

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 15 日現在

機関番号：32612  
 研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2011～2012  
 課題番号：23790811  
 研究課題名（和文）ピロリ菌感染時における十二指腸上皮細胞の鉄吸収異常と鉄毒性に関する検討  
 研究課題名（英文）The influence of *H. pylori* infection on iron absorption in the duodenum  
 研究代表者  
 平田 賢郎 (HIRATA KENRO)  
 慶應義塾大学・医学部・助教  
 研究者番号：40570932

## 研究成果の概要（和文）：

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 感染が鉄欠乏性貧血を誘導する、という臨床報告が近年多数発表されている。鉄は積極的な排出系を持たないことから、我々は鉄欠乏の原因が唯一の鉄吸収の場である十二指腸の異常にあると考え、十二指腸上皮細胞膜に存在する鉄輸送体と細胞外鉄調節ホルモンであるヘプシジンの挙動をマウスモデルを用いて検討した。結果として、感染群と非感染群の間において、鉄輸送体の発現や調節因子の発現は同等であり、十二指腸以外の異常によって鉄欠乏性貧血が発症する事が示唆された。

## 研究成果の概要（英文）：

Recently, it was reported that *H. pylori* infection can cause iron deficiency. While iron is absorbed only via the duodenal epithelium, it is lost with exfoliation of the alimentary canal epithelial cells. Therefore, iron metabolism is mainly controlled in the duodenum. The present study was designed to examine the effect of *H. pylori* infection on the iron absorption, focusing on the duodenal iron transporter. In addition, hepcidin-25, which is a hormone produced in the liver and plays a role as a central regulator of iron homeostasis, was also examined. Our result suggested that iron absorption through the duodenum might not be disrupted by only *H. pylori* infection.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：上部消化管学（食道、胃、十二指腸）

## 1. 研究開始当初の背景

近年、*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 感染が、胃、十二指腸潰瘍以外で様々な消化管外病変と関与することが知られてきた。鉄欠乏性貧血 (Iron deficiency anemia; IDA) もその一つであり、1993年に小児 IDA において除菌療法が有効であったとの症例報告 (J Pediatr Gastroenterol Nutr; 17: 225-7, 1993) を皮切りに、2004年には多施設共同試験で IDA 患者 17 例に除菌療法を行ったところ、Hb 値が  $8.5 \pm 1.5 \text{ mg/dl}$  から  $12.6 \pm 1.1 \text{ mg/dl}$  へと有意に改善した ( $p < 0.001$ ) との報告 (J Gastroenterol; 39: 838-843, 2004) があるほか、有意な相関を示す臨床報告が相次いでいた (*Helicobacter*; 4: 135-9, 1999, Scand J Gastroenterol; 32: 617-22, 1997, Intern Med; 41: 491-4, 2002)。事実、日々の外来診療の上でも難治性 IDA 患者に対して *H. pylori* 除菌療法を施行することにより貧血が改善する例がしばしば経験されるが、未だその分子医学的機序は明らかではない。*H. pylori* 感染は消化性潰瘍を誘導し消化管出血の原因となるが、これらは全て内視鏡検査その他にて明らかな出血を認めない患者においての報告であり、*H. pylori* 感染が未知の機構を介して、宿主側の鉄吸収を抑制していることが推定された。ヒトは鉄吸収を十二指腸のみに依存し、鉄排出の積極的機構を持たないため、*H. pylori* 感染が唯一の鉄吸収臓器である十二指腸に作用し、異常を引き起こしている可能性が高いと考えられた。そこで我々は十二指腸上皮細胞における鉄輸送体と、鉄代謝関連ホルモンであるヘプシジンに注目した。

十二指腸上皮に存在する管腔側輸送体 DMT1 は、同じく管腔側に存在する還元酵素 DcytB によって還元された食餌鉄を  $\text{H}^+$  とともに細胞内に輸送する。輸送された鉄は、基底

側輸送体 FPN1 を介して門脈血液中に移行する。そこで我々は *H. pylori* によってこれらの輸送体の発現系に変化がある可能性が考えられた。また、鉄の調節系において、近年発見された肝臓産生ホルモンであるヘプシジンにつき検討した。ヘプシジンは現在までに生体内で確認されている唯一の鉄代謝関連ホルモンであり、種を越えて保存性が高い (J Biol Chem.; 276: 7806-10, 2001)。ヘプシジンは直接 FPN1 と結合し、Jak2 の活性化を介し FPN1 のリン酸化を誘導する。リン酸化された FPN1 は細胞質へと移行し、ユビキチン-プロテアソーム系による分解を受ける (PNAS; 106: 3800-5, 2009)。結果的にヘプシジンの発現上昇は十二指腸上皮細胞から血管内への鉄移行を抑制し、体内鉄低下の方向に働く。当初は抗菌ペプチドとして発見されたホルモンであり、病原性微生物の感染やそれに伴う炎症時に発現が亢進するため、鉄代謝の調節を介して感染防御の一翼を担っていると推定されてきた。したがって、*H. pylori* 感染によってヘプシジン発現および活性が亢進する可能性は十分に考えられた。

