

慢性乙型肝炎重叠急性戊型肝炎患者血清肿瘤坏死因子 和白细胞介素 6 的检测及其意义

赵守松, 陈子安, 张莉

蚌埠医学院第一附属医院感染科, 蚌埠 233004

摘要: 本文旨在探讨肿瘤坏死因子 (TNF-)、白细胞介素 6(IL-6) 在慢性乙型肝炎重叠急性戊型肝炎病情加重中的作用和临床意义。采用酶联免疫吸附试验(ELISA) 测定慢性乙型肝炎重叠急性戊型肝炎患者(30 例) 和慢性乙型肝炎患者(20 例) 、急性戊型肝炎患者(20 例) 、健康体检者(20 例) 的血清 TNF- 、IL-6, 同时检测慢性乙型肝炎重叠急性戊型肝炎、慢性乙型肝炎和急性戊型肝炎患者的主要生化指标。结果显示, 与慢性乙型肝炎患者、急性戊型肝炎患者、健康体检者相比, 慢性乙型肝炎重叠急性戊型肝炎患者的血清 TNF- 、IL-6 水平显著升高($P < 0.01$) ; 与慢性乙型肝炎、急性戊型肝炎患者相比, 慢性乙型肝炎重叠急性戊型肝炎患者主要生化指标丙氨酸氨基转移酶(ALT) 、门冬氨酸氨基转移酶(AST) 、血清胆红素(TBIL) 显著升高($P < 0.05$) , 胆固醇酯(CHE) 、血浆白蛋白(ALB) 、血清凝血酶原活动度(PTA) 显著降低($P < 0.05$) ; 慢性乙型肝炎重叠急性戊型肝炎患者的血清 TNF- 、IL-6 升高水平与 ALT、TBIL、PTA 升高或降低水平呈直线相关关系($P < 0.05$) 。结果提示, TNF- 、IL-6 参与慢性乙型肝炎重叠急性戊型肝炎免疫病理损伤过程, 检测血清 TNF- 、IL-6 对判断慢性乙型肝炎重叠急性戊型肝炎患者肝损伤程度及预后有一定价值。

关键词: 慢性乙型肝炎; 重叠; 急性戊型肝炎; 肿瘤坏死因子 ; 白细胞介素 6

Detection and significance of serum tumor necrosis factor- and interleukin-6 in chronic hepatitis B patients superinfected with acute hepatitis E

ZHAO Shou-Song, CHEN Zi-An, ZHANG Li

Department of Infectious Diseases, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233004, China

Abstract: The present study was aimed to discuss the role and clinical significance of tumor necrosis factor- (TNF-) and interleukin-6 (IL-6) in the deterioration of chronic hepatitis B patients superinfected with acute hepatitis E. Serum TNF- and IL-6 in chronic hepatitis B patients superinfected with acute hepatitis E ($n=30$), chronic hepatitis B patients ($n=20$), acute hepatitis E patients ($n=20$), and healthy volunteers ($n=20$) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) . Main biochemical quantitative analyses of serum levels of alanine amino transferase (ALT) , aspartamine transferase (AST) and total bilirubin (TBIL) , cholesterol ester (CHE) , albumin (ALB) , and prothrombin activity (PTA) were detected by automatic biochemical analyzer. Compared to that of chronic hepatitis B patients, acute hepatitis E patients, and healthy volunteers, the serum levels of TNF- and IL-6 in chronic hepatitis B patients superinfected with acute hepatitis E were significantly increased ($P < 0.01$) . Compared to that of chronic hepatitis B patients and acute hepatitis E patients, the serum levels of ALT, AST and TBIL in chronic hepatitis B patients superinfected with acute hepatitis E were significantly increased ($P < 0.05$) , the serum levels of CHE, ALB and PTA reduced obviously ($P < 0.05$) . The serum levels of TNF- and IL-6 in chronic hepatitis B patients superinfected with acute hepatitis E showed a significant positive correlation with ALT and TBIL and a significant negative correlation with PTA ($P < 0.05$) . TNF- and IL-6 participate in the process of immune injury in chronic hepatitis B patients superinfected with acute hepatitis E. Detection of the serum levels of TNF- and IL-6 has practical clinical value in determining the degree of liver injury and prognosis of chronic hepatitis B patients superinfected with acute hepatitis E.

