

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.24.003

肌腱蛋白 C 与肝移植术后肝损伤的关系及其检测的价值*

曹薇薇¹, 杨佩军², 李 霄^{2△}

1. 安康职业技术学院, 陕西安康 725000; 2. 空军军医大学西京医院肝胆外科, 陕西西安 710032

摘要:目的 明确肝移植术后患者早期血清肌腱蛋白 C(TNC)水平变化规律,探讨其与移植肝损伤的关系及检测价值。方法 将 2015 年 2 月至 2018 年 5 月于空军军医大学西京医院行肝移植治疗的 37 例患者纳入研究。检测纳入研究者术前、术后 1、3、5、7 d 的血清 TNC 水平。依据肝功能不全分级标准将患者分为轻度肝损伤组(17 例)和重度肝损伤组(20 例)。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测上述患者不同时间点的血清 TNC 水平。采用受试者工作特征(ROC)曲线评估血清 TNC 水平对移植肝损伤的预测价值。对血清 TNC 水平与患者早期移植肝功能评分(MEAF)、术后住院时间的相关性进行分析。结果 两组间术前血清 TNC 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$),但术后各检测时间点,重度肝损伤组 TNC 水平均高于轻度肝损伤组($P<0.05$)。ROC 曲线分析显示,血清 TNC 水平用于移植肝损伤预测的曲线下面积(AUC)为 0.888,最佳临界值为 1 489 pg/mL。血清 TNC 水平与 MEAF 评分、患者住院时间均呈正相关($r=0.33, 0.38, P<0.05$)。结论 肝移植术后早期血清 TNC 水平与移植肝损伤程度有关,对肝移植术后肝损伤程度的预测有一定价值。

关键词:肝移植; 肝损伤; 肌腱蛋白 C; 早期移植植物损伤; 早期移植植物功能评分

中图法分类号:R446.11

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)24-3513-04

The relationship between Tenascin C and liver injury after liver transplantation and its detection value*

CAO Weiwei¹, YANG Peijun², LI Xiao^{2△}

1. Medical School of Ankang Vocational and Technical College, Ankang, Shaanxi 725000, China; 2. Department of Hepatobiliary Surgery, Xijing Hospital of Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi 710032, China

Abstract: Objective To investigate the patterns of serum tenascin C (TNC) level change in patients after liver transplantation, its relationship with transplanted liver injury and its detection value. **Methods** A total of 37 patients who underwent liver transplantation in Xijing Hospital of Air Force Military Medical University from February 2015 to May 2018 were enrolled in the study. The serum TNC levels of the patients were detected before operation and 1, 3, 5, and 7 d after operation. According to the classification criteria of liver insufficiency, patients were divided into mild liver-injury group (17 cases) and severe liver-injury group (20 cases). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the serum TNC levels of the patients at different time points. The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to evaluate the predictive value of serum TNC level for liver transplantation injury. The correlation between serum TNC level, early graft function score (MEAF) and postoperative hospital stay was analyzed. **Results** There was no significant difference in serum TNC level between the two groups before operation ($P>0.05$), but at each detection time point after operation, the TNC levels in the severe liver-injury group were higher than those in the mild liver-injury group ($P<0.05$). ROC curve analysis showed that the area under the curve (AUC) of serum TNC level used to predict transplant liver injury was 0.888, and the best cut-off value was 1 489 pg/mL. Serum TNC levels were positively correlated with MEAF scores and hospital stay ($r=0.33, 0.38, P<0.05$). **Conclusion** The level of serum TNC in the early stage after liver transplantation is related to the degree of liver damage after liver transplantation, and has certain value in predicting the degree of liver damage after liver

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81970566、81670593、82070681);陕西省自然科学基金研究计划项目(2017JM8014);安康职业技术学院院级科学研究项目(AZJKY2020027)。

作者简介:曹薇薇,女,讲师,主要从事检验医学基础与临床研究。△ 通信作者, E-mail:lixiao0076@163.com。

本文引用格式:曹薇薇,杨佩军,李霄.肌腱蛋白 C 与肝移植术后肝损伤的关系及其检测的价值[J].检验医学与临床,2021,18(24):3513-

transplantation.

