# 血清趋化素 Chemerin 及相关炎性细胞因子在非酒精性脂肪性肝病中的作用

吴明奇　杨晴柔　徐素美　陈芝芸

**摘　要　目的**　观察非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)患者血清趋化素 Chemerin 及相关炎性细胞因子 CCL2、TNF－α 的变化，探讨其在 NAFLD 发病中的作用。**方法**　收集 2018 年 4～6 月在浙江中医药大学附属第一医院下沙院区接受体检，符合 NAFLD 临床诊断标准以及本研究纳入、排除标准的 110 例 NAFLD 患者，同时收集同期健康体检人群 50 例为对照组。采用液相芯片技术检测血清趋化素 Chemerin、CCL2、TNF－α 水平，分析血清趋化素 Chemerin 与 BMI、血压、血糖、血脂和肝功能酶学等之间的关系。**结果**　NAFLD 组患者 BMI、血糖、血压、TG、TC、LDL－C、ALT、AST、GGT、血清趋化素 Chemerin、CCL2、TNF－α 水平明显高于对照组($P<0.01$)，HDL－C 水平显著低于对照组($P<0.01$)。血清趋化素 Chemerin 与炎性细胞因子 CCL2($R=0.490$，$P<0.01$)、TNF－α($R=0.308$，$P<0.01$)呈正相关。血清趋化素 Chemerin 与肝功能指标 ALT($R=0.275$，$P<0.01$)、AST($R=0.233$，$P<0.01$)、GGT($R=0.359$，$P<0.01$)呈正相关。血清趋化素 Chemerin 与 MS 相关标志物 BMI($R=0.269$，$P<0.01$)、TG($R=0.318$，$P<0.01$)、SBP($R=0.310$，$P<0.01$)、DBP($R=0.282$，$P<0.01$)、血糖($R=0.242$，$P<0.05$)呈正相关，与 HDL－C($R=-0.335$，$P<0.01$)呈负相关。**结论**　血清趋化素 Chemerin 可能参与了 NAFLD 的炎性反应，与 MS 存在相关性。

**关键词**　非酒精性脂肪性肝病　血清趋化素　单核细胞趋化蛋白－1　肿瘤坏死因子α　炎症

**中图分类号**　R575　　**文献标识码**　A　　**DOI**　10.11969/j.issn.1673-548X.2021.12.014

**Role of Serum Chemerin and Related Inflammatory Factors in Non－alcoholic Fatty Liver Disease.**　*Wu Mingqi, Yang Qingrou, Xu Sumei, et al. Shaoxing Seventh People's Hospital, General Internal Medicine, Zhejiang 31200, China*

**Abstract　Objective**　To observe the changes of chemokine Chemerin and related inflammatory factors CCL2 and tnf－alpha in serum of patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) in order to explore their roles in the pathogenesis of NAFLD. **Methods** From April to June 2018, a total of 110 patients received physical examination and met the clinical diagnostic criteria for NAFLD as well as the inclusion and exclusion criteria in The First Affiliated Hospital of Zhejiang Traditional Chinese Medicine University Builted in Xiasha were collected in this study. At the same time, 50 healthy subjects were collected as the control group. The levels of serum chemokines Chemerin, CCL2 and tnf－alpha were detected by liquid－phase chip technology, and the relationship between Chemerin and BMI, blood pressure, blood glucose, blood lipids and liver function enzymes was analyzed. **Results**　The levels of BMI, blood glucose, blood pressure, TG, TC, LDL－C, ALT, AST, GGT, Chemerin, CCL2 and TNF－ALPha in NAFLD group were significantly higher than those in control group($P<0.01$). The level of HDL－C in NAFLD group was significantly lower than that in control group($P<0.01$). Serum Chemerin was positively correlated with inflammatory factors CCL2($R=0.490$, $P<0.01$) and TNF－α($R=0.308$, $P<0.01$). Serum Chemerin was positively correlated with ALT($R=0.275$, $P<0.01$), AST($R=0.233$, $P<0.01$) and GGT($R=0.359$, $P<0.01$). Serum Chemerin was positively correlated with BMI($R=0.269$, $P<0.01$), TG($R=0.318$, $P<0.01$), SBP($R=0.310$, $P<0.01$), DBP($R=0.282$, $P<0.01$), blood glucose($R=0.242$, $P<0.05$), and negatively correlated with HDL－C($R=-0.335$, $P<0.01$). **Conclusion** Serum Chemerin may be involved in the inflammatory response of NAFLD, which is correlated with metabolic syndrome.

