

乙型肝炎患者血清 IL-16 含量与其抗原抗体模式及 HBV-DNA 载量的关系研究

徐 敏, 曹向红, 胡丽香, 黄文昆, 朱雯梅, 王 杨 (云南省昆明市延安医院检验科 650051)

【摘要】 目的 探索乙型肝炎患者抗原抗体模式、HBV-DNA 载量与血清白细胞介素-16(IL-16)含量的相关性,为乙型肝炎发病机制的研究提供新的思路。**方法** 用时间分辨荧光分析法(TRFIR)检测乙型肝炎血清标志物(HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe 及抗-HBc IgG);用实时荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)法检测 HBV-DNA;用酶联免疫吸附法(ELISA)测定 IL-16。**结果** 乙型肝炎患者血清中 IL-16 含量与健康对照相比明显升高($P < 0.01$),并且 1、3 模式及 1、3、5 模式的患者血清中 IL-16 含量与 1、4、5 模式相比明显升高($P < 0.01$);HBV-DNA 载量大于或等于 500 与 HBV-DNA 载量小于 500 的乙型肝炎患者血清 IL-16 水平相比明显升高($P < 0.01$)。**结论** 血清 IL-16 在 HBV 感染早期病毒复制期明显升高,提示 IL-16 可能参与 HBV 感染后急性期的肝损伤过程,是一种潜在的乙型肝炎早期促炎性反应细胞因子。

【关键词】 乙型肝炎病毒; 白细胞介素-16; 淋巴细胞

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.04.010 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)04-0403-02

Relationship between serum IL-16 level with antigen-antibody models and HBV DNA load in patients with hepatitis B

XU Min, CAO Xiang-hong, HU Li-xiang, HUANG Wen-kun, ZHU Wen-mei, WANG Yang (Kunming yan'an Hospital, Kunming, Yunnan, 650051, China)

【Abstract】 Objective To investigate the correlation between the models of antigen-antibody, HBV DNA load in the patients with hepatitis B and the serum levels of interleukin-16 to provide a new thinking for studying the pathogenesis of hepatitis B. **Methods** TRFIA was used to determine HBsAg, anti-HBs, HBeAg, anti-HBe and anti-HBc IgM. FQ-PCR was used to measure HBV DNA. ELISA was applied to detect the levels of interleukin-16 in serum. **Results** The levels of IL-16 in both the models of antigen-antibody and the load of HBV DNA in the patients infected with HBV were much higher than those in healthy control group, respectively with statistic difference between 1,3/1,3,5 models and 1,4,5 models, between HBV DNA positive group and negative group. **Conclusion** Serum IL-16 level is obviously increased in both early hepatitis B and period with a good many HBV DNA virus reproduction, which shows that IL-16 might participate in the course of liver injury in acute and severe hepatitis B and IL-16 is a potential cytokine for promoting inflammation.

【Key words】 HBV; interleukin-16; lymphocyte

乙型肝炎(下称乙肝)的发病机制一直是临床研究的热点,近年来,各种研究都集中在细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)和辅助性 T 细胞(Th 细胞)及其分泌的细胞因子上来阐述乙型肝炎的发病机制、转归、治疗和预后等。研究表明,白细胞介素-16(IL-16)广泛参与了体内的免疫调节及炎性反应。IL-16 可诱导具有 CD4⁺的 T 淋巴细胞、单核细胞及嗜酸性细胞产生游走应答,通过 CD4⁺受体结合 T 细胞,诱导人 CD4⁺淋巴细胞和单核细胞的 IL-2R 和 HLA-2R 表达,诱导单核/巨噬细胞(包括肝脏 Kuffer 细胞)分泌 TNF、IL-1、IL-6 等炎性细胞因子。本研究初步探讨了乙肝患者血清中 IL-16 水平的变化,并分析其不同抗原抗体模式及 HBV-DNA 载量的变化,旨在揭示 IL-16 在乙肝发病中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机抽取 2009 年 10 月至 2010 年 2 月期间延安医院的住院及门诊患者作为乙肝组,共 52 例。其中男 30 例,女 22 例,年龄 17~76 岁。病例选择按中华医学会传染病与寄生虫病学、肝病学会联合修订的《病毒性肝炎防治方案》中的乙肝诊断标准。所有患者 HBsAg 阳性,排除其他类型肝炎、自身免疫性疾病,且人类免疫缺陷病毒(HIV)抗体阴性。随机抽取延安医院体检中心的健康体检者作为健康对照组,共 21 例。其中男 12 例,女 9 例,年龄 16~70 岁。用真空采血管采