Key words: liver transplant; liver injury; tenascin C; early graft injury; model of early allograft function

肝移植是终末期肝脏疾病和小细胞肝癌的有效治疗方法,其手术技术和围术期管理措施已较为完善,但由于供肝的热缺血、冷缺血、再植入及开放血流后的再灌注等过程均会对移植肝组织造成损伤,故术后早期移植肝损伤仍是无法避免的难题之一,严重时可诱发移植肝早期丧失功能,导致移植失败^[1]。移植肝早期损伤的病理生理过程较复杂,涉及免疫损伤、炎症损伤和缺血-再灌注损伤(IRI)等多个环节,因此预判其损伤程度和临床结局较为困难,缺少敏感的预测标志物。肌腱蛋白 C(TNC)是细胞外基质中具有独特的六臂体结构的寡聚糖蛋白家族成员,其在体内的分布较为广泛,包括肝脏、肠组织、软骨膜、骨膜、平滑肌及部分神经组织。生理情况下,TNC 参与上皮细胞的众多生理调节过程,如黏附、增殖、迁移、分化和凋亡等^[2]。既往文献报道和前期动物研究显示,在肝移植、肾移植、器官 IRI、病毒性感染、炎性反应等病理过程中,其表达迅速上调,是脏器损伤和炎症的重要分子标志物^[3-4]。据此推测 TNC 可能与移植肝早期损伤有密切联系,但其在临床肝移植术后早期患者血清中的水平变化规律仍未明确,其检测价值也尚不明确。故本研究检测了肝移植术后不同时间点的患者血清 TNC 水平,并进一步分析了血清 TNC 水平与移植肝损伤的关系,对这些问题进行了探讨,旨在为早期移植肝损伤的预测提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将 2015 年 2 月至 2018 年 5 月于空军军医大学西京医院肝胆外科接受肝移植治疗的 37 例终末期肝病患者纳入研究;男 26 例,女 11 例;平均年龄(46.76±10.03)岁,中位年龄 51 岁;主要病因:原发性肝细胞癌 11 例,乙型肝炎肝硬化 22 例,丙型肝炎肝硬化 2 例,酒精性肝硬化 2 例。所有患者均成功进行手术,无围术期死亡,其余临床资料见表 1。依据美国国家癌症研究所发布的 2009 年版肝功能不全分级标准^[6],按照术后第 1 天的相关生化指标水平将患者分为轻度肝损伤组(1~2 级)17 例和重度肝损伤组(3~4 级)20 例。所有纳入研究者均对本研究知情同意并签署知情同意书。本研究符合《赫尔辛基宣言》中的伦理准则,并由医院伦理委员会审批通过。

1.2 方法

1.2.1 血液标本的采集与保存 对所有纳入研究者于术前及术后 1、3、5、7 d,使用非抗凝管采集早晨空腹外周静脉血 4 mL,于室温放置 30 min 后以 4 000 r/min 离心 10 min,留取血清标本,在-80℃低温冰

箱中保存备用。

表 1 肝移植患者的部分临床资料(n=37)

项目	结果
手术时间[M(P ₂₅ ~P ₇₅),min]	425(377~505)
术后住院时间[M(P ₂₅ ~P ₇₅),d]	23.0(19.5~36.5)
术前 Child-Pugh 分级[n(%)]	
A 级	8(21.6)
B 级	20(54.1)
C 级	9(24.3)
术中出血量[M(P ₂₅ ~P ₇₅),mL]	1 926(722~3 130)
术中输注红细胞量[M(P ₂₅ ~P ₇₅),mL]	1 252(421~2 083)
术中输注冰冻血浆量[M(P ₂₅ ~P ₇₅),mL]	2 087(1 957~3 217)
术后早期常见并发症的发生情况[n(%)]	
腹腔出血	1(2.7)
肺部感染	3(8.1)
切口感染	4(10.8)
神经精神症状	6(16.2)

