

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.17.049

NNMT 蛋白酶与肿瘤的关系*

文 容 贺修胜[△] 郭杏丹 吴冬梅

(南华大学肿瘤研究所 湖南 衡阳 421001)

摘要:尼克酰胺甲基转移酶(NNMT, E.C.2.1.1.1), 一种参与物质代谢的酶蛋白, 在肝脏的解毒和物质代谢过程中起重要作用。随着蛋白质组学的发展, 人们运用 2-DE, 蛋白微阵列, 基因芯片等技术发现 NNMT 在很多肿瘤中都是一个高表达蛋白质, 它与肿瘤的关系也得到了研究者们进一步的证实, 并提示 NNMT 与多种肿瘤的发生发展和转移相关, 可作为一些肿瘤如肺小细胞肺癌、肾癌、口腔鳞状细胞癌和膀胱癌等的早期诊断和预后的标记物。本文就 NNMT 与肿瘤的关系及相关信号通路做一综述。

关键词: NNMT; 肿瘤; 甲基化; 诊断

中图分类号: R730.231 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)17-3385-04

The Relationship between NNMT and Tumours*

WEN Rong, HE Xiu-sheng[△], GUO Xing-dan, WU Dong-mei

(University of South China, Institute of Oncology, Hengyang, Hunan, 421001, China)

ABSTRACT: Nicotinamide N-methyltransferase (NNMT, E.C.2.1.1.1), an enzyme involved in drug metabolism, plays a critical role in detoxify in liver and substance metabolism. NNMT was found overexpressed in many tumours through 2-DE, protein microarrays, gen chips along with the develop of proteomics, the relationship with tumours were confirmed by researchers and suggested NNMT engagement in the development and metastasis in various of cancers, hence, NNMT can act as a diagnosis and prognosis biomarker of some cancers such as non-small cell lung cancer, renal cancer, renal cancer, oral squamous cell carcinoma, and bladder cancer. This text is aimed at the correlation of NNMT and tumours and relevance signal pathways.

Key words: NNMT; Tumors; Methylation; Diagnosis

Chinese Library Classification(CLC): R730.231 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)17-3385-04

前言

NNMT 基因位于 11q23.1, 其编码的蛋白(尼克酰胺 N-甲基转移酶)是一种参与药物代谢的酶, 属于酶代谢的第二阶段产物, 参与生物转化和许多外原形物质在肝脏的解毒作用, 主要生理功能为催化尼克酰胺的甲基化和其他吡啶衍生物的甲基化。在药物和一些外来化学物质的生物转化中起重要作用。NNMT 主要在肝脏表达, 肺、肾、骨骼肌、心和胎盘低表达, 脑部或胰腺表达缺乏, 定位于细胞质, 分子量为 30 kD, 序列长 264 bp。通过调节胞内尼克酰胺水平以及 S 腺苷蛋氨酸为甲基供体调节 N-甲基化后的修饰, 从而调控药物, 毒素, 激素和微量元素的代谢, 参与许多疾病的发生和病理生理过程, 以及肿瘤的发生发展和肿瘤的耐药。而且很多文献都报道 NNMT 在肿瘤组织中表达上调。

1 NNMT 与肿瘤的关系

研究表明, 肿瘤细胞内的一些生物分子的改变能驱动代谢产物的重新改编, 包括癌基因的激活和 / 或抑癌基因的失活和代谢酶本身促进细胞的突变^[1,2]。反过来, 信号转导和转录途径

也能被代谢产物调节^[3]。大样本研究(包括基因组^[4]蛋白质组学研究^[5])发现了许多代谢酶在癌中表达发生改变, 其中就包括 NNMT(尼克酰胺甲基转移酶)。NNMT 是一种癌代谢相关产物, 可减弱癌细胞的甲基化潜能(通过消耗 S-腺苷甲硫氨酸甲基单元产生稳定代谢产物 1-甲基烟氨酸), 通过改变 SAM/SAH 比率来调节蛋白的甲基化, 且 NNMT 诱导的低甲基化与肿瘤的迁移和转移相关。另外表达 NNMT 的癌细胞可发生外生性状态的改变即组蛋白类低甲基化和其他肿瘤相关蛋白与促肿瘤发生的基因产物表达增加。表明代谢酶的异常调节可促进肿瘤的发生^[6]。

