

转铁蛋白受体 2 及其功能与相关疾病*

常彦忠¹⁾ 段相林^{1,2)} 钱忠明^{1,2)} **

¹⁾香港理工大学应用生物及化学科技学系铁代谢实验室, 九龙, 香港;

²⁾河北师范大学神经生物和神经药理学研究所, 石家庄 050016)

摘要 转铁蛋白受体 2 (transferrin receptor 2, TfR2) 是最近发现的一种重要铁代谢蛋白。研究显示它不仅是一种介导肝脏细胞铁摄取的主要蛋白, 而且在调节小肠铁吸收方面起着极其关键的作用, 是控制肝脏铁调素合成和释放的关键成分。已经证实, TfR2 基因突变是遗传性血色素沉着病的重要原因之一。

关键词 铁代谢, 转铁蛋白受体 2, 铁吸收, 遗传性血色素沉着病

学科分类号 G51

铁是人体内最丰富的必需微量金属元素。它广泛参与机体内的生命代谢过程, 如氧运输、DNA 合成以及电子传递等。生理条件下, 细胞铁摄取主要通过转铁蛋白受体 (transferrin receptor, TfR) 介导的途径^[1, 2]。自 1977 年首次发现 TfR 以来, 一直认为 TfR 只有一种存在形式, 但是最近 Kawabata 等^[3]在试图证明一种新的转录因子的基因时, 偶然地克隆到了与 TfR 具有明显同源性的 cDNA。这一新的基因现已命名为 TfR2, 而将原来发现的 TfR 称为 TfR1。过去 3 年的研究显示 TfR2 不仅是一种细胞铁摄取蛋白, 而且在机体铁稳态的生理调节中起着始料未及的重要作用, 是一种需要深入研究的极其重要的铁代谢蛋白。

1 转铁蛋白受体 2 基因及其表达与调控

人类 TfR2 基因位于 7q22 染色体上, 长约 21 kb^[4]。小鼠的 TfR2 基因位于第 5 号染色体上^[5]。人类的 TfR2 mRNA 具有两种剪切形式, TfR2- α 和 TfR2- β 。TfR2- α mRNA 有 18 个外显子组成, 分子质量为 2.9 kb, 而 TfR2- β mRNA 则缺少第 1、2、3 外显子区, 在外显子 4 的 5'端增加了另外 142 个核苷酸, 但不包括起始序列, 因此它的翻译可能起始于 TfR2- α 开放阅读框架的第 542 位核苷酸 ATG。与 TfR1 mRNA 不同, TfR2 的 3'端不翻译区不含有铁反应元件 (iron-responsive elements, IREs) 的结构。这提示胞内铁对 TfR2 mRNA 的表达可能没有直接的调节作用。在小鼠中已证明铁过载和缺乏对 TfR2 的基因表达没有影响^[3, 6]。

根据 TfR2 的基因结构推断, TfR2- α 有 801 个

氨基酸残基组成, 其中 80 个氨基酸残基组成的功能区位于细胞内, 第 81~104 位之间 24 个氨基酸残基组成跨膜区, 与人的 TfR1 和前列腺特异性膜抗原 (prostate-specific membrane antigen, PSMA) 相类似, 均位于分子的氨基端。根据这一特点, TfR2- α 可能属于 II 型膜蛋白。第 105~801 位氨基酸残基位于细胞外构成膜外区, 这一区域氨基酸序列与 TfR1 和 PSMA 具有很高的相同 (45%, 27%) 和相似性 (66%, 60%)。两个 TfR1 分子的 89 位和 98 位半胱氨酸构成的二硫键将它们连为同型二聚体, 能够结合两个分子的铁合转铁蛋白。而在 TfR2- α 分子的 108 位和 111 位也有两个半胱氨酸并且其存在位置与 TfR1 的极为相似, 因此可能也具有相同的作用。另外, TfR2- α 与 TfR1 在细胞内吞作用的信号区域 (tyrosine-glutamine-arginine-valine, YQRV)、蛋白酶相关的区域 (protease-associated domain, PA domain) 和细胞的粘附序列 (cell-attachment sequences, RGD motifs) 也有很大程度的相似性。这些序列对于 TfR 与转铁蛋白结合、复合物的内吞十分重要。与 TfR2- α 不同, TfR2- β 缺乏全部的跨膜和细胞内区域以及包括 108 位和 111 位的两个半胱氨酸的细胞外部分, 这提示 TfR2 可能仅存在于细胞浆内。小鼠的 TfR2 与人的 TfR- α 有 85% 相同和

