

## 鉄代謝に関わる主要な分子

高山元揮\*, 南部慎之亮\*, 柳沼裕二\*\*

### Major Molecules Associated with Iron Metabolism

Genki Takayama\*, Shinnosuke Nanbu\*, Yuji Yaginuma\*\*

**Key words:** iron, transferrin, receptor, ferroportin, Ferroptosis

受付日 2021 年 10 月 22 日 採択日 2021 年 12 月 17 日

\*熊本大学大学院保健学教育部 \*\*熊本大学大学院生命科学研究部 構造機能解析学

投稿責任者: 柳沼裕二 yaginuma@kumamoto-u.ac.jp

## I. はじめに

ヒトの体内での鉄は、DNA の合成や細胞周期の制御、酸素輸送など細胞の基本的な機能に関与し、細胞にとって必要不可欠である。体内の鉄は、主に十二指腸で吸収され、赤血球、肝臓、脾臓、骨髄に多く分布している。生体内の鉄は、主にヘプシジン/フェロポーチン(FPN:Ferroportin)システムによって制御され、肝臓由来のペプチドホルモンであるヘプシジンが FPN の発現を調節することで生体内の鉄利用・吸収を制御している。一方、細胞内の鉄は、鉄の取り込みを行うトランスフェリン受容体(TfR:Transferrin receptor)、放出を行うフェロポーチン(FPN:Ferroportin)、細胞内での鉄貯蔵を行うフェリチン、これらの鉄利用に関与するタンパク質の発現を制御する鉄調節タンパク質(IRP:Iron regulatory protein)によって制御され [1]、細胞内の鉄の恒常性が保たれている。鉄は、生体及び細胞にとって必要不可欠な分子である一方で、過剰状態では活性酸素(ROS:Reactive Oxygen Species)の生成を介して毒性を持つ。そこで、本稿ではヒトの鉄代謝に重要な分子についての概説を行う。

## II. 体内における鉄代謝

鉄は、体内で生成できないため、食事などにより外部から摂取する必要がある。食事によって摂取される鉄には、赤身肉由来のヘム鉄と野菜・穀物由来の非ヘム鉄の 2 種類が存在し、主に十二指腸の腸上皮細胞で吸収される [2]。細胞レベルでは、吸収された鉄は、血管内でフェロオキシダーゼ活性により 3 価の鉄に酸化され、トランスフェリン(Tf:Transferrin)と結合し、細胞膜に存在する TFR と複合体を形成し、エンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれる [3]。その後、エンドソームで鉄還元酵素により 2 価鉄に還元され、細胞質に運ばれる。細胞質内の鉄は不安定鉄プール(LIP:labile iron pool)を形成し、その中で鉄は活性化され、DNA 合成、ミトコンドリアの酸化的代謝、フェリチンへの貯蔵などに利用される。LIP の増加は、活性酸素種の形成に関与し、身体的に毒性を持つため、LIP の恒常性の制御が重要視されている [4]。細胞内で過剰となった鉄は、鉄量を維持するためセルロプラスミンなどのフェロオキシダーゼとともに唯一の細胞性鉄排出ポンプである FPN を介して細胞外へと排出される(図 1)[5]。これら一連の細胞レベルでの鉄代謝に

