

铁代谢与斑块稳定性的相关研究进展

孙明月 郭春雨 张 森 殷惠军

摘 要 铁是机体所必需的微量元素,在呼吸、代谢、DNA 合成等许多生化过程中发挥着重要作用,多种关于铁与动脉粥样硬化相关性的流行病学及实验研究结果证实,动脉粥样硬化的进展与体内的铁贮存水平的变化密切相关。近年来,随着一种主要由肝脏合成的多肽类物质——铁调素(hepcidin)的发现,研究人员对机体铁代谢的分子机制有了更深入的认识,有关铁过负荷引起心血管损伤的相关疾病亦逐渐成为研究热点,故本文就铁代谢与 hepcidin、铁代谢与斑块稳定性的最新研究进展进行综述。

关键词 铁调素 动脉粥样硬化 铁代谢

中图分类号 R541

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.02.004

铁是机体所必需的微量元素,其在呼吸、代谢、DNA 合成等许多生化过程中发挥着重要作用。然而,过量的铁可通过 Fenton 反应诱导活性氧(reactive oxygen species,ROS)产生毒性而导致组织器官损伤,另一方面,铁缺乏又将引起贫血、发育缺陷等常见病的发生。近年来,随着一种主要由肝脏合成的多肽类物质——铁调素(hepcidin)的发现,研究人员对机体铁代谢的分子机制有了更深入的认识,有关铁过负荷引起心血管损伤相关疾病亦逐渐成为研究热点。

一、铁代谢与 hepcidin 的研究进展

1. hepcidin 在铁代谢中的调节作用:维持机体铁稳态的平衡主要通过调控铁的吸收和储存来完成,为了能给提供生物机能足够的铁储备并避免铁过载的发生,铁稳态需受到严格的控制。因哺乳动物对铁的排泄能力有限,机体的铁含量在经肠道吸收摄入时必须被严格控制。膳食铁通过饮食进入肠道,食物中的 Fe^{3+} 被十二指肠细胞色素 B (duodenal cytochrome B, DcytB) 还原为 Fe^{2+} 后,在十二指肠被吸收并由二价金属离子转运蛋白(divalent metal transporter 1, DMT1)转运至小肠黏膜上皮细胞内,细胞内的 Fe^{2+} 被氧化为高铁形式并由膜铁转运蛋白(ferroportin, FPN)转运至细胞外, Fe^{3+} 从肠上皮细胞释放后与转铁蛋白(transferrin, Tf)结合并被运输到其他细胞,供机体内各组织器官利用。

hepcidin 是防御素家族的成员,一种由 25 个氨基酸残基组成的低分子抗菌肽。2000 年 Krause A 等最初发现 hepcidin 时是因其具有抗菌特性,之后研究发现它是调控铁稳态平衡的关键物质。hepcidin 可通过对肠道铁吸收以及吞噬细胞从衰老或损伤的红细胞中回收铁的作用来调控全身的铁含量^[1]。FPN1 是目前脊椎动物体内发现的唯一的细胞铁输出蛋白,亦是唯一已知的 hepcidin 配体,主要存在于肝细胞、肠上皮细胞和吞噬细胞膜上,hepcidin 结合 FPN1 使其内化降解,抑制铁从细胞中的输出来调控组织对铁的吸收与分配^[2]。因此,当 hepcidin 表达增多时会造成铁沉积于细胞内,而血浆中的铁含量过少,反之则导致血浆内的铁过量。

2. hepcidin 表达的主要调控因素

(1) 铁对 hepcidin 的调控:hepcidin 基因表达的调控主要发生在转录水平上,hepcidin 的表达受到铁含量、贫血、缺氧、炎症反应等多种信号的影响。当机体铁含量过多时,刺激肝脏合成分泌 hepcidin 增多,加速 FPN1 内化降解,减少铁向血液中的运输,可防止膳食铁的吸收和铁过载的进一步发展^[3]。铁对 hepcidin 的分子调控机制十分复杂,主要是通过骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)信号途径,在 BMPs 家族中,BMP6 对 hepcidin 的调控作用最为重要。细胞内的铁含量增加可诱导 BMP6 转录,使 BMP6 与 BMP 受体在肝细胞表面结合,然后通过促进细胞内的 Smad1/5/8 磷酸化与 Smad4 结合形成复合体来诱导 hepcidin 的表达^[4]。其他参与铁对 hepcidin 调控的已知蛋白,主要是 BMP6、BMP 受体及 Smad4 的修饰物。铁调素调节蛋白(hemojuvelin, HJV)是血色素沉着症基因 2 (HFE2)的产物,它是

