

· 临床研究 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2024.01.020

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20231212.1722.008\(2023-12-13\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20231212.1722.008(2023-12-13))

慢性乙型肝炎患者肝组织中 ICAM-1、NF- κ B 表达与肝脏炎症活动度及纤维化程度的相关性分析*

李涛¹, 李日林², 谢宗恕², 杨秀珍³, 余东明³, 刘志娟³, 袁淑芳^{3△}

(1. 桂林医学院, 广西桂林 541004; 2. 广西医科大学, 南宁 530021;

3. 柳州市人民医院感染科, 广西柳州 545006)

[摘要] 目的 检测慢性乙型肝炎患者肝组织中细胞间黏附分子-1(ICAM-1)和核因子(NF)- κ B 表达, 分析其与肝脏炎症活动度和纤维化程度的关系。方法 选取 66 例慢性乙型肝炎患者和 10 例非肝病对照者的肝活检标本, 免疫组织化学和原位杂交法检测不同肝组织中 ICAM-1、NF- κ B 蛋白表达情况。结果 慢性乙型肝炎患者肝组织中 ICAM-1、NF- κ B 蛋白阳性表达率高于正常肝组织, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。慢性乙型肝炎患者肝组织中 ICAM-1、NF- κ B 蛋白表达与炎症活动度和纤维化程度呈正相关($r = 0.493, 0.496, P < 0.01; r = 0.580, 0.519, P < 0.01$)。结论 ICAM-1、NF- κ B 在慢性乙型肝炎患者中高表达, 其有助于判断肝脏炎症活动度和纤维化程度。

[关键词] 细胞间黏附分子-1; 核因子 κ B; 慢性乙型肝炎

[中图分类号] R512.62 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2024)01-0098-04

Correlation analysis of ICAM-1 and NF- κ B expression with hepatic inflammatory activity and degree of fibrosis in liver tissues of chronic hepatitis B patients*

LI Tao¹, LI Rilun², XIE Zongshu², YANG Xiuzhen³, SHE Dongming³, LIU Zhijuan³, YUAN Shufang^{3△}

(1. Guilin Medicine University, Guilin, Guangxi 541004, China; 2. Guangxi Medical University,

Nanling, Guangxi 530021, China; 3. Department of Infection, Liuzhou People's

Hospital, Liuzhou, Guangxi 545006, China)

[Abstract] **Objective** To detect the expressions of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and nuclear factor (NF)- κ B in hepatic tissues of the patients with chronic hepatitis B, and to analyze their correlation with the hepatic inflammatory activity and fibrosis degree. **Methods** The liver biopsy specimens from 66 patients with hepatitis B and 10 non-hepatopathic controls were selected, and immunohistochemistry and in situ hybridization were used to detect ICAM-1 and NF- κ B expression levels in different liver tissues. **Results** The positive rate of ICAM-1 and NF- κ B expression in liver tissues of the patients with chronic hepatitis B was higher than that in normal liver tissues, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The expression of ICAM-1 and NF- κ B in the patients with hepatitis B was positively correlated with the inflammatory activity and fibrosis degree ($r = 0.493, 0.496, P < 0.01; r = 0.580, 0.519, P < 0.01$). **Conclusion** ICAM-1 and NF- κ B in the patients with chronic hepatitis B are highly expressed, which is useful in judging the hepatic inflammatory activity and fibrosis degree.

[Key words] intercellular adhesion molecule-1; nuclear factor kappa-B; chronic hepatitis B

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是引起慢性乙型肝炎、肝功能衰竭、肝硬化和肝癌的主要病因^[1]。由于病毒变异、细胞分子、免疫功能障碍等多种因素的参与, 导致慢性乙型肝炎久治不愈^[2]。细胞间黏附分子-1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 是免疫球蛋白超家族的一员, 通过与相应配

