

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

Minophagen Medical Review (2007.05) 52巻3号:153～165.

肝障害と鉄

高後裕

肝障害と鉄

高後 裕

旭川医科大学消化器・血液腫瘍制御内科学

Liver Injury and Iron

Yutaka Kohgo

Professor and Chairman, Division of Gastroenterology and Hematology/Oncology,
Department of Medicine, Asahikawa Medical College

SUMMARY

Iron is an essential metal involving hemoglobin synthesis of erythrocytes, oxidation/reduction responses of various cells, and cellular proliferation and apoptosis. It is well known that excess iron accumulation in the cell cause the production of reactive oxygen species which is harmful to the host. Dietary iron is absorbed in duodenum and upper part of small intestine, and is taken up by the liver through portal blood. Circulating iron in the serum is usually bound to transferrin, but excess iron is preset as a form of non-transferrin bound iron (NTBI), which is more toxic and accelerates tissue iron deposition. Liver is not only the first organ that dietary iron is passed through, but also that produce iron transport protein, transferrin and the iron regulatory peptide hormone, hepcidine. When iron is overloaded in the liver tissue, hepatocellular necrosis, fibrosis and carcinoma will be followed. Disease condition associated with hepatic iron deposition is called as iron overload syndrome and is classified into two categories, hereditary hemochromatosis and secondary iron overload. Hereditary hemochromatosis is the abnormalities of genes such as *HFE*, *hemojuvelin*, *hepcidin*, *ferroportin*, and *transferrin receptor 2*. As secondary iron overload, most common and severe conditions are derived from ineffective erythropoiesis thalassemia and long term transfusions. Recently, viral hepatitis, alcoholic hepatitis, and non-alcoholic steatohepatitis are considered to induce mild liver iron overload, and liver iron modifies these disease conditions. There are several modalities to reduce excess tissue iron, including phlebotomy, iron-restricted diet, and iron chelators. In order to clarify the iron-induced organ injury, understanding about such a complexed mechanism of iron metabolism is essential.

はじめに

鉄は、赤血球のヘモグロビン合成、各種細胞内の酸化還元反応、細胞の増殖・アポトーシスなどに関与する重要な金属である。鉄が過剰に存在すると、細胞に有害な活性酸素を産生させる。食餌性の鉄は、十二指腸と小腸上部で吸収され、門脈を介して肝臓へ取り込まれる。流血中の鉄は通常トランスフェリン(transferrin: Tf)と結合しているが、鉄が過剰になるとトランスフェリン非結合型鉄(non-transferrin-bound iron: NTBI)として存在し、細胞鉄沈着をより促進する。

肝臓は、食餌性鉄が最初に通過流入する臓器であると共に、鉄の貯蔵、鉄の輸送に関連する Tf や、生体鉄代謝全体を調節するホルモンであるヘプシジン(hepcidin)の産生を担う。肝臓に鉄が過剰沈着すると、肝細胞壊死、線維化、癌などが生じる。肝臓に鉄イオンが蓄積する病態は、一括して鉄過剰症候群(iron overload syndrome)と呼ばれ、遺伝性と二次性鉄過剰症に大別される。肝臓内の鉄量の増加はMRIにより判定が可能である。

遺伝性鉄過剰症は、*HFE*, *hemojuvelin*, *hepcidin*, *ferroportin*, *TfR2*などの遺伝子異常によるものである。二次性鉄過剰症の代表的な疾患は、サラセミアなどの無効造血に伴うもの、長期間輸血に伴うものなどが主であるが、最近、ウイルス性肝炎、アルコール性肝炎、非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)などの肝疾患において鉄が沈着し、これらの病態形成に関与していることが注目されている。過剰な鉄を除去する方法には、瀉血、鉄制限食の摂取、鉄キレート剤の投与などがある。生体の鉄代謝と鉄による肝病態修飾に関しては、鉄代謝に関する複雑な分子機構の理解が必須である。

1. 鉄の存在様式と細胞毒性

1) 生体内での鉄の存在様式

生体内の鉄は、ヘム鉄、非ヘム鉄または自由鉄(不安定鉄プール, labile iron pool: LIP)として

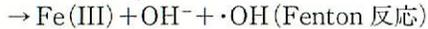
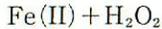
存在する。ヘム鉄は、ヘムのピロール環に2価鉄の形で配位し、赤血球のヘモグロビン、筋肉のミオグロビンなどで直接分子状酸素の結合・遊離に利用されるほか、ヘム含有酵素である cytochrome, oxygenase, peroxidase, nitric oxide (NO) synthase, guanylate cyclase に含まれ、生体の酸化・還元反応に欠かすことができない。特にヘム含有酵素は、薬物代謝などに重要な肝細胞に多く存在し、そのヘムが分解された場合、その産物として早期に出現するシャントビリルビンとして知られている。ヘムの分解にはヘム酸化酵素(heme oxydase: HO)が働いているが、このHOに異常が生じると、生体内の鉄代謝異常が引き起こされ、結果として酸化ストレス状態の亢進をもたらす、細胞障害などが生じる。

一方、非ヘム鉄は、ヘム鉄以外の生体内鉄の総称として用いられ、循環血液中に存在する Tf に結合した鉄(transferrin-bound iron)や、Tf が鉄で飽和状態になった時にアルブミンなどの他の血清蛋白と結合して生じる NTBI と細胞内のフェリチン鉄やヘモシデリン鉄があり、いずれも、鉄は3価の状態で結合している。フェリチンは、H鎖とL鎖の2種類の異なるサブユニットが計24個集合して形成される蛋白で、フェリチン1分子当たり約4,500分子の鉄イオンを貯蔵する。ヘモシデリンは、ライソソーム内でフェリチンやその他の蛋白質が変性し、不溶性鉄顆粒となって存在しているもので、細胞内で Pearl の鉄染色で青色に認められる鉄である。

その他、細胞内には、僅かながら自由鉄(不安定鉄プール)と言われる鉄分画が存在し、クエン酸やATPなどと結合し、低分子鉄複合体を形成し、細胞内での鉄の需要に応じた鉄の移動に重要であると考えられる。これらの自由鉄は、さらにフリーの2価鉄や3価鉄の供給源となり、redox-active ironとして細胞内における活性酸素種[reactive oxygen species (molecules): ROS]の産生に関わっている。最近、このLIPを fluorescent chelator を用いてモニターする技術が開発され、研究の進展が期待される。

