

铁转运刺激因子研究进展^{*}

于 鹏¹ 常彦忠^{1,2} 钱忠明^{1,2△}

(¹ 河北师范大学神经生物学与神经药理学研究所, 石家庄 050016;

香港理工大学应用生物及化学科技学系铁代谢实验室, 香港九龙)

摘要 铁转运刺激因子 (stimulator of Fe transport, SFT) 是近年新发现的一个重要的铁代谢蛋白。SFT 是一种跨膜糖蛋白, 含 6 个跨膜区域, 在第一个细胞内环中含有功能上十分重要的 REIHE 序列。它广泛分布于各组织, 其主要功能是促进转铁蛋白结合铁和非转铁蛋白结合铁的转运。SFT 的基因表达和功能发挥受铁的调控。遗传性血色素沉着病人的肝脏内 SFT mRNA 的表达显著增加, 因而 SFT 超表达可能与遗传性血色素沉着病的形成有关。

关键词 铁转运刺激因子; 铁代谢; 铁转运; 遗传性血色素沉着症

中图分类号 Q51

铁是生物体内一种必需的营养素, 是细胞执行生理功能的重要辅助因子。细胞主要通过转铁蛋白-转铁蛋白受体介导的内吞摄取铁, 也能通过非转铁蛋白依赖型途径获取铁^[1,2]。1997 年, Gutierrez 等^[3] 在非洲爪蟾卵母细胞内克隆到了一个长约 1400bp 的 cDNA, 由于此单一克隆的转录产物具刺激铁转运的功能, 因而被命名为铁转运刺激因子 (stimulator of Fe transport, SFT)。现在知道, SFT 能增强细胞对非转铁蛋白结合铁和转铁蛋白结合铁的摄取, 是调节体内铁稳态的重要铁代谢蛋白之一。SFT 的发现拓展了人们对铁代谢的蛋白调控和表达的认识, 进一步加深了对机体铁代谢以及铁代谢异常(缺乏或超载)的理解。本文重点讨论了 SFT 的表达分布与结构、生理功能、表达调控及其表达异常与某些疾病关系的研究进展。

一、SFT 的表达分布、结构和类型

SFT 在人体组织中分布十分广泛^[3,4], 外周血白细胞、脾、胸腺和小肠中表达水平最高; 前列腺、睾丸、卵巢、结肠等组织中也有不同程度的表达。在小鼠组织中同样分布广泛^[5], 小鼠脾、小肠、结肠、肝、肾、肺、心脏和脑中均存在 SFT mRNA 表达。Barisani 等^[6] 和 Yu 等^[7] 研究发现, 十二指肠内 SFT 主要分布于绒毛中央和近顶端部位的细胞中。荧光显微镜观察显示, SFT 主要位于细胞内的再循环内吞小体 (recycling endosomes) 中。SFT 蛋白具有寡聚现象, 即使在 2.5%β-巯基乙醇和 1%SDS 存在的条件下仍能形成同源二聚体, 而且卵母细胞内 SFT 介导的铁转运需要细胞内 ATP 供能, 说明 SFT 具有 ABC (ATP-

binding cassette) 转运蛋白家族成员的特征, 但是 SFT 在结构上不含有 ABC 内的 Walker 序列。近来 Paulsen 等 (1997) 在原核和真核生物中发现了 CDF (cation diffusion facilitator) 家族的 13 个典型成员, 他们都含有 6 个跨膜区域, 尽管 SFT 的二级结构也具有这个特征, 但是它的一级结构缺少 CDF 家族成员的特征序列。

