

## 흰쥐에서 Divalent Metal Transporter 1의 조직내 분포와 Iron에 의한 조절

최 재 혁, 박 정 덕\*

중앙대학교 의과대학 예방의학교실

### Tissue Distribution of Divalent Metal Transporter 1 and Regulation by Dietary Iron in Rats

Jae-Hyuck Choi and Jung-Duck Park\*

Department of Preventive Medicine, College of Medicine, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

#### ABSTRACT

Iron (Fe) is an essential metal in biological processes, which maintains a homeostasis in the human body. Divalent metal transporter 1 (DMT1) has been known as an iron transporting membrane protein, which is involved in the uptake Fe at the apical portion of intestinal epithelium, and may transport Fe across the membrane of acidified endosome in peripheral tissues. In this study, we studied the tissue distribution of DMT1 in the Fe supplemented (FeS) diet fed rats, and the regulation of DMT1 expression by depleting body Fe. Sprague-Dawley rats were divided into two groups, and fed FeS (120 mg Fe/kg) diet or Fe deficient (FeD, 2~6 mg Fe/kg) diet for 4 weeks. The evaluation of body Fe status was monitored by measuring sFe, UIBC and tissue Fe concentration. Additionally, DMT1 mRNA levels were analyzed in the peripheral tissues by using the quantitative real time RT-PCR method. In the FeS diet fed rats, the tissue Fe was maintained at a relatively high level, and DMT1 was eventually expressed in all tissues studied. DMT1 was highly expressed in the testis, kidney and spleen, while a moderate levels of DMT1 expression was detected in the brain, liver and heart. In the digestive system, the highest level of DMT1 was found in the duodenum. Feeding the FeD diet caused a reduced body weight gain and depletion of body Fe with finding of decreased sFe, increased UIBC and decreased tissue Fe concentration. The depletion of body Fe upregulated DMT1 expression in the peripheral tissue. The expression of DMT1 was very sensitive to the body Fe depletion in the small intestine, especially in the duodenum, showing dramatically higher levels in the FeD rats than those of the FeS group. In the FeD diet fed animals, the expression of DMT1 was low significantly in other tissues compared with the duodenum. The expression of DMT1, however, was 60~120% higher in the testis, kidney and spleen, and 30~50% higher in the lung, liver and heart, compared to the FeS diet fed rats. In summary, DMT1 expression was ubiquitous in mammalian tissue, and the level of expression was the organ-dependent. The expression of DMT1 in peripheral tissues was upregulated by depletion of body Fe. Duodenum was the most sensitive tissue among organs studied during Fe depletion, and expressed the greatest level of DMT1, while other tissues were less higher than in duodenum. This study supports that DMT1 plays a role in maintaining the body Fe level through intestinal uptake as well as homeostasis of Fe in the peripheral tissue.

**Key words** : iron (Fe), divalent metal transporter 1 (DMT1), tissue distribution, body Fe depletion

\* To whom correspondence should be addressed.

Tel: +82-2-820-5668, E-mail: jdpark@cau.ac.kr

## 서 론

철(iron: Fe)은 생체에서 여러 과정의 물질대사에 필수적인 이온(essential metal)으로서 인체의 항상성을 유지하기 위해서 적절한 영양공급을 통한 체내 유지가 요구된다. 부적절한 철의 공급은 과잉으로 인한 철의 독성뿐만 아니라 부족시 여러 가지 생체작용에 영향을 줄 수 있다(Andrews, 1999; Reid *et al.*, 2001; Quinlan *et al.*, 2002; Moos and Morgan, 2004). 체내에서 철이 부족하거나 철의 요구량이 증가되는 경우에는 소장에서 철의 흡수가 증가됨으로 조절된다. 철의 대사에 대해서는 비교적 폭넓게 연구되어 온 편이다. 체내 흡수된 철은 혈중에서 transferrin과 결합하여 신체 각 부위로 이동하고 ferritin 상태로 저장된다(Richardson and Ponka, 1997). 그러나 아직까지 신체 각 수준에서 철의 이동과 조절기전에 대해서는 잘 이해되지 않고 있는 편이다.

