

L'hepcidine : un nouveau regard sur le métabolisme du fer

Lydie Viatte, Sophie Vaulont

Institut Cochin, 24, rue du Fg St-Jacques, 75014 Paris
<viatte@cochin.inserm.fr>
<vaulont@cochin.inserm.fr>

« On a beau avoir une santé de fer, on finit toujours par rouiller ».

Jacques Prévert

Comme le démontre bien cette citation de Jacques Prévert, si le fer porte la notion de force, de résistance, le fait qu'il rouille nous prévient du danger : le fer est bon pour la santé mais en quantité limitée! Un organisme « rouillé », surchargé en fer, c'est l'hémochromatose. Dans cette maladie génétique très fréquente, le fer en trop grande quantité et surtout le fer sous la forme soluble (Fe^{2+}) entraîne la formation de radicaux libres par la réaction de Fenton ($\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \cdot\text{OH} + \text{OH}^-$). L'accumulation du fer s'avère donc néfaste à la fonction de l'organe dans lequel il s'accumule entraînant, cirrhose, insuffisance cardiaque, diabète, arthrite, perturbations hormonales... C'est pourquoi en situation physiologique, le fer libre Fe^{2+} est rare car il est le plus souvent oxydé et lié à des protéines : la transferrine circulante et la ferritine cellulaire. En l'absence de réelle voie d'excrétion du fer (les pertes se font par la desquamation et les saignements), l'organisme doit réguler finement son entrée de fer afin de compenser juste la perte de fer quotidienne, soit 2 mg sur les 20 mg disponibles dans une alimentation normale. Pendant 40 ans, ce mécanisme de régulation du métabolisme du fer est resté inconnu. De même, les protéines permettant l'entrée du fer au niveau du duodénum ne sont connues que depuis peu.

Mots clés : fer, hémochromatose, hepcidine, inflammation

Le fer alimentaire est absorbé au niveau de la partie proximale de l'intestin grêle, le duodénum, par les entérocytes (figure 1). Il est dans un premier temps réduit par la réductase Dcytb puis transporté à travers la membrane apicale de l'entérocyte par DMT1 (*Divalent Metal Transporter 1*). Une fois dans la cellule, il peut être stocké dans la ferritine ou transporté de nouveau au pôle basolatéral vers le pool sanguin par le transporteur transmembranaire ferroportine.

Dans la circulation sanguine, la transferrine permet de véhiculer le fer dans tout l'organisme. Pour cela, le fer doit être préalablement oxydé par la ferroxidase héphaestine située sur la membrane basolatérale de l'entérocyte. L'héphaestine est une protéine homologue à la céruloplasmine, ferroxidase circulante produite par le foie [1]. Le fer lié à la

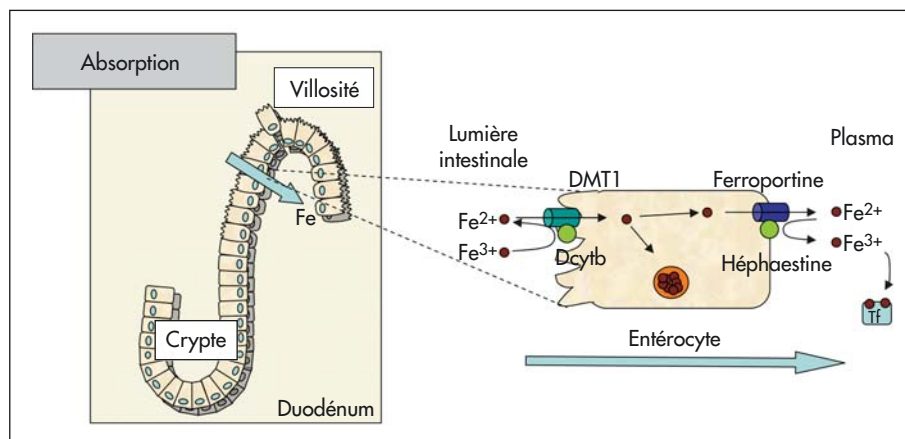


Figure 1. L'absorption intestinale du fer. Le fer est absorbé au niveau du duodénum par les entérocytes situés au sommet des villosités duodénales. Dans la lumière intestinale, le fer alimentaire est d'abord réduit par Dcytb, puis transporté par DMT1. Dans l'entérocyte, le fer peut soit être stocké dans la ferritine, soit transporté par la ferroportine vers le plasma. Il est ensuite oxydé avant d'être pris en charge par la transferrine circulante.

transferrine (holotransferrine) est distribuée aux cellules somatiques via le récepteur à la transferrine 1 (RTf1). Le complexe transferrine/RTf1 pénètre dans la cellule par endocytose, le fer est libéré du complexe dans l'endosome tardif à la faveur d'un pH acide, puis est transféré de l'endosome vers le cytosol grâce au transporteur DMT1. L'apo-transferrine et son récepteur sont ensuite tous deux recyclés à la surface cellulaire (pour revue [2]).

Le fer est utilisé par tous les organes pour la production des protéines à hème et à noyau fer-soufre (myoglobine, enzymes du métabolisme oxydatif) et surtout par la moelle osseuse qui utilise le fer pour produire l'hémoglobine qui fixe l'oxygène et a pour fonction l'oxygénation des tissus via les globules rouges. Ainsi, les érythrocytes circulants contiennent une grande quantité de fer (presque 2 g sur les 4 g totaux de l'organisme). Afin que ce fer puisse être réutilisé par la suite, les macrophages phagocytent les globules rouges sénescents et relarguent ensuite le fer, libéré de l'hème par l'hème-oxygénase, dans la circulation où il peut de nouveau se fixer à la transferrine après oxydation par la céruloplasmine. Le site majeur de stockage du fer est le foie (1 g). Il est capable d'accumuler le fer lié à la ferritine pour empêcher la circulation d'une trop grande quantité de fer libre. Ce fer lié à la ferritine est facilement mobilisable et les réserves hépatiques sont utilisées en cas de carence en fer (suite à une perte importante de sang ou à un régime pauvre en fer). La ferritine qui stocke le fer cellulaire est sensible à la quantité de fer présent dans les cellules. Plus il y a de fer, plus de ferritine est produite pour pouvoir séquestrer ce fer. Une partie de cette ferritine est par ailleurs excrétée et le dosage de la ferritine sérique est donc un excellent reflet des réserves en fer.

Il existe donc deux signaux de régulation importants pour l'absorption intestinale du fer, le régulateur indiquant les besoins en fer pour l'érythropoïèse (« le régulateur érythroïde») et celui indiquant l'état des réserves en fer (« le régulateur des réserves»). La nature de ces régulateurs est restée inconnue pendant longtemps.

La protéine HFE, régulateur de l'absorption ?

En 1996, avec la découverte du gène impliqué dans 80 % des hémochromatoses dites « classiques » [3], un modèle de régulation de l'absorption intestinale de fer a été proposé. L'hémochromatose se caractérise par une surcharge en fer progressive dans tout l'organisme et tout particulièrement dans le foie. Les signes précurseurs d'une accumulation de fer sont l'augmentation de la saturation de la transferrine puis l'augmentation de la ferritine sérique. Pour éliminer la surcharge en fer, la mesure essentielle du traitement est la saignée. Du fait de l'existence de très nombreuses revues sur l'hémochromatose [4–6], nous n'évoquerons pas ici les signes clinico-biochimiques de la maladie mais nous essayerons de comprendre le rôle physiopathologique de la protéine HFE.

