

• 论 著 •

乙型肝炎肝硬化患者外周血 MIF、IL-17 和 IL-10 检测的临床意义*

曾 钢, 李彩东, 吴 斌, 杨勇卫

(甘肃省兰州市第二人民医院, 甘肃兰州 730046)

摘 要:目的 探讨巨噬细胞移动抑制因子(MIF)、白介素-17(IL-17)和白介素-10(IL-10)在乙型肝炎肝硬化发生、发展中的作用机制。方法 采集 60 例乙型肝炎肝硬化患者和 50 例健康对照者空腹血清标本, 采用 ELISA 法检测血清细胞因子 MIF、IL-17 和 IL-10 水平; 采用荧光定量 PCR 法测定各组 HBV DNA 载量; 采用全自动生化分析仪检测血清肝功能水平; 进行临床相关性分析。结果 与对照组相比, 乙型肝炎肝硬化患者 ALT、AST、胆红素、GLB 水平明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 与对照组相比, 乙型肝炎肝硬化患者 MIF、IL-17 和 IL-10 水平明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); IL-17 水平与 TBIL、DBIL、IBIL、TP 和 GLB 水平呈正相关, IL-10 水平与 TBIL、DBIL、IBIL、TP 和 GLB 水平亦呈正相关。结论 MIF、IL-17 和 IL-10 间接或直接的参与了肝硬化的发生发展。

关键词:乙型肝炎; 肝硬化; 巨噬细胞移动抑制因子; 白介素-17; 白介素-10

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.09.017

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)09-1205-03

Clinical significance of detecting peripheral blood MIF, IL-17 and IL-10 in patients with liver cirrhosis*

Zeng Gang, Li Caidong, Wu Bin, Yang Yongwei

(Lanzhou Municipal Second People's Hospital, Lanzhou, Gansu 730046, China)

Abstract:Objective To investigate the action mechanisms of macrophage migration inhibitory factor(MIF), interleukin-17(IL-17) and interleukin-10(IL-10) in the occurrence and development of liver cirrhosis. **Methods** The fasting serum samples were collected from 60 cases of liver cirrhosis and 50 healthy controls. ELISA was used for detecting serum cytokine MIF, IL-17 and IL-10 levels; The HBV DNA load was measured by fluorescence quantitative PCR; the liver function was tested by the automatic biochemical analyzer. Then the clinical correlation analysis was performed. **Results** Compared with the healthy control group, the ALT, AST, bilirubin and GLB levels in liver cirrhosis group were significantly increased with statistical differences between the two groups($P < 0.05$). Compared with the healthy control group, the MIF, IL-17 and IL-10 levels in the liver cirrhosis group were significantly increased with statistical differences between them($P < 0.05$). There were positive correlation between the IL-17 level with the TBIL, DBIL, IBIL, TP and GLB levels and between the IL-10 level with the TBIL, DBIL, IBIL, TP and GLB levels. **Conclusion** MIF, IL-17 and IL-10 directly or indirectly participate in the occurrence and development of liver cirrhosis.

Key words: hepatitis B; cirrhosis; macrophage migration inhibitory factor; interleukin-17; interleukin-10

肝硬化的发病机制十分复杂, 一般由肝脏坏死性炎症反应和肝纤维化进展而来^[1], 其中伴随着一系列细胞因子调节的炎症反应有待查明, 巨噬细胞移动抑制因子(MIF)、白介素-17(IL-17)和白介素-10(IL-10)在乙型肝炎肝硬化发生、发展中的作用机制也尚不明确, 本研究选取本院 60 例乙型肝炎肝硬化患者为研究对象, 检测以上病例外周血肝功能水平、病毒 HBV DNA 载量及外周血 MIF、IL-17 和 IL-10 水平等指标, 探讨乙型肝炎肝硬化患者外周血细胞因子 MIF、IL-17 和 IL-10 水平变化的临床意义, 以进一步探讨 HBV 感染后的免疫病理机制, 为寻求乙型肝炎肝硬化治疗新的思路和途径提供重要依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 50 例 2012 年 2 月至 2013 年 12 月本院体检中心健康体检者为对照组, 排除各型肝炎病毒感染、心肺疾病等, 肝功能正常。年龄 23~58 岁, 平均(32.15±8.46)岁, 其中男 25 例, 女 25 例。选择肝硬化患者 60 例为患病组, 其中男 43 例, 女 17 例, 年龄 39~66 岁, 平均(50.23±11.95)岁。所有患者排除其他肝炎疾病和病毒感染, 诊断符合 2010 年 12 月中华医学会肝病学会和中华医学会感染学会联合制定的《慢

