

胆道闭锁患儿血清 uPAR 的检测 及与 ALT, AST, GGT 水平的相关性研究*

吕艳关^a, 夏顺林^b, 朱 婷^a

(扬州大学附属淮安市妇幼保健院 a. 检验科; b. 小儿外科, 江苏淮安 223002)

摘要:目的 探讨尿激酶纤溶酶原激活物受体(urokinase plasminogen activator receptor, uPAR)在胆道闭锁(biliary atresia, BA)患儿血清中的表达及与丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT), 天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)和谷氨酰转肽酶(glutamyl transpeptidase, GGT)水平的相关性。方法 随机选择2015年1月~2018年3月期间在淮安市妇幼保健院就诊的BA患儿(BA组)25例,另选择同期健康体检儿童25例作为对照组。采用酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)动态检测两组受试者血清uPAR水平;用全自动生化分析仪检测两组受试者血清ALT, AST和GGT水平,并进行统计学分析。结果 ①BA组和对照组血清uPAR表达水平分别为 $6\,059.3 \pm 418.1$ pg/ml和 $4\,384.4 \pm 299.7$ pg/ml,差异具有统计学意义($t=16.3$, $P<0.01$),与正常对照组相比,BA组血清uPAR表达水平明显增高。②BA组血清GGT, AST和ALT水平分别为 $2\,405.1 \pm 682.3$ U/L, 160.8 ± 19.8 U/L和 158.7 ± 21.1 U/L,对照组血清GGT, AST和ALT水平分别为 11.9 ± 6.2 U/L, 8.2 ± 3.8 U/L和 10.8 ± 2.7 U/L,差异均具有统计学意义($t=24.9 \sim 30.1$, 均 $P<0.01$)。③BA组血清uPAR表达水平与ALT, AST和GGT水平均呈正相关,相关系数分别为0.822, 0.813和0.502(均 $P<0.01$)。结论 血清uPAR参与了BA的发生、发展,且与其肝功能异常高度相关,可用于BA的预测、诊断及肝功能异常的评估。

关键词:胆道闭锁;尿激酶纤溶酶原激活物受体;丙氨酸氨基转移酶;天门冬氨酸氨基转移酶;谷氨酰转肽酶

中图分类号:R575.7;R446.112 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2018)05-061-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2018.05.017

Serum uPAR Detection and Correlation with ALT, AST, GGT Levels in Children with Biliary Atresia

LÜ Yan-guan^a, XIA Shun-lin^b, ZHU Ting^a

(a. Department of Clinical Laboratory Medicine; b. Department of Surgery, Huai'an Women & Children Hospital Affiliated to Yangzhou University, Jiangsu Huai'an 223002, China)

Abstract: Objective To explore the expression of urokinase plasminogen activator receptor (uPAR) in the serum of biliary atresia (BA) children and its correlation with the levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), glutamyl transpeptidase (GGT). **Methods** 25 BA children (BA group) admitted in Huai'an Maternal and Child Health Hospital from January 2015 to March 2018 were randomly selected, and another 25 healthy children during the same period were selected as the control group. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to dynamically detect the serum uPAR levels of the two groups of subjects. The serum levels of ALT, AST and GGT were measured by automatic biochemical analyzer in the two groups. **Results** ①The serum uPAR expression levels of BA group and the control group were $6\,059.3 \pm 418.1$ pg/ml and $4\,384.4 \pm 299.7$ pg/ml, respectively, with statistically significant difference ($t=16.3$, $P<0.01$). Compared with the normal control group, the uPAR expression in BA group was significantly increased. ②The serum GGT, AST and ALT levels of the BA group were $2\,405.1 \pm 682.3$ U/L, 160.8 ± 19.8 U/L and 158.7 ± 21.1 U/L, and the serum GGT, AST and ALT levels of the control group were 11.9 ± 6.2 U/L, 8.2 ± 3.8 U/L and 10.8 ± 2.7 U/L, respectively. The differences were all statistically significant ($t=24.9 \sim 30.1$, all $P<0.01$). ③The uPAR expression level of the children in BA group was positively correlated with ALT, AST and GGT levels, with the correlation coefficients being 0.822, 0.813 and 0.502 (all $P \leq 0.01$). **Conclusion** Serum uPAR was involved in the development of biliary atresia and was highly correlated with its liver dysfunction, which can be used to predict, diagnose biliary atresia and to evaluate liver dysfunction.

