

- [12] 莫建义.重症肌无力病因、发病机制、分子靶向治疗研究进展[J].卒中与神经疾病,2017,24(3):262-264.
- [13] LOGAN CV, COSSINS J, RODRÍGUEZ CPM, et al. Congenital myasthenic syndrome type 19 is caused by mutations in COL13A1, encoding the atypical non-fibrillar collagen type VIII $\alpha 1$ Chain[J]. American Journal of Human Genetics, 2015, 97(6):878-885.
- [14] 熊飞, 林莉.儿童甲状腺功能亢进症合并重症肌无力危象一例[J].中国小儿急救医学, 2016, 23(6):431-432.
- [15] 汪杰, 李宏增, 李川, 等.重症肌无力患者的免疫指标与临床疗效分析[J].现代生物医学进展, 2016, 16(31):6162-6164.
- [16] 徐林, 金立军.高危急性冠脉综合征病人经皮冠状动脉支架植入术后发生氯吡格雷抵抗的相关因素及预后分析[J].安徽医药, 2017, 21(4):687-691.

(收稿日期:2018-03-08, 修回日期:2018-05-21)

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2019.11.032

◇临床医学◇

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

何进伟, 宋梅, 邓家艳, 李乐, 汪明星

作者单位:连州市人民医院感染科, 广东 清远 513400

作者简介:汪明星,男,副主任医师,研究方向为病毒性肝炎,肝硬化, E-mail:zhanglqwe@163.com

基金项目:清远市科技计划项目(170807211901012)

摘要:目的 探讨慢性乙型肝炎(CHB)病人辅助性T细胞22(Th22)及其细胞因子水平及意义。方法 选取2017年1月至2018年3月在连州市人民医院治疗的CHB病人40例(观察组),同时选取健康者40例作为对照组,检测两组Th22细胞、白细胞介素-22(IL-22)水平。结果 观察组Th22细胞、IL-22水平分别为 $(2.57 \pm 0.48)\%$ 和 $(25.69 \pm 5.30) \text{ pg/mL}$,明显高于对照组($t = 20.123$ 和 13.884 , $P = 0.000$ 和 0.000);丙氨酸氨基转移酶(ALT) > 5 倍正常值病人, Th22细胞、IL-22水平分别为 $(3.10 \pm 0.90)\%$ 和 $(30.02 \pm 5.22) \text{ pg/mL}$,明显高于2~5倍正常值和 < 2 倍正常值病人($t = 5.382$ 和 4.855 , 5.182 和 5.282 , $P = 0.000$ 和 0.002 , 0.000 和 $0.000 < 0.05$);不同HBV DNA病人Th22细胞、IL-22水平比较差异无统计学意义($r = 0.473$ 和 0.127 , $P = 0.234$ 和 0.512);Th22、IL-22与ALT呈正相关($r = 0.413$ 和 0.367 , $P = 0.002$ 和 0.012), Th22与IL-22呈正相关($r = 0.487$, $P = 0.003$)。结论 CHB病人中Th22和IL-22水平明显升高,与ALT水平有一定相关性,值得进一步研究。

关键词:乙型肝炎,慢性; 辅助性T细胞22; 白细胞介素-22; 丙氨酸氨基转移酶

Characteristics and clinical significance of helper T cell 22 and its cytokine levels in chronic hepatitis B (CHB)

HE Jinwei, SONG Mei, DENG Jiayan, LI Le, WANG Mingxing

Author Affiliation: Department of Infections, Lianzhou People's Hospital, Qingyuan, Guangdong 513400, China

Abstract: Objective To investigate the level and significance of helper T cell 22 (Th22) and the cytokines in chronic hepatitis B (CHB). Methods From January 2017 to March 2018, 40 cases of CHB patients were selected in Lianzhou People's Hospital (observation group), and 40 healthy subjects were selected as control group, and two groups of Th22 cells and interleukin-22 (IL-22) were detected. Results The level of Th22 cells and IL-22 in the observation group was $(2.57 \pm 0.48)\%$ and $(25.69 \pm 5.30) \text{ pg/mL}$, which were significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$). The levels of Th22 and IL-22 in patients with alanine aminotransferase (ALT) > 5 times of normal value were $(3.10 \pm 0.90)\%$ and $(30.02 \pm 5.22) \text{ pg/mL}$, which were significantly higher than those of 2-5 times normal values and < 2 times normal values ($P < 0.05$). There were no significant difference in Th22 cell and IL-22 level in patients with different HBV DNA ($P > 0.05$). Th22 and IL-22 were positively correlated with ALT ($r = 0.413$ and 0.367 , $P < 0.05$), and Th22 was positively correlated with IL-22 ($r = 0.487$, $P < 0.05$). Conclusion The levels of Th22 and IL-22 in CHB patients are significantly higher, with a certain correlation with ALT, which is worth further study.

