

炎症相关细胞因子在慢乙肝疾病进程中的表达水平及临床指标相关性

陈洁*, 朱翔, 刘幸, 李俊义#

昆明市第三人民医院药学部, 云南 昆明

收稿日期: 2023年1月29日; 录用日期: 2023年3月8日; 发布日期: 2023年3月16日

摘要

目的: 分析慢性乙型肝炎(CHB)、肝硬化(LC)及肝细胞癌(HCC)患者免疫细胞所分泌细胞因子的表达水平及临床指标相关性, 为临床的诊断治疗提供参考依据。方法: 选取2020年3月1日至5月31日期间昆明市第三人民医院确诊CHB患者106例, LC患者96例, HCC患者21例, 全自动生化分析仪检测肝功能指标, 谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、总胆红素(TBIL)、间接胆红素(IBIL)、直接胆红素(DBIL)的变化, 多重微球流式免疫荧光发光法检测细胞因子IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12P70、IL-17、TNF- α 、IFN- γ 、IFN- α 的表达变化, 并对上述肝功能指标及细胞因子的相关性进行分析。100例健康体检人群作为正常对照组进行比较。结果CHB、LC、HCC组AST、ALT、TBIL、DBIL、IBIL表达均高于正常对照组。除IL-5、IFN- α 及IL-6以外, CHB、LC、HCC组中IL-2、IL-1 β 、IFN- γ 、IL-8、IL-17、IL12P70、TNF- α 表达较正常对照组显著增加($P < 0.05$), IL-4、IL-10表达较正常对照组显著降低($P < 0.05$), 其中TNF- α 、IL-4在CHB、LC、HCC组患者中比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。细胞因子IL-17、TNF- α 与AST、ALT、TBIL、DBIL、IBIL显著相关($P < 0.05$)。结论: CHB、LC、HCC患者中促炎细胞因子(IL-1 β 、IL-2、IL-5、IL-6、IL-8、IL12P70、IL-17、TNF- α 、IFN- γ 、IFN- α)分泌增多, 抗炎细胞因子IL-4、IL-10分泌减少, 提示肝脏疾病时, 炎症免疫反应增加, 进一步导致肝脏细胞损伤, 增加疾病进展风险。

关键词

细胞因子, 慢性乙型病毒性肝炎, 肝硬化, 肝细胞癌, 免疫

*第一作者。

#通讯作者。

Expression Level of Inflammation-Related Cytokines in the Progression of Chronic Hepatitis B and Their Correlation with Clinical Indexes

Jie Chen*, Xiang Zhu, Xing Liu, Junyi Li#

Department of Pharmacy, The Third People's Hospital of Kunming, Kunming Yunnan

Received: Jan. 29th, 2023; accepted: Mar. 8th, 2023; published: Mar. 16th, 2023

Abstract

Objective: To detect the expression levels of cytokines secreted by immune cells in patients with chronic hepatitis B (CHB), liver cirrhosis (LC) and hepatocellular carcinoma (HCC), and to investigate their correlation with clinical indicators, and in order to provide new for clinical diagnosis and treatment. **Methods:** 106 cases of CHB, 96 cases of LC, 21 cases of HCC from March 1, 2020 to May 31, 2020, in the third people's Hospital of Kunming. The changes of liver function indexes such as ALT, AST, TBIL, IBIL and DBIL were detected by automatic biochemical analyzer. The expression of cytokines IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12P70, IL-17, TNF- α , IFN- γ and IFN- α in peripheral blood was detected by multiple microsphere flow immunofluorescence assay. And the correlation between the above liver function indexes and cytokines was analyzed. As comparison, 100 healthy people served as normal control group. **Results:** The expressions of AST, ALT, TBIL, DBIL and IBIL in CHB, LC and HCC groups were higher than normal control group. Excepted IL-5, IFN- α and IL-6, the expression of IL-2, IL-1 β , IFN- γ , IL-8, IL-17, IL-12P70 and TNF- α in CHB, LC and HCC group was significantly higher than normal control group ($P < 0.05$), while the expression of IL-4 and IL-10 was significantly lower than normal control group ($P < 0.05$). There were significant differences in TNF- α and IL-4 among CHB, LC and HCC groups ($P < 0.05$). Cytokines IL-17 and TNF- α were significantly correlated with AST, ALT, TBIL, DBIL and IBIL ($P < 0.05$). **Conclusion:** The secretion of pro-inflammatory cytokines (IL-1 β , IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12P70, IL-17, TNF- α , IFN- γ , IFN- α) increased, while the secretion of anti-inflammatory cytokines (IL-4, IL-10) decreased in CHB, LC and HCC. The liver damage caused by inflammatory immune reaction was increase led to the deterioration of the disease.

