

## 乙型肝炎肝硬化患者红细胞参数及相关细胞因子检测分析

钱超, 余建华, 吴文静, 谷费菲(解放军第四五四医院检验科, 江苏南京 210002)

**【摘要】** 目的 分析乙型肝炎肝硬化患者红细胞参数和血清白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-17(IL-17)和白细胞介素-18(IL-18)水平,并探讨 IL-6、IL-17 和 IL-18 在肝硬化贫血发病机制中的作用。方法 检测 114 例乙型肝炎肝硬化组及 30 例健康对照组红细胞参数。采用酶联免疫法检测肝硬化组及健康对照组血清 IL-6、IL-17 和 IL-18 水平。结果 乙型肝炎肝硬化组 RBC、Hb 和 Hct 明显低于健康对照组( $P < 0.05$ ),RDW 水平明显高于健康对照组( $P < 0.05$ );MCV 水平与健康对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。肝硬化组血清 IL-6、IL-17 和 IL-18 水平明显高于健康对照组( $P < 0.05$ );肝硬化组 Hb 水平与血清 IL-6、IL-17 及 IL-18 水平呈负相关( $P < 0.01$ )。结论 细胞因子 IL-6、IL-17 及 IL-18 在乙型肝炎肝硬化性贫血的发病机制中起着重要作用。

**【关键词】** 肝硬化; 白细胞介素-6; 白细胞介素-17; 白细胞介素-18

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.05.007 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)05-0526-02

**Analysis of RBC parameters and associated cytokines detection in patients with hepatitis B-related cirrhosis** QIAN Chao, YU Jian-hua, WU Wen-jing, GU Fei-fei (Department of Clinical Laboratory, 454 Hospital of PLA, Nanjing, Jiangsu 210002, China)

**【Abstract】** **Objective** To investigate the RBC parameters and the serum levels of IL-6, IL-17 and IL-18, and further to explore the influence of levels of IL-6, IL-17 and IL-18 on the pathogenesis of anemia in the patients with hepatitis B-related cirrhosis. **Methods** The RBC parameters were detected in 114 patients with hepatitis B-related cirrhosis and 30 healthy people as control group respectively. And the levels of serum IL-6, IL-17 and IL-18 were detected with ELISA in both groups. **Results** The levels of RBC, Hb and Hct were significantly decreased, and RDW were significantly increased in the hepatitis B-related cirrhosis group than those in the healthy control group ( $P < 0.05$ ). There was no statistical difference in MCV between the two groups ( $P > 0.05$ ). The levels of serum IL-6, IL-17 and IL-18 in the hepatitis B-related cirrhosis group were significantly increased compared with the healthy control group ( $P < 0.05$ ). And there was negative relationship between serum levels of IL-6, IL-17 and IL-18 with the level of Hb in the hepatitis B-related cirrhosis group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Cytokines IL-6, IL-17 and IL-18 play an important role in the pathogenesis of anemia resulted from hepatitis B-related cirrhosis.

**【Key words】** liver cirrhosis; IL-6; IL-17; IL-18

肝炎后肝硬化患者贫血的原因是多方面的,目前认为主要原因有脾功能亢进引起的对红细胞的过度破坏,肝损伤本身对造血的影响及细胞因子对骨髓造血微环境的影响等。本文分析 114 例乙型肝炎后肝硬化患者红细胞参数,并检测了血清白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-17(IL-17)和白细胞介素-18(IL-18)水平,探讨 3 种细胞因子在肝硬化后贫血发病机制中的作用。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 肝炎肝硬化诊断按 2000 年西安学术会议修订的诊断标准<sup>[1]</sup>。乙型肝炎后肝硬化组 114 例,均系 2010 年 7 月至 2011 年 6 月在本院就诊的住院患者,其中男 77 例,女 37 例,年龄 22~81 岁。按血红蛋白(Hb)水平将肝硬化患者分为 3 组:Hb 正常组(男 Hb>120 g/L,女 Hb>110 g/L)41 例;轻度贫血组(Hb:男 90~120 g/L,女 90~110 g/L)55 例;中度贫血组(Hb<90 g/L)18 例。健康对照组 30 例,均系 2011 年 6 月在本院体检者,其中男 20 例,女 10 例,年龄 25~65 岁,均为体检合格的健康人,无心、肺、肝、肾等重要器官疾病,肝、肾功能正常。

