

## 生体の鉄代謝調節メカニズム：細胞の鉄センシングにはミトコンドリアが関与する

岩井 一 宏, 植 田 亮

鉄はほぼ全ての生物に必須な微量元素であると同時に、過剰量の鉄はフリーラジカルの産生源となり毒性を有するために、その代謝は厳密にかつ巧妙に調節されている。鉄代謝は微生物に対する生体防御機構の一翼を担っているのみならず、その代謝異常のC型肝炎ウイルス発がんや神経変性疾患への関与も報告されている。近年の鉄代謝調節機構研究の進展は、細胞は従来想定されていた細胞質鉄プールではなく、ミトコンドリアで生成される鉄-硫黄クラスター、ヘムを介して鉄濃度の変化を感知することを明らかにした。加えて、鉄-硫黄クラスター生成に関与する分子群の解析は、それらの分子の異常が貧血などの種々の疾患で認められることや、鉄代謝調節因子の鉄による新たな調節機構の存在を明らかにしつつある。本稿では筆者らの研究も含め鉄代謝研究の現状を概説し、今後の展望についても述べてみたい。

### はじめに

鉄は酸素運搬などに重要な役割を果たしているのみならず、デオキシリボ核酸合成など種々の酸化還元反応を担う酵素の活性中心として利用されている生物に必須の微量元素である。鉄は弱アルカリ性の還元条件下において容易に $\text{Fe}^{2+}$ と $\text{Fe}^{3+}$ の間を変換して電子を受け渡すことができる物理化学的性質、すなわち、酸化還元反応を触媒する酵素の活性中心として最適の性質を有している。加えて、鉄は豊富に存在し、生物が地球上に誕生したときのような大気中の酸素分圧がほぼゼロに近い状態では、鉄は $\text{Fe}^{2+}$ として存在して水に易溶性の性質を持つ。そのために、鉄は生命の誕生時に種々の反応の活性中心として利用されたと考えられている。光合成細菌、藍藻類などの旺盛な光合成による酸素分圧の上昇により、生物は酸素という効率的なエネ

ルギー源を手に入れた。鉄は酸素と強い反応性を持つので、エネルギー産生時の酸素への電子供与にも重要な役割を果たしている。と同時に、その高い反応性ゆえに、鉄はフリーラジカルの主たる産生源としてタンパク質・核酸・脂質等の生体高分子にダメージを与えるので、生命は鉄の細胞毒性にも苦しむことになった。すなわち、鉄不足・鉄過剰ともに細胞にとって不利な状況をもたらすことになったわけである<sup>1)</sup>。さらに、酸素によって酸化された $\text{Fe}^{3+}$ は弱アルカリ性では難溶性であることから( $\text{Fe}^{2+}$ は $10^{-1}\text{M}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ は $10^{-17}\sim 10^{-19}\text{M}$ の溶解度)、鉄取り込みにも困難を伴うことになった<sup>1)</sup>。それゆえ、生物は効率的な鉄取り込み系と厳密な鉄代謝制御システムを備えている。しかしながら、鉄代謝調節機構の破綻により種々の疾患が誘発されることは容易に想定され、実際、鉄はC型肝炎ウイルスによる肝細胞がん、神経変性疾患などの発症、病態形成に深く関与していることが知られている<sup>2,3)</sup>。

近年、個体レベルでの鉄代謝調節機構の研究は原発性ヘモクロマトーシスの原因遺伝子の同定<sup>4)</sup>や、鉄貯蔵量に応じて肝臓から分泌される鉄代謝調節ホルモンであるヘプシジン (hepcidin) の発見など、大きな進展を遂げている<sup>5)</sup>。それらに関してはすでに他の総説を上程しているので<sup>6,7)</sup>、本総説ではモデル生物を用いた研究についても言及しつ

大阪市立大学大学院医学研究科分子制御 (〒545-8585  
大阪市阿倍野区旭町 1-4-3)

Mechanism underlying iron metabolism: Involvement of mitochondria in cellular iron sensing

Kazuhiro Iwai and Ryo Ueta (Department of Molecular Cell Biology, Graduate School of Medicine, Osaka City University, 1-4-3 Asahi-machi, Abeno-ku, Osaka, 545-8585, Japan)

つ、細胞レベルでの鉄代謝調節機構を中心に鉄代謝研究の現況について論じたい。

### 1. 鉄取り込み機構

現在のように大気中の酸素分圧が高い場合には、鉄は $\text{Fe}^{3+}$ として存在し水に難溶性であるため、生物は効率的な鉄取り込み機構を必要としそれを有している。鉄はほぼ全ての生物にとって必須であり、病原微生物をはじめとした微生物も例外ではない。全ての生物の鉄の取り込み様式は二つに大別できる。一つは $\text{Fe}^{3+}$ をキレートする分子との複合体として取り込む機構、二つ目は、 $\text{Fe}^{3+}$ を $\text{Fe}^{2+}$ に還元して溶解性を上昇させて取り込む機構である。前者の代表例は大腸菌など微生物の主たる鉄取り込み機構であるシデロフォア (siderophore) 依存的な鉄取り込み機構である。シデロフォアには種々のタイプが存在するが、いずれも分子量 500-1,500 の低分子化合物であり、大腸菌などの微生物によって分泌される。シデロフォアは $\text{Fe}^{3+}$ と約 $10^{-47}\text{M}$ もの高い親和性を有しているため、酸素存在下では非常に溶解度が低いためにごく少量しか存在しない $\text{Fe}^{3+}$ とも結合することができる。大腸菌は細胞外膜に存在するシデロフォア- $\text{Fe}^{3+}$ 複合体の受容体を介して細胞内に鉄を取り込んで利用している (図 1A)<sup>8)</sup>。一方、後者の代表は出芽酵母の主たる鉄取り込み機構である。出芽酵母の細胞膜には Fre1p, Fre2p と呼ばれる鉄還元酵素が発現しており、 $\text{Fe}^{3+}$ を $\text{Fe}^{2+}$ へ還元した後、2価の鉄イオンに選択的な Ftr1p, Fet3p からなる高親和性鉄輸送複合体を介して細胞内に鉄を取り込んでいる (図 1B)<sup>9)</sup>。ヒトの鉄取り込みにおい

ても細胞の鉄吸収は前者が、食餌からの鉄吸収には後者の機構が使われている<sup>10,11)</sup>。

ヒト細胞の鉄取り込み機構について説明する前に、ヒトの鉄代謝を概説したい (図 2)。ヒト体内には約 3g の鉄が存在する。その 6 割は赤血球に存在しており、約 3 割は鉄の貯蔵臓器である肝臓に存在している。赤血球の寿命は 120 日であり、網内系細胞は寿命の尽きた赤血球を貪食し、ヘムからヘムオキシゲナーゼによって鉄を遊離して再利用できるように分泌している。造血や他の含鉄タンパク質の新生に 1 日あたり約 20-25mg の鉄が必要であるが、そのほとんどは老廃赤血球由来の鉄の再利用で賄われている。ヒトには積極的な鉄の排泄系が存在しないこともあり、通常は失血や粘膜細胞の脱落などによって 1 日に約 1-2mg の鉄が失われるに過ぎず、その喪失分を十二指腸からの鉄吸収で補っている。しかしながら、大量失血や鉄欠乏時には十二指腸からの鉄吸収を促進することで鉄不足を解消しており、体内の鉄貯蔵量に応じた十二指腸からの鉄吸収の調節が個体レベルでの鉄代謝調節の中心である<sup>10)</sup>。前述の鉄代謝制御ホルモンであるヘプシジンは体内の鉄貯蔵が多いときに肝臓から分泌され、十二指腸からの鉄吸収、網内系細胞からの鉄の再利用を抑制するペプチドホルモンである<sup>9)</sup>。

十二指腸上皮は $\text{Fe}^{3+}$ を $\text{Fe}^{2+}$ へ還元して食餌中の鉄を吸収している。十二指腸上皮は極性を持った細胞であり、apical 側に Dcytb と呼ばれる鉄還元酵素と DMT1 (divalent metal transporter 1) と呼ばれる 2 価の金属イオントランスポーターを発現している。食餌中の $\text{Fe}^{3+}$ は Dcytb で $\text{Fe}^{2+}$ に

