

## 平成 19 年度 博士前期課程学位論文要旨

## 輸送体発現を指標とした消化管における鉄吸収調節の解析

学位の種類： 修士（健康科学）

人間健康科学研究科 人間健康科学専攻 ヘルスプロモーションサイエンス系

学修番号 06899601

氏名： 有田 安那

(指導教員名： 篠田 粧子 )

注：1,000 字程度（欧文の場合 300 ワード程度）で、本様式 1 枚（A4 版）に収めること

**背景・目的：**生体の鉄欠乏に応答して鉄吸収は促進し、小腸では鉄吸収に関与する輸送体の発現が亢進する。一方で、消化管管腔内の鉄濃度という外的な栄養状態に対する消化管の応答については明確でない。特に、鉄欠乏による鉄吸収促進時の、過剰な鉄投与に対する吸収調節機構は解明されていない。非ヘム鉄の吸収は、基本的には小腸粘膜上皮細胞に存在する Divalent Metal Transporter 1 (DMT1) による粘膜細胞への鉄の取り込みと、基底膜上に存在する Ferroportin (FPN) による血管への輸送によって調節される。そこで、鉄吸収機構の中で最も変化が激しい管腔内鉄濃度と DMT1 の関係を研究のターゲットとし、大量の鉄投与による DMT1 遺伝子への影響を検討した。また、DMT1 mRNA の異性体には、3'-UTR に Iron Responsive Element (IRE) が存在することから、鉄ホメオスタシス調節機構として IRE/IRP 系が働く可能性が考えられる。そこで過剰な鉄投与に対する DMT1 mRNA の IRE 領域の発現についても検討した。

**方法：**4 週齢の Wistar 系雄ラットを標準飼料 (AIN-93G) 及び鉄無添加飼料で飼育し、コントロール群、鉄欠乏群とした。小腸は摘出後、上部、中部、下部に 3 等分し、上部はさらに 3 等分して、計 5 つの部位に分けた。採取した粘膜上皮細胞から total RNA を抽出し、DNase 処理をした後、RT-PCR 法により、小腸各部位の DMT1 mRNA 発現を検討した。次に、鉄欠乏ラットへの過剰鉄投与の影響を調べるため、麻酔下で十二指腸を結紮して鉄溶液（鉄として 10mg 含有）を投与し、30 分、1 時間、2 時間後に粘膜を採取した。DMT1 mRNA エクソン領域については realtime PCR による定量的な検討を加えた。また、DMT1-IRE mRNA は RT-PCR 後、アガロースゲルの画像解析を行い (ImageJ 1.38)、 $\beta$ -actin の発現量により標準化することで解析した。粘膜細胞内フェリチン (Ft) についても realtime PCR による検討を加えた。

**結果・考察：**小腸における DMT1 mRNA は、十二指腸および空腸上部において発現し、鉄欠乏に応答して発現量が亢進することを確認した ( $t < 0.01$ )。これは DMT1 遺伝子発現が内的な鉄の欠乏状態を反映した結果と考えられる。また、鉄欠乏ラットでは、結紮腸管への鉄投与後 2 時間で DMT1 mRNA 発現量が減少し ( $p < 0.05$ )、過剰な鉄が遺伝子レベルで影響を及ぼすことが明らかとなった。DMT1 mRNA 発現量の低下に伴い、小腸粘膜細胞における DMT1 タンパク質合成量が低下することで、微絨毛先端の鉄吸収能が低下すると考えられる。また、十二指腸 DMT1-IRE mRNA 発現量は鉄欠乏で亢進し ( $t < 0.05$ )、鉄欠乏ラットの結紮腸管に対する鉄投与により DMT1-IRE mRNA 発現量は減少傾向を示した。Frazer らは、十二指腸 DMT1-IRE 発現は、鉄の経口投与後 3 時間で元のレベルの 30% まで減少することを報告しており (Frazer DM. et al., Gut. 2003)、IRE 領域もエクソン領域と同様に分解される可能性が考えられる。鉄投与による小腸 DMT1 mRNA 発現量の低下と、DMT1 タンパク質合成を伴う粘膜上皮細胞の絨毛先端への移動期間を合わせると、“mucosal block” で鉄吸収抑制が数日間継続することを説明出来る。一方、粘膜細胞内 Ft mRNA 発現は DMT1 とは逆に、鉄欠乏で減少し ( $t < 0.05$ )、鉄欠乏ラット結紮腸管への鉄投与後 2 時間で亢進した ( $p < 0.05$ )。従って、過剰に取り込まれた鉄は粘膜細胞内で合成された Ft タンパク質によって貯蔵されることで、血中への鉄輸送が抑制される可能性が示唆された。当研究室吉澤によると、鉄欠乏ラットに過剰な鉄を投与しても門脈血の血清鉄濃度はコントロールと有意差が無く、このことから過剰の害を回避するため、即時的な吸収調節機構が働いていることが推測された。従って、この即時的な吸収抑制と、DMT1 mRNA の減少によると考えられる継続的な鉄吸収抑制というメカニズムの協働が、“mucosal block” の本質であると考えられる。このことは、生体の栄養状態、すなわち内的栄養状態のシグナルを介さずに、摂取栄養素が後の消化管における吸収調節に寄与する可能性を示唆するものである。