

肝损伤患者血清肝活素水平测定的临床意义

安 然 张 超 李方跃 张慧平

摘要 目的 探究肝活素(HPS)在阻塞性黄疸所致肝损伤的诊断以及慢性肝病肝功能评估中的作用。方法 ELISA法检测60例阻塞性黄疸患者、68例慢性肝病患者及30例健康体检者血清HPS水平。分析肝损伤患者与正常人血清HPS水平有无差异;对阻塞性黄疸患者血清HPS和丙氨酸氨基转移酶(ALT)进行相关性分析;绘制受试者工作特征曲线,观察HPS对阻塞性黄疸所致肝损伤的诊断价值;分析慢性肝病患者HPS与Child-Pugh分级(CPC)以及肝衰竭之间的关系。结果 阻塞性黄疸和慢性肝病患者血清HPS水平均显著高于对照组($P < 0.01$)。阻塞性黄疸患者血清中HPS与ALT呈正相关性($r_s = 0.914, P < 0.01$);HPS在阻塞性黄疸肝损伤诊断中的曲线下面积达到0.938,最佳节点是141.87 $\mu\text{g/L}$;慢性肝病中非衰竭者Child A、Child B、Child C与慢加急性肝衰竭、慢性肝衰竭5组之间两两比较,非肝衰竭组中,随着CPC升高,HPS水平也逐渐升高($P < 0.05$),两组肝衰竭血清HPS水平均高于非衰竭各组($P < 0.05$),两组肝衰竭之间HPS水平差异无统计学意义。结论 血清HPS水平测定能够对阻塞性黄疸患者有无肝损伤作出诊断,也能够辅助CPC评估慢性肝病患者的肝功能。

关键词 肝活素;肝损伤;黄疸;阻塞性;慢性肝病;肝衰竭

中图分类号 R 657.3

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)07-1021-04

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.07.017

阻塞性黄疸患者肝损伤状态下进行手术可能会导致术后肝功能恶化甚至急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)的发生。未经肝移植治疗的ALF患者死亡率高达80%^[1]。在慢性肝病的基础上可以发生慢加急性肝衰竭(acute-on-chronic liver failure, ACLF)以及慢性肝衰竭(chronic liver failure, CLF)。Moreau et al^[2]统计的28 d死亡率中,已达、濒临和无ACLF者分别为33.9%、29.7%和1.9%。CLF患者Child-Pugh分级(Child-Pugh classification, CPC)

>9.5分和<9.5分者病死率分别为72.18%和13.68%^[3]。因此,准确评估肝损伤程度对阻塞性黄疸患者手术时机的选择以及慢性肝病的治疗均有重要的指导意义。

肝活素(hepassocin, HPS)是一种促肝细胞增殖活性因子,且具有高度的组织特异性,其在成人肝中高表达,次表达于胎肝,胰腺中有微弱表达,其它组织均不表达^[4]。已有实验^[5]证实大鼠肝损伤后血清HPS水平迅速上调以修复肝脏。人鼠HPS的同源性为81.4%^[4]。该研究使用ELISA法测得阻塞性黄疸以及慢性肝病患者的血清HPS水平,旨在探究HPS在诊断阻塞性黄疸所致肝损伤中的价值及其与慢性肝病患者的肝功能和肝衰竭之间的关系。

