

# 化学物質と生態毒性

— QSARを中心に —

稲村 江里

## 1 はじめに

日常生活の中には、半導体産業としてのエレクトロニクス、ファインセラミックスなどの新素材、遺伝子組み換えによる医薬品開発などのバイオテクノロジーといった先端産業のみならず、従来の鉄鋼、自動車、食品など多くの産業から、多種多様な化学物質が入り込んできている。オゾン層破壊の原因物質とされるフロンガスも、冷蔵庫やクーラーに用いられ、我々の生活に密接に関連している。これらの化学物質は、生活に便利な反面、生産、流通、使用、廃棄の過程で環境中に放出され、ヒトや生態系に悪影響を及ぼしたり、そのものが二次汚染物質に変化し、それもまた影響を与える可能性を否定できない。しかし、その汚染の実態は、必ずしも明かとはなっていない。

また、農薬のような化学物質は意図的に、ダイオキシンのような副生物は非意図的に放出され、環境中に存在している。そのように、環境中に放出された、自然界では生成されない人工的な化学物質の種類は、年々増加する一方である。それらの化学物質全ての環境に対する影響は、調査され始めてはいるが、大部分はまだよく知られてはおらず、環境汚染や生態影響の部分で、化学物質の生態系、特に現在食物連鎖の頂点にある人体に対する影響が、大いに心配されている。

しかし、環境や人間の健康を脅かす、それらの膨大な人工化学物質のリスクアセスメントには、それに応じた大量の化学物質の物理化学的及び毒性学的なデータが必要である。それらのデータを得るための時間、労力、及びコストを含む実験的な能力は限られており、全ての要求を満足させることは、ほとんど不可能である。

実際には、環境汚染対策として、多くの化学物質の環境中での存在量、分解性及び生産量の点から、生物に有害であったり、蓄積性が高いと思われるものを選んで、詳細な検討を行うといった方法が取られている。

以下に、生態系に対する毒性の強さを判定し、詳細な毒性試験を行う必要のある化学物質を選ぶための、具体的な手順について示す<sup>1)</sup>。

- (1) 化学物質の物理化学性状とヒトへの暴露経路から有害性を予測する。
- (2) 構造の類似している化学物質の毒性データが利用できるときは、それを基にした構造活性相関から有害性を予測する。
- (3) 化学物質の吸収、体内分布、代謝、排泄などの体内運命を明らかにし、標的臓器を予測する。
- (4) 短期の動物実験や細胞などを用いた実験により毒性学的な検討を行う。
- (5) 毒性が強いと判断された化学物質について、中期、長期の動物実験により有害性を明らかにする。
- (6) ヒトの疫学調査や職業被曝の事例と比較する。

このように、全ての化学物質について、その有害性を実際の生物試験によって求めるのではなく、純粋な計算だけで予測する目的で、化学物質の構造特性、すなわち物理化学的性状と毒性の関係を明らかにする手段として、定量的構造活性相関（Quantitative Structure Activity Relationships : QSAR）が注目されるようになった。

QSAR解析を行うことは、個々の化学物質の構成元素や構造式といった化学的性質と、疎水性、電子分布、容積といった、より一般的な物理的性質の関連性を検討することにより、共通する性質を見つけ出して、それと有害性（広い意味では、生理活性）との関連を決めることである。

ここでは、化学物質の生態影響試験と、環境中に非常に多く存在する化学物質に対応するための手段として注目されているQSARに焦点を当ててまとめてみる。

## 2 化学物質とヒトとの関わり合い

ヒトは地球上で生活して行く上で、様々な化学物質

と関わり合っている。そのような、ヒトと化学物質との関わり合いを、ヒトを中心に模式化すると、図1のようになる<sup>2)</sup>。

図から分かるように、ヒトは、非常に多くの化学物質に囲まれて生活している。それらの化学物質の中には、日常、意図的に摂取しているものと、非意図的に摂取しているものまである。

そこで、どのような化学物質と接して生活しているのかを、ヒトが生きて行くために、最低限必要とされる飲料水、食品、及び大気について、それぞれ、具体的にみた。

## 2・1 飲料水

明治から昭和にかけての日本では、上水道の未整備からくる水系の伝染病、特に赤痢や腸チフスが流行することが多く<sup>3)</sup>、飲料水の汚染による伝染病の広がり爆発的であった。そこで、伝染病の心配をする事なく、水を安心して飲めるようにするために、過剰の塩素による塩素消毒が徹底されるようになった。

しかしながら、産業の発展や人口の増加による水道原水の汚れがひどくなってきたために、沈殿やろ過の

みの簡単な処理では、飲料水として使用できなくなってきており、原水の前塩素処理—凝沈—急速ろ過—塩素処理—供給といった処理が、一般的となってきた。原水が汚れている場合、注入する塩素の量が非常に多くなることから、このような処理によって、トリハロメタンやかび臭の原因物質が生成されることが分かった<sup>4)</sup>。特にトリハロメタンやMXをはじめとする、浄水過程で生成される低沸点有機塩素化合物は、一般毒性や発ガン性等があるといわれている<sup>5,6)</sup>。従って、このような発ガン物質が混入している飲料水をそのまま摂取し続けることは、いずれなんらかの形で障害が出てくる可能性があることを示している。いわば、ヒトが一生涯をかけて、自分自身で動物実験をし、自分達の子孫において、遺伝的な影響について確かめようとしているといっても過言ではない。そうかといって、塩素消毒をしない場合の病原微生物の汚染によるリスクも社会的にはきわめて大きい。これは、一種のジレンマである。

## 2・2 食品

食品の中には、いろいろな合成化学物質（食品添加

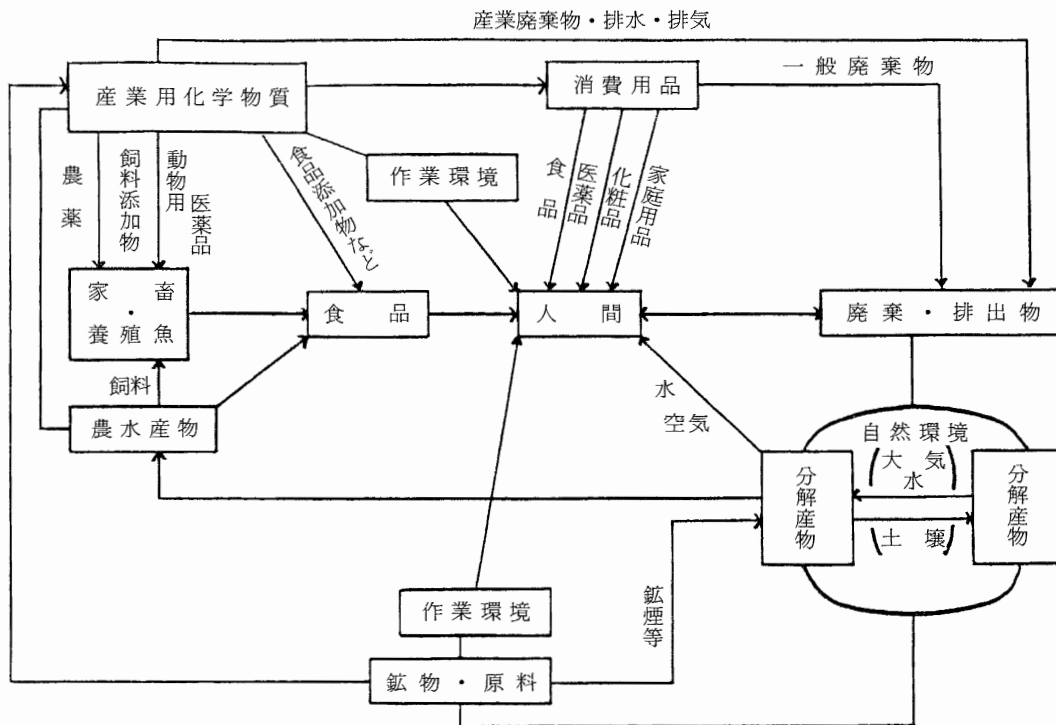


図1 人間と化学物質との接触模式図

物や残留農薬など、しかも、ある種の化学物質の場合は、生物濃縮と食物連鎖の繰り返しにより、百万倍にも濃縮された状態のものもある<sup>7-9)</sup>が入っている。

