

• 论 著 •

非酒精性脂肪性肝炎患者血清 Nrf2、AOPP 水平 与血脂、肝纤维化的关系*

王鹏森¹, 何 瑛¹, 李同心¹, 陈继德^{2△}

1. 重庆市公共卫生医疗救治中心中心实验室, 重庆 400000; 2. 重庆医科大学附属璧山医院检验科, 重庆 402760

摘要:目的 探讨非酒精性脂肪性肝炎(NASH)患者血清核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)、晚期氧化蛋白产物(AOPP)水平与血脂、肝纤维化的关系。方法 选择重庆医科大学附属璧山医院收治的 104 例 NASH 患者作为研究组,另选 90 例体检健康者作为对照组。检测并比较各组血清 Nrf2、AOPP 水平,采用 Pearson 或 Spearman 相关分析 NASH 患者血清 Nrf2、AOPP 水平与血脂、肝纤维化的关系,采用受试者工作特征(ROC)曲线评估血清 Nrf2、AOPP 水平对 NASH 的诊断价值。结果 研究组甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、Nrf2、AOPP 水平均高于对照组($P < 0.05$),高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平明显低于对照组($P < 0.05$)。重度组血清 Nrf2、AOPP 水平高于中度组、轻度组($P < 0.05$),中度组血清 Nrf2、AOPP 水平高于轻度组($P < 0.05$)。相关分析结果显示,NASH 患者血清 Nrf2、AOPP 水平与 TG、TC、LDL-C、肝纤维化程度均呈正相关($P < 0.05$),与 HDL-C 呈负相关($P < 0.05$)。血清 Nrf2 诊断 NASH 的曲线下面积(AUC)为 0.830(95%CI 0.780~0.880),血清 AOPP 诊断 NASH 的 AUC 为 0.866(95%CI 0.816~0.916),二者联合诊断 NASH 的 AUC 为 0.925(95%CI 0.875~0.975)。结论 NASH 患者血清 Nrf2、AOPP 水平均升高,且二者水平与血脂、肝纤维化程度均存在密切关系,有望作为诊断 NASH 发生的有效指标。

关键词:非酒精性脂肪性肝炎; 核因子 E2 相关因子 2; 晚期氧化蛋白产物; 血脂; 肝纤维化

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.19.008

中图分类号:R575.1

文章编号:1673-4130(2024)19-2345-04

文献标志码:A

Relationship between serum Nrf2 and AOPP levels and blood lipids and liver fibrosis in patients with non-alcoholic steatohepatitis*

WANG Pengsen¹, HE Ying¹, LI Tongxin¹, CHEN Jide^{2△}

1. Department of Central Laboratory, Chongqing Public Health Medical Treatment Center, Chongqing 400000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Bishan Hospital Affiliated to Chongqing Medical University, Chongqing 402760, China

Abstract: Objective To investigate the relationship between serum levels of nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2), advanced oxidation protein products (AOPP) and blood lipid, liver fibrosis in patients with non-alcoholic steatohepatitis (NASH). **Methods** A total of 104 patients with NASH in Bishan Hospital Affiliated to Chongqing Medical University were selected as the study group, and 90 healthy people were selected as the control group. The serum levels of Nrf2 and AOPP in each group were detected and compared. Pearson or Spearman correlation analysis was used to analyze the relationship between serum Nrf2, AOPP levels and blood lipid, liver fibrosis in patients with NASH. Receiver operating characteristic (ROC) curve was used to evaluate the diagnostic value of serum Nrf2, AOPP levels for NASH. **Results** The levels of triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), Nrf2 and AOPP in the study group were higher than those in the control group ($P < 0.05$), and the level of high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) was significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$). The serum levels of Nrf2 and AOPP in severe group were higher than those in moderate group and mild group ($P < 0.05$), and the serum levels of Nrf2 and AOPP in moderate group were higher than those in mild group ($P < 0.05$). Correlation analysis showed that serum Nrf2 and AOPP levels in NASH patients were positively correlated with TG, TC, LDL-C and the degree of liver fibrosis ($P < 0.05$), and negatively correlated with HDL-C ($P < 0.05$). The area under the curve (AUC) of serum Nrf2 for NASH diagnosis was 0.830 (95%CI 0.780-0.880). The AUC of serum

* 基金项目:重庆市科卫联合医学科研项目(2022MSXM149)。

作者简介:王鹏森,男,副主任技师,主要从事细菌学、免疫学与分子生物学检验相关研究。△ 通信作者,E-mail:724800805@qq.com。

AOPP in the diagnosis of NASH was 0.866 (95%CI 0.816–0.916). The AUC of the combined diagnosis of NASH was 0.925 (95%CI 0.875–0.975). **Conclusion** The serum levels of Nrf2 and AOPP are increased in NASH patients, and they are closely related to blood lipids and liver fibrosis, which are expected to be effective indicators for the diagnosis of NASH.

Key words: non-alcoholic steatohepatitis; nuclear factor E2-related factor 2; advanced oxidation protein products; blood lipids; liver fibrosis

非酒精性脂肪性肝炎(NASH)作为一种以肝细胞丧失、脂肪变性、气球样变、炎症坏死及纤维化形成为病理特征的慢性肝脏疾病,发病后若未及时控制容易发展为肝硬化、肝癌^[1-2]。根据相关调查显示,1/3以上的NASH可能因持续性肝损伤而导致纤维化进展,15%~25%的NASH患者在10~15年内可进展为肝硬化^[3-4]。因此,早期诊断NASH并给予治疗对控制疾病进展有着重要的临床意义。核因子E2相关因子2(Nrf2)作为细胞或组织抗氧化还原反应的中枢调节因子,在抗氧化、抗炎及细胞保护中发挥重要作用^[5],已有研究报道,胆汁淤积性肝病患者血清Nrf2水平降低,其可作为评估肝损伤程度的重要指标^[6]。晚期氧化蛋白产物(AOPP)为近年来发现的氧化应激产物,其过量产生促进2型糖尿病肾病动脉粥样硬化的发生发展^[7]。目前以上指标与NASH的关系尚不清楚。因此,本研究拟探讨NASH患者血清Nrf2、AOPP水平与血脂、肝纤维化的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2020年12月至2022年12月重庆医科大学附属璧山医院(以下简称本院)收治的104例NASH患者作为研究组,其中男64例,女40例;年龄25~80岁,平均(52.33±3.36)岁。另选同期本院的90例体检健康者作为对照组,其中男55例,女35例;年龄26~80岁,平均(52.69±3.98)岁。纳入标准:(1)研究组符合《非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018年更新版)》^[8]中关于NASH的诊断标准;(2)患者或家属知情同意;(3)对照组均为体检健康人群。排除标准:(1)伴有心、肺、肾等重要脏器功能障碍者;(2)合并自身免疫性疾病、血液性疾病、凝血功能障碍疾病及恶性肿瘤疾病者;(3)合并病毒性肝炎、酒精性肝病、药物性肝损伤及原发性胆汁性胆管炎等其他肝病者;(4)近期内服用过糖皮质激素等药物者;(5)妊娠期或哺乳期女性;(6)神经性疾病者;(7)临床资料不全者;(8)不配合研究者。本研究经过本院伦理委员会审核批准(编号:200578-142)。

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集 收集所有研究对象年龄、性别、体重指数、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)等资料。

1.2.2 检测方法 获得研究对象知情同意后,于入院24h内抽取空腹外周静脉血5mL送检,室温下以3000 r/min离心10 min后取上清液,随后置于

-80℃冰箱备用。规定时间内采用酶联免疫吸附试验检测血清Nrf2、AOPP水平,使用全自动生化分析仪测定血脂指标(TG、TC、LDL-C、HDL-C)。

1.2.3 肝纤维化程度 根据《非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018年更新版)》^[8]中肝纤维化程度判定标准分为轻度组(无纤维化或轻度纤维化)32例,中度组(合并显著纤维化或间隔纤维化)52例和重度组(合并肝硬化)20例。

1.3 统计学处理 采用SPSS24.0软件进行数据处理和分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验或单因素方差分析;计数资料以例数和百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用Pearson或Spearman相关分析NASH患者血清Nrf2、AOPP水平与血脂、肝纤维化的关系;采用受试者工作特征(ROC)曲线及曲线下面积(AUC)评估血清Nrf2、AOPP对NASH的诊断价值。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究组与对照组临床资料比较 研究组与对照组年龄、性别、体重指数比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);研究组TG、TC、LDL-C水平高于对照组,HDL-C水平低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 研究组与对照组血清Nrf2、AOPP水平比较 研究组血清Nrf2、AOPP水平均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表2。