Keywords

Cytokines, Chronic Viral Hepatitis B, Liver Cirrhosis, Hepatocellular Carcinoma, Immunity

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

慢性乙型病毒性肝炎(chronic hepatitis B, CHB)作为乙类传染病之一, 是当今世界面临的一个公共卫

生难题,严重影响人类的生存质量。据不完全统计,全球约 3.2 亿人感染 CHB, CHB 感染是导致肝硬化(liver cirrhosis, LC)及肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的主要原因[1],全球约三分之一的 LC 患者和超四分之三的 HCC 患者都是由 CHB 感染导致[2]。研究发现,CHB、HCC 患者组中 T 淋巴细胞衰竭标记物,包括程序性细胞死亡-1 受体(PD-1)、T 细胞免疫球蛋白和粘蛋白结构域-3 (TIM-3)、细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原-4 (CTLA-4)和淋巴细胞活化基因-3 (LAG-3)的表达水平较对照组增加,而 T 细胞增殖能力和细胞活性降低,细胞因子(干扰素- γ 、白细胞介素-2 和肿瘤坏死因子- α)的表达较对照组减少;HCC 患者组中 T 细胞衰竭标志物较 CHB 患者组表达水平更高,而 T 细胞增殖能力、细胞活性降低及细胞因子的表达较 CHB 患者组减少[3]。上述研究表明,CHB 主要是免疫介导的疾病,病毒侵入机体后,机体免疫系统低下,病毒未能完全清除,导致肝脏炎症慢性化,如果不加干预,可能导致疾病持续性进展[4]。CHB 致病机制仍不完全明确,目前主要的观点是病毒引发的宿主免疫应答,包括特异性免疫应答及非特异性免疫应答反应所引起的肝细胞损伤而引发的肝脏炎症反应。机体免疫细胞分泌的细胞因子随着肝脏疾病的发展呈动态变化[5]。因此,本研究旨在检测 HBV 感染后的不同疾病阶段中,免疫细胞所分泌的炎症相关细胞因子水平差别,并探究细胞因子水平与肝功能指标的相关性,了解细胞因子在 CHB 诱导的“三部曲”(CHB-LC-HCC)中的临床意义,为疾病的诊治提供参考。

2. 资料与方法

2.1. 研究对象

选取昆明市第三人民医院 2020 年 03 月 01 日至 2020 年 05 月 31 日期间肝病科门诊及住院确诊患者,CHB 患者 106 例,男 62 例,女 44 例,平均年龄(44.2 ± 14.8)岁;LC 患者 96 例,男 51 例,女 45 例,平均年龄(55.6 ± 10.4)岁;HCC 患者 21 例,男 13 例,女 8 例,平均年龄(56.2 ± 11.2)岁。选取门诊健康体检人群 100 例作为对照组,男 50 例,女 50 例,平均年龄(43.7 ± 8.3)岁。性别和年龄在各组间比较均无统计学意义($\chi^2 = 1.173, P = 0.279, t = 1.128, P = 0.157$),具有可比性。

2.2. 入组标准

1) 年龄 16~60 岁,HBsAg 阳性慢性乙型肝炎患者:血清 HBsAg 阳性、HBeAg 阳性、HBV DNA 阳性,ALT 持续或反复升高,或有肝组织学病变;HBeAg 阴性慢性乙型肝炎:血清 HBsAg 阳性,HBeAg 阴性,HBV DNA 阳性,ALT 持续或反复升高,或有肝组织学病变;2) HBsAg 阳性肝硬化患者;3) HBsAg 阳性肝癌患者;4) 签署知情同意书。

2.3. 排外标准

1) 艾滋病或非乙肝病人;2) 乙肝两对半不明确;3) 疫苗接种者只有 HBsAb(+);4) 其他肝病:例如个体免疫性肝病,毒性传染导致的肝病等;5) 重症系统免疫性疾病如系统性红斑狼疮等。

