



九州大学

平成 23 年 9 月 2 日

科学技術振興機構 (JST)
Tel : 03-5214-8404 (広報ポータル部)

九州大学
Tel : 092-642-2106 (広報室)

生体内の鉄の量を調節するたんぱく質の機能を解明 (鉄過剰症による神経変性疾患やがんの病態解明に期待)

JST 課題達成型基礎研究の一環として、九州大学 生体防御医学研究所の中山 敬一 主幹教授らは、生体内の鉄量が不要なたんぱく質を分解するときに働くユビキチン化酵素^{注1)}の1つ「FBXL5」によって、厳密に制御されていることを明らかにしました。

鉄は体にとって必要なミネラルで、不足すると鉄欠乏性貧血などの鉄欠乏症^{注2)}になります。一方で、過剰に存在すると細胞を傷害する強い毒性があり、ヘモクロマトーシスなどの鉄過剰症^{注3)}を発症します。つまり、鉄は不足しても過剰でも生体に悪影響を及ぼすため、生体内の鉄量は常に適切な量に保たれる必要があります。

細胞内の鉄量は、IRP2というたんぱく質によって増加しますが、細胞内の鉄量が過剰になったときに、どのようにしてIRP2の作用を抑えて鉄量を減少させているのかは、長い間謎のままでした。最近、IRP2がユビキチン化酵素FBXL5によって分解される可能性が示唆されましたが、FBXL5が生体内の鉄代謝制御に果たす役割は不明のままでした。

そこで本研究チームは、鉄代謝制御におけるFBXL5の役割について研究を行いました。マウスでFBXL5遺伝子を破壊(欠損)する^{注4)}と、IRP2たんぱく質の分解が停止し、その量が増加しました。その結果、細胞内に鉄が過剰に蓄積し、マウスは胎生期に死亡しました。次にマウスの肝臓のみでFBXL5を欠損させると、マウスは胎生期には死亡せずに、生後肝臓への過剰な鉄の蓄積から脂肪肝炎^{注5)}を発症しました。この変異マウスに高鉄含有食を与えると、広範な肝細胞死をきたし、わずか1日で急性肝不全^{注6)}により死亡しました。これらの結果は、FBXL5が生体内においてIRP2の過剰な活性化と、それによる鉄の蓄積を防ぐブレーキとして働いていることを示しています。

本研究は、FBXL5が生体における鉄代謝制御に必須の役割を担うことを示した初めての報告です。近年、鉄過剰症は神経変性疾患や慢性肝炎による発がんなどに関与することも報告されています。今後、FBXL5の機能を制御することで細胞内の鉄量を適切な量に調節し、これらの疾患に対する治療への応用が期待されます。

本研究成果は、2011年9月6日(米国東部時間)に米国科学誌「Cell Metabolism」のオンライン速報版で公開されます。

本成果は、以下の事業・研究領域・研究課題によって得られました。

戦略的創造研究推進事業 チーム型研究 (CREST)

研究領域: 「生命システムの動作原理と基盤技術」

(研究総括: 中西 重忠 (財)大阪バイオサイエンス研究所 所長)

研究課題名: 「ユビキチンシステムの網羅的解析基盤の創出」

研究代表者: 中山 敬一 (九州大学 生体防御医学研究所 教授)

研究期間: 平成19年10月~平成25年3月

JSTはこの領域で、生命システムの動作原理の解明を目指して、新しい視点に立った解析基盤技術を創出し、生体の多様な機能分子の相互作用と作用機序を統合的に解析して、動的な生体情報の発現における基本原理の理解を目標としています。上記研究課題では、細胞分裂、DNA修飾、たんぱく質の品質管理など重要な生命現象を調節するユビキチンシステムについて、遺伝学とプロテオミクスを組み合わせた新しい方法によって網羅的に解析し、システムの全体像を解明することを目指しています。

