

[文章编号] 1000-4718(2006)02-0408-04

HFE 蛋白与遗传性血色病 *

钱忠明^{1,2,3}, 康友敏³, 常彦忠¹, 柯亚^{1△}

(¹香港理工大学应用生物及化学科技学系铁代谢实验室, 九龙, 中国香港; ²深圳中药和分子药理学国家重点实验室, 广东深圳 518060; ³河北师范大学神经生物和神经药理学研究所, 河北石家庄 050016)

HFE protein and hereditary haemochromatosis

QIAN Zhong-ming^{1,2,3}, KANG You-min³, CHANG Yan-zhong¹, KE Ya^{1△}

(¹*Iron Metabolism Laboratory, Department of Applied Biology and Chemical Technology, Hong Kong Polytechnic University, Kowloon, Hong Kong, China;* ²*National Key Laboratory of Chinese Medicine and Molecular Pharmacology, Shenzhen 518060, China;* ³*Institute of Neurobiology & Neuropharmacology, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016, China*)

【A Review】 Hereditary haemochromatosis is an iron-overload disease, which mainly induced by the hemochromatosis gene (HFE) mutation. Proximately 10% the whites have mutations in the HFE gene that has been identified in points of C282Y, H63D and S65C. About 85% of HH cases are caused by a mutation of amino acid 282 (C282Y) in the HFE gene. HFE protein is not only involved in regulation of transferrin-bound iron uptake but also a key component in the regulation of intestinal iron absorption. In addition, other gene mutation such as transferrin receptor 2 also can cause HH disease.

[关键词] 遗传性血色病; 基因, HFE; 铁代谢; 受体, 转铁蛋白

[KEY WORDS] Hereditary haemochromatosis; Genes, HFE; Iron metabolism; Receptors, transferrin

[中图分类号] R363 [文献标识码] A

遗传性血色病 (hereditary haemochromatosis, HH) 是一种遗传性铁代谢疾病。发病遍及全球, 以白种人发病较多, 北欧人群发病率可高达 1/200。大约 1/10 的白色人种是 HFE 突变基因携带者^[1]。国内对 HH 的发病率尚无确切统计数字, 但全国各地均有病例报道^[2]。HH 主要特征为小肠铁吸收过量增加, 逐渐在肝、心、胰和其它内分泌器官的实质细胞沉积, 造成器官功能障碍、肝硬化、心力衰竭、糖尿病、垂体功能减退和关节疾病等。此种疾病首次报道于 1865 年, 当时认为 HH 是糖尿病的一种特殊病例。尔后将这类疾病称为色素性肝硬化 (pigment cirrhosis), 或古铜色糖尿病 (bronzed diabetes)。数年后因发现此类病人的大部分器官有铁色素沉着, 故称为血色病 (haemochromatose)。以后又发现此病有遗传因素, 改称为遗传性血色病, 这个名称一直沿用至今。虽然 HH 的研究已有 100 多年的历史, 而其致病机理

的认识直到近年才有突破。1996 年, Feder 等^[3]发现 HFE (hemochromatosis gene) 变异是 HH 的主要发病原因。1998 年, Lebron 等^[4]报道了 HFE 蛋白的晶体结构以及 HFE 蛋白与载铁蛋白受体 (transferrin receptor, TfR) 相互作用的特征。这些里程碑式的工作以及随后数年的研究已使人们对 HH 的认识有了一个飞速的发展, 同时对人体铁代谢及其调节机制的知识也更为全面。

1 HFE 基因、蛋白结构的分布

HFE (或 HLA-H) 基因 (12 kb) 位于第 6 号染色体短臂, 由 1 029 bp 构成的一个开放可读框架组成。其编码一个由 343 个氨基酸残基组成的蛋白质即 HFE 蛋白。HFE 蛋白与 MHC-I 类蛋白 (major histocompatibility complex I) 间有很高的同源性。与 MHC-I 类蛋白一样, HFE 蛋白也是单一多肽链结构, 由 N-端信号肽、肽键结合区 ($\alpha 1$ 、 $\alpha 2$)、免疫球蛋白结构

[收稿日期] 2005-08-25 [修回日期] 2005-12-02

*[基金项目] 香港政府 UGC 资助项目 (PolyU5270/01M/B-Q445), 香港理工大学研究基金资助项目 (G-YX14, A256, G-YD78, A-PD92, G-T616, and G-T856); 深圳中药和分子药理学国家重点实验室研究基金资助项目

