

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.15.019

IL-17、IL-35 联合补体 C3、C4 在 CHB 患者外周血中的表达及与肝纤维化程度的关系研究

王海东¹, 李宁侠¹, 李建华¹, 唐小璐², 李江³, 董恒利^{1△}

1. 西安医学院第二附属医院检验科, 陕西西安 710038; 2. 西安医学院第二附属医院神经外科, 陕西西安 710038; 3. 延安大学咸阳医院输血科, 陕西咸阳 712099

摘要:目的 分析白细胞介素(IL)-17、IL-35、补体 C3、C4 在慢性乙型肝炎(CHB)患者外周血中的表达及与肝纤维化程度的关系。方法 选取西安医学院第二附属医院 2019 年 1 月至 2020 年 2 月收治的 110 例 CHB 患者作为观察组, 100 例体检健康者作为对照组; 收集血清检测血中 IL-17、IL-35、补体 C3 和补体 C4 水平; 采用 Logistic 回归模型分析 IL-17、IL-35、补体 C3、补体 C4 水平与患者肝纤维化程度的关系。结果 观察组血中 IL-17、IL-35 水平明显高于对照组($P < 0.05$), 观察组血中补体 C3 及补体 C4 水平明显低于对照组($P < 0.05$); 不同肝纤维化程度患者血中 IL-17、IL-35、补体 C3、补体 C4 水平比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$), 其中 F0 期患者血中 IL-17、IL-35 水平低于 F1~F2 期和 F3~F4 期患者($P < 0.05$), F1~F2 期患者血中 IL-17、IL-35 水平低于 F3~F4 期患者($P < 0.05$), F0 期患者血中补体 C3、补体 C4 水平高于 F1~F2 期和 F3~F4 期患者($P < 0.05$), F1~F2 期患者血中补体 C3、补体 C4 水平高于 F3~F4 期患者($P < 0.05$); 血中高 IL-17 及 IL-35 水平是 CHB 患者肝纤维化的独立性危险因素($P < 0.05$), 血中高补体 C3 及补体 C4 水平是 CHB 患者纤维化的独立性保护因素($P < 0.05$)。结论 CHB 患者外周血中 IL-17、IL-35 水平明显升高, 补体 C3、补体 C4 水平明显降低, 患者血中 IL-17、IL-35、补体 C3 及 C4 补体是 CHB 患者肝纤维化的独立性影响因素。

关键词: 白细胞介素-17; 白细胞介素-35; 补体 C3; 补体 C4; 慢性乙型肝炎; 肝纤维化

中图分类号: R446.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2022)15-2097-04

Expression of IL-17 and IL-35 combined with complement C3 and C4 in peripheral blood of patients with CHB and its relationship with liver fibrosis

WANG Haidong¹, LI Ningxia¹, LI Jianhua¹, TANG Xiaolu², LI Jiang³, DONG Hengli^{1△}

1. Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Medical College, Xi'an, Shaanxi 710038, China; 2. Department of Neurosurgery, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Medical College, Xi'an, Shaanxi 710038, China; 3. Department of Blood Transfusion, Xianyang Hospital, Yan'an University, Xianyang, Shaanxi 712099, China

Abstract: Objective To analyze the expression of interleukin (IL)-17, IL-35, complement C3 and C4 in peripheral blood of patients with chronic hepatitis B (CHB) and the relationship with the degree of liver fibrosis. **Methods** Totally 110 patients with CHB admitted to the Second Affiliated Hospital of Xi'an Medical College from January 2019 to February 2020 were enrolled as the observation group, and 100 healthy subjects were used as the control group. Serum samples were collected for serum IL-17, IL-35, complement C3 and complement C4 levels. Logistic regression model was used to analyze the relationship between IL-17, IL-35, complement C3, and complement C4 levels and liver fibrosis. **Results** The levels of IL-17 and IL-35 in the observation group were significantly higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The levels of complement C3 and complement C4 in the observation group were significantly lower than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). There were significant differences in the levels of IL-17, IL-35, complement C3 and complement C4 in patients with different degrees of fibrosis ($P < 0.05$). Among them, the levels of IL 17 and IL 35 in patients with F0 stage were lower than those in patients with F1-F2 stage and F3-F4 stage ($P < 0.05$), the levels of IL-17 and IL-35 in patients with F1-F2 stage were lower than those in patients with F3-F4 stage ($P < 0.05$), the levels of complement C3 and C4 in patients with F0 stage were higher than those in patients with F1-F2

