

# 血清蛋白电泳在肝移植术后功能及并发症监测中的应用

陈立 肖萍 赵志恒 张维强 穆红

基金项目:国家临床重点专科建设项目(检验专业)经费资助国卫办医函(2013)544 号

作者单位:300192 天津市,天津市第一中心医院检验科

**【摘要】 目的** 探讨血清蛋白电泳用于肝脏移植术后肝脏功能恢复及并发症监测中的临床应用价值。**方法** 选取我院 2013 年 3 月至 2013 年 6 月期间接受肝移植手术的患者 33 例,检测受试者首次就诊及肝移植术后约 1 年时血清蛋白电泳各组分,分析移植前后各蛋白组分含量及异常蛋白的出现情况。**结果** 肝脏移植后白蛋白组分含量明显高于移植前,而  $\gamma$  球蛋白组分含量低于移植前,且差异均有统计学意义( $P$  均 $<0.05$ )。 $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$ 、 $\beta$  蛋白组分含量移植前后差异均无统计学意义( $P$  均 $>0.05$ )。移植前有 9 例谱带呈现  $\beta$ - $\gamma$  桥;移植后  $\gamma$  球蛋白异常升高例数明显低于移植前,另有 2 例出现寡克隆带。**结论** 分析肝脏移植患者血清蛋白电泳各成分变化可以监测移植后肝脏合成功能恢复及是否出现并发症。

**【关键词】** 血清蛋白电泳;肝脏移植;肝功能;并发症

doi:10.3969/j.issn.1674-7151.2015.02.007

## The application of serum protein electrophoresis in monitoring the function recovery and complications after liver transplantation

CHEN Li, XIAO Ping, ZHAO Zhi-heng, et al. Department of Clinical Laboratory, Tianjin First Central Hospital, Tianjin 300192, China

**【Abstract】 Objective** To analyze the application value of serum protein electrophoresis for monitoring liver function recovery and complications after liver transplantation. **Methods** 33 cases of liver transplantation patients in our hospital from March 2013 to June 2013 were collected. Serum protein electrophoresis components of the patients were analyzed when first admission and about one year after transplantation. The protein constituent content and abnormal protein before and after transplantation were analyzed. **Results** Compared with pretransplant group, the albumin was higher, and  $\gamma$ -globulin component was lower significantly in post transplant group, and the differences all had statistical significance ( $P$  all $<0.05$ ). There were no statistical significance in the differences of  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  and  $\beta$  protein constituent content between pretransplant group and post transplant group.  $\beta$ - $\gamma$  bridge was detected in 9 cases in pretransplant group. While the cases with abnormal  $\gamma$ -globulin component in post transplant group was less than that of pretransplant group, in which oligoclonal bands were detected in 2 cases. **Conclusion** The protein component analysis before and after transplantation by serum protein electrophoresis can monitor liver function recovery and complications of the liver transplantation patients.

**【Key words】** Serum protein electrophoresis; Liver transplantation; Liver function; Complication

肝脏移植是治疗终末期肝病的有效手段。近年来,随着免疫抑制剂、外科技术和器官保存技术的快速发展,肝移植技术也正逐渐走向成熟。研究<sup>[1,2]</sup>表明,肝移植术后的移植肝功能不良及并发症是进行再次移植甚至死亡的重要原因之一。目前,临床对肝移植术后移植肝脏的监测的实验室指标主要依赖于生物化学和免疫学检测方法所覆盖的肝功能和肝损伤的常规项目,而选择用血清蛋白电泳监测肝功能恢复状况及并发症发生的相关报道甚少。由于血清

蛋白电泳检测方法的特点是可以将所有血清蛋白组分无疏漏、一次性地显现在图谱上,而血清蛋白大部分经肝脏合成和分解,极少部分为其他系统代谢,因此,采用蛋白电泳分析血清蛋白各组分的表达可不同程度地反映移植肝脏的功能恢复及机体应激等信息。本文研究通过采用血清蛋白电泳的方法检测肝脏移植患者首次就诊及移植后约 1 年时血清蛋白各组分,对血清蛋白电泳用于肝脏移植术后肝功能恢复及并发症出现的监测价值做一分析,总结如下。

