

文章编号 1006-8147(2018)02-0152-04

论著

乙型病毒性肝炎患者血清炎症因子及趋化因子表达及意义

赵小丽,高鹏,刘俊华,周凤蕊,王佳乐,李广明
(郑州市第六人民医院肝病五科,郑州 450061)

摘要 目的:探讨血清炎症因子(IL-6、IL-10和IL-12)及趋化因子(CXCL16和CXCL11)在乙型病毒性肝炎(乙肝)患者体内的变化及意义。方法:选取乙肝患者93例,其中轻度乙肝患者37例,中度乙肝患者30例,重度乙肝患者26例,同时选取40例健康志愿者作为对照组,检测各组炎症因子(IL-6、IL-10和IL-12)、趋化因子(CXCL16和CXCL11)和生化指标(AST、ALT、TC、TG和DBIL)。结果:轻度、中度和重度组CXCL16和CXCL11明显高于对照组($P<0.05$);重度组IL-6、IL-10和IL-12明显高于轻度组、中度组和对照组($P<0.05$);中度组IL-6、IL-10和IL-12明显高于轻度组和对照组($P<0.05$);轻度、中度和重度组AST、ALT和DBIL明显高于对照组($P<0.05$),而TC明显低于对照组($P<0.05$);重度组HBV DNA明显高于中度和轻度组($P<0.05$);中度组HBV DNA明显高于轻度组($P<0.05$);IL-6和IL-12与ALT成正相关($r=0.404$ 和 0.434 , $P<0.05$),而IL-10与ALT成负相关($r=-0.341$, $P<0.05$);CXCL16与生化指标无相关性($P>0.05$);IL-6、IL-12和IL-10与CXCL16、CXCL11无相关性($P>0.05$);HBV DNA与ALT、AST、CXCL16呈正相关($r=0.302$ 、 0.305 和 0.413 , $P<0.05$)。结论:乙肝患者IL-6、IL-10、IL-12以及CXCL16和CXCL11表达上调,其中IL-6、IL-10、IL-12和CXCL11可一定程度反映肝功能损害程度。

关键词 炎症因子;趋化因子;乙肝;生化指标

中图分类号 R575.1

文献标志码 A

Expression and significance of serum inflammatory cytokines and chemokines in patients with viral hepatitis B

ZHAO Xiao-li, GAO Peng, LIU Jun-hua, ZHOU Feng-rui, WANG Jia-le, LI Guang-ming

(Five Department of Liver Disease, The Sixth People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450061, China)

Abstract Objective: To investigate the changes and significance of serum inflammatory factors (IL-6, IL-10 and IL-12) and chemokines (CXCL16 and CXCL11) in patients with hepatitis B. **Methods:** Ninety-three patients with chronic hepatitis B were selected, among them 37 mild patients, 30 moderate patients and 26 severe patients. 40 healthy volunteers were selected as control group. The inflammatory factors (IL-6, IL-10 and IL-12), chemokines (CXCL16 and CXCL11) and biochemical markers (AST, ALT, TC, TG and DBIL) were detected in each group. **Results:** The CXCL16 and CXCL11 of mild, moderate and severe patients were significantly higher than those of the control group ($P<0.05$). The IL-6, IL-10 and IL-12 in severe patients were significantly higher than those in the mild, moderate group and control group ($P<0.05$). The levels of IL-6, IL-10 and IL-12 in moderate group were significantly higher than those in mild group and control group ($P<0.05$). The levels of AST, ALT and DBIL in mild, moderate and severe patients were significantly higher than those in control group ($P<0.05$), while TC was significantly lower than that in control group ($P<0.05$). The HBV DNA in the severe group were significantly higher than those in the mild group and moderate group ($P<0.05$). The HBV DNA in the moderate group were significantly higher than those in the mild group ($P<0.05$). IL-6 and IL-12 were positively correlated with ALT ($r=0.404$ and 0.434 , $P<0.05$), while IL-10 was negatively correlated with ALT ($r=-0.341$, $P<0.05$); CXCL11 was positively correlated with AIL ($r=0.433$, $P<0.05$), and CXCL16 was uncorrelated with biochemical indexes ($P>0.05$). IL-6, IL-12 and IL-10 had no correlation with CXCL16 and CXCL11 ($P>0.05$). There was a positive correlation between HBV DNA and ALT, AST, CXCL16 ($r=0.302$, 0.305 and 0.413 , $P<0.05$). **Conclusion:** The expressions of IL-6, IL-10, IL-12, CXCL16 and CXCL11 in patients with hepatitis B are up-regulated, and IL-6, IL-10, IL-12 and CXCL11 could reflect the degree of liver function damage to some extent.

