

## 平成22年度 博士前期課程学位論文要旨

### 学位論文題名

腸管上皮細胞における鉄吸収関連タンパク質 mRNA の鉄欠乏への応答  
～貧血時の鉄吸収モデル系確立を目指して～

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学域

学修番号： 09899602

氏名： 加藤 貴子

（指導教員名：篠田 粧子 教授）

背景：小腸細胞における鉄吸収の研究は近年、鉄の吸収に関連するタンパク質が次々に発見され、飛躍的に進んでいる。当研究室の先行研究において、貧血ラットへ異なる濃度の鉄を投与した時、ある一定濃度以上になると、鉄の取り込みが即時的に抑制されるという現象を確認している。この現象は貧血ラットに特有であり、正常群では認められない。そこで、この現象のメカニズムを解明するために、栄養素の吸収実験で幅広く用いられている Caco-2 細胞を用いて、貧血時の鉄吸収モデル系の確立を目指した。本研究では、ラット小腸で貧血に反応して変動することが確認されている鉄吸収関連タンパク質である、Divalent metal transporter1 (DMT1), Ferritin (Ft), Ferroportin (FPN) をターゲットとし、Caco-2 細胞におけるその mRNA 発現と鉄欠乏への応答について検討した。

方法：Caco-2 細胞単層膜の上層培地中の鉄栄養状態を変化させ、細胞増殖への影響と鉄吸収関連タンパク質 mRNA 発現について検討した。次に、Transwell insert を用いて Caco-2 細胞単層膜の上層と下層の鉄栄養状態を変化させ、各々の鉄栄養状態が鉄吸収関連タンパク質 mRNA 発現に及ぼす影響を調べた。コントロール培地は Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) 培地に 10% FBS を添加した。鉄欠乏の MEM (-Fe) 培地は、Minimum Essential Medium に鉄除去した 10% FBS を添加または無添加とし、その他の条件が DMEM 培地と同様になるよう調製した。

結果・考察：MEM (-Fe) 培地における培養では DMEM 培地と比較して、培養 7 日目までは有意に細胞数が低い。7 日目以降は細胞数に差が認められず、培養日数に応じて細胞が増殖することを確認した。鉄吸収関連タンパク質の mRNA は、上層の鉄欠乏に反応しなかった。そこで、上層と下層の両方に DMEM 培地を添加、上層または下層のいずれかに MEM (-Fe) 培地を添加した 2 群、上層と下層の両方に MEM (-Fe) 培地添加の 4 条件で培養した Caco-2 細胞の鉄吸収関連タンパク質 mRNA について検討を行ったところ、培養 1 日目で DMT1 mRNA 発現は MEM 培地を下層に添加した 2 群では高い傾向がみられた。したがって Caco-2 細胞単層膜の鉄吸収関連タンパク質 mRNA 発現は、基底膜側から伝えられる情報により調節されていると考えられる。また、細胞間結合の指標である経上皮電気抵抗値は鉄欠乏に反応して有意に高くなった。これらの結果から Caco-2 細胞を鉄含有培地で 15 日間培養した後、数日間鉄不含培地で培養することにより、細胞間結合が良好な鉄欠乏細胞単層膜が作製できることを明らかにした。また、この単層膜の上層および下層の鉄栄養状態を変化させることで、管腔側および基底膜側からの情報が単層膜に与える影響の検討が可能となった。