

• 临床探讨 •

IL-10、TGF-β 及其 mRNA 在急性胰腺炎合并肝、肾损伤中的表达

于 宁¹, 王晓倩², 张 欣^{1△}

(1. 河北省保定市第一中心医院西院综合外科 071000; 2. 河北省保定市第一中医院检验科 071000)

摘要:目的 分析急性胰腺炎合并肝、肾损伤患者外周血中促炎细胞因子白细胞介素(IL)-10 和炎症介质转化生长因子(TGF)-β 水平以及其 mRNA 表达水平。方法 收集 90 例急性胰腺炎合并肝损伤患者, 90 例急性胰腺炎合并肾损伤者, 120 例单纯急性胰腺炎患者, 对所有研究对象进行相关信息采集, 并进行 IL-10 和 TGF-β 水平及其 mRNA 表达水平测定。结果 3 组在基线水平、术前、术后比较, IL-10 及 mRNA 表达水平均为起病数小时后最高; 术后 4~6 h 下降, 低于初起病时的水平。血清 TGF-β 水平在 3 组中均以起病后数小时达到最高峰($P<0.05$), 其 mRNA 表达水平在合并肝损伤组和单纯胰腺炎组起病初期较高($P<0.05$); 在合并肾损伤组为起病后数小时达最高峰($P<0.05$)。血清 IL-10、TGF-β、血压水平以及饮酒量与急性胰腺炎合并肾损伤程度呈正相关(r 分别为 0.84、0.55、0.71、0.63, $P<0.01$); 血清 IL-10 水平、年龄与急性胰腺炎患者合并肝损伤程度呈正相关(r 分别为 0.56、0.68, $P<0.01$)。此外, 出现低氧血症、并发感染以及引流也是并发肝、肾损伤的相关因素, 会增加损伤的发生风险($P<0.05$)。结论 急性胰腺炎合并肾损伤与肝损伤均有 IL-10 以及 TGF-β 的参与, 且与肝损伤者的内在病理过程关联更为密切, 而合并肾损伤者则倾向于受到更多环境因素的影响。

关键词: 白细胞介素-10; 转化生长因子-β; 急性胰腺炎

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.17.045 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2017)17-2610-03

急性胰腺炎大多是由于胰液分泌异常亢进或胰酶在胰管内被激活, 导致胰腺组织自身消化出现局部炎症反应而引起的一种急性病, 常出现多器官系统并发症或功能损伤, 其中促炎细胞因子和炎症介质起到了举足轻重的作用^[1-3]。炎症介质会在全身炎症反应过程中大量释放, 抗炎因子在抑制炎症反应的时候又会在一定程度上抑制机体对病原体所产生的免疫作用, 特别是对细胞免疫功能会起到一定的抑制作用。因此, 炎症反应期间常常见代偿性抗炎症反应综合征^[4-5]。急性胰腺炎还有很大概率并发肾损伤, 其发生率达 15%, 病理过程中肾血管收缩及肾小管上皮细胞变性、坏死是关键性因素^[6-8]。在白细胞介素(IL)系列细胞因子的作用下, 可诱导肾脏或肝脏的成纤维细胞调节胶原及纤连蛋白的合成, 与间质纤维化发生、发展密切相关^[6-9]。本文分析了急性胰腺炎合并肝损伤和肾损伤者外周血中促炎细胞因子 IL-10 和炎症介质转化生长因子(TGF)-β 水平及其 mRNA 表达水平, 为揭示它们在此类患者病理机制中扮演的作用提供依据。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2013 年 2 月至 2016 年 10 月急性胰腺炎患者 300 例作为研究对象, 其中 90 例为急性胰腺炎合并肝损伤患者(合并肝损伤组), 90 例为急性胰腺炎合并肾损伤患者(合并肾损伤组), 120 例为单纯急性胰腺炎患者(单纯急性胰腺炎组)。急性胰腺炎的诊断标准参照 2009 年修订的《重症急性胰腺炎内科规范治疗建议》中的相关诊断标准, 计算机断层扫描分级为 D、E 级; 急性生理学与慢性健康状况评分系统 II 评分 ≥ 8 分; 发病 24 h 内就诊。排除标准: 孕妇; 其他胰腺疾病入院时已有胰腺假性囊肿、胰腺脓肿等并发症者, 以及院外已用生长抑素或类似物治疗者; 其他危重病患者和精神病患者。肾损伤的判定依据以肌酐清除率进行判断, 低于 62.5 mL/min 为出现肾损伤, 其中 $>52.0\sim 62.5$ mL/min 为轻微损伤, $>42.0\sim 52.0$ mL/min 为轻度损伤, $28.0\sim 42.0$ mL/min 为中度损伤, <28.0 mL/min 为严重损伤。肝损伤的判定依据丙氨酸氨基转移酶 >40 U/L 和(或)天门冬氨酸氨基转移酶 $>$

