

## · 临床论著 ·

# 慢加急性乙型肝炎肝功能衰竭患者血浆脂氧素 A4 含量 及其与 TNF- $\alpha$ 和 IL-6 的相关性研究

李晖 杨晓冬 杨永锐 汪亚玲 何越峰

**【摘要】目的** 探讨慢加急性乙型肝炎肝功能衰竭患者血浆脂氧素A4的含量及其与TNF- $\alpha$ 和IL-6的相关性。**方法** 选取慢加急性乙型肝炎肝功能衰竭患者共65例,采集患者外周静脉血并分离血浆,应用酶联免疫吸附试验测定血浆脂氧素A4、TNF- $\alpha$ 和IL-6的含量,分析脂氧素A4的含量及其与TNF- $\alpha$ 和IL-6的关系。**结果** 慢加急性乙型肝炎肝功能衰竭患者血浆脂氧素A4显著低于慢性乙型肝炎患者( $P = 0.007$ );并与凝血酶原活动度(PTA)呈正相关关系( $P = 0.35$ ,  $P = 0.039$ ),与IL-6呈显著负相关关系( $P = -0.51$ ,  $P = 0.019$ ),而与TNF- $\alpha$ 无相关性。**结论** 慢加急性乙型肝炎肝功能衰竭患者血浆脂氧素A4的含量低于慢性乙型肝炎患者,且与PTA和IL-6显著相关。

**【关键词】** 脂氧素A4; 慢加急性肝功能衰竭; 肝炎, 乙型; 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; 白细胞介素-6

**The correlation of serum lipoxin A4 with TNF- $\alpha$  and IL-6 in liver failure patients with acute-on-chronic hepatitis B** LI Hui\*, YANG Xiaodong, YANG Yongrui, WANG Yaling, HE Yuefeng. \*Department of Liver Diseases, No.3 Municipal People's Hospital of Kunming, Kunming 650041, China  
Corresponding author: LI Hui, Email: lihuidoc@126.com

**【Abstract】 Objective** To explore the correlation of serum lipoxin A4 with TNF- $\alpha$  and IL-6 of liver failure patients with acute-on-chronic hepatitis B. **Methods** Total of 65 liver failure patients with acute-on-chronic hepatitis B were selected, randomly. The serum lipoxin A4, TNF- $\alpha$  and IL-6 were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and the association of sero lipoxin A4 with TNF- $\alpha$  and IL-6 were analyzed, respectively. **Results** The level of serum lipoxin A4 of liver failure patients with acute-on-chronic hepatitis B were significantly lower than that in patients with chronic hepatitis B ( $P = 0.007$ ). The serum lipoxin A4 level was correlated with PTA ( $r = 0.35$ ,  $P = 0.039$ ), and IL-6 ( $r = -0.51$ ,  $P = 0.019$ ) in liver failure patients with acute-on-chronic hepatitis B. **Conclusions** The level of serum lipoxin A4 of liver failure patients with acute-on-chronic hepatitis B were significantly lower than patients with chronic hepatitis B and correlated with PTA and IL-6.

**【Key words】** Lipoxin A4; Acute-on-chronic liver failure; Hepatitis B; Tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ ); Interleukin-6 (IL-6)

脂氧素 A4 (lipoxin A4, LXA4) 是一类花生四烯酸的代谢产物,对多种炎症细胞和炎症相关基因有显著的调节作用,具有抗炎和促进炎症消退的作用,因此被称为炎症过程中的“刹车信号”<sup>[1-2]</sup>。近来有研究表明,LXA4通过阻断肝组织核因子- $\kappa$ B (nuclear factor-kappa B, NF- $\kappa$ B) 活化,减少促炎性细胞因子的释放,对大鼠急性肝功能衰竭有明显的保护作用<sup>[3]</sup>。目前的证据提示肿瘤坏死

因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 等免疫因子在炎症细胞因子的释放并导致肝功能衰竭中起非常重要的作用<sup>[4-6]</sup>。LXA4与TNF- $\alpha$ 、IL-6在动物实验中关系密切<sup>[7]</sup>。在HBV所致的肝功能衰竭患者中,脂氧素A4与TNF- $\alpha$ 、IL-6的相关性尚鲜见文献报道,本研究采用酶联免疫吸附试验测定慢加急性乙型肝炎肝功能衰竭患者血浆中LXA4、TNF- $\alpha$ 和IL-6的含量,分析慢加急性乙型肝炎肝功能衰竭患者血浆脂氧素A4的含量以及其与TNF- $\alpha$ 和IL-6的相关性,报道如下。

