

· 临床研究 ·

血浆置换对重型肝炎患者血清 HGF、OSM、aFGF 的影响

夏红¹, 田小利², 杨帆³, 秦波^{2△}(1. 重庆市大足县人民医院肝病科 402360; 2. 重庆医科大学附属第一医院感染科 400016;
3. 安徽省芜湖市第二人民医院内科 241200)

摘要:目的 观察血浆置换对重型肝炎患者血清肝细胞生长因子(HGF)、抑瘤素 M(OSM)、酸性成纤维细胞生长因子(aFGF)的影响。方法 对 45 例重型肝炎患者根据是否进行血浆置换分为治疗组和对照组。对照组入院后给予内科综合治疗,治疗组在内科综合治疗的基础上于入院 1 周内开始接受血浆置换治疗。采用 ELISA 法检测两组治疗前后骨髓间充质干细胞(BMSCs)分化因子水平。结果 治疗组治疗后血清 OSM 为 (11.77 ± 6.01) ng/L, aFGF 为 (4.07 ± 1.67) ng/L, HGF 为 (1013.22 ± 730.68) ng/L, 其中 HGF 较治疗前升高($P=0.009$), OSM 及 aFGF 较治疗前差异无统计学意义($P>0.05$); 对照组 HGF、OSM 及 aFGF 治疗前后比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 血浆置换治疗可以提高慢性重型肝炎患者血清 HGF 水平, 同时不影响 OSM 及 aFG 水平。

关键词: 血浆置换; 肝细胞生长因子; 抑瘤素 M; 成纤维细胞生长因子 1; 重症肝炎

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.06.017

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)06-0561-03

Research on influence of plasma exchange to serum HGF, OSM and aFGF in severe hepatitis patients

Xia Hong¹, Tian Xiaoli², Yang Fan³, Qin Bo^{2△}(Department of Liver Diseases, Dazu County People's Hospital, Chongqing 402360, China; 2. Department of Infection, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China;
3. Department of Cardiology, Wuhu Second People's Hospital, Wuhu, Anhui 241200, China)

Abstract: Objective To observe the influence of plasma exchange(PE) to serum bone marrow stem cell differentiation factors including HGF, OSM and aFGF in the patients with severe hepatitis. Methods The patients were divided into two groups, the therapy group and the control group. All cases received the comprehensive therapy of internal medicine. Besides, the patients in the therapy group were given the artificial liver blood plasma metathesis technique at the first week. The levels of HGF, OSM and aFGF were examined by ELISA before and after therapy. Results In the therapy group, the levels of OSM, aFGF and HGF before treatment of PE were (15.28 ± 10.80) ng/L, (5.11 ± 3.27) ng/L and (821.63 ± 779.84) ng/L; which after treatment of PE were (11.77 ± 6.01) ng/L, (4.07 ± 1.67) ng/L and (1013.22 ± 730.68) ng/L, respectively. After treatment, the level of plasma HGF was significantly increased in the therapy group($P<0.05$). Whereas, no difference appeared to OSM and aFGF in the both two groups. Conclusion PE increases the level of HGF and has no effect on OSM and aFGF in the patients with severe hepatitis.

Key words: plasma exchange; hepatocyte growth factor; oncostatin M; fibroblast growth factor 1; severe hepatitis

在重症病毒性肝炎的发病机制中,病原菌的直接作用、机体的免疫应答、内毒素血症等均会造成肝细胞的破坏甚至坏死^[1]。Sell^[2]认为有 3 种细胞参与成体肝脏的更新与修复:(1)处于分化终点的成熟肝细胞;(2)肝内干细胞;(3)循环中的多能干细胞,这种干细胞虽然数量很少,却具有很强的自我复制能力,并且可以定向分化为肝前体细胞。在人和大鼠慢性肝损害的研究中已经证实,肝细胞的复制活性受到损害^[3-4]。近年来,国内外学者通过体内体外等多种途径均证实,骨髓干细胞可以转分化为有功能的肝脏干细胞^[5-7]。因此,有学者提出骨髓干细胞是肝脏再生的主要细胞来源^[8]。

重症肝炎内科治疗效果差,经过积极的内科保守治疗后,病死率仍然高达 60%~80%^[8]。近年来人工肝支持系统(artificial liver support system, ALSS)已广泛应用于临床,并取得了确切的疗效,但是其具体机制尚未完全明确。研究证实,人工肝治疗能够改善炎症细胞因子水平^[9],然而与骨髓干细胞转分化参与肝细胞再生相关的细胞因子却少见报道。本研究拟