* 钱忠明博士实验室的研究得到香港政府 RGC (PolyU5270/01/M/B-Q445) 和香港理工大学研究基金 (G-T616, A-PC98, A-PC23 和 GV-881) 支持。

** 通讯联系人。

Tel: 852-27666694, Fax: 852-23649932

E-mail: beczmqian@polyu.edu.hk

收稿日期: 2002-12-23, 接受日期: 2003-03-14

92%相似的氨基酸序列,也存在细胞内吞序列和跨膜区域^[7].

体内 Tfr2 的表达特征与 Tfr1 不同. Tfr1 几乎在所有组织和细胞中表达,仅在肝脏中表达较低.与此相反, Tfr2- α 只在肝脏中高表达,胃低表达,在其他组织表达量十分低.几种不同细胞系的研究也显示了相同的结果^[7].在个体发育过程中,胚胎小鼠直到第 11 天才观察到 Tfr2 的表达,在以后的发展过程中,肝脏的 Tfr2 表达逐渐增高, Tfr1 的表达逐渐降低^[8].针对大鼠的研究结果也显示,肝脏 Tfr2 表达很高而 Tfr1 表达却很低^[7],由于 Tfr2 mRNA 没有 IRE 结构,所以铁状态的变化和遗传性血色素沉着病 (hereditary hemochromatosis, HH) 对 Tfr2 的表达都没有大的影响^[7,8]. GATA-1 ——一种红系细胞特异性的转录因子,能够增加 Tfr2 转录启动子的活性.而 GATA-1 的辅因子 FOG-1 (friend of GATA-1, FOG-1),可以抑制 GATA-1 对 Tfr2 转录启动子的激活作用.在肝细胞的增值期, C/EBP- α (CCAAT/enhancer binding protein) 也能够增加 Tfr2 启动子的活性^[8].通过对不同发育阶段的正常红系细胞和白细胞以及白血病前期细胞的研究发现, Tfr2 在骨髓红系细胞特异表达,其 mRNA 在 CD34⁺ (cluster of differentiation) 的前红系细胞高表达,随着红系细胞的分化逐渐降低.在红白血病 (M6) 的骨髓样品中, Tfr2- α mRNA 的表达明显高于非恶性的骨髓样品,在骨髓内过度增生的红系细胞,急髓性白血病 M1、M2,慢髓性白血病 Tfr2- α mRNA 的表达都较高,因此 Tfr2 可能是一个早红系细胞的特征^[9].

2 Tfr2 与遗传性血色素沉着病

HH 是一种肠铁吸收紊乱造成的以进行性组织铁沉积和损伤为主要特征的疾病.这一疾病是常染色体隐性遗传,由 HFE 基因 (HLA-linked hemechromatosis gene, named HFE) 突变引起. HFE 基因位于染色体 6p,它编码一个组织相容性复合物 I (major histocompatibility complex class I, MHC) 的膜蛋白 (HFE 蛋白). HFE 基因突变 (G845A, C282Y 或 H63D) 引起的 HH 称为 HFE1 或 I 型 HH^[10]. JH (Juvenile hemochromatosis) 是与 HH 不同的另一种血色素沉着病,主要发生在 20~30 岁的青少年,临床症状更加严重,是由于 1q 染色体上基因突变引起,称为 HFE2 或 II 型