Divalent metal transporter 1 (DMT1)은 소장에서 2가 이온 형태의 철 흡수와 이동에 관여하는 것으로 알려져 있는 금속 이동 단백질이다(Fleming *et al.*, 1997; Gunshin *et al.*, 1997). DMT1은 소장 특히 십이지장의 apical portion에 위치하여 장관내로부터 소장의 상피세포내로 철의 이동에 관여하는 것으로 이해되고 있다. 즉, 체내에서 철이 부족하거나 철 요구량이 증가되는 환경에서 소장 상피세포내의 DMT1 발현이 증가되어 소장에서 2가 철의 흡수를 증가시킨다. DMT1은 소장에서 뿐만 아니라 철을 필요로 하는 체내 여러 장기에도 분포하고 있으며, 철의 이동에 관여하고 있는 것으로 추정하고 있다(Trinder *et al.*, 2000; William *et al.*, 2000; Srai *et al.*, 2002; Wareing *et al.*, 2003; Griffin *et al.*, 2005). 따라서 체내에서 DMT1과 같은 금속이동단백질의 각 조직에서의 발현수준은 여러 경로를 통해 체내로 들어온 금속이온들의 체내 분포양상에 영향을 줄 수 있을 것으로 사료된다. 또한, *in vitro*와 *in vivo* 연구에서 DMT1은 철의 이동뿐만 아니라 망간, 아연 등 필수 금속이온(essential metals)과 카드뮴, 납 등 독성 비필수 금속이온(toxic, non-essential metals) 즉, 다양한 종류의 2가 금속이온의 이동에 관여하는 것으로 평가되고 있다(Gunshin *et al.*, 1977; Park *et al.*, 2002). DMT1의 조직내 분포

에 대한 이해와 체내에서 철 결핍상태에서의 각 조직에서 DMT1의 발현 정도에 대한 이해는 향후 금속이온의 체내 대사와 표적장기에 대한 연구 수행 및 조직수준에서 금속-금속간 상호작용(metal-metal interaction) 등을 이해하는데 있어서 매우 가치 있는 정보를 제공해 줄 수 있을 것으로 기대된다. 그러나 아직까지 포유동물에서 금속이동단백질의 조직내 분포양상과 조절에 대한 자료는 충분하지 않으며, 금속이동단백질의 발현에 대한 양적 자료는 그리 흔치 않은 편이다.

이번 연구에서는 mRNA의 발현정도를 정량적으로 측정 할 수 있는 real time RT-PCR 방법을 이용하여 정상 랫드에서의 DMT1의 조직에 따른 분포양상을 관찰하고, 철 결핍 식이를 이용하여 제작한 철 결핍 실험동물모델의 각 조직에서의 DMT1의 발현정도에 대한 정보를 확보함으로써 향후 금속이온의 표적장기에서의 역할과 대사 및 독성기전에 대한 연구를 위한 기본 자료를 마련하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물

실험동물은 21일령의 수컷 Sprague-Dawley male rat를 Samtaco사로부터 구입하여 이용하였다. 구입한 실험동물은 온도 약 22°C, 습도 55%, 채광 12시간인 동물사육실에서 사육하여 특별한 이상이 없음을 확인한 다음 실험에 사용하였다.

### 2. 철 결핍 실험동물 모델링

생후 25일된 실험동물을 실험군과 대조군으로 구분하여 각 군당 6마리씩 무작위 배당하였다. 실험군에는 철 결핍식이(FeD diet)를, 대조군에는 철 보완식이(FeS diet)를 공급하였다. 실험동물의 식이는 American Institute of Nutrition (Bieri *et al.*, 1977)의 권장량을 근거로 하여 FeD diet는 2~6 mg Fe/kg, FeS diet는 120 mg Fe/kg이 되도록 조성을 조절하였다. FeS diet와 FeD diet는 주문·제작하여 Harlan사(USA)로부터 구입하였고, 철 농도 이외에는 동일한 구성성분으로 조성하였다. 각 군의 실험동물에 FeS diet 또는 FeD diet를 4주 동안 공급하

였다. 이때 물은 증류수를 공급함으로써 철이 추가로 공급되는 것을 방지하였다. 실험기간동안 주당 2~3회 체중을 측정하여 실험동물의 체중변화를 관찰하였다. FeS diet 또는 FeD diet를 4주간 공급한 후 실험동물을 희생시켜 즉시 혈액을 채취하였고 폐, 간, 심장, 뇌, 신장, 비장, 고환 그리고 위, 소장 (duodenum, jejunum, ileum으로 구분하여 분리·채취) 및 대장을 적출하였다. 이때 mRNA 분석시 사용할 조직은 적출한 후 즉시 액체질소에 넣은 다음 추 후 분석때 까지  $-80^{\circ}\text{C}$ 에서 냉동보관하였다.

### 3. 실험동물의 체내 철 상태 평가

실험동물의 체내 철 부하 정도는 혈청내 철 수준과 각 장기의 조직내 철 수준으로 구분하여 평가하였다. 즉, 실험동물의 혈청내 철 수준은 Sigma Diagnostic Kit (USA)를 이용하여 총 철과 unsaturated iron binding capacity (UIBC)를 정량하였다. 각 장기의 조직내 철 농도는 실험동물로부터 적출한 조직을 극초단파 회화기 (Microwave Digestion System, MDS-2000, CEM Co.)로 습식·회화한 다음 원자흡광분광도계 (Atomic Absorption Spectrophotometer, Perkin-Elmer Model 5100)를 이용하여 flame 방법으로 정량하였다.

