

## 血清维生素 D 结合蛋白水平检测 对大鼠肝毒性诊断的评价研究<sup>\*</sup>

苗玉发, 康慧君, 王超, 张河战

(中国食品药品检定研究院, 药物非临床安全评价研究北京市重点实验室, 北京 100176)

**摘要:**目的 评价血清维生素 D 结合蛋白(vitamin D binding protein, VDBP)用于大鼠肝毒性诊断的价值。方法 用酮康唑(ketoconazole, KTZ)、四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl<sub>4</sub>)和对乙酰氨基酚(acetaminophen, APAP)在雄性大鼠中构建3种肝毒性模型,在不同时间点从腹腔大静脉采集外周血,3 000 r/min离心制备血清。用ELISA法测定血清中VDBP含量,用全自动生化分析仪测定血清中的丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、总胆汁酸(total biliary acid, TBA)、胆碱酯酶(cholinesterase, CHE)、谷氨酸脱氢酶(glutamate dehydrogenase, GLDH)、5'-核苷酸酶(5'-nucleotidase, 5'-NT)、单胺氧化酶(monoamine oxidase, MAO)和苹果酸脱氢酶(malate dehydrogenase, MDH)含量。实验组与对照组进行 $t$ 检验分析,检查指标值的差异是否具有统计学意义。结果 在CCl<sub>4</sub>肝毒性模型中,与对照组相比,ALT, AST, TBIL和CHE在CCl<sub>4</sub>给药后4h起升高,差异均具有统计学意义(均 $P<0.05$ )。GLDH, MAO和MDH在给药后6h起升高,差异均具有统计学意义(均 $P<0.05$ )。在KTZ肝毒性模型中,与对照组相比,ALT在KTZ给药6天后升高,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。AST和TBIL在给药后8天升高,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。在APAP肝毒性模型中,与对照组相比,ALP在APAP给药后4h和8h点升高,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。CHE在给药后8h点升高,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。ALT和TBIL在给药后24h点升高,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。在3种肝毒性模型中,VDBP含量在给药后的所有时间点都降低,差异均具有统计学意义(均 $P<0.05$ )。结论 VDBP比其它肝功能指标能更灵敏地预测肝毒性的发生。

**关键词:**维生素 D 结合蛋白;肝功能;肝毒性

中图分类号:R-332 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2019)04-006-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2019.04.002

## Evaluation of Serum Vitamin D Binding Protein Levels in the Diagnosis of Hepatotoxicity in Rats

MIAO Yu-fa, KANG Hui-jun, WANG Chao, ZHANG He-zhan

(National Institutes for Food and Drug Control,

Beijing Key Laboratory for Safety Evaluation of Drug, Beijing 100176, China)

**Abstract: Objective** To evaluate the value of serum vitamin D binding protein (VDBP) in the diagnosis of hepatotoxicity in rats. **Methods** Three hepatotoxicity models were constructed in male rats with ketoconazole (KTZ), carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) and acetaminophen (APAP), peripheral blood was collected from large abdominal veins at different time points and serum was prepared by 3 000 r/min centrifugation. The concentration of VDBP in serum was determined by ELISA, and the contents of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), total bilirubin (TBIL), total biliary acid (TBA), cholinesterase (CHE), glutamate dehydrogenase (GLDH), 5'-nucleotidase (5'-NT), monoamine oxidase (MAO) and malate dehydrogenase (MDH) in serum were determined by automatic biochemical analyzer. The  $t$  test was carried out in the experimental group and the control group to check whether the differences in the indicators of each time point were statistically significant. **Results** In the CCl<sub>4</sub> hepatotoxicity model, compared with control group, ALT, AST, TBIL and CHE increased from 4h after CCl<sub>4</sub> administration, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). GLDH, MAO and MDH increased from 6h, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). In the KTZ hepatotoxicity model, compared with control group, ALT increased from 6 days after KTZ administration, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). AST and TBIL increased at 8 days, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). In the APAP hepatotoxicity model, compared with control group, ALP increased at 4h and 8h after APAP administration, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). CHE increased at 8h, and the difference was statistically

