

I large intragenic deletion in *RPS19*, which was not detected by the SNP array. This agreement between detection results suggests that the s-q-PCR copy number assay could be useful for detecting large RP gene deletions.

In the present study, 7 DBA patients carried a large deletion in the RP genes. This type of mutation could be underrepresented by sequencing analysis, although in the future, genome sequencing might provide a universal platform for mutation and deletion detection. We propose that gene copy number analysis for known DBA genes, in addition to direct sequencing, should be performed to search for a novel responsible gene for DBA. Although at present, it may be difficult to observe copy numbers on all 80 ribosomal protein genes in one s-q-PCR assay, our method allows execution of gene copy number assays for several target genes in 1 plate. Because our method is quick, easy, and low cost, it could become a conventional tool for detecting DBA mutations.

Acknowledgments

The authors thank Momoka Tsuruhara, Kumiko Araki, and Keiko Furuhashi for their expert assistance.

This work was partially supported by grants-in-aid for scientific research from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan, and by Health and Labor Sciences

research grants (Research on Intractable Diseases) from the Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan.

Authorship

Contribution: M.K. designed and performed the research, analyzed the data, and wrote the manuscript; A.S.-O. and S. Ogawa performed the SNP array analysis; T.M., M.T., and M.O. designed the study; T.T., K. Terui, and R.W. analyzed the mutations and status data; H.K., S. Ohga, A.O., S.K., T.K., K.G., K.K., T.M., and N.M. analyzed the status data; A.M., H.M., K. Takizawa, T.M., and K.Y., performed the research and analyzed the data; E.I. and I.H. designed the study and analyzed the data; and all authors wrote the manuscript.

Conflict-of-interest disclosure: The authors declare no competing financial interests.

Correspondence: Isao Hamaguchi, MD, PhD, Department of Safety Research on Blood and Biological Products, National Institute of Infectious Diseases, 4-7-1, Gakuen, Musashimurayama, Tokyo 208-0011, Japan; e-mail: 130hama@nih.go.jp; or Etsuro Ito, MD, PhD, Department of Pediatrics, Hirosaki University Graduate School of Medicine, 5 Zaifucho, Hirosaki, Aomori 036-8562, Japan; e-mail: eturou@cc.hirosaki-u.ac.jp.

References

- Hamaguchi I, Flygare J, Nishiura H, et al. Proliferation deficiency of multipotent hematopoietic progenitors in ribosomal protein S19 (RPS19)-deficient diamond-Blackfan anemia improves following RPS19 gene transfer. *Mol Ther*. 2003;7(5 pt 1):613-622.
- Vlachos A, Ball S, Dahl N, et al. Diagnosing and treating Diamond Blackfan anaemia: results of an international clinical consensus conference. *Br J Haematol*. 2008;142(6):859-876.
- Draptchinskaiia N, Gustavsson P, Andersson B, et al. The gene encoding ribosomal protein S19 is mutated in Diamond-Blackfan anaemia. *Nat Genet*. 1999;21(2):169-175.
- Doherty L, Sheen MR, Vlachos A, et al. Ribosomal protein genes RPS10 and RPS26 are commonly mutated in Diamond-Blackfan anemia. *Am J Hum Genet*. 2010;86(2):222-228.
- Gazda HT, Sheen MR, Vlachos A, et al. Ribosomal protein L5 and L11 mutations are associated with cleft palate and abnormal thumbs in Diamond-Blackfan anemia patients. *Am J Hum Genet*. 2008;83(6):769-780.
- Farrar JE, Nater M, Caywood E, et al. Abnormalities of the large ribosomal subunit protein, Rpl35a, in Diamond-Blackfan anemia. *Blood*. 2008;112(5):1582-1592.
- Gazda HT, Grabowska A, Merida-Long LB, et al. Ribosomal protein S24 gene is mutated in Diamond-Blackfan anemia. *Am J Hum Genet*. 2006;79(6):1110-1118.
- Konno Y, Toki T, Tandai S, et al. Mutations in the ribosomal protein genes in Japanese patients with Diamond-Blackfan anemia. *Haematologica*. 2010;95(8):1293-1299.
- Robledo S, Idol RA, Crimmins DL, Ladenson JH, Mason PJ, Bessler M. The role of human ribosomal proteins in the maturation of rRNA and ribosome production. *RNA*. 2008;14(9):1918-1929.
- Léger-Silvestre I, Caffrey JM, Dawaliby R, et al. Specific Role for Yeast Homologs of the Diamond Blackfan Anemia-associated Rps19 Protein in Ribosome Synthesis. *J Biol Chem*. 2005;280(46):38177-38185.
- Choesmel V, Fribourg S, Aguiusa-Toure AH, et al. Mutation of ribosomal protein RPS24 in Diamond-Blackfan anemia results in a ribosome biogenesis disorder. *Hum Mol Genet*. 2008;17(9):1253-1263.
- Flygare J, Aspesi A, Bailey JC, et al. Human RPS19, the gene mutated in Diamond-Blackfan anemia, encodes a ribosomal protein required for the maturation of 40S ribosomal subunits. *Blood*. 2007;109(3):980-986.
- Quarello P, Garelli E, Brusco A, et al. Multiplex ligation-dependent probe amplification enhances molecular diagnosis of Diamond-Blackfan anemia due to RPS19 deficiency. *Haematologica*. 2008;93(11):1748-1750.
- Yamamoto G, Nannya Y, Kato M, et al. Highly sensitive method for genomewide detection of allelic composition in nonpaired, primary tumor specimens by use of affymetrix single-nucleotide-polymorphism genotyping microarrays. *Am J Hum Genet*. 2007;81(1):114-126.
- Song MJ, Yoo EH, Lee KO, et al. A novel initiation codon mutation in the ribosomal protein S17 gene (RPS17) in a patient with Diamond-Blackfan anemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2010;54(4):629-631.
- Cmejla R, Cmejlova J, Handrkova H, Petrak J, Pospisilova D. Ribosomal protein S17 gene (RPS17) is mutated in Diamond-Blackfan anemia. *Hum Mutat*. 2007;28(12):1178-1182.
- Cmejla R, Cmejlova J, Handrkova H, et al. Identification of mutations in the ribosomal protein L5 (RPL5) and ribosomal protein L11 (RPL11) genes in Czech patients with Diamond-Blackfan anemia. *Hum Mutat*. 2009;30(3):321-327.
- Quarello P, Garelli E, Carando A, et al. Diamond-Blackfan anemia: genotype-phenotype correlations in Italian patients with RPL5 and RPL11 mutations. *Haematologica*. 2010;95(2):206-213.
- Boria I, Garelli E, Gazda HT, et al. The ribosomal basis of Diamond-Blackfan Anemia: mutation and database update. *Hum Mutat*. 2010;31(12):1269-1279.
- Campagnoli MF, Garelli E, Quarello P, et al. Molecular basis of Diamond-Blackfan anemia: new findings from the Italian registry and a review of the literature. *Haematologica*. 2004;89(4):480-489.
- Willig TN, Draptchinskaiia N, Dianzani I, et al. Mutations in ribosomal protein S19 gene and diamond blackfan anemia: wide variations in phenotypic expression. *Blood*. 1999;94(12):4294-4306.
- Gustavsson P, Garelli E, Draptchinskaiia N, et al. Identification of microdeletions spanning the Diamond-Blackfan anemia locus on 19q13 and evidence for genetic heterogeneity. *Am J Hum Genet*. 1998;63(5):1388-1395.

綜合臨牀 第58卷第8号
(平成21年8月1日発行 別刷)

輸血後鉄過剰症の診断と治療

The diagnosis and treatment for iron overload due to blood transfusion

張替 秀郎
HARIGAE Hideo

永 井 書 店

輸血後鉄過剰症の診断と治療

The diagnosis and treatment for iron overload due to blood transfusion



張替 秀郎
HARIGAE Hideo

貧血を診る

Key words 輸血 鉄過剰 フェリチン 鉄キレート療法

鉄過剰症の病態

鉄は、酸素運搬以外にも細胞の分裂・増殖や呼吸など生体にとって必須の金属元素であるが、きわめて毒性の高い元素である。しかしながら、鉄は半閉鎖的回路で再利用されているため、1日あたりの鉄の吸収・排泄のバランスは1~2mgと きわめて小さく、生体は積極的に鉄を排除する機構を有していない。したがって、先天的遺伝子異常や輸血などにより鉄が負荷されると、容易に鉄過剰状態となる。

通常、鉄は循環血液中ではトランスフェリンと、細胞内ではフェリチンと結合することによって、その細胞障害作用は抑制されている。しかし、鉄過剰状態によりトランスフェリンが過飽和の状態になると、トランスフェリンと結合しきれなくなった鉄は血漿中のアルブミンなどの低分子と結合し非トランスフェリン結合鉄(Non transferrin bound iron: NTBI)となる¹⁾。

