

• 临床检验研究论著 •

珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者红细胞生成与铁调素的相关性研究*

邹汉良¹, 陈丕绩¹, 黄玉佳², 张松¹, 蔡兰兰¹, 祝玲玲¹, 樊春卉¹

(广东省深圳市: 1. 第七人民医院 518081; 2. 宝安区福永人民医院 518103)

摘要:目的 通过检测珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者血液红细胞生成相关生化指标的改变, 分析其与血清铁调素的相关性。方法 通过对 34 例珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者(携带组)和 40 例健康者(对照组)进行血细胞分析和血清铁、铁蛋白(Fer)、铁调素测定, 比较其红细胞铁代谢相关参数与血清铁调素的相关性, 并对结果进行统计学分析。结果 携带组红细胞(RBC)、血红蛋白(Hb)、Fer、血清铁及铁调素与对照组比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。携带组血清铁调素与 RBC、Hb 呈正相关[RBC(男 $r = 0.7815$, $P < 0.01$, 女 $r = 0.7142$, $P = 0.002$)、Hb(男 $r = 0.5697$, $P < 0.01$, 女 $r = 0.5492$, $P < 0.05$)], 与 Fer 无关[男 $r = 0.1306$, $P = 0.50$, 女 $r = 0.4250$, $P = 0.10$]。结论 珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者血清铁调素含量降低, 与红细胞生成呈正相关, 红细胞生成是珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者血清铁调素水平的重要调控因素。

关键词: α 地中海贫血; β 地中海贫血; 杂合子; 红细胞生成; 铁调素

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.09.006

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)09-1037-03

Correlation between erythropoiesis and hepcidin in thalassemia gene carriers*

Zou Hanliang¹, Chen Piji¹, Huang Yujia², Zhang Song¹, Cai Lanlan¹, Zhu Lingling¹, Fan Chunhui¹

(1. The Seventh People's Hospital of Shenzhen City, Shenzhen, Guangdong 518081, China;

2. The Fuyong People's Hospital of Shenzhen City, Shenzhen, Guangdong 518103, China)

Abstract: **Objective** To investigate the correlation between serum Hepcidin and indicators related with erythropoiesis in thalassemia(Thal) gene carriers. **Methods** 34 cases of Thal gene carriers(Thal group) and 40 cases of healthy subjects(control group) were enrolled and detected for hemocyte analysis and serum levels of serum iron(SI), ferritin(Fer) and hepcidin. Correlation between indicators of red blood cells and serum hepcidin level was statistically analyzed. **Results** There was statistical difference of red blood cells counts(RBC), hemoglobin(Hb), Fer, SI and hepcidin between Thal group and control group($P < 0.05$). In Thal group, for male and female, the correlation coefficients between hepcidin and RBC were 0.7815($P < 0.001$) and 0.7142($P = 0.002$), between hepcidin and Hb were 0.5697($P < 0.01$) and 0.5492($P < 0.05$), and between hepcidin and Fer were 0.1306($P > 0.50$) and 0.4250($P = 0.10$). **Conclusion** Serum level of hepcidin might be decreased in Thal gene carriers, with positive correlation with erythropoiesis. Erythropoietic activity could be an important regulation factor of serum level of hepcidin.

Key words: alpha-thalassemia; beta-thalassemia; heterozygote; erythropoiesis; hepcidin

铁调素(hepcidin)又称肝脏抗菌多肽, 主要在肝脏合成, 肝细胞首先产生一个由 84 个氨基酸组成的多肽, 经酶切降解形成含 60 个氨基酸组成的前体肽(pro-hepcidin), 并在转化酶作用下形成具有生物活性的小分子多肽^[1]。其主要功能为通过抑制肠道铁吸收和单核巨噬细胞系统铁释放和利用从而在机体铁代谢平衡中起重要作用^[2]。而珠蛋白生成障碍性贫血(旧称: 地中海贫血)患者同时存在贫血、红细胞合成、铁超载等, 因而珠蛋白生成障碍性贫血时铁调素表达的变化是复杂的^[3], 珠蛋白生成障碍性贫血小鼠动物模型显示铁调素的调节主要与红细胞生成有关^[4]。本研究旨在通过检测珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者血液红细胞生成相关指标的改变, 分析其与血清铁调素的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择深圳市第七人民医院体检科 2011 年 9~11 月体检者, 其中对照组 40 例, 男 20 例, 年龄 26~50 岁, 平均 39 岁; 女 20 例, 年龄 23~47 岁, 平均 35 岁。珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者 34 例(携带组), 均经聚合酶链反应(PCR)检测确诊, α 型携带者 10 例, β 型携带者 24 例; 男 18 例, 年龄 23~47, 平均 36 岁; 女 16 例, 年龄 22~44, 平均 34