40 U/L。本研究得到医院伦理委员会批准, 全部受试者均知情同意, 并签署知情同意书。

1.2 方法 所有研究对象在入组时收集一般资料, 收集入院时(基线)、起病后 2~4 h(术前)及术后 4~6 h 的相关资料进行分析比较。

1.2.1 IL-10、TGF-β 水平测定 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定 IL-10、TGF-β 水平。测定试剂盒为南京金益柏生物科技有限公司生产的 ELISA 试剂盒。

1.2.2 mRNA 表达水平测定 基因组 DNA 提取: 抽取所有研究对象外周静脉血 5 mL, 乙二胺四乙酸抗凝, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。提取 RNA 后反转录合成 cDNA, 引物的设计(均为 5'~3') TNF-β mRNA: p1 为 CAA TGG CAT GGA TCT CAA AG, p2 为 CAG AGC AAT GAC TCC AAA GT; IL-10 mRNA: p1 为 TGC CAA GCC TTG TCA GAA ATG ATC AAG, p2 为 GTA TCC AGA GGG TCT TCA GCT TCT CTC。采用聚合酶链反应(PCR), 进行基因的扩增后混匀离心; PCR 反应条件为 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 10 min, 40 个循环, 使用实时荧光定量 PCR 仪(ABI StepOne/StepOnePlus)完成。通过软件分析扩增情况, 每个样品设两个复孔, 结果取其平均值。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行统计分析, 计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 组间比较采用 F 检验; 计数资料以率或例数表示, 组间比较采用 χ^2 检验; 使用单因素和多因素 Logistic 回归模型进行危险因素讨论。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 入院时 3 组基线资料比较 3 组年龄、性别等基线资料比较, 差异无统计学意义($P<0.05$)。与单纯急性胰腺炎组相比, IL-10 mRNA 水平和血淀粉酶水平在合并肝损伤组较高($P<0.05$); 合并肾损伤组仅发现 IL-10 mRNA 水平高于单纯急性胰腺炎组($P<0.05$)。合并肝损伤组患者血清 IL-10 水平和血淀粉酶水平高于合并肾损伤组($P<0.05$)。见表 1。

△ 通信作者, E-mail: 1152285456@qq.com.

表 1 3 组基线资料比较

组别	<i>n</i>	年龄 ($\bar{x}\pm s$,岁)	男性 [<i>n</i> (%)]	IL-10 ($\bar{x}\pm s$,ng/L)	TGF-β ($\bar{x}\pm s$,ng/L)	IL-10 mRNA ($\bar{x}\pm s$,CT 值)
合并肝损伤组	90	46.05±7.98	46(51.11)	36.46±9.08 [#]	68.98±3.95	0.64±0.04* [#]
合并肾损伤组	90	45.98±10.65	43(47.78)	34.98±6.11	69.47±4.22	0.69±0.11* [#]
单纯急性胰腺炎组	120	46.09±8.92	59(49.17)	35.02±7.09	69.02±5.13	0.62±0.08

组别	<i>n</i>	TGF-β mRNA ($\bar{x}\pm s$,CT 值)	血淀粉酶 ($\bar{x}\pm s$,U/L)	高血压 [<i>n</i> (%)]	肾病家族史 [<i>n</i> (%)]	吸烟史 [<i>n</i> (%)]	饮酒史 [<i>n</i> (%)]
合并肝损伤组	90	0.46±0.07	1 015.08±123.95* [#]	33(36.67)	12(13.34)	15(16.67)	10(11.11)
合并肾损伤组	90	0.46±0.13	1 014.06±100.07	36(40.00)	15(16.67)	14(15.56)	11(12.22)
单纯急性胰腺炎组	120	0.47±0.10	1 014.43±89.56	37 (30.83)	17(14.17)	16(13.34)	14(11.67)

