

血清高尔基体蛋白 73 与慢性乙型肝炎病毒感染者 肝脏炎症损伤的相关性

许正锯 潘兴南 魏开鹏 魏梅娟 刘立飞 杨环文 刘钊

【摘要】目的 探讨慢性HBV感染者高尔基体蛋白73 (GP73) 水平与肝脏炎症损伤的相关性。**方法** 收集慢性HBV感染者573例, 其中慢性乙型肝炎(CHB)轻度患者107例、中度患者191例和重度患者132例, HBV相关的慢加急性和慢加亚急性肝功能衰竭(ACLF)患者50例和失代偿期乙型肝炎肝硬化(HLC)患者93例。采用ELISA法检测血清GP73, 采用免疫组织化学技术检测肝组织GP73表达, 并对血清GP73水平与慢性HBV感染者疾病进展的相关性进行分析。**结果** 血清GP73水平在轻度CHB、中度CHB、重度CHB、HLC和ACLF中持续升高, 分别为(71.54 ± 39.48) ng/ml、(143.70 ± 70.16) ng/ml、(218.20 ± 79.34) ng/ml、(244.67 ± 83.36) ng/ml和(275.61 ± 104.05) ng/ml, 各组血清GP73水平差异均有统计学意义(P 均 < 0.05)。血清GP73水平与慢性HBV感染者病情进展呈正相关关系($r = 0.723, P < 0.0001$)。HBeAg阳性与HBeAg阴性CHB患者比较, 血清GP73水平差异无统计学意义($t = 1.966, P > 0.05$)。在不同血清HBV DNA含量之间比较, 患者血清GP73水平差异无统计学意义($F = 1.220, P > 0.05$)。血清GP73水平随着血清白蛋白(ALB)含量的下降而逐渐升高, 随着血清总胆红素(TBil)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶(AST)含量的升高而逐渐升高, 血清GP73水平与ALB($r = -0.573, P < 0.0001$)含量呈负相关关系, 与TBil($r = 0.623, P < 0.0001$)、ALT($r = 0.521, P < 0.0001$)以及AST($r = 0.542, P < 0.0001$)含量均呈正相关关系。免疫组织化学染色分析结果显示, GP73主要在肝细胞浆内表达, 在肝组织内浸润的炎症细胞和纤维隔中无表达。肝组织GP73表达随着病情从轻度、中度、重度CHB到HLC的进展逐渐增强, 与轻度CHB对比, 重度CHB和HLC患者肝组织GP73呈强阳性表达。**结论** 血清GP73水平与慢性HBV感染者肝脏炎症损伤密切相关, 与HBV复制水平无关。血清GP73可作为评估肝脏炎症损伤的一个重要标志。

【关键词】 高尔基体蛋白 73; 肝炎病毒, 乙型; 肝组织炎症; 免疫组织化学

The relationship between serum Golgi protein 73 and liver inflammatory injury in patients with chronic HBV infection XU Zhengju, PAN Xingnan, WEI Kaipeng, WEI Meijuan, LIU Lifei, YANG Huanwen, LIU Qian. Clinical Liver Diseases Research Center, Nanjing Military Command, 180th Hospital of PLA, Quanzhou 362000, China

Corresponding author: XU Zhengju, Email: h180@163.com.

【Abstract】 Objective To explore the correlation between level of Golgi protein 73 (GP73) and liver inflammatory injury in patients with chronic hepatitis B virus (HBV) infection. **Methods** Total of 573 patients with chronic HBV infection were enrolled, including 107 cases with mild chronic hepatitis B (CHB), 191 cases with moderate CHB, 132 cases with severe CHB, 50 cases with HBV related acute on chronic and subacute on chronic liver failure (ACLF) and 93 cases with decompensate hepatitis B liver cirrhosis (HLC). The serum GP73 were measured by ELISA, and the GP73 expression in liver tissues were detected by immunohistochemistry. The correlation between GP73 and the progression in patients with chronic HBV infection were analyzed, respectively. **Results** The level of serum GP73 showed a continuous increase among patients with mild CHB (71.54 ± 39.48 ng/ml), moderate CHB (143.70 ± 70.16 ng/ml) and severe CHB (218.20 ± 79.34 ng/ml), HLC (244.67 ± 83.36 ng/ml) and ACLF (275.61 ± 104.05 ng/ml), and

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2014.05.001

基金项目: 医院科技计划项目 (No. 2011D3006)