体特异性结合而参与人体内免疫应答^[3]。核因子 κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 是一个普遍存在的核转录因子, 在免疫反应、炎症反应、细胞凋亡和肿瘤发生等多种生理、病理过程中发挥重要作用^[4]。研究显示 NF- κ B 是调控 ICAM-1 表达的主要信号转导通路, ICAM-1 可以通过调控病毒复制的过程影响病毒增

殖^[5]。本研究检测慢性乙型肝炎患者肝组织中 ICAM-1、NF- κ B 的表达,分析其与肝组织炎症活动度及肝纤维化的关系,以期为临床肝病诊治提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2019 年 10 月至 2021 年 10 月柳州市人民医院 66 例慢性乙型肝炎患者的肝活检标本,均符合《慢性乙型肝炎防治指南(2019)》制定的相关诊断标准^[6]。其中男 36 例,女 30 例,平均年龄(37.6±10.8)岁,轻度、中度、重度慢性肝炎及肝硬化患者分别为 22 例、15 例、14 例、15 例。选取 10 例非肝病死亡患者的正常肝组织作为对照,血清乙肝表面抗原(HBsAg)、丙型肝炎抗体(anti-HCV)、HBV 脱氧核糖核苷酸(HBV DNA)、HCV RNA 均为阴性。

1.2 方法

原位杂交法检测肝组织中 NF- κ B 蛋白表达,操作方法按照检测试剂盒说明书进行。免疫组织化学检测肝组织中 ICAM-1 蛋白表达:石蜡切片经常规脱蜡、水化,过氧化物酶封闭、孵育,加入 ICAM-1 抗体(工作浓度 1:100),加入用生物素标记的第二抗体和链霉菌过氧化物酶溶液,室温孵育,DAB 显色,苏木素复染,中性树脂胶封片^[7]。试剂采用小鼠抗人 ICAM-1 单克隆抗体(美国 Zymed 公司)和 NF- κ B 原位杂交试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司)。

1.3 结果判断

ICAM-1 蛋白阳性结果为细胞质和/或细胞膜内呈棕黄色颗粒,NF- κ B 蛋白阳性结果在细胞核或细胞质中可见棕黄色颗粒。抗原染色强度标准:无细胞染色为阴性(-),<10%肝细胞着色为弱阳性(+),10%~50%肝细胞着色为阳性(++),>50%肝细胞

着色为强阳性(+++)^[7]。

1.4 统计学处理

采用 SPSS16.0 软件进行统计学分析。计数资料以例数或百分比表示,比较采用 χ^2 检验。相关性采用 Spearman 相关分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ICAM-1 和 NF- κ B 蛋白在不同肝组织中的表达特征

慢性乙型肝炎患者肝组织 ICAM-1、NF- κ B 蛋白阳性表达率均高于正常肝组织($\chi^2 = 26.40, P < 0.01$; $\chi^2 = 24.29, P < 0.01$),见表 1、图 1。

2.2 ICAM-1、NF- κ B 蛋白表达与炎症活动度及纤维化程度的关系

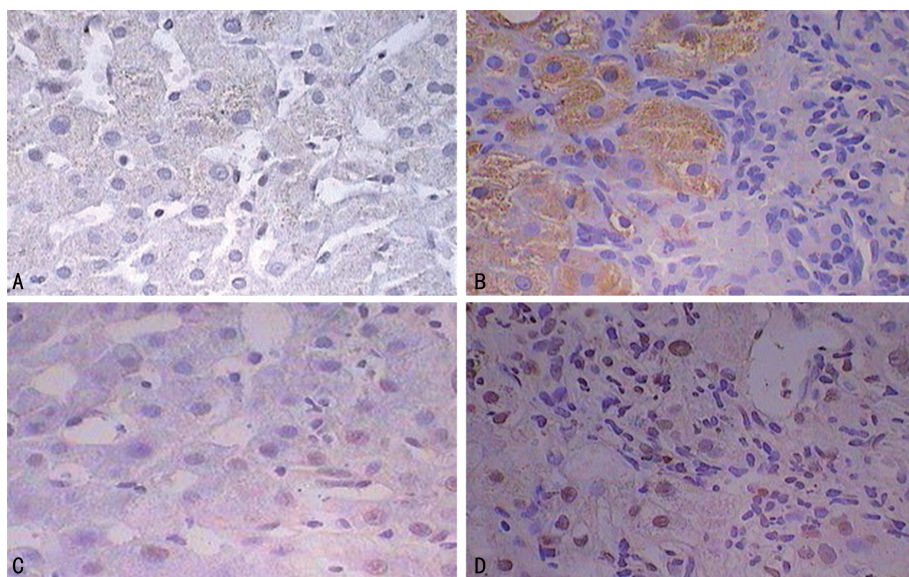
慢性乙型肝炎患者肝组织中 ICAM-1、NF- κ B 蛋白表达与肝脏炎症活动度和纤维化程度呈正相关($r = 0.493, 0.496, P < 0.01$; $r = 0.580, 0.519, P < 0.01$),见表 2、3。

