

TCDD 投与による妊娠ラット血中キニノーゲン分子種の変化

青木康展、川上隆茂、大迫誠一郎、石村隆太、遠山千春

国立環境研究所・環境健康研究領域; 科技団・戦略基礎研究「内分泌かく乱領域」

ハイリスクグループに対する 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) 曝露のバイオマーカーを見出すために、TCDD 投与により妊娠ラットの血中に出現する新規タンパク質の同定を行った。妊娠 8 日目の SD ラットに 1.0 μ g/kg bw、さらに続けて 9 及び 10 日目にそれぞれ 0.5 μ g/kg bw の TCDD を経口投与した後、12 日目に採血した。血清タンパク質を Pharmacia 社製 MultiPhore 電気泳動装置により 2 次元電気泳動 (2D) にかき、TCDD 投与による 2D パターンの変化を調べた。投与ラットと対照ラットで 2D パターンを比較すると、分子量 (約 60,000) が同一で等電点の異なる 7-8 個のタンパク質から構成されるイソタンパク質群が、TCDD 投与ラットでは塩基性側にシフトしていた。

ウエスタンブロッティング法によりタンパク質をゲルから PVDF 膜に転写した後、各イソタンパク質のアミノ酸配列を決定した。N 端からの配列は投与ラット、対照ラットともに EExAQELN であった。アミノ酸配列のデータベースと照合したところ、血圧調節ペプチド・キニンの前駆体であるキニノーゲンと一致し、TCDD 投与によりキニノーゲン・イソタンパク質群の等電点が塩基性に变化することが明らかになった。

血液中など採取が容易な生物試料中の生化学的変化であってこそ、初めてバイオマーカーとしての利用が可能になる。本研究で見出されたキニノーゲンの分子種の変化、及びこれに付随した変化が TCDD 曝露の良い指標であるか、今後検討を進める必要がある。

Alteration in kininogen iso-forms in the blood of TCDD-exposed pregnant rats

Yasunobu Aoki, Takashige Kawakami, Seiichiroh Ohsako, Ryuta Ishimura and Chiharu Tohyama

Environmental Health Sciences Division, National Institute for Environmental Studies and CREST, JST

In order to find out a novel biomarker for a high-risk group of people who are exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD), we identified a protein that newly appeared in blood of pregnant rats after administration of TCDD. TCDD was administered orally to pregnant SD rats at a dose of 2 μ g/kg bw on gestation day (GD) 8, followed by 1.0 μ g/kg bw each on GD9 and GD10, and blood was collected on GD12. Serum proteins were separated by two-dimensional (2D) gel electrophoresis using MultiPhore electrophoresis apparatus (Pharmacia). When 2D gel patterns of serum proteins from TCDD-administered rats and control rats were compared, a group of 7-8 isoproteins having the same relative molecular mass (about 60,000) but different pIs was found to shift to a basic side.

These isoproteins on the gel were electrically transferred to a PVDF membrane and their amino acid sequences of isoproteins were determined. The N-terminal sequence of protein obtained from TCDD-administered rats was EExAQELN, and was the same as that from the control rats. This sequence was identical with N-terminal of kininogen, a precursor of kinin (blood pressure-regulating protein), suggesting that pIs of kininogen isoforms altered to more basic after TCDD administration.

Biochemical alterations in easily-accessible biological samples such as serum can be practically applicable as biomarkers. Possible usefulness of alteration in kininogen isoforms and their related changes as a biomarker for exposure of TCDD should remain to be evaluated.