

膜铁转运蛋白 Ferroportin 1 的研究进展

李 静¹ 钱忠明^{1,2} 常彦忠^{1,2} 段相林^{1,△}

(¹ 河北师范大学生命科学学院动物细胞生物学研究室, 石家庄 050016;

香港理工大学应用生物及化学科技学系, 香港九龙)

摘要 膜铁转运蛋白 Ferroportin 1(2000 年发现)在细胞铁的输出中起重要作用。它在成熟的十二指肠绒毛上皮细胞基底面、脾和肝的巨噬细胞、胎盘的合体滋养层细胞等都有表达。经序列分析显示 Ferroportin 1 具有十个跨膜结构域、一个还原酶位点和一个基底定位信号位点。此外, Ferroportin 1 mRNA 转录在 5' 非翻译区包含一个铁反应元件。本文对 Ferroportin 1 的目前研究进行了综述, 并阐述了其医学应用前景。

关键词 铁; Ferroportin 1; 铁的输出

中图分类号 Q51

1831 年, Fordisch 证明缺铁性贫血患者血液中铁含量比健康人低, 确认了铁是人体必需微量元素之一。铁广泛参与机体的代谢过程, 如血红蛋白、肌红蛋白、激素以及 DNA 等的合成, 还能增强中性粒细胞杀菌及吞噬功能, 维护 T、B 细胞增殖、分化及抗体的产生(Folin 等, 1991)。长期以来, 人们对铁与健康的关系, 多着眼于铁缺乏的危害, 如导致缺铁性贫血、缺铁吞咽困难综合征等疾病。然而, 近年来有关铁过多引起的健康问题越来越引起人们的关注, 研究发现, 过多的铁会产生有毒性的自由基, 继而损伤细胞, 造成遗传性血色病、神经退行性疾病等^{1,2}。因此, 体内必需具有严格的调节机制, 以保持铁代谢的平衡。

膜铁转运蛋白 Ferroportin 1, 又称铁调节转运体 1(Fe-regulated transporter 1, IREG1)或金属转运蛋白(metal transport protein 1, MTP1), 是一种跨膜的铁输出蛋白。2000 年, 三个研究小组几乎同时分离鉴定了编码该蛋白的基因。Donovan 等^[3] 首先采用定位克隆的方法从低色素性贫血的斑马鱼中分离鉴定出导致该症的基因, 命名为 Ferroportin 1(FP1)。与此同时, Abboud^[4] 和 McKie 等^[5] 分别用指数富集配体系统进化技术和消减杂交法鉴定了该基因, 并分别命名为 MTP1 和 IREG1。目前对 Ferroportin 1 的研究已成为铁代谢研究的热点问题之一。

一、FP1 的结构特点

目前, 斑马鱼、非洲爪蟾、小鼠、大鼠和人的 FP1 的 cDNA 已被克隆, 小鼠、大鼠和人的 FP1 序列同源性大于 90%。人的 FP1 基因定位于 2 号染色体上,

长度 20kb, 含 8 个外显子, 其 mRNA 的 5' 末端非翻译区含有一个典型的铁反应元件 IRE。FP1 mRNA 编码的蛋白有 571 个氨基酸, 分子量约 62000, 至少含有 10 个跨膜结构域(图 1), 是一种膜蛋白。

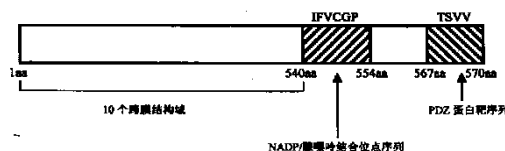


图 1 FP1 蛋白结构示意图

McKie 等^[5] 的进一步分析表明, FP1 具有 NADP/腺嘌呤结合位点序列 IFVCGP 和 C 末端还存在基底外侧定位信号位点(图 1)。FP1 的最后四个氨基酸(TSVV)包含一个 T/S-X-V/L PDZ 蛋白靶序列, 可被 PDZ 蛋白所识别(图 1)。而 PDZ 蛋白质能够通过 PDZ 的作用, 将靶蛋白聚集到极化的上皮细胞的基底膜上。FP1 mRNA 序列分析显示在其 5' 非翻译区存在一个铁反应元件 IRE^[3-5]。

