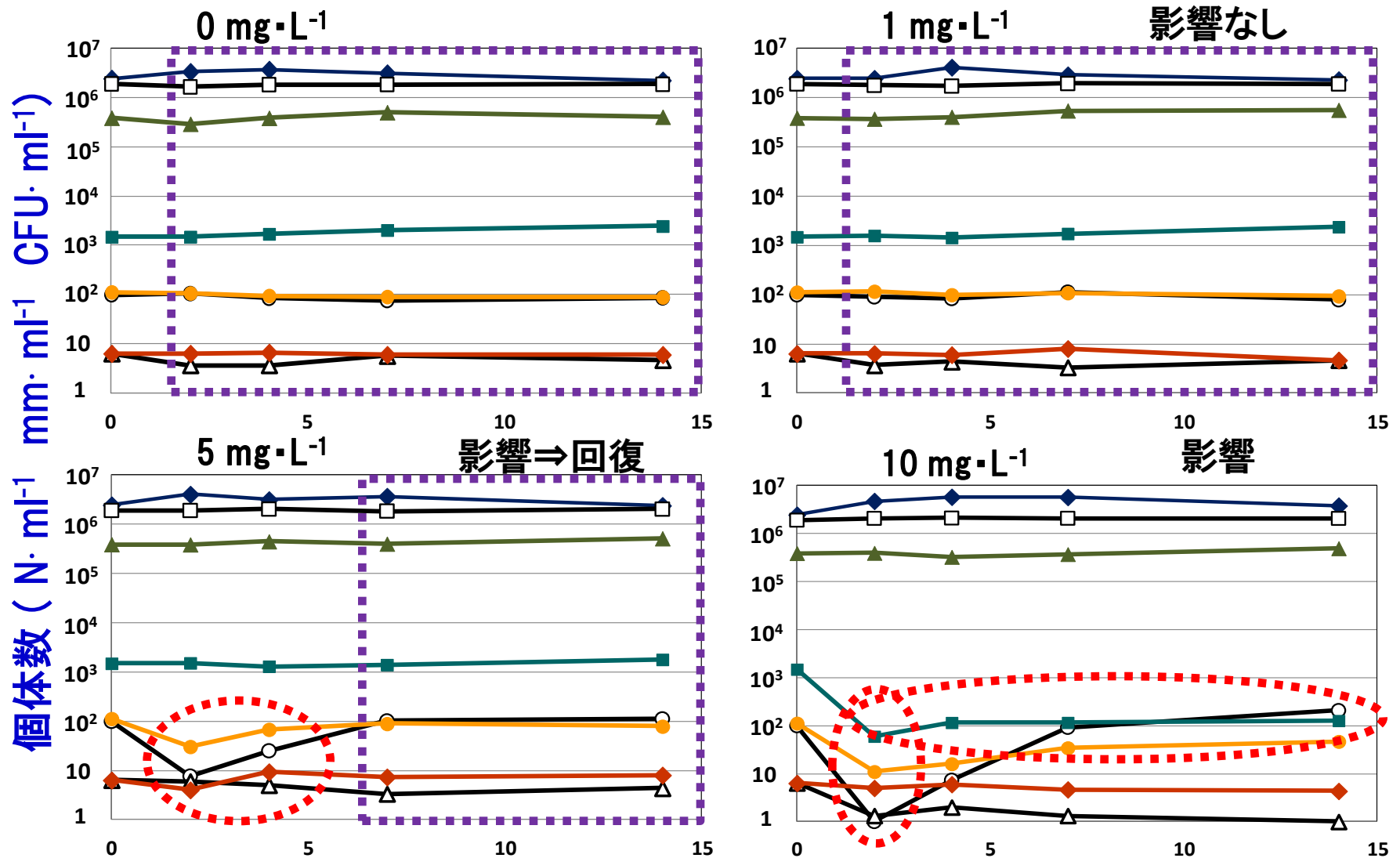
一般構造式	$\text{H} \begin{array}{c} \left[\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{H} \end{array} \right]_m - \text{C} \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{SO}_3\text{Na} \end{array} - \begin{array}{c} \left[\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{H} \end{array} \right]_n - \text{H} \end{array}$ 	$\text{H} \begin{array}{c} \left[\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{H} \end{array} \right]_m - \text{O} - \left[\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \quad \\ \text{C} - \text{C} - \text{O} \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array} \right]_n - \text{H}$	$\text{H} \begin{array}{c} \left[\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{H} \end{array} \right]_m - \text{O} - \text{SO}_3\text{Na}$
正式名称	直鎖アルキルベンゼン スルホン酸ナトリウム	ポリオキシエチレン アルキルエーテル	ドデシル硫酸ナトリウム
m、n	平均 $m + n = 11$	$m = 12$ 、 n 平均 = 7	$m = 12$
性質	陰イオン	非イオン	陰イオン
用途	工業用・家庭用洗剤		
添加濃度	1, 5, 10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	2, 10, 25 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	4, 8, 16 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

LAS添加におけるP/R比の挙動からの評価



Respiration (O_2 mg·200mL⁻¹)

LAS添加による個体数変化からの評価



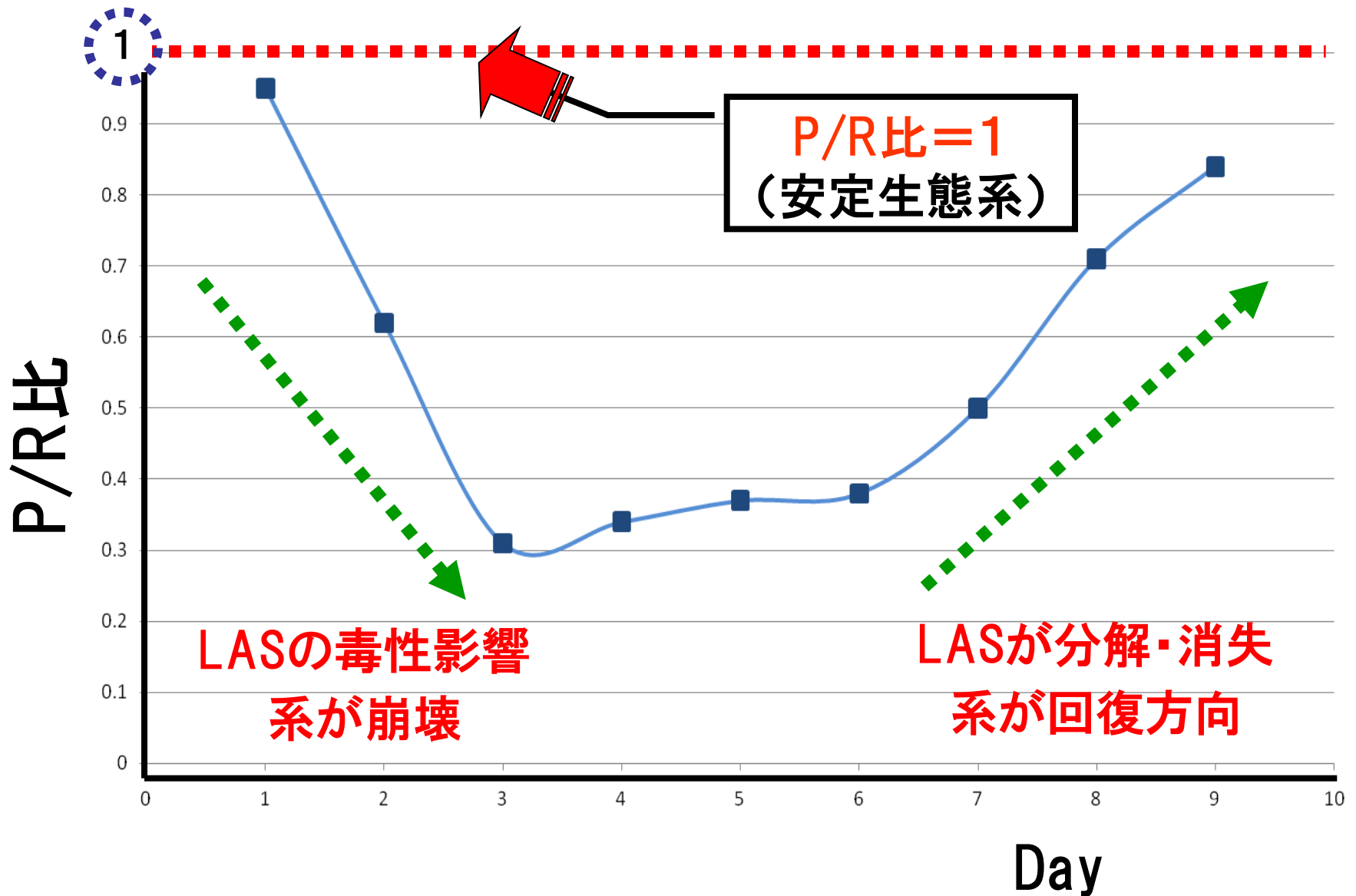
個体数 (N · ml⁻¹ mm · ml⁻¹ CFU · ml⁻¹)

添加後日数(日)

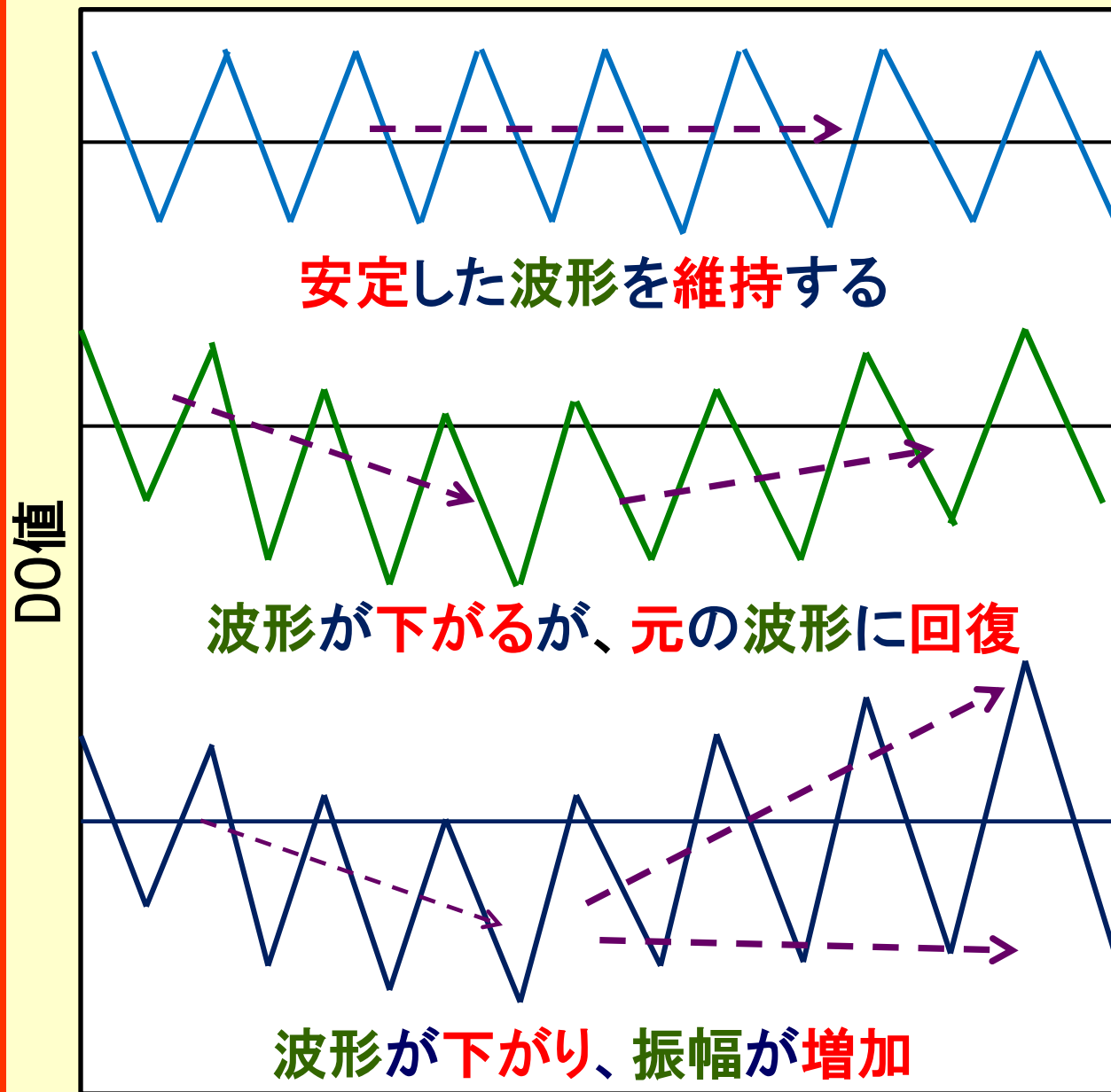
- ◆ Bacteria
- ▲ Scenedesmus
- Chlorella
- Tolypothrix
- Lecane
- △ Philodina
- ◆ Aeolosoma
- Cyclidium

