

平成 17 年度厚生労働科学研究費（循環器疾患等総合研究事業）

日本人の食事摂取基準（栄養所要量）の策定に関する研究

主任研究者 柴田克己 滋賀県立大学 教授

Ⅲ．分担研究者の報告書

3. α -Tocopherol Transfer Protein (α -TTP)遺伝子発現調節機構の解析

－乳汁中ビタミン E 含有量の調節機構について－

分担研究者 玉井浩 大阪医科大学小児科 教授

研究要旨

α -Tocopherol Transfer Protein (α -TTP)はビタミン E 同族体の中で α -Tocopherol (α -Toc)を特異的に認識し、肝臓細胞内で選択的に輸送して血中 α -Toc 濃度を調節する働きをする。また、 α -TTP は肝臓細胞内だけに存在するとは限らず、脳、子宮、胎盤（脱落膜）、白血球などにもその遺伝子は発現している。しかし、肝臓以外の組織での α -TTP の役割はあまり解明されていない。乳腺細胞培養系の実験結果から、 α -Tocopherol においてのみ α -TTP 遺伝子の発現上昇を認めた。したがって、母乳中 α -Tocopherol 濃度を決定する因子として、 α -TTP 遺伝子の発現調節が考えられた。

A. 目的

α -Tocopherol Transfer Protein (α -TTP)はビタミン E 同族体の中で α -Tocopherol (α -Toc) を特異的に認識し、肝臓細胞内で選択的に輸送して血中 α -Toc 濃度を調節する働きをする。また、 α -TTP は肝臓細胞内だけに存在するとは限らず、脳、子宮、胎盤(脱落膜)、白血球などにもその遺伝子は発現している。しかし、肝臓以外の組織での α -TTP の役割はあまり解明されていない。本研究では、 α -TTP の機能を明らかにすることを目的として実験を行った。

α -TTP 遺伝子欠損マウスの解析において現在までに分かっていることを下記に示す。

①雌の避妊

Trophoblast の形成不全と妊娠の中絶に関与すること、つまり α -TTP+/+胎仔を α -TTP 遺伝子欠損マウスに移植しても妊娠を継続できないことが分かっている。

②妊娠子宮での発現の上昇

α -TTP は性交後 4.5 日に一過性に上昇するが、これは α -TTP が着床や胎仔に対して重要な働きをしている。

B. 実験方法

1. 培養細胞系実験

<Ishikawa cell(子宮内膜腺癌細胞)を用いて実験を行った>

- ① ホルモン 妊娠初期に子宮での α -TTP の発現が上昇することから妊娠中に増加する estrogen(10^{-7} M;妊娠後期に認める妊娠期間の最高値)、progesterone(4 μ M ; 妊娠後期に認める妊娠期間の最高

値)を添加した。

- ② 成長因子 EGF 100ng/ml

- ③ Vit.E α -tocopherol 10^{-5} M を添加し、 α -TTP 遺伝子を検討した。

<実験方法>

Ishikawa cell : 37°C、5% CO₂ の条件の下、培地に 10%FBS+penicillin-streptomycinを加えた DMEM を使用した。75cm² フラスコにて confluence になったところで培地は charcoal 処理した 10%FBS + penicillin-streptomycin を加えた phenol red free の DMEM の培地に変えて細胞数 10^4 /mL として一日おいた後に添加実験を行った。TTP 遺伝子発現の検討法としてこれらの細胞より RNA を抽出し RT-PCR にて行った (TTP / β -actin)。

<乳腺細胞を用いた実験>

乳汁中に Vit.E が含まれることより乳腺細胞において α -TTP 遺伝子が発現している MCF-7(乳腺癌)を用いた。また、正常に近い細胞 MCF-10 (乳腺繊維嚢胞から樹立) も用いた。これら乳腺細胞について検討を加えている。

C. 結果

α -tocopherol においてのみ α -TTP 遺伝子の発現上昇を認めた。

D. 考察

基質である α -tocopherol によって α -TTP 遺伝子の発現調節が行われているが、子宮内膜細胞と同様に、estrogen などのホルモンの影響を受けることが予想され乳腺細胞で

肝臓細胞内と同様に α -TTP 遺伝子の発現が調節されているとすれば、母乳中 α -tocopherol 濃度を決定する因子となりえる。

今後は、 α -TTP 遺伝子上流部分を解析し、発現を調節する

E. 健康危機情報

特記する情報なし

F. 研究発表

1. 発表論文

特になし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許予定

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし