

• 临床研究 •

乙肝相关肝癌患者抗-HBx 及 TNF- α 、IL-4 和 IL-12 表达水平及临床意义研究*

李彩东,陈锡莲[△],杨勇卫,段正军,田鹏飞
(甘肃省兰州市第二人民医院肝病研究所 730046)

摘要:目的 探讨乙肝相关肝癌患者外周血中抗乙型肝炎病毒(HBV)X 蛋白抗体(抗-HBx)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-4(IL-4)、白介素-12(IL-12)表达水平及其他指标的相关性。方法 乙肝相关肝癌患者 60 例纳入肝癌组,体检健康者 60 例纳入对照组,采用酶联免疫法检测血清抗-HBx、TNF- α 、IL-4、IL-12 水平,采用实时荧光定量聚合酶链反应法检测 HBV DNA 载量,采用全自动生化分析仪检测肝功能指标水平。结果 与对照组相比,肝癌组 TNF- α 、IL-4 和 IL-12 水平均显著升高($P<0.05$)。肝癌组患者外周血抗-HBx、TNF- α 和 IL-4 水平与 HBV DNA 载量均呈负相关(相关系数分别为-0.408、-0.348、-0.373, $P<0.05$);IL-12 水平与 ALT 水平呈负相关(相关系数为-0.253, $P<0.05$)。结论 抗-HBx 和细胞因子 TNF- α 、IL-4、IL-12 可能导致机体存在不同程度的细胞免疫功能障碍和细胞免疫调节异常。

关键词:乙肝相关肝癌; 抗-HBx; 肿瘤坏死因子- α ; 白介素-4; 白介素-12; HBV DNA
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.12.026 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2017)12-1655-03

乙型肝炎病毒(HBV)感染可导致肝炎、肝纤维化,最终导致肝癌,即乙肝相关肝癌。HBV x 基因编码 HBV X 蛋白(HBx),机体则可产生 HBx 特异性抗体(抗-HBx)^[1]。有研究显示,在 HBV 感染的慢性过程中,HBx/抗-HBx 的存在提示病毒持续复制^[2]。肿瘤坏死因子(TNF- α)具有广泛的生物学活性,肝脏是生成 TNF- α 的主要部位^[3]。白介素-4(IL-4)是重要的 Th2 效应细胞因子,具有抑制炎症反应的作用^[4]。白介素-12(IL-12)是重要的抗病毒细胞因子之一,具有多种生物学活性^[5]。本研究结合相关临床指标,分析了乙肝相关肝癌患者抗 HBx 与 TNF- α 、IL-4、IL-12 的变化特征,旨在了解各指标在判断患者免疫状态、肝脏损伤程度、病情和预后等方面的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2015 年 8 月至 2016 年 1 月于本院就诊的乙肝相关肝癌患者 60 例(肝癌组),男 52 例、女 8 例,平均年龄(53.15 ± 11.03)岁;所有患者符合《慢性乙型肝炎防治指南》相关诊断标准^[6],均未接受治疗,并排除其他疾病。同期于本院体检健康者 60 例(对照组),男 25 例、女 25 例,平均年龄(32.15 ± 8.46)岁,排除各型肝炎病毒感染,排除重要脏器疾病,肝功能正常。

1.2 方法 采集研究对象静脉血标本。采用上海朗顿生物科技有限公司酶联免疫吸附法试剂盒及科华公司 ST-360 酶标仪进行血清抗-HBx 检测。采用美国 ABI 公司 7300 实时荧光定

量聚合酶链反应(PCR)扩增仪及湖南圣湘生物科技有限公司试剂进行 HBV DNA 检测。血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TBIL)和清蛋白(ALB)检测采用美国贝克曼库尔特公司 AU-680 全自动生化分析仪及北京九强生物技术有限公司试剂盒。所有标本的检测采用同批号试剂和质控品,所有试剂批检合格且在有效期内使用。各项操作均严格参照仪器和试剂盒说明书。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间均数的比较采用方差分析,相关性分析采用 Pearson 相关分析,计算相关系数(r)。 $P<0.05$ 为比较差异或分析参数有统计学意义。

2 结果

2.1 肝功能指标和 HBV DNA 水平比较 与对照组相比,肝癌组 ALT、AST 和 TBIL 水平显著升高,ALB 水平降低(t 值分别为 4.263、4.267、5.432、3.034, $P<0.05$),见表 1。

