

Hepcidin 和铁稳态

常彦忠 段相林 钱忠明

【提要】 铁代谢紊乱引起的疾患是人类最常见的疾病。生理条件下,人体主要通过调控小肠铁吸收保持机体铁稳态。最近关于 hepcidin 的研究显示,这种肝脏合成的已知具有抗菌功能的多肽是控制小肠铁吸收,以及调节机体铁稳态的铁调节激素。肝脏 hepcidin 高表达可能是许多贫血包括炎症和慢性疾病性贫血的根本原因,而 hepcidin 表达障碍可能是许多铁过负荷类疾病的起因。

【关键词】 Hepcidin; 铁代谢

Hepcidin and iron homeostasis CHANG Yan-zhong*, DUAN Xiang-lin, QIAN Zhong-ming.* Laboratory of Iron Metabolism, Department of Applied Biology and Chemical Technology, Hong Kong Polytechnic University, Hong Kong 050016

【Summary】 The understanding of iron metabolism in humans, especially of its mechanism involved in controlling iron absorption in the proximal small intestine, is of great importance since diseases associated with iron deficiency or overload are very common worldwide. Recent study on hepcidin which is synthesized by liver has showed that this originally identified as a circulating antimicrobial peptide is a putative iron regulatory hormone. It plays a central role in the regulation of small intestine iron absorption and body iron homeostasis. The increased expression of hepcidin in the liver, induced by inflammation, might be an initial cause of the anemia of infection or chronic diseases and the iron-overload diseases might be tightly associated with the decreased hepcidin expression in the liver.

【Key words】 Hepcidin; Iron metabolism

(*Chin J Endocrinol Metab*, 2003, 19:501-504)

铁是人体最丰富的必需微量元素之一,它广泛参与重要的生命代谢过程。铁代谢紊乱引起的疾患是人类最常见的疾病,影响着数以千万计的人口。铁缺乏可造成贫血、智障等多种疾病。而铁过量则可促发产生大量自由基,引起神经退行性变及许多与老年相关的疾病^[1-3]。因此,人体存在着严格的铁代谢调节机制,可以确保体内铁始终处于正常生理水平。这种机体铁稳态(iron homeostasis)关键依赖于小肠铁吸收和机体铁需要之间的平衡。当机体缺(或需要)铁时,小肠铁吸收会相应增加,而机体铁含量太高时,小肠则会减少铁吸收^[4]。然而,机体是通过何种机制控制小肠铁吸收的,或小肠是如何感受到机体铁水平变化的信息后调节自身的铁吸收量的?在过去几十年中,对这一铁代谢领域中极其重要问题的理解几乎没有什么进展。直到最近,hepcidin 及其与铁代谢之间关系的意外发现才使这个问题的答案渐见清晰。研究显示 hepcidin 很可能是一种控制小肠铁吸收及调节体内铁稳态的关键物质,是一种极为重要的铁调节激素^[5,6]。

一、Hepcidin 的分子结构、基因表达与调控

Hepcidin 是一个富含半胱氨酸的抗菌多肽。2000 年, Krause 等^[7]首先从人血液中分离纯化了这一多肽,称之为肝脏

表达的抗菌多肽(liver-expressed antimicrobial peptide, LEAP-1)。2001 年 Park 等^[8]从人尿中也分离到这一多肽,并将其命名为 hepcidin。人尿中分离出来的 hepcidin 包含有 20、22 和 25 个氨基酸多肽等三种组成形式,相对分子质量介于 2 000~3 000 之间。正常 pH 值情况下,这些多肽带有 3+ 电荷。20 和 25 个氨基酸多肽是 hepcidin 的主要存在形式。它们的 C-末端都保留了半胱氨酸形成的富集区,区别仅在于氨基末端被切掉的氨基酸数目不同。Hepcidin 含有由 8 个半胱氨酸形成的 4 个二硫键,CD 光谱学特性研究证实,在磷酸缓冲液中 hepcidin 具有两个稳定的 β 折迭结构,这一结构与抗菌多肽的胱氨酸结(cysteine knot)结构非常相似^[8]。人类 hepcidin 在合成过程中,首先产生一个由 84 个氨基酸组成的早期多肽,然后被降解形成含有 60 个氨基酸组成的前体肽,最后从单一的前体肽生成具有生物活性的多肽分子。与以往在植物^[9]、昆虫类^[10]和软体动物^[11]发现的抗菌多肽一样,人类 hepcidin 也具有广泛的抗菌、抗真菌、抗原生动物的作用。

