

HBV感染者IL-12和IL-18表达与肝脏病理的相关性

汤磊, 彭蕾, 叶珺, 邹桂舟, 郇玉峰 (安徽医科大学第二附属医院 肝病科, 合肥 230601)

摘要: 目的 探讨HBV感染者肝组织中IL-12和IL-18的表达与炎症及纤维化分级间的相关性。方法 收集于安徽医科大学第二附属医院住院的175例HBV感染者的肝脏病理组织以及临床资料, 采用半定量SP免疫组织化学法检测肝组织中IL-12和IL-18的表达, 并采用Spearman相关分析探讨其与肝脏病理间的相关性。结果 IL-12和IL-18在肝组织中的表达部位以细胞质为主, 其在慢性乙型肝炎、乙型肝炎后肝硬化和乙型肝炎相关肝癌患者肝组织中的表达有显著差异 ($\chi^2 = 38.390$, $P < 0.001$; $\chi^2 = 21.051$, $P = 0.002$), 且与肝组织炎症及纤维化程度呈正相关 (r 值分别为0.179、0.165、0.241和0.132, P 值分别为0.032、0.026、0.042和0.019)。结论 IL-12和IL-18在HBV感染后的免疫发病机制中发挥重要作用, 参与HBV感染的慢性化和疾病的转归。

关键词: 白细胞介素-12; 白细胞介素-18; 肝炎病毒, 乙型; 组织病理学

Relationship between hepatic pathology and the expression of IL-12 and IL-18 in patients infected with hepatitis B virus

TANG Lei, PENG Lei, YE Jun, ZOU Gui-zhou, GAO Yu-feng (Department of Hepatopathy, the Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship between hepatic pathology and the expression of IL-12 and IL-18 in patients infected with HBV. **Methods** Total of 175 patients infected with HBV in the Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University were enrolled. The clinical data, liver inflammation grades and fibrosis stages were assessed. Immunohistochemical method was used to detect the expression of IL-12 and IL-18 in liver tissues. Spearman rank correlation was used to analyze the correlations between IL-12 and IL-18 expression and the above indicators. **Results** IL-12 and IL-18 were mainly expressed in the cytoplasm of liver cells. The expression of IL-12 and IL-18 in patients with chronic hepatitis B, liver cirrhosis after hepatitis B and hepatitis B related liver cancer had statistically significant difference ($\chi^2 = 38.390$, $P < 0.001$; $\chi^2 = 21.051$, $P = 0.002$). The expression of IL-12 and IL-18 in liver tissues of patients infected with HBV were positively correlated with the degree of inflammation and fibrosis ($r = 0.179, 0.165, 0.241, 0.132$; $P = 0.032, 0.026, 0.042, 0.0195$). **Conclusion** The expression of IL-12 and IL-18 may be related to the immune pathogenesis of HBV infection.

Key words: Interleukin-12; Interleukin-18; Hepatitis B virus; Histopathology

慢性乙型肝炎 (chronic hepatitis B, CHB) 是由乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 感染后引起的肝脏慢性炎性改变^[1]。我国为乙型肝炎大国, 且HBV感染发病机制尚不明确^[2,3], 但当前学者一致认为HBV感染引起的肝细胞损伤并非HBV复制的直接结果, 而是HBV抗原细胞的免疫反应所致^[4]。有研究表明, HBV感染的发生、发展以及后续的转归预后

与人体的免疫系统功能紊乱紧密相关, 特别是机体内细胞因子和T淋巴细胞之间的调节失衡^[5]。其中白细胞介素 (interleukin, IL) 和肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 是具有多种生物活性的细胞因子, 在病毒感染后的免疫反应中具有重要作用^[6,7]。IL-12和IL-18是近年来研究较多的细胞因子, 且多数学者专注于HBV感染者血清中上述指标的表达水平。为更深入探讨IL-12和IL-18与HBV慢性感染之间的相关性, 本研究运用目前相对成熟的半定量免疫组织化学方法观察IL-12和IL-18在研究对象肝脏组织

