

Erythroferrone-铁调素轴在肾性贫血中的研究进展

常园园, 范秋灵

中国医科大学附属第一医院肾内科, 辽宁 沈阳 110000

关键词: Erythroferrone; 铁调素; 慢性肾脏病; 贫血; 促红细胞生成; 铁代谢

中图分类号: R 556 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2017)02-0268-04

贫血是慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)患者重要的并发症之一,据研究,在 CKD 病程进展中,大约 50% 的 CKD G3~G5 期患者出现贫血,且血液透析患者合并贫血的比例更高^[1]。若贫血不予积极纠正,会出现相关临床症状和体征,加速肾功能恶化,增加心血管事件的发生风险。造成肾性贫血的主要原因除促红细胞生成素(Erythropoietin, EPO)的水平不足外,还与铁代谢异常有关,铁调素(Hepcidin)是维持机体铁稳态的重要调节因子,在慢性肾性贫血中起着重要作用,而 Erythroferrone 则是新发现的一种新的激素,是有核红细胞对促红素反应的回应,可抑制铁调素的表达,从而增加铁的吸收和动员。以 Erythroferrone-铁调素轴为枢纽的铁稳态调节机制与慢性肾脏病患者的贫血程度、肾病进展、炎症反应等的病理生理机制密切相关,本文对 Erythroferrone-铁调素轴在肾性贫血中的相关研究进展进行综述。

1 慢性肾脏病贫血的原因

肾性贫血可由 EPO 产生减少、骨髓对 EPO 反应减弱、血液丢失过多、红细胞寿命缩短等引起,此外感染、氧化应激、胰岛素抵抗、缺铁、铁调素、药物、继发性甲状旁腺功能亢进等,均会加重贫血的进展,并降低机体造血系统对 EPO 的反应^[2]。

EPO 的替代治疗是 CKD 贫血患者治疗的中流砥柱,它极大地改善了 CKD 贫血患者的生活质量。然而,仍有约 10%~20% 的 CKD 贫血患者对红细胞生成刺激剂(ESAs)治疗反应不佳^[3]。其原因有很多,最为常见的就是铁代谢异常,包括绝对性铁缺乏与相对性铁缺乏,后者也称为功能性缺铁或网状内皮系统铁阻滞(即铁释放障碍)。所谓绝对缺铁,临床表现为血清铁蛋白和转铁蛋白饱和度均明显降低,其主要原因是 CKD 患者消化功能减退,胃肠摄铁不足、消化道出血、反复透析患者透析器耗损、频繁取血检验及 ESAs 的使用加快铁的消耗等。功能性缺铁,表现为转铁蛋白饱和度降低,而血清铁蛋白则正常甚至明显升高,推测其可能是因为 CKD 患者铝中毒造成体内储存、动员和利用铁困难^[4]。另外 CKD 的进展过程中,可产生大量细胞因子及炎症介质,引起患者体内持续的慢

性炎症反应,造成体内的铁代谢紊乱。有研究表明,白介素(IL)-1 可促使单核巨噬细胞内脱铁蛋白合成增加,抑制铁释放,IL-1 还可诱导中性粒细胞释放乳铁蛋白,其可与转铁蛋白竞争结合血清铁,使血清铁降低^[5]。而目前倍受关注的铁调素蛋白及其上游红系调控物质——Erythroferrone,则被认为是肾性贫血患者功能性铁缺乏最常见原因之一。

2 铁调素与铁代谢

铁调素是由肝脏分泌的一种富含半胱氨酸的天然抗生素,参与先天免疫反应^[6-7],也是维持机体铁稳态极其重要的负激素、铁代谢与固有免疫之间联系的桥梁、炎症性贫血的重要调节剂^[8]。铁调素调节铁入血的主要途径包括促进肠道铁吸收,巨噬细胞中铁的循环利用(通过吞噬衰老红细胞及其他细胞获得),动员肝细胞中的储铁释放。转铁蛋白将组织中铁运输入血浆,是目前唯一知道的细胞性铁转运者并且具有铁调素受体,铁调素可促进巨噬细胞内吞并降解转铁蛋白,导致铁滞留于铁储备细胞中,还可通过结合于转铁蛋白使其泛素化进而内吞并在溶酶体中将转铁蛋白降解,从而减少铁入血^[9]。

