

• 短篇论著 •

胆道闭锁患儿血清 MMP-7 和 uPAR 水平与肝纤维化和预后的关系研究*

宫颖新, 王萍[△], 白玉坤, 张桂枝, 焦晗亮, 刘伟栋, 李杨, 祁艳卫
(河北省儿童医院普外二科, 河北石家庄 050031)

摘要:目的 探讨胆道闭锁(BA)患儿血清基质金属蛋白酶-7(MMP-7)和尿激酶纤溶酶原激活物受体(uPAR)水平与肝纤维化和预后的关系。方法 选择 2016 年 3 月至 2019 年 3 月在该院接受肝门空肠吻合术(Kasai 术)治疗的 70 例 BA 患儿作为 BA 组, 同期在该院体检的 50 例健康儿童作为对照组。并根据肝纤维化程度将 70 例 BA 患儿分为轻度纤维化组(42 例)和重度肝纤维化组(28 例)。根据总胆红素(TB)水平将 70 例患儿分为非黄疸组(40 例)和黄疸组(30 例)。采用酶联免疫吸附试验检测 MMP-7 和 uPAR 水平, 分析 MMP-7 和 uPAR 与肝纤维化和预后的关系。结果 BA 组患儿手术前及手术后 2 个月血清 MMP-7、uPAR 水平均明显高于对照组($P < 0.05$), 手术后 2 个月时血清 MMP-7、uPAR 水平均明显高于手术前($P < 0.05$); 重度肝纤维化组患儿手术前及手术后 2 个月血清 MMP-7、uPAR 水平均明显高于轻度肝纤维化组患儿($P < 0.05$), 黄疸患儿手术前及手术后 2 个月血清 MMP-7、uPAR 水平均明显高于非黄疸组患儿($P < 0.05$); 轻度肝纤维化患儿手术后 2 个月血清 MMP-7、uPAR 水平与手术前比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 非黄疸患儿手术后 2 个月血清 MMP-7、uPAR 水平与手术前比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 重度肝纤维化患儿手术后 2 个月血清 MMP-7、uPAR 水平明显高于手术前($P < 0.05$), 黄疸组患儿手术后 2 个月血清 MMP-7、uPAR 水平明显高于手术前($P < 0.05$)。结论 BA 患儿血清 MMP-7 和 uPAR 水平的升高与肝纤维化的加重及术后黄疸的发生相关, 可能有助于 BA 患儿病情及预后的评估。

关键词:胆道闭锁; 基质金属蛋白酶-7; 尿激酶纤溶酶原激活物受体; 肝纤维化; 黄疸

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.17.024

中图法分类号:R656

文章编号:1673-4130(2020)17-2155-04

文献标识码:B

胆道闭锁(BA)是发生于婴幼儿时期的肝内外胆道闭锁, 患儿表现为肝功能损害、肝内外胆管纤维化闭塞, 最终会发展为肝硬化及肝衰竭^[1-3]。肝门空肠吻合术(Kasai 术)是治疗 BA 的首选方式, 能够解除胆道梗阻, 但却无法逆转肝纤维化进程, 患儿仍旧会发展为肝硬化及肝衰竭, 甚至死亡^[4-5]。目前, BA 的发病机制仍未阐明, 根据鉴于肝纤维化过程中细胞外基质水解及沉积异常的特征, 近年来越来越多的学者开始关注多种调节细胞外基质的分子在 BA 发病中的作用。

基质金属蛋白酶-7(MMP-7)及尿激酶纤溶酶原激活物受体(uPAR)是两种参与细胞外基质水解及沉积调节的分子, 在肝硬化的过程中起关键作用, 也有研究报道显示 BA 的肝脏细胞中 MMP-7 及 uPAR 的表达增多^[6-7], 但血清 MMP-7 及 uPAR 变化与 BA 病情及预后的关系尚未明确。为此, 本研究以 BA 患儿为对象, 具体分析了血清 MMP-7 和 uPAR 水平与肝纤维化和预后的关系, 旨在阐明 MMP-7、uPAR 在 BA 发生及病情发展中所起的作用, 进而为将来探究

BA 的发病机制提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2016 年 3 月至 2019 年 3 月在本院接受 Kasai 手术治疗的 70 例 BA 患儿作为 BA 组, 纳入标准: (1) 经临床及病理切片诊断为 BA; (2) 临床资料及样本完整; (3) 随访资料完整; (4) 获得患儿家属知情同意并签署知情同意书。排除标准: (1) 合并其他肝胆实质性疾病; (2) 合并其他先天性疾病; (3) 术后 2 个月内接受肝移植。另选取同期在本院体检的 50 例健康儿童作为对照组。两组性别、年龄比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$); 两组丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TB)水平比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$), 见表 1。

1.2 方法

1.2.1 血清 MMP-7 和 uPAR 水平检测 对照组儿童体检时采集空腹肘静脉血 1~2 mL, BA 组患儿手术前及手术后 2 个月时采集空腹肘静脉血 1~2 mL, 静置 30 min 后 3 000 r/min 离心 10 min, 分离血清后

* 基金项目: 河北省医学科学研究重点课题计划(20180640)。

[△] 通信作者, E-mail: 2276085@qq.com。

采用酶联免疫吸附试剂盒(上海西唐公司)检测 MMP-7 和 uPAR 水平,操作均按试剂盒说明书进行。

表 1 两组一般资料比较

组别	n	性别(n/n,男/女)	年龄($\bar{x} \pm s, d$)	ALT($\bar{x} \pm s, U/L$)	AST($\bar{x} \pm s, U/L$)	TB($\bar{x} \pm s, \mu\text{mol/L}$)
BA 组	70	39/31	93.22 ± 13.29	194.24 ± 32.29	176.59 ± 37.61	37.55 ± 8.82
对照组	50	30/20	92.87 ± 11.41	29.52 ± 6.23	24.27 ± 5.25	12.51 ± 2.51
t/χ ²		0.219	1.940	35.561	28.407	20.171
P		0.640	0.055	<0.001	<0.001	<0.001

1.2.2 肝纤维化程度评价 手术中收集 BA 组患儿的肝脏组织标本,4%多聚甲醛固定、石蜡包埋、组织切片后进行苏木精-伊红(HE)染色,由病理科医生进行读片并参照 Ishak 分级标准判断肝纤维化程度。部分汇管区纤维化和形成短的纤维间隔为 I 级;汇管区纤维化、纤维间隔形成为 II 级;大量汇管区纤维化、出现汇管与汇管之间的桥接纤维化为 III 级;大量汇管区纤维化、明显的汇管与汇管之间桥接纤维化为 IV 级;明显的汇管与汇管之间桥接纤维化、汇管与中央桥接纤维化为 V 级;出现假小叶为 VI 级。I ~ IV 级为轻度纤维化、V ~ VI 级为重度纤维化,结果轻度纤维化组 42 例和重度肝纤维化组 28 例。

1.2.3 预后情况评价 BA 组患儿手术后 2 个月时进行复查,通过 BA 判断预后情况,BA ≥ 34.2 μmol/L 判断为黄疸,<34.2 μmol/L 判断为非黄疸。结果非黄疸组 40 例和黄疸组 30 例。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件录入数据,计量资料经 Kolmogorov-Smirnov 法检验符合正态分布,levene 法检验具备方差齐性以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料比较采用 t 检验,计数资料比较采用 χ² 检验,以 P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组血清 MMP-7、uPAR 水平比较 BA 组患儿手术前血清 MMP-7、uPAR 水平高于对照组(t = 23.846, P < 0.05; t = 41.144, P < 0.05),BA 组患儿手术后 2 个月血清 MMP-7、uPAR 水平仍高于对照组(t = 23.446, P < 0.05; t = 37.433, P < 0.05);与手术前比较,手术后 2 个月时 BA 组患儿血清 MMP-7、uPAR 水平均明显升高(t = 4.336, P < 0.05; t = 4.921, P < 0.05)。见表 2。

表 2 BA 组与对照组血清 MMP-7、uPAR 水平比较($\bar{x} \pm s, \text{ng/mL}$)

组别	n	MMP-7	uPAR
对照组	50	40.29 ± 8.93	0.83 ± 0.15
BA 组			
手术前	70	143.05 ± 29.49	6.24 ± 0.92
手术后 2 个月	70	167.85 ± 37.68	7.12 ± 1.18

2.2 轻度肝纤维化组与重度肝纤维化组患儿 MMP-7、uPAR 水平比较 手术前重度肝纤维化组患儿血

清 MMP-7、uPAR 水平明显高于轻度肝纤维化患儿(t = 6.639, P < 0.05; t = 11.221, P < 0.05),手术后 2 个月重度肝纤维化组患儿血清 MMP-7、uPAR 水平仍明显高于轻度肝纤维化组患儿(t = 10.657, P < 0.05, t = 13.815, P < 0.05);轻度肝纤维化组患儿手术后 2 个月血清 MMP-7、uPAR 水平与手术前比较,差异无统计学意义(t = 1.048, P = 0.298; t = 1.775, P = 0.080),重度肝纤维化组患儿手术后 2 个月血清 MMP-7、uPAR 水平与手术前比较明显升高(t = 4.979, P < 0.05; t = 5.626, P < 0.05)。见表 3。

表 3 轻度肝纤维化组与重度肝纤维化组患儿 MMP-7、uPAR 水平比较($\bar{x} \pm s, \text{ng/mL}$)

组别	n	时间	MMP-7	uPAR
轻度肝纤维化组	42	手术前	123.48 ± 24.92	5.23 ± 0.94
		手术后 2 个月	130.11 ± 32.58	5.61 ± 1.02
重度肝纤维化组	28	手术前	172.41 ± 36.81	7.75 ± 0.89
		手术后 2 个月	224.45 ± 41.28	9.39 ± 1.26

2.3 黄疸组与非黄疸组患儿 MMP-7、uPAR 水平比较 与非黄疸组患儿比较,黄疸组患儿手术前血清 MMP-7、uPAR 水平均明显升高(t = 4.614, P < 0.05; t = 9.918, P < 0.05),黄疸组患儿手术后 2 个月血清 MMP-7、uPAR 水平明显升高(t = 9.363, P < 0.05; t = 12.124, P < 0.05);与组内手术前比较,非黄疸组患儿手术后 2 个月血清 MMP-7、uPAR 水平无明显变化(t = 0.460, P = 0.674; t = 1.797, P = 0.076),黄疸组患儿手术后 2 个月血清 MMP-7、uPAR 水平明显升高(t = 5.262, P < 0.05; t = 5.223, P < 0.05)。见表 4。

表 4 黄疸组与非黄疸组患儿 MMP-7、uPAR 水平比较($\bar{x} \pm s, \text{ng/mL}$)

组别	n	时间	MMP-7	uPAR
非黄疸组	40	手术前	128.95 ± 25.57	5.30 ± 0.91
		手术后 2 个月	131.84 ± 30.37	5.68 ± 0.98
黄疸组	30	手术前	161.85 ± 34.12	7.49 ± 0.92
		手术后 2 个月	215.86 ± 44.68	9.04 ± 1.34