Hepcidin 基因位于人的第 19 号染色体上,而小鼠则位于第 7 号染色体上。Hepcidin 基因由 3 个外显子和 2 个内含子组成,转录后的 mRNA 长约为 0.4 kb。其中第三个外显子编码了 hepcidin 的氨基酸序列。人、大鼠和小鼠 hepcidin 的基因结构极为相似,在 hepcidin 基因上游,均与上游刺激因子(upstream stimulatory factor 2, USF2)基因紧密相连。两个基因中间只有 1.24 kb 的间隔,在这一部位存在着 HNF3 β , C/EB β 和 NF- κ B 等潜在转录调节子以及 TATA 起始结合位点。

作者单位:050016 香港理工大学应用生物及化学科技学院铁代谢实验室(常彦忠、钱忠明);河北师范大学神经生物和神经药理学研究所(段相林)

Northern 印迹的分析结果显示, hepcidin 的基因在肝脏特异表达, 心脏、脊髓、肺表达很少, 前列腺、睾丸、卵巢、小肠、结肠、肾脏和膀胱几乎没有表达^[6-8]。Hepcidin 作为一种抗菌多肽, 损伤、感染和炎症刺激可强烈引起该基因表达的增加^[12, 13]。高铁饲料饲喂的小鼠, hepcidin 基因表达也显著增加^[12]。但 hepcidin mRNA 没有铁反应组件(IRE), 所以 hepcidin mRNA 随铁状态而改变的机制目前尚不十分清楚^[5]。

二、正常铁代谢

对正常铁代谢的基本认识将有助于更好地理解 hepcidin 在调节铁代谢及维持机体铁稳态中的关键作用。在人体, 小肠是吸收铁的唯一部位, 肝脏和网状内皮系统(reticuloendothelial system, RE)是铁储存的主要部位, 而利用铁的主要部位是骨髓。最新的研究已经基本证明, 小肠吸收铁主要依赖 4 种新发现的铁代谢蛋白: 十二指肠的细胞色素 b(duodenal cytochrome b, Dcytb)、二价金属离子转运蛋白(divalent metal transporter 1, DMT1)膜铁转运蛋白 1(ferroportin 1, Fp1)和膜铁转运辅助蛋白(hephaestin, Hp)^[4, 14-17]。Dcytb 和 DMT1 位于肠吸收上皮细胞肠腔侧膜, 而 Fp1 和 Hp 则位于肠吸收上皮细胞的另一侧膜。小肠铁吸收的过程起始于 Dcytb。Dcytb 首先将食物中的自由三价铁还原成二价铁, 尔后在 DMT1 介导下二价铁进入肠吸收上皮细胞。而血红素铁如何被肠上皮细胞吸收目前尚未明了, 但已证实血红素铁在进入肠吸收上皮细胞后会从血红素释出。无论是血红素释出的铁还是经 DMT1 吸收的二价铁在肠吸收上皮细胞内有二个去向。一是以铁蛋白的形式储存在细胞内, 二是在 Fp1(也称为 IRT1, iron-regulated transporter 1 或 MTP1, metal transporter protein 1)和 Hp 的共同作用下穿过肠吸收上皮细胞的基底膜, Fp1 的作用是将二价铁运载出细胞, 而 Hp 则是将二价铁氧化成三价铁, 后者可以和血液内的转铁蛋白(transferrin, Tf)结合(Tf 只能结合三价铁)^[4]。Tf 结合铁是血液内铁的主要运输形式。小肠铁吸收量取决于上述四种铁吸收蛋白的表达量, 当这些蛋白表达增加时, 铁吸收量增加, 反则减少。

