

## CD63 は IRE-IRP を介して鉄によって制御されており、細胞外小胞によるフェリチン分泌に重要である

国立大学法人東海国立大学機構 名古屋大学大学院医学系研究科・生体反応病理学の築取いずみ(やなとり いずみ) 助教、豊國 伸哉(とよくに しんや) 教授、Des R Richardson (デス・リチャードソン) 客員教授よりなる研究グループは、細胞外小胞<sup>\*1</sup>(エクソソームやマイクロベジクル)のマーカーである CD63<sup>\*2</sup>の発現が Iron-regulatory protein (IRP)-Iron-responsive element (IRE)<sup>\*3</sup>システムを介した鉄により制御されており、細胞外小胞によるフェリチン<sup>\*4</sup>分泌に重要であることを発見しました。血液検査の血清フェリチン値は体内の鉄貯蔵の指標として使用されていますが、フェリチン遺伝子には分泌シグナルは存在せず、フェリチンがどのように分泌されているのかはこれまで謎でした。今回、フェリチンの細胞外への分泌が細胞外小胞によることが明らかとなり、さらにフェリチンを分泌するための細胞外小胞のマーカーであり、細胞外小胞の分泌過程に関わる CD63 遺伝子が、他の鉄代謝遺伝子と同様の転写後調節により翻訳時の制御を受けることがわかりました。また、鉄負荷後に分泌される細胞外小胞内のフェリチンには鉄が格納されていることを示しました。今後、種々の疾患における鉄代謝の理解に貢献することが期待されます。

本研究結果は科学誌「Blood」(2021年7月15日電子版)に掲載されました。

## ポイント

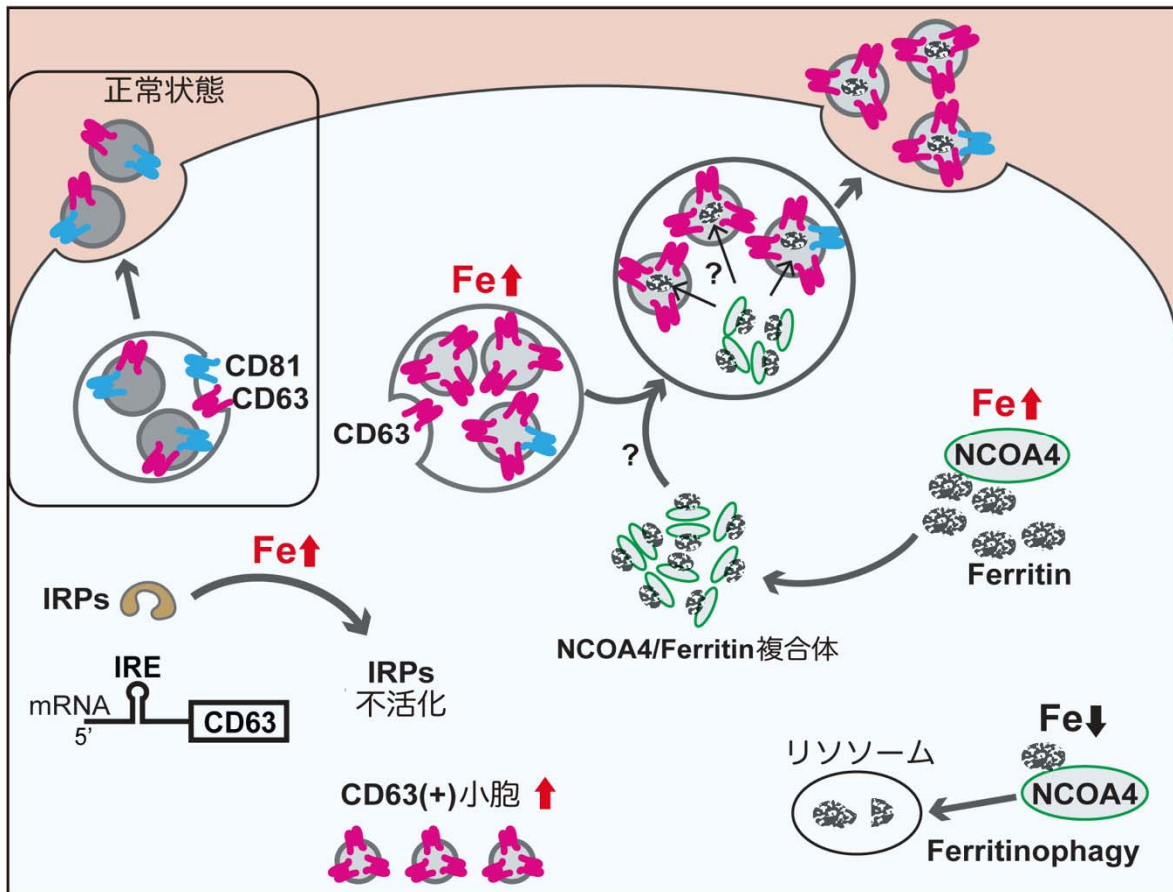
- CD63 は細胞外小胞の分泌に関わることが知られていたが、CD63 タンパク質の翻訳は IRE-IRP システムによる転写後制御を受けることが明らかになった。
- 鉄の負荷により CD63 陽性の細胞外小胞が分泌され、その中には鉄を格納したフェリチンが入っている。
- フェリチンの細胞からの分泌機構が分子レベルで明らかになった。

