

Toll样受体、TK1在慢性乙型肝炎患者体内表达及其联合检测的临床价值

杨德军 马其辉

[摘要] 目的 探讨Toll样受体(TLR)、血清胸苷激酶1(TK1)在慢性乙型肝炎(CHB)患者体内表达及其联合检测的临床价值。方法 选取96例CHB患者为CHB组,并同期选取90例体检健康人群作为对照组。比较两组研究对象TLR2、TLR9及TK1表达水平并用ROC曲线分析各指标对于CHB诊断价值。结果 CHB组的TLR2、TLR9及TK1表达水平均明显高于对照组(t 分别=29.01、25.07、20.54, P 均 <0.05),TLR2 ROC曲线下面积为0.58(95%CI:0.42~0.72);TLR9 ROC曲线下面积为0.60(95%CI:0.49~0.74);TK1 ROC曲线下面积为0.77(95%CI:0.66~0.87);TLR2联合TK1 ROC曲线下面积为0.85(95%CI:0.76~0.94);TLR9联合TK1 ROC曲线下面积为0.87(95%CI:0.77~0.94),TLR2联合TK1检测和TLR9联合TK1检测时曲线下面积均高于TLR2、TLR9和TK1单一检测时曲线下面积(χ^2 分别=7.85、6.92、4.93、7.93、7.03、5.05, P 均 <0.05)。结论 CHB患者存在TLR、TK1水平异常增高表达,联合检测TLR和TK1可提高CHB患者的早期诊断率。

[关键词] Toll样受体; 血清胸苷激酶1; 慢性乙型肝炎; 联合检测

Clinical value of the combined detection of toll-like receptor and TK1 expression in patients with chronic hepatitis B YANG Dejun, MA Qihui. Department of Clinical Laboratory, the Fourth Hospital of Ningbo, Ningbo 315700, China.

[Abstract] **Objective** To investigate the clinical value of the combined detection of toll-like receptor (TLR) and TK1 expression in patients with chronic hepatitis B (CHB). **Methods** The clinical data of 96 CHB patients were classified as CHB group, and 90 healthy subjects were selected during the same period as the control group. The expression levels of TLR2, TLR9 and TK1 were compared in the two groups, and the diagnostic values of TLR2, TLR9 and TK1 for CHB were analyzed by ROC curve. **Results** The expression level of TLR2, TLR9 and TK1 of CHB group were significantly higher than those of the control group ($t=29.01, 25.07, 20.54, P<0.05$). The area under the ROC curve (AUC) of TLR2, TLR9 and TK1 were 0.58 (95% CI : 0.42~0.72), 0.60 (95% CI : 0.49~0.74), and 0.77 (95% CI : 0.66~0.87) respectively. The AUC of the TLR2 combined with TK1 was 0.85 (95% CI : 0.76~0.94), and the AUC of TLR9 combined TK1 was 0.87 (95% CI : 0.77~0.94). The AUCs of the TLR2 combined with TK1 and TLR9 combined with TK1 were significantly higher than that of the single detection of TLR2, TLR9 or TK1 ($\chi^2=7.85, 6.92, 4.93, 7.93, 7.03, 5.05, P<0.05$). **Conclusion** The expression of TLR and TK1 is abnormal in CHB patients, and combined detection of TLR and TK1 can improve the early diagnosis rate of CHB patients.

[Key words] Toll-like receptor; thymidine kinase1; chronic hepatitis B; combined detection

据流行病学结果显示我国约有2 000万的慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者,已严重威胁了我国人们的身心健康^[1]。CHB发病机制较为复杂,免疫机制在其发病过程中有着重要作用^[2]。关

于Toll样受体(toll-like receptor, TLR)和血清胸苷激酶1(thymidine kinase1, TK1)联合检测在CHB患者中研究临床尚未报道,本次研究探讨TLR、TK1在CHB患者体内表达及其联合检测的临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2015年4月到2017年9月宁波市第四医院就诊收治的96例CHB患者为CHB

DOI:10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2019.01.009

作者单位:315700 浙江宁波,宁波市第四医院检验科(杨德军);慈溪市第二人民医院消化内科(马其辉)

组,其中男性66例、女性30例;年龄25~70岁,平均年龄为 (38.33 ± 4.65) 岁,平均丙氨酸氨基转氨酶(alanine transaminase, ALT)为 (126.35 ± 33.65) U/L,平均谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)为 (128.52 ± 35.01) U/L,平均HBV-DNA为 (115.21 ± 23.63) 拷贝/ml。纳入标准:①所有患者均符合2010年中华感染病学学会修订的《慢性乙型肝炎防治指南》中CHB的诊断标准^[3];②所有患者均无意识障碍,均能清楚地交流。排除标准:①合并失代偿期肝硬化者;②合并重叠感染者如HIV感染者;③合并药物性肝病或酒精性肝病者;④有血液系统疾病或近期感染者。并同期选取90例体检健康人群作为对照组,其中男性62例、女性28例;年龄24~68岁,平均年龄为 (39.01 ± 4.73) 岁。两组的性别比、年龄比较,差异均无统计学意义(P 均 >0.05)。

