

核内受容体が示す有害化学物質ビスフェノール応答

松島 綾美

現代社会では我々が送る日常生活の中で、さまざまな化学物質が環境中に放出されている。それらの化学物質が意図せずして生体内の受容体に結合し、何らかの影響を及ぼす可能性がある。本稿では、そのような化合物としてプラスチックなどの原料であるビスフェノール類と、細胞核内でDNA上の応答配列に直接結合して転写制御を担う核内受容体に着目する。さまざまな生物に存在する核内受容体について概説し、ビスフェノールAが引き起こしている低用量問題と、これが結合する核内受容体の発見とその結合体の結晶構造について述べる。また、近年、使用量が増えつつあるハロゲン原子を含有する新世代ビスフェノールがER β に対して示すユニークな活性特性と、最近、筆者らが見いだした、エストロゲン関連受容体による、エストロゲン受容体の活性増強作用についても紹介する。

1. はじめに

核内受容体は真核生物の細胞核の中で遺伝子の転写翻訳を制御する転写因子である¹⁾。女性ホルモン・エストロゲンや男性ホルモン・アンドロゲンの受容体が核内受容体であることから、環境中に放出される化学物質に内分泌攪乱物質 (endocrine disrupting chemicals : EDC) としての危険性が危惧された。しかし、エストロゲンのようなシグナル分子が受容体に結合してその応答を細胞内部に伝令し、適切なイベントを誘起するシグナル伝達系は、内分泌系の他にもある。たとえば、薬物代謝のために働くシトクロムP450は、薬物のような生体外からの異物に結合する構成的アンドロスタン受容体 (constitutive androstane receptor : CAR) やプレグナンX受容体 (pregnane X receptor : PXR) などの核内受容体によって発現が誘導される²⁾。また、免疫系および脳神経系でもいくつかの核内受容体との関係が報告されている^{3,4)}。こうした状況の中で、化学物質が実験動物の行動に影響するなどの報告がなされるようになった⁵⁾。つまり、これまでは、有害化学物質による生殖系に対する影響が注目されてきたが、近年では、脳神経系な

どへの影響にも大きな関心が集まっている⁴⁾。こうした状況を踏まえ、すべてのシグナル伝達系が内分泌攪乱物質の標的になりうるという認識が広まってきた。そこで本稿では、ヒトをはじめとする生物に有害な影響を与える化学物質という意味で、有害化学物質という総称を用い、その一つであるビスフェノール類と、それらが結合する核内受容体について概説する。

2. さまざまな生物に存在する核内受容体

植物にも存在する細胞膜のさまざまな受容体とは異なり、核内受容体スーパーファミリーとしての共通構造を持つ受容体は、ヒトをはじめとする脊索動物、昆虫、海綿などの後生動物 (Metazoa) のみに存在する。ヒトには48種類の核内受容体が存在することが知られており、25種類はリガンド未知のオーファン (孤児, みなしご) 核内受容体である⁶⁾。線虫では289種類もの核内受容体が報告されている一方で、ショウジョウバエでは21種類、脊椎動物の祖先ともいえるナメクジウオでは33種類、ホヤでは17種類が存在する⁶⁻¹⁵⁾(表1)。なお、線虫で数が多いのは、後述のNR2のファミリー数が多いからであり、これは線虫の第V染色体上で起きたNR2ファミリー数の増大に由来すると考えられる¹⁶⁾。また、同じ哺乳類どうしでも核内受容体の数に差がある。ヒトに48種類の核内受容体があるのに対し^{17,18)}、マウスでは49種類の受容体が報告されている¹⁹⁾。これは、ファルネソイドX受容体 (farnesoid X receptor : FXR) のアイソフォームが一つ多いためである。さらにマウスと同じげっ歯目のラットでは46種類である²⁰⁾。こうした核内受容体の名称について、特にオー

九州大学大学院理学研究院化学部門 (〒819-0395 福岡市西区元岡744)

Structure-function studies between the hormone-disrupting chemical bisphenols and the nuclear receptors

Ayami Matsushima (Department of Chemistry, Faculty of Science, Kyushu University, 744 Motoooka, Nishi-ku, Fukuoka 819-0395, Japan)

本総説は2015年度奨励賞を受賞した。

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2016.880733

© 2016 公益社団法人日本生化学会

表1 核内受容体一覧

NRグループ	ヒト	マウス	ラット	ホヤ	ショウジョウバエ	ナメクジウオ
NR1A	TR α , TR β			TR		TR
NR1B	RAR α , RAR β , RAR γ			RAR		RAR
NR1C	PPAR α , PPAR β , PPAR γ			PPAR		PPAR
NR1D	Rev-Erb α , Rev-Erb β ,		(-Rev-Erb β)	Rev-Erb	E75	Rev-Erb
NR1E	—			—	E78	
NR1F	ROR α , ROR β , ROR γ			ROR	HR46	ROR
NR1G	—	—	—	—	—	—
NR1H	LXR α , LXR β , FXR α	(+ FXR β)		LXR, FXR	ECR	NR1H-1~10
NR1I	VDR, PXR, CAR					
NR1J	—				HR96	
NR1K	—			NR1K-1, 2		
NR2A	HNF4 α , HNF4 γ			HNF4	HNF4	HNF4
NR2B	RXR α , RXR β , RXR γ			RXR	USP	RXR
NR2C	TR2, TR4			TR2/4		TR2/4
NR2D	—				HR78	
NR2E	TLX, PNR		(-PNR)		TLL, DSF, HR51, FAX1	TLX, PNR, NR2E
NR2F	COUP-TF α , COUP-TF β , EAR2			COUP-TF	COUP-TF	COUP-TF
NR3A	ER α , ER β					ER
NR3B	ERR α , ERR β , ERR γ			ERR	ERR	ERR
NR3C	GR, MR, AR, PR					SR
NR4A	NGFIB, NURR1, NOR1			NR4A	HR38	NR4A
NR5A	SF1, LRH1			NR5A	FTZ-F1	NR5A
NR5B	—				HR39	NR5B
NR6A	GCNF			GCNF	HR4	GCNF
NR7A	—					
NR0A	—				KNI, KNRL, EG	
NR0B	DAX1, SHP					NR0B
その他	—					NRa, NRb, NRc
計	48	49	46	17	21	33

マウスとラットはヒトと異なる受容体のみ+と-の差分で表記した。緑色の背景をつけた核内受容体は、これらすべてに共通して存在するグループである。AR: androgen receptor, CAR: constitutive androstane receptor, COUP-TF: chicken ovalbumin upstream promoter transcription factor, DAX1: dosage-sensitive sex reversal, adrenal hypoplasia critical region, on chromosome X, gene 1, ER: estrogen receptor, ERR: estrogen-related receptor, FXR: farnesoid X receptor, GCNF: germ cell nuclear factor, GR: glucocorticoid receptor, HNF4: hepatocyte nuclear factor 4, LRH1: liver receptor homolog 1, LXR: liver X receptor, MR: mineralocorticoid receptor, NGFIB: nerve growth factor-induced clone B, NOR: nuclear orphan receptor, NURR1: nuclear receptor related 1, PPAR: peroxisome proliferator-activated receptor, PR: progesterone receptor, PXR: pregnane X receptor, Rev-Erb: opposite strand to cellular homologs of the viral oncogene v-erbA (c-erbA), RAR: retinoic acid receptor, RXR: retinoid X receptor, ROR: retinoid-related orphan receptor, SHP: small heterodimer partner, TR: thyroid hormone receptor, VDR: vitamin D receptor.

