

甲状腺ホルモン受容体結合化学物質の 簡便スクリーニングと新規バイオマーカー探索

研究代表	久保 拓也（京都大学 大学院工学研究科）
研究分担	中島 大介（国立環境研究所 環境リスク研究センター）
	谷川 哲也（京都大学 大学院工学研究科）
	中山 祥嗣（国立環境研究所 環境リスク研究センター）
	柳下 真由子（県立広島大学 生命環境学部）
	山内 一郎（京都大学 大学院医学研究科）

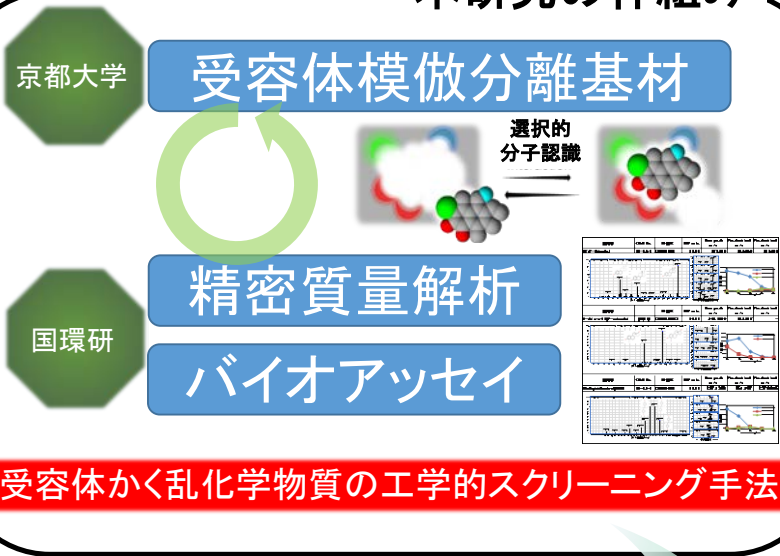


本研究の概要

