

## ·临床研究·

### 干扰素 $\gamma$ 和白介素 10 在慢性乙型重型肝炎中的变化 \*

郭晓东 熊璐 李小溪 刘树红 李筱涵 孙志强 史晨辉 赵景民<sup>△</sup>

(解放军第 302 医院 北京 100039)

**摘要** 目的 探讨 INF- $\gamma$  和 IL-10 在慢性乙型重型肝炎中的作用。方法 搜集不同患者血样 提取血清 使用 ELISA 方法检测不同患者不同时期的血清 INF- $\gamma$  和 IL-10 水平 并进行相关统计。结果 本研究发现 和其它肝炎对照组及健康对照组相比 慢性乙型重型肝炎患者的血清 INF- $\gamma$  水平显著升高 IL-10 水平显著降低。尽管在不同预后的患者中 INF- $\gamma$  水平差异并不明显 但是随着治疗生效 INF- $\gamma$  水平会出现明显的下降。结论 慢性乙型重型肝炎和其它慢性肝炎相比 INF- $\gamma$  和 IL-10 表达存在着差异 而且 INF- $\gamma$  可能是一种比较有效的监控慢性重型肝炎病程以及疗效的指标。

**关键词** 慢性乙型重型肝炎 干扰素  $\gamma$  白介素 10

**中图分类号** R512.62 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2011)09-1697-03

### INF- $\gamma$ and IL-10 in patients with chronic serious hepatitis B\*

GUO Xiao-dong, XIONG Lu, LI Xiao-xi, LIU Shu-hong, LI Xiao-han, SUN Zhi-qiang, SHI Chen-hui, ZHAO Jing-min<sup>△</sup>

(302 Hospital of PLA, Beijing, China 100039)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the role of INF- $\gamma$  and IL-10 in chronic serious hepatitis B patients. **Methods:** Sera of different groups of patients were collected and IL-10 and INF- $\gamma$  serum levels were detected by ELISA. **Result:** Statistic analysis showed that compared with normal control or other hepatitis B patients, the chronic serious hepatitis B patients showed significantly higher serum INF- $\gamma$  level and lower serum IL-10 level. The INF- $\gamma$  level had no difference between the patient who was cured or not. But when patients were cured, the INF- $\gamma$  level was decreased significantly while IL-10 did not changed a lot. **Conclusion:** Compared with other type of hepatitis B patients, INF- $\gamma$  and IL-10 level balance in chronic serious hepatitis B patients was disturbed, and INF- $\gamma$  may become a potential molecular marker to monitor the disease process.

**Key words:** chronic serious hepatitis B; INF- $\gamma$  ; IL-10

**Chinese Library Classification(CLC):** R512.62 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2011)09-1697-03

慢性乙型重型肝炎,是指慢性乙型肝炎、肝硬化和慢性乙型肝炎病毒携带者出现类似亚急性重型肝炎的临床表现<sup>[1]</sup>,病情凶猛,危害人类健康。由于严重的肝功能衰竭,病情危重,常规治疗病死率高达 60%~80%<sup>[2]</sup>。在近 5 年我院收治的 632 例重型肝炎患者中,乙型重型肝炎占 73.5%,而其中慢性乙型重型肝炎占 95.42%。重型肝炎一旦发生,大多两个月内死亡,因此如何有效的对重型肝炎进行预后判断和对症治疗,一直是临床医生和科研人员以及患者们所关注的重点。

慢性乙型重型肝炎的发病机制十分复杂,是多种因素作用的结果,主要有两个方面:一是原发性损伤,包括免疫病理反应和 HBV 本身的作用,而 HBV 本身对于肝细胞并没有严重的损伤作用;二是继发性损伤,即以肿瘤坏死因子(TNF)为核心的细胞因子等炎症介质对肝脏的致伤效应。原发性损伤和继发性损伤叠加,则导致大量肝细胞坏死和肝功能衰竭,慢性 HBV 感染诱发的肝功能衰竭,继发性损伤所起的作用可能更大<sup>[3]</sup>。

因为在乙型慢性重型肝炎中,HBV 病毒本身对于肝脏并无直接损伤,而主要是通过过度激活免疫系统,从而产生的超免疫反应损伤肝脏,因此在对于乙型慢性重型肝炎的治疗中,除

了针对性地进行抗病毒清除外,更重要的仍然是降低免疫反应的强度,为药物清除 HBV 病毒提供足够的时间。因此,在本研究中,我们探讨了体内以 INF- $\gamma$  和 IL-10 为代表的两类 Th 细胞的活化程度。