Labile plasma iron (LPI)はNTBIのなかでもとくに毒性の強い低分子鉄分画であり、酸化還元能が高く、細胞に対する鉄毒性が強い。NTBI/LPIは、トランスフェリンレセプターを介さず細胞内へ侵入し、細胞内においてヒドロキシラジカル

(OHラジカル)などの活性酸素種(ROS)を産生することにより、DNA、タンパク質、脂質などを酸化し、細胞を障害する¹⁾。その結果、肝臓の線維化による肝硬変、膵内分泌機能障害による耐糖能低下、糖尿病、心不全などの全身の臓器障害を発症することになる。

鉄過剰症の臨床的重要性

臨床的に鉄過剰症をきたす疾患は大きくわけて、遺伝性ヘモクロマトーシス、輸血依存性の造血不全症・貧血があげられる。日本においては、前者はきわめてまれであるため、鉄過剰症として対処すべき病態は、主として輸血後鉄過剰症である。赤血球輸血1単位(全血200mL由来)に含まれる鉄量は約100mgであり、例えば、月2回、計4単位の頻度で赤血球輸血が行われると鉄負荷量は400mg/月にのぼる。この量は、通常の鉄排泄量の200~400日分にあたり、輸血による鉄過剰症のリスクが容易に理解できる。

骨髄異形成症候群(MDS)はheterogeneousな疾患であるが、その多くは貧血症状を伴い輸血依存となり、輸血後鉄過剰症のリスクがきわめて高い疾患である。実際に、MDSの非白血病死亡の原因では心不全が最も多く、とくに輸血依存MDS例の心疾患発生率は、非輸血依存患者より有意に

高い(79% vs 54%)ことが報告されており²⁾, 輸血量に応じてその生存率が低下することが知られている³⁾. MDSの予後スコアリングシステム(WPSS)においても, 輸血依存が独立した予後因子として認められており, その臨床的重要性が指摘されている⁴⁾.

また, 再生不良性貧血, β -サラセミアといった長期に輸血が必要とされる貧血・造血不全症においても, 心臓への鉄蓄積に起因する心不全がその死因として重要であることが知られている. 日本の症例においても, 日本の輸血依存患者の死亡理由のうち, 鉄過剰症の関与が疑われる死因(心不全・肝不全)は3割を占め, 死亡例の90%以上が血清フェリチン1,000ng/mLを超えていることが示されている⁵⁾. さらに, 造血幹細胞移植においても, 移植前の血清フェリチン高値と治療関連死亡リスクの上昇との相関性が報告され, 移植前の鉄過剰症による臓器障害や易感染性が移植成績を低下させることが明らかとなった⁶⁾.

このようにさまざまな疾患において, 輸血依存による鉄過剰症が予後を規定する因子として認識されている.



鉄過剰の評価方法

前述のように, 鉄毒性の原因となるNTBI, とくに, NTBIの低分子鉄画分であるLPIは毒性が強いことから, 鉄による臓器障害をきたす中心分子である. 実際, 造血幹細胞移植の際にはLPIが増加し合併症の原因となり得ることが示唆されている⁷⁾. したがって, その測定は直接的な鉄による臓器障害を反映するマーカーとなり得るが, 実用的なNTBI測定系の構築はいまだ確立されていない.

現在, 実地臨床においては, 鉄過剰症のモニタリングとして, 輸血歴, 血清学的検査, 肝鉄濃度(liver iron concentration: LIC), 画像診断などが用いられる. 画像による評価法として, 国外ではMRIによる心鉄濃度(T2 * MRI)が定量的方法

として臨床応用されているが, 残念ながらわが国では定性レベルであり定量的評価法としては普及していない. LICは生体の貯蔵鉄のゴールドスタンダードな指標であり, 生体内の鉄バランスや鉄キレート療法の効果を評価する適切な方法であるが, 生検を必要とするため侵襲性が高く手軽な検査とは言い難い.

血清学的検査としては, 血清鉄, 不飽和鉄結合能(UIBC), 総鉄結合能(TIBC), 血清フェリチン値があげられる. このうち, 血清鉄, UIBC, TIBC, とくに血清鉄をTIBCで除して算出するトランスフェリン飽和度は, 鉄代謝を容易かつ良好に反映するマーカーであるが, どちらかというとし体内の鉄の動態をあらわす指標といえる. 細胞内の余剰鉄を保持するフェリチンは, その一部が血清中に放出され, 血清フェリチン値として測定される. 血清フェリチン値は, 体内の鉄総量を反映するため貯蔵鉄の指標となり, 実際, MDS, Diamond Blackfan 貧血, β -サラセミアなどでは, LICと血清フェリチン値との間に相関性が認められている⁸⁾. 安価で測定の侵襲性も低いことから, 経時的な観察が可能であり, 鉄過剰の評価法としては血清フェリチン値が最も実用的と考えられる.

この他, 臓器障害については, 心機能障害は心エコー検査での左室駆出分画(LVEF)が簡便な評価法として用いられている. 肝機能障害は, CT

表1 鉄評価指標

	臨床的	研究的
体内貯蔵鉄	血清フェリチン 輸血歴	定量的MRI
体内鉄動態	トランスフェリン飽和度 血清鉄 UIBC TIBC	NTBI ペブシジン
心機能	心エコー	
肝機能	ALT/AST 画像診断	
内分泌	空腹時血糖値 グリコアルブミン	
造血機能・	末梢血球数 網赤血球数 骨髓検査	

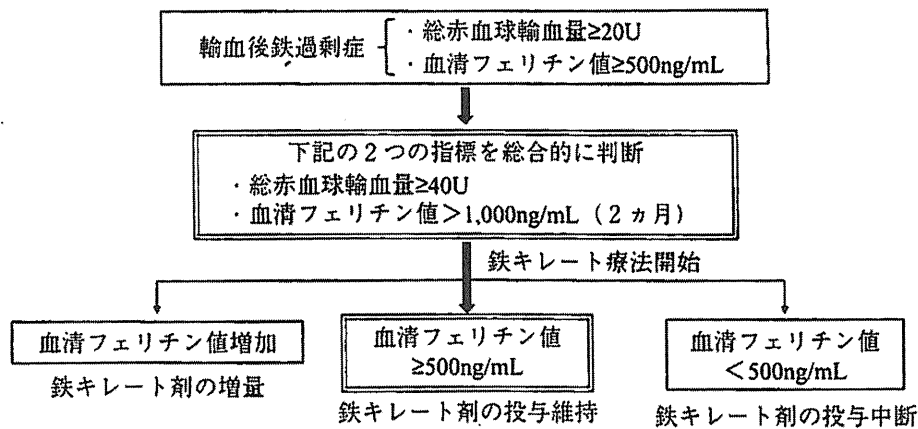


図1 鉄過剰症の治療フローチャート
(特発性造血障害に関する調査研究, 平成20年度)

やMRIなど画像検査による肝硬変所見の有無, ASTやALTなどの血清学的肝機能検査が用いられる。膵内分泌機能障害は尿糖, 血糖値, グリコアルブミンなど耐糖能低下の所見から判定する。

表1にこれらの鉄評価の指標をまとめた。これらの指標が, 血清フェリチン値の上昇や総輸血量の増加に伴って出現あるいは増悪した場合には, 鉄過剰による臓器障害を疑うことになる。

鉄過剰症に対する治療

これまでに低リスクのMDS例では, 鉄キレート療法によって生命予後の改善が得られることが示唆されており, 現在, 血清フェリチン値が1,000 ng/mLを超える鉄過剰症で, 生命予後が1年を超えると予想されるMDS症例に対しては, 鉄キレート療法による鉄過剰症の改善が推奨されている⁹⁾。

わが国の特発性造血障害調査研究班による輸血後鉄過剰症の診療ガイドでは, 輸血後鉄過剰症は, 総赤血球輸血量20単位(小児の場合, ヒト赤血球濃厚液50mL/体重kg)以上および血清フェリチン値500ng/mL以上と定義している。輸血後鉄過剰症と診断された症例のうち, 血清フェリチン値>1,000ng/mL, 総赤血球輸血量40単位以上を満たした場合, 鉄キレート療法を考慮することとしている¹⁰⁾。

図1に, 本ガイドラインで提唱された鉄過剰症の治療のフローチャートを示す。これまでに, 赤血球輸血40単位によって, LICが肝障害を発症する閾値である7 mg Fe/gr dry weightに達することがすでに示されており¹¹⁾, この鉄キレート療法の開始基準は妥当な基準であると考えられる。一方で, 鉄過剰症の臨床的重要性は認識されていながらも, 鉄の除去を試みる際に用いることができる鉄キレート剤は限られており, 本邦では, 非経口投与薬である deferoxamine (デスフェラル®)のみが投与可能な薬剤であった。しかしながら, deferoxamineの血中半減期は5~10分ときわめて短いため, 十分な鉄キレート作用を得るためには長時間の持続投与が必要であり, 外来でこのような投与を連日行うのはきわめて困難であった。実際に, 本邦の調査研究においても, deferoxamineの投与は輸血時の間欠投与が多く, その効果は限定的であると考えられた⁵⁾。