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81102845);2013 年甘肃高校飞天学者特聘计划项目

作者单位:100091 北京,中国中医科学院西苑医院(孙明月、郭春雨、张森、殷惠军);730000 兰州,甘肃中医学院(殷惠军)

通讯作者:殷惠军,研究员,博士生导师,电子邮箱:huijunyin@yeah.net

BMPs的协同受体,可通过BMP受体增强BMP通路信号转导。再生蛋白与HJV结合可增强其对BMP受体的作用,而蛋白裂解酶2是跨膜丝氨酸蛋白6(TMPRSS6)基因的产物,可通过裂解HJV负向调控hepcidin的表达,但具体机制尚不清楚^[5]。当机体铁过量时,转铁蛋白受体(transferrin receptor, Tfr)1或2、HFE与饱和铁转铁蛋白结合形成复合物,通过促进BMP/SMAD信号转导调控hepcidin的表达^[6]。

(2)红细胞生成对hepcidin的调控:红细胞生成活动也与hepcidin的调控有关,红细胞的生成活动活跃可抑制hepcidin表达,这可能是为了给血红蛋白的合成提供更多的铁离子。失血、溶血及注射促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)都可导致hepcidin表达水平快速下降,而因无效红细胞生成引起贫血的患者体内hepcidin表达水平则逐渐降低,这被认为是导致非输血患者体内发生铁过载的原因^[7]。目前尚不清楚红细胞生成活跃对hepcidin表达的抑制作用在生理与病理过程中是否通过同一通路调控,但可能与骨髓红系前体细胞抑制hepcidin分泌的作用有关^[8]。

(3)炎症对hepcidin的调控:炎症与感染可通过刺激IL-6/STAT3通路诱导hepcidin表达水平迅速升高,包括BMP通路在内的其他途径也可能参与其中^[9,10]。炎症对hepcidin的调控作用可能由机体通过整合铁离子来减缓致病微生物生长的防御机制进化而来,尽管hepcidin在感染中的作用尚未被证实,但研究证明,炎症状态时hepcidin表达水平的升高导致了缺铁性贫血的发生^[11]。临床与动物实验研究发现在炎症状态下,患者或动物模型应用抗IL-6或IL-6R的中和性单克隆抗体均可抑制hepcidin的分泌。抗IL-6的单克隆抗体可抑制hepcidin的表达并改善由肾细胞癌、多发性骨髓瘤与巨大淋巴结增生症引起的贫血,而应用抗TNF- α 抗体也可降低类风湿性关节炎患者体内的hepcidin水平^[12,13]。然而,红细胞因子的治疗方式往往会导致机体的免疫防御功能降低,增加感染的风险。

3. hepcidin与铁代谢异常

(1)hepcidin与铁过载:由于hepcidin缺乏造成的铁过载是大部分遗传性血色病(hereditary hemochromatosis, HH)患者的致病原因。hepcidin及其调控基因,包括HFE、Tfr2及HJV的突变或缺失均可导致hepcidin分泌减少,进而使膳食铁被过度吸收,导致肝脏及其他组织内的铁沉积过多。hepcidin的缺乏程度与铁过载的严重程度密切相关,HJV或hepci-

din基因突变可导致hepcidin绝对缺失,是引起青少年型血色病的主要原因,而HFE、Tfr2基因突变可导致相对于机体铁水平来说hepcidin的表达水平极低,是引起中年型血色病的病因,但较青少年型血色病的症状轻^[3]。还有一种较为罕见的血色病是因hepcidin的受体FPN的基因突变导致的,FPN基因突变造成FPN抵抗hepcidin诱导的内化而影响了铁的排出功能,进而导致机体的铁过载^[14]。hepcidin缺乏还会导致无效红细胞生成性贫血的非输血患者体内发生铁过载,包括 β -地中海贫血与先天性红细胞生成异常性贫血。这些患者尽管体内的铁过负荷,但由于红细胞生成过度活跃抑制了hepcidin表达,使得机体内的hepcidin仍为缺乏状态^[15]。而 β -地中海贫血的输血患者体内hepcidin水平在输血周期结束时开始下降,提示低水平的hepcidin可能是这些患者体内出现铁过载的原因^[16]。

