

# 铁过量或缺乏对新生仔猪血清生化指标及肝脏 hepcidin mRNA 表达量的影响

刘庆华<sup>1</sup> 杨建平<sup>2</sup> 刘延贺<sup>1</sup> 朱宽佑<sup>1</sup> 李梦云<sup>1,2\*</sup>

(1. 郑州牧业工程高等专科学校, 郑州 450011; 2. 河南省无公害饲料工程技术研究中心, 郑州 450011)

**摘要:** 本试验旨在研究铁过量或缺乏对新生仔猪血清生化指标及肝脏 hepcidin mRNA 表达量的影响。挑选新出生的“杜长大”三元杂交仔猪 15 头[平均体重为(1.22 ± 0.13) kg], 随机分为 3 组, 即缺铁组、正常组和铁过量组, 每组 5 个重复, 每个重复 1 头猪。3 和 7 日龄时, 缺铁组分别注射 1 mL 生理盐水, 正常组分别注射 1 mL 右旋糖酐铁(含铁 150 mg), 铁过量组分别注射 3 mL 右旋糖酐铁(含铁 450 mg)。7 日龄时, 将所有仔猪全部处死, 采集血清, 并分离肝脏和脾脏, 以测定血清生化指标、机体铁含量和肝脏 hepcidin mRNA 表达量。结果表明: 肝脏、脾脏和血清中铁的含量均随着注射铁量的增加而显著或极显著增加( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。与正常组相比, 铁过量组血清中血红蛋白、球蛋白、总蛋白、丙二醛含量以及谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化物酶活性显著或极显著升高( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 超氧化物歧化酶活性显著降低( $P < 0.05$ ); 而缺铁组血清中血红蛋白、球蛋白、总蛋白、丙二醛含量以及谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化氢酶、过氧化物酶活性则显著或极显著降低( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 超氧化物歧化酶活性显著升高( $P < 0.05$ )。与正常组相比, 铁过量组仔猪肝脏中 hepcidin mRNA 表达量极显著升高( $P < 0.01$ ), 而缺铁组则极显著降低( $P < 0.01$ )。由此得出, 铁过量或缺乏均会影响新生仔猪机体的免疫功能和抗氧化功能; 铁过量可提高新生仔猪机体铁含量和肝脏中 hepcidin mRNA 表达量, 铁缺乏则会降低新生仔猪机体铁含量和肝脏中 hepcidin mRNA 表达量。

**关键词:** 新生仔猪; 铁过量; 缺铁; 血清生化指标; hepcidin mRNA 表达量

**中图分类号:** S828; S816.7

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1006-267X(2012)05-0845-07

铁是动物必需的微量元素之一, 足量的铁能维持动物机体正常的生理功能, 保证动物正常的生长发育与代谢。一方面, 铁摄入不足会引起动物机体贫血或相关功能障碍, 尤其是新生仔猪, 如果不及时补铁的话, 极易造成贫血; 另一方面, 如果摄入过量的铁, 过量的铁并不能被机体完全吸收, 而是被排出体外, 造成污染环境。因此, 研究机体调控铁吸收机理尤为重要。研究表明, 抗菌肽 hepcidin 可调控机体小肠铁吸收<sup>[1]</sup>, 在调节机体铁稳定方面发挥着重要作用。进一步研究表明, hepcidin 可通过抑制小肠铁吸收、单核巨噬细胞系

统铁释放来调节铁的吸收和利用, 从而维持机体铁平衡<sup>[2-3]</sup>, 被科学界誉为第 1 种调节铁代谢激素。因而, 研究铁与 hepcidin 之间的关系较为重要。目前在小鼠和大鼠上的研究表明, 饲料铁过量和炎症可诱导 hepcidin 的生成<sup>[4]</sup>, 贫血和缺氧则抑制其生成<sup>[5]</sup>。然而, 铁对 hepcidin mRNA 表达量的影响在猪上特别是在新生仔猪上的研究较少。本试验拟通过对新生仔猪肌肉注射不同剂量的右旋糖酐铁, 构建仔猪缺铁和铁过量模型, 并通过实时荧光定量 PCR 方法, 探讨铁过量或缺乏对仔猪 hepcidin mRNA 表达量的影响, 为进一步研