3 讨 论

BA 的发病机制未明,肝内外胆道均发生闭塞,虽然通过 Kasai 术能够引流胆汁、暂时延缓肝纤维化进

程,但术后肝脏纤维化仍持续发展,最终发展为肝硬化、肝衰竭并需要接受肝移植治疗^[8-9]。手术时肝纤维化的程度对疾病的预后具有评估价值,越来越多的研究也开始关注 BA 病情发展过程中肝纤维化的调控机制^[10-11]。MMP-7 和 uPAR 是两种参与细胞外基质降解和合成调控的分子,在肝硬化患者血清中两种分子的水平均明显增高^[12-13]。本研究对 BA 患儿术前血清上述两种分子的分析显示,BA 组血清中 MMP-7、uPAR 的水平均明显高于对照组,提示 MMP-7 及 uPAR 的增高可能与 BA 的发生有关。

MMP-7 是 MMPs 家族的成员之一,在胆管上皮细胞和肝细胞中均有表达,在肝纤维化的进程中,MMP-7 能够促进正常肝基底膜及细胞外基质降解、刺激肝星状细胞激活并使细胞外基质在肝脏中发生异常沉积,最终出现肝纤维化^[14-16];uPAR 在肝纤维化进程中能够激活转化生长因子- β (TGF- β 1),进而通过 TGF- β 1 的生物学功能来刺激成纤维细胞增殖、细胞外基质异常沉积,最终也引起肝纤维化的发生^[17]。本研究在明确 BA 患儿术前 MMP-7、uPAR 增多后,进一步分析了 MMP-7、uPAR 与肝纤维化程度的关系,经手术样本 HE 染色对肝纤维化程度进行评价,重度肝纤维化组患儿手术前血清 MMP-7、uPAR 水平均明显高于轻度肝纤维化组患儿,说明 MMP-7、uPAR 的增多与肝纤维化的程度有关,结合既往关于两种分子生物学功能的报道进行分析:增多的 MMP-7、uPAR 可能促进了 BA 患儿的肝纤维化。

BA 患儿接受 Kasai 术后胆汁引流得到改善,但肝纤维化的进程仍持续发展,本研究在手术后 2 个月时对血清 MMP-7、uPAR 水平进行了分析,与手术前比较,BA 组患儿手术后 2 个月血清 MMP-7、uPAR 水平均明显升高,手术后 MMP-7、uPAR 的持续升高与肝纤维化持续发展的趋势相吻合。已有研究报道称手术时肝纤维化的程度对手术后肝纤维化的发展变化具有一定的预测价值^[18-20],本研究通过手术样本 HE 染色评价肝纤维化程度后分析了术后 MMP-7、uPAR 的变化及差异,与手术前比较,轻度肝纤维化组患儿手术后 2 个月时血清 MMP-7、uPAR 水平无明显变化,而重度肝纤维化组患儿手术后 2 个月时血清 MMP-7、uPAR 水平明显升高,说明在肝纤维化程度较轻时,手术能够暂时延缓术后肝纤维化的进程,而在肝纤维化较重时,手术虽然能使胆汁引流得到改善,但肝纤维化仍会持续发展。

除此之外,本研究还观察了 MMP-7、uPAR 与 BA 预后的关系,预后评价的方式为术后 2 个月内是否发生黄疸。与非黄疸组患儿比较,黄疸组患儿手术前血清 MMP-7、uPAR 水平较高;与手术前比较,非黄疸组患儿手术后 2 个月血清 MMP-7、uPAR 水平无明显变化,而黄疸组患儿手术后 2 个月血清 MMP-7、uPAR 水平明显升高,说明手术前 MMP-7、uPAR 水

平升高与 BA 的预后转归有关,MMP-7、uPAR 的升高可能通过加重肝纤维化、影响胆红素代谢并造成术后黄疸的发生。

综上所述,BA 患儿血清 MMP-7 和 uPAR 水平的升高与肝纤维化的加重及术后黄疸的发生相关,未来 MMP-7 和 uPAR 可能作为评价 BA 患儿肝纤维化程度、预测预后的指标,也可能成为探究 BA 肝纤维化机制的靶点,但本研究没有对 BA 患儿的预后进行长期随访,今后将延长随访时间并研究 MMP-7、uPAR 与预后的关系。BA 患儿血清 MMP-7 和 uPAR 水平异常升高,且与肝纤维化程度有关,检测血清 MMP-7 和 uPAR 有助于预估 BA 患儿术后发生黄疸的风险。

