

· 论 著 ·

不同分级急性胆道系统感染患者血清高迁移率族蛋白 B1 的对比研究*

范婉婷¹, 张平安^{1△}, 韩瑞玲, 谢军花²

(1. 武汉大学人民医院检验科, 武汉 430060; 2. 荆门市第一人民医院检验科, 湖北 448000)

摘要:目的 对比分析不同严重程度的急性胆道系统感染(ABTI)患者血清高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)水平差异和特点,为临床诊断和治疗提供参考。方法 将收治的 100 例 ABTI 患者根据病情严重程度分为轻度组(48 例)、中度组(29 例)和重度组(23 例),对 3 组的 HMGB1 水平进行比较,分析 3 组中不同疾病类型、性别、年龄的患者 HMGB1 水平的差异。结果 (1)3 组的 HMGB1 水平比较显示轻度组<中度组<重度组,差异有统计学意义($P<0.05$);(2)轻度组和中度组中男性、女性患者间 HMGB1 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$),而重度组中男性的 HMGB1 水平明显高于女性患者($P<0.05$);(3)轻度组中不同年龄段患者的 HMGB1 水平比较差异无统计意义($P>0.05$),而中度组、重度组中年龄>60 岁患者的 HMGB1 水平明显高于年龄≤60 岁患者($P<0.05$);(4)在上述 3 组中,急性胆囊炎患者的 HMGB1 水平均显著高于急性胆管炎患者($P<0.05$)。结论 ABTI 患者病情越严重,其血清中的 HMGB1 的水平也越高。而对于不同严重程度的 ABTI 患者而言,其血清的 HMGB1 水平的高低在不同年龄、性别、疾病类型人群中的分布有所不同。这提示 HMGB1 水平可作为预测和反映 ABTI 严重程度的指标,值得在临床加以重视。

关键词:急性胆道系统感染; 分级; 高迁移率族蛋白 B1

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.06.013

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)06-0756-04

Comparative study on serum HMGB1 level in patients with different grades of acute biliary tract infection*

FAN Wanting¹, ZHANG Ping'an¹, HAN Ruiling, XIE Junhua^{2△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Remin Hospital, Wuhan University, Wuhan, Hubei 430060, China;

2. Department of Clinical Laboratory, Jingmen Municipal First People's Hospital, Jingmen, Hubei 448000, China)

Abstract: **Objective** To comparatively analyze the difference and characteristics of high mobility group box-1 protein(HMGB1) level with the levels in the patients with different severities of acute biliary tract infection(ABTI) to provide reference for its clinical diagnosis and treatment. **Methods** One hundred cases of ABTI in our hospital were divided into the mild group (48 cases), moderate group (29 cases) and severe group (23 cases) according to the severity of the disease. The HMGB1 detection results were compared among 3 groups and the differences in different disease types, sex and age were analyzed. **Results** (1)The HMGB1 level had statistically significant difference among 3 groups ($P<0.05$), moreover the mild group< moderate group< severe group; (2)in the detection results, the HMGB1 level in the mild group and moderate group had no statistical difference between males and females($P>0.05$), but in the severe group, the HMGB1 level in males was significantly higher than that in females($P<0.05$); (3) the HMGB1 level in the mild group had no statistical difference among difference age groups($P>0.05$), while in the moderate group and severe group, the HMGB1 level in the patients aged >60 years old was significantly higher than that in the patients aged ≤60 years old($P<0.05$); (4) in the above 3 groups, the HMGB1 level in the patients with acute cholecystitis was significantly higher than that in the patients with acute cholangitis($P<0.05$). **Conclusion** The study results analysis indicates that the severe the ABTI disease condition, the serum HMGB1 level is also accordingly and relatively increased, in the patients with different severity degrees of ABTI, the serum HMGB1 level has significant differences in age, sex and disease type, which prompts that the HMGB1 level can be used as the laboratory index for predicting and reflecting the ABTI severity and can be paid attention to.