2) 分子状酸素と細胞内自由鉄によるラジカル産生

生体が呼吸で得る分子状酸素のおよそ95%が還元されて水となるが、残りの数%はミトコンドリアやミクロソームの電子伝達系などで、完全には還元されていないROSを生成する¹⁾。ROSには、スーパーオキシド($O_2\cdot^-$)、過酸化水素(H_2O_2)、ヒドロキシラジカル($\cdot OH$)、一重項酸素(1O_2)、脂質ペルオキシラジカル($LOO\cdot$)、次亜塩素酸(ClO^-)などがある。 $O_2\cdot^-$ 産生に伴い H_2O_2 が生じるが、これには2価鉄がelectron donorとして働き、 H_2O_2 がさらに $\cdot OH$ へ転換される。



$\cdot OH$ は、ROSの中でも最も反応性が高く、生体局所の多糖類、蛋白質、核酸などの物質と容易に反応し細胞に障害を与えるため、生体にとって危険である。 $\cdot OH$ の標的分子の中で、特に核酸塩基との反応により生じる8-hydroxyguanine (8-OHG)は酸化ストレスに起因する変異原性、発癌に密接に関与する。 H_2O_2 と類似の反応性を示すものとして、脂質過酸化物(lipid hydroxyperoxide: ROOH)がある。鉄過剰状態では、malonedialdehyde(MDA)や4-hydroxy-2-nonenal (HNE)などの脂質過酸化物は増加し、その結果、アルキルオキシラジカル($ROO\cdot$)やアルコキシラジカル($RO\cdot$)が生じる。これらのラジカルは、 $\cdot OH$ より長命で、慢性の細胞障害やDNA切断効果がある。

このように、ROSにより生体内のさまざまな分子が修飾されるが、その一部は酸化ストレスマーカーとして利用され、主に脂質過酸化の指標としてはHNEが、また、DNA障害の指標としては8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG)がある。血清thioredoxinも酸化ストレスマーカーとして有用であるとされている。

2. 生体鉄代謝

1) 生体鉄代謝の分子機構

成人男子の体内鉄総量は約5gで、その65%は赤血球へヘモグロビン鉄、3.5%は筋肉のミオグロビン鉄やすべての細胞の呼吸酵素や薬物代謝酵素のヘム鉄として存在し、残りは貯蔵鉄で、肝臓・脾臓・骨髄に存在する。体内で必要な鉄の殆どは、赤血球へヘモグロビン鉄の再利用によりまかなわれるが、1日当たり約1~2mgの鉄が、腸管や皮膚粘膜細胞の剥離、脱落により喪失し、これに対応する食餌性鉄が消化管上部から吸収される。このように、生体鉄代謝は厳密に制御された半閉鎖系システムである。

近年、多くの関連分子が同定され、鉄の吸収、運搬、利用、貯蔵の生体内動態は、図1のように理解されるようになった。鉄は主に3価鉄の形で食餌中に含まれるが、上部小腸における腸管上皮細胞の腸管内腔側細胞膜上に存在するduodenal cytochrome b (Dcytb)によって2価鉄に還元される。2価となった鉄はdivalent metal transporter 1(DMT1)によって腸細胞内に運ばれ、その後、腸細胞の血管内腔側に存在するferroportin 1(IREG1/MTP1)によって血管内腔に放出される。その際には、hephaestinと呼ばれるセルロプラスミン(ceruloplasmin: Cp)と相同性を持つ分子が2価鉄として放出される鉄を3価鉄にする。血管内腔に入った3価鉄は、通常1分子のTfに対し2分子の鉄が結合した形で全身に運搬される。一部の鉄は肝細胞にトランスフェリン受容体(transferrin receptor: TfR)1およびTfR2を介して取り込まれるが、多くの鉄は骨髄における赤血球造血に利用される。

赤芽球内への鉄取り込みは、殆どがTfR1によって行われると考えられている。産生された赤血球は全身を循環するが、老廃赤血球は網内系のマクロファージにより捕捉され破壊される。そうして得られたヘム鉄は、HOで分解された後、ferroportin 1を介して2価鉄として細胞外へ放出されるが、その際にはCpの持つ鉄酸化作用に

