

感染症における鉄代謝～宿主，病原体， 抗微生物薬の視点から～

茂呂 寛

新潟大学医歯学総合病院感染管理部*

受付日：2018年8月28日 受理日：2018年10月26日

鉄は生体にとって必須の金属元素であるが、有害にもなる二面性をもち、生体内で厳密に管理されている。一方、鉄は細菌にとっても不可欠な栄養素であり、鉄に親和性の高い小分子シデロフォアを産生し、鉄を捕捉、回収することにより効率良く鉄を獲得する仕組みをもっている。今世紀初頭に鉄代謝の主要な調節因子であるヘプシジンが発見されて以降、さまざまな病態における鉄の関与が明らかになった。ヘプシジンは感染症発症の際に、インターロイキン6 (IL-6) を介した刺激により肝細胞で産生され、鉄の輸送体であるフェロポルチンに結合して分解を促すことにより、小腸上皮細胞やマクロファージからの鉄の運搬を抑制し、結果として血清鉄濃度を低下させる方向に作用する。感染症に伴う血清鉄濃度の低下や二次性貧血は以前より経験的に知られていたが、ヘプシジンの作用によるものとして理解されるとともに、感染症に伴う鉄代謝の調整は、細菌の鉄獲得を制限することによりその増殖を抑制する、宿主による防御能の一環とも捉えられる。ヘプシジン以外の宿主側がもつ鉄調整因子としては、細菌が産生したシデロフォアへの結合により細菌における鉄取り込みを阻害するリポカリン2や、ファゴソーム内の鉄濃度を調整するNramp1が知られている。シデロフォアは細菌表層上のレセプターを介して菌体内に取り込まれるが、この機序を標的とした抗菌薬の開発が進められてきた。セファロsporinにシデロフォア構造を側鎖にもつcefiderocol (S-649266) は、菌側の鉄輸送経路を利用して能動的に外膜を透過することが可能であり、耐性グラム陰性菌に対する優れた抗菌活性が報告されている。このように、鉄代謝という新たな軸により感染症の病態を捉え直すことによって、病態のさらなる理解に加え、診療の分野への応用が期待される。

Key words: hepcidin, siderophore, lipocalin 2, Nramp 1, cefiderocol

はじめに

薬剤耐性菌が蔓延し、抗菌薬の開発が停滞する中で、感染症に対し、従来とは異なるアプローチが求められている。本稿では、以前より感染症とのかかわりが知られていながら、2000年代以降、急激に理解が深まっている金属元素、鉄に焦点を当て、宿主側の鉄調節機構、感染症における宿主と細菌との鉄の奪い合いに加え、実臨床への応用の取り組みについて概説する。

1. ヒトと細菌、それぞれにとっての鉄の役割

鉄はヒトにとって不可欠の栄養素であり、多くの細胞プロセスにおいて重要な機能を果たしている。体内の総量は4～5 gと金属元素の中で最多を占め、その内訳としては約70%がヘモグロビンの構成元素として用いられ酸素の運搬を担うとともに、筋肉のミオグロビン、肝臓や網内細胞系での貯蔵鉄などの形で存在する。1日あたり喪失する鉄量は0.5～1 mgにとどまるため、十二指腸の近位部から新たに吸収される鉄はわずかな量にとどまり、生体内の鉄

