

## 中脑星形胶质细胞源性神经营养因子蛋白表达水平与乙型肝炎病毒慢性感染后疾病进展的相关性

叶娇娇, 马双双, 郜玉峰, 沈玉君, 沈玉先

### ■背景资料

目前认为, 内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)诱导的凋亡、炎症和上皮细胞间质转化等作为一种刺激因素参与了组织损伤和纤维化的发生发展。众所周知, 适度的ERS为细胞的一种自我保护反应, 过度的ERS则会导致细胞凋亡, 但ERS调控慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染后肝脏疾病进展的研究尚未见报道。

叶娇娇, 马双双, 郜玉峰, 安徽医科大学第二附属医院肝病科 安徽省合肥市 230601

沈玉君, 沈玉先, 安徽医科大学基础医学院 安徽省合肥市 230032

叶娇娇, 硕士, 主要从事病毒性肝炎的基础和临床研究。

安徽省教育厅自然科学基金资助项目, No. KJ2014A107

国家自然科学基金资助项目, No. 81372576

作者贡献分布: 此课题由郜玉峰与沈玉先设计; 研究过程由叶娇娇与马双双共同完成; 研究所用新试剂由沈玉先提供; 数据分析由叶娇娇与沈玉君完成; 论文写作由叶娇娇与马双双共同完成。

通讯作者: 郜玉峰, 副教授, 副主任医师, 230601, 安徽省合肥市经开区芙蓉路678号, 安徽医科大学第二附属医院肝病科。aygyf@126.com

电话: 0551-63869590 传真: 0551-63869589

收稿日期: 2015-05-24 修回日期: 2015-06-16

接受日期: 2015-06-24 在线出版日期: 2015-08-08

### Association between expression level of mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor protein and disease progression in patients with chronic hepatitis B virus infection

Jiao-Jiao Ye, Shuang-Shuang Ma, Yu-Feng Gao, Yu-Jun Shen, Yu-Xian Shen

Jiao-Jiao Ye, Shuang-Shuang Ma, Yu-Feng Gao, Department of Hepatopathy, the Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601, Anhui Province, China

Yu-Jun Shen, Yu-Xian Shen, School of Basic Medical Sciences, Anhui Medical University, Hefei 230032, Anhui Province, China

Supported by: Natural Science Foundation of Anhui Provincial Education Department, No. KJ2014A107; and National Natural Science Foundation of China, No. 81372576

Correspondence to: Yu-Feng Gao, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Hepatopathy, the Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, 678 Furong Road, Jingkai District, Hefei 230601, Anhui Province, China. aygyf@126.com

Received: 2015-05-24 Revised: 2015-06-16

Accepted: 2015-06-24 Published online: 2015-08-08

### Abstract

**AIM:** To investigate the expression level of endoplasmic reticulum stress related mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor (MANF) protein and assess its clinical significance in patients with chronic hepatitis B virus (HBV) infection.

**METHODS:** The expression levels of MANF protein in peripheral blood plasma was measured by ELISA in asymptomatic hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) carriers (ASC), chronic hepatitis B (CHB), compensatory liver cirrhosis (CLC) and decompensated liver cirrhosis (DLC) patients after chronic HBV infection and normal healthy controls (HC). The relationship between MANF protein expression and different stages of chronic HBV infection was analyzed.

**RESULTS:** The expression levels of MANF protein among the HC, ASC, CHB, CLC, and DLC groups had a statistically significant difference ( $F = 7.391$ ,  $P = 0.00$ ). Further data analysis showed that the expression levels of MANF protein in the CLC and DLC groups had a statistically significant difference compared with the HC, ASC and CHB groups, but there was no significant difference between

### ■同行评议者

赵秀英, 副教授, 清华大学北京清华长庚医院检验医学科

the HC, ASC and CHB groups. The expression levels of MANF protein had a statistically significant difference in the three groups of patients stratified by HBsAg level ( $< 1500$  IU/mL,  $1500-20000$  IU/mL and  $> 20000$  IU/mL) ( $F = 9.420$ ,  $P = 0.000$ ). The difference in MANF protein expression levels was statistically significant between patients with different levels of aspartate aminotransferase and total bilirubin, but there was no statistical difference between patients with different levels of alanine aminotransferase, HBV DNA, or between hepatitis B e antigen (HBeAg) positive group and HBeAg-negative group.

