

# AMCoR

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

旭川医科大学研究フォーラム (2000) 創刊号:12.

Metal Biologyとその臨床応用

高後 裕

## 依頼論文 A (総説)

## Metal Biologyとその臨床応用

高 後 裕\*

## 【要 旨】

鉄は生体の主要な金属で、ヘモグロビン合成や生体酸化に必須な分子である。

過剰な鉄は、Fenton反応によりラジカルを産生させ、毒性が強い。そのため、生体の鉄代謝すなわち、Nramp-2による腸管吸収、トランスフェリンによる血中輸送、トランスフェリン受容体による細胞内への取り込み、フェリチンによる貯蔵などは、分子レベルで厳密に調節され、鉄の毒性から逃れている。大部分の細胞には、フェリチンとトランスフェリン受容体の合成を転写後調節して、細胞の鉄イオン濃度を至適に保つiron responsive protein (IRP) による制御系が存在する。IRPはフェリチンやトランスフェリン受容体mRNAのiron responsive element (IRE) と結合するトランス作動性因子である。骨髄の赤芽球では、さらに、急激な細胞増殖とヘモグロビン合成に対応するため、転写調節機構も存在する。著者らは、血清中の可溶性トランスフェリン受容体が骨髄の赤血球造生や鉄量を反映することを初めて見出し、その測定は新たな生体鉄代謝を推測する方法として認められている。さらに、細胞内の過剰な鉄は潜在的に毒性があり、肝疾患や心血管疾患に病態を修飾させることが明らかになってきた。C型慢性ウイルス肝炎では、肝細胞に鉄の沈着が認められ、瀉血治療により鉄を除去すると肝機能は改善する。この方法は、インターフェロンが効かない肝炎患者に対する代替治療法として注目されている。

**キーワード** 鉄、トランスフェリン受容体、ラジカル

## はじめに

鉄は地球上でもっとも多く存在する金属であり、大部分が鉄鉱石として存在している。この鉄は地球が誕生した後、光合成を行う植物により酸素が空气中に大量に発生、そのため、それまで2価のイオンとして水中に溶けていた鉄が、酸化され水に不溶性となり3価鉄として沈殿したものである。このように、鉄イオンは、2価と3価の状態を容易に行ききするため、生物も細胞内の酸化還元反応を触媒し、ヘモグロビンが酸素を結合させる部位の金属として利用している。しかし、過剰な鉄イオンの存在は、フェントン反応を介してただちにラジカルを発生させるものになるため、細胞にとってきわめて危険な存在である。したがって、生物は鉄の脅威から身を守ると同時に、それを上手に使う手段を進化の過程で身に付けてきた<sup>1)</sup>。その特徴は、(1)鉄イオンを常時保存し、必要に応じて利用す

る手段を持ち、外界からの鉄の摂取が足りなくなる状態に常に備えていること、(2)必要以上の鉄は消化管から吸収されない機構を備え、過剰な鉄が体内に入ることを防いでいること、(3)生物にとって有毒となるフリーな形での鉄イオンを存在させず、できるだけ蛋白質と結合させ不活化した状態にしていることなどである。しかし、このような巧妙な機構を有していても、その破綻は多かれ少なかれ、起きるわけであり、鉄の欠乏や過剰な状態は、体の種々な病的状態を修飾する。

## 生体鉄代謝のフレームワークとその分子機構

生体の鉄は総量にして約2gで、生体微量元素の4分の3を占めている。生体中の鉄イオンの中で一番多いのがヘモグロビン鉄で、赤血球の酸素運搬に働いている。その他、筋肉内のミオグロビンも酸素供給に重要である。一方、出血などで鉄が緊急に欠乏する際に備えて、貯蔵鉄としての予備が肝臓、脾臓にフェリチ

\* 旭川医科大学 内科学第3講座

ン、ヘモシデリンとして存在する。これらの貯蔵鉄プールから血管内で血漿成分としてトランスフェリンが、鉄イオンの必要な細胞へ鉄を供給している。細胞内では、酸化還元に必要なミトコンドリアに含まれる酵素群、鉄-硫黄クラスターを活性中心に持つ酵素群、ミクロゾームのP450酵素群、DNA合成酵素などに鉄が含まれ、総量からみれば微量であるが、生体の機能維持にきわめて重要な役割を担っている。

生体に必要な鉄の大部分は、赤血球ヘモグロビン鉄の再利用と、貯蔵鉄プールからの動員でおこなわれるため、鉄の消化管からの吸収は1日2 mgときわめて少ない。生体には鉄イオンの能動的な排出機構は存在せず、皮膚や消化管粘膜の細胞剥離による鉄喪失があるのみであり、通常はそれに対応する鉄が消化管から吸収されれば良いことになる。鉄欠乏性貧血の際には、この消化管からの鉄吸収が亢進する。

血清中のトランスフェリンは、Fe(III)を結合し、細胞表面のトランスフェリン受容体と結合する。トランスフェリン受容体遺伝子のノックアウトマウスでは、機能的な受容体が発現しない胎児は子宮内で死亡し、1コピーのみ発現しているマウスは、重度の小球性低色素性貧血が生じる<sup>2)</sup>。トランスフェリン受容体に結合したトランスフェリンは、エンドサイトーシスにより、細胞内へとりこまれた後、エンドソームのpHが酸性にシフトし、トランスフェリンに結合して

いた鉄はエンドソーム内に遊離する。この酸性に変化したエンドソームは、その後細胞表面へもどり、鉄を離したアポトランスフェリンは細胞外へ放出され、再利用される。トランスフェリン受容体も再び、血清中のトランスフェリンとの結合に利用される。

フェリチンとトランスフェリン受容体の発現は、細胞内鉄イオン濃度の多寡により、翻訳(転写後)レベルで調節される。細胞内鉄イオンの低下でトランスフェリン受容体蛋白合成の亢進とフェリチン合成の低下が、鉄イオン濃度の上昇でトランスフェリン受容体合成の低下とフェリチン合成の亢進がおこる。この調節には、鉄調節蛋白質(iron regulatory protein, IRP)とそれらに相補的に結合するmRNAの非翻訳領域に存在する28塩基のループ構造をもつ鉄反応エレメント(iron responsive element, IRE)との相互作用が関係している<sup>3)</sup>(図1)。IREはフェリチンmRNAの5'-UTRに1個、トランスフェリン受容体mRNAの3'-UTRに5個存在し、IRPが5'-UTRのIREに結合するとmRNAの翻訳が阻害される一方、3'-UTRで結合すると、mRNAのribonucleaseによる分解が阻害され、結果的にmRNAは安定化し、翻訳が促進する。IRPの活性中心には鉄-硫黄のクラスター構造(4Fe-4SH)が存在し、主に細胞内鉄イオンの多寡が、このクラスター構造を正常に保つか否かを規定する。細胞内の鉄イオン濃度が十分であると、4Fe-4SH構造が保たれるた

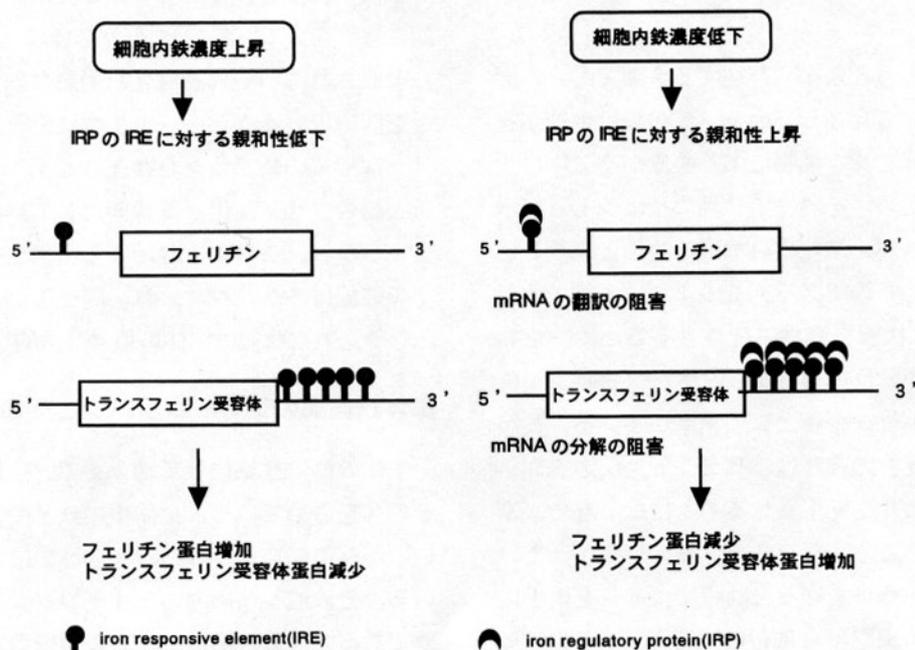


図1 トランスフェリン受容体のIRP/IREを介した転写後合成調節

IREに対するIRPの親和性は、細胞内の鉄濃度が増えると低下し、逆に鉄濃度が減少すると増強する。IRPがIREに結合するとフェリチン産生は減少し、トランスフェリン受容体産生は増強する。

め、IRPはIRE配列に結合できず、細胞質内にフリーで存在し、この状態でIRPは細胞質アコニターゼとして機能する<sup>4)</sup>。

トランスフェリン受容体の発現が細胞内の鉄イオン濃度のみで調節をうけているのであれば、トランスフェリン依存の細胞内への鉄イオンの取り込みは、過剰には起こりえない。しかし、細胞内鉄イオンが十分量あるにもかかわらず、細胞内へのトランスフェリン受容体を介した鉄の取り込みが増加する状態がある。過酸化水素、一酸化窒素などの酸化ストレスやエリスロポイエチンにより、IRPのIREとの結合能が増加する<sup>5, 6, 7)</sup>。

1996年にFederらは原発性ヘモクロマトーシスの原因遺伝子をリンケージ解析で同定、HFE (当初HLA-H) と命名した<sup>8)</sup>。この遺伝子はヒトMHC class I 様遺伝子であり、生合成されたHFE蛋白は、 $\beta$ 2ミクログロブリンのlight chainと非共有結合で会合している3つの細胞外ドメイン( $\alpha 1, \alpha 2, \alpha 3$ )が膜結合heavy chainと共有結合した構造をとっている<sup>9)</sup>。細胞内で合成されたHFEは、他のclass I分子と同様、 $\beta$ 2ミクログロブリンと結合し、エンドソームから細胞表面へ表出される。ところで、原発性ヘモクロマトーシスは、欧米でもっとも多い遺伝性疾患であり、白人の200人に1人はそのキャリアーである。遺伝子解析の結果、ヘモクロマトーシス患者ではCys282Tyr変異およびHis63Asp変異が、それぞれ90%, 数%に認められる<sup>10)</sup>。これら変異HFEをCOS細胞に発現させると、変異HFEは $\beta$ 2ミクログロブリンと結合せず、また細胞表面へも表出されない。このことは、トランスフェリン受容体のリサイクル機構に、HFEが重要な意義をもつことを示している。ちなみに、 $\beta$ 2ミクログロブリン遺伝子やHFE遺伝子をノックアウトしたマウスでも鉄過剰症が引き起こされることから、HFEと $\beta$ 2ミクログロブリンの会合は、細胞内のトランスフェリン受容体の生理的リサイクル機構にきわめて重要で、いずれか両者の遺伝的異常が実質細胞内の鉄沈着をおこすことを示している<sup>11)</sup>。

このように、異常HFE分子は、細胞に鉄過剰をひきおこすわけであるが、ここまで述べてきた事象では、異常HFEはむしろトランスフェリン受容体のリサイクル機構を障害することになり、実質細胞における鉄沈着を説明しえない。そこで、HFE蛋白の生理機能は何か問題となる。一つには、トランスフェリンの

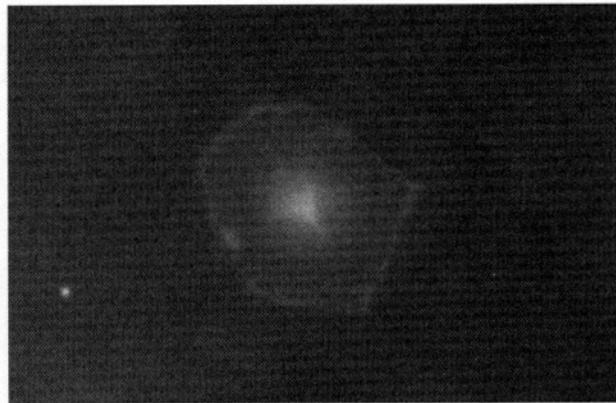


図2 HFE-GFP融合遺伝子導入肝癌細胞

トランスフェリン受容体に対する親和性は、HFEが存在することにより低下することが報告されている。この場合のトランスフェリン受容体の結合親和性は、比較的low濃度のトランスフェリン存在下で算出されるため、実際に大過剰の血清トランスフェリンが存在する流血中でトランスフェリンのトランスフェリン受容体への結合が生理的に抑制できるか疑問がある。われわれは、正常HFE遺伝子とgreen fluorescent protein (GFP) 遺伝子を融合させたキメラ遺伝子を作成、ヒト肝癌細胞株であるHLF細胞に導入し、HFE高発現細胞を作成、細胞鉄代謝の変化を検討した<sup>12)</sup>。遺伝子導入細胞を蛍光顕微鏡でみた写真を図2に示すが、HFEは、細胞表面と細胞内とくに核周囲のエンドソームに分布している。正常HFEは、細胞へのトランスフェリン鉄の取り込みを抑制する効果があり、その機序として細胞表面でトランスフェリンのトランスフェリン受容体に対する結合親和性を低下させることに加えて、トランスフェリンの細胞内リサイクリング機構の遅延、とくに核周囲に存在するrecycling endosomeが細胞表面へ戻る速度を遅延させることを見出した。このように正常HFEは、細胞内への過剰な鉄蓄積をnegativeにおさえる生理的機能があると考えられる。したがって、このような機能を欠落したHFEの存在は、当然細胞への鉄の取り込みを亢進させる原因の一つになる。