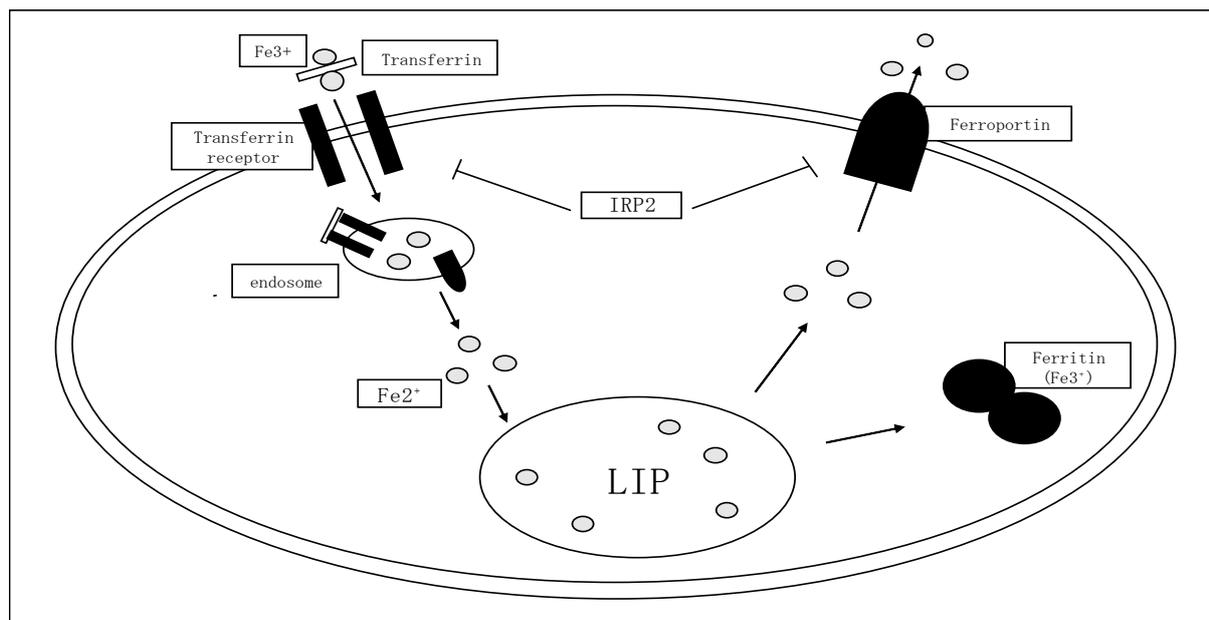


図 1.細胞内の鉄代謝機序

(Iron Metabolism in Cancer Progression. Int J Mol Sci, 2018.より改変)

血管内で  $Fe^{3+}$  と結合した Tf は、細胞膜の TFR1 と結合した後エンドサイトーシスによってエンドソーム内に取り込まれ、細胞内の LIP へと運ばれる。LIP 内の鉄は、フェリチンへの貯蔵など様々な機能を持ち、必要な場所に運ばれる。過剰な鉄は、FPN を介して細胞外に排出される。鉄の取り込み、排出に関わるタンパク質は、IRP2 によって発現が制御されている。

関わるタンパク質は、細胞表面にユビキタスに発現しており、IRP によって鉄依存的に、それぞれの mRNA の翻訳や安定性を制御することで発現が調節されている。一方全身レベルでは、主に肝臓由来のペプチドホルモンであるヘプシジンと FPN によって調節される。ヘプシジンは、肝臓以外にも単球やマクロファージ、腎臓でも産生されるが、その程度は僅かである[6]。正常状態では、取り込まれた鉄は FPN によって血中に排出され、TF によって各利用器官へ運搬される。一方、血漿中の鉄濃度が増加すると、ヘプシジンの産生が亢進し、FPN と結合した後、FPN がリソソームによって分解され、血中への鉄の排出が抑制される[7, 8]。このほかにも、赤血球の前駆体である赤芽球は、鉄を大量に消費する一方で、血液内への鉄の排出も行うため血清鉄濃度に貢献している[9]。

### 1.TFR1

TFR は、2 つのサブユニットで構成されているホ

モダイマーで、分子量が 180kDa の膜糖タンパク質である。TFR1 と TFR2 の 2 種類がヒトに存在し、TFR1 はユビキタスに、TFR2 は肝臓に特異的に局在する。TFR1 は、90kDa がジ・スルフィド結合でつながった二量体の II 型膜貫通糖蛋白質であり、1~67 残基の N 末端細胞質ドメイン、68~88 残基の膜貫通ドメイン、89~760 残基のトランスフェリン結合部位が存在する C 末端細胞外ドメインで構成されている(図 2A)[10]。また細胞外ドメインのうち可溶性細胞外部分(121~760 残基)は、エクドメインと呼ばれ、アピカルドメイン、プロテアーゼ様ドメイン、ヘリカルドメインの 3 ドメインにより構成される[11]。プロテアーゼ様ドメインと二量体接触領域を持つヘリカルドメインで形成される基底部に Tf が、二量体接合部に遺伝性ヘモクロマトーシス因子(HFE:Hemochromatosis, Fe)が結合し複合体を形成することが明らかとなっている[11]。Entrez Gene によると、TFR 遺伝子である TFRC は、32,807bases で構成される遺伝子で、3 番染色体 q29 に存在してお

