

- Natl Acad Sci USA, 2005, 102(36): 12891–12896
- 7 Mirazo S, Ruchansky D, Blance A, *et al.* Serologic evidence of human metapneumovirus circulation in Uruguay [J]. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2005, 100: 715–718
- 8 Samransamruajkit R, Thanasugarn W, Prapphal N, *et al.* Human metapneumovirus in infants and young children in Thailand with lower respiratory tract infections; molecular characteristics and clinical presentations[J]. J Infect, 2006, 52: 254–263
- 9 Boivin G, Abed Y, Pelletier G, *et al.* Virological features and clinical manifestations associated with human metapneumovirus; a new paramyxovirus responsible for acute respiratory tract infections in all age groups[J]. J Infect Dis, 2002, 186(9): 1330–1334
- 10 辛毅,宋维娜,刘长云. 人类偏肺病毒感染的研究进展[J]. 微生物与感染, 2006, 1(3): 174–183
- 11 赵长江,袁斌. 中医药治疗呼吸道合胞病毒感染实验研究进展[J]. 中医儿科杂志, 2009, 5(1): 47
- 12 Fouchier RA, Hartwig NG, Bestebroer TM, *et al.* A previously undescribed coronavirus associated with respiratory disease in humans[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(16): 6212–6216
- (收稿日期: 2013–03–04)
- (修回日期: 2013–03–22)

缺铁性贫血患者血清 Hepsidin 和红细胞 CD71 的变化

江亚军 李秀梅 韩秀华 庄万传 朱贵华 何耀

摘要 **目的** 探讨缺铁性贫血患者血清 Hepsidin 和红细胞 CD71 的变化及其意义。**方法** 分别应用酶联免疫吸附法和流式细胞仪检测 50 例缺铁性贫血患者(病例组)和 20 例健康体检者(对照组)血清 Hepsidin 和红细胞 CD71 水平。**结果** 病例组与对照组比较血清 Hepsidin 明显降低($P < 0.01$), 红细胞 CD71 明显升高($P < 0.01$)。中度贫血组和重度贫血组血清 Hepsidin 与轻度贫血组比较明显降低(P 均 < 0.05), 重度贫血组红细胞 CD71 与轻度贫血组比较明显升高($P < 0.05$)。病例组血清 Hepsidin 与血红蛋白(Hb)、红细胞平均体积(MCV)、平均血红蛋白含量(MCH)、平均血红蛋白浓度(MCHC)和血清铁蛋白(SF)呈正相关(P 均 < 0.05), 与红细胞分布宽度(RDW)呈负相关($P < 0.01$), 与网织红细胞百分比(RET%)和红细胞 CD71 无相关性(P 均 > 0.05); 红细胞 CD71 与 Ret% 呈正相关($P < 0.01$), 与 HB、MCV、MCH、MCHC、SF 和 RDW 无相关性(P 均 > 0.05)。**结论** 缺铁性贫血患者血清 Hepsidin 降低和红细胞 CD71 升高, 其变化程度与疾病严重程度相关。

关键词 缺铁性贫血 Hepsidin CD71 铁代谢

The Changes of Serum Hepsidin and Erythrocyte CD71 in Iron Deficiency Anemia Patients. Jiang Yajun, Li Xiumei, Han Xiuhua, Zhuang Wanchuan, Zhu Guihua, He Yao. Department of Hematology, The Affiliated Lianyungang Hospital of Bengbu Medical College (The Second) People's Hospital of Lianyungang, Jiangsu 222002, China

Abstract Objective To investigate the changes of serum Hepsidin and erythrocyte CD71 in iron deficiency anemia patients and analyse their clinical significances. **Methods** Serum Hepsidin and erythrocyte CD71 in 50 patients with iron deficiency anemia (disease group) and 20 healthy subjects (control group) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay and flow cytometry respectively. **Results** Compared with control group, the serum Hepsidin in disease group was significantly decreased ($P < 0.01$), and erythrocyte CD71 was obviously increased ($P < 0.01$). The serum Hepsidin in moderate anemia group and severe anemia group was lower than mild anemia group ($P < 0.05$), and erythrocyte CD71 in severe anemia group was higher than mild anemia group ($P < 0.05$). Hepsidin in disease group was positively correlated to hemoglobin (HB), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) and serum ferritin (SF) respectively (P all < 0.05) and negatively to red cell distribution width (RDW) ($P < 0.01$), but not to reticulocyte rate (Ret%) and erythrocyte CD71 (P all > 0.05). Erythrocyte CD71 in disease group was associated with Ret% positively ($P < 0.01$), but not with HB, MCV, MCH, MCHC, SF and RDW (P all > 0.05). **Conclusion** Serum Hepsidin is decreased and erythrocyte CD71 is increased in iron deficiency anemia patients and both of them are correlated with the severity of disease.

