

• 论 著 •

慢性乙型肝炎患者血清炎性反应指标与肝组织炎性反应分级及纤维化的关系

袁颖华, 杨潇瑾, 黄建芳, 庄春芳, 谢德胜[△]

(复旦大学附属上海市第五人民医院感染科 200240)

摘要:目的 探讨慢性乙型肝炎(CHB)患者血清炎性反应指标与肝组织炎性反应分级及纤维化的关系。方法 选取 2015 年 6 月至 2016 年 6 月该院收治的 120 例 CHB 患者作为 CHB 组,另选取 100 例健康体检者作为健康对照组,测定两组研究对象血清总胆红素(TBiL)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)、白细胞介素-6(IL-6)水平,并根据肝组织病理学诊断将 CHB 患者肝组织炎性反应分为 G0~G4 级,根据纤维化程度分为 S0~S4 期,分析 CHB 患者血清学指标与肝组织炎性反应分级及纤维化的关系。结果 CHB 组血清 TBiL、ALT、MCP-1、TGF- β 1、IL-6 水平均高于健康对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。CHB 组肝组织炎性反应分级 G0~G2 级者血清 TBiL、ALT、MCP-1、TGF- β 1、IL-6 水平均低于 G3~G4 级者,差异有统计学意义($P<0.05$)。CHB 纤维化分期 S0 期血清 TBiL、ALT、MCP-1、TGF- β 1、IL-6 水平低于 S1~S2 期,S1~S2 期各项指标均低于 S3~S4 期。经 Spearman 相关性分析显示,肝组织炎性反应分级与 MCP-1、TGF- β 1、IL-6 呈正相关($P<0.05$),纤维化分期与 MCP-1、TGF- β 1、IL-6 呈正相关($P<0.05$)。结论 CHB 患者血清 MCP-1、TGF- β 1、IL-6 水平与 CHB 肝组织炎性反应分级及纤维化有密切的关系,上述指标均可作为 CHB 病情及预后判断提供参考。

关键词:慢性乙型肝炎; 血清学指标; 肝组织炎性反应分级; 纤维化

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.16.014 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2017)16-2369-03

Relationship between serum inflammatory markers and inflammation grade and tissue fibrosis markers in CHB patients

YUAN Yinghua, YANG Xiaojin, HUANG Jianfang, ZHUANG Chunfang, XIE Desheng[△]

(Department of Infection Diseases, the Fifth People's Hospital of Shanghai, Fudan University, Shanghai 200240, China)

Abstract:Objective To investigate the relationship between serum inflammatory markers and liver inflammation grade and fibrosis in patients with chronic hepatitis B(CHB). **Methods** A total of 120 cases of patients with CHB were enrolled in this study and 100 cases of healthy subjects were selected as controls groups from June 2015 to June 2016. The levels of serum total bilirubin (TBiL), aspartate aminotransferase (ALT), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), interleukin-6 (IL-6) in patients with CHB were measured by immunohistochemistry and histopathological examination. According to the pathological diagnosis of liver tissue, the activity of inflammatory response in patients with CHB was divided into G0—G4, according to the degree of fibrosis, CHB was divided into S0—S4, and the relationship between serum inflammatory markers and liver inflammation grade and fibrosis of liver tissue was analyzed. **Results** The levels of TBiL, ALT, MCP-1, TGF- β 1 and IL-6 in CHB group were higher than those in control group ($P<0.05$). The levels of serum TBiL, ALT, MCP-1, TGF- β 1 and IL-6 in G0—G2 group were lower than those in G3—G4 group ($P<0.05$). The levels of serum TBiL, ALT, MCP-1, TGF- β 1 and IL-6 in the S0 group were lower than those in the S1—S2 group, and those marks in the S1—S2 group were lower than those in the S3—S4 group ($P<0.05$). The correlation analysis of Spearman showed that, liver tissue inflammation grade was positively correlated with MCP-1, TGF- β 1 and IL-6 ($P<0.05$), the stage of fibrosis was positively correlated with MCP-1, TGF- β 1 and IL-6 ($P<0.05$). **Conclusion**

Serum levels of MCP-1, TGF- β 1 and IL-6 in patients with CHB are closely related to inflammation grade and fibrosis of CHB. The above indexes can provide a reference for the diagnosis of CHB disease and prognosis.

