

342-345

6

R512.62

IFN- α 治疗慢性乙肝抗病毒疗效与细胞因子变化关系分析*

何生松, 李淑莉, 熊莉娟, 刘薇, 曾令兰

(同济医科大学附属协和医院传染科, 武汉 430022)

摘要:观察慢性乙型病毒性肝炎(CHB)患者(25例)经 α -干扰素(IFN- α)抗病毒治疗前后血清中细胞因子和受体水平的变化与乙肝病毒消长之间的关系。收集治疗前后血清标本ELISA法同步检测,根据治疗后乙肝病毒复制指标(HBV-DNA)阴转分应答组(10例)与无应答组(15例)进行统计学分析。治疗后两组血清中IL-6水平下降,尤其应答组下降明显;治疗后应答组IL-2水平明显升高($P < 0.01$),sIL-2R水平则明显下降;但治疗后两组TNF- α 均较治疗前下降,相反IL-8水平升高接近正常人水平;CHB患者体内存在免疫功能的失调,通过IFN- α 免疫调节(IL-6、IL-2、sIL-2R)对病毒复制影响具有重要作用。但TNF- α 和IL-8表达与病毒复制消长无相关关系。

关键词:慢性乙型病毒性肝炎;白细胞介素;肿瘤坏死因子- α ; α -干扰素

中图分类号:R512.62 **文献标识码:**A **文章编号:**1003-5125(2000)04-0342-04

IFN- α 除了本身具有抗乙肝病毒作用外,作为一种细胞因子还具有重要的免疫调节作用,就其对治疗CHB患者体内细胞因子变化与病毒消长关系目前仍不清楚,为此进行了这方面的探讨,现将研究结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 研究对象

25例均为1997年6月-1999年4月我科经IFN- α 治疗的CHB患者,其中经住院治疗20例,门诊治疗5例。男21例,女4例;年龄19-46岁,平均年龄33.6岁。均有乙肝病史,病程2-12年,均有反复肝功能不良病史(ALT升高,部分曾有轻度黄疸),乙肝病毒复制指标阳性(HBsAg⁺, HBeAg⁺, 抗-HBc⁺, HBV⁺ DNA⁺)。以上病例均按1995年北京全国病毒性肝炎会议修订标准进行,其中诊断为慢性轻度(慢迁肝)20例,慢性中度(慢活肝)5例。所有选择治疗病例血清胆红素水平正常或者接近正常,血清ALT水平200 u/L以下,并排除其他肝炎病毒重叠感染,近期3个月内未进行其他抗病毒药物治疗。以上病例选用IFN- α 3-5 \cdot 10⁶ IU(IFN- α 1b,批号970308,980514,深圳科兴公司提供),每日肌肉注射,连接4周,后改为隔日1次,持续12-24周。所有病例治疗前和治疗后收集血清标本-20 ^\circ C保存备用,同时部分血清留做乙肝病原学检查。根据乙肝病毒复制指标阴转(HBeAg⁻, HBV⁻, DNA⁻)情况分为有效组与无效组。25例中HBV-DNA和HBeAg同时阴转9例,单纯HBV-DNA阴转1例,有效组以HBV-DNA阴转计算。

1.2 检测方法

所有病例治疗前后均通过血清免疫学和PCR法检测血清乙肝病毒指标,抗乙肝免疫ELISA试剂由深圳

收稿日期:2000-01-28,修回日期:2000-06-12

* 基金项目:本课题得到教育部回国人员科研启动基金[教外司,留学生1997(436)]和深圳科兴公司资助

作者简介:何生松(1955年-),男,湖北沙市,副教授,医学博士,主要从事病毒性肝炎、肝硬化发病机理及防治研究。

月亮湾生物有限公司提供,PCR试剂由上海复兴生物有限公司提供。治疗前后血清标本同步检测 IL-2、sIL-2R、IL-6、IL-8、TNF- α ,试剂由上海华都医学科技发展有限公司提供。实验方法严格按照试剂盒说明书实施。所有上述血清标本浓度通过酶标测定仪(Bio-RAD Model 550 日本生产)测定标准品,OD值为纵坐标,浓度为横坐标,绘出标准曲线,通过标本 OD 值测定计算出相应浓度。

2 结果

2.1 乙肝患者不论 IFN- α 应答组还是非应答组血清 IL-6 水平均较正常组高,但应答组明显高于非应答组,两组比较有较显著性差异。IL-2 血清水平应答组明显低于非应答组和正常组。但 sIL-2R 则相反,明显高于非应答组和正常组。血清 TNF- α 应答组则明显低于非应答组和正常组。IL-8 水平无论应答组还是非应答组均较正常组低。结果见表 1。

表 1 IFN- α 治疗前慢性乙肝应答组、非应答组与正常组血清细胞因子变化关系 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

Table 1 Changes of interleukin and receptor in serum of response, unresponse group with CBH and normal group before IFN- α treatment (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

