

生物濃縮性の評価におけるカテゴリーアプローチの利用について

平成 21 年 12 月 18 日

経済産業省製造産業局

化学物質安全室

1. 背景

化学物質の特性を化学構造から評価する方法の一つであるカテゴリーアプローチは、物質をグループとして評価し、グループの中に試験が行われていない物質がある場合に、同じグループの試験が行われた物質のデータから特性を予測することに利用される。OECDのHPVマニュアルによるとカテゴリーとは構造類似性に基づき物理化学的及び毒性学的特性が規則的なパターンを示す又は類似する物質とされており、ある物質群をカテゴリーとして成立させるにはメカニズムに基づいた根拠があることが前提となっている点で、構造活性相関ソフトウェアによる予測や類推とは異なる。

これまで、(独)製品評価技術基盤機構(以下「NITE」という)の構造活性相関委員会において、カテゴリーアプローチによる生物濃縮性予測について検討を行ってきたところ、「単純受動拡散カテゴリー」に関して一定の成果が得られた(別添1参照)。

※NITEのホームページに「カテゴリーアプローチによる生物濃縮性予測に関する報告書」を公開中。(http://www.safe.nite.go.jp/kasinn/qsar/category_approach.html)

2. 今後の取り扱い

今後、合同審議会において、「単純受動拡散カテゴリー」に該当する化学物質について、カテゴリーアプローチによる予測結果を新規化学物質及び既存化学物質の審査の参考資料として、構造活性相関ソフトウェアによる予測結果とあわせて活用することとする(別添2参照)。また、相談案件における類推の可否の判断の参考資料としてもカテゴリーアプローチによる予測結果を活用するとともに、その結果を参考データとして審査シートに記載することとする。

なお、NITEの構造活性相関委員会では、「単純受動拡散カテゴリー」について知見の集積を図るとともに、本カテゴリー以外のカテゴリーについても検討していく予定であることから、今後の予測手法の検討状況や本審議会での参考資料としての活用実績を踏まえて、将来的に化審法における判定への利用可能性について検討を行うこととする。

(参考1) N I T Eにおけるこれまでの検討経緯 (要点)

- (1) 化学物質の生物濃縮性は生体膜透過のメカニズム (①受動拡散、②能動輸送、③傍細胞経由、④膜動輸送) と生体内での反応性 (代謝や蛋白質結合性等) に依存する。
- (2) このうち、受動拡散による生体膜透過が濃縮の支配的要因である物質は、 $\log BCF$ と $\log Pow$ の間に相関関係があることが知られている。この中で特に、ファンデルワールス力が主要な分子間相互作用として働く (水素結合性や極性の官能基を持たない) 物質群は、拡散速度に影響を及ぼす因子が類似していると見なせるため $\log BCF$ と $\log Pow$ の間に強い相関関係がある予想される。そこで、このような物質群を「単純受動拡散カテゴリー」と定義し、これに該当する物質の化学構造上の特徴を調べた。
- (3) 化審法の濃縮度試験データを解析した結果、単純受動拡散カテゴリーには、芳香族炭化水素及びそのハロゲン化物、脂肪族炭化水素及びそのハロゲン化物が該当することを確認した (但し、水中で容易に反応する物質例えば塩化ベンジルなどは含まない)。

※生物濃縮性の試験データがある化審法既存化学物質で単純受動拡散に該当する物質の一覧は報告書に記載。

- (4) 単純受動拡散カテゴリーに該当する物質について $\log Pow$ - $\log BCF$ の相関式を作成したところ、良好な相関関係を得ることができた (下図参照)。この相関式は、適用範囲は $\log Pow$ が 6 未満で D_{max} ※が 11Å 未満の物質に適用することができる。

※分子を球に入れたとき最小となる直径。

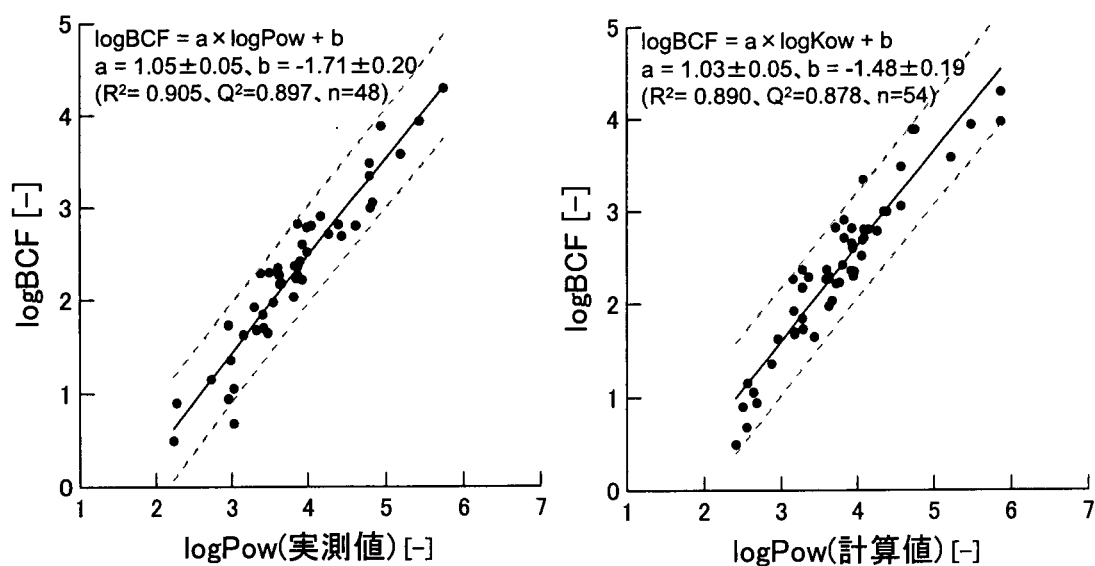
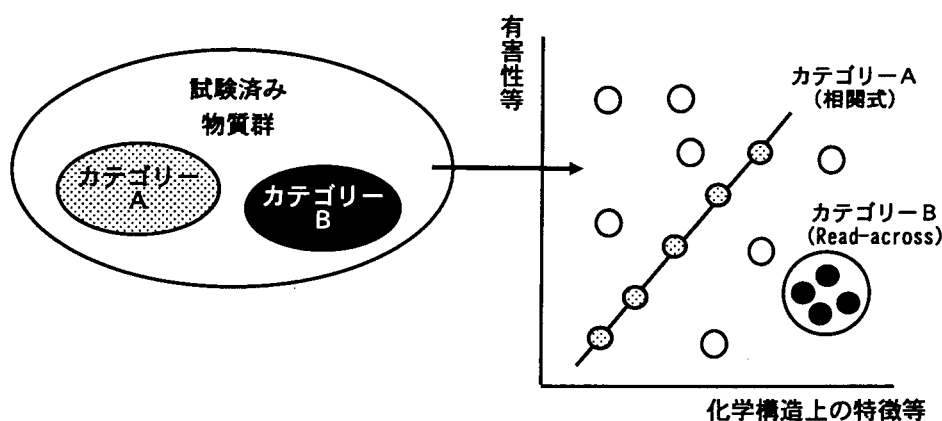