作者单位: 362000 泉州市, 解放军第一八〇医院南京军区临床肝病中心 (许正锯、潘兴南、杨环文、刘钊), 临床肝病中心实验室 (魏开鹏、魏梅娟), 病理科 (刘立飞)

通讯作者: 许正锯, Email: h180@163.com

there were significant differences in the levels of serum GP73 among all the groups (P all < 0.05). The level of serum GP73 was positively correlated with disease progression in chronic HBV infection ($r = 0.723$, $P < 0.0001$). HBeAg positive and HBeAg negative CHB were compared, the serum GP73 level was with no significant difference ($t = 1.966$, $P > 0.05$). The different contents of serum HBV DNA were compared the serum GP73 level was with no significant difference ($F = 1.220$, $P > 0.05$). The level of serum GP73 significantly increased with the reduction of the albumin (ALB) level, and increased with the elevation of levels of the total bilirubin (TBil), alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST). The serum GP73 level negatively correlated with the level of ALB ($r = -0.573$, $P < 0.0001$), and positively correlated with the level of TBil ($r = 0.623$, $P < 0.0001$), ALT ($r = 0.521$, $P < 0.0001$) and AST ($r = 0.542$, $P < 0.0001$). Immunohistochemical staining analysis showed that GP73 expression was found in the cytoplasm of hepatocytes, but not in the infiltrating inflammatory cells or in cells within the fibrotic septa. The expression of GP73 increased gradually with the progression from mild, moderate and severe CHB to HLC. Compared with mild CHB, GP73 were significantly expressed in severe CHB and HLC. **Conclusions** The level of serum GP73 are correlated with liver inflammatory injury in patients with chronic HBV infection, and not associated with level of HBV replication. The level of serum GP73 might be an important marker to evaluate liver inflammatory injury.

【Key words】 Golgi protein 73 (GP73); Hepatitis B virus; Hepatic inflammation; Immunohistochemistry

乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 感染呈世界性流行趋势, 据 WHO 最新报告显示^[1], 全球超过 2.4 亿人患慢性 HBV 感染, 每年约有 60 万人死于急性或慢性 HBV 感染。我国 1 ~ 59 岁一般人群 HBsAg 携带率为 7.18%^[2-3], 现有慢性 HBV 感染者约为 9 300 万人, 其中慢性乙型肝炎 (chronic hepatitis B, CHB) 患者约为 2 000 万例^[4]。由于 HBV 持续复制造成肝细胞持续或反复损伤, 如不规范治疗, 其中 25% ~ 40% 最终可进展为肝硬化或原发性肝癌^[5], 慢性 HBV 感染已成为一个潜在威胁人类生命健康的全球公共卫生问题。近年来研究发现, 高尔基体蛋白 73 (Golgi protein 73, GP73) 在多种肝脏疾病中均有所升高, 发生肝细胞癌时血清 GP73 水平显著升高, GP73 是一种新的、有潜力的肝细胞癌血清标志物^[6-11]。目前有关血清 GP73 与肝癌相关性的研究报道较多, 但有关血清 GP73 水平与慢性 HBV 感染者肝组织炎症损伤相关性的研究较少。本研究采用 ELISA 法对慢性 HBV 感染者的血清 GP73 浓度进行检测, 并采用免疫组织化学技术检测肝组织 GP73 表达, 旨在探讨血清 GP73 水平与慢性 HBV 感染者肝组织炎症损伤的关系。

资料与方法

一、研究对象

收集 2012 年 1 月至 2013 年 10 月在解放军第一八〇医院住院的慢性 HBV 感染者共 573 例, 其中男性 496 例, 女性 77 例, 年龄 (36.31 ± 15.93) 岁; 其中 CHB 患者 430 例 (包括轻度 CHB 107 例、中度

CHB 191 例和重度 CHB 132 例), HBV 相关的慢加急性 and 慢加亚急性肝功能衰竭 (acute on chronic and subacute on chronic liver failure, ACLF) 50 例, 乙型肝炎肝硬化 (hepatitis B liver cirrhosis, HLC) 失代偿期 93 例。诊断标准均符合 2000 年修订的《病毒性肝炎防治方案》^[12]、2010 年修订的《慢性乙型肝炎防治指南》^[13] 和 2006 年制定的《肝衰竭诊疗指南》^[14], 并排除了甲型、丙型、丁型、戊型病毒性肝炎和其他原因所致的肝损害。所有标本均为空腹抽血 5 ml, 新鲜分离血清, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存, 待整批检测。所有患者签署知情同意书, 本研究经医院伦理委员会批准。