收稿日期: 2011-11-12

基金项目: 河南省科技攻关项目(102102110113)

作者简介: 刘庆华(1964—), 男, 河南邓州人, 硕士, 副教授, 主要从事动物营养与饲料学研究。E-mail: liuqinghua16899@sohu.com

\* 通讯作者: 李梦云, 副教授, E-mail: limengyun1@163.com

究 hepcidin 介导仔猪铁吸收的分子机制及其表达调控提供理论基础。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 试验材料

右旋糖酐铁注射液,含铁量 150 mg/mL,由广西化工研究所兽药厂生产。

### 1.2 试验设计

本试验采用单因子试验设计,根据品种、胎次、日龄、体重一致的原则,挑选新出生、健壮的“杜长大”三元杂交仔猪 15 头[平均体重为  $(1.22 \pm 0.13)$  kg],随机分为 3 组,即缺铁组、正常组和铁过量组,每组 5 个重复,每个重复 1 头猪。3 和 7 日龄时,缺铁组分别注射 1 mL 生理盐水,正常组分别注射 1 mL 右旋糖酐铁(含铁 150 mg),铁过量组分别注射 3 mL 右旋糖酐铁(含铁 450 mg)。7 日龄时,注射 2 h 后将所有仔猪全部处死,采集血清,并分离肝脏和脾脏,以测定血清生化指标,肝脏、脾脏和血清中铁含量以及肝脏中 hepcidin mRNA 表达量。

### 1.3 样品采集与amp;处理

#### 1.3.1 血清取样

7 日龄时,空腹前腔静脉采血 20 mL,沿管壁缓慢引入试管内,在 4 °C 冰箱中静置 6 h,然后 3 000 r/min 离心 15 min,取上清液 -20 °C 保存,用于血清生化指标及血清铁含量的测定。

#### 1.3.2 肝脏、脾脏取样

前腔静脉采血后,将所有仔猪放血屠宰,快速取仔猪右侧肝脏 10 g 左右(保持各猪同一组织间取样部位一致),剪碎后用含 0.1% 焦碳酸二乙酯(DEPC)处理过的磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗 2 次,装入消过毒的一次性 1.5 mL Eppendorf 管中,迅速在液氮中冷冻,然后在 -70 °C 保存,用于提取总 RNA。

屠宰后尽快采集肝脏、脾脏样品, -20 °C 保存,用于测肝脏、脾脏中铁含量。

### 1.4 指标测定

#### 1.4.1 肝脏、脾脏和血清中铁含量的测定

准确称取 0.2 g 肝脏、脾脏样品和量取 0.5 mL 血清,分别放入消化管中,加入 4 mL 硝酸和 2 mL 过氧化氢,同时做空白对照,对称放置于 ETHOSE 型微波消解仪中消化,溶解定容后采用 Z-2000 系列原子吸收分光光度计测定肝脏、脾脏

和血清中铁含量。

#### 1.4.2 血清生化指标的测定

血清中血红蛋白(Hb)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、尿素氮(UN)、谷丙转氨酶(ALT)含量采用 HITACHI 7170A 全自动生化分析仪测定。

血清中超氧化物歧化酶(SOD)活性采用黄嘌呤氧化酶法测定,谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性采用二硫代二硝基苯甲酸法测定,过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)活性均采用比色法测定,丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法测定。上述各指标具体测定方法均按南京建成生物工程研究所生产的试剂盒所附说明书操作。