MNOAEC = 1 mg·L⁻¹

LAS添加(10mg・L⁻¹)によるP/R比の変化



LAS添加実験のパターン解析



パターンⅠ

LAS $1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

影響を受けない濃度

パターンⅡ

LAS $5\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

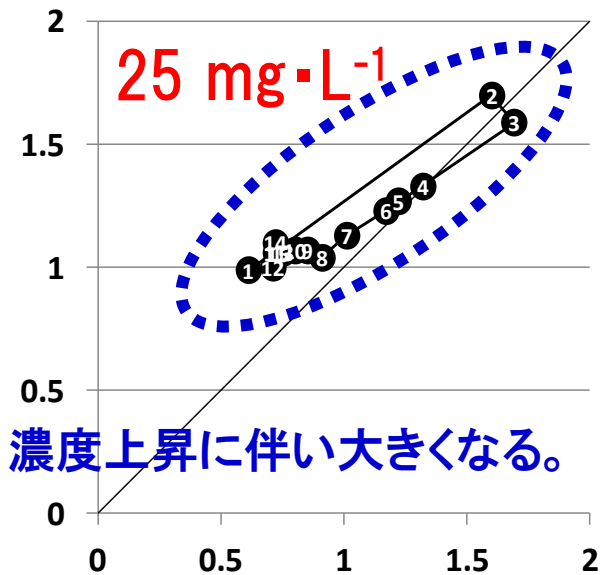
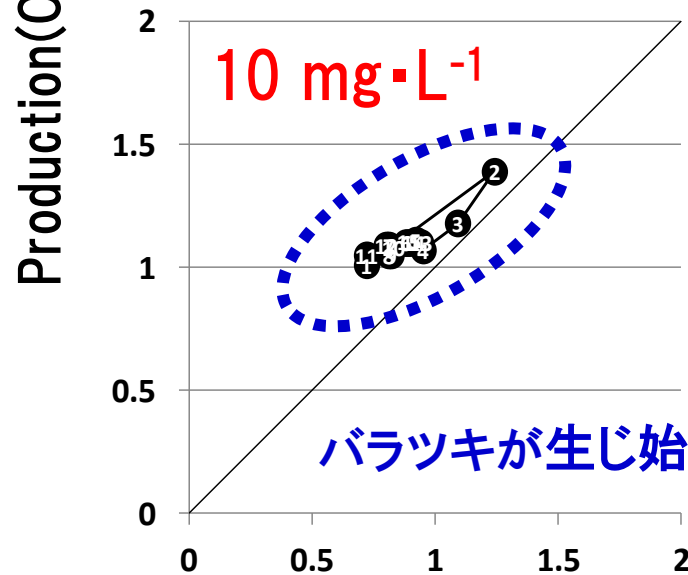
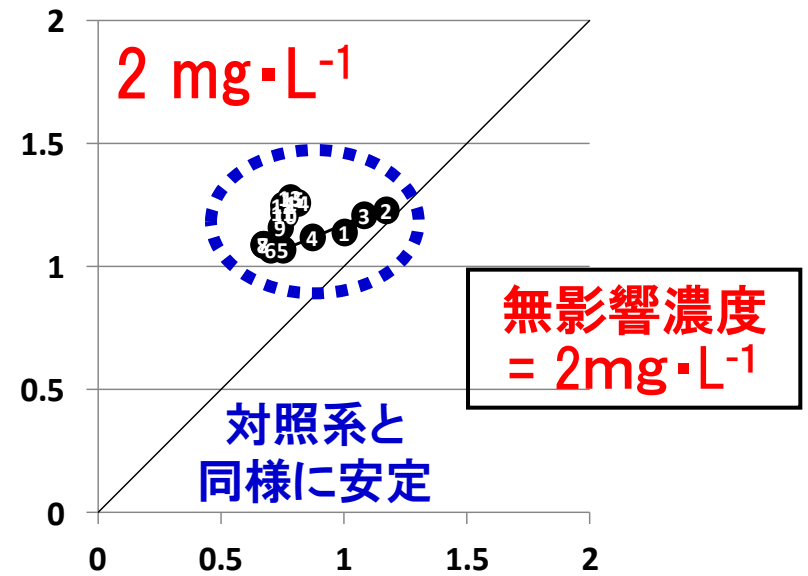
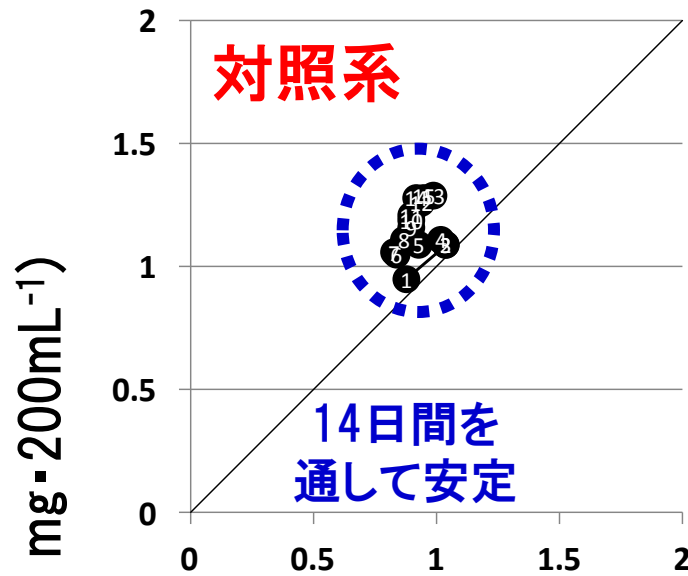
影響を受けるが分解・消滅により元の安定生態系に回復

パターンⅢ

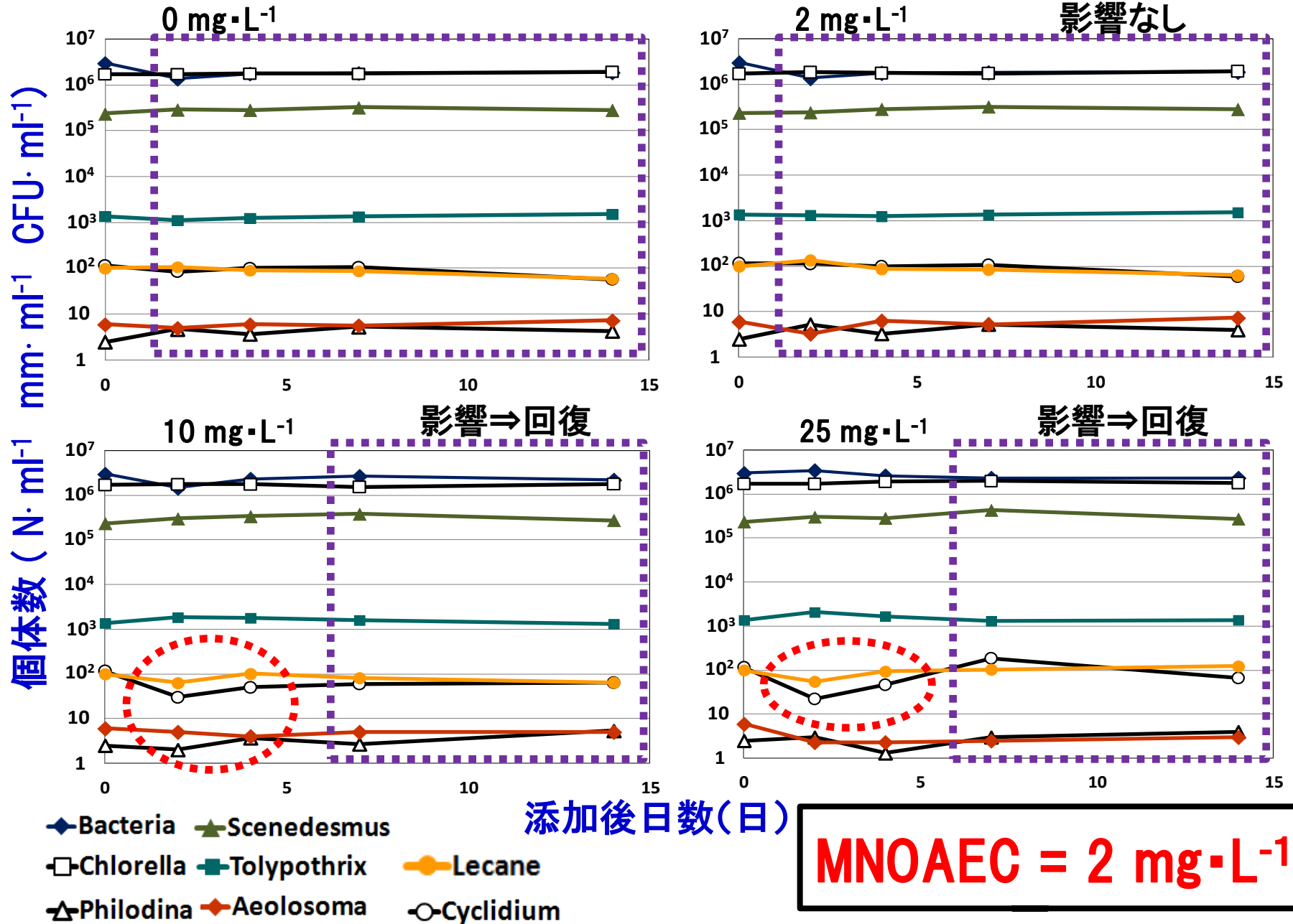
LAS $10\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

毒性により系の崩壊
分解・消滅により異なる生態系に転移

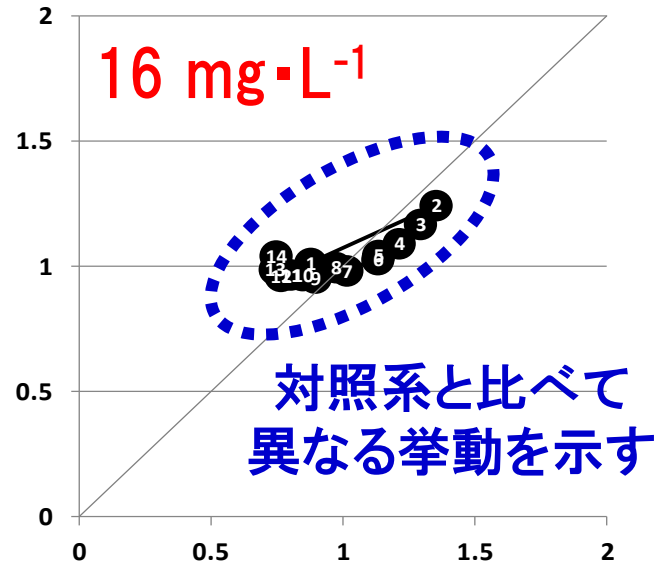
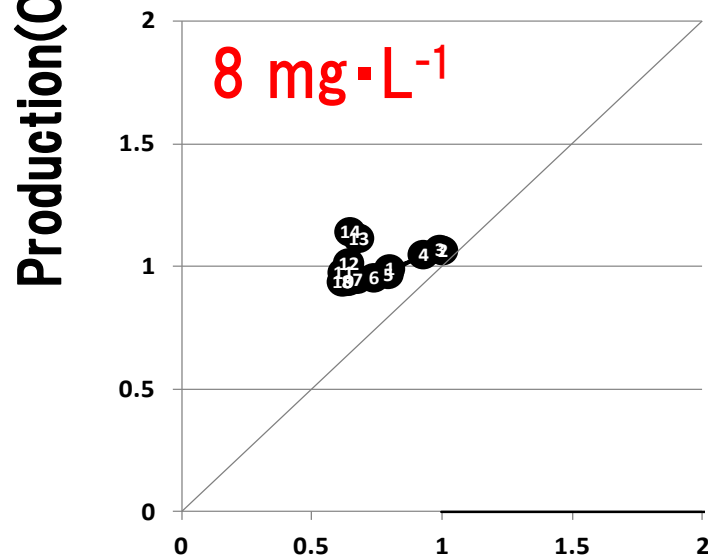
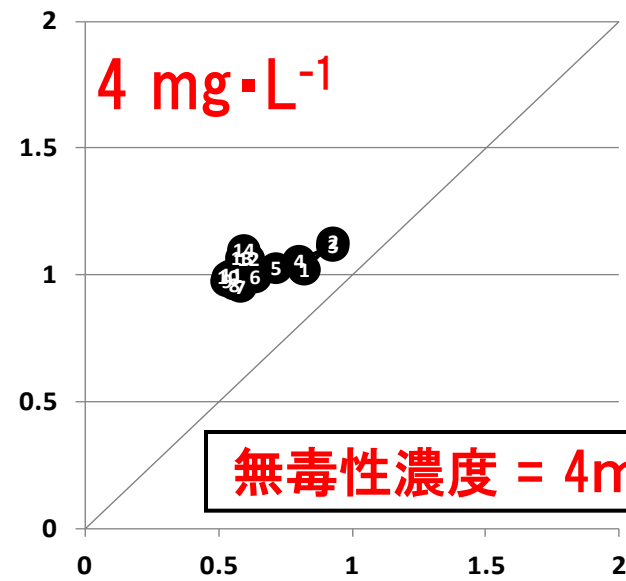
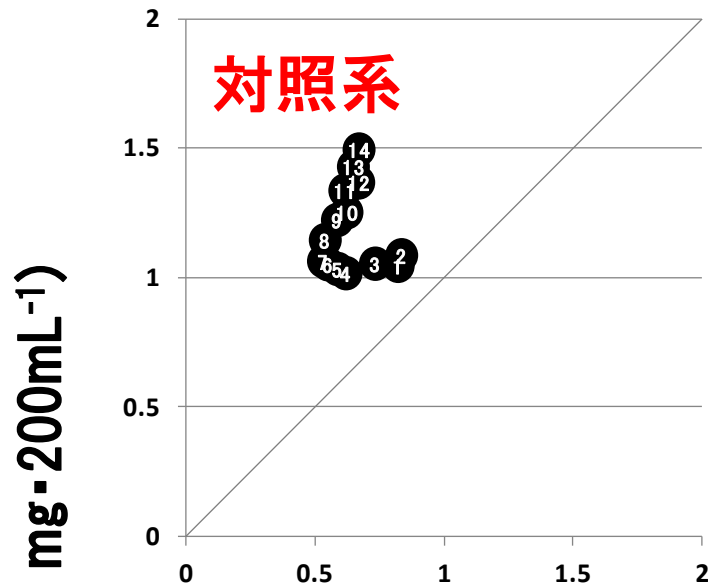
AE添加におけるP/R比の挙動からの評価



