

## • 临床康复 •

## 肝硬化患者血清内毒素调节蛋白水平及其临床意义

刘静波 张泰昌

[摘要] 目的 探讨检测伴肠源性内毒素血症的肝硬化患者血中内毒素结合蛋白(LBP)、杀菌性/通透性增加蛋白(BPI)及可溶性sCD14水平的临床意义。方法 应用基质显色法和ELISA双抗体夹心法,检测45例肝硬化患者血中内毒素脂多糖(LPS)、LBP、BPI和sCD14水平,并以15例健康献血员作为对照。结果 肝功能为A级、B级和C级的肝硬化患者其血中LPS、LBP、BPI和sCD14水平均明显高于献血员;肝硬化死亡患者的LPS、LBP、BPI和sCD14水平显著高于存活者。结论 肝硬化患者伴肠源性内毒素血症时,血清LBP和sCD14水平升高和BPI相对不足,可显著提高机体对LPS的敏感性。

[关键词] 肝硬化;内毒素;内毒素结合蛋白;杀菌性/通透性增加蛋白;可溶性CD14

Change of lipopolysaccharide activity modulating protein in serum of cirrhosis patients and its clinical significance LIU Jing-bo, ZHANG Tai-chang. Department of Internal Medicine, Beijing Charity Hospital, Beijing 100068, China

[Abstract] Objective To explore changes of lipopolysaccharide (LPS), lipopolysaccharide-binding protein (LBP), bactericidal/permeability-increasing protein (BPI), soluble CD14 (sCD14) in blood of cirrhosis patients and their clinical significance. Methods Serum samples of 45 cirrhosis patients were detected with chromogenic limulus amoebocyte lysate assay for LPS and detected with ELISA for LBP, BPI and sCD14. While, serum samples of 15 normal subjects were used as controls. Results Levels of LPS, LBP, BPI and sCD14 in blood of cirrhosis patients with liver function being grade A, B and C were significantly higher than that in normal subjects. Also, those indexes fore mentioned were obviously higher in died cirrhosis patients than that in survived cirrhosis patients. Conclusion High levels of LBP, LPS and relative deficiency of BPI in cirrhosis patients accompanied with intestinal endotoxemia (IETM) may significantly increase the sensitivity of body to endotoxin.

[Key words] cirrhosis; lipopolysaccharide (LPS); lipopolysaccharide-binding protein (BPI); bactericidal/permeability-increasing protein; soluble CD14 (sCD14)

中图分类号:R575.2 文献标识码:A 文章编号:1006-9771(2003)10-0631-02

肝硬化时,因门脉系统长期处于高动力循环状态,可使肠道黏膜屏障功能受损,发生细菌移位,同时,门体侧支循环形成和肝网状内皮系统对细菌清除能力的下降,使来自肠道的革兰氏阴性杆菌内毒素(lipopolysaccharide, LPS)易进入体循环,产生肠源性内毒素血症(intestinal endotoxemia, IETM)<sup>[1]</sup>。近年来的研究显示,血清内存在一组内毒素调节蛋白(lipopolysaccharide activity modulating protein),即内毒素结合蛋白(lipopolysaccharide-binding protein, LBP)、杀菌性/通透性增加蛋白(bactericidal/permeability-increasing protein, BPI)和可溶性sCD14(soluble CD14, sCD14)。这些蛋白可影响细胞的识别与应答反应,并可调节LPS的生物学活性<sup>[2]</sup>。我们测定了45例肝硬化患者血清中内毒素调节蛋白及sCD14的水平,旨在探讨这些蛋白在肝硬化肠源性内毒素血症时对LPS的影响。

## 1 材料与方法

1.1 检测对象 45例肝硬化患者为我院及北京佑安医院2002年8月—2003年1月住院患者,其中男性32例、女性13例,年龄45—70岁,平均56.4岁;患者肝功能按Child-Pugh积分分级为:A级12例、B级12例、C级21例;血清乙型肝炎病毒(hepatitis B virus,

HBV)感染标志1至数项阳性者40例、丙型肝炎(hepatitis C virus, HCV)感染标志阳性者5例。

15例健康献血员作为对照组。

## 1.2 检测方法

1.2.1 LPS检测 采用基质显色法,试剂盒购自上海伊华临床医学科技公司,按说明书操作,以pg/ml表示结果。

1.2.2 LBP/BPI测定 采用荷兰HyCult生物技术公司生产的LBP/BPI检测试剂盒(深圳凯尔康生物技术有限公司提供),检测方法为ELISA双抗体夹心法,按说明书操作,分别以μg/ml和ng/ml表示结果。

1.2.3 sCD14测定 采用德国IBL公司生产的sCD14检测试剂盒(由深圳日美生物工程有限公司提供),检测方法为ELISA双抗体夹心法,按说明书操作,以μg/ml表示结果。