図. 単純受動拡散カテゴリーに該当する物質の $\log Pow$ - $\log BCF$ 相関式

(5) また、単純受動拡散カテゴリーに該当する物質について、Read-acrossにより濃縮性を予測する方法についてケーススタディを行い、類似物質が多くある場合など、場合によっては相関式より精度良く予測できることを確認した。

(参考2) カテゴリーアプローチにおけるデータギャップ補完方法

特性が規則的なパターンを示すカテゴリーの場合、試験が行われていない物質の特性は相関式から算出する。一方、特性が類似するカテゴリーの場合、試験が行われていない物質の特性は類似物質の特性の平均値として算出する (Read-across)。



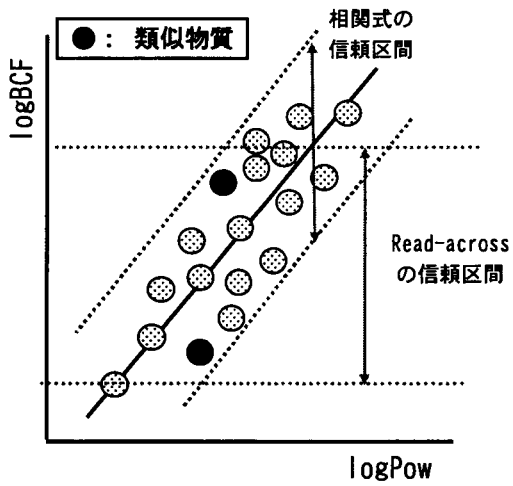
(参考3) 単純受動拡散カテゴリーアプローチによる予測の具体的手順

- (1) カテゴリーアプローチによる評価を行う場合は、まず、評価対象物質が単純受動拡散カテゴリーに該当するかどうかを検討する。
- (2) 評価対象物質が単純受動拡散カテゴリーに該当し、相関式の適用範囲内の場合は、相関式から $\log BCF$ の予測結果を算出する。
- (3) Read-acrossによる予測も行うため、単純受動拡散カテゴリーに該当する物質の中から類似物質を選定する。類似物質の選定方法は評価者の判断に依存するため、カテゴリーアプローチの評価報告書等には第三者が確認できるよう類似物質の選定方法を記載しておく。

※Read-across で予測するためには信頼区間の算出が可能な2物質以上の類似物質の試験データが必要。

(4) 予測式と Read-across の両方により予測可能な場合、予測結果の信頼区間の幅が狭い方の予測結果を優先する（下図参照）。

a) 相関式の予測結果を優先



b) Read-acrossの予測結果を優先

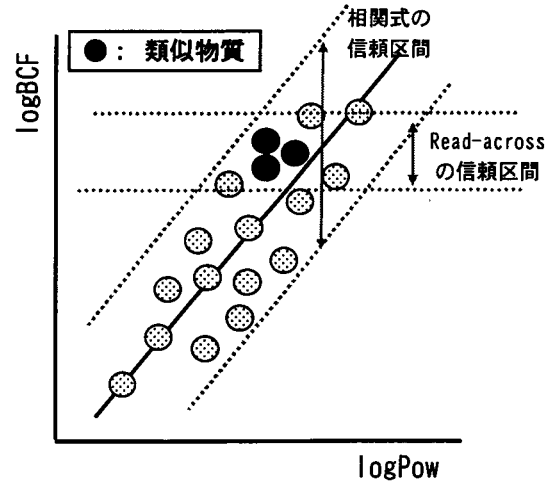


図. 相関式と Read-across による予測結果の比較方法

カテゴリーアプローチによる
生物濃縮性予測に関する報告書
[単純受動拡散カテゴリー]

nite

平成 21 年 10 月 20 日

(独) 製品評価技術基盤機構

化学物質管理センター

実施体制

本報告書に記載されている「単純受動拡散カテゴリー」は、NITE 構造活性相関委員会においてレビューが行われた。当委員会の委員名簿と開催記録を以下に示す。

構造活性相関委員会名簿(就任時期)

米澤 義堯(委員長)	(独)産業総合技術研究所 安全科学研究部門(平成 16 年 4 月)
赤松 美紀	京都大学大学院 農学研究科 准教授(平成 16 年 4 月)
岩田 光夫	(独)産業総合技術研究所 安全科学研究部門 主任研究員(平成 20 年 12 月)
内田 直行	日本大学 生物資源科学部 教授(平成 20 年 12 月)
大川 秀郎	福山大学 生命工学部 教授(平成 16 年 4 月)
齋藤 昇二	住友化学株式会社 生物環境科学研究所 主席研究員(平成 18 年 12 月)
茂岡 忠義	横浜国立大学大学院 環境情報研究院 特任教授(平成 21 年 8 月)
田中 明人	兵庫医療大学 薬学部 教授(平成 20 年 12 月)

開催記録

平成 20 年度	第 1 回構造活性相関委員会(平成 20 年 9 月 25 日)
	第 2 回構造活性相関委員会(平成 20 年 12 月 15 日)
	第 3 回構造活性相関委員会(平成 20 年 3 月 23 日)
平成 21 年度	第 1 回構造活性相関委員会(平成 21 年 8 月 4 日)

目次

1. はじめに	1
2. 生物濃縮性におけるカテゴリーの考え方	2
3. 単純受動拡散カテゴリーの考え方	3
4. 単純受動拡散カテゴリーの定義	4
5. 化審法既存化学物質(データセット)と単純受動拡散カテゴリー該当物質の logKow と logBCF の関係	4
6. 生物濃縮性の予測方法および予測式	5
7. 化審法新規化学物質によるバリデーション結果	7
8. 単純受動拡散カテゴリーに該当する未点検既存化学物質の生物濃縮性予測例	8
9. 既存の構造活性相関ソフトウェアと予測式(2)による予測結果の比較	10
10. 単純受動拡散カテゴリー該当物質の記述子を用いた式による生物濃縮性予測の論文報告例	13
11. 解析に使用したデータおよびソフトウェア	13
12. 参考文献	14
別添	15

1. はじめに

これまで我が国における化学物質の安全性評価は、昭和 48 年に施行された「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」(以下「化審法」という)に基づいて審査されてきた。この化審法により、新規の化学物質は製造者に生分解性、蓄積性、28 日間反復投与毒性などの安全性評価が義務付けられている。また、化審法第 2 条に規定されている法律制定以前の既存化学物質(約 2 万物質)の生分解性・蓄積性に係る実測試験は国が行ってきたが、これまでに取得された実測データは 2,000 物質に満たない。これらの実測試験を行うには膨大な時間・労力・経費がかかるため、実測試験に変わる方法としてカテゴリーアプローチや構造活性相関手法の活用が検討されている。

