

## · 论著 ·

# $\alpha$ -干扰素受体在慢性乙型肝炎患者肝组织中的表达及临床意义

张永红 何彩艳

**【摘要】** 目的 探讨不同病理分型的慢性乙型肝炎(乙肝)患者肝组织中  $\alpha$ -干扰素受体(IFN- $\alpha$ R)的表达及其临床意义。方法 选择 80 例不同临床分型的慢性乙肝患者进行肝穿刺病理活检,从中筛选出 60 例患者不同病理分型的肝组织,采用免疫组化染色技术对 IFN- $\alpha$ R 的表达进行检测和半定量分析,并与生生化指标、肝组织病理学变化及血清乙肝表面抗原(HBsAg)、乙肝 e 抗原(HBeAg)、乙肝病毒(HBV)-DNA 定量等进行相关分析。结果 按病理分型,IFN- $\alpha$ R 表达强度在慢性无症状携带者(12 例)为  $7.608 \pm 2.944$ ,慢性轻度者(20 例)为  $8.013 \pm 4.722$ ,慢性中度者(19 例)为  $15.424 \pm 8.187$ ,慢性重度者(9 例)为  $18.829 \pm 9.696$ ;按照炎症程度分级,IFN- $\alpha$ R 表达强度在 G0-1 级(14 例)为  $5.096 \pm 0.437$ ,G1-2 级(18 例)为  $9.345 \pm 0.988$ ,G3 级(17 例)为  $13.903 \pm 1.409$ ,G4 级(11 例)为  $23.530 \pm 1.965$ ;慢性轻、中、重度及不同炎症程度的慢性乙肝患者间 IFN- $\alpha$ R 表达强度差异有统计学意义( $F_1 = 32.526, P_1 = 0.002; F_2 = 35.482, P_2 = 0.001$ ),不同纤维化分级间差异无统计学意义( $F = 3.549, P = 0.121$ );IFN- $\alpha$ R 表达强度与血清丙氨酸转氨酶(ALT)水平呈显著正相关( $r = 0.546, P < 0.05$ ),而与 HBsAg、HBeAg、HBV-DNA 定量无相关性( $P$  均  $> 0.05$ )。结论 慢性乙肝患者肝组织 IFN- $\alpha$ R 的表达强度与肝组织的炎症程度及 ALT 水平有关,肝组织受体的高表达可能是其对 IFN 应答率高的原因之一,可作为 IFN 疗效的预测指标之一。

**【关键词】** 肝炎,乙型; 干扰素受体; 肝组织; 免疫组化

**Expression of interferon- $\alpha$  receptor in liver tissues in patients with chronic hepatitis B and its clinical significance** ZHANG Yong-hong\*, HE Cai-yan. \* Department of Infectious Diseases, Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410011, Hunan, China

**【Abstract】** Objective To detect the expression of interferon- $\alpha$  receptor (IFN- $\alpha$ R) in the liver tissues in patients with chronic hepatitis B of different pathological types, and to explore its clinical significance. **Methods** Liver biopsies were conducted in 80 patients with chronic hepatitis B of different clinical types, and 60 different pathological types were screened from them. The expression of IFN- $\alpha$ R was detected by immunohistochemical technique, and its expression level was compared among different groups semi-quantitatively. The correlations between IFN- $\alpha$ R intensity and pathological types, alanine aminotransferase (ALT) level, hepatitis B surface antigen (HBsAg) concentration, hepatitis B e-antigen (HBeAg) concentration and hepatitis B virus (HBV)-DNA viral load were also analyzed by Pearson correlation test. **Results** According to pathological types, the IFN- $\alpha$ R expression intensity in liver tissues from asymptomatic carriers (12 cases) and patients with mild (20 cases), moderate (19 cases) and severe (9 cases) chronic hepatitis were  $7.608 \pm 2.944$ ,  $8.013 \pm 4.722$ ,  $15.424 \pm 8.187$  and  $18.829 \pm 9.696$ , respectively. In regard to pathological grading, its expression intensity in liver tissues of G0-1 (14 cases), G1-2 (18 cases), G3 (17 cases), G4 (11 cases) was  $5.096 \pm 0.437$ ,  $9.345 \pm 0.988$ ,  $13.903 \pm 1.409$  and  $23.530 \pm 1.965$ , respectively. There was a significant difference of IFN- $\alpha$ R expression intensity between groups classified by pathological types and gradings ( $F_1 = 32.526, P_1 = 0.002; F_2 = 35.482, P_2 = 0.001$ ), but not by fibrosis staging ( $F = 3.549, P = 0.121$ ). No significant correlation was found between IFN- $\alpha$ R expression intensity and HBsAg, HBeAg, HBV-DNA viral load (all  $P > 0.05$ ), but it was positively correlated with ALT level ( $r = 0.546, P < 0.05$ ). **Conclusion** The expression of IFN- $\alpha$ R in liver tissues in patients with chronic hepatitis B correlates well with the pathological grading and ALT level. The high expression of IFN- $\alpha$ R might contribute to the good response to interferon, and it could be a useful predicting factor for the therapeutic effect of interferon with chronic hepatitis B.