HH^[8,11].然而,某些 HH 病人既无 HFE1 亦无 HFE2 异常,被称为非典型性 HH,这一类疾病的原因一直未明. Tfr2 基因的发现和研究,使人们找到了非典型性 HH 的病因. Camaschella 等^[11]首先报道了非 HFE 相关的 HH 两个家族都伴随 Tfr2 的基因突变,后来命名为 HFE3 或称 III 型 HH^[8]. Tfr2 基因突变是由于外显子 6 第 750 位的 C 变为了 G,从而将第 250 位 (Y250X) 编码酪氨酸残基的 TAC 突变成了终止信号 TAG,由此产生了不完整的 Tfr2.最近的研究显示 Tfr2 基因突变的形式是多样的.已发现了另外 4 种新的 Tfr2 突变形式^[12~15],一是在外显子 2 的 84~88 位的多聚胞嘧啶之间插入一个胞嘧啶核苷 (84~88insC),引起翻译至第 60 位氨基酸时早期终止 (E60X).二是发生在外显子 4,它的 cDNA 515 位出现 T-A 易位 (T515A),造成甲硫氨酸替代了 172 位上的赖氨酸 (M172K).三是在外显子 16 上出现了 12 个核苷酸的缺失,翻译后的蛋白质缺少了 4 个氨基酸 (AVAQ 594~597),组织学检查发现在肝门静脉周围细胞有明显的铁沉积,具有典型 HFE 相关的 HH 特征.四是 Tfr2 基因外显子 17 上 2069 位的 A 突变为 C,造成了 690 位的谷氨酸残基为脯氨酸所替代的突变形式.最近某些研究者^[16]在小鼠中造成 Tfr2 基因 (Y250X) 突变,饲喂正常饲料 4 个星期后, Y250X 突变纯合子小鼠出现严重的铁代谢异常,肝脏铁比野生型高出数倍并主要沉积在肝脏细胞和门静脉周围,而脾内铁浓度明显低于野生型,转铁蛋白饱和度增加,血液学指标没有明显变化, Y250X 突变杂合型的小鼠没有明显异常.这些结果也有有力地证实 Tfr2 基因突变是 HH 的重要原因之一.

3 Tfr2 在铁代谢中的作用

现有的研究结果表明, Tfr2 基因突变可造成小肠细胞对铁的过量吸收进而引起铁在肝门静脉周围细胞沉积,血液转铁蛋白饱和度增加,以及网状内皮系统铁含量减少.这一典型的 HH 症状在其他 3 个基因突变的小鼠上也能看到,这几个基因有 HFE^[17,18], β_2 微球蛋白 (β_2 -microglobulin, β_2 M)^[19], 铁调素 (Hepcidin)^[20,21].这一现象显示 Tfr2 和 HFE、 β_2 M 及 Hepcidin 可能共同调节肠铁的吸收和铁在组织中的分布.因此, Tfr2 对体内铁平衡的调节作用比它对铁的摄取作用重要得多^[11].

铁调节子假说可以用来解释体内铁代谢平衡的调节机理,这一假说包括:贮铁调节子(stores regulator)能够感知体内铁储存水平.红细胞生成调节子(erythropoietic regulator)能够对红细胞合成过程中铁的需求情况进行反应.这两个调节子相互作用,在调节铁摄取和预防铁过载方面起着关键作用.相对而言,贮铁调节子的生理作用更为重要^[22,23].TfR2、HFE、 β_2 M和Hepcidin及十二指肠隐窝细胞的TfR1都可能是贮铁调节子的组成部分.目前认为^[20,24],当任何原因引起循环铁增加时,肝细胞经TfR2途径(TfR2介导的铁摄取是肝细胞获得铁的主要途径)摄铁也增加.这会导致肝细胞增加合成和分泌Hepcidin进入血液,Hepcidin经血流运输到十二指肠隐窝细胞直接作用于 β_2 M/HFE/TfR1复合物,促成隐窝细胞摄铁量增加,隐窝细胞内铁池增大进而抑制肠吸收上皮细胞的铁吸收蛋白(细胞色素b、二价金属离子转运蛋白和膜铁转运蛋白1)表达,铁吸收量因此下降.当循环铁较低时,经TfR2介导的肝细胞铁摄取将会减少,肝脏合成分泌的Hepcidin将会减少.这将引起隐窝细胞铁池变小,肠吸收上皮相关蛋白表达增加,肠铁吸收量增加,使铁水平回复到正常.同时肝脏分泌的Hepcidin也可经血流到达RE系统,调节RE系统铁代谢作相应变化.在这一过程中,肝脏TfR2介导的铁摄取量的变化是一个起始点,它经控制肝脏分泌Hepcidin的量,动态地调节着小肠铁吸收蛋白的表达量,决定了成熟肠粘膜细胞的铁吸收能力,调节着食物铁的吸收.

