

重型乙型肝炎患者血清IP-10的动态观察及临床意义

罗亚文, 罗军敏, 林世德, 易学东

■背景资料

目前SHB的发病机制仍不完全清楚,许多学者探索其免疫发病机制,从免疫学防治角度寻找切入点。已有的研究表明,细胞免疫异常可能是SHB免疫发病机制的重要原因。本文初步探讨了趋化性细胞因子IP-10在SHB免疫发病机制及病情发展转归中的作用及意义。

罗亚文, 林世德, 贵州遵义医学院附属医院感染科 贵州省遵义市 563003

罗军敏, 贵州遵义医学院免疫学教研室 贵州省遵义市 563003

易学东, 贵州遵义医学院药剂科 贵州省遵义市 563003

通讯作者: 罗亚文, 563003, 贵州省遵义市, 贵州遵义医学院附属医院感染科。luoyw719@163.com

收稿日期: 2007-06-11 修回日期: 2007-08-17

Clinical significance of serum interferon-inducible protein-10 and serial changes in patients with severe hepatitis B

Ya-Wen Luo, Jun-Min Luo, Shi-De Lin, Xue-Dong Yi

Ya-Wen Luo, Shi-De Lin, Department of Infectious Diseases, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Jun-Min Luo, Department of Immunology, Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Xue-Dong Yi, Pharmaceutical Preparation Section, Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Correspondence to: Ya-Wen Luo, Department of Infectious Diseases, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China. luoyw719@163.com

Received: 2007-06-11 Revised: 2007-08-17

Abstract

AIM: To investigate serum levels of interferon-inducible protein-10 (IP-10) and the serial changes in hepatic injury and disease progression in patients with severe hepatitis B (SHB) after plasma exchange (PE).

METHODS: Forty patients with SHB and 20 with chronic hepatitis B (CHB) were enrolled. All SHB patients were treated by PE, and according to the response on day 5, they were then subdivided into two groups: remission and aggravated. Serum levels of IP-10 and tumor necrosis factor- α (TNF- α) on admission, before PE, and on day 5 after PE were determined by ELISA.

RESULTS: On admission, the serum levels of IP-10 in patients with SHB and CHB were significantly higher than those in normal controls (683.56 ± 174.63 ng/L, 216.13 ± 102.92 ng/L vs

107.61 ± 55.81 ng/L, $P < 0.01$). The IP-10 level in patients with SHB was significantly higher than that in patients with CHB ($P < 0.01$). On admission, the serum level of IP-10 showed a significantly positive correlation with TNF- α ($r = 0.366$; $P < 0.05$) and a significantly negative correlation with PTA ($r = -0.401$; $P < 0.05$). The serum level of IP-10 did not have a significant correlation with total bilirubin (TB) ($r = 0.223$; $P > 0.05$). After PE, the serum level of IP-10 in patients with SHB decreased, but not significantly, when compared with that before PE. On day 5 after PE, the serum level of IP-10 in patients with SHB further decreased and was significantly lower when compared with that before PE ($P < 0.01$, $P < 0.05$); IP-10 level in the remission group was significantly lower than that in the aggravated group ($P < 0.01$).

CONCLUSION: Serum level of IP-10 correlates with severity of hepatic injury, and the serial changes after PE reflect the progression of the disease in patients with SHB. Our results indicate that IP-10 is involved in the immunopathological mechanism that leads to the development and progression of SHB.

Key Words: Severe hepatitis B; Interferon-inducible protein-10; Plasma exchange

Luo YW, Luo JM, Lin SD, Yi XD. Clinical significance of serum interferon-inducible protein-10 and serial changes in patients with severe hepatitis B. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(24): 2648-2651

摘要

目的: 探讨干扰素诱导蛋白10(IP-10)与重型乙型肝炎(SHB)患者肝脏炎症程度及病情发展的关系。

方法: 采集SHB患者40例血浆置换(PE)开始、结束及PE后5 d血清,根据SHB患者PE后5 d病情转归情况分为好转组及恶化组;采集慢性乙型肝炎(CHB)患者及健康对照各20例血清;双抗体夹心ELISA法检测血清干扰素(IFN)诱导蛋白10(IP-10)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平。