## 1 资料与方法

**1.1 临床资料** 选取我院 2013 年 3 月至 2013 年 6 月期间因肝脏功能衰竭而接受肝移植手术的患者 33 例。其中男 25 例,女 8 例,年龄 38~56 岁。原发病:乙肝肝硬化 21 例,丙肝肝硬化 7 例,酒精性肝硬化 3 例,原发性肝癌 2 例。

**1.2 标本采集** 分别采集患者首次就诊及肝移植术后 10~14 个月复诊时空腹静脉血 3 ml。血标本室温静置 1~2 h 后,以离心半径 15 cm,3000 r/min 离心 10 min 分离血清,用于血清蛋白电泳,检测各蛋白组分并进行图谱分析。

**1.3 主要仪器与试剂** 采用法国 Sebia 公司 HYDRASYS 电泳系统及原装配套试剂。琼脂糖凝胶:含琼脂糖 0.8 g/L, pH= 9.1~9.3 tris-巴比妥缓冲液;缓冲液: pH= 8.9~9.5 tris-巴比妥缓冲液;氨基黑染液: pH= 2 的 4 g/L 氨基黑溶液;10%的乙酸;脱色液: 0.1%冰醋酸。

**1.4 方法** 开机预热 10 min,点样加血清 10  $\mu$ l,电泳(20  $^{\circ}$ C,电压与时间的乘积 33 Vh),染色、脱色、干燥步骤按照仪器所设 HYDRAGEL 7 PROTEIN 程序自动执行,570 nm 扫描。

**1.5 电泳结果生物参考区间** 白蛋白:60.0%~71.0%; $\alpha_1$ :1.4%~2.9%; $\alpha_2$ :7.0%~11.0%; $\beta$ :8.0%~13.0%; $\gamma$ :9.0%~16.0%。

**1.6 统计学处理** 采用 SPSS 12.0 统计软件对数据进行统计学分析,移植前后血清各蛋白组分的比较采用配对 *t* 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 肝脏衰竭患者肝移植前后血清蛋白电泳各蛋白组分含量结果比较** 肝脏移植后白蛋白组分含量明显高于移植前,而  $\gamma$  球蛋白组分含量明显低于移植前,且差异均有统计学意义(*P* 均 < 0.05); $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$ 、 $\beta$

球蛋白组分含量移植前后差异均无统计学意义(*P* 均 > 0.05),见表 1。

**2.2 肝脏衰竭患者肝移植前后血清蛋白电泳各组分含量及峰形异常分析** 移植前有 9 例谱带呈现  $\beta$ - $\gamma$  桥;移植后  $\gamma$  球蛋白含量异常例数明显低于移植前,另有 2 例患者移植后出现寡克隆带,见表 2。

## 3 讨论

近年来,国内外有关肝移植术后肝功能恢复及并发症的临床研究较为广泛,但通过实验室血清蛋白电泳组分分析的方法研究肝移植预后的文章却为少见<sup>[1-4]</sup>。李彦等<sup>[5,6]</sup>发表的肝移植患者血清蛋白电泳组分比较的文章主要是针对肝移植术后出现免疫排斥反应时血清低丰度蛋白表达的变化,而本文研究通过血清蛋白电泳来分析肝移植术前、术后蛋白组分含量变化及异常图谱,从而了解肝脏功能的恢复情况,并通过观察急性时相反应蛋白及寡克隆蛋白成分分析术后并发症的出现。本文研究所采用的电泳检测方法具有可同时、全面系统的分析血清蛋白各组分的特点,结果分析如下。

**3.1 白蛋白组分变化** 白蛋白带是血清蛋白电泳唯一的单组份蛋白带,由肝实质细胞合成,相对分子质量为  $66.4 \times 10^3$ ,等电点 4~5.8,是肝移植术后监测移植肝功能的良好指标。李彦等<sup>[5,6]</sup>的双向电泳研究为防止低丰度蛋白成分被掩盖,去除了白蛋白后进行电泳,导致不能对肝脏合成白蛋白的功能进行分析。本文研究所采用的电泳方法中白蛋白峰的位置完全分离于其他组分的单克隆蛋白峰,不存在干扰及掩盖的问题。本文研究结果显示,移植后白蛋白含量显著高于移植前,且含量小于参考区间下线者由 27 例减少至 6 例,提示移植后肝脏合成白蛋白功能恢复良好。