2.4. 实验方法

2.4.1. 肝功能指标检测

收集患者及健康人群空腹状态下血液样本 4 mL,室温放置 30 min,4℃放置 30 min,4℃、2000 r/min 条件下,离心 15 min,取上层血清上机检测,利用 AU5421 型全自动生化分析仪(美国贝克曼库尔特公司)检测相关生化指标:ALT、AST、TBIL、IBIL 和 DBIL。

2.4.2. 多重微球流式免疫荧光发光法检测细胞因子表达水平

收集患者及健康人群空腹状态下血液样本 4 mL,1000 g 离心 10 min,取分离出的血浆进行检测。取

25 μL 血浆, 加入 25 μL 实验缓冲液及 25 μL 捕获微球抗体充分混匀, 加入 25 μL 检测抗体, 室温条件下避光震荡孵育 2 h, 加入 25 μL SA-PE, 室温继续震荡孵育 30 min, 加入 1000 μL 洗涤缓冲液, 涡旋 10 s, 400 g 离心 5 min, 去除上层液体后加入 200 μL 缓冲液重悬微球, 经 NovoCyte D2040R 型流式细胞仪(杭州艾森生物有限公司)检测细胞因子 IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL12P70、IL-17、TNF- α 、IFN- γ 、IFN- α 的表达水平。

2.5. 统计学处理

所有数据均用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。采用 SPSS22.0 统计学软件进行分析, 两组间比较用 t 检验, 多组间比较用单因素方差分析, 计数资料采用 χ^2 检验, 相关性分析采用 Person 分析, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. CHB 感染不同疾病阶段临床特征

CHB 不同疾病阶段临床特征见表 1, 与正常对照组比较, CHB 组 AST、ALT、TBIL、DBIL、IBIL 表达均显著升高, 差异有统计学意义(均 $P < 0.05$); LC、HCC 组中 TBIL、DBIL、IBIL 表达显著升高, 差异有统计学意义(均 $P < 0.05$); 与 CHB 组比较, LC 组中 AST 及 ALT 显著降低差异有统计学意义(均 $P < 0.05$), HCC 组中 ALT 显著降低, 差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。提示, 伴随 CHB-LC-HCC 疾病的发生发展, 患者均出现不同程度的肝损伤。

Table 1. Comparison of liver function indicators in patients with CHB, LC and HCC ($\bar{x} \pm s$)

表 1. CHB、LC、HCC 患者肝功能指标比较($\bar{x} \pm s$)

项目	组别	正常对照组	CHB 组	LC 组	HCC 组
AST (U/L)		24.0 \pm 1.9	137.6 \pm 278.6 ^a	41.0 \pm 28.6 ^b	83.5 \pm 169.0
ALT (U/L)		26.9 \pm 1.9	187.3 \pm 375.5 ^a	41.3 \pm 63.3 ^b	39.0 \pm 21.2 ^b
TBIL ($\mu\text{mol/L}$)		8.3 \pm 1.9	27.4 \pm 51.2 ^a	27.9 \pm 24.7 ^a	32.8 \pm 42.3 ^a
DBIL ($\mu\text{mol/L}$)		3.9 \pm 1.0	14.0 \pm 36.3 ^a	12.9 \pm 16.6 ^a	16.2 \pm 26.9 ^a
IBIL ($\mu\text{mol/L}$)		8.3 \pm 1.3	13.5 \pm 15.5 ^a	15.0 \pm 10.1 ^a	17.1 \pm 17.2 ^a

与正常对照组组比较, ^a $P < 0.05$; 与 CHB 组比较, ^b $P < 0.05$ 。

3.2. CHB 感染不同疾病阶段炎症相关细胞因子水平比较

CHB 不同疾病阶段患者中细胞因子表达水平结果见表 2, 与正常对照组比较, CHB 组中 IFN- α 、IL-2、IL-1 β 、ITN- γ 、IL-8、IL-17、IL12P70、TNF- α 表达显著升高, IL-4、IL10 表达显著降低, 差异具有统计学意义(均 $P < 0.05$); LC 组中 IL-2、IL-6、IL-1 β 、ITN- γ 、IL-8、IL-17、IL12P70、TNF- α 表达显著升高, IL-4、IL10 表达显著降低, 差异具有统计学意义(均 $P < 0.05$); HCC 组中 IL-6、IL-1 β 、ITN- γ 、IL-8、IL-17、TNF- α 表达显著升高, IL-4、IL10 表达显著降低, 差异具有统计学意义(均 $P < 0.05$)。与 CHB 组比较, HCC 组中 IL-4 表达显著降低, TNF- α 表达显著升高, 差异具有统计学意义(均 $P < 0.05$)。与 LC 组比较, HCC 组中 TNF- α 表达显著升高, 差异具有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