1.2.2 血清 TNC 水平检测 以酶联免疫吸附试验(ELISA)检测纳入研究的患者在不同时间点的血清 TNC 水平。ELISA 试剂盒购自英国 Abcam 公司。操作过程严格按照试剂盒说明书进行。最后,在 490 nm 波长下以酶标仪检测各孔标准品的吸光度,绘制标准曲线后计算所测标本中的 TNC 水平。

1.4 早期移植物功能评分(MEAF) 采用 MEAF 对患者术后的早期移植物损伤程度进行评估,评分的计算参照文献[5]中的公式,计算所需的数据包括术后 3 d 内丙氨酸氨基转移酶(ALT)、国际标准化比值(INR)、胆红素的最高值。

1.5 统计学处理 采用 SPSS14.0 软件进行统计学处理。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间的比较采用独立样本 *t* 检验;多组间的比较采用方差分析,进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验。不符合正态分布的计量资料以 *M*(*P*₂₅~*P*₇₅)表示。计数资料以例数或百分率表示。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析 TNC 对肝移植术后早期肝损伤的预测价值。采用 Pearson 相关分析 TNC 水平与 MEAF、住院时间的相关性。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组间血清 TNC 水平比较 术前两组 TNC 水平较低,组间比较差异均无统计学意义(*P*>0.05)。术后两组 TNC 水平均升高,且术后 1~5 d 的上升幅度较大,5~7 d 的上升幅度较小,逐渐趋于稳定状态。

在各检测时间点,重度肝损伤组的 TNC 水平高于轻度肝损伤组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 两组患者术后血清 TNC 水平 (pg/mL, $\bar{x}\pm s$)

组别	n	术前	术后			
			1 d	3 d	5 d	7 d
轻度肝损伤组	17	37.8±5.3	181.0±29.0	355.0±61.0	681.0±97.0	895.0±134.0
重度肝损伤组	20	40.5±4.8	434.0±62.0	936.0±127.0	1 543.0±225.0	1 781.0±180.0
t		1.655	15.706	17.534	14.921	17.024
P		0.114	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 TNC 水平用于预测移植肝损伤程度的 ROC 曲线分析 由于术后 7 d 两组患者血清 TNC 上升幅度均明显减小,逐渐趋于稳定状态,故将术后 7 d 时的 TNC 水平作为预测移植肝损伤程度的指标进行 ROC 曲线分析。曲线下面积 (AUC) 为 0.888 (95%CI: 0.781~0.995),最佳临界值为 1 489 pg/mL,约登指数为 0.715,此时的灵敏度、特异度分别为 0.950、0.765。

2.4 血清 TNC 水平与 MEAF 评分及住院时间的关系 血清 TNC 水平与 MEAF 评分呈正相关($r=0.33, P<0.05$),与患者住院时间呈正相关($r=0.38, P<0.05$),见图 1、2。

