

临床血清学研究

DOI:10.11699/cyxb20130517

可溶性细胞间黏附分子-1 在乙肝相关性肝病患者发病中作用的初步研究

龚学艳, 秦波, 马茜

(重庆医科大学附属第一医院感染科, 重庆 400016)

【摘要】目的:通过检测乙肝相关性肝病患者血清可溶性细胞间黏附分子-1(soluble intercellular adhesion molecule-1, sICAM-1)的水平,探讨 sICAM-1 在乙肝相关性肝病患者发病中的作用。**方法:**选择慢性乙型肝炎、乙型肝炎肝硬化及肝衰竭患者各 30 例,另选择健康献血员 30 例作对照组,应用酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)法检测血清 sICAM-1 的水平。**结果:**慢性乙型肝炎、乙型肝炎肝硬化、肝衰竭患者血清 sICAM-1 水平较正常对照组均明显升高($P=0.029$ 、 $P=0.000\ 07$ 、 $P=0.000\ 1$),并与丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate amino transferase, AST)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)呈正相关($ALT:r_s=0.240, P=0.023$; $AST:r_s=0.225, P=0.033$; $TBIL:r_s=0.262, P=0.013$),与白蛋白(albumin, ALB)、凝血酶原活动度(prothrombin activity, PTA)呈负相关($ALB:r_s=-0.297, P=0.005$; $PTA:r_s=-0.218, P=0.039$)。**结论:**sICAM-1 可能参与了乙型肝炎免疫损伤过程,并可能在肝纤维化、肝硬化形成过程中发挥重要作用。检测乙肝相关性肝病患者血清 sICAM-1 水平对判断患者病情有一定临床意义。

【关键词】细胞间黏附分子-1;乙肝相关性肝病;慢性乙型肝炎;肝硬化;肝衰竭

【中国图书分类法分类号】R512.62

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-11-09

Preliminary study on the role of serum soluble intercellular adhesion molecule-1 in the pathogenesis of hepatitis B virus related liver diseases

GONG Xueyan, QIN Bo, MA Qian

(Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To explore the role of serum intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) in the pathogenesis of hepatitis B virus related liver diseases by detecting the levels of sICAM-1 in patients with hepatitis B virus related liver diseases. **Methods:** Levels of sICAM-1 were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the 120 subjects (30 patients with chronic hepatitis B, 30 patients with liver cirrhosis, 30 patients with liver failure and 30 health controls). **Results:** Serum levels of sICAM-1 were higher in patients with chronic hepatitis B, cirrhosis and liver failure than in healthy controls ($P=0.029$, $P=0.000\ 07$, $P=0.000\ 1$). In patients with hepatitis B virus related liver diseases, sICAM-1 levels were positively correlated with levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total bilirubin (TBIL) ($ALT:r_s=0.240, P=0.023$; $AST:r_s=0.225, P=0.033$; $TBIL:r_s=0.262, P=0.013$) and were negatively correlated with the levels of albumin (ALB), prothrombin activity (PTA) ($ALB:r_s=-0.297, P=0.005$; $PTA:r_s=-0.218, P=0.039$). **Conclusions:** sICAM-1 may interfere the procedure of immunological damage of hepatitis B and plays an important role in the pathogenesis of live fibrosis and cirrhosis. Examination of serum levels of sICAM-1 in patients with hepatitis B virus related liver diseases can be used to judge the patients' condition.

【Key words】intercellular adhesion molecule-1; hepatitis B virus related liver diseases; chronic hepatitis B; liver cirrhosis; liver failure

黏附分子是一类介导细胞间黏附的膜表面糖蛋白,在炎症反应、免疫应答等多种病理过程中发挥重要作用。黏附分子可分为 5 大家族:选择素家

族、整合素家族、钙依赖黏附素家族、免疫球蛋白超家族和其它尚未归类的黏附分子。细胞间黏附分子-1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 作为黏附分子家族中的一员,具有细胞膜性和可溶性两种存在形式。近年来研究发现,可溶性细胞间黏附分子-1 (soluble intercellular adhesion molecule-1, sICAM-1) 与乙肝相关性肝病的发生、发展关系密切^[1-2]。

作者介绍:龚学艳, Email: sixize@163.com,

研究方向:乙型肝炎的发病机制及治疗。

通信作者:秦波, Email: cqinbo@126.com。

基金项目:重庆市自然科学基金资助项目(编号:CSTC, 2008BB5079);

