

# 铁调素在经典型阵发性睡眠性 血红蛋白尿症中的表达及影响因素分析

王艳生 姚宏静 薄丽津 赵玉萍 张雅丽 张凤奎

中国医学科学院血液病医院(血液学研究所),国家血液系统疾病临床医学研究中心,  
天津 300020

通信作者:张凤奎,Email:fkzhang@ihcams.ac.cn

**【摘要】** 目的 研究铁调素在经典型阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)患者血清中的表达及其影响因素。方法 以2016年3月至2017年3月36例经典型PNH患者为研究对象,采用ELISA方法检测血清铁调素水平,并结合患者铁稳态状况和临床资料,分析经典型PNH患者血清铁调素水平与血清铁蛋白(SF)、可溶性转铁蛋白受体、C反应蛋白、EPO、网织红细胞绝对值、网织红细胞血红蛋白等血液学参数的相关性。结果 36例经典型PNH患者血清铁调素水平为32.03(23.11, 118.48)μg/L,明显低于正常对照组的181.42(106.80, 250.53)μg/L( $z = -5.107, P < 0.001$ )。其中,铁蛋白正常经典型PNH患者血清铁调素水平为56.41(44.60, 95.06)μg/L,经典型PNH伴缺铁组血清铁调素水平为23.75(21.77, 30.35)μg/L,均低于正常对照组;而经典型PNH伴铁蛋白升高组血清铁调素水平为336.19(304.19, 375.08)μg/L,高于正常对照组、铁蛋白正常经典型PNH组及经典型PNH伴缺铁组。多重线性回归分析显示SF、转铁蛋白饱和度和血清白蛋白水平是经典型PNH患者血清铁调素水平的独立影响因素。结论 经典型PNH患者血清铁调素水平减低,其表达主要受铁代谢因素影响。

**【关键词】** 铁调素; 阵发性睡眠性血红蛋白尿症

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.10.004

## Expression and influencing factors of hepcidin in classical paroxysmal nocturnal hemoglobinuria

Wang Yansheng, Yao Hongjing, Bo Lijin, Zhao Yuping, Zhang Yali, Zhang Fengkui

Institute of Hematology and Blood Disease Hospital, CAMS & PUMC, National Clinical Research Center for Blood Diseases, Tianjin 300020, China

Corresponding author: Zhang Fengkui, Email: fkzhang@ihcams.ac.cn

**【Abstract】 Objective** To investigate the serum expression and influencing factors of hepcidin in patients with classical paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH). **Methods** Retrospective analysis of 36 classical PNH patients from 2016.3 to 2017.3. Serum hepcidin concentration was measured by ELISA method. The relationship between serum hepcidin concentration and erythropoiesis and iron homeostasis parameters was evaluated. **Results** The median serum hepcidin level of 36 classical PNH patients was 32.03(23.11, 118.48) μg/L, it was significantly lower than of 181.42 (106.80, 250.53) μg/L in 292 normal control subjects ( $z = -5.107, P < 0.001$ ). The median serum hepcidin of 56.41 (44.60, 95.06) μg/L in PNH patients with normal ferritin was significantly lower than that in normal controls. The median serum hepcidin concentration 23.75(21.77, 30.35) μg/L in iron deficiency PNH patients was lower than that in the normal ferritin PNH patients. However, the median serum hepcidin level of classical PNH with elevated ferritin patients 336.19 (304.19, 375.08) μg/L was significantly higher not only than that of normal ferritin and iron deficiency PNH ones, but also than that of normal control subjects. Regression analysis showed that serum ferritin, transferrin saturation and serum albumin level were independent influencing factors of serum hepcidin level in patients with classical PNH. **Conclusion** The decreased serum hepcidin level in patients with classical PNH was mainly influenced by iron metabolism factors.