Key words: acute biliary tract infection; different grades; high mobility group box-1 protein

每年我国急性胆道系统感染(ABTI)住院患者所占比例为 1.5%, ABTI 的发病率更是高达 7%~8%^[1], 研究能反映 ABTI 病变严重程度的实验室指标, 对于正确预测 ABTI 病情变化规律具有积极意义。高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)是一种哺乳动物细胞特有的保守核蛋白, 大量研究揭示 HMGB1 具有促炎作用, 且 HMGB1 对于炎症反应严重程度的变化也非常敏感^[2], 因此, 分析不同严重程度的 ABTI 患者血清 HMGB1 水平差异和分布特点, 可为临床诊治提供参考, 值得深入研究^[3]。

本研究比较分析了不同严重程度的 ABTI 患者血清 HMGB1 水平分布的差异和特点, 旨在为 ABTI 的病情诊断、早期筛查提供参考, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析武汉大学人民医院 2016 年 2 月至 2016 年 5 月收治的 100 例 ABTI 患者的临床资料、实验室检查结果, 所选病例的临床表现、基础体征、实验室指标及影像学检查结果均符合中华医学分会胆道外科《急性胆道系统感染

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81501427)。

作者简介:范婉婷,女,技师,主要从事临床生物化学与检验的研究。△ 通信作者,E-mail:zhangpingan@aliyun.com。

的诊断和治疗指南(2011 版)》中对于 ABTI 的分型、诊断标准^[4],以下简称“指南”。同时,所有患者也均知情、自愿参与本次试验。另外,纳入本研究的对象排除了合并有恶性肿瘤、具有多器官功能障碍的患者。本研究参考了“指南”中对于急性胆囊炎、急性胆管炎的严重程度分级标准,将 100 例 ABTI 患者按照感染严重程度分为 3 组。轻度组 48 例:男 26 例、女 22 例,年龄 30~72 岁,平均(54.2±3.8)岁,患有急性胆囊炎 30 例、急性胆管炎 18 例;中度组 29 例:男 16 例、女 13 例,年龄 33~70 岁,平均(54.0±3.5)岁,患有急性胆囊炎 18 例、急性胆管炎 11 例;重度组 23 例:男 12 例、女 11 例,年龄 32~74 岁,平均(54.5±4.0)岁,患有急性胆囊炎 13 例、急性胆管炎 10 例。经比较,3 组患者的疾病类型、性别、年龄等一般资料差异均无统计意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 ABTI 严重程度分级标准(分组标准)^[5] (1)轻度组:患者在临床上具有上腹压痛、恶心、呕吐等轻微症状和反应,腋温为 37.0~37.5 °C,症状持续时间≤72 h,白细胞计数≤ $18\times 10^9/L$,应用抗菌药治疗可显著改善上述症状。(2)中度组:满足下述条件 2 项或以上,①白细胞计数(WBC) $>18\times 10^9/L$;②症状持续时间 >72 h;③触诊发现上腹部有包块;④伴随坏疽性、脓肿性胆道系统病变和局部炎症反应,腋温为 37.6~38.0 °C;⑤应用抗菌药治疗无显著效果,但未合并脏器功能障碍。(3)重度组:满足下述任意一项或以上,①出现低血压情况,且需给予多巴胺或多巴酚丁胺维持生命体征;②伴随意识不清、神经系统功能障碍;③血肌酐 >20 mg/L,尿量 <17 mL/h;④血小板低于 $10\times 10^9/L$;⑤国际标准化比值(INR) >1.5 ;⑥氧合指数(PaO_2/FiO_2) <300 mm Hg。

1.2 方法

1.2.1 血清 HMGB1 水平的检测 首先在入院后对本组研究对象进行肘静脉采血,受检者应在抽血前空腹 12 h 以上,在次日晨间 7:00-8:00 完成血样采集,标本量为 3~5 mL,并做好相应编号。在抽血完成后 3 h 内用离心机对血液标本进行离心($1\ 000\times g$, 15 min),取上清液置于-20 °C 冷冻保存。采用酶联免疫吸附测定(ELISA)检测血清中的 HMGB1 水平,人源 HMGB1 检测试剂盒为 IBL 公司产品,检测灵敏度为 1.0 ng/

