

機関番号：10107

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20591108

研究課題名（和文） 骨髄異形成症候群のミトコンドリア内鉄沈着に関する鉄トランスポーター分子の同定

研究課題名（英文） Identification of iron transporter for mitochondrial iron accumulation in myelodysplastic syndrome.

## 研究代表者

鳥本 悦宏 (TORIMOTO YOSHIHIRO)

旭川医科大学・医学部・准教授

研究者番号：00281882

研究成果の概要（和文）：本研究では、環状鉄芽球を伴う骨髄異形成症候群（MDS）症例の骨髄細胞を用いて、ミトコンドリア内鉄沈着に関する遺伝子の同定を試みた。X染色体に異常を有する本症例の骨髄細胞において、X染色体のq13にコードされミトコンドリアからの鉄排出トランスポーターである ABCB7 遺伝子 mRNA の発現低下が認められた。さらに、染色体異常を有しない症例においても ABCB7 遺伝子 mRNA の発現量減少が確認され、成人 MDS におけるミトコンドリア内鉄沈着に本遺伝子異常が関与する可能性を見出した。

研究成果の概要（英文）：In this study, we identified the iron transporter gene for mitochondrial iron accumulation in myelodysplastic syndrome (MDS) using bone marrow cells from refractory anemia with ringed sideroblasts (RARS). The decreased expression of ABCB7 gene, which is located on Xq13 and is involved in mitochondrial iron-transport to the cytosol, was observed in the bone marrow cells in the RARS patient with abnormal X-chromosome. Moreover, the levels of ABCB7 mRNA in RARS patients with normal chromosome were also decreased. These findings suggested that the abnormal ABCB7 gene expression contributes to the pathogenesis of mitochondrial iron accumulation in adult MDS patients.

## 交付決定額

（金額単位：円）

|        | 直接経費      | 間接経費    | 合計        |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2008年度 | 1,600,000 | 480,000 | 2,080,000 |
| 2009年度 | 600,000   | 180,000 | 780,000   |
| 2010年度 | 700,000   | 210,000 | 910,000   |
| 年度     |           |         |           |
| 年度     |           |         |           |
| 総計     | 2,900,000 | 870,000 | 3,770,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・血液内科学

キーワード：貧血、ミトコンドリア、鉄、トランスポーター、ABCB7 遺伝子、骨髄異形成症候群

## 1. 研究開始当初の背景

骨髄異形成症候群においては、細胞内ミトコンドリア内に鉄沈着を生じることが知られているが、その機序や原因、病態に及ぼす影響に関する解明は未だ不

十分である。赤芽球系細胞におけるミトコンドリアはヘモグロビン合成において中心的役割を果たしており最終的に鉄分子をヘムに組み込む場所でもある。ミトコンドリアの機能において鉄分子

は重要な役割を果たしており、その異常は細胞や赤血球造血において重篤な障害を生じる。細胞内への鉄の取り込み機構や細胞内エンドソームから細胞質への移行機序は明らかとなっているが、細胞質に移動した鉄が細胞質からミトコンドリア内へ、さらにミトコンドリアから細胞質への搬送過程は未だ十分には解明されていない。骨髄異形成症候群ではミトコンドリア内に鉄沈着を生じていることから、ミトコンドリアに移動した鉄の細胞質への移動が何らかの機序で阻害されていることが推測されている。先天性鉄芽球性貧血である、X染色体連鎖鉄芽球性貧血や脊髄小脳失調を伴うX染色体連鎖鉄芽球性貧血患者、Friedrich Ataxiaなどでミトコンドリアにおける鉄結合蛋白異常の知見が集積されてきたが、成人で見られる骨髄異形成症候群におけるミトコンドリア内鉄沈着に関しては一定の遺伝子異常が見いだされておらず未だその詳細が不明である。

## 2. 研究の目的

(1) 従来不明であった骨髄異形成症候群におけるミトコンドリア内鉄沈着がミトコンドリア膜の鉄トランスポーターの機能異常に起因することを明らかにする。

(2) 先天性の鉄芽球性貧血の一部で明らかにされつつあるミトコンドリア膜上に存在する鉄トランスポーターの機能異常の面から成人の骨髄異形成症候群におけるミトコンドリア内鉄蓄積を解析する。

(3) 現在まで不明であった骨髄異形成症候群のミトコンドリア鉄沈着について病因論的説明を加えることができるとともに、鉄沈着の改善が骨髄異形成症候群の治療に結びつくことが明らかとなれば、治療の標的分子となる可能性を示すことができる。

## 3. 研究の方法

(1) 代表的なミトコンドリア内鉄沈着を認める骨髄異形成症候群である環状鉄芽球を伴う不応性貧血症例のうち、明らかな染色体異常を認める患者骨髄細胞を用いて異常染色体に存在することが知られているミトコンドリア鉄トランスポーター遺伝子の存在をFISH法により検討する。