Le gène *HFE* est situé sur le chromosome 6 en position p22.2. Il code pour une protéine membranaire atypique de la famille des protéines du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I, la protéine HFE. De nombreux patients atteints d'hémochromatose présentent la mutation C282Y empêchant la protéine HFE de se lier à la β 2-microglobuline et donc d'être adressée à la membrane [7]. La protéine HFE est

également capable de se lier au récepteur de la transferrine 1 (RTf1) mais le rôle fonctionnel de cette interaction au niveau de la captation du fer reste très controversé [8].

C'est la présence conjointe de HFE et RTf1 au niveau des cellules de la crypte de l'intestin qui a permis l'élaboration, il y a plusieurs années, d'un modèle de régulation de l'absorption intestinale de fer dit « modèle de la crypte » qui repose sur une programma-

tion des cellules de la crypte en fonction des signaux régulateurs (érythroïdes et réserves) (figure 2A). C'est en migrant le long de l'axe crypto-villositaire que les cellules de la crypte se différencient et acquièrent leurs propriétés d'absorption. Les entérocytes matures, en fonction de la quantité de fer captée par les cellules de la crypte via HFE et RTf1, sont programmées à produire plus ou moins de protéines responsables de l'absorption de fer. En résulte une absorption du fer adaptée

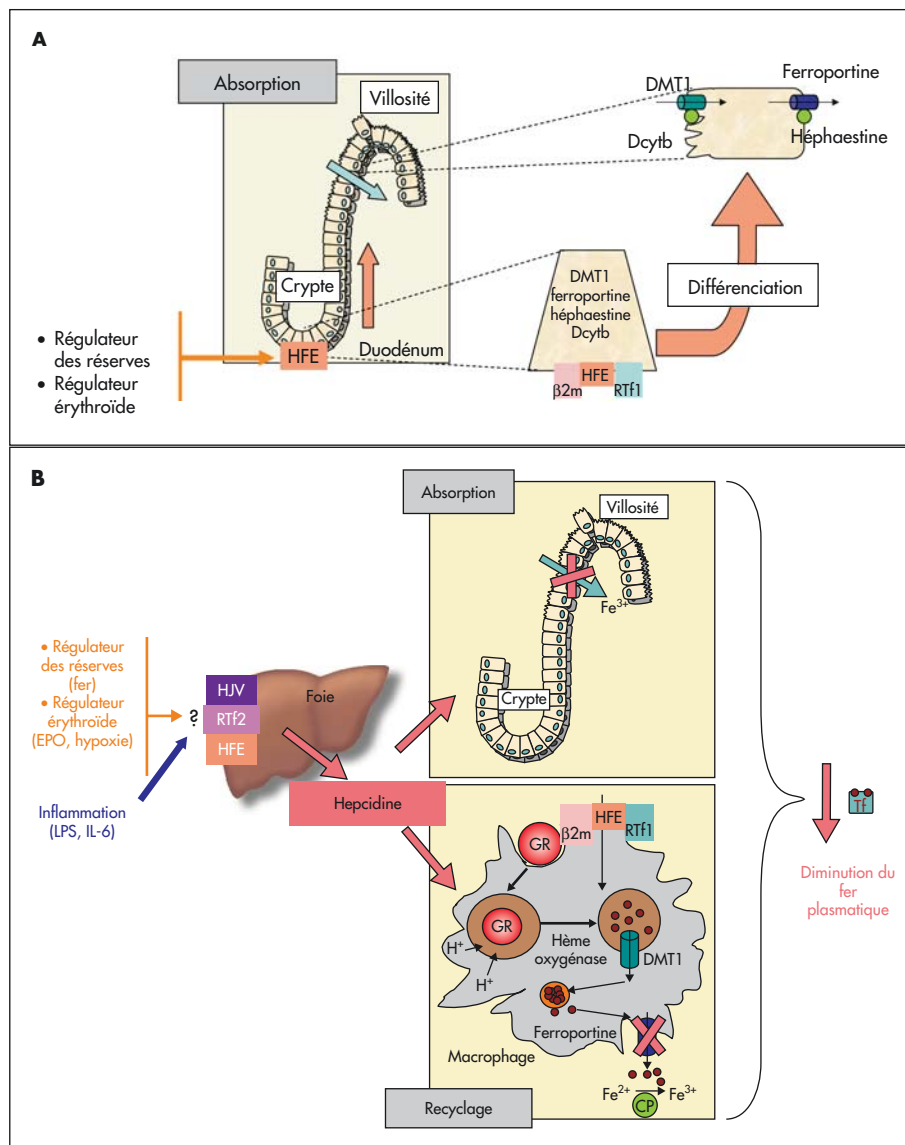


Figure 2. Modèles de régulation de l'absorption intestinale du fer.

A) Modèle de la crypte. La protéine HFE exprimée par les cellules de la crypte sert de senseur aux 2 signaux régulateurs, le régulateur des réserves et le régulateur érythroïde. Les cellules de la crypte se différencient alors en entérocytes programmés à absorber plus ou moins de fer en fonction des besoins en régulant les taux de Dcytb, DMT1, ferroportine et héphaestine.

B) Modèle de régulation via l'hepcidine. Les signaux régulateurs seraient intégrés au niveau du foie par HFE, RTf2 et/ou HJV pour commander la synthèse de l'hepcidine. Celle-ci déversée dans le sang, agit au niveau du duodénum sur l'entérocyte et le macrophage (via la ferroportine) pour diminuer l'absorption et le recyclage du fer, respectivement entraînant une diminution du fer plasmatique.

β2m : beta 2 microglobuline ; RTf1 : récepteur transferrine 1 ; RTf2 : récepteur transferrine 2 ; HJV : hémojuvéline ; GR : globule rouge ; CP : céruloplasmine.

aux besoins. Dans ce modèle, lorsque *HFE* est muté, la protéine n'est plus adressée à la membrane et la captation de l'holotransferrine au niveau de la crypte est diminuée [9]. Les cellules se retrouvent alors en situation de privation artificielle en fer (malgré les réserves abondantes de l'organisme), entraînant une augmentation des acteurs de l'absorption intestinale du fer et donc l'hyperabsorption qui caractérise cette maladie.

Ce modèle, bien que séduisant, s'est vite trouvé confronté aux premières données expérimentales de la littérature étudiant le rôle de *HFE* dans des cellules en culture et montrant que *HFE* surexprimée diminuait en fait l'entrée de fer (par compétition avec l'holotransferrine pour la fixation à RTf1), et que, par conséquent, *HFE* muté entraînait une surcharge en fer de la cellule (et non un état de déficit, comme précédemment). De plus, plusieurs auteurs ont montré que les entérocytes de patients hémochromatosiques (ou du modèle murin de l'hémochromatose obtenu par knock-out du gène *Hfe*, souris *Hfe*^{-/-}) ne présentaient pas les caractéristiques de cellules carencées en fer. Enfin, notons que le modèle de la crypte n'envisage qu'une régulation à long terme de l'absorption intestinale de fer (compte tenu qu'il faut plusieurs jours à un entérocyte de la crypte pour devenir mature) et que dans certaines situations physiopathologiques, la régulation de l'absorption se met en place très rapidement.