Key words Iron deficiency anemia; Hepsidin; CD71; Iron metabolism

基金项目: 2011 年蚌埠医学院院级科研课题计划项目(BY1057)

作者单位: 222002 蚌埠医学院附属连云港医院(连云港市第二人民医院)血液科

通讯作者: 李秀梅, 电子邮箱: jiangyajun-2001@163.com

缺铁性贫血(iron deficiency anemia,IDA)是一种临床常见的小细胞低色素性贫血类型,铁代谢异常主要表现为血清铁(serum iron,SI)、血清铁蛋白(serum ferritin,SF)及转铁蛋白饱和度(transferrin saturation,TS)降低,可溶性转铁蛋白受体(soluble transferrin receptor,sTfR)及总铁结合力(total iron binding capacity,TIBC)增高。有研究证实铁调素(Hepcidin)以及CD71(TfR)在慢性病贫血(anemia of chronic disease,ACD)等疾病的发病过程中发挥重要作用^[1,2]。但有关 IDA 患者血清 Hepcidin 水平以及红细胞 CD71 表达情况的研究较少。本文应用酶联免疫吸附法和流式细胞术分别检测了 IDA 患者血清 Hepcidin 水平和红细胞 CD71 表达,旨在探讨 IDA 患者血清 Hepcidin 和红细胞 CD71 的变化及临床意义。

对象与方法

1. 研究对象:选择 2009 年 12 月~2012 年 10 月于连云港市第二人民医院就诊的 IDA 患者 50 例作为病例组,男性 22 例,女性 28 例,患者年龄 11~77 岁,中位年龄 39 岁,平均年龄 42.8±16.7 岁。根据贫血严重程度分为 3 个亚组:轻度贫血组 15 例,HB 90g/L~正常下限;中度贫血组 24 例,HB 60~90g/L;重度贫血组 11 例,HB30~60g/L。选择同期健康体检者 20 例作为对照组,男性 9 例,女性 11 例,年龄 15~72 岁,中位年龄 40 岁,平均年龄 43.8±16.3 岁,对照组和病例组在性别、年龄构成方面差异无统计学意义(P 均>0.05)。

2. 血清 Hepcidin 检测:清晨空腹采集静脉血 2ml,置于无凝物的真空采血管,3000r/min 离心 10min,分离血清后置-80℃保存待检。采用酶联免疫吸附法检测血清 Hepcidin(美国 DRG 公司产品)含量,具体操作参照试剂盒说明书。

3. 红细胞 CD71 检测:应用 EDTA 抗凝的真空采血管采集静脉血 2ml 后立即送检。各取 5μl 全血加入检测管和对照管内,分别加入 CD71-FITC(美国 eBioscience 产品)及其同型对照 IgG1-FITC(美国 BD 公司产品)各 20μl,充分混匀后室温避光反应 15min,加入 1ml PBS 缓冲液洗涤,混匀后 1500r/min 离心 10min,弃去上清液,重复洗涤 1 次,加入 500μl PBS 缓冲液悬浮细胞,充分混匀后 30min 内在 FACSCalibur 型流式细胞仪(美国 BD 公司生产)上检测并计算红细胞 CD71 表达率。

4. 统计学方法:采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析,各组数据用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用方差分析,定量资料间相关分析采用 Pearson 相关分析法, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

1. 病例组血清 Hepcidin 和红细胞 CD71 的变化:病例组血清 Hepcidin 与对照组比较明显减低,差异有统计学意义($P < 0.01$),红细胞 CD71 表达明显升高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。中度贫血组和重

度贫血组血清 Hepcidin 水平与轻度贫血组比较明显降低,差异有统计学意义(P 均<0.05),中度贫血组与重度贫血组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。重度贫血组红细胞 CD71 表达与轻度贫血组比较明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),轻度贫血组和中度贫血组以及中度贫血组和重度贫血组间比较差异无统计学意义(P 均>0.05)(表 1)。