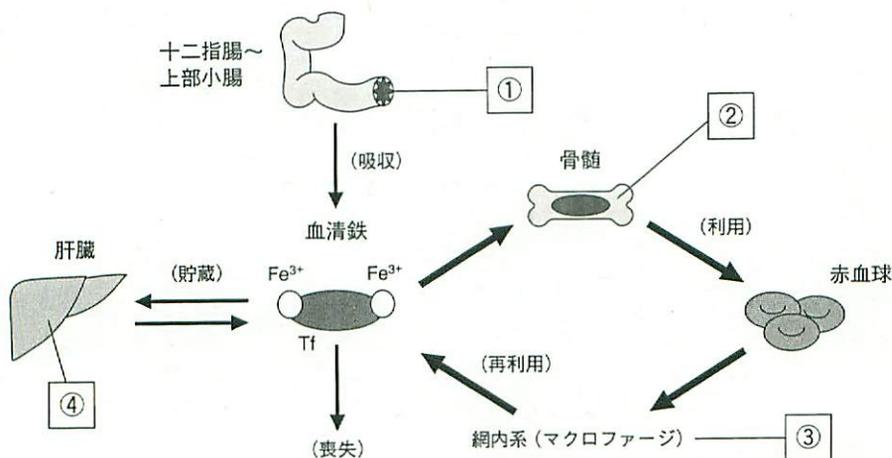


図 1-A 生体内鉄代謝の概略

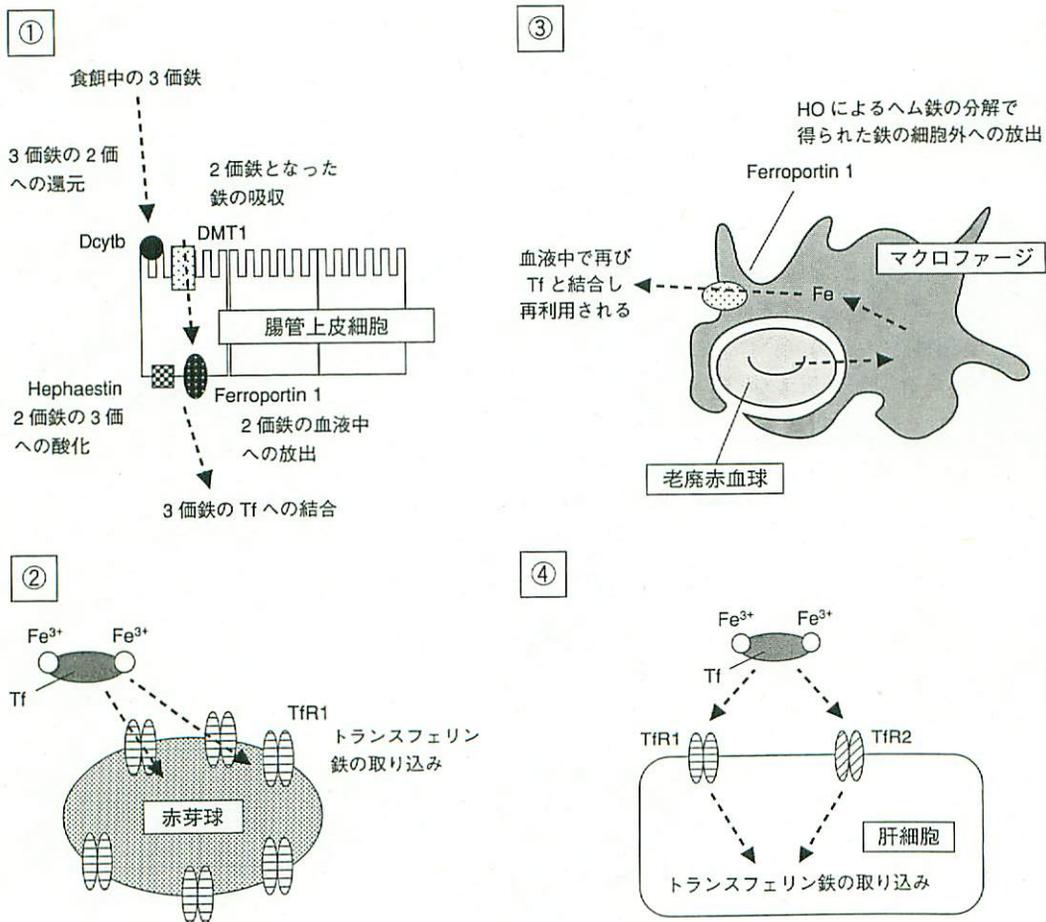


図 1-B 図 1-A における各段階での鉄代謝調節分子の関与

表1 鉄過剰症候群 (Iron Overload Syndrome)

A. 遺伝性鉄過剰症	
(1) 遺伝性ヘモクロマトーシス	HFE 関連ヘモクロマトーシス, non-HFE ヘモクロマトーシス
(2) フェリチン遺伝子(H サブユニット)異常	
(3) DMT1 遺伝子異常	
(4) セルロプラスミン遺伝子異常	
(5) トランスフェリン遺伝子異常(無トランスフェリン血症)	
B. 二次性鉄過剰症	
(1) 無効造血を来す疾患	サラセミア, 鉄芽球形貧血など
(2) 長期に亘る大量の輸血	
(3) 長期鉄剤投与	
(4) 食餌性鉄過剰症(アフリカ型鉄過剰症など)	
(5) 肝疾患に伴うもの	アルコール性肝障害, C型慢性肝炎, 非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)
(6) ポルフィリン症	
(7) その他	

よって再び3価鉄に酸化され、Tfに結合して、体内を循環し再利用される。

一方、生体は鉄を積極的に体外に放出する機構を備えておらず、こうした再利用される鉄が大部分を占め、半閉鎖的な回路を構築している。この半閉鎖系のシステムにおいて、何らかの理由で臓器に鉄が蓄積する状態が鉄過剰症候群で、主に肝臓・心臓・脾臓などの実質臓器に鉄が沈着し、臓器障害を起こす。鉄過剰症候群は、表1のように遺伝性と二次性鉄過剰症に大別される。

2) 細胞内鉄代謝の分子機構

大部分の鉄イオンは、ROSを産生して細胞を障害しないように、鉄の輸送や貯蔵を担う分子と結合しているが、それらの蛋白質の発現そのものが細胞内鉄イオン濃度により規定されて、細胞内鉄代謝のホメオスタシスが巧妙に制御されている。図2のように、TfR1は細胞膜表面に発現する蛋白で、血液中の鉄を結合したTfが結合すると、そのcomplexは細胞内にendocytosisによって取り込まれる。細胞内でendosome内のpHが低下すると鉄は解離し、endosome膜上に存在するDMT1によって細胞内に移動する。細胞内に移動した鉄はフェリチンに蓄えられる。このように、細胞内鉄代謝において中心的な役割を担う

TfR1とフェリチンであるが、その発現は細胞内自由鉄濃度によって翻訳(転写後)レベルで調節されていることがよく知られている。

TfR1とフェリチン(HサブユニットおよびLサブユニット)をコードしているmRNAの非翻訳領域には、鉄反応エレメント(iron responsive element: IRE)と呼ばれるmRNA上のstem-loop構造が存在する。細胞内には、そのIREに結合する鉄調節蛋白質(iron regulatory protein: IRP)が存在する。IRPは細胞内鉄のセンサーとして機能するが、IRP1とIRP2という二つのisoformが存在する。

IRP1はclassicalなIRPで、細胞内鉄イオンが十分に存在する状況下では細胞質内aconitaseとして働き、逆に細胞内鉄イオンが低下すると、活性中心の4Fe-4Sクラスター構造が変化し、IREに結合できるようになる。鉄だけではなく、NOやH₂O₂、interleukin(IL)-1やIL-6といった炎症性サイトカインなども、IRPのIREへの結合を促進させることが知られているが、これによってTfR1増加とフェリチン減少が起こり、細胞内の鉄が充分であるにも拘わらず、さらに鉄を蓄積し酸化ストレスを増強させる方向に向かう。こうした病態は、C型慢性肝炎やアルコール