＜研究の背景と経緯＞

鉄は体にとって必要なミネラルで、体内にはおよそ釘1本分の重さの鉄（成人男子鉄分4～5g）が存在しています。これらの鉄は、酸素を全身に運ぶ役割やさまざまな酵素の働きを助ける役割があるため、鉄が不足すると鉄欠乏性貧血などの鉄欠乏症になります。一方で、鉄は過剰に存在すると酸化ストレス^{注7)}を生じて細胞を傷つけてしまい、ヘモクロマトーシスなどの鉄過剰症を発症します。つまり、鉄は不足しても過剰でも、生体に悪影響を及ぼします。そのため、生体内では鉄量が常に適切な量になるように厳密に調節する必要があります。

細胞内の鉄量は、IRP2と呼ばれるたんぱく質の作用によって増加します。IRP2たんぱく質は細胞内の鉄が不足するとその量が増え、鉄の取り込みを促すと同時に、鉄の排出を抑えることによって、全体として細胞内の鉄量を増やす働きがあります。逆に細胞内の鉄量が増えると、細胞はIRP2の量を減少させ、その結果鉄の過剰な増加を防ぎます。

しかし、細胞がどのようにしてIRP2の量をコントロールしているのかは、長い間謎のままでした。最近の報告で、IRP2の活性がユビキチン化酵素FBXL5によって制御される可能性が示唆されましたが、この酵素が生体内の鉄代謝制御にどのような意義をもつのかはいまだ不明のままでした。

＜研究の内容＞

本研究チームは、鉄代謝制御におけるFBXL5の役割について研究を行うため、FBXL5を人工的に欠損したマウス（ノックアウトマウス）を作製して解析を行いました。まずFBXL5を全身で欠損したマウスを作製したところ、このマウスはIRP2たんぱく質を分解できず、結果的にIRP2の量が増加しました。その結果、鉄過剰による酸化傷害によって胎生期の早い段階でマウスは死亡しました（図1）。このことから、ユビキチン化酵素FBXL5が細胞内の鉄の過剰蓄積を防ぐために重要な役割を担っていることが分かりました（図2）。

次に、FBXL5を人工的に欠損したマウスにおける鉄の過剰蓄積の原因が、IRP2の過剰な活性化にあるのかを検証するため、FBXL5を欠損したマウスに、さらに人工的に変異を加えてIRP2を欠損させ、FBXL5とIRP2の両者を欠損した二重変異マウスを作製すると、驚いたことにこの二重変異マウスは生存が可能で、若干の貧血を示すほかはほぼ正常であることが分かりました（図3）。つまり、この二重変異マウスでは、FBXL5ノックアウトマウスにおけるIRP2の増加が解除され、鉄の過剰な蓄積が阻止されたために、胎生期死亡を回避したと考えられます（図4）。このことは、FBXL5ノックアウトマウスの死因がIRP2の過剰な活性化にあることを遺伝学的に証明しており、FBXL5とIRP2による細胞内鉄量の管理が生体内における鉄代謝の中心的な制御機構であることを示しています。

さらに本研究チームは、FBXL5による鉄代謝制御が成体のマウスにおいてどのような意義を持つか調べるため、鉄代謝の中心臓器である肝臓のみでFBXL5を欠損するマウス（コンディショナルノックアウトマウス）を作製しました。このようにマウスの肝臓のみFBXL5を欠損させると、マウスは胎生期に死亡することはありませんが、生後肝細胞内に鉄が過剰に蓄積し、脂肪肝炎を引き起こしました（図5）。FBXL5を欠損した肝臓の外観は、脂肪が蓄積するために正常マウスの肝臓より色が薄くなり白っぽく見えます。病理像では脂肪染色で染色される小さな脂肪が無数に沈着し、肝臓が炎症を起こしていることを示す炎症性細胞^{注8)}の集まりを認めました。このことから、通常ではFBXL5が鉄の過剰蓄積によるダメージから肝臓を守っており、その防御機構がなくなると脂肪

肝炎を発症してしまうことが分かりました。

また、鉄過剰に対する防御機構が無くなってしまった肝臓に、鉄過剰ストレスが加わるとどのような危険があるかを検証するため、肝臓においてFBXL5を欠損したコンディショナルノックアウトマウスに高鉄含有食を与えました。するとFBXL5を欠損した肝臓では、さらなる鉄の蓄積から肝臓の広範囲にわたって酸化ストレスがかかり、重篤な肝細胞死が起こりました(図6)。これらの変異マウスは急性肝不全を発症し、高鉄含有食摂取後わずか1日で死亡してしまいました。