化学物質, 環境・生体試料

受容体かく乱化学物質

本研究の枠組み



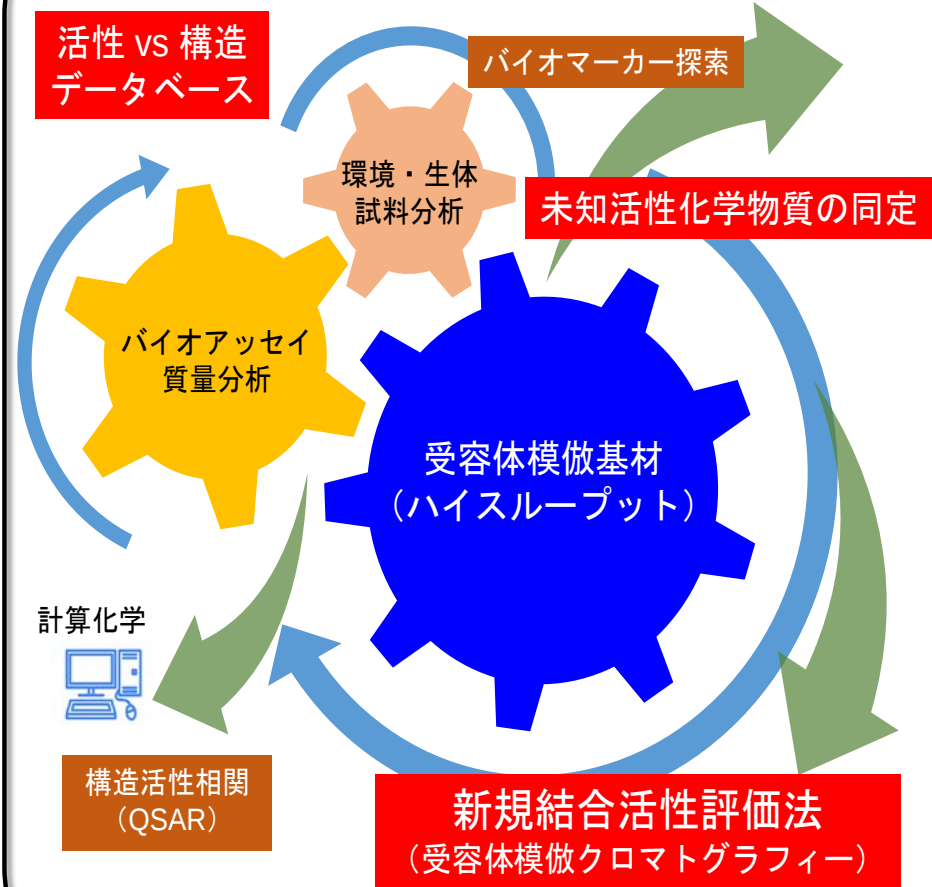
結合活性陽性物質

有害性評価(生物試験) リスクマネジメント

環境浄化, パーソナルケア 他の受容体への広範化

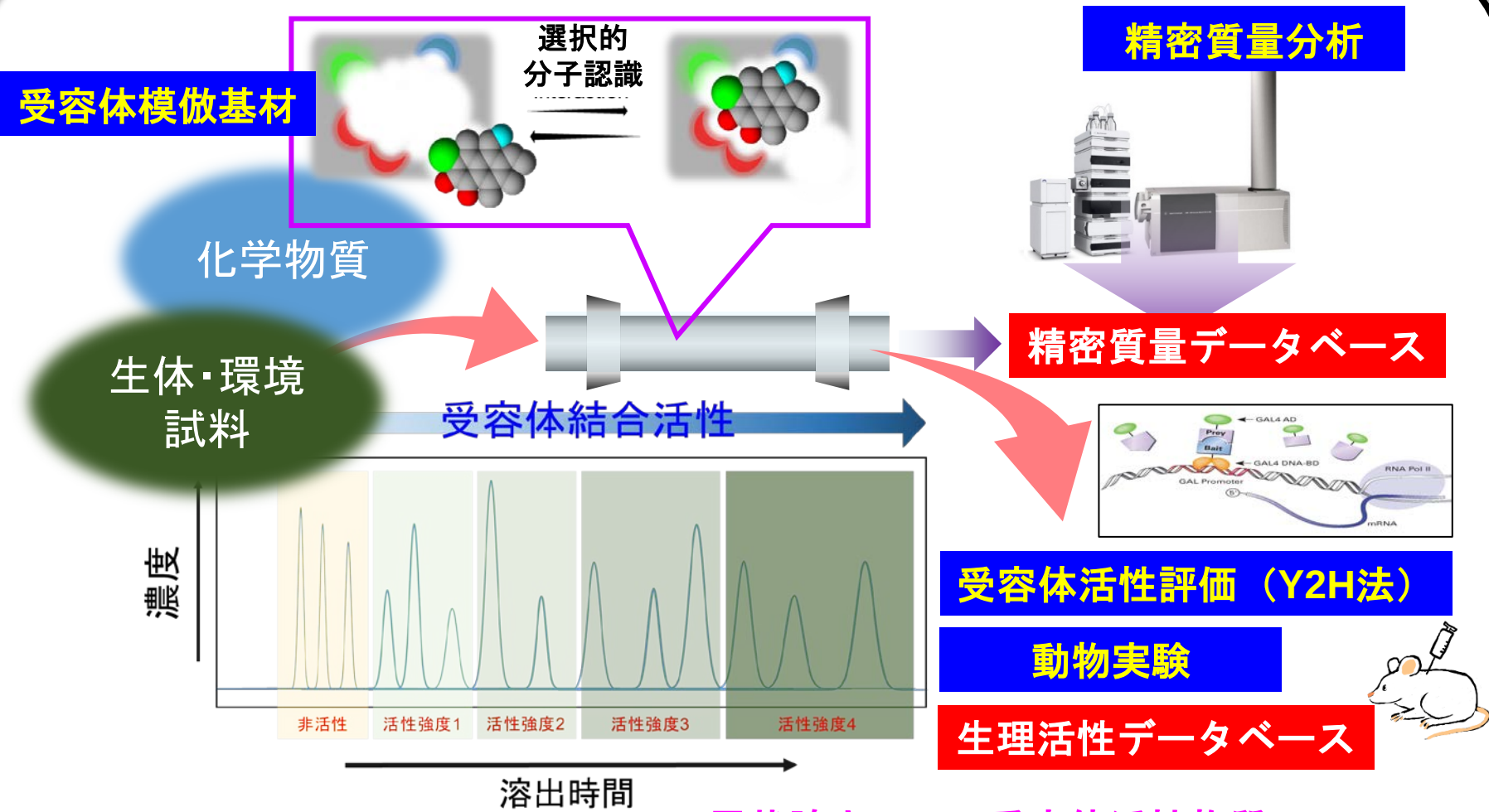
受容体かく乱化学物質: 内分泌かく乱作用(受容体への結合や遺伝子の調節, 蛋白合成などの作用)のうち, 受容体結合を介したかく乱作用を示す化学物質