<sup>\*</sup> 基金项目:国家“重大新药创制”科技重大专项(2018ZX09201017)。

作者简介:苗玉发(1980—),男,硕士,副主任药师,主要研究方向为药物安全性评价, E-mail: miaoyufa@nifdc.org.cn。

通讯作者:张河战,研究员, E-mail: zhanghz@nifdc.org.cn。

significant ( $P < 0.05$ ). ALT and TBIL increased at 24 h, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). VDBP concentration dropped at all time points after administration in three hepatotoxicity models, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** VDBP is more sensitive than other liver function indicators to predict the occurrence of hepatotoxicity.

**Keywords:** vitamin D binding protein; liver function; hepatotoxicity

已上市药物撤市最常见的单一原因是药物诱导的肝毒性。然而,大多数因肝毒性撤市的药物如酮康唑、溴芬酸、异丙异烟肼和曲列格酮等,在治疗剂量下导致肝衰竭的发生率不超过万分之一。在药物开发阶段,尽管进行了详细的临床前毒性和人体临床研究,也很少能发现严重肝毒性的病例。因此,如果能在肝脏发生不可逆损伤之前,用灵敏度较好的生物标志物来预测即将发生的严重肝毒性,及时调整用药或停药,则有可能避免进一步的肝损伤。本研究构建3种肝毒性模型,评价潜在的新型肝毒性生物标志物血清维生素D结合蛋白(vitamin D binding protein, VDBP)和其它常用肝毒性指标对肝毒性的诊断价值,以期找到更加灵敏的诊断指标。

## 1 材料与方法

**1.1 研究对象** SPF级Wistar雄性大鼠128只,7周龄,160~200 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司。动物在中国食品药品检定研究院安全评价研究所SPF级屏障系统[SYXK(京)2016-0045]中饲养,每笼1~3只,自由摄食和饮水。解剖前16~18h禁食,正常供水。笼具采用PC聚碳酸酯鼠盒(L×W×H:294 mm×190 mm×125 mm),每周更换2~3次。饲养室12 h照明,保持21℃~24℃的温度,31%~64%的湿度和每小时10~20次以上的换气次数。研究遵循实验动物“3R”原则,并保证实验动物应有的福利。实验动物福利伦理委员会(IACUC)批准号:IACUC2014026。

**1.2 试剂和仪器** 7180型全自动生化分析仪(日本HITACHI公司),5810R型台式高速离心机(德国Eppendorf公司),200 mg 酮康唑(KTZ)片剂(西安杨森制药公司),四氯化碳( $\text{CCl}_4$ )(北京化工厂);500 mg 对乙酰氨基酚(APAP)片剂(青岛黄海制药有限责任公司),大鼠VDBP试剂盒(上海将来实业股份有限公司);丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、总胆红素(TBIL)、总胆汁酸(TBA)、胆碱酯酶(CHE)和5'-核苷酸酶(5'-NT)试剂和校准品均购自日本和光纯药工业株式会社。谷氨酸脱氢酶(GLDH)、单胺氧化酶(MAO)和苹果酸脱氢酶(MDH)试剂和校准品均购自长春汇力生物技术

有限公司;其余试剂均为国产分析纯。

## 1.3 方法

**1.3.1  $\text{CCl}_4$  肝毒性模型的构建<sup>[1]</sup>:**  $\text{CCl}_4$  用精制花生油配制成30 ml/dl的溶液,使用当天配制。实验设置  $\text{CCl}_4$  组和正常对照组。 $\text{CCl}_4$  组32只大鼠,正常对照组8只大鼠。30%(v/v)  $\text{CCl}_4$  给药体积为10 ml/kg,灌胃给药,共给药1次。给药结束后2,4,6和7h分别解剖8只动物。正常对照组给予等量生理盐水1次后7h解剖8只动物。

