

DMT1的结构及其基因表达调控

于鹏¹ 钱忠明^{1,2} 段相林¹ 常彦忠¹¹河北师范大学生命科学学院 分子神经生物学与神经药理学研究所,石家庄 050016²香港理工大学 应用生物及化学科技学系,香港九龙)

1995年 Gruenheid等^[1]在筛选小鼠天然抗性的巨噬细胞蛋白1(natural resistant-associated macrophage protein 1, Nramp1)时,首次发现了与Nramp1基因同源性高达78%、具有相似的二级结构的天然抗性的巨噬细胞蛋白2(Nramp2)。同年Vidal等^[2]将人的Nramp2定位于染色体12q13上。之后,Gunshin等^[3]在大鼠十二指肠,Fleming等^[4]在小红细胞贫血症(microcytic anaemia, mk)小鼠中,几乎同时克隆到了二价阳离子转运蛋白(DCT1)基因,研究发现它与Nramp2具有相同的基因组组成和对离子的转运功能。为了更准确地描述这种蛋白的功能,将Nramp2/DCT1重新命名为DMT1^[5]。DMT1的发现,澄清了人们长期以来对肠铁吸收机理的认识,新的研究证实,肠腔内的三价铁在十二指肠细胞色素b(duodenal cytochrome b)作用下,还原为二价铁,再由DMT1将二价铁转运入肠粘膜细胞内,细胞内的二价铁由于膜铁转运辅助蛋白(hephaestin)的作用变成三价铁,再经过膜铁转运蛋白1(ferroportin1)介导由上皮细胞进入血液循环^[6]。新近的研究发现,异常增高的脑铁至少是某些神经退行性疾病(NDs)发病的起始原因^[7],脑铁代谢的研究已成为近年神经生物学和神经化学领域里一个十分热门的研究课题。DMT1在脑铁代谢中可能起着关键性的作用,它参与转铁蛋白介导铁的跨血脑屏障的运输^[8],可能是神经细胞主要的摄铁蛋白^[9],因此,DMT1基因的表达调控直接影响着人体外周铁代谢和脑铁代谢的平衡,对它的分子结构特征、表达调控的深入认识,将有助于进一步了解与铁代谢相关疾病的发病机理,为临床治疗提供重要的理论依据。

1. DMT1的分子结构

1.1 DMT1的基因结构

人的DMT1基因超过36 kb,包括17个外显子;鼠科动物DMT1的DNA结构与人的类似^[5]。1997年9月,日本的Kishi等^[10]克隆得到了人的全长DMT1 cDNA,证实该cDNA的核苷酸序列全长为4142 kb。通过核苷酸序列分析,结

果发现DMT1和Nramp1基因的相同序列高达64%。Lee等^[11]研究发现,DMT1基因比Nramp1基因在5'端多了一个外显子和内含子(exon和intron1),并在3'端延伸了一个外显子(exon17)和内含子(intron16),这从很大程度上说明了DMT1(>36 kb)和Nramp1(12 kb)长短不同的原因,此外,DMT1第3-15外显子之间的exon-intron交界处与Nramp1的第2-14外显子间同源;DMT1的5'调节区域缺少TATA盒(box),但是包含2个CCAAT盒、5个与金属硫蛋白Ⅱ基因类似的金属反应元件(metal response elements, MRE's)、3个SP1结合位点、2个Hif结合位点和1个单一的 γ -干扰素调控元件。经研究确定,DMT1基因中还有5个多态性现象,其中DMT1编码区1303C→A的突变导致亮氨酸→异亮氨酸的转换;但DMT1编码区1254T/C的突变并未导致氨基酸的转换;其余3处突变均出现在内含子中。除此以外,intron3中还存在一个多态微卫星。Lee等研究还发现,血色沉着病人的血色沉着病基因(hemochromatosis gene, HFE)正常或突变时,DMT1基因编码区域均正常,例如:曾经发现HFE基因正常的血色沉着病人DMT1有1303C→A的突变;还检测发现HFE正常或突变的血色沉着病人的DMT1没有差异,这些从基因水平表明DMT1变异与血色沉着病没有必然联系^[11]。