2.3 不同肝纤维化程度患者血清Nrf2、AOPP水平比较 不同肝纤维化程度患者血清Nrf2、AOPP水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),其中重度组血清Nrf2、AOPP水平高于中度组、轻度组($P < 0.05$),中度组血清Nrf2、AOPP水平高于轻度组($P < 0.05$)。见表3。

2.4 NASH患者血清Nrf2、AOPP水平与血脂、肝纤维化的相关性 相关分析结果显示,NASH患者血清Nrf2水平与TG、TC、LDL-C及肝纤维化程度均呈正相关($P < 0.05$),与HDL-C呈负相关($P < 0.05$);血清AOPP水平与TG、TC、LDL-C及肝纤维化程度均呈正相关($P < 0.05$),与HDL-C呈负相关($P < 0.05$)。见表4。

2.5 血清Nrf2、AOPP对NASH的诊断价值 ROC曲线分析显示,血清Nrf2诊断NASH的AUC(95%CI)为0.830(0.780~0.880),血清AOPP诊断NASH的AUC(95%CI)为0.866(0.816~0.916),

二者联合诊断 NASH 的 AUC (95% CI) 为 0.925 (0.875~0.975), 见表 5。

表 1 研究组与对照组临床资料比较($\bar{x} \pm s$ 或 n/n)

组别	<i>n</i>	年龄(岁)	性别 (男/女)	体重指数 (kg/m ²)	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)
研究组	104	52.33±3.36	64/40	23.21±2.22	2.55±0.20	6.01±0.36	0.90±0.11	3.68±0.26
对照组	90	52.69±3.64	55/35	23.14±2.14	1.50±0.14	4.44±0.30	1.47±0.21	2.50±0.23
χ^2/t		-0.716	0.004	0.223	41.732	32.696	-24.125	33.244
<i>P</i>		0.475	0.951	0.824	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 2 研究组与对照组血清 Nrf2、AOPP 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	Nrf2(U/L)	AOPP(ng/mL)
研究组	104	510.33±120.10	44.65±8.63
对照组	90	155.28±21.36	12.66±2.65
<i>t</i>		27.661	33.804
<i>P</i>		<0.001	<0.001

表 3 不同肝纤维化程度患者血清 Nrf2、AOPP 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	Nrf2(U/L)	AOPP(ng/mL)
轻度组	32	487.65±118.77	34.69±7.44
中度组	52	500.17±121.24 ^a	42.74±9.18 ^a
重度组	20	598.62±130.46 ^{ab}	55.77±10.79 ^{ab}
<i>F</i>		43.625	55.741
<i>P</i>		<0.001	<0.001

注:与轻度组比较,^a*P*<0.05;与中度组比较,^b*P*<0.05。

表 4 NASH 患者血清 Nrf2、AOPP 水平与血脂、肝纤维化的相关性

指标	Nrf2		AOPP	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
TG	0.325	<0.001	0.477	<0.001
TC	0.415	<0.001	0.402	<0.001
HDL-C	-0.395	<0.001	-0.455	<0.001
LDL-C	0.418	<0.001	0.511	<0.001
肝纤维化程度	0.665	<0.001	0.541	<0.001

表 5 血清 Nrf2、AOPP 对 NASH 的诊断价值

指标	AUC	95%CI	最佳临界值	灵敏度 (%)	特异度 (%)
Nrf2	0.830	0.780~0.880	355.62 U/L	90.41	60.47
AOPP	0.866	0.816~0.916	24.65 ng/mL	90.41	68.66
二者联合	0.925	0.875~0.975	—	88.25	87.99

注:—为此项无数据。

3 讨论

NASH 作为非酒精因素引起的肝损伤,主要是由非酒精性脂肪性肝病进展而来,目前全球范围内的患病率在 3%~5%,发病后可具有肝脂肪变性、炎症细胞浸润甚至纤维化的特征,但若未及时控制可进展为肝硬化和肝癌。因此,早期发现、诊断和及时有效的治疗,将延缓 NASH 肝纤维化向肝硬化和肝癌等进展。Nrf2 作为转录因子家族成员中活力最强的转录