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2014.05.006

基金项目: 昆明市卫生局科研项目 (No. 2010-05)

作者单位: 650041 昆明市, 昆明市第三人民医院 (李晖、杨晓冬、杨永锐、汪亚玲); 昆明医科大学公共卫生学院劳动卫生与环境卫生系 (何越峰)

通讯作者: 李晖, Email: lihuidoc@126.com

## 资料与方法

### 一、病例选择

参照中华医学会肝病学会和感染病分会制定的2010版《慢性乙型肝炎防治指南》标准选择病例, 研究方案经过昆明市第三人民医院伦理委员会同意。遵照知情同意的原则, 选取昆明市第三人民医院肝病科住院收治的慢加急性乙型肝炎肝功能衰竭患者共65例, 其中男性37例, 女性28例, 平均年龄48.52岁。慢性乙型肝炎患者93例, 其中男性54例, 女性39例, 平均年龄36.41岁。收集临床资料, 所有患者均采集外周静脉血10 ml离心取上层血浆, 置于-70℃冰箱统一检测。

纳入标准: 在慢性乙型肝炎的基础上, 短期内发生急性肝功能失代偿的临床症候群, 表现为: ①极度乏力, 有明显的消化道症状; ②黄疸迅速加深, 血清总胆红素(TBil)大于正常值上限10倍或每日上升17.1 mol/L; ③有出血倾向, 凝血酶原活动度(PTA)≤40%或国际标准化比率(international normalized ratio, INR)≥1.5, 并排除其他原因者; ④出现失代偿腹水; ⑤伴有或不伴有肝性脑病者。

2. 排除标准: ①合并其他病毒(HAV、HCV、HDV、HEV、HIV)感染; ②合并肝细胞癌、遗传代谢性肝病、自身免疫性肝病、药物性肝病等其他肝病患者; ③合并严重的心脑血管、肺、肾、内分泌和造血系统疾病、精神病患者。

### 二、患者血浆中LXA4、TNF-α和IL-6检测方法

将血浆解冻后, 按照LXA4、TNF-α和IL-6的检测采用双抗体酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒说明书操作, 购自于滇工科技有限公司分装的Rapidbio公司试剂盒。

### 三、统计学处理

经检验数据呈正态分布, 两组样本之间的均值比较采用 $t$ 检验, 各组样本之间的均值比较采用方差分析, 两组数据相关性采用Spearman相关分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 结 果

### 一、患者的基本情况及其血清生化特征

慢加急性乙型肝炎肝功能衰竭患者组和慢性乙型肝炎患者组的TBil水平分别为(324.18 ± 87.53) μmol/L和(56.14 ± 11.84) μmol/L, 两组差异具有统计学意义( $P = 0.000$ ); 慢加急性乙型肝炎

肝功能衰竭患者组和慢性乙型肝炎患者组的PTA为(28.73 ± 4.51)%和(75.83 ± 7.84)%, 两组差异具有统计学意义( $P = 0.001$ )。

### 二、两组患者外周血浆中LXA4含量的比较

慢加急性乙型肝炎肝功能衰竭患者外周血浆中脂氧素A4含量为(8.71 ± 2.28) ng/L, 显著低于慢性乙型肝炎患者的(15.45 ± 8.75) ng/L, 差异具有统计学意义( $P = 0.007$ )。

### 三、慢加急性乙型肝炎肝功能衰竭患者PTA与血浆LXA4含量的相关性

按PTA水平将慢加急性乙型肝炎肝功能衰竭患者分为3组, 对比其LXA4的含量, 方差分析结果发现, 各组间差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。经Spearman相关分析, 血浆脂氧素A4的含量与PTA成正相关关系( $r = 0.35$ ,  $P = 0.039$ ), 见表1。

### 四、慢加急性乙型肝炎肝功能衰竭患者TBil水平与血浆中LXA4含量的相关性

按TBil数值将慢加急性乙型肝炎肝功能衰竭患者分为3组, 对比其LXA4的含量, 方差分析结果发现, 各组间差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。经Spearman相关分析, 血浆LXA4含量与TBil水平无相关性( $r = 0.11$ ,  $P = 0.59$ ), 见表2。

### 五、慢加急性乙型肝炎肝功能衰竭患者血浆LXA4含量与TNF-α的相关性

将慢加急性乙型肝炎肝功能衰竭患者按LXA4含量分为3组, 例数分别为22、23和20例, 比较各组TNF-α的含量。经方差分析发现, 仅有LXA4 > 9 g/L组与LXA4 < 6 g/L组间差异具有统计学意义( $P = 0.037$ ), 而6 g/L < LXA4 < 9 g/L组与LXA4 < 6 g/L组间差异无统计学意义( $P = 0.614$ ), 见表3。