#### 1 资料与方法

##### 1.1 研究对象

2008 年 5 月至 2009 年 9 月我院感染科住院慢性乙型肝炎患者 124 例,其中男 99 例,女 25 例,年龄 27~66 岁,平均(36.25 ± 12.47)岁。124 例中慢性肝炎重度 66 例,中度 25 例,慢性重型肝炎 33 例。正常对照组 30 名,为健康体检并确定无肝功能异常及肝炎病原学阳性者,其中男 15 名,女 15 名,年龄 19~64 岁,平均(35.76 ± 14.03)岁。

##### 1.2 观察指标

所有病例入院时采集血清标本测定血清 INF- $\gamma$  和 IL-10 水平。同时检查血常规、血清生化、凝血酶原时间(PT)、肝纤维化血清学指标、肝炎 A~E 标志物、HBV-DNA 等。之后,在出院前或治疗无效死亡前 1 天抽取不抗凝血,抽出血清同样检

\* 基金项目 国家传染病重大专项基金(2008ZX10002-005-6)

作者简介 郭晓东(1981-),主治医师,研究方向 肝病诊断与治疗 电话:13911161582 E-mail:laohushanshang@163.com

<sup>△</sup>通讯作者 赵景民

(收稿日期 2011-02-06 接受日期 2011-02-28)

测 IL-10 和 INF-γ 的水平。

1.3 检测方法

采集血清标本每份 3mL, 放置于 - 60℃ 保存备检。研究结束时采用双抗体夹心 ELISA 法检测 INF-γ 和 IL-10 水平。试剂盒购自日本 Woko 公司。所有病例采血前均无免疫制剂应用史。。

1.4 统计学分析

应用 SPSS 13. 0 软件分析数据, 结果以( $\bar{x} \pm s$ )表示, 两组计量资料的比较采用 t 检验, 组间比较采用 F 检验, 组间两两比较采用 q 检验, IL-10 与 INF-γ 相关性用直线相关进行分析,

P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 入院时各组人群中 INF-γ 和 IL-10 水平

结果见表 1。我们发现在刚入院时间点的时候, 和正常志愿者相比较, 慢性肝炎不论重度还是中度, 其 IL-10 水平都没有显著变化; 而慢性重型肝炎的 IL-10 水平呈现明显下降, 有统计学差异。而 INF-γ 水平我们则发现慢性重型肝炎组出现了显著性地上升, 而慢性肝炎中度则没有显著性变化, 重度有轻微升高。

表 1 各组血清中 IL-10 和 INF-γ 的水平变化  
Table1 The changes of IL-1and INF-γ in serum of the groups

组别 Groups	例数 Numbers	IL-10 (ng/L)	INF-γ (ng/L)
慢性肝炎中度 Chronic hepatitis, midrange	66	43.17 ± 10.52	37.85 ± 12.48
慢性肝炎重度 Chronic hepatitis, severe	25	58.41 ± 15.26	79.64*± 24.26
慢性重型肝炎 Chronic severe hepatitis	33	24.68* ± 11.25	341.53*± 97.11
正常对照 Control	30	49.64 ± 18.94	28.54 ± 10.52

注: \* 和正常对照组相比, 具有显著性差异(P<0.05)

\* P<0.05, compared with control

2.2 不同预后的重型肝炎患者中, 入院时 INF-γ 水平差异

结果见表 2。我们发现, 33 例重症肝炎患者中, 20 例治疗后有好转, 而 13 例治疗无效。这 33 名患者入院时的 INF-γ 水

平统计如下, 并无显著性差异。此结果提示 INF-γ 水平作为预后指标的提示性并不好。

表 2 不同预后的重型肝炎患者中, 入院时 INF-γ 水平统计

Table2 The INF-γ admission-original level of the patients of chronic severe hepatitis

组别 Groups	例数 Numbers	INF-γ (ng/L)
正常对照 Control	30	28.54 ± 10.52
重型肝炎治疗有效组 The useful treatment group about chronic severe hepatitis	20	371.54 ± 73.94*
重型肝炎治疗无效组 The useless treatment group about chronic severe hepatitis	13	347.54 ± 56.29*

注: \* 和正常对照组相比, 具有显著性差异(P<0.05)