*新潟県新潟市中央区旭町通1-754

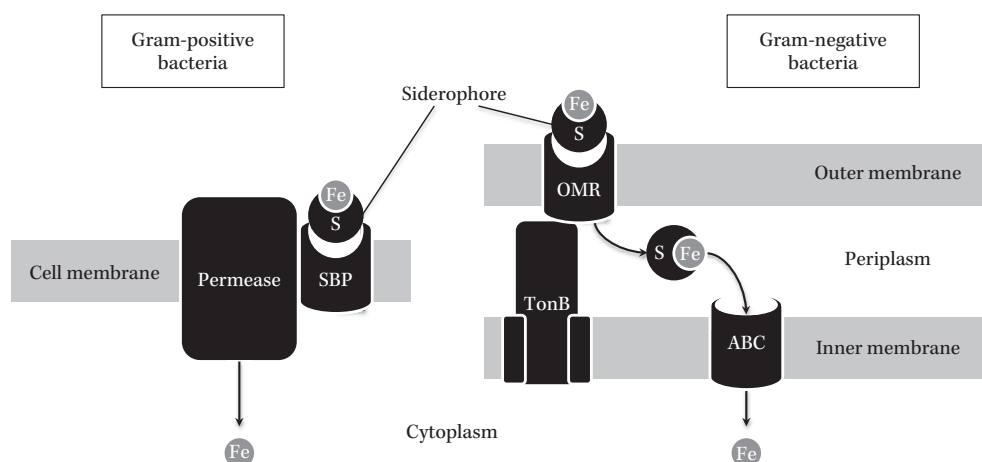


Fig. 1. Iron transport mechanism in bacteria via siderophores

Left: In gram-positive bacteria, the siderophore binds to the SBP on the cell membrane and enters the cytoplasm via the membrane transporter, permease. Right: In gram-negative bacteria, the siderophore binds to the OMR and moves to the periplasm in a TonB-dependent manner. The siderophore is transported to the cytoplasm by the ABC transporter. ABC: ATP-binding cassette transporter; OMR: outer membrane receptor; S: siderophore; SBP: siderophore-binding protein.

の大部分は、老廃赤血球の捕捉・破壊など、すでに存在する鉄の再利用によって賄われている¹⁾。一方、鉄は生体にとって有害となる二面性を併せもち、過酸化水素水と反応してヒドロキシラジカルを発生させ、細胞に酸化ストレスを引き起こす。このため生体内での鉄は厳重に管理されており、血液中の鉄は全体の1%程度と、可能な限り低い濃度に維持され、さらにその大部分がトランスフェリン (Transferrin) と結合している。また、汗、涙、唾液、母乳などの体液においては、同様にラクトフェリン (Lactoferrin) が鉄を捕捉している。

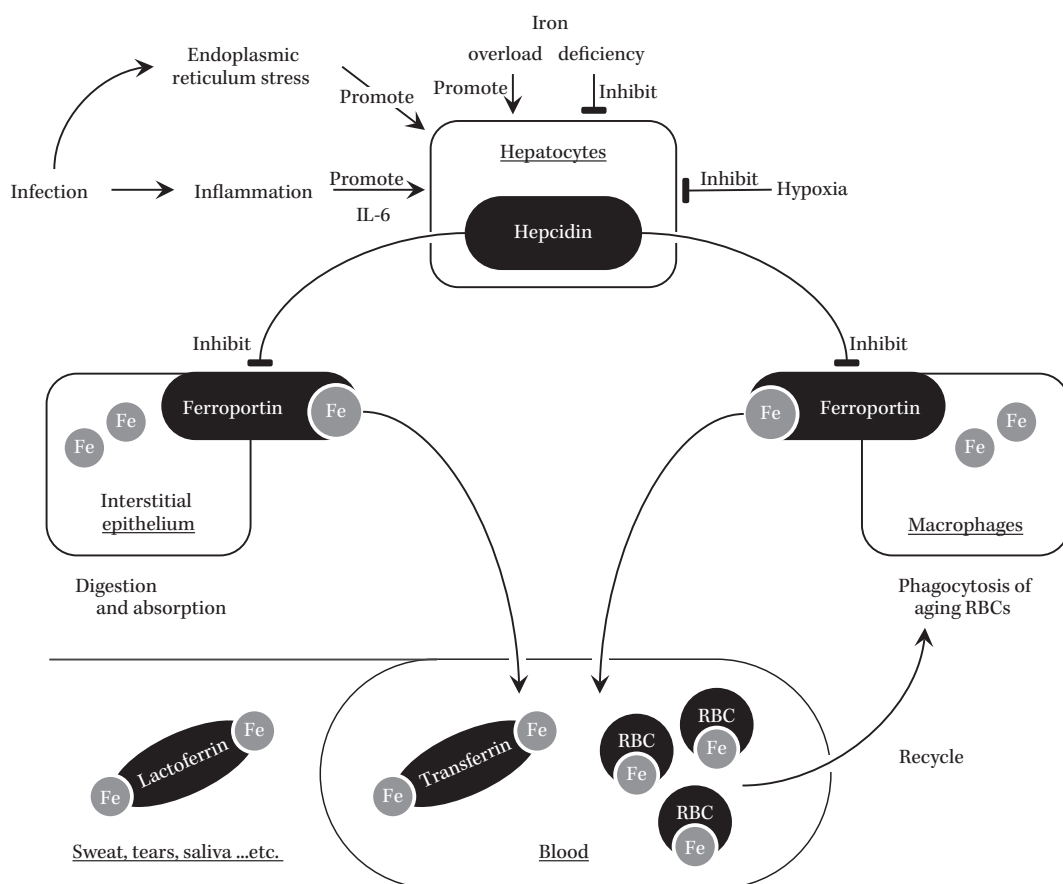
鉄はヒトに限らず、細菌にとっても増殖に欠かせない金属元素である。このため、細菌は鉄に親和性の高い小分子、シデロフォア (Siderophore) を産生、分泌し、これを回収することにより効率良く鉄を獲得する仕組みをもっている。シデロフォアの鉄に対する親和性は非常に高く、トランスフェリンやラクトフェリンに結合されている鉄を直接奪うことが可能である²⁾。シデロフォアは黄色ブドウ球菌の Staphyloferin A、大腸菌の Enterobactin、緑膿菌の Pyoverdine など多くの種類が確認されており、これらに対応する受容体を介し、鉄を捕捉したシデロフォアは能動的に細菌の細胞内に取り込まれる³⁾。この仕組みはグラム陽性菌と陰性菌で異なっており、グラム陽性菌の場合、シデロフォアは細胞膜上の受