以上の結果から、ユビキチン化酵素FBXL5は生体内においてIRP2の過剰な活性化を防ぐブレーキとして働いており、鉄の過剰蓄積を防ぐために不可欠な役割を担っていることが分かりました。本研究により鉄代謝の中心的な制御機構が明らかとなり、今後さらなる研究の進展が注目されます。

＜今後の展開と応用への期待＞

本研究は、FBXL5が生体における鉄代謝制御に必須の役割を担うことを示した初めての報告です。近年、肝臓における鉄の蓄積は非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)やC型慢性肝炎、さらには肝がんの増悪因子となることが注目されています^{注9)}。肝臓においてFBXL5の発現量が低下すると、鉄の蓄積によって肝臓へ慢性的なダメージを与え、このような疾患の増悪因子になる可能性があります。今後、FBXL5の機能を制御することで細胞内の鉄量を適切な量に調節し、これらの疾患に対する治療への応用が期待されます。

<参考図>

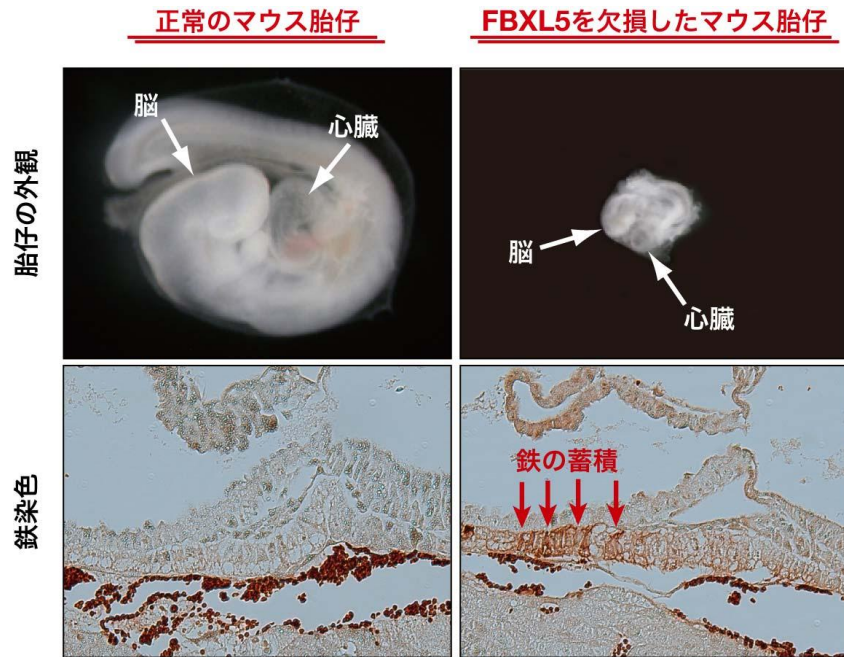


図1 全身でFBXL5を人工的に欠損したマウスの表現型

FBXL5を全身で欠損したマウスは、鉄が過剰に蓄積し、発生が遅延して胎生期の早い段階で死亡してしまいます。

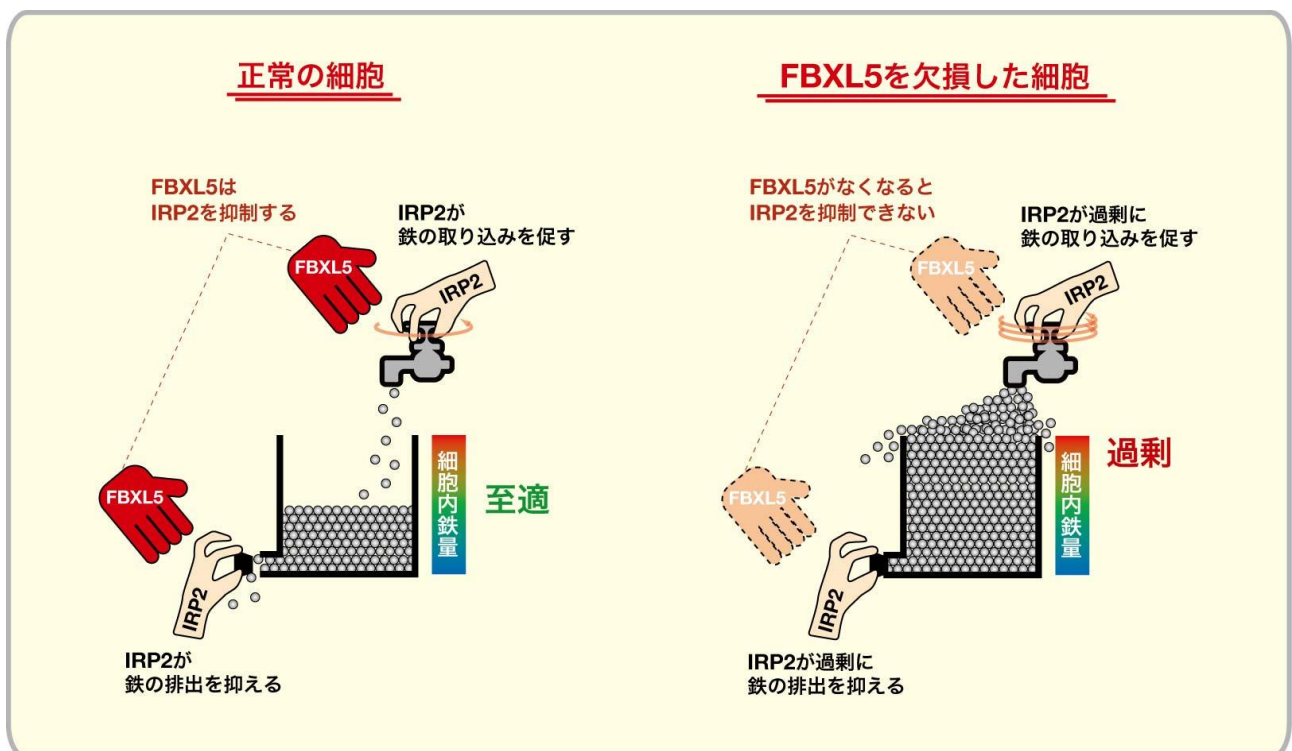