**3.2  $\alpha$ 、 $\beta$  区带蛋白组分变化分析**  $\alpha_1$  区带球蛋白

表 1 肝脏衰竭患者肝移植前后血清蛋白电泳结果比较(%)

| 组别         | 例数 | 白蛋白               | $\alpha_1$      | $\alpha_2$      | $\beta$          | $\gamma$          |
|------------|----|-------------------|-----------------|-----------------|------------------|-------------------|
| 移植前组       | 33 | 49.63 $\pm$ 10.44 | 1.97 $\pm$ 0.74 | 8.17 $\pm$ 2.19 | 11.85 $\pm$ 2.56 | 28.37 $\pm$ 10.17 |
| 移植后组       | 33 | 61.77 $\pm$ 5.52  | 2.21 $\pm$ 0.81 | 7.88 $\pm$ 1.65 | 11.03 $\pm$ 1.11 | 17.10 $\pm$ 6.00  |
| <i>t</i> 值 | —  | -6.194            | -1.272          | 0.692           | 1.740            | 5.431             |
| <i>P</i> 值 | —  | 0.000             | 0.213           | 0.494           | 0.091            | 0.000             |

表 2 肝脏衰竭患者肝移植前后血清蛋白电泳各组分含量及蛋白带分析

| 组别   | Alb < 60.0% | $\alpha_1$ > 2.9% | $\alpha_2$ > 11.0% | $\beta$ > 13.0% | $\beta$ - $\gamma$ 桥 | $\gamma$ > 16.0% | 寡克隆带 |
|------|-------------|-------------------|--------------------|-----------------|----------------------|------------------|------|
| 移植前组 | 27          | 3                 | 4                  | 10              | 9                    | 28               | 0    |
| 移植后组 | 6           | 4                 | 18                 | 1               | 0                    | 6                | 2    |

组分包括: (1) $\alpha_1$ -抗胰蛋白酶, 是一种具有蛋白酶抑制作用的急性时相反应蛋白, 相对分子质量为  $55 \times 10^3$ , 等电点 4.8。 (2) $\alpha_1$ -酸性糖蛋白, 相对分子质量为  $40 \times 10^3$ , 等电点 2.7~3.5, 是主要的急性时相反应蛋白。 (3) $\alpha_1$ -脂蛋白, 相对分子质量  $200 \times 10^3$ , 在肝功能严重障碍时明显降低。 (4) 甲胎蛋白, 原发性肝癌特异性蛋白。 $\alpha_2$  区带球蛋白组分: (1) 结合珠蛋白, 在血浆中与游离的血红蛋白结合, 是一种急性时相反应蛋白, 相对分子质量为  $85 \sim 400 \times 10^3$ , 等电点 4.1。 (2) $\alpha_2$ -巨球蛋白, 是血浆中相对分子质量最大的蛋白质, 由肝细胞与单核巨噬细胞系统合成, 相对分子质量为  $625 \sim 800 \times 10^3$ , 等电点 5.4。 (3) 铜蓝蛋白: 是一种含铜的  $\alpha_2$  糖蛋白, 相对分子质量为  $120 \sim 160 \times 10^3$ , 等电点 4.4, 也属于一种急性时相反应蛋白。 $\beta$  区带蛋白组分: (1) 转铁蛋白是血清中主要的含铁蛋白质, 相对分子质量为  $77 \times 10^3$ , 等电点 5.7。 (2) 血红素结合蛋白: 相对分子质量为  $57 \times 10^3$ , 和游离血红素有特异结合能力, 是机体保存铁元素的一种方式。 (3) $\beta$ -脂蛋白: 相对分子质量为  $3000 \times 10^3$ , 由肝细胞合成, 主要功能是运输脂类。 (4) C3, C4: 补体成分, 属急性时相反应蛋白, 肝脏疾病时由于肝细胞损害导致合成减少。 (5) $\beta_2$ -微球蛋白, 相对分子质量为  $11.8 \times 10^3$ , 炎症及肿瘤时, 浓度可升高。