作者简介: 王海东, 男, 主管技师, 主要从事临床检验诊断相关研究。△ 通信作者, E-mail: iusbaby@163.com。

网络首发 <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1167.R.20220722.1902.004.html> (2022-07-25)

stage and F3—F4 stage ($P < 0.05$), and the levels of complement C3 and C4 in patients with F1—F2 stage were higher than those in patients with F3—F4 stage ($P < 0.05$). IL-17 and IL-35 in blood were independent risk factors for liver fibrosis in patients with CHB ($P < 0.05$), and complement C3 and C4 in blood were independent protective factors for fibrosis in patients with CHB ($P < 0.05$). **Conclusion** In peripheral blood of patients with CHB, IL-17 and IL-35 levels were significantly increased, and complement C3 and C4 levels were significantly decreased. IL-17, IL-35, complement C3 and C4 in patients with blood are the independent factors affecting fibrosis in CHB patients.

Key words: interleukin-17; interleukin-35; complement C3; complement C4; chronic hepatitis B; liver fibrosis

乙型肝炎病毒感染导致的肝炎是临床常见的肝病之一,虽然我国积极推广乙型肝炎疫苗,但乙型肝炎在我国的发病率仍较高^[1]。慢性乙型肝炎(CHB)是由乙型肝炎病毒持续感染导致的,在其转归过程中,会历经肝纤维化,并会进一步引发肝衰竭、肝硬化及肝癌等重大病症,对患者的生命健康构成严重危害^[2]。研究表明,肝纤维化具有可逆性,及时逆转肝纤维化可有效控制病情^[3]。因此,寻找有效方法对肝纤维化程度进行准确评估对 CHB 的治疗及病情控制具有重要意义。目前临床诊断肝纤维化的首要方法是肝组织病理学检测,该方法需进行肝脏穿刺,易造成肝部侵袭性损伤,且存在主观局限,造成肝纤维化的错位分级^[4]。瞬时弹性成像、APRI 评分及 FIB-4 指数等诊断方法虽无创,但准确度不高,且无法应用于疗效判断及随访。随着技术的不断发展,血清学检测因具有快速、准确、无创、易操作等优势而被广泛应用于多种疾病的诊断及病情监测中^[5]。寻求准确有效的血清学检测指标对肝纤维化程度进行评估对 CHB 的治疗及病情监测极其重要。白细胞介素(IL)-17、IL-35 均是炎症介质,在炎症反应的调控中具有重要作用,补体 C3、补体 C4 是补体中最为重要的酶活性球蛋白,在机体免疫调节中发挥重要作用^[6]。但鲜有报道联合检测 CHB 患者血清 IL-17、IL-35 及补体 C3、补体 C4 水平并研究其与肝纤维化程度的关系。本研究通过比较 CHB 患者与体检健康者外周血 IL-17、IL-35 及补体 C3、补体 C4 的表达来分析以上指标与肝纤维化程度之间的关系,旨在为 CHB 的防治及病情评估提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集西安医学院第二附属医院 2019 年 1 月至 2020 年 2 月收治的 110 例符合纳入及排除标准的 CHB 患者作为观察组,其中男 63 例,女 47 例;年龄 20~68 岁,平均(37.19±8.19)岁;高血压 32 例,糖尿病 19 例;饮酒 67 例。另选择西安医学院第二附属医院同期的 100 例体检健康者作为对照组,男 55 例,女 45 例;年龄 21~71 岁,平均(38.02±7.93)岁;高血压 28 例,糖尿病 16 例;饮酒 52 例。两组一

般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究经西安医学院第二附属医院伦理委员会批准。

纳入标准:(1)符合《慢性乙型肝炎防治指南(2015 年更新版)》^[7]中的诊断标准;(2)血清乙型肝炎表面抗原呈阳性,且持续时间 > 6 个月;(3)影像学检查提示肝组织炎症性病变;(4)有完整的肝纤维化分级与肝炎活动度评估的临床资料;(5)对本研究知情并签署同意书。**排除标准:**(1)其他类型嗜肝病毒感染;(2)合并原发或转移性肝癌;(3)脂肪肝及酒精性、药物性或自身免疫性肝炎;(4)肝吸虫、肝血管瘤等其他病因导致的肝脏慢性病变。

