

细胞角蛋白 18 在 HBV 相关性肝病中的表达及临床意义^{*}

郭晓会, 刘晓东, 刘志敏, 任海霞

(河北工程大学附属医院消化内科, 河北邯郸 056000)

摘要:目的 探讨细胞角蛋白 18(CK18)在乙型肝炎病毒(HBV)相关性肝病中的表达及临床意义。

方法 选取 2016 年 4 月至 2018 年 3 月在该院诊断为无肝炎活动的慢性 HBV 感染者 30 例为未活动组, 肝炎活动的 HBV 感染者 28 例为活动组, 慢性乙型肝炎后肝硬化患者 36 例为肝硬化组, 慢性乙型肝炎后肝硬化合并肝细胞癌患者 32 例为肝癌组, 同时选取健康体检者 20 例作为健康对照组, 检测入选者外周血清中细胞 CK18 表达水平。 **结果** 健康对照组、未活动肝炎组、活动肝炎组、肝硬化组、肝癌组患者外周血清中 CK18 表达水平分别为 (112. 133 ± 3. 443) ng/mL、(123. 233 ± 3. 250) ng/mL、(148. 467 ± 0. 379) ng/mL、(169. 067 ± 1. 595) ng/mL、(185. 167 ± 1. 595) ng/mL, 健康对照组与未活动肝炎组两组间比较, 差异无统计学意义 ($P > 0. 05$); 而活动性肝炎组与健康对照组相比, 肝硬化组与活动性肝炎组相比, 肝癌组与肝硬化组相比, 差异均有统计学意义 ($P < 0. 05$)。 **结论** CK18 表达水平与 HBV 相关性肝病发生、发展有关, 可作为预测 HBV 相关性肝病严重程度的指标之一。

关键词: 细胞角蛋白 18; HBV 相关性肝病; 临床意义

中图法分类号: R575. 1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2019)08-1012-03

The expression and clinical significance of cytokeratin 18 in HBV associated liver disease^{*}

GUO Xiaohui, LIU Xiaodong, LIU Zhimin, REN Haixia

(Department of Digestive Medicine, Affiliated Hospital of Hebei

University of Engineering, Handan, Hebei 056000, China)

Abstract: Objective To investigate the expression and clinical significance of cytokeratin 18 in HBV-associated liver disease. **Methods** From Apr 2016 to Mar 2018, collect 30 patients with hepatitis-free activities chronic hepatitis B virus infection were selected as unactive hepatitis group, 28 patients with hepatitis activities chronic hepatitis B virus infection were selected as activities hepatitis group, 36 patients with cirrhosis after chronic hepatitis B were selected as cirrhosis group, 32 patients with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma after chronic hepatitis B were selected as liver cancer group, and 20 healthy health examiners were selected as healthy controls, CK18 expression levels of peripheral serum cells of all the samples were detected. All the people were selected from affiliated hospital of hebei university of engineering. **Results** The expression of CK18 in the healthy control group, unactive hepatitis group, active hepatitis group, liver cirrhosis group and liver cancer group were (112. 133 ± 3. 443) ng/mL, (123. 233 ± 3. 250) ng/mL, (148. 467 ± 0. 379) ng/mL, (169. 067 ± 1. 595) ng/mL and (185. 167 ± 1. 595) ng/mL respectively, there was no difference between the unactive hepatitis group and the healthy control group ($P < 0. 05$); while between the active hepatitis group and the healthy control, liver cirrhosis group and active hepatitis group, liver cancer group and liver cirrhosis group, the difference were all have statistically significant ($P < 0. 05$). **Conclusion** The expression level of CK18 was related to the development of HBV-associated liver disease, and may be one of the indicators for predicting the severity of HBV-related liver disease.

