本文引用:向保云,李红德,徐江海,等.肿瘤坏死因子-α和白细胞介素-1β在慢性乙型肝炎和原发性肝癌患者血清及肝组织中的表达[J].新乡医学院学报,2014,31(12):999-1001.

【临床研究】

肿瘤坏死因子-α和白细胞介素-1β在慢性乙型肝炎和原发性肝癌患者血清及肝组织中的表达

向保云[1], 李红德[1], 徐江海[1], 申林杰[1], 徐 嘉[1], 王 雷[2]
(1.安阳市第五人民医院肝病科,河南 安阳 455000;2.新乡医学院第一附属医院普外科,河南 卫辉 453100)

摘要: **目的** 探讨肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素-1β(IL-1β)在慢性乙型肝炎(CHB)和原发性肝癌(PHC)患者血清及肝组织中的表达水平。**方法** 应用酶联免疫吸附测定法检测45例CHB患者(CHB组)、45例PHC患者(PHC组)及45例健康人(对照组)血清中TNF-α、IL-1β水平,采用免疫组织化学方法检测CHB和PHC患者肝组织中TNF-α、IL-1β蛋白的表达,并对3组结果进行比较。**结果** CHB组患者血清TNF-α和IL-1β水平高于对照组($P=0.000$),PHC组患者血清TNF-α和IL-1β水平显著高于CHB组($P=0.000$)。PHC组织中TNF-α和IL-1β蛋白阳性表达显著高于CHB组织($P=0.000$)。**结论** TNF-α和IL-1β是重要的促炎性细胞因子,在CHB和PHC患者的肝损伤过程中发挥重要作用,可作为临床生物治疗的靶点。

关键词: 肿瘤坏死因子-α;白细胞介素-1β;慢性乙型肝炎;原发性肝癌
中图分类号: R512.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2014)12-0999-03

Expression of tumor necrosis factor-α and interleukin-1β in the serum and hepatic tissues of patients with chronic hepatitis B or primary hepatic cancer

XIANG Bao-yun[1], LI Hong-de[1], XU Jiang-hai[1], SHEN Lin-jie[1], XU Jia[1], WANG Lei[2]
(1. *Department of Hepatology, the Fifth People's Hospital of Anyang City, Anyang* 455000, *Henan Province, China*; 2. *Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Weihui* 453100, *Henan Province, China*)

Abstract: **Objective** To study the expression of tumor necrosis factor-α(TNF-α) and interleukin-1β(IL-1β) in the serum and hepatic tissues of patients with chronic hepatitis B(CHB) or primary hepatic cancer(PHC). **Methods** The levels of serum TNF-α and IL-1β in 45 patients with CHB(CHB group), 45 patients with PHC(PHC group) and 45 healthy people (control group) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. The expression of TNF-α and IL-1β in CHB and PHC tissues were detected by immunohistochemistry method. The results were compared among the three groups. **Results** The levels of serum TNF-α and IL-1β in CHB group were significantly higher than those in control group($P=0.000$). The levels of serum TNF-α and IL-1β in PHC group were significantly higher than those in CHB group($P=0.000$). The positive expression of TNF-α and IL-1β in PHC tissues was significantly higher than that in CHB tissues($P=0.000$). **Conclusion** TNF-α and IL-1β as the important proinflammatory cytokines, play an important role in the process of liver injury in patients with CHB or PHC, and can be used as clinical biological treatment targets.

