

· 临床论著 ·

乙型肝炎相关性肝功能衰竭患者外周血中巨噬细胞移动抑制因子的表达及意义

施文娟 成军

【摘要】目的 探讨乙型肝炎相关性肝功能衰竭患者血清中巨噬细胞移动抑制因子(MIF)的表达及其临床意义。**方法** 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测33例乙型肝炎相关性肝功能衰竭患者(重肝组)、42例慢性乙型肝炎患者(CHB组)及20例健康体检者(对照组)血清中MIF水平,同时检测各组各项肝功能指标。**结果** 重肝组与CHB组患者ALT和AST水平差异无统计学意义($t = 0.902, 0.700, P = 0.376, 0.490$),TBil、ALB、PTA、INR和TC水平差异具有统计学意义($t = 2.793, 2.769, 10.534, 7.551$ 和 $6.961, P = 0.007, 0.007, 0.000, 0.000$ 和 0.000);重肝组与CHB组患者外周血中MIF水平均显著高于对照组($t = 4.547, 5.147, P = 0.000, 0.000$)。**结论** MIF的高水平表达可能与乙型肝炎的慢性化以及肝功能衰竭的发生相关。

【关键词】 肝功能衰竭; 肝炎, 乙型, 慢性; 巨噬细胞移动抑制因子

Expression and significance of macrophage migration inhibitory factors in patients with HBV-related liver failure SHI Wenjuan*, CHENG Jun. *The Second People's Hospital of Lanzhou, Lanzhou 730046, China

Corresponding author: CHENG Jun, Email: chengjdt@ccmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To investigate the expression and clinical significance of macrophage migration inhibitory factors (MIF) levels in patients with HBV-related liver failure. **Methods** There were 33 patients with HBV-related liver failure (severe hepatitis group), 42 patients with chronic hepatitis B (CHB group) and 20 healthy people (control group) were enrolled in the study. The levels of MIF in the three groups were detected by ELISA, respectively. Meanwhile, liver function indicators were investigated, respectively. **Results** There were no significantly change of the levels of ALT and AST between severe hepatitis group and CHB group ($t = 0.902, 0.700; P = 0.376, 0.490$), and there were significant changes of the levels of TBil, ALB, PTA, INR and TC between severe hepatitis group and CHB group ($t = 2.793, 2.769, 10.534, 7.551$ and $6.961; P = 0.007, 0.007, 0.000, 0.000$ and 0.000). The levels of MIF in severe hepatitis group and CHB group were significantly higher than that in control group ($t = 4.547, 5.147; P = 0.000, 0.000$). **Conclusion** High level of expression of MIF may be associated with chronic hepatitis B and the occurrence of liver failure.

【Key words】 Liver failure; Chronic hepatitis B; Macrophage migration inhibitory factors (MIF)

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)导致的肝功能衰竭是我国传染病死亡的重要原因之一,是在慢性肝炎、肝硬化基础上发生的肝细胞大块或亚大块坏死,常伴有肝性脑病、肝肾综合征、感染以及电解质紊乱等并发症,病死率高,预后极差。研究认为,乙型病毒性肝炎、肝功能衰竭的发病均与机体免疫应答异常、细胞因子网络活化密切相关^[1]。巨噬

细胞移动抑制因子(macrophage migration inhibitory factors, MIF)作为细胞因子之一,是许多免疫性和炎性疾病的重要介质,参与了多种炎症性疾病的病理、生理过程,越来越多的文献表明,MIF涉及败血症、炎症和自身免疫性疾病的发病机制,MIF的高水平表达和疾病的严重性、不良结局相关。目前,MIF在乙型肝炎相关性肝功能衰竭病程中的研究尚不多见。本研究检测了乙型肝炎相关性肝功能衰竭和慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者血清中MIF的表达水平,探讨其临床意义,现报道如下。

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2014.06.008

基金项目: 甘肃省卫生行业科研计划项目(No. GSWSKY-2014-38)

作者单位: 730046 兰州市, 兰州市第二人民医院传染科(施文娟); 首都医科大学附属北京地坛医院(成军)

