

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.20.013

肝再生增强因子在 HBV 相关慢加急性肝功能衰竭中的水平变化及意义*

杨春¹, 陈文^{2△}, 邓存良², 毕义亮², 唐黎², 吴刚²

(泸州医学院附属医院:1. 消化内科;2. 感染科, 四川泸州 646000)

摘要:目的 研究肝再生增强因子(ALR)在 HBV 相关慢加急性肝功能衰竭(ACLF)中的水平变化及临床意义。方法 病例来源于该科门诊及住院的慢性乙型肝炎患者,包括 ACLF 组($n=214$)和慢性乙型肝炎轻度组($n=196$);对照组($n=200$)来源于输血科健康献血者。采用 ELISA 法检测各组对象血清 ALR 水平,分析 ACLF 组 ALR 水平与患者终末期肝病模型(MELD)评分关系。单因素非条件 Logistic 回归分析 ALR 水平与 ACLF 患者预后的相关性。结果 ACLF 组 ALR 水平明显高于慢性乙型肝炎轻度组和对照组($P<0.01$)。ACLF 患者 ALR 水平与 MELD 评分呈负相关($r^2=-0.249, F=13.955, P<0.01$)。ACLF 患者生存组 ALR 水平明显高于死亡组($P=0.004$)。单因素非条件 Logistic 回归分析表明 ALR 水平与 ACLF 患者 24 周预后相关,高水平 ALR 患者预后较好($P=0.012, OR=0.807$)。结论 HBV 相关 ACLF 患者 ALR 水平明显升高,有利于肝细胞再生,可以作为评价患者预后指标。

关键词:肝再生增强因子;乙型肝炎病毒;慢加急性肝功能衰竭;表达

中图分类号:R575.1

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)20-2579-03

The expression and clinical significance of augments of liver regeneration in patients with HBV related acute on chronic liver failure*

Yang Chun¹, Chen Wen^{2△}, Deng Cunliang², Bi Yiliang², Tang Li², Wu Gang²

(1. Department of Digestive Diseases; 2. Department of Infectious Diseases, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou, Sichuan, 646000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression and clinical significance of augments of liver regeneration(ALR) in patients with HBV related acute on chronic liver failure(ACLF). **Methods** The serum and clinical data of patients with ACLF(ACLF group, $n=214$), patients with mild chronic hepatitis B(mild chronic hepatitis B group, $n=196$) were collected from outpatient and inpatient in the hospital, and control group($n=200$) people were the blood transfusion healthy blood donors. The level of ALR was measured by ELISA method. The correlation between ALR and MELD score of patients with ACLF were analyzed by linear regression analysis. Unconditioned binary response logistic regression model was used to determine the correlation between ALR and mortality at 24 weeks of patients with ACLF. **Results** Serum ALR level was higher in ACLF group than in mild chronic hepatitis B group and control group($P<0.05$). There were negative correlations between the serum ALR level and MELD score of patients with ACLF($r^2=-0.249, F=13.955, P<0.01$). Serum ALR level of patients with ACLF was more significant in survival group than in dead group($P=0.004$). Logistic regression analysis identified that high serum ALR level was related to the good prognosis ($P=0.012, OR=0.807$). **Conclusion** The serum ALR level was significantly increased in patients with HBV related ACLF which played an important role in liver regeneration and improve the prognosis of patients.

Key words: augments of liver regeneration; hepatitis B virus; acute on chronic liver failure; expression

肝脏具有强大再生能力,肝再生增强因子(augments of liver regeneration, ALR)是近来发现的一种特殊的促肝细胞分裂原。大量的体外和动物模型研究表明 ALR 具有强大的促进肝细胞增殖功能^[1-3]。慢加急性肝功能衰竭(acute-on-chronic liver failure, ACLF)是慢性乙型肝炎患者最为常见的严重终末期类型,肝细胞大量变性坏死及凋亡是其基本病理改变。对发生 ACLF 时 ALR 水平变化及其临床意义研究较少,作者在大样本 ACLF 患者中观察了 ALR 的水平并分析其临床意义,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2011 年 4 月至 2013 年 3 月本科住院 ACLF 患者 214 例(ACLF 组),其中男 141 例,女 73 例;年龄 21~56 岁,平均 41.47 岁。均符合肝功能衰竭诊治指南(2012

