

Hepcidin 在老年缺铁性贫血和慢性病贫血中的诊断价值

汪文娟¹, 王浩^{2*}, 陈哲³, 陈颖³¹宁波卫生职业技术学院医学检验技术教研室, 浙江宁波 315100; ²宁波市鄞州第二医院检验科, 浙江宁波 315100; ³宁波市鄞州人民医院血液病实验室, 浙江宁波 315100

摘要 目的: 通过检测患者血清 Hepcidin(铁调素)水平, 探讨 Hepcidin 在老年人群缺铁性贫血(IDA)和慢性病贫血(ACD)中的应用价值。方法: 选取老年 IDA 患者 28 例、ACD 患者 21 例、健康对照组 25 例。应用 ELISA 法检测 Hepcidin, 血细胞分析仪检测 WBC、RBC 计数, 放射免疫法检测血清铁蛋白(SF)水平, 生化分析仪检测 C-反应蛋白(CRP)、血清铁(SI)水平。结果: 血清 Hepcidin 在 IDA 组、ACD 组及对照组之间具有显著统计学意义($P < 0.01$); ACD 组 SF、WBC 计数、CRP 明显比 IDA 组高($P < 0.01$); 根据受试者工作特征(ROC)曲线, 当 Hepcidin 临界值取 93.31 $\mu\text{g/L}$ 时, 诊断老年 IDA 敏感性为 88%, 特异性为 89%; 当 Hepcidin 临界值取 130.05 $\mu\text{g/L}$ 时, 诊断 ACD 敏感性为 72%, 特异性为 96%。结论: 血清 Hepcidin 水平的检测有助于鉴别老年缺铁性贫血与慢性病贫血, 具有一定的临床应用价值。

关键词 缺铁性贫血; 慢性病贫血; 铁调素

中图分类号 R556; R556.3

文献标识码 A

doi:10.7534/j.issn.1009-2137.2015.01.030

Diagnostic Value of Hepcidin in Elderly Patients with Iron Deficiency Anemia and Anemia of Chronic Disease

WANG Wen-Juan¹, WANG Hao^{2*}, CHEN Zhe³, CHEN Yin³¹Department of Medical Laboratorial Examination, Ningbo College of Health Sciences, Ningbo 315100, Zhejiang Province, China;²Department of Laboratorial Examination, Ningbo Yinzhou Second Hospital, Ningbo 315100, Zhejiang Province, China; ³Laboratory of Blood Diseases, Ningbo Yinzhou People's Hospital, Ningbo 315100, Zhejiang Province, China

* Corresponding Author: WANG Hao, Technologist in Charge. E-mail: wwj8926@126.com

Abstract **Objective:** This study was to evaluate the differential diagnostic value of serum Hepcidin in elderly patients with iron deficiency anemia (IDA) and anemia of chronic disease (ACD). **Methods:** The group of IDA consisted of 28 elderly patients, and the group of ACD consisted of 21 elderly patients, the control group included 25 healthy elderly people. Hepcidin was measured by ELISA; WBC, RBC counts were assayed by haematology analyzer; the serum ferritin level was measured by using radioimmunoassay; C-reaction protein (CRP) and serum iron levels were assayed by a biochemical analyzer. **Results:** Hepcidin level between the three groups was significantly different ($P < 0.01$); serum ferritin, WBC and CRP levels in ACD patients were significantly higher than that in IDA patients ($P < 0.01$); according to the receivers operating characteristic (ROC) curve, the best threshold in diagnosis of IDA was 93.31 $\mu\text{g/L}$ with the sensitivity of 88% and the specificity of 89%; the best threshold diagnosis of ACD was 130.05 $\mu\text{g/L}$ with the sensitivity of 72% and the specificity of 96%. **Conclusions:** serum Hepcidin has a certain value in the differential diagnosis of IDA and ACD in elderly patients.

