



铁代谢调节分子 Erythroferrone 研究进展*

关 鹏** 万双双** 郭玥彤 杨文静 郭佳帅 高国粉 常彦忠*** 于 鹏***

(河北师范大学生命科学院, 石家庄 050024)

摘要 红细胞来源的 erythroferrone (ERFE) 是最近发现的一种重要的铁代谢调节蛋白。在应激红细胞生成过程中, 促红细胞生成素 (EPO) 能够促使骨髓有核红细胞分泌 ERFE, 从而抑制肝脏铁调素合成, 进而稳定铁释放蛋白 (FPN1) 的水平, 最终增加铁的吸收和动员。铁是红细胞生成不可缺少的重要原料之一, 当红细胞生成增加时, 需要充足的铁来合成血红素和血红蛋白。血液中的 ERFE 在红细胞生成时为保障稳定的铁供应发挥着重要作用。本文就 ERFE 的发现、基因结构和蛋白质结构、分布, ERFE 在糖脂代谢、红细胞生成和铁代谢中的作用, 以及 ERFE 功能异常与 β -地中海贫血和慢性肾脏疾病等疾病的联系, ERFE 在基础研究与临床检测中的应用, 尤其是 EPO/ERFE/hepcidin-FPN1 在铁代谢调控中的作用机制展开论述, 以期为靶向治疗铁代谢失衡疾病提供参考。

关键词 红细胞生成, erythroferrone, 铁调素, 骨髓, 铁代谢
中图分类号 Q493

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0039

铁是人体必需的微量元素, 在众多生理生化过程中发挥着重要的生物学功能。铁在 DNA 的合成与修复、蛋白质的合成与折叠、电子传递、能量代谢、细胞增殖与分化等细胞代谢过程中发挥着至关重要的作用。铁缺乏可以引起缺铁性贫血和儿童神经系统疾病, 而当机体内的铁超过了正常的铁存储机制负荷时, 过多的铁可以催化自由基产生并对细胞产生氧化应激损伤, 从而引起血色素沉着症、神经退行性疾病及衰老相关的疾病^[1]。因此, 机体存在着严格的铁代谢调节机制, 以确保体内铁含量始终处于正常生理水平。铁调素 (hepcidin) 是调控机体铁代谢的关键分子, 主要促进目前唯一已知的铁排出蛋白——膜铁转运蛋白 (ferroportin1, FPN1) 的内化降解, 从而减少肠道的铁吸收和巨噬细胞储存铁的释放进入血液循环^[2]。由此可见, hepcidin 表达调控是治疗铁代谢紊乱疾病的潜在靶点。

铁是红细胞成熟过程中合成血红蛋白必不可少的原料, 红细胞生成的速度是决定铁吸收量的重要因素。早在 1994 年, Finch^[3] 就提出可能存在响应红细胞生成需求而调控铁的激素。到 2014 年, Kautz 等^[4] 首次确认 erythroferrone (ERFE) 可以

调控 hepcidin 的表达, 是连接红细胞生成和铁代谢调控的重要分子。本文对 ERFE 的发现、分子结构、功能, 以及分子靶向治疗等方面的研究进展综述如下。

1 ERFE 的发现

失血和低氧均能刺激肾上腺髓质合成与分泌促红细胞生成素 (EPO), 使骨髓生成红细胞的数量增加。红细胞的大量生成导致对铁的需求增多, 机体通过抑制肝脏合成与分泌 hepcidin, 动员循环铁用于骨髓中红细胞发育所用。虽然 EPO 抑制 hepcidin 的作用已经明确, 但是体外研究显示, EPO 并不直接抑制肝细胞中 hepcidin 的表达^[5], 表明 EPO 在调控 hepcidin 时可能还有一个分子桥接。2014 年, Kautz 等^[4] 发现机体失血引起 *Fam132b*

* 国家自然科学基金 (31970905) 和河北师范大学研究生创新基金 (CXZZSS2017061) 资助项目。

** 并列第一作者。

*** 通讯联系人。

常彦忠 Tel: 0311-80787539, E-mail: chang7676@163.com

于 鹏 Tel: 0311-80787587, E-mail: yupeng0311@163.com

收稿日期: 2021-04-16, 接受日期: 2021-07-26

mRNA增多,这一变化与血清中EPO的含量变化相一致;直接给予EPO可以引起*Fam132b* mRNA更加快速地增多,表明*Fam132b*可能受EPO的直接调控,后来将*Fam132b*命名为ERFE (erythroferrone)。近年来对ERFE作用的机制研究发现,ERFE主要通过肝脏骨形态形成蛋白 (bone morphogenetic protein, BMP) I型受体结合,阻断BMP/SMAD信号通路从而抑制hepcidin转录^[6]。