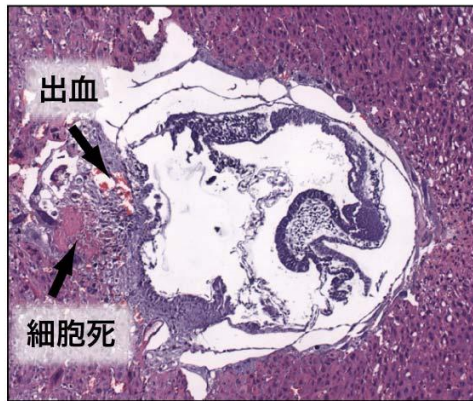


図2 FBXL5の欠損による細胞内鉄量の増加

IRP2は細胞への鉄の取り込みを促し、また鉄の排出を抑えることによって細胞内の鉄量を増加させます。正常な細胞内の鉄量が増えてくると、ユビキチン化酵素FBXL5によってIRP2が分解されて量が減少するため、細胞内の鉄量は至適な量に保たれます。しかし、FBXL5を欠損した細胞ではIRP2の働きにブレーキをかけることができず、IRP2が増加して恒常的に活性化してしまい、細胞内鉄量が過剰になります。

FBXL5のみを欠損したマウス



胎生早期致死

FBXL5とIRP2の両方を欠損したマウス



正常に発育



図3 FBXL5とIRP2の両方を人工的に欠損したマウスの表現型

FBXL5を欠損したマウスは胎生早期に死亡しますが（左図）、このマウスにさらに人工的に変異を加えてIRP2を欠損させると、FBXL5とIRP2の両方を人工的に欠損したマウスは生存が可能で、ほぼ正常に発育することが分かりました（右図）。つまり、この二重変異マウスではFBXL5欠損マウスにおけるIRP2の増加が解除され、鉄の過剰な蓄積が阻止されたために生存可能になったと考えられます。このことは、FBXL5を人工的に欠損したマウスの死因がIRP2の過剰な活性化にあることを遺伝学的に証明しています。

