

生態毒性に係る定量的構造活性相関 (QSAR) の整備・活用状況

1 化学物質の生態毒性発現と定量的構造活性相関 (QSAR)

化学物質による生物への毒性については、経験的に「類似の構造物を持つ化学物質は類似の生物学的作用（物理化学的性質）を生じる」ことが知られており¹⁾、化学物質の構造に伴う物理化学的性質等と生物の生理活性の関係、すなわち、構造活性相関 (SAR) が医学や薬学の分野で古くから用いられてきている²⁾。

定量的構造活性相関 (QSAR) とは、構造活性相関の強さや度合いを定量的に捉えたものであり²⁾、我が国においても 1980 年代より着目され、それに関する総説も多く報告されている^{1,2)}。

化学物質の毒性発現は、化学物質が生物体に吸収され、生理活性を引き起こす部位（標的部位、活性部位：Receptor）に輸送され、標的と化学反応を引き起こすことにより生ずる（図 1）。化学物質は細胞膜を透過して標的部位に達するが、細胞膜は脂質に富んでいるため、油に溶けやすい（親油性）物質は比較的速く多量に細胞膜を通過する¹⁾。一方、標的部位と化学物質との反応は分子の持つ電子的な特性や立体構造に依存する場合が多い¹⁾。したがって、同じ電子・立体構造をもつ化学物質は同じ生体内での標的に対して同様な反応を引き起こすと仮定されている¹⁾。 1) 吉岡, 1993、2) 若林, 2000。



図 1 化学物質による毒性発現メカニズムの模式図

(吉岡, 1993)

一般の化学物質による生物への毒性、すなわち、死亡や行動異常等は化学物質と標的の化学反応を示した結果と考えられている（藤田ら, 1982）。

したがって、Log Pow（オクタノール/水分配係数）、水溶解度等を輸送効果のパラメータに用いて回帰式を算出し、同じ反応過程をもつ毒性が未知の化学物質の毒性を予測することが可能であり、この方式が定量的構造活性相関 (QSAR) である。

2 米国環境保護庁における整備・活用状況

(1) 定量的構造活性相関 (QSAR) 整備状況

1) QSAR の開発状況

SARs¹は、試験データのない新規化学物質の水生生物への影響を予測するために、米国環境保護庁(以下、U.S.EPAという)により1981年から用いられている手法である。魚類、甲殻類(ミジンコ)、緑藻類に対する化学物質の急性毒性値を推定することがSARs開発の焦点であったが、慢性毒性値の推定にも用いられており、また、いくつかの化学物質において、他の影響内容(例えば、慢性毒性、生物濃縮係数)や生物種(例えば、ミミズ)に有効であることがわかっている。SARsは、水生生物への毒性値とオクタノール/水分配係数(Kow)の回帰式で表され、同じ化学物質群、例えばフェノール類のように類似の構造を有している化学物質群では一つの回帰式が得られている。したがって、新規化学物質の毒性値は、その物質と同様の構造をもつ化学物質群でのSARs回帰式を用いて、オクタノール/水分配係数(Kow)から推定することができる。

U.S.EPAのOffice of Pollution Prevention and Toxics(以下、OPPTという)では、有害物質管理法(the Toxic Substances Control Act: TSCA)において生態毒性の推定に利用するため、SARsを利用したECOSARプログラムを開発した。2000年1月現在で、ECOSARプログラムに含まれているSARsは59化学物質群で、150以上の回帰式が得られている。この中には、染料と界面活性剤も加えられている。

また、現在、U.S.EPAのMid-Continent Ecology Division(Duluth)ではQSARの充実を図るため、内分泌攪乱作用に関する実測試験も行っている。

2) ECOSARにより毒性値を推測することのできる化学物質群

OPPTではECOSARプログラムを無償で配布しており、2000年1月には物理化学的特性や環境運命モデル等を加えたインターフェース「Estimation Program Interface (EPI)」をインターネット上で公開している。

表1に、ECOSARに収録されている化学物質群(59物質群)一覧を掲げた。

ECOSARプログラムは、現時点では無償で配布されているが、対象とする化学物質の構造を、SMILES表記法で入力することが必要である。各化学物質のSMILES表記法については、別途データベースソフト(KOWWIN)が市販されており、そのソフトとECOSARを連動させることによって、化学物質名あるいはCAS番号等での推定が可能である。