### 4. DMT1 mRNA 분석

각 장기의 조직내 DMT1 mRNA의 발현정도는 real-time PCR 방법을 이용하여 분석하였다. 즉, 각 조직으로부터 Tri Reagent<sup>®</sup> (Molecular Research Center, Inc.)를 이용하여 총 RNA를 분리하였으며, 분리된 각각의 RNA는 분광광도계를 이용하여 260 nm에서 정량하고 formaldehyde agarose gel 전기영동방법으로 확인하였다. 각 조직에서 얻은 RNA로부터 first strand cDNA를 Roche社로부터 구입한 1st strand cDNA synthesis kit (Germany)를 이용하여 제작하였다. 즉, RNA를  $65^{\circ}\text{C}$ 에서 15분간 보온한 후 얼음에서 식힌 다음 미리 준비된 RT mixture (10x Reaction buffer, 25 mM  $\text{MgCl}_2$ , Deoxynucleotide mix, random primer, RNase inhibitor, AMV reverse transcriptase 등)에 2  $\mu\text{g}$ 의 RNA를 첨가하여  $42^{\circ}\text{C}$  1시간,  $94^{\circ}\text{C}$  10분,  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 5분간 반응시켜 cDNA를 얻었다. 제작한 cDNA로부터 real-time PCR 방법 (ABI PRISM 7000, PE Applied Biosystems)

으로 DMT1만을 특이적으로 증폭시켰다. 증폭되는 amplicon의 형광 감지를 위해 SYBR<sup>®</sup> Green Master mix (PE Applied Biosystems)를 사용하였다. 즉, cDNA를 미리 준비된 PCR mixture (2X SYBR<sup>®</sup> Green I Master mix, forward and reverse primer 등)에 10  $\mu\text{L}$  첨가한 후 45 cycle의 PCR 반응 ( $50^{\circ}\text{C}$  2분,  $95^{\circ}\text{C}$  10분,  $95^{\circ}\text{C}$  15초,  $60^{\circ}\text{C}$  60초)을 시행하였다. cDNA의 주입량은 total RNA 12 ng으로 조절하였다. 이때 특이적으로 DMT1을 증폭하기 위하여 GenBank로부터 얻은 rats의 DMT1 (Accession No. AF008439; Gunshin *et al.*, 1997)의 complete coding sequence를 이용하여 미리 주문 제작한 특이적인 primer (forward primer, GTCCTGCATTGCACTCT-TTGTT; reverse primer, AGCCAGGGTAGAGTTGTCGTTA)를 이용하였다. 각 시료에서의 DMT1 발현정도를 표준화하기 위하여 GAPDH (Accession No. M17701; Tso *et al.*, 1985; forward primer, GGCTGTGGGCAAGGTCAT; reverse primer, TTTC-TCCAGCGGCATGT)를 internal standard로 사용하였다. FeS diet 또는 FeD diet군 실험동물에서 각 장기의 조직별 DMT1 mRNA의 상대적인 발현정도는 FeS diet군의 duodenum에 대한 상대값으로 산출하였다. PCR 결과 얻은 증폭된 DNA는 2% agarose gel을 이용하여 전기영동하여 ethidium bromide로 염색한 후 확인하였다.

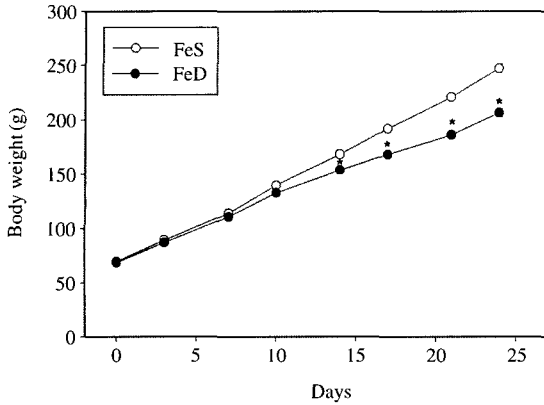
### 5. 자료분석

연구결과 얻은 자료의 통계학적 분석은 SAS package (version 8.01)을 이용하였으며 평균±표준오차로 나타내었다. 각 군 간의 평균치 비교는 unpaired Student's t-검정을 이용하였다.

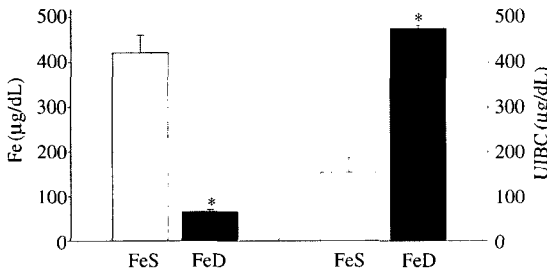
## 연구 결과

### 1. 체중변화

FeS diet군과 FeD diet군 모두에서 관찰기간동안 실험동물의 체중이 지속적으로 증가되었다 (Fig. 1). 체중증가의 양상은 FeS diet 또는 FeD diet를 공급한 후 약 10일까지는 두 군 간에 비슷하였으나 2주 이후에는 FeD diet를 공급한 군이 FeS diet군에 비해 체중증가가 적은 것으로 관찰되었다.



