

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：31305

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19655

研究課題名（和文）潰瘍性大腸炎の増悪因子としてのカドミウムの関与

研究課題名（英文）Involvement of cadmium as an exacerbating factor in ulcerative colitis

研究代表者

黄 基旭（Hwang, Gi-Wook）

東北医科薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：00344680

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：低濃度のカドミウム長期曝露が潰瘍性大腸炎モデルマウスの病態を増悪させることを見出し、この作用には直腸・S状結腸の上皮細胞や腸腺細胞で選択的に発現しているtmRT1の減少が関与していることを明らかにした。このtmRT1が欠損すると直腸・S状結腸の上皮層再生がほとんど停止することが判明し、tmRT1は直腸・S状結腸での上皮層再生に関わる新規因子であることも強く示された。また、定常時のtmRT1発現はエピジェネティクスな変化により制御されており、主な無機金属類の中でカドミウムのみがtmRT1遺伝子の発現を抑制することがヒト直腸腺癌細胞を用いた検討により明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本において潰瘍性大腸炎の患者が急激に増加している。本研究の成果により、日常食事から摂取しているカドミウムが潰瘍性大腸炎の病態を増悪させていることが示唆された。また、本作用に直腸・S状結腸での上皮層再生に関わる新規因子tmRT1の発現低下が関与することが明らかになった。大腸粘膜の炎症は直腸から始まり、S状結腸から横行結腸へ広がることから、原因不明の潰瘍性大腸炎に対する治療法としてtmRT1をターゲットとした新しい方法論を提供するものである。また、腎臓障害を中心に行われてきたカドミウム毒性研究においても、これまでにない全く新しい観点でその毒性を捉えるものとして波及効果が期待される。

研究成果の概要（英文）：We found that long-term exposure to low concentrations of cadmium exacerbates the pathology of ulcerative colitis model mice and clarified that this effect is related to a decrease in tmRT1, which is selectively expressed in epithelial cells and intestinal gland cells of the rectum and sigmoid colon. In addition, it was found that deletion of tmRT1 almost completely abolished the regeneration of the epithelial layer of the rectum and sigmoid colon, strongly suggesting that tmRT1 is a novel factor involved in the regeneration of the epithelial layer of the rectum and sigmoid colon. Interestingly, studies using human rectal adenocarcinoma cells revealed that the expression of tmRT1 at steady state is controlled by epigenetic changes, and that only cadmium suppresses the expression of the tmRT1 gene among the major inorganic metals.

研究分野：分子毒性学

キーワード：潰瘍性大腸炎 カドミウム

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年日本において、「指定難病」の一つである潰瘍性大腸炎の患者が急激に増加しており、現在約 20 万人に達している。潰瘍性大腸炎の原因はまだ解明されていないが、遺伝的な要因のあるヒトに環境的要因が加わることによって免疫機能が破綻して発症するという可能性が示唆されている。無機金属類のうちカドミウムは様々な食品中に含まれているが、特に米中の濃度が高い。日本人のカドミウム 1 日摂取量は欧米人より数倍高く、その摂取量の約 4~5 割は米を介したものである。カドミウムは消化管からの吸収率が約 2~8% と低く、ここで吸収されなかったカドミウムはそのまま糞便中に排泄される。カドミウムが引き起こす慢性中毒症状として腎臓障害が良く知られており、カドミウム毒性研究も腎臓障害を中心に行われてきた。しかし、摂取された食品中のカドミウムはその多くが、体外へ排泄されるまでに通常 24~72 時間も大腸（特に直腸・S 状結腸）に溜まることになる。すなわち、大腸に滞留するカドミウムが腸管上皮細胞や腸内細菌叢などに何らかの影響を与える可能性も十分考えられる。

### 2. 研究の目的

現代は食生活やライフスタイルの変化が原因で昔に比べて日本人の腸内環境が悪化していると言われている。我々は最近、毒性を示さない低濃度のカドミウムを含む水を飲ませたマウスから大腸（盲腸から肛門まで）を摘出して HE 染色を行った結果、S 状結腸と直腸の粘膜が対照マウスに比べて僅かに薄くなっていることを偶然見出した。大腸粘膜の炎症は直腸から始まり、S 状結腸、下行結腸、横行結腸順に広がることから、カドミウムによる“粘膜厚さの減少”が認められた直腸や S 状結腸は潰瘍性大腸炎の発症や増悪における重要部位である。したがって、これらの部位での“粘膜厚さの減少”は大腸内環境に何らかの変化を惹起し、潰瘍性大腸炎を増悪する可能性が高い。そこで本研究では潰瘍性大腸炎モデルマウスを用いて、潰瘍性大腸炎の増悪因子としてのカドミウムの関与を明確にするともに、カドミウムによる直腸粘膜厚さの減少に関わる分子機構を検討した。