Key words: tumor necrosis factor-α; interleukin-1β; chronic hepatitis B; primary hepatic cancer

炎症反应在机体肿瘤生物学行为进展中具有重要的作用,肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)在炎症反应的发生、发展中起着始动作用[1],白细胞介素-1β(interleukin-1, IL-1β)在炎症反应中起着重要的继发作用[2-4]。本研究通过对比慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者、原发性肝癌(primary hepatic cancer, PHC)患者和健康人群血清中TNF-α和IL-1β的水平,以及CHB和PHC患者肝组织中TNF-α和IL-1β的表达情况,分析TNF-α、IL-1β在CHB及PHC发病机制中的作用,以期为临床治疗CHB及PHC提供思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2008年6月至2014年4月在安阳市第五人民医院住院治疗的CHB和PHC患者。CHB患者45例(CHB组),男28例,女17例,平均年龄(40.4±4.1)岁。PHC患者45例(PHC组),男31例,女14例,平均年龄(42.6±4.3)岁;其中肝细胞癌28例,胆管细胞癌11例,混合细胞癌

DOI: 10.7683/xxyxyxb.2014.12.009
收稿日期: 2014-09-15
作者简介: 向保云(1972-),女,河南安阳人,学士,副主任医师,研究方向:慢性肝炎、肝硬化、肝癌的内科治疗。

6 例;均经手术后组织病理学检查确诊。同时随机抽取体检健康人 45 例(对照组),男 26 例,女 19 例,平均年龄(40.8 ± 3.3)岁;经实验室检查无乙型肝炎病毒(hepatitis B virus,HBV)、丙型肝炎病毒等病毒感染,无心脏病、慢性支气管肺炎等重要脏器疾病,无肿瘤家族病史。3 组研究对象的性别、年龄分布比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 主要试剂和仪器 人 TNF-α 和人 IL-1β 酶联免疫吸附测定试剂盒、鼠抗人 TNF-α 免疫组织化学试剂盒、鼠抗人 IL-1β 免疫组织化学试剂盒均购于北京中杉金桥生物技术有限公司;DG5031 酶联免疫检测仪购于南京华东电子集团。

1.3 血清中 TNF-α 和 IL-1β 水平检测 3 组研究对象均在晨起空腹抽取外周静脉血,分离血清,分装,置 -20 ℃冰箱保存备用。采用酶联免疫吸附测定法检测血清中 TNF-α 和 IL-1β 水平,严格按照说明书操作。

1.4 免疫组织化学法检测 CHB 和 PHC 患者肝组织中 TNF-α 和 IL-1β 的表达 CHB 患者知情同意后穿刺取肝组织活检,留取组织标本,PHC 患者留手术切除的肿瘤组织标本,40 $g \cdot L^{-1}$ 多聚甲醛固定,石蜡包埋、切片,免疫组织化学法分析肝组织中 TNF-α 和 IL-1β 的表达情况,严格按照说明书操作。结果判定:TNF-α 和 IL-1β 免疫反应阳性产物呈棕黄色颗粒,表达于细胞质。采用半定量法[5]判断 TNF-α 和 IL-1β 蛋白的表达情况:随机选 10 个高倍视野,阳性反应细胞数 < 25% 为阴性(-),25% ~ 50% 为弱阳性(+),51% ~ 75% 为中等阳性(++),> 75% 为强阳性(+++)。

1.5 统计学处理 应用 SPSS 13.0 统计学软件处理数据,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两两比较采用 t 检验,计数资料比较采用 χ^2 检验;检验水准 $\alpha = 0.05$。

2 结果

2.1 3 组血清 TNF-α 和 IL-1β 水平比较 结果见表 1。CHB 组患者血清 TNF-α 和 IL-1β 水平高于对照组,差异均有统计学意义($t = 13.513$,$P = 0.000$;$t = 12.185$,$P = 0.000$);PHC 组患者血清 TNF-α 和 IL-1β 水平显著高于 CHB 组,差异均有统计学意义($t = 14.025$,$P = 0.000$;$t = 19.618$,$P = 0.000$)。

