生態影響に関する化学物質審査規制／試験法セミナー（平成 20 年度）

＜東京＞　日時：平成 20 年 11 月 26 日（水）13:30～17:00
場所：（財）日本科学技術振興財団
科学技術館　サイエンスホール

＜大阪＞　日時：平成 20 年 12 月 9 日（火）13:30～17:00
場所：新梅田研修センター　新館 3 階 303 ホール

主催：環境省・（独）国立環境研究所

協力：日本環境毒性学会

目次

○ プログラム・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 1

○ 化学物質審査規制法の見直しについて・・・・・・・・・・・・・ 3

○ 海外の化学物質管理の動向について・・・・・・・・・・・・・・ ２１

○ 化学物質 GLP（動植物毒性試験）に関する動向について・・・・ ４１

○ 試験困難物質の試験実施に係る技術的事項
・試験手順マニュアル（難水溶性混合物および多成分物質における水性画分（WAF）の調製方法）（案）・・・・ ５１
・発表スライド・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ ５９

○ 生態毒性ＱＳＡＲモデル「ＫＡＴＥ」
Ｗｅｂ版の解説とスタンドアロン版の公開
・発表スライド・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ ７４
・PAS 技術解説（概要）・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ ８９

プログラム

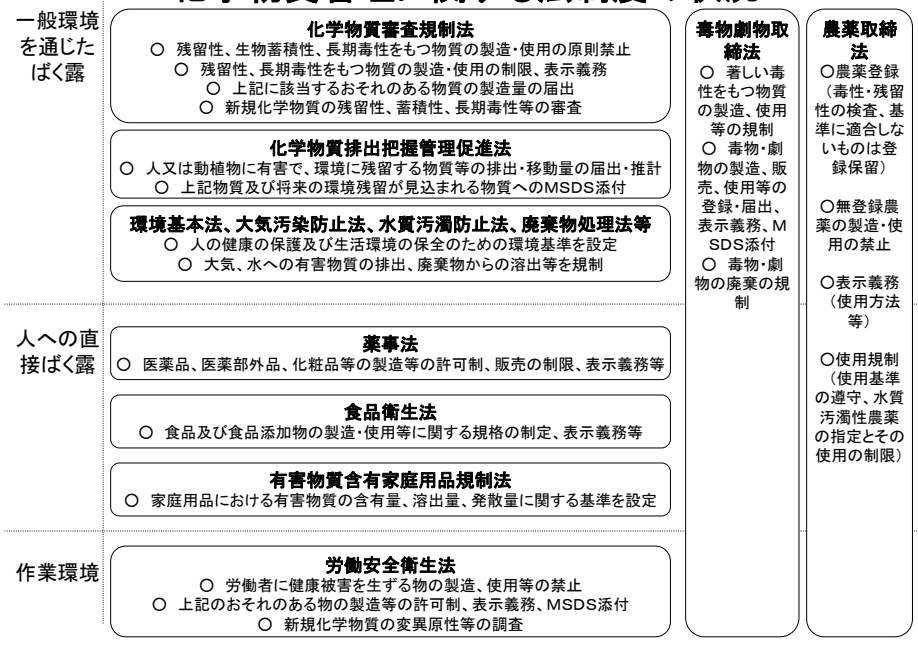
時　間	内　　容	講演者等
13:00～	受付	
13:30～13:35	開会挨拶	環境省
【第１部】　化学物質審査規制に関する国内外の動向		
13:35～14:25	化学物質審査規制法の見直しについて	戸田　英作 環境省環境保健部化学物質審査室
14:25～14:55	海外の化学物質管理の動向について	川原　和三（東京会場） 江藤　千純（大阪会場） (財)化学物質評価研究機構
14:55～15:10	休憩	
【第２部】　生態毒性ＱＳＡＲ及び生態毒性試験に関する事項		
15:10～15:30	化学物質 GLP（動植物毒性試験）に関する動向について	木野　修宏（東京会場） 高木　恒輝（大阪会場） 環境省環境保健部化学物質審査室
15:30～16:00	試験困難物質の試験実施に係る技術的事項	斎藤穂高 (株)三菱化学安全科学研究所横浜研究所
16:00～16:40	生態毒性ＱＳＡＲモデル「ＫＡＴＥ」Ｗｅｂ版の解説とスタンドアロン版の公開	白石　寛明 （独）国立環境研究所環境リスク研究センター 吉岡　義正（東京会場のみ） 大分大学教育福祉科学部
16:40～16:55	総合質疑	
16:55～17:00	閉会挨拶	（独）国立環境研究所

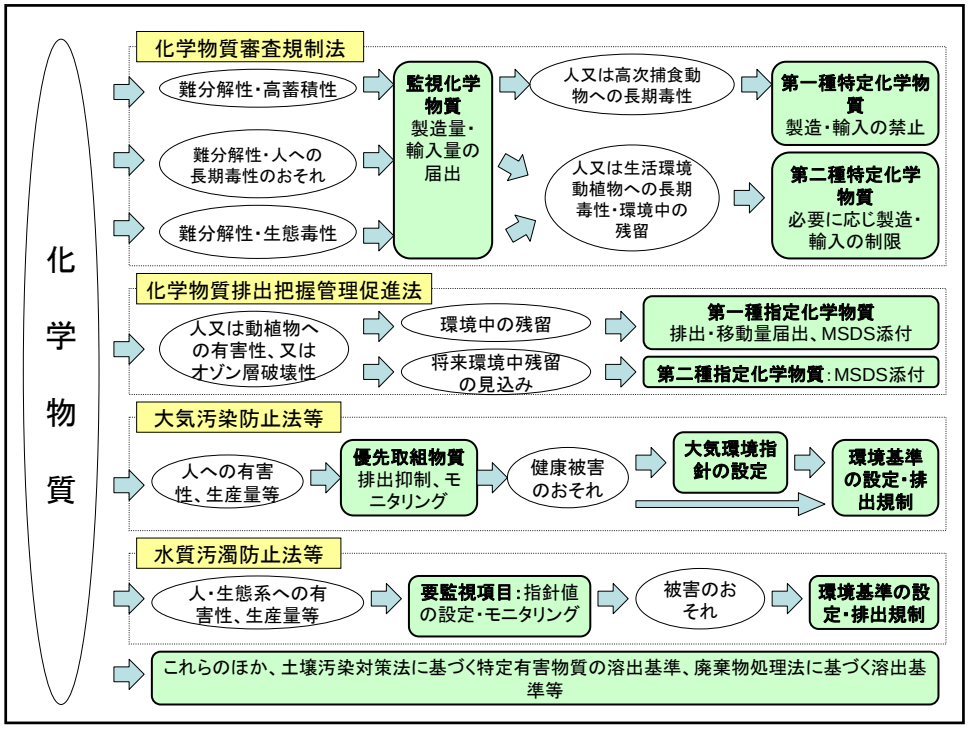
生態影響に関する化学物質審査規制／試験法セミナー

化学物質審査規制法の見直しについて

戸田英作
環境省化学物質審査室長

化学物質管理に関する法制度の状況





化学物質審査規制法の概要

- 1973年制定。新規の化学物質の製造・輸入に際し、その物質の分解性、生物への蓄積性、人や動植物への毒性を事前に審査するとともに、有害性等の状況に応じた製造・輸入、使用の規制を行う。
  - 第1種特定化学物質(PCB等16物質)
    - 製造・輸入、使用の事実上の禁止
  - 第2種特定化学物質(トリクロロエチレン等23物質)
    - 製造・輸入の予定、実績の届出
    - 製造量・輸入量の制限(必要があれば)
    - 取扱いに係る技術上の指針の遵守等
  - 第1種監視化学物質（36物質）、第2種監視化学物質(921物質)、第3種監視化学物質（124物質）
    - 製造・輸入の実績の届出

化審法改正の経緯

昭和48年

PCB類似の難分解性、高蓄積性、長期毒性（人健康）の物質の製造・輸入等を規制

昭和61年

難分解性で長期毒性を有するが、蓄積性を有さない物質（トリクロロエチレン等）についても、環境中での残留の状況によっては規制の必要性が生じたことから法改正

平成12年

省庁再編に伴い、従来の厚生省・通産省共管から、環境省を加えた3省で共管

平成15年

動植物への影響に着目した審査・規制制度（注：長期毒性に生態影響を追加）や、環境中への放出可能性を考慮した審査制度を導入

化審法に基づく試験項目

	1～10t	10t以上
分解度試験	○	○
濃縮度試験	○1)	○1)
哺乳類28日間反復投与毒性試験		○1)
細菌復帰突然変異試験		○1)
哺乳類培養細胞染色体異常試験		○1)
哺乳類慢性毒性試験、生殖能・後世代影響試験、催奇形性試験、変異原性試験、がん原性試験、生体内運命試験、薬理学試験		△2)
藻類成長阻害試験		○1)
ミジンコ急性遊泳阻害試験		○1)
魚類急性毒性試験		○1)
鳥類繁殖試験等		△2)

1) 良分解性物質については分解度試験以外の試験結果は不要。

2) これらの試験は、難分解性・高蓄積性の物質の場合のみ必要。

新規化学物質の審査等

- 審査件数（平成19年度）
  - 新規化学物質の審査　626件
    - うち、二監判定　51件、三監判定　19件）
  - 既存化学物質の審査　81件
    - うち、一監視判定　0件、二監判定　19件、三監判定　23件）
  - 低生産量新規化学物質に係る確認　605件
  - 中間物等に係る確認　225件

- 化学物質の数
  - 既存化学物質　20,188物質
  - 新規化学物質（昭和49年～平成19年）　10,502物質
  - 少量新規化学物質（平成19年度）　19,641物質

化学物質管理制度の見直し

法定見直しスケジュール

- **化学物質排出把握管理促進法：施行後7年（2007年）を目途に見直し**
- **化学物質審査規制法：2003年改正法施行後5年（2009年）を目途に見直し**

2006年11月、中央環境審議会に「今後の化学物質環境対策の在り方について」諮問　→　産業構造審議会と合同審議

2007年8月　化管法見直しに関する中間答申

2008年1月　化学物質審査規制法に関する審議開始
→　厚生科学審議会、産業構造審議会と合同審議
2008.1.31　第1回化審法見直し合同委員会
2008.2.19～7.10　第1～4回化審法見直し合同WG
2008.8.28　第2回化審法見直し合同委員会
2008.10.23 第3回化審法見直し合同委員会

2008年10月31日から12月1日　合同委員会報告書案についてパブリックコメント

その後　パブリックコメントを経て答申とりまとめ。

8

化審法見直し合同委員会報告骨子案のポイント

- 基本的考え方：WSSD目標を踏まえた化学物質管理
  WSSD目標を踏まえ、予防的アプローチに留意し、科学的なリスク評価に基づき、リスクの程度に応じた製造・使用の規制、リスク管理措置、情報伝達等を行うことを基本的な考え方とする。

- 法見直しの方向
  1．化学物質の上市後の状況を踏まえたリスク評価体系の構築
  2．リスクの観点を踏まえた新規化学物質事前審査制度の高度化
  3．リスクに応じた規制・管理措置

グローバルな化学物質対策

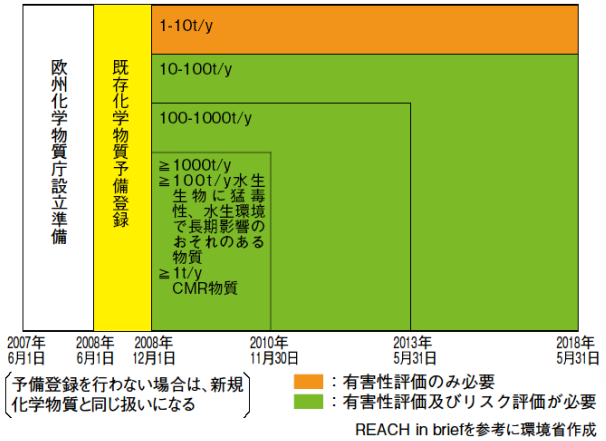
- **1992年　環境と開発に関する国連会議（地球サミット）**
  - **「アジェンダ21」第19章「有害化学物質の管理」**
- **2002年　持続可能な開発に関する世界首脳会議（ヨハネスブルグ）のための実施計画**
  - **予防的取組方法**に留意しつつ、**透明性のある科学的根拠**に基づくリスク評価手順と科学的根拠に基づくリスク管理手順を用いて、**化学物質が、人の健康と環境にもたらす著しい悪影響を最小化する方法で使用、生産されることを2020年までに達成**することを目指す。
- **2006年2月 「国際的な化学物質管理のための戦略的アプローチ」採択。**

欧州の新たな化学物質規制「REACH」

- 2006年成立、2007年6月より段階的に施行。
- これまでに化学物質規制を抜本的に見直し、欧州域内で年間1トン以上製造・輸入されるすべての化学物質の登録を義務付け。
- 製造・輸入事業者に安全性評価をさせ、必要な物質については規制。

2018年までに化学物質の登録を完了させ、ヨハネスブルグ2020年目標を達成。

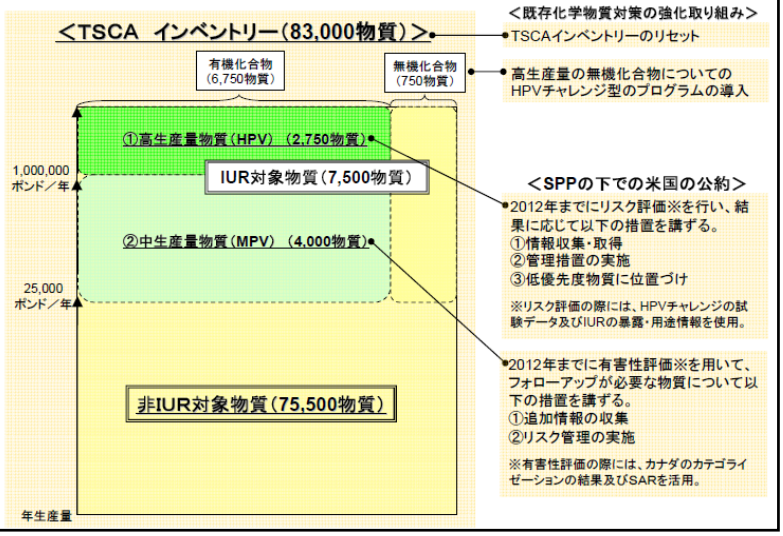
登録のスケジュール



REACH in briefを参考に環境省作成

米国「化学物質評価・管理計画」（ChAMP）

- 米国では、有害物質規制法（TSCA）により化学物質を規制。高生産量の既存化学物質については、企業の協力により安全性の評価を実施。
- 2007年、米国、カナダ、メキシコ三か国の「安全保障と繁栄のパートナーシップ」の下、「化学物質評価・管理計画」を策定。

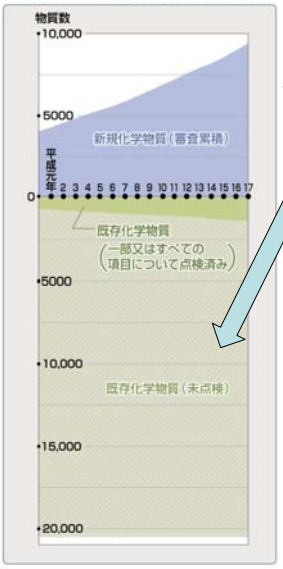


化審法見直しのポイント①
上市後の状況を踏まえたリスク評価体系の構築

- 上市後の全ての化学物質を対象として、リスク評価を優先的に行うべき物質を絞り込み、それらについてハザード情報等を段階的に収集し、リスク評価を実施する体系を官民の連携の下に構築する。
  - **一定数量以上製造・輸入されている化学物質**に対し、その**製造・輸入量、用途等を事業者が国に定期的に届け出る制度**を創設。
  - 製造・輸入量、用途、既知の有害性情報から、リスクが十分に低いと判断できない物質を**優先評価化学物質**（仮称）に指定。（これに伴い、現行法の第二種及び第三種監視化学物質は発展的に廃止。）
  - 優先評価化学物質については、**製造・輸入事業者に対し、有害性情報及び詳細な用途情報の提出を段階的に求め**、**国がリスク評価を実施**（用途情報は、使用事業者も対象）。その結果、リスクが低いと判断されない場合は、有害性調査指示により長期毒性試験データを事業者に求め、第二種特定化学物質に相当するかどうかを判断。
  - 難分解性の性状を有さない化学物質の化審法上の扱いについては今後検討。

既存化学物質の安全性の点検

■化審法に基づく化学物質の審査・点検状況



既存化学物質のリスクが明らかでないまま製造・使用が続けられている
（約2万物質中、評価が行われたのは、分解・蓄積性1500物質、人への毒性300物質、動植物への毒性500物質）

世界的な化学物質管理の目標：
「2020年までに、人及び環境への悪影響を最小限化する方法で化学物質が使用・製造されることを実現」
（ヨハネスブルグサミット2020年目標）

化審法の見直し
- 上市後のすべての化学物質を対象としたリスク評価手続きの確立

国際協力
- OECDでは、1990年より、高生産量化学物質について、加盟各国の協力により初期評価文書を作成。
- 今後、欧米各国との協力を強化。

2020年までに、化学物質のリスクを一通り評価し、リスクに応じた管理がなされている状態を実現

OECD高生産量化学物質安全性点検プログラム

- 1992年開始。
- 高生産量化学物質（OECD加盟国の少なくとも1ヶ国で年間1,000トン以上生産されている化学物質）について、有害性の初期評価を行うために必要と考えられるデータ（SIDS: Screening Information Data Set）を加盟国で分担して収集し、評価を実施。
- 1999年から化学物質製造事業者等の積極的参画（ICCAイニシアチブ）が開始された。
- 2004年までに約500物質の初期評価を終了し、2010年までに新たに1,000物質についてデータを収集する目標。
- 日本は本プログラムの発足当初から一貫して協力。これまでに約180物質に貢献。2010年までの新たな計画においては、96物質を担当の予定。

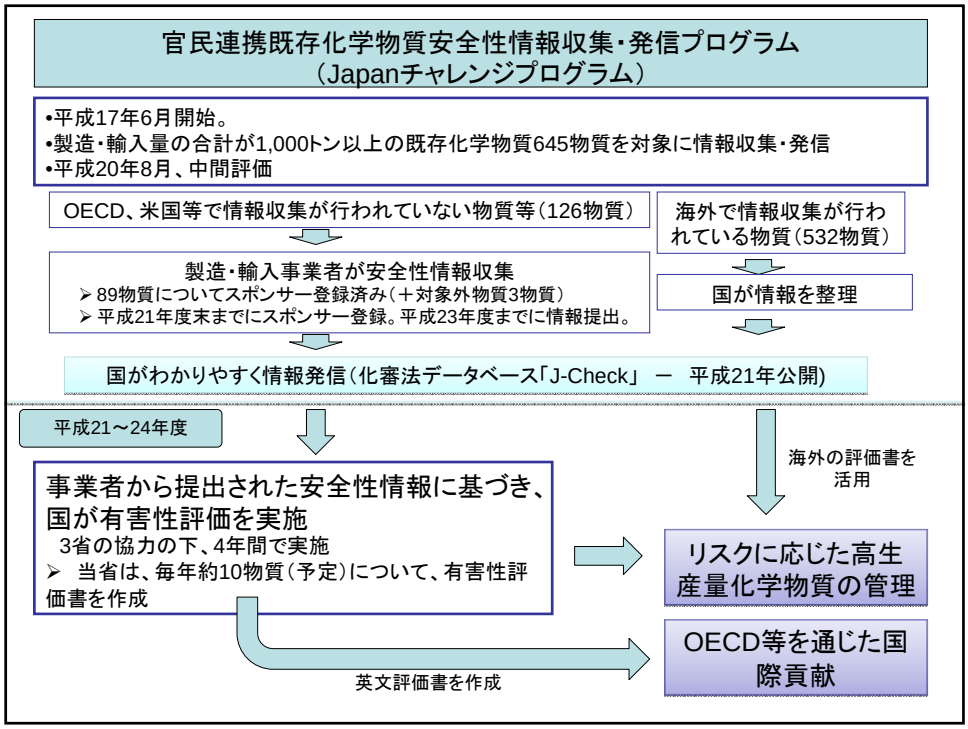
OECD SIDS必須項目

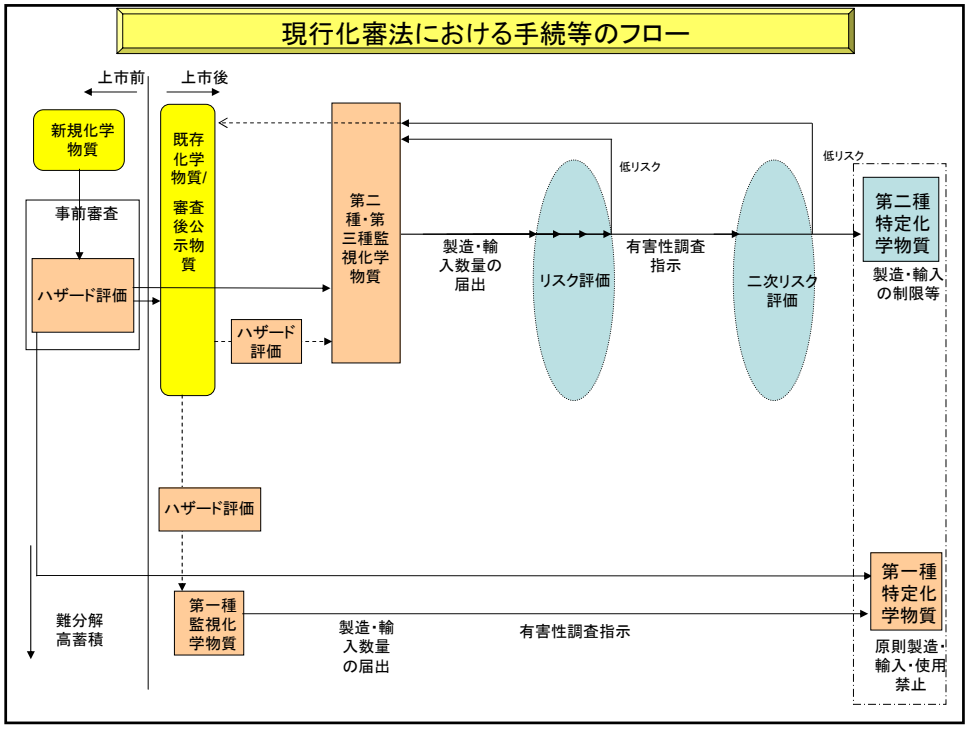
一般情報	CAS番号、物質名、構造式、製造・輸入量、用途パターン、曝露情報（スポンサー国における製造・用途に関わるもの）
物理化学性状	融点、沸点、密度（比重）、蒸気圧、オクタノール／水分配係数、水溶解度、解離定数、酸化還元電位
環境運命	光分解、水中安定性、環境における移動・分布（fugacityモデル計算式、土壌吸着係数、ヘンリー定数など）、好気的生分解
生態毒性	魚類急性毒性、ミジンコ急性毒性、藻類毒性、水生生物慢性毒性（長期影響のおそれがある場合等）、陸生生物への影響（陸生生物への曝露が極めて大きい場合）
人毒性	急性毒性、反復投与毒性、遺伝毒性、生殖発生毒性、人曝露の経験