ファン核内受容体では、一つの受容体が複数の名称を持つことになり問題になった。そのため、現在では核内受容体の系統樹解析に基づいた体系的な命名法が考案され、広く用いられている^{1, 18)}。この命名法によると、核内受容体スーパーファミリーに属する受容体は、DNA結合ドメイン (DBD) とリガンド結合ドメイン (LBD) を持つNR1からNR6、さらにDBDとLBDのいずれかを欠如するNR0の合計7種のサブファミリーから構成される。さらに、サブファミリーの下にアミノ酸配列相同性から分けられたいくつかのグループがおかれている。たとえば、エストロゲン受容体 α 型 (ER α) および β 型 (ER β) は、それぞれ

NR3A1およびNR3A2となる。

核内受容体のリガンドの有無については、活性化能の強さや、内在性ホルモンといえるか否か、などによって、さまざまな考え方がある。ヒト核内受容体48種のなかで、リガンドが知られているものは23種類ある。ステロイドホルモンなどの生体内で高いアフィニティーを持つ天然リガンドが知られているものは12種類、比較的弱いアフィニティーを持つ内在性あるいは外来のリガンドが知られているものが11種類存在する⁶⁾。残りの25種類がリガンド未知の核内受容体であり、これらはリガンドの結合なしで示す転写活性、すなわち構成活性が高いものが多い。

我々は、これらを「自発活性化型」核内受容体と呼び注目している。リガンドが欠如するために研究展開が難しかったため、これらの受容体についてはいまだに不明な点が多く残されている。さらに、これらのうち19種はヒト、ホヤ、シウジョウバエ、ナメクジウオに共通してみられるものであり、転写制御を考える上で、重要な機能を担うと考えられる。なかでも、脳・神経系に高く発現するNR4グループの核内受容体、すなわち神経成長因子IB (nerve growth factor IB : NGFIB), nuclear receptor related 1 (Nurr1), neuron-derived orphan receptor (NOR) や、NR2グループに属するtailless (TLX) に注目している。たとえばNR4グループのNurr1核内受容体は、ドパミン生成に必須なチロシン水酸化酵素を誘導する核内受容体であり、ごく最近の研究では培養細胞に強制的に導入するとドパミン作動性ニューロンを作り出せることが報告された^{21, 22)}。すなわちNurr1は神経細胞の分化誘導に重要であると考えられ、これを自在に制御できれば、そのメカニズムを利用した新規パーキンソン病治療薬などの開発研究が大きく前進すると期待される。また、TLXは神経幹細胞の分化の制御に関わっていることが報告されている²³⁾。この核内受容体も、神経系に関わる治療薬を考える上で、大変興味深い。

これらの核内受容体はDNA上のプロモーター部位（もしくはエンハンサーやリプレッサー部位）に存在するホルモン応答配列に結合し、標的遺伝子の発現を直接制御する転写因子である²⁴⁻²⁶⁾。そして真核生物の転写制御は、細菌のような原核生物のものよりはるかに複雑である。しかし、それを構築する一つ一つの分子の相互作用はシンプルだと筆者は想像する。遺伝子の転写を人為的にコントロールできれば、がんをはじめとするさまざまな疾患の治療につながることから、現在も分子機構解明のための研究が盛んに行われている²⁷⁾。

3. ビスフェノールAと低用量問題

フェノール骨格を二つないだビスフェノール類は、プラスチック製品を構成する樹脂の原料として汎用される身近な化合物である。なかでも、最も古くから使われているビスフェノールA [2,2-Bis(4-hydroxyphenyl)propane : BPA] はポリカーボネート樹脂やエポキシ樹脂の工業原料である。ビスフェノールAはすでに1890年代に合成されていたのだが、1936年になって、ステロイド骨格を持たずにエストロゲン作用を発揮する化合物として報告された²⁸⁾。そして1940年代には、エポキシ樹脂として、缶詰の内面塗料や水道管などに商業利用されるようになった²⁹⁾。現在では、我々の身の回りにあるいろいろなプラスチック製品にビスフェノールAが汎用されている。また、特にビスフェノールAが社会的な関心を集めたのは、1993年の論文に関する話題である³⁰⁾。筆者は普段ガラス製品や金属ピンセット類以外をオートクレーブして使用するの

極力避けるのだが、本論文では、オートクレーブされたポリカーボネート樹脂製のフラスコからビスフェノールAが溶出し、乳がん由来の樹立細胞株MCF-7の細胞増殖を引き起こすことが報告された。こうしたエストロゲン様活性が知られていたものの、ビスフェノールAのエストロゲン受容体に対する結合親和性は、内在性リガンドである女性ホルモン・エストラジオールの1000~10,000分の1ときわめて弱いものである^{31, 32)}。これを踏まえて各国で安全基準が設定された。たとえば日本では、ヒトに対する1日摂取許容量は50 μ g/kg体重と設定され、ビスフェノールAの溶出試験の規格として、2.5 μ g/mL (2.5ppm) 以下と制限されている。ビスフェノールAの分子量は228.29であることから、濃度としては10 μ Mに匹敵する。こうした状況の中、1990年代後半に、こうした規制値に匹敵、もしくはそれを下回る濃度でのビスフェノールAの悪影響が報告された⁵⁾。この悪影響については、マウスやラットといった実験動物において、前立腺の肥大や、本来脳にある雌雄の形態的な差異が小さくなる、遺伝子発現や行動に変動が生じるなどの報告がある³³⁻⁴¹⁾。これ以降、各国でビスフェノールAに関するさまざまな安全性の評価および研究が行われている。2008年の米国国家毒性プログラム (National Toxicology Program : NTP) の報告では「胎児や乳幼児では、その脳、行動、前立腺において現行の曝露濃度でいくばくか悪影響の懸念がある」と指摘された²⁹⁾。カナダではビスフェノールAに健康リスクがあるとはしていないものの、哺乳瓶への使用を2010年より制限している⁴²⁾。2013年には、フランス食品環境労働衛生安全庁 (French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety : ANSES) が、感熱紙に使用されるビスフェノールAの健康リスクを指摘している⁴³⁾。最近では、欧州食品安全機関 (European Food Safety Authority : EFSA) は2015年にどのような年齢層に対しても健康影響はないと報告した。その一方で、検出技術の向上を理由に1日の摂取許容量を4 μ g/kg体重に下げた⁴⁴⁾。日本の現状としては厚生労働省のホームページ上でQ&Aや内分泌攪乱物質情報が公開されている^{45, 46)}。また、2016年6月に環境省が「化学物質の内分泌かく乱作用に関する今後の対応-EXTEND2016」を取りまとめたところである⁴⁷⁾。このように、ビスフェノールAの影響に関しては今までずっと賛否両論がある⁴⁸⁾。そもそも、科学者の観点と現実世界のリスク評価の考え方には隔りがある可能性があり、アメリカではConsortium Linking Academic and Regulatory Insights on Toxicity of BPA (CLARITY-BPA) という大規模かつ包括的なプログラムが2010年から2015年に実施された。現在これらのデータの取りまとめが行われており、2018年までには公表される予定である⁴⁹⁾。

4. ビスフェノールAが結合する核内受容体の発見

前述のように、ビスフェノールAがエストロゲン様活性

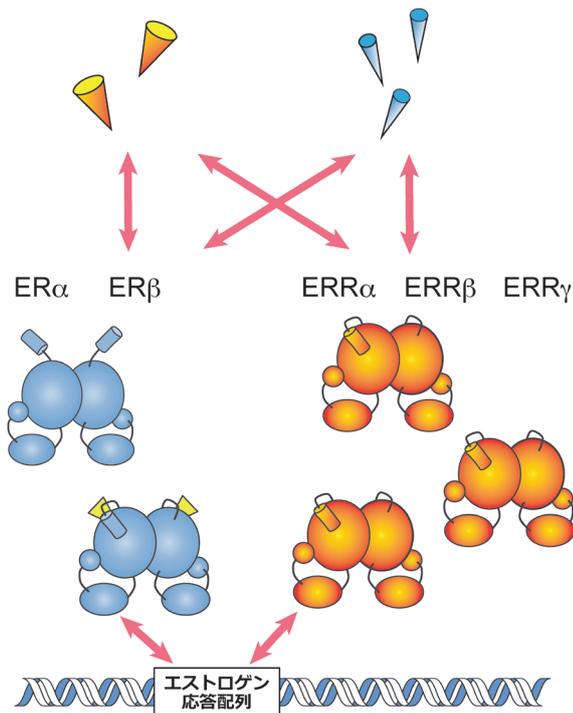


図1 エストロゲン受容体 (ER) とエストロゲン関連受容体 (ERR) の間で想定されるクロストーク

ERとERRには、ビスフェノールAや4-ヒドロキシタモキシフェンのような共通して結合するリガンドが存在する。さらに、ERとERRの両方がDNA上のエストロゲン応答配列に結合し、遺伝子の転写を活性化できる。そのため、リガンド-受容体間のクロストークと、受容体-エストロゲン応答配列のクロストークの両方が起きる可能性がある。