注:与单纯急性胰腺炎组比较,**P*<0.05;与合并肾损伤组比较,[#]*P*<0.05

表 2 3 组不同时间点血清 IL-10 及 IL-10 mRNA 表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-10(ng/L)			IL-10 mRNA(CT 值)		
		基线水平	术前(起病后 2~4 h)	术后 4~6 h	基线水平	术前(起病后 2~4 h)	术后 4~6 h
合并肝损伤组	90	36.46±9.08	43.09±7.77*	32.52±5.90 ^{#△}	0.64±0.04	0.68±0.07* [#]	0.62±0.03* [△]
合并肾损伤组	90	34.98±6.11	42.95±9.70*	33.39±7.01 [△]	0.68±0.11	0.69±0.05* [#]	0.63±0.09 [△]
单纯急性胰腺炎组	120	35.02±7.09	43.12±9.24*	34.02±4.96 [△]	0.62±0.08	0.64±0.06	0.61±0.06 [△]

注:与基线水平比较,**P*<0.05;与术前比较,[△]*P*<0.05;与单纯急性胰腺炎组比较,[#]*P*<0.05

表 3 3 组不同时间点血清 TGF-β 及 TGF-β mRNA 表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	TGF-β(ng/L)			TGF-β mRNA		
		基线水平	术前(起病后 2~4 h)	术后 4~6 h	基线水平	术前(起病后 2~4 h)	术后 4~6 h
合并肝损伤组	90	68.98±3.95	72.13±4.55*	66.48±5.77* [△]	0.46±0.07	0.45±0.12*	0.43±0.07* [△]
合并肾损伤组	90	69.47±4.22	74.12±5.90* [#]	65.47±8.05* [△]	0.46±0.13	0.47±0.09*	0.43±0.10* [△]
单纯急性胰腺炎组	120	69.02±5.13	72.22±6.64*	66.67±9.43* [△]	0.47±0.10	0.46±0.12*	0.41±0.14* [△]

注:与基线水平比较,**P*<0.05;与术前比较,[△]*P*<0.05;单纯急性胰腺炎组比较,[#]*P*<0.05

2.2 3 组不同时间点血清 IL-10 及 IL-10 mRNA 表达水平比较 3 组在基线水平、术前、术后比较,IL-10 水平及 mRNA 表达水平均为起病后 2~4 h 最高(*P*<0.05);术后 4~6 h 水平下降,低于初起病时的水平。合并肝损伤组的患者起病后 2~4 h 血清 IL-10 水平与单纯急性胰腺炎组患者差异无统计学意义(*P*>0.05),手术后 4~6 h IL-10 水平低于单纯急性胰腺炎组(*P*<0.05)。mRNA 表达水平则表现为起病 2~4 h 后合并肝损伤和肾损伤的患者均高于单纯急性胰腺炎患者(*P*<0.05);术后 4~6 小时 3 组 mRNA 水平差异无统计学意义(*P*>0.05)。见表 2。

2.3 3 组不同时间点血清 TGF-β 及 TGF-β mRNA 表达水平比较 血清 TGF-β 水平在 3 组中均以起病后 2~4 h 达到最高峰(*P*<0.05);mRNA 表达水平在合并肝损伤组和单纯胰腺炎组基线水平最高(*P*<0.05),在合并肾损伤组为起病后 2~4 h 最高(*P*<0.05)。无论是血清 TGF-β 水平还是其 mRNA 表达水平,均表现在术后 4~6 h 最低(*P*<0.05)。和单纯急性胰腺炎组比较,合并肾损伤组血清 TGF-β 水平在起病后 2~4 h 最高(*P*<0.05)。见表 3。

2.4 促炎细胞因子和炎症介质与急性胰腺炎肾损伤及肝损伤的相关性分析 血清 IL-10、TGF-β、血压水平以及饮酒量与急性胰腺炎合并肾损伤程度呈正相关(*r* 分别为 0.84、0.55、0.71、0.63,*P*<0.01);血清 IL-10 水平、年龄与急性胰腺炎患

