

• 临床研究 •

IL-33、TIMP-1 及 MMP-2 在慢性乙型肝炎肝硬化中的诊断效能分析

郑霄, 顾佳萍, 陈佳云

【摘要】目的 分析白介素-33(IL-33)、基质金属蛋白酶组织抑制剂-1(TIMP-1)、基质金属蛋白酶-2(MMP-2)在慢性乙型肝炎肝硬化(HBC)中的诊断效能。**方法** 选取 2021 年 7 月至 2022 年 6 月浙江大学医学院附属第二医院临平院区收治的 HBC 患者 184 例(HBC 组),另选取同期于本院体检的健康人群 182 例设为对照组。比较 HBC 组、对照组血清 IL-33、TIMP-1 及 MMP-2 水平。HBC 组根据疾病分期分为代偿组、失代偿组。HBC 患者出院后随访至 2023 年 12 月,采用 Cox 风险比例回归模型分析 HBC 预后的影响因素;绘制受试者工作特征曲线(ROC)分析血清 IL-33、TIMP-1 联合 MMP-2 对 HBC 预后的预测价值。**结果** 与对照组比较,HBC 组血清 IL-33、TIMP-1、MMP-2 水平升高($P < 0.05$);与代偿组比较,失代偿组血清 IL-33、TIMP-1 及 MMP-2 水平升高($P < 0.05$)。分析显示,年龄、饮酒、Child Pugh 分级、自发性腹膜炎、IL-33、TIMP-1 及 MMP-2 均是 HBC 预后的影响因素(均 $P < 0.05$);与 IL-33、TIMP-1、MMP-2 单独检测比较,三者联合检测的 ROC 曲线下面积升高(均 $P < 0.05$)。**结论** IL-33、TIMP-1、MMP-2 在 HBC 中表达升高,且与疾病分期有关,三者联合检测对 HBC 预后具有较高的诊断效能。

【关键词】 慢性乙型肝炎;肝硬化;白介素-33;基质金属蛋白酶组织抑制剂-1;基质金属蛋白酶-2

doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2024.05.010

【中图分类号】 R512.62 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1671-0800(2024)05-0599-04

全球约有 2.57 亿慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者,其中约有 650 万人发展为慢性乙型肝炎肝硬化(hepatitis B cirrhosis, HBC)或肝癌^[1-2]。目前,HBC 治疗以控制病因、预防并发症和移植肝脏为主,但均存在局限性和不足^[3-4]。由于肝活检的穿刺部位随机、活检样本较小,同时患者病理特征具有异质性,可能造成漏诊,而肝瞬时弹性成像检查(transient elastography, TE)又有通量有限的缺点,因此血清学检查是未来肝纤维化筛查的主要发展方向^[5]。HBC 的发生发展涉及多种细胞因子、趋化因子、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)和组织抑制素(tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMPs)等分子的调控,其中白介素-33(interleukin-33, IL-33)、金属蛋白酶组织抑制因子-1(tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1)、基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)具有重要作用。本研究拟探讨 IL-33、TIMP-1 及 MMP-2 在 HBC 中

的诊断效能,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2021 年 7 月至 2022 年 6 月浙江大学医学院附属第二医院临平院区收治的 HBC 患者 184 例(观察组),纳入标准:(1)符合《现代肝病诊断与治疗》中 HBC 诊断标准^[6];(2)年龄 > 18 岁;(3)患者资料完整;(4)患者沟通、理解能力正常,可配合本研究。排除标准:(1)近 1 个月服用抗菌药物者;(2)合并其他肝脏系统疾病者;(3)酒精性肝硬化者;(4)合并恶性肿瘤者;(5)研究期间退出、随访失联者。本研究获得浙江大学医学院附属第二医院临平院区伦理委员会批准(伦 2021 论第 72 号),所有研究对象均同意参加本研究并签署书面知情同意书。

观察组男 98 例,女 86 例;年龄 $32 \sim 78$ 岁,平均 (56.1 ± 7.8) 岁;体质指数(BMI) $18.32 \sim 29.57 \text{ kg/m}^2$,平均 $(23.14 \pm 2.53) \text{ kg/m}^2$ 。另选取同期来本院体检的健康人群 182 例设为对照组,其中男 102 例,女 80 例;年龄 $34 \sim 76$ 岁,平均 (56.0 ± 7.7) 岁;BMI 为 $18.27 \sim 29.45 \text{ kg/m}^2$,平均 $(23.19 \pm 2.45) \text{ kg/m}^2$ 。两组性别、年龄及 BMI 差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