Table 2. Comparison of inflammation-related cytokine levels ($\bar{x} \pm s$)**表 2.** 炎症相关细胞因子水平比较($\bar{x} \pm s$)

项目	组别	正常对照组	CHB 组	LC 组	HCC 组
	IL-5		3.0 ± 1.1	2.9 ± 3.5	3.0 ± 2.2
IFN- α		1.9 ± 0.3	10.7 ± 33.2 ^a	7.5 ± 17.0	4.6 ± 2.7
IL-2		3.8 ± 1.8	4.8 ± 2.2 ^a	4.4 ± 2.1 ^a	4.0 ± 2.5
IL-6		5.7 ± 2.3	8.2 ± 19.4	12.9 ± 26.9 ^a	14.6 ± 19.8 ^a
IL-1 β		2.6 ± 1.8	9.6 ± 8.7 ^a	9.5 ± 9.7 ^a	9.7 ± 9.2 ^a
IL-10		9.3 ± 1.7	7.1 ± 3.6 ^a	6.7 ± 3.9 ^a	5.9 ± 3.4 ^a
IFN- γ		2.1 ± 1.5	18.5 ± 20.2 ^a	21.9 ± 17.2 ^a	22.3 ± 15.4 ^a
IL-8		1.8 ± 0.2	17.0 ± 29.0 ^a	17.1 ± 20.7 ^a	19.1 ± 13.2 ^a
IL-17		2.4 ± 1.5	14.8 ± 9.3 ^a	14.7 ± 10.1 ^a	11.4 ± 6.5 ^a
IL-4		6.6 ± 1.0	4.5 ± 2.4 ^a	4.0 ± 2.5 ^a	3.3 ± 2.6 ^{ab}
IL-12P70		1.6 ± 0.5	3.2 ± 6.6 ^a	2.6 ± 0.7 ^a	2.3 ± 0.7
TNF- α		1.5 ± 0.6	11.9 ± 6.8 ^a	11.9 ± 6.2 ^a	9 ± 7.4 ^{abc}

与正常对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与 CHB 组比较, ^b $P < 0.05$; 与 LC 组比较, ^c $P < 0.05$ 。

3.3. 细胞因子的表达与临床肝功能指标的相关性

细胞因子 IL-17、TNF- α 与肝功能临床指标 AST、ALT、TBIL、DBIL、IBIL 显著相关(均 $P < 0.05$), 而与 IL-5、IFN- α 、IL-2、IL-6、IL-1 β 、IL-10、ITN- γ 、IL-8、IL-4、IL-12P70 无显著相关性, 结果见表 3。

Table 3. Correlation analysis between liver function indicators and cytokine expression**表 3.** 肝功能指标与细胞因子表达相关性分析

项目	因子	IL-17		TNF- α	
		R	P	R	P
AST		0.423	<0.001	0.249	0.01
ALT		0.399	<0.001	0.239	0.014
TBIL		0.482	<0.001	0.237	0.014
DBIL		0.501	<0.001	0.268	0.006
IBIL		0.418	<0.001	—	—

4. 讨论

HBV 侵入机体后, 在肝细胞中复制后进入血液循环中, 并不直接损伤肝细胞, 但肝细胞膜表面会形成特异性的病毒性抗原[6], 诱导机体免疫反应发生, 产生大量炎症相关细胞因子引发炎症并损伤肝细胞。病毒从肝细胞逸出后的不断复制是 CHB 逐渐发展为肝硬化及肝癌的关键动力, 在感染引起的炎症微环境下, 免疫细胞及分泌的炎症细胞因子的持续浸润导致肝损伤, 最终发展为肝硬化及肝癌[7]。陈罡等[8]对 LC、HCC 组织中的巨噬细胞研究发现, 与正常对照组中的巨噬细胞数比较, 癌旁组织与 LC 组织中细胞