AE添加による個体数変化からの評価

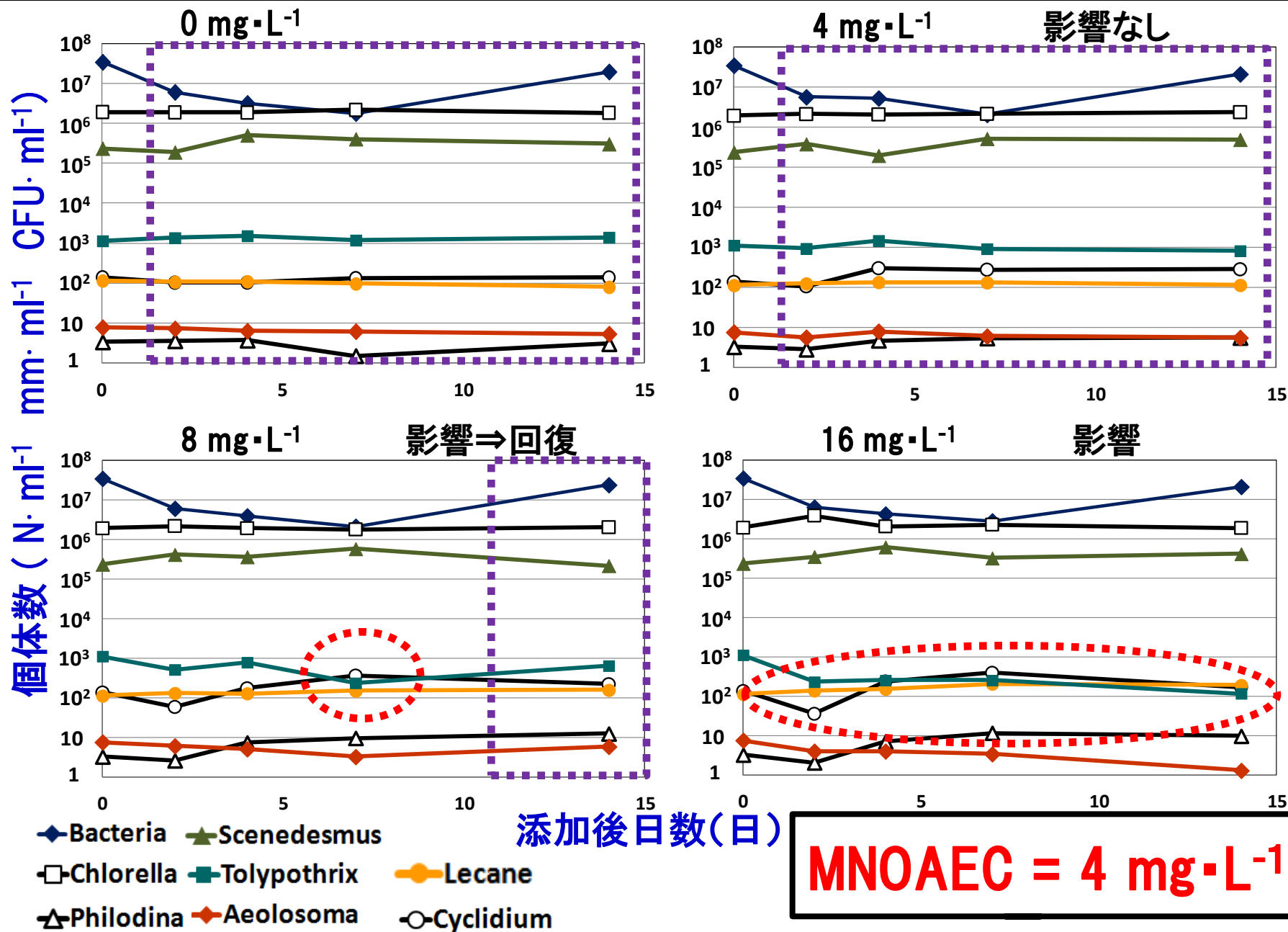


SDS添加におけるP/R比の挙動からの評価



Respiration (O_2 mg·200mL⁻¹)

SDS添加による個体数変化からの評価



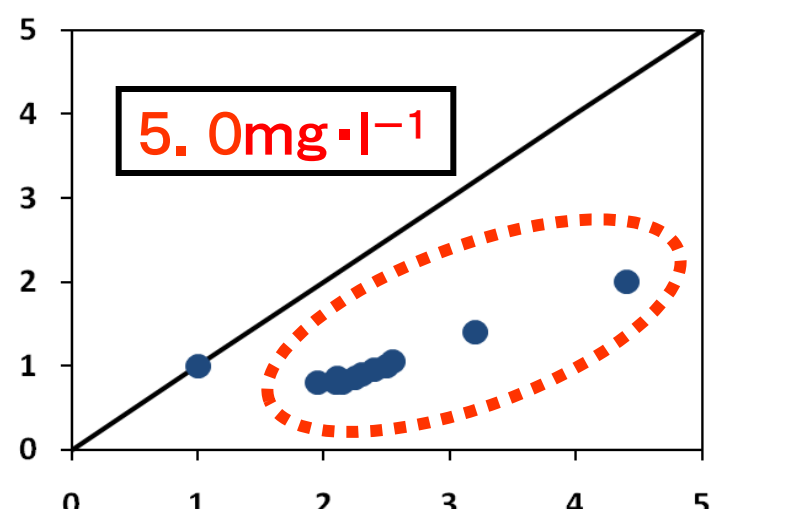
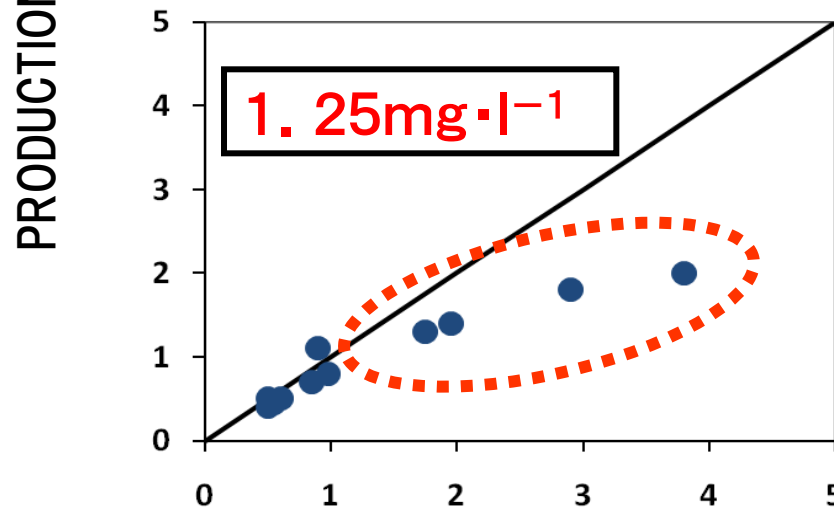
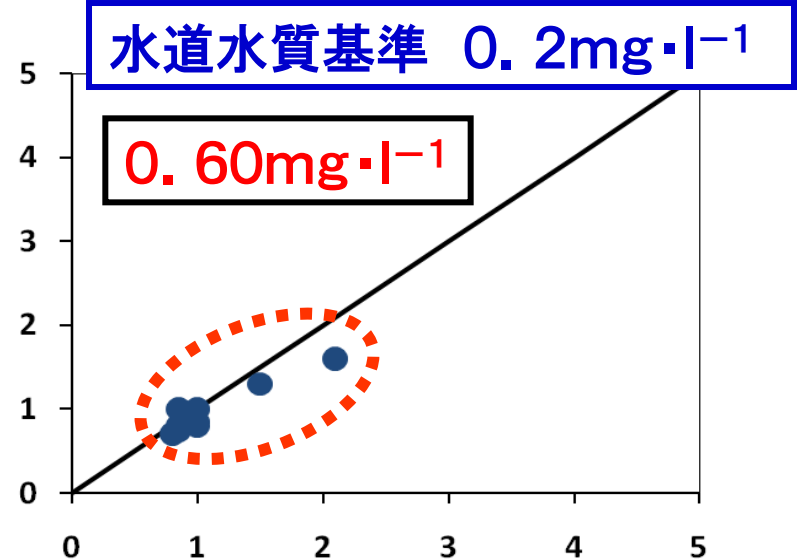
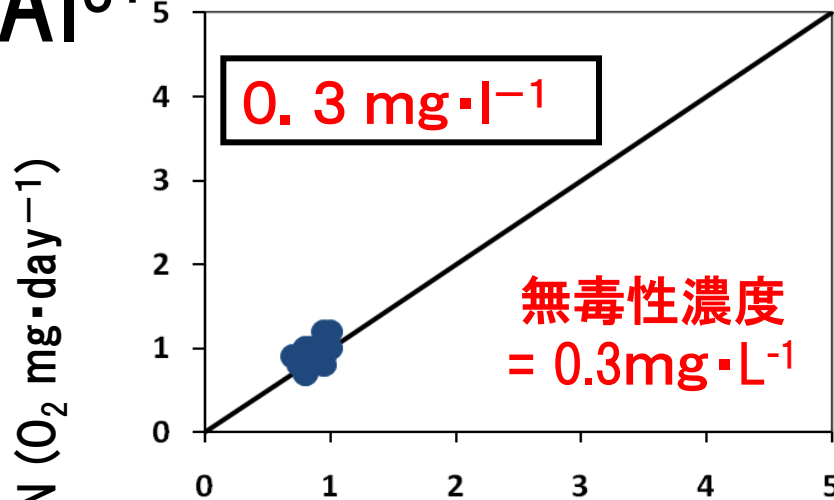
マイクロコズムによる重金属のP/R比 からの解析評価

Al、Cd、Cu、Zn、Mnの影響評価



AI添加のP/R比の挙動からの評価

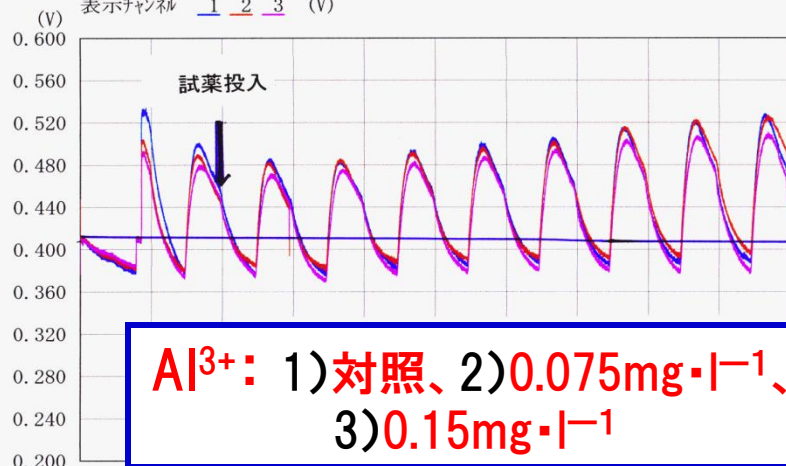
Al^{3+}



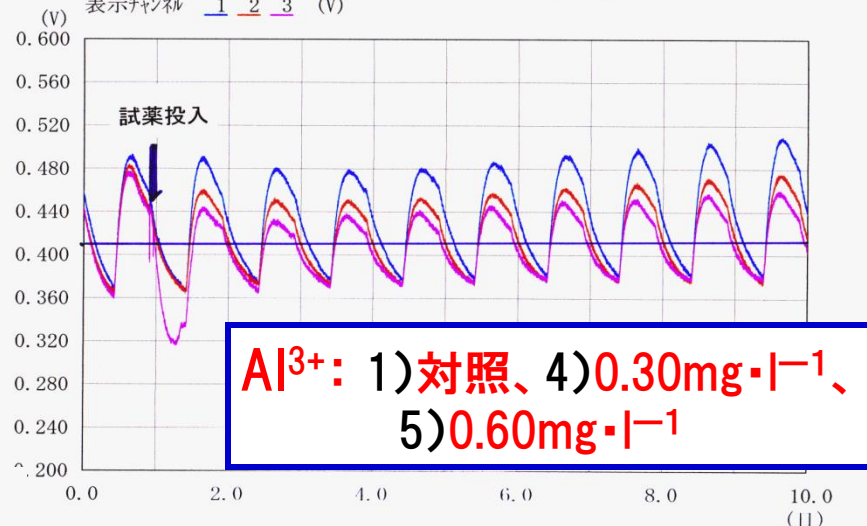
○ 添加濃度0.6mg·l⁻¹から徐々にP/R=1のラインから外れ始め、1.25mg·l⁻¹以上では、完全に呼吸量(R)過多となり系が崩壊する。