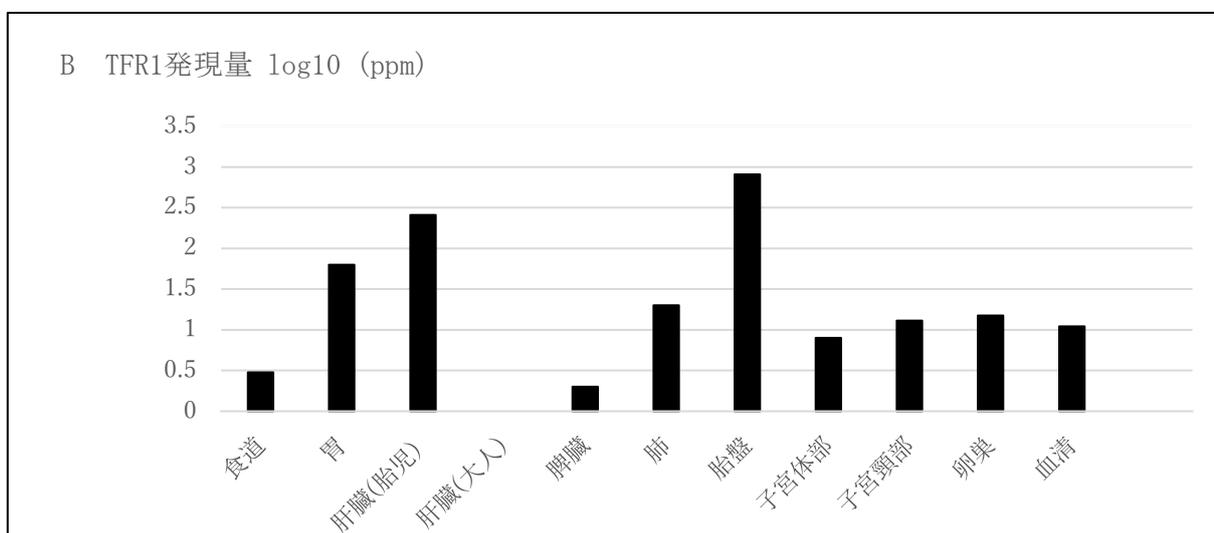
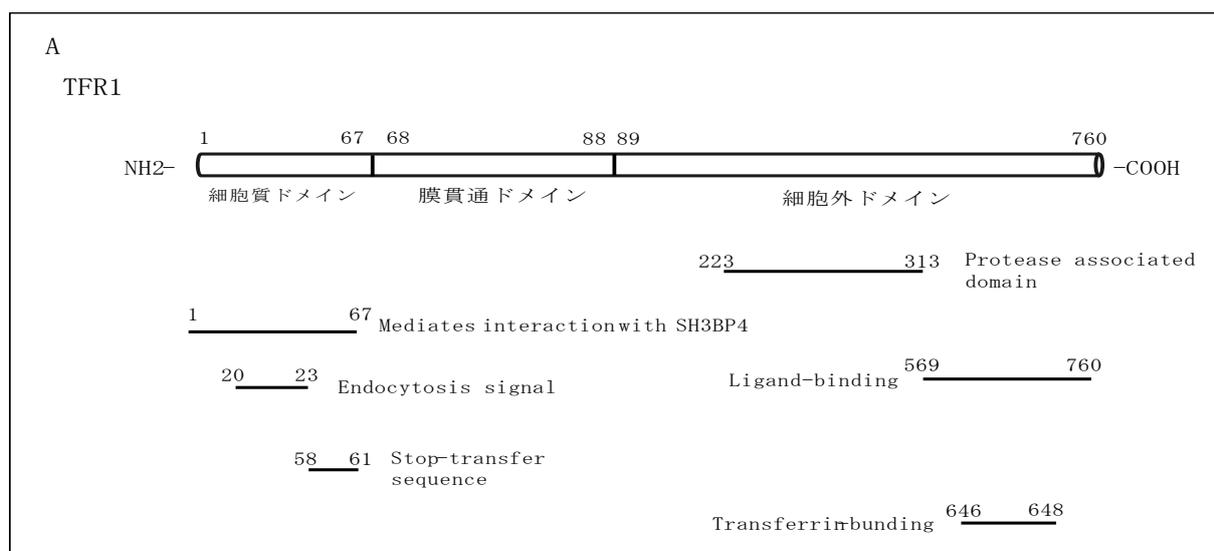


図 2.(A)TFR1 アミノ酸配列(TFRC - Transferrin receptor protein 1 - Homo sapiens (Human) - TFRC gene & protein (uniprot.org) より改変)

(B) TFRC 遺伝子の蛋白質発現量と発現部位(The Human Protein Atlas より改変)

り、胎盤と胎児の肝臓で過剰に発現している(図 2B)。また、760 個のアミノ酸から構成され、19 個のエクソンが存在する。TFR1 の発現は、TFR1 の転写レベルや転写後レベルなど様々な制御機構によりコントロールされていることが報告されている。TFRC のプロモーターには HRE(Hypoxia Response Element:低酸素応答因子)が存在しており、転写レベルでは、低酸素状態・鉄欠乏状態において、低酸素誘導因子(HIF-1 $\alpha$ /2 $\beta$ :Hypoxia Inducible Factor-1 $\alpha$ /2 $\beta$ )の発現が増加し HIF が HRE と結合することで TFRC の