1 材料与方法

1.1 病例资料 收集安徽医科大学附属第一医院2016年1月~10月肝胆外科阻塞性黄疸患者(阻塞性黄疸组)60例;2015年6月~2016年9月感染科慢性肝病患者的慢性肝病组68例,其中未发生肝衰竭者按照CPC分组,Child A组13例、Child B组21例、Child C组10例,肝衰竭患者按照衰竭类型分组,CLF组13例,ACLF组11例;健康体检者30例(对照组)。纳入标准:①阻塞性黄疸患者根据对应的病史、临床表现、辅助检查选择确诊的患者;②合并肝损伤诊断依据:以丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT) \geq 正常值两倍以上(1%肝细胞损伤可致ALT成倍升高,临床常以ALT ≥ 80 IU/L作为肝损伤的标准)^[6];③慢性肝病中肝硬化患者根据2000年西安中华医学会传染病与寄生虫分会肝病学会联合修订的肝硬化诊断标准进行选择,肝衰竭按照2012年中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组以及肝病学会重型肝病与人工肝学组修订的肝衰竭诊治指南选择CLF患者以及ACLF患者。排除标准:①阻塞性黄疸合并胆管炎;②阻塞性黄疸合并胆汁性肝硬化;③阻塞性黄疸合并其它导致肝损伤的疾病如自身免疫性、药物性、酒精性或其它肝炎病毒导致的肝病、肝脏良恶性肿瘤等;④慢性肝病合并急性肝损伤、肝脏良恶性肿瘤等。阻

2017-03-09 接收

基金项目:安徽省高校省级自然科学基金项目(编号:KJ2014A1117)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院肝胆胰外科一病区,合肥230022

作者简介:安 然,男,硕士研究生;

张 超,男,副教授,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail: smallcloud2@hotmail.com

塞性黄疸组男 30 例,女 30 例,年龄 24~75 (54.23±11.34) 岁;慢性肝病组包括慢性病毒性肝炎、自身免疫性肝病、酒精性肝病及相应的肝硬化,CLF 和 ACLF,其中男 36 例,女 32 例,年龄 22~79 (47.97±12.30) 岁;对照组男 16 例,女 14 例,年龄 24~78 (51.60±10.33) 岁。

1.2 试剂 HPS ELISA 试剂盒购自上海艾莱萨生物科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 标本采集 所有研究对象于次日清晨空腹条件下抽取静脉血 5 ml,室温静置 2 h,2 000 r/min 离心 20 min,取上层血清置于 EP 管中,于-80 °C 冰箱保存。

1.3.2 HPS、ALT、血清白蛋白 (serum albumin, ALB)、总胆红素 (total bilirubin, Tbil) 及凝血酶原时间 (prothrombin time, PT) 检测 血清 HPS 水平测定采用 ELISA 法,并严格按照试剂盒中说明书操作,用酶标仪在 450 nm 波长下测定样本吸光度值,对超出标准曲线适用范围的样本稀释后重测,最后将吸光度值代入标准曲线的直线回归方程式 (稀释的结果乘稀释倍数),得出各样本血清 HPS 值;ALT、ALB、Tbil 及 PT 由本院检验科检测。

1.4 观察指标 ① 比较阻塞性黄疸组、慢性肝病组与对照组之间 HPS 水平;② 阻塞性黄疸患者血清 HPS 与 ALT 之间的相关性及相关程度;③ 绘制阻塞性黄疸患者 HPS 的受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线,观察曲线下面积 (area under curve, AUC) 并找出最佳节点;④ 比较非肝衰竭患者 Child A、Child B、Child C 和 ACLF 以及 CLF 之间 HPS 水平。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件进行分析,符合正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 *t* 检验或 ANOVA;偏态分布资料的相关性用 Spearman 秩相关系数 r_s 描述;绘制 ROC 曲线,评估 HPS 在阻塞性黄疸肝损伤中的诊断价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HPS 在阻塞性黄疸组、慢性肝病组及对照组血清中的水平 采用 ELISA 法测定 60 例阻塞性黄疸、68 例慢性肝病以及 30 例健康体检者血清中 HPS 水平。实验结果显示平均血清 HPS 水平:健康体检者为 (48.88±22.67) $\mu\text{g/L}$,阻塞性黄疸患者为 (212.17±160.83) $\mu\text{g/L}$,慢性肝病患者为 (221.73±107.83)

$\mu\text{g/L}$,两类患者血清 HPS 水平分别与对照组比较,均差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

2.2 阻塞性黄疸者血清 HPS 与 ALT 之间的相关性 以血清中 HPS 浓度水平和对应的 ALT 值作出 HPS 和 ALT 的散点图 (图 1)。如图所示,各点散布在一条较窄的带内,说明 HPS 和 ALT 可能存在较好的正相关性。进一步分析两者相关性,经 Spearman 相关分析,提示 HPS 与 ALT 之间呈正相关性 ($r_s = 0.914 P < 0.01$)。

