

Du nouveau dans le transport membranaire du fer

Le fer est un élément essentiel aux organismes vivants. La grande majorité du fer de l'organisme est complexée à l'hémoglobine et aux autres hémoprotéines (myoglobine et certaines enzymes). Il est impliqué dans de nombreux processus métaboliques, en particulier le transport de l'oxygène, et, chez l'homme, la plus grande partie du fer participe à la synthèse d'hémoglobine dans les précurseurs érythroïdiques. Une autre fraction du fer est stockée dans les cellules (principalement dans le foie et la rate) liée à la ferritine ou à l'hémosidérine. Enfin, dans le plasma, le fer circule lié à la transferrine et sa concentration est très faible. Le déficit en fer est responsable d'un défaut d'érythropoïèse et est une cause fréquente d'anémie. Mais son excès est également délétère : en effet, à l'état libre, le fer peut interagir avec l'oxygène pour former des radicaux libres toxiques susceptibles d'induire des lésions tissulaires. C'est le cas dans l'hémochromatose génétique, caractérisée par une surcharge progressive multiviscérale en fer, et dont l'évolution en l'absence de traitement est mortelle, le plus souvent par cancer du foie ou insuffisance cardiaque.

Le contrôle des différentes étapes du métabolisme du fer est donc essentiel au maintien de son homéostasie (revue dans [1]). La plus grande partie du fer circulant provient du catabolisme de l'hémoglobine et est recyclé. Seule une petite fraction du fer entre ou sort de l'organisme chaque jour. L'excrétion du fer, essentiellement par la desquamation des cellules de la peau ou du tractus gastro-intestinal, n'est pas contrôlée. C'est donc la régulation de son absorption

digestive qui joue un rôle prédominant dans l'homéostasie du fer.

L'absorption digestive du fer

Si les aspects essentiels de la physiologie de l'absorption digestive du fer sont connus depuis plusieurs années, ce n'est que récemment que les protéines impliquées dans son transport membranaire ont été caractérisées (figure 1). La plus grande partie du fer est absorbée dans le duodénum sous forme ferreuse (Fe^{2+}) alors que la forme présente dans l'alimentation est majoritairement ferrique (Fe^{3+}). Dans la lumière intestinale, le Fe^{3+} est réduit par une ferriréductase située sur la membrane apicale des entérocytes. Un premier transporteur, DMT1 (*divalent metal transporter*) aussi appelé Nramp 2, assure le passage du fer réduit de la lumière intestinale vers le cytoplasme des entérocytes. Le fer y est soit stocké en se liant à la ferritine, soit transporté vers la membrane basolatérale, pour être exporté vers le sang où il se fixe à la transferrine.

DMT1/Nramp2, identifié en 1997 [2, 3], est exprimé sur la membrane apicale des entérocytes situés à la pointe des villosités intestinales. Il permet le transport membranaire du fer, couplé à celui d'un proton et est stimulé par la diminution du pH extracellulaire. DMT1/Nramp2 peut aussi transporter de nombreux autres métaux sous forme de cations divalents comme Zn^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} ... [3]. Une même mutation de cette protéine est responsable du défaut d'absorption digestive du fer observé chez les souris *mk/mk* et les rats *Belgrade* qui tous deux présentent une anémie sévère [2, 4, 5].

Jusqu'à très récemment, on ne savait pas comment le fer était transporté à travers la membrane basolatérale des entérocytes. C'est maintenant chose faite puisque la protéine impliquée dans ce transport vient d'être identifiée simultanément par deux groupes utilisant deux stratégies différentes [6, 7].

Ferroportine et IREG1 : deux stratégies pour une protéine

L'histoire de la ferroportine débute par le criblage quasiment industriel des nombreuses mutations chimiques induites chez le poisson zèbre. Ce vertébré est en effet un excellent modèle d'étude du développement hématopoïétique [8] : son développement est très rapide et son caractère semi-transparent permet une étude facile par observation au microscope. Parmi la cinquantaine de mutants présentant des anomalies de l'hématopoïèse, deux d'entre eux, dénommés *weissherbst* (*weh*), sont caractérisés par une anémie hypochrome [6]. Celle-ci n'est pas due à un défaut intrinsèque de la lignée érythroïde mais à un déficit en fer, comme en témoigne la correction complète de la production d'hémoglobine par l'injection intraveineuse de fer. Par une approche désormais classique de clonage positionnel, les auteurs ont défini l'intervalle critique, sur le chromosome 2, contenant le gène *weh*. L'utilisation d'ADN de *Tetraodon nigroviridis*, un poisson dont le génome est très compact, leur a permis d'identifier les gènes situés dans cette région conservée entre différentes espèces, puis de caractériser l'ADNc codant pour la ferroportine 1 chez le poisson zèbre, l'homme et la