#### 1.4.3 肝脏中 hepcidin mRNA 表达量的测定

##### 1.4.3.1 总 RNA 提取及反转录(RT)反应

取肝脏样品 30 mg,加入液氮并研磨成粉,收集于 1.5 mL Eppendorf 管中,用于总 RNA 的提取,整个提取过程按 QIAGEN 公司试剂盒操作说明进行。提取的总 RNA 通过凝胶电泳检测其完整性,并测定总 RNA 在 260 和 280 nm 处的吸光度(OD)值,以检测 RNA 样品的纯度。将提取的总 RNA 作为模板进行 RT 反应。反应体系:RNA 酶抑制剂 0.25  $\mu$ L、氯化镁( $MgCl_2$ )2  $\mu$ L、Oligo dT 引物 1  $\mu$ L、dNTP Mixture 1  $\mu$ L、总 RNA 4.25  $\mu$ L、10  $\times$  RT 缓冲液 1  $\mu$ L、反转录酶 0.5  $\mu$ L,总体积为 10  $\mu$ L。在 0.2 mL 离心管内,按顺序依次加入上述成分,瞬间离心混匀,按 0 °C 10 min、42 °C 2 h、99 °C 5 min、5 °C 5 min 程序在 Mastercycler Gradient PCR 仪中进行 RT 反应。RT 反应完成后立即进行 PCR 反应。

##### 1.4.3.2 引物和 TaqMan 探针的设计与amp;合成

目标基因 hepcidin (GenBank: AF516143)、内参基因  $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)的引物和探针序列(GenBank: AY550069)由上海基康生物公司设计合成,详见表 1。

##### 1.4.3.3 定量 PCR 反应体系与amp;程序

以 cDNA 为模板进行的定量 PCR 反应体系总体积为 25  $\mu$ L。反应体系如下: cDNA 2  $\mu$ L, Premix Ex Taq (2  $\times$ ) 12.5  $\mu$ L, 上游引物、下游引物各 0.5  $\mu$ L, 探针(10  $\mu$ mol/L) 1  $\mu$ L, ROX Dye II (50  $\times$ ) 0.5  $\mu$ L, 0.1% DEPC 处理水 8  $\mu$ L。定量 PCR 反应程序如下: 95 °C 3 min, 然后 94 °C 25 s、60 °C 30 s, 共 40 个循环, 最后 70 °C 延伸 5 min。

表1 hepcidin 和  $\beta$ -actin 基因的引物和探针序列  
Table 1 Primer and probe sequences of hepcidin and  $\beta$ -actin gene

项目 Items	引物序列 Primer sequences(5'—3')	长度 Length/bp	退火温度 Tm/°C	产物大小 Product size/bp
Hepcidin	上游引物 Forward primer: TCCGTTCTCCCATCCCAGAC	23	58.6	171
	下游引物 Reverse primer: GCAGCACATCCCACAGATTG	18	58.3	
	探针 Probe: CATTCAGTCCGGTGCACATCTCCTTCA	27	68.3	
$\beta$ -肌动蛋白 $\beta$ -actin	上游引物 Forward primer: TGCGGGACATCAAGGAGAAG	17	59.2	216
	下游引物 Reverse primer: AGTTGAAGGTGGTCTCGTGG	18	58.9	
	探针 Probe: TCGAAGTCCAGGGCCACGTAGCA	23	68.6	

#### 1.4.3.4 标准曲线的制备与定量分析

每次定量扩增目的基因 hepcidin 和内参基因  $\beta$ -actin 均要制备标准曲线。将 2 个基因的总 RNA 进行常规定量 PCR 反应后,将电泳后的 PCR 产物回收纯化,稀释 50 倍后进行琼脂糖凝胶电泳,取稀释 10 倍后的凝胶在核酸蛋白仪上测 260 与 280 nm 的 OD 值,并计算 260 与 280 nm 处的比值,比值大于 1.8 即可作为标品。

样品浓度的计算是根据 260 nm 处的 OD 值换算成每毫升拷贝数,浓度范围在  $10^2 \sim 10^{10}$  拷贝/mL 之间。根据标准曲线,定量 PCR 仪自动计算出样本中 hepcidin 和  $\beta$ -action 的每毫升拷贝数,则 hepcidin 的 mRNA 表达量为 hepcidin 的每毫升拷贝数与  $\beta$ -action 的每毫升拷贝数的比值。

#### 1.5 统计分析

采用 SPSS 12.0 统计软件对数据进行分析,并采用 Duncan 氏法进行多重比较,以  $P < 0.01$  (差异极显著)或  $P < 0.05$  (差异显著)为显著性标准,试验结果用平均值  $\pm$  标准误表示。