Key words: Chronic hepatitis B; Superinfection; Acute hepatitis E; Tumor necrosis factor- ; Interleukin-6

慢性乙型肝炎重叠急性戊型肝炎是临幊上病毒性肝炎最常见的重叠模式, 其发病机制还不甚明了。近年来国内、外一些研究表明, 可能有多种因素参与慢性乙型肝炎重叠急性戊型肝炎病理过程, 其中肝损害细胞因子的作用日益受到重视。本研究对 30 例慢性乙型肝炎重叠急性戊型肝炎患者进行血清肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor-, TNF-) 和白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6) 检测, 以探讨 TNF-、IL-6 在慢性乙型肝炎重叠急性戊型肝炎病情重症化中的作用和临床意义。

1 材料和方法

1.1 病例

随机留取慢性乙型肝炎重叠急性戊型肝炎患者 30 例, 慢性乙型肝炎患者、急性戊型肝炎患者和健康体检者各 20 例, 分为 4 组。重叠组: 慢性乙型肝炎重叠急性戊型肝炎患者 30 例, 其中男性 27 例, 女性 3 例, 年龄 19 ~ 61 岁, 平均年龄 (38.63 ± 11.99) 岁; 乙型肝炎组: 慢性乙型肝炎患者 20 例, 其中男性 14 例, 女性 6 例, 年龄 24 ~ 68 岁, 平均年龄 (36.60 ± 12.80) 岁; 戊型肝炎组: 急性戊型肝炎患者 20 例, 其中男性 16 例, 女性 4 例, 年龄 21 ~ 58 岁, 平均年龄 (39.70 ± 12.09) 岁; 健康对照组: 健康体检者 20 例, 其中男性 11 例, 女性 9 例, 年龄 19 ~ 62 岁, 平均年龄 (37.55 ± 11.19) 岁。以上 70 例肝炎患者均为蚌埠医学院第一附属医院感染科 2006 年 10 月 ~ 2008 年 10 月门诊或住院收治的患者, 20 例健康体检者来源于蚌埠医学院第一附属医院体检中心。诊断符合 2000 年西安会议修订的《病毒性肝炎防治方案》的标准^[1], 并排除酒精性肝病、自身免疫性肝病及其他病毒性肝炎(甲型、丙型、丁型、庚型肝炎等)。各组患者和健康体检者在年龄、性别和标本采集时间上, 均无统计学差异 ($P < 0.05$)。

1.2 血清标本采集

清晨空腹从肘静脉采血 4 ml, 4~1680 g 离心 10 min, 分离血清并分装, -20°C 保存待测。

1.3 试剂和方法

TNF-、IL-6 检测均采用武汉博士德生物工程有限公司生产的酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒, 按说明书操作。生化指标采用全自动生化仪检测。

1.4 统计学处理

应用 SPSS13.0 统计软件进行统计分析, 数据采

用 *t*-检验表示, 多组定量资料在方差齐性时采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 SNK-q 检验, 双变量之间关系采用直线相关分析, 以 $P < 0.05$ 为有显著性差异。

2 结果

2.1 TNF- 和 IL-6 检测结果

与乙型肝炎组、戊型肝炎组或健康对照组相比, 重叠组患者血清 TNF-、IL-6 水平明显升高 ($P < 0.01$); 与健康对照组相比, 乙型肝炎组和戊型肝炎组患者血清 TNF-、IL-6 水平均显著升高 ($P < 0.05$), 但乙型肝炎组和戊型肝炎组患者血清 TNF-、IL-6 水平无明显差异 ($P > 0.05$) (表 1)。

表 1 各组血清 TNF-、IL-6 水平比较

Tab 1. Comparison of the serum levels of TNF- and IL-6 in each group

Groups	^a TNF- (pg/ml)	^b IL-6 (pg/ml)	n
Superinfection ¹	460.10 ±190.23	581.23 ±209.66	30
Hepatitis B ²	147.24 ±90.40	252.85 ±107.03	20
Hepatitis E ³	135.36 ±84.34	259.14 ±106.75	20
Healthy control ⁴	39.86 ±31.25	79.11 ±37.49	20