常规检测SHB患者入院时、PE后5 d总胆红素(TB),凝血酶原活动度(PTA)。

结果:入院时SHB及CHB组血清IP-10均高于健康对照组(683.56 ± 174.63 , 216.13 ± 102.92 vs 107.61 ± 55.81 , $P < 0.01$), SHB组高于CHB组($P < 0.01$); SHB患者血清IP-10与TNF- α 呈正相关($r = 0.366$; $P < 0.05$), 与PTA呈负相关($r = -0.401$; $P < 0.05$), 与TB相关性不明显($r = 0.223$, $P > 0.05$)。PE后5 d SHB好转组及恶化组较入院时血清IP-10均明显下降($P < 0.01$, $P < 0.05$), 恶化组高于好转组($P < 0.01$)。

结论:血清IP-10参与了SHB肝脏的免疫损伤; IP-10水平与肝脏炎症损害程度有关; 动态观察IP-10在SHB患者PE前后的变化, 能反映SHB患者病情发展及转归。

关键词: 重型乙型肝炎; 干扰素诱导蛋白10; 血浆置换

罗亚文, 罗军敏, 林世德, 易学东. 重型乙型肝炎患者血清IP-10的动态观察及临床意义. 世界华人消化杂志 2007;15(24):2648-2651

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2648.asp>

0 引言

重型乙型肝炎(SHB)是由HBV感染导致的终末期肝病, 其发病凶险, 国内报道病死率在50%-80%左右^[1], 目前对SHB的发病机制尚未完全清楚, 已有的研究表明, 细胞免疫异常可能是SHB免疫发病机制的重要原因, 其中CTL介导的免疫应答异常可造成肝组织的大面积损伤, SHB呈现以CTL、单核细胞浸润为主的病理特征^[2], 故研究CTL如何趋化于特定的炎症部位, 对于揭示SHB的发生及发展有重要意义. 干扰素诱导蛋白10(IP-10)对表达其特异性受体CXCR3的T细胞和B细胞等有较强的趋化功能和活化作用^[3], 在炎症部位对淋巴细胞的募集中起重要作用, 故IP-10可能在SHB的免疫病理损伤中发挥重要作用. 我们初步探讨了IP-10在SHB免疫发病机制及病情发展转归中的作用及意义。

1 材料和方法

1.1 材料 SHB患者40例, 慢性乙型肝炎(CHB)患者20例, 男17例, 女3例, 年龄19-53(平均年龄)34.55岁. 诊断符合2000年全国病毒性肝炎和肝病学术会议修订的《病毒性肝炎防治方案》标准, SHB均为慢性重型肝炎患者, CHB均为

CHB轻-中度患者, 排除其他病毒感染及并发症等, 所有患者入院前及血浆置换(PE)治疗前均未使用过糖皮质激素类药物. 20例健康对照组为门诊体检健康者。

1.2 方法 SHB患者均在内科综合治疗基础上加用PE治疗, PE后分为好转组20例, 恶化组20例. 分组标准: PE后5 d, 一般情况好转, TB下降30%及PTA上升15%以上者为好转, 反之为恶化(含病重自动出院及死亡病例). SHB两组患者入院时一般资料见表1. 采集SHB患者入院时、PE开始、PE结束及PE后5 d静脉血, 采集CHB患者及健康对照组静脉血, 分离血清-20℃保存备用. 双抗体夹心ELISA法检测所有标本IP-10及SHB患者入院时TNF- α 。

统计学处理 采用SPSS12.0软件进行统计分析, 研究数据按成组统计要求收集、整理、建立数据库, 结果用mean \pm SD表示, 多样本均数比较采用方差分析; 两两比较用 q 检验, 配对资料采用 t 检验, 相关性分析采用Pearson相关分析。