者合并肝损伤程度呈正相关(*r* 分别为分别为 0.56、0.68,*P*<0.01)。此外,出现低氧血症、并发感染以及引流也是并发肝、肾损伤的相关因素,会增加损伤的发生风险(*P*<0.05)。见表 4。

表 4 促炎细胞因子和炎症介质与急性胰腺炎肾损伤及肝损伤程度的相关性分析

项目	变量	<i>r</i>	<i>P</i>
与肾损伤严重程度	IL-10	0.84	<0.01
	TGF-β	0.55	<0.01
	年龄	0.34	0.078
	血压	0.71	<0.01
	吸烟量	0.14	0.056
	饮酒量	0.63	<0.01
	低氧血症	0.42	0.043
	并发感染	0.54	0.032
	引流	0.38	0.042
与肝损伤严重程度	IL-10	0.56	<0.01
	TGF-β	2.07	0.535
	年龄	0.68	<0.01
	血压	0.44	0.969
	吸烟量	0.23	0.869

续表 4 促炎细胞因子和炎症介质与急性胰腺炎肾损伤及肝损伤程度的相关性分析

项目	变量	<i>r</i>	<i>P</i>
	饮酒量	0.17	0.717
	低氧血症	0.57	0.024
	并发感染	0.72	0.038
	引流	0.69	0.041

3 讨 论

急性胰腺炎是发病急、预后凶险的一种急性炎症,与促炎细胞因子和炎症介质的作用密切相关^[1-3]。IL-10 可以全面抑制免疫细胞合成炎症细胞因子,并且还可以阻止其释放;TGF-β 则可以抑制淋巴细胞的增殖,具有拮抗炎症细胞因子的作用。二者在肝、肾损伤的胰腺炎患者体内如何扮演免疫抑制的角色,以及其结局如何,鲜有研究涉及。本文就急性胰腺炎患者出现肝、肾损伤者外周血中促炎细胞因子 IL-10 和炎症介质 TGF-β 水平以及其基因表达水平进行了分析,为揭示它们在此类患者病理机制中的作用提供依据。

本研究中研究对象组间性别、年龄可比;基线资料比较提示,与单纯急性胰腺炎组相比,IL-10 mRNA 水平和血淀粉酶水平在合并肝损伤组较高;合并肾损伤组仅发现 IL-10 mRNA 水平高于单纯急性胰腺炎组。胰腺炎为消化系统炎症,与肝脏同属消化系统,内在关联性更强。因此,可见肝损伤患者急性胰腺炎的特征性指标,如血淀粉酶水平异常更为严重,而肾损伤者则未见明显的血淀粉酶水平异常;但无论是并发肝损伤还是肾损伤,基线资料分析中均发现了 IL-10 mRNA 表达增加,提示肝、肾损伤的急性胰腺炎患者炎症反应也会更强于单纯的急性胰腺炎患者。

本研究中 3 组在基线水平、术前、术后比较,IL-10 及 mRNA 表达水平均为起病后 2~4 h 最高;术后 4~6 h 下降,低于初起病时的水平,提示无论是否合并肝、肾损伤,急性胰腺炎发作后数小时内细胞因子的免疫抑制性作用发挥到最大,本研究的急性胰腺炎病理过程中存在代偿性的抗炎症反应综合征,且在并发肝损伤和肾损伤的患者中情况近似^[10-13]。IL-10 mRNA 表达水平也表现出起病数小时后达到最高水平,进一步佐证了急性胰腺炎发作后数小时内细胞因子的免疫抑制性作用。合并肝、肾损伤的急性胰腺炎患者血清 IL-10 水平与单纯急性胰腺炎患者相比,合并肝损伤的患者手术后水平低于单纯急性胰腺炎患者;mRNA 表达水平则表现出起病数小时后合并肝损伤和肾损伤的患者均高于单纯急性胰腺炎患者。TGF-β 属于调节细胞生长和分化的超家族,本研究结果提示 IL-10 参与急性胰腺炎的炎性反应以及其导致的肝、肾损伤与炎症介质 TGF-β 的诱导作用密不可分^[14-15]。血清 TGF-β 水平在 3 组均以起病后 2~4 h 达到最高峰($P<0.05$);mRNA 表达水平在合并肝损伤组和单纯胰腺炎组基线水平最高($P<0.05$),在合并肾损伤组为起病后 2~4 h 最高($P<0.05$)。无论是血清 TGF-β 水平还是其 mRNA 表达水平,均表现出手术后 4~6 h 最低($P<0.05$)。和单纯急性胰腺炎组比较,只有合并肾损伤组血清 TGF-β 水平在起病后 2~4 h 最高($P<0.05$)。