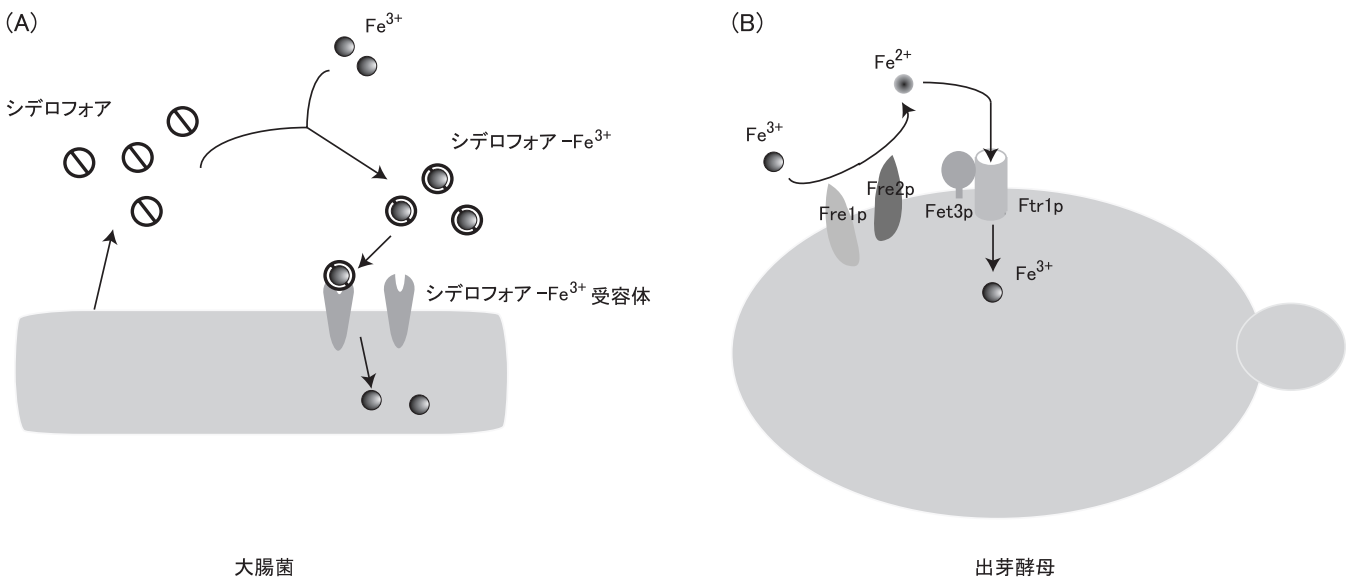


図 1 大腸菌 (A), および出芽酵母 (B) の鉄取り込み機構

(A) 大腸菌は $\text{Fe}^{3+}$ と高い親和性を有する小分子であるシデロフォアを分泌し、細胞外膜に存在するシデロフォア- $\text{Fe}^{3+}$ 複合体の受容体を介して細胞内に鉄を取り込む。(B) 出芽酵母は細胞膜に存在する鉄還元酵素 (Fre1p, Fre2p) で、 $\text{Fe}^{3+}$ を $\text{Fe}^{2+}$ へ還元した後、二価の鉄イオンに選択的な Ftr1p, Fet3p からなる高親和性鉄輸送複合体を介して細胞内に鉄を取り込む。Fet3p は含銅タンパク質であり、 $\text{Fe}^{2+}$ を $\text{Fe}^{3+}$ に変換する鉄酸化酵素として細胞膜を介した鉄取り込みに寄与していると考えられている。

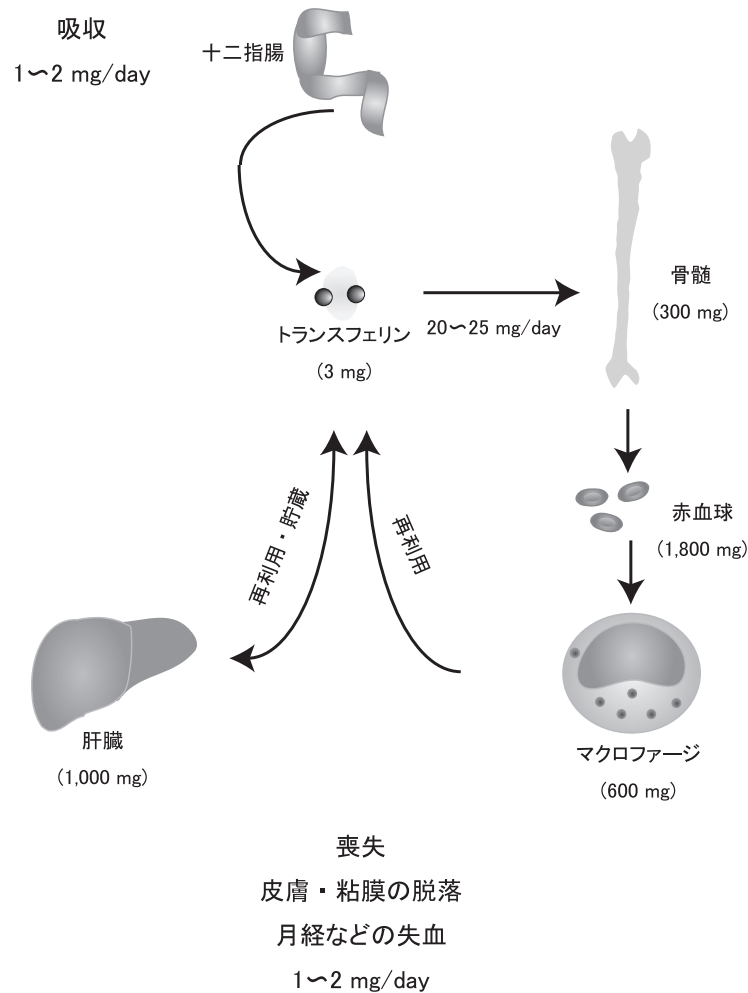


図2 ヒトの鉄代謝機構の概略

ヒト体内には約3gの鉄が存在し、その6割は赤血球に、約3割は鉄の貯蔵臓器である肝臓に存在している。網内系細胞は老廃赤血球を貪食し、ヘモグロビンからヘムオキシゲナーゼによって鉄を遊離して再利用できるように分泌し、造血や他の含鉄タンパク質の新生に必要な1日あたり約20-25mgの鉄のほとんどを賄っている。ヒトには積極的な鉄の排泄系は存在せず、通常は失血や粘膜細胞の脱落などによって喪失する1日に約1-2mgの鉄を十二指腸からの鉄吸収で補っている。大量失血や鉄欠乏時には十二指腸からの鉄吸収を促進させることで体内の鉄含量を維持している。

還元されてDMT1によって吸収される(図3)。この知見は臨床現場では経口鉄製剤は $Fe^{2+}$ として投与する方が鉄欠乏の改善により有効であるというよく知られた事実を裏付けている。DMT1は2価の金属イオントランスポーターであり、鉄以外の2価の金属イオンの取り込みにも関与している<sup>12)</sup>。しかし、十二指腸上皮でのDMT1の発現は鉄によって制御されており、鉄イオンの取り込みがDMT1の主たる作用であると考えられている<sup>12)</sup>。十二指腸上皮に吸収された鉄はbasolateral側に存在するフェロポーチン(ferroportin: FPN)と呼ばれる鉄exporterによって $Fe^{2+}$ で血流側に輸送された後、ヘファスチン(hephaestin)と呼ばれる鉄酸化酵素によって $Fe^{3+}$ に酸化され、 $Fe^{3+}$ は輸送タンパク質であるトランスフェリン(transferrin: Tf)と結合して血流に乗って各組織に送られる<sup>11)</sup>。ヘファスチンは出芽酵母の鉄吸収に必須な出芽酵母のFet3pやセルロプラスミ

ンと相同性を有した含銅タンパク質であり、これらの含銅タンパク質は $Fe^{2+}$ を $Fe^{3+}$ に変換する鉄酸化酵素として細胞膜を介した鉄取り込み、鉄分泌に寄与している<sup>13)</sup>。実際、本邦で発見された無セルロプラスミン血症では全身の鉄蓄積と神経変性疾患を呈することからも鉄と銅代謝の密接な関係が理解いただけよう<sup>14)</sup>。

十二指腸上皮以外の細胞の鉄取り込みは $Fe^{3+}$ 結合タンパク質を介した取り込み機構である(図4)。ヒトの鉄輸送体であるTfは約75kDaのタンパク質であり、2個の $Fe^{3+}$ と結合する( $Fe^{3+}$ -Tf)。 $Fe^{3+}$ とTfとの親和性は $Fe^{3+}$ とシデロフォアに比べて低く、鉄輸送体としての物理化学的性質はシデロフォアの方が優れている。しかし、ヒトをはじめとする多細胞生物には体循環があるので、貴重な鉄が腎臓での糸球体濾過によって漏出されることを防ぐためにタンパク質キャリアが使われていると考えられている。細胞は

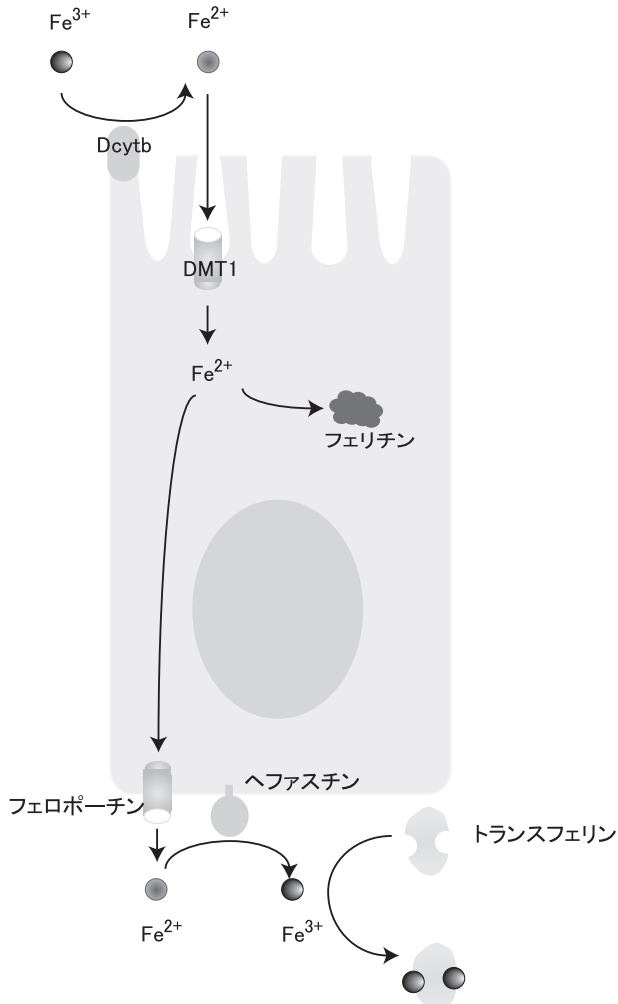


図3 十二指腸上皮の鉄吸収メカニズム

十二指腸上皮は apical 側に存在する Dcytb と呼ばれる鉄還元酵素で食餌中の  $\text{Fe}^{3+}$  を  $\text{Fe}^{2+}$  に還元し、DMT1 を介して吸収する。十二指腸上皮に吸収された鉄は basolateral 側に存在する FPN によって  $\text{Fe}^{2+}$  として血流側に輸送された後、ヘファスチンによって  $\text{Fe}^{3+}$  に酸化され、輸送タンパク質である Tf と結合して血流に乗って各組織に送られる。

$\text{Fe}^{3+}$ -Tf の受容体であるトランスフェリン受容体 1 (transferrin receptor 1: TfR1) を発現している。TfR1 は  $\text{Fe}^{3+}$ -Tf と選択的に結合してエンドソームへと取り込まれ、エンドソームの酸性環境下 (pH5.5) で、 $\text{Fe}^{3+}$  が Tf から遊離する。 $\text{Fe}^{3+}$  を遊離した Tf (apo-Tf) は酸性環境下では TfR1 と親和性を有するので、TfR1 と結合した状態でリサイクリングエンドソームを介して細胞表面へと再輸送される。細胞外の弱アルカリ性環境下では Apo-Tf は TfR1 との親和性を持たないため、TfR1 から遊離し、再び  $\text{Fe}^{3+}$  と結合して再利用される。すなわち、細胞は Tf/TfR1 サイクルによって  $\text{Fe}^{3+}$  のみを取り込んでいる (図4)<sup>10,11)</sup>。エンドソームに取り込まれた  $\text{Fe}^{3+}$  は Steap3 と呼ばれる鉄還元酵素によって  $\text{Fe}^{2+}$  に還元され、DMT1 を介して細胞質に輸送される<sup>15)</sup>。鉄はミトコンドリアに運ばれてヘムや鉄-硫黄クラ

スターに組み込まれ、余剰の鉄は細胞質に存在する鉄貯蔵タンパク質であるフェリチン (ferritin: Ft) に貯蔵される<sup>10)</sup>。

## 2. 細胞の鉄代謝調節メカニズム

鉄は生体に必須であるとともに毒性を有するため、前述のように鉄代謝は厳密に制御されている。まず、哺乳類細胞における鉄代謝調節機構について解説する。鉄代謝に関与する主たるタンパク質は前述の鉄取り込みタンパク質 TfR1 と鉄貯蔵タンパク質 Ft である。Ft (重鎖と軽鎖がある) は 24 個のサブユニットで形成される複合体の内部に、余剰な鉄原子を最大 4,500 個取り込むことができる細胞質に存在する鉄貯蔵タンパク質である。細胞はこれらの発現を鉄濃度に応じて調節することで、鉄不足・鉄過剰を生じないように巧妙に鉄代謝を調整している。図5に示すように鉄に応じた TfR1 と Ft の発現は転写レベルではなく mRNA レベルで制御されている。Ft や TfR1 の mRNA には種を超えて IRE (iron responsive element) と呼ばれるステムループ構造が保存されており、IRP (iron regulatory protein) と呼ばれる RNA 結合タンパク質が鉄欠乏下においてのみ IRE に選択的に結合することによって、その制御下にある因子の発現量を制御することが知られている。具体的には、Ft mRNA の場合、5' 側非翻訳領域 (untranslated region: 5'-UT) に一つ存在する IRE に IRP が結合することによって、Ft mRNA のリボソームへの結合が阻害され、mRNA が存在しても Ft タンパク質が翻訳されず、その発現が抑制される。TfR1 mRNA は鉄存在下では半減期は短い、鉄欠乏下ではその 3'-UT に存在する五つの IRE に IRP が結合することによって、mRNA のエンドヌクレアーゼによる切断を免れて安定化し、翻訳量は増加する。それゆえ、鉄欠乏状態における IRP の IRE への選択的な結合の結果、鉄貯蔵タンパク質である Ft の発現抑制と取り込みタンパク質である TfR1 の発現亢進を引き起こし、細胞内の使用可能な鉄を増加させる。逆に鉄過剰時には IRP は IRE 結合活性を消失し、鉄を減少させる。IRP には相同性の高い IRP1 と IRP2 が存在する。IRP1、IRP2 のダブルノックアウトマウスは胎生致死になり、IRP1 ノックアウトマウスが顕著な症状を示さないのに対し、IRP2 ノックアウトマウスは神経変性疾患様の症状や小球性貧血を呈する。このことから、IRE/IRP 制御系は個体レベルでの生命維持に必須のシステムであること、IRP1 と IRP2 は相補的に働くが、IRP2 の方が中心的役割を果たしていることが示唆されている<sup>11,16,17)</sup>。

図6に現在までに知られている IRE を含んでいる mRNA のリストを示す。食餌からの鉄吸収を担う十二指腸上皮に発現する鉄輸送体である DMT1 mRNA の 3'-UT、十二指腸上皮や老廃赤血球を貪食したマクロファージから鉄の分泌を担う鉄輸送体である FPN の 5'-UT、赤芽球系

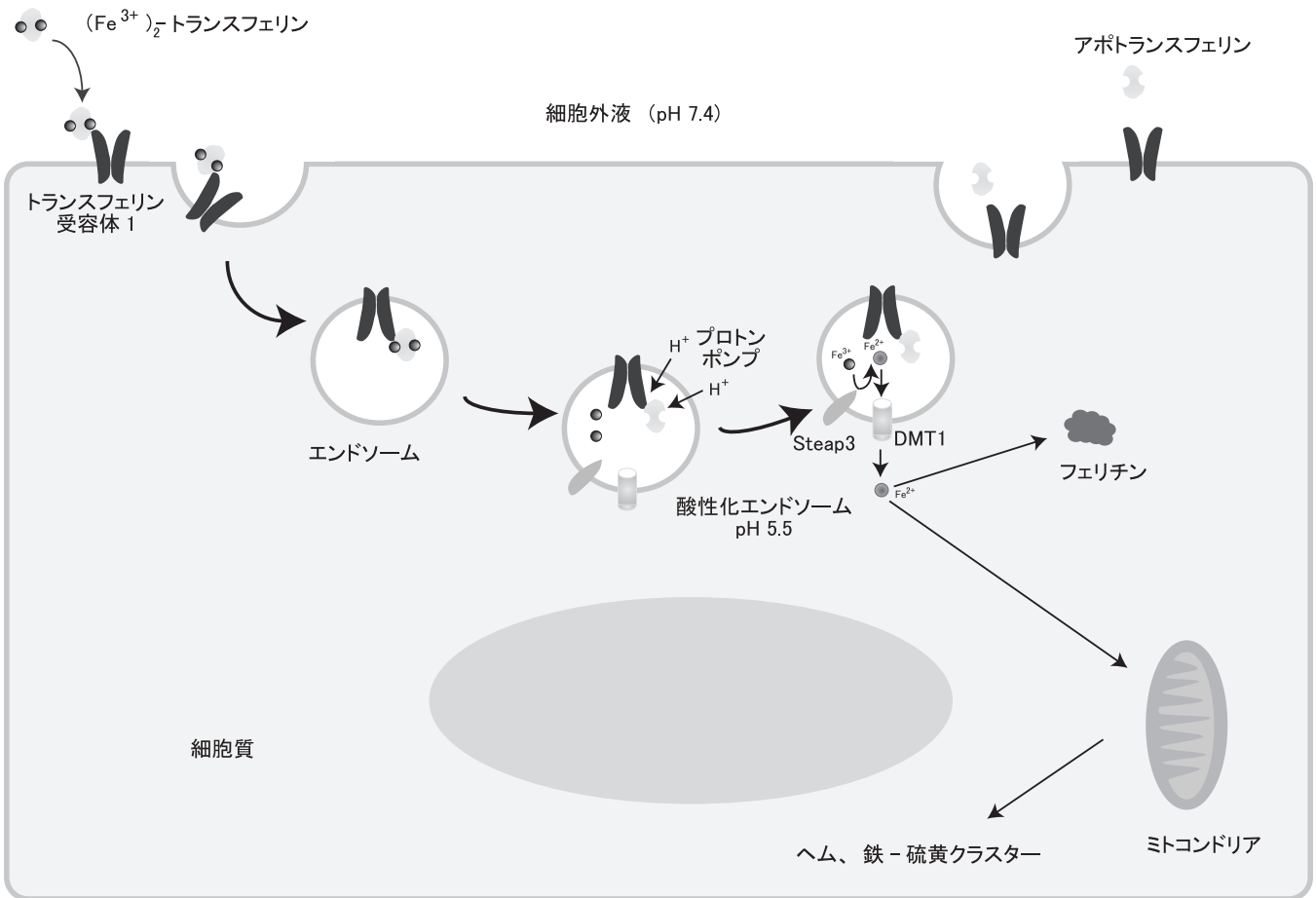


図4 Tf/TfR1 サイクルによる鉄吸収メカニズム

Tf と結合した  $\text{Fe}^{3+}$  は TfR1 を介して細胞内に取り込まれ、細胞内のエンドソームに移行する。酸性環境下 (pH5.5) であるエンドソーム内で Tf から  $\text{Fe}^{3+}$  が遊離し、Steap3 によって  $\text{Fe}^{2+}$  に還元され、DMT1 を介して細胞質に輸送される。細胞内の過剰な鉄は Ft に取り込まれて貯蔵される。apo-Tf は酸性環境下では TfR1 と親和性を持つのでリサイクリングエンドソームを介して細胞表面へと再輸送され、細胞外の弱アルカリ性環境下で TfR1 から遊離して再利用される。

に選択的に発現するポルフィリン合成系の律速酵素であるデルタアミノレブリン酸合成酵素2 ( $\delta$ -aminolevulinic acid synthase 2: ALAS2) の5'-UT にそれぞれ IRE が一つ存在している。Ft や TfR1 以外の鉄代謝に関与する分子をコードする mRNA 上にも IRE が存在していることから IRE/IRP 制御系の個体レベルの鉄代謝制御における重要性が理解頂けよう<sup>11,16)</sup>。鉄代謝に関連する分子以外にもミトコンドリア・アコニターゼの mRNA や低酸素応答性転写因子 HIF-2 $\alpha$  mRNA の5'-UT にも IRE が存在しており、IRE/IRP 制御系は鉄代謝制御のみならず、エネルギー代謝・酸素代謝制御に関与する可能性も示唆されている<sup>18)</sup>。

大腸菌や出芽酵母などの微生物では哺乳類とは異なり、鉄代謝は主として mRNA レベルではなく、転写レベルで調節されている。すなわち、利用可能な鉄量が低いときに鉄取り込みに関与する分子群の発現を亢進させることによって鉄代謝を調節している。大腸菌の鉄取り込みは鉄過剰時の転写抑制によって制御されている<sup>19)</sup>。鉄が十分にあ

る状況下では鉄依存的転写抑制因子 Fur が  $\text{Fe}^{2+}$  と選択的に結合して標的 DNA 配列と結合できるようになることでシデロフォア合成系の酵素、シデロフォア受容体などの発現を抑制する。これに対し、出芽酵母の鉄代謝調節は鉄欠乏時の転写活性化によって制御されている。その中心的な役割を果たしているのが鉄応答性転写因子 Aft1p である。Aft1p は鉄欠乏時にのみ、鉄吸収機構に必要なとされる遺伝子群の調節領域に存在する Aft1 応答領域に選択的に結合してそれら遺伝子の転写を亢進させる<sup>9)</sup>。出芽酵母では mRNA レベルでの鉄代謝調節機構の存在も示唆されているが、その詳細な分子メカニズムはまだ明らかではない<sup>20)</sup>。

### 3. 細胞の鉄感知メカニズム：鉄代謝制御因子は鉄そのものではなく、鉄-硫黄クラスター、ヘムを介して利用可能な鉄量の変化を感知する

鉄代謝調節因子である IRP1, IRP2 や Fur, Aft1p は細胞

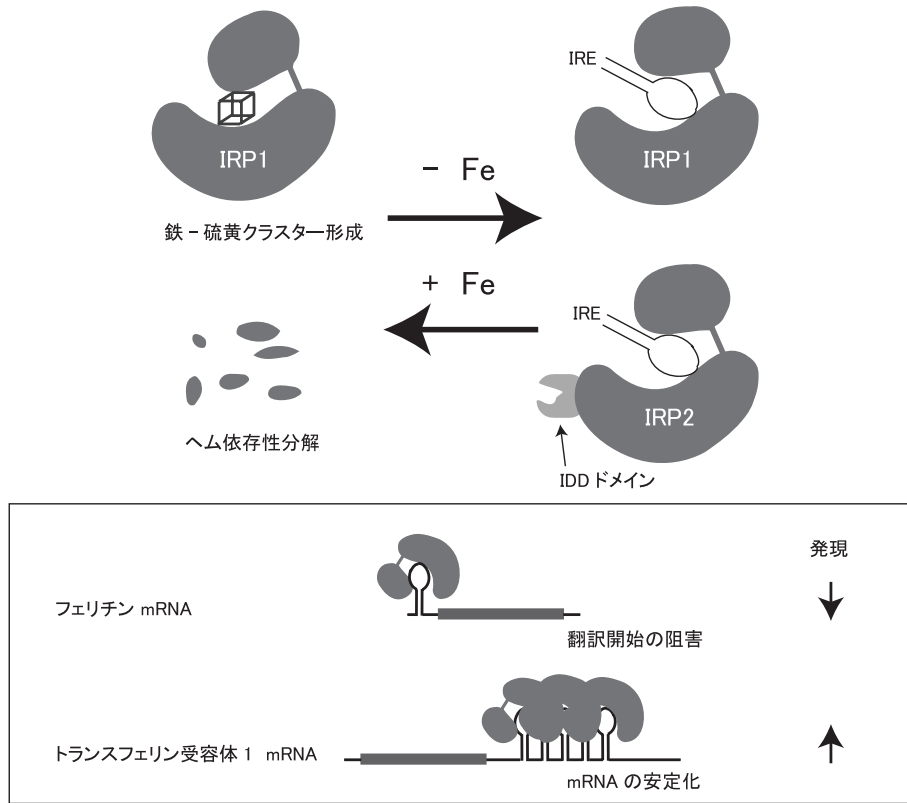


図 5 IRP による Ft, Tfr1 の発現調節機構

ヒト細胞には高い相同性を有した IRP1, IRP2 の 2 種の IRP が存在している。IRP は低鉄イオン濃度の場合にのみ IRE と結合し IRE を含んだ mRNA からのタンパク質の発現を制御している。IRP は Ft mRNA の 5′ 非翻訳領域に一つ、Tfr1 mRNA の 3′ 非翻訳領域に五つある IRE と低鉄濃度下においてのみ結合し、貯蔵タンパク質である Ft の翻訳開始を阻害し、取り込みタンパク質である Tfr1 mRNA の分解を阻害して安定化することによって細胞内鉄イオン濃度を高めるように調節している。IRP1 は鉄依存的な鉄-硫黄クラスターの着脱で、IRP2 はヘム依存的に分解されることにより制御される。

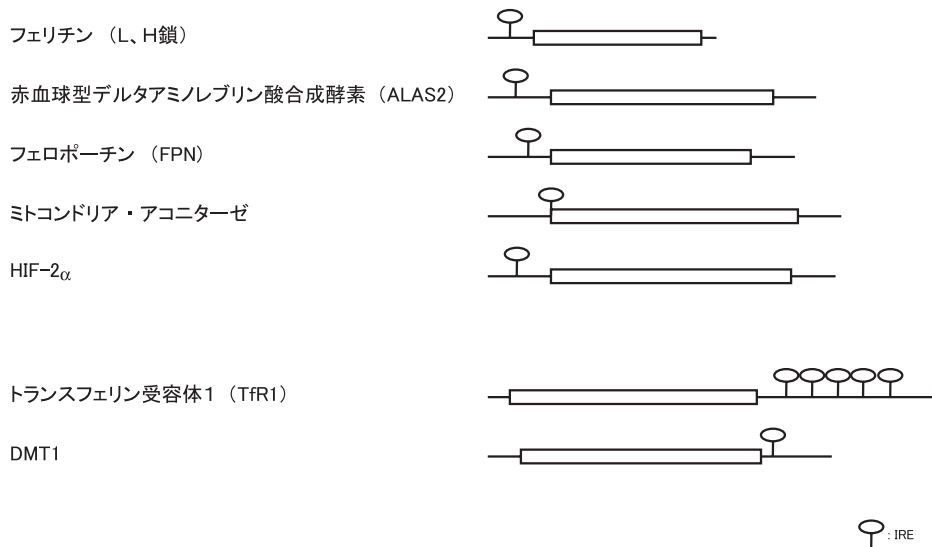


図 6 現在までに知られている IRE を含んでいる mRNA のリスト

ミトコンドリア・アコニターゼは TCA サイクル内の酵素である。他は本文中を参照されたい。

内の利用可能な鉄量に応じて活性が制御される鉄センサータンパク質である。IRP1は細胞質アコニターゼとして存在が知られていたタンパク質と同一である。アコニターゼはクエン酸からアコニテートをへてイソクエン酸への反応を触媒する酵素である。細胞には細胞質アコニターゼとクエン酸回路を構成する酵素の一つであるミトコンドリア・アコニターゼの2種のアコニターゼが存在する。ミトコンドリア・アコニターゼはBeinertらにより非常によく研究された酵素であり、鉄の主たるタンパク質への結合様式の一つである鉄-硫黄クラスター結合タンパク質であることが知られている<sup>21)</sup>。IRP1は二つの機能を有したタンパク質であり、細胞内鉄イオン濃度が高いときはIRP1に鉄-硫黄クラスターが結合して細胞質アコニターゼとして働く。一方、鉄欠乏時には鉄-硫黄クラスターが外れて、IRE結合タンパク質として機能する。すなわち、IRP1は鉄依存的な鉄-硫黄クラスターの着脱によって利用可能な鉄量を検知している(図5)<sup>11,17)</sup>。

IRP2はIRP1とは異なりIRE結合タンパク質としてのみ機能する分子である。IRP2は細胞内鉄濃度が高いときのみ、ユビキチン-プロテアソーム系で分解されることにより調節される<sup>11,16,17)</sup>。すなわち、IRP2は鉄欠乏時にもみ存在してIRE結合活性を示す。筆者らはIRP2の鉄存在下でのユビキチン依存的な分解メカニズムの研究を進めてきた。IRP2はIRP1と高い相同性を有しているが、73アミノ酸からなるIRP2に特異的なドメインを有している。このドメインを欠失したIRP2の鉄依存性分解が遅延すること、相同領域にこのドメインを挿入されたIRP1が鉄依存的に分解されることから、このドメインはIRP2の鉄依存性分解に関与していると考え、IDD(iron dependent degradation)ドメインと名付けた<sup>22)</sup>。IRP2のIDDドメインにはヘムによって活性が制御されるタンパク質のヘム結合部位であるHRM(heme responsive motif)が一つ存在する。IRP2はそのHRMを介してヘムと選択的に結合し、ヘムと酸素によってIDDドメインに生じる酸化変化がユビキチン系に識別されて分解に至ることを明らかにした<sup>23~25)</sup>。すなわち、IRP2には鉄濃度の変化をヘム濃度の変化として感知してその活性が制御される系が存在することが明らかとなった。

筆者らは出芽酵母の鉄応答性転写調節因子であるAft1pの鉄依存的活性制御メカニズムの研究を進め、Aft1pは鉄欠乏時にのみ核に局在することでその活性が制御されることを明らかにしてきた<sup>26~28)</sup>。Aft1pは核移行担体Pse1pによって核移行するが、その核移行は鉄非依存的であり、鉄依存的な核外移行担体Msn5pによるAft1pの核外移行によってAft1pの鉄依存的な制御が行われることが明らかとなった<sup>29,30)</sup>。具体的にはMsn5pによる鉄依存的なAft1pの認識には、Aft1pのS210とS224のリン酸化とaa147-270

とaa304-498の二つの領域を介したAft1pの鉄依存的な二量体形成が必要である。鉄存在下でも転写活性が抑制されないことが示されていたAft1-1<sup>tr</sup>(Aft1pC291F)は鉄存在下でも二量体を形成できないために、核に局在してAft1pの標的遺伝子の転写を活性化させることが明らかとなった<sup>29,30)</sup>。Aft1pの鉄感知機構の詳細は未だ完全には明らかではないが、出芽酵母でミトコンドリアからの鉄-硫黄クラスター輸送に関与すると考えられるAtm1p欠損により、Aft1pの核外移行が阻害されること<sup>31)</sup>、Cysは鉄-硫黄クラスターの配位アミノ酸であることなどから、Aft1pへの鉄-硫黄クラスター結合がAft1pの二量体形成を引き起こして、核外移行させる可能性が示唆されている(図7)<sup>30)</sup>。

#### 4. 細胞の鉄代謝調節におけるミトコンドリアの重要性

鉄は細胞外から取り込まれ、まず、細胞質に入ってくる。それゆえ、細胞質に鉄プールが存在し、細胞の鉄代謝はその鉄プールによって制御されていると考えられてきた<sup>1)</sup>。実際、大腸菌では鉄依存的転写抑制因子FurがFe<sup>2+</sup>と結合することで鉄代謝を制御している<sup>19)</sup>。しかしながら、IRP1、IRP2およびAft1pの解析から、真核細胞は鉄自体ではなく、ヘム、鉄-硫黄クラスターという鉄のタンパク質への主たる二つの結合様式を介して利用可能な鉄量の変化を検知することが明らかとなった。ヘムはヘモグロビンやシトクロムp450、シトクロムオキシダーゼなどの活性中心として機能している鉄補欠分子族である。p450が日本で発見されたことなども相まって、ヘムタンパク質の機能解析に関しては多くの先駆的な研究がなされている<sup>32)</sup>。ヘム合成系は解析が進んでおり、ヘムはフェロケターゼによってプロトポルフィリンIXにFe<sup>2+</sup>が挿入されて生成されることが明らかになっている<sup>33)</sup>。真核細胞では同酵素の活性中心はミトコンドリアのマトリックスに存在することから、ヘムは最終的にはミトコンドリアで生成される<sup>33)</sup>。一方、鉄-硫黄クラスターは鉄と硫黄からなる構造体で(主に2Fe-2S, 4Fe-4S型がある)、クエン酸回路の酵素であるアコニターゼや電子伝達系のタンパク質などに存在するタンパク質への鉄の主たる結合様式の一つである。真核細胞では、鉄-硫黄クラスター合成系もヘムと同じくミトコンドリアのマトリックスで生成が開始され、成熟することが明らかになっている<sup>34)</sup>。すなわち、真核細胞はミトコンドリアで生成されるこれら鉄含有小分子を介して鉄を検知することから、真核生物の鉄代謝調節機構におけるミトコンドリアの関与がクローズアップされることとなった(図8)。

鉄-硫黄クラスター合成系の分子の機能解析が進み、その結果として細胞の鉄感知系におけるミトコンドリアの関与が明らかになりつつある。Nfs1はシステインから硫黄を遊離して鉄-硫黄クラスターに硫黄を供給しているミト

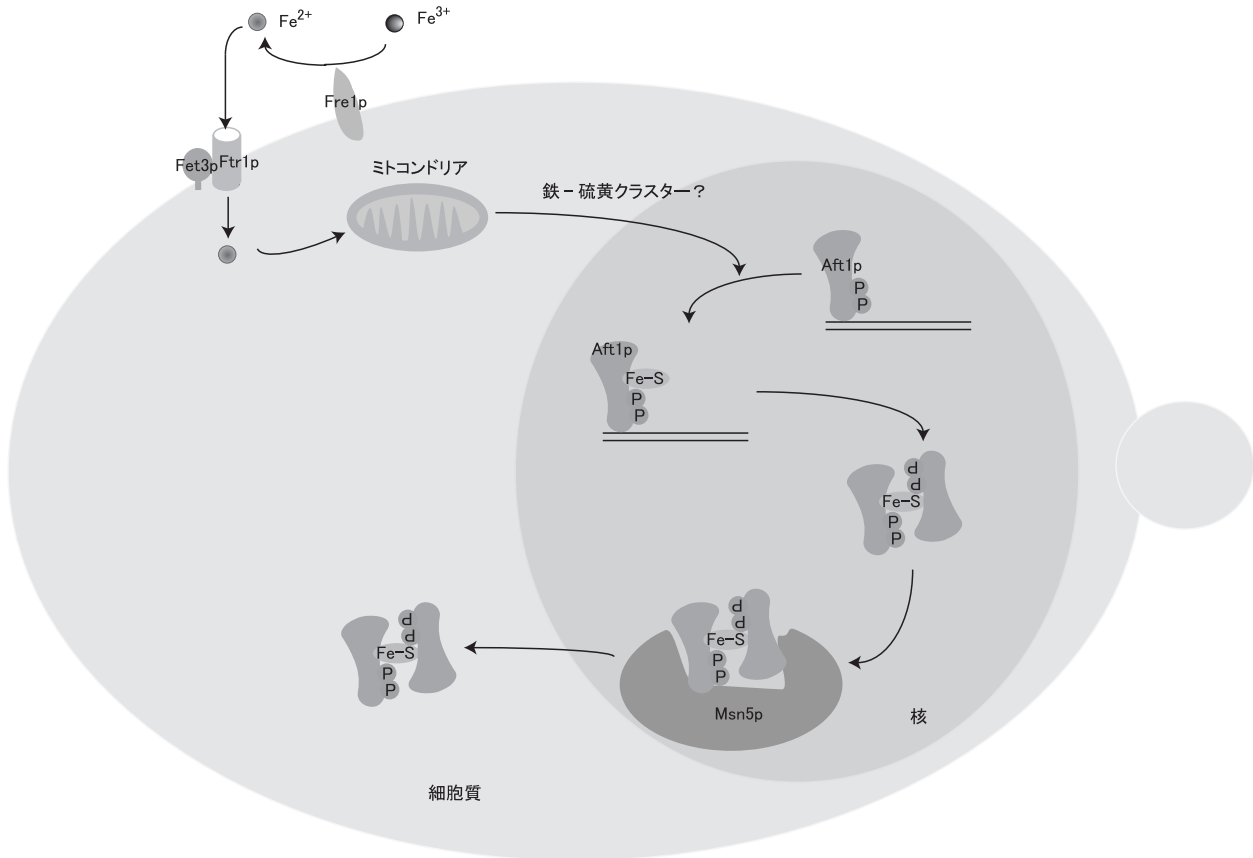


図7 Aft1pの鉄依存的活性制御メカニズム

Aft1pのS210とS224恒常的なリン酸化とaa147-270とaa304-498の二つの領域を介した鉄依存的な二量体形成の結果、Aft1pは核外輸送担体であるMsn5pによって識別され核外へ輸送されることによって活性が調節される。Aft1pの鉄感知機構の詳細は未だ完全には明らかではないが、Aft1pに鉄-硫黄クラスターが結合することによってAft1pの核外移行が制御される可能性が示唆されている。

コンドリアに存在する鉄-硫黄クラスター合成に必要な酵素である。siRNAを用いたNfs1の発現の抑制により、IRP1のIRE結合活性が増強することが明らかとなった<sup>35)</sup>。さらに、ミトコンドリアのマトリックスに存在するグルタレドキシシンであるGrx5 (glutaredoxin 5)は鉄-硫黄クラスター合成に関与するが、GRX5欠損ゼブラフィッシュにおいてはIRP1のIRE結合活性が増強することで貧血を呈すること<sup>36)</sup>、またGRX5発現が減弱した患者ではIRP1のIRE結合活性が増強することも示された<sup>37)</sup>。さらに、鉄-硫黄クラスター合成のscaffoldタンパク質として機能するミトコンドリアタンパク質であるIscUタンパク質のノックダウン細胞や、鉄-硫黄クラスター輸送への関与が示唆されるABCトランスポーターの一つであるAbc7遺伝子を欠損したマウス肝細胞でも、IRP1に鉄-硫黄クラスターが結合せず、IRE結合活性が増強することも明らかとなり、ミトコンドリアでの鉄-硫黄クラスター阻害によってIRP1の活性調節機構の破綻が引き起こされ、細胞の鉄代謝が障害されることが示された<sup>38,39)</sup>。さらに、IscU、Abc7の発現抑制、欠損細胞ではIRP1のみならず、鉄-硫黄クラスターによって制御を受けないIRP2のIRE結合活性も増強する

ことが報告されている<sup>38,39)</sup>。ヘム合成の最終ステップを触媒するフェロケターゼは2Fe-2S型の鉄-硫黄クラスター結合タンパク質である。鉄-硫黄クラスターがフェロケターゼタンパク質の安定性に関与することから<sup>40)</sup>、鉄-硫黄クラスター合成阻害の結果としてヘム合成系も障害されることによってIRP2の活性亢進に繋がる可能性が考えられる。しかしながら、Nfs1やGrx5の発現抑制ではIscU、Abc7の場合とは異なり、IRP2のIRE結合活性は減弱することが報告されており<sup>35,37)</sup>、鉄-硫黄クラスター合成阻害がIRP2に与える影響は一様ではない。今後、鉄-硫黄クラスター合成系の阻害によるミトコンドリアによる細胞の鉄代謝調節機構解析のみではなく、ヘム合成系についても視野にいれつつ、ノックダウンではなくノックアウトによる注意深い解析が待たれる。

さらに、鉄-硫黄クラスター合成系の機能解析からIRPの新たな活性制御機構の存在が明らかになった。Nfs1ノックダウン細胞やAbc7欠損マウス肝細胞などIRP1への鉄-硫黄クラスター結合が阻害された場合、IRP1は鉄存在下でのみ選択的に分解されることが報告されたからである<sup>35,41)</sup>。すなわち、細胞は鉄-硫黄クラスター合成不全時に



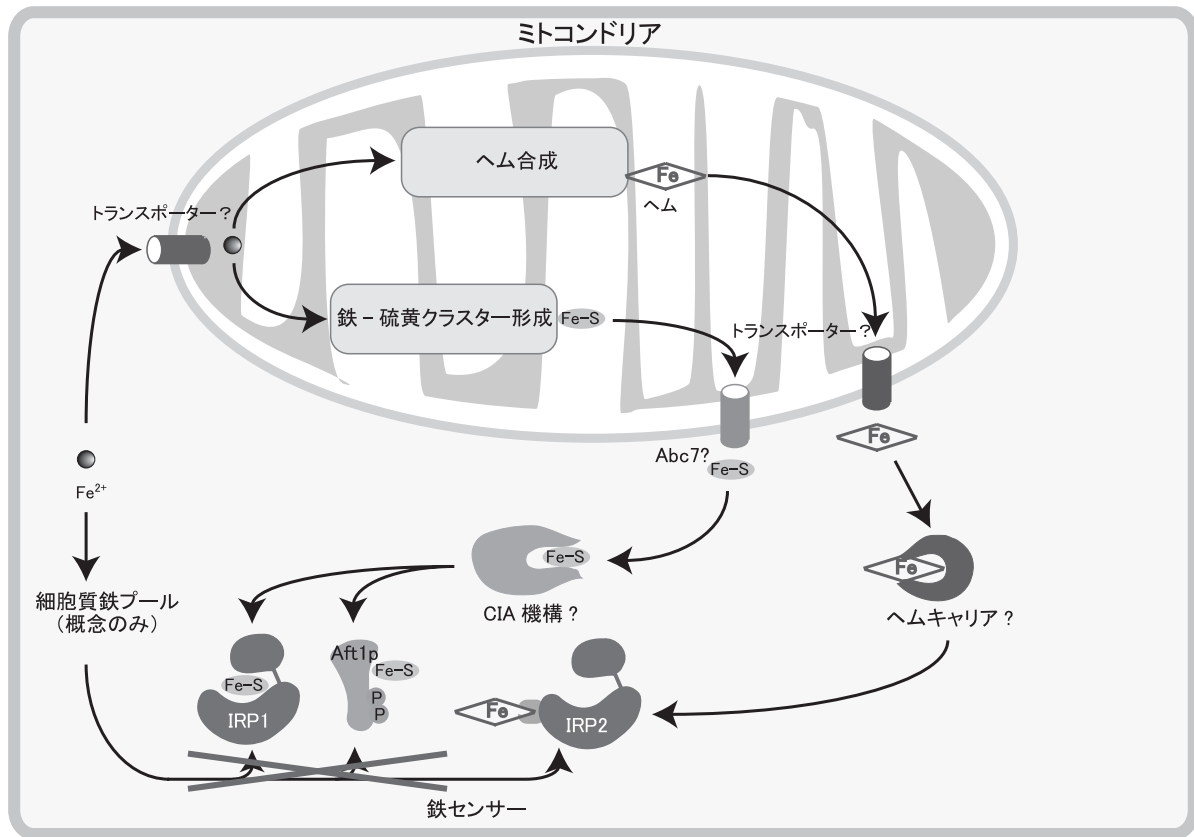


図8 真核細胞の鉄感知メカニズム

従来、真核細胞は細胞質鉄イオンプール（その実体は確認されていない！）を感知して鉄代謝を制御すると考えられてきた。しかしながら、IRP1、Aft1pは鉄-硫黄クラスターを、IRP2はへみを介して鉄濃度の変化を感知することが明らかとなった。鉄-硫黄クラスター、へみともにミトコンドリアで生成されることから、ミトコンドリアが細胞の鉄感知系において重要な役割を果たしていることが明らかになった。

はIRP1のIRE結合活性を鉄依存性分解によって制御するバックアップシステムを有していると考えられる。IRP2の活性制御に関しても、鉄を含有する未知のオキシダーゼ依存的な分解機構の存在も報告されており<sup>42)</sup>、鉄存在下でへみ以外の機構によってIRP2のIRE結合活性が制御される機構の存在も考えられる。鉄の毒性を抑制するために細胞は巧妙なバックアップ系を有しているのかもしれない。

## 5. 鉄代謝異常と疾患との関連

C型慢性肝炎患者の肝臓では、肝細胞やクッパー細胞、血管内皮細胞に鉄陽性顆粒の蓄積が認められる。1994年に本邦の林らが瀉血により体内の鉄蓄積量を減らすことで肝臓での鉄蓄積を抑制することにより慢性肝炎の活動性が低下することを報告し<sup>2)</sup>、2006年4月より同療法が保険収載されているなど、C型慢性肝炎における鉄代謝異常の重要性は広く認知されるに至っている。また、神経変性疾患においても鉄代謝の異常を伴う疾患は数多い<sup>43)</sup>。アルツハイマー病（Alzheimer's disease）やパーキンソン病など孤発性の神経変性疾患において病巣での鉄の異常蓄積や、それにとまう酸化ストレスによるダメージが確認されてい

る<sup>44,45)</sup>。加えて遺伝性疾患でも、無セルロプラスミン血症（aceruloplasminemia）やFtのL鎖の変異によるneuroferritinopathyでは、パーキンソン病様症状を呈することが報告されている<sup>14,46)</sup>。なかでも、フリードライヒ運動失調症（Friedreich ataxia）は原因遺伝子であるフラタキシン（frataxin）遺伝子の第一イントロンにおけるGAA repeatの異常繰り返し変異によりフラタキシンの発現が減弱し、ミトコンドリアに鉄蓄積を呈する。フラタキシンはミトコンドリアの鉄シャペロンであり、鉄-硫黄クラスター合成に関与していることも知られている<sup>47)</sup>。それ以外にも前述の鉄-硫黄クラスター輸送への関与が示唆されるABCトランスポーターの一つであるAbc7遺伝子異常は失調を伴う鉄芽球性貧血であるXLSA/A（X-linked sideroblastic anemia with ataxia）の原因遺伝子である<sup>48)</sup>。さらに、GRX5の発現が減弱した患者は鉄芽球性貧血様の貧血を呈することも明らかにされるなど、新規に同定された鉄-硫黄クラスター生成に関与する分子群が疾患の原因となることが明らかにされつつある。へみ合成系の分子群の異常はポルフィリン症の原因となることはよく知られているが、ALAS2の変異が鉄芽球性貧血の原因となることも知られてい

る<sup>49)</sup>。今後、鉄や、鉄含有分子の細胞内動態に関与する分子の同定が進めば、さらに多くの疾患原因分子の同定に繋がる可能性も考えられる。

### おわりに

これまで、真核細胞は細胞質鉄イオンプール（その実体は確認されていない！）を感知して鉄代謝を制御すると考えられてきた。しかしながら、本総説で紹介した鉄を感知してその代謝を制御する鉄代謝因子のうち、IRP1, Aft1pは鉄-硫黄クラスターを、IRP2は鉄-ボルフィリン錯体であるヘムを介して鉄濃度の変化を感知していることが明らかとなり、真核細胞は鉄自体を感知して鉄代謝を調節しているのではないことが明らかになった。鉄-硫黄クラスターとヘムはそのいずれもが最終的にはミトコンドリアで生成される。鉄-硫黄クラスターに関しては細胞質、核での輸送、タンパク質への配位に関わると考えられる cytoplasmic iron-sulfur protein assembly (CIA) 系の分子群が同定されるなど進展を見せつつあるが<sup>54)</sup>、ヘムに関しては産生場であるミトコンドリアから細胞質に存在するヘモグロビンや小胞体に存在するヘムタンパク質へのヘムの輸送など、ヘムの細胞内動態は全く明らかになっていないのが現状である。また、細胞内で鉄の輸送機構も明らかではなく、細胞の鉄代謝調節機構を理解するためにはそれら鉄を含有した分子群および鉄の細胞内動態に関与する分子の同定が必須である。

鉄は私たちだけではなく、微生物にとっても必須の栄養源である。中でも病原性細菌は宿主体内に多く存在するヘムタンパク質やトランスフェリン、ラクトフェリンなどの鉄輸送タンパク質から鉄を吸収する系など、生存のために多彩な方法で宿主から鉄を取り込む<sup>8)</sup>。例えば *Helicobacter pylori* や *Neisseria meningitidis* などは、多くの動物種のうちでヒトのトランスフェリンやラクトフェリン（前者はラクトフェリンのみ）からのみ鉄を奪い取ることができる。この宿主依存的な鉄取り込み様式が自らの宿主選択性に関わっている可能性も示唆されている<sup>8)</sup>。病原微生物にとっても鉄は必須の栄養素であり、鉄取り込みの阻害は「兵糧攻め」による感染防御の第一線として機能を果たしている。それゆえ、微生物の鉄代謝および鉄代謝調節機構の解明を通して、病原微生物の鉄取り込みを阻害できれば、感染症に対する新たな治療法開発に繋がる可能性もある。

鉄はラジカルの産生源として強い毒性を有することから、種々の疾患の原因となることが想定されている。実際、鉄代謝異常がC型肝炎ウイルス発がんや神経変性疾患などの疾患の増悪因子となっていることが明らかになりつつある。近年の鉄代謝研究の進展は生物の鉄の「取り扱い」方を明らかにしつつある。しかしながら、それら疾患

で「どうして鉄代謝の恒常性が破綻するのか？」はほとんど明らかではない。鉄代謝異常を伴う疾患が我々の想定を超えて多い可能性を鑑みれば、まず、細胞レベルでの鉄および鉄含有小分子の動態・代謝のさらなる解明が必要であることは言うまでもなからう。