通讯作者: 成军, Email: chengjdt@ccmu.edu.cn

资料与方法

一、研究对象

选择 2011 年 1 月至 2012 年 12 月于兰州市第二人民医院感染科住院的乙型肝炎相关性肝功能衰竭患者 33 例(重肝组), 其中男性 28 例, 女性 5 例, 年龄 18 ~ 63 岁, 平均年龄 (35.1 ± 12.3) 岁; 同时选取同期住院的慢性乙型肝炎患者 42 例(CHB 组), 其中男性 36 例, 女性 6 例, 年龄 19 ~ 61 岁, 平均年龄 (35.7 ± 10.1) 岁; 20 例对照组均为本院健康体检者, 其中男性 16 例, 女性 4 例, 年龄 29 ~ 48 岁, 平均年龄 (32.6 ± 4.8) 岁。诊断标准参照亚太肝病学术会议标准^[2], 排除肝硬化、其他病毒感染、免疫相关性疾病和免疫调节剂使用导致的慢性乙型肝炎。

二、标本采集与检测

入组患者均无菌操作采静脉血 5 ml, 置于乙二胺四乙酸(EDTA)试管中, 室温下以 1 000 r/min、离心 20 min (离心半径 $r = 13.5$ cm), 离心后将上清液移至 EP 管中, 标记后置于 -80°C 冰箱中冻存, 备用。试剂盒由美国 R&D 公司生产, 上海尚乐生物技术有限公司分装, 检测方法采用双抗体夹心酶联免疫吸附试验(ELISA), 按公司说明书进行操作, 具体如下。

1. 从已平衡至室温的密封袋中取出所需板条(根据待测样品数量加上标准品的数量决定所需的板条数), 其他板条密封放回 4°C 。

2. 加样: ①空白孔: 空白对照孔不加样品, 生物素标记的各细胞因子抗体, 链霉亲和素-HRP, 只加显色剂 A&B 和终止液, 其余各步骤操作相同例; ②标准品孔: 加入标准品 50 μl , 链霉素-HRP 50 μl ; ③待测样品孔: 加入样本 40 μl , 然后各加

入各细胞因子抗体 10 μl 、链霉亲和素-HRP 50 μl , 盖上封板膜, 轻轻震荡混匀, 37°C 温育 60 min。

3. 洗涤: 小心揭掉封板膜, 弃去液体, 甩干, 每孔加满洗涤液, 静置 30 s 后甩尽液体, 如此重复 5 次, 在厚迭吸水纸上拍干。

4. 显色: 每孔加入显色剂 A 50 μl , 再加入显色剂 B 50 μl , 轻轻震荡混匀, 37°C 避光显色 10 min。

5. 终止: 每孔加入终止液 50 μl , 终止反应(此时蓝色立转黄色)。

6. 测定: 以空白孔调零, 450 nm 的波长依序测量各孔的吸光度(A)值。加终止液后 10 min 内进行测定。

7. 根据标准品的浓度及对应的 A 值计算出标准曲线的直线回归方程, 再根据样品的 A 值在回归方程上计算出对应的样品浓度。

三、疗效判断标准

入组患者入院后均接受包括核苷(酸)类似物抗病毒治疗和人工肝治疗在内的综合治疗, 并进行为期 4 周的临床随访。临床疗效以出院或接受肝移植术前或在院死亡为截止点, 判断标准为: ①临床基本治愈, 即症状、体征基本消失或明显好转, 肝功能正常或轻微异常(ALT 波动在正常值上限 1 倍左右或 $\text{TBil} \leq 34.2 \mu\text{mol/L}$); ②临床好转, 即症状体征有好转, 肝功能明显好转(ALT 及 TBil 较基线水平下降 50% 以上), 且无明显波动; ③其余判定为无效。

四、统计学处理

应用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 若数据符合正态分布及方差齐性, 两组间均数比较用成组 t 检验, 各组间均数比较用方差分析, 若差异有统计学意义组间两两比较用 LSD- t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

表 1 重肝组与 CHB 组患者生化指标的比较 ($\bar{x} \pm s$)