## 1. 背景

細胞外小胞はエクソソームとも呼ばれ、血液などの体液中に存在する膜構造に囲まれた直径が 50-150 nm 程度の球体であり、中にはタンパク質や核酸などさまざまな細胞内由来の生体物質が詰まっている。最近、その内部情報の解析により血液 1 滴からがんを診断することなどが可能になりつつある。CD63 は多くの細胞外小胞の膜に存在するマーカー分子であることが知られていた。一方、鉄はヒトなどの哺乳類動物にとって必須金属であり、ヘモグロビンによる酸素運搬だけでなく、DNA 合成や種々の酵素の補酵素となったり、ミトコンドリアでは電子伝達系を構成したりすることにより、多様な生命活動で重要な役割を果たしている。鉄欠乏は鉄欠乏性貧血を起こす一方、鉄過剰状態は発がんのリスクとなることが知られる。体内の鉄貯蔵の指標としては、血清中のフェリチン値が最も信頼できる指標とされてきたが、フェリチン遺伝子には分泌シグナルはなく、どのようにフェリチンが分泌されているのかは不明であった。

## 2. 研究成果

今回の実験では線維芽細胞、マクロファージ、がん細胞などの数種類の異なる培養細胞を使用した。IMR90SV 線維芽細胞に鉄を負荷すると CD63 タンパク質の発現が増加し、フェリチンを含む細胞外小胞が培地へ分泌された。このフェリチンには鉄が格納されていることを確認した。CD63 の発現制御機構を明らかにするために CD63 遺伝子に Iron-responsive element (IRE) という鉄制御に関連した塩基配列がないかを検討したところ、CD63 遺伝子の 5'※5 非翻訳領域に同配列を発見した。同様の配列が霊長類などにおいて保存されていることを確認した。次に、実際に Iron-regulatory protein 1 (IRP1) と IRP 2 が CD63 遺伝子のこの配列に結合することを確認した。また、NCOA4※6 が細胞内の CD63 陽性細胞外小胞と共局在し、フェリチンを細胞外小胞内に移行することを見いだした。鉄負荷状態においては、細胞外小胞によるフェリチンの分泌は NCOA4 に依存していた。



### 3. 今後の展開

今回、フェリチンの細胞外小胞を介した詳細な分泌機構が初めて明らかになりました。特に、細胞外小胞のマーカである CD63 が細胞内の鉄の多寡に依存する機構の解明は、今後、種々の疾患と鉄代謝の関係を明らかにするのに貢献すると考えられます。また、種によっては CD63 に IRE が存在しないことも判明し、進化に関連した研究への発展も期待されます。

### 4. 用語説明

- \*1 細胞外小胞 : 細胞から放出される核を持たない（複製できない）脂質二重膜で囲まれた粒子が細胞外小胞と定義されている。細胞外小胞は産生機構の違いから ①エクソソーム、②マイクロベシクル、③アポトーシス小胞に分類されている。
- \*2 CD63 : CD は Cluster Differentiation であり、膜タンパク質の登録に使用される略称である。CD63 は LAMP - 3 (Lysosomal-associated membrane protein 3) としても知られる、テトラスパニンファミリーに属する 30~60kDa の膜タンパク質である。細胞外小胞の膜に多く含まれるため、細胞外小胞のマーカや収集手段として使用されている。

- \*3 IRE-IRP システム : Iron-responsive element (IRE)と Iron-regulatory protein (IRP)によるシステムである。鉄代謝に関わるタンパク質の制御に関しては、遺伝子転写レベルのみならず、転写後においても制御が存在することが知られている。すなわち、遺伝子のメッセンジャーRNAの翻訳配列の前あるいは後ろに IRE [5'-CAG(U/A)GN-3'] と呼ばれる特定の配列が存在し、同部に鉄欠乏のセンサータンパク質である IRP1/2 が結合することで、翻訳を阻害したり、促進したりしている。
- \*4 フェリチン : 細菌を含むほぼすべての生物において、すべての細胞でつくられている鉄貯蔵のための球状タンパク質である。1分子に 4,000 程度の 3 価鉄イオンを貯蔵できる。重鎖あるいは軽鎖からなる 24 サブユニットから構成されている。血液などの体液中へ分泌されていることが知られて、特に血清フェリチンは鉄貯蔵の程度のマーカーとして使用される。しかしながら、これまでその分泌機構は不明であった。
- \*5 5' 側 : 遺伝子構造において、翻訳開始点の上流側のこと。
- \*6 NCOA4 : 核内受容体コアアクチベーター4 (NCOA4) nuclear receptor coactivator-4 は、NCOA4 遺伝子によってコードされるタンパク質である。カーゴ受容体として機能し、フェリチン重鎖に結合し、オートファゴソームの表面の ATG8 にラッチすることで、フェリチンから鉄を取り出すフェリチノファジーの過程で重要な役割を果たすことが知られる。

## 5. 発表雑誌

掲雑誌名 : Blood

論文タイトル : CD63 is Regulated by Iron via the IRE-IRP System and is Important for Ferritin Secretion by Extracellular Vesicles

著者 : Izumi Yanatori<sup>a</sup>, Des R. Richardson<sup>a,b</sup>, Herschel S. Dhekne<sup>c</sup>, Shinya Toyokuni<sup>a,d</sup>, Fumio Kishi<sup>e</sup>

所属 : <sup>a</sup> Department of Pathology and Biological Responses, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya 466-8550, Japan

<sup>b</sup> Centre for Cancer Cell Biology and Drug Discovery, Griffith Institute for Drug Discovery, Griffith University, Nathan, Brisbane, Queensland, 4212, Australia

<sup>c</sup> Department of Biochemistry, Stanford University School of Medicine, Stanford, 94305, CA, United States

<sup>d</sup> Center for Low Temperature Plasma Sciences, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa, Nagoya 464-8603, Japan

<sup>e</sup> Kenjinkai Healthcare Corporation, Yamaguchi, 757-0001, Japan

DOI : 10.1182/blood.2021010995

English ver.

[https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical\\_E/research/pdf/Blood\\_210715en.pdf](https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Blood_210715en.pdf)