転写が促進される。転写後レベルにおいては、IRP 1、2/IRE(Iron Responsive Element:鉄応答性因子) システムが重要な役割を果たしている。転写された TFRC mRNA の 3'UTR には 5 つの IRE が存在しており、IRE は、IRP1 及び IRP2 と結合できる。鉄欠乏状態では、IRP は TFRC mRNA の 3'UTR (Untranslated region:非翻訳領域)に存在する 5 つの IRE に結合し、TFRC mRNA を安定させることで、mRNA の分解を防ぎ、TFR1 の発現が促進される。一方、鉄過剰状態では、IRP と IRE は相互作用を失い、IRP

1 は構造変化し、アコニダーゼとなり、IRP2 はユビキチン化、分解され、TFRC mRNA が不安定化し分解される。正常細胞での TFR1 の発現の制御は、主に転写後レベルで行われている。また、HRE 癌原遺伝子の c-MYC や HIF-1、エストラジオールといった成長因子、サイクリン D などの誘導により、TFR1 の発現は促進される[12]。TFR1 は、鉄の細胞内取り込みだけでなく、シグナル伝達分子としての機能も持ち、アミノ酸によるチロシンリン酸化により抗アポトーシス作用が促進されることが明らかになっている。またそのほかにもミトコンドリア融合を制御する脂質センサーとしての役割や T 細胞、B 細胞の増殖の促進、赤血球や神経系の発達にも関与している。

## 2.FPN

FPN は全身の細胞にユビキタスに存在し、特にマクロファージや肝臓で多く発現している。FPN 遺伝子である SLC40A1 は、20,169bases で構成され、2 番染色体の q32.2 に存在する遺伝子である。FPN は、細胞膜表面に発現しており、571 個のアミノ酸から構成され、8 個のエクソンが存在する(図 3)。また、12 個の膜貫通ヘリックスから構成され、トランスメンブレンドメインの N 末端、C 末端はともに

細胞質内に位置しており[13]、ヘプシジン-FPN 結合部位である Cys326 は 7 番目のヘリックス部分に存在する。ヘプシジンは、鉄代謝における FPN の最も重要な調節因子であり、ヘプシジンの発現は、全身の鉄濃度、炎症、赤血球生成に応じて、鉄のホメオスタシスを維持するために活発に変化する。ヘプシジンと結合した FPN は、内在化、ユビキチン化によって分解され、この過程で、十二指腸細胞、マクロファージ、肝細胞からの鉄の流出が減少し、血清鉄濃度が低下する。ヘプシジンの他、セルロプラスミン(CP: Ceruloplasmin)、ヘファエスティン(HP: Hephæstine)、PCBP2(Poly-Binding Protein 2)などいくつかのパートナーは FPN に直接結合すると想定されている。CP と HP はフェロキシダーゼ活性をもち、FPN と相互作用して Fe<sup>2+</sup>を Fe<sup>3+</sup>に酸化することで鉄の放出を促進し、PCBP2 も鉄の放出に重要な役割を果たしていると考えられている。FPN の発現は、ヘムへの暴露に関する核内因子赤血球 2 関連因子(NRF2: Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor2)や HIF などが転写レベルで制御している。さらに、FPN 濃度は転写後のレベルにおいても制御されており、その最も顕著なメカニズムは IRP/IRE システムである。IRP は FPN mRNA の翻訳活性を調節する最も重要な因子であり、FPN mRNA を含むいく