農薬は、作物の病害虫や小動物による被害や、細菌やウィルスによる病気を防ぐことにより、農業生産を安定化させるために必要なものであるだけでなく、保健衛生の面でも、マラリアやペスト等の病気を媒介する昆虫や小動物をコントロールしたり、また、白蟻による建築物の倒壊を防いだりするためにも用いられている<sup>10)</sup>。農薬の使用は、最近、ゴルフ場で大量に使用され、社会問題となってきた場合<sup>11)</sup>などを除き、毒性と有益性の両面を見つめながら行われている。

食品には、防腐剤や酸化防止剤、人口甘味料あるいは着色料など、約350もの食品添加物が現在使用されている<sup>12)</sup>。しかし、過去には、食品添加物の毒性について問題となったことも何回かある(サッカリン、AF-2、OPP、過酸化水素あるいは臭素酸カリウム等<sup>13)</sup>)、現在でも、完全に安全無害な食品添加物は、果してあるのかといった問題がある。

### 2・3 大 気

大気中にも様々な化学物質が存在している。酸性雨の原因物質として知られている二酸化硫黄や二酸化窒素、光化学オキシダント(オゾンやPANなど)はもちろんのこと、炭化水素、フッ化物やハロゲン化炭化水素など、種々の環境汚染物質が大気中に含まれている。

これらのものを我々は知らず知らずのうちに体内に取り込み、様々な健康障害を起こす可能性もある<sup>14)</sup>。

米国では、人の健康を保護するために、様々な環境化学物質に曝露されている人間に対するリスクを調査し、評価する新しいアプローチ方法〔人間の全曝露量(Total Human Exposure : THE)〕が考えられ、実践されてきている<sup>15)</sup>。

このアプローチは、二つの部分からなっている。

一つは、ある集団の人たちが、実際に食べている食品、呼吸している空気、飲んでいる水、及び皮膚に接触することによって吸収する汚染物質全部について測定し、ある汚染源がそれらの人たちに對する全汚染物質曝露量のどれくらいの割合を占めているかを調査する方法である。

そして、二つ目は、人間の生活に伴う活動パターンと、汚染物質の存在する地域や時間帯との関係を考慮して、曝露人口の分布を予測し、リスクに基づいた環境管理を行うことによって、公衆衛生上のリスクを減

らすもっとも効果的な方法を見つけることである。

## 3 QSARの歴史

Schultz<sup>16)</sup>やKonemann<sup>17)</sup>は、QSARの歴史について、彼らの報告の中で述べているので、以下に、それについて簡単にまとめる。

1869年、脂肪族アルコールの炭素数と麻酔作用の間に直接的な関係があること、1893年、アルコールとエーテルについて、水に溶け易いものほど毒性が低いこと、そして、1899年、多くの物質の麻酔活性の違いが、油-水分配係数で説明できることが示された。

20世紀半ばになると、生理活性と物質の物理化学的な特性から、QSARを述べるため種々の変数を用いた経験式が導かれるようになった。基本的な経験式は、
$$\log 1/C = K_1 \log P - K_2 (\log P)^2 + K_3 pka + K_4 Es + \dots + K_5 \dots \dots \dots (1)$$

ここで、

C : 生物影響を及ぼすのに必要な化学物質質量、LC50

P : 分配係数(通常、n-オクタノール/水分配係数)

Ka : 酸解離定数

Es : Taft の反応に及ぼす立体効果を示すパラメーター

Kn : 係数

この式のパラメーターは、必要に応じて他のものと交換できるし、さらに、新しいパラメーターも付け加えることができる。そのため、種々の改良が加えられ、より良好な式を導き出すことにより、種々の薬物や農薬、あるいは環境毒性学に適用されてきたのである。

環境毒性学の分野では、主に魚やミジンコなどの水生生物に対する環境汚染物質の生物濃縮や毒性影響について、QSAR分析が行われてきた。特に、水圏毒性学の分野では、n-オクタノール/水分配係数(Kow)が重要な指標であり、log Kowと生物影響とは密接に関連していることが示されてきた。

(1)式で示される経験的なQSARアプローチでは、同じ様な化学物質(薬物)が、生体系での薬物の輸送を決定する物理化学的因子に従って、ランダムな経路を通過して薬物受容体(作用部位)に到達し、活性となるということを前提として、QSAR式を疎水性、電子性、立体性などの項に分解している。このために、同じ様な化学構造を持つ、生理活性の同じである薬物や農薬への適用にはよいが、化学構造が非常に異なっている環境汚染物質の場合、生体内への物質の取り込み、作

用部位への輸送、あるいは作用メカニズムのどれをとっても、一つのパラメーターで完全に説明することはできない。そのため、いろいろの人たちが、様々なパラメーターを取り上げ、多くのQSAR分析を試みてきた。

米国EPAの有害物質に関する環境影響部門 (Environmental Effects Branch ; EEB)<sup>18)</sup>では、1976年に制定された有害物質取締法 (the Toxic Substances Control Act : TSCA) による、新規化学物質の市場化前の調査と毒性評価のために、1981年から、テストデータのない化学物質に対し、構造活性相関 (SARs) を使用し始めた。この場合、毒性予測には、おもに分子量 (MW) とKowが用いられており、当初は、ハザードアセスメントの毒性計算値が必要なEEBスタッフのために、使用方法をマニュアル化したものである。しかし、EPAの他の研究機関をはじめとし、企業を含む多くの試験研究機関からの問い合わせが殺到し、そのために、1987年はじめには、パーソナルコンピューターでSARsが使用できるマニュアルをつくり、欧米諸国に配布されて、多くの人々に使用されるに至っている。

しかしながら、このマニュアルでは、一つのSARsで全ての化学物質に十分に対処できないため、有機化合物の種類別に49のSARsを求めて、各々の化学物質にあったSARを選んで用いるようになっている。この場合、有機化合物は以下に示す3つの大きな範囲に分類されている。

- (1) 反応性のない、イオン化しない中性有機化合物、
- (2) 反応性に富み、麻酔作用よりも強い毒性を示す中性有機化合物、
- (3) 界面活性有機化合物、

実際には、毒性計算値は、2つのパラメーター (おもにMWとKow) を用いた、2方向からの表に示されており、目的の化合物の分子量のカラムと、log Kowのカラムが交叉するところの値が、予測毒性値ということになる。

例として、(1)の範囲にはいる中性の有機化合物 (アルコール、ケトン、脂肪族及び芳香族ハロゲン化炭化水素など) の、ミジッコに対する毒性 (48-h LC50) に関する表を示す (表1)。

表1から、MW 330, log Kow 2.8の有機化合物のミジッコに対する48-h LC50予測値は、49mg/ℓということになる。また、この表を用いることのできる化学物質は、log Kowが5.0未満であり、しかも、毒性

表1 中性有機化合物のミジッコ  
48-h LC50 予測値 (mg/ℓ)

分子量	log Kow (n-オクタノール/水分配係数)							
	...	2.5	2.6	2.7	2.8	2.9	3.0	...
...								
300		84	68	55	45	36	29.3	
310		86	70	57	46	37	30.3	
320		89	72	59	48	39	31.3	
330		92	75	60	49	40	32.2	
340		95	77	62	51	41	33.2	
...								