年版)中 ACLF 诊断标准的慢性 HBV 感染患者^[4]。慢性乙型肝炎轻度组 196 例来源于同期本科门诊及住院患者,其中男 139 例,女 57 例;年龄 17~58 岁,平均 39.68 岁。诊断符合 2010 年版慢性乙型肝炎防治指南标准^[5]。对照组 200 例标本来源于输血科健康献血者,其中男 137 例,女 63 例;年龄 22~54 岁,平均 42.35 岁。排除因乙醇、药物、中毒及自身免疫等其他原因所致肝脏损伤;合并 HAV、HCV 和 HIV 感染;妊娠晚期;肝癌或者其他恶性肿瘤肝转移者。所有患者均给予内科综合治疗,HBV DNA 定量阳性者给予核苷类似物抗病毒治疗,部分 ACLF 患者在综合治疗基础上加用人工肝血浆置换加血浆灌流治疗。

1.2 方法 以 ACLF 及慢性乙型肝炎轻度诊断时间为基线,患者空腹抽取外周静脉血 5 mL EDTA 抗凝,2 000 r/min 离心

* 基金项目:泸州市科技局基金资助项目[(2013-S-48(1/30))].
△ 通讯作者, E-mail: y400123321@163.com.

作者简介:杨春(1977-),主治医师,硕士,主要从事病毒性肝炎的治疗研究。

15 min, 分离血清及血细胞, 于 -80°C 保存待检。收集基线时患者肝肾功能及 HBV DNA 水平、血常规、凝血全套等临床指标。计算基线时患者终末期肝病模型 (MELD) 评分: $\text{MELD 分值} = 3.8 \times \ln[\text{胆红素}(\text{mg/dL})] + 11.2 \times \ln(\text{INR}) + 9.6 \times \ln[\text{肌酐}(\text{mg/dL})] + 6.4 \times (\text{病因: 胆汁淤积性或酒精性为 0, 其他为 1})$ 。所有未死亡出院 ACLF 患者门诊或者电话随访 24 周, 病情好转或稳定至 24 周的患者视为存活, 病情恶化濒临死亡、死亡者及失访患者均视为死亡。

1.3 血清 ALR 水平检测 采用 ELISA 法检测, ELISA 检测试剂盒购自美国 BP 公司, 严格按照试剂盒要求操作。为了避免保存时间过长导致检测结果不准确, ACLF 组及慢性乙型肝炎轻度组每 6 个月检测一批, 对照组最后集中检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行数据分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 描述。两组间均数比较采用 t 检验, 多组间均数比较采用单因素方差分析, 计量资料间相关性分析采用直线回归分析, 单因素非条件 Logistic 回归分析 ALR 水平与预后的关系。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 ALR 水平比较 ACLF 组 ALR 水平 (2.13 ± 1.08) $\mu\text{g/L}$ 明显高于对照组 (0.93 ± 0.31) $\mu\text{g/L}$ 和慢性乙型肝炎轻度组 (1.12 ± 0.47) $\mu\text{g/L}$ ($P < 0.01$)。对照组和慢性乙型肝炎轻度组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 ACLF 组 ALR 水平与 MELD 评分相关性分析 直线相关分析表明, ALR 水平与 ACLF 患者 MELD 评分呈负相关 ($r^2 = -0.249, F = 13.955, P < 0.01$), 见图 1。

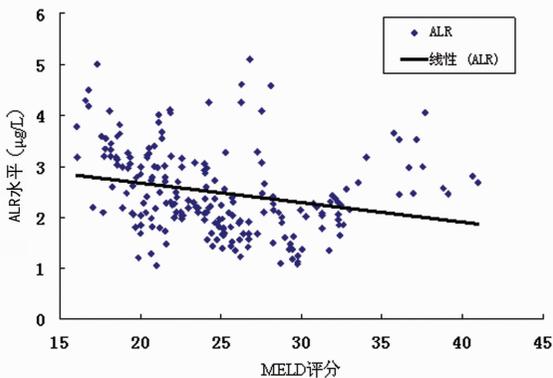


图 1 ACLF 患者 ALR 水平与 MELD 评分散点图

2.3 ACLF 组死亡与存活患者 ALR 水平比较 生存组 ALR 水平明显高于死亡组 ($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 生存与死亡 ACLF 患者 ALR 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	ALR 水平 ($\mu\text{g/L}$)	<i>t</i>	<i>P</i>
生存组	81	2.64 ± 1.25	2.86	0.004
死亡组	133	1.52 ± 0.68		

2.4 ALR 水平与 ACLF 患者预后关系 单因素非条件 Logistic 回归分析表明, ALR 水平与 ACLF 患者 24 周预后相关, 高水平 ALR 患者预后较好 ($OR = 0.807, P = 0.012$)。

3 讨论

ACLF 是指在慢性肝病的基础上, 短期内发生急性或亚急性肝功能失代偿的临床症候群^[4], 是慢性乙型肝炎患者最为常见的严重终末期类型, 其发病机制复杂且缺乏有效的内科治疗手段, 故预后不良, 病死率高^[6]。各种原因引起的肝细胞大量