中的表达,并与HBV感染者肝脏炎症及纤维化程度进行相关性分析,探讨IL-12、IL-18在HBV感染不同阶段的表达及意义,具体结果如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取2014年3月至2016年3月于本院肝病科进行肝组织活检的慢性HBV感染者141例并收集于外科行肝癌手术患者的组织标本34例。按照临床诊断标准将上述175例研究对象分为3组,分别为慢性乙型肝炎组(98例)、乙型肝炎后肝硬化组(43例)和乙型肝炎相关肝癌组(34例),所有患者中男性患者132例,女性患者43例,平均年龄(34.55 ± 12.06)岁。本研究中的所有疾病诊断均符合2000年中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会联合修订的《病毒性肝炎防治方案》中的相关标准^[8]。

1.2 研究方法

1.2.1 HBV感染者肝脏组织病理检测 除外科手术的34例肝癌患者外,其余141例HBV感染者的肝组织标本均采用本科室开展成熟的1秒快速肝组织活检术,肝组织标本的长度2 cm左右,最短不低于1.5 cm。肝组织取出后立即予以4%甲醛溶液固定处理,然后用75%酒精脱水并进行石蜡包埋后常规组织切片,最后进行苏木精-伊红(HE)及网状纤维染色,采用光学显微镜多视野进行观察,按照2010年《慢性乙型肝炎防治指南》中的相关标准^[9]进行病理分级。

1.2.2 肝组织IL-12、IL-18的检测 将HBV感染者的肝组织石蜡包埋样本进行4 μm连续切片处理,并进一步进行VG、HE、Mason以及网状纤维染色,采用光学显微镜多视野进行观察。本实验采用的主要免疫组织化学染色方法为霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连结法(streptavidin-peroxidase, SP),严格按照SP试剂盒相关流程进行操作,实验所需的SP试剂盒购自福州迈新生物技术开发公司。实验的标准阳性对照片由福州迈新公司提供,阴性对照用磷酸盐缓冲液(PBS)作为一抗代替。兔抗

人单克隆抗体为IL-12、IL-18一抗,购自美国Santa Cruz生物技术有限公司,免疫组织化学检测过程中的工作浓度分别为1:200、1:300。

1.2.3 IL-12、IL-18表达的判定标准 在光学显微镜多视野下进行观察,阳性结果表现为肝组织的细胞质和细胞膜的棕黄色颗粒反应。按照棕黄色颜色的深浅以及细胞染色数,根据相关标准^[10],采用综合半定量的方法进行评分,具体计分标准为:以肝脏细胞大多数的呈色情况作为染色强度,分为阴性(0分)、弱阳性染色(1分)、阳性染色(2分)和强阳性染色(3分);细胞染色数评分为未见阳性细胞即阴性(0分)、细胞50%以下染色(1分)、细胞50%~80%染色(2分)、细胞80%以上染色(3分)。最后将上述两种评分标准综合分析,得出IL-12、IL-18的表达分为4个等级:0分为阴性(-)、1~2分为弱阳性(+),3~4分为阳性(++),5~6分为强阳性(+++)。

1.3 统计学处理 实验所得数据采用SPSS 16.0统计软件和Excel 2003进行统计学分析,计数资料采用 χ^2 检验和Spearman秩相关分析。检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IL-12、IL-18在HBV感染不同转归者肝组织内的表达 HBV感染者肝组织内的IL-12和IL-18的主要表达部位为细胞质,不同转归者的细胞因子表达强弱不同,CHB组患者中主要以弱阳性表达为主,而乙型肝炎后肝硬化组患者以弱阳性和阳性表达为主,乙型肝炎相关肝癌患者的阳性和强阳性表达均高于其他两组,见表1。

2.2 HBV感染者IL-12和IL-18的表达与肝脏炎症分级的关系 175例HBV感染者中,随着肝脏炎症程度的加重,IL-12、IL-18在患者肝组织中的表达均逐渐增强,且具有正相关性($r=0.179、0.165, P=0.032、0.026$),见表2。