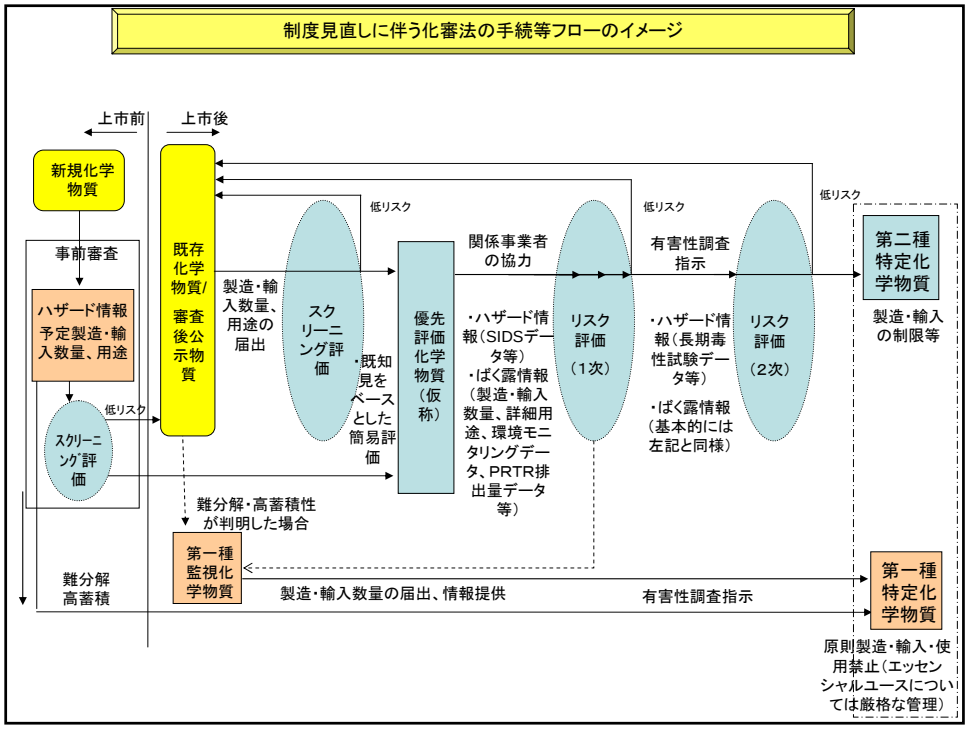
OECD高生産量化学物質 安全性点検プログラムの進捗状況

	総数	ICCAイニシアティブ
情報収集あるいはレビュー中	344	241
試験計画又は予備的評価提出・評価済	59	45
第26回SIAMにSIAR提出	24	19
SIARが議論されたがSIAP作成中	25	7
SIAR評価済（未提出）、SIAP公表済	277	242
SIAR評価済（提出済）、SIAP公表済	42	35
SIAR評価済（Web掲載）、SIAP公表済	84	79
SIAR、SIAP公表済（UNEPより出版）	398	241
SIAR、SIAP公表済（EUより出版）	71	
合計	1307	905

- SIDS文書に基づき、SIAR（SIDS Initial Assessment Report）とSIAP（SIDS Initial Assessment Profile）が作成される。
- SIARには、SIDSに基づいた潜在的毒性に関する結論、追加の作業の要否に係る勧告が記載される。勧告は、化学物質の有害性とばく露可能性に基づいて行われる。
- SIAPは、SIARに記載されている情報の要約であり、SIAM（SIDS Initial Assessment Meeting、これまで26回開催。）で合意に向けた議論が行われる。
- 物質数は 2008年3月20日現在




現行化審法における手続等のフロー
上市前
上市後
新規化学物質
事前審査
ハザード評価
既存化学物質/審査後公示物質
ハザード評価
第二種・第三種監視化学物質
製造・輸入数量の届出
リスク評価
低リスク
有害性調査指示
二次リスク評価
低リスク
第二種特定化学物質
製造・輸入の制限等
ハザード評価
第一種監視化学物質
製造・輸入数量の届出
有害性調査指示
第一種特定化学物質
原則製造・輸入・使用禁止
難分解
高蓄積


制度見直しに伴う化審法の手続等フローのイメージ
上市前
上市後
新規化学物質
事前審査
ハザード情報
予定製造・輸入数量、用途
スクリーニング評価
低リスク
既存化学物質/審査後公示物質
製造・輸入数量、用途の届出
スクリーニング評価
・既知見をベースとした簡易評価
低リスク
優先評価化学物質（仮称）
関係事業者の協力
・ハザード情報（SIDSデータ等）
・ばく露情報（製造・輸入数量、詳細用途、環境モニタリングデータ、PRTR排出量データ等）
リスク評価（1次）
低リスク
有害性調査指示
・ハザード情報（長期毒性試験データ等）
・ばく露情報（基本的には左記と同様）
リスク評価（2次）
低リスク
第二種特定化学物質
製造・輸入の制限等
難分解・高蓄積性が判明した場合
第一種監視化学物質
製造・輸入数量の届出、情報提供
有害性調査指示
第一種特定化学物質
原則製造・輸入・使用禁止（エッセンシャルユースについては厳格な管理）
難分解
高蓄積

化審法見直しのポイント②
新規化学物質事前審査制度の高度化

- **新規化学物質の事前審査にもリスクの観点からの評価を導入**し、製造・輸入予定数量等を考慮して優先評価化学物質への指定につき判定。
- **国際的な動向**等を踏まえつつ、新規化学物質の審査対象区分及び対象となる物質の考え方、新たな評価手法の導入等の見直しを図る。
  - 化学物質の構造から毒性等の程度を定量的に予測するモデル（QSAR）などの活用を図る。
  - 少量新規化学物質の事前確認制度について、事業者単位（年間1社1トンまで）で確認を行うことを基本とする。（ただし、複数の事業者が重複してリスクが高いと懸念される場合は、確認を行わない。）
  - 低懸念ポリマーの判断基準に該当する旨の確認を国が行った新規化学物質については、試験データに基づく審査を不要とする。

米国TSCAにおける低懸念ポリマー

①ポリマーの定義を満たすこと
- 1種類以上のモノマーが結合したもので、分子量分布を有し、かつ、三量体　以上の分子（3つ以上モノマーが共有結合したもの）が50%以上であるもの。

②次の要件に該当しないこと
- カチオン性ポリマー
- 10,000以上の数平均分子量を有する吸水性ポリマー
- TSCAインベントリーに記載されていないモノマー・反応剤（2重量%を超えるレベル）から製造・輸入されるポリマー

③次の要件を満たすこと
- 自然界で安定であること
- C、H、N、O、S、Siのうち2種類以上含むこと
- 以下の元素以外の元素は、不純物として以外は含まれないこと
  - 炭素に共有結合されたF、Cl、Br、I、
  - 対イオンとしてのCl－、Br－、I－、Na＋、Mg2＋、Al3＋、K＋、Ca2＋、
  - 0.2重量%未満含有される次の元素：Li、B、P、Ti、Mn、Fe、Ni、Cu、Zn、Sn、Zr
- 数平均分子量（ダルトン）1,000以上10,000未満の場合、次の条件を満たすこと
  - 分子量1,000未満の成分が25%未満、かつ、分子量500未満の成分が10%未満であること。
  - 中懸念及び高懸念の反応性官能基を一定量以上含まないこと
- 数平均分子量10,000以上の場合、次の条件を満たすこと
  - 分子量1,000未満の成分が5%以下、かつ、分子量500以下の成分が2%未満であること。

化審法見直しのポイント③
リスクに応じた規制・管理措置

- 第一種特定化学物質、第一種監視化学物質、及び第二種特定化学物質については、国際的な動向も踏まえつつ、厳格な管理措置の継続及び適切なリスクの低減措置を講ずる。
  - 第一種特定化学物質は、製造・使用等を厳格に制限する管理措置を継続。一方、残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約の動向等において**国際的に許容される用途については、環境中への放出等の厳格な管理などの一定の条件の下で許容できる措置**を講ずる。
  - 難分解性、高蓄積性の性状を有する第一種監視化学物質は、事業者による自主的な管理を促進し、環境汚染を未然に防止する観点から事業者間の情報伝達制度を導入。
  - 段階的なリスク評価の結果、**リスクが高いと評価された化学物質を第二種特定化学物質**に指定し、現行法と同様の規制を行う。また、第二種特定化学物質が使用されている製品についても、所要のリスク管理措置を求める。

※ 第二種特定化学物質に係る規制措置：製造予定数量の届出、製造輸入量を制限（必要な場合）、取扱指針・勧告、使用製品の表示

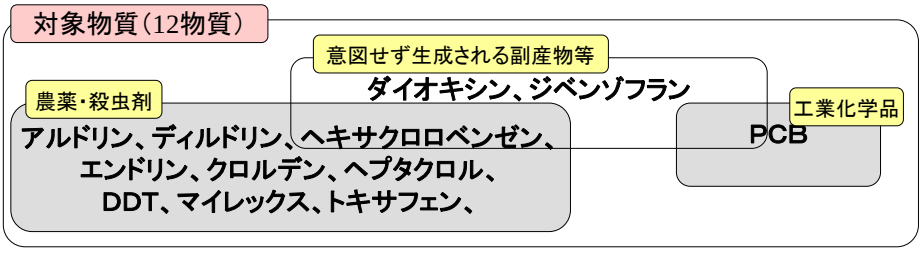
POPs条約（残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約）

POPs（Persistent Organic Pollutants、残留性有機汚染物質）
＝ ①毒性があり、
②分解しにくく、
③生物中に蓄積され、
④長距離を移動する物質。

➡ 1国に止まらない国際的な汚染防止の取組が必要。

POPsによる汚染防止のため、**国際的に協調してPOPsの廃絶、削減等**を行う。
2001年5月採択、我が国は2002年8月に締結
2004年5月発効

対象物質（12物質）



条約を履行するための国内実施計画を国として策定する義務。

POPs条約の適用除外

「認めることのできる目的（acceptable purpose）」

- 附属書Bの物質について、すべての締約国で一定の条件下で、製造又は使用を許容される仕組み。
- 現在、DDTについて、次のように規定されている。
  - 製造：疾病を媒介する動物の防除の用途
  - 使用：疾病を媒介する動物の防除

※ DDTは、「これを製造し又は使用する意志を事務局に通告した締約国以外の締約国について廃絶される」とされており、我が国は製造・使用の意思を通告していない。

「個別の適用除外（specific exemption）」

- 附属書AとBの物質について、締約国の個別の登録により、製造又は使用を許容される仕組み（期限付き）
- 個別の適用除外の種類は、附属書AとBに物質別に規定。現在、7物質について、認められている（例：クロルデンのシロアリ駆除剤）
- 現行条約においては、我が国に適用される個別の適用除外はない。

※ 附属書A（廃絶）：PCB、アルドリン、ディルドリン、ヘキサクロロベンゼン、エンドリン、クロルデン、ヘプタクロル、マイレックス、トキサフェン

※ 附属書B（制限）：DDT

POPs条約対象物質の追加

提案

- 締約国は、対象物質の追加を提案することができる。

スクリーニング

- POPs検討委員会が、提案された物質がスクリーニング基準に合致するか判断する。
- POPs検討委員会が提案を却下した場合、締約国会合がその判断を覆すことができる。

リスクプロファイル（危険性の概要）

- POPs検討委員会はリスクプロファイルを作成し、提案を前に進めるべきかどうか判断する。
- POPs検討委員会が提案を却下した場合、締約国会合がその判断を覆すことができる。

決定

- POPs検討委員会は、リスク管理評価を作成し、提案された物質が条約対象物質として追加すべきかどうかの勧告を行う。
- 締約国会合が、対象物質の追加及び関連する管理措置について決定する。

POPs条約追加提案物質

物質名	主な用途	提案国
クロルデコン	農薬	欧州委員会
リンデン	農薬	メキシコ
ペンタブロモジフェニルエーテル	プラスチック難燃剤	ノルウェー
ヘキサブロモビフェニル	プラスチック難燃剤	欧州委員会
パーフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)	撥水撥油剤、界面活性剤	スウェーデン
オクタブロモジフェニルエーテル	プラスチック難燃剤	欧州委員会
ペンタクロロベンゼン	農薬、難燃剤等	欧州委員会
短鎖塩素化パラフィン	潤滑油等	欧州委員会
α －ヘキサクロロシクロヘキサン	農薬	メキシコ
β －ヘキサクロロシクロヘキサン	農薬	メキシコ
エンドスルファン	農薬	欧州委員会
ヘキサブロモシクロドデカン	プラスチック難燃剤	ノルウェー

POPs検討委員会

- 第3回POPs検討委員会　2007年11月19～23日、ジュネーブ
  - クロルデコン、リンデン、ペンタブロモジフェニルエーテル、ヘキサビフェニル、PFOSについては、第4回締約国会議（2009年5月開催予定）への勧告（附属書A（廃絶）又はB（制限）への追加）
- 第4回POPs検討委員会　2008年10月13～17日、ジュネーブ
  - オクタブロモジフェニルエーテル、ペンタクロロベンゼン、α －ヘキサクロロシクロヘキサン、β －ヘキサクロロシクロヘキサンに関するリスク管理評価案の検討
  - 短鎖塩素化パラフィン、ペンタクロロベンゼンの非意図的放出リスクプロファイル案の検討
  - 臭素化芳香族化合物の脱臭素化に関する検討
  - 新たに提案されたエンドスルファン、ヘキサブロモシクロドデカンに関する検討
  - その他締約国会合への勧告の検討（ペンタブロモジフェニルエーテルの代替難燃剤に関するガイダンス、PFOSに関する新たな情報）
- 2009年5月（予定）　第4回締約国会議（COP4）
  - POPs検討委員会の勧告の採択

PFOSのエッセンシャルユースに係る議論

- 第3回POPs検討委員会において、PFOS（ペルフルオロオクタンスルホン酸）及びPFOSF（ペルフルオロオクタンスルホン酸フルオライド）の附属書A又はBへの追加を締約国会議に勧告することを決定。
- この中で、一部の用途は代替物がない又は代替に時間がかかるとして使用の継続が必要なもの（エッセンシャルユース）として評価されている（追加情報を必要に応じて収集）。
- PFOSの代替困難な用途の例
  - 半導体用途（反射防止膜及びフォトレジスト）
  - 泡消火剤
  - 医療機器（カテーテル及び留置針）

REACH認可対象物質として合意された物質

物質名	提案国	提案理由	化審法上の扱い
アントラセン	ドイツ	PBT	既存化学物質
4，4’－ジアミノジフェニルメタン（別名4，4’－メチレンジアニリン）	ドイツ	CMR	第二種監視化学物質・第三種監視化学物質
フタル酸ジブチル	オーストリア	CMR	既存化学物質
塩化コバルト	フランス	CMR	既存化学物質
酸化ヒ素	フランス	CMR	既存化学物質
三酸化ヒ素	フランス	CMR	既存化学物質
ニクロム酸ナトリウム	フランス	CMR	第二種監視化学物質・第三種監視化学物質
1－tert－ブチル－3，5－ジメチル－2，4，6－トリニトロベンゼン（別名ムスクキシレン）	オランダ	vPvB	第一種監視化学物質
フタル酸ジエチルヘキシル	スウェーデン	CMR	既存化学物質
ヘキサブロモシクロドデカン	スウェーデン	PBT	第一種監視化学物質
短鎖塩素化パラフィン	英国	PBT	第一種監視化学物質（炭素数11のもの）
ビス（トリブチルスズ）＝オキシド	ノルウェー	PBT	第一種特定化学物質
酸性ヒ酸鉛	ノルウェー	CMR	既存化学物質
ヒ酸トリエチル	ノルウェー	CMR	新規化学物質
フタル酸ブチルベンジル	オーストリア	CMR	既存化学物質

化審法見直し
2020年に向けたスケジュール等

- **新制度の構築による化学物質管理体系の提示**
  - 原則として新制度運用開始から1年間を経た後に、市場に流通する化学物質の製造・輸入量等の把握を行い、国による優先評価化学物質の絞り込みを開始。
  - 十分なデータがそろっていない化学物質について、高生産量のものは、関係事業者による協力を最大限求めつつデータ収集を実施。中生産量・小生産量のものについては、迅速な収集が難しい場合には、国も積極的にデータ収集の役割を担う。
  - 2020年までに、全ての対応を完了することを目指す。
- **化学物質管理に関する情報提供**
  - 収集される化学物質の安全性情報については、企業秘密及び保有者の権利にも配慮しつつ積極的に公開。
  - それらを用いた関係者間のリスクコミュニケーションが積極的に行われることが重要。
- **化学物質安全性情報に係る基盤整備**
  - 化学物質の安全性情報の公開の基盤となるデータベース等は、他法令に基づく情報発信との協力・連携、国際的なデータベースとの相互接続等、戦略的な取組が必要。
- **今後の課題**
  - ナノマテリアルの扱いについては、今後の科学的知見の蓄積や国際的な動向を踏まえ、対応策について引き続き検討。
  - 化学物質管理に関する多くの法制度について、事業者、国民に分かりやすく説明することが重要。総合化学物質管理法制についての意見もあり、今後の検討課題。

化審法データベース（J－CHECK）

- 化学物質の安全性情報の発信基盤として、平成20年5月27日、これまでのデータベース（3省共同化学物質データベース）をリニューアルし、「化審法データベース（通称：J－CHECK：Japan Chemicals Collaborative Knowledge Database）」としてウェブサイトに公開。
- J－CHECKでは、Japanチャレンジプログラムにおいて収集された化学物質の安全性情報収集報告書や、これまで国が行ってきた既存化学物質の安全性点検の試験報告書など、より詳細な情報の発信にも取り組んでいく予定。
- URL：http://www.safe.nite.go.jp/jcheck

32

化審法の改正点（案）

現行法の区分	改正点（案）
新規化学物質	上市前審査は維持。審査に当たり製造･輸入予定量及び用途に配慮。少量新規化学物質、ポリマーに係る規定を見直し。
既存化学物質等	一定量以上製造･輸入される物質について、製造･輸入量及び用途の届出義務を導入。
第一種特定化学物質 （難分解、高濃縮、毒性あり）	引き続き原則として製造・輸入禁止。POPs条約で認められたエッセンシャルユースに配慮。
第二種特定化学物質 （難分解、毒性あり）	リスク評価の結果指定することとする。含有製品の取扱いの規制を追加。
第一種監視化学物質 （難分解、高濃縮、毒性不明）	物質及び含有製品に関する情報伝達について規定。
第二種・第三種監視化学物質（難分解、リスク懸念）	「優先評価化学物質」とする。事業者から有害性･曝露情報を収集。有害性報告義務、有害性調査指示の規定を見直し。

化審法とREACH規則の比較

	現行化審法	化審法改正の方向	REACH
新規化学物質の事前審査	・新規化学物質の製造・輸入には事前審査が必要	・事前審査制度は引き続き維持 ・有害性のみならずリスクを考慮するなど、審査を高度化	・上市前審査は行われないため、登録が済めば、新規化学物質であっても製造・輸入が可能
既存化学物質の安全性情報の収集	・既存化学物質すべてを対象とした安全性情報の収集の仕組みはない ・監視化学物質の製造・輸入量の報告、有害性調査指示等の規定 ・ボランタリーな取組として、官民連携既存化学物質安全性情報収集・発信プログラムを実施	・一定量以上製造・輸入される化学物質について製造・輸入量及び用途情報の提出を義務化 ・国によるスクリーニング評価の結果、リスクが十分に低いと言えない物質（優先評価化学物質）について、事業者より段階的に安全性情報を収集	・新規、既存化学物質を問わず、一定量以上製造・輸入される化学物質の登録を義務化。 ・登録にあたり、提出が必要な有害性情報が、製造・輸入量ごとに一律に定められている。
リスク評価の主体	・法律上の規定はないが、国が、監視化学物質についてリスク評価を実施し、規制対象となる化学物質を特定	・国が、全国的な観点から優先評価化学物質についてリスク評価を実施し、規制対象となる化学物質を特定	・事業者が、製造・輸入を行う化学物質について自らのサプライチェーンにおけるリスク評価を実施 ・（なお、化学物質庁は、特に懸念の高い化学物質について、認可・制限の対象とする仕組みがある）
サプライチェーンにおける情報伝達	・第2種特定化学物質または含有される製品について表示義務あり ・（化管法に基づく安全性情報伝達制度あり）	・特定化学物質及び第1種監視化学物質（製品中の当該物質を含む）について、川下事業者に対する安全性情報伝達を義務付け ・表示義務は引き続き維持	・危険と分類される物質等について、安全性情報伝達義務。 ・その他の物質について、登録番号等を伝達。 ・成形品中に一定以上含有される高懸念物質について、届出、情報伝達義務