起初的研究认为,通过选择性剪接DMT1 3'端外显子可产生2种不同的mRNA:一种(Ⅱ)在mRNA 3'非翻译区域(untranslated region, UTR)含有铁反应元件(iron responsive element, IRE),为+IRE型DMT1;另一种(Ⅰ)则不具有IRE,为-IRE型DMT1。大量研究证实^[12],DMT1 3'端UTR内IRE与转铁蛋白受体(transferrin receptor, TfR)mRNA 3'端及铁蛋白(ferritin, Fn)mRNA 5'端IRE一致,是一个回文序列,形成柄-环状结构,这个结构通过一定的调控机制可保护DMT1 mRNA不被降解,但是后来Hubert等^[13]进一步研究发现,人、大鼠和小鼠DMT1基因具有2个选择性转录起始点,一个是以前未知的5'外显子1称为“ex-

on1A”，另一个是已知的外显子 1 则重命名为“exon1B”，exon1 后其余序列均相同。值得注意的是，exon1A 具有 AUG 密码子，且位于 exon2 的转录起始密码子阅读框内，因此 exon1A 型 DMT1 mRNA 可能编码 N 端具有扩展区域的 DMT1 蛋白。虽然人类与小鼠 exon1A 型 DMT1 基因序列只有 30% 相似，但是 N 端扩展区的氨基酸序列约有 66% 相同，这种保守性强有力的说明 exon1A 型是 DMT1 的一个特异亚型。总之，5' 端 exon1A、exon1B 和 3' 端 IRE、-IRE 的交互组合构成了 4 种不同的 DMT1 mRNA，尤其是 exon1A 型 DMT1 的发现为解释 DMT1 功能、基因表达及其复杂的调控机制提供了理论依据。

1.2 DMT1 的蛋白质结构

4 种类型的 DMT1 mRNA 在不同组织和细胞中编码产生 4 种 DMT1 蛋白，它们在不同组织中行使其不同的功能。总体而言，DMT1 是一跨膜糖蛋白，等电点为 6.02，分子量为 61456。在从细菌到人类的进化过程中，DMT1 具有高度保守性，鼠、猴、人的 DMT1 序列同源性较高，如猴子的 Nramp2a (+IRE 型) 和 Nramp2b (-IRE 型)^[11] 与人类 DMT1 氨基酸序列大约有 98% 相同。已有的研究证明，+IRE 型 DMT1 mRNA 编码产生的蛋白质由 561 个氨基酸组成，而 -IRE 型 DMT1 蛋白质由 568 个氨基酸组成，主要区别是 +IRE 型 DMT1 羧基端的 18 个氨基酸被 25 个新氨基酸替代所致。Exon1A 型 DMT1 阅读框内增加了一个 AUG 翻译起始密码子，使 DMT1 开放阅读框 ORF (open reading-frame) 延长了 29~31 个氨基酸 (此序列也具有保守性)^[12]。另有研究表明，DMT1 具有高度疏水性，是一个含 12 个跨膜 (transmembrane, TM) 区域的膜蛋白 (图 1)，氨基和羧基末端均位于胞质面，跨膜区域含带电荷的氨基酸。在 TM7-TM8 间存在一个亲水性的细胞外环，约 20~46 个氨基酸残基，偶联着天冬氨酸糖基化位点，如果 DMT1 基因缺失 exon10 或 exon12，那么编码产生的蛋白质将分别缺少 TM7 或 TM8，从而严重破坏 DMT1 蛋白质结构^[11]；与之相邻的 TM9-TM10 是一个转运信号，位于胞质面，具有保守性，最初就是用这段区域定位 DMT1 蛋白的 12 个跨膜片段的^[12]；如果 TM4 发生点突变，也会影响 DMT1 的功能，如 mk 小鼠及 Belgrade 大鼠中 TM4 (氨基端 185 位) 甘氨酸突变为天冬氨酸，导致 DMT1 生理功能丧失，进而造成铁代谢紊乱^[14]。

此外，虽然 DMT1 和 Nramp1 序列 66% 残基相同，但细胞质中二者氨基端却只有 21% 序列相同，这表明 DMT1 氨基端可能具有与 Nramp1 分子氨基端不同的特殊功能^[10]。



图 1 二价金属转运蛋白结构示意图 (引自 Andrews N C. The iron transporter DMT1. Int J Biochem Cell Biol. 1999;31:991-994)