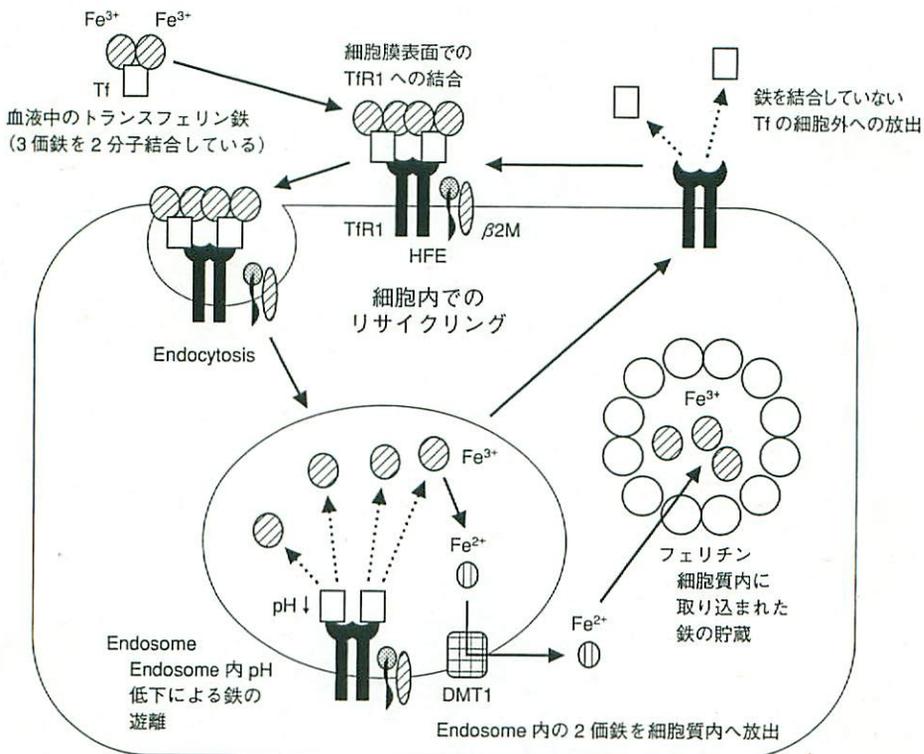


図2 肝細胞でのトランスフェリン鉄の取り込み機構

性肝障害においても認められる。

一方、IRP2は定常的に存在しているが、その細胞内濃度はプロテアソームによる分解で制御されており、この経路は、鉄欠乏、細胞内酸素濃度によるプロテアソームによる分解調節を受ける。例えば、細胞内低酸素状態では、プロテアソームにIRP2の分解が遅延するため、結果的にフェリチン低下とTfr1増加をもたらす。最近、定常状態での細胞内鉄代謝の調節にはIRP2が重要であることが明らかにされた。

3. 肝臓の鉄代謝機構

1) 肝細胞への鉄の取り込み機構

肝細胞へのトランスフェリン鉄の取り込みは、主にTfrを介して行われる。血液中に鉄が過剰に存在すると、Tfの鉄結合能は飽和され、余剰の鉄はNTBIの形で存在する²⁾。NTBIは主にアルブミンなどの血清蛋白質と結合している。Tfr

には、従来から知られているTfr1と、そのホモログであるTfr2の二つの分子種がある。Tfr1は、多くの細胞の細胞外トランスフェリン鉄を取り込む機構で、その合成はIRPにより調節を受ける³⁾。一方、Tfr2は、肝細胞で強く発現するが、Tfとの結合がより低いこと、HFEとは会合しないこと、細胞内の鉄濃度の変化による合成調節を受けないこと、などの特徴がある⁴⁾。

細胞内に取り込まれた鉄のうち、余剰の鉄はフェリチンに蓄えられる。フェリチンは、HサブユニットとLサブユニットの2種類のサブユニットが、24個集合して、1個のフェリチン分子を形成している。Hサブユニットには鉄還元酵素活性がある⁵⁾。鉄が過剰になると、リソゾーム内に過剰に蓄積したフェリチンは変性し、他の細胞内蛋白質と一緒に、不溶性のヘモシデリンとなって蓄積する。光学顕微鏡で認識されるPrussian blueで染色される鉄顆粒はヘモシデリン鉄であ

り、細胞内に余剰鉄が蓄積し、臓器障害のリスクが高いことを示している。L サブユニット遺伝子の異常では高フェリチン血症-白内障症候群が生じ、H サブユニット遺伝子異常では鉄過剰症が報告されている⁶⁾。また、H サブユニット遺伝子のホモログで、ミトコンドリアに存在するフェリチンがある⁷⁾。ミトコンドリアフェリチンは、細胞質からミトコンドリア内への鉄の輸送に関連し、細胞内鉄代謝に重要な役割を果たしている⁸⁾。

2) 肝臓内鉄量の測定

これまで、高度の肝臓内鉄沈着がある場合には、CT 画像においてCT 値の増強が見られることは知られている。一方、肝臓内に貯蔵された鉄量を客観的に定量するには、肝生検組織ホモジネートを bipyridil 法により呈色させ吸光度を指標として測るか、原子吸光法を用いて物理的に定量する方法が用いられてきたが、材料の採取が侵襲的かつ操作中の鉄の混入が見られる場合があるなど、技術的に容易ではなかった。臨床的には、肝臓内貯蔵鉄量と血清フェリチン量が比例することより、血清フェリチンの測定で代用させることが一般的であるが、炎症が高度な時や、肝細胞からの逸脱がある場合には、値の評価が難しいことが欠点であった。SQUID (super conducting quantum interference device) を用いることにより肝臓内鉄量を定量することができるが、残念ながら機器が普及していない。それに対して、MRI を用いて R2 値を算出することにより、肝臓内の鉄量を定量することができることが示され、世界的にはこの方法が普及しつつある⁹⁾。

3) 肝細胞由来鉄代謝制御ホルモン、ヘプシジン

生体には鉄を積極的に体外に排出する機構がないため、鉄は主に消化管での吸収と網内系での貯蔵・放出のレベルで調節を受けることになる。こうした調節は、骨髄での造血状態や、肝での鉄貯蔵状態に影響を受け、かつ生体内で鉄の吸収・貯蔵・利用の部位が各々離れていることから、鉄代謝を調節する液性因子の存在が長年想定されていた。最近、それに対応する物質として、肝で産生

される内因性抗菌ペプチドであるヘプシジンと呼ばれる塩基性ペプチドが発見された。ヘプシジンは小腸での鉄吸収およびマクロファージからの鉄の遊離などを抑制する負の調節因子 (negative regulator) と考えられる¹⁰⁾。ヘプシジンは、肝臓で合成され、鉄過剰や炎症状態で産生が増加する¹¹⁾。ヘプシジンが上昇すると、腸細胞に存在する ferroportin 1 と結合して、その発現を低下させ、結果として腸管からの鉄吸収が低下する¹²⁾。最近、血清中の活性型ヘプシジン (hepcidin-25) が、SELDI-TOF MS により定量可能であることが報告された¹³⁾。