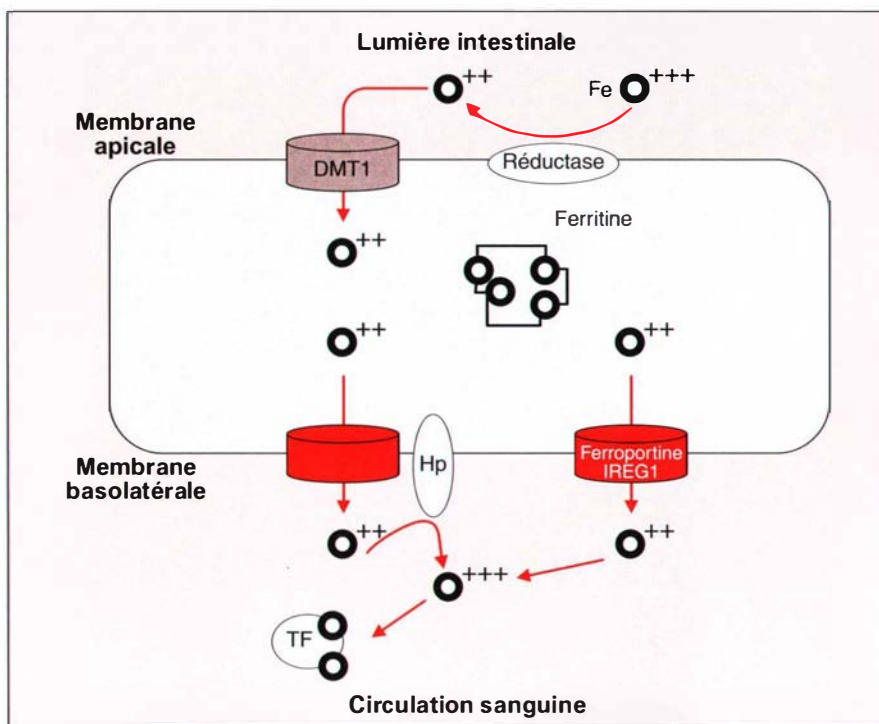


Figure 1. **Absorption intestinale du fer.** Le fer présent sous forme ferrique (Fe^{3+}) dans la lumière intestinale est réduit en Fe^{2+} par une réductase membranaire. Le Fe^{2+} est transporté à travers la bordure en brosse des entérocytes par DMT1/Nramp2. Dans la cellule, il est soit lié à la ferritine, soit sous forme libre. Le Fe^{2+} est ensuite transporté à travers la membrane basolatérale par la ferroportine1/IREG1. Une ferroxidase dépendante du cuivre, soit circulante (la céruloplasmine), soit membranaire (l'héphaesine, hp), induit son oxydation en Fe^{3+} et sa fixation à la transferrine (TF) circulante dans le plasma.

souris. On trouve sur les deux types d'allèle mutant *weh* du poisson zèbre, comme attendu, une mutation aboutissant soit à la formation d'un codon stop, soit à une substitution d'acide aminé. L'implication de la ferroportine 1 dans le phénotype *weh* a été confirmée par la correction partielle de l'hypochromie après transfection de l'ADNc sauvage dans les cellules du sac vitellin des poissons zèbre mutants.

