

LC/QToFMS を用いた女性ホルモン様物質の網羅的分析法とその応用

Comprehensive analysis method of estrogen like substance using LC/QToFMS and its application

柳下 真由子¹・久保 拓也²・中山 祥嗣³・中島 大介^{3*}
Mayuko YAGISHITA¹, Takuya KUBO², Shoji F. NAKAYAMA³ and Daisuke NAKAJIMA^{3*}

¹ 公立大学法人 県立広島大学 生命環境学部

² 京都大学大学院工学研究科

³ 国立研究開発法人 国立環境研究所 環境リスク・健康研究センター

¹Department of Environmental Science, Prefectural University of Hiroshima

²Graduate School of Engineering, Kyoto University

³Center for Health and Environmental Risk Research, National Institute for Environmental Studies

摘 要

水環境中の化学物質による内分泌かく乱作用を包括的・網羅的に把握することを目的として、生物学的、化学的及び工学的にアプローチした研究の一端を紹介する。著者らのラボでは、約 600 物質の各種受容体結合活性を酵母ツーハイブリッド法によりスクリーニングしてきた。これと併せ、国内外の環境水の汚染レベルも把握し、一部試料からエストロゲン受容体(ER)結合活性を示す物質として 4-(3-phenylpropyl)phenol を同定した。hER 受容体結合活性を示した 141 物質を LC/QToFMS で測定し、多段階精密質量による高精度一斉分析法を作成した。また活性物質を選択的に捕集するため、受容体を模した分子鑄型による前処理基材を開発した。この分子鑄型によって下水処理場排水を精製した結果、hER 結合活性は保持したまま、LC/QToFMS による検出ピークボリューム換算で 8 割の精製効果が得られた。さらにこの分子鑄型を LC/QToFMS のプレカラムとして組み込み、オンラインカラムスイッチ法による活性物質の一斉分析法を開発した。

キーワード：EXTEND2016, エストロゲン受容体結合活性物質,
オンライン自動分析, 多成分一斉分析, 分子鑄型

Keywords：EXTEND2016, estrogen receptor binding chemicals,
on-line column switching LC/QToFMS system,
simultaneous analysis, molecularly imprinted polymer

1. はじめに

Dr. Theo Colborn による“*Our Stolen future*”(邦題：奪われし未来)が発刊されたのは 1996 年のことであり、既に 20 年が過ぎたことになる。この著書で指摘された、外因性の化学物質が生体の内分泌系をかく乱するという懸念に対し、我が国でも早くから対応がなされてきた。化学物質の内分泌系への作用に関して、環境省(庁)は SPEED'98 以降、EXTEND2005, EXTEND2010 及び EXTEND2016 と継続した取り組み方針を策定してきた。これらの中で、化学物質の内分泌かく乱作用に関する試験・評価の枠組みの構築、試験手法の開発と国際標準試験法策定への貢献、既存知見の集積などが行われ、

また EXTEND2010 以降は特に化学物質の内分泌かく乱作用の評価手法の確立と評価の実施の加速化に力点が置かれてきた。学术界でも 1998 年に日本内分泌攪乱化学物質学会(通称：環境ホルモン学会)が設立され、様々な研究が推進されている。

化学物質が内分泌かく乱作用を示すメカニズムにはいくつかあるが、本来のホルモンが結合する受容体に対して、別の化学物質が結合することで引き起こされる“かく乱作用”がその代表である。例えばエストロゲン(女性ホルモン)受容体に対してプラスチック可塑剤として使用されているビスフェノール A 等が結合活性を示し、その結果、女性ホルモン様作用を示すというもの等である。

生体中の受容体はエストロゲン受容体以外にも

受付：2019 年 2 月 25 日, 受理：2019 年 5 月 22 日

* 〒 305-8506 茨城県つくば市小野川 16-2, E-mail: dnakaji@nies.go.jp

数多く存在し、様々な生体機能を司っていることから、既存・新規を問わず、様々な化学物質の受容体結合活性強度をスクリーニングしておくことは重要な意味を持つ。著者らの研究室でも酵母を用いた迅速 *in vitro* 系による化学物質の一次スクリーニングを精力的に実施してきたが、これまでに評価できたのは約 600 物質に過ぎない(Shiraishi *et al.*, 2018)。米国では NIH(国立衛生研究所)、FDA(食品医薬品局)及び EPA(環境保護局)が共同でロボットを用いた化学物質の *in vitro* スクリーニングを行っており(Tox 21, <https://tox21gov>)、約 1 万種の化学物質を対象にスクリーニングを実施している。Chemical Abstracts Service(CAS)に登録されている化学物質は現在 1 億 5 千万件ほどあることを考えると、受容体結合活性スクリーニングの更なる迅速化、簡便化及び低コスト化は重要な課題である。