(2) 異常を認めた鉄トランスポーター

遺伝子が2本存在する対立遺伝子のうち活性化されている遺伝子上に存在していることをBrdUを用いた細胞分裂中期Gバンド染色法により明らかにする。

(3) 目的の遺伝子 mRNA の発現量を定量的 RT-PCR を用いて定量する。

(4) 明らかな染色体異常を有しない環状鉄芽球を伴う不応性貧血症例を含めて目的遺伝子 mRNA の発現量を同様に定量的 RT-PCR を用いて定量する。

## 4. 研究成果

(1) 染色体異常 isodicentric (X)(q13)を認める環状鉄芽球を伴う不応性貧血症例において、欠損しているX染色体 q13 近傍に存在する既知の鉄代謝関連遺伝子を検索した。その結果、ミトコンドリアにおける鉄トランスポーターとして報告されている ABCB7 遺伝子が Xq13 にコードされていることが明らかとなった。

(2) そこで、ABCB7 遺伝子が欠失していることを患者骨髄細胞を用いて FISH 法により検討した。2本存在するX染色体の内、正常X染色体では1対の ABCB7 遺伝子を認めたが、isodicentric (X)(q13) 染色体においては、本遺伝子は認められず、この染色体異常によって ABCB7 遺伝子が欠失していることが確認された

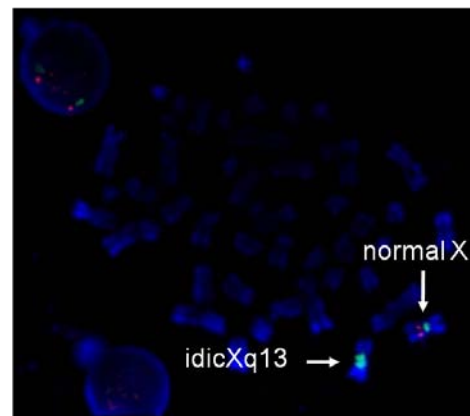


図1 isodicentric (X)(q13) 染色体における ABCB7 遺伝子の欠失 (緑; centromere、赤; ABCB7 遺伝子)

(3) 人のX染色体は正常では2本の内1本は活性化され他の1本は不活化されている。そこで、ABCB7 遺伝子の欠失している染色体が活性化状態にあるのか不活化されているのか明らかにするために、BrdUを用いた細胞分裂中期Gバンド染色を施行した。その結果、患者骨髄に認める正常X染色体と isodicentric (X)(q13) 染色体のいずれもが活

性化状態にあることが明らかとなった。

(4) 正常 X 染色体が活性化されてはいるものの、同時に ABCB7 遺伝子を欠く isodicentric (X)(q13) 染色体も活性化状態にあることから、患者骨髄細胞における ABCB7 遺伝子発現量が低下している可能性が考えられた。そこで、骨髄細胞から mRNA を抽出し ABCB7 遺伝子の発現量を定量的 RT-PCR 法にて定量した。図 2 に示すように、患者骨髄細胞における ABCB7 遺伝子の発現量はミトコンドリア内に鉄沈着を認めなかった他の血液疾患と比較して有意に減少していた。

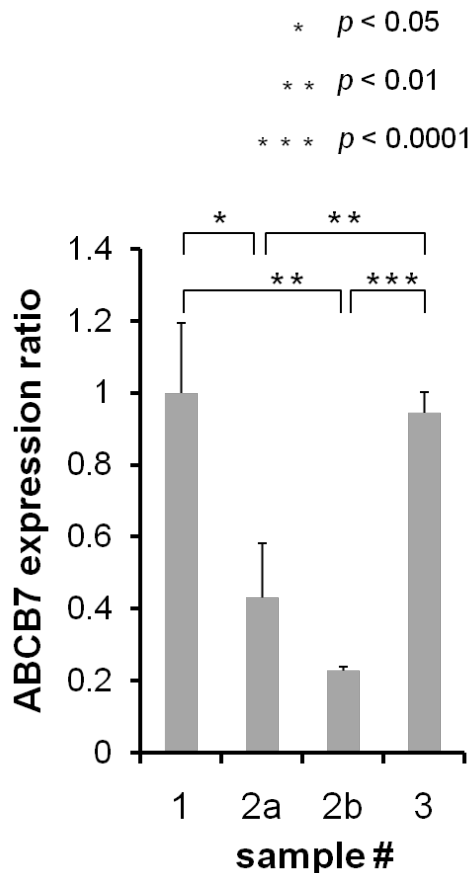


図 2 患者骨髄細胞における ABCB7 遺伝子 mRNA 発現量の低下 (1, 3:正常コントロール、2a, 2b; 患者)

(5) 明らかな染色体異常を認めない環状鉄芽球を伴う不応性貧血症例におけるミトコンドリア内鉄沈着に ABCB7 遺伝子発現量の低下が認められるかどうかを、同様に定量的 RT-PCR 法にて検討した。その結果、全症例とはいえないものの、一部には本遺伝子の発現低下が認められた。