Nramp2/DMT1 (natural resistance associated macrophage protein 2/ divalent metal transporter 1) は、十二指腸粘膜細胞の鉄イオンの吸収にかかわる、膜を6回貫通する2価金属のトランスポーターとして、鉄欠乏ラットの腸粘膜mRNAをアフリカツメガエル卵細胞に導入、functional assayを行い、<sup>59</sup>Feの取り込みを指標として同定されたものである<sup>13)</sup>。当初、

divalent cation transporter 1 (DCT-1)と命名され、その遺伝子は、先天性の鉄欠乏性貧血をきたすmk/mk mouseやBelgrade ratで見出されていたnatural resistance associated macrophage protein 2 (Nramp2)と同一のものであった<sup>14,15)</sup>。一方、Nramp 2と相同性を有するNramp1は、当初マウス遺伝子のBcg/Ity/Lsh locusにあるSalmonella, Leishmania, Mycobacteriumなどの細胞内病原体に対する抵抗遺伝子として同定されていた<sup>16)</sup>。おそらく、マクロファージに貪食された細菌から鉄イオンを奪い去り、細菌の増殖抑制に働くと考えられるが、単純にlysosome膜でNramp2と逆方向に働くiron transporterではなく、その正確な機能はいまだ明らかにされていない<sup>17)</sup>。それに対しNramp2は、腸管細胞、赤血球に存在し、まず、細胞外から細胞内への鉄イオンの搬入に関わり、さらに細胞内エンドソーム膜での鉄イオンの輸送にも関わっている<sup>18)</sup>。細胞質へくみ出された遊離鉄イオンは、クエン酸やATPと結合して低分子鉄複合体を形成する一方、一部はFe(II)、Fe(III)など自由鉄として存在し、ヘムや含鉄酵素に必須な金属として利用される。十二指腸粘膜細胞に局在するNramp2は、鉄欠乏性貧血の際に高発現するが、その調節機構として、Nramp2 mRNAにもトランスフェリン受容体やフェリチンmRNAに存在するIRE配列があることにより説明可能である。この発見によって、鉄の消化管吸収におけるmucosal iron block theory (Granick)が証明されたことになる。さらにNramp2のホモログであるmalvolioを欠損したショウジョウバエ(*Drosophila melanogaster*)では、ヒトの鉄欠乏性貧血患者で生じるpica(異食症)と同様、正常な状態で食べない食物を食べる異常な摂食行動をとるようになり、鉄投与で改善される<sup>19)</sup>。

もう一方、細胞内の鉄イオンが細胞外へ能動的に排出される機構は明らかでなかった。Donovanらは、熱帯魚の1種であるzebrafishを用い、ethylnitrosoureaで突然変異を起こさせ、低色素性貧血を生じさせるzebrafishの遺伝子ferroportin 1をクローニングした<sup>20)</sup>。Ferroportin 1を発現させたアフリカツメガエルの卵細胞は、鉄を細胞外液中のアポトランスフェリンへ効率よく受け渡す。さらに、この遺伝子のホモログをマウスで同定、十二指腸、大腸粘膜、肝、脾臓、胎盤の細胞に強く発現していることを明らかにした。十二指腸では、クリプトより絨毛のbasolateral側に多く発現している。胎盤でのferroportin1の発現様式からみ

ると、母体から胎児への鉄の輸送にも重要である。最終的に腸管内からの鉄の十二指腸の腸細胞における吸収と、その後の血管内への鉄イオンのトランスフェリンへの受け渡しは、Nramp2/DMT1, ferroportin1の関与で説明できそうである。

## 鉄と造血

赤血球が産生される過程でヘモグロビン合成が起こり、多くの鉄が必要とされる。すなわち、ヘモグロビン合成に必要な鉄イオンは、血清トランスフェリンから赤芽球へ急速に取り込まれる。この機構は、血管内のトランスフェリン鉄が赤芽球表面に増加したトランスフェリン受容体を介して取り込まれることにより行われる。

最近、この急激なトランスフェリン受容体の増加は、転写レベルでおきることが明らかになってきた。すでに述べたように、多くの細胞では、トランスフェリン受容体の発現はIRPのIREとの結合によって調節されている。しかし、赤血球の分化過程において、トランスフェリン受容体mRNAのレベルは細胞内鉄濃度にあまり影響されず、しかもIRP活性も一定に維持されている<sup>21)</sup>。このことは、赤血球系と非赤血球系細胞では、トランスフェリン受容体遺伝子発現の主たる調節機構が異なっていることを示唆している。赤血球系では、鉄の取り込みが単純にIRPとIREの両者の関係で規定されると、ヘモグロビン合成に必要な鉄イオンの供給が不十分になる可能性がある。ヒト末梢血幹細胞をIL-3, erythropoietinで順次刺激すると、細胞数が増加し塩基性前赤芽球が出現、その後、ヘモグロビン合成を伴って、多染性から正染性赤芽球となり、最終的に成熟赤血球に分化していく。赤血球の分化過程でのトランスフェリン受容体mRNAと蛋白の発現は、赤血球分化過程の中期に最大でヘモグロビン合成に対応してより顕著であり、その前の増殖が著しい時期をしのいでいる<sup>22)</sup>。細胞が急激に分裂・増殖を起こす時期にも鉄イオンを必要とするため、赤血球系、非赤血球系のいずれでも、転写レベルでトランスフェリン受容体の合成が亢進する。この細胞増殖に関連するトランスフェリン受容体の転写制御機構の研究がおこなわれており、転写開始サイトの100 bp上流に、それに関連する配列が存在する(図3)。この調節エレメントにはAP-1/CRE様のSP-1/GC rich配列がふくまれており、最近そのエレメントはhypoxia response elementであ