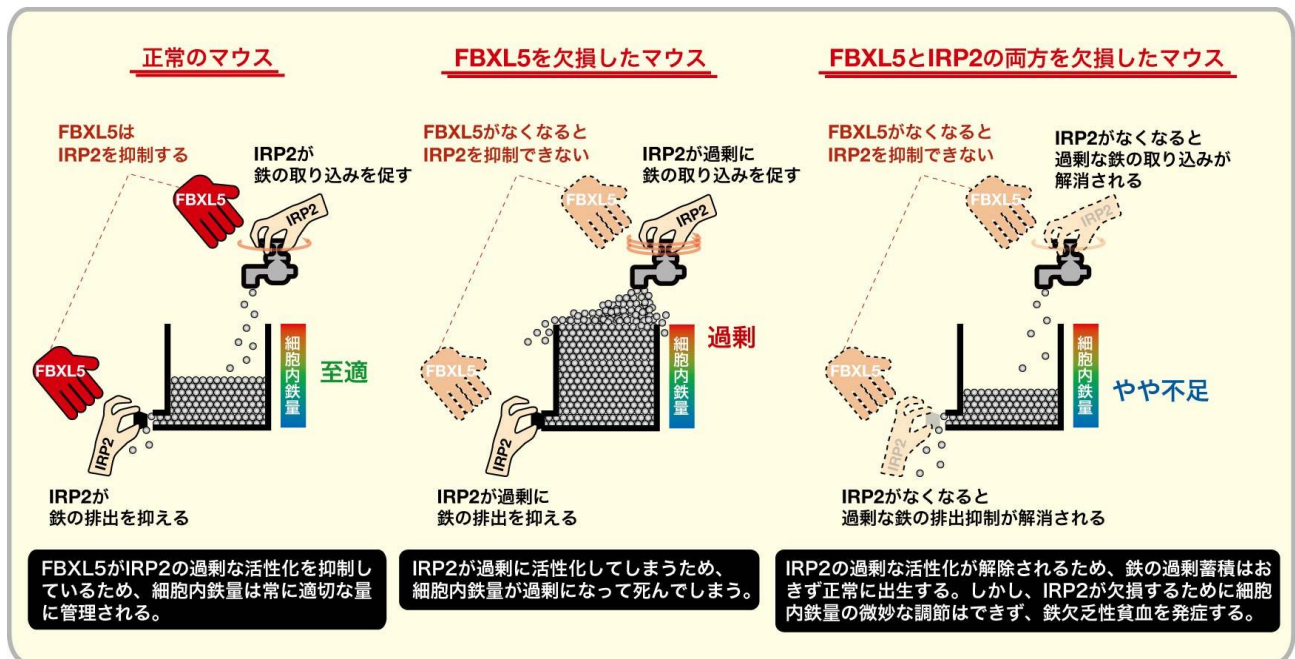


図4 FBXL5とIRP2の二重欠損による細胞内鉄量増加の解消

正常なマウスでは、FBXL5がIRP2を分解することによって、IRP2の活性を抑制し、細胞内の鉄量を至適な量に保っています。しかし、FBXL5を欠損したマウスではIRP2の働きにブレーキをかけることができず、IRP2が増加して恒常的に活性化してしまい、細胞内鉄量が過剰になります。一方、FBXL5を欠損したマウスに、さらに人工的に変異を加えてIRP2を欠損させると、IRP2の過剰な活性化が解除され、鉄の過剰な蓄積が阻止されます。