本研究のアウトプット



本研究の具体的イメージ

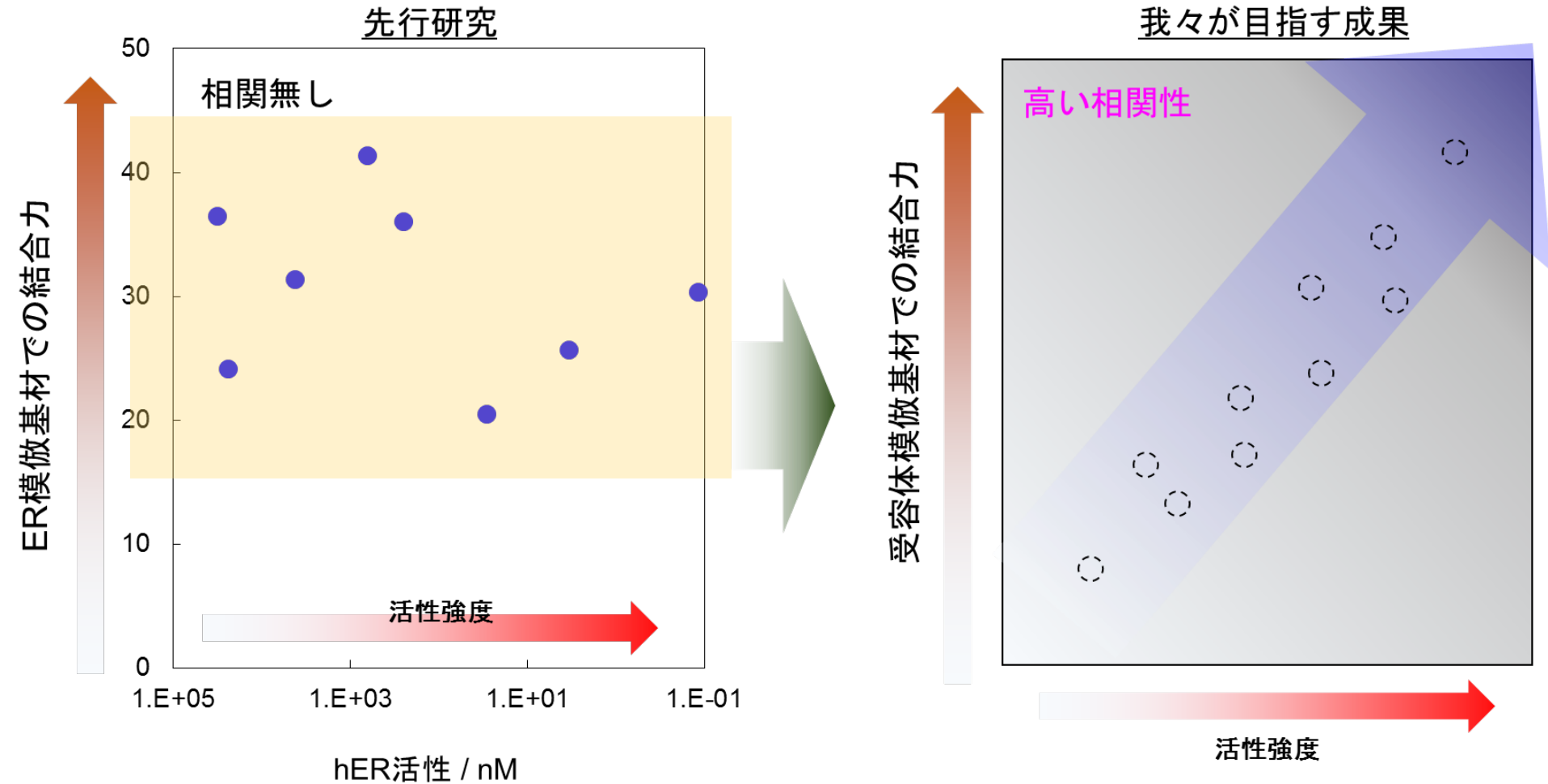
本研究におけるスクリーニングイメージ



受容体模倣クロマトグラフィー

- 甲状腺ホルモン受容体活性物質の
- ・ 未知物質同定, ・ バイオマーカー
 - ・ 構造活性相関, ・ 環境スクリーニング

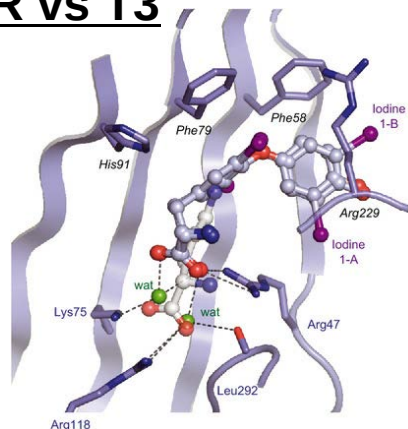
実用性の高いスクリーニングへ向けて



結合活性強度を検出できる新たな受容体模倣基材の創成

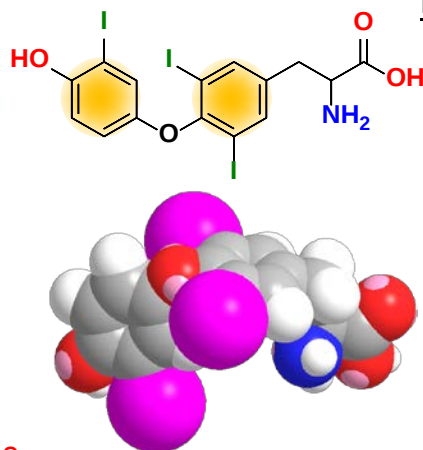
甲状腺ホルモン受容体 (TR)

TR vs T3

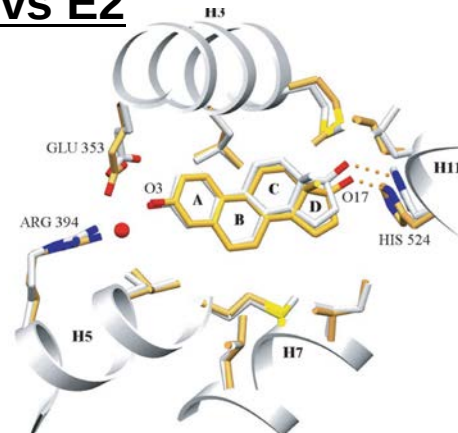


$$K_{T3/TR} \approx 1.7 \times 10^{10}$$

Triiodothyronine (T3)

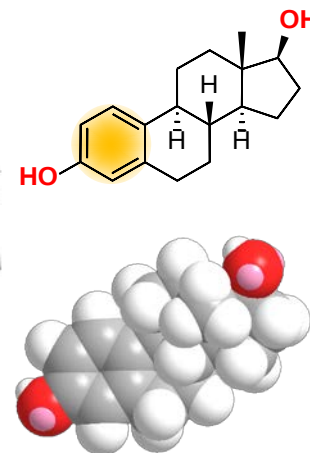


ER vs E2



$$K_{E2/ER} \leq 1.1 \times 10^9$$

17 β -Estradiol (E2)



受容体モデルとしてのTR

- 化学結合様式多様性(水素結合, 静電相互作用, π - π , ハロゲン- π)
→クロマトグラフィーにおける溶出条件で特定の相互作用を抑制
- 三次元的な官能基配置の可能性(官能基の配向性)
→部分構造の分子認識を三次元的に制御
(*J. Phys. Chem. C* 2018, 122(26), 15026-15032; *Anal. Chem.* in press)

アゴニスト, アン
タゴニストの分子
認識機構の解明
に期待

- EXTEND2016, エコチル調査, EPA**等での重要課題に貢献

EDSP in the 21st Century (estrogen, androgen or **thyroid)