化審法見直し:検討を要する技術的課題

- 既存化学物質名簿の整理
- 製造･輸入量届出の裾切り値及び頻度
- 優先評価化学物質指定基準
  - 製造･輸入量と用途から環境放出量を推計する手法
  - スクリーニング毒性データがある場合:曝露に関する基準は？ （現行第二種･第三種監視化学物質の扱いを含む）
  - 有害性に関する基準:GHSとの整合？
  - 毒性データがない場合:環境放出推計量から判断？
  - QSAR等の手法の活用
- 優先評価化学物質に関する情報要求及びリスク評価手法
  - SIDS必須項目のみで十分か？
  - 土壌、底生生物への影響、難水溶性物質の長期生態毒性評価手法
  - 用途情報の収集手法、曝露評価手法
  - 第二種特定化学物質指定要件
- リスクに関する情報伝達手法
  - MSDS義務付けの範囲（物質の範囲、製品の扱い）、記載事項
  - 第二種特定化学物質の表示義務の扱い
  - データベースの改善（J-Check: http://www.safe.nite.go.jp/jcheck/ ）

海外の化学物質管理の動向について

CERI 財団法人 化学物質評価研究機構
Chemicals Evaluation and Research Institute, Japan
安全性評価技術研究所
川原　和三　江藤　千純

1

発表内容

☑化学物質管理政策の動向

□OECDとテストガイドラインプログラムの概要

□REACH･GHSにおける生態毒性試験

2

化学物質管理と規制の背景

リオ宣言とアジェンダ21(1992)

※予防的アプローチと有害化学物質の適正管理

持続可能な開発に関する世界首脳会議(2002)

※科学的根拠に基づくリスク評価・管理
化学物質の影響を最小化する方法での使用・生産(2020年)

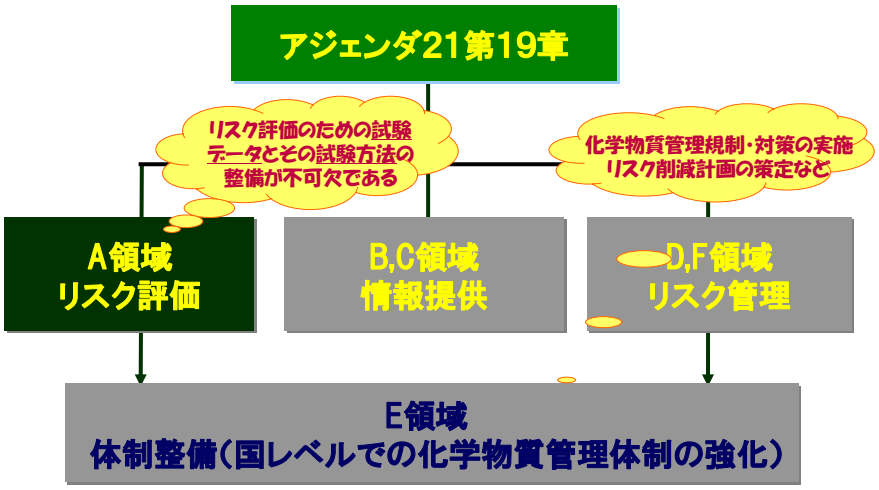
国際化学物質管理会議(2006)

※化学物質管理のための戦略的アプローチ(SAICM) の採択)

欧州委員会の新たな化学品管理と環境問題への対応

3

アジェンダ21第19章
有害化学物質の環境的に健全な管理



4

欧州委員会の化学物質管理の理念

化学物質が人の健康と環境にもたらす悪影響を最小化する方法での使用、生産を2020年までに達成すること
・・・・WSSDにおける合意

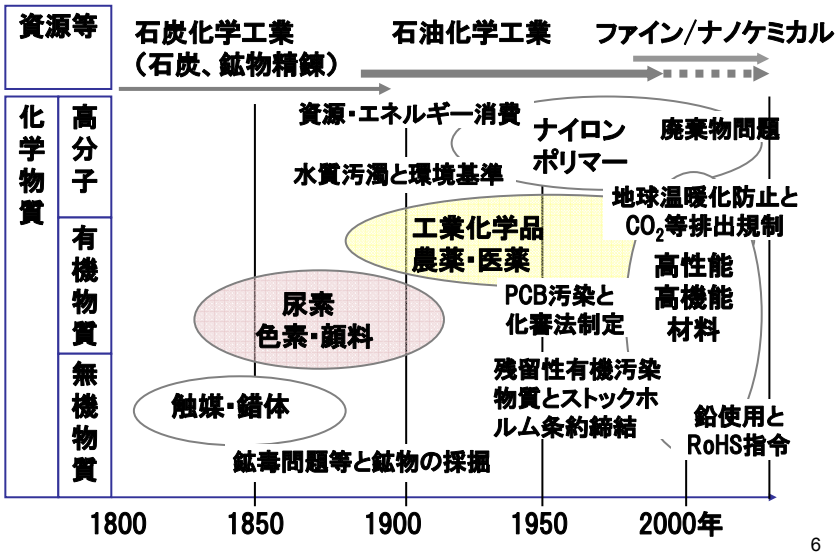
✔ 高懸念物質(SVHC:Substance of Very High Concern)
- ・発ガン性・変異原性・生殖毒性物質(CMR物質*)
- ・難分解性、生物蓄積性、毒性を有する物質(PBT物質*)
- ・難分解性と生物蓄積性が極めて高い物質(vPvB物質)
- ・上記以外で健康や環境に深刻な影響がありそうな物質

✔ 通常の化学物質
- ・既存化学物質の有害性リスク評価の促進
- ・サプライチェーンでの情報管理と共有(暴露評価)

* CMR :Carcinogenic, Mutagenic or toxic to Reproduction substances
* PBT : Persistence, Bioaccumulatve and Toxic

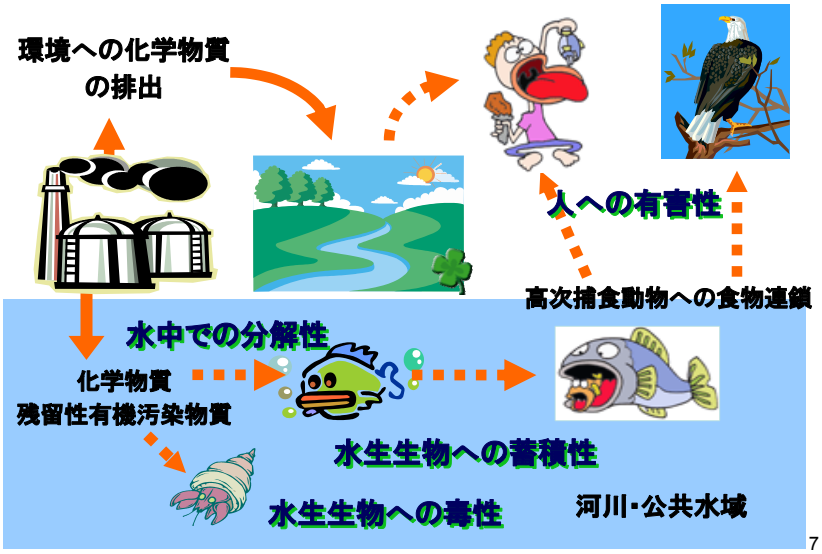
5

化学物質を巡る環境問題と産業の変化



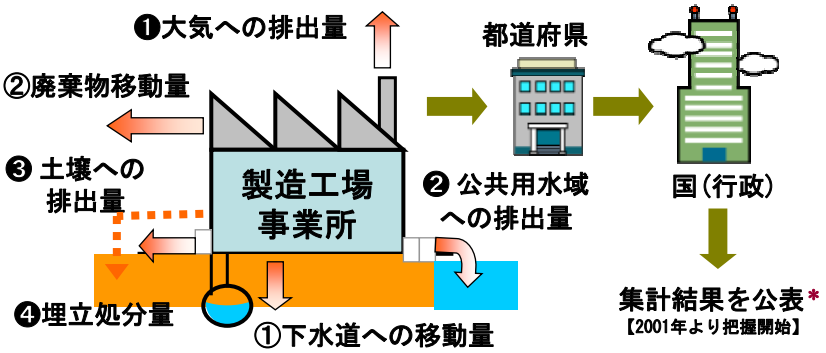
6

化学物質の有害性と環境挙動を調べる



7

化学物質の排出量・移動量把握と管理



従来は435物質	−85物質+218物質	563物質
第一種指定化学物質（354物質） 特定第一種指定化学物質−12物質	見直し（2008）	第一種指定化学物質（463物質） 特定第一種指定化学物質−15物質
第二種指定化学物質（81物質）		第二種指定化学物質（100物質）

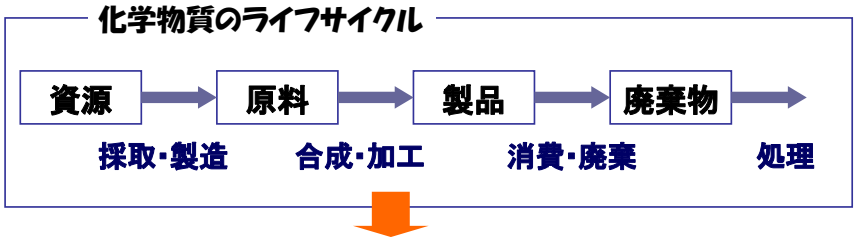
8

＊環境省PRTRインフォメーション広場 http://www.env.go.jp/chemi/prtr/result/index.html

ライフサイクルでの化学物質管理

✔ ライフサイクルで化学物質の使用による環境影響を把握する

① 事業者サプライチェーンで化学物質に関わる情報伝達し
リスク管理・削減を自主的に進める必要性が高まっている



②ライフサイクルのどの段階で化学物質がどのくらい環境に排出さ
れるのかを把握する･･･例えば、PRTR

③環境への排出シナリオより、環境中の化学物質濃度を推定する

9

発表内容

□化学物質管理政策の動向

☑ OECDとテストガイドラインプログラムの概要

□REACH・GHSにおける生態毒性試験

10

OECD(経済協力開発機構)の活動分野

◆活動目的

・持続可能な経済成長と生活水準の向上
・非関税障壁の排除による貿易の自由化

◆活動分野

・経済政策　・金融、財政、企業問題　・国際貿易　・統計
・教育、雇用、労働、社会問題　・行政管理と地域開発
・エネルギー　・食料、農業、漁業　・環境
・科学、技術、産業　・金融、財政、企業問題　・開発協力

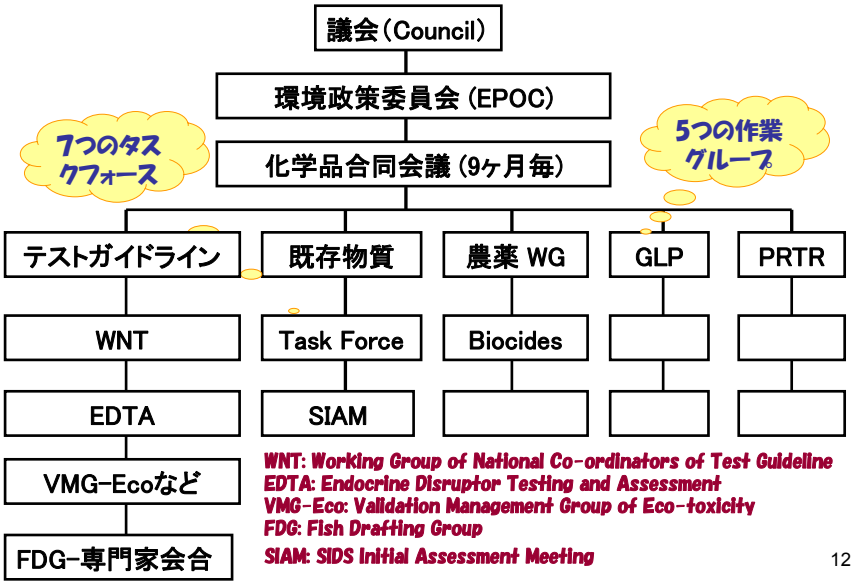
ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT

OECD

30加盟国
約2,000名のスタッフ

11

OECD化学品プログラムの組織



WNT: Working Group of National Co-ordinators of Test Guideline
EDTA: Endocrine Disruptor Testing and Assessment
VMG-Eco: Validation Management Group of Eco-toxicity
FDG: Fish Drafting Group
SIAM: SIDS Initial Assessment Meeting

12

OECD化学品プログラムの基本政策

Yes

- 化学品の安全性を評価するためのツールと評価法を確立し、国際調和の促進を目指す
- 加盟国で分担して化学品の評価を行うことに協力する
- 情報交換と議論の場を提供する

No

- 技術的助言を与えたり、最終判断をする
- 国際的なルールを独自に定める
- 加盟国へ財政／人的に援助を行う

13

OECDが推奨するハザード／リスクアセスメント手法

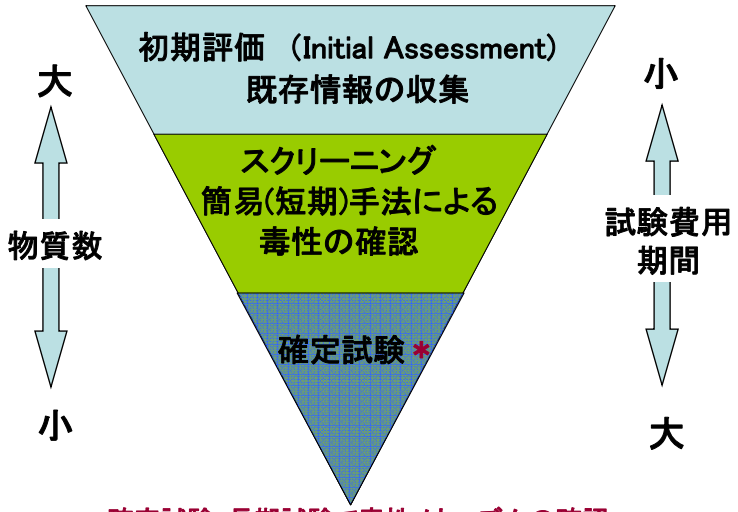
OECDの活動

- ***Harmonization of risk assessment***
  - Sharing the burden of assessment
  - Transparent
  - Relatively rigid
  - Similar assessments in all countries

国別の独自の政策

- *Tailor-made approach*
  - Time consuming
  - Expert dependent
  - Scientifically sophisticated
  - Different assessments from country to country
  - Difficult to achieve animal reduction?

段階的評価システム(Tiered system)



＊確定試験:長期試験で毒性メカニズムの確認

15

試験データの相互受け入れ

OECDテストガイドライン　　優良試験所基準 (GLP)

データの相互受け入れ
Mutual Acceptance of Data (MAD)
MADはOECD非加盟国も参加可能

MADは・・・

- 不必要な重複した試験実施の予防
- 化学物質の輸出入に関する非関税障壁の削減

16

OECDテストガイドライン作成の基本理念-1

◆3Rs理念に基づく試験(TG)整備

3Rsとは・・・

- Reduction　:実験動物の使用を減らす
- Refinement:実験動物の苦痛や痛みを減らし、取り扱いを を向上させる(試験の改善)
- Replacement:既存の動物実験から、動物を使用しない試 験、又は遺伝系統学的に下位の生物を使用

遺伝系統学的順位

魚類(脊椎動物)　甲殻類(無脊椎動物)　バクテリア(*in vitro*)

OECDテストガイドライン作成の基本理念-2

◆試験(TG)バリデーション理念

- The **rationale** for the test method should be available.
- The relationship between the test method's **endpoint's** and the (biological) **phenomenon** of interest should be described.
- A **detailed protocol** for the test method should be available.
- The **intra-, and inter-laboratory reproducibility** of the test method should be demonstrated.
- **Demonstration** of the test method's performance should be based on the testing of **reference chemicals** representative of the types of substances for which the test method will be used.
- The **performance of the test** method should have been evaluated in relation to **relevant information from the species of concern**.
- Ideally, **all data supporting** the validity of a test method should have been obtained in **accordance with the principle of GLP**.
- **All data** supporting the assessment of the validity of the test method should be **available for expert review**.

引用:OECD SERIES ON TESTING AND ASSESSMENT Number 34

18

OECDテストガイドライン作成手順

ステップ-1
- 加盟国、工業界、学会、OECD事務局から新規提案
- 参加国の中からリード国が決定される

↓

ステップ-2
- SPSF(Standard Project Submission Form)の作成

※試験(TG)が必要な背景、既に検討した試験結果も提出

↓

ステップ-3
- ナショナルコーディネータ(WNT)において優先順位(H/M/L)が検討される
- テストガイドラインプログラムでの活動が承認

↓

ステップ-4
- *ad hoc*専門家会合の開催(試験プロトコル、試験物質)
- バリデーション試験の実施
- ドラフトガイドラインの作成・修正

※ピアレビューコメントへの対応とドラフトテストガイドラインの修正・作成

↓

ステップ-5
- ピアレビューパネル(加盟国専門家)によるコメント
- ガイドラインの承認→化学品合同会合へ提出

19

21-Day Fish-Screening Assay TG 作成の実例と期間

◆EGで新規提案(2000)⇒試験プロトコール検討・作成 (2002)・・ステップ1～3・4

◆検証試験の開始・・・ステップ4

フェーズ1A → フェーズ1B → フェーズ2

17β-エストラジオール
17β-トレンボロン(2003)

ペンチルフェノール
プロクロラズ　フルタミド(2004)

過マンガン酸カリウム
1-オクタノール(2005)

◆21-Day Fish-Screening Testガイドライン案作成 (2006)・・・ステップ4

VMG-eco・FDG
＋検証試験報告書提出(2007)
↓
FDG会議開催(2008/10)
↓
修正TGが作成されWNTに提出される

◆Draft TGのレビュー・修正など・・・ステップ4・5

Peer Review Panel
ピアレビュー報告書作成・提出(2007-08)
↓
WNT・EDTA
各国にコメント要請(2008/9)

検討事項

20

OECDテストガイドライン(TG)

-2008年11月現在までに作成済みのｶﾞｲﾄﾞﾗｲﾝ-

第1章:物理化学性状	23
第2章:環境生物への影響	25
第3章:分解性と蓄積性	15(枝番号7含む)
第4章:健康影響	54
第5章:農薬残留性	7
合計	126ガイドライン

21

生態毒性に関するOECDテストガイドライン

TG No.	TG名	作成／改正月		TG No.	TG名	作成／改正月
201	藻類成長阻害試験	2006/3		214	ミツバチ急性接触毒性試験	1998/9
202	ミジンコ急性遊泳阻害試験	2004/4		215	魚類稚魚成長毒性試験	2000/1
203	魚類急性毒性試験	1992/7		216	土壌微生物窒素無機化試験	2000/1
204	魚類延長毒性試験(14日試験)	1984/4		217	土壌微生物炭素無機化試験	2000/1
205	鳥類摂餌毒性試験	1984/4		218	土壌中ユスリカ毒性試験	2004/4
206	鳥類繁殖毒性試験	1984/4		219	水中ユスリカ毒性試験	2004/4
207	ミミズ急性毒性試験	1984/4		220	ヒメミミズ繁殖試験	2004/4
208	陸生植物成長試験	1984/4		221	ウキクサ成長阻害試験	2006/3
209	活性汚泥呼吸阻害試験	1984/4		222	ミミズ繁殖毒性試験	2004/4
210	魚類初期生活段階毒性試験	1992/7		224	嫌気性微生物活性試験	2007/10
211	オオミジンコ繁殖阻害試験	1998/9		225	底質-水でのミミズ毒性試験	2007/10
212	魚類胚・仔魚短期毒性試験	1998/9		227	陸生植物活性試験	2006/7
213	ミツバチ急性経口毒性試験	1998/9				

(2008年11月現在)

22

生態毒性に関するOECD・TGプロジェクト

PJ No.	PJ名	リード国	PJ No.	PJ名	リード国
2.1	EDs:カイアシ類繁殖・発生試験	SWE	2.19	EDs:両生類試験の開発とバリデーション	US/GER/JPN
2.3	鳥類回避試験	UK	2.20	ハエ類毒性試験の開発とバリデーション	EC
2.4	鳥類2世代毒性試験	US	2.22	ダニ類繁殖試験	NL
2.7	魚類胚毒性試験	GER	2.23	魚類限度試験のためのステップ-ダウン試験のガイダンス文書	EC
2.8	EDs:オオミジンコ改良繁殖試験	JPN	2.24	TG209:活性汚泥呼吸阻害試験の改定	UK
2.9	トビムシ類繁殖試験	DK	2.25	EDs:イカ類ライフサイクル試験	UK/GER
2.12	EDs:魚類ライフサイクル試験開発とバリデーション	US/GER/JPN	2.26	EDs:魚類(雌スティックルバック)21日EDクリーニング試験	UK
2.13	EDs:アミ類毒性試験	US	2.27	EDs:魚類短期繁殖試験	US
2.14	EDs:魚類性成熟試験	DK	2.28	EDs:ユスリカライフサイクル試験	GER
2.16	EDs:魚類(長期試験)ガイダンス文書	US	2.29	甲虫類試験のガイダンス文書	EC
2.17	鳥類急性毒性試験	UK	2.30	魚類試験のフレームワーク	US
2.18	EDs:魚類21日スクリーニング試験の開発とバリデーション	OECD/JPN			

EDs:内分泌かく乱作用に関わる"The OECD Conceptual Framework for Testing and Assessment of Endocrine Disrupters as agreed at EDTA6"に基づく試験法開発

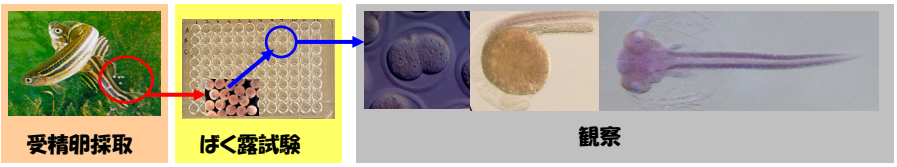
23

魚類胚毒性試験(FET)ドラフトTG
-Fish Embryo Toxicity Test-

◆ドイツ(リード国)がドラフトTG提案(2006年5月)

◆試験の目的
- 通常の魚類急性毒性試験の代替法→試験魚の使用削減

◆試験の概要
- 産卵直後の受精卵をマイクロプレートで48時間培養
- "コロイド状の凝集体の形成"、"組織の形成"、"尾の分離"
  "心拍の鼓動"をEPとしてLC_{50}/NOEC/LOECを求める



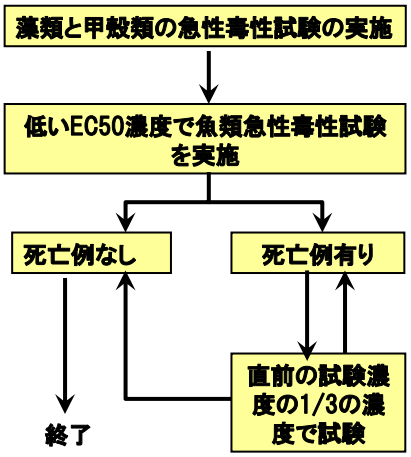
※試験プロトコールはゼブラフィッシュを用いる試験としてテストガイドライン案が作成されている!