その点, 最近承認された経口鉄キレート剤である deferasirox (エクジェード®)は, 半減期が約20時間と長く, 1日1回投与で deferoxamineの持続投与と同様の効果が得られる薬剤である。deferasiroxの多施設国際臨床試験である EPIC studyの結果が2008年のアメリカ血液学会にて多数報告されたが, サラセミア, 再生不良性貧血, MDSいずれの疾患においても良好な鉄キレート効果が認められており, また心筋からの鉄キレ-

ト効果も確認された。実際に、直接的な細胞傷害活性を有する血漿中の自由鉄(LPI)も, deferasirox の投与にて減少することが明らかとなっており, この点からも臓器障害の抑制効果が裏付けられている。興味深いことに, deferasirox の投与にて造血が回復する症例も報告されており, 鉄をキレートすることにより鉄の造血抑制作用が解除され, 輸血頻度が少なくなる可能性が示唆され

ている¹²⁾。本邦の輸血後鉄過剰症に対する臨床研究においても, deferasirox の有効性が確認されており¹³⁾, その投与の簡便性からも deferoxamine にかわるキレート剤であると考えられる。注意すべき副作用として腎機能障害があり, とくに再生不良性貧血などサイクロスポリンを併用する疾患の場合には注意が必要である。

文 献

- 1) Kohgo Y, Ikuta K, Ohtake T, et al : Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. *Int J Hematol* 88 : 7-15, 2008.
- 2) Goldberg SL : Novel treatment options for transfusional iron overload in patients with myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 3 : S16-22, 2007.
- 3) Malcovati L, Della Porta MG, Cazzola M : Predicting survival and leukemic evolution in patients with myelodysplastic syndrome. *Haematologica* 91 : 1588-1590, 2006.
- 4) Malcovati L, Germing U, Kuendgen A, et al : Time-dependent prognostic scoring system for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 25 : 3503-3510, 2007.
- 5) Takatoku M, Uchiyama T, Okamoto S, et al : Retrospective nationwide survey of Japanese patients with transfusion-dependent MDS and aplastic anemia highlights the negative impact of iron overload on morbidity/mortality. *Eur J Haematol* 78 : 487-494, 2007.
- 6) Armand P, Kim HT, Cutler CS, et al : Prognostic impact of elevated pretransplantation serum ferritin in patients undergoing myeloablative stem cell transplantation. *Blood* 109 : 4586-4588, 2007.
- 7) Sahlstedt L, Ebeling F, von Bonsdorff L, et al : Non-transferrin-bound iron during allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 113 : 836-838, 2001.
- 8) Porter J, Galanello R, Saglio G, et al : Relative response of patients with myelodysplastic syndromes and other transfusion-dependent anaemias to deferasirox (ICL670) : a 1-yr prospective study. *Eur J Haematol* 80 : 168-176, 2008.
- 9) Gattermann N : Overview of guidelines on iron chelation therapy in patients with myelodysplastic syndromes and transfusional iron overload. *Int J Hematol* 88 : 24-29, 2008.
- 10) Suzuki T, Tomonaga M, Miyazaki Y, et al : Japanese epidemiological survey with consensus statement on Japanese guidelines for treatment of iron overload in bone marrow failure syndromes. *Int J Hematol* 88 : 30-35, 2008.
- 11) Oliveieri NF, Brittenham GM : Iron chelating therapy and the treatment of thalassemia. *Blood* 89 : 739-761, 1997.
- 12) Messa E, Cilloni D, Messa F, et al : Deferasirox treatment improved the hemoglobin level and decreased transfusion requirements in four patients with the myelodysplastic syndrome and primary myelofibrosis. *Acta Haematol* 120 : 70-74, 2008.
- 13) Miyazawa K, Ohyashiki K, Urabe A, et al : A safety, pharmacokinetic and pharmacodynamic investigation of deferasirox (Exjade, ICL670) in patients with transfusion-dependent anemias and iron-overload : a Phase I study in Japan. *Int J Hematol* 88 : 73-81, 2008.

鉄代謝の臨床 鉄欠乏と鉄過剰：診断と治療の進歩

IV. 最近の話題

3. 鉄と炎症

張替 秀郎

日本内科学会雑誌 第99巻 第6号別刷

2010年6月10日

トピックス

IV. 最近の話題

3. 鉄と炎症

張替 秀郎

要 旨

感染症などの炎症においては、ペプチドホルモンであるヘプシジンが分泌され、鉄の吸収・再利用が抑制される。また、細菌の鉄獲得を阻止するために様々な競合分子の発現が誘導される。この鉄動態の変化は、感染に対する防御機構として、また鉄の組織障害を回避する手段として有効であるが、長期間にわたる鉄利用サイクルの抑制は、慢性貧血の原因となる。

〔日内会誌 99：1282～1286, 2010〕

Key words：鉄, 炎症, 感染症

はじめに

鉄は、赤血球の酸素運搬に必須のヘモグロビン構成原子であるが、それ以外にも、ミトコンドリアの呼吸鎖、肝臓における薬物代謝、細胞増殖、DNA (deoxyribonucleic acid) 合成など様々な生体反応に必須の原子である。一方で、鉄は活性酸素種を容易に産生する極めて毒性の高い原子でもある。この諸刃の剣である鉄を、有効にかつ安全に利用するために、生体は極めて巧妙な制御機構を有している。この鉄の巧妙な制御機構を理解する上で重要な点は、1. 鉄が半閉鎖系で利用されていることと、2. さまざまな状況下でその動態がドラマティックに変化することである。本稿においては、この中で炎症に伴う鉄の生体内の動態とその制御機構について概説する。なお、本号においては本稿に関連する論文として、ヘプシジンおよび微生物の鉄捕捉

分子についての総説が掲載されており、本稿と内容が重複する点があることをご容赦いただきたい。

1. 感染症と鉄代謝

生体内で炎症が起こる機序として、最も頻度が高く、また重要な機序は感染症である。特に細菌はその生存・増殖に鉄が必須であり、これまでに鉄過剰状態において、細菌感染症の増悪、遷延が起こることが数多く報告されている。例をあげると、*Yersinia*や*Vibrio*属の感染がヘモクロマトーシス患者において合併しやすいこと、また鉄過剰状態にあるサラセミア患者では、サルモネラ菌をはじめとする細胞内細菌の感染リスクが高いことが報告されている¹⁾。また、マウスモデルでは、ホロトランスフェリンの投与が*Nisseria meningitidis*感染を重症化させること、結核菌感染モデルにおいては鉄負荷が結核菌の増殖を著明に誘導することが報告されている²⁾。生体内では自由鉄濃度は 10^{-24} Mオーダーに低く抑え

はりがえ ひでお：東北大学大学院医学系研究科血液・免疫病学分野

表. 感染・炎症における鉄関連反応因子

蛋白質	感染・炎症時における作用
ラクトフェリン	鉄の保持
Nramp1	ファゴソームからの鉄の排出
リポカリン2	ジデロフォアの捕捉
ヘプシジン	鉄の吸収・再利用の抑制
IL-6, IL-1 β	ヘプシジン誘導

られており、細菌が自由鉄にアクセスすることは困難であるため、細菌は特異的な分子を発現してトランスフェリン、フェリチンから鉄をキレートしたり、直接的にヘムを取り込むなどして、必要な鉄を獲得する。これに対する対抗措置として、生体は細菌への鉄の供給を抑えるために速やかに鉄の動態を変化させ、その結果、細菌感染から数時間以内に細胞外液、血清の鉄濃度が低下する。また、細菌感染時には細胞外だけでなく細胞内鉄動態にも変化が起こる。すなわち、マクロファージは自身に感染した細胞内細菌の増殖を阻害するために、細菌が寄生しているファゴソームから細胞質へと鉄を移動させることにより細菌を鉄欠乏状態へと導く。さらに、生体は細菌のキレート分子に対抗する競合分子を合成し、鉄濃度の減少だけでなく直接的に細菌の鉄の獲得を阻止するシステムを有している。これらの細菌の鉄の獲得を阻害する分子を表に示す。natural resistance-associated macrophage protein1 (Nramp1) は好中球、マクロファージのファゴソームに発現する二価の金属イオンのトランスポーターである。Nramp1 は鉄イオンを排出することにより、ファゴソーム内の鉄濃度を低下させ、ファゴソームに寄生する細菌の生存・増殖を抑制すると考えられている。実際に、同遺伝子の変異により、結核菌、*Salmonella*菌、*Leishmania*菌などの細胞内寄生菌に対する易感染性が増すことが、マウス実験により確認されている³⁾。なお、Nramp1 のホモログであるNramp2 は腸上皮細胞における食餌鉄の取り込み、および細胞内エンドソームからの鉄の排出に機能していることが知られている。ラ