1.2 方法

1.2.1 外周血TLR2、TLR9检测 将100 μ l EDTA抗凝全血, FITC-anti-TLR2或9及APC-anti-CD14抗体加入试管中,摇匀,放入室温下孵育半小时,后加入2 ml溶血素溶血并离心;再用磷酸缓冲盐溶液洗涤后配制成 10^6 个液,通过流式细胞仪器进行检测。以APC-CD14阳性设门,CD14⁺单核细胞为门内细胞,共取1万个单核细胞作为门内细胞。用平均免疫荧光强度(mean fluorescence intensity, MFI)表示

TLR2、TLR9表达强度。

1.2.2 血清TK1水平检测 所有研究对象均在入院后24 h空腹抽取静脉血,在2 500 r/min转速下,高速离心,放入冷藏室待测。TK1水平检测采用免疫增强化学发光法进行检测,所有操作均按照试剂盒上说明书规范进行。

1.3 统计学方法 采用SPSS 18.0统计软件包处理。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,计量资料比较采用 t 检验,采用受试者工作特征曲线评估预测价值,计数资料采用 χ^2 检验。设 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组TLR2、TLR9及TK1表达水平比较见表1

表1 两组TLR2、TLR9及TK1表达水平比较

组别	TLR2/MFI	TLR9/MFI	TK1/pmol/L
CHB组	$38.56 \pm 5.63^*$	$41.63 \pm 7.21^*$	$2.98 \pm 1.12^*$
对照组	19.33 ± 2.89	21.01 ± 3.08	0.54 ± 0.13

注:*,与对照组比较, $P < 0.05$ 。

由表1可见,CHB组的TLR2、TLR9及TK1表达水平均明显高于对照组,差异均有统计学意义(t 分别=29.01、25.07、20.54, P 均 <0.05)。

2.2 TLR2、TLR9和TK1检测和联合检测在CHB患者中诊断价值比较见表2

表2 TLR2、TLR9和TK1在CHB患者中诊断价值分析

项目	截点	灵敏度/%	特异度/%	ROC曲线下面积	95% CI
TLR2	41.03	66.29	62.25	0.58	0.42~0.72
TLR9	43.15	68.35	63.62	0.60	0.49~0.74
TK1	3.21	81.35	71.50	0.77	0.66~0.87
TLR2联合TK1	-	85.56	75.02	0.85 ^{*#△}	0.76~0.94
TLR9联合TK1	-	86.65	76.38	0.87 ^{*#△}	0.77~0.94

注:*,与TLR2比较, $P < 0.05$;#,与TLR9比较, $P < 0.05$;△,与TK1比较, $P < 0.05$ 。

由表2可见,TLR2联合TK1检测和TLR9联合TK1检测时曲线下面积均高于TLR2、TLR9和TK1单一检测时曲线下面积(χ^2 分别=7.85、6.92、4.93、7.93、7.03、5.05, P 均 <0.05)。

3 讨论

据流行病学结果显示我国约有9300万的慢性HBV感染者,2000万的CHB患者,而CHB又是肝硬化、肝癌的主要诱因^[4]。CHB病理机制较为复杂,现临床上公认为获得性免疫应答参与了CHB的发生

发展^[5]。TLR是一种天然的重要免疫受体,目前临床上关于TLR2、TLR9在CHB患者应用研究较多,并被证实可能参与了CHB的发生、发展^[6]。TLR2具有生物学作用广泛、识别谱广等优点,其在临床上的作用主要包括调控获得性免疫反应、促进炎症反应发展及抗原呈递细胞的成熟^[7]。研究报道,TLR2和IL-6等炎症因子水平存在密切正相关关系^[8]。而CHB本身属于一种炎症性疾病,存在IL-6等炎症因子水平异常表达。在国外学者研究中已证实IL-6

等炎性因子可以使TLR2的水平上升,这也是CHB患者中TLR2异常增高表达的重要机制之一^[9]。研究证实,人巨噬细胞膜上的硫酸乙酰肝素成分可和HBV的核心抗原成分相结合,将TLR2信号通路激活,促进炎性因子的分泌^[10]。另一方面TLR2对内源性休克蛋白70还有识别作用,其还可识别缺血、化学、物理等非感染因素所引起的细胞坏死及参与了炎症反应,坏死细胞激活TLR2导致巨噬细胞分泌炎症因子从而促进炎症反应的发生发展^[11,12]。

