

# 苜氯素1、黏蛋白结构域3、 白细胞介素34在急性肝衰竭中的 表达及对患者疾病转归的预测价值

王刚<sup>1</sup>, 巩博<sup>1</sup>, 余治国<sup>1</sup>, 苏芮<sup>1</sup>, 周彬<sup>1</sup>, 周春芳<sup>2</sup>, 陆卫华<sup>1</sup> (1. 中部战区总医院 急诊医学科, 湖北 武汉 430070; 2. 湖北医药学院附属太和医院 肝病科, 湖北 十堰 442000)

**摘要:** 目的 探讨苜氯素1(Beclin1)、黏蛋白结构域3(mucin domain 3, TIM-3)、白细胞介素-34(interleukin 34, IL-34)在急性肝衰竭患者中的表达及对疾病转归的预测价值。方法 选取2020年1月至2022年1月于中部战区总医院就诊的80例急性肝衰竭患者为急性肝衰竭组,以同期于本院体检的80例健康人群作为健康组。通过酶联免疫吸附试验法测定Beclin1、IL-34表达水平,通过流式细胞术测定TIM-3表达水平,比较两组患者外周血Beclin1、TIM-3、IL-34表达水平差异。急性肝衰竭患者均接受保肝、人工肝或肝移植治疗,根据治疗后疾病转归分为存活组(56例)和死亡组(24例),比较两组患者Beclin1、TIM-3、IL-34的表达水平。采用Pearson相关系数分析Beclin1、TIM-3、IL-34与肝功能指标的相关性,采用多因素Logistic回归分析影响急性肝衰竭患者病情转归的危险因素,采用受试者工作特征(receiver operator characteristic, ROC)曲线分析Beclin1、TIM-3、IL-34对急性肝衰竭患者病情转归的预测效能。结果 与健康组比较,急性肝衰竭组患者外周血Beclin1 [ $(13.42 \pm 2.11) \mu\text{g/L}$  比  $(8.10 \pm 1.12) \mu\text{g/L}$ ]、TIM-3 [ $(44.53 \pm 3.29) \%$  比  $(20.19 \pm 2.31) \%$ ]、IL-34 [ $(15.53 \pm 2.05) \text{ng/L}$  比  $(9.73 \pm 1.13) \text{ng/L}$ ] 表达水平均升高( $P < 0.05$ )。Pearson相关性分析显示,急性肝衰竭患者外周血Beclin1、TIM-3、IL-34水平与肝功能指标[总胆红素(total bilirubin, TBil)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)]均呈正相关( $P$ 均 $< 0.05$ )。与存活组患者比较,死亡组患者外周血Beclin1 [ $(15.64 \pm 2.13) \mu\text{g/L}$  比  $(10.02 \pm 1.54) \mu\text{g/L}$ ]、TIM-3 [ $(51.32 \pm 6.75) \%$  比  $(35.64 \pm 3.41) \%$ ]、IL-34 [ $(19.08 \pm 2.43) \text{ng/L}$  比  $(11.12 \pm 1.32) \text{ng/L}$ ] 表达水平均升高( $P < 0.05$ )。多因素Logistic回归分析表明Beclin1( $OR = 4.536$ , 95%CI: 3.442~8.904,  $P < 0.001$ )、TIM-3( $OR = 2.342$ , 95%CI: 1.023~6.757,  $P < 0.001$ )、IL-34( $OR = 5.642$ , 95%CI: 3.452~9.089,  $P < 0.001$ )升高均是影响急性肝衰竭患者疾病转归的独立危险因素。ROC曲线分析表明,Beclin1、TIM-3、IL-34单项的曲线下面积分别为0.897、0.839、0.800,三项联合预测急性肝衰竭转归的曲线下面积为0.934,显著高于各指标单项预测( $Z = 2.272$ ,  $P = 0.011$ ;  $Z = 2.246$ ,  $P = 0.014$ ;  $Z = 3.980$ ,  $P < 0.001$ )。结论 Beclin1、TIM-3、IL-34高表达于急性肝衰竭患者中,且与疾病转归相关,死亡患者外周血Beclin1、TIM-3、IL-34水平升高加剧,临床可根据三者对患者外周血中的表达水平早期预测急性肝衰竭转归,以改善患者预后。

**关键词:** 苜氯素1; 黏蛋白结构域3; 白细胞介素-34; 急性肝衰竭; 疾病转归

## Expression of Beclin1, mucin domain 3 and interleukin-34 in patients with acute liver failure and their predictive value for disease prognosis

Wang Gang<sup>1</sup>, Gong Bo<sup>1</sup>, Yu Zhiguo<sup>1</sup>, Su Rui<sup>1</sup>, Zhou Bin<sup>1</sup>, Zhou Chunfang<sup>2</sup>, Lu Weihua<sup>1</sup>  
(1. Department of Emergency Medicine, General Hospital of the Central Theater Command,

Hubei Wuhan 430070, China; 2. Department of Liver Diseases, Taihe Hospital Affiliated to Hubei University of Medicine, Hubei Shiyan 442000, China)