を示すことは古くから知られていた。そのため、ビスフェノールAの作用標的はエストロゲン受容体であると理解されてきた。エストロゲンやアンドロゲンなどのステロイドホルモンに応答する核内受容体は、NR3ファミリーに属しており、合計9種類存在する(表1)。これらのなかでも、エストロゲンの受容体であるER α およびER β 、この二つとよく似ているがエストロゲンが結合しないエストロゲン関連受容体 α 型 (ERR α)、 β 型 (ERR β)、 γ 型 (ERR γ) の5種は、多くの組織や細胞で共存することも多く、また、これらすべての受容体が、DNA上の標的であるエストロゲン応答配列に結合できることから、クロストークする可能性が指摘されている(図1)^{50, 51)}。ERR α 、ERR β 、ERR γ はすべてリガンド未知の核内受容体であり、リガンドなしの状態でも100%の活性を示す自発活性化型核内受容体である。通常実験に用いられるER α と比較すると、DBDはいずれも85%の類似性を持ち非常によく似ているのに対し、LBDではERR α 、ERR β 、ERR γ の順に66%、69%、74%の類似性であり、わずかながら差がある(図2)。そこで、まずはER α に一番よく似ているERR γ について、網羅的に各種リガンドのスクリーニングを行った。この試験系の構築にあたっては、当時、乳がんの治療薬として使われるタモキシフェンの活性型代謝物、すなわち4-ヒドロキシタモキシフェン(4-OHT)がERR γ に結合することが報告された

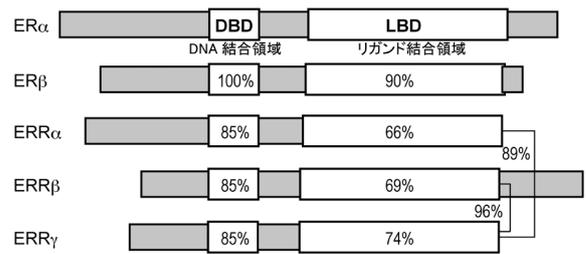


図2 エストロゲン受容体 (ER) とエストロゲン関連受容体 (ERR) のDNA結合領域 (DBD) とリガンド結合領域 (LBD) のアミノ酸配列相同性

白い四角の中の数字はそれぞれの領域のER α に対するアミノ酸配列相同性を表す。また、ERR α とERR γ 、ERR β とERR γ のLBDのアミノ酸配列相同性も図中に表した。

ばかりであった⁵²⁾。そこで、このトリチウム標識化合物をトレーサーとして用いた放射リガンド競合結合試験により化合物スクリーニングを実施した。その結果、ビスフェノールAが内在性ホルモンに匹敵するほどに非常に強く結合することを明らかにした⁵³⁾。さらに、この結合試験の結果を受けて、ERR γ のレポーター遺伝子アッセイによる転写活性化試験系を構築し、ビスフェノールAがERR γ の転写活性に与える影響を評価した。これだけ強く結合するのだから、当然、何らかの活性変化がみられると期待した。しかし、意外なことに、自発活性化型核内受容体であるERR γ が初めから示す転写活性に対して、ビスフェノールAの結合はそれをさらに活性化することも抑制することもなく、まったく変化がみられなかった。ここで、本当にビスフェノールAは、ERR γ の活性制御に関わるリガンド結合ドメインに結合しているのか?という疑問が生じた。そこで、さらに活性試験系を改良した。4-OHTはERR γ が初めから示す高い転写活性を抑制する阻害剤として知られていた。4-OHTを添加した後に、ビスフェノールAを加えれば、リガンド結合ドメインにおけるこれらの競合が起き、活性に変化がみられるはずである。結果として、4-OHTにより抑制された活性は、ビスフェノールAの添加により回復することを証明できた。ところで、研究の歴史の長いGタンパク質共役型受容体 (GPCR) 研究では、受容体に結合し、GPCRがもともと持つ構成的活性、すなわち基盤活性を変化させないリガンドはニュートラルアンタゴニストと呼ばれる(図3)⁵⁴⁾。では、ERR γ のように初めから活性構造をとり、100%の構成的活性を持っている場合、この基盤活性を変化させないリガンドは何と呼ぶのが適切であろうか? ニュートラルアンタゴニストに対応する言葉として、ニュートラルアゴニストといえるかもしれない。また、インバースアゴニストの阻害剤なので、インバースアンタゴニストといえるかもしれない。いずれにしても、核内受容体にはリガンド依存的に活性を発揮する、リガンド依存型核内受容体と、初めから高い構成活性を持つ自発活性化型核内受容体が存在することが特徴的であり、これらの活性化機構は区別して考える必要がある。

さらに、トリチウム標識されたビスフェノールAを用

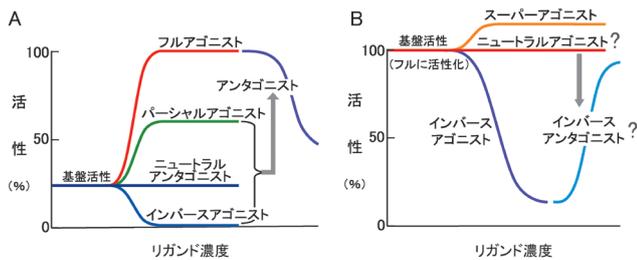


図3 受容体活性化におけるリガンドの分類図

(A)はGタンパク質共役型受容体の活性化におけるリガンドの分類、(B)はERR γ のような自発活性化型核内受容体の活性化におけるリガンドの分類を表す。「?」が付記されたものについては、現時点では適切な単語が存在しない。

いて、ERR γ との直接の結合試験を実施した。その飽和結合試験の結果、解離定数 K_d 値5.50nMという非常に強い結合を示す結果が得られた^{55, 56}。一方で、ビスフェノールAがERR α とERR β にはまったく結合しないことが判明した。さらに、さまざまな核内受容体に対する網羅的な結合試験の結果、ビスフェノールAは、生体に対する異物の代謝に関わりP450を誘導するCARのアイソフォームにも非常に強く結合することを明らかにした。これまでに、複数あるCARのアイソフォームのうち、ビスフェノールAはCAR1とCAR2の二つの転写活性を誘導することが報告されている⁵⁷。この他にも、BPAがRXRの転写活性化に働くことが報告されたが⁵⁸、筆者らも同様の知見を得ている。

5. ビスフェノールA/ERR γ 結合体の結晶構造

ERR α , ERR β , ERR γ のLBDの間の相同性は非常に高く、完全にアミノ酸が一致する相同性 (identity) で57%, 類似性 (homology) では85%である。しかし、ビスフェノールAはERR γ に非常に強く結合する一方で、ERR α とERR β にはまったく結合しない。さらに、ビスフェノールAはERR γ に結合しても、その活性をまったく変化させない。これらは何を意味しているのだろうか? リガンド結合部位の差異に関する疑問など、いろいろな可能性が考えられた。そして、これは筆者が2007年にビスフェノールAとERR γ の複合体のX線結晶構造解析に成功して初めて明確になった⁵⁹。得られた結晶構造では、図4のように、ビスフェノールAは活性型ERR γ のリガンド結合ドメインに、すっぽり包み込まれるように結合していた。すなわち、ERR γ が初めからとる、転写共役因子と相互作用するために必要な全体的な活性型構造を、まったく変化させないまま保持することが判明した。そのためにビスフェノールAはERR γ に非常に強く結合するにも関わらず、その活性をまったく変化させないことが示された。では、非常に相同性が高いにも関わらず、ERR α とERR β に結合しないのはなぜだろうか? ERR α に関しては、2004年に結晶構造が明らかになっており⁶⁰、その構造とビスフェノールA/ERR γ 複合体を比較することでその理由が理解で

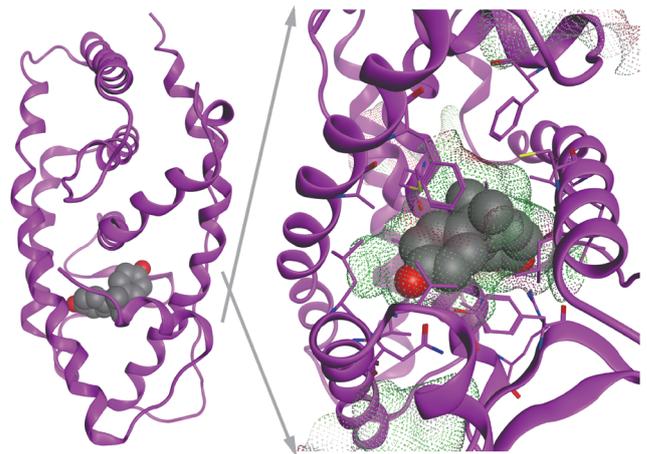


図4 ビスフェノールAとERR γ のリガンド結合領域 (LBD) の複合体の結晶構造

左図はERR γ のLBDの全体構造で、ビスフェノールAは空間充填 (CPK) モデルで表す。このなかのリガンド結合部位を拡大したものが右図であり、緑色のドットは受容体に存在する空間を表す。ビスフェノールAは、この空間にすっぽり包まれるように結合しているのがわかる。