24

ECの魚類急性毒性試験の削減
ステップ-ダウン試験ガイダンス文書

- 提案：2006年4月
- リード国：EC
- 試験の目的
  魚類急性毒性試験(TG203)改良(試験魚の削減)のための試験スキーム
- 提案の概要
  - 藻類と甲殻類の急性試験でより低いEC/LC50の1濃度で魚類急性毒性試験を実施する

EC: European commission



25

生態毒性試験におけるエンドポイント
-21-Day Fish-Screening AssayでのVMG-ecoの争点-

【ピアレビュ-パネルのコメント】
- 繁殖段階での産卵数や受精率の低下は内分泌かく乱作用による影響に特異的な変化ではない
- 産卵数及び受精率の低下などは個体群レベルへの影響を評価する重要なエンドポイント(EP)である

【WNTからVMG-ecoへの要請】
- エンドポイントとして産卵数、生殖腺組織変化を含めるのかの検討をFDGに要請
- 米国は繁殖影響を有害性評価の重要な指標としており、“魚類短期繁殖試験新規プロジェクト” をWNTに提案

【FDGの見解】
- 生殖腺組織変化をoptionとしてTGに含める(産卵数は検討中)
- VTG濃度、二次性徴との包括的な評価により偽陰性評価を低減
- 繁殖影響評価のEPは重要であるが試験データ取得が遅れている

26

繁殖影響等を評価する試験の整備状況

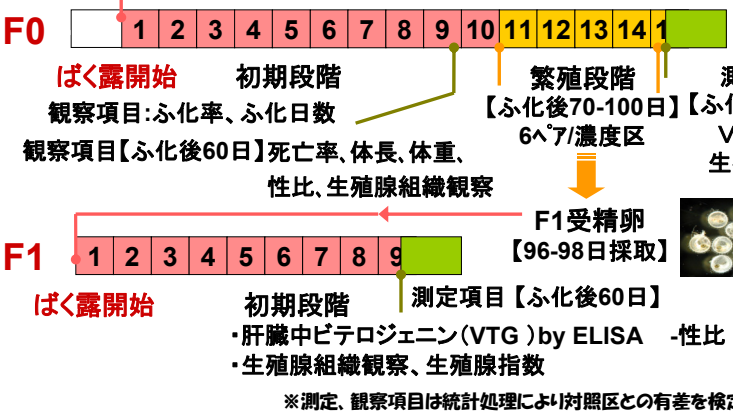
	生態毒性評価		
ｴﾝﾄﾞﾎﾟｲﾝﾄ	生死	成長	繁殖・性成熟
有害性試験	藻類成長阻害試験(201) ミジンコ急性遊泳阻害試験(202) 魚類急性毒性試験(203) 魚類延長毒性試験(204) 魚類初期生活段階試験(210) 魚類卵・前期仔魚短期毒性試験(212) 魚類稚魚成長試験(215) 魚類胚毒性試験Fish Embryo Toxicity Test(検討中)		ミジンコ繁殖試験(211) 魚類フルライフサイクル試験(検討中) 魚類二世代繁殖試験(検討中) 魚類短期繁殖試験(検討中) 両生類繁殖試験(SPSF提出)

27

メダカフルライフサイクル試験-FLCT

メダカ(*Oryzias Latipes*)のライフサイクルステージ

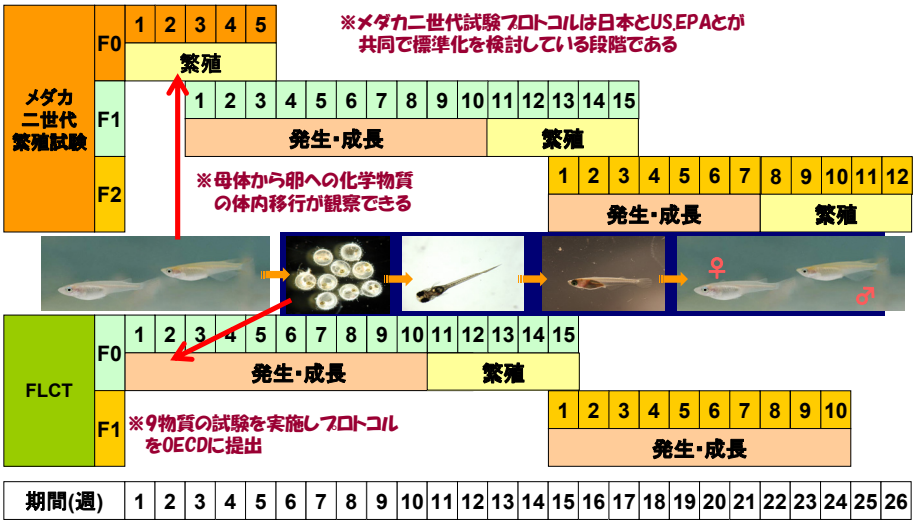
受精卵:受精後数時間以内に採取(受精及び発生状態を確認)



※測定、観察項目は統計処理により対照区との有差を検定する

28

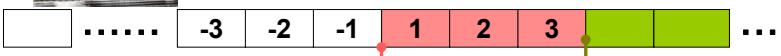
FLCT と二世代繁殖試験の試験ステージ



魚類短期繁殖試験

Fathead minnow

試験魚：ふ化後4-6ヶ月令の雌雄成魚



【ばく露前2-3週間】
繁殖に関する項目の観察
・産卵数・受精率・ふ化率

ばく露
(3週間)

・測定項目：
・二次性徴 -血中VTG濃度
・血中ステロイドホルモン濃度

観察項目・外観・行動
・産卵数と受精率を毎日観察

【試験条件等】
・ばく露方式-流水式試験装置
・試験濃度：2試験濃度以上＋対照区
・濃度区当りの試験生物：雄2-雌4個体×4連/濃度区
・測定項目：pH、DO、温度25 ± 2℃(毎日測定)
試験濃度(週1回測定)
・給餌：アルテミアふ化幼生を1日2回飽食量給餌

30

発表内容

□化学物質管理政策の動向

□ OECDとテストガイドラインプログラムの概要

☑ REACH・GHSにおける生態毒性試験

31

REACHで要求されている生態毒性データ

	要求される試験項目	1～10	1～10 懸念有、新規	10～100	100～1000	1000以上
9.1	水生生物への毒性					
9.1.1	無脊椎動物急性毒性（推奨種:ミジンコ）		○	○	○	○
9.1.2	水性植物(藻類)成長阻害試験		○	○	○	○
9.1.3	短期魚類毒性試験			○	○	○
9.1.4	活性汚泥呼吸阻害試験			○	○	○
9.1.5	ミジンコ長期毒性試験(繁殖毒性)		△		○	○
9.1.6	魚類長期毒性試験			△	△	△
9.1.6.1	魚類初期生活段階(ELS)試験				○	○
9.1.6.2	魚類胚・仔魚期における短期毒性試験				○	○
9.1.6.3	幼魚成長試験				○	○
9.4	陸生生物影響					
9.4.1	ミミズ短期毒性試験				○	○
9.4.2	土壌細菌への影響				○	○
9.4.3	短期植物毒性試験				○	○
9.4.4	ミミズ長期毒性試験					○
9.4.5	次番					
9.4.6	長期植物毒性試験					○
9.5.1	底質生物長期毒性試験					○
9.6.1	長期鳥類繁殖試験					○

REACHにおけるPBT及びvPvB物質の基準

	PBT物質	vPvB物質
P: 難分解性 (Persistent)	(半減期/日)	(半減期/日)
海水中	＞ 60	＞ 60
淡水・河口水中	＞ 40	＞ 60
海水底質中	＞ 180	＞ 180
淡水底質・河口水底質中	＞ 120	＞ 180
土壌中	＞120	＞ 180
B: 生物蓄積性 (Bio-accumulative)		
生物濃縮係数 BCF	＞ 2000	＞ 5000
T: 毒性 (Toxic)		
海水・淡水生物　無影響濃度(NOEC)	＜0. 01 mg/L	指定なし
人健康影響	C:カテゴリー1, 2 M:カテゴリー1, 2 R:カテゴリー1, 2, 3	
人健康影響(67/548/EECによる分類)	慢性毒性 (分類T, R48、Xn,R48)	

REACHにおける高懸念物質(SVHC)

(a) 発がん性カテゴリー1、2 (指令67/548/EEC) C

(b) 変異原性カテゴリー1、2 (指令67/548/EEC) M

(c) 生殖毒性カテゴリー1、2 (指令67/548/EEC) R

(d) PBT(付属書XIIIのクライテリア満たすもの)

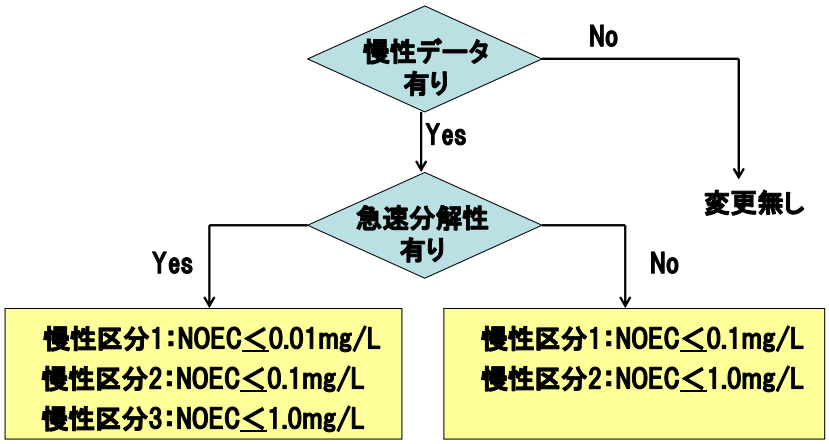
(e) vPvB(付属書XIIIのクライテリア満たすもの)

(f) 上記以外に人健康や環境に重大な影響が起こりうる科学的証拠があり、(a)～(e)と同等の懸念を引き起こす物質　　例えば、内分泌かく乱物質等(個々に検討)

34

GHSにおける慢性分類

従来は・・・
“急性データ+生分解性+生物濃縮性から慢性分類を実施”



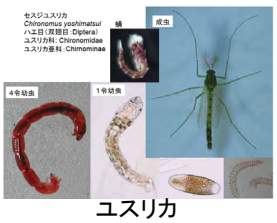
35

GHSでの将来的な生態影響の分類

環境有害性の新たなGHS分類の検討

◆オゾン層破壊物質の影響
モントリオール議定書による指定物質をオゾン層破壊物質として分類する

◆陸生生物への影響
ミミズ、ユスリカ等の有害性データにより分類する


ユスリカ

ミミズ

36

生態毒性試験の海外での動向-まとめ

★化学物質のライフサイクルと環境運命を考慮した水圏以外の生物種での試験法の整備

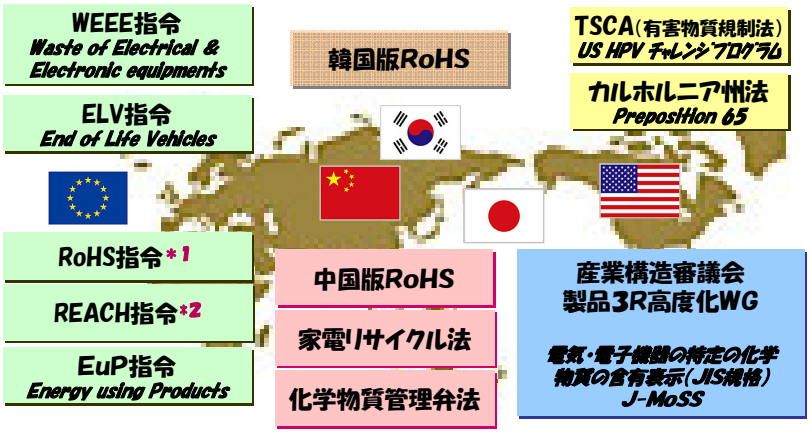
★急性(生死)＝個体レベルでの影響評価だけでなく、生物群(population)、生殖能への影響評価の重要性が増加

★動物愛護、3Rsの観点から、魚類(脊椎動物)でも代替法を開発

37

各国の法規制・対策の動き

各国規制が要求する化学物質の有害性情報に対応が必要です



＊1 Restriction of the use of certain hazardous substances in electrical and electronic equipments

＊2 Regulation on Registration, evaluation and authorization and restriction of Chemicals

38

CERI 財団法人 化学物質評価研究機構
Chemicals Evaluation and Research Institute, Japan

ご清聴 ありがとうございました

http://www.ceri.jp

39

生態影響に関する化学物質審査規制/試験法セミナー
平成20年11月26日、科学技術館サイエンスホール
12月9日、 新梅田研修センター

Ministry of the Environment
Government of Japan

化学物質GLP(動植物毒性試験)に関する動向について

環境省環境保健部化学物質審査室
木野修宏（東京会場）
高木恒輝（大阪会場）

1

Ministry of the Environment
Government of Japan

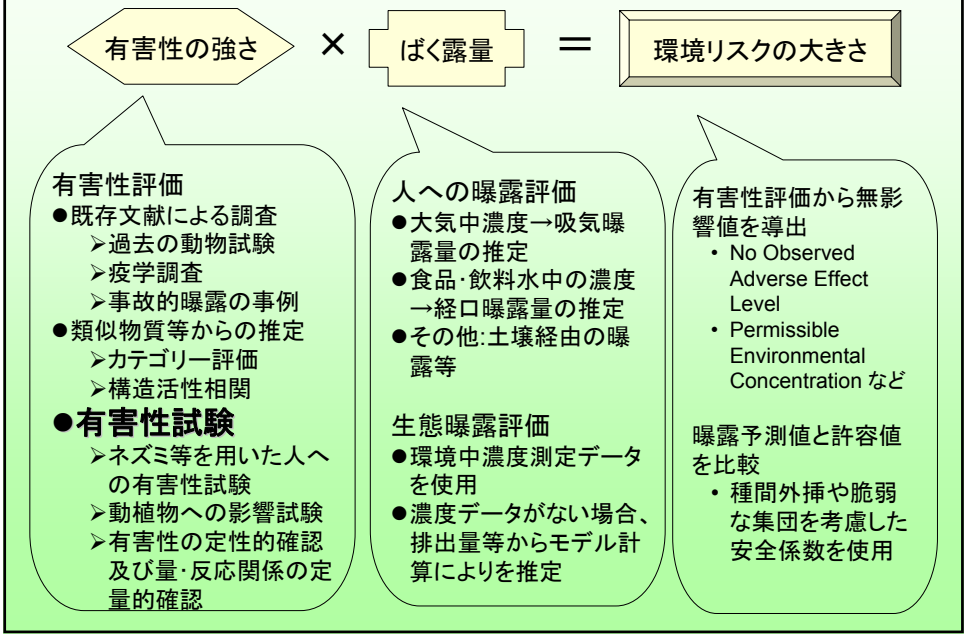
内容:

1　GLP制度の概要について

2最近の動向について

2

環境リスクの評価



有害性試験の実施と活用

＜国内＞
化審法をはじめとする政府の規制導入の判断材料

＜海外＞
- 欧州REACHをはじめとする海外の化学物質管理システムへの対応
- OECD／HPVプログラムなどの国際的な情報共有

→試験結果の信頼性の確保が国際的なレベルで必要・重要

OECD環境保健安全プログラム

- 目的
  - 実験動物愛護の精神を考慮に入れた上での高品質な化学物質の試験および評価方法の確立
  - 化学物質管理の効率性、有効性の向上
  - 化学物質および化学製品の取引における非関税障壁の最小化
- 経緯
  - 1971　化学品プログラムの設立
  - 1970年代　特定の有害化学物質の情報の共有・リスク管理
  - 1981　データの相互受け入れ（MAD)に関する理事会決定
  - 1982　上市前最小データセットに関する理事会決定
  - 1987　既存化学物質の体系的点検に関する理事会決定・勧告
  - 1989　GLPの遵守に関する理事会決定・勧告
  - 1996　PRTRに関する理事会勧告
  - 2002　内分泌攪乱物質の試験評価に関する概念的フレームワーク
  - 2004　（定量的）構造活性相関((Q)SAR)の検証に関する原則
  - 2007　化学物質ポータルサイト「eChem Portal」一部運用開始（http://webnet3.oecd.org/echemportal/）
- MAD参加国
  - OECD加盟30カ国イスラエル、スロベニア及び南アフリカがデータ相互受入に参加。
  - 中国、インド、ブラジル等についても交渉中

MAD（Mutual Acceptable Data）システム

◆MADシステム

同一の化学物質の届出、登録の際に新たなデータを作成する手間を省き、同じデータを使うことを可能とするシステム

◆MADシステムを支えるプログラム

テストガイドライン（世界中の試験施設で同じように試験が行われるようにするため、試験方法を詳細に記述）およびGLP（良質かつ正確な試験結果を提供するための試験所における管理や試験実施、報告などに関する基準）によって担保

有害性試験

- OECD試験法ガイドライン
  - 1981年以来、OECDにおいて、国際的に共通の試験法ガイドラインを作成
  - 物理化学的特性
  - 分解性・濃縮性
  - 生態毒性
    - 藻類、ミジンコ、魚類等を用いた致死性、繁殖影響等の試験
  - 哺乳類への毒性
    - ネズミ等を用いた急性毒性、慢性毒性、発がん性等の試験

OECD GLP 原則

- GLP原則は、1981年の「データの相互受け入れに関する理事会決定」の中の重要な部分である。
- 1989年の「GLPの遵守に関する理事会決定・勧告」では、国によるGLP査察制度の構築等が求められている。
- 関連して、OECDから以下のようなガイダンス文書が発行されている。
  - No 1 : OECD GLP原則
  - No 2 : GLP適合性モニタリングの改訂指針
  - No 3 : 施設査察及び試験査察実施のための改訂ガイダンス
- これらは各省庁と日本QA研究会により和訳が作成されており、以下のページよりダウンロードが可能である。

http://www.jsqa.com/download/080408index.html

OECD/GLP原則における要求項目

1. 試験施設の組織と職員
2. 信頼性保証プログラム
3. 施設
4. 機器、材料及び試薬
5. 試験系
6. 被験物質及び対照物質
7. 標準操作手順書
8. 試験の実施
9. 試験結果の報告
10. 記録及び試資料の保管と維持

日本におけるGLPプログラムの概要

GLP プログラム	省庁	関連機関
1. 医薬品・医療機器	厚労省	医薬品医療機器総合機構
2. 労働化学物質	厚労省	労働安全衛生総合研究所
3. 農薬・殺虫剤	農水省	農林水産消費安全技術センター
4. 動物医薬品	農水省	動物医薬品検査所
5. 飼料添加物	農水省	農林水産消費安全技術センター
6. 化学品 1)人毒性 2) 分解性・蓄積性. 3) 生態毒性	1) 厚労省	国立医薬品食品衛生研究所
	2)経産省	製品評価技術基盤機構
	3) 環境省	国立環境研究所

10

化審法の下で要求されるGLP試験について

- 新規化学物質の審査に使用する有害性試験結果は、原則として「化学物質GLP」に適合する試験施設で行われたものでなければならない。

(OECD-GLP原則に適合した他の国の試験施設で行われた試験についても認められる。)

- 国によって（もしくは製造・輸入業者によってボランタリーに）行われる既存化学物質の試験についても、GLP試験施設で行われたものでなければならない。

11

化審法の下で要求されるGLP試験について

- 環境省、厚生労働省、経済産業省は化審法の下でのGLP原則を定めている。これは、OECD-GLP原則に適合したものである。
- 三省では、試験施設がGLP原則に適合しているか確認するための、共通の実施手順（必要とされる書類、書面審査、査察等）を定めている。
- 三省では、それぞれの特徴に従って、化審法で要求される各GLP試験について役割分担を行っている。

省庁	化審法GLPの下での役割分担	GLP試験 (例)
環境省	生態毒性	藻類生長阻害試験、ミジンコ急性遊泳阻害試験、魚類急性毒性試験、ミジンコ繁殖試験、魚類初期生活段階毒性試験、底質添加によるユスリカ毒性試験等
厚生労働省	人毒性	哺乳類28日間反復投与毒性試験、細菌復帰突然変異試験、哺乳類培養細胞染色体異常試験、哺乳類慢性毒性試験、生殖能・後世代影響試験、催奇形成試験、変異原性試験、がん原性試験、生体内運命試験、薬理学試験等
経済産業省	分解性・蓄積性	分解度試験、濃縮度試験

