

# 血清TGF- $\beta$ 、IL-17水平 与乙型肝炎纤维化进展关系的研究

余敏(胜利油田胜利石油管理局胜利医院 传染科, 山东 东营 257055)

**摘要:** 目的 探讨乙型肝炎患者外周血清中TGF- $\beta$ 、IL-17的表达与乙型肝炎病变进展的关系。方法 收集2010年6月至2012年12月本院感染科确诊为乙型病毒性肝炎且同期进行肝组织活检病例89例, 同时采集外周血利用ELISA进行TGF- $\beta$ 、IL-17检测对比分析炎症活动度、纤维化程度与TGF- $\beta$ 、IL-17表达水平间的关系。结果 TGF- $\beta$ 、IL-17在不同炎症活动度的血清水平经Bonferroni法组间比较, 差异有统计学意义( $P = 0.010$ 、 $0.001$ ); Spearman等级相关分析结果显示两者血清水平与不同炎症分级间均存在正相关( $r = 0.517$ ,  $P = 0.004$ ;  $r = 0.747$ ,  $P = 0.002$ )。经Bonferroni法两两比较, TGF- $\beta$ 、IL-17在不同纤维化程度组别间血清值差异有统计学意义( $P = 0.030$ 、 $0.004$ ); Spearman等级相关分析结果显示TGF- $\beta$ 与不同纤维化程度呈正相关( $r = 0.677$ ,  $P = 0.010$ )。本组慢性乙型病毒性肝炎患者外周血清TGF- $\beta$ 、IL-17的表达存在明显的相关性( $r = 0.683$ ,  $P = 0.010$ )。结论 乙型肝炎患者外周血中TGF- $\beta$ 、IL-17表达升高, 共同参与炎症活动度反应和纤维化, TGF- $\beta$ 在肝纤维化中发挥重要作用。

**关键词:** TGF- $\beta$ ; 白细胞介素17; 炎症; 纤维化; 乙型病毒性肝炎

## Effect of relationship between serum level of TGF- $\beta$ , IL-17 and hepatitis B fibrosis progression

YU Min (Department of Infectious Diseases, Hospital of Shengli Oil of Shengli Petroleum Management Bureau, Dongying City 257055, China)

**Abstract: Objective** To explore the relationship between the expression of TGF- $\beta$ , IL-17 in serum and hepatitis B disease progression. **Methods** We used ELISA method to detect the serum level of TGF- $\beta$ , IL-17 in epatient, which were choosed from our hospital from 2010 June to 2012 December and were diagosised hepatitis B by the liver tissue pathology biopsy, then to analysis the relationship of between inflammatory activity, fibrosis degree and TGF- $\beta$  IL-17 level. **Results** The TGF- $\beta$ , IL-17 serum levels have significant difference among different degree of inflammatory activity, being analysed by Bonferroni method ( $P < 0.05$ ). There are positive correlation between the serum levels and grade of inflammation by Sypearman rank correlation analysis ( $r = 0.517$ ,  $P = 0.004$ ;  $r = 0.747$ ,  $P = 0.002$ ). The TGF- $\beta$ , IL-17 serum levels have significant difference among different degree of fibrosis group by Bonferroni methodhas ( $P < 0.05$ ). There are positive correlatioship between TGF- $\beta$  serum level and the different degree of fibrosis by Spearman rank correlation analysis ( $r = 0.677$ ,  $P = 0.010$ ). There are significant correlationship between the serum expression of IL-17 and TGF- $\beta$  in chronic hepatitis B patients ( $r = 0.683$ ,  $P = 0.010$ ). **Conclusions** The high expression level of TGF- $\beta$  IL-17 in peripheral blood in patients with hepatitis B participate in the activity of inflammation reaction and fibrosis, TGF- $\beta$  play an important role in liver fibrosis.

**Key words:** TGF-beta; IL-17; Inflammation; Fibrosis; Hepatitis B

乙型病毒性肝炎导致慢性炎症持续存在, 反复发作, 激活肝星状细胞, 同时导致肝枯否细胞分泌多种细胞因子, 导致细胞外基质的大量合成和沉

积, 同时上皮细胞表型改变, 失去极性, 转换为具有侵袭能力的间充质细胞, 造成了肝组织纤维化, 最后发展为肝硬变。TGF- $\beta$ 在多种病因诱导的组织纤维化中发挥主要作用; IL-17是Th17细胞亚群的

标志性细胞因子，主要由CD4<sup>+</sup> T细胞表达，此外， $\gamma\delta$ T细胞、NK细胞及中性粒细胞等也表达IL-17，在诱导炎症细胞浸润和激活等方面发挥作用，而两者在外周血的表达与肝硬化的关系的研究未见报道。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2010年6月至2012年12月本院感染科确诊为乙型病毒性肝炎并同期进行肝组织病理学检查的病例共89例，排除合并其他疾病如其他病毒性肝炎、失代偿期肝硬化、酒精性肝病、脂肪肝、自身免疫性肝炎、原发性胆汁性肝硬化、肝癌，合并严重的心、脑、肺、肾等脏器实质性病变。

1.2 方法 IL-17和TGF- $\beta$ 试剂购自上海西唐生物科技有限公司，分别采集每位患者血液标本5 ml，标本于室温下静置30分钟，待血液自然凝固，3000 r/min离心30分钟后保留血清待检测。血清IL-17和TGF- $\beta$ 浓度均采用ELISA法进行测定

1.3 统计学处理 应用SPSS 17.0统计软件进行数据分析，组间比较采用Bonferroni法，采用Spearman等级相关分析法判断肝细胞促纤维化细胞因子与肝脏病理学分之间的相关性， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TGF- $\beta$ 在不同炎症程度及纤维化程度患者血清的表达 TGF- $\beta$ 水平在乙型肝炎患者中的水平明显高于参考值（10.44 ng/L），并随炎症程度加重存在上升趋势；经Bonferroni法两两比较各组间表达水平，差异有统计学意义（ $P = 0.010$ ）；Spearman等级相关分析结果显示，血清水平与炎症分级间呈正相关（ $r = 0.517$ ， $P = 0.004$ ）；随纤维化程度加重亦存在上升趋势；经Bonferroni法两两比较各组间表达水平，差异有统计学意义（ $P = 0.030$ ）；与不同纤维化程度存在明显相关（ $r = 0.677$ ， $P = 0.010$ ），见表1、2。

2.2 IL-17在不同炎症程度及纤维化程度患者血清的表达 IL-17表达水平明显高于试剂公司提供的参考值（18.34 ng/L）；IL-17水平随炎症灰度加重存在上升趋势；经Bonferroni法两两比较，各组间差异

表 1 血清TGF- $\beta$ 表达水平与炎症活动度关系的比较

炎症活动度	例数	TGF- $\beta$ (ng/L, $\bar{x} \pm s$ )
G <sub>0</sub>	16	98.44 $\pm$ 4.03
G <sub>1</sub>	27	123.44 $\pm$ 6.07 <sup>a</sup>
G <sub>2</sub>	25	138.73 $\pm$ 7.55 <sup>a</sup>
G <sub>3</sub>	15	158.26 $\pm$ 7.93 <sup>a</sup>
G <sub>4</sub>	6	179.46 $\pm$ 9.84 <sup>a</sup>

注：<sup>a</sup>与G<sub>0</sub>组比较， $P < 0.05$

表 2 血清TGF- $\beta$ 表达水平与纤维化程度关系的比较

纤维化程度	例数	TGF- $\beta$ (ng/L, $\bar{x} \pm s$ )
S <sub>0</sub>	14	76.56 $\pm$ 3.35
S <sub>1</sub>	28	122.46 $\pm$ 4.09 <sup>a</sup>
S <sub>2</sub>	27	139.73 $\pm$ 8.15 <sup>a</sup>
S <sub>3</sub>	16	160.54 $\pm$ 9.03 <sup>a</sup>
S <sub>4</sub>	4	184.45 $\pm$ 9.94 <sup>a</sup>

注：<sup>a</sup>与S<sub>0</sub>组比较， $P < 0.05$

有统计学意义（ $P = 0.001$ ）；Spearman等级相关分析结果显示血清水平与不同炎症分级间呈正相关（ $r = 0.747$ ， $P = 0.002$ ），IL-17水平随纤维化程度加重亦存在上升趋势；经Bonferroni法两两比较，各组间差异有统计学意义（ $P = 0.004$ ）。Spearman等级相关分析结果显示血清水平与纤维化程度间无明显正相关（ $r = 0.231$ ， $P = 0.083$ ），见表3、4。

表 3 IL-17在不同炎症程度患者血清的表达

炎症活动度	例数	IL-17 (ng/L, $\bar{x} \pm s$ )
G <sub>0</sub>	16	83.34 $\pm$ 4.55
G <sub>1</sub>	27	113.45 $\pm$ 5.08 <sup>a</sup>
G <sub>2</sub>	25	138.66 $\pm$ 6.85 <sup>a</sup>
G <sub>3</sub>	15	159.28 $\pm$ 7.88 <sup>a</sup>
G <sub>4</sub>	6	178.24 $\pm$ 8.84 <sup>a</sup>

注：<sup>a</sup>与G<sub>0</sub>组比较， $P < 0.01$

表 4 IL-17在不同纤维化患者血清的表达比较

炎症活动度	例数	IL-17 (ng/L, $\bar{x} \pm s$ )
S <sub>0</sub>	14	78.34 $\pm$ 5.56
S <sub>1</sub>	28	93.35 $\pm$ 6.08 <sup>a</sup>
S <sub>2</sub>	27	128.64 $\pm$ 7.18 <sup>a</sup>
S <sub>3</sub>	16	149.28 $\pm$ 8.88 <sup>a</sup>
S <sub>4</sub>	4	178.25 $\pm$ 10.84 <sup>a</sup>

注：<sup>a</sup>与S<sub>0</sub>组比较， $P < 0.01$

2.3 患者外周血清TGF- $\beta$ 及IL-17的表达 慢性乙型病毒性肝炎患者外周血清TGF- $\beta$ 、IL-17的表达存在明

显的相关性 ( $r = 0.683$ ,  $P = 0.010$ )。

### 3 讨论

CHB是凋亡相关基因、肝炎病毒、自身免疫、细胞分子等多种因素参与的疾病过程,反复的炎症刺激激活肝星状细胞,炎性细胞的浸润和活化导致细胞外基质合成增加,同时蛋白降解酶减少<sup>[1,2]</sup>,肝脏的解剖结构和功能发生改变,局部纤维化,而近年来临床研究证实肝纤维化可以逆转,因此纤维化的早期诊断和其分子机制研究成为目前的热点和难点日益受到重视。

肝炎同时伴有多种炎性细胞浸润、激活并分泌细胞因子,肝纤维化的形成是多种细胞因子相互作用的结果,其中TGF- $\beta_1$ 是目前认为最重要的促纤维化细胞因子,在肝纤维化发生、发展过程中具有活化肝星状细胞,促进胶原基因表达,直接导致细胞外基质的合成与沉积增加,同时通过抑制纤溶酶原的激活抑制细胞外基质的降解;促进成纤维细胞趋化和转化、促进肝细胞凋亡等多种作用<sup>[3]</sup>。在实验中增加TGF- $\beta_1$ 的表达可显著影响肝纤维化的进展,相反如抑制TGF- $\beta_1$ 的合成或阻断TGF- $\beta_1$ 信号转导通路,可预防各种肝纤维化模型的形成<sup>[4]</sup>。有研究表明肝纤维化时肝星状细胞、枯否细胞和窦内皮细胞是产生TGF- $\beta_1$ 的主要细胞,主要表达在肝窦、汇管区等区域<sup>[5]</sup>。血清中TGF- $\beta_1$ 的改变规律未见报道。本研究中证实乙型肝炎患者血清中存在TGF- $\beta_1$ 的高水平表达,且随炎症程度加重明显升高,不同组别间存在明显差异,同时相关分析显示TGF- $\beta_1$ 血清水平与炎症程度密切相关;其血清水平在不同纤维化组别间亦存在显著差异。国内的类似研究也提示肝炎的纤维化与TGF- $\beta$ /smad信号途径的活化以及TGF- $\beta_1$ 的高水平表达相关<sup>[11,12]</sup>。因此,随着纤维化程度和炎症活动度的增加,局部炎症活动诱导趋化因子等作用产生的细胞因子进一步促进肝组织的炎症活动和纤维化进程,TGF- $\beta_1$ 的分泌与纤维化进展间可能存在正反馈机制,即肝纤维化程度增加导致TGF- $\beta_1$ 的分泌,而TGF- $\beta_1$ 分泌增加进一步加剧纤维化进程。但是有研究提示单纯血清TGF- $\beta_1$ 水平检测尚不足以准确判断肝纤维化程度,因此血清联合肝

