

環境リスクアセスメントに資するバイオマーカー候補の探索 ベンゼン代謝物に曝露された HL60 細胞の蛋白質発現、修飾変化の測定

マスド アブディ カリフ

キーワード：環境リスク評価、バイオマーカー、ベンゼン、DLIAA、SILAC、ICAT、LCP1

現在、環境リスク評価および環境規制などの策定において、バイオマーカーはあまり利用されていない。しかし、バイオマーカーは短時間で生物学的レベルでの毒性影響を評価できる上に、費用対効果も高い。世界中では毎年ごとに約 1,000 の新しい有機化合物が製造され、商業的に使用されている。地球環境保護において、毎年 約 60,000 から 100,000 の化学物質についてその曝露のリスクを評価する必要がある。従来の試験方法は試験時間が長く費用が高いため、決定的な方法には至っていない。さらに、動物試験については動物権利団体による批判に直面することが多いのが現状である。よって、*in vitro* 試験による短期間の試験方法が必要であると考えられる。本研究では、ベンゼンの毒性について適用可能なバイオマーカーを探索することを目的とする。

ベンゼンは原油に存在する成分であり、主に石油の蒸留過程で生成される。ベンゼンは高い可燃性を有しており、無色透明、揮発性液体の芳香族の化合物である。国際がん研究機関 (International Agency for Research on Cancer, IARC) の分類では、人体に発がん性を有するとされるグループ 1 に分類される。ベンゼンは高い溶媒特性を有するため、産業では広く用いられている。ベンゼンが吸入曝露されると、親水性を高めて体内から排出するために肝臓での生体内変化の作用を受ける。しかし、この代謝過程によりベンゼンの毒性は発現するとされている。

Double Labeling using Isotope Amino Acids and Affinity (DLIAA 法)は Stable Isotope Labeling by Amino acids in Cell Culture (SILAC)と Isotope-coded Affinity Tag Assay (ICAT)を組み合わせた質量分析方法で、タンパク質解析に用いられる。本研究ではこの DLIAA 法を用いて、ベンゼンの代謝物の中でも最も毒性が高いものの一つである 1,4-benzoquinone を HL60 細胞に曝露し、システインに対する酸化ストレスを測定した。

Lymphocyte cytosolic Protein 1 (LCP1)は 70-kDa のアクチン調節タンパクである。この LCP1 のシステインが優位に酸化状態に変化したことが分かった(Fig.1)。LCP1 は通常は HL60 のような造血由来細胞で発現するが、造血由来細胞ではない悪性細胞でも測定されている。5 番目のセリンがリン酸化され過剰発現した LCP1 は F アクチン束化活性を高め、細胞同士の癒着、多細胞への侵入を促進させる。1,4-benzoquinone 曝露による LCP1 のチオール基の酸化は、顕著に測定することが可能であり、また LCP1 は血中の細胞にも発現することから、ベンゼン曝露のモニタリングに有効であると考えられる。これからの課題としては、LCP1 のチオール基の酸化が、benzoquinone と似た毒性を持つ物質や一般的な発がん性物質のバイオマーカーとして有効かどうか、その感度や特異性の検証が求められる。

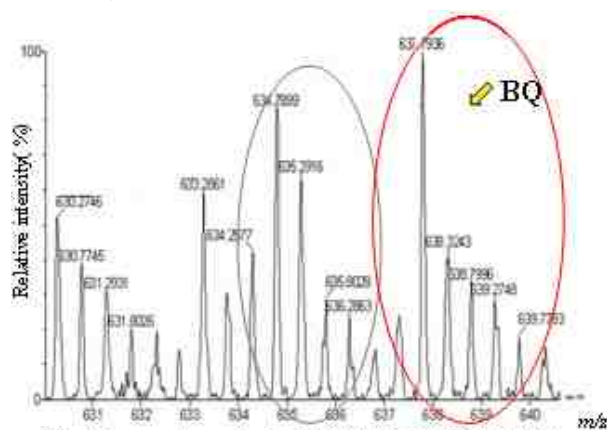


Fig. 1 Mass spectrum, showing upregulation of LCP1 cysteine oxidation in 1,4-benzoquinone treated cells.