2. 病例组血清 Hepcidin、红细胞 CD71 与红细胞参数、SF 相关性分析:病例组血清 Hepcidin 与血红蛋白(hemoglobin,HB)、红细胞平均体积(mean corpuscular volume,MCV)、平均血红蛋白含量(mean corpuscular hemoglobin,MCH)、平均血红蛋白浓度(mean corpuscular hemoglobin concentration,MCHC)、SF 呈正相关,与红细胞分布宽度(red cell distribution width,RDW)呈负相关,与网织红细胞百分比(reticulocyte rate,Ret%)无相关性。红细胞 CD71 与 Ret% 呈正相关,与 HB、MCV、MCH、MCHC、SF 和 RDW 无明显相关性(表 2)。

表 1 病例组和对照组血清 Hepcidin 和红细胞 CD71 的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	Hepcidin (ng/ml)	红细胞 CD71 (%)
对照组	20	41.21 ± 24.34	0.51 ± 0.23
病例组	50	22.09 ± 14.40 [△]	0.87 ± 0.38 [△]
轻度贫血组	15	28.97 ± 18.38	0.76 ± 0.33
中度贫血组	24	20.13 ± 10.95 [*]	0.83 ± 0.36
重度贫血组	11	16.99 ± 8.30 [*]	1.09 ± 0.43

与对照组比较,△ $P < 0.01$;与轻度贫血组比较,* $P < 0.05$

表 2 病例组血清 Hepcidin、红细胞 CD71 与红细胞参数、SF 的相关性分析

参数	Hepcidin		红细胞 CD71	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
HB	0.536	<0.01	-0.273	0.055
MCV	0.511	<0.01	-0.181	0.208
MCH	0.472	<0.01	-0.227	0.112
MCHC	0.332	0.019	-0.210	0.143
RDW	-0.516	<0.01	0.224	0.117
Ret%	0.022	0.880	0.590	<0.01
SF	0.477	<0.01	-0.106	0.463

3. 病例组各亚组血清 Hepcidin、红细胞 CD71 与红细胞参数、SF 的相关性分析:轻度贫血组血清 Hepcidin 与 HB 呈正相关,与 RDW 呈负相关,红细胞 CD71 与 Ret% 呈正相关;中度贫血组血清 Hepcidin 与 HB、MCV、MCH、SF 呈正相关,与 RDW 呈负相关,红细胞 CD71 与

Ret% 呈正相关;重度贫血组血清 Hepsidin 与 HB、SF 呈正相关,红细胞 CD71 与 Ret% 呈正相关(表 3)。

参数	轻度贫血组				中度贫血组				重度贫血组			
	Hepsidin		红细胞 CD71		Hepsidin		红细胞 CD71		Hepsidin		红细胞 CD71	
	r	P	r	P	r	P	r	P	r	P	r	P
HB	0.863	<0.01	0.422	0.117	0.521	<0.01	0.085	0.692	0.717	<0.05	-0.515	0.105
MCV	0.448	0.094	0.150	0.595	0.483	<0.05	-0.012	0.955	0.309	0.356	0.048	0.888
MCH	0.293	0.289	0.177	0.528	0.476	<0.05	0.054	0.801	0.475	0.140	-0.365	0.270
MCHC	-0.015	0.958	0.475	0.073	0.392	0.058	0.207	0.331	0.088	0.798	-0.519	0.102
RDW	-0.718	<0.01	-0.382	0.159	-0.441	<0.05	-0.085	0.694	-0.148	0.664	0.472	0.143
Ret%	0.119	0.674	0.659	<0.01	-0.039	0.857	0.510	<0.05	-0.211	0.534	0.811	<0.01
SF	0.233	0.402	0.338	0.217	0.439	<0.05	0.197	0.355	0.660	<0.05	-0.293	0.381

4. 病例组及各亚组血清 Hepsidin 和红细胞 CD71 的相关性分析:病例组及其亚组血清 Hepsidin 和红细胞 CD71 间均无显著相关性 ($r = -0.035, P = 0.811; r = 0.217, P = 0.438; r = 0.110, P = 0.609; r = -0.409, P = 0.212$) (图 1 ~ 图 4)。