二、检测方法

1. 血清 GP73 含量的检测: 血清 GP73 含量采用 ELISA 法检测。每孔加入 20 μl 血清标本和 50 μl 稀释液, 轻轻振荡混匀, 封板后置 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温育 60 min, 每孔加入酶标试剂 100 μl , 封板后置 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温育 30 min, 甩干并充分洗涤 5 遍后扣干。每孔加入显色剂 A、B 液各 50 μl , $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 避光显色 15 min, 每孔加 50 μl 终止液, 10 min 内上酶标仪检测。血清 GP73 检测试剂盒由北京热景生物技术有限公司提供, 伯乐 860 酶标仪购自美国。

2. 肝功能生化学指标的检测: 肝功能血清白蛋白 (albumin, ALB)、总胆红素 (total bilirubin, TBil)、丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 和天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 等生化学指标采用化学比色法检测。依据试剂盒说明书由解放军

第一八〇医院检验科专人操作。肝功能检测试剂盒购自北京康大泰科医学科技有限公司, TBA120FR全自动生化仪由日本东芝医疗系统株式会社生产。

3. 肝组织免疫组织化学方法检测: 肝组织切片的免疫组织化学法采用Elivision Plus二步法进行。具体步骤: 制备3 μm的肝组织切片, 常规二甲苯脱蜡, 通过分级醇系列水化; 采用高压加热法EDTA修复抗原, 在Tris-NaCl缓冲液(pH值7.6)冲洗后, 切片浸在3%过氧化氢溶液中以阻断内源性过氧化物酶的活性; PBS冲洗后, 在切片上滴加第一抗体(GP73鼠单克隆抗体, 购自北京热景生物科技有限公司), 室温下孵育60 min。PBS冲洗后, 在切片上滴加第二抗体(GP73 HRP标记的羊抗鼠抗体, 购自福州迈新生物技术开发有限公司), 室温下孵育30 min。PBS冲洗后, 在切片上滴加新鲜配制的DAB(购自北京红杉金桥生物科技有限公司)显色剂显色。自来水冲洗终止显色, 苏木素复染。PBS替代第一抗体作为空白对照。免疫组织化学染色操作由解放军第一八〇医院病理科免疫组织化学室专业人员完成。

肝组织 GP73 表达阳性细胞: 细胞质内出现棕褐色颗粒。根据免疫组织化学染色强度, 在参照 Riener 等^[15] 半定量评价的基础上, 肝组织 GP73 表达的半定量评价分为 5 级: 阴性(无表达)、弱阳性(浅棕褐色细颗粒)、阳性(棕褐色细颗粒)、中度阳性(深棕褐色粗颗粒)和强阳性(深棕褐色粗块状颗粒)。

4. HBV标志物的检测: 血清HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe以及抗-HBc IgG等标志物采用电化

学发光法检测。HBV标志物试剂盒购自罗氏诊断产品(上海)有限公司, Cobas 6000生化免疫分析仪由德国罗氏诊断公司生产。

5. 血清HBV DNA含量的检测: 采用荧光定量PCR技术, Taq酶、脱氧尿嘧啶核苷三磷酸和尿嘧啶糖基化酶购自上海华美生物工程公司。标准品、阴、阳性对照物, PCR缓冲液等购自上海复星实业公司。引物序列由上海申友公司合成。荧光定量基因扩增仪为Roche LightCycler公司产品, 配备Version 5.32分析软件, 自行处理相关数据。HBV DNA测定的灵敏度为 5.0×10^2 拷贝/ml。

三、统计学处理

采用SPSS 17.0软件进行统计分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 样本总体参数的取值范围采用置信区间(confidence interval, CI)表示; 满足方差齐性的数据, 采用方差分析法进行组间差异的比较; 不满足方差齐性的数据, 用秩和转换的方差分析进行组间差异的比较; 变量间的相关性分析采用Pearson's相关系数(r)及线性回归分析来评价, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、血清 GP73 含量与慢性 HBV 感染者疾病进展的相关性

血清 GP73 含量随着病情从轻度 CHB→中度 CHB→重度 CHB→失代偿期 HLC→ACLF 的进展而持续升高, 各组间比较, 血清 GP73 含量差异具有统计学意义(P 均 < 0.05)。经过相关性分析,