1.2 方法 所有受试者均在入组后采集空腹静脉血 5 mL,离心收集血清,后采用酶联免疫吸附试验检测血中 IL-17、IL-35 水平,并采用免疫比浊法检测受试者血清中补体 C3 和补体 C4 水平。观察组均采用肝穿刺活检,患者采取左侧卧位或平卧位,在 B 超引导下选择进针途径和穿刺点,后取出 2~3 条肝组织,置入 10% 甲醛溶液中固定送检,采用 Metavir 评分对肝纤维化程度进行判断,F0:无纤维化;F1:局限性汇管区纤维增生,可见明显的小叶和窦周内纤维化;F2:纤维化扩大至汇管区,伴随出现肝小叶结构保留,纤维间隔形成;F3:无肝硬化但纤维间隔形成伴小叶结构紊乱;F4:早期纤维化。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 进行数据处理及统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验。计数资料采用频数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用 Logistic 回归模型分析 IL-17、IL-35、补体 C3、补体 C4 水平与患者肝纤维化程度的关系。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 受试者血中 IL-17、IL-35、补体 C3、补体 C4 水平检测结果 观察组血中 IL-17、IL-35 水平明显高于对照组($P < 0.05$),观察组血中补体 C3 及补体 C4 水平明显低于对照组($P < 0.05$),见表 1。

2.2 不同肝纤维化程度患者血中 IL-17、IL-35、补体

C3、补体 C4 水平检测结果 不同纤维化程度患者血中 IL-17、IL-35、补体 C3、补体 C4 水平比较差异均有统计学意义($P < 0.05$),其中 F0 期患者血中 IL-17、IL-35 水平低于 F1~F2 期和 F3~F4 期患者($P < 0.05$),F1~F2 期患者血中 IL-17、IL-35 水平低于 F3~F4 期患者($P < 0.05$);F0 期患者血中补体 C3、补体 C4 水平高于 F1~F2 期和 F3~F4 期患者($P < 0.05$),F1~F2 期患者血中补体 C3、补体 C4 水平高于 F3~F4 期患者($P < 0.05$),见表 2。

表 1 受试者血中 IL-17、IL-35、补体 C3、补体 C4 水平检测结果($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-17 (ng/L)	IL-35 (ng/L)	补体 C3 (g/L)	补体 C4 (g/L)
观察组	110	78.32±9.83	496.73±23.09	0.79±0.13	0.17±0.03
对照组	100	46.21±8.17	153.28±17.23	1.09±0.21	0.28±0.06
<i>t</i>		25.600	121.191	12.568	17.031
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 2 不同肝纤维化程度患者血中 IL-17、IL-35、补体 C3、补体 C4 水平检测结果($\bar{x} \pm s$)

纤维化程度	<i>n</i>	IL-17 (ng/L)	IL-35 (ng/L)	补体 C3 (g/L)	补体 C4 (g/L)
F0	24	57.39±8.49	398.11±31.92	0.93±0.21	0.22±0.05
F1~F2	47	76.05±10.29	501.02±34.28	0.80±0.19	0.18±0.07
F3~F4	39	93.94±11.21	552.25±29.83	0.69±0.28	0.13±0.06
<i>F</i>		4.743	5.968	4.091	3.989
<i>P</i>		0.011	0.003	0.019	0.021

2.3 IL-17、IL-35、补体 C3、补体 C4 水平与肝纤维化的关系 血中高 IL-17 及 IL-35 水平是 CHB 患者肝纤维化的独立性危险因素($P < 0.05$),血中高补体 C3 及补体 C4 水平是 CHB 患者纤维化的独立性保护因素($P < 0.05$),见表 3。

表 3 IL-17、IL-35、补体 C3、补体 C4 水平与同肝纤维化程度关系

指标	<i>B</i>	<i>SE</i>	χ^2	<i>P</i>	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>
IL-17	0.748	0.205	13.314	<0.001	2.113	1.414~3.158
IL-35	0.693	0.213	10.585	0.001	2.000	1.317~3.036
补体 C3	-0.684	0.198	11.934	0.001	0.505	0.342~0.744
补体 C4	-0.703	0.225	9.762	0.002	0.495	0.319~0.770

3 讨论

肝纤维化是 CHB 演变为肝硬化及肝癌的必经过程,早期肝纤维化具有可逆性,及时的治疗对病情的控制具有重要意义。因此,肝纤维化的准确诊断对 CHB 的治疗具有重要指导意义^[8]。目前临床评估肝纤维化的“金标准”是肝脏病理检查,然而此方法有

创,存在取材及读片误差,且不可重复。瞬时弹性成像作为一种无创方法也受多种因素的影响而具有局限性。近年来,血清学检测技术不断发展,人们发现了许多疾病的血清标志物。基于此,学者们开始寻找肝纤维化的血清学指标,以期为无创有效诊断提供参考^[9]。