2.2 抗-HBx、TNF- α 、IL-4 和 IL-12 水平比较 与对照组相比,肝癌组 TNF- α 、IL-4、IL-12 水平均显著升高(t 值分别为 9.491、3.515、3.740, $P<0.05$),见表 2。

2.3 肝癌组患者各指标相关性分析结果 肝癌组患者外周血抗-HBx、TNF- α 和 IL-4 水平与 HBV DNA 载量均呈负相关($P<0.05$),IL-12 水平与 ALT 水平呈负相关($P<0.05$),见表 3。

表 1 肝功能指标和 HBV DNA 水平比较($\bar{x}\pm s$)

分组	<i>n</i>	ALT(U/L)	AST(U/L)	TBIL(μ mol/L)	ALB(g/L)	HBV DNA(Ig IU/mL)
肝癌组	60	76.38 $\pm$ 23.06*	125.53 $\pm$ 56.35*	66.04 $\pm$ 13.39*	32.44 $\pm$ 7.26*	5.11 $\pm$ 1.58
对照组	60	24.82 $\pm$ 6.21	22.17 $\pm$ 4.65	15.46 $\pm$ 2.67	43.82 $\pm$ 2.61	—

注:—表示低于试剂检测范围下限,无检测结果;与对照组比较,* $P<0.05$ 。

* 基金项目:甘肃省兰州市人才创新创业项目(2015-RC-66)。

[△] 通信作者,E-mail:tracychen2006@126.com。

表 2 血清抗 HBx、IL-4、IL-12 和 TNF-α 水平比较(̄x±s)

分组	n	抗-HBx(ng/mL)	TNF-α(ng/L)	IL-4(ng/L)	IL-12(ng/L)
肝癌组	60	1.22±0.31	85.69±36.26 *	124.00±46.40 *	117.13±22.39 *
对照组	60	—	33.57±16.58	51.99±20.17	54.60±20.74

注:—表示低于试剂检测范围下限,无检测结果;与对照组比较,*P<0.05。

表 3 肝癌组患者各指标相关性分析结果

指标	抗-HBx		TNF-α		IL-4		IL-12	
	r	P	r	P	r	P	r	P
HBV DNA	-0.408	0.007	-0.348	0.024	-0.373	0.015	-0.115	0.469
ALT	-0.019	0.887	0.001	0.996	-0.022	0.870	-0.253	0.049
AST	-0.017	0.896	-0.019	0.887	-0.041	0.757	-0.169	0.196
TBIL	-0.081	0.536	-0.064	0.628	-0.081	0.536	-0.101	0.441
ALB	0.177	0.177	0.140	0.287	0.093	0.478	0.089	0.498

3 讨 论

HBV 感染者肝癌发病率较非 HBV 感染者高 200 倍以上^[7]。HBx 对肝细胞凋亡具有双向调控作用,可通过促进肝细胞凋亡而诱导肝细胞再生,并促进基因突变的积累,最后导致细胞转化和肝癌的发生^[8-11]。本研究结果显示,乙肝相关肝癌患者抗-HBx 水平与 HBV DNA 载量呈负相关,提示抗-HBx 作为 HBx 蛋白的抗体,其水平高低不仅反映机体对 HBV 感染的免疫应答状态,也说明 HBx 蛋白和抗-HBx 在乙肝相关肝癌的发生、发展中具有一定的作用,可能在肝癌诊治及患者预后判断方面有一定的应用价值。

细胞因子是炎症反应的重要免疫调节介质,在清除 HBV 的免疫应答过程中发挥重要作用^[12-14]。本研究结果显示,与健康者相比,乙肝相关肝癌患者 TNF-α、IL-4 和 IL-12 水平显著升高,提示三者可能参与了乙肝相关肝癌的发生、发展过程;乙肝相关肝癌患者 TNF-α、IL-4 水平与 HBV DNA 载量均呈负相关,IL-12 水平与 ALT 水平呈负相关。肝脏是合成 TNF-α 的主要脏器,也是 TNF-α 受体最多的器官^[15]。随着 HBV 复制活跃程度的增加,乙肝相关肝癌患者肝损伤程度越严重, TNF-α 水平越低;而 Th1 类细胞因子(如 IL-12)和 Th2 类细胞因子(如 IL-4)相互作用,导致肝脏炎症的慢性化。IL-4 在晚期肝病中发挥抑制炎症反应的作用,故 IL-4 水平升高可减弱肝脏的炎症反应程度及病毒复制活跃程度。IL-12 是的最有效的细胞毒性 T 细胞(CTL)和自然杀伤细胞(NK)活性刺激因子^[16];也可能推具有一定的抑癌作用,在乙肝相关肝癌患者体内可能有异于其他疾病病程的免疫作用机制,但有待进一步研究证实。

综上所述,在乙肝相关肝癌发生和发展过程中,抗-HBx、TFN-α、IL-4 和 IL-12 可能具有重要作用。抗-HBx、TFN-α、IL-4 和 IL-12 可用于评估乙肝相关肝癌患者病情严重程度,也可能是乙肝相关肝癌治疗的新靶点。

参考文献

[1] 龚倩,何松. HBx 蛋白生物学作用的研究进展[J]. 世界华人消化杂志,2013,19(34):321-333.

[2] 廖凯,张雷达. 乙型肝炎病 X 蛋白在原发性肝癌中的作用[J]. 临床肝胆病杂志,2014,35(1):1104-1118.

[3] Teixeira AC, Mendes-Junior CT, Marano LA, et al. Alleles and genotypes of polymorphisms of IL-18, TNF-α and IFN-γ are associated with a higher risk and severity of hepatocellular carcinoma(HCC)in Brazil[J]. Hum Immunol,2013,74(8):1024-1029.

[4] 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.

[5] Schurich A, Pallett LJ, Lubowiecki M, et al. The third signal cytokine IL-12 rescues the Anti-Viral function of exhausted HBV-Specific CD8 T cells[J]. PLoS Pathog, 2013,9(3):175-182.

[6] 中华医学会肝病学分会,中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2015 年版)[J]. 临床肝胆病杂志, 2015,31(12):1941-1960.

[7] 陈鹏,李菲,陈鹏,等. 肝细胞癌诊治的新起点[J]. 世界华人消化杂志,2012,20(36):3719-3724.

[8] Slagle BL, Andrisani OM, Bouchard MJ, et al. Technical standards for hepatitis B virus X protein(HBx) research [J]. Hepatology,2015,61(4):1416-1424.

[9] Park S, Lim J, Kim J R, et al. Inhibitory effects of resveratrol on hepatitis B virus X-protein(HBx)-induced hepatocellular carcinoma (HCC) [J]. FASEB J, 2016, 30 (Suppl):493-497.

[10] Ding A. Studies on mutual relationship between Anti-HBx and sFas, IL-10 or IL-12 in sera of cases with chronic hepatitis B infection[J]. Infect Intern, 2014, 15(2): 49-53.

[11] 沈艺南,何海冠,王舟翀,等. 乙肝相关肝细胞癌中 HBx 蛋白的作用机制[J]. 肝胆外科杂志,2015,23(4):313-314,320.

[12] Teixeira AC, Mendes-Junior CT, Marano LA, et al. Al-

- leles and genotypes of polymorphisms of IL-18, TNF- α and IFN- γ are associated with a higher risk and severity of hepatocellular carcinoma(HCC) in Brazil[J]. Hum Immunol, 2013, 74(8):1024-1029.
- [13] 李曼,孙学华,周振华,等. 慢性乙型肝炎病毒感染者外周血 T 细胞 γ 干扰素和白细胞介素 4 的水平变化[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2016, 32(2):240-244.
- [14] 郑定容,黄龙,周伟. 乙型肝炎患者 HBV-DNA 载量与 IL-12、IL-18 及 IL-10 的相关性研究[J]. 热带医学杂志, 2013, 13(8):970-972.
- 临床研究 •
- [15] Ferreira SC, Florencio SC, Souza FF, et al. IL-18, TNF, and IFN- γ alleles and genotypes are associated with susceptibility to chronic hepatitis B infection and severity of liver injury[J]. J Med Virol, 2015, 87(10):1689-1696.
- [16] Arababadi MK, Pourfathollah AA, Hassanshahi G, et al. Evaluation of serum level of IL-12 in patients with occult HBV infection[J]. J Mazan Univer Med Sci, 2009, 19(73):1334-1340.
- (收稿日期:2017-02-14 修回日期:2017-04-19)

外周动静脉快速同步换血疗法在新生儿溶血病中的应用研究*

李 卫,杨燕萍,柯买春,黄会金,邱金波
(江西省九江市妇幼保健院 332000)