本研究结果显示,血清 IL-10、TGF-β、血压水平及饮酒量与急性胰腺炎患者合并肾损伤程度呈正相关;血清 IL-10 水平和年龄与急性胰腺炎患者合并肝损伤程度呈正相关。此外,出现低氧血症、并发感染以及引流也是并发肝、肾损伤的相关因

素,会增加损伤的发生风险。可见急性胰腺炎合并肾损伤与肝功能损伤均有 IL-10 以及 TGF-β 的参与,且与肝损伤者的内在病理过程更为密切,而合并肾损伤者则倾向于受到更多一些的外界环境因素的影响。

综上所述,急性胰腺炎合并肝、肾损伤均有 IL-10 以及 TGF-β 的参与,且与肝损伤者的内在病理过程更为密切。

参考文献

[1] 王兴鹏,李兆申,袁耀宗,等. 中国急性胰腺炎诊治指南(2013,上海)[J]. 中国实用内科杂志,2013,7(13):530-535.

[2] 白斗,王东. 急性胰腺炎发病机制中炎性因子的作用研究进展[J]. 吉林医学,2011,32(3):572-573.

[3] 上官艳苹,焦宪法,牛杏果,等. 重症胰腺炎患者感染期血清炎性因子的变化与对各器官的影响研究[J]. 中华医院感染学杂志,2016,26(2):357-359.

[4] 高志荣,张意丽. 急性胰腺炎相关危险因素研究[J]. 现代医药卫生,2016,32(5):673-674.

[5] 林海,李近都. 淋巴细胞免疫及其在急性胰腺炎发病机制中的研究进展[J]. 中国药物经济学,2014,8(6):74-76.

[6] 侯圣光,李永柱,张银华,等. 门冬氨酸鸟氨酸防治急性重症胰腺炎肝损伤的疗效观察[J]. 实用肝脏病杂志,2016,19(2):227-229.

[7] 余贤恩. 急性胰腺炎流行病学及严重性预测评估研究进展[J]. 胃肠病学和肝病杂志,2015,24(2):234-237.

[8] 陈玉辉,许志平,杨栋梁,等. 常用评分方法对危重型急性胰腺炎诊断价值的回顾性单中心临床研究[J]. 中华胰腺病杂志,2015,15(3):145-149.

[9] 杨健鹰. 血清 IL-6 及 IL-10 对急性胰腺炎预后的判断研究[D]. 合肥:安徽医科大学,2014.

[10] 黄志寅,唐承薇. 重症急性胰腺炎内科规范治疗建议[J]. 临床内科杂志,2014,31(2):138-140.

[11] 曾杰,陈宁波. 白介素 6、白介素 8 和白介素 10 及肿瘤坏死因子 α 在重症急性胰腺炎中的表达及与预后的相关性研究[J]. 实用心脑血管病杂志,2013,21(6):28-31.

[12] Meyer A, Kubrusly MS, Salemi VM, et al. Severe acute pancreatitis: a possible role of intramyocardial cytokine production[J]. JOP, 2014, 15(3):237-242.

[13] Schneider A, Barmada MM, Slivka A, et al. Analysis of tumor necrosis factor-alpha, transforming growth factor-beta 1, interleukin-10, and interferon-gamma polymorphisms in patients with alcoholic chronic pancreatitis[J]. Alcohol, 2004, 32(1):19-24.

[14] 李晨,邢少军,段学章,等. 乙型肝炎肝硬化患者外周血调节性 T 细胞频率及血清 IL-1β、IL-6 和 IL-10 水平的变化[J]. 实用肝脏病杂志,2012,15(3):244-246.

[15] Liu X, Yu M, Chen Y, et al. Galunisertib (LY2157299), a transforming growth factor-β receptor I kinase inhibitor, attenuates acute pancreatitis in rats[J]. Braz J Med Biol Res, 2016, 49(9):e5388.