**1.3.2 KTZ 肝毒性模型的构建:** KTZ片剂直接溶于注射用水充分混匀配成40 mg/ml混悬溶液,放置冰箱冷藏备用,使用前充分混匀。实验设置KTZ组和正常对照组。KTZ组48只大鼠,正常对照组8只大鼠。KTZ给药剂量为225 mg/kg,灌胃给药,每天给药1次,共给药8次。第一次给药设为第0天,在1,2,3,4,6和8天,分别解剖8只动物,解剖动物当天不给药。正常对照组给予等量生理盐水1次后第8天解剖8只动物。

**1.3.3 APAP 肝毒性模型的构建<sup>[2]</sup>:** APAP片剂直接溶于注射用水充分混匀配成200 mg/ml混悬溶液,放置冰箱冷藏备用,使用前充分混匀。实验设置APAP组和正常对照组。APAP组24只大鼠,正常对照组8只大鼠。APAP给药剂量为2 g/kg,灌胃给药,共给药1次。给药结束后4,8和24h分别解剖8只动物。正常对照组给予等量生理盐水1次后24h解剖8只动物。

**1.3.4 动物解剖、血清制备及指标检测:** 动物用50 mg/kg 硫喷妥钠麻醉后,腹腔大静脉取血2~3 ml,室温静置约40 min后,3 000 r/min离心,吸取上层血清用于指标检测。ALT, AST, ALP, TBIL, TBA, CHE, GLDH, 5'-NT, MAO和MDH等指标用7180型全自动生化分析仪测定。VDBP用ELISA试剂盒测定,测定步骤参照试剂盒说明书。

**1.4 统计学分析** 用SPSS19.0统计学软件进行计量资料的统计分析,用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示计量资料,用 $t$ 检验进行两样本间均数比较,显著性检验水平 $\alpha$ 为0.05。

## 2 结果

**2.1  $\text{CCl}_4$  肝毒性模型中各指标检测结果** 见表1。与对照组相比,ALT, AST, TBIL和CHE在

CCl<sub>4</sub> 给药后 4 h 起升高,且差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。GLDH, MAO 和 MDH 在给药后 6 h 起升高,且差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。ALP, TBA 和 5'-NT 与对照组的差异无统计学意

义 ( $P > 0.05$ )。VDBP 浓度在 CCl<sub>4</sub> 给药后 2 h 起降低,并一直持续到 7 h,且差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

表 1 CCl<sub>4</sub> 肝毒性模型中各指标检测结果 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

项 目	对照组	CCl <sub>4</sub> 肝毒性模型给药时间				P			
		2 h	4 h	6 h	7 h	2 h	4 h	6 h	7 h
ALT(U/L)	36±9.3	46±15.6	68±27.5	489±334.2	405±260.8	0.273	0.003	0.020	0.009
AST(U/L)	93±15.3	116.5±7.0	169±34.0	418±346.9	518±296.6	0.943	0.009	0.039	0.008
ALP(U/L)	270±76.7	359±36.4	339±105.8	358±75.1	367±81.2	0.091	0.242	0.921	0.052
TBIL(μmol/L)	1.9±0.3	2.5±0.1	2.9±0.2	3.3±1.4	4.2±1.1	0.811	0.034	0.043	0.001
TBA(μmol/L)	43±52.3	26±13.7	27±10.3	25±13.2	63±37.6	0.400	0.494	0.314	0.482
CHE(U/L)	131±19.5	130±9.7	176±28.3	216±127.5	176±37.9	0.802	0.001	0.036	0.017
GLDH(U/L)	27±1.5	34±4.5	39±9.4	40±15.5	49±13.2	0.200	0.486	0.019	0.047
5'-NT(U/L)	11±1.8	10±1.9	10±1.7	12±2.0	11±0.6	0.770	0.601	0.094	0.905
MAO(U/L)	8±2.1	10±1.1	9±1.7	13±5.5	14±5.4	0.802	0.594	0.048	0.009
MDH(U/L)	4±1.4	6±1.7	4±0.6	27±13.4	33±9.4	0.912	0.094	0.004	0.005
VDBP(ng/ml)	32.9±0.5	25.4±0.7	20.5±6.1	14.7±1.8	16.9±2.6	0.005	0.008	0.000	0.004

