

· 临床研究 ·

慢性乙型肝炎患者血清颗粒蛋白前体与血清T淋巴细胞亚群及炎症因子的相关性

张皎娇 洪建利 吴坚玲 朱肖鸿

[摘要] 目的 研究血清颗粒蛋白前体在慢性乙型肝炎(CHB)患者中的表达,及其与患者血清T淋巴细胞亚群及炎症因子的相关性。方法 80例CHB患者纳入研究组,同期体检健康者80例纳入对照组,比较两组血清颗粒蛋白前体的表达。分析不同血清颗粒蛋白前体表达水平与血清T淋巴细胞亚群、炎症因子的相关性。结果 颗粒蛋白前体在研究组血清中的表达较对照组明显升高($t=6.57, P<0.05$);且随着HBV DNA载量的升高,血清颗粒蛋白前体的表达越高($F=14.23, P<0.05$);血清颗粒蛋白前体诊断CHB的截断值为45.32 $\mu\text{g/ml}$,灵敏度为87.69%,特异度为92.14%;血清颗粒蛋白前体表达与T淋巴细胞亚群 CD^{3+} 、 CD^{4+} 的比率呈负相关关系(r 分别=-0.56、-0.68, P 均 <0.05);与T淋巴细胞亚群 CD^{8+} 的比率以及血清炎症因子白介素 1β (IL- 1β)、白介素6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的表达呈正相关(r 分别=0.55、0.42、0.48、0.37, P 均 <0.05)。结论 颗粒蛋白前体在CHB患者血清中呈高表达,提示患者免疫功能的下降以及不良炎症反应。

[关键词] 血清颗粒蛋白前体; 慢性乙型肝炎; T淋巴细胞亚群; 炎症因子

Correlation between serum granulin precursor and serum T lymphocyte subsets and inflammatory factors in patients with chronic hepatitis B ZHANG Jiaojiao, HONG Jianli, WU Jianling, et al. Department of Endocrinology, Hengdi-an Wenrong Hospital, Jinhua 322118, China.

[Abstract] **Objective** To study the expression of serum granulin precursor in patients with chronic hepatitis B and its correlation with serum T lymphocyte subsets and inflammatory factors. **Methods** Totally 80 patients with chronic hepatitis B were included in the study group, and the 80 cases who received examination were enrolled in the control group. The expression of serum granulin precursor was compared between two groups and the correlations between granulin precursor and serum T lymphocyte subsets and inflammatory factors were analyzed. **Results** The expression of granulin precursor in study group was significantly higher than that in the control group ($t=6.57, P<0.05$). With the increasing of HBV DNA load, the expression of serum granulin precursor was gradually higher ($F=14.23, P<0.05$). The cut-off value of serum granulin precursor for diagnosing chronic hepatitis B was 45.32 $\mu\text{g/ml}$, the sensitivity was 87.69%, and the specificity was 92.14%. The expression of serum granulin precursor was negatively correlated with the ratios of T lymphocyte subsets CD^{3+} and CD^{4+} ($r=-0.56, -0.68, P<0.05$), and positively correlated with the ratio of T lymphocyte subsets CD^{8+} , IL- 1β , IL-6, and TNF- α ($r=0.55, 0.42, 0.48, 0.37, P<0.05$). **Conclusion** High expression of granulin precursor in the serum of chronic hepatitis B patients indicate that the decline of immune function and adverse inflammatory reaction in patients with hepatitis B.

[Key words] serum granule protein precursor; chronic hepatitis B; T lymphocyte subsets; inflammatory factors

慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)在我国临床高发,且预后效果差^[1-4]。我国一半以上的肝

硬化和肝癌疾病都是由CHB发展而来^[5],CHB已经成为影响人们生命安全的一大杀手,值得引起关注。部分研究指出机体免疫功能的下降与CHB病情发展存在联系,T淋巴细胞亚群是免疫功能的主要指标之一^[6-8]。CHB常伴有炎症反应的发生,炎症因子介导肝细胞损伤调节CHB的发展^[9]。颗粒蛋白

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2020.006.011

作者单位:322118 浙江金华,横店文荣医院内分泌消化科(张皎娇、洪建利、吴坚玲);浙江省中医院消化科(朱肖鸿)