12

生態毒性GLPについて

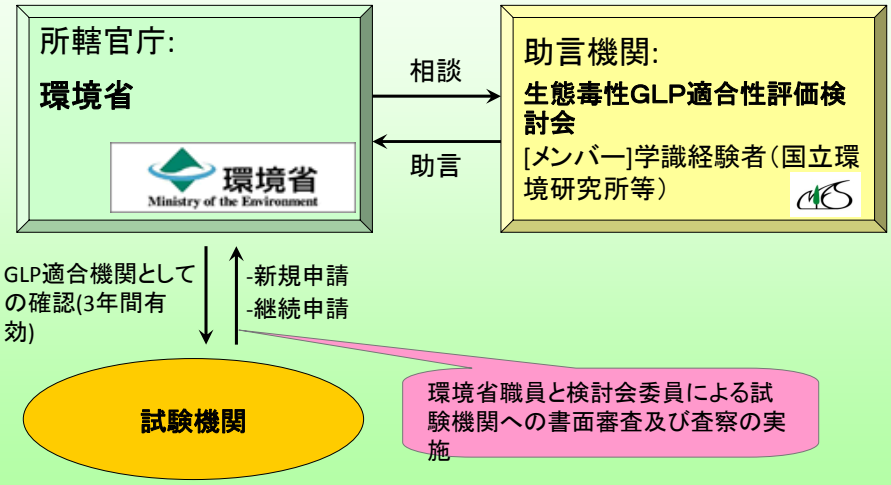
・動植物毒性試験について

動植物毒性試験の種類及びそれぞれの試験に係るGLP適合性確認を受けている試験施設数は以下のとおり。（平成20年11月1日現在）

試験項目	試験施設数
藻類生長阻害試験	8
ミジンコ急性遊泳阻害試験	8
魚類急性毒性試験	8
ミジンコ繁殖試験	5
魚類初期生活段階毒性試験	3
底質添加によるユスリカ毒性試験	2
鳥類繁殖試験	0

動植物毒性試験に係るGLPへの適合性については、環境省と専門家による試験施設への査察及び書面審査を行った上で、生態毒性GLP適合性評価検討会で判定している。

生態毒性GLPにおける適合確認プロセス



14

Ministry of the Environment
Government of Japan

内容:

1　GLP制度の概要について

2最近の動向について

15

OECDにおけるGLP相互現地評価制度について

＜背景＞
•OECDにおける加盟国間での化学物質試験データの相互受け入れ（MAD:Mutual Acceptance of Data）は、テストガイドライン及びGLP制度によりその信頼性が担保されている。
•OECDのGLP原則は、各国におけるGLP制度で運用されているところであり、各国の査察機関により分析機関のGLP適合を確認する国内査察制度を持っている。

＜目的＞
相互現地評価制度において、**加盟国が相互にその査察制度の信頼性を確認**することにより、間接的に**各国の分析機関の試験データの信頼性を確認**すること

16

OECDにおけるGLP相互現地評価制度について

＜制度の運用＞
・OECD／GLPワーキンググループで管理
・10年間のサイクルで約50のGLPプログラムが対象予定
・現地評価チームは2名（他国）で構成。

＜実際の現地評価例＞

スケジュール	現地評価チームの活動内容
～2ヶ月前	査察用資料の提出を受ける。受入査察機関との間で、事前質問、追加資料の提出要請等
1日目	受入査察機関のオフィスへの訪問（半日程度）。事前提出資料に関する疑問点の解消、記録の確認、職員へのインタビュー等
2日目～4,5日目	分析機関における現地査察とスタディーオーディットに同行、現地での観察
最終日	現地評価チームが用意する中間報告のサマリーに基づき、所見について議論
～1ヶ月後	調査報告の完成（できるだけ、現地で完成させることを推奨）

OECDにおけるGLP相互現地評価制度について

＜調査報告の作成（逸脱が指摘される場合）＞
・ 査察に関する手続に、GLP査察に関するガイダンスからの逸脱あり
→逸脱に関する詳細情報と、それがMADにおけるデータの信頼性に影響を及ぼすものかどうかの結論を記載。
・ 重要な逸脱あり
→それに関する改善提言が調査報告に含まれる。

＜調査結果の評価＞
1. 調査報告は、受入機関による事実関係の修正手続の機会を経て、3ヶ月以内に最終版として完成、OECD事務局に提出。
2. 調査報告は、OECD／GLPワーキンググループによりレビューされ、コンセンサスにより合意。
3.（重要な逸脱がある場合）
そのプログラムを代表するメンバーにより、修正の活動／スケジュールが示され、ワーキンググループによるフォローが検討。
（重要な逸脱がなかった場合）
当該GLP制度は適切な査察制度により運営されていると結論。

OECDにおけるGLP相互現地評価制度について

＜OECDにおけるMJVのスケジュール（日本が関連するイベントを抜粋）＞

実施年	対象物質	査察当局	現地評価チーム
2008	医薬品（医療機器を含む）、労働化学物質	（独）医薬品医療機器総合機構、厚生労働省安全衛生部	ベルギー、韓国
2009	化学品、農薬	デンマーク	日本（機構）、フィンランド
2010	―	フィンランド	日本（機構）、ハンガリー
2011	化学品、農薬	ギリシャ	日本（化学品）、オーストリア（化学品、農薬）
2011	―	ハンガリー	日本（農薬）、フランス（医薬品）
2012	農薬（動物医薬品及び肥飼料を含む）	動物医薬品検査所、（独）農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部、同農薬検査部	ポーランド、カナダ（化学品、農薬）
2012	化学品	厚生労働省医薬食品局、経済産業省、環境省	フランス（動物医薬品）、イスラエル

ご静聴、ありがとうございました。

化審法HP:
http://www.env.go.jp/chemi/kagaku/index.html

20

試験手順マニュアル（難水溶性混合物および多成分物質における水性画分(WAF)の調製方法）（案）

１．適用範囲

本マニュアルは，化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）において新規化学物質の届出に際して提出すべき生態毒性試験（厚生労働省医薬食品局長，経済産業省製造産業局長及び環境省総合環境局長通知「新規化学物質等に係る試験の方法について（最終改正：平成18年11月20日）」）における標準的な生態毒性試験手順（藻類，ミジンコ類及び魚類の急性毒性に対する試験手順例（平成18年11月版），（独）国立環境研究所）によっては被験物質の有害性評価が困難な物質（試験困難物質）について，試験実施者が検討するべき技術的事項についてとりまとめたものである。本項では，試験困難物質の内，難水溶性混合物および多成分物質を対象としている。

本マニュアルは，上記試験法に従い，かつＧＬＰ（Good Laboratory Practice）に準拠して行う場合を想定して記述している。

本マニュアルに特に記載されていない事項については，上記試験法に従うものとするほか，OECD SERIES ON TESTING AND ASSESSMENT Number 23 “GUIDANCE DOCUMENT ON AQUATIC TOXICITY TESTING OF DIFFICULT SUBSTANCES AND MIXTURES”(2000；以下「ガイダンスドキュメント２３」という)に準ずるものとする。

２．定義

（１）難水溶性物質（Poorly（or sparingly）water-soluble substance）
　溶解度の限界が＜100mg/L の物質

（２）混合物（Mixture）
　化学反応を起こさない２つ以上の物質の混合物または溶液

（３）多成分物質（Multi-component substances）
　溶解度や物理／化学的性状の異なる個々の物質が複雑に混ざり合った混合物を示し，ほとんどの場合，一定範囲の長さ／数の炭素鎖または置換度を持つ同族列の物質と特徴づけられる。

（４）水性画分（ＷＡＦ，Water-accommodated fraction）
　被験物質が溶解状態もしくは安定な分散（乳濁）状態，または両者が混在する状態で存在している水性画分。乳濁状態や微粒子状態の被験物質が含まれていることもある。混合物および多成分物質の場合にのみ適用することができ，単一物質の場合には適用しない。

（５）負荷率（Loading rate）
　ＷＡＦの調製の際に用いられる被験物質と水の重量対容積比（mg/L）。溶解させる前に被験物質と水を混合する濃度である。

３．化審法に基づく審査における難水溶性混合物および多成分物質の取扱いについて

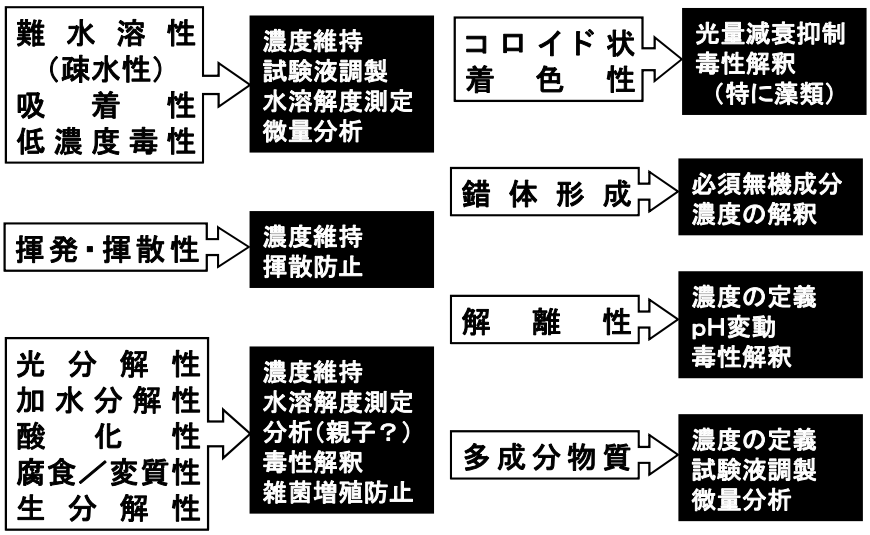
化審法に基づく届出に当たり実施するべき生態毒性試験の方法について定めた「新規化学物質に係る試験の方法について」においては、被験物質の培地等への溶解度が極端に低く、通常の測定法では溶解限度を求めることができない場合であって、溶解限度以下の濃度ではLC_{50}等の毒性値は求めることができない場合には、分散系で試験を行うこととすると記載されているが、試験液の調製方法に関する具体的な記述はない。また、「監視化学物質への該当性の判定等に係る試験方法及び判定基準」においても、難水溶性混合物および多成分物質の取扱いについて特に記載はない。このように化審法に基づく新規化学物質の審査等においては、これまで難水溶性混合物および多成分物質の取扱いについて明らかに示されているものが無いため、当該物質に係る試験の実施に当たっては、後述する予備的検討の結果等を踏まえて、適切な試験法を選択する必要がある。被験物質の生態毒性の評価に当たり、水性画分を用いることが必要である場合には、後述する技術的事項を踏まえて具体的な試験方法を設計するべきである。

４．試験方法

4.1　既存情報による予備的検討と予備実験

“試験困難“とは，被験物質が下記の図１のような特性を持ち，白抜き枠内のような試験実施面での困難を伴う可能性があり，標準的な生態毒性試験手法に改良や追加を必要とするということを意味している。

図１　　被験物質特性と試験実施困難性との関連



したがって，試験実施前には，被験物質の物理／化学的性状，運命および環境毒性に関する情報を調査しておくことが肝要である。外観等の状態（液体，固体，気体，色調），化学構造，純度，組成，分子量，n-オクタノール／水分配係数（log Kow），水への溶解度，蒸気圧，ヘンリー定数（H），沸点，融点，錯体形成定数，加水分解性，光分解性，解離性等の情報は，試験の

難易度をある程度予測し，その後の試験設計（試験水の調製，濃度の維持，分析法開発，試験手順，暴露方式の決定・改良など）をする上でも重要な指標である。多成分物質の場合はこれら情報が得られない場合が少なくないが，構造類推等により調製上の課題を事前に知ることはある程度可能かもしれない。情報が十分でない場合は，試験条件下における安定性を調べるために，ガイダンスドキュメント 23 の Figure 1「水生毒性試験からの被験物質の損失過程を特定するための予備試験設計」が参考になる。

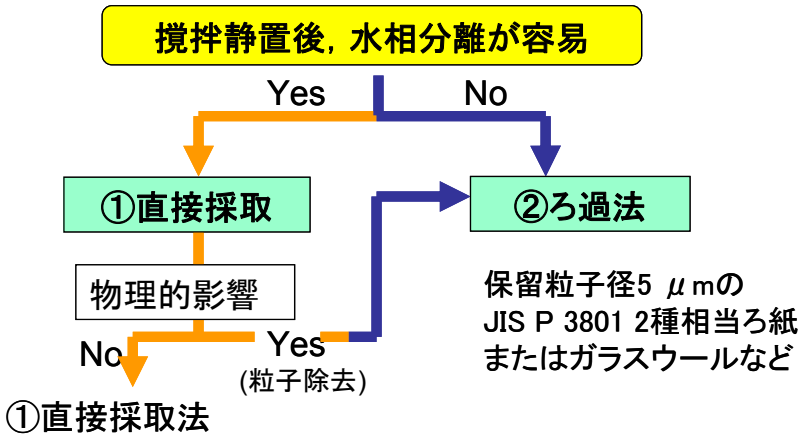
被験物質の性状や組成，試験に用いる負荷率等にもよるが，難水溶性で多成分の被験物質では，負荷率中の全ての成分がＷＡＦ中に移行する可能性は少ない（部分的溶解）。飽和溶液の状態に達するまでの撹拌時間が分からない場合は，事前に検討を行う。例えば，撹拌開始後 4 時間，16 時間，20 時間に適当な分析手法（主成分や意味のある成分の分析（クロマトグラフィー等），または全有機炭素（ＴＯＣ）等の測定）で被験物質を分析する。ただし，後者は微量濃度の分析や生物を暴露した試験水の分析には適さない。検出限界以下の場合には，実施した分析検討結果，負荷率および検出限界値を報告する。

4.2 ＷＡＦ調製手順

(1)　被験物質と水を混合し，飽和溶液の状態に達するまで撹拌する。ただし，調製中に溶存酸素濃度，pH，温度等の水生生物に適した水質（各試験ガイドライン参照）が変化しないためには攪拌時間は短い方がよく，48 時間以内を目安とする。

(2)　撹拌後の試料を静置し，水相を直接採取しＷＡＦとするか，ろ過により懸濁物質を取り除きＷＡＦとする。

予備試験を実施し，下図を参考に直接採取法とろ過法の選択を行う。直接採取により水相分離が困難な場合や，供試生物に物理的影響が認められると判断される場合（特にミジンコに影響が見られることが多い）は，ろ過法により微粒子等を除去する。



(3)　水相を採取しＷＡＦとする場合は，撹拌後の試料を数時間（例えば 4 時間）静置する。被験物質は性状により浮遊，沈殿または懸濁状態となり，透明な水相（例えば中層）を採取できる場合に，この水相を必要量採取する。

(4)　ろ過を行う場合は，保留粒子径 5 μｍの JIS P 3801 2 種に相当するろ紙（例：ｱﾄﾞﾊﾞﾝﾃｯｸNo.2 およびﾜｯﾄﾏﾝNo.2）やガラスウール等を用いる。減圧ろ過による被験物質の消散や，吸着等による被験物質の消失の可能性があるため，生物に対して物理的影響がないのであればより目の細かいメンブレンフィルター（孔径 0.45 μｍ等）を用いる必要はない。

4.3 ＷＡＦ調製の注意点

(1) 使用する被験物質は使用前に均一であることを目視で確認し，必要であれば攪拌または混合し均一化する。

【解説】難水溶性混合物および多成分物質の混合剤のような場合は，各成分の物理化学性状が異なれば，保管条件や調製条件により，ある成分が固化する，または成分同士が分離等をする可能性もあるため，秤量前に撹拌が必要な場合もある。被験物質の保管条件などの情報を事前に確認することが望ましい。

(2) 負荷率ごとに個別にＷＡＦを調製する。単一のＷＡＦから希釈してはならない。

【解説】ＷＡＦは部分的溶解性を示す多成分物質の生態毒性試験に適用される。すなわち，ある負荷率で多成分物質を水に添加すると全て溶解する成分もあるが，ある成分は飽和濃度までしか溶解せずに不溶物質が水中に残るといった状態になり，ここからＷＡＦを採取することとなる。これを希釈してしまうと飽和濃度の成分が希釈され，本来得られるべき飽和濃度が得られない事態になる。ガイダンスドキュメント 23，項目 3.11 にも“WAFs are prepared individually and not by serial dilution of a single stock WAF.（ＷＡＦは同一の保存ＷＡＦから連続的に希釈して調製するのではなく個別に調製する。）”と記載されている。それを確認した実験を下記に示す。

難水溶性の多成分物質のモデル物質として，アルキルフェノール類５物質と多環芳香族５物質用いて，ア）ＷＡＦ原液を段階希釈して作成する調製法（希釈法）と，イ）濃度毎にＷＡＦを調製する個別添加法の比較を行い，溶解組成を求め，得られた試験液中でミジンコ急性遊泳阻害試験を実施し，その差異を比較した。結果を表 1-1 および表 1-2 に示す。希釈法と個別添加法の間には測定濃度および毒性に明らかな差異が認められ，ＷＡＦは個別添加法により調製すべきことが確認された。

希釈法では，負荷率 1～100 mg/L の測定濃度は 1000 mg/L のそれと比較し希釈倍率に応じた濃度となった。個別添加法では，負荷率が溶解度（または飽和濃度）以上の場合は，アルキルフェノール類では溶解度（または飽和濃度）を超える濃度は得られなかった。一方，多環芳香族は単独では水に極めて難溶だが，ＷＡＦ中では溶解度を超える濃度を示した。物性の類似した化合物同士が混合した状態では単独成分の溶解度を超えるような濃度を持つＷＡＦが調製される可能性を示唆した。逆に負荷率が溶解度（または飽和濃度）に満たない場合は，負荷率に近い濃度が得

られた。ただし，低負荷率では検出限界未満となり測定濃度が得られないことがあった。また，ミジンコへの阻害影響は測定濃度を反映した結果となった。すなわち，同じ負荷率であっても調製方法の違いによりミジンコへの阻害影響に相違が認められることから，個別添加法による負荷率の調製が必要であることが認められた。

表 1-1　アルキルフェノール類混合物をＷＡＦ原液を希釈して調製した試験液（希釈法）と個別添加して調製したＷＡＦ（個別添加法）中の実測濃度とミジンコへの影響

			平均測定濃度（mg/L）						ﾐｼﾞﾝｺ 48hr
			ＢＰ	ＰＰ	ＨＰ	ＯＰ	ＮＰ	合計	阻害率(%)
*1 負荷率 (mg/L)	0.01	希釈	--	--	--	--	--	--	--
		個別添加	<0.02	<0.02	<0.03	<0.03	<0.07	--	0
	0.1	希釈	--	--	--	--	--	--	--
		個別添加	0.18	0.10	0.06	<0.03	<0.07	0.34	100
	1	希釈	0.42	0.11	<0.03	<0.03	<0.07	0.53	0
		個別添加	1.06	0.92	0.76	0.82	0.43	3.99	100
	10	希釈	2.89	1.03	0.08	0.06	<0.07	4.06	100
		個別添加	9.41	9.05	6.49	4.77	1.23	30.95	100
	100	希釈	26.9	10.2	0.98	0.50	<0.07	38.58	100
		個別添加	81.7	62.0	12.7	6.55	0.87	163.82	100
	1000	希釈	271	102	10.0	4.72	0.77	388.49	100
		個別添加	271	101	10.1	4.67	0.77	387.54	100
1/5 Elendt M4への溶解度（mg/L）			520	190	22	9.7	1.4	743.10	--

表 1-2　多環芳香族類混合物をＷＡＦ原液を希釈して調製した試験液（希釈法）と個別添加して調製したＷＡＦ（個別添加法）中の実測濃度濃度とミジンコへの影響

			平均測定濃度（mg/L）						ﾐｼﾞﾝｺ 48hr
			ＦＲＥ	ＡＣＥ	ＡＮＴ	ＦＲＡ	ＰＹＲ	合計	阻害率(%)
*1 負荷率 (mg/L)	0.01	希釈	--	--	--	--	--	--	--
		個別添加	<0.0015	<0.0027	0.00012	<0.00002	<0.00002	0.00012	0
	0.1	希釈	--	--	--	--	--	--	--
		個別添加	0.034	0.014	0.00874	0.00483	0.00851	0.0701	0
	1	希釈	0.0015	0.0027	0.00003	0.00003	0.00002	0.0043	0
		個別添加	0.341	0.428	0.0231	0.0148	0.0155	0.8224	100
	10	希釈	0.007	0.026	0.00014	0.00031	0.00020	0.0337	0
		個別添加	0.934	2.14	0.0170	0.0223	0.0193	3.1326	100
	100	希釈	0.095	0.270	0.00140	0.00313	0.00206	0.3716	25
		個別添加	0.964	2.06	0.0160	0.0302	0.0212	3.0914	100
	1000	希釈	1.21	2.30	0.0141	0.0325	0.0216	3.5782	100
		個別添加	1.21	2.30	0.0141	0.0325	0.0216	3.5782	100
1/5 Elendt M4への溶解度（mg/L）			0.50	1.9	0.00080	0.0038	0.000096	2.40	--

*1：ここでは物質ごとの負荷率を指す。例えばアルキルフェノール類で負荷率 100 mg/L というのは，BP，PP，HP，OP，NP それぞれが 100 mg/L であり，合計の負荷率としては 500 mg/L となる。

アルキルフェノール類：BP；*p*-*t*-ブチルフェノール，PP；*p*-*t*-ペンチルフェノール，HP；*p*-*n*-ヘキシルフェノール，OP；*p*-*t*-オクチルフェノール，NP；*p*-*n*-ノニルフェノール

多環芳香族類：FRE；フルオレン，ACE；アセナフテン，ANT；アントラセン，FRA；フルオランテン，PYR；ピレン

（3）溶剤の使用は極力避ける。秤量が困難な場合等で溶剤を使用した際は，ＷＡＦ中に有機溶剤が残らないように努める。

【解説】ガイダンスドキュメント 23 では混和性溶剤の使用はＷＡＦの組成を変化させるので推奨していない。また，クロマトグラフィー等の分離分析が可能な場合は別であるが，ＴＯＣ測定に依存する場合は，溶剤が含まれることで測定が困難になることもある。また，界面活性作用を持つ分散剤の使用は，被験物質との物理化学的作用により正しく毒性を示さない可能性があることから，通常は認められていない。

