

重症肝炎患者与原发性肝癌患者血清可溶性CD40表达水平研究

周红霞(邯郸市传染病医院 肝病科, 河北 邯郸 056001)

摘要: **目的** 分析可溶性CD40在重症肝炎患者与原发性肝癌患者血清中的表达及其临床意义。**方法** 随机选取自2014年12月至2015年8月于邯郸市传染病医院进行治疗的44例重症肝炎治疗患者和26例原发性肝癌患者为观察组1和观察组2, 同时选取本院体检科健康体检者65例为对照组。采用酶联免疫吸附实验(ELISA)检测血清CD40浓度并比较各组间的差异。**结果** 观察组1患者血清CD40为 (135.85 ± 115.5) pg/ml, 观察组2患者血清CD40为 (150.95 ± 75.5) pg/ml, 对照组血清CD40为 (45.58 ± 28.9) pg/ml, 观察组1和观察组2的CD40水平显著高于对照组, 组间差异有统计学意义($t = 5.644, P = 0.0017$), 观察组1与观察组2患者血清CD40水平差异无统计学意义($t = 0.028, P = 0.476$)。重症肝炎患者中病死患者的CD40水平为 (200.2 ± 135.6) pg/ml, 显著高于存活患者的 (85.93 ± 75.2) pg/ml, 差异有统计学意义($t = 0.625, P = 0.0017$)。重症肝炎患者中肝性脑病患者治疗后血清CD40水平为 (235.9 ± 120.5) pg/ml, 高于无肝性脑病患者 (108.5 ± 100.8) pg/ml, 差异有统计学意义($t = 5.412, P = 0.0014$)。观察组1和观察组2患者可溶性CD40浓度与ALT和AST水平均呈正相关($r = 0.48, 0.36, P = 0.01, 0.02$; $r = 0.43, 0.40, P = 0.00, 0.02$)。重症肝炎患者中男性患者可溶性CD40平均浓度为 (225.48 ± 95.52) pg/ml, 高于女性患者的 (164.25 ± 89.65) pg/ml, 差异具有统计学意义($t = 3.24, P = 0.01$)。**结论** 重症肝炎患者与原发性肝癌患者血清中可溶性CD40水平显著高于健康人群, 是评价肝细胞急性损伤和评估重型肝炎预后的免疫学指标。

关键词: 可溶性CD40; 重症肝炎; 原发性肝癌; 临床疗效

Expression levels of serum soluble CD40 in patients with severe hepatitis and primary liver cancer

ZHOU Hong-xia (Department of Liver Diseases, Handan Infectious Disease Hospital, Handan 056001, Hebei Province, China)

Abstract: **Objective** To analyze the expression levels and clinical significance of serum soluble CD40 in patients with severe hepatitis and primary liver cancer. **Methods** Total of 44 patients with severe hepatitis and 26 patients with primary liver cancer from December 2014 to August 2015 in Handan Infectious Disease Hospital were selected as observation group 1 and observation group 2. Total of 65 cases who underwent physical examination were selected as control group. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the concentration of serum soluble CD40. **Results** The serum CD40 levels of patients in observation group 1 and observation group 2 were (135.85 ± 115.5) pg/ml and (150.95 ± 75.5) pg/ml, respectively, which were significantly higher than those in control group [(45.58 ± 28.9) pg/ml], the differences were statistically significant ($t = 5.644, P = 0.0017$). The difference of serum CD40 level between observation group 1 and observation group 2 had no statistical significance ($t = 0.028, P = 0.476$). The level of CD40 in severe hepatitis patients who died was (200.2 ± 135.6) pg/ml, which was significantly higher than that of survivors [(85.93 ± 75.2) pg/ml], the difference was statistically significant ($t = 0.625, P = 0.0017$). The serum levels of CD40 in patients with hepatic encephalopathy (HE) and non-HE were (235.9 ± 120.5) pg/ml and (108.5 ± 100.8) pg/ml respectively, the difference was statistically significant ($t = 5.412, P = 0.0014$). There was a positive correlation between the concentration of soluble CD40, ALT and AST in observation group 1 and observation group 2 ($r = 0.48, 0.36, P = 0.01, 0.02$; $r = 0.43, 0.40, P = 0.00, 0.02$). The average concentration of soluble CD40 in male patients with severe hepatitis was (225.48 ± 95.52) pg/ml, which was