重庆市卫生局重点科研资助项目(编号:2011-1-040)。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2011 年 3 月至 2012 年 5 月重庆医科大学附属第一医院感染科门诊及住院的 90 例乙肝相关性肝病患者,男 69 例,女 21 例,年龄 18~71 岁,平均 49 岁。其中慢性乙型肝炎组轻、中、重度肝炎患者分别为 10、14、6 例,肝衰竭组均为慢加急性或慢性肝衰竭患者。诊断、分型符合 2010 年版《慢性乙型肝炎防治指南》及 2006 年版《肝衰竭诊疗指南》的临床诊断标准。另选对照组 30 例,男 22 例,女 8 例。年龄 18~45 岁,平均 32 岁,均为重庆市中心血站健康献血员。2 组均排除其它肝炎病毒感染、自身免疫性肝炎、酒精性肝病、非酒精性脂肪性肝病、急性细菌性感染性疾病、高血压、糖尿病、肿瘤性疾病等。2 组于检测前 6 个月内均未进行抗病毒、免疫调节及保肝降酶等治疗。

1.2 方法

2 组均于清晨空腹采肘静脉血 4 ml,静置,4 h 内以 3 000 r/min 离心 20 min,吸取血清分装试管。避免溶血、高脂血标本。将血清标本置于 -70 °C 冰箱冻存待检。(1)乙肝两对半定量、乙型肝炎病毒脱氧核糖酸(hepatitis B virus deoxyribonucleic acid)HBV DNA、肝功能及血常规检查均由重庆医科大学附属第一医院检验科统一完成。(2)sICAM-1 水平:用双抗体夹心 ELISA 法检测,试剂盒为美国 R&D Systems 公司产品,操作严格按说明书进行。

1.3 统计学处理

运用 SPSS 17.0 软件统计处理。计量资料符合正态分布以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,偏态分布则以中位数和四分位数间距 $[M(Q_1, Q_3)]$ 表示;非正态分布资料采用秩和检验;相关分析采用等级相关分析。以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乙肝相关性肝病患者血清 sICAM-1 水平检测结果

慢性乙型肝炎、乙型肝炎肝硬化、肝衰竭患者(实验组)血清 sICAM-1 水平较正常对照组均明显升高($P=0.029$, $P=0.000\ 07$, $P=0.000\ 1$);不同实验组患者之间血清 sICAM-1 水平存在显著差别,乙型肝炎肝硬化患者血清 sICAM-1 水平高于慢性乙型肝炎患者($P=0.001$)及肝衰竭患者($P=0.029$),

肝衰竭患者血清 sICAM-1 水平高于慢性乙型肝炎患者($P=0.011$)。慢性乙型肝炎重度患者 sICAM-1 明显高于轻度患者 sICAM-1 水平($P=0.045$),但与中度患者比较 sICAM-1 水平差异无统计学意义($P=0.262$);乙型肝炎肝硬化失代偿期患者 sICAM-1 水平明显高于代偿期患者($P=0.009$);肝衰竭患者中,晚期肝衰竭患者 sICAM-1 水平明显高于早、中期患者($P=0.023$, $P=0.026$),但早、中期肝衰竭患者 sICAM-1 水平比较无明显差异($P=0.961$),见表 1。

表 1 乙肝相关性肝病患者血清 sICAM-1 水平比较
Tab.1 Comparison on levels of sICAM-1 among patients with hepatitis B virus related liver diseases

组别	例数 (n)	sICAM-1 (ng/L)
慢性乙型肝炎组	30	239.21 (133.23, 635.03) ^{a*}
轻度	10	179.06 (133.23, 240.70)
中度	14	249.24 (190.32, 635.03)
重度	6	265.71 (240.65, 400.44)
乙型肝炎肝硬化组	30	425.73 (137.94, 788.81) ^{ab}
代偿期	13	361.2 (153.63, 472.87)
失代偿期	17	467.45 (137.94, 788.81)
肝衰竭组	30	313.31 (124.75, 507.57) ^{abc}
早期	14	289.64 (124.75, 427.44)
中期	13	313.71 (132.90, 456.72)
晚期	3	507.54 (400.98, 507.57)
对照组	30	205.54 (78.00, 432.21)