最近,Deaglio等^[25]报道TfR2十二指肠隐窝细胞和小肠绒毛细胞也有高表达,在隐窝细胞基底部染色更深,在不参与铁代谢调节的组织细胞上没有表达.这些线索使得人们认为TfR2在肠铁吸收上起着直接作用.TfR2生理作用的研究发现,转铁蛋白铁能够显著提高它在K562、HepG2和U251细胞系的表达,并能调整TfR2在细胞膜上的聚集分布,降低TfR1的表达.Summerville等^[26]用免疫化学染色,激光共聚焦显微镜技术和TfR2特异性抗体研究发现,TfR2主要存在于大鼠肝细胞膜上,在典型的各种类型的内吞小体上,也有TfR2的表达.Deaglio等^[25]的研究结果也发现在肝脏切片的细胞质内有明显的TfR2.这些结果为TfR2在肝脏和十二指肠隐窝细胞铁吸收的功能提供了进一步依据.

4 总 结

TfR2是一个新发现的与TfR1同属一个家族并具很高同源性的铁代谢蛋白.TfR2 mRNA不具有IREs结构,它的表达可能不受铁状态的调节.TfR2的分布与TfR1有明显的区别,具有很特异的分布区域.TfR2可能与Hepcidin、HFE/ β_2 M/TfR1复合物一起调节小肠铁吸收,同时也可能参与肝细胞和小肠隐窝细胞铁摄取.TfR2的发现对认识非典型性HH的病因提供了重要依据.进一步深入地研究TfR2在铁代谢中的作用及机制不仅能够增加对铁代谢更全面的认识,也将有助于我们对某些临床相关疾病的发病机制的了解,进而发展更有效的治疗方案.

参 考 文 献

- 1 Qian Z M, Wang Q. Expression of iron transport proteins and excessive iron accumulation in the brain in neurodegenerative disorders. *Brain Res Rev*, 1998, **27** (3): 257~267
- 2 Qian Z M, Li H, Sun H, *et al.* Targeted drug delivery via the transferrin receptor-mediated endocytosis pathway. *Pharmacol Rev*, 2002, **54** (4): 561~587
- 3 Kawabata H, Germain R S, Vuong P T, *et al.* Transferrin receptor 2- α supports cell growth both in iron-chelated cultured cells and *in vivo*. *J Biol Chem*, 2000, **275** (22): 16618~16625
- 4 Kawabata H, Yang R, Hirama T, *et al.* Molecular cloning of transferrin receptor 2. A new member of the transferrin receptor-like family. *J Biol Chem*, 1999, **274** (30): 20826~20832
- 5 Wilson M D, Riemer C, Martindale D W, *et al.* Comparative analysis of the gene-dense ACHE/TFR2 region on human chromosome 7q22 with the orthologous region on mouse chromosome 5. *Nucleic Acids Res*, 2001, **29** (6): 1352~1365
- 6 Tong X, Kawabata H, Koefler H P. Iron deficiency can upregulate expression of transferrin receptor at both the mRNA and protein level. *Br J Haematol*, 2002, **116** (2): 458~464
- 7 Fleming R E, Migas M C, Holden C C, *et al.* Transferrin receptor 2: continued expression in mouse liver in the face of iron overload and in hereditary hemochromatosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97** (5): 2214~2219
- 8 Kawabata H, Germain R S, Ikezoe T, *et al.* Regulation of expression of murine transferrin receptor 2. *Blood*, 2001, **98** (6): 1949~1954
- 9 Kawabata H, Nakamaki T, Ikonomi P, *et al.* Expression of transferrin receptor 2 in normal and neoplastic hematopoietic cells. *Blood*, 2001, **98** (9): 2714~2719
- 10 Beutler E, Gelbart T, West C, *et al.* Mutation analysis in hereditary hemochromatosis. *Blood Cells Mol Dis*, 1996, **22** (2): 187~194
- 11 Camaschella C, Roetto A, Cali A, *et al.* The gene TFR2 is mutated in a new type of haemochromatosis mapping to 7q22. *Nat Genet*, 2000, **25** (1): 14~15
- 12 Roetto A, Totaro A, Piperno A, *et al.* New mutations inactivating transferrin receptor 2 in hemochromatosis type 3.