Al添加系におけるDOの経日変化

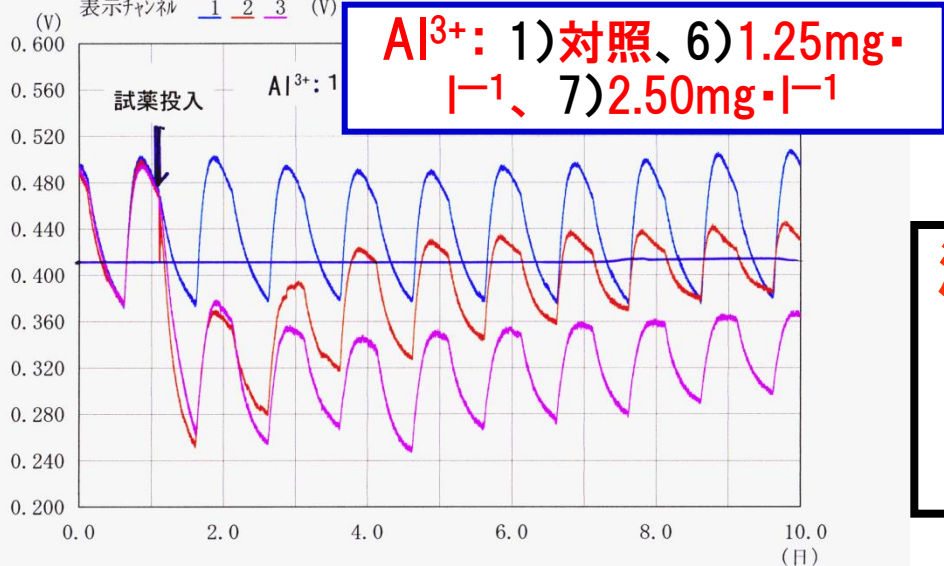
ファイル・ネーム Am-0001
計測開始時間 09/08/10 14:38:42 インターバル 1分 0秒 マシン No. 2
表示チャンネル 1 2 3 (V)



ファイル・ネーム Am-0002
計測開始時間 09/09/21 15:55:23 インターバル 1分 0秒 マシン No. 2
表示チャンネル 1 2 3 (V)



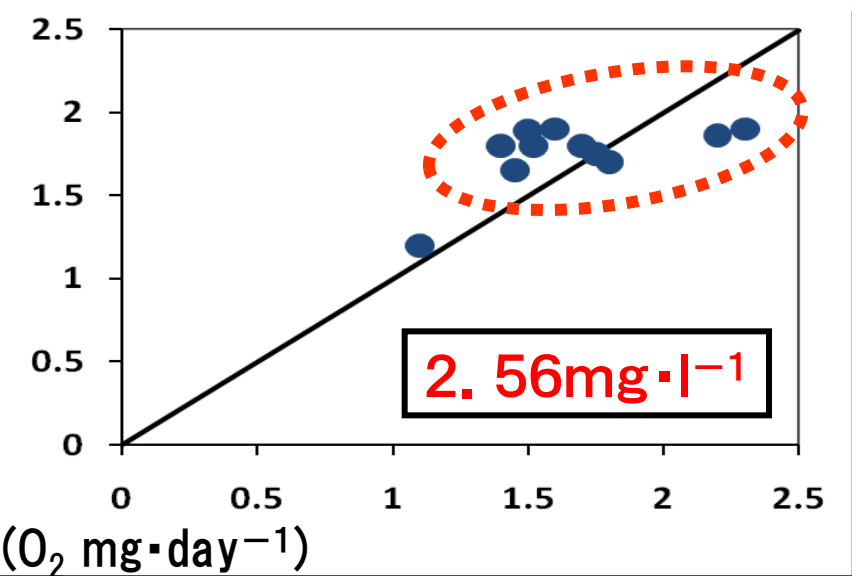
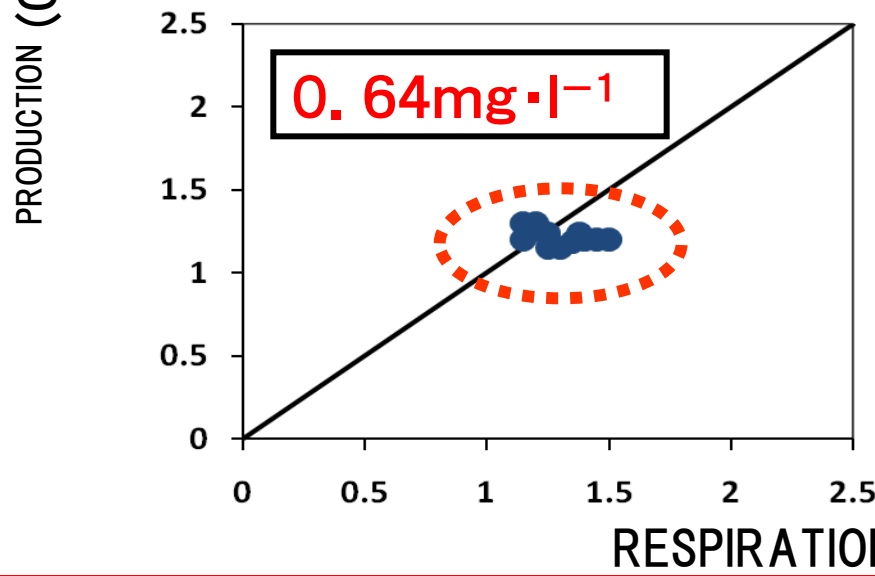
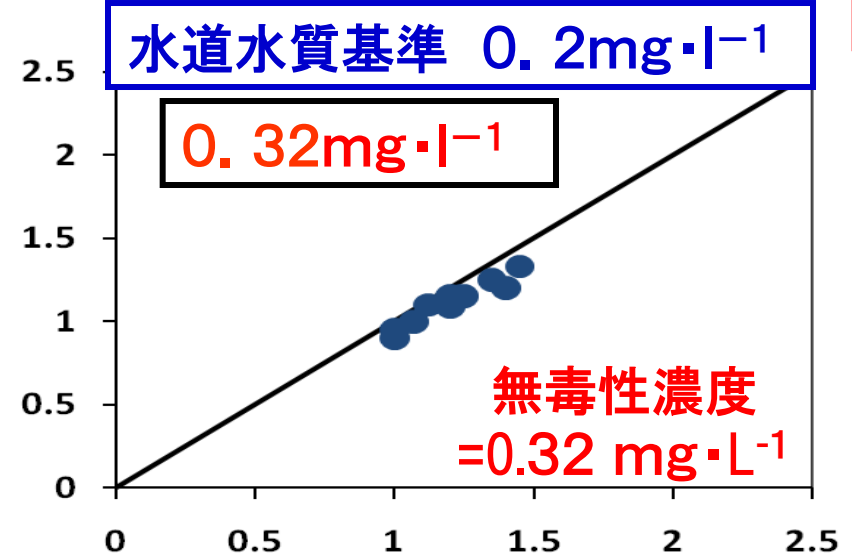
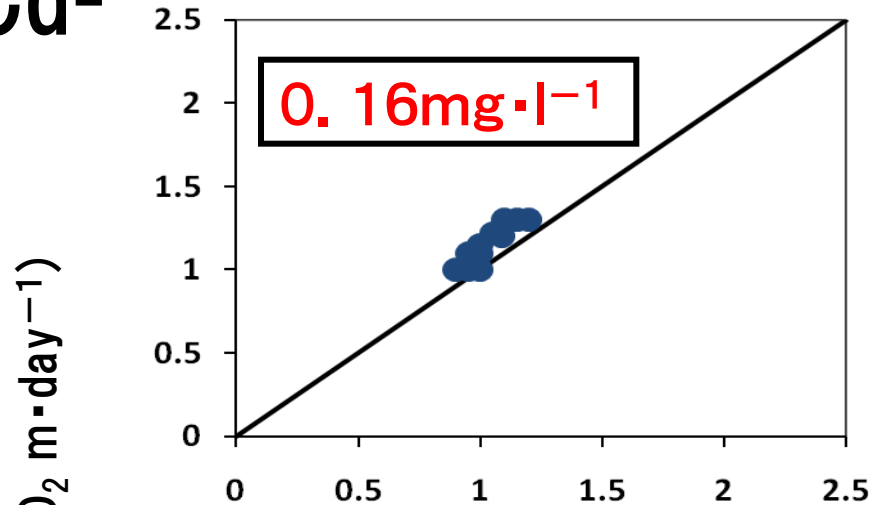
ファイル・ネーム Am-0001
計測開始時間 09/09/01 11:13:23 インターバル 1分 0秒 マシン No. 2
表示チャンネル 1 2 3 (V)



**添加濃度0.60mg・l⁻¹から影響
がみられるようになり、
1.25mg・l⁻¹から特に呼吸量に
対して大きく影響が生じる。**

Cd添加のP/R比の挙動からの評価

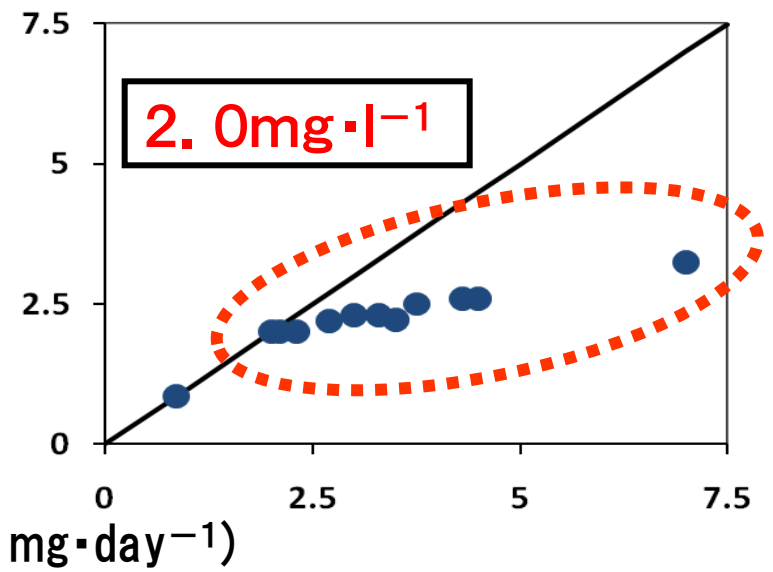
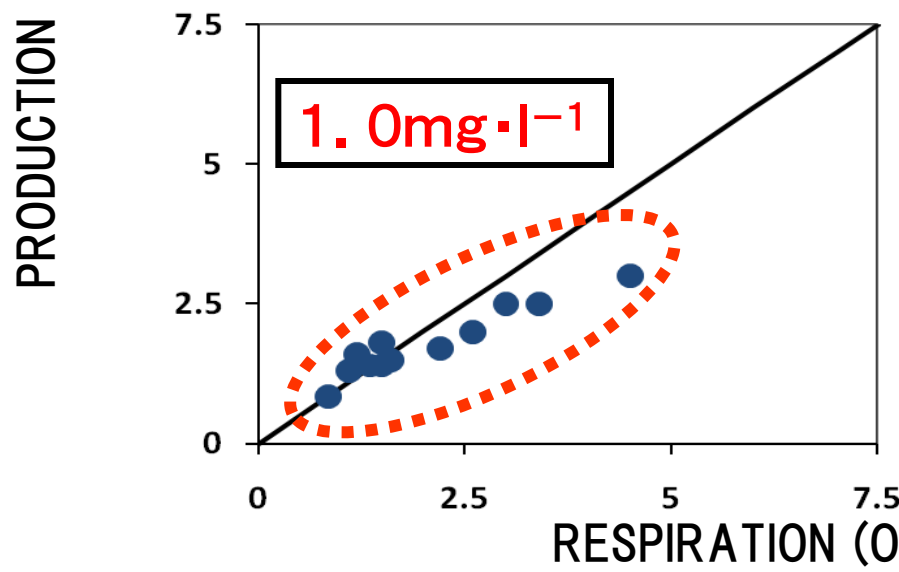
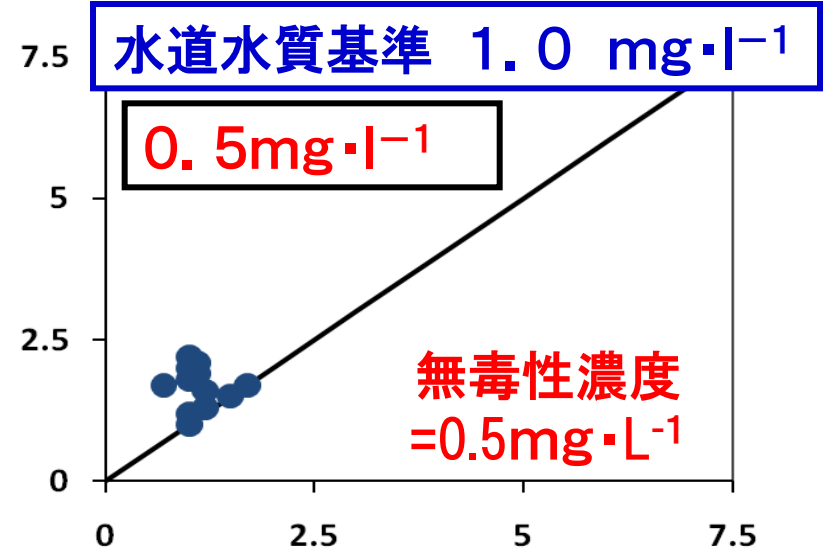
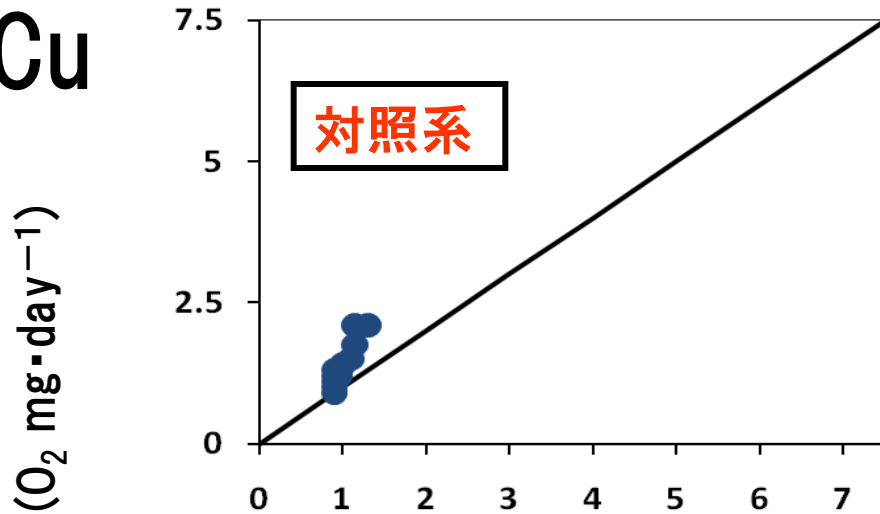
Cd²⁺