Key words: chronic hepatitis B; serological markers; liver inflammation grade; fibrosis

慢性乙型肝炎(CHB)是目前我国乃至全球范围内发病率最高的传染性疾病。当人体感染乙型肝炎病毒(HBV)后,由于机体与病毒相互作用会导致不同个体肝脏损伤程度、炎性反应损伤及纤维化程度各异^[1]。既往可根据血清总胆红素(TBiL)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)及 HBVe 抗原(HBeAg)水平判断 CHB 患者病情进展情况,但近年研究指出,在一些 TBiL、ALT 接近正常的 HBV 感染者中仍有部分患者发生肝硬化^[2]。HBeAg 是 HBV 核心部分的可溶性蛋白,可作为病毒复制和传染性的指标,但近年研究发现,部分 CHB 患者体内 HBV 可发生变异,HBeAg 自动转阴并不意味着病情好转或病毒停止复制^[3]。因此,传统检测指标并不能有效反映 CHB 患者病情进展及预后情况。近年研究发现,血清中相关炎性反应因子与 CHB 的发生及病情进展有一定关系^[4]。单核细胞

趋化蛋白-1(MCP-1)、白细胞介素-6(IL-6)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)属于炎性反应及纤维化相关细胞因子,这些细胞因子可活化及趋化 T 细胞、单核/巨噬细胞、自然杀伤细胞(NK 细胞)等到达炎性反应部位,并介导组织炎性反应损伤及纤维化。本研究采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定 CHB 患者血清 MCP-1、TGF- β 1、IL-6 水平并结合肝组织活检,探讨上述指标与 CHB 肝组织炎性反应分级及纤维化的关系,旨在为 CHB 临床诊断及预后评估提供参考,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 6 月至 2016 年 6 月本院收治的 120 例 CHB 患者作为 CHB 组,男 58 例,女 62 例;年龄 28~68 岁,平均(52.8±3.4)岁;根据《慢性乙型肝炎防治指南》将 CHB 患者分为 HBeAg 阳性者 45 例,HBeAg 阴性者 75 例。

另选取 100 例健康体检者作为健康对照组,男 50 例,女 50 例;年龄 25~70 岁,平均(51.3±3.2)岁。两组研究对象性别、年龄比较差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 纳入和排除标准

1.2.1 纳入标准 (1)符合 2005 年中华医学会肝病学会及感染学分会颁布的《慢性乙型肝炎防治指南》诊断标准^[5];(2)均经血生化检查及肝脏穿刺检查确诊;(3)均签署知情同意书。

1.2.2 排除标准 (1)入组前接受过抗病毒治疗者;(2)合并乙型肝炎以外的其他类型的肝炎;(3)合并肝硬化、肝癌者;(4)合并循环系统、呼吸系统、血液系统、内分泌系统、消化系统严重疾病者。

1.3 方法

1.3.1 血液标本制备 CHB 患者于入院当天,健康对照者于体检当天分别抽取静脉血 6 mL,分装于 A、B 2 支试管中,A 试管不进行离心处理,B 试管置于北京思普特科技有限公司 SPT11/TGL-16 型离心机中以 3 000 r/min 离心处理 5 min,留取上清液,置于-20 ℃保存待测。

1.3.2 肝功能指标及血清炎性反应因子测定 取 A 试管,采用日立公司 7060 型全自动化分析仪测定两组 TBiL、ALT 水平。取 B 试管,采用 ELISA 测定两组 MCP-1、TGF-β1、IL-6 水平。MCP-1 试剂盒购于上海酶联生物科技有限公司;TGF-β1 试剂盒购于上海酶联生物耗材有限公司;IL-6 试剂盒购于上海恒远生物科技有限公司。所有操作均按试剂盒说明书执行。

1.3.3 肝组织学检查 肝组织学检查应用肝穿刺活检测定,常规消毒铺巾,局部麻醉,经 B 超定位及引导后应用 16 号穿针行皮肤穿刺,穿刺获得 3 cm×3 cm 大小的病理标本,应用 4%