△通讯作者 E-mail: bcyake@polyu.edu.hk

©1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

类似区(α_3)、跨膜结构区及胞内结构区组成^[4]。HFE蛋白匍匐于细胞膜表面,其旋转体样结构伸展于MHC肽键结合的相应部位,从而与转铁蛋白受体整个二聚体282氨基酸的相应旋转体样结构(helical domain)形成广泛密切接触^[3]。它的跨膜部位一侧伸向细胞膜表面、另一侧伸入细胞浆中形成小突起。 α_2 和 α_3 各具有2个保守性的半胱氨酸残基,其 α_3 结构区中的225和282氨基酸残基位置上的2个半胱氨酸残基之间可形成二硫键,使 α_3 可与 β_2 微球蛋白以非共价键相结合。但HFE蛋白 α_1 和 α_2 不存在多态性。与MHC-I类蛋白不同的是HFE蛋白不能向T细胞运送肽类物质,也不与T细胞受体相互作用,没有任何免疫功能^[5]。HFE蛋白与MHC-I类蛋白最主要的结构差别在于HFE蛋白的 α_1 和 α_2 的距离比MHC-I类蛋白近4Å,而HFE蛋白这两个螺旋之间凹槽的表达区域大约有415Å,而在MHC-I蛋白大约是760Å^[4]。这可能是造成HFE蛋白缺乏运送肽类物质能力的原因。HFE蛋白另一个显著特点是在 α_1 区的底部聚集了4个组氨酸残基(组氨酸pKa值约为6.5)。HFE蛋白主要分布于人体消化道的上皮细胞,以极化形式分布于胃和结肠上皮细胞基底侧表面,以非极化形式分布于食道上皮细胞和粘膜下白细胞整个细胞膜表面及胞浆中,在十二指肠隐窝细胞中分布最多。HFE蛋白也表达于人体胎盘合体滋养层,与转铁蛋白结合铁在此处通过受体介导的胞吞作用将铁传递给胎儿。

2 HFE-TfR复合体的结构及其相互作用

研究证明HFE蛋白在细胞外的部分可与TfR形成具有2.8Å间隙的复合体^[4,6],两个分子HFE各握住两面对称的TfR二聚体。TfR是一个跨膜蛋白,生理pH(7.4)时它与含铁转铁蛋白(iron-bound transferrin, Fe-Tf 又称 diferric Tf)紧密结合。每一个TfR单体结合一个Fe-Tf。然后内吞形成内吞小体。内吞小体内的pH因内吞小体膜上氢泵的作用而下降至6.5左右,导致铁与Tf亲和力下降进而从Tf释放出来^[7,8],尔后通过二价金属转运蛋白(divalent metal transporter, DMT1)介导进入细胞质。释放了铁的转铁蛋白随内吞小体重新回到细胞表面。HFE蛋白和Tf-Fe可同时与TfR结合形成一个三元复合体,即一个HFE蛋白和一个Fe-Tf结合于同一个TfR的同型二聚体上^[5]。而可溶性HFE结合细胞表面的TfR后使Fe-Tf和TfR之间的亲和力下降,从而抑制了TfR与Fe-Tf的相互作用,进而抑制铁的摄取和转运。单独的TfR结构与TfR-HFE复合体在立体排

列及二聚体接口上完全不同。最近,Lebion等^[5]的研究组公布了HFE-TfR复合体的结构。这种结构的特点阐明了HFE蛋白如何影响TfR的功能。通过化学反应计算发现在分子浓度高并缺乏转铁蛋白的细胞内,复合体是由一个TfR同型二聚体绑定两个各1/2分子的HFE蛋白。蛋白的相对配向表明TfR和HFE蛋白限定在相同的细胞膜时发生相互作用,而不像T细胞受体与MHC-I类蛋白在两个细胞相对的细胞膜上相互作用。每个HFE蛋白与细胞膜平行并与1个TfR单体的一侧整合,而TfR同型二聚体仍竖立在细胞膜上。HFE与TfR之间界面很宽,总计2000Å,包括HFE蛋白的 α_1 与 α_2 螺旋及TfR的1和3两个螺旋区,相互作用主要发生在3个螺旋束,(包括HFE蛋白的 α_1 螺旋和TfR的两个螺旋),在这3个螺旋束中 α_1 螺旋和3螺旋反向平行大约有5个螺旋圈相互作用。通过比较HFE蛋白、TfR蛋白独立结构与复合体中HFE蛋白和TfR蛋白结构^[4,9],发现在形成复合体过程中TfR结构发生了显著变化,但HFE蛋白构象变化不大,同时表明了HFE-TfR相互作用是由TfR上的组氨酸残基质子化作用介导的,而不是通过由HFE蛋白的4个组氨酸残基区域进行的^[5]。