**Fig. 1.** The change of body weight gain in FeS (iron sufficient) or FeD (iron deficient) diet fed rats. Data are represented as mean  $\pm$  SE (n = 6). Asterisk indicates that FeD diet rats are significantly different from FeS diet rats (p < 0.05).

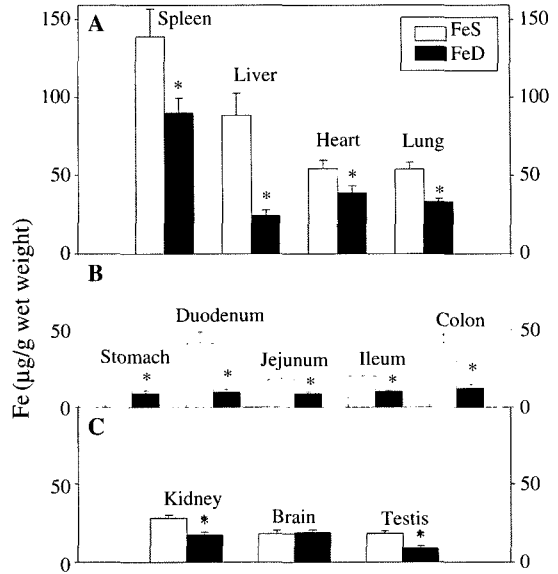


**Fig. 2.** Total Fe and UIBC, unsaturated iron binding capacity, in serum of FeS diet or FeD diet fed rats for 4 weeks. Data are represented as mean  $\pm$  SE (n = 6). Asterisk indicates that FeD diet rats are significantly different from FeS diet rats (p < 0.05).

## 2. 실험동물의 체내 Fe 수준

### 1) 혈청

FeS diet 또는 FeD diet를 4주 동안 공급한 실험동물의 혈청내 총 Fe와 UIBC로 체내 Fe 수준을 평가한 결과 FeS diet군에 비해 FeD diet군에서 Fe 결핍소견이 관찰되었다(Fig. 2). 즉, FeS diet를 공급한 실험동물의 혈청내 총 Fe량은 421.3  $\mu$ g/dL이었고 FeD diet군에서는 64.7  $\mu$ g/dL로서 FeS diet군에 비해 낮았고, 혈청내 UIBC는 FeD diet군이 476.4  $\mu$ g/dL로서 FeS diet군 152.9  $\mu$ g/dL에 비해 높았다.



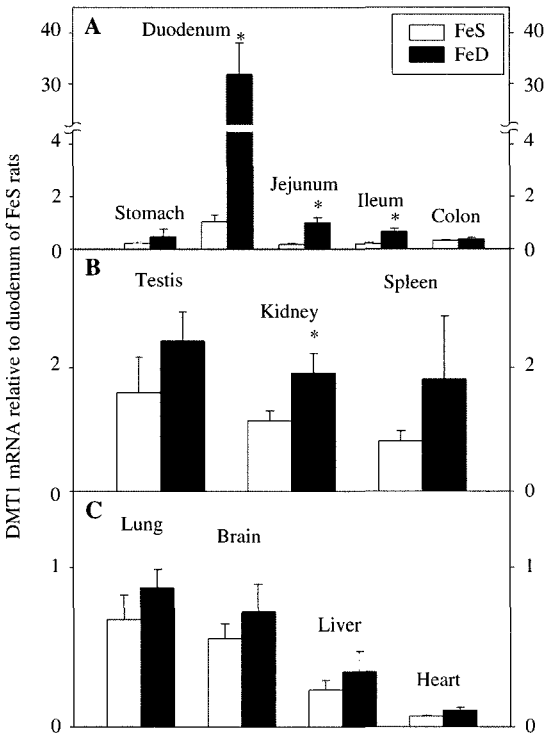
**Fig. 3.** Iron concentration in (A) spleen, liver, heart and lung; (B) stomach, duodenum, jejunum, ileum and colon; (C) kidney, brain and testis of FeS diet or FeD diet fed rats for 4 weeks. Data are represented as mean  $\pm$  SE (n = 6). Asterisk indicates that FeD diet rats are significantly different from FeS diet rats (p < 0.05).

### 2) 조직

FeS diet 또는 FeD diet를 4주 동안 공급한 실험동물의 조직내 평균 Fe 농도는 그림 3과 같다. 즉, FeS diet군 실험동물의 조직내 평균 Fe 농도는 비장에서 139  $\mu$ g/g wet weight로서 가장 높았고, 간 89  $\mu$ g/g wet weight, 심장과 폐에서 54  $\mu$ g/g wet weight 순이었다. 장관에서는 십이지장과 대장의 Fe 농도가 높은 것으로 관찰되었다. FeD diet를 공급한 실험동물에서는 십이지장, 대장, 간 및 고환 등 대부분 장기의 조직내 Fe 수준이 FeS diet군에 비해 매우 유의하게 낮은 것으로 관찰되었으며, 뇌조직의 Fe 농도는 비슷한 수준이었다.