2. DMT1 基因的表达调控机制

2.1 IRE 与 IRP 结合的转录后调控机制

人们普遍认为，影响 DMT1 基因表达的各种因素都是通过转录后调控发挥作用的。现已证明 Fn、TfR mRNA 上的柄-环状的结合位点 IRE 能结合一种铁敏感蛋白-IRE 结合蛋白 (IRE BP 或 IRP)^[13]。IRP 的功能与细胞内铁含量的高低密切相关。IRP 通过与 Fn mRNA 和 TfR mRNA 结合，在翻译水平对铁代谢进行调控。当细胞内铁含量减少时，IRP 与 mRNA 特异性亲和力较高，与 Fn mRNA 5' 端和 TfR mRNA 3' (图 2) 端 UTR 内的 IRE 结合，并影响其侧翼核苷酸链的空间构象，从而使相应的 mRNA 5' UTR (如 Ferritin mRNA) 不能翻译，降低该蛋白质的表达；或者保护 3' UTR (如 TfR mRNA) 不被降解，增强 mRNA 的稳定性，延长其半衰期，从而使 TfR 的表达增多，细胞外的 Fe-Tf 能更多地被内吞入胞内，结果使细胞内铁含量增加，改善缺铁状态，达到铁稳态。高铁状态时，情况恰好相反 (图 3)。通过这种 IRP 与 mRNA 多位点接触的形式特异性结合，使细胞内铁的浓度发生变化并以最快的速度调控铁调节蛋白的合成，从而控制细胞摄取铁，稳定体内的铁水平。

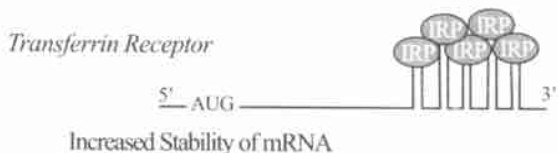


图 2 低铁状态：低铁时 IRP 与 TfR mRNA 3' 端 IRE 结合，稳定 mRNA

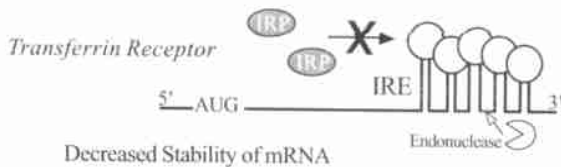


图 3 高铁状态：高铁时 IRP 与 TfR mRNA 3' 端 IRE 解离，降解 mRNA

由于 DMT1 mRNA 与 TfR mRNA 结构很相似，3' 端都存在 IRE (只不过 TfR mRNA 具有 5 个 IRE，而 DMT1 mRNA 仅有 1 个 IRE^[13])，且 +IRE 型 DMT1 也对铁变化敏感并具有细胞特异性^[17]，因此推测二者的 IRE-IRP 式的调控机制相同：即低铁状态下，+IRE 型 DMT1 mRNA 3' 端 IRE 与 IRP 紧密结合，稳定 +IRE 型 DMT1 mRNA，使 DMT1 表达增加，铁摄取增强；高铁状态下，IRE 不与 IRP 结合，DMT1 mRNA 被降解，使 DMT1 表达减少，铁摄取降低。由此可维持体内铁含量的动态平衡。有人在缺铁动物中观察到脑、小肠内 DMT1 表达增加，这一事实验证了 IRE-IRP 的转录后调控机制^[11-13]。但是，当 DMT1 mRNA IRE 的环部具有 5'-CAGUGN-3' 序列时，IRE 的柄部凸出部位的碱基就有些与众不同^[19]，而且 DMT1 mRNA 与 TfR mRNA 又不完全相同，所以在缺铁状态下，DMT1 mRNA 的增量调节是否通过

典型的 IRP-IRE 机制调控仍不十分清楚。

2.2 exon1A 参与的转录后调控机制

随着研究的不断深入,越来越多的研究结果表明,IRE-IRP 结合模式远远不能解释 DMT1 基因表达及其调控的复杂性。至 2002 年,Hubert 等^[13]揭示不同组织细胞内存在 4 种类型的 DMT1 mRNA 及其合成的 4 种蛋白质,认为位于 5' 端的 exon1A 和 3' 端的 IRE 两个调控区域参与 DMT1 基因表达调控,并且 exon1A 型或+IRE 型 DMT1 mRNA 的表达具有组织特异性,即在不同的组织细胞中 exon1A 型或+IRE 型 DMT1 所占比例不同,所以 DMT1 的基因表达调控除了涉及至少两个调控区域外,还与两个调控区域在不同的组织内发挥不同的作用有关。虽然 exon1A 的具体调控机制还未见报道,但是 exon1A 的发现揭开了 DMT1 基因表达和调控之谜,加深了人们对哺乳动物铁代谢生理学、细胞生物学和病理生理学的理解。