（4）他に試験実施が困難な特性（揮発性，光分解性，加水分解性等）を有する被験物質については，それら特性に応じた調製方法を検討する。

【解説】難溶性多成分物質でかつ揮発性物質のＷＡＦ調製時には，負荷率，試験容器の形状，温度等の環境変動が損失率に影響を与え得る。一般的には，調製中は試験容器を密閉し，容器の上部空間を最小限に保つ。分析用のサンプルは上部空間のない容器に保管する。

ＷＡＦ調製時に分解する（光分解，加水分解，酸化，生分解など）場合は，単一成分の場合よりもさらに複雑であり，飽和までの時間も分解が進むことになり，各成分と分解物が複雑に共存した状態となる。4.1 項に示したように予備的にその性状を把握し，極力安定な暴露試験の実施に努め詳細を報告する。

５．報告書作成の際の留意点

少なくとも以下の事項について，報告書に記載する必要がある。

5.1　ＷＡＦの調製方法とその選定理由

【記載例】

（1）ＷＡＦ調製の選定理由（難水溶性，多成分物質および混合物）

（2）調製方法（負荷率，被験物質重量，水量，容器形状，容器材質，試験用水，温度，攪拌時間および強度，容器密閉の程度，安定性等）

5.2　暴露試験に用いたＷＡＦの外観

【記載例】

（1）色調，沈殿物の有無，浮遊物の有無，凝集の有無およびその状態等

5.3　負荷率で表記した毒性値

LL50，EL50，NOELR 等（LC50，EC50，NOEC ではない）。

LL50:　Median lethal loading rate（半数致死負荷率）

EL50:　Median effect loading rate（半数阻害負荷率）

NOELR: No observed effect loading rate（最大無影響負荷率）

5.4　実測濃度で表記した毒性値

実測濃度が得られる場合は，実測濃度で表記した下記毒性値を報告する。実測濃度が得られない場合はその理由を報告する。

LC50:　Median lethal concentration（半数致死濃度）

EC50:　Median effect concentration（半数阻害濃度）

NOEC:　No observed effect concentration（最大無影響濃度）

６．文献

・OECD Environmental Health and Safety Publications Series on Testing and Assessment No.23, Guidance Document on Aquatic Toxicity Testing of Difficult Substances and Mixtures, Environment Directorate Organization for Economic Co-operation and Development, Paris (2000)

７．参考資料

・平成 18 年度（独）国立環境研究所請負業務，平成 18 年度難水溶性物質の試験法検討業務（㈱三菱化学安全科学研究所）(2007)
・生態影響に関する化学物質審査規制／試験法セミナー（平成 18 年度）テキスト，環境省・（独）国立環境研究所(2007)
・生態毒性試験法セミナー（平成 17 年度）テキスト，環境省・（独）国立環境研究所(2006)

生態影響に関する化学物質審査規制／試験法セミナー

試験困難物質の試験実施に係る技術的事項

平成20年11月26日（水）（東京）
平成20年12月 9日（火）（大阪）

㈱三菱化学安全科学研究所

セミナー内容

- 試験困難物質とは
- これまでの検討報告概要
- 用語の定義　WAFとは
- 難水溶性多成分モデル物質の水性画分（WAF)調製検討
- 試験手順マニュアル（WAFの調製方法）案

試験困難物質とは

標準的な水生生物毒性試験手法に

改良や追加を必要とするような物質

（考え方や評価も含む）

極めて手間のかかる
面倒なもの

化学物質特性と試験実施困難性との関連

難水溶性（疎水性） 吸着性 低濃度毒性	濃度維持 試験液調製 水溶解度測定 微量分析
揮発・揮散性	濃度維持 揮散防止
光分解性 加水分解性 酸化性 腐食／変質性 生分解性	濃度維持 水溶解度測定 分析（親子？） 毒性解釈 雑菌増殖防止
コロイド状 着色性	光量減衰抑制 毒性解釈 （特に藻類）
錯体形成	必須無機成分 濃度の解釈
解離性	濃度の定義 pH変動 毒性解釈
多成分物質	濃度の定義 試験液調製 微量分析

OECD ガイダンスドキュメント No23

Guidance Document on Aquatic Toxicity Testing of Difficult Substances and Mixtures

（試験困難物質および混合物の水生生物試験に関するガイダンス文書）

2000年5月　最終版承認（9月作成）

水生生物の生態毒性試験において一般に困難と言われる物質の実用面で有効な試験のあり方を記載。

しかし

結果の解釈
分類、リスク評価
適用できない物質

→ 利用者（申請者、当局）との協議、合意が必要

試験の実施方法や結果の解釈に困難や混乱を起こし易い

これまでの検討報告概要
（難水溶性物質対応）

平成14年度～15年度

8種化学物質のミジンコ毒性に及ぼす助剤（溶剤，分散剤）使用の影響

p-ペンチルフェノール，2-メチルナフタレン，2,3,4,6-テトラクロロフェノール，*m*-キシレン，2-セチルベンゾ[b]チオフェン，3-クロロ-4-フルオロニトロベンゼン，*p*-クロロトルエン，4-エチル-1,1ビフェニル

平成17年度

異なる4つの性状を有する難水溶性物質を用いた条件の異なるWAF（WSF）調製法（撹拌方法・撹拌時間・静置時間・フィルター・硬度等）の検討

固体・浮遊性：アセナフチレン
固体・沈降性：ビフェニル
液体・比重<1：*n*-ウンデカン
液体・比重>1：1,2,4-トリクロロベンゼン

用語の定義

（１）難水溶性物質（Poorly (or sparingly) water-soluble substance）
溶解度が＜100mg/L の物質

（２）混合物（Mixture）
化学反応を起こさない２つ以上の物質の混合物または溶液

（３）多成分物質（Multi-component substances）
溶解度や物理／化学的性状の異なる個々の物質が複雑に混ざり合った混合物を示し，ほとんどの場合，一定範囲の長さ／数の炭素鎖または置換度を持つ同族列の物質と特徴づけられる。

（４）水性画分（WAF，Water-accommodated fraction）
被験物質が溶解状態もしくは安定な分散（乳濁）状態，または両者が混在する状態で存在している水性画分。乳濁状態や微粒子状態の被験物質が含まれていることもある。混合物および多成分物質の場合にのみ適用することができ，単一物質の場合には適用しない。

（５）負荷率（Loading rate）
WAFの調製の際に用いられる被験物質と水の重量対容積比（mg/L）。溶解させる前に被験物質と水を混合する濃度である。

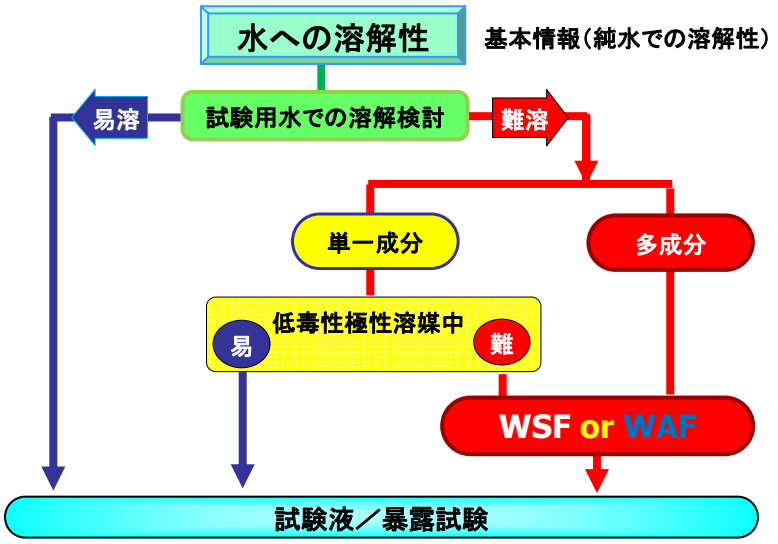
ＷＡＦとは？

Water-accommodated fractions (WAFs)

多成分物質の構成成分または物質の一部が溶解および安定に分散,または乳濁して存在している水相画分のこと。

→ 溶解のみならず安定な分散液も含む
Water-soluble Fractions (WSFs)とは違う

一般的な試験液調製法の流れ



難水溶性多成分モデル物質の水性画分(WAF)調製検討

WAF調製の適用拡大

- 多成分物質(モデル物質＝検討中)
- 多成分物質(既存物質＝検討中)

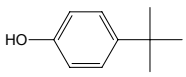
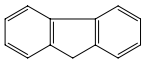
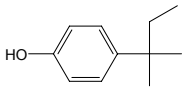
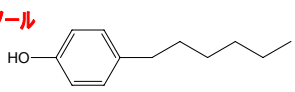
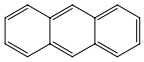
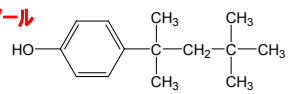
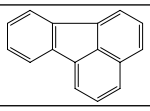
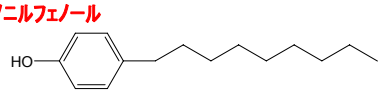
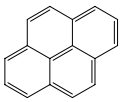
直接添加法と段階希釈法によるWAF比較

- 濃度組成の変化
- 生態毒性の違い

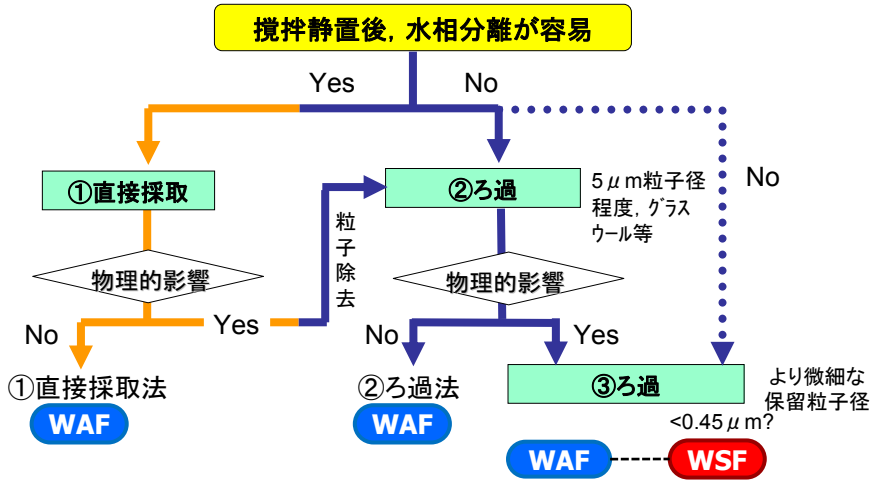
18年度　難水溶性の多成分物質／混合物の

WAF調製法　一般化できないか？

難水溶性多成分物質モデル物質

アルキルフェノール類	多環芳香族
p-t-ブチルフェノール (BP) 	フルオレン (FRE) 
p-t-ペンチルフェノール (PP) 	アセナフテン (ACE)
p-n-ヘキシルフェノール (HP) 	アントラセン (ANT) 
p-t-オクチルフェノール (OP) 	フルオランテン (FRA) 
p-n-ノニルフェノール (NP) 	ピレン (PYR) 

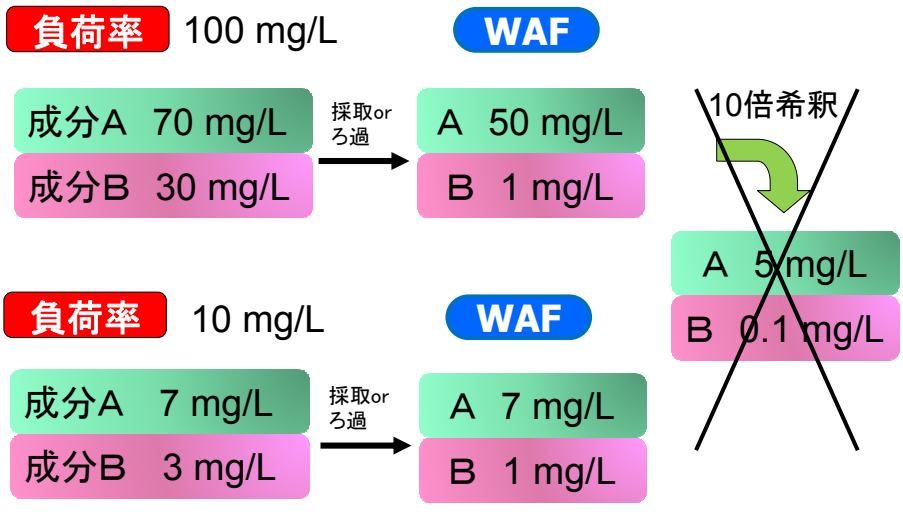
WAF と WSF の関係



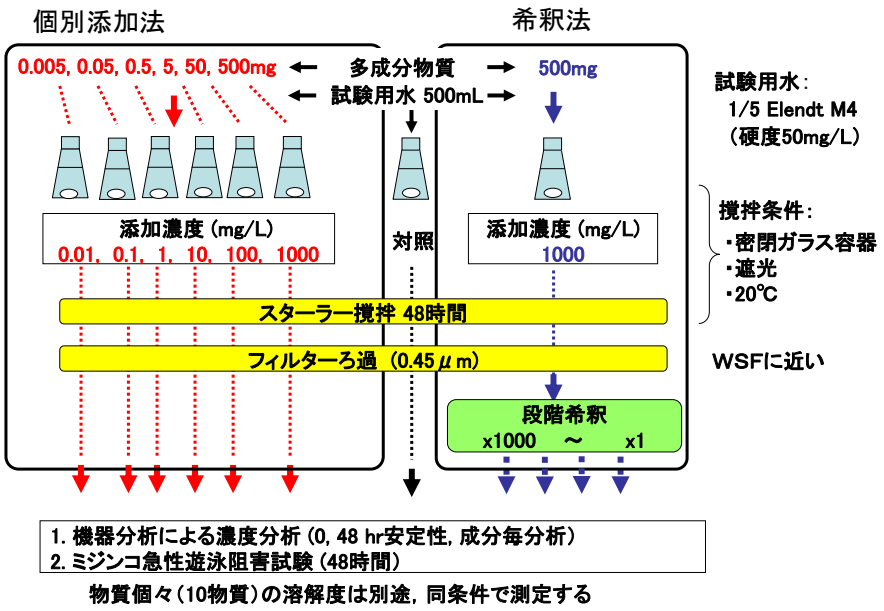
化学物質性状，溶解性，濃度レベル，安定性，生物影響等の要因を考慮の上，適宜選択。

WAFは希釈をしてはならない？

（部分的溶解をする多成分物質）



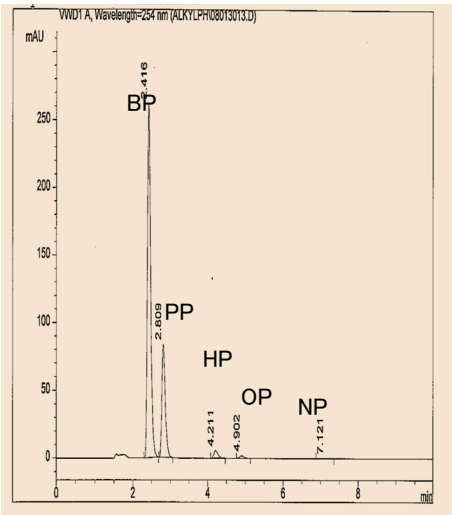
検討実験　調製法概要フロー



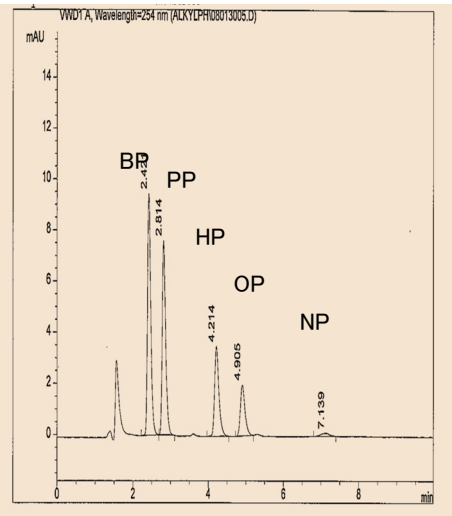
アルキルフェノール類

WAFの代表的なクロマトグラム

個別添加法、1000 mg/L

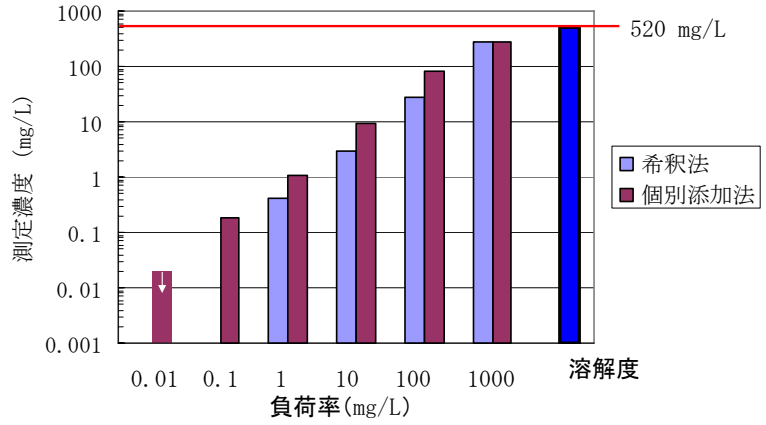


個別添加法、10 mg/L



アルキルフェノール類 WAF中の測定濃度

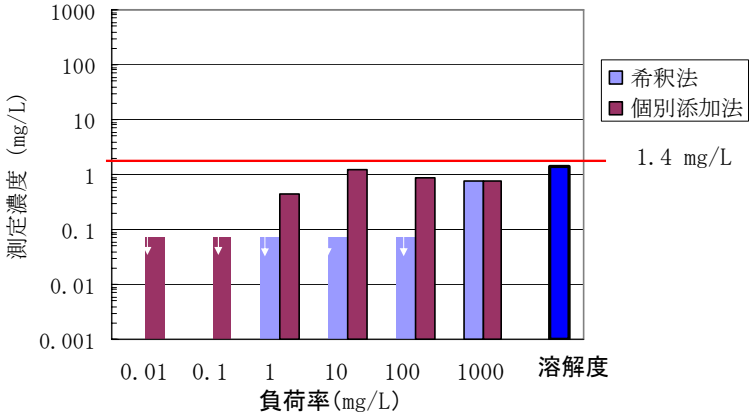
BP （ブチルフェノール）の例



測定濃度： 平均測定濃度
溶解度 ： 1/5 Elendt M4への溶解度
↓ ： 検出限界未満

アルキルフェノール類 WAF中の測定濃度

NP （ノニルフェノール）の例



測定濃度： 平均測定濃度
溶解度 ： 1/5 Elendt M4への溶解度
↓ ： 検出限界未満

表1-1　希釈法と個別添加法で調製したWAF中のアルキルフェノール類の実測濃度とミジンコへの影響

			平均測定濃度（mg/L）						ﾐｼﾞﾝｺ 48hr
			ＢＰ	ＰＰ	ＨＰ	ＯＰ	ＮＰ	合計	阻害率(%)
負荷率(mg/L)	0.01	希釈	--	--	--	--	--	--	--
		個別添加	<0.02	<0.02	<0.03	<0.03	<0.07	--	0
	0.1	希釈	--	--	--	--	--	--	--
		個別添加	0.18	0.10	0.06	<0.03	<0.07	0.34	100
	1	希釈	0.42	0.11	<0.03	<0.03	<0.07	0.53	0
		個別添加	1.06	0.92	0.76	0.82	0.43	3.99	100
	10	希釈	2.89	1.03	0.08	0.06	<0.07	4.06	100
		個別添加	9.41	9.05	6.49	4.77	1.23	30.95	100
	100	希釈	26.9	10.2	0.98	0.50	<0.07	38.58	100
		個別添加	81.7	62.0	12.7	6.55	0.87	163.82	100
	1000	希釈	271	102	10.0	4.72	0.77	388.49	100
		個別添加	271	101	10.1	4.67	0.77	387.54	100
1/5 Elendt M4への溶解度（mg/L）			520	190	22	9.7	1.4	743.10	--

表1-2　希釈法と個別添加法で調製したWAF中の多環芳香族の実測濃度とミジンコへの影響

			平均測定濃度（mg/L）						ﾐｼﾞﾝｺ 48hr
			ＦＲＥ	ＡＣＥ	ＡＮＴ	ＦＲＡ	ＰＹＲ	合計	阻害率(%)
負荷率(mg/L)	0.01	希釈	--	--	--	--	--	--	--
		個別添加	<0.0015	<0.0027	0.00012	<0.00002	<0.00002	0.00012	0
	0.1	希釈	--	--	--	--	--	--	--
		個別添加	0.034	0.014	0.00874	0.00483	0.00851	0.0701	0
	1	希釈	0.0015	0.0027	0.00003	0.00003	0.00002	0.0043	0
		個別添加	0.341	0.428	0.0231	0.0148	0.0155	0.8224	100
	10	希釈	0.007	0.026	0.00014	0.00031	0.00020	0.0337	0
		個別添加	0.934	2.14	0.0170	0.0223	0.0193	3.1326	100
	100	希釈	0.095	0.270	0.00140	0.00313	0.00206	0.3716	25
		個別添加	0.964	2.06	0.0160	0.0302	0.0212	3.0914	100
	1000	希釈	1.21	2.30	0.0141	0.0325	0.0216	3.5782	100
		個別添加	1.21	2.30	0.0141	0.0325	0.0216	3.5782	100
1/5 Elendt M4への溶解度（mg/L）			0.50	1.9	0.00080	0.0038	0.000096	2.40	--

今回の検討結果　まとめ

- 希釈法と個別添加法の間には、WAF中の測定濃度に明らかな違いが生じた。
- 希釈法では希釈倍率通りの測定濃度が、個別添加法では負荷率と水溶解度に則した濃度が得られた。
- ミジンコへの毒性影響は、測定濃度を反映した結果となった。

