

# 慢性乙型病毒性肝炎患者外周血 Th1/Th2 相关细胞因子表达的临床意义

毛孝周, 杨涓, 郑盛

(大理大学第二附属医院消化内科, 云南 昆明 650011)

**摘要:**目的 探讨慢性乙型病毒性肝炎(CHB)患者外周血 Th1/Th2 相关细胞因子表达水平及临床意义。方法 选取 2022 年 1 月—2023 年 2 月大理大学第二附属医院收治的 56 例 CHB 患者为研究组,另选取同时期 31 名体检健康的同龄者为对照组;依据乙肝两对半检测结果将研究组分为 HBeAg(+)组与 HBeAg(-)组,以病毒载量  $10^4$  拷贝/ml 为界值,将 HBeAg(+)组进一步分为高病毒载量组( $>10^4$  拷贝/ml)与低病毒载量组( $<10^4$  拷贝/ml)。检测研究组与对照组外周血 Th1/Th2 相关细胞因子表达水平,并比较研究组中 HBeAg(+)组与 HBeAg(-)组 Th1/Th2 相关细胞因子检测结果,进一步分析 HBeAg(+)组中的高病毒载量组与低病毒载量组 Th1/Th2 相关细胞因子水平差异。结果 研究组外周血 IFN- $\gamma$ 、IL-2、IL-4、IL-5 水平均高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );研究组中 HBeAg(+)组外周血 IFN- $\gamma$  和 IL-2 水平低于 HBeAg(-)组,而外周血 IL-4 和 IL-5 水平高于 HBeAg(-)组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );HBeAg(+)组中低病毒载量组外周血 IFN- $\gamma$ 、IL-2、IL-4 和 IL-5 水平均低于高病毒载量组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 CHB 患者存在免疫调节功能紊乱,检测 CHB 患者外周血 Th1/Th2 相关细胞因子表达水平对疾病的诊断、病情严重程度判断及预后具有重要的参考价值。

**关键词:** 乙型病毒性肝炎; IFN- $\gamma$ ; IL-2; IL-4; IL-5; 免疫功能; Th1/Th2 相关细胞因子

中图分类号: R516.2+2

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2024.07.019

文章编号: 1006-1959(2024)07-0102-04

## Clinical Significance of Th1/Th2 Related Cytokines Expression in Peripheral Blood of Patients with Chronic Hepatitis B

MAO Xiao-zhou, YANG Juan, ZHENG Sheng

(Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Dali University, Kunming 650011, Yunnan, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the expression level and clinical significance of Th1/Th2 related cytokines in peripheral blood of patients with chronic hepatitis B (CHB). **Methods** A total of 56 CHB patients admitted to the Second Affiliated Hospital of Dali University from January 2022 to February 2023 were selected as the study group, and 31 healthy peers at the same time were selected as the control group. The study group was divided into HBeAg(+) group and HBeAg(-) group according to the results of two pairs of semi-hepatitis B test. With the viral load of  $10^4$  copies/ml as the boundary value, the HBeAg(+) group was further divided into high viral load group ( $>10^4$  copies/ml) and low viral load group ( $<10^4$  copies/ml). The expression levels of Th1/Th2-related cytokines in peripheral blood of the study group and the control group were detected, and the results of Th1/Th2-related cytokines in HBeAg(+) group and HBeAg(-) group were compared. The difference of Th1/Th2-related cytokine levels between high viral load group and low viral load group in HBeAg(+) group was further analyzed. **Results** The levels of IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-4 and IL-5 in peripheral blood of the study group were higher than those of the control group, and the differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). In the study group, the levels of IFN- $\gamma$  and IL-2 in peripheral blood of HBeAg(+) group were lower than those in HBeAg(-) group, while the levels of IL-4 and IL-5 in peripheral blood were higher than those in HBeAg(-) group, the differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). The levels of IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-4 and IL-5 in peripheral blood of low viral load group in HBeAg(+) group were lower than those in high viral load group, and the differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). **Conclusion** CHB patients have immune regulation dysfunction. The detection of Th1/Th2 related cytokines in peripheral blood of CHB patients has important reference value for the diagnosis, severity and prognosis of the disease.