SFT 是一个由 338 个氨基酸构成的完整的跨膜糖蛋白^[7], 含有 6 个跨膜区域 (M1~M6)。其中 M1、M3 和 M5 三个跨膜片段内含有组氨酸残基, 可能是结合金属的位点。SFT 具有高度疏水性, 尤以 Glu¹⁴⁹-Met²²⁴ 和 His²⁴⁶-Leu²⁹⁶ 两个区域疏水性最为明显。SFT 具有一个巨大的细胞内环 (L4) 及一个巨大的细胞外环 (L5) (图 1)。L2 可能是监测细胞铁状态的感应器 (sensor), 在哺乳动物细胞 SFT 的 L2 中含有一短的 REIHE 氨基酸序列^[3], 它与酵母内铁转运蛋白 Ftr1 及铁蛋白轻链中结合铁的重要区域——REXXE 序列有关。酵母 Ftr1 的 REXXE 序列中 Glu → Ala 突变能导致 Ftr1 失去铁摄取功能; 同样, 如果 SFT 的 REIHE 序列内 Glu 被 Ala 代替, 那么它也会丧失结合胞外铁的能力。Gutierrez 等 (1998) 通过 FISH 分析发现人类 SFT 基因位于 10 号染色体 (10q21 区) (图 2)。SFT 基因含有 5 个以上 GATA 盒, 2 个 TATA 盒, 1 个 SP1 结合位点, 1 个 γ-干扰素

^{*} 河北师范大学、香港政府 UGC 和香港理工大学研究基金资助课题

通讯作者

反应组件 (IFN- γ) 与共有序列 CTG/TG/TANNC/T, 但是 SFT 基因中缺乏金属调控的转录或翻译组件。SFT cDNA 长 1404bp, 含有整个 ORF (open reading frame), 在 3' 非翻译区 (Untranslated region, UTR) 内含有 1 个多腺苷酸化信号, 1 个翻译抑制组件及 1 个 41 碱基的序列。这 41 碱基序列与 180 个核苷酸的 XFCFR (Xenopus FGF receptor) 发育表达中的顺式作用组件——TIE (translation inhibitory element) 有 65.8% 序列相同, 78% 的序列相似。在未成熟卵母细胞内 TIE 能阻断蛋白质的合成。此外, 在 SFT 5' 端还含有 1 个 Y 盒, 这是一个反向的 CCAAT 序列, 可被高度保守的 DNA 和 RNA 结合蛋白家族成员识别。PCR 分析显示 SFT 3' 端编码区附近还有 1000 个核苷酸的内含子插入序列, 这些发现为阐明 SFT 表达的调控机制, 以及研究血色素沉着病人如何丧失这种机制奠定了基础。

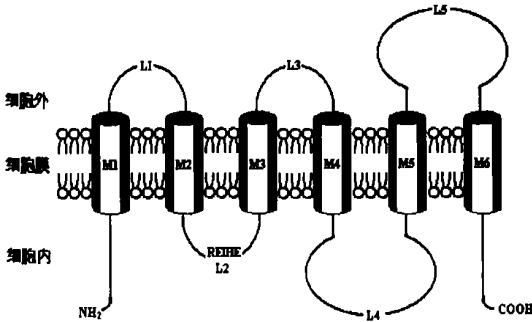


图 1 SFT 的膜结构示意图

了约 50%, Fe³⁺ 和 Fe²⁺ 的摄取也减少, 这显示 K562 细胞内 SFT 介导的铁转运是一个耗能的过程^[3]。铜、镍、钴或锰并不影响 SFT 介导铁摄取, 而镉则可有效竞争性抑制 K562 细胞和其它细胞内非转铁蛋白依赖型铁转运, 也能阻断卵母细胞内 SFT 介导铁摄取。SFT 对 HeLa 细胞^[9] 摄取非转铁蛋白结合铁的促进作用具有时间和温度依赖性。研究还发现^[9], SFT 介导的铁转运可被 Fe³⁺ 和 Fe²⁺ 的特异性螯合剂所抑制。这些结果均说明哺乳动物细胞内 SFT 能促进非转铁蛋白结合铁的转运。

SFT 除能刺激细胞表面的非转铁蛋白结合铁的摄取外, 还具有增强哺乳动物细胞摄取转铁蛋白结合铁的作用。SFT 主要位于细胞内吞小体中, 这表明 SFT 可能参与细胞转铁蛋白结合铁摄取过程中的内吞小体铁移位^[3,8]。生理条件下, 细胞主要通过转铁蛋白结合铁转运途经获取铁。这一过程起始于转铁蛋白结合铁与细胞表面转铁蛋白受体 (transferrin receptor, TfR) 结合。而后内包形成内吞小体。由于内吞小体表面氢泵的作用, 内吞小体内的 pH 酸化, 这导致铁从转铁蛋白释放出来, 然后穿过内吞小体膜移位进入细胞质^[1,2]。许多最近的研究显示, 铁的内吞小体移位是 DMT1 (divalent metal transporter 1) 介导的过程。SFT 的作用可能是刺激这一过程^[3,8], 也可能 SFT 具有直接介导铁移位的作用。SFT 和 DMT1 在内吞小体铁移位过程中的相互关系, 尚待进一步研究。

