

## 第30回麻布環境科学研究会 一般演題10

## Three-Step プロテオーム解析による 新規飲酒マーカーの探索と検証

曾川 一幸<sup>1</sup>, 飯田 史枝<sup>1</sup>, 佐藤 守<sup>1</sup>, 糸賀 栄<sup>2</sup>,  
川島 祐介<sup>3</sup>, 小寺 義男<sup>1,3</sup>, 丸山 勝也<sup>4</sup>, 野村 文夫<sup>1,2,5</sup>

<sup>1</sup>千葉大学医学部附属病院疾患プロテオミクス研究センター, <sup>2</sup>千葉大学医学部附属病院検査部,  
<sup>3</sup>北里大学理学部生体分子動力学講座, <sup>4</sup>独立行政法人国立病院機構久里浜アルコール症センター,  
<sup>5</sup>千葉大学大学院医学研究院分子病態解析学

### 【目的】

我々は、断酒目的で入院したアルコール依存症患者血清検体を用い、新たな飲酒マーカーの探索を行った結果、ProteinChip® systemではfibrinogen  $\alpha$ C chainの分解産物(5.9kDa), Apo A IIの分解産物(7.8kDa), Apo A I (28kDa)を見出し(Proteomics. 2004, 4:1187-95), ClinProte™ systemではFibrinopeptide Aの分解産物(1.4kDa, 1.6kDa)を見出した(Proteomics Clin Appl. 2009, 3:821-828)。5.9kDaは $\gamma$ -GTP non-responderの検出にも有用であることを示した(Alcohol Clin Exp Res. 2007, 31:22S-26S)。今回はProteinChip® system, ClinProte™ systemでは検出しにくい10kDa以上のタンパク質に注目し、deep proteomeの検出を目的とするThree-Step法により新たな飲酒マーカーの探索を行った。

### 【方法】

断酒目的で入院したアルコール性肝硬変患者計16名の入院時、断酒後8週間の血清検体を用いた。プロテオーム解析は患者血清から抗体カラムを用い主要12タンパク質を除去した後、HPLCによって分画

したフラクションをSDS-PAGEを行い銀染色により、タンパク質発現の違いを2群間で比較した。有意差が認められたタンパク質はSDS-PAGE後CBB染色を行い、バンドを切り出し、トリプシン消化後、LC-MS/MSにより同定した。同定後、ウエスタンブロット法によりタンパク質発現量の変化を検証した。

### 【結果】

27バンドで統計学的に有意差があり、飲酒により24バンドで発現量の増加、3バンドで発現量の減少が認められた。タンパク質同定後、ウエスタンブロット法によりタンパク質発現量の変化を確認したところ、Glutathione peroxidase 3, Heparin cofactor II, Pigment epithelium-derived factorでは、有意差( $p < 0.05$ )を認めた。その変化は $\gamma$ -GTPのいわゆるnon-responderにおいても認められた。

### 【結語】

断酒目的で入院したアルコール依存症患者血清のプロテオーム解析の結果、新規飲酒マーカーの複数の候補を見出し、現在その他の候補タンパクの同定を進めている。