Analysis of variance: $F_a = 55.40$, $F_b = 55.66$, $P < 0.05$. *q* test of TNF-: $q_{1,2} = 12.20$, $q_{1,3} = 12.66$, $q_{1,4} = 16.38$, $P < 0.01$; $q_{2,4} = 3.82$, $q_{3,4} = 3.40$, $P < 0.05$; $q_{2,3} = 0.42$, $P > 0.05$. *q* test of IL-6: $q_{1,2} = 11.32$, $q_{1,3} = 11.11$, $q_{1,4} = 17.32$, $P < 0.01$; $q_{2,4} = 5.47$, $q_{3,4} = 5.67$, $P < 0.05$; $q_{2,3} = 0.20$, $P > 0.05$. *t*-检验。

2.2 主要生化指标比较

与乙型肝炎组或戊型肝炎组主要生化指标比较, 重叠组患者丙氨酸氨基转移酶 (alanine amino transferase, ALT)、门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate transferase, AST)、血清总胆红素 (total bilirubin, TBIL) 均显著升高 ($P < 0.05$), 胆碱酯酶 (cholinesterase, CHE)、血浆白蛋白 (albumin, ALB)、血清凝血酶原活动度 (prothrombin activity, PTA) 均显著降低 ($P < 0.05$); 但与乙型肝炎组主要生化指标比较, 戊型肝炎患者 ALT、TBIL 均显著升高 ($P < 0.05$), 而 AST、CHE、ALB、PTA 水平无明显差异 ($P > 0.05$) (表 2)。

2.3 重叠组患者血清 TNF-、IL-6 与血清 ALT、TBIL、PTA 的直线相关分析

重叠组患者血清 TNF- 与血清 ALT、TBIL 呈正直线相关, 与血清 PTA 呈负直线相关 ($P < 0.05$); 血清 IL-6 与血清 ALT、TBIL 呈正直线相关, 与血清

PTA 呈负直线相关 ($P < 0.05$) (图 1~6)。

表 2 各组主要生化指标比较

Tab 2 Comparison of main biochemical quantitative analysis in each group

Detection indicators	Superinfection ¹	Hepatitis B ²	Hepatitis E ³
ALT (u/L)	579.7 ±313.8	158.5 ±215.3	356.7 ±163.4
AST (u/L)	415.4 ±248.6	246.3 ±187.2	278.6 ±153.8
CHE (u/L)	2 058.0 ±1 814.1	3 846.2 ±2 587.5	3 733.5 ±2 963.3
TBIL (μmol/L)	309.8 ±185.9	164.7 ±112.6	193.1 ±163.4
ALB (g/L)	30.1 ±5.3	35.3 ±7.2	37.4 ±8.3
PTA (H)	42.9 ±24.6	64.3 ±34.5	76.7 ±39.1

ALT, AST, TBIL, CHE, ALB 和 PTA: $P_{1,2} < 0.05$, $P_{1,3} < 0.05$. ALT, TBIL: $P_{2,3} < 0.05$. AST, CHE, ALB 和 PTA: $P_{2,3} > 0.05$. 珋±s

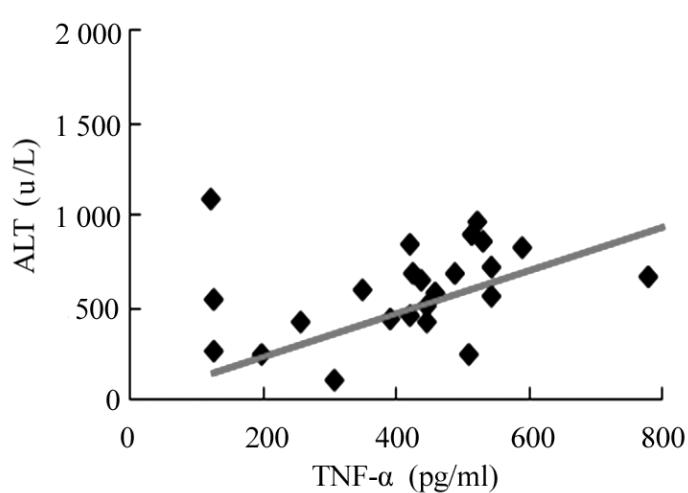


图 1 TNF- 与 ALT 相关性

Fig 1. Correlation between TNF- and ALT ($P < 0.05$)