(6) 以上、本研究において、後天性にミトコ

ンドリア内鉄沈着をきたす機序の一つとして、ミトコンドリア膜上に存在する鉄トランスporterである ABCB7 の発現低下が関与していることを明らかにした。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

- ① Sato K, Torimoto Y, Hosoki T, Ikuta K, Takahashi H, Yamamoto M, Ito S, Okamura N, Ichiki K, Tanaka H, Shindo M, Hirai K, Mizukami Y, Otake T, Fujiya M, Sasaki K, Kohgo Y. Loss of ABCB7 gene: pathogenesis of mitochondrial iron accumulation in erythroblasts in refractory anemia with ringed sideroblast with isodicentric (X)(q13). Int J Hematol. 2011;93:311-318. 査読有
- ② Ohnishi K, Torimoto Y, Ikuta K, Tanaka H, Hosoki T, Tanaka S, Hamano A, Sato K, Fujiya M, Sasaki K, Kohgo Y. Detection of soluble HFE associated with soluble transferrin receptor in human serum. Int J Mol Med 27: 435-439, 2011. 査読有
- ③ Hosoki T, Ikuta K, Shimonaka Y, Sasaki Y, Yasuno H, Sato K, Ohtake T, Sasaki K, Torimoto Y, Sato K, Kohgo Y. Heterogeneous expressions of hepcidin isoforms in hepatoma-derived cells detected using simultaneous LC-MS/MS. Proteomics Clin Appl. 2009;3:1256-1264. 査読有
- ④ Kohgo Y, Ikuta K, Ohtake T, Torimoto Y, Kato J. Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. Int J Hematol. 2008;88:7-15. 査読有
- ⑤ Kohgo Y, Ohtake T, Ikuta K, Suzuki Y, Torimoto Y, Kato J. Dysregulation of systemic iron metabolism in alcoholic liver diseases. J Gastroenterol Hepatol. 2008 Mar;23 Suppl 1:S78-81. 査読有

[学会発表] (計 12 件)

- ① Ikuta K, Hosoki T, Shimonaka, Sasaki Y, Yasuno H, Ohtake T, Sasaki K, Torimoto Y, Saito K, Kohgo Y. Diferric Transferrin-Sensed Hepcidin Upregulation in Human Hepatoma-Derived Cell Line Is Differentially Controlled in Each Isoform 20, 22, 25; Confirmation by a Novel Simultaneous Quantification by Liquid Chromatography/ Tandem Mass Spectrometry. The American Society of

Hematology. 51th Annual Meeting and Exposition. 2009: December 5-8, New Orleans LA, USA.

- ② Hosoki T, Ikuta K, Okamura N, Shindo M, Sato K, Ohtake T, Sasaki K, Torimoto Y, Kohgo Y. Changes of the expression of the genes involved in iron metabolism by the iron chelation therapy and phrebotomy in the iron overloaded mouse model. The Third Congress of the International BioIron Society (BioIron 2009) 2009; June 7-11, Porto, Portugal.
- ③ Ikuta K, Torimoto Y, Hosoki T, Jimbo J, Shindo M, Sato K, Ohtake T, Sasaki K, Kohgo Y. Changes of the expressions of the genes involved in iron metabolism by iron chelation therapy in iron overloaded mouse model. The American Society of Hematology. 50th Annual Meeting and Exposition. 2008: December 6-9, San Francisco CA, USA.
- ④ Torimoto Y: Symposium; Heme and Iron Metabolism. Body iron transport for erythropoiesis. The 8th International Porphyrin-Heme Symposium. 2008 October 16, 17, Matsue, Shimane, Japan
- ⑤ Ikuta K, Shimonaka Y, Hosoki T, Sasaki Y, Yasuno H, Okamura N, Shindo M, Ohtake T, Sasaki K, Torimoto Y, Sato K, Kohgo Y. A novel simultaneous quantification of hepcidin isoforms by liquid chromatography-mass spectrometry. 第71回日本血液学会学術集会(優秀演題)、2009年10月25日、京都
- ⑥ 細木卓明, 生田克哉, 伊藤巧, 岡村直香, 進藤基博, 佐藤一也, 大竹孝明, 佐々木勝則, 鳥本悦宏, 高後裕: 鉄過剰マウスモデルにおける鉄キレート療法および瀉血療法による鉄代謝関連分子の変化の検討. 第71回日本血液学会学術集会(優秀演題)、2009年10月25日、京都

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

鳥本 悦宏 (TORIMOTO YOSHIHIRO)  
旭川医科大学・医学部・准教授  
研究者番号: 00281882

### (2) 研究分担者

佐藤 一也 (SATO KAZUYA)  
旭川医科大学・医学部・講師  
研究者番号: 50360988

生田 克哉 (IKUTA KATSUYA)  
旭川医科大学・医学部・講師  
研究者番号: 00396376

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号: