

慢性乙型肝炎患者外周血 IL-37 的表达水平及意义*

黄太宏, 徐学静, 胡伟, 王森 (南京大学医学院附属鼓楼医院检验科, 南京 210008)

摘要:目的 研究慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者外周血血清中白细胞介素-37(IL-37)的表达水平,并探讨 IL-37 在 CHB 中的作用及意义。方法 通过 ELISA 检测 35 例 CHB 患者及 35 例健康对照者血清中 IL-37 的含量;全自动生化仪及化学发光仪检测 CHB 患者血清中 ALT, AST, HBsAg, HBeAg 的含量,定量 PCR 及 ELISA 方法检测 CHB 患者血清中 HBV DNA 载量及细胞因子 TNF- α , IL-10 的表达水平,并分析 IL-37 含量分别与 ALT, AST, HBsAg, HBeAg, HBV DNA, TNF- α 及 IL-10 之间的相关性。结果 CHB 患者组血清中 IL-37 的表达水平 437.5 ± 152.7 pg/ml, 高于对照组 (63.0 ± 2.1 pg/ml), 两组之间差异具有统计学意义 ($t=2.45$, $P=0.017$)。Pearson 相关性分析显示, IL-37 的水平与 ALT, HBsAg, HBeAg, HBV DNA, TNF- α 的水平不相关, 而与 IL-10 ($r=0.433$, $P=0.035$) 的含量呈正相关。结论 CHB 患者血清中 IL-37 的水平高于健康对照, IL-37 可能在肝损伤及乙肝慢性化形成中发挥重要作用。

关键词:慢性乙型肝炎;白细胞介素-37;炎症因子

中图分类号:R512.62;R392.11 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2017)06-026-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2017.06.007

Expression and Clinical Significance of Blood IL-37 in Patients with Chronic HBV

HUANG Tai-hong, XU Xue-jing, HU Wei, WANG Sen (Department of Clinical Laboratory, Nanjing Drum Tower Hospital Affiliated to Nanjing University Medicine School, Nanjing 210008, China)

Abstract: Objective To study the expression levels of IL-37 in serum in chronic HBV (CHB) patients, and investigate their clinical significance in CHB patients. **Methods** The expression levels of IL-37 in serum from 35 CHB patients and 35 healthy controls were quantified by ELISA. This study also tested ALT, AST, HBsAg, HBeAg, HBV DNA, TNF- α and IL-10 in the serum of CHB patients, and also analyzed the relationship between the levels of IL-37 and ALT, AST, HBsAg, HBeAg, HBV DNA, TNF- α , IL-10 levels. **Results** The expression levels of IL-37 was increased in CHB patients 437.5 ± 152.7 pg/ml compared to healthy donors (63.0 ± 2.1 pg/ml). The difference between the two groups was statistically significant ($t=2.45$, $P=0.017$). The levels of IL-37 was found to correlate with IL-10 ($r=0.433$, $P=0.035$) but not ALT, HBsAg, HBeAg, HBV DNA and TNF- α . **Conclusion** This study reveals the levels of IL-37 in CHB patients was higher than healthy controls, and IL-37 may play an important role in liver damage and HBV chronic infection.

Keywords: chronic hepatitis B; IL-37; cytokines

乙型肝炎病毒感染严重危害人类健康,其危害主要体现在可以引起慢性感染并进一步发展为肝硬化和肝癌^[1,2]。乙型肝炎病毒感染引起慢性感染的具体机制仍不明确,但一般认为乙型肝炎的慢性化与天然免疫系统及适应性系统的紊乱有关^[3]。细胞因子是天然免疫和适应性免疫系统的重要组成部分,在慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)的发病过程中具有重要的作用。IL-37 是一种新型的炎症抑制因子,可通过抑制炎症细胞因子及趋化因子的产生参与免疫和炎症反应^[4],在慢性感染的形成中发挥重要作用,但目前 IL-37 在 CHB 患者中的表达及意义还鲜有研究。本研究通过检测 CHB 患者血清中 IL-37 的表达水平,分析 IL-37 与 CHB 患者临床指标及细胞因子的关系,研究并探

讨 IL-37 在乙肝慢性化中的作用及临床意义。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集 2017 年 5~7 月就诊于南京大学医学院附属鼓楼医院感染科门诊及住院的 CHB 患者 35 例,其中男性 25 例,女性 10 例,平均年龄 38.4 岁,患者诊断均符合《2015 年版慢性乙型肝炎防治指南》^[5],排除其他嗜肝病毒重叠感染,无药物性肝损害、酒精性肝损害、脂肪肝等其他肝病,无肿瘤、糖尿病、自身免疫性疾病、严重器质性疾病等。健康志愿者 35 例,其中男性 24 例,女性 11 例,平均年龄 36.8 岁,患者组与对照组之间性别及年龄差异无统计学意义。