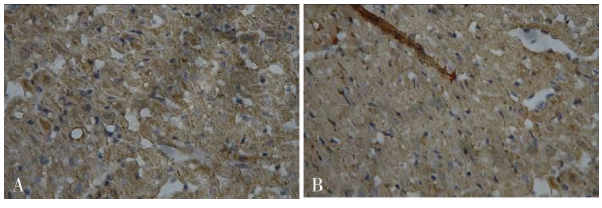
表 1 3 组受试者血清 TNF-α 和 IL-1β 水平比较

Tab. 1 Comparison of the levels of serumTNF-α and IL-1β in the three groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TNF-α/($\mu g \cdot L^{-1}$)	IL-1β/($mg \cdot L^{-1}$)
对照组	45	0.028 ± 0.012	28.94 ± 12.26
CHB 组	45	0.762 ± 0.015[a]	47.23 ± 14.22[a]
PHC 组	45	0.924 ± 0.035[b]	64.39 ± 11.04[b]

注:与对照组比较[a] $P = 0.000$;与 CHB 组比较[b] $P = 0.000$。

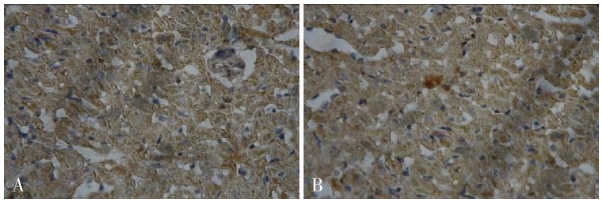
2.2 PHC 和 CHB 患者肝组织中 TNF-α 和 IL-1β 表达比较 结果见图 1、图 2 和表 2。PHC 患者肝组织中 TNF-α、IL-1β 蛋白阳性表达显著高于 CHB 肝组织,差异均有统计学意义($\chi^2 = 9.235$,7.635;$P = 0.000$)。



A:CHB 肝组织;B:PHC 肝组织。

图 1 CHB 和 PHC 患者肝组织中 TNF-α 的表达(免疫组织化学,×400)

Fig. 1 Expression of TNF-α in CHB and PHC tissues (immunohistochemistry, ×400)



A:CHB 肝组织;B:PHC 肝组织。

图 2 CHB 和 PHC 患者肝组织中 IL-1β 的表达(免疫组织化学,×400)

Fig. 2 Expression of IL-1β in CHB and PHC tissues (immunohistochemistry, ×400)

表 2 PHC 和 CHB 患者肝组织中 TNF-α 和 IL-1β 表达

Tab. 2 Expression of TNF-α and IL-1β in CHB and PHC tissues

组别	n	TNF-α/例						IL-1β/例					
		-	+	++	+++	χ^2	P	-	+	++	+++	χ^2	P
CHB 组	45	7	17	16	5	9.235	0.000	7	14	18	6	7.635	0.000
PHC 组	45	0	9	21	15			1	12	19	13		

3　讨论

肝脏是机体重要的代谢器官,合成多种蛋白质和酶,对于维持机体正常的新陈代谢具有重要意义。肝脏的慢性病变发病隐匿,临床表现复杂,治疗缺乏明确的靶向药物,我国的慢性肝病以重症病毒性肝炎和肝癌为主,其中 CHB 和 PHC 为主要类型,而且我国 PHC 患者约 30% 有 HBV 感染史[2,5-6]。HBV 是一种嗜肝性 DNA 病毒,机体感染 HBV 后定向损伤肝细胞,并引起持续性感染。研究表明,肝脏的慢性损伤与组织细胞微环境的改变密切相关,细胞因子的变化是引起细胞微环境改变的关键环节[7-10]。TNF-α 是一种重要的促炎性细胞因子,由具有吞噬效应的免疫细胞释放,诱导免疫细胞产生和释放白细胞介素类、干扰素等细胞因子,并可诱导肝细胞产生急性期反应蛋白,加速组织细胞的损伤[5,10]。IL-1β 是 TNF-α 激活免疫细胞后释放的促炎性细胞因子,在炎性损伤的发展过程中发挥重要作用[3,6,11-13]。本研究结果显示,PHC 患者血清 TNF-α、IL-1β 水平显著高于 CHB 患者,CHB 患者血清 TNF-α、IL-1β 水平显著高于健康人群;提示 PHC、CHB 患者促炎性细胞因子释放增多,引起细胞微环境的改变,诱导炎性反应,导致慢性损伤。作为细胞微环境细胞因子网络调控的始动因子,TNF-α 不仅可以促进细胞因子的释放,而且在分子水平刺激产生有助于肿瘤生长的物质,而 IL-1β 的高水平表达促发广泛的慢性炎症反应和组织损伤,上述作用有可能导致肿瘤的生物学行为恶化。本研究结果还显示,PHC 患者肝组织中 TNF-α 和 IL-1β 蛋白的表达高于其在 CHB 肝组织中的表达,从蛋白水平证实了 PHC 患者肝组织存在更严重的炎症反应,TNF-α 和 IL-1β 的高表达可能破坏了肝细胞微环境,最终导致肿瘤生物学行为表现。