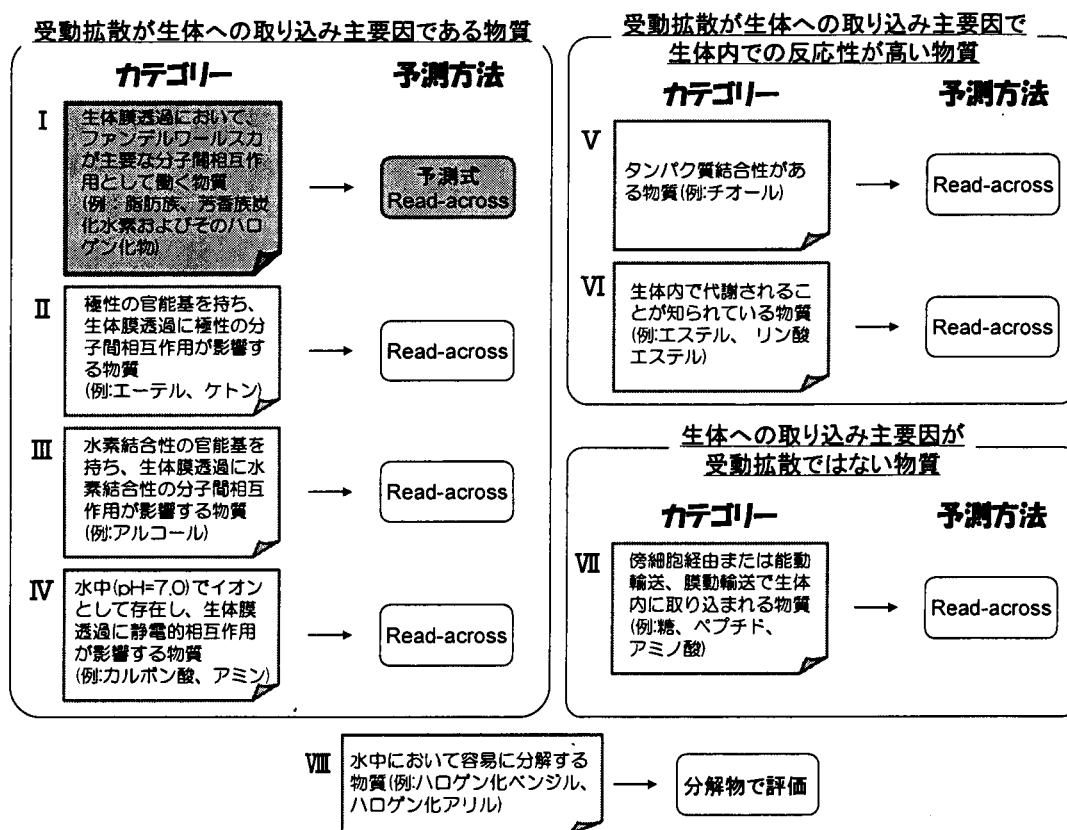
独立行政法人製品評価技術基盤機構(以下「NITE」という)は、これらの実測試験に代わる方法として構造活性相関手法に関する取り組みを開始し、平成 16 年度に NITE 内で設立された構造活性相関委員会において、生分解性・蓄積性における構造活性相関手法の活用について検討を開始した。平成 16、17 年度に生分解性・蓄積性における構造活性相関モデルの調査および既存のソフトウェアのバリデーション¹⁾と選定を行い、平成 17~19 年度に選定した構造活性相関ソフトウェアによる未点検既存化学物質の実測試験の優先順位付けを行った。この結果は、未点検既存化学物質における実測試験実施物質の選定に役立てられた。平成 19 年度~現在においては、未点検既存化学物質の優先順位付けに限らず、化学物質のリスク評価におけるハザード評価の第一段階として用いることができる生分解性・蓄積性の構造活性相関手法について検討を行っており、特に現在世界的に検討が進められている“カテゴリーアプローチ”を活用した予測手法について検討を行っている。

本報告書は、化審法の既存化学物質安全性点検の濃縮度試験データ²⁾を基に、NITE で蓄積性におけるカテゴリーアプローチの検討を行い、“単純受動拡散カテゴリー”に分類される化学物質の定義および予測方法について、報告書としてまとめたものである。

2. 生物濃縮性におけるカテゴリーの考え方

化学物質の生物濃縮性において、物質の生体内への取り込みメカニズム(生体膜透過におけるメカニズムと分子間相互作用の違い)、反応性(タンパク質結合性、生体内における代謝など)の違いによって、生物濃縮の挙動は異なる。生体内への取り込みメカニズムと反応性の違いによって物質を大まかに分類すると、生物濃縮性におけるカテゴリー分類は Scheme1 のようになると考えられる。

化学物質の生体内への取り込みは、生体膜透過におけるメカニズムと分子間相互作用の違い(3.参照)によって挙動が異なるため、それぞれを別カテゴリーとして考える必要がある。(Scheme1 の I~IV、VII)。また、生体内での反応性が高い「タンパク質結合性がある物質」や「生体内で代謝されやすい物質」は、それぞれ「タンパク質と結合して生体内に蓄積されやすい」、「代謝反応によって代謝物を生成し、生体内から排出されやすい」傾向にある。そのため、これらの物質も別カテゴリーとして取り扱う必要がある(Scheme1 の V、VI)。「水中において容易に分解する物質」は、分解物で生物濃縮性を評価する必要がある(Scheme1 の VIII)。



* 物質例は、該当するメカニズムが支配的に働くと考えられる物質である。また、物質によっては複数のカテゴリーに該当するものもある。

Scheme1 生物濃縮性におけるカテゴリー分類の全体像(イメージ)

3. 単純受動拡散カテゴリーの考え方

魚類における濃縮度試験において、化学物質の魚体内への取り込みは、主に鰓の生体膜を透過することによって起こると考えられている。鰓の生体膜からの透過機序としては、主に以下の4つの経路が考えられる^{3),4)}。

- ① 呼吸細胞経由の濃度勾配による取り込み
- ② 傍細胞経由による取り込み
- ③ 非呼吸細胞(塩類細胞など)経由の能動輸送による取り込み
- ④ 膜動輸送による取り込み

一般的な化学物質は呼吸細胞経由の濃度勾配(受動拡散)によって、生体内に取り込まれる(透過機序①)。①のメカニズムにおいては、分子の疎水性が重要な因子となる。また、生体膜には細孔が存在し、分子サイズが小さい水溶性の物質は、この細孔を水分子と共に透過することで生体内に取り込まれる(透過機序②)。この細孔の大きさは直径約4Åで、水の吸収に伴って拡大すると推測されている⁵⁾。一方、ごく一部の生体に必要な物質またはタンパク質は、単純な拡散ではなく、トランスポーターによる特異的な輸送機構(透過機序③)やエンドトシス(endocytosis)と呼ばれる細胞表面で生体膜の一部が陥入し、物質が膜内に取り込まれる過程(透過機序④)を経て、生体内に取り込まれる⁶⁾。