前体是由氨基酸构成的细胞内源性生长因子,其在机体不同炎症反应中发挥促炎或抗炎作用^[10]。本次研究就血清颗粒蛋白前体与CHB患者血清T淋巴细胞亚群及炎症因子的相关性展开讨论。

1 资料与方法

1.1 一般资料 纳入2018年2月至2019年10月期间于横店文荣医院内分泌消化科被确诊为CHB的患者80例为研究组,其中HBeAg阳性43例,HBV DNA均为阳性。同时纳入同期健康体检者80例为对照组。研究组纳入标准为:①确诊为CHB;②HBV-DNA阳性周期3个月及以上;③临床资料完整;④签署了研究知情同意书患者。排除:①合并甲、丙、戊、丁肝、药物性肝炎以及自身免疫病患者;②发展成肝硬化或者肝癌患者;③合并脏器系统疾病以及恶性肿瘤患者;④有免疫治疗史患者。本次研究通过本院医学伦理委员会审批。两组研究对象的基线资料见表1,两组比较,差异无统计学意义(P 均 >0.05)。

表1 两组研究对象基线资料比较

组别	n	性别(男/女)	平均年龄/岁	体重指数/kg/m ²
研究组	80	44/36	43.12 ± 12.33	23.45 ± 3.89
对照组	80	43/37	42.35 ± 12.47	23.67 ± 3.76

1.2 方法 抽取参试者空腹静脉血各5 ml,离心取上清,通过酶联免疫吸附法测定血清颗粒蛋白前体的水平、血清炎症因子白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α)的表达水平。按照淋巴细胞亚群分析试剂以及单克隆ELISA试剂盒的具体说明书,于计数管分别滴加TriTEST CD³⁺/CD⁴⁺/CD⁸⁺试剂及抗凝血试剂混匀,黑暗条件下孵育25 min,滴加溶血剂,再次孵育25 min,流式细胞仪检测T淋巴细胞亚群(CD³⁺、CD⁴⁺以及CD⁸⁺T淋巴细胞)百分比。乙肝病毒DNA检测:采用全自动电化学发光法检测乙肝表面抗原HBeAg,实时荧光定量PCR法测定HBV-DNA的载量,并根据HBV DNA载量的高低程度将研究组患者分为低载量、中载量、高载量组,HBV DNA阴性组均为对照组患者。结果判定:HBV DNA载量在10² IU/ml以下为阴性,10²~10⁴ IU/ml为低载量组,10⁵~10⁶ IU/ml为中载量组,高于10⁷ IU/ml为高载量组。

1.3 统计学方法 采用SPSS 19.0软件进行分析。

计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组比较采用 F 检验,两两比较采用LSD- t 检验,诊断价值采用ROC曲线分析,Pearson法进行相关性分析。设 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者相关因子水平见表2

表2 两组患者相关因子水平比较

指标	研究组(n=80)	对照组(n=80)
CD ³⁺ /%	73.11 ± 5.66*	79.42 ± 8.79
CD ⁴⁺ /%	36.58 ± 5.46*	43.78 ± 8.36
CD ⁸⁺ /%	33.27 ± 9.77*	26.33 ± 5.24
CD ⁴⁺ /CD ⁸⁺	1.09 ± 0.48*	1.65 ± 0.51
IL-1 β /ng/ml	25.64 ± 7.72*	13.78 ± 2.31
IL-6/ng/ml	28.45 ± 7.36*	15.33 ± 4.25
TNF- α /ng/ml	16.33 ± 5.87*	8.79 ± 2.36
血清颗粒蛋白前体/ng/ml	55.37 ± 5.48*	15.34 ± 4.22

注: *: 与对照组比较, $P < 0.05$ 。

由表2可见,研究组血清中T细胞亚群CD³⁺、CD⁴⁺的比率以及CD⁴⁺/CD⁸⁺的比值较对照组明显降低,CD⁸⁺的比率较对照组明显上升(t 分别=10.37、11.23、14.12、13.25, P 均 <0.05);研究组血清中炎症因子的水平IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、血清颗粒蛋白前体均明显高于对照组(t 分别=10.45、11.62、13.41、6.57, P 均 <0.05)。

2.2 各组血清颗粒蛋白前体的表达 根据HBV DNA载量的高低程度将研究组分为HBV DNA低载量组11例、HBV DNA中载量组59例、HBV DNA高载量组10例,HBV DNA阴性组为对照组患者共80例。各组血清颗粒蛋白前体的表达见表3。

表3 不同HBV DNA载量组血清颗粒蛋白前体水平比较/ μ g/ml

组别	n	血清颗粒蛋白前体水平
HBV DNA阴性组	80	22.36 ± 6.63
HBV DNA低载量组	11	41.25 ± 6.34*
HBV DNA中载量组	59	59.27 ± 6.78**
HBV DNA高载量组	10	80.15 ± 7.32** [△]

注: *: 与HBV DNA阴性组比较, $P < 0.05$; **: 与HBV DNA低载量组比较, $P < 0.05$; [△]: 与HBV DNA中载量组比较, $P < 0.05$ 。

由表3可见,不同HBV DNA载量组血清颗粒蛋白前体水平比较,差异有统计学意义($F=14.23$, P

<0.05)。两两比较发现,HBV DNA 低载量组、HBV DNA 中载量组和HBV DNA 高载量组血清颗粒蛋白前体的表达均较HBV DNA 阴性组明显上升(t 分别=6.67、7.19、8.55, P 均 <0.05);HBV DNA 高载量组血清颗粒蛋白前体的表达明显高于HBV DNA 低载量组和HBV DNA 中载量组(t 分别=9.20、8.77, P <0.05),HBV DNA 中载量组血清颗粒蛋白前体的表达明显高于HBV DNA 低载量组($t=6.88$, P <0.05)。

2.3 血清颗粒蛋白前体诊断CHB的ROC曲线分析

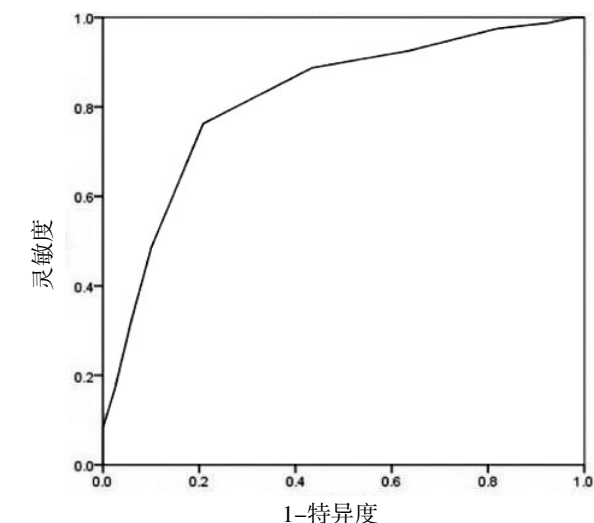


图1 血清颗粒蛋白前体诊断CHB的ROC曲线

由图1可见,血清颗粒蛋白前体诊断CHB的截断值为45.32 $\mu\text{g/ml}$,此时灵敏度87.69%,特异度92.14%,曲线下面积为0.78(95%CI为0.73~0.82)。

2.4 血清颗粒蛋白前体与T细胞亚群和炎症因子的相关性分析 CHB患者血清颗粒蛋白前体的表达与血清T淋巴细胞亚群 CD^{3+} 、 CD^{4+} 的比率呈负相关(r 分别=-0.56、-0.68, P 均 <0.05),与 CD^{8+} 的比率以及血清炎症因子IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的表达呈正相关(r 分别=0.55、0.42、0.48、0.37, P 均 <0.05)。

3 讨论

CHB是临床常见疾病,且乙肝病毒HBV能够在机体内长时间存在,影响肝脏正常运作从而危害患者的生命健康^[11]。有研究发现,CHB患者体内病理损伤部分有较为明显的淋巴细胞浸润,乙肝病毒感染导致机体免疫应答机制发生异常以及炎症反应发生从而进一步加重患者的病情^[12]。由于相关研究证明了机体免疫系统的变化与CHB疾病的发展确有联系^[13,14],各种相关疫苗及针对免疫细胞制剂成为了医

学界争相研究的热点。而目前研究出的免疫制剂都是具有一定副作用且成本较高,患者接受度不佳,因此研究出高效且成本低廉的药物用于诊治CHB尤为重要。外周血T淋巴细胞亚群被作为评估免疫功能的有效指标,对于相关疾病的病程发展以及疗效观察都意义重大^[15]。临床试验证明,CHB患者体内炎症因子表达异常,提示控制炎症反应的发生也是治疗CHB的重要突破口之一^[16]。颗粒蛋白前体作为生长因子的一种,具有广泛的细胞生物学功能,在巨噬细胞、神经细胞、造血干细胞以及上皮细胞中广泛表达,并参与多种肿瘤疾病的发展进程^[17-19]。

本次研究结果显示CHB患者的免疫功能较健康体检者存在一定程度的下降,且CHB患者机体内存在炎症反应。CHB患者血清颗粒蛋白前体均明显高于健康体检者(P <0.05)。HBV DNA 低载量组、HBV DNA 中载量组和HBV DNA 高载量组血清颗粒蛋白前体的表达均较HBV DNA 阴性组明显上升(P <0.05);HBV DNA 高载量组血清颗粒蛋白前体的表达明显高于HBV DNA 低载量组和HBV DNA 中载量组(P <0.05),HBV DNA 中载量组血清颗粒蛋白前体的表达明显高于HBV DNA 低载量组(P <0.05)。提示随着HBV DNA 载量的升高,血清颗粒蛋白前体的表达越高。ROC曲线分析结果显示,血清颗粒蛋白前体诊断慢性乙型肝炎的截断值为45.32 $\mu\text{g/ml}$,此时灵敏度87.69%,特异度92.14%,曲线下面积为0.78。提示血清颗粒蛋白前体诊断慢性乙型肝炎的灵敏度和特异度均较高,诊断价值较高。并且血清颗粒蛋白前体表达与T淋巴细胞亚群 CD^{3+} 、 CD^{4+} 的比率呈负相关,与T淋巴细胞亚群 CD^{8+} 的比率以及血清炎症因子IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的表达呈正相关。说明血清颗粒蛋白前体有降低CHB患者免疫功能以及加重CHB患者机体炎症反应的作用,抑制血清颗粒蛋白前体表达对于CHB疾病转归意义重大。本次研究也存在不足之处,对于血清颗粒蛋白前体与血清T淋巴细胞以及炎症因子表达的具体因果关系即几者之间相互调控的具体机制,所涉及的具体细胞因子以及信号传导通路都是尚待研究的课题。

综上所述,颗粒蛋白前体在CHB患者血清中的高表达能够提示患者免疫功能的下降以及不良炎症反应,且对于CHB诊断以及提示疾病的严重程度都有十分重要的意义。

(下转第530页)

- sions of the Japanese orthopaedic association score in the assessment of patients with cervical spondylotic myelopathy[J]. *Neurosurg Focus*, 2016, 40(6): E6.
- 8 李天清, 马田成, 雷伟, 等. 伴关节突交锁的下颈椎骨折脱位的手术策略[J]. *临床骨科杂志*, 2015, 18(3): 261-264.
 - 9 Miao DC, Qi C, Wang F, et al. Management of severe lower cervical facet dislocation without vertebral body fracture using skull traction and an anterior approach[J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24(1): 1295-1302.
 - 10 谢娜, 张建梅, 杨悦. 46例颈椎骨折脱位合并脊髓损伤的护理体会[J]. *实用临床医药杂志*, 2017, 21(14): 81-84.
 - 11 钟小兵, 李义强, 何国雄, 等. 单纯后路椎弓根钉内固定治疗下颈椎骨折脱位的可行性研究[J]. *现代诊断与治疗*, 2019, 30(15): 2552-2554.
 - 12 李文龙, 陈长春, 高浩, 等. 下颈椎骨折脱位合并急性脊髓损伤的手术方式选择及疗效对比[J]. *现代生物医学进展*, 2017, 17(18): 3544-3548, 3556.
 - 13 Shen Y, Shen HL, Feng ML, et al. Immediate reduction under general anesthesia and single-staged anteroposterior spinal reconstruction for fracture-dislocation of lower cervical spine[J]. *J Spinal Disord Tech*, 2015, 28(1): E1-E8.
 - 14 Miao DC, Wang F, Shen Y. Immediate reduction under general anesthesia and combined anterior and posterior fusion in the treatment of distraction-flexion injury in the lower cervical spine[J]. *J Orthop Surg Res*, 2018, 13(1): 126.

(收稿日期 2019-08-13)

(本文编辑 蔡华波)

(上接第521页)

参考文献

- 1 王慰, 郑欢伟, 任桂芳, 等. 慢性 HBV 感染及其相关肝病患者外周血 T 细胞亚群的变化[J]. *临床肝胆病杂志*, 2015, 29(4): 276-279.
- 2 吴银亚, 谭善忠. CD⁴CD²⁵调节性 T 淋巴细胞在慢性乙型肝炎发病机制中的作用[J]. *中华传染病杂志*, 2016, 30(9): 563-565.
- 3 游晶, 庄林, 陈红英, 等. HBV 携带者 T 细胞亚群状况与肝组织病理学对比[J]. *世界华人消化杂志*, 2015, 13(21): 2554-2558.
- 4 李彩东, 陈锡莲, 田鹏飞, 等. 慢性乙型肝炎患者外周血 T 淋巴细胞亚群和 CD⁴CD²⁵调节性 T 淋巴细胞的表达水平与 HBV DNA 定量的相关分析[J]. *临床肝胆病杂志*, 2015, 31(4): 541-545.
- 5 黄闯, 黄琨. 颗粒蛋白前体在炎症性疾病中的作用研究进展[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2016, 32(2): 268-271.
- 6 赵霞, 韩世愈. 颗粒蛋白前体在免疫和感染及炎症中的研究进展[J]. *医学综述*, 2017, 20(24): 4445-4448.
- 7 卞淼, 安莲华, 逢利. 血清颗粒蛋白前体在慢性阻塞性肺疾病患者病情及预后评估中的价值[J]. *中国老年学杂志*, 2016, 36(13): 3228-3230.
- 8 杨伊姝, 王颖, 刘占东, 等. Th22 细胞在多发性硬化免疫发病机制中作用的大鼠实验研究[J]. *临床和实验医学杂志*, 2018, 17(3): 234-238.
- 9 Ascione T, Di Fumeri GL, Boccia G, et al. Infections in patients affected by liver cirrhosis: an update[J]. *Infez Med*, 2017, 25(2): 91-97.
- 10 Ye YJ, Liu B. Clinical analysis of patients of cirrhosis complicated with adrenal insufficiency[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sic*, 2016, 20(12): 2667-2672.
- 11 Fouad TR, Abdelsameea E, Elsabaawy M, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin for diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis[J]. *Trop Doct*, 2019, 49(3): 189-192.
- 12 Wei JL, Hettinghouse A, Liu CJ. The role of progranulin in arthritis[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2016, 1383(1): 5-20.
- 13 Azadani NN, Norouzi F, Hajizadeh M, et al. Serum level measurement of progranulin in relapsing-remitting multiple sclerosis and neuromyelitis optica patients[J]. *Am J Clin Exp Immunol*, 2019, 8(3): 16-20.
- 14 Park S, Hong G, Park S, et al. Serum progranulin as an indicator of neutrophilic airway inflammation and asthma severity[J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2016, 117(6): 646-650.
- 15 段国荣, 周永兴, 赵怡生, 等. 成人急性 HBV 感染后免疫指标的变化及不同转归的比较[J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2016, 15(1): 65-68.
- 16 聂红明, 汪蓉, 朱梅萍, 等. 不同临床状态的 HBV 感染相关肝病患者 T 淋巴细胞水平和主要细胞因子表达的比较[J]. *中西医结合肝病杂志*, 2015, 25(1): 8-12.
- 17 肖光明, 姚细安, 连粤湘, 等. 乙型肝炎患者外周血 T 淋巴细胞亚群的变化[J]. *实用肝脏病杂志*, 2018, 8(1): 22-24.
- 18 王福生, 陈巍巍. 乙型肝炎病毒慢性感染的临床免疫学检测和研究的的重要性[J]. *中华检验医学杂志*, 2017, 30(10): 1085-1089.
- 19 杨新星, 李东升, 周继光, 等. 乙型肝炎病毒感染不同阶段抗原肽特异性细胞毒性 T 淋巴细胞的初步研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2016, 32(10): 1496-1502.

(收稿日期 2020-02-17)

(本文编辑 蔡华波)