二、FP1 的分布特点

FP1 广泛分布于机体各组织中。Northern blot 分析显示, FP1 mRNA 在小肠、胎盘、脾、肝、肾、心脏、肌肉、肺和脑均有表达^[4]。FP1 蛋白在肠中主要分布于十二指肠绒毛上皮细胞, 并且小肠绒毛顶部的粘膜上皮细胞比隐窝部的 FP1 表达要强。从十二指肠到结肠, FP1 表达递减, 此分布模式与肠对铁的

通讯作者

吸收能力相一致。在脾的巨噬细胞和巨核细胞以及肝的枯否细胞, FP1 表达也很显著, 肾小球细胞、近端小管、肺上皮细胞、支气管上皮细胞 (Yang 等, 2002) 也有微弱的 FP1 表达。在人类胎盘中, FP1 主要表达在合体滋养层细胞中。对大鼠脑的研究表明 (Burdo 等, 2001), 海马、大脑皮层、小脑、丘脑和纹状体, FP1 有高度表达。其中皮质的锥体神经元的胞体和顶树突表达很强。海马的颗粒细胞和锥体细胞以及缰核, 也有 FP1 高度表达。

FP1 的亚细胞定位: 小鼠十二指肠冰冻切片的免疫荧光染色显示, FP1 主要分布在肠上皮细胞的基底胞质和基底膜, 上皮细胞顶端胞质中也有少量表达。FP1 在肝与小肠的亚细胞分布有显著的不同, 在肝内, FP1 主要表达在枯否细胞的胞质, 并且在含铁血黄素分布较多, 肝细胞的窦周隙边缘, 表达也很多。在网状内皮细胞, FP1 主要定位于内质网。与此相似, 体外培养的小鼠单核细胞系 RAW267.4, FP1 在细胞质有表达, 而细胞膜无表达。体外培养的大鼠肠 IEC-6 细胞系, 在 4℃ 时, FP1 在细胞膜有表达, 而 37℃ 时, 在细胞质有表达。在人类胎盘, 合体滋养层细胞的基底面与胎儿的血液循环相邻, 而顶面与母体的血液循环相邻, 而 FP1 主要表达在合体滋养层细胞的基部。

三、FP1 的生理功能及其调节

FP1 广泛分布于机体多种组织中, 其主要功能可能与机体的铁代谢有关。此外, FP1 也可能参与锌、铜等金属离子的转运。铁转运紊乱导致的疾病如斑马鱼的低血色素贫血, 人的遗传性血色素沉着症等均与 FP1 异常有关。根据现有的研究资料, FP1 主要功能有以下几方面:

(一) 铁离子转运功能 先前的研究已证实, DMT1 是哺乳动物细胞摄取铁的蛋白。那么铁的释放又是如何进行的呢? 将非洲爪蟾的卵母细胞预先负载⁵⁵Fe, 然后分别注射 FP1 cRNA 和 DMT1 cRNA, 在铜蓝蛋白和转铁蛋白的存在下, 注射 FP1 cRNA 的卵母细胞将 80% 的⁵⁵Fe 释放出来, 而注射 DMT1 cRNA 的卵母细胞, 则极少释放⁵⁵Fe。Donovan 等也证明了表达 FP1 的卵母细胞释放铁的量比不表达 FP1 的要高 5 倍。这些结果证明 FP1 蛋白具有将铁从细胞内释放出来的功能。

FP1 在与铁吸收密切相关的组织内的表达也进一步说明了它的铁转运功能。FP1 在十二指肠绒毛细胞的基底膜, 特别是肠绒毛顶端吸收细胞的基底膜有表达^[3~5], 在空肠^[3,5]、回肠^[3]不表达。