**1.2 仪器与试剂** 库尔特 Hmx 型血细胞分析仪,购自美国贝克曼公司。人 IL-6、IL-17 试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司。人 IL-18 试剂盒购自上海西唐生物科技有限公司。ADALTIS 全自动酶免仪,购自意大利亚特斯公司。

## 1.3 方法

**1.3.1 红细胞参数检测** 库尔特 Hmx 型血细胞分析仪检测乙型肝炎肝硬化组及健康对照组红细胞参数:红细胞(RBC)、Hb、红细胞平均体积(MCV)、血细胞比容(Hct)和红细胞分布宽度(RDW)。

**1.3.2 IL-6、IL-17 和 IL-18 检测** ELISA 检测血清 IL-6、IL-17 和 IL-18 水平。常规收集肝硬化组及健康对照组血清,-20℃冻存备用。操作及结果判定按试剂盒说明书进行,在 450 nm 处读取吸光度值。

**1.4 统计学方法** 实验数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间差异比较采用  $t$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。相关性研究采用直线相关分析。

## 2 结果

**2.1 红细胞参数检测结果** 乙型肝炎肝硬化组与健康对照组比较,肝硬化组 RBC、Hb、Hct 较健康对照组明显降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );两组 MCV 差异无统计学意义( $P > 0.05$ );肝硬化组 RDW 明显增高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

**2.2 各组 IL-6、IL-17 和 IL-18 检测结果** ELISA 检测肝硬化组及健康对照组血清中 3 种细胞因子水平见表 2。肝硬化组 IL-6、IL-17、IL-18 水平明显高于健康对照组( $P < 0.05$ );Hb 正

常组、轻度贫血组、中度贫血组随着 Hb 水平减低,细胞因子水平逐步增高( $P < 0.05$ )。

表 1 肝硬化组和健康对照组红细胞参数检测结果( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	RBC( $\times 10^{12}/L$ )	Hb(g/L)	Hct(%)	MCV(fL)	RDW(%)
健康对照组	30	4.53 $\pm$ 0.41	138.6 $\pm$ 15.2	39 $\pm$ 4.9	90.3 $\pm$ 4.6	12.3 $\pm$ 2.6
肝硬化组	114	3.31 $\pm$ 0.25*	106.9 $\pm$ 8.6*	31 $\pm$ 4.2*	92.6 $\pm$ 6.9	16.6 $\pm$ 3.4*

注:与健康对照组比较,\* $P < 0.05$ 。

表 2 肝硬化组和健康对照组 Hb、IL-6、IL-7、IL-18 检测结果( $\bar{x} \pm s$ )

n	Hb(g/L)	IL-6(pg/mL)	IL-17(pg/mL)	IL-18(pg/mL)	
健康对照组	30	138.6 $\pm$ 13.3	8.6 $\pm$ 2.9	23.6 $\pm$ 7.5	172.3 $\pm$ 64.2
肝硬化组	114	106.8 $\pm$ 28.5 <sup>a</sup>	62.5 $\pm$ 23.6 <sup>a</sup>	41.8 $\pm$ 18.8 <sup>a</sup>	277.9 $\pm$ 151.2 <sup>a</sup>
Hb 正常组	41	126.7 $\pm$ 11.3	43.1 $\pm$ 16.3	32.9 $\pm$ 12.5	212.3 $\pm$ 75.6
轻度贫血组	55	103.6 $\pm$ 15.2	66.2 $\pm$ 18.8 <sup>b</sup>	40.4 $\pm$ 14.6 <sup>b</sup>	278.6 $\pm$ 110.3 <sup>b</sup>
中重度贫血组	18	71.5 $\pm$ 17.4	95.4 $\pm$ 25.6 <sup>c</sup>	66.3 $\pm$ 25.3 <sup>c</sup>	425.2 $\pm$ 171.5 <sup>c</sup>

注:与健康对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 Hb 正常组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与轻度贫血组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ 。

**2.3 Hb 水平和细胞因子相关性分析** 对 114 例肝硬化患者的 Hb 值分别和 3 种细胞因子水平进行相关分析。结果显示 IL-6、IL-17 和 IL-18 水平和 Hb 呈负相关性,相关系数分别为  $-0.71(P < 0.01)$ 、 $-0.61(P < 0.01)$  和  $-0.77(P < 0.01)$ 。