2 ERFE的结构特征

ERFE是由*Fam132b*基因编码的糖蛋白,由于其C端含有球状的C1q结构域,故属于C1q/TNF相关蛋白 (C1q/TNF-related protein, CTRPs) 家族,与早前报道的CTRP15和肌联素 (myonectin) 蛋白是同一个分子^[7-8],肌联素最初是在骨骼肌细胞中发现的与脂代谢相关的调控因子。小鼠和人类ERFE基因同源性很高,其编码区序列全长均为10 kb左右,包含8个外显子,分别位于小鼠1号染色体和人类2号染色体上^[9]。

人ERFE蛋白含354个氨基酸,小鼠ERFE蛋白含340个氨基酸,两者相似度达到71%。ERFE蛋白有5个结构域^[10],有4个Cys残基和4个潜在N-连接的糖基化位点:从N端开始1~24氨基酸是信号肽;第25~96位氨基酸是N端结构域1;第97~114位氨基酸为含有6个甘氨酸-X-Y (X、Y代表任意一种氨基酸) 重复序列的胶原结构域;第115~190位氨基酸为N端结构域2;第191~340位氨基酸构成一个与C1q/TNF同源的C端球形结构域 (图1)。C端的TNF区域在不同物种间高度保守,是调节hepcidin的一个重要区域。ERFE蛋白常以三聚体、六聚体或高分子量低聚物的形式分泌,分泌过程与蛋白质N端的糖基化修饰有关。4个保守的半胱氨酸与ERFE的多聚化相关,Cys273和Cys278对于ERFE蛋白的正确折叠很重要,任一位置被丙氨酸取代均可抑制蛋白质分泌;而Cys142



Fig. 1 Schematic representation of the ERFE protein domain structure (modified from reference [7-8])

图1 ERFE的蛋白质结构预测图 (修改自文献 [7-8])

SP: 信号肽; NTD1: N末端区域1; NTD2: N末端区域2; C1q/TNF: 脂肪因子补体/肿瘤坏死因子。

或Cys194被丙氨酸取代可增强蛋白质分泌,表明在内质网的滞留促进了ERFE寡聚物的组装^[11]。ERFE还含有2个PCSK3/furin识别位点^[8],所以ERFE蛋白加工后可能以多种剪接异构体形式存在,但是关于不同剪接形式的ERFE蛋白的多聚化调控及其功能目前还不清楚。

3 ERFE的分布和功能

机体在受EPO刺激时,ERFE是由网织红细胞分泌并表达的。给予小鼠外源性的EPO,或放血引起内源性的EPO增加均可以促进ERFE表达。Kautz等^[4]发现,EPO以JAK2/STAT5依赖的方式促进ERFE蛋白的表达增加。此外,骨骼肌、平滑肌、心脏、脑、肠等组织器官也可产生ERFE。ERFE在机体中发挥着重要的作用。一方面,ERFE可以调节糖代谢和脂代谢,是机体感知营养状态的一种感应因子;另一方面,ERFE可以抑制hepcidin的分泌,通过增加铁摄取和动员储存铁进入血液从而满足红细胞生成中铁的需求。研究发现,ERFE在地中海贫血小鼠体内显著增加,并表现出EPO水平升高,肝脏hepcidin表达下降,网织红细胞数量增加等特征^[12],推测EPO刺激了网织红细胞分泌ERFE,进而抑制肝脏hepcidin的分泌,从而增加铁的供应。

3.1 ERFE对糖脂代谢的调节

Li等^[13]研究发现,2型糖尿病患者和糖耐量异常患者ERFE水平显著升高,并且ERFE水平与体脂含量、甘油三酯、空腹血糖、糖负荷后2 h血糖、空腹胰岛素、糖化血红蛋白等指标呈正相关,表明ERFE参与糖脂代谢。葡萄糖或游离脂肪酸均能够促进体外培养的肌细胞分泌ERFE,灌胃葡萄糖和脂质能够增加小鼠血清中ERFE的水平,提示ERFE是机体感知糖脂状态的一种感应因子^[7]。同时,ERFE也和胰岛素敏感性相关,Yang等^[14]认为,高脂或高糖引起的胰岛素抵抗可能通过PI3K/p38-MAPK信号通路在转录水平抑制ERFE;而Lim等^[15]推测,ERFE可能通过影响线粒体DNA参与胰岛素抵抗的调节。除了参与糖代谢,ERFE还可以通过抑制脂肪分解或促进游离脂肪酸的吸收来降低循环系统内游离脂肪酸水平。并且,高脂饮食上调ERFE蛋白的表达仅与高脂食物本身有关,而与小鼠的肥胖状态无关。Gamas等^[16]发现,ERFE可以在体外培养的脂肪细胞和肝细胞中通过上调与游离脂肪酸吸收相关的蛋白CD36、脂肪酸

转移蛋白 (FATP1)、Cav1 和脂肪酸结合蛋白 (FABP) 的表达来促进游离脂肪酸的吸收。综合来看, ERFE 将骨骼肌与肝脏和脂肪组织中的体内脂稳态联系起来, 揭示了能量平衡的改变可能与 ERFE 介导的糖脂代谢紊乱有关。