1.3 统计学处理 均数比较采用t检验。

## 2 结果

肝硬化患者血清LPS、LBP、BPI和sCD14水平与临床转归见表1、表2。

## 3 讨论

内毒素(endotoxin)是大肠杆菌等革兰氏阴性杆菌细胞壁外膜的结构成分,主要成分为脂多糖(LPS)。LPS由3部分组成,有毒性作用的主要是内层的脂质A。对内毒素与肝脏损伤关系的研究已有多多年,但其机制仍未阐明。目前认为,内毒素血症与肝脏损伤互为因果,内毒素损伤肝脏的机制包括直接作用与间接作用两个方面。直接作用与内毒素增敏系统—脂多糖

作者单位:1. 100068 北京市,首都医科大学康复医学院(刘静波);

2. 100068 北京市,北京博爱医院内科(刘静波);3. 100053 北京市,首都医科大学宣武医院消化内科(张泰昌)。作者简介:刘静波(1968-),女,在读硕士研究生,主治医师,主要研究方向:消化内科。

结合蛋白(LBP)和脂多糖受体(CD14)有关;间接作用 子、一氧化氮及氧自由基等构成的炎症介质所介导。主要由肝内外单核巨噬细胞被激活后释放的细胞因

表 1 肝硬化患者血清 LPS、LBP、BPI 和 sCD14 水平

分组(n)	LPS(pg/ml)	LBP(μg/ml)	BPI(ng/ml)	LBP/BPI	sCD14(μg/ml)
肝硬化肝功能 A 级(12)	69.45±32.35 <sup>a</sup>	55.31±12.22 <sup>a</sup>	10.61±5.42	5.61±1.31	6.51±4.13 <sup>a</sup>
肝硬化肝功能 B 级(12)	95.31±49.60 <sup>b</sup>	99.53±18.64 <sup>b</sup>	7.8±3.84	13.32±4.72	7.92±4.52 <sup>b</sup>
肝硬化肝功能 C 级(21)	157.38±59.36 <sup>c</sup>	127.36±34.70 <sup>c</sup>	5.3±2.33	22.71±8.61	10.62±5.21 <sup>c</sup>
对照组(15)	15.23±4.21	8.52±2.87	1.42±0.51	6.52±1.61	2.61±1.51

注:a:与对照组比较,P<0.01;b:与肝硬化肝功能 A 级比较,P<0.01;c:与肝硬化肝功能 B 级比较,P<0.01。

表 2 肝硬化患者血清 LPS、LBP、BPI 和 sCD14 水平与临床转归

临床转归	例数	LPS(pg/ml)	LBP(μg/ml)	BPI(mg/ml)	sCD14(μg/ml)
死亡	16	165.34±56.71 <sup>a</sup>	202.56±65.82 <sup>a</sup>	10.52±3.72 <sup>a</sup>	8.79±4.82 <sup>b</sup>
存活	29	88.64±42.81	79.32±25.26	6.63±2.82	6.37±3.29

注:与存活组比较:a:P<0.01;b:P<0.05。

生理条件下,血浆中 LBP 含量极低(<100pg/ml),但受到 LPS 刺激后,LBP 浓度迅速升高并加速转运 LPS 至细胞膜与 CD14 结合。一般认为,CD14 以两种形式存在,即膜 CD14(mCD14)和可溶性 CD14(sCD14)。mCD14 是 55 KD 的糖蛋白,主要通过糖基磷脂酰基肌醇(GPI)锚形物附着在单核巨噬细胞与中性粒细胞表面<sup>[3]</sup>。LPS-LBP 复合物可与细胞表面的 mCD14 结合,激活单核细胞或中性粒细胞。但内皮细胞、上皮细胞等表面缺乏 mCD14,因此 LPS 对这些细胞的刺激并非由 mCD14 介导。Yu 等 1992 年发现,sCD14 在上皮细胞等 CD14 阴性细胞中对 LPS 的应答可能起重要作用<sup>[4]</sup>。sCD14 存在于血清中,能明显提高机体对 LPS 的敏感性,使 LPS 的生物活性提高数百倍,甚至数千倍。在 LBP 作用下,LPS 与 CD14 结合,形成可溶性复合体,迅速刺激体内单核巨噬细胞,并且分泌大量的 α-肿瘤坏死因子(tumor necrotic factor α,TNF-α),造成严重的肝脏损伤<sup>[2]</sup>。