生化指标	重肝组 (33 例)	CHB 组 (42 例)	t	P
ALT (U/L)	708.67 ± 612.84	686.13 ± 444.31	0.902	0.376
AST (U/L)	416.17 ± 321.69	517.13 ± 444.32	0.700	0.490
TBil ($\mu\text{mol/L}$)	391.98 ± 281.25	223.81 ± 179.92	2.793	0.007
ALB (g/L)	31.05 ± 6.46	35.48 ± 5.93	2.769	0.007
PTA (%)	30.98 ± 11.03	67.5 ± 15.16	10.534	0.000
INR	2.37 ± 0.80	1.26 ± 0.21	7.551	0.000
TC ($\mu\text{mol/L}$)	1.79 ± 0.62	3.21 ± 0.91	6.961	0.000

注: HBV-ACLF: 乙型肝炎病毒相关慢加急性肝功能衰竭; CHB: 慢性乙型肝炎; ALT: 丙氨酸氨基转移酶; AST: 天门冬氨酸氨基转移酶; TBil: 总胆红素; ALB: 白蛋白; PTA: 凝血酶原活动度; INR: 国际标准化比值; TC: 总胆固醇

表 2 各组病例 MIF 水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	MIF (pg/ml)
重肝组	33	82.62 ± 45.37
CHB 组	42	89.14 ± 53.17
健康对照组	20	11.06 ± 4.05
F		16.770
P		0.000

结 果

一、入组病例的基本情况与临床转归

各组病例性别构成比与年龄均值经统计学分析差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.035$ 、 $P = 0.983$, $F = 0.523$ 、 $P = 0.596$)；重肝组与 CHB 组 ALT 和 AST 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，TBil、ALB、PTA、INR 和 TC 水平差异具有显著性统计学意义 ($P < 0.05$)，见表 1。

二、重肝组、CHB 组患者与对照组 MIF 水平的比较

各组病例 MIF 水平经单因素方差分析，差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)，见表 2；各组病例组间进行 LSD- t 检验分析，结果显示，重肝组与 CHB 组患者 MIF 水平均显著高于健康对照组 ($t = 4.547$ 、 5.147 , $P = 0.000$ 、 0.000)，重肝组与 CHB 组患者 MIF 水平差异无统计学意义 ($t = 0.481$, $P = 0.632$)。

三、重肝组治愈好转者与无效死亡者 MIF 水平的比较

重肝组 33 例患者最终有 26 例完成随访，根据疗效分为治愈好转组 14 例（早期 5 例，中期 7 例，晚期 2 例）和无效死亡组 19 例（早期 1 例，中期 11 例，晚期 7 例），其中 12 例患者死亡，7 例因病情加重放弃治疗出院，9 例患者住院期间合并细菌、真菌等感染，病死率为 46.15%。CHB 组患者 42 例均临床治愈或好转出院。重肝组患者治愈好转组与无效死亡组 MIF 水平分别为 (68.56 ± 43.97) pg/ml 和 (90.82 ± 45.98) pg/ml，两组 MIF 水平差异无统计学意义 ($t = 1.18$, $P = 0.247$)。

讨 论

乙型肝炎相关性肝功能衰竭的发病机制尚未完全明确，近年来，细胞因子在肝功能衰竭发生机制中的作用逐步得到认识和肯定，目前国内外大多数学者支持的“肝衰竭二次损伤学说”不但阐述了病毒直接或间接（免疫反应）所致的原发性损伤，并且强调了内毒素-细胞因子轴-肝损害为核心的继发性损伤^[3-5]，2009 年亚太地区肝病会议专家组达成一致意见，即炎症细胞因子失衡可能是慢加急性肝功能衰竭进程的机制之一^[6]。如许海霞等^[7]研究发现慢性重型乙型肝炎患者外周血中 IL-23 表达增高，与炎症程度相关，参与慢性重型乙型肝炎的发病；庄桂龙等^[8]研究发现乙型肝炎相关性肝功能衰

竭患者外周血中 IL-32 表达水平增高，且 IL-32 表达水平与 ALT、AST 和 TBil 水平呈正相关关系。本研究发现，乙型肝炎相关性肝功能衰竭患者外周血中 MIF 水平高于健康人群，因此，MIF 的高水平表达可能参与乙型肝炎相关性肝功能衰竭的发病。