### 3. DMT1 mRNA 발현 수준

FeS diet 또는 FeD diet를 4주 동안 공급한 실험동물 각 장기 조직에서의 DMT1 mRNA의 발현 정도는 그림 4와 같다. 즉, FeS diet군에서 고환, 신장 및 비장에서 DMT1이 높은 수준으로 발현되었고, 뇌, 간 및 심장에서는 상대적으로 낮은 수준으로



**Fig. 4.** Expression level of DMT1 mRNA in (A) stomach, duodenum, jejunum, ileum and colon; (B) testis, kidney, spleen; and (C) lung, brain, liver and heart of FeS diet or FeD diet fed rats for 4 weeks. Data are represented as mean  $\pm$  SE (n = 6). Asterisk indicates that FeD diet rats are significantly different from FeS diet rats (p < 0.05).

발현되었다. 장관에서는 십이지장에서 높은 수준의 DMT1 발현이 관찰되었다. FeD diet군에서는 FeS diet군에 비해 전반적으로 DMT1 mRNA의 발현이 증가되는 것으로 관찰되었다. FeD diet를 공급한 실험동물의 장관 조직에서의 DMT1의 발현은 현저하였으며, 특히 십이지장에서의 DMT1 발현은 매우 현저히 증가되었다.

**고 찰**

이번 연구에서 철 보완식이를 공급한 실험동물에서 장기에 따른 조직내 철 농도는 비장에서 가장 높았으며, 간, 심장과 폐 순이었고 신장, 뇌 및 고환 등 모든 조직에서 비교적 높은 수준으로 관

찰되었다. 소화기계에서는 십이지장과 대장의 철 농도가 높았다. mRNA 수준에서 분석한 DMT1은 실험동물로부터 적출한 장기의 모든 조직에서 발현되었다. DMT1의 발현은 고환과 신장 및 비장에서는 비교적 높은 수준으로 관찰되었고 폐와 뇌에 이어 간과 심장에서의 발현은 상대적으로 낮은 수준이었다. 장관에서는 십이지장에서 높은 수준의 DMT1 발현이 관찰되었다. DMT1은 철의 이동과 관련있는 막 단백질로서 transferrin과 결합되어 있지 않은 철의 세포내 흡수와 endosomal membrane에서 transferrin과 결합된 철이 유리되어 세포내에서의 철의 이동 등에 관련된 역할을 한다(Gunshin *et al.*, 1997; Fleming *et al.*, 1998; Donovan and Andrews, 2004). 이번 연구에서 생체에 필수 금속 이온인 철이 실험동물의 대부분 장기에서 비교적 높은 수준으로 유지되고 있으며 DMT1이 전신적으로 분포되어 있었다. 물질이동단백질의 조직내 분포양상과 발현정도는 해당 물질의 조직내 농도, 기능 및 대사 등과 관련이 있을 것(Abe *et al.*, 1998; Wu *et al.*, 2000)으로 미루어 볼 때, 본 연구에서 제시된 실험동물의 다양한 조직내 Fe 농도와 DMT1 발현양상 자료는 DMT1이 체내 각 장기에서 필요한 철의 항상성을 유지하는 역할에 관여하고 있음을 시사한다.

포유류에서 체내 Fe 수준이 부족한 경우 소화기계에서 장관내 Fe 흡수를 증가시킴으로서 체내 Fe의 항상성을 유지하려고 한다. 실험동물에서 체내 Fe 수준이 결핍되었을 때 장관, 특히 십이지장에서 DMT1의 발현이 증가되는 것으로 알려져 있다. 즉, Fe 결핍 식이를 공급한 실험동물에서 체내 Fe 결핍 상태가 초래되고 혈중 Fe 수준이 감소된다. 이때 소장 상피세포의 기저부에서 혈중 Fe 수준을 통하여 Fe 부족상태를 인지하고, 장관내에서 Fe의 흡수를 증가시킴으로서 Fe의 항상성을 유지하기 위하여 소장에서 DMT1의 발현이 증가되는 것으로 설명되고 있다(Gunshin *et al.*, 1997; Canonne-Hergaux *et al.*, 1999; Trinder *et al.*, 2000; Zoller *et al.*, 2001; Park *et al.*, 2002).