表 1 血清 GP73 水平与慢性 HBV 感染者疾病进展的相关性

临床疾病	例数	GP73 (ng/ml)	
		$\bar{x} \pm s$	95%CI
轻度 CHB	107	71.54 ± 39.48	56.80 ~ 86.28
中度 CHB	191	143.70 ± 70.16 ^a	125.09 ~ 162.30
重度 CHB	132	218.20 ± 79.34 ^{ab}	182.08 ~ 254.31
HLC 失代偿期	93	244.67 ± 83.36 ^{abc}	217.35 ~ 271.42
HBV 相关肝功能衰竭	50	275.61 ± 104.05 ^{abcd}	225.87 ~ 325.35

注: 与 CHB 轻度比较, ^a $P < 0.001$; 与 CHB 中度比较, ^b $P < 0.001$; 与 CHB 重度比较, ^c $P < 0.05$; 与失代偿期 HLC 比较, ^d $P < 0.05$

表 2 血清 GP73 水平与 HBV 复制水平的相关性

HBV 标志物	例数	GP73 (ng/ml)		统计量	P
		$\bar{x} \pm s$	95%CI		
HBeAg	430				
HBeAg阳性CHB	279	139.83 ± 84.91	121.40 ~ 158.26	$t = 1.966$	0.712
HBeAg阴性CHB	151	143.02 ± 86.43	116.74 ~ 169.29		
HBV DNA (拷贝/ml)	430				
$\leq 1.0 \times 10^6$	67	144.32 ± 98.05	100.50 ~ 187.15	$F = 1.220$	0.302
$1.0 \times 10^6 \sim 1.0 \times 10^7$	95	153.86 ± 94.56	108.77 ~ 197.96		
$1.0 \times 10^7 \sim 1.0 \times 10^8$	143	156.15 ± 95.62	125.09 ~ 188.21		
$\geq 1.0 \times 10^8$	125	135.76 ± 89.59	98.63 ~ 175.57		

血清 GP73 含量与慢性 HBV 感染者病情进展呈正相关关系 ($r=0.723$, $P<0.0001$), 见表 1。

二、血清 GP73 含量与 HBV 复制水平的相关性

血清 HBeAg、HBV DNA 水平是反映 HBV 复制的两个重要指标, 本研究观察了血清 GP73 含量与 HBV 复制水平的关系。430 例 CHB 患者中, HBeAg 阳性 CHB 患者 279 例 (64.88%), HBeAg 阴性 CHB 患者 151 例 (35.12%), 血清 GP73 含量与 HBeAg 水平的相关性分析见表 2。HBeAg 阳性 CHB 与 HBeAg 阴性 CHB 患者比较, 两组血清 GP73 含量差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

根据血清 HBV DNA 含量变化, 将 430 例 CHB 患者分为 4 组: $\leq 1.0 \times 10^6$ 拷贝/ml、 $(1.0 \times 10^6 \sim 1.0 \times 10^7)$ 拷贝/ml、 $(1.0 \times 10^7 \sim 1.0 \times 10^8)$ 拷贝/ml 和 $\geq 1.0 \times 10^8$ 拷贝/ml。各组间比较, 血清 GP73 水平差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。血清 GP73 水平与 HBV DNA 含量的相关性分析结果见表 2。

三、血清 GP73 水平与肝功能生化学指标的相关性

为探讨血清 GP73 与肝细胞炎症损伤的相关性, 本研究观察了 CHB 患者血清 GP73 水平与肝功能生化学指标的关系。根据血清 ALB、TBil、ALT 和 AST 的含量, 根据 ALB 水平分为 4 组 [≤ 35 g/L、 $(35 \sim 40)$ g/L、 $(40 \sim 45)$ g/L 和 ≥ 45 g/L]; 根据 TBil 水平分为 3 组 [≤ 34.2 μ mol/L、 $(34.2 \sim 85.5)$ μ mol/L 和 ≥ 85.5 μ mol/L]; 根据 ALT 水平分为 4 组 [≤ 40 U/L、 $(40 \sim 120)$ U/L、 $(120 \sim 400)$ U/L 和 ≥ 400 U/L]; 根据 AST 水平分为 4 组 [≤ 40 U/L、 $(40 \sim 120)$ U/L、