## 2 结果

### 2.1 铁过量或缺乏对新生仔猪肝脏、脾脏和血清中铁含量的影响

由表 2 可知,与正常组相比,铁过量组仔猪肝脏、脾脏和血清中铁含量极显著增加 ( $P < 0.01$ ); 缺铁组仔猪肝脏中铁含量显著降低 ( $P < 0.05$ ),脾脏和血清中铁含量极显著降低 ( $P < 0.01$ )。

表2 铁过量或缺乏对新生仔猪肝脏、脾脏和血清中铁含量的影响(鲜样基础)

Table 2 Effects of iron overload or deficiency on iron content in liver, spleen and serum of newborn piglets (flash sample basis)

项目 Items	缺铁组 Iron-deficiency group	正常组 Regular group	铁过量组 Iron-overload group
肝脏 Liver/( $\mu\text{g/g}$ )	508.42 $\pm$ 58.18 <sup>Aa</sup>	542.90 $\pm$ 50.33 <sup>ABb</sup>	632.79 $\pm$ 65.27 <sup>Bc</sup>
脾脏 Spleen/( $\mu\text{g/g}$ )	2 055.27 $\pm$ 150.36 <sup>A</sup>	2 579.20 $\pm$ 187.45 <sup>B</sup>	3 186.24 $\pm$ 169.26 <sup>C</sup>
血清 Serum/( $\mu\text{g/mL}$ )	7.86 $\pm$ 0.87 <sup>A</sup>	72.58 $\pm$ 4.63 <sup>B</sup>	135.68 $\pm$ 13.64 <sup>C</sup>

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ),不同大写字母表示差异极显著 ( $P < 0.01$ )。下表同。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ( $P < 0.05$ ), and with different capital letter superscripts mean significant difference ( $P < 0.01$ ). The same as below.

### 2.2 铁过量或缺乏对新生仔猪血清生化指标的影响

由表 3 可知,与正常组相比,铁过量组仔猪血清中 Hb、GLB 含量极显著升高 ( $P < 0.01$ ),TP 含量显著升高 ( $P < 0.05$ ),ALB、UN 和 ALT 含量无显著差异 ( $P > 0.05$ ); 缺铁组仔猪血清中 Hb、GLB 含量极显著降低 ( $P < 0.01$ ),TP 含量显著降低

( $P < 0.05$ ), ALB、UN 和 ALT 含量无显著差异 ( $P > 0.05$ )。与正常组相比,铁过量组仔猪血清中 GSH-Px、POD 活性及 MDA 含量极显著升高 ( $P < 0.01$ ),而 SOD 活性显著降低 ( $P < 0.05$ ); 缺铁组仔猪血清中 GSH-Px、CAT、POD 活性及 MDA 含量极显著降低 ( $P < 0.01$ ),而 SOD 活性显著升高 ( $P < 0.05$ )。

表 3 铁过量或缺乏对新生仔猪血清生化指标的影响

Table 3 Effects of iron overload or deficiency on serum biochemical indices of newborn piglets

