

# 慢性乙型肝炎患者Th17/Tc17影响病毒复制和肝细胞损伤

王娟华, 胡敏涛, 吴杭源, 苏婷婷, 汪铮, 杜合娟, 顾锡炳, 黄利华, 李莹

## ■背景资料

乙型病毒性肝炎是由乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)引起的世界性传染病。我国HBV高发。乙型病毒性肝炎发病机制并未阐明, 患者临床表现及预后多样, 除与HBV自身特点有关外, 主要取决于患者机体免疫状况。

王娟华, 胡敏涛, 吴杭源, 苏婷婷, 汪铮, 杜合娟, 顾锡炳, 黄利华, 无锡市第五人民医院 江苏省无锡市 214000  
李莹, 兰州大学第一医院普外二科 甘肃省兰州市 730000  
王娟华, 副主任医师, 主要从事HBV相关肝病的分子免疫机制的研究。

作者贡献分布: 王娟华参与课题设计、研究过程、试剂的提供及论文写作; 胡敏涛、吴杭源、苏婷婷、汪铮及杜合娟参与研究过程、病例收集及患者的随访; 顾锡炳与黄利华参与病例的收集和数据的分析; 李莹参与课题设计、数据分析、得出结论及论文的写作。

通讯作者: 李莹, 副主任医师, 730000, 甘肃省兰州市东岗西路1号, 兰州大学第一医院普外二科。13993101312@126.com

电话: 0931-8356028

收稿日期: 2013-05-10 修回日期: 2014-03-12

接受日期: 2014-03-19 在线出版日期: 2014-10-28

## Correlation of Th17/Tc17 ratio with virus load and liver function in patients with chronic hepatitis B

Juan-Hua Wang, Min-Tao Hu, Hang-Yuan Wu, Ting-Ting Su, Zheng Wang, He-Juan Du, Xi-Bing Gu, Li-Hua Huang, Ying Li

Juan-Hua Wang, Min-Tao Hu, Hang-Yuan Wu, Ting-Ting Su, Zheng Wang, He-Juan Du, Xi-Bing Gu, Li-Hua Huang, the Fifth People's Hospital of Wuxi, Wuxi 214000, Jiangsu Province, China

Ying Li, Department of General Surgery, the First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

Correspondence to: Ying Li, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, the First Hospital of Lanzhou University, 1 Donggang West Road, Lanzhou 730000, Gansu Province, China. 13993101312@126.com

Received: 2013-05-10 Revised: 2014-03-12

Accepted: 2014-03-19 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To assess the role of cellular immunity in the development of chronic hepatitis B.

**METHODS:** Patients with chronic hepatitis B were collected. Alanine aminotransferase (ALT) and viral load were detected. CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio, Th1, Th2, Th1/Th2 ratio, Tc1, Th17, Tc17, Th17/Tc17 ratio, regulatory T cells (Treg), and Th17/Treg ratio were detected by flow cytometry (FCM). The correlations between the immune indicators and transaminase and viral load were evaluated.

**RESULTS:** Th17 percentage and Th17/Treg ratio were significantly higher in chronic hepatitis B patients with low viral load than in those with normal/high viral load (5.81% vs 2.51%, 2.23%; 23.54 vs 19.42, 9.85). Th2 percentage, Tc1 percentage, and Th17/Tc17 ratio were significantly higher in chronic hepatitis B patients with normal liver function than in those with mild/severe liver damage (6.75% vs 3.09%, 3.58%; 70.43% vs 36.97%, 35.86%; 71.18 vs 11.35, 12.58). Tc17 percentage was significantly lower in chronic hepatitis B patients with severe liver dysfunction than in those with mild liver dysfunction (0.42% vs 1.69%).