一方、環境モニタリングを行っていく上では、環境媒体中に内分泌かく乱作用を引き起こす物質が含まれているか、内分泌かく乱作用を引き起こす化学物質は具体的に何か、といった視点が必要となる。*in vitro* バイオアッセイ(生物的手法)には、*in vivo* と比べて作用機序が明確であるという特長があるが、逆に実際の生物影響に直接繋がるわけではない点に注意が必要である。またバイオアッセイによる環境モニタリングは、媒体に含まれる化学物質総体での評価が可能である反面、どの化合物が原因で毒性・影響が発現しているのかが不明であること、そのために対策が打ちにくいこと、という短所もある。したがって、内分泌かく乱作用を引き起こす化学物質の管理や規制の観点からは、化学物質総体での評価に特徴のあるバイオアッセイと個々の化学物質の同定・定量面で必須となる化学分析は補完関係にあり、目的に応じて両者をいかに効果的に組み合わせていくか、が重要である。

2. 環境媒体中の受容体結合活性物質

我々はこれまで、環境媒体の汚染測定に *in vitro*

バイオアッセイを用いた評価を行ってきた。*umu* 試験による遺伝子損傷性(中島ほか, 2007)、Ames 試験による変異原性(Endo *et al.*, 2016)、発光細菌毒性(Allinson *et al.*, 2011)等である。この一環として、酵母ツーハイブリッド法を用いた各種受容体結合活性(Kamata *et al.*, 2011)についても調査をしてきた。酵母ツーハイブリッド法で用いた酵母は、各種受容体のリガンド結合領域及び転写活性化因子 GAL4 の DNA 結合領域の発現プラスミド(pGBT9-RLBD)と、コアクチベーター TIF2 及び GAL4 の転写活性化領域の発現プラスミド(pGAAD424-TIF-2)及びレポーター遺伝子である β -ガラクトシダーゼを組み込んだ酵母 Y190 株に導入したものである。ヒト・エストロゲン受容体 α (hER) 及びメダカ・エストロゲン受容体 α (medER) は女性ホルモンの受容体であり、その結合活性は生殖機能をかく乱すると考えられている。ヒト・レチノイン酸受容体 γ (RAR) はビタミン A の活性本体であるレチノイン酸(all trans retinoic acid)の受容体であり、その結合活性は細胞の増殖・分化、生体の恒常性維持、形態形成に関わると考えられている。アリルヒドロロカーボン受容体(AhR)は薬物代謝酵素である CYP1 ファミリーの誘導に、構成的アンドロスタン受容体(CAR)は CYP2 ファミリーの誘導に関与しており、その結合活性はそれぞれ生体異物の指標になると考えられている。甲状腺ホルモン受容体(TR)は甲状腺ホルモンであるトリヨードサイロニン(T3)とサイロキシニン(T4)がリガンドであり、生体の恒常性維持に必要な受容体である。両生類における幼生から成体への変態や、サケ科の海水適応等に関与することも知られている。これらの受容体にリガンド以外の化学物質が結合することによって、生体機能がかく乱されることが懸念される。

表 1 には、私たちが国内の環境水(主に河川水)を 2007 年から 3 年間にわたり、約 100 地点ずつ採取し、hER、medER、RAR、AhR、CAR 及び TR の各結合活性を調査した結果を示す。環境水中の受容体結合活性物質量を活性値として調査した事例はほ

表 1 日本国内河川水の示す受容体結合活性の平均値(2007-2009)。

	活性試験名	単位	国内平均値	備考
hER	ヒトエストロゲン 受容体結合活性	ppt as E2 ^{*1}	0.40	
medER	メダカエストロゲン 受容体結合活性	ppt as E2 ^{*1}	1.0	
RAR	レチノイン酸 受容体結合活性	ppt as ATRA ^{*2}	2.4	国内最大 117
AhR	アリルヒドロロカーボン 受容体結合活性	ppt as b-NF ^{*3}	35	国内最大 820
CAR	構成的アンドロスタン 受容体結合活性	ppt as p-t-OP ^{*4}	390	国内最大 2300
TR	甲状腺ホルモン 受容体結合活性	ppt as T3 ^{*5}	—	最大で 300 程度

環境試料の受容体結合活性は、陽性対照とした以下の物質の活性に換算して示した。

*1 β -エストラジオール、*2 トレチノイン、*3 β -ナフトフラボン、*4 パラ-ターシャール-オクチルフェノール、*5 トリヨードサイロニン

とどなく、表 1 に示す値は我が国における河川水の実態を把握したものであり、排水や漏えい事故の際、あるいは海外事例などと比較する際に、ある種の目安になるものである。例えば、hER の国内平均は 0.4 ppt(as E2)であるのに対し、ある安定型処分場の浸出水から hER で 58 ppt(as E2)、medER で 770 ppt(as E2)を検出した事例や、CAR では国内平均値 390 ppt(as p-t-OP)に対して災害廃棄物一次仮置場種への環境水から 4,200 ppt(as p-t-OP)、ベトナム・ホーチミン市の河川で 28,000 ppt(as p-t-OP)という汚染が検出された事例がある。