项目 Items	缺铁组 Iron-deficiency group	正常组 Regular group	铁过量组 Iron-overload group
血红蛋白 Hb/(g/L)	87.76 ± 9.51 <sup>A</sup>	121.68 ± 10.51 <sup>B</sup>	158.21 ± 12.36 <sup>C</sup>
总蛋白 TP/(g/L)	46.43 ± 19.05 <sup>Aa</sup>	60.95 ± 7.15 <sup>ABb</sup>	92.48 ± 13.17 <sup>Bc</sup>
白蛋白 ALB/(g/L)	19.63 ± 3.88	20.40 ± 3.00	23.23 ± 2.62
球蛋白 GLB/(g/L)	26.80 ± 8.60 <sup>A</sup>	40.50 ± 5.05 <sup>B</sup>	69.25 ± 15.24 <sup>C</sup>
尿素氮 UN/(mmol/L)	3.03 ± 0.57	3.71 ± 0.50	3.25 ± 0.72
谷丙转氨酶 ALT/(U/L)	39.33 ± 3.21	49.00 ± 11.51	50.25 ± 16.82
谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px/(U/mL)	125.90 ± 50.63 <sup>A</sup>	165.70 ± 26.13 <sup>B</sup>	623.40 ± 141.70 <sup>C</sup>
过氧化氢酶 CAT/(U/mL)	2.05 ± 1.87 <sup>Aa</sup>	5.86 ± 3.35 <sup>Bb</sup>	6.88 ± 3.34 <sup>Bb</sup>
过氧化物酶 POD/(U/mL)	14.03 ± 3.61 <sup>A</sup>	32.75 ± 6.20 <sup>B</sup>	61.96 ± 21.08 <sup>C</sup>
超氧化物歧化酶 SOD/(U/mL)	74.44 ± 21.01 <sup>Aa</sup>	46.25 ± 9.19 <sup>ABb</sup>	38.96 ± 8.47 <sup>Bc</sup>
丙二醛 MDA/(nmol/mL)	2.09 ± 1.06 <sup>A</sup>	9.38 ± 5.57 <sup>B</sup>	23.83 ± 5.67 <sup>C</sup>

### 2.3 铁过量或缺乏对新生仔猪肝脏中 hepcidin mRNA 表达量的影响

由表 4 可知,与正常组相比,铁过量组仔猪肝

脏中 hepcidin mRNA 表达量极显著升高 ( $P < 0.01$ ),而缺铁组则极显著降低 ( $P < 0.01$ )。

表 4 铁过量或缺乏对新生仔猪肝脏中 hepcidin mRNA 表达量的影响

Table 4 Effects of iron overload or deficiency on hepcidin mRNA expression in liver of newborn piglets

项目 Items	缺铁组 Iron-deficiency group	正常组 Regular group	铁过量组 Iron-overload group
Hepcidin mRNA 表达量 Hepcidin mRNA expression	0.012 ± 0.002 <sup>A</sup>	1.570 ± 0.302 <sup>B</sup>	11.010 ± 0.553 <sup>C</sup>

## 3 讨论

### 3.1 铁过量或缺乏对新生仔猪血清生化指标的影响

Hb 是反映机体铁状况的一个重要指标。研究表明,当机体发生缺铁性贫血时,血清铁和 Hb 含量显著降低<sup>[6]</sup>。许祯莹等<sup>[7]</sup>将 21 日龄的仔猪耗竭铁 28 d 后发现 Hb 含量极显著降低,这与本试验中缺铁时血清 Hb 含量极显著降低的结果较为一致。同时,本试验结果还表明,当铁过量时,Hb 含量极显著升高,可能的原因在于铁元素具有造血功能,参与 Hb 的合成。

血清 TP 分为 ALB 和 GLB,其含量是反映动物机体营养水平、蛋白质吸收和代谢状况以及机体免疫水平的重要指标。血液中 ALB 含量的升高可能有助于蛋白质在机体组织中的沉积。血清 GLB 含量与机体免疫功能息息相关,可反映机体的抵抗力,在急性应激或某种类型组织损伤等情

况下,血清 GLB 含量升高以对抗应激或损伤<sup>[8]</sup>。本试验结果表明,铁过量时血清中 TP 和 GLB 含量显著或极显著升高,而 ALB 含量变化不显著,说明 TP 含量的增加主要是由于 GLB 含量的增加所致;而缺铁组 TP 和 GLB 含量显著或极显著降低,说明低铁影响蛋白质的合成。血清 UN 含量反映了蛋白质吸收的效率,可以准确地反映动物体内蛋白质代谢和氨基酸之间的平衡状况<sup>[9]</sup>。本试验中,试验各组之间血清 UN 含量无显著变化,说明铁过量或缺乏对机体蛋白质分解代谢未产生影响。血清 ALT 活性反映了肝脏和心脏的结构和功能。Valerio 等<sup>[10]</sup>给小鼠饲喂含二价铁的饲料 110 d 后发现试验组血清中 ALT 的活性较对照组升高。在本试验中,铁过量组血清中 ALT 活性较正常组和缺铁组稍有升高,但差异不显著,说明本试验条件下的铁过量和铁缺乏并未破坏肝功能。