岁。所有研究对象均在体检中根据血细胞常规检测、血液生化指标、B 超、胸透等检查除外慢性炎症、感染, 以及肝、肾慢性疾病等, 诊断前近 3 个月均未接受过输血和铁剂治疗。

1.2 仪器与试剂 美国 Coulter LH750 全自动血液分析仪及其配套试剂、美国 Beckman LX-20 全自动生化分析仪及原厂血清铁试剂、罗氏 Cobas6000 全自动免疫分析仪及原厂电化学发光铁蛋白试剂、中国 Usen Life Science Inc 公司 ELISA 铁调素检测试剂(E91979Hu)、中国 Rayto RT-6000 酶标仪等。

1.3 方法

1.3.1 采用乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝真空管采集研究对象清晨空腹静脉血 3.0 mL, 2 h 内使用 Coulter LH750 全自动血液分析仪检测红细胞(RBC)、血红蛋白(Hb)等。测定前采用全血质控物进行室内质控。

1.3.2 采用无抗凝剂干燥真空管采集研究对象清晨空腹静脉血 4.0 mL, 2 h 内分离血清, 并分别使用 Beckman LX-20 全自动生化分析仪检测血清铁, 罗氏 Cobas6000 全自动免疫分析仪检测血清铁蛋白, 同时留取血清-20℃保存, 按试剂盒说明书操作, 采用 ELISA 法在 20 d 内检测血清铁调素, 采用对数回归计算其浓度。

* 基金项目: 深圳市科技工贸和信息化委员会立项项目(201003454)。

1.4 统计学处理 使用 Excel 2007 软件及 SPSS13.0 统计软件进行数据、图表处理,所有计量资料计算其 $\bar{x} \pm s$,采用配对资料双侧 t 检验并计算 P 值,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。红细胞代谢相关指标与铁调素进行相关性分析,计算各线

性相关系数(r),并进行假设检验。

2 结 果

2.1 两组一般资料和血液生化指标检测结果比较见表 1。

表 1 两组一般资料和血液生化指标检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

参数	携带组		对照组	
	男($n=18$)	女($n=16$)	男($n=20$)	女($n=20$)
年龄(岁)	36.00±7.00	34.00±7.00	39.00±9.00	35.00±7.00
RBC($\times 10^{12}/L$)	6.31±0.42**	5.30±0.47**	4.93±0.34	4.27±0.27
Hb(g/L)	129.00±9.90**	108.00±9.60**	148.50±10.20	128.10±8.40
铁蛋白($\mu g/L$)	391.20±218.00**	122.50±74.90**	221.20±73.8	53.30±27.10
血清铁($\mu mol/L$)	23.20±5.20*	21.70±5.10*	19.80±3.80	18.30±4.30
铁调素($\mu g/L$)	41.60±31.20*△	21.60±17.70*	67.50±41.40*△	34.70±19.00

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$,与同性别对照组比较;△: $P < 0.01$,与同组女性比较。

2.2 RBC、Hb、血清铁蛋白与铁调素相关性分析见图 1~6。

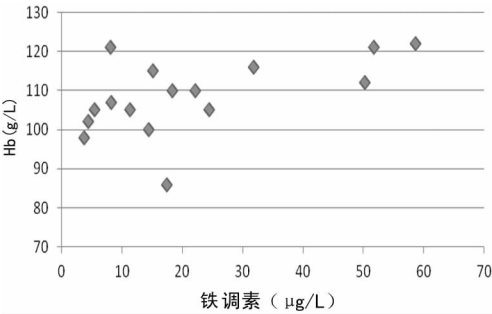


图 1 携带组女性 Hb 与铁调素相关性分析
($r=0.5492, P<0.05$)

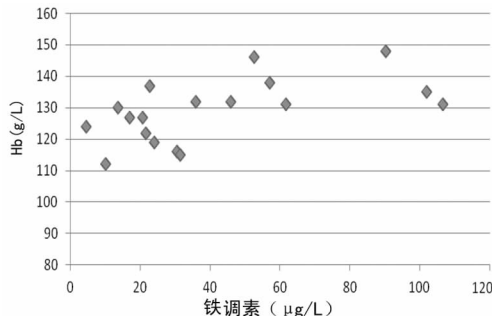


图 2 携带组男性 Hb 与铁调素相关性分析
($r=0.5697, P<0.01$)

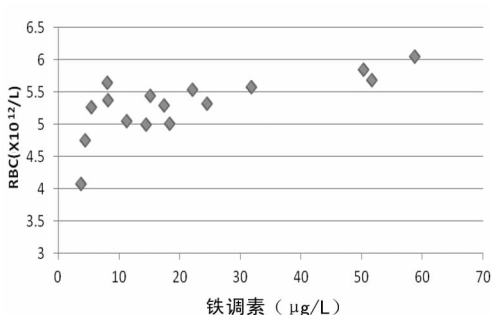


图 3 携带组女性 RBC 与铁调素相关性分析
($r=0.7142, P=0.002$)