穿组织活检TGF- $\beta_1$ 检测对疾病的判断可起到补充作用。

肝纤维化是肝脏损伤与慢性炎症进展的必然结果,任何病因所致的肝脏炎症均以淋巴细胞的浸润为特征,这些细胞与肝实质细胞或肝非实质细胞相互作用导致肝细胞破坏以及细胞外间质胶原的堆积,促进肝纤维化进程<sup>[6,7]</sup>。CD4<sup>+</sup> T淋巴细胞是最主要的肝脏免疫应答的调节细胞,主要包括Th1、Th2、Th17和调节性T淋巴细胞,其中Th17淋巴细胞的功能在肝纤维化形成过程发挥重要作用<sup>[8]</sup>。Th17通过分泌IL-17(包括IL-17A和IL-17F)、IL-12、IL-22、IL-26、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)等多种细胞因子参与固有免疫和某些炎症的发生,在免疫病理损伤尤其是在自身免疫疾病的发生和发展中起重要作用。IL-17是较强的促纤维化作用的细胞因子,作用机制主要包括:①IL-17刺激枯否细胞表达炎性细胞因子IL-6、IL-1 $\alpha$ 、TNF- $\alpha$ 和TGF- $\beta_1$ ;②IL-17可通过Stat3信号途径直接诱导肝星状细胞表达I型胶原,通过调节枯否细胞产生TGF- $\beta_1$ ,促进肝星状细胞的活化<sup>[9]</sup>。动物实验提示阻断IL-17可作为抗纤维化治疗的靶点,通过抑制效应性T淋巴细胞增殖和细胞因子的释放减轻炎症反应,具有控制肝炎与抗纤维化效应<sup>[10]</sup>。此外淋巴细胞分泌的IL-17可促进细胞外基质中骨桥蛋白的堆积和趋化因子的聚集,加剧纤维化进展已有报道证明<sup>[13,14]</sup>。但是IL-17在血液中的表达与纤维化的研究结论有分歧,促进和抑制的都有报道。本实验显示IL-17血清水平随肝炎炎症活动的加剧和纤维化程度的进展明显上升;经Bonferroni法两两比较不同炎症分级、不同纤维化程度各组间差别具有统计学意义( $P < 0.05$ );Spearman等级相关分析结果显示平均灰度与不同炎症分级呈正相关,与纤维化进展间无明显相关。说明尽管IL-17在肝纤维化及炎症进展中进程中发挥重要作用,但是肝炎的纤维化进程因子众多,其在某些阶段和某些病例中作用不明显。

统计学分析显示血清TGF- $\beta_1$ 与IL-17表达间存在明显的正相关,说明在促进肝组织炎症活动和纤

维化进程中发挥协同作用,可能通过共同的信号通路导致纤维化的发生,多途径、多渠道防治肝硬化是抗HBV感染的关键<sup>[15]</sup>,只有在早期诊断、早期干预、规范治疗等多个环节共同参与抑制肝硬化进程,才可能有效遏制该疾病的进展。