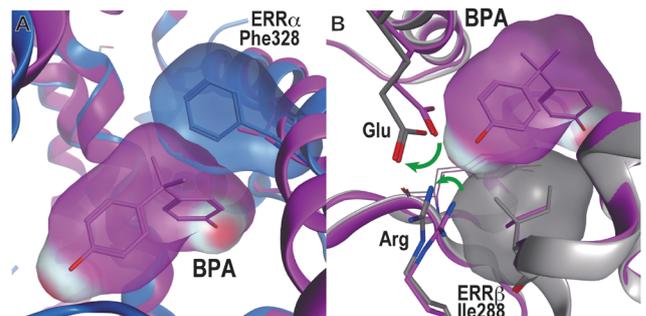


図5 ERR α 結晶構造とERR γ /BPA結晶構造およびERR β モデルとERR γ /BPA結晶構造の重ね合わせ

青色がERR α 結晶構造、マゼンタ色がERR γ /BPA結晶構造であり、灰色がホモロジーモデリングにより構築したERR β のモデル構造である。(A)はERR α 結晶構造とERR γ /BPA結晶構造の重ね合わせであり、ERR γ の372位AlaがERR α では328位Pheであるため空間が狭く、ERR α ではBPAが結合できない。(B)はERR β のホモロジーモデルとERR γ /BPA結晶構造の重ね合わせであり、ERR γ の313位ValがERR β では288位Ileになっており、ValがIleになると近傍に存在するGluとArgが押しやられてしまうようである。

きた。ビスフェノールAが結合する領域では、複数のアミノ酸残基がERR γ とERR α で異なっている。これらの二つの構造を重ね合わせると、特に、ERR γ の372位Alaと431位Alaに相当する部位が、ERR α では328位Pheと491位Valとなっており、これらによりLBDが狭くなっている。特にERR α ではPheがあるために、BPAが結合するとすると明らかにぶつかるため結合できない (図5)。一方で、ERR β については、現在に至るまでそのLBDの構造は報告されていない。ERR γ とERR β のLBDのアミノ酸配列は相同性が79%, 類似性が96%と、ERR γ とERR α (相同性64%, 類似性89%) の場合と比較してさらによく似ており、上述のアミノ酸もともに同じである (図2)。そこ

で、筆者はホモロジーモデリングでERR β の立体構造を構築した(未発表データ)。ビスフェノールAとの結合推定部位付近で異なるアミノ酸残基についてはERR γ の313位Valと346位Asnに相当する部位が、ERR β では288位Ileと312位Tyrになっているのみである。構造および電荷の観点から、346位AsnがTyrに変わっていることが、BPAが結合できない要因のように思われたが、ERR γ の点変異受容体を作製し、このERR γ の346位AsnをERR β と同じTyrに変異しても、さらに、Alaに変異しても結合は維持された。すなわち、346位AsnはビスフェノールA近傍に存在するにも関わらず、リガンド結合に対してほとんど貢献していなかった。一方で、ERR γ の313位Valは、ビスフェノールAとの結合部位の後方に位置しており、結合に直接関与していないにも関わらず、きわめて重要であることが明らかになった⁶¹⁾。そこで、ERR γ の313位ValをERR β に相当するIleに変異させると、ビスフェノールAの結合能は完全に失われた。これは、ERR β にビスフェノールAが結合できない理由を直接的に説明している。ホモロジーモデルを用いて考察すると、ValがIleに変わることにより、L-イソロイシンは(2*S*,3*S*)-イソロイシンであるから、立体的な制約が生じる。そのため、本来ならばビスフェノールAのOH基と水素結合を形成し、結合に重要な役割を果たすArgとGluが、押しやられてしまうようである(図5)(未発表データ)。一方で、AlaやLeuの変異では、結合はそのまま維持される。これはAlaは側鎖が小さく、またLeuは柔軟性があるためであると考えられる。筆者らは、このように、リガンド結合部位の構造構築に重要な役割を果たしているアミノ酸残基を結合構造構築の「支援残基(supporting residue)」と呼んでいる⁶²⁾。支援残基は、今回のValのように、Ala置換しても結合が維持され、リガンド結合には直接的に働いていないようにみえる場合もある。リガンド結合における支援残基の重要性を見逃さないようにすることが大切である。

6. ビスフェノール関連の新しい化合物「新世代ビスフェノール」

ポリカーボネート樹脂やエポキシ樹脂としてのビスフェノールAの商業的利用の歴史は長い。現在に至るまで、耐熱性や硬度などの向上の目的で、さまざまな誘導体が開発されている⁶³⁾。たとえば、ビスフェノールSはビスフェノールAより熱安定性が高く、分解されにくい。また、合成樹脂原料にとどまらず、難燃剤として利用される化合物にもビスフェノール骨格があるものがある。ところで、世界最大の物質化学分野の情報データベースであるSciFinderで単純にビスフェノール骨格を持つ化学物質を構造式から検索すると、20万種類を超える化合物がヒットする(2016年現在)。しかし、こうした化合物の中で、その毒性について調べられているのはごく一部にすぎない。たとえば、アメリカの国家毒性プログラム(NTP)に調査対

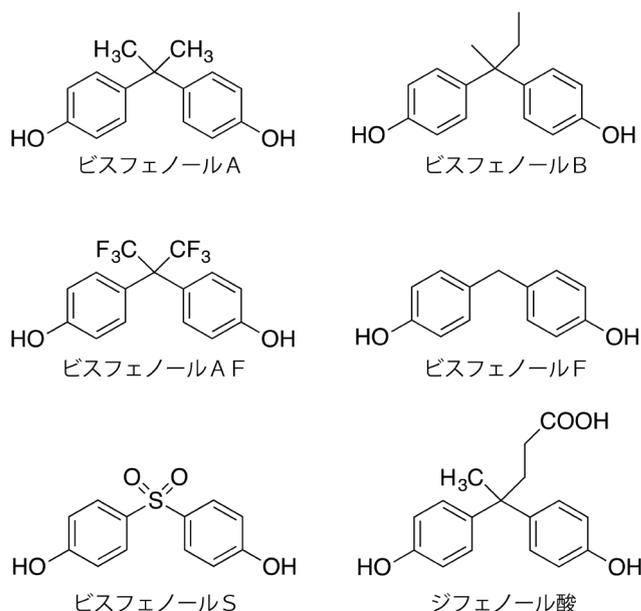


図6 新世代ビスフェノールの構造
高性能プラスチックの原料として、さまざまなビスフェノールAの誘導体が開発されている。

象化合物としてノミネートされ、包括的な詳細試験が行われているのは、ビスフェノールAの他にはビスフェノールAF, F, S, ジフェノール酸である(図6)⁶⁴⁾。これらほどには詳細に試験されていないものの、ビスフェノールBに関しては、トマト缶詰などでは内容物の酸から缶を守るための内面塗料からの溶出例があることから、その*in vitro*の活性測定をしている研究例がある⁶⁵⁾。ビスフェノールAの安全性が危惧されたことから、ビスフェノールAの代替品として、これらのビスフェノール誘導体も使われている。こうした代替ビスフェノール、すなわち新世代ビスフェノールの安全性に関する研究は緊要の課題である⁶⁶⁻⁶⁹⁾。

7. ハロゲン原子による相互作用

ビスフェノールAFはビスフェノールAのフェニル基をつなぐ炭素上にある二つのメチル基の水素原子をすべてフッ素原子に置き換えた化合物である。近年、このようにハロゲン原子を含むリガンドと、受容体タンパク質の間における、ハロゲン原子を介した結合が注目されている⁷⁰⁻⁷⁵⁾。これは「ハロゲン結合」と呼ばれる弱い非共有結合である。ルイス酸であるハロゲン原子とルイス塩基の間の相互作用であり、ハロゲンが求電子的に働くときに形成される。タンパク質などの生体分子中では、タンパク質の酸素原子とリガンドのハロゲン原子の間に形成される場合が多く、ちょうどハロゲン結合は水素結合に対応する形をとる(図7)。そもそもハロゲン原子を介した結合は、小分子では古くから知られていた。筆者は、ハロゲン原子の特有の性質を活かして、リガンド-受容体相互作用探索子として含フッ素フェニルアラニンペプチドリガンドに系統的に導入した研究プロジェクトに従事してきた経験が