○ 添加濃度0.64mg·l⁻¹から徐々にP/R=1のラインから外れ始め、2.56mg·l⁻¹では、完全に生産量(P)過多となり系が崩壊する。

Cu添加のP/R比の挙動からの評価

Cu

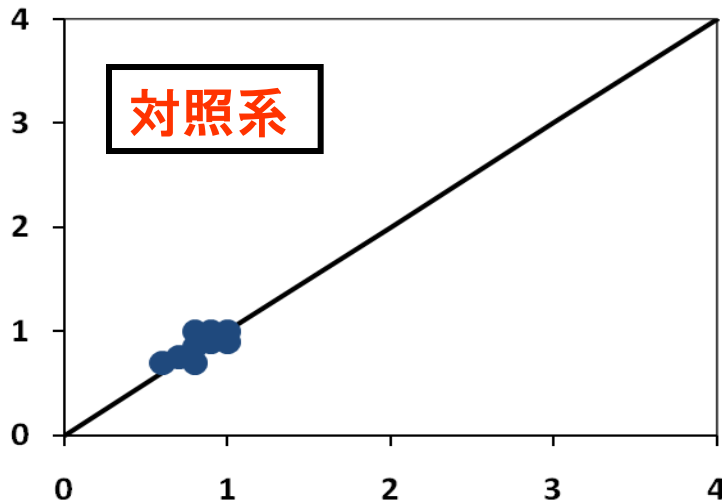


○ 添加濃度 $1.0 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ から徐々に $P/R=1$ のラインから外れ始め、 $2.0 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 以上では、完全に呼吸量(R)過多となり系が崩壊する。

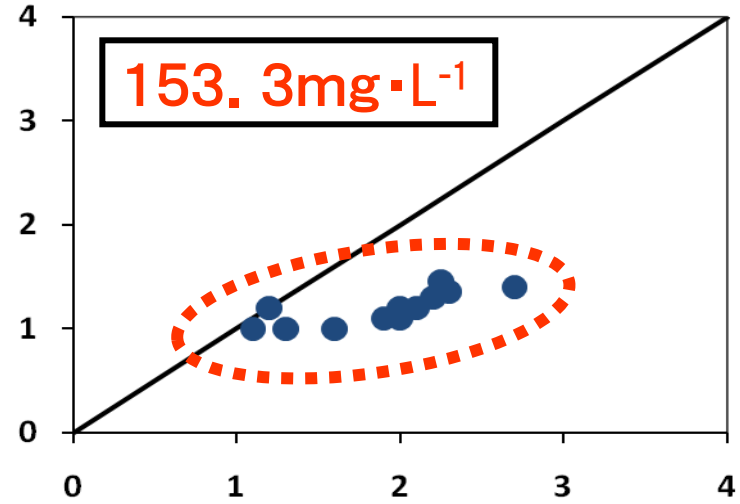
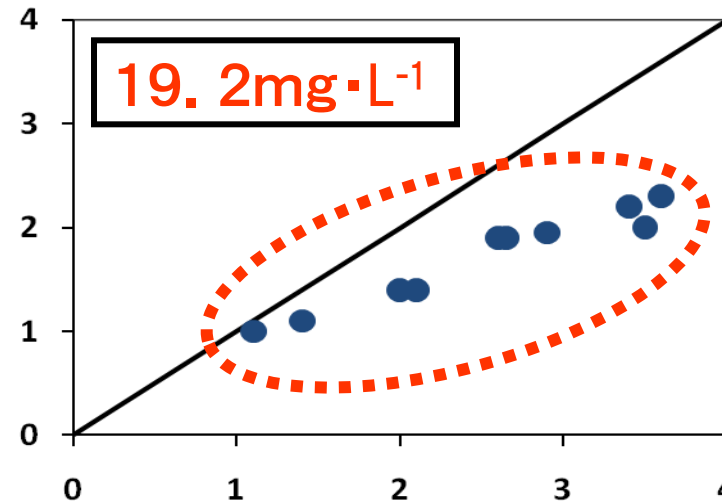
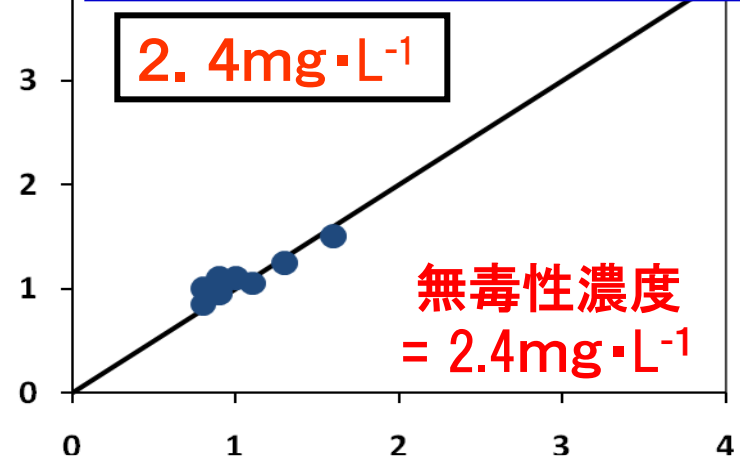
Zn添加のP/R比の挙動からの評価

Zn

PRODUCTION (O_2 mg·day⁻¹)



水道水質基準 1.0 mg·L⁻¹



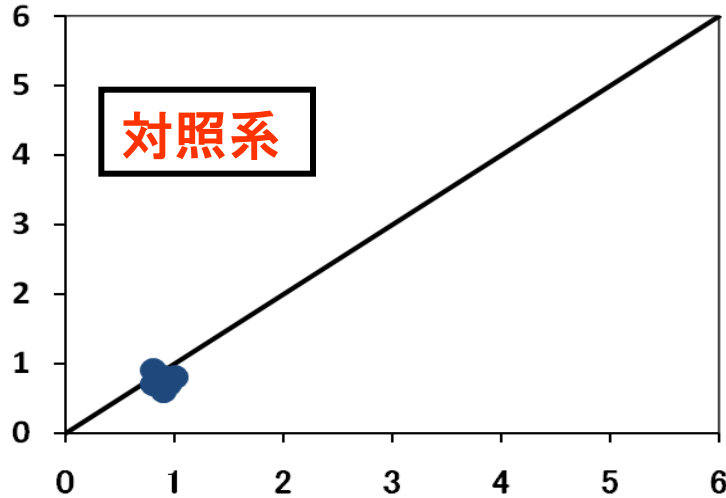
RESPIRATION (O_2 mg·day⁻¹)

○ 添加濃度19.2mg·l⁻¹から徐々にP/R=1のラインから外れ始め、153.3mg·l⁻¹では、完全に呼吸量(R)過多となり系が崩壊する。

Mn添加のP/R比の挙動からの評価

Mn

PRODUCTION (O_2 mg·day⁻¹)

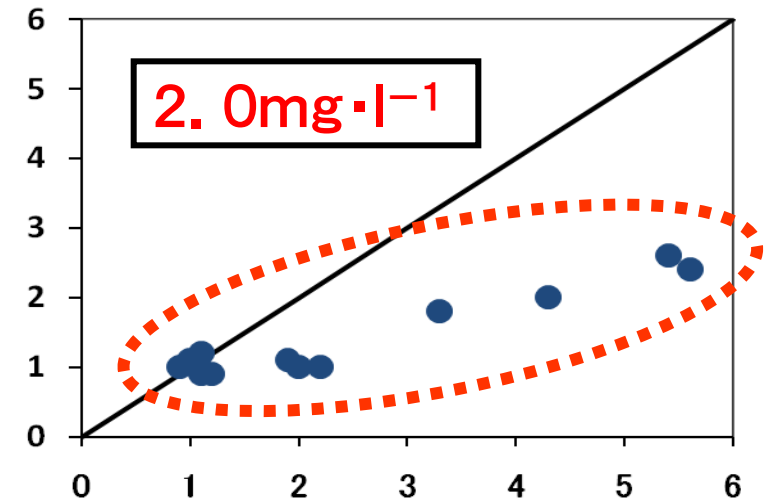


水道水質基準 0.05 mg·l⁻¹

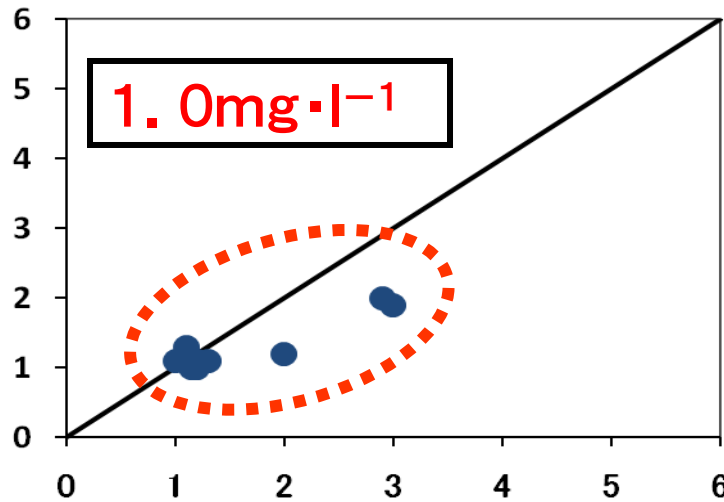
0.5mg·l⁻¹

無毒性濃度
= 0.5mg·L⁻¹

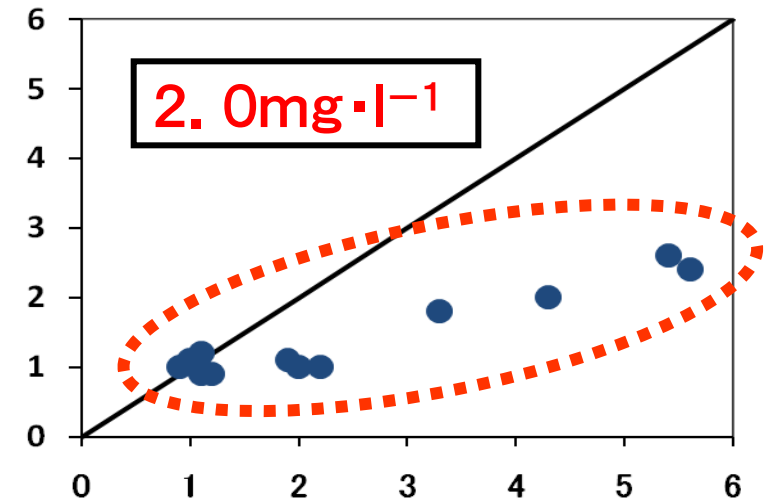
RESPIRATION (O_2 mg·day⁻¹)