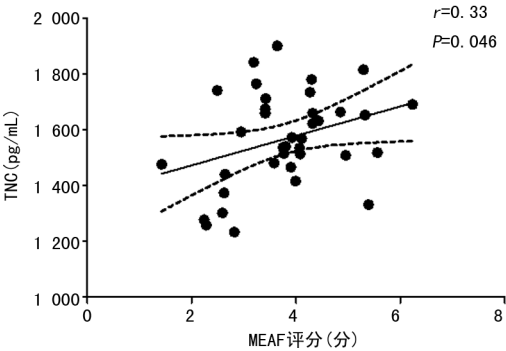


图 1 患者血清 TNC 水平与 MEAF 评分的关系

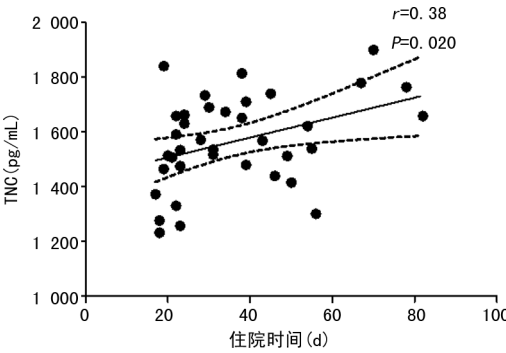


图 2 患者血清 TNC 水平与住院时间的关系

3 讨 论

尽管临床肝移植已开展半个多世纪,但早期移植肝损伤和晚期慢性排斥始终是困扰肝移植近期和远期疗效的难题。相对于慢性排斥,移植肝损伤发生时

间较早,影响也较为广泛,若发现较晚或处理不当,则会导致移植肝功能不全、原发性移植肝无功能、急性肾损伤、肠道损伤和急性呼吸窘迫综合征等多系统器官功能障碍的发生^[7-9],极大增加了肝移植患者围术期并发症发病率和病死率。肝损伤的早发现、早干预对提高肝移植患者生活质量及长期预后有重要意义。目前临床常用于肝损伤评估的指标有 ALT、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)等,但这些指标的灵敏度和对预后的预测价值都较为有限,还需要进一步寻找更加敏感的诊断指标。

本课题组在既往的研究中利用肝移植动物模型对移植肝早期损伤的发生机制进行了较为系统的研究。首先,将 8 例基因敲除小型猪作为供肝来源,对藏酋猴进行辅助性脾窝异位肝移植,通过对移植术前和术后的转录基因差异表达谱进行分析,发现术后 TNC 在移植肝组织内显著上调。随后,构建了同种异基因大鼠肝移植模型,发现移植后 7 d, TNC 在受体血清中的水平和移植肝组织内表达水平均比对照组有明显升高。进一步的统计分析还表明 TNC 升高水平与 Banff 分级评估的排斥活动指数(RAI)呈正相关。这些结果初步证实 TNC 与肝移植术后早期移植肝损伤有一定联系。

为进一步明确 TNC 在临床肝移植术后患者体内水平的变化规律,探讨其与移植肝损伤的关系及其检测价值,课题组开展了本研究。结果表明, TNC 在肝移植术后患者体内水平明显升高,与动物实验结果是一致的。依据美国国家癌症研究所发布的 2009 年版肝功能不全分级标准^[6],按照术后第 1 天的生化指标,将患者分为轻度肝损伤组和重度肝损伤组,比较两组患者的检测结果发现,在术后各检测时间点,重度肝损伤组的 TNC 水平均明显高于轻度肝损伤组,提示 TNC 的升高幅度反映了移植肝的损伤程度。ROC 曲线分析显示, TNC 预测移植肝损伤的 AUC 为 0.888,最佳临界值为 1489 pg/mL。TNC 水平与 MEAF 评分、住院时间均呈正相关($r=0.33、0.38, P<0.05$)。分析 TNC 水平与住院时间呈正相关关

系的可能原因:术后重度肝损伤组患者的恢复时间较轻度肝损伤组患者长,而 TNC 水平恰恰反映的是肝损伤的严重程度,与术后移植肝及患者的恢复情况密切相关。术后 TNC 水平越高,提示肝损伤程度越重,其术后恢复时间可能较长,故住院时间延长。

作为细胞外基质中具有独特六臂体结构的寡聚糖蛋白,TNC 的生物学功能十分复杂,目前相关的体内研究资料较少,还不能完全判断其表达规律及检测价值。但已有的研究证据已提示 TNC 的表达与各种病因所致的肝损伤有一定的联系。例如,BENBOW 等^[10]在一项针对 HCV 肝硬化患者的前瞻性研究中发现,TNC 在患者血清中的水平显著升高,其升高幅度与 AST、终末期肝病模型(MELD)评分、Child-Pugh 评分均呈正相关关系;而 TNC 联合 AST 可准确判断 HCV 感染程度和肝损伤程度,其诊断特异度和灵敏度均优于其他指标。KURIYAMA 等^[11]在小鼠体内完全敲除 TNC 表达,然后建立肝脏 IRI 模型,发现 TNC 缺乏可减少白细胞在肝脏组织内的蓄积并抑制白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6 和趋化因子 CXC 配体 2(CXCL2)的分泌,减轻肝脏的损伤程度并促进肝组织的修复和再生。总的来说,文献[12-14]报道显示 TNC 在正常肝组织中的表达量很低,但在损伤后的肝组织中表达量出现异常增高,是当前肝脏疾病治疗研究中的重要靶标分子。