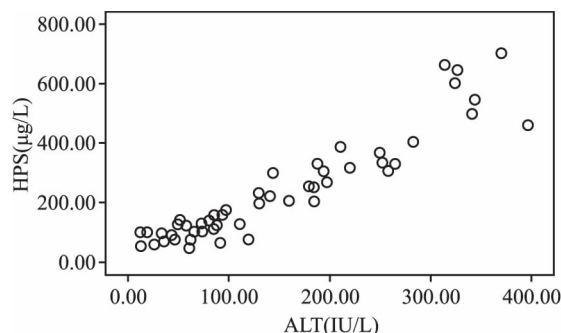


图 1 HPS 和 ALT 的散点图

2.3 HPS 在阻塞性黄疸患者肝损伤中的诊断价值

血清 HPS 水平测定在阻塞性黄疸患者肝损伤中的诊断价值如 ROC 曲线 (图 2) 所示,其中 AUC 达到 0.938,最佳节点为 141.87 $\mu\text{g/L}$,敏感度和特异度分别为 0.825 和 1.000,约登指数为 0.825,95% CI:0.876~0.999。结果提示血清 HPS 水平测定对阻塞性黄疸所致肝损伤有较高准确性。

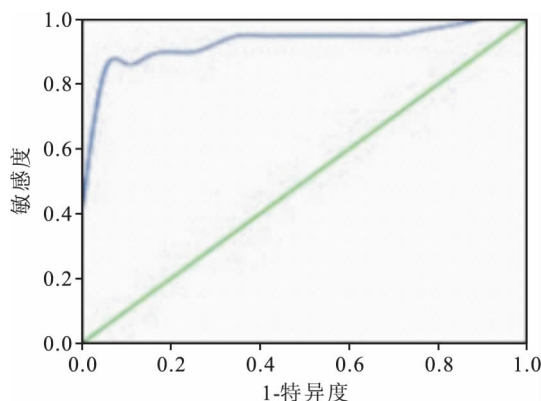


图 2 HPS 在阻塞性黄疸所致肝损伤诊断中的 ROC 曲线

2.4 各组慢性肝病患者血清 HPS 水平 ELISA 法测定慢性肝病各组的血清 HPS 水平,结果见表 1。各组 HPS 之间两两比较,采用 Dunnett's *T*3 检验。结果显示 ACLF 组和 CLF 组 HPS 水平差异无统计

学意义,其余组间两两比较均差异有统计学意义($P < 0.05$),且非肝衰竭患者随着CPC升高,HPS水平呈现升高趋势($P < 0.05$);ACLF组和CLF组血清HPS水平均高于非衰竭的各组($P < 0.05$)。

表1 各组慢性肝病患者血清HPS水平($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	HPS($\mu\text{g/L}$)
Child A	13	112.88 \pm 33.58
Child B	21	159.85 \pm 39.26*
Child C	10	221.84 \pm 45.38*#
ACLF	11	371.63 \pm 103.26*# Δ
CLF	13	303.64 \pm 58.23*# Δ
<i>F</i> 值		42.615
<i>P</i> 值		<0.01

与Child A组比较:* $P < 0.05$;与Child B组比较:# $P < 0.05$;与Child C组比较: $\Delta P < 0.05$

3 讨论

阻塞性黄疸作为一种临床常见的症状,由于肝内胆红素积累、线粒体功能障碍、大量氧自由基产生以及各种细胞因子生成,从而诱发肝细胞凋亡^[7]。在肝脏受损状态下进行手术,术后肝功能恶化的可能性更大。研究^[8]表明,黄疸患者行肝切除术后有较高的并发症发生率和死亡率,尤其是未来残余肝<30%的患者,术后更易发生肝脏不良事件,甚至ALF。因此,术前准确判断阻塞性黄疸患者肝脏有无损伤及其严重程度对手术时机的选择有重要意义。