Key words iron deficiency anemia; anemia of chronic disease; Hepcidin

J Exp Hematol 2015; 23(1):155-158

缺铁性贫血(iron deficiency anemia, IDA)是贫血中最常见的类型, 至今仍是全球尤其发展中国家普遍而重要的健康问题, 其高危人群是老年人。在老年人群中, 严重 IDA 也可能影响含 Fe^{2+} 的蛋白质的合成, 如细胞色素, 其他蛋白质、肌红蛋白、过氧化氢酶和过氧化物酶^[1]。慢性病贫血(anemia of chronic disease, ACD)也是老年人群中常见的血液疾病, 仅次于缺铁性贫血, 是许多慢性疾病如慢性感染、慢性炎症性疾病等伴发的一种贫血, 主要表现为

铁利用的障碍。由于多种因素的影响, 在 ACD 范围内诊断 IDA 是非常困难的^[2]。尽管骨髓铁染色是诊断缺铁的金标准, 但骨髓穿刺具有损伤性, 且患者的依从性也不高。有关铁代谢的参数如转铁饱和度、血清铁、铁蛋白在临床上运用广泛, 但是这些参数在老年人群中的标准仍是未知的^[3]。在 2000 年, 发现

基金项目: 浙江省教育厅科研项目(Y201329520)

* 通讯作者: 王浩, 主管技师。E-mail: wwj8926@126.com

2014-09-04 收稿; 2014-10-20 接受

Hepcidin(铁调素)在免疫系统和铁运输与储存之间有着一定的关联^[4,5],它是由肝脏分泌的一种富含半胱氨酸的抗菌肽激素。近几年,Hepcidin的研究日益受到重视,在人体内铁代谢中起着关键作用,Hepcidin有可能有助于 IDA 和 ACD 的鉴别诊断。因此,本研究主要以老年缺铁性贫血患者为对象,探讨 Hepcidin 对缺铁性贫血诊断和鉴别诊断的价值。

材料和方法

对象

2012年7月-2013年9月收集贫血病例49,IDA组:28例,其中男性12,女性16,年龄65-85,平均年龄 77 ± 7 ;ACD组:21例,其中男性10,女性11,年龄65-87,平均年龄 78 ± 6 ;排除慢性肾病和癌症患者。所有 IDA 和 ACD 患者根据国内文献综合标准诊断^[6]。对照组:2013年1月-2013年10月25名健康体检者为正常对照组,其中男性11,女性14,年龄65-85,平均年龄 68 ± 7 ,排除标准为慢性炎症疾病、贫血、营养不良、癌症、风湿性疾病、炎性肠病、内分泌疾病、以及使用类固醇或非类固醇类的消炎药。

主要试剂及仪器

Hepcidin测定采用ELISA(酶联免疫吸附试验)法,为美国ADL公司配套试剂盒,依次加入标本、标准品、HRP标记的检测抗体,经过温育并彻底洗涤。用底物TMB显色,颜色的深浅和样品中的人铁调素(Hepcidin)呈正相关。用酶标仪在450nm波长下测定吸光度(OD值),计算样品浓度。RBC、Hb、HCT、MCV、WBC的测定应用SysmexXE2100血细胞分析仪及配套的试剂盒;血清铁蛋白(SF)按说明书采用放射免疫分析法;血清铁(SI)和CRP按说明书在日立7180生化分析仪上检测及配套试剂盒。

标本采集与保存

各研究对象均在治疗前空腹采血,采取外周EDTA-

2K抗凝血2ml,测RBC、Hb、HCT、RDW、WBC。采集外周血4ml,3000×g转离心10min将血清和红细胞迅速小心地分离,收集血清,冻存于-70℃,避免反复冻融,在室温下解冻并确保样品均匀地充分解冻,检测Hepcidin,CRP、SF、SI。

统计学分析

采用SPSS 16.0统计学分析,对于正态分布数据以均数±标准差表示,数据方差齐性者采用F检验,差异有显著意义者进行两两比较采用LSD-t法; $P < 0.05$ 均为有统计学意义。绘制受试者工作特征曲线(receiver operator characteristic curve,ROC)。