Aujourd'hui, même si le rôle de la protéine *HFE* n'est pas encore complètement établi, on pourra retenir que l'activité de la protéine est complexe et dépendante du type cellulaire. Dans les cellules qui n'exportent pas le fer (HeLa, HEK293) la surexpression de *HFE* entraîne une diminution du fer intracellulaire par diminution de l'entrée du fer (compétition avec l'holotransferrine pour la fixation avec le RTf1). À l'inverse, dans les cellules qui exportent naturellement le fer via l'exporteur ferroportine (lignée HT29 de type duodénale, lignée THP-1 de type macrophagique), la surexpression de *HFE*

augmente le pool intracellulaire de fer en inhibant l'export du fer. Ce rôle de *HFE* serait indépendant de sa liaison avec RTf1. La protéine *HFE* ne nous a donc pas encore livré tous ses secrets mais son implication dans l'hémochromatose ne fait aucun doute comme le prouve la surcharge en fer des modèles murins (knock-out complet et knock-in présentant la mutation C282Y). Enfin, comme nous le verrons, la découverte de l'hepcidine et la détection de quantité importante de la protéine *HFE* au niveau de l'hépatocyte (ainsi que d'autres protéines hémochromatosiques décrites ci-dessous), permettent d'apporter une alternative au modèle de la crypte avec une régulation directe de l'absorption des entérocytes matures via l'hepcidine (figure 2B).

Les macrophages (rate, moelle, foie) jouent également un rôle important dans la régulation de l'homéostasie du fer par leur fonction de relargage du fer lié à l'hème. Suite à l'observation de la présence de macrophages déficients en fer chez les patients hémochromatosiques, et compte tenu de la présence de la protéine *HFE* dans ces cellules, certains auteurs ont émis l'hypothèse que l'absence de *HFE* à la membrane de ces cellules perturberait la captation de fer RTf1 dépendante, provoquant le déficit en fer de ces cellules. Là encore, une autre hypothèse peut être avancée faisant intervenir comme nous le verrons l'hepcidine.

Hémochromatoses non HFE-dépendantes

HFE est muté dans 80 % des hémochromatoses classiques. Reste 20 % des hémochromatoses qui sont dues à des mutations dans d'autres gènes impliqués dans le métabolisme du fer. Suite à la découverte de ces autres gènes, une classification a été proposée (voir tableau 1). L'hémochromatose classique HFE-dépendante est appelée hémochromatose de type I.

Tableau 1. Les différentes formes d'hémochromatose et leur niveau d'hepcidine

Type	Hémochromatose		Niveau d'hepcidine	Référence bibliographique
	Gène impliqué	Mode de transmission		
Type I	HFE	Autosomique récessif	- (ARNm et protéine)	Bridle, Lancet, 2003; Nemeth, Blood, 2005
Type II Hémochromatose juvénile	HFE2 , hémoujuviline	Autosomique récessif	- (protéine)	Papanikolaou, Blood, 2005
	HAMP , hepcidine	Autosomique récessif	- (protéine)	Papanikolaou, Blood, 2005
Type III	TFR2 , récepteur transferrine-2	Autosomique récessif	- (protéine)	Nemeth, Blood, 2005
Type IV	SLC11A3 , ferroportine	Autosomique dominant	+ (protéine)	Papanikolaou, Blood, 2005

Des mutations dans le récepteur de la transferrine 2 (RTf2, gène noté *TFR2*) sont responsables d'hémochromatose dite de type III qui a pratiquement le même tableau clinique que celle impliquant HFE. RTf2 est homologue à RTf1 mais lie l'holotransferrine avec une affinité très réduite. Il est exprimé majoritairement dans les hépatocytes. Enfin, RTf2 n'est pas capable de lier la protéine HFE. Les taux de RTf2 sont sensibles à la quantité de fer circulante faisant de RTf2 un candidat idéal de « senseur du fer » permettant le déclenchement des signaux régulateurs, en l'occurrence le contrôle de l'hepcidine. Une des hypothèses pour expliquer la surcharge dans l'hémochromatose de type III serait alors une hyperabsorption intestinale de fer par inhibition de l'expression de l'hepcidine. Cette hypothèse a été confirmée (voir ci-dessous). Là encore, pour RTf2, plusieurs modèles murins ont été établis et présentent un phénotype comparable à celui des patients.

L'hémochromatose de type IV est particulière à plusieurs titres. Elle se transmet suivant un mode autosomique dominant alors que les hémochromatoses de type I et III sont autosomiques récessives. Dans cette forme d'hémochromatose, la surcharge en fer est d'abord macrophagique, elle atteint ensuite les hépatocytes. La présence d'une anémie et donc d'une faible tolérance aux phlébotomies est retrouvée chez certains patients. Le gène impliqué est la ferroportine (gène noté *SLC11A3*). La pathogénie est loin d'être établie et la mise en place du phénotype reste à élucider (les modèles murins sont en cours d'élaboration). Aujourd'hui, il existe une controverse quant à savoir si les mutations provoquent une perte ou un gain de fonction de la ferroportine mais peut-être que suivant le type de mutation, les deux cas sont envisageables.

Enfin, la dernière forme d'hémochromatose, l'hémochromatose de type II est la forme juvénile dont les symptômes apparaissent plus précocement que les autres types d'hémochromatose (avant 30 ans contre 40-50 ans pour les hémochromatoses classiques) et dont le phénotype est beaucoup plus sévère avec une surcharge en fer plus importante et des atteintes cardiaques et endocriniennes graves. Deux gènes sont à l'origine de l'hémochromatose de type II. Dans la majorité des cas, c'est le gène de l'hémojuvéline (noté *HJV*) situé en 1q qui est muté. Ce gène découvert en 2004 n'a pas de fonction connue pour l'instant. Cependant, on note une réduction importante des taux d'hepcidine urinaire chez ces patients laissant supposer que l'hémojuvéline pourrait être un régulateur de l'hepcidine. L'autre gène impliqué dans l'hémochromatose juvénile est le gène de l'hepcidine (noté *HAMP*) (voir plus loin).

Découverte de l'hepcidine

En 2001, la découverte de l'implication de l'hepcidine dans le métabolisme du fer s'est faite de façon concomitante par deux laboratoires français. L'un étudiant des souris qui avaient reçu un régime riche en fer [10], l'autre en analysant des souris génétiquement modifiées (*Uf2* knock-out)¹ présentant une surcharge en fer ressemblant au tableau clinique de l'hémochromatose génétique [11]. Dans les deux cas, un criblage différentiel de banques d'ARN de foie a mis en évidence l'expression élevée pour les souris sous régime riche en fer et, l'expression éteinte pour les souris knock-out, de l'hepcidine. Ainsi, on a pu conclure que l'hepcidine, préalablement décrite comme un peptide antimicrobien, était induite par une accumulation du fer dans le foie et que l'absence d'hepcidine entraînait une grave surcharge en fer de l'organisme. Outre la surcharge en fer des souris *Uf2* knock-out, on note la présence de macrophages spléniques complètement vides de fer. Afin de confirmer ce rôle de l'hepcidine dans le métabolisme du fer, des souris transgéniques surexprimant l'hepcidine de façon constitutive dans le foie ont été générées. Ces souris présentent une forte anémie ferriprive microcytaire hypochromique [12]. Ces résultats permettaient d'établir que l'hepcidine agit en limitant l'absorption intestinale de fer mais aussi probablement le relargage du fer par les macrophages.

