

炎症性贫血发病机制的研究进展

张凤奎¹

[关键词] 慢性病贫血;发病机制;进展

[中图分类号] R556 [文献标志码] A [文章编号] 1004-2806(2012)11-0696-04



专家介绍:张凤奎,博士,主任医师。中国医学科学院、北京协和医学院、血液学研究所血液病医院贫血诊疗中心主任。1985年毕业于河北医学院医学系,曾先后就职于河北省胸科医院、河北省人民医院和医科院血液病医院,长期从事血液病临床研究,主要研究方向为血液病红细胞疾病。

慢性病贫血(anemia of chronic disease, ACD)是仅次于缺铁性贫血(IDA)的最常见贫血,发生于伴有急、慢性免疫异常的多种疾病。已经证明 ACD 主要是由炎症细胞因子驱动导致,细胞因子致使机体发生铁稳态异常、红系祖细胞增殖异常、红细胞生成素(EPO)相对减少以及红细胞寿命缩短,最终导致低增生性贫血^[1]。因而,ACD 也称炎症性贫血(anemia of inflammation, AI)。近年研究认为 AI 更主要地与铁代谢紊乱和铁纳入红系前体细胞异常相关,炎症细胞因子诱导产生铁调素 hepcidin 增多在 AI 发病机制中最为关键。现综述 IA 发病机制研究进展。

1 在机体铁稳态维持中 Heparin 起中心的作用

人体需要的铁绝大部分来自再循环,自肠道吸收少量铁主要用于补充每日丢失铁。血浆铁浓度和组织铁分布受机体严密调节,以保证组织铁利用

和无毒铁状态。hepcidin 是 HAMP 基因编码主要由肝细胞合成及分泌的含有 25 个氨基酸的肽段,是维持机体铁稳态的核心调节因子,它与位于肠上皮细胞及巨噬细胞表面的跨膜铁输出蛋白——膜铁转运蛋白(ferroportin, FPN)结合,引起后者内化降解,从而抑制肠道铁吸收及巨噬细胞和肝细胞内铁释放^[2],降低机体血清铁水平,是最重要的铁代谢负性调控因子。FPN 是目前已知的惟一的细胞膜铁输出通道蛋白,与 hepcidin 结合内化后单核巨噬细胞内铁输出减少,促进细胞自分泌 hepcidin,进一步增强铁滞留^[3]。

机体缺乏有效的排铁机制,铁稳态需要通过调节肝脏细胞 hepcidin 表达,控制铁吸收和再循环利用得以实现。有多个不同信号传导途径调节肝脏细胞 hepcidin 表达,机体可利用铁的多寡、红细胞造血旺盛程度以及炎症细胞因子等,通过 MAPK/ERK 途径、BMP/SMAD 途径和 JAK/STAT3 途径调节 hepcidin 表达^[4],其中骨形成蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)尤其是 BMP6 通

¹ 中国医学科学院 北京协和医学院 血液学研究所血液病医院(天津, 300020)

通信作者:张凤奎, E-mail: ZhFK@hotmail.com

- [8] THOMAS C, THOMAS L. Biochemical Markers and Hematologic Indices in the Diagnosis of Functional Iron Deficiency[J]. Clin Chem, 2002, 48: 1066—1076.
- [9] TSUBAKIHARA Y, NISHI S, AKIBA T, et al. 2008 Japanese Society for Dialysis Therapy: guidelines for renal anemia in chronic kidney disease[J]. Ther Apher Dial, 2010, 14: 240—275.
- [10] RIZZO J D, BROUWERS M, HURLEY P, et al. American Society of Hematology/American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update on

the use of epoetin and darbepoetin in adult patients with cancer[J]. Blood, 2010, 116: 4045—4059.

- [11] SCHRIJVERS D. Management of anemia in cancer patients: transfusions[J]. Oncologist, 2011, 16 Suppl 3: 12—18.
- [12] AUERBACH M, BALLARD H. Clinical use of intravenous iron: administration, efficacy, and safety[J]. Hematol Am Soc Hematol Educ Program, 2010, 2010: 338—347.