Key words: cytokeratin 18; HBV associated liver disease; clinical significance

慢性乙型肝炎病毒(HBV)是威胁我国人民生命健康的一个重要因素,反复的炎症刺激最终导致肝纤维化、肝硬化和肝细胞癌的发生、发展。目前针对

HBV 相关性肝病的诊断主要依靠于影像学和肝组织活检,而这两种检查均价格昂贵,且肝组织活检为有创检查,很多患者无法承受,因此寻找方便经济的

* 基金项目:河北省邯郸市科技局研究与发展计划项目(1523108076-19)。

作者简介:郭晓会,女,主治医师,主要从事消化内科疾病的诊断及治疗研究。

HBV 相关性肝病诊断方法十分重要。角蛋白是最大的中间丝蛋白家族成员,可分为 I 类和 II 类(K7 和 K8),肝细胞只表达 K8 和 K18,其中角蛋白 18 (CK18)是构成肝细胞骨架的主要中间丝蛋白之一,其在肝细胞中的主要作用是保护肝细胞免受外来的各种机械性和非机械性损伤,另还具有调节细胞周期、细胞凋亡的作用。随着研究的深入,发现细胞角蛋白表达水平能够直接反映肝细胞损伤程度,可作为肝脏病变发生、发展的检测指标^[1]。那么 CK18 表达水平与 HBV 相关性肝病发生、发展是否有关,其是否可作为预测 HBV 相关性肝病疾病严重程度的指标之一?本研究通过检测不同类型的 HBV 相关性肝病患者外周血清中 CK18 表达水平,观察 CK18 表达水平变化与 HBV 相关性肝病的关系,从而为临床 HBV 相关性肝病的早发现、早治疗提供更多的检测手段,进一步提高 HBV 相关肝病患者的生活质量。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 4 月至 2018 年 3 月在本院消化内科、感染科和普外科诊断为无肝炎活动的慢性 HBV 感染者 30 例为未活动组,肝炎活动的慢性 HBV 感染者 28 例为活动组,慢性乙型肝炎后肝硬化患者 36 例为肝硬化组,慢性乙型肝炎后肝硬化合并肝细胞癌患者 32 例为肝癌组,选取同期健康体检者 20 例作为健康对照组。所有入选患者均签署知情同意书。纳入标准:(1)慢性 HBV 感染及肝炎病毒是否活动的诊断标准参照中华医学会肝病学会和感染病学分会制订的《慢性乙型肝炎诊断标准(2015 年版)》^[2]。(2)慢性乙型肝炎后肝硬化入选标准,①病因学明确证实的 HBV 感染证据;②临床资料、影像学或活检明确证实肝硬化的证据;(3)慢性乙型肝炎后肝硬化合并肝细胞癌入选标准:①符合慢性乙型肝炎后肝硬化入选标准;②临床资料、影像学或活检证实合并肝细胞癌证据。排除标准:(1)合并丙型、丁型、戊型病毒性肝炎者,以及获得性免疫缺陷综合征者;(2)合并自身免疫性肝病、酒精性肝炎、非酒精性脂肪性肝炎等其他原因引起的肝脏疾病者;(3)接受过抗 HBV 治疗者或既往接受过抗病毒治疗现停止治疗 ≤ 1 年者;(4)合并其他恶性肿瘤或其他肿瘤伴有肝脏转移者。各组在性别、年龄等方面比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法 所有入选者于晨起空腹抽取外周静脉血 6 mL,放入肝素抗凝管中静置 30 min,在 4 °C、4 000 r/min 高速离心机中离心 10 min,分离血清和血清,血清置于-80 °C 超低温冰箱中保留备用。采用 ELISA 双抗体夹心法检测各组中 CK18 水平,由专业的检验科医师严格按照 CK18 检测试剂盒说明书检测各组入选者外周血清中 CK18 的表达水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计学软件进行分析,每组试验至少重复 3 次,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验,计量资料以百分数表示,采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

健康对照组和未活动组患者外周血清中 CK18 水平分别为(112.133 \pm 3.443)ng/mL 和(123.233 \pm 3.250)ng/mL,两组间比较差异无统计学意义($P>0.05$);而活动组 CK18 水平为(148.467 \pm 0.379)ng/mL,与健康对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$);肝硬化组患者外周血清中 CK18 水平为(169.067 \pm 1.595)ng/mL,与活动组比较,差异有统计学意义($P<0.05$);肝癌组患者 CK18 水平为(185.167 \pm 1.595)ng/mL,与肝硬化组相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨论

据 WHO 报道,全球约 4 亿人为慢性 HBV 感染者,慢性 HBV 的持续刺激,导致了肝硬化甚至肝细胞癌的发生、发展。我国是 HBV 感染的重灾区,中国 HBV 携带者在 1 亿左右,每年因慢性肝炎肝硬化病死率为 24.5/10 万,肝细胞癌病死率为 14.5/10 万^[3]。HBV 相关性肝病成为威胁广大人民群众生命财产的一个重要因素,因此对 HBV 相关性肝病的早期诊断尤为重要。

目前对于慢性 HBV 感染后肝硬化和肝细胞癌的早期诊断主要依赖于影像学和肝组织活检,其中肝组织活检是诊断的金标准,但是其不仅价格昂贵,而且是一种有创检查,有时候甚至需要反复取材,很多患者很难承受。因此,寻找更安全有效的新的检测慢性 HBV 感染后肝硬化和肝细胞癌的方法迫在眉睫,对慢性 HBV 感染后肝硬化及肝细胞癌的早发现、早治疗具有重要意义。

CK18 位于人类染色体 12q13 位置上,含有 7 个外显子,作为人类细胞角蛋白家族中的一员,其是构成细胞骨架的重要结构蛋白。CK18 是主要表达于成熟上皮细胞的中间丝蛋白,呈酸性,是肝细胞骨架中间丝蛋白的重要组成部分,具有保护肝细胞免受外界各种压力的作用^[4]。随着对其研究的深入,大量的报道显示 CK18 表达水平变化与酒精性肝炎、非酒精性脂肪肝、甚至肝细胞癌的发生、发展具有一定的联系^[5-7]。同时,BANTEL 等^[8]通过检测慢性丙型肝炎患者外周血清中 CK18 及其片段,发现其预测早期肝损伤的敏感性显著高于天门冬氨酸氨基转移酶。PA-PATNEODORIDIS 等^[9]通过检测慢性乙型肝炎患者外周血清发现,其 CK18-M30 抗原水平显著高于健康者,并得出 CK18 表达水平的变化可以作为鉴别是否感染 HBV 的一种方法,说明 CK18 在病毒性肝炎领

域具有一定的临床价值。

本试验首先通过重复前人的试验,采用 ELISA 法检测健康体检者与无活动的慢性 HBV 感染者外周血清中 CK18 的表达水平,结果发现无活动性 HBV 患者外周血清中 CK18 表达水平与健康体检者相比差异无统计学意义($P>0.05$)。接着笔者进一步检测活动性 HBV 感染者外周血清中 CK18 的表达水平,结果发现其较健康体检者明显上升,且差异有统计学意义($P<0.05$),这与前人的试验结果相一致^[9]。笔者继续检测 HBV 感染后肝硬化及肝硬化合并肝细胞癌的患者外周血清中 CK18 的表达水平,结果发现 HBV 感染后肝硬化患者较活动性 HBV 感染者血清中 CK18 表达水平明显增高,HBV 感染后肝硬化合并肝癌患者外周血清中 CK18 表达水平较 HBV 感染后肝硬化患者明显增高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。说明外周血清中 CK18 表达水平与 HBV 相关性肝病的发生、发展具有一定的关系,随着 HBV 相关性肝病严重程度的增加,外周血清中 CK18 水平会随之增加,CK18 表达水平可作为预测 HBV 相关性肝病严重程度的检测手段之一。

综上所述,本研究认为 CK18 表达水平与 HBV 相关性肝病的发生、发展密切相关,其表达水平的高低可作为预测 HBV 相关性肝病严重程度的检测方法之一。但由于本研究样本量较少,病例具有一定的局限性,且未在发病机制上进一步研究 CK18 与 HBV 相关性肝病的关系,本团队在后续工作中将深入研究 CK18 与 HBV 相关性肝病的关系。