**Key words**　NAFLD; Serum chemokines; MCP－1; TNF－α; Inflammation

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种与肥胖及胰岛素抵抗相关的代谢性慢性肝脏损伤疾病。目前，NAFLD 在全球各地的平均发生率约为 24%[1]。其中，20%～30% NAFLD 患者会进展成非酒精性脂肪性肝炎(NASH)，严重者可导致进行性肝纤维化和肝硬化甚至肝细胞癌[2]。趋化素 Chemerin 是新发现的一个脂肪细胞因

基金项目：国家自然科学基金资助项目(面上项目)(81573761)

作者单位：312000　绍兴市第七人民医院老年二科、浙江中医药大学附属第一医院(吴明奇)；312000　绍兴市第七人民医院神经内科(杨晴柔)；310006　杭州，浙江中医药大学附属第一医院全科(徐素美)，第二中心实验室(陈芝芸)

通讯作者：陈芝芸，研究员，博士生导师，电子信箱：zhiych123@163.com

子,有调节脂质代谢功能,并可通过刺激巨噬细胞上调 CCL2、TNF - α 等炎性介质的表达,诱发或加剧肝内的炎性反应[3,4]。本研究观察 NAFLD 患者血清趋化素 Chemerin、CCL2、TNF - α 水平变化,并分析其与肝细胞损伤、糖脂代谢等的关系,探讨血清趋化素 Chemerin 及其相关炎性细胞因子在 NAFLD 发生、发展中的作用和意义。

## 对象与方法

1. 研究对象:收集 2018 年 4 ~ 6 月浙江中医药大学附属第一医院下沙院区体检中心受检并诊断为脂肪肝,且符合诊断标准、纳入标准及排除标准的患者 110 例,患者平均年龄为 42.8 ± 9.0 岁,对入选患者进行流行病学问卷调查。同期纳入 50 例体检指标无异常,且除外相关肝病、可导致脂肪肝的相关疾病,以及各种严重慢性疾病的体检人群作为对照组,平均年龄为 42.4 ± 9.1 岁。NAFLD 组纳入标准:①年龄:18 ~ 65 周岁;②符合 NAFLD 诊断标准,即参考中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组编写的《中国非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(2010 年修订版)》[5]。对照组纳入标准:①年龄:18 ~ 65 周岁;②同一批体检人群中,明确排除 NAFLD 的健康体检者,且不饮酒者(无饮酒史或饮酒折合乙醇量男性 < 140 克/周,女性 < 70 克/周)。排除标准:①无病毒性肝炎、药物性肝炎等肝病;②自身免疫性疾病、胃肠外营养疾病、甲状腺功能减退等可导致脂肪肝的疾病;③心功能不全、肾功能不全、免疫缺陷性等各种严重慢性疾病;④不配合调查或资料不全者。研究方案经浙江中医药大学附属第一医院医学伦理学委员会审批并备案。

2. 主要试剂:Human Premixed Multi - Analyte (Chemerin、CCL2、TNF - α) Kit,购自美国 Bio - Techne 公司(目录号 LXSAHM - 07);葡萄糖检测试剂盒(产品号 05168791190)、天冬氨酸氨基转移酶检测试剂盒(ALT)(产品号 05850819190)、丙氨酸氨基转移酶(AST)检测试剂盒(产品号 05850797190)、谷氨酰转肽酶(GGT)检测试剂盒(产品号 37435801)、甘油三酯(TG)检测试剂盒(产品号 35652201)、总胆固醇(TC)检测试剂盒(产品号 37225401)购自罗氏诊断产品有限公司;高密度脂蛋白胆固醇(HDL - C)检测试剂盒(产品号 92649105)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL - C)检测试剂盒(产品号 92650120)购自中生北控生物有限公司。

3. 主要仪器:Bio - Plex 200 液相悬浮芯片系统为美国 Bio - Rad 公司产品;DX800 型全自动血细胞分析仪型号为美国贝克曼公司产品;罗氏 cobas8000 全自动生化仪为瑞士罗氏诊断公司产品;LOGIG 500 型超声诊断仪为美国 GE 公司产品。

4. 研究方法:形体学参数检测:受检者脱鞋帽、穿单衣,由专人使用同一工具采用标准方法测量其体重、身高,分别精确到 0.1kg 和 0.1cm,并计算体重指数(BMI) = 体重(kg)/身高$^2$($m^2$)。血压测定:使用启达 QD - YTJ - A 血压监测工作站测定血压,以坐立位休息 5min 以上,测定收缩压(systolic blood pressure,SBP)和舒张压(diastolic blood pressure,DBP)。肝脏 B 超检测:采用 LOGIG 500 型超声诊断仪[探头频率(3.5 ~ 5.0)MHz]行肝脏 B 超检查。生化指标检测:受检者在禁食 8 ~ 12h 后,次日晨采集空腹静脉血,采用全自动生化仪检测血糖、血脂(TC、TG、HDL - C、LDL - C)和肝功能(ALT、AST、GGT)。采用 Luminex 液相芯片法 Bio - Plex 200 system 高通量分析平台(Bio - Rad 公司)检测血清中 Chemerin、CCL2、TNF - α 水平,操作步骤严格按照试剂盒提供的说明书进行规范化、标准化操作,通过配套的 Bio - Plex Manager 软件包进行数据测定及分析,根据试剂盒提供的标准品做标准曲线(图 1 ~ 图 3),根据标准曲线得出最终数值,保证结果的可靠性、准确性。

5. 统计学方法:采用 SPSS 22.0 统计学软件对所有实验数据进行统计分析,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,正态分布采用 $t$ 检验,非正态分布采用用非参数检验;计数资料通过 $\chi^2$ 检验,变量相关分析,用 *Spearman* 相关分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 结 果

1. NAFLD 患者性别、BMI、血压、血糖、血脂、肝功能变化的变化:NAFLD 组男性患者占较高比例,与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$);NAFLD 组 BMI、血糖、血压(收缩压及舒张压)、TG、TC、LDL - C、ALT、AST、GGT、水平显著高于对照组($P < 0.01$),HDL - C 水平则显著低于对照组($P < 0.01$),详见表 1。

2. NAFLD 患者血清趋化素 Chemerin、CCL2、TNF - α 水平的变化:NAFLD 组血清趋化素 Chemerin、CCL2、TNF - α 水平均显著高于对照组($P < 0.01$),详见表 2。

**表 1　NAFLD 患者性别、BMI、血压、血糖、血脂、肝功能变化（$\bar{x} \pm s$）**

| 项目 | 对照组（$n=50$） | NAFLD 组（$n=110$） |
|---|---|---|
| 年龄（岁） | 42.4 ± 9.1 | 42.8 ± 9.0 |
| 男性/女性 | 20/30 | 97/13 * |
| BMI（kg/m$^2$） | 22.25 ± 2.53 | 26.89 ± 2.87 * |
| 血糖（mmol/L） | 5.26 ± 0.51 | 5.99 ± 1.68 * |
| 收缩压（mmHg$^{\Delta}$） | 117.0 ± 12.8 | 123.7 ± 13.4 * |
| 舒张压（mmHg） | 71.3 ± 9.0 | 77.1 ± 10.8 * |
| TG（mmol/L） | 1.07 ± 0.56 | 2.28 ± 1.56 * |
| TC（mmol/L） | 4.32 ± 0.66 | 4.91 ± 0.98 * |
| HDL - C（mmol/L） | 1.45 ± 0.31 | 1.11 ± 0.25 * |
| LDL - C（mmol/L） | 2.16 ± 0.48 | 2.60 ± 0.73 * |
| ALT（U/L） | 16.6 ± 7.9 | 36.0 ± 34.3 * |
| AST（U/L） | 17.1 ± 5.5 | 23.7 ± 13.0 * |
| GGT（U/L） | 17.7 ± 10.9 | 36.0 ± 25.6 * |

与对照组比较，* $P<0.01$；$^{\Delta}$1mmHg = 0.133kPa

**表 2　NAFLD 患者 Chemerin、CCL2、TNF - α 的变化（$\bar{x} \pm s$，pg/ml）**

| 组别 | $n$ | Chemerin | CCL2 | TNF - α |
|---|---|---|---|---|
| 对照组 | 50 | 541.9 ± 381.2 | 222.1 ± 67.0 | 1.54 ± 1.24 |
| NAFLD 组 | 110 | 1140.2 ± 819.3 ** | 289.9 ± 68.9 * | 5.27 ± 7.01 * |

与对照组比较，* $P<0.01$

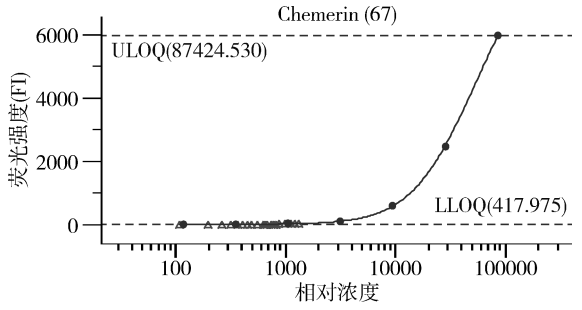


**图 1　Chemerin 标准曲线**

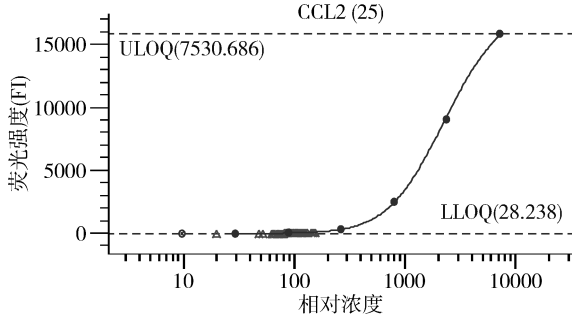


**图 2　CCL2 标准曲线**

## 讨　　论

液相芯片是一种非常灵活的多功能技术平台，可进行蛋白、核酸等生物大分子检测及酶学分析、受体和配体识别分析等研究，被喻为后基因组时代的芯片技术。与传统的 ELISA 法比较，具有快速、经济、高效的特点，对于以人群为目标临床大样本取样的研究，更是具有节省样体量的优势。本研究所使用的 Bio - Plex Pro 200 系统整合了双激光、激流系统和实时数据处理系统，特有的系统校正和校验工具，以进行内部质控，确保实验数据的精确性。

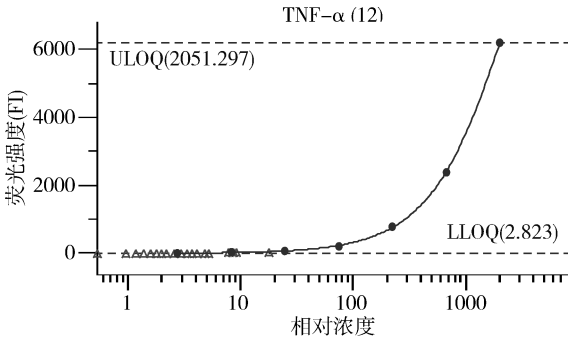


**图 3　TNF - α 标准曲线**

本组研究对象为浙江中医药大学附属第一医院体检人群，职业以公务员、企事业单位人员为主，研究结果提示，NAFLD 组男女性别之比为 97∶13，男性占比 88.2%，明显高于女性，性别之间发生率的差异可能与男性、女性之间体内不同的激素调控相关[6]。