(收稿日期:2012-08-16)

过 BMP/SMAD 途径激活 hepcidin 的转录,是 hepcidin 表达最重要的调节途径^[5-6]。

2 hepcidin 与 AI 样变化

AI 具有 4 个显著特征:贫血、血清铁水平减低、巨噬细胞铁阻留以及 EPO 反应迟钝。血清铁水平降低而骨髓细胞外铁不少,表明 AI 患者存在全身铁代谢紊乱。现认为 hepcidin 在机体铁代谢改变和 AI 发病机制中起关键性作用。构建动物模型,研究 hepcidin 表达与 AI 临床表型的关系表明,表达 Hepcl cDNA 转基因鼠可发生严重的 IDA;Roy 等^[7]构建四环素调节的 hepcidin 转基因小鼠模型,转基因小鼠发生轻至中度贫血、铁缺乏和铁限制性红细胞生成。转基因小鼠组织铁在巨噬细胞阻留,而肝脏细胞内铁相对减少;循环红细胞寿命无明显缩短,但红系细胞对红细胞生成素的增殖反应明显迟钝;hepcidin 转基因小鼠较相同血红蛋白浓度正常小鼠、甚至较放血处理的正常小鼠血清 EPO 水平为高,但与放血处理的正常小鼠网织红细胞计数明显增高不同,其网织红细胞绝对值仅轻度升高^[7]。

同样,Sasu 等^[8]应用热灭活布氏杆菌注射处理和 knockin 人类 hepcidin 基因方法制造高表达 hepcidin 小鼠模型,随着血清 hepcidin 升高,小鼠血清铁水平下降,呈明显的剂量依赖特征。hepcidin 高表达小鼠呈发育不全、毛发脱落和小细胞低色素贫血,对外源性 EPO 治疗无明显反应,这些均与 AI 特征非常相像。进一步应用高亲和力抗 hepcidin 抗体中和 hepcidin 处理或采用抑制 hepcidin mRNA 处理,小鼠重新表现出外源 EPO 敏感性,贫血得以纠正^[8]。表明 hepcidin 升高可导致与 AI 相同的表型异常及铁代谢紊乱,抑制 hepcidin 能纠正这些 AI 样变化,提示 hepcidin 在 AI 发病机制中起重要作用。

3 AI 患者炎症细胞因子及 hepcidin 水平明显增高

血清 hepcidin 表达主要受转录水平调节。AI 患者最常通过 IL-6-hepcidin 轴途径诱导 hepcidin 合成增加,另外,也可通过非 IL-6 依赖途径诱导 hepcidin mRNA 增高。IL-6 样家族和骨形成蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)家族是调节 Hepcidin 表达的两个重要细胞因子家族,BMP 和 IL-6 分别通过与 hepcidin 启动子 BMP 反应元件(BMP-responsive elements, BREs)和 STAT3 结合位点(STAT3-binding site, STAT3-BS)结合调节 hepcidin 转录^[9-12]。

常见伴发 AI 的疾病包括感染、恶性肿瘤、自身免疫性疾病、慢性肾功能衰竭和慢性心功能不全,所有这些疾病均表现有急性或慢性免疫反应的特征,炎症细胞因子如 IL-1、IL-6、TNF- α 、BMP 水

平升高,并常伴细菌脂多糖水平升高。炎症细胞因子增多见于各种不同的炎症性疾病^[13-14],包括风湿性疾病^[15]、炎症性肠病、各种感染^[16]、多发性骨髓瘤^[17]、淋巴瘤^[18]及重症疾病患者。在某些非明显炎症表现的疾病或状态也检测到细胞因子水平升高,并认为可能与这些疾病或状态伴发的贫血发生相关,例如老年人贫血和心力衰竭合并贫血。Ferrucci 等^[19]研究 1 343 例年龄 20~102 岁的普通人群炎症细胞因子水平,结果表明不论健康状态如何,老年人 IL-6、IL-18、CRP 和纤维蛋白原等炎症细胞因子水平更高。Kleijn 等^[20]研究心力衰竭患者,发现合并贫血者其血清中位 IL-6 水平、高敏感 C-反应蛋白(hs-CRP)水平和可溶性肿瘤坏死因子-1(sTNFR-1)水平明显高于非贫血患者,炎症细胞因子与贫血的发生独立相关。炎症细胞因子通过不同的信号传导途径引起 hepcidin 转录增加,血清水平升高^[18, 21-22]。

