フリー・ヘムによる遺伝子発現調節

佐々 茂

要約：ヘムタンパク質から遊離するフリー・ヘムはヘム・オキシゲナーゼによって、鉄イオン、ビリベルジン IX α , CO に分解される。この反応はこれまで代謝・分解反応として考えられて来たが、一方この酵素反応の結果(1) 酸化ストレスであるフリー・ヘム濃度が減少する事、(2) 鉄イオンはフェリチンの誘導を介して酸化ストレスを軽減する事、(3) ビリベルジン IX α およびその還元体であるビリルビン IX α はいずれも重要な抗酸化作用を示す事、(4) CO はストレスによる細胞死を抑制する事、などの事実も明らかになった。従ってヘムの代謝産物はいずれも酸化組織障害に防御的貢献をしている。すなわちヘム・オキシゲナーゼ活性、およびフリー・ヘムによるヘム・オキシゲナーゼ遺伝子の活性化はいずれも生体防御反応において重要な役割を果たしている。フリー・ヘムはさらにいろいろな遺伝子の活性化機構にも関与している事も明らかになり、この章ではフリー・ヘムの遺伝子活性化に及ぼす影響を概説した。ヘムによる遺伝子活性化機構の解明は組織防御を始めとする各種の重要な生体反応の理解に極めて重要であると考えられる。

近年ヘム代謝の持つ生物学的意義が生体防御という観点から新しく大きな注目を集めている。さらにフリーのヘムがいろいろな遺伝子の活性化あるいは制御機構に関わっている事も明らかになった(1)。そもそも *in vitro* でヘムとグロビンをインキュベートすると、 $5 \times 10^4 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ という速やか速度でヘモグロビンを生ずる。では *in vivo* で何故ヘムは代謝されねばならないのだろうか。これにはいくつかの重要な生物学的理由があると考えられる。まずフリーのヘムは強力な酸化剤であり、血中ヘム濃度が上昇すると血管壁を障害し、その反応として細胞表面に ICAM-1, VCAM-1,

E-selectin などが発現する事が問題である (図 1)。このような危険を回避するため、血流中のフリー・ヘムは肝臓で産生される血漿蛋白であるヘモペキシンと結合し、ヘム・ヘモペキシン複合体という形で、主としてマクロファージなどに発現している LRP/CD91 受容体に取り込まれ血流中から除去される。次いでフリーのヘモグロビンもフリー・ヘムを産生しやすい事、またそれ自身も酸化剤である事が問題である。ヘモグロビンはやはり肝臓で産生されるハプトグロビンにより、ヘモグロビン・ハプトグロビン複合体の形で CD163 受容体に運ばれ、血流中から除去される。このように急性炎症性変化に速やかに反応して産生が増加する事から、ヘモペキシンもハプトグロビンも acute phase reactant と呼ばれている。そのような観点からすると HO-1 も血漿蛋白ではないが広義の acute phase reactant と考えられる (図 1) (2)。

さてヘム・オキシゲナーゼには HO-1 および HO-2 の2種のアイソザイムが知られており、それぞれの組織分布、ストレス刺激に対する反応性が異なっている。すなわち HO-1 は主として肝実質細胞に分布し且つストレス刺激に対して速やかにその産生が高まるのに対し、HO-2 は頸動脈球 glomus 細胞などに分布し、ストレス刺激に対しては反応しない。従って HO-1 は acute phase reactant と同様に急性炎症性変化に速やかに反応し組織防御機構に重要な貢献をするのに対し、HO-2 は glomus 細胞の Ca^{2+} 感受性 potassium (BK) チャネルと機能的に干渉し、酸素感知機構に関わる。

HO-1 活性の上昇は炎症、重金属中毒、移植片拒絶、再還流障害などの各種の酸化組織障害において見られ、細胞防御的に重要な働きをしている事が明らかになった。たとえば敗血症、喘息などの炎症、心筋梗塞、動脈硬化、高血圧などの心循環器疾患、ischemia-re-

図1 ヘムおよびヘモグロビンの除去機構

フリー体のヘモグロビンおよびヘムが増加すると活性酸素 (ROS) の産生を促し、重大な血管壁障害を生ずる。この酸化的組織障害を防御するために、ヘモグロビンは肝臓で産生されるハプトグロビン (haptoglobin) により、ヘモグロビン・ハプトグロビン複合体の形でマクロファージなどに発現している CD163 受容体に取り込まれる。フリー・ヘムはやはり肝臓で産生される血漿蛋白であるヘモペキシンと結合し、ヘム・ヘモペキシン複合体という形でマクロファージなどに発現している LRP/CD91 受容体に取り込まれ血流中から除去される。その後ヘモグロビンもヘムも lysosome 中で代謝を受け、ヘム部分は HO を介してビリベルジン、CO、鉄原子に変換される。(文献 1、図 2 より改変)