**【Key words】** Hepcidin; Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.10.004

阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)是一种少见的获得性造血干细胞克隆性疾病,临床上呈慢性

持续性血管内容血阵发性加重、骨髓造血衰竭和血栓形成等<sup>[1]</sup>。其中经典型PNH突出表现为典型的

血管内溶血临床及实验室特征和血栓并发症,而无其他骨髓衰竭疾病的证据。铁调素主要由肝脏产生,通过作用于肠道上皮细胞、肝脏及单核巨噬细胞系统,在铁稳态调节中发挥核心作用。铁调素生成除受机体可利用铁状态调节外,也受红系造血旺盛程度和炎性细胞因子的影响<sup>[2]</sup>。经典型PNH可能同时兼有骨髓红系造血加速、铁代谢异常及炎症反应,这些因素对铁调素水平的综合影响尚不清楚。在本研究中,我们评估经典型PNH患者的铁调素水平,比较在疾病过程中可能影响铁调素表达的潜在调节因子。

### 病例与方法

1. 病例:以2016年3月至2017年3月我院收治的36例经典型PNH患者为研究对象,参考国际PNH兴趣组关于经典型PNH的诊断标准<sup>[1]</sup>明确诊断,患者均有血管内溶血或血栓的临床和实验室证据,外周血粒、单核细胞存在GPI锚蛋白缺失<sup>[3]</sup>,流式细胞术检测红细胞和粒细胞膜CD55、CD59表达减弱,PNH克隆>10%。纳入患者无其他骨髓衰竭性疾病的证据,无感染、发热和肿瘤。按照文献<sup>[4-5]</sup>标准,根据血清铁蛋白浓度(SF)分为3组:①经典型PNH伴缺铁组(SF<30 μg/L);②铁蛋白正常经典型PNH组(30 μg/L≤SF≤200 μg/L);③经典型PNH伴铁蛋白升高组(SF>200 μg/L)。以292例无血液学异常和铁代谢紊乱健康志愿者的血清标本为对照。

2. 实验方法:采集静脉血2 ml,分离血清。采用酶联免疫法检测血清铁调素,试剂盒购自武汉华美生物工程有限公司,按照试剂盒说明进行操作。应用日本Sysmex株式会社XE5000型血细胞分析仪进行外周血细胞分析;应用美国Beckman Coulter公司AU480全自动生化分析系统进行血液生化分析;应用化学发光法检测SF和EPO;应用免疫比浊法检测C反应蛋白(CRP)、可溶性转铁蛋白受体(sTfR)和转铁蛋白(Tf)。

3. 统计学处理:采用SPSS 22.0统计软件进行分析。正态分布的计量资料以均数±标准差表示,非正态分布的计量资料以中位数(第1四分位数,第3四分位数)表示;两组间数据比较分别采用独立样本 $t$ 检验或Mann-Whitney  $U$ 检验;多组间数据比较采用Kruskal-Wallis  $H$ 检验,两两比较通过Bonferroni法校正;经典型PNH组中各参数之间的关联使用Spearman相关性检验。铁调素和其他与铁

调素有相关关系参数的线性数量关系使用多重线性回归分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

### 结 果

1. 患者基线特征:36例经典型PNH患者中,男24例,女12例,男女比为2:1;平均年龄(38.25±13.26)岁。22例(61%)为经典型PNH伴缺铁,6例(17%)为铁蛋白正常经典型PNH,8例(22%)为经典型PNH伴铁蛋白升高。三组患者人口学、外周血细胞、铁代谢参数及生化学特征见表1。

2. 经典型PNH患者血清铁调素水平:292例正常对照血清铁调素水平为181.42(106.80, 250.53) μg/L,36例经典型PNH患者血清铁调素水平为32.03(23.11, 118.48) μg/L( $z=-5.107, P<0.001$ )。不同组别经典型PNH患者和对照组血清铁调素差异具有显著性( $H=78.071, P<0.001$ ),其中铁蛋白正常经典型PNH患者血清铁调素水平为56.41(44.60, 95.06) μg/L,经典型PNH伴缺铁患者血清铁调素水平为23.75(21.77, 30.35) μg/L,均低于正常对照组、经典型PNH伴铁蛋白升高组;而经典型PNH伴铁蛋白升高组患者血清铁调素水平为336.19(304.19, 375.08) μg/L,高于正常对照、铁蛋白正常经典型PNH组及经典型PNH伴缺铁组。