4 铁限制性红细胞生成

典型 AI 表现为正细胞、正色素贫血,随着疾病进展和持续时间延长,贫血进一步加重,可变为小细胞、低色素贫血。患者实验室检查呈血清铁减低、转铁蛋白饱和度减低,骨髓铁粒幼细胞减少、细胞外铁增多。这些均提示单核巨噬细胞系统摄取铁增多,并将铁阻留在单核巨噬细胞内,导致红系祖细胞可利用铁减少,发生铁限制性红细胞生成。

hepcidin 增高是导致 AI 可利用铁减少最主要原因。Hepcidin 与十二指肠刷状缘细胞和单核巨噬细胞细胞膜 FPN 结合,使后者内化降解,铁输出通道关闭,导致单核巨噬细胞再循环铁阻留和胃肠道铁吸收减少^[4, 23]。除此之外,近年发现 AI 患者十二指肠铁吸收减少可能更主要地与下调二价金属转运蛋白-1(divalent metal transporter-1, DMT-1)有关。Burpee 等^[24]采用 Western blot 和 mRNA 扩增分析儿童克罗恩病患者十二指肠黏膜活检标本,发现伴或不伴贫血患者其肠黏膜细胞 mRNA 表达无差别,但伴有贫血的患者小肠细胞 FPN 蛋白水平较不贫血患者明显为高。提示存在非 Hepcidin 转运吸收途径参与克罗恩病炎症性贫血的发生。Brasse-Lagne 等^[25]以极化的人类小肠细胞(Caco-2/TC7)研究 hepcidin 影响胃肠道铁吸收的机制,发现在生理剂量范围内,hepcidin 抑制 Caco-2/TC7 细胞铁转运呈剂量依赖性,在达半数最大抑制效应浓度 1 倍以上浓度时,Caco-2/TC7 细胞 FPN 蛋白水平仍无变化,而 DMT-1 蛋白表达则明显降低,在离断的大鼠十二指肠研究也获得同样结果。hepcidin 通过泛素化依赖的蛋白酶降解 DMT-1^[25],减少小肠铁吸收。

5 AI 与 IDA 通过不同途径调节 hepcidin 生成

除炎症细胞因子外,机体可利用铁多寡、氧张

力、红细胞造血旺盛程度等也能调节肝脏细胞 hepcidin 表达^[26]。旺盛的红细胞造血可直接,或通过红系造血前体细胞代谢信号 TWSG1 和 GDF15 下调 hepcidin 表达^[27-28]。与炎症细胞因子通过诱导 STAT3 磷酸化上调 hepcidin mRNA 表达不同,铁缺乏主要经与膜结合型 hemojuvelin(mHJV)作用,通过 BMP-SMAD 途径调节 hepcidin 表达。STAT3 途径诱导 hepcidin 表达受 BMP-SMAD 途径活化的影响,反之则不然。Theurl 等^[22,29]研究 IDA、AI 和 AI/IDA 模型鼠肝脏细胞 hepcidin 转录的上游信号传导途径,检测铁代谢相关基因的蛋白和 mRNA 表达,结果 AI 小鼠肝脏磷酸化 STAT3 明显增多,SMAD1/5/8 磷酸化及 hepcidin mRNA 表达明显增加;IDA 小鼠肝脏磷酸化 SMAD1/5/8 减少;AI/IDA 小鼠肝脏磷酸化 STAT3 增多与单纯 AI 小鼠者无差别,但 SMAD1/5/8 磷酸化及 hepcidin mRNA 表达明显下调。临床上不少 AI 患者由于铁摄入减少、吸收不良或慢性小量失血合并真正的 IDA。AI 患者血清 hepcidin 水平升高,胃肠道吸收和单核巨噬细胞释放铁减少;而 AI/IDA 较 AI 患者血清 hepcidin 水平明显降低,胃肠道吸收和单核巨噬细胞释放铁增多。表明 AI 与 IDA 调节 hepcidin 表达的途径不同,铁缺乏诱导的 hepcidin 表达减低可逆转炎症介导的 hepcidin 高表达,AI 合并 IDA 时贫血更主要地受铁缺乏因素的影响。

6 EPO 反应迟钝及红细胞寿命缩短

正常生理状态下,EPO 表达与组织氧张力和血红蛋白水平呈负相关。随着贫血加重,血红蛋白浓度下降,EPO 呈对数值上升。AI 患者则表现为 EPO 反应迟钝,有以下两种形式:①相对于贫血的严重程度,机体生成 EPO 不足;②在相同 EPO 浓度条件下,幼红细胞增殖反应低下。