容体 SBP (siderophore-binding protein) と結合し、膜輸送体 Permease の働きにより細胞質内に運搬される。グラム陰性菌の場合、シデロフォアは細胞外膜上の受容体 (OMR: outer membrane receptor) と結合後、内膜に存在する装置 TonB に依存する形でペリプラズム領域に運搬され、さらに ABC (ATP-binding cassette) 輸送体によって細胞質内に取り込まれる (Fig. 1)。なお、鉄のキレート薬として鉄過剰症に対して使用されるデフェロキサミンは、もともとが放線菌のシデロフォアである。デフェロキサミンを易感染患者に用いる場合、接合菌感染症の合併に注意を要するが、これは接合菌がデフェロキサミンを自身のシデロフォアとして利用可能であることによる⁴⁾。

II. ヘプシジンによる鉄調節作用

感染症と鉄との密接な関係は以前より経験的に知られ、Cartwright らは 1940 年代の時点で感染症に伴う血中鉄濃度の低下を報告している⁵⁾。また 1970 年代の臨床研究では、鉄欠乏状態の遊牧民 137 名を対象に鉄剤補充群とプラセボ群とで比較したところ、鉄剤補充群では約 5 倍の頻度で何らかの感染症を発症していた⁶⁾。ただ、こうした報告を裏づけるための詳細なメカニズムは最近まで不明なままであった。

鉄代謝の研究領域において大きな転機となったのは、2000 年代初頭における、鉄調節因子ヘプシジ

Fig. 2. Regulation of iron by hepcidin *in vivo*

Hepcidin production itself in hepatocytes is strictly regulated by stimulation or inhibition of multiple pathways. Hepcidin binds to ferroportin, an iron transporter, and regulates the intracellular and extracellular iron levels by inhibiting ferroportin. RBC: red blood cells; IL-6: interleukin-6.

ン (Hepcidin) の発見である⁷⁻⁹)。ヘプシジンの名称は肝臓を示す hep と抗菌活性を示す cidin を組み合わせたもので、その名のとおり主に肝細胞で産生され、当初は効果は弱いながら抗菌活性をもつペプチドとして認識されていたが、鉄代謝の調節において中心的な役割を果たすことが後に明らかとなった¹⁰)。ヘプシジンは鉄の運搬を担うフェロポルチン (Ferroportin) と結合し、その細胞内での分解を促すが¹¹)、フェロポルチンは小腸上皮細胞やマクロファージから血液中に鉄をくみ出す働きをもつことから、結果的にヘプシジンはフェロポルチンという「蛇口」を介して生体内の鉄利用サイクルを制御しているものと考えられている (Fig. 2)。

ヘプシジンの産生刺激は、炎症、体内の鉄量、組織傷害、酸素化の状態により多層的な調節を受けており¹²)、感染症などによる炎症惹起時にはインターロイキン 6 (IL-6)、STAT3 を介したシグナル伝達

経路を介し、肝細胞により産生される。以前より経験的に知られてきた感染症に伴う鉄欠乏と二次性貧血は、ヘプシジンの作用によるものとして理解される。急性感染症におけるヘプシジンの動態は情報が限られているが、リポ多糖 (LPS: lipopolysaccharide) を健常者に用いた臨床研究では、LPS を注入後に尿中ヘプシジン濃度が速やかに上昇して 6 時間後にピークを迎え、これに伴う血清鉄濃度の低下が認められた¹³)。