1.2 试剂及仪器 IL-37 ELISA 试剂盒(美国 R&D 公司), TNF- α , IL-10 ELISA 试剂盒(美国

* 基金项目:国家自然科学基金青年基金资助(81601765)。

作者简介:黄太宏(1989—),男,学士,检验技师,主要从事免疫学研究, E-mail:1262117241@qq.com。

通讯作者:王森,男,博士,主管技师,主要从事免疫学及病毒学研究, E-mail:slzw1985@163.com。

BD公司),HBV核酸定量检测试剂(中国艾康生物公司),定量PCR仪(美国Agilent公司),化学发光仪(美国Abbott公司),全自动生化仪(德国Beckman公司),酶标仪(美国Bio-Rad公司)。

1.3 方法

1.3.1 标本采集:CHB患者与健康对照者分别在清晨空腹抽取5 ml静脉血装于含有分离胶和促凝剂的采血管中,放置30 min后3 500 r/min离心10 min,取上清后分装-80℃冻存,待标本收集完成后统一进行检测。

1.3.2 ELISA检测血清中IL-37, TNF- α , IL-10水平:使用包被缓冲液按1:250的比例稀释包被抗体,计算所需孔数,在包被板中每孔加入100 μ l包被液,4℃孵育过夜。甩掉包被液,每孔加入300 μ l PBST洗涤3次,每孔加入200 μ l样本稀释液,室温封闭1 h。准备待测样本及标准品,按说明书溶解及稀释标准品。甩掉封闭液,洗涤3次后每孔添加100 μ l样本、标准品及阴性对照,封板并室温孵育2 h。洗涤5次后每孔加入100 μ l的含发现抗体及HRP的工作液,室温孵育1 h。甩去工作液,洗涤7次后,每孔加入100 μ l显色液,室温避光孵育15 min,观察显色情况,每孔加入100 μ l终止液。放入酶标仪,使用波长450 nm读取A值。使用标准品制作标准曲线并计算每个样本浓度。

1.4 统计学分析 计量资料用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,患者组与对照组之间差异比较用Student's *t*检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。IL-37与临床指标及细胞因子相关性使用Pearson相关性分析。统计学分析及作图使用GraphPad Prism5软件完成。

2 结果

2.1 CHB患者组与健康对照组血清IL-37的表达水平 本研究使用ELISA的方法分别检测了CHB患者组及对照组血清中细胞因子IL-37的含量。实验结果表明,CHB患者组血清中IL-37的表达水平为 437.5 ± 152.7 pg/ml,对照组血清中IL-37的表达水平为 63.0 ± 2.1 pg/ml,CHB患者组血清IL-37的水平高于对照组,两组之间差异具有统计学意义($t = 2.45$, $P = 0.017$)。

2.2 CHB患者IL-37表达水平与HBsAg, HBeAg, HBV DNA, ALT, AST, TNF- α , IL-10水平的相关性分析 本研究同时检测了CHB患者血清中HBsAg, HBeAg, HBV DNA, ALT, AST, TNF- α , IL-10的水平,并分析与IL-37含量之间的相关性。结果表明,血清中IL-37的表达水平与ALT的含量($r = 0.406$, $P = 0.019$),IL-10的水平($r = 0.433$, $P = 0.035$)之间有相关性,而与HB-

sAg, HBeAg, HBV DNA, AST, TNF- α 的水平之间无相关性($t = 0.158, 0.037, -0.084, 0.162, 0.176$; $P = 0.372, 0.837, 0.677, 0.367, 0.312$, P 值均 < 0.05)。

3 讨论 乙型肝炎病毒是一种在全世界范围内广泛流行的病原体,严重危害着人类的健康。IL-37是近年来发现的一种具有炎症抑制作用的细胞因子,但其在CHB患者中的表达和作用仍不清楚。本研究检测了CHB患者与健康对照者血清中IL-37的水平,发现与健康对照相比,IL-37的水平升高,IL-37的水平与患者的HBsAg, HBeAg, HBV DNA, AST, TNF- α 水平无相关性,但与ALT及IL-10的水平相关。

IL-37属于IL-1家族,可在人类多种细胞中表达,主要表达于中性粒细胞、淋巴细胞、巨噬细胞、单核细胞、组织上皮细胞和树突状细胞^[6]。与经典的炎性细胞因子IL-1 β 不同,IL-37是固有免疫反应的天然抑制因子,其抗炎作用在体内和体外实验中均已被证实^[7]。目前的研究已发现IL-37在系统性红斑狼疮、炎症性肠炎、急性冠脉综合征等多种疾病中发挥免疫抑制作用^[8,9]。

