

# HTPS/QSAR (ハイ・スループット・スクリーニング/構造活性相関) 内分泌かく乱化学物質問題におけるスクリーニング手法と先端科学・技術

菅野 純

国立医薬品食品衛生研究所

ありがとうございました。再び講演の機会を得、HTPS と QSAR についてお話しできることを嬉しく思います。我々は主に、受容体を介して作用するホルモン様活性物質を扱っています。その意味で、内分泌攪乱化学物質とは「有害」作用を示す物質のことであると、改めて定義することができます。この考え方からは、「受容体原性毒性」というもうひとつの表現が生まれてきます。

この「ホルモン様活性物質」という第 1 のカテゴリーについては、我々は、その物質の受容体原性ホルモン様活性の面でスクリーニングすることを試みています。その一方で第 2 のカテゴリーである「確定的試験」手法においては、我々は受容体原性毒性の分類に取り組んでいます。本日は第 1 のカテゴリーについてお話しします。

内分泌学の教科書を見れば、核受容体が介在する反応の基本メカニズムを示したこの種のイラストが容易に見つかります。スクリーニングの目的においては、いくつかのチェックポイントを利用することが可能です。リガンド結合過程がその 1 つであり、従来からある手法としては競合的受容体結合アッセイがあります。チェックポイントにはその他に転写段階と翻訳段階があります。

本日は、こうした結合過程の *in silico* モデリングについて、お二方の講演があります。転写/翻訳段階に対する手法としては、レポーターアッセイがありますが、これについては武吉博士がお話し下さいます。無処置動物や処置動物における標的組織の反応については、これまでの講演ですでに詳しく触れられています。

これは、我々の考え方を示した図です。この図の基本的な発想については、これが最初に示されたのが 1998 年の米国 EPA/EDSTAC の報告書ですので、すでに広く知られたものになっていると思います。

確定的試験にかけるための化学物質の優先順位付けを行なう第 1 段階には、*in silico* での仮想スクリーニングがきます。続いての第 2 段階には、*in vitro* でのハイ・スループット・レポーターアッセイがきます。第 3 段階には、子宮増殖アッセイなどの *in vivo* アッセイがきます。

*in silico* スクリーニングについては、お二方の講演があります。米国のウェイダ・トン博士が CoMFA についてお話し下さいます。この方法はもともと、構造がまだ解らない受容体が関与した系に対して優れた手法です。基本的にはリガンド構造に基づいた手法ですが、現在では、受容体の構造に関する知見を組み込むことで、より精度の高い試験系になるものと考えられています。

日本からは富岡伸夫博士が、受容体の構造の知見が最初から必要であるドッキングモデルについてお話し下さいます。近い将来には、ヘリックス 12 の位置の予測がある程度つけられ、それによって活性化補助因子やコファクターの相互作用に対する影響についても予測が可能になるのではないかと期待されています。

ハイ・スループット・スクリーニング自動化システムに基づいた HeLa 細胞については、武吉博士がお話し下さいます。

本セッションでは私は、こうした各部分をより詳しく調べるのに役立つ縦断的な手法についてお話ししたいと思います。その一つは転写に関して、もう一つは DNA-受容体間の相互作用についてです。エストロゲンでは ERE-ER 間の相互作用が該当し、我々の研究室では BIACORE 装置を用いて行なっています。

本日はもう一人、ドナルド・マクドネル博士の研究室からジュリアン・ホール博士においでいただいています。ホール博士はコファクター-受容体間の相互作用、特に LxxLL ペプチド配列についてお話し下さいます。翻訳、トランスフォーメーション後の段階は、ブルース・ブルンバーク博士から機能的ゲノミクスについてうかがいます。

この 2 つのお話で、この縦の道筋をカバーし、これらの各段階が横の道筋、特に毒性学的ゲノミクスの面で結びつくのではないのでしょうか。確定的試験法についてもカバーできる部分があるかもしれません。

縦断的手法は、メカニズムに基づいたアプローチをとることもできます。このアプローチは、ハイ・スループット・スクリーニングに応用できる可能性があり、近い将来には確定的試験法に連結できるでしょう。

表面プラズモン共鳴のデータについては、私が簡単に我々の結果をお示ししようと思います。これが機械の機能です。センサーチップを備え、そのチップの表面には、どのような種類の分子でも接着することができます。

我々の場合には、ERE DNA 断片を接着しました。流路系には、さまざまなリガンド分子と一緒にしたエストロゲン受容体分子を置きました。これが、ERE を表面に付けたチップに対するリアルタイムの結合と解離です。これが E2 の反応ですばやく結合しています。流路をバッファ単体に切替えますと、複合体がすばやく解離します。

それに対して、ICI 化合物やタモキシフェンを適用してこの試験をしてみると、これら 2 種類の抗エストロゲン類は、よりすばやく結合する傾向がありますが、DNA から解離しません。この試験システムでは、ERE レベルで起こっているメカニズムがより詳細に表現されます。

センサーチップの表面には、少量のペプチドを固着させることができます。これは、表面に LxxLL 配列を適用して同じ実験を行なったものです。これも、ICI 化合物やタモキシフェンへの ERE 反応です。すばやく結合しますが、離れません。同じサンプルを LxxLL チップに適用してみると、アゴニストのサンプルのみが結合し、アンタゴニストでは反応がありませんでした。モニターするためにはある種の生きた細胞が通常は必要である作用が、こうした非常に人工的である無細胞性システムによっても鑑別可能になるかもしれません。

最後に、試験法の開発のスピードはどんどん速くなっていることを申し上げておきます。新しい科学が共通の認識になったならば、それは直ちに試験法に応用されることとなります。そうした新しい科学の中には、非常に有用なものに発展するものが確実にあるでしょうし、そうなったならば、この図式は直ちに影響を受けることとなります。では、私の導入講演はこのくらいにして、セッションを始めることにいたしましょう。ありがとうございました。

## 質疑応答

カブロック：菅野先生に何か質問はありませんか？

質問：お使いになったヒトのエストロゲン受容体は Biocore 社のものですか？

菅野：そうです。Biocore のヒト型 ER $\alpha$  です。

質問：その他の動物種では試しましたか？

菅野：いいえ、まだ試しておりません。

カブロック：ありがとうございました。