また、データベースソフトKOWWINは、化学物質の構造や溶解度、分子量等を収録しており、ECOSARとの連動により化学物質の溶解度に関する推定値を得ることもできる。なお、データベースソフトKOWWINではオクタノール/水分配係数の実測値がある場合は、その値が優先してECOSARに用いられる。

¹ 構造活性相関(SARs)と定量的構造活性相関(QSAR)は厳密には同一ではないが、ここで、示しているSARsはQSARを示している。

表1 List of ECOSAR Chemical Classes

Acid Chloride/Halide	Neutral Organics
Acrylamides	Peroxy Acids
Acrylates	Phenols
Aldehydes	Phenols (dinitro)
Aliphatic Amines	Propargyl Alcohols
Anilines (amino-meta)	Propargyl Alcohols - Hindered
Anilines (amino-ortho)	Propargyl Ethers
Anilines (amino-para)	Quinone
Aromatic Amines	Salicylates
Azides	Salicylic Acid
Aziridines	Schiff Bases
Benzotriazoles	Silamines
Benzyl Alcohols	Silanes (alkoxy)
Benzyl Amines	Surfactants-anionic
Benzyl Halides	Surfactants-cationic
Diazoniums	Surfactants-nonionic
Diepoxides	Thiazolidinones
Diketones	Thiazolinone (iso-)
Dinitro Aromatic Amine	Thiocyanates
Dinitrobenzenes	Thiols(mercaptans)
Epoxides	Thiophenes
Esters	Triazines
Esters (phosphate)	Ureas(substituted)
Haloacetamides	Vinyl/Allyl Alcohols
Hydrazines	Vinyl/Allyl Ethers
Imides	Vinyl/Allyl Halides
Isocyanates	Vinyl/Allyl Ketones
Malononitriles	Vinyl/Allyl Sulfones
Methacrylates	SPECIFIC(Dye, Surfactant)

(2) QSAR の活用状況 (TSCA における活用)

1) TSCA における QSAR の役割

米国では、農薬や食料品、医薬品などの法律で規制されていない化学物質は全て有害物質管理法 (the Toxic Substances Control Act: TSCA) の対象物質とされている。米国で製造・加工していると報告された化学物質は、TSCA インベントリーに収録される。現在、公表されている物質は約 75,000 物質である。TSCA ではインベントリーに記載されていない物質を新規化学物質として、商業目的でこれを製造・輸入する事業者に対して製造前届出 (PMN) を提出することを求めている。

PMN に必要な情報には、推定される製造・輸入最大量、用途カテゴリー等に加えて、届出者が所有・管理している人の健康や環境への影響に関するデータとされており、EU や日

本のようなデータセットは要求されていない。Zeeman et al.(1995)によれば、新規物質のうち約 95%は生態毒性データまたは運命データの試験がなされていないと報告されており、U.S.EPA では限られた試験データのみで化学物質の毒性、動態ならびにリスク評価を行っている。このため、新規物質についてリスク評価を行うために必要な生態毒性および運命データを予測する目的で QSAR を開発した。

また、QSAR は、魚類・水生無脊椎動物・藻類の急性及び慢性毒性等の生態毒性並びに物理的・化学的性質、分解、生物濃縮等の運命を予測できるツールであり、TSCA インベントリーにある既存の化学物質について、QSAR を利用し、規制のためにデータの予測や照合が行われている。U.S.EPA は、相当量生産され、環境中にかなりの量で放出されている可能性があり、また人に対する暴露等が懸念されている既存化学物質で、人の健康や環境へ不当なリスク(unreasonable risk)が懸念されるがリスク評価に十分なデータがない場合については、製造業者あるいは輸入業者に対して試験の実施を要求できるが、QSAR は、試験実施要求を優先的に検討すべき物質を捉えるためにも用いられている。

2) TSCA インベントリー収録物質に対する QSAR の活用

TSCA インベントリーのスクリーニングでの活用

TSCA インベントリーに収録されている既存化学物質のスクリーニングにおいては、QSAR を用いて 2 つの手法による優先順位が検討され、試験を行う候補が抽出される。2 つの手法のうち 1 つは、残留性や生物濃縮に関して個々の物質をスクリーニングするもので、各物質を残留性・生物濃縮性により分類し、試験を行う候補物質を提案するために用いられる。もう 1 つのスクリーニングでは、TSCA インベントリーでの個々の有機物について化学物質クラスに分類し、最も生態毒性の高い物質を抽出するために適用される。

生態毒性の高い化学物質の分類

U.S.EPA では TSCA インベントリーに収録されている 8,234 の個々の有機物について QSAR による潜在的な生態毒性に関するスクリーニングを行った。