表1 慢加急性乙型肝炎肝功能衰竭患者PTA与血浆LXA4含量的相关性(%,  $\bar{x} \pm s$ )

PTA (%)	例数	LXA4 (g/L)
40 ~ 30	26	10.25 ± 3.21
30 ~ 20	21	8.73 ± 2.13
< 19	18	6.47 ± 1.71

注: 与PTA < 19%组相比,  $P = 0.012$ ; 与PTA < 19%组相比,  $P = 0.037$

表2 慢加急性乙型肝炎肝功能衰竭患者TBil水平与血浆LXA4含量的相关性( $\bar{x} \pm s$ )

TBil (μmol/L)	例数	LXA4 (g/L)
> 342	37	6.72 ± 1.75
342 ~ 171	23	8.91 ± 2.25
< 171	5	8.86 ± 2.19

注: 与TBil < 171 μmol/L组相比,  $P = 0.022$ ; 与TBil < 171 μmol/L组相比,  $P = 0.041$

表3 慢加急性乙型肝炎肝功能衰竭患者血浆 LXA4 与 TNF- $\alpha$  含量的相关性 ( $\bar{x} \pm s$ )

TNF- $\alpha$ (g/L)	例数	LXA4 (g/L)
> 9	22	4.88 $\pm$ 0.61
6 ~ 9	23	6.58 $\pm$ 0.87
< 6	20	6.56 $\pm$ 0.83

注: 与TNF- $\alpha$  < 6 g/L组相比,  $P = 0.037$ ; 与TNF- $\alpha$  < 6 g/L组相比,  $P = 0.614$

#### 六、慢加急性乙型肝炎肝功能衰竭患者血浆 LXA4 的含量与 IL-6 的相关性

将慢加急性乙型肝炎肝功能衰竭患者按LXA4含量分为3组, 各组例数分别为22、23和20例, 对比各组IL-6的含量, 经方差分析发现, 各组间差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。经Spearman相关分析, 血浆脂氧素A4的含量与IL-6成负相关关系 ( $r = -0.51$ ,  $P = 0.019$ ), 见表4。

### 讨 论

多年来, 肝功能衰竭一直是医学相关学科研究的热门领域和科研攻关的重点。肝功能衰竭的发病机制尚不十分清楚, 是由多因素共同作用的结果, 但其核心是宿主过强的免疫应答所导致的大量HBV感染肝细胞的坏死及凋亡所致。肝功能衰竭组织病理学检查结果显示, 大量肝细胞变性、坏死, 并有大量中性粒细胞、单核-巨噬细胞及淋巴细胞浸润, 提示体液因子在肝功能衰竭发病过程中起着重要作用<sup>[8]</sup>。

LXA4是一类重要的内源性脂质介质, 在炎症反应中发挥着广泛的抗炎促消退作用<sup>[9]</sup>。LXA4可以显著减轻炎症部位中性粒细胞的浸润<sup>[10]</sup>和抑制中性粒细胞的活性<sup>[11]</sup>。此外, LXA4还能促进巨噬细胞对中性粒细胞凋亡体的吞噬<sup>[12]</sup>, 并能抑制促炎性细胞因子如TNF- $\alpha$ 、IL-1等的表达, 同时促进抑炎性细胞因子如TGF- $\beta$ 1的表达<sup>[13]</sup>。

LXA4与多种炎症导致疾病相关。有动物实验表明LXA4可以通过减轻炎症反应, 从而保护急性肝功能衰竭大鼠的肝脏组织<sup>[1, 3]</sup>。

本研究数据表明, 慢加急性乙型肝炎肝功能衰竭患者外周血血浆中LXA4含量显著低于慢性乙型肝炎患者, 并且与凝血酶原活动度成正相关, 提示体内抗炎物质合成不足可能是病情加重的原因之一, 与其他炎症相关性疾病研究结论一致<sup>[14-15]</sup>。文献数据表明细胞因子TNF- $\alpha$ 和IL-6水平的升高与肝脏炎症的严重程度及病死率有关<sup>[4-5]</sup>。本研究中, 慢加

表4 慢加急性乙型肝炎肝功能衰竭患者血浆 LXA4 与 IL-6 的含量的相关性 ( $\bar{x} \pm s$ )