3 HFE基因突变

现已知道,HFE基因突变可以发生在几个位点,包括C282Y, H63D和S65C等。其中C282Y占总的HFE基因突变发生率为12%,而H63D约占25%。虽然H63D是较为普遍的HFE基因突变的模式,但较少导致HH。C282Y发病率则较高,C282Y或HFE基因遗传突变是在第282位点的半胱氨酸被酪氨酸替换(简写作Cys282Tyr或C282Y)。大多数HH病人属于此位点突变。遗传性血色病患者该单体型出现的频率高达85%^[1,3]。这提示HFE基因C282Y突变具有明显的建立者效应(founder effect)。这种突变使HFE蛋白发生了双硫键断裂以致与 β_2 -微球蛋白的联系解脱,致使其跨膜部位不能延伸到细胞表面。虽然HFE蛋白本身不是转运铁的载体,但由于它未能到达细胞表面,因而失去铁代谢中有重要意义的防止铁被过度摄入的调节作用,因此导致本症一系列的重要病理生理变化(见下节)。HFE基因的另一突变位点是第63位点的组氨酸被天冬氨酸替换(简写作His63Asp或H63D)。H63D基因突变更像是HFE基因的一种遗传性多态位点,只是与C282Y突变构成双重杂合基因型时,携带者才可出现HH临床症状。有关H63D的性质及病理后果尚需进一步研

究^[10]。第3个HFE基因突变位点是第65位的丝氨酸被半胱氨酸替换发生的变异(简写作S65C)。在420名丹麦献血者中用PCR-SSCP法检出13名S65C者。提示分析显示S65C与运铁蛋白饱和度增高的表现型之间并无相关性,而且S65C者临床也只有轻度铁贮积^[11]。此外,Peuschel^[12]报道20号染色体短臂缺陷基因与HH有关,并认为该基因对稳定膜蛋白电位,防止细胞内过量铁的贮积和协调细胞内铁的外运有重要作用。在20例血色素沉着症患者中有4例并没有C282Y纯合子、C282Y/H63D双杂合子及H63D纯合子等基因遗传式,但却检出罕见的HFE外显子2、3、4、5及内含子2、4、5等部位的突变基因^[13]。此外有一定比例的HH病人没有发现HFE基因突变,说明HH还有其它的致病原因。近来研究发现了转铁蛋白受体2(transferrin receptor 2, TFR2)^[13],并确认以前不明原因的HH是由于TFR2基因突变造成的。Fleming等^[6]发现在标准的饲养条件下,TFR2变异小鼠肝内铁离子浓度比同窝出生的正常小鼠高几倍,这说明TFR2在铁的动态平衡中起重要作用。Mattman等^[13]研究了具有HH意大利血统的4个家族,发现TFR2突变发生在第17外显子,690位点谷氨酸被脯氨酸代替,这个突变在葡萄牙裔的家族中也有发现。最近还发现膜铁转运蛋白1(ferroportin 1, FP1)基因与HH有关^[17]。对遗传性血色病患者的十二指肠活体标本进行检查,发现患者FP1的mRNA表达量平均比正常人高3倍。Njajou等^[10]对一个遗传血色病大家族进行全基因组扫描,发现在第2号染色体上的SLC11A3基因(人的FP1基因)的第5个外显子的734位核苷酸由A突变为C,所编码的蛋白质也发生改变,由组氨酸取代天门冬氨酸。Wallace等^[16]在澳大利亚家族HH病中也发现FP1基因突变(V162del),并认为这种突变中断了FP1蛋白的功能,导致铁的过度积累。这些研究说明FP1基因的突变可导致HH的发生^[10],其机制有待阐明。