Structure du gène hepcidine

L'hepcidine est un peptide de 25 acides aminés qui a été purifié chez l'homme à partir de sang [13] et d'urine [14] et dont le messenger est fortement exprimé dans le foie. Alors qu'un seul gène code pour l'hepcidine chez l'homme (appelé *HAMP* pour *Hepcidin Anti Microbial Peptide*), chez la souris, il existe 2 gènes notés *Hepc1* et *Hepc2* situés sur le chromosome 7. Le gène humain est situé sur le chromosome 19 en position q13.12. Il est formé de 3 exons codant pour un propeptide de 84 acides aminés (figure 3). Ce propeptide est ensuite clivé pour donner le peptide de 25 acides aminés retrouvé dans le sang et les urines. Ce peptide mature a une structure très particulière en ce sens qu'il contient 8 cystéines impliquées dans 4 ponts disulfures dont un formé par deux cystéines adjacentes [15]. Au cours de l'évolution, ces cystéines ont été très conservées, elles sont retrouvées dans toutes les espèces décrites, y compris chez les poissons. La structure

¹ Dans le modèle *Uf2* knock-out, l'extinction des gènes hepcidine est la conséquence des manipulations génétiques opérées au locus *Uf2*. En effet, il se trouve que les gènes hepcidine sont situés juste derrière le gène *Uf2* (à moins de 2000 paires de bases) sur le chromosome 7 de la souris. Ainsi, l'expression de l'hepcidine aura-t-elle été altérée par l'insertion de la cassette d'inactivation du gène d'*Uf2* quelques kilobases en amont.

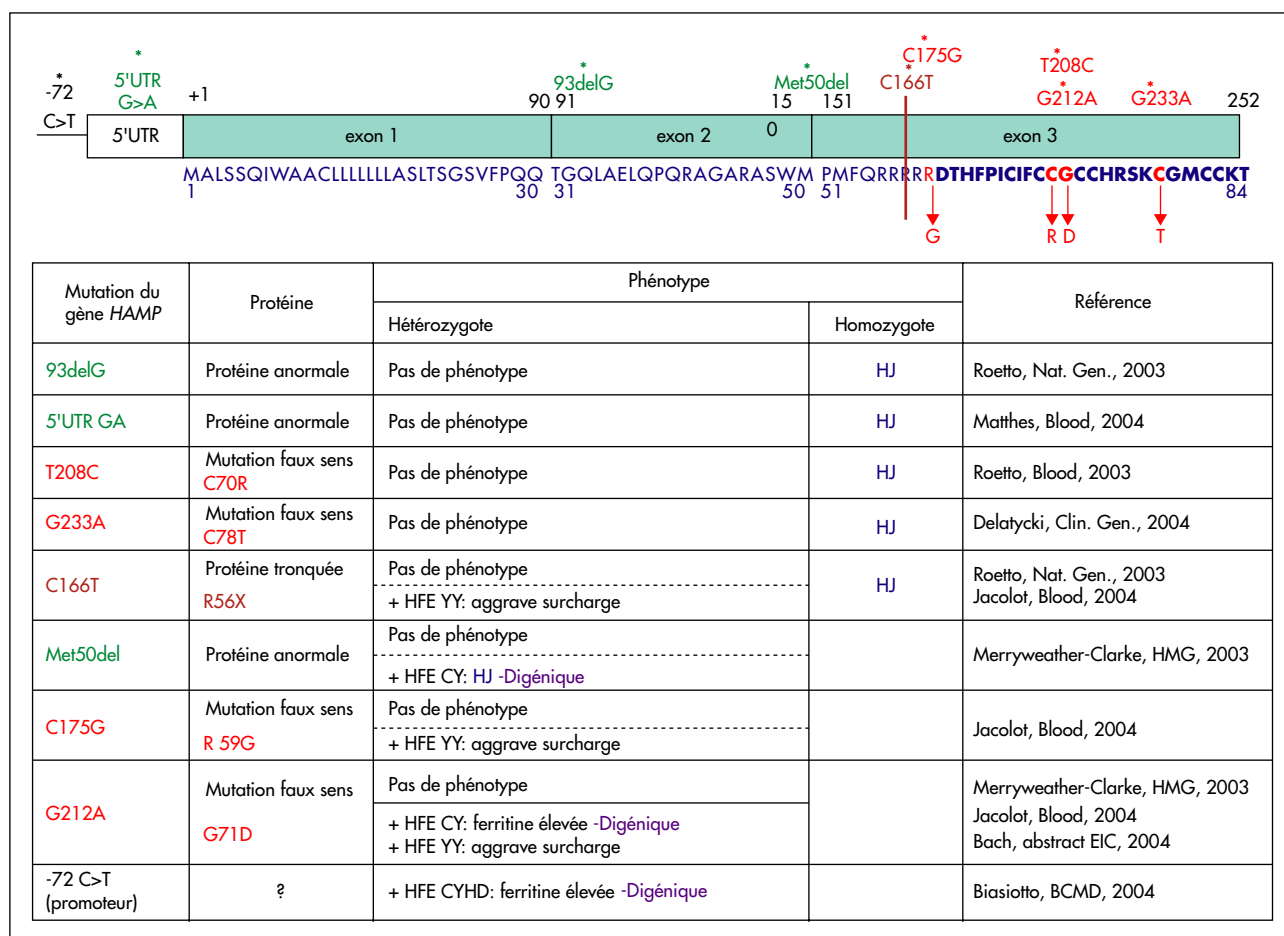


Figure 3. Mutations du gène humain de l'hepcidine (*HAMP*). Le gène *HAMP* est formé de 3 exons codant pour un propeptide de 84 acides aminés dont la séquence est indiquée sous le gène, en bleu. Le peptide mature de 25 acides aminés est indiqué en gras. Les mutations décalage de lecture sont figurées en vert. Les substitutions non sens (STOP) sont figurées en marron et les substitutions faux sens en rouge. HJ = hémochromatose juvénile. Digénique = mode de transmission digénique. HFE CY : patient hétérozygote pour la mutation C282Y. HFE YY : patient homozygote pour la mutation C282Y. HFE HD : patient hétérozygote pour la mutation H63D.

tridimensionnelle du peptide et son état d'oxydation rendent difficile la production d'hepcidine en grande quantité. Aujourd'hui, seules quelques équipes sont capables de produire de l'hepcidine par synthèse chimique, voire de purifier le peptide à partir d'échantillons biologiques. Les données sur le mode de sécrétion du peptide (proconvertases mises en jeu, régulation ?), la nature de la forme circulante (existence d'une protéine plasmatiche de liaison, propeptide circulant ?), de sa stabilité et de son élimination ne sont pas encore disponibles.

