

· 临床研究 ·

# 腹膜透析患者铁调素表达变化及与肾性贫血、微炎性反应的相关性分析

杨敏 何小舟 周萃星 李旻 王彬

**【摘要】** 目的 探讨体内铁稳态平衡调节分子铁调素(hepcidin)在腹膜透析(PD)患者中的表达变化,以及铁调素与肾性贫血、机体微炎性反应之间的相关性。方法 采用酶联免疫法(ELISA)测定 50 例 PD 贫血患者、30 例 PD 无贫血患者和 40 例健康对照者的血清铁调素、白细胞介素 6(IL-6)、可溶性转铁蛋白受体(sTfR)和红细胞生成素(EPO)的水平,同时检测血常规、血生化和铁代谢等指标,并进行相关性分析。结果 铁调素在 PD 患者中表达高于健康对照组[(103.65±43.6) μg/L 比 (56.39±35.7) μg/L,  $P < 0.05$ ],而且 PD 贫血组铁调素表达高于无贫血组[(122.67±36.6) μg/L 比 (83.65±26.4) μg/L,  $P < 0.05$ ]。PD 患者的铁调素表达与 IL-6、sTfR、EPO、血清铁蛋白呈正相关( $R = 0.821, 0.742, 0.711, 0.531, P < 0.05$ );与 24 h 残肾肌酐清除率、血红蛋白呈负相关( $R = -0.533, -0.685, P < 0.05$ )。结论 PD 患者体内铁调素水平升高,与机体残余肾功能、微炎性反应有关。铁调素水平升高导致体内铁代谢失衡,与肾性贫血有关,通过对铁调素的影响,为改善 PD 患者的肾性贫血和微炎性反应提供临床研究意义。

**【关键词】** 腹膜透析; 贫血; 炎症; 铁调素

**The relationship of hepcidin level with renal anemia and micro-inflammation status in peritoneal dialysis patients** YANG Min, HE Xiao-zhou, ZHOU Cui-xing, LI Min, WANG Bin. Department of Nephrology, Third Affiliated Hospital, Medical College of Suzhou University, Changzhou 213003, China

Corresponding author: HE Xiao-zhou, Department of Urology, Third Affiliated Hospital, Medical College of Suzhou University, Email: HXZ911@sina.com

**【Abstract】 Objective** To observe the level of serum hepcidin and the relationship of hepcidin with renal anemia and micro-inflammation state in peritoneal dialysis(PD) patients. **Methods** Serum hepcidin, interleukin-6(IL-6), soluble transferrin receptor (sTfR) and erythropoietin (EPO) were measured in 50 PD patients with anemia, 30 PD patients without anemia and 40 cases of normal control by ELISA. The indexes of blood routine examination, biochemistry and iron metabolism were also detected at the same time. **Results** The level of hepcidin in PD patients was significantly higher than that in normal control[(103.65±43.6) μg/L vs (56.39±35.7) μg/L,  $P < 0.05$ ]. Furthermore, the level of hepcidin in PD patients with anemia was higher than that in PD patients without anemia [(122.67±36.6) μg/L vs (83.65±26.4) μg/L,  $P < 0.05$ ]. The results of correlation analysis showed that serum IL-6, sTfR, EPO and ferritin were positively correlated with hepcidin( $R = 0.821, 0.742, 0.711, 0.531, all P < 0.05$ ), while creatinine clearance of residual kidney in 24 hours and hemoglobin were negatively correlated with hepcidin( $R = -0.533, -0.685, all P < 0.05$ ). **Conclusions** The higher level of hepcidin in PD patients is related with the residual renal function and the micro-inflammatory state. The higher level of hepcidin may induce the iron metabolism imbalance, and then influence the state of renal anemia. The adjustment of hepcidin may provide clinical research value of improving

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-7097.2013.08.006

作者单位: 213003 常州, 苏州大学附属第三医院肾内科(杨敏、李旻、王彬), 泌尿外科(何小舟、周萃星)

通信作者: 何小舟, Email: HXZ911@sina.com

renal anemia and micro-inflammatory state in PD patients.