数量均无显著性差异($P > 0.05$); 随着分化程度的降低, HCC 组织中的巨噬细胞分布密度减少, HCC 组织中的巨噬细胞数(24.6 ± 13.4)明显低于癌旁组织细胞数(43.5 ± 12.9), LC 组织细胞数(41.0 ± 13.5)显著低于正常肝组织细胞数(40.3 ± 8.9) ($P < 0.01$); 胡萍等[9]对慢性乙型肝炎发病机制的研究中发现, 与正常对照组的 Th1 细胞(12.25 ± 1.23)%、Th2 细胞(2.47 ± 0.83)%相比, CHB 患者中的 Th1 细胞比例(17.85 ± 1.92)%显著升高, Th2 细胞比例(1.39 ± 0.37)%显著降低(P 均 < 0.05), 与正常对照组中的 Treg 细胞(5.58 ± 1.96)%相比, CHB 患者中的 Treg 细胞比例(3.39 ± 1.23)%显著减少($P < 0.05$)。以上研究结果均表明, 非特异性免疫系统中巨噬细胞及特异性免疫系统中辅助性 T 细胞、调节性 T 细胞等分泌的细胞因子随着肝脏疾病的发展呈动态变化[5]。

CHB 感染可活化免疫系统中的巨噬细胞, 促进了细胞因子 IL-1 β 、IL-8、IL-12P70、IFN- α 的分泌, 炎症反应增强[10]。细胞因子 IL-1 β 、IL-8、IL-12P70、IFN- α 具有抗病毒、免疫调节的作用, 同时也是重要的炎症细胞因子。本研究发现, 相比于正常对照组, CHB 组、LC 组、HCC 组中 IL-1 β 、IL-8 因子表达较正常对照组升高, IL-12P70 仅在 CHB 组、LC 组中显著升高, IFN- α 仅在 CHB 组中显著升高。相关性分析结果发现, 炎症因子 IL-12P70、IFN- α 与 AST、ALT、TBIL、DBIL、IBIL 并无显著相关性, 提示, CHB 感染发展为肝硬化及肝癌的疾病进程中, 机体的非特异性免疫应答过程分泌的炎症细胞因子可能呈动态变化, 其中 IL-1 β 、IL-8 表达升高更为显著。

CHB 感染也活化特异性免疫系统中的辅助 T (Th)细胞, Th 细胞分为 Th1、Th2 及 Th17 细胞。Th1 细胞主要分泌 IL-2、IFN- γ 、TNF- α 等细胞因子, 调节细胞免疫, 在抗感染、细胞免疫引起的炎症反应中发挥重要作用。Th2 细胞主要分泌 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10 等细胞因子, 调节体液免疫, 辅助抗体生成[11]。其中 IL-2、IFN- γ 、TNF- α 、IL-5、IL-6 为炎症细胞因子, IL-4、IL-10 为抗炎细胞因子。正常生理状态下, Th1/Th2 细胞分泌的细胞因子处于平衡状态, 当平衡发生改变, 机体就会趋于疾病感染状态。Th1/Th2 状态失衡是导致 CHB 感染持续化发展的重要机制[12]。姜荣龙等[13]研究发现, 慢性乙型肝炎患者随着肝脏炎症活动加剧, Th1 细胞比例明显增加, 提示 Th1 细胞与肝组织损伤密切相关。研究表明, CHB 患者的 Th1 细胞分泌的细胞因子占优, 表现为 Th1 细胞功能亢进, Th2 细胞功能无明显变化[14]。与既往研究一致, 本研究发现, CHB、LC、HCC 患者外周血中 Th1/Th2 平衡向 Th1 方向偏移。Th1 细胞分泌的 IL-2、IFN- γ 、TNF- α 显著升高, 其中 TNF- α 对于肝纤维化及肝癌的发生发展具有促进作用[15], TNF- α 随着 CHB-LC-HCC 疾病的发展表达逐渐升高, 且与 AST、ALT、TBIL、DBIL、IBIL 呈正相关, 表明 TNF- α 可作为肝脏疾病诊断的主要监测对象。Th2 细胞分泌的细胞因子中, 除 IL-6 在 LC 组中显著升高, IL-4、IL-10 显著降低, 其余细胞因子并无显著变化。Th2 细胞分泌抗炎因子 IL-4 及 IL-10 表达显著下降, Th1/Th2 状态失衡, 机体免疫功能发生改变, 炎症细胞因子分泌增多。其次, IFN- γ 因子不仅能活化巨噬细胞, 促进 IL-1 β 、IL-12 等炎症细胞因子的表达, 进一步增强炎症反应, 还能活化 NK 细胞、淋巴毒性 T 细胞及中性粒细胞, 增强免疫炎症反应介导的肝细胞损伤[16], 导致肝细胞破裂和坏死更加严重。