1.1 NNMT 与非小细胞肺癌

为了检测 NNMT 是否可作为肺癌诊断的标记物, Tomida M 等人的研究发现非小细胞肺癌病人的血清样本中, NNMT 表达水平明显高于健康人和 COPD(慢性阻塞性肺疾病)的非肿瘤患者; NNMT 敏感度较 CAE 好, 且这两者无明显相关性^[7]。而最近的研究证明 mRNA 和蛋白水平在癌组织中明显高于癌旁和远处正常组织, 酶催化活性分析结果也明显增高, 且恶性肿瘤远处组织 NNMT 活性高于良性肿瘤远处组织^[8], 因此认为 NNMT 血清水平可作为肺癌的早期诊断指标, 其表达水平与肿

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81172575); 湖南省科技厅资助项目(2011SK3088)

作者简介: 文容(1987-), 女, 硕士研究生, 医师, 研究方向: 肿瘤发病易感分子机制, E-mail: 769202334@qq.com

△ 通讯作者: 贺修胜(1958-), 男, 教授, 研究方向: 肿瘤发病易感分子机制, E-mail: hexiusheng@hotmail.com

(收稿日期: 2013-10-23 接受日期: 2013-11-18)

瘤的分化程度有关。

1.2 NNMT 与膀胱癌

细胞迁移的研究对于鉴定驱动细胞迁移和促进肿瘤浸润和转移的基因很重要。为此, Wu Y 等人在膀胱癌患者中鉴定出多个与细胞迁移率直接或间接相关的基因, 并评估了 versican, MT1E 和 NNMT 与癌症分期的关系, 即与癌细胞的迁移和肿瘤的分期为正相关关系^[9]。Rister M 等人在经膀胱癌根治手术的病人的基因表达谱中, 发现 FN1, NNMT, POSTN 和 SMAD6 在确定为肌层浸润性膀胱癌中是高表达的, 并评估临床和预后性变量与基因表达模式的关系, 显示这几个基因与膀胱癌的病理分期, 转移和病人死亡相关, 也与肿瘤的不同亚型有关^[10]。最近关于 NNMT 在膀胱癌中的表达的研究进一步证实, 癌组织和尿液检测结果提示 mRNA、蛋白水平、酶催化活性明显高于正常组^[11]。这就更证实了 NNMT 与膀胱癌之间存在密切关系, 所以我们认为 NNMT 可作为膀胱癌临床诊断和判断预后的指标。

1.3 NNMT 与口腔鳞状细胞癌

有研究报道, NNMT 在正常口腔上皮组织中表达阴性, 在高分化和中分化口腔鳞状细胞癌组织中阳性, 而在低分化癌组织中阴性或者不表达, 而且 NNMT 的高表达与口腔肿瘤大小、分级相反, 提示 NNMT 的表达与分化相关, 可能在恶性肿瘤的初始阶段意义重大^[12]。肿瘤酶活性分析高于非肿瘤细胞, 而恶化的口腔鳞状细胞癌周围正常的口腔上皮组织细胞酶活性比未恶化的肿瘤的周围正常组织细胞的活性要高, 提示前者有向癌转变的可能。唾液检测也发现癌症患者蛋白水平高于正常人^[13]。因此我们认为 NNMT 可作为口腔鳞状细胞癌的早期非侵入性诊断和判断预后的指标。

1.4 NNMT 与肝癌

肝癌是发生在成人的最普通的一种肿瘤, 虽然治疗途径多样, 但是高复发率和死亡率依然存在。Kim J 等人对 120 例肝癌患者的免疫组化和与临床联系的研究表明, NNMT mRNA 在肝癌中的表达水平要低于非癌组织。另外, 在复发的肿瘤中 NNMT mRNA 水平要高于非复发肿瘤, 尤其在肿瘤 III 期和 IV 期, 由此可见, NNMT 的表达与肿瘤的分期有明显关系, 而与其他参考因素如年龄, 性别, 病毒感染情况, 肿瘤大小, AFP 水平无明显关系 ($P > 0.05$)。接下来的随访观察显示, 低 NNMT 表达患者 5 年生存率为 79%, 未复发者占 45%; 而高 NNMT 患者 5 年生存率为 60%, 未复发者占 22%, 因此, NNMT mRNA 水平可作为肝癌一个判断预后的因子^[14]。