予測値が水溶解度を越えないものに限っている。

表1に示されているようなSARsは、有機化合物の種類別に49種に分けられ、SARs利用者は、目的の化合物の種類に応じた表を選んで、毒性の予測値を探し出す。

このように、有機化合物の種類や物理化学的性質による適用制限を設けているにも関わらず、必ずしも完全な毒性を予測できるとは限らない。従って、予測が実用的な目的で用いられているときには、予測モデルとそれらの限界を知ることが重要であると示されている。

#### 4 QSARに用いられる指標

QSAR分析には、化学物質の性質を示す様々な指標が用いられている。それらの指標は、大きく二つの範囲に分けられる。一つは、疎水性、電子性、あるいは立体性といった、物理化学的性質であり、もう一つは、分子量や位相幾何学的特性を示す、化学物質の構造から導かれる性質である。

その主なものを表2にまとめる。

非特異的な麻酔作用の毒性発現は、作用部位における化学物質が一定の濃度になったときに起こる。これは、可逆的な物理毒性であると一般に考えられている<sup>19)</sup>。細胞膜中の脂質への化学物質の蓄積性や、親油的な細胞膜に対する化学物質の膜透過性が、毒性発現に大きな影響を与える。従って、一般的に、非特異的な麻酔作用の場合、化学物質の毒性発現は、単純に生体内への移動と蓄積に依存している。そのため、その移動と蓄積を左右するn-オクタノール/水分配係数 (Kow) が、最も多く用いられ、しかも、良好な毒性予測の期待で

表2 QSARに用いられる指標

物理化学的指標	疎水性	溶解度, n-オクタノール/ 水分分配係数, HPLC保持容量
	電子性	pKa, Hammett $\delta$ 定数, 置換基の感応及び共鳴効果
	立体性等	融点, 沸点, 表面積
構造パラメーター	分子結合性指標 ( $^1X$ , $^nX^v$ など)	
	情報容量 (IC, SIC, CIC など)	

注) pKa: 酸解離定数  
Hammett  $\delta$  定数: ベンゼン誘導体の反応に対する置換基定数 (反応の種類には無関係)

きるQSAR式を導いている場合も多い<sup>17,20-24)</sup>。

Kowは、化合物の基本骨格のKow値が分かっている場合、計算することも可能であるが、ほとんどの新しい化学物質は、実際に測定する必要のあるものも多い。しかも、水に溶けにくい化合物は、エマルジョンをおこすなど、水中の化学物質濃度を正確に分析することは難しい。最近、OECDガイドラインに高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 法が取り入れられた<sup>25)</sup>が、化学物質の純度やpKaに大きく影響され、しかも振とう法に比べて精度が劣っているなどの問題点がある。そのため、化学物質の分子構造から直接計算できる指標、すなわち、分子量、分子結合性指標<sup>26)</sup>、あるいは位相幾何学的指標<sup>27)</sup>の使用例も多い。

分子結合性指標<sup>26)</sup>は、分子の大きさ、骨格の枝分かれ、環状か鎖状か、不飽和性、及び、ヘテロ原子を含有するかしないかといった、分子構造の定量的指標をさしている。これは、分子そのものの結合に関する情報をコード化したものである。指標それ自身は、Xで表されるが、左右の上付き記号と右下の記号により、指標を特定化している。すなわち、

$$^nX^v \text{ (P, C, PC, or CH)}$$

において、nは指標の次数 (0, 1, 2, ..., n), vの有無は原子価分子指標であるかないか、右下の記号は、化学物質がP (直鎖), C (枝分かれ), PC (直鎖/枝分かれ) あるいはCH (環状) のいずれであるかを示している。

最も基本的なものは、一次分子結合性指標 ( $^1X$ ) 及び一次原子価分子結合性指標 ( $^1X^v$ ) である。 $^1X$ は、結合した各々の原子 i と j の、水素以外の配位子との結合手数によって求められる結合寄与 ( $\delta$ ) の和として、 $^1X^v$ は各々の原子の結合に寄与している原子価 ( $\delta^v$ ) の和として求められる:

$$^1X = \sum (\delta_{ij})^{-1/2} \dots\dots\dots(2)$$

$$^1X^v = \sum (\delta_i^v \delta_j^v)^{-1/2} \dots\dots\dots(3)$$

二次結合性指標の場合は、連続した3つの水素以外の原子の結合対全てにわたる。さらに高次になると、分子は構造上のサブユニットによって定義され、それが、右下の記号によって示される。例えば、tert-ブタンの三次結合性指標は、(4)式によって計算される:

$$^3X_c = \sum (\delta_i \times \delta_j \times \delta_k \times \delta_l)^{-1/2} \dots\dots\dots(4)$$

また、情報理論位相幾何学的指標<sup>27)</sup>は、分子構造の類似性あるいは多様性を求める指標である。この情報理論指標は、情報容量 (IC)、構造情報容量 (SIC)、及び補足情報容量 (CIC) を含む立体パラメーターである。これらの指標は、分子中の水素原子を含む全原子について、その原子と同じ環境にある原子の出現確率を計算し、それによって、分子の占める空間を数字で表したものである。具体的な計算方法は、以下に示す通りである:

$$IC = - \sum_i P_i \log_2 P_i \dots\dots\dots(5)$$

$$SIC = IC / \log_2 n \dots\dots\dots(6)$$

$$CIC = \sum_i P_i \log_2 n_i \dots\dots\dots(7)$$

ここで、  
Pi: 同じ環境にある (隣接する原子がすべて等しい) 原子が分子内に存在する割合  
ni: 同じ環境にある原子の分子内での存在数  
n: 分子内の全原子数

このような分子の構造から直接計算できる指標をQSAR分析に用いた場合、化学物質の毒性を良好に予測でき、極めて有用であることが証明されてきた<sup>28-30)</sup>。

他方、QSAR分析で、例外をなるべく少なくして毒性を予測するために、化学物質の性質を相関式の中に多く盛り込むことによって、種々の指標を組み合わせた多重回帰分析も行われている<sup>31-33)</sup>。これらは、化学物質の性質をいろいろな角度から説明し、それによって、毒性発現メカニズムの違いによる相関式からのずれを防ぐことを目的としたものと思われるが、そういった試みにより、相関係数の大きな改善がみられる。

## 5 QSARの適用

QSARとは、化学物質の活性 (この場合は毒性) の強さと、化学物質のいろいろな指標との間の数学的な相関関係の事である。指標は、化学物質の化学的あるいは物理的な特性であり、実験的に求められたり、化学構造から導かれたりする。

具体的には、以下に示す手順にしたがってQSAR法

を適用する<sup>34)</sup>。

- (1) 幅広い範囲にわたる物理化学的性質と生物活性(毒性)に関する詳細なデータのある、構造の類似した化学物質をいくつか選び、それをトレーニングセットする。
- (2) 分子指標(物理化学的指標と生物活性)に関する信頼できる正確なデータを抽出する。
- (3) データを統計的に解析し、QSARモデルを作成する。
- (4) 統計的な解析を基に、生物活性と分子指標の組合せによるモデル式を導く。
- (5) 適切なテストセットにより、モデルの正確度と適用限界を把握する。
- (6) 実際の化合物に適用する。

ここで用いられるトレーニングセットの選択は、有効なQSAR分析を行うために重要であり、信頼できる正確な分子特性データと生物活性データは、希望するQSARモデルの誘導に、重大な役割を果たしている。また、導かれたQSARモデルの適用範囲を、トレーニングセットに用いられた化学物質だけでなく、より広範なものとするために、いろいろな化合物からなるテストセットによって、相関関係のテストや確認を行う。非常に多くのサンプルや実験条件の違いによるデータをモデルに適用して、モデルの適用範囲や限界を決定する。そして、その後毒性の分からない化学物質に、QSARモデルを適用する。