2.3 DMT1 基因表达在转录水平的调控机制

从 DMT1 结构来看,5' 调控区有 CCAAT 盒和 SP1 结合位点,它们可决定启动子的转录方向和速率;并且 DMT1 金属反应元件可以被多种金属离子或糖皮质激素激活,从而改变基因的转录效率;此外, γ -干扰素调控元件可以在干扰素存在下增强启动子的转录,进一步增强 DMT1 的基因表达,因此,DMT1 基因表达在转录水平也受到一定的调控。

3. 影响 DMT1 基因表达的因素

DMT1 可转运 Fe^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Co^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 和 Pb^{2+} 等二价金属离子^[20,21]。这些金属离子通过 DMT1 进行竞争性转运,当机体内金属离子浓度发生变化时,DMT1 的基因表达也发生相应的变化,以调整对这些金属离子的转运,从而使金属离子在体内始终保持相对稳定的水平,以维持机体正常的生理功能。

3.1 铁对 DMT1 基因表达的调控作用

研究表明:一方面,DMT1 能主动转运 Fe^{2+} ,尤其是转运细胞表面 Fe^{3+} 还原产生的 Fe^{2+} ,或者是内吞小体腔内的 Fe^{2+} ,且在低 pH 值(pH 6.0)时 DMT1 转运功能最佳^[5];另一方面,DMT1 还受机体或细胞内铁浓度高低的调控。

低铁对 DMT1 基因表达的调控机制比较复杂。研究发现,饮食铁缺乏可以增加脑、十二指肠和其它组织中 DMT1 的表达,提示 DMT1 mRNA 的表达受控于饮食和/或组织铁的含量。已经证实肠细胞中 DMT1 的表达受铁状态(status)的调控^[17,18],遗传性血色沉着病患者中 DMT1 表达增强,对饮食中铁的吸收增加^[22,23]。对缺铁大鼠肠上皮细胞用 Northern blot 检测发现 DMT1 mRNA 水平显著高于正常组,推测是由于铁被吸收入体内首先需要由 DMT1 摄取铁,所以在缺铁的情况下为了维持体内铁含量的动态平衡,十二指肠中 DMT1 mRNA 强烈增多。还有人通过研究不同类型细胞中 DMT1 mRNA 的表达来探讨铁对 DMT1 mRNA 的调控机制,发现仅+IRE 型 DMT1 对铁处理具有特异敏感性。还有研究者检测低铁饲喂怀孕的大鼠胎盘中铁转运蛋白的表

达情况并检测了缺铁对铁跨过 BeWo 细胞层转运的影响,结果+IRE 型 DMT1 表达增加,而-IRE 型 DMT1 没有任何变化^[24]。这些现象表明 DMT1 的基因表达是 IRE-IRP 结合机制调控的结果。有人对 3'-UTR IRE 与铁敏感结合蛋白(IRP1 和 IRP2)的交互作用进行了进一步研究,发现 DMT1-IRE 与 IRP1 的亲和力比 IRP2 的亲和力高,IRP1 和 IRP2 在亲和力上的差别也曾经在 TfR、5-氨基乙酰丙酸红血球合成酶、线粒体顺乌头酸酶的 IRE 中报道过。由此推测:铁对 DMT1 mRNA 的调控除了其他一些未知因素外,还与 IRP1 结合到转铁蛋白 mRNA IRE 上进行转录后调控有关。但是据 Hubert 等^[13]报道,铁对 DMT1 基因表达的调控具有细胞特异性:+IRE 型 DMT1 mRNA 在 CaCo-2 细胞内受铁调控,而在人 293 细胞或 HeLa 细胞内不受铁调控,又鉴于 exon1A 的特异性细胞分布及 DMT1 在受铁调控的细胞内表达的事实,因此推测铁调控 DMT1 基因表达除上述机制外,还可能与不同细胞/组织中 DMT1 mRNA 5' 端 exon1A 的存在与否及 3' 端剪接方式有关。

