

- [11] Marais BJ, Brittle W, Painczyk K, et al. Use of light-emitting diode fluorescence microscopy to detect acid-fast bacilli in sputum [J]. Clin Infect Dis, 2008, 47(2): 203-207.
- [12] Aziz MA, Wright A. Epidemiology of anti-tuberculosis drug resistance (the Global Project on Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance): an updated analysis [J]. Lancet, 2006, 368(9553): 2142-2154.
- [13] Siddiqi S, Ahmed A, Asif S, et al. Direct drug susceptibility testing of mycobacterium tuberculosis for rapid detection of multidrug resistance using the bactec MGIT 960 system: a multicenter study [J]. J Clin Microbiol, 2012, 50(2): 435-440.
- [14] Wilson SM, Al-Suwaidi Z, McNerney R, et al. Evaluation of a new rapid bacteriophage-based method for the drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis [J]. Nat Med, 1997, 3(4): 465-468.
- [15] Zhu CT, Cui ZL, Zheng RJ, et al. A multi-center study to evaluate the performance of phage amplified biologically assay for detecting TB in sputum in the pulmonary TB patients [J]. PLoS One, 2011, 6(9): e24435.
- [16] Minion J, Pai M. Bacteriophage assays for rifampicin resistance detection in Mycobacterium tuberculosis: updated meta-analysis [J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2010, 14(8): 941-951.
- [17] World Health Organization. Guidance for national tuberculosis programmes on the management of tuberculosis in children. Chapter 1: introduction and diagnosis of tuberculosis in children [J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2006, 10(10): 1091-1097.
- [18] Piñeiro R, Cilleruelo MJ, García-Hortelano M, et al. Effect of nutritional status on tuberculin skin testing [J]. Indian J Pediatr, 2013, 80(4): 271-275.
- [19] Piñeiro R, Mellado MJ, Cilleruelo MJ, et al. Tuberculin skin test in bacille Calmette-Guérin-vaccinated children: how should we interpret the results? [J]. Eur J Pediatr, 2012, 171(11): 1625-1632.
- [20] Piñeiro-Pérez R, García-Hortelano M, José Mellado M, et al. Is there interference in the interpretation of the tuberculin skin test in children with intestinal parasitic infestation? [J]. Pathog Glob Health, 2012, 106(3): 172-176.
- [21] Farhat M, Greenaway C, Pai M, et al. False-positive tuberculin skin tests: what is the absolute effect of BCG and non-tuberculous mycobacteria? [J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2006, 10(11): 1192-1204.
- [22] Andersen P, Munk ME, Pollock JM, et al. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis [J]. Lancet, 2000, 356(9235): 1099-1104.
- [23] Arend SM, Thijsen SFT, Leyten EMS, et al. Comparison of two interferon- γ assays and tuberculin skin test for tracing tuberculosis contacts [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2007, 175(6): 618-627.
- [24] Detjen AK, Keil T, Roll S, et al. Interferon-gamma release assays improve the diagnosis of tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease in children in a country with a low incidence of tuberculosis [J]. Clin Infect Dis, 2007, 45(3): 322-328.
- [25] Diel R, Loddenkemper R, Nienhaus A. Evidence-based comparison of commercial interferon-gamma release assays for detecting active TB: a metaanalysis [J]. Chest, 2010, 137(4): 952-968.
- [26] Denkinger CM, Dheda K, Pai M. Guidelines on interferon- γ release assays for tuberculosis infection: concordance, discordance or confusion? [J]. Clin Microbiol Infect, 2011, 17(6): 806-814.
- [27] World Health Organization. Use of tuberculosis interferon-gamma release assays (IGRAs) in low-and middle-income countries: policy statement [M]. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2011.
- [28] Rangaka MX, Wilkinson KA, Seldon R, et al. Effect of HIV-1 infection on T-cell-based and skin test detection of tuberculosis infection [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2007, 175(5): 514-520.
- [29] Hausteiner T, Ridout DA, Hartley JC, et al. The likelihood of an indeterminate test result from a whole-blood interferon-gamma release assay for the diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection in children correlates with age and immune status [J]. Pediatr Infect Dis J, 2009, 28(8): 669-673.
- [30] Papaventsis D, Ioannidis P, Karabela S, et al. Impact of the Gen-Probe Amplified MTD Test on tuberculosis diagnosis in children [J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2012, 16(3): 384-390.
- [31] Cordova J, Shiloh R, Gilman RH, et al. Evaluation of molecular tools for detection and drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis in stool specimens from patients with pulmonary tuberculosis [J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(5): 1820-1826.
- [32] Nicol MP, Workman L, Isaacs W, et al. Accuracy of the xpert MTB/RIF test for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in children admitted to hospital in Cape Town, South Africa: a descriptive study [J]. Lancet Infect Dis, 2011, 11(11): 819-824.
- [33] Rachow A, Clowes P, Saathoff E, et al. Increased and expedited case detection by Xpert MTB/RIF assay in childhood tuberculosis: a prospective cohort study [J]. Clin Infect Dis, 2012, 54(10): 1388-1396.
- [34] World Health Organization. Molecular line probe assays for rapid screening of patients at risk of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) [M]. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2008.