ることが明らかになった<sup>23,24)</sup>。さらに、赤芽球の分化過程の中期ではヘモグロビン合成が最大となるが、このレベルも転写段階で調節をうけている可能性が考えられ、K562やHEL細胞ではEts-1が関与していることが示されている。Ets-1はavian erythroblastosis virus E26の転写因子v-Etsの細胞ホモログで、ヘム合成酵素であるporphobilinogen deaminaseや、各種ヘモグロビン遺伝子の発現調節領域に共通して認められる配列に結合するGATA-1を介して赤血球分化を促進する。実際、Ets-1を線維芽細胞にトランスフェクトすると、トランスフェリン受容体のプロモーター活性が2~3倍に増強する<sup>25)</sup>。このように、一般的な細胞増殖でのトランスフェリン受容体発現増加と、ヘモグロビン合成とリンクしている赤芽球増殖の調節機構の差は、さらに組織ないし分化段階で特異的なtransacting factorが関与していることを示唆するものである。トランスフェリン受容体は、赤芽球内でリサイクリ

表1 鉄の関与が重要と思われる病態(鉄過剰症は除く)

|  |
|--|
| (1) 心血管系疾患; アテローム動脈硬化症<br>虚血再灌流障害                      |
| (2) 炎症; 慢性関節リウマチ, 慢性肝炎                                 |
| (3) 脳神経疾患; アルツハイマー病<br>パーキンソン病<br>くも膜下出血               |
| (4) 発癌; 肝癌, 腎癌, アスベストによる胸膜中皮腫                          |
| (5) 老化   |
| (6) その他; 薬物による障害(アルコール, バラコートなど)<br>肺疾患 (ARDS など), 感染症 |

ングする過程で、その一部はシェディングされ細胞外へ放出され、血清中に可溶性受容体として存在する。この現象は、われわれが最初に見出したものである<sup>26)</sup>。血清中の可溶性トランスフェリン受容体濃度は、主に骨髓造血能とくに赤血球造血を反映し、骨髓穿刺にかわる新しい非侵襲的血清マーカーとして世界的に認め

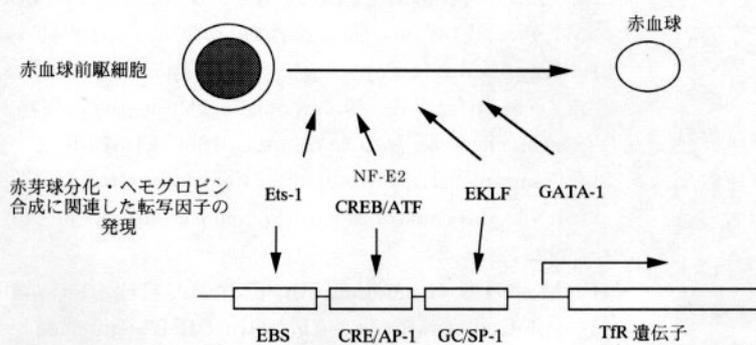
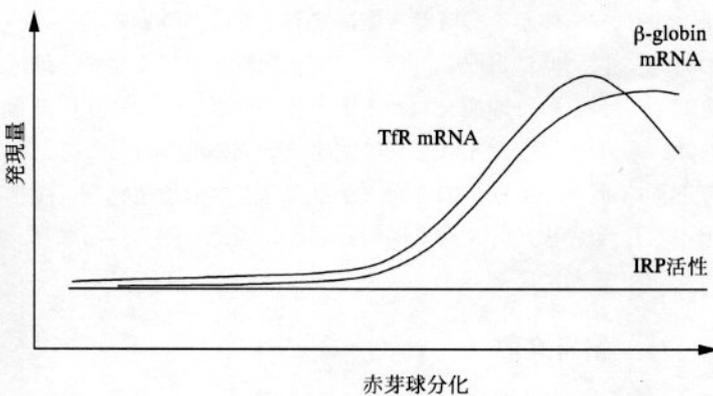