mL,检测范围为 2.5~80 ng/mL,96 孔酶标板已预先被 HMGB1 单抗包被,可直接使用。具体操作步骤为,将 320 ng/mL 的人源 HMGB1 标准液稀释成不同浓度梯度(80、40、20、10、5、2.5 ng/mL),得 HMGB1 标准曲线,在 96 孔板中设阳性对照孔、阴性对照空、标准孔、待测孔并完成加样(待测孔 100 μ L/孔,对照空、标准孔 10 μ L/孔),加样后立即封板,并在 37 °C 下孵育 24 h。孵育完成后弃液、洗板并拍干,加 HMGB1 一抗、二抗(联接标记物),25 °C 条件下覆膜反应 2 h 后弃液、洗板并拍干,避光、室温条件下加底物进行显色反应约 30 min。待标准品出现显著的蓝色浓度梯度后加终止液,标准孔呈黄色后反应结束,应用 Thermo 公司 Denley Dragon Wellscan MK2 型酶标仪检测标准品、待测品的下吸光度值(A 值),检测波长选择 450 nm,最后根据标准曲线计算待测血样中的 HMGB1 浓度值。

1.2.2 血常规、肝肾功能检查 生化检测采用迪瑞公司 CS-600B 型全自动生化分析仪进行检测,检测项目包括红细胞、白细胞、血小板、血红蛋白、C 反应蛋白(CRP)、血尿素氮、血肌酐、血尿素、血尿酸、尿肌酐、尿蛋白、选择性蛋白尿指数、 β -2-微球蛋白清除试验、尿素清除率、血内生肌酐清除率、尿素氮/肌酐比值、酚红(酚磺太)排泄试验。血常规、肝肾功能等指标的正常值范围参考临床标准。人肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的检测采用放射免疫法,TNF- α 正常值参考范围为 0.74~1.54 ng/mL。

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件进行统计学处理,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,经 K-S 检验证明 3 组资料均符合正态分布特征后对组间计量资料作独立样本 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HMGB1 水平与 ABTI 严重程度相关 3 组 ABTI 患者的 HMGB1 检测结果见表 1,其中轻度组为(2.49±1.02)ng/mL,中度组为(5.84±1.78)ng/mL,重度组为(15.66±2.72)ng/mL,3 组的 HMGB1 水平比较差异有统计学意义($P<0.05$),且轻度组 $<$ 中度组 $<$ 重度组。另外,3 组 ABTI 患者血清 WBC、CRP 两项炎症指标的变化灵敏度低于 HMGB1。

表 1 3 组 ABTI 患者的血清 HMGB1 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	HMGB1 水平(ng/mL)	WBC($\times 10^9/L$)	CRP(mg/L)	TNF- α (ng/mL)
轻度组	48	2.49±1.02	11.84±2.34	10.75±1.56	1.65±0.46
中度组	29	5.84±1.70*	11.92±2.78	11.23±1.94	1.68±0.52
重度组	23	15.66±2.72* Δ	12.68±3.01* Δ	12.46±2.03* Δ	1.71±0.65

注:与轻度组比较,* $P<0.05$;与中度组比较, $\Delta P<0.05$ 。

表 2 3 组中男性、女性患者的血清 HMGB1 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	性别	<i>n</i>	HMGB1 水平(ng/mL)	<i>t</i>	<i>P</i>
轻度组	男	26	2.50±1.06	0.068	0.946
	女	22	2.48±0.96		
中度组	男	16	5.85±1.81	0.045	0.964
	女	13	5.82±1.72		
重度组	男	12	17.21±3.02	3.056	0.006
	女	11	13.79±2.25		

2.2 3 组男性、女性患者的血清 HMGB1 水平比较 3 组男性、女性患者的 HMGB1 水平比较见表 2,其中轻度组、中度组的男性、女性患者的 HMGB1 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$),而重度组男性的 HMGB1 水平明显高于女性患者($P<0.05$)。

2.3 不同年龄段患者的血清 HMGB1 水平比较 轻度组的不同年龄段患者 HMGB1 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$),而中度组、重度组年龄 >60 岁患者的 HMGB1 水平显著高于年龄 ≤ 60 岁患者($P<0.05$),见表 3。