クトフェリンはトランスフェリン類似の構造を持つ蛋白質であり、好中球などから分泌される。トランスフェリン同様に二つの三価鉄と強固に結合する。但し、トランスフェリンと異なり、感染巣や低酸素組織における酸性条件下で鉄を遊離しないため、細菌の鉄の獲得に競合的に働くものと考えられている。リポカリン2は主として好中球に含まれる糖蛋白質であり、細菌のジデロフォアであるエンテロバクチンに結合する。ジデロフォアは細菌が分泌するキレート分子であり、周囲の環境から鉄を獲得するために用いられる。リポカリン2はジデロフォアを捕捉することにより、細菌の鉄の利用を阻害し、その増殖を抑制する。リポカリン2は敗血症において大量に分泌されることが明らかとなっており、リポカリン2を欠損するマウスは敗血症が重症化しやすく、死亡率が高いことが報告されている⁴⁾。このように、生体は細菌の増殖を阻止するために、可能な限り、細菌に利用される鉄を減らすための様々なメカニズムを用意している。

これらの防御反応は自然免疫に分類される生体反応であるが、獲得免疫にかかわる分子も鉄代謝において重要な機能を果たしている。古典的MHC (major histocompatibility complex) クラスI分子は、CD8陽性T細胞に抗原ペプチドを提示する分子であるが、 β 2マイクログロブリンと複合体を形成し、細胞表面上に発現している。MHCクラスI分子には、この古典的MHCクラスI分子の他に、 β 2マイクログロブリンと結合するものの、ペプチド結合性を持たない非古典的MHCクラスI分子が存在する。1994年に β 2マイクログロブリン欠損マウスが鉄過剰症をきたすことが見出され、MHCクラスI複合体の異常が鉄代謝異常の原因となることが明らかとなり⁵⁾、その後、遺伝性ヘモクロマトーシス症例の解析から、非古典的MHCクラスI分子に属するHFE遺伝子がその責任遺伝子であることが明らかとなった⁶⁾。HFE蛋白質のペプチド結合様構造は、その溝が

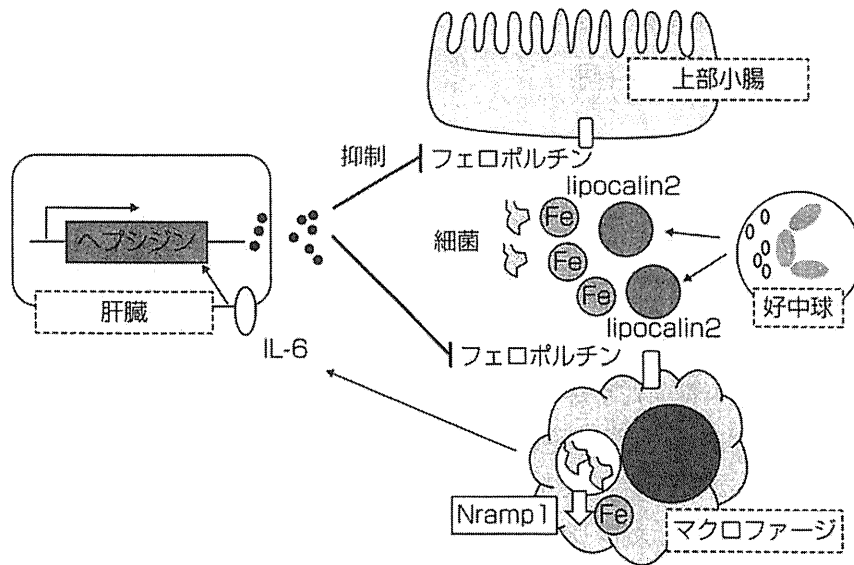


図 1. 細菌感染時の鉄動態

狭いため抗原提示ドメインとして機能しないが、 $\beta 2$ マイクログロブリンと結合し複合体を形成する。遺伝性ヘモクロマトーシスにおいて最も頻度が高く認められる 282 番目の tyrosine が cysteine に変異した C282Y 変異 HFE 蛋白質は $\beta 2$ マイクログロブリンと結合できず、細胞表面に表出できないことが明らかになっている。in vitro の実験から、HFE 蛋白質がトランスフェリン受容体 1 と結合することが明らかとなり、HFE 蛋白質の変異による鉄過剰症は、HFE がトランスフェリン受容体 1 と結合できなくなるために、トランスフェリンとトランスフェリン受容体 1 の結合が促進することにより発症すると考えられていた。しかしながら、最近では HFE 変異による鉄過剰症の主因はヘプシジンの発現低下であると考えられている。すなわち、鉄が過剰になり、鉄で飽和されたホロトランスフェリンが増加すると、トランスフェリン受容体との結合能が低い HFE は受容体から遊離し、トランスフェリン受容体 2 と結合し同分子を安定化させる。トランスフェリン受容体 2 は BMP (bone morphogenetic protein) 受容体コンプレックスと会合し、この受容体からのシグナルがヘプシジンの発現を誘導し、鉄の吸収、再利用が抑制される。一

方で、HFE 蛋白質に変異があると、トランスフェリン受容体 2 と HFE の会合が得られなくなるため、ヘプシジン誘導シグナルが細胞内に伝達されずヘプシジンの発現が低いままとなり、鉄が過剰となっても鉄利用サイクルの抑制がかからなくなるわけである。なお、ヘプシジンの具体的な鉄代謝制御機構については次々項で詳述する。鉄制御分子である HFE が MHC 分子の構造を有している生物学的合理性は明らかではないが、他の非古典的 MHC クラス I 分子も特異的機能を有していることが明らかとなっており、MHC 分子の機能の多様性には何らかの発生的な意義があるものと考えられる。ただし、HFE 蛋白質は抗原提示能を有さないものの、マウスにおいて T 細胞が HFE 蛋白質を TCR (T-cell receptor) を介して認識すること、またミスフォールディングされた変異 HFE 蛋白質が ER (endoplasmic reticulum) に蓄積することにより、古典的 MHC クラス I 分子の細胞表面への移動が抑制されることも報告されている。これらの報告から示唆される HFE 蛋白質の免疫機能への関与は、免疫と鉄代謝が密接に関連していることを示すものである。

2. 非感染性炎症と鉄

感染性炎症時に細菌の鉄獲得を防ぐべく、鉄の利用サイクルが抑制されることは生体反応として理解がしやすいが、非感染性の炎症で同様の現象が誘導される生理的なメリットについては明らかとなっていない。ただし、関節リウマチ患者の滑膜液では、自由鉄濃度が高く、それに応じてラクトフェリン濃度が高くなっていることが報告されており、また、非感染性炎症時においてもフェリチン値が高値を示すことはよく知られた事象であることから、非感染性炎症時にも鉄の動態が変化し、鉄に対する防御機構が必要であることは理解できる。また、関節リウマチやSLE(全身性エリテマトーデス)においては鉄の負荷が、予後を悪くすることが報告されており、炎症における鉄の負の影響も明らかである⁷⁾。炎症時には酸化ストレスレベルが通常に比べ極めて高くなること、炎症組織において過剰な鉄は酸化ストレスの産生要因となることを考えると、炎症時に自由鉄レベルを極力抑えることは組織保護のために合目的と考えられる。

3. 炎症における鉄の代謝機構

このように、生体内は、炎症時に鉄の再利用・吸収を抑え、いわば鉄利用サイクルを動かさない方向に鉄の動態をシフトさせる。この鉄動態のシフトの中心となる分子が、ヘプシジンである。ヘプシジンの鉄制御メカニズムを理解する上で、生体内の鉄の利用機構を把握することが重要であるため、まずそのシステムについて簡単に紹介する。鉄は半閉鎖系で利用されているため、体内の鉄の総量は3~4 gであるのに対し、十二指腸で吸収される鉄量は一日あたりわずか1~2 mgである。一方で、老化し処分される赤血球は一日当たり約20 mlの赤血球であり、この赤血球由来の鉄は約20 mgにのぼる。従って、赤血

