

血清铁调素在婴幼儿缺铁性贫血诊断中的临床意义

蔡华菊, 王宁玲*, 刘亢亢, 储金华, 汪燕, 杨林海, 吴正玉

安徽医科大学第二附属医院儿科, 安徽合肥 230601

摘要 目的:通过检测 6-24 月缺铁性贫血(IDA)伴和不伴维生素 D 缺乏患儿血清铁调素(hepcidin)在治疗前后的表达水平差异,及其与血清铁蛋白(SF)关系,探讨其临床诊断价值及意义。方法:以 68 例 6-24 月 IDA 患儿为对象,分为 A 组 20 例,均合并维生素 D 缺乏;B 组 48 例,均不合并维生素 D 缺乏;健康对照组 26 例。采用血细胞分析仪检测 HGB、MCV、MCH、MCHC;化学发光免疫分析法检测血清铁蛋白;ELISA 法检测血清 hepcidin 及 25-(OH)D。结果:治疗前 A 组、B 组、对照组血清 hepcidin 水平分别为(29.16 ± 7.50) ng/ml、(27.11 ± 7.10) ng/ml、(29.25 ± 8.39) ng/ml;治疗后 A 组、B 组血清 hepcidin 水平分别为(36.21 ± 5.68) ng/ml、(34.16 ± 4.54) ng/ml,各组 hepcidin 水平差异有统计学意义($F=8.350, P=0.000$)。进一步两两比较显示,A 组治疗后血清 hepcidin 水平也明显高于对照组($P=0.000$);B 组治疗后血清 hepcidin 水平明显高于对照组($P=0.001$);A、B 两组之间差异无统计学意义($P=0.225$)。B 组治疗前与治疗后血清 hepcidin 水平均与 SF 水平均呈正相关($r=0.352, r=0.367, P=0.014, P=0.010$)。结论:hepcidin 在评估 IDA 治疗疗效过程中有重要意义。在利用血清 hepcidin 表达水平协助诊断及鉴别诊断婴幼儿 IDA 的过程中,应注意排除维生素 D 缺乏对血清 hepcidin 水平的干扰作用。

关键词 婴幼儿;缺铁性贫血;维生素 D 缺乏;铁调素

中图分类号 R556.3

文献标识码 A

doi:10.7534/j.issn.1009-2137.2016.02.045

Clinical Significance of hepcidin in the Diagnosis of Infant Iron Deficiency Anemia

CAI Hua-Ju, WANG Ning-Ling*, LIU Kang-Kang, CHU Jin-Hua, WANG Yan, YANG Lin-Hai, WU Zheng-Yu

Department of Pediatrics, The Second Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230061. Anhui Province, China

* Corresponding Author: WANG Ning-Ling, Senior Physician. E-mail: zwnltt@126.com

Abstract **Objective:** To explore the clinical diagnostic value and significance of hepcidin level by detecting the expression of serum hepcidin before and after treatment of infant iron deficiency anemia (IDA) with or without vitamin D deficiency. **Methods:** A total of 60 cases of infant IDA were divided into A and B groups, the group A consisted of 20 IDA infants with vitamin D deficiency, group B consisted of 48 IDA infants without vitamin D deficiency and the control group included 26 healthy infants. Blood examination including HGB, MCV, MCH and MCHC was performed by hematological analyzer, the level of serum ferritin was assayed by chemiluminescence immunoassay, the levels of hepcidin and 25-(OH)D were assayed by ELISA. **Results:** The levels of serum hepcidin in group A, B and control group before treatment were (29.16 ± 7.50), (27.11 ± 7.10) and (29.25 ± 8.39) ng/ml, respectively ($P > 0.05$). The level of serum hepcidin in group A and B after treatments was significantly higher than that in control group [(36.21 ± 5.68) ng/ml vs (29.25 ± 8.39) ng/ml, $P < 0.01$; (34.16 ± 4.54) ng/ml vs (29.25 ± 8.39) ng/ml, $P < 0.01$]; but there were no significantly difference between group A and B ($P > 0.05$). The serum ferritin positively correlated with hepcidin in group B both before and after treatments ($r = 0.352$ and $0.367, P < 0.05, P < 0.05$). **Conclusion:** The level of serum hepcidin has an important significance in pprocess of evaluatng for therapeutic effect in infant iron deficiency anemia, but the interference effect of vitamin D deficiency should be eliminated when the expression level of hepcidin is applied for diagnosis and differential diagnosis.