综上所述,TNF-α 和 IL-1β 作为细胞因子网络调控的促炎因子,在 CBH 和 PHC 患者的肝损伤过程中发挥重要作用,临床医师可考虑将 TNF-α 和 IL-1β 作为生物治疗的靶点。

参考文献:

[1] 徐清芳. 全身炎症反应综合征新生儿血清脂联素和肿瘤坏死因子-α 水平变化及临床意义[J]. 新乡医学院学报,2013,30(7):565-566,569.

[2] 杨巍巍. 乙型肝炎患者细胞因子检测的临床意义探讨[J]. 齐齐哈尔医学院学报,2013,34(6):798-790.

[3] 郭永全. 慢性乙肝患者外周血 $CD4^+$ T 细胞蛋白表达及 ACTA、TNF-α 水平变化的临床诊断意义[J]. 实用临床医药杂志,2011,15(1):23-25.

[4] Negash A A, Ramos H J, Crochet N, *et al*. IL-1 beta production through the NLRP3 inflammasome by hepatic macrophages links hepatitis C virus infection with liver inflammation and disease[J]. *TPLoS Pathogens*,2013,9(4):e1003330.

[5] 陶斌胜,熊茂明,曹立宇. 肝癌组织中 MIF、TNF-α 的表达及临床意义[J]. 临床与实验病理学杂志,2011,27(11):1177-1180.

[6] 钱留喜,张宏宇,王永忠. 慢性乙肝、肝硬化和肝癌患者 Th1/Th2 细胞因子检测及临床应用[J]. 放射免疫学杂志,2013,26(1):59-60.

[7] 崔英健,王健,江水清. 原发性肝癌患者外周血中 IL-8、IP-10 及其 mRNA 表达[J]. 现代预防医学,2010,37(10):1948-1950.

[8] 黄英,文剑,王清波,等. 肝细胞肝癌患者血清 IL-18、IL-10 变化的分析[J]. 江苏医药,2012,38(13):1516-1519.

[9] Shrivastava S, Mukherjee A, Ray R. Hepatitis C virus induces interleukin-1beta(IL-1beta)/IL-18 in circulatory and resident liver macrophages[J]. *J Virol*,2013,87(22):12284-12290.

[10] 杨贤子,程甜甜,骆志国,等. 肝癌细胞中 IL-18 表达及其调控机制的研究[J]. 实用癌症杂志,2011,26(5):456-458.

[11] Dickmann L J, Patel S K, Wienkers L C, *et al*. Effects of interleukin 1beta(IL-1beta) and IL-1beta/interleukin 6(IL-6) combinations on drug metabolizing enzymes in human hepatocyte culture [J]. *Curr Drug Metab*,2012,13(7):930-937.

[12] 黄云云,罗予,张金嵩,等. 外伤性兔眼内炎房水中肿瘤坏死因子-α、白细胞介素-1β 及中性粒细胞趋化因子-1 的相对含量变化及意义[J]. 眼科新进展,2013,33(8):713-716.

[13] 白艳辉,陈旭勤,王浙东,等. 细菌性脑膜炎患儿脑脊液和血清 B7-H3、白细胞介素-1β 水平变化及其临床意义[J]. 实用儿科临床杂志,2012,27(12):916-918.

(本文编辑:徐自超　英文编辑:徐自超)