また、バイオアッセイと化学分析とを組み合わせ、要因物質を特定した例もある。とある工場排水放流口下流で比較的高い medER 活性が認められたが、GC/MS による化学物質スクリーニングの結果からは、これまで知られているようなビスフェノール A(BPA)や、ノニルフェノール(NP)といった代表的な人工エストロゲン様化学物質は極低濃度であり、その活性主体とは考えられなかった。そこで本試料について酵母ツーハイブリッド法による活性を指標に分画し、構造推定を試みた。逆相高速液体クロマトグラフィ(HPLC)による分画とバイオアッセイから活性画分を得、その液体クロマトグラフィ/四重極飛行時間型質量分析法(LC/QToFMS)及び LC/イオントラップ TofMS による解析結果から、4-または 2-(3-phenylpropyl)phenol と推定した。一方、順相 HPLC による分画とイオントラップガスクロマトグラフィ/質量分析法(GC/MS)による解析からも同様の構造が推定された。フェノール系水酸基の位置を決定するために、両物質を合成して HPLC の保持時間を確認し、本活性物質は 4-(3-phenylpropyl)phenol と決定した。本物質の medER 結合活性は、BPA の約 18 倍の強度を示した。なお活性を示す画分からは 4- α -cumylphenol、phenylethylphenol も検出されており、活性の主成分ではないが一部活性に寄与していた。本物質は当該工場におけるプラスチック容器を燃焼する工程で生成していると予想され、同業種や類似工程を有する事業場排水にも含まれている可能性がある。すなわち、河川水等の実際の環境媒体や製品では、反応生成物等の非意図的生成物が影響要因となる場合がある。

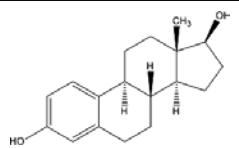
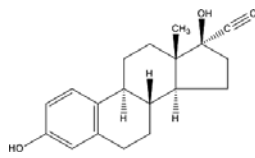
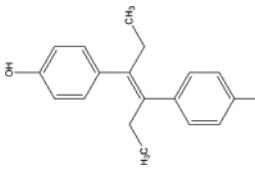
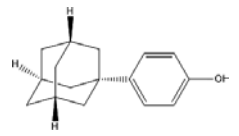
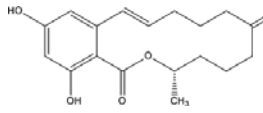
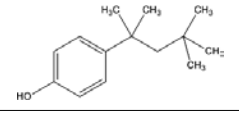
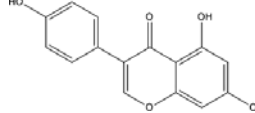
ここで紹介した例のように、ある試料からバイオアッセイによって ER 結合活性が検出され、しかもその原因物質を同定できることは決して多くはない。むしろ物質同定に至らないケースが多い。ここで示した工場排水の例では、天然物化学的なアプローチ、すなわち試料を分画してそれぞれの活性を調べることを繰り返し、活性本体に迫っていくやり方を採った。いわば、試料側からのアプローチと言ってよい。一方、より効率的に活性本体に迫るには、物質側のアプローチ、つまり活性を示すことが知ら

れている物質が含まれているかどうかをまず確認することも求められる。それには、環境媒体中の化学物質総体の中から活性既知の物質を検出する方法を構築することが必要である。そこで次項では、著者らが開発を進めている多段階の精密質量データベースを活用した LC/QToFMS による hER 結合活性物質の一斉スクリーニング法について紹介する。