Key words infant; iron deficiency anemia; vitamin D deficiency; hepcidin

J Exp Hematol 2016; (2):546-550

缺铁性贫血(iron deficiency anemia, IDA)是因体内铁缺乏致使血红蛋白合成减少而引起的贫血。据美国最新一项调查研究显示,在 1990-2010 年的 20 年间,全球贫血患病率由 40.2% 下降至 32.9%,但是 5 岁以下儿童仍是贫血患病率最高的年龄组,

并且是 1990-2010 年间全球唯一一个贫血负担增加的年龄组。IDA 目前仍然是导致贫血的最主要原

基金项目:安徽省卫生和计划生育委员会科研项目(13FR026)

* 通信作者:王宁玲,主任医师. E-mail: zwnltt@126.com

2015-10-15 收稿; 2015-12-11 接受

因^[1]。维生素 D 缺乏也是婴幼儿时期常见的微量营养素缺乏症。铁调素 (hepcidin) 是近年来发现的重要的机体铁代谢负性调控因子,它在不同类型贫血中表达水平明显不同。本研究通过检测 6 个月 - 24 个月 IDA 伴和不伴维生素 D 缺乏患儿血清 hepcidin 在治疗前后的表达水平差异,研究其与血清 SF 关系,并以正常体检 6 个月 - 24 个月婴幼儿为对照,分析其在婴幼儿 IDA 诊断及治疗中的意义。

材料和方法

研究对象

2015 年 1 - 6 月在安徽医科大学第二附属医院儿科确诊的 68 例 6 至 24 个月 IDA 患儿作为研究对象,根据血清 25 - 羟维生素 D (25 - (OH)D) 水平分为 A、B 两组,其中 A 组 20 例,男 14 例,女 6 例,平均月龄 8.9 (6 - 15) 月,均合并维生素 D 缺乏;B 组 48 例,男 34 例,女 14 例,平均月龄 9.7 (6 - 18) 月,均不合并维生素 D 缺乏。以同期门诊体检的 6 - 24 月正常婴幼儿 26 例作为对照,其中男 16 例,女 10 例,平均月龄 11.1 月 (6 - 22 月)。两组均按照每日补充元素铁 2 - 6 mg/kg 给予右旋糖酐铁口服,餐间服用,每日 2 - 3 次,并同时口服维生素 C 促进铁吸收。A 组在补铁治疗同时给予双倍预防剂量维生素 D 补充 (800 U/d)。两组患儿分别于初诊和治疗两周后检测 HGB、MCV、MCH、MCHC、SF、hepcidin 及 25 - (OH)D 水平。对照组仅检测血清 hepcidin 水平。

主要仪器及试剂

采用 XE - 2100 五类血细胞自动分析仪 (日本希森美康公司) 检测 HGB、MCV、MCH、MCHC;采用化学发光免疫分析法 (罗氏 COBAS e - 601) 检测血清 SF,所需试剂盒购自德国罗氏诊断有限公司;采用酶联免疫吸附法检测血清 hepcidin 及 25 - (OH)D,试剂盒均购自上海邦奕生物科技有限公司,使用芬兰 (Labsystems Multiskan MS) 352 型酶标仪进行分析计算浓度。

IDA 诊断标准

根据《儿童缺铁和缺铁性贫血防治建议》^[2],IDA 的诊断标准包括:①血红蛋白 (HGB) 降低,即 6 个月 - 6 岁 < 110 g/L;②外周血红细胞呈小细胞低色素性改变:平均红细胞容积 (MCV) < 80 fl,平均红细胞血红蛋白含量 (MCH) < 27 pg,平均红细胞血红蛋白浓度 (MCHC) < 310 g/L;③铁代谢指标至少满足以下中两项:血清铁蛋白 (SF) < 15 ug/L;血清铁