基于已发现的与铁转运相关的蛋白, 非血红素铁在十二指肠的吸收过程可用图 2 说明: 首先由十二指肠细胞色素 b (DCb)^[6] 将食物的三价铁还原为二价铁, 之后二价金属离子转运体 1 (DMT1) 将二价铁吸收进入小肠粘膜上皮的吸收细胞, 然后再由 FP1 将铁从小肠吸收细胞释放到胞外, 继而被 hephaestin^[7] 氧化为三价铁进入血液循环, 与转铁蛋白 (Tf) 结合, 被运输到机体各个组织。

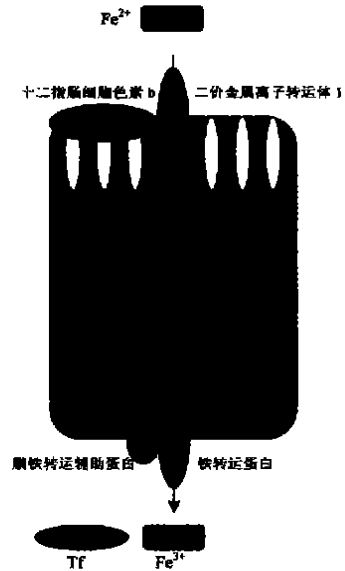


图 2 十二指肠非血红素铁吸收示意图

肝和脾也有较多的 FP1 表达^[3,4], 小鼠免疫组化表明, FP1 表达在枯否细胞的胞质, 肝细胞表面靠近肝血窦一侧和脾的巨噬细胞^[4]。肝和脾在铁的再循环中发挥重要的作用, 肝的枯否细胞、脾的巨噬细胞可吞噬衰老的红细胞, 在溶酶体的作用下将红细胞裂解, 血红蛋白降解后在血红素氧化酶的作用下释放铁。因此 FP1 在这些部位的表达表明其可能与铁的贮存和重新利用有关。FP1 在胎盘合体滋养层细胞也有表达, 并且在妊娠的最后三个月最高^[5], 这一时期也是胎儿需要铁较多的时期, 这表明 FP1 在铁从母体到发育的胎儿的转运中有着重要作用。急慢性肺病患者机体的铁都有高度积累, 由铁引起的自由基产生将导致组织伤害, 铁的正常转运对肺的防御功能很重要, 因此, FP1 在肺和支气管上皮细胞也有表达, 并受铁的正调控。

(二) 其它功能 许多金属转运体并非专一的转运铁。如 Gunshin 等证明, 在转染 DMT1 的爪蟾卵母细胞中, DMT1 对 Mg²⁺、Co²⁺、Cd²⁺、Cu²⁺、Zn²⁺、Ni²⁺、Pb²⁺ 也有转运功能。因此, FP1 转运其它离子

的功能有待研究。

FP1 还具有一个 NADP/腺嘌呤结合位点序列 IVCVGP, 该结构域在 NADH 和 NADPH 还原酶家族 (包括酵母铁还原酶和嗜中性白细胞氧化还原酶) 中都存在, 这表明 FP1 可能具有铁转运还原酶活性。二价和三价铁都存在于细胞复杂的平衡之中, 这两种氧化还原价态之间的转化在铁的转运和整合中有很重要的作用。三价铁离子从细胞的输出可能与 FP1 的还原结构域将三价铁还原为二价铁有关, 这还有待研究。

(三)FP1 表达的调节 尽管 FP1 具有 5' IRE 序列, 但其表达的调控机制现在还很难解释。IRE 可以形成稳定的茎环结构, 与铁调节蛋白 (IRP) 结合。当铁缺乏时, mRNA 的 5' 末端的 IRE 与 IRP 的亲合力增强, 形成的 IRE/IRP 复合体将阻止 mRNA 的翻译。在肝的枯否细胞, FP1 的调节与 IRP-IRE 机理是相一致的^[3]。然而, 与 IRP-IRE 机制相反, 有报道表明, 铁缺乏 (饲以低铁饲料) 引起了 FP1 在十二指肠的表达增加, 而铁超负荷小鼠 (注射铁右旋糖苷) FP1 表达降低^[3]。细胞实验显示, 铁处理后人类结肠癌细胞系 Caco-2 细胞的 FP1 mRNA 减少 (Martini 等, 2002)。这些结果表明有一个 IRE 独立的机制控制着 FP1 在肠细胞的表达。此外, 在胎盘细胞可能存在另一个 IRE 独立的机制, 铁缺乏的小鼠胎盘的 FP1 的表达没有变化 (Gambling 等, 2001)。