吸收的铁与血液内转铁蛋白结合后, 首先通过门脉系统到达肝脏。肝细胞膜上有二种转铁蛋白受体(transferrin receptor, TfR): TfR1 和 TfR2。后者是最近才发现的一种新的 TfR。为区别于经典的 TfR, 所以将二者分别称之为 TfR1 和 TfR2。肝细胞通过 TfR1 和 TfR2 介导摄取转铁蛋白结合铁, 而大部分铁可能是经 TfR2 的途径被肝细胞摄入的^[5]。部份铁也会经血液到达骨髓, 骨髓是红细胞生成及血红素合成的部位, 也是机体利用铁的主要部位。网织红细胞(不成熟红细胞)膜上有 TfR, 转铁蛋白结合铁经 TfR 内吞被网织红细胞摄取用作于血红素合成^[18]。衰老的红细胞可被网状内皮组织中的巨噬细胞吞噬, 释放出的血红素铁可被重复利用。巨噬细胞亦可通过膜表面的转铁蛋白受体直接从循环系统中摄取铁。巨噬细胞中的铁可以以铁蛋白的形式储存在细胞内, 亦可释放入血浆, 在血浆铜蓝蛋白的作用下被氧化为三价铁, 与转铁蛋白结合后在血浆中被运输到其它组织加以利用^[5](图 1)。

