

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.13.015

文章编号: 1005-8982(2017)13-0074-04

## 血清高迁移率族蛋白 1 在乙型肝炎病毒相关肝衰竭患者中的表达及其临床意义

董瑞强<sup>1</sup>, 张丹凤<sup>2</sup>, 孙广荣<sup>3</sup>

(郑州大学附属洛阳中心医院 1.肝胆胰腺及疝外科, 2.眼科, 3.肿瘤二科, 河南 洛阳 471000)

**摘要:目的** 探讨血清高迁移率族蛋白 1(HMGB1)在乙型肝炎病毒(HBV)相关肝衰竭患者中的表达及其临床意义。**方法** 选取乙型肝炎病毒相关肝衰竭患者 90 例,分为早期组(A组)、中期组(B组)和晚期组(C组),每组 30 例。30 例健康查体者(D组)作为对照和 30 例慢性乙型肝炎患者(E组)。通过检测各组血清肝功能相关的生物化学指标和 HMGB1 水平,研究 HMGB1 表达水平及其临床意义。采用独立样本的 *t* 检验和方差分析进行组间数据比较,并用多元线性回归分析预测组间的相关性。**结果** 血清 HMGB1 水平检测结果表明: A 组、B 组、C 组和 E 组患者血清中 HMGB1 均为阳性,分别为  $(7.54 \pm 2.5)$ 、 $(12.05 \pm 3.7)$ 、 $(18.69 \pm 5.4)$  和  $(5.26 \pm 4.0)$   $\mu\text{g/L}$ 。D 组血清中 HMGB1 均为阴性。HBV 患者血清 HMGB1 水平高于慢性乙型肝炎患者 ( $t = 2.863, P = 0.008$ );晚期 HBV 患者血清 HMGB1 水平高于早期患者 ( $t = 2.178, P = 0.030$ );HBV 患者血清 HMGB1 水平与 AST 水平呈正相关 ( $t = 0.695, P = 0.005$ )。**结论** HBV 相关肝衰竭患者血清 HMGB1 水平随病情发展呈进行性升高,可部分预测 HBV 相关肝衰竭患者的预后。

**关键词:** 血清高迁移率族蛋白;乙型肝炎病毒;肝衰竭;临床意义

**中图分类号:** R512.62

**文献标识码:** A

## Expression of HMGB1 in patients with hepatitis B virus-related liver failure and its significance

Rui-qiang Dong<sup>1</sup>, Dan-feng Zhang<sup>2</sup>, Guang-rong Sun<sup>3</sup>

(1. Department of Hepatobiliary Pancreatic and Hernia Surgery, 2. Department of Ophthalmology, 3. The Second Department of Oncology, Luoyang Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Luoyang, Henan 471000, China)

**Abstract: Objective** To investigate the expression of serum high mobility group protein 1 (HMGB1) in patients with hepatitis B virus (HBV)-related liver failure and its clinical significance. **Methods** Ninety patients of HBV-related liver failure were divided into early group (group A), middle group (group B) and late group (group C) with 30 cases in each group. In addition, 30 cases of healthy persons (group D) and 30 cases of chronic hepatitis B patients (group E) were used as control groups. Serum levels of biochemical indexes related to liver function and HMGB1 were detected in each group. The *t* test and variance analysis of independent samples were used to compare the data between the groups, and the correlations between the groups were predicted by multiple linear regression analysis. **Results** The patients of the groups A, B, C and E were HMGB1 positive, their serum levels of HMGB1 were  $(7.54 \pm 2.5)$ ,  $(12.05 \pm 3.7)$ ,  $(18.69 \pm 5.4)$  and  $(5.26 \pm 4.0)$   $\mu\text{g/L}$ , respectively. The patients of the group D were HMGB1 negative. The patients with HBV-related liver failure had significantly higher serum level of HMGB1 than the patients in the group E ( $t = 2.863, P < 0.05$ ). The patients in the group C had significantly higher serum level of

HMGB 1 than those in the group A ( $t = 2.178, P < 0.05$ ). The serum HMGB1 level was positively correlated with the AST level in the patients with HBV-related liver failure ( $r = 0.695, P < 0.05$ ). **Conclusions** The serum HMGB 1 level in the patients with HBV-related liver failure increases with the progression of the disease, which could partially predict the prognosis of the patients.