在病毒引起的免疫应答过程中, Th17 细胞可作为肝脏疾病进程中的评价标志物, 具有免疫监视功能, 在自身免疫性疾病的发病机制中发挥重要作用[17] [18]。Th17 细胞分泌的细胞因子 IL-17, 参与慢性肝炎发展为肝硬化及肝癌的过程[19]。Ge 等[20]研究发现, CHB 患者外周血中 Th17 细胞的百分比($1.53\% \pm 0.52\%$)明显高于正常对照组($0.92\% \pm 0.20\%$)。Yang 等[21]研究发现, CHB 引起的慢加急性肝衰竭(ACLF)患者外周血中 Th17 细胞及 IL-17 表达均显著高于乙肝携带者(AsC)组和正常对照组, 并随着 AsC、CHB、ACLF 疾病进程中免疫炎症的加重而逐渐升高。上述研究表明, Th17 细胞及分泌的细胞因子 IL-17 在 CHB-LC-HCC 的免疫激活过程中有重要作用。本研究发现, CHB 感染后 IL-17 表达较正常对照组显著升高, LC 的患者中 IL-17 的表达较 CHB 患者未发生明显变化, 而 HCC 患者中较 CHB 及 LC 组中 IL-17 的

表达略微降低, 但无显著性差异, 且 IL-17 与 AST、ALT、TBIL、DBIL、IBIL 呈正相关, 提示在肝脏疾病的发生发展过程中, 炎症因子 IL-17 始终呈高表达状态, 通过诱发炎症免疫反应增加对肝脏的损伤, 导致疾病恶化。

综上所述, CHB、LC、HCC 患者中细胞因子平衡状态发生改变, 巨噬细胞及 Th 细胞分泌的炎症细胞因子分泌显著增加, 炎症免疫反应导致肝细胞损伤增加, 导致 CHB 朝着 LC、HCC 的方向发展。通过对患者外周血中细胞因子表达的检测, 可作为 CHB 感染后不同疾病阶段病情评价的客观指标, 也可为纠正 Th1/Th2 分泌的细胞因子失衡状态、调节机体免疫、疾病治愈的过程提供参考依据。

5. 结论

CHB 感染后, 可诱发炎症细胞因子释放损伤肝细胞, 如不进行干预, 炎症免疫反应增加, CHB、LC、HCC 患者中促炎细胞因子分泌增加, 抗炎细胞因子分泌减少, 诱发细胞因子风暴, 可进一步损伤肝脏细胞, 增加疾病进展风险。