1.5 NNMT 与结肠癌

Roessler M 等人证明 NNMT 在结肠癌组织中为高表达蛋白, 结肠癌患者血液分析显示, NNMT 的受试者操作曲线临界值为 0.84, 优于癌胚抗原 (0.78)^[15]。张钧等人验证转染 NNMT 基因的 SW480 细胞系增殖能力增强, NNMT 具有抗凋亡功能, 转染 NNMT 能明显促进 SW480 细胞的迁移和侵袭能力。NNMT 在大肠癌组织的表达与病人临床病理因素关系表明, NNMT 阳性率与肿瘤细胞的分化程度相关, 低分化腺癌阳性率

要高于高分化和中分化 (36.4% vs 7.9%), $P < 0.01$, 而与年龄, 性别, 肿瘤部位, 分期无明显关系, $P > 0.05$ ^[16]。而干扰 HT-29 细胞中 NNMT 的表达可有效抑制肿瘤细胞的增殖^[17]。说明 NNMT 蛋白能促进肿瘤的生长与增值。

1.6 NNMT 与成神经管细胞瘤

有研究显示在死亡的帕金森病人脑中 NNMT 含量是明显上调的, 为了弄清 NNMT 高表达对成神经管细胞的影响, 有研究小组构建了 NNMT 高表达细胞系 SH-SY5Y (成神经细胞瘤细胞系, 无内源性 NNMT 表达), 与对照组相比, SH-SY5Y 细胞的死亡率明显降低, 分析这可能与细胞内 ATP 含量, ATP/ADP 比, 复合体 I 活性增加, NDUFS3 (NADH 脱氢酶铁-硫蛋白 3) 的降解减少有关。NNMT 是通过增加 CX I 活性来增强细胞的生存能力。经 NNMT 催化产物 (MeN) 1 甲基烟酰胺处理 SH-SY5Y 细胞后, 与 NNMT 处理的结果一样, 这两种物质都能保护 SH-SY5Y 细胞免受 CX I 抑制剂 MPP+ 的毒性, 通过上调 ATP 合成, ATP/ADP 比, 复合体活性, 逆转 MPP+ 的影响。这类研究结果有利于对成神经细胞瘤的治疗^[18], 并有助于我们对 NNMT 蛋白酶影响肿瘤生物学行为改变的了解。

2 NNMT 参与的信号通路

NNMT 与多种肿瘤的关系非常密切, 可能与其参与的多条信号通路相关。据报道 NNMT 可以被多个基因激活亦可激活其他相关癌基因, 如 SHH 信号, PI3k/Akt, stat3 基因, HNF- β (肝细胞核因子)。

2.1 NNMT 与 SHH

Feldmann G 等人证明在转 Kras Ink4a/Arf 癌基因小鼠胰腺癌模型中, 检测到 SHH 信号 mRNA 高表达, 与以前的研究即 SHH 信号通路在大多数胰腺癌中都被异常重新激活的结果一致, 且 SHH 可缩短胰腺癌患者的存活率, 接着鉴定了 SHH 信号的下游 26 个靶向分子, 证明 NNMT 为高表达蛋白^[19]。另有研究证实封闭 SHH 信号能阻止疾病的发展和转移^[20]。因此可以认为, NNMT 为 SHH 信号的下游分子并与胰腺癌的发展成正相关。

2.2 NNMT 与 PI3k/Akt/MMP2

肾透明细胞癌研究表明, 高表达的 NNMT 能诱导肾癌细胞的高浸润活性, 抑制 MMP-2 可有效抑制 NNMT 依赖的 HEK-293 细胞浸润, 特异性的 p13k/Akt 信号抑制剂可显著降低 SP-1 与 MMP-2 的结合。证明在 HEK-293 细胞和临床病例中 NNMT 的表达与 MMP-2 (基质金属蛋白)/PI3k/Akt 存在正相关关系, 即 NNMT 可通过调节 PI3k/Akt/SP-1 而调节 MMP2 的表达。短发夹 RNA 干扰 NNMT 的表达可有效抑制肾癌细胞的转移和生长^[21]。最近的研究也证实了在肾癌组织和血液标本中也存在 NNMT 蛋白的高表达^[22,23]。提示 NNMT 在 p13k/Akt/MMP-2/SP-1 途径导致细胞浸润方面扮演重要角色。

