

• 诊治分析 •

血清 CCL2、GP73、miR-18a 在 HBV 相关肝病中的临床价值分析

陈佳云, 顾佳萍, 王欢

【关键词】 血清趋化因子配体 2; 高尔基体蛋白 73; 微小 RNA-18a; 乙型肝炎肝硬化

doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2024.07.015

【中图分类号】 RR657.3⁺1, R512.6⁺2 【文献标志码】 A 【文章编号】 1671-0800(2024)07-0898-03

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)长期感染,可能会诱发慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)、肝纤维化、肝硬化和肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)等疾病^[1-2]。血清趋化因子配体 2(chemokine 2, CCL2)被认为是引发炎症的初始因子,能与单核细胞表面受体 CCR2 联合,从而引起单核细胞聚集在炎症发生处^[3]。GP73 是整合在高尔基体上的蛋白,正常情况下仅表达于肝胆管细胞,肝细胞几乎不表达;HBV 感染后其表达升高^[4-5]。因此,GP73 成为检测 HBV 感染,以及其导致的肝细胞恶化的关键指标。微小 RNA-18a(miR-18a)作为一种新型的基因调节剂,广泛分布于人、动物及植物细胞内,与 HCC 之间的联系颇为紧密^[6]。但是目前关于三者与 HBV 相关肝病的相关性报道尚少;基于此,本研究探讨血清 CCL2、GP73、miR-18a 在 HBV 相关肝病中的临床价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取浙江大学医学院附属第二医院临平院区 2022 年 6 月至 2023 年 12 月收治的 CHB 患者 120 例,乙型肝炎肝硬化患者 108 例, HCC 患者 80 例作为研究对象。纳入标准:符合 HBV 相关性肝病诊断标准^[7-9],依从性较好。排除标准:有精神疾病且不配合治疗者,有心、脑、肾等其他慢性病者。另选同期在本院进行体检的 120 例健康人群作为对照组。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(审批号:伦 2022 论第 58

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。

1.2 方法 血液学检测由本院检验科在标本采集的 24 h 内完成。HBV-DNA 采用实时荧光定量 PCR 仪(ABI-7500)检测,肝功能指标天冬氨酸氨基转移酶(AST)和丙氨酸氨基转移酶(ALT)采用 AU2700 全自动生化分析仪检测,血清 CCL2、GP73 水平采用酶联免疫吸附法检测,血清 miR-18a 水平采用 RT-qPCR 法检测。

1.3 观察指标 (1)比较 4 组研究对象血清 CCL2、GP73、miR-18a 表达水平。(2)根据 ALT 水平^[7]将 CHB 组患者分为轻度亚组、中度亚组和重度亚组,比较不同程度 CHB 组患者血清 CCL2、GP73、miR-18a 表达水平。

1.4 统计方法 采用 SPSS 25.0 统计软件进行分析,正态分布计量资料以均数±标准差表示,多组比较采用单因素方差分析,两组比较采用 *t* 检验;计数资料以例(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;相关性分析采用 Pearson 相关分析;诊断效能分析采用受试者工作特征(ROC)曲线分析。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4 组临床基线资料比较 4 组年龄和性别差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。CHB 组、乙型肝炎肝硬化组、HCC 组患者有饮酒史比例和血清 CCL2、GP73、ALT、AST 及 HBV-DNA 水平均高于对照组,miR-18a 水平低于对照组;而乙型肝炎肝硬化组、HCC 组患者血清 CCL2、GP73、ALT、AST 及 HBV-DNA 水平又高于 CHB 组,miR-18a 水平低于 CHB 组;HCC 组患者血清 CCL2、GP73、ALT、AST 及

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: 陈佳云, Email: 104215916@qq.com

HBV-DNA 水平高于乙型肝炎肝硬化组,而 miR-18a 水平低于乙型肝炎肝硬化组(均 $P < 0.05$),见表 1。

2.2 不同程度 CHB 患者血清 CCL2、GP73、miR-18a 表达比较 中度 CHB、重度 CHB 患者血清 CCL2、GP73 水平高于轻度 CHB,而 miR-18 水平低于轻度 CHB(均 $P < 0.05$);重度 CHB 血清 CCL2、GP73 高于中度 CHB,而 miR-18a 水平低于中度 CHB(均 $P < 0.05$),见表 2。

2.3 HBV 相关肝病患者血清 ALT、AST、HBV-DNA 与 CCL2、GP73、miR-18a 表达相关性 HBV 相关肝病患者 ALT、AST、HBV-DNA 水平与血清 CCL2、GP73 表达呈正相关,与 miR-18a 表达为负相关(均 $P < 0.05$),见表 3。

2.4 血清 CCL2、GP73、miR-18a 对 HBV 相关肝病

的诊断效能 血清 CCL2、GP73、miR-18a 联合检测对 HBV 相关肝病的诊断效能最佳,见表 4。

3 讨论

GP73 是一种新发现的蛋白,正常人 GP73 主要定位于胆管上皮高尔基体囊泡,而肝细胞不表达^[10]。本研究发现,CHB 组、乙型肝炎肝硬化组、HCC 组患者血清 GP73 水平高于对照组,且 HBV 相关肝病患者 ALT、AST、HBV-DNA 水平与血清 GP73 表达为正相关。这是由于 HBV 感染后,随着 CHB、乙型肝炎肝硬化、HCC 的疾病进展,HBV 感染引起 GP73 从高尔基体囊泡向细胞质内部及肝细胞膜表面迁移,造成 GP73 可以在肝细胞膜上自由移动,造成 HCC 患者的血清中高表达^[11]。有研究报道在 CHB

表 1 4 组患者临床基线资料比较

项目	对照组($n=120$)	CHB 组($n=120$)	乙型肝炎肝硬化组($n=108$)	HCC 组($n=80$)	$F(\chi^2)$ 值	P 值
年龄(岁)	44.5±8.9	42.0±7.6	43.5±8.7	43.6±8.2	0.41	> 0.05
性别(例)					(0.21)	> 0.05
男	64	70	58	52		
女	56	50	50	28		
饮酒史(例)					(12.35)	< 0.05
是	74	92	67	63		
否	46	28	41	17		
ALT(U/L)	18.46±4.50	70.04±8.15 ^a	83.64±8.59 ^{ab}	96.51±10.35 ^{abc}	53.26	< 0.05
AST(U/L)	30.26±8.15	172.40±15.35 ^a	402.15±60.41 ^{ab}	541.60±62.34 ^{abc}	73.39	< 0.05
CCL2(ng/ml)	36.47±1.54	50.36±2.16 ^a	60.45±3.25 ^{ab}	82.16±3.58 ^{abc}	40.56	< 0.05
GP73(ng/L)	73.25±12.35	98.48±20.17 ^a	154.18±26.47 ^{ab}	204.18±32.14 ^{abc}	31.08	< 0.05
miR-18a(ng/L)	1.89±0.36	1.64±0.30 ^a	1.34±0.23 ^{ab}	1.03±0.20 ^{abc}	5.98	< 0.05
HBV-DNA($\times 10^3$ IU/ml)	4.39±0.59	6.21±0.94 ^a	7.02±1.10 ^{ab}	7.76±0.18 ^{abc}	13.27	< 0.05

注:CHB 为慢性乙型肝炎,HCC 为肝细胞癌,AST 为天冬氨酸氨基转移酶,ALT 为丙氨酸氨基转移酶,CCL2 为血清趋化因子配体 2,miR-18a 为微小 RNA-18a,HBV 为乙型肝炎病毒。与对照组比较,a $P < 0.05$;与 CHB 组比较,b $P < 0.05$;与乙型肝炎肝硬化组比较,c $P < 0.05$

表 2 不同程度 CHB 患者血清 CCL2、GP73、miR-18a 表达比较

组别	例数	CCL2(ng/ml)	GP73(ng/L)	miR-18a(ng/L)
轻度 CHB	43	43.59±3.15	83.24±15.64	1.71±0.25
中度 CHB	41	48.62±3.61 ^a	96.27±16.30 ^a	1.62±0.24 ^a
重度 CHB	36	55.24±4.10 ^{ab}	107.22±18.51 ^{ab}	1.53±0.19 ^{ab}
F 值		6.16	29.42	12.05
P 值		< 0.05	< 0.05	< 0.05

注:CHB 为慢性乙型肝炎,CCL2 为血清趋化因子配体 2,miR-18a 为微小 RNA-18a。与轻度 CHB 组比较,a $P < 0.05$;与中度 CHB 组比较,b $P < 0.05$

表 3 HBV 相关肝病患者血清 ALT、AST、HBV-DNA 与 CCL2、GP73、miR-18a 表达相关性

指标	CCL2		GP73		miR-18a	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
ALT	0.56	< 0.05	0.64	< 0.05	-0.39	< 0.05
AST	0.53	< 0.05	0.70	< 0.05	-0.65	< 0.05
HBV-DNA	0.51	< 0.05	0.44	< 0.05	-0.58	< 0.05

注:AST 为天冬氨酸氨基转移酶,ALT 为丙氨酸氨基转移酶,CCL2 为血清趋化因子配体 2,miR-18a 为微小 RNA-18a,HBV 为乙型肝炎病毒

表 4 血清 CCL2、GP73、miR-18a 对 HBV 相关肝病的 ROC 曲线分析

项目	灵敏度 (%)	特异度 (%)	准确度 (%)	曲线下面积 (95%CI)	P 值
CCL2	85.06	91.67	86.92	0.72(0.56 ~ 0.86)	< 0.05
GP73	89.94	85.83	88.79	0.78(0.66 ~ 0.91)	< 0.05
miR-18a	91.23	84.17	89.25	0.85(0.76 ~ 0.95)	< 0.05
三者联合	96.10	92.50	95.09	0.94(0.85 ~ 0.99)	< 0.05

注:CCL2 为血清趋化因子配体 2,miR-18a 为微小 RNA-18a,HBV 为乙型肝炎病毒

患者中,血清 GP73 可用于单独预测肝纤维化的发生,且其参与了肿瘤的转移,GP73 与 AFP 联合检测能提高 HCC 的诊断效能。患者 HCC 复发后,血清 GP73 水平不断增高,预示着病情的进展,可为进一步治疗方案的制定提供参考^[12]。

CCL2 是肝脏炎症发生的始因子,CCL2 在 HBV

相关肝病显著上升^[13]。本研究显示,CHB 组、乙型肝炎肝硬化组、HCC 组患者血清 CCL2 水平高于对照组,且 HBV 相关肝病患者 ALT、AST、HBV-DNA 水平与血清 CCL2 表达为正相关。这是由于趋化因子能调控肝组织中的炎症,诱导肝星状细胞的活化和增殖,同时可抑制纤溶系统的活化,使其不能被降解;CCL2 还可通过激活巨噬细胞、单核细胞等多种方式侵入肝脏,在清除 HBV 的过程中,引起肝脏的炎性反应和纤维化水平,导致肝细胞外基质的合成和分解出现失衡,从而引起肝纤维化和肝硬化^[14]。HBV 持续复制通过 CCL2 轴促进 CCL2 表达,以集结 CCL2 介导的肿瘤相关巨噬细胞、调节性 T 细胞,抑制 CD8⁺T 细胞活性,进而形成肿瘤免疫抑制性炎症微环境。而肿瘤细胞分泌的趋化因子可诱发肿瘤炎性反应,触发肝脏的局灶性腺瘤样增生,形成一种由趋化因子介导的恶性循环过程,最终导致癌变^[15]。

基因芯片技术发现,HBV 相关慢加急性肝衰竭(HBV-ACLF)患者与 CHB 患者及健康人群相比,上调 miRNA 有 25 个,下调 miRNAs 有 40 个^[16]。HBV-ACLF 好转组的 miRNA-96-5p 及 miRNA-205-5p 表达上调,可能与 miRNA-96-5p 抑制 NF- κ B 通路,miRNA-205-5p 抑制成纤维细胞的侵袭和迁移,抑制 PI3K/AKT 信号通路有关^[17]。肝细胞癌患者 miR-122、miRNA 199b-5P 表达下调,对 HCC 具有抑制作用,可作为 HCC 的肿瘤抑制因子^[18]。本研究发现,miR-18a 在 HBV 相关肝病中呈现出低表达,原因可能是:随着 HBV 持续感染及病情发展,miRNA 自身表达谱的变化促进了肝纤维化、肝硬化甚至 HCC 的发生,而 miR-18a 的过度表达可能抑制相关信号通路和癌细胞聚集、细胞迁移及扩散,诱导肿瘤细胞周期的停止^[19-20]。此外,本研究发现,血清 CCL2、GP73、miR-18a 联合检测对 HBV 相关肝病的诊断效能最佳。

综上所述,血清 CCL2、GP73、miR-18a 可作为 HBV 相关肝病进展的辅助指标,临床可根据其差异表达通过免疫调节及抑制炎症反应改善 HBV 相关肝病的预后,并用于鉴别诊断和靶向治疗。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

参 考 文 献

[1] 尤红,王福生,李太生,等.慢性乙型肝炎防治指南(2022 年版)[J].实用肝病杂志,2023,26(3):457-478.

- [2] NG C K Y, DAZERT E, BOLDANOVA T, et al. Integrative proteogenomic characterization of hepatocellular carcinoma across etiologies and stages[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 2436.
- [3] 陈星,戢敏,喻雪琴,等.循环血 CCL2、CCL5、CXCL10 在 HBV 相关性肝病中表达水平的差异及相关性分析[J].川北医学院学报,2019,34(3):354-358.
- [4] 刘燕娜,姚明解,鲁凤民.慢性肝病患者中血清高尔基体蛋白 73 的临床应用[J].肝脏,2021,26(2):103-106.
- [5] 徐永,宁国龙,胡宗举,等.HBV 感染的肝细胞癌患者血清高尔基体蛋白 73 与 IL-18 水平及其对肝动脉化疗栓塞术的影响[J].医学研究生学报,2021,34(11):1188-1193.
- [6] 王远懿.血清 miR-122 和 miR-18a 作为 HBV 相关肝病诊断标志物的可行性研究[J].湖南师范大学学报(医学版),2020,17(6):48-50.
- [7] 王宇明,于乐成.肝脏炎症及其防治专家共识[J].中国实用内科杂志,2014,34(2):152-162.
- [8] 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.
- [9] XIE D Y, SHI J Y, ZHOU J, et al. Clinical practice guidelines and real-life practice in hepatocellular carcinoma: A Chinese perspective[J]. Clin Mol Hepatol, 2023, 29(2): 206-216.
- [10] 朱威,黄燕.肝细胞癌早期筛查的血清生物学标志物研究进展[J].中华肝病杂志,2021,29(4):308-312.
- [11] 何平,徐婧怡,张雪雪,等.AFP、GP73 及 GPC3 检测在原发性肝癌诊断及预后评估中的价值[J].分子诊断与治疗杂志,2024,16(1):36-40.
- [12] 任婷远,蒲发晓,刘乙萍.GP73 和 miR-218-5p 在人结直肠癌中的表达水平及其与患者临床病理特征和预后的关系[J].热带医学杂志,2024,24(1):87-91.
- [13] 宗宇达,田玥,梁立春,等.趋化因子网络影响肝细胞癌恶性进程的研究进展[J].中国老年学杂志,2023,43(3):756-760.
- [14] 崔珍珍,赵一凡,孙玉,等.基于 CCL2/CCR2 信号轴的肿瘤免疫治疗药物的研究进展[J].中国药科大学学报,2024,55(1):36-44.
- [15] 任艳艳,虞志新,杨宏锋,等.脓毒症并发肝损伤患者血清 GP73 和 miR-122a 与 miR-125b 水平及其预测价值[J].中华医院感染学杂志,2024,34(3):366-370.
- [16] 谢志伟,陆霁琪,杨可立,等.乙型肝炎病毒相关慢加急性肝衰竭患者血清 miRNA 差异表达谱及其预后预测价值[J].肝脏,2022,27(8):853-857.
- [17] CHEN X L, CHEN Y, DAI L, et al. MiR-96-5p alleviates inflammatory responses by targeting NAMPT and regulating the NF- κ B pathway in neonatal sepsis[J]. Biosci Rep, 2020, 40(7): BSR20201267.
- [18] ZHOU S J, LIU F Y, ZHANG A H, et al. MicroRNA-199b-5p attenuates TGF- β 1-induced epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma[J]. Br J Cancer, 2017, 117(2): 233-244.
- [19] CHAN K K, HON T C, AU K Y, et al. Stanniocalcin 1 is a serum biomarker and potential therapeutic target for HBV-associated liver fibrosis[J]. J Pathol, 2022, 257(2):227-238.
- [20] KAR A, SAMANTA A, MUKHERJEE S, et al. The HBV web: An insight into molecular interactomes between the hepatitis B virus and its host en route to hepatocellular carcinoma[J]. J Med Virol, 2023, 95(1): e28436.

收稿日期:2024-03-13

(本文编辑:孙海儿)