

铁代谢与铁调素 hepcidin^{*}

付丽娟¹ 段相林¹ 钱忠明^{1,2} 常彦忠^{1,△}

(¹ 河北师范大学分子神经生物学与神经药理学研究所, 石家庄 050016 ² 香港理工大学应用生物与化学科技学系)

摘要 铁是机体必需的营养元素。然而, 铁过载则导致细胞的损伤。由于生物体缺少排泄铁的机制, 因而, 肠铁吸收的调控便成为维持机体铁稳态的关键。新近研究发现 hepcidin 对机体铁稳态的调节起着至关重要的作用, 被人们称为铁调节激素。Hepcidin 主要在肝细胞中合成, 之后分泌至血液将体内铁需要的信号传至小肠, 调控肠铁的吸收。这一过程主要通过调节小肠铁转运相关蛋白的表达而实现。任何影响 hepcidin 表达的因素都可能破坏体内的铁平衡, 造成铁代谢相关疾病。

关键词 铁代谢; 铁调素; 遗传性血色素病; 贫血

中图分类号 Q493

铁是生命体必不可少的元素, 在环境中主要以难溶的高铁离子 (Fe^{3+}) 形式存在。它不能被机体吸收, 需要特殊的转运系统吸收入血, 并以可溶的形式在血流中运输, 为组织、细胞所利用。由于铁在有氧条件下极易与其它物质交换电子的特性, 所以铁对于保证细胞的基本功能是十分重要的。比如它参与氧和电子的转运、细胞的呼吸、DNA 的合成及很多酶促反应。但是, 目前越来越引起人们关注的是: 由于铁的不成对电子, 可催化自由基的生成, 使细胞膜发生脂质过氧化反应从而损伤细胞, 导致众多的铁代谢相关疾病。因而铁代谢平衡的调节对于人体正常的生理状态维持至关重要。然而, 多年来对铁代谢调控机制的研究一直没有突破。近几年, 才随着铁转运相关蛋白: 二价金属离子转运体 (divalent metal transporter 1, DMT1) (Gunshin 1997)、膜铁转运蛋白 (ferroportin 1, FP1) (Donovan 2000)、膜铁转运蛋白辅助蛋白 (hephaestin, HP) (Vulpe 1999)、肠细胞色素 b (duodenal cytochrome b, Dcytb) (McKie 2001)、转铁蛋白受体 2 (transferrin receptor 2, TfR2) (常彦忠, 2003) 和 HFE 基因功能的相继发现 (Roy 2004), 才为正确认识铁代谢机制提供了理论依据, 特别是铁调素 (hepcidin)^[1,2] 的发现, 使人们对铁代谢生理机制有了崭新的认识。

一、小肠铁的吸收

几乎所有的食物铁都在十二指肠吸收。非血红素铁在小肠的摄取一般分两步完成: 首先由粘膜上皮细胞的腔侧膜吸收铁离子, 再由细胞的基底膜将铁转运出去。 Fe^{3+} 在进入小肠吸收细胞之前, 必须先由肠腔表面的 Dcytb 将 Fe^{3+} 还原成可溶的 Fe^{2+} ,

然后通过肠粘膜细胞顶端的 DMT1 运进细胞。进入细胞的铁一般有三个去向: (1) 以铁蛋白 (ferritin) 的形式储存下来, 进一步利用; (2) 随衰老小肠上皮细胞的脱落而丢失; (3) 通过 FP1 和 HP 穿过细胞的基底膜进入血浆, 转运至其它利用部位。因此, 刷状缘上的 DMT1 或基底膜的 FP1 和 HP 表达改变都可使铁吸收发生变化。