3. 影响经典型PNH患者血清铁调素表达的相关因素分析:经典型PNH患者血清铁调素与网织红细胞血红蛋白(Ret-He)( $r=0.69, P<0.001$ ),红细胞平均血红蛋白含量(MCH)( $r=0.66, P<0.001$ ),红细胞平均血红蛋白浓度(MCHC)( $r=0.66, P<0.001$ ),红细胞平均体积(MCV)( $r=0.53, P=0.001$ ),SF( $r=0.97, P<0.001$ ),转铁蛋白饱和度(TSAT)( $r=0.83, P<0.001$ ),血清铁(SI)( $r=0.69, P<0.001$ )呈正相关;与Tf( $r=-0.57, P<0.001$ ),sTfR( $r=-0.52, P=0.001$ ),总蛋白(TP)( $r=-0.57, P<0.001$ ),白蛋白(ALB)( $r=-0.55, P<0.001$ ),PLT( $r=-0.39, P=0.017$ )呈负相关。进一步纳入多重线性回归分析,结果显示SF、TAST和ALB为经典型PNH患者血清铁调素的独立影响因素( $R^2=0.846$ )。铁调素浓度=209.877+0.269×SF+85.448×TSAT-4.155×ALB。

### 讨 论

铁调素是机体铁稳态平衡的重要调控因子。在体内,铁调素与跨膜铁转运蛋白(FPN)结合,引起FPN内化降解,铁调素的高表达导致胃肠道铁吸收

表1 经典型阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)患者基线特征比较

基线特征	经典型PNH伴缺铁 (22例)	铁蛋白正常经典型PNH (6例)	经典型PNH伴铁蛋白升高 (8例)
年龄[岁, $M(Q1, Q3)$ ]	32(26, 47)	45(28, 55)	41(26, 55)
性别(例, 男/女)	15/7	2/4	7/1
外周血细胞相关指标			
WBC( $\times 10^9/L, \bar{x} \pm s$ )	4.54 $\pm$ 1.53	4.51 $\pm$ 2.83	4.51 $\pm$ 3.64
RBC( $\times 10^{12}/L, \bar{x} \pm s$ )	2.87 $\pm$ 1.03	2.67 $\pm$ 0.89	2.32 $\pm$ 0.87
HGB(g/L, $\bar{x} \pm s$ )	78.14 $\pm$ 23.77	90.50 $\pm$ 33.33	78.00 $\pm$ 31.55
MCV(fl, $\bar{x} \pm s$ )	99.12 $\pm$ 11.72	106.30 $\pm$ 4.20	106.43 $\pm$ 6.49
MCH(pg, $\bar{x} \pm s$ )	28.75 $\pm$ 4.19	33.72 $\pm$ 2.29	33.43 $\pm$ 2.05
MCHC(g/L, $\bar{x} \pm s$ )	287.05 $\pm$ 12.45	317.17 $\pm$ 16.29	314.25 $\pm$ 7.57
Ret( $\times 10^{12}/L, \bar{x} \pm s$ )	0.21 $\pm$ 0.08	0.19 $\pm$ 0.08	0.14 $\pm$ 0.10
Ret-He(pg, $\bar{x} \pm s$ )	23.81 $\pm$ 4.31	33.80 $\pm$ 4.95	30.86 $\pm$ 6.89
PLT( $\times 10^9/L, M(Q1, Q3)$ )	166(100, 192)	77(68, 128)	93(34, 203)
铁代谢相关的指标			
sTfR(mg/L, $\bar{x} \pm s$ )	7.23 $\pm$ 2.56	3.59 $\pm$ 1.85	4.00 $\pm$ 1.94
Tf(g/L, $\bar{x} \pm s$ )	3.24 $\pm$ 0.91	2.67 $\pm$ 0.57	1.88 $\pm$ 0.40