ここで受動拡散が取り込みの支配要因となる物質の魚類における生物濃縮性($\log BCF^{*1}$)は、物質の疎水性を表すパラメータの一つである $\log Kow^{*2}$ と相関があることがよく知られている^{7),8)}。理論上、 $\log Kow$ と $\log BCF$ が特に良好な相関を持つ物質は、物質の生体膜透過における濃度勾配以外の影響因子が少ない、すなわち水中の水分子、生体膜のリン脂質などの分子との相互作用が弱い物質であると考えられる。

膜透過における物質の分子間相互作用としては、以下の4つが考えられる⁹⁾。

- A. ファンデルワールス力(基本的に全ての物質に働く)
- B. 極性相互作用(主に極性の官能基を持つ物質に働く)
- C. 水素結合性相互作用(主に水素結合性の官能基を持つ物質に働く)
- D. 静電的相互作用(主にイオン性の物質に働く)

一般的に $D > C > B > A$ の順で分子間相互作用が強く、ファンデルワールス力は全ての物質に働くが、非常に弱い力であることから、生体膜透過に与える影響は少ない⁹⁾。従って、ファンデルワールス力が主要な分子間相互作用として働く、イオン性、水素結合性、極性の官能基を持たない物質は、水分子、リン脂質などの分子との相互作用が弱いため、単純な受動拡散によって生体内に取り込まれ、 $\log Kow$ を記述子とした予測式を用いて生物濃縮性を予測することができる。

*1 化学物質の魚体中濃度と水中濃度との比($[\text{魚体中濃度}]/[\text{水中濃度}]$)の対数値

*2 水と1-オクタノールの2つの溶媒層に化学物質を加えて、平衡に達したときの濃度比
($[\text{1-オクタノール中の物質濃度}]/[\text{水中の物質濃度}]$)の対数値

4. 単純受動拡散カテゴリーの定義

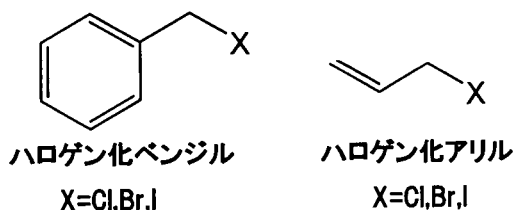
単純受動拡散カテゴリー(以下、当カテゴリー)には、ファンデルワールス力が主要な分子間相互作用である物質(イオン性、水素結合性、極性の官能基を持たない物質)が該当する。

今回データセットに用いた化審法既存化学物質(373 物質) (11.参照)では、以下の2つの物質群 i、ii が該当することを確認した(別添 Table1~3 参照)。

- i. 芳香族炭化水素およびそのハロゲン化物
- ii. 脂肪族炭化水素およびそのハロゲン化物

ただし、以下の物質はカテゴリーⅧ(Scheme1 参照)に該当するため、適用範囲外である。

- ① 水中で容易に反応する物質(例えば、ハロゲン化ベンジル、ハロゲン化アリル)¹⁰⁾



また、logKow と logBCF の相関が弱くなる傾向にある以下の物質群は、QSAR 式による予測の適用範囲外とした。

- ② logKow(計算値)^{*3} ≥ 6 または logKow(実測値) ≥ 6 の物質 (別添 Fig.1 参照)
- ③ 分子サイズが大きく、生体膜透過における拡散速度が遅くなる物質(Dmax^{*4} ≥ 11 Å)^{*5} (別添 Fig.2 参照)

*3 logKow(計算値) : KOWWIN ver.1.67 を用いて算出される値

*4 Dmax : 物質の安定構造における最大直径の値

Database Manager 4.3 ver.1.3 を用いて算出

計算条件: Conversion mode: Automated OASIS

Conformer generation: Rapid

Calculation method: AM1

*5 他の立体効果のパラメータを用いる場合もある

5. 化審法既存化学物質(データセット)と単純受動拡散カテゴリー該当物質の logKow と logBCF の関係

データセット 373 物質の中で、当カテゴリーに該当する 87 物質をトレーニングセットとして用いた。このトレーニングセット(87 物質)の中で、予測式の作成に用いた 54 物質、分子サイズが小さい(Dmax < 8 Å)の 23 物質、logKow^{*3} ≥ 6 または Dmax^{*4} ≥ 11 Å の 10 物質をそれぞれ別添 Table1~3 に示す。また、データセット(373 物質)とトレーニングセットの中で予測式に使用した 54 物質と Dmax < 8 Å の 23 物質の logKow(計算値)^{*3} vs. logBCF プロットを Fig.1 に示す。

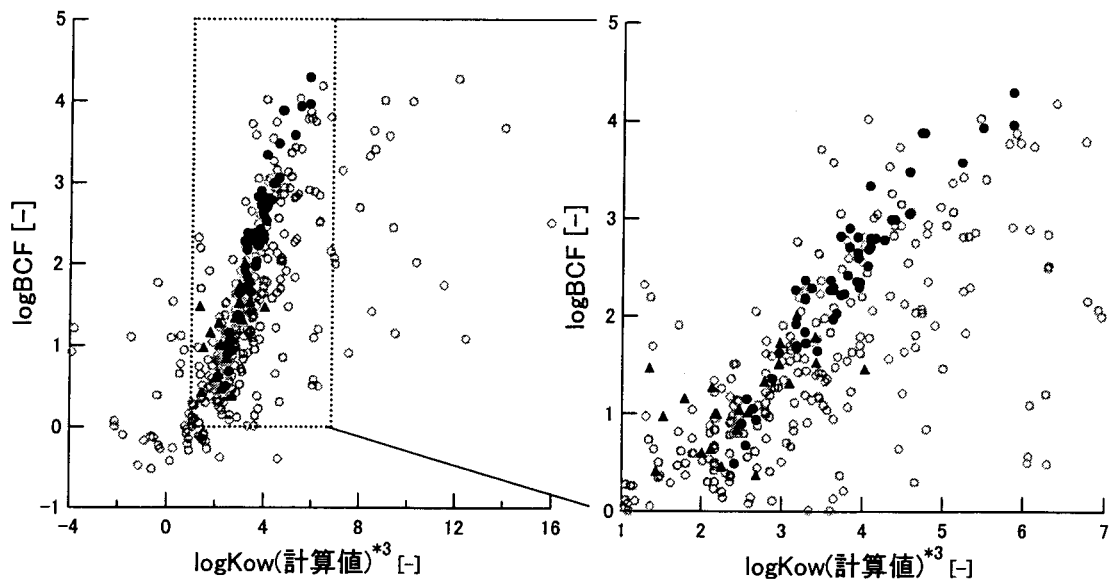


Fig.1 logKow(計算値) vs. logBCF プロット(左:全体図、右:拡大図)

[○:データセット(373物質)、●:トレーニングセット(予測式に使用した54物質)、
▲:トレーニングセット(Dmax<8Å 23物質)]