Mutations de l'hepcidine

Des mutations du gène codant pour l'hepcidine ont été retrouvées à l'état homozygote chez des patients atteints d'une forme sévère d'hémochromatose, l'hémochromatose juvénile. Ces mutations, qui représentent

des cas très rares, sont présentées dans la figure 3. Les mutations identifiées dans la région correspondant au propeptide entraînent soit un décalage de phase de lecture, soit un arrêt de la traduction [16, 17]. De façon plus intéressante, des mutations de substitution ont été retrouvées dans la région codant pour le peptide mature. Ces mutations permettent d'identifier les régions importantes dans la fonction du peptide. Il est ainsi évident que les cystéines sont essentielles à cette fonction puisque deux cystéines sont mutées chez des patients atteints d'hémochromatose juvénile [16, 18]. La troisième mutation substitutive touche une glycine située entre 2 cystéines, perturbant donc ainsi probablement les ponts disulfures. La glycine ayant un encombrement stérique très faible, on peut s'attendre à ce que l'acide aspartique qui remplace cette glycine chez le patient empêche la formation des ponts disulfures adjacents [19].

À l'état hétérozygote, les mutations dans le gène codant pour l'hepcidine sont le plus souvent sans effet, mais la présence de ces mutations chez des patients atteints d'hémochromatose classique peut aggraver, comme cela a été montré dans quelques cas, la surcharge en fer. Ces résultats suggèrent fortement que l'hepcidine puisse être un gène modificateur de l'hémochromatose [20, 21]. La notion de l'existence de gènes modificateurs pour l'hémochromatose repose sur le fait que, si l'hémochromatose est une maladie génétique de très forte prévalence, sa pénétrance reste toutefois très incomplète laissant suspecter l'existence de facteurs environnementaux et de gènes modificateurs importants pour l'expressivité du phénotype. Enfin, notons qu'il a été retrouvé un mode de transmission digénique (patients ayant une mutation à l'état hétérozygote pour le gène *HFE* et une mutation à l'état hétérozygote pour le gène *HAMP*) à l'origine d'hémochromatose ou simplement d'augmentation de la ferritine, indiquant des réserves en fer trop élevées [19, 21, 22].

Outre la perte de fonction de l'hepcidine chez les patients porteurs d'une mutation dans le gène *HAMP*, il est clairement établi aujourd'hui que l'hepcidine joue un rôle clé dans la gravité et l'établissement d'une hémochromatose classique. En effet, il a été démontré, à la fois chez la souris et chez l'homme, que l'hepcidine est exprimée de façon inappropriée au regard de la surcharge en fer hépatique dans les hémochromatoses liées à *HFE* [23-26], à *TFR2* [27, 28], et à *HJV* [29] (voir tableau 1). L'hepcidine serait donc le déterminant commun de ces hémochromatoses laissant supposer un rôle de l'hepcidine dans la physiopathogénie de l'hémochromatose génétique. Dans le modèle des souris hémochromatosiques *Hfe* *-/-*, il a été montré que la surcharge en fer pouvait être prévenue par un apport d'hepcidine laissant suggérer la possibilité d'un traitement thérapeutique préventif de l'hémochromatose héréditaire [26].

De façon intéressante, il a très récemment été décrit que l'hepcidine était augmentée dans la forme dominante liée au gène *SLC11A3* [30] suggérant que contrairement aux autres formes, l'hepcidine serait capable de répondre à la surcharge en fer de l'organisme. Ces résultats permettent de proposer un rôle régulateur de *HFE*, *RTf2* et *HJV* dans l'expression hépatique de l'hepcidine et de confirmer que la ferroportine agit en aval de l'hepcidine comme nous le verrons un peu plus tard (figure 2B).

Régulation de l'hepcidine

Pour être un bon candidat de régulateur central du métabolisme du fer, l'hepcidine doit pouvoir répondre d'une façon ou d'une autre (niveau d'expression/

d'activité/de dégradation) aux stimuli connus pour influencer l'absorption et le relargage du fer. Comme on l'a vu précédemment, un régime riche en fer entraîne une augmentation de l'hepcidine dans le foie [10]. À l'inverse, dans le cas d'un régime pauvre en fer, on observe une diminution de l'hepcidine [31]. C'est une réponse aux stocks en fer de l'organisme ou « régulateur des réserves ». De même, dans le foie de rates en fin de gestation lorsque les réserves en fer de la mère sont faibles du fait de l'exigence accrue du fœtus pour ce métal, on retrouve des taux très diminués d'hepcidine [32].

Outre la réponse au fer, l'hepcidine répond également aux stimuli produits par le système érythropoïétique ou « régulateur érythroïde ». En effet, chez des souris dont le nombre de globules rouges est fortement diminué par des saignées régulières ou un traitement hémolytique (phénylhydrazine), le taux hépatique d'hepcidine est diminué [33]. De façon similaire, des souris traitées à l'érythropoïétine (qui est produite pour stimuler l'érythropoïèse) et des souris en situation d'hypoxie produisent moins d'hepcidine [33, 34]. Ainsi, en cas de demandes accrues en fer, l'hepcidine est diminuée de façon à augmenter le fer disponible pour reconstituer les réserves et, dans les cas plus sévères, produire des globules rouges.

Il semble que des deux signaux régulateurs, le signal érythroïde prédomine sur celui des réserves en fer. Ceci a pu être établi grâce aux modèles de maladies hématologiques de dysérythropoïèse où on observe, suite à l'anémie, une hyperabsorption digestive de fer, qui induit secondairement une surcharge martiale. Ainsi, dans des souris hypotransferrinémiques (*hpx*) présentant une surcharge en fer secondaire importante [35], ou des souris thalassémiques [36], les taux d'ARNm de l'hepcidine sont très diminués. Cette diminution de l'hepcidine a également été décrite récemment au niveau des taux d'hepcidine urinaire chez des patients thalassémiques [30].

Les mécanismes eux-mêmes de régulation de l'hepcidine restent à découvrir car, notamment en ce qui concerne l'effet du fer sur l'hépatocyte, il n'a pas été possible jusqu'à présent de reproduire l'induction observée *in vivo* sur des hépatocytes isolés en présence de différentes formes de fer [10, 37, 38]. Le fer libre a même été montré comme étant capable d'inhiber *in vitro* la synthèse d'hepcidine. Ces résultats suggèrent une régulation indirecte de l'hepcidine par le fer faisant intervenir d'autres signaux et/ou d'autres types cellulaires.

Nous l'avons vu, l'expression inappropriée de l'hepcidine malgré la surcharge en fer dans différents types d'hémochromatoses, font des protéines *HFE*, *RTf2* et de l'hémojuvéline des acteurs importants du contrôle de l'hepcidine (voir plus haut et tableau 1). Le déchiffrement

des voies de signalisation empruntées par ces effecteurs donnera certainement des pistes thérapeutiques intéressantes.