摘 要:目的 探讨外周动静脉快速同步换血疗法治疗新生儿溶血病的疗效及安全性。方法 选择接受外周动静脉快速同步换血治疗的新生儿溶血病患儿 60 例,治疗过程中检测生命体征指标,比较治疗前后胆红素、血红蛋白、电解质、血糖等指标水平。结果 换血治疗过程中,患儿生命体征平稳,体温、呼吸、心率等指标无异常变化。换血治疗后,血清总胆红素、直接胆红素、间接胆红素较治疗前显著下降($P < 0.05$),血红蛋白稍有下降,但比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。换血治疗前后血糖、电解质水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 外周动静脉快速同步换血疗法可快速降低新生儿溶血病患儿胆红素水平,具有对患儿生命体征影响小、操作简单、并发症少等优势,值得推广应用。

关键词:新生儿溶血病; 外周动静脉同步换血; 胆红素
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.12.027 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2017)12-1657-02

新生儿溶血病是常见儿科病症之一,可诱发高胆红素血症,如不及时治疗,将危及患儿生命^[1-2]。母子血型不合时,母亲体内可产生与针对胎儿血型抗原的抗体,经胎盘进入胎儿体内后,即可引起免疫性溶血。Rh 血型系统和 ABO 血型系统的血型不合均可诱发新生儿溶血病。外周动静脉快速同步换血疗法是治疗重症新生儿溶血病最迅速、有效的手段,通过换血降低患儿外周血胆红素浓度水平,防止胆红素脑病的发生,同时也可纠正溶血导致的心力衰竭与贫血^[3-4]。本研究分析了外周动静脉快速同步换血疗法在新生儿溶血病患儿中的应用效果。现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2015 年 6 月至 2016 年 8 月于本院接受外周动静脉快速同步换血治疗的新生儿溶血病患儿 60 例,男 32 例、女 28 例,年龄 22 h 至 7 d,体质量 1.5~4.5 kg;足月儿 52 例,早产儿 8 例;ABO 血型不合 53 例,Rh 血型不合 7 例。所有患儿均符合换血治疗指征:达到中华医学会儿科学组 2001 年制定的足月儿与早产儿换血治疗标准;产前诊断基本明确为新生儿溶血病,出生时脐带血血红蛋白水平低于 120 g/L,伴心力衰竭、水肿、肝大;存在早期胆红素脑病症状;孕妇前一胎有死胎、水肿、严重贫血等病史,且此胎病情更严重,应酌情降低换血标准。所有患儿家长均签署输血治疗同意书及换血治疗同意书。

1.2 方法

1.2.1 换血治疗方法 治疗前抽空患儿胃液,防止胃液反流引起感染或出血。静脉注射鲁米那 5~10 mg/kg,用于镇静。血源选择:ABO 血型不合患儿选择同血型或 O 型洗涤红细胞加 AB 型血浆的混合血,Rh 血型不合患儿选择与母亲 Rh 血型、ABO 血型相同的全血,原因不明的重度黄疸患儿选择同血型的全血。血源为 3 d 内制备的新鲜全血。患儿仰卧于开放式暖箱中,调节腹部温度至 36.8℃左右;以 24 号留置针穿刺桡动脉,穿刺后,接延长管及 2 个三通管,分别接肝素液和注射器,抽出的血注入废血袋,间隔 5 min 抽血 15~20 mL,同时推注肝素液维持管道通畅;以 24 号留置针穿刺腋静脉,建立 2 条静脉通道,1 条用于滴注含 1~2 mL 葡萄糖酸钙的 100 mL 生理盐水溶液,以输液泵均匀输入,另 1 条静脉通道为输血通道,接 1 个三通管,一端接输血袋,另一端接注射器,通过活塞将血液制品转入静脉通道后缓慢推注。抽输血同步进行。换血过程中采用多功能心电监护仪监测体温、呼吸、心率、血压、心电图、血氧饱和度等指标。换血量为循环血量的 2 倍,速度为 2 mL/kg/min,总量为 150~180 mL/kg。2~4 h 内完成换血过程^[5]。

1.2.2 观察指标 换血过程中监测体温、呼吸、心率、血压、心电图、血氧饱和度等指标。在换血治疗前后采集患儿静脉血,常规方法检测血清总胆红素、直接胆红素、间接胆红素,以及血红蛋白、血钾、血钙、血氯、血糖水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行数据处理和统计

* 基金项目:江西省卫计委科技计划项目(20167143)。