以上の結果より、部分的溶解成分を有する多成分物質のWAFの調製方法には、希釈法は適せず、個別添加法を選択すべきである。

ＷＡＦ調製法手順マニュアル（案）

事前確認

・スターラー攪拌強度：一定（水面から渦底まで水深1/3程度）
・エマルジョンや微粒子を形成しやすい物質は適宜検討実施
・飽和溶液までの攪拌時間（時間＜48時間，事前検討により変更可）
・適切な分析法の開発
　①主成分、意味のある成分の分析（GC，LC等）
　②全有機炭素（TOC）濃度測定等；微量分析や生物を暴露した水には適さない。
・検出限界以下の場合，検討結果，負荷率および検出限界値を報告。

注意事項

・被験物質の均一性
・負荷率ごとに個別にWAFを調製する。
・溶剤の使用を避ける。秤量困難等の理由で溶剤使用がやむを得ない場合はWAFに溶剤が残らないようにする。

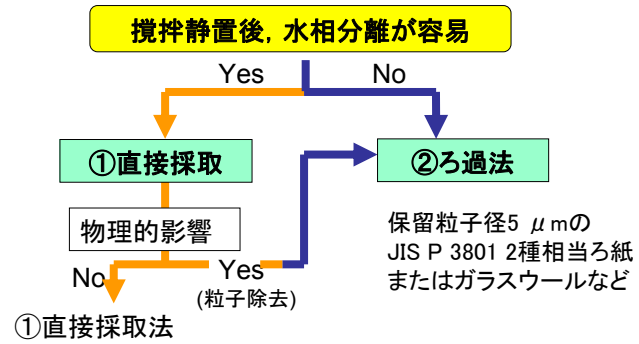
ＷＡＦ調製法（1）

（1） 被験物質と水を混合し，飽和溶液の状態に達するまで撹拌する。ただし，調製中に溶存酸素濃度，pH，温度等の水生生物に適した水質（各試験ガイドライン参照）が変化しないためには攪拌時間は短い方がよく，48時間以内を目安とする。

ＷＡＦ調製法（2）

（2）撹拌後の試料を静置し，水相を直接採取しWAFとするか，ろ過により懸濁物質を取り除きWAFとする。

予備試験： 直接採取法とろ過法の選択



ＷＡＦ調製法 (3)

(3) 水相を採取しWAFとする場合は，撹拌後の試料を数時間（例えば4時間）静置する。被験物質は性状により浮遊，沈殿または懸濁状態となり，透明な水相（例えば中層）を採取できる場合に，この水相を必要量採取する。

ＷＡＦ調製法 (4)

(4) ろ過を行う場合は，保留粒子径5 μmのJIS P 3801 2種に相当するろ紙（例：ｱﾄﾞﾊﾞﾝﾃｯｸNo.2およびﾜｯﾄﾏﾝNo.2）やガラスウール等を用いる。減圧ろ過による被験物質の消散や，吸着等による被験物質の消失の可能性があるため，生物に対して物理的影響がないのであればより目の細かいメンブレンフィルター（孔径0.45 μm等）を用いる必要はない。

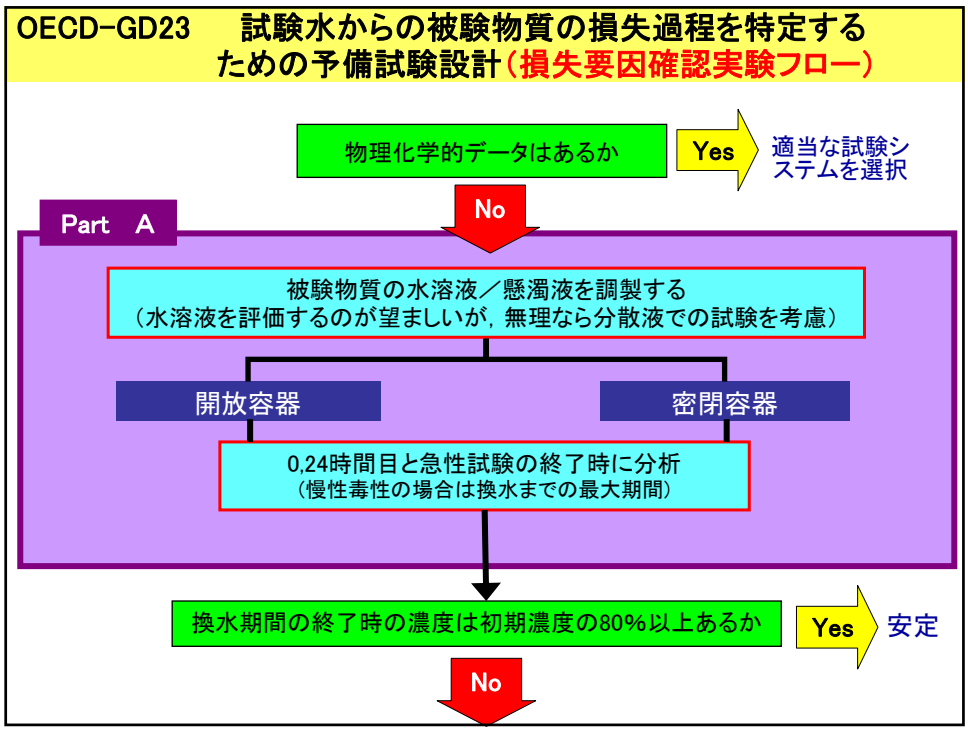
注：(1)～(4)の一連の操作は対照区も試験区同様に処理

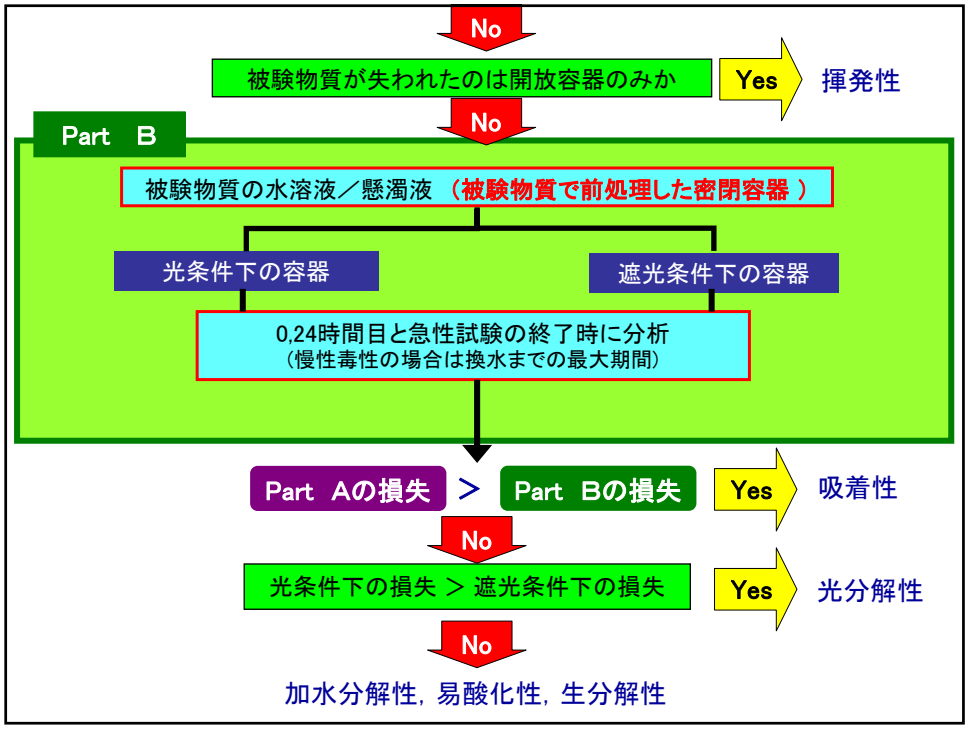
報告書作成の際の留意点

(1) WAF調製の選定理由(難水溶性, 多成分物質・混合物)
(2) 調製法
　負荷率, 被験物質重量, 水量, 容器形状, 容器材質, 試験用水, 温度, 攪拌時間および強度, 容器密閉の程度(容器の上部空間等), 安定性　等
(3) WAFの外観(色調, 沈殿物の有無, 浮遊物の有無, 凝集の有無およびその状態等)
(4) 影響濃度の表記

負荷率で表記した毒性値	実測濃度で表記した毒性値
LL50 （半数致死負荷率）	LC50 （半数致死濃度）
EL50 （半数阻害負荷率）	EC50 （半数阻害濃度）
NOELR （最大無影響負荷率）	NOEC （最大無影響濃度）

付録


OECD-GD23　試験水からの被験物質の損失過程を特定するための予備試験設計（損失要因確認実験フロー）
物理化学的データはあるか
Yes
適当な試験システムを選択
No
Part A
被験物質の水溶液／懸濁液を調製する
（水溶液を評価するのが望ましいが，無理なら分散液での試験を考慮）
開放容器
密閉容器
0,24時間目と急性試験の終了時に分析
（慢性毒性の場合は換水までの最大期間）
換水期間の終了時の濃度は初期濃度の80%以上あるか
Yes
安定
No


No
被験物質が失われたのは開放容器のみか
Yes
揮発性
No
Part B
被験物質の水溶液／懸濁液 （被験物質で前処理した密閉容器 ）
光条件下の容器
遮光条件下の容器
0,24時間目と急性試験の終了時に分析
（慢性毒性の場合は換水までの最大期間）
Part Aの損失 ＞ Part Bの損失
Yes
吸着性
No
光条件下の損失 ＞ 遮光条件下の損失
Yes
光分解性
No
加水分解性，易酸化性，生分解性

生態毒性QSARモデル「KATE」Web版の解説とスタンドアロン版の公開

（独）国立環境研究所　環境リスク研究センター
白石寛明

大分大学教育福祉科学部
吉岡　義正（東京会場のみ）

はじめに

QSARとは

- Quantitative Structure-Activity Relationshipの略
- 化学物質の構造上の特徴又は物理化学定数と生物学的活性（毒性等）の相関関係を構造活性相関（SAR）といい、定量的なものを定量的構造活性相関（QSAR）といいます。
- 構造活性相関は、例えば、特定の官能基の有無から物質の有害性の多寡を推測することを指し、構造を手掛かりに毒性等を定量的に算出する仕組みをいわゆるQSARモデルと呼びます。

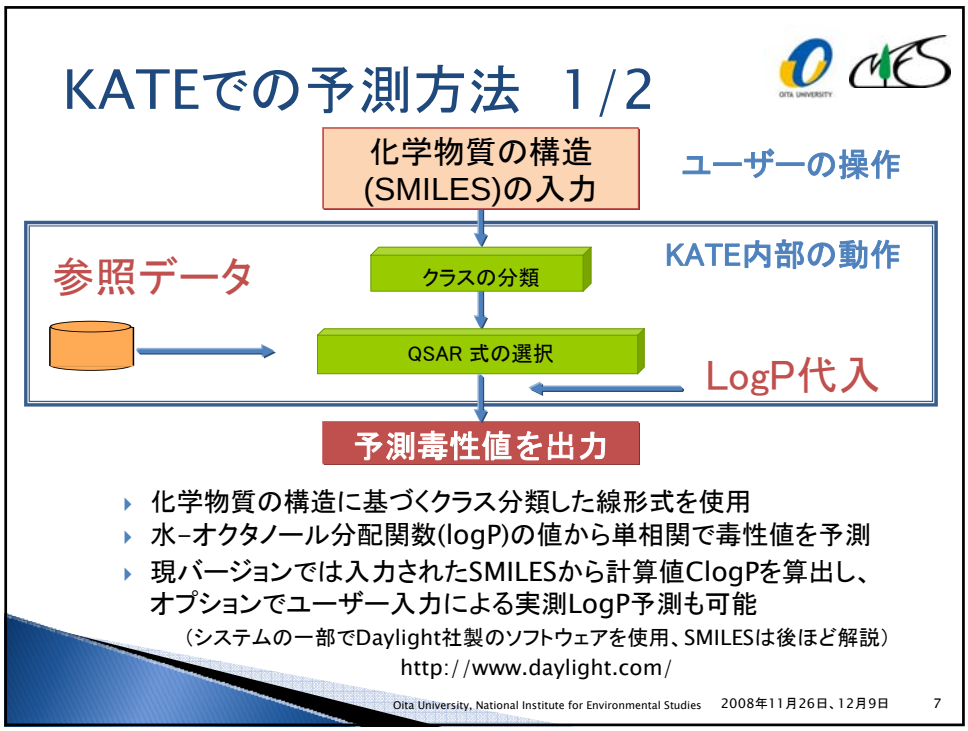
生態毒性予測システムKATE

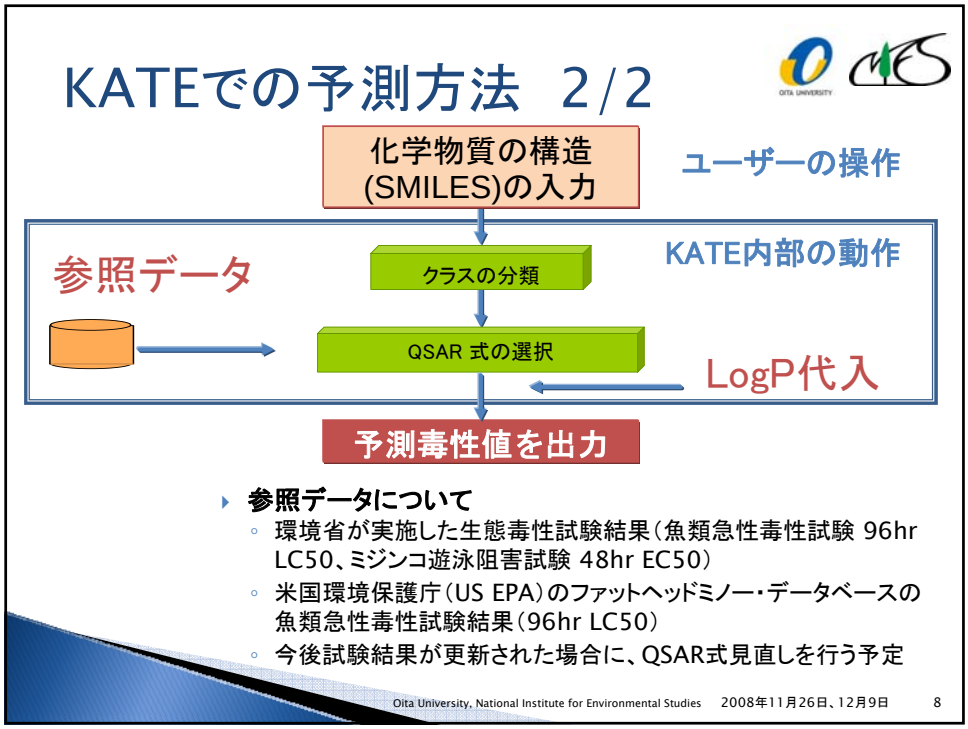
- KATE (**KA**shinhou **T**ool for **E**cotoxicity)は、
  - 環境省の請負業務（平成16-19年度）として（独）国立環境研究所 環境リスク研究センターにおいて、研究・開発された生態毒性QSARモデル
  - KATE は、平成19 年7月より3省合同審議会に魚類及び甲殻類の予測結果を参考資料として提出し実績を重ねています
- 2008年1月に試用版がWeb公開：http://kate.nies.go.jp
- 化学物質の部分構造から毒性値を予測：
  - 魚類急性毒性試験における半数致死濃度（LC50）
  - ミジンコ遊泳阻害試験における半数影響濃度（EC50）
- **本システムで得られた予測結果は、化審法の届出に必要な生態毒性試験結果として利用することは出来ません**

今年度のスケジュール

現在：
Web版とスタンドアロン版の結果の一致
↓
12月下旬：
スタンドアロン版のベータテストの実施
↓
年度末：
更新Web版KATEの公開
＋
スタンドアロン版の配布

KATEの解説


KATEでの予測方法　1/2
化学物質の構造
(SMILES)の入力
ユーザーの操作
KATE内部の動作
参照データ
クラスの分類
QSAR 式の選択
LogP代入
予測毒性値を出力
化学物質の構造に基づくクラス分類した線形式を使用
水-オクタノール分配関数(logP)の値から単相関で毒性値を予測
現バージョンでは入力されたSMILESから計算値ClogPを算出し、
オプションでユーザー入力による実測LogP予測も可能
（システムの一部でDaylight社製のソフトウェアを使用、SMILESは後ほど解説）
http://www.daylight.com/
Oita University, National Institute for Environmental Studies
2008年11月26日、12月9日
7

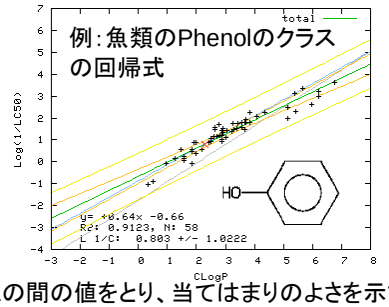

KATEでの予測方法　2/2
化学物質の構造
(SMILES)の入力
ユーザーの操作
KATE内部の動作
参照データ
クラスの分類
QSAR 式の選択
LogP代入
予測毒性値を出力
参照データについて
環境省が実施した生態毒性試験結果（魚類急性毒性試験 96hr LC50、ミジンコ遊泳阻害試験 48hr EC50）
米国環境保護庁（US EPA）のファットヘッドミノー・データベースの魚類急性毒性試験結果（96hr LC50）
今後試験結果が更新された場合に、QSAR式見直しを行う予定
Oita University, National Institute for Environmental Studies
2008年11月26日、12月9日
8

KATEのクラスについて

- 現在約68種類のQSAR式・クラスが存在
  - 魚類で参照データが20以上の例：

phenols; aliphatic amines; aliphatic alcohol ether;
Aromatic Amines; aromatic HC; aliphatic halogen;
Aromatic Amines 2; aromatic aldehyde; aliphatic ketone

	魚類	甲殻類
式の数 （参照データ 2以上）	66	48
データ数が十分な式の数 （参照データ 5以上）	49	19
信頼できる式の数 （参照データ 5以上 かつR^2が0.7以上）	33	10



＊R^2とは決定係数のことで0から1の間の値をとり、当てはまりのよさを示す
一般に単回帰式の場合、R^2が0.7以上で参照物質5点以上だと信頼が高い

KATEのNeutral Organics

- 脂肪族炭化水素、スルホキシド、脂肪族・芳香族エーテル、脂肪族・芳香族ケトン、アルコールといった単純な麻酔作用のみで毒性が説明できると考えられる分子種の一覧が生物種ごとに用意されており、これらはNeutral Organicsというクラスとして再定義されています。

- KATEでNeutral Organicsに分類されるクラス群：

  sulfoxides; aliphatic HC (hydrocarbon);
  aliphatic ether; aromatic/aliphatic ether;
  aliphatic ketone; aromatic ketone;
  aliphatic alcohol ether

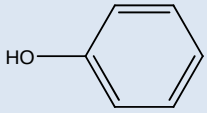
使用方法について

- URL: http://kate.nies.go.jp
- 予めユーザー登録が必要です。

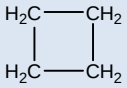
化学物質の入力形式

- SMILES：化合物の分子構造を線形表記した識別子*

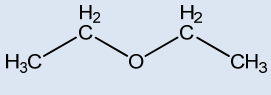
フェノール：c1ccccc1O



シクロブタン：C1CCC1



ジエチルエーテル：CCOCC



- 小文字“c”は芳香族炭素
- 環構造は数字を用いて始点を表記
- 大文字“C”は脂肪族炭素
- 水素は自動的に付加

◦ 詳細はDaylight社ページ　http://www.daylight.com/smiles/index.html

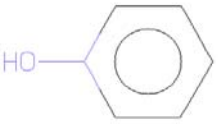
* Weininger D. 1988. SMILES, A Chemical Language and Information Systems. 1. Introduction of Methodology and Encoding Rules. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 28: 31-36.