机体铁含量显著影响机体的抗氧化能力,动物如果不能从饲料中获得足够的铁,则对外界的

应激更敏感,抗氧化能力也下降<sup>[11]</sup>。GSH-Px、POD、CAT 和 SOD 是机体抗氧化系统中的重要酶,常用于反映体内自由基反应的动态变化及组织损伤情况。关于铁对 GSH-Px 活性影响的报道结果不太一致。朱航等<sup>[12]</sup>通过定期定量给小鼠注射右旋糖酐铁建立肝损伤模型,结果显示,血清 GSH-Px 活性随铁含量增加而减少,且差异显著。龙玥娇等<sup>[13]</sup>研究发现,随着大鼠饲料中铁剂量增加,血清 GSH-Px 和 POD 活性增加。本试验结果表明,仔猪血清 GSH-Px 活性随注射铁剂量的增加而增加。造成上述结果不同的原因可能与所选用的试验动物以及铁剂量的不同有关。铁直接参与了 CAT、POD 的组成,CAT、POD 催化各种生化反应,其活性高低直接反映了铁对机体抗氧化能力的影响。在本试验中,铁过量组血清中 CAT 和 POD 活性与正常组相比分别升高了 17.4% 和 89.2%,而缺铁组则分别降低了 65.0% 和 46.4%。这表明,高剂量铁在增强 CAT 和 POD 活性的同时也大大提高了机体清除自由基的能力,而缺铁则会使这种能力大大降低。SOD 是超氧阴离子的特异酶,MDA 是一种具有很强生物毒性的脂质过氧化反应的代谢产物,MDA 和 SOD 的变化可以反映肝脏组织内脂质过氧化情况。谢秀梅等<sup>[14]</sup>通过给 *ApoE* 基因敲除小鼠持续 4 周注射右旋糖酐铁建立慢性铁过量模型,结果发现,与正常组相比,铁过量组肝脏中 MDA 升高而 SOD 活性降低。冷慧敏等<sup>[15]</sup>给小鼠分别隔日注射 5、10、20 mg 的右旋糖酐铁剂建立小鼠低、中、高剂量铁模型,结果发现,试验组血清中 SOD 活性显著低于正常组,且具有剂量效应。本试验结果表明,正常组相比,铁过量组血清中 MDA 含量升高,SOD 活性降低,CAT 和 POD 活性分别升高了 17.4% 和 89.2%;而铁缺乏组血清中 CAT、POD 活性和 MDA 含量显著降低。这表明,铁过量或缺乏均会影响仔猪机体的抗氧化能力。

### 3.2 铁过量或缺乏对新生仔猪机体铁含量及肝脏中 hepcidin mRNA 表达量的影响

大量研究已经证实,hepcidin 可调控小肠铁的吸收,通过注射 hepcidin<sup>[16]</sup>或使 hepcidin 在体内过量表达<sup>[5]</sup>均可显著降低体内铁含量。但关于补充不同剂量铁对机体铁含量及肝脏中 hepcidin mRNA 表达量影响的报道不多,且主要集中在小鼠和大鼠的研究上。Pigeon 等<sup>[2]</sup>用 3% 的羰基铁饲料

