

魚類及び甲殻類の急性毒性に係る QSAR モデルの開発と活用について

1. 魚類及び甲殻類の急性毒性の予測

定量的構造活性相関 (QSAR) とは、化学物質の構造と性状との間に成り立つ量的関係のことであり、この相関を基に化学物質の疎水性 (LogP) や構造を表現する数量から、構造的に類似する物質について生物学的な活性を統計的に検討することが出来る。一般に、魚類及び甲殻類への急性毒性はこの手法を活用することで、ある程度予測可能であることが知られている。

これまでに幾つかの生態毒性 QSAR モデルが知られているが、以下では比較的使用頻度が高い既存モデルである ECOSAR と TIMES、更に、国立環境研究所において開発したモデルである KATE の 3 モデルについて述べる。ECOSAR は米国 EPA で開発され、部分構造等によるクラス分類、主に LogP との単相関による予測を行う。TIMES は Burgas 大学 (ブルガリア) で開発された 17 種の生物種への生態急性毒性を予測するモデルであり、作用機序を考慮したクラスごとに一つ又は複数の記述子を用いた多変量モデルに基づく予測を行う。KATE は、部分構造等によるクラス分類を行い LogP との単相関による予測を行う。以下にそれぞれのモデルの検証結果等について述べる。

2. 各モデルによる毒性値の予測

各 QSAR モデルを活用するにあたり、毒性値既知の物質による検証を行った。検証に用いたデータセットは、魚類については、環境省が平成 7 ~ 17 年度に実施した既存化学物質の生態毒性試験結果 (限度試験を除く) 272 物質 (メダカ) 及び EPA Fathead Minnow データベースの 580 物質 (ファットヘッドミノー)、甲殻類 (オオミジンコ) については、環境省の生態毒性試験結果 (限度試験を除く) 346 物質である。検証は実測値と各モデルによる予測値との相関解析により行い、決定係数及び RMSE (2 乗平均平方根誤差) を計算した。

2 - 1. ECOSAR

ECOSAR は Version 0.99h を Windows 2000 で使用した。クラス全体の決定係数は魚類で 0.62、甲殻類で 0.45 と求まり、RMSE は魚類で 0.79、甲殻類で 1.05 であった (Fig.1)。これらのことから比較的実測値と予測値の一致は高いが、十分精度が高いとは言い難い。

クラスごとの決定係数、RMSE は Table.1 に示した。魚類 761 物質は 25 クラスに分類されており、そのうち該当物質が 5 物質以上で解析可能なクラスが 11 クラスであった。このうち Imides は比較的、実測値と予測値が一致している。一方、甲殻類 292 物質は 19 クラスに分類されており、そのうち該当物質が 5 物質以上で解析可能なクラスが 9 クラスであった。このうち Neutral Organics は比較的、実測値と予測値が一致している。これらのクラスに分類される化合物の予測に ECOSAR は特に適しているといえる。