2.2 KTZ 肝毒性模型中各指标检测结果 见表 2。与对照组相比,ALT 在 KTZ 给药 6 天后升高,且差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。AST 和 TBIL 在给药后 8 天升高,且差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。ALP, TBA, CHE, GLDH, 5'-NT,

MAO 和 MDH 在给药后任何时间点与对照组的差异均无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。VDBP 浓度在 KTZ 给药后 1 天起降低,并一直持续到第 8 天,且差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

表 2 KTZ 肝毒性模型中各指标检测结果 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

项 目	对照组	KTZ 肝毒性模型给药时间天						P					
		1 天	2 天	3 天	4 天	6 天	8 天	1 天	2 天	3 天	4 天	6 天	8 天
ALT(U/L)	43±9.9	41±4.5	76±49.6	46±14.7	76±49.9	86±33.9	71±14.6	0.693	0.183	0.706	0.185	0.032	0.017
AST(U/L)	71±6.8	78±4.5	127±85.8	140±74.8	196±152.5	172±139.8	98±19.6	0.093	0.184	0.073	0.105	0.144	0.026
ALP(U/L)	269±102.5	200±40.0	210±48.7	199±37.6	217±81.8	212±44.5	250±88.5	0.199	0.284	0.315	0.408	0.500	0.060
TBIL(μmol/L)	1.5±0.3	1.2±0.1	1.2±0.7	1.2±0.4	1.4±0.6	1.8±0.2	2.1±0.2	0.087	0.438	0.251	0.056	0.258	0.025
TBA(μmol/L)	49±27.2	86±35.1	101±36.5	60±10.9	59±31.4	71±49.0	40±8.0	0.154	0.060	0.610	0.672	0.544	0.632
CHE(U/L)	175±63.1	249±104.5	222±68.3	233±147.1	191±69.8	207±124.5	173±70.5	0.647	0.063	0.590	0.083	0.355	0.078
GLDH(U/L)	16±6.4	14±3.5	18±8.1	25±15.8	29±26.1	27±13.0	13±3.4	0.449	0.657	0.284	0.300	0.118	0.423
5'-NT(U/L)	12±0.8	12±2.1	16±6.7	16±2.0	16±4.1	28±9.5	16±4.9	0.565	0.201	0.082	0.067	0.224	0.101
MAO(U/L)	8±1.8	7±1.2	8±1.0	10±4.4	11±3.2	11±1.6	7±1.2	0.361	0.916	0.543	0.128	0.126	0.508
MDH(U/L)	3±1.0	3±1.6	5±2.1	10±8.1	10±9.5	9±8.6	7±5.9	0.307	0.111	0.078	0.105	0.070	0.505
VDBP(ng/ml)	30.4±1.5	22.9±0.8	16.9±0.9	15.1±0.7	15.4±0.8	13.5±0.4	21.7±0.7	0.002	0.001	0.000	0.004	0.000	0.009

2.3 APAP 肝毒性模型中各指标检测结果 见表 3。与对照组相比,ALP 在 APAP 给药后 4 h 和 8 h 点升高,且差异均具有统计学意义 (均  $P < 0.05$ )。CHE 在给药后 8 h 点升高,且差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。ALT 和 TBIL 在给药后 24 h 点升高,且差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。AST, TBA, GLDH, 5'-NT, MAO 和 MDH 在给药后任何时间点与对照组的差异均无统计学意义 (均