**CONCLUSION:** The expression levels of MANF protein are negatively associated with the disease progression in patients with chronic HBV infection.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** MANF; Endoplasmic reticulum stress; Hepatitis B virus; Disease progression

Ye JJ, Ma SS, Gao YF, Shen YJ, Shen YX. Association between expression level of mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor protein and disease progression in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(22): 3532-3537 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3532.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3532>

## 摘要

**目的:** 探索中脑星形胶质细胞源性神经营养因子(mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor, MANF)在乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)慢性感染后不同疾病进展患者外周血中蛋白表达水平的差异及其与临床特征的相关性。

**方法:** 采用酶联免疫吸附方法检测正常健康对照(healthy controls, HC)、乙型肝炎病毒携带者(asymptomatic hepatitis B virus surface antigen carriers, ASC)、慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者、乙型肝炎后肝硬化代偿期(compensatory liver cirrhosis, CLC)患者及乙型肝炎后肝硬化失代偿期(decompensated liver cirrhosis, DLC)患者外周血中MANF蛋白的表达水平, 分析其在不同阶段慢性HBV感染者中的差异。

**结果:** ASC组、CHB组、CLC组、DLC组和

HC组5组之间MANF的表达差异有统计学意义,  $P = 0.00$ ,  $F = 7.391$ ; 进一步进行两两组间分析显示, 与HC组、ASC组和CHB组相比较, CLC及DLC组MANF蛋白的表达水平差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ), 但HC组与ASC组、CHB组之间两两比较差异均无统计学意义。MANF蛋白的表达水平在不同水平乙型肝炎表面抗原分组( $< 1500$  IU/mL,  $1500-20000$  IU/mL和 $> 20000$  IU/mL)之间的差异具有统计学意义( $F = 9.420$ ,  $P = 0.000$ ); MANF蛋白的表达水平在不同水平的谷草转氨酶和总胆红素组的差异具有统计学意义( $F = 3.188$ ,  $P = 0.045$ ;  $t = 2.867$ ,  $P = 0.005$ ); MANF蛋白的表达水平在不同水平的谷丙转氨酶分组、HBV DNA分组和E抗原状态等分组中未见明显统计学差异。

**结论:** MANF蛋白表达水平下降可能与HBV慢性感染后的疾病进展相关。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 中脑星形胶质细胞源性神经营养因子; 内质网应激; 乙型肝炎病毒; 疾病进展

**核心提示:** 中脑星形胶质细胞源性神经营养因子(mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor, MANF)是一种分泌性蛋白, 大量研究显示, MANF蛋白对内质网应激诱导的细胞凋亡具有保护作用。本研究国内外首次证实MANF蛋白的表达水平下降与慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus)感染后的疾病进展密切相关。

叶娇娇, 马双双, 邵玉峰, 沈玉君, 沈玉先. 中脑星形胶质细胞源性神经营养因子蛋白表达水平与乙型肝炎病毒慢性感染后疾病进展的相关性. *世界华人消化杂志* 2015; 23(22): 3532-3537 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3532.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i22.3532>

## 0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)慢性感染后在不同患者中的疾病进展并不相同, 部分患者长期处于HBV携带状态, 部分患者却持续进展至肝硬化甚至肝癌, 确切机制尚未完全阐明<sup>[1-4]</sup>. HBV感染后持续的复制及表达可触发内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS), ERS参与HBV慢性感染后疾病进展, 但确切的调控机制尚未阐明<sup>[5-8]</sup>. 中脑星形胶质细胞源性神经营养因子(mesencephalic astrocyte-derived

## ■ 研究前沿

目前大量研究证实, HBV持续的表达和复制均可触发ERS, ERS参与了HBV感染后肝脏非可控性炎症的发生发展和恶性转化, 但确切的调控机制仍有待进一步阐明。

## ■ 相关报道

目前研究认为, ERS可以上调中脑星形胶质细胞源性神经营养因子(mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor, MANF)基因的表达和蛋白的分泌, 这种高表达与分泌在心肌缺血、脑缺血、帕金森氏病等多种病理状态下保护相关细胞免受损伤密切相关。MANF蛋白高表达可能有助于抑制各种病理状态下的过度炎症及纤维化反应, 但慢性HBV感染后疾病进展状态的差异是否与MANF蛋白表达水平相关目前国内外尚未见报道。

## ■ 创新盘点

本研究在国内外首次通过对慢性HBV感染后不同疾病状态的患者进行MANF蛋白的检测, 证实MANF蛋白与慢性HBV感染后的疾病进展呈负相关。

neurotrophic factor, *MANF*)基因编码的蛋白是一种分泌性蛋白, 主要位于高尔基体和内质网(endoplasmic reticulum, ER)<sup>[9]</sup>。目前研究<sup>[10-12]</sup>认为, ERS可以上调*MANF*基因的表达和蛋白的分泌, 这种高表达与分泌在心肌缺血、脑缺血、帕金森氏病等多种病理状态下保护相关细胞免受损伤密切相关。MANF蛋白高表达可能有助于抑制各种病理状态下的过度炎症及纤维化反应, 但慢性HBV感染后疾病进展状态的差异是否与MANF蛋白表达水平相关目前国内外尚未见报道。因此, 我们拟对不同阶段的慢性HBV感染者外周血MANF蛋白的表达情况进行探索研究, 以明确MANF蛋白与慢性HBV感染后疾病进展差异的关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2013-09/2014-09就诊于安徽医科大学第二附属医院肝病科的乙型肝炎病毒携带者(asymptomatic hepatitis B virus surface antigen carriers, ASC)43例, 其中男30例, 女13例, 平均年龄35.34岁±10.47岁; 慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者47例, 其中男39例, 女8例, 平均年龄36.52岁±11.53岁; 乙型肝炎后肝硬化代偿期(compensatory liver cirrhosis, CLC)患者41例, 其中男29例, 女12例, 平均年龄52.33岁±10.62岁; 乙型肝炎后乙型肝炎后肝硬化失代偿期(decompensated liver cirrhosis, DLC)患者35例, 其中男28例, 女7例, 平均年龄51.55岁±10.72岁, 所有病例诊断符合2000年病毒性肝炎防治方案的诊断标准<sup>[13]</sup>。所有患者均无重叠其他肝炎病毒感染、自身免疫性肝病、药物性肝病、酒精性肝病及其他疾病, 且未接受护肝药物及抗病毒治疗。同时选取40例体检健康者作为对照, 其中男28例, 女12例, 平均年龄31.67岁±12.22岁。所有入组患者及健康对照者均签署知情同意书, 并经医院伦理委员会审核讨论通过。

**1.2 方法** MANF蛋白的ELISA检测: 采集HBV感染者及健康体检者空腹外周血5 mL, 分离血清-80℃度冰箱保存。采用美国Cloud-clone公司的MANF检测试剂盒进行样品检测, 实验步骤如下: (1)加样: 分别设标准孔、待测样品孔、空白孔, 每孔加入相应待测样品100 μL, 37℃温育2 h, 弃去液体, 甩干; (2)每孔加检测溶液A 100 μL, 37℃温育1 h; (3)弃去孔内液体, 每孔加

350 μL洗涤液, 浸泡1-2 min, 吸去或甩掉酶标板内液体, 重复洗涤3次; 每孔加检测溶液B工作液100 μL, 37℃温育30 min; 弃去孔内液体, 甩干, 洗板5次; (4)每孔加底物溶液90 μL, 37℃避光显色(反应时间控制在15-25 min), 每孔加终止液50 μL, 终止反应, 蓝色立转为黄色; (5)用酶标仪在450 nm波长测量各孔的光密度(OD值)。

**统计学处理** 所有数据均用SPSS16.0软件进行统计学分析。先将定量资料进行对数转换, 两组之间比较采用独立样本 $t$ 检验, 3组及3组以上比较时先采用单因素方差分析, 再采用 $LSD$ 检验比较多组中的两两差异, 检验水准 $\alpha = 0.05$ ,  $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 不同阶段慢性HBV感染者外周血MANF蛋白的表达** 首先按照临床诊断分为ASC、CHB、CLC、DLC和HC组进行分析, 结果显示: HC、ASC、CHB、CLC、DLC组5组之间MANF的表达差异有统计学意义( $F = 7.391$ ,  $P = 0.00$ ), 进一步进行两两组间分析显示, 与HC组相比较, CLC及DLC组MANF蛋白的表达水平差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ), 与ASC组和CHB组相比较, CLC及DLC组MANF蛋白的表达水平差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ), 但HC组与ASC组、CHB组之间两两比较差异均无统计学意义(图1)。

**2.2 外周血MANF蛋白的表达水平与临床指标的相关性** 将146例不同疾病阶段的HBV感染者根据其乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)水平、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)水平、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)水平、乙型肝炎E抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg)状态、HBV DNA及总胆红素(total bilirubin, TBIL)水平分别进行分组, 结果发现, MANF蛋白的表达在不同水平HBsAg分组之间的差异具有统计学意义( $F = 9.420$ ,  $P = 0.000$ ); MANF的表达水平在不同水平的AST和TBIL分组之间差异具有统计学意义( $F = 3.188$ ,  $P = 0.045$ ;  $t = 2.867$ ,  $P = 0.005$ ); MANF蛋白的表达水平与其他各项指标差异无统计学意义(表1)。

## 3 讨论

HBV慢性感染后病毒的复制和表达水平在慢性乙型肝炎-肝纤维化-肝硬化转化中发挥重要



表 1 慢性HBV感染者外周血MANF表达水平与临床指标的相关性 (mean ± SD)

变量	MANF值	F值	P值
乙型肝炎表面抗原 (IU/mL)		9.420	0.000
<1000	2303.6 ± 974.3		
1000–20000	2485.9 ± 1023.4		
>20000	4089.3 ± 1124.6		
乙型肝炎E抗原		1.677	0.097
阳性	2837.8 ± 1020.9		
阴性	2337.9 ± 1133.1		
谷丙转氨酶(IU/mL)		1.754	0.178
<80	2169.3 ± 956.2		
80–250	2516.8 ± 1189.6		
>250	2838.8 ± 1246.3		
谷草转氨酶(IU/mL)		3.188	0.045
80	2873.6 ± 1305.9		
80–250	2267.5 ± 1161.3		
>250	1948.7 ± 1069.5		
HBV–DNA(copies/mL)		0.297	0.744
<10 <sup>3</sup>	2865.7 ± 1225.1		
10 <sup>3</sup> –10 <sup>5</sup>	2860.3 ± 1135.9		
>10 <sup>5</sup>	2595.5 ± 1199.6		
总胆红素(μmol/L)		2.867	0.005
<17.1	3024.7 ± 1251.5		
≥ 17.1	2339.4 ± 1104.5		

应用要点

MANF蛋白有可能作为一种预测慢性HBV感染后疾病进展程度的一种分泌性蛋白,具有较高的潜在临床应用价值。

HBV: 乙型肝炎病毒; MANF: 中脑星形胶质细胞源性神经营养因子。

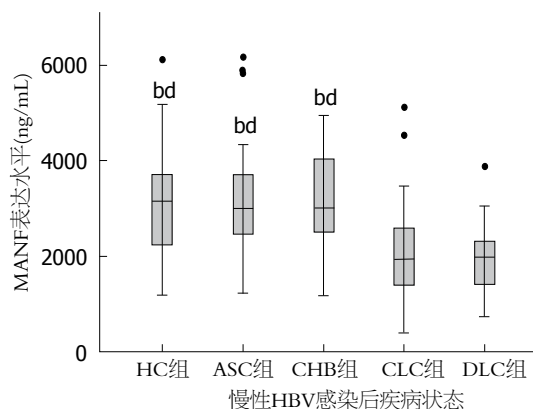


图 1 不同疾病状态的慢性HBV感染者MANF蛋白水平表达比较。<sup>a</sup> $P < 0.01$  vs CLC组; <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs DLC组。HC组: 健康对照组; ASC组: 乙型肝炎病毒携带组; CHB组: 慢性乙型病毒性肝炎组; CLC组: 肝硬化代偿期组; DLC组: 肝硬化失代偿期组。HBV: 乙型肝炎病毒; MANF: 中脑星形胶质细胞源性神经营养因子。

作用。目前大量研究<sup>[14-16]</sup>证实, HBV持续的表达和复制均可触发ERS, ERS参与了HBV感染后肝脏非可控性炎症的发生发展和恶性转化, 但确切的调控机制仍有待进一步阐明。进一步研究ERS与HBV慢性感染后肝脏疾病进展的关

系对于肝脏疾病的防治具有重要的临床意义。MANF基因是本课题组所在实验室从30000个基因中筛选出来的ERS相关基因, ERS上调他们的表达。前期研究<sup>[17,18]</sup>已经证实MANF对ERS诱导的细胞凋亡具有保护作用, 由此推断MANF可能抑制肝脏纤维化的发生发展。MANF蛋白是一种分泌性蛋白, 通过外周血可以进行其表达水平的测定, 是否MANF蛋白的表达水平与慢性HBV感染后疾病状态的进展密切相关国内外尚未见报道。因此, 我们探索了不同疾病状态的慢性HBV感染者外周血中MANF蛋白水平上的表达情况, 结果发现, 与HC组、ASC组和CHB组相比, MANF蛋白在慢性HBV感染后疾病至肝硬化代偿期和肝硬化失代偿期阶段时均明显低表达( $P < 0.01$ ), 但ASC组、CHB组与HC组相比表达未见明显差异。目前认为, ERS诱导的凋亡、炎症和上皮细胞间质转化等作为一种刺激因素参与了组织损伤和纤维化的发生发展<sup>[19-21]</sup>。众所周知, 适度的ERS为细胞的一种自我保护反应, 过度的ERS则会导致细胞凋亡。肝硬化代偿期和肝硬化失代偿期是慢性HBV

## ■名词解释

内质网应激(ERS): 在正常细胞中, 新合成的分泌性和膜相关蛋白需要在内质网内进行正确的折叠和装配. 一旦有各种病理因素打破内质网平衡, 新合成的未折叠蛋白积聚在内质网将会导致ERS; 未折叠蛋白反应: ERS是一种细胞自我保护反应, 为了使细胞适应这种改变得以存活, 内质网就会启动活化一系列信号传递通路, 以处理这些未折叠或错误折叠的蛋白质成分, 此过程被称为未折叠蛋白反应.

感染的严重疾病阶段, 因此, 我们认为, 在慢性HBV感染的早期, MANF蛋白表达水平较高, 对肝纤维化的进展起保护作用, 但当HBV感染持续存在其引起持续的免疫损伤后, 肝细胞呈过度凋亡状态, MANF蛋白表达呈下降趋势. 另外, ERS诱导的凋亡可以导致转化生长因子的释放, 进一步刺激慢性HBV感染后疾病的进展和恶性转化<sup>[22-25]</sup>, 这与本研究发现的CLC组和DLC组患者MANF表达水平显著下降相一致.

与正常对照组和慢性乙型肝炎组比较, 肝硬化组MANF蛋白的表达呈显著降低, 但MANF蛋白表达下降通过何种机制参与肝硬化发生发展有待进一步研究. 临床证据显示HBsAg水平越高的患者纤维化程度越轻, 肝硬化患者HBsAg往往显著低于CHB患者<sup>[26-29]</sup>. 我们进一步结合临床资料的分析显示, 按HBsAg水平分组, 不同HBsAg水平组患者MANF表达水平存在显著差异( $P = 0.001$ ), HBsAg>20000 IU/mL组MANF表达水平明显高于<1500 IU/mL组( $P = 0.001$ ), 提示MANF蛋白在肝纤维化早期肝细胞适度的ERS中起保护作用, 这与我们之前的MANF mRNA水平的研究<sup>[30]</sup>结果相一致. 胆红素持续的升高及转氨酶升高往往提示肝脏损伤持续加重, 本研究发现胆红素异常者的MANF蛋白表达水平下降, 可能与肝脏损害逐渐加重有关.

本研究在国内外首次证实MANF蛋白在不同阶段的慢性HBV感染者中表达水平存在显著性差异, 推测MANF蛋白水平的下降参与HBV慢性感染后的疾病进展, 但确切的调控机制仍不明确. 深入研究MANF在HBV慢性感染后疾病进展中的作用机制有着非常重要的临床意义, 借此可以筛选及鉴定肝脏炎症、纤维化及肝硬化过程中的关键节点及靶点.