【Key words】 Peritoneal dialysis; Anemia; Inflammation; Hepcidin

作为终末期肾脏病患者肾替代治疗方式之一,腹膜透析(PD)受到越来越多的关注。临床上 PD 患者普遍存在贫血,并伴随一系列心血管疾病的发生,严重危害患者的生活质量<sup>[1]</sup>。目前的研究显示 PD 患者的贫血与机体微炎症反应及体内铁代谢失衡有关<sup>[2]</sup>。铁调素作为体内铁代谢的核心调节分子,其体内水平的升高使小肠对体外铁的吸收减少和网状内皮系统巨噬细胞对体内铁的释放障碍,从而加重功能性铁缺乏,导致贫血,并降低红细胞生成素(EPO)的疗效<sup>[3]</sup>。研究表明,铁调素的表达与因慢性感染、炎性反应等导致的慢性病性贫血密切相关<sup>[4]</sup>。目前,国内外关于铁调素在 PD 患者中的相关性研究较少<sup>[5]</sup>。本研究通过对 PD 贫血患者、PD 无贫血患者和健康对照者的血清铁调素水平的比较,以及血清铁调素水平与炎性介质、铁代谢、血常规、血生化等指标的相关分析,探讨 PD 患者中铁调素表达与肾性贫血、EPO 抵抗及机体微炎症反应的关系,为治疗肾性贫血提供新的思路和方法。

### 对象和方法

1. 研究对象:2012 年 6 月至 12 月期间在本院就诊的 PD 贫血患者 50 例(血红蛋白,男 < 120 g/L,女 < 110 g/L)、PD 无贫血患者 30 例,健康对照 40 例。健康对照来自本院体检中心健康体检者,既往均无肾脏病史且肾功能正常。PD 患者平均年龄为(45.75±18.62)岁,均接受 EPO 或铁剂治疗,且 PD 贫血组与无贫血组 EPO 或铁剂治疗剂量差异无统计学意义(初始剂量为 EPO:1 万单位/周,口服琥珀酸亚铁 300 mg/d,根据血常规结果调整)。健康对照组平均年龄为(40.85±15.36)岁,无 EPO 或铁剂治疗史。24 h 残肾肌酐清除率的计算根据 2000 年 DOQI 指南建议公式:24 h 残肾肌酐清除率(ml/min)=(24 h 肌酐清除率+24 h 尿素清除率)/2。排除标准:(1)存在明确感染灶,C 反应蛋白(CRP)升高(> 6 mg/L);(2)非肾性原因引起的贫血、肝功能异常(凝血酶原时间、谷丙转氨酶异常);(3)有肿瘤病史、慢性炎性反应病史或缺氧病史。

2. 血清铁调素、白细胞介素 6(IL-6)、可溶性转铁蛋白受体(sTfR)、EPO 测定:清晨空腹抽取静脉血,EDTA 抗凝剂真空管 3 ml,4℃,3000 r/min,离心 10 min,分离出血清,置-80℃冰箱保存。酶联免疫试剂盒均购自美国 Bioswamp,按说明书操作,采用竞争性同相酶联免疫分析法分别测定标本血清铁调素、IL-6、sTfR 和 EPO 水平。

3. 血常规测定:用奥地利非可替 EDTA-2K 试管以真空采血法抽取清晨空腹静脉血,送本院检验科检测,采用美国雅培 CELL-DYN3700 全自动五分类血细胞分析仪,试剂为雅培公司生产的配套试剂。

4. 生化指标测定:用奥地利非可替 EDTA-2K 试管以真空采血法抽取清晨空腹静脉血,采用日本日立公司 9300 全自动生化仪检测肝肾功能、CRP 和血脂四项;采用放射免疫法测定血清铁蛋白。

5. 统计学方法:采用 SPSS 13.0 进行数据处理。对数据行齐性检验,正态分布数据结果均以  $\bar{x} \pm s$  表示,两样本均数比较采用 *t* 检验;关联分析采用 Pearson 相关分析;非正态分布,用非参数检验,两两比较用 Mann-Whitney *U* 检验。*P* < 0.05 视为差异有统计学意义。