根据世界卫生组织全球卫生观察站 2014 年的数据表明，NAFLD 发生率与肥胖指数密切相关[7]。本组资料也发现，NAFLD 组较对照人群有更高的 BMI 指数。本研究 NAFLD 组较对照人群有更高的空腹血糖、TG、TC 及 LDL - C 水平，而 HDL - C 较对照人群明显下降，提示 NAFLD 患者存在机体糖、脂代谢功能异常；同时，NAFLD 组较对照组有更高的血压水平；这些结果也进一步表明 NAFLD 与代谢综合征关系密切，是代谢综合征在肝脏的表现[8]。

Chemerin 主要由白色脂肪组织释放，在肝脏和肺中高度表达；通过刺激、诱导脂肪细胞和血管内皮细胞的增值、分化，以影响体内脂肪组织代谢平衡[9]。本研究发现 NAFLD 组较对照组血清趋化素 Chemerin 水平明显增高。Kajor 等[10]研究发现，与体重指数 ≤ 40kg/m$^2$ 的患者比较，体重指数 > 40kg/m$^2$ 的患者血清趋化素 Chemerin 水平明显升高，说明血清趋化素 Chemerin 与肥胖关系密切。由于本组 NAFLD 患者中，BMI 均 ≤ 40kg/m$^2$（最高为 35.22kg/m$^2$），为了评估 BMI 与血清趋化素 Chemerin 相关性，本研究根据中国肥胖问题工作组建议，将 BMI 值分为 3 组，即 18.5 ~ 23.9kg/m$^2$ 为正常组，24 ~ 27.9kg/m$^2$ 为超重

组，≥ 28kg/m$^2$ 为肥胖组，结果提示血清趋化素 Chemerin 水平随 BMI 值的增高而增高（正常组为 615.3 ± 420.6pg/ml；超重组为 1014.6 ± 825.9pg/ml；肥胖组为 1284.9 ± 838.3pg/ml），且正常组明显低于超重组和肥胖组，差异有统计学意义（$P < 0.01$），但超重组（$n = 65$）与肥胖组（$n = 42$）之间比较，差异无统计学意义[11]。本研究发现，MS 相关标志物 BMI（$R = 0.269$，$P < 0.01$）、TG（$R = 0.318$，$P < 0.01$）、SBP（$R = 0.310$，$P < 0.01$）、DBP（$R = 0.282$，$P < 0.01$）、血糖（$R = 0.242$，$P < 0.05$）与血清趋化素 Chemerin 呈正相关，HDL－C（$R = -0.335$，$P < 0.01$）与血清趋化素 Chemerin 呈负相关，说明 MS 与血清趋化素 Chemerin 可能存在相关性。Kim 等[12]研究发现通过改变饮食或加强锻炼可降低体重超重者、肥胖 2 型糖尿病患者血清趋化素 Chemerin 水平，也支持 MS 与血清趋化素 Chemerin 可能存在相关性这一观点。

CC 趋化因子 2（C－C motif chemokineligand 2，CCL2）又称单核细胞趋化蛋白－1（monocyte chemoattractant protein－1，MCP－1）是与 CC 趋化因子 2 受体（C－C motif chemokineligand receptor2，CCR2）的主要配体，两者高亲和力的结合、活化后，能诱导肝内发生免疫和炎性反应[13]。动物实验证明，肠源性脂多糖和游离脂肪酸通过激活巨噬细胞表面的 TLR－4，激活巨噬细胞的促炎程序，诱导巨噬细胞分泌 CCL2、TNF－α 等细胞因子[14]。趋化素 Chemerin 与其趋化因子样受体 1（CMLKR－1）的结合促进巨噬细胞和自然杀伤细胞向组织损伤部位的活化，参与炎性反应[15]。本实验发现，NAFLD 组较对照组有更高的 CCL2、TNF－α 水平，同时发现血清趋化素 Chemerin 与 CCL2（$R = 0.490$，$P < 0.01$）、TNF－α（$R = 0.308$，$P < 0.01$）均呈正相关。由此，进一步分析了血清趋化素 Chemerin 与肝细胞损伤的相关指标的关系，结果发现，血清趋化素 Chemerin 与 ALT（$R = 0.275$，$P < 0.01$）、AST（$R = 0.233$，$P < 0.01$）、GGT（$R = 0.359$，$P < 0.01$）均呈正相关，表明血清趋化素 Chemerin 可能参与了 NAFLD 的炎性反应。