正常の肝臓

FBXL5を欠損した肝臓

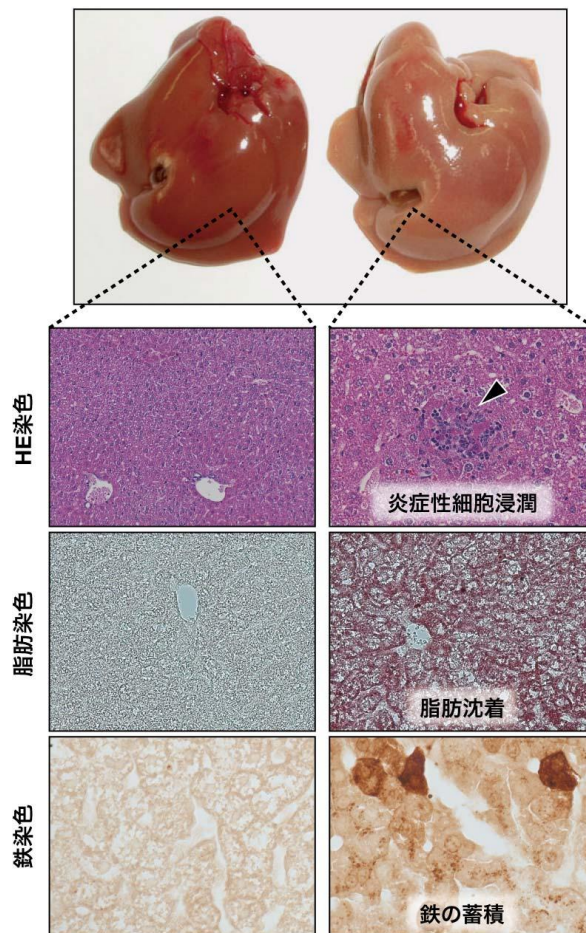


図5 肝臓でFBXL5を人工的に欠損したマウスの表現型

肝臓でのみFBXL5を欠損させると、肝臓の外観は脂肪が蓄積するために正常マウスの肝臓より色が薄くなり、肝臓が炎症を起こしていることを示す小球性の炎症性細胞が集まった病理像が見られました（矢尻）。脂肪を染色すると、小さな脂肪が肝細胞に無数に沈着しており、また鉄染色では肝細胞に過剰な鉄の蓄積が認められました。

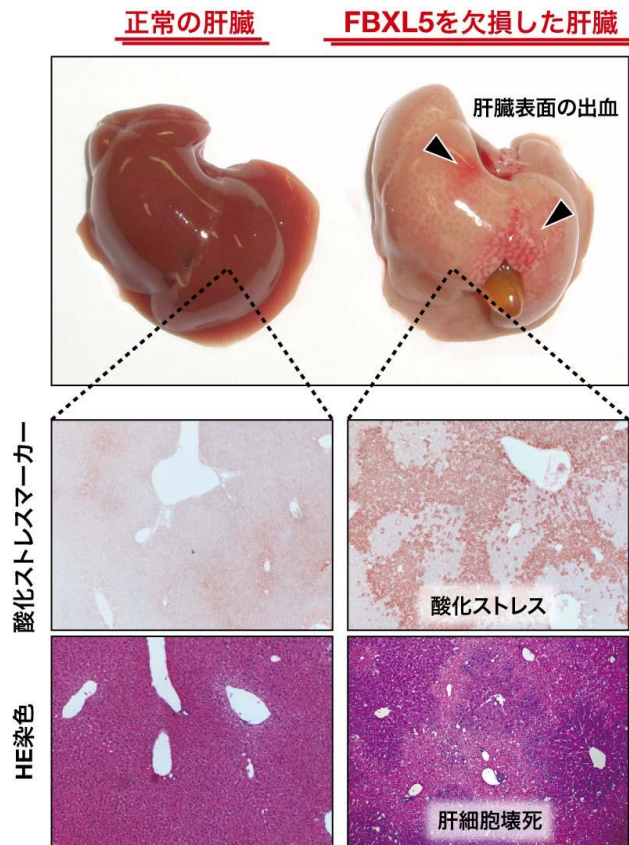


図6 肝臓でFBXL5を欠損したマウスの高鉄含有食摂取後の表現型

肝臓でのみFBXL5を欠損したマウスに高鉄含有食を与えると、肝臓へのさらなる鉄の蓄積から肝臓の広範囲にわたって酸化ストレスがかかり、重篤な肝細胞死が起こりました。これらの変異マウスは急性肝不全を発症し、高鉄含有食摂取後わずか1日で死亡してしまいました。

<用語解説>

注1) ユビキチン化酵素

ある特定の機能を持つたんぱく質がその役目を終えた後も細胞内にとどまると、その細胞にとって有害となることがあります。そこで、そのようなたんぱく質にはユビキチンという小さな分子が付加して不要であること目印が付き、分解されてしまいます。この不要なたんぱく質にユビキチンを付加する役目を担うたんぱく質がユビキチン化酵素で、FBXL5もこのユビキチン化酵素の1つです。