Keywords: biliary atresia; uPAR; ALT; AST; GGT

* 基金项目:江苏省妇幼健康科研项目(No. 201713), 淮安市科技计划项目(No. 201615)。

作者简介:吕艳关(1989—),男,硕士,副主任技师,研究方向:临床免疫学诊断, E-mail: lvyanguan@163.com。

通讯作者:朱 婷(1991—),男,硕士,检验师,研究方向:临床检验学诊断学, E-mail: 1550532156@qq.com。

胆道闭锁(biliary atresia, BA)是一种常见的儿童胆道疾病,其临床表现主要为胆管的渐进性炎症损伤,进而导致肝功能受损和肝内外胆管的纤维炎性闭塞^[1]。如果治疗不及时,可迅速发展为终末期肝硬化,严重威胁儿童健康。尿激酶纤溶酶原激活物受体(urokinase plasminogen activator receptor, uPAR)是一种单链膜结合蛋白,由广泛的免疫细胞和内皮细胞表达,目前研究显示,急性肝功能衰竭、慢性肝病、非酒精性脂肪肝均存在高水平循环 uPAR^[2~4]。ALT, AST 和 GGT 是临床用于诊断肝胆疾病的重要转氨酶,也是重要的肝功能检查项目。本研究检测胆道闭锁患儿血清 uPAR 的表达量及与 ALT, AST, GGT 水平的相关性,探讨血清 uPAR 对胆道闭锁及肝功能异常是否具有有一定的预测评估价值。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2015 年 1 月~2018 年 3 月在淮安市妇幼保健院小儿外科住院治疗的胆道闭锁患者 25 例,男:女=13:12,年龄 3 月~10 岁;同时选取我院健康体检儿童 25 例作为正常对照组,男:女=11:14,年龄 3 月~10 岁。两组之间年龄、性别构成比差异均无统计学意义($F=0.081$, $P=0.65$; $\chi^2=0.325$, $P=0.763$)。入选标准:胆道闭锁组患儿诊断均经手术后病理切片证实。

1.2 试剂和仪器 贝克曼 AU5800 生化分析仪及其配套试剂;uPAR 试剂盒(ELISA)购于北京冬歌生物有限公司。

1.3 方法 采集所有研究对象外周静脉血 3 ml, 4℃条件下 4 000 r/min 离心 15 min,将分离出的血清于-80℃冰箱保存。采用酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)定量检测各组血清 uPAR 浓度;血清 ALT, AST, GGT 水平检测采用贝克曼 AU5800 生化分析仪($A_{450\text{ nm}}$);所有操作严格遵守仪器作业指导书(SOP)。

1.4 统计学分析 用单因素方差分析(F 检验)比较各组的年龄,用 χ^2 检验比较各组间性别构成比。两组间血清 uPAR, ALT, AST 及 GGT 浓度的比较采用 t 检验,选择 Spearman 相关分析评价 uPAR 与 ALT, AST, GGT 的相关性。所有统计分析均用 SPSS18.0 软件完成,计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清中 uPAR, ALT, AST 及 GGT 表达水平比较 BA 组和对照组血清 uPAR 表达水平

分别为 $6\,059.3 \pm 418.1$ pg/ml 和 $4\,384.4 \pm 299.7$ pg/ml,两组之间差异具有统计学意义($t=16.3$, $P < 0.01$),与正常对照组相比,BA 组血清 uPAR 表达水平明显增高。BA 组血清 GGT, AST, ALT 水平分别为 $2\,405.1 \pm 682.3$ U/L, 160.8 ± 19.8 U/L, 158.7 ± 21.1 U/L, 对照组血清 GGT, AST 和 ALT 水平分别为 11.9 ± 6.2 U/L, 8.2 ± 3.8 U/L 和 10.8 ± 2.7 U/L, 差异均具有统计学意义($t=24.9, 29.4, 30.1$, 均 $P < 0.01$)。