越来越多的证据支持 MIF 是宿主炎症反应不可缺少的组成成分，当免疫细胞被暴露于微生物产物或炎症前细胞因子或在特异性抗原活化时，就会很快产生 MIF。除了细菌性败血症，MIF 还涉及寄生虫性（疟疾、囊虫病和利什曼病）和病毒性（巨细胞病毒和流感病毒）感染的发病机制。虽然 MIF 对抗感染是必需的，但高水平的 MIF 生成在急性感染中是有害的。Kithcart 等^[9]研究发现，慢性乙型肝炎和肝硬化患者血清中 MIF 水平和肝组织中 MIF 表达显著高于正常对照组。于晓辉等^[10]研究发现慢性乙型肝炎患者血清 MIF 水平显著高于健康人群，且其含量与 ALT 呈正相关。同样，在 Yu 等^[11]肝损害小鼠模型研究中发现，MIF、TNF- α 和 IFN- γ 在肝组织中高表达，提示 MIF 在慢性乙型肝炎中是一种重要的炎症介质。

本研究采用 ELISA 法检测乙型肝炎相关性肝功能衰竭、CHB 患者与健康人外周血中 MIF 水平，结果显示，CHB 组与重肝组患者血清中的 MIF 水平较健康对照组升高，提示 MIF 的高水平表达可能与乙型肝炎的慢性化以及肝功能衰竭的发生有关。另外，本组资料显示重肝组患者无效死亡组 MIF 水平高于治愈好转组，但差异无统计学意义，可能由于样本量过少，抽样误差过大造成，需扩大样本量行进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Maini MK, Boni C, Lee CK, et al. The role of virus-specific CD8(+) cells in liver damage and viral control during persistent hepatitis B virus infection[J]. J Exp Med, 2000, 191(8): 1269-1280.
- 2 Sarin SK, Kumar A, Almeida JA, et al. Acute-on-chronic liver failure for the study of the liver (APASL)[J]. Hepatol Int, 2009, 1(3): 269-282.
- 3 Ouyang W, Kolls JK, Zheng Y. The biological functions of T helper 17 cell effector cytokines in inflammation[J]. Immunity, 2008, 28(4): 454-467.
- 4 王向槐, 叶一农, 梁敏峰, 等. 血浆置换联合血液滤过对乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭患者血清 IL-17 和 IL-6 的影响[J]. 临床肝胆病杂志, 2012, 28(10): 756-759.
- 5 Neurath MF. IL-12 family members in experimental colitis[J]. Mucosal Immunol, 2008, 1(Suppl 1): S28-S30.
- 6 Reddy J, Illes Z, Zhang X, et al. Myelin proteolipid protein-special CD4⁺ CD25⁺ regulatory cells mediate genetic resistance to experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(43): 15434-15439.
- 7 许海霞, 李学俊, 潘兴飞, 等. 慢性重型乙型肝炎患者血清 IL-23

- 水平检测及其意义[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2012, 26(2): 123-124.
- 8 庄桂龙, 李国航, 瞿志军, 等. 乙肝相关性肝衰竭患者外周血中IL-32表达水平及意义[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2013, 27(4): 247-249.
- 9 Kithcart AP, Cox GM, Sielecki T, et al. A small-molecule inhibitor of macrophage migration inhibitory factor for the treatment of inflammatory disease[J]. FASEB J, 2010, 24(11): 4459-4466.
- 10 于晓辉, 李淑兰, 段慧春, 等. 慢性乙型肝炎患者血清MIF, IL-17及IL-10的检测及其临床意义[J]. 中国病毒病杂志, 2011, 1(4): 297-299.
- 11 Yu CM, Lai KW, Chen YX, et al. Expression of macrophage migration inhibitory factor in acute ischemic myocardial injury[J]. J Histochem Cytochem, 2003, 51(5): 625-631.
- (收稿日期: 2013-12-27)
(本文编辑: 孙荣华)

施文娟, 成军. 乙型肝炎相关性肝功能衰竭患者外周血中巨噬细胞移动抑制因子的表达及意义[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2014, 8(6): 777-780.