Key words: Hepatitis B, chronic; Helper T cell 22; Interleukin-22; Alanine aminotransferase

辅助性T细胞22(Th22)是最近发现的辅助性T细胞新亚群^[1],表达CC类趋化因子受体(CCR)6、

CCR4和CCR10,并产生白细胞介素(IL)-22、IL-26和IL-13,其中IL-22是最主要的效应因子^[2]。同时,

Th22 不产生干扰素 (IFN), IL4 和 IL-7, 属于独立于 Th1、Th2 和 Th17 的细胞亚群^[3]。Th22 主要参与自身免疫性疾病、感染性疾病的免疫调节。临床证实, Th22 细胞参与恶性肿瘤、炎症性疾病或者自身免疫性疾病的发生过程, 激活自身 T 淋巴细胞的组织损伤作用, 上调自然杀伤性 T 淋巴细胞的活性, 促进肝脏上皮细胞的损伤和间质细胞的纤维化过程^[4]; 效应因子 IL-22 的上升能够加剧炎症反应, 提高炎症性细胞对于肝脏的浸润程度^[5-6]。本次研究选取慢性乙型肝炎 (CHB) 病人 40 例, 探讨 Th22 细胞、IL-22 水平的表达变化, 报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 1 月至 2018 年 3 月在连州市人民医院治疗的 CHB 病人 40 例 (观察组), 纳入标准: (1) 诊断符合中华医学会传染病学分会制定的标准; (2) 近 6 个月内未服用过抗病毒药物及糖皮质激素类药物; (3) 病人年龄 ≥ 18 岁; (4) 病人及家属知情同意。排除标准: (1) 合并有其他类型肝炎病毒感染者; (2) 有自身免疫性疾病或免疫缺陷病; (3) 有肝癌或其他恶性肿瘤者。同时选取肝功能正常健康者 40 例作为对照组, 观察组和对照组性别、年龄等一般资料比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。

表 1 慢性乙型肝炎病人 40 例与对照组 40 例一般资料比较

组别	例数	性别/例		年龄/ (岁, $\bar{x} \pm s$)	体质量指数/ (kg/m ² , $\bar{x} \pm s$)
		男	女		
对照组	40	24	16	40.22 $\pm$ 5.80	23.00 $\pm$ 3.02
观察组	40	21	19	41.03 $\pm$ 6.29	22.59 $\pm$ 2.11
$t(\chi^2)$ 值		(0.457)		0.599	-0.704
P 值		-0.499		0.551	0.484

1.2 检测方法 Th22 辅助性 T 淋巴细胞的检测: 清晨采集空腹静脉血, 按照 10 000 r/min 的离心速度进行离心分离, 加入 5 mL 抗凝剂, 加入淋巴细胞分离液, 按照密度梯度离心法分离淋巴细胞, ARMI 1640 溶液洗涤 3 次。采用流式细胞仪双标法进行 CD4+PC5 淋巴细胞的检测。相关标记操作于 5MI 抗凝管中进行, 100 μ L 全血与 CD4+FITC 抗体室温反应 25 min, 采用红细胞裂解液 optiLYse C 溶血素溶解红细胞, PBS 液体洗涤 3 遍, 每次 5 min, 0.9% 氯化钠溶液重新悬浮细胞, 上机检测 (FACS calibur 流式细胞仪购自美国 BD 公司, 流式细胞抗体购自罗氏检测公司)。

IL-22 检测: 采集入院后静脉血, 离心后收集上清液, 采用免疫发光法检测 IL-22 水平, 检测仪器为美国 Bio-Bad 全自动酶标仪, 配套试剂盒购自罗氏

检测公司。

1.3 统计学方法 统计分析采用 SPSS 19.0 软件, 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较使用成组 t 检验, 多组间比较使用方差分析, 两两比较采用 LSD- t 检验; 计数资料比较使用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 观察组和对照组血清 Th22、IL-22 水平比较 观察组 Th22 细胞、IL-22 水平明显高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 2。