研究体制

サブテーマ (1)

受容体模倣クロマトグラフィーによる
簡便スクリーニングとバイオマーカー探索

京都大学工学研究科

久保 拓也 (課題代表, テーマ代表)
谷川 哲也 (研究分担)

TR模倣基材の開発
新規クロマトグラフィー手法の確立
新規TR結合活性物質の探索と同定

京都大学医学研究科

山内 一郎 (研究分担)
動物実験による生理活性評価
バイオマーカー探索

基材提供

活性情報

サブテーマ (2)

甲状腺ホルモン受容体結合化学物質の精密
質量と生理活性に関するデータベースの作成

国立環境研究所

中島 大介 (テーマ代表)
中山 祥嗣 (研究分担)

TR 結合活性データベースの作成
TR 結合活性物質の探索
環境・生体試料の評価

県立広島大学

柳下 真由子 (研究分担)
TR 結合活性物質の精密質量測定

TR 結合活性評価法の確立
TR 結合活性物質の精密質量データベース
実試料中の新規TR活性物質の同定
環境・生体試料中のマーカー探索

研究目標

全体目標	○ TR模倣クロマトグラフィーとTR生理活性／精密質量データベースを組み合わせた新規TRスクリーニング手法の確立 ○ 実環境試料中の複数の未知TR活性物質の同定
サブテーマ1	受容体模倣クロマトグラフィーによる簡便スクリーニングとバイオマーカー探索
目標	・ TR活性物質の包括的な濃縮・分離を可能とする吸着剤開発 ・ TR結合活性vs保持時間に線形相関性のあるLC評価法開発 ・ 未知TR活性物質の同定とバイオマーカー探索
サブテーマ2	甲状腺ホルモン受容体結合化学物質の精密質量と生理活性に関するデータベースの作成
目標	・ 約600物質のin vitro試験によるTR生理活性(アゴニスト, アンタゴニスト)評価とデータベース化 ・ TR結合活性物質の精密質量データベースの作成 ・ 下水処理場排水における既知TR結合活性物質及び未知活性物質の寄与率評価