さらに、成人の血流感染症を対象とした自験例を Fig. 3 に示した。症状発現および血液培養陽性となった時点をおよび Day 0 とし、経時的な血中ヘプシジン濃度を測定したところ、急激な上昇を認め、その後は病態の改善に伴い、低下していた。鉄の挙動はこれに対応する形で病初期に急激な低下を認め、徐々に正常域に復していた。こうした反応は、感染症の急性期において、病原細菌の鉄の獲得阻止に結

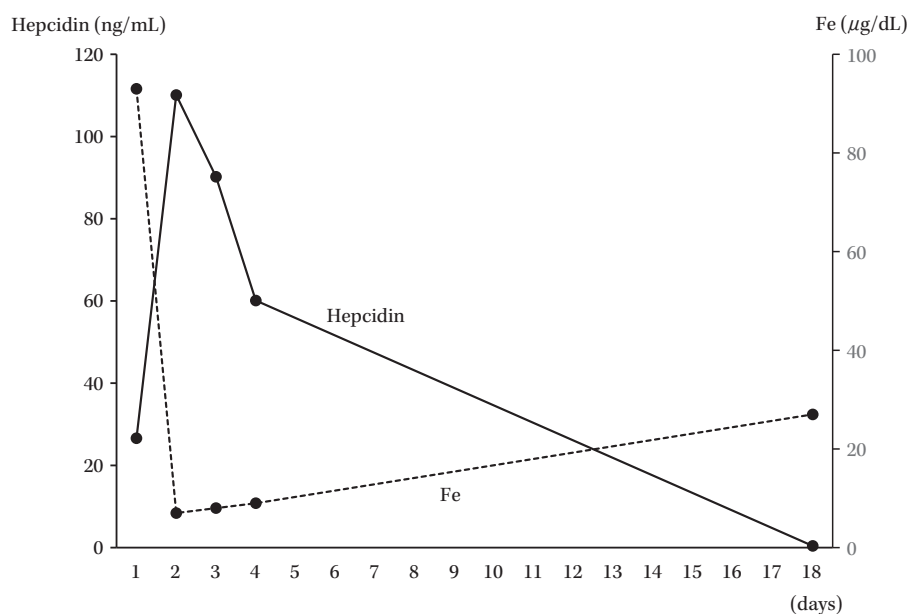


Fig. 3. Blood levels of hepcidin and iron in a case of bloodstream infection
The blood concentrations of hepcidin rapidly increased after the onset of infection, and gradually decreased again during the recovery period from the disease. In contrast, the serum iron levels initially declined and then recovered.

びつくことから、宿主による防御能の一環として理解される。

III. その他の鉄調節因子～リポカリン2とNramp 1

前述のとおり、宿主側は鉄を組織内に貯蔵し、細胞外の遊離鉄はトランスフェリンやラクトフェリンが結合して格納し、さらにヘプシジンがフェロポルチンの発現量を介して鉄代謝を調節することにより、生体内の鉄を厳密に管理している。さらにヘプシジン以外の、宿主側のもつ鉄制御因子として、リポカリン2 (Lipocalin 2, または Ngal : Neutrophil gelatinase-associated lipocalin) が挙げられる。リポカリン2は好中球の顆粒中に保存されており、急性腎障害の有望なマーカーとして注目される側面をもつが、シデロフォアを捕捉する機能を併せもつことが判明した¹⁴⁾。リポカリン2は感染症の際に Toll様受容体シグナルを介し産生が促され¹⁵⁾、シデロフォアと結合することによって、細菌の鉄獲得を直接的に阻害することから、宿主の自然免疫における重要な役割が推定される (Fig. 4)。これに対し細菌の側では、シデロフォアに化学的な修飾を施すことによって、リポカリン2の捕捉に抵抗する機序をもつことが知られ、一例として大腸菌のもつシデロ