BPI 是一种存在于人体及哺乳动物体内中性粒细胞嗜天青颗粒中的蛋白质,由嗜中性粒细胞脱颗粒形成,对 LPS 分子具有高度亲和力,因而可在体内发挥对革兰氏阴性杆菌的杀菌作用并中和 LPS 的活性。

TNF-α 是介导内毒素损伤效应的关键介质之一。在 LBP/CD14 系统介导 TNF-α 合成的同时,TNF-α 又反过来刺激 LBP/CD14 的表达,两者之间可能存在着一个正反馈环,即 LBP/CD14 系统介导内毒素刺激 TNF-α 合成、释放,局部增多的 TNF-α 则增强 LBP/CD14 的表达,LBP/CD14 的广泛表达则进一步增强内毒素刺激组织产生 TNF-α,从而使炎症反应不断加重<sup>[5]</sup>。本研究结果显示,肝硬化患者 LPS 水平明显升高,这与肠源性 LPS 产生和吸收增加、肝脏单核巨噬细胞系统功能降低及机体抗 LPS 免疫功能受损密切相关<sup>[1]</sup>。此外,肝硬化患者血清中 LBP 及 sCD14 水平均明显升高,而且死亡患者的 LPS、LBP、sCD14 水平高于存活者。Jahr 等报道,LPS 借助 LBP 与 sCD14 直

接结合,进而激活单核巨噬细胞合成、释放 TNF-α,扩大炎症反应,此时血清中 TNF-α 水平可达正常人的 1 000 倍<sup>[6]</sup>,从而加剧肝细胞的继发性损害,导致病情迅速恶化。

本研究结果显示,肝功能为 A 级、B 级和 C 级的肝硬化患者,其血中 LBP 和 BPI 水平均明显高于对照组献血员,而且随病情加重,LBP 和 BPI 水平升高更加明显(死亡者 LBP 和 BPI 水平均明显高于存活者)。但随着病情的加重,LBP/BPI 比值增大,BPI 上升幅度明显小于 LBP 上升幅度,说明 BPI 不足以抑制 LPS 的激活效应<sup>[7]</sup>,提示病情发展到一定阶段后,BPI 水平虽高,可实际上已陷入相对不足状态,不能充分拮抗 LPS 的毒性作用。

肝硬化患者体内 LPS、LBP、sCD14 水平升高,BPI 相对不足,提示在临床治疗肝硬化时,应设法降低患者体内的 IETM,同时,应用 LBP 单克隆抗体、CD14 单克隆抗体及补充外源性 BPI,将有可能阻断 LPS 在 IETM 时对肝细胞的进一步损害。

[参考文献]

[1]于海波,宋为芸,王东林,等.慢性重型肝炎患者内毒素检测及临床意义[J].中西医结合肝病杂志,1998,8(4):232.

[2]Juffermans NP, Verbon A, Van Deventer SJ, et al. Serum concentrations of lipopolysaccharide activity-modulating proteins during tuberculosis[J]. J Infect Dis, 1998, 178:1839—1842.

[3]中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会联合修订.病毒性肝炎防治方案[J].中华肝病杂志,2000,8(6):324—329.

[4]Yu B, Wright SD. Catalytic properties of lipopolysaccharide (LPS) binding protein: transfer of LPS to soluble CD14[J]. J Biol Chem, 1996, 271(8):4100—4105.

[5]姚永明,于燕,方文慧,等.创伤后内毒素增敏效应在多器官损害中的作用[J].中国危重病急救医学,1998,10(12):712—718.

[6]Jahr TG, Ryan L, Sundan A, et al. Induction of tumor necrosis factor production from monocytes stimulated with mannuronic acid polymers and involvement of lipopolysaccharide-binding protein, CD14, and bactericidal/permeability-increasing factor[J]. Infect Immun, 1997, 65(1):89—94.

[7]Perin BJG, Sundaram S, Snodgrass B, et al. Plasma lipopolysaccharide binding protein and bactericidal/permeability-increasing factor in GR-Fand HD patients[J]. J Am Soc Nephrol, 1996, 7:479—487.

(收稿日期:2003-06-20)