### 3. 研究の方法

#### (1) 細胞培養およびカドミウム処理

RCM-1 細胞（ヒト直腸腺癌細胞株）を RPMI-1640 と Ham's F-12 を 1 : 1 に混合した培地の中で、37℃、5% CO<sub>2</sub>、95% 室内空気の条件で、湿潤させたインキュベーター内で培養した。この RCM-1 細胞は、10 cm dish で培養し、80% コンフルエントになった時点で細胞密度が 30~40% となるように継代した。また、細胞を播種する 2 日前に細胞密度が約 50% となるように継代した。RCM-1 細胞を  $2 \times 10^5$  cells/0.9 mL/well となるように 12-well plate に播種し、48 時間後に 100  $\mu$ L の塩化カドミウム溶液を終濃度 0~40  $\mu$ M で添加した。

#### (2) cDNA の作製および定量 PCR

Isogen II で溶解した細胞溶解液（150  $\mu$ L）および組織溶解液（300  $\mu$ L）に、それぞれ 0.4 倍量の MilliQ 水を添加し、15 秒間ボルテックスをして室温で 10 分間静置した。その後、微量高速冷却遠心機（室温、15,000  $\times$  g、15 分間）で遠心し、上清 150  $\mu$ L を回収した。そこに回収した上清と等量の 70% エタノールを加え、転倒混和し、10 分間室温で静置した後に微量高速冷却遠心機（4℃、15,000  $\times$  g、10 分間）で遠心した。その後、上清を取り除き、70% エタノールを 500  $\mu$ L 加え、転倒混和し、微量高速冷却遠心機（4℃、15,000  $\times$  g、3 分間）で遠心した。これをもう一度行い、上清を取り除いた後、室温で 1 時間程度風乾した。沈殿を MilliQ 水で溶解し、NanoDrop で RNA の濃度を測定し、200 ng の RNA を PrimeScript™ RT reagent kit を用いて 37℃ で 30 分間逆転写酵素反応を行った。反応後、85℃ で 5 秒間処理し、酵素を失活させた。サンプル化された cDNA 原液を MilliQ 水で 10 倍希釈したものをテンプレートとした。PCR 反応溶液として 1 well あたり、SYBR Premix Ex Taq 5  $\mu$ L、あらかじめ MilliQ 水で 10  $\mu$ M に調製した primer set の混合溶液を 0.4  $\mu$ L、H<sub>2</sub>O 4  $\mu$ L を加えた。その後、96-well plate に 9  $\mu$ L ずつ分注し、テンプレートを 1.5  $\mu$ L ずつ加え、下記条件にて real-time qPCR を行った。なお、mRNA 量は内在性コントロールである GAPDH で補正した。

#### (3) Western blotting

培養した細胞に 300  $\mu$ L の 2% SDS を添加し細胞を溶解した。その後、サンプル密閉式超音波破碎装置にて 20 分間ソニケーションを行った。DC™ protein assay kit を用いて蛋白定量後に、4  $\times$  sample buffer を加え、95℃ で 5 分間加熱し、SDS-PAGE 用のサンプルとした。細胞抽出液は 12.5% ポリアクリルアミドゲルを用いて SDS-PAGE（150 V、約 90 分間）を行った後、セミドライ型プロットング装置を用いて PVDF メンブレン（Millipore、IPVH304F0）に転写（150 mA/枚、2 時間）した。転写後のメンブレンを blocking buffer に 1 時間以上浸して振盪した後に T-TBS で 3 回、TBS で 1 回それぞれ 15 分間振盪して洗浄し、一次抗体に浸し 4℃ で一晩振盪させながら反応させた。その後、T-TBS で 3 回、TBS で 1 回それぞれ 15 分間振盪した後に、二次抗

体に浸し、4 で1時間振盪した。再び T-TBS で3回、TBS で1回それぞれ15分間振盪して洗浄した後に、Immobilon Western を用いて化学発光させ、ChemiDoc™ Touch により検出した。