スクリーニングでは、約 17,000 の個々の有機物に対して、QSAR を用いた魚類の急性毒性値 (96h LC₅₀) が算出され、対象物質を毒性が高い (<1mg/L)、中程度 (1-100mg/L)、低い (> 100mg/L) に分類した。なお、その後、OPPT は魚類のみだけではなく、水生無脊椎動物や藻類の急性毒性、さらには慢性毒性も加えて特殊な化学物質群を含めて見直しを行っている。この結果から TSCA インベントリーに収録されている個々の有機物は優先順位が付けられ、自然界に生息する生物に対して影響を及ぼしている可能性のある化学物質が抽出された。その結果として以下の結論がなされている。

- 化学物質群毎の QSAR は、数千の個別有機物に対する生態毒性のスクリーニングに有効である。
- 8,234 物質の約 95%は 7 つの化学物質群 (Neutral organics, Esters, Acids, Amines, Phenols, Aldehydes, Anilines) に分類される。
- OPPT の QSAR では、これら物質の大部分について、魚類・水生無脊椎動物・藻類の急性毒性、慢性毒性の推定値が算出できる。

- 化学物質群毎に水生生物への毒性の分布が異なる。
- TSCA インベントリーの個別物質のうち、10-20%は急性毒性の強い物質である（急性毒性値<1mg/L）。
- TSCA インベントリーの個別物質のうち、15-18%は慢性毒性の強い物質である（慢性毒性値<0.1mg/L）。
- 急性毒性と慢性毒性は10倍異なっている。

(3) QSAR 予測値と実測値の一致度

OPPT は、1990 年から 1992 年に、新規化学物質の水生生物への毒性を予想するのに利用される QSAR 値と産業界から得た試験データを比較した。462 物質、920 試験結果データ(例：魚類急性毒性 LC₅₀、ミジンコ慢性毒性 MATCs)が QSAR 予測と比較された結果、85%の QSAR データは許容範囲内、9%は実際よりも強い毒性、6%は実際よりも弱い毒性を示していた。

また、U.S.EPA は 1991 年から 1993 年にかけて、EU と共同で Structure-Activity Relationship/Minimum Premarketing Dataset (SAR/MPD)の研究を行った。この研究では、OPPT の QSAR 予測データと EU に提出された実測データの中から選択した 175 物質について、物理化学的特性、人の健康影響、生態毒性等を比較・検討した。その結果、溶解度や蒸気圧に関しては、QSAR の信頼性は予想していた範囲よりも低いが、log P (K)_{ow} の QSAR はかなり正確であることが分かった。また、人の健康では、急性致死率および変異原性のエンドポイントについては有効であったが、目・皮膚への刺激および皮膚への感作性については有効でなかった。生態毒性については、EPA の専門家は、QSAR 予測値と EC の実測値について、魚類急性毒性で 82%、ミジンコ急性毒性で 71%のデータが一致したと報告した(表 2)。一方、EU の専門家による報告では、QSAR 予測値と実測値の一致率は、EPA で算出された値に比べて、わずかに低くなっているものの、QSAR は魚類とミジンコの急性毒性を非常によく予測できると結論付けている。

表 2 QSAR の予測値と実測値の一致度

	対象物質数	一致	不一致	うち QSAR の予測値の方が大	うち QSAR の予測値の方が小
魚毒性 LC ₅₀	130	107 (82.3%)	23 (17.7%)	14 (10.8%)	9 (6.9%)
ミジンコ毒性 EC ₅₀	127	90 (70.9%)	37 (29.1%)	20 (15.7%)	17 (13.4%)

3 EUにおける活用状況

ECが1996年に公表した新規化学物質及び既存化学物質のリスク評価に関するテクニカルガイダンス文書(TGD)では、リスク評価におけるQSARの利用について、「魚、ミジンコ、藻類への毒性において一定の条件内で利用可能であり、データの評価、追加試験が必要かどうか、どのような追加試験を行うかといった意思決定過程での補完などに用いることができる。」とされている。

以下、TGDに記述されているQSARの利用について、その概要をとりまとめた。

(1) QSAR利用の背景

推定された暴露量は、Risk characterizationを検討する段階で、人の健康リスクではNOAEL、生態リスクについてはPNEC(予測無影響濃度)と比較される。ただ、NOAELやPNECが推定できない場合には定性的な用量-反応評価との比較となる。この暴露/影響濃度比によって、対象とする物質にリスクがあるか、あるいはさらなる試験の必要性があるかが判断される。(Q)SARは、評価者がさらなる試験の必要性を判断する際、この決定をサポートするツールとして利用できる。また、(Q)SARは試験が必要とされた場合、試験計画を効率よく構築するために用いることもできる。