### 追記

本総説を筆者らの長年の協同研究者であり、本年1月に志半ばで逝去した岩井 裕子博士（元・京都大学大学院生命科学研究所助教授）に捧げたい。

### 文 献

- 1) Klausner, R.D., Rouault, T.A., & Harford, J.B. (1993) *Cell*, 72, 19-28.
- 2) Hayashi, H., Takikawa, T., Nishimura, N., Yano, M., Isomura, T., & Sakamoto, N. (1994) *Am. J. Gastroenterol.*, 89, 986-988.
- 3) Ke, Y. & Ming Qian, Z. (2003) *Lancet Neurol.*, 2, 246-253.
- 4) Beutler, E. (2006) *Annu. Rev. Med.*, 57, 331-347.
- 5) Nemeth, E. & Ganz, T. (2006) *Annu. Rev. Nutr.*, 26, 323-342.
- 6) 菱川恭子, 岩井一宏 (2005) 日本臨床免疫学会雑誌, 28, 372-380.
- 7) 坂田真一, 岩井一宏 (2007) 蛋白質・核酸・酵素, 52, 982-987
- 8) Crichton, R. (2001) *Inorganic Biochemistry of Iron Metabolism: From molecular mechanisms to clinical consequences*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester UK.
- 9) 岩井裕子 (2004) 生化学, 76, 441-444.
- 10) Andrews, N.C. (2000) *Nat. Rev. Genet.*, 1, 208-217.
- 11) Hentze, M.W., Muckenthaler, M.U., & Andrews, N.C. (2004) *Cell*, 117, 285-297.
- 12) Gunshin, H., Mackenzie, B., Berger, U.V., Gunshin, Y., Romero, M.F., Boron, W.F., Nussberger, S., Gollan, J.L., & Hediger, M.A. (1997) *Nature*, 388, 482-488.
- 13) Vulpe, C.D., Kuo, Y.M., Murphy, T.L., Cowley, L., Askwith, C., Libina, N., Gitschier, J., & Anderson, G.J. (1999) *Nat. Genet.*, 21, 195-199.
- 14) Madsen, E. & Gitlin, J.D. (2007) *Annu. Rev. Neurosci.*, 30, 317-337.
- 15) Ohgami, R.S., Campagna, D.R., Greer, E.L., Antiochos, B., McDonald, A., Chen, J., Sharp, J.J., Fujiwara, Y., Barker, J.E., & Fleming, M.D. (2005) *Nat. Genet.*, 37, 1264-1269.
- 16) Iwai, K. (2003) *J. Biochem. (Tokyo)*, 134, 175-182.
- 17) Rouault, T.A. (2006) *Nat. Chem. Biol.*, 2, 406-414.
- 18) Sanchez, M., Galy, B., Muckenthaler, M.U., & Hentze, M.W. (2007) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 14, 420-426.
- 19) Escolar, L., Perez-Martin, J., & de Lorenzo, V. (1999) *J. Bacteriol.*, 181, 6223-6229.
- 20) Puig, S., Askeland, E., & Thiele, D.J. (2005) *Cell*, 120, 99-110.
- 21) Beinert, H. & Kennedy, M.C. (1993) *FASEB J.*, 7, 1442-1449.
- 22) Iwai, K., Klausner, R.D., & Rouault, T.A. (1995) *EMBO J.*, 14, 5350-5357.
- 23) Iwai, K., Drake, S.K., Wehr, N.B., Weissman, A.M., LaVaute, T., Minato, N., Klausner, R.D., Levine, R.L., & Rouault, T.A. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 4924-4928.

- 24) Yamanaka, K., Ishikawa, H., Megumi, Y., Tokunaga, F., Kanie, M., Rouault, T.A., Morishima, I., Minato, N., Ishimori, K., & Iwai, K. (2003) *Nat. Cell. Biol.*, **5**, 336-340.
- 25) Ishikawa, H., Kato, M., Hori, H., Ishimori, K., Kirisako, T., Tokunaga, F., & Iwai, K. (2005) *Mol. Cell*, **19**, 171-181.
- 26) Yamaguchi-Iwai, Y., Dancis, A., & Klausner, R.D. (1995) *EMBO J.*, **14**, 1231-1239.
- 27) Yamaguchi-Iwai, Y., Stearman, R., Dancis, A., & Klausner, R. D. (1996) *EMBO J.*, **15**, 3377-3384.
- 28) Yamaguchi-Iwai, Y., Ueta, R., Fukunaka, A., & Sasaki, R. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 18914-18918.
- 29) Ueta, R., Fukunaka, A., & Yamaguchi-Iwai, Y. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 50120-50127.
- 30) Ueta, R., Fujiwara, N., Iwai, K., & Yamaguchi-Iwai, Y. (2007) *Mol. Biol. Cell.*, **18**, 2980-2990.
- 31) Rutherford, J.C., Ojeda, L., Balk, J., Muhlenhoff, U., Lill, R., & Winge, D.R. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 10135-10140.
- 32) 古山和道, 佐々 茂 (2003) 生化学, **75**, 179-186.
- 33) Taketani, S., Nakahashi, Y., Osumi, T., & Tokunaga, R. (1990) *J. Biol. Chem.*, **265**, 19377-19380.
- 34) Lill, R. & Muhlenhoff, U. (2006) *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.*, **22**, 457-486.
- 35) Fosset, C., Chauveau, M.J., Guillon, B., Canal, F., Drapier, J. C., & Bouton, C. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 25398-25406.
- 36) Wingert, R.A., Galloway, J.L., Barut, B., Foott, H., Fraenkel, P., Axe, J.L., Weber, G.J., Dooley, K., Davidson, A.J., Schmid, B., Paw, B.H., Shaw, G.C., Kingsley, P., Palis, J., Schubert, H., Chen, O., Kaplan, J., & Zon, L.I. (2005) *Nature*, **436**, 1035-1039.
- 37) Camaschella, C., Campanella, A., De Falco, L., Boschetto, L., Merlini, R., Silvestri, L., Levi, S., & Iolascon, A. (2007) *Blood*, **110**, 1353-1358
- 38) Tong, W.H. & Rouault, T.A. (2006) *Cell Metab.*, **3**, 199-210.
- 39) Pondarre, C., Antiochos, B.B., Campagna, D.R., Clarke, S.L., Greer, E.L., Deck, K.M., McDonald, A., Han, A.P., Medlock, A., Kutok, J.L., Anderson, S.A., Eisenstein, R.S., & Fleming, M.D. (2006) *Hum. Mol. Genet.*, **15**, 953-964.
- 40) Taketani, S., Adachi, Y., & Nakahashi, Y. (2000) *Eur. J. Biochem.*, **267**, 4685-4692.
- 41) Clarke, S.L., Vasanthakumar, A., Anderson, S.A., Pondarre, C., Koh, C.M., Deck, K.M., Pitula, J.S., Epstein, C.J., Fleming, M. D., & Eisenstein, R.S. (2006) *EMBO J.*, **25**, 544-553.
- 42) Wang, J., Chen, G., Muckenthaler, M., Galy, B., Hentze, M. W., & Pantopoulos, K. (2004) *Mol. Cell. Biol.*, **24**, 954-965.
- 43) Zecca, L., Youdim, M.B., Riederer, P., Connor, J.R., & Crichton, R.R. (2004) *Nat. Rev. Neurosci.*, **5**, 863-873.
- 44) Castellani, R.J., Moreira, P.I., Liu, G., Dobson, J., Perry, G., Smith, M.A., & Zhu, X. (2007) *Neurochem. Res.*, **32**, 1640-1645.
- 45) Kaur, D., Yantiri, F., Rajagopalan, S., Kumar, J., Mo, J.Q., Boonplueang, R., Viswanath, V., Jacobs, R., Yang, L., Beal, M.F., DiMonte, D., Volitaskis, I., Ellerby, L., Cherny, R.A., Bush, A.I., & Andersen, J.K. (2003) *Neuron*, **37**, 899-909.
- 46) Curtis, A.R., Fey, C., Morris, C.M., Bindoff, L.A., Ince, P.G., Chinnery, P.F., Coulthard, A., Jackson, M.J., Jackson, A.P., McHale, D.P., Hay, D., Barker, W.A., Markham, A.F., Bates, D., Curtis, A., & Burn, J. (2001) *Nat. Genet.*, **28**, 350-354.
- 47) Pandolfo, M. (2006) *J. Neural. Transm. Suppl.*, 143-146.
- 48) Lill, R. & Kispal, G. (2001) *Res. Microbiol.*, **152**, 331-340.
- 49) Cotter, P.D., Baumann, M., & Bishop, D.F. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 4028-4032.