TLR9常参与抗病毒的天然免疫反应,其可识别病毒、细菌的DNA分子。研究报道,其在肺癌、乳腺癌等肿瘤患者体内呈现高表达,与肿瘤的发生存在密切关系^[13]。在既往研究结果中示TLR9和HBV DNA载量呈明显正相关关系,HBV DNA载量越高CHB患者其体内TLR9表达越强^[14]。TK1是一种同工酶,其在细胞增殖中、DNA合成中有着重要作用,其水平变化和DNA合成呈明显正相关关系,故对于增殖异常类疾病存在TK1的异常表达。也是因其和细胞增殖相关性,在临床上应用较为局限,故本次研究排除有血液系统疾病、其他感染感染因素影响^[15]。CHB、肝硬化、肝癌也是一个细胞凋亡、增殖及变异的过程,故TK1也存在不同程度的表达。CHB患者可出现纤维母细胞及血管素等生理变化及生长因子升高,而TK1的部分功能类似生长因子,可作为细胞增殖生长的特异性生化指标,故在CHB患者中存在TK1异常增高表达,有研究报道,TK1>2 pmol/L时可能出现增殖异常类疾病^[16]。本次研究结果也与之相符。在本次研究结果中:TLR2联合TK1检测和TLR9联合TK1检测时曲线下面积均高于TLR2、TLR9和TK1单一检测时曲线下面积(P 均<0.05),可提示为TLR2、TLR9联合TK1对于CHB早期诊断价值更高。

综上所述,在CHB患者存在TLR2、TLR9、TK1水平异常增高表达,且联合TLR2、TLR9和TK1可提高CHB患者的早期诊断率,但是本次研究存在样本量较小等局限性,相关的研究结果还需要加大样本量的多中心的合作研究加以确证。

参考文献

- 王平,陈小良,刘真义,等.拉米夫定联合干扰素 α -2a治疗慢性乙型肝炎疗效分析[J].安徽医学,2016,37(6):708-711.
- 贾淑芳,程君,苏倩,等.慢性乙型肝炎病毒感染胸苷激酶1表达差异及其对原发性肝癌早期诊断价值研究[J].中国实用内科杂志,2015,34(12):1015-1018.
- 蒋福明,程书权.慢性乙型肝炎患者Toll样受体3、4的表达及其临床意义[J].国际病毒学杂志,2017,24(3):209-212.
- 孙伟红,魏晓芳,赵鹏,等.肝素诱导的树突状细胞上调Toll样受体3促进慢性乙型肝炎患者外周血Th0向Th1分化[J].中华肝脏病杂志,2015,23(9):658-662.
- 黄昂,闫伟伟,张纪元,等.慢性乙型肝炎患者CD14^{high}CD16⁺单核细胞表达特点研究[J].肝脏,2016,21(10):819-822.
- Seto WK, Hui AJ, Wong VW, et al. Treatment cessation of entecavir in asian patients with hepatitis B e antigen negative chronic hepatitis B: a multicentre prospective study[J]. Gut, 2015, 64(4):667-668.
- 张洋.乙型肝炎患者的血清病毒学检查结果分析[J].保健医学研究与实践,2016,13(6):47-49.
- 包雪芬.干扰素 α -2b和阿德福韦酯治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎的疗效及影响因素分析[J].全科医学临床与教育,2016,14(4):396-398.
- 王浩,高淑林,杨晶晶.氧化苦参碱联合拉米夫定对慢性乙型肝炎患者TLR9信号通路的影响[J].河北医药,2016,43(2):187-190.
- 牟娜,樊秀红,郭连峰,等.模式识别受体TLR3、RIG-I和MDA5在慢性乙肝患者外周血的表达水平[J].中国免疫学杂志,2016,32(5):715-719.
- 运晨霞,肖健,康迪,等.慢性乙型肝炎病毒感染者CD8⁺T细胞Toll样受体2表达增强[J].细胞与分子免疫学杂志,2016,32(6):812-815.
- 原伟,严伟明,宁琴.慢性乙型肝炎临床免疫学研究进展[J].中国医师杂志,2017,19(1):7-13.
- 江云,高月求,李曼,等.灵猫方联合替比夫定治疗慢性乙型肝炎患者的疗效及对NK细胞功能的影响[J].上海中医药大学学报,2017,30(2):16-21.
- 魏卓,杨广民,陈晶.慢性乙型病毒性肝炎及其相关肝硬化、肝癌患者肝组织中TLR4、TGF- β 1及CCL20的表达及意义[J].广东医学,2016,37(5):684-688.
- 毛学锋,彭丽珊,刘显,等.慢性乙型肝炎病毒感染者外周血单个核细胞Toll样受体9水平与CD38、HLA-DR、CD95水平正相关[J].细胞与分子免疫学杂志,2016,32(5):660-665.
- 孙宏飞,郭莲怡.Toll样受体在溃疡性结肠炎患者外周血中的表达及其意义[J].解放军医学院学报,2016,37(6):634-640.

(收稿日期 2017-12-21)

(本文编辑 蔡华波)