

# 慢性乙型肝炎病毒感染者外周血中 $\gamma$ -干扰素和转化生长因子- $\beta$ 的表达及其意义

李虓<sup>1</sup>, 王晓英<sup>2</sup>, 隋昕珂<sup>2</sup>, 赵晖<sup>1</sup>, 史丛宁<sup>1</sup>, 李文玉<sup>1</sup>

(1. 首都医科大学附属北京天坛医院检验科, 北京 100070; 2. 战略支援部队特色医学中心消化内科)

**[摘要]** **目的** 探讨慢性乙型肝炎病毒感染者外周血中  $\gamma$ -干扰素(IFN- $\gamma$ )、转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )的表达及其临床意义。**方法** 以首都医科大学附属北京天坛医院 2019 年 1 月至 12 月收治的 160 例乙型肝炎病毒携带者作为 A 组, 182 例慢性乙型肝炎患者作 B 组, 190 例慢性乙型肝炎病毒所致的肝硬化患者为 C 组, 156 例慢性乙型肝炎病毒携带者的肝癌患者作 D 组, 并以同期入院接受体检的 202 名健康者作为对照组, 均对外周血中 IFN- $\gamma$  及 TGF- $\beta$  表达进行测定, 分析五组人群检测结果的临床意义。**结果** A、B、C 及 D 组患者外周血中 IFN- $\gamma$  及 TGF- $\beta$  表达均比对照组高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 慢性乙型肝炎患者中, 乙型肝炎病毒载量高的患者 IFN- $\gamma$  及 TGF- $\beta$  表达最高, 乙型肝炎病毒低载量患者 IFN- $\gamma$  及 TGF- $\beta$  表达比乙型肝炎病毒中载量患者高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** 慢性乙型肝炎病毒感染者肝脏炎症受损过程中, IFN- $\gamma$  及 TGF- $\beta$  均可能参与, 且慢性乙型肝炎病毒携带者中高病毒载量者外周血中 IFN- $\gamma$  及 TGF- $\beta$  的表达也高。

**[关键词]** 乙型肝炎, 慢性; 乙型肝炎病毒; 干扰素  $\gamma$ ; 转化生长因子  $\beta$ ; 病毒载量

DOI: 10.3969/J.issn.1672-6790.2020.04.019

**Clinical study on the expression and significance of IFN- $\gamma$  and TGF- $\beta$  in peripheral blood of patients with chronic hepatitis B virus infection** Li Xiao<sup>\*</sup>, Wang Xiaoying, Sui Xinke, Zhao Hui, Shi Congning, Li Yuwen( <sup>\*</sup> Department of Laboratory, Beijing Tiantan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100070, China)

Corresponding author: Sui Xinke, Email: 442607816@qq.com

**[Abstract]** **Objective** To analyze the expression of interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) and transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) in peripheral blood of patients with chronic hepatitis B virus infection and its clinical significance. **Methods** 160 cases of patients with chronic hepatitis B virus carried in our hospital from January 2019 to December 2019 were taken as the group A, 182 cases of patients with chronic hepatitis B were taken as the group B, 190 cases of patients with liver cirrhosis were taken as the group C, 156 cases of patients with liver cancer patients were group taken as the group D, and 202 cases of healthy people who were admitted to hospital for physical examination during the same period were used as the control group, determined of IFN- $\gamma$  and TGF- $\beta$  expression in peripheral blood of all the subjects, and compared the test results between the five groups. **Results** The test results showed that the expressions of IFN- $\gamma$  and TGF- $\beta$  in peripheral blood of patients in group A, B, C and D were higher than those in the control group, with statistically significant ( $P < 0.05$ ). In patients with chronic hepatitis B, the expression of IFN- $\gamma$  and TGF- $\beta$  was highest in patients with high hepatitis B virus low load, and the expression of IFN- $\gamma$  and TGF- $\beta$  in patients with low HBV load were higher than those in the patients with hepatitis B virus medium load, with statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** In patients with chronic hepatitis B virus infection, IFN- $\gamma$  and TGF- $\beta$  may be involved in the inflammatory damage of liver. What's more, the higher the viral load, the higher the expression of IFN- $\gamma$  and TGF- $\beta$ .