调节因子,静息状态下,Nrf2 在胞质内与 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1 结合,其活性被抑制,在机体受到氧化应激时,Nrf2 可发挥抗氧化、抗炎等细胞保护作用^[9]。盛青等^[10]研究显示,慢性阻塞性肺疾病急性加重患者血清 Nrf2 水平降低可抑制其炎症程度;冯玉洁等^[11]研究显示,Nrf2 与帕金森病患者氧化应激损伤、睡眠障碍有关;伏旭等^[12]研究显示,过表达 Nrf2 基因对急性胰腺炎大鼠的胰腺具有一定的保护作用。AOPP 是氧化应激作用于蛋白质和脂肪的产物,同时是促炎症反应的介质^[13],TOUALBI 等^[14]研究发现,高水平 AOPP 有助于预测动脉粥样硬化病情进展;ZHOU 等^[15]研究发现,维持性血液透析患者血清 AOPP 水平升高与全因死亡风险增加有关。而本研究主要探讨 NASH 患者血清 Nrf2、AOPP 水平与血脂、肝纤维化的关系。

本研究显示,研究组 TG、TC、LDL-C 水平均高于对照组,HDL-C 水平低于对照组(*P*<0.05),说明 NASH 患者存在血脂异常。同时本研究发现,研究组血清 Nrf2、AOPP 水平均明显高于对照组(*P*<0.05),说明 NASH 患者血清 Nrf2、AOPP 水平异常升高,与 BUKKE 等^[16]、李根等^[17]研究结论一致,可能是为了避免患者肝细胞过度损伤,在氧化应激刺激下血清 Nrf2 水平升高发挥保护作用;而 AOPP 作为氧化应激标志物,其水平在氧化应激状况下升高。本研究还发现,重度组血清 Nrf2、AOPP 水平明显高于中度组、轻度组(*P*<0.05),说明血清 Nrf2、AOPP 可能参与 NASH 病情进展。本研究相关性分析结果显示,NASH 患者血清 Nrf2、AOPP 水平与 TG、TC、LDL-C 均呈正相关(*P*<0.05),与 HDL-C 呈负相关(*P*<0.05),说明血清 Nrf2、AOPP 水平可能参与血脂水平调节。同时本研究中血清 Nrf2、AOPP 水平与肝纤维化程度呈正相关(*P*<0.05),表明血清 Nrf2、AOPP 水平随着病情进展而升高,证实血清 Nrf2、AOPP 可调控患者肝纤维化程度。Nrf2 作为细胞抗氧化应激的关键因子,已证实各种氧化应激引起的肝脏损伤中发挥重要作用^[18]。AOPP 作为氧化应激产物,其水平变化反映体内氧化应激水平的变化。NASH 发病机制复杂,但其发病时可促使炎症细胞产生大量活性氧,当超过机体清除活性氧能力时便使细胞内发生氧化应激,一方面氧化应激的发生可导致

AOPP 水平升高,随着 AOPP 的滞留进一步促进氧化应激状态^[19];另一方面氧化应激可导致机体 Nrf2 活性激活,Nrf2 转位入细胞核与抗氧化反应原件结合,通过调控其下游靶基因血红素加氧酶-1 发挥抗炎、抗氧化和抗凋亡作用^[20]。因此,本研究血清 Nrf2、AOPP 水平异常升高说明 NASH 患者存在氧化应激反应,且随着病情加重其氧化应激反应也逐渐加重,血清 Nrf2、AOPP 水平也随之进一步升高,因此临床可通过检测其水平从而早期预测 NASH 发生、发展。本研究进一步经 ROC 曲线分析结果显示,血清 Nrf2、AOPP 诊断 NASH 的 AUC 均超过 0.8,说明血清 Nrf2、AOPP 可有效诊断 NASH。但同时本研究血清 Nrf2 联合 AOPP 诊断 NASH 的 AUC 高于单一指标,提示二者联合应用更有助于诊断 NASH 的发生,从而可为临床早期发生及采取积极有效的治疗干预措施提供指导。

综上所述,NASH 患者血清 Nrf2、AOPP 水平均升高,且其水平与血脂、肝纤维化程度均存在密切关系,同时可作为诊断 NASH 发生的有效指标。但本研究为回顾性、单中心样本研究,其结论存在局限性,因此今后仍需加大样本进一步分析。

参考文献

[1] CHEN J, XU L, ZHANG X Q, et al. Discovery of a natural small-molecule AMP-activated kinase activator that alleviates nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Mar Life Sci Technol*, 2023, 5(2):196-210.