$(120 \sim 400)$ U/L 和 ≥ 400 U/L]。血清 GP73 水平与上述各项指标的相关性分析结果见表 3。

血清 GP73 水平随着血清 ALB 含量的下降而逐渐升高, 除了 ALB > 45 g/L 组外, 各组间比较, 差异均具有统计学意义 (P 均 < 0.001); 血清 GP73 水平随着血清 TBil、ALT 和 AST 含量的升高而逐渐升高, 除了 ALT < 40 U/L 组外, 各组间比较, 差异均具有统计学意义 (P 均 < 0.001)。血清 GP73 水平与 ALB 水平呈负相关关系 ($r=-0.573$, $P<0.0001$), 与 TBil ($r=0.623$, $P<0.0001$)、ALT ($r=0.521$, $P<0.0001$) 以及 AST ($r=0.542$, $P<0.0001$) 水平均呈正相关关系, 见表 3。

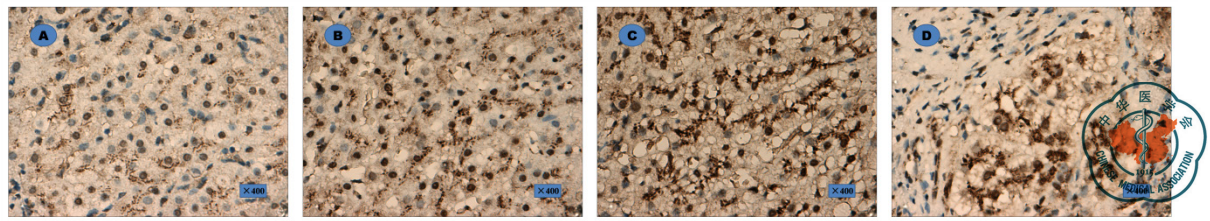
四、肝组织 GP73 的表达情况

为探讨肝组织 GP73 表达与慢性 HBV 感染者疾病进展的关系, 本研究对部分轻度 CHB、中度 CHB、重度 CHB 和 HLC 患者进行了肝组织活检术, 采用免疫组织化学技术对不同慢性 HBV 感染者的肝组织标本进行染色, 肝组织免疫组织化学染色结果见图 1。结果提示, 在慢性 HBV 感染者中, GP73 主要在肝细胞浆内表达, 在肝组织内浸润的炎症细胞和纤维隔中无表达。轻度 CHB 患者中, 肝组织 GP73 表达呈浅棕褐色细颗粒, 散在分布在肝细胞浆内, 呈弱阳性表达; 中度 CHB 患者中, 肝组织 GP73 表达呈棕褐色细颗粒, 散在分布在肝细胞浆内, 呈阳性表达; 重度 CHB 患者中, 肝组织 GP73 表达呈深棕褐色粗颗粒, 弥漫性分布于肝细胞浆内, 呈中度阳性表达; 而在 HLC 患者中, 肝组织 GP73 表达呈深棕褐色粗块状颗粒, 广泛分布于在肝细胞浆内, 呈强阳性表达, 在肝组织浸润

表 3 血清 GP73 水平与肝功能生化学指标的相关性

肝功能生化学指标	例数	GP73 (ng/ml)		F	P
		$\bar{x} \pm s$	95%CI		
ALB (g/L)	430				
A 组 ≤ 35	58	231.23 \pm 81.42	201.35 ~ 265.67	58.27	0.000
B 组 35 ~ 40	143	153.62 \pm 90.32 ^a	132.11 ~ 181.12		
C 组 40 ~ 45	183	100.42 \pm 56.61 ^{ab}	90.33 ~ 116.63		
D 组 45 ~ 50	46	86.91 \pm 47.65 ^{ab}	67.21 ~ 110.29		
TBil (μ mol/L)	430				
E 组 ≤ 34.2	303	106.51 \pm 63.68	99.23 ~ 121.82	119.82	0.000
F 组 34.2 ~ 85.5	72	186.01 \pm 81.23 ^c	152.56 ~ 228.52		
G 组 ≥ 85.5	55	251.33 \pm 85.70 ^{cd}	210.43 ~ 289.17		
ALT (U/L)	430				
H 组 ≤ 40	45	83.66 \pm 51.67	60.55 ~ 115.62	41.19	0.000
I 组 40 ~ 120	122	95.61 \pm 55.78	73.92 ~ 103.65		
J 组 120 ~ 400	136	140.48 \pm 85.59 ^e	121.19 ~ 166.75		
K 组 ≥ 400	127	188.72 \pm 82.36 ^{ef}	168.55 ~ 213.57		
AST (U/L)	430				
L 组 ≤ 40	89	73.92 \pm 40.81	63.65 ~ 90.37	75.27	0.000
M 组 40 ~ 120	152	108.31 \pm 66.42 ^g	95.01 ~ 126.78		
N 组 120 ~ 400	126	158.77 \pm 78.31 ^{gh}	140.31 ~ 183.27		
O 组 ≥ 400	63	230.22 \pm 86.35 ^{ghi}	198.26 ~ 269.11		