言い換えると、毒性データのある化学物質間の毒性強度と指標の間の数学的な相関式を求め、その式にしたがって、毒性の強さが分からない化学物質の毒性強度を予測するということである。

しかしながら、そのような手法によって、化学物質の物理的あるいは化学的特性から、その毒性を推定するためには、どのような毒性か、毒作用発現メカニズムが同じであるか、目的の化学物質と、構造あるいは物理化学的性質が共通している化合物群があるかといったことを理解した上で、どんなパラメーターを用いるとよいのかといった検討を行わなければならない。また、化学物質はターゲットとなる組織に運ばれ、その組織と化学物質との相互作用によって毒性を発現すると考えられる。化学物質の輸送に反映する指標(例えば、Kow)と、組織との相互作用に関する指標(例えば、化合物分子の電子状態や立体的な形状)は、異なっている。

## 5・1 生態影響試験に用いられる生物

環境中に存在する種々の化学物質の毒性を迅速に把握することは必要であり、そのための毒性試験(生態影響試験)方法と、指標生物を選ぶことは非常に重要である。また、毒性試験は、より単純な試験から、より複雑な試験へと段階的に実施される。従って、最初に実施すべき試験方法と指標生物の組合せは、化学物質の毒性を幅広く代表し得るものでなければならない。そこで、最小限のデータ数から、最大限の情報を得るといった目的のために、生物種間の化学物質に対する反応の類似性や違いを知ることが大切である。

Kenega<sup>35)</sup>は、8種類の動物(ラット、マガモ、ウズラ、ニジマス、シマボラ、ミジンコ、小エビ及びミツバチ)に対する、75種の農薬の急性毒性データを文献から抽出し、生物種間の毒性の強さについての関係を調べた。その結果、動物の種類によって化合物各々の毒性に対する感受性が異なり、例えば、ある種の化合物はラットに強い毒性を示すが、ミツバチには毒性を示さないことが分かった。そして、化学物質の違いによる、分類上異なる動物に対する幅広い毒性マップをつくるためには、化学物質と毒性発現にオーバーラップの少ないラットLD50、ニジマスLC50、ミジンコLC50、小エビLC50及びミツバチLD50を選ぶと良いと結論づけた。その中でも、感受性、容易さ、コストなどの面から、ラットLD50、魚LC50、ミジンコLC50の3種で最初のスクリーニングを行い、環境汚染の度合に応じて、小エビ(海水中での曝露)とミツバチ(農作物曝露)を、第2段目の急性毒性試験として追加すると良いと述べている。

さらに、KenegaとMoolenaar<sup>36)</sup>は、食物連鎖などの関連から、植物も水圏環境の生態学には重要であるとして、水生植物と、水生動物の中のミジンコや魚との、毒性に関する感受性の違いを比較した。その結果、動物の方が、植物よりも、一般的に急性毒性についての感受性が高いことが分かり、ミジンコや魚の毒性データを基にして水質規制などを行うことによって、水生植物を保護することが可能であることが分かった。

この他にも、効率よく生態影響試験を行うための試験生物を選択するために、種々の生物を用いた検討が行われている。

例えば、BringmannとKurn<sup>37)</sup>は、生物学的自浄作用に関連している3種の微生物(細菌、緑藻及び原生動物)を用いて、化学物質の有害性を調査すると共に、汚濁物質の自浄作用に及ぼす影響についても検討

した。

また、Doherty<sup>38)</sup>は、4種類の標準テスト種（ニジマス、ブルーギル、ミノウ及びミジンコ）のLC50値を比較し、幅広い化合物において、4種の生物間の良好な直線関係を得た（相関係数は概ね0.9以上）。そして、化合物の有害性をスクリーニングするためには、取扱が容易で低コストのミジンコが最も良いであろうと結論づけている。

吉岡ら<sup>39)</sup>は、水生動物と水生植物による生態影響試験を比較し、KenegaとMoolenaar<sup>36)</sup>と同じ結果を得た。また、彼らは、水生植物は水生動物に比較して感度は低いが、種間の相関も低いので、生態毒性影響評価に、動物による試験の他に、水生植物試験を取り入れることにより、化学物質の毒性発現の機序の差や、相対的な程度を知ることができるはずであると述べている。

最近、Schultzら<sup>19)</sup>は、非極性化学物質の麻酔作用について検討するために、原生動物（テトラヒメナ）、魚（ミノウ）及び細菌（光バクテリア）に対する、C<sub>1</sub>からC<sub>13</sub>の脂肪族アルコールとケトン類（11種）の相対的な毒性を比較した。3種の生物に対するそれらの化合物の毒性は、Kowで良好に予測され、また、種間の毒性強度比較も、相関係数がいずれも0.98以上で定量的に一致した。

OECDのテストガイドライン<sup>40)</sup>では、生態毒性試験に用いる生物として、水生生物からは、藻類（クロレラなど）、ミジンコ及び魚（グッピー等）が、陸生生物からは鳥類（マガモ等）と植物（穀類、野菜類及び豆類）が、土壌生物としてミミズが選定されている。これは、生態系の機能と構造を、自然のサイクルの一部分として、エネルギーや栄養塩類の移動を含めた、栄養レベルの関係を適切に維持するといった観点、及び、環境媒体の相対的重要性からのものである。さらに、活性汚泥呼吸抑制試験も行われている。

生体毒性試験は、段階的に順番に行うものであり、最も基本的な生物試験としては、この中でも、藻類の生長抑制試験、ミジンコの急性影響試験と14日間の繁殖試験、及び魚の急性試験をあげている。

以上に示したように、毒性テストを行うときに、試験生物をどの様に選択するかといったことは、非常に重要なことであり、どの生物を用いて毒性テストを行ったかによっては、最終目的である人に対する毒性を、全く予測できないといったこともあり得るのである。

## 5・2 水生生物を用いた毒性試験とQSAR

毒性試験は、これまで、おもに水生生物を用いて行われることが多かった。これは、藻類→水中の栄養レベルの異なる動物→陸生動物→人間という食物連鎖の最初の段階を調べることによって、汚染の危険性をすばやく知るといった意図がある。また、環境中に放出された汚染物質は、種々の媒体を通して、大気、水及び土壌（あるいは底泥）中を移動し（図2）<sup>41)</sup>、その中に棲息している生物に影響を与える。中でも水環境は、大気環境とは違い、コンパートメントが小さく、拡散や化学反応が起こりにくい。そのため、水中の化学物質濃度が高いレベルに維持され易く、水生生物への影響は、大気と接することで曝露されている陸生生物よりも大きい。

これまでに観察されてきた、水生生物に対する化学物質の毒性発現モードには、次の3つがある。

- (1) 非極性麻酔作用 (type I),
- (2) 極性麻酔作用 (type II), 及び,
- (3) 酸化的リン酸化（呼吸）のアンカップリング。

麻酔作用は、原則的には、全ての有機化合物によって引き起こされるもので、生体がある化学物質に曝露されたときに起こる可逆的な細胞活性の低下をさしている。

非極性麻酔作用は、全ての生物で起こるもっとも一般的な生理作用であり、最低限の毒性である。それは、作用部位での化学物質濃度が一定レベルに達したときに起こる物理的な毒性である。

極性有機化合物による麻酔作用は、非極性のものに比べ、やや強い毒性を示す。それは、化合物の極性基が作用部位で化学的に反応するためであろうと予測されている。

毒性を発現させる化合物としては、(1)では、炭化水素などの反応性に乏しい非極性有機化合物、(2)では、フェノール類やアエリン類などの極性の大きな工業化

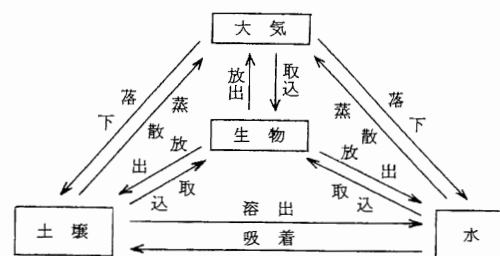


図2 環境中での化学物質の移動

学物質、そして、(3)では、2,4-ジニトロフェノール類が分類される。

現在、環境中に存在している多くの化学物質の毒性モードは、ほとんどの場合、非極性麻酔作用であり、多くの人たちが行っているQSAR分析も、その麻酔作用に焦点を当てたものが多い。