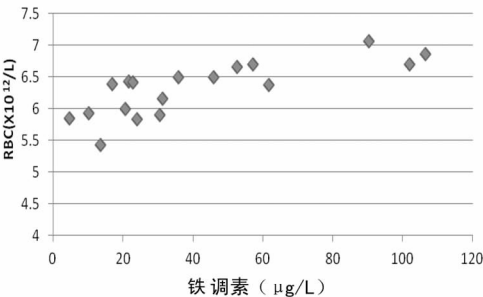


图 4 携带组男性 RBC 与铁调素相关性分析
($r=0.7815, P<0.01$)

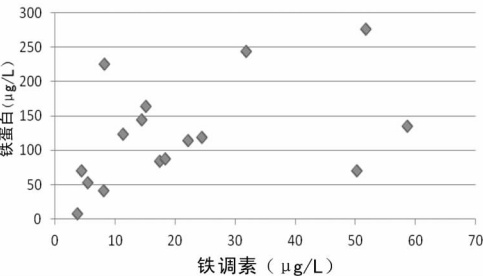


图 5 携带组女性血清铁蛋白与铁调素相关性分析
($r=0.4250, P=0.10$)

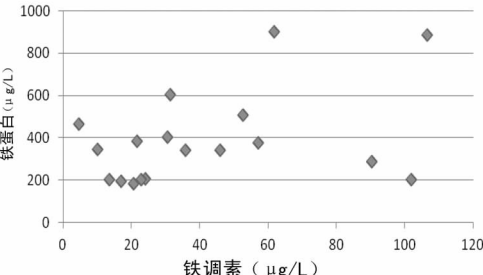


图 6 携带组男性血清铁蛋白与铁调素相关性分析
($r=0.1306, P=0.50$)

3 讨 论

珠蛋白生成障碍性贫血是世界范围内最常见的一种单基因遗传性疾病,其病理机制为调节珠蛋白合成速率的遗传基因

缺陷所致的珠蛋白合成不足。以前认为轻型珠蛋白生成障碍性贫血患者或珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者生活正常,不会对机体代谢产生影响。然而近年来研究表明,这部分患者由于基因缺失会造成红细胞无效生成和寿命缩短^[5],存在轻度慢性溶血。同时轻型珠蛋白生成障碍性贫血患者 RBC 增高, RBC 与平均红细胞体积存在分离现象^[6],从而导致患者诸多生理改变也不容忽视,如包括轻型珠蛋白生成障碍性贫血患者在内的各型珠蛋白生成障碍性贫血患者都存在不同程度的铁负荷过重现象^[7-8],随患者年龄增长有可能会逐渐出现体内铁负荷增加而影响各脏器功能。因此,研究珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者铁代谢及其相关因素,有助于探索珠蛋白生成障碍性贫血患者的去铁治疗。

本研究发现珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者与重型珠蛋白生成障碍性贫血患者相比虽然不需要经常输血,但仍存在轻度贫血,红细胞合成增多,铁超载现象,与对照组比较,差异均有统计学意义,显示珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者自身存在诸多生理指标的改变。血清铁蛋白是血清铁的储存方式,能有效反映机体铁含量,铁过多,可致心肌细胞内自由铁大量增加,大量自由铁又可导致大量自由基产生,从而损害生物分子包括心肌肌质、蛋白质、核酸等而引起心肌细胞损伤甚至死亡,长期慢性铁超负荷的成人最常见死因为心力衰竭;同时铁负荷过多可促进氧自由基的产生,导致肝细胞损伤等。本研究发现珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者铁超载现象非常明显和普遍,其较对照组增高幅度约一倍($P < 0.01$),提示珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者可能存在心脏、肝脏等脏器的慢性损伤;而血清铁增高幅度则不明显,仅显示轻度增高,可能与体内的铁主要以铁蛋白形式储存有关。

而铁调素是一种由肝脏合成的小分子多肽,首先由 Krause 等和 Park 等分别于 2000 年和 2001 年从血浆和尿液中分离出来^[1]。其主要通过与靶细胞表面膜铁转运蛋白结合,诱导其内化和降解,从而抑制肠道铁的吸收和巨噬细胞及衰老红细胞铁的释放降低机体铁水平从而在机体铁代谢平衡中起重要作用。珠蛋白生成障碍性贫血同时存在贫血、红细胞合成、缺氧和铁超载等可上调或下调铁调素表达,对中间型珠蛋白生成障碍性贫血小鼠和重型小鼠的研究显示,珠蛋白生成障碍性贫血小鼠肝脏铁表达下降^[9],提示红细胞生成对铁调素的上调超过铁负荷对铁调素的下调作用。