注: ^a 与 A 组比较, ^b 与 B 组比较, ^c 与 E 组比较, ^d 与 F 组比较, ^e 与 I 组比较, ^f 与 J 组比较, ^g 与 L 组比较, ^h 与 M 组比较, ⁱ 与 N 组比较, P 均 < 0.001



注: A: 轻度 CHB 肝组织, 呈棕黄色细颗粒, 弱表达; B: 中度 CHB 肝组织, 呈棕黄色细颗粒, 阳性表达; C: 重度 CHB 肝组织, 呈棕褐色粗颗粒, 中度阳性表达; D: HLC 肝组织, 假小叶内呈棕褐色粗块状颗粒, 强阳性表达, 在肝组织浸润的炎症细胞和纤维隔中无表达

图 1 肝组织中 GP73 的表达

的炎症细胞和纤维隔中无表达。随着慢性 HBV 感染者病情从轻度 CHB、中度 CHB、重度 CHB 到 HLC 的持续进展, 肝组织 GP73 表达逐渐增强。与轻度 CHB 相比, 重度 CHB 和 HLC 患者肝组织 GP73 表达显著增强。

讨 论

GP73 又称为 II 型高尔基体跨膜蛋白 (Golgi phosphoprotein 2, GOLPH2) 和高尔基体膜蛋白 (Golgi membrane protein 1, GOLM1), 血清中 GP73 的分子量约为 73 kD。在正常人体内多种细胞可表达 GP73, 在小肠、结肠以及胃等上皮细胞系中呈高表达^[16]。在人体正常肝组织中, GP73 主要在胆管上皮细胞中表达, 而在正常肝细胞中很少表达^[15,17]。近年来研究发现, 在肝细胞癌患者的肝细胞中 GP73 表达明显上调^[18], 血清 GP73 水平显著升高, 血清 GP73 在肝细胞癌早期诊断中的作用受到广泛关注, 已有大量有关血清 GP73 与肝细胞癌的相关报道, GP73 以良好的敏感性被视为有潜力的肝细胞癌血清标志物^[7,9,19], 但是本课题组在临床上也发现良性肝脏疾病患者血清 GP73 亦有不同程度升高。在急性或慢性肝炎患者中, GP73 mRNA 和蛋白在肝细胞的表达显著上调^[17,19]。在 HBV 和腺病毒感染的肝组织中, 胆管上皮细胞 GP73 表达改变不明显, 而肝细胞则呈高表达^[18,20], 血清中 GP73 浓度明显升高。

本研究观察了血清 GP73 水平与慢性 HBV 感染者临床疾病进展的相关性。结果提示, 血清 GP73 浓度在轻度 CHB、中度 CHB、重度 CHB、HLC 以及 ACLF 患者中持续升高, 经过相关性分析, 血清 GP73 含量与慢性 HBV 感染者疾病进展呈正相关 ($r = 0.723$)。血清 GP73 水平越高, 慢性 HBV 感染者的临床病情越严重。研究表明, 血清 GP73 水平与慢性 HBV 感染者疾病进展密切

相关。与 Maitra 等^[20]报道结果一致。

临床上, 肝功能是反映肝脏炎症损伤程度最常用的生化学指标, 本研究观察 CHB 患者血清 GP73 水平与肝功能生化学指标的相关性。结果提示, 血清 GP73 水平随着血清 ALB 含量的下降而逐渐升高, 随着血清 TBil、ALT 和 AST 含量的升高而逐渐升高, 血清 GP73 水平与 ALB 水平呈负相关关系, 与 TBil、ALT 和 AST 含量均呈正相关。研究结果表明, 血清 GP73 水平与肝脏炎症损伤程度密切相关, 即血清 GP73 水平越高, 肝脏炎症损伤越严重。这种密切的关系表明, 血清 GP73 可作为肝脏炎症损伤的血清标志物。研究结果与 Wright 等^[21]报道的血清 GP73 水平与肝脏炎症有关的结论一致。

