

AMCoR

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

G.I.Research (2001.08) 9巻4号:334~339.

消化管の分子生物学
消化管からの鉄吸収
—最近の知見—

齊藤浩之, 高後 裕

消化管からの鉄吸収—最近の知見—

齊藤浩之* 高後 裕*

はじめに

鉄は赤血球ヘモグロビンの合成や酸化還元酵素の活性に重要な構成成分であり、細胞の呼吸、成長や増殖に必須の金属元素である。しかし、生体内に過剰の鉄蓄積が生じると鉄を介したフリーラジカルの産生により、肝臓をはじめ種々の臓器に障害を起こす。成人男性では体内に約4gの鉄が存在しており、十二指腸からの食餌鉄の吸収、血中トランスフェリンによる鉄輸送、骨髄や筋肉での鉄利用、肝臓や網内皮系マクロファージによる鉄貯蔵のバランスにより体内鉄量は厳密に制御されている。健康人では、体外への鉄の喪失は粘膜細胞の脱落や月経などで1日平均1~2mgであり、食餌鉄はこれを補う分の同量の鉄のみが吸収され、生体内の鉄が飽和状態にあるときには過剰の鉄を吸収しない機構が存在することが以前より知られていた(Mucosal Iron Block)。近年、鉄代謝に関連する分子がつぎつぎにクローニングされ、十二指腸粘膜における鉄吸収および血中への鉄輸送機構や分子の発現調節機構が飛躍的に解明されてきている。

本稿では、十二指腸粘膜細胞における鉄吸収および鉄輸送のメカニズムを、腸管細胞に発現する鉄代謝関連分子の構造、機能、発現調節を中心に概説する。

1. 腸管細胞における鉄吸収と血中への輸送機構

現在までに明らかになった腸管細胞における食餌鉄の吸収と血中への輸送機構を図1に示す。食餌鉄にはヘム鉄と非ヘム鉄が存在し、それぞれの鉄を吸収する機構が存在すると考えられている。非ヘム鉄の吸収経路は最も解析が進んでおり、十二指腸腸管細胞の管腔側刷子縁膜で、食餌内の3価鉄が鉄還元酵素であるDcytb¹⁾により2価鉄となり、2価鉄のトランスポーターであるNatural resistance-associated macrophage protein 2/Divalent metal transporter 1 (Nramp 2/DMT 1)²⁾によって細胞内へ吸収される。また、3価鉄自体の吸収には、mucin-integrin-mobilferrin経路³⁾が機能していると考えられている。ヘム鉄は非ヘム鉄にくらべ吸収効率がよいことが知られているが、詳細な分子機構はいまだ不明である。腸管細胞から血中への鉄輸送は、基底側細胞膜に存在するFerroportin 1/Ireg 1/MTP 1^{4)~6)}により2価鉄として細胞外へ汲み出され、細胞表面で鉄酸化酵素であるHephaestin⁷⁾あるいは血中のceruloplasminにより3価鉄となりトランスフェリンと結合することによりおこなわれる。以下に鉄の吸収および鉄輸送に関与する各々の鉄代謝関連分子について概説する。