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7380.2016.04.021

基金项目: 邯郸市科学技术研究与发展计划项目(1528108079-5)

通讯作者: 周红霞 E-mail: 2148396195@qq.com

higher than that of female patients [(164.25 ± 89.65) pg/ml]. The difference was statistically significant ($t = 3.24$, $P = 0.01$). **Conclusions** Serum soluble CD40 level in patients with severe hepatitis and primary liver cancer is significantly higher than that in healthy people. It is an immunological index to evaluate the acute injury of liver cells and the prognosis of severe hepatitis.

Key words: Soluble CD40; Severe hepatitis; Primary liver cancer; Clinical efficacy

肝脏疾病的发病率较高,并且会导致机体各项功能的严重失调,发病初期通常表现为外表皮颜色异常及皮肤发黄,当形成重症肝炎时可引起肝脏功能丧失,产生系列并发症,严重影响患者的生命健康。重症肝炎的病因主要有病毒感染、药物作用以及经常饮酒等^[1-3]。若重症肝炎继续恶化,肝内胆汁产生集聚,胆道阻塞,即会形成原发性肝癌^[4]。

原发性肝癌是一种恶性肿瘤,大部分是由于肝细胞或胆管细胞癌变形成。其在我国的发病率高达1/2000,占我国恶性肿瘤第2位,且每年新患肝癌人数占世界新患肝癌人数的一半以上。许多患者会出现肝区疼痛和肝肿大等症状,随着肿瘤恶化增生,会引起肝内血管扩张,破裂后引发腹腔出血^[5]。CD40分子属于肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor receptor, TNFR)超家族的I、II型跨膜糖蛋白,在细胞免疫调节和炎症调节等病理方面发挥重要的作用^[6-8]。正常人体内可溶性CD40水平较低,当出现肝脏或其他身体疾病时,CD40水平呈现增高趋势。本研究随机选取2014年12月至2015年8月于本院进行重症肝炎及原发性肝癌治疗的患者,通过对比可溶性CD40表达水平的差异探讨其在疾病免疫方面的意义,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选取2014年12月至2015年8月于本院进行治疗的重症肝炎患者(44例)和原发性肝癌患者(26例)为观察组1和观察组2,同时选取于本院体检科体检的正常人群(65例)作为对照组。重症肝炎患者和原发性肝癌患者均未经过治疗。本研究获我院伦理委员会批准,患者或近亲属对研究方案签署知情同意书。

1.2 纳入标准和排除标准 原发性肝癌诊断标准:①年龄超过18岁,病理期(肝外或肝内)确认为原发性肝癌;②肝癌占位性病变或大肿块;③DCP、GGT II、AFU及CA199呈阳性者;④肝癌有肯定的肝外转移病灶包含血性腹水但无转移性肝癌者;⑤肿瘤2~3个,最大直径> 3 cm,或肿瘤数目大于3个;⑥血管、肝外侵犯者;⑦Karnofsky评分超过60分(包括60分),心、肺、肾以及骨髓正常者。符

合上述条件的患者纳入观察组1。重型肝炎诊疗标准^[9]:①精神萎靡不振,行为反常,高度乏力,性格改变,计算能力下降继而肝昏迷;②出现恶心、呕吐、腹胀、食欲减退等严重消化道症状;③持续低热、病毒性肝炎乙肝在黄疸出现后体温下降;④出血倾向、腹水增多、心率加快、肝脏缩小、低血压。符合上述条件的患者纳入观察组2。