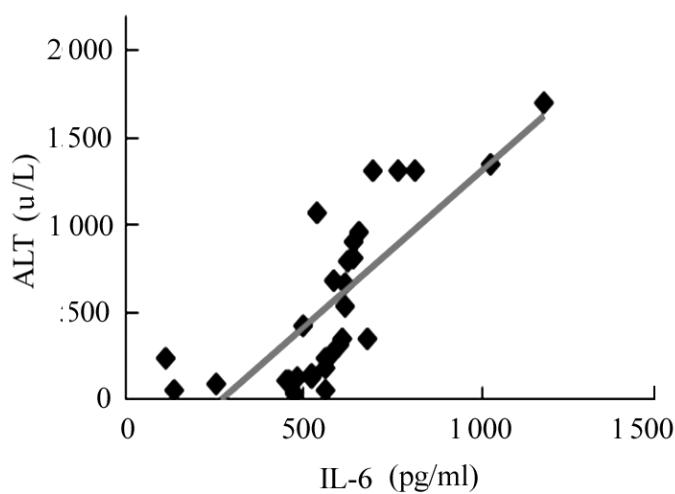


图 2 IL-6 与 ALT 相关性

Fig 2. Correlation between IL-6 and ALT ($P < 0.05$)

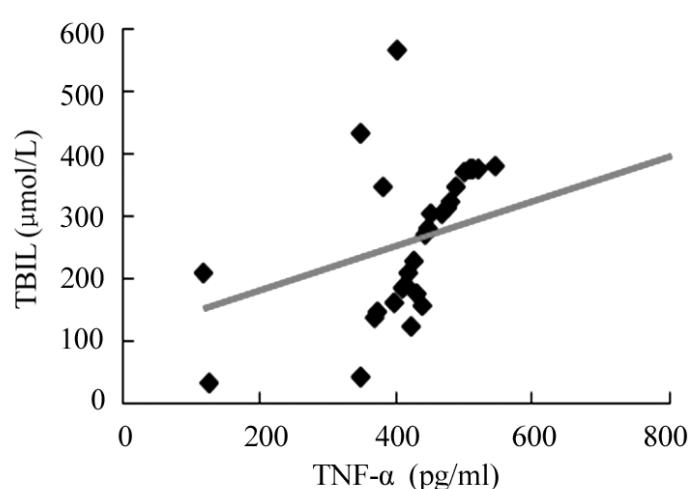


图 3 TNF- 与 TBIL 相关性

Fig 3. Correlation between TNF- and TBIL ($P < 0.05$)

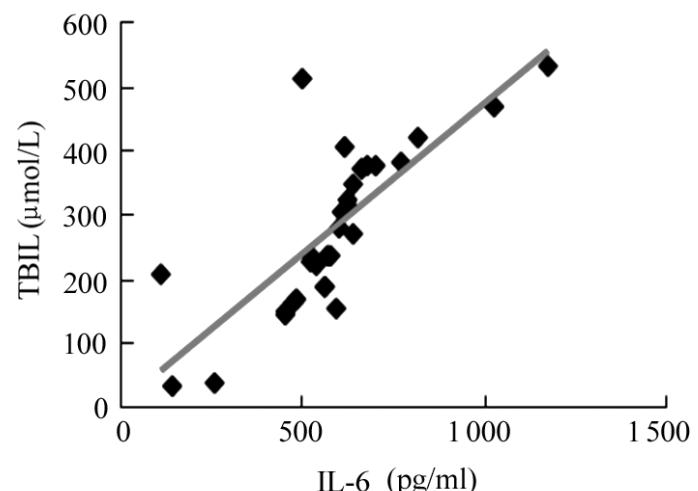


图 4 IL-6 与 TBIL 相关性

Fig 4. Correlation between IL-6 and TBIL ($P < 0.05$)

