

· 论 著 ·

非酒精性脂肪性肝炎患者血清 L-FABP 和 TNF- $\alpha$  水平测定及其意义唐 彬, 姚树坤 $\Delta$ 

(北京协和医学院研究生院/卫生部中日友好医院, 北京 100730)

**摘要:**目的 检测非酒精性脂肪性肝炎(NASH)患者血清中肝型脂肪酸结合蛋白(L-FABP)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )的水平,探讨二者在 NASH 发生及发展过程中的相关性及其意义。方法 收集肝功能异常的 NASH 患者 50 例(NASH 组),经 B 超检查符合弥漫性脂肪肝的诊断标准,对照组为健康体检者 32 例。所有受试者测量身高、体质量、腰围及臀围,并计算体质量指数(BMI)和腰臀比(WHR),晨起空腹抽取静脉血液检测 L-FABP、TNF- $\alpha$  及相关临床指标。结果 NASH 组患者的丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、血清总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、三酰甘油(TG)、BMI、WHR、TNF- $\alpha$ 、高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)和 L-FABP 水平均显著高于对照组( $P < 0.05$ ),Spearman 相关分析提示,NASH 组血清 L-FABP 水平与 TNF- $\alpha$ 、TC、LDL-C、ALT、尿酸(UA)、hs-CRP 呈正相关( $P < 0.05$ ),TNF- $\alpha$  水平与 ALT、UA、hs-CRP 显著正相关( $P < 0.05$ )。结论 L-FABP 和 TNF- $\alpha$  可能在 NASH 患者肝功能损伤与炎症反应中发挥重要作用。

**关键词:**脂肪酸结合蛋白质类;肿瘤坏死因子  $\alpha$ ;非酒精性脂肪性肝炎

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.15.005

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)15-1696-02

Detection of serum L-FABP and TNF- $\alpha$  level in patients with nonalcoholic steatohepatitis and its significance

Tang Bin, Yao Shukun

(Graduate School of PUMC, China Japan Friendship Hospital, Beijing 100730, China)

**Abstract:** Objective To detect the level of serum liver-type fatty acid binding protein (L-FABP) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), and to investigate its relationship with the occurrence and developing process of nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and significance. Methods 50 cases of NASH with abnormal liver function (NASH group) and 32 healthy person as the control group were collected. B-type ultrasonic inspection was performed in all the subjects to confirm the diagnosis of diffuse fatty liver. Height, weight, waistline and hipline were measured and BMI and WHR were calculated. Morning fasting blood was collected for detecting the level of serum L-FABP, TNF- $\alpha$  and related clinical indexes. Results Compared with the control group, the levels of ALT, AST, TC, LDL-C, TG, BMI, WHR, hs-CRP, L-FABP and TNF- $\alpha$  in the NASH group were increased significantly ( $P < 0.05$ ). The Spearman correlation analysis revealed that the L-FABP level was positively correlated with TNF- $\alpha$ , TC, LDL-C, ALT, UA, and hs-CRP ( $P < 0.05$ ), and the TNF- $\alpha$  level was positively correlated with ALT, UA, and hs-CRP ( $P < 0.05$ ). Conclusion L-FABP and TNF- $\alpha$  may play the important role in the impaired liver function and inflammation in NASH.

**Key words:** fatty acid-binding proteins; tumor necrosis factor-alpha; nonalcoholic steatohepatitis

非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)为非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)较严重的病理类型,目前理论认为“二次打击”学说是其重要发病机制之一<sup>[1-2]</sup>。“二次打击”主要是多种原因引起的氧化应激或脂质过氧化损伤<sup>[3]</sup>。肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )是导致胰岛素抵抗(IR)的主要炎症因子之一<sup>[4]</sup>,肝型脂肪酸结合蛋白(liver type fatty acid binding protein, L-FABP)是一种脂肪酸转运蛋白,其作为有效的内源性抗氧化物,有减轻氧化应激损伤的功能<sup>[5]</sup>,本研究通过检测 NASH 患者血清中 L-FABP、TNF- $\alpha$  的水平,探讨二者在 NASH 发生发展中的相关性及其意义。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2012 年 1 月至 2012 年 6 月来本院门诊就诊的 NASH 患者 50 例(NASH 组),其中男 40 例,女 10 例;年龄 23~66 岁,平均(35.20 $\pm$ 11.17)岁。入选标准:根据中华医学会肝病学会 2010 年《非酒精性脂肪性肝病诊疗指南》临床诊断标准,收集肝功能异常,其中丙氨酸氨基转移酶(ALT)为 40~200 IU/L;B 超检查符合弥漫性脂肪肝的诊断标准,并

排除酒精性肝病、病毒性肝炎、自身免疫性肝病等。选择本院同期健康体检者 32 例为对照组,男 23 例,女 9 例,年龄 23~60 岁,平均(37.19 $\pm$ 10.38)岁。

**1.2 方法** 测量所有受试者身高、体质量、腰围及臀围,并计算体质量指数(BMI)和腰臀比(WHR),并于晨起空腹采集静脉血标本,检测空腹血糖(FPG)、三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、尿酸(UA)、高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)水平,并采用酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测血清中 L-FABP 和 TNF- $\alpha$  水平,ELISA 检测试剂盒购自美国 Rapidbio (RB) 公司,实验操作按照试剂盒说明书进行。

**1.3 统计学处理** 所有数据采用 SPSS17.0 统计软件进行分析,所有资料进行正态性检验,计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用  $t$  检验;双变量相关性采用 Spearman 相关分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 两组间各临床及生化指标的对比分析** NASH 组 50 例

表 1 两组受试者 TC、LDL-C、TG 等指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ , mmol/L)

组别	n	TC	LDL-C	TG	HDL-C	UA	FBG	hs-CRP
对照组	32	3.26±0.57	1.02±0.37	1.07±0.55	1.41±0.41	342.60±84.37	5.76±0.32	1.68±0.42
NASH 组	50	5.04±0.91*	3.25±0.83*	3.01±1.58*	0.99±0.22	432.70±74.14*	5.91±1.24	3.96±0.98*

\* :  $P < 0.05$ , 与对照组比较。

表 2 两组受试者 BMI、ALT、AST 等指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	ALT (IU/L)	AST (IU/L)	WHR	L-FABP (ng/mL)	TNF- $\alpha$ (pg/mL)
对照组	32	24.26±2.71	17.56±4.61	18.39±3.50	0.85±0.06	46.48±11.78	2.48±1.19
NASH 组	50	30.43±3.92*	80.25±37.50*	42.93±17.52*	0.92±0.07*	63.49±13.44*	4.34±1.06*

\* :  $P < 0.05$ , 与对照组比较。

表 3 NASH 组血清 L-FABP 与 TNF- $\alpha$  及其各临床指标的相关性分析

相关系数	TNF- $\alpha$	CHO	LDL-C	TG	FBG	ALT	UA	hs-CRP	HDL-C
r	0.416	0.357	0.388	0.253	0.064	0.441	0.388	0.407	-0.049
P	<0.01	<0.05	<0.01	>0.05	>0.05	<0.01	<0.01	<0.05	>0.05

表 4 TNF- $\alpha$  与各临床指标的相关性分析

相关系数	TC	LDL-C	TG	FBG	ALT	UA	hs-CRP	HDL-C
r	0.091	0.047	0.096	0.211	0.610	0.760	0.897	0.141
P	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.01	<0.01	>0.05

的患者中 TC 升高者 23 例 (46.00%), LDL-C 升高者 29 例 (58.00%), TG 升高者 31 例 (62.00%), HDL-C 降低者 26 例 (52.00%), UA 升高者 30 例 (60.00%), BMI 升高者 38 例 (76.00%)。NASH 组患者中 ALT、AST、TC、LDL-C、TG、BMI、WHR、TNF- $\alpha$ 、L-FABP 和 hs-CRP 水平均显著高于对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 1、2。

### 2.2 NASH 组血清 L-FABP 水平与各指标的相关性分析

NASH 组血清 L-FABP 水平与 TNF- $\alpha$ 、CHO、LDL-C、ALT、UA、hs-CRP 显著正相关 ( $P < 0.05$ ), 而与 TG、WHR、BMI、FBG、TG 无显著相关性 ( $P > 0.05$ ), 见表 3。血清 TNF- $\alpha$  水平与 ALT、UA、hs-CRP 显著正相关 ( $P < 0.05$ ), 而与 TC、LDL-C、TG、FBG 无显著相关性 ( $P > 0.05$ ), 见表 4。

### 3 讨论

NAFLD 是一种与 IR 和遗传易感密切相关的代谢应激性肝脏损伤, 疾病谱包括非酒精性单纯性脂肪肝 (nonalcoholic simple fatty liver, NAFL)、NASH 及其相关肝硬化和肝细胞癌。NAFLD 是 21 世纪全球重要的公共健康问题之一, 亦是 中国愈来愈重视的慢性肝病问题<sup>[1-2]</sup>, NAFLD 病因机制复杂, “多重打击”学说认为: “初次打击”主要是 IR 和脂质代谢紊乱所导致的肝细胞内脂质沉积; “二次打击”主要是多种原因引起的氧化应激或脂质过氧化损伤<sup>[3]</sup>。

NAFLD 被认为是与 IR 和氧化应激相关的代谢综合征, NASH 作为 NAFLD 较严重的病理类型, 可进展为肝纤维化, 肝硬化, 甚至肝癌。目前理论认为, 氧化应激可能是 NASH 发生和进展的重要“二次打击”因素。肝脏是人体新陈代谢的总枢纽, 是氧化应激损伤的核心靶器官<sup>[6]</sup>。NASH 患者的肝细胞以线粒体异常为特征, 线粒体损伤是肝细胞损伤的重要原因之一, 而线粒体中过量游离脂肪酸 (FFA) 的氧化是导致线粒体损伤的重要原因<sup>[7]</sup>。

脂肪酸结合蛋白 (fatty acid binding protein, FABP) 是一组运输长链脂肪酸的低分子量胞浆蛋白超家族, L-FABP 是 FABP 家族成员之一, 基本功能包括参与小肠脂肪酸的吸收及转运, 细胞内长链脂肪酸的转运及细胞器内再分布利用、胆汁

酸、胆固醇等物质的代谢等。近年发现 L-FABP 可以结合长链脂肪酸的氧化产物, 成为有效的内源性的抗氧化物<sup>[8-9]</sup>。本研究发现, NASH 患者血清 L-FABP 水平与 CHO、hs-CRP、TNF- $\alpha$ 、ALT 等呈显著正相关, 提示其与脂代谢、肝脏炎症反应和肝功能损伤的发生发展有着密切联系。TNF- $\alpha$  是由单核-巨噬细胞分泌的一种关键致炎因子, 与 NASH 的发生发展密切相关。TNF- $\alpha$  通过活化神经鞘磷脂酶, 抑制线粒体呼吸链电子传递, 使线粒体活性氧 (ROS) 升高, 产生脂质过氧化, 导致肝细胞坏死。另一方面, 过量的 ROS 又可促使 TNF- $\alpha$  合成增加, 引起 NASH 致病过程中的“二次打击”<sup>[10-11]</sup>。本研究显示, NASH 组 TNF- $\alpha$  的水平显著高于正常组, 提示肝脏的氧化应激损伤导致 TNF- $\alpha$  的生成增加。