基金项目: 浙江省医药卫生科技计划项目(2024KY1462)

作者单位: 311100 杭州,浙江大学医学院附属第二医院临平院区

通信作者: 郑霄,Email: 1218807046@qq.com

1.2 方法

1.2.1 血清 IL-33、TIMP-1 及 MMP-2 水平检测 抽取两组患者空腹肘部静脉血 5 ml,离心后提取血清,采用酶联免疫吸附法检测 IL-33、TIMP-1 及 MMP-2 水平。

1.2.2 基线资料收集 包括性别、年龄、吸烟史、饮酒史及 BMI,合并糖尿病、高血压、高尿酸血症情况,Child Pugh 分级、腹水情况、肝性脑病、自发性腹膜炎、HBV DNA、乙型肝炎 E 抗原(HBeAg)阳性、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TBil)、脾静脉内径、门静脉内径及抗病毒治疗情况等。其中 HBC 分期根据《肝硬化诊治指南》^[7]中标准进行,分代偿期与失代偿期。

1.3 随访 患者出院后通过电话及门诊随访,随访截止至 2024 年 1 月 5 日,中位随访时间 24 个月,随访终点为截止随访日期前出现原发性肝癌或死亡,统计为预后不良。

1.4 统计方法 数据采用 SPSS 23.0 软件分析,符合正态分布的计量资料以均数±标准差表示,采用 *t* 检验;计数资料采用 χ^2 检验。采用 Cox 风险比例回归模型分析 HBC 预后的影响因素;采用受试者工作特征曲线(ROC)分析预测价值,并经 Pairwise 算法检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对照组与 HBC 组血清 IL-33、TIMP-1 及 MMP-2 水平比较 与对照组比较,HBC 组血清 IL-33、TIMP-1 及 MMP-2 水平均升高(均 $P < 0.05$),见表 1。

2.2 代偿组与失代偿组血清 IL-33、TIMP-1 及 MMP-2 水平比较 代偿期患者 102 例(代偿组),失代偿患者 82 例(失代偿组)。与代偿组比较,失代偿组血清 IL-33、TIMP-1 及 MMP-2 水平均升高(均 $P < 0.05$),见表 2。

2.3 良好组与不良组血清 IL-33、TIMP-1 及 MMP-2 水平比较 截止随访终点,184 例患者脱落 19 例,其余 165 例中原发性肝癌 6 例,死亡 27 例,预后不良患者 33 例(20%,不良组),其余 132 例纳入良好组。与良好组比较,不良组血清 IL-33、TIMP-1 及 MMP-2 水平均升高(均 $P < 0.05$),见表 3。

2.4 良好组与不良组基线资料比较 与良好组比较,不良组年龄较大($P < 0.05$),饮酒、糖尿病、Child

Pugh 分级 C 级、腹水及自发性腹膜炎构成比均升高(均 $P < 0.05$),见表 4。

2.5 HBC 预后影响因素分析 结果显示,年龄、饮酒、Child Pugh 分级、自发性腹膜炎、IL-33、TIMP-1、MMP-2 均是 HBC 预后的影响因素(均 $P < 0.05$),见表 5。

2.6 IL-33、TIMP-1 及 MMP-2 联合检测对 HBC 预后的评估价值 ROC 曲线显示,与 IL-33、TIMP-1 及 MMP-2 单独检测比较,三者联合检测 AUC 升高($Z \geq 2.15$,均 $P < 0.05$),见表 6、图 1。

3 讨论

本研究结果显示,HBC 患者血清 IL-33、TIMP-1、MMP-2 水平高于健康人群,失代偿期 HBC 患者高于代偿期患者,且三者均是 HBC 预后不良的危险因素。IL-33 可通过激活肝星状细胞和肝内免疫细胞等,促进肝纤维化和炎症反应的发生,并诱导肝脏中其他细胞产生多种炎症介质,如 IL-6、IL-8 和 TNF- α 等,进一步加剧肝炎肝硬化的病理过程^[8-9]。TIMP-1 是 MMPs 的主要抑制剂之一,在 HBC 中通常被认为是一种促纤维化因子,可通过结合 MMPs 的活性部位降低其降解基质蛋白的能力,从而减少