变性坏死及凋亡是其基本病理改变, 在肝移植难以普及的情况下, 肝细胞能否及时有效地再生是肝功能衰竭患者能否存活的最重要因素^[7]。肝脏是机体具有强大再生能力的器官, ALR 是近来发现的一种特殊的促肝细胞分裂原。其表达于多种组织、细胞, 但在肝脏特异性表达于肝细胞^[8]。动物模型研究发现重组大鼠 ALR 可促进 1/3 肝切除模型大鼠肝细胞 DNA 合成^[1]; 减轻 CCL4 导致的肝脏损伤, 提高急性肝功能衰竭大鼠的存活率^[2]。在 CCL4 诱导的 ACLF 大鼠, ALR 水平明显升高, 且与 PCNA、HGF 水平成正比, 初期高水平 ALR 与较好的预后有关^[9]。

以上研究提示, 肝功能衰竭时 ALR 升高且对肝功能衰竭大鼠有保护作用, 但其在肝功能衰竭患者的表达及临床意义研究较少。Yu 等^[10]证实 ALR 在肝功能衰竭患者表达增高, 但其样本量仅为 18 例。本研究样本量较大, 各组间年龄及性别构成差异无统计学意义 ($P > 0.05$), ACLF 组与慢性乙型肝炎轻度组 HBV DNA 定量比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 排除了性别、年龄及 HBV 对 ALR 表达的影响。本研究发现, ALR 水平在 ACLF 组明显高于对照组和慢性乙型肝炎轻度组, 而在对照组和慢性乙型肝炎轻度组间 ALR 水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 此结果与 Yu 等^[10]观察结果一致。ALR 在 ACLF 时升高而在轻度肝脏炎症时改变不明显, 提示 ALR 增加是大量肝细胞坏死后的继发表现。升高的 ALR 可能通过以下机制介导肝细胞增殖: (1) 以自分泌或旁分泌方式通过刺激表皮生长因子 (EGF) 及细胞外信号调节激酶 1/2 (ERK1/2) 和丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶 (Akt/PKB) 受体酪氨酸磷酸化, 继而活化分裂原活化激酶而激活人肝细胞增殖^[11]; (2) 影响 NF- κ B、细胞色素 P-450、c-Myc 和多胺等合成而影响肝细胞增殖^[12-13]; (3) 促进刺激枯否氏细胞合成 TNF- α 、IL-6 和 NO, 抑制枯否氏细胞合成肝细胞增殖抑制因子^[14]。

本研究进一步分析表明, ALR 水平与 ACLF 患者 MELD 评分呈负相关。MELD 评分系统是美国于 2000 年应移植供体分配规则而建立的, 最初用于评估行经颈静脉肝内门体分流术后患者的生存率。其中包含了胆红素、凝血功能、肾功能等因素, 能够较好地反映肝脏坏死程度。多项研究表明, MELD 评分亦可用于 ACLF 的预后评估^[15-16]。比较发现 ACLF 患者生存组 ALR 水平明显高于死亡组, 单因素非条件 Logistic 回归分析表明低 ALR 水平为 ACLF 患者预后的危险因素, 提示 ACLF 发生后, 高水平 ALR 表达患者预后较好, 其原因可能与高水平 ALR 能够更好地刺激肝细胞再生, 有利于肝脏功能恢复有关, 但其具体机制尚待进一步明确。

参考文献:

- [1] Gandhi CR, Murase N, Starzl TE, et al. Cholera toxin-sensitive GTP-binding protein-coupled activation of augmentor of liver regeneration (ALR) receptor and its function in rat Kupffer cells [J]. *J Cell Physiol*, 2010, 222 (4): 365-373.
- [2] Song M, Yi X, Chen W, et al. Augmentor of liver regeneration (ALR) gene therapy attenuates CCL4-induced liver injury and fibrosis in rats [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 415 (1): 152-156.
- [3] Ilowski M, Kleespies A, De Toni EN, et al. Augmentor of liver regeneration (ALR) protects human hepatocytes against apoptosis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*,