6. 生物濃縮性の予測方法および予測式

①logKow を記述子とした予測式による予測

Fig.1を見ると、分子サイズが小さい物質(Dmax<8Å)は、logKow と logBCF の相関が弱いことがわかる。これらの分子サイズが小さい物質は、濃縮性が低い物質であるため、濃縮度試験における実測誤差が大きいことや、物質の揮発性、代謝の影響等の様々な要因によって、logBCF の実測値にバラつきが生じていることも考えられる。そのため、これらの物質を除いた54物質を用いて、予測式の作成を行った。

予測式の作成に用いた54物質のlogKow(計算値) vs. logBCF(実測値)プロット、logKow(実測値) vs. logBCF(実測値)プロットを示す(Fig.2,3)。予測式におけるR²、Q²はそれぞれ決定係数、クロスバリデーション(leave-one-out法)後の決定係数である。プロットにおける実線は予測式、点線は予測式から算出されるlogBCF(予測値)の95%信頼区間である。また、各logKow(計算値)におけるlogBCF(予測値)の95%信頼区間上限、下限値をTable1,2に示す。

当カテゴリーに該当する物質のlogKow と logBCF の関係式として、Fig.2、3から予測式(1)、(2)が導き出される。logKow が実測されている場合には式(1)、実測されていない場合には式(2)を用いてlogBCFを予測することができる。

$$\log\text{BCF} = 1.05\log\text{Kow}(\text{実測値}) - 1.71 \quad \dots (1)$$

$$\log\text{BCF} = 1.03\log\text{Kow}(\text{計算値})^3 - 1.48 \quad \dots (2)$$

②Read-across による予測

当カテゴリーにおいては、logKow と logBCF との関係式による予測を行うと同時に、トレーニングセット(87物質)を用いてRead-acrossによる予測も行い、両者の結果から

生物濃縮性予測を行う。

Read-across は、未試験物質の有害性等を同じカテゴリー内に属する有害性等が既知の類縁物質(分子構造、物理化学的性状が類似な物質)から予測する方法で、OECD (Q)SAR Application Toolbox¹¹⁾で提唱されている予測手法である。logBCF(予測値)は、選択した類縁物質の logBCF(実測値)の平均値から算出する(予測例：8.の②参照)。有害性等が既知の類縁物質がない場合には、Read-across による予測を行うことができない。

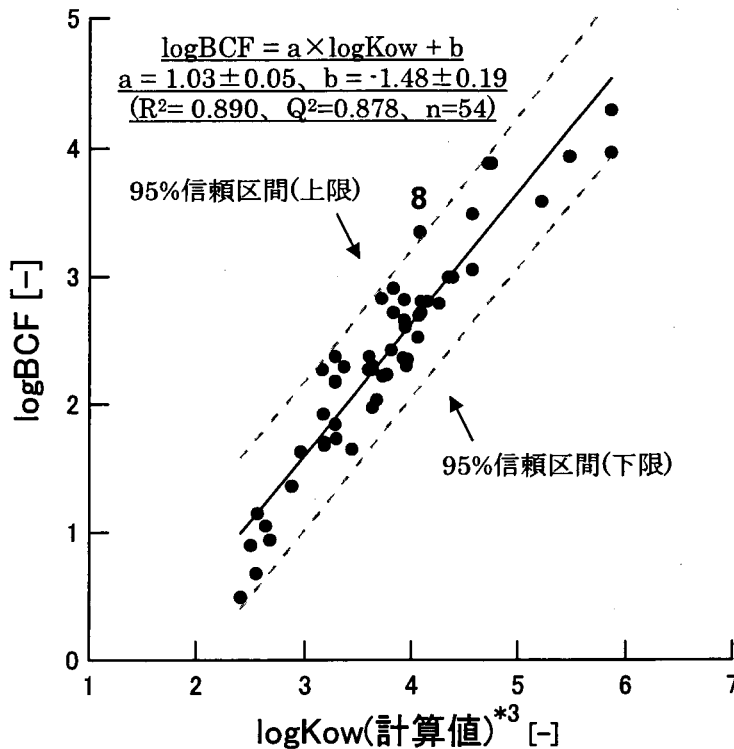


Fig.2 logKow(計算値) vs. logBCF(実測値)プロット(54 物質)

Table1 logKow(計算値)^{*3}とlogBCF(予測値)と95%信頼区間の上限値または下限値

logKow (計算値) [-]	logBCF (予測値) [-]	logBCF 95%信頼区間 (上限値)	logBCF 95%信頼区間 (下限値)
2.0	0.58	1.18	-0.02
2.5	1.10	1.68	0.51
3.0	1.61	2.19	1.03
3.5	2.13	2.70	1.55
4.0	2.64	3.21	2.07
4.5	3.16	3.73	2.58
5.0	3.67	4.26	3.08
5.5	4.19	4.78	3.59
6.0	4.70	5.32	4.08

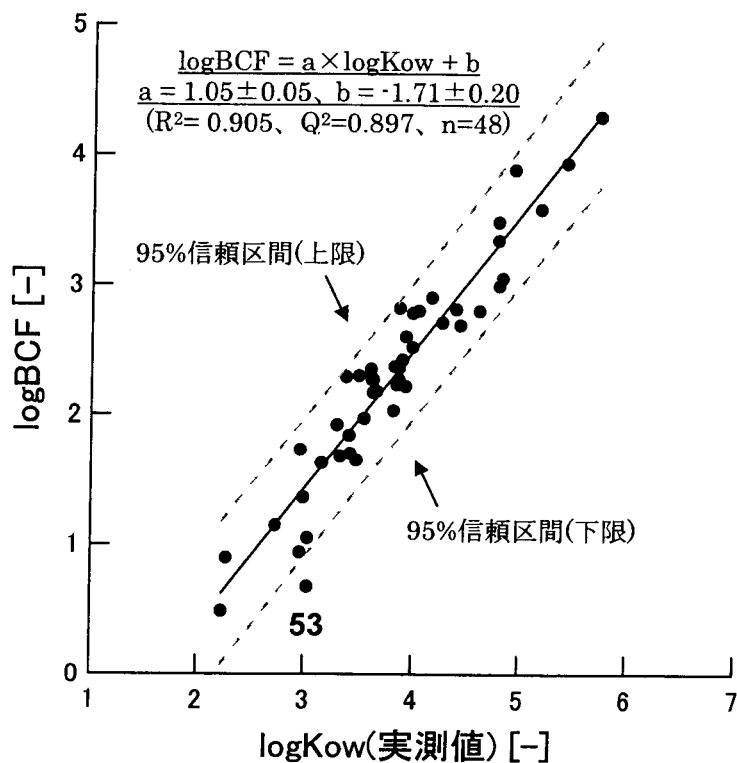


Fig.3 logKow(実測値) vs. logBCF(実測値)プロット(48 物質)

Table2 logKow(計算値)^{*3}とlogBCF(予測値)と95%信頼区間の上限値または下限値

logKow (実測値) [-]	logBCF (予測値) [-]	logBCF 95%信頼区間 (上限値)	logBCF 95%信頼区間 (下限値)
2.0	0.39	0.96	-0.18
2.5	0.92	1.47	0.36
3.0	1.44	1.98	0.90
3.5	1.97	2.50	1.43
4.0	2.49	3.03	1.95
4.5	3.02	3.56	2.47
5.0	3.54	4.09	2.99
5.5	4.07	4.63	3.50
6.0	4.59	5.17	4.01