三、铁代谢调节

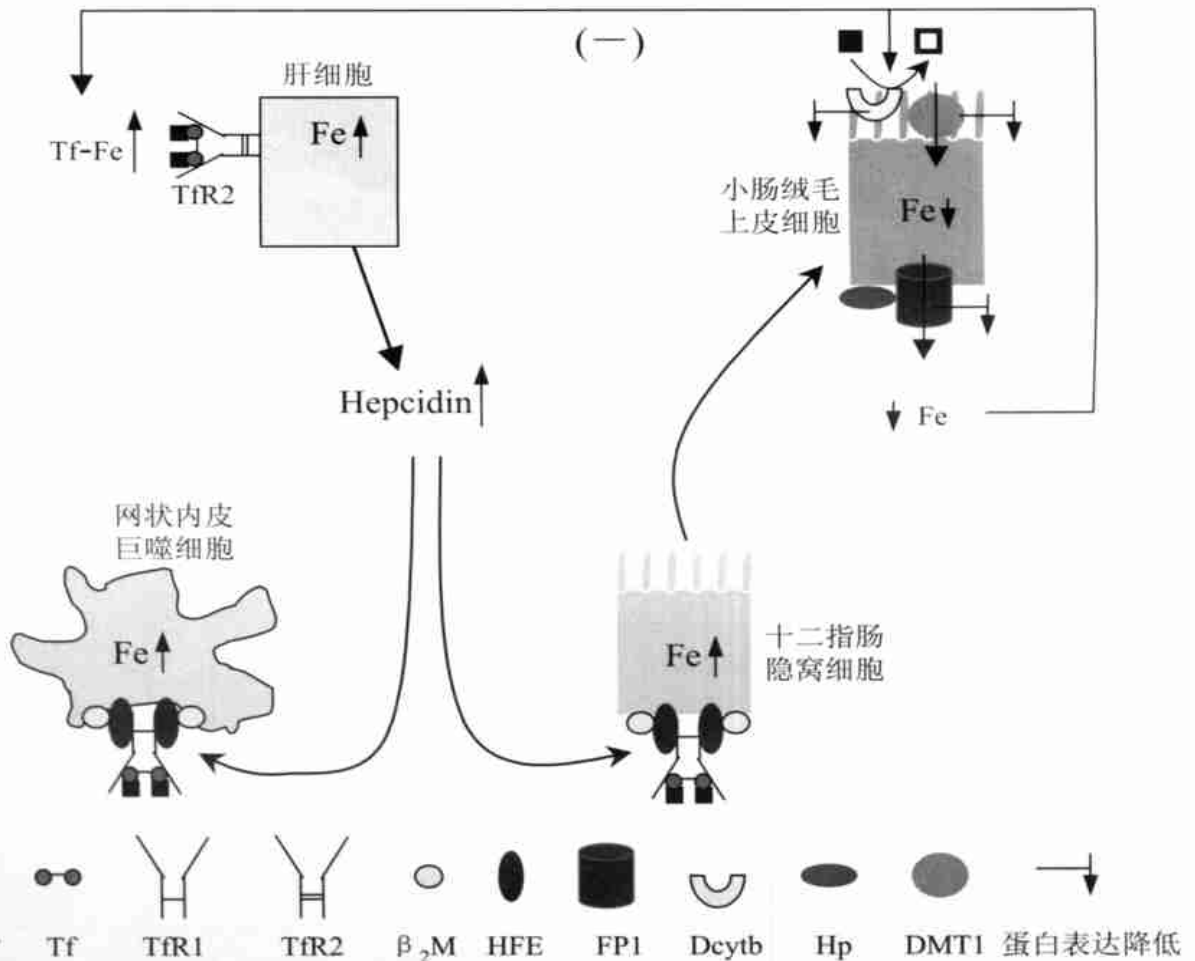
除了月经, 人体没有排出体内铁的生理机制。机体主要通

过控制近端小肠铁吸收量达到铁稳态。在近端小肠有一种细胞称之为十二指肠隐窝细胞(duodenal crypt cells), 有吸收能力的成熟肠上皮细胞正是由此类细胞分化而成。十二指肠隐窝细胞对机体铁变化十分敏感, 被认为是感受或接受机体铁变化信号的部位。当机体需(缺)铁时, 这些成熟肠上皮细胞的前体细胞可感受到这一变化, 因此在这些前体细胞分化成成熟肠上皮细胞后, 它们的 Dcytb, DMT1, Fp1 和 Hp 的表达增加, 进而铁吸收量增加, 以满足机体的铁需要或恢复铁稳态。相反, 体内铁含量增高时, 十二指肠隐窝细胞也能接受到这一信息, 引起成熟肠上皮细胞上 4 种铁摄取蛋白表达减少, 相应地铁吸收量会下降。然而, 关键的问题是十二指肠隐窝细胞如何感受到或获得机体铁变化的信息, 这是一个重要的但一直未有答案的问题。最近关于遗传性血色素沉着症(hereditary hemochromatosis, HH)研究的结果显示十二指肠隐窝细胞本身的铁含量或者“铁池”(iron pool)的变化是这一调节的重要环节^[5]。也就是说, 不论何种原因造成隐窝细胞铁含量或铁池下降, 当这些细胞分化成肠吸收上皮细胞后 4 种铁吸收蛋白表达会增加, 进而铁吸收增加, 反则减少。