**Abstract: Objective** To investigate the expression of Beclin1, mucin domain 3 (TIM-3) and interleukin-34 (IL-34) in patients with acute liver failure and their predictive value for disease outcomes. **Methods** Total of 80 patients with acute liver failure who received medical treatment in General Hospital of the Central Theater Command from January 2020 to January 2022 were selected as acute liver failure group, and 80 healthy individuals who underwent physical examinations in our hospital during the same period were selected as healthy group. The expression levels of Beclin1 and IL-34 were measured by enzyme-linked immunosorbent assay, and TIM-3 was measured by flow cytometry. All patients with acute liver failure were treated with liver protection, artificial liver or liver transplantation. They were divided into survival group (56 cases) and death group (24 cases) according to the outcome of the disease after treatment. The expression levels of Beclin1, TIM-3 and IL-34 of patients in two groups were compared. Pearson correlation coefficient was used to analyze the correlation between Beclin1, TIM-3, IL-34 and liver function indicators. Multivariate Logistic regression was used to analyze the risk factors affecting the prognosis of acute liver failure patients. Receiver operator characteristic (ROC) curve was used to analyze the predictive value of Beclin1, TIM-3, IL-34 on the prognosis of patients with acute liver failure. **Results** Compared with those of healthy group, Beclin1  $[(13.42 \pm 2.11) \mu\text{g/L vs. } (8.10 \pm 1.12) \mu\text{g/L}]$ , TIM-3  $[(44.53 \pm 3.29)\% \text{ vs. } (20.19 \pm 2.31)\%]$  and IL-34  $[(15.53 \pm 2.05) \text{ ng/L vs. } (9.73 \pm 1.13) \text{ ng/L}]$  expression levels of patients in acute liver failure group increased significantly (all  $P < 0.05$ ). Pearson correlation analysis showed that the levels of Beclin1, TIM-3 and IL-34 in peripheral blood of patients with acute liver failure were positively correlated with liver function indicators [total bilirubin (TBil), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST)] (all  $P < 0.05$ ). Compared with those of survival group, Beclin1  $[(15.64 \pm 2.13) \mu\text{g/L vs. } (10.02 \pm 1.54) \mu\text{g/L}]$ , TIM-3  $[(51.32 \pm 6.75)\% \text{ vs. } (35.64 \pm 3.41)\%]$  and IL-34  $[(19.08 \pm 2.43) \text{ ng/L vs. } (11.12 \pm 1.32) \text{ ng/L}]$  expression levels of patients in death group increased significantly (all  $P < 0.05$ ). Multivariate Logistic regression analysis showed that elevated Beclin1 ( $OR = 4.536$ , 95%CI: 3.442~8.904,  $P < 0.001$ ), TIM-3 ( $OR = 2.342$ , 95%CI: 1.023~6.757,  $P < 0.001$ ) and IL-34 ( $OR = 5.642$ , 95%CI: 3.452~9.089,  $P < 0.001$ ) were independent risk factors affecting the outcome of patients with acute liver failure. ROC curve showed that the areas under the curve of Beclin1, TIM-3 and IL-34 were 0.897, 0.839 and 0.800, respectively. The area under the curve of Beclin1 + TIM-3 + IL-34 was 0.934, which was significantly higher than those of the individual indicators ( $Z = 2.272$ ,  $P = 0.011$ ;  $Z = 2.246$ ,  $P = 0.014$ ;  $Z = 3.980$ ,  $P < 0.001$ ). **Conclusions** Beclin1, TIM-3 and IL-34 were highly expressed in patients with acute liver failure and were associated with the outcomes. The increase of Beclin1, TIM-3 and IL-34 in peripheral blood of patients in death group was exacerbated. Clinically, the disease outcome could be predicted early according to the expression level of the three indicators in the peripheral blood of patients to improve the outcome.

**Keywords:** Beclin 1; Mucin domain 3; Interleukin-34; Liver failure, acute; Disease outcome

急性肝衰竭临床较常见,与肝代谢失常、肝解毒功能减弱所致的肝进行性损伤相关,早期无典型症状,但发病凶险、进展迅速,预后较差,因此早期救治对提高患者存活率具有重要意义<sup>[1]</sup>。临床研究表明,急性肝衰竭发生过程中存在细胞自噬、免疫调节功能异常、局部炎症浸润等病理改变,而在此过程中多种细胞因子表达异常,临床可根据与此病发生相关的细胞因子表达水平早期评估患者疾病转归<sup>[2]</sup>。Beclin1是一种与细胞自噬相关的蛋白,

其可通过调节Vps-34活性启动自噬,研究发现在肝衰竭发生和进展过程中Beclin1升高所启动的肝细胞自噬是导致患者预后不良的重要机制<sup>[3]</sup>。黏蛋白结构域3(mucin domain 3, TIM-3)可负性调节1型辅助性T细胞应答,诱导免疫耐受,在感染性疾病和恶性肿瘤中高表达于效应T淋巴细胞表面,具有抑制细胞增殖的作用<sup>[4]</sup>。而白细胞介素34(interleukin 34, IL-34)是重要的炎症诱导因子,在某些炎症相关疾病中表达升高,可经放大大局部炎症促进疾病进

展<sup>[5]</sup>。检索国内外相关研究发现,有关Beclin1、TIM-3、IL-34与急性肝衰竭患者疾病转归的报道较少,为寻找有效预测急性肝衰竭患者疾病转归的敏感指标,本研究以急性肝衰竭患者为研究对象,分析Beclin1、TIM-3、IL-34在患者外周血中的表达及对疾病转归的预测价值,以期早期预测患者预后,尽早制定针对性措施干预,降低死亡率,改善预后。