急性肝损伤肝细胞死亡的速度与程度超过再生时,就会出现ALF。ALF可以导致多种并发症,如肝性脑病、凝血功能障碍、其它脏器功能障碍等,且患者死亡率随着同时出现的并发症数量的增加而增加^[9]。肝硬化住院患者中约30%会进展为ACLF,尤其是年轻的肝硬化患者^[10]。ACLF者28d死亡率约为33.9%,且同时存在的衰竭器官数量越多,死亡率也就越高^[2]。我国CLF与乙型肝炎高度相关,约90%的CLF患者感染过乙型肝炎病毒,现有的约2000万慢性乙肝患者,每年其中0.1%~0.3%转为CLF,病死率约50%~60%^[11]。

目前常用的评价肝脏受损情况的方法分为侵入性操作和非侵入性操作。前者以肝脏穿刺活检为代表;后者包括影像学检查以及血清生化指标中的TBIL、ALT、AST、ALB,其它血液指标如PT、IV型胶原蛋白等^[12]。但上述血液指标都受到多种肝外因素影响,特异性较差。HPS作为一种特异的促肝细

胞增殖因子,在肝损伤时其表达调控由白介素-6和肝特异性转录因子-1 α 共同参与完成,并通过自分泌的形式促进肝实质细胞增殖,对非肝来源的细胞和肝癌细胞则无相应活性^[13]。

本研究首次将血清HPS水平测定用于临床患者肝损伤的诊断以及慢性肝病肝功能的评估。根据研究结果,阻塞性黄疸患者以及慢性肝病患者血清中HPS水平显著高于健康体检者,与相关文献^[14]报道一致,说明HPS作为一种特异性促肝细胞增殖因子,在肝脏受损时合成分泌增加。HPS在阻塞性黄疸肝损伤诊断中,AUC为0.938,具有较高的准确性;血清中HPS与ALT呈正相关性,且 r_s 达到0.914,因此推测血清HPS水平测定能够用于阻塞性黄疸所致肝损伤的诊断,并且能够在较大程度上反映损伤的严重程度。慢性肝病患者非衰竭组中随着CPC升高,HPS呈现升高趋势;两类肝衰竭组HPS水平均高于非衰竭各组,提示血清HPS水平与慢性肝病的严重程度存在关联。

本研究揭示了血清HPS水平测定在阻塞性黄疸肝损伤诊断中的价值,以及在慢性肝病肝功能评估中的作用。但未对HPS在何种水平下术后肝脏不良事件以及ALF的发生率较低进行研究;慢性肝病中各种类型均有涉及,但HPS在单一类型的慢性肝病发生发展以及转归中的作用未能在本实验中得到体现,更完善的结果需要未来大病例、多中心的临床研究来验证。

综上所述,HPS作为一种特异性的促肝细胞增殖因子,在阻塞性黄疸所致肝损伤诊断中有较高价值,也能够反映损伤的严重程度;与慢性肝病肝功能受损程度以及是否发生肝衰竭也存在密切的关系,配合CPC有望对肝功能作出更为准确的评估,了解有无恶化趋势,预知肝衰竭的发生,同时配合肝衰竭诊断标准,早期诊断及时治疗,对降低肝衰竭患者并发症发生率和死亡率有重要的临床意义。

参考文献

- [1] Akamatsu N, Sugawara Y, Kokudo N. Acute liver failure and liver transplantation[J]. Intractable Rare Dis Res, 2013, 2(3): 77-87.
- [2] Moreau R, Jalan R, Gines P, et al. Acute-on-chronic liver failure is a distinct syndrome that develops in patients with acute decompensation of cirrhosis[J]. Gastroenterology, 2013, 144(7): 1426-37.
- [3] 高艳颖,韩涛,阚志超.慢性肝衰竭患者预后的影响因素[J].世界华人消化杂志,2008,16(29): 3343-6.