$P > 0.05$ )。VDBP 浓度在 APAP 给药后第 4 h 起降低,并一直持续到 24 h,且差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

3 讨论 肝细胞损伤最传统的生物标志物是血清 ALT。肝损伤时肝细胞被破坏,细胞内的 ALT 释放入血,导致血清中 ALT 含量升高。AST 在肝脏和心肌中均大量存在,肝损伤时,AST 也一定程度升高。但 AST 的生物分布决定 AST 升高未必是

由于肝损伤引起,心肌细胞损伤同样也能导致AST升高<sup>[3-4]</sup>。本研究在KTZ和APAP肝毒性模型中,ALT的特异度和灵敏度都优于AST。在

CCl<sub>4</sub>肝毒性模型中,由于CCl<sub>4</sub>的剂量大,毒性强,所有动物都出现了严重的肝损伤,所以ALT和AST都显示相当的诊断价值。

表3 APAP肝毒性模型中各指标检测结果( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=8$ )

项 目	对照组	APAP肝毒性模型给药时间			P		
		4 h	8 h	24 h	4 h	8 h	24 h
ALT(U/L)	31±2.8	33±2.6	39±13.3	60±23.1	0.100	0.121	0.002
AST(U/L)	94±17.8	88±7.2	79±33.0	295±288.2	0.400	0.288	0.066
ALP(U/L)	196±23.4	163±34.6	152±24.8	213±43.9	0.030	0.043	0.315
TBIL(μmol/L)	1.9±0.4	1.7±0.2	1.7±0.1	2.4±0.4	0.193	0.276	0.014
TBA(μmol/L)	31±28.0	22±13.3	10±2.7	66±38.7	0.410	0.084	0.076
CHE(U/L)	140±9.3	189±81.6	193±45.5	130±63.0	0.170	0.019	0.729
GLDH(U/L)	23±4.4	20±3.4	17±6.9	38±26.6	0.115	0.057	0.142
5'-NT(U/L)	12±0.5	13±0.9	12±0.9	14±4.7	0.070	0.341	0.395
MAO(U/L)	8±2.2	7±1.3	6±2.4	7±2.1	0.062	0.064	20.175
MDH(U/L)	4±1.4	3±0.8	7±13.4	5±2.0	0.082	0.490	0.388
VDBP(ng/ml)	32.2±1.7	29.7±0.6	29.7±1.2	30.3±0.8	0.005	0.009	0.040

ALP常以同工酶的形式存在于多个组织中,但血清中的ALP主要来自肝脏、骨骼和肠道。ALP在胆汁淤积时升高较为明显,是诊断胆汁淤积的敏感指标。有文献报道,在肝癌患者血清中ALP也显著性升高<sup>[5]</sup>。TBA是由胆固醇转化而来,在胆囊中储存和浓缩,并释放到肠道中帮助消化食物。TBA可以通过肝肠循环被重复利用,当肝肠循环受阻或肝胆系统病变,血清中的TBA就会升高。5'-NT仅由肝脏合成,因此对于肝脏病变的诊断具有较好的特异度。文献显示,5'-NT活性在梗阻性黄疸和肝癌患者中均升高,且差异具有统计学意义,而在肝硬化患者中的差异不具有统计学意义<sup>[6]</sup>。本研究中所构建的3种急性肝毒性模型,均以肝细胞损伤为主,未出现胆道梗阻或胆汁淤积现象,因此,与对照组相比,ALP、TBA和5'-NT在给药后各时间点的差异均无统计学意义。在APAP肝毒性模型中4h和8h时间点ALP降低没有实际的临床意义,可能与动物禁食有关。