7. 化審法新規化学物質によるバリデーション結果

化審法新規化学物質(11.参照)の中で当カテゴリ定義に該当し、(対水溶解度)≥(試験濃度)の条件に当てはまる物質は8物質であった。式(2)から算出したlogBCFの予測値と実測値のプロットを次ページのFig.4に示す。この8物質の予測結果を評価したところ、1物質(A)を除いて良好な予測結果が得られた。予測値が大きく外れた物質Aは、ほとんどの炭素にフッ素が置換している鎖状化合物であった。この物質Aはトレーニングセットに含まれている類縁物質が少ないため、予測式による予測が大きく外れたと考えられる。また、類縁物質がないことからRead-acrossによる予測を行うことができないため、この物質は「予測できない物質」とであると判断した。

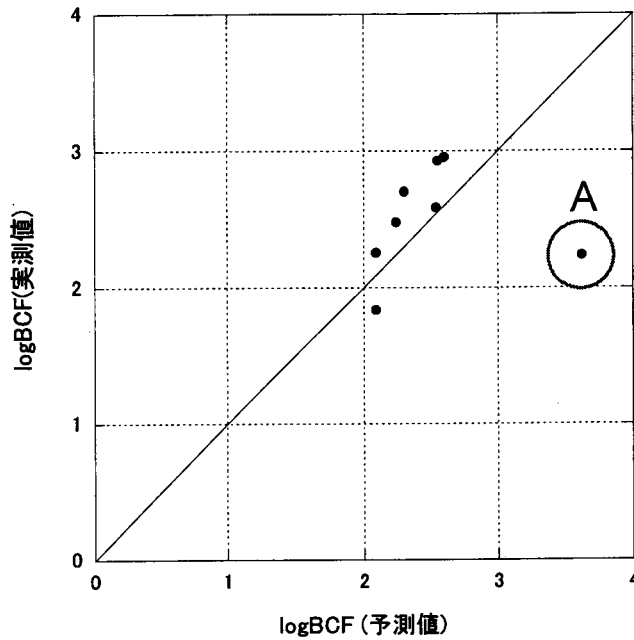


Fig.4 化審法新規化学物質によるバリデーション結果

8. 単純受動拡散カテゴリーに該当する未点検既存化学物質の生物濃縮性予測例

当カテゴリー定義に該当する未点検既存化学物質と式(2)から算出された logBCF(予測値)を別添 Table4 に示す。また、当カテゴリーに該当する未試験物質の生物濃縮性予測のケーススタディとして、o-トリフルオロメチルクロロベンゼン(別添 Table4 の No.97、以下 o-TFCB という)の予測例を示す。

① logKow(計算値)*3 と予測式(2)を用いた予測

o-TFCB の logKow(計算値)*3 は 3.60 である。この値を式(2)に代入すると、

$$\log\text{BCF}(\text{予測値}) = 1.03 \times 3.60 - 1.48 = 2.228 \dots \approx 2.23$$

logKow(計算値)=x とおくと、logBCF の 95%信頼区間は次式(3)より算出される。

$$[95\% \text{信頼限界}] = \sqrt{Ve \left\{ 1 + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{Sxx} \right\}} \times t(\text{自由度}, 0.05) \quad (3)$$

ここで、Ve (誤差分散)=0.0809、n(データ数)=54、Sxx(xの平方和)=32.024、 \bar{x} (xの平均値)=3.77 である。また t分布表より、($\alpha=0.05$ 、自由度 53、両側)のとき $t=2.006$ 、これら全ての値を式(3)に代入すると、 $x_0=3.60$ のときの[95%信頼限界]は、

$$[95\% \text{信頼限界}] = \sqrt{0.0809 \times \left\{ 1 + \frac{1}{54} + \frac{(3.60 - 3.77)^2}{32.024} \right\}} \times 2.006 = 0.576 \dots = 0.58$$

よって、予測式(2)から算出される o-TFCB の logBCF(予測値)は

$$\log\text{BCF}(\text{予測値}) = 2.23 \pm 0.58$$

②Read-across による予測

o-TFCB (logKow(計算値)^{*3}=3.60)の Read-across に用いる類縁物質は、①分子構造の類似性(基本骨格、置換基)、②物理化学的性質(logKow、分子量など)の両方の観点から選択する必要がある。そこで、トレーニングセット(87 物質)の中から、以下の条件に基づいて類縁物質の選択を行った。

1. ベンゼン 2 置換体
2. 置換基はハロゲンまたはトリフルオロメチル基
3. 類縁物質の logKow(計算値)^{*3} が[o-TFCB の値]±0.5

その結果、以下の 6 物質を o-TFCB の類縁物質として選択した(Table3)。

これらの 6 物質の logBCF の平均値を算出し、o-TFCB の logBCF(予測値)とする。

$$\log BCF(\text{予測値}) = \frac{(2.37 + 2.23 + 2.36 + 2.18 + 2.17 + 1.84)}{6} = 2.19$$

また、t 分布表より(α=0.05、自由度 5、両側)のとき t=2.571、6 物質の logBCF の標準誤差(S.E.)= 0.0787 より、logBCF(予測値)の 95%信頼限界は、

$$[95\% \text{信頼限界}] = 0.0787 \times 2.571 = 0.20$$

よって、Read-across から算出される o-TFCB の logBCF(予測値)は

$$\log BCF(\text{予測値}) = 2.19 \pm 0.20$$

Table3 o-トリフルオロメチルクロロベンゼンと選択された類縁物質(6 物質)

No.	予測対象物質	25	27	35
CAS No.	88-16-4	98-15-7	106-37-6	402-31-3
物質名	o-トリフルオロメチルクロロベンゼン	m-トリフルオロメチルクロロベンゼン	p-ジブロモベンゼン	m-キシレン ヘキサフルオリド
分子構造				
logBCF	実測値	-	2.37	2.23
	予測値 (相関式)	2.23±0.58	2.23	2.40
logKow	実測値	3.53	2.14	3.85
	KOWWIN	3.60	3.60	3.77
分子量	180.6	180.6	235.9	214.1
沸点 [°C]	152	138.1	220.4	116.0
対水溶解性 [mg/l]	<1000	33	12	28
Dmax [Å]	8.5	9.3	10.1	9.8

No.	37	38	42
CAS No.	95-50-1	541-73-1	106-46-7
物質名	o-ジクロロベンゼン	m-ジクロロベンゼン	p-ジクロロベンゼン
分子構造			
logBCF	実測値	2.18	2.17
	予測値 (相関式)	1.90	1.90
logKow	実測値	3.66	3.63
	KOWWIN	3.28	3.28
分子量	147.0	147.0	147.0
沸点 [°C]	180.5	173.0	173.0
対水溶解性 [mg/l]	100	75	49
Dmax [Å]	8.3	8.7	9.5