* Hiroyuki SAITO, Yutaka KONGO/旭川医科大学第三内科

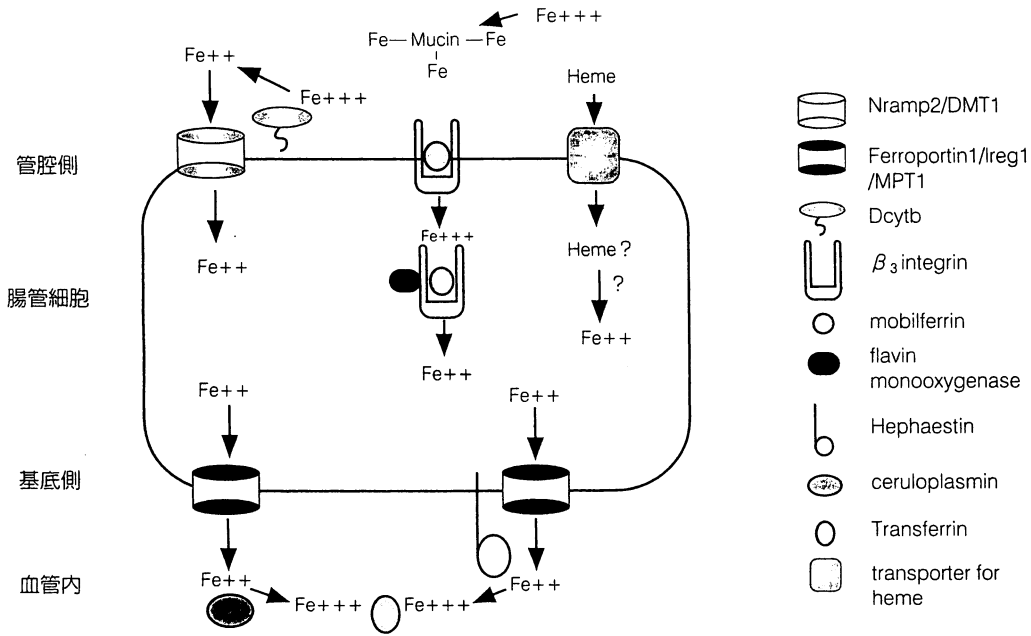


図 1. 腸管細胞における鉄吸収および血中への鉄輸送機構

十二指腸管腔側刷子縁膜で起こる食餌鉄の吸収には三つの経路が知られている。1) 3 価鉄が鉄還元酵素 (Dcytb) により 2 価鉄となり, Nramp 2/DMT 1 を介し吸収される, 2) 粘液ムチンと結合した 3 価鉄が細胞膜上で β₃ integrin と mobilferrin の複合体により吸収される, 3) ヘム鉄が吸収される (しかし, 詳細な分子機構は不明) という 3 経路である。鉄の輸送は基底側膜で Ferroportin 1/Ireg 1/MPT 1 を介し 2 価鉄が汲み出され, Hephaestin や ceruloplasmin による鉄酸化反応で 3 価となった鉄が血中のトランスフェリンと結合し, 全身に送られる。

1) Nramp 2/DMT 1

1997 年 Gunshin らが, アフリカツメガエル卵母細胞を用いたポジショナルクローニングにより, 腸管細胞に発現し, 鉄を含めた 2 価金属イオンのトランスポーターとして機能するラットのホモログ Divalent cation transporter (DCT 1) をはじめて単離した²⁾。Nramp 2/DMT 1 は, 細胞膜を 12 回貫通し, 4 番目の細胞内ループに consensus transport motif および 4 番目の細胞外ループにアスパラギン結合型糖鎖を有している。Nramp 2/DMT 1 は十二指腸腸管細胞の管腔側刷子縁膜に強く発現し, 十二指腸における 2 価の食餌鉄の吸収をおこなうが, この機能は十二指腸における鉄吸収と赤芽球での鉄利用の重度の低下により小球性貧血を呈する動物モデル (*mk* マウ

ス, Belgrade ラット) において証明された。すなわち, この動物ではミスセンス変異を起こしている原因遺伝子が想定されていたが, この遺伝子が Nramp 2/DMT 1 であり, 185 番目のグリシンがアルギニンに変異し腸管における 2 価鉄の吸収機能が低下していることが明らかにされた⁸⁾。Nramp 2/DMT 1 の発現調節としては, 鉄欠乏食を与えたラットの十二指腸粘膜で発現が増加すること⁹⁾、遺伝性ヘモクロマトーシスにおいて十二指腸での mRNA 発現が増加することが報告されている¹⁰⁾。また, ほかの発現調節機構として個々の細胞における鉄の恒常性を維持するための iron responsive element (IRE) と iron regulatory protein (IRP) の相互作用がある。代表的な鉄代謝関連分子である鉄取り込みにはたらく Trans-