Bergamaschi 等^[30]研究 152 例乳糜泻患者,通过绘制 Log (EPO)对血红蛋白散点图建立线性回归方程,比照参考组患者评估 AI 患者 EPO 分泌是否妥当。11 例伴有 AI 的患者其血清 γ -干扰素水平增高,而 EPO 水平则相对于其贫血程度明显不足,观察值与预测值之比(O/P)仅为 0.60 ± 0.26 ,明显低于不伴 AI 患者的 0.98 ± 0.26 ($P < 0.001$)。现认为 AI 患者 EPO 生成相对减少与 IL-1、TNF- α 等细胞因子作用相关。

AI 患者尚存在红系祖细胞增殖、分化异常。体外培养显示 AI 患者红系集落(BFU-E、CFU-E)较正常明显减少,主要与炎症细胞因子 IFN- γ 和 TNF- α 浓度水平升高有关。近年发现 AI 红系集落生成缺陷可通过增加培养基内 AI 患者 hepcidin 水平增高可直接抑制红系造血^[31]。EPO 浓度纠正,hepcidin 在低 EPO 水平而非高 EPO 水平条件

下抑制红系集落形成,均表明 AI 红系祖细胞对 EPO 反应迟钝。

在非贫血患者,炎症反应越严重其血清 EPO 水平越高;AI 患者,炎症反应越严重其血清 EPO 水平越低。提示在炎症性贫血的早期,EPO 反应迟钝尚可可通过增加生成 EPO 代偿;随着疾病进展和持续时间延长,代偿性生成过多 EPO 能力逐渐耗竭,贫血显现。

AI 患者红细胞寿命研究较少。最近,Mitlyng 等^[32]采用检测呼出气一氧化碳浓度法评估 AI 红细胞寿命,结果表明无论代偿性或失代偿性 AI 患者其红细胞寿命均较正常缩短,大约缩短 25%。尽管红细胞寿命仅轻度缩短,但发生于红系造血减低基础上,仍对 AI 的发生有促进作用。

参考文献

- [1] WEISS G, GOODNOUGH L T. Anemia of chronic disease[J]. NEJM, 2005;352:1011-1023.
- [2] NEMETH E, GANZ T. The role of hepcidin in iron metabolism[J]. Acta Haematologica, 2009, 122:78-86.
- [3] THEURL I, THEURL M, SEIFERT M, et al. Autocrine formation of hepcidin induces iron retention in human monocytes [J]. Blood, 2008, 111: 2392 - 2399.
- [4] GANZ T, NEMETH E. Hepcidin and iron homeostasis[J]. Biochim Biophysica Acta, 2012,1823:1434 - 1443.
- [5] MEYNARD D, KAUTZ L, DARNAUD V, et al. Lack of the bone morphogenetic protein BMP6 induces massive iron overload[J]. Nat Genet, 2009,41: 478-481.
- [6] ANDRIOPOULOS B, CORRADINI E, XIA Y, et al. BMP6 is a key endogenous regulator of hepcidin expression and iron metabolism[J]. Nat Genet, 2009, 41: 482-487.
- [7] ROY C N, MAK H H, AKPAN I, et al. Hepcidin antimicrobial peptide transgenic mice exhibit features of the anemia of inflammation[J]. Blood, 2007,109: 4038-4044.
- [8] SASU B J, COOKE K S, ARVEDSON T L, et al. Antihepcidin antibody treatment modulates iron metabolism and is effective in a mouse model of inflammation-induced anemia[J]. Blood, 2010, 115:3616 - 3624.
- [9] WRIGHTING D M, ANDREWS N C. Interleukin-6 induces hepcidin expression through STAT3 [J]. Blood,2006,108:3204-3209.
- [10] TRUKSA J, LEE P, BEUTLER E. Two BMP responsive elements, STAT, and bZIP/HNF4/COUP motifs of the hepcidin promoter are critical for BMP, SMAD1, and HJV responsiveness[J]. Blood, 2009, 113:688-695.