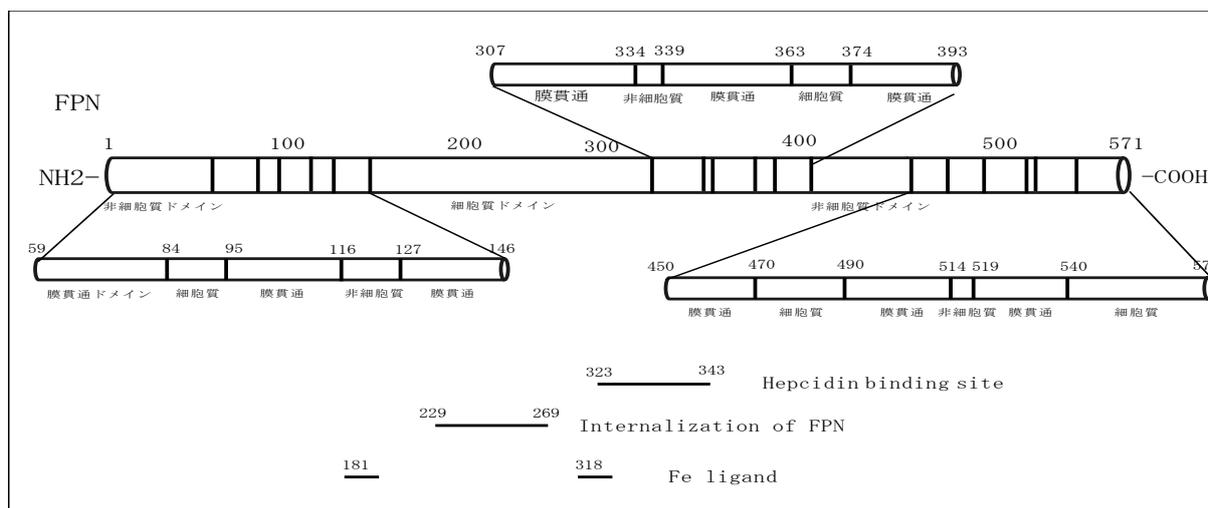


図 3. FPN アミノ酸配列

(SLC40A1 - Solute carrier family 40 member 1 - Homo sapiens (Human) - SLC40A1 gene & protein (uniprot. org) A structural model of human ferroportin and of its ironbinding site.FEBS J,2014., Hepcidin-Induced Endocytosis of Ferroportin Is Dependent on Ferroportin Ubiquitination.Cell Metab,2012.より改変)

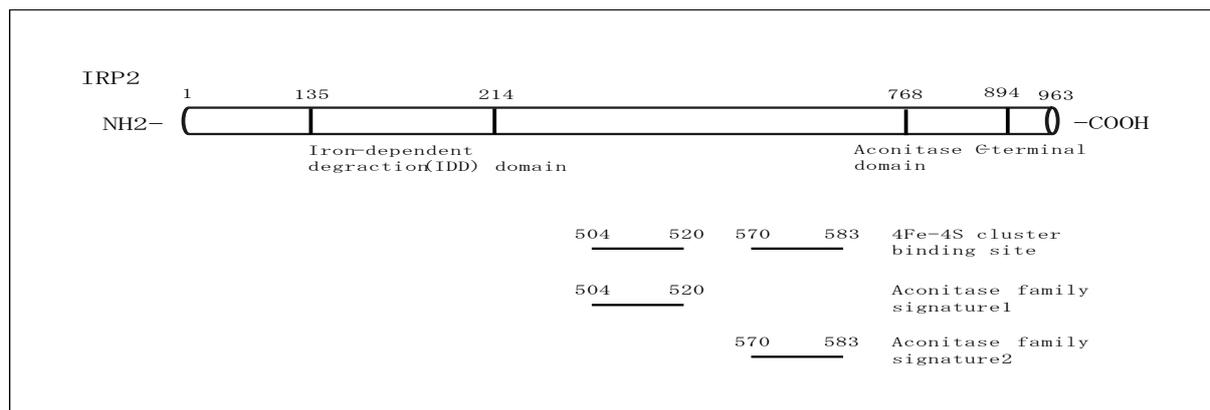


図 4. IRP2 アミノ酸配列

(IREB2 - Iron-responsive element-binding protein 2 - Homo sapiens (Human) - IREB2 gene & protein (uniprot.org)より改変)

つかの mRNA の UTR にある IRE に結合することができる。鉄欠乏状態では、IRP が FPN mRNA の 5'UTR にある IRE と結合して FPN の翻訳を阻害し、鉄の排出を抑制する。一方、鉄過剰状態では、IRP と FPN mRNA の 5'UTR にある IRE との間の相互作用が損なわれ、その結果、FPN mRNA の翻訳が促進して FPN 量が増加し、鉄の排出が促進される。また、miRNA が FPN mRNA の翻訳を抑制することが明らかになっており、miRNA は FPN mRNA の 3'UTR に結合し、FPN mRNA の翻訳を抑制することで、FPN の含有量を負に制御している。miR-485-3p、miR17-5 は、3'UTR を標的として直接結合することにより、FPN の発現を阻害している[14]。腫瘍組織では FPN mRNA レベルの低下とともに、miR-20a レベルが上昇していることが報告されている。

### 3. IRP2

IRP2 は、ユビキタスに発現するアコニターゼ遺伝子ファミリーの一員で、IRP2 の遺伝子である IREB2 は、64,023bases で構成され、15 番染色体の q25.1 に存在している。IRP2 は、IRP1 と類似した 4 つのドメインと、IRP1 と異なり N 末端付近に 73 個のアミノ酸を持ち、963 個のアミノ酸で構成されている(図 4)。IRP2 は、TFR1 や FPN などの mRNA の UTR に存在する IRE に結合することによって、それらの発現を制御している(図 5)。鉄欠乏状態では、FBXL5(F-box/LRR-repeat protein 5)の N 末端のヘムエ