\* P<0.05, compared with control

2.3 治疗前后重型肝炎患者血清中 INF-γ 以及 IL-10 的含量变化

我们对 33 例重型肝炎患者治疗前后的血清 INF-γ 以及

IL-10 含量进行了统计分析, 发现 INF-γ 在治疗有效组前后出现了显著性差异, 而 IL-10 的变化则并不明显(表 3), 此结果提示 INF-γ 可以作为监控重型肝炎病理进程的有效指标。

表 3 治疗前后血清 INF-γ 以及 IL-10 的含量变化

Table3 The changes of INF-γ and IL-10 in the serum of pretherapy and post-treatment groups

组别 Groups	例数 Numbers	IL-10 治疗前 IL-10 pretherapy	IL-10 治疗后 IL-10 post-treatment	INF-γ 治疗前 INF-γ pretherapy	INF-γ 治疗后 INF-γ post-treatment
重型肝炎治疗有效组 The useful treatment group about chronic severe hepatitis	20	39.64 ± 4	5.24	371.54	142.75*
重型肝炎治疗无效组 The useless treatment group about chronic severe hepatitis	13	47.31	41.73	347.54	328.93

### 3 讨论

慢性乙型重型肝炎是在慢性肝炎或者肝硬化基础上肝脏发生弥漫性肝细胞坏死,病死率达 50%以上。其发病机制与 HBV 复制、免疫激活等有密切关系。HBV 病毒感染并在肝细胞内持续复制是诱导强烈细胞免疫反应是重要诱因和启动因素。继发的免疫损伤会引起肝组织的大块、亚大块坏死<sup>[4-6]</sup>。内毒素血症加重肝坏死,并诱生包括 INF 在内的大量细胞因子产生,形成 2 次打击,而 INF 介导了内毒素所致的枯否氏细胞及肝细胞的凋亡,而且细胞凋亡早于细胞损伤的出现,大量凋亡细胞的出现,使枯否氏细胞对内毒素的灭活作用降低,进而加重肝细胞损伤。因此控制炎症反应在治疗慢性乙型重型肝炎过程中非常重要<sup>[7-9]</sup>。

辅助性 T 细胞(Th 细胞)在细胞免疫和体液免疫应答过程中有着重要的辅助作用,根据其分泌的细胞因子谱的不同, Th 细胞可分为 Th1、Th2 等几个功能亚群。其功能主要由其所释放的细胞因子介导的<sup>[10-12]</sup>。Th1 主要释放 INF- $\gamma$  而 Th2 主要释放 IL-10。其中 IL-10 具有抑制 Th1 细胞因子的产生和某些免疫效应器的功能<sup>[13]</sup>,从而对炎症性细胞因子具有普遍的抑制作用<sup>[14,15]</sup>。而在基础研究方面,人们更是在之前的研究中,发现了 IL-10 启动子区域的突变,可能会影响乙肝病毒的感染,以及随后肝脏疾病的病程进展<sup>[16-18]</sup>;另一方面,人们也发现干扰素  $\alpha$  (INF- $\alpha$ ) 同样具有影响乙型肝炎的作用,但在用药方面存在着不可克服的副作用<sup>[19]</sup>。这些前期背景工作都促使我们去探讨新的分子标记物,IL-10 与另一种干扰素分子,INF- $\gamma$  在慢重肝中的作用。

在本研究中我们发现,和正常对照组以及慢性肝炎相比,慢性重型肝炎具有显著性增高的 INF- $\gamma$  水平以及明显下降的 IL-10 水平。这一结果提示着在慢性重型肝炎的发病过程中,这一动态平衡的相互拮抗的细胞因子出现了平衡紊乱,这种紊乱可能进一步促进了 Th1 类细胞的活性增强,并放大了 HBV 抗原所导致的免疫反应。而我们进一步发现在不同预后的患者中,发病伊始时其 INF- $\gamma$  水平并没有明显的区别,也就是说 INF- $\gamma$  水平作为预后诊断标准并不合适。但是最后我们同样发现,在治疗效果不同的组别中,INF- $\gamma$  的变化及其明显,这一结果便提示着 INF- $\gamma$  水平可能作为监控病程治疗的指标之一。而 IL-10 的变化则不甚明显,提示着这种 INF- $\gamma$  的下降可能和两类 Th 细胞的动态平衡无关。但也同样提示着,我们现行的治疗方法并未重新建立机体免疫系统的动态平衡过程。