性乙型肝炎诊治指南》中的诊断标准^[2]。

1.2 仪器与试剂 HBV DNA 定量检测试剂盒购自湖南圣湘生物科技有限公司。使用上海科华 ST-360 酶标仪检测血清细胞因子 MIF、IL-17 和 IL-10 水平, 试剂盒购自美国 RD 公司。采用贝克曼 AU680 全自动生化分析仪检测血清肝功能水平, 试剂盒购自北京九强生物技术有限公司。所有操作均严格按照试剂盒说明书进行。

1.3 方法 采用 ELISA 法检测血清细胞因子 MIF、IL-17 和 IL-10 水平, 采用荧光定量 PCR 法测定各组 HBV DNA 载量, 采用全自动生化分析仪检测血清肝功能水平, 进行临床相关性分析。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计量资料采用 t 检验, 相关系数用 r 表示。 $P < 0.05$ 为差别有统计学意义。

2 结 果

2.1 临床基本资料 与对照组相比, 乙型肝炎肝硬化患者 ALT、AST、胆红素、球蛋白水平明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 总蛋白和清蛋白水平有所降低, 但差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

* 基金项目: 兰州市科技发展指导性计划项目(2013-ZD-07)。 作者简介: 曾钢, 男, 主任医师, 主要从事肝胆胰病的临床和发病机制研究。

表 1 乙型肝炎肝硬化患者及对照组临床基本资料($\bar{x} \pm s$)

临床资料	患病组	对照组
例数(<i>n</i>)	60	50
ALT(IU/L)	101.60±48.28*	19.90±3.95
AST(IU/L)	116.87±49.59*	15.38±2.68
总胆红素(μmol/L)	53.28±10.91*	13.67±1.87
直接胆红素(μmol/L)	28.33±8.92*	3.55±0.95
间接胆红素(μmol/L)	24.94±9.75*	10.02±2.01
总蛋白(g/L)	67.59±8.98	72.29±1.84
清蛋白(g/L)	31.40±5.47	44.39±2.90
球蛋白(g/L)	35.75±8.21	27.91±2.82
HBV DNA(Ig IU/mL)	5.80±1.41	—

* : $P < 0.05$, 与对照组相比; —: 无数据。

2.2 乙型肝炎肝硬化患者及对照组外周血 MIF、IL-17 和 IL-10 水平检测结果 与对照组相比,乙型肝炎肝硬化患者 MIF、IL-17 和 IL-10 水平明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 乙型肝炎肝硬化患者及对照组外周血 MIF、IL-17 和 IL-10 水平检测结果($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	MIF(ng/mL)	IL-17(ng/mL)	IL-10(ng/mL)
患病组	60	17.70±7.42*	23.37±15.08*	356.56±150.77*
对照组	50	1.91±1.43	4.35±2.22	12.93±4.63

* : $P < 0.05$, 与对照组相比。

2.3 乙型肝炎肝硬化患者 MIF 与 HBV DNA 载量、肝功能水平之间的相关性 IL-17 水平与总胆红素、直接胆红素、间接胆红素、总蛋白和球蛋白水平呈正相关,IL-10 水平与总胆红素、直接胆红素、间接胆红素、总蛋白和球蛋白水平也呈正相关。见表 3。

表 3 乙型肝炎肝硬化患者 MIF 与 HBV DNA 载量、肝功能水平之间的相关性

项目	MIF		IL-17		IL-10	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
ALT	0.209	0.109	−0.062	0.640	−0.067	0.613
AST	0.108	0.411	0.198	0.130	0.146	0.265
总胆红素	0.003	0.983	0.588	0.000	0.469	0.000
直接胆红素	−0.032	0.811	0.592	0.000	0.480	0.000
间接胆红素	0.122	0.351	0.447	0.000	0.330	0.009
总蛋白	−0.060	0.648	0.405	0.001	0.315	0.014
清蛋白	−0.131	0.320	−0.129	0.327	−0.125	0.343
球蛋白	−0.054	0.680	0.410	0.001	0.320	0.013
HBV DNA	0.051	0.750	−0.160	0.319	0.047	0.769