**Keywords:** high mobility group protein; hepatitis B virus; hepatic failure; clinical value

1999 年,高迁移率族蛋白 1(high mobility group box 1 protein, HMGB1)首次报道, HMGB1 作为新的潜在的晚期炎症介质,参与了脓毒症的发病过程,且 HMGB1 是内毒素致死效应的晚期重要炎症介质,此后 HMGB1 成为研究的热点<sup>[1]</sup>。在我国,HBV 引起的肝衰竭占所有肝衰竭的比例达 75%以上,且病死率高<sup>[2-3]</sup>。但目前对于 HMGB1 在 HBV 相关肝衰竭患者中的作用机制尚未见报道,本实验通过检测血清肝功能相关的生物化学指标和血清 HMGB1 水平,对此进行初步探究,以期为临床做出可行性指导。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2015 年 1 月 -2016 年 1 月郑州大学附属洛阳市中心医院乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 相关肝衰竭患者 90 例,分为早期组(A 组)、中期组(B 组)和晚期组(C 组),每组各 30 例。30 例健康体检者(D 组)和 30 例慢性乙肝患者(E 组),作为本实验的空白对照。本实验诊断标准参照《肝衰竭诊治指南》<sup>[4]</sup>。排除标准:排除甲、丙、丁和戊型肝炎病毒感染者,排除酒精性、自身免疫性、药物性、和原发性肝癌患者。

### 1.2 研究方法

**1.2.1 血清收集** 取各组空腹静脉血 3 ml,加入肝素抗凝后保存于  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱。

**1.2.2 HMGB1 检测** 采用 ELISA 试剂盒(美国 Rapidbio 公司)检测血清 HMGB1 水平。操作步骤:  $37^{\circ}\text{C}$  恒温箱温育 30 min,洗板 4 次;每孔先加入显色剂 A 液  $50\ \mu\text{l}$ ,再加入显色剂 B 液  $50\ \mu\text{l}$ ,  $37^{\circ}\text{C}$  避光显色 15 min;每孔加终止液  $50\ \mu\text{l}$ ,终止反应。测定:反应终止 15 min 后,以空白孔调零点。在  $450\ \text{nm}$  波长下测定各组的吸光度值(OD 值)。计算:根据标准品的浓度及对应的 OD 值,参考标准曲线方程,计算出对应的样品浓度,最终浓度为实际测定浓度乘以稀释倍数。

**1.2.3 血清生物化学检测** 采用全自动生化分析仪测定各组血清谷草转氨酶 (aspartate aminotrans-

ferase, AST)、谷丙转氨酶 (alanine transaminase, ALT)、总胆红素 (total bilirubin, TBil) 和血清白蛋白 (Albumin, ALB) 含量。

### 1.3 统计学方法

所有数据结果均采用 SPSS 13.0 统计软件进行数据分析,并对所得数据进行正态性检验,呈正态分布资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,多组间的差异比较采用方差分析,有统计学意义后,做两两比较,两两比较用的是 LSD- $t$  检验;非正态分布的计量资料以中位数(四分位数间距)表示,采用独立样本的非参数检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 患者一般情况比较

乙型肝炎病毒相关肝衰竭患者 90 例,分为 A、B、C 3 组,每组 30 例。D 组和 E 组作为对照组。各组人群的生物化学指标和血清 HMGB1 水平见附表。经 5 组间的方差分析,患者的 HMGB1 水平差异有统计学意义 ( $F = 38.967, P = 0.000$ )。组间比较结果显示与慢性乙型肝炎患者比较,乙型肝炎病毒相关肝衰竭患者的血清 HMGB1 水平差异具有统计学意义 ( $t = 5.347, P = 0.000$ )。

### 2.2 血清 HMGB1 水平比较

血清 HMGB1 水平检测结果见附表。A 组、B 组和 C 组 90 例患者血清中 HMGB1 均为阳性, D 组患者血清中 HMGB1 均为阴性,组间比较差异具有统计学意义 ( $F = 2.680, P = 0.020$ )。E 组中 HMGB1 虽为阳性,但是其水平值要低于 A、B、C 3 组。

由附表可知, HMGB1 水平随着肝衰竭的发展逐渐增加,两组间比较应采用 LSD- $t$  检验法,即晚期组的 HMGB1 水平高于中期组 ( $t = 5.511, P = 0.000$ ),中期组的 HMGB1 水平高于早期组 ( $t = 5.328, P = 0.000$ )。

### 2.3 HMGB1 与患者生物化学指标的相关性分析

乙型肝炎病毒相关肝衰竭患者血清 HMGB1 水平与血清 ALT、AST、TBil 和 ALB 指标的关系,结果显示, HMGB1 与 AST 水平呈正相关,且结果表明差异有统计学意义 ( $r = 0.695, P = 0.005$ )。

