

平成 28 年度  
医療生命薬学助成研究概要

## カドミウム長期曝露による鉄輸送関連因子の発現 および肝臓中鉄濃度の変動

研究代表者：徳本 真紀（医療生命薬学研究ユニット）

【背景】わが国で発生した公害病の一つであるイタイイタイ病は、環境有害重金属カドミウム (Cd) の長期摂取による腎近位尿細管障害を原因とした、骨成分の再吸収阻害による骨軟化症を伴う疾病である。Cd の慢性毒性標的組織は腎臓であるが、その毒性発現メカニズムはいまだ明らかにされていない。今日の日本の衛生状態において、イタイイタイ病発生時のような高濃度の Cd に長期間曝露される危険性はほとんどないが、火山大国である日本の環境水中および土壌中には比較的多くの Cd が含まれている。Cd は穀類や貝類に蓄積しやすく、コメを主食とし、海産物を多く摂取する日本人は微量の Cd に長期的に曝露されるリスクが高い。イタイイタイ病患者には貧血の症状も頻発するが、これは腎臓で産生される造血ホルモンであるエリスロポエチンの減少による腎性貧血であると言われてきた。一方、Cd は鉄欠乏性貧血を引き起こすことも知られている。

必須微量元素である鉄は、体内において二価鉄 ( $\text{Fe}^{2+}$ ) の錯体であるヘム鉄と、三価鉄 ( $\text{Fe}^{3+}$ ) の錯体である非ヘム鉄として存在する。ヘム鉄はヘモグロビンに存在して酸素を運搬し、シトクロム P450 やカタラーゼなどの酵素に含有されて酸化・還元反応などに関与する。非ヘム鉄はトランスフェリンと結合して血流で運搬され、肝臓や骨髄に貯蔵される際にはフェリチンと結合している。動物性食品にはヘム鉄が、植物性食品には非ヘム鉄が多く含まれ、それぞれ図 1 に示す経路を介して十二指腸刷子縁膜より吸収され、基底膜より血流へ放出される。肝臓で産出される Hhepcidin は、鉄の排出トランスポーターである Ferroportin 1 (Fpn1) と結合することでその分解を促進し、小腸上皮細胞から血中への鉄の放出を負に制御することが報告されている。Cd は二価の重金属であり、 $\text{Fe}^{2+}$  の流入トランスポーターである Divalent metal transporter 1 (DMT1) を利用して体内に

取り込まれることが知られている。

【目的】当研究室では Cd を単回投与したマウスにおいて、十二指腸中の複数の鉄輸送関連遺伝子の発現レベルが減少し、血清鉄濃度が低下することを見いだしている。本研究では、Cd を長期曝露したマウスにおける十二指腸中の鉄輸送関連遺伝子の発現レベルを測定し、血清および肝臓中鉄濃度との関連を検討した。

【方法】5 週齢の雌性 C57BL/6J マウスに 300 ppm の Cd を含有した餌を自由摂取させ、12, 15, 19 および 21 ヶ月後に解剖を行って血清、肝臓並びに十二指腸を採取した。十二指腸は胃の直下 2 cm とした。血清中 GOT および GPT 活性、血清中尿素窒素 (BUN) 並びにクレアチニン (Cre) 値は臨床化学自動分析装置スポットケムを用いた比色定量法によって測定した。各種遺伝子発現レベルはリアルタイム RT-PCR 法により測定した。組織中の Cd および鉄の定量は原子吸光光度法を用いた。不飽和鉄結合能 (UIBC) はバソフェナントロリン法を用いた呈色反応により求めた。総鉄結合能 (TIBC) は血清中鉄濃度と UIBC から算出した。

【結果および考察】Cd 曝露により GOT および GPT 活性が有意に高値を示した。また、BUN 値は Cd 曝露期間依存的に上昇し、Cre 値は Cd 21 ヶ月曝露によって有意に増加したため、本実験条件において肝毒性並びに腎毒性が出現していることが示唆された。肝臓中 Cd 濃度は Cd 12 ヶ月曝露後において約 300  $\mu\text{g/g}$  liver であり、その後も投与期間に依存して増加した。

十二指腸において、ヘム鉄のトランスポーターである Heme carrier protein 1 (HCP1) の mRNA レベルは Cd の曝露期間を通じて有意に低