2.3 NNMT 与 Stat3

Stat3 作为癌基因, 介导细胞因子和生长因子的直接转录, 在很多恶性肿瘤中都被异常激活, 并能阻止细胞的凋亡, stat3

亦能引起其他基因的激活, Mikio Tomida 等的研究证明, 在肝癌细胞(Hep-G2)和结肠癌细胞(SW480)中转染 NNMT 启动子荧光报告结构和适当激活 Stat3(Stat3ER), 结果显示, IL6 能刺激 NNMT 表达增加, 而 NNMT 启动子的激活需要 Stat3 首先被激活, 另外对高表达 NNMT 的乳腺癌细胞系(MDA-MB-468)和结肠癌细胞系(HT29)进行 Stat3 干扰处理, 可导致 NNMT 水平的下降^[24], 证明 NNMT 可被 stat3 激活并产生相应的病理生理反应。

2.4 NNMT 与 HNF- β

Xu J 等人证明肝细胞核因子(HNF)- β 可作为 NNMT 在乳突状甲状腺癌中表达的转录激活因子, NNMT 启动子的活性会随着 HNF- β 的突变而下降, 且 HNF- β 的高表达仅在 NNMT 蛋白高表达的癌细胞中出现, 而在 NNMT 低表达或阴性的癌细胞中也相应的表达弱阳性或不表达^[25]。

3 NNMT 与耐药

NNMT 在许多肿瘤中高表达还与肿瘤的化学耐药和放疗抵抗有联系。化疗药物与基因耐药的相关研究显示, NNMT 为与紫杉醇、埃罗替尼、依维莫司和达沙替尼抗癌药相关的耐药基因, 也在一些肿瘤如肝癌, 肺癌, 乳腺癌等肿瘤的复发中发挥重要作用^[14,26,27]。Peng Hao 等人发现在人乳腺癌阿霉素耐药株 MCF-7/ADR 中高表达的 NNMT 基因为阿霉素耐药相关基因^[28]。NNMT 基因的高表达与放疗抵抗也有着密切联系, 肿瘤干细胞被认为是抗放疗细胞, 与放疗后肿瘤的复发相关, 在放疗抵抗的肿瘤干细胞中 NNMT 的表达亦非常高, 而此基因参与肿瘤增殖, DNA 修复和细胞死亡, 可通过消耗大量尼克酰胺(抑制细胞 DNA 修复机制)抵抗细胞的损伤^[29,30]。因此, 肿瘤耐药基因的靶向治疗将有利于优化肿瘤的治疗方案, 为肿瘤的放化疗提供新的途径。

4 结语

综上所述, 目前 NNMT 已被证实在许多肿瘤中都是高表达蛋白, 并能使组蛋白类低甲基化, 低甲基化能促进肿瘤的发生发展, 但在这些研究中我们也发现, 它的表达与组织和细胞类型及分化相关, 并且在细胞中定位也与肿瘤类型相关。所以我认为 NNMT 蛋白在癌症的发生发展中起重要作用, 并可能作为肿瘤分期的靶分子。关于它的更深层次的研究将有利于癌症的早期诊断和治疗。

参考文献(References)