研究发现大多数 HH 病人存在着 HFE (HLA-linked hemeochromatosis gene, 简称 HFE)基因缺陷^[19]。这一基因编码一个组织相容性复合物 I(histocompatibility complex class I)的膜蛋白(HFE 蛋白)。HFE 蛋白与 β_2 微球蛋白(β_2M)相结合后才能完成它的跨膜过程, 然后匍匐于细胞膜表面, 其旋转体样结构伸展于 MHC 肽链接合的槽槽相应部位, 并与转铁蛋白受体紧密相连^[20-22]。研究显示, 十二指肠中仅限于隐窝细胞有 β_2M /HFE/TfR1 复合物。在 HH 病人, 由于 HFE 基因缺陷导致 HFE 蛋白不能与 β_2M 结合, 也不能完成跨膜与 TfR 结合, 使得这类病人小肠隐窝细胞从血液中摄取铁的能力大为降低, 造成隐窝细胞内铁池含量下降(HFE 正常时, 隐窝细胞摄铁能力正常, 血液铁含量增加时, 隐窝细胞摄铁量及细胞内铁含量相应增加), 这一结果使隐窝细胞得到一个错误信息, 误以为体内铁缺乏, 造成(由这些隐窝细胞分化成的)肠吸收上皮细胞过量表达 4 种铁吸收蛋白, 因此铁吸收量增加。这可能是为什么 HH 病人尽管循环铁水平是增高的, 小肠铁吸收还是持续增加的原因。以上的研究和分析可见, 十二指肠隐窝细胞的正常铁吸收能力(β_2M /HFE/TfR1 的完整性)是维持铁稳态必不可少的, 也是铁稳态调节环中重要环节。另一种可以给我们理解铁调节机制启示的疾病是炎症性或慢性疾病并发性贫血。这是一类临床常见的铁代谢紊乱疾病, 与 HH 相反, 这类病人 RE 的贮铁量是增加的, 循环中铁和肠吸收铁均是降低的。这些病人没有 HFE 缺陷, 十二指肠隐窝细胞的 β_2M /HFE/TfR1 复合物结构是正常的。因此, 循环铁下降, 隐窝细胞铁摄取量和胞内铁池含量均会相应降低, 理应引起肠上皮细胞铁吸收量增高, 然而实际却是降低的。这一事实显示体内可能存在其它的因素可以调控隐窝细胞铁含量以及肠上皮细胞铁吸收量和 RE 贮铁量。

四、Hepcidin 在铁代谢调节中的作用

很久以来, 科学家们一直推测机体存在调节铁稳态的类似激素样物质, 这种物质可溶于血液因此能在组织例如肝脏、小



注: Fe²⁺: 二价铁; Fe³⁺: 三价铁; Tf: 转铁蛋白; TfR1: 转铁蛋白受体 1; TfR2: 转铁蛋白受体 2; β₂M: β₂ 微球蛋白; HFE: HFE 蛋白; FP1: 膜铁转运蛋白 1; Dcytb: 十二指肠的细胞色素 b; Hp: 膜铁转运辅导蛋白; DMT1: 二价金属离子转运蛋白

图 1 Hepcidin 调节铁代谢模式图

肠、网织红细胞和 RE 系统之间传递有关铁调节的信号。Hepcidin 及其在铁代谢中的重要作用的发现证明这种推测是正确的。最近的研究显示, hepcidin 很可能就是铁代谢研究者们长期一直寻找的调节铁稳态的重要激素。然而, 有趣的是, 这一重大发现并不是在一个有完整、严密的科学设计的研究中取得的, 而是在其它的研究时意外发现的。Nicolas 等使用 USF2 基因敲除小鼠原意是研究 USF2 在某些基因对葡萄糖反应中的作用, 但意外地发现这种小鼠的肝脏存在严重的铁沉积, 铁沉积的特征与人类遗传性血色沉着症十分相似, 主要分布在肝门静脉周围, RE 系统铁水平相对较低。为解释这种铁沉积的原因, 他们进一步的研究发现 USF2 基因敲除小鼠不但不能表达 USF2, 也不能表达下游的 hepcidin^[23]。他们随后又证实这种铁沉积的发生与 USF2 无关, 是 hepcidin 缺乏导致小鼠进行性组织铁积聚, 而且发现 hepcidin 高表达的转基因鼠出现严重的铁缺乏, 呈现严重的小细胞性贫血且生存时间大为缩短^[24]。此外, Pigeon 等^[12]也独立地证实, 饮食铁含量增高或者肝铁增加均可导致肝脏 hepcidin 表达增加。所有这些结果均证实 hepcidin 在机体铁代谢调节中具有重要作用。