4 HFE蛋白的生理功能及HFE基因变异的致病机制

理解HFE的生理功能是阐明HFE基因突变如何造成血色病的关键。就目前的认识,HFE在人体铁代谢过程中主要有2个功能,一是调节细胞铁摄取参与细胞内铁平衡的调控过程,二是控制小肠铁吸收相关蛋白的表达,从而参与调节小肠铁吸收。在调节细胞铁摄取的过程中,HFE蛋白的作用是抑制性的,主要通过和TfR结合而控制细胞经TfR介导的Tf-Fe摄取。当HFE表达增加时,HFE与TfR结

合增加,细胞摄取Tf-Fe减少,否则反之。但HFE本身在细胞膜上的表达是如何调节的尚不清楚。可能主要受控于最近发现的所谓铁调节激素hepcidin^[17,18]。在小肠TfR和HFE不直接参与铁吸收过程,但是他们和 β -微球蛋白一起负责隐窝细胞从循环血液中摄取铁进而起控制小肠铁吸收蛋白的表达,因此在控制小肠铁吸收的过程中起关键作用。最近几年的研究已经清楚小肠铁吸收取决于4种铁运输蛋白:肠细胞色素B(duodenal cytochrome b, Dcytb)、DMT1、FP1和膜铁转运辅助蛋白(hephaestin, Hp)^[19]。DMT1和Dcytb负责小肠粘膜铁吸收(铁由肠腔进入肠上皮细胞),FP1和Hp则主导铁由肠上皮细胞进入体循环的过程。肠腔内食物中自由铁(Fe^{3+})首先由Dcytb还原成二价铁(Fe^{2+}),尔后经DMT1介导进入肠上皮细胞。进入肠上皮细胞内的铁部分可以以储铁蛋白的形式储存在细胞内,部分铁(Fe^{2+})经FP1介导穿越基底膜,同时Hp将 Fe^{2+} 转化为 Fe^{3+} ,进入血液循环与Tf结合^[19]。

小肠铁摄取量基本取决于这4种蛋白的表达量,表达增加,吸收增加^[19]。虽然这4种蛋白表达控制机制的细节尚未完全明了。但目前知道,小肠隐窝细胞的铁含量是控制这4种蛋白表达的关键因素。当小肠隐窝细胞含量增高时,这些蛋白在小肠吸收细胞的表达量下降,铁吸收也减少,否则反之。而小肠隐窝细胞的铁吸收取决于HFE(和TfR和 β -微球蛋白),后者受控于血液中铁调节激素hepcidin浓度^[20]。肝脏分泌hepcidin的量及其在血液中多寡与肝脏TFR2介导的铁摄取量相关。生理情况下,当血液中铁含量增加时,肝摄铁量增加。因为肝细胞主要经TFR2介导摄铁,因此经TFR2介导摄铁量增加,进而导致肝脏合成和分泌hepcidin增加。Hepcidin经血液循环到达隐窝细胞,作用于HFE-TfR1- β -微球蛋白复合物,刺激隐窝细胞铁吸收,隐窝细胞铁含量增加,进而抑制上述4种主要铁吸收蛋白表达,铁摄取减少,使血液铁浓度恢复正常水平^[20]。人体通过这一环路(TFR2 \rightarrow hepcidin \rightarrow HFE/TfR/ β 微球蛋白复合物 \rightarrow 隐窝细胞铁浓度 \rightarrow 4种铁吸收蛋白表达 \rightarrow 调节摄铁量 \rightarrow 血液铁含量 \rightarrow TFR2)。由此可见,HFE是这一调节铁摄取环路中的重要一分子,它的基因突变会导致这一人体重要的铁调节机制失去功能,铁摄取失控,致使体内过量铁积聚以致HH^[14,20]。前已述及,部分HH病人没有HFE变异,可能与TFR2变异相关。TFR2是这一调节环路的一个起始点,TFR2基因突变可以引起肝细胞经TFR2