## 2. 研究の目的

*H. pylori* 感染が鉄欠乏性貧血を誘導する、という臨床報告が近年多数発表されている。鉄は積極的な排出系を持たないことから、我々は鉄欠乏の原因が唯一の鉄吸収のある十二指腸の異常にあると考えた。そこで本課題では、*H. pylori* 感染が宿主側の鉄代謝異常を誘導するという仮説のもと、十二指腸上皮細胞膜に存在する鉄輸送体と細胞外鉄調節因子の挙動を解析し、*H. pylori* 感染にて鉄欠乏となる機構について解明することを目的とした。

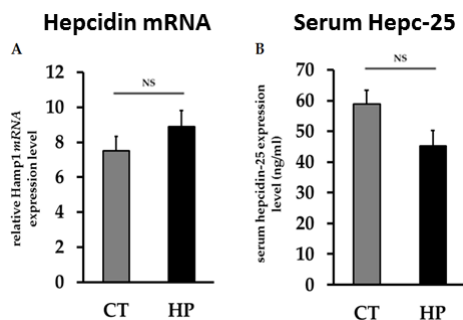
### 3. 研究の方法

我々は6週齢の雄性マウスに *H. pylori* を感染させ、20週齢時点で肝臓、胃、十二指腸、血液を採取し、肝臓におけるヘプシジン産生、十二指腸における鉄輸送体である DMT1、DcytB、FPN1 の発現量、血液中のヘプシジン濃度の比較検討を行った。また、十二指腸上皮における鉄吸収評価を鉄染色にて評価した。

### 4. 研究成果

20週齢時において、肝臓より mRNA を抽出、肝臓産生ホルモンであるヘプシジンにつき、非感染群と感染群の間にて評価を行った。また、採取した血清より活性型ヘプシジンであるヘプシジン-25 の発現を ELISA にて評価した。結果として非感染群と感染群の間に有意な発現差は認められなかった。

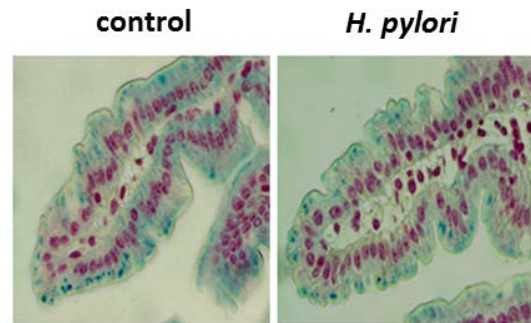
(図1) *H. pylori* 感染マウスにおける肝ヘプシジン発現量と血清ヘプシジン-25 発現量



次に我々は十二指腸管腔側に存在する鉄輸送体である DMT1、還元酵素である DcytB、十二指腸基底側に存在する鉄輸送体 FPN1 につき発現量を定量的 RT-PCR、ウェスタンブロット法にて解析を行ったところ、非感染群と感染群との間に発現量に差を認めなかった。FPN1 の免疫染色では非感染群、感染群双方にて同等の染色が認められた。十二指腸内にお

ける鉄の蓄積も同等であり (図2)、鉄による酸化ストレスを 8-OHdG 発現にて評価したところ同等の結果となった。

(図2) 感染群、非感染群における十二指腸上皮細胞鉄染色



我々の検討では、非感染群と感染群との間で、ヘプシジン発現量、FPN1、DMT1 などの膜輸送体発現量、さらには十二指腸上皮細胞内の鉄量は同等であった。このことは、*H. pylori* の感染のみによって十二指腸での鉄吸収システムに変化が起こるわけではないことを示しており、*H. pylori* induced IDA の発症には、*H. pylori* 感染に加えて他の要因が併存する必要があることを強く示唆している。

*H. pylori* induced IDA は臨床的には除菌により軽快することから、*H. pylori* 感染との複合的な要因で IDA が発症していると考えられる。*H. pylori* は主に5歳以下で感染するとされており、若年で鉄欠乏の病態が目立つという報告を加味すると、成年では成熟に伴い鉄欠乏を克服している例が多いと考えることが自然である。したがって、*H. pylori* 感染に伴う複合的な要因が膜輸送体やヘプシジンなどの SNPs などの遺伝子異常である可能性は低いと考えられる。年齢と相関する別のホルモンなどの異常亢進が関連しているか菌側での鉄の収奪など十二指腸以外に

おける要因によるものである可能性が考えられた。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計2件)

### ① 第97回日本消化器病学会総会

平田賢郎、鈴木秀和、津川仁、松崎潤太郎、福原誠一郎、岡田佐和子、日比紀文  
*H. pylori* 感染時における十二指腸上皮細胞の鉄吸収変化  
2011.5.13-15、東京

### ② Digestive Disease Week 2011

Kenro Hirata, Hidekazu Suzuki, Hitoshi Tsugawa, Juntaro Matsuzaki, Yoshimasa Saito, Sawako Okada, Seiichiro Fukuhara, Toshifumi Hibi  
*H. pylori* infection induced internalization of duodenal cellular iron exporter FPN1  
Chicago, Illinois, USA, 2011.5.7-10

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

平田 賢郎 (HIRATA KENRO)  
慶應義塾大学・医学部 助教  
研究者番号：40570932