2.4 不同疾病类型患者血清 HMGB1 水平的比较 在 3 组

中,急性胆囊炎患者的 HMGB1 水平均显著高于急性胆管炎患者($P < 0.05$),见表 4。

表 3 3 组中不同年龄段患者的血清 HMGB1 水平对比($\bar{x} \pm s$)

组别	n	年龄(岁)	患者数(n)	HMGB1 水平(ng/mL)	t	P
轻度组	48	≤60	20	2.48±0.92	-0.095	0.924
		>60	28	2.51±1.17		
中度组	29	≤60	12	4.69±1.53	-3.412	0.002
		>60	17	7.12±2.10		
重度组	23	≤60	9	13.17±1.64	-4.607	0.000
		>60	14	18.54±3.22		

表 4 3 组中不同疾病类型患者的血清 HMGB1 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	疾病类型	患者数(n)	HMGB1 水平(ng/mL)	t	P
轻度组	48	急性胆囊炎	30	2.77±1.38	2.040	0.047
	18	急性胆管炎		2.03±0.87		
中度组	29	急性胆囊炎	18	6.72±2.56	2.409	0.023
	11	急性胆管炎		4.68±1.44		
重度组	23	急性胆囊炎	13	16.58±3.01	2.791	0.011
		急性胆管炎	10	13.49±2.02		

3 讨 论

ABTI 是造成急腹症的重要原因之一,本病具有发病急重、疾病类型多样、病因复杂、临床诊治困难等特点,而各类病因导致的急性胆囊炎、急性胆管炎则是 ABTI 的主要疾病类型^[6]。研究提示,胆管狭窄、胆结石等原因可导致胆汁中携带细菌,其中胆结石导致的 ABTI 可占 90% 以上^[7]。由于 ABTI 的疾病类型种类繁多、临床表现特异性差,因此 ABTI 的早期筛查、鉴别和病情严重性的诊断相对困难,而漏诊、误诊会对 ABTI 患者的治疗效果造成不良影响,如何选择快速、准确的诊断指标已经成为了值得关注的问题^[8]。

对于 ABTI 的临床诊断而言,影像学检查、实验室检查、症状检查是 3 种较为常见检查手段,其中症状检查、影像学检查(CT、MRI)虽能够为 ABTI 临床诊断提供重要参考,但并不能对 ABTI 的严重程度进行定量评估,同时对于 ABTI 的病情变化也不能提供可靠的预测和指导^[9]。相对而言,实验室检查则具有流程简单、检测快速、灵敏度高等优点^[10],在 ABTI 的病情诊断、预测中具有重要参考价值。

作为一种炎症反应,ABTI 常见的检测指标包括白细胞计数、血清淀粉酶、HMGB1、CRP、TNF- α 等。上述 4 项检测学指标水平均与感染严重程度具有较强正相关性,而当检测的灵敏度相同时,HMGB1 的特异度则为最高,这也说明 HMGB1 最适于作为 ABTI 的检测学指标^[11]。目前,关于 HMGB1 与 ABTI 的关系的研究多集中于单一疾病类型 ABTI(如化脓性胆管炎)患者血清 HMGB1 水平上调情况,研究范围和有待于进一步拓展,如制定科学的 ABTI 严重性分级标准,分析 HMGB1 检测对于不同疾病类型、不同性别、不同年龄 ABTI 患者病情严重性程度判断的指导作用等。高迁移率族蛋白是一类在电泳过程中具有高水平迁移特征的蛋白的总称,总共包括 3 个蛋白家族, HMGB1 的相对分子质量约为 30×10^3 , 具有两个 DNA 结合域(B-box、A-box)及一个活性 C 端,这样的