结 果

IDA组和ACD组血液一般参数分析

检测表明,IDA组和ACD组中Hb、HCT、RBC水平明显比对照组低,差异具有统计学意义($P < 0.01$),但是,Hb、HCT在IDA组和ACD组中无统计学差异($P > 0.05$);IDA组MCV值明显比ACD和对照组低,差异具有统计学意义($P < 0.01$),而在ACD组与对照组之间无统计学意义;ACD组中WBC计数明显比IDA组和对照组高,差异具有统计学意义($P < 0.01$)(表1)。

IDA组和ACD组Hepcidin及铁代谢参数分析

检测显示,血清Hepcidin在IDA组、ACD组及对照组之间具有显著统计学意义($P < 0.01$),IDA组中Hepcidin比对照组低;而ACD组中Hepcidin含量比对照组高。IDA组、ACD组SI比对照组低,具有统计学意义,而两组间无统计学意义。ACD组SF明显高于IDA与对照组,并且,ACD组CRP也明显高于IDA与对照组,具有显著统计学意义($P < 0.01$)(表2)。

Table 1. WBC and RBC parameters between IDA and CDA in elderly patients

Group	n	RBC($\times 10^{12}/L$)	Hb(g/L)	HCT(%)	MCV(fl)	WBC($\times 10^9/L$)
IDA(I)	28	$3.56 \pm 0.63^{\Delta\#}$	$91 \pm 12^{\Delta\#}$	$31.8 \pm 5.4^{\Delta\#}$	$81 \pm 7^{\Delta}$	$6.9 \pm 2.3^*$
ACD(II)	21	$3.95 \pm 0.76^{\Delta}$	$93 \pm 16^{\Delta}$	$32.4 \pm 6.7^{\Delta}$	$90 \pm 5^{\Delta}$	$11.8 \pm 3.2^{\Delta\Delta}$
Control(III)	25	4.53 ± 0.38	130 ± 14	41.0 ± 4.7	$92 \pm 4^{\#}$	5.7 ± 1.4

* $P < 0.05$, compared with control; # $P > 0.05$, compared with ACD group; $\Delta P < 0.01$, compared with control; $\Delta P < 0.01$, compared with IDA group.

IDA: iron deficiency anemia; ACD: anemia of chronic disease.

Table 2. Hepcidin and iron metabolism parameters between IDA and CDA in elderly patients

Group	n	Hepcidin(ug/L)	SI(umol/L)	SF(ng/ml)	CRP(mg/L)
IDA(I)	28	65.08 ± 28.60 * Δ	7.3 ± 3.1 Δ	9.2 ± 3.5	4.2 ± 2.3
ACD (II)	21	136.79 ± 20.05 Δ	8.4 ± 4.2	196.4 ± 25.4 ▲	15.7 ± 10.1 ▲
Control (III)	25	110.98 ± 16.80	11.5 ± 4.6	54.8 ± 13.6	2.9 ± 1.6

* P < 0.01, compared with ACD group; Δ P < 0.01, compared with control; ▲ P < 0.01, compared with IDA group.

Table 3. Hepcidin diagnostic effectiveness between IDA and ACD in elderly patients

Group	AUC	Critical value(ug/L)	Sensitivity	Specificity	Diagnostic Index
IDA and Control	0.92	93.31	0.88	0.89	1.77
ACD and Control	0.87	130.05	0.72	0.96	1.68

Hepcidin 在老年 IDA 和 ACD 中的诊断价值

绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线),比较 IDA 组与对照组可知,曲线中最靠近左上角的一点即临界值,Hepcidin 的临界值是 93.31 μg/L(图 1);ACD 组与对照组比较(图 2),Hepcidin 的临界值是 130.05 μg/L(图 2)。由表 3 可见,Hepcidin 诊断 IDA 组的曲线下的面积(AUC)比诊断 ACD 的面积大,即 Hepcidin 诊断 IDA 的价值较大。