参考文献

- [1] 杨添洪,胡晓雯,周科军,等. 甲胎蛋白和其他血生化指标构建潜在的胆道闭锁患儿早期诊断模型[J]. 中国组织工程研究,2019,23(31):5046-5051.
- [2] FRIEDMACHER F, FORD K, DAVENPORT M. Biliary atresia: a scientometric analysis of the global research architecture and scientific developments[J]. J Hepatobiliary Pancreat Sci, 2019, 26(6): 201-210.
- [3] KILGORE A, MACK C L. Update on investigations pertaining to the pathogenesis of biliary atresia[J]. Pediatr Surg Int, 2017, 33(12): 1233-1241.
- [4] TAMGAL J, DAMRONGMANEE A, KHORANA J, et al. Clearance of jaundice after the modified Kasai's operation predicts survival outcomes in patients with biliary atresia[J]. Turk J Pediatr, 2019, 61(1): 7-12.
- [5] MEDAPPIL N, JACOB M, LOCHAN R, et al. Kasai portoenterostomy for biliary atresia-surgical precautions for better outcomes[J]. J Pediatr Surg, 2019, 54(4): 868-869.
- [6] 刘小野,董浩,荆瀛黎,等. 结直肠癌患者血清基质金属蛋白酶水平及其临床意义[J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(1): 48-50.
- [7] SUEMIZU H, NAKAMURA K, KAWAI K, et al. Hepatocytes buried in the cirrhotic livers of patients with biliary atresia proliferate and function in the livers of urokinase-type plasminogen activator-NOG mice [J]. Liver Transpl, 2014, 20(9): 1127-1137.
- [8] 周瑞洁,明安晓,刁美,等. 220 例 III 型胆道闭锁 Kasai 手术预后的影响因素分析[J]. 中国普通外科杂志, 2019, 34(8): 659-662.
- [9] 余莉,郭勇,柯海劲,等. 腹腔镜与开腹 Kasai 手术对胆道闭锁疗效比较的 Meta 分析[J]. 中华小儿外科杂志, 2019, 40(7): 613-621.
- [10] GUNAD I, GUNAWAN T A, WIDIYANTO G, et al. Liver transplant score for prediction of biliary atresia patients' survival following Kasai procedure[J]. BMC Res Notes, 2018, 11(1): 381.
- [11] SUN S, ZHENG S, LU X E, et al. Clinical and pathological features of patients with biliary atresia who survived

for more than 5 years with native liver[J]. *Pediatr Surg Int*, 2018, 34(4):381-386.

[12] YILMAZ Y, EREN F. Serum biomarkers of fibrosis and extracellular matrix remodeling in patients with nonalcoholic fatty liver disease; association with liver histology [J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2019, 31(1):43-46.

[13] AKDOĞAN Ö, ATAK YÜCEL A, GÖK SARGIN Z, et al. Evaluation of plasma Urokinase-Type plasminogen activator receptor(UPAR) in patients with chronic hepatitis B, C and Non-Alcoholic fatty liver disease(NAFLD) as serological fibrosis marker[J]. *J Clin Exp Hepatol*, 2019, 9(1):29-33.

[14] 余晨,熊希倩,詹江华,等. MMP-7 在胆道闭锁肝纤维化患者中的表达及临床意义[J]. *天津医药*, 2019, 47(1):38-42.

[15] 耿丽,王许平,杨贝贝,等. MMP-7, SDC-1 在炎症性肠病中的表达及其意义[J]. *胃肠病学*, 2019, 24(3):165-168.

[16] MUNSTERMAN I D, KENDALL T J, KHELIL N A, et al. Extracellular matrix components indicate remodelling activity in different fibrosis stages of human non-alcoholic

fatty liver disease[J]. *Histopathology*, 2018, 73(4):612-621.