(2)hepcidin与铁缺乏:hepcidin水平升高与血清铁减少在多种类型贫血的发生、发展中起重要作用。引起hepcidin水平升高的原因主要包括炎症因子水平升高、hepcidin清除减少及hepcidin的负向调控基因发生突变。自体免疫疾病、感染及肿瘤等疾病常伴随慢性病性贫血,这些疾病导致的慢性炎症刺激会产生IL-6与其他细胞因子,可导致患者体内hepcidin表达升高,抑制了小肠对铁的吸收及巨噬细胞对铁的释放,导致铁被封闭于组织中无法被机体利用,最终诱发缺铁性贫血;而在慢性肾性贫血中,除了炎症反应,还因肾脏对hepcidin的清除能力下降,导致机体内的hepcidin水平升高而发生贫血^[17]。而hepcidin的抑制因子TMPRSS6蛋白发生基因突变使hepcidin分泌过多,将引起难治性缺铁性贫血的发生^[18]。hepcidin升高的程度对炎症性贫血的影响仍待进一步研究,动物实验研究发现,虽然将炎症模型小鼠的hepcidin基因敲除可使贫血程度减轻,但并未使血红蛋白的下降完全停止,说明炎症导致的贫血还存在其他影响因素^[19]。

二、铁代谢与斑块稳定性的相关研究

1. 铁代谢与斑块稳定性:动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是一类复杂的血管炎症性疾病,血液中的细胞成分包括血管内皮细胞、巨噬细胞、平滑肌细胞、淋巴细胞等在AS斑块的形成过程中发挥着重要作用,是心脑血管疾病的病理基础。Sullivan于1981年首次提出铁假说,该假说认为女性因经期周期性的铁丢失降低了冠心病的发生率,是防止女性心血管疾

病的重要保护因素之一。多种关于铁与 AS 相关性的流行病学及实验研究结果提示, AS 与体内的铁贮存水平的变化密切相关, 铁过载可促进氧化应激、脂质过氧化等病理过程, 从而影响斑块的稳定性^[20]。铁通过催化 Haber - Weiss 反应生成大量氧自由基, 导致 LDL 氧化修饰, 氧化的 LDL 激活内皮细胞, 引发单核细胞与动脉内皮细胞间的滚动黏附, 在趋化因子的作用下单核细胞通过内皮细胞间隙进入内膜, 然后在细胞因子的作用下分化成巨噬细胞和树突状细胞, 氧化的 LDL 诱导巨噬细胞表达大量清道夫受体, 巨噬细胞通过该受体大量吞噬脂质转化为泡沫细胞, 形成脂质条纹, 从而促进了动脉粥样硬化的进展^[21]。

巨噬细胞参与了 AS 的多个病理环节, 在 AS 病变处往往有巨噬细胞大量积聚, 同时巨噬细胞对机体铁稳态的维持起重要作用, 可通过吞噬衰老或损伤的红细胞来获得铁, 随后部分铁通过 FPN1 转运出细胞, 还有部分贮存于巨噬细胞内。AS 斑块中活性铁主要来源于斑块内的微血管破裂后出血, 血浆中的红细胞进入斑块内, 这些红细胞被巨噬细胞快速溶解与吞噬, 导致血红蛋白、血红素以及游离铁的释放, 而斑块内出血也被认为是一种潜在的炎性刺激, 可促进巨噬细胞大量涌入动脉粥样硬化病变处, 出血后的红细胞被巨噬细胞吞噬, 使巨噬细胞内的铁沉积增多, 从而促进泡沫细胞的形成, 导致斑块不稳定性增高^[22]。巨噬细胞内铁沉积过多可导致低密度脂蛋白 (LDL) 氧化、促进血管增生、诱导氧化应激的转录因子、激活炎性因子等病理反应, 在 AS 的发生、发展中起重要作用, 并影响 AS 斑块的稳定性^[23]。

2. hepcidin 与动脉粥样硬化: Sullivan 教授于 2007 年在之前铁假说的基础上提出修订, 推测 hepcidin 的生理特性是铁耗尽能够抑制 AS 进程的作用机制之一, hepcidin 具有抑制肠道对铁的吸收与单核 - 吞噬细胞系统铁释放的作用, 其配体 FPN1 是巨噬细胞膜上的唯一的铁输出蛋白, hepcidin 表达水平升高后通过与巨噬细胞膜上的 FPN1 结合, 促进其内化降解使巨噬细胞内的铁无法排出, 导致细胞内铁沉积增多、脂质过氧化及泡沫细胞的形成, 进而影响斑块的稳定性。随后, 临床与动物实验分别通过不同的方法与角度验证了这个假说。