结构也决定了 HMGB1 是一类功能性蛋白,具有较强结合活性^[12]。HMGB1 存在于人体的免疫器官、脏器组织中,生物学研究提示, HMGB1 中的 B-box 结构域极易与炎症细胞因子结合并介导一系列炎症反应,同时也能发挥促炎性作用^[13]。研究指出,细菌感染后可释放细菌毒素,而细菌毒素则能刺激炎症细胞产生炎症因子,因此,对于 ABTI 患者而言,患者血清中 HMGB1 的水平越高则炎症反应越严重,反之,炎症反应越严重,则 HMGB1 的水平也越高^[14]。一项关于不同严重程度的脓毒性胆管炎患者血清 HMGB1 水平的研究结果显示,健康者、轻度胆管炎者、重度胆管炎者的 HMGB1 水平比较差异有统计学意义($P < 0.05$),且健康者 < 轻度胆管炎者 < 重度胆管炎者,这也初步揭示了 HMGB1 与急性胆管炎严重程度的相关性^[15]。然而,目前却缺少对于不同年龄、不同性别、不同疾病类型的轻度、中度、重度 ABTI 患者血清中 HMGB1 水平分布的研究。为比较分析严重性不同的 ABTI 患者的血清中 HMGB1 检测结果的差异和特点,从而为 ABTI 的病情诊断、早期筛查提供参考,特开展了此次研究。

本研究结果显示,首先, ABTI 的严重程度与 HMGB1 的水平呈现较强正相关性($P < 0.05$),这样的结果也将 HMGB1 指标的临床检测价值和应用范围进一步拓展至对 ABTI 严重程度分级以及对 ABTI 患者预后的判断;其次,不同性别、不同年龄、不同疾病类型的 ABTI 患者的 HMGB1 的水平分布情况也具有一定的差异,对这样的结果进一步分析可知,男性、女性体内激素分泌状况差异、不同年龄的免疫功能差异、细菌感染的部位差异是造成 HMGB1 的水平发生变化而具有个体差异的相关性因素,这预示着 HMGB1 对于感染性疾病发病特点及病情变化具有预测和指导价值,在 ABTI 诊断中具有应用价值。

综上所述, ABTI 患者病情越严重,其血清中的 HMGB1 的水平也越高,而对于不同严重程度的 ABTI 患者而言,其血

清的 HMGB1 水平高低在不同年龄、性别、疾病类型的患者中分布也有所差异,这也提示 HMGB1 水平可作为预测和反映 ABTI 严重程度的检测指标,值得在临床加以重视。

参考文献

- [1] 夏中平, 闻久辉, 颜海波, 等. 降钙素原在急性胆道系统感染患者围手术期抗感染疗效中的价值[J]. 中华医院感染学杂志, 2015, 25(22): 5149-5151.
- [2] 任超, 李秀花, 许碧磊, 等. 中枢拮抗高迁移率族蛋白 B1 对脓毒症脑损伤的影响[J]. 中华急诊医学杂志, 2016, 25(4): 433-438.
- [3] 童森, 祝筱梅, 吴瑶, 等. 拮抗高迁移率族蛋白 B1 对烫伤小鼠白细胞介素-35 表达及 T 淋巴细胞免疫功能的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2016, 23(1): 11-15.
- [4] 叶敏, 侯长春, 黄荣道, 等. 高迁移率族蛋白 B1 活化 p38MAPK 对人支气管上皮细胞胸腺基质淋巴生成素表达的影响[J]. 广东医学, 2015, 36(8): 1169-1171.
- [5] 许命锋, 邱志辉, 陈忠城. 血清高迁移率族蛋白 B1 水平与急性冠状动脉综合征的相关性研究[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(13): 1645-1647.
- [6] 侯园花, 任建功, 罗晖, 等. 糖尿病周围神经病变患者血清脑源性神经营养因子与高迁移率族蛋白 B1 水平相关性的研究[J]. 中国糖尿病杂志, 2014, 22(12): 1064-1067.
- [7] Woolbright BL, Dorko K, Antoine DJ, et al. Bile acid-induced necrosis in primary human hepatocytes and in patients with obstructive cholestasis[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2015, 283(3): 168-177.
- [8] 胡志刚, 王春新, 陈国千. 地震伤员血清高迁移率族蛋白 B1 水平的变化[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(9): 928-929.
- [9] 于清霞, 夏永宏, 王静, 等. 急性胰腺炎严重程度和预后与降钙素原、C 反应蛋白、高迁移率族蛋白 B1 的关系[J]. 中华实验外科杂志, 2014, 31(9): 2036-2038.
- [10] 张宇, 王刚, 祝文彩, 等. 急性肝衰竭大鼠高迁移率族蛋白 B1 的变化和意义[J]. 世界华人消化杂志, 2015, 23(9): 1402-1410.
- [11] Shen X, Li WQ. High-mobility group box 1 protein and its role in severe acute pancreatitis[J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(5): 1424-1435.
- [12] 郭继中, 张婷, 谢震雄, 等. 血清高迁移率族蛋白 B1 在急性化脓性胆管炎发生中的作用及意义研究[J]. 中华消化内镜杂志, 2013, 30(8): 454-457.
- [13] 刘娟. 高迁移率族蛋白 B1 的生物学作用及研究进展[J]. 南昌大学学报(医学版), 2013, 53(3): 89-92.
- [14] 白明辉, 孙君军, 董玉宁, 等. HMGB1 在胆囊癌组织中的表达及意义[J]. 中国现代普通外科进展, 2014, 17(7): 563-564, 569.
- [15] 李玲, 尹苹, 徐克前, 等. 急性胰腺炎患者血浆内皮素及 D-二聚体水平变化研究[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(11): 1411-1412.