通过检测血浆置换治疗(PE)前后上述骨髓间充质干细胞(BMSCs)分化因子水平,初步探讨 PE 治疗重型肝炎、促进肝脏再生的过程中是否存在 BMSCs 转分化机制的可能。

1 资料与方法

1.1 一般资料 所选病例均为重庆医科大学附属第一医院感染科住院患者,符合慢性重型肝炎诊断。入组患者均有血浆置换的适应证,且无禁忌证。对照组入院后给予内科综合治疗,治疗组在内科综合治疗的基础上于入院 1 周内开始接受血浆置换治疗。两组患者治疗前平均年龄、生化指标、腹水、肝性脑病、肝肾综合征以及出血等并发症发生率比较,差异均无统计学意义,两组之间具有可比性,见表 1、2。

1.2 方法

1.2.1 标本采集及制作 两组患者在入院 5 d 内采集治疗前样本,治疗组和对照组分别于人工肝治疗与内科治疗后及单独内科治疗 2 周后采集治疗后标本。采集标本后,待自然凝固,离心分离,收集分装血清,置于-70℃冰箱保存。

表 1 两组治疗前年龄及生化指标比较($\bar{x}\pm s$)

组别	年龄(岁)	PTA(%)	ALT(U/L)	AST(U/L)	TBil($\mu\text{mol/L}$)
治疗组($n=25$)	47.48 \pm 10.61*	30.97 \pm 7.34*	792.00 \pm 783.00*	563.55 \pm 505.76*	280.89 \pm 136.89*
对照组($n=20$)	44.50 \pm 14.52	35.50 \pm 8.62	770.60 \pm 610.84	655.05 \pm 525.97	230.59 \pm 64.27

*: $P>0.05$, 与对照组比较。

表 2 两组治疗前并发症发生率比较(n)

组别	腹水	肝性脑病	肝肾综合征	出血
治疗组($n=25$)	9	5	5	2
对照组($n=20$)	5	3	3	3

1.2.2 治疗 对照组采用内科综合治疗(保肝、降酶、退黄等);治疗组接受相同的内科综合治疗,同时于入院 1 周内开始接受血浆置换,血浆置换过程持续 1.5~2.0 h,每次置换新鲜血浆 2 000 mL。

1.2.3 指标检测 血清肝细胞生长因子(HGF)、抑瘤素 M(OSM)及酸性成纤维细胞生长因子(aFGF)检测在本科实验室完成,均采用 ELISA 法,试剂盒购自升博生物有限公司,严格按照说明书操作;生化指标均由重庆医科大学附属第一医院检验科检测。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件包进行统计处理。计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示;组间均数比较采用两独立样本 t 检验,组内治疗前后均数比较采用配对 t 检验;率的比较采用两独立样本 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 比较两组治疗后效果 血浆置换治疗过程中及结束后,患者未出现明显不良反应。两组患者中大多数一般情况、消化道症状及并发症均有明显好转,治疗组消化道症状改善更显著,均未出现死亡病例。两组治疗后生化指标均有显著改善。

2.2 两组干细胞分化因子水平比较 血浆置换组血清 HGF 水平由治疗前的(821.63 \pm 779.84)ng/L 升至(1 013.22 \pm 730.68)ng/L($P=0.009$),血清 OSM 及 aFGF 水平在治疗前、后比较差异无统计学意义($P>0.05$);对照组血清 HGF、OSM 及 aFGF 水平在治疗前、后比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3、4。

表 3 治疗组治疗前后细胞因子水平比较($\bar{x}\pm s, n=25, \text{ng/L}$)

细胞因子	治疗前	治疗后	P
OSM	15.28 \pm 10.80	11.77 \pm 6.01	0.112
aFGF	5.11 \pm 3.27	4.07 \pm 1.67	0.110
HGF	821.63 \pm 779.84	1 013.22 \pm 730.68	0.009

表 4 对照组治疗前后细胞因子水平比较($\bar{x}\pm s, n=20, \text{ng/L}$)

细胞因子	治疗前	治疗后	P
OSM	13.86 \pm 8.98	14.70 \pm 6.45	0.471
aFGF	4.92 \pm 1.72	5.37 \pm 1.61	0.386
HGF	754.40 \pm 528.24	795.17 \pm 463.34	0.191

3 讨 论

HGF 主要来源于肝脏 Kupffer 细胞和窦内皮细胞。HGF

通过与受体 c-met 结合,启动细胞内信号转导,促进肝脏干细胞及 BMSCs 向肝细胞分化,肝干细胞中的卵原细胞主要来源于 BMSCs^[10],故 HGF 在促进干细胞向肝细胞转分化及肝脏再生修复的过程中起重要作用。近年来诸多体外实验已经证实,肝脏相关干细胞能够被 HGF 诱导向肝细胞分化。肝脏严重受损后 HGF 合成会代偿性增加,但是肝脏微环境又抑制其生成。由于置换血浆中的外源性 HGF 在血循环中极不稳定,半衰期短,很快即被清除^[11]。因此基本可以排除 HGF 的增加是由于血浆置换进入体内的外源性 HGF 所致,同时还可以通过对其动态测定加以验证。