既存化学物質の試験データの質や量は化学物質によってかなり変動することが予想される。例えば、単純なエンドポイント/パラメーターに関するいくつかの試験の情報は得られるかもしれないが、常に結果を充実するものとは限らない。さらに、いくつかの研究事例、特に過去の研究では、テストガイドラインや標準法に従って実施されていない場合もある。評価者は、リスク評価に用いる試験結果の妥当性を判断するための補助ツールとして(Q)SARを用いることができ、これは事業者や関係者に対して経費や時間の節約になる。さらに、より少数の動物を用いた試験の補完のために用いることができる。しかし、基本的に(Q)SARは、リスク評価の基となる科学的な根拠に代わるものではない。

(Q)SARでの推定値は、あくまでも補完的なツールであり、試験結果と併用することで物質の物理化学的特性や生態毒性のより正確な情報が得られる。

(Q)SARの結果は、試験結果や他のエンドポイントにより実証された推定値により評価されるべきである。さらに、(Q)SARは個々の物質のみに利用でき、例えば、混合物や不明あるいは変性しやすい物質等に用いることはできない。

(2) リスク評価における(Q)SARの利用内容

リスク評価の過程で(Q)SARを用いる場合、リスク評価で用いられるエンドポイント(NOEC、LC₅₀等)を(Q)SARで推定する必要がある。この場合、以下に示す目的で(Q)SARを用いることができる。

USE : データ評価の補助

USE : エンドポイントを明確にするために、さらなる試験が必要性か否かを判定し、そして、試験が必要とされた場合での試験計画の充実に寄与する

- USE : リスク評価、特に暴露評価の実施に必要なパラメーターの確定
- USE : ベースセット試験以外のエンドポイントについて、試験データが無い場合の影響の識別

4つの使用方法は基本的には異なっている。USE、およびは評価者が必要と判断した場合に用いるものであり、USEは測定データが無い場合に必要となる。

USEは、エンドポイントに対する試験データと(Q)SARによる推定がある場合に用いられ、USEとは、与えられたエンドポイントの試験データが無い場合に用いられる。

4 参考資料

Christine L. Russom, Steven P. Bradbury, Steven J. Broderius, Dean E. Hammermeister and Robert A. Drummond (1997) : Predicting Modes of Toxic Action from Chemical Structure: Acute Toxicity in the Fathead minnow (*Pimephales promelas*), *Env. Tox. and Chem.*, 16(5):948-967.

European Commission(1996):Technical Guidance Document in Support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for New Notified Substances and Commission Regulation (EC) No 1488/94 on Risk Assessment for Existing Substances.

藤田稔夫ら (1982) : 薬物の構造活性相関、化学物質の領域増刊 122、南江堂

藤田稔夫ら (1982) : 薬物の構造活性相関、化学物質の領域増刊 136、南江堂

(株)三菱化学安全科学研究所 (2000) : 平成 11 年度環境庁委託業務報告書 化学物質の管理に関する国際動向調査

U.S.EPA OPPT:Estimation Program Interface (EPI)

(<http://www.epa.gov/opptintr/exposure/docs/episuite.htm>)

U.S.EPA Risk Assessment Division (1998): User's Guide for the ECOSAR Class Program.

柳 憲一郎 (2001) : 環境法政策 [日本・EU・英国にみる環境配慮の法と政策]、清文社

吉岡 義正 (1993) : 化学物質の生態影響評価について (3)、水、35(15) : 61-66.

若林明子 (1998) : 化学物質の毒性発現の作用様式 (mode of action) - 魚類を例にして -、環境管理,34(3): 282-289.

若林明子 (1998) : エコトキシコロジーとその周辺 14 構造活性相関 その1、環境管理,34(5): 493-498.

若林明子 (1998) : エコトキシコロジーとその周辺 14 構造活性相関 その2、環境管理,34(7): 699-707.

若林 明子 (2000) : 化学物質と生態毒性、(社)産業環境管理協会

Zeeman, M. , C.M. Auer, R. G. Clements, J.V. Nabholz and R.S.Boethling(1995): U.S.EPA Regulatory Perspectives on the use of QSAR for New and Existing Chemical Evaluations. *SAR and WSAR in Environ. Research*, 3:179-201.