SF( $\mu$ g/L, $M(Q1, Q3)$ )	14.10(9.85, 22.83)	54.60(42.40, 70.10)	749.05(339.33, 1 097.53)
SI( $\mu$ mol/L, $M(Q1, Q3)$ )	7.66(5.69, 11.24)	26.79(19.00, 47.12)	30.78(13.08, 46.30)
TSAT(% , $M(Q1, Q3)$ )	0.16(0.09, 0.45)	0.12(0.08, 0.34)	0.30(0.12, 0.93)
生化指标及其他			
TBIL( $\mu$ mol/L, $\bar{x} \pm s$ )	30.08 $\pm$ 16.57	23.40 $\pm$ 7.58	27.65 $\pm$ 18.86
DBIL( $\mu$ mol/L, $\bar{x} \pm s$ )	5.49 $\pm$ 2.27	4.87 $\pm$ 0.75	6.51 $\pm$ 4.58
IBIL( $\mu$ mol/L, $\bar{x} \pm s$ )	24.59 $\pm$ 14.67	18.53 $\pm$ 7.04	21.14 $\pm$ 14.75
TP(g/L, $\bar{x} \pm s$ )	71.83 $\pm$ 5.40	69.13 $\pm$ 5.83	59.71 $\pm$ 9.55
ALB(g/L, $\bar{x} \pm s$ )	46.49 $\pm$ 3.30	44.28 $\pm$ 4.04	38.29 $\pm$ 6.81
GLO(g/L, $\bar{x} \pm s$ )	25.34 $\pm$ 4.48	24.85 $\pm$ 4.47	21.43 $\pm$ 3.24
ALT[U/L, $M(Q1, Q3)$ ]	19.10(13.85, 34.88)	20.85(15.88, 26.23)	24.35(16.95, 63.25)
AST[U/L, $M(Q1, Q3)$ ]	67.65(52.25, 106.85)	74.20(18.14, 126.03)	43.65(26.18, 88.68)
ALP(U/L, $\bar{x} \pm s$ )	81.95 $\pm$ 24.62	66.67 $\pm$ 15.67	70.50 $\pm$ 18.78
GGT[U/L, $M(Q1, Q3)$ ]	16.75(12.58, 23.58)	20.10(12.05, 33.65)	25.65(18.60, 29.28)
TBA[U/L, $M(Q1, Q3)$ ]	2.05(1.25, 3.33)	1.40(1.18, 6.33)	4.30(2.43, 6.35)
尿素(mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )	5.29 $\pm$ 1.13	5.18 $\pm$ 1.95	7.24 $\pm$ 4.58
血肌酐( $\mu$ mol/L, $M(Q1, Q3)$ )	64.20(53.98, 70.43)	59.45(48.35, 76.13)	53.85(47.88, 104.98)
尿酸( $\mu$ mol/L, $\bar{x} \pm s$ )	264.05 $\pm$ 75.50	238.23 $\pm$ 91.04	248.20 $\pm$ 137.09
LDH[U/L, $M(Q1, Q3)$ ]	1 543(1 205, 2 322)	1 768(705, 1 981)	1 129(675, 2 331)
CRP( $\mu$ g/L, $M(Q1, Q3)$ )	3.24(1.72, 5.56)	3.15(1.30, 4.00)	8.14(1.39, 31.65)
EPO[U/L, $M(Q1, Q3)$ ]	1 100(178, 1 300)	409(85, 996)	774(40, 907)