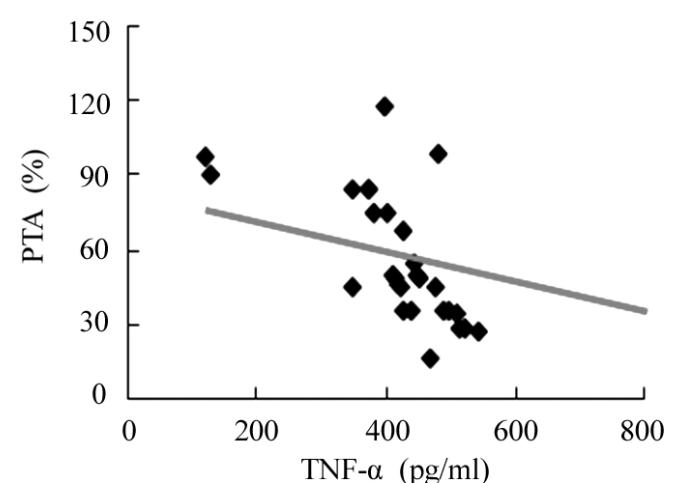


图 5 TNF- 与 PTA 相关性

Fig 5. Correlation between TNF- and PTA ($P < 0.05$)

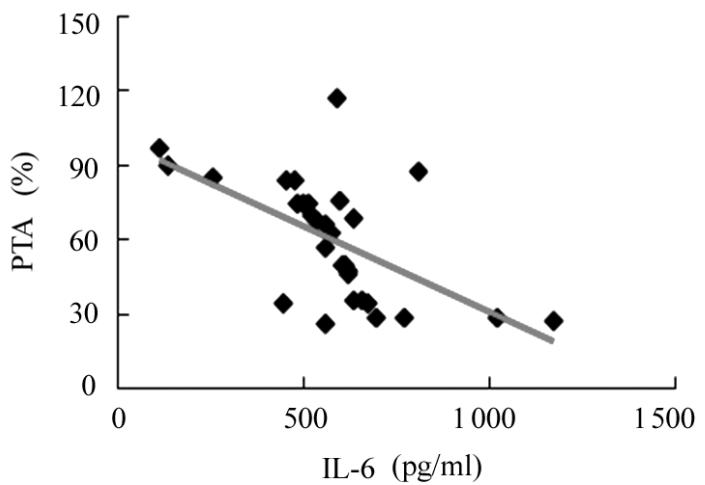


图 6 IL-6 与 PTA 相关性

Fig 6. Correlation between IL-6 and PTA ($P < 0.05$)

3 讨论

慢性乙型肝炎重叠戊型肝炎病毒 (hepatitis E virus, HEV) 感染时, 乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) DNA 以及 HBV、HEV 本身均可作为 TNF-、IL-6 的诱导剂, 直接刺激机体产生 TNF-、IL-6, 亦能诱导机体肝细胞合成大量 TNF-、IL-6, 合成的 TNF-、IL-6 进一步促进肝内炎症反应, 介导肝细胞损伤和坏死^[2]。TNF- 能直接损伤血管内皮细胞, 引起通透性增加, 增强白细胞与血管内皮细胞的吸附, 引起局部炎症反应及细胞、器官的损害^[3]。TNF- 还能诱导 IL-6 等的产生, 而 IL-6 等具有显著的中性粒细胞趋化和激活作用, 引起血管内皮细胞损伤, 从而使肝脏炎症细胞浸润更严重^[4]。

本研究结果表明, 慢性乙型肝炎患者或急性戊型肝炎患者血清 TNF-、IL-6 水平较健康体检者显著升高 ($P < 0.05$), 慢性乙型肝炎重叠急性戊型肝炎患者血清 TNF-、IL-6 水平进一步显著升高 ($P < 0.01$)。并且发现, 与慢性乙型肝炎患者或急性戊型肝炎患者相比较, 慢性乙型肝炎重叠急性戊型肝炎患者 ALT、AST、TBIL 显著升高 ($P < 0.05$), CHE、ALB、PTA 显著降低 ($P < 0.05$); 慢性乙型肝炎患者与急性戊型肝炎患者 ALT、CHE、ALB、PTA 水平无明显差异 ($P > 0.05$), 但急性戊型肝炎患者 AST、TBIL 较慢性乙型肝炎患者显著升高 ($P < 0.05$)。结果提示, 慢性乙型肝炎重叠 HEV 感染后, 肝组织炎症活动度增强, 患者肝脏损害进程加速, 导致病情急性加重, 病程延长^[5]。