本研究进一步观察了肝组织 GP73 表达与慢性 HBV 感染者病情进展的关系。免疫组织化学结果显示, 慢性 HBV 感染者中, GP73 表达主要分布在肝细胞浆内, 在肝组织内浸润的炎症细胞和纤维隔中无表达。研究结果与 Kladney 等^[17]报道一致。免疫组织化学染色结果显示, 肝组织 GP73 的表达从轻度、中度、重度 CHB 到 HLC 患者中逐渐增强。与轻度 CHB 相比, 重度 CHB 和 HLC 患者中 GP73 表达显著增多。免疫组织化学染色结果说明, 肝组织 GP73 表达与慢性 HBV 感染者临床疾病进展存在一定的关系, 由于免疫组织化学标本数量的限制, 有关肝组织 GP73 表达程度与慢性 HBV 感染者病情进展的相关性, 有待于扩大例数进行深入研究。

目前, 有关血清 GP73 水平与慢性 HBV 感染者疾病进展相关性的机制尚未完全阐明。有关 HBV 感染与 GP73 升高关系的研究结果分歧比较大。Iftikhar 等^[22]研究发现, 各种肝病 (包括病毒性、药物性、酒精性和自身免疫性肝炎) 患者肝组织 GP73 表达均显著升高, 随着病情的恢复, GP73 表达逐渐降低。无论是病毒还是非病毒感染引起的肝脏疾病, GP73 水平均显著上调^[17,20]。陈文莉等^[23]认为,

HBV感染不是引起GP73升高的原因。上述研究表明, GP73表达可能与病毒感染或复制水平无关。然而, Sterling等^[24]研究发现, 肝炎病毒的复制可显著上调GP73蛋白的表达。病毒性与非病毒性肝病患者相比, 病毒性肝病患者血清GP73水平明显增高^[17]。国内学者认为, GP73水平与HBV复制状态有关^[25-26]。这些研究表明, 血清GP73水平可能与病毒感染或复制水平有关。本研究观察了CHB患者血清GP73浓度与HBV复制水平的关系, 研究结果发现, 无论血清HBeAg存在与否, 还是血清HBV DNA含量发生变化, 其血清GP73水平均无显著变化。研究结果表明, HBV活跃复制不会引起血清GP73水平升高, 血清GP73含量与HBV复制水平无显著相关性。目前有关GP73蛋白的产生及其调控机制尚未完全明确。慢性HBV感染者中, HBV的活跃复制并不导致血清GP73水平的升高, 但是HBV活跃复制后诱导的免疫应答反应导致的肝细胞炎症损伤, 一方面可能与肝细胞炎症损伤后触发肝细胞上调GP73的表达有关, 另一方面, 血清GP73可能是一种新型的病毒反应性蛋白^[8], 与慢性HBV感染者临床疾病进展有关, GP73上调表达可能是由于肝组织慢性重塑和纤维化的结果^[24]。

综上所述, 血清GP73水平与慢性HBV感染者肝脏炎症损伤密切相关, 血清GP73可作为评估肝脏炎症损伤的一个重要标志。血清GP73水平与慢性HBV感染者临床疾病进展密切相关, 在一定程度上反映慢性HBV感染者病情的严重程度。血清GP73水平与HBV复制状态无关, 但可能与HBV感染后触发肝脏炎症损伤上调GP73的表达有关。有关慢性HBV感染者GP73的作用及调控机制有待于进一步深入研究。