注:MCV:红细胞平均体积;MCH:红细胞平均血红蛋白含量;MCHC:红细胞平均血红蛋白浓度;Ret:网织红细胞绝对值;Ret-He:网织红细胞血红蛋白;sTfR:可溶性转铁蛋白受体;Tf:转铁蛋白;SF:血清铁蛋白;SI:血清铁;TSAT:转铁蛋白饱和度;TBIL:总胆红素;DBIL:直接胆红素;IBIL:间接胆红素;TP:总蛋白;ALB:血清白蛋白;GLO:球蛋白;GGT:谷氨酰转氨酶;TBA:总胆汁酸;CRP:C反应蛋白

减少和内源性铁单核巨噬细胞滞留,降低血清铁浓度。铁调素的表达受机体可利用铁、炎症细胞因子及骨髓幼红细胞造血旺盛程度等多种因素的调节<sup>[6-8]</sup>。经典型PNH除溶血、骨髓红系造血旺盛外还经常因血红蛋白尿或输血支持治疗出现缺铁或铁过载<sup>[9-10]</sup>,兼具上述三方面因素,其铁调素表达受上述因素综合影响未有报告。研究该类型PNH患者

血清铁调素水平,能使我们对其稳态及其调节因素作用的认识更为深入。我们的结果表明经典型PNH患者血清铁调素表达明显低于正常对照,这与文献<sup>[11]</sup>结果一致。

铁蛋白正常的经典型PNH患者血清铁调素水平反映了溶血性贫血骨髓幼红细胞造血旺盛对肝脏合成铁调素的影响。幼红细胞容量增多及血清

EPO水平升高其生成的GDF15、GDF11、TWSG1和ERFE水平也应随之增高抑制肝脏铁调素合成。本研究中6例患者血清铁调素浓度为56.41(44.60, 95.06)  $\mu\text{g/L}$ ,明显低于正常对照的181.42(106.80, 250.53)  $\mu\text{g/L}$ ,与之一致。铁调素水平降低使FPN活性增加,细胞内储存铁得以释放进入血浆,同时胃肠道铁吸收增加,与转铁蛋白结合转运至骨髓幼红细胞以合成血红蛋白。

我们前期研究已经表明经典型PNH患者经常伴发缺铁性贫血(IDA)并且与年龄和病史长短相关<sup>[12]</sup>。IDA患者血清铁减低,细胞内铁减少。通过ERK/MAPK信号途径和BMP/SMAD信号途径使肝脏合成铁调素减少<sup>[13]</sup>。当与骨髓幼红细胞生成增多共同存在时可使铁调素水平进一步下降。本研究中经典型PNH伴缺铁组患者血清铁调素水平不仅低于正常对照,也低于铁蛋白正常经典型PNH组。表明红系造血与铁缺乏可协同作用,使肝脏合成铁调素明显减少。

经典型PNH伴铁蛋白升高组患者血清铁调素水平明显高于其他各组。鉴于外周血Ret和LDH水平在铁蛋白正常PNH和铁过载经典型PNH组患者一致,提示该两组患者溶血和骨髓幼红细胞生成大致相当。因而我们认为铁过载所致肝脏铁调素合成增加的作用远较骨髓红系造血旺盛抑制铁调素合成的作用更为强烈,铁代谢是经典型PNH患者更为主要的调节铁调素表达的影响因素。

在体内,铁调素的表达是上调或抑制由多因素共同作用决定的,而非单一的因素决定<sup>[14]</sup>。相关性分析的结果显示经典型PNH血清铁调素水平与铁代谢、红细胞生成、肝脏功能指标相关,这与文献[7]结果相一致。本研究多因素分析显示SF、TSAT和ALB是经典型PNH患者血清铁调素的独立影响因素,与Kemna等<sup>[15]</sup>研究中溶血为主要表现的地中海贫血影响血清铁调素水平的主要因素是TSAT一致。