(SI) < 60 ug/dl;总铁结合力 (TIBC) > 350 ug/dl;转铁蛋白饱和度 (TS) < 15%。

维生素 D 缺乏诊断标准

根据《儿童微量营养素缺乏防治建议》^[3],血清 25 - (OH)D 水平 ≤ 15 ng/ml 为维生素 D 缺乏;≤ 5 ng/ml 为维生素 D 严重缺乏,可伴或不伴佝偻病临床表现。

排除标准

含以下任何一项均需排除:①合并感染或血清 C - 反应蛋白 (CRP) > 10 mmol/L;②有血红蛋白病家族史,合并有地中海贫血或其他血液系统疾病;③患有肿瘤或免疫缺陷等疾病;④就诊前 1 个月内服用过铁剂或含铁补血药;⑤就诊前 1 个月内连续服用过超过预防剂量 (400 U/d) 的维生素 D 制剂。

标本采集及保存

所有研究对象均在清晨空腹采血。采用 EDTA - K2 抗凝真空管抽取外周静脉血 2.0 ml,用于检测 HGB、MCV、MCH、MCHC;采用无抗凝剂干燥真空管抽取外周静脉血 4.0 ml,2 h 内予 1 610 × g 离心 10 min 分离血清,检测血清 SF、25 - (OH)D,剩余血清 - 20 °C 保存,两周内一次解冻检测 hepcidin。

统计学分析

使用 SPSS 17.0 统计软件进行统计学分析,对于正态分布的计量资料用均数 ± 标准差表示。A、B 组治疗前后 HGB、MCV、MCH、MCHC、SF、hepcidin 及 25 - (OH)D 水平比较采用配对样本 *t* 检验;A、B 组治疗前、后与对照组血清 hepcidin 水平比较采用单因素方差分析;A、B 组治疗前、后血清 hepcidin 水平与 SF 相关性采用 *Pearson* 相关性分析。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

维生素 D 缺乏与 IDA 的关系

在 68 例 IDA 患儿中,共 20 例合并维生素 D 缺乏,占就诊人数的 29.4%。治疗前与治疗后 A 组患儿 HGB 水平均低于 B 组,差异有统计学意义 (*P* = 0.013, *P* = 0.019)。

两组患儿治疗前和治疗后血 HGB、MCV、MCH、MCHC、SF、hepcidin 及 25 - (OH)D 水平

两组患儿治疗后 HGB、MCV、MCH、SF 及 hepcidin 水平均较治疗前明显升高,差异有统计学意义 (*P* <

0.05); 两组患儿治疗后 MCHC 水平均较治疗前升高, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。A 组患儿治疗后血清 25 - (OH)D 水平较治疗前升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), B 组患儿治疗前后血清 25 - (OH)D 水平, 其差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (表 1-2)。

Table 1. HGB, MCV, MCH, MCHC, SF, hepcidin and 25 - (OH) D levels in group A before and after treatment

Parameter	Before treatment (ng/ml)	After treatment (ng/ml)
HGB(g/L)	76.45(±12.50)	99.33(±9.13)**
MCV(fL)	61.61(±5.66)	67.74(±5.61)**
MCH(Pg)	17.31(±2.98)	20.61(±3.17)**
MCHC(g/L)	279.61(±28.62)	290.78(±27.83)
SF(ng/ml)	7.08(±3.85)	24.24(±12.17)**
Hepcidin(ng/ml)	29.16(±7.50)	36.21(±5.68)**
25 - (OH)D(ng/ml)	12.02(±2.78)	15.11(±3.33)**

** $P < 0.01$, compared with level before treatment.

Table 2. HGB, MCV, MCH, MCHC, SF, hepcidin and 25 - (OH) D levels in group B before and after treatment