二、体内铁的转运、利用、储存和循环

铁在细胞外液和血液的运输主要依靠转铁蛋白 (transferrin, Tf)。但 Tf 只能结合 Fe^{3+} , 所以从细胞中释放出来的 Fe^{2+} 需在氧化酶, HP 或铜蓝蛋白 (Ceruloplasmin, CP) (常彦忠, 2002) 的作用下氧化为 Fe^{3+} , 才能与血浆 Tf 结合。每个 Tf 最多可结合两分子的 Fe^{3+} 。因而, 在血清中存在三种形式的 Tf: 双铁转铁蛋白 ($\text{Fe}_2\text{-Tf}$)、单铁转铁蛋白 (Fe-Tf) 和脱铁转铁蛋白 (Apo-Tf)。当转铁蛋白饱和度降低时易形成 Fe-Tf 而随着铁浓度的增高 $\text{Fe}_2\text{-Tf}$ 随之增多。三种 Tf 都能和细胞膜上的转铁蛋白受体 (TfRs) 结合, 但 $\text{Fe}_2\text{-Tf}$ 与 TfRs 的亲合力是 Fe-Tf 的 4 倍, 是 Apo-Tf 的 24 倍。所以 $\text{Fe}_2\text{-Tf}$ 运送铁的效率远远高于 Fe-Tf 。正常情况下, 体内有充足的转铁蛋白结合铁可将细胞表达的 TfR 完全饱和并发挥作用。

健康成年男子体内总铁量约为 3000~4000mg 其中 2/3 以上用于血红蛋白的合成。合成血红素的铁通过 TfRs 介导的内吞途径为细胞所摄取, 其过程

^{*} 河北省重点学科和河北师范大学博士研究基金资助课题
[△] 通讯作者

可以分为七个步骤: (1)结合; (2)内吞; (3)酸化; (4)解离和还原; (5)移位; (6)细胞质内转运; (7) ApoTf返回细胞膜。首先, Fe_2-Tf 结合到细胞表面的 TfRs上, 然后 Fe_2-Tf Tf复合物在内涵素包被的凹陷部位内吞进入细胞形成内吞小泡; 在质子泵的作用下, 内吞小泡内的 pH 值降低到 5~6 使铁与 Tf 的结合减弱并释放出来, 然后通过 DMT1 将铁运至细胞液中; 最后, ApoTfTf复合物经囊泡外排回到细胞表面, Tf被释放到循环体中再利用。释放到胞质中的铁可用作亚铁血红素和核苷酸还原酶的辅因子或储存于铁蛋白^[3]。

人和脊椎动物体内大约有 12.5%~25% 的铁储存于肝脏中, 所以肝脏是储铁的重要部位。以往的研究认为, 肝细胞通过经典的 TfR1 摄取 Fe_2-Tf 然而新的研究发现肝脏铁的摄取主要由 TfR2 转运。另外, 肝细胞也可由非受体介导的途径摄取 Fe_2-Tf 目前, 对于肝脏释放铁的机制鲜为人知, 有可能是通过 FP1 进行的。

每天, 机体只吸收 1~2mg 铁, 而用于生成红细胞的铁量大约 20mg 为了满足这一需要, 巨噬细胞必须不断破坏衰老的红细胞释放铁, 重新用于红细胞的生成^[4]。铁的再循环是在网状内皮系统 (reticuloendothelial system, RE) 内完成的。红细胞溶血后释放 Hb, Hb 很快便和触珠蛋白 (haptoglobin) 结合形成 Hb-触珠蛋白复合物, 此复合物经与巨噬细胞膜上的 CD163 结合后被运进细胞。另外, 巨噬细胞也可以通过吞噬衰老的红细胞而获得铁。巨噬细胞内的铁要么以铁蛋白或含铁血黄素的形式贮存于细胞中, 要么在 FP1 的作用下运出细胞进入血浆^[5]。

三、机体铁稳态的维持

无论是单细胞还是多细胞生物, 生理状态下都缺少排泄铁的机制。所以, 铁稳态的维持只能通过调节铁的吸收来完成。如果体内铁量降低, 便会增加铁吸收; 反之则铁吸收就会减少 (Trinder 2002)。由此可见, 铁的自稳机制对于防止十二指肠过度吸收铁和调节巨噬细胞的铁释放率及铁的再循环是十分重要的。众多实验证实, 小肠细胞能从各种各样的组织获取关于体内铁储存状态的信息。但是联系身体铁贮存和小肠铁吸收的关键因子到底是什么呢? 它又是怎样发挥调控作用的呢? 这些问题一直是学者们关注的焦点。