**CONCLUSION:** Cellular immune status in patients with chronic hepatitis B has an impact on viral load and liver dysfunction level, in which Th17/Tc17 ratio may play an important role.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Chronic hepatitis B; Cellular immune; Th17/Tc17; HBV DNA; Alanine aminotransferase

Wang JH, Hu MT, Wu HY, Su TT, Wang Z, Du HJ, Gu XB, Huang LH, Li Y. Correlation of Th17/Tc17 ratio with virus load and liver function in patients with chronic hepatitis B. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4638-4641 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4638.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4638>

## 摘要

**目的:** 本研究试图通过评价乙型病毒性肝炎患者的部分T细胞免疫指标与病毒复制水平和肝细胞损伤水平之间的关系, 了解乙型病毒性肝炎患者的T细胞免疫在疾病发生发展过程中的作用。

**方法:** 将慢性乙型病毒性肝炎患者31例按照HBV DNA水平分为高、中、低复制3组, 比较3组间CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>、Th1、Th2、Th1/Th2、Tc1、Th17、Tc17、Th17/Tc17、Treg、Th17/Treg等多项T细胞亚群细胞数量; 按照谷丙转氨酶水平分为肝细

## ■同行评议者

林潮双, 主任医师, 中山大学附属第三医院

胞轻、中、重损伤3组, 比较3组间多项T细胞亚群细胞数量, 以此评价慢性乙型病毒性肝炎患者的部分T细胞免疫指标与病毒复制水平和肝细胞损伤水平之间的关系。

**结果:** 病毒低度复制患者Th17细胞(5.81%)和Th17/Treg(23.54)显著高于中/高度复制患者Th17细胞(2.51%/2.23%)和Th17/Treg(19.42/9.85); 正常肝功患者Th2细胞(6.75%)、Tc1细胞(70.43%)、Th17/Tc17(71.18)均显著高于轻/重度肝细胞损伤患者Th2细胞(3.09%/3.58%)、Tc1细胞(36.97%/35.86%)、Th17/Tc17(11.35/12.58), 重度损伤患者Tc17细胞(0.42%)显著少于轻度损伤患者Tc17细胞(1.69%)。

**结论:** 慢性乙型病毒性肝炎患者T细胞免疫状态与病毒复制水平和肝细胞损伤水平关系密切, 其中Th17/Tc17起重要作用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 慢性乙型肝炎; 细胞免疫; Th17/Tc17; HBV DNA; 谷丙转氨酶

**核心提示:** 本文研究了Th1/Th2、Th17/Treg、Th17/Tc17之间的关系及免疫指标与疾病临床转归之间的关系。发现Th17与抗病毒有关, 而Tc17与炎症反应关系可能更为密切。认为Th17/Tc17可能通过影响Th1/Th2平衡影响机体抗病毒机制。这或许可以成为乙型病毒性肝炎抗病毒疗效的观察指标, 或进一步成为新的抗病毒治疗靶点。

王娟华, 胡敏涛, 吴杭源, 苏婷婷, 汪铮, 杜合娟, 顾锡炳, 黄利华, 李莹. 慢性乙型肝炎患者Th17/Tc17影响病毒复制和肝细胞损伤. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4638-4641 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4638.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4638>

## 0 引言

乙型病毒性肝炎是由乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)引起的世界性传染病。乙型病毒性肝炎全球散发, 我国属于HBV感染高流行区, 一般人群的乙型肝炎表面抗原阳性率为9.09%<sup>[1]</sup>。乙型病毒性肝炎抗病毒治疗目前主要通过抑制病毒复制和调节机体免疫两方面进行, 机体细胞免疫状态对病情及预后都有影响。本研究试图评价乙型病毒性肝炎患者的部分T细胞免疫指标与病毒复制水平和肝细胞损伤水平之间的关系以此更全面的了解慢性乙型病毒性肝炎患者的细胞免疫状态特点及其在疾病转归方面的作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取无锡市第五人民医院门诊、住院慢性乙型病毒性肝炎患者共31例。诊断标准符合全国传染病与寄生虫病学术会议(2005)修订的病毒性肝炎诊断标准。患者抽取清晨空腹外周静脉血2 mL, 置于肝素钠抗凝管中, 进行流式检测, 同时留取血清检测丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)。流式细胞仪(FACScalibur, 美国BD公司), APC 100标记的鼠抗人CD3抗体、FITC标记的鼠抗人CD8a抗体、PerCP-Cy5.5标记的鼠抗人CD4抗体、PE标记的鼠抗人干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )抗体、PE标记的鼠抗人白介素4(interleukin, IL-4)抗体、PE标记的鼠抗人IFN- $\gamma$ 抗体、FITC标记的鼠抗人IL-17A抗体(美国eBioscience公司), PMA/Ionomycin/Monensin刺激剂(美国ENZO公司), 人Treg染色试剂盒(美国eBioscience公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 临床资料收集:** 收集患者31例, 男24例, 女7例。收集年龄、性别、病史、肝功能等资料。各组性别及年龄无显著差异, 指标有可比性(表1)。