図7 ハロゲン結合の概念図

生体内のハロゲン結合は、ちょうど水素結合に対応する形になる場合が多い。

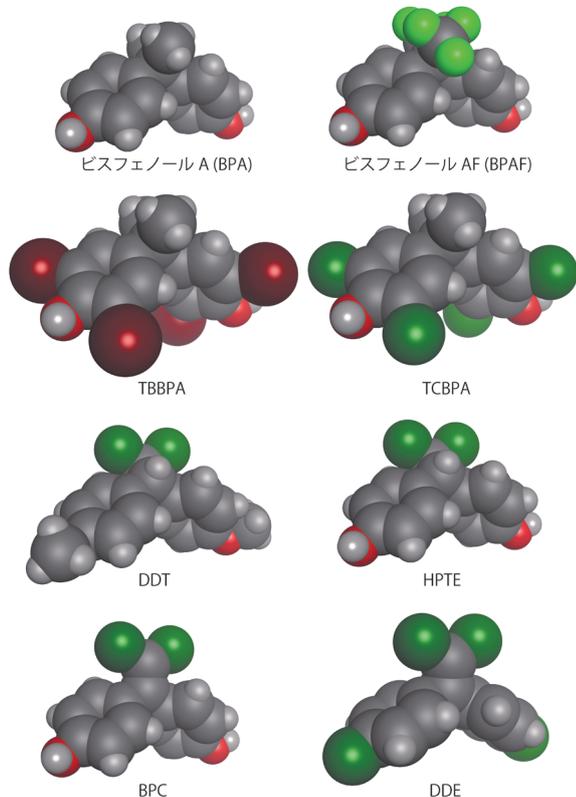


図8 ハロゲン原子を含む新世代ビスフェノールの立体構造 CPKモデルで構造を示す。黄緑色はフッ素原子(F)、緑色は塩素原子(Cl)、暗赤色は臭素原子(Br)である。

あるが⁷⁶⁻⁷⁸⁾、タンパク質のような巨大分子におけるハロゲン結合が注目されるようになったのは1990年代に入ってからのものである。これは、ひとえにタンパク質のX線結晶構造解析の構造データの蓄積の恩恵によるところが大きい。現在では120,000を超えるタンパク質のX線結晶構造解析データとNMRによる構造解析データなどがProtein Data Bank (PDB) に報告されている⁷⁹⁾。なお、小分子の結晶構造データベースであるケンプリッジ構造データベースには800,000を超える化合物が登録されている⁸⁰⁾。

新世代ビスフェノールの中で、ハロゲン原子を含むものはビスフェノールAFの他にも存在する(図8)。特に塩素原子を含む化合物が多く、プラスチック原料としては4-[2,2-dichloro-1-(4-hydroxyphenyl)vinyl] phenol (BPC)⁸¹⁾がある。またまた難燃剤では2,2-bis(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl) propane (tetrabromobisphenol A : TBBPA) や2,2-bis(3,5-dichloro-4-hydroxyphenyl) propane (tetrachlorobisphenol A ; TCBPA)⁸²⁾がある。さらに、かつて使われた殺虫剤メトキシクロル (methoxychlor) の代謝物である2-bis(*p*-hydroxy-

phenyl)-1,1,1-trichloroethane (HPTE) も塩素原子塩素原子を含むビスフェノール誘導体である⁸³⁾。また、農薬としてかつて日本でも広く使用された2,2-bis(*p*-chlorophenyl)-1,1,1-trichloroethane (DDT)⁸⁴⁾の代謝物である2,2-bis(*p*-chlorophenyl)-1,1-dichloroethylene (DDE) はヒドロキシ基(OH)がクロロ基(Cl)になっているため、ビスフェノール骨格とそのものではないものの、よく似た構造をしている⁸⁵⁾。フェノール骨格とハロゲンを含有するという観点でいえば、甲状腺ホルモンのトリヨードチロニン(T3)は、甲状腺ホルモン受容体の内在リガンドである^{86, 87)}。より強いリガンドを作るという創薬を目指す観点からも、ハロゲン原子を含む化合物と受容体との相互作用について、ますますの研究発展が期待されている。

8. ビスフェノールAFはER α のアゴニストでER β のアンタゴニスト

環境中に放出される有害化学物質は、ビスフェノールAのようにER α に対する結合親和性は非常に弱いと認識されていた。しかし、筆者にはフェノール骨格を二つも持つビスフェノール誘導体は、受容体結合に好まれる骨格(プリビレッジドストラクチャー)であるように思えてならなかった⁸⁸⁾。これは、実際に、ビスフェノールAがER α 、ER β などと同様にCARを活性化するという点でも共通したからである。だからこそ、それまで研究室の中で誰も手をつけなかったER α と約200種を超えるビスフェノール誘導体の結合試験を黙々と続けた。そして、最終的に、ビスフェノールAFがER α にビスフェノールAよりもずっと強く結合することを見いだした⁸⁹⁾。そして、これが、ER α よりもER β に強く結合することも発見した。さらに筆者らがヒト子宮頸がん由来のHeLa細胞を用いたレポーター遺伝子アッセイでこの転写活性を調べたところ、ビスフェノールAFはER α による転写を活性化するアゴニストであるが、ER β では活性化作用を示さないことが判明した。さらに、内在リガンドである女性ホルモン・エストラジオールの活性を抑制するアンタゴニストとして働くという意外な結果を得た(図9)。文献調査の結果、農薬メトキシクロルの代謝物であるHPTEもビスフェノールAFと同様のエストロゲン受容体応答を示すことに気がついた⁸³⁾。ビスフェノールAFも、HPTEも、ともにハロゲン原子を含む化合物である。この特異な受容体応答の原因の解明は、ER α とER β の活性発現の分子機構解明に深く関わっていると考えられる。立体構造の観点から述べると、これまでに、ビスフェノールAやビスフェノールAFとER α の複合体の結晶構造が報告されている⁹⁰⁾。ただし、これはER α の536位TyrをSerに変えた、結晶化しやすいことが報告されている変異体を用いた実験結果である。その点で注意が必要であるものの、ビスフェノールAFはビスフェノールAとほとんど同じ構造を持つにも関わらず、LBD中でビスフェノールAとは異なる配向の結合構造もとりうることが報告

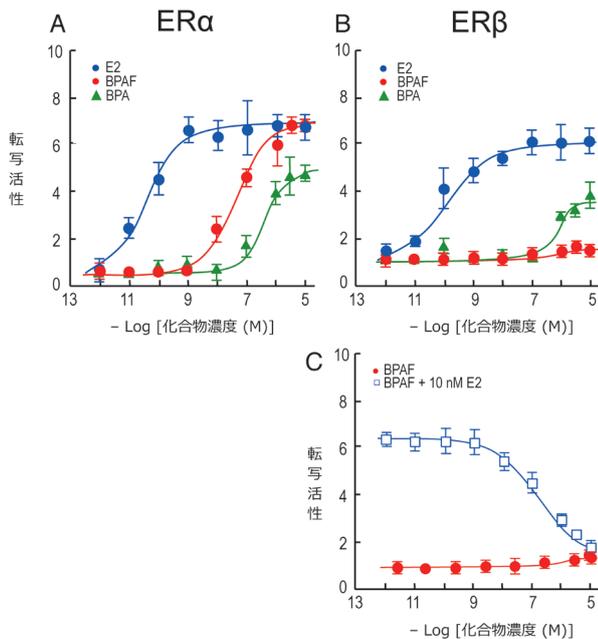


図9 ビスフェノール AF (BPAF) はER α のアゴニストであり、ER β アンタゴニストとして働く。青丸はエストロゲン受容体のアゴニストであるエストラジオール (E2)、赤丸はビスフェノール AF (BPAF)、緑三角はビスフェノール A (BPA) を加えたときの活性を示す。転写活性は化合物を加えないときの活性を1としたときの相対活性を示す。(A)と(B)はER α およびER β にそれらのリガンドを加えたときのアゴニスト活性測定の結果、(C)はER β のアゴニストであるE2を加えたときの活性をBPAFが抑制するアンタゴニストであることを示す。

されている⁹⁰⁾。筆者らも精度が低いながらも同様の配向でビスフェノール誘導体が結合した構造を得ており、ハロゲン原子が存在することによって、新たな相互作用が生じる可能性が高い。現在、こうしたハロゲンを含有するリガンドについて、これらが結合する核内受容体の活性発現の分子機構解明に鋭意に取り組んでいる。

9. ERRによるエストロゲン活性の増強作用

これまでに、ビスフェノールAがERR γ に非常に強く結合することを明らかにした。しかしERR γ の活性型構造は維持されたままであり、ERR γ が初めから示す100%の活性は保持されたままである。エストロゲンの受容体であるER α およびER β のDNA上の結合部位であるエストロゲン応答配列 (ERE) には、DNA結合部位の相同性が非常に高いために、エストロゲンが結合しないERR α 、ERR β 、ERR γ の3種も結合できる。ER α とERR α が相互作用するという報告例があったことから⁹¹⁾、これらの共発現によりビスフェノールAによる転写活性が変化するかを調べた。なお、ほとんど内在的にER α を発現していないアフリカミドリザル腎臓由来のCV-1細胞を用いた。ビスフェノールAのER α への結合親和性は、前述のとおりきわめて弱いものである。しかし、ER α とERR α を共発現することに