#### (4) 潰瘍性大腸炎モデルマウスの作製

雄性 C57BL/6N マウスは、実験に供するまで温度  $22 \pm 2$ 、湿度  $55 \pm 10\%$ 、明暗12時間サイクル(明期 7:00-19:00、暗期 19:00-7:00)に管理されている環境下で飼育した。飼育には、プラスチックケージ(縦30cm × 横20cm × 高さ15cm)に1ケージにつき3~4匹ずつ飼育した。飼育期間中は、固形飼料 CE-2(日本クレア)および5 ppm 次亜塩素酸を含む水道水を自由に摂取させた。終濃度0または50 ppm のカドミウム含有水を25週間自由摂取させたマウスに0、0.5または1%のデキストラン硫酸ナトリウム(DSS)含有水を5日間の自由摂取と5日間の休止を2サイクル実施することで軽度の潰瘍性大腸炎を発症させた。なお、コントロールとして5 ppm 次亜塩素酸を含む水道水を同期間摂取させた。体重、便の性状、直腸または便中の血液の有無は、各サイクル(DSS 処置およびDSS 未処置期間)の1、3、5日目に記録した。DSS 投与サイクルが終了した際には、直ちにマウスを安楽死させ、マウス大腸を採取した。なお、全ての実験は東北医科薬科大学動物実験規定に基づき行った。

#### (5) 潰瘍性大腸炎の重症度評価

潰瘍性大腸炎の症状は、Disease Activity Index (DAI) スコアをもとに評価した。DAI は、体重減少率、便の硬さ、直腸または便中の血液の程度から構成されている。なお、体重減少率は初期体重と比較して体重減少なしを0点、1~5%以内の体重減少を1点、5~10%以内の体重減少を2点、10~15%以内の体重減少を3点、15%以上の体重減少を4点とした。便の硬さは正常(固形のペレット)あるいは硬さの残った軟便を0点、液状兆候のある軟便あるいは硬さのない軟便を2点、水様性便(下痢)を4点とした。直腸出血は正常(出血なし)を0点、肛門少量出血あるいはわずかな血便を2点、肛門出血あるいは新鮮血便を4点とした。以上の評価の総点をDAI スコアとした。

#### (6) 免疫組織化学的染色法

マウスは三種混合麻酔薬を用いて麻酔した。開腹後、心臓の心尖部から左心室内にカニューレを挿入し、血液と灌流液を排出するために右心室の一部を切開した。一定の流速で氷冷したPBSを20 mL 灌流し脱血した後、直ちに氷冷した4% paraformaldehyde (PFA)-in PBS(固定液)を同じ流速で30 mL 灌流し、組織を固定した。灌流固定後に盲腸から直腸までを摘出し、4 の固定液に浸して再固定を行った。ホルマリン固定した組織は、本学組織・病理標本センターにパラフィン包埋、組織切片作製(5 μm スライス)およびHE染色を外注した。得られたパラフィン切片は、キシレンで5分おきに2回インキュベートし、脱パラフィン処理を行った。その後、100%エタノールで2回、95%エタノールで2回、70%エタノールで1回、それぞれ3分おきにインキュベートし、脱キシレン処理を行った。切片はイオン交換水で3分間インキュベートした後、antigen decloaker に浸して抗原賦活化装置にて抗原賦活化処理(110、3分間)を行った。30分間室温にて冷ました後、イオン交換水で置換した。PBSで15分おきに2回洗浄後、脳組織への抗体の非特異的結合を防ぐ目的で、10% NGS-in PBS で室温にて1時間反応させた。その後、PBSで15分おきに2回洗浄後、1% NGS-in PBS で希釈した一次抗体と4 の一晚反応させた。一次抗体をPBSで30分おきに4回洗浄後、1% NGS-in PBS で希釈した二次抗体および4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI; 0.5 μg/mL) の混合液を4 の暗室で一晚反応させた。PBSで30分おきに4回洗浄後、SlowFade™ Diamond Antifade Mountant を滴下し、カバーガラスで封入した。免疫蛍光はNikon C2 confocal microscope system を用いて可視化させた。