集两组人员静脉血 5 mL 并分离血清,放置 4℃ 冰箱保存。

1.2 抗原抗体浓度的检测 采用时间分辨荧光分析(TRFIR)法。试剂为苏州新波生物技术有限公司生产的 HBV 标志物定量测定试剂盒,按试剂盒说明书进行检测。仪器为上海新波生物技术有限公司出品的半自动 AnyTest2000 时间分辨荧光分析仪,按仪器说明书进行操作。质控品为康彻思坦生物有限公司生产,其中 HBsAg 质控品的浓度为 1 U/mL(批号:200908003),抗-HBs 质控品的浓度为 10 mIU/mL(批号:200907002),HBeAg 质控品的浓度为 0.5 U/mL(批号:200907002),抗-HBe 质控品的浓度为 1 U/mL(批号:200907002),抗-HBc IgG 质控品的浓度为 0.5 U/mL(批号:201001001)。

1.3 HBV-DNA 载量的检测 采用实时荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)法。试剂为达安 HBV-DNA 定量检测试剂盒,按试剂盒说明书进行测定。仪器为达安 DA7600 实时荧光扩增仪,按仪器说明书进行操作。使用试剂盒配套质控品(批号:20100324)。

1.4 IL-16 含量的测定 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法。试剂为晶美生物工程有限公司试剂盒。仪器为 EGATE2310 全自动洗板机、2510 变频振荡器、MULTISKAN EX 酶标仪,按仪器说明书进行操作。使用试剂盒配套标准品作相同的检

测, 得出一系列的标准品吸光度(OD 值), 经计算得标准方程: $Y = 120.9248 - 57.6269 \times \log_{10}(X)$ (X 表示 OD 值, Y 表示 IL-16), 将测得的研究对象的 OD 值代入标准方程即求出 IL-16 的浓度。

1.5 统计学方法 应用 SPSS16.0 统计软件进行方差齐性分析, 两样本均数进行 t 检验, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结 果

2.1 抗原抗体模式与 IL-16 水平的关系 用项目序号 1 表示 HBsAg(阳性), 2 表示抗-HBs(阳性), 3 表示 HBeAg(阳性), 4

表示抗-HBe(阳性), 5 表示抗-HBe IgG(阳性)。同一患者出现的抗原抗体阳性项目, 用项目序号依以上次序排列形成的阳性抗原抗体组合称为抗原抗体模式。本实验共 4 种抗原抗体模式, 按不同模式进行分组, A 组: 1, 3 模式; B 组: 1, 3, 5 模式; C 组: 1, 4, 5 模式; D 组: 1, 5 模式。H 组: 健康对照; 乙肝组: 所有 HBsAg 阳性的患者。各组间 IL-16 水平比较结果见表 1。

2.2 HBV-DNA 载量与 IL-16 含量的关系 用 P 表示 HBV-DNA 载量大于或等于 500 组, N 表示 HBV-DNA 载量小于 500 组。各组间 IL-16 水平比较结果见表 2。

表 1 血清标志物模式与 IL-16 含量的关系

组别	n	IL-16(ng/mL)	P 值				
			与 B 组比	与 C 组比	与 D 组比	与 H 组比	与乙肝组比
A	8	147.51 ± 4.95	>0.05	<0.01	<0.01	<0.01	—
B	16	146.76 ± 7.07	—	<0.01	<0.01	<0.01	—
C	25	140.94 ± 5.54	—	—	<0.05	<0.01	—
D	3	132.68 ± 3.01	—	—	—	<0.05	—
H	21	126.97 ± 4.35	—	—	—	—	<0.01
乙肝	52	143.26 ± 6.98	—	—	—	<0.01	—

注: — 表示无数据。

表 2 HBV-DNA 载量与 IL-16 含量的关系

组别	n	IL-16 水平(ng/mL)	与 N 组比	与 C 组比	与乙肝组比
P	39	145.02 ± 6.77	<0.01	<0.01	—
N	13	137.99 ± 4.67	—	<0.01	—
C	21	126.97 ± 4.35	—	—	<0.01
乙肝	52	143.26 ± 6.98	—	<0.01	—