· 会议纪要 ·

放眼航程风正好 扬帆加速亦逢时

——中华医学会电子版系列杂志 2014 年总编辑联席会议纪要

2014 年 10 月 18 日, 中华医学电子音像出版社在重庆隆重召开了中华医学电子系列杂志第一次总编联席会, 系列杂志的总编和编辑部主任参加了此次会议。

中华医学电子音像出版社 2004 年创办国内第一本医学电子期刊——《中华医学超声杂志(电子版)》, 在主管、主办单位及国家出版管理部门的大力支持下, 10 年来陆续创办了 41 种医学电子期刊, 逐步发展壮大, 在期刊界的认知度越来越高, 形成目前国内医学专业分布最广、数量最多的“中华医学会电子版系列杂志”期刊群, 其中 14 种期刊已被收录为中国科技核心期刊。

随着近年来互联网和移动终端的高速发展, 不仅传统纸质期刊, 以光盘为阅读载体的电子期刊也面临新的问题和挑战。在这种形势下, 中华医学电子音像出版社及时召开了此次系列杂志总编联席会, 目的是在国家政策层面, 结合国际知名出版集团期刊数字化、平台化建设的经验, 全方位解读电子期刊未来发展趋势和当前面临的重大问题, 尽早在思想上、架构上和技术上做好迎接新一轮数字出版变革的准备, 探索适合电子版系列杂志发展的高效、专业、共赢的发展道路。

史红社长主持会议, 国家新闻出版广电总局出版管理司副司长许正明详细解读了国家对电子出版物、尤其是电子科技期刊发展的相关政策, 国家卫生计生委宣传司副巡视员王华宁解读了国家卫生计生委出版管理政策, 中华医学会罗玲副秘书长做了“凝心聚力, 探索中华医学会出版新模式”的主题报告, 虽然他们报告的侧重点各有不同, 但都关注到电子科技期刊今后的发展方向和探索模式, 明确指出, 现在的主要问题不是讨论纸版、电子版谁优谁劣, 也不是讨论纸版和数字出版谁能生存, 而是要在新媒体融合的大趋势中, 探索适合各自发展的办刊模式、经营模式、发行渠道、增值服务, 找到适合期刊形态的增长点, 建立可持续发展的生态圈。

罗玲副秘书长的讲话令人深思: 中华医学会电子期刊存在各自办刊、各自为政的管办关系, 未真正形成集团化、集约化管理雏形, 是一种集而不团的管理体制。这种管理造成的弊端是: 期刊类型结构不尽合理, 同一专业领域重复办刊, 松散管理导致系列杂志质量不均。管理以日常行政事务性管理为主, 缺少对杂志的发展性、方向性、战略性的指导和管理。这些问题希望能在后续工作规划中逐步落实解决。

史红社长做了《中华医学会电子版系列杂志相关管理办法修订解读》的重要报告, 为了进一步加强电子版系列杂志的管理, 根据国家有关规定和审计工作要求, 中华医学电子音像出版社对原有管理条例进行了修改。出版社目前存在两种办刊模式: 音像社直接管理, 其余由大学、研究所等单位承办。修改后的管理条例对期刊的经营和出版权、广告审核, 以及与承办单位和理事单位的合作关系、财务管理等事项做出明确规定, 有利于出版社今后良性发展, 规避经营风险。史红社长还向大家介绍了未来电子期刊数据采集、管理、生产和发布的数字化平台设想, 并代表音像社感谢各级领导的支持和帮助, 感谢各承办单位及各位主编及编辑部的付出, 她指出, 今天的总编联席会, 请大家畅所欲言, 建言献策, 共同规划电子期刊美好的未来。

北京万方数据股份有限公司副总经理张秀梅女士和爱思唯尔亚太区健康科学部陈碧女士, 分别介绍了各自展示平台的数字化工作的架构、信息与资源的整合与解决方案, 《中国生物医学期刊引文数据库》的陈建青主任向大家介绍如何利用《中国生物医学期刊引文数据库》检索并把握国内热点前沿医学信息, 《中华临床实验室管理电子杂志》编辑部主任孙静向大家介绍了在出版社未来数字化平台上, 如何实现电子期刊规模化生产的编辑流程。她们使用详实的案例分析, 为我们展现了未来数字化工作可以实现和解决的问题、应用及传播方案, 极大增强了大家对电子期刊未来数字化发展趋势的认知和信心。

下转第 35 页