体内铁水平、红细胞生成活动、缺氧、炎症等很多因素会对铁调素的表达产生影响。缺铁、贫血和缺氧可抑制铁调素的表达,而炎症则可刺激铁调素的产生。体外研究实验表明,在低氧环境中,可溶性铁调素调节蛋白(一种铁调素正性调节蛋白)可被弗林蛋白酶裂解^[10],从而抑制肝癌细胞产生铁调素,但其在体内尚缺乏相关研究。目前为止,最具特征性的介导低氧诱导铁调素调节蛋白被降解的中介物,是血小板源性生长因子-BB(PDGF-BB)。在缺氧环境下,多种类型的细胞都可表达 PDGF-BB,并且在志愿者中进行的体内实验研究也表明,它可抑制铁调素的产生^[11]。炎症因子尤其是 IL-1, IL-6、肿瘤坏死因子(TNF)- α 均可刺激铁调素产生^[12],造成铁吸收减少及铁蓄积,从而降低循环中供给血红蛋白和红细胞形成的铁,导致慢性病贫血(其主要特征是红细胞生成减少和血清铁降低,尽管铁储备并未减少)。

铁调素-25 是铁调素的主要活性物质,其 N-末端裂解可产生生物活性较低的铁调素-22 和铁调素-20 肽段,它们与铁调素-25 一起从尿中排出。最近的研究表明,铁调素-25,可以如同 β_2 微球蛋白一样,从肾小球自由滤过,被近曲小管重吸收,由此可知,慢性肾功能不全患者,可因肾脏排出尿量减少造成铁调素排泄降低,循环铁调素升高^[13]。尽管在慢性肾衰竭患

者中铁调素的升高还可能与机体慢性炎症反应有关,但大量研究已经证实,即使没有炎症[一项长期的交叉研究中发现,腹膜透析患者血清 C-反应蛋白(CRP)没有明显改变,在短期交叉研究中也未观察到超敏 C-反应蛋白(hsCRP)、IL-6 水平的显著变化],血清铁调素浓度也随肾功能恶化逐步升高^[14]。因此,无论是肾功能的损害,还是其所处的炎症状态,都可能使 CKD 患者体内铁调素水平升高,导致铁吸收及利用障碍,最终造成慢性病贫血及 ESAs 治疗抵抗。

对于绝对性铁缺乏患者来说,静脉补铁可提高 EPO 治疗疗效,而对于相对性铁缺乏或功能性铁缺乏来说,即使静脉补铁,仍难以改善贫血,且经常静脉注射铁剂,可能导致机体铁负荷超载,甚至可引起非造血组织铁中毒、严重细菌感染及心血管并发症,使患者的生存率明显下降。因此纠正 CKD 患者的贫血更需要准确评价机体的铁状况,以利于及时,适量的补充铁剂。研究表明,在 CKD 患者中,无论其是否进行血液透析,血清铁蛋白和转铁蛋白饱和度的测定并不能预测机体对铁的反应性。由于铁调素是铁储备的主要调控因子,因此血清中铁调素水平可以良好地预测缺铁性贫血生成障碍。已有多项研究证实,血液透析患者的血清铁蛋白和铁调素水平存在相关性。Ashby 等^[15]和 Weiss 等^[16]的研究小组均报道了铁调素与患者 EPO 用量呈负相关,且在应用 EPO 后铁调素水平会出现下降。这些发现与铁调素作为血液透析患者铁储备和铁需求的生物标记的角色相吻合,也进一步提示其在 CKD 患者中可能具有诊断和预测价值。