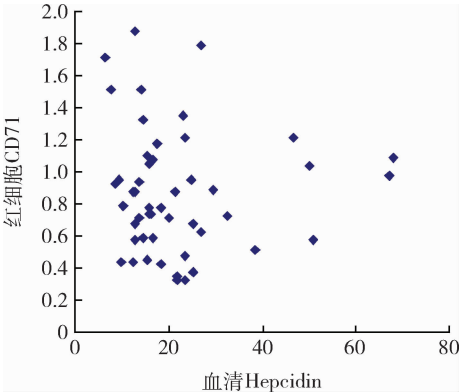


图 1 病例组血清 Hepsidin 和红细胞 CD71 相关性

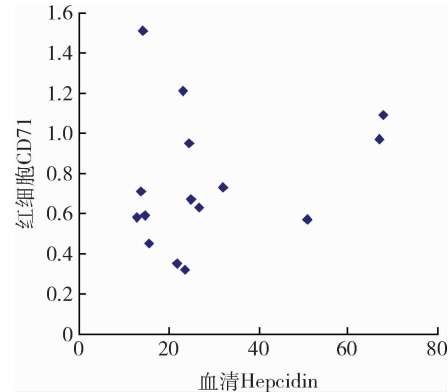


图 2 轻度贫血组血清 Hepsidin 和红细胞 CD71 相关性

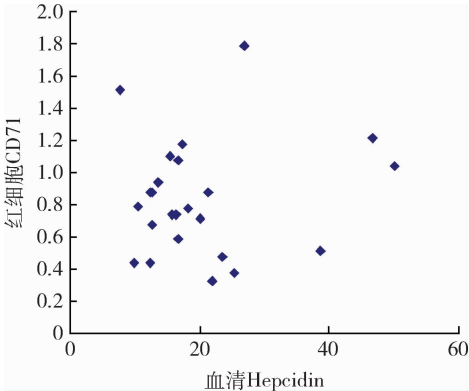


图 3 中度贫血组血清 Hepsidin 和红细胞 CD71 相关性

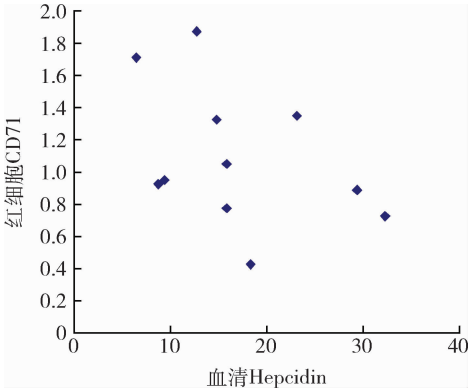


图 4 重度贫血组血清 Hepsidin 和红细胞 CD71 相关性

噬系统铁释放来负性调节铁代谢^[3]。研究证实 Hepsidin 直接与位于小肠基底外侧膜和单核 - 吞噬细胞膜表面的铁转运蛋白 1 (ferroportin 1, Fp1) 结合,通过调节 Fp1 的表达量来调控小肠对铁的吸收和单核 - 吞噬细胞对铁的释放^[4]。当机体缺铁时肝脏 Hepsidin 产生受抑,小肠细胞和单核 - 吞噬细胞膜表面 Fp1 表达相对增加,促进小肠细胞对铁的转运以及单核 - 吞噬细胞对铁的释放,因而 Hepsidin 被认为是

讨 论

Hepsidin 是一种主要由肝脏产生的低分子多肽,通过与铁转运受体结合抑制小肠铁吸收和单核 - 吞

负调控机体铁稳态的关键因子。CD71 是一种跨膜糖蛋白,主要表达于红细胞前体细胞,成熟红细胞膜几乎不表达,通过与转铁蛋白结合促进铁细胞内转运来正性调节铁代谢。

本研究表明 IDA 患者血清 Hepsidin 与对照组比较明显降低,与国外部分研究结果一致^[5,6]。Choi 等^[6]研究表明铁缺乏症儿童血清 Hepsidin 明显低于对照组,与 HB、SF、TS 呈正相关,与 sTfR、TIBC 呈负相关,对铁缺乏症诊断具有良好的敏感度和特异性。相关性分析发现 IDA 患者血清 Hepsidin 与 HB、MCV、SF 等参数呈正相关,与 RDW 呈负相关,提示血清 Hepsidin 可能与 IDA 患者铁缺乏状态有关,对铁缺乏病的诊断具有一定意义。Cheng 等^[5]研究证实 IDA 患者血清 Hepsidin 低于对照组,而 ACD 患者则高于对照组,通过检测血清 Hepsidin 可能有助于 IDA 和 ACD 的鉴别诊断。研究还证实 IDA 患者尿液 Hepsidin 水平明显降低,其机制可能与血清 Hepsidin 浓度降低致肾脏滤过排泄减少有关,是否存在肾小管重吸收增多需要研究证实^[7]。也有研究表明 IDA 患者血清 Hepsidin 与 ACD 患者比较无明显变化^[8,9]。且与 SF 呈负相关,与上述结果不一致,可能与样本量多少、研究对象异质以及检测手段差异等因素有关。IDA 患者红细胞 CD71 表达较对照组升高,与 Ret% 呈正相关,相关机制可能为当细胞内铁减少时有核红细胞及网织红细胞 CD71 表达升高,促进铁向细胞内转运,从而增加红细胞对铁的摄取。因此笔者认为血清 Hepsidin 降低以及红细胞 CD71 升高可能是 IDA 患者对铁缺乏的一种保护性的代偿反应,在维持机体铁稳态过程中发挥重要作用。