より、ER α 単独の場合に比較して、最大転写活性が約4倍に大きく増強されることが判明した^{92, 93)}。ERR α にはビスフェノールAはまったく結合しないため、これはビスフェノールAがER α に結合して示す活性を増強するというものである。ここで注意したいのは、一般的に、*in vitro*での結合親和性 (binding affinity)、すなわち発現タンパク質などと標識化合物を用いて直接的に測定できる一種の「シグナル」である結合親和性 (解離定数 K_d や放射リガンド競合結合試験の場合は50%阻害濃度 IC_{50} で評価できる) と、動物や細胞などの生き物を使って酵素活性や行動などの影響として測定される50%効果濃度 (effective concentration: EC_{50}) の間には、解離があることである。生体内では、化合物の代謝や活性発現機構、すなわち下流のシグナル伝達系におけるシグナル増強などにより、推定されるよりも強い活性を示すこともありうる。たとえば、筆者らの実験結果では、ER α に対するエストラジオールの IC_{50} は0.88nMであるが、 EC_{50} は0.075nMであり、10倍も低濃度で活性を誘起する。ビスフェノールAの場合は IC_{50} が1,030nM、 EC_{50} が317nMであるが、ERR α と共存することにより、同じ最大活性を示すのに必要な濃度は低くなると期待される。すなわち、これが低用量効果の本質である可能性もある。重要なことは、このER α とERR α を共発現することによる増強作用は、ビスフェノールAに限らず、エストラジオールを含むER α に結合するすべての化合物で観察されることである。さらに、ER α とERR γ の共発現でも観察されたことである。すなわち、自発活性化型核内受容体は、リガンド依存型核内受容体の活性を制御する可能性がある。

ところで、このER α やERR α が結合するEREは、アフリカツメガエルやニワトリのゲノム配列において、エストロゲンの添加で発現量が変わる卵黄タンパク質・ビトロジェニンの遺伝子上流に共通する配列として1984年に見いだされたバリンドローム塩基配列 (GGTCANNNTGACC) に由来している⁹⁴⁾。この発見はER α の遺伝子が発見される2年前のことであった。そして、この配列がヒトの培養細胞でも機能することが確認され⁹⁵⁾、後にレポーター遺伝子アッセイに汎用されることとなった。この配列は、もともと数十塩基対の領域内に二つ並んで存在するために見つかったことから、当初はこの二つ並ぶ意義について興味を持たれたようである。一つでは転写産物の産生量が少なく、二つあると著しく転写量が増えることが報告されている^{96, 97)}。その後、一つ、二つ、三つと数を増やすことで、転写応答が明敏になることが報告された⁹⁸⁾。現在のレポーター遺伝子アッセイに使われる配列の多くは、応答配列が三つ繰り返されたものが多い。また、数千キロ塩基対離れて存在するTGACCの繰り返しでも活性がみられること⁹⁹⁾、EREがとりうるDNA構造は非B型DNAであること¹⁰⁰⁾なども報告されている。当初は、基本配列へ変異を導入する効果などが多く研究されてきたが^{100, 101)}、現在では網羅的なChip-seq法でそのバリエーションと分布が

主に解析されるようになってきている。また、ER β の発見以後は、ER α とER β が同じ応答配列に結合して示す転写活性の差異も注目されている¹⁰²⁻¹⁰⁴。核内受容体がDNA上の応答配列に結合した後に、どのような巨大複合体構造を構築しているのかについては、いまだにはっきりしない部分が多い。今後の研究展開が期待されている。

10. おわりに

脳や心臓をはじめとする、広範な組織に発現するERR γ に対する、ビスフェノールAのきわめて強い結合は、(1)未知の内在リガンドの転写抑制活性を阻害する、(2)ERR γ 分解に影響する、(3)ビスフェノールA代謝を阻害する、などさまざまな影響を及ぼす可能性がある。ビスフェノールAが結合しても、ERR γ が初めから示す100%の活性を保持したまま影響を与えないという観点だけから、この影響を軽視することはできない。また、最近では、ビスフェノールAのような有害化学物質が示すエピジェネティックな効果についても注目されている¹⁰⁵。

1986年にER α のcDNAがクローニングされた。2016年でER α のcDNAクローニングからちょうど30年経過したことになる。そして、1996年にER β のcDNAが報告された。同様に20年が経過している。ERR α とERR β は、ER β の発見に先立つ1988年にすでにER α のDBDをプローブとしたハイブリダイゼーションによりライブラリーから発見されていた。最後のメンバーであるERR γ は1998年に報告された¹⁰⁶。こうしてながめてみると、女性ホルモン・エストロゲンの受容体としてのER α とER β のcDNAの発見は、それほど遠い昔の話ではないことがわかる。これからも、核内受容体に関する新しい研究の進展が、強く期待される。

謝辞

これらの研究は、11年前に筆者を九州大学大学院理学研究院化学部門の構造機能生化学研究室の助教として採用していただいて以来、下東康幸先生のもとで共に実施してきた成果です。下東先生の御指導と御支援なくして、これらの研究展開はありませんでした。心より感謝申し上げます。また、本研究を推進するにあたり、構造機能生化学研究室に所属されていた坂口和靖先生（現：北海道大学大学院理学研究院・教授）や野瀬健先生（現：九州大学基幹教育院・教授）はもちろんのこと、本当に数多くの共同研究者の先生方にお世話になり、また多くの学部生、大学院生に参画していただきました。この場をお借りして、あらためて心から厚く御礼を申し上げます。

本稿で紹介した研究成果は、筆者に対する若手研究(A)(25701008)若手研究(B)(20710053)をはじめ、一連のJSPS科研費の助成（課題番号：2221005, 23710080, 25740024, 15K00557, 15H01741）を受けたものです。さらに、九州大学教育研究プログラム・研究拠点形成プロ

ジェクト(P&P)、QRプログラム(Qdai-jump Research Program)、創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業、国際科学技術財団、加藤記念バイオサイエンス振興財団など多数の研究支援を賜り行われたものでもあります。また、実験を行わせていただいた大型放射光施設SPring-8や創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業の関係者の方々に大変お世話になりました。筆者は助教着任当時、科学研究費補助金がなかなか獲得できず、下東康幸先生、九州大学教育研究プログラムをはじめ、本学会に参与するたくさんの先生方に助けていただきました。深謝申し上げます。そして、それらの御恩を決して忘れず、生化学の発展につくします。引き続きの御支援を何卒宜しくお願い申し上げます。

文 献

- Helsen, C. & Claessens, F. (2014) *Mol. Cell. Endocrinol.*, **382**, 97-106.
- Gao, J. & Xie, W. (2012) *Trends Pharmacol. Sci.*, **33**, 552-558.
- Sekiya, T., Kashiwagi, I., Yoshida, R., Fukaya, T., Morita, R., Kimura, A., Ichinose, H., Metzger, D., Chambon, P., & Yoshimura, A. (2013) *Nat. Immunol.*, **14**, 230-237.
- Parent, A.S., Franssen, D., Fudvoye, J., Gérard, A., & Bourguignon, J.P. (2015) *Front. Neuroendocrinol.*, **38**, 12-36.
- vom Saal, F.S. & Hughes, C. (2005) *Environ. Health Perspect.*, **113**, 926-933.
- Huss, J.M., Garbacz, W.G., & Xie, W. (2015) *Biochim. Biophys. Acta*, **1852**, 1912-1927.
- King-Jones, K. & Thummel, C.S. (2005) *Nat. Rev. Genet.*, **6**, 311-323.
- Maglich, J. M., Sluder, A., Guan, X., Shi, Y., McKee, D. D., Carrick, K., Kamdar, K., Willson, T. M., & Moore, J. T. (2001) *Genome Biol.*, **2**, research0029.1-research0029.7.
- Antebi, A. (2015) *WormBook, The C. elegans Research Community ed.*, doi/10.1895/wormbook.1.64.2, 1-49.
- Baker, M.E. (2011) *Mol. Cell. Endocrinol.*, **334**, 14-20.
- Bertrand, S., Belgacem, M.R., & Escriva, H. (2011) *Mol. Cell. Endocrinol.*, **334**, 67-75.
- Lecroisier, C., Laudet, V., & Schubert, M. (2012) *Brief. Funct. Genomics*, **11**, 156-166.
- Schubert, M., Brunet, F., Paris, M., Bertrand, S., Benoit, G., & Laudet, V. (2008) *Dev. Genes Evol.*, **218**, 651-665.
- Antebi, A. (2006) *WormBook*, doi/10.1895/wormbook.1.64.1, 1-13.
- Enmark, E. & Gustafsson, J.A. (2001) *Trends Pharmacol. Sci.*, **22**, 611-615.
- Robinson-Rechavi, M., Maina, C.V., Gissendanner, C.R., Laudet, V., & Sluder, A. (2005) *J. Mol. Evol.*, **60**, 577-586.
- Robinson-Rechavi, M., Carpentier, A.S., Duffraisse, M., & Laudet, V. (2001) *Trends Genet.*, **17**, 554-556.
- Committee, N.R.N. (1999) *Cell*, **97**, 161-163.
- Otte, K., Kranz, H., Kober, I., Thompson, P., Hofer, M., Haubold, B., Rimmel, B., Voss, H., Kaiser, C., Albers, M., Chervallath, Z., Jackson, D., Casari, G., Koegl, M., Pääbo, S., Mous, J., Kremoser, C., & Deuschle, U. (2003) *Mol. Cell. Biol.*, **23**, 864-872.
- Zhang, Z., Burch, P.E., Cooney, A.J., Lanz, R.B., Pereira, F.A., Wu, J., Gibbs, R.A., Weinstock, G., & Wheeler, D.A. (2004) *Genome Res.*, **14**, 580-590.