## 1 资料与方法

1.1 研究对象 以2020年1月至2022年1月于中部战区总医院就诊的80例急性肝衰竭患者为急性肝衰竭组,以同期于中部战区总医院健康体检的80例健康者作为健康组,纳入标准:急性肝衰竭组患者均符合《肝衰竭诊治指南(2018年版)》<sup>[6]</sup>中急性肝衰竭的诊断标准,①临床诊断:急性起病,2周内出现Ⅱ度及以上肝性脑病,并伴有以下症状表现:a.极度乏力,伴有明显厌食、腹胀、恶心、呕吐等严重消化道症状;b.短期内黄疸进行性加重,血清总胆红素(total bilirubin, TBil)  $\geq 10$ 倍正常值上限(normal upper limit, ULN)或每日上升  $\geq 17.1 \mu\text{mol/L}$ ; c.有出血倾向,凝血酶原活动度(prothrombin activity, PTA)  $\leq 40\%$ 或国际标准化比值(international normalized ratio, INR)  $\geq 1.5$ ,且排除其他原因;d.肝脏进行性缩小。②病理检查:肝细胞呈一次性坏死,大块、亚大块坏死或桥接坏死,存活的肝细胞严重变性,肝窦网状支架塌陷或部分塌陷。健康组无肝脏疾病史,包括肝脏在内的多器官功能正常。排除标准:①肝细胞癌;②肾功能异常者;③心力衰竭、脑梗死者;④处于妊娠期或哺乳期者;⑤原发性凝血障碍者;⑥既往接受疾病相关治疗者。本次研究所有事项研究对象均知情同意,且获得中部战区总医院伦理委员会批准,批件编号:(2020)048-01。

## 1.2 研究方法

1.2.1 Beclin1、TIM-3、IL-34表达水平检测 健康组于入组后抽取4 ml静脉血,急性肝衰竭组于入院24 h内抽取4 ml静脉血,2 ml分离血清、2 ml分离单个核细胞。血清Beclin1、IL-34表达水平使用酶联免疫吸附试验法检测,取血清,标记酶标板,制备标准品,而后反应孔内依次加入血清、标准品各100  $\mu\text{l}$ ,恒温环境下孵育120 min,清洗反应板,加入Beclin1、IL-34抗体工作液、3, 3', 5, 5'-四甲基联苯胺溶液,45 min后终止反应,使用酶标仪在波长为450 nm处测定吸光度值,绘制标准曲线,计算血清Beclin1、IL-34表达水平。TIM-3表达水平使用流式细胞术检测,取所制备的外周血单个核细胞,复苏后转移至9 ml R10培养基内离心去除上层血清,底部细胞弹开后重新洗涤细胞,取100  $\mu\text{l}$ 细胞悬液加入至流式管内,每管加入PE/Cy7抗人CD4<sup>+</sup>、100  $\mu\text{l}$ 的

FITC标记的TIM-3抗体,加BV510染液,放置15 min后使用磷酸盐缓冲液洗涤后4  $^{\circ}\text{C}$ 下避光进行荧光抗体染色,而后使用磷酸盐缓冲液洗涤后混合均匀,室温下离心,每管内加入300  $\mu\text{l}$ 磷酸盐缓冲液,使用流式细胞仪检测TIM-3表达水平。

1.2.2 肝功能、凝血功能检测 使用酶联免疫吸附试验法测定所有研究对象肝功能指标。包括TBil、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)水平。使用日本Sysmex公司CA1500型自动凝血分析仪测定凝血功能指标,包括凝血酶原时间(prothrombin time, PT)和活化部分凝血活酶时间(APTT),计算国际标准化比值(international normalized ratio, INR)。

1.2.3 疾病转归评价 急性肝衰竭患者均接受保肝、人工肝或肝移植治疗,根据治疗后疾病转归分为存活组(56例)和死亡组(24例),统计两组患者临床资料,包括性别、年龄、体重指数(body mass index, BMI)、有无并发症、病因(乙型肝炎病毒感染、单纯疱疹病毒感染、巨细胞病毒感染、急性酒精中毒、药物中毒、遗传代谢、其他)、实验室指标[包括TBil、ALT、AST、白蛋白(albumin, ALB)、总胆汁酸(total bile acid, TBA)、直接胆红素(direct bilirubin, DBil)、INR、PT、APTT、尿素氮、肌酐、白细胞计数(white blood cell count, WBC)、红细胞体积分布宽度(red cell volume distribution width, RDW)],是否肝移植等,并比较两组患者外周血Beclin1、TIM-3、IL-34表达水平。

1.3 统计学处理 采用SPSS 22.0软件进行数据分析,Beclin1、TIM-3、IL-34等正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间对比采用两独立样本 $t$ 检验。性别、并发症、病因等计数资料以例数或百分数表示,两组间比较采用Pearson  $\chi^2$ 检验。采用Pearson相关系数分析Beclin1、TIM-3、IL-34与肝功能指标的相关性,采用多因素Logistic回归分析影响急性肝衰竭患者病情转归的危险因素,采用受试者工作特征(receiver operator characteristic, ROC)曲线分析Beclin1、TIM-3、IL-34对急性肝衰竭患者病情转归的预测效能。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 急性肝衰竭组和健康组一般资料及外周血Beclin1、TIM-3、IL-34表达水平 急性肝衰竭组男性44例,女性36例,年龄31~58岁,平均(45.63  $\pm$  3.28)岁;健康组男性42例,女性38例,年龄30~57岁,平均(45.77  $\pm$  3.24)岁,两组性别和年龄差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。与健康组比较,急性肝衰竭组患者Beclin1、TIM-3、IL-34在外周血中的表达水平显著升高( $P$ 均 $< 0.05$ )。见表1。

2.2 急性肝衰竭组和健康组肝功能指标及凝血指标与健康组比较，急性肝衰竭组患者TBil、ALT、AST、INR、PT、APTT水平均显著升高（ $P$ 均 $< 0.05$ ）。见表2。

2.3 急性肝衰竭患者Beclin1、TIM-3、IL-34水平与肝功能的相关性 Pearson相关性分析表明，急性肝衰竭患者外周血Beclin1、TIM-3、IL-34水平与肝功能指标均呈正相关（ $P$ 均 $< 0.05$ ），见图1。

2.4 不同转归急性肝衰竭患者的临床资料 与存活组相比，死亡组患者并发症发生率、TBil、ALT、AST、INR、PT、APTT、WBC及RDW水平显著升高，ALB水平显著降低（ $P$ 均 $< 0.05$ ）；两组性别、年龄、BMI、病因、TBA、DBil、尿素氮、肌酐水平及是否

肝移植等差异无统计学意义（ $P$ 均 $> 0.05$ ）。见表3。

2.5 存活组及死亡组急性肝衰竭患者外周血Beclin1、TIM-3、IL-34表达水平 与存活组相比，死亡组患者外周血Beclin1、TIM-3、IL-34表达水平显著升高（ $P$ 均 $< 0.05$ ）。见表4。

2.6 急性肝衰竭患者疾病转归的影响因素 以急性肝衰竭患者疾病转归作为因变量，存活= 0，死亡= 1，将两组间差异有统计学意义的指标作为自变量进行Logistic多因素回归分析，结果表明并发症、TBil、ALT、AST、ALB、INR、PT、APTT、WBC、RDW、Beclin1、TIM-3、IL-34均是影响急性肝衰竭患者疾病转归的独立危险因素（ $P$ 均 $< 0.05$ ）。见表5。

表 1 急性肝衰竭组和健康组一般资料及外周血 Beclin1、TIM-3、IL-34 表达水平

组别	例数	男/女（例）	年龄（ $\bar{x} \pm s$ ，岁）	Beclin1（ $\bar{x} \pm s$ ， $\mu\text{g/L}$ ）	TIM-3（ $\bar{x} \pm s$ ，%）	IL-34（ $\bar{x} \pm s$ ， $\text{ng/L}$ ）
急性肝衰竭组	80	44/36	45.63 $\pm$ 3.28	13.42 $\pm$ 2.11	44.53 $\pm$ 3.29	15.53 $\pm$ 2.05
健康组	80	42/38	45.77 $\pm$ 3.24	8.10 $\pm$ 1.12	20.19 $\pm$ 2.31	9.73 $\pm$ 1.13
统计量值		$\chi^2 = 0.101$	$t = 0.272$	$t = 19.920$	$t = 54.160$	$t = 22.160$
$P$ 值		0.751	0.786	$< 0.001$	$< 0.001$	$< 0.001$

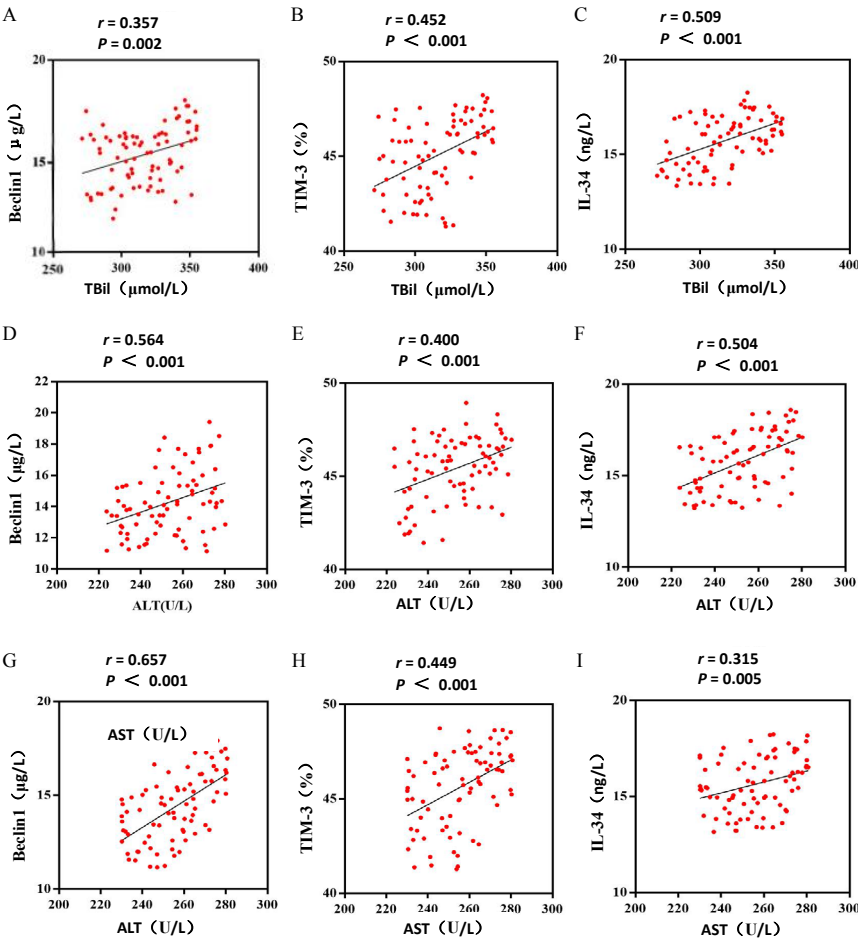


图 1 急性肝衰竭患者 Beclin1、TIM-3、IL-34 水平与肝功能指标相关性分析散点图

注：A ~ C 分别为 Beclin1、TIM-3、IL-34 与 TBil 的相关性分析，B ~ F 分别为 Beclin1、TIM-3、IL-34 与 ALT 的相关性分析，G ~ I 分别为 Beclin1、TIM-3、IL-34 与 AST 的相关性分析。

表 2 急性肝衰竭组和健康组肝功能和凝血功能指标 ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	急性肝衰竭组 (80例)	健康组 (80例)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
肝功能				
TBil (μmol/L)	310.92 ± 42.42	13.42 ± 1.08	62.710	< 0.001
ALT (U/L)	251.43 ± 29.08	24.31 ± 2.28	69.640	< 0.001
AST (U/L)	255.54 ± 26.51	21.13 ± 2.43	78.760	< 0.001
凝血功能				
INR	3.89 ± 0.43	1.02 ± 0.10	58.150	< 0.001
PT (s)	30.32 ± 2.31	12.31 ± 1.09	63.070	< 0.001
APTT (s)	57.19 ± 5.46	30.43 ± 3.42	37.150	< 0.001

表 3 不同转归急性肝衰竭患者的临床资料

临床资料	存活组 (56例)	死亡组 (24例)	统计量值	<i>P</i> 值
男/女 (例)	29/27	13/11	$\chi^2 = 0.038$	0.845
年龄 ( $\bar{x} \pm s$ , 岁)	44.54 ± 5.12	43.98 ± 5.08	<i>t</i> = 0.449	0.654
BMI ( $\bar{x} \pm s$ , kg/m <sup>2</sup> )	23.65 ± 2.11	23.71 ± 2.14	<i>t</i> = 0.116	0.908
并发症 [例 (%)]				
有	23 (41.07)	16 (66.67)	$\chi^2 = 4.405$	0.036
无	33 (58.93)	8 (33.33)		
病因 [例 (%)]				
乙型肝炎病毒感染	13 (23.21)	8 (33.33)	$\chi^2 = 2.753$	0.839
单纯疱疹病毒感染	3 (5.36)	0 (0)		
巨细胞病毒感染	2 (3.57)	1 (4.17)		
急性酒精中毒	7 (12.50)	2 (8.33)		
药物中毒	10 (17.86)	4 (16.67)		
遗传代谢	11 (19.64)	6 (25.00)		
其他	10 (17.86)	3 (12.50)		
实验室指标				
TBil ( $\bar{x} \pm s$ , μmol/L)	213.42 ± 26.75	398.97 ± 41.23	<i>t</i> = 23.980	< 0.001
ALT ( $\bar{x} \pm s$ , U/L)	171.23 ± 19.06	354.64 ± 38.96	<i>t</i> = 28.340	< 0.001
AST ( $\bar{x} \pm s$ , U/L)	178.96 ± 21.55	327.86 ± 30.12	<i>t</i> = 25.020	< 0.001
ALB ( $\bar{x} \pm s$ , g/L)	35.13 ± 3.27	26.74 ± 4.93	<i>t</i> = 9.967	< 0.001
TBA ( $\bar{x} \pm s$ , μmol/L)	102.31 ± 10.34	103.45 ± 10.23	<i>t</i> = 0.453	0.652
DBil ( $\bar{x} \pm s$ , μmol/L)	56.64 ± 5.64	57.11 ± 5.37	<i>t</i> = 0.346	0.730
INR ( $\bar{x} \pm s$ )	2.83 ± 0.13	3.86 ± 0.43	<i>t</i> = 16.380	< 0.001
PT ( $\bar{x} \pm s$ , s)	23.11 ± 2.98	34.52 ± 3.42	<i>t</i> = 15.010	< 0.001
APTT ( $\bar{x} \pm s$ , s)	51.23 ± 4.73	67.84 ± 9.06	<i>t</i> = 10.770	< 0.001
尿素氮 ( $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)	4.18 ± 0.41	4.12 ± 0.34	<i>t</i> = 0.630	0.531
肌酐 ( $\bar{x} \pm s$ , μmol/L)	35.64 ± 3.42	35.72 ± 3.25	<i>t</i> = 0.097	0.923
WBC ( $\bar{x} \pm s$ , × 10 <sup>9</sup> /L)	5.43 ± 0.67	8.12 ± 1.12	<i>t</i> = 13.310	< 0.001
RDW ( $\bar{x} \pm s$ , %)	15.34 ± 1.32	17.85 ± 2.34	<i>t</i> = 6.101	< 0.001
肝移植 [例 (%)]				
是	5 (8.93)	0 (0)	$\chi^2 = 2.286$	0.131
否	51 (91.07)	24 (100.00)		

表 4 存活组和死亡组急性肝衰竭患者外周血 Beclin1、TIM-3、IL-34 表达水平 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	Beclin1 (μg/L)	TIM-3 (%)	IL-34 (ng/L)
存活组	56	10.02 ± 1.54	35.64 ± 3.41	11.12 ± 1.32
死亡组	24	15.64 ± 2.13	51.32 ± 6.75	19.08 ± 2.43
<i>t</i> 值		13.280	13.820	18.930
<i>P</i> 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001

2.7 Beclin1、TIM-3、IL-34对急性肝衰竭患者疾病转归的预测价值 ROC曲线分析表明, Beclin1、TIM-3、IL-34单项预测急性肝衰竭患者疾病转归的曲线下面积分别为0.897、0.839、0.800, 三项联合预测的曲线下面积为0.934, 显著高于各指标单项预测 ( $Z = 2.272, P = 0.011; Z = 2.246, P = 0.014; Z = 3.980, P < 0.001$ )。见表6、图2。

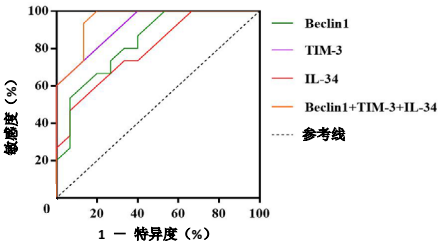


图 2 Beclin1、TIM-3、IL-34 预测急性肝衰竭患者疾病转归的 ROC 曲线

表 5 影响急性肝衰竭患者疾病转归的多因素 Logistic 回归分析

因素	$\beta$	SE	Wald $\chi^2$	P值	OR值	95%CI
常量	- 1.417	0.394	12.930	< 0.001	-	-
并发症	1.127	0.374	6.546	0.017	1.354	1.002~2.242
TBil	1.212	0.375	7.556	0.013	1.798	1.212~4.353
ALT	1.333	0.484	10.631	< 0.001	3.012	2.143~8.645
AST	2.112	1.103	7.985	0.011	2.002	1.143~3.980
ALB	2.371	1.258	10.015	0.002	2.768	1.546~7.895
INR	0.734	0.369	4.529	0.038	1.123	0.897~2.241
PT	0.715	0.233	10.034	0.003	2.980	1.768~7.674
APTT	1.379	0.402	12.221	< 0.001	3.964	2.112~8.635
WBC	1.057	0.432	6.030	0.014	1.212	0.923~2.232
RDW	0.901	0.372	5.928	0.025	1.134	0.886~2.275
Beclin1	2.546	0.211	12.687	< 0.001	4.565	2.432~8.988
TIM-3	1.377	0.398	11.938	< 0.001	3.945	2.001~7.896
IL-34	1.144	0.331	11.914	< 0.001	3.923	2.201~8.012

注：“-”为无相关数据。

表 6 Beclin1、TIM-3、IL-34 对急性肝衰竭患者疾病转归的预测价值

指标	曲线下面积	95%CI	P值	最佳截断值	敏感度（%）	特异度（%）
Beclin1	0.897	0.756~0.934	< 0.001	13.39 $\mu\text{g/L}$	86.79	76.75
TIM-3	0.839	0.700~0.965	< 0.001	42.31 %	84.53	75.44
IL-34	0.800	0.712~0.897	< 0.001	14.48 $\text{ng/L}$	83.22	72.53
Beclin1 + TIM-3 + IL-34	0.934	0.756~0.976	< 0.001	-	90.87	79.96

注：“-”为无相关数据。

3 讨论

急性肝衰竭的发生受多种因素影响，患者肝细胞严重变性坏死，病情进展较快，治疗以保肝、人工肝或肝移植为主，部分患者经治疗后病情稳定，但也有患者转归不良，导致死亡<sup>[7-9]</sup>。

自噬是一种广泛存在于真核细胞中的生理过程，与DNA损伤及多种信号转导通路活性异常相关，研究显示自噬经循环利用能量、诱导细胞凋亡、影响细胞内环境稳态等过程参与多种疾病的发生<sup>[10]</sup>。Beclin1是一种与细胞自噬相关的基因，在生理情况下，非磷酸化蛋白B淋巴细胞肿瘤-2基因特异性结合Beclin1后可经抑制Beclin1与磷酸肌醇3-激酶间的作用而降低自噬水平<sup>[11,12]</sup>。当机体处于病理状态时，Beclin1与高迁移率族蛋白B1、1，4，5-三磷酸肌醇受体等多种辅因子结合后改变Vps-34活性，形成Beclin1-Vps34-Vps15复合体进而启动自噬，并形成自噬前体，诱发多种疾病<sup>[13]</sup>。在肝损伤性疾病发生过程中，肝细胞存在自噬现象，Beclin1可诱导肝细胞坏死凋亡，与活性增高的Caspase结合后形成C端Beclin1，促细胞色素C大量合成释放后诱发细胞凋亡<sup>[14,15]</sup>。罗羽鸥等<sup>[16]</sup>认为，乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭患者血清Beclin1处于高表达，其所启动的肝细胞自噬是导致患者死亡的主要机制之一。本研究发现，急性肝衰竭患者外周血Beclin1表达升高，且与患者肝功能密切相关，进一步分析Beclin1与患者疾病转归的关系发现，在死亡患者中Beclin1表达升高进一步加剧，与患者疾病转归密切相关，说明Beclin1高表达是导致急性肝衰竭患者预后不良的重

要机制，究其原因可能与Beclin1在疾病发生后结合多种辅因子，激活Vps-34启动肝细胞自噬，诱导肝细胞凋亡，最终影响患者疾病转归。

TIM-3所诱导机体免疫逃逸目前已经成为广泛研究的热点，其可编码免疫球蛋白T细胞膜蛋白，参与机体先天免疫、获得性免疫过程，广泛表达于巨噬、树突状、肥大及辅助性T细胞中<sup>[17,18]</sup>。研究发现，在慢性乙型肝炎病毒感染后，TIM-3高表达于NK细胞、T淋巴细胞中，可损伤免疫细胞功能，引起免疫细胞活化诱导肝脏炎性损伤，随着肝脏炎性损伤程度加重，TIM-3分泌增加，降低TIM-3表达有助于乙型肝炎病毒的清除，调控肝脏免疫损伤<sup>[19]</sup>。另有报道称，TIM-3主要表达于辅助性T细胞1表面，其可经TIM-3/半乳糖凝集素-9信号转导通路调节辅助性T细胞1应答，诱发免疫耐受现象<sup>[20]</sup>。发生感染后，TIM-3可抑制细胞增殖，在机体免疫调节中具有负向调节作用，可促进多种细胞因子分泌、增加细胞毒性、影响细胞增殖凋亡<sup>[21]</sup>。早期一项动物实验研究发现，阻断TIM-3基因表达可抑制暴发性肝衰竭Kupffer细胞分泌促炎因子，进而抑制疾病进展<sup>[22]</sup>。本研究中，与健康人群比较，TIM-3在急性肝衰竭患者外周血中表达急剧升高，提示急性肝衰竭的发生伴随不同程度的免疫功能异常；进一步分析TIM-3与急性肝衰竭患者疾病转归的关系发现，疾病转归不良的患者TIM-3水平显著升高，究其原因可能是TIM-3经激活TIM-3/半乳糖凝集素-9信号转导通路诱导免疫耐受，促进疾病恶化。

IL-34广泛表达于心脏、肝脏、肺、胸腺等多种器官和组织中，与其他白细胞介素作用相似，其可

参与自身免疫性疾病、多种炎性相关性疾病的发生和进展,具有促局部炎症级联反应、诱发免疫紊乱的作用<sup>[23-25]</sup>。目前已有多项研究表明,在肝损伤相关疾病中IL-34具有促进作用,其生物学功能与巨噬细胞集落刺激分子相似,可介导肝纤维化和炎症的发生<sup>[26,27]</sup>。薛红等<sup>[28]</sup>研究发现,慢加急性肝衰竭患者IL-34表达升高,肝衰竭发生后,IL-34由存在于肝脏中的单核细胞释放,加重肝损伤,是导致患者预后不良的重要因素。Al-Shaebi等<sup>[29]</sup>对IL-34在肝脏疾病中的作用进行了系统分析,提示IL-34在急性肝衰竭中发挥重要作用。本研究表明,急性肝衰竭患者IL-34高表达,且其与患者疾病转归密切相关,此结果证实了IL-34在急性肝衰竭中的作用,分析其发挥作用的途径可能为肝衰竭的发生伴随不同程度的炎性反应,包括IL-34在内的多种炎性细胞因子过度激活,直接损伤肝组织,进而诱发肝衰竭。

本研究比较了不同转归急性肝衰竭患者的临床资料,发现死亡组患者有更高的并发症发生率,两组患者间TBil、ALT、AST、INR、PT、APTT、WBC、RDW、ALB水平均存在显著差异,提示死亡患者肝功能和凝血功能障碍更严重。ROC曲线分析表明Beclin1、TIM-3、IL-34三项联合预测患者疾病转归的效能显著高于单项预测,提示临床可通过监测患者血清Beclin1、TIM-3、IL-34水平来早期预测疾病转归,以指导临床早期制定针对性干预措施,改善患者预后。但本研究仍存在一定局限:①所纳入的样本量较少,在数据统计时可能存在偏倚;②并未观察Beclin1、TIM-3、IL-34在急性肝衰竭患者发病后的动态变化;③目前并无相关研究证实Beclin1、TIM-3、IL-34在急性肝衰竭中的关联性,因此后续针对以上不足需进一步深入研究,以便更准确判断急性肝衰竭患者的转归。

综上所述,Beclin1、TIM-3、IL-34高表达于急性肝衰竭患者,死亡患者外周血Beclin1、TIM-3、IL-34水平升高加剧,与患者疾病转归相关,临床可根据三者在外周血中的表达水平早期预测患者疾病转归,以改善预后。