3. hER 結合活性物質の多段階精密質量データベースの作成

著者らはこれまでに約 600 種類の化学物質に関して、hER 結合活性のスクリーニングを行っており、現時点で 160 物質がアゴニスト陽性を示すことを明らかにしてした(Shiraishi *et al.*, 2018)。表 2 に hER 結合活性を示す物質とその活性の強さの例を挙げた。活性値は溶媒対照の 10 倍のレスポンスを示す最低濃度(ECx10)で示してある(数値が小さい方が活性が強い)。このスクリーニング結果に基づき、160 種類の既知陽性物質を一斉分析する手法を開発した。開発した手法では、LC/MS を用いているが、160 物質の中には LC/MS ではイオン化できない、あるいは十分な分離ができない物質があるため、一斉分析が可能な化学物質は 141 物質である。これらについて、一般的な逆相カラムを使用し、測定のための各種パラメータを整備した。質量分析計として今回使用したのは精密質量の測定が可能な QToFMS である。まず各標準物質を用い LC の保持時間ならびにコリジョンエネルギーを 5 段階に変化させた場合のマススペクトルを測定し、データベース化した。次に環境試料からの物質の同定には同様の測定を行い、保持時間及び標準マススペクトルとの比較から高精度な同定を可能とするシステムを構築した。具体的には、まずシングル MS(TOF)モードで測定を行い、その保持時間と精密質量から活性物質のデータベースを検索し、物質の仮同定を行う。次に仮同定された物質に対し、再度 QToFMS モード(以降、単に MS/MS モードと略す)でのターゲット MS/MS 測定を行い、測定されたプロダクトイオンスキンの精密質量スペクトルをデータベースと比較して確定同定を行う。このマススペクトル比較には、PCDL(Personal Compound Database Library)というアジレント社のマススペクトル検索ソフトウェアを使用する(図 1)。さらに PCDL によって同定が確定したものについては、先のシングル MS モードでのベースピーク強度から定量を行う手順になる。最終同定と定量を同時に行う観点からは、MS/MS によるプロダクトイオンを用いて定量することが望ましく、また MS/MS モードでのプロダクトマススペクトルはシングル MS モードに比べてバックグラウンドが小さい利点もある。しかしながら MS/MS モード測定ではピーク強度が小さく

表2 エストロゲン受容体(hER)結合活性を示す主な化合物と活性.

Chemical Name	Cas No.	hER α (EC ₅₀ /nM)	示性式	分子構造
17 β -Estradiol	50-28-2	0.1	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	
Ethinylestradiol	57-63-6	0.2	C ₂₀ H ₂₄ O ₂	
Diethylstilbestrol (DES)	56-53-1	0.2	C ₁₈ H ₂₀ O ₂	
4-(1-Adamantyl)phenol	29799-07-3	11.0	C ₁₆ H ₂₀ O	
Zearalenone	17924-92-4	22.6	C ₁₈ H ₂₂ O ₅	
p-t-Octylphenol	140-66-9	56.0	C ₁₄ H ₂₂ O	
Genistein	446-72-0	223.0	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	

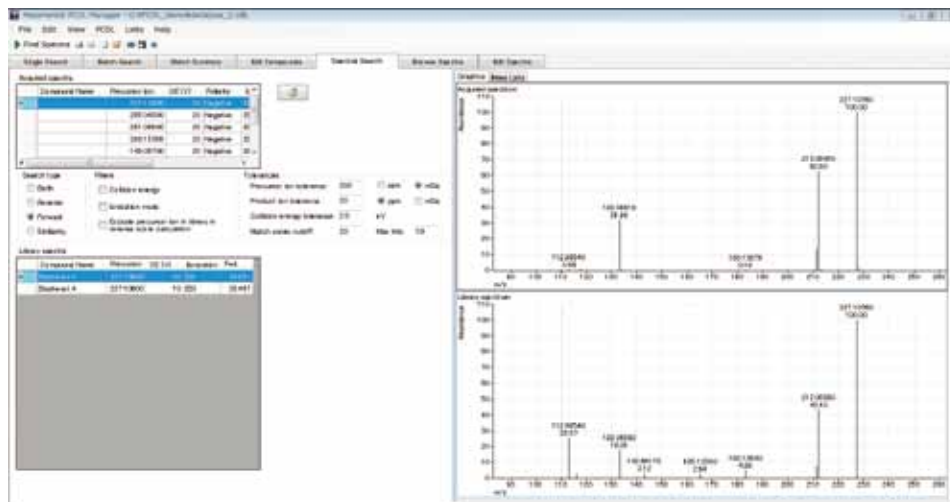


図1 PCDLによる解析画面.

測定試料から得られたプロダクトイオンスキャンとデータベースに収録した標準スペクトルを比較して同定を行う。

なるため、実際の定量精度はシングル MS モードのベースピークを用いた方が勝っているのが現実である。この部分は改良の余地があると考えている。

なお、我々が開発した手法での環境媒体中に含ま

れる活性物質の定量には二つの課題がある。一つは感度が劣ることで、イオン検出に飛行時間質量分析計(TofMS)を用いていることに起因する。この点については、TofMSとは異なり、特定の質量数(正確

には m/z のイオンを検出するトリプル四重極質量分析計(QQQ)を併用することで改善できるだろう。一般に同定精度は QToFMS の方が QQQ より優れているが、定量精度・感度は QQQ の方が優れているからである。ただし、実際の環境試料に対し QQQ による SRM(選択反応モニタリング)測定によって同定定量した化学物質のいくつかは、QToFMS を用いた高精度同定によって誤同定であると判された例もあり、注意が必要である。QQQ による SRM 測定において誤同定を引き起こす主要因としては、全体の質量スペクトルを確認していないことやイオン選別の質量精度が低い(一般に整数値が用いられる)ことが挙げられる。

