

28U-am05S

培養細胞を用いたカドミウムによる近位尿細管再吸収障害の評価

○岡 奈々恵¹, 藤代 瞳¹, 姫野 誠一郎¹ (徳島文理大薬)

【目的】カドミウム (Cd) による尿細管での再吸収障害の指標として尿中の β_2 -microglobulin (β_2 -MG) が用いられている。 β_2 -MG などのタンパク質は主に近位尿細管上皮細胞の管腔側の膜に存在する megalin/cubilin 依存的なエンドサイトーシスで再吸収される。しかし、Cd による再吸収障害の詳細なメカニズムはよくわかっておらず、尿細管上皮細胞での再吸収障害機構について培養細胞を用いてタンパク質ごとに検討した例はほとんどない。そこで私たちは、*in vitro* で尿細管再吸収障害を評価する系を立ち上げ、 β_2 -MG および metallothionein (MT) のエンドサイトーシスに対する Cd の影響を評価した。

【方法】細胞：S1細胞 (マウス近位尿細管不死化細胞) を用いた。再吸収効率の評価：FITCで蛍光標識した β_2 -MGおよびMTを用い、蛍光顕微鏡およびFlow Cytometryを用いて評価した。

【結果および考察】Mouse β_2 -MG, MT-I 遺伝子を GST 遺伝子の下流に導入し、GST 融合タンパク質を大腸菌発現系で発現させ、recombinant β_2 -MG および MT タンパク質を GST アフィニティーカラムにて精製し、FITC 蛍光ラベル化を行った。蛍光顕微鏡を用いた観察により、FITC- β_2 -MG および FITC-MT が S1 細胞内に取り込まれることが確認し、flow cytometry により濃度依存的に取り込まれることを確認した。S1 細胞を Cd に 24 時間曝露後、FITC- β_2 -MG, FITC-MT の取り込みを flow cytometry で計測したところ、いずれも Cd (15 μ M) 曝露によって再吸収効率が減少した。しかし、FITC- β_2 -MG, FITC-MT の再吸収効率に対する Cd の影響は以前に検討した FITC-albumin, transferrin に比べて感受性が低かった。各タンパク質の再吸収効率に対する Cd の影響に違いがあるかについてはさらなる検討が必要である。