球造血に用いられる鉄のほとんどは分解された赤血球由来の再利用鉄ということになるが、食餌鉄、赤血球由来の再利用鉄、いずれも血清中のトランスフェリンに受け渡され、生体内鉄利用サイクルに入るにはフェロポルチンというトランスポーターを必要とする。すなわち、ヘム鉄、非ヘム鉄いずれの形であっても、上部小腸の上皮細胞から吸収された鉄はフェロポルチンによって血管腔側に放出され、トランスフェリンに受け渡される。また、マクロファージ内で分解された赤血球に由来する鉄は十二指腸細胞と同様にフェロポルチンを通じてマクロファージの外に排出されトランスフェリンに受け渡される。従って、フェロポルチンの発現レベルによって、生体内鉄利用サイクルの活動性が変化するといえる。このフェロポルチンの発現を制御する分子がヘプシジンである。ヘプシジンは当初肝臓に発現する抗菌ペプチドとして同定されたが、その欠損により著明な鉄沈着をきたすことから鉄代謝に関与している分子であると推測された⁸⁾。その後、上部小腸での鉄吸収やマクロファージからの鉄排出に機能しているフェロポルチンがヘプシジンの受容体であり、フェロポルチンはヘプシジンと結合することによりエンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれ分解されることが明らかとなった⁹⁾。従って、実質的にヘプシジンはフェロポルチンの発現を抑制する分子であり、生体内の鉄利用サイクルを制御する中心的分子である。前述のように、鉄は生体にとって必須の原子であると同時に、極めて毒性の高い分子であるため、その必要量は生体内の状況に応じ、厳密にかつ迅速に変化する。感染、鉄の飽和状態、低酸素、赤血球造血など、鉄の利用量を増減するシグナルは多様であり、従ってヘプシジンは、これらのシグナルにより多層的な発現調節を受けている(図2)。この中で最も重要な点はIL-6(interleukin-6)などの炎症性サイトカインにより、肝臓でのヘプシジンの発現が誘導される点である。すなわち、感染

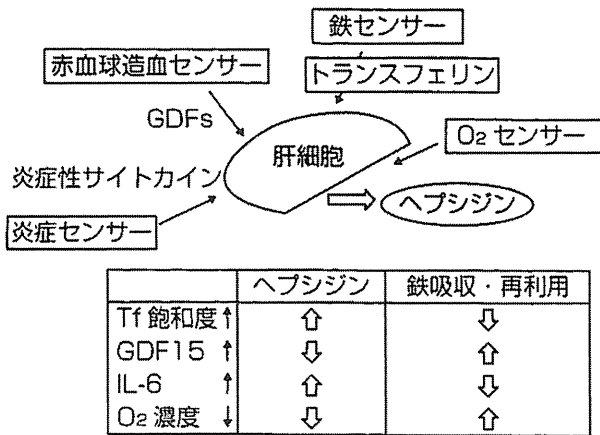


図2. ヘプシジン発現調節シグナル
GDF : growth differentiation factor

症や慢性炎症によって分泌が促進するIL-6などの炎症性サイトカインは、ヘプシジンの分泌を亢進させ、結果として上部小腸、マクロファージにおけるフェロポルチンを介した鉄の吸収や放出が抑制させる¹⁰⁾。このことにより、生体は細菌の鉄利用を阻止し、活性酸素種の発生による組織障害を回避する。これまで、慢性炎症により、鉄利用障害による貧血が誘導されることはよく知られていたが、この慢性炎症に伴う貧血の病態の中心がヘプシジンであることが明らかとなり、そのメカニズムが一元的に理解できるようになった。

おわりに

炎症における鉄の動態とその分子機構について概説した。炎症時のヘプシジンによる鉄利用サイクルの抑制は細菌感染に対する防御や、鉄

の組織毒性の防止において有効であることは理解できる。ただし、炎症が長期にわたり鉄の吸収・再利用の抑制が持続すると、鉄利用障害による、いわゆる慢性炎症に伴う貧血が発症し、生体にとって有益ではない。感染症、非感染性いずれの場合でも、原疾患の治癒による早期の炎症の鎮静化が基本であるが、今後この炎症に伴う貧血に対し、ヘプシジンを標的とした分子治療薬が開発されるものと考えられる。

文 献

- 1) Kelly DA, et al: Yersinia enterocolitis in iron overload. J Pediatr Gastroenterol Nutr 6: 643-645, 1987.
- 2) Schaible UE, et al: Correction of the iron overload defect in beta-2-microglobulin knockout mice by lactoferrin abolishes their increased susceptibility to tuberculosis. J Exp Med 196: 1507-1513, 2002.
- 3) Cellier MF, et al: Nramp phagocyte intracellular metal withdrawal defense. Microbes Infect 9: 1662-1670, 2007.
- 4) Flo TH, et al: Lipocalon-2 mediates an innate immune response to bacterial infection by sequestering iron. Nature 432: 917-921, 2004.
- 5) De Sousa M, et al: Iron overload in beta 2-microglobulin-deficient mice. Immunol Lett 39: 105-111, 1994.
- 6) Feder JN, et al: A novel class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. Nat Genet 13: 399-408, 1996.
- 7) Baker JF, Ghio J: Iron homeostasis in rheumatic disease. Rheumatology 48: 1339-1344, 2009.
- 8) Nicolas G, et al: Lack of hepcidin gene expression and severe iron overload in upstream stimulatory factor (USF2) knockout mice. Proc Natl Acad Sci U S A 98: 8780-8785, 2001.
- 9) Nemeth E, et al: Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. Science 306: 2090-2093, 2004.
- 10) Nemeth E, et al: IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. J Clin Invest 113: 1271-1276, 2004.

▷第42回東北支部総会 特別講演2◁

鉄代謝研究の進歩と鉄関連貧血

張 替 秀 郎

▷第42回東北支部総会 特別講演2◁

鉄代謝研究の進歩と鉄関連貧血

張 替 秀 郎*

Recent Progress in Iron Metabolism and Iron-related Anemia

Hideo HARIGAE*

Iron is an essential metal not only in oxygen delivery, but also in cell proliferation and drug metabolism, while it is a very toxic metal producing reactive oxygen species (ROS). In order to avoid the toxicity and shortage of iron, the level of iron is strictly regulated in the body and cells. The central player regulating the amount of iron in the body is hepcidin. Hepcidin inhibits the release of iron from enterocytes and macrophages by accelerating the degradation of ferroportin, which is an exporter of iron. The amount of cellular iron is regulated by the IRE (iron responsive element) and IRP (iron regulatory protein) system. IRP1 and 2, whose activities depend on the concentration of cellular iron, bind to IRE, and regulate the translation of iron-related genes, which have IRE in 5' or 3' UTR to balance iron uptake and utilization. Iron is utilized for the generation of heme and the iron-sulfur (Fe-S) cluster in mitochondria. Mutations of genes involved in heme biosynthesis, iron-sulfur (Fe-S) cluster biogenesis, or Fe-S cluster transport cause an accumulation of iron in mitochondria, leading to the onset of inherited sideroblastic anemia. The most common inherited sideroblastic anemia is X-linked sideroblastic anemia (XLSA) caused by mutations of the erythroid-specific δ aminolevulinic synthase gene (*ALAS2*), which is the first enzyme involved in heme biosynthesis in erythroid cells. However, there are still significant numbers of cases with genetically undefined, inherited sideroblastic anemia. Molecular analysis of these cases will contribute to the understanding of mitochondrial iron metabolism.

[Rinsho Byori 58 : 1211~1218, 2010]

Corresponding author: Hideo HARIGAE, Department of Hematology and Rheumatology, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai 980-8574, Japan. E-mail: harigae@med.tohoku.ac.jp

【Key Words】 anemia (貧血), red blood cell (赤血球), iron metabolism (鉄代謝), heme synthesis (ヘム合成), sideroblastic anemia (鉄芽球性貧血)

赤血球は含有する蛋白質の90%以上がヘモグロビンという酸素運搬にその機能を特化した細胞である。ヘモグロビンはヘムとグロビン蛋白質が4量体を形成した複合体であり、酸素分子はヘムの中心に配位された鉄に結合して運搬される。最近、鉄の生体内代謝機構が分子レベルで急速に解明されてきており、

鉄関連貧血の病態が明らかとなってきた。本稿では、これらの制御機構を中心に最近の知見を紹介し、鉄関連貧血について概説する。

*東北大学大学院医学系研究科血液・免疫病学分野(〒980-8574 仙台市青葉区星陵町1-1)

I. 生体内鉄代謝

鉄は、酸素運搬だけでなく細胞の分裂・増殖や呼吸などに必須の金属元素である。一方で、その反応性から極めて毒性の高い元素であるため、過剰にならないように吸収・代謝が厳密に制御されている¹⁾。体内の鉄の総量は3~4gであり、Fig. 1に示すように70%は赤血球に含まれるヘモグロビン鉄として利用されており、残りの30%がミオグロビン、呼吸酵素、代謝酵素の補欠分子としてのヘム鉄として利用されている他、網内系細胞に貯蔵されている。赤血球の寿命は120日であることから、毎日全体の1/120の赤血球、すなわち約25mlの赤血球が老化により処理されている。この処理された赤血球に含まれる25mgの鉄は新たな材料鉄として再利用される。食餌から吸収される外来性の鉄は一日1~2mgであるため、生体で利用される鉄は圧倒的に再利用鉄の方が多い。鉄利用をリサイクリングシステムに頼っているということは、鉄は容易に排出されないということの意味しており、輸血などで外部から強制的に鉄が入ると、生体は容易に鉄過剰状態になる。逆に、このシステムは体内の鉄のプールが減少した場合でも、簡単には鉄を外部から取り込むことができ