図3 赤血球分化とTfR転写制御

赤芽球では、細胞内IRP活性は変化がないが、TfRmRNAの増加がみられ、IRE/IRPとは別の発現制御機構が存在する。赤芽球の分化過程ではヘモグロビン合成に関連した種々の転写因子が分化の過程で発現してくるが、それらの転写因子はTfRのプロモーター領域に結合し、転写レベルでTfRの発現を増強していると考えられている。

EBS:Ets-binding site, CRE:cyclic AMP responsive element, CREB:CRE-binding proteins, ATF:activating transcription factors, NF-E2:nuclear factor-erythroid 2, EKLF:erythroid kruppel-like factor

られた。現在、鉄欠乏性貧血、再生不良性貧血、慢性炎症に伴う貧血、腎性貧血などの診断や治療のフォローアップの手段として用いられつつある。

### 鉄と肝臓

生体中で、鉄の貯蔵臓器として最も重要な役割をはたしているのが肝臓である。肝臓では、肝実質細胞とクッパー細胞で鉄がフェリチン、ヘモシデリンの形で貯蔵される。肝実質細胞に鉄が過剰に沈着すると、ヘモクロマトーシスと呼ばれる状態になり、細胞内に遊離の鉄イオンが生じて、ラジカル反応を惹起し、細胞障害がおこる。この異常は、家族性におこることが欧米で多く、先に述べたHFE遺伝子の異常による原発性ヘモクロマトーシスである。この病態では、肝細胞内での鉄の過剰沈着の結果、肝臓は細胞壊死、線維化(肝硬変)、肝細胞癌などの病態が生じる。このような鉄イオンによる細胞障害は、いかなる機序によっておきるのであろうか。細胞内の過剰な鉄イオンは通常、フェリチン蛋白の内部に隔離貯蔵されているが、大過剰になると細胞内自由鉄が増加し、ラジカルが形

成される。すなわち、鉄は1電子の授与により荷電変化を受け、電子の放出に際して酸素を還元し活性化し、フリーラジカルが産生される<sup>27)</sup>。このラジカルは、脂質過酸化を促進させるとともに、細胞内のレドックス状態を変化させ、さらに細胞をアポトーシスへ導く<sup>28)</sup>。また、コラーゲン産生を増加させ、組織の線維化を促進する<sup>29)</sup>。細胞内には、脂質過酸化のエンドプロダクトであるマロンアルデヒド、4-ヒドロキシノネナールなどが増加する<sup>30,31)</sup>。また、核のDNAとも反応し、8-hydroxydeoxyguanine (8OHdG)を生じ、DNAの複製に障害が生じ、発ガンにも結びつくことになる<sup>32)</sup>。

このような、肝臓での鉄イオンの蓄積は、特殊な状態でのみ起きる現象でないことが明らかになってきた。代表的な疾患は、アルコール肝障害であり、古くから過度のワインの摂取によりアルコール肝硬変が生じ、その際の肝臓には鉄の沈着が著しいことが記載されている<sup>33)</sup>。この現象は、アルコール摂取による鉄の消化管吸収亢進が寄与していると考えられているが、直接の証明はなかなか難しく、なされていない。われわれは、アルコール肝障害の鉄沈着に関する研究をおこなっている過程で、C型慢性肝炎の生検組織にも鉄イオンがヘモシデリンの形で高度に沈着していることを見出した。文献的にも、慢性肝炎の組織に、原因不明の鉄沈着が認められることは、古くから記載されている<sup>34)</sup>。最近、C型慢性肝炎の治療法としてサイトカインの一種であるインターフェロンが使用され効果をあげているが、この効果を減弱させる因子として抽出された背景因子が肝臓内鉄イオン濃度であった<sup>35)</sup>。そこで、肝臓内の鉄イオン濃度を制御することにより、肝炎の病態を改善、修飾させる可能性が生じてくる。すでに、原発性ヘモクロマトーシスでは、瀉血療法が、疾患の病勢を抑える治療であることは確立されている。一方、動物実験のレベルでは、肝炎・肝ガン自然発症ラットであるLECラットで、低鉄食の投与により、肝炎・肝ガンの発生が抑えられることを、われわれは報告している<sup>36)</sup>。ヒトの慢性肝炎や肝硬変患者では、食道静脈瘤の破裂による出血後に、肝機能が改善されることが経験的に知られていた。最近、インターフェロンなど他の治療法が無効の慢性C型肝炎の患者で、瀉血をおこなうと、肝機能が改善されることが明らかとなり、世界的に注目されている<sup>37)</sup>。われわれの教室でも、現在までに30例の慢性C型肝炎患者で瀉血

療法をこころみ、大変良好な結果を得ている。C型慢性肝炎では、肝細胞の鉄沈着が著しいが、その原因として、われわれは、肝細胞のトランスフェリン受容体の発現増加があることを認め、その機序として、炎症性サイトカインによる受容体合成促進が存在することを明らかにしつつある。