介导的铁摄取下降, 甚少消失, 这样会造成 HFE 变异所引发的相同后果, 即引发 HH。

5 小结

HFE 基因突变的发现以及相关的研究使人们对 HH 病的发生原因及发展过程有了一个新的认识。这为临床治疗以及开发新的相关治疗药物提供了重要的依据。然而, 有关 HFE 及 HH 病的许多基本的问题尚未完全明确, 更清楚地阐述这些问题是十分必要的。例如, HFE 表达调控, 铁吸收调节环路中各种成分相互作用的分子机制, 以及是否存在其它的生物分子参与这一环路的生理运作, 均是急需研究的问题。此外, 关于 HH 基础及临床研究, 以及相关的铁代谢研究均需给予充分的重视和支持。一定规模的 HH 相关基因的调节也是迫切需要尽早开展的, 这样的研究可以使我们能较为清晰地了解我国 HH 疾病的发生率及相关基因突变类型, 有利于开展更为深入的治疗学研究。

[参 考 文 献]

- [1] Burke W, Thomson E, Khoury MJ, et al. Hereditary hemochromatosis: gene discovery and its implications for population-based screening[J]. JAMA, 1998, 280(2): 172—178.
- [2] 杨天楹. 铁过负荷[A]. 见: 钱忠明 主编. 铁代谢基础与临床[M]. 第 1 版. 北京: 科学出版社, 2000. 210—233.
- [3] Feder JN, Gnirke A, Thomas W, et al. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis[J]. Nature Genet, 1996, 13(4): 399—408.
- [4] Lebron JA, Bennett MJ, Vaughn DE, et al. Crystal structure of the hemochromatosis protein HFE and characterization of its interaction with transferrin receptor[J]. Cell, 1998, 93(1): 111—123.
- [5] Lebron JA, Bjorkman PJ. The transferrin receptor binding site on HFE, the class I MHC-related protein mutated in hereditary hemochromatosis[J]. J Mol Biol, 1999, 289(4): 1109—1118.
- [6] Fleming RE, Sly WS. Mechanisms of iron accumulation in hereditary hemochromatosis[J]. Annu Rev Physiol, 2002, 64: 663—680.
- [7] Qian ZM, Tang PL. Mechanisms of iron uptake by mammalian cells[J]. Biochim Biophys Acta, 1995, 1269(3): 205—214.
- [8] Qian ZM, Tang PL, Wang Q. Iron crosses the endosomal membrane by a carrier-mediated process[J]. Prog Biophys Mol Biol, 1997, 67(1): 1—15.
- [9] Lawrence CM, Ray S, Babyonyshev M, et al. Crystal structure of the ectodomain of human transferrin receptor[J]. Science, 1999, 286(5440): 779—782.
- [10] Njajou OT, Vaessen N, Joosse M, et al. A mutation in SLC11A3 is associated with autosomal dominant hemochromatosis[J]. Nature Genet, 2001, 28(3): 213—214.
- [11] Powell LW. Hereditary hemochromatosis and iron overload diseases[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2002, 17(Suppl): S191—S519.
- [12] Peuschel KE. A genetic defect of an iron pump on chromosome 20 is postulated to cause human hemochromatosis[J]. Med Hypotheses, 1997, 49(5): 417—419.
- [13] Barton JC, Rothenberg EB, Bertoli LF, et al. Diagnosis of hemochromatosis in family members of probands: a comparison of phenotyping and HFE genotyping[J]. Genet Med, 1999, 1(3): 89—93.
- [14] 常彦忠, 段相林, 钱忠明. 转铁蛋白受体 2 及其功能与相关疾病[J]. 生物化学与生物物理进展, 2003, 30(4): 533—537.
- [15] Mattman A, Huntsman D, Lockitch G, et al. Transferrin receptor 2 (TfR2) and HFE mutational analysis in non-C282Y iron overload: identification of a novel TfR2 mutation[J]. Blood, 2002, 100(3): 1075—1077.
- [16] Wallace DF, Pedersen P, Dixon JL, et al. Novel mutation in ferroportin1 is associated with autosomal dominant hemochromatosis[J]. Blood, 2002, 100(2): 692—694.
- [17] 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[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(15): 8780—8785.
- [18] Fleming RE, Sly WS. Hepcidin: a putative iron-regulatory hormone relevant to hereditary hemochromatosis and the anemia of chronic disease[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(15): 8160—8162.
- [19] 蒋达和, 钱忠明. 小肠铁吸收机制及相关疾病研究进展[J]. 中华医学杂志, 2010, 81(24): 1533—1535.
- [20] 常彦忠, 钱忠明. Hepcidin 和铁稳态[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2003, 19(6): 501—504.