リスリン (Hr: Hemerythrin) ドメインは鉄と結合できず、タンパク質全体を不安定にする構造変化を起こし、ユビキチン化と分解を引き起こし、IRP2 の安定化につながる。低酸素状態でも、FBXL5 はプロテアソーム分解を受けるため、結合されず IRP2 の分解が抑制される[15]。一方、IRP1 は FBXL5 による分解を受けず、別の機序があると考えられている。また、IRP2 は、フェリチン H および L (FTH および FTL)、FPN、赤血球特異的アミノレブリン合成酵素 (ALAS2: 5'-Aminolevulinat Synthase 2) などの mRNA の 5'UTR にある IRE に結合し、これらの分解を仲介し、鉄の貯蔵量や輸出量を減少させる[16]。IRP2 が TFR1 の mRNA の 3'UTR に結合すると、転写産物が安定化し、翻訳が促進され、鉄の輸入量が増加する。鉄過剰状態では、FBXL5 の Hr ドメインは安定化し、FBXL5 の C 末端ドメインに酸化還元活性のある [2Fe-2S] クラスタが形成され、取り込まれる。酸素濃度が十分に上昇してクラスタが酸化されると、[2Fe-2S]<sup>2+</sup>-FBXL5 は IRP2 と結合し、IRP2 はユビキチン化と分解の基質となる。IRP2 が失われると、5'UTR に IRE を含む mRNA の翻訳が可能になり、TFR1 mRNA の不安定化と核酸分解が起こる。鉄過剰状態の際は、TFR1 の 3'側、FPN や FH の 5'側に局在する IRE に結合しないため、TFR1 は切断、分解され、FPN や FH は翻訳される。