### 参考文献

- [1] Ismail MH, Pinzani M. Reversal of liver fibrosis[J]. Saudi J Gastroenterol, 2009,15:72-79.
- [2] 齐明华, 彭雁忠. 肝纤维化的细胞和分子机制研究进展[J]. 医学信息, 2011,9:4993-4994.
- [3] Thabut D, Shah V. Intrahepatic angiogenesis and sinusoidal remodeling in chronic liver disease: new targets for the treatment of portal hypertension[J]. J Hepatol, 2010,53:976-980.
- [4] 庞青, 田峰, 刘昌. 血小板与肝纤维化的关系[J]. 实用肝病杂志, 2011,14:315-317.
- [5] Lin J, Tang Y, Kang Q, et al. Curcumin eliminates the inhibitory effect of advanced glycation end-products (AGEs) on gene expression of AGE receptor-1 in hepatic stellate cells in vitro[J]. March, 2012,92:827-841.
- [6] Llorente-Cortes V, Barbarigo V, Badimon L. Low density lipoprotein receptor-related protein 1 modulates the proliferation and migration of human hepatic stellate cells[J]. J Cell Physiol, 2012,227:3528-3533.
- [7] Kuo JJ, Wang CY, Lee TF, et al. Paeoniae radix reduces PDGF-stimulated hepatic stellate cell migration[J]. Planta Med, 2012,78:341-348.
- [8] Murphy FR, Issa R, Zhou X, et al. Inhibition of apoptosis activated hepatic stellate cells by tissue inhibitor of metalloproteinase-1 is mediated via effects on matrix metalloproteinase inhibition: implications for reversibility of liver fibrosis[J]. J Biol Chem, 2012,277:11069-11076.
- [9] Sferra R, Vetusch A, Catitti V, et al. Boswellia serrata and Salvia miltiorrhiza extracts reduce DMN-induced hepatic fibrosis in mice by TGF-beta1 downregulation[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2012, 16:1484-1498.
- [10] Liu L, Li X, Chen L, et al. The effect of gypenosides on TGF-beta/Smad pathway in liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats[J]. Int J Integr Med, 2013,1:1-6.
- [11] 张泽高, 肖琳, 詹欣宇, 等. 维药小茴香抗肝纤维化作用及对TGF-beta/Smad信号转导通路的影响[J]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2014,6:32-37.
- [12] 南月敏, 张玉果, 孔令波, 等. 白细胞介素17基因多态性及血浆水平与慢性丙型肝炎病毒感染感染的关系[J]. 中华肝病杂志, 2013,21:425-428.
- [13] 崔光莹, 康垒, 陈佳宁, 等. 重型肝炎中骨桥蛋白与IL-17的表达及临床意义[J]. 中华检验医学杂志, 2012,35:141-144.
- [14] 罗雪雁, 阳学风. 趋化因子在肝纤维化中作用的研究进展[J]. 中国肝病杂志(电子版), 2014,2:94-96.
- [15] 科技部十二五重大专项联合课题组专家. 乙型肝炎病毒相关肝硬化的临床诊断、评估和抗病毒治疗的综合管理[J]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2014,2:72-82.

收稿日期: 2014-09-29

· 消息 ·

### 本刊网上采编系统使用通知

为了更好地服务于广大读者、作者及审稿专家,方便查询论文信息、投稿、询稿及审稿,提高杂志工作效率,《中国肝脏病杂志(电子版)》编辑部已开通期刊采编系统,并建设了门户网站。该采编系统在功能上可以实现作者在线投稿、在线查询稿件处理进展;编辑在线收稿、送审,在线编辑加工;审稿专家在线审稿;各种表格、数据的批量生成和保存等。请作者登陆编辑部网址:<http://zggbzz.j-ditan.com>,注册后进行在线投稿并查询稿件处理进度。敬请广大读者、投稿作者、审稿专家使用本系统,并向编辑部反馈意见,以不断对系统进行改进。如您在操作上碰到任何问题,请与编辑部联系(010-84322058)。感谢您对本刊的关注与支持!

本刊编辑部