注:与对照组比较, a, $P < 0.05$; 与慢性乙型肝炎组比较, b, $P < 0.05$; 与乙型肝炎肝硬化组比较, c, $P < 0.05$

2.2 乙肝相关性肝病患者血清 sICAM-1 水平与肝功能的关系

血清 sICAM-1 水平随着丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate amino transferase, AST)、总胆红素 (total bilirubin, TBIL) 水平的升高而升高 (ALT: $r_s=0.240$, $P=0.023$; AST: $r_s=0.225$, $P=0.033$; TBIL: $r_s=0.262$, $P=0.013$); sICAM-1 水平与白蛋白 (albumin, ALB)、凝血酶原活动度 (prothrombin activity, PTA) 呈负相关 (ALB: $r_s=-0.297$, $P=0.005$; PTA: $r_s=-0.218$, $P=0.039$), 表明血清 sICAM-1 与肝功能密切相关, 并随着肝细胞损害的加重而升高, 见表 2。

表 2 乙肝相关性肝病患者血清 sICAM-1 水平与肝功能的关系

Tab.2 Relationship between levels of sICAM-1 and liver function in patients with hepatitis B virus related liver diseases

	慢性乙型肝炎组 (n=30)	乙型肝炎肝硬化组 (n=30)	肝衰竭组 (n=30)
sICAM-1 (ng/L)	239.21 (133.23, 635.03)	425.73 (137.94, 788.81)	313.31 (124.75, 507.57)
ALT (U/L)	103.50 (41.00, 590.00)	232.00 (68.00, 1 670.00)	212.00 (46.00, 2 544.00)
AST (U/L)	68.50 (40.00, 563.00)	113.00 (21.00, 1 132.00)	117.00 (24.00, 2 149.00)
TBIL (μ mol/L)	43.05 (8.50, 253.50)	108.55 (6.10, 279.00)	290.94 (120.90, 872.80)
ALB (g/L)	36.70 $\pm$ 5.21	28.50 $\pm$ 6.00	25.95 $\pm$ 7.54
PTA (%)	84.00 (56, 113)	54.00 (37, 115)	32.55 $\pm$ 7.71

2.3 血清 sICAM-1 水平与 HBV DNA、乙型肝炎病毒表面抗原(hepatitis B virus surface antigen, HBsAg)定量的关系

将所有患者分为低病毒含量组(HBV DNA $<10^5$ 拷贝/ml)及高病毒含量组(HBV DNA $\geq 10^5$ 拷贝/ml), 46 例低病毒含量患者血清 sICAM-1 水平为 271.23 ng/L(124.75, 788.81) ng/L, 44 例高病毒含量患者血清 sICAM-1 水平为 308.19 ng/L(132.90, 635.03) ng/L, 两组比较无明显差异($P=0.869$)。慢性乙型肝炎组、乙型肝炎肝硬化组、肝衰竭组患者 HBsAg 水平分别为 2 050.69 IU/ml(7.81, 25 000.00) IU/ml、1434.86 IU/ml(32.62, 25 000.00) IU/ml、904.67 IU/ml(13.83, 25 000.00) IU/ml, 3 组间 HBsAg 水平比较无明显差异($P=0.876$)。血清 sICAM-1 水平与 HBV DNA、HBsAg 无明显相关性($P=0.778$, $P=0.156$)。

3 讨论

黏附分子是一类可介导细胞与细胞、细胞与细胞外基质,并参与细胞内外的信号转导的糖蛋白。ICAM-1 是免疫球蛋白超家族成员之一,由胞外片段、穿膜片段和细胞质尾部片段组成。内皮细胞、上皮细胞、巨噬细胞、淋巴细胞、单核细胞和纤维母细胞等均可表达 ICAM-1。正常情况下,ICAM-1 很少在组织细胞中表达或仅低表达,当受到炎症因子等刺激后,ICAM-1 可表达于多种细胞表面,从而增强细胞之间或细胞与细胞外基质之间的黏附,促进炎症反应。ICAM-1 的配体是淋巴细胞功能相关性抗原-1^[3],二者特异性结合能促进免疫效应细胞与靶细胞之间的连接,从而诱发机体免疫损伤。

本研究发现,慢性乙型肝炎、乙型肝炎肝硬化、肝衰竭患者血清 sICAM-1 水平较对照组均明显升高;慢性乙肝重度患者 sICAM-1 明显高于轻度患者 sICAM-1 水平,但与中度患者比较 sICAM-1 水平差异无统计学意义;晚期肝衰竭患者 sICAM-1 水平明显高于早、中期患者;肝衰竭组患者血清 sICAM-1 水平明显高于慢性乙型肝炎组患者 sICAM-1 水平,且 sICAM-1 升高程度与 ALT、AST、TBIL 呈正相关,与 ALB、PTA 呈负相关;而低病毒含量组及高病毒含量组患者血清中 sICAM-1 水平比较无明显差异, sICAM-1 水平与 HBV DNA、HBsAg 无明显相关性,说明 sICAM-1 与肝脏炎症程度密切相关,而与病毒含量无关。肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、干扰素(interferon, IFN)、白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-8(interleukin-8, IL-8)、血管内皮生长因子等细胞因子均可导致 ICAM-1 表达上调^[4-6],故可