2 结果

2.1 SHB患者入院时一般资料 SHB好转组TB, HBV DNA低于恶化组, PTA高于恶化组, 提示恶化组病情较好转组重, 但两组间性别、年龄、TB、PTA、HBV DNA比较无统计学差异($P > 0.05$, 表1)。

2.2 HB患者入院时血清IP-10水平及与TNF- α , TB, PTA之间的相关性分析 入院时SHB及CHB组血清IP-10均高于健康对照组($P < 0.01$), SHB组高于CHB组($P < 0.01$, 表2). 将SHB患者入院时血清IP-10分别与TNF- α , TB, PTA之间作两两相关性分析, 结果显示IP-10与TNF- α 呈正相关关系($r = 0.366$; $P < 0.05$), 与PTA呈负相关关系($r = -0.401$; $P < 0.05$), 与TB未见相关性($r = 0.223$; $P > 0.05$)(表2)。

2.3 SHB患者PE前后血清IP-10动态检测结果 入院时、PE开始、PE结束时SHB好转组及恶化组血清IP-10水平变化均不明显($P > 0.05$), PE后5 d SHB两组较入院时均下降显著($P < 0.01$, $P < 0.05$), 但PE后5 d SHB恶化组高于好转组($P < 0.01$)(图1)。

3 讨论

趋化性细胞因子是近年来引起广泛关注的一类小分子蛋白质. 趋化性细胞因子以受体-配体结合的形式发挥作用, 与炎症反应密切相关, IP-10是新近发现的属于CXC类的趋化因子, 主要由

■研发前沿

近年来的研究发现IP-10与多种疾病有关, 如SARS、结核、肿瘤、病毒性肝炎等, 但目前主要限于对炎症局部IP-10水平的检测。

■相关报道

目前国内外学者在IP-10与慢性病毒性肝炎及病毒性肝炎动物模型的研究发现, IP-10需与其特异性受体CXCR3结合才能发挥生物学作用; 表达CXCR3的CTL等T细胞可受IP-10的吸引, 迁移至受感染的肝组织, 导致大量肝细胞损伤。

■创新盘点

现有的SHB免疫机制及血浆置换的研究中,有多种细胞因子的研究,但对趋化因子尤其是IP-10在SHB的免疫发病机制及血浆置换前后的动态观察及意义还未见报道。

表 1 SHB患者入院时一般资料(mean ± SD)

分组	n	性别(男/女)	年龄(岁)	TB (μmol/L)	PTA (%)	HBV DNA (log)
好转组	20	18/2	33.95 ± 10.29	401.28 ± 112.69	0.31 ± 0.08	4.16 ± 0.71
恶化组	20	18/2	39.75 ± 10.42	445.57 ± 137.34	0.27 ± 0.06	4.75 ± 0.98

表 2 SHB患者入院时血清IP-10, TNF-α, TB, PTA水平(mean ± SD)

分组	n	IP-10 (ng/L)	TNF-α (ng/L)	TB (μmol/L)	PTA (%)
NC	20	107.61 ± 55.81 ^b	—	—	—
CHB	20	216.13 ± 102.92	—	—	—
SHB	40	683.56 ± 174.63 ^b	108.46 ± 41.37	426.295 ± 129.28	0.29 ± 0.07

^bP<0.01 vs CHB组。

干扰素等诱导产生^[4],已有的研究表明,慢性丙型肝炎(CHC)、自身免疫性肝病、HBV感染动物模型炎症部位的肝细胞大量分泌IP-10,炎症部位的T细胞(主要是CTL)等表达相应受体分子CXCR3^[5-7],因此,IP-10及其受体的相互作用可能是炎症细胞向肝组织定向迁移造成大面积肝细胞坏死的重要因素。

为探讨IP-10在SHB发生、病情发展及转归中的作用,SHB时外周血液中IP-10水平的改变,我们采用ELISA法检测SHB患者血清IP-10水平,结果显示,入院时SHB及CHB组血清IP-10均高于健康对照组,提示IP-10参与了病毒性乙型肝炎时的免疫损伤;研究还发现,SHB患者组血清IP-10高于CHB组,说明肝脏炎症损害程度越重,血清IP-10水平越高,故血清IP-10水平在一定程度上可反映病毒性乙型肝炎患者的炎症损害程度。其原因可能是由于HBV感染刺激Th1细胞分泌IFN-γ,IFN-γ又可诱导肝细胞炎症局部IP-10表达增强,从而趋化表达其特定受体分子CXCR3的CTL等细胞迁移到受感染的肝组织,形成炎症性浸润及组织损伤,由于炎症部位肝细胞坏死,损伤可能致被动脱落进入血循环的IP-10增加,因此可通过检测血清IP-10浓度间接反映肝细胞炎症局部IP-10的表达情况。Kakimi *et al*^[8]在HBV转基因小鼠模型中采用抗IP-10治疗炎症反应,可明显减少CTL炎症浸润及病变程度,从另一角度证实了此论点。