フォアである Enterobactin は、糖鎖の修飾により、鉄獲得能を保持しつつリポカリン2による捕捉を回避することが可能である^{3,16)}。

こうした細胞外における宿主と細菌との鉄の奪い合いに対し、細胞内寄生菌に対しては、異なる鉄調節機序が推定されている。ファゴソーム膜に発現する2価金属 (鉄, マンガン, コバルトなど) の輸送体, Nramp 1 (Natural resistance-associated macrophage protein 1) はファゴソーム内の鉄を排出する機能をもち¹⁷⁾、ファゴソーム内の鉄濃度を下げることにより、そこに寄生する細菌の鉄獲得を阻止するものと考えられる。Nramp 1 遺伝子変異例では結核菌に対する易感染性を示すことが報告されており¹⁸⁾、細胞内寄生菌の抑制における Nramp 1 の重要性が示唆される (Fig. 5)。

IV. 治療への応用

細菌による鉄獲得機構は生体側の働きと大きく異なるため、抗菌薬の開発にあたり魅力的な標的と考えられる。シデロフォア様構造を付加した抗菌薬の開発が1980年代より進められていた¹⁹⁾が、近年、cefiderozol (S-649266) の優れた抗菌活性が報告されている。Cefiderocol は既存のセフェム系薬セフトジジム、セフェピムと類似した構造に加え、シデロ

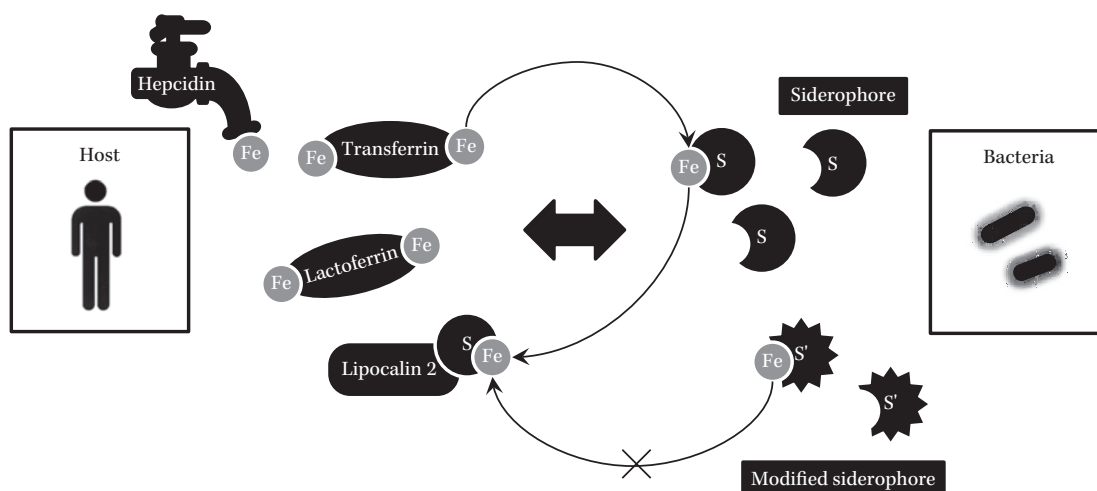


Fig. 4. Competition of iron acquisition between the host and bacterial pathogens

Extracellular iron levels are tightly regulated by hepcidin, and excess iron is protected by transferrin or lactoferrin binding. In addition, lipocalin 2 binds to the siderophore and prevents pathogens from acquiring iron. In turn, certain bacteria produce modified siderophores to which lipocalin 2 cannot bind. S: siderophore; S': modified siderophore.

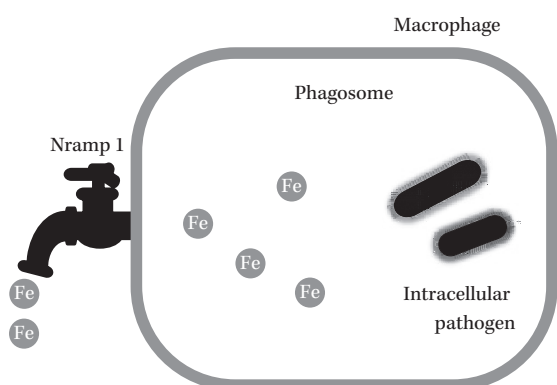


Fig. 5. Modulation of the iron concentration in phagosomes against intracellular pathogens

Nramp 1 plays a pivotal role in inhibiting iron uptake by intracellular pathogens. Nramp 1 transports iron from the phagosomes in macrophages to the cytoplasm, resulting in a decreased iron levels in the phagosomes and inhibiting pathogens from acquiring iron. Nramp 1: Natural resistance-associated macrophage protein 1.