1.0mg·l⁻¹



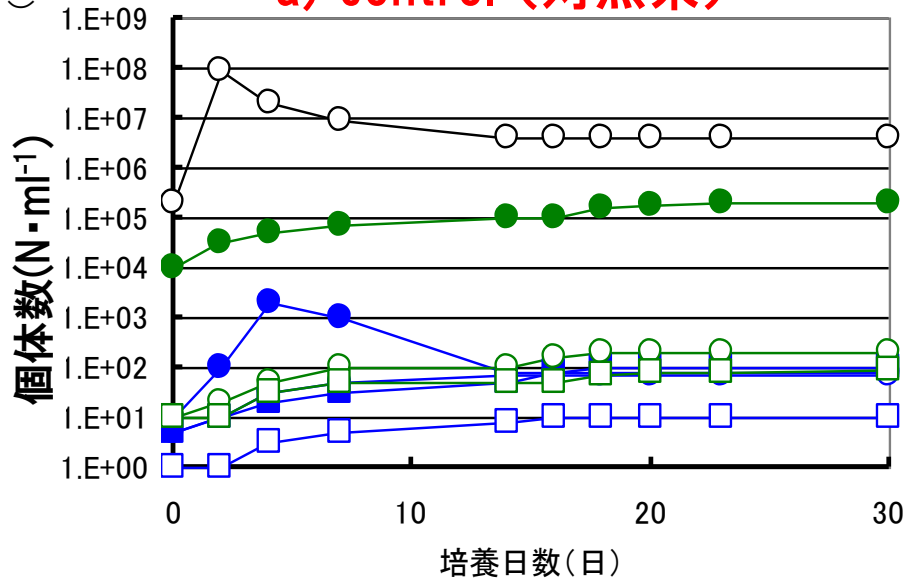
2.0mg·l⁻¹



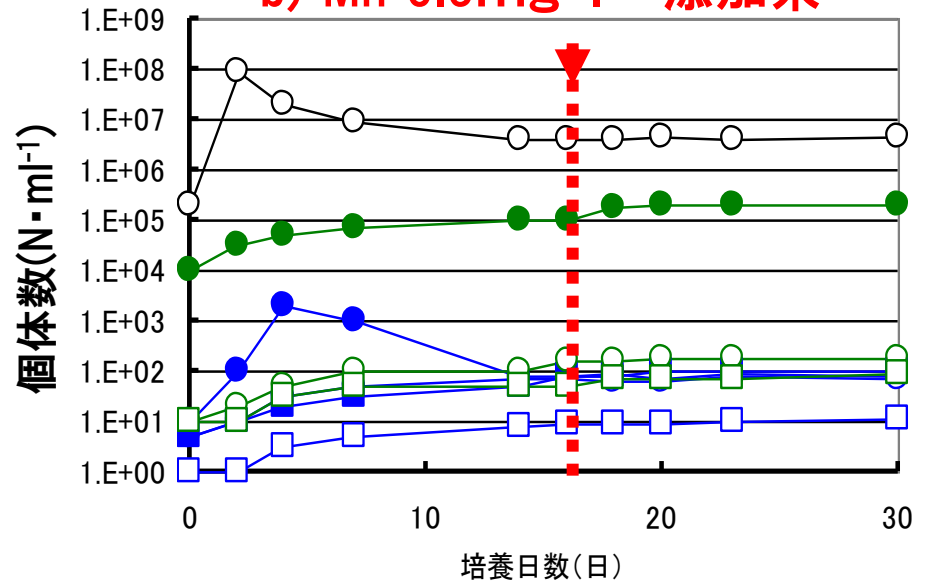
RESPIRATION (O_2 mg·day⁻¹)

○ 添加濃度1.0mg·l⁻¹ からP/R=1のラインから外れ始め2.0mg·l⁻¹ 以上では、完全に呼吸量(R)過多となり系が崩壊する。

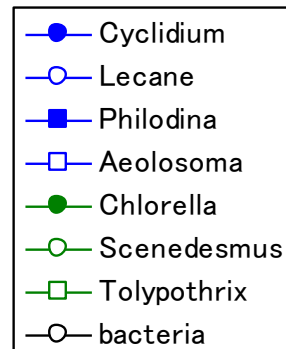
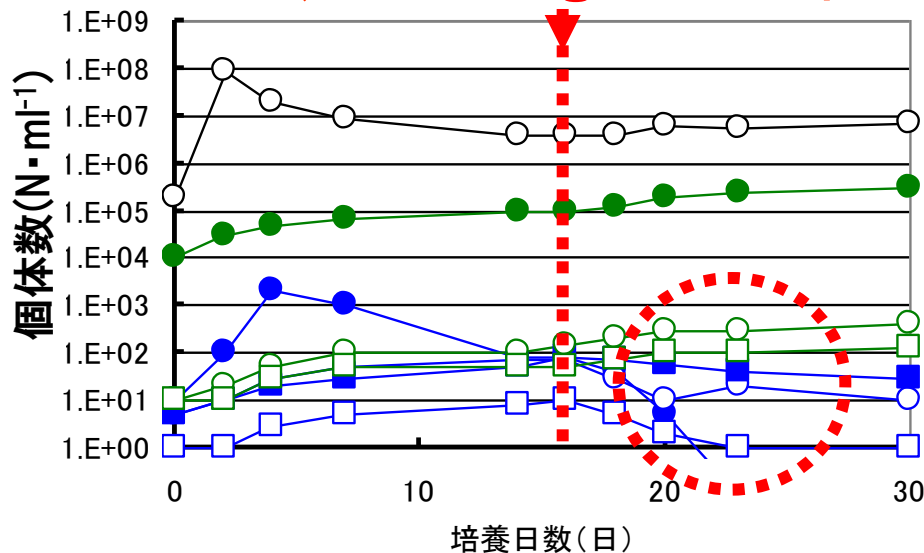
a) control (対照系)



b) Mn 0.5mg·l⁻¹添加系



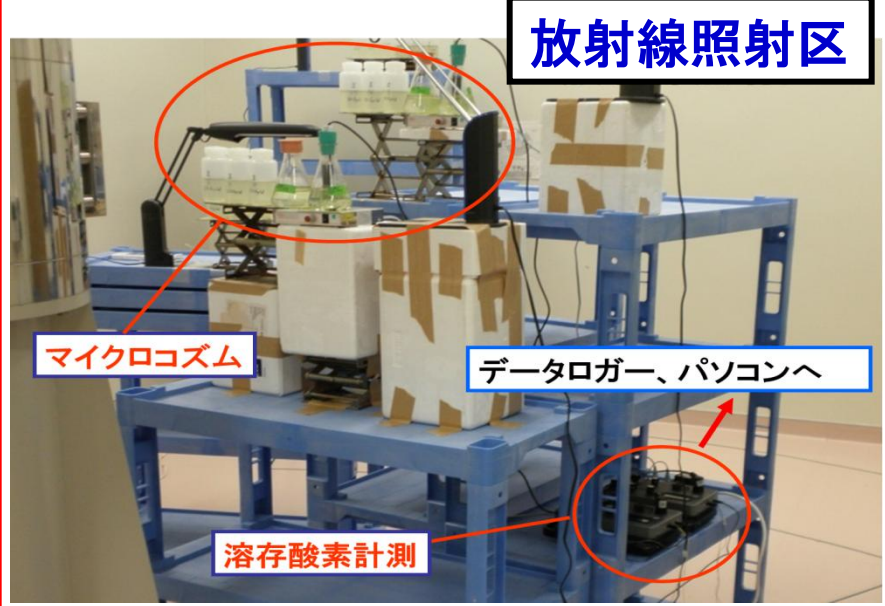
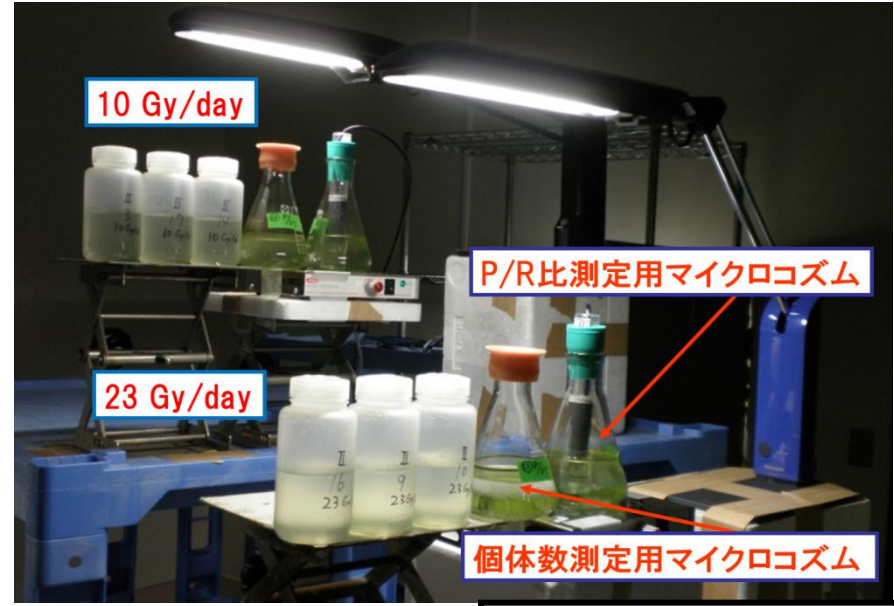
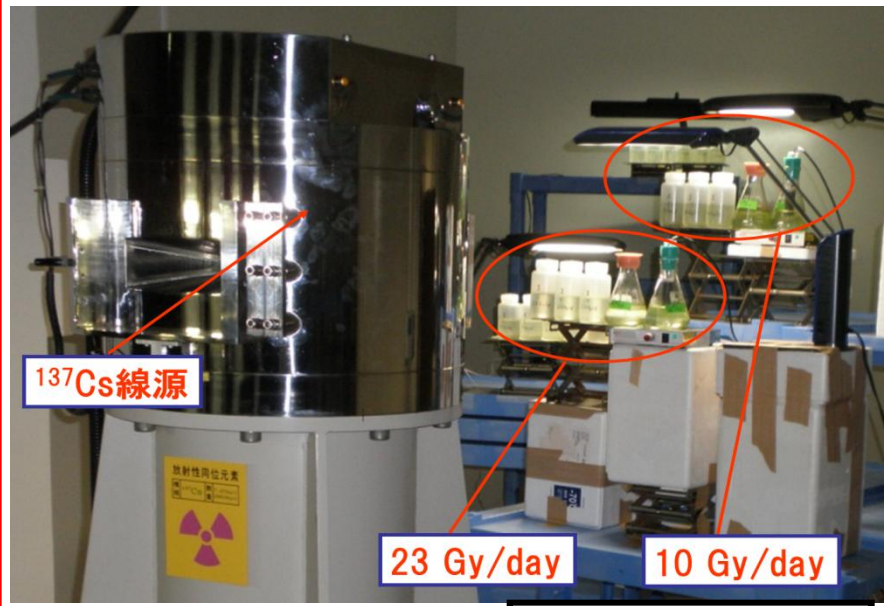
c) Mn 1.0 mg·l⁻¹添加系



○ Mn1.0 mg·l⁻¹では、水生ミミズの個体数が減少し特に原生動物は系から消失した。

Mn添加系における個体数変遷からの評価

放射線照射マイクロコズムの生態系影響解析



マイクロコズム生態系に高線量放射線を照射した場合の構成微生物群に対し無影響に関する論文



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Environmental Radioactivity

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jenvrad



Effects of acute γ -irradiation on the aquatic microbial microcosm in comparison with chemicals

Shoichi Fuma^{a,*}, Nobuyoshi Ishii^a, Hiroshi Takeda^a, Kiriko Miyamoto^a, Kei Yanagisawa^a, Kazutaka Doi^b, Isao Kawaguchi^b, Nobuyuki Tanaka^c, Yuhei Inamori^d, Gennady G. Polikarpov^e

^a Environmental Radiation Effects Research Group, National Institute of Radiological Sciences, 4-9-1 Anagawa, Inage-ku, Chiba 263-8555, Japan

^b Regulatory Sciences Research Group, National Institute of Radiological Sciences, 4-9-1 Anagawa, Inage-ku, Chiba 263-8555, Japan

^c Environmental Chemistry Division, National Institute for Environmental Studies, 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-8506, Japan

^d Faculty of Symbiotic Systems Science, Fukushima University, 1 Kanayagawa, Fukushima 960-1296, Japan

^e The A.O. Kovalevsky Institute of Biology of Southern Seas, Sevastopol 99011, Ukraine

ARTICLE INFO

Article history:

Received 30 September 2008

Received in revised form

27 May 2009

Accepted 4 June 2009

Available online 14 July 2009

Keywords:

Community-level effect

Interspecies interaction

Aquatic microbial community

Microcosm

Comparative risk assessment

Ionising radiation

Chemical

ABSTRACT

Effects of acute γ -irradiation were investigated in the aquatic microcosm consisting of green algae (*Chlorella* sp. and *Scenedesmus* sp.) and a blue-green alga (*Tolypothrix* sp.) as producers; an oligochaete (*Aelosoma hemprichi*), rotifers (*Lecane* sp. and *Philodina* sp.) and a ciliate protozoan (*Cyclidium glaucoma*) as consumers; and more than four species of bacteria as decomposers. At 100 Gy, populations were not affected in any taxa. At 500–5000 Gy, one or three taxa died out and populations of two or three taxa decreased over time, while that of *Tolypothrix* sp. increased. This *Tolypothrix* sp. increase was likely an indirect effect due to interspecies interactions. The principal response curve analysis revealed that the main trend of the effects was a dose-dependent population decrease. For a better understanding of radiation risks in aquatic microbial communities, effect doses of γ -rays compared with copper, herbicides and detergents were evaluated using the radiochemoecological conceptual model and the effect index for microcosm.