排除标准^[10]:肌酐和尿素氮超过正常值上限(upper limit of normal, ULN),胆红素 $\geq 3 \times$ ULN,白蛋白< 25 g/L者;心脏病不可控如心力衰竭(充血性)、急性心肌缺血等患者;妊娠哺乳期者;肺功能不可控者;接受过抗肿瘤治疗者(2个月内);精神疾病者;对碘或砷过敏者;食管静脉曲张严重者;血小板< $50 \times 10^9/L$,白细胞< $3 \times 10^9/L$ 者。

1.3 可溶性CD40的检测 采用酶联免疫吸附实验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测各组患者血清标本可溶性CD40浓度,采取患者清晨空腹静脉血,为保持检测成分稳定,需当天进行检测,保存温度4℃,ELISA试剂购自上海双赢生物科技有限公司。包被处理过程中用0.06MPH9轴碳酸盐包被缓冲液将抗体稀释至蛋白质含量为1~8 μg/ml。在反应孔中加0.08 ml稀释液,第2天进行清理,用洗涤液清洗4次。加样后35℃条件下放置1.5小时,洗涤。加酶标抗体,35℃孵育0.8~1.5小时,加入TMB底物溶液0.2 ml,进行底物液显色,反应完毕后进行结果判定,在ELISA检测仪上,根据试纸盒检测标准进行检测。

1.4 统计学处理 采用SPSS 20.0软件进行数据的统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用配对 t 检验;计数资料采用 χ^2 检验,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。CD40与各指标间的关系采用Pearson相关性分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象的基本资料 观察组1中男性28例,女性16例,平均年龄(48.5 ± 13.8)岁,观察组2中男性12例,女性14例,平均年龄(45.6 ± 11.0)岁,对照组中男性35例,女性30例,平均年龄(47.5 ± 10.8)岁,各组间性别及年龄等差异无统计学意义。

($\chi^2 = 1.35$, $t = 2.76$, $P = 0.38$ 、 0.27)，见表1。

2.2 各组研究对象血清CD40水平 观察组1患者血清CD40为(135.85 ± 115.5) pg/ml，观察组2患者血清CD40为(150.95 ± 75.5) pg/ml，对照组血清CD40为(45.58 ± 28.9) pg/ml，观察组1和观察组2的CD40水平显著高于对照组，组间差异有统计学意义($t = 5.644$, $P = 0.0017$)，观察组1与观察组2患者血清CD40水平差异无统计学意义($t = 0.028$, $P = 0.476$)。

2.3 病死与存活重症肝炎患者的CD40分析 患者入院治疗3个月后，44例重症肝炎患者中病死8例，生存62例。病死患者治疗后的CD40水平为(200.2 ± 135.6) pg/ml，显著高于存活患者的(85.93 ± 75.2) pg/ml，差异有统计学意义($t = 0.625$, $P = 0.0017$)。重症肝炎患者中肝性脑病(hepatic encephalopathy, HE)患者6例(均在病死组)，治疗后血清CD40水平为(235.9 ± 120.5) pg/ml，

高于无HE患者(34例)的(108.5 ± 100.8) pg/ml，差异有统计学意义($t = 5.412$, $P = 0.0014$)，见表2。

2.4 重症肝炎患者治疗后CD40水平 对所有患者进行保肝护肝治疗，记录治疗后CD40水平变化，存活组患者治疗前(85.93 ± 75.2) pg/ml，治疗后为(18.28 ± 5.15) pg/ml，病死组患者治疗前为(200.2 ± 135.6) pg/ml，治疗后为(180 ± 85.5) pg/ml，仍高于正常值，见表3。

2.5 血清可溶性CD40浓度与生物化学指标的相关性分析 观察组1和观察组2患者可溶性CD40浓度与ALT和AST水平均呈正相关($r = 0.48$ 、 0.36 , $P = 0.01$ 、 0.02 ; $r = 0.43$ 、 0.40 , $P = 0.00$ 、 0.02)，见表4。提示肝细胞损伤引起可溶性CD40浓度的升高。

2.6 重型肝炎患者及原发性肝癌患者可溶性CD40浓度的性别差异 重型肝炎患者中男性患者可溶性CD40平均浓度为(225.48 ± 95.52) pg/ml，高于女性患者

表1 各组研究对象的基本资料

组别	例数	男性(例)	年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	肝炎病毒感染	
				HAV(例)	
观察组1	44	28	48.5 ± 13.8	1	
观察组2	26	12	45.6 ± 11.0	0	
对照组	65	35	47.5 ± 10.8	0	
统计量值	$\chi^2 = 2.18$	$\chi^2 = 1.35$	$t = 2.76$	$\chi^2 = 0.46$	
P值	0.45	0.38	0.27	0.15	

组别	肝炎病毒感染				
	HBV(例)	HAV + HBV(例)	HBV + HCV(例)	HEV(例)	HDV(例)
观察组1	0	0	0	0	0
观察组2	20	1	0	6	16
对照组	14	0	0	0	0
统计量值	$\chi^2 = 2.63$	$\chi^2 = 0.52$	$\chi^2 = -0.23$	$\chi^2 = 1.98$	$\chi^2 = 0.61$
P值	0.22	0.16	0.05	0.21	0.18

表2 44例重症肝炎患者的一般资料及治疗后可溶性CD40水平

组别	例数	性别(男/女, 例)	年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	CD40($\bar{x} \pm s$, pg/ml)
是否存活				
是	40	18/4	49.5 ± 14.8	85.93 ± 75.2
否	2	12/10	47.9 ± 12.8	200.2 ± 135.6
t值	-	1.36	0.28	0.625
P值	-	0.071	0.086	0.0017
是否肝性脑病患者				
是	6	4/2	46.42 ± 10.35	200.2 ± 135.6
否	0	0/0	-	85.93 ± 75.2
t值	-	4.256	3.254	5.412
P值	-	0.001	0.002	0.001

注：“-”为无相关数据

表3 病死与存活重症肝炎患者治疗前后 CD40 的比较 ($\bar{x} \pm s$, pg/ml)

组别	治疗前	治疗后
存活患者	85.93 ± 75.2	18.28 ± 5.15
死亡患者	200.2 ± 135.6	180 ± 85.5
<i>t</i> 值	4.321	5.213
<i>P</i> 值	0.015	0.021

表4 可溶性 CD40 浓度与生物化学指标的相关性分析

可溶性CD40浓度	ALT		AST	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
观察组1	0.48	0.01	0.36	0.02
观察组2	0.43	0.00	0.40	0.02

的(164.25 ± 89.65) pg/ml, 原发性肝癌患者中男性患者CD40平均浓度为(217.45 ± 95.64) pg/ml, 高于女性患者的(158.26 ± 87.34) pg/ml, 差异均有统计学意义(*t*值分别为3.24、2.65, *P*值分别为0.01、0.02)。

3 讨论

重症肝炎多为病毒性肝炎, 患者同时感染几种病毒时患有重症肝炎的几率大幅增加^[10-13]。原发性肝癌通常是因慢性肝脏疾病或恶性肿瘤通过血液和细胞扩散、转移形成^[14-16], 被称为“癌中之王”, 治疗难度大, 发病率高, 通常采用TACE进行治疗, 虽可取得一定的疗效, 但会出现肿瘤残存、转移及复发等问题, 5年生存率极低, 仅为7%~10%。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)与肿瘤细胞的生长、转移和复发关系密切, 残存的肿瘤可分泌VEGF, 从而形成新的血管, 促进肝癌生长。原发性肝癌患者常有身体消瘦、肝区不适及出血等症状, 治疗缓慢, 危害性强, 寻找药物联合TACE手术已成为当前一项重要的临床课题。几百年前古人就采用砒霜治疗肿瘤, 砒霜可毒害细胞、诱导细胞死亡及抵抗血管生成等, 对肿瘤细胞有较好的抑制作用; 目前治可利用手术方法直接切除肿瘤, 对不能进行切除治疗的患者可采用化学药物治疗, 对于状态较好、肝功能无较大损伤的患者宜采用放射为主的综合治疗^[17-19], 同时可联合生物治疗、中医中药治疗等。CD40糖基化程度较高, 表达于B细胞、内皮细胞以及肿瘤细胞等, 其与配体CD40L结合后在免疫应答、免疫调节以及炎症反应等过程中均发挥重要作用^[20-23]。

研究表明, 重症肝炎患者与原发性肝癌患者水溶性CD40水平显著高于健康人群, 而重症肝炎患者与原发性肝癌患者水溶性CD40水平差异较

小, 说明当患有肝脏疾病时, 体内CD40表达水平升高, 且随着病情的加重, CD40水平也逐渐上升。重症肝炎患者中病死患者的CD40水平显著高于存活患者。对重症肝炎患者进行保肝、护肝治疗后CD40水平显著低于治疗前, 但仍高于正常值, 说明CD40水平可能与病死率呈正相关关系^[24-26]。

综上, 重症肝炎患者与原发性肝癌患者血清中可溶性CD40水平显著高于健康人群, 通过测定可溶性CD40水平, 可判定肝病患者的患病情况。由于本研究观察的病例数较少, 需更多的临床试验进行证实, 以期明确CD40在疾病免疫方面的作用提供有力依据。

参考文献

- [1] Nichols I, Hurnphrey JP. The efficacy off upper arm placement of Peripherally inserted central using bedside ultrasound and microitroducer technique[J]. J Infus Nurs,2008,31(3):165-176.
- [2] 范德环, 张学光, 奚沁华, 等. 人可溶性PD-1在肝病患者血清中表达检测及临床意义[J]. 免疫学杂志,2015,31(9):799-802.
- [3] 林波, 黄智春, 许晓琴. 血清降钙素原和可溶性髓样细胞触发受体-1对急性胰腺炎患者病情的预测效果[J]. 中国现代医学杂志,2015,25(9):54-58.
- [4] 李淑湘, 张光波, 孙海洪, 等. 人可溶性B7-H3酶联试剂盒的研制及在肝病患者血清中水平的检测[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2012,28(1):84-86.
- [5] 张蕾, 刘宝. 高容量血液滤过对脓毒症患者可溶性髓样细胞触发受体1与血清降钙素原的影响[J]. 湖南中医药大学学报,2012,32(8):55-57.
- [6] 黄声岳, 陈建波, 胡爽征, 等. 彩超引导下PTCD治疗恶性梗阻性黄疸的应用[J]. 现代实用医学,2013,25(4):68-87.
- [7] Cotogni P, Pittiruti M, Barbero C, et al. Catheter-related complications in cancer patients on home parenteral nutrition: a prospective study of over 51,000 catheter days[J]. JPEN J Parenter Enteral Nutr,2013,37(3):375-383.
- [8] 王勤, 谢芳, 陈永井, 等. 人可溶性OX40L蛋白ELISA检测试剂盒