**[Keywords]** Hepatitis B, chronic; Hepatitis B virus; Interferon-gamma; Transforming growth factor beta; Viral load

乙型肝炎病毒感染为感染科常见疾病, 研究表明<sup>[1]</sup>, 慢性乙型肝炎病毒感染者中, 有 15% ~ 25%

的患者因乙型肝炎病毒感染所致肝病死亡, 给予慢性乙型肝炎病毒感染者及时诊断与有效治疗尤其关

基金项目: 军队医学科技青年培育项目 (15QNPO84)

作者简介: 李虓, 主管技师, Email: lxlxlx1234567@sina.com

通信作者: 隋昕珂, 主治医师, Email: 442607816@qq.com

键。机体免疫反应与慢性乙型肝炎发病之间存在关联,细胞因子为多肽类活性物质,来源于淋巴细胞及单核巨噬细胞,能在细胞之间传递信号<sup>[2]</sup>。 $\gamma$ -干扰素(IFN- $\gamma$ )及转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )为辅助性T淋巴细胞在细胞免疫反应过程产生的<sup>[3]</sup>,参与免疫反应过程;为分析IFN- $\gamma$ 及TGF- $\beta$ 在慢性乙型肝炎病毒感染者的表达情况及对疾病发生的影响,本研究对160例乙型肝炎病毒携带者、182例慢性乙型肝炎患者、190例慢性乙型肝炎所致的肝硬化患者、156例慢性乙型肝炎病毒携带者的肝癌患者及202名健康者展开研究,现报告如下。

## 1 对象与方法

1.1 研究对象 以2019年1月至12月首都医科大学附属北京天坛医院收治的160例乙型肝炎病毒携带患者作A组,其中99例(61.88%)男性,61例(38.12%)女性;年龄范围18~61岁,年龄(41.76 $\pm$ 10.33)岁。以182例慢性乙型肝炎患者作B组,其中114例(62.64%)男性与68例(37.36%)女性;年龄范围19~63岁,年龄(42.09 $\pm$ 14.51)岁。以190例慢性乙型肝炎病毒所致的肝硬化患者作C组,其中119例(62.63%)男性与71例(37.37%)女性;年龄范围20~63岁,年龄(42.16 $\pm$ 13.47)岁。以156例肝癌患者为D组,其中97例(62.18%)男性与59例(37.82%)女性;年龄范围20~62岁,年龄(42.11 $\pm$ 11.33)岁。四组患者符合《慢性乙型肝炎诊治指南》<sup>[4]</sup>中规定的诊断标准;以同期入院接受体检的202名健康者作对照组,其中127例(62.87%)男性与75例(37.13%)女性;年龄范围19~63岁,年龄(42.15 $\pm$ 12.81)岁。本次研究已通过首都医科大学附属北京天坛医院医学伦理委员会审查,所有研究对象均签署了知情同意书。五组人群的基础资料具有可比性。

1.2 纳入与排除标准 纳入标准:(1)入组前未接受乙型肝炎相关治疗;(2)语言、认知功能均正常;(3)精神状态正常;(4)年龄18~65岁。排除标准:(1)病历资料不完整;(2)合并严重性心脑血管病症;(3)合并其他恶性肿瘤;(4)妊娠、哺乳期;(5)其他类型嗜肝病毒感染;(6)合并严重脏器功能障碍;(7)自身免疫性疾病。

## 1.3 方法

1.3.1 IFN- $\gamma$ 及TGF- $\beta$ 表达检测方法 取受试者4 mL空腹外周静脉血,常规离心后,提取血清,以酶联免疫吸附法对IFN- $\gamma$ 及TGF- $\beta$ 表达进行测定,严格

按照试剂盒说明书进行,IFN- $\gamma$ 及TGF- $\beta$ 试剂盒均由南京建成生物科技有限公司提供。

1.3.2 乙型肝炎病毒DNA检测方法 取受试者空腹外周静脉血清,以实时荧光定量分析仪(购于美国ABI,7300型)进行基因扩增,对乙型肝炎病毒DNA载量进行测定,严格按照说明书进行。

1.3.3 外周血肝功能检测方法 取受试者空腹外周静脉血清,用深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司生产的全自动生化分析仪BS-2000进行测定,严格按照试剂盒说明书进行,AST、TBIL试剂盒均由深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司提供。

1.3.4 纤维化指标检测方法 取受试者空腹外周静脉血清,用深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司生产的全自动化学发光分析仪CL-6000i进行测定,严格按照试剂盒说明书进行,HA、LN、CIV、PIIINP试剂盒均由深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司提供。

1.4 乙型肝炎病毒DNA结果判定标准及乙型肝炎病毒载量分组 乙型肝炎病毒DNA测定结果 $\geq 10^2$  IU/mL时,即为阳性<sup>[5]</sup>。乙型肝炎病毒DNA测定结果为 $10^2 \sim 10^4$  IU/mL者作低载量组,乙型肝炎病毒DNA测定结果为 $10^5 \sim 10^6$  IU/mL者作中载量组,乙型肝炎病毒DNA测定结果 $\geq 10^7$  IU/mL者作高载量组。