3 Erythroferrone 与铁代谢

出血,溶血及其他引起应激性红细胞生成的情况都需要一种特殊的物质以促进骨髓造血的铁供应。饮食中铁的吸收及储存铁的释放都会随着红细胞生成的加强而增加,但是红细胞生成调节体内铁稳态(曾称红系调节者)的机制,一直不清楚。当红细胞通过出血或者溶血丢失时,促进铁动员以供红系恢复的关键信号在数小时内就可完成。迅速恢复红系及其携氧能力,显示出人类独特的进化优势,铁调素作为系统性铁稳态平衡调节者,曾被公认为是红系的调节者。其作用是通过降低血中铁调素的浓度从而增加铁从肠道的吸收及储存铁的释放,以利于骨髓的铁供应。实际上,美国 UCLA 大学 Tomas Gan 团队应用基因芯片表达谱分析法发现小鼠在放血或注射 EPO 后首先呈现某种红系细胞特异性基因转录表达(蛋白产物命名为 Erythroferrone),而后才表现出铁调素 mRNA 受抑,因而认为 Erythroferrone 可抑制铁调素,进而在扩大的红系生成中迅速供铁。而后续的实验也证明,放血或注射 EPO 的刺激因素,作用于骨髓,促使骨髓中的有核红细胞释放一种分泌蛋白 mRNA-Fam132b,并确定其作为新生 TNF- α 超家族成员之一,是一种新的红系调节物质,可直接作用于肝脏抑制铁调素的表达,从而增加饮食中铁的吸收及储备铁的利用^[9]。

Erythroferrone 最早被称作 Fam132b 或 myokine,被作为一种骨骼肌来源的肌肉因子发现,与全身的脂代谢关系密切。研究发现当空腹或大量运动时,其表达会下调,给予食物时,则相反。空腹或运动时产生的 myokine,会提高肌细胞及干细

胞对升高的脂肪酸的摄取^[17-18]。早期研究者在他们的表达分析中没有关注到骨髓和脾脏(两组织中促红细胞生成素显著刺激 Erythroferrone 表达),因此,似乎很难解释 Erythroferrone/myokine 作为一个因子释放进入血液循环,具有本文提出的两种功能,即运动或进食中产生的可以促进肌细胞和肝细胞对脂肪酸吸收的肌肉因子能够在红细胞生成过程中,调节机体铁代谢。除非在高海拔地区进行的运动,否则通常不被认为可以刺激红细胞生成,进食也是如此。有学者提出在海平面水平的连续运动可以提高促红细胞生成素的水平进而促进红细胞生成的猜想。如果这种猜想正确,则目前在各大文献中提及的 ERFE 的两大功能就可被解释。进一步的工作将需要了解这些不同的活动共存时的相互作用,并评估各自的生理及病理的相关性。

Erythroferrone 的发现解释了为什么生理上增加的红细胞生成,如急性失血,可造成缺铁及铁的吸收增加。贫血造成缺氧刺激肾脏产生的红细胞生成素(Epo)刺激有核红细胞增殖,扩大的红细胞生成刺激 Erythroferrone 大量产生,进而抑制肝铁调素的产生,导致铁的吸收及储备铁的释放增加,因此血红蛋白生成效率提高。如果我们假定一个正常的、活跃的红细胞生成恒定在一定水平上,通过持续的基线水平的 Erythroferrone 合成,抑制铁调素产生(即使没有强大的红血球生成信号,如急性失血),那么可以想象,低 Erythroferrone 含量,将可能由于抑制缺乏,而导致铁调素产生增加。有研究发现,慢性肾功能衰竭患者普遍存在红细胞生成前体物质定量减少的情况。导致红细胞生成前体物质减少的机制有很多,我们推测,在慢性肾衰竭这一病理情况下,与红系前体抑制有关的贫血是两大机制的结果:(1)免疫紊乱、骨髓有毒物质或自噬等造成直接骨髓抑制,导致红细胞生成减少;(2)促红细胞生成素降低,使有核红细胞产生减少。红系前体物质的减少,最终使 Erythroferrone 水平降低,导致肝铁调素产生增加,机体可利用铁减少。并且在这种环境下,因红系受抑及恶化的功能性铁缺乏将使机体贫血程度呈螺旋式下降^[19]。此外,感染及其他炎症性疾病,使这些过程复杂化,它们通过增加细胞因子,促进铁调素的合成,导致可利用铁进一步降低,造成贫血的恶性循环。