多聚甲醛固定病理标本,石蜡包埋,切片,切片厚度为 5 mm,行苏木精-伊红(HE)及网状纤维染色。采用炎性反应活动度对肝组织病理学进行分级,记为 G0~G4 级,其中 G0 级为无炎性反应,G1~G2 级为轻度炎性反应,G3~G4 级为重度炎性反应;纤维化程度分期为 S0~S4 期,S0 期为无纤维化,S1~S2 期为轻度纤维化,S3~S4 期为重度纤维化。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件包对数据进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验,进一步两两比较采用 LSD- t 法。肝组织炎性反应分级、纤维化分期与 MCP-1、TGF-β1、IL-6 的关系采用 Spearman 相关性分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 CHB 组与健康对照组肝功能指标及血清炎性反应因子比较 见表 1。CHB 组血清 TBiL、ALT、MCP-1、TGF-β1、IL-6 水平均高于健康对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 CHB 组不同肝组织炎性反应分级相关指标比较 见表 2。根据肝组织炎性反应分级,其中 G0 级 0 例,G1 级 22 例,G2 级 28 例,G3 级 32 例,G4 级 38 例。G0~G2 级 CHB 患者血清 TBiL、ALT、MCP-1、TGF-β1、IL-6 水平均低于 G3~G4 级 CHB 患者,差异均有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 CHB 组不同纤维化分期相关指标比较 见表 3。根据肝纤维化分期,其中 S0 期 20 例,S1 期 30 例,S2 期 34 例,S3 期 26 例,S4 期 10 例。S0 期 CHB 患者血清 TBiL、ALT、MCP-1、TGF-β1、IL-6 水平均低于 S1~S2 期 CHB 患者,S1~S2 期 CHB 患者血清 TBiL、ALT、MCP-1、TGF-β1、IL-6 水平均低于 S3~S4 期 CHB 患者,差异均有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 CHB 组与健康对照组肝功能指标及血清炎性反应因子比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	TBiL(μmol/L)	ALT(U/L)	MCP-1(ng/L)	TGF-β1(μg/L)	IL-6(ng/L)
CHB 组	120	36.25±4.52	185.69±12.25	178.95±28.56	12.58±2.12	122.25±25.12
健康对照组	100	12.58±2.98	48.96±8.96	70.23±6.39	5.52±1.02	82.25±12.02
<i>t</i>		44.860	92.815	37.284	30.483	14.588
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表 2 CHB 组不同肝组织炎性反应分级相关指标比较($\bar{x} \pm s$)

肝组织炎性反应分级	<i>n</i>	TBiL(μmol/L)	ALT(U/L)	MCP-1(ng/L)	TGF-β1(μg/L)	IL-6(ng/L)
G0~G2 级	50	27.25±3.85	132.25±14.52	125.89±12.45	8.69±2.02	7.78±1.12
G3~G4 级	70	42.96±6.78	205.26±25.36	220.58±26.89	15.96±5.96	15.66±5.02
<i>t</i>		14.761	18.312	23.169	8.284	10.895
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表 3 CHB 患者不同纤维化分期相关指标比较($\bar{x} \pm s$)

纤维化分期	<i>n</i>	TBiL(μmol/L)	ALT(U/L)	MCP-1(ng/L)	TGF-β1(μg/L)	IL-6(ng/L)
S0 期	20	12.02±2.02	115.26±4.25	98.26±5.77	7.02±1.22	6.58±1.78
S1~S2 期	64	33.45±5.26	158.56±6.22	165.88±4.69	8.92±1.02	8.23±1.02
S3~S4 期	36	45.78±6.89	218.96±7.48	235.89±5.02	9.56±1.56	9.23±1.89
<i>t/F</i>		246.223	190.088	51.743	27.806	21.083
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表 4 血清炎性反应指标与肝组织炎性反应分级和组织纤维化分期的关系

项目	检验值	TBiL	ALT	MCP-1	TGF-β1	IL-6
肝组织炎性反应分级	<i>r</i>	0.110	0.142	0.325	0.334	0.342
	<i>P</i>	0.589	0.689	0.000	0.000	0.000
纤维化分期	<i>r</i>	0.132	0.125	0.352	0.314	0.327
	<i>P</i>	0.678	0.712	0.000	0.000	0.000