本研究结果还显示, L-FABP 与 TNF- $\alpha$  水平呈显著正相关。已有研究证明, 过量的 ROS 容易导致氧化应激状态, 细胞微环境氧自由基浓度可以升高 L-FABP 水平, 影响细胞内 L-FABP 蛋白水平。肝脏含有丰富的线粒体, 是 ROS 攻击的主要器官, L-FABP 与 TNF- $\alpha$  水平的正相关的结果提示, TNF- $\alpha$  可能通过提高线粒体内 ROS 而上调 L-FABP 表达水平。L-FABP 可否成为 NAFLD 发生、发展的预测因子尚有待于深入研究。可为 NAFLD 的诊断和治疗提供新的研究方向。

### 参考文献:

- [1] 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南 (2010 年修订版) [J]. 中华肝脏病杂志, 2010, 18(3): 163-166.
- [2] Vuppalanchi R, Chalasani N. Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis: Selected practical issues in their evaluation and management [J]. Hepatology, 2009, 49 (1): 306-317.
- [3] Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two “hits”? [J]. Gastroenterology, 1998, 114(4): 842-845.
- [4] 李兰芳, 陈临溪, 郭玉, 等. 肿瘤坏死因子  $\alpha$  诱导肝细胞胰岛素抵抗的机制 [J]. 中国糖尿病杂志, (下转第 1700 页)

7 326 例患者,其中 59.5% 为女性患者,按照性别对所有患者术前、术后的 KSS 评分、功能评分、疼痛评分、行走能力、爬楼梯的能力、膝关节活动度做了回顾性分析,发现女性术前临床评分普遍偏低( $P < 0.1$ ),KSS 评分和膝关节活动度的改善女性较男性明显( $P = 0.006$ ),疼痛的缓解和行走能力的改善男性和女性差别不明显( $P < 0.32$ )。爬楼梯的能力和评分的改善则男性较女性明显( $P = 0.002$ ),因此认为男性和女性 TKA 术后临床疗效差异不大。Rand 等<sup>[12]</sup>对 9 200 例 TKA 患者进行了研究,发现不管是 5 年的随访时间内还是 10 年的随访时间内膝关节假体的寿命在女性患者都较在男性患者更长。Font-Rodriguez 等<sup>[13]</sup>对 2629 例 TKA 患者 7~21 年的随访结果表明性别因素并未对 TKA 术后的临床疗效产生明显的影响。Thomsen 等<sup>[14]</sup>进行了一项前瞻性、随机双盲对照研究,对常规型和女性专用高屈假体置换后的临床疗效进行比较,结果表明两组患者 TKA 术后均能获得良好的临床疗效,在运动学、动力学和时空性参数上无显著差异,无任何证据表明女性专用膝关节假体较常规膝关节假体更具优势。因此,认为女性专用膝关节假体在 TKA 的应用中并未体现出理论上的优越性,采用常规假体置换亦能获得良好的术后功能,二者无显著差异。本研究中男、女两组患者术后的 HSS 评分较术前均有明显改善,表明男、女患者 TKA 术后均能获得良好的临床疗效。且两组术后的 HSS 评分差异无统计学意义( $P = 0.499$ ),提示男、女患者 TKA 术后疗效相当。因此,本研究认为性别因素对 TKA 术后的临床疗效影响不明显。