Hepcidine et réponse immunitaire innée

L'hepcidine a tout d'abord été découverte pour ses propriétés antimicrobiennes. L'hepcidine tient d'ailleurs son nom de son site d'expression majeur, « hep » pour hépatocyte, et « idine » de son activité bactéricide. La fonction antimicrobienne de l'hepcidine n'est prouvée qu'*in vitro*, son rôle dans l'immunité innée *in vivo* reste à démontrer. Il paraît peu probable que cette fonction soit conservée chez les mammifères considérant que des concentrations plasmatiques physiologiques (100-150 nM) de NaCl sont capables de l'inhiber [14]. L'hepcidine est augmentée par divers stimuli inflammatoires. Que ce soit lors d'une inflammation chronique (infection bactérienne [39]) ou lors d'une inflammation aiguë (injection de turpentine [33], d'adjuvant de Freund [40] ou de lipopolysaccharide, LPS [10, 37]). S'il est maintenant bien établi que l'hepcidine est une protéine de réponse précoce à l'inflammation, le répertoire des cytokines inflammatoires capables de moduler son expression reste un sujet de controverse [37, 41]. Nous pouvons retenir que l'interleukine IL-6 est un agent inducteur positif de l'hepcidine. Infusée à des volontaires sains, l'IL-6 est capable d'augmenter de 6 fois les taux urinaires d'hepcidine au bout de quelques heures [42]. Si l'hepcidine n'agit pas *in vivo* comme un réel peptide antimicrobien, elle participe, de par son action hyposidéremiante, à lutter contre les infections/inflammations en réduisant le fer libre indispensable aux organismes pathogènes ou aux cellules cancéreuses en prolifération. L'augmentation de l'hepcidine dans des situations d'inflammation, à en croire les effets du peptide, pourrait donc conduire à une diminution du fer sérique par rétention du fer macrophagique et une inhibition de l'absorption intestinale du fer. C'est en effet le cas puisque l'on retrouve une réduction de 50 % du fer sérique après l'injection de turpentine à des souris, réponse qui est perdue lorsque la turpentine est injectée à des souris déficientes en hepcidine [33]. Ces résultats suggèrent que l'augmentation de l'hepcidine dans l'inflammation pourrait contribuer à l'établissement des dérégulations du métabolisme du fer observées au cours des anémies des désordres chroniques chez l'homme. Ces anémies dites inflammatoires sont par leur fréquence la deuxième cause des anémies acquises, après les anémies liées à une carence en fer. Elles se différencient de ces dernières essentiellement par la

ferritine qui reste normale voire augmentée, ce qui témoigne de réserves en fer non diminuées.

Deux études récentes chez l'homme vont dans ce sens. Dans une cohorte de patients atteints de glycogénose de type 1 et présentant une anémie, Weinstein *et al.* ont mis en évidence un adénome hépatique produisant des quantités anormalement élevées d'ARNm hepcidine [35]. La résection chirurgicale de l'adénome chez ces patients a permis de normaliser les paramètres sanguins ce qui est fortement compatible avec un effet de l'hepcidine dans le blocage intestinal et macrophagique du fer. Enfin, Nemeth *et al.* ont mesuré, directement cette fois, les taux urinaires d'hepcidine et montrent que ces niveaux sont plus élevés chez des patients atteints de diverses anémies chroniques inflammatoires [37].

Enfin, notons que les niveaux d'hepcidine semblent également sujets aux variations des hormones sexuelles. En effet, il a été montré qu'il existe un dimorphisme sexuel chez la souris, les mâles exprimant moins d'hepcidine que les femelles [43]. Ces taux d'hepcidine sont corrélés à des niveaux de réserve en fer hépatique moins importants chez les mâles.

Mode d'action de l'hepcidine

Le phénotype des souris sans hepcidine et des souris surexprimant l'hepcidine [11, 12] ont amené à émettre l'hypothèse d'une action de l'hepcidine au niveau intestinal et au niveau du relargage du fer par les macrophages. Les cibles potentielles de l'hepcidine restent néanmoins à déterminer. L'étude de situations où l'hepcidine est augmentée ou diminuée par différents traitements chez la souris (inflammation [40, 44], régime riche en fer [45], anémie hémolytique [46, 47], régime pauvre en fer [31]) a permis à plusieurs équipes d'analyser l'expression des différents acteurs de l'absorption intestinale de fer. Les résultats sont très disparates, certaines études tendant à montrer que l'hepcidine agirait seulement au niveau apical ou basolatéral de l'entérocyte, d'autres que l'hepcidine agirait aux deux niveaux, à la fois sur Dcytb, DMT1 et la ferroportine. Ces divergences peuvent être imputées au traitement utilisé pour faire varier l'hepcidine. En effet, celui-ci pourrait agir directement sur les différents acteurs étudiés et masquer l'effet spécifique de l'hepcidine.

Des études utilisant de l'hepcidine synthétique ou recombinante, donnent également des résultats divergents, posant la question de la qualité de l'hepcidine utilisée dans ces études. Ainsi, Yeh *et al.* [44], ont injecté de l'hepcidine recombinante et observent une diminution du messenger de la ferroportine au pôle basolatéral. À l'inverse, une étude de Laftah *et al.* [48] utilisant de l'hepcidine synthétique montre une diminu-

tion uniquement du transport apical de fer sans modification du transport basolatéral de l'entérocyte.

Enfin, des études récentes réalisées dans un modèle *in vitro* surexprimant la ferroportine apportent des données très convaincantes quant au rôle de la ferroportine comme cible de l'hepcidine [49]. Les auteurs montrent une interaction directe de la ferroportine avec de l'hepcidine synthétique radiomarquée et démontrent que cette interaction induit l'internalisation de la ferroportine et sa dégradation dans le système lysosomal. Ainsi, ce travail permet-il de proposer une boucle de régulation assurant le contrôle de l'homéostasie du fer. L'excès de fer induit l'expression d'hepcidine qui, sécrétée dans la circulation, va agir sur l'absorption intestinale de fer et le relargage du fer en inhibant l'export de fer de l'entérocyte et du macrophage via la dégradation de la ferroportine dans ces cellules. L'érythropoïèse qui doit être maintenue pour produire suffisamment de globules rouges pompe alors sur les réserves en fer ce qui conduit peu à peu à déléter celles-ci et à rétablir un état d'équilibre. Ce travail demande maintenant validation *in vivo* et pose la question de savoir si toutes les cellules exprimant la ferroportine vont être également sensibles à l'hepcidine. De façon intéressante, l'effet inhibiteur de l'hepcidine sur l'activité d'export de fer par la ferroportine vient d'être confirmé dans des cellules de type macrophagique [50]. Suite à ces travaux, on peut également se demander si l'hepcidine ne pourrait pas agir (suivant sa concentration, ses partenaires, sa cible...) sur d'autres acteurs directement ou si la ferroportine est l'unique cible de l'hepcidine.

Comment doser l'hepcidine ?

Sur les modèles animaux, le dosage de l'hepcidine repose uniquement sur la quantification des ARNm de l'hepcidine au niveau hépatique. Chez l'homme, aujourd'hui, une seule équipe est capable de mesurer l'hepcidine urinaire (et non sérique) grâce à des anticorps spécifiques dérivés par l'équipe [37]. Il n'existe pas à ce jour de kit commercialisé pour doser l'hepcidine sérique. Il existe en revanche un kit de dosage de la prohepcidine mais la relevance physiologique du dosage du propeptide reste entièrement à démontrer. Il existe donc là un véritable challenge (la difficulté venant de la structure extrêmement complexe du peptide rendant très difficile la production d'anticorps sensibles), car un tel outil se révélera probablement un élément diagnostique très important dans le métabolisme du fer dans les années à venir.