四、铁调素 hepcidin

铁调素是由两个独立的实验室几乎同时发现,

由肝脏合成并分泌的多肽类物质^[1,2]。该类分子具有由 8 个半胱氨酸残基所组成的单一发夹结构, 如图 1 所示 (Hunter 2002)。在铁调素基因上游, 存在 USF2, HNF3 β , C/EBP β 和 NF- κ B 等转录调节子 (Courselaud 2002)。铁调素的前体是一 84 aa 的多肽, 经降解后生成不同生物活性的多肽分子, 20 aa 和 25 aa 是其主要的两种形式, 都具有抗病原微生物活性。人的铁调素基因位于第 19 号染色体上, 小鼠的位于第 7 号染色体上, 都含有三个外显子和两个内含子, 其中第三个外显子编码铁调素的氨基酸序列。人只有一个铁调素基因, 而小鼠有两个即铁调素 1 和铁调素 2 基因, 其中铁调素 1 基因与人的非常相似 (Lou, 2004)。

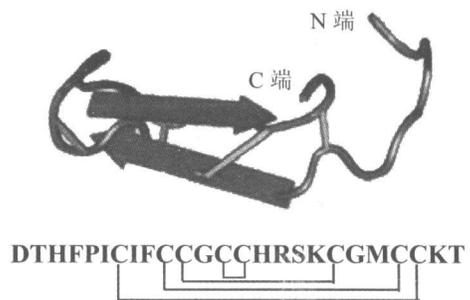


图 1 铁调素结构示意图

研究显示, 大鼠注射脂多糖、松节油产生炎症反应的同时, 铁调素表达增加。体内 IL-6 可以强烈诱导铁调素 mRNA 的表达 (Nemeth, 2003)。用苯胂造成急性溶血或进行连续放血, 铁调素表达显著降低, 缺氧可使铁调素表达明显减少。将 EPO 注入小鼠 3 天后也发现铁调素表达大幅度减少 (Nicolas 2002)。

铁调素对铁稳态的作用是由 Pigeon 等^[6]首先发现的。后来 Nicolas 等^[7]发现 USF2 基因敲除的小鼠, 其下游的铁调素基因不表达, 造成肝脏和胰腺铁大量积累, 并与遗传血色病 (hereditary haemochromatosis HH)、HFE β_2 -M 缺陷小鼠相似 (Fleming 2001, Ahmad 2002)。铁调素转基因小鼠的肝脏, 由于过早、过多的表达铁调素, 导致了铁的严重缺乏而造成贫血。Weinstein 等最早报道了铁调素在人体中的作用, 他们发现在 I 型糖原过多症顽固性慢性贫血病人, 可检测到大面积的肝肿瘤, 肿瘤部位的铁调素合成大量增加, 而在正常肝组织的表达量却很低, 当肿瘤切除后贫血症状也同时得到了缓解 (Weinstein 2002)。最近又发现铁调素基因发生突变 (C70R, G71D), 可引起严重的青少年色素沉

着病 (juvenile hemochromatosis, H) (Roetta 2004, Biaisotti 2003)。这些突变都是使铁调素的分子构象发生改变,使其功能丧失,导致机体铁积聚。

由此,学者们推测铁调素很可能就是长期以来人们一直在寻找的存在于小肠、肝脏、骨髓和巨噬细胞间的信号物质。它可随血液流经肝、骨髓、小肠和巨噬细胞,调节十二指肠铁吸收,抑制巨噬细胞释放铁。因此,我们将 hepcidin 翻译为铁调素。当机体铁供过于求时,铁调素使肠铁吸收减少,由此解释 $Usl2^{-/-}$ 小鼠由于缺少铁调素基因的表达,造成小肠无限制地吸收铁,同时,RE 铁大量释放,循环铁增加,造成肝铁积累。而在贫血和缺氧时,铁调素表达降低,肠铁吸收增加,补充损失的铁。感染、损伤和炎症刺激亦可强烈引起该基因表达,造成肠铁吸收减少,RE 铁外流减少,循环铁减少,铁储存增高。