表 2 慢性乙型肝炎病人 40 例与对照组 40 例血清 Th22、IL-22 水平比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	例数	Th22 细胞/%	IL-22/(pg/mL)
对照组	40	0.89 $\pm$ 0.22	12.20 $\pm$ 3.11
观察组	40	2.57 $\pm$ 0.48	25.69 $\pm$ 5.30
t 值		20.123	13.884
P 值		0.000	0.000

2.2 观察组不同 ALT 水平病人 Th22、IL-22 水平比较 根据病人 ALT 水平分为 3 组, 即 ALT < 2 倍正常值, 2 ~ 5 倍正常值, > 5 倍正常值组。ALT > 5 倍正常值病人 Th22 细胞、IL-22 水平明显高于 2 ~ 5 倍正常值和 < 2 倍正常值病人, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 慢性乙型肝炎病人 40 例不同 ALT 水平病人 Th22、IL-22 水平比较/ $\bar{x} \pm s$

ALT 水平	例数	Th22 细胞/%	IL-22/(pg/mL)
< 2 倍正常值	11	2.03 $\pm$ 0.63	21.89 $\pm$ 4.10
2 ~ 5 倍正常值	17	2.27 $\pm$ 0.89	22.71 $\pm$ 3.72
> 5 倍正常值	12	3.10 $\pm$ 0.90 ^{ab}	30.02 $\pm$ 5.22 ^{ab}
F 值		5.474	13.254
P 值		0.001	0.000

注: 与 < 2 倍正常值比较, $^a P < 0.05$; 与 2 ~ 5 倍正常值比较, $^b P < 0.05$

2.3 观察组不同 HBV DNA 水平病人 Th22、IL-22 水平比较 不同 HBV DNA 病人 Th22 细胞、IL-22 水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 4。

表 4 不同 HBV DNA 载量慢性乙型肝炎病人 40 例 Th22、IL-22 水平比较/ $\bar{x} \pm s$

病毒载量	例数	Th22 细胞/%	IL-22/(pg/mL)
$< 10^3$ copies/mL	8	2.25 $\pm$ 0.98	24.37 $\pm$ 6.12
$10^3 \sim 10^6$ copies/mL	26	2.48 $\pm$ 0.84	25.81 $\pm$ 7.93
$> 10^7$ copies/mL	6	2.71 $\pm$ 0.94	26.20 $\pm$ 8.95
F 值		0.473	0.127
P 值		0.234	0.512

2.4 相关性分析 将CHB病人ALT、HBV DNA、Th22、IL-22水平进行相关分析,结果显示:Th22、IL-22与ALT呈正相关($r=0.413$ 和 0.367 , $P=0.002$ 和 0.012), Th22与IL-22呈正相关($r=0.487$, $P=0.003$)。

3 讨论

IL-22作为Th22主要效应因子能够通过对于下游糖蛋白的结合影响肝脏上皮细胞的囊泡运输机制和肝脏上皮细胞的能量代谢^[7],促进ATP的利用障碍,还能诱导下游炎症因子的富集^[8],促进IL-6或者IL-10等的表达浓度的上调,实现对于肝脏间质细胞的浸润^[9],代偿性胶原纤维成分的增生^[10];Th22细胞的上调,能够通过诱导树突状细胞的激活,提高T淋巴细胞的抗原提呈作用,增加T淋巴细胞相关的自身性免疫损伤^[11]。部分研究者认为Th22细胞或者IL-22的上升能够导致CHB病人治疗预后的恶化,提高病人的致残率^[12],但缺乏对于Th22细胞、IL-22的表达与肝功能或者HBV-DNA的关系研究。