現在までに行われてきた種々のQSAR分析について、そのいくつかを紹介する。

Konemann<sup>17)</sup>は、アルコール、ケトン、塩素化アルキル、塩素化芳香族化合物を含む50種類の環境汚染物質について、グッピーに対する14d-LC50を実験的に求めた値と、各々の化学物質の物理化学的指標 (log Kow, 水溶解度, HPLCの保持容量及び分子結合性指標) との間の相関をとった。そして、非極性麻酔作用を持つ化学物質の毒性の強さは、log Kowを用いたQSAR式で最も良好に予測することができることを示した：

$$\log 1/LC50 = 0.871 \log Kow - 4.87 \dots\dots(8)$$

(n = 50 ; r = 0.988)

また、Veithら<sup>20)</sup>は、ミノウに対するアルコール、塩素化アルキル、及びベンゼン類など65種の工業化学物質の急性毒性 (96-h LC50) と、Kowとの間でQSAR分析を行い、以下に示すモデル式を得た。

$$\log LC50 = -0.94 \log Kow + 0.94 (0.000068 Kow + 1) - 1.25 \dots\dots(9)$$

(n = 60 ; r = 0.942)

これらの化合物の毒性発現メカニズムは、非特異的な可逆的麻酔作用である。しかし、2-クロロエタノールは酵素インヒビターとして作用する2-クロロ酢酸に変化するため、ミノウに対する毒性は、予測LC50の1000 mg/Lに対し、実測LC50は37mg/Lである。すなわち、一つの官能基がアルコールやカルボニルに隣接している場合は、その代謝が非常に早く、しかも、毒性の強い化合物を生成する可能性があることを示している。この場合、毒性の実測値は予測値よりも非常に高くなっている。

Calamariら<sup>21)</sup>は、4種の水生生物 (藻, ミジンコ, サケ, コイ) に対するクロロベンゼン類の毒性と各化合物のKowとの間でQSAR分析を行った。そして、栄養レベルの異なる水生生物では毒性強度の順番が異なり、各々の生物種間の相関もないことを観察した。

種別に求めたモデル式は、以下に示すように、良好な相関係数を持つので、Calamariら<sup>21)</sup>は、毒性試験

を行う場合は、栄養レベルの異なる水生生物の中から数種選んで行くと、幅広い毒性マップ制作に役立つとしている。

(1) 藻

生長抑制

$$\log 1/96\text{-h EC50} = 0.92 \log Kow - 1.4 \dots\dots(10)$$

(n = 5 ; r = 0.97)

光合成抑制

$$\log 1/3\text{-h EC50} = 0.99 \log Kow - 1.8 \dots\dots(11)$$

(n = 6 ; r = 0.997)

(2) ミジンコ

急性毒性 (遊泳阻害)

$$\log 1/24\text{-h IC50} = 0.78 \log Kow - 0.7 \dots\dots(12)$$

(n = 5 ; r = 0.889)

繁殖試験

$$\log 1/14\text{-d EC50} = 0.73 \log Kow - 0.04 \dots\dots(13)$$

(n = 6 ; r = 0.980)

(3) 魚急性毒性

サケ

$$\log 1/48\text{-h LC50} = 0.66 \log Kow - 0.2 \dots\dots(14)$$

(n = 5 ; r = 0.914)

コイ

$$\log 1/48\text{-h LC50} = 0.51 \log Kow - 0.2 \dots\dots(15)$$

(n = 5 ; r = 0.925)

また、Sabljić<sup>28)</sup>は、ミノウに対する21種の塩素化合物の毒性について、毒性テストの終点 [ 72-h LC50, 96-h LC50 及び最大無作用濃度 (NOEC) ] を変えて測定し、その毒性の強さと0次の分子結合性指標<sup>0</sup>X との間のQSAR分析を行い、3種とも良好なモデル式を導いた。

$$\log 1/NOEC = 0.52 \text{ }^0X - 1.75 \dots\dots(16)$$

(n = 19 ; r = 0.94)

$$\log 1/96\text{-h LC50} = 0.50 \text{ }^0X - 1.90 \dots\dots(17)$$

(n = 19 ; r = 0.92)

$$\log 1/72\text{-h LC50} = 0.51 \text{ }^0X - 1.98 \dots\dots(18)$$

(n = 16 ; r = 0.93)

YoshioKaら<sup>29)</sup>は、原生動物 (テトラヒメナ) に対するアニリン、クロロフェノールを含む34の化学物質の生長抑制影響濃度 (24-h EC50) と、種々の分子指標 (Kow, MW, 有機・無機特性、及び分子結合性指標) との間のQSARを検討した。そして、最も相関係数の高いものとして、以下に示すモデル式を導いた。

パラメーターが一つの場合：

$$\log EC50 = -1.964 (MW/100) + 5.380 \dots\dots(19)$$



(n = 34; r = -0.821)

パラメーターが二つの場合：

$$\log EC50 = -1.105 (MW/100) - 0.638 \text{ }^3\text{X}^{\text{v}}\text{p} + 4.990 \dots\dots\dots(20)$$

(n = 34; r = 0.886)

また、環境中に放出される人工化学物質は、共通の構造因子を持っていないし、毒性発現メカニズムも同一ではない。従って、非特異的な毒性を評価するためには、生体内への化学物質の取り込み、すなわち、膜透過性に関連した指標が重要となる。さらに、偶然の相関を避けるために、非常に多くの物質によるQSAR分析が必要となる。そこで、Yoshiokaら<sup>30)</sup>は、123種類の化合物で検討を行った。その結果、分子結合性指標がタップミノウの48-h LC50と最も良い相関を示した。

$$\log LC50 = 3.534 - 0.452 \text{ }^3\text{X}^{\text{p}} \dots\dots\dots(21)$$

(n = 123; r = -0.829)

また、Vighi と Calamari<sup>31)</sup>は、ミジンコに対する各種化合物の毒性とKow, 分子結合性指標及び情報容量との間のQSAR分析を行い、それらのパラメーターを用いた、以下に示す良好なモデル式を導いた。

(7) アミン, クロロベンゼン及び有機スズ化合物など,

$$\log 1/EC50 = 0.59 \log Kow + 0.26 \text{ }^1\text{X}^{\text{v}} - 1.13 \text{ CIC} + 1.64 \dots\dots\dots(22)$$

(n = 23; r = 0.907)

(4) 炭化水素, 除草剤及び塩素系殺虫剤など,

$$\log 1/EC50 = 0.87 \log Kow + 0.19 \text{ }^1\text{X}^{\text{v}} - 0.37 \text{ CIC} - 0.68 \dots\dots\dots(23)$$

(n = 51; r = 0.865)

(22), (23)式は、比較的log Kow値が低く、しかも毒性レベルの高い“生物活性の高い”グループには適用できないが、非特異的な麻酔作用の場合は、1桁の誤差範囲内で、毒性の強さを予測することができるとしている。

これまでに述べた例は、いずれも、非特異的な麻酔作用を持つ化学物質を対象としたものである。

他方、Zitkoら<sup>22)</sup>は、酸化的リン酸化のアンカップラーとして知られている、2,4-ジニトロフェノールとそのアルキル誘導体の合わせて6種類について、太平洋系サケの若魚に対する96-h致死閾値(C)を測定し、サケに対する毒性とKowとの間のQSAR分析を行った。そして、以下に示す、非常に高い相関を持つモデル式を導いた。

$$\log C = -0.309 \log Kow - 2.31 \dots\dots\dots(24)$$

(n = 6; r = 0.991)