研究发现, hepcidin 与血液透析患者的心血管事件的发生有关, 即使在炎症被抑制后这种关联仍然存在, 同时血液透析患者的动脉硬化程度与血清 hepcidin 的水平有关^[24]。而对类风湿关节炎的患者的研

究发现, hepcidin 可能是引起类风湿关节炎患者发生炎性贫血的关键因素, 且炎症的发生与冠状动脉粥样硬化有直接关系。根据一项流行病学研究结果显示, 绝经后妇女体内的 hepcidin 水平与 AS 的发生密切相关, hepcidin 与 FPN 的比例在 AS 的发生发展中起重要作用。动物实验结果提示, 在 AS 斑块中的 hepcidin 水平升高, 主要表达于巨噬细胞与平滑肌细胞, 并且 hepcidin 具有促进 AS 斑块内的铁沉积、炎性反应与巨噬细胞内脂质积聚的作用, 这可能是 hepcidin 影响斑块稳定性的主要原因。通过对巨噬细胞的研究发现, 氧化 LDL 可通过刺激巨噬细胞诱导 hepcidin 的表达, 而 hepcidin 在巨噬细胞吞噬红细胞后, 才可上调噬红巨噬细胞内的脂质积聚、炎性反应、氧化应激与细胞凋亡, hepcidin 对巨噬细胞内病理反应的促进作用是通过降解内化巨噬细胞膜上的 FPN, 引起巨噬细胞内铁沉积而实现的。通过以上研究可见, hepcidin 在 AS 的病理进程中扮演着重要角色, 并影响动脉粥样硬化的斑块稳定性。

综上所述, 动脉粥样硬化的病理机制十分复杂, 虽然铁代谢与斑块稳定性确有关联, 但目前关于铁代谢与动脉粥样硬化相关的机制研究尚不全面。那么作为铁稳态调控的关键物质, hepcidin 是否与动脉粥样硬化的其他致病因素有关, 抗动脉粥样硬化的治疗是否会影响铁代谢与 hepcidin 表达, 具体机制如何, 仍有待于深入研究。进一步开展动脉粥样硬化与铁代谢相关的基础研究, 有助于完善动脉粥样硬化的发病机制, 并为疾病防治提供新的思路。

参考文献

- 1 Fleming MD . The regulation of hepcidin and its effects on systemic and cellular iron metabolism [J] . Hematology , 2008, 1 (1) : 151 - 158
- 2 Ganz T . Hepcidin and iron regulation, 10 years later [J] . Blood , 2011, 117 (17) : 4425 - 4433
- 3 Ramos E, Kautz L, Rodriguez R, *et al* . Evidence for distinct pathways of hepcidin regulation by acute and chronic iron loading in mice [J] . Hepatology , 2011, 53 (4) : 1333 - 1341
- 4 Babitt JL, Huang FW, Wrighting DM, *et al* . Bone morphogenetic protein signaling by hemojuvelin regulates hepcidin expression [J] . Nat Genet , 2006, 38 (5) : 531 - 9
- 5 Babitt JL, Huang FW, Xia Y, *et al* . Modulation of bone morphogenetic protein signaling in vivo regulates systemic iron balance [J] . J Clin Invest , 2007, 117 (7) : 1933 - 1939
- 6 D'Alessio F, Hentze MW, Muckenthaler MU . The hemochromatosis proteins HFE, TfR2, and HJV form a membrane - associated protein complex for hepcidin regulation [J] . J Hepatol , 2012, 57 (5) : 1052 - 1060