### 结 果

1. 各组基本资料及血清铁调素、IL-6、sTfR 和 EPO 水平:PD 贫血组及无贫血组血清铁调素、IL-6、sTfR、EPO 和血清铁蛋白水平均高于健康对照组,差异有统计学意义(均 *P* < 0.05),且 PD 贫血组血清铁调素、IL-6 和 EPO 水平高于 PD 无贫血组,差异有统计学意义(均 *P* < 0.05)。见表 1。

2. 各组内血清铁调素的相关性分析:各组内铁调素与各因素行多变量 Person 相关性分析:结果表明,各组中血清铁调素与 IL-6、sTfR、EPO、血清铁蛋白均呈正相关,见表 2。

3. 血清铁调素的水平联合相关性分析:所有 PD 患者铁调素与各因素行多变量 Person 相关性分析:结果表明,血清铁调素与 IL-6、sTfR、EPO、血清铁蛋白呈正相关,与血红蛋白、24 h 残肾肌酐清除率呈负相关,见表 3。

表 1 各组基本资料及血清铁调素、IL-6、sTfR 和 EPO 水平 ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	PD 贫血组 (n = 50)	PD 无贫血组 (n = 30)	健康对照组 (n = 40)
年龄(岁)	47.25±19.68	45.73±18.52	40.85±15.36
血红蛋白(g/L)	85.21±12.46 <sup>ab</sup>	127.54±18.56	139.21±16.82
铁调素(μg/L)	122.67±36.6 <sup>ab</sup>	83.65±26.4 <sup>a</sup>	56.39±35.7
IL-6(ng/L)	128.3±59.7 <sup>ab</sup>	86.4±32.5 <sup>a</sup>	16.8±3.9
sTfR(nmol/L)	28.65±9.7 <sup>a</sup>	20.43±8.6 <sup>a</sup>	15.38±5.2
EPO(ng/L)	379.8±175.6 <sup>ab</sup>	275.4±103.6 <sup>a</sup>	136.7±68.2
血清铁蛋白(μg/L)	210.5±112.8 <sup>a</sup>	192.7±104.3 <sup>a</sup>	100.6±56.2
BUN(mmol/L)	20.65±9.05 <sup>a</sup>	19.13±7.65 <sup>a</sup>	6.92±2.15
Scr(μmol/L)	522.6±214.7 <sup>a</sup>	517.6±198.3 <sup>a</sup>	100.3±40.1
24 h 残肾肌酐清除率 (ml/min)	20.15±5.67 <sup>a</sup>	17.23±4.56 <sup>a</sup>	101.2±13.1

注:与健康对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 PD 无贫血组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$

表 3 血清铁调素与各因素联合的 Person 相关性分析

变量	R 值	P 值
血红蛋白	-0.685	0.031
IL-6	0.821	<0.001
sTfR	0.742	<0.001
EPO	0.711	<0.001
24 h 残肾肌酐清除率	-0.533	<0.001
血清铁蛋白	0.531	0.018

## 讨 论

慢性肾病性贫血的产生机制通常被认为是肾脏 EPO 产生相对或绝对不足,故临床上通常通过补充 EPO 来治疗慢性肾病性贫血。但是,临床上大约有 10%~20% 患者应用 EPO 常规剂量下无法获得满意的疗效,即存在 EPO 抵抗,这部分患者常伴随铁代谢失衡和微炎症反应状态<sup>[6]</sup>。铁代谢失衡,包括绝对缺铁和功能性铁缺乏。对绝对缺铁的患者来说,静脉补铁一般可以纠正;而对功能性铁缺乏的患者来说,即使静脉补铁,仍难