IDA 患者血清 Hepsidin 水平和红细胞 CD71 表达随贫血程度加重分别呈降低和升高趋势,其中中度贫血组和重度贫血组血清 Hepsidin 与轻度贫血组比较明显降低,重度贫血组红细胞 CD71 表达与轻度贫血组比较明显升高,提示 IDA 患者血清 Hepsidin 水平和红细胞 CD71 表达与贫血严重程度有关。不同程度贫血患者血清 Hepsidin 离散程度较大,与红细胞参数等指标间相关性分析结果差异较大,提示其水平可能受到多种外在因素的干扰。研究证实铁负荷增加、炎症反应等因素能增强 Hepsidin 表达,而贫血、缺氧、促红细胞生成素等因素能抑制其表达^[10,11]。郭晓强等^[10]初步研究结果表明注射脂多糖能够通过白介素-6 表达增高诱导肝脏 Hepsidin 表达增高,肝脏和脾脏 Fpl 表达降低,能够部分造成血

清铁降低和贫血的发生。Nicolas 等^[11]通过低铁饮食、静脉放血和苯胍腹腔注射分别建立小鼠缺铁性贫血、失血性贫血和溶血性贫血动物模型后研究发现肝脏 Hepsidin 表达均显著降低。研究证实 IDA 患者存在白介素-6 和促红细胞生成素水平增高,对血清 Hepsidin 水平可能产生影响,有待深入研究。IDA 患者外周血多数为成熟红细胞以及少量网织红细胞,骨髓中含有大量有核红细胞,因此笔者初步推测 IDA 患者骨髓有核红细胞表面 CD71 表达增高可能更加明显,仅观察患者外周红细胞 CD71 表达情况可能是血清 Hepsidin 和红细胞 CD71 间无相关性的主要原因,有待进一步研究证实。

参考文献

- 1 Sasu BJ, Li H, Rose MJ, *et al.* Serum hepcidin but not prohepcidin maybe an effective maker for anemia of inflammation (AI) [J]. *Blood Cell Mol Dis*, 2010, 45(3):238
- 2 王银娥, 冯玫, 王萧. 转铁蛋白受体-2mRNA 在慢性病贫血大鼠肝脏中的表达[J]. *白血病·淋巴瘤*, 2009, 18(4): 206-209
- 3 Knutson MD, Oukka M, Koss LM, *et al.* Iron releases from macrophages after erythrophagocytosis is up-regulated by ferroportin 1 overexpression and down-regulated by hepcidin [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(5):1324-1328
- 4 Ganz T. Hepcidin - a regulator of intestinal iron absorption and iron recycling by macrophages [J]. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2005, 18(2):171-182
- 5 Cheng PP, Jiao XY, Wang XH, *et al.* Hepcidin expression in anemia of chronic disease and concomitant iron-deficiency anemia [J]. *Clin Exp Med*, 2011, 11(1):33-42
- 6 Choi HS, Song SH, Lee JH, *et al.* Serum hepcidin levels and iron parameters in children with iron deficiency [J]. *Korean J Hematol*, 2012, 47(4):286-292
- 7 Cherian S, Forbes DA, Cook AG, *et al.* An insight into the relationships between hepcidin, anemia, infections and inflammatory cytokines in pediatric refugees; a cross-sectional study [J]. *PLoS One*, 2008, 3(12):e4030
- 8 Geerts I, Vermeersch P, Joosten E. Evaluation of the first commercial hepcidin ELISA for the differential diagnosis of anemia of chronic disease and iron deficiency anemia in hospitalized geriatric patients [J]. *ISRN Hematol*, 2012, 2012: 567491
- 9 Jacober ML, Mamoni RL, Lima CS, *et al.* Anaemia in patients with cancer: role of inflammatory activity on iron metabolism and severity of anaemia [J]. *Med Oncol*, 2007, 24(3):323-329
- 10 郭晓强, 马亚娟, 田莎, 等. 脂多糖对小鼠铁代谢相关基因 mRNA 水平表达的影响 [J]. *解剖学报*, 2010, 41(2):224-227
- 11 Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, *et al.* The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation [J]. *J Clin Invest*, 2002, 110(7):1037-1044

(收稿日期:2013-02-22)

(修回日期:2013-03-25)