[17] LARMANN J, JURK K, JANSSEN H, et al. Hepatic overexpression of soluble urokinase receptor (uPAR) suppresses Diet-Induced atherosclerosis in Low-Density lipoprotein Receptor-Deficient (LDLR^{-/-}) mice[J]. *PLoS One*, 2015, 10(8):e0131854.

[18] SHARMA S, GUPTA D K. Surgical modifications, additions, and alternatives to Kasai hepato-portoenterostomy to improve the outcome in biliary atresia[J]. *Pediatr Surg Int*, 2017, 33(12):1275-1282.

[19] MITTAL D, BHATNAGAR V, AGARWALA S, et al. Pre-operative Hepatic Artery Resistive Index is a Non-invasive Predictive Indicator of Prognosis in Biliary Atresia [J]. *J Indian Assoc Pediatr Surg*, 2017, 22(4):237-241.

[20] 朱耿隆,刘夏磊,李培平,等. 肝纤维化指数与肝癌手术预后的相关性[J]. *中华肝胆外科杂志*, 2016, 22(4):223-226.

(收稿日期:2020-02-12 修回日期:2020-05-20)

• 短篇论著 •

联合检测 NLR 和 NT-pro BNP 对慢性阻塞性肺疾病急性加重期呼吸衰竭发作的预测价值

张利红

(皖西卫生职业学院附属医院检验科,安徽六安 237008)

摘要:目的 探讨中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR)和 N 端 B 型利钠肽前体(NT-pro BNP)水平对慢性阻塞性肺疾病急性加重(AECOPD)患者伴发呼吸衰竭的预测价值。方法 选取 2019 年 1—8 月在该院住院的 AECOPD 患者 117 例,根据是否伴发呼吸衰竭分为伴发呼吸衰竭组($n=48$)和未伴发呼吸衰竭组($n=69$),比较两组患者的临床资料、NLR 和 NT-pro BNP 水平,多因素 Logistic 回归分析呼吸衰竭发生的危险因素,并应用受试者工作特征(ROC)曲线分析不同指标预测呼吸衰竭的效能。结果 两组患者性别、年龄、合并脑梗死情况等比较,差异无统计学意义($P>0.05$);合并慢性心力衰竭、合并高血压、合并肺源性心脏病、既往是否有吸烟史情况、NT-pro BNP、NLR 水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。多因素 Logistic 回归分析结果显示,在调整了合并慢性心力衰竭、合并高血压、合并肺源性心脏病、既往有吸烟史等因素后 NT-pro BNP($OR=3.085$, $95\%CI:1.252\sim7.605$)和 NLR($OR=1.599$, $95\%CI:1.179\sim2.168$)是 AECOPD 伴发呼吸衰竭的独立危险因素。Pearson 相关性分析显示,NT-pro BNP 水平与 NLR 水平呈正相关($r=0.297$, $P=0.001$)。ROC 曲线分析结果显示,NLR、NT-pro BNP 及 NLR+NT-pro BNP 联合预测 AECOPD 患者伴发呼吸衰竭的 ROC 曲线下面积分别为:0.726、0.787 和 0.844;灵敏度分别为 0.500、0.688 和 0.833;特异度分别为 0.899、0.855 和 0.739。结论 NT-pro BNP 和 NLR 是 AECOPD 伴发呼吸衰竭的独立风险因子,联合检测对其发生有较高的预测价值。

关键词:慢性阻塞性肺疾病急性加重期; 呼吸衰竭; 中性粒细胞与淋巴细胞比值; N 端 B 型利钠肽前体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.17.025

中图法分类号:R446.1;R563

文章编号:1673-4130(2020)17-2158-04

文献标识码:B

慢性阻塞性肺疾病(COPD)是一种可预防和治疗 的常见疾病,其特征是持续的呼吸道症状和气流受