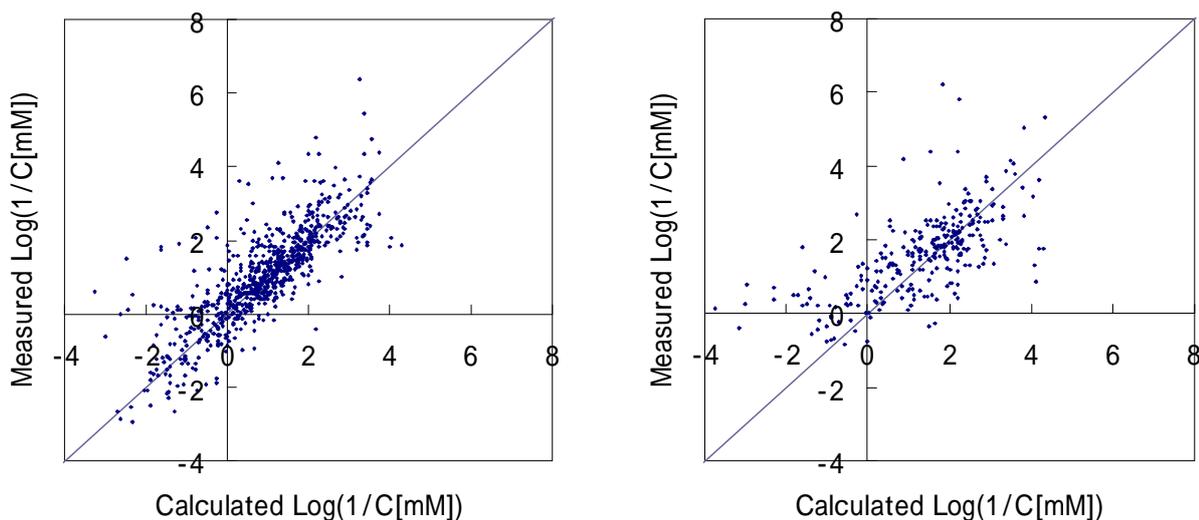


Fig. 1 ECOSAR による毒性 (Log(1/C[mM])) の予測値と実測値の比較 (左:魚類、右:甲殻類)

Table.1 ECOSAR による毒性 (Log(1/C[mM])) の予測値と実測値の相関 (物質数 5 以上のクラス)
 灰色は決定係数上位 10%のクラス。Total の相関は全てのクラスを対象として計算。

Class	Fish 96-hr LC50			Daphnid 48-hr EC50		
	物質数	決定係数	RMSE	物質数	決定係数	RMSE
Acrylates	13	0.58	0.28	6	0.55	0.16
Aldehydes	50	0.24	0.71	7	0.53	0.61
Aliphatic Amines	72	0.71	0.68	23	0.37	0.57
Aromatic Amines	55	0.61	0.60	28	0.00	0.62
Esters	71	0.63	0.83	24	0.30	1.27
Esters (phosphate)	17	0.36	0.95			
Hydrazines				6	0.22	1.44
Imides	10	0.79	0.45			
Methacrylates	11	0.29	0.54			
Neutral Organics	309	0.66	0.76	121	0.63	0.70
Neutral Organics -acid	19	0.65	0.68	12	0.17	0.53
Phenols	106	0.58	0.66	45	0.18	0.71
Total	761	0.63	0.79	292	0.45	0.84

2 - 2 . TIMES

TIMES は Version 2.24.9 を Windows2000 で使用した。構造最適化は AM1 PRECISE により実行し、各コンフォメーション (閾値 20kcal/mol) における毒性値の最大と最小の平均を予想毒性値として採用した。エンドポイントとして魚類は Fathead Minnow 96-hr LC50、甲殻類は Daphnia magna 48-hr EC50 を選択した。それぞれのクラス及び回帰式は Table.2 に示すとおりである。クラス全体の決定係数は魚類で 0.58、甲殻類で 0.38 と求まり、RMSE は魚類で 0.85、甲殻類で 1.13 であった (Fig.2)。

クラスごとの決定係数、RMSE は Table.3 に示した。魚類 780 物質は 7 クラスに分類され、甲殻類 325 物質は 3 クラスに分類された。

Table. 2 Times の QSAR (上:Fathead Minnow 96-hr LC50、 下:Daphnia magna 48-hr EC50)

$$\log(1/C) = b_0 + b_1 \cdot X_1 + b_2 \cdot X_2$$

	X1	X2	b0	b1	b2	n	R2
a,b-unsaturated alcohols	LogBCFtox	Q_Unsaturated_alcohols_C	4.765	0.503	-24.9	10	0.558
aldehydes	LogBCFtox	DONOR_DLC_Aldehydes_O	-1.56	0.548	18.05	63	0.6
basesurface narcotics	LogBCFtox	Energy_LUMO	2.733	0.943	-0.17	249	0.906
esters	LogBCFtox	Energy_LUMO	3.379	0.739	-0.19	27	0.79
narcotic amines	LogBCFtox		3.17	0.74		55	0.856
phenols and anilines	LogBCFtox	Energy_LUMO	3.226	0.829	-0.29	133	0.811
Reactive unspecified	LogBCFtox	Energy_LUMO	2.733	0.943	-0.17	249	0.906

$$\log(1/C) = b_0 + b_1 \cdot X_1 + b_2 \cdot X_2$$

	X1	X2	b0	b1	b2	n	R2
a,b-unsaturated alcohols							
aldehydes							
basesurface narcotics	LogBCFtox	Energy_LUMO	2.6	1.058	-0.11	30	0.895
esters							
narcotic amines							
phenols and anilines	LogBCFtox	Energy_LUMO	3.633	0.566	-0.16	49	0.506
Reactive unspecified	LogBCFtox	Energy_LUMO	2.6	1.058	-0.11	30	0.895