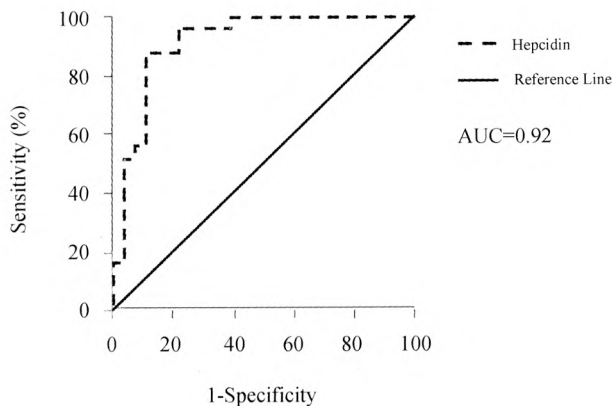


Figure 1. Receiver operator characteristic curve between IDA and control group.

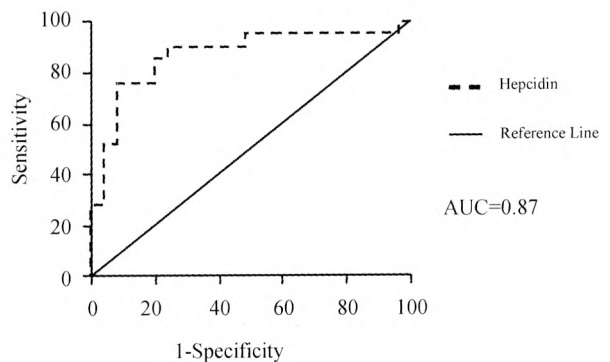


Figure 2. Receiver operator characteristic curve between CDA and control group.

讨 论

铁是人体非常重要的必需微量元素之一,在人体氧化代谢、细胞生长与增殖、氧的运输和储存中起着核心作用。铁代谢紊乱引起的各系统的疾病,其中在人类最常见的疾病即缺铁性贫血和慢性病贫血,特别在老年人群中。目前,由于缺乏高敏感度和高特异度的生化指标,IDA 和 ACD 在老年人群中诊断是比较困难的,常规铁代谢指标在老年人群中缺乏一定的优势^[7]。2002 年 Nicolas 等^[8]发现,编码 Hepcidin 的基因受贫血,缺氧,炎症的调节。多位学者研究,慢性病贫血中 Hepcidin 高表达^[9,10],缺铁性贫血中 Hepcidin 低表达^[11]。本研究中,血清 Hepci-

din 在老年人群中 IDA 组、ACD 组及对照组三组之间具有差异 ($P < 0.01$), IDA 组中 Hcpidin 比对照组低; 而 ACD 组中 Hcpidin 比对照组高。这与学者们的研究比较一致。此外, Dallalio^[12] 等检测尿液中的 Hcpidin 发现, 炎症贫血患者尿中的 Hcpidin 水平比铁缺乏贫血患者高。但是, Justyna^[13] 等研究在老年人群 IDA 和 ACD 中 Hcpidin 水平是相似的, 并无太大差异。可能由于 Hcpidin 诊断方法的范围不同导致结果差异。孙雪峰^[14] 等研究发现, Hcpidin 与炎症之间存在着必然的联系, Hcpidin 能够改善铁代谢, 有利于贫血的治疗, 但是还需要大量样本研究。

本研究中发现, Hcpidin 诊断 IDA 组的曲线下的面积 (0.92) 比诊断 ACD 的面积 (0.87) 大, 即 Hcpidin 诊断 IDA 的价值较大。Hcpidin 区别 IDA 组与对照组的临界值是 93.31 $\mu\text{g/L}$; IDA 组与 ACD 组的临界值是 113.78 $\mu\text{g/L}$ 。根据 ROC 曲线, Hcpidin 诊断 IDA 敏感度和特异度分别是 88% 和 89%, 诊断指数 1.77。Pasricha^[15] 等研究 Hcpidin 水平与机体缺铁程度相关, 对于评估绝经前女性是否缺铁有较高的敏感度和特异度。但是, 国内外关于 Hcpidin 在老年人群中诊断缺铁性贫血的敏感度和特异度研究甚少, 需要更进一步探讨其价值。