OSM 是由 T 淋巴细胞经诱导后产生的一种多功能细胞因子^[12],它与白血病抑制因子(LIF)、IL-6、IL-11、CNTF 等细胞因同属 IL-6 细胞因子家族。Nakamura 等^[13]研究显示,与野生型相比较,OSMR^{-/-}的缺陷小鼠暴露于 CCL4 后,显示出更持久的肝坏死,更弱的肝脏再生能力。Hamada 等^[14]通过对肝损伤大鼠进行 OSM 基因治疗后发现,OSM 不仅增加肝细胞的增殖,还能够抑制炎症细胞浸润减轻坏死。Znoyko 等^[15]通过调查不同肝病患者的肝脏中 OSM 及其受体表达水平后提出:急性肝损伤或者炎症发生时,活化的 Kuffer 细胞分泌的 OSM 作用于急性损伤时表达水平迅速上调的 II 类受体(gp130/OSMR β)。通过这条信号通路,OSM 通过抑制细胞凋亡,促进肝细胞增殖来促进肝脏再生修复^[13],并且可以增强细胞连接和肝脏的成熟^[16]。本研究发现,血浆置换治疗后,OSM 水平未见明显升高,可能与以下原因有关系:(1)OSM 是 IL-6 的下游产物^[13],血浆置换降低了血清中 IL-6 水平,OSM 水平随之变化;(2)OSM 是 TNF- α 的负性调节因子^[13],随着血浆置换对 TNF- α 的清除,故 OSM 不会显著增加。

aFGF 与细胞的作用通过与酸性成纤维细胞生长因子受体(FGFR)及肝索硫酸蛋白多糖(HSPG)的结合完成。首先,aFGF 与肝索结合,在 HSPG 的协助下,再与 FGFR 结合。FGFR、FGF、HSPG 形成明显的三重复合结构对促细胞有丝分裂起着重要的作用^[17]。Marsden 等^[18]研究表明:在新生动物肝脏发育的后期及成人肝脏再生过程中,aFGF 的表达量最高。因此,aFGF 可能在肝损害后肝脏的再生修复中发挥重要的作用。本研究发现,血浆置换治疗后,aFGF 水平未见明显升高,可能是由于 aFGF 没有常规的分泌信号肽序列,使得很多合成它们的细胞存在较低的释放水平,因此血浆中 aFGF 水平可能不能够完全反应体内的真实水平。

综上所述,假设 HGF 诱导 BMSCs 分化为表达肝脏细胞相关特性的前体细胞,有利于其向肝脏归巢。急性肝损伤或者炎症时,肝脏中高表达的 OSM 促进这类前体细胞成熟和肝脏功能恢复。

参考文献:

- [1] 王麟士. 重型病毒性肝炎的发病机制与治疗概况[J]. 临床荟萃, 2006, 21(6): 455-456.
- [2] Sell S. Heterogeneity and plasticity of hepatocyte lineage