Parameter	Before treatment (ng/ml)	After treatment (ng/ml)
HGb(g/L)	86.41(±14.86)	106.36(±10.47)**
MCV(fL)	64.94(±6.75)	70.00(±4.78)**
MCH(Pg)	19.31(±3.29)	21.78(±2.61)**
MCHC(g/L)	295.72(±21.66)	304.08(±24.06)
SF(ng/ml)	7.99(±3.53)	25.96(±12.29)**
Hepcidin(ng/ml)	27.11(±7.10)	34.16(±4.54)**
25 - (OH)D(ng/ml)	23.85(±4.28)	24.59(±3.70)

** $P < 0.01$, compared with level before treatment.

A、B 两组患儿血清 hepcidin 水平与对照组的比较
 治疗前 A 组、B 组、对照组血清 hepcidin 水平分别为 (29.16 ± 7.50) ng/ml、(27.11 ± 7.10) ng/ml、(29.25 ± 8.39) ng/ml, 其差异无统计学意义 ($F = 0.815, P = 0.446$)。治疗后 A 组、B 组、对照组血清 hepcidin 水平分别为 (36.21 ± 5.68) ng/ml、(34.16 ± 4.54) ng/ml、(29.25 ± 8.39) ng/ml, 各组血清 hepcidin 水平差异有统计学意义 ($F = 8.350, P =$

0.000)。进一步两两比较, A 组治疗后血清 hepcidin 水平较对照组增高, 差异有统计学意义 ($P = 0.000$); B 组治疗后血清 hepcidin 水平较对照组明显增高 ($P = 0.001$); A、B 两组治疗后血清 hepcidin 水平差异无统计学意义 ($P = 0.225$)。

相关性分析

A 组患儿治疗前与治疗后血清 hepcidin 水平与 SF 水平均无相关性 (r 值分别为 0.145 和 0.262, P 值分别为 0.541 和 0.293)。B 组患儿治疗前与治疗后血清 hepcidin 水平与 SF 水平均呈正相关, 差异有统计学意义 (r 值分别为 0.352 和 0.367, P 值分别为 0.014 和 0.010) (图 1-2)。

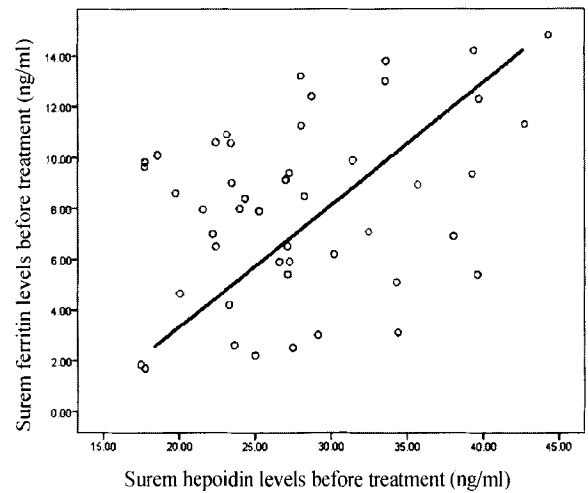


Figure 1. Correlation between serum hepcidin and ferritin levels before treatment in group B

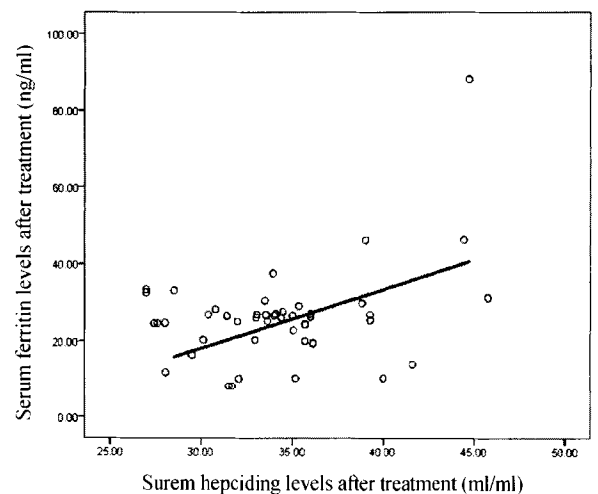


Figure 2. Correlation between serum hepcidin and ferritin levels after treatment in group B