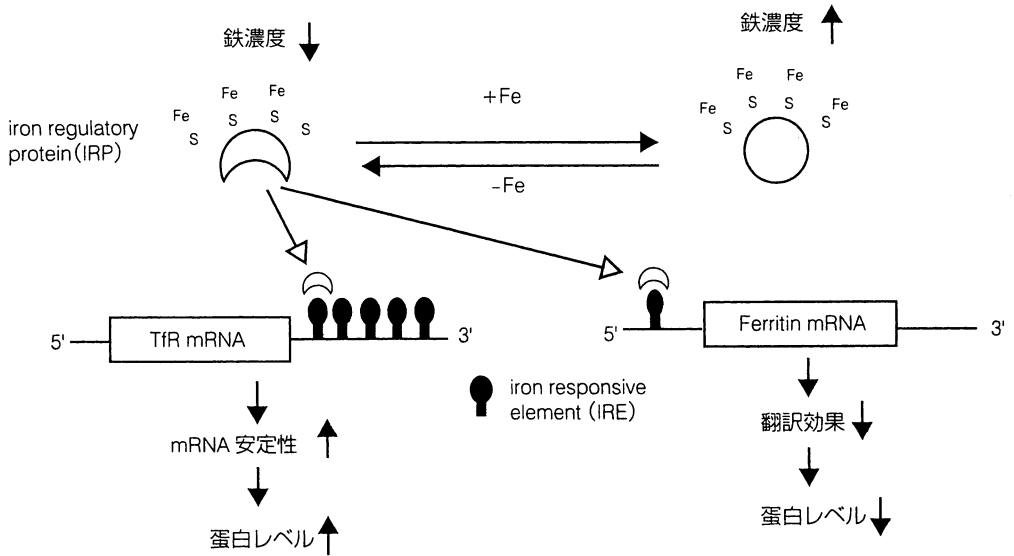


図 2. 鉄代謝関連分子における IRE-IRP を介した発現調節機構

鉄代謝関連分子の代表である TfR と Ferritin mRNA 上には IRE が存在する。細胞内には鉄-硫黄クラスター (4 Fe-4 SH) 構造を有する IRP が存在し、細胞内鉄濃度の低下により、IRP から鉄が離れると、IRP は IRE への結合能をもつ。逆に細胞内鉄濃度が上昇すると IRP は結合能を失い、細胞内アコンターゼとして機能する。図のように IRP が IRE に結合すると、鉄を取り込む TfR の発現が増加、鉄を貯蔵する Ferritin の発現は低下し、細胞内鉄濃度が上昇するようにはたらく。逆に細胞内鉄濃度が上昇すると、TfR の発現が低下、Ferritin の発現が増加し、細胞内鉄濃度を低下させるようにはたらく。これまでに報告された Nramp 2/DMT 1 や Ferroportin 1/Ireg 1/MPT 1 にも IRE が存在し、IRE-IRP を介した発現調節機構は細胞内鉄のホメオスタシスを維持するための重要な機構であると考えられる。

ferrin receptor (TfR) mRNA の 3' 非翻訳領域と鉄貯蔵にはたらく Ferritin mRNA の 5' 非翻訳領域には stem loop 構造を呈する IRE が存在し、おもに細胞内鉄濃度により発現調節される。図 2 に示すように、IRP が IRE に結合や解離することにより、翻訳後調節が起こる。すなわち、細胞内鉄濃度が低下すると IRP が IRE に結合し、TfR mRNA の安定化が起こり蛋白発現が増加し、逆に Ferritin mRNA の翻訳効率が低下し蛋白発現が低下する。鉄濃度が上昇すると IRP が IRE から離れ、TfR の発現は低下し、Ferritin の発現が増加する¹¹⁾。Nramp 2/DMT 1 mRNA の 3' 非翻訳領域にも IRE が存在し、マウスの線維芽細胞において IRP が IRE に結合することは証明されたが、細胞内鉄濃度や一酸化窒素により mRNA の発現には変化はみられず、IRE を介し

た発現調節は明らかにされなかった¹²⁾。

2) Ferroportin 1/Ireg 1/MTP 1

2000 年に三つのグループにより、十二指腸腸管細胞の基底側細胞膜に発現し、細胞外への鉄の汲み出しにはたらく鉄トランスポーターとして、マウスの Ireg 1⁵⁾および MTP 1⁶⁾、低色素性貧血を呈する変異熱帯魚より Ferroportin 1⁴⁾のクローニングに成功したことが報告された。

Ferroportin 1/Ireg 1/MTP 1 は多数の細胞膜貫通ドメインを有し、mRNA の 5' 非翻訳領域には IRE が存在する。Ferroportin 1/Ireg 1/MTP 1 は、アフリカツメガエル卵母細胞を用い、Nramp 2/DMT 1 と共発現させ、培養液中にアポトランスフェリンを添加すると鉄の汲み出しが増加すること⁴⁾や、この分子を介した鉄の汲み出し