IL-17 与 IL-35 均是炎症介质,在组织的浸润损伤中发挥重要作用。IL-35 是由调节性 T 细胞分泌的炎症因子,有研究表明其与免疫性疾病具有一定联系,且 CHB 患者血清 IL-35 水平明显高于健康者^[10]。乙型肝炎病毒感染造成的机体免疫功能紊乱是 CHB 肝损伤的主要原因,因此免疫功能在肝纤维化的发生发展中具有重要意义^[11]。补体是机体具有酶活性的球蛋白,在内环境维护、免疫调控、免疫性疾病损伤介导及抗病原菌中发挥重要作用^[12]。在 30 多种补体蛋白中,补体 C3、补体 C4 与补体总体水平呈现一致趋势,可以提示整体补体系统的功能状态,进而能够准确反映机体免疫状态^[13]。至少 90% 的人体免疫因子来源于肝脏,血液中多数蛋白质的合成主要在肝细胞中进行,当 CHB 患者出现肝损伤后,补体 C3、补体 C4 的合成受到影响,从而导致血清补体 C3、补体 C4 水平降低^[14]。此外,乙型肝炎病毒的持续感染引发免疫应答反应,激活补体系统,补体 C3、补体 C4 消耗增加,血清补体 C3、补体 C4 水平进一步下降。有研究表明,血清补体 C3、补体 C4 的水平与 CHB 病情的严重程度密切相关,补体 C3、补体 C4 水平越低,病情越严重^[15]。

本研究结果显示,相较于健康对照者,CHB 患者血中 IL-17、IL-35 水平明显升高,且补体 C3、补体 C4 水平明显降低。对不同肝纤维程度患者血中各指标进行分析发现,随着患者肝纤维化程度加重,其血中 IL-17、IL-35 水平也随之明显升高,补体 C3 及补体 C4 水平随之降低。此外,本研究采用 Logistic 回归模型分析,结果显示,IL-17、IL-35、补体 C3、补体 C4 水平均是肝纤维化的独立性影响因素,其中高 IL-17 及 IL-35 水平为危险因素,高补体 C3 及补体 C4 水平为保护因素。分析认为,IL-17 及 IL-35 是机体内重要的炎症介质,随着 CHB 患者病情加重,其血中 IL-17 及 IL-35 水平也明显升高,可抑制效应性 T 细胞并导致调节性 T 细胞增殖,进而加重免疫损伤,导致恶性循环,患者则会出现肝纤维化程度加重。补体 C3 及补体 C4 是有效评估机体液免疫的指标,当出现肝细胞损伤时,患者血清中补体 C3 及补体 C4 水平降低,提示体液免疫失衡,随着患者病情加重,血清中补体 C3 及补体 C4 水平进一步降低,提示肝纤维化程度加重。

综上所述,CHB 患者外周血中 IL-17、IL-35 水平

明显升高,补体 C3、补体 C4 明显降低,患者血中 IL-17、IL-35、补体 C3 及补体 C4 是 CHB 患者肝纤维化的独立性影响因素。但本研究并未对患者进行长期随访,有待后续深入研究分析。

参考文献

- [1] MARK T W, RYAN T B, ELIZABETH B G, et al. Enhanced CDC of B cell chronic lymphocytic leukemia cells mediated by rituximab combined with a novel anti-complement factor H antibody[J]. *PLoS One*, 2017, 12(6): e0179841.
- [2] GALLO E, MILLERJONES J, RUSSELL D, et al. The radio/X-ray domain of black hole X-ray binaries at the lowest radio luminosities [J]. *Month Not Roy Astron Soc*, 2018, 445(1): 290-300.
- [3] 王林, 刘学恩, 庄辉. 多种细胞在肝纤维化逆转中的作用 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2018, 34(4): 862-866.
- [4] SANJOY P, SACHIT G, INGRID L R, et al. Analysis of back-contact interface recombination in thin-film solar cells[J]. *IEEE J Photovolt*, 2018, 8(3): 871-878.
- [5] KOSUKE O, TAKEKI F, TAKESHI KI, et al. Effect of interleukin (IL)-35 on IL-17 expression and production by human CD4⁺ T cells[J]. *PeerJ*, 2017, 5(11): e2999.
- [6] LI Y, WANG Y, LIU H, et al. Lower level of IL-35 and its reduced inhibition in Th17 cells in patients with bone marrow mononuclear cells Coombs test-positive hemocytopenia: [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(2): 2973-2981.
- [7] 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年更新版)[J]. *临床肝胆病杂志*, 2015, 31(12): 1941-1960.
- [8] YAO S T, CAO F, CHEN J L, et al. NLRP3 is required

for complement-mediated Caspase-1 and IL-1 beta activation in ICH[J]. 2017, 61(3): 385-395.