IL-6 (g/L)	例数	LXA4 (g/L)
> 9	22	0.21 $\pm$ 0.01
6 ~ 9	23	0.37 $\pm$ 0.02
< 6	20	0.52 $\pm$ 0.04

注: 与IL-6 < 6 g/L组相比,  $P = 0.010$ ; 与IL-6 < 6 g/L组相比,  $P = 0.023$

急性乙型肝炎肝功能衰竭患者外周血血浆中LXA4的含量与IL-6成负相关关系, 而与TNF- $\alpha$ 无相关性, 结论与动物实验结果不完全一致<sup>[7]</sup>。本研究提示, 炎症因子过度释放和抗炎物质的不足, 二者之间平衡的打破可能是导致肝功能衰竭疾病发生和发展的机制之一, 但由于样本量限制和血浆ELISA检测数据测定受多种因素影响, 使结果存在假阳性的可能, 故尚需进一步的研究。

### 参 考 文 献

- Serhan CN, Yacoubian S, Yang R. Anti-inflammatory and proresolving lipid mediators[J]. Annu Rev Pathol, 2008, 3: 279-312.
- Alker J, Dichter E, Lacorte G, et al. Lipoxin A4 increases survival by decreasing systemic inflammation and bacterial load in sepsis[J]. Shock, 2011, 36(4): 410-416.
- 姜雪强, 邹小静, 田德英. 脂氧素-A4对大鼠急性肝衰竭的保护作用[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2010, 19(6): 542-544.
- Ramakers BP, de Goeij M, van der Hoeven JG, et al. Inflammation-induced hepatotoxicity in humans[J]. Shock, 2009, 31(2): 151-156.
- Tacke F, Luedde T, Trautwein C. Inflammatory pathways in liver homeostasis and liver injury[J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2009, 36(1): 4-12.
- Muto Y, Nouri-Aria KT, Meager A, et al. Enhanced tumour necrosis factor and interleukin-1 in fulminant hepatic failure[J]. Lancet, 1988, 2(8602): 72-74.
- Sun T, Yu E, Yu L, et al. Lipoxin A (4) induced antinociception and decreased expression of NF- $\kappa$ B and pro-inflammatory cytokines after chronic dorsal root ganglia compression in rats[J]. Eur J Pain, 2012, 16(1): 18-27.
- 王宝恩, 张定凤主编. 现代肝脏病学[M]. 北京: 科学出版社, 2003: 382-412.
- Serhan CN. Lipoxins and aspirin-triggered 15-epi-lipoxin biosynthesis: an update and role in anti-inflammation and pro-resolution[J]. Prostaglandins Other Lipid Mediat, 2002, 68-69: 433-455.
- Filep JG, Zouki C, Petasis NA, et al. Anti-inflammatory actions of lipoxin A (4) stable analogs are demonstrable in human whole blood: modulation of leukocyte adhesion molecules and inhibition of neutrophil-endothelial interactions[J]. Blood, 1999, 94(12): 4132-4142.
- Hachicha M, Pouliot M, Petasis NA, et al. Lipoxin (LX) A4 and aspirin-triggered 15-epi-LXA4 inhibit tumor necrosis factor  $\alpha$ -initiated neutrophil responses and trafficking: regulators of a cytokine-chemokine axis[J]. J Exp Med, 1999, 189(12): 1923-1930.
- Godson C, Mitchell S, Harvey K, et al. Cutting edge: lipoxins rapidly stimulate nonphagocytic phagocytosis of

- apoptotic neutrophils by monocyte-derived macrophages[J]. J Immunol, 2000, 164(4): 1663-1667.
- 13 Huynh ML, Fadok VA, Henson PM. Phosphatidylserine-dependent ingestion of apoptotic cells promotes TGF-beta1 secretion and the resolution of inflammation[J]. J Clin Invest, 2002, 109(1): 41-50.
- 14 廖培元, 吴升华. 过敏性紫癜患儿血液脂氧素A4的变化及其临床意义[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2008, 28(7): 918-920.
- 15 Walker J, Dichter E, Lacorte G, et al. Lipoxin A4 increases survival by decreasing systemic inflammation and bacterial load in sepsis[J]. Shock, 2011, 36(4): 410-416.

(收稿日期: 2013-11-08)

(本文编辑: 孙荣华)

李晖, 杨晓冬, 杨永锐, 等. 慢加急性乙型肝炎肝功能衰竭患者血浆脂氧素A4含量及其与TNF- $\alpha$ 和IL-6的相关性研究[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2014, 8(5): 623-626.