**Key words:** Viral hepatitis B; IFN- $\gamma$ ; IL-2; IL-4; IL-5; Immune function; Th1/Th2 related cytokines

慢性乙型病毒性肝炎 (chronic viral hepatitis B, CHB)是由乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV)持续感染引起的慢性肝脏炎症性疾病,是全球常见的

慢性传染病。近年来,国外研究发现<sup>[1]</sup>,HBV 感染的发病机制与免疫介导的宿主-病毒相互作用密切相关,其中 Th1/Th2 细胞因子在免疫介导过程中尤为

基金项目: 1.云南省教育厅科学研究基金项目(编号:2023Y1003,2023J0926); 2.云南省科技厅地方本科高校(部分)基础研究联合专项面上项目(编号:2018FH-001-076,2018FH-001-080)

作者简介: 毛孝周(1996.10-),男,云南昭通人,硕士研究生,主要从事肝病方向研究

通讯作者: 郑盛(1982.5-),男,云南曲靖人,硕士,副主任医师,硕士生导师,主要从事肝病方向研究

关键。“细胞因子平衡学说”认为正常生理状态下 Th1 和 Th2 处于动态平衡状态,当机体受到 HBV 感染时,Th1 和 Th2 间平衡被打破,这种变化往往导致细胞因子网络失调,机体免疫调节功能紊乱,导致病毒清除困难,疾病延长而难以治愈<sup>[2,3]</sup>。然而,目前国内关于慢性乙型病毒性肝炎患者外周血 Th1/Th2 相关细胞因子表达的研究较少。基于此,本研究结合 2022 年 1 月-2023 年 2 月我院收治的 56 例 CHB 患者临床资料,探讨 Th1/Th2 相关细胞因子在 CHB 患者中的表达特征,以期为临床 CHB 患者的诊断、治疗提供一定参考,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性选取 2022 年 1 月-2023 年 2 月大理大学第二附属医院收治的 56 例慢性乙型病毒性肝炎患者作为研究组,另选取同时期 31 例体检健康的同龄者作为对照组。研究组男 34 例,女 22 例;年龄 18~80 岁,平均年龄(52.68±13.64)岁。对照组男 22 例,女 9 例;年龄 12~75 岁,平均年龄(47.42±14.61)岁。两组性别和年龄比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。依据乙肝两对半检测结果将研究组分为 HBeAg(+)组与 HBeAg(-)组;HBeAg(+)组男 20 例,女 14 例;年龄 18~72 岁,平均年龄(50.32±13.29)岁;HBeAg(-)组中男 14 例,女 8 例;年龄 32~80 岁,平均年龄(56.32±13.66)岁。两组性别和年龄比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。以病毒载量  $10^4$  拷贝/ml 为界值,将 HBeAg(+)组分为高病毒载量组( $>10^4$  拷贝/ml)与低病毒载量组( $<10^4$  拷贝/ml),HBeAg(+)组低病毒载量组男 10 例,女 8 例;年龄 23~71 岁,平均年龄(52.28±11.19)岁;高病毒载量组男 10 例,女 6 例;年龄 18~58 岁,平均年龄(48.13±15.40)岁。两组性别和年龄比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准,所有样本采集及资料调查均取得患者及家属知情同意并签字确认,研究过程中严格保护患者隐私。

1.2 纳入和排除标准 纳入标准:符合中华医学会肝病学分会发布的《慢性乙型肝炎防治指南(2019 年版)》<sup>[4]</sup>的慢性乙型病毒性肝炎患者。排除标准:①有重大疾病如:癌症、急性心衰、肾衰;②合并人体免疫系统相关性疾病如:HIV。

1.3 方法 所有受试对象均清晨空腹静脉采血 5 ml,3000 r/min 离心 15 min,收集血清,-20 ℃保存待测。采用 Luminex 多重检测技术检测血清 Th1 相关细胞因子[白细胞介素-12(IL-12)、干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )]和 Th2 相关细胞因子[白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-5(IL-5)]水平。按试剂盒(上海科美生物公司)要求进行操作;采用全自动免疫分析仪对乙肝两对半定性检测,包括乙肝病毒表面抗原(HBsAg)、表面抗体(HBsAb)、e 抗原(HBeAg)、e 抗体(HBeAb)、核心抗体(HBcAb)水平进行检测,仪器为东芝 40 全自动生化分析仪;采用荧光定量聚合酶链式反应(FQ-PCR 法)进行定量检测 HBV DNA 病毒载量。按试剂盒(中山达安荧光定量分析试剂)要求进行操作。

1.4 观察指标 检测研究组与对照组外周血 Th1/Th2 相关细胞因子表达水平,并比较研究组中 HBeAg(+)组与 HBeAg(-)组 Th1/Th2 相关细胞因子检测结果,进一步分析 HBeAg(+)组中的高病毒载量组与低病毒载量组 Th1/Th2 相关细胞因子水平差异。