に鉄酸化酵素活性をもつ ceruloplasmin が必要であることが明らかにされている⁵⁾。Ferroportin 1/Ireg 1/MTP 1 の発現調節として、鉄欠乏食を与えたマウスの十二指腸粘膜で発現増加がみられ、逆に鉄過剰では発現が低下すること⁶⁾、低トランスフェリン血症マウスの十二指腸で mRNA 発現が増加すること⁵⁾、低酸素状態でも mRNA 発現が増加すること⁵⁾が報告されている。また、Ferroportin 1/Ireg 1/MTP 1 の IRE に IRP が結合することもわかり、IRE を介した発現調節も存在すると考えられる⁶⁾。

3) Dcytb

Nramp 2/DMT 1 は 2 価の鉄トランスポーターであり、3 価の食餌鉄を取り込むためには鉄還元酵素の存在が必須である。その候補分子としてマウスの Dcytb がクローニングされた¹⁾。Dcytb は細胞膜還元酵素の cytochrome b 561 ファミリーに属し、6 個の細胞膜貫通ドメインを有するが、mRNA 上には IRE は存在しない。Dcytb は Nramp 2/DMT 1 と同様に十二指腸腸管細胞の管腔側刷子縁膜に高発現する¹⁾。アフリカツメガエル卵母細胞や培養細胞への Dcytb 遺伝子導入実験により鉄還元酵素活性が確認された¹⁾。Dcytb の発現調節としては、無トランスフェリン血症マウスの十二指腸で mRNA の発現増加や鉄欠乏食マウスの十二指腸で mRNA および蛋白の発現が増加することが報告されている¹⁾。

4) Hephaestin

伴性貧血を起こす *sla* マウスでは、十二指腸での鉄吸収には異常はないが、血中への鉄輸送が抑制されていることが知られていた。このマウスの原因遺伝子として単離されたのが Hephaestin である⁷⁾。Hephaestin は血中鉄酸化酵素である ceruloplasmin のホモログであり、構造上 ceruloplasmin とは異なりカルボキシル末端に細胞膜結合ドメインを有し、腸管細胞表面で機能している

可能性が示唆されている。*sla* マウスでは Hephaestin に 194 個のアミノ酸欠失があり、細胞外での鉄の酸化がおきないため血中への鉄輸送ができないと予想されている⁷⁾。Hephaestin は通常核周囲に存在し¹³⁾、TfR のように細胞内をサイクルしながら基底側細胞膜へ移動して機能すると考えられているが詳細は不明である。Hephaestin の発現調節機構に関する報告はまだない。

5) mucin-integrin-mobilferrin 経路

腸管内腔でムチンと結合した 3 価鉄は微絨毛膜に存在する mobilferrin³⁾と β_3 integrin の複合体により細胞内に取り込まれ、つづいて細胞内の flavin monooxygenase と複合体を形成する(この複合体は paraferitin とよばれている)。細胞内に取り込まれた鉄は paraferitin の NADPH 依存性鉄還元作用で 3 価鉄から 2 価鉄に還元され、利用や貯蔵がおこなわれる¹⁴⁾。 β_2 microglobulin のノックアウトマウスはヘモクロマトーシスと同様に、肝臓に過剰の鉄蓄積を起こすことが知られているが¹⁵⁾、paraferitin は β_2 microglobulin とも会合していることが免疫共沈降法で明らかにされ、ヘモクロマトーシスの鉄過剰に関与している可能性が示唆されている。

3. 十二指腸における鉄吸収および輸送の調節因子

体内で鉄欠乏が生じた場合、食餌鉄の吸収と血中への輸送が増加することが必要であるが、前述したように、鉄欠乏時には、Nramp 2/DMT 1, Dcytb, Ferroportin 1/Ireg 1/MTP 1 がいずれも発現増加し、体内鉄を増加させるよう調節されている。しかし、これらの鉄代謝関連分子を調節する因子が何であるのかはまだ明らかではない。従来、鉄代謝関連分子の TfR や Ferritin は IRE-IRP を介した細胞内鉄濃度の増減によりおもに発現調節されていた。Nramp 2/DMT 1 と Ferroportin 1/Ireg 1/MTP 1 の両者に IRE が存在