**1.2.2 免疫荧光标记和流式细胞分析T细胞亚群:** 所有观察对象均于清晨空腹采肘静脉血2 mL, 肝素抗凝。分离外周血单个核细胞, 荧光标记细胞表面抗原, 破膜后荧光标记细胞内抗原。以流式细胞仪计数各种T细胞。

**统计学处理** 所有数据用SPSS13.0软件处理。各组性别比较采用 $\chi^2$ 检验; 各组年龄比较采用单因素方差分析; 各组免疫指标与HBV DNA水平及ALT水平之间的相关性评价, 采用Spearman相关分析,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

将慢性乙型病毒性肝炎组患者按病毒复制水平分为高、中、低3组: 103及以下为低水平复制, 104-106为中等水平复制, 107及以上为高水平复制。比较3组免疫指标, 结果提示: 各组间Th1/Th2、Th17细胞数量有差异, 其中Th1/Th2差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。病毒低度复制患者Th17细胞(5.81%)和Th17/Treg(23.54)显著高于中/高度复制患者Th17细胞(2.51%/2.23%)和Th17/Treg(19.42/9.85)( $P < 0.05$ )(图1)。

将各组按ALT水平分为肝细胞无损伤、轻、重度损伤3组: 500 IU/L以上为重度损伤, 50-500 IU/L为轻度损伤, 50 IU/L以下为正常肝功。比较3组免疫指标, 结果提示: Th1、

### ■ 研发前沿

乙型病毒性肝炎发病机制未完全阐明, Th细胞起重要作用, 近年关于T细胞亚群及其相互转化的基础研究有很大突破, 认为Th1、Th2、Th17、Treg这4群细胞间平衡参与慢性病毒性疾病的发生发展, 但Th17/Treg失衡与乙型病毒性肝炎发病、治疗关系还不明确。

### ■ 相关报道

Treg细胞在乙型病毒性肝炎慢性化、免疫抑制等过程升高, 被认为通过主要抑制Th1而使Th1/Th2向Th2极化。Th17在自身免疫性疾病方面的促炎功能与Treg刚好相反, 在乙型病毒性肝炎肝功能损害和纤维化时升高, 因此, Th17/Treg平衡可能通过调节Th1/Th2从而影响机体抗病毒及免疫炎症能力。

## ■创新盘点

本文的特色在于关注了免疫指标与疾病临床转归之间的关系,并研究了Th1/Th2、Th17/Treg、Th17/Tc17之间的关系.发现Th17与抗病毒有关,而Tc17与炎症反应关系可能更为密切.

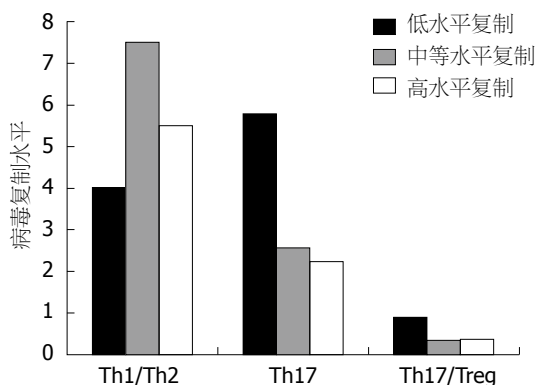


图1 不同病毒复制水平慢性乙型病毒性肝炎患者部分T细胞免疫指标比较. 将慢性乙型病毒性肝炎患者按病毒复制水平分为高、中、低3组, 各组间Th1/Th2、Th17细胞数量有差异, 其中Th1/Th2差异显著( $P<0.05$ ). 病毒低度复制患者Th17细胞(5.81%)和Th17/Treg(23.54%)显著高于中/高度复制患者Th17细胞(2.51%/2.23%)和Th17/Treg(19.42%/9.85%)( $P<0.05$ ).