笔者观察到，血清趋化素 Chemerin、CCL2、TNF－α 等炎性细胞因子水平在不同的 NAFLD 患者中个体差异比较大，分析原因可能与本组资料均为体检患者，未进行单纯性脂肪肝、NASH 的分组分析有关。若需进一步的研究，需要扩大样本量，同时有必要通过超声、磁共振弹性成像等技术进行 NAFLD 严重程度分级，这样可望得出更能反映 NAFLD 炎性细胞因子与肝脏不同程度脂肪变相对比的结果。迄今为止的大多数研究表明，血清趋化素 Chemerin 与 NAFLD 有关联，但血清趋化素 Chemerin 和肝趋化素 Chemerin mRNA 之间尚未发现可靠的相关性，需要在未来的研究中加以关联和扩展。

## 参考文献


1 Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, *et al*. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—Meta－analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes[J]. Hepatology, 2016, 64(1): 73－84

2 Dyson J, Jaques B, Chattopadyhay D, *et al*. Hepatocellular cancer: the impact of obesity, type 2 diabetes and a multidisciplinary team[J]. J Hepatol, 2014, 60(1): 110－117

3 Gisela H, Wu QF. Chemerin: a multifaceted adipokine involved in metabolic disorders[J]. J Endocrinol, 2018, 238(2): R79－R94

4 Vasilenko MA, Kirienkova EV, Skuratovskaia DA, *et al*. Changes of chemerin production in obese patients with different states of carbohydrate metabolism[J]. Biochemistry (Moscow), Supplement Series B: Biomedical Chemistry, 2018, 12(1): 50－58

5 范建高. 中国非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(2010 年修订版)[J]. 中国医学前沿杂志：电子版, 2012, 4(7): 4－10

6 Zhang H, Liu Y, Wang L, *et al*. Differential effects of estrogen/androgen on the prevention of nonalcoholic fatty liver disease in the male rat[J]. J Lipid Res, 2013, 54(2): 345－357

7 Seto WK, Yuen MF. Nonalcoholic fatty liver disease in Asia: emerging perspectives[J]. J Gastroenterol, 2017, 52(2): 164－174

8 Tapper EB, Loomba R. NAFLD, metabolic syndrome, and the fight that will define clinical practice for a generation of hepatologists[J]. Hepatology, 2017, 67(5): 1657－1659

9 Buechler C, Feder S, Haberl E, *et al*. Chemerin isoforms and activity in obesity[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(5): 1128

10 Kajor M, Kukla M, Waluga M, *et al*. Hepatic chemerin mRNA in morbidly obese patients with nonalcoholic fatty liver disease[J]. Polish Jo Pathol, 2017, 68(2): 117

11 中国肥胖问题工作组. 中国成人超重与肥胖症预防与控制指南(节录)[J]. 营养学报, 2004, 26(1): 1－4

12 Kim SH, Lee SH, Ahn KY, *et al*. Effect of lifestyle modification on serum chemerin concentration and its association with insulin sensitivity in overweight and obese adults with type 2 diabetes[J]. Clin Endocrinol, 2014, 80(6): 825－833

13 王昭月，卞兆连，方一，等. CCR2 在非酒精性脂肪性肝炎中的表达及意义[J]. 肝脏, 2015, 5: 376－380

14 Bian Z, Peng Y, You Z, *et al*. CCN1 expression in hepatocytes contributes to macrophage infiltration in nonalcoholic fatty liver disease in mice[J]. Jo Lipid Res, 2013, 54(1): 44－54

15 Chrysoula B, Nikolaos P, Socrates MC. Association of adipokines with development and progression of nonalcoholic fatty liver disease[J]. Endocrinol Metab, 2018, 33(1): 33－43


（收稿日期：2021－06－15）
（修回日期：2021－07－07）