基金项目

云南省科学技术厅高校联合专项项目(202001BA070001-092): 慢性乙型肝炎患者的 STAT4 蛋白表达与细胞因子分泌水平的相关性研究。

参考文献

- [1] de Martel, C., Maucourt-Boulch, D., Plummer, M., *et al.* (2015) World-Wide Relative Contribution of Hepatitis B and C Viruses in Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology*, **62**, 1190-1200. <https://doi.org/10.1002/hep.27969>
- [2] Yin, J., Xie, J., Liu, S., *et al.* (2011) Association between the Various Mutations in Viral Core Promoter Region to Different Stages of Hepatitis B, Ranging of Asymptomatic Carrier State to Hepatocellular Carcinoma. *The American Journal of Gastroenterology*, **106**, 81-92. <https://doi.org/10.1038/ajg.2010.399>
- [3] Wang, X., He, Q., Shen, H., Lu, X.J. and Sun, B. (2019) Genetic and Phenotypic Difference in CD8+ T Cell Exhaustion between Chronic Hepatitis B Infection and Hepatocellular Carcinoma. *Journal of Medical Genetics*, **56**, 18-21. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2018-105267>
- [4] 张莹, 聂红明, 汪蓉, 等. 乙型肝炎及其慢性化机制研究进展[J]. 中西医结合肝病杂志, 2021, 31(6): 569-573.
- [5] 郑雯好, 彭雁忠. 乙型肝炎慢性化机制的研究进展[J]. 中国热带医学, 2016, 16(8): 836-838.
- [6] Shi, Y., Lan, Y., Cao, F., *et al.* (2014) Infected Hematopoietic Stem Cells and with Integrated HBV DNA Generate Defective T Cells in Chronic HBV Infection Patients. *Journal of Viral Hepatitis*, **21**, e39-e47. <https://doi.org/10.1111/jvh.12236>
- [7] Lin, J., Wu, J.F., Zhang, Q., *et al.* (2014) Virus-Related Liver Cirrhosis: Molecular Basis and Therapeutic Options. *World Journal of Gastroenterology*, **20**, 6457-6469. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i21.6457>
- [8] 陈罡, 罗殿中, 郭芳, 等. 肝癌及肝硬化组织中巨噬细胞和 NK 细胞的研究[J]. 现代肿瘤医学, 2005, 13(3): 307-310.
- [9] 胡萍, 王芳, 周星. Th1/Th2、Treg/Th17 细胞平衡在慢性乙型肝炎发病机制中的作用[J]. 实用医学杂志, 2018, 34(18): 3070-3072+3076.
- [10] 刘渊, 卞兆连, 刘莹波, 孔武明. IL-17 可能通过巨噬细胞参与慢性乙型肝炎发病[J]. 肝脏, 2015(6): 453-456.
- [11] Saxena, R. and Kaur, J. (2015) Th1/Th2 Cytokines and Their Genotypes as Predictors of Hepatitis B Virus Related Hepatocellular Carcinoma. *World Journal of Hepatology*, **7**, 1572-1580. <https://doi.org/10.4254/wjh.v7.i11.1572>
- [12] Pyrski, M., Rugowska, A., Wierzbinski, K.R., *et al.* (2017) HBcAg Produced in Transgenic Tobacco Triggers Th1 and Th2 Response When Intramuscularly Delivered. *Vaccine*, **35**, 5714-5721. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.07.082>
- [13] 姜荣龙, 卢桥生, 郭亚兵, 等. Th1/Th2 细胞在慢性乙型肝炎病毒感染中的作用[J]. 南方医科大学学报, 2000, 20(2): 103-105.
- [14] Feng, H., Yin, J., Han, Y.P., *et al.* (2015) Regulatory T Cells and IL-17(+) T Helper Cells Enhanced in Patients with Chronic Hepatitis B Virus Infection. *International Journal of Clinical & Experimental Medicine*, **8**, 8674-8685.

-
- [15] 袁林, 沈世强. 血清 TNF- α 和 sEC 的表达与原发肝癌侵袭和转移的关系[J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2016, 30(2): 108-110.
- [16] 邹勇, 周耀勇. 急性肝衰竭小鼠血清 IFN- γ 、TNF- α 和 IL-12 水平的动态变化及意义[J]. 新医学, 2012, 43(9): 668-670.
- [17] Zhang, J.Y., Zhang, Z., Lin, F., *et al.* (2010) Interleukin-17-Producing CD4(+) T Cells Increase with Severity of Liver Damage in Patients with Chronic Hepatitis B. *Hepatology*, **51**, 81-91. <https://doi.org/10.1002/hep.23273>
- [18] Sun, H.Q., Zhang, J.Y., Zhang, H., *et al.* (2012) Increased Th17 Cells Contribute to Disease Progression in Patients with HBV-Associated Liver Cirrhosis. *Journal of Viral Hepatitis*, **19**, 396-403. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.2011.01561.x>
- [19] Tan, Z., Qian, X., Jiang, R., *et al.* (2013) IL-17A Plays a Critical Role in the Pathogenesis of Liver Fibrosis through Hepatic Stellate Cell Activation. *The Journal of Immunology*, **191**, 1835-1844. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1203013>
- [20] Ge, J., Wang, K., Meng, Q.H., *et al.* (2010) Implication of Th17 and Th1 Cells in Patients with Chronic Active Hepatitis B. *Journal of Clinical Immunology*, **30**, 60-67. <https://doi.org/10.1007/s10875-009-9328-2>
- [21] Yang, B., Wang, Y., Zhao, C., *et al.* (2013) Increased Th17 Cells and Interleukin-17 Contribute to Immune Activation and Disease Aggravation in Patients with Chronic Hepatitis B Virus Infection. *Immunology Letters*, **149**, 41-49. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2012.12.001>