高铁对 DMT1 的基因表达调控基本上符合 IRE-IRP 调控机制,研究遗传性铁超载障碍的小鼠 DMT1 基因表达^[25]表明,在类似人血色沉着病的铁超载动物中,DMT1 表达不增加;体外人肠 CaCo-2 细胞长期置于高铁环境中,DMT1 mRNA 的水平下降^[23,26,27];非铜蓝蛋白血症小鼠具有内脏铁超载和铁缺乏性贫血症的双重特征,但在十二指肠中 DMT1 基因表达并不增加^[28];Ducic 等^[29]对 4 种品系小鼠饲喂高铁饲料后 DMT1 mRNA 的表达明显降低。可见高铁可通过 IRE-IRP 结合机制发挥调控作用。低转铁蛋白血症小鼠与正常小鼠相比,DMT1 在绒毛刷状缘处表达较多,这表明即使在全身铁超载的情况下,红细胞系中铁缺乏也会引起 DMT1 表达增加^[25]。但是,Wardrop 等^[19]研究发现 LMTK 细胞与铁螯合剂-DFO 及铁供体-柠檬酸铁铵孵育 20 h 后,DMT1 mRNA 的表达没有变化,表明 LMTK 2 纤维原细胞中参与从低分子量复合物中摄取铁 of DMT1 表达不符合 IRP-IRE 调控机制,但确切机制如何目前尚未见报道。

3.2 锌对 DMT1 基因表达的调控作用

DMT1 除了能摄取铁及在细胞内转运铁之外,还能转运锌等多种金属离子。体外实验中,适当增加锌浓度并不影响细胞摄取铁离子,说明 DMT1 对锌、铁的转运是相对独立的。Yamaji 等^[30]也报道,50 $\mu\text{mol/L}$ 或 100 $\mu\text{mol/L}$ 锌并不影响 DMT1 的表达,但是高浓度锌(200 $\mu\text{mol/L}$)能使 DMT1 mRNA 及其蛋白表达增强,而且这种增量调节具有 pH 依赖性。其机制尚不十分清楚,有学者推测除了锌的摄取并不完全依赖于 DMT1 转运外,还可能是由于类似 IRE-IRP 的调控机制调控 DMT1 基因表达的缘故。

3.3 镉对 DMT1 基因表达的调控作用

在十二指肠内 DMT1 摄取二价金属离子,甚至包括有毒金属-镉。近来,Tallkvist 等^[31]用人肠吸收细胞实验模型研究 Cd^{2+} 的吸收与 DMT1 基因表达的相关性,用铁处理长成单层且完全分化的 CaCo-2 细胞 1、3、7 d 后,分别检测 Cd^{2+}

通过 CaCo-2 单细胞层转运以及 DMT1 基因表达的情况, 结果发现: 1 d 时, 观察不到 Cd^{2+} 跨过单细胞层进行转运的现象; 3 d 和 7 d 时, Cd^{2+} 开始进入 CaCo-2 细胞内, 但是摄取量约为未经铁处理的细胞的 50%, 并检测到 Cd^{2+} 从细胞内跨过基底膜的转运下降了 75%, 同时发现, DMT1 的基因表达在 3 d 和 7 d 时也下降了约 50%, 这表明铁、镉的吸收与 DMT1 的基因表达基本一致。

Leazer 等^[32]研究发现, 怀孕大鼠比不怀孕大鼠对镉的需求增多, Cd^{2+} 摄取量增加。如果在妊娠期(gd)19 d 时给大鼠口服 $CdCl_2$, 于 gd20 d 时用分支 DNA 信号放大的方法检测十二指肠、肝脏和肾脏内 DMT1 mRNA 的水平, 发现 gd20 d 的怀孕大鼠体内 DMT1 mRNA 水平是非怀孕大鼠的 6 倍, 而且从 gd15 d 至 gd21 d, 怀孕大鼠体内 DMT1 mRNA 的水平一直呈上升趋势。同时发现随着对镉需求的增多, 与其吸收相关的 DMT1 的表达也发生了相应的变化。