本研究发现Th22细胞或者IL-22的表达浓度均明显的上升,预示Th22细胞和IL-22均延缓CHB的病情进展,主要与以下因素有关^[13-14]:(1)Th22细胞的上调导致CD4⁺、CD8⁺T淋巴细胞的功能紊乱,肝脏上皮细胞的损伤性损伤程度的增加;(2)IL-22的表达能够激活下游MAPK炎症性信号通路,下游中性粒细胞的激活,提高对于肝脏组织的浸润程度。张沛枫与赵云^[15]对免疫性因素与CHB的发病关系分析,发现在CHB病人外周血中,IL-22的表达浓度可平均上升30%以上,肝脏纤维化较为明显或者治疗敏感性较差的病人中,自身免疫性因子的表达紊乱更为明显。本次研究发现肝功能损伤程度越高,Th22细胞或者IL-22的表达上调与肝功能损伤程度密切相关,这主要由于Th22细胞或者IL-22的表达上升促进了肝脏上皮细胞的线粒体损伤,促使肝脏上皮细胞膜完整性的破坏。本次研究中未发现Th22细胞或者IL-22的表达与病人体内的HBV DNA的表达具有关系,说明Th22细胞或者IL-22的表达不会影响乙肝病毒的复制过程。综上所述,Th22、IL-22与ALT呈正相关,Th22和IL-22水平明显升高,与ALT存在一定相关性,Th22细胞或者IL-22参与CHB病情进展过程。

参考文献

- [1] CHEN J, YUAN Z. Interplay between hepatitis B virus and the innate immune responses: implications for new therapeutic strategies[J]. *Virologica Sinica*, 2014, 29(1): 17-24.
- [2] TAN A, KOH S, BERTOLETTI A. Immune Response in Hepatitis B Virus Infection[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2015, 5(8): a021428. DOI: 10.1101/cshperspect.a021428.
- [3] JIE Z, LIANG Y, YI P, et al. Retinoic Acid Regulates Immune Responses by Promoting IL-22 and Modulating S100 Proteins in Viral Hepatitis[J]. *The Journal of Immunology*, 2017, 198(9): 3448-3460.
- [4] 黄高铂, 连建奇, 张野. 白细胞介素22与肝脏疾病关系的研究进展[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2015, 31(9): 1280-1283.
- [5] 莫瑞东, 项晓刚, 王芑, 等. 辅助性T淋巴细胞及其效应分子在慢性乙型肝炎患者疾病加重过程中的变化和作用[J]. *中华传染病杂志*, 2014, 32(4): 209-213.
- [6] 邹美银, 汪美华, 韩刚, 等. Th22细胞、白细胞介素-22在乙型肝炎病毒相关原发性肝癌中的表达及意义[J]. *广东医学*, 2017, 38(13): 2009-2011.
- [7] BERTOLETTI A, GEHRING A J. Immune therapeutic strategies in chronic hepatitis b virus infection: virus or inflammation control? [J]. *PLoS Pathogens*, 2013, 9(12): e1003784. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003784.
- [8] LIAN JQ, YANG XF, ZHAO RR, et al. Expression profiles of circulating cytokines, chemokines, and immune cells in patients with hepatitis b virus infection [J]. *Hepatitis Monthly*, 2014, 14(6): e18892. DOI: 10.5812/hepatmen.18892.
- [9] ZENG D, LIU Y, DONG J, et al. Serum HBsAg and HBeAg levels are associated with liver pathological stages in the immune clearance phase of hepatitis B virus chronic infection [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2015, 11(5): 3465-3472.
- [10] 戴小波, 薛长山, 周文英, 等. 慢性乙肝患者外周血中Th22、Th17细胞及其细胞因子浓度水平的变化与意义[J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(16): 4583-4584.
- [11] 孙伟, 邹美银, 秦刚, 等. 外周血Th22和Th17细胞对HBV相关性肝衰竭的预测价值[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2015, 29(1): 59-61.
- [12] 康瑜, 陈建芳, 曾甜. 慢性乙型肝炎肝硬化患者Th22细胞和IL-22的表达及意义[J]. *免疫学杂志*, 2017, 33(2): 147-151.
- [13] DI BAM, LOK AS, MARTIN P, et al. Recent US Food and Drug Administration warnings on hepatitis B reactivation with immune-suppressing and anticancer drugs: just the tip of the iceberg? [J]. *Hepatology*, 2015, 61(2): 703-711.
- [14] 邹美银, 汪美华, 章幼奕, 等. 慢性乙型肝炎患者外周血Th22细胞检测及其临床意义[J]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2014, 8(7): 1221-1224. DOI: 10.3969/cma.j.issn.1674-0785.2014.07.005.
- [15] 张沛枫, 赵云. Th22、Th1细胞在乙型肝炎衰竭中表达及其意义[J]. *交通医学*, 2017, 31(1): 13-16.

(收稿日期: 2018-05-17, 修回日期: 2018-08-08)