3.2 ERFE在EPO调控hepcidin通路中的作用

ERFE 作为应激激素, 在急性红细胞生成刺激下迅速降低肝脏 hepcidin 的表达。当然, 也有观点认为长期的 EPO 刺激才是肝脏 hepcidin 表达下降的原因。比如, 在急性大出血或者溶血性疾病中, EPO 可以刺激网织红细胞分泌 ERFE 进入血液, 并通过抑制肝脏 hepcidin 的分泌, 从而增加铁摄入, 供应血红蛋白生成中铁的需求, 使得红细胞的水平恢复正常。Subramaniam 等^[17]发现, EPO 与受体的结合可以降低 C/EBP α 与 *Hamp* 的启动子结合进而降低 hepcidin 的表达。有研究指出, ERFE 可以捕获 BMP, 通过阻挡 BMP 配体与其相关受体的结合减弱 hepcidin 的表达^[6]。表面等离子体共振研究证实了 ERFE 能与 BMPs 蛋白家族成员结合, 发现 ERFE 与 BMP2、BMP6 及 BMP2/6 异二聚体的结合力最强^[6, 18]。此外, EPO 也可以通过降低 SMAD1/5/8 的磷酸化水平来下调 hepcidin 的表达^[19]。BMP/SMAD 信号途径位于调控 hepcidin 表达的上游, 是铁代谢调节的关键通路。作为转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β) 家族成员, BMPs 参与了细胞增殖、分化和凋亡等生命活动^[20]。BMP 与受体结合后激活 SMAD1/5/8 并使它们磷酸化, 而后与 SMAD4 形成复合物进入细胞核内, 激活 hepcidin 的转录和表达^[20]。当 BMP/SMAD 途径异常激活时, EPO 不再促进 ERFE 的产生, 但是由于 BMP/SMAD 途径对 hepcidin 的激活作用大于 ERFE 对 hepcidin 的抑制作用, 所以总体上 hepcidin 仍然表达升高。只有抑制 BMP/SMAD 信号途径时, ERFE 对 hepcidin 的抑制作用才得以显现^[21]。当完全阻断 BMP/SMAD 信号通路时, ERFE 对 hepcidin 的抑制作用也会消失^[22]。Wang 等^[19]培育了肝脏特异性敲除 SMAD1/5 的小鼠模型, 发现 ERFE 对该小鼠肝脏 hepcidin 的表达没有抑制作用。这些结果表明, ERFE 对 hepcidin 的抑制作用至少在一定程度上依赖于 BMP/SMAD 信号通路。Arezes 等^[22-23]进一步证实, ERFE 与 BMP6 结合并抑制 BMP/SMAD 信号通路引起的 hepcidin 表达。综合以上观点, EPO、ERFE 和 hepcidin 三者的关系可以看成, ERFE 作为 EPO 的应答蛋白会

参与 EPO 对 hepcidin 的调控。

3.3 ERFE在转铁蛋白受体 (transferrin receptor, TfR) 调控 hepcidin 通路中的作用

ERFE 是一种 EPO 应答蛋白, 而 EPO 的变化受到 TfR2 的影响。细胞铁摄取蛋白 TfR2 与 TfR1 有很高的相似度, 均可以与携带铁的转铁蛋白 (holo-transferrin, holo-Tf) 结合^[24]。但是, 含铁 Tf 与 TfR1 的结合力远高于与 TfR2 的结合力, 而含铁 Tf 与 TfR2 的结合在低铁水平时也能达到饱和, 而结合了 TfR2 的 Tf 就会通过 ERK 通路稳定 hepcidin 的转录, 从而上调 hepcidin 的表达。因此, TfR2 可以监控机体铁的含量^[25]。除此以外, TfR2 与 EPO 受体形成复合物参与调节红细胞的生成, 是红细胞与铁代谢关联的关键位点之一。正常的情况下, 当铁充足时, 携带了铁的 Tf 与 TfR2 的结合会使网织红细胞中的 EPO 受体稳定表达^[26], 促使红细胞大量的生成。同时, 肝细胞中的 TfR2 又促进 hepcidin 大量的生成, 减少铁的摄入。而当铁缺乏时, Tf 不足以与 TfR2 结合, 使得 EPO 作用于幼红细胞时不能促进红细胞的大量生成; 为了达到正常供氧量, 机体产生了红细胞生成的欲望, 使得幼红细胞生成的 ERFE 作用于肝细胞来抑制 hepcidin 的生成^[24]。