2.2 BA 组血清 uPAR 与 ALT, AST, GGT 相关性分析 Spearman 相关性分析结果显示,BA 组血清 uPAR 表达水平与 ALT, AST, GGT 水平均呈正相关,相关系数分别为 0.822, 0.813, 0.502, 均 $P \leq 0.01$, 见图 1。

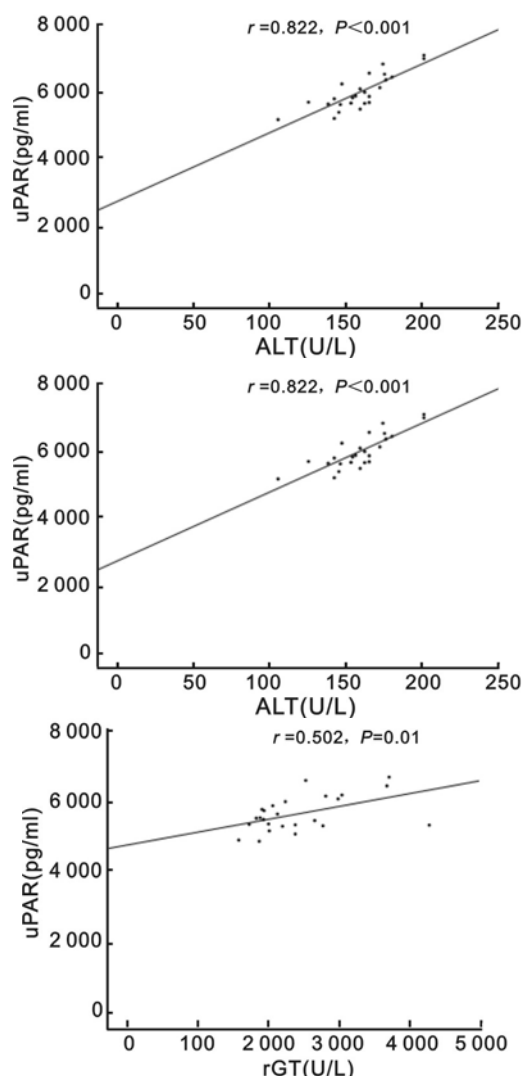


图1 BA组血清 uPAR 与 ALT, AST, GGT 相关性分析

3 讨论 胆道闭锁(BA)是一种病因不明的慢性进行性纤维化肝病,其发生可能由病毒感染、慢性炎性、基因突变或免疫失调等多种原因所导致^[5],但其确切机制至今仍未阐明。目前,对于受影响严重的儿童来说,尚无针对 BA 行之有效的药物治疗

方案,早期诊断、早期行 Kasai 术和肝移植是唯一的选择。uPAR 是一种具有高亲和力的细胞膜受体,通过与尿激酶型纤溶酶原激活因子(urokinase plasminogen activator, uPA)结合,参与了许多细胞内信号通路的调控,如细胞黏附、迁移、增殖、分化和细胞存活^[6]。近年来,循环 uPAR 水平也被证实与慢性肝病有关,包括慢性乙型和丙型肝炎、肝硬化和肝细胞癌^[7~10]。然而目前,有关血清 uPAR 在 BA 中的研究鲜有报道。本次研究结果显示:BA 组与对照组之间,血清 uPAR 表达水平具有显著性差异,与正常对照组相比,BA 患儿血清 uPAR 表达水平明显增高,表明 uPAR 可能在 BA 发病过程中发挥着重要作用。与此观察相一致,慢性肝病患者中的 uPAR 表达量比健康正常人明显升高^[4]。此外, Sjöwall 等^[2]研究发现, uPAR 在非酒精性脂肪肝疾病患者中的表达升高,与肝功能和肝纤维化的严重程度有关。