- [11] VERGA FALZACAPPA M V, VUJIC SPASIC M, KESSLER R, et al. STAT3 mediates hepatic hepcidin expression and its inflammatory stimulation [J]. *Blood*, 2007, 109: 353—358.
- [12] TRUKSA J, LEE P, BEUTLER E. The role of STAT, AP-1, E-box, and TIEG motifs in the regulation of hepcidin by IL-6 and BMP-9; lessons from human HAMP and murine Hamp1 and Hamp2 gene promoters[J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2007, 39: 255—262.
- [13] GANZ T, OLBINA G, GIRELLI D, et al. Immunoassay for human hepcidin[J]. *Blood*, 2008, 112: 4292—4297.
- [14] BUSBRIDGE M, GRIFFITHS C, ASHBY D, et al. Development of a novel immunoassay for the iron regulatory peptide hepcidin[J]. *Br J Biomed Sci*, 2009, 66: 150—157.
- [15] DEMIRAG M D, HAZNEDAROGLU S, SANCAK B, et al. Circulating hepcidin in the crossroads of anemia and inflammation associated with rheumatoid arthritis[J]. *Int Med*, 2009, 48: 421—426.
- [16] DE MAST Q, VAN DONGEN-LASES E C, SWINKELS D W, et al. Mild increases in serum hepcidin and interleukin-6 concentrations impair iron incorporation in haemoglobin during an experimental human malaria infection[J]. *Br J Haematol*, 2009, 145: 657—664.
- [17] SHARMA S, NEMETH E, CHEN Y H, et al. Involvement of hepcidin in the anemia of multiple myeloma[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14: 3262—3267.
- [18] HOHAUS S, MASSINI G, GIACHELIA M, et al. Anemia in Hodgkin's lymphoma; the role of interleukin-6 and hepcidin[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28: 2538—2543.
- [19] FERRUCCI L, CORSI A, LAURETANI F, et al. The origins of age-related proinflammatory state[J]. *Blood*, 2005, 105: 2294—2299.
- [20] KLEIJN L, BELONJE A M, VOORS A A, et al. Inflammation and anaemia in a broad spectrum of patients with heart failure[J]. *Heart*, 2012, 98: 1237—1241.
- [21] MAES K, NEMETH E, ROODMAN G D, et al. In anemia of multiple myeloma, hepcidin is induced by increased bone morphogenetic protein 2 [J]. *Blood*, 2010, 116: 3635—3644.
- [22] THEURL I, SCHROLL A, NAIRZ M, et al. Pathways for the regulation of hepcidin expression in anemia of chronic disease and iron deficiency anemia in vivo[J]. *Haematologica*, 2011, 96: 1761—1769.
- [23] NEMETH E, GANZ T. The role of hepcidin in iron metabolism[J]. *Acta Haematologica*, 2009, 122: 78—86.
- [24] BURPEE T, MITCHELL P, FISHMAN D, et al. Intestinal ferroportin expression in pediatric Crohn's disease[J]. *Inflammatory Bowel Dis*, 2011, 17: 524—531.
- [25] BRASSE-LAGNEL C, KARIM Z, LETTERON P, et al. Intestinal DMT1 cotransporter is downregulated by hepcidin via proteasome-internalization and degradation[J]. *Gastroenterology*, 2011, 140: 1261—1271.
- [26] WANG J, PANTOPOULOS K. Regulation of cellular iron metabolism[J]. *Biochem J*, 2011, 434: 365—381.
- [27] TANNO T, BHANU N V, ONEAL P A, et al. High levels of GDF15 in thalassemia suppress expression of the iron regulatory protein hepcidin [J]. *Nat Med*, 2007, 13: 1096—1101.
- [28] TANNO T, PORAYETTE P, SRIPICHA O, et al. Identification of TWSG1 as a second novel erythroid regulator of hepcidin expression in murine and human cells[J]. *Blood*, 2009, 114: 181—186.
- [29] THEURL I, AIGNER E, THEURL M, et al. Regulation of iron homeostasis in anemia of chronic disease and iron deficiency anemia; diagnostic and therapeutic implications[J]. *Blood*, 2009, 113: 5277—5286.
- [30] BERGAMASCHI G, MARKOPOULOS K, ALBERTINI R, et al. Anemia of chronic disease and defective erythropoietin production in patients with celiac disease[J]. *Haematologica*, 2008, 93: 1785—1791.
- [31] DALLALIO G, LAW E, MEANS J R R T. Hepcidin inhibits in vitro erythroid colony formation at low erythropoietin concentrations[J]. *Blood*, 2006, 107: 2702—2704.
- [32] MITLYNG B L, SINGH J A, FURNE J K, et al. Use of breath carbon monoxide measurements to assess erythrocyte survival in subjects with chronic diseases[J]. *Am J Hematol*, 2006, 81: 432—438.

(收稿日期: 2012-09-26)