ないということの意味しており、したがって出血が少量でも持続すると、生体は容易に鉄欠乏状態となる。例えば、生理的な出血が毎月60mlある女性の場合、月30mg、一日当たり1mgの鉄が失われていることになり、この量は通常の一日常たりの吸収鉄量に匹敵する。そのため、単純に考えると、この年代の女性は男性の2倍の鉄の摂取が必要であることになる。食餌鉄は主として十二指腸から吸収されるが、鉄の吸収形態として、非ヘム鉄とヘム鉄の二種類があり、吸収効率はヘム鉄が10~20%、肉以外に含まれる非ヘム鉄が1~5%とヘム鉄の方が吸収がよい²⁾。吸収のメカニズムもヘム鉄と、非ヘム鉄とで異なっていることが、最近、明らかとなった。3価の非ヘム鉄は、腸管内腔側細胞膜に存在する duodenal cytochrome b(Dcytb)によって2価に還元され³⁾、2価の金属トランスポーターである divalent metal transporter 1(DMT1)によって腸上皮細胞内に取り込まれる⁴⁾。細胞内に取り込まれた鉄は血管内腔側細胞膜に存在する ferroportin によって血管腔側に放出される⁵⁾。一方ヘム鉄は腸管内腔側細胞膜に存在する heme carrier protein-1(HCP-1)によって細胞内に取り込まれ⁶⁾、heme oxygenase-1(HO-1)によって分解され、非ヘム鉄同様 ferroportin によって血管腔側に

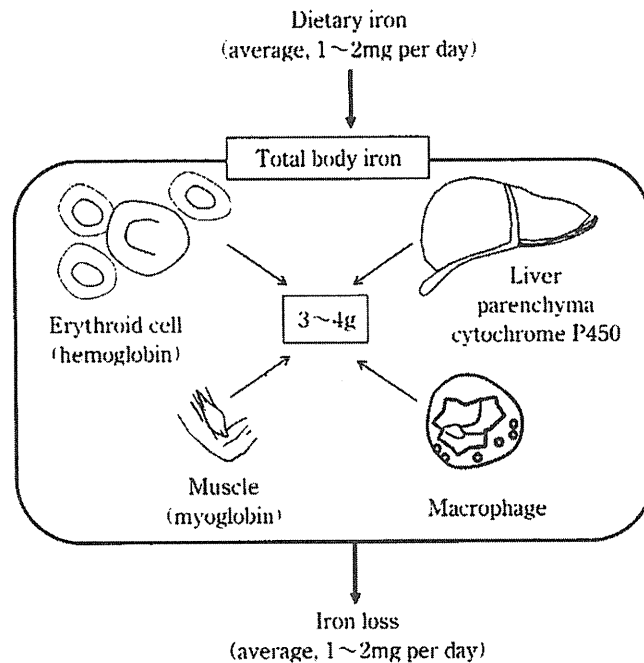


Figure 1 Distribution of iron in the body.

Seventy percent of the iron in the body is utilized in erythroid cells, while 10 to 15 percent is utilized in muscle and other tissues. Iron is stored in parenchymal cells of the liver and reticuloendothelial macrophages. The amount of iron in the body totals 3~4g, and 1 to 2mg of iron is absorbed and lost each day.

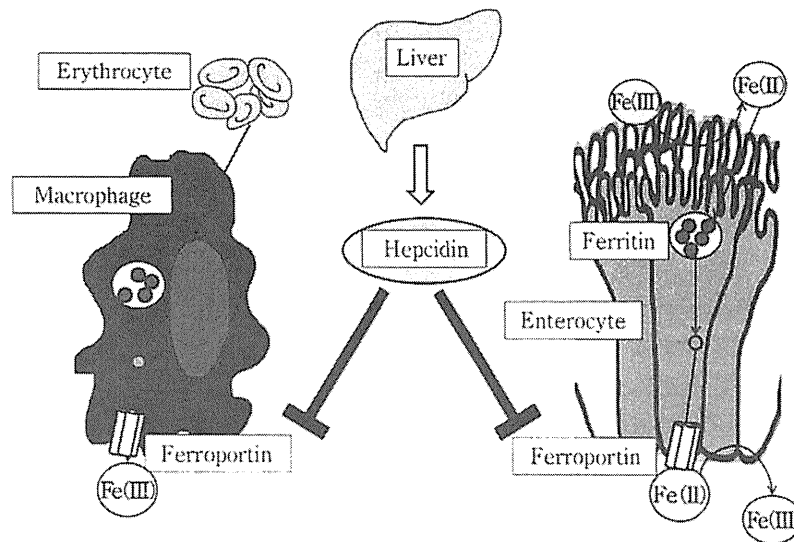


Figure 2 Transport system of iron in the body.

Ferrous iron is transferred to plasma by ferroportin, the basolateral transporter, oxidized by hephaestin, and then carried by transferrin. Ferroportin also transfers iron from reticulo-endothelial macrophages to the plasma. Hepcidin suppresses ferroportin by facilitating the degradation of ferroportin.

放出される。排出された鉄は担送蛋白質であるトランスフェリンに結合するために、セルロプラスミン類似蛋白質である hephaestin により 2 価鉄から 3 価鉄へと変換される⁷⁾。3 価鉄となりトランスフェリンと結合した鉄は骨髄に運搬され赤血球でのヘモグロビン合成に利用される。骨髄で産生された赤血球は、120 日間体内を循環した後、マクロファージに貪食され、細胞内で分解されたヘモグロビンから鉄が再利用される。この再利用鉄は十二指腸細胞と同じトランスポーターである ferroportin を通じてマクロファージから排出されるが、2 価鉄から 3 価鉄への変換はセルロプラスミンにより行われる。3 価鉄となった鉄はトランスフェリンに結合し再び骨髄へと運搬される。

さて、鉄を不足なく、また過剰にならないように、生体はどのようにこれらの鉄吸収・利用システムを調節しているのでしょうか？ この鉄吸収・利用システムを中心的に調節している分子がペプチドホルモンであるヘプシジンである。ヘプシジンは当初肝臓に発現する抗菌ペプチドとして同定されたが、その欠損により著明な鉄沈着を来すことから鉄代謝に関与している分子であると推測された⁸⁾。その鉄代謝の調節は、腸上皮細胞やマクロファージからの鉄排出に機能している ferroportin を介したメカニズムによりなされていることが、既に明らかとなっている。すなわち、ヘプシジンは ferroportin と結合し、

細胞内リソゾームへと誘導することにより、ferroportin を分解へと導く作用を有する⁹⁾。ヘプシジンの作用により ferroportin の発現が腸上皮細胞やマクロファージで低下すれば、血液中へ鉄の排出が抑制され、鉄が蓄積されることになり、鉄利用が抑えられる (Fig. 2)。したがって、ヘプシジンは生体における鉄利用の抑制因子であるといえる。ヘプシジンの発現は多層的に制御されており、鉄の飽和度が高くなれば、ヘプシジンの転写は亢進し、同様に炎症により IL-6 などの炎症性サイトカインの濃度が高くなると、その転写が亢進する¹⁰⁾。骨髄からの造血シグナルや、低酸素シグナルもヘプシジンの転写を変化させることが知られている。このように、生体はヘプシジンの発現を変化させることにより、需要状態に応じた鉄量の調節を行っているといえる。

II. 細胞内鉄代謝

過剰鉄は細胞にとって活性酸素種を産生する危険元素であるため、鉄の代謝は細胞レベルでも精密に制御されていることが明らかとなっている。具体的には、細胞は鉄の吸収・貯蔵・利用に関わる遺伝子の発現を鉄濃度によって協調的に調節し、生体同様過不足なく鉄量を調節するメカニズムを兼ね備えている。それが IRE (iron responsive element) を介した IRP (iron regulatory protein) による発現制御システムである¹¹⁾。IRE は mRNA の非翻訳領域に存在す

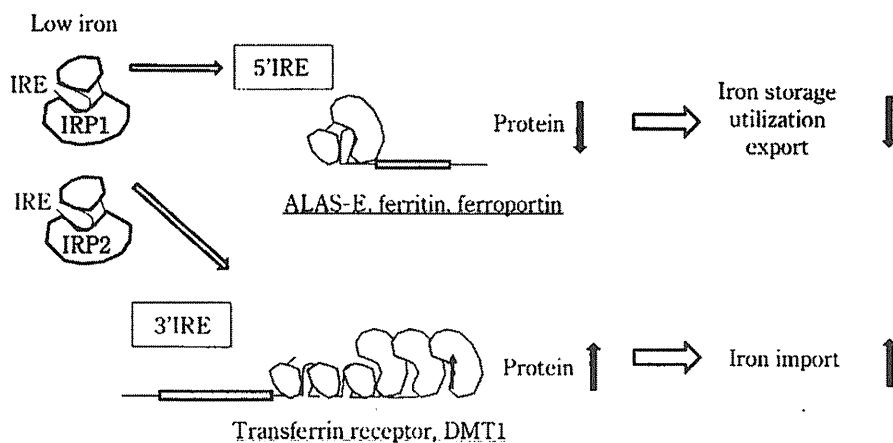


Figure 3 The expression of iron-related genes is regulated by the iron regulatory protein (IRP) and iron responsive element (IRE) systems.

In a low iron environment, IRP1 and 2 bind to the iron-responsive element (IRE). When bound to the 5'UTR IRE, they inhibit the translation of *ALAS2*, *ferritin*, and *ferroportin* genes. On the other hand, they increase the mRNA stability of the *Transferrin receptor*, the *DMT1* gene, when bound to the 3'UTR IRE.

る高次構造で，“CAGUGN(NはG以外の塩基)”の塩基配列がループ構造をとり、その両端の10~12塩基が相補となり2本鎖を形成する。このIREにIRPが結合し、制御対象となる鉄関連遺伝子の翻訳を調節している。重要な点は、IREが5'UTRに存在する場合と3'UTRに存在する場合でその作用が逆という点である(Fig. 3)。すなわち、IREが5'UTRに存在する場合は、IRPのIREへの結合により翻訳が抑制されるが、3'UTRにIREが存在する場合は、IRPの結合によりmRNAの安定性が増すため、翻訳が亢進する¹¹⁾。IRPにはIRP1とIRP2の2種類があり、IRP1は細胞内鉄濃度が高い場合はTCAサイクルのaconitaseとして機能しているが、鉄が低濃度になるとIRPとして機能する。一方、IRP2は、鉄が高濃度の場合はユビキチン化によりプロテオソームで分解されるが、低濃度では分解されずにIRPとして機能する¹²⁾。5'UTRにIREが存在する遺伝子は、赤血球におけるヘム合成系の初発酵素であるALAS2、フェリチン、ferroportin、3'UTRにIREが存在する遺伝子はDMT1、トランスフェリンレセプターなどである。細胞内鉄濃度が高い場合はIRPが機能しないため、ALAS2、フェリチン、ferroportinの発現が亢進する一方、DMT1、トランスフェリンレセプターの発現が低下する。すなわち、鉄の貯蔵、利用、排出が高まり、取り込みが低下することになる。逆に、細胞内鉄濃度が低い場合はIRPが機能するため、ALAS2、フェリチン、ferroportinの発現が低下する

一方、DMT1、トランスフェリンレセプターの発現が亢進する。すなわち、鉄の貯蔵、利用、排出が低下し、取り込みが高まることになる(Fig. 3)。

III. ミトコンドリア内鉄代謝

トランスフェリンに結合した鉄はトランスフェリンとともにトランスフェリンレセプターと結合し細胞内に取り込まれた後、pHの低いエンドソームで結合が解かれる¹³⁾。前述の腸上皮細胞のトランスポーターであるDMT1はエンドソームにおいても発現しており、鉄は同分子を介してエンドソーム外に排出される。排出後、ミトコンドリアまでの鉄の輸送経路に関しては未だ明らかではない。ミトコンドリアに到達した鉄は、ミトコンドリア内膜に存在するトランスフェリンを介してミトコンドリアに取り込まれる。ミトコンドリアに移行後、鉄はヘム合成、鉄-硫黄クラスター合成に利用される。ヘム合成を触媒する酵素は8種類からなり、最初の酵素と最後の3つの酵素はミトコンドリア内に存在し、中間の4つの酵素は細胞質に存在する¹⁴⁾。赤血球における最初のステップは赤血球型5-アミノレブリン酸合成酵素(ALAS E; ALAS-2)による5-アミノレブリン酸の合成である。その後、順次ポルフィリン環が合成され、最終的に出来上がったポルフィリン環にフェロケラターゼにより鉄が挿入され、ヘムが完成する(Fig. 4)。ヘムはミトコンドリアから排出され、グロビンと結合しヘモグロビンとなる

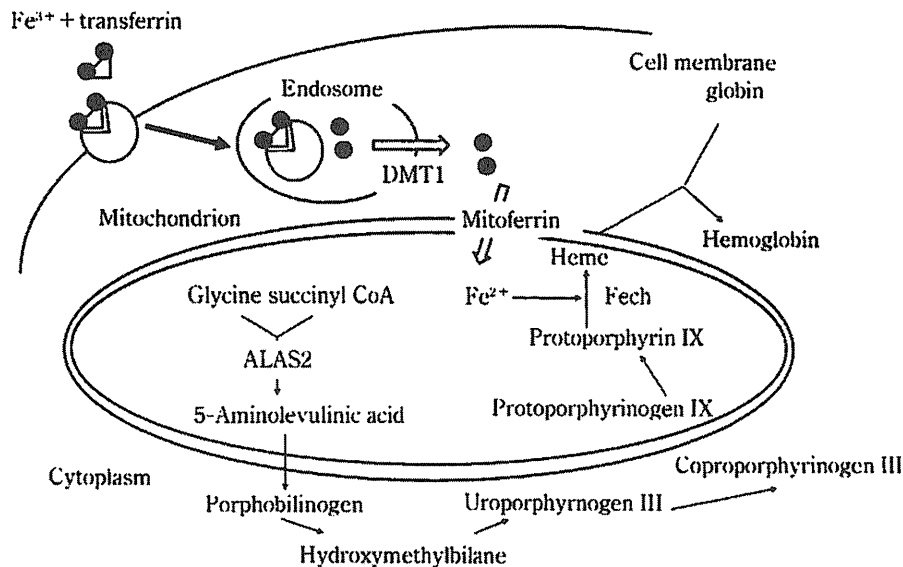


Figure 4 Heme biosynthesis in erythroid cells.

Iron-laden transferrin (Fe_2 -Tf) binds to transferrin receptors (TfR) and the complex is incorporated into endosomes. The iron transporter DMT1 transfers iron to the cytoplasm. The iron transport pathway from the cytoplasm to mitochondria has not been clarified. Eight enzymes are involved in heme synthesis, started by erythroid specific 5-aminolevulinic acid synthase (ALAS2) and completed by ferrochelatase (FeCH).

が、ミトコンドリアからのヘム排出経路は明らかになっていない。ミトコンドリアには細胞質内フェリチンとは別の遺伝子にコードされているミトコンドリアフェリチンと呼ばれるフェリチンが存在し、ミトコンドリア内の鉄の恒常性を維持していると考えられている¹⁵⁾。

IV. 鉄関連貧血

A. 鉄欠乏性貧血

鉄欠乏性貧血は貧血の中で最も頻度の高い貧血である。前述のように体内の鉄代謝は半閉鎖系であるため、利用される鉄の殆どは老化してマクロファージで処理された赤血球由来の再利用鉄であり、新たに吸収され利用される鉄は極めて微量である。したがって、少量であっても持続的な出血があると、容易に体内の鉄プールが減少し、鉄欠乏状態に陥ることになる。閉経前の成人女性は、月経により定期的に鉄を喪失することから、当然、高頻度で鉄欠乏状態にあることが予想され、月経のある日本の女性の半数近くが鉄欠乏状態にあるとの報告もある¹⁶⁾。生体内の鉄の貯蔵を最も鋭敏に反映する指標が血清フェリチン値である。血清フェリチン値は基本的に組織フェリチン値を反映しており、鉄欠乏状態では低値を示し、鉄過剰状態では高値を示す。鉄欠乏状態

が続くと、まず貯蔵鉄が減少し、次に血清鉄、最終的にヘモグロビン鉄が減少し貧血が明らかとなる。日本鉄バイオサイエンス学会は、鉄欠乏性貧血の診断基準として、ヘモグロビン 12g/dl 以下、総鉄結合能 360 μ g/dl 以上、血清フェリチン値 12ng/ml 以下をあげており¹⁷⁾、鉄欠乏性貧血の診断において、血清フェリチン値低下は主要な検査所見であるといえる。

B. 慢性炎症による貧血

慢性炎症の症例においては、鉄の利用障害により貧血を呈するが、その病態の中心となる分子がヘプシジンである。すなわち、炎症性サイトカインによりヘプシジンの分泌が亢進することにより十二指腸、マクロファージにおける ferroportin を介した鉄の吸収や放出が抑制されることが慢性炎症に伴う貧血の原因である。慢性炎症により長期にわたり鉄利用障害が継続すると、小球性貧血を呈するようになり、血清鉄も低値を呈することから、慢性炎症に伴う貧血は鉄欠乏性貧血と間違われやすいが、貯蔵鉄量を反映して鉄欠乏性貧血ではフェリチン値が低値であるのに対し、慢性炎症に伴う貧血ではフェリチン値が高値となる。治療についても、慢性炎症に伴う貧血は鉄剤が有効ではなく、原疾患のコントロールによる炎症の鎮静化が基本となる。

Table 1 Inherited sideroblastic anemia

	Inheritance	Chromosome	Gene	Treatment
XLSA*	X-linked	Xp11.21	ALAS2	Vit B6
XLSA/A**	X-linked	Xq13.1	ABC7	—
SA/GLRX5	Autosomal recessive ?	14q32.13	GLRX5	?
SA/SCL25A38	Autosomal recessive ?	3p22.1	SCL25A38	?
PMPS***	Maternal	Mitochondria	Mitochondria	—
TRMA****	Autosomal recessive ?	1q23.3	SCL19A2	Thiamine
MLASA*****	Autosomal recessive ?	12q24.33	PUS1	—

*X-linked sideroblastic anemia, **X-linked sideroblastic anemia with ataxia, ***Pearson Marrow-pancreas syndrome, ****Thiamine-responsive megaloblastic anemia, *****Mitochondrial myopathy and sideroblastic anemia

C. 鉄芽球性貧血

鉄芽球性貧血は、骨髄における環状鉄芽球の出現を特徴とする貧血であり、その実態は、鉄の利用障害を原因とするミトコンドリアへの鉄の異常蓄積である。骨髄異形成症候群の一型である後天性鉄芽球性貧血については、遺伝学的発症機序が明らかになっていないが、遺伝性鉄芽球性貧血は、単一の遺伝子変異により発症するため、その機能を解析することにより鉄芽球の形成メカニズムが理解できる。83例の遺伝性鉄芽球性貧血症例を解析した米国の報告では、ALAS2, SLC25A38, mitochondria DNA, PUS1 に変異を認めた頻度はそれぞれ 37%, 15%, 2.5%, 2.5%であった¹⁸⁾。43%においては既報の遺伝子変異が認められず、これ以外の未知の遺伝子変異により発症する遺伝性鉄芽球性貧血が多く存在するものと推測される。以下、主な遺伝性鉄芽球性貧血とその原因遺伝子について紹介する (Table 1)。

1. 赤血球型 5-アミノレブリン酸合成酵素

(ALAS2)の変異による X 連鎖性鉄芽球性貧血 (X-linked sideroblastic anemia: XLSA)

赤血球型 5-アミノレブリン酸合成酵素 (ALAS2) はグリシンとスクシニル CoA を重合しアミノレブリン酸を合成する赤血球におけるヘム合成の初発酵素である。この ALAS2 の変異によって発症する鉄芽球性貧血が X 連鎖性鉄芽球性貧血 (XLSA) である。XLSA は遺伝性鉄芽球性貧血の中で最も頻度が高い。赤血球型アイソザイムである ALAS2 の遺伝子座が X 染色体 (Xp11.21) であることが 1992 年に明らかと

なり¹⁹⁾、さらに XLSA で ALAS2 変異が報告されたことで²⁰⁾、ALAS2 が XLSA の原因遺伝子であることが確認された。本遺伝子の変異によりヘム合成が不全となり、ミトコンドリアでの鉄利用障害が起こり、結果として鉄芽球が形成されるものと考えられている。我々は ALAS2 変異と鉄芽球性発症をより明確に関連づけるために ALAS2 欠損マウスを作製した。このマウスは貧血のため、胎生 11.5 日までに死亡し、その赤芽球には鉄の沈着が認められ、ALAS2 の変異が赤芽球における鉄代謝異常を惹き起こすことが明らかとなった²¹⁾。これまでに 40 家系以上の XLSA が報告されているが²²⁾、XLSA の臨床的特徴は、小球性貧血、鉄過剰状態、男児発症であることと、半数以上の症例がビタミン B6 の投与に反応することである。ALAS2 は補酵素としてビタミン B6 を必要とするが、アミノ酸変異があると ALAS2 の構造変化が起こり、ビタミン B6 との結合性が低下することが予想される。このような変異を有する症例においてはビタミン B6 の大量投与にて結合性の低下を補うことが可能と考えられ、実際に *in vitro* の活性解析結果と、臨床的有効性には相関が認められている。

2. SLC25A38 変異による運動失調を伴う X 連鎖性鉄芽球性貧血

SLC25A38 はミトコンドリア内膜に存在するトランスポーターであり、赤芽球に強く発現している。ゼブラフィッシュを用いた解析では、SLC25A38 の欠損で認められる形質は ALAS2 欠損と類似していた。また、yeast を用いた解析では、SLC25A38 の欠

損はヘム合成障害をもたらす、この合成障害はグリシン、アミノレブリン酸の補充によりレスキューされること、スクシニル CoA のミトコンドリア内濃度は低下していないことから、*SLC25A38* はグリシンの輸送に関与していると考えられている²³⁾。したがって、鉄芽球性貧血の発症機序は *ALAS2* 変異と同様であることが予想される。前述のように本遺伝子の変異は *ALAS2* に次いで頻度が高く、日本人においてもその解析が必要と思われる。

3. *Glutaredoxin 5 (GLRX5)* 変異による鉄芽球性貧血

鉄-硫黄クラスターは電子伝達系、TCA サイクル、DNA 修復など生体維持に関わる様々な酵素の活性中心であるが、*GLRX5* は、ミトコンドリアにおける鉄-硫黄クラスターの生合成に関わる遺伝子である。最近、*GLRX5* 遺伝子の変異が、遺伝性鉄芽球性貧血において同定された²⁴⁾。*GLRX5* 遺伝子の変異による鉄芽球形成のメカニズムについては以下のように考えられている。細胞内鉄濃度が高い場合は、十分量の鉄-硫黄クラスターが形成されることから、IRP1 は鉄-硫黄クラスターを有する aconitase として機能しているが、鉄が低濃度になると鉄-硫黄クラスターが形成されなくなるため、aconitase としての機能を失い、IRP として機能する。*GLRX5* の変異により鉄-硫黄クラスター合成が低下すると、IRP1 は aconitase ではなく IRP としての機能を発揮することになり、鉄が存在するにも拘らず、細胞内の鉄制御は鉄利用・排出ではなく、取り込み促進へ傾く。特に、ヘム合成系の *ALAS2* の発現抑制により、ミトコンドリアでのヘム合成が低下し、XLSA 同様のメカニズムにより、ミトコンドリアでの鉄の沈着が誘導される。このヘム合成の低下により、もう一つの IRP である IRP2 の分解が抑制される結果、鉄利用から取り込みへのシフトがさらに促進されると考えられている。

4. *ABC/B7* 変異による運動失調を伴う X 連鎖性鉄芽球性貧血 (X-linked sideroblastic anemia with ataxia: XLSA/A)

XLSA/A は前述の XLSA と同様に X 染色体に連鎖した遺伝形式をとるが、XLSA と異なり乳幼児期から非進行性の脊髄・小脳の機能異常を呈することが特徴である。これまでに 4 家系の XLSA/A の報告がある²⁵⁾。XLSA/A の貧血は軽度であり骨髄で環状鉄芽球が認められるものの、XLSA と異なり組織の貯

蔵鉄の増加はなく、赤血球中のポルフィリンレベルもむしろ増加している。遺伝学的解析から XLSA/A における責任遺伝子は X13q に位置する *ABCB7* であることが明らかとなった²⁶⁾。*ABCB7* はミトコンドリアに存在するトランスポーターであり、yeast のミトコンドリアトランスポーターの ATM1 のヒトホモログである。ATM1 は鉄-硫黄クラスターのミトコンドリアから細胞質への輸送に機能していると考えられており、その欠損は細胞質での鉄-硫黄クラスターの欠乏を来す。鉄-硫黄クラスター合成に関わる *GLRX5* 変異による鉄芽球性貧血と異なり XLSA/A ではプロトポルフィリンの増加が見られることから、*ABCB7* の変異による鉄の沈着は、*ALAS2* の発現低下を介したヘム合成不全ではなく、排出不全を基礎とした別の機序による可能性が高い。

V. ま と め

最近の分子生物学的解析により、鉄の代謝に関わる分子メカニズムが急速に解明されてきた。遺伝性鉄芽球性貧血は稀な疾患であるが、その原因遺伝子の同定によりミトコンドリアへの鉄沈着メカニズムが明らかになってきた。今後、新たな原因遺伝子の同定により未だ解明されていないミトコンドリアにおける鉄代謝機構が明らかになっていくことが期待される。

文 献

- 1) Taketani S. Acquisition, mobilization and utilization of cellular iron and heme: endless findings and growing evidence of tight regulation. *Tohoku J Exp Med* 2005; 205: 297-318.
- 2) Hallberg L. Bioavailability of dietary iron in man. *Ann Rev Nutr* 1981; 1: 123-47.
- 3) McKie AT, Barrow D, Latunde-Dada GO, et al. An iron-regulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron. *Science* 2001; 291: 1755-9.
- 4) Gunshin H, Mackenzie B, Berger UV, et al. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal ion transporter. *Nature* 1997; 388: 482-8.
- 5) Donovan A, Brownlie A, Zhou Y, et al. Positional cloning of zebrafish ferroportin1 identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature* 2000; 403: 776-81.
- 6) Shayeghi M, Latunde-Dada GO, Oakhill JS, et al. Identification of an intestinal heme transporter. *Cell* 2005;