饲喂小鼠 2 个月后发现,血清铁含量大幅增加,肝脏 hepcidin mRNA 表达量提高了 10 倍。Weinstein 等<sup>[17]</sup>在研究基因突变小鼠缺铁性贫血时发现,小鼠肝脏中 hepcidin mRNA 表达量与正常小鼠相比显著降低,铁的含量也显著降低。Nicolas 等<sup>[5]</sup>通过注射苯胂和多次放血的方法建立了小鼠溶血性贫血和失血性贫血动物模型,研究发现肝脏中 hepcidin mRNA 表达量分别降低了 300% 和 80%。Zhang 等<sup>[11]</sup>的研究结果也表明,给小鼠饲喂缺铁性饲料,肝脏中 hepcidin mRNA 表达量显著降低。Hansen 等<sup>[18]</sup>证实,在 21 日龄仔猪中添加不同剂量的铁时,血清铁随饲料铁含量的增加而增加。随后他们进一步研究证明,饲料中高铁含量(797 mg/kg)提高了 21 日龄猪肝脏、心脏和小肠中铁的含量,肝脏中 hepcidin mRNA 表达量升高了 6.25 倍<sup>[19]</sup>。在本试验中,与正常组相比,铁过量组肝脏中 hepcidin mRNA 表达量极显著升高,而缺铁组则极显著降低。这进一步证实了不同剂量的铁可影响机体铁含量和肝脏中 hepcidin mRNA 的表达量。不同剂量铁影响 hepcidin mRNA 表达的机理及信号传导途径有待于更深入的研究。

## 4 结 论

① 铁过量或缺乏均会影响新生仔猪机体的免疫功能和抗氧化功能。

② 铁过量可提高新生仔猪机体铁含量和肝脏中 hepcidin mRNA 表达量,铁缺乏则会降低新生仔猪机体铁含量和肝脏中 hepcidin mRNA 表达量。

## 参考文献:

- [1] KRAUSE A, NEITZ S, MAGERT H J, et al. LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity [J]. The Journal for Rapid Publication of Short Reports in Molecular Biosciences, 2000, 480(5): 147 - 150.
- [2] PIGEON C, ILYIN G, COURSELAUD B, et al. A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload [J]. The Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(6): 7811 - 7819.
- [3] NEMETH E, TUTTLE M S, POWEKSON J, et al. Hpcidin regulates cellular iron efflux by binding to

- ferroportin and inducing its internalization [J]. *Science*, 2004, 306(5704): 2090 - 2093.
- [ 4 ] KEMN E, PICKKERS P, NEMETH E, et al. Time-course analysis of hepcidin, serum iron, and plasma cytokine levels in humans injected with LPS [J]. *Blood*, 2005, 106(5): 1864 - 1866.
- [ 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]. *The Journal of Clinical Investigation*, 2002, 110(7): 1037 - 1044.
- [ 6 ] 魏华英, 马刚, 张莉, 等. SD 大鼠缺铁性贫血模型的建立 [J]. *四川动物*, 2007, 26(1): 190 - 191.
- [ 7 ] 许祯莹, 陈代文, 玉冰. 断奶仔猪缺铁模型的建立及酵母铁对断奶仔猪生长及血液生化指标的影响 [J]. *动物营养学报*, 2009, 21(6): 897 - 902.
- [ 8 ] 周爱儒. 生物化学 [M]. 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004.
- [ 9 ] 罗洪明, 陈代文. 不同蛋白水平对早期断奶仔猪生产性能、血液生化指标的影响 [J]. *饲料研究*, 2005, 8: 3 - 8.
- [ 10 ] VALERIO L G, PETERSEN D R. Characterization of hepatic iron overload following dietary administration of dicyclopenta dienyl iron (Ferrocene) to mice: cellular, biochemical, and molecular aspects [J]. *Experimental and Molecular Pathology*, 2000, 68(1): 1 - 12.
- [ 11 ] ZHANG A S, ANDERSON S A, WANG J H, et al. Suppression of hepatic hepcidin expression in response to acute iron deficiency is correlated with an increase of matrilpatase-2 protein in the liver [J]. *The Journal of the Federation American Societies Experimental Biology*, 2011, 25(8): 147 - 150.
- [ 12 ] 朱航, 张守华, 雷蕾, 等. 不同剂量铁对小鼠肝脏损伤作用的实验研究 [J]. *热带医学杂志*, 2007, 7(2): 129 - 132.
- [ 13 ] 龙玥娇, 孙长颢, 王朝旭. 铁负荷对大鼠脂质过氧化作用影响及抗氧化维生素对其抑制作用 [J]. *卫生研究*, 2003, 32(3): 209 - 211.
- [ 14 ] 谢秀梅, 曹霞, 陈美芳, 等. 慢性铁过量对和 *OE* 基因敲除小鼠动脉粥样硬化病变的影响 [J]. *中南大学学报: 医学版*, 2008, 33(1): 57 - 62.
- [ 15 ] 冷慧敏, 骆新民, 朱航. 小鼠铁过量模型建立及相关指标的观察研究 [J]. *齐鲁医学杂志*, 2008, 23(4): 331 - 334.
- [ 16 ] CHUNG B, CHASTON T, MARKS J, et al. Hepcidin decreases iron transporter expression *in vivo* in mouse duodenum and spleen and *in vitro* in THP-1 macrophages and intestinal Caco-2 cells [J]. *The Journal of Nutrition*, 2009, 139(8): 1457 - 1462.
- [ 17 ] WEINSTEIN D A, ROY C N, FLEMING M D, et al. Inappropriate expression of hepcidin is associated with iron refractory anemia: implications for the anemia of chronic disease [J]. *Blood*, 2002, 100(10): 371 - 376.
- [ 18 ] HANSEN S L, TRAKOOLJUL N, LIU H C, et al. Iron transporters are differentially regulated by dietary iron, and modifications are associated with changes in manganese metabolism in young pigs [J]. *The Journal of Nutrition*, 2009, 139(8): 1474 - 1479.
- [ 19 ] HANSEN S L, TRAKOOLJUL N, SPEARS J W, et al. Age and dietary iron affect expression of genes involved in iron acquisition and homeostasis in young pigs [J]. *The Journal of Nutrition*, 2010, 140(2): 147 - 150.