3 讨 论

乙型肝炎病毒感染仍然是影响人类健康的一类疾病,导致大量的病患进展为慢性乙型肝炎、肝硬化、肝癌。HBV 感染后的发病机制十分复杂,且尚未完全明确,而明确 HBV 感染后

的免疫状况是探讨其发病机制的基础,细胞因子是一类由免疫细胞和相关细胞产生的高活性、多功能、低分子可溶性蛋白和多肽,作为炎症介质的重要组成成分之一,对多种细胞和组织具有调节功能。目前,已知有多种细胞因子参与了 HBV 相关性肝疾病的发生和发展,MIF 是由激活的 T 淋巴细胞产生的细胞因子,具有多种生物学功能,是炎症反应与肿瘤恶性转化的一个联系纽带,研究显示 MIF 参与乙型肝炎、肝硬化、肝癌等肝病的发病过程,其变化与肝脏组织损伤程度相关^[3]。IL-17 作为一种促炎因子,与慢性乙型肝炎的反应都关系密切,可激活多种免疫细胞释放炎症介质,导致肝脏反复炎症损伤、肝脏功能逐渐下降,其血清水平与乙型肝炎的严重程度密切相关^[4]。IL-10 是一种强有力的免疫和炎症抑制因子,能下调 Th1 型细胞因子的表达,同时也是导致慢性乙型肝炎的重要因素,在肝硬化患者尤其是失代偿期肝硬化患者外周血 IL-10 水平明显高于对照组,并且肝硬化病情越严重,这种增高越明显^[5-6]。

转氨酶(ALT、AST)和胆红素(TBIL、DBIL、IBIL)以及外周血蛋白(TP、ALB、GLB)是常见的肝功能检测指标,本研究结果显示,与对照组相比,乙型肝炎肝硬化患者转氨酶、胆红素水平明显升高,证实由于乙型肝炎肝硬化患者肝功能受损导致了肝功能指标不同程度的改变。乙型肝炎肝硬化患者 MIF 水平明显升高,但乙型肝炎肝硬化患者外周血 MIF 水平与转氨酶、胆红素、血清蛋白水平以及 HBV DNA 载量之间并无相关性。提示 MIF 定在乙型肝炎肝硬化的发生、发展中起一定作用,尤其 MIF 在体内高表达时可以引起 VEGF、TGF、IL、MMP 等多种细胞因子的分泌表达^[7-9],激活体内信号级联传导通路活化和开放,引起机体炎症及免疫反应,进而促进肝硬化的进一步恶化。本研究也发现,与对照组相比,乙型肝炎肝硬化患者 IL-17 水平明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),且 IL-17 水平与胆红素、TP 和 GLB 呈正相关,证实了 IL-17 参与了肝硬化的发生,且其水平越高,肝硬化及肝损伤越严重^[10]。研究中还发现,与对照组相比,乙型肝炎肝硬化患者 IL-10 水平明显升高,且 IL-10 水平与 TBIL、DBIL、IBIL、TP 和 GLB 水平呈正相关,提示 IL-10 参与了肝纤维化的发生、发展,当慢性肝病发展到肝硬化阶段,IL-10 在促进肝纤维化和肝细胞的炎性损伤中起到重要作用。

本研究探讨了乙型肝炎肝硬化患者外周血 MIF、IL-17 和 IL-10 水平的变化,并分别做了三者与 HBV DNA 载量、转氨酶、胆红素和血清蛋白水平的相关性分析,发现并证实 MIF、IL-17 和 IL-10 间接或直接的参与了肝硬化的发生、发展,同时也有待进一步扩大样本量进行更深入的研究。

参考文献

[1] Emmanuel AT,Jaime B,Andrew KB. Liver cirrhosis[J]. Lancet, 2014,383(9930):1749-1761.