予測結果画面　1/2

Logout > Input molecule > View result > Verify QSAR

生態毒性予測システム (KATE ver0.1) ようこそ　　さん

CAS	108-95-2 WebKis-Plus	
物質名	PHENOL	
SMILES	Oc1ccccc1	
分子量	94.12	
水溶解度 (mg/L)	入力(実測値)	更新
LogP	DB(実測値)	1.47
	入力(実測値)	更新
生分解性	構造より予測	化学物質特性予測システム
色の説明	黒	部分構造
	青	毒性構造
	灰	未検索



- ページの上部に入力したCAS番号、物質名、SMILESを表示
- 分子量は入力した情報から値を表示
- ClogP計算値はライセンス上の理由で提供できません
- SMILESは内部変換されるため入力と異なる場合あり
- LogP値を入力すると実測値による予測が可能
- 溶解度を入力すると毒性値の溶解度判定が可能

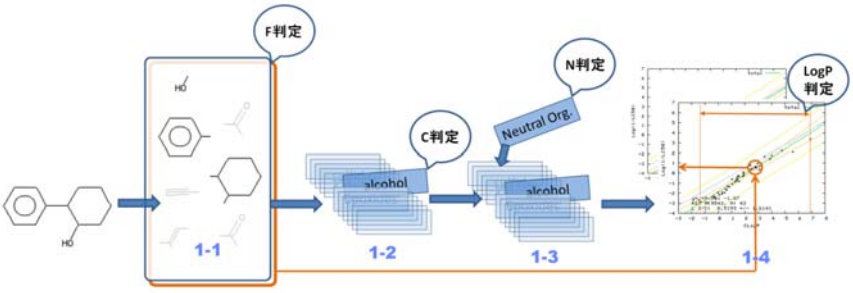
予測結果画面　2/2

QSAR結果

クラス※1	エンドポイント			LogP	予測結果(mg/L)	判定 構造N※2	構造C※3	LogP※4	溶解度※5	既知F※6
phenols	Fish	96hr	LC50	CLogP予測値	4.870e+1	○	○	○	未入力	○
phenols	Daphnid	48hr	EC50	CLogP予測値	1.582e+1	○	○	○	未入力	○

- ページ中段に、化学物質のクラス分類、Fish（魚類）、Daphnid（ミジンコ類）の予測結果等が表示されます。
- 複数のクラスに分類される場合には、全てのクラスにおける結果が表示されます。判定の項目に表示される○の数が多いクラスを優先してください。
  - 但し、Neurtal OrganicsとNeurtal Organics以外のクラスで○の数が同じ場合には、Neurtal Organics以外のクラスを採用するか、Verify QSARの画面で参照物質やQSAR式の決定係数などを参考に判断してください。

判定の項目について



入力された構造式は、1-1部分構造一覧となり、1-2クラス分類が行われ、1-3必要ならNeutral Organicsが追加され、1-4毒性値が産出され、1-5適用ドメイン判定が下される。

入力物質の判定について

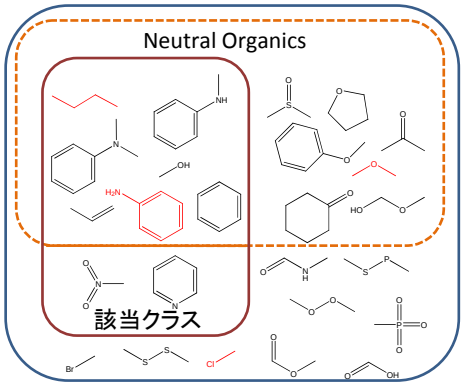
構造C判定：該当クラスを構成する参照物質に含まれない部分構造がある場合に×

構造N判定：Neutral Organicsと該当クラスを構成する参照物質に含まれない部分構造がある場合に×

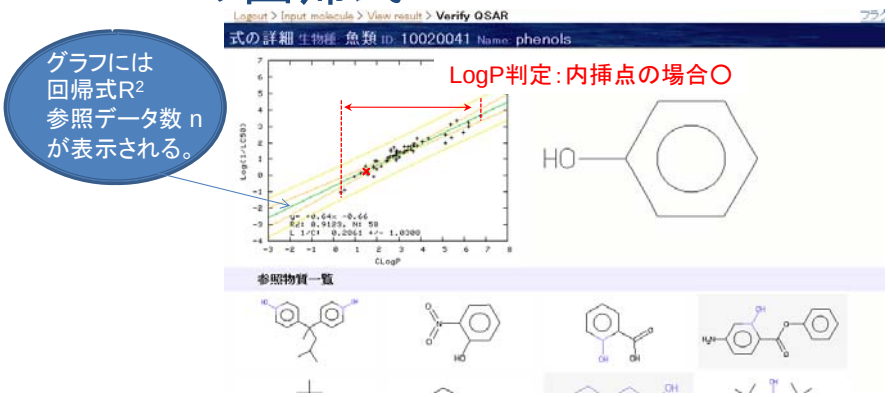
既知F判定：未検索構造がある場合に×

フラグメントの組み合わせ例 該当クラス：Aromatic Amines	C判定	N判定	F判定
該当クラス ＋脂肪族C-C	○	○	○
該当クラス ＋脂肪族C-O-C	×	○	○
該当クラス ＋脂肪族C-Cl	×	×	○
該当クラス ＋ Ag	○	○	×

F判定×の時、結果の信頼性極めて低い



KATEの回帰式



- 予測結果画面で、分類されたクラスの🔎をクリックすると、そのクラスの回帰直線（total、緑色）及び参照物質一覧が表示されます。入力した化学物質はグラフ上×です。

KATEのデモ

- ここからは実際の画面をご覧ください

FAQ Web版のよくある質問

- 質問
  - ログイン時に「セッションがタイムアウトになりました。再度ログインしてください。」のメッセージが出ます。
  - 予測結果（mg/L)の「e^{+2}」や「e^{+4}」等の意味を教えてください。
  - ログイン名、パスワードを忘れてしまいました。

以下のページを参照ください：
http://kate.nies.go.jp/faq.html
その他のWeb版KATEに関する問合わせ先：
kate@nies.go.jp

よくある質問より　1/2
情報の機密性は保持されますか？

- 構造式情報（SMILES）はログアウトをすると作業ファイルは削除され、サーバーには残りません。ログアウトを忘れた場合には、再度、同じユーザ名でログインし、ログアウトすると作業ファイルは削除されます。作業中にはSMILESが記載されたファイルが作成されていますが、他のユーザがファイルの覗き見をできないように管理されています。ただし、ユーザ名とパスワードを盗まれると作業中の様子がview resultの画面で閲覧可能になりますので、ご注意ください。

- 複数の化合物を予測する「SMILESリストファイルからの入力」は、情報の遺漏に関する検証が不足しております。機密性を考慮する場合は、使用しないようお願い致します。

よくある質問 2/2
情報の機密性は保持されますか？

- 通常のhttp通信による構造式情報（SMILES）の傍受を懸念される場合は、
  https://kate.nies.go.jp
  として、httpsプロトコルを利用ください。SSL（Secure Sockets Layer）暗号化通信と、サーバー認証を使用して、より安全性の高いログインが可能です。
- SSL通信によって機密性は向上しますが、インターネット通信での完全な機密保持は不可能ですので、ご利用に当たっては御社の機密情報の管理規定に基づき判断してください。当方では、通信上の情報の遺漏に関して責任を負いません。
- スタンドアロン版の利用をご検討ください。

スタンドアロン版について

スタンドアロン版開発の背景

- 秘密保持の問題
  Web上では秘密の漏えいの恐れがあり、スタンドアロン版での予測システムが必要
- 透明性の確保
  独自システムの構築実績がある大分大学と共同開発
- ライセンスの問題上
  商用プログラムを含むWeb版KATEを無料配布することは不可能

Web試用版の仕様変更

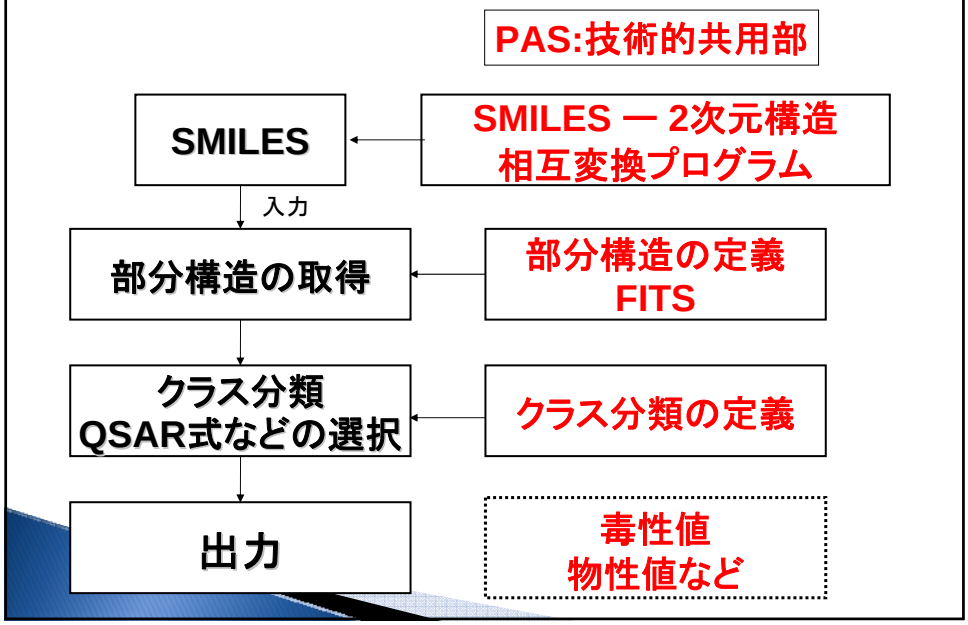
- 入力には化学構造式（SMILES）とLogPが必要
  - 実測LogPによる毒性予測を基本
  - 実測LogP値がない場合には予測値を利用
- 構造分類の基本プログラムの変更
  - 大分大学との共同研究によるシステムの導入

スタンドアロン版の技術
大分大学　吉岡義正
（大阪会場では白石寛明が講演）

KATE on PAS（PC版）について

- PAS (Platform for Assessment from Structure)は、構造分類に基づく物性や毒性を予測するための独自のシステムです。
- PASは、部分構造の取得プログラム（FITS；Fragment Identification by Tree Structure）、構造図の表示・入力プログラムなどからなる統合システムです。
- KATE on PASは、KATE用に作成されたPASです。
- 開発言語(VB.net　2005)
- スタンドアロン版（PC版）と Web版はFITS記述で統一されます。

KATE on PAS の概要



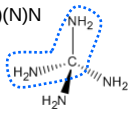
FITSの概要

- FITSは部分構造の規定に独自のルールを用いています。
- 主体部分は，1次元構造を基本としたFITS記述です。
  F/01211/C=CNC=C/1JnC=O,3V3,3B3,2Cy,3Cy,4Cy,2Rs4,/|
- 部分構造の数え方
  Order,Index,Account,Exclude,Reset,Fits,Pilotで規定します。

ID	Order	Index	Account	Exclude	Reset	Fits	Value	Pilot
319	300	1	-S [sulfur +4 or +6 valence;miscellaneous]	0	0	S/1/S/1V4,1=O0,1■0,/|	0	16
319	310	1	-S [sulfur +4 or +6 valence;miscellaneous]	0	2	S/0/[Sb]//|1>0/02/[Sb]S//|Specific/|	0	16
316	320	1	-S- [aliphatic sulfur, 2 nitrogen attach]	0	0	F/010/NSN/2=O0,/|	1.2	16
293	330	1	-ONO2 [aromatic attach]	0	0	F/11/ON/2=O2,1Ar1,2B3,/|	0.5	24
292	340	1	-ONO2 [aliphatic attach]	0	0	F/11/ON/2=O2,1Ar0,2B3,/|	-0.02	24
283	350	1	-OH [hydroxy, nitrogen attach]	0	0	F/01/NO/2H1,/|	-0.043	0
359	360	1	-S-P [sulfur, phosphorus attach]	0	0	F/10/SP/1V2,/|	0.627	48
314	370	1	-S- [di-,poly- sulfur attach]	0	0	F/010/SSS/2B2,/|	0	16
360	380	1	-SS- [disulfide]	0	0	F/20/SS/1V2,2=O0,2=S0,/|	0.5497	16

例: NC(N)(N)Nの構造でNCNの構造の数を、目的に応じて1－6個まで定義できます。

SMILES: NC(N)(N)N



スタンドアロン版操作のデモ

- 百聞は一見にしかず

利用する立場から見れば，便利に使えます！

PAS 技術解説（概要）

生態影響に関する化学物質審査規制／試験法セミナー資料 2008/11/26・12/9
大分大学　吉岡　義正

1.グランドデザイン

QSAR プログラムは，①入力，②計算，③出力の 3 部門からなる。このうち，「③出力」は目的別に特化することが予想される。しかし，「①入力」,「②計算」部分を共通化することは，可能である。PAS のグランドデザインを **Fig.1** に示す。

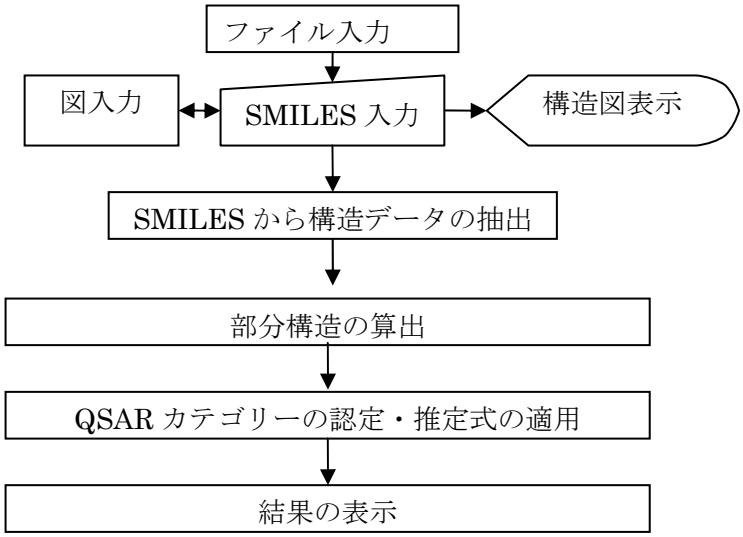


Fig.1　General Flow Chart of KATE on PAS

2. SMILES の構造データの抽出

SMILES から構造データを抽出するには，SMILES の記述子を分離して収納し，テーブル化することである。SMILES 解析プログラムは，SMILES 構成原子の出現順に番号（原子順番号）をうつ。原子順番号を基本に構造情報として，

① 原子の特性表（原子順番号順の原子に接続する原子順番号と接続数のリスト；原子番号，原子価，入力水素数，計算水素数，脂肪族・環内結合・芳香族等の区分，正・負イオン数，Isotope 番号，キラル記号の有無など）
② 環構造の特性表（環の数，各環を構成する原子順番号）
③ Biphenyl 結合表（所属するクラス番号，原子順番号）
④ 環番号（環の種類）のリスト
⑤ 環と環との結合特性表（芳香-脂肪・芳香-芳香・脂肪-脂肪環結合の区分，共通原子数等を得る。

実際の SMILES 解析プログラムでは，SMILES の記述子を分離して得られる原子間の関係や原子記号から原子の特性表を作成する。次いで，最小環構造を求めてテーブル化する。全ての末端構造及び最小環構造を除いて残る結合は Biphenyl 結合であり，テーブル化する。最小環構造から，芳香原子間の結合数を定めると共に芳香環であることを確認する。また，環と環との結合特性表を作成する。最後に暗黙の原子価から計算した各原子の水素数を求めて原子の特性表を補正し，分子量を算出する。

3. 構造図の表示

化学構造を表示する基本手順は，

①各原子の接続と環に留意しながら自由平面（ワールド座標系）に投影した位置を求める

②ワールド座標系からコントロール座標系に変換して，ディスプレーに表示する。

なお，構造中の原子位置は，原点(0,0)を架空の開始原子とし，結合原子間距離を 1.0 と仮定して計算される。

3-1.環群と直鎖の区分

環群とは，単数又は複数の環が重縮合したもので，環を構成する結合が共有されているまとまりをいう。Spiro 結合する 2 環，Biphenol の 2 つのベンゼン環は，共有する結合がないので，2 つの環群からなるとする。Naphthalene は，1 つの環群と見なされる。なお，環群と環群とを結ぶ結合（両端が環群に接続するか 1 端が環に接続し他端が環群－環群を結ぶ結合に接続する結合）を Biphenyl 結合，環を構成しない構造を直鎖とよぶ。

3-2 開始点と描画経路の決定

①環構造が存在する場合には，任意の環群の任意の原子を開始点とし，存在しない場合には直鎖の末端の原子を開始点とした一筆書き（一方向描画順）の経路を求める。

3-3 直鎖構造の結合角度と原子位置の求め方

①直鎖においては，深さ優先探索によって順序を定める。

②ある原子 **a** 以降の直鎖構造の集合 **A** を求め，その各分岐の初期角を開始原子の分岐数に基づいて定める。4 分岐以上の場合は，最長鎖が中央となるように配置する。

③**A** に属する全ての原子は同一角にあるとして，最適角を求める。最適角は，**A** に属する原子と属しない原子間の距離(x)の二乗の逆数の和（$\Sigma\{1/x^2\}$）が最小になるように定める。

④出発原子を順次経路の順に移しながら，①～③を繰り返す。

3-4 環群の結合角度と原子位置を求め方

①1つの環群の最初の環は，定められた環の優先順位に従い正N角形として角度を定める。

②2 番目以降の環は，既環(既に角度を計算した環)に重合する環から，優先順位に従い，環を選定する。

③既環に重合する環の角度は，渡環方式により定める。渡環方式は，長さ L の弦から，N+1 角形を描くときの，弦との内角（α）および各内角（β）を次式で求める。

$\alpha=(N-1)(\pi-\beta)/2$　　$r*Cos(((N-1)*\pi-N*\beta)/2)=L*Cos(\beta/2)$

④弦との内角（α）は，弦の左右のどちらであるかを示さないので，From 環（その弦を構成する既環）を求め，From 環の中心から遠い位置になるように α を設定する。β は相対角であるため，追加角としての正，逆の方向性は，「2 線分の交差判定」により決定する。

⑤N+1 角形の新規結合長が L に達しない場合は，弦の末端原子間の距離をNに按分した結合長を設定する。新環と既環の環数が同じで左右共に重なり合う場合は，結合長を短くして位置を計算する。

⑥各環群は単独に決定され，環群相互の関係は当面無視される。

3-5 環群からの直鎖の結合角度と原子位置を求める

①各環群から出る直鎖は，環上の原子が所属する環の中心から放射状となるように最初の

結合を設定する。

②3-3 に示した方法で残りの直鎖の原子位置を設定する。

3-6 環群間の関係を考慮した構造全体の描画

①2 番目以降の環群は，処理済み環群（**A** 環群）の Biphenyl 結合(ｂ)を 1 個選び，**b** が接続する環群 **B** からの枝としての角度と **A** 環群からの枝としての角度を一致させるため環群 **B** の角度と位置を補正する。

②spiro 環では，既環と反対方向になるように角度を定める。

③全ての Biphenyl 結合と環群にこれを適用して構造全体を描画する。

④描画画面の縦横比に最も近くなるよう構造全体を回転させ，ワールド座標系からスクリーン座標系への変換を行い，画面に表示する。

4. 画による構造入力の方法

3 に示した画像描画プログラムが出来るのであれば，画による構造入力プログラムは比較的容易に展開することができる。画による構造入力での基本操作には，

①結合の追加（既存結合数の追加も含む）　②範囲の設定

③原子の変更　④移動・回転，

⑤結合・範囲の削除（既存結合数の削除も含む），　⑥特定構造の追加

等がある。通常，コマンドボタンによって何をするかを選択し，マウスの down，move，up 操作にそれぞれ対応させる。

5.部分構造の記述・抽出

5-1.数えることの困難さ

NC(N)(N)N の構造における NCN 部分構造の数は，開発者が何を目的とするかによって得ようとする数が異なる。「NCN」構造を持つ C の数と N の数では，得るべき数が異なる。「NCN」で重複を許すか，許さないかによっても数は異なる。従って，こうした開発者の意図を明確に定められる記述と抽出法が必要である。

5-2. 部分構造の記述と抽出

PAS の部分構造の記述・抽出システムは FITS と名付けられている。FITS は，プログラムとデータが分離されており，ここでは，データの記述形式を主体に解説する。

計算法の指示は，ID，Order，Exclude，Reset，Fits，Pilot の 6 種の要素から成り立っている。ID は部分構造の種類による特有な番号である。同じ ID をもつ記述が複数あっても良い。このときレコード間は OR 接続と解され，部分構造の個数は累積して算出される。ID 番号 1999 は，予約されており，ID=1999 の条件は対象としない構造を予め除く目的に用いる。

Order は計算順序を示す。特に重複カウントを許さない場合に，順序は重要である。

Exclude は，直前の ID の部分構造が検出されている場合は，現行条件をスキップすることを意味する。これは，重複カウントを避け，速度を速めるためのものである。

Reset はこれまでの計算結果（使用済み原子の状態）の保存・廃棄を示すものである。

Fits は，探索する構造を指定する。Fits は，部分構造取得の本体部分といえる。Fits は複数

の項目から成り，項目間は「|」で区切られる。

Pilot は, この計算を行うべき構造の特性を簡単に示すもので, 計算の高速化のためである。

5-3 Fits による部分構造の指定

Fits の第 1 項目に記載される構造を幹構造（基本構造）と考え，第 2 項目以降を枝構造と考える。幹や枝内の条件は「/」,「,」,「；」で区切って記述する。各項目は，複数のパラメータからなる。例えば，R/3001,/n/|A1/11/CO/2=O1,3B2,/|において，第 2 項目は A1/11/CO/2=O1,3B2,/で，この要因 4 が 2=O1,3B2，その要素 2 が 3B2 である。なお，要因 4 の要素を環境要件と呼ぶ。

各項目や環境要件には数的制限を付与することができる。数的制限は要因 1 や環境要件の最後に記述し，記号「=,<,>」と数(0-8)を用いて表現する（例：=5)。数的制限が省略されると,「>0」が仮定される。第 1 項目（幹を示す）はプログラム中で特殊な扱いがされる。通常は第 1 項目の構造が自動的にカウントされる。第 1 項目の要因 1 は，R(芳香環), L(脂肪環), F（自由）, S（単一原子）, Reigai_FF（例外）, M（縮合環） の 6 種から始まる。

5-4　R,L「環構造」の記述

①R,L においては，環の構成における特徴を環番号，環中の原子の種類と数，置換基などを規定できる。

②　第 3 要因には，*o,m,p* 位置等の開始点となる基準点の条件を記述できる。例えば，R/3000,m=6,n>0,Rp=2,/ COOH/|は,「芳香環(3000)，6 員環，n を 1 個以上含み，置換基が 2 個の環で，C(=O)OH 基が接続する環上の原子を基準点とする」ことを意味する。

5-5　S,F「直線構造」の記述

①各原子の数え方は「.-=,012」で規定する。「.,0」(ノーマーク),「-,1」(マーク),「=,2」(新規)は 0,1,2 の数字に対応するが,「.,-,=」は幹原子と重なることを意味する。

②要因 3 には，枝分かれのない，環記号を伴わない SMILES 式を記述する。なお，“？”は，1 個の任意の原子を表す。

③要因 4 には，環境要件を指定する。必要に応じて「^,!」(or ,not）を記述する。Or が規定されないと and が暗黙の了解となる。現パラメータの原子順位，指示用語（予約語あるいは SMILES)，数に関する条件を一連として，それをコンマ「,」で区切りながら並べる。例；F/020/ncn/2m5,/|^2/01/cN/2M0,2V3,2JnS,/|^2/011/cN#N//|　(Imidazole 2-amino type)

5-6　第 2 項目以降

要因 1 は，A，0-9 の数字（第 1 項目の原子に接続，接続位置)，P（基準位置の指定)，F，Specific（例外）等の 7 種から始まる。要因 1 の文頭に^,!を用いることができる。基本的には 5-5 の記述に従う（詳細は省略する)。

● 上記は, システムの開発者が知るべき要件であり, 利用においては必要がない情報である。上記仕様は，予告無く変更される。