- cells[J]. *Hepatology*, 2001, 33(3):738-750.
- [3] Paradis V, Youssef N, Dargère D, et al. Replicative senescence in normal liver, chronic hepatitis C, and hepatocellular carcinomas[J]. *Hum Pathol*, 2001, 32(3):327-332.
- [4] Falkowski O, An HJ, Janus IA, et al. Regeneration of hepatocyte buds in cirrhosis from intrabiliary stem cells[J]. *J Hepatol*, 2003, 39(3):357-364.
- [5] Theise ND, Badve S, Saxena R, et al. Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after radiation-induced myeloablation[J]. *Hepatology*, 2000, 31(1):235-240.
- [6] Alison MR, Poulson R, Jeffery R, et al. Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells[J]. *Nature*, 2000, 406(6793):257.
- [7] Oh SH, Miyazaki M, Kouchi H, et al. Hepatocyte growth factor induces differentiation of adult rat bone marrow cells into a hepatocyte lineage in vitro[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 279(2):500-504.
- [8] Bathgate AJ, Garden OJ, Forsythe JR, et al. The outcome of the first 165 orthotopic liver transplants in Scotland[J]. *Scott Med J*, 1999, 44(1):9-10.
- [9] 朱纯超, 邱伟华, 杨卫平. 人工肝治疗前后细胞因子的变化及其意义[J]. *外科理论与实践*, 2008, 13(4):380-382.
- [10] Oh SH, Hatch HM, Petersen BE. Hepatic oval 'stem' cell in liver regeneration[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2002, 13(6):405-409.
- [11] Liu ML, Mars WM, Zarnegar R, et al. Uptake and distribution of hepatocyte growth factor in normal and regenerating adult rat liver[J]. *Am J Pathol*, 1994, 144(1):129-140.
- [12] Tanaka M, Miyajima A, Oncostatin M, a multi functional cytokine [J]. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 2003(149):39-52.
- [13] Nakamura K, Nonaka H, Saito H, et al. Hepatocyte Proliferation and Tissue Remodeling Is Impaired After Liver Injury in Oncostatin M Receptor Knockout Mice [J]. *Hepatology*, 2004, 39(3):635-644.
- [14] Hamada T, Sato A, Hirano T, et al. Oncostatin M gene therapy attenuates liver damage induced by dimethylnitrosamine in rats [J]. *Am J Pathol*, 2007, 171(3):872-881.
- [15] Znoyko I, Sohara N, Spicer SS, et al. Expression of oncostatin M and its receptors in normal and cirrhotic human liver[J]. *J Hepatol*, 2005, 43(5):893-900.
- [16] Matsui T, Kinoshita T, Morikawa Y, et al. K-Ras mediates cytokine induced formation of E-cadherin-based adherens junctions during liver development[J]. *Eur Mol Biol Org J*, 2002, 21(5):1021-1030.
- [17] Wu ZL, Zhang L, Yabe T, et al. The involvement of heparan sulfate (HS) in FGF1/HS/FGFR1 signaling complex [J]. *Biol Chem*, 2003, 278(19):17121-17129.
- [18] Marsden ER, Hu Z, Fujio K, et al. Expression of acidic fibroblast growth factor in regenerating liver and during hepatic differentiation[J]. *Lab Invest*, 1992, 67(4):427-433.

(收稿日期:2011-09-28 修回日期:2011-12-02)

(上接第 560 页)

疗并发有 NRDS 的早产儿疗效确切,相对于首剂使用 100 mg/kg 固尔苏的患儿,能明显减少再次用药的比例,缩短住院治疗时间,在减少 NRDS 患儿病死率的同时为患儿家属节省治疗费用,因此值得临床进一步推广应用。

参考文献:

- [1] 张志华. 新生儿呼吸窘迫综合征的临床特点与高危因素[J]. *临床医学*, 2011, 2:453-454.
- [2] 吴勇. 肺表面活性物质与新生儿呼吸窘迫征[J]. *泸州医学院学报*, 2011, 34(1):106-108.
- [3] 杨永胜, 关键. 肺表面活性物质相关蛋白与呼吸系统疾病[J]. *临床肺科杂志*, 2011, 16(3):413-415.
- [4] 金汉珍, 黄德珉, 官希吉, 等. 实用新生儿学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2003:395-400.
- [5] 刘博, 韩万凤, 黄晓戈. 肺表面活性物质预防新生儿呼吸窘迫综合征临床分析[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2010, 18(12):99-104.
- [6] Subramaniam P, Henderson-Smart DJ, Davis PG. Prophylactic nasal continuous positive airways pressure for preventing morbidity and mortality in very preterm infants [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2005, (3):CD001243.
- [7] 陈洁, 王敏, 周光耀. 肺表面活性物质早期治疗新生儿呼吸窘迫综合征[J]. *药学与临床*, 2010, 13(6):866-868.
- [8] Bradbury J. Could treatment of neonatal RDS improve further[J]. *Lancet*, 2002, 360(9330):394-399.
- [9] Almlen A, Stichtenoth G, Linderholm B, et al. Surfactant proteins B and C are both necessary for alveolar stability at end expiration in premature rabbits with respiratory distress syndrome[J]. *Appl Physiol*, 2008, 104(4):1101-1108.
- [10] Hilgendorff A, Aslan E, Schaible T, et al. Surfactant replacement and open lung concept-Comparison of two treatment strategies in an experimental model of neonatal ARDS[J]. *BMC Pulm Med*, 2008, 14(8):10-21.
- [11] 陈超. 肺表面活性物质在新生儿肺部疾病中的应用进展[J]. *中国实用儿科杂志*, 2003, 18(11):652-653.
- [12] 杨树杰, 易海英, 徐舒, 等. 肺表面活性物质救治早产儿肺透明膜病 108 例并发症分析[J]. *中国现代医生*, 2009, 47(36):157-158.

(收稿日期:2011-05-26 修回日期:2011-11-28)