IREG1 (iron regulated mRNA) a été isolé en effectuant un clonage par soustraction entre deux banques d'ADNc issues de duodénum de souris [7]. Cette stratégie reposait sur l'hypothèse selon laquelle les ARNm codant pour les protéines impliquées dans le transport de fer dans le duodénum seraient surexprimés chez les souris dont l'absorption digestive de

ce métal est très augmentée comparés à ceux des souris dont l'absorption est en revanche très faible. La première banque a donc été isolée à partir de souris *hpx/hpx* qui présentent un déficit en transferrine se traduisant par une anémie sévère et surtout une augmentation majeure de l'absorption intestinale de fer. La deuxième banque provenait quant à elle de souris (hétérozygotes pour la mutation de la transferrine) supplémentées en fer afin de réduire considérablement leur absorption intestinale de fer. La validité de cette approche a été confirmée par la détection de l'ADNc codant pour DMT1, le transporteur apical du fer. Un autre ADNc a été identifié et nommé *IREG1*. En fait, le produit des gènes *IREG1* et *ferroportine* est une seule et même protéine.

La ferroportine/IREG1 transporte le fer à travers la membrane basolatérale du duodénum

La ferroportine 1/IREG1 est une protéine d'environ 570 acides aminés dont l'analyse prédit qu'elle possède au moins dix domaines transmembranaires. Son transcript est fortement exprimé dans les tissus impliqués dans le transport du fer : le sac vitellin et l'intestin du poisson zèbre, le placenta et l'intestin de la souris [6, 7]. Chez l'homme, l'expression, très forte dans le placenta, le foie, la rate et le rein, est cependant plus faible dans l'intestin. L'étude immunohistochimique révèle que, dans le placenta, la protéine est localisée sur la membrane basale des cellules du syncytiotrophoblaste [9]. Dans le duodénum, on la trouve sur la membrane basolatérale (plus précisément au niveau des régions latérales) des entérocytes bordant le sommet des villosités. Ces résultats suggèrent donc un rôle de la ferroportine 1/IREG1 dans le transport basolatéral du fer dans ces cellules. Cette fonction de transport a été démontrée par des expériences d'expression hétérologue de la protéine dans l'œuf de xénope : si DMT1 (le transporteur apical) est nécessaire à l'entrée de fer dans l'ovocyte, un flux sortant de fer n'est observé que si la ferroportine 1/IREG1 est aussi exprimée. Il semble de plus qu'une activité ferroxidase soit nécessaire à cette sortie de fer. Cette activité pourrait être assurée par l'héphaesine, exprimée spécifiquement dans les villosités intestinales [10]. Des mutations de cette protéine sont en effet retrouvées chez les souris *sla*, qui ont une anémie microcytaire liée à l'X et secondaire à un déficit du transport basolatéral de fer dans l'intestin. En fait, l'héphaesine ne semble pas être une protéine de transport du fer. Du fait de son homologie à la céruloplasmine, on pense qu'elle assure une fonction de ferroxidase membranaire facilitant la libération du fer par les entérocytes sous forme de Fe^{3+} et sa fixation à la transferrine (figure 1).

Si la ferroportine 1/IREG1 est bien le transporteur du fer dans les entérocytes, toute modification de son

absorption intestinale doit s'accompagner d'une modification de son expression. Le groupe de R.J. Simpson montre qu'en effet le déficit en fer, l'hypoxie et le déficit en transferrine (souris *hpx/hpx*), trois conditions stimulant l'absorption intestinale de fer, sont associées à une augmentation, dans le duodénum, de l'expression de l'ARNm codant pour la ferroportine 1/IREG1 [7]. Les mécanismes de ces régulations ne sont pas connus. On peut cependant noter que l'ARNm de la ferroportine 1/IREG1 contient, dans sa région 5' non traduite, une séquence très semblable aux IRE (*iron responsive element*). Cette séquence peut interagir avec des protéines cytoplasmiques appelées *iron regulatory protein* (IRP) [7], connues pour modifier la traduction ou la stabilité des ARNm codant pour les protéines impliquées dans le métabolisme du fer.

Conclusions

L'identification récente de nouvelles protéines impliquées dans le transport du fer à travers les membranes permettra certainement des avancées considérables dans la connaissance de l'homéostasie du fer et de ces anomalies. On sait déjà que l'expression de la ferroportine 1/IREG1 et de

DMT1 est augmentée dans le duodénum des patients atteints d'hémochromatose héréditaire [7, 11], ce qui suggère que ces deux protéines soient impliquées dans l'augmentation de l'absorption digestive de fer observée au cours de cette maladie. Il reste à déterminer les caractéristiques précises de ces transporteurs (spécificité, cinétiques de transport...) et les mécanismes de leur régulation. Il faut souligner que l'expression de ces protéines n'est pas restreinte au duodénum et qu'elles sont certainement impliquées dans le transport du fer dans d'autres tissus ou cellules, ou dans son transport intracellulaire [4].