推测,被乙肝病毒感染的肝细胞可产生 IFN α/β , IFN α/β 具有聚集、活化巨噬细胞的作用,后者能分泌 TNF、IL 等多种细胞因子,导致肝细胞内 ICAM-1 表达上调,而高表达的 ICAM-1 参与细胞毒 T 淋巴细胞反应,介导抗原提呈细胞与 T 细胞、T 细胞与靶细胞黏附。ICAM-1 在 T 淋巴细胞识别靶细胞、杀伤靶细胞过程中起黏附作用,其在乙型肝炎免疫发病机理中起重要作用,而当肝细胞坏死致细胞膜碎裂破解后可产生高水平的 sICAM-1。国外亦有类似研究报道^[1-2]。

本研究还发现,乙型肝炎肝硬化患者血清 sICAM 水平高于慢性肝炎患者及肝衰竭患者,这与其他学者研究结果相似^[7];乙型肝炎肝硬化失代偿期患者 sICAM-1 水平明显高于代偿期患者。肝硬化患者由于长期肝脏炎症反应,内皮细胞活化及损伤,导致肝硬化患者血清中 sICAM-1 水平升高。有研究显示, TNF- α 通过刺激凋亡途径来参与肝纤维化的发生,肝纤维化程度越明显,肝组织内 TNF- α 细胞数越多,而高水平 TNF- α 可诱导 ICAM-1 表达,使肝细胞中 ICAM-1 高表达;肝纤维化时核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)的活化同组织的纤维化程度有关, NF- κ B 可调控 ICAM-1 的表达,阻断 NF- κ B 的活性则可抑制细胞对 ICAM-1 的表达^[8-11]。NF- κ B 调控的基因表达产物包括 TNF、IL、黏附分子等,而这些基因产物均参与了肝脏炎症、肝组织纤维化等病理生理过程,故肝硬化时活化的 NF- κ B 可直接或间接导致 ICAM-1 表达上调。缺乏 ICAM-1 可导致 Th2、Th17 细胞减少及 Th1 细胞增多,从而达到抑制纤维化作用; ICAM-1 可促进细胞外基质沉积在肝脏,形成肝纤维化^[12]。肝硬化失代偿期患者 sICAM-1 水平明显高于代偿期患者,提示 sICAM-1 水平对判断患者病情可能有一定临床意义。

本研究的结果显示,乙型肝炎肝硬化患者血清 sICAM 水平不仅高于慢性乙型肝炎患者,甚至也高于肝衰竭患者血清中 sICAM-1 水平, TNF、IL、NF- κ B 等因子可导致 ICAM-1 表达增多, ICAM-1 不仅与肝脏炎症程度相关,而且可能还参与了肝脏纤维化过程,并可进一步加重肝细胞损伤,促其向肝纤维化和肝硬化发展。此外,晚期肝衰竭患者血清中 sICAM-1 水平最高,但病例数较少,有待于进一步研究。

综上所述, ICAM-1 可能在乙型肝炎免疫损伤过程及肝纤维化、肝硬化形成中发挥重要作用,检测血清 sICAM-1 水平对判断乙肝相关性肝病患者病

临床血清学研究

DOI: 10.11699/cyxb20130518

HA、PⅢNP、LN、CIV 在慢性肝病及肝纤维化诊断中的
临床意义杜 伟¹, 单幼兰¹, 廖权利², 甘承文³, 郭海波³(1. 重庆医科大学附属第二医院肝病实验室, 重庆 400012; 2. 四川金域医学检验所, 成都 610000;
3. 重庆金域医学检验所, 重庆 400039)