この式は、アルキルジニトロフェノール類もまた、ジニトロフェノールと同じメカニズムで作用していることを示している。

この作用メカニズムは、動物種それぞれに特異的であるために、種が異なると感受性が非常に異なっている。例えば、ロボスターの幼生に対する2-sec-ブチル-4, 6-ジニトロフェノール(dinoseb)の致死閾値は、0.0075mg/Lであるが、ザリガニは、10mg/Lの溶液中で、144時間、影響がなかった。

その他の例については、表3に示す。

## 6 QSARの必要性

環境汚染物質の毒性の強さと、その物理化学的性質との間のQSAR分析に関しては、これまで多くの総説<sup>42-44)</sup>や成書<sup>18,34,45,46)</sup>が出されている。

特に、Kaiser<sup>45)</sup>によって編集された、環境毒性学におけるQSARの成書は、1980年代はじめまでの環境毒性学の中に占めるQSARの位置について、いろいろな研究者達が、それぞれ、異なった様々な考え方を持っていたことを如実に示している。

しかし、米国EPAによるSARsのマニュアル化<sup>18)</sup>にも観られるように、QSARは、もはや、不完全ながらも、環境毒性学の中に大きな位置を占めるに到っていることは、疑いのない事実である。

有機化合物の毒性は、ほとんどの場合麻酔作用である。そのため、これまででは、このような非特異的な毒性についてのQSAR研究が多かった。その中で、予測された毒性と実測値が大きくずれるものが観察され、化学物質の種類によっては、毒性発現モードが異なることが明らかになった。特に、酵素系や代謝経路に直接作用する物質は、ある生物種に対しては非常に毒性が強いが、別の生物種に対しては、毒性が観察されない場合もあった。

Hutzinger<sup>46)</sup>やBlumら<sup>47)</sup>は、化学物質を反応性に乏しいものと反応性に富んだものに大きく分類し、別々にQSAR分析を行っている。

また、米国EPAのSARsマニュアル<sup>18)</sup>では、有機物の種類別に49のQSAR式を設けている。

他方、Yoshiokaら<sup>30)</sup>は、一つのQSAR式で全ての化合物の毒性予測を試みている。すなわち、化学物質を細胞膜を通して生体内に取り込むことが毒性発現の第一条件であり、その膜透過性こそが、構造や作用

表3 種々のQSAR研究

テスト生物と終点	化合物の種類	文献
ミジンコ 48-h LC50	14種のフェノール化合物 $\log 1/LC50 = 0.500 \pi + 0.453 F + 0.637 R + 3.731$ (n=14; r=0.978)	54
小エビ 96-h LT50	23種のフェノール化合物と10種のアニリン誘導体 $\log 1/LT50 = 0.48 \log Kow + 0.54 (DpH) + 2.93$ (n=33; r=0.960)	55
オオノガイ 48-h LT50	8種のフェノール化合物 $\log 1/LT50 = 0.62 \log Kow + 0.79 (DpH) + 1.43$ (n=8; r=0.972)	55
ニシマス 96-h LC50	5種の脂肪族アミン類 $pKa = -0.1788 (LC50) + 11.315$ (n=5; r=-0.947)	56
テトラヒメナ (生長抑制)	26種の含窒素ヘテロ環化合物 $\log 60-h IGC50 = 0.4446 \log Kow + 0.3866 {}^1X^v + 2.0282$ (n=26; r=0.968)	32
ミジンコ 48-h LC50	33種の種々の有機化合物 $\log LC50 = 0.597 \log CL - 0.086$ (n=33, r=0.900)	57
ミノウ 96-h LC50	15種のエステル類 $\log 1/LC50 = -0.7207 {}^1X^v - 1.3868$ (n=15; r=0.938) $\log 1/LC50 = -0.1590 \log Kow - 0.5395 {}^1X^v - 1.6527$ (n=15; r=0.947) $\log 1/LC50 = -0.2111 \log Kow - 0.4468 {}^1X^v - 0.4113 CIC - 1.0464$ (n=15; r=0.980)	33
ミジンコ 24-h EC50 (影響濃度)	R <sub>4</sub> Snを除く12種の有機スズ化合物 $\log 1/EC50 = 0.749 {}^1X^v - 5.63$ (n=12; r=0.925) $\log 1/EC50 = 0.412 \log Kow + 0.523 pKa + 0.099$ (n=12; r=0.979) $\log 1/EC50 = 0.207 \log Kow + 0.513 pKa + 0.206 {}^1X - 0.824$ (n=12; r=0.989)	58
ミジンコ 24-h EC50	R <sub>4</sub> Snのみ3種の有機スズ化合物 $\log 1/EC50 = 0.304 \log Kow + 1.42$ (n=3; r=0.963)	58
ミジンコ 24-h EC50	8種のクロロフェノール類 $\log 1/EC50 = 0.567 \log Kow - 0.291$ (n=8, r=0.955)	23
ヒメダカ 96-h LC50	15種のクロロフェノール類 $\log 1/LC50 = 0.658 \log Kow - 0.389$ (n=15; r=0.974)	24
ヒメダカ 15-d EC50 (孵化阻害)	12種のクロロフェノール類 $\log 1/EC50 = 0.528 \log Kow + 0.145$ (n=12; r=0.934)	24
混合海洋微生物 16-h IGC50	39種の種々の有機化合物 $\log IGC50 = -1.511 \log k' (C-18) + 2.45$ (n=39; r=0.918) $\log IGC50 = -1.182 \log k' (C-18) - 0.006 BP + 3.491$ (n=39; r=0.993)	59
テトラヒメナ 48-h IGC50	23種のメチル及び/あるいはクロロ置換アニリン $\log 1/IGC50 = 0.698 \log Kow - 1.190$ (n=23; r=0.965) 30種のメチル及び/あるいはクロロ置換アニリン $\log 1/IGC50 = 0.428 \log Kow + 0.733 \sum \delta - 0.828$ (n=30; r=0.959)	60

- ④  $\pi$  : n-オクタノール/水分分配係数から導いた相対的分配係数
- FとR : それぞれ、置換基の感応効果と共鳴効果
- LT50 : 特定濃度における50%致死時間
- (DpH) :  $pKa_{phenol} - pKa_{compound}$
- pKa : 酸解離定数
- ${}^1X, {}^1X^v$  : 分子結合性指標
- CIC : 情報容量
- CL : 水溶解度
- k'(C-18) : C-18充填の固定相を用いた場合の高速液体クロマトグラフィーの保持容量係数
- BP : 沸点
- $\delta$  : Hammett  $\delta$  定数

モードの違いとは無関係な非特異的要素であり、毒性を評価するために重要であると述べている。

地球上では毎日70,000もの合成化学物質が使用され、しかも、毎年500から1000の新しい化学物質が市場に出てきている<sup>47)</sup>。そして、市場に出回っている化学物質のおよそ79%は、利用できる毒性影響の情報が全くない。毒性データのない既存化学物質、あるいは新たな

に製造される化合物全てについて、毒性試験を実施することは事実上不可能である。現実には、EPAのSARsマニュアルがパーソナルコンピューターから幅広く利用できる状態になっていることから、QSARがかなりの頻度で用いられていることは明かである。

現在、既存あるいは新規の化合物を評価し、規制すること、既存化合物のプライオリティーを設定するこ

と、あるいは新規化合物の開発などの目的で、QSARが用いられている。しかし、完全なQSARはまだ完成していない。そのため、QSARによって予測し、実用的な目的に用いるときは、予測モデルとその限界を十分に把握する必要がある。