もう一つの課題は、イオンサプレッションの影響を受けやすいことである。カラム分離後、試料は LC-MS のイオン源に導入されてイオン化されることになるが、夾雑物質が多いと目的物質以外に多く存在する夾雑物質も同時にイオン化されてしまうため、目的物質のイオン化率が下がってしまうことがある。一方、検量線の作成段階では、標準溶液、すなわち目的物質だけが溶解している溶液を注入するため、イオン化率が高い。その結果、夾雑物質の多い試料では、目的物質のピーク強度がその濃度に対して小さくなり、濃度を低く見積もってしまうという現象を引き起こす。したがって、目的成分以外の夾雑物をできるだけ排除するための前処理が必要になる。一般的なターゲット分析では逆相系の固相抽出か、有機溶媒により液-液抽出した試料を適宜分画して精製する。しかし、今回開発しているのは極性の幅が広い 141 物質の一斉分析法であるため、それら全てに対して良好な回収率を保ちつつ精製を行うことは困難である。化学的・物理的性質とは関係なく、活性の有るものだけを精製できる前処理基材の開発が望まれる。

4. hER 結合活性選択的な分子鑄型(hER_MIP)の開発

久保らは、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(Kubo *et al.*, 2014)。分子鑄型とは、対象化合物を特異的に認識する分子認識ポリマーのことである。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いかに保持するかが開発の中心課題である。一方、実際の研究現場の悩みは、目的に反して類似構造を持つ化合物も保持されてしまう「中途半端な」「失敗作の」鑄型ができてしまうことであって、単一物質だけの保持を達成することは困難極まりないことである。ところで、この分子鑄型開発の悩みは内分泌かく乱作用の問題と酷似している。なぜなら、生体内のエストロジェン受容体は、本来の女性ホルモンである 17β -Estradiol(E2) と結合して様々

な応答を起こすのであるが、構造が類似した他の化学物質がその受容体に結合してしまうことで、誤った応答が起きるとというのが内分泌かく乱作用であり、その意味ではエストロジェン受容体は不完全な分子鑄型であるとも言えるからである。

そこで我々は発想を逆転し、E2 用の「中途半端な」分子鑄型を作ることで、hER で生じる化学物質の不完全な認識を模倣できるのではないかと考えた。すなわち、エストロジェン受容体に結合する物質—女性ホルモン様作用を示す物質—を(E2 だけではなく)選択的に捕集できる工学的基材が作れるのではないかと、という発想である。

分子鑄型の作製法のイメージは以下のとおりである。受容体に結合する代表的な物質をテンプレートとし、その分子を認識するような機能性モノマー(例えば、テンプレートの極性基にイオン結合するモノマーや、 π 電子と引き合うような部分を持つモノマーなど)と混合する。これに基材となるモノマーを加えて重合すると、テンプレートを抱え込んだポリマーが作られる。最後にテンプレートを洗い出すと、鍵穴の開いた分子鑄型ができる(図 2)。

通常の分子鑄型は疎水性ポリマーで作製し、分子認識は有機溶媒中で行うのが一般的である。しかし、我々が欲しいのは、環境水を通すと hER 活性物質だけが保持される前処理基材であるため、水中で選択性を示す必要がある。従来の疎水性ポリマーでは、鍵穴の外側の分子認識機能を持たない樹脂部分に活性物質以外の疎水性物質が保持されてしまい、一般的な逆相系固相と変わらず、選択性が得られなかった。そこで、環境水中の hER 活性物質の選択的保持には、親水性ポリマーでの分子鑄型の構築の検討が必要となる。我々は実際のヒトエストロジェン受容体(hER)の立体構造、アミノ酸構成等を参考にしつつ、モノマーを選択して hER 受容体を模した分子鑄型を作製した(図 3)。またこの樹脂を破碎し、固相抽出用のカートリッジに充填した前処理カートリッジを作製した(図 4)。

このカートリッジを用い、下水処理場排水を処理した結果を図 5 に示す。排水を SDB で濃縮した試料に対し、hER_MIP で精製することによって LC/ToFMS によるピーク総体積は 80% 以上が除去された。一方、hER 結合活性は精製試料に全て残存していることが確認された(Yagishita *et al.*, 2019)。

5. hER_MIP を組み込んだ自動分析システムの構築

作製した分子鑄型を使用することで、環境媒体中に存在する受容体結合活性物質を迅速に同定定量できる可能性がある。すなわち、環境試料をこの分子鑄型に通すことで夾雑物質を大幅に除去し、活性物質の選択的な捕集を可能にする。さらに、著者らが既の実施した約 600 物質の受容体結合活性結果か