附表 各组人群的生物化学指标和 HMGB1 水平 ( $n=30, \bar{x} \pm s$ )

组别	ALT/(u/L)	AST/(u/L)	TBil/( $\mu$ mol/L)	ALB/(g/L)	HMGB1/( $\mu$ g/L)
肝衰竭早期组(A组)	213.8 $\pm$ 20.7	229.6 $\pm$ 19.5	69.0 $\pm$ 9.2	45.28 $\pm$ 5.3	7.54 $\pm$ 2.5
肝衰竭中期组(B组)	256.3 $\pm$ 25.9	254.9 $\pm$ 20.8	315.4 $\pm$ 29.6	34.92 $\pm$ 4.1	12.05 $\pm$ 3.7
肝衰竭晚期组(C组)	299.1 $\pm$ 31.2	295.7 $\pm$ 28.0	403.2 $\pm$ 37.6	30.27 $\pm$ 4.0	18.69 $\pm$ 5.4
健康对照组(D组)	25.9 $\pm$ 3.8	29.7 $\pm$ 4.2	18.1 $\pm$ 2.9	41.44 $\pm$ 6.5	0.0 $\pm$ 0.0
慢性 HBV 患者(E组)	129.3 $\pm$ 10.7	135.8 $\pm$ 12.0	36.7 $\pm$ 5.8	12.36 $\pm$ 4.5	5.26 $\pm$ 4.0
F值	42.461	61.098	77.326	9.295	15.983
P值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

### 3 讨论

HMGB1 是在 1970 年代发现因其在聚丙烯酰胺凝胶电泳中有很高的迁移率而得名<sup>[9]</sup>,是普遍存在于各种细胞核及细胞质中的高度保守的蛋白。HMGB1 分布十分广泛,多种器官(如淋巴组织、脑、肝、肺、心、脾和肾等)的细胞中均有表达,正常时位于大多数细胞的胞核和胞浆内,可参与 DNA 的复制、细胞分化及基因表达等多种细胞生命活动<sup>[6-7]</sup>。HMGB1 蛋白包含 215 个氨基酸,在真核细胞中的表达形式为组成型表达,具种间序列保守性。HMGB1 在细胞内的作用为转录调节,在细胞外的作用为促进肿瘤生长和炎症的发生。

目前国内外针对于 HMGB1 在乙型肝炎病毒相关肝衰竭患者中的表达研究已经有了很多的报道。国内的研究多集中在 HMGB1 与肝衰竭的相关性研究上,对于机制机理等深入的探讨还较少涉及。国外对此方面的研究相对于国内来说则更为深入细致,刘洪波等<sup>[10]</sup>通过研究发现,急性肝衰竭患者体内的 HMGB1 水平值较正常人体内会急剧升高,随着衰竭程度的恶化,HGMB1 值有进一步增加的趋势。他们还发现 HMGB1 与肝衰竭的病理过程与脓毒症的核心地位进行了考察探索。发现重型乙型肝炎发病机制复杂,多因素参与了疾病的发生发展,目前多认为是病毒作用和宿主体免疫状态两方面共同作用的结果,其中 HGMB1 起到了主导作用。近年对机体所遭受的内毒素-细胞因子轴-肝损伤的“二次打击”学说的继发性损伤的认识逐渐被多数学者关注,内毒素-单核巨噬细胞-肿瘤坏死因子所导致的肝细胞的凋亡与坏死在重型乙型肝炎的发生发展中占有重要地位。

HMGB1 在细菌性炎症及非细菌性疾病发病过程中,均发挥重要作用。HMGB1 造成肝损伤及肝衰竭与 TLR4 信号途经关系不大,可能主要通过 RAGE

受体通路起作用。HMGB1 的分泌较其他促炎细胞因子出现晚、持续时间长,因此被称为晚期炎症介质<sup>[9]</sup>。多个临床和实验研究表明肝衰竭时胞外 HMGB1 升高<sup>[9-11]</sup>,具体表现较为延迟效应<sup>[12-13]</sup>。因此, HMGB1 可能参与了急性肝衰竭的病理生理过程并发挥了重要作用。目前针对 HMGB1 在 HBV 相关肝衰竭患者发病过程中的作用及特征少见报道<sup>[14]</sup>。牛春燕等在肝组织的原位研究中证实了 HMGB1 表达水平与炎症相关。本研究发现,乙型肝炎病毒相关肝衰竭患者的血清 HMGB1 水平高于慢性乙型肝炎患者和正常人,且晚期患者高于早期患者。由此可见,HBV 相关肝衰竭患者的血清 HMGB1 水平随病情加重逐渐升高<sup>[15-16]</sup>。