由于 TfR2 可以稳定成红细胞表面的 EPO 受体从而促进红细胞生成^[27], 所以 TfR2 对于 ERFE 有间接性的调节作用。那么与之相似的 TfR1 又会有什么作用呢? Tf 是铁代谢中运输铁的主要转运分子, 在生理状态下, 机体循环中铁会结合 30% 的 Tf 来发挥作用^[28]。在病理状态下, 如地中海贫血等, 机体会产生大量的铁, 而过多的铁超出了 Tf 的运转能力导致血浆内不稳定的铁 (labile plasma iron, LPI) 大量增多, 从而导致机体出现一系列的病理现象^[29-30]。那么, 如果增加机体中 Tf 的含量是否就可以解决这一问题呢? 人为地增加空载的 Tf 可以减少 TfR1 的表达从而促进红细胞的成熟。有文献报道, 增加 Tf 的量使得机体中的 LPI 减少, 可以改变病理情况中机体在产生大量红细胞时铁供应不足的现状, 减少体内 LPI 所引起的毒性, 进而改善铁引起的氧化应激损伤^[30]。同样, 如果减少机体中与含铁 Tf 相结合的 TfR1 量, 可以引起 hepcidin 升高, 病理现象也会得到改善。

4 ERFE与临床疾病

由于 ERFE 对于 hepcidin 有抑制作用, 所以

ERFE可能作为治疗缺铁性疾病的潜在靶点。

4.1 ERFE与地中海贫血

在 β -地中海贫血的患者中, ERFE含量的升高可能是导致机体hepcidin降低的主要原因。地中海贫血是由于 β -珠蛋白的突变而引起的有效红细胞生产过程受阻所致^[31]。该病患者体内铁超负荷, 因铁累积在多个组织中造成细胞毒性而引发组织损伤^[32]。患者的主要症状是红细胞前体呈凋亡状态, 体内生命周期短的无效红细胞大量生成^[33], 因而造成血液携带氧气的能力下降。为了保证正常的供氧量, 机体EPO含量升高, 促进红细胞生成, 进而维持红细胞携带和运输氧气的作用, 使机体供氧充足。红细胞生成中需要大量的血红素, 因而机体需要更多的铁来参与血红素的合成; 此时, 巨噬细胞可以吞噬生存周期短的红细胞将其中的铁再次排出进入血液循环^[34]; 与此同时, 机体生成红细胞过程中, 有核幼红细胞ERFE分泌增多, 抑制hepcidin表达从而导致FPN1表达量升高, 肠道上皮细胞铁摄取和吸收逐渐增加, 造成铁在组织内的聚集。ERFE可以抑制hepcidin的分泌, 然而在地中海贫血小鼠敲除*Fam132b*基因后的研究发现, 与单纯地中海贫血小鼠相比, 此双敲除小鼠hepcidin受抑制的情况得到改善, 恢复到了正常水平, 肝脏铁水平下降, 但是贫血症状并未改善, 血清铁水平更加下降, 红细胞体积更小, 呈更严重铁限制性红细胞生成的特征^[4, 35]。但也有研究从ERFE抗体着手, 发现靶向N端结构域的抗ERFE抗体可以阻断ERFE与BMP6的结合, 从而阻止EPO诱导的hepcidin抑制作用, 并改善 β -地中海贫血模型小鼠的铁积聚和贫血^[18, 36]。在减少铁的同时, 抗体治疗还使红细胞、血红蛋白和血细胞比容增加, 网织红细胞数量、平均红细胞体积和细胞分布宽度减少, 从而改善无效的红细胞生成。但ERFE抗体处理的 β -地中海贫血模型小鼠的肝脏铁未降低至野生型小鼠的水平, 这可能是由于在给予ERFE抗体之前肝脏的铁积累和/或由于增加的hepcidin不足以完全抑制饮食铁的吸收。有趣的是, 尽管新生小鼠已经存在完整的EPO/ERFE/hepcidin调控轴^[37], 但是成年大鼠较幼年地中海贫血大鼠的脾脏ERFE水平更高, 对肝脏hepcidin的抑制也更有效, 表明EPO/ERFE/hepcidin调控轴的作用具有年龄差异^[38]。

4.2 ERFE与慢性肾脏疾病 (CKD)

野生型小鼠注射热灭活的布鲁氏杆菌会产生炎

性贫血, 血红蛋白降低, 肝脏和骨髓中ERFE表达显著增加; 而*Fam132b*基因敲除会加剧小鼠炎症、hepcidin水平升高和更严重的贫血, 这表明ERFE可能会通过抑制hepcidin和增加铁の利用, 有助于小鼠从炎症性贫血中恢复^[18, 39]。贫血是慢性肾脏疾病患者重要的并发症之一, 在血液透析患者中更为常见^[40]。慢性肾脏疾病的进展过程中, 细胞因子及炎症介质增多、EPO产生减少、骨髓对EPO反应减弱、血液丢失过多、红细胞寿命缩短等因素均会加重肾性贫血的进展^[41]。慢性肾脏疾病患者的铁摄入不足和低水平的EPO是贫血发生、发展的主要原因。由于血液中的hepcidin水平受肾脏功能、铁状态和炎症的影响, 因此慢性肾脏疾病患者铁代谢的调节非常复杂^[42]。Spoto等^[43]在一项针对1 123名血液透析患者和745名慢性肾脏疾病的研究中, 对血清ERFE的水平和死亡率以及非致死性心血管疾病的关系进行了分析。研究发现, 血液透析患者的血液ERFE水平与血清铁和铁蛋白呈负相关。在745名慢性肾脏疾病患者中有126名死亡或经历了非致命性心血管事件; 在单变量Cox回归分析中, 血清ERFE升高2 $\mu\text{g/L}$ 意味着死亡和非致死性心血管事件的风险增加3%; 在多因素Cox回归分析中校正了年龄、烟尘、白蛋白、磷酸盐、血红蛋白和本身的心血管疾病, 证实血清ERFE与死亡率和非致死性心血管事件的关联仍然显著相关; 在59名血液透析患者中确实观察到ERFE和hepcidin水平之间呈负相关^[44]。另有研究发现, 慢性肾脏疾病透析患者的血清ERFE水平高于非透析慢性肾脏疾病患者和健康人^[42]。当给予慢性肾脏疾病透析患者外源性的EPO治疗后, 患者产生的ERFE增多。因此, ERFE可能在抑制慢性肾脏疾病患者的hepcidin异常增加方面具有重要作用。