2.3 ICAM-1 和 NF- κ B 蛋白表达的关系

慢性乙型肝炎患者肝组织中 ICAM-1 与 NF- κ B 蛋白表达呈正相关($r = 0.560, P < 0.01$),见表 4。

表 1 慢性乙型肝炎和正常肝组织中 ICAM-1、NF- κ B 蛋白表达比较[n(%)]

项目	n	ICAM-1 阳性	NF- κ B 阳性
正常肝组织	10	1(10.0)	1(10.0)
乙型肝炎肝组织			
轻度慢性肝炎	22	10(45.5)	7(31.8)
中度慢性肝炎	15	13(86.7)	11(73.3)
重度慢性肝炎	14	13(92.9)	14(100.0)
肝硬化	15	14(93.3)	15(100.0)



A: ICAM-1 蛋白在正常肝组织中的表达(400 \times); B: ICAM-1 蛋白在慢性乙型肝炎肝组织中的表达(400 \times); C: NF- κ B 蛋白在正常肝组织中的表达(400 \times); D: NF- κ B 蛋白在慢性乙型肝炎肝组织中的表达(400 \times)。

图 1 慢性乙型肝炎与正常肝组织中 ICAM-1、NF- κ B 蛋白表达比较

表 2 ICAM-1、NF- κ B 蛋白表达与炎症活动度的关系(n)

炎症活动度	n	ICAM-1				NF- κ B			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++
G ₁	43	16	9	13	5	19	8	10	6
G ₂	20	0	2	12	6	0	5	5	10
G ₃	3	0	0	1	2	0	0	1	2
合计	66	16	11	26	13	19	13	16	18

表 3 ICAM-1、NF- κ B 蛋白表达与纤维化程度的关系(n)

纤维化程度	n	ICAM-1				NF- κ B			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++
S ₀	39	15	9	14	1	17	10	8	4
S ₁	14	1	2	7	4	2	3	3	6
S ₂	4	0	0	2	2	0	0	1	3
S ₃	5	0	0	2	3	0	0	2	3
S ₄	4	0	0	1	3	0	0	2	2
合计	66	16	11	26	13	19	13	16	18

表 4 ICAM-1 与 NF- κ B 蛋白表达的关系(n)

ICAM-1	NF- κ B	
	阳性	阴性
阳性	41	9
阴性	6	10
合计	47	19

3 讨 论

目前病毒性肝炎的损伤机制还未明确^[8]。有研究证实,病毒性肝炎患者体内肝内浸润的主要细胞是 T 淋巴细胞,而不同种类的 T 细胞在肝内分布情况有所不同^[9]。当肝脏发生炎症时,肝细胞、胆管上皮细胞和活化的 T 淋巴细胞可产生大量的 ICAM-1,进而参与内皮细胞和肝窦内皮细胞的黏附,完成跨膜迁移、黏附并损伤肝细胞、促进机体内炎症反应等病理过程,因此慢性乙型肝炎肝硬化患者体内 ICAM-1 表达会急剧升高^[10-11]。王秀芳^[12]的研究也表明,ICAM-1 表达的高低在一定程度上是对免疫活性及相应的炎症过程的一种反映。一般情况下 ICAM-1 在正常肝细胞无相应表达或仅在肝窦内皮细胞、Kupffer 细胞有相应低表达,而当机体及肝组织发生炎症的情况下,ICAM-1 的表达明显升高,且随着肝细胞炎症程度的增加,ICAM-1 表达升高的也越明显。