2.3 HBV感染者IL-12和IL-18的表达与肝纤维化分级的关系 IL-12和IL-18在HBV感染患者肝组织中的表

表1 HBV感染后不同阶段肝组织内IL-12和IL-18的表达(例)

| 疾病分类 | IL-12表达 | | | | IL-18表达 | | | |
|----------------|---------|----|----|-----|---------|----|----|-----|
| | - | + | ++ | +++ | - | + | ++ | +++ |
| 慢性乙型肝炎(n=98) | 21 | 63 | 9 | 5 | 19 | 59 | 12 | 8 |
| 乙型肝炎后肝硬化(n=43) | 5 | 27 | 7 | 4 | 6 | 22 | 11 | 4 |
| 乙型肝炎相关肝癌(n=34) | 3 | 8 | 17 | 6 | 2 | 11 | 14 | 7 |
| χ^2 值 | 38.390 | | | | 21.051 | | | |
| P值 | < 0.001 | | | | 0.002 | | | |

表2 肝组织内 IL-12、IL-18 的表达与肝脏炎症分级的关系(例)

| 炎症分级 | IL-12表达 | | | IL-18表达 | | |
|-------------------|---------|-------|----------|---------|-------|----------|
| | - | + | ++ ~ +++ | - | + | ++ ~ +++ |
| G0 ~ G1 (n = 110) | 17 | 71 | 22 | 15 | 69 | 26 |
| G2 (n = 48) | 10 | 19 | 19 | 9 | 17 | 22 |
| G3 ~ G4 (n = 17) | 2 | 8 | 7 | 3 | 6 | 8 |
| r值 | | 0.179 | | | 0.165 | |
| P值 | | 0.032 | | | 0.026 | |

表3 肝组织内 IL-12 和 IL-18 的表达与肝纤维化分期的关系(例)

| 纤维化分期 | IL-12表达 | | | IL-18表达 | | |
|-------------------|---------|-------|----------|---------|-------|----------|
| | - | + | ++ ~ +++ | - | + | ++ ~ +++ |
| S0 ~ S1 (n = 113) | 21 | 63 | 29 | 17 | 73 | 23 |
| S2 (n = 46) | 11 | 23 | 12 | 10 | 19 | 17 |
| S3 ~ S4 (n = 16) | | | 3 | 7 | 6 | 2 |
| r值 | | 0.241 | | | 0.132 | |
| P值 | | 0.042 | | | 0.019 | |

达随着纤维化程度加重而逐渐增强, 见表3。

3 讨论

HBV感染的慢性化与疾病进展及转归密切相关, 具体机制尚不明确, 但研究证实其中两个重要的发病因素为HBV本身的活动以及感染者的免疫状态^[11]。按分泌的细胞因子不同可将Th细胞分为3种亚型, 即Th0、Th1和Th2^[12]。人体感染HBV后, 将启动免疫机制清除病毒, 其中的Th1和Th2细胞在整个启动、清除过程中都起着非常重要的作用, 在某种程度上直接决定感染者是否向慢性化趋势进展。机体感染病原体后, Th1和Th2在机体免疫反应和疾病发生发展过程中的作用截然不同, Th1细胞主要参与机体细胞免疫反应过程, 分泌大量的促炎因子; 而体液免疫反应主要由Th2细胞分泌的抗炎因子完成^[13], Th2细胞在抗细胞外微生物或寄生虫感染中有一定作用^[14]。HBV感染后, 由Th1类细胞所参与的细胞免疫反应开始发挥作用清除肝细胞中的HBV, 与此同时, 也导致肝细胞不同程度的损伤。若HBV未被完全清除, 则逐渐发展成为慢性化, 这与体内的由Th2类细胞所介导的体液免疫应答密切相关。受到外在和内在某些因素的影响, Th1/Th2平衡被破坏, 特别是相对于Th1细胞, Th2细胞表达显著上调时, 人体的体液免疫功能增强, 而细胞免疫相对受到抑制, 不可避免最后形成HBV感染后的肝硬化及癌变等慢性化转归结果^[15]。