参考文献

- 1 World Health Organization. Hepatitis B[EB/OL]. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/index.html>. 2013.
- 2 Liang X, Bi S, Yang W, et al. Epidemiological serosurvey of hepatitis B in China--declining HBV prevalence due to hepatitis B vaccination[J]. *Vaccine*,2009,27(47):6550-6557.
- 3 Liang X, Bi S, Yang W, et al. Evaluation of the impact of hepatitis B vaccination among children born during 1992-2005 in China[J]. *J Infect Dis*,2009,200(1):39-47.
- 4 Lu FM, Zhuang H. Management of hepatitis B in China[J]. *Chin Med J (Engl)*,2009,122(1):3-4.
- 5 Zhou YH, Wu C, Zhuang H. Vaccination against hepatitis B: the Chinese experience[J]. *Chin Med J (Engl)*,2009,122(1):98-102.
- 6 Fimmel CJ, Wright L. Golgi protein 73 as a biomarker of hepatocellular cancer: development of a quantitative serum assay and expression studies in hepatic and extrahepatic malignancies[J]. *Hepatology*,2009,49(5):1421-1423.
- 7 Mao Y, Yang H, Xu H, et al. Golgi protein 73 (GOLPH2) is a valuable serum marker for hepatocellular carcinoma[J]. *Gut*,2010,59(12):1687-1693.
- 8 Block TM, Comunale MA, Lowman M, et al. Use of targeted glycoproteomics to identify serum glycoproteins that correlate with liver cancer in woodchucks and humans[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2005,102(3):779-784.
- 9 Marrero JA, Romano PR, Nikolaeva O, et al. GP73, a resident Golgi glycoprotein, is a novel serum marker for hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatol*,2005,43(6):1007-1012.
- 10 Schwegler EE, Cazares L, Steel LF, et al. SELDI-TOF MS profiling of serum for detection of the progression of chronic hepatitis C to hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*,2005,41(3):634-642.
- 11 Norton PA, Comunale MA, Krakover J, et al. N-linked glycosylation of the liver cancer biomarker GP73[J]. *J Cell Biochem*,2008,104(1):136-149.
- 12 中华医学会传染病与寄生虫病学分会, 肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案[J]. *中华肝病杂志*,2000,8(6):324-329.
- 13 中华医学会肝病学分会, 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/CD]. *中华实验和临床感染病杂志: 电子版*,2011,5(1):50-60.
- 14 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组, 中华医学会肝病学分会重型肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊疗指南[J]. *中华肝病杂志*,2006,14(9):643-646.
- 15 Riener MO, Stenner F, Liewen H, et al. Golgi phosphoprotein 2 (GOLPH2) expression in liver tumors and its value as a serum marker in hepatocellular carcinomas[J]. *Hepatology*,2009,49(5):1602-1609.
- 16 Kladney RD, Bulla GA, Guo L, et al. GP73, a novel Golgi-localized protein upregulated by viral infection[J]. *Gene*,2000,249(1-2):53-65.
- 17 Kladney RD, Cui X, Bulla GA, et al. Expression of GP73, a resident Golgi membrane protein, in viral and nonviral liver disease[J]. *Hepatology*,2002,35(6):1431-1440.
- 18 Wright LM, Yong S, Picken MM, et al. Decreased survival and hepato-renal pathology in mice with C-terminally truncated GP73 (GOLPH2) [J]. *Int J Clin Exp Pathol*,2009,2(1):34-47.
- 19 Sun YL, Yang HY, Mao YL, et al. Increased Golgi protein 73 expression in hepatocellular carcinoma tissue correlates with tumor aggression but not survival[J]. *J Gastroenterol Hepatol*,2011,26(7):1207-1212.
- 20 Maitra A, Thuluvath PJ. GP73 and liver disease: a (Golgi) complex enigma[J]. *Am J Gastroenterol*,2004,99(6):1096-1098.
- 21 Wright LM, Huster D, Lutsenko S, et al. Hepatocyte GP73 expression in Wilson disease[J]. *J Hepatol*,2009,51(3):557-564.
- 22 Iftikhar R, Kladney RD, Havlioglu N, et al. Disease and cell-specific expression of GP73 in human liver disease[J]. *Am J Gastroenterol*,2004,99(6):1087-1095.
- 23 陈文莉, 彭涛, 陈小华, 等. 血清GP73检测在肝脏疾病诊断中的临床意义[J]. *中华检验医学杂志*,2010,33(4):333-336.
- 24 Sterling RK, Jeffers L, Gordon F, et al. Clinical utility of AFP-L3% measurement in North American patients with HCV-related cirrhosis[J]. *Am J Gastroenterol*,2007,102(10):2196-2205.
- 25 黄玉波, 李鑫, 乔雍, 等. N-糖基化修饰蛋白GP73与肝硬化患者Child-Pugh的关系[J]. *胃肠病学和肝病学杂志*,2011,20(4):335-337.

26 郑建建, 钱琼信, 王斯璐, 等. 慢性乙型肝炎患者血清GP73与肝纤维化的相关[J]. 中国卫生检验杂志, 2012, 22 (2): 247-248.

(收稿日期: 2013-11-27)
(本文编辑: 孙荣华)

许正锯, 潘兴南, 魏开鹏, 等. 血清高尔基体蛋白73与慢性乙型肝炎病毒感染者肝脏炎症损伤的相关性[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2014, 8 (5): 598-604.



中华医学会