讨 论

铁是合成 HGB 必须的元素,铁缺乏可以影响中枢神经系统的能量代谢和神经递质的合成,妨碍脑细胞的发育。生命早期的 IDA 会对智力发育造成不可逆转的影响^[4]。维生素 D 是维持体内钙代谢平衡的必需营养素,维生素 D 缺乏是导致婴幼儿 IDA 发生的高危因素之一^[5-6]。本组实验中共确诊 IDA 患儿 68 例,其中 20 例合并维生素 D 缺乏,占 IDA 患儿总数的 29.4%,与国外 Yoon 等^[7]调查结果基本一致。与 B 组相比,A 组治疗前 HGB 水平更低,差异有统计学意义,说明在 IDA 患儿中,同时合并维生素 D 缺乏者贫血程度更重。即使同时给予铁剂及维生素 D 补充,相对比与仅给予铁剂治疗的单纯缺铁患儿,两周后的 HGB 水平也更低。

Hepcidin 作为维持铁稳态的核心调节因子,可以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 1 (FPN1) 结合,引起后者内化降解,从而抑制肠道铁吸收及巨噬细胞内铁释放^[8]。近年来发现,多种类型贫血与 hepcidin 表达异常存在关联,且不同类型贫血 hepcidin 表达水平亦不相同。如难治性缺铁性贫血,系机体 TMPRSS 基因突变导致,其血清 hepcidin 水平增高^[9]。地中海贫血患者体内 hepcidin 含量则较正常对照明显下降^[10]。对于成年人单纯缺铁性贫血,Kautz 等^[11]研究发现,BMP 基因上存在铁调控元件,当机体缺铁时,铁调控元件受感应,致使 BMP6 表达降低,BMP/Smad 途径受到抑制,hepcidin 分泌减少。国内汪文娟等^[12]实验证实,老年人群 IDA 患者血清中 hepcidin 水平与正常对照组相比明显下降,且血清 hepcidin 含量对鉴别 IDA 和慢性病性贫血有重要价值。李四保等人^[13]则通过检测不同缺铁程度足月孕妇血清 hepcidin 的浓度及胎盘 FPN1 mRNA 表达水平发现,随着母体缺铁程度的加重,血清 hepcidin 浓度下调,胎盘 FPN1 mRNA 表达上调。

对于 hepcidin 在儿童特别是婴幼儿 IDA 中的水平变化,国内目前尚无相关报道。在本组实验中,B 组患儿治疗前血清 hepcidin 水平为 (27.11 ± 7.10) ng/ml,低于对照组;A 组患儿治疗前血清 hepcidin 水平为 (29.16 ± 7.50) ng/ml,与对照组水平相似;差异无统计学意义。该结果说明,在婴幼儿 IDA 患儿中,当合并维生素 D 缺乏时,血清 hepcidin 水平并没有减低,与成年人表现并不完全相符。分析其原因,主要考虑与维生素 D 缺乏时可能影响 hepcidin

合成与分泌有关。实验标本量较少也可能为统计学无差异原因之一。

此外,本研究分别对 A、B 两组患儿治疗前与治疗后血清 hepcidin 及 SF 水平的相关性做了分析。B 组患儿治疗前与治疗后血清 hepcidin 水平与 SF 水平均呈正相关,差异有统计学意义。A 组患儿治疗前与治疗后血清 hepcidin 水平与 SF 水平则均无相关性。该结论也进一步说明,由于受到维生素 D 缺乏影响,血清 hepcidin 水平改变,与 SF 相关性亦受到影响。