以改善贫血,甚至可能导致机体铁超载<sup>[7]</sup>。近年来研究发现,肝细胞合成和分泌的铁调素是在机体铁代谢平衡中起重要作用的激素调节分子,它通过减少小肠对体外铁的吸收,以及减少网状内皮系统巨噬细胞对体内铁的释放,负性调节铁代谢平衡,在铁代谢中起到核心调控作用<sup>[8]</sup>。研究显示铁调素基因敲除小鼠可出现铁超载<sup>[9]</sup>,而铁调素过表达的小鼠以及过分泌铁调素的人群都可表现为缺铁性贫血<sup>[10]</sup>。国内外已有大量研究表明铁调素与慢性病性贫血的发生密切相关,且近年来,亦有研究表明铁调素在慢性肾衰竭、肾移植、血液透析患者肾性贫血中起重要作用<sup>[11-13]</sup>,其表达受多因素调控:机体贫血、缺氧、EPO 增加和铁缺乏可下调肝脏铁调素 mRNA 的表达<sup>[14-15]</sup>,炎症反应、感染、铁过负荷可上调其表达<sup>[16]</sup>。然而,国内外关于 PD 患者中铁调素表达水平及相关因素的研究尚少。因此,本研究有助于阐明 PD 患者中铁调素的相关性因素及其与肾性贫血、微炎症反应的关系,为该类药物肾性贫血的监测与治疗提供新的思路。

作为铁代谢的负性调节因子,铁调素表达增加时,铁转运蛋白内摄及降解增多,可出现循环铁降低,肠道铁吸收减少,单核巨噬细胞内铁增加,引起贫血;而低水平的铁调素加快铁从单核巨噬细胞的释放<sup>[14]</sup>。我们的研究发现,血清铁调素在 PD 贫血组的水平显著高于 PD 无贫血组、健康对照组,说明铁调素很可能是 PD 患者贫血的重要调节因子。

本研究的相关性分析还发现,铁调素的表达与 IL-6、sTfR、血清铁蛋白呈正相关,与血红蛋白、24 h 残肾肌酐清除率呈负相关。测定所有 CRP 值,排除 CRP 升高的病例,PD 患者血清 IL-6 水平明显高于对照组,提示 PD 患者存在微炎症反应状态。因此,虽然研究证实贫血能抑制铁调素的表达<sup>[15]</sup>,但是在 PD 患者中,由于大多数存在微炎症反应状态,即使在贫血情况下,炎症反应仍可

表 2 血清铁调素单组多变量相关性分析

变量	R 值			P 值		
	PD 贫血组	PD 无贫血组	健康对照组	PD 贫血组	PD 无贫血组	健康对照组
IL-6	0.712	0.606	0.565	<0.001	0.015	0.028
sTfR	0.824	0.743	0.611	<0.001	<0.001	0.016
EPO	0.732	0.621	0.877	<0.001	<0.001	<0.001
血清铁蛋白	0.658	0.537	0.564	<0.001	0.021	0.035

刺激铁调素的产生,从而进一步影响铁的正常代谢,加重贫血。本研究相关分析结果表明铁调素的表达与 IL-6 呈正相关,与血红蛋白呈负相关,这与 Tomosugi 等<sup>[16]</sup>在血液透析患者中血清铁调素 25 的相关研究结果一致。

同时,本研究结果提示 PD 患者血清铁调素与铁蛋白呈正相关。作为铁代谢生物标志物,由于铁蛋白受到急性相反应影响,在评价补铁是否达标方面,存在局限性。近年来研究表明监测铁调素水平更有利于区别单纯性铁缺乏还是伴有单核吞噬细胞组织铁潴留,前者铁调素下降,而后者升高,以防止过度补铁导致铁潴留<sup>[14,17]</sup>,因此,监测 PD 患者血清铁调素的水平,有利于指导临床铁剂的使用。

本研究中,PD 患者不论有无贫血,其血清铁调素水平均显著高于健康对照组,与 24 h 残肾肌酐清除率呈负相关。结果与报道相一致<sup>[18]</sup>。提示随着肾损害的加重,血清铁调素在体内逐渐增多,可能与肾脏排泄减少有关。