Key words inflammatory factor; chemokine; hepatitis B; biochemical markers

乙型肝炎的发生,可以显著促进肝脏细胞代谢功能的损伤,加剧肝脏纤维化或者肝癌的发生风险。流行病学研究显示,急性乙型肝炎或者慢性乙

作者简介 赵小丽(1985-),女,主治医师,学士,研究方向:肝病;通信作者:李广明, E-mail: sflijing1978@163.com。

型肝炎的发病率可达375~456/10万人以上^[1],特别是在部分经济欠发达地区,乙型肝炎的发病率更高。在探讨乙型肝炎的发病机制的过程中发现,细胞炎症因子或者趋化因子的高表达可以通过加剧肝脏细胞的炎症损伤、促进细胞膜完整性的破坏,

并通过加剧肝脏细胞间质细胞的纤维化,进而促进乙型肝炎的病情进展^[2-3]。趋化因子(CXCL16和CXCL11)及血清炎症因子(IL-6、IL-10、IL-12)等会影响肝脏细胞线粒体损伤或者代偿功能障碍的过程中发挥了重要的作用^[4-5]。本研究选取93例乙型肝炎患者,进一步探讨炎症因子及趋化因子在乙肝患者外周静脉血中的异常表达及意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2015年2月-2017年2月在我院治疗的慢性乙型肝炎患者93例,其中轻度患者37例,中度患者30例,重度患者26例。纳入标准:(1)诊断符合中华医学会制定的标准^[5];(2)入院前未接受免疫调节和抗病毒治疗;(3)患者知情同意并签署同意书。排除标准:(1)合并甲肝、丙肝等病毒性感染以及酒精性肝炎、脂肪肝、自身免疫性肝炎等其他肝炎;(2)合并有恶性肿瘤、自身免疫性疾病等疾病。同时选取40例健康志愿者作为对照组,3组受试者性别、年龄比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。

1.2 检测方法 所有患者均于入院24 h内采集空腹静脉血约5 mL并分作2份,1份自然抗凝后以3 000 r/min离心10 min,取上清液采用酶联免疫吸附法测定血清中CXCL16、CXCL11水平,检测试剂盒购自北京中杉金桥生物有限公司,具体检测步骤严格按照试剂盒说明书进行操作;另一份置于枸橼

表1 4组一般资料比较

Tab 1 Comparison of general data of patients in the 4 groups

组别	例数	男/女	年龄/岁	病程/年
对照组	40	30/10	42.01±5.93	-
轻度组	37	23/14	41.04±6.04	8.38±1.30
中度组	30	19/11	42.20±6.11	8.41±1.52
重度组	26	18/8	42.04±5.04	8.13±1.60
$F\chi^2$		1.782	3.032	2.103
P		>0.05	>0.05	>0.05

酸钠抗凝管内,加入IL-6、IL-10和IL-12检测试剂盒后,利用胶体金法检测IL-6、IL-10和IL-12水平,试剂盒购自上海奥普生物医药有限公司,具体检测步骤严格按照试剂盒说明书进行。