© 2009 Elsevier Ltd. All rights reserved.

主な結論

- (1) 放射線100 Gy 高線量までは、微生物相は影響を受けなかった。
- (2) 放射線500-5,000 Gyでは *Tolypothrix* sp. の増加が認められたが、その他の種は死滅するか減少した。
- (3) 放射線のマイクロコズム影響を、重金属・除草剤・界面活性剤への影響と比較解析した。
- (4) 生態系保全再生上、原子力災害復興にも資する知見が得られた。

P/R比変動パターンによる総合リスク評価

Group A : 系の維持

Al: $0.30\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, Cd: $0.16\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$
Cu: $0.50\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, Mn: $0.1\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$,
M-LR: $0.1\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, ガンマ線: 23Gy
LAS: $1\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, Zn: $2.4\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$
AE: $2\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, SDS: $4\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$
シマジン: $0.16\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$

Group B : 系の回復

LAS: $5\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, Al: $1.25\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$
Cd: $2.56\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, Cu: $1.0\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$
M-LR: $1.0\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, AE: $25\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$
SDS: $8\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$
シマジン: $0.64\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$

Group C : 系の転移

Al: $2.50\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, Mn: $1.0\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$,
LAS: $10\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, Cu: $2.0\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$
Zn: $19.2\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$

Group D : 系の崩壊

Al: $5.0\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 等高濃度系

◎ P/R比で系の状態を判断するデータの更なる集積を実施する。
⇒P/R比の変化パターンと生物相の関係データを基に、P/R比からの正確な判断基準を構築し、OECD試験法化を図る。

マイクロコズム試験結果の自然生態系への 外挿による解析に基づく環境リスク評価

- ・ **マイクロコズムMNOAECと自然生態系NOECs関係式**

$$\log[\text{NOECsの平均値}] = 1.06 \times \log[\text{MNOAEC}] - 0.73 \quad \cdot \cdot \text{回帰式}$$

MNOAECからNOECs平均値の予測式

$$\log[\text{NOECsの平均値}] = 1.06 \times \log[\text{MNOAEC}] - 0.73 + 0.46$$

- ・ **マイクロコズムMNOAECからPMNOEC予測式**

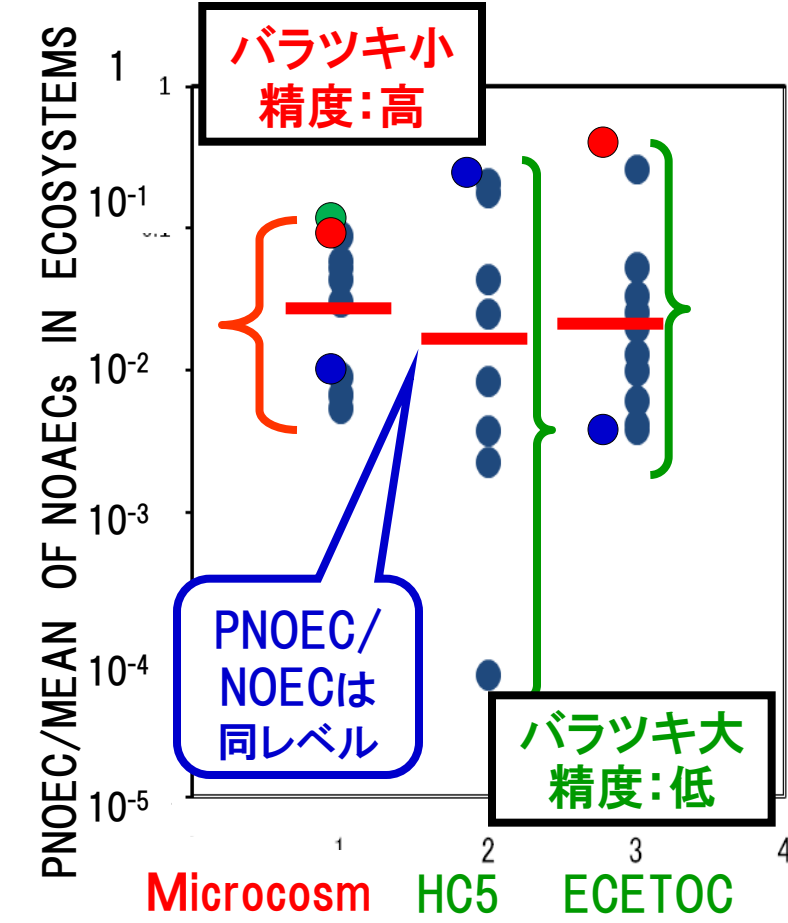
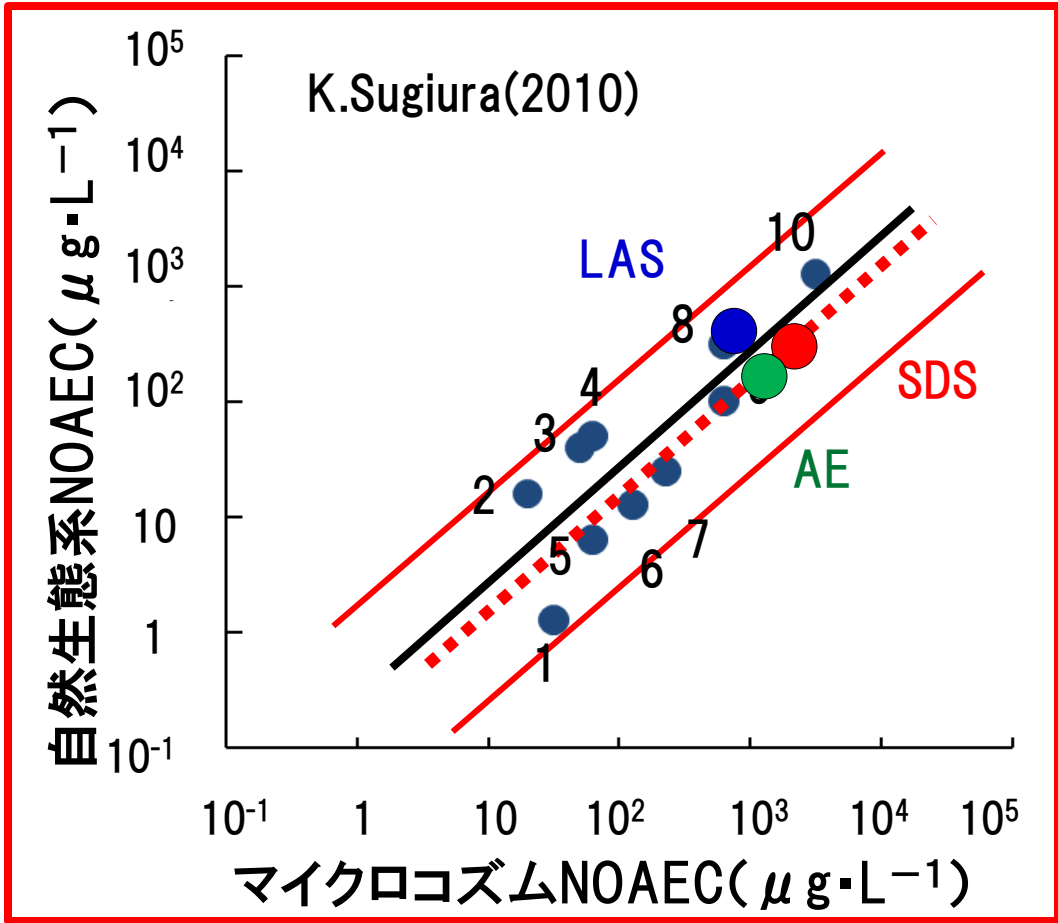
$$\text{PMNOEC} = (\text{MNOAEC})^{1.06} \times 10^{-(1.19 + 2(0.53))}$$

$$\doteq 0.005 \times \text{MNOAEC}$$

88%の生態系を化学物質から保護できる濃度

⇒ **マイクロコズムMNOAEC** × **安全係数200**により、**自然生態系
PNOEC**を予測可能

自然生態系・マイクロコズム・HC5・ECETOC における精度比較による優位性の検証



1: Cd^{2+} ; 2: atrazine; 3: PCP; 4: Al^{3+} ; 5: Cu^{2+} ; 6: Zn^{2+} ;
7: ammonia; 8: LAS; 9: 3,4-DCA; 10: phenol
— : 回帰直線; - - - : マイクロコズムへのMNOAEC
から自然生態系へのNOECsの平均値を予測するために
用いた式 — : 個々の値の68%信頼区間。

自然生態系におけるNOAECに対して様々な物質で非常に高い相関を示す。HC5やECETOCと比較してPNOEC/NOAECは同程度でかつバラツキが小さい。

OECD化 試験法バリデーションの実際

試験のバリデーション事例

2000年頃

- ・試験法の開発開始(花王)

2007~2008年

- ・3施設(花王、カネボウ化粧品、ライオン)における標準物質3物質での譲渡性検証試験
- ・3施設51化合物でのプレバリデーション研究(試験プロトコルの決定)

2008~2009年

- ・代替法学会による5施設(カネボウ化粧品、コーセー、ポーラ化成工業、ピアス、ライオン)における25化合物でのバリデーション試験

2009年

- ・国際代替法学会で試験法とバリデーション結果の発表

2010年

- ・JaCVAMによる3施設(カネボウ化粧品、ポーラ化成工業、ライオン)における40化合物での追加バリデーション試験
- ・日本動物実験代替法学会でバリデーション結果の発表

[公定法]

標準的な操作手順が確立され、施設間の再現性が確認された試験法

[バリデーション]

操作手順の中で品質管理とモニタリングを必要とするクリティカルな要素を同定



標準操作手順の確立



施設間再現性の確認

OECD試験ガイドライン化に向けての方策

マイクロコズム試験法

試験方法(プロトコル)の確立、統一
施設間再現性の検証(リングテスト)
データベースの構築と適用領域の明確化

すべて実験データセットの記録

関連する既知の
毒性データとの
関係性の評価

第三者専門家によるレビュー

学会発表、
論文投稿など
による公表

公的機関への試験法の提案

OECD化試験方法の統一とリングテスト

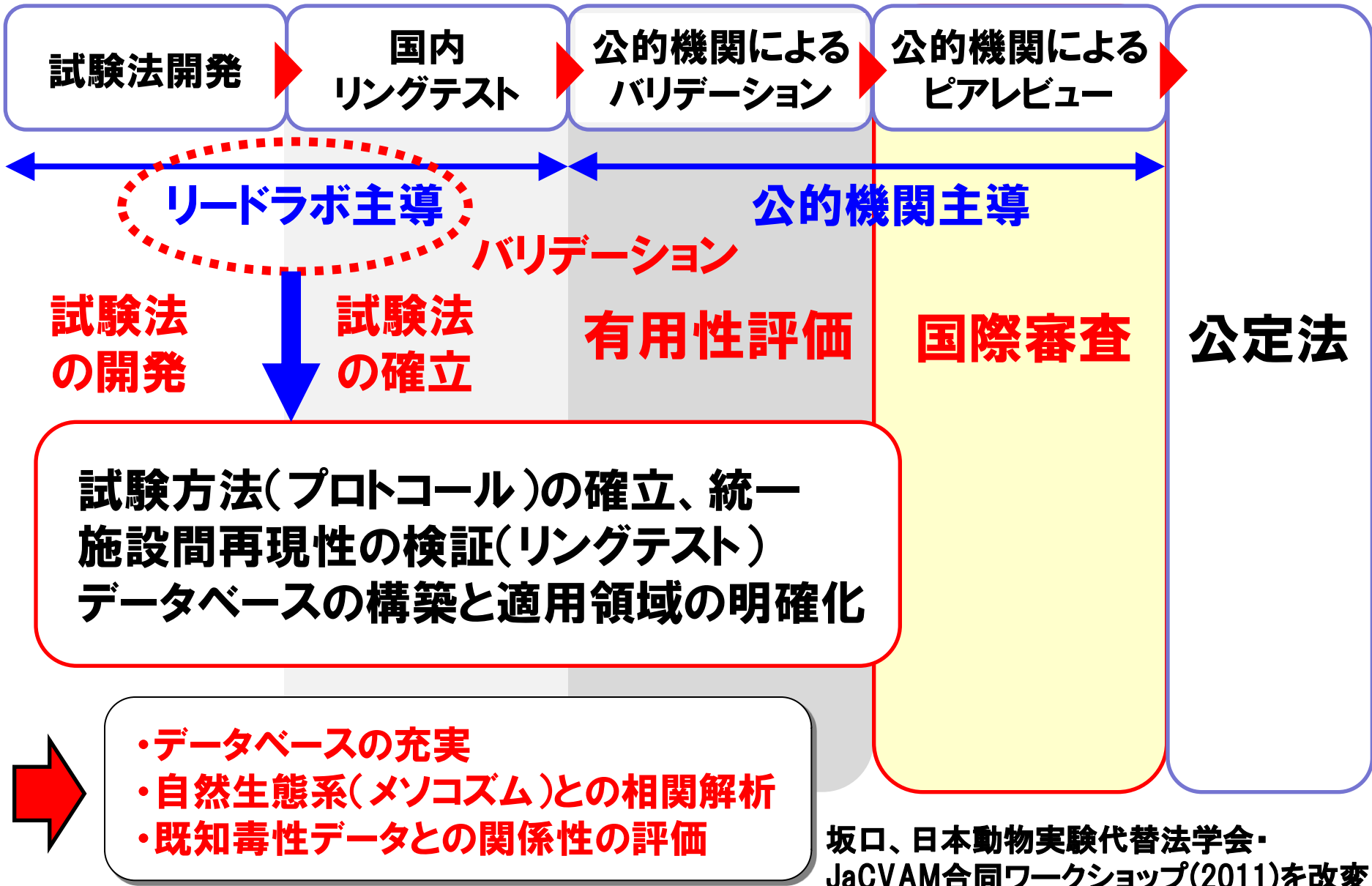
試験方法(プロトコール)の確立、統一

- 試験操作の確立
- 評価エンドポイントの理論構築、確定
- 客観的評価手法(統計解析手法)の確立

施設間再現性の検証(リングテスト)