	应答组 Response group	非应答组 Unresponse group	正常组 Normal group
IL-6	250.72 \pm 59.57 ^{△/△}	180.06 \pm 25.00 [△]	152.47 \pm 21.89
IL-2	160.31 \pm 50.56	297.07 \pm 43.21 ^{△/△}	194.28 \pm 43.98
sIL-2R	250.72 \pm 59.97 ^{△/△}	180.06 \pm 25.00 ^{△/△}	152.47 \pm 21.89
TNF- α	52.64 \pm 19.33 [△]	117.18 \pm 17.55 [*]	105.89 \pm 16.15
IL-8	375.46 \pm 61.89 [△]	412.03 \pm 83.90 [△]	664.81 \pm 77.37

[△]与正常组比较 P<0.01 ^{*}应答与非应答组比较 P<0.01

2.2 经 IFN- α 治疗后应答组血清 IL-6 水平明显下降,前后比较有较显著性差异。非应答组则略有上升,但两组比较无显著性差异。IL-2 水平应答组经治疗后则明显升高,非应答组则下降。sIL-2R 水平应答组治疗后较治疗前下降明显,前后比较有显著性差异。非应答组则略有升高,但无差异性。经 α -IFN 治疗后血清 TNF- α 水平无论是应答组还是非应答组均下降,尤其是无效应答组下降明显,IL-8 水平经治疗后两组均明显上升接近正常水平。结果见表 2。

表 2 IFN- α 治疗前后应答组与非应答组血清细胞因子及受体变化关系 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

Table 1 Changes of interleukin and receptor in serum of response, unresponse group with CBH before and after IFN- α treatment (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

	有效组 Response group		无效组 Unresponse group	
	治疗前 BT	治疗后 AT	治疗前 BT	治疗后 AT
IL-6	250.72 \pm 59.57 [△]	194.02 \pm 46.00	180.06 \pm 25.00	198.18 \pm 28.55
IL-2	160.31 \pm 50.56 [△]	388.71 \pm 69.37	297.07 \pm 43.21 [△]	158.17 \pm 35.26 [*]
sIL-2R	250.72 \pm 59.97 [△]	194.02 \pm 46.01	180.06 \pm 25.00	198.18 \pm 28.55
TNF- α	52.64 \pm 19.33	33.31 \pm 8.17	117.18 \pm 17.55 [△]	39.97 \pm 5.97
IL-8	375.46 \pm 61.89 [△]	579.22 \pm 106	412.03 \pm 83.90 [△]	685.18 \pm 100.23

[△]治疗前后比较 P<0.01 ^{*}治疗后有效与无效比较 P<0.01

BT(before IFN- α treatment) AT(after IFN- α treatment)

3 讨论

IL-6、IL-2、IL-8、TNF- α 主要由活化的 T 细胞、单核巨噬细胞、NK 细胞、成纤维细胞及内

皮细胞等产生,具有多种生物学功能的细胞因子。有关他们在病毒性肝炎发病机理中的作用尚未完全清楚,有资料表明 CHB 患者 IL-6、IL-8、TNF- α 的表达增强,而且与肝损的炎症程度密切相关^[1]。并发现某些细胞因子与病毒复制有相关性,如发现 IL-6、TNF- α 表达在 CHB 患者不论是血清中还是在周围血单核细胞培养上清液中 HBV-DNA(+)组明显高于 HBV-DNA(-)组^[2,3,4]。

我们结果表明 CHB 患者经 IFN- α 治疗后其有效应答组在治疗前血清 IL-6 水平明显高于无效应答组,两组之间比较有显著差异。还发现经 IFN- α 治疗后 HBV 复制阴转组 IL-6 水平明显下降,提示与病毒复制有相关性。这可能与 IL-6 含有 HBV-Pre-S1AA41-47 肽的识别部位,IFN- α 影响调节病毒与靶细胞间相互作用有关^[5]。CHB 患者血清中 TNF- α 水平与正常人组比较无显著差异,这与王新等人报告相似^[1],这可能与我们的治疗病例多为慢性迁延型有关。但有意义的是经 IFN- α 治疗后的 CHB 病人不论是有效应答组还是无效应答组血清 TNF- α 水平均较治疗前明显下降。提示外源性 IFN- α 对 CHB 体内 TNF- α 表达有抑制作用,呈负调节,但与可溶性 TNF 受体(sTNFRc)表达无关^[6],与病毒消长亦无相关性。这与他人报告 7 例经 IFN- α 治疗慢性乙肝病例,4 例病毒复制阴转后血清 TNF- α 水平增高不一致^[7],有待进一步澄清。

IL-8 是一种低分子蛋白质,是主要的白细胞趋化因子,具有激活中性粒细胞作用,属典型炎症介质。他人发现 CHB 患者血清中 IL-8 水平增高^[1],但我们的调查结果则相反,较正常组为低,有意义的是经 IFN- α 治疗后无论是应答组还是非应答组血清 IL-8 水平明显升高,但两组之间比较无差异性。其机理尚不清楚,可能是 IFN- α 激活免疫细胞,促进炎症反应,有利病毒清除,但与病毒复制及消长无相关性。

已报导 CHB 病人血清 IL-2 表达下降,体内外实验证实 IL-2 有明显抑制 HBV 复制作用^[8,9]。我们的结果观察到 IFN- α 有效应答组治疗前血清 IL-2 水平较正常组低,经 IFN- α 治疗后的有效应答组 IL-2 水平升高。IL-2 生物学活性是通过特异性受体介导的,sIL-2R 有竞争性抑制作用。有意义的是发现 sIL-2R 在应答组治疗前明显高于非应答组和正常组,与他人结果相似^[10,11]。但经 IFN- α 治疗后应答组 sIL-2R 水平则明显降低,无效应答组则相反。关于作用机理尚不清楚,推测可能与 IFN- α 有效抑制病毒复制后,病毒抗原在靶细胞膜上表达减少或者消失,从而导致血清中 sIL-2R 表达减少,从而提高 IL-2 水平,增强抑制病毒复制作用。

上述研究表明慢性乙肝患者存在免疫调节功能紊乱,IFN- α 除本身具有抗病毒作用外,通过免疫调节抑制病毒复制也具有非常重要意义,IL-6、IL-2 和 sIL-2R 表达作用与病毒复制有较好的相关性。

参 考 文 献

- [1] 王新,许才斌,赵国宇,等. TNF- α 、IL-6 和 IL-8 与慢性肝病的关系[J]. 中华传染病杂志, 1997, 15(2): 85-88
- [2] 张燕,印建. 白细胞介素-6 与病毒性肝炎的关系[J]. 中西医结合肝病杂志, 1999, 9(3): 3-5
- [3] 任红,张定凤,贾小平等. 病毒性肝炎肿瘤坏死因子和白细胞介素-6 的改变[J]. 中华内科杂志, 1992, 31(6): 344-346
- [4] Yoshioka K, Kakumu S, Arsom M, *et al.* Tumor necrosis factor production by peripheral blood mononuclear cells of patients with chronic liver disease [J]. Hepatology, 1989, 10: 769
- [5] Neurath AR. Search for hepatitis B virus cell receptors reveals binding sites for interleukin 6 on the virus envelope protein

- [J]. *J Exp Med*, 1992, 175:461
- [6] 何生松, 黄华芳. 慢性乙型肝炎患者血清肿瘤坏死因子受体检测及与干扰素治疗的关系[J]. 中西医结合肝病杂志, 1997, 7(1): 5-7
- [7] Danieels HM, Meager A, Eddleston AL, *et al*. Spontaneous production of necrosis factor alpha treatment of chronic HBV infection [J]. *Lancet*, 1990, Apr 14. 335(8694): 875
- [8] 戚军, 杨守纯主编. 现代肝炎病毒分子生物学[M]. 北京: 人民军医出版社, 1995
- [9] 王长嘉, 路洪艳, 房长茂, 等. 白细胞介素-2 穴位注射治疗乙肝的观察[J]. 临床肝胆病杂志, 1998, 14(2): 121
- [10] 叶红军, 富宁, 陈致诚, 等. 慢性乙型肝炎、肝硬化病人可溶性白细胞介素-2 受体及其活性观察[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 1993, 7(3): 277
- [11] 朱瑞龙, 沈健伟, 陈士葆, 等. 血清可溶性白细胞介素 2 受体测定在病毒性肝炎中的意义[J]. 中华传染病杂志, 1995, 13(3): 156-158

A Study on the Relation between Changes of Interleukin and Receptor in Serum in Patients with Chronic Hepatitis B and Action of Treatment with IFN- α

HE Sheng-song, LI Shu-li, XIONG Li-juan, *et al*.

(*Department of Infectious Disease, Union Hospital, Tongji Medical University, Wuhan 430022, China*)

Abstract: Objective To study the relationship between the changes of Interleukin and Receptor in serum of patients with chronic hepatitis B (CHB) before and after Interferon- α (IFN- α) treatment and expression of HBV marker. Methods; Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) were performed in 25 patients with CHB to determine levels of IL-6, IL-2, TNF- α , IL-8, sIL-2R in serum. Results: Our data showed that the IL-6 level in response group after IFN- α treatment was significantly lower than that before ($P < 0.05$). The level of IL-2 in unresponse group after IFN- α treatment was significantly decreased, but the level in response group was significantly increased ($P < 0.01$), but the serum sIL-2R level in patients with response was significantly decreased ($P < 0.01$). The TNF- α level in both response and unresponse group after IFN- α treatment was significantly decreased ($P < 0.01$), but the serum IL-8 level was increased. Conclusion

The results suggest that HBV replication in patients with CHB could be also affected by immunoregulation of IFN- α for IL-6, IL-2, sIL-2R, but HBV replication could be not affected by TNF- α and IL-8 levels in serum.

Key words: Chronic Hepatitis B; Interleukin(IL); Tumor necrosis factor- α (TNF- α); Interferon- α (IFN- α)