**【Key words】** hepatitis B; interferon receptor; liver tissue; immunohistochemistry

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2009.02.006

基金项目:湖南省科技计划项目(05SK3051)

作者单位:410011 湖南长沙,中南大学湘雅二医院感染科(张永红);412002 湖南株洲,第三三一医院感染科(何彩艳)

Email:zhangyh\_xy@163.com

干扰素(IFN)是乙型肝炎(乙肝)抗病毒治疗的一线药物,早期曾有少数报道用于重型肝炎的治疗,但由于其有使患者病情加重的危险,现国内外学者已不主张使用<sup>[1]</sup>,所以,目前主要用于慢性乙肝的治疗。虽然其副作用较大,但因其疗程固定、无耐药现

象及远期疗效优于核苷类药物而备受青睐。但是, IFN 治疗慢性乙肝的总有效率在 30%左右, 如何选择治疗的适应证以提高 IFN 的疗效, 不仅是临床面临的重要问题, 也是一个能带来良好社会效益和经济效益的社会问题。本研究中我们采用免疫组化染色技术对多例不同病理分型的慢性乙肝患者肝组织中  $\alpha$ -干扰素受体 (IFN- $\alpha$ R) 表达情况进行研究, 探讨其在疗效预测中的价值。

1 资料与方法

1.1 病例选择: 进行肝穿刺的 80 例不同临床分型慢性乙肝患者均为本院门诊或住院者, 从中筛选出 60 例不同病理分型的慢性乙肝患者, 包括肝组织基本正常或有轻微病变的慢性无症状携带者 12 例, 慢性轻度 20 例, 慢性中度 19 例, 慢性重度 9 例。其中男 43 例, 女 17 例; 年龄 16~54 岁, 平均 (38.29  $\pm$  12.39) 岁; 平均病程 24 个月。病毒性肝炎的诊断及肝脏的病理学诊断 (炎症程度及纤维化分级) 符合 2000 年 (西安) 会议修订的诊断标准<sup>[2]</sup>, 并排除了其他肝炎病毒的感染。

1.2 检测指标及方法: 患者均进行肝功能检测, 肝穿刺活体组织检测采用 1 s 快速肝穿刺活检术, 免疫组化染色技术采用链霉素-亲和素-生物素-过氧化物酶 (SABC) 法, 按试剂盒说明书操作, 通过观察阳性细胞数和着色强度进行半定量分析。即用型 SABC 试剂盒购自武汉博士德公司, 鼠抗人 IFN- $\alpha$ / $\beta$  链单克隆抗体为瑞士 Alexis 公司产品。肝功能采用全自动生化分析仪测定; 乙肝表面抗原 (HBsAg)、乙肝 e 抗原 (HBeAg) 定量的检测方法用时间分辨免疫荧光分析法; 乙肝病毒 (HBV)-DNA 采用实时荧光定量聚合酶链反应 (PCR) 测定。

