

アザラシにおける **arylhydrocarbon** レセプターの機能特性と ダイオキシン感受性のバイオマーカーとしての可能性

金 恩英^{1,2)}、Mark E. Hahn²⁾、岩田久人¹⁾、田辺信介¹⁾、宮崎信之³⁾

¹⁾愛媛大学沿岸環境科学センター、²⁾Woods Hole Oceanographic Institution、³⁾東京大学海洋研究所

海洋生態系の高次に位置する海棲哺乳類は、食物連鎖によりダイオキシン類など平面構造を持つ多環芳香族ハロゲン炭化水素(PHAHs)を生体内に高集中度で蓄積している。ダイオキシン類や PHAHs による暴露は、近年頻発している海棲哺乳類の大量死や生殖異常の一原因と考えられている。しかしながら、海棲哺乳類に対するダイオキシン類の毒性影響や感受性に関する情報は少なく、そのリスク評価についても、依然として不確定要因が多い。そこで本研究では、ダイオキシン類による毒性リスクの評価を目的とし、まず、ゼニガタアザラシ(*Phoca vitulina*)およびバイカルアザラシ(*P. sibirica*)についてダイオキシン類に対する潜在的な感受性の解明を試みた。ダイオキシンの感受性は、その毒性発現において重要な役割を果たす、arylhydrocarbon receptor (AhR)の cDNA アミノ酸配列や 2,3,7,8-TCDD との結合親和性を解析することによって調べた。検討の結果、ゼニガタアザラシの AhR cDNA は 843 個のアミノ酸からなるオープンリーディングフレームをもち、そのアミノ酸配列はヒト・マウスの AhR cDNA と比べ、それぞれ 79%・66%の相同性を示すことが明かとなった。また、バイカルアザラシの AhR cDNA についても 843 個のアミノ酸配列が確認され、ゼニガタアザラシ AhR と 98%の相同性が認められた。ここで得られたゼニガタアザラシ AhR と 2,3,7,8-TCDD との結合親和性について評価するため、その cDNA クローンを *in vitro* 系で発現させ、AhR と 2,3,7,8-TCDD の平衡定数を測定した。その結果、ゼニガタアザラシ AhR はダイオキシン高感受性系統として知られる C57BL/6 マウスと同程度のダイオキシン親和性を示すことがわかった。こうした結果から、アザラシはダイオキシン類の毒性に対して高感受性であることが示唆された。

Molecular characterization of an Ah receptor and its possible role as a biomarker of dioxin susceptibility in seals

Eun-Young Kim^{1,2)}, Mark E. Hahn²⁾, Hisato Iwata¹⁾, Shinsuke Tanabe¹⁾, Nobuyuki Miyazaki³⁾

¹⁾Center for Marine Environmental Studies, Ehime University, ²⁾Biology Department, Woods Hole Oceanographic Institution,

³⁾Ocean Research Institute, The University of Tokyo

2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) and related planar halogenated aromatic hydrocarbons (PHARs) affect especially aquatic mammals due to their top predator in the food chain. However, the magnitude of the risk that these chemicals pose to the health of aquatic mammals is uncertain, because the lack of direct information concerning the sensitivity and toxicity to dioxin or other PHAHs. To investigate the potential TCDD sensitivity in seals that are known to accumulate high levels of planar halogenated aromatic hydrocarbons, we cloned the cDNA encoding the harbor and Baikal seal aryl hydrocarbon receptors (AHR) and characterized the protein expressed by *in vitro* transcription and translation of harbor seal AHR cDNA (Kim & Hahn, 2001). The harbor seal AHR cDNA had an open reading frame of 2.5 kb that encodes a protein of 843 amino acids with a predicted molecular mass of 94.6 kDa. Comparison of AHR amino acid sequences indicated a high degree of sequence conservation (98%) between Baikal and harbor seals. The harbor and Baikal seal AHRs are also closely related to human AHR (79%) in overall amino acid identity, indicating a high degree of conservation of AHR structure between terrestrial and some marine mammals. Velocity sedimentation analysis showed that the harbor seal AHR exhibits specific and high-affinity binding of [³H]TCDD. Saturation binding analysis showed that the harbor seal AHR bound [³H]TCDD with an affinity that was at least as high as that of an AHR from a dioxin sensitive mouse strain (C57BL/6 mice), suggesting higher sensitivity to PHAH effects in harbor seal. This study illustrates a molecular approach for assessing the risk of environmental contaminants to protected marine species.