五、铁调素对铁代谢的调节

实验证实肝脏细胞能够表达 HFE、TfR1、TfR2、FP1、DMT1 (Zhang 2004)。HFE 是编码 MHC1 分子的一类膜蛋白, Frazer 等^[8]认为 HFE 可结合于 TfR1 的重叠区,而 Tf 恰恰也结合于此部位。因此血浆 Tf 和细胞表面的 HFE 相互竞争与 TfR1 结合。由于 Fe_2-Tf 结合 TfR1 的能力比 HFE 强,于是游离的 HFE 位于细胞表面。它可将信号传至核内,而刺激铁调素表达。当 HFE 与 TfR1 结合后,其传达信号的作用便会消失。另外,肝脏细胞表达的 TfR2 对于铁调素的调节也十分重要。 Fe_2-Tf 与 TfR2 结合的结果同游离的 HFE 一样,也可增强铁调素的表达。当体内转铁蛋白饱和度增加时,过多的 Fe_2-Tf 与 TfR2 结合,引起铁调素表达增加。当机体铁减少时, Fe_2-Tf 减少,细胞表面的 TfR1 表达增加,因此更多的 HFE 结合于 TfR1。由于 TfR1 与 Fe_2-Tf 的亲合力是 TfR2 的 25 倍,所以当 Fe_2-Tf 降低时, Fe_2-Tf 与 TfR1 的结合力高于 TfR2 因此 TfR2 不能结合 Fe_2-Tf 结果铁调素生成信号减弱,血浆铁调素减少,肠铁吸收增加。相反,HFE 和 TfR2 产生的刺激铁调素生成的信号增强,肠铁吸收减少。然而,HFE、TfR1 和 TfR2 在感受 Tf 饱和度后通过何种信号途径控制铁调素的合成或释放,目前仍不清楚。

铁调素是如何发挥调控作用的呢?多数学者认为,铁调素是通过调节小肠粘膜上皮细胞上铁转运相关蛋白的表达而实现的。十二指肠隐窝细胞是小肠吸收细胞的前体,存在不稳定的铁池,反映机体的铁储存状态。铁池内铁的含量可以改变铁调节蛋白

(RPs) 的活性。DMT1、ferritin 和 FP1 等都带有 IREs, IRP 与 IRE 结合活性的改变及转录和转录后调节机制调节这些蛋白的表达,当隐窝细胞发育、分化为成熟的粘膜上皮细胞时,就可以表达适量的铁转运相关蛋白。研究显示,十二指肠隐窝细胞膜上有 HFE 基因表达,能与 β_2 微球蛋白 (β_2-M) 形成复合物。它们的结合使 HFE 分布到细胞表面,然后与细胞表面的 TfR1 相互作用,再由 TfR1 介导的内吞途径吸收血浆铁。铁调素可能通过调节这一复合体的功能,控制十二指肠隐窝细胞内铁池的状态。巨噬细胞也有 TfR1/HFE/ β_2-M 复合物表达。铁调素也会作用于巨噬细胞,调节 Fe_2-Tf 与 β_2-M HFE / TfR1 复合物的结合状态和功能,造成胞内铁池升高,IRP 活性受到影响,使铁释放相关蛋白如 FP1 表达减少,巨噬细胞释放的铁量降低,最终血清 Tf 饱和度和下降^[9]。

目前,对于铁调素如何作用于小肠绒毛细胞和巨噬细胞引起铁转运相关蛋白表达的变化仍有不同的看法。Frazer 等^[8]就提出了新的观点,他们认为血浆铁调素直接作用于小肠绒毛细胞,调节 FP1 的表达,改变铁运出率。在体 (Frazer 2003, Millard 2004) 和离体 (Yanagi 2004) 的实验结果表明铁调素可直接作用于小肠绒毛细胞,调节 DMT1 或 FP1 的表达,影响铁的转运。最近, Nemeš 等发表在 Science 上的结果也证明铁调素可直接作用于 FP1, 使 FP1 表达降低并导致其降解,并推测 FP1 可能就是铁调素的受体^[10]。

综上所述,铁调素受肝铁浓度和血浆转铁蛋白饱和度的调控。正常情况下,铁在骨髓和 RE 间循环,血清 Tf 将巨噬细胞释放和小肠细胞吸收的铁运到骨髓用于造血,过量的铁储存在肝脏中。红细胞生成的需铁状况和体内的铁储存状态信息均可由转铁蛋白结合铁的情况,通过调节肝脏细胞铁调素的生成和释放,传递到小肠吸收细胞和巨噬细胞。