国内外已有研究指出,NF- κ B 作为 NF- κ B 信号转导通路的关键环节,在病毒性肝炎的发生、发展过程中起重要作用,许多细胞因子对肝脏疾病的影响及许多药物治疗肝病的作用机制都是通过调节 NF- κ B 信号转导通路而实现^[13-15]。NF- κ B 是一种多源性转

录因子,参与调节肝脏炎症损伤、各种细胞的再生、凋亡和增殖^[16]。NF- κ B 的本质是由 5 个亚基组成的一种蛋白质,静息时以非活性的 NF- κ B-I κ B 复合体的形式存在于细胞质中,当细胞受到内毒素、病毒蛋白等细胞外信号刺激时,复合物又分解成活性的 NF- κ B 进入细胞核调节基因转录过程,以此参与体内的炎症反应、免疫反应等病理生理^[17]。人体内调控 ICAM-1 的因子很多,ICAM-1 基因的启动子含有 NF- κ B 等核转录因子结合的位点^[18]。有研究证实,蛋白酶抑制剂可以阻断 NF- κ B 的活性,抑制内皮细胞 ICAM-1 的表达,从而减轻炎症引起的肝损伤^[19]。而 SHI 等^[20]在研究上调 LINC01093 以预防酒精性肝炎后发现,在酒精性肝炎小鼠体内 LINC01093 和凋亡因子 Bcl-2 表达较正常小鼠降低,而 ICAM-1、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和 NF- κ B p65 的表达升高,说明长非编码 RNA 参与酒精性肝炎的发生、发展的主要机制就是酒精性肝炎者 LINC01093 表达降低导致对 ICAM-1 介导的 NF- κ B 信号转导通路的抑制作用减低,而上调 LINC01093 表达则可以预防酒精性肝炎。

本研究发现,ICAM-1、NF- κ B 阳性表达肝细胞集中分布的现象主要在炎症坏死区,而在汇管区周围、肝窦内皮和血管内皮更明显。本研究还显示,ICAM-1、NF- κ B 蛋白表达随着病情严重程度增加而升高,即升高程度与肝脏病变程度呈正比($P < 0.05$),与文献报道一致^[18-19],说明肝细胞内 ICAM-1、NF- κ B 表达参与慢性肝炎病理损伤过程,提示检测 ICAM-1、NF- κ B 表达可作为反映肝脏炎症活动度和纤维化程度的指标。

综上所述,ICAM-1 和 NF- κ B 在慢性乙型肝炎的发病机制中发挥重要作用,其机制尚有待进一步阐明。检测 ICAM-1 和 NF- κ B 表达有助于了解慢性乙型肝炎患者的发病机制,进一步评估疾病的严重程度,对判断患者的预后有一定价值。

参考文献

- [1] 马艳婷,苏曦,黄斐,等. HBV RNA 检测在慢性乙型肝炎中的临床价值[J]. 检验医学,2022,37(1):72-77.
- [2] SCOTT O, ROIFMAN C M. NF- κ B pathway and the goldilocks principle: lessons from human disorders of immunity and inflammation [J]. J Allergy Clin Immunol, 2019, 143(5): 1688-1701.
- [3] BENEDICTO A, HERRERO A, ROMAYOR I, et al. Liver sinusoidal endothelial cell ICAM-