[2] 中华医学会肝病学会,中华医学会感染病分会. 慢性乙型肝炎防治指南[J]. 中国临床医生,2012,40(2):66-78.

[3] Heinrichs D,Knaul M,Offermanns C,et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) exerts antifibrotic effects in experimental liver fibrosis via CD74[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2011,108(42):17444-17449.

[4] Qin LY,Du WJ,Liu KH,et al. Research on the relationship of intrahepatic expression of IL-17 and liver cirrhosis in chronic hepatitis B patients[J]. Zhonghua Gan Zang Bing Za(下转第 1209 页)

而两年后其自然清除率能否达到 90% 还有待证实。HPV 自然清除率还与其基因型致病性强弱有关,根据实验数据显示 HPV52 型的自然清除率 10.53% 要比 HPV53 型的 40.00% 低很多,在相同条件下 HPV52 型的致病性强于 HPV53 型,故有些报道将 HPV53 归于中间型甚至低危型^[21]。

3.5 HPV 感染的预防 近年来宫颈癌发病呈增长、年轻化趋势,发病史缩短,这与 HPV 感染率上升有一定的关系,所以宫颈癌的防治关键在于 HPV 感染的预防。HPV 基因分型检测有利于 HPV 疫苗的研发生产,不同的区域不同的人群 HPV 基因型的感染率有明显差异,就如深圳地区 HPV52 型的感染率居首位,而现有上市的疫苗只针对 HPV16、18 型,并不能起到有效的预防作用,故应根据各地区的流行病学数据生产有针对性的疫苗。除了加强全民对 HPV 的认知度和提高自身免疫力之外,国家还可免费强制性实施预防针的接种,因为 HPV 感染主要通过性传播途径,在初次性生活之前接种预防性 HPV 疫苗可有效降低女性 HPV 感染率^[22-23]。HPV 疫苗的接种并非只针对女性,加强男性的接种力度才是重中之重,切断传播途径后女性濒临 HPV 危险的人数将大幅降低。

综上所述,加强健康人群 HPV 基因分型的普查力度有利于宫颈癌的早期防治和流行病学的研究,使宫颈癌的发病率降低,为疫苗的研发和选择提供可靠的依据。

参考文献

- [1] Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer [J]. J Clin Pathol, 2002, 55(4): 244-265.
- [2] 李金明. 实时荧光 PCR 技术[M]. 北京: 人民军医出版社, 2007: 240-255.
- [3] Szarewski A. Cervarix®, a bivalent vaccine against HPV types 16 and 18, with cross-protection against other high-risk HPV types [J]. Expert Rev Vaccines, 2012, 11(6): 645-657.
- [4] 严粉琴, 耿建祥, 肖微, 等. 已婚女性宫颈上皮细胞中人乳头瘤病毒基因分型 2000 例分析[J]. 实用妇产科杂志, 2012, 28(5): 390-393.
- [5] 刘永林, 张丽, 陈益民, 等. 浙江地区 1088 例妇科就诊患者 HPV 感染状况调查[J]. 中华临床感染病杂志, 2011, 4(2): 106-108.
- [6] 汪欣, 赵素萍, 魏建威. 福州地区 935 例妇女 HPV 感染情况的分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2011, 3(1): 33-35.
- [7] 宿瑞俊, 杜瑞军. 内蒙古自治区中西部地区妇女宫颈人乳头瘤病毒感染现状调查及分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2011, 3(3): 173-176.
- [8] 张满娥, 黄文蓉, 张洪彬. 1456 例女性 HPV 基因分型结果的回顾

分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2013, 5(1): 32-35.