③o-TFCB の生物濃縮性の評価

o-TFCB の $\log BCF$ は予測式(2)、Read-across を用いた予測によって、それぞれ 2.23 ± 0.58 、 2.19 ± 0.20 と予測された。両者の値の最大値は 3 を超えないことから、この物質の生物濃縮性は「高濃縮性ではない」と判断する。

9. 既存の構造活性相関ソフトウェアと予測式(2)による予測結果との比較

トレーニングセット(87 物質)の中で、予測式の作成に用いた 54 物質の生物濃縮性を既存の構造活性相関ソフトウェア(3 モデル、11.参照)を用いて予測を行い、予測式(2)による予測結果との比較を行った。BCFWIN、Baseline モデルでは 全 54 物質が予測され、CERI モデルではフッ素化合物 4 物質(No.4,25,27,48)を除く 50 物質が予測された。予測式(2)と既存の構造活性相関ソフトウェア(3 モデル)の $\log BCF$ の予測値と実測値のプロットを Fig.5-8 に示す。Fig における R^2 、S.D.はそれぞれ予測値と実測値間の決定係数、標準偏差の値である。

BCFWIN では、全 54 物質に対して予測式($\log BCF = 0.77 \log Kow - 0.70$)を用いて、CERI モデルではフッ素化合物以外の 50 物質に対して予測式($\log BCF = 0.76 \log Kow - 0.76$ または $\log BCF = 0.76 \log Kow - 1.76$)を用いた予測が行われた。この 2 モデルでは、「単純受動拡散カテゴリー」以外の生物濃縮の挙動が異なる物質も含めたトレーニングセットから予測式が作成されている。そのため、これらの予測式の傾きは当カテゴリーの予測式(2)よりも小さく、このことが原因で $\log Kow \geq 2$ の物質では予測値よりも実測値の方が高い傾向にあったと考えられる。その一方で、当カテゴリーの予測式(2) ($\log BCF = 1.03 \log Kow - 1.48$)を用いた予測では、 $\log BCF \geq 2$ の物質においても比較的良好的な結果が得られた。

Baseline モデルでは、他の 2 つのモデルよりも予測精度が悪い傾向が得られた。このモデルは、いくつかの物質において生体内における代謝の影響を考慮した予測を行う。この代謝の予測には、ラットの代謝データが用いられているが、魚類の代謝とは反応または反応速度に種差があることが予想される。この代謝影響の過大評価によって、予測精度が低下したと考えられる。

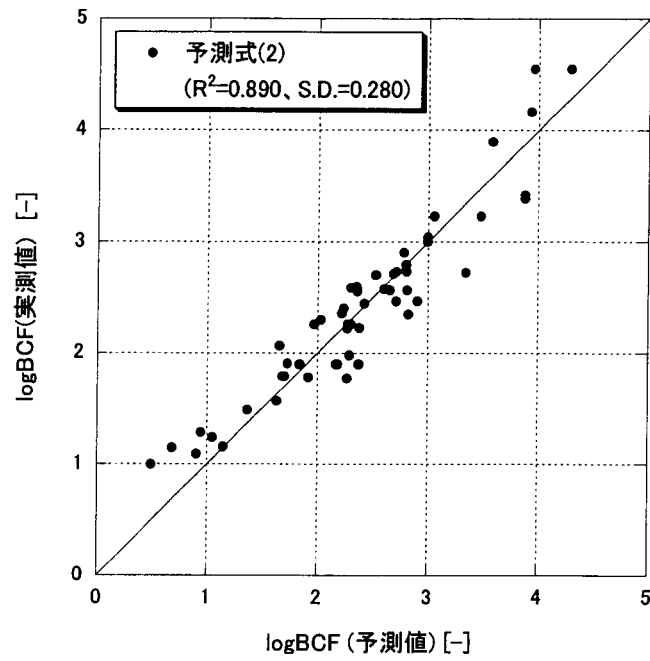


Fig.5 予測式(2)による予測結果(54 物質)

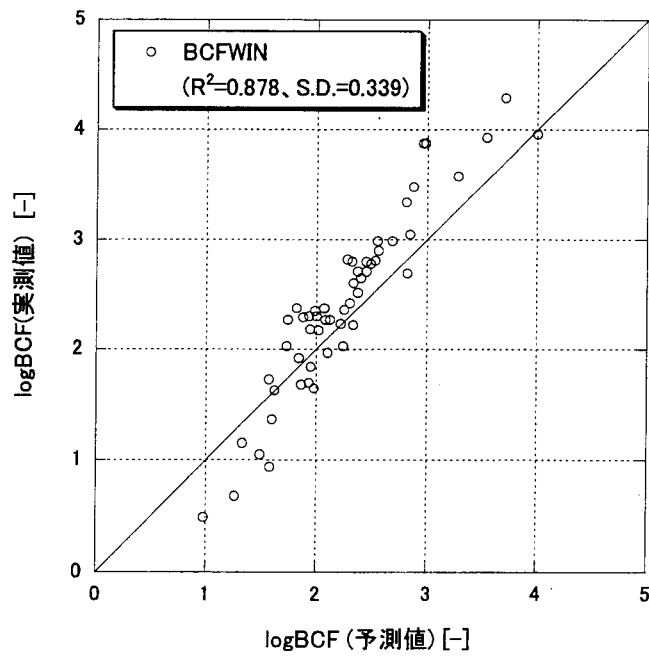


Fig.6 BCFWIN による予測結果(54 物質)

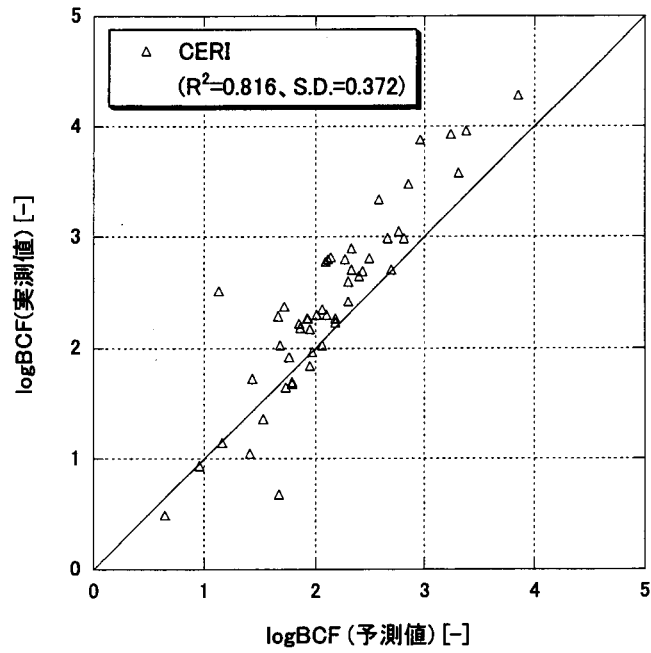


Fig.7 CER1 モデルによる予測結果(50 物質)

