

TCDD 曝露によるホルツマンラット胎盤の低酸素状態マーカータンパクの誘導

石村 隆太、川上 隆茂、大迫 誠一郎、青木 康展、遠山 千春

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

【目的】様々な動物種において妊娠中に 2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ-*p*-ジオキシン(TCDD)に曝露すると胎仔が死亡することが知られている。我々は先に妊娠ラットに胎仔死亡を示す用量の TCDD を曝露すると胎盤のグルコース動態が異常になることを見出した[Ishimura *et al.*, (2002) Toxicol. Appl. Pharmacol. 178, 161-171.]. このグルコース動態の変化は低酸素状態になっていると考えられている他の疾患動物の胎盤においても観察されることから、TCDD 曝露胎盤も低酸素状態になっている可能性が考えられた。本研究では、1) TCDD を曝露した胎盤において発現量が変化するタンパク質を二次元電気泳動(2D/E)で明らかにし、2) 子宮動脈結紮モデルにおいて発現量が変化するタンパク質との比較を行った。【方法】ホルツマン系ラットの妊娠 15 日目(GD15)に、TCDD を 800ng/kg または 1600ng/kg の投与量で単回経口投与した。対照群には溶媒(コーンオイル)を投与した。GD16 と GD20 に胎盤を回収した。また GD15 に子宮動脈結紮モデルを作出し、GD20 に胎盤を回収した。胎盤の 15,000xg 上清画分を 2D/E で分離し、発現量が変化しているタンパク質を検出した。目的のタンパク質をゲルから回収し、アミノ酸配列分析を用いて同定した。【結果・考察】TCDD に曝露された胎盤では、GD16 から熱ショックタンパク質 27 とトロポミオシンベータ鎖の発現が上昇傾向を示し、GD20 にはグリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ(GAPDH)の発現量が有意に上昇することが明らかとなった。また、低酸素状態である子宮動脈結紮モデルの胎盤においては、TCDD 曝露群と??同様に、GAPDH の発現量のみが有意に上昇していた。GAPDH は既に血管内皮において低酸素状態で発現誘導されることが知られており、TCDD 曝露胎盤では妊娠末期に低酸素状態になっていること、加えて、胎盤の低酸素状態のマーカーとして有用であることが示唆された。本研究により TCDD 曝露胎盤では低酸素状態がおき、胎仔の死亡率の上昇がおきている可能性が考えられた。

INCREASED AMOUNTS OF HYPOXIA-INDUCIBLE PROTEINS IN TCDD-EXPOSED PLACENTA.

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

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

Fetal death is often observed in various animal species exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) during pregnancy. In the present study, in order to clarify the underlying mechanisms for this toxicity, we analyzed the placental proteins, by two-dimensional electrophoresis (2D/E), not only from the rats administered TCDD at a oral dose of 800 or 1600 ng/kg b.w; p.o. on gestational day 15, but also from the non-TCDD exposed uterine-artery ligated rats that mimic the hypoxia in both placenta and fetuses. The 15,000 x g supernatant fraction obtained from the placental homogenates was prepared and applied to the 2D/E, and spot proteins were identified by amino acid sequence analysis. The amounts of heat shock protein 27 (Hsp27), β -tropomyosin (β -TM), and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) proteins were found to increase by TCDD-exposure. In addition, the analysis of uterine-artery ligated placental tissues strongly suggests that GAPDH protein was a useful marker protein to monitor the placental hypoxia. These results suggested that the TCDD-exposed placenta was in a hypoxic state at the end of pregnancy. Finally, the increased risk for fetal death which occurred after TCDD-exposure is thought to be caused at least partly by hypoxia state in the placenta.