注2) 鉄欠乏症

鉄欠乏症は最もよくみられるミネラル欠乏症で、貧血の原因となります。鉄欠乏性貧血は体内で鉄が不足することにより、十分に赤血球を生産できなくなることで生じる貧血のことです。成人の場合は、血液の喪失が一般的な原因となり、さらに成長に多くの鉄が必要な乳児や小児においては、食事に鉄分が不足している場合に起こります。

注3) 鉄過剰症

鉄過剰症は、体内のさまざまな臓器に鉄が過剰に蓄積されることによって起こる症状のことです。特有の自覚症状はありませんが、進行すると肝障害や心不全などの臓器障害、がん、神経変性疾患などを引き起こす危険性があります。輸血を何回も受けたり、鉄の補給量が多すぎたりして、鉄が過剰に体に取り込まれることが原因となります。また、遺伝子の異常によって鉄が必要以上に吸収されるヘモクロマトーシスが引き起こされることもあります。

注4) 人工的にFBXL5を欠損したマウス

遺伝子を操作することにより、目的の遺伝子を破壊・欠損させて、発現しないようにしたマウスです。今回はFBXL5、およびIRP2を全身で人工的に欠損させたマウスと、FBXL5を肝臓でのみ人工的に欠損させたマウスを使用しました。

注5) 脂肪肝炎

肝臓に脂肪が蓄積し、炎症を伴います。近年の生活習慣病の増加に伴い注目されている非アルコール性脂肪肝炎(NASH)では、肝炎から肝硬変、肝細胞がんに進展する危険性があります。

注6) 急性肝不全

急性肝不全とは肝臓の主な構成細胞である肝細胞の機能異常が急激に進行し、肝機能が停止した状態のことです。肝臓は体内最大の代謝器官で、生命維持に欠かせない臓器です。そのため急性肝不全はほかの臓器へ多大な影響を及ぼし、多臓器不全から死に至る重篤な病態となります。

注7) 酸化ストレス

酸化ストレスとは、活性酸素が過剰になり障害作用を発揮している状態のことです。この状態が進行すると生体を構成している核酸、たんぱく質、脂質などが酸化され、生体に障害が生じてきます。近年、がん、心臓病、脳卒中を代表とする生活習慣病や老化は酸化ストレスが関与していることが分かってきました。

注8) 炎症性細胞

炎症が起こると、生体の防御反応として血管から好中球、リンパ球、単球などの白血球がしみ出てきます。これらの細胞は炎症性細胞と呼ばれ、異物の排除や腫瘍細胞・役目を終えた細胞の排除などを行います。

注9) 鉄の蓄積と肝臓がん

非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）やC型慢性肝炎、肝硬変の患者さんの肝臓には鉄が過剰に蓄積していることが明らかになっています。鉄は酸化ストレスから肝臓の炎症を悪化させます。肝臓の炎症が悪化すると、正常の肝細胞が死んで肝機能が低下し、肝臓がんの発生も促進されます。そこで、C型慢性肝炎の患者さんには、鉄の摂取量を制限した食事療法や瀉血（しゃけつ）治療（血液を外部に排出させ、体内の鉄量を減らす治療）が行われており、その有効性も確かめられています。

<論文名>

“The FBXL5-IRP2 Axis Is Integral to Control of Iron Metabolism In Vivo”
(FBXL5-IRP2系は生体内の鉄代謝制御に不可欠である)

<お問い合わせ先>

<研究内容に関すること>

中山 敬一（ナカヤマ ケイイチ）

九州大学 生体防御医学研究所 分子医科学分野 教授

〒812-8582 福岡県福岡市東区馬出3-1-1

携帯電話：090-3608-4654 Tel：092-642-6815 Fax：092-642-6819

E-mail：nakayak1@bioreg.kyushu-u.ac.jp

<JSTの事業に関すること>

石井 哲也（イシイ テツヤ）

科学技術振興機構 イノベーション推進本部 研究領域総合運営部

〒102-0075 東京都千代田区三番町5 三番町ビル

Tel：03-3512-3524 Fax：03-3222-2064

E-mail：crest@jst.go.jp