本研究结果显示,正常成人血清铁调素水平为男性(67.5 ± 41.4) $\mu\text{g/L}$,女性(34.7 ± 19.0) $\mu\text{g/L}$,与 Cheng 等^[10]使用相同方法研究结果[(177.58 ± 119.84) $\mu\text{g/L}$]和赵晋英等^[11]研究结果[(49.50 ± 29.8) ng/mL]一样,均显示其波动范围比较大。这与铁调素的个体差异较大且在同一个体不同时间水平差别也很明显,以及铁调素本身具有类似急性时相反应蛋白特性等影响有关^[12]。本研究结果也显示,男女性别间差异有统计学意义($P < 0.01$),可能与女性存在月经生理性周期导致铁流失,机体代偿性降低促进铁吸收有关。

尽管珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者肝脏存在铁超载,但胃肠道的持续吸收铁进一步加重了铁负担。贫血和红细胞生成性需求改变了珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者铁调素的表达。在珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者中铁超载不是控制铁调素表达的优势信号,而增加的 Hb 和红细胞生成活动似乎是铁调素表达的优势信号^[13],相比于其他铁超载的疾病,

对于这一假说,主要源于对珠蛋白生成障碍性贫血小鼠的研究^[9,14]:珠蛋白生成障碍性贫血时红细胞生成增加包括无效生成增加,释放 GDF15 因子(生长分化因子),作用于肝脏,抑制铁调素的合成,导致铁调素水平下降,从而促进肠道铁吸收增加。本研究结果显示,珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者 Hb、RBC 与铁调素呈正相关,提示红细胞生成是珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者血清铁调素水平调节的重要影响因素。同时实验数据显示,铁调素与铁蛋白水平无关,提示铁蛋白水平可能不是珠蛋白生成障碍性贫血患者铁调素水平的决定因素,但尚缺乏大样本对其进一步研究。因此,对于珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者研究其铁超载及其代谢调节因素,以及探讨使用铁调素防治铁超载的去铁治疗有其积极意义。

参考文献:

- [1] Kemna EH, Tjalsma H, Willems HL, et al. Hepcidin: from discovery to differential diagnosis[J]. *Haematologica*, 2008, 93(1): 90-97.
- [2] De DI, Ward DM, Kaplan J. Hepcidin regulation; iron out the details[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(7): 1933-1939.
- [3] 尹晓林, 张新华. 地中海贫血时 Hepcidin 对铁代谢的影响[J]. *华南国防医学杂志*, 2009, 23(4): 77-79.
- [4] Vokurka M, Krijt J, Sulc K, et al. Hepcidin mRNA levels in mouse liver respond to inhibition of erythropoiesis[J]. *Physiol Res*, 2006, 55: 667-674.
- [5] Ginzburg YZ, Rybicki AC, Suzuka SM, et al. Exogenous iron increases hemoglobin in β -thalassemia mice[J]. *Exp Hematol*, 2009, 37(2): 172-83.
- [6] 邹汉良, 梁汉彰, 赵毅, 等. 红细胞计数与平均红细胞体积比值在地中海贫血筛查诊断的价值[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2009, 23(5): 465-466.
- [7] 李亚红, 梁玉全, 岑妙珍, 等. 地中海贫血基因携带者产前筛查及实验室指标的评价[J]. *国际检验医学杂志*, 2007, 28(8): 673-677.
- [8] Papanikolaou G, Tzilianous M, Christakis J, et al. Hepcidin in iron overload disorders[J]. *Blood*, 2005, 105(10): 4103-4105.
- [9] Weizer-Stern O, Adamsky K, Amariglio N, et al. MRNA expression of iron regulatory genes in β -thalassemia intermedia and β -thalassemia major mouse models[J]. *Am J Hematol*, 2006, 81: 479-483.
- [10] 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: 33-42.
- [11] 赵晋英, 周沛, 刘翠, 等. 血清铁调素含量在鉴别缺铁性贫血和慢性病贫血中的意义[J]. *广东医学*, 2010, 31(23): 3091-3093.
- [12] Murphy AT, Witcher DR, Luan P, et al. Quantitation of hepcidin from human and mouse serum using liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Blood*, 2007, 110(3): 1048-1054.
- [13] Emilie C, giuliana Z, Lenaick D, et al. Anemia in β -thalassemia patients targets hepatic hepcidin transcript levels independently of iron metabolism genes controlling hepcidin expression [J]. *Haematologica*, 2008, 93(1): 111-115.
- [14] Tanno T, Bhanu NV, Oneal PA, et al. High level of GDF15 in thalassemia suppress expression of the iron regulatory protein hepcidin[J]. *Nat Med*, 2007, 13(9): 1096-1101.