与其调节失血恢复的生理作用相反,红系调节者也可介导一些病理过程,如在 β -地中海贫血中的无效红细胞生成和先天性红细胞生成障碍的贫血患者中所导致的铁超负荷及其严重的临床并发症。研究发现,这些患者体内 Erythroferrone 大量产生,病理性抑制铁调素生成,使铁过度吸收导致了铁超负荷,甚至在输血患者中,尽管其无效的红细胞生成活动已被部分改善,但红系调节素及相关的铁调素抑制也造成了铁超负荷,特别是在输血间隔的后期。因此,Erythroferrone 是遗传性无效红细胞生成性贫血一个强有力的病理性铁调素抑制剂,铁调素水平与促红细胞生成素浓度和红细胞生成的活动呈负相关。

如果没有 Erythroferrone 基因,红细胞生成的刺激因素导致的铁调素抑制机制将出现缺陷,而大量实验研究也表明,Fam132b 基因敲除小鼠出血后恢复期延长,然而 Fam132b 缺

乏小鼠,最终能够恢复正常的血液学参数,提示其他机制会增加铁的获取以利于新的红细胞合成,这不足为奇,因为出血复苏受到强大的进化压力,可能由多个机制参与,即使铁调素没有被迅速抑制,红细胞生成所增加的铁需求,也会导致铁短时期缺乏(如血浆铁浓度降低),这一因素将会促使铁调素降低,从而增加铁的吸收和储备铁的释放。有趣的是,Fam132b 缺乏的成熟鼠,并没有任何异常表现,其铁调素表达和铁参数与野生对照组无异,此外,失血后诱导的 Fam132b mRNA 表达,不被铁含量调节,这些均说明,Erythroferrone 是一种应激性红细胞生成特异性调节物质,在基础水平的红细胞生成中不扮演重要角色。与此一致的是,ERFE 基因敲除的小鼠只在 3~6 周这一快速生长期出现短暂的红细胞生成障碍。在促红细胞生成素作用中,Fam132b 对 JAK2-STAT5 通路的强烈依赖也符合红细胞生成的应激效应。虽然 ERFE 基因敲除引起的变化较小,不影响血红蛋白浓度,但其最终结果将如同 β -地中海贫血小鼠^[9]。

相比之下,我们发现系统性炎症或低氧并不能影响骨髓 Fam132b mRNA 的表达。研究发现,在小鼠体内注射脂多糖 4 h 后, TNF- α 、IL-6、铁调素 mRNA 被诱导产生,但 Fam132b mRNA 水平表达不变。在体外实验中,给予红细胞前体物质注射二甲基草酰甘氨酸, Erythroferrone mRNA 的表达不受影响,表明低氧诱导因子(HIF)不能直接调控 Erythroferrone。然而对 Erythroferrone 基因敲除小鼠模型注射 Brucella 造成炎症性贫血,则导致了铁调素水平异常升高和更严重的贫血,提示 Erythroferrone 可能在贫血的发生与炎症的恢复中起着重要作用^[9]。

