

【5-1552】 活性特異的濃縮基材と精密質量数による内分泌かく乱化学物質のスクリーニング法開発 (H27-29 102,083 千円)

研究代表者 中島 大介 (国立研究開発法人国立環境研究所)

1. 研究実施体制

- (1) 活性物質多段階精密質量データベースの作成及び内分泌かく乱化学物質の迅速同定定量システム構築 (国立研究開発法人国立環境研究所)
- (2) 活性選択的濃縮基材の作製とそれを用いた一次スクリーニングシステム構築に関する研究 (京都大学)

2. 研究開発目的

本研究の分担者らは、環境研究総合推進費 (B-0806) において、分子鑄型を用いた水環境中微量汚染物質の選択的・高感度分析を達成してきた。従来の分子鑄型開発では、類縁物質の保持を防ぎ、目的の単一物質だけを如何に保持するかが課題であった。一方、この分子鑄型に化学物質が保持されるメカニズムは、内分泌かく乱作用のひとつである、「受容体結合活性物質が受容体と結合するメカニズム」と酷似している。異なるのは、受容体結合作用では本来のリガンドだけでなく、その類縁物質も受容体と結合してしまうことである。そこで本課題では、従来の分子鑄型開発の思想を逆転し、「リガンドと類似構造を持つ物質を広く保持する鑄型」を作製し、これへの保持力を分析化学的に測定することで受容体結合活性の一次スクリーニングを実現することを第一の目的とした。またこの分子鑄型を使用することで、環境媒体中に存在する内分泌かく乱物質の迅速同定定量を実現することが第二の目的である。代表者らが既に実施した約 600 物質の受容体結合活性結果から、陽性を示した物質の多段階精密質量データベースを構築しておき、環境試料をこの鑄型に通し、溶出させたピーク (活性物質) とマッチングさせることで迅速同定するシステムである。この系は実環境中において受容体結合活性 (内分泌かく乱作用) を示す物質の種類及びその濃度の簡便測定を実現するものであり、曝露濃度側から *in vivo* 試験に供すべき物質の優先順位付けに資するものである。以上のように、物質のハザード、環境中曝露濃度の両面から優先順位付けに貢献し、既存物質点検の加速に資することが本課題の全体目標である。

3. 本研究により得られた主な成果

(1) 科学的意義

本研究で得られた活性選択的な濃縮基材は、既報の分子インプリント法に対して、親水性マトリックスと局所的な疎水環境を導入した、全く新規な吸着基材開発の概念である。この概念は、受容体などのタンパク質が発現する分子認識を模倣する手法として科学的な新規性が高い。また、既存の疎水性吸着剤と比較して、水環境試料の分析前処理

として、通常問題となる非特異吸着を最大限抑制できることから、環境分析における分析対象物質の絞り込みと未知物質の同定などに寄与すると期待できる。そのため、環境研究における新たなツールとして環境汚染化学物質の探索研究に貢献できる。

また活性物質の同定に使用したフラグメントパターンの精密質量データを用いる高精度同定法では、従来の定量に使われているトリプル四重極型質量分析計によるMRM測定よりも誤同定（擬陽性）が生じにくい。本法による141種の陽性物質のデータを提示したことは、当該物質群の一斉分析において活用が期待され、これらの成果の学術的意義は高いと考えられる。

（２）環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

本研究では、活性選択的な捕集基材を開発した。これを用いることにより、将来的に以下のことが実現する可能性がある。

- ①物学的なスクリーニングに替わる化学物質の迅速・安価な工学的評価
- ②環境試料からの受容体結合活性物質の選択的に補足・濃縮。効率的な分析時のきょう雑物質除去
- ③環境試料等に適用し、捕集された物質には活性がある可能性が高く、これまで活性未知だった物質を新たに検出できる可能性がある。環境中から検出された未知ピークをLC/QToFMS等により化学同定することで、活性既知の物質を対象としたEXTEND2016に対し、下流側からの候補物質選定スキームを補完できる
- ④発生源における化学物質の網羅的除去技術

また本研究で提示したエストロゲン受容体結合活性物質の一斉分析法のパラメータは、環境実態調査等への活用も見込まれる。これにより、従来、代表的物質に限られていた環境中の活性物質の濃度測定から、網羅的一斉分析への転換が可能になる。なお今回構築した分析系では、未知物質の構造推定を考慮してLC/QToFMSを利用しているが、高い同定精度が得られる反面、LC/MS/MSによるMRM測定と比較して感度が劣るという課題がある。そこで、本研究を基礎として、MIPカラムを搭載した全自動前処理システムをLC/MS/MSに繋ぎ感度の向上を図れば、環境中の微量なエストロゲン受容体結合活性物質の定量にも活用可能である。

また本研究の中で作製した差分ピークの検出ソフトウェアは、同等の機能を有するものは存在しない新たなツールである。本研究ではMIPから溶出しきれていない物質の探索に用いることを目的としていたが、他の用途での活用も期待される。例えば河川の流

出事故や災害時において、上流と下流試料の差分（位置的に異なる試料の差分）からの汚染源の特定、発災前後の差分（時間的に異なる試料の差分）からの異常検知やその要因物質推定などへの活用が期待される。

なお本研究で開発した活性選択的な吸着剤は、モデルとして用いたエストロゲン受容体に留まらず、現在問題となりつつある甲状腺ホルモン活性物質等への応用も可能である。今後、内分泌かく乱作用を示す化学物質のスクリーニング手法として、現在の生物学的な手法に替わる簡易・低コストの手法として、公定法等への採用も期待できる。

4. 委員の指摘及び提言概要

新しい吸着器材開発の概念で作成した分子鑄型を使用して、受容体結合活性の一次スクリーニングを実現する第一目標を達成すると同時に、環境媒体中に存在する内分泌かく乱物質の迅速同定定量を実現する第二目標が達成された。今後、実用上の評価についても検討して欲しい。また、エストロゲン受容体以外の内分泌かく乱物質のスクリーニング法にも利用が拡大されていくとよい。

5. 評点

総合評点：A