

# 肝硬化患者Ghrelin、生长激素释放素的变化及其临床意义

王淑珍, 尚宏伟, 王兴翠, 李冰, 张斌, 丁惠国

## ■背景资料

正常情况下, 机体生长激素分泌受Ghrelin、生长激素释放素及生长抑素的调节。肝硬化患者外周血生长激素水平增高, 表现为生长激素抵抗, 其原因和机制仍未完全阐明。

王淑珍, 李冰, 张斌, 丁惠国, 首都医科大学附属北京佑安医院肝病消化科 北京市 100069

尚宏伟, 王兴翠, 首都医科大学基础医学院 北京市 100069  
作者贡献分布: 王淑珍负责论文撰写, ELISA测定及统计学分析; 尚宏伟与王兴翠负责免疫组织化学染色; 李冰与张斌负责内镜检查及组织活检, 丁惠国为课题负责人, 设计与论文修改。

通讯作者: 丁惠国, 100069, 北京市, 首都医科大学附属北京佑安医院肝病消化科. dinghuiguo@medmail.com.cn

电话: 010-83997155 传真: 010-63295525

收稿日期: 2008-07-14 修回日期: 2008-09-03

接受日期: 2008-09-08 在线出版日期: 2008-10-08

## Levels of ghrelin, GH, GRH and their clinical significances in patients with hepatitis B related liver cirrhosis

Shu-Zhen Wang, Hong-Wei Shang, Xing-Cui Wang, Bing Li, Bin Zhang, Hui-Guo Ding

Shu-Zhen Wang, Bing Li, Bin Zhang, Hui-Guo Ding, Department of Gastroenterology and Hepatology, Beijing You'an Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100069, China

Hong-Wei Shang, Xing-Cui Wang, Basic Science College of Capital Medical University, Beijing 100069, China

Correspondence to: Hui-Guo Ding, Department of Gastroenterology and Hepatology, Beijing You'an Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100069, China. dinghuiguo@medmail.com.cn

Received: 2008-07-14 Revised: 2008-09-03

Accepted: 2008-09-08 Published online: 2008-10-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the relationship between serum growth hormone (GH) and ghrelin, growth releasing hormone (GRH) and its clinical significance, and to study the expression of gastric ghrelin in patients with hepatitis B-related liver cirrhosis.

**METHODS:** Fifty-two patients with hepatitis B-related liver cirrhosis (LC) and 17 chronic HBV-infected patients as controls were enrolled in this study. The gender and average age were comparable between LC and control patients. Fasting plasma ghrelin levels, GRH and GH were measured using ELISA. The gastric expression of ghrelin was determined using immunohistochemistry staining.

**RESULTS:** Plasma ghrelin levels were slightly but not significantly decreased in hepatitis B re-

lated LC patients when compared with controls. The Plasma ghrelin levels in Child C patients were significantly decreased compared with Child A patients ( $0.75 \pm 0.479$  ng/L vs  $1.38 \pm 1.064$  ng/L,  $P < 0.05$ ). The Plasma ghrelin levels showed negative but not significant correlation to plasma GH levels, and positive correlations to serum GRH ( $r = 0.868$ ,  $P < 0.001$ ), blood urea nitrogen, albumin and hemoglobin ( $r = 0.357$ ,  $0.377$ ,  $0.367$ , all  $P < 0.05$ ) in hepatitis B related LC patients.

**CONCLUSION:** The increased serum growth hormone levels in hepatitis B-related liver cirrhosis patients may be related to the increased GRH. These data suggest that fasting plasma ghrelin levels may be a useful indicator reflecting malnutrition in liver cirrhosis patients.

**Key Words:** Ghrelin; Growth hormone; Growth hormone releasing hormone; Liver cirrhosis

Wang SZ, Shang HW, Wang XC, Li B, Zhang B, Ding HG. Levels of ghrelin, GH, GRH and their clinical significances in patients with hepatitis B related liver cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(28): 3230-3233

## 摘要

**目的:** 研究乙型肝炎肝硬化患者血浆Ghrelin、GRH与GH关系, 观察肝硬化患者胃黏膜Ghrelin表达。

**方法:** 2006-06/2007-02北京佑安医院住院的乙型肝炎肝硬化患者52例, 以17例慢性乙型肝炎患者为对照。ELISA法测定血浆Ghrelin、GRH及GH浓度, 免疫组织化学方法观察胃黏膜组织中Ghrelin的表达。

**结果:** 乙型肝炎肝硬化组血浆Ghrelin水平与慢性乙型肝炎患者比较无明显差异。Child C级患者血浆Ghrelin水平与Child A级比较明显降低( $0.75 \pm 0.479$  ng/L vs  $1.38 \pm 1.064$  ng/L,  $P < 0.05$ )。Child-B级与Child-A级组无明显差异。肝炎肝硬化患者血浆GH水平与Ghrelin呈负相关趋势, 但无统计学意义, 但是与GRH呈正相关( $r = 0.868$ ,  $P < 0.001$ ), Ghrelin与白蛋白、总蛋白、血红蛋白呈明显正相关( $r = 0.357$ ,  $0.377$ ,  $0.367$ ,  $P < 0.05$ )。肝炎肝硬化患者胃黏膜

## ■同行评议者

刘海林, 主任医师, 上海交通大学医学院附属第九人民医院消化科

Ghrelin表达均不同程度阳性。

**结论:** 乙型肝炎肝硬化患者高GH血症与GRH增加有关, 其机制不清楚; 血浆Ghrelin水平可反映肝硬化患者营养不良状态。

**关键词:** Ghrelin; 生长激素; 生长激素释放素; 肝硬化

王淑珍, 尚宏伟, 王兴翠, 李冰, 张斌, 丁惠国. 肝硬化患者Ghrelin、生长激素释放素的变化及其临床意义. 世界华人消化杂志 2008; 16(28): 3230-3233  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/3230.asp>

## 0 引言

肝硬化患者外周血生长激素(growth hormone, GH)水平增高及低蛋白血症, 表现为生长激素抵抗, 其病理生理机制仍未完全阐明<sup>[1-3]</sup>. Ghrelin是1999年日本科学家Kojima *et al*在小鼠胃及下丘脑发现的由28个氨基酸组成的一种新的脑肠肽, 能促进GH的释放<sup>[4-5]</sup>. 因此我们推测, 肝硬化患者外周血GH水平增高可能受Ghrelin和生长激素释放激素(growth hormone releasing hormone, GRH)的双重调节. 本文研究乙型肝炎肝硬化患者血浆Ghrelin、GRH与GH关系, 并观察肝硬化患者胃黏膜Ghrelin表达, 拟阐明Ghrelin在肝硬化患者外周血高生长激素水平及营养不良发生机制中的作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2006-06/2007-02北京佑安医院住院的乙型肝炎肝硬化患者52例, 男45例, 女7例, 平均年龄43岁(28-48岁). 根据Child Pugh分级分为3组: A级10例, B级21例, C级21例. 以17例慢性乙型肝炎患者为对照, 男14例, 女3例, 平均年龄38岁. 各组间年龄、性别具有可比性. 乙型肝炎肝硬化及慢性乙型肝炎的诊断符合《2005年慢性乙型肝炎防治指南》<sup>[6]</sup>. 所有患者均在晨起空腹采血5 mL, 1500 r/min×6 min, 分离血浆, -20℃保存. 患者知情同意后, 常规电子胃镜(Olympus-240, 日本)检查, 于胃体窦交界处取胃黏膜组织3块, 用40 g/L多聚甲醛液固定备用。

### 1.2 方法

**1.2.1 血浆Ghrelin、GH及GRH的测定:** 采用ELISA方法测定. 商品化的试剂盒-Ghrelin(美国Phoenix公司)、GH及GRH(美国DSL公司), 按说明书操作。

**1.2.2 胃黏膜Ghrelin免疫组织化学染色:** 胃黏膜组织40 g/L多聚甲醛固定, 常规酒精梯度脱水、石蜡包埋, 组织切片进行常规病理检查及S-P免

疫组织化学染色. 切片经脱蜡、抗原修复、封闭内源性过氧化物酶后, 加羊抗人Ghrelin多克隆抗体(1:100, 美国Phoenix公司)过夜, 滴加二抗(SP-9003试剂盒: 北京中杉金桥生物技术公司), 按说明书操作, 由病理科专家单盲判断结果。