### 3 讨论

贫血是乙型肝炎后肝硬化常见并发症之一。本文资料显示,肝硬化组的 RBC、Hb 和 Hct 明显低于健康对照组( $P < 0.05$ ),这和文献较一致<sup>[2]</sup>。肝硬化组 MCV 差异无统计学意义,但 RDW 明显增高( $P < 0.05$ ),说明肝硬化患者红细胞大小不等程度增加。肝硬化继发贫血的原因是多方面的,其中门脉高压引起的脾功能亢进,造成对红细胞的阻滞破坏增加,是造成贫血的主要原因之一<sup>[3]</sup>。大部分肝硬化并发脾功能亢进患者在脾脏切除后,外周血细胞可增加,但部分患者脾脏切除后,外周血细胞不仅无增加,而且出现进行性下降表现<sup>[4]</sup>。这提示除脾功能亢进造成的红细胞破坏增加外,还存在引起贫血的其他因素。近年来研究发现,细胞因子网络调控对骨髓造血细胞的生长起着关键作用<sup>[3]</sup>。

IL-6 是一种具有广泛生物学活性的多功能生长因子,T 细胞、B 细胞、单核-巨噬细胞、成纤维细胞等在细菌内毒素、植物血凝素、某些炎症因子如 IL-1、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和病毒感染等刺激下均能产生 IL-6。吴静黎等<sup>[5]</sup>等研究显示在肝硬化患者中 IL-6 水平显著增高,其水平随着肝功能损坏而加重。Kanda 等<sup>[6]</sup>提出,在炎症的情况下,IL-6 介导的 hepcidin 过度增多,引起铁代谢的异常变化,造成红细胞的铁利用障碍,从而导致贫血发生。国内潘湘涛等<sup>[7]</sup>研究也证实了这点。Yuzuriha 等<sup>[8]</sup>用 IL-6 受体抗体治疗自身免疫性溶血性贫血症,疗效显著,说明 IL-6 在贫血的发病中发挥着重要作用。

近年来,人们发现 IL-17 广泛参与了慢性肝病的发病及抗病毒免疫。IL-17 作为一种重要的炎症因子,能募集大量的炎症细胞趋向炎症部位,因此在炎症的发生和发展过程中起重要的促进作用。有研究发现 IL-17 无论在慢性乙型肝炎还是肝炎肝硬化患者的肝内表达与炎症活动呈正相关<sup>[9]</sup>。另一项研究表明在慢性乙型肝炎病毒感染的患者外周血和肝组织中分泌 IL-17 的 Th17 细胞显著高于健康对照者,且与肝损伤程度正相关。IL-17 能够活化单核细胞和髓系树突细胞并刺激其分泌多种炎症细胞因子(如 IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ )等<sup>[10-11]</sup>。Gu 等<sup>[12]</sup>

发现与健康对照组相比,再生障碍性贫血患者骨髓和外周血单个核细胞 IL-17 mRNA 表达上调,血浆中 IL-17 高表达,且能促使巨噬细胞产生 TNF- $\alpha$ 。

在细菌、病毒寄生虫和真菌感染时,血清中可检测到高浓度的 IL-18,说明 IL-18 可增强机体的抗感染能力,但有证据表明其过度表达可能引起组织器官的免疫性损害。杨小云等<sup>[13]</sup>研究发现,乙型肝炎肝硬化患者血清 IL-18 水平明显高于健康对照,且随肝损害加重而提高。研究证实,在体外 IL-18 最大的生物学作用之一是诱导 T 细胞和 NK 细胞产生  $\gamma$ -干扰素(IFN- $\gamma$ )<sup>[3]</sup>。IL-1、TNF- $\alpha$  和 INF- $\gamma$  等可抑制促红细胞生成素(EPO)的产生,使骨髓对 EPO 反应减弱,影响红系突变成单单位(BFU-E)及红系集落形成单位(CFU-E)的生成,对骨髓红系造血产生抑制作用,这种抑制具有剂量依赖性。被 TNF- $\alpha$  和 INF- $\gamma$  抑制的 BFU-E 和 CFU-E 能被 EPO 所纠正<sup>[14]</sup>。提示在乙型肝炎肝硬化患者骨髓造血功能逐步下降时,IL-17 和 IL-18 可能通过复杂的细胞因子网络失衡促进贫血的加重。