4.3 ERFE是一种心脏保护激素

在命名ERFE之前, myonectin在心脏功能中的研究就已经有报道^[8]。myonectin基因敲除和超表达小鼠进行心肌缺血-再灌注损伤研究发现^[45], myonectin敲除小鼠心肌细胞凋亡更严重, 而myonectin超表达小鼠心脏损伤减弱, 表明myonectin在心肌细胞在缺血-再灌注损伤中具有保护作用。Myonectin基因敲除小鼠心肌缺血-再灌注损伤后, 促炎基因表达水平和心肌梗死面积的大小均显著增加。小鼠骨骼肌内myonectin基因超表达会通过减少心肌细胞凋亡而降低心肌缺血-再灌注损伤, 但是心肌保护的机制还并不十分清楚。尽管

BMP 信号通路对 ERFE 抑制 hepcidin 非常重要, 但是 BMP 与 myonectin 的相关性还不是十分清楚, myonectin 的作用机制研究也很缓慢。

4.4 ERFE检测在基础研究和临床检测中的应用

4.4.1 竞技性运动中ERFE可作为生物标志物

在国际和国内竞技性体育运动中, 为了维护比赛的公正性、保护运动员的身心健康, 检测参赛人员是否使用过兴奋剂以求提高运动成绩一直以来是各级体育组织的关注焦点。历史上, 促蛋白合成代谢类固醇常用于提高成绩, 但是其代谢物易于在尿液中检测到。而红细胞输血尤其是比赛前输入运动员自己的血液, 及注射促红细胞生成试剂 (比如 EPO) 等^[8] 改变的是血液学指标比如红细胞比例、血红蛋白浓度等的变化, 这加大了检测的难度。曾经有研究建议检测血液内铁水平、铁蛋白和 hepcidin 水平的变化, 尤其是 hepcidin 的表达变化早于血液学指标的变化, 受血浆铁水平的负调控和受炎症的正调控, 可以作为一个很有用的生物标志物^[46]。但是, hepcidin 的表达受到多种不同的信号转导通路调控。自 ERFE 发现以来, 由于具有和 hepcidin 一样的检测灵敏度, 而且 EPO 刺激下 ERFE 变化早于 hepcidin 并位于其表达调控的上游, 因此 ERFE 可能被视为一个新的可用于检测血液兴奋剂的生物标志物^[8]。

4.4.2 人血液中ERFE的免疫检测

2017年, 兔单克隆抗体的三明治型免疫印迹检测了临床上人血清中的 ERFE^[47], 来自健康成年人志愿者血液样本、EPO 处理后的老年贫血病人、 β -地中海贫血病人 (输血或不输血)、健康成年人放血后的样本, 血清 hepcidin 水平下降。利用免疫印迹方法检测 ERFE 水平, 结果发现, 未输血及输血前的 β -地中海贫血病人 ERFE 水平增加, 输血后的 ERFE 水平下降, 进一步证实了 ERFE 与血清 hepcidin 水平间的负相关性。利用单克隆抗体检测人 ERFE 的免疫检测试剂盒可在 Intrinsic LifeSciences 公司购买。

4.4.3 小鼠ERFE免疫检测

美国 Silarus Therapeutics 公司开发了用小鼠单克隆抗体检测鼠类 EREF 的酶联免疫检测试剂, Ganz 教授实验室^[8] 改良了此检测试剂, 用 DELFIA 报告系统代替了 HRP 的显色系统。Intrinsic LifeScience 试剂公司也可以用多克隆抗体检测小鼠 ERFE, 在检测中, 健康雄性 C57BL/6 小鼠的 ERFE 水平太低不容易检测到, 但是 Hbb^{th3/+} 的