本研究结果证实:乙型肝炎病毒相关肝衰竭患者血清 HMGB1 水平高于慢性乙型肝炎患者和正常对照,随着肝衰竭的发展 HMGB1 水平逐渐升高,即晚期组高于中期组,中期组高于早期组。这表明随着病情加重, HMGB1 表达逐渐增加。其原因可能为免疫损伤可使肝细胞或肝内免疫细胞释放 HMGB1。HMGB1 的释放量可能与活化和迁移的炎性细胞数量有关,从而进一步造成肝内的免疫损伤。

总之,本研究发现血清 HMGB1 在乙型肝炎病毒相关肝衰竭患者患病过程中的特点,为乙型肝炎病毒相关肝衰竭的预警和预后判断及可能的治疗方法(如抗 HMGB1 药物的应用)提供了新思路。

#### 参 考 文 献:

- [1] PARKER K, HORN L, CLEMENTS V, et al. Inhibition of HMGB1 delays tumor progression, reduces MDSC-mediated immune suppression, and diminishes MDSC-macrophage cross-talk (P2001)[J]. The Journal of Immunology. 2013, 190(11): 53-54.
- [2] LI G Q, LIANG X Y, KAUS J, et al. Natural killer (NK) cell high-mobility group box 1 (HMGB1) is required for anti-tumor

- function (TUM2P.895)[J]. *The Journal of Immunology*, 2014, 192(1): 71-72.
- [3] DENG C Q, DENG G H, WANG Y M. HMGB1 gene polymorphisms in patients with chronic hepatitis B virus infection [J]. *World journal of gastroenterology*. 2013, 19(31): 5144-5149.
- [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病与人工肝学组, 浙江大学附属第一医院传染病学科. 肝衰竭诊疗指南[J]. *中华肝脏病杂志*, 2006, 12(14): 643-646.
- [5] GOODWIN G H, SANDERS C, JOHNS E W. A new group of chromatin-associated proteins with a high content of acidic and basic amino acids[J]. *European Journal of Biochemistry*. 1973, 38(1): 14-19
- [6] LANDSMAN D, BUSTIN M. A signature for the HMG-1 box DNA-binding proteins[J]. *Bioessays*. 1993, 15(8): 539-546.
- [7] MELVIN V S, EDWARDS D P. Coregulatory proteins in steroid hormone receptor action: the role of chromatin high mobility group proteins HMG-1 and-2[J]. *Steroids*, 1999, 64(9): 576-586.
- [8] HARRIS H E, ANDERSSON U. Mini-review: The nuclear protein HMGB1 as a proinflammatory mediator [J]. *European Journal of Immunology*. 2004, 34(6): 1503-1512.
- [9] ZHOU R R, ZHAO S S, ZOU M X, et al. HMGB1 cytoplasmic translocation in patients with acute liver failure [J]. *BMC Gastroenterol*. 2011, 11(21): 1-11.
- [10] 刘洪波, 范学工, 黄建军, 等. 乙型肝炎患者血清高迁移率族蛋白 1 含量的检测及临床意义[J]. *中华肝脏病杂志*. 2007, 15(11): 812-815.
- [11] 刘婷, 贺永文. 高迁移率族蛋白 B1 在急性肝功能衰竭小鼠中的表达变化[J]. *中华传染病杂志*. 2010, 28(4): 209-213.
- [12] KLUNE J R, DHUPAR R, CARDINAL J, et al. HMGB1: endogenous danger signaling[J]. *Molecular Medicine*. 2008, 14(7): 476-484.
- [13] PALUMBO R, DHUPAR R, CARDINAL J, et al. Cells migrating to sites of tissue damage in response to the danger signal HMGB1 require NF kappaB activation [J]. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2007, 179(1): 33-40.
- [14] OSHIMA G, SHINODA M, TANABE M, et al. Increased plasma levels of high mobility group box 1 in patients with acute liver failure[J]. *European Surgical Research*, 2012, 40(3): 154-162.
- [15] 于红缨, 龚环宇, 符政远, 等. 血清高迁移率族蛋白 1 在不同慢性乙肝相关性肝病患者的含量变化及临床意义[J]. *中国医师杂志*. 2011, 13(2): 173-176.
- [16] 牛春燕, 郑建云, 李雷, 等. 高迁移率族蛋白 B1 在慢性乙型肝炎患者肝组织中的表达及意义[J]. *临床肝胆病杂志*, 2011, 27(8): 807-809.

(张西倩 编辑)