(收稿日期: 2014-03-01)

• 综 述 •

慢性病贫血与铁调素、Neogenin 的相关性

史玉娟¹综述, 潘湘涛^{2△}审校

(1. 苏州大学医学部, 江苏苏州 215000; 2. 苏州大学附属太仓医院, 江苏太仓 215400)

关键词: 慢性病性贫血; 铁代谢; 铁调素; Neogenin

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 12. 035

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)12-1604-03

慢性病性贫血(ACD)又称为炎症性贫血, 多为慢性感染、炎症、恶性肿瘤、自身免疫性疾病或者创伤等疾所引起。ACD

的发病与铁代谢异常有着密切的关系, 主要为网状内皮系统铁异常增高, 临床上表现为血清铁和总铁结合力降低, 血清铁蛋

白异常增高等特征。但最近有研究表明,铁调素及其上游调节分子 Neogenin 可能与 ACD 铁代谢异常有关。现就慢性病贫血与铁调素及 Neogenin 的关系综述如下。

1 铁调素

铁调素又称肝抗菌多肽(LEAP-1),是维持铁稳态极其重要的负调节激素。近几年的研究证实铁调素对于调节机体铁离子的代谢平衡有重要的作用,即抑制肠道对铁的吸收和单核巨噬细胞系统对铁的释放,从而造成机体血清铁降低而储存铁增加。此外,除了机体铁状况,感染、炎症、贫血和缺氧等原因也会改变铁调素的表达水平^[1]。

1.1 铁调素的结构及其表达 2000 年 Krause 等^[2]首先分离纯化出肝脏表达的 LEAP-1。之后 Park 等^[3]于 2001 年从人尿中也分离到这一多肽,并将其命名为铁调素。铁调素是由 8 个半胱氨酸残基组成的单一发夹结构,与大多数二硫键相比,这种二硫键具有更大的化学反应性,代表一类新的抗微生物多肽^[4]。但实际上,铁调素最主要的生理作用并不是抗菌,而是控制小肠对铁的吸收以及和单核巨噬细胞系统对铁的释放,从而调节机体铁稳态。肝脏铁调素基因高表达可能是 ACD 的根本原因。铁调素基因在肝脏特异高表达,而在心脏、脊髓、肺表达很少,至于前列腺、睾丸、卵巢、小肠、结肠、肾脏和膀胱则几乎没有表达^[3]。