- [1] Wellen KE, Thompson CB, A two-way street: reciprocal regulation of metabolism and signaling [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(4): 270-276
- [2] DeBerardinis RJ, Sayed N, Ditsworth D, et al. Brick by brick: metabolism and tumor cell growth [J]. *Curr Opin Genet. Dev*, 2008, 18(4):54-61
- [3] Possemato R, Marks KM, Shaul YD, et al. Functional genomics reveal that the serine synthesis pathway is essential in breast cancer [J]. *Nature*, 2011, 476(7360):346-350
- [4] Nomura DK, Lombardi DP, Chang JW, et al. Monoacylglycerol lipase exerts dual control over endocannabinoid and fatty acid pathways to support prostate cancer [J]. *Chem. Biol*, 2011, 18(7):846-856
- [5] Nomura DK, Dix MM, Cravatt BF. Activity-based protein profiling for biochemical pathway discovery in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(9):630-638
- [6] Oleasys A Ulanovskaya, Andrea M Zuhl, Benjamin F Cravatt. NNMT promotes epigenetic remodeling in cancer by creating a metabolic methylation sink [J]. *Nature Chemical Biology*, 2013, 9(5):300-306
- [7] Tomida M, Mikami I, Nishimura H, et al. Serum levels of nicotinamide N-methyltransferase in patients with lung cancer [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2009, 9(135):1223-1229
- [8] Sartini D, Morganti S, Guidi E, et al. Nicotinamide N-methyltransferase in Non-small Cell Lung Cancer: Promising Results for Targeted Anti-cancer Therapy[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2013, 67(3):865-873
- [9] Wu Y, Siadaty MS, Berens ME, et al. Overlapping gene expression profiles of cell migration and tumor invasion in human bladder cancer identify metallothionein 1E and nicotinamide N-methyltransferase as novel regulators of cell migration [J]. *Oncogene*, 2008, 27(27): 6679-6689
- [10] Riester M, Taylor JM, Feifer A, et al. Combination of a novel gene expression signature with a clinical nomogram improves the prediction of survival in high-risk bladder cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(13):1323-1333
- [11] Sartini D, Muzzonigro G, Milanese G, et al. Upregulation of tissue and urinary nicotinamide N-methyltransferase in bladder cancer: potential for the development of a urine-based diagnostic test [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2013, 73(65):473-483
- [12] Emanuelli M, Santarelli A, Sartini D, et al. Nicotinamide N-methyltransferase upregulation correlates with tumour differentiation in oral squamous cell carcinoma [J]. *Histol Histopathol*, 2010, 1(25):15-20
- [13] Sartini D, Pozzi V, Renzi E, et al. Analysis of tissue and salivary nicotinamide N-methyltransferase in oral squamous cell carcinoma: basis for the development of a noninvasive diagnostic test for early-stage disease [J]. *Biol Chem*, 2012, 386(393):505-511
- [14] Kim J, Hong SJ, Lim EK, et al. Expression of nicotinamide N-methyltransferase in hepatocellular carcinoma is associated with poor prognosis [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2009, 28(2):20
- [15] Roessler M, Rollinger W, Palme S, et al. Identification of nicotinamide N-methyltransferase as a novel serum tumor marker for colorectal cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(11):6550-6557
- [16] 张钧. NNMT 过表达对大肠癌细胞生物学行为的影响及意义[D]. 浙江大学医学系, 2009
- [17] 李贵玲. shRNA 沉默 NNMT 表达对人结肠癌 HT-29 细胞增殖的影响[D]. 浙江大学医学系, 2012
- [18] Li Gui-ling. Effect of shRNA silencing NNMT expression on proliferation of human colon cancer cell HT-29[D]. Department of medicine,