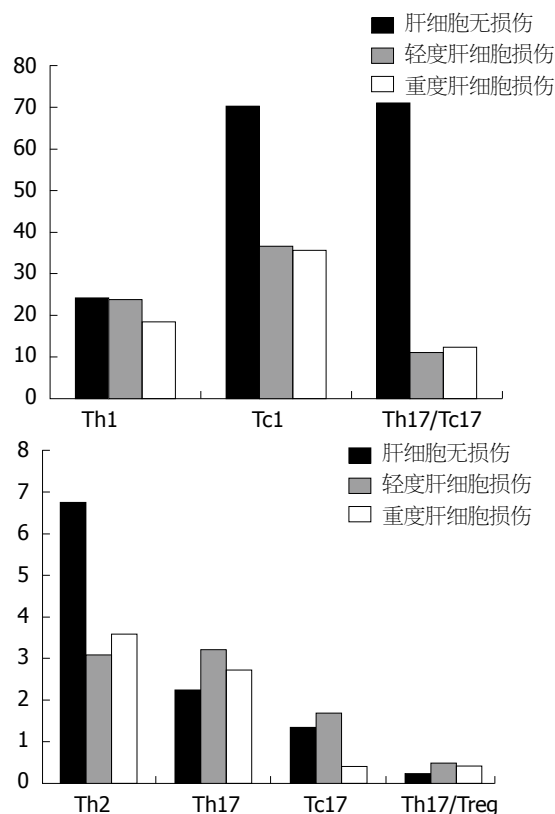


图2 不同水平肝细胞损伤慢性乙型病毒性肝炎患者部分T细胞免疫指标比较. 将各组按ALT水平分为肝细胞无损伤、轻、重度损伤3组, Th1、Th2、Tc1、Tc17细胞数量和Th17/Tc17比值差异显著( $P<0.05$ ). 肝细胞无损伤患者Th2细胞(6.75%)、Tc1细胞(70.43%)、Th17/Tc17(71.18%)均显著高于轻/重度肝细胞损伤患者Th2细胞(3.09%/3.58%)、Tc1细胞(36.97%/35.86%)、Th17/Tc17(11.35%/12.58%)( $P<0.05$ )。重度损伤患者Tc17细胞(0.42%)显著少于轻度损伤患者Tc17细胞(1.69%)( $P<0.05$ )。ALT: 丙氨酸转氨酶。

## ■应用要点

认为Tc17或Th17/Tc17可能通过影响Th1/Th2平衡调节效应影响机体抗病毒机制.这或许可以成为乙型病毒性肝炎抗病毒疗效的观察指标,或进一步成为新的抗病毒治疗靶点.

表1 各组年龄、性别比较

分组	n	性别		年龄 (mean $\pm$ SD, 岁)
		男	女	
低度病毒复制	5	4	1	47.80 $\pm$ 12.276
中度病毒复制	9	8	1	35.11 $\pm$ 8.609
高度病毒复制	17	11	6	41.29 $\pm$ 10.516
总计	31	23	8	40.55 $\pm$ 10.807
肝细胞无损伤	2	2	0	54.50 $\pm$ 2.121
肝细胞轻度损伤	10	7	3	39.30 $\pm$ 10.307
肝细胞重度损伤	19	14	5	39.21 $\pm$ 9.704
总计	31	23	8	40.23 $\pm$ 10.151