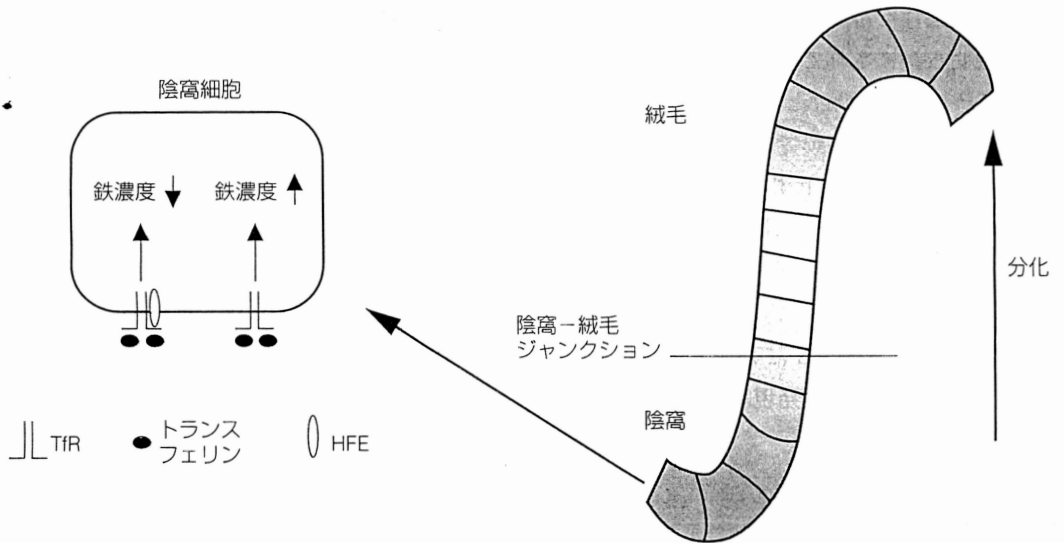


図 3. 十二指腸における腸管細胞の分化と陰窩細胞における TfR と HFE の発現

十二指腸腸管細胞では、陰窩細胞が分化増殖し陰窩-絨毛ジャンクションを超えて微絨毛を有する吸収細胞になり、約 48 時間で絨毛先端部へ移動するとされている。TfR と HFE は陰窩細胞にのみ発現し、吸収細胞には発現しない。HFE が TfR に会合すると細胞内への鉄取り込みが低下する。陰窩細胞において HFE が細胞内鉄濃度のセンサーとしてはたらくし、制御された細胞内鉄濃度が分化した腸管細胞における吸収や鉄輸送に関与する鉄代謝連分子の発現に関与している可能性が示唆されている。

している。Nramp 2/DMT 1 は 3' 非翻訳領域、Ferroportin 1/Ireg 1/MTP 1 は 5' 非翻訳領域に IRE を有し腸管細胞の細胞内鉄濃度により IRP-IRE を介して調節されると考えると、TfR や Ferritin の発現調節からみて両分子は相反した発現を示すはずであるが、生体内では同調して発現増加している。また、IRE をもたない Dcytb も同調していることから、これらの分子の発現調節は IRE-IRP による経路のみでは説明できず、ほかの液性因子による調節機構が存在する可能性が示唆される。

生体内で鉄過剰蓄積をもたらす代表的な疾患として遺伝性ベモクロマトーシスがあるが、この疾患の原因遺伝子として HFE がクローニングされた¹⁶⁾。ヘモクロマトーシスでは腸管における鉄吸収や血中への鉄輸送が亢進し鉄過剰をきたすが、HFE は鉄の吸収や輸送の場である腸管細胞刷子縁膜には発現せず、腸管細胞の前駆細胞である陰窩細胞にのみ発現している¹⁷⁾。HFE は細胞膜で

TfR と会合しトランスフェリンと TfR の結合を抑制すること¹⁸⁾や TfR の細胞表面へのリサイクリングを抑制すること¹⁹⁾により細胞内への鉄の取り込みを低下させる機能をもち、細胞内鉄濃度を調節していると考えられるが、TfR も十二指腸では陰窩細胞にのみ発現している²⁰⁾。陰窩細胞は分化し吸収可能な腸管細胞として絨毛先端部へ約 48 時間で移動するとされているが、HFE により調節された陰窩細胞内の鉄濃度が刷子縁膜における鉄代謝連分子の発現に関与しているという仮説もあり今後の研究が期待される (図 3)。