1.2 铁调素对铁代谢的调节

1.2.1 铁调素调节铁代谢的机制 铁调素通过调控十二指肠对铁的吸收和巨噬细胞网状内皮系统对铁的释放的水平而对机体铁的储存和铁循环的调控激素发挥着重要作用^[5]。铁调素负调控肠道对铁的吸收,同时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(FPN)结合,引起 FPN 的内化降解,从而抑制肠道对铁的吸收及巨噬细胞和肝细胞内铁的释放^[6],从而降低机体血清铁的水平,因此是体内最重要的铁代谢负调控因子。有实验证实 FPN 是目前已知的唯一的细胞膜铁输出通道蛋白,与铁调素结合内化后导致单核巨噬细胞网状内皮系统铁的输出减少,引起铁的滞留^[6]。机体铁储备降低,则铁调素的表达受到抑制,FPN 将肠细胞中的铁转运到血浆转运蛋白,通过血液循环供其他组织利用;反之则诱导肝脏中的铁调素表达增加,从而促使 FPN 内陷降解,阻断铁从肠黏膜细胞转运到血浆中,因而血浆中的铁浓度降低。Yeh 等^[7]证实当由脂多糖诱导的铁调素表达量增加时,肝脏和小肠细胞膜上 FPN 表达量显著降低;当铁过量时,FPN mRNA 水平增加^[8],因此,铁调素通过调控 FPN 的表达而调控血液中铁的水平。此外,机体内还存在其他受铁调素调节的铁转运蛋白,如铁转运蛋白受体 1(TfR1)及二价金属离子转运蛋白 1(DMT1)等等。铁调素可以通过泛素化途径下调 DMT1 水平,降低肠道铁吸收水平^[9]。但总的说来,铁调素调控机体铁代谢的机制较为复杂,除了有多个因子参与外,还通过不同的途径。另外,不同炎症情况下(包括肿瘤和非肿瘤患者)铁调素表达有何不同等等均尚不十分明了,尚需进一步深入研究。

1.2.2 调控铁调素的主要因素 目前认为主要有 3 个途径调控铁调素。(1)炎症及炎症因子:Lee 等^[10]和潘湘涛等^[11]研究证实细菌脂多糖(LPS)诱导白细胞介素(IL)-6 的表达,而 IL-6 则诱导铁调素的表达。曾有研究认为 IL-1、IL-8、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和干扰素 β (IFN- β)等也可诱导铁调素的表达^[12],但更多的研究证实 IL-1、IL-8 和 TNF- α 等炎症因子与贫血无密切关系,且与铁调素不相关。(2)体内铁水平:当机体缺铁时,铁调素表达水平下降;而当机体铁超负荷时,铁调素表达水

平就增高。(3)贫血和缺氧:贫血的实质为组织缺氧,所以贫血与缺氧一样引起肝细胞表达铁调素水平下降^[5,13],从而起调控机体铁的水平。

2 Neogenin

Neogenin 是一种膜蛋白,广泛表达于各类组织,是神经管形成和躯体发生所必需的。铁幼素(HJV),又称铁调素调节蛋白,是新近发现的一种重要的铁代谢调节蛋白,HJV 与 Neogenin 相互作用,通过参与调节和控制铁调素的表达而在铁代谢中发挥重要的调控作用。

2.1 Neogenin 的生物特性及其表达 Neogenin 由 Vielmetter 等^[15]于 1994 年首次发现的,其结构类似于结直肠癌缺失(DCC)蛋白。Neogenin 在细胞外含有 4 个免疫球蛋白(Ig)结构域和 6 个 FN3 区域,其细胞外部分含有与 RGM 及 Netrin-1 等受体相结合的特异性区域^[15]。人 Neogenin 蛋白由于选择性剪接而产生 2 种形式,分别含有 1 461 和 1 408 个氨基酸残基,后者缺乏胞浆区 53 个氨基酸,该区有 3 个潜在的磷酸化位点。现大量研究证实,Neogenin 广泛存在于脊椎动物中,尤其在细胞增殖、分化及迁移旺盛的区域大量表达,并通过与不同配体结合后参与胚胎血管、肌肉及神经器官系统形态发生。由于这些活动在成年中以其他方式表现,如组织再生、造血,免疫及伤口修复等过程。因此,Neogenin 及其配体在机体生命活动过程中起重要作用^[16]。