- 2011,404(2):148-151.
- [4] 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组,中华医学会肝病学会分会重型肝炎与人工肝学组.肝衰竭诊治指南(2012年版)[J].中华临床感染病杂志,2012,5(6):321-327.
- [5] 中华医学会肝病学会,中华医学会感染病学分会.慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)[J].中华肝脏病杂志,2011,19(1):13-24.
- [6] Laleman W, Verbeke L, Meersseman P, et al. Acute-on-chronic liver failure; current concepts on definition, pathogenesis, clinical manifestations and potential therapeutic interventions[J]. *Expe Rev Gastroenterol Hepatol*, 2011, 5(4):523-537.
- [7] Hassanein TI, Schade RR, Hepburn IS. Acute-on-chronic liver failure; extracorporeal liver assist devices[J]. *Curr Opin Crit Care*, 2011, 17(2):195-203.
- [8] Gandhi CR. Augmenter of liver regeneration[J]. *Fibrogenesis Tissue Repair*, 2012, 5(1):5-10.
- [9] Hongbo S, Yu C, Ming K, et al. Augmenter of liver regeneration may be a candidate for prognosis of HBV related acute-on-chronic liver failure as a regenerative marker[J]. *Hepatogastroenterology*, 2012, 59(118):1933-1938.
- [10] Yu HY, Xiang DR, Huang HJ, et al. Expression level of augmenter of liver regeneration in patients with hepatic failure and hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2010, 9(5):492-498.
- [11] Ilowski M, Putz C, Weiss TS, et al. Augmenter of liver regeneration causes different kinetics of ERK1/2 and Akt/ PKB phosphorylation than EGF and induces hepatocyte proliferation in an EGF receptor independent and liver specific manner [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 394(10):915-920.
- [12] Thasler WE, Dayoub R, Mühlbauer M, et al. Repression of cytochrome P450 activity in human hepatocytes in vitro by a novel hepatotrophic factor, augmenter of liver regeneration[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 316(10):822-829.
- [13] Dayoub R, Thasler WE, Bosserhoff AK, et al. Regulation of polyamine synthesis in human hepatocytes by hepatotrophic factor augmenter of liver regeneration[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 345(2):181-187.
- [14] Gandhi CR, Murase N, Starzl TE, et al. Cholera toxin-sensitive GTP-binding protein-coupled activation of augmenter of liver regeneration (ALR) receptor and its function in rat Kupffer cells[J]. *J Cell Physiol*, 2010, 222(4):365-373.
- [15] 高国生, 朱海超. 终末期肝病模型(MELD)、MELD-Na及iMELD评分系统对乙型肝炎慢加急性肝衰竭患者短期预后的评价[J]. *中华内科杂志*, 2010, 49(12):1057-1059.
- [16] Sun QF, Ding JG, Xu DZ, et al. Prediction of the prognosis of patients with acute-on-chronic hepatitis B liver failure using the model for end-stage liver disease scoring system and a novel logistic regression model[J]. *J Viral Hepat*, 2009, 16(5):464-470.

(收稿日期:2014-03-14 修回日期:2014-04-24)

(上接第 2578 页)

- DC, et al. Rates of hospitalizations and emergency department visits in patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease taking beta-blockers[J]. *Pharmacotherapy*, 2007, 27(8):684-690.
- [6] Rutten FH, Zuithoff NP, Hak E, et al. Beta-blockers may reduce mortality and risk of exacerbations in patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Arch Int Med*, 2010, 170(10):880-887.
- [7] Mancini GB, Etminan M, Zhang B, et al. Reduction of morbidity and mortality by statins, angiotensin-converting enzyme inhibitors, and angiotensin receptor blockers in patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2006, 47(30):2554-2560.
- [8] Dickstein K, Vardas PE, Auricchio A, et al. 2012 Focused Update of ESC Guidelines on device therapy in heart failure: an updated of the 2008 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure and the 2007 ESC Guidelines for cardiac and resynchronization therapy. Developed with the special contribution of the Heart Failure Association and the European Heart Rhythm Association[J]. *Eur Heart J*, 2010, 31(30):2677-2687.
- [9] Lipworth BJ. Long-acting beta2-adrenoceptor agonists: a smart choice for asthma[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2007, 28(6):257-262.
- [10] 王娟, 曹洁, 陈宝元. β -受体阻滞剂能否应用于慢性阻塞性肺疾病及支气管哮喘患者[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2013, 36(4):314-315.
- [11] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013修订版)[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2013, 36(4):255-264.
- [12] Short PM, Lipworth SI, Elder DH, et al. Effect of beta blockers in treatment of chronic obstructive pulmonary disease: a retrospective cohort study[J]. *BMJ*, 2011, 20(3)342-344.
- [13] McCullough PA, Nowak RM, McCord J, et al. B-type natriuretic peptide and clinical judgment in emergency diagnosis of heart failure: analysis from Breathing Not Properly (BNP) Multinational Study[J]. *Circulation*, 2002, 106(4):416-422.
- [14] NT-proBNP 临床应用中国专家共识小组. NT-proBNP 临床应用中国专家共识[J]. *中国心血管病研究*, 2010, 9(6):401-408.
- [15] 钱文霞, 朱敏锋, 徐春明. 血浆 NT-proBNP 水平对重度及以上慢性阻塞性肺疾病患者肺功能的预测价值[J]. *苏州大学学报:医学版*, 2010, 30(6):1262-1264.

(收稿日期:2014-02-24 修回日期:2014-04-09)