- [4] Hara H, Yoshimura H, Uchida S, et al. Molecular cloning and functional expression analysis of a cDNA for human hepassocin, a liver-specific protein with hepatocyte mitogenic activity [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2001, 1520(1): 45-53.
- [5] Li C Y, Cao C Z, Xu W X, et al. Recombinant human hepassocin stimulates proliferation of hepatocytes *in vivo* and improves survival in rats with fulminant hepatic failure [J]. *Gut*, 2010, 59(6): 817-26.
- [6] 朱生东, 杨红平, 晁 荣, 等. 儿童传染性单核细胞增多症并发肝损害相关因素分析 [J]. *中国妇幼健康研究*, 2015, 26(2): 274-6.
- [7] 李达民. 阻塞性黄疸致肝细胞凋亡的研究进展 [J]. *中国普通外科杂志*, 2014, 23(7): 967-71.
- [8] Kennedy T J, Yopp A, Qin Y, et al. Role of preoperative biliary drainage of liver remnant prior to extended liver resection for hilar cholangiocarcinoma [J]. *HPB (Oxford)*, 2009, 11(5): 445-51.
- [9] 张 野, 聂青和. 1 892 例肝衰竭患者并发症及死亡原因分析 [J]. *实用肝脏病杂志*, 2014, 17(2): 129-32.
- [10] Jalan R, Saliba F, Pavesi M, et al. Development and validation of a prognostic score to predict mortality in patients with acute-on-chronic liver failure [J]. *J Hepatol*, 2014, 61(5): 1038-47.
- [11] Lu F M, Zhuang H. Management of hepatitis B in China [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2009, 122(1): 3-4.
- [12] Valva P, Rios D A, De Matteo E et al. Chronic hepatitis C virus infection: serum biomarkers in predicting liver damage [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(4): 1367-81.
- [13] Yu H T, Yu M, Li C Y, et al. Specific expression and regulation of hepassocin in the liver and down-regulation of the correlation of HNF1alpha with decreased levels of hepassocin in human hepatocellular carcinoma [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(20): 13335-47.
- [14] 赵京超, 葛长辉, 于 淼, 等. 肝活素酶联免疫吸附分析方法的建立和应用 [J]. *标记免疫分析与临床*, 2015, 22(1): 59-62.

Determination of serum hepassocin levels in liver injury patients and its clinical significance

An Ran, Zhang Chao, Li Fangyue, et al

(Dept of Liver and Biliary Pancreatic Surgery, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To investigate the effect of hepassocin (HPS) in diagnosis of liver injury caused by obstructive jaundice and the assessment of liver function in chronic liver disease. **Methods** Serum levels of HPS in 60 obstructive jaundice patients, 68 chronic liver disease patients and 30 healthy controls were determined by ELISA assay. The difference of serum HPS levels between liver injury patients and healthy control group were analyzed. The correlation between HPS and alanine aminotransferase (ALT) in obstructive jaundice patients were analyzed. The diagnostic value of HPS to liver injury resulting from obstructive jaundice was described by receiver operating characteristic curve. The relations of HPS with Child-Pugh classification (CPC) and liver failure in chronic liver disease were analyzed. **Results** The serum HPS levels in obstructive jaundice and chronic liver disease patients were significantly higher than that in healthy control group ($P < 0.01$). Statistic analysis revealed a good positive correlation between HPS and ALT in obstructive jaundice patients ($r_s = 0.914, P < 0.01$). Area under curve of HPS achieves 0.938, the cut-off value of HPS as a diagnostic index of liver injury resulting from obstructive jaundice was 141.87 $\mu\text{g/L}$. Child A, B and C groups in chronic liver disease without liver failure along with acute-on-chronic liver failure and chronic liver failure groups were compared each two groups. Serum HPS levels gradually increased following the rise of CPC in patients without liver failure ($P < 0.05$). Serum HPS levels in both two liver failure groups were significantly higher than that in each group without liver failure ($P < 0.05$). Serum HPS levels between ACLF and CLF groups had no significant difference. **Conclusion** Serum HPS levels can be diagnosed with or without liver injury in patients with obstructive jaundice, and can also assist in the evaluation of liver function in patients with chronic liver disease combined with CPC.

Key words hepassocin; liver injury; jaundice; obstructive; chronic liver disease; liver failure