综上所述,本研究表明,TKA 是治疗膝关节骨关节炎的有效手段,能显著缓解患者疼痛,改善患膝功能。髌骨置换与性别对 TKA 术后的临床疗效无明显影响。

#### 参考文献:

- [1] Carr AJ,Robertsson O,Graves S,et al. Knee replacement [J]. *Lancet*,2012,379(9823):1331-1340.
- [2] Kelly MA. Patellofemoral complications following total knee arthroplasty[J]. *Instr Course Lect*,2001(50):403-407.
- [3] Lin J,Yang B,Weng XS,et al. Effect of osteoarthritis patients' gender on rehabilitation after total knee arthroplasty[J]. *Chin Medical Sci J*,2009,24(2):102-106.
- [4] Barrack RL,Wolfe MW,Waldman DA,et al. Resurfacing of the patella in total knee arthroplasty. A prospective, randomized, double-blind study [J]. *J Bone Joint Surg Am*,1997,79(8):1121-1131.
- [5] Barrack RL,Bertot AJ,Wolfe MW,et al. Patellar resurfacing in total knee arthroplasty. A prospective, randomized, double-blind study with five to seven years of follow-up[J]. *J Bone Joint Surg Am*,2001,83(9):1376-1381.
- [6] Bourne RB,Burnett RS. The Consequences of not resurfacing the patella[J]. *Clin Orthop Relat Res*,2004(428):166-169.
- [7] Nizard RS,Biau D,Porcher R,et al. A meta-analysis of patellar replacement in total knee arthroplasty[J]. *Clin Orthop Relat Res*,2005(432):196-203.
- [8] Pakos EE,Ntzani EE,Trikalinos TA. Patellar resurfacing in total knee arthroplasty. A meta-analysis [J]. *J Bone Joint Surg Am*,2005,87(7):1438-1445.
- [9] Enis JE,Gardner R,Robledo MA,et al. Comparison of patellar resurfacing versus nonresurfacing in bilateral total knee arthroplasty[J]. *Clin Orthop Relat Res*,1990(260):38-42.
- [10] Burnett RS,Haydon CM,Rorabeck CH,et al. Patella resurfacing versus nonresurfacing in total knee arthroplasty: results of a randomized controlled clinical trial at a minimum of 10 years' followup [J]. *Clin Orthop Relat Res*,2004(428):12-25.
- [11] Ritter MA,Wing JT,Berend ME,et al. The clinical effect of gender on outcome of total knee arthroplasty[J]. *J Arthroplasty*,2008,23(3):331-336.
- [12] Rand JA,Ilstrup DM. Survivorship analysis of total knee arthroplasty. Cumulative rates of survival of 9200 total knee arthroplasties [J]. *J Bone Joint Surg Am*,1991,73(3):397-409.
- [13] Font-Rodriguez DE,Scuderi GR,Insall JN. Survivorship of cemented total knee arthroplasty[J]. *Clin Orthop Relat Res*,1997(345):79-86.
- [14] Thomsen MG,Husted H,Bencke J,et al. Do we need a gender-specific total knee replacement? A randomised controlled trial comparing a high-flex and a gender-specific posterior design[J]. *J Bone Joint Surg Br*,2012,94(6):787-792.

(收稿日期:2012-12-28 修回日期:2013-03-05)

(上接第 1697 页)

2012,20(1):58-60.

- [5] Wang G,Gong Y,Anderson J,et al. Antioxidative function of L-FABP in L-FABP stably transfected Chang liver cells[J]. *Hepatology*,2005,42(4):871-879.
- [6] Liu W,Baker SS,Baker RD,et al. Upregulation of hemoglobin expression by oxidative stress in hepatocytes and its implication in nonalcoholic steatohepatitis [J]. *PLoS One*,2011,6(9):e24363.
- [7] Leamy AK,Egnatchik RA,Young JD. Molecular mechanisms and the role of saturated fatty acids in the progression of non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Prog Lipid Res*,2013,52(1):165-174.
- [8] Arias IM. Liver function from Y to Z[J]. *J Clin Invest*,2012,122(8):2763-2764.
- [9] Lancaster JR Jr,Laster SM,Gooding LR. Inhibition of target cell mitochondrial electron transfer by tumor necrosis factor[J]. *FEBS Lett*,1989,248(1/2):169-174.
- [10] Wang J,Wei Y,Wang D,et al. Proteomic study of the effects of complex environmental stresses in the livers of goldfish (*Carassius auratus*) that inhabit Gaobeidian Lake in Beijing,China[J]. *Ecotoxicology*,2008,17(3):213-220.
- [11] Pagliassotti MJ. Endoplasmic reticulum stress in nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Annu Rev Nutr*,2012,32(32):17-33.

(收稿日期:2012-11-08 修回日期:2013-01-28)