近年来, Malyszko 等<sup>[19]</sup>研究了 PD 患者中血清铁调素与贫血及炎性反应的关系,但 PD 贫血组及无贫血组患者接受 EPO 治疗的剂量不完全相同,存在一定的局限性。因此,本研究在 PD 患者使用相同剂量 EPO 或铁剂的基础上进行分析,结果表明 PD 贫血组血清铁调素及 EPO 水平明显高于无贫血组,且血清铁调素与 EPO 呈正相关。因此,我们推测 PD 患者中,高水平的血清铁调素可能提示 EPO 抵抗,与 Ashby 等<sup>[18]</sup>的报道一致。

总之,在 PD 患者中,血清铁调素表达高于正常对照组,且与 IL-6、sTfR、血清铁蛋白水平呈正相关,与血红蛋白、24 h 残肾肌酐清除率呈负相关。血清铁调素升高可导致铁吸收障碍,并可能与 EPO 抵抗有关,引起贫血症状;而最新的研究表明,抑制血清铁调素的表达,可以改善体内的贫血症状<sup>[20]</sup>。因此,血清铁调素抑制剂可以辅助或替代补铁药物进行治疗,使高表达的血清铁调素不能发挥作用,解除对体内铁释放的抑制,使机体储存铁得到动员利用,起到纠正贫血的治疗作用。因此,血清铁调素很可能成为一种治疗 PD 患者肾性贫血的重要靶分子,有望改善患者症状和 EPO 抵抗现象,对提高患者的生活质量具有积极的临床应用价值。

## 参 考 文 献

- [1] KDOQI, National Kidney Foundation. KDOQI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for Anemia in Chronic Kidney Disease. *Am J Kidney Dis*, 2006, 47 (5 Suppl 3): S11-S145.
- [2] Malyszko J, Malyszko JS, Hryszko T, et al. Is Heparin a link between anemia, inflammation and liver function in hemodialyzed patients? *Am J Nephrol*, 2005, 25: 586-590.
- [3] Nemeth E, Ganz T. Regulation of iron metabolism by Heparin. *Annu Rev Nutr*, 2006, 26: 323-342.
- [4] Malyszko J, Mysliwiec M. Heparin in anemia and inflammation in chronic kidney disease. *Kidney Blood Press Res*, 2007, 30: 15-30.
- [5] Malyszko J, Malyszko JS, Pawlak K, et al. Heparin is linked to anemia and inflammation in peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int*, 2008, 28: 418-421.
- [6] Chonchol M, Lippi G, Montagnana M, et al. Association of inflammation with anaemia in patients with chronic kidney disease not requiring chronic dialysis. *Nephrol Dial Transplant*, 2008, 23: 2879-2883.
- [7] Singh AK, Szczech L, Tang KL, et al. Correction of anemia with epoetin alfa in chronic kidney disease. *N Engl J Med*, 2006, 355: 2085-2098.
- [8] Pietrangolo A. Heparin in human iron disorders: therapeutic implications. *J Hepatol*, 2011, 54: 173-181.
- [9] Lesbordes - Brion JC, Viatte L, Bennoun M, et al. Targeted disruption of the heparin 1 gene results in severe hemochromatosis. *Blood*, 2006, 108: 1402-1405.
- [10] Weinstein DA, Roy CN, Fleming MD, et al. Inappropriate expression of heparin is associated with iron refractory anemia: implications for the anemia of chronic disease. *Blood*, 2002, 100: 3776-3777.
- [11] Valenti L, Girelli D, Valenti GF, et al. HFE mutations modulate the effect of iron on serum heparin - 25 in chronic hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2009, 4: 1331-1337.
- [12] Roy CN, Andrews NC. Anemia of inflammation: the heparin link. *Curr Opin Hematol*, 2005, 12: 107-111.
- [13] Andrews NC. Anemia of inflammation: the cytokine - heparin link. *J Clin Invest*, 2004, 113: 1251-1253.
- [14] Zaritsky J, Young B, Wang HJ, et al. Heparin -- a potential novel biomarker for iron status in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2009, 4: 1051-1056.
- [15] Nicolas G, Viatte L, Bennoun M, et al. Heparin, a new iron regulatory peptide. *Blood Cells Mol Dis*, 2002, 29: 327-335.
- [16] Tomosugi N, Kawabata H, Wakatabe R, et al. Detection of serum heparin in renal failure and inflammation by using ProteinChip System. *Blood*, 2006, 108: 1381-1387.
- [17] Young B, Zaritsky J. Heparin for clinicians. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2009, 4: 1384-1387.