이번 연구에서 철 결핍식이를 4주 동안 공급한 실험동물에서 철 보완식이를 공급한 실험동물에 비해 체중증가의 감소와 함께 철 결핍소견이 관찰되었다. 즉, FeD diet 군에서 FeS diet 군에 비해 혈청내 총 Fe의 감소와 UIBC의 증가 및 대부분의

조직내 Fe 농도의 감소가 관찰되어 철 결핍식이에 의해 실험동물에서 철 결핍이 초래되었음을 알 수 있다. 철 결핍이 초래된 실험동물에서 대부분 장기의 조직내 DMT1 mRNA의 발현이 FeS diet 군에 비해 증가된 것으로 관찰되었다. 실험동물에서 체내 철 결핍에 의한 DMT1의 발현 유도 증가 정도는 장기에 따라 차이가 있었다. 즉, FeS diet 군에 비하여 FeD diet 군에서 DMT1의 발현은 장관조직에서 매우 현저하였다. 그리고 고환, 신장 및 비장에서는 FeD diet 군에서 FeS diet 군에 비해 DMT1의 발현이 약 60~120% 높았으며, 폐, 뇌, 간 및 심장에서는 FeS diet 군에 비해 약 30~50% 높아서 상대적으로 낮은 증가의 발현수준을 나타내었다.

장관내에서 DMT1의 발현양상을 볼 때 FeS diet 군의 소장중 십이지장에서 가장 높게 발현되었을 뿐만 아니라, FeD diet 군에서 Fe 결핍식이에 의한 체내 Fe 결핍에 대해서도 소장의 십이지장에서 매우 민감하게 반응하여 FeS diet 군에 비해 DMT1의 발현이 가장 현저하게 증가하였다. 또한, FeD diet 군에서 소장내 DMT1 mRNA의 발현 양상은 십이지장에서 말단부위로 갈수록 증가 폭이 감소되는 추세였다. 이는 이전 연구보고와도 일치되는 것으로서 장관내에서 철의 주된 흡수부위가 십이지장을 시사하는 결과이다 (Gunshin *et al.*, 1997). DMT1은 *in vitro* 연구에서 납과 카드뮴 등 2가 금속이온의 이동에도 관여하는 것으로 알려져 있으며, 철 결핍 모델을 이용하여 실험동물에 카드뮴을 경구투여한 후 24시간 또는 48시간에서 조직내 카드뮴농도를 분석한 연구에서도 소장의 부위별 카드뮴 농도는 십이지장에서 가장 높아서 철 결핍시 DMT1의 발현양상과 일치하는 결과가 보고된 바 있다 (Park *et al.*, 2002; Ryu *et al.*, 2004). 이는 전술한 바와 같이 금속이동단백질의 조직내 발현 정도는 금속이온의 분포 및 대사와 관련이 있음을 시사할 수 있는 자료의 하나이다.

외부로부터 부적절한 Fe의 공급이나 Fe의 체내 요구량이 증가되는 환경에서와 같이 체내에서 철 결핍이 초래됨으로서 DMT1의 발현이 증가되는 것은 공중보건학적으로 의의가 클 것으로 사료된다. 우리나라는 과도한 식이제한을 하고 있는 성장이 왕성한 시기의 여학생과 체내 Fe 요구량이 급격히 증가되는 임산부 등과 같이 Fe 결핍이 초래될 우려가 있는 인구집단이 비교적 많은 편이다. 체내

Fe가 부족한 환경에 있는 경우 카드뮴과 납 등 유해 중금속에 동일 량 노출되더라도 상대적으로 유해 중금속의 흡수량이 증가될 수 있다. 또한 Fe 부족으로 인해 체내 장기의 조직수준에서 Fe 농도가 감소됨으로서 유해 중금속의 표적장기에서의 손상에 좀 더 민감해질 수 있을 것으로 사료되어 risk group에 대한 관리가 요구된다.

FeS diet 군의 고환, 신장 및 비장에서의 DMT1 발현 정도는 상대적으로 높은 수준이었으며, FeD diet 군에서도 각 조직내 Fe 농도의 감소에 대하여 비교적 민감하게 반응하여 FeS diet 군에 비해 약 60~120% 증가되었다. 고환에서 철은 male fertility에 있어서 필수적이며, 정자형성과정 (spermatogenesis)에 있어서 요구되는 철의 운반에 DMT1이 기여하는 것으로 사료된다 (Griffin *et al.*, 2005). 신장에서의 DMT1의 발현은 요중으로 배설되는 철의 재흡수 역할에 관여하는 것으로 기대되며 (Warening *et al.*, 2003), 비장에서는 적혈구 형성에 요구되는 철의 이동과 관련이 있는 것으로 사료된다 (Cannon-Hergaux *et al.*, 2001). 간장내 철 농도는 철 결핍식이에 매우 민감하여 FeS diet 군에 비해 매우 유의하게 감소하였으나, 상대적으로 DMT1의 발현수준은 현저하지 않아서 FeD diet 군에서 FeS diet 군에 비해 약 30% 증가되었다. DMT1은 뇌와 심장에서의 Fe 항상성 유지에 중요한 역할을 할 것으로 사료되나 (Williams, 2000; Ke *et al.*, 2003), FeS diet 군에서의 DMT1의 발현 정도나 FeD diet 군에서의 DMT1 발현의 수준은 간에서와 같이 FeS diet 군에 비해 약 30~50% 증가된 수준으로서 상대적으로 낮은 것으로 관찰되었다. FeD diet 군에서 폐조직내 Fe 농도는 FeS diet 군에 비해 감소되었고, DMT1은 상대적으로 낮은 수준인 약 30% 증가되었다. 폐조직에서의 DMT1의 발현은 체내 Fe의 결핍상태에서 증가될 뿐만 아니라 기관지내로 과량의 철에 노출된 환경에서도 증가되는 것으로 보고된 바 있어 철 결핍시 십이지장에서 증가된 DMT1과는 다른 역할이 있는 것으로 이해되고 있다 (Wang *et al.*, 2002; Kwon *et al.*, 2004). 생체내에서 각 장기에서의 Fe 이동, 그리고 조직내 이동단백질의 발현 정도와 기능 및 역할에 대해서는 장기에 따른 특이성에 따라 좀 더 구체화된 연구가 필요하다.