本研究发现,与健康对照相比,CHB患者血清中IL-37的含量升高。为了研究血清中IL-37的升高是否与HBV相关,本研究检测了HBV的病毒学指标HBsAg, HBeAg及HBV病毒载量并分析与IL-37的相关性,发现IL-37与HBsAg, HBeAg及HBV DNA无明显的相关性,这提示CHB患者中IL-37的升高可能由其他的机制所致。本研究同时还分析了IL-37的含量与ALT及AST含量间的关系,结果表明血清中IL-37的含量与ALT的含量呈正相关,这与Li^[10]等的研究相符,提示IL-37的血清浓度与患者的肝脏损伤有关。本研究同时还检测了血清中TNF- α 及IL-10的含量,TNF- α 属于经典的促炎性细胞因子,IL-10属于经典的抑炎因子。IL-10在介导HBV及HIV的免疫耐受中发挥极为重要的作用,TNF- α 与IL-10也可通过促进浆样树突状细胞的凋亡抑制IFN- α 的产生,在乙肝慢性化中发挥重要作用^[11]。本研究中,CHB患者中IL-37的含量与IL-10的含量有相关性,表明IL-37在CHB患者中可能与IL-10的调控及作用一致,提示IL-37可能在抑制机体免疫系统促进和维持乙肝慢性化中发挥重要作用。本研究由于纳入的病人数量有限,检测的细胞因子有限等,还存在一些不足,下一步的研究将进一步确定IL-37在CHB病人中升高的机制及作用。

综上所述,本研究发现CHB患者血清中IL-37的含量相对健康对照升高, (下转31页)

(上接 27 页)IL-37 的水平与 ALT,IL-10 的水平相关。这些结果提示 IL-37 可能在肝损伤及乙肝慢性化形成中发挥重要作用。本研究进一步加深了对乙肝慢性化机制的认识,并为寻找新的 CHB 治疗靶点及治疗药物提供理论及实验依据。

参考文献:

- [1] 王 森,黄太宏,高 硕,等. 系统性红斑狼疮患者乙型肝炎病毒感染的分析研究[J]. 现代检验医学杂志, 2016,31(1):41-43.
Wang S, Huang TH, Gao S, et al. Prevalence of hepatitis B virus infection in systemic lupus erythematosus patients[J]. J Mod Lab Med, 2016, 31(1): 41-43.
- [2] Trepo C, Chan HL, Lok A. Hepatitis B virus infection [J]. Lancet, 2014, 384(9959): 2053-2063.
- [3] Wang L, Wang K, Zou ZQ. Crosstalk between innate and adaptive immunity in hepatitis B virus infection [J]. World J Hepatol, 2015, 7(30): 2980-2991.
- [4] Boraschi D, Lucchesi D, Hainzl S, et al. IL-37: a new anti-inflammatory cytokine of the IL-1 family[J]. Eur Cytokine Netw, 2011, 22(3): 127-147.
- [5] 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2015 年版)[J]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2015, 9(5): 570-589.
Chinese Society of Hepatology, and Chinese Society of Infectious Diseases Chinese Medical Association. The guideline of prevention and treatment for chronic hepatitis B; 2015 update[J]. Chinese Journal of Experimental and Clinical Infectious Diseases (Electronic

Version), 2015, 9(5): 570-589.

- [6] 任翠平, 高闻达, 沈际佳. IL-37 免疫学作用研究进展 [J]. 国际医学寄生虫病杂志, 2014, 41(1): 41-43.
Ren CP, Gao WD, Shen JJ. Research progress on the immunological functions of IL-37 [J]. International Journal of Medical Parasitic Diseases, 2014, 41(1): 41-43.
- [7] Dinarello CA, Nold-Petry C, Nold M, et al. Suppression of innate inflammation and immunity by interleukin-37[J]. Eur J Immunol, 2016, 46(5): 1067-1081.
- [8] 张 燕, 熊 霞. IL-37 及其与疾病相关性的研究进展 [J]. 基础医学与临床, 2015, 35(4): 549-553.
Zhang Y, Xiong X. Research progress on IL-37 and the correlation with diseases [J]. Basic & Clinical Medicine, 2015, 35(4): 549-553.
- [9] 李腾达, 陈 燕, 龙曙萍, 等. 原发性胆汁性肝硬化患者外周血单个核细胞中 IL-37 表达增高及临床意义 [J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(1): 12-15.
Li TD, Chen Y, Long SP, et al. Increasing expression of IL-37 in peripheral blood mononuclear cell of patients with primary biliary cirrhosis and its clinical significance [J]. J Mod Lab Med, 2017, 32(1): 12-15.
- [10] Li C, Ji H, Cai Y, et al. Serum interleukin-37 concentrations and HBeAg seroconversion in chronic HBV patients during telbivudine treatment [J]. J Interferon Cytokine Res, 2013, 33(10): 612-618.
- [11] Shi B, Ren G, Hu Y, et al. HBsAg inhibits IFN-alpha production in plasmacytoid dendritic cells through TNF-alpha and IL-10 induction in monocytes [J]. PLoS One, 2012, 7(9): e44900.

收稿日期: 2017-08-09

修回日期: 2017-08-30