[2] RICE B A, NAIMI T S, LONG M T. Nonheavy alcohol use associates with liver fibrosis and nonalcoholic steatohepatitis in the framingham heart study[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2023, 21(11):2854-2863. e2.

[3] SHEKA A C, ADEYI O, THOMPSON J, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: a review[J]. *JAMA*, 2020, 323(12):1175-1183.

[4] MAKRI E, GOULAS A, POLYZOS S A. Epidemiology, pathogenesis, diagnosis and emerging treatment of nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Arch Med Res*, 2021, 52(1):25-37.

[5] WANG L, WANG F, WANG Y, et al. GSK-3 β RNAi lentivirus affects neuronal damage and nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2) expression in cerebral infarction rats[J]. *J Biomater Tissue Eng*, 2022, 12(8):1636-1641.

[6] SUN J, HONG Z, SHAO S, et al. Liver-specific Nrf2 deficiency accelerates ethanol-induced lethality and hepatic injury in vivo[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2021, 426:115617.

[7] NAJAFIZADEH S R, AMIRI K, MOGHADDASSI M, et al. Advanced glycation end products, advanced oxidation protein products, and ferric reducing ability of plasma in patients with rheumatoid arthritis: a focus on activity scores[J]. *Clin Rheumatol*, 2021, 40(10):4019-4026.

[8] 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组, 中国

医师协会脂肪性肝病专家委员会. 非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018 年更新版)[J]. *实用肝脏病杂志*, 2018, 21(2):177-186.

[9] LI Y, XU B, REN X, et al. Inhibition of C1SD2 promotes ferroptosis through ferritinophagy-mediated ferritin turnover and regulation of p62-Keap1-Nrf2 pathway[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2022, 27(1):81.

[10] 盛青, 谢贝, 刘志辉, 等. LC3B, HDAC6 和 Nrf2 在慢性阻塞性肺疾病急性加重患者外周血中的表达[J]. *西南军医*, 2018, 20(3):307-311.

[11] 冯玉洁, 胡娟娟, 和显辰, 等. 血清 Nrf2、HO-1 与帕金森病患者氧化应激损伤、睡眠障碍的相关性[J]. *国际检验医学杂志*, 2023, 44(21):2598-2601.

[12] 伏旭, 李培武, 马莉等. 过表达 Nrf2 基因对急性胰腺炎大鼠的保护机制研究[J]. *第三军医大学学报*, 2019, 41(16):1552-1558.

[13] MIRMIRANPOUR H, AMJADI A, KHANDANI S, et al. Wavelength effect in laser therapy of diabetic rats on oxidants, AGEs, AOPP, ox-LDL levels[J]. *Int J Clin Exp Med Sci*, 2020, 6(2):17.

[14] TOUALBI L A, MOUNIR A, WAFI B, et al. Implications of advanced oxidation protein products and vitamin E in atherosclerosis progression[J]. *Arch Med Sci Atheroscler Dis*, 2021, 6:e135-e144.

[15] ZHOU C, ZHANG Y, CHEN J, et al. Association between serum advanced oxidation protein products and mortality risk in maintenance hemodialysis patients[J]. *J Transl Med*, 2021, 19(1):284.

[16] BUKKE V N, MOOLA A, SERVIDDIO G, et al. Nuclear factor erythroid 2-related factor 2-mediated signaling and metabolic associated fatty liver disease[J]. *World J Gastroenterol*, 2022, 28(48):6909-6921.

[17] 李根, 马翠. 过敏性紫癜患儿外周血微小 RNA-155、Toll 样受体 2、Toll 样受体 4、氧化应激指标表达水平与 Th17/Treg 平衡的关系[J]. *陕西医学杂志*, 2023, 52(3):301-304.

[18] LIU J, HUANG C, LIU J, et al. Nrf2 and its dependent autophagy activation cooperatively counteract ferroptosis to alleviate acute liver injury[J]. *Pharmacol Res*, 2023, 187:106563.

[19] ZORLU M E, UYGUR K K, YILMAZ N S, et al. Evaluation of advanced oxidation protein products (AOPP) and superoxide dismutase (SOD) tissue levels in patients with nasal polyps[J]. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*, 2022, 74(S3):4824-4830.

[20] SUN J, LI J Y, ZHANG L Q, et al. Nrf2 activation attenuates chronic constriction injury-induced neuropathic pain via induction of PGC-1 α -mediated mitochondrial biogenesis in the spinal cord[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021:9577874.