1.5 统计学处理 采用SPSS 22.0分析数据。研究资料主要为计量数据,均通过正态性检验,以 $\bar{x} \pm s$ 描述。多组间的比较为单因素方差分析+两两比较LSD-*t*检验。计数资料以例数及率描述,两组间比较为 $\chi^2$ 检验或校正 $\chi^2$ 检验,多组间比较为整体+分割 $\chi^2$ 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 五组外周血病毒DNA载量与IFN- $\gamma$ 及TGF- $\beta$ 表达水平的比较 A、B、C及D组患者外周血病毒DNA载量差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。A、B、C及D组患者外周血中IFN- $\gamma$ 及TGF- $\beta$ 表达均高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表1。

2.2 慢性乙型肝炎患者不同乙型肝炎病毒载量者的IFN- $\gamma$ 及TGF- $\beta$ 表达比较 乙型肝炎病毒DNA检测结果表明,慢性乙型肝炎患者中,79例患者为乙型肝炎病毒低载量,61例为乙型肝炎病毒中载量,42例为乙型肝炎病毒高载量,且乙型肝炎病毒高载量患者的IFN- $\gamma$ 及TGF- $\beta$ 表达最高,同时乙型肝炎病毒低载量患者的IFN- $\gamma$ 及TGF- $\beta$ 表达比乙

表1 五组外周血中 IFN- $\gamma$  及 TGF- $\beta$  表达的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	IFN- $\gamma$ 表达 ( $\mu\text{g/L}$ )	TGF- $\beta$ 表达 ( $\mu\text{g/L}$ )	乙型肝炎病毒 DNA (lg IU/mL)
对照组	202	6.41 $\pm$ 1.07	24.06 $\pm$ 5.29	-
A组	160	226.86 $\pm$ 21.44 <sup>a</sup>	357.07 $\pm$ 41.17 <sup>a</sup>	5.49 $\pm$ 0.98
B组	182	189.45 $\pm$ 20.11 <sup>ab</sup>	327.59 $\pm$ 25.04 <sup>ab</sup>	5.36 $\pm$ 0.87 <sup>b</sup>
C组	190	246.14 $\pm$ 42.92 <sup>abc</sup>	476.05 $\pm$ 72.18 <sup>abc</sup>	5.45 $\pm$ 0.93 <sup>bc</sup>
D组	156	137.86 $\pm$ 21.15 <sup>abcd</sup>	316.27 $\pm$ 23.33 <sup>abd</sup>	5.28 $\pm$ 0.97 <sup>bed</sup>
F值		2792.94	3429.45	1.64
P值		<0.001	<0.001	0.179

注:A组为乙型肝炎病毒携带者,B组为慢性乙型肝炎患者,C组为慢性乙型肝炎病毒所致的肝硬化患者,D组慢性乙型肝炎病毒携带者的肝癌患者,下表同;IFN- $\gamma$  为  $\gamma$ -干扰素,TGF- $\beta$  为转化生长因子- $\beta$ ,下表同;与对照组比较,<sup>a</sup> $P$ <0.05;与A组比较,<sup>b</sup> $P$ <0.05;与B组比较,<sup>c</sup> $P$ <0.05;与C组比较,<sup>d</sup> $P$ <0.05

表2 慢性乙型肝炎患者不同乙型肝炎病毒 DNA 载量细胞因子对比 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	IFN- $\gamma$ 表达 ( $\mu\text{g/L}$ )	TGF- $\beta$ 表达 ( $\mu\text{g/L}$ )	乙型肝炎病毒 DNA (lg IU/mL)
乙型肝炎病毒低载量组	79	183.27 $\pm$ 19.11	323.25 $\pm$ 24.03	3.33 $\pm$ 0.38
乙型肝炎病毒中载量组	61	160.02 $\pm$ 18.72 <sup>a</sup>	280.62 $\pm$ 19.11 <sup>a</sup>	6.42 $\pm$ 0.43 <sup>a</sup>
乙型肝炎病毒高载量组	42	244.03 $\pm$ 28.76 <sup>ab</sup>	404.16 $\pm$ 26.88 <sup>ab</sup>	7.64 $\pm$ 0.73 <sup>ab</sup>
F值		194.15	539.53	1239.92
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与低载量组比较,<sup>a</sup> $P$ <0.05;与中载量组比较,<sup>b</sup> $P$ <0.05