## 결 론

철 (Iron, Fe)은 생체물질대사에 필수적인 금속이온으로서 인체의 항상성을 유지한다. Divalent metal transporter 1 (DMT1)은 철 이동단백질로서 소장에서 장관내로부터 철의 흡수와 조직에서는 endosome으로부터 세포내로 철의 이동에 관여한다. 이번 연구에서는 정상 랫트에서 금속이동단백질인 DMT1 mRNA의 조직내 분포양상과 철 결핍 실험 동물모델을 이용하여 철 결핍시 DMT1의 발현양상을 관찰하였다. Sprague-Dawley rat에 철 보완식이 (FeS diet, 120 mg Fe/kg) 또는 철 결핍식이 (FeD diet, 2~6 mg Fe/kg)를 각각 4주 동안 공급한 후, 체내 Fe 수준을 평가하고 조직내 DMT1 mRNA의 발현정도를 real time RT-PCR 방법을 이용하여 정량적으로 분석하였다. FeS diet 군에서 조직내 철은 비교적 높은 수준이었으며 모든 장기에서 DMT1의 발현이 관찰되었다. FeS diet 군에서 DMT1은 고환, 신장 및 비장에서 높은 수준으로 발현되었고, 뇌, 간 및 심장에서는 상대적으로 낮은 수준이었다. 장관에서는 십이지장에서 높은 수준으로 발현되었다. FeD diet 군은 FeS diet 군에 비해 체중증가의 감소, sFe 감소와 UIBC의 증가 및 조직내 철 농도의 감소로 철 결핍소견을 나타내었다. 실험동물의 체내 철 결핍은 조직내 DMT1의 발현수준을 증가시켰다. FeD diet 군의 소장, 특히 십이지장에서의 DMT1 발현은 FeS diet 군에 비해 매우 현저하게 높았다. 고환, 신장 및 비장에서는 FeS diet 군에 비해 DMT1의 발현이 약 60~120% 높았으며, 폐, 뇌, 간 및 심장에서는 약 30~50% 높았다. 요약하면 실험동물에서 DMT1의 발현정도는 장기에 따라 차이가 있으나 모든 장기에서 발현되었다. 철 결핍에 의해 소장의 십이지장에서 DMT1의 발현이 매우 현저히 증가되었고, 다른 조직에서도 DMT1의 발현이 증가되었으나 장기에 따른 차이가 있었다. 이번 연구결과로 볼 때 DMT1이 장관에서의 흡수를 통한 체내 철의 조절뿐만 아니라 각 장기에서 철의 항상성 유지에도 관여하고 있음을 시사한다.

## 감사의 글

이 논문은 2004년도 중앙대학교 학술연구비(일

반연구비) 지원에 의한 것입니다.