已有的研究证明血清TNF-α水平与肝细胞炎症和坏死程度密切相关^[9-10],TB及PTA是目前临床较为常用的反映肝脏炎症损害程度的重要指标,尤其是PTA在SHB患者病情及预后的判断

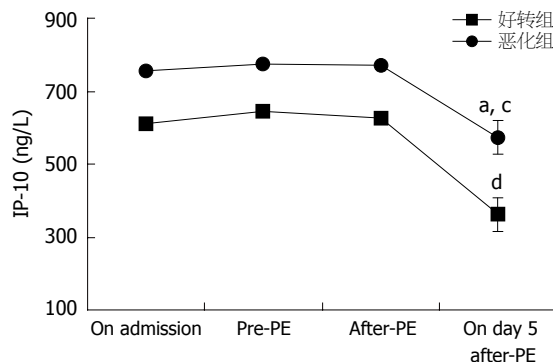


图 1 SHB患者PE前后血清IP-10的动态变化。^aP<0.01 vs 好转组; ^bP<0.05, ^dP<0.01 vs 入院时。

中具有重要价值。相关性分析发现SHB患者入院时血清IP-10与TNF-α呈正相关,与PTA呈显著负相关,进一步提示血清IP-10与TNF-α,PTA一起反映了SHB患者的炎症损害程度。但我们未发现血清IP-10与TB有相关性。已有的研究表明病毒性乙型肝炎患者体内IP-10主要由肝细胞产生,而肝外器官很少有分泌^[2],与所有脏器受侵袭时广泛产生的TNF-α等炎性细胞因子相比,IP-10有可能成为反映肝脏炎症损伤特异性好而且灵敏的指标。

由于SHB患者病情危重,影响其转归的因素复杂,故临床上动态观察某一因素在SHB疾病发展过程中的作用较困难,既往亦鲜见SHB动态研究的报道,我们利用PE可快速影响血浆中细胞因子这一特点^[11-15],对所有SHB患者进行PE治疗,在较短时间内动态观察血清IP-10在PE前后的变化,发现PE结束时SHB两组血清IP-10水平较PE前无明显下降,其原因可能是在PE治疗过程中血浆中部分IP-10虽可随废弃的血浆被

■应用要点

本研究应用简便的双抗体夹心ELISA方法检测SHB患者血清动态IP-10水平,发现血清IP-10水平与肝脏炎症损害程度有关,能反映SHB患者病情发展及转归。

迅速清除, 但体液中IP-10浓度的平衡被打破, 炎症局部的IP-10又迅速渗入到血浆所致; 研究还发现, PE后5 d SHB两组血清IP-10较入院时均有所下降, 尤以好转组下降更为显著, 提示PE可影响血清IP-10水平且与SHB的病情发展及转归有关, 其原因可能是PE治疗可迅速清除血浆中的TNF- α 等炎性细胞因子^[12], 从而减轻了炎性细胞与IP-10间的级联反应, 同时炎症局部的IP-10由于不断释放到血浆中被清除, 耗竭了炎症局部的IP-10, 进一步使血清IP-10水平逐渐下降, 故对炎症细胞尤其是CTL的趋化及功能活化能力减弱, 减少了CTL等在肝脏炎症部位的浸润, 有利于肝脏组织的修复, 因此, 血清IP-10水平可反映肝组织的损伤与修复。

总之, 我们的研究表明血清IP-10水平与肝脏炎症损害程度有关, 即肝脏炎症损害越重, 血清IP-10水平越高; 动态观察IP-10在SHB患者PE前后的变化, IP-10能反映SHB患者病情发展及转归。提示IP-10参与了SHB肝脏的免疫损伤。