表3 五组患者肝功能及肝纤维化水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	ALT (u/L)	TBIL ( $\mu\text{mol/L}$ )	HA ( $\mu\text{g/L}$ )	LN ( $\mu\text{g/L}$ )	CIV ( $\mu\text{g/L}$ )	PIIINP ( $\mu\text{g/L}$ )
对照组	202	8.05 $\pm$ 0.95	8.32 $\pm$ 1.07	54.28 $\pm$ 6.99	43.29 $\pm$ 6.03	51.95 $\pm$ 5.94	4.97 $\pm$ 1.38
A组	160	14.08 $\pm$ 1.73 <sup>a</sup>	10.46 $\pm$ 3.25	90.25 $\pm$ 15.58 <sup>a</sup>	109.28 $\pm$ 10.93 <sup>a</sup>	65.23 $\pm$ 10.57 <sup>a</sup>	6.89 $\pm$ 1.47
B组	182	22.78 $\pm$ 7.25 <sup>ab</sup>	33.25 $\pm$ 3.58 <sup>ab</sup>	112.36 $\pm$ 20.03 <sup>ab</sup>	78.33 $\pm$ 12.09 <sup>ab</sup>	93.69 $\pm$ 11.58 <sup>ab</sup>	7.87 $\pm$ 1.35 <sup>ab</sup>
C组	190	57.28 $\pm$ 25.33 <sup>abc</sup>	58.23 $\pm$ 23.45 <sup>abc</sup>	453.28 $\pm$ 48.94 <sup>abc</sup>	151.53 $\pm$ 22.34 <sup>abc</sup>	110.92 $\pm$ 33.65 <sup>abc</sup>	189.26 $\pm$ 18.91 <sup>abc</sup>
D组	156	71.28 $\pm$ 22.36 <sup>abcd</sup>	40.58 $\pm$ 19.12 <sup>abcd</sup>	120.58 $\pm$ 25.32 <sup>abcd</sup>	103.28 $\pm$ 19.48 <sup>abcd</sup>	95.37 $\pm$ 11.28 <sup>abc</sup>	155.35 $\pm$ 12.48 <sup>abcd</sup>
F值		574.12	438.71	6559.45	1332.87	342.09	4182.38
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:ALT为丙氨酸氨基转移酶;TBIL为总胆红素;HA为透明质酸;LN为层粘连蛋白;CIV为IV型胶原;PIIINP为III型胶原;与对照组比较,<sup>a</sup> $P$ <0.05;与A组比较,<sup>b</sup> $P$ <0.05;与B组比较,<sup>c</sup> $P$ <0.05;与C组比较,<sup>d</sup> $P$ <0.05

型肝炎病毒中载量患者高,差异有统计学意义( $P$ <0.05)。见表2。

2.3 五组患者肝功能及肝纤维化水平比较 A、B、C及D组患者肝功能指标和肝纤维化水平指标均高于对照组,差异有统计学意义( $P$ <0.05);从乙型肝炎病毒携带者组、慢性乙型肝炎患者到慢性乙型肝炎病毒所致的肝硬化患者,肝纤维化指标表达逐渐升高,于慢性乙型肝炎病毒所致的肝硬化组的患者中达到最高值,而肝癌组有所下降。见表3。

### 3 讨论

乙型肝炎病毒感染具有临床转归差异大的特征,研究表明<sup>[6-8]</sup>,患者的免疫功能对乙型肝炎病毒感染的发生、进展及转归起着决定性作用,此过程为细胞免疫过程,辅助性T淋巴细胞参与较多的免疫反应<sup>[9-11]</sup>。

本研究对慢性乙型肝炎病毒携带患者、慢性乙型肝炎患者、慢性乙型肝炎所致肝硬化患者及慢性乙型肝炎所致肝癌患者。外周血中 IFN- $\gamma$  及 TGF- $\beta$

表达在肝硬化患者最高,提示外周血中 IFN- $\gamma$  及 TGF- $\beta$  表达是反映机体肝细胞受损程度的重要指标,与肝炎患者病情程度具有密切相关性,可能参与慢性乙型肝炎、肝硬化及肝癌的疾病发展<sup>[12-14]</sup>,本研究结果也表明随着病情进展,肝功能指标和肝纤维化也呈上升趋势,ALT 在肝癌中处于最高,肝纤维化指标在肝硬化组中处于最高状态。这是符合临床表现的。