4) 肝細胞内鉄の C 型肝炎ウイルス増殖、細胞内シグナル伝達への影響

C 型慢性肝炎のインターフェロン治療成績の解析では、肝内鉄量が高値または血清フェリチンが高い患者にインターフェロン無効例が多い¹⁴⁾。細胞内に過剰に蓄積した鉄イオンは、細胞のアポトーシスや肝線維化を引き起こす一方、ホストの免疫反応を修飾したり、ウイルス増殖に影響を与える可能性が挙げられている。THEURL らは、HepG2 細胞と肝生検組織を用いて、HCV の翻訳に必須の translation initiation factor 3 (eIF3) が、鉄の負荷によりその mRNA と蛋白が増加すること、生検肝組織で鉄濃度と eIF3mRNA、HCV 発現が正の相関を示すことを報告した¹⁵⁾。この報告は、C 型慢性肝炎組織で鉄濃度が高いことが、HCV の肝内増殖に有利に働くことを示している。一方、HCV のレプリコンシステムを用いた研究では、鉄が HCV ウイルス蛋白と RNA を劇的に減少させ、その機序として鉄イオンが HCV RNA polymerase (NS5B) と特異的に結合し、その活性を抑制することにあるとし、感染初期のウイルスの免疫からの逃避に有利であるとした¹⁶⁾。このように、鉄と HCV 増殖との直接的因果関係については、結論は得られておらず、使用する細胞、鉄イオン濃度、注目する転写因子などによってその結果が異なることが予想され、更なる検討が必要であろう。

表2 遺伝性ヘモクロマトーシスの分類

		原因遺伝子産物	遺伝子座	遺伝子異常	遺伝形式
Type 1		HFE	6p21.3	<i>HFE</i> 変異	AR*
Type 2	Subtype A	Hemojuvelin	1q21	<i>HJV</i> 変異	AR
	Subtype B	Hepcidin	19q13	<i>HAMP</i> 変異	AR
Type 3		Transferrin receptor 2	7q22	<i>TfR2</i> 変異	AR
Type 4		Ferroportin 1	2q32	<i>SLC40A1</i> 変異	AD**

*AR: autosomal recessive (常染色体劣性遺伝), **AD: autosomal dominant (常染色体優性遺伝)

4. 鉄過剰症候群

1) 遺伝性ヘモクロマトーシス

遺伝性ヘモクロマトーシス (hereditary hemochromatosis: HH) は、欧米諸国に多い遺伝性疾患で、肝臓をはじめとした全身に鉄の過剰な沈着を来し、酸化ストレスによる細胞障害などから、最終的には重度の臓器障害をもたらす。1996年、この疾患の原因遺伝子として、HFE がヒト第6番染色体上に同定された¹⁷⁾。欧米のHH患者の約85%に、HFE 遺伝子に C282Y 変異がホモとなっていることが見出されているが、他の遺伝子変異が原因と考えられるHH患者も発見されるようになり、現在では原因遺伝子によって表2のように分類される。

最も多いのは、HFE 遺伝子変異によるものであるが、HFE 蛋白の詳細な生理的機能は未だ充分には解明されていない。hemojuvelin (HJV) やヘプシジン遺伝子変異が原因の症例が存在することも判明し、それらは若年から症状が発現する¹⁸⁾。TfR2 遺伝子にも多数の変異が報告されており、いずれもHHが引き起こされていることから、TfR2 は鉄の取り込みだけではなく、鉄のセンサーとして機能する可能性が想定されている¹⁹⁾。ferroportin 1 は、細胞内の2価鉄イオンを細胞外へ能動的に排出する transporter であり、腸管上皮細胞では吸収された鉄の血管内への移送に、また、網内系細胞では老廃赤血球の破壊から得られた鉄を放出し再利用に回す役割を担っている分子であるが、現在まで多数の変異が知られており、それらは他のHHと異なり、常染色

体優性遺伝形式ではあるものの、同様な鉄過剰状態をもたらす²⁰⁾。

HH 以外でも、フェリチン H サブユニットの IRE 領域に点突然変異 A49T を認める家系では、肝臓・心臓などに鉄が過剰に沈着する上、多発癌が報告されており⁶⁾、また、DMT1 に 1285G>C 変異が生じることから、小球性低色素性貧血と肝への鉄沈着が認められる症例の報告がある²¹⁾。また、セルロプラスミン (Cp) 遺伝子異常を認める家系では、無 Cp 血症の他に、脳・肝臓・膵臓に鉄沈着が見られ、錐体外路症状や糖尿病を来す。これらの鉄過剰症においても、過剰の鉄沈着からの酸化ストレスによる細胞障害が生じている。

2) 二次性鉄過剰症

遺伝的素因がないにも拘わらず、二次的に鉄過剰症が生じることがある。ヘモグロビン (hemoglobin: Hb) 合成に先天的な異常を認めるサラセミアや、再生不良性貧血、鉄芽球性貧血などの難治性貧血では、骨髄中で無効造血を来すと共に長期に亘る大量の輸血が行われるため、鉄が過剰に肝臓・心臓・膵臓などに沈着し、肝不全、心不全、糖尿病の重症化などを引き起こし、患者の予後を左右する因子であることが古くから知られている。近年、C型慢性肝炎、アルコール性肝障害、非アルコール性脂肪性肝炎などの肝疾患に伴う鉄過剰があり、これらの病態を悪化、修飾することが注目されるようになった。さらに、過剰の鉄は、発癌を促進し、動脈硬化、糖尿病などの生活習慣病の予後を悪化させると考えられている。

5. 慢性肝疾患における鉄過剰

1) C型慢性肝炎における鉄過剰

C型慢性肝炎の生検組織で、肝内鉄濃度が高い症例では、インターフェロンの治療効果が低いことが知られている²²⁾。われわれの検討でもC型慢性肝炎群では正常肝組織と比較して明らかに鉄の過剰蓄積を認め、肝線維化のステージが進展するに伴い鉄蓄積の程度が強くなった。肝細胞内の貯蔵鉄は主にフェリチン、ヘモシデリンに隔離されているが、C型慢性肝炎のように鉄の過剰蓄積が見られる場合には、それと並行して肝細胞内自由鉄が増えてくる。遷移元素で容易に電子の受け渡しができる自由鉄は、酸素の存在下でFenton反応によってフリーラジカルを産生し、酸化ストレスを介した肝機能障害の重要な要因の一つになっている。

このようなC型慢性肝炎における肝臓の鉄沈着が起こる機序としては、幾つかの可能性が考えられている。慢性C型肝炎患者において鉄動態を検討した林らの論文では、体内総鉄量に変化はなく、むしろ鉄のコンパートメントが他の臓器から肝臓へシフトした可能性を示している²³⁾。C型慢性肝炎における鉄沈着をPrussian blue染色の強度で検討すると、stageの進行に伴い総鉄量が増加し、特に肝実質細胞で著しい。われわれは、肝細胞への何らかの鉄の取り込み機序の亢進が起こる可能性を考え、血清中のトランスフェリン鉄を細胞内へ搬入する分子であるヒト肝臓におけるTfR1の発現が、正常肝細胞では殆ど発現していないのに対し、C型慢性肝炎の初期からTfR1の発現亢進が見られ、その状態はstage 1から4まで続き、肝での炎症の持続が、TfR1の持続的発現を招来していることを明らかにした。また同時に、2価鉄イオンの膜トランスポーターであるDMT1についても検討したが、DMT1は肝臓内の鉄沈着が高度になってきたstage 3ないし4では、DMT1の発現はむしろ減少しており、通常の細胞内鉄量の増加によって発現が低下することも示している²⁴⁾。このことは、慢性炎症局所での