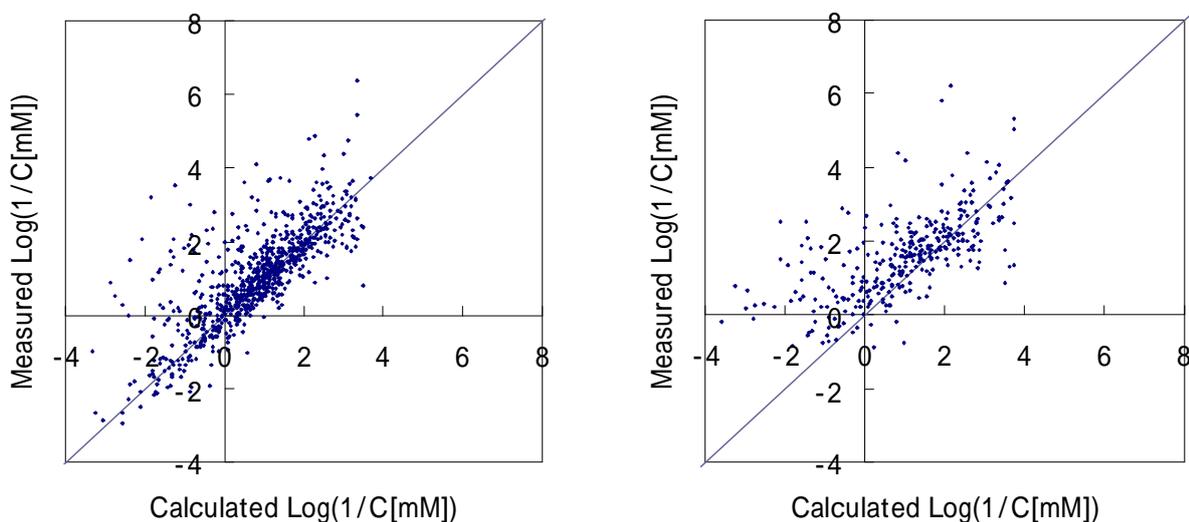


Fig.2 TIMES による毒性 (Log(1/C [mM])) の予測値と実測値の比較 (左:魚類、 右:甲殻類)

Table.3 TIMES による毒性 (Log(1/C [mM])) の予測値と実測値の相関

Class	Fathead Minnow 96-hr LC50			Daphnid magna 48-hr EC50		
	物質数	決定係数	RMSE	物質数	決定係数	RMSE
a,b-unsaturated alcohols	10	0.50	0.56			
aldehydes	47	0.51	0.51			
basesurface narcotics	283	0.86	0.48	115	0.65	0.64
esters	30	0.65	0.54			
narcotic amines	60	0.85	0.48			
phenols and anilines	133	0.78	0.45	67	0.25	0.58
Reactive unspecified	217	0.36	1.15	143	0.27	1.05
Total	780	0.58	0.84	325	0.40	0.88

2 - 3 . KATE

QSARにおいて、魚類及び甲殻類急性毒性については毒性値とLogPに強い相関が認められることが知られている。これまで国立環境研究所では独自のQSAR(KATEモデル)の開発を行っており、特徴的な部分構造による化合物のクラス分類及び、クラスごとのLogP対毒性値の単回帰式導出について検討を行っており、現在は65クラスに細分化されている(参考1)。実際の予測アルゴリズムは、対象化合物が属するクラスをサブフラグメント方式により決定し、物性データベースより参照したLogPに基づき予測する(参考2)。LogPとして計算値(Daylight, v4.9)を使用した場合、KATEモデルの決定係数は魚類で0.87、甲殻類で0.80と求まり、RMSEは魚類で0.43、甲殻類で0.46であった。