β -地中海贫血小鼠模型中 ERFE 含量多, 因而能检测到。现在也有许多其他试剂, 但需要更多的研究验证方能证明数据的可行性。

5 总结与展望

近年的研究已经证实, ERFE 可以通过调节 hepcidin 的表达维持机体铁稳态和红细胞的生成。在机体大量失血或 EPO 刺激下, 骨髓中有核幼红细胞中 ERFE 蛋白表达增加, 继而通过 BMP/SMAD 等信号转导通路降低肝脏内 hepcidin 的合成, 进而减弱 hepcidin-FPN1 轴对铁释放的抑制作用, 从而肠道的铁吸收增加和巨噬细胞铁释放增多, 导致血液内铁水平增加, 有更多的铁可用于血红素和血红蛋白的合成, 加速红细胞生成, 缓解失血或贫血的病理状态, 最终使机体恢复到正常水平 (图 2)。因此, EPO/ERFE/hepcidin-FPN1 轴在铁代谢和红细胞生成中发挥着举足轻重的作用。

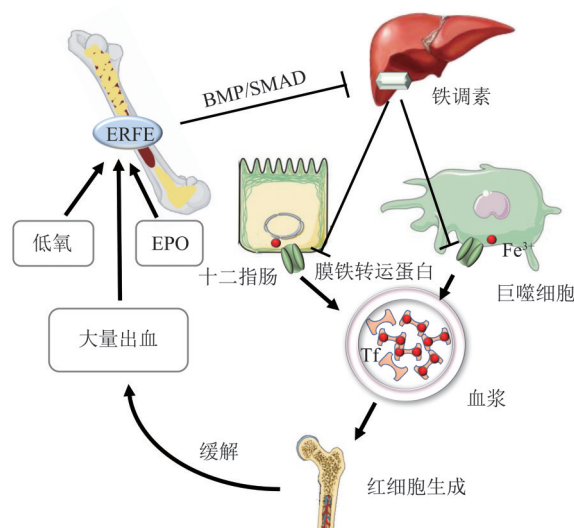


Fig. 2 The diagram of the relationship among erythroferrone, hepcidin and erythropoiesis

图2 ERFE、hepcidin和红细胞生成关系模式图

EPO: 红细胞生成素; Tf: 转铁蛋白。

对于 hepcidin 与 ERFE 之间关系的深入研究能进一步了解红细胞的生成与铁代谢之间的关系, 从而为贫血等多种疾病提供更为有效的诊断和治疗手段^[48]。所有的脊椎动物基因组内均存在 ERFE, 不同物种间 ERFE 序列存在保守性^[8], 鉴于前期研究 *Fam132b* mRNA 在多组织器官的不同程度的表达^[4], ERFE 在心脏保护和爪蟾发育中功能的研

究, 说明ERFE在生命维持正常的生理功能中发挥着重要的作用。但是, 至今关于ERFE在哺乳动物胚胎发育、心血管功能、十二指肠吸收、骨骼肌生物功能以及在神经系统发育和功能中的作用及机制等还存在着很多的未知之处。ERFE在小肠和神经系统铁代谢通路调控的深入研究还有望为铁代谢紊乱疾病的防治提供理论基础。