**1.2.3 血清HBV-M及肝脏生化指标测定:** E170电化学发光仪(Roche)电化学发光法测定HBV-M, 试剂购自Roche公司; Olympus-AU640全自动生化分析仪常规测定ALT、AST、白蛋白、胆固醇及胆红素。

**统计学处理** 应用SPSS11.5统计软件进行统计分析, 计量数据用mean±SD表示, 两组间比较应用*t*检验, 多组间比较采用单因素方差分析; 相关性分析采用Linear Regression方法;  $P<0.05$ 认为有显著性差异。

## 2 结果

乙型肝炎肝硬化组血浆Ghrelin水平与慢性乙型肝炎患者比较无明显差异, Ghrelin随肝硬化Child分级增加而呈下降趋势; Child C级患者血浆Ghrelin水平与Child A级比较明显降低. Child B级与Child A级组无明显差异( $P>0.05$ , 表1). 肝炎肝硬化患者血浆GH水平与Ghrelin呈负相关趋势, 但无统计学意义( $r = -0.100$ ,  $P = 0.478$ ), 但是与GRH呈正相关( $r = 0.868$ ,  $P<0.001$ , 图1). 外周血Ghrelin水平与血清白蛋白、总蛋白、血红蛋白呈明显正相关,  $r$ 值分别为0.357, 0.377, 0.367,  $P<0.05$ , 与其他血清生化指标无明显相关性(表2)。

胃黏膜组织免疫组化显示Ghrelin表达阳性细胞散在于黏膜固有层内, 腺体内可见紫红褐色阳性染色物质, 细胞呈类圆形, 细胞较壁细胞及杯状细胞小(图2). 初步发现, 乙型肝炎肝硬化患者胃黏膜Ghrelin表达均不同程度阳性, 与慢性乙型肝炎患者胃黏膜Ghrelin表达无明显差异; 也未发现胃黏膜Ghrelin表达强度与Child分级、血浆Ghrelin水平的相关性。

## 3 讨论

Ghrelin是1999年日本科学家Kojima *et al*在小鼠胃内分泌细胞及下丘脑弓状核中发现的由28个氨基酸组成的多肽, 是迄今发现的唯一生长激素分泌促进激素受体(growth hormone secretagogue receptor, GHSR)的天然配体<sup>[4]</sup>. Ghrelin作为一种在人体内新发现的脑肠肽, 其病理生理意义目前尚不完全清楚. 目前研究发现, Ghrelin在促进GH的分泌、增加食欲、抗肝纤维化及调节能量、

### ■研发前沿

Ghrelin是新发现的脑肠肽, 在促进GH的分泌、增加食欲、抗肝纤维化、调节能量及葡萄糖代谢中具有重要作用. Ghrelin在肝炎肝硬化患者血清高生长激素水平、能量及营养不良的发生中是否也具有重要的作用呢? 与胃黏膜Ghrelin表达关系值得进一步研究。

### ■相关报道

近年来国外有几篇文献报道, 肝硬化患者血浆Ghrelin升高, 并与Leptin呈负相关, 与血浆尿素氮、肌酐、白细胞、C反应蛋白呈正相关. Ghrelin与糖氧化率呈负相关, 与脂肪氧化率呈正相关, 与非蛋白呼吸商呈负相关. 影响Ghrelin分泌因素复杂。

## ■应用要点

Ghrelin、生长激素在改善肝硬化患者营养不良中具有重要的价值,值得进一步研究。

表 1 乙型肝炎肝硬化及慢性乙型肝炎患者血浆Ghrelin、GH及GRH测定结果

分组	n	Ghrelin(ng/L)	GH( $\mu$ g/L)	GRH(ng/L)
乙型肝炎	52	1.02 $\pm$ 0.708	4.57 $\pm$ 5.31 <sup>b</sup>	65.49 $\pm$ 55.35 <sup>b</sup>
肝硬化				
Child A	11	1.38 $\pm$ 1.064	1.44 $\pm$ 1.49	31.64 $\pm$ 17.80
Child B	21	1.06 $\pm$ 0.602	5.25 $\pm$ 6.98	66.74 $\pm$ 62.40
Child C	20	0.75 $\pm$ 0.479 <sup>d</sup>	5.37 $\pm$ 4.00 <sup>d</sup>	80.36 $\pm$ 54.38 <sup>d</sup>
慢性乙型肝炎	18	1.42 $\pm$ 1.106	0.64 $\pm$ 0.64	21.08 $\pm$ 36.13

<sup>b</sup> $P < 0.001$  vs 慢性乙型肝炎; <sup>d</sup> $P < 0.001$  vs Child A.

表 2 Ghrelin与肝硬化患者血清生化指标及外周血常规的相关性

	Ghrelin	
	<i>r</i>	<i>P</i>
ALB	0.357	0.009
TP	0.377	0.008
ALT	0.260	0.165
AST	0.266	0.156
HDL	-0.064	0.737
LDL	0.099	0.603
CHO	0.121	0.429
ALP	-0.125	0.415
CHE	-0.229	0.145
TBIL	0.014	0.925
TG	0.136	0.467
Cr	0.023	0.872
BUN	-0.011	0.942
AFP	0.026	0.865
GGT	0.203	0.182
HGB	0.367	0.011
WBC	-0.140	0.338
PLT	0.057	0.699

葡萄糖代谢中具有重要作用<sup>[5,7]</sup>。

影响机体Ghrelin分泌的因素及其机制仍不完全清楚。国外学者研究发现<sup>[8-9]</sup>,肝硬化患者血浆Ghrelin升高,与Child Pugh分级无关;血浆Ghrelin与Leptin呈显著负相关,与血浆尿素氮、肌酐、白细胞、C反应蛋白呈正相关。也有学者发现<sup>[10]</sup>,Ghrelin与糖氧化率呈负相关,与脂肪氧化率呈正相关,与非蛋白呼吸商呈负相关。这些结果提示,炎症反应、肾脏疾病及营养不良等因素影响机体Ghrelin的分泌。本研究发现,肝炎肝硬化患者血浆Ghrelin水平与白蛋白、总蛋白、血红蛋白呈明显正相关,提示外周血Ghrelin可反映肝硬化患者营养不良状态,与能量及物质代谢的关系仍需要进一步研究。本研究还发现,肝

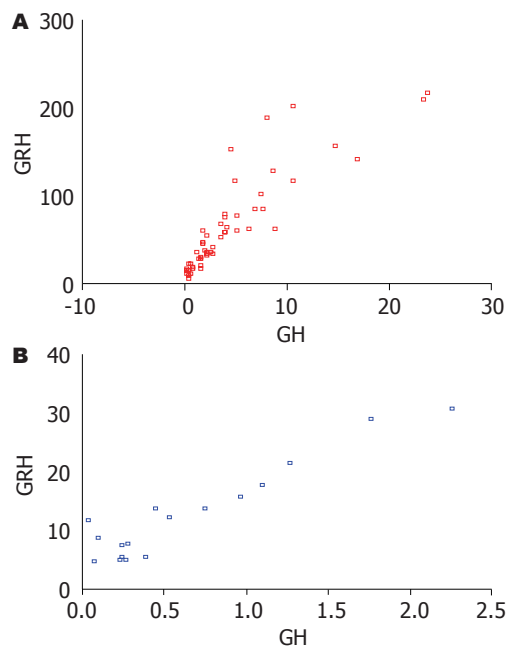


图 1 患者GH与GRH关系散点图. A: 乙型肝炎肝硬化,  $r = 0.876$ ,  $P < 0.001$ ; B: 慢性乙型肝炎,  $r = 0.337$ ,  $P = 0.186 > 0.05$ .

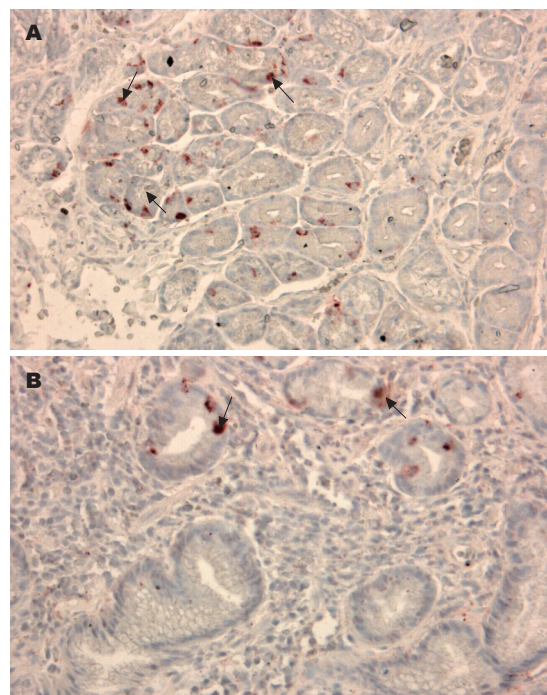


图 2 胃黏膜免疫组化显示. A: 肝硬化患者胃黏膜Ghrelin表达强阳性( $\times 10$ ); B: 慢性乙型肝炎患者胃黏膜Ghrelin表达阳性( $\times 20$ ); 箭头所指的位置。

硬化Child C级患者血浆Ghrelin水平明显较Child A/B级低,提示与肝脏损害程度呈负相关趋势。Tacke *et al*<sup>[11]</sup>发现,肝硬化患者血浆Ghrelin显著增高,随Child-Pugh积分增加,血浆Ghrelin水平显著升高,提示Ghrelin提示与肝脏损害程度呈正相关趋势。而Marchesini *et al*<sup>[12]</sup>研究发现,肝衰竭患者血浆Ghrelin水平与肝脏的严重程度及其并发症并无相关性。本研究结果表明,肝硬化患



者血浆Ghrelin随Child Pugh分级增加, Ghrelin水平呈降低趋势, 这些结果差异的原因可能与研究对象是否存在炎症反应、营养不良的程度等因素有关。

慢性肝脏疾病, 特别是肝炎肝硬化患者存在程度不同的营养不良状态, 其原因及机制十分复杂<sup>[1-3]</sup>, 目前认为, 胰岛素抵抗、外周血高生长激素水平在肝硬化营养不良中具有重要作用<sup>[13]</sup>, 肝硬化患者外周血生长激素水平增高的机制也不十分清楚。那么, Ghrelin在肝炎肝硬化患者血清高生长激素水平中是否也具有重要的作用呢? 生长激素的分泌受生长激素释放激素、生长抑素、Ghrelin等调节, 并且生长激素释放激素和Ghrelin可以协同促进生长激素的分泌, 生长激素也可负反馈抑制Ghrelin的分泌<sup>[3-4]</sup>; 正常生理状态下, 生长激素与生长激素释放素也呈负反馈调节。本研究发现, 肝炎肝硬化患者血浆生长激素与Ghrelin水平呈负相关趋势, 而与生长激素释放激素呈明显正相关。因此我们认为, 生长激素释放激素增加是肝硬化患者血浆生长激素增加的重要因素。肝硬化患者生长激素水平增加可能抑制了促甲状腺素释放激素的作用, 导致肝细胞生长激素受体的表达减少, 使体内生长激素的效应降低, 即生长激素抵抗。因此, 肝硬化患者生长激素-生长激素释放素轴的负反馈作用消失或减弱, 导致肝硬化患者生长激素释放素增加, 抑或是其他机制引起生长激素释放素升高, 从而促进了腺垂体生长激素的分泌, 导致肝硬化患者血浆高生长激素状态。近来有学者研究发现<sup>[14-16]</sup>, 血浆Ghrelin降低与肥胖及超重患者、代谢综合征等患者胰岛素敏感性降低有密切关系。Ghrelin是否对肝硬化患者胰岛素敏感性有相似的影响机制值得进一步研究。

本研究也证明, 肝硬化胃黏膜Ghrelin表达阳性细胞散在于黏膜固有层内, 腺体内可见紫红褐色阳性染色物质, 细胞呈类圆形, 细胞较壁细胞及杯状细胞小。但是, 胃黏膜Ghrelin表达程度与肝硬化Child分级无明显关系, 与肝硬化是否存在胃黏膜病变的关系尚需要进一步研究。

