

## 平成 21 年度 博士前期課程学位論文要旨

貧血ラットの過剰な鉄投与に対する

DMT1 および Ferritin タンパク質発現の制御機構

学位の種類： 修士（健康科学）

人間健康科学研究科博士前期課程人間健康科学専攻 ヘルスプロモーションサイエンス系  
学修番号 08899606

氏名：多田井 幸揮

(指導教員名：篠田 粧子)

【背景・目的】生体が鉄欠乏状態では消化管の鉄吸収率は高くなる。この時、十二指腸の非ヘム鉄輸送体である DMT1（管腔側）および FPN1（基底膜側）タンパク質発現は亢進し、血液中 TIBC（Total Iron Binding Capacity）は上昇、粘膜細胞内で鉄を貯蔵する Ferritin（Ft）タンパク質発現は低下する。貧血ラットに極めて過剰な鉄（薬剤レベル）を投与すると、十二指腸の鉄関連タンパク質の mRNA およびタンパク質の発現が数時間で変動することが報告されているが、食品やサプリメントレベルのマイルドな過剰鉄の影響については明らかになっていない。

そこで本研究では、小腸管腔から粘膜細胞への鉄の取り込みが管腔内の鉄濃度によって調節されるメカニズムを明らかにするため、粘膜上の鉄輸送体 DMT1 と細胞内鉄貯蔵体 Ft の発現コントロールについて解析した。生体内の鉄代謝関連タンパク質の遺伝子は mRNA の翻訳制御や安定性に関わる Iron Responsive Element（IRE）を持ち、Iron Responsive Protein（IRP）との相互作用によりタンパク質発現の調節を行っていると考えられるが、十二指腸でこの制御系が働いているか否かは不明である。DMT1、Ft がこの系により制御されると仮定し、十二指腸における IRE/IRP 系の関与を検討した。

【方法】4 週齢の Wister 系雄ラットを鉄無添加飼料で 3 週間飼育し、貧血ラットを作成した。ラットに鉄溶液（鉄として 10mg 含有）を胃内投与し、3～12 時間後に十二指腸を摘出、上皮粘膜を採取した。また濃度の異なる鉄溶液（鉄として 200～3500  $\mu$ g）を投与し、6 時間後に上皮粘膜を採取した。DMT1、DMT1 with IRE、Ft 遺伝子発現を Realtime PCR により、タンパク質発現は Western blotting（DMT1、IRP1）、ELISA（Ft）により解析した。Ft mRNA IRE と IRP の結合量は bandshift assay により解析した。

【結果・考察】：過剰鉄（10mg）の投与は DMT1 mRNA 発現を低下させ、続いてタンパク質発現を低下させた。過剰鉄投与後の DMT1 mRNA with IRE の発現パターンが DMT1 mRNA（with /without IRE）の発現パターンと一致したため、mRNA の 3'側に存在する IRE から IRP が遊離したことにより急速に mRNA が分解した可能性がある。Ft では mRNA 発現は変動しないもののタンパク質発現が経時的に亢進した。これは mRNA の 5'側に存在する IRE から IRP が遊離することによりタンパク質の翻訳が促進されたと推察している。DMT1 mRNA 発現は、200  $\mu$ g 投与群では変動しないが、500～3500  $\mu$ g 投与群において鉄無投与群に対し低下した。したがって小腸管腔内の鉄濃度が 200～500  $\mu$ g 間に DMT1 mRNA 発現に影響を与える鉄量の転換点が存在すると推察している。本研究で得た結果は一般に“過剰”とは考えられていないレベルの鉄量が消化管に“過剰”と認識されている可能性を示すものである。