由于 hepcidin 缺失所引起的组织铁沉积与 HFE 基因敲除小鼠和 HH 病人铁沉积特征十分相似, 因此 hepcidin 和 HFE 可

能是在同一个铁代谢调节环中发挥作用。也已证明部分 HH 病人的原因并不是 HFE 基因而是 TfR2 或 β₂M 基因缺陷, 也就是说 TfR2 和 β₂M 基因缺陷也可造成与 HFE 或 hepcidin 基因缺陷所致的类似的组织铁沉积。这一事实说明 TfR2 和 β₂M 可能是 hepcidin 和 HFE 参与的铁调节环中的组成部份。根据这些合理的分析和已获得的研究结果, Nicolas 等^[23]和 Fleming 等^[6]提出了关于 hepcidin 调节铁代谢的机制模式。他们认为, 当任何原因引起循环铁增加时, 肝细胞经 TfR2 途径(前已述及, TfR2 介导的铁摄取是肝细胞获得铁的主要途径)摄铁也增加。这会导致肝细胞增加合成和分泌 hepcidin 进入血液, hepcidin 经血流运输到十二指肠隐窝细胞直接作用于 β₂M/HFE/TfR1 复合物, 促成隐窝细胞摄铁量增加, 隐窝细胞内铁池增大, 进而抑制肠吸收上皮细胞四种铁吸收蛋白的表达, 铁吸收量因此下降。当循环铁较低时, 经 TfR2 介导的肝细胞铁摄取将会减少, 肝脏合成分泌的 hepcidin 将会减少。这将引起隐窝细胞铁池变小, 肠吸收上皮相关蛋白表达增加, 肠铁吸收量增加, 使铁水平恢复到正常。同时肝脏分泌的 hepcidin 也可经血流到达 RE 系统, 调节 RE 系统铁代谢作相应变化。这一模式显示 hepcidin 是肝脏、小肠和 RE 系统之间铁代谢调节信

号的传递者。它在铁稳态调节的作用有赖于 HFE、 β_2M 和 TfR2 的正常功能。它们中任一分子基因缺陷均会导致 hepcidin 失去功能。由此不难理解为什么 HFE、 β_2M 或 TfR2 基因缺陷会出现和 hepcidin 缺陷引起的相似的组织铁沉积特征。

五、hepcidin 相关疾病

过去数年是铁代谢研究领域飞速发展的时期。Dcytb、DMT1、FP1 和 Hp 的相继发现使我们基本理解了小肠上皮细胞吸收铁分子机制。Hepcidin 及其在铁代谢中作用的发现使我们开始明白机体铁稳态调节的关键。如果说 4 种铁吸收蛋白的发现和从小肠铁吸收机制的理解是最近 5 年铁代谢领域里的最大成就,那么 hepcidin 及其在铁调节中作用的认知是进入 21 世纪后铁代谢领域中的第一项突破性进展。无论对临床诊断还是治疗,这一进展的意义是巨大的。现在知道,hepcidin 是铁调节激素,然而它也是一种抗菌多肽,炎症和感染均可导致肝脏合成和分泌大量 hepcidin,高浓度 hepcidin 可经血液运输到达十二指肠隐窝细胞作用于 β_2M /HFE/TfR1 复合物,导致小肠铁吸收下降。这可能是炎症性贫血或慢性疾病并发性贫血的根本起因,这也是为什么这些贫血病人循环铁和小肠铁吸收都减少的原因。可以推断,如果抑制这类病人的肝脏 hepcidin 合成或分泌,或者阻断 hepcidin 与 β_2M /HFE/TfR1 复合物相互作用,均应该可以增加小肠铁吸收,达到有效治疗这类贫血的目的。异常升高的 hepcidin 也可能是其它类型临床贫血的原因。很显然抗 hepcidin 作用类物质也可通过增加小肠铁吸收的途径改善铁缺乏状况及有效地治疗任何类型缺铁性贫血。另一方面,任何原因引起的肝脏 hepcidin 合成或分泌障碍可能是临床铁过负荷类疾病的起因。因此给予外源性 hepcidin 可以预期会缓解或有效地治疗这一类疾病。此外,这一进展也为开发有效治疗各类贫血或铁积聚性疾病的药物提供了极好的依据。