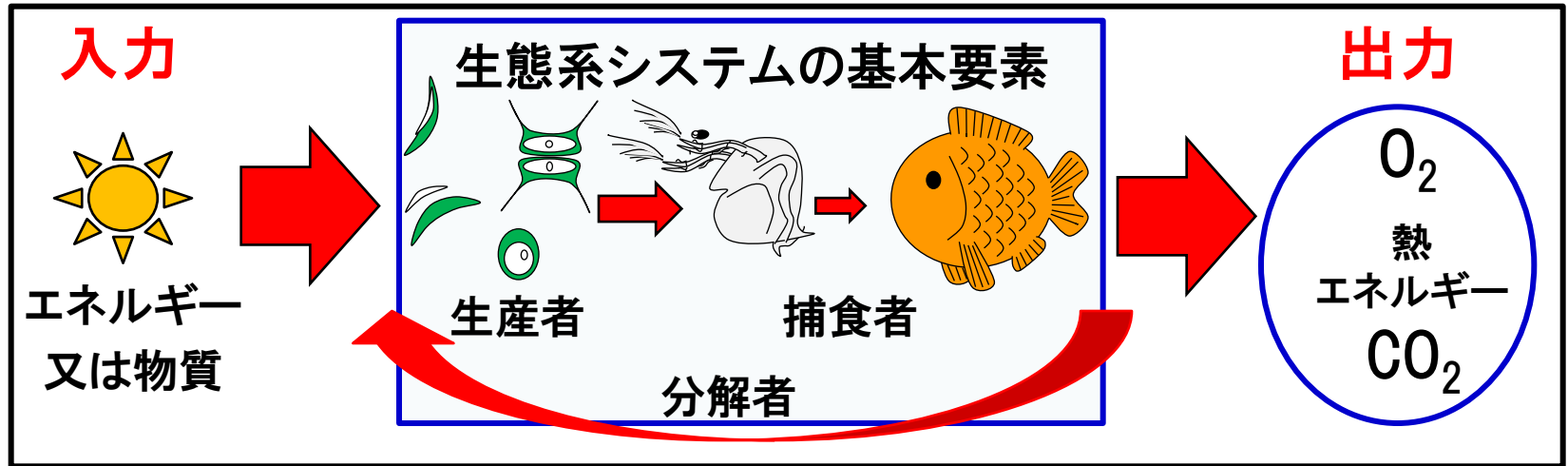
- 物質の選定
- 手技の統一
- 施設間再現性、変動性の把握

マイクロコズム試験の今後の展望



P/R変化とシステム関係からの評価重要

生態系の概念図



《被食-捕食関係》

被食-捕食関係のバランスが生態系システムを支えている。



P,Rのバランスで生態系の状態を知る方法の構築。

化学物質環境影響総合解析評価法確立

I. P/R比からの評価

添加後14日間のP/R比の挙動パターンを対照系(非添加系)と比較して評価

II. 添加後の挙動パターンからの評価

添加後14日間の各構成微生物の挙動パターンを対照系(非添加系)と比較して評価

III. 安定期の個体数(N_{30})からの評価

培養開始後30日目(添加後14日目)における各構成微生物の個体数を対照系(非添加系)と比較して評価

IV. 添加後の現存量(B_{16-30})からの評価

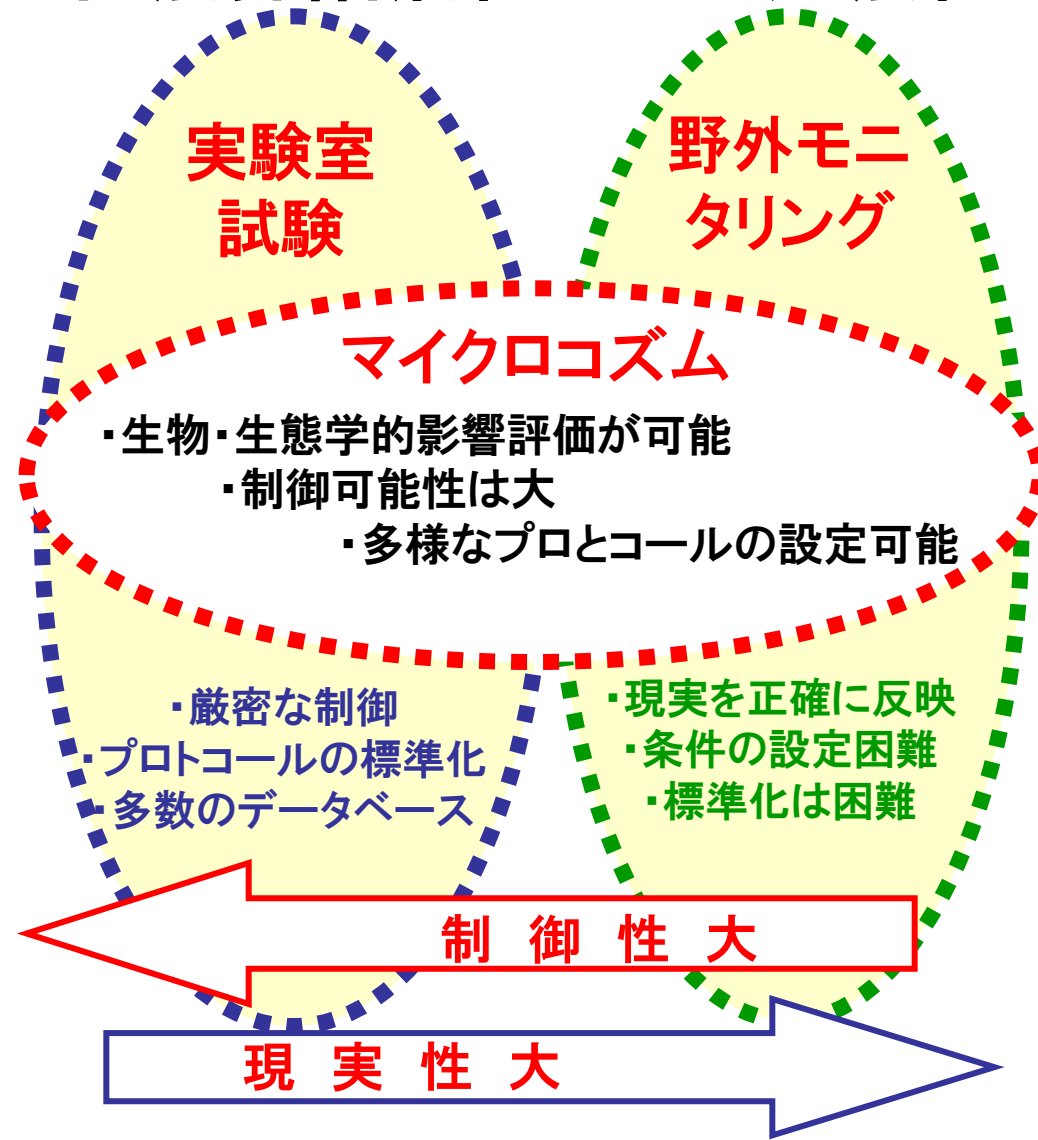
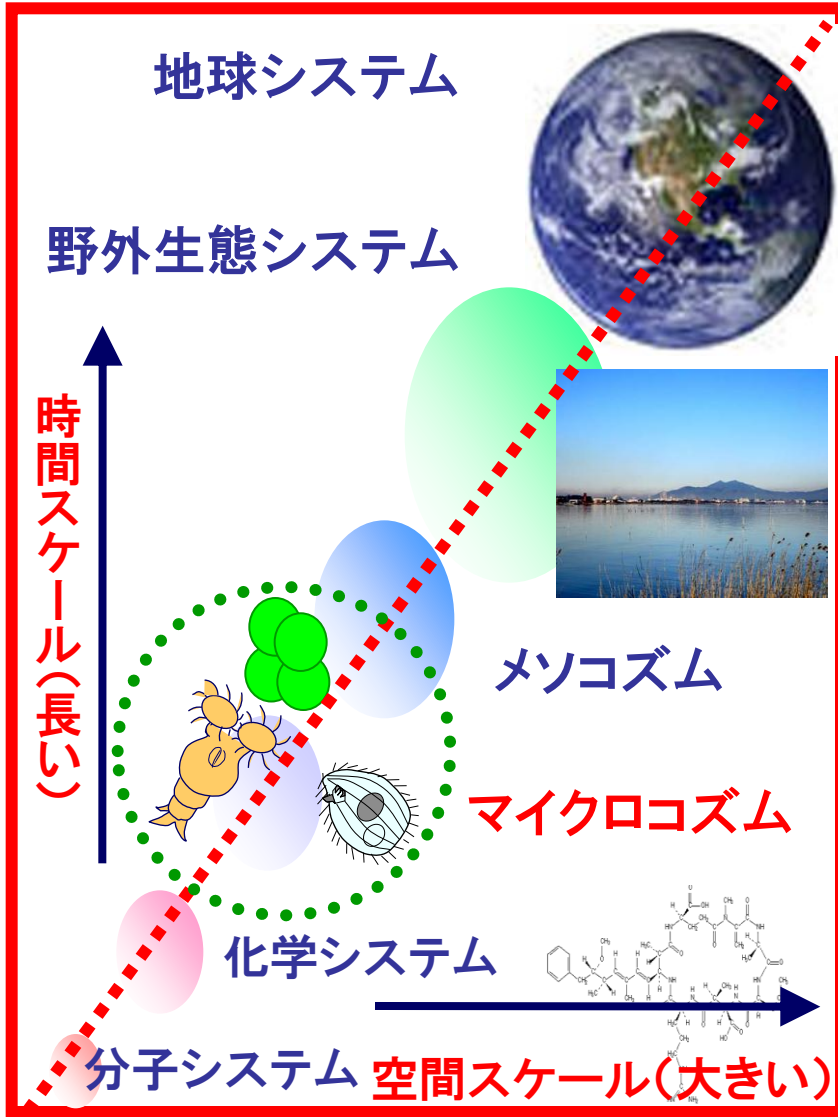
添加後14日間の各構成微生物の現存量(面積個体数密度)を対照系(非添加系)と比較して評価



$$\text{現存量} = \sum \left[\left\{ \frac{(\text{個体数}N1 + \text{個体数}N2)}{2 \times \text{日数(days)}} \right\} \right]$$

培養期間中の総現存量($N/\text{ml} \cdot \text{day}$)を算出しP/R比と比較・評価する。

マイクロコズム評価手法の自然界階層性からの必然性



マイクロコズムシステムは実験室試験と野外モニタリングをつなぐ時間・空間的に制御可能なサブ生態システムである。

主たる成果業績一覧(H23年度)

学術論文

- 1) Fuma S., *et al.* : Effects of chronic gamma-irradiation on the aquatic microbial microcosm: equi-dosimetric comparison with effects of heavy metals. *J. Environ. Radioact.* 104 : 81-86 (2012)
- 2) 村上和仁、林 秀明:標準モデルとしての各種マイクロコズムにおける安定系構築可能性の比較解析、環境情報科学論文集、25:221-226. (2011)
- 3) Murakami K., *et al.* :Microcosm for Impact Risk Assessment of Sediment Remediation Materials on Aquatic Ecosystem, *J. Wat. Environ. Technol.* 9: 401-410 (2011)
- 4) Sugiura K. : Effects of Chemicals on Microcosms: Comparison with the NOECs in Experimental and Natural Ecosystems, *Jap. J. Environ. Toxicol.* (2011)

国際会議プロシーディング

- 1) K.Murakami, H.Hayashi, Y.Inamori, K.Sugiura:Impact Risk Assessment of Metal Ions using Aquatic Model Microcosm System, *Proceedings of 4th IWA-ASPIRE Conference and Exhibition*, CD-ROM (2011.10.)
- 2) H.Hayashi, R.Shimada, K.Murakami:Development of Experimental Flask-size Microcosm System for Environmental Risk Assessment, *Proceedings of 4th IWA-ASPIRE Conference and Exhibition*, CD-ROM (2011.10.)
- 3) K.Murakami:Effect of Metal Ions on Horizontal Plasmid Transfer under Microbial Interaction, *Proceedings of 4th IWA-ASPIRE Conference and Exhibition*, CD-ROM (2011.10.)