4 参考文献

- 1 You J, Zhuang L, Tang BZ, Yang WB, Ding SY, Li W, Wu RX, Zhang HL, Zhang YM, Yan SM, Zhang L. A randomized controlled clinical trial on the treatment of Thymosin α 1 versus interferon- α in patients with hepatitis B. *World J Gastroenterol* 2001; 7: 411-414
- 2 Tang JT, Fang JY, Gu WQ, Li EL. T cell immune response is correlated with fibrosis and inflammatory activity in hepatitis B cirrhotics. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3015-3019
- 3 史丽云, 张立煌, 李明伟. 慢性乙型肝炎患者外周血淋巴细胞上CXCR3表达的初步观察. *细胞与分子免疫学杂志* 2003; 19: 380-382
- 4 Liu MT, Chen BP, Oertel P, Buchmeier MJ, Armstrong D, Hamilton TA, Lane TE. The T cell chemoattractant IFN-inducible protein 10 is essential in host defense against viral-induced neurologic disease. *J Immunol* 2000; 165: 2327-2330
- 5 Narumi S, Tominaga Y, Tamaru M, Shimai S, Okumura H, Nishioji K, Itoh Y, Okanoue T. Expression of IFN-inducible protein-10 in chronic hepatitis. *J Immunol* 1997; 158: 5536-5544
- 6 Nagayama K, Enomoto N, Miyasaka Y, Kurosaki M, Chen CH, Sakamoto N, Nakagawa M, Sato C, Tazawa J, Ikeda T, Izumi N, Watanabe M. Overexpression of interferon gamma-inducible protein 10 in the liver of patients with type I autoimmune hepatitis identified by suppression subtractive hybridization. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2211-2217
- 7 Ng PC, Lam CW, Li AM, Wong CK, Leung TF, Cheng FW, Hon KL, Chan IH, Wong E, Fok TF. Chemokine response in children with SARS. *Arch Dis Child* 2005; 90: 422-423
- 8 Kakimi K, Lane TE, Chisari FV, Guidotti LG. Cutting edge: Inhibition of hepatitis B virus replication by activated NK T cells does not require inflammatory cell recruitment to the liver. *J Immunol* 2001; 167: 6701-6705
- 9 Streetz K, Leifeld L, Grundmann D, Ramakers J, Eckert K, Spengler U, Brenner D, Manns M, Trautwein C. Tumor necrosis factor alpha in the pathogenesis of human and murine fulminant hepatic failure. *Gastroenterology* 2000; 119: 446-460
- 10 陈瑞烈, 王文锋, 周震, 刘敏. 重型乙型肝炎血清IL-1、IL-6和TNF- α 水平的变化研究. *临床肝胆病杂志* 2005; 21: 273-274
- 11 隋云华, 许家璋, 高蕾, 韩振红, 何长伦. 1260例重型肝炎治疗研究. *南京部队医药* 2002; 4: 1-3
- 12 甘建和, 赵卫峰, 徐杰, 罗二平, 江敏华, 吴旭东, 施敏, 庞中强. 血浆置换治疗慢性重型肝炎的疗效评估及影响因素分析. *透析与人工器官* 2004; 15: 26-30
- 13 单晶, 王力, 金瑞, 刘青, 韩大康, 段钟平. 人工肝支持系统对慢性重型肝炎临床治疗的探讨. *中国医刊* 2003; 38: 31-32
- 14 De Silvestro G, Marson P, Brandolese R, Pittoni G, Ongaro G. A single institution's experience (1982-1999) with plasma-exchange therapy in patients with fulminant hepatic failure. *Int J Artif Organs* 2000; 23: 454-461
- 15 Du WB, Li LJ, Huang JR, Yang Q, Liu XL, Li J, Chen YM, Cao HC, Xu W, Fu SZ, Chen YG. Effects of artificial liver support system on patients with acute or chronic liver failure. *Transplant Proc* 2005; 37: 4359-4364

■同行评价

本文动态观察了重型乙型肝炎患者血清中IP-10的表达, 结果表明IP-10水平与肝脏炎症损害程度有关, 提示IP-10有可能成为反映肝脏炎症损伤特异性好而又灵敏的指标, 有一定的临床价值。

编辑 程剑侠 电编 张敏