血清 ALT, AST 和 GGT 是肝脏疾病检查中非常重要的酶学检测项目,对各种肝胆疾病的临床诊断都具有关键作用。其中 ALT 和 AST 均被广泛用作肝细胞损伤的生化指标。ALT 是一种主要存在于肝细胞质中的细胞内酶,可以反映肝细胞的实质损伤,在各种肝炎中均可发现 ALT 表达升高^[11]。AST 广泛存在于机体的各种组织细胞中,在心肌细胞中含量最高,其次为肝脏,血清内水平略低^[12],当肝细胞坏死严重时,线粒体内的 AST 便释放出来,且其值越高越能体现肝细胞受损伤的严重程度。GGT 是一种微粒体酶,主要存在于肾、肝和胰等多种组织中。正常情况下血清的 GGT 大部分来源于机体的肝脏,存在于肝细胞浆和肝内胆管上皮中,是谷氨酰循环的关键酶^[13]。本次研究结果表明,BA 组与对照组之间,血清 ALT, AST 和 GGT 水平具有显著性差异,BA 患儿血清 uPAR 表达水平与 ALT, AST, GGT 水平均呈正相关关系,提示 uPAR 可能在 BA 肝细胞损伤的机制中发挥作用,与 BA 患儿的肝功能异常有关。

综上所述, uPAR 参与了 BA 的发生、发展,且与 BA 患儿肝功能异常密切相关。血清 uPAR 可作为 BA 预测、诊断及肝功能异常评估的重要生物指标。

参考文献:

- [1] Lakshminarayanan B, Davenport M. Biliary atresia: a comprehensive review[J]. J Autoimmun, 2016, 73: 1-9.
- [2] Sjöwall C, Martinsson K, Cardell K, et al. Soluble urokinase plasminogen activator receptor levels are associated with severity of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease[J]. Transl Res, 2015, 165(6): 658-666.
- [3] Koch A, Zimmermann HW, Gassler N, et al. Clinical relevance and cellular source of elevated soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) in acute liver failure[J]. Liver Int, 2014, 34(9): 1330-1339.
- [4] Zimmermann HW, Koch A, Seidler S, et al. Circulating soluble urokinase plasminogen activator is elevated in patients with chronic liver disease, discriminates stage and aetiology of cirrhosis and predicts prognosis[J]. Liver Int, 2012, 32(3): 500-509.
- [5] Kilgore A, Mack CL. Update on investigations pertaining to the pathogenesis of biliary atresia[J]. Pediatr Surg Int, 2017, 33(12): 1233-1241.
- [6] Smith HW, Marshall CJ. Regulation of cell signalling by uPAR[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2010, 11(1): 23-36.
- [7] Berres ML, Schlosser B, Berg T, et al. Soluble urokinase plasminogen activator receptor is associated with progressive liver fibrosis in hepatitis C infection[J]. J Clin Gastroenterol, 2012, 46(4): 334-338.
- [8] Filik L. Soluble urokinase plasminogen activator receptor in chronic hepatitis due to hepatitis C virus[J]. J Clin Gastroenterol, 2012, 46(4): 346-347.
- [9] Chounta A, Ellinas C, Tzanetakou V, et al. Serum soluble urokinase plasminogen activator receptor as a screening test for the early diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. Liver Int, 2015, 35(2): 601-607.
- [10] Sevgi DY, Bayraktar B, Gündüz A, et al. Serum soluble urokinase-type plasminogen activator receptor and interferon- γ -induced protein 10 levels correlate with significant fibrosis in chronic hepatitis B[J]. Wien Klin Wochenschr, 2016, 128(1-2): 28-33.
- [11] 朱武, 刘玉泉, 谢万华, 等. 多项指标联合检测对乙型肝炎后肝硬化诊断治疗中的观察分析[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(7): 819-820, 823.
- [12] Zhu W, Liu YQ, Xie WH, et al. Clinical research of combined detection of four indices, AST/ALT ratio, and hepatitis B DNA in diagnosis and treatment of liver cirrhosis after hepatitis[J]. Laboratory Medicine and Clinic, 2013, 10(7): 819-820, 823.
- [13] Khattab H, Fouad A, Hamza M, et al. Relation of ALT and AST levels to the histopathological changes in liver biopsies of patients with chronic hepatitis C genotype A[J]. Arab J Gastroenterol, 2015, 16(2): 50-53.