- 的研制及其在自身免疫性疾病诊断中的应用[J].中国现代医药杂志,2010,12(9):1-4.
- [9] Soignet SL, Frankel SR, Douer D, et al. United States multicenter study of arsenic trioxide in relapsed acute promyelocytic leukemia[J]. J Clin Oncol,2001,19(18):3852-3860.
- [10] SONG R, BIAN HN, LAI W, et al. Normal skin and hypertrophic scar fibroblasts differentially regulate collagen and fibronectin expression as well as mitochondrial membrane potential in response to basic fibroblast growth factor[J]. Braz J Med Biol Res,2011,44(5):402-410.
- [11] 刘洋, 郑绘霞, 梁建芳. Nesfatin-1在非酒精性脂肪肝病患者的血清中的表达及意义[J]. 山西医科大学学报,2015,46(2):108-110.
- [12] 郭伟, 高明松, 叶正华, 等. 二甲双胍对2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝病患者的血清 nesfatin-1及肝脂肪变的影响[J]. 疑难病杂志,2014,13(4):374-377.
- [13] ZHAO W, ZHANG F, LI Z, et al. Soluble CD40 ligand is associated with angiographic severity of coronary artery disease in patients with acute coronary syndrome[J]. Chin Med J (Engl),2014, 127(12):2218-2221.
- [14] LIU X, SUN N, DONG Y, et al. Anticancer effects of adenovirus mediated calreticulin and melanoma-associated antigen 3 expression on non-small cell lung cancer cells [J]. Int Immunopharmacol,2015,25(2):416-424.
- [15] 黄坚, 张光波, 何广胜, 等. 可溶性B7-H2在早期急性胰腺炎严重程度判定中的应用及其临床意义[J]. 中国实用内科杂志,2015,35(3):236-238.
- [16] 梁垚, 孙维佳. 降钙素原和可溶性髓样细胞触发受体-1对急性胰腺炎严重程度的早期预测价值[J]. 中华普通外科杂志,2014,29(1):69-70.
- [17] 陈兴旺, 赖剑波, 姚志军, 等. 血和尿中可溶性髓样细胞触发受体-1对脓毒血症患者的早期诊断及预后评估价值[J]. 实用医学杂志,2013,29(23):3874-3877.
- [18] 朱永, 陈明科, 吴远怡, 等. 可溶性髓样细胞触发受体1及降钙素原对脓毒症患者早期诊断及预后评估价值[C]. 中国转化医学和整合医学学术交流会(上海站)论文汇编,2015.
- [19] 梁微波, 庞晓清, 刘晓青, 等. 动态监测血清可溶性髓样细胞触发受体1对脓毒症的诊断及预后评估价值[J]. 中国呼吸与危重症监护杂志,2014,13(1):53-57.
- [20] 茅尧生, 李智鑫, 吕铁, 等. 可溶性髓样细胞表达触发受体-1对多发伤患者并发脓毒症的早期诊断和预后判断的意义[J]. 中华创伤杂志,2015,31(12):1102-1105.
- [21] Sinha AP. Appendectomy: an assessment of the advisability of stump invagination[J]. Br J Surg,1977,64(7):499-500.
- [22] 周瑞莉, 王满立, 王煜, 等. 二维超声联合实时超声弹性成像技术诊断甲状腺微小癌的临床分析[J]. 中国超声医学杂志,2012,28(5):409-412.
- [23] 张国辉, 程艳, 李娟. 彩超引导下PTCD治疗恶性梗阻性黄疸临床应用与分析[J]. 大理学院学报:综合版,2014,13(2):52-54.
- [24] 翁高龙, 黄建国. 彩超引导下经皮肝穿刺胆管置管引流术治疗恶性梗阻性黄疸[J]. 中国临床医学影像杂志,2014,25(1):55-57.
- [25] 崔婧芳, 李艳, 王彩妍. 彩超引导下经皮肝胆管穿刺术治疗阻塞性黄疸的应用及护理[J]. 中国煤炭工业医学杂志,2014,17(6):68-79.
- [26] 张海波, 黄力建, 朱燕娟. 三氧化二砷对原发性肝癌经肝动脉化疗治疗栓塞术后血管内皮生长因子表达的影响[J]. 国际病理科学与临床杂志,2013,33(2):116-119.

收稿日期: 2016-06-07

周红霞. 重症肝炎患者与原发肝癌患者血清可溶性CD40表达水平研究[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版),2016,8(4):97-101.