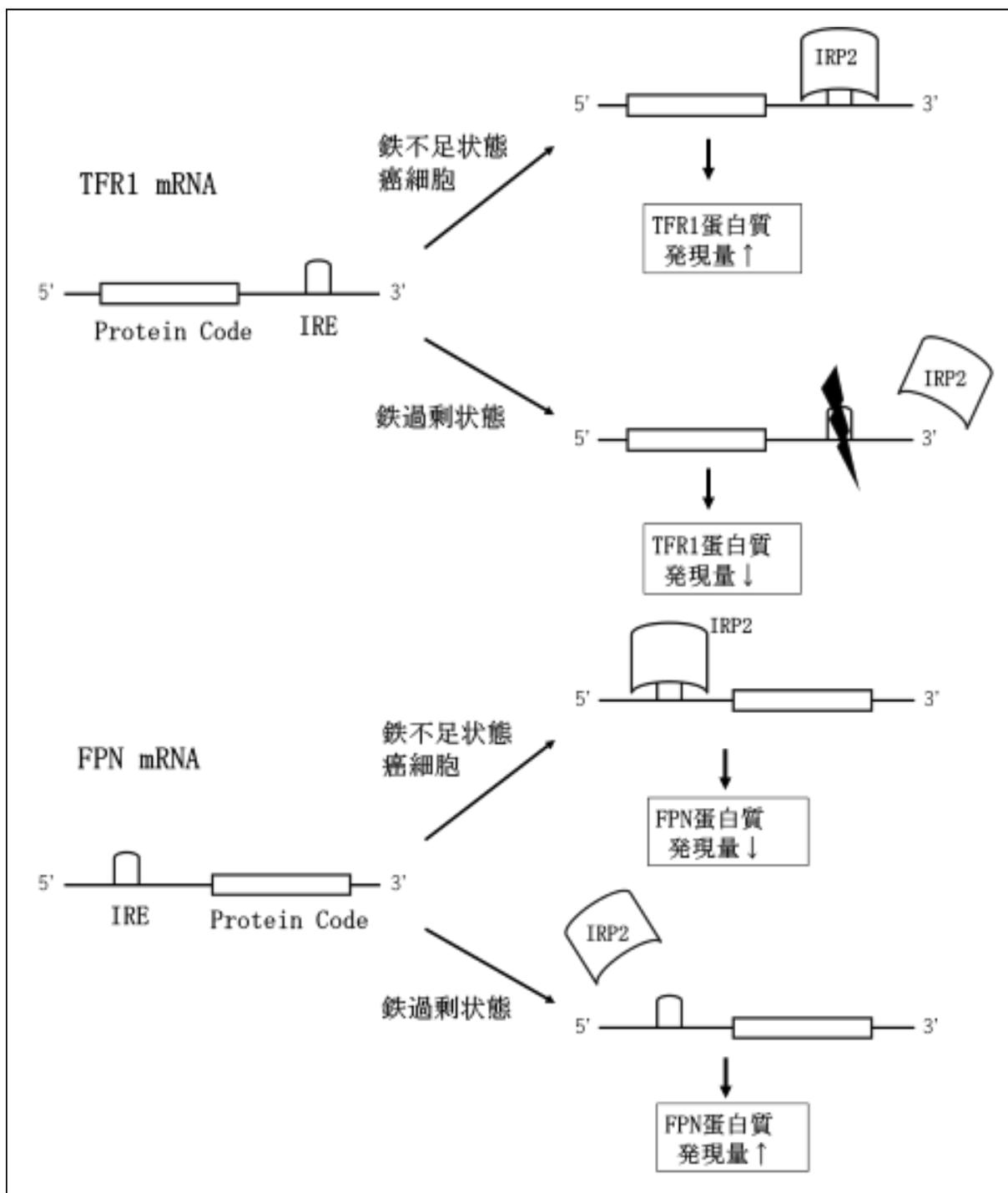


図 5. IRP2-IRE による TFR1、FPN 発現制御機序

(The role of iron regulatory proteins in mammalian iron homeostasis and disease. Nat Chem Biol, 2006. より改変)

### III. 腫瘍での鉄代謝

鉄が腫瘍形成に関与していることは、1959 年に

鉄を注射したラットの肉腫モデルの構築により初めて報告された[17]。悪性腫瘍における鉄代謝機序については、鉄の恒常性が破綻し、酸化還元活性型

の鉄(Fe<sup>2+</sup>)が過剰となることで、フェトン反応やハーバー・ワイス反応を触媒とし、過酸化水素と結合することによって、毒性、反応性の高い ROS が生成される。通常、健常者では、ROS は、細胞増殖や免疫調節などが正常に機能するために関与しているが[18]、癌患者などでこの ROS が蓄積すると、DNA やタンパク質、脂質を損傷させ、細胞死につながるシグナル伝達回路が活性化される。

腫瘍細胞は、正常の細胞に比べて細胞増殖や腫瘍の成長・増殖における鉄に対する需要が高く、鉄不足に敏感に反応する。鉄の枯渇は、癌細胞 DNA のメチル化の変化を引き起こし、癌の上皮間葉転換(EMT:Epithelial-Mesenchymal Transition)を制御することが明らかとなっている。鉄代謝の異常は、癌細胞の特徴の一つとされ、Tfに結合する鉄を獲得するために、TFR1 の発現が高いことが一般的に知られている[1]。TFR1 の増加は、癌細胞の増殖、転移、浸潤に影響を与えており、TFR1 の高発現により、細胞内の鉄量を増加させ、癌の EMT を誘導し、癌細胞の成長・増殖を促している[19]。TFR1 を阻害すると細胞の増殖が抑制され、細胞周期の G1 期で停止することが明らかとなっている[20]。また、鉄(Fe<sup>2+</sup>)錯体の細胞毒性も TFR1 の発現量と関連している。癌細胞では、FPN の発現レベルが低下していることが明らかにされている。大腸癌では、細胞内の鉄の増加に加え、FPN の発現異常による鉄の排出障害が生じている[5]。FPN を介した鉄の排出が阻害されると、細胞内に高濃度の鉄が維持され、腫瘍形成が促進される。さらに、腫瘍内の線維芽細胞から分泌される IL-6 がヘプシジンの合成を誘導し、FPN の分解を引き起こすことが明らかとなり、ヘプシジンと FPN の関係性も腫瘍細胞内の鉄の蓄積の要因となっている可能性が示唆されている[1]。TFR1、FPN の異常発現により、腫瘍細胞内の鉄濃度が増加し、その結果、細胞の成長や増殖が促進されると考えられている。また、鉄の貯蔵に関連するフェリチンは、癌患者の血漿中に多く存在し、血漿濃度は腫瘍の進行度や患者の予後の悪さと関連している。鉄代謝異常は、脳腫瘍、肝臓癌、肺癌、卵巣癌など様々な癌で明らかにされており、疾患の予後に関連する因子として、これらの鉄関連遺伝子は