- [9] Dai M, Bao YP, Li N, et al. Human papillomavirus infection in Shanxi Province, People's republic of China: a population-based study[J]. Br J Cancer, 2006, 95(1): 96-101.
- [10] Li Y, Wang Y, Jia C, et al. Detection of human papillomavirus genotypes with liquid bead microarray in cervical lesions of northern Chinese patients[J]. Cancer Genet Cytogenet, 2008, 182(1): 12-17.
- [11] Bao YP, Li N, Smith JS, et al. Human papillomavirus type-distribution in the cervix of Chinese women: a meta-analysis[J]. Int J STD AIDS, 2008, 19(2): 106-111.
- [12] Chan PK, Li WH, Chan MY, et al. High prevalence of human papillomavirus type 58 in Chinese women with cervical Cancer and precancerous lesions[J]. J Med Virol, 1999, 59(2): 232-238.
- [13] 龙华泉, 陈世豪, 张伟坚. TCT 和 HR-HPV-DNA 检测在宫颈癌筛查中的价值[J]. 海南医学, 2012, 23(24): 100-102.
- [14] 贺望娇. 不同年龄段的女性感染人乳头瘤病毒情况分析[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(4): 449-450.
- [15] 陈国斌, 王月云, 李晴, 等. 不同年龄组妇女 HPV 感染流行病学研究[J]. 中国妇幼保健, 2011, 26(14): 2155-2157.
- [16] 李肖甫, 李雁青, 智艳芳, 等. 高危型人乳头瘤病毒感染相关危险因素分析[J]. 现代预防医学, 2012, 39(7): 1655-1657.
- [17] 何建方, 钱福初, 王翔, 等. 人乳头状瘤病毒 23 种基因型的分子流行病学调查[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(3): 428-431.
- [18] 兰旭青, 白海峰. 女性 HPV 感染与年龄相关性分析[J]. 放射免疫学杂志, 2013, 26(1): 108-109.
- [19] 靳琼, 沈铿, 李辉, 等. 西藏自治区妇女宫颈人乳头状瘤病毒感染现状调查及相关因素分析[J]. 中华妇产科学杂志, 2009, 44(12): 898-902.
- [20] Clarke MA, Rodriguez AC, Gage JC, et al. A large, population-based study of age-related associations between vaginal pH and human papillomavirus infection[J]. BMC Infect Dis, 2012, 12(2): 33.
- [21] 魏葆珺, 李学祥, 齐军. 13452 例 HPV 亚型感染检测结果分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2013, 20(3): 169-171.
- [22] Joura EA, Garland SM, Paavonen J, et al. Effect of the human papillomavirus (HPV) quadrivalent vaccine in a subgroup of women with cervical and vulvar disease: retrospective pooled analysis of trial data[J]. BMJ, 2012, 344(3): 1401.
- [23] 邵淑娟, 岳天孚, 张丽琴. 女性 HPV 感染情况及对 HPV 和 HPV 疫苗的认知[J]. 天津医科大学学报, 2013, 19(2): 127-130.

(收稿日期: 2015-02-02)

(上接第 1206 页)

- Zhi, 2009, 17(3): 221-222.
- [5] 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-1 β , IL-6 和 IL-10 水平的变化[J]. 实用肝脏病杂志, 2012, 15(3): 244-246.
- [6] Erhardt A, Biburger M, Papadopoulos T, et al. IL-10, regulatory T cells, and Kupffer cells mediate tolerance in concanavalin A-induced liver injury in mice[J]. Hepatology, 2007, 45(2): 475-485.
- [7] Musil R, Schwarz MJ, Riedel M, et al. Elevated macrophage migration inhibitory factor and decreased transforming growth factor-beta levels in major depression—no influence of celecoxib treatment[J]. J Affect Disord, 2011, 134(1/3): 217-225.
- [8] Terrazas CA, Huitron E, Vazquez A, et al. MIF synergizes with

Trypanosoma cruzi antigens to promote efficient dendritic cell maturation and IL-12 production via p38 MAPK[J]. Int J Biol Sci, 2011, 7(9): 1298-1310.

- [9] Tanahashi T, Osada S, Yamada A, et al. Extracellular signal-regulated kinase and Akt activation play a critical role in the process of hepatocyte growth factor-induced epithelial-mesenchymal transition[J]. Int J Oncol, 2013, 42(2): 556-564.
- [10] Chen H, Zhang D, Wang S, et al. Significance of correlation between interferon- γ and soluble intercellular adhesion molecule-1 and interleukin-17 in hepatitis B virus-related cirrhosis[J]. Clin Res Hepatol Gastroenterol, 2013, 37(6): 608-613.

(收稿日期: 2015-01-06)