- 21) Pfisterer, U., Kirkeby, A., Torper, O., Wood, J., Nelander, J., Dufour, A., Björklund, A., Lindvall, O., Jakobsson, J., & Parmar, M. (2011) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 10343–10348.
- 22) Caiazzo, M., Dell'Anno, M.T., Dvoretzkova, E., Lazarevic, D., Taverna, S., Leo, D., Sotnikova, T.D., Menegon, A., Roncaglia, P., Colciago, G., Russo, G., Carninci, P., Pezzoli, G., Gainetdinov, R.R., Gustincich, S., Dityatev, A., & Broccoli, V. (2011) *Nature*, **476**, 224–227.
- 23) Benod, C., Villagomez, R., & Webb, P. (2016) *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **157**, 41–47.
- 24) Latchman, D.S. (2005) *Gene Control*, 2nd Ed., Garland Science.
- 25) Calo, E. & Wysocka, J. (2013) *Mol. Cell*, **49**, 825–837.
- 26) Evans, R.M. & Mangelsdorf, D.J. (2014) *Cell*, **157**, 255–266.
- 27) Deblois, G. & Giguère, V. (2013) *Nat. Rev. Cancer*, **13**, 27–36.
- 28) Dodds, E.C. & Lawson, W. (1936) *Nature*, **137**, 996–996.
- 29) <https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/ohat/bisphenol/bisphenol.pdf>
- 30) Krishnan, A.V., Stathis, P., Permuth, S.F., Tokes, L., & Feldman, D. (1993) *Endocrinology*, **132**, 2279–2286.
- 31) Alonso-Magdalena, P., Ropero, A.B., Soriano, S., García-Arévalo, M., Ripoll, C., Fuentes, E., Quesada, I., & Nadal, Á. (2012) *Mol. Cell. Endocrinol.*, **355**, 201–207.
- 32) Fang, H., Tong, W., Perkins, R., Soto, A.M., Prechtel, N.V., & Sheehan, D.M. (2000) *Environ. Health Perspect.*, **108**, 723–729.
- 33) Anderson, O.S., Peterson, K.E., Sanchez, B.N., Zhang, Z., Mancuso, P., & Dolinoy, D.C. (2013) *FASEB J.*, **27**, 1787–1792.
- 34) Carmona-Alcocer, V., Fuentes-Granados, C., Carmona-Castro, A., Aguilar-González, I., Cárdenas-Vázquez, R., & Miranda-Anaya, M. (2012) *Physiol. Behav.*, **105**, 727–733.
- 35) Batista, T.M., Alonso-Magdalena, P., Vieira, E., Amaral, M.E.C., Cederroth, C.R., Nef, S., Quesada, I., Carneiro, E.M., & Nadal, A. (2012) *PLoS ONE*, **7**, e33814.
- 36) Rönn, M., Kullberg, J., Karlsson, H., Berglund, J., Malmberg, F., Orberg, J., Lind, L., Ahlström, H., & Lind, P.M. (2013) *Toxicology*, **303**, 125–132.
- 37) Ishido, M., Masuo, Y., Terasaki, M., & Morita, M. (2011) *Toxicol. Lett.*, **206**, 300–305.
- 38) Ishido, M., Masuo, Y., Kunitomo, M., Oka, S., & Morita, M. (2004) *J. Neurosci. Res.*, **76**, 423–433.
- 39) Wolstenholme, J.T., Edwards, M., Shetty, S.R.J., Gatewood, J.D., Taylor, J.A., Rissman, E.F., & Connelly, J.J. (2012) *Endocrinology*, 1–11. [153, 3828–3838?]
- 40) Xu, X.-B., He, Y., Song, C., Ke, X., Fan, S.-J., Peng, W.-J., Tan, R., Kawata, M., Matsuda, K.-I., Pan, B.-X., & Kato, N. (2014) *Hippocampus*, **24**, 1570–1580.
- 41) Matsushima, A., Ryan, K., Shimohigashi, Y., & Meinertzshagen, I.A. (2013) *Environ. Pollut.*, **173**, 257–263.
- 42) http://healthycanadians.gc.ca/healthy-living-vie-saine/infant-care-soins-bebe/bottles-biberons-eng.php?_ga=1.206751123.140193388.1471922442
- 43) <https://www.anses.fr/en/content/frances-proposal-restriction-bisphenol-use-thermal-paper-prepared-anses-submitted-public>
- 44) Panel, E.C. (2015) *EFSA J.*, **13**, 3978.
- 45) <http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/kigu/topics/080707-1.html>
- 46) <http://www.nihs.gov/edc/edc.html>
- 47) <http://www.env.go.jp/chemi/end/attach/extend2016.pdf#search='化学物質の内分泌かく乱作用に関する今後の対応'>
- 48) Bucher, J.R. (2009) *Environ. Health Perspect.*, **117**, A96–A97.
- 49) Heindel, J.J., Newbold, R.R., Bucher, J.R., Camacho, L., Delclos, K.B., Lewis, S.M., Vanlandingham, M., Churchwell, M.I., Twaddle, N.C., McLellen, M., Chidambaram, M., Bryant, M., Woodling, K., Costa, G.G., Ferguson, S.A., Flaws, J., Howard, P.C., Walker, N.J., Zoeller, R.T., Fostel, J., Favaro, C., & Schug, T.T. (2015) *Reprod. Toxicol.*, **58**, 33–44.
- 50) Giguère, V. (2002) *Trends Endocrinol. Metab.*, **13**, 220–225.
- 51) Takeda, Y., Liu, X., Sumiyoshi, M., Matsushima, A., Shimohigashi, M., & Shimohigashi, Y. (2009) *J. Biochem.*, **146**, 113–122.
- 52) Coward, P., Lee, D., Hull, M.V., & Lehmann, J.M. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 8880–8884.
- 53) Takayanagi, S., Tokunaga, T., Liu, X., Okada, H., Matsushima, A., & Shimohigashi, Y. (2006) *Toxicol. Lett.*, **167**, 95–105.
- 54) Tate, C.G. (2012) *Trends Biochem. Sci.*, **37**, 343–352.
- 55) Okada, H., Tokunaga, T., Liu, X., Takayanagi, S., Matsushima, A., & Shimohigashi, Y. (2008) *Environ. Health Perspect.*, **116**, 32–38.
- 56) Liu, X., Matsushima, A., Okada, H., Tokunaga, T., Isozaki, K., & Shimohigashi, Y. (2007) *FEBS J.*, **274**, 6340–6351.
- 57) DeKeyser, J.G., Laurenzana, E.M., Peterson, E.C., Chen, T., & Omiecinski, C.J. (2011) *Toxicol. Sci.*, **120**, 381–391.
- 58) Sui, Y., Ai, N., Park, S.-H., Rios-Pilier, J., Perkins, J.T., Welsh, W.J., & Zhou, C. (2012) *Environ. Health Perspect.*, **120**, 399–405.
- 59) Matsushima, A., Kakuta, Y., Teramoto, T., Koshiba, T., Liu, X., Okada, H., Tokunaga, T., Kawabata, S.-I., Kimura, M., & Shimohigashi, Y. (2007) *J. Biochem.*, **142**, 517–524.
- 60) Kallen, J., Schlaeppli, J.-M., Bitsch, F., Filipuzzi, I., Schilb, A., Riou, V., Graham, A., Strauss, A., Geiser, M., & Fournier, B. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 49330–49337.
- 61) Liu, X., Matsushima, A., Okada, H., & Shimohigashi, Y. (2010) *J. Biochem.*, **148**, 247–254.
- 62) Liu, X., Matsushima, A., Shimohigashi, M., & Shimohigashi, Y. (2014) *PLoS ONE*, **9**, e101252.
- 63) Levchik, S.V. & Weil, E.D. (2005) *Polym. Int.*, **54**, 981–998.
- 64) <http://ntp.niehs.nih.gov/testing/noms/index.html>
- 65) Rosenmai, A.K., Dybdahl, M., Pedersen, M., Alice van Vugt-Lussenburg, B.M., Wedeby, E.B., Taxvig, C., & Vinggaard, A.M. (2014) *Toxicol. Sci.*, **139**, 35–47.
- 66) Kinch, C.D., Ibhazehiebo, K., Jeong, J.-H., Habibi, H.R., & Kurrasch, D.M. (2015) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, 1475–1480.
- 67) Usman, A. & Ahmad, M. (2016) *Chemosphere*, **158**, 131–142.
- 68) Terasaki, M., Shiraishi, F., Nishikawa, T., Edmonds, J.S., Morita, M., & Makino, M. (2005) *Environ. Sci. Technol.*, **39**, 3703–3707.
- 69) Kitamura, S., Suzuki, T., Sanoh, S., Kohta, R., Jinno, N., Sugihara, K., Yoshihara, S.i., Fujimoto, N., Watanabe, H., & Ohta, S. (2005) *Toxicol. Sci.*, **84**, 249–259.
- 70) Bauzá, A., Mooibroek, T.J., & Frontera, A. (2015) *ChemPhysChem*, **16**, 2496–2517.
- 71) Desiraju, G.R., Ho, P.S., Kloo, L., Legon, A.C., Marquardt, R., Metrangolo, P., Politzer, P., Resnati, G., & Rissanen, K. (2013) *Pure Appl. Chem.*, **85**, 1711–1713.
- 72) Kolář, M.H. & Hobza, P. (2016) *Chem. Rev.*, **116**, 5155–5187.
- 73) Persch, E., Dumele, O., & Diederich, F. (2015) *Angew. Chem. Int. Ed.*, **54**, 3290–3327.
- 74) 都築誠二, 内丸忠文 (2014) *J. Comp. Chem. Jpn.*, **13**, 328–329.
- 75) Lu, Y., Shi, T., Wang, Y., Yang, H., Yan, X., Luo, X., Jiang, H., & Zhu, W. (2009) *J. Med. Chem.*, **52**, 2854–2862.
- 76) Fujita, T., Nose, T., Matsushima, A., Okada, K., Asai, D.,