(6.75%)、Tc1细胞(70.43%)、Th17/Tc17(71.18%)均显著高于轻/重度肝细胞损伤患者Th2细胞(3.09%/3.58%)、Tc1细胞(36.97%/35.86%)、Th17/Tc17(11.35/12.58%)( $P<0.05$ ), 重度损伤患者Tc17细胞(0.42%)显著少于轻度损伤患者Tc17细胞(1.69%)( $P<0.05$ )(图2)。

## 3 讨论

慢性乙型肝炎发病及预后均与机体细胞免疫状态显著相关. 既往文献提示: Th1细胞主要参与机体抗胞内病原体感染免疫, 而Th2细胞主要中和细胞外病原体与胞内感染慢性化, 甚至疾病进展有关<sup>[2]</sup>. 乙型肝炎病毒感染机体后, 多种因素影响Th细胞增殖并且调节其亚型模式, 如果Th1细胞亚群占优, 将促进细胞免疫反应, 增强Tc细胞的活性, 从而清除胞内病毒, 但同时增强了肝脏的炎症反应从而加重肝细胞的损伤. 如果Th2细胞占优, 将促进体液免疫反应, 并抑制细胞免疫反应, Tc1细胞活性减弱, 抗病毒效应减低, 但肝细胞损伤减轻<sup>[3-5]</sup>. 在本研究结果中看到高水平病毒复制患者Th1/Th2低于中度病毒复制患者, 肝细胞损伤者Th1/Th2高于肝细胞无损伤者, 即Th2优势患者, Tc1被抑制, 病毒复制增加, Th1优势者炎症反应加重, 肝细胞损伤加重, 这符合既往文献报道结果; 但同时观察到病毒低度复制患者Th1水平反而低于病毒中高度复制患者, 重度肝细胞损伤患者Tc1反而低于肝细胞无损伤者, 可见Th1占优的患者, Tc1并不一定被增强, 病毒并不一定被抑制. 因此, 慢性乙型病毒性肝炎患者中, 在Th1/Th2平衡之外同时还存在其他免疫机制影响调节效应<sup>[6]</sup>.

Treg细胞在乙型病毒性肝炎慢性化、免疫抑制等过程升高, 发病过程中显著升高, 被认为通过主要抑制Th1而使Th1/Th2向Th2极化<sup>[7]</sup>. 但



本研究中,不同病毒复制水平和不同肝功损害水平患者间差异不显著,认为影响Th1/Th2的主要机制并非Treg细胞。Th17在自身免疫性疾病方面的促炎功能与Treg刚好相反,在乙型病毒性肝炎肝功损害和纤维化时升高<sup>[8]</sup>,同时伴Th1/Th2向Th1极化,随肝功能恢复、抗病毒起效而恢复<sup>[9]</sup>。Th17/Treg与风湿性关节炎、哮喘、自发性胆汁性肝硬化等多种自身免疫性疾病有关<sup>[10-12]</sup>。本研究见慢性乙型病毒性肝炎患者中低病毒复制者Th17高于中、高病毒复制者,认为Th17不仅具有促炎功能,还可能与抗病毒机制也有关,这在既往未见相关报道,还需要进一步深入研究。在CD8<sup>+</sup> T细胞中也有一群分泌IL-17的细胞,称为Tc17。体内外能够诱导CD4<sup>+</sup> T细胞向Th17分化发育的细胞因子环境,也能诱导初始CD8<sup>+</sup> T细胞分化为Tc17、Th17/Tc17与多种疾病有关<sup>[13-15]</sup>。在慢乙型病毒性肝炎患者中,随病毒复制增多Th17/Tc17降低,肝细胞损伤者Th17/Tc17显著低于肝功正常者,认为Th17功能与抗病毒关系更为密切,而Tc17功能与促炎关系更为密切。

慢性乙型病毒性肝炎病毒复制及肝损伤水平受到机体细胞免疫状态的影响,Th1/Th2平衡在其中起重要作用,但并非决定作用,Tc17或Th17/Tc17可能正是影响Th1/Th2平衡调节效应的主要机制。这一设想还需进一步深入研究验证。

#### 4 参考文献

- 1 慢性乙型肝炎防治指南(一). 胃肠病学 2006; 11: 550-557
- 2 Mosmann TR, Sad S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today* 1996; 17: 138-146 [PMID: 8820272 DOI: 10.1016/0167-5699(96)80606-2]
- 3 Jiang R, Feng X, Guo Y, Lu Q, Hou J, Luo K, Fu N. T helper cells in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Chin Med J (Engl)* 2002; 115: 422-424 [PMID: 11940380]
- 4 Rosenberg W. Mechanisms of immune escape in viral hepatitis. *Gut* 1999; 44: 759-764 [PMID: 10205220]
- 5 Zhang L, Zhang DZ, Chen M, He H, Guo SH. [Dynamic changes of Th1/Th2 type cytokines in peripheral blood of patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B treated with telbivudine]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2009; 17: 175-179 [PMID: 19335978]
- 6 Saito S, Nakashima A, Shima T, Ito M. Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 2010; 63: 601-610 [PMID: 20455873 DOI: 10.1111/j.1600-0897.2010.00852.x]
- 7 Zhu J, Paul WE. Heterogeneity and plasticity of T helper cells. *Cell Res* 2010; 20: 4-12 [PMID: 20010916 DOI: 10.1038/cr.2009.138]
- 8 Zhang JY, Zhang Z, Lin F, Zou ZS, Xu RN, Jin L, Fu JL, Shi F, Shi M, Wang HF, Wang FS. Interleukin-17-producing CD4(+) T cells increase with severity of liver damage in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 2010; 51: 81-91 [PMID: 19842207 DOI: 10.1002/hep.23273]
- 9 Ye Y, Xie X, Yu J, Zhou L, Xie H, Jiang G, Yu X, Zhang W, Wu J, Zheng S. Involvement of Th17 and Th1 effector responses in patients with Hepatitis B. *J Clin Immunol* 2010; 30: 546-555 [PMID: 20393789 DOI: 10.1007/s10875-010-9416-3]
- 10 Rong G, Zhou Y, Xiong Y, Zhou L, Geng H, Jiang T, Zhu Y, Lu H, Zhang S, Wang P, Zhang B, Zhong R. Imbalance between T helper type 17 and T regulatory cells in patients with primary biliary cirrhosis: the serum cytokine profile and peripheral cell population. *Clin Exp Immunol* 2009; 156: 217-225 [PMID: 19302244 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2009.03898.x]
- 11 Ochs HD, Oukka M, Torgerson TR. TH17 cells and regulatory T cells in primary immunodeficiency diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123: 977-983; quiz 984-985 [PMID: 19410687 DOI: 10.1016/j.jaci.2009.03.030]
- 12 Cosmi L, Liotta F, Maggi E, Romagnani S, Annunziato F. Th17 cells: new players in asthma pathogenesis. *Allergy* 2011; 66: 989-998 [PMID: 21375540 DOI: 10.1111/j.1398-9995.2011.02576.x]
- 13 Huber M, Heink S, Grothe H, Guralnik A, Reinhard K, Elflein K, Hünig T, Mittrücker HW, Brüstle A, Kamradt T, Lohoff M. A Th17-like developmental process leads to CD8(+) Tc17 cells with reduced cytotoxic activity. *Eur J Immunol* 2009; 39: 1716-1725 [PMID: 19544308 DOI: 10.1002/eji.200939412]
- 14 Wang YH, Liu YJ. The IL-17 cytokine family and their role in allergic inflammation. *Curr Opin Immunol* 2008; 20: 697-702 [PMID: 18832032 DOI: 10.1016/j.coi.2008.09.004]
- 15 Kumawat AK, Strid H, Tysk C, Bohr J, Hörnquist EH. Microscopic colitis patients demonstrate a mixed Th17/Tc17 and Th1/Tc1 mucosal cytokine profile. *Mol Immunol* 2013; 55: 355-364 [PMID: 23566938 DOI: 10.1016/j.molimm.2013.03.007]

#### ■同行评价

本文选题具有一定新颖性和科学意义,是目前本领域研究的热点。

编辑 田滢 电编 闫晋利