鉄代謝が、炎症性サイトカインの影響を受けていることを示すもので、C型慢性肝炎における鉄貯蔵は、主に慢性炎症に伴う二次的変化である可能性が高い。

最近、垣内らは、肝炎組織のRT-PCR法により、TfR2 mRNAの定量を試み、B型肝炎よりC型肝炎で、よりTfR2 mRNAの発現が亢進していることを示し、TfR1のみならず、TfR2も炎症時の肝細胞内への鉄の取り込みに何らかの関与をしている可能性を示唆しており、興味深い²⁵⁾。一方、慢性C型肝炎を、慢性の酸化ストレス負荷状態と考えると、肝臓に由来する鉄代謝調節ホルモンであるヘプシジンの動態に関心が持たれる。C型慢性肝炎患者やアルコール性肝障害患者の血清中のプロヘプシジンは低下傾向にあり、そのことから腸管での鉄吸収の増加が生じ、肝臓での鉄沈着に寄与している可能性も指摘されている。

2) アルコール性肝障害・非アルコール性脂肪性肝炎における鉄の過剰蓄積

アルコール性肝障害の増悪因子として、鉄の重要性は古くから注目されている。アルコール摂取により鉄の吸収が増加すると共に、肝臓では肝細胞とKupffer細胞の両者に鉄の沈着が見られるが、病初期には肝細胞での鉄沈着が優位である²⁶⁾。鉄沈着が高度になるとアルコール性鉄過剰症と呼ばれる状態になり、線維化の重要な促進因子になる。動物実験においても、アルコールを慢性摂取させると肝に鉄が沈着し、アルコールによる肝障害を増悪させることが報告され、肝細胞内の過剰鉄がフリーラジカルを産生し肝細胞に障害を与えるものと考えられている。われわれは、アルコール性肝障害患者の肝組織生検を用いた免疫組織化学染色により、細胞内への鉄取り込みに関与する主要蛋白であるTfR1の発現が肝細胞で増加して、禁酒によりその発現が低下すること、アルコール性肝障害において鉄の蓄積とフリーラジカルの産生が相関することを脂質過酸化反応により生じるHNE protein adductsの発現が亢進することで報告した²⁷⁾。さらに、ラットの初代培

養肝細胞を用いてエタノール負荷による Tfr の発現の変化とその調節機構について検討し、エタノール、特にその代謝産物であるアセトアルデヒドが IRP 活性の上昇を介して Tfr1 の発現を誘導し、これにより Tfr1 を介した鉄の取り込みが増加し、このことがアルコール性肝障害患者の肝における鉄の過剰蓄積の機序の一つであることを明らかにした²⁸⁾。さらに、先に触れたヘプシジンの関与が注目されている²⁹⁾。すなわち、アルコール摂取により肝細胞でのヘプシジン産生が低下すると共に、上部消化管での食餌性鉄の吸収が亢進する。

また、非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)のセカンドヒットとしての鉄の役割が注目されると共に、実際に、瀉血により NASH における肝機能の改善が認められている³⁰⁾。

3) 鉄と肝発癌

鉄が肝発癌に関与するというエビデンスを検証してみると、特発性ヘモクロマトーシス患者では肝細胞癌の発生率が高く、大規模な Cohort 調査および case control study で、鉄代謝に関連する血清鉄、Tf 飽和度、血清フェリチンなどのマーカーと癌の発生および癌関連死を比較すると、生体の鉄貯蔵の増加に応じて一般的に発癌のリスクが上がる事が示されている。肝細胞癌でも同様の傾向が見られるが、アルコール摂取や HFE 遺伝子異常、ポルフィリアの併発など、交絡因子を除外できず、断定的なものは少ない。しかし、肝臓での過形成結節周辺の肝組織では鉄量が多く、肝硬変は肝癌患者の肝臓内鉄量は、対照群のそれより多いことが明らかで、ヘモクロマトーシス以外の患者でも肝臓内鉄量と肝細胞癌の発生とは関係があるとする仮説は、1989年に HANN らにより既に提唱されている³¹⁾。動物では、1980年代に鳥類で鉄過剰と肝腫瘍の関係が論じられ、ヒト Wilson 病と同じ遺伝子異常を持つ LEC ラットで同時に鉄が沈着し、鉄欠乏食により肝炎、肝癌の発症を予防できることを、われわれのグループが初めて示した³²⁾。

しかしながら、多くの動物実験では、大量の鉄

錯体単独負荷によって、肉腫や腎癌などの誘発は成功しているが、肝癌ができることは証明されていない。現在までのところ、化学発癌剤による肝発癌モデルで鉄を負荷すると発癌過程での progression 効果は明らかであり、基盤の肝発癌に関連する遺伝子異常にさらに付加的遺伝子異常を付加していく際の鉄の役割がより重要であると考えられる。鉄が肝臓に過剰に沈着すると、肝細胞障害、肝線維化を引き起こすと共に、酸化ストレスの誘導、腫瘍増殖の促進、および免疫システムの修飾の三つを通して、発癌に関与すると考えられている。

臨床的には、C型肝炎の抗ウイルス療法無効例や非適応例では、血清 ALT を低値に保つことが、肝線維化の進展抑制と肝発癌予防に有効であることが明らかになってきている。この際に、肝臓内では、鉄の減少と共に、脂質過酸化の指標である HNE の低下や DNA 障害を表す 8-OHdG の低下が認められる。これまでの世界的なエビデンスから、瀉血と鉄制限食が血清 ALT を低下させることは明らかであり、長期的な観察により、肝発癌を予防できる可能性がある。KATO らは、インターフェロン不応性の C 型慢性肝炎患者 34 名を対象に、瀉血と鉄制限食の指導を行い、その後 6 年間経過観察した。その結果、血清 ALT 値の有意な改善と共に、肝臓内の ROS の産生に伴って生じ、動物実験で発癌と密接に関与する 8-OHdG が正常化することを見出した。同時に、肝線維化の改善が見られた³³⁾。YANO らも、瀉血後の長期観察により組織学的 staging の進行が阻止されることを認めている³⁴⁾。KATO らの観察期間中には、瀉血群での肝細胞癌の発生が認められなかったことより、長期的に鉄制限を行うことで、肝細胞癌の予防効果が得られるものと期待される。