3.4 铜对人肠 CaCo-2 细胞内 DMT1 基因表达的调控作用

到目前为止, 铜对 DMT1 基因表达影响的报道不一。Han^[33]等研究证实, 铜浓度的高低对 CaCo-2 细胞游离面的铁摄取和跨膜转运具有一定的影响, 被铜饱和的细胞内铁跨过单层细胞的转运和铁摄取量均增加, 铜浓度增加, 细胞内 DMT1 基因表达也增加, 表明 DMT1 参与了铜调控的铁吸收过程。而 Tennant 等^[34]研究发现, 将 CaCo-2 细胞置于高铜环境 24 h 后, DMT1 mRNA 及其蛋白表达均降低。

3.5 其他因素对 DMT1 基因表达的调控作用

调控 DMT1 基因表达的因素有很多, 除上述因素外, DMT1 还受发育等因素的调控。Williams 等^[35]研究发现, 大鼠在生后 14 d 和 30 d 时, 小脑的蒲肯野细胞和颗粒细胞中出现 DMT1 mRNA, 并在 14 d 时还发现小脑外颗粒层中有 DMT1 表达; Northern 印迹结果显示, 从生后 1 d 到生后 21 d, 小脑中 DMT1 mRNA 水平没有变化。

Williams 等研究还发现, 新生大鼠中, 蛋白激酶 C 活化可增强肾脏上皮细胞 DMT1 的表达, 但是不增加星形胶质细胞 DMT1 的表达, 这表明 DMT1 基因表达与蛋白激酶 C 的活化有一定联系。Olivi 等^[36]研究也发现蛋白激酶 C 触媒剂 PDBu 处理 Madin-Darby 肾细胞一夜后, DMT1 mRNA 增多, 但不是新转录的 DMT1 mRNA 增多, 表明 PDBu 并非通过活化转录使 DMT1 mRNA 增多, 而更可能是由于 PDBu 处理细胞后, 其 mRNA 的降解速率减慢, 从而稳定了 DMT1 mRNA 的结果, 但是具体机制需要进一步探讨。

Wardrop 等^[19]研究发现 NO 与 DMT1 基因表达间的联系, 他们将小鼠纤维原细胞系(LMTK)与 NO 供体-SNAP 孵育 20 h 后, 发现 DMT1 mRNA 表达没有什么变化, 相反, SNAP 导致了 IRP 的 RNA 结合活性和 TfR mRNA 表达的显著变化。这说明: NO 能增加 TfR mRNA 表达, 但是对 DMT1 mRNA 的表达并没有影响。推测, LMTK 中 DMT1 mRNA 表达的调控方式与 TfR mRNA 的表达调控方式不同, 但也可能是 DMT1 mRNA 只有 1 个 IRE, 对环境的变化不如具有 5 个 IRE 的 TfR mRNA 敏感, 可能需要更长的时

间来对环境的改变作出反应^[33]。Wang 等^[37]在大鼠脑室内注射 kainate 后, 海马内出现铁的累积现象, 这可能与 DMT1 的表达增加有关, 但其具体机制还不清楚。

4. DMT1 的研究展望

研究证明, DMT1 基因发生突变会导致体内铁代谢紊乱, 例如 Belgrade 大鼠的铁释放障碍性贫血、mk 小鼠的小红细胞性贫血、人的缺铁性贫血等就是由于 DMT1 发生点突变所致^[3, 38]; 还有研究证明, DMT1 存在缺陷与脑铁失衡及 NDs 中神经元死亡有关^[3], 这些表明 DMT1 在铁代谢中发挥着重要作用。虽然 DMT1 在铁代谢和 NDs 领域中的研究越来越受到重视, 但是以往的研究多集中于 DMT1 的基因表达和调控机制, 侧重肠铁吸收机理的研究, DMT1 在其他系统如中枢神经系统中的研究还较少^[39]。此外, DMT1 在不同条件下的具体调控方式如何?—IRE 型 DMT1 是如何调控自身表达? 为什么 DMT1 在帕金森病人脑部出现异常表达? 这些均需要深入研究。最近的研究表明在具有铁缺陷或遗传性血色素沉着病的患者 DMT1 表达增加, 但至今关于 DMT1 基因表达与体内铁水平变化间的关系还处于假设阶段, 缺乏直接的证据。此外, DMT1 是铁进入机体内环境的一个重要门户, DMT1 缺陷型动物对饮食铁吸收不良, 这就意味着, 药理学方法控制或治疗 DMT1 功能可能达到调控铁吸收的作用, 曾发现患遗传缺铁性贫血症的一部分病人存在 DMT1 基因表达或功能方面的缺陷, 抑制 DMT1 功能可为治疗铁超载紊乱疾病提供新的途径。尽管现在还不清楚如何增强铁缺乏病人 DMT1 的功能, 但是理论上有望发现 DMT1 的低分子量抑制剂, 可将其连接到不易被吸收的物质上。从这方面讲, DMT1 的抑制剂可以在不抑制其他组织和网织红细胞中 DMT1 功能情况下, 专一定向到胃肠吸收细胞表面。上述问题解决将为开发新药物、制订有效治疗方案以及抑制铁相关疾病提供理论与实验依据。