1.3 统计学分析: 用 SPSS 13.0 统计软件处理数据, 结果以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 肝组织不同病理分型、炎症程度和纤维化分级的 IFN- $\alpha$ R 表达强度及与血清丙氨酸转氨酶 (ALT)、HBsAg、HBeAg、HBV-DNA 定量关系分别采用方差分析和相关检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同病理分型的慢性乙肝患者 IFN- $\alpha$ R 表达 (表 1): 随着慢性乙肝病情加重, IFN- $\alpha$ R 表达强度也增强, 慢性轻、中、重度之间 IFN- $\alpha$ R 表达强度差异有统计学意义 ( $F = 32.526, P = 0.002$ )。

2.2 不同炎症程度及纤维化分级慢性乙肝患者 IFN- $\alpha$ R 表达 (表 1): 随着炎症程度加重, IFN- $\alpha$ R 表达强度增强, 不同炎症程度的慢性乙肝患者之间 IFN- $\alpha$ R 表达强度差异有统计学意义 ( $F = 35.482, P = 0.001$ ); 而不同纤维化分级间的差异无统计学意义 ( $F = 3.549, P = 0.121$ )。

2.3 相关分析: 60 例慢性乙肝患者肝组织 IFN- $\alpha$ R 表达强度与血清 ALT 呈显著正相关 ( $r = 0.546, P < 0.05$ ), 而与 HBsAg、HBeAg、HBV-DNA 定量无相关性 ( $P$  均  $> 0.05$ )。

3 讨论

目前国内外公认的慢性乙肝的抗病毒治疗药物有 IFN 和核苷类似物, 核苷类似物的长期应用可发生 HBV 多个基因位点的变异, 这些变异常使药物敏感性下降, 导致病毒学和生化学反弹, 引起病情反复; 而序贯治疗又可产生多重耐药。此外, 耐药变异株在人群中的传播也可能成为一个公共卫生问题<sup>[3]</sup>。因此, IFN 的抗病毒作用也日益受到了大家的重视, 现在大多数学者对于年轻而初次发病的患者多主张首选 IFN 治疗。IFN 分为 I 型和 II 型, I 型 IFN 包括 IFN- $\alpha$  和 IFN- $\beta$ , 它们的分子具有序列同源性, 有相同的细胞表面受体, 细胞效应类似, 具有抗病毒作用。目前用于治疗慢性乙肝的 IFN 主要是 IFN- $\alpha$ 。I 型 IFN 即 IFN- $\gamma$ , 具有免疫调节功能。IFN 是一类具有广谱抗病毒、抗肿瘤和免疫调节等多种生物学功能的蛋白质, 其诱导机体产生抗病毒效应的机制首先是 IFN 与细胞膜上特异性受体结合, 再通过 Janus 激酶/信号转导和转录激活因子 (JAK/STAT) 信号转导途径激活细胞 IFN, 诱导基因表达抗病毒蛋白而发挥其生物学效应<sup>[4]</sup>。因此, IFN 受体是决定对 IFN 是否应答的关键因素, 检测 IFN- $\alpha$ R

表 1 不同病理分型和炎症程度及纤维化分级的慢性乙肝患者肝组织中 IFN- $\alpha$ R 表达强度比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

病理分型	例数	IFN- $\alpha$ R 表达	炎症程度	例数	IFN- $\alpha$ R 表达	纤维化分级	例数	IFN- $\alpha$ R 表达
无症状携带者	12	7.608 $\pm$ 2.944	G0-1	14	5.096 $\pm$ 0.437	S0-1	16	6.938 $\pm$ 1.072
慢性轻度	20	8.013 $\pm$ 4.722	C1-2	18	9.345 $\pm$ 0.988	S2	15	10.912 $\pm$ 2.231
慢性中度	19	15.424 $\pm$ 8.187	G3	17	13.903 $\pm$ 1.409	S3	14	11.674 $\pm$ 2.311
慢性重度	9	18.829 $\pm$ 9.696	G4	11	23.530 $\pm$ 1.965	S4	15	11.396 $\pm$ 0.958
F 值		32.526	F 值		35.482	F 值		3.549
P 值		0.002	P 值		0.001	P 值		0.121

可能对预测 IFN 的疗效有重要意义。

相关文献报道,影响 IFN 治疗慢性乙肝疗效的因素有肝组织的炎症程度、治疗前转氨酶的高低、白细胞介素-12(IL-12)的水平、外周血树突细胞的表型、外周血单核细胞中 IFN 受体的表达强度、IFN 中和抗体、血清中 HBV-DNA 的含量、HBV 的基因型等<sup>[5]</sup>。樊和斌等<sup>[6]</sup>研究发现慢性乙肝患者肝组织内 IFN 受体的表达量与肝组织的炎症程度呈相关性。Fujiwara 等<sup>[7]</sup>也发现,采用免疫组化方法测定 IFN 受体蛋白在肝脏中的表达比测定其 mRNA 水平更有意义。有研究还发现,IFN 治疗应答组患者治疗前有很高的 IFN 受体 mRNA 水平,并且随着血液中病毒的清除,其水平也逐渐下降<sup>[8]</sup>。

本研究中发现,慢性轻、中、重度及不同炎症程度的慢性乙肝患者之间 IFN-αR 表达强度差异有统计学意义,而与纤维化的程度无关,即随着肝组织病理学改变主要是炎症活动度的加重,肝组织 IFN-αR 的表达强度也逐渐增强。正常情况下,机体的 IFN 基因和 IFN 受体基因处于静止状态,自然表达水平都很低,但病毒感染后能激活它们的表达。因此,肝组织炎症反应严重的患者肝细胞表面抗原和人白细胞抗原表达增强,激活了机体的细胞免疫功能,也上调了 IFN 受体基因表达而导致表达的增强,而 IFN 治疗的耐受性可能与肝组织中较低的 IFN 受体水平有关。本研究中还发现,IFN-αR 表达强度与血清 ALT 水平呈显著正相关,即 ALT 高者,IFN-αR 表达强度亦高;反之,ALT 低者,IFN-αR 表达强度亦低。目前有多篇文献报道 ALT 升高者抗病毒的有效应答率明显升高,这可能与它们的 IFN 受体表达强度有关。

IFN-αR 表达强度与血清 HBsAg、HBeAg 和

HBV-DNA 定量无相关性,故不能把这些单个指标作为抗病毒治疗的标准,应综合分析后进行判断。Yatsuhashi 等<sup>[9]</sup>认为肝组织中 IFN-α/βR 表达水平可作为 IFN 治疗慢性丙型肝炎效果的预测指标。本研究也认为慢性乙肝肝组织 IFN-αR 的表达强度与肝组织的炎症程度及 ALT 水平有关,肝组织受体的高表达可能是其对 IFN 应答率高的原因之一,可作为 IFN 疗效的预测指标之一。

参考文献

- [1] 于晓燕,秦波. 抗病毒治疗在乙型肝炎中的应用与评价. 中国危重病急救医学, 2006, 18(7): 444-445.
- [2] 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. 中华传染病杂志, 2001, 19(1): 56-62.
- [3] 茹清静. 慢性乙型肝炎病毒变异及其中医辨证论治研究进展. 中国中西医结合急救杂志, 2008, 15(4): 249-251.
- [4] Plataniotis LC. Mechanisms of type - I - and type - I interferon-mediated signalling. Nat Rev Immunol, 2005, 5(5): 375-386.
- [5] 赵洪奎, 崔霞, 袁建国. 影响干扰素治疗慢性乙型肝炎疗效因素的研究进展. 医学综述, 2006, 12(6): 358-360.
- [6] 樊和斌, 郭亚兵, 王宝菊, 等. 慢性乙型肝炎患者外周血单核细胞内 IFN-α/β 受体的表达及其临床意义. 南方医科大学学报, 2008, 28(6): 979-981.
- [7] Fujiwara D, Hino K, Yamaguchi Y, et al. Hepatic expression of type I interferon receptor for predicting response to interferon therapy in chronic hepatitis C patients: a comparison of immunohistochemical method vs. competitive polymerase chain reaction assay. Hepatol Res, 2003, 25(4): 377-384.
- [8] 卢银平, 董继华, 刘朝, 等. 慢性乙型肝炎患者外周血单个核细胞 α 干扰素及