因此, 乙型肝炎肝硬化患者高生长激素血症与生长激素释放素增加有关, 而与Ghrelin无明显关系, 其机制仍不清楚。肝硬化患者血浆Ghrelin可反映其营养不良状态。

#### 4 参考文献

1 Ding HG, Shan J, Zhang B, Ma HB, Zhou L, Jin R, Tan

- YF, He LX. Combined human growth hormone and lactulose for prevention and treatment of multiple organ dysfunction in patients with severe chronic hepatitis B. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 2981-2983
- 2 Conchillo M, Prieto J, Quiroga J. [Insulin-like growth factor I (IGF-I) and liver cirrhosis] *Rev Esp Enferm Dig* 2007; 99: 156-164
- 3 Perez R, Garcia-Fernandez M, Diaz-Sanchez M, Puche JE, Delgado G, Conchillo M, Muntani J, Castilla-Cortazar I. Mitochondrial protection by low doses of insulin-like growth factor- I in experimental cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 2731-2739
- 4 Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656-660
- 5 Takaya K, Ariyasu H, Kanamoto N, Iwakura H, Yoshimoto A, Harada M, Mori K, Komatsu Y, Usui T, Shimatsu A, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T, Kojima M, Kangawa K, Nakao K. Ghrelin strongly stimulates growth hormone release in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 4908-4911
- 6 中华医学会肝病学分会、中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南. *中华传染病杂志* 2005; 23: 421-431
- 7 Iseri SO, Sener G, Saglam B, Ercan F, Gedik N, Yegen BC. Ghrelin alleviates biliary obstruction-induced chronic hepatic injury in rats. *Regul Pept* 2008; 146: 73-79
- 8 Ataseven H, Bahcecioglu IH, Kuzu N, Yalniz M, Celebi S, Erensoy A, Ustundag B. The levels of ghrelin, leptin, TNF-alpha, and IL-6 in liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma due to HBV and HDV infection. *Mediators Inflamm* 2006; 2006: 78380
- 9 Takahashi H, Kato A, Onodera K, Suzuki K. Fasting plasma ghrelin levels reflect malnutrition state in patients with liver cirrhosis. *Hepatol Res* 2006; 34: 117-123
- 10 Kalaitzakis E, Bosaeus I, Ohman L, Bjornsson E. Altered postprandial glucose, insulin, leptin, and ghrelin in liver cirrhosis: correlations with energy intake and resting energy expenditure. *Am J Clin Nutr* 2007; 85: 808-815
- 11 Tacke F, Brabant G, Kruck E, Horn R, Schoffski P, Hecker H, Manns MP, Trautwein C. Ghrelin in chronic liver disease. *J Hepatol* 2003; 38: 447-454
- 12 Marchesini G, Bianchi G, Lucidi P, Villanova N, Zoli M, De Feo P. Plasma ghrelin concentrations, food intake, and anorexia in liver failure. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 2136-2141
- 13 范春蕾, 吴燕京, 丁惠国, 张斌, 董培玲, 周莉, 平春霞, 赵春惠. 慢性重型病毒性肝炎的能量代谢及糖、蛋白质、脂肪氧化. *中国临床营养杂志* 2006; 14: 110-114
- 14 Maffei C, Bonadonna RC, Consolaro A, Vettor R, Banzato C, Silvagni D, Bogoni G, Pellegrino M, Tato L. Ghrelin, insulin sensitivity and postprandial glucose disposal in overweight and obese children. *Eur J Endocrinol* 2006; 154: 61-68
- 15 Barazzoni R, Zanetti M, Ferreira C, Vinci P, Pirulli A, Mucci M, Dore F, Fonda M, Ciocchi B, Cattin L, Guarnieri G. Relationships between desacylated and acylated ghrelin and insulin sensitivity in the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 3935-3940
- 16 Barazzoni R, Zanetti M, Stulle M, Mucci MP, Pirulli A, Dore F, Panzetta G, Vasile A, Biolo G, Guarnieri G. Higher total ghrelin levels are associated with higher insulin-mediated glucose disposal in non-diabetic maintenance hemodialysis patients. *Clin Nutr* 2008; 27: 142-149

#### ■同行评价

本研究设计合理, 结果可信, 具有一定的学术价值。

编辑 李军亮 电编 郭海丽