2.4 血清炎性反应指标与肝组织炎性反应分级及纤维化分期的关系 见表 4。经 Spearman 相关性分析显示,肝组织炎性反应分级与 MCP-1、TGF-β1、IL-6 呈正相关($P<0.05$),纤维化分期与 MCP-1、TGF-β1、IL-6 也呈正相关($P<0.05$)。

3 讨 论

纤维化是 CHB 患者进展至肝硬化的重要途径,是机体对各种炎性反应刺激的动态修复过程,是细胞外基质生成及降解

能力失衡导致细胞外基质过度沉淀的一种病理状态^[6]。尽早预防及治疗纤维化对预防肝硬化的发生有重要意义。肝脏组织病理检查是诊断肝纤维化的金标准,但该诊断方法对患者创伤大且容易受穿刺部位的影响,患者不易接受。B 超或 CT 检查可反映不同程度肝实质改变,如肝脏缩小或肿大、门静脉增宽等,但多属肝纤维化后期,因此,尽早识别肝脏炎性反应损伤对预防肝纤维化及肝硬化有重要意义^[7]。

有研究指出,CHB 患者在感染或炎性反应部位会发生炎性细胞浸润,这些炎性反应因子到达炎性反应部位时需要趋化因子参与^[8]。MCP-1 属于 CC 族趋化因子,主要来源于单核/巨噬细胞,MCP-1 与 CC 受体相互作用可活化及刺激 T 细胞、巨噬细胞、NK 细胞等到达炎性反应位置,并促使相关细胞因子产生,而这些细胞因子相互作用及相互影响会进一步扩大炎性反应,导致机体发生级联反应而引起肝细胞损伤^[9-10]。本研究中 CHB 组血清 MCP-1 水平明显高于健康对照组,且随着患者肝组织炎性反应症状及纤维化症状加重,血清中 MCP-1 水平明显升高,与 CHB 肝组织损伤程度及纤维化程度呈正相关,由此提示 MCP-1 水平升高与 CHB 发生及病情进展有密切关系。Tao 等^[11]研究发现,MCP-1 在 CHB 患者中表达下调,且与 HBV-DNA 拷贝数呈负相关。这种差异产生的原因可能是由于 HBV 复制过程中产生 HBx 蛋白。HBx 蛋白属于多功能调节因子,不仅可激活病毒启动子及增强子,而且可激活宿主细胞基因及调控序列,影响相关细胞因子的分泌。本研究由于入组时 HBeAg 阴性病例较多,HBeAg 阴性提示病毒处于抑制期,分泌的 HBx 蛋白水平较低,对 MCP-1 分泌水平影响较小。

IL-6 属于核心致炎因子,在促进炎性反应生成、触发细胞因子网络级联反应、介导组织损伤过程中起重要作用^[12]。当机体感染 HBV 后,组织中大量单核/巨噬细胞浸润,会导致肝脏产生炎性反应而引起肝细胞坏死,从而激活单核/巨噬细胞产生 IL-6^[13]。本研究结果显示,CHB 患者血清 IL-6 水平高于健康对照组,且随着肝损伤程度及纤维化程度增加,患者血清 IL-6 水平明显升高,由此提示 IL-6 可通过参与机体内环境免疫应答而损伤肝脏,从而促进及诱发肝脏损伤。随着肝脏炎性反应损伤加重,机体对细胞外基质降解能力下降,使细胞外基质沉积,导致纤维化发生。