4 红细胞生成与铁代谢相互调节

红细胞生成的刺激因素可通过骨髓有核红细胞使 ERFE 产生增加,ERFE 作用于肝脏,抑制铁调素的产生,从而导致铁吸收及储存铁释放增加,这体现出红细胞生成调节铁代谢的作用机制,反过来,铁代谢也能够调节红细胞生成。铁缺乏可降低血红素和 α 珠蛋白的合成,导致缺铁性贫血发生。吴晓亮等^[20]从肾性贫血大鼠模型的实验中发现,铁调素-25 抑制了重组 EPO,促进肾性贫血大鼠的网织红细胞的生成,提示注射铁调素衍生物可抑制 EPO 对大鼠肾性贫血的治疗作用。转铁蛋白受体 2(TFR2)在红细胞组织中高表达,它是促红细胞生成素受体复合物的一部分,对于促红素受体运输功能及稳定性极其重要^[21]。研究发现,在红细胞生成活动中,敲除小鼠的 TFR2,提高了 EPO 的敏感性,导致细胞凋亡的减少,红细胞增多,并增加了 Erythroferrone 的生产^[22]。TFR2 被全息转铁蛋白稳定在细胞表面,当铁缺乏时,转铁蛋白受体 2 将失去稳性^[23],导致其降解增加。因而 TFR2 可通过转铁蛋白结合的铁将红细胞生成与铁调素调节连接起来,并根据可利用铁量调节促红细胞生成素的反应性,以适应红细胞的生成,同时,通过释放 Erythroferrone,协调铁需求。有研究表明,Erythroferrone 产生作用,需要 BMP-SMAD 通路信号的衰减,TFR2 缺失及 Tmprss6(缺少时退化)信号通路活性增加,可降低 BMP-SMAD 通路的活性,使 Erythroferrone 功能增强^[24-25]。

综上所述,慢性肾衰竭患者体内铁调素排泄率降低、红系前体物质减少所致的 Erythroferrone 产生降低,对铁调素抑制减少、炎症促进铁调素生成等,均是导致体内铁调素升高,铁利用障碍,肾性贫血 ESAs 抵抗的原因,而 Erythroferrone 作为铁调素的上游调控者,可下调铁调素表达,从而增加铁的吸收和动员。以 Erythroferrone-铁调素轴为枢纽的铁稳态调节机制与 CKD 患者贫血的程度、肾功能状况等病理生理机制密切相关。如果 Engthoferrone 抑制铁调素表达和缓解铁过载性贫血铁负荷的作用被用于临床研究,Engthoferrone 的中和作用显然将是一个理想又特异的治疗策略。另一方面,Engthoferrone 抑制铁调素的特点,可能是治疗因铁调素增加所至铁缺乏性贫血,包括炎症性贫血、慢性肾脏病贫血的一种新的治疗方案。

参考文献

- [1] Del Vecchio L, Locatelli F. New treatment approaches in chronic kidney disease-associated anaemia[J]. Expert Opin Biol Ther, 2014, 14(5):687-696
- [2] de Francisco AL, Stenvinkel P, Vaulont S. Inflammation and its impact on anaemia in chronic kidney disease: from haemoglobin variability to hyporesponsiveness[J]. NDT Plus, 2009, 2(suppl 1):i18-i26
- [3] National Kidney Foundation. KDOQI clinical practice guidelines and clinical practice recommendations for Anemia in chronic kidney disease[J]. Am J Kidney Dis, 2006, 47(5 suppl 3):S16-S85.
- [4] Singh AK, Szczech L, Tang KL, et al. Correction of anemia with epoetin alfa chronic kidney disease[J]. N Engl J Med, 2006, 355(20):2085-2098.
- [5] 郭洁, 袁利. 铁代谢与慢性肾脏病相关研究进展[J]. 中国血液净化, 2010, 9(9):513-516.
- [6] Krause A, Neitz S, Mägert HJ, et al. LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity[J]. FEBS Lett, 2000, 480(2/3):147-150.
- [7] Park CH, Valore EV, Warning AJ, et al. Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver[J]. J Biol Chem, 2001, 276(11):7806-7810.
- [8] Pinto JP, Dias V, Zoller H, et al. Hepcidin messenger RNA expression in human lymphocytes[J]. Immunology, 2010, 130(2):217-230.
- [9] Kautz L, Jung G, Valore EV, et al. Identification of erythroferrone as an erythroid regulator of iron metabolism[J]. Nat Genet, 2014, 46(7):678-684
- [10] Silvestri L, Pagani A, Camaschella C. Furin-mediated release of soluble hemojuvelin: a new link between hypoxia and iron homeostasis[J]. Blood, 2008, 111(2):924-931.
- [11] Sonnweber T, Nachbaur D, Schroll A, et al. Hypoxia induced down-regulation of hepcidin is mediated by platelet derived growth factor BB[J]. Gut, 2014, 63(12):1951-1959.
- [12] 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.
- [13] Swinkels DW, Girelli D, Laarakkers C, et al. Advances in quantitative