1.3 统计学处理 统计分析采用SPSS19.0软件,计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较使用方差分析,两两比较采用LSD检验;计数资料比较使用 χ^2 检验;相关性采用Pearson相关分析,以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血清炎症因子及趋化因子比较 轻度、中度和重度组CXCL16、CXCL11明显高于对照组($P<0.05$);重度组IL-6、IL-10和IL-12明显高于轻度组、中度组和对照组($P<0.05$);中度组IL-6、IL-10和IL-12明显高于轻度组和对照组($P<0.05$)。见表2。

表2 各组血清炎症因子及趋化因子比较

Tab 2 Comparison of serum inflammatory factors and chemokines in each group

组别	例数	IL-6/(pg/mL)	IL-10/(pg/mL)	IL-12/(pg/mL)	CXCL16/(ng/mL)	CXCL11/(ng/mL)
对照组	40	9.01±2.81	16.54±2.44	9.20±2.11	1.62±0.61	3.70±1.18
轻度组	37	120.43±34.39 ^a	52.03±18.49 ^a	76.39±21.17 ^a	2.21±0.70 ^a	117.05±42.80 ^a
中度组	30	160.12±40.15 ^{ab}	80.11±20.04 ^{ab}	90.03±25.04 ^{ab}	2.30±0.63 ^a	120.21±33.29 ^a
重度组	26	175.32±31.03 ^{abc}	97.34±19.14 ^{abc}	104.47±29.11 ^{abc}	2.29±0.64 ^a	123.02±40.18 ^a
F		43.291	34.201	21.044	10.043	14.291
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

与对照组比较:^a $P<0.05$;与轻度组比较:^b $P<0.05$;与中度组比较:^c $P<0.05$

2.2 各组生化指标比较 轻度、中度和重度组AST、ALT和DBIL明显高于对照组($P<0.05$),而TC

明显低于对照组($P<0.05$);3组TG比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表3。

表3 各组生化指标比较

Tab 3 Comparison of biochemical indexes of patients of each group

组别	例数	AST/(U/L)	ALT/(U/L)	TC/(mmol/L)	TG/(mmol/L)	DBIL/(μmol/L)
对照组	40	19.73±3.29	18.27±4.10	5.44±1.22	1.60±0.60	2.80±1.10
轻度组	37	34.38±8.04 ^a	37.03±14.32 ^a	4.01±1.13 ^a	1.54±0.55	21.89±2.03 ^a
中度组	30	97.51±10.20 ^{ab}	83.12±13.11 ^{ab}	2.93±1.40 ^{ab}	1.55±0.72	38.05±1.73 ^{ab}
重度组	26	180.03±9.34 ^{abc}	120.20±17.02 ^{abc}	1.05±0.33 ^{abc}	1.53±0.61	67.02±1.43 ^{abc}
F		32.104	61.033	40.021	3.032	52.304
P		<0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.06

与对照组比较:^a $P<0.05$;与轻度组比较:^b $P<0.05$;与中度组比较:^c $P<0.05$

2.3 各组 HBV DNA 比较 重度组 HBV DNA 明显高于中度和轻度组 ($P<0.05$); 中度组 HBV DNA 明显高于轻度组 ($P<0.05$), 见表 4。

表 4 各组 HBV DNA 比较

Tab 4 Comparison of HBV DNA in each group

组别	例数	HBV DNA/(1 g copes/mL)	F	P
轻度组	37	3.84±0.98	15.201	<0.05
中度组	30	4.49±1.01 ^a		
重度组	26	5.88±0.99 ^{ab}		

与轻度组比较: ^a $P<0.05$; 与中度组比较: ^b $P<0.05$

2.4 相关性分析 将乙肝患者炎症因子与生化指标进行相关分析: IL-6 和 IL-12 与 ALT 成正相关 ($r=0.404$ 和 0.434 , $P<0.05$), 而 IL-10 与 ALT 成负相关 ($r=-0.341$, $P<0.05$); 将趋化因子与生化指标进行相关分析: CXCL16 与生化指标无相关性 ($P>0.05$); 将炎症因子与趋化因子进行相关分析: IL-6、IL-12 和 IL-10 与 CXCL16、CXCL11 无相关性 ($P>0.05$); 将 HBV DNA 与生化指标、趋化因子、炎症因子进行相关分析: HBV DNA 与 ALT、AST、CXCL16 呈正相关 ($r=0.302$ 、 0.305 和 0.413 , $P<0.05$)。