## 참 고 문 헌

- Abe T, Kakyo M, Sakagami H, Tokui T, Nishio T, Tanemoto M, Nomura H, Hebert SC, Matsuno S, Kondo H and Yawo H. Molecular characterization and tissue distribution of a new organic anion transporter subtype (oatp3) that transports thyroid hormones and taurocholate and comparison with oatp2. *J Biol Chem* 1998; 273: 22395-22401.
- Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *New Eng J Med* 1999; 341: 1986-1995.
- Bieri JG, Stoewsand GS, Briggs GM, Phillips RW, Woodard JC and Knapka JJ. Report of the American Institute of Nutrition ad hoc committee on standards for nutritional studies. *J Nutr* 1977; 107: 1340-1348.
- Canonne-Hergaux F, Gruenheid S, Ponka P and Gros P. Cellular and subcellular localization of the Nramp2 iron transporter in the intestinal brush border and regulation by dietary iron. *Blood* 1999; 12: 4406-4417.
- Canonne-Hergaux F, Zhang AS, Ponka P and Gros P. Characterization of the iron transporter DMT1 (NRAMP2/DCT1) in red blood cells of normal and anemic mk/mk mice. *Blood* 2001; 98: 3823-3830.
- Donovan A and Andrews NC. The molecular regulation of iron metabolism. *Hematol J* 2004; 5: 373-380.
- Fleming MD, Romano MA, Su MA, Garrick LM, Garrick MD and Andrews NC. Nramp2 is mutated in the anemic Belgrade (b) rat: Evidence of a role for Nramp2 in endosomal iron transport. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 1148-1153.
- Fleming MD, Trenor CC, 3rd, Su MA, Foerzler D, Beier DR, Dietrich WF and Andrews NC. Microcytic anaemia mice have a mutation in Nramp2, a candidate iron transporter gene. *Nat Genet* 1997; 16: 383-386.
- Griffin KP, Ward DT, Liu W, Stewart G, Morris ID and Smith CP. Differential expression of divalent Metal transporter DMT1 (Slc11a2) in the spermatogenic epithelium of the developing and adult rat testis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005; 288: 176-184.
- Gunshin H, Mackenzie B, Berger UV, Gunshin Y, Romero MF, Boron WF, Nussberger S, Gollan JL and Hediger MA. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature* 1997; 388: 482-488.
- Ke Y, Chen YY, Chang YZ, Duan XL, Ho KP, Jiang de H, Wang K and Qian ZM. Post-transcriptional expression

- of DMT1 in the heart of rat. *J Cell Physiol* 2003; 196: 124–130.
- Kwon M, Choi BS, Park ES, Chung NH, Park S, Lim Y and Park JD. The mechanism of iron transport after intratracheal instillation of iron in rats. *J Prev Med Public Health* 2004; 37: 329–336.
- Moos T and Morgan EH. The metabolism of neuronal iron and its pathogenic role in neurological disease: review. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1012: 14–26.
- Park JD, Cherrington NJ and Klaassen CD. Intestinal absorption of cadmium is associated with divalent metal transporter 1 in rats. *Toxicol Sci* 2002; 68: 288–294.
- Quinlan GJ, Evans TW and Gutteridge JM. Iron and the redox status of the lungs. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 1306–1313.
- Reid D, Snell G, Ward C, Krishnaswamy R, Ward R, Zheng L, Williams T and Walters H. Iron overload and nitric oxide-derived oxidative stress following lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2001; 20: 840–849.
- Richardson DR and Ponka P. The molecular mechanisms of the metabolism and transport of iron in normal and neoplastic cell. *Biochim Biophys Acta* 1997; 14: 1–40.
- Ryu DY, Lee SJ, Park DW, Choi BS, Klaassen CD and Park JD. Dietary iron regulates intestinal cadmium absorption through iron transporters in rats. *Toxicol Lett* 2004; 152: 19–25.
- Srai SK, Bomford A and McArdle HJ. Iron transport across cell membranes: molecular understanding of duodenal and placental iron uptake. *Best Pract Res Clin Haematol* 2002; 15: 243–259.
- Trinder D, Oates PS, Thomas C, Sadleir J and Morgan EH. Localization of divalent metal transporter 1 (DMT1) to the microvillus membrane of rat duodenal enterocytes in iron deficiency, but to hepatocytes in iron overload. *Gut* 2000; 46: 270–276.
- Tso JY, Sun XH, Kao TH, Reece KS and Wu R. Isolation and characterization of rat and human glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase cDNAs: genomic complexity and molecular evolution of the gene. *Nucleic Acids Res* 1985; 13: 2485–2502.
- Wang X, Ghio AJ, Yang F, Dolan KG, Garrick MD and Piantadosi CA. Iron uptake and Nramp2/DMT1/DCT1 in human bronchial epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 282: 987–995.
- Wareing M, Ferguson CJ, Delannoy M, Cox AG, McMahon RF, Green R, Riccardi D and Smith CP. Altered dietary iron intake is a strong modulator of renal DMT1 expression. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 285: F1050–F1059.
- Williams K, Wilson MA and Bressler J. Regulation and developmental expression of the divalent metal-ion transporter in the rat brain. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2000; 46: 563–71.
- Wu X, George RL, Huang W, Wang H, Conway SJ, Leibach FH and Ganapathy V. Structural and functional characteristics and tissue distribution pattern of rat OCTN1, an organic cation transporter, cloned from placenta. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1466: 315–327.
- Zoller H, Koch RO, Theurl I, Obrist P, Pietrangelo A, Montosi G, Haile DJ, Vogel W and Weiss G. Expression of the duodenal iron transporters divalent-metal transporter 1 and ferroportin 1 in iron deficiency and iron overload. *Gastroenterology* 2001; 120: 1412–1419.