临床研究<sup>[1-3]</sup>证实, 肝移植后出现排异等急性并发症时机体可观察到基因和蛋白水平的表达变化。由上所述,  $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$ 、 $\beta$  区带蛋白组分主要是肝脏合成的时相反应蛋白, 所以肝移植患者血清蛋白电泳  $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$ 、 $\beta$  区的低相说明肝脏合成功能的衰竭, 如移植后出现异常高相, 则可提示急性排异反应或术后并发症的出现。本文研究结果显示, 虽然表 2 中移植后  $\alpha$ 、 $\beta$  区带各组分含量异常例数较移植前均有所变化, 但由表 1 可见,  $\alpha$ 、 $\beta$  区带各蛋白组分含量移植前后差异均无统计学意义, 根据区带组分蛋白的主要临床意义分析可排除急性并发症的存在。

**3.3  $\gamma$  区蛋白组分的量、图谱形态变化分析**  $\gamma$  区带球蛋白组分: (1) IgG, 抗体组分之一, 相对分子质量  $160 \times 10^3$ , 等电点 6.0~7.3。肝硬化时 IgG 弥散性增高。 (2) IgA, 抗体组分之一, 相对分子质量  $170 \times 10^3$ ,

肝硬化时 IgA 明显升高。 (3) IgM, 抗体组分之一, 相对分子质量  $900 \times 10^3$ , 肝病初期 IgM 可增加。 (4) C-反应蛋白: 相对分子质量  $120 \times 10^3$ , 等电点 6.2, 是急性时相的敏感指标。

$\gamma$  区的主要蛋白组分为经肝脏分解代谢的免疫球蛋白, 当肝功能严重衰竭如肝硬化晚期时可出现  $\beta$ - $\gamma$  桥。本文研究结果显示, 移植前  $\gamma$  区蛋白组分含量明显高于移植后, 且差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 并且有 9 例出现  $\beta$ - $\gamma$  桥, 移植后消失, 提示移植后肝功能恢复良好。但是有 2 例移植后在均匀的  $\gamma$  区带出现寡克隆蛋白带, 可提示患者在移植后出现淋巴系统的异常增生。移植后淋巴细胞增生性疾病是实体器官移植后一种少见的致命性并发症。20 世纪 90 年代国外首先报道, 随着移植人数的增加病例逐年增多, 临床表现为非特异性, 其发病机制与免疫抑制剂的使用、病毒感染有关, 早期诊断及治疗有可能改善预后<sup>[3-6]</sup>。本文研究中出现的 2 例移植后寡克隆带患者, 需进一步检查并加强血清蛋白电泳的监测, 以明确诊断。

综上所述, 分析肝脏移植患者移植前后血清蛋白电泳各组分变化具有监测移植肝脏合成功能恢复及是否出现移植后并发症的价值。

#### 4 参考文献

- 1 Berg T, Wu T, Levay-Young B, et al. Comparison of tolerated and rejected islet grafts: a gene expression study. *Cell Transplant*, 2004, 13: 619-629.
- 2 李明主, 陈明良, 王金波, 等. 肝移植术后急性排异反应的早期诊断和治疗体会. *肝胆胰外科杂志*, 2009, 21: 59-61.
- 3 Pan TL, Wang PW, Chen ST, et al. Prospective highlights of serum glycoproteins in spontaneous tolerance after orthotopic liver transplantation. *Clin Chim Acta*, 2011, 412: 604-613.
- 4 黄磊, 栗光明, 巴桑顿珠, 等. 肝移植术后并发移植后淋巴增生性疾病. *中华消化外科杂志*, 2011, 10: 477-478.
- 5 李彦, 梁艳, 刘煜, 等. 肝移植前后人血清中蛋白质双向电泳图谱比较. *武警医学*, 2013, 12: 1066-1070.
- 6 李彦, 王鸿丽, 赵永强, 等. 肝移植并 FK350 联合用药后人血清蛋白组分的二维凝胶电泳分析. *武警医学*, 2014, 25: 672-677.

(收稿日期: 2015-04-17)

(本文编辑: 陈淑莲)