CHE主要存在于肝脏、红细胞和脑中,大鼠肝脏损伤时,肝细胞膜破坏,血清中的CHE会升高。总胆红素是血红蛋白的分解产物,包括直接胆红素和间接胆红素。资料显示,肝硬化患者中TBA和TBIL水平显著升高,差异有统计学意义,这说明血清中TBA和TBIL浓度变化与肝实质损害程度密切相关<sup>[7-8]</sup>。本研究在3种肝毒性模型中,TBIL仅在最末次时间点升高,且差异具有统计学意义,说明TBIL在这3种模型中预测肝毒性的灵敏度不足。CHE在KTZ肝毒性模型中的差异不具有

统计学意义,在APAP肝毒性模型中仅有8h时间点升高且差异具有统计学意义,可见CHE在KTZ和APAP肝毒性模型中诊断肝损伤的价值不高。

GLDH是一种线粒体酶,肝脏、心肌及肾脏含量丰富,肝细胞损伤可导致血清中GLDH含量升高。MAO活性高低能反映肝纤维化的程度,是诊断肝硬化的重要指标。各种肝炎急性期患者血清MAO不增高,但暴发性重症肝炎或急性肝炎中有肝坏死时,血清MAO活性可升高<sup>[9-10]</sup>。MDH是一种氧化还原酶,可催化草酰乙酸和苹果酸之间的可逆性转化,主要参与三羧酸循环、乙醛酸循环、苹果酸-天冬氨酸循环等代谢途径。MDH在肝脏中含量丰富,以线粒体和胞浆中分布居多。当肝脏损伤时,细胞内MDH释放入血导致外周血中MDH含量增加。MDH常用于心肌梗塞、急性实质性肝损伤、肝癌、肺癌的早期诊断用酶<sup>[11]</sup>。本研究中,GLDH、MAO和MDH在CCl<sub>4</sub>肝毒性模型中,给药后6h升高且差异具有统计学意义,有一定的诊断价值,而在KTZ和APAP肝毒性模型中的差异不具有统计学意义,无法预测肝毒性的发生,不具有诊断价值。

大鼠VDBP主要由肝脏合成和分泌,是一种分子量约为52~54kDa的酸性糖蛋白,在维生素D甾醇类物质转运中起重要作用。VDBP不但能与血液中维生素D及其代谢产物25(OH)D特异性结合,还能与肌动蛋白结合,阻止肌动蛋白的聚合<sup>[12]</sup>。临床上,肝纤维化和肝癌患者外周血中VDBP的含量较低,且降低的水平与疾病的严重程度密切相关<sup>[13]</sup>。本研究在3种肝毒性模型中,从

给药后第一个观察时间点开始,VDBP降低且差异具有统计学意义,这证实VDBP在这3个肝毒性模型中比其它所有指标都具有较好的灵敏度,可以更早期的预测这3种模型中的肝细胞损伤。综上所述,VDBP作为潜在的肝毒性生物标志物具有很好的诊断价值,可以继续更多的肝毒性模型中进行验证。