## 鉄と健康

従来、鉄と健康の関連については、鉄欠乏性貧血とそれに対する鉄の補給が最も重要なテーマであった。しかし、生体における鉄イオンの功罪両面から考えると、むしろ過剰な鉄は、表1に示すような種々の病態を修飾することが明らかになってきている。鉄摂取に関する現在の概念を簡単に示すと、“Iron is Women's Meat but is Man's Poison.”ということになる。

## おわりに

生体はその機能を維持するために、外界の鉄をいかに巧妙に摂取したり、利用したりしているかを、最近得られた知識をもとにまとめてみた。この数年の鉄とその結合たんぱく質に関する研究の進歩は著しく、血液学、栄養学的な面ばかりでなく、分子生物学、生化学、また肝臓病や循環器病との関連も明らかとなり、きわめて興味ある課題である。

## 参考文献

- 1) Aisen P: Iron Metabolism: an evolutionary perspective, Iron Metabolism, Brock JH, Halliday JW, Pippard MJ, Powell LW eds, Saunders Co. Ltd., 1-30, 1994
- 2) Levy JE, Jin O, Fujiwara Y, et al. Transferrin receptor is necessary for development of erythrocytes and the nervous system. *Nature Genetics* 1999; 21:396-9
- 3) Klausner RD, Rouault TA. Regulating the fate of mRNA: the control of cellular iron metabolism. *Cell* 1993; 72: 19-24
- 4) Moneti E, Handerson BR, Kuhn LC. Translational regulation of mRNAs with distinct IRE sequences by iron regulatory proteins 1 and 2. *J Biol Chem* 1998; 273: 1821-4
- 5) Tsujii Y, Ayaki H, Whitman SP, et al. Coordinate transcriptional and translational regulation of ferritin in response to oxidative stress. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 5818-27
- 6) Weiss G, Houston T, Kaschner S, et al. Regulation of cellular iron metabolism by erythropoietin: activation