- [9] CHEN C C, ITAKURA E, NELSON G M, et al. IL-17 is a neuromodulator of caenorhabditis elegans sensory responses[J]. *Nature*, 2017, 542(7639): 43-48.
- [10] 张曹庚, 张志峰, 张红云, 等. 血清 IL-35、IL-17 与恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎患者 HBeAg 阴转的相关性[J]. *肝脏*, 2018, 23(12): 21-25.
- [11] ALCARAZQUILES J, TITOS E, CASULLERAS M, et al. Polymorphisms in the IL-1 gene cluster influence systemic inflammation in patients at risk for acute-on-chronic liver failure[J]. *Hepatology*, 2017, 65(1): 202-216.
- [12] GUERRA E S, LEE C K, SPECHT C A, et al. Central role of IL-23 and IL-17 producing eosinophils as immunomodulatory effector cells in acute pulmonary aspergillosis and allergic asthma[J]. *PLoS Pathogens*, 2017, 13(1): e1006175.
- [13] 陈俊华, 章武战. 细胞因子 IL-17、IL-22 和 IL-33 与补体 C3、补体 C4 在系统性红斑狼疮患者外周血中的表达及意义[J]. *中国卫生检验杂志*, 2018, 28(7): 849-850.
- [14] ALEKSANDRA K, KRZYSZTOF S, MARIOLA S, et al. Diverse activity of IL-17⁺ cells in chronic skin and mucosa graft-versus-host disease[J]. *Arch Immunol Ther Exper*, 2019, 67(5): 1-13.
- [15] JUNG E S, PETERSEN B S, MAYR G, et al. Compound heterozygous mutations in IL-10RA combined with a complement factor properdin mutation in infantile-onset inflammatory bowel disease[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2018, 30(12): 1491.

(收稿日期: 2021-11-10 修回日期: 2022-03-25)

(上接第 2096 页)

- [10] IMAMURA T, YAMAMOTO I M, SUETA A, et al. Influence of the C5a-C5a receptor system on breast cancer progression and patient prognosis [J]. *Breast Cancer*, 2016, 23(6): 876-885.
- [11] KAIDA T, NITTA H, KITANO Y, et al. C5a receptor (CD88) promotes motility and invasiveness of gastric cancer by activating RhoA[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(51): 84798-84809.
- [12] WADA Y, MAEDA Y, KUBO T, et al. C5a receptor expression is associated with poor prognosis in urothelial cell carcinoma patients treated with radical cystectomy or nephroureterectomy[J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(5): 3995-4000.
- [13] 周亚妮, 刘丹. 抗 C5aR 抗体联合大蒜素对诱发性炎症肠病大鼠的治疗作用[J]. *实验动物与比较医学*, 2020, 40(4): 328-333.
- [14] ZHU X, LI S, ZHANG Q, et al. Correlation of increased Th17/Treg cell ratio with endoplasmic reticulum stress in chronic kidney disease [J]. *Medicine (Baltimore)*,

2018, 97(20): e10748.

- [15] NOACK M, MIOSSEC P. Th17 and regulatory T cell balance in autoimmune and inflammatory diseases[J]. *Autoimmun Rev*, 2014, 13(6): 668-677.
- [16] KUREBAYASHI Y, NAGAI S, IKEJIRI A, et al. Recent advances in understanding the molecular mechanisms of the development and function of Th17 cells[J]. *Genes Cells*, 2013, 18(4): 247-265.
- [17] SUN J, LUO Z, WANG G, et al. Notch ligand Jagged1 promotes mesenchymal stromal cell-based cartilage repair [J]. *Exp Mol Med*, 2018, 50(9): 126.
- [18] LI C, SHENG A, JIA X, et al. Th17/Treg dysregulation in allergic asthmatic children is associated with elevated notch expression[J]. *J Asthma*, 2018, 55(1): 1-7.
- [19] JIAO W E, WEI J F, KONG Y G, et al. Notch signaling promotes development of allergic rhinitis by suppressing Foxp3 expression and Treg cell differentiation[J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2019, 178(1): 33-44.

(收稿日期: 2021-11-02 修回日期: 2022-03-01)