

## 1,2-ナフトキノンの水晶体構成タンパク質 クリスタリンに対する影響について

三浦 高, 角 大悟, 熊谷 嘉人

筑波大院・環境科学

### 1. はじめに

大気汚染ガスに含まれる揮発性多環芳香族炭化水素類の主成分としてナフタレンが知られている。ナフタレンは大気中での光酸化や生体内の異物代謝酵素群の働きによって、1,2-ナフトキノン (1,2-NQ) へ代謝される。この1,2-NQは強い親電子性を持つ物質であるため、生体内に取り込まれるとタンパク質の持つ求核基と共有結合を形成し、本来そのタンパク質が持つ機能へ影響を与えることが予想される。

ところで、脊椎動物の眼には水晶体 (レンズ) が存在する。水晶体は生体内で唯一の透明器官であり、その構成タンパク質のほとんどがクリスタリンと呼ばれるタンパク質である。クリスタリンには3つの分子種 ( $\alpha$ ,  $\beta$  及び  $\gamma$ ) が存在し、 $\alpha$ -クリスタリンは熱ショックタンパク質に属し、分子シャペロン様活性を有している。一方、 $\beta$  及び  $\gamma$ -クリスタリンは水晶体構造を形成するタンパク質である。これらの構造タンパク質は $\alpha$ -クリスタリンの分子シャペロン様活性や水晶体内に豊富に存在するグルタチオン、アスコルビン酸やNADPHなどの還元性物質の働きによって、常に修飾から守られ、そのことが水晶体の透明性の維持に大きく関与している。

これまでナフタレン白内障の毒性本態はナフタレン代謝産物1,2-NQであるとされているものの、その詳細なメカニズムは明らかにされていない。

本研究では水晶体の混濁が1,2-NQと各種クリスタリンとの共有結合に起因するのではないかと予想し、以下の検討を行った。

### 2. 方法

1,2-NQとクリスタリンの反応: 1,2-NQ (0.05-2.5  $\mu$ M) とクリスタリン ( $\alpha$ ,  $\beta$  又は  $\gamma$ ) 25  $^{\circ}$ C, pH7.4の条件下で1時間反応させた。1,2-NQとクリスタリンの結合: SDS-PAGEした後、1,2-NQを特異的に認識する抗体を用いたウェスタンブロット分析で調べた。 $\alpha$ -クリスタリン活性測定: 1,2-NQ (100  $\mu$ M) と $\alpha$ -クリスタリン (600  $\mu$ g) を25  $^{\circ}$ C, 1時間反応させた後、リン酸カリウム緩衝液中で4  $^{\circ}$ C, 1晩透析した。 $\beta$ -クリスタリンを基質とし、 $\alpha$ -クリスタリン又は、1,2-NQ- $\alpha$ -クリスタリン結合体存在下、55  $^{\circ}$ C,  $\lambda = 360$  nmで $\beta$ -クリスタリンの凝集を測定した。SH基測定: 各種クリスタリン及び1,2-NQ (100  $\mu$ M) と反応後、透析した各種クリスタリンについてEllman法を用いて測定した。

### 3. 結果及び考察

各種クリスタリンの重量当たりのSH基量は $\beta > \gamma > \alpha$ の順であった。また、1,2-NQと反応時のSH基消費量は $\beta > \gamma > \alpha$ の順であった。一方、抗1,2-NQ抗体を用いて1,2-NQ結合タンパク質を検出したところ、1,2-NQの結合量 $\alpha > \beta$ であり、 $\gamma$ -クリスタリンでは1,2-NQとの結合がほとんど検出されなかった。これらの結果より1,2-NQはクリスタリンが保持するシステインだけでなく、ヒスチジンやリジンなどの求核基とも共有結合していることが示唆された。 $\alpha$ -クリスタリンの分子シャペロン活性は、1,2-NQが共有結合したことにより有意に低下した。以上のことは、1,2-NQとクリスタリンとの共有結合が水晶体の透明性維持に影響を与える可能性を示唆している。