1.5 统计学方法 本研究的所有数据分析均采用 SPSS 22.0 统计软件完成。计量资料进行正态性检验,符合正态分布的资料以( $\bar{x}\pm s$ )表示,不符合正态分布的资料用中位数( $M$ )表示,两组间比较采用独立样本  $t$  检验;计数资料采用(%)表示,比较采用  $\chi^2$  检验。所有统计学分析均采用双侧检验, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究组和对照组外周血 Th1/Th2 相关细胞因子水平比较 研究组外周血 IFN- $\gamma$ 、IL-2、IL-4、IL-5 均高于对照组( $P<0.05$ ),见表 1。

表 1 研究组和对照组外周血 Th1/Th2 相关细胞因子水平比较( $\bar{x}\pm s$ ,pg/ml)

组别	<i>n</i>	IFN- $\gamma$	IL-2	IL-4	IL-5
研究组	56	5.22±3.86	2.97±1.67	3.07±1.90	2.75±1.36
对照组	31	2.40±2.06	2.19±1.34	1.46±0.97	2.06±1.09
<i>t</i>		3.775	2.211	4.380	2.392
<i>P</i>		0.000	0.030	0.000	0.019

2.2 HBeAg(+)组和 HBeAg(-)组外周血 Th1/Th2 相关细胞因子水平比较 HBeAg(+)组外周血 IL-4、IL-5 高于 HBeAg(-)组( $P<0.05$ );HBeAg(+)组外周血 IFN- $\gamma$ 、IL-2 低于 HBeAg(-)组( $P<0.05$ ),见表 2。

表 2 HBeAg(+)组和 HBeAg(-)组外周血 Th1/Th2 相关细胞因子水平比较( $\bar{x}\pm s$ ,pg/ml)

组别	n	IFN- $\gamma$	IL-2	IL-4	IL-5
HBeAg(+)组	34	3.89 $\pm$ 2.46	2.87 $\pm$ 2.04	3.61 $\pm$ 2.03	3.06 $\pm$ 1.56
HBeAg(-)组	22	7.28 $\pm$ 4.72	3.12 $\pm$ 0.86	2.24 $\pm$ 1.34	2.27 $\pm$ 0.79
t		-3.775	-2.354	4.380	2.548
P		0.000	0.021	0.000	0.013

### 3 讨论

慢性乙型病毒性肝炎是我国常见的传染病之一,可导致肝纤维化、肝硬化和肝细胞癌,发病机制复杂。目前认为<sup>[5]</sup>,慢性乙型病毒性肝炎的主要发病机制是免疫调节功能紊乱,其中先天性和适应性免疫被认为是 HBV 感染的主要促成因素。近年来,越来越多的研究表明<sup>[6-8]</sup>,Th1/Th2 相关细胞因子在慢性乙型病毒性肝炎的发生和发展中起着重要的作用。Th1 细胞因子主要包括 IFN- $\gamma$ 、IL-2、TNF- $\alpha$  等,能够促进细胞免疫应答,增强细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)杀伤 HBV 感染细胞,从而清除病毒。而 Th2 细胞因子主要包括 IL-4、IL-5、IL-10 等,能够促进体液免疫应答,增强 B 淋巴细胞产生抗体的能力,从而中和病毒。因此,Th1/Th2 细胞因子在慢性乙型病毒性肝炎的免疫调节中起着重要的作用。

Th1 细胞分泌 IL-2、INF- $\gamma$  等细胞因子,可诱导细胞免疫。长期以来,IL-2 一直被认为是一种 T 细胞生长因子,它可以通过与细胞表面受体 IL-2R 结合发挥生物学效应,它对效应 T 细胞的增值和分化是必要的<sup>[9]</sup>。研究表明<sup>[10]</sup>,IL-2 可以促进 CD8<sup>+</sup>T 细胞的生长和分化,对 Treg 细胞调节功能至关重要,并增强机体抗病毒感染能力。本研究中 CHB 患者高水平表达 IL-2,有利于激活 CD8<sup>+</sup>淋巴细胞从而清除病毒,近年来临床研究<sup>[11]</sup>也证实外周血 IL-2 表达水平与 CHB 患者免疫应答水平相关,且对不同疾病分期的 CHB 患者具有较好的预测价值。IFN- $\gamma$  属于 II 型干扰素,是病毒感染时诱导的重要细胞因子,具有抗肿瘤、抗增殖和免疫调节作用<sup>[12]</sup>。本研究中 CHB 患者 IFN- $\gamma$  水平高于对照组,推测长期持续的 HBV 感染使 CHB 患者免疫系统处于高反应状态,进而增

2.3 低病毒载量组和高病毒载量组外周血 Th1/Th2 相关细胞因子水平比较 低病毒载量组外周血细胞因子 IFN- $\gamma$ 、IL-2 IL-4 及 IL-5 低于高病毒载量组( $P<0.05$ ),见表 3。

表 3 低病毒载量组和高病毒载量组外周血 Th1/Th2 细胞因子水平比较( $\bar{x}\pm s$ ,pg/ml)

组别	n	IFN- $\gamma$	IL-2	IL-4	IL-5
低病毒载量组	18	3.06 $\pm$ 1.12	2.16 $\pm$ 1.05	2.56 $\pm$ 1.03	2.42 $\pm$ 0.69
高病毒载量组	16	4.83 $\pm$ 3.18	3.68 $\pm$ 2.58	4.78 $\pm$ 2.26	3.78 $\pm$ 1.95
t		-2.198	-3.744	-2.759	-2.212
P		0.040	0.001	0.010	0.034

强细胞免疫,有利于乙型肝炎病毒清除。

Th2 细胞与 B 细胞的增殖和分化以及抗体的产生有关,主要通过分泌细胞因子如 IL-4、IL-5 等介导体液免疫应答<sup>[13]</sup>。有研究报道<sup>[14]</sup>,IL-4 可以抑制 HBsAg 的产生及 HBV 的复制,从而介导宿主的抗病毒反应。另一项基于病毒性肝炎的小鼠模型<sup>[15]</sup>证实 IL-5 可以通过刺激树突状细胞(DC)促进 T 细胞和 NK 细胞分泌 IFN- $\gamma$ 。本研究分析了 57 例 CHB 患者外周血 Th2 相关细胞因子,结果显示 IL-4、IL-5 水平均高于对照组。考虑原因:伴随着 HBV 感染,机体应激性变化明显,通过直接或间接诱导细胞因子和炎症性肝脏环境相互作用,机体免疫系统紊乱加重,表现出 Th2 相关细胞因子相对突出,这与袁洪波等<sup>[16]</sup>研究结果一致。同时,肯定了对慢性乙型病毒性肝炎患者外周血 Th2 相关细胞因子的检测价值。

此外,本研究通过对 HBeAg 阳性和阴性分组研究发现 HBeAg(+)组外周血细胞因子 IL-4、IL-5 高于 HBeAg(-)组,IFN- $\gamma$ 、IL-2 低于 HBeAg(-)组。在此之前,已有研究证实<sup>[17]</sup>,HBeAg 具有免疫调节功能,CHB 患者 HBeAg 水平与 Th2 相关细胞因子呈正相关<sup>[18]</sup>。因此,本研究就 HBeAg(+)慢性乙型病毒性肝炎患者外周血 Th1/Th2 相关细胞因子与乙型肝炎病毒载量的关系进行进一步研究,结果显示低病毒载量组外周血细胞因子 IFN- $\gamma$ 、IL-2 IL-4 及 IL-5 低于高病毒载量组( $P<0.05$ )。健康人群中的 Th1/Th2 相关细胞因子处于相对平衡状态,然而,在慢性乙型病毒性肝炎患者免疫反应阶段这种平衡被打破,身体免疫功能处于紊乱状态,伴随着病毒载量的增加,病毒复制活跃,Th1/Th2 平衡紊乱加重,从而出现

HBV 感染慢性化。有研究证实<sup>[19]</sup>,HBV-DNA 持续复制是慢性乙型病毒性肝炎患者 Th1/Th2 平衡中断和肝脏持续损伤的关键因素。因此,这也提示临床上需要对慢性乙型病毒性肝炎患者进行免疫监测及病毒载量调控的需求

综上所述,Th1/Th2 细胞因子在慢性乙型病毒性肝炎的发生和发展中起着重要的作用。在 HBV 感染初期,Th1 细胞因子主导免疫应答,清除病毒。而在慢性乙型病毒性肝炎的发展过程中,Th2 细胞因子逐渐占据了主导地位,抑制 CTL 的杀伤作用,减少病毒清除。因此,研究 Th1/Th2 细胞因子在慢性乙型病毒性肝炎治疗中的应用具有重要的意义。目前,已经有一些研究表明,通过调节 Th1/Th2 细胞因子的平衡,可以有效地治疗慢性乙型病毒性肝炎。未来需要进一步深入研究 Th1/Th2 细胞因子在慢性乙型病毒性肝炎的作用机制及其在治疗中的应用,为开发新的慢性乙型病毒性肝炎治疗方法提供更为可靠的理论基础。

#### 参考文献:

- [1]Saraceni C,Birk J.A Review of Hepatitis B Virus and Hepatitis C Virus Immunopathogenesis [J].J Clin Transl Hepatol,2021,9(3):409-418.
- [2]Santos SA,Lira FS,Silva ET,et al.Effect of moderate exercise under hypoxia on Th1/Th2 cytokine balance [J].The Clinical Respiratory Journal,2019,13(9):583-589.
- [3]Zhang Q,Huang H,Sun A,et al.Change of Cytokines in Chronic Hepatitis B Patients and HBeAg are Positively Correlated with HBV RNA,Based on Real-world Study [J].J Clin Transl Hepatol,2022,10(3):390-397.
- [4]王贵强,王福生,庄辉,等.慢性乙型肝炎防治指南(2019 年版)[J].临床肝胆病杂志,2019,35(12):41-62.
- [5]Xie X,Luo J,Broering R,et al.HBeAg induces liver sinusoidal endothelial cell activation to promote intrahepatic CD8 T cell immunity and HBV clearance [J].Cell Mol Immunol,2021,18(11):2572-2574.
- [6]Bourgine M,Crabe S,Lobaina Y,et al.Nasal route favors the induction of CD4(+) T cell responses in the liver of HBV-carrier mice immunized with a recombinant hepatitis B surface- and core -based therapeutic vaccine [J].Antiviral Research,2018,153:23-32.
- [7]Spolski R,Li P,Leonard WJ.Biology and regulation of IL-2: from molecular mechanisms to human therapy [J].Nat Rev Immunol,2018,18(10):648-659.
- [8]Qiu S,He P,Fang X,et al.Significant transcriptome and cytokine changes in hepatitis B vaccine non-responders revealed by genome-wide comparative analysis [J].Hum Vaccin Immunother,2018,14(7):1763-1772.
- [9]Mao JX,Guo WY,Guo M.Acute rejection after liver transplantation is less common,but predicts better prognosis in HBV-related hepatocellular carcinoma patients [J].Hepatol Int,2020,14(3):347-361.
- [10]Ponce LF,Montalvo G,Leon K,et al.Differential Effects of IL2R $\alpha$  and IL15R $\alpha$  over the Stability of the Common Beta-Gamma Signaling Subunits of the IL2 and IL15 Receptors [J].J Chem Inf Model,2021,61(4):1913-1920.
- [11]葛大赫.慢性乙型肝炎及肝硬化、肝癌患者外周血 Th1、Th2 类细胞因子表达变化及意义 [J].中国卫生工程学,2022,21(1):160-162.
- [12]Clark DN,Begg LR,Filiano AJ.Unique aspects of IFN- $\gamma$ /STAT1 signaling in neurons [J].Immunol Rev,2022,311(1):187-204.
- [13]Iwasaki N,Terawaki S,Shimizu K,et al.Th2 cell-derived histamine is involved in nasal Th2 infiltration in mice [J].Inflamm Res,2021,70(5):539-541.
- [14]唐珂,卢丽霞,钟美佐.利妥昔单抗联合化疗治疗 HBsAg 阳性的非霍奇金淋巴瘤患者的安全性分析 [J].医学临床研究,2015(5):1026-1028.
- [15]Moreira D,Sampath S,Won H,et al.Myeloid cell-targeted STAT3 inhibition sensitizes head and neck cancers to radiotherapy and Tcell-mediated immunity [J].J Clin Invest,2021,131(2):e137001.
- [16]袁洪波,何玲玲.孕妇乙肝病毒载量与 Th1、Th2 及 Th17 类细胞因子表达的关系探究 [J].实用预防医学,2021,28(6):762-765.
- [17]Chen W,Bian H,Xie X,et al.Negative feedback loop of ERK/CREB/miR-212-3p inhibits HBeAg-induced macrophage activation [J].J Cell Mol Med,2020,24(18):10935-10945.
- [18]Li MH,Chen QQ,Zhang L,et al.Association of cytokines with hepatitis B virus and its antigen [J].Journal of Medical Virology,2020,92(12):1322-1457.
- [19]Gao PA,Luo YB,Chen LC,et al.The effect of hepatitis B virus on T lymphocyte and its subsets in chronic hepatitis B patients in different ALT stages: A new concept ALT in HBV infection - ScienceDirect [J].International Immunopharmacology,2021,10(1):108182.

收稿日期:2023-04-25;修回日期:2023-05-08

编辑/成森