2.2 Neogenin 及 HJV 对铁代谢的调节 HJV 调节细胞铁转运的功能依赖于 Neogenin,HJV 必须首先与 Neogenin 形成复合物才能发挥其对细胞铁转运的调节作用^[17],而 Neogenin 则是通过与各种各样的配体结合起作用的,包括神经生长因子 netrin、排斥向导分子(RGMs)和铁调节蛋白分子 HJV。有报道证实,Neogenin 通过近膜第五和第六 FN3 域(FN5~6)与 HJV 相结合,其中 FN6 介导了大多数至关重要的结合反应^[18]。HJV 分子是一种糖基磷脂酰肌醇(GPI)锚定蛋白,作为铁调素的上游调节分子,是在哺乳动物中调控铁循环的一种重要肽激素^[18]。研究表明,肝细胞膜 HJV 作为骨形态发生蛋白(BMP)的共受体可以激活 BMP/Smad 信号通路和铁调素的表达^[24]。BMP6-HJV-BMP 受体复合物启动磷酸化信号级联,Smad1/5/8 被磷酸化并与 Smad4 结合,形成 Smad 复合物进入细胞核,从而激活铁调素的转录。HJV 基因突变会降低 BMP/Smad 信号水平和铁调素表达^[24]。可溶性 HJV(s-HJV)是被酶解后产生的片段,它在血液中大量存在,能够竞争 BMPs 配体,负向调控铁调素的表达^[21]。进一步研究发现,细胞膜上 Neogenin 调节因子可以抑制 s-HJV 的分泌进而增强 HJV-BMP 信号,起到促进铁调素表达的作用^[22]。

3 ACD 与铁调素、Neogenin 的关系

国内外的研究都证实了铁过载疾病均可以导致肝细胞铁调素 mRNA 过度表达,而贫血、缺氧则使铁调素的表达减少,而炎症刺激(包括脂多糖)在内的情况下都可以通过 IL-6 途径促进铁调素 mRNA 的表达^[10-11],从而导致铁调素的高表达。随着铁调素的发现和对其生物学功能的深入了解,多数学者趋向认为铁调素是 ACD 分子发病机制中最为重要的下游效应分子之一。而 HJV 作为铁调素的上游调节分子,首先与 Neogenin 形成复合物才能发挥其对细胞铁转运的调节作用。人肝肿瘤细胞系 Hepc3B 可自发产生 HJV mRNA,浓度与人原代肝细胞相似。培养细胞上清中存在 s-HJV,它与膜型 HJV(m-HJV)竞争结合铁调素,重组的 s-HJV 能够抑制铁调素 mRNA 表达,故 s-HJV 可能是铁调素合成的负调节因子。体内 HJV

可能有 2 种来源:骨骼肌是 s-HJV 的主要来源;肝脏来源的 m-HJV 能够感受饮食铁摄取、传递信号、介导铁调素调控。HJV 参与铁调素感知饮食铁变化的途径,而对铁调素参与的炎性途径影响不大^[19]。m-HJV 可酶解产生可溶性形式, HJV 与 Neogenin 相互作用而调节铁代谢,从而在铁的吸收、利用和储存等不同铁池间进行信号传递。

4 展 望

铁调素与炎性反应和机体铁代谢状况有着密切的关系,因此基础研究和临床应用方面均有重要意义。如补充铁调素可降低肠道对铁的吸收,在防止遗传性血色病等铁负荷过载方面有一定的临床应用价值^[20]。有研究发现,应用针对小鼠铁调素 N 末端的几个小分子肽可能成为铁调素激动剂,有可能研制成一种口服制剂。铁调素拮抗剂单克隆抗体将能用于治疗铁调素过多的铁限制性贫血等疾病;而铁调素中和抗体也已成功应用于 ACD 小鼠模型^[23]。另外,干扰 BMP 信号途径的小分子抑制剂 Dorsomorphin 可阻碍铁诱导的铁调素产生。作为 BMP 信号途径的 s-HJV 拮抗剂,则降低小鼠铁调素的表达;抗细胞因子抗体和红细胞生成刺激因子也可抑制铁调素的产生。当然它们的确切疗效以及对人体的安全性尚需进一步观察和评价。

由于 Neogenin FN5~6 片段已被证明可以在体外和体内抑制 BMP 介导的铁调素的表达,可能会使利用这一片段分子治疗贫血成为可能。可以设想通过影响 HJV、Neogenin 的表达降低血中铁调素的水平,从而达到既增加肠道对铁的吸收,又促使从网状内皮系统释放铁,有效地治疗相关类型的贫血性疾病。因此,铁调素、HJV 及 Neogenin 可能是治疗 ACD 的新靶点。另一方面,给予外源性铁调素及其调节蛋白可能会治疗或缓解年轻型血红蛋白及其他铁过负荷过载患者的临床症状,甚或能有效地治疗这类疾病^[18,20]。

参考文献

[1] Nemeth E, Valore EV, Territo M, et al. Hepsidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein [J]. *Blood*, 2003, 101(7):2461-2463.