由此可见, hepcidin 目前已经成为人们公认的铁调节激素,控制着十二指肠铁吸收和巨噬细胞铁释放的水平,并作为铁储存和铁循环的调控激素发挥着重要作用。然而,目前还有关键的问题尚未解决,如什么信号途径影响肝细胞铁调素的合成,铁调素又是通过何种途径调节小肠粘膜细胞和巨噬细胞铁转运相关蛋白的表达,进而调节机体的铁代谢平衡。因此,探索铁调素调控和作用的分子机制,特别是确定它的受体或靶物质,不仅能够丰富铁代谢调节的理论,而且对于药物的开发以及各种铁代谢疾

病的临床治疗都有着巨大的商业和应用价值。

参 考 文 献

- 1 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.
- 2 Park CH, Vabre EV, Waring AJ, et al. Heparin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem* 2001; 276: 7806~7810.
- 3 Qian ZM, Li HY, Sun HZ, et al. Targeted drug delivery via the transferrin receptor mediated endocytosis pathway. *Pharmacol Rev* 2002; 54: 561~587.
- 4 Ganz T. Heparin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003; 102: 783~788.
- 5 Knutson M, Wessling Resnick M. Iron metabolism in the reticuloendothelial system. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2003; 38: 61~88.
- 6 Pigeon G, Ilyin G, Courseaud 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.
- 7 Nicolas G, Bennoun M, Devaux J, et al. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *PNAS* 2001; 98: 8780~8785.
- 8 Frazer DM, Anderson GJ. The orchestration of body iron intake: how and where do enterocytes receive their cues? *Blood Cells Mol Dis* 2003; 30: 288~297.
- 9 Fleming RE, Sly WS. Heparin: a putative iron regulatory hormone relevant to hereditary hemochromatosis and the anemia of chronic disease. *PNAS* 2001; 98: 8160~8162.
- 10 Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, et al. Heparin regulates iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004; 306: 2090~2093.

翻 译 科 学

在科学发展的过程中,除了科学研究本身外,科学家们还面临着如何将科学研究有效地介绍给公众的问题。我们称之为“翻译科学”。从公众的反映来看,提高公众的科学意识势在必行。例如,根据一份来自美国国家科学基金会的报告(<http://www.nsf.gov/sbe/srs/seind04/start.htm>),尽管很多美国人都对科技感兴趣,但大多数人对这方面的知识了解甚少。在2001年的一项调查中,30%的美国人认为他们的科学知识非常贫乏;而在欧洲该项统计高达61%。相同的调查还显示,对科技了解的人更有可能相信它们的好处。这对于科学家和公众来说都是有利的:公众更有可能支持对科研的资助,而不太可能相信和支持那些动物保护主义者提出的谬论。以非专业人士能听懂的方式推广科学技术,科学家们对此并不自信,42%的科学家报告,他们并未在此方面作出任何努力。那么如何使科学家们更加轻松自在地与公众对话?宣传成功的科学故事,有效地向媒体和公众推广基础科学研究的好处,是一个好的开端,但是实际操作起来却并不简单。因为除了科学本身的价值外,基础科学研究与临床成果之间的联系很微弱,这势必减弱它们的影响力。从这点来看,更为局限的焦点和更加详细的描述可能会更有说服力。例如,笼统地向公众介绍对突触的研究如何推动抗精神分裂症、抑郁症、肌萎缩性侧索硬化等药物的开发,还不如更有针对性地描述基因治疗可医治宠物的雷伯氏先天性黑蒙。毕竟,后者在感性上,更为人们所接受。但是,即使那些直接针对疾病的基础研究,也不能直接应用于临床治疗,而人们又习惯于只关心某项工作带来的即刻效应,所以,科学家们还需做出更多的努力。另外,从人们获取科学知识的手段来看,人们更愿意使用互联网。所以,充分应用互联网,根据公众的需求和知识水平选择适当的内容,从公众的角度看问题,不仅可突出科学的重要性,还能让公众更好地理解科学的过程。尽管为公众翻译科学并不容易,但却不能轻言放弃。意识到人们对科学的看法,可预防在科学、教育和公共方针上作出错误的决策。

(*Nature Neuroscience* 2004; 7: 1013) (左艳芳 罗非)