总之,本文的研究结果为慢性乙型重型肝炎的预后诊断和治疗都提供了一定的参考思路。

#### 参考文献(References)

- [1] 斯崇文,贾辅忠,李家泰. 感染病学 [M]. 第 1 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004:242
- [2] Tang ZY, Ye SL, Liu YK, et al. A decade's studies on metastasis of hepatocellular carcinoma [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2004, 130: 187-196
- [3] 顾长海, 王宇明. 肝功能衰竭 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 190-191

- Gu CH, Wang YM. The failure of liver function [M]. Beijing: People health publishing company, 2002:190-191
- [4] Woltman AM, Op den Brouw ML, Biesta PJ, et al. Hepatitis B virus lacks immune activating capacity, but actively inhibits plasmacytoid dendritic cell function. PLoS One, 2011, 6(1):e15324
- [5] Jiang Y, Li W, Yu L, et al. Enhancing the antihepatitis B virus immune response by adefovir dipivoxil and entecavir therapies. Cell Mol Immunol, 2010, 8(1):75-82
- [6] El Chaar M, Candotti D, Crowther RA, et al. Impact of hepatitis B virus surface protein mutations on the diagnosis of occult hepatitis B virus infection. Hepatology, 2010 Nov;52(5):1600-1610
- [7] Soares JB, Pimentel-Nunes P, Roncon-Albuquerque R, et al. The role of lipopolysaccharide/toll-like receptor 4 signaling in chronic liver diseases. Hepatol Int, 2010, 4(4):659-672
- [8] Zhu JH, Lei XG. Lipopolysaccharide-induced hepatic oxidative injury is not potentiated by knockout of GPX1 and SOD1 in mice. Biochem Biophys Res Commun, 2011, 404(1):559-563
- [9] Eipel C, Hildebrandt A, Scholz B, et al. Mutation of mitochondrial ATP8 gene improves hepatic energy status in a murine model of acute endotoxemic liver failure. Life Sci, 2011, 88(7-8):343-349
- [10] Ursaciuc C, Surcel M, Ciotaru D, et al. Regulatory T cells and TH1/TH2 cytokines as immunodiagnosis keys in systemic autoimmune diseases. Roum Arch Microbiol Immunol, 2010, 69(2):79-84
- [11] Sabatino JJ Jr, Huang J, Zhu C, et al. High prevalence of low affinity peptide-MHC II tetramer-negative effectors during polyclonal CD4<sup>+</sup> T cell responses. J Exp Med, 2011, 208(1):81-90
- [12] Kim MS, Hur YG, Kim WG, et al. Inhibitory effect of Platycodon grandiflorum on T (H)1 and T (H)2 immune responses in a murine model of 2,4-dinitrofluorobenzene-induced atopic dermatitis-like skin lesions. Ann Allergy Asthma Immunol, 2011, 106(1):54-61
- [13] Oral HB, Kotenko SV, Yilmaz M, et al. Regulation of T cells and cytokines by the interleukin-10 (IL-10)-family cytokines IL-19, IL-20, IL-22, IL-24 and IL-26[J]. Eur J Immunol, 2006, 36:380-388
- [14] 许勇臣, 姜晓峰. 白介素 13 与其受体间作用机制的探讨 [J]. 国外医学临床生物化学与检验学分册, 2005, 26 (5) :288-289
- Xu YC, Jiang XF. The study on the mechanisms of IL-13 and its receptors [J]. Overseas medicine: clinic-biochemistry and ecsomatics, 2005, 26 (5) :288-289
- [15] Wang Y, MeiY, Feng D, et al. Triptolide modulates T-cell inflammatory responses and ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. J Neurosci Res, 2008, 86 (11):2441- 2449
- [16] Miyazoe S, Hamasaki K, Nakata K, et al. Influence of interleukin-10 gene promoter polymorphisms on disease progression in patients chronically infected with hepatitis B virus [J]. Am J gastroenterol, 2002, 97:2086-2092
- [17] Shin HD, Park BL, Kim LH, et al. Interleukin 10 haplotype associated with increased risk of hepatocellular carcinoma [J]. Hum Mol Genet, 2003, 12:901-906
- [18] Zhu QR, Ge YL, Gu SQ, et al. Relationship between cytokines gene polymorphism and susceptibility to hepatitis B virus intrauterine infection[J]. Chin Med J, 2005, 118:1604-1609
- [19] Ketikoglou I, Karatapanis S, Elefsiniotis I, et al. Extensive psoriasis induced by pegylated interferon alpha-2b treatment for chronic hepatitis B[J]. Eur J Dermatol, 2005, 15:107-109