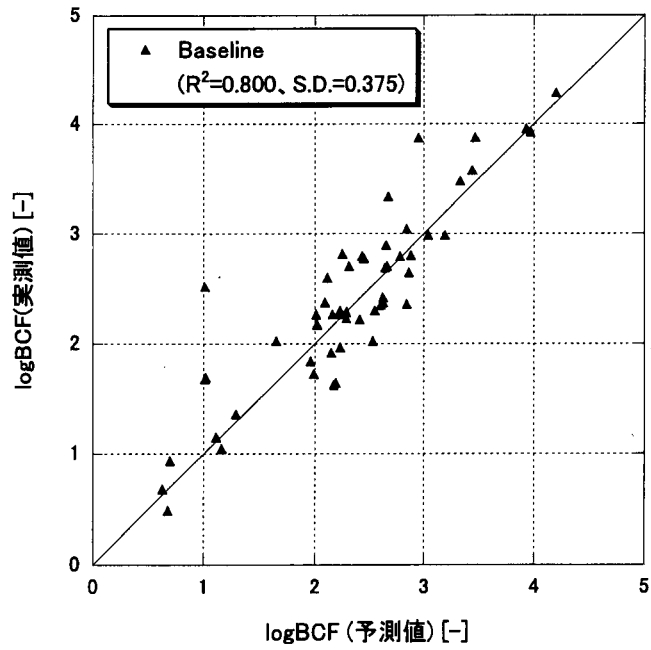


Fig.8 Baseline モデルによる予測結果(54 物質)

10. 単純受動拡散カテゴリー該当物質の記述子を用いた式による生物濃縮予測の論文報告例

単純受動拡散カテゴリー該当物質の記述子を用いた式による生物濃縮性予測では、対象物質として芳香族炭化水素、クロロベンゼン類、予測に用いる記述子として logKow(計算値または実測値)、無機性値(Σi)、有機性値(Σo)などを用いた研究が今までに報告されている(Table4)。

Table4 QSAR 式による生物濃縮性予測の研究例

対象物質	トレーニングセット の物質数	記述子	予測式	参考文献
芳香族炭化水素	17	logKow	$\log BCF = 0.714 \log Kow - 0.920$	12
クロロベンゼン類	6	logKow	$\log BCF = 3.411 \log Kow - 0.264(\log Kow)^2 - 5.513$	13
クロロベンゼン類	6	Σi Σo	$\log BCF = -0.046 \Sigma i + 0.0256 \Sigma o$ $\log BCF = 71.5 \Sigma i / \Sigma o - 9.25$	14

11. 解析に使用したデータおよびソフトウェア

(1) 本報告書で用いた物質および濃縮度試験データ

1. データセット:

化審法既存点検による濃縮度試験結果が公表されている全 783 物質(平成 20 年 8 月 12 日まで)²⁾の中で、以下の条件を満たす 373 物質を解析データに使用した。

- 1) 有機低分子量かつ濃縮度試験が化合物単体で行われているもの (662 物質)
- 2) 対水溶解度が明確に測定されており、対水溶解度より低い濃度で濃縮度試験がなされたもの (417 物質)
- 3) 測定濃度が検出限界以下でなく、BCF 値が明確に測定されているもの(各物質の BCF 値には、最低濃度区の後半 3 週における魚 2 匹 (6 点) の濃縮倍率の平均値を使用した。測定結果に「検出限界以下」の記述がある場合には、その上の濃度区のデータを解析に用いた)

2. バリデーションセット:

昭和 50 年度から平成 19 年度までに届け出られた化審法新規化学物質の中で、以下の条件を満たす 906 物質の濃縮度試験結果をバリデーションに使用した。

- 1) 有機低分子量かつ濃縮度試験が化合物単体で行われているもの
- 2) 測定濃度が検出限界以下でなく、BCF 値が明確に測定されているもの(各物質の BCF 値には、最低濃度区の後半 3 週における魚 2 匹 (6 点) の濃縮倍率の平均値を使用した。測定結果に「検出限界以下」の記述がある場合には、その上の濃度区のデータを解析に用いた)

3. 予測例に用いた未点検の化審法既存化学物質

濃縮度試験が未実施の第 2 類から第 5 類に属する化審法既存物質で、平成 13 年度実績における年間の製造・輸入量¹⁵⁾の合計が 10t 以上確認されたもののうち、化学構造が特定可能な物質を用いた。

(3) 本報告書で利用したソフトウェア

*1 logKow(計算値)の算出:

KOWWIN ver.1.67 (US EPA)

*2 分子の安定構造における最大直径(Dmax)の算出:

Database Manager 4.3 ver.1.3 (Laboratory of Mathematical Chemistry)

計算条件: Conversion mode: Automated OASIS

Conformer generation: Rapid

Calculation method: AM1

*3 データ解析およびグラフ描画

Igor Pro ver.5.05 (Wave Metrics)

Kaleida Ver.3.6 (Synergy Software)

OECD (Q)SAR Application Toolbox ver1.0(Laboratory of Mathematical Chemistry)

*4 構造活性相関ソフトウェア

BCFWIN ver.2.15 (US EPA)

化学物質特性予測システム ver.2.18[CERI モデル] ((財)化学物質評価研究機構)

Catabol ver.5.100[Baseline モデル] (Laboratory of Mathematical Chemistry)

12. 参考文献

1) OECD 原則に基づく構造活性相関モデルのバリデーション

BIOWIN5: http://www.safe.nite.go.jp/kasinn/qsar/qsar_pdf/biowin5.pdf

生分解性予測システム: http://www.safe.nite.go.jp/kasinn/qsar/qsar_pdf/ceri.pdf

Catabol: http://www.safe.nite.go.jp/kasinn/qsar/qsar_pdf/catabol.pdf

2) <http://www.safe.nite.go.jp/japan/db.html>

3) WL. Hayton, *Environmental Toxicology and Chemistry*, **9**(2), 151-157(1990).

4) J. Isaia, *The Journal of Physiology*, **326**(1), 297-307(1982).

5) 構造活性相関懇話会編, 薬物の構造活性相関 ドラッグデザインと作用機作研究への指針, 南江堂, 365-371(1979).

6) 加藤 隆一, 臨床薬物動態学 改訂第3版, 南江堂, 5-8(2003).

7) M. CRAIG BARBER, *Environmental Toxicology and Chemistry*, **22**(9), 1963-1992 (2003).

8) 若林 明子, 化学物質と生態毒性 改訂版, 丸善, 193-196(2003).

9) J.N. Israelachvili, 分子間力と表面力 第2版, 朝倉書店, 393-400(1996).

10) W. Mabey, *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, **7**, 383-415(1978).

11) http://www.oecd.org/document/54/0,3343,en_2649_34379_42923638_1_1_1_1.00.html

12) Ogata M., *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **33**, 561-567 (1984).

13) Konemann H., *Chemosphere*, **9**, 3-19 (1980).

14) Matsuo M., *Chemosphere*, **9**, 409-413 (1980).

15) http://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/kasinhou/a9/2.htm