注: — 表示无数据。

3 讨 论

本实验将乙肝组与健康对照组相比, 乙肝组 IL-16 明显升高($P < 0.01$)。IL-16 在健康对照组中的相对低水平表达提示, 其作为 CD8⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞、B 淋巴细胞、嗜酸性细胞、支气管上皮细胞、单核细胞衍生的树突状细胞(DC)和肥大细胞等细胞的表达产物^[1], 执行着正常的生理功能; 而 IL-16 在乙肝组的高水平表达, 则提示 IL-16 可能参与了乙肝的炎症过程, 但其具体机制尚不清楚。

本实验将乙肝组按其不同的阳性模式进行分组发现: 1、3 模式及 1, 3, 5 模式的患者血清中 IL-16 含量与 1, 4, 5 模式相比明显升高($P < 0.01$)。1, 3 模式或 1, 3, 5 模式(大三阳)说明患者处于急性感染期, 1, 4, 5 模式(小三阳)说明患者处于感染后期或者慢性携带状态, 二者之间 IL-16 的差异提示 IL-16 可能参与了乙型肝炎的急性期炎症反应过程, 是急性期的炎症因子之一; 本实验又用 HBV-DNA 载量进行分组发现: HBV-DNA 载量大于或等于 500 与 HBV-DNA 载量小于 500 的乙肝患者血清 IL-16 含量相比明显升高($P < 0.01$), 则更进一步直接提示 IL-16 含量在乙肝病毒处于高复制活动期时明显升高, 即 IL-16 参与了乙型肝炎急性期。

乙肝急性期时, 乙肝病毒复制活跃, 机体为清除 HBV, 产生免疫应答机制: 外源性抗原主要由单核吞噬细胞或抗原呈递细胞(APCS)加工, 形成抗原肽后与细胞内 HLA-II 型分子整合, 并以复合物的形式表达在细胞膜上。CD4⁺T 淋巴细胞主要通过“T 细胞受体(TCR)”识别 APCS 膜上与 HLA-II 结合的 HBV 外源性抗原而活化、增生。与复合物结合后的 CD4⁺T 在协同分子的刺激下被活化, 并释放多种细胞因子, 辅助

HBV 特异性 CD8⁺T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞成熟、增生^[2]; 而特异性 CD8⁺T 淋巴细胞则发挥 CTL 作用, 造成肝脏的病理损伤, 同时 CD8⁺T 淋巴细胞能表达 IL-16 mRNA, 而 IL-16 产生后可能发挥趋化活性——诱导具有 CD4⁺的 T 淋巴细胞、单核细胞及嗜酸性细胞产生游走应答, 从而这些炎症细胞分泌 TNF、IL-1、IL-6 等炎性细胞因子, 扩大炎症反应, 参与 HBV 感染后的肝损伤过程。事实上不仅 CD8⁺T 细胞可表达 IL-16 mRNA, 而且 CD4⁺T 细胞也可少量表达^[3]。另外, 炎症反应早期, 一些重要的炎症细胞, 如单核/巨噬细胞(包括肝脏的枯否细胞)、中性粒细胞, 受到炎症刺激时, 也可分泌 IL-16。所以, 乙肝病毒一旦触发机体的免疫应答机制, 就会产生类似于 IL-16 的正反馈效应, 不断地损伤肝脏, 直到乙肝病毒被控制^[4]。罗春香和杨志^[5]的研究认为血清 IL-16 在 HBV 感染早期病毒高水平复制期明显升高, 提示 IL-16 可能参与 HBV 感染后急性期及重型肝炎的肝损伤过程, 是一种潜在的早期促炎性反应细胞因子。

参考文献

[1] 熊红. 白细胞介素-16 研究进展[J]. 国外医学免疫学分册, 2002, 25(3): 161-164.
 [2] Chisari FV, Ferraric C. Hepatitis B virus immunopathogenesis [J]. Annu Rev Immunol, 1995, 13: 29260.
 [3] Akiyama K, Karaki M, Kobayshi R. IL-16 variability and modulation by antiallergic drugs in a murine experimental allergic rhinitis model[J]. International Archives of Allergy and Immunology, 2009, 4: 1125.
 [4] 邱清芳. 乙肝相关疾病患者细胞免疫功能与 HBV-DNA 含量的相关性研究[J]. 中国实验诊断学, 2009, 13(9): 1056.
 [5] 罗春香, 杨志. 乙肝患者抗原抗体模式及病程与 IL-16 含量的关系[J]. 实用预防医学, 2004, 11(4): 659-661.