- Yamauchi, Y., Shirasu, N., Honda, T., Shigehiro, D., & Shimohigashi, Y. (2000) *Tetrahedron Lett.*, **41**, 923–927.
- 77) Matsushima, A., Fujita, T., Nose, T., & Shimohigashi, Y. (2000) *J. Biochem.*, **128**, 225–232.
- 78) Matsushima, A., Fujita, T., Okada, K., Shirasu, N., Nose, T., & Shimohigashi, Y. (2000) *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **73**, 2531–2538.
- 79) <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>
- 80) <http://www.ccdc.cam.ac.uk>
- 81) Delfosse, V., Grimaldi, M., Cavaillès, V., Balaguer, P., & Bourguet, W. (2014) *Environ. Health Perspect.*, **122**, 1306–1313.
- 82) Kitamura, S., Jinno, N., Ohta, S., Kuroki, H., & Fujimoto, N. (2002) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **293**, 554–559.
- 83) Hewitt, S.C. & Korach, K.S. (2011) *Environ. Health Perspect.*, **119**, 63–70.
- 84) Turusov, V., Rakitsky, V., & Tomatis, L. (2002) *Environ. Health Perspect.*, **110**, 125–128.
- 85) van der Oost, R., Beyers, J., & Vermeulen, N. (2003) *Environ. Toxicol.*, **13**, 57–149.
- 86) Manna, D. & Mughes, G. (2012) *J. Am. Chem. Soc.*, **134**, 4269–4279.
- 87) Mullur, R., Liu, Y.-Y., & Brent, G.A. (2014) *Physiol. Rev.*, **94**, 355–382.
- 88) Costantino, L. & Barlocco, D. (2006) *Curr. Med. Chem.*, **13**, 65–85.
- 89) Matsushima, A., Liu, X., Okada, H., Shimohigashi, M., & Shimohigashi, Y. (2010) *Environ. Health Perspect.*, **118**, 1267–1272.
- 90) Delfosse, V., Grimaldi, M., Pons, J.-L., Boulahtouf, A., Le Maire, A., Cavaillès, V., Labesse, G., Bourguet, W., & Balaguer, P. (2012) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 14930–14935.
- 91) Horard, B. & Vanacker, J.M. (2003) *J. Mol. Endocrinol.*, **31**, 349–357.
- 92) 劉 曉輝, 松島綾美, 下東康幸 (2015) *BIO Clinica*, **30**, 90.
- 93) 下東康幸, 劉 曉輝, 松島綾美 (2013) *Endocrine Disrupter NEWS LETTER*, **15**, 5.
- 94) Walker, P., Germond, J.E., Brownluedi, M., Givel, F., & Wahli, W. (1984) *Nucleic Acids Res.*, **12**, 8611–8626.
- 95) Klein-Hitpaß, L., Schorpp, M., Wagner, U., & Ryffel, G.U. (1986) *Cell*, **46**, 1053–1061.
- 96) Kleinhitpass, L., Kaling, M., & Ryffel, G.U. (1988) *J. Mol. Biol.*, **201**, 537–544.
- 97) Martines, E. & Wahli, W. (1989) *EMBO J.*, **8**, 3781–3791.
- 98) Catherino, W.H. & Jordan, V.C. (1995) *Cancer Lett.*, **92**, 39–47.
- 99) Kato, S., Tora, L., Yamauchi, J., Masushige, S., Bellard, M., & Chambon, P. (1992) *Cell*, **68**, 731–742.
- 100) Lannig, A., Koszewski, N.J., & Notides, A.C. (1993) *Mol. Cell. Endocrinol.*, **94**, 47–54.
- 101) Klinge, C.M., Franklin, V., Peale, J., Hilf, R., Bambara, R.A., & Zain, S. (1992) *Cancer Res.*, **52**, 1073–1081.
- 102) Hall, J.M. & McDonnell, D.P. (1999) *Endocrinology*, **140**, 5566–5578.
- 103) Hall, J.M. & Korach, K.S. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 44455–44461.
- 104) Geserick, C., Meyer, H.-A., & Haendler, B. (2005) *Mol. Cell. Endocrinol.*, **236**, 1–7.
- 105) Ke, Z.-H., Pan, J.-X., Jin, L.-Y., Xu, H.-Y., Yu, T.-T., Ullah, K., Rahman, T.U., Ren, J., Cheng, Y., Dong, X.-Y., Sheng, J.-Z., & Huang, H.-F. (2016) *Sci. Rep.*, **6**, 31331.
- 106) Eudy, J.D., Yao, S.F., Weston, M.D., Ma-Edmonds, M., Tal-madge, C.B., Cheng, J.J., Kimberling, W.J., & Sumegi, J. (1998) *Genomics*, **50**, 382–384.

著者寸描

●松島 綾美 (まつしま あやみ)



九州大学大学院理学研究院准教授。博士(理学)。

■略歴 1976年福岡県に生る。99年九州大学理学部化学科卒業。2001年日本学術振興会特別研究員DC1。04年同大学院理学府分子科学専攻博士後期課程終了。日本学術振興会特別研究員PD。05年同大学理学研究院化学部門助教。09年日本学術振興会特定国派遣研究者(カナダ)。

12年より現職。

■研究テーマと抱負 受容体とリガンドの構造活性相関解析研究。受容体として、核内受容体とオピオイド受容体を標的に、受容体構造(変異体)、リガンド構造(誘導体)、結晶構造の三つ巴で解析する。愚直に研究し、好奇心旺盛なので積極的に新規プロジェクトにも取り組んでいきたい。

■ウェブサイト <http://lsfb.scc.kyushu-u.ac.jp>

■趣味 茶道。速読。デパ地下巡り。