フォアとして機能するカテコール基を併せもつ点特徴である。Cefiderocolは、このカテコール基で鉄と結合することにより、通常を受動的な取り込み経路に加えて、菌側の鉄輸送機構を利用して能動的に外膜を通過し、ペリプラズム内に効率良く取り込まれることが可能となっている²⁰⁾(Fig. 6)。こうした機序は、「トロイの木馬」にも例えられ、ポーリ

ンの変異や薬剤発出ポンプの産生などによる外膜透過性の低下による耐性機序を回避することにより、薬剤耐性のグラム陰性菌に対する安定した抗菌活性が期待される。臨床分離株を用いた調査では、メロペネムに耐性の *Acinetobacter baumannii* 107株、*Pseudomonas aeruginosa* 82株、*Klebsiella pneumoniae* 244株、*Enterobacter cloacae* 14株に対するcefiderocolのMIC₉₀は、いずれも0.5~1.0 g/Lと良好な成績を示した²¹⁾。薬剤耐性菌の蔓延と抗菌薬開発の停滞が重要な課題となる中で、cefiderocolはユニークな存在を示しており、今後の動向が注目される。

おわりに

.....

ヘプシジンの登場と同時期に、その標的となるフェロポルチンが発見され、さらにリポカリン2やNramp 1の鉄調節因子としての機能が明らかになるなど、2000年前後より、鉄代謝に対する理解が急速に深まった。これに伴い、宿主と細菌の間における潜在的な鉄獲得競争について詳細が明らかとなり、鉄代謝という新たな軸により感染症の病態を捉え直すことが可能となった。感染症の各種病態における、さらなる理解の深まりに加え、診断や治療への応用が期待される。

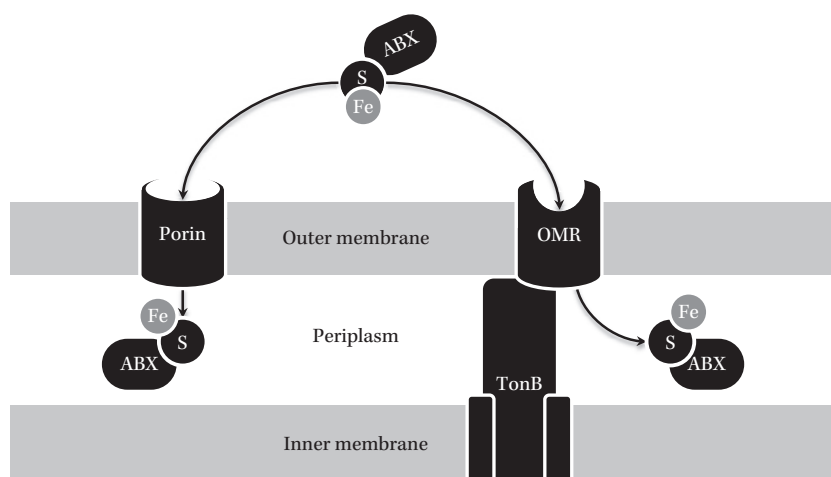


Fig. 6. Drug delivery mechanism of siderophore-cephalosporin via the iron transport system

With the structure of a siderophore, antibiotics (cephalosporins) can efficiently penetrate the outer membranes of gram-negative bacteria using the bacterial iron transport system. ABX: antibiotics; OMR: outer membrane receptor; S: siderophore.