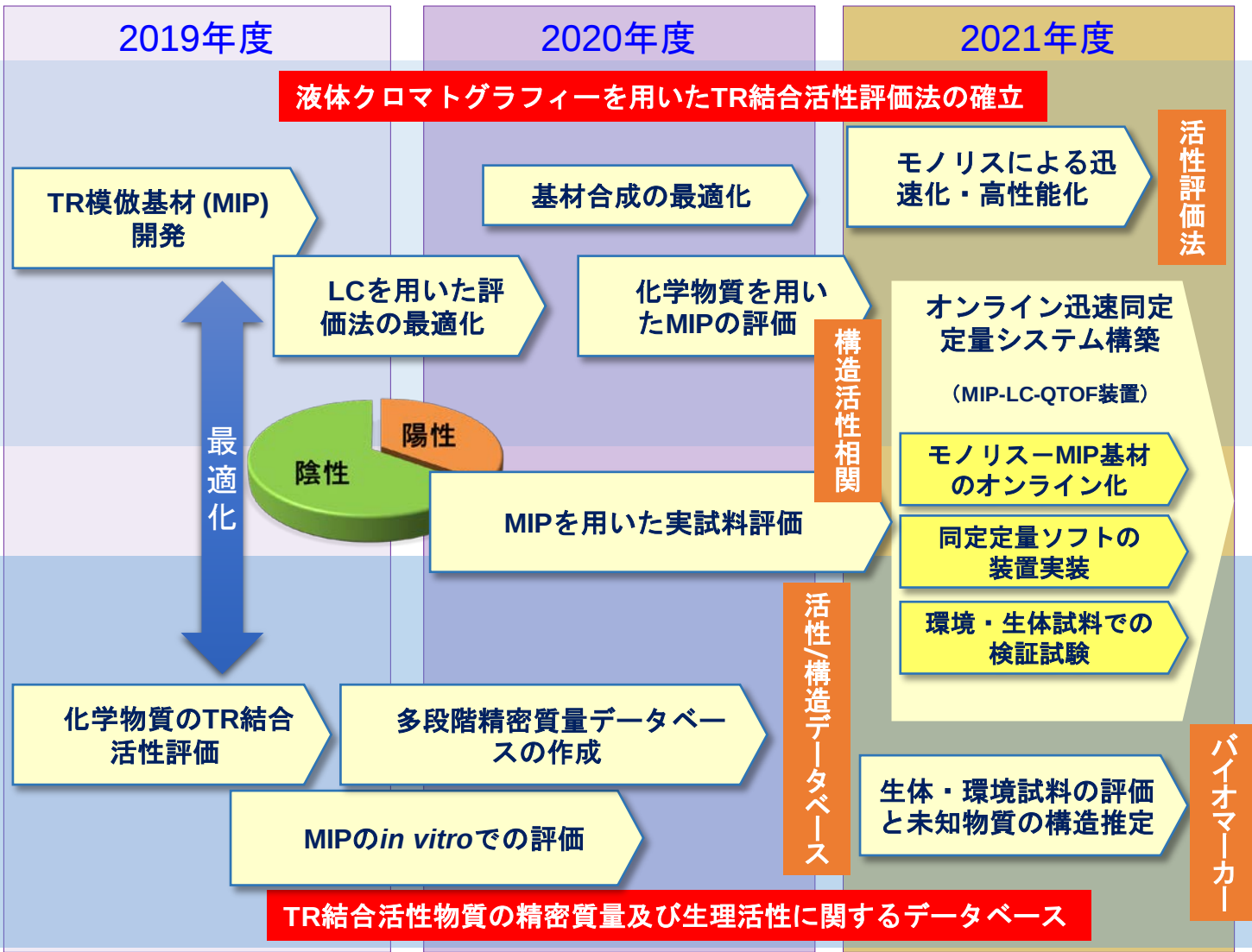
研究計画案

サブテーマ (1) 京都大学

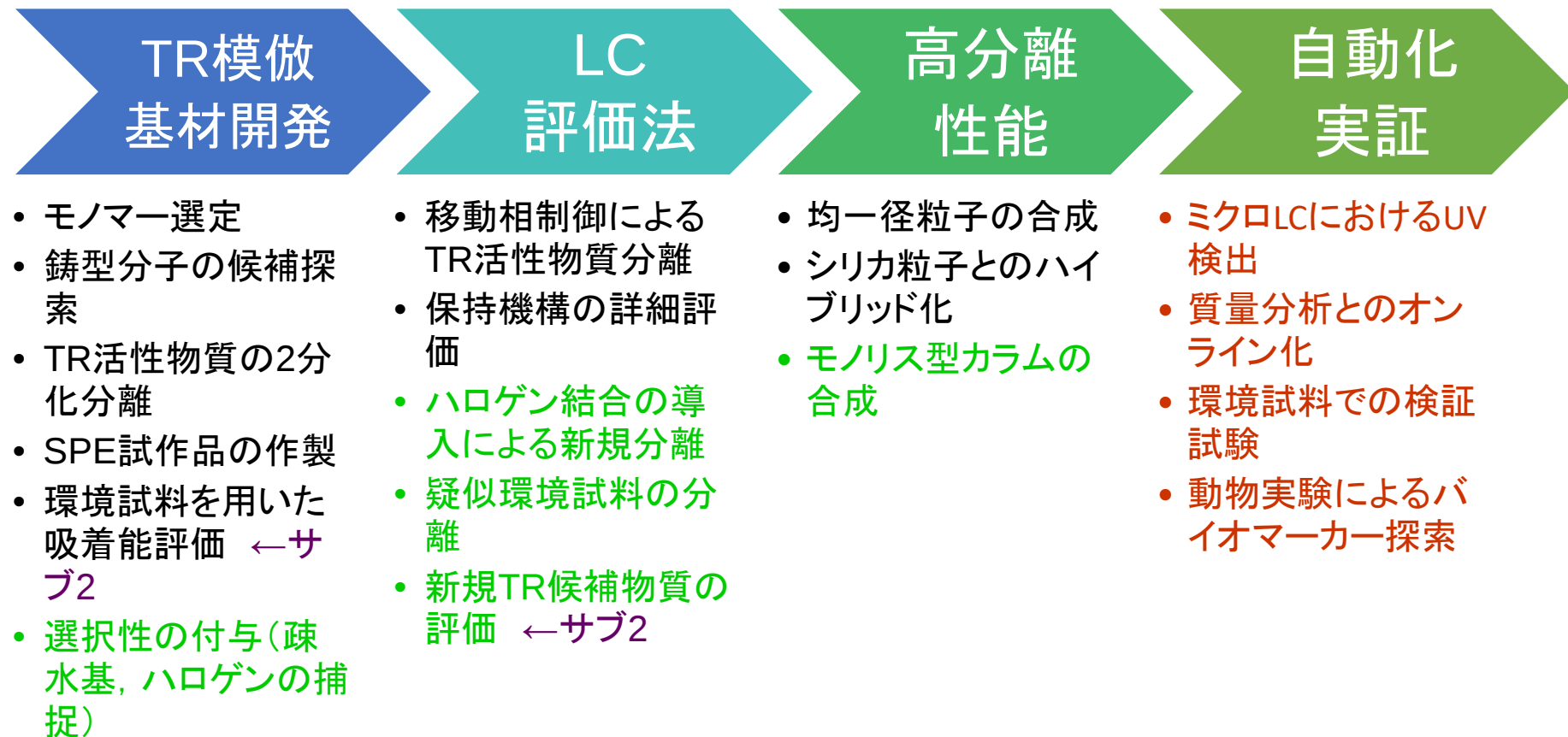
受容体模倣クロマトグラフィーによる簡便スクリーニングとバイオマーカー探索

サブテーマ (2) 国立環境研 県立広島大

TR結合化学物質の精密質量と生理活性に関するデータベースの作成



研究計画（サブテーマ1）



計画年度：2019年度 2020年度 2021年度

研究計画（サブテーマ2）

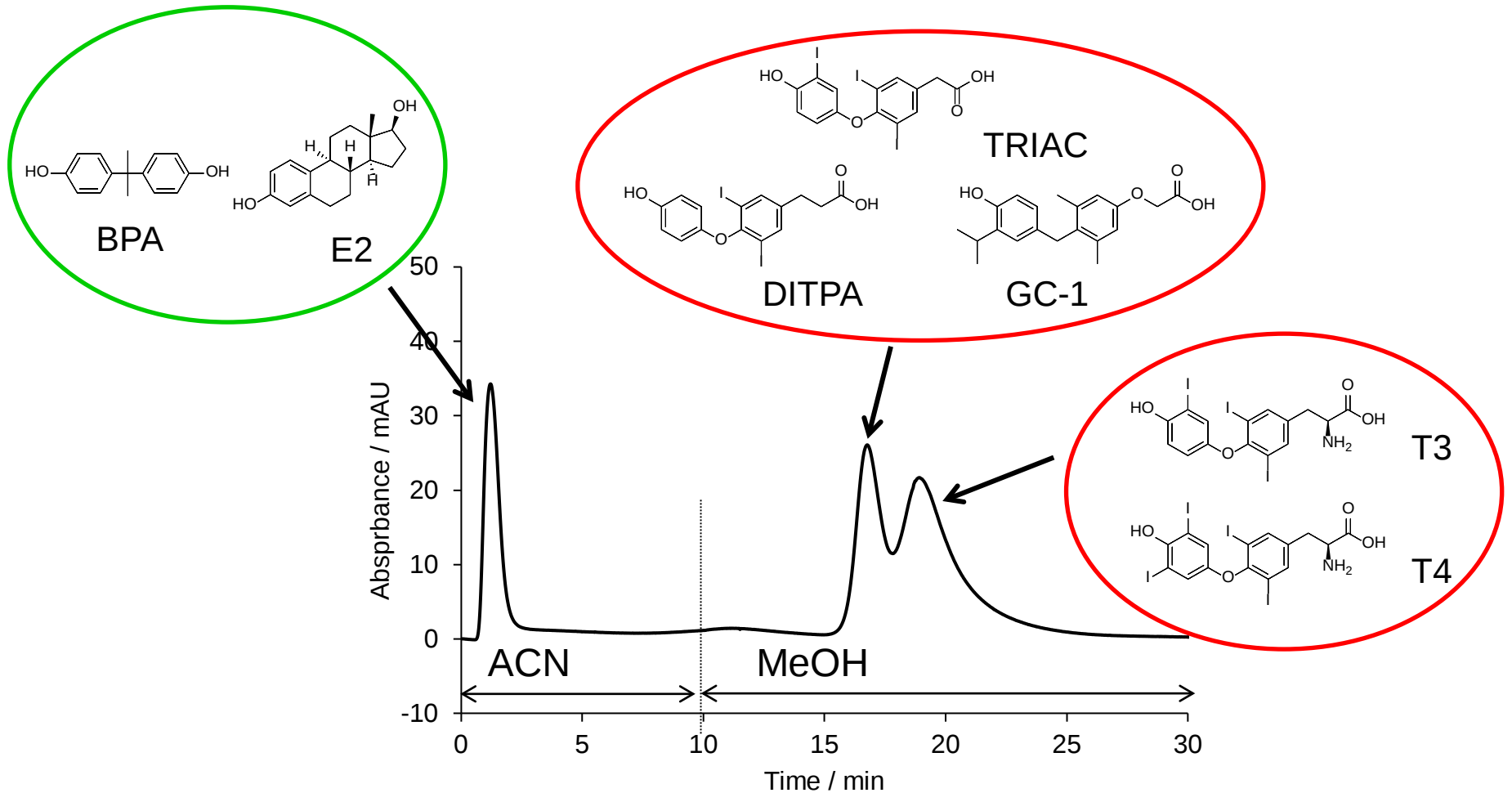


計画年度：黒2019 緑2020 橙2021

サブテーマ 1

受容体模倣クロマトグラフィーによる簡便
スクリーニングとバイオマーカー探索

TR結合物質の分離



TR結合, 非結合物質の包括的な分離に成功

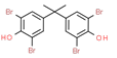
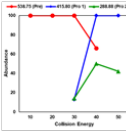
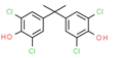
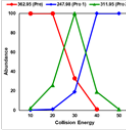
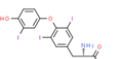
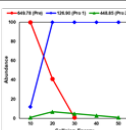
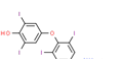
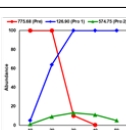
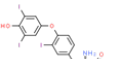
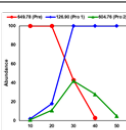
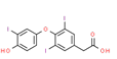
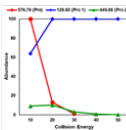
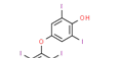
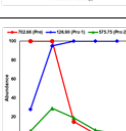
サブテーマ 2