- [18] Ashby DR, Gale DP, Busbridge M, et al. Plasma hepcidin levels are elevated but responsive to erythropoietin therapy in renal disease. *Kidney Int*, 2009, 75: 976-981. inhibitor of hepcidin expression in vitro and in vivo. *Blood*, 2011, 117: 997-1004.
- [19] Malyszko J, Malyszko JS, Pawlak K, et al. Heparin is linked to anemia and inflammation in peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int*, 2008, 28: 418-421. (收稿日期: 2013-05-04)  
(本文编辑: 王欣)
- [20] Poli M, Girelli D, Campostrini N, et al. Heparin: a potent

## · 读者·作者·编者 ·

### 英文摘要写作参考

1. 标题: 应简洁、明了。不要用“A study on...”“A survey of...”开头;去掉开头的“The”。标题中一般不用缩写,很常用的缩写词可考虑采用。

2. 署名: 姓氏全部字母要大写。名字仅第一个字母大写,名字的两个字间加连字符。仔细核对拼写。应列出全部作者姓名,按中文署名顺序。香港、澳门、台湾、少数民族及海外华人作者姓名按当地的拼写法拼写。

3. 单位: 只写第一作者单位,对于作者地址在省会以下城市者,地址中是否加入省名,则根据中文作者地址。新近改变归属的医学院校名称,要了解该院校新的写法,不要自创。解放军编号医院名称的暂定写法: No.XXX Hospital of People's Liberation Army(不用“PLA”这一缩写)。通讯作者(Corresponding author)要提供 Email。

4. 目的: 一般不用“In order to...”“For the purpose of...”“The present study aimed at...”,一般用动词不定式短语“To...”即可。

5. 方法: 应当用完整的句子。注意英摘要第三人称,即不能有“We...”“Our...”等,可改为“The authors...”。尽可能说明如何分组,各组研究对象的基本状况,如例数、性别、年龄以及下文中用的组的编号或名称。

6. 结果: 不必写“The results of the study showed that...”,而是直接写结果。数据要与中文摘要一致,有“±”的数字,如后面有单位,要将其放入括号内[( $\bar{x} \pm s$ )单位]。特别注意“比较”和“相关”等的表达方法,一般的“……与……有关”,可用“...was associated with(或 related to)……”;但经统计学上的相关分析得出的“……与……相关”,一定要用“... correlated with...”,并且应在括号内提供相关系数 $r$ (注意不是 $\gamma$ )及其 $P$ 值。

7. 结论: 不需要说“These results demonstrated that...”,“Based on the above results we conclude that ...”,而是直接说结论。特别注意不要用“This study(these results) may provide some valuable theoretical and technical basis for...”之类的说法;也勿用“The significance of... in... was also discussed”等无实际内容的说法。

8. 标点符号: 英文中绝对不应出现中文专用的标点符号,如: 顿号(、)、句号(。)、书名号(《》)等。

9. 缩写词: 除规定不需要注明全文者,一律在第1次出现时注明全文,如在下文中不再出现,一般不要写出缩写。

10. 数字: 一句话若一定要以数字开头,应该用英文数字写法,而不用阿拉伯数字表示。

11. 时态: 描述方法和结果的时候应当使用一般过去式,在结论当中,如果是被广泛认可,已经成为“真理”的可以使用一般现在式,否则也一般采用过去式形式。

12. 语态: 原来主张科技论文中多使用被动语态,现在主张摘要中尽量采用主动语态的越来越多,因其有助于文字清晰、简洁及有力表达。但是尽量不要混用,尤其是在同一个句子里不能混用。

另外,一些来源于拉丁文的短语,如 *in situ*, *in vivo*, *in vitro*, *pari passu*, 等,一律以斜体出现。微生物和动植物的学名,无论在题目中还是在正文中,都要用斜体,第一个词的首字母大写,例如: *Streptococcus pneumoniae*。

本刊编辑部