肝発癌が予防できるか否かを結論するには、インターフェロン療法や ALT を改善するグリチルリチン製剤や漢方薬による治療と同様、大規模な前向き試験が必要である。現在、体内貯蔵鉄を軽減させる方法としては、瀉血、鉄制限食による栄

養指導、鉄キレート剤の三つの方法がある。現在市販されている鉄キレート剤はデフェロキサミン (desferrioxamine: DFO) のみであるが、今後、より効果的で副作用のない製剤で出てくることが期待されており、生体内の鉄代謝のコントロールによる肝障害・肝発癌の制御もより容易になると考えている。

6. 瀉血、鉄制限食による慢性肝疾患の制御

欧米で発症頻度の高い遺伝性ヘモクロマトーシスは、鉄の過剰蓄積が肝障害の原因であり、肝硬変、肝癌へと進展するが、これに対して瀉血が効果を挙げている。瀉血は、最も簡便に体内鉄を除去できる古典的手法で、1回200~400 mlの瀉血で0.2~0.4 gの鉄を除去できる。近年、C型慢性肝炎に対する瀉血療法が、治療抵抗性患者の肝機能の改善に有効で保険適応されることとなった。瀉血療法は、治療前ALT値が100 IU/ml以下の非肥満者で、より改善効果が大きい³⁵⁾。瀉血療法終了後の経過を見ると、6カ月以内に血清ALT値が再上昇してくる症例が多く、瀉血療法の効果を維持するために、追加瀉血、鉄制限食、または追加瀉血と鉄制限食の併用が推奨されている³⁶⁾。特に、瀉血療法では人工的な貧血状態になっているために十二指腸からの鉄吸収は亢進しており、瀉血療法において鉄制限食の併用の有用性が報告されていることは理に適っている。健常成人の1日必要鉄摂取量が男性で10 mg、女性で12 mgなのに対し、C型慢性肝炎の患者では鉄の多い食品表等を参考にして鉄が多く含まれる食品の摂取を控えさせ、1日鉄摂取量が7 mg以下になるよう指導する。患者が服用している健康食品の中にも鉄含有量の多いものがあるので注意する。

わが国では、鉄過剰を防ぐ唯一の治療薬がDFOであった。DFOは静脈内または筋肉内投与されるが、静脈内の血中半減期は約5~10分しかないのが欠点で、特に血小板の低下が合併している再生不良性貧血や骨髓異形成症候群などで慢性輸血による鉄過剰症を生じている場合には、連日投与が不可能で、かつコンプライアンスが不良で

あった。このため、コンプライアンスの良好な鉄キレート剤の開発が望まれていた。最近、欧米で deferriprone と ICL670 という経口鉄キレート剤が開発された³⁷⁾。deferriprone は、ヨーロッパで既に認可されている経口剤であるが、顆粒球減少症の副作用が出やすいという問題がある。一方、ICL670 は新規トリゼント鉄キレート剤 N-substituted bis-hydroxyphenyl-triazoles であり、1日1回水に懸濁して服用する薬剤で、定期的なDFO投与と同等の有効性が認められる。有害事象も他剤に比べ少なく、コンプライアンスを高めることができるのが特徴で、サラセミアや再生不良性貧血、不応答性貧血に対する長期間輸血に伴う鉄過剰症の治療に利用されるようになった³⁸⁾。

おわりに

近年、鉄代謝の分子機構の研究により、鉄と酸化ストレスの関連、酸化ストレスの慢性肝疾患における重要性など、多くの新知見が得られてきた。C型慢性肝炎、アルコール性肝障害、非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)などの慢性肝障害における鉄沈着は、炎症と鉄代謝の関連、鉄と肝脂肪化、線維化、肝発癌などを考える上で重要な問題である。

文 献

- 1) Hukkiwell B, Gutteridge J: Free radicals in Biology and Medicine. 3rd ed. Oxford: Clarendon Press; 1999.
- 2) Shindo M, Torimoto Y, Saito H, *et al.*: Functional role of DMT1 in transferrin-independent iron uptake by human hepatocyte and hepatocellular carcinoma cell, HLF. *Hepatol Res* 2006; 35(3): 152-162.
- 3) Rouault TA: The role of iron regulatory proteins in mammalian iron homeostasis and disease. *Nat Chem Biol* 2006; 2: 406-414.
- 4) West AP Jr, Bennet MJ, Sellers VM, *et al.*: Comparison of the interactions of transferrin receptor and transferrin receptor 2 with transferrin and the hereditary hemochromatosis protein HFE. *J Biol Chem* 2000; 275: 38135-38138.
- 5) Boyd D, Vecoli C, Belcher DM, *et al.*: Structural and functional relationship of human ferritin H and