下した。一方、DMT1 および Fpn1 に Cd 曝露による遺伝子発現レベルの顕著な変動は認められなかった。また、十二指腸基底膜上で  $\text{Fe}^{2+}$  を  $\text{Fe}^{3+}$  に酸化する酵素 Hephaestin (HEPH) の mRNA レベルは 12 ヶ月間の Cd 曝露時点では顕著に減少していたが、15 ヶ月曝露以降発現レベルが上昇していき、21 ヶ月曝露時にはコントロールレベルまで回復していた。しかし、十二指腸刷子縁膜上で  $\text{Fe}^{3+}$  を  $\text{Fe}^{2+}$  に還元する酵素 Duodenal cytochrome b (Dcytb) の mRNA レベルは Cd 曝露期間を通じて有意に減少していた。このことから、Cd の長期曝露は非ヘム鉄トランスポーターの遺伝子発現レベルには影響を及ぼさないが、非ヘム鉄が吸収されるための第一段階である  $\text{Fe}^{3+}$  還元酵素 Dcytb の遺伝子発現レベルを顕著に抑制することが明らかとなった。したがって、ヘム鉄・非ヘム鉄ともに Cd の長期曝露によって吸収が阻害される可能性が示唆された。

HCP1 によって小腸上皮細胞内に取り込まれたヘム鉄を  $\text{Fe}^{2+}$  へと分解する Heme oxygenase-1 (HO-1) の十二指腸中 mRNA レベルは Cd によって劇的に上昇した。また、肝臓中 *Hepcidin* mRNA レベルは顕著な減少を示した。これら 2 因子の変動は、十二指腸基底膜側への鉄の放出に寄与しており、長期の Cd 曝露によって HCP1 および *Dcytb* mRNA レベルが抑制されたことに対する、生体内鉄蓄積量の恒常性維持に向けた応答ではないかと考えられた。

次に、肝臓中の鉄濃度を測定したところ、Cd

の長期曝露によって顕著な低値を示した。生体内鉄蓄積量が欠乏している可能性があるため血清中鉄濃度を測定したが、Cd による減少は確認されなかった。一方、UIBC および TIBC は有意な上昇を示した。

以上の結果から、Cd は十二指腸における鉄の吸収機構に影響を及ぼし、鉄の吸収を阻害する可能性が示唆された。血清中鉄濃度は見かけ上正常レベルを維持していたが、肝臓中貯蔵鉄が欠乏することが明らかとなり、長期間に及ぶ Cd 曝露が鉄のホメオスタシス異常を引き起こすことが示された。

【謝辞】愛知学院大学医療生命薬学研究所 医療薬学助成により本研究を実施できましたことに感謝申し上げます。

【研究成果発表】

1. 徳本真紀、李辰竜、藤原泰之、佐藤雅彦  
鉄の吸収に及ぼす慢性カドミウム曝露の影響  
第 44 回日本毒性学会学術年会 (平成 29 年 7 月、横浜)
2. 徳本真紀、李辰竜、佐藤雅彦  
カドミウム長期曝露による鉄輸送関連因子の発現変動と肝臓中鉄蓄積量の減少  
メタルバイオサイエンス研究会 2017 (平成 29 年 10 月、岡山)

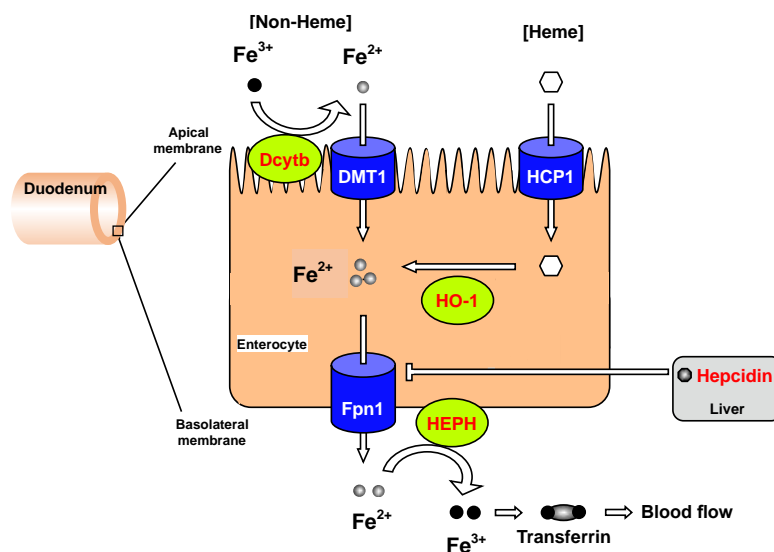


図 1. 小腸上皮細胞における鉄の吸収機構