三、SFT 的基因表达调控

SFT 的表达主要受细胞内铁浓度的负向调控 (Gutierrez 等, 1998)。啮齿动物 BHK 细胞 (Gutierrez 等, 1998)、HeLa 细胞^[4] 暴露于铁螯合剂去铁敏 (desferrioxamine) 时, SFT mRNA 增加; BHK 细胞、HepG2 细胞^[3] 暴露于高铁环境时, SFT mRNA 及蛋白的表达呈时间依赖型可逆性递减, 这些结果支持上述观点。

SFT 基因表达的调控可能存在转录后和转录水平调控两种机制。已有研究发现^[3], PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate) 能提高 K562 细胞内 SFT mRNA 的水平, 消除 SFT mRNA 的 5' 和 3' 端 UTR 后, 细胞内的铁转运活性增强, 这表明 SFT 的基因表达可在转录后水平受到调控。只将 SFT-ORF cRNA 注射到卵母细胞中就足以刺激铁转运, 且向卵母细胞内同时注射全长 cRNA 及其互补 cRNA (complementing cRNA) 后的铁摄取增强效果并没有改变, 这提示 SFT 的 UTR 参与蛋白表达的某些转录后调控机制^[3]。

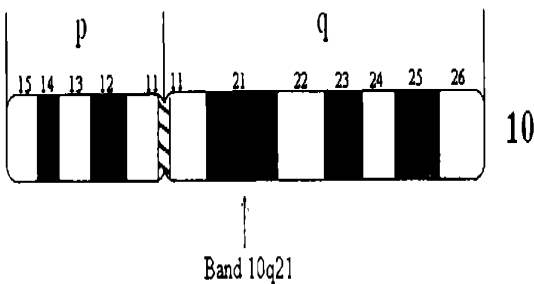


图 2 人 SFT 基因的染色体图谱

二、SFT 的生理功能

研究证实 SFT 能增加 HeLa 细胞和爪蟾卵母细胞摄取非转铁蛋白结合铁, 而且也能参与内吞小体内的铁移位^[3,8]。代谢抑制剂鱼藤酮、抗霉素 A、2, 4-二硝基酚孵育 K562 细胞后, 细胞内 ATP 水平下降

但是 SFT 5' 或 3' 端 UTR 内均没有 IRE (iron response element) 的存在, 所以铁对 SFT 基因表达的调控机制与 TfR、DML 等铁转运蛋白的调控机制不同, 即不遵循 IRE-IRP (iron response protein) 型转录后调控模式。而 SFT 3' 端 UTR 内的 41 碱基与 TIE 在分子和功能水平密切相关, 因此, 这些反式作用因子可能与 TIE 结合蛋白在 RNA 水平竞争性结合, 降低对 SFT 基因表达的翻译阻断作用。Yu 等^[7] 认为, REXXE 序列可以结合细胞质内游离的铁来维持 SFT 构象以结合和直接转运细胞外铁, 而且 L2 区域作为感受区域可调控 SFT 活性, 当细胞内游离铁增多时, REXXE 位点感受到这种变化, 从而使 SFT 介导的转运作用降低。此外, SFT cDNA 的 5' 调节区域序列与人类遍在蛋白缀合酶 E2 (Human E2 ubiquitin-conjugating enzyme) 中 UbcH5A 的内含子 6 / 外显子 7 一致, UbcH5A 能通过 VHL 瘤抑制剂——E3 连接酶复合物参与铁依赖型组织缺氧诱导因子的遍在蛋白化反应, 遗传性血色素沉着病患者铁超载肝脏中 UbcH5A 表达也增加, 因此, Gehrke 等^[8] 认为 SFT mRNA 表达调控可能与 UbcH5A 相关。