(收稿 2003-05-15)

参 考 文 献

- [1] Gruenheid S, Cellier M, Vidal S *et al.* Identification and characterization of a second mouse Nramp gene. *Genomics*. 1995; 25:514-525
- [2] Vidal S, Belouchi AM, Cellier M *et al.* Cloning and characterization of a second human NRAMP gene on chromosome 12q13. *Mamm Genome*, 1995;6:224-230
- [3] Gunshin H, Mackenzie B, Berger UV *et al.* Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature*, 1997;388:(6641):482-488
- [4] Fleming MD, Trenor CC 3rd, Su MA *et al.* Microcytic anaemia mice have a mutation in Nramp2, a candidate iron transporter gene. *Nat Genet*, 1997;16:383-386
- [5] Andrews NC. The iron transporter DMT1. *Int J Biochem Cell*

- Biol, 1999;31:991-994
- [6] 蒋达和, 钱忠明. 小肠铁吸收机制及相关疾病研究进展. 中华医学杂志, 2001;81:1533-1535
- [7] 钱忠明. 脑铁代谢和神经变性疾病. 生理科学进展, 2002;33:197-203
- [8] 常彦忠, 袁其朋, 钱忠明. 转铁蛋白-转铁蛋白受体系统在药物运输和定向给药中的应用. 科学通报, 2003;48:213-217
- [9] 常彦忠, 钱忠明. 铜蓝蛋白与脑铁代谢. 生理科学进展, 2002;33:101-105
- [10] Kishi F, Tabuchi M. Complete nucleotide sequence of human NRAMP2 cDNA. Mol Immunol, 1997;34:839-842
- [11] Lee PL, Gelbart T, West C *et al.* The human nramp2 gene: Characterization of the gene structure, alternative splicing, promoter region and polymorphisms. Blood Cells Mol Dis, 1998;24:199-215
- [12] Qian ZM, Wang Q. Expression of iron transport proteins and excessive iron accumulation in the brain in neurodegenerative disorders. Brain Res Rev, 1998;27:257-267
- [13] Hubert N, Hentze MW. Previously uncharacterized isoforms of divalent metal transporter (DMT)-1: Implications for regulation and cellular function. Proc Natl Acad Sci USA, 2002;99:12345-12350
- [14] Zhang L, Lee T, Wang Y *et al.* Heterologous expression, functional characterization and localization of two isoforms of the monkey iron transporter Nramp2. Biochem J, 2000;349(Pt 1):289-297
- [15] Picard V, Govoni G, Jabado N *et al.* Nramp 2 (DCT1/DMT1) expressed at the plasma membrane transports iron and other divalent cations into a calcein-accessible cytoplasmic pool. J Biol Chem, 2000;275(46):35738-35745
- [16] 李昕全, 郑敏. 铁效应元件结合蛋白的双重功能. 生命的化学, 1995;15:23-24
- [17] Gunshin H, Allerson CR, Polycarpou-Schwarz M *et al.* Iron-dependent regulation of the divalent metal ion transporter. FEBS Lett, 2001;509:309-316
- [18] Gruenheid S, Canonne-Hergaux F, Gauthier S *et al.* The iron transport protein NRAMP2 is an integral membrane glycoprotein that colocalizes with transferrin in recycling endosomes. J Exp Med, 1999;189:831-841
- [19] Wardrop SL, Richardson DR. The effect of intracellular iron concentration and nitrogen monoxide on Nramp2 expression and non-transferrin-bound iron uptake. Eur J Biochem, 1999;263:41-49
- [20] Roth JA, Horbinski C, Feng L *et al.* differential localization of divalent metal transporter 1 with and without iron response element in rat PC12 and sympathetic neuronal cells. J Neurosci, 2000;20:7595-7601
- [21] I Bannon D, Portnoy ME, Olivi L *et al.* Uptake of lead and iron by divalent metal transporter 1 in yeast and mammalian cells. Biochem Biophys Res Commun, 2002;295:978-984