- Blood, 2001, **97** (9): 2555~2560
- 13 Roetto A, Daraio F, Alberti F, *et al.* Hemochromatosis due to mutations in transferrin receptor 2. *Blood Cells Mol Dis*, 2002, **29** (3): 465~470
 - 14 Girelli D, Bozzini C, Roetto A, *et al.* Clinical and pathologic findings in hemochromatosis type 3 due to a novel mutation in transferrin receptor 2 gene. *Gastroenterology*, 2002, **122** (5): 1295~1302
 - 15 Mattman A, Huntsman D, Lockitch G, *et al.* Transferrin receptor 2 (TfR2) and HFE mutational analysis in non-C282Y iron overload; identification of a novel TfR2 mutation. *Blood*, 2002, **100** (3): 1075~1077
 - 16 Fleming R E, Ahmann J R, Migas M C, *et al.* Targeted mutagenesis of the murine transferrin receptor-2 gene produces hemochromatosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99** (16): 10653~10658
 - 17 Levy J E, Montross L K, Cohen D E, *et al.* The C282Y mutation causing hereditary hemochromatosis does not produce a null allele. *Blood*, 1999, **94** (1): 9~11
 - 18 Bahram S, Gilfillan S, Kuhn L C, *et al.* Experimental hemochromatosis due to MHC class I HFE deficiency; immune status and iron metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96** (23): 13312~13317
 - 19 Santos M, Schilham M W, Rademakers L H, *et al.* Defective iron homeostasis in beta 2-microglobulin knockout mice recapitulates hereditary hemochromatosis in man. *J Exp Med*, 1996, **184** (5): 1975~1985
 - 20 Nicolas G, Bennoun M, Devaux I, *et al.* Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98** (15): 8780~8785
 - 21 Nicolas G, Bennoun M, Porteu A, *et al.* Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99** (7): 4596~4601
 - 22 Fleming R E, Sly W S. Ferroportin mutation in autosomal dominant hemochromatosis; loss of function, gain in understanding. *J Clin Invest*, 2001, **108** (4): 521~522
 - 23 Fleming R E, Sly W S. Mechanisms of iron accumulation in hereditary hemochromatosis. *Annu Rev Physiol*, 2002, **64**: 663~680
 - 24 Vogt T M, Blackwell A D, Giannetti A M, *et al.* Heterotypic interactions between transferrin receptor and transferrin receptor 2. *Blood*, 2003, **101** (5): 2008~2014
 - 25 Deaglio S, Capobianco A, Cali A, *et al.* Structural, functional, and tissue distribution analysis of human transferrin receptor-2 by murine monoclonal antibodies and a polyclonal antiserum. *Blood*, 2002, **100** (10): 3782~3789
 - 26 Subramaniam V N, Summerville L, Wallace D F. Molecular and cellular characterization of transferrin receptor 2. *Cell Biochem Biophys*, 2002, **36** (2~3): 235~239

Transferrin Receptor 2: Function and Relevant Disorders*

CHANG Yan-Zhong¹⁾, DUAN Xiang-Lin^{1,2)}, QIAN Zhong-Ming^{1,2)} **

¹⁾Laboratory of Iron Metabolism, Department of Applied Biology and Chemical Technology,
The Hong Kong Polytechnic University, Kowloon, Hong Kong, China;

²⁾Institute of Neurobiology and Neuropharmacology, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016, China)

Abstract Transferrin receptor 2 (TfR2) is a newly discovered iron metabolism protein. New findings indicate that in addition to the ability of TfR2 to mediate iron uptake by the liver cells, TfR2 is important in regulation of iron absorption in the small intestine via controlling synthesis and release of hepcidin. The studies have also demonstrated that mutation in the human transferrin receptor 2 gene is one of the causes for hereditary hemochromatosis.

Key words iron metabolism, transferrin receptor 2, iron absorption, hereditary hemochromatosis (G51)

* The studies in Dr. Qian's laboratory were supported by Competitive Earmarked Grants of The Hong Kong Research Grants Council (PolyU5270/01M/B-Q445) and The Hong Kong Polytechnic University Research Grants (G-T616, A-PC98, A-PC23 and GV-881).

** Corresponding author. Tel: 852-27666694, Fax: 852-23649932, E-mail: bczmqian@polyu.edu.hk

Received: December 23, 2002 Accepted: March 14, 2003