- 1 mediated tumor/endothelial crosstalk drives the development of liver metastasis by initiating inflammatory and angiogenic responses [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):13111.
- [4] 王文静, 龚石林, 禹文海, 等. 肝炎病毒对 NF- κ B 信号通路的调控作用[J]. *生物医学*, 2020, 10(3):35-42.
- [5] 程惠芬. 血清 P-选择素、ICAM-1、IL-17A 水平在 HBV 感染相关疾病中的临床价值[J]. *检验医学*, 2021, 36(6):646-649.
- [6] 中华医学会感染病学分会, 中华医学会肝病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2019)[J]. *中国肝脏病杂志*, 2019, 27(12):938-961.
- [7] 袁淑芳, 张跃新, 沙尼亚·尼亚孜, 等. 细胞间黏附分子-1 在慢性乙型肝炎肝组织中的表达及意义[J]. *实用医学杂志*, 2015, 31(7):1081-1084.
- [8] AYITHAN N, TANG L, TAN S K, et al. Follicular Helper T (TFH) cell targeting by TLR8 signaling for improving HBsAg-Specific B cell response in chronic hepatitis B patients[J]. *Front Immunol*, 2021, 12:735913.
- [9] 马海霞, 李嘉, 刘勇钢, 等. 肝内调节性 T 淋巴细胞与辅助性 T 淋巴细胞 17 平衡在不同阶段慢性乙型肝炎病毒感染者中的作用[J]. *中华传染病杂志*, 2018, 36(3):133-138.
- [10] 易金萍, 陈小文, 陈开森, 等. 肝脏浸润中细胞毒 T 淋巴细胞在慢性乙型肝炎中的作用机制研究[J]. *基层医学论坛*, 2020, 24(16):2251-2252.
- [11] 韩玉梅, 谢晶莹, 邓盈盈, 等. ICAM-1 在 NF- κ B 通路中表达的研究进展[J]. *西北民族大学学报(自然科学版)*, 2018, 39(3):40-45.
- [12] 王秀芳. 拉米夫定联合护肝片对老年肝硬化患者肝功能、免疫功能及血清 TIMP-1、ICAM-1、TGF- β 1、MMP-1 的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2018, 38(3):602-604.
- [13] WANG R, LI S, CHEN P, et al. Salvianolic acid B suppresses hepatic stellate cell activation and liver fibrosis by inhibiting the NF- κ B signaling pathway via miR-6499-3p/LncRNA-ROR [J]. *Phytomedicine*, 2022, 107:154435.
- [14] 黄鹤鸣, 刘彦君, 付荣, 等. BET 抑制剂(+)JQ1 通过调节 NF- κ B 信号通路保护小鼠急性肝衰竭实验研究[J]. *实用肝脏病杂志*, 2020, 23(6):781-784.
- [15] DE SOUZA BASSO B, HAUTE G V, ORTEGA-RIBERA M, et al. Methoxyeugenol deactivates hepatic stellate cells and attenuates liver fibrosis and inflammation through a PPAR- γ and NF- κ B mechanism[J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 280:114433.
- [16] 杨鑫. 熊去氧胆酸对血清 HBV DNA 阴性肝功能异常慢性乙型肝炎患者肝组织 TLR3、NF- κ B 表达水平的影响[D]. 新乡: 新乡医学院, 2021.
- [17] PAMUKCU B, LIP G Y, SHANTSILA E. The nuclear factor-kappa B pathway in atherosclerosis: a potential therapeutic target for atherothrombotic vascular disease[J]. *Thromb Res*, 2011, 128(2):117-123.
- [18] 杨斌, 张海泉, 于鲜君, 等. 细胞间黏附分子-1 在肝癌组织中表达及临床意义[J]. *临床军医杂志*, 2019, 47(9):920-922.
- [19] 陈曦, 胡冬, 吴丹, 等. 慢性乙肝患者血清可溶性黏附分子 P-selectin、ICAM-1 与病情变化的相关性研究[J]. *海南医学院学报*, 2018, 24(24):2153-2157.
- [20] SHI X, JIANG X, YUAN B, et al. LINC01093 upregulation protects against alcoholic hepatitis through inhibition of NF- κ B signaling pathway [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019, 17:791-803.

(收稿日期:2023-05-18 修回日期:2023-09-29)

(编辑:唐 璞)