#### (7) 糞便中細菌ゲノムDNAの抽出と16S rDNA領域のシークエンシング

マウスの糞便よりE.Z.N.A® Stool DNA kit (Omega Bio-Tek) のプロトコルに従ってDNAを溶出させた後、magLEAD 12gc (Precision System Science) を用いてDNAを精製した。回収したDNAから、16S rDNAのV4領域をIlluminaのプロトコルに準拠し、KAPA HiFi HotStart ReadyMix (日本ジェネティクス) を用いて増幅した。プライマーの配列は Forward: 5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3' と Reverse: 5'-GGACTACHVHHHTWTCTAAT-3' を用いた。増幅産物をNextera XT index kit (Illumina) のプライマーを用いてPCRを行うことで、各検体由来のDNAにそれぞれ異なるindex配列を付加した。ライブラリーDNAをAMPure XP Beads (Beckman Coulter) を用いて精製し、10 mM Tris-HCl 緩衝液(pH 8.5) で10 nM に希釈した後プールした。プールされたライブラリーDNAは最終濃度12 pM として600 μL をMiseq 600 cycle v3 ki (Illumina) を用いてシークエンシングした。

#### (8) 16S rDNA シークエンシングのデータ解析

解析にはQIIME (version 1.9.1) を用いた。配列データはtrimmomatic-0.36.jar スクリプトによってQスコア25以下の配列を除いた。まずjoin\_paired\_ends.pyによりea-utilsソフトウェアパッケージのfastq-joinメソッド21によってForward readとReverse readを結合し、split\_libraries\_fastq.pyによりFASTQファイルからFASTAファイルへ変換した。次にcutadapt22によってプライマー配列の除去を行うと同時に300塩基以下の配列を除いた。5,000-10,000リードをランダムサン

リングした後に identify\_chimeric\_seqs.py( usearch61 メソッド )によりキメラ配列の同定を行い、filter\_fasta.py によって除去をした。それぞれの FASTA ファイルを一つに結合後、pick\_denovo\_otu.py によって 96%の相同性で OTU テーブルを作成した。Local BLAST 内の blastn プログラムを使い 16S ( RDP ver. 10.27 and CORE update 2 September 2012 )、NCBI genome database に基づいて菌種を同定した。Core\_diversity\_analysis.py により多様性の計算を行った。

#### ( 9 ) 統計処理

実験結果は、平均値 ( means ) ± 標準誤差 ( SEM ) で示した。群間の有意差検定には、1 元配置分散分析後に Turkey の多重比較検定を用いた。ただし、2 群間の比較には t 検定を用いた。また、すべての検定法において危険率 5% 未満を統計的に有意であると見なした。なお、統計解析には GraphPad Prism 9.5.1 ( GraphPad Software Inc ) を用いた。

### 4 . 研究成果

#### ( 1 ) カドミウムが DSS 誘発潰瘍性大腸炎の病態に及ぼす影響

1%、2%または3% DSS の 5 日間の投与と休止を 2 サイクル実施したところ、DSS 濃度が上がるにつれ DAI スコアも平均 2、4、6 に上昇した。このことから、1%以下の DSS 投与マウスを軽度の潰瘍性大腸炎モデルマウスとし、カドミウム長期曝露の影響を検討することにした。終濃度 50 ppm のカドミウムに長期曝露したマウスはコントロールマウスと同程度の体重増加を示すとともに臓器重量も変動することなく、DAI スコアはコントロールマウスと同様に 0 であった。一方、DSS 投与マウスでの DAI スコアは予備検討と同様に 1% 投与マウスが平均 2 で、0.5% 投与マウスはコントロールマウスと同様にほぼ 0 であった。興味深いことに、カドミウム長期曝露マウスに 1% DSS を自由摂取させることで DAI スコアが平均 5 まで上昇し、0.5% DSS 投与マウスにおいても僅かな上昇傾向を示した。以上のことから、マウスに毒性を示さないカドミウムは潰瘍性大腸炎の増悪因子として作用していることが示唆された。

#### ( 2 ) カドミウムが DSS 誘発潰瘍性大腸炎モデルマウスの大腸組織に及ぼす影響

DSS の 5 日間の投与と休止を 2 サイクル実施したマウスから得られた大腸組織を HE 染色したところ、終濃度 50 ppm のカドミウムに長期曝露したマウスはコントロールマウスと同様に組織的な変化は観察されなかった。一方、1% DSS 投与マウスでは上皮細胞の脱落やリンパ球の集約が観察され、これらは 0.5% DSS 投与マウスにおいても僅かに認められた。また、DSS 投与マウスで観察された病理組織変化はカドミウム長期曝露により増悪傾向を示した。また、我々によって直腸・S 状結腸の上皮細胞に選択的に高発現していることが判明している tmRT1 の発現はカドミウム長期曝露マウスにおいてコントロールマウスに比べて有意に減少していた。このことから、カドミウムは tmRT1 の発現を減少させることで潰瘍性大腸炎を増悪している可能性が考えられる。