また、環境中の有害物質は、一種類だけで単独に存在しているわけではなく、多くの有害化学物質が複雑に関連しながら存在している。例えば、メチル水銀は、その製剤で殺菌処理された小麦種子からのパンによるイラクの中毒事件<sup>48)</sup>や、汚染された魚及び海産物の長期摂取による水俣病<sup>49)</sup>の原因物質である。

また、セレンは有害金属として取り扱われており、過剰症と欠乏症が報告されている<sup>50)</sup>。過剰症は主にセレンを扱っている工場の労働者にみられ、爪床炎や、白血球減少、リンパ球増多症などが起こる。セレンの極度に少ない地方では、Keshan病の発生が有意に多い。

このように、メチル水銀もセレンも単独では有害な作用を示すが、同時に曝露された場合は、セレンが金属の排泄を促進することによって、毒性を緩和することが分かった<sup>51)</sup>。

さらに、鳥類を用いて、複合汚染された餌を投与したときの毒性発現を観察した例がある<sup>52)</sup>。このような実験では、大体的場合、毒性の強度は相加的に作用し、水銀とセレンの関係の様に、拮抗的に作用する例は少ない。

一般に、同じ作用モードの化合物混合体では、毒性は相加的に増すと考えられるため、影響は、個々の化合物の濃度を加えることによって予測される。特定のQSAR式に属する化合物は、同じ作用モードを持つと考えられるため、QSAR式を分類することにより、相加影響を示す化合物のグループ分けを行うことが可能であり、また、大部分の環境汚染物質は、非極性麻酔作用によって毒性を発現するため、複合汚染の場合、存在する化合物全ての濃度の和が重要となってくる。

他方、作用モードの異なる化合物混合体では、毒性は相加的に増すとは限らず、もっと複雑になると思われる。

環境中に存在する化学物質の種類は、今後、ますます増えることが予想される。そして、環境保全や生態系保護のためにも、それらの化学物質の毒性影響調査がますます必要となってくる。個々の化合物全ての毒性試験は不可能であるため、QSARの重要性はますます増してくるものと思われる。QSAR研究の流れは、

大きく分けて、二つの方向がある。一つは、化合物の作用モードを研究し、その結果から化合物をモデル化して精度を上げようとするもの、もう一つは、一つのQSAR式で全ての化学物質の毒性を精度良く予測しようとするものである。いずれにしても、QSARは生態毒性学の中で重要な位置を占めており、今後もさらにQSARは急速に発展していくであろう。

## 7 生態毒性試験の課題

環境中に存在する化学物質の毒性の強さを測定する装置は、まだ開発されていない。物質の化学的な濃度の分析は、装置を用いて行うことができるが、毒性の強さは、生物によってのみ測定可能である<sup>53)</sup>。そして、毒性の強さに関する研究成果は、最終的には、人間と人間の生存に必要な生態系を維持するために、適用できるようにしなければならない。

毒性試験に人間の代用として、猿、マウスといった哺乳類から、藻類や微生物に至るまで、各種の生物が用いられてきたが、それらの代用生物は、多くの点で生理学的に人間と異なっている。一つの種に対する毒性が、他の種へも外挿できるかどうかといった点は非常に重要である。

他方、水生生物は、藻類から哺乳類まで非常に幅広い分類範囲、大きさ、生理、ライフサイクルがあり、その分布も、地理的な広がりを持っている。しかも、それらは相互に食物連鎖のサイクル内に存在していることが多い。そのため、一つの種で得られた毒性の強さが他の種へ外挿できるかどうかの種々の検討を、同じ環境内で調査することができる。そのため、外挿の予測モデルを展開するためには、非常に有用なものとなり得る。

また、試験に供する生物は、大きければ大きいほどコスト高になる。従って、微生物による毒性試験によって生態影響評価ができるようになれば、安く、しかも、微生物ならではの、化学物質の環境消長や、分配プロセスまでも、同時に観察することができる。

このように、大量な化学物質のスクリーニングを有効に行うためには、さらに生態毒性学の発展が必要である。また、環境中に放出された化学物質が生態系の中でどのように移動、変化、あるいは蓄積されているかを生物モニタリングによって観察したり、有害化学物質の集中している埋立地周辺の生態系を常時モニタリングすることも大切である。損なわれた生態系は、

その回復にも努力しなければならない。

環境中の化学物質の種類は、今後もかなりの勢いで増え続けるであろう。そして、人間を含む地球上の生態系は、好むと好まざるとに関わらず、それらの化学物質と共に生きて行かなければならない。そのためにも、化学物質の毒性を正確に把握し、有害なものは迅速に取り除くことが必要である。一度汚染され、破壊された生態系の回復は、非常に困難である。従って、単純な生物系（例えば、微生物）を用いた、より完全に近いQSARこそ、有害な化学物質による環境汚染を、短時間のうちに正確に予測でき、新たな汚染を避ける一つの非常に有効な手段となり得るであろう。人間や生態系に大きな有害影響を及ぼすであろう化学物質を正確に定量するためにも、その毒性を精度良く予測したり、分析したりすることは、非常に重要である。

## 文 献

- 1) 三浦卓：環境リスクはどのように評価されるのか，国立公害研究所研究発表会予稿集，73～78，平成2年6月。
- 2) 牧戸宏行：化学物質による健康障害防止のための諸規則，トキシコロジーフォーラム，6(3)，278～287，1983。
- 3) 萩原耕一編：水質衛生学，光生館，pp76～88，1985。
- 4) 濱田昭・富田基郎：塩素処理による低沸点有機塩素化合物の生成，変異原と毒性，第7集，53～64，1979。
- 5) 佐谷戸安好ら：低沸点有機塩素化合物の一般毒性発癌性・突然変異性，変異原と毒性，第7集，65～87，1979。
- 6) L. Kronberg, et. al. : Identification and Quantification of the Ames Mutagenic Compound 3-Chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone and of Its Geometric Isomer (E)-2-Chloro-3-(dichloromethyl)-4-oxobutenoic Acids in Chlorine-Treated Humic Water and Drinking Water Extracts, Environ. Sci. Technol., **22**, 1097～1103, 1988.
- 7) B. G. Oliver and K. D. Nicol : Chlorobenzenes in Sediments, Water, and Selected Fish from Lakes Superior, Huron, Erie, and Ontario, Environ. Sci. Technol., **16**, 532～536, 1982.
- 8) M. G. Barron : Bioconcentration, Environ. Sci. Technol., **24**, 1612～1618, 1990.
- 9) 菅原淳・森田昌敏：生物モニタリング（有害物質の体内蓄積を見る），読売新聞社，1990。
- 10) T. M. Younos and D. L. Weigmann: Pesticides: a continuing dilemma, J. Water Pollut. Contr. Fed., **60**, 1199～1205, 1988.
- 11) 例えば，山田國廣：ゴルフ場亡国論，新評論，1989。
- 12) 郡司篤孝監修：食品添加物読本，ナショナル出版，1983。
- 13) 西岡一：食品添加物，家の光協会，1989。
- 14) 磯野謙治編：大気汚染物質の動態，東京大学出版会，1979。
- 15) W. R. Ott : Total Human Exposure : Basic Concepts, EPA Field Studies, and Future Research Needs, J. Air Waste Manage. Assoc. **40**, 966～1990.
- 16) T. M. Schultz : Aquatic Toxicology of Nitrogen Heterocyclic Molecules : Quantitative Structure-Activity Relationships, Adv. Environ. Sci. Technol., **13**, 401～424, 1983.
- 17) H. Konemann : Quantitative Structure-Activity Relationships in Fish Toxicity Studies, Toxicology, **19**, 209～221, 1981.
- 18) U.S. Environmental Protection Agency : Estimating Toxicity of Industrial Chemicals to Aquatic Organisms Using Structure Activity Relationships. vol. 1, 1988.
- 19) T. W. Schultz et. al., : Structure-Toxicity Relationships for Nonpolar Narcotics : A Comparison of Data from the Tetrahymena, Photobacterium and Pimephales Systems, Bull. Environ. Contam. Toxicol., **44**, 67～72, 1990.
- 20) G. D. Veith, et. al., : Structure-Toxicity Relationships for the Fathead Minnow, *Pimephales Promelas* : narcotic Industrial Chemicals, Can. J. Fish. Aquat. Sci., **40**, 743～748, 1983.
- 21) D. Calamari, et. al., : Toxicity of Selected Chlorobenzenes to Aquatic Organisms, Chemosphere, **12**, 253～262, 1983.