Hepcidine et thérapeutique

Les perspectives thérapeutiques ouvertes par la découverte de l'hepcidine sont considérables et constituent une étape importante dans le domaine des maladies de l'homéostasie du fer (insuffisances ou surcharges) qui touchent des dizaines de millions de personnes dans le monde. L'utilisation de l'hepcidine, de ses agonistes ou de toute substance stimulant sa production devrait dans le futur pouvoir constituer un traitement logique des surcharges en fer primaires telles que les hémochromatoses. Ces molécules pourraient aussi être bénéfiques dans les surcharges secondaires comme les thalassémies ou les anémies réfractaires par insuffisance de production de globules rouges. Chez les patients thalassémiques, l'hyperabsorption digestive du fer, conséquence de l'érythropoïèse inefficace, est souvent aggravée par la transfusion répétée de globules rouges indispensables pour la survie des patients. Pouvoir disposer de molécules inhibitrices de l'absorption intestinale de fer pourrait ici constituer un traitement de choix puisque le seul traitement disponible face à une surcharge en fer trop importante, est l'administration de molécules chélatrices du fer par voie intraveineuse, qui est souvent très difficile à supporter pour le patient. De plus, son efficacité est parfois limitée.

Les cancers, les maladies inflammatoires chroniques (connectivite, lupus, polyarthrite rhumatoïde, etc.), les infections chroniques sont le plus souvent associés à une forme d'anémie inflammatoire caractérisée par une séquestration du fer dans les macrophages, une diminution du fer sérique et de la transferrine circulante, et une diminution de l'absorption intestinale. Ces anémies aggravent considérablement l'état général des malades et, comme cela est bien démontré dans le cas des cancers, diminuent l'efficacité des traitements. L'hyperexpression du gène de l'hepcidine joue un rôle essentiel dans ce type d'anémies inflammatoires. Par conséquent, des antagonistes de l'hepcidine constitueraient le traitement, là encore logique, de ce type d'anémies inflammatoires.

Conclusion

Les connaissances sur le métabolisme du fer ont considérablement évolué au cours de ces 10 dernières années. D'un modèle de régulation simple faisant intervenir la molécule HFE au niveau du duodénum (*figure 2A*), nous sommes passés à un modèle complexe avec le foie en organe central de régulation et l'hepcidine comme hormone du métabolisme du fer. Dans ce modèle, le foie agit comme un senseur des besoins en fer via les protéines HFE, récepteur transferrine 2 et hémojuveline, produisant de l'hepcidine, qui, déversée

En résumé

- Depuis 40 ans, se posait la question du régulateur hormonal du métabolisme du fer. Avec la découverte il y a quatre ans de l'hepcidine, peptide de 25 acides aminés produit par le foie, et trouvé dans le sang, dont la fonction est d'inhiber l'absorption intestinale et le relargage macrophagique du fer dans le sang, c'est un véritable changement dans la façon d'appréhender cette régulation du métabolisme du fer qui s'est opéré.
- Tout d'abord, la protéine HFE qu'on tenait pour responsable, par son action au niveau du duodénum, de l'hyperabsorption intestinale du fer dans l'hémochromatose, s'est vu reléguée au rang de régulateur de l'expression de l'hepcidine au niveau du foie. Ensuite l'ensemble des maladies associées à une perturbation du métabolisme du fer (hémochromatose héréditaire, surcharge en fer secondaire, anémie chronique inflammatoire) peuvent pour la plupart s'expliquer par des dérégulations de l'hepcidine. Ceci entraînant finalement de nouvelles perspectives diagnostiques et thérapeutiques pour toutes ces maladies qui touchent des dizaines de millions de personnes dans le monde.
- Si l'hepcidine résout de nombreux problèmes, elle soulève néanmoins de nombreuses questions. L'hepcidine n'est-elle synthétisée que par le foie ou existe-t-il d'autres sites d'expression locale du peptide ? Comment s'opère la régulation de l'hepcidine par le fer, quelle est la nature des cytokines inflammatoires capables de moduler son expression et existe-t-il d'autres médiateurs contrôlant l'expression de l'hepcidine ? Reste également à élucider son mode d'action : agit-elle uniquement *via* la ferroportine pour inhiber l'export de fer des entérocytes et des macrophages ? Enfin, la nature même de la forme active de l'hepcidine est controversée (propeptide, peptide de 25 acides aminés seul ou lié à une protéine de transport...). Ainsi ce peptide régulateur éclaire sur de nombreux mécanismes physiologiques et pathogéniques du métabolisme du fer, tout en laissant des zones d'ombre sur sa vraie nature.

dans le sang, agit à distance sur l'entérocyte et le macrophage pour produire son effet hyposidéremiant par inhibition de la ferroportine (figure 2B). La découverte du réseau de protéines hémochromatosiques et de l'hepcidine apporte un éclairage nouveau sur la physiopathologie du métabolisme du fer et ouvre de nombreuses perspectives diagnostiques et thérapeutiques. Et comme le disent si bien nos collègues américains : « *Iron is still hot, hepcidin keeps it ablaze* » !

Références

1. Miret S, Simpson RJ, McKie AT. Physiology and molecular biology of dietary iron absorption. *Annu Rev Nutr* 2003 ; 23 : 283-301.
2. Andrews NC, Fleming MD, Gunshin H. Iron transport across biologic membranes. *Nutr Rev* 1999 ; 57 : 114-23.
3. Feder JN, Gnirke A, Thomas W, et al. A novel MHC class II-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet* 1996 ; 13 : 399-408.
4. Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med* 1999 ; 341 : 1986-95.
5. Brissot P, Troadec MB, Loreal O. Intestinal absorption of iron in HFE-1 hemochromatosis : local or systemic process? *J Hepatol* 2004 ; 40 : 702-9.
6. Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis—a new look at an old disease. *N Engl J Med* 2004 ; 350 : 2383-97.
7. Feder JN, Tsuchihashi Z, Irrinki A, et al. The hemochromatosis founder mutation in HLA-H disrupts beta2-microglobulin interaction and cell surface expression. *J Biol Chem* 1997 ; 272 : 14025-8.
8. Carlson H, Zhang AS, Fleming WH, Enns CA. The hereditary hemochromatosis protein, HFE, lowers intracellular iron levels independently of transferrin receptor 1 in TRVb cells. *Blood* 2004.
9. Waheed A, Parkkila S, Saarnio J, et al. Association of HFE protein with transferrin receptor in crypt enterocytes of human duodenum. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999 ; 96 : 1579-84.
10. Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, et al. A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J Biol Chem* 2001 ; 276 : 7811-9.
11. Nicolas G, Bennoun M, Devaux I, et al. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 98 : 8780-5.
12. Nicolas G, Bennoun M, Porteu A, et al. Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002 ; 99 : 4596-601.
13. Krause A, Neitz S, Magert HJ, et al. LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett* 2000 ; 480 : 147-50.
14. Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Heparin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem* 2001 ; 276 : 7806-10.
15. Hunter HN, Fulton DB, Ganz T, Vogel HJ. The solution structure of human hepcidin, a peptide hormone with antimicrobial activity that is involved in iron uptake and hereditary hemochromatosis. *J Biol Chem* 2002 ; 277 : 37597-603.
16. Roetto A, Papanikolaou G, Politou M, et al. Mutant antimicrobial peptide hepcidin is associated with severe juvenile hemochromatosis. *Nat Genet* 2003 ; 33 : 21-2.
17. Matthes T, Aguilar-Martinez P, Pizzi-Bosman L, et al. Severe hemochromatosis in a Portuguese family associated with a new mutation in the 5'UTR of the HAMP gene. *Blood* 2004 ; 104 : 2181-3.
18. Delatycki MB, Allen KJ, Gow P, et al. A homozygous HAMP mutation in a multiply consanguineous family with pseudo-dominant juvenile hemochromatosis. *Clin Genet* 2004 ; 65 : 378-83.
19. Merryweather-Clarke AT, Cadet E, Bomford A, et al. Digenic inheritance of mutations in HAMP and HFE results in different types of haemochromatosis. *Hum Mol Genet* 2003 ; 12 : 2241-7.
20. Nicolas G, Andrews NC, Kahn A, Vulont S. Heparin, a candidate modifier of the hemochromatosis phenotype in mice. *Blood* 2004 ; 103 : 2841-3.
21. Jacolot S, Le Gac G, Scotet V, Quere I, Mura C, Ferec C. HAMP as a modifier gene that increases the phenotypic expression of the HFE pC282Y homozygous genotype. *Blood* 2004 ; 103 : 2835-40.
22. Bach V, Altés A, Barcelo MJ, et al. Digenic inheritance of mutations in HAMP and HFE genes in a spanish family with genetic hemochromatosis. Rennes, France : European Iron Club, 2004.
23. Bridle KR, Frazer DM, Wilkins SJ, et al. Disrupted hepcidin regulation in HFE-associated haemochromatosis and the liver as a regulator of body iron homeostasis. *Lancet* 2003 ; 361 : 669-73.
24. Ahmad KA, Ahmann JR, Migas MC, et al. Decreased liver hepcidin expression in the Hfe knockout mouse. *Blood Cells Mol Dis* 2002 ; 29 : 361-6.
25. Muckenthaler M, Roy CN, Custodio AO, et al. Regulatory defects in liver and intestine implicate abnormal hepcidin and Cybrd1 expression in mouse hemochromatosis. *Nat Genet* 2003 ; 34 : 102-7.