- of iron regulatory protein and upregulation of transferrin receptor expression in erythroid cells. *Blood* 1997; 89: 680-7.
- 7) Hanson ES, Foot LM, Leibold EA. Hypoxia post-translationally activates iron-regulatory protein 2. *J Biol Chem* 1999; 274: 15052-8
  - 8) Feder JN, Grinke A, Thomas W, et al. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nature Genetics* 1996; 13: 399-408
  - 9) Lebron JA, Bennet MJ, Vaughn DE, et al. Crystal structure of the hemochromatosis protein HFE and characterization of its interaction with transferrin receptor. *Cell* 1998; 93: 111-123
  - 10) Barton JC, Edwards CQ, eds. Hemochromatosis, Genetics, pathophysiology, diagnosis, and treatment. 2000, Cambridge University Press (Cambridge)
  - 11) Levy EJ, Montross LK, Andrews NC. Genes that modify the hemochromatosis phenotype in mice. *J Clin Invest.* 2000; 105:1209-16
  - 12) Ikuta K, Fujimoto Y, Suzuki Y, et al. Overexpression of hemochromatosis protein HFE, alters transferrin recycling process in human hepatoma cells. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1496: 221-231
  - 13) Gunshin HB, Mackenzie UV, Berger Y, et al. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-iron transporter. *Nature* 1997; 388: 482-488.
  - 14) Fleming MD, CC Trenor III MA, Su D, et al. Microcytic anemia mice have a mutation in Nramp2, a candidate iron transporter gene. *Nature Genetics* 1997; 16: 383-386.
  - 15) Fleming MD, Romano MA, Su LM, et al. 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.
  - 16) Malo D, Vogan K, Vidal S, et al. Haplotype mapping and sequence analysis of the mouse Nramp gene predict susceptibility to infection within a cellular parasites. *Genomics* 1994; 23: 51-61.
  - 17) Tabuchi M, Yoshida T, Takegawa K, et al. Functional analysis of the human NRAMP family expressed in fission yeast. *Biochem J* 1999; 344 Pt 1: 211-9.
  - 18) Gruenheid S, Canonne-Herqaux F, Gauthier S, et al. The iron transport protein NRAMP2 is an integral membrane glycoprotein that colocalizes with transferrin in recycling endosomes. *J Exp Med* 1999; 189: 831-41
  - 19) D'Souza J, Cheah PY, Gros P, et al. Functional complementation of the malvolio mutation in the taste pathway of *Drosophila melanogaster* by the human natural resistance-associated macrophage protein 1 (Nramp-1). *J Exp Biol* 1999; 202: 1909
  - 20) Donovan A, Brownlie A, Zhou YI, et al. Positional cloning of zebrafish ferroportin1 identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature* 2000; 403: 776-81.
  - 21) Busfield SJ, Tilbrook PA, Callus BA, et al. Complex regulation of transferrin receptors during erythropoietin-induced differentiation of J2E erythroid cells--elevated transcription and mRNA stabilisation produce only a modest rise in protein content.. *Eur J Biochem* 1997; 249: 77-84.
  - 22) Shintani N, Kohgo Y, Kato J, et al. Expression and extracellular release of transferrin receptors during peripheral erythroid progenitor cell differentiation in liquid culture. *Blood* 1994; 83: 1209-15
  - 23) Lok CN, Ponka P. Identification of a hypoxia response element in the transferrin receptor gene. *J Biol Chem* 1999;274: 24147-52.
  - 24) Tacchini L, Bianchi L, Bernelli-Zazzera A, et al. Transferrin receptor induction by hypoxia. HIF-1-mediated transcriptional activation and cell-specific post-transcriptional regulation. *J Biol Chem* 1999; 274: 24142-6.
  - 25) Lok CN, Ponka P. Identification of an erythroid active element in the transferrin receptor gene. *J Biol Chem* 2000; 275: 24185-90.
  - 26) Kohgo Y, Niitsu Y, Kondo H, et al. Serum transferrin receptor as a new index of erythropoiesis. *Blood* 1987; 70:1955-8
  - 27) Halliwell B, Gutteridge JMC *Free Radicals in Biology and Medicine*, ed 2. Oxford, Clarendon Press, 1989
  - 28) Peters' TJ, O'Connell MJ, Ward RJ. Role of free-radical mediated lipid peroxidation in the pathogenesis of hepatic damage by lysosomal disruption. eds. *Free Radicals in Liver injury*. Oxford, IRL Press, 1985, p107
  - 29) Park CH, Bacon BR, Brittenham GM, et al. Pathology of dietary carbonyl iron overload in rats. *Lab Invest* 1987; 57: 555-63
  - 30) Britton RS, Bacon BR. Role of free radicals in liver diseases and hepatic fibrosis. *Hepatogastroenterology* 1994; 41: 343-8
  - 31) Britton RS, O'Neill R, Bacon BR. Hepatic mitochondrial malondialdehyde metabolism in rats with chronic iron overload. *Hepatology* 1990; 11: 93-7
  - 32) Faux SP, Francis JE, Smith AG, et al. Induction of 8-hydroxydeoxyguanosine in Ah-responsive mouse liver by iron and Aroclor 1254. *Carcinogenesis* 1992; 13: 247-50
  - 33) Jakobovits AW, Morgan MY, Sherlock S. Hepatic siderosis in alcoholics. *Dig Dis Sci* 1979; 24: 305-10
  - 34) Di Bisceglie AM, Axiotis CA, Hoofnagle JH, et al. Measurements of iron status in patients with chronic hepatitis. *Gastroenterology* 1992; 102: 2108-2113
  - 35) Olynyk J, Reddy R, DiBisceglie AM, et al. Hepatic iron concentration as a predictor of response to inter-

- feron alpha therapy in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 1995; 108: 1104-1109
- 36) Kato J, Kobune M, Kohgo Y, et al. Hepatic iron deprivation prevents spontaneous development of fulminant hepatitis and liver cancer in Long-Evans Cinnamon rats. *J Clin Invest* 1996; 98: 923-9
- 37) Hayashi H, Takikawa T, Nishimura N, et al. Improvement of serum aminotransferase levels after phlebotomy in patients with chronic active hepatitis C and excess hepatic iron. *Am J Gastroenterology* 1994; 89: 986-988

---

## Metal Biology and Its Clinical Application

Yutaka KOHGO\*

---

### Summary

Iron is a major inorganic metal of the body and is essential for hemoglobin synthesis and biological oxidations. As an excess iron is toxic due to radical production through Fenton reaction, body iron metabolism including intestinal absorption by Nramp-2, transport in serum by transferrin, cellular uptake by transferrin receptor, and storage by ferritin is strictly regulated at molecular level. Most cells have a post-transcriptional mechanism of the synthesis of ferritin and transferrin receptor to keep optimal cellular iron concentration by iron responsive protein (IRP), which is a transacting factor to bind iron responsive element (IRE) of the mRNA. In addition, erythroid cells in the bone marrow have a transcriptional mechanism for their rapid growth and hemoglobin synthesis. We found that soluble transferrin receptor in serum reflects the activity of bone marrow erythropoiesis and iron status and this method is considered to be a new tool for evaluating body iron metabolism. It is also getting clear that excess of cellular iron is potentially toxic and affects disease conditions in liver and cardiovascular diseases. In C type chronic viral hepatitis, iron is accumulated in hepatocytes and its deprivation by phlebotomy could improve the liver function test. This is an alternative treatment for patients with hepatitis unresponsive to interferon.

key words iron, transferrin receptor, radical

---

\* Asahikawa Medical College Internal Medicine III