## Effects of Iron Overload or Deficiency on Serum Biochemical Indices and Liver Hpcidin mRNA Expression of Newborn Piglets

LIU Qinghua<sup>1</sup> YANG Jianping<sup>2</sup> LIU Yanhe<sup>1</sup> ZHU Kuanyou<sup>1</sup> LI Mengyun<sup>1,2\*</sup>

(1. Zhengzhou College of Animal Husbandry and Engineering, Zhengzhou 450011, China; 2. Henan Pollution-Free Feed Engineering Technology Research Center, Zhengzhou 450011, China)

**Abstract:** This experiment was conducted to investigate the effects of iron overload or deficiency on serum biochemical indices and liver hepcidin mRNA expression of newborn piglets. A total of 15 cross-bred (Duroc × Landrace × Large white) neonatal piglets with an average body weight of  $(1.22 \pm 0.13)$  kg were randomly divided into 3 groups (iron-deficiency group, regular group and iron-overload group) with 5 replicates per group and 1 piglet per replicate. At 3 and 7 days of age, the piglets in the 3 groups were injected 1 mL physiological saline, 1 mL dextriferron (450 mg iron) and 3 mL dextriferron (450 mg iron), respectively. At 7 days of age, all piglets were killed, and blood, liver and spleen were collected to measure iron content, serum biochemical indices and liver hepcidin mRNA expression. The results showed as follows: iron contents in liver, spleen and serum were all significantly increased with injected Fe content increasing ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). Compared with the regular group, the contents of hemoglobin, globulin, total protein and malondialdehyde and the activities of glutathione peroxidase and peroxidase in serum were significantly increased and the superoxide dismutase activity in serum was significantly decreased in iron-overload group ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), while the contents of hemoglobin, globulin, total protein and malondialdehyde and the activities of glutathione peroxidase, catalase and peroxidase in serum were significantly decreased and the superoxide dismutase activity in serum was significantly increased in iron-deficiency group ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). Compared with the regular group, liver hepcidin mRNA expression was significantly increased in iron-overload group ( $P < 0.01$ ) and significantly decreased in iron-deficiency group ( $P < 0.01$ ). In conclusion, iron overload or deficiency can affect the immune function and anti-oxidant function of newborn piglets; iron overload and deficiency can increase and decrease body's iron content and liver hepcidin mRNA expression of newborn pigs, respectively. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, 24(5):845-851]

**Key words:** newborn piglets; iron overload; iron deficiency; serum biochemical indices; hepcidin mRNA expression