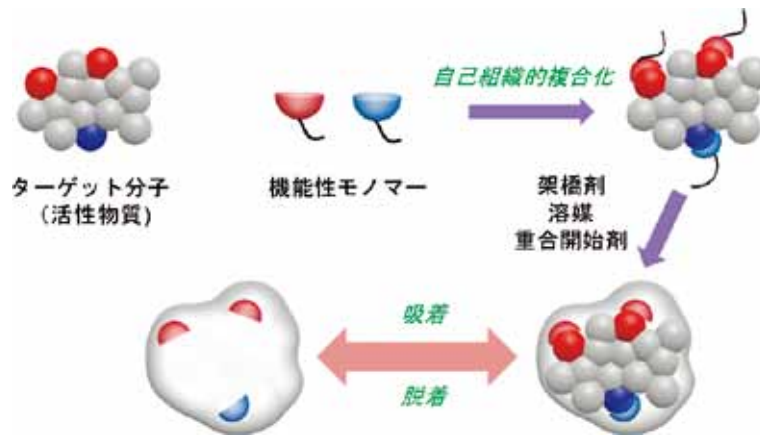


図2 分子鑄型の作製イメージ.

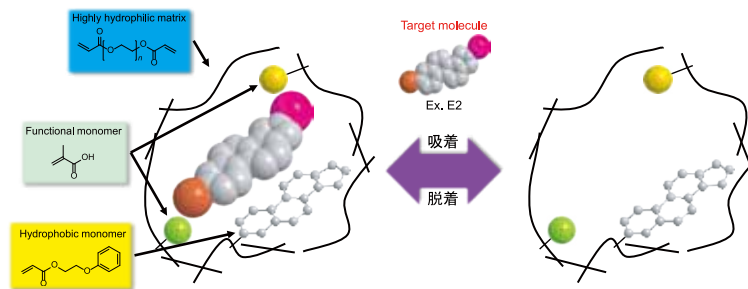


図3 エストロゲン受容体を模倣した分子鑄型の構成.

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くことで、溶出させた試料のピーク(活性物質)とデータベース情報をマッチングさせることで迅速同定するシステム構築が可能となる。このシステムは実環境中における受容体結合活性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、曝露濃度側から環境中において活性寄与の高い物質の探索や対策の優先順位付けに資するものである。

hER_MIPを3項で紹介したLC/QToFMS系とオンライン接続し、高倍率の濃縮を行うためには、hER_MIPが十分なキャパシティーを持つことと、HPLC上で流速に対して耐圧性を有する必要がある。そのため、スポンジ状のhER_MIPや、hER_MIPをシリカゲル表面で生成させたもの等を調製して試験した結果、内径4.6mm、長さ3cmのカラムにおいて、いずれも選択性を有しつつ1 mL/min以上での通水が可能であることが分かった。実際の環境水測定で必要となるキャパシティーを確認してカラムサイズなどを決定することや、その際の回収率等の検討が今後の課題である。現在、1~3項の成果を統合し、スイッチングバルブを二つ用い、環境水試料を最大10検体接続してhER_MIPによる自動濃縮・溶出・分離分析・定量を行う自動測定装置を構築したところであり(図6)、今後はその評価を進めていく。



図4 エストロゲン受容体を模倣した分子鑄型、固相抽出カートリッジタイプ.

6. おわりに

本稿では、環境媒体中のヒトエストロゲン受容体(hER)結合活性物質の効率的な実態把握を目的として、著者らが行ってきた一連の研究内容を概説した。すなわち、バイオアッセイによる活性の包括的な把握、活性選択的分子鑄型捕集材の開発、活性物質精密質量データベースを活用したLC/QToFMSによる一斉スクリーニング法の開発、両者を結合した分析系の開発である。これらを統合的に用いると、

