

## フグ目魚類におけるトリブチルスズ結合タンパク質 の異物結合性と進化に関する研究

三木, 志津帆

<https://hdl.handle.net/2324/1398418>

---

出版情報：九州大学, 2013, 博士（農学）, 課程博士  
バージョン：  
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏 名 : 三木 志津帆

論文題目 : フグ目魚類におけるトリブチルスズ結合タンパク質の異物結合性と進化に関する研究

## 論 文 内 容 の 要 旨

船底等の防汚剤として大量に使用されたトリブチルスズ (tributyltin, TBT) は、水生生物に対して極めて強い内分泌攪乱作用と高い蓄積性を示し、現在も海洋環境を汚染している。TBT は魚類の血液に高濃度で蓄積するが、この機構として、魚類血液中に存在する TBT 結合タンパク質 (TBT-binding proteins, TBT-bps) の寄与が報告された。一方フグ目魚類では、フグ毒結合タンパク質 (pufferfish saxitoxin- and tetrodotoxin- binding proteins, PSTBPs) の存在が知られており、PSTBPs は TBT-bp2 が 2 回繰り返した塩基配列を持つことから、PSTBPs も TBT 蓄積へ寄与することが予想された。本博士論文ではこれらの点に着目し、広範囲の魚種について TBT の血液中濃度を調べた。また、TBT の血液蓄積に対する TBT-bp1 および PSTBP1 の寄与を、トラフグ (*Takifugu rubripes*) への TBT 投与試験で検討した。さらに、トラフグ属魚類を中心に TBT-bps および PSTBPs 遺伝子群の探索を行い、その分子系統を解析した。

はじめに、フグ目魚類を含む魚類 13 種、63 個体から血液、肝臓、筋肉を採取し、TBT の濃度を調べた。その結果、フグ目魚類 6 種の血液中に TBT が最も高濃度で蓄積していた。また他の魚種でも 7 魚種中 5 魚種で血液中の TBT 濃度が最も高かった。また、TBT の血液中濃度の周年変動をコモフグ (*T. poecilonotus*) で調べたが、明確な季節性はなく、TBT およびフグ毒 (tetrodotoxin, TTX) の血液中濃度との間に関連は認められなかった。

魚類血液中における TBT 蓄積への PSTBPs の寄与を調べるため、トラフグに TBT を 1 mg /kg 魚体重の用量で腹腔内投与した。また TBT と TTX との血液蓄積における競合等相互作用が予想されたため、TTX も 1 mg /kg 魚体重の用量で単独もしくは TBT とともに複合投与した。投与の結果、血清中の TBT 濃度はコントロール区に比べて有意に上昇しその蓄積性を確認した。さらに、硫酸塩析およびゲルろ過カラムクロマトグラフィを用いてトラフグ血清から Trub.TBT-bp1 および Trub.PSTBP1 を分離し、そのタンパク質あたりの TBT 濃度を比較した。その結果、Trub.PSTBP1 において Trub.TBT-bp1 と同等もしくは高い濃度の TBT が検出されたことから、Trub.PSTBP1 も TBT の蓄積に寄与していることが示唆された。一方、Trub.TBT-bp1 および Trub.PSTBP1 から TTX は検出されず、TBT との相互作用も認められなかった。トラフグは投与前に既に海水または餌料由来と考えられる TBT に汚染されていたため、TBT の血液蓄積における両タンパク質の寄与度を明確にすることはできなかった。TBT に汚染されていない供試魚の入手は困難であり、より詳細に結合特性を解析するためには TBT や TTX を含まない組み換え体タンパク質が必要であると考察した。

次にトラフグの PSTBP1 の組み換え体 (rPSTBP1) を調整し、TBT および TTX との結合性を調べた。その結果、rPSTBP1 は TBT と結合し、PSTBP1 が TBT の蓄積に寄与していることが示唆された。一方、rPSTBP1 は TTX と結合せず、投与試験の結果と一致した。rPSTBP1 が TBT との結合性を示したことから、異物と結合して、その運搬や毒性の緩和等の機能をもつことが推定された。

さらにフグ目魚類を中心に、11 魚種における TBT-bps および PSTBPs 発現遺伝子の探索を行った。その結果、PSTBP1 および PSTBP2 はトラフグ属魚類にのみ発現が確認されたことから、魚類にお

ける祖先型 TBT-bp は、スズキ目魚類で TBT-bp1 と TBT-bp2 に分岐した後、トラフグ属魚類で TBT-bp2 が 2 回繰り返した塩基配列を持つ PSTBP1 および PSTBP2 に進化したと考えられた。

本研究の結果から、魚類血液中には TBT が高濃度で蓄積するが、トラフグ属魚類では TBT-bps だけでなく PSTBP1 も TBT の血液蓄積に寄与していることが明らかとなった。また、魚類における祖先型 TBT-bp は、異物結合機能を維持しながらトラフグ属魚類で PSTBP1 に進化したと考えられた。