[2] 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):147-150.

[3] Park CH, Valore EV, Waring AJ, et al. Hepsidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(11):7806-7810.

[4] Hunter HN, Fulton DB, Ganz T, et al. The solution structure of

human hepcidin, a peptide hormone with antimicrobial activity that is involved in Iron uptake and hereditary hemochromatosis [J]. *Biol Chem*, 2002, 277(40):37597-37603.

[5] Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, et al. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation[J]. *J Clin Invest*, 2002, 110(7):1037-1044.

[6] Theurl I, Theurl M, Seifert M, et al. Autocrine formation of hepcidin induces Iron retention in human monocytes[J]. *Blood*, 2008, 111(4):2392-2399.

[7] Yeh K, Yeh M, Glass J. Hepsidin regulation of ferroportin 1 expression in the liver and intestine of the rat[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2004, 286(3):385-394.

[8] Frazer DM, Wilkins SJ, Becker EM, et al. Hepsidin expression inversely correlates with the expression of duodenal iron transporters and iron absorption in rats[J]. *Gastroenterology*, 2002, 123(3):835-844.

[9] Brasse-Lagnel C, Karim Z, Letteron P, et al. Intestinal DMT1 cotransporter is down-regulated by hepcidin via proteasome internalization and degradation[J]. *Gastroenterology*, 2011, 140(4):1261-1271.

[10] Lee P, Peng H, Gelbart T, et al. The IL-6- and lipopolysaccharide-induced transcription of hepcidin in HFE-, transferrin receptor 2-, and beta 2-microglobulin-deficient hepatocytes[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(25):9263-9265.

[11] 潘湘涛, 陆晔, 程旭, 等. 癌性贫血患者血清 Hepsidin 及炎症介质因子 LPS 和 IL-6 表达及其意义[J]. *中国实验诊断学*, 2012, 16(1):55-57.

[12] Lee P, Peng H, Gelbart T, et al. Regulation of hepcidin transcription by interleukin-1 and interleukin-6[J]. *PNAS*, 2005, 102(6):1906-1910.

[13] Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, et al. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the Iron regulatory hormone hepcidin[J]. *J Clin Invest*, 2004, 113(9):1271-1276.

[14] 潘湘涛, 陆晔, 程旭, 等. 癌症患者血清 Hepsidin 及炎症介质细胞因子表达特点及其与贫血的关系[J]. *现代检验医学杂志*, 2011, 26(4):22-24.

[15] Ren X, Ming G, Xie Y, et al. Focal adhesion kinase in netrin-1 signaling[J]. *Nat Neurosci*, 2004, 7(11):1204-1212.

[16] Cole SJ, Bradford DK, Cooper HM. Neogenin: a multi-functional receptor regulating diverse developmental processes[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39(9):1569-1575.

(收稿日期:2014-02-08)

• 综 述 •

IL-33 及其受体 ST2 的结构和在疾病中的作用

阙文君 综述, 张莉萍[△] 审校

(重庆医科大学附属第一医院检验科, 重庆 400016)

关键词: IL-33; ST2; 细胞因子; 炎性反应

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 12. 036

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)12-1606-03

IL-33 是 IL-1 家族的成员, ST2 是其特异性受体, 近年来研究表明, IL-33 与 ST2 结合后, 激活下游信号通路, 促进 Th2

细胞免疫应答, 起到调节免疫应答等功能。研究表明, IL-33 在自身免疫性疾病、变态反应以及心血管肺部疾病等多种疾病中

作者简介: 阙文君, 女, 临床医师, 主要从事免疫学研究。 [△] 通讯作者, E-mail: liuzhangcq@yahoo. com。