## 参考文献

- VASQUES F, CAVAZZA A, BERNAL W. Acute liver failure[J]. Curr Opin Crit Care, 2022, 28(2): 198-207.
- QIU L X, HUANG Y, QUAN J L, et al. Prognosis of hepatitis E infection in patients with chronic liver disease: a meta-analysis[J]. J Viral Hepat, 2023, 30(2): 101-107.
- 陈崇高, 符厚萱, 王小智, 等. Beclin1及miRNA-130a与HBV相关慢加急性肝衰竭患者预后的相关性[J]. 肝脏, 2021, 26(2): 125-127.
- 黎妮, 黄裕林, 马世河. 血Tim-3联合 $\gamma$ -GT/胆碱酯酶比值在转氨酶正常或轻度升高慢性乙型肝炎患者中的临床价值[J]. 肝脏, 2022, 27(1): 42-46.
- 吴冬秋, 崔丽华, 熊峰, 等. 血清IL-34联合超声弹性成像诊断慢性乙型肝炎患者肝纤维化的效能分析[J]. 实用肝脏病杂志, 2021, 24(1): 23-26.
- 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组, 中华医学会肝病学会分会重型肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊治指南(2018年版)[J]. 临床肝胆病杂志, 2019, 35(1): 38-44.
- LIU Y, DONG Y, WU X, et al. The assessment of mesenchymal stem cells therapy in acute on chronic liver failure and chronic liver disease: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials[J]. Stem Cell Res Ther, 2022, 13(1): 204.
- 马元吉, 杜凌遥, 白浪, 等. 非生物型人工肝治疗肝衰竭的研究进展[J]. 中华肝脏病杂志, 2023, 31(9): 1004-1008.
- HOU X, LI Y, YUAN H, et al. Therapeutic effect and safety of granulocyte colony-stimulating factor therapy for acute-on-chronic liver failure: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Front Med (Lausanne), 2021, 8(1): 784240.
- 胡洋洋, 张兴, 罗越, 等. 自噬对肝衰竭的保护作用机制与临床价值[J]. 临床肝胆病杂志, 2023, 39(10): 2485-2490.
- DENG Z, SUN M, WU J, et al. SIRT1 attenuates sepsis-induced acute kidney injury via Beclin1 deacetylation-mediated autophagy activation[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(2): 217.
- ZHU Y, HUANG S, CHEN S, et al. SOX2 promotes chemoresistance, cancer stem cells properties, and epithelial-mesenchymal transition by  $\beta$ -catenin and Beclin1/autophagy signaling in colorectal cancer[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(5): 449.
- HILL S M, WROBEL L, ASHKENAZI A, et al. VCP/p97 regulates Beclin1-dependent autophagy initiation[J]. Nat Chem Biol, 2021, 17(4): 448-455.
- 黄霜湘, 姚朝光, 蓝婧, 等. 慢加急性乙型肝炎肝衰竭患者血清自噬相关蛋白水平及其临床意义探讨[J]. 实用肝脏病杂志, 2021, 24(5): 721-724.
- 郝艳霞, 白红艳. 自身免疫性肝炎患者外周血Beclin1、LC3水平及Th1/Th2平衡预测肝功能损伤的价值[J]. 医学临床研究, 2022, 39(2): 183-186.
- 罗羽璐, 杨晓玲, 李川. HBV-ACLF患者血清Beclin1、LC3-II的达水平及其临床意义[J]. 标记免疫分析与临床, 2020, 27(4): 586-590.
- YANG Y, YING G, WU F, et al. sTim-3 alleviates liver injury via regulation of the immunity microenvironment and autophagy[J]. Cell Death Discov, 2020, 6: 62.
- ZHAO L, LIANG J, RAO W, et al. Cross-regulation by TLR4 and T cell Ig mucin-3 determines severity of liver injury in a CCl<sub>4</sub>-induced mouse model[J]. Scand J Immunol, 2020, 91(4): e12851.
- 李静, 顾玉荣, 毕燕华, 等. 慢性乙型肝炎病毒感染者T淋巴细胞和NK细胞T淋巴细胞免疫球蛋白黏蛋白分子3表达与肝脏炎症和纤维化相关性分析[J]. 中华临床感染病杂志, 2021, 14(3): 161-172.
- 王莉, 赵媛. 慢性乙型肝炎患者血清sVAP-1、DNMT1、Tim-3水平与肝功能指标及炎症因子的相关性[J]. 海南医学, 2021, 32(24): 3158-3161.
- 叶青, 赵敏, 冉紫晶, 等. 慢性乙型肝炎患者外周血单核细胞表面T淋巴细胞Tim-3、TLR4表达变化观察[J]. 山东医药, 2021, 61(15): 58-61.
- 牛坚, 王月, 刘斌, 等. 小分子干扰RNA沉默T细胞免疫球蛋白黏蛋白分子3表达对暴发性肝衰竭小鼠Kupffer细胞分泌细胞因子的影响[J/CD]. 中华危重症医学杂志(电子版), 2015, 8(4): 217-223.
- 项晓刚, 尚大宝, 张金铭. 慢加急性肝衰竭的疾病定义及发病机制[J]. 临床肝胆病杂志, 2023, 39(10): 2281-2287.
- 程若莪, 李晗, 李民, 等. 白细胞介素-34在原发性胆汁性胆管炎中的表达及其意义[J]. 胃肠病学, 2021, 26(9): 526-531.
- WANG Y Q, CAO W J, GAO Y F, et al. Serum interleukin-34 level can be an indicator of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B virus infection[J]. World J Gastroenterol, 2018, 24(12): 1312-1320.
- 李晓晴, 李国坚, 吴健林, 等. HLA-DRB1\*04位点下IL-34和CSF-1表达水平对广西肝癌家族聚集性的影响[J]. 广西医科大学学报, 2021, 38(1): 107-111.
- 谢飞, 王洪斌, 张瀚文, 等. IL-34在肝癌组织中的差异表达及其临床意义[J]. 中西医结合肝病杂志, 2021, 31(6): 528-529, 542.
- 薛红, 明芳, 章颖, 等. IL-34、IL-12P70在慢加急性肝衰竭患者血清中的表达及临床意义[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2021, 30(10): 1162-1165.
- Al-SHAEBI F, WEN Z L, HE Z K, et al. Recent insights of the role and signalling pathways of interleukin-34 in liver diseases[J]. Int Immunopharmacol, 2020, 89(Pt B): 107023.

收稿日期: 2023-02-27

王刚, 巩博, 余治国, 等. 苜蓿素1、黏蛋白结构域3、白细胞介素34在急性肝衰竭中的表达及对患者疾病转归的预测价值[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2024, 16(3): 45-51.