本研究中, ACD 组中 WBC 计数明显比 IDA 组和对照组高, ACD 组 CRP 也明显高于 IDA 与对照组, ACD 组 SF 明显高于 IDA 与对照组。这点与 Artz 等^[16] 研究发现的较一致, 但是这些参数在区别 IDA 和 ACD 时也有着不利因素。研究结果和临床观察表明, 由于免疫力下降感染, 患者缺铁更容易受到影响, 铁在淋巴细胞成熟、激活和增殖中起着重要作用^[17]。因此, Hcpidin 与 WBC、CRP 等炎症分子的存在有一定的相关性。

总之, Hcpidin 可能有助于区别老年人群中的缺铁性贫血和慢性病贫血, 这还需要大规模研究才能确定。并且, 一些病例中 IDA 和 ACD 可能同时存在, 因此, 还需进一步探索 Hcpidin 在鉴别 IDA 和 ACD/IDA 老年人群中的诊断价值。

参 考 文 献

- Baccin AC, Lazzaretti LL, Brandao VDM, et al. Oxidative stress in older patients with iron deficiency anaemia. *J Nutr Health Aging*, 2009;13(8):666-670.
- Stompór T, Olszewski A, Kierzkowska I. Can we prolong life of patients with advanced chronic kidney disease: what is the clinical evidence. *Pol Arch Med Wewn*, 2011;121(3):88-93.
- Guyatt GH, Patterson C, Ali M, et al. Diagnosis of iron-deficiency anemia in the elderly. *Am J Med*, 1990;88:205-209.
- Krause A, Neitz S, Magert HJ, et al. LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett*, 2000;480(2-3):147-150.
- Park CH, Valore EV, Waring AJ, et al. Hcpidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem*. 2001;276(11):7806-7810.
- 许文荣, 王建中. 临床血液学检验. 第 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011:164-165.
- Tull KI, Hirani V, Ali A, et al. Impact of different diagnostic thresholds and the anaemia-ferritin-transferrin receptor model on the prevalence of anaemia and impaired iron status in older people. *Age Ageing*, 2009;38(5):609-613.
- Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, et al. The gene encoding the iron regulatory peptide Hcpidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest*, 2002;110(7):1037-1044.
- Pietrangolo A, Dierssen U, Valli L, et al. STAT3 is required for IL-6-gp130-dependent activation of Hcpidin *in vivo*. *Gastroenterology*, 2007;132(1):294-300.
- Malyszko J, Koc-Zorawska E, Levin-Iaina N. New parameters in iron metabolism and functional iron deficiency in patients on maintenance hemodialysis. *Pol Arch Med Wewn*, 2012;122(11):537-542.
- Cheng PP, Jiao XY, Wang XH, et al. Hcpidin expression in anemia of chronic disease and concomitant iron-deficiency anemia. *Clin Exp Med*, 2011;11(1):33-42.
- Nemeth E, Valore EV, Territo M, et al. Hcpidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood*, 2003;101(7):2461-2463.
- Justyna P, Ewa Z, Kornelia KK, et al. Serum proHcpidin and other iron metabolism parameters in elderly patients with anemia of chronic disease and with iron deficiency anemia. *Pol Arch Med Wewn*, 2013;123(3):105-111.
- 孙雪峰, 周道斌, 赵永强. EPO 对铁调节蛋白 Hcpidin 表达影响的研究. *中国实验血液学杂志*, 2006;14(4):778-782.
- Pasricha SR, McQuilten Z, Westerman M, et al. Serum Hcpidin as a diagnostic test of iron deficiency in premenopausal female blood donors. *Haematologica*, 2011;96(8):1099-1105.
- Artz AS, Fergussan D, Drinka PJ, et al. Mechanisms of unexplained anemia in the nursing home. *J Am Geriatrics Soc*, 2004;52(3):423-427.
- Malyszko J, Levin-Iaina N, Mysliwiec M, et al. Iron metabolism in solid-organ transplantation: how far are we from solving the mystery. *Pol Arch Med Wewn*, 2012;122(10):504-511.

1 Baccin AC, Lazzaretti LL, Brandao VDM, et al. Oxidative stress in