検査に用いられている[21]。また、近年、腫瘍微小環境(TME:Tumor Microenvironment)が腫瘍の発生、成長、増殖に関連している可能性があり、注目されている。癌の特徴の一つである炎症に関与し、TME に存在する好中球やマクロファージといった自然免疫細胞は、鉄を放出することにより、鉄や鉄関連タンパク質の供給源として存在し、また癌細胞の鉄代謝を制御する伝達系を活性化する因子を放出することが認められ、この鉄代謝異常に寄与していることが明らかとなっている[2]。

#### IV.終わりに

現在までにヒトの鉄代謝については急速な知識の集積がなされており、本稿では TFR1,IRP2,FPN を中心にその生理的な役割、生体内における代謝機序について概説した。鉄の代謝機序が変化し鉄の恒常性が崩れると、癌を始め様々な疾患に関与していることが報告されている。今後さらにヒトでの鉄代謝の研究が進み、その診断、治療標的への応用がなされることを期待する。

#### V.参考文献

1. Gammella, E., et al., Iron Availability in Tissue Microenvironment: The Key Role of Ferroportin. *Int J Mol Sci*, 2021. 22(6).
2. Chen, Y., et al., Iron metabolism and its contribution to cancer (Review). *Int J Oncol*, 2019. 54(4): p. 1143-1154.
3. Wang, Y., et al., Iron Metabolism in Cancer. *Int J Mol Sci*, 2018. 20(1).
4. Kühn, L.C., Iron regulatory proteins and their role in controlling iron metabolism. *Metallomics*, 2015. 7(2): p. 232-43.
5. Forciniti, S., et al., Iron Metabolism in Cancer Progression. *Int J Mol Sci*, 2020. 21(6).
6. Camaschella, C., A. Nai, and L. Silvestri, Iron metabolism and iron disorders revisited in the

- hepcidin era. *Haematologica*, 2020. 105(2): p. 260-272.
7. Bystrom, L.M. and S. Rivella, Cancer cells with irons in the fire. *Free Radic Biol Med*, 2015. 79: p. 337-42.
  8. Vogt, A.S., et al., On Iron Metabolism and Its Regulation. *Int J Mol Sci*, 2021. 22(9).
  9. Zhang, D.L., et al., Ferroportin deficiency in erythroid cells causes serum iron deficiency and promotes hemolysis due to oxidative stress. *Blood*, 2018. 132(19): p. 2078-2087.
  10. Al-Refaei, M.A., R.M. Makki, and H.M. Ali, Structure prediction of transferrin receptor protein 1 (TfR1) by homology modelling, docking, and molecular dynamics simulation studies. *Heliyon*, 2020. 6(1): p. e03221.
  11. Montemiglio, L.C., et al., Cryo-EM structure of the human ferritin-transferrin receptor 1 complex. *Nat Commun*, 2019. 10(1): p. 1121.
  12. Candelaria, P.V., et al., Antibodies Targeting the Transferrin Receptor 1 (TfR1) as Direct Anti-cancer Agents. *Front Immunol*, 2021. 12: p. 607692.
  13. Nemeth, E. and T. Ganz, Hepcidin-Ferroportin Interaction Controls Systemic Iron Homeostasis. *Int J Mol Sci*, 2021. 22(12).
  14. Sangokoya, C., J.F. Doss, and J.T. Chi, Iron-responsive miR-485-3p regulates cellular iron homeostasis by targeting ferroportin. *PLoS Genet*, 2013. 9(4): p. e1003408.
  15. Meyron-Holtz, E.G., M.C. Ghosh, and T.A. Rouault, Mammalian tissue oxygen levels modulate iron-regulatory protein activities in vivo. *Science*, 2004. 306(5704): p. 2087-90.
  16. Wang, J., et al., Iron-dependent degradation of IRP2 requires its C-terminal region and IRP structural integrity. *BMC Mol Biol*, 2008. 9: p. 15.
  17. Ying, J.F., et al., The role of iron homeostasis and iron-mediated ROS in cancer. *Am J Cancer Res*, 2021. 11(5): p. 1895-1912.
  18. Liou, G.Y. and P. Storz, Reactive oxygen species in cancer. *Free Radic Res*, 2010. 44(5): p. 479-96.
  19. Han, M., et al., Six-Transmembrane Epithelial Antigen of Prostate 3 Predicts Poor Prognosis and Promotes Glioblastoma Growth and Invasion. *Neoplasia*, 2018. 20(6): p. 543-554.
  20. Shen, Y., et al., Transferrin receptor 1 in cancer: a new sight for cancer therapy. *Am J Cancer Res*, 2018. 8(6): p. 916-931.
  21. Song, A., et al., Significance of serum ferritin as a prognostic factor in advanced hepatobiliary cancer patients treated with Korean medicine: a retrospective cohort study. *BMC Complement Altern Med*, 2018. 18(1): p. 176.