本稿の要旨は第63回日本化学療法学会東日本支部総会「Meet the up-front translational researchers」で発表した。

利益相反自己申告：申告すべきものなし。

文献

- 1) Cassat J E, Skaar E P: Iron in infection and immunity. *Cell Host Microbe* 2013; 13: 509-19
- 2) Wandersman C, Delepelaire P: Bacterial iron sources: from siderophores to hemophores. *Annu Rev Microbiol* 2004; 58: 611-47
- 3) Wilson B R, Bogdan A R, Miyazawa M, Hashimoto K, Tsuji Y: Siderophores in Iron Metabolism: From Mechanism to Therapy Potential. *Trends Mol Med* 2016; 22: 1077-90
- 4) Boelaert J R, de Locht M, Van Cutsem J, Kerrels V, Cantiniaux B, Verdonck A, et al: Mucormycosis during deferoxamine therapy is a siderophore-mediated infection. *In vitro* and *in vivo* animal studies. *J Clin Invest* 1993; 91: 1979-86
- 5) Cartwright G E, Lauritsen M A, Humphreys S, Jones P J, Merrill I M, Wintrobe M M: The Anemia Associated With Chronic Infection. *Science* 1946; 103: 72-3
- 6) Murray M J, Murray A B, Murray M B, Murray C J: The adverse effect of iron repletion on the course of certain infections. *Br Med J* 1978; 2: 1113-5
- 7) Krause A, Neitz S, Mägert H J, Schulz A, Forssmann W G, Schulz-Knappe P, et al: LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett* 2000; 480: 147-50
- 8) Park C H, Valore E V, Waring A J, Ganz T: Hecpudin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem* 2001; 276: 7806-10
- 9) Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, Leroyer P, Turlin B, Brissot P, et al: A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is over-expressed during iron overload. *J Biol Chem* 2001; 276: 7811-9
- 10) Ganz T: Hecpudin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003; 102: 783-8
- 11) Nemeth E, Tuttle M S, Powelson J, Vaughn M B, Donovan A, Ward D M, et al: Hecpudin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004; 306: 2090-3
- 12) Drakesmith H, Prentice A M: Hecpudin and the iron-infection axis. *Science* 2012; 338: 768-72
- 13) Rivera S, Nemeth E, Gabayan V, Lopez M A, Farshidi D, Ganz T: Synthetic hecpudin causes rapid dose-dependent hypoferrremia and is concentrated in ferroportin-containing organs. *Blood* 2005; 106: 2196-9
- 14) Flo T H, Smith K D, Sato S, Rodriguez D J, Holmes M A, Strong R K, et al: Lipocalin 2 mediates an innate immune response to bacterial infection by sequestering iron. *Nature* 2004; 432: 917-21
- 15) Li C, Chan Y R: Lipocalin 2 regulation and its complex role in inflammation and cancer. *Cytokine* 2011; 56: 435-41
- 16) 森 潔, 向山政志, 中尾一和: 微生物の鉄捕捉分子と生体の防御機構. *日内会誌* 2010; 99: 1188-93
- 17) Soares M P, Weiss G: The Iron age of host-microbe interactions. *EMBO Rep* 2015; 16:

- 1482-500
- 18) Bellamy R, Ruwende C, Corrah T, McAdam K P, Whittle H C, Hill A V: Variations in the NRAMP1 gene and susceptibility to tuberculosis in West Africans. *N Engl J Med* 1998; 338: 640-4
- 19) Curtis N A, Eisenstadt R L, East S J, Cornford R J, Walker L A, White A J: Iron-regulated outer membrane proteins of *Escherichia coli* K-12 and mechanism of action of catechol-substituted cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother* 1988; 32: 1879-86
- 20) Ito A, Nishikawa T, Matsumoto S, Yoshizawa H, Sato T, Nakamura R, et al: Siderophore Cephalosporin Cefiderocol Utilizes Ferric Iron Transporter Systems for Antibacterial Activity against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents Chemother* 2016; 60: 7396-401
- 21) Falagas M E, Skolidis T, Vardakas K Z, Legakis N J: Activity of cefiderocol (S-649266) against carbapenem-resistant Gram-negative bacteria collected from inpatients in Greek hospitals. *J Antimicrob Chemother* 2017; 72: 1704-8

Iron metabolism in infectious diseases —Competition of iron acquisition between the host and bacterial pathogens—

Hiroshi Moro

Division of Infection Control and Prevention, Niigata University Medical & Dental Hospital, 1-754 Ichibancho, Asahimachidori, Chuo-ku, Niigata, Japan

Iron is essential for both humans and bacteria. Bacteria produce small-molecule siderophores and efficiently acquire iron, and in the presence of an infection, the host and bacteria compete for iron acquisition. The major iron regulator in humans is hepcidin, produced in the liver. Hepcidin controls iron metabolism by inhibiting the expression of the iron transporter, ferroportin. In addition, lipocalin 2, which inhibits siderophores, and Nramp 1, which regulates the iron concentrations in phagosomes, also serve as iron regulators of the host. The iron transport mechanism is considered as a promising target for antibiotics. Cefiderocol (S-649266), with cephalosporin and siderophore structures, can efficiently penetrate the cell outer membrane via the bacterial iron transport system. Application of the iron transport system for drug delivery to treat infectious diseases may be expected with further progress in the understanding of iron metabolism.