- 7 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: 1037 – 1044
- 8 Pak M, Lopez MA, Gabayan V, *et al.* Suppression of hepcidin during anemia requires erythropoietic activity[J]. *Blood*, 2006, 108(12): 3730 – 3735
- 9 Rodriguez R, Jung CL, Gabayan V, *et al.* Hepcidin induction by pathogens and pathogen – derived molecules is strongly dependent on interleukin – 6[J]. *Infect Immun*, 2014, 82(2): 745 – 752
- 10 Besson – Fournier C, Latour C, Kautz L, *et al.* Induction of activin B by inflammatory stimuli up – regulates expression of the iron – regulatory peptide hepcidin through Smad1/5/8 signaling[J]. *Blood*, 2012, 120(2): 431 – 439
- 11 Ganz T, Nemeth E. Hepcidin and disorders of iron metabolism[J]. *Annu Rev Med*, 2011, 11(62): 347 – 360
- 12 Kurzrock R, Voorhees PM, Casper C, *et al.* A phase I, open – label study of siltuximab, an anti – IL – 6 monoclonal antibody, in patients with B – cell non – Hodgkin lymphoma, multiple myeloma, or Castleman disease[J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(13): 3659 – 3670
- 13 Doyle MK, Rahman MU, Frederick B, *et al.* Effects of subcutaneous and intravenous golimumab on inflammatory biomarkers in patients with rheumatoid arthritis: results of a phase I, randomized, open – label trial[J]. *Rheumatology*, 2013, 52(7): 1214 – 1219
- 14 Fernandes A, Preza GC, Phung Y, *et al.* The molecular basis of hepcidin – resistant hereditary hemochromatosis[J]. *Blood*, 2009, 114(2): 437 – 443
- 15 Origa R, Galanello R, Ganz T, *et al.* Liver iron concentrations and urinary hepcidin in beta – thalassemia[J]. *Haematologica*, 2007, 92(5): 583 – 588
- 16 Pasricha SR, Frazer DM, Bowden DK, *et al.* Transfusion suppresses erythropoiesis and increases hepcidin in adult patients with beta – thalassemia major: a longitudinal study[J]. *Blood*, 2013, 122(1): 124 – 133
- 17 Troutt JS, Butterfield AM, Konrad RJ. Hepcidin – 25 concentrations are markedly increased in patients with chronic kidney disease and are inversely correlated with estimated glomerular filtration rates[J]. *J Clin Lab Anal*, 2013, 27(1): 504 – 510
- 18 Finberg KE, Heeney MM, Campagna DR, *et al.* Mutations in TM-PRSS6 cause iron – refractory iron deficiency anemia (IRIDA)[J]. *Nat Genet*, 2008, 40(5): 569 – 571
- 19 Kim A, Fung E, Parikh SG, *et al.* A mouse model of anemia of inflammation: complex pathogenesis with partial dependence on hepcidin[J]. *Blood*, 2014, 123(8): 1129 – 36
- 20 Lioupis C, Barbatis C, Drougou A, *et al.* Association of haptoglobin genotype and common cardiovascular risk factors with the amount of iron in atherosclerotic carotid plaques[J]. *Atherosclerosis*, 2011, 216(1): 131 – 138
- 21 Ling S, Nheu L, Komesaroff PA. Cell adhesion molecules as pharmaceutical target in atherosclerosis[J]. *Mini Rev Med Chem*, 2012, 12(2): 175 – 183
- 22 Lin HL, Xu XS, Lu HX, *et al.* Pathological mechanisms and dose dependency of erythrocyte – induced vulnerability of atherosclerotic plaques[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2007, 43(3): 272 – 280
- 23 Sindrilaru A, Peters T, Wieschalka S, *et al.* An unrestrained proinflammatory M1 macrophage population induced by iron impairs wound healing in humans and mice[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(3): 985 – 997
- 24 van der Weerd NC, Grooteman MP, Bots ML, *et al.* Hepcidin – 25 is related to cardiovascular events in chronic haemodialysis patients[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2013, 28(12): 3062 – 71

(收稿日期:2015 – 04 – 28)

(修回日期:2015 – 05 – 12)

内皮前体细胞在动脉粥样硬化发生中的作用

郑森峰 张文健 娄晋宁 李成辉

摘 要 内皮前体细胞(endothelial progenitor cell,EPC)能够分化成内皮细胞,在损伤内皮的修复和血管新生中发挥重要作用。内皮功能障碍启动白细胞黏附、脂质过氧化等导致动脉粥样硬化(atherosclerosis)的一系列过程,内皮损伤和修复失衡引发动脉粥样硬化的理论被广泛接受。EPC的数量和功能能够预测心血管疾病的发生和预后,多种动脉粥样硬化的危险因素降低EPC水平,动物实验中给予EPC细胞治疗能够减轻动脉粥样硬化的严重程度,以EPC为基础的细胞治疗可能成为治疗动脉粥样硬化新的希望。

关键词 内皮前体细胞 动脉粥样硬化 血管修复 细胞治疗

中图分类号 R3 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.02.005

作者单位:100069 北京,中日友好医院

通讯作者:李成辉,教授,博士生导师,电子信箱:chenghui_li@sina.com