#### ( 3 ) tmRT1 欠損がマウスの大腸組織に及ぼす影響

カドミウムは直腸・S 状結腸での tmRT1 の発現を減少させることが示されたことから、tmRT1 KO マウスを用いて詳細な検討を実施することにした。tmRT1 KO マウスは野生型マウスと同様に成長することが確認されている。まず、直腸環状組織を用いて免疫染色を行ったところ、tmRT1 は直腸・S 状結腸の内側粘膜、特に上皮細胞や腸腺細胞に高発現していることが観察された。また、HE 染色により病理組織像を比較したところ、tmRT1 KO マウスの粘膜組織は、粘膜層の腸線細胞間が狭くなり粘膜固有層が薄いように見られたが、野生型マウスと比較して粘膜組織の形態に大きな異常は認められなかった。腸管上皮は 3~4 日ごとに再生を繰り返すダイナミックな組織であり、この再生には絨毛先端部の上皮細胞 ( 古い細胞 ) のアポトーシスによる脱落と、腸管上皮幹細胞からの分化が重要な役割を果たしている。そこで、アポトーシス誘導に関わる caspase-3 の活性化をアポトーシス実行因子である cleaved caspase-3 に対する抗体を用いて、また細胞増殖能を Ki67 に対する抗体を用いてそれぞれ免疫組織染色を行った。その結果、野生型マウスの直腸組織において、特に絨毛先端部の上皮細胞で cleaved caspase-3 抗体による染色が強く認められたのに対し、tmRT1 KO マウスでは上皮細胞の染色が弱くなっていた。一方、増殖細胞マーカーである Ki67 は、細胞分化が盛んな粘膜筋板付近の腸管上皮幹細胞に高発現していたが、tmRT1 KO マウスの直腸組織ではその発現がほとんど認められなかった。さらに、腸管上皮細胞の再生に関わる -catenin の発現や ERK および p38 の活性化を調べたところ、tmRT1 欠損マウスでは野生型マウスに比べて -catenin の発現が著しく高く、定常時にも観察される ERK および p38 のリン酸化がほとんど認められなかった。上述のように、腸管上皮は頻りに再生を繰り返すダイナミックな組織であり、その原動力になっている細胞が腸管上皮幹細胞である。これらのことから、tmRT1 は直腸・S 状結腸の上皮層再生に関わる主要な因子であることが初めて示唆された。

#### ( 4 ) tmRT1 欠損が DSS 誘発潰瘍性大腸炎の病態に及ぼす影響

上記の検討により、tmRT1 は直腸・S 状結腸の上皮層再生に関わっており、その発現がカドミウムによって減少することが明らかになった。そこで次に、tmRT1 欠損が DSS 誘発潰瘍性大腸炎モデルマウスの病態に与える影響を調べた。その結果、DSS 自由摂取による DAI スコアの上

昇が野生型マウスに比べて tmRT1 KO マウスでは顕著であった。また、盲腸から直腸までの腸管の長さが DSS 自由摂取によって短くなっていたが、この腸管の萎縮は tmRT1 欠損によって顕著に増強された。なお、定常時の tmRT1 KO マウスでは腸管の萎縮が観察されず、腸管の長さも野生型マウスと同程度であった。このことから、tmRT1 は直腸・S 状結腸の上皮層再生に関わる因子として、DSS 誘発潰瘍性大腸炎の病態を抑制していることが示唆された。

#### (5) カドミウムおよび tmRT1 欠損がマウスの腸内細菌叢に及ぼす影響

カドミウム長期曝露マウスおよび tmRT1 KO マウスから得られた糞便を用いて 16S rDNA シークエンシングを行った。その結果、カドミウム長期曝露はマウス腸内細菌叢の組成には大きな変化を与えることなく、*Dubosiella* 属の細菌のみが顕著に減少していた。*Dubosiella newyorkensis* は Treg/Th17 応答のバランスを調整することで粘膜バリア傷害の改善などに関与することが報告されており、この *Dubosiella* 属の細菌が tmRT1 KO マウスにおいても野生型マウスと比較して著しく減少していた。これらのことから、カドミウムは tmRT1 の発現を減少させることで直腸・S 状結腸での上皮層再生機構や腸内細菌叢のバランスを攪乱させることで潰瘍性大腸炎の増悪に関与することが示唆された。