- hepcidin measurements by time-of-flight mass spectrometry[J]. PLoS ONE, 2008, 3(7): e2706.
- [14] Shoji S, Inaba M, Tomosugi N, et al. Greater potency of darbepoetin- α than erythropoietin in suppression of serum hepcidin-25 and utilization of iron for erythropoiesis in hemodialysis patients[J]. Eur J Haematol, 2013, 90(3): 237-244.
- [15] Ashby DR, Gale DP, Busbridge M, et al. Plasma hepcidin levels are elevated but responsive to erythropoietin therapy in renal disease[J]. Kidney Int, 2009, 75(9): 976-981.
- [16] Weiss G, Theurl I, Eder S, et al. Serum hepcidin concentration in chronic haemodialysis patients; associations and effects of dialysis, iron and erythropoietin therapy[J]. Eur J Clin Invest, 2009, 39(10): 883-890.
- [17] Seldin MM, Peterson JM, Byerly MS, et al. Myonectin (CTRP15), a novel myokine that links skeletal muscle to systemic lipid homeostasis[J]. J Biol Chem, 2012, 287(15): 11968-11980.
- [18] Lim S, Choi SH, Koo BK, et al. Effects of aerobic exercise training on C1q tumor necrosis factor α -related protein isoform 5 (myonectin): association with insulin resistance and mitochondrial DNA density in women[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2012, 97(1): E88-E93.
- [19] Cucuianu A, Patiu M, Trifa A, et al. Redistribution of iron towards deposits in erythroblastopenic anemia as a consequence of decreased erythroferrone production[J]. Med Hypotheses, 2014, 83(5): 530-532.
- [20] 吴晓亮, 戴世学. Heparin-25 配合促红细胞生成素治疗大鼠肾性贫血的疗效分析[J]. 实用医技杂志, 2008, 15(16): 2055-2057.
- [21] Nai A, Lidonnici MR, Rausa M, et al. The second transferrin receptor regulates red blood cell production in mice[J]. Blood, 2015, 125(7): 1170-1179.
- [22] Johnson MB, Enns CA. Diferric transferrin regulates transferrin receptor 2 protein stability[J]. Blood, 2004, 104(13): 4287-4293.
- [23] Pagani A, Vieillevoys M, Nai A, et al. Regulation of cell surface transferrin receptor-2 by iron-dependent cleavage and release of a soluble form[J]. Haematologica, 2015, 100(4): 458-465.
- [24] Nai A, Rubio A, Campanella A, et al. Limiting hepatic Bmp-Smad signaling by matriptase-2 is required for erythropoietin-mediated hepcidin suppression in mice[J]. Blood, 2016, 127(19): 2327-2336.
- [25] Zhao N, Nizzi CP, Anderson SA, et al. Low intracellular iron increases the stability of matriptase-2[J]. J Biol Chem, 2015, 290(7): 4432-4446.

收稿日期: 2016-11-10 修回日期: 2016-11-24 编辑: 周永彬

· 更正 ·

对“微创内固定治疗膝关节周围骨折的临床疗效分析” 一文的更正说明

《中国临床研究》2016 年 12 月第 29 卷第 12 期第 1688 页至 1690 页刊登的“微创内固定治疗膝关节周围骨折的临床疗效分析”(作者:白洪涛,贾卫斗,谢昆,等)一文,因作者投稿时登记错误,现将单位更正为:北京朝阳急诊抢救中心骨一科,北京 100020。

特此更正并说明。

《中国临床研究》编辑部