26. Nicolas G, Viatte L, Lou DQ, *et al.* Constitutive hepcidin expression prevents iron overload in a mouse model of hemochromatosis. *Nat Genet* 2003 ; 34 : 97-101.
27. Nemeth E, Roetto A, Garozzo G, Ganz T, Camaschella C. Hepcidin is decreased in TFR2-Hemochromatosis. *Blood* 2005 ; 105 : 1803-6.
28. Kawabata H, Fleming RE, Gui D, *et al.* Expression of hepcidin is down-regulated in Tfr2 mutant mice manifesting a phenotype of hereditary hemochromatosis. *Blood* 2005 ; 105 : 376-81.
29. Papanikolaou G, Samuels ME, Ludwig EH, *et al.* Mutations in HFE2 cause iron overload in chromosome 1q-linked juvenile hemochromatosis. *Nat Genet* 2004 ; 36 : 77-82.
30. Papanikolaou G, Tzilianos M, Christakis JI, *et al.* Hepcidin in iron overload disorders. *Blood* 2005 ; 25.
31. Frazer DM, Wilkins SJ, Becker EM, *et al.* Hepcidin expression inversely correlates with the expression of duodenal iron transporters and iron absorption in rats. *Gastroenterology* 2002 ; 123 : 835-44.
32. Millard KN, Frazer DM, Wilkins SJ, Anderson GJ. Changes in the expression of intestinal iron transport and hepatic regulatory molecules explain the enhanced iron absorption associated with pregnancy in the rat. *Gut* 2004 ; 53 : 655-60.
33. Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, *et al.* The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest* 2002 ; 110 : 1037-44.
34. Nicolas G, Viatte L, Bennoun M, Beaumont C, Kahn A, Vaulont S. Hepcidin, a new iron regulatory peptide. *Blood Cells Mol Dis* 2002 ; 29 : 327-35.
35. Weinstein DA, Roy CN, Fleming MD, Loda MF, Wolfsdorf JJ, Andrews NC. Inappropriate expression of hepcidin is associated with iron refractory anemia : implications for the anemia of chronic disease. *Blood* 2002 ; 100 : 3776-81.
36. Adamsky K, Weizer O, Amarglio N, *et al.* Decreased hepcidin mRNA expression in thalassemic mice. *Br J Haematol* 2004 ; 124 : 123-4.
37. Nemeth E, Valore EV, Territo M, Schiller G, Lichtenstein A, Ganz T. Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood* 2003 ; 101 : 2461-3.
38. Gehrke SG, Kulaksiz H, Herrmann T, *et al.* Expression of hepcidin in hereditary hemochromatosis : evidence for a regulation in response to the serum transferrin saturation and to non-transferrin-bound iron. *Blood* 2003 ; 102 : 371-6.
39. Shike H, Lauth X, Westerman ME, *et al.* Bass hepcidin is a novel antimicrobial peptide induced by bacterial challenge. *Eur J Biochem* 2002 ; 269 : 2232-7.
40. Anderson GJ, Frazer DM, Wilkins SJ, *et al.* Relationship between intestinal iron-transporter expression, hepatic hepcidin levels and the control of iron absorption. *Biochem Soc Trans* 2002 ; 30 : 724-6.
41. Lee P, Peng H, Gelbart T, Wang L, Beutler E. Regulation of hepcidin transcription by interleukin-1 and interleukin-6. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005 ; 102 : 1906-10.
42. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, *et al.* IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest* 2004 ; 113 : 1271-6.
43. Courselaud B, Troadec MB, Fruchon S, *et al.* Strain and gender modulate hepatic hepcidin 1 and 2 mRNA expression in mice. *Blood Cells Mol Dis* 2004 ; 32 : 283-9.
44. Yeh KY, Yeh M, Glass J. Hepcidin regulation of ferroportin 1 expression in the liver and intestine of the rat. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004 ; 286 : G385-G394.
45. Ludwiczek S, Theurl I, Artner-Dworzak E, Chorney M, Weiss G. Duodenal HFE expression and hepcidin levels determine body iron homeostasis : modulation by genetic diversity and dietary iron availability. *J Mol Med* 2004 ; 82 : 373-82.
46. Latunde-Dada GO, Vulpe CD, Anderson GJ, Simpson RJ, McKie AT. Tissue-specific changes in iron metabolism genes in mice following phenylhydrazine-induced haemolysis. *Biochim Biophys Acta* 2004 ; 1690 : 169-76.
47. Frazer DM, Inglis HR, Wilkins SJ, *et al.* Delayed hepcidin response explains the lag period in iron absorption following a stimulus to increase erythropoiesis. *Gut* 2004 ; 53 : 1509-15.
48. Laftah AH, Ramesh B, Simpson RJ, *et al.* Effect of hepcidin on intestinal iron absorption in mice. *Blood* 2004 ; 103 : 3940-4.
49. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, *et al.* Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004 ; 306 : 2090-3.
50. Knutson MD, Oukka M, Koss LM, Aydemir F, Wessling-Resnick M. Iron release from macrophages after erythrophagocytosis is up-regulated by ferroportin 1 overexpression and down-regulated by hepcidin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005 ; 102 : 1324-8.