3 讨论

乙型肝炎的发生, 主要与乙型肝炎病毒感染导致的肝细胞损伤有关^[6-7]。同时乙型肝炎治疗后患者的肝脏细胞功能损伤仍然较为明显^[8-9]。而通过对乙型肝炎发病过程中炎症因子或者趋化因子的变化研究, 可以为临床上乙型肝炎的生物学治疗提供理论基础, 也可以为乙型肝炎的临床病情预后评估提供参考。

炎症因子(IL-6、IL-10 和 IL-12)等的高表达, 可以通过下游炎症信号通路 ROCH 的激活, 加剧单核细胞或者巨噬细胞的上调, 促进乙型肝炎患者的炎症性损伤和氧化应激损伤^[10]; IL-6、IL-10 和 IL-12 等的高表达, 也在促进肝脏细胞的线粒体能量利用障碍或者加剧呼吸链氧化损伤等方面发挥了重要作用, 影响肝脏细胞膜的完整性; CXCL16 和 CXCL11 等趋化因子的表达, 能够在诱导炎症因子或者免疫因子及补体成分激活的同时, 促进不同炎症信号通路的交叉式激活导致的病情进展^[11-12]。已有的研究探讨了细胞炎症因子在乙肝患者中的异常表达, 认为高表达的 IL-6 或者其他类型的细胞炎症因子, 可以显著促进肝脏细胞膜的氧化应激损伤, 促进肝脏细胞膜的损伤, 加剧功能障碍的形成; 另外部分研究探讨了趋化因子的血清学异常表达, 认为异常表达的趋化因子能够抑制肝脏细胞膜的修复, 促进代谢性相关损伤的发生, 加剧病情的

进展。

在本研究中可以发现, 急性乙肝组和慢性乙肝组 CXCL16、CXCL11 明显高于对照组, 差异具有统计学意义, 提示相关趋化因子的异常表达可能参与了疾病的发生发展过程, 趋化因子的表达可以通过影响到免疫因子补体成分的激活, 促进炎症因子如肿瘤坏死因子的激活等, 促进肝脏细胞的损伤, 加剧乙型肝炎病情的进展。邓玉奎等^[13-14]在探讨重度乙型肝炎患者的发病机制的过程中发现, 趋化因子如 CXCL16 表达浓度超过 55% 时, 其可以显著促进肝功能的损伤, 加剧肝功能失代偿的风险, 且患者的病情越为严重, 相关血清学趋化因子的异常表达越为明显, 这些均提示了趋化因子或者细胞炎症因子的异常表达在乙肝发生发展过程中的作用。对于 IL-6、IL-10 和 IL-12 等炎症因子的表达关系分析可见, 在急性组及慢性组患者血清中, 均存在明显的 IL-6、IL-10 和 IL-12 的高表达, 高于正常对照组, 差异具有统计学意义, 特别是在慢性乙型肝炎患者血清中, 相关炎症因子的指标变化较为明显, IL-6、IL-10 和 IL-12 等的高表达, 可以通过下列几个方面影响到肝炎患者的病情: (1) IL-6 可以促进单核细胞及中性粒细胞对于肝脏间质细胞的浸润, 促进肝脏小叶结构的重塑; (2) IL-12 等的上升, 促进了肝脏上皮细胞功能代偿的异常, 影响了细胞膜的完整性。在乙型肝炎组患者中, AST、ALT 和 DBIL 明显高于对照组, 提示肝炎患者体内存在明显的干细胞功能损伤或者胆汁酸代谢障碍, 同时甘油三酯等指标同样存在一定的异常表达, 这主要考虑与短时间内肝脏细胞的生化代偿功能的异常有关。HBV DNA 的表达在中度或者重度病情的患者中的表达明显上升, 特别是重度组患者的血清中相关指标的表达可进一步上升, 提示了 HBV DNA 的表达与患者的病情严重程度的关系, 这主要考虑与 HBV DNA 的表达能够影响到肝脏细胞的破坏、假小叶的形成及代偿性肝脏纤维化损伤等过程有关。相关关系分析可见, CXCL11 与 AIL 成正相关, 同时 IL-6 和 IL-12 与 ALT 成正相关, 而 IL-10 与 ALT 成负相关, 这些均提示了炎症因子或者趋化因子与乙型肝炎患者病情的关系。从机制上考虑, 趋化因子与细胞炎症因子的内在相关关系, 可能与下列几个方面的因素有关: (1) 趋化因子如 CXCL11 的上升, 可以促进单核细胞或者巨噬细胞的激活, 促进下游细胞炎症因子的激活, 加剧肝脏细胞膜的损伤; (2) 趋化因子及细胞炎症因子如 IL-6 或者 IL-12 的结合, 能够在干扰肝脏细胞代谢、蛋白合成等方面发挥作