#### (6) カドミウムが RCM-1 細胞における tmRT1 mRNA 発現に及ぼす影響

RCM-1 細胞において、カドミウムが tmRT1 mRNA 発現に与える影響を定量 PCR により検討した。その結果、カドミウムの処理濃度 (最高 40  $\mu$ M) および 20  $\mu$ M カドミウムの処理時間 (最大 8 時間) に依存して tmRT1 mRNA の発現が減少した。また、同処理条件下において、カドミウムは tmRT1 蛋白質の発現も減少させた。なお、同処理条件下においてカドミウムによる細胞死は認められなかった。これらのことから、カドミウムによる tmRT1 蛋白質発現の減少にはその mRNA 発現の減少が関与していると考えられる。また、興味深いことに、カドミウムと同様に消化管からの吸収率が低いとされている無機金属類 (鉛や銅、クロム、ニッケル、アルミニウムなど) について同様の検討を行ったが、カドミウム以外で tmRT1 発現の減少作用は認められなかった。このことは、カドミウムがある程度選択的に tmRT1 の発現を減少させていることを強く示唆している。

#### (7) 種々の阻害剤がカドミウムによる tmRT1 の発現減少に及ぼす影響

カドミウムが tmRT1 mRNA 発現を減少させたことから、転写阻害剤であるアクチノマイシン D 存在下におけるカドミウムの tmRT1 mRNA 発現に及ぼす影響を検討した。その結果、アクチノマイシン D 処理により tmRT1 mRNA 発現は経時的に減少したものの、カドミウムによるさらなる減少は認められなかった。このことは、カドミウムが tmRT1 遺伝子の転写活性を抑制することでその mRNA 発現を減少させていることを示唆している。また、興味深いことに、カドミウムが示す tmRT1 mRNA の減少作用は蛋白質翻訳阻害剤の前処理によっても認められなくなった。一方、プロテアソーム阻害剤は定常時の tmRT1 mRNA 発現を減少させたが、本条件下においてもカドミウムが示す tmRT1 mRNA の減少作用は減弱した。以上のことから、カドミウムは tmRT1 遺伝子の発現抑制に関わる未知因子の合成を促進しており、当該因子はプロテアソームによって速やかに分解されている可能性も示唆された。

#### (8) エピジェネティック制御がカドミウムによる tmRT1 の発現減少に及ぼす影響

エピジェネティック制御による tmRT1 遺伝子の発現変動に着目し、DNA メチル化阻害剤またはヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の存在下においてカドミウム処理を行ったところ、両阻害剤の存在下におけるカドミウムによる tmRT1 mRNA の発現減少率はコントロールと比較して大きな差は認められなかった。一方、定常時の tmRT1 mRNA の発現は両阻害剤の単独処理によってそれぞれ増加した。これまでに、histone deacetylase 4 (HDAC4) が Yin Yang 1 (YY1) によって tmRT1 遺伝子のプロモーターにリクルートされることが報告されている。しかし、YY1 mRNA に対する 3 種の siRNA をそれぞれ RCM-1 細胞に導入しても、いずれにおいてもカドミウムによる tmRT1 mRNA の発現減少が依然として認められた。これらのことから、定常時における tmRT1 遺伝子の発現はプロモーター領域のメチル化および脱アセチル化によって抑制されており、少なくともこれらの作用は YY1 非依存的であることが示唆された。今後、tmRT1 遺伝子発現抑制に関わる未知因子を同定することができれば、カドミウムによる潰瘍性大腸炎の増悪機構の全容が明らかになるものと期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 黄 基旭
2. 発表標題 メチル水銀による脳神経障害における tmRT1 の役割と今後の展望
3. 学会等名 第96回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 福島 諒子、山下 直哉、飛田 悠希、山縣 涼太、黄 基旭
2. 発表標題 ヒト直腸腺がん細胞株におけるカドミウムと転写因子 tmRT1 の関わり
3. 学会等名 メタルバイオサイエンス研究会2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 黄 基旭
2. 発表標題 メチル水銀毒性とミクログリア
3. 学会等名 第50回日本毒性学会学術年会（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

東北医科薬科大学薬学部環境衛生学教室HP  
http://tmpu-ehs.com/index.html

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	山縣 涼太  (Yamagata Ryota)  (20963424)	東北医科薬科大学・薬学部・助教   (31305)	
研究分担者	秋山 雅博  (Akiyama Masahiro)  (60754570)	慶應義塾大学・薬学部(芝共立)・特任講師   (32612)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	山下 直哉  (Yamashita Naoya)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------