## 4 参考文献

- 1 Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection-natural history and clinical consequences. *N Engl J Med* 2004; 350: 1118-1129 [PMID: 15014185 DOI: 10.1056/NEJMra031087]
- 2 Lin CL, Kao JH. Hepatitis B viral factors and clinical outcomes of chronic hepatitis B. *J Biomed Sci* 2008; 15: 137-145 [PMID: 18058038 DOI: 10.1007/s11373-007-9225-8]
- 3 Kuo A, Gish R. Chronic hepatitis B infection. *Clin Liver Dis* 2012; 16: 347-369 [PMID: 22541703 DOI: 10.1016/j.cld.2012.03.003]
- 4 Seeger C, Mason WS. Molecular biology of hepatitis B virus infection. *Virology* 2015; 479-480: 672-686 [PMID: 25759099 DOI: 10.1016/j.virol.2015.02.031]

- 5 Dara L, Ji C, Kaplowitz N. The contribution of endoplasmic reticulum stress to liver diseases. *Hepatology* 2011; 53: 1752-1763 [PMID: 21384408 DOI: 10.1002/hep.24279]
- 6 Malhi H, Kaufman RJ. Endoplasmic reticulum stress in liver disease. *J Hepatol* 2011; 54: 795-809 [PMID: 21145844 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.11.005]
- 7 Wang HC, Huang W, Lai MD, Su IJ. Hepatitis B virus pre-S mutants, endoplasmic reticulum stress and hepatocarcinogenesis. *Cancer Sci* 2006; 97: 683-688 [PMID: 16863502 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2006.00235.x]
- 8 Cho HK, Cheong KJ, Kim HY, Cheong J. Endoplasmic reticulum stress induced by hepatitis B virus X protein enhances cyclo-oxygenase 2 expression via activating transcription factor 4. *Biochem J* 2011; 435: 431-439 [PMID: 21244365 DOI: 10.1042/BJ20102071]
- 9 Petrova P, Raibekas A, Pevsner J, Vigo N, Anafi M, Moore MK, Peaire AE, Shridhar V, Smith DI, Kelly J, Durocher Y, Commissiong JW. MANF: a new mesencephalic, astrocyte-derived neurotrophic factor with selectivity for dopaminergic neurons. *J Mol Neurosci* 2003; 20: 173-188 [PMID: 12794311 DOI: 10.1385/JMN: 20: 2: 173]
- 10 Lindholm P, Peränen J, Andressoo JO, Kalkkinen N, Kokaia Z, Lindvall O, Timmusk T, Saarna M. MANF is widely expressed in mammalian tissues and differently regulated after ischemic and epileptic insults in rodent brain. *Mol Cell Neurosci* 2008; 39: 356-371 [PMID: 18718866 DOI: 10.1016/j.mcn.2008.07.016]
- 11 Glembotski CC. Functions for the cardiomyokine, MANF, in cardioprotection, hypertrophy and heart failure. *J Mol Cell Cardiol* 2011; 51: 512-517 [PMID: 20970425 DOI: 10.1016/j.yjmcc.2010.10.008]
- 12 Voutilainen MH, Bäck S, Pörsti E, Toppinen L, Lindgren L, Lindholm P, Peränen J, Saarna M, Tuominen RK. Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor is neurorestorative in rat model of Parkinson's disease. *J Neurosci* 2009; 29: 9651-9659 [PMID: 19641128 DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0833-09.2009]
- 13 中华医学会传染病与寄生虫病学分会, 肝病学会. 病毒性肝炎防治方案. *中华肝脏病杂志* 2000; 8: 324-329
- 14 潘高峰, 邵玉峰, 叶娇娇, 姜同翠, 沈玉君, 沈玉先. 慢性HBV感染者外周血白细胞GRP78、CHOP和XBP1 mRNA水平变化. *实用肝脏病杂志* 2015; 18: 136-140
- 15 Lazar C, Macovei A, Petrescu S, Branza-Nichita N. Activation of ERAD pathway by human hepatitis B virus modulates viral and subviral particle production. *PLoS One* 2012; 7: e34169 [PMID: 22461906 DOI: 10.1371/journal.pone.0034169]
- 16 Lazar C, Uta M, Branza-Nichita N. Modulation of the unfolded protein response by the human hepatitis B virus. *Front Microbiol* 2014; 5: 433 [PMID: 25191311 DOI: 10.3389/fmicb.2014.00433]
- 17 陈滢, 李成锦, 杨文, 程里, 安然, 都建, 沈玉君, 冯利杰, 沈玉先. MANF对内质网应激诱导的细胞凋亡的保护作用. *安徽医科大学学报* 2013; 48: 1308-1312
- 18 Chen L, Feng L, Wang X, Du J, Chen Y, Yang W, Zhou C, Cheng L, Shen Y, Fang S, Li J, Shen Y. Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor is involved in inflammation by negatively regulating the NF-κB pathway. *Sci Rep* 2015; 5:

- 8133 [PMID: 25640174 DOI: 10.1038/srep08133]
- 19 Zhao H, Qin HY, Cao LF, Chen YH, Tan ZX, Zhang C, Xu DX. Phenylbutyric acid inhibits epithelial-mesenchymal transition during bleomycin-induced lung fibrosis. *Toxicol Lett* 2014; 232: 213-220 [PMID: 25455454 DOI: 10.1016/j.toxlet.2014.10.013]
- 20 Tanjore H, Lawson WE, Blackwell TS. Endoplasmic reticulum stress as a pro-fibrotic stimulus. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1832: 940-947 [PMID: 23201247 DOI: 10.1016/j.bbadis.2012.11.011]
- 21 Lenna S, Trojanowska M. The role of endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein response in fibrosis. *Curr Opin Rheumatol* 2012; 24: 663-668 [PMID: 22918530 DOI: 10.1084/jem.145.3.784]
- 22 Chen WT, Ha D, Kanel G, Lee AS. Targeted deletion of ER chaperone GRP94 in the liver results in injury, repopulation of GRP94-positive hepatocytes, and spontaneous hepatocellular carcinoma development in aged mice. *Neoplasia* 2014; 16: 617-626 [PMID: 25220589 DOI: 10.1016/j.neo.2014.07.005]
- 23 De Minicis S, Candelaresi C, Agostinelli L, Taffetani S, Saccomanno S, Rychlicki C, Trozzi L, Marzoni M, Benedetti A, Svegliati-Baroni G. Endoplasmic Reticulum stress induces hepatic stellate cell apoptosis and contributes to fibrosis resolution. *Liver Int* 2012; 32: 1574-1584 [PMID: 22938186 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2012.02860.x]
- 24 Chen WT, Tseng CC, Pfaffenbach K, Kanel G, Luo B, Stiles BL, Lee AS. Liver-specific knockout of GRP94 in mice disrupts cell adhesion, activates liver progenitor cells, and accelerates liver tumorigenesis. *Hepatology* 2014; 59: 947-957 [PMID: 24027047 DOI: 10.1002/hep.26711]
- 25 Chen WT, Zhu G, Pfaffenbach K, Kanel G, Stiles B, Lee AS. GRP78 as a regulator of liver steatosis and cancer progression mediated by loss of the tumor suppressor PTEN. *Oncogene* 2014; 33: 4997-5005 [PMID: 24141775 DOI: 10.1038/onc.2013.437]
- 26 Zeng DW, Zhu YY, Huang Q, Zhang JM, Wu YL, Dong J, Jiang JJ, Liu YR. Hepatitis B surface antigen in late hepatitis B infection. *J Med Virol* 2015; 87: 380-387 [PMID: 25604455 DOI: 10.1002/jmv.24078]
- 27 Suh SJ, Bae SI, Kim JH, Kang K, Yeon JE, Byun KS. Clinical implications of the titer of serum hepatitis B surface antigen during the natural history of hepatitis B virus infection. *J Med Virol* 2014; 86: 117-123 [PMID: 24115074 DOI: 10.1002/jmv.23767]
- 28 Zeng DW, Liu YR, Dong J, Zhu YY, Li YB, Chen J, Zheng Q, Jiang JJ. Serum HBsAg and HBeAg levels are associated with liver pathological stages in the immune clearance phase of hepatitis B virus chronic infection. *Mol Med Rep* 2015; 11: 3465-3472 [PMID: 25592612 DOI: 10.3892/mmr.2015.3207]
- 29 邵玉峰, 邹桂舟, 叶珺, 潘高峰, 饶建国, 李芳, 魏艳艳, 李旭. HBsAg和HBV DNA定量水平与肝纤维化程度的关系. *中华肝脏病杂志* 2015; 23: 107-110
- 30 潘高峰, 邵玉峰, 叶娇娇, 姜同翠, 沈玉君, 沈玉先. MANF蛋白表达水平与肝纤维化程度的相关性研究. *安徽医科大学学报* 2015; 50: 78-82

#### 同行评价

本文探索MANF在慢性HBV感染后不同疾病进展患者外周血中表达水平的差异及其与临床特征的相关性, 对5组研究对象检测MANF, 发现其不同组间表达有明显区别. 作为一种探索性研究, 有一定的学术价值.

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利