参 考 文 献

- [1] Grubić Kezele T, Ćurko-Cofek B. Age-related changes and sex-related differences in brain iron metabolism. *Nutrients*, 2020, **12**(9): 2601
- [2] Nemeth E, Tuttle M S, Powelson J, *et al.* Heparin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science*, 2004, **306**(5704): 2090-2093
- [3] Finch C. Regulators of iron balance in humans. *Blood*, 1994, **84**(6): 1697-1702
- [4] Kautz L, Jung G, Valore E V, *et al.* Identification of erythroferrone as an erythroid regulator of iron metabolism. *Nat Genet*, 2014, **46**(7): 678-684
- [5] Gammella E, Diaz V, Recalcati S, *et al.* Erythropoietin's inhibiting impact on hepcidin expression occurs indirectly. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2015, **308**(4): R330-R335
- [6] Wang C Y, Xu Y, Traeger L, *et al.* Erythroferrone lowers hepcidin by sequestering BMP2/6 heterodimer from binding to the BMP type I receptor ALK3. *Blood*, 2020, **135**(6): 453-456
- [7] Seldin M M, Peterson J M, Byerly M S, *et al.* Myonectin (CTRP15), a novel myokine that links skeletal muscle to systemic lipid homeostasis. *J Biol Chem*, 2012, **287**(15): 11968-11980
- [8] Srole D N, Ganz T. Erythroferrone structure, function, and physiology: iron homeostasis and beyond. *J Cell Physiol*, 2021, **236**(7): 4888-4901
- [9] Ganz T. Erythropoietic regulators of iron metabolism. *Free Radic Biol Med*, 2019, **133**: 69-74
- [10] Seldin M M, Lei X, Tan S Y, *et al.* Skeletal muscle-derived myonectin activates the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway to suppress autophagy in liver. *J Biol Chem*, 2013, **288**(50): 36073-36082
- [11] Stewart A N, Little H C, Clark D J, *et al.* Protein modifications critical for myonectin/erythroferrone secretion and oligomer assembly. *Biochemistry*, 2020, **59**(29): 2684-2697
- [12] Kautz L, Jung G, Du X, *et al.* Erythroferrone contributes to hepcidin suppression and iron overload in a mouse model of β -thalassemia. *Blood*, 2015, **126**(17): 2031-2037
- [13] Li K, Liao X, Wang K, *et al.* Myonectin predicts the development of type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 2018, **103**(1): 139-147
- [14] Yang M, Wei D, Mo C, *et al.* Saturated fatty acid palmitate-induced insulin resistance is accompanied with myotube loss and the impaired expression of health benefit myokine genes in C2C12 myotubes. *Lipids Health Dis*, 2013, **12**: 104
- [15] Lim S, Choi S H, Koo B K, *et al.* Effects of aerobic exercise training on C1q tumor necrosis factor α -related protein isoform 5 (myonectin): association with insulin resistance and mitochondrial DNA density in women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, **97**(1): E88-E93
- [16] Gamas L, Matafome P, Seiça R. Irisin and myonectin regulation in the insulin resistant muscle: implications to adipose tissue: muscle crosstalk. *J Diabetes Res*, 2015, **2015**: 359159
- [17] Subramaniam V N, Wallace D F. Linking hypoxia and iron homeostasis: a 'plate' full of factors. *Gut*, 2014, **63**(12): 1840-1842
- [18] Arezes J, Foy N, Mchugh K, *et al.* Antibodies against the erythroferrone N-terminal domain prevent hepcidin suppression and ameliorate murine thalassemia. *Blood*, 2020, **135**(8): 547-557
- [19] Wang C Y, Core A B, Canali S, *et al.* Smad1/5 is required for erythropoietin-mediated suppression of hepcidin in mice. *Blood*, 2017, **130**(1): 73-83
- [20] Goh J B, Wallace D F, Hong W, *et al.* Endofin, a novel BMP-SMAD regulator of the iron-regulatory hormone, hepcidin. *Sci Rep*, 2015, **5**: 13986
- [21] Nai A, Rubio A, Campanella A, *et al.* Limiting hepatic Bmp-Smad signaling by matriptase-2 is required for erythropoietin-mediated hepcidin suppression in mice. *Blood*, 2016, **127**(19): 2327-2336
- [22] Arezes J, Foy N, Mchugh K, *et al.* Erythroferrone inhibits the induction of hepcidin by BMP6. *Blood*, 2018, **132**(14): 1473-1477
- [23] Zhang A S, Enns C A. A long sought after "receptor" for ERFE?. *Blood*, 2018, **132**(14): 1463-1464
- [24] Nai A, Lidonnici M R, Rausa M, *et al.* The second transferrin receptor regulates red blood cell production in mice. *Blood*, 2015, **125**(7): 1170-1179
- [25] Kleven M D, Jue S, Enns C A. Transferrin receptors TfR1 and TfR2 bind transferrin through differing mechanisms. *Biochemistry*, 2018, **57**(9): 1552-1559
- [26] Forejtníková H, Vieillevoye M, Zermati Y, *et al.* Transferrin receptor 2 is a component of the erythropoietin receptor complex and is required for efficient erythropoiesis. *Blood*, 2010, **116**(24): 5357-5367
- [27] Pagani A, Vieillevoye M, Nai A, *et al.* Regulation of cell surface transferrin receptor-2 by iron-dependent cleavage and release of a soluble form. *Haematologica*, 2015, **100**(4): 458-465
- [28] Li H, Choesang T, Bao W, *et al.* Decreasing TfR1 expression reverses anemia and hepcidin suppression in β -thalassemic mice. *Blood*, 2017, **129**(11): 1514-1526
- [29] Cabantchik Z I. Labile iron in cells and body fluids: physiology, pathology, and pharmacology. *Front Pharmacol*, 2014, **5**: 45
- [30] Wu L, Ding Q, Wang X, *et al.* Visualization of dynamic changes in labile iron(II) pools in endoplasmic reticulum stress-mediated drug-induced liver injury. *Anal Chem*, 2020, **92**(1): 1245-1251
- [31] Bank A, Dobkin C, Donovan-Peluso M, *et al.* Abnormal globin gene structure and expression in beta-thalassemia. *Ann N Y Acad Sci*, 1985, **445**: 1-9
- [32] Tantiworawit A, Charoenkwan P, Hantrakool S, *et al.* Iron overload in non-transfusion-dependent thalassemia: association