Zhejiang University, 2012

- [18] Parsons RB, Aravindan S, Kadampeswaran A, et al. The expression of nicotinamide N-methyltransferase increases ATP synthesis and protects SH-SY5Y neuroblastoma cells against the toxicity of Complex I inhibitors [J]. *Biochem J*, 2011, 1(436):145-155
- [19] Feldmann G, Habbe N, Dhara S, et al. Hedgehog inhibition prolongs survival in a genetically engineered mouse model of pancreatic cancer [J]. *Gut*, 2008, 10(57):1420-1430
- [20] Feldmann G, Dhara S, Fendrich V, et al. Blockade of hedgehog signaling inhibits pancreatic cancer invasion and metastases: a new paradigm for combination therapy in solid cancers [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(5):2187-2196
- [21] Tang SW, Yang TC, Lin WC, et al. Nicotinamide N-methyltransferase induces cellular invasion through activating matrix metalloproteinase-2 expression in clear cell renal cell carcinoma cells [J]. *Carcinogenesis*, 2011, 2(32):138-145
- [22] Teng PN, Hood BL, Sun M, et al. Differential proteomic analysis of renal cell carcinoma tissue interstitial fluid [J]. *J Proteome Res*, 2011, 3(10):1333-1342
- [23] Su Kim D, Choi YD, Moon M, et al. Composite three-marker assay for early detection of kidney cancer [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2013, 3(22):390-398
- [24] Tomida M, Ohtake H, Yokota T, et al. Stat-3 up-regulation of nicotinamide N-methyltransferase in human cancer cells [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2008, 5(134):551-559
- [25] Xu J, Capezzone M, Xu X, et al. Activation of nicotinamide N-methyltransferase gene promoter by hepatocyte nuclear factor-1beta in human papillary thyroid cancer cells [J]. *Mol Endocrinol*, 2005, 2(19):527-539
- [26] Hsu YC, Chen HY, Yuan S, et al. Genome-wide analysis of three-way interplay among gene expression, cancer cell invasion and anti-cancer compound sensitivity [J]. *BMC Med*, 2013, (11):106
- [27] Ujiie H, Tomida M, Akiyama H, et al. Serum hepatocyte growth factor and interleukin-6 are effective prognostic markers for non-small cell lung cancer [J]. *Anticancer Res*, 2012, 8(32):3251-3258
- [28] 彭浩, 杨华伟, 宋立伟, 等. 应用基因芯片技术筛选乳腺癌阿霉素耐药相关基因表达谱[J]. 2009, 89(25):1745-1748
- [28] Peng Hao, Yang Hua-wei, Song Li-wei, et al. Screening the differential expression of adriamycin-resistance related genes of breast cancer by cDNA microarray [J]. *Natl Med J China*, 2009, 89(25):1745-1748
- [29] D'Andrea FP. Intrinsic radiation resistance of mesenchymal cancer stem cells and implications for treatment response in a murine sarcoma model[J]. *Dan Med J*, 2012, 59(2):B4388
- [30] D'Andrea FP, Safwat A, Kassem M, et al. Cancer stem cell overexpression of nicotinamide N-methyltransferase enhances cellular radiation resistance[J]. *Radiother Oncol*, 2011, 99(3):373-378

(上接第 3379 页)

- [25] Winlaw D S, Smythe G A, Keogh A M, et al. Increased nitric oxide production in heart failure[J]. *Lancet*, 1994, 344(8919):373-374
- [26] 何志旭. 慢性感染导致贫血的机理 -NO 对细胞铁代谢的作用[J]. 国外医学输血交血液学分册, 1999, 22(6):382-384
- [27] Domachowske J B. The role of nitric oxide in the regulation of cellular iron metabolism[J]. *Biochem Mol Med*, 1997, 60(1):1-7
- [28] Komajda M, Anker S D, Charlesworth A, et al. The impact of new onset anaemia on morbidity and mortality in chronic heart failure: results from COMET [J]. *Eur Heart J*, 2006, 27(12):1440-1446
- [29] Zittermann A, Jungvogel A, Prokop S, et al. Vitamin D deficiency is an independent predictor of anemia in end-stage heart failure[J]. *Clin Res Cardiol*, 2011, 100(9):781-788
- [30] Okonko D O, Crosato M, Kalra P R, et al. Association of deranged adrenal steroid metabolism with anemia in chronic heart failure[J]. *Am J Cardiol*, 2005, 96(1):101-103
- [31] Kansagara D, Dyer E, Englander H, et al. Treatment of Anemia in Patients with Heart Disease [J]. 2011
- [32] Silverberg D S, Wexler D, Blum M, et al. The use of subcutaneous erythropoietin and intravenous iron for the treatment of the anemia of severe, resistant congestive heart failure improves cardiac and renal function and functional cardiac class, and markedly reduces hospitalizations[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2000, 35(7):1737-1744
- [33] Mancini D M, Katz S D, Lang C C, et al. Effect of erythropoietin on exercise capacity in patients with moderate to severe chronic heart failure [J]. *Circulation*, 2003, 107(2):294-299
- [34] Okonko D O, Grzeslo A, Witkowski T, et al. Effect of intravenous iron sucrose on exercise tolerance in anemic and nonanemic patients with symptomatic chronic heart failure and iron deficiency FERRIC-HF: a randomized, controlled, observer-blinded trial [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 51(2):103-112
- [35] Silverberg D S, Wexler D, Iaina A, et al. Correction of iron deficiency in the cardiorenal syndrome [J]. *Int J Nephrol*, 2011, 2011:365301
- [36] Marques J S. Perspectives for the treatment of anemia in heart failure: is there a role for vasopressin antagonists [J]. *Congest Heart Fail*, 2012, 18(1):1-3