本研究中,给予补铁治疗两周后,A、B 两组患儿 HGB、MCV、MCH、MCHC 均有所上升,但未完全达到正常水平。与此同时,A、B 两组患儿治疗前 SF 水平均低于正常水平,治疗后 SF 水平均有显著上升,与治疗前相比差异有统计学意义,说明 SF 作为体内储存铁的指标之一,是 IDA 疗效评估的敏感指标。目前有学者认为,hepcidin 也可作为评估 IDA 疗效的指标。在本组研究中,A、B 两组患儿在补铁治疗 2 周后,血清 hepcidin 水平均较各自治疗前显著升高,与对照组相比亦升高,差异有统计学意义。这点与 Doqan 等^[14]研究发现的较一致,说明 hepcidin 对于 IDA 补铁治疗的疗效评估有积极意义。

总之,hepcidin 作为铁代谢途径中重要负性调控因子,在评估 IDA 治疗疗效过程中有重要意义。但是,与成年人相比,婴幼儿 IDA 患儿容易合并维生素 D 缺乏,且维生素 D 缺乏早期可无典型临床表现,容易被临床医师忽略。因此,在利用血清 hepcidin 表达水平协助诊断及鉴别诊断婴幼儿 IDA 的过程中,应注意排除维生素 D 缺乏对血清 hepcidin 水平的干扰作用。

参 考 文 献

- 1 Kassebaum NJ, Jasrasania R, Naghavi M, et al. A systematic analysis of global anemia burden from 1990 to 2010. *Blood*, 2014; 123(5):615-624.
- 2 Lukowski AF, Koss M, Burden MJ, et al. Iron deficiency in infancy and neurocognitive functioning at 19 years: evidence of long-term deficits in executive function and recognition memory. *Nutr Neurosci*, 2010; 13(2):54-70.
- 3 中华儿科杂志编辑委员会,中华医学会儿科学分会血液学组,中华医学会儿科分会儿童保健学组. 儿童缺铁和缺铁性贫血防治建议. *中华儿科杂志*, 2008; 46(7):502-504.
- 4 中华医学会儿科学分会儿童保健学组. 《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童微量营养素缺乏防治建议. *中华儿科杂志*, 2010; 48(7):502-509.
- 5 Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*, 2007; 357(3):

- 266.
- 6 Lee JA, Hwang JS, Hwang IT, *et al.* Low vitamin D levels are associated with both iron deficiency and anemia in children and Adolescents. *Pediatr Hematol Oncol*, 2015; 32(5):362 – 363.
 - 7 Yoon JW, Kim SW, Yoo EG, *et al.* Prevalence and risk factors for vitamin D deficiency in children with iron deficiency anemia. *Korean J Pediatr*, 2012; 55(6):206 – 211.
 - 8 Deicher R, Horl WH. New insights into the regulation of iron homeostasis. *Eur J Clin Invest*, 2006; 36(5):301 – 309.
 - 9 De Falco L, Sanchez M, Silvestri L, *et al.* Iron refractory iron deficiency anemia. *Haematologica*, 2013; 98(6):845 – 853.
 - 10 El Hussein NM, Matter MM, Sabry RM, *et al.* Serum prohepcidin level in myelodysplasia. *Scand J Clin Lab Invest*, 2010; 70(5):343 – 346.
 - 11 Kautz LBesson – Fournier C, Meynard D, *et al.* Iron overload induces BMP6 expression in the liver but not in the duodenum. *Haematologica*, 2011; 96(2):199 – 203.
 - 12 汪文娟,王浩,陈哲,等. Hcpidin 在老年缺铁性贫血和慢性病贫血中的诊断价值. *中国实验血液学杂志*, 2015; 23(1):155 – 158.
 - 13 李四保,刘玉峰,王玉梅,等. 血清铁调素及胎盘膜铁转运蛋白 1 在母婴铁转运中的作用. *中华血液学杂志*, 2015; 36(4):307 – 311.
 - 14 Doqan A, Alioqlu B, Dindar N, *et al.* Increased serum hepcidin and ghrelin levels in children treated for iron deficiency anemia. *J Clin Lab Anal*, 2013; 27(1):81 – 85.