本研究结果还发现, 慢性乙型肝炎重叠急性戊型肝炎患者血清 TNF-、IL-6 的升高水平与血清 ALT、TBIL 水平呈正直线相关 ($P < 0.05$), 与血清 PTA 水平呈负直线相关 ($P < 0.05$)。提示患者血清 TNF-、IL-6 含量的高低可反映肝细胞的损害程度, 检测血清 TNF-、IL-6 水平既可评估肝细胞的炎症和损害程度, 又可评估慢性乙型肝炎重叠急性戊型肝炎患者的预后; 同时检测血清中的 TNF-、IL-6 水平可作为慢性乙型肝炎重叠急性戊型肝炎患者病情及预后评估的监测指标, 具有一定的临床实用价值。

慢性乙型肝炎重叠急性戊型肝炎患者血清 TNF-、IL-6 水平随病情加重而升高, 可能与患者肝内单核/巨噬细胞、肝库普弗细胞等大量增生、活跃, 从而使血清 TNF-、IL-6 水平增加有关^[6]。随着肝细胞损伤程度增加, 肝脏清除内毒素功能下降, 形成

内毒素血症, 使肝内及血清中的 TNF-、IL-6 水平增加, 加重肝损伤程度^[7]。肝细胞及其浸润的单核细胞均可产生大量 TNF-、IL-6, 而 TNF- 分泌又可刺激 IL-6、IL-2、干扰素 (interferon, IFN) 不断释放, 除直接加重肝细胞自身毒性外, 还能诱导其他炎性介质产生, 加重肝脏损害, 造成肝脏的坏死或炎症的重症化^[8]。TNF-、IL-6、IL-2、IFN 等细胞因子之间以网络形式存在, 相互影响, 相互诱生, 共同参与慢性乙型肝炎重叠急性戊型肝炎的发生和发展, 并影响其预后^[9]。

参考文献

- [1] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案. 传染病信息 [J]. 2000, 13(4): 141-150
- [2] Akpolat N, Yahsi S, Godekmerdan A, et al. Relationship between serum cytokine levels and histopathological changes of liver in patients with hepatitis B [J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(21): 3260-3263
- [3] Lin MC, Lee NP, Zheng N, et al. Tumor necrosis factor-induced protein 1 and immunity to hepatitis B virus [J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(48): 7564-7568
- [4] Jeng JE, Tsai JF, Chuang LY, et al. Tumor necrosis factor-A 308.2 polymorphism is associated with advanced hepatic fibrosis and higher risk for hepatocellular carcinoma [J]. Neoplasia, 2007, 9(11): 987-992
- [5] 徐叶进, 朱碧红, 王晓东, 等. 慢性 HBV 感染重叠 HEV 感染的临床特点及转归 [J]. 中国医师进修杂志, 2007, 30(9): 31-34
- [6] Ribeiro CS, Visentainer JE, Moliterno RA, et al. Association of cytokine genetic polymorphism with hepatitis B infection evolution in adult patients [J]. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2007, 102(4): 435-440
- [7] Yoon JK, Lee HS, Yoon JH, et al. Association of TNF-promoter polymorphisms with the clearance of hepatitis B virus infection [J]. Hum Mol Genet, 2003, 12(19): 2541-2546
- [8] 温先勇, 向成玉, 苑冀蓉. 乙型肝炎患者血清 TNF-、IL-6、IL-8、IL-12、IL-18 变化的研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2004, 14(3): 54-61
- [9] Ohta A, Sekimoto M, Sato M, et al. Indispensable role for TNF-a and IFN- at the effector phase of liver injury mediated by Th1 cells specific to hepatitis B virus surface antigen [J]. J Immunol, 2000, 165(2): 956-961