#### 参考文献:

- [1] 邹丽宜,吴铁,崔燎.四氯化碳对大鼠肝毒性的剂量关系研究[J].中国临床药理学与治疗学,2003,8(2):158-162.  
ZOU Liyi, WU Tie, CUI Liao. Time-dose effects of carbon tetrachloride on liver damage in rats[J]. Chinese Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics, 2003, 8(2): 158-162.
- [2] OMIDI A, RIAHINIA N, MONTAZER TORBATI M B, et al. Hepatoprotective effect of crocus sativus (saffron) petals extract against acetaminophen toxicity in male Wistar rats[J]. Avicenna Journal of Phyto-medicine, 2014, 4(5): 330-336.
- [3] 王福玲.血清miR-122,ALT及HBV-DNA定量检测对慢性乙型肝炎患者诊断的意义[J].现代检验医学杂志,2017,32(4):67-71.  
WANG Fuling. Diagnostic value of serum miR-122, ALT and HBV-DNA in patients with chronic hepatitis B[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2017, 32(4): 67-71.
- [4] 吕艳关,夏顺林,朱婷.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[J].现代检验医学杂志,2018,33(5):61-63.  
LU Yanguan, XIA Shunlin, ZHU Ting. Serum uPAR detection and correlation with ALT, AST, GGT levels in children with biliary atresia[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2018, 33(5): 61-63.
- [5] 赵建军,刘洪莉,朱武. AFP联合三种肿瘤标志物检测对原发性肝癌诊断价值的研究[J].现代检验医学杂志,2012,27(3):81-82,85.  
ZHAO Jianjun, LIU Hongli, ZHU Wu. Study on alpha fetoprotein (AFP) combined with three kinds of tumor markers on the diagnostic value of primary hepatic carcinoma[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2012, 27(3): 81-82, 85.
- [6] 王伟伟,张夏,黄传荣,等.血清LDH,TBIL,IBIL和Hcy水平检测在MA和MDS临床鉴别诊断中的作用研究[J].现代检验医学杂志,2015,30(1):111-114.  
WANG Weiwei, ZHANG Xia, HUANG Chuanrong, et al. Research on detecting serum LDH, TBIL, IBIL and Hcy levels in clinical differential diagnosis of MA and MDS[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2015, 30(1): 111-114.
- [7] 毛诗海,程训民.四项生化指标检验在肝硬化和病毒性肝炎中的价值[J].现代检验医学杂志,2013,28(4):124-126.  
MAO Shihai, CHENG Xunmin. Clinical value of combined detection of four biochemistry indexes in liver cirrhosis and viral hepatitis[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2013, 28(4): 124-126.
- [8] 马江涛,纪玲,何林.5'-核苷酸酶在肝功能测试组合中的临床意义[J].中西医结合肝病杂志,2004,14(6):360-361.  
MA Jiangtao, JI Ling, HE Lin. Clinical significance of 5' nucleotidase in liver function[J]. Chinese Journal of Integrate Traditional and Western Medicine on Liver Diseases, 2004, 14(6): 360-361.
- [9] 马艳春.肝病患者TBA,PA,Cys C,GLDH,CHE检测分析[J].中国肝脏病杂志,2012,4(1):23-25.  
MA Yanchun. Detection and significance of TBA, PA, Cys C, GLDH, CHE of patients with liver diseases[J]. Chinese Journal of Liver Diseases (Electronic Version), 2012, 4(1): 23-25.
- [10] 刘晓娜,彭双清,贾栗,等.对乙酰氨基酚致小鼠肝损伤早期血清苹果酸脱氢酶和嘌呤核苷磷酸化酶的变化[J].毒理学杂志,2015,29(1):54-56.  
LIU Xiaona, PENG Shuangqing, JIA Li, et al. Change of MDH and PNP in early phase of APAP-induced liver injury[J]. Journal of Toxicology, 2015, 29(1): 54-56.
- [11] 肖景惠,张庆芳,于爽,等.微生物中苹果酸脱氢酶研究现状及展望[J].中国酿造,2018,37(8):14-18.  
XIAO Jinghui, ZHANG Qingfang, YU Shuang, et al. Research status and prospect of malate dehydrogenase in microorganisms[J]. China Brewing, 2018, 37(8): 14-18.
- [12] JAIN S K, KANIKARLA-MARIE P, WARDEN C. et al. L-cysteine supplementation upregulates glutathione (GSH) and vitamin D binding protein (VDBP) in hepatocytes cultured in high glucose and in vivo in liver, and increases blood levels of GSH, VDBP, and 25-hydroxy-vitamin D in Zucker diabetic fatty rats[J]. Mol Nutr Food Res, 2016, 60(5): 1090-1098.
- [13] GRESSNER O A, GAO Chunfang, SILUSCHEK M, et al. Inverse association between serum concentrations of actin free vitamin D-binding protein and the histopathological extent of fibrogenic liver disease or hepatocellular carcinoma[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2009, 21(9): 990-995.

收稿日期:2019-05-14

修回日期:2019-05-17