- L chains deduced from cDNA clones. *J Biol Chem* 1985; **260**(21): 11755-11761.
- 6) Kato J, Fujikawa K, Kanda M, *et al.*: A mutation, in the iron-responsive element of H ferritin mRNA, causing autosomal dominant iron overload. *Am J Hum Genet* 2001; **69**(1): 191-197.
 - 7) Bou-Abdallah F, Santambrogio P, Levi S, *et al.*: Unique iron binding and oxidation properties of human mitochondrial ferritin: a comparative analysis with Human H-chain ferritin. *J Mol Biol* 2005; **347**(3): 543-554.
 - 8) Nie G, Chen G, Sheftel AD, *et al.*: *In vivo* tumor growth is inhibited by cytosolic iron deprivation caused by the expression of mitochondrial ferritin. *Blood* 2006; **108**(7): 2428-2434.
 - 9) St. Pierre TG, Clark PR, Chua-anusom W, *et al.*: Noninvasive measurement and imaging of liver iron concentrations using proton magnetic resonance. *Blood* 2005; **105**(2): 855-861.
 - 10) Ganz T, Nemeth E: Regulation of iron acquisition and iron distribution in mammals. *Biochem Biophys Acta* 2006; **1763**(7): 690-699.
 - 11) Inamura J, Ikuta K, Jimbo J, *et al.*: Upregulation of hepcidin by interleukin-1beta in human hepatoma cell lines. *Hepatol Res* 2005; **33**(3): 198-205.
 - 12) Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, *et al.*: Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004; **306**(5704): 2090-2093.
 - 13) Tomosugi N, Kawabata H, Wakatabe R, *et al.*: Detection of serum hepcidin in renal failure and inflammation by using ProteinChip System. *Blood* 2006; **108**(4): 1381-1387.
 - 14) Olynyk JK, Reddy KR, DiBisceglie AM, *et al.*: Hepatic iron concentration as a predictor of response to interferon alpha therapy in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 1995; **108**(4): 1104-1109.
 - 15) Theurl I, Zoller H, Obrist P, *et al.*: Iron regulates hepatitis C virus translation via stimulation of expression of translation initiation factor 3. *J Infect Dis* 2004; **190**(4): 819-825.
 - 16) Fillebeen C, Rivas-Estilla AM, Bisailon M, *et al.*: Iron inactivates the RNA polymerase NS5B and suppresses subgenomic replication of hepatitis C virus. *J Biol Chem* 2005; **280**(10): 9049-9057.
 - 17) Feder JN, Gnirke A, Thomas W, *et al.*: A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary hemochromatosis. *Nat Genet* 1996; **13**(4): 399-408.
 - 18) Pietrangelo A: Non-HFE hemochromatosis. *Semin Liver Dis* 2005; **25**(4): 450-460.
 - 19) Hattori A, Wakusawa S, Hayashi H, *et al.*: AVAQ 594-597 deletion of the TFR2 gene in a Japanese family with hemochromatosis. *Hepatol Res* 2003; **26**(2): 154-156.
 - 20) Pietrangelo A: The ferroportin disease. *Blood Cells Mol Dis* 2004; **32**(1): 131-138.
 - 21) Mims MP, Guan Y, Pospisilova D, *et al.*: Identification of a human mutation of DMT1 in a patient with microcytic anemia and iron overload. *Blood* 2005; **105**(3): 1337-1342.
 - 22) Van Thiel DH, Friedlander L, Fagioli S, *et al.*: Response to interferon alpha therapy is influenced by the iron content of the liver. *J Hepatol* 1994; **20**(3): 410-415.
 - 23) Shiono Y, Hayashi H, Wakusawa S, *et al.*: Body iron stores and iron restoration rate in Japanese patients with chronic hepatitis C as measured during therapeutic iron removal revealed neither increased body iron stores nor effects of C282Y and H63D mutations on iron indices. *Nagoya J Med Sci* 2001; **64**(1-2): 51-57.
 - 24) Saito H, Fujimoto Y, Ohtake T, *et al.*: Up-regulation of transferrin receptor 1 in chronic hepatitis C: Implication in excess hepatic iron accumulation. *Hepatol Res* 2005; **31**: 203-210.
 - 25) 垣内雅彦, 竹尾雅樹, 足立幸彦: C型肝炎ウイルスによる慢性肝炎と鉄蓄積. 日本鉄バイオサイエンス学会編, C型肝炎における鉄毒性と除鉄療法. 医薬ジャーナル社; 2004. pp. 170-119.
 - 26) Kohgo Y, Ohtake T, Ikuta K, *et al.*: Iron accumulation in alcoholic liver diseases. *Alcohol Clin Exp Res* 2005; **29**(11 Suppl): 189S-193S.
 - 27) Ohhira M, Ohtake T, Matsumoto A, *et al.*: Immunohistochemical detection of 4-hydroxy-2-nonenal-modified-protein adducts in human alcoholic liver diseases. *Alcohol Clin Exp Res* 1998; **22**(3 Suppl): 145S-149S.
 - 28) Suzuki M, Fujimoto Y, Suzuki Y, *et al.*: Induction of transferrin receptor by ethanol in rat primary hepatocyte culture. *Alcohol Clin Exp Res* 2004; **28**(8 Suppl Proceedings): 98S-105S.
 - 29) Harrison-Findik DD, Schafer D, Klein E, *et al.*: Alcohol metabolism-mediated oxidative stress down-regulates hepcidin transcription and leads to increased duodenal iron transporter expression. *J Biol Chem* 2006; **281**(32): 22974-22982.
 - 30) Nakashima T, Sumida Y, Furutani M, *et al.*: Elevation of serum thioredoxin levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatol Res* 2005; **33**(2): 135-137.
 - 31) Hann HW, Kim CY, London WT, *et al.*: Increased serum ferritin in chronic liver disease: a risk factor

- for primary hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 1989; **43**(3): 376-379.
- 32) Kato J, Kobune M, Kohgo Y, *et al.*: Hepatic iron deprivation prevents spontaneous development of fulminant hepatic and liver cancer in Long-Evans Cinnamon rats. *J Clin Invest* 1996; **98**(4): 923-929.
- 33) Kato J, Kobune M, Nakamura T, *et al.*: Normalization of elevated hepatic 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels in chronic hepatitis C patients by phlebotomy and low iron diet. *Cancer Res* 2001; **61**(24): 8697-8702.
- 34) Yano M, Hayashi H, Wakusawa S, *et al.*: Long term effects of phlebotomy on biochemical and histological parameters of chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2002; **97**(1): 133-137.
- 35) Kawamura Y, Akuta N, Sezaki H, *et al.*: Determinants of serum ALT normalization after phlebotomy in patients with chronic hepatitis C infection. *J Gastroenterol* 2005; **40**(9): 901-906.
- 36) Kimura F, Hayashi H, Yano M, *et al.*: Additional effect of low iron diet on iron reduction therapy by phlebotomy for chronic hepatitis C. *Hepatogastroenterology* 2005; **52**(62): 563-566.
- 37) Neufeld EJ: Oral chelators deferasirox and deferoxamine for transfusional iron overload in thalassemia major: new data, new questions. *Blood* 2006; **107**(9): 3436-3441.
- 38) Cappellini M, Cohen A, Piga A, *et al.*: A phase 3 study of deferasirox (ICL670), a once-daily oral iron chelator, in patients with beta-thalassemia. *Blood* 2006; **107**(9): 3455-3462.

著者紹介



高後 裕(こうご ゆたか)

1974年 札幌医科大学卒業
同 大学院入学(癌研究内科専攻)

1975年 Albert Einstein College of Medicine,
生化学教室

1976年 Tufts University School of Medicine,
生化学教室

1979年 札幌医科大学助手(癌研究所内科学部門)

1982年 同 講師(内科学第四講座)

1988年 同 助教授

1994年 旭川医科大学教授(内科学第三講座)

2006年 同 教授(消化器・血液腫瘍制御内科学)
同 病院光学医療診療部長(併任)

旭川医科大学医学部内科学講座
消化器・血液腫瘍制御内科学分野
〒078-8510 北海道旭川市緑ヶ丘東2条1-1-1
Tel: 0166-68-2462