综合上述研究结果, 不同的细胞类型和器官的铁对 FP1 表达的调控可能是不同的, 其原因可能是在肠上皮细胞、肝细胞, FP1 mRNA 不能通过 IRE 机制调控表达, 因为这些结构在铁吸收和贮存中起重要的调节作用, 如果这些类型的细胞内铁含量增高, 铁依赖的 FP1 表达增加的话, 随后的铁释放增加将会对机体的健康有害。因此细胞内铁浓度升高会引发 FP1 补偿性的负反馈调节, 将导致肠铁吸收的减少, 有利于肝细胞内铁含量的稳定, 从而保护了组织细胞免受铁超载带来的伤害。与之相反, 在其他细胞类型 (如巨噬细胞), 预期的 IRP 依赖的 FP1 表达的增加可能以促进铁释放来促使血色素再生, 或避免铁过度积累诱发的过氧化伤害。

在高锌^[8]和高铜^[9]条件下, Caco-2 细胞顶膜到基底膜的铁转运显著减少, FP1 mRNA 则显著增加。

锌和铜依赖的调控机制仍不清楚, 可能是在 FP1 启动子区存在金属反应元件。

新生小鼠的十二指肠 FP1 mRNA 的合成较低, 在生长发育过程中逐渐增加, 至 23 天时可达到成年小鼠的水平, 说明 FP1 基因的表达受发育因素调控^[9]。

四、在医学中的应用前景

FP1 的发现可能对铁超载或铁缺乏疾病的诊断和治疗有重要的医学应用前景。例如, 斑马鱼 *weh* 突变导致低血色素贫血症, 人类也存在相似的由 FP1 突变引起的疾病。最近, 有研究表明, 在第 2 号染色体上人的 FP1 基因的第 5 个外显子内 734 位核苷酸突变, 引起氨基酸的改变 (Asp 变为 His)。这一改变可能引起过多的铁被转运进入血液循环, 因此导致遗传性血色素病的病症。显然, FP1 的发现有助于相关疾病的诊断和治疗。

参 考 文 献

- 1 Meneghini R. Iron homeostasis, oxidative stress, and DNA damage. *Free Radic Biol Med*, 1997, 23: 783 ~ 792.
- 2 钱忠明. 铁代谢-基础与临床. 北京: 科学出版社, 2000. 7.
- 3 Donovan A, Alison A, Zhou Y, et al. Positional cloning of zebrafish FP1 identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature*, 2000, 403: 776 ~ 781.
- 4 Abboud S, Haile DJ. A novel mammalian iron-regulated protein involved in intracellular iron metabolism. *J Biol Chem*. 2000, 275: 19906 ~ 19912.
- 5 McKie AT, Marciani B, 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.
- 6 McKie AT, Barrows D, Latunde-Dada, GO, et al. An iron-regulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron. *Science*, 2001, 291: 1755 ~ 1759.
- 7 Vulpe CD, Kuo Y, Murphy TL, et al. Hephaestin, a ceruloplasmin homologue implicated in intestinal iron transport, is defective in the sla mouse. *Nat Genet*, 1999, 21: 195 ~ 199.
- 8 Yamaji S, Tennant J, Tandy S, et al. Zinc regulates the function and expression of the iron transporters DMT1 and IREG1 in human intestinal Caco-2 cells. *FEBS Lett*, 2001, 507: 137 ~ 141.
- 9 Han O, Wessling-Resnick M. Copper repletion enhances apical iron uptake and transepithelial iron transport by Caco-2 cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2002, 35: 282.