表 1 对照组与 HBC 组血清 IL-33、TIMP-1 及 MMP-2 水平比较

组别	例数	IL-33(pg/ml)	TIMP-1 (ng/ml)	MMP-2(ng/ml)
对照组	182	13.37±3.68	301.25±63.21	79.33±31.47
HBC 组	184	21.78±6.69	454.67±95.14	130.59±48.12
<i>t</i> 值		14.87	18.15	12.04
<i>P</i> 值		< 0.05	< 0.05	< 0.05

注: IL-33 为白介素-33, TIMP-1 为金属蛋白酶组织抑制因子-1, MMP-2 为基质金属蛋白酶-2

表 2 代偿组与失代偿组血清 IL-33、TIMP-1 及 MMP-2 水平比较

组别	例数	IL-33(pg/ml)	TIMP-1 (ng/ml)	MMP-2(ng/ml)
代偿组	102	17.58±3.01	366.47±58.41	112.56±23.31
失代偿组	82	27.00±5.27	564.38±83.25	153.02±35.29
<i>t</i> 值		15.23	18.91	9.36
<i>P</i> 值		< 0.05	< 0.05	< 0.05

注: IL-33 为白介素-33, TIMP-1 为金属蛋白酶组织抑制因子-1, MMP-2 为基质金属蛋白酶-2

表 3 良好组与不良组血清 IL-33、TIMP-1 及 MMP-2 水平比较

组别	例数	IL-33(pg/ml)	TIMP-1 (ng/ml)	MMP-2(ng/ml)
良好组	132	18.33±3.62	403.47±61.01	105.55±30.08
不良组	33	32.14±4.57	612.29±85.22	236.60±41.19
<i>t</i> 值		3.41	2.76	3.59
<i>P</i> 值		< 0.05	< 0.05	< 0.05

注: IL-33 为白介素-33, TIMP-1 为金属蛋白酶组织抑制因子-1, MMP-2 为基质金属蛋白酶-2

表 4 良好组与不良组基线资料比较

一般资料	良好组(<i>n</i> =132)	不良组(<i>n</i> =33)	$\chi^2(t)$ 值	<i>P</i> 值
性别(男/女,例)	68/64	22/11	2.44	> 0.05
年龄(岁)	53.2±7.9	57.3±8.4	(2.61)	< 0.05
吸烟[例(%)]	38(28.79)	12(36.36)	0.71	> 0.05
饮酒[例(%)]	30(22.73)	15(45.45)	6.87	< 0.05
BMI(kg/m ²)	23.25±2.17	23.30±2.21	(0.11)	> 0.05
糖尿病[例(%)]	9(6.82)	6(18.18)	4.12	< 0.05
高血压[例(%)]	12(9.09)	7(21.21)	3.80	> 0.05
高尿酸血症[例(%)]	7(5.30)	4(12.12)	1.97	> 0.05
Child Pugh 分级(A/B/C,例)	38/80/14	9/15/9	6.33	< 0.05
腹水[例(%)]	42(31.82)	17(51.52)	4.45	< 0.05
肝性脑病[例(%)]	15(11.36)	8(24.24)	3.65	> 0.05
自发性腹膜炎[例(%)]	18(13.64)	11(33.33)	7.07	< 0.05
HBV DNA(copy/ml)	1 256.32±247.89	1 306.92±269.33	(1.03)	> 0.05
HBeAg 阳性[例(%)]	115(87.12)	32(96.97)	2.63	> 0.05
ALT(U/L)	36.02±4.17	37.75±5.86	(1.95)	> 0.05
AST(U/L)	40.59±5.08	42.58±6.12	(1.92)	> 0.05
TBiL(μmol/L)	24.43±4.19	26.14±5.87	(1.92)	> 0.05
脾静脉内径(cm)	0.89±0.11	0.93±0.14	(1.76)	> 0.05
门静脉内径(cm)	1.25±0.24	1.35±0.41	(1.82)	> 0.05
抗病毒治疗[例(%)]	45(34.09)	9(27.27)	0.55	> 0.05

注:BMI为体质质量指数,HBV DNA为慢性乙型肝炎DNA,HBeAg为乙型肝炎E抗原,ALT为丙氨酸氨基转移酶,AST为天冬氨酸氨基转移酶,TBiL为总胆红素

表 5 HBC 预后的影响因素分析

变量	β 值	<i>SE</i> 值	Wald χ^2 值	<i>P</i> 值	<i>OR</i> 值(95% <i>CI</i>)
年龄	0.612	0.310	3.89	< 0.05	1.844(1.004 ~ 3.386)
饮酒	1.345	0.463	8.43	< 0.05	3.838(1.549 ~ 9.511)
Child Pugh 分级	0.874	0.414	4.45	< 0.05	2.396(1.064 ~ 5.395)
自发性腹膜炎	0.933	0.298	9.80	< 0.05	2.542(1.478 ~ 4.559)
IL-33	1.147	0.362	10.03	< 0.05	3.149(1.549 ~ 6.401)
TIMP-1	1.014	0.423	5.74	< 0.05	2.757(1.203 ~ 6.316)
MMP-2	1.796	0.415	18.72	< 0.05	6.025(2.671 ~ 13.591)
常数项	- 9.332	3.274	6.35		

注:IL-33 为白介素-33,TIMP-1 为金属蛋白酶组织抑制因子-1,MMP-2 为基质金属蛋白酶-2

表 6 IL-33、TIMP-1 及 MMP-2 检测对 HBC 预后的评估价值

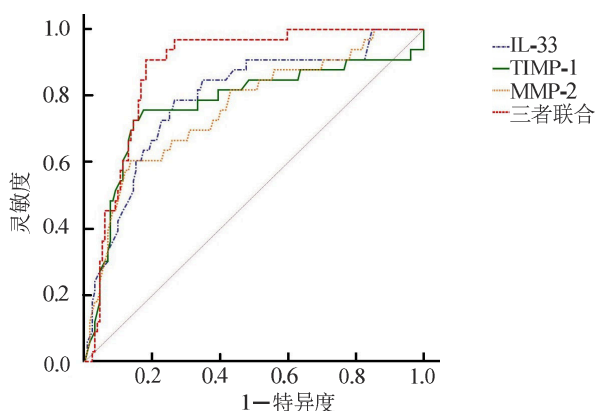
项目	最佳截断点	灵敏度(%)	特异度(%)	<i>AUC</i> (95% <i>CI</i>)
IL-33	22.60 pg/ml	78.79(26/33)	73.48(97/132)	0.794(0.724 ~ 0.853)
TIMP-1	496.93 ng/ml	75.76(25/33)	82.58(109/132)	0.774(0.703 ~ 0.836)
MMP-2	165.27 ng/ml	60.61(20/33)	82.58(109/132)	0.763(0.690 ~ 0.825)
三者联合	—	90.91(30/33)	73.48(97/132)	0.883(0.824 ~ 0.928)

注:IL-33 为白介素-33,TIMP-1 为金属蛋白酶组织抑制因子-1,MMP-2 为基质金属蛋白酶-2

基质蛋白的降解和清除;此外,TIMP-1 还具有受体介导的信号传导功能,在 HBC 中具有复杂的作用机制,如可通过与 CD63/LRP-1 复合体结合,在星形细胞中激活 PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路,从而促进星形细胞的增殖和迁移;与 α 3 β 1 整合素结合,在星形细胞中激活 ERK1/2 信号通路,从而抑制 TGF- β 1 诱导的 Smad3 信号和 α -SMA 表达^[10-11]。MMP-2 是一种明胶酶,主要由肝星状细胞等细胞产生,可降解 I

型、III型和IV型胶原蛋白等基质蛋白,参与肝脏的重塑和修复^[12]。在 HBC 中,炎症反应和肝脏损伤会导致肝组织 MMP-2 的表达升高;在肝纤维化过程中,MMP-2 的升高可促进纤维组织的降解和清除,从而减轻纤维化程度,但其过度激活也可能对肝脏产生不利影响,可能导致病理性纤维化加重,破坏正常的肝脏结构。