perfusion injury, 移植片拒絶反応などにおいて HO-1 の活性を阻害したり、遺伝子発現を阻害すると組織障害が悪化し、逆に transgene による遺伝子過剰発現は組織防御的に働く (3)。組織防御反応における HO-1 の重要性はその酵素活性のみにあるのではなく、その遺伝子の速やかな transcriptional activation を生ずる点が重要である。HO-1 遺伝子、すなわち *hmx1* 遺伝子の活性化に拘わる転写因子には多数あることが知られており、少なくとも HSF1, NF- κ B, Nrf2 および AP-1 による *hmx1* 遺伝子の誘導が知られている (4)。*hmx1* 遺伝子について見られるこれら複数の転写因子による多様な遺伝子発現調節は、他に例を見ないほど *hmx1* 遺伝子について特徴的であり、正に *hmx1* 遺伝子の活性化を生ずる疾患の多種・複雑な事に対応している。言い換えれば細胞内のフリー・ヘム濃度の上昇に対する防御を完全にするためには複数の防衛機構を必要としていると考えられる。

hmx1 遺伝子の活性化に拘わる因子もその機序も

実に多様であり単純ではないが、その中で特に重要なものはフリー・ヘムによる *hmx1* 遺伝子活性化機構であろう。*hmx1* 遺伝子活性化は酸素ヘモグロビンでは起こらず、フリー・ヘムやメトヘモグロビン (容易にフリー・ヘムを生ずる) により起こるので、先ずヘムタンパク質が不安定になることが考えられるが、ヘムタンパク質は酸化的ストレスにより容易に変性してフリー・ヘムを生ずる事が知られている (5)。正常の細胞では Bach1 は Bach1-MafK heterodimer として *hmx1* 遺伝子の MARE 配列部位に結合し、遺伝子活性化を抑制している (6)。一方フリー・ヘム濃度が 0.03 μ M 以上になると Bach1-Maf K 複合物の DNA 結合は有意に減弱し、1 μ M 近辺で殆ど結合は見られなくなる。その代わり Nrf2-MafK heterodimer が MARE 部位に結合し、*hmx1* 遺伝子活性化を生ずる。ヘムの前駆体である ALA やチトクロム P450 を誘導するフェノバルビタールによる *hmx1* 遺伝子活性化も同様の機序で生ずると考えられる (図 2)。

図2 酸化的組織障害におけるHO-1遺伝子の活性化

各種の酸化的ストレスにより、ヘムタンパク質（たとえばCYP）は急速に不安定化し、遊離したフリー・ヘムはROSの産生を促す。一方フリー・ヘムは *hmx1* 遺伝子の MARE 部位に結合している Bach1 を Bach1-heme に変換する事によりその DNA 結合能を阻害し、*hmx1* 遺伝子には代わりに Nrf2 が結合し、その結果 *hmx1* 遺伝子が活性化される。*hmx1* 遺伝子の活性化の結果、ヘムからビリベルジン、CO、鉄原子が産生され、いずれも組織防御に貢献する。（文献7、図9より改変）

さてヘムはヘム・オキシゲナーゼによる代謝の結果、各1分子ずつの鉄、一酸化炭素（CO）、およびビリベルジンを生ずる。鉄はやはり acute phase reactant であるフェリチンの産生を促し、さらなる酸化剤による障害を防ぐ。一方COは soluble guanylate cyclase の遺伝子活性化を促進し、神経伝導や血管弛緩をもたらし、また血管内皮細胞のアポトーシスを抑える。さらにビリベルジンならびにその還元体であるビリルビンはいずれも強力なアンチオキシダントであり、つまりヘム代謝物はいずれもストレスによる細胞障害に対する防御機構に重要な働きをしている（図2）。

以上のような事から考えると、急性炎症、敗血症、移植片拒絶反応、重金属イオン中毒、などの酸化的ストレスによる障害をコントロールするには、いかにフリー・ヘムの増加を抑える事が出来るかが重要な課題となって来る。すなわち細胞内フリー・ヘム濃度の上昇を適切に制御する事により、急性炎症性変化、ストレス反応による障害を抑える事が出来ると考えられる。その為には *hmx1* 遺伝子を活性化する物質の探索、*hmx1* 遺伝子の過剰発現、Bach1 発現の抑制、Bach1

のDNA結合性の抑制、などの方法が考えられよう。たとえば予め *hmx1* 遺伝子を活性化しておくことと CCl₄ による肝障害が抑えられる事や、transgene により *hmx1* 遺伝子を過剰発現させておくと炎症がおさえられる事が知られている。

このようにヘムは単にヘムタンパク質の作用基やHOの基質としてのみ意味があるのではなく、生体の重要な反応に関わる各種 transcriptional regulation および signal transduction の調節分子として新しく認識されるべきであろう（図3）。

文 献

- 1) Sassa S. J Clin Biochem Nutr. 2006;38:138-155.
- 2) Mitani K, et al. Blood. 1992;79:1255-1259.
- 3) Ryter SW, et al. Physiol Rev. 2006;86:583-650.
- 4) Alam J, et al. Am J Respir Cell Mol Biol. 2007;36:166-174.
- 5) Nakahira K. Biochem Pharmacol. 2003;66:1091-1105.
- 6) Igarashi K, et al. Antioxid Redox Signal. 2006;8:107-118.
- 7) Takahashi T, et al. Curr Med Chem. 2004;11:1545-1561.