本研究初步证实 TNC 与术后早期移植肝损伤有关,对于明确移植肝损伤程度具有潜在的预测价值。但由于目前缺乏公认的体外研究肝移植机制的细胞模型,因此介导 TNC 在肝移植术后的表达变化的分子及细胞学机制仍有待进一步探讨。此外,受限于肝移植术后肝组织标本获取困难,未使用临床肝移植术后标本进行 TNC 相关检测,计划在后续工作中予以完善。

综上所述,TNC 在术后早期肝移植患者体内水平异常升高,其反映了移植肝损伤的程度并可能在免疫损伤、IRI 等过程中发挥重要作用,可为肝移植术后早期移植肝损伤的诊断和治疗提供新的思路。

参考文献

- [1] STANKIEWICZ R, GRAT M. Direct, remote and combined ischemic conditioning in liver surgery[J]. World J Hepatol, 2021, 13(5): 533-542.
- [2] ALBACETE-ALBACETE L, SANCHEZ-ALVAREZ M, DEL POZO M A. Extracellular vesicles: an emerging

mechanism governing the secretion and biological roles of Tenascin-C[J]. Front Immunol, 2021, 12: 671485.

- [3] TUCKER R P, CHIQUET-EHRISMANN R. Tenascin-C: its functions as an integrin ligand[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2015, 65: 165-168.
- [4] CHEN S, FU H, WU S, et al. Tenascin-C protects against acute kidney injury by recruiting Wnt ligands[J]. Kidney Int, 2019, 95(1): 62-74.
- [5] PAREJA E, CORTES M, HERVAS D, et al. A score model for the continuous grading of early allograft dysfunction severity[J]. Liver Transpl, 2015, 21(1): 38-46.
- [6] U. S. Department of Health and Human Services. Common terminology criteria for adverse events (CTCAE) version 4. 02 [EB/OL]. [2021-05-06]. https://cabi.nci.nih.gov/News_Folder/CTCAE_v4.0.
- [7] LACQUANITI A, CAMPO S, CASUSCELLI DI TOCCO T, et al. Acute and chronic kidney disease after pediatric liver transplantation: an underestimated problem[J]. Clin Transplant, 2020, 34(11): e14082.
- [8] ZHOU J, CHEN J, WEI Q, et al. The role of ischemia/reperfusion injury in early hepatic allograft dysfunction[J]. Liver Transpl, 2020, 26(8): 1034-1048.
- [9] TONIUTTO P, ZANETTO A, FERRARESE A, et al. Current challenges and future directions for liver transplantation[J]. Liver Int, 2017, 37(3): 317-327.
- [10] BENBOW J H, ELAM A D, BOSSI K L, et al. Analysis of plasma Tenascin-C in post-HCV cirrhosis: a prospective study[J]. Dig Dis Sci, 2018, 63(3): 653-664.
- [11] KURIYAMA N, DUARTE S, HAMADA T, et al. Tenascin-C: a novel mediator of hepatic ischemia and reperfusion injury[J]. Hepatology, 2011, 54(6): 2125-2136.
- [12] VIVERO-ESCOTO J L, VADAREVU H, JUNEJA R, et al. Nanoparticle mediated silencing of tenascin C in hepatic stellate cells: effect on inflammatory gene expression and cell migration[J]. J Mater Chem B, 2019, 7(46): 7396-7405.
- [13] LI H, GE X, PAN K, et al. The predictive role of Tenascin-C and cellular communication network factor 3 (ccn3) in post hepatectomy liver failure in a rat model and 50 patients following partial hepatectomy[J]. Med Sci Monit, 2019, 25: 6755-6766.
- [14] KATO H, DUARTE S, MILLER M G, et al. Overproduction of Tenascin-C driven by lipid accumulation in the liver aggravates hepatic ischemia/reperfusion injury in steatotic mice[J]. Liver Transpl, 2019, 25(2): 288-301.

(收稿日期: 2021-03-26 修回日期: 2021-09-09)