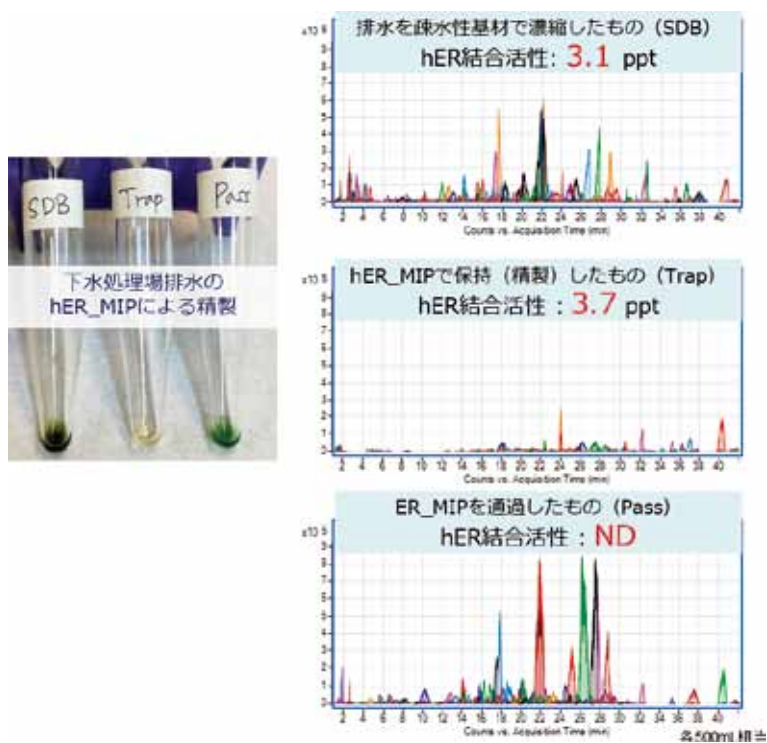


図5 エストロゲン受容体を模倣した分子鑄型(hER-MIP)による試料の精製効果. 左図(写真): 排水試料を疎水性基材(SDB)で濃縮した試料(SDB), SDB 試料を水で再稀釈し, 分子鑄型 hER_MIP を充填したカートリッジに通水した後, hER_MIP からアセトニトリルで溶出して精製した試料(Trap), hER_MIP に保持されずカートリッジを通過した SDB 試料溶液に含まれていた物質(Pass). 右図: SDB で濃縮された試料(上段), hER_MIP に保持された試料(中段), カートリッジを通過した試料(下段)の LC/TofMS によるクロマトグラム. 排水試料中に含まれる多くの夾雑物質は, hER_MIP を充填したカートリッジを利用した精製過程(前処理)で ER 結合活性を有する物質(Trap に含まれている物質)と分離・除去されている.

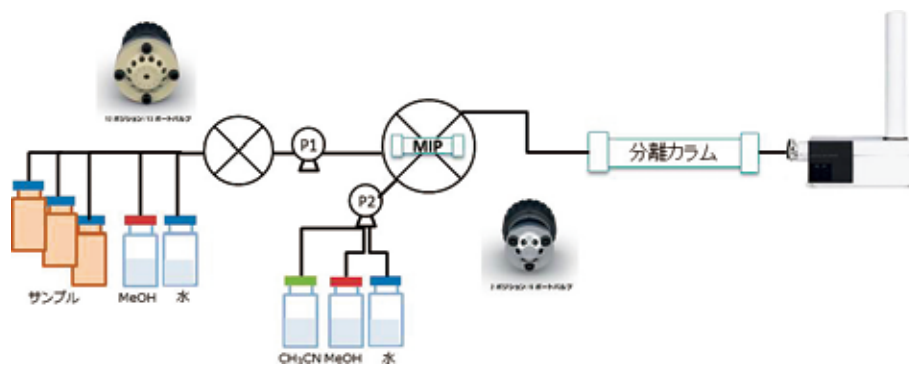


図6 耐圧型分子鑄型を前段濃縮装置に組み込んだ自動分析計.

環境試料中の活性要因物質の同定とその寄与率の算出が可能になる。実際にいくつかの試料で行ってみると、既知の活性物質だけでは活性の全部を説明することができず、環境中には未同定のエストロゲン受容体結合活性物質が存在していることが示唆されている。実際に、hER_MIP で精製された TofMS のクロマトグラムには未同定のピークが多数存在している。これらの構造推定は今後の興味深い課題である。

ところで、バイオアッセイによって毒性物質を包括的に把握し、その成分の寄与率を算出するという考え方は、混合物の毒性値は構成する化学物質の毒

性の総和と考える(相加性が成立する)という前提に立つものである。実際に、エストロゲン受容体結合活性について、その相加性が成立するという報告がある(Ramirez *et al.*, 2014)。しかし、受容体のキャパシティーを超える濃度では成立しないはずであるし、環境中には様々な活性、濃度範囲の活性物質が存在している。様々な活性物質による複合影響も含めて、引き続き丁寧な検討が必要である。

謝 辞

本研究の一部は北海道、岩手県、宮城県、山形県、

群馬県、長野県、静岡県、名古屋市、京都府、兵庫県、鳥取県、北九州市及び鹿児島県の地方環境研究所との共同研究で実施したものです。また本研究の一部は環境省環境研究総合推進費【5-1552】の支援により実施したものです。

引用文献

- Allinson, M., Shiraishi, F., Kamata, R., Kageyama, S., Nakajima, D., Goto, S. and Allinson, G. (2011) A pilot study of the water quality of the Yarra River, Victoria, Australia, using in vitro techniques. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 87, 591-596. <https://doi.org/10.1007/s00128-011-0394-9>
- Endo, O., Goto, S., Nakajima, D., Matsushita, H. (2016) Mutagenic activity of airborne particles in center of metropolitan Tokyo over the past 20 years. *Journal of Environmental Chemistry*, 26 (1) 1-7.
- Kamata, R., Shiraishi, F., Nakajima, D. and Kageyama, S. (2011) Estrogenic effects of leachates from industrial waste landfills measured by a recombinant yeast assay and transcriptional analysis in Japanese medaka. *Aquatic Toxicology* 101(2), 430-437.
- Kubo, T., Hosoya, K. and Otsuka, K. (2014) Molecularly imprinted adsorbents for selective separation and/or concentration of environmental pollutants. *Analytical Sciences*, 30, 97-104.
- Ramirez, T., Buechse, A., Dammann, M., Melching-Kollmuß, S., Woitkowiak, C. and van Ravenzwaay, B. (2014) Effect of estrogenic binary mixtures in the yeast estrogen screen (YES). *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 70 (1), 286-296.
- Shiraishi, F., Kamata, R., Terasaki, M., Takigami, H., Imaizumi, Y., Yagishita, M. and Nakajima, D. (2018) Screening data for the endocrine disrupting activities of 583 chemicals using the yeast two-hybrid assay. *Data in Brief*, 21, 2543-2546.
- Yagishita, M., Kubo, T., Nakano, T., Shiraishi, F., Tanigawa, T., Naito, T., Sano, T., Nakayama, S. F., Nakajima, D. and Otsuka, K. (2019) Efficient extraction of estrogen receptor-active compounds from environmental surface water via a receptor-mimic adsorbent, a hydrophilic PEG-based molecularly imprinted polymer. *Chemosphere*, 217, 204-212.
- 中島大介・影山志保・白石不二雄・鎌田 亮・永洞真一郎・高橋 悟・大金仁一・大谷仁己・堀内孝信・渡邊雅之・濱根貴志・山根一城・原口公子・陣矢大助・門上希和夫・後藤純雄・鏑迫典久・白

石寛明・鈴木規之(2007)河川水中の遺伝毒性物質モニタリングへの発光 *umu* 試験の適用性について. *環境化学*. 17(3), 453-460.



柳下 真由子/Mayuko YAGISHITA

茨城県つくば市出身。東邦大学理学部を経て、2015年3月東邦大学理学研究科修了(博士(理学))。国立研究開発法人国立環境研究所勤務を経て、2018年12月より公立大学法人県立広島大学に助教として勤務。これまでの研究テーマは「芳香族ケトンの蛍光増強」、「大気中の多環芳香族炭化水素の発がんリスク算出」、「女性ホルモン様作用を示す化学物質の多成分一斉分析法の開発」などであり、分光学的手法やガスクロマトグラフー質量分析計、液体クロマトグラフー質量分析計を活用し環境中の化学物質の分析を行ってきた。



久保 拓也/Takuya KUBO

京都工芸繊維大学大学院修了, 博士(工学)。2004年~2012年東北大学大学院環境科学研究科 助手(助教)。2010~2011年米国ポートランド州立大学 博士研究員。2012年~京都大学大学院工学研究科 准教授。専門は分離化学, 分子認識化学, 機能性材料。



中山 祥嗣/Shoji F. NAKAYAMA

医師・博士(医学)。国立研究開発法人国立環境研究所 環境リスク・健康研究センター及びエコチル調査コアセンター 次長。曝露動態研究室 室長。岡山大学医学部卒業。医師免許を取得後、2004年公衆衛生(環境医学・産業医学)の分野で博士号を取得。専門は、公衆衛生、環境保健、曝露科学(特に新規汚染物質及び未知汚染物質の曝露評価)。2005年米国環境保護庁(U. S. Environmental Protection Agency: EPA)の招聘を受け、6年間EPAで新規汚染物質(emerging contaminants)の曝露評価及びリスク管理に携わる。2011年4月より国立環境研究所主任研究員、2012年4月から同室長となり、環境省事業「子どもの健康と環境に関する全国調査(エコチル調査)」を環境医学の面から支える傍ら、曝露科学に関してEPAやEU、アジア諸国との共同研究を進めている。2017年より筑波大学大学院客員教授、2018年よりタイ国立マヒドン大学医学部客員教授を務める。



中島 大介/Daisuke NAKAJIMA

国立研究開発法人国立環境研究所 環境リスク・健康研究センター曝露影響計測研究室 室長。千葉大学薬学研究院客員教授。東京理科大学大学院薬学研究科修了, 博士(薬学)。東京理科大学薬学部で助手を務めた後、2001年より国立環境研究所勤務。専門は環境衛生化学。微生物を用いた毒性試験と、機器分析を用いた有機化学分析の統合的なアプローチによる環境汚染把握を研究フィールドとしている。東日本大震災以降、災害時の環境調査手法に関する研究やその体制作りに向けた活動にも従事。