(收稿日期: 2016-10-14 修回日期: 2017-01-13)

(上接第 755 页)

- [1] [J]. Immunology, 2016, 149(3): 253-261.
- [2] Gujar A, Jenkins K, Guy S, et al. Aberrant lymphocyte activation precedes delayed virus-specific T-cell response after both primary infection and secondary exposure to hepatitis B virus in the woodchuck model of hepatitis B virus infection[J]. J Virol, 2008, 82(14): 6992-7008.
- [3] Veazey S, Marx A, Lackner A. The mucosal immune system: primary target for HIV infection and AIDS[J]. Trends Immunol, 2001, 22(11): 626-633.
- [4] 徐乐慧, 洪鸣凰, 赵文杰, 等. 生物大分子结晶技术研究进展[J]. 中国医药工业杂志, 2011, 42(7): 554-559.
- [5] Lo M, Keese R, Giaever I. Impedance analysis of MDCK cells measured by electric cell-substrate impedance sensing[J]. Biophys J, 1995, 69(6): 2800-2807.
- [6] 贾立永, 郑磊, 王前, 等. 电化学免疫传感器及其在临床检验中的应用进展[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(11): 1329-1330.
- [7] 颜小飞, 汪懋华, 安冬. 基于叉指阵列微电极的阻抗免疫传感器研究进展[J]. 分析化学, 2011, 39(10): 1601-1610.
- [8] 裴仁军, 胡继明, 胡毅, 等. SPA 定向固定抗体的纤维蛋白压电免疫传感器的研究[J]. 高等学校化学学报, 1998, 19(3): 3363-3661.
- [9] Sun X, Zhu Y, Wang X. Amperometric immunosensor based on a protein A/deposited Gold nanocrystals modified electrode for carbofuran detection[J]. Sensors, 2011, 11(12): 11679-11691.
- [10] Derkus B, Cebesoy Emregul K, Mazi H, et al. Protein A immunosensor for the detection of immunoglobulin G by impedance spectroscopy [J]. Bioprocess Biosyst Eng, 2014, 37(5): 965-976.
- [11] 王珂, 江德臣, 刘宝红, 等. 无标记型免疫传感器的原理及其应用[J]. 分析化学, 2005, 22(3): 411-416.
- [12] Pethig R. Dielectric and electronic properties of biological materials[M]. New York: John Wiley and Sons, 1979: 376.
- [13] Wade D, Daneau G, Aboud S, et al. WHO multicenter evaluation of FACSCOUNT CD4 and pima CD4 T-Cell count systems: instrument performance and misclassification of HIV-infected patients[J]. J Acquir Immune Defic Syndr, 2014, 66(5): 98-107.

(收稿日期: 2016-10-21 修回日期: 2017-01-23)