用,影响到乙肝患者病毒颗粒对于肝脏细胞的破坏及损伤。相关性分析也可见,HBV DNA 的表达与患者的血清学炎症因子指标或者趋化因子指标具有密切的关系,进一步提示了 HBV DNA 的表达与肝炎患者的病情关系。本次研究的创新性在于探讨了趋化因子在急性及慢性乙型肝炎患者血清中的异常表达,同时揭示了细胞炎症因子及趋化因子的内在相关关系。

综上所述,乙肝患者 IL-6、IL-10、IL-12 以及 CXCL16 和 CXCL11 表达上调,其中 IL-6、IL-10、IL-12 和 CXCL11 可一定程度反映肝功能损害程度。后续研究可以增加样本量进行多中心研究,进一步探讨不同的细胞炎症因子或者趋化因子在乙肝患者中的异常表达及其与患者临床预后的关系。

参考文献:

- [1] 刘甲野,吕静静,颜丙玉,等.乙型肝炎病毒核心抗体单项阳性及健康的成年人乙肝疫苗免疫效果配对比较研究[J].中华流行病学杂志,2014,35(10):1091
- [2] 王颖,李卓,惠威,等.慢性乙型肝炎患者血清趋化因子的随访分析[J].北京医学,2015,37(9):888
- [3] 王淑琴,王建勇,陈永谦,等.乙型肝炎后肝硬化患者血清 IL-18 和 IL-10 水平检测的临床意义[J].齐齐哈尔医学院学报,2013(13):1894
- [4] 曲孝阳,褚瑞海,武林,等.慢性乙型肝炎患者外周血趋化因子 CXCL11 和 CXCL16 的检测及意义[J].潍坊医学院学报,2016,38(2):122
- [5] 刘兰,汪俊华,黄文湧,等.贵州省少数民族地区乙肝防治知识、态度、行为现况调查[J].中华疾病控制杂志,2015,19(11):1092
- [6] Chen D F, Luo S Z, Ben Q W, et al. Prevalence of hepatitis B and C and factors for infection and nonimmune in inflammatory bowel disease patients in China[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2017, 29(5):509
- [7] Chan H C, Wong V W, Wong G L, et al. Prevalence of hepatitis B and clinical outcomes in inflammatory bowel disease patients in a viral-endemic region[J]. BMC Gastroenterol, 2016,16(1):90
- [8] Li M R, Lu J H, Ye L H, et al. Quantitative hepatitis B core antibody level is associated with inflammatory activity in treatment-naive chronic hepatitis B patients[J]. Medicine, 2016, 95(34):4422
- [9] Isorce N, Testoni B, Locatelli M A, et al. Antiviral activity of various interferons and pro-inflammatory cytokines in non-transformed cultured hepatocytes infected with hepatitis B virus[J]. Antiviral Res, 2016,130(6):36
- [10] 沈慧杰,褚瑞海,王可宁.慢性重型乙型肝炎患者血清 TNF- α , IL-10 水平检测及临床意义[J].潍坊医学院学报,2014,37(1):45
- [11] 李德征,南月敏,闫有敏,等.慢性乙型肝炎患者血清 CCL7 与 IL-6、TGF- β 1 表达的关系及其在肝脏炎症/纤维化进展中作用的研究[J].河北医药,2014,36(13):1937
- [12] 高志玲,于艳华,石莹,等.乙型肝炎患者外周血趋化因子 CXCL13 表达水平与 Th 细胞亚群分布的相互关系及其临床意义[J].中华微生物学和免疫学杂志,2016,36(5):354
- [13] 邓玉奎,王勇强,武敬.慢性乙型肝炎患者血清细胞因子的检测及临床意义[J].广东医学院学报,2015,33(3):285
- [14] 曾钢,李彩东,吴斌,等.乙型肝炎肝硬化患者外周血 MIF、IL-17 和 IL-10 检测的临床意义[J].国际检验医学杂志,2015,36(9):1205