参 考 文 献

- 1 Qian ZM, Wang Q, Pu YM. Brain iron and neurological diseases. *Chin Med J*, 1997, 110: 455-458.
- 2 Qian ZM, Wang Q. Expression of iron transport proteins and excessive iron accumulation in the brain in neurodegenerative disorders. *Brain Res Rev*, 1998, 27: 257-267.
- 3 Qian ZM, Shen X. Brain iron transport and neurodegeneration. *Trend Mol Med*, 2001, 7: 103-108.
- 4 蒋达和, 钱忠明. 小肠铁吸收机制及相关疾病研究进展. *中华医学杂志*, 2001, 81: 1353-1355.
- 5 Fleming RE, Sly WS. Hepcidin: a putative iron-regulatory hormone relevant to hereditary hemochromatosis and the anemia of chronic disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 8160-8162.
- 6 Fleming RE, Sly WS. Mechanisms of iron accumulation in hereditary hemochromatosis. *Annu Rev Physiol*, 2002, 64: 663-680.
- 7 Krause A, Neitz S, Magert HJ, et al. LEAP-1, a novel highly disulfide bonded human peptide exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett*, 2000, 480: 147-150.
- 8 Park CH, Valore EV, Wang AJ, et al. Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem*, 2001, 276: 7806-7810.
- 9 Taylor RH, Acland DP, Attenborough S, et al. A novel family of small cysteine-rich antimicrobial peptides from seed of *Impatiens balsamina* is derived from a single precursor protein. *J Biol Chem*, 1997, 272: 24480-24487.
- 10 Lamberty M, Ades S, Uttenweiler-Joseph S, et al. Insect immunity. Isolation from the lepidopteran *Heliothis virescens* of a novel insect defensin with potent antifungal activity. *J Biol Chem*, 1999, 274: 9320-9326.
- 11 Mitta G, Vandenbulcke F, Roch P. Original involvement of antimicrobial peptides in mussel innate immunity. *FEBS Lett*, 2000, 486: 185-190.
- 12 Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, et al. A new mouse liver-specific gene encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J Biol Chem*, 2001, 276: 7811-7819.
- 13 Shike H, Lauth X, Westerman ME, et al. Bass Hepcidin is a novel antimicrobial peptide induced by bacterial challenge. *Eur J Biochem*, 2002, 269: 2232-2237.
- 14 Gunshin H, McKenzie B, Berger UV, et al. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature*, 1997, 388: 482-488.
- 15 Donovan ABA, Zhou Y, Shepard J, et al. Positional cloning of zebrafish ferroportin identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature*, 2000, 403: 776-781.
- 16 Vulpe CD, Kuo YM, Murphy TL, et al. Hephaestin, a ceruloplasmin homologue implicated in intestinal iron transport, is defective in the mouse. *Nat Genet*, 1999, 21: 195-199.
- 17 McKie AT, Marciani P, Rolfs A, et al. A novel duodenal iron-regulated transporter, IREG1, implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation. *Mol Cell*, 2000, 5: 299-309.
- 18 钱忠明, 蒲咏梅, 邓柏礼. 网织红细胞铁摄取机制研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 1997, 24: 8-13.
- 19 Bacon B. Hemochromatosis: diagnosis and management. *Gastroenterology*, 2001, 120: 718-725.
- 20 Feder JN, Gnirke A, Thomas W, et al. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet*, 1996, 13: 399-408.
- 21 Feder JN, Tsuchihashi Z, Irrinki A, et al. The hemochromatosis founder mutation in HLA-H disrupts beta2-microglobulin interaction and cell surface expression. *J Biol Chem*, 1997, 272: 14025-14028.
- 22 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*, 1999, 96: 1579-1584.
- 23 Nicolas G, Bennoun M, Devaux I, et al. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 8780-8785.
- 24 Nicolas G, Bennoun M, Porteu A, et al. Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 4596-4601.

(收稿日期: 2002-09-19)