本研究中 IL-33、TIMP-1、MMP-2 三者联合检测



注: IL-33 为白介素-33, TIMP-1 为金属蛋白酶组织抑制因子-1, MMP-2 为基质金属蛋白酶-2

图1 IL-33、TIMP-1 及 MMP-2 检测对 HBC 预后的评估价值

预测 HBC 预后的价值高于单独检测,是因为三者在 HBC 的发生及进展中涉及到不同方面。IL-33 参与免疫应答调控, TIMP-1 与组织重塑和纤维化有关, MMP-2 参与细胞外基质降解,揭示单独检测无法捕捉到的潜在协同效应或复杂相互作用,通过联合检测可更全面地了解该病的潜在机制和过程^[13-14]。

综上所述,年龄、饮酒、Child Pugh 分级、自发性腹膜炎、IL-33、TIMP-1 及 MMP-2 是 HBC 预后的影响因素,其中 IL-33、TIMP-1 及 MMP-2 与疾病发生及进展密切相关,且三者联合检测对 HBC 预后具有较高的诊断效能。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 郑霄:实验操作、论文撰写;陈佳云:数据整理、统计学分析;顾银萍:研究指导、论文修改、经费支持

参 考 文 献

- [1] JENG W J, PAPATHEODORIDIS G V, LOK A S F. Hepatitis B[J]. Lancet, 2023, 401(10381): 1039-1052.
- [2] ALBERTS C J, CLIFFORD G M, GEORGES D, et al. Worldwide prevalence of hepatitis B virus and hepatitis C virus among patients with cirrhosis at country, region, and global levels: A systematic review[J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2022, 7(8): 724-735.
- [3] YOSHIJI H, NAGOSHI S, AKAHANE T, et al. Evidence-based

clinical practice guidelines for Liver Cirrhosis 2020[J]. J Gastroenterol, 2021, 56(7): 593-619.

- [4] RIZZOG E M, CABIBBO G, CRAXI A. Hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma[J]. Viruses, 2022, 14(5): 986.
- [5] 张意钗,罗胜强,岑美婷.IL-33、TIMP-1、MMP-2 联合乙肝五项指标诊断慢性HBV肝纤维化的应用价值[J].临床和实验医学杂志, 2022,21(13):1387-1390.
- [6] 林小田.现代肝病诊断与治疗[M].北京:军事医学科学出版社, 2013:15-16.
- [7] 中华医学会肝病学分会.肝硬化诊治指南[J].中华肝脏病杂志, 2019,27(11):846-865.
- [8] ASKOURAM, ABBAS H A, AL SADOUN H, et al. Elevated levels of IL-33, IL-17 and IL-25 indicate the progression from chronicity to hepatocellular carcinoma in hepatitis C virus patients[J]. Pathogens, 2022, 11(1): 57.
- [9] 明芳,章颖,李兆明,等.IL-33 和 sT2 联合 MELD 评分对乙型肝炎相关慢加急性/亚急性肝衰竭患者短期预后的预测价值[J].江苏医药,2022,48(2):186-190.
- [10] PARK S K, HWANG Y S, PARK K K, et al. Kalopanaxsaponin A inhibits PMA-induced invasion by reducing matrix metalloproteinase-9 via PI3K/Akt- and PKCdelta-mediated signaling in MCF-7 human breast cancer cells[J]. Carcinogenesis, 2009, 30(7): 1225-1233.
- [11] QING Z B, YUAN W X, WANG J S, et al. Verapamil inhibited the development of ureteral stricture by blocking CaMK II-mediated STAT3 and Smad3/JunD pathways[J]. Int Urol Nephrol, 2022, 54 (11): 2855-2866.
- [12] MARTINEZ-CASTILLO M, HERNANDEZ-BARRAGAN A, FLORES-VASCONCELOS I, et al. Production and activity of matrix metalloproteinases during liver fibrosis progression of chronic hepatitis C patients[J]. World J Hepatol, 2021, 13(2): 218-232.
- [13] LI W T, DUAN X Q, ZHU C L, et al. Hepatitis B and hepatitis C virus infection promote liver fibrogenesis through a TGF- β 1-induced OCT4/nanog pathway[J]. J Immunol, 2022, 208(3): 672-684.
- [14] CHE L, DU Z B, WANG W H, et al. Intracellular antibody targeting HBx suppresses invasion and metastasis in hepatitis B virus-related hepatocarcinogenesis via protein phosphatase 2A-B56 γ -mediated dephosphorylation of protein kinase B[J]. Cell Prolif, 2022, 55(11): e13304.

收稿日期:2024-02-04

(本文编辑:钟美春)