(2017-07-20 收稿)

(上接第 147 页)

免疫抑制程度与疾病严重程度相关。

综上所述,uKIM-1 可作为近端肾小管病变所致 AKI 的早期非侵入性生物学标志物,在尿液中长时间保持稳定,对 uKIM-1 的采集仅需尿液标本,不受尿液理化性质改变的影响,应用 ELISA 法检测,易于实施推广。动态连续监测脓毒症患者血清 uKIM-1、IL-6 含量变化及外周血 T 细胞亚群的表达对评估和判断脓毒症急性肾损伤病情严重程度具有重要的临床意义。

参考文献:

- [1] 黄昭,王思荣,刘继云,等.血液灌流治疗对脓毒症致急性肾损伤患者炎症因子的清除及肾脏保护作用[J].中华急诊医学杂志,2011,20(1):60
- [2] Wang T S, Deng J C. Molecular and cellular aspects of sepsis-induced immunosuppression[J]. J Mol Med(Berl), 2008,86(5):495
- [3] 娄菲菲,吕哲,王月华.肾损伤分子 1 与急性肾损伤的研究进展[J].临床荟萃,2016,31(7):793
- [4] 徐建国,金献冠,李钰.尿肾损伤分子 1 和中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白对脓毒症合并急性肾损伤患者早期连续性肾脏替代治疗的预测价值 [J/CD]. 中华危重症医学杂志: 电子版, 2016,9(2):250
- [5] Dellinger R P, Levy M M, Rhodes A, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012[J]. Crit Care Med, 2013,41(2):580
- [6] Khwaja A. KDIGO clinical practice guidelines for acute kidney injury[J]. Nephron Clin Pract, 2012,120(4):C179
- [7] Liangos O, Tighiouart H, Perianayagam M C, et al. Comparative analysis of urinary biomarkers for early detection of acute kidney injury following cardiopulmonary bypass[J]. Biomarkers, 2009,14(6):423
- [8] Celik I H, Demirel G, Uras N, et al. The role of serum interleukin-6 and C-reactive protein levels for differentiating aetiology of neonatal sepsis[J]. Arch Argent Pediatr, 2015,113(6):534
- [9] Hou T, Huang D, Zeng R, et al. Accuracy of serum interleukin (IL)-6 in sepsis diagnosis: a systematic review and meta-analysis[J]. Int J Clin Exp Med, 2015,8(9):15238
- [10] Hotchkiss R S, Tinsley K W, Swanson P E, et al. Sepsis-induced apoptosis causes progressive profound depletion of B and CD4⁺ T lymphocytes in humans[J]. J Immunol, 2001,166(11):6952

(2017-09-09 收稿)