SFT 的基因表达还存在转录水平上的调控机制。SFT 基因内至少含有 2 个调节位点, 一个位点与 Clox (cut-like homeobox) 和 CDP 的共有区位点有 87.5% 序列相同, 另一个含有 v-myb 致癌基因位点 C/GC/TAACGG。还有, Y 盒的存在使人们猜测, 不同浓度的铁可通过氧化还原作用机制调控 SFT 的表达。因为铁超载导致氧化应激, 在高铁环境下 SFT 转录产物的浓度降低可能反映了一种与 Y 盒相关的氧化还原反应调控机制。由此推测, 高铁造成氧化应激时 SFT 的表达减少。

四、SFT 与铁代谢疾病

Barisani 等报道^[6], 贫血病人 SFT 的表达增加; 与 HFE 相关的血色素沉着病中的 SFT 表达也增加; 但与 HFE 无关的铁超载病人的 SFT 表达下降。血色素沉着病已被称为“21 世纪遗传障碍”^[4], 是已知人类最普通的遗传障碍疾病, 因饮食铁增加和组织进行性铁累积导致肝硬化、肝癌、心脏充血衰竭、内分泌病变甚至早亡。已有的研究认为 MHC (major histocompatibility complex) 家族 I 样蛋白——HFE 的突变是造成病人铁超载的原因, 但是 HFE 突变不能充分解释所有血色素沉着病人储铁和转铁之间的相互关系是如何失调的, 单凭 HFE 突变也不足以解释血色素沉着病的发病机制。由于新发现的 SFT 能促进铁的吸收和 SFT 介导的膜铁转运受铁调控^[10], 以

及血色素沉着病患者肝脏内 SFT 的表达比正常的高 5 倍多, 因此有人认为 SFT 表达增加可能是这种遗传性疾病的病因之一。进一步深入地研究这种新的铁代谢蛋白生理和生化功能将不仅可能帮助证实这种可能性, 而且有助于对贫血等其它铁代谢紊乱性疾病的发病学的了解。此外, 研究也已显示, SFT 在脑内高表达, 提示 SFT 在脑铁代谢过程中可能具有重要作用^[5], 深入研究 SFT 在脑内的区域和细胞分布及其功能将有助于我们对脑铁代谢的深入了解, 以及对脑铁代谢失衡及其与神经退行性疾病之间关系的认识。

参 考 文 献

- 1 Qian ZM, Tang PL. Mechanisms of iron uptake by mammalian cells. *Biochim Biophys Acta*, 1995, 1269:205~214.
- 2 Qian ZM, Tang PL, Wang Q. Iron crosses the endosomal membrane by a carrier-mediated process. *Prog Biophys Molec Biol*, 1997, 67:1~15.
- 3 Gutierrez JA, Yu J, Rivera S, et al. Functional expression cloning and characterization of SFT, a stimulator of Fe transport. *J Cell Biol*, 1997, 139:895~905.
- 4 Yu J, Yu ZK, Wessling-Resnick M. Expression of SFT (stimulator of Fe transport) is enhanced by iron chelation in HeLa cells and by hemochromatosis in liver. *J Biol Chem*, 1998, 273:34675~34678.
- 5 Knutson MD, Levy JE, Andrews NC, et al. Expression of stimulator of Fe transport is not enhanced in Hfe knockout mice. *J Nutr*, 2001, 131:1459~1464.
- 6 Barisani D, Parafioriti A, Amiraglio E, et al. Duodenal expression of a putative stimulator of Fe transport and transferrin receptor in anemia and hemochromatosis. *Gastroenterology*, 2001, 120:1404~1411.
- 7 Yu J, Wessling-Resnick M. Structural and functional analysis of SFT, a stimulator of Fe transport. *J Biol Chem*, 1998, 273:21380~21385.
- 8 Gehrke SG, Riedel HD, Hermann T, et al. UbcH5A, a member of human E2 ubiquitin-conjugating enzymes, is closely related to SFT, a stimulator of iron transport, and is up-regulated in hereditary hemochromatosis. *Blood*, 2003, 101:3288~3293.
- 9 Yu J, Wessling-Resnick M. Influence of copper depletion on iron uptake mediated by SFT, a stimulator of Fe transport. *J Biol Chem*, 1998, 273:6909~6915.
- 10 Barisani D, Conte D. Transferrin receptor 1 (TfR1) and putative stimulator of Fe transport (SFT) expression in Iron deficiency and overload: an overview. *Blood Cells Mol Dis*, 2002, 29:498~505.