从本研究结果看,肝炎后肝硬化患者 IL-6、IL-17、IL-18 水平显著高于健康对照组,且随着贫血程度的加重逐步升高,与 Hb 水平呈负相关, $r$  分别为  $-0.71(P < 0.01)$ 、 $-0.61(P < 0.05)$ 、 $-0.77(P < 0.01)$ ,说明这 3 种细胞因子可能对肝炎后肝硬化患者骨髓造血细胞的生长起着负性调控作用,其具体的作用机制有待于进一步研究。

### 参考文献

- [1] 中华医学会.病毒性肝炎防治方案[J].中华传染病杂志,2001,19(1):56-62.
- [2] 张银涛.肝硬化患者红细胞参数的变化及临床意义[J].检验医学与临床,2009,6(2):115-117.
- [3] 党双锁.肝硬化失代偿期外周血细胞减少成因机制[J].世界华人消化杂志,2007,15(27):2861-2864.
- [4] 张伟辉,赵松,付英梅,等.肝硬化门静脉高压症患者脾切除术后血细胞减少的病因分析[J].中华医学杂志,2005,85(18):1285-1286.
- [5] 吴静黎,温帆洲,朱瑞芳,等.肝硬化患者血清内毒素、TNF- $\alpha$ 、IL-6 检测的临床意义[J].现代医药卫生,2004,20(8):602-603.

比较 联合检测的敏感性(81.5%)及准确度(87.4%)明显高于单项检测( $P < 0.05$ )。联合检测的特异度与单项检测差异无统计学意义( $P > 0.05$ )，见表 3。

表 2 各组 CA125 和 CA72-4 单项和联合检测诊断卵巢癌阳性率的比较[n(%)]

组别	n	CA125	CA72-4	联合
卵巢癌组	54	35(65.8)*	11(20.3)*	44(81.5)*
卵巢良性肿瘤组	41	5(12.1)#	2(4.9)#	7(17.1)#
健康对照组	40	1(2.4)	0(0.0)	0(0.0)

注：与健康对照组比较，\*  $P < 0.05$ ，#  $P > 0.05$ 。

表 3 血清 CA125 和 CA72-4 单项和联合检测对卵巢癌诊断价值的比较(%)

标志物	敏感度	特异度	准确度
CA125	65.8(35/54)	87.8(36/41)	74.7(71/95)
CA72-4	20.3(11/54)	95.1(39/41)	52.6(50/95)
联合检测	81.5(44/54)*	95.1(39/41)	87.4(83/95)*

注：与各单项比较，\*  $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

CA125 存在于上皮性卵巢癌组织和患者血清中，健康人含量甚微，是卵巢癌特异性较高的肿瘤标志物，对于卵巢癌的诊断价值已得到公认<sup>[3]</sup>。CA72-4 也是肿瘤相关糖蛋白抗原，CA72-4 是监测胃癌发生和治疗的有用指标，同时对卵巢癌的诊断亦有一定的价值<sup>[4]</sup>。CA72-4 与 CA125 两种肿瘤标志物在对妇科附件包块疾病性质进行诊断时，CA72-4 具有较高的特异性，而 CA125 具有较高的灵敏度，所以在卵巢恶性肿瘤的诊断中，临床联合检测以上两种肿瘤标志物对于疾病的诊断具有非常重要的意义<sup>[5-6]</sup>。

本研究中卵巢癌组 CA125、CA72-4 检测水平明显高于健康对照组和卵巢良性肿瘤组。虽然卵巢良性肿瘤组 CA125、CA72-4 也升高，但其水平明显低于卵巢癌组。CA125 和 CA72-4 在卵巢癌组单项阳性率分别为 65.8% 和 20.3%，而二

项指标联合检测阳性率高达 81.5%，说明联合检测大幅度提高了卵巢癌的检出率。Donach 等<sup>[7]</sup>研究也表明卵巢癌组单项 CA125 阳性率为 72%，而当联合 CA72-4 检测时阳性率上升为 80%。张辉等<sup>[8]</sup>研究也表明 CA125 与 CA72-4 联合检测对卵巢癌诊断效果最佳。