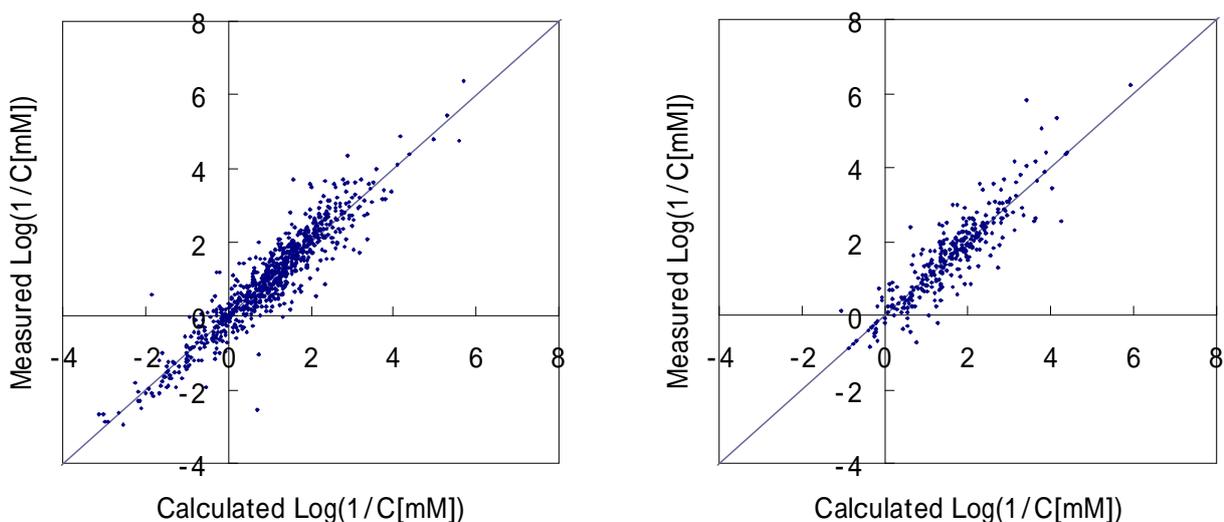


Fig.3 KATEによる毒性(Log(1/C [mM]))の予測値と実測値の比較(左:魚類、右:甲殻類)

クラスごとの決定係数、RMSEはTable.4に示した。例えば魚類795物質は65クラスに分類されており、そのうち該当物質が5物質以上で解析可能なクラスが47クラスであった、このうち、aliphatic nitrile、aliphatic ether、aromatic ether-aldehyde、aromatic nitrileなどは比較的、実測値と予測値が一致している。一方、甲殻類328物質は45クラスに分類されており、そのうち該当物質が5物質以上で解析可能なクラスが21クラスであった。aliphatic alcohol_ether及びaliphatic HCは比較的、実測値と予測値が一致している。

Table.4 KATE による毒性 (Log(1/C[mM]) の予測値と実測値の相関 (物質数 5 以上のクラス)
 灰色は決定係数上位 10%のクラス。Total の相関は全てのクラスを対象として計算。

Class	Fish 96-hr LC50			Daphnid 48-hr EC50		
	物質数	決定係数	RMSE	物質数	決定係数	RMSE
aliphatic halogen	31	0.84	0.31	14	0.90	0.23
aromatic halogen	14	0.74	0.16	10	0.21	0.28
aliphatic ester	19	0.75	0.40	11	0.64	0.63
aromatic esters_aliphatic_C	12	0.77	0.31			
aliphatic aldehyde	9	0.11	0.32			
aromatic aldehyde	26	0.47	0.54			
aliphatic nitrile	7	0.97	0.24			
aliphatic amines	54	0.64	0.76	13	0.40	0.43
not aliphatic amides	14	0.80	0.47	6	0.76	0.49
phenols	62	0.83	0.41	36	0.42	0.62
halogenated phenols	21	0.57	0.49	9	0.20	0.51
aliphatic ether	15	0.96	0.26			
aromatic/aliphatic ether	13	0.73	0.38	6	0.14	0.57
sulfide	8	0.70	0.26			
aliphatic ketone	22	0.95	0.30			
aliphatic alcohol_ether	38	0.95	0.31	8	0.92	0.26
aromatic ether-aldehyde	7	0.96	0.16			
phosphate(PO4) or C-P=O structure	5	0.93	0.27			
other ketones	6	0.86	0.30			
two primary Aliphatic NH2	8	0.81	0.35	5	0.39	0.31
piperazine	5	0.85	0.31			
aromatic nitrile	5	0.99	0.06			
aliphatic HC	18	0.93	0.18	12	0.91	0.26
aromatic HC	31	0.78	0.26	27	0.73	0.49
aromatic HC with o s	6	0.92	0.23			
aromatic HC with n	18	0.81	0.41	5	0.90	0.15
nitro benzene	16	0.74	0.39	9	0.54	0.49
Allyl_vinyl Halide	5	0.52	0.80			
Vinyl Ketones, aromatic & conjugated aldehyde	6	0.80	0.20			
Acrylates	11	0.66	0.27	6	0.43	0.18
N,O-para or ortho, N,N-ortho	10	0.13	0.51	6	0.06	0.35
Aromatic Amines	34	0.86	0.35	16	0.01	0.58
Benzyl Halides, halo-ketone	12	0.16	0.97			
Esters (phosphate)	12	0.39	0.93			
Methacrylates	10	0.67	0.33	7	0.49	0.46
Neutral Like Organics	28	0.88	0.44	22	0.76	0.69
not tert Vinyl/Allyl/Propargyl Alcohols	14	0.31	0.64			
Vinyl/Allyl Ethers	6	0.82	0.59			
Disulfide	6	0.24	0.66			
Tentative O-CC-halogen X	6	0.89	0.34			
Ammonium ion	7	0.80	0.55			
Phenols 2	10	0.62	0.39			
Aromatic Amines 2	31	0.61	0.43	15	0.04	0.59
carbamate 2	11	0.00	0.52			
aliphatic conjugated function tentative	8	0.73	0.85			
Neutral Like Organics - acid	17	0.89	0.41	12	0.52	0.62
Others	5	0.59	0.32			
Total	795	0.86	0.48	328	0.79	0.53