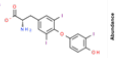
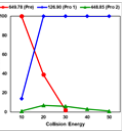
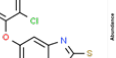
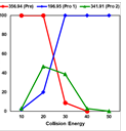
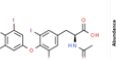
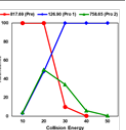
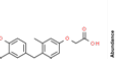
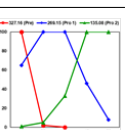
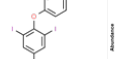
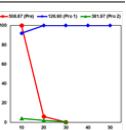
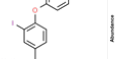
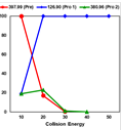
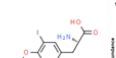
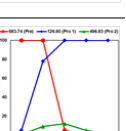
甲状腺ホルモン受容体結合化学物質の精密質量と
生理活性に関するデータベースの作成

[illegible]

多段階精密質量データベースの作成

- 液体クロマトグラフ (LC) – 四重極 (Q) – 飛行時間型質量分析計 (ToFMS) : Agilent 6546
- プレカーサーイオン, プロダクトイオンの精密質量, 各種コリジョンエネルギーの際のプロダクトイオンの強度比を測定
- この結果をパーソナル化合物データベースライブラリ (PCDL) に登録, 高精度定性解析用データベースを作成した。
- ToFモードの検量線も作成。

ID (NIES)	英名	CA S	分子式	分子量	構造式	PCDL
A0138	Tetrabromobisphenol A	79-94-7	C ₁₅ H ₁₂ Br ₄ O ₂	543.87		
A0139	Tetrachlorobisphenol A	79-95-8	C ₁₅ H ₁₂ Cl ₄ O ₂	366.07		
A0260	3,5,3'-Triiodo-L-thyronine (T3)	6893-02-3	C ₁₅ H ₁₃ INO ₄	650.97		
A0261	3,3',5,5'-Tetraiodothyronine (T4)	51-48-9	C ₁₅ H ₁₂ INO ₄	778.87		
A0348	3,3',5-Triiodo-L-Thyronine (T3)	5817-39-0	C ₁₅ H ₁₃ INO ₄	650.97		
A0354	3,3',5-Triiodothyroacetic acid (TRIAc)	51-24-1	C ₁₆ H ₁₃ IO ₄	621.93		
A0355	3,3',5,5'-Tetraiodothyroacetic acid (TETRAc)	67-30-1	C ₁₆ H ₁₂ IO ₄	747.83		

ID (NIES)	英名	CA S	分子式	分子量	構造式	PCDL
A0633	3,3',5-Triiodo-L-thyronine sodium salt (T3Na)	55-06-1	C ₁₅ H ₁₁ INO ₄ Na	672.96		
A0764	Triclabendazole	68766-66-3	C ₁₂ H ₈ Cl ₃ N ₂ OS	359.06		
A0833	N-Acetyl L-Thymine (Acetyl T4)	26041-51-0	C ₁₇ H ₁₃ INO ₅	818.91		
A0836	Sobetrome (GC-1)	211110-63-3	C ₂₀ H ₁₆ O ₄	328.4		
A0837	3,5-Diiodothyropropionic acid (DTPA)	1156-10-7	C ₁₅ H ₁₂ IO ₄	510.06		
A0840	3-Iodo-L-thyronine (T1)	10468-90-3	C ₁₅ H ₁₁ INO ₄	399.18		
A0841	3-Chloro-3',5,5'-triiodo-L-thyronine (Chloro T4)	909279-46-5	C ₁₅ H ₁₁ ClIO ₄	685.42		

環境政策への貢献

本研究で創出された新規スクリーニング手法は、本ニーズ内であげられているノンターゲット分析やバイオマーカー探索を含んでいることから、子どもたちの血液・尿等の生体試料に対する、**少量で精度・感度良く効率的に分析する方法の開発に取り組み、信頼性のある手法の確立に貢献**すると予想できる。

本研究の成果は、TRのみならず受容体結合活性を有する多くの化学物質への応用が可能であり、生理活性メカニズム解明などの学術的知見の獲得に始まり、将来的には**汎用のスクリーニング手法として、国内・国外での環境化学物質モニタリングに適用可能**であると予想される。そのため、これらに関連する専用の分離基材及び化学物質データベース（精密質量，生理活性，化学構造）は、継続的にアップデートされる消耗品として潜在的な環境ビジネスの市場として期待できる。

さらに、本研究で得られる受容体模倣基材は、環境中のアレルゲンや生理活性物質を選択的に捉えるハウスクエア製品（家庭用クロス），ヘルスクエア製品（マスク，フィルター）にも適用可能であると予想され、今後需要が強まる有害環境から派生した医薬・健康ビジネスの市場として期待できる。

科学的・技術的意義および発展性・波及効果