- with genotype and clinical risk factors. *Int J Hematol*, 2016, **103**(6): 643-648
- [33] Pootrakul P, Kitcharoen K, Yansukon P, *et al.* The effect of erythroid hyperplasia on iron balance. *Blood*, 1988, **71**(4): 1124-1129
- [34] Kautz L, Nemeth E. Molecular liaisons between erythropoiesis and iron metabolism. *Blood*, 2014, **124**(4): 479-482
- [35] Moura I C, Hermine O. Erythroferrone: the missing link in β -thalassemia?. *Blood*, 2015, **126**(17): 1974-1975
- [36] Ganz T. Drugging erythroferrone to treat anemias. *Blood*, 2020, **135**(8): 516-518
- [37] Bahr T M, Ward D M, Jia X, *et al.* Is the erythropoietin-erythroferrone-hepcidin axis intact in human neonates?. *Blood Cells Mol Dis*, 2021, **88**: 102536
- [38] Sanyal C, Butthep P, Eamsaard W, *et al.* Iron homeostasis in a mouse model of thalassemia intermedia is altered between adolescence and adulthood. *PeerJ*, 2020, **8**: e8802
- [39] Kautz L, Jung G, Nemeth E, *et al.* Erythroferrone contributes to recovery from anemia of inflammation. *Blood*, 2014, **124**(16): 2569-2574
- [40] Drüeke T B, Locatelli F, Clyne N, *et al.* Normalization of hemoglobin level in patients with chronic kidney disease and anemia. *N Engl J Med*, 2006, **355**(20): 2071-2084
- [41] De Francisco A L, Stenvinkel P, Vaulont S. Inflammation and its impact on anaemia in chronic kidney disease: from haemoglobin variability to hyporesponsiveness. *NDT Plus*, 2009, **2**(Suppl_1): i18-i26
- [42] Hanudel M R, Rappaport M, Chua K, *et al.* Levels of the erythropoietin-responsive hormone erythroferrone in mice and humans with chronic kidney disease. *Haematologica*, 2018, **103**(4): e141-e142
- [43] Spoto B, Kakkar R, Lo L, *et al.* Serum erythroferrone levels associate with mortality and cardiovascular events in hemodialysis and in CKD patients: a two cohorts study. *J Clin Med*, 2019, **8**(4): 523
- [44] Honda H, Kobayashi Y, Onuma S, *et al.* Associations among erythroferrone and biomarkers of erythropoiesis and iron metabolism, and treatment with long-term erythropoiesis-stimulating agents in patients on hemodialysis. *PLoS One*, 2016, **11**(3): e0151601
- [45] Otaka N, Shibata R, Ohashi K, *et al.* Myonectin is an exercise-induced myokine that protects the heart from ischemia-reperfusion injury. *Circ Res*, 2018, **123**(12): 1326-1338
- [46] Leuenberger N, Bulla E, Salamin O, *et al.* Heparin as a potential biomarker for blood doping. *Drug Test Anal*, 2017, **9**(7): 1093-1097
- [47] Ganz T, Jung G, Naeim A, *et al.* Immunoassay for human serum erythroferrone. *Blood*. 2017, **130**(10): 1243-1246
- [48] Koury M J, Haase V H. Anaemia in kidney disease: harnessing hypoxia responses for therapy. *Nat Rev Nephrol*, 2015, **11**(7): 394-410

Research Progress on Erythroferrone, an Erythroid Regulator of Iron Metabolism*

GUAN Peng**, WAN Shuang-Shuang**, GUO Yue-Tong, YANG Wen-Jing, GUO Jia-Shuai,
GAO Guo-Fen, CHANG Yan-Zhong***, YU Peng***

(College of Life Sciences, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050024, China)

Abstract Erythroferrone (ERFE) is a newly identified erythroid regulator of iron metabolism in recent years. In response to the stimuli of erythropoiesis, erythropoietin (EPO) stimulates the increased production of ERFE in erythroblasts of the bone marrow, which strongly suppresses the transcription of hepcidin in the liver; thereby increases iron absorption from dietary to blood through stabilizing the iron exporter ferroportin 1 (FPN1). Plasma iron is critical for erythropoiesis, and more iron is needed for heme and hemoglobin synthesis to meet the demands of increased erythropoiesis. ERFE in the blood plays an important role in ensuring stable iron supply during erythropoiesis. This review focuses on the discovery of ERFE in phlebotomy and hypoxia, and its gene is *Fam132b* with the coding sequence of 10 kb. ERFE protein is a glycol protein which belongs to the C1q/TNF-related protein family, and there are 340 and 354 amino acids in mouse and human, respectively. It has been reported that *Fam132b* mRNA was detected in colon, skeletal muscle, brain, heart and other tissues, while it was rich in bone marrow after phlebotomy. It has been shown that ERFE plays important roles in glucose and fat metabolism, erythropoiesis and iron metabolism through hepcidin and transferrin receptors. Moreover, recent advances in relationships between ERFE dysregulation and diseases including β -thalassemia and chronic kidney disease, as well as the detection of ERFE in clinic and fundamental researches, give a further understanding the role of EPO/ERFE/hepcidin-FPN1 in regulating iron metabolism to provide a potential therapeutic target for treating diseases with iron metabolism disorders.

Key words erythropoiesis, erythroferrone, hepcidin, bone marrow, iron metabolism

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0039

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (31970905) and the Graduate Innovation Fund Project from Hebei Normal University (CXZZSS2017061).

** These authors contributed equally to this work.

*** Corresponding author.

CHANG Yan-Zhong. Tel: 86-311-80787539, E-mail: chang7676@163.com

YU Peng. Tel: 86-311-80787587, E-mail: yupeng0311@163.com

Received: April 16, 2021 Accepted: July 26, 2021