3. 各モデルの比較

3種類のQSAR (ECOSAR, TIMES, KATE) により予測された魚類及び甲殻類の急性毒性と実測値との関係を Fig.4、Table.5 にまとめた。これによると、TIMES の予測値は甲殻類において特に低く見積もられる傾向にある。また、KATE の予測値は魚類において他のモデルより高めに見積もられている。しかし、総合的には KATE モデルによる予測が実測値と比較的高い一致を示しており、部分構造等によるクラス分類を行う点で共通する ECOSAR と比較して似通った傾向はあるもののバラつきは小さく抑えられている。

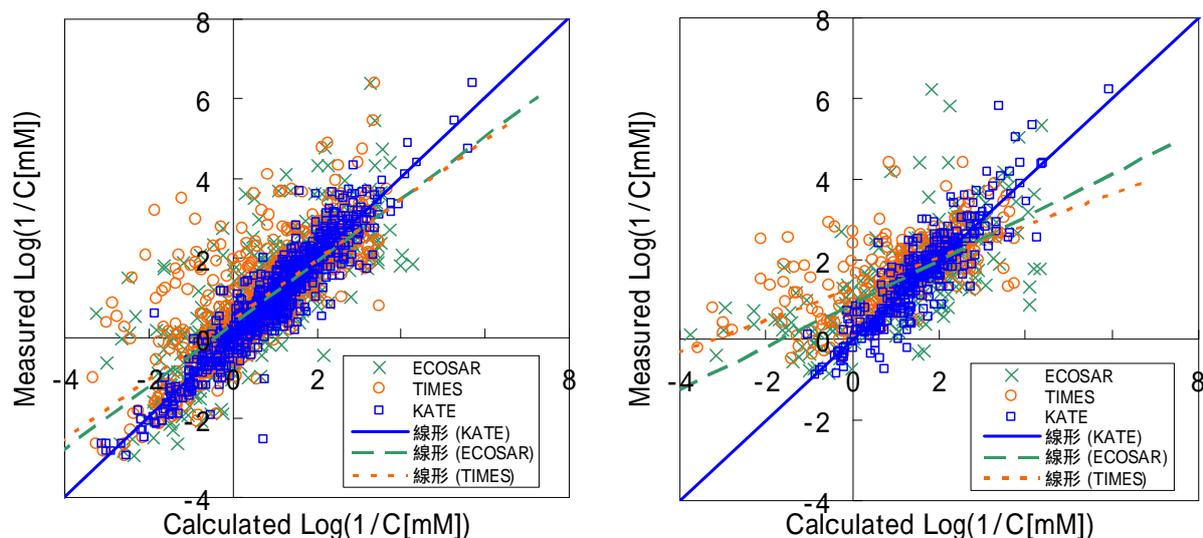


Fig.4 各 QSAR モデルによる毒性 (Log(1/C[mM])) の予測値と実測値の比較 (左:魚類、右:甲殻類)

Table.5 各 QSAR モデルによる毒性 (Log(1/C[mM])) の予測値と実測値の相関

QSARモデル	魚類		甲殻類	
	決定係数	RMSE	決定係数	RMSE
ECOSAR	0.63	0.79	0.45	0.84
TIMES	0.58	0.84	0.40	0.88
KATE	0.86	0.48	0.79	0.53

(参考1) 国環研モデル(KATE)で使用するクラスごとの単回帰式(参照物質数5以上のクラス)