本研究中ALB与经典型PNH患者铁调素呈负相关,并是其独立的影响因素。我们推测其可能是由于经典型PNH伴随铁蛋白升高肝功能损害加重,导致ALB生成减少。而Ali等<sup>[16]</sup>发现慢性肾脏疾病患者中铁调素水平与血清ALB呈正相关,与本研究的结果明显不同,或可能反映不同疾病及病理机制涉及肝脏合成、肾脏丢失ALB和铁调素的复杂关系。经典型PNH患者血清ALB与铁调素的关系还有待进一步了解。

## 参考文献

- [1] Parker C, Omine M, Richards S, et al. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria [J]. *Blood*, 2005, 106(12):3699-3709. DOI: 10.1182/blood-2005-04-1717.
- [2] Ganz T. Heparin and its role in regulating systemic iron metabolism [J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2006:29-35, 507. DOI: 10.1182/asheducation-2006.1.29.
- [3] Fletcher M, Sutherland DR, Whitby L, et al. Standardizing leucocyte PNH clone detection: an international study [J]. *Cytometry B Clin Cytom*, 2014, 86(5):311-318. DOI: 10.1002/cyto.b.21174.
- [4] Lopez A, Cacoub P, Macdougall IC, et al. Iron deficiency anaemia [J]. *Lancet*, 2016, 387(10021):907-16. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)60865-0.
- [5] Nairz M, Theurl I, Wolf D, et al. Iron deficiency or anemia of inflammation?: Differential diagnosis and mechanisms of anemia of inflammation [J]. *Wien Med Wochenschr*, 2016, 166(13-14): 411-423.
- [6] Weiss G. Anemia of chronic disorders: new diagnostic tools and new treatment strategies [J]. *Semin Hematol*, 2015, 52(4):313-320. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2015.07.004.
- [7] Vyoral D, Petrak J. Therapeutic potential of hepcidin - the master regulator of iron metabolism [J]. *Pharmacol Res*, 2017, 115:242-254. DOI: 10.1016/j.phrs.2016.11.010.
- [8] Ganz T. Heparin [J]. *Rinsho Ketsueki*, 2016, 57(10): 1913-1917.
- [9] Brodsky RA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria [J]. *Blood*, 2014, 124(18): 2804-2811. DOI: 10.1182/blood-2014-02-522128.
- [10] Sahin F, Ozkan MC, Mete NG, et al. Multidisciplinary clinical management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria [J]. *Am J Blood Res*, 2015, 5(1):1-9.
- [11] Liu J, Sun B, Yin H, et al. Heparin: a promising therapeutic target for iron disorders: a systematic review [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2016, 95(14): e3150. DOI: 10.1097/MD.0000000000003150.
- [12] Peng G, Yang W, Jing L, et al. Iron deficiency in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a cross-sectional survey from a single institution in China [J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 7256-7263. DOI: 10.12659/MSM.910614.
- [13] Coyne DW. Heparin: clinical utility as a diagnostic tool and therapeutic target [J]. *Kidney Int*, 2011, 80(3):240-244. DOI: 10.1038/ki.2011.141.
- [14] Huang H, Constante M, Layoun A, et al. Contribution of STAT3 and SMAD4 pathways to the regulation of hepcidin by opposing stimuli [J]. *Blood*, 2009, 113(15):3593-3599. DOI: 10.1182/blood-2008-08-173641.
- [15] Kemna EH, Kartikasari AE, van Tits LJ, et al. Regulation of hepcidin: insights from biochemical analyses on human serum samples [J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2008, 40(3):339-346. DOI: 10.1016/j.bcmd.2007.10.002.
- [16] Ali TM, Genina AM, Abo-Salem OM. The determinants of hepcidin level in chronic kidney disease and hemodialysis Saudi patients [J]. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 2014, 3(2): 133-139. DOI: 10.1016/j.bjbas.2014.05.007.

(收稿日期:2019-03-08)

(本文编辑:刘爽)