- 22) V. Zitko, et.al., : Toxicity of Alkyldinitrophenols to Some Aquatic Organisms, Bull. Environ. Contam. Toxicol., **16**, 508~515, 1976.
- 23) 茂岡忠義ら : ミジノコへのクロロフェノール類の構造活性相関, 衛生化学, **34**, 169~175, 1988.
- 24) 茂岡忠義ら : クロロフェノール類のヒメダカへの急性毒性と胚の孵化阻害性及び構造との相関, 衛生化学, **34**, 343~349, 1988.
- 25) OECD Guidelines for Testing of Chemicals : section 1(117) : Partition Coefficient (n-octanol/water), High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method.
- 26) L. B. Kier and L. H. Hall : Derivation and Significance of Valence Molecular Connectivity, J. Pharm. Sci., **70**, 583~589, 1981.
- 27) S. K. Ray, et.al., : Quantitative Structure-Activity Relationship Studies of Bioactive Molecules Using Structural Information Indices, Ind. J. Chem., **20B**, 894~897, 1981.
- 28) A. Sabljic : Quantitative Structure-Toxicity Relationship of Chlorinated Compounds : A Molecular Connectivity Investigation, Bull. Environ. Contam. Toxicol., **30**, 80~83, 1983.
- 29) Y. Yoshioka, et.al., : Quantitative Structure-Activity Relationships in *Tetrahymena* Toxicity Studies, 衛生化学, **32**, 464~469, 1986.
- 30) Y. Yoshioka et.al., : The Estimation for Toxicity of Chemicals on Fish by Physico-Chemical Properties, Chemosphere, **15**, 195~203, 1986.
- 31) M. Vighi and D. Calamari : A Triparametric Equation to Describe QSARs for Heterogeneous Chemical Substances, Chemosphere, **16**, 1043~1051, 1987.
- 32) T. W. Schultz : Aquatic Toxicology of Nitrogen Heterocyclic Molecules : Quantitative Structure-Activity Relationships, Adv. Environ. Sci. Technol., **13**, 401~424, 1983.
- 33) S. C. Basak, et.al., : A Quantitative Correlation of the LC50 Values of Esters in *Pimephales promelas* Using Physicochemical and Topological Parameters, Environ. Toxicol. Chem., **3**, 191~199, 1984.
- 34) Edited by W. Karcher and J. Devillers : Practical Applications of Quantitative Structure-Activity Relationships (QSAR) in Environmental Chemistry and Toxicology, Kluwer Academic Publishers, 1990.
- 35) E. E. Kenega : Test Organisms and Methods Useful for Early Assessment of Acute Toxicity of Chemicals, Environ. Sci. Technol., **12**, 1322~1329, 1978.
- 36) E. E. Kenega and R. J. Moolenaar : Fish and *Daphnia* Toxicity as Surrogates for Aquatic Vascular Plants and Algae, Environ. Sci. Technol., **13**, 1479~1480, 1979.
- 37) G. Bringmann and R. Kurn : Comparison of the Toxicity Thresholds of Water Pollutants to Bacteria, Algae, and Protozoa in the Cell Multiplication Inhibition Test, Water Research, **14**, 231~241, 1980.
- 38) F. G. Doherty : Interspecies Correlations of Acute Aquatic Median Lethal Concentration for Four Standard Testing Species, Environ. Sci. Technol., **17**, 661~665, 1983.
- 39) 吉岡義正ら : 主として水棲の動物及び植物を用いた生態影響試験法間の関係, 衛生化学, **33**, 11~19, 1987.
- 40) OECD Guidelines for Testing of Chemicals : section 2 : Effects on Biotic Systems.
- 41) Y. Cohen : Organic Pollutant Transport, Environ. Sci. Technol., **20**, 538~544, 1986.
- 42) 吉岡義正・小瀬洋喜 : 化学物質の生態毒性, 水処理技術, **28**, 137~143, 1987.
- 43) 茂岡忠義ら : 水生生物を用いた化学物質の安全性評価—魚類細胞を用いた毒性評価法及び構造活性相関研究の現状—, 衛生化学, **33**, 1~10, 1987.
- 44) 小瀬洋喜・吉岡義正 : 化学物質の生態影響評価について, 環境科学セミナー, 15~18, 平成元年2月10日.
- 45) Edited by K. L. E. Kaiser : QSAR in Environmental Toxicology, D. Reidel Publishing Company, 1984.
- 46) Edited by O. Hutzinger : Environmental Chemistry-Reaction and Processes-, Springer-Verlag, pp111~162, 1989.
- 47) D. J. W. Blum and R. E. Speece : Determin-

- ing Chemical Toxicity to Aquatic Species, Environ. Sci. Technol., **24**, 284~293, 1990.
- 48) F. Baker, et.al., : Methylmercury Poisoning in Iraq, Science, **181**, 230~241, 1973.
- 49) 入鹿山且朗ら：メチル水銀化合物に対する毒性と動物体内の動向—とくに水俣病と関連して, 日衛誌, **20**, 11~21, 1965.
- 50) 高木和男：セレンの両面作用：欠乏症と中毒症, 労働科学, **59**, 453~462, 1983.
- 51) H. E. Ganther et.al., : Selenium : Relation to Decreased Toxicity of Methylmercury Added to Diets Containing Tuna, Science, **175**, 1122~1124, 1972.
- 52) D.J.Hoffman et.al., : Wildlife Toxicology, Environ. Sci. Technol., **24**, 276~283, 1990.
- 53) J. Cairns, Jr. and D. I. Mount : Aquatic Toxicology, Environ. Sci. Technol., **24**, 154~161, 1990.
- 54) H. L. Kopperman, et.al., : Aqueous Chlorination and Ozonation Studies I. Structure-Toxicity Correlations of Phenolic Compounds to *Daphnia magna*, Chem.-Biol. Interactions, **9**, 245~251, 1974.
- 55) D. W. McLeese, et.al., : Structure-Lethality Relationships for Phenols, Anilines and Other Aromatic Compounds in Shrimp and Clams, Chemosphere, **8**, 53~57, 1979.
- 56) D. Calamari, et.al., : Biodegradation and Toxicity of Selected Amines on Aquatic Organisms, Chemosphere, **9**, 753~762, 1980.
- 57) A. M. Bobra, et.al., : A Predictive Correlation for the Acute Toxicity of Hydrocarbons and Chlorinated Hydrocarbons to the Water Flea (*Daphnia magna*), Chemosphere, **12**, 1121~1129, 1983.
- 58) M. Vighi and D. Calamari : QSARs for Organotin Compounds on *Daphnia magna*, Chemosphere, **14**, 1925~1932, 1985.
- 59) M. St. J. Warne, et.al., : Development of QSAR's Based on High Performance Liquid Chromatography Capacity Factors to Describe Non-Specific Toxicity, Chemosphere, **19**, 1113~1128, 1989.
- 60) L. M. Arnold, et.al., : QSAR for Methyl- and/or Chloro-Substituted Anilines and the Polar Narcosis Mechanism of Toxicity, Chemosphere, **21**, 183~191, 1990.