1. Beaumont C. Aspects génétiques, moléculaires et cellulaires du métabolisme du fer. *Hématologie* 1999; 5: 122-32.
2. 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: 383-6.
3. Gunshin H, Mackenzie B, Berger UV, *et al*. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature* 1997; 388: 482-8.
4. Fleming MD, Romano MA, Su MA, Garrick LM, Garrick MD, Andrews NC. 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: 1148-53.

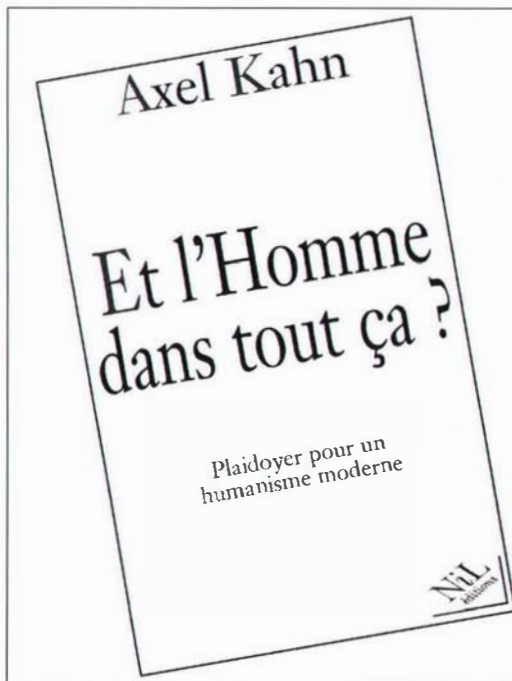
5. Su MA, Trenor CC, Fleming JC, Fleming MD, Andrews NC. The G185R mutation disrupts function of the iron transporter Nramp2. *Blood* 1998; 92: 2157-63.
6. Donovan A, Brownlie A, Zhou Y, *et al*. Positional cloning of zebrafish ferroportin1 identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature* 2000; 403: 776-81.
7. McKie AT, Marciani P, Rolfs A, *et al*. A novel duodenal iron-regulated transporter, IREG1, implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation. *Mol Cell* 2000; 5: 299-309.
8. Amatruda JF, Zon LI. Dissecting hematopoiesis and disease using the zebrafish. *Dev Biol* 1999; 216: 1-15.
9. Malassiné A, Tarrade A, Guibourdenche J, Rochette-Egly C, Evain-Brion D. Le placenta. *Med Sci* 2000; 3: 329-35.
10. Vulpe CD, Kuo YM, Murphy TL, *et al*. Hephaestin, a ceruloplasmin homologue implicated in intestinal iron transport, is defective in the *sla* mouse. *Nat Genet* 1999; 21: 195-9.
11. Zoller H, Pietrangelo A, Vogel W, Weiss G. Duodenal metal-transporter (DMT-1, NRAMP-2) expression in patients with hereditary haemochromatosis. *Lancet* 1999; 353: 2120-3.

Remerciements

Je remercie Carole Beaumont pour la relecture de ce manuscrit.

Pascale Borensztein

médecine/sciences, Inserm U. 474, Hôpital Port-Royal, 123, boulevard de Port-Royal, 75014 Paris, France.



Copernic a chassé l'Homme du centre de l'Univers, Lamarck et Darwin du sommet de la création, notre société a tendance à le chasser du cœur de ses projets. Il n'est pourtant pas utopique de concilier le progrès, créateur de richesses, les avancées scientifiques et les logiques économiques avec l'humanisme.

Axel Kahn ouvre un débat majeur sur le devenir de l'Homme : les biotechnologies, le clonage humain, l'assistance médicale à la procréation, les essais sur l'être humain, la place de notre espèce dans la nature, le déterminisme et la liberté, le racisme, la sexualité...

Médecin, généticien, spécialiste des biotechnologies, membre du Comité consultatif national d'éthique français, Axel Kahn a notamment publié, en collaboration avec Fabrice Papillon, *Copies conformes*, Nil éditions, 1998.

www.laffont.fr
2000-III / 129 F
19,67 € TTC FRANCE