- [22] Fleming RE, Migas MC, Zhou X *et al.* Mechanism of increased iron absorption in murine model of hereditary hemochromatosis: Increased duodenal expression of the iron transporter DMT1. Proc Natl Acad Sci USA, 1999;96:3143-3148
- [23] Sharp P, Tandy S, Yamaji S *et al.* Rapid regulation of divalent metal transporter (DMT1) protein but not mRNA expression by non-haem iron in human intestinal CaCo-2 cells. FEBS Lett, 2002;510:71-76
- [24] Gambling L, Danzeisen R, Gair S *et al.* Effect of iron deficiency on placental transfer of iron and expression of iron transport proteins *in vivo* and *in vitro*. Biochem J, 2001;356(Pt 3):883-889
- [25] Canonne-Hergaux F, Levy JE, Fleming MD *et al.* Expression of the DMT1 (NRAMP2/DCT1) iron transporter in mice with genetic iron overload disorders. Blood, 2001;97:1138-1140
- [26] Talkvist J, Bowlus CL, Loennerdal B. Functional and molecular responses of human intestinal CaCo-2 cells to iron treatment. Am J Clin Nutr, 2000;72:770-775
- [27] Martini LA, Tchack L, Wood RJ. Iron treatment downregulates DMT1 and IREG1 mRNA expression in CaCo-2 cells. J Nutr, 2002;132:693-696
- [28] Yamamoto K, Yoshida K, Miyagoe Y *et al.* Quantitative evaluation of expression of iron-metabolism genes in ceruloplasmin-deficient mice. Biochim Biophys Acta, 2002;1588:195-202
- [29] Dupic F, Fruchon S, Bensaid M *et al.* Duodenal mRNA expression of iron related genes in response to iron loading and iron deficiency in four strains of mice. Gut, 2002;51:648-653
- [30] Yamaji S, Tennant J, Tandy S *et al.* Zinc regulates the function and expression of the iron transporters DMT1 and IREG1 in human intestinal CaCo-2 cells. FEBS Lett, 2001;507:137-141
- [31] Talkvist J, Bowlus CL, Lonnerdal B. DMT1 gene expression and cadmium absorption in human absorptive enterocytes. Toxicol Lett, 2001;122:171-177
- [32] Leazer TM, Liu Y, Klaassen CD. Cadmium absorption and its relationship to divalent metal transporter-1 in the pregnant rat. Toxicol Appl Pharmacol, 2002;185:18-24
- [33] Han O, Wessling-Resnick M. Copper repletion enhances apical iron uptake and transepithelial iron transport by CaCo-2 cells. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2002;282:G527-G533
- [34] Tennant J, Stansfield M, Yamaji S *et al.* Effects of copper on the expression of metal transporters in human intestinal CaCo-2 cells. FEBS Lett, 2002;527:239-244
- [35] Williams K, Wilson MA, Bressler J. Regulation and developmental expression of the divalent metal-ion transporter in the rat brain. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2000;46:563-571
- [36] Olivi L, Sisk J, Bressler J. Involvement of DMT1 in uptake of Cd in MDCK cells; role of protein kinase C. Am J Physiol Cell Physiol, 2001;281:C793-800
- [37] Wang XS, Ong WY, Connor JR. A light and electron microscopic study of divalent metal transporter-1 distribution in the rat hippocampus, after kainate-induced neuronal injury. Exp Neurol, 2002;177:193-201
- [38] Fleming MD, Romano MA, Su MA *et al.* Nramp2 is mutated in the anemic Belgrade (b) rat: evidence of a role for Nramp2 in endosomal iron transport. Proc Natl Acad Sci USA, 1998;95:1148-1153
- [39] 柯亚, 钱忠明. 二价金属离子转运蛋白1-一个新发现的重要铁转运蛋白. 生物化学与生物物理进展, 2002;29:184-188