IL-12及IL-18均是T1细胞分泌的细胞因子, 在HBV感染过程中具有重要作用^[16,17]。由抗原呈递细

胞产生的IL-12具有多种免疫调节作用^[18]。IL-12除在免疫系统中发挥作用外, 本身对HBV有一定抑制作用, 主要机制为其能够抵抗肿瘤坏死因子和病毒对肝细胞的直接损害, 给予肝细胞再生和修复的时间, 同时能够增强Kupffer细胞在病毒感染后对内毒素等的吞噬功能, 避免肝细胞受到二次冲击^[19]。IL-18的作用机制与IL-12不同, 它能够提高体内T细胞和自然杀伤细胞凋亡相关因子配体(apoptosis related factors ligand, FasL)的表达水平, 由其诱导产生的IFN- γ 和TNF- α 等细胞因子又能够刺激体内多种细胞Fas的表达, 同时也能够提高肝细胞可溶性细胞间黏附分子(soluble inter-cellular adhesion molecule-1, sICAM-1)的表达水平。一方面通过Fas/FasL作用机制在感染者体内发挥淋巴细胞毒作用, 另一方面又可通过ICAM-1与其配体LFA-1结合后介导T细胞与其他相关细胞黏附, 在一定程度增强机体的免疫应答, 相应加重了HBV感染者肝组织的损害。

作为体内重要的免疫调节因子, IL-12和IL-18主要通过与Th1细胞因子组成的细胞因子级联发挥作用, 导致机体产生免疫损伤。IL-12和IL-18具体的作用机制虽不同, 但二者相互制约、相互影响。Li等^[20]研究发现, 体内IL-12水平下调时, IL-18表达增强, 此时机体更倾向于Th2介导的免疫应答, HBV清除能力下降, 最终产生HBV感染的慢性化。HBV感染后的结局在一定程度上还取决于HBV本身的变异。如在某些因素影响下, 体内HBV发生

变异,能够将体内Th1/Th2应答中的Th2表达上调,细胞免疫功能很大程度受到抑制,清除病毒能力下降,根据上调程度的不同,导致HBV的持续感染以及最终不同的转归。本结果也证实IL-12和IL-18在慢性乙型肝炎患者、乙型肝炎肝硬化患者及乙型肝炎相关肝癌患者肝脏组织中的表达程度不同。

HBV感染后病情进展和恶化的重要原因是体内肝脏屏障保护功能在内在和外在因素下受到破坏。HBV感染者正常的肝脏屏障保护受到损害后,易形成内毒素血症,特别是肠源性内毒素血症。HBV感染者发生内毒素血症后,体内会诱导产生大量的IL-12、IL-18、NO、内皮素和TNF- α 等细胞因子和炎性介质^[21]。TNF- α 能够显著上调IL-12和IL-18在体内的表达,这样相互之间形成循环增强的正反馈效应,最终导致肝脏组织炎症和纤维化程度的逐渐加重,病情持续恶化。肝脏具有强大的合成和代谢能力,当感染HBV后,特别是病情较重的患者,体内细胞因子的清除显著减少,导致细胞因子水平显著升高^[22,23]。IL-12和IL-18在正常健康者、慢性乙型肝炎患者和慢性重型乙型肝炎患者血清中的表达水平逐渐升高。刘曦东等^[24]通过检测HBV感染者血清中的IL-18水平后发现,其与肝功能指标ALT、AST和TBil存在正相关关系,提示IL-18参与了HBV感染后的发病过程,其水平与炎症及纤维化程度密切相关。王淑琴等^[25]证实,随着HBV感染后病情的不断进展,纤维化进展至肝硬化,患者体内IL-18的表达水平高于正常健康者和慢性乙型肝炎患者。不同Child-Pugh分级肝硬化患者的IL-18表达水平也存在差异。Fimotto等^[26]通过对比分析野生型小鼠和IL-18转基因小鼠的生存情况和一般状态后发现,IL-18转基因小鼠不久后即出现严重的肝功能损害,抵抗力较野生型小鼠下降,生存时间显著缩短,死亡率较高。深入研究这些经过IL-18转基因处理的小鼠肝脏组织后发现,其汇管区和间质部位有明显的纤维化和大量胶原增生。郜玉峰等^[27]对慢性HBV感染者肝组织IL-18表达水平的研究也提示随着病情加重,其肝内的IL-18表达增强。以上研究均表明HBV感染者的肝组织炎症和纤维化程度越重,IL-12和IL-18表达水平越高。

IL-12和IL-18的主要代谢部位为肝脏,常与胆汁混合进入肠道中排出。HBV感染者的体内IL-12和IL-18水平偏高,除与肝脏代谢清除能力下降有关外,还与另一因素密切相关:HBV感染后,肝细胞受损,体内产生大量的炎性介质,IL-12和IL-18排泄通道受阻,进一步加重其在肝内和血清中的蓄

积^[28,29]。本研究通过对比175例HBV感染者的肝组织病理和肝内IL-12、IL-18的表达得出,随着炎症和纤维化程度的不断加重,IL-12、IL-18的表达显著上调,二者呈正相关,与以上研究结果相符。

IL-12和IL-18在慢性乙型肝炎、肝炎后肝硬化及乙型肝炎相关肝癌患者肝组织中的表达具有显著差异,提示IL-12和IL-18在HBV感染后的免疫发病机制中发挥着重要作用,故利用免疫调节来治疗HBV感染将可能成为一种有效的治疗方法^[30]。本研究不足之处在于只研究了促炎类细胞因子中的IL-12和IL-18在HBV感染者的表达,而抗炎类相关细胞因子如IL-4、IL-10等在肝脏组织中的表达仍有待深入研究。

参考文献

- [1] HUANG A, ZHANG B, YAN W, et al. Myeloid-derived suppressor cells regulate immune response in patients with chronic hepatitis B virus infection through PD-1-induced IL-10[J]. *J Immunol*, 2014, 193(11): 5461-5469.
- [2] 王煜, 闫跃武, 王海燕, 等. 乙型肝炎病毒大蛋白在慢性乙型肝炎中检测的临床意义[J]. *宁夏医科大学学报*, 2013, 34(10): 1005-1008.
- [3] Mehmedović A, Mesihović R, Prnjavorac B, et al. Non-invasive liver fibrosis markers: use of serum levels of cytokines IL 1 α and TGF β 1 in management of chronic liver diseases[J]. *Med Glas (Zenica)*, 2013, 10(1): 20-27.
- [4] Agrawal A, Samrat SK, Agrawal B, et al. Co-incubation with core proteins of HBV and HCV leads to modulation of human dendritic cells[J]. *Viral Immunol*, 2014, 27(8): 412-417.
- [5] Manea I, Manea CN, Miron N, et al. Immunological aspects in viral hepatitis B and C infection[J]. *Roum Arch Microbiol Immunol*, 2011, 70(3): 97-100.
- [6] 庞高平, 林群, 谢文天. 阿德福韦对慢性乙型肝炎患者血清白介素-6、12和18水平的影响及疗效观察[J]. *中国微生态学杂志*, 2014, 26(6): 680-682.
- [7] 郑九生, 邓灵. CD4+CD25+调节性T细胞表达水平对Th1/Th2类细胞免疫平衡的作用及与HBV宫内感染的相关性[J]. *南昌大学学报: 医学版*, 2014, 54(4): 18-21.
- [8] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会, 肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案[J]. *中华肝脏病杂志*, 2000, 8(6): 324-329.
- [9] 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*, 2011, 3(1): 40-56.
- [10] Chia CS, Ban K, Ithnin H, et al. Expression of interleukin-18, interferon-gamma and interleukin-10 in hepatocellular carcinoma[J]. *Immunol Lett*, 2002, 84(3): 163-172.
- [11] 张磊, 张淑云. 乙型肝炎病毒的基因变异及其临床意义[J]. *世界华人消化杂志*, 2012, (18): 1644-1652.
- [12] WANG S, CHEN Z, HU C, et al. Hepatitis B virus surface antigen selectively inhibits TLR2 ligand-induced IL-12 production in monocytes/macrophages by interfering with JNK activation[J]. *J Immunol*, 2013, 190(10): 5142-5151.
- [13] Zeissig S, Murata K, Sweet L, et al. Hepatitis B virus-induced lipid alterations contribute to natural killer T cell-dependent protective immunity[J]. *Nat Med*, 2012, 18(7): 1060-1068.

- [14] Jones SW, Roberts RA, Robbins GR, et al. Nanoparticle clearance is governed by Th1/Th2 immunity and strain background[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(7):3061-3073.
- [15] Dimitropoulou D, Karakantza M, Theodorou GL, et al. Serum cytokine profile in patients with hepatitis B e antigen-negative chronic active hepatitis B and inactive hepatitis B virus carriers[J]. *World J Gastrointest Pathophysiol*, 2013, 4(1):24-27.
- [16] 庞高平, 林群, 谢文天. 阿德福韦对慢性乙型肝炎患者血清白介素-6、12和18水平的影响及疗效观察[J]. *中国微生态学杂志*, 2014, 26(6):680-682.
- [17] 周红霞. 重症肝炎患者与原发肝癌患者血清可溶性CD40表达水平研究[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*, 2016, 8(4):97-101.
- [18] 吴玉兰, 黄书明, 陈琳, 等. Th细胞相关因子在慢性乙型肝炎患者中的表达及其临床意义[J]. *中国现代医学杂志*, 2014, 24(4):46-49.
- [19] Schurich A, Pallett LJ, Lubowiecki M, et al. The third signal cytokine IL-12 rescues the anti-viral function of exhausted HBV-specific CD8 T cells[J]. *PLoS Pathog*, 2013, 9(3):E1003208.
- [20] Li W, Kubo S, Okuda A, et al. Effect of IL-18 on expansion of ganmulelta T cells stimulated by zoledronate and IL-12[J]. *J Immunother*, 2010, 33(3):287-296.
- [21] WANG Q, ZHOU J, ZHANG B, et al. Hepatitis B virus induces IL-23 production in antigen presenting cells and causes liver damage via the IL-23/IL-17 axis[J]. *PloS Pathog*, 2013, 9(6):e1003410.
- [22] ZOU Z, LI B, ZHANG Z, et al. Imbalanced intrahepatic cytokine expression of interferon-gamma, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-10 in patients with acute-on-chronic liver failure associated with Hepatitis B virus infection[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2009, 43(2):182-190.
- [23] Burra P, Martin ED, Senzolo M. Evaluation of graft and recipient risk factors in liver transplantation[J]. *DIGEST LIVER DIS*, 2009, 3(4):108-111.
- [24] 刘曦东. 乙肝患者外周血IL-18、TGF- β 1、ALT、TBIL、HBV DNA定量测定及分析[J]. *山东医药*, 2011, 51(23):66-67.
- [25] 王淑琴, 王建勇, 陈永谦, 等. 乙型肝炎后肝硬化患者血清IL-18和IL-10水平检测的临床意义[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2013, 34(13):1894-1895.
- [26] Finolo S, Siebler J, hausding M, et al. Severe hepatic injury in interleukin 18 transgenic mice: a key role for IL-18 in regulating hepatocyte apoptosis in vivo[J]. *Gut*, 2004, 53(3):392-400.
- [27] 郇玉峰, 汤磊, 潘高峰, 等. IL-18在慢性HBV感染后不同转归患者肝脏组织中的表达及意义[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*, 2014, 6(3):1-5.
- [28] ZOU Z, LI B, ZHANG Z, et al. Imbalanced intrahepatic cytokine expression of interferon-gamma, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin 10 in patients with acute-on-chronic liver failure associated with hepatitis B virus infection[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2009, 43(2):182-190.
- [29] Shibata M, Hirota M, Nozawa F, et al. Increased concentration of plasma IL-18 in patient with hepatic dysfunction after keratectomy[J]. *Cytokine*, 2000, 12(10):1256-1263.
- [30] 孙丽, 李红胜, 阮玲娟, 等. 慢性乙型病毒性肝炎患者外周血辅助性T细胞9及白细胞介素9的表达及临床意义[J]. *疾病监测*, 2015, 30(1):35-37.

收稿日期: 2016-09-22

汤磊, 彭蕾, 叶珺, 等. HBV感染者IL-12和IL-18表达与肝脏病理的相关性[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*, 2017, 9(1):27-31.