

106 環境中親電子物質複合曝露による健康リスク	安孫子 ユミ
--------------------------	--------

【目的】 親電子物質は、タンパク質への共有結合を介して被修飾タンパク質の機能変化を引き起こし、それに伴う様々な生体応答を引き起こし得る物質である。我々は、日常生活から大気や食品中から様々な環境中親電子物質に複合的に曝露されている。しかしながら、親電子物質の複合的な曝露を考慮した研究は皆無であり、その評価方法も環境中親電子物質の複合的な曝露による細胞応答および曝露程度を推定可能な被修飾タンパク質の検出系を構築することを目的とした。

【方法】 細胞はHepG2細胞、マウス由来初代肝細胞もしくはA431細胞を用いた。各親電子物質曝露による細胞毒性はMTT法にて検討した。親電子シグナルとして、Keap1/Nrf2経路、PTP1B/EGFRシグナルおよびPTEN/Aktシグナルに着目し、Nrf2、EGFRおよびAktの活性化はウエスタンブロット法で行った。チオール基に対する親電子修飾の評価はビオチンマレイミド試薬を用いたELISA (BPM-ELISA) で、アミノ基への親電子修飾はBPM-ELISAを応用し、本研究で構築したビオチンOSu試薬を用いたELISA (BAS-ELISA) で検出した。

【結果】 HepG2細胞にキノン類である1, 2-ナフトキノン (1,2-NQ)、1,4-NQもしくは1, 4-ベンゾキノン (1,4-BQ)、および2-アルケナール類であるクロトンアルデヒド (CrA) もしくは2-ヘキセナールをそれぞれ曝露して得られたLD₅₀値 (それぞれ56.3、41.3、533.4、389.4、もしくは463.6 μM) を基に複合曝露サンプルを調整して曝露したところ、本サンプルのLC₅₀値は120 μMであり、各LC₅₀の1/10濃度に値する濃度だった。初代肝細胞においても1,4-NQ、1,4-BQ、CrAもしくはアクリルアミドの複合曝露では、各LC₅₀の1/5濃度に値する濃度であったにもかかわらず、その生存率は44%であった。これらの結果から、単独曝露では毒性が見られない濃度であっても、複合曝露では毒性が見られたことから、複合曝露によってリスクは高くなると示唆された。環境中親電子物質の曝露を評価する上で適している親電子シグナルを選定するために、EGFRが高発現している細胞であるA431細胞を1,2-NQ、1,4-NQ、1,4-BQもしくはCrAに曝露して検討した。その結果、使用した濃度域においていずれの親電子物質においても、より低濃度でNrf2が活性化したことから、Nrf2の活性化が細胞への親電子物質曝露評価に適していることが示唆された。また、本研究で改良したBPM-ELISAはキノン類だけではなく、種々の親電子物質に応用可能であることが示された。BAS-ELISAと組み合わせることで、様々なサンプル中からタンパク質のアミノ基およびチオール基を修飾するような化学物質の存在を明らかにすること、およびタンパク質への修飾の程度を評価することが可能であると示唆された。

環境中親電子物質複合曝露影響評価を目的とした本研究の概略図