本研究对慢性乙型肝炎患者的乙型肝炎病毒 DNA 载量进行测定,结果发现慢性乙型肝炎患者病毒高载量患者的 IFN- $\gamma$  及 TGF- $\beta$  表达最高,乙型肝炎病毒低载量患者的 IFN- $\gamma$  及 TGF- $\beta$  表达比乙型肝炎病毒中载量患者高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),提示 IFN- $\gamma$  能使机体自身的抗病毒机制激活,并对乙型肝炎病毒 DNA 复制进行有效抑制,而乙型肝炎病毒 DNA 持续存在,则会加重肝实质细胞组织的受损程度,导致肝星状细胞持续活化,加快肝纤维化的进展。乙型肝炎病毒 DNA 侵入至正常肝脏中,通过诱导细胞因子,使肝星状细胞活化,加快 TGF- $\beta$  分泌速度,增加其分泌量,表明高浓度乙型肝炎病毒能促使慢性乙型肝炎转化为肝纤维化<sup>[15]</sup>。

综上所述,慢性乙型肝炎病毒感染者肝脏受损过程中,IFN- $\gamma$  及 TGF- $\beta$  均可能参与,且外周血中 IFN- $\gamma$  及 TGF- $\beta$  表达与乙型肝炎病毒载量之间存在一定的关联。但病毒载量并不是其唯一影响因素,可进一步深入研究。

### 参考文献

[1] 姚明解,陈华楠,钱相君,等. 乙型肝炎病毒感染相关肝癌患者术前异常凝血酶原和甲胎蛋白水平对其预后影响的研究[J]. 中国实用内科杂志,2019,39(7):640-643.

[2] 何进伟,宋梅,邓家艳,等. 辅助性 T 细胞 22 及其细胞因子水平在慢性乙型肝炎病人中的变化特点及临床意义[J]. 安徽医药,2019,23(11):2242-2244.

[3] 马丽萍,刘小林,张哲雄. LAMA4 通过 TGF- $\beta$ 1/SMAD 路径调控肝癌细胞免疫逃逸因子及促进肝癌细胞凋亡[J]. 免疫学杂志,2019,35(4):300-307.

[4] 中华医学会肝病学会,中华医学会感染病学分会.

乙型肝炎防治指南[J]. 临床肝胆病杂志,2011,27(1):88-89.

[5] 何成山,马晨芸,陆志成. 化学发光免疫分析法检测 HBcAb 阳性,HBsAg 阴性血清中隐匿性乙型肝炎病毒感染的分析[J]. 标记免疫分析与临床,2019,26(1):130-133,172.

[6] 康晓,俞力,王蕾,等. 聚乙二醇干扰素  $\alpha$ -2a 联合恩替卡韦治疗老年慢性乙型肝炎的效果及影响因素[J]. 中国临床保健杂志,2020,23(1):90-94.

[7] 刘亚男,余追,姚兰. B 细胞与 T 细胞在乙型肝炎病毒感染免疫调控中的作用[J]. 国际流行病学传染病学杂志,2018,45(5):338-342.

[8] 余冬生,吴莹莹,冯婷,等. 金针菇子实体多糖 FVPB2 对小鼠 T 淋巴细胞和巨噬细胞的免疫调节作用[J]. 菌物学报,2019,38(6):982-992.

[9] GAO H, DONG Z, GONG X K, et al. Effects of various radiation doses on induced T-helper cell differentiation and related cytokine secretion [J]. J Radiat Res, 2018, 59(4):395-403.

[10] 何亚,李卓成. 外周血 T、B 淋巴细胞亚群及 Th1 类细胞因子在乙型肝炎肝硬化患者中的变化[J]. 海南医学,2017,28(17):2822-2825.

[11] LV J, XIAO Q, CHEN Y, et al. Effects of magnesium isoglycyrrhizinate on AST, ALT, and serum levels of Th1 cytokines in patients with allo-HSCT [J]. Int Immunopharmacol, 2017, 46:56-61.

[12] 曹振环,王俊丽,吴芳芳,等. 非活动 HBsAg 携带者经聚乙二醇干扰素治疗获得 HBsAg 清除与 Th1 及 Th2 类细胞因子水平的相关性研究[J]. 中国病毒病杂志,2018,8(4):304-308.

[13] CHUNG Y H, HUANG Y H, CHU T H, et al. BMP-2 restoration aids in recovery from liver fibrosis by attenuating TGF- $\beta$ 1 signaling[J]. Lab Invest, 2018, 98(8):1.

[14] 杨绍臻,周林,杜国盛,等. 肝癌肝移植术后肿瘤复发与外周血调节性 T 细胞及细胞因子表达水平的关系[J]. 器官移植,2016,7(5):382-385.

[15] 王晓玲,郝金翠,王春燕,等. 趋化因子 RANTES、IL-17 以及 TGF- $\beta$ 1 在 HBV-GN 患者应用激素及免疫抑制剂的趋势研究[J]. 中国免疫学杂志,2018,34(10):1537-1541.

(收稿日期:2020-06-03)