TGF- β 1 是激活组织纤维化的重要细胞因子,在肝纤维化、肝硬化过程中起重要作用^[14]。本研究结果显示,CHB 患者血清 TGF- β 1 水平明显高于健康对照组,且随着肝组织炎性反应症状加重及肝纤维化不断发展,血清 TGF- β 1 水平逐渐升高。经 Spearman 相关性分析显示,肝组织炎性反应分级与 TGF- β 1 呈正相关($P < 0.05$),纤维化分期与 TGF- β 1 也呈正相关。其可能原因是机体感染 HBV 后会使得 TGF- β 1 水平升高,并进一步加重肝组织炎性反应,激发肝组织纤维化,使纤维组织在肝细胞内异常沉积,促进肌纤维细胞转化为成纤维细胞,最终发展为肝硬化。有研究指出,体外试验中增加 TGF- β 1 水平可促进肝纤维化进展,反之,通过抑制 TGF- β 1 能有效阻断肝组织纤维化的发生^[15]。

综上所述,CHB 患者血清 MCP-1、TGF- β 1、IL-6 水平与 CHB 肝组织炎性反应分级及纤维化有密切关系,上述指标可为 CHB 病情及预后判断提供参考。

参考文献

[1] 周德江,牟东,翁敏,等.慢性乙肝免疫清除 HBeAg、HBV

- DNA 水平与活动度分级和纤维化分期的相关性[J].中国老年学杂志,2014,34(5):1221-1222.
- [2] 科技部十二五重大专项联合课题组.乙型肝炎病毒相关肝硬化的临床诊断、评估和抗病毒治疗的综合管理[J].中华肝脏病杂志,2014,22(5):327-335.
- [3] 王志剑,郭振华. HBeAg 转阴前后慢性乙肝患者 HBV cccDNA 荧光定量检测的意义[J]. 国际检验医学杂志,2015,37(6):806-807.
- [4] 满昌军,董香玉. 外周血 T 细胞亚群、IL-32、IL-6 水平在乙型肝炎患者的表达及相关性分析[J]. 中国实验诊断学,2014,18(1):62-65.
- [5] 中华医学会肝病学会,中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010 年版)[J]. 中华肝脏病杂志,2011,19(1):13-24.
- [6] 安宏亮,江海燕,伍华林,等. HBsAg 水平对慢性乙型病毒性肝炎肝纤维化病变的诊断价值[J]. 广东医学,2014,35(13):2090-2092.
- [7] 阳吾君. 慢性乙型肝炎肝纤维化血清学指标的诊断效能评价[J]. 检验医学与临床,2012,9(19):2462-2463.
- [8] Yilmaz B, Aktas B, Altinbas A, et al. The role of M30 in predicting the severity of liver fibrosis and inflammation in chronic hepatitis B patients[J]. Hepat Mon, 2016, 16(9):35640-35642.
- [9] 刘宁,江娜,罗娜,等. RANTES、MIP-1 α 、MIP-1 β 和 MCP-1 趋化因子在慢性肝病患者的水平[J]. 北京医学,2014,5(6):426-428.
- [10] Lin C, Rezaee F, Waasdorp M, et al. Protease activated receptor-1 regulates macrophage-mediated cellular senescence: a risk for idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Oncotarget, 2015, 6(34):35304-35314.
- [11] Tao B, Jin W, Xu J, et al. Myeloid-specific disruption of tyrosine phosphatase Shp2 promotes alternative activation of macrophages and predisposes mice to pulmonary fibrosis[J]. J Immunol, 2014, 193(6):2801-2811.
- [12] 黄传钟,李洁羽,陈淑萍,等. IL-2、IL-4、IL-6、IFN- γ 、IL-17A 在肝癌组织中表达及其与乙肝病毒感染的关系[J]. 中国免疫学杂志,2015,31(4):527-530.
- [13] Li YX, Ren YL, Fu HJ, et al. Hepatitis B virus middle protein enhances IL-6 production via p38 MAPK/NF- κ B pathways in an ER stress-dependent manner[J]. PLoS One, 2016, 11(7):e159089.
- [14] Xia C, Liu Y, Chen Z, et al. Involvement of interleukin 6 in hepatitis B viral infection[J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 37(2):677-686.
- [15] Silva JL, De Deus DM, Moreira RC, et al. The relationship between hepatitis B virus(HBV) load and levels of transforming growth factor beta 1(TGF- β 1) and soluble Fas (sFas) in human immunodeficiency virus patients with occult HBV infection[J]. Arch Virol, 2015, 160(7):1801-1804.

(收稿日期:2017-01-24 修回日期:2017-04-01)