【摘要】目的:观察肝硬化患者的透明质酸(hyaluronic acid, HA)、Ⅲ型前胶原氨基端肽(type Ⅲ procollagen amino peptide, PⅢNP)、层黏蛋白(laminin, LN)及Ⅳ型胶原(collagen Ⅳ, CIV)血清水平变化,探讨其变化与肝纤维化及纤维化程度的关系。**方法:**对 2011 年 1 月至 2012 年 9 月送检至我中心的 204 例肝病患者血清标本进行分析。204 例肝病患者中,男 124 例,女 80 例,年龄 26~67 岁,平均年龄 48 岁;慢性肝炎轻度 44 例,中度 50 例,重度 31 例,肝炎后肝硬化 79 例。正常对照组 46 例,男 25 例,女 21 例,年龄 22~52 岁,平均年龄 38 岁,为我中心健康工作人员及健康体检者,无肝胆疾病史。用 γ 放射免疫计数器进行检测 HA、PⅢNP、LN、CIV 水平。分析肝病各组与正常对照组的差异和各组间的水平变化。**结果:**肝病各组血清中 HA、PⅢNP、LN、CIV 含量与正常对照组比较均有升高,差异有统计学意义($P<0.01$);且随病情发展而逐渐升高,以 HA 升高最为明显。**结论:**通过对肝炎病患者和肝硬化患者血清中 HA、PⅢNP、LN 及 CIV 水平进行监测,可以观察病患者的肝纤维化及纤维化程度,并将此作为病人治疗后疗效观察的指标之一。

【关键词】肝纤维化;慢性肝炎;透明质酸;Ⅲ型前胶原氨基端肽;层黏蛋白;Ⅳ型胶原

【中国图书分类法分类号】R575.2

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-11-13

作者简介:杜 伟,Email:1360778347@qq.com,

研究方向:免疫学及分子生物学。

通信作者:单幼兰,Email:228770220@qq.com。

情严重程度及预后可能有较大的临床应用价值,值得进一步深入研究。

参 考 文 献

- [1] Bruno C M, Sciacca C, Cilio D, et al. Circulating adhesion molecules in patients with virus-related chronic diseases of the liver[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(29): 4566-4569.
- [2] Ohnishi A, Miyake Y, Matsushita H, et al. Serum levels of soluble adhesion molecules as prognostic factors for acute liver failure[J]. Digestion, 2012, 86(2): 122-128.
- [3] Fotis L, Giannakopoulos D, Stamogiannou L, et al. Intercellular cell adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 in children. do they play a role in the progression of atherosclerosis[J]. Hormones (Athens), 2012, 11(2): 140-146.
- [4] Douds A C, Lim A G, Jazrawi R P, et al. Serum intercellular adhesion molecule-1 in alcoholic liver disease and its relationship with histological disease severity[J]. J Hepatol, 1997, 26(2): 280-286.
- [5] Helaly G F, Abou Shamaa L A. Influence of hepatitis C virus infection on circulating levels of sICAM-1 and VEGF in patients with hepatitis C and hepatocellular carcinoma(HCC) and their role in enhancing detection of HCC[J]. Egypt J Immunol, 2006, 13(1): 27-38.
- [6] Sawires H K, Mohamed W A, Schaalan M F. High-flux and low-flux

dialysis membranes and levels of intercellular adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 in children with chronic kidney failure[J]. Iran J Kidney Dis, 2012, 6(5): 366-372.

[7] 武寿荣. 肝硬化患者血清细胞间黏附分子-1 和肿瘤坏死因子- α 检测的临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(4): 489-490.

Wu S R. Clinical significances of serum ICAM-1 and TNF- α in patients with cirrhosis[J]. Int J Lab Med, 2012, 33(4): 489-490.

[8] Aslanidis S, Vassiliadis T, Pyrpasopoulou A, et al. Inhibition of TNF alpha does not induce viral reactivation in patients with chronic hepatitis C infection; two cases[J]. Clin Rheumatol, 2007, 26(2): 261-264.

[9] Nie Z, Fryer A D, Jacoby D B. β 2-Agonists inhibit TNF- α -induced ICAM-1 expression in human airway parasympathetic neurons[J]. PLoS One, 2012, 7(9): e44780.

[10] Melotti P, Nicolis E, Tamanini A, et al. Activation of NF- κ B mediates ICAM-1 induction in respiratory cells exposed to an adenovirus-derived vector[J]. Gene Ther, 2001, 8(18): 1436-1442.

[11] Mirza A, Liu S L, Frizell E, et al. A role for tissue transglutaminase in hepatic injury and fibrogenesis, and its regulation by NF- κ B[J]. Am J Physiol, 1997, 272(2 Pt 1): G281-288.

[12] Yoshizaki A, Yanaba K, Iwata Y, et al. Cell adhesion molecules regulate fibrotic process via Th1/Th2/Th17 cell balance in a bleomycin-induced scleroderma model[J]. J Immunol, 2010, 185(4): 2502-2515.

(责任编辑: 关蕊良)