总之，防治卵巢癌的关键在及早确诊，血清 CA125 和 CA72-4 联合检测可明显提高卵巢癌的敏感度，减小漏检率，这可弥补单项标志物对诊断卵巢癌阳性率低的弱点，确保卵巢癌患者得到早期诊断及治疗，降低病死率。

### 参考文献

- [1] 童红莉, 田亚平. 血清 CA125 临床意义的回顾性分析[J]. 现代肿瘤医学, 2006, 14(12): 1603-1604.
- [2] Negishi Y, Iwabuchi H, Sakunaga H, et al. Serum and tissue measurements of CA72-4 in ovarian cancer patients [J]. Gynecol Oncol, 1993, 48(2): 148-154.
- [3] 邱梅婷, 秦松树. 肿瘤标志物在卵巢癌中的价值[J]. 中国医药导报, 2011, 8(24): 5-7.
- [4] 栾晓蕊, 李为平, 狄文. 卵巢癌早期诊断的血清肿瘤标志物研究进展[J]. 国际妇产科学杂志, 2009, 36(6): 458-461.
- [5] 邹建文, 高华. CEA、CA199、CA724 和 CA125 在卵巢肿瘤中的诊断价值[J]. 山东医药, 2010, 50(7): 92-93.
- [6] 刘瑾, 魏艳秋. 肿瘤标志物在卵巢癌诊治中的应用[J]. 山东医药, 2009, 49(34): 113-114.
- [7] Donach M, Yu Y, Artioli G, et al. Combined use of biomarkers for detection of ovarian cancer in high-risk women [J]. Tumour Biol, 2010, 31(3): 209-215.
- [8] 张辉, 韩波. 检测 CA125、CA153 和 CA72-4 对卵巢癌诊断及疗效观察的临床价值[J]. 临床和实验医学杂志, 2010, 9(8): 568-569.

(收稿日期: 2012-08-23 修回日期: 2012-11-30)

(上接第 527 页)

- [6] Kanda J, Uchiyama T, Tomosugi N, et al. Oncostatin M and leukemia inhibitory factor increase hepcidin expression in hepatoma cell lines [J]. Int J Hematol, 2009, 90(5): 545-552.
- [7] 潘湘涛, 陆晔, 程旭, 等. 老年肿瘤患者血清铁调素及细菌脂多糖和白细胞介素 6 的表达 [J]. 中国老年学杂志, 2012, 32(16): 3418-3419.
- [8] Yuzuriha A, Saitoh T, Koiso H, et al. Successful treatment of autoimmune hemolytic anemia associated with multicentric Castleman disease by anti-interleukin-6 receptor antibody (tocilizumab) therapy [J]. Acta Hematol, 2011, 126(3): 147-150.
- [9] 秦来英, 杜文军, 刘葵花, 等. 白细胞介素 17 的肝内表达与慢性乙型肝炎肝纤维化的相关性 [J]. 中华肝脏病杂志, 2009, 17(3): 221-222.
- [10] Ge J, Wang K, Meng QH, et al. Implication of Th17 and

Th1 cells in patients with chronic active hepatitis B [J]. J Clin Immunol, 2010, 30(1): 60-67.

- [11] Zhang JY, Zhang Z, Lin F, et al. Interleukin-17-producing CD4(+) T cells increase with severity of liver damage in patients with chronic hepatitis B [J]. Hepatology, 2010, 51(1): 81-91.
- [12] Gu Y, Hu X, Liu C, et al. Interleukin (IL)-17 promotes macrophages to produce IL-8, IL-6 and tumor necrosis factor-alpha in aplastic anemia [J]. Br J Haematol, 2008, 142(1): 109-114.
- [13] 杨小云, 观晓辉, 曾宏, 等. 乙型肝炎肝硬化患者血清 IL-18、IFN-γ 水平变化的研究 [J]. 现代中西医结合杂志, 2005, 14(14): 1815-1816.
- [14] 田凡清. 慢性疾病性贫血的诊断与鉴别诊断 [J]. 中国医师进修杂志, 2006, 29(11): 13-14.

(收稿日期: 2012-08-24 修回日期: 2012-12-12)