参考文献

[1] BILICI A, USTAALIOGLUB B O, ERCAN S, et al. The prognostic significance of the increase in the serum M30

and M65 values after chemotherapy and relationship between these values and clinicopathological factors in patients with advanced gastric cancer[J]. *Tumor Biol*, 2012, 33(6):2201-2208

- [2] 中华医学会肝病学会,中华医学会感染病学分会.慢性乙型肝炎诊断标准(2015年版)[J]. *中西医结合肝病杂志*, 2015, 25(6):384-386.
- [3] 姚光弼.中国乙型肝炎治疗策略[J]. *肝脏*, 2008, 13(3):188-189.
- [4] 刘柯慧,李凤棣,王晖.细胞角蛋白 18 在慢性肝病诊断中的作用[J]. *肝脏*, 2013, 18(18):710-713.
- [5] GONZALEZ-QUIMTELA A, MELLA C, ABDULKAD-ER I, et al. Increased serum TPS (Tissue Polypeptide Specific Antigen) in alcoholics. A possible marker of alcoholic hepatitis[J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2000, 24(8):1222-1226.
- [6] SHEN J, CHAN H L, WONG G L, et al. Non-invasive diagnosis of non-alcoholic steatohepatitis by combined serum biomarkers[J]. *J Hepato*, 2012, 56(6):1363-1370.
- [7] WAIDMANN O, KOBERLE V, BETTINGER D, et al. Diagnostic and prognostic significance of cell death and macrophage activation markers in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatol*, 2013, 59(4):769-779.
- [8] BANTEL H, LOGERING A, HEIDEMANN J, et al. Detection of apoptotic caspase activation in sera from patients with chronic HCV infection is associated with fibrotic liver injury[J]. *Hepatology*, 2004, 40(5):1078-1087.
- [9] PAPTNEODORIDIS G V, HADZIYANNIS E, TSOCHATZIS E, et al. Serum apoptotic caspase activity as a marker of severity in HBeAg-negative chronic hepatitis B virus infection[J]. *Gut*, 2008, 57(4):500-506.

(收稿日期:2018-08-27 修回日期:2018-11-25)

(上接第 1011 页)

- [11] EDNER N, CASTILLO-RODAS P, FALK L, et al. Life-threatening respiratory tract disease with human bocavirus-1 infection in a 4-year-old child[J]. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(2):531-532.
- [12] KÖRNER R W, SÖDERLUND-VENERMO M, VAN KONIN GSRUGGEN-RIETSCHER S, et al. Severe human bocavirus infection, Germany[J]. *Emerg Infect Dis*, 2011, 17(12):2303-2305.
- [13] URŠIČ T, KRIVEC U, KALAN G, et al. Fatal human bocavirus infection in an 18-month-old child with chronic lung disease of prematurity[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2015, 34(1):111-112.
- [14] BREBION A, VANLIEFERINGHEN P, DÉCHELOTTE P, et al. Fatal subacute myocarditis associated with human bo-

cavirus 2 in a 13-month-old child[J]. *J Clin Microbiol*, 2014, 52(3):1006-1008.

- [15] SADEGHI M, KANTOLA K, FINNEGAN D P, et al. Possible involvement of human bocavirus 1 in the death of a middle-aged immunosuppressed patient[J]. *J Clin Microbiol*, 2013, 51(10):3461-3463.
- [16] BROCCOLO F, FALCONE V, ESPOSITO S, et al. Human bocaviruses: possible etiologic role in respiratory infection[J]. *J Clin Virol*, 2015(72):75-81.
- [17] GHETTO L M, MAJUL D, FERREYRA SOAJE P, et al. Comorbidity and high viral load linked to clinical presentation of respiratory human bocavirus infection[J]. *Arch Virol*, 2015, 160(1):117-127.

(收稿日期:2018-08-11 修回日期:2018-12-12)