文 献

- 1) McKie TA, Barrow D, Latunde-Dada Go *et al*: An iron-regulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron. *Science* **291**: 1755-1759, 2001
- 2) Gunshin H, Mackenzie B, Berger UV *et al*: Cloning and characterization of a mammalian proton coupled metal-iron transporter. *Nature*

- 388 : 482-488, 1997
- 3) Conrad EM, Umbreit JN, Moore EG *et al* : Rat duodenal iron-binding protein mobilferrin is a homology of calreticulin. *Gastroenterol* **104** : 1700-1704, 1993
 - 4) Donovan A, Brownlie A, Zhou Y *et al* : Positional cloning of zebrafish ferroportin 1 identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature* **403** : 776-781, 2000
 - 5) Mckie AT, Marciani P, Rolfs A *et al* : A novel duodenal iron-regulated transporter, IREG 1, implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation. *Mol Cell* **5** : 299-309, 2000
 - 6) Abbound S Haile JD : A novel mammalian iron-regulated protein involved in intracellular iron metabolism. *J Biol Chem* **275** : 19906-19912, 2000
 - 7) Vulpe CD, Kuo YM, Murphy TL *et al* : Hephaestin, a ceruloplasmin homologue implicated in intestinal iron transport, is defective in the *sla* mouse. *Nat Genet* **21** : 195-199, 1999
 - 8) Su MA, Trenor CC, Fleming JC *et al* : The G 185 R mutation disrupts function of the iron transporter Nramp 2. *Blood* **92** : 2157-2163, 1998
 - 9) Trinder D, Oates PS, Thomas C *et al* : Localization of divalent metal transporter 1 (DMT 1) to the microvillous membrane of a rat duodenal enterocytes in iron deficiency, but to hepatocytes in iron overload. *Gut* **46** : 270-276, 2000
 - 10) Zoller H, Pietrangelo A, Vogel W *et al* : Duodenal metal-transporter (DMT-1, NRAMP-2) expression in patients with hereditary haemochromatosis. *Lancet* **353** : 2120-2123, 1999
 - 11) Hentz WM, Kuhn CL : Molecular control vertebrate iron metabolism : mRNA-based regulatory circuits operated by iron, nitric oxide, and oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci USA* **93** : 8175-8182, 1996
 - 12) Wardrop SL, Richardson DR : The effect of intracellular iron concentration and nitrogen monooxide on Nramp 2 expression and non-transferrin-bound iron uptake. *Eur J Biochem* **263** : 41-49, 1999
 - 13) Kuo Y, Vulpe CD, Anderson GJ *et al* : Perinuclear localization of hephaestin suggested exocytic intestinal iron export. *Am J Hum Gen* **65** : 2404, 1999
 - 14) Umbreit JN, Conrad ME, Moore EG *et al* : Paraferitin : a protein complex with ferritin-like activity is associated with iron absorption in rats. *Biochemistry* **35** : 6460-6469, 1996
 - 15) Rothenberg BE, Voland JR : β_2 knockout mice develop parenchymal iron overload : a putative role for class I genes of the major histocompatibility complex in iron metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* **93** : 1529-1534, 1996
 - 16) Feder JN, Gnirke A, Thomas W *et al* : A novel MHV class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet* **13** : 399-408, 1996
 - 17) Waheed A, Parkkila S, Saarnio J *et al* : Association of HFE protein with transferrin receptor in crypt enterocytes of human duodenum. *Proc Natl Acad Sci USA* **96** : 1579-1584, 1999
 - 18) Roy CN, Penny DM, Feder JN *et al* : The hereditary hemochromatosis protein, HFE, specifically regulates transferrin-mediated iron uptake in HeLa cells. *J Biol Chem* **274** : 9022-9028, 1999
 - 19) Ikuta K, Fujimoto Y, Suzuki Y *et al* : Overexpression of hemochromatosis protein, HFE, alters transferrin recycling process in human hepatoma cells. *Biochim Biophys Acta* **1496** : 221-231, 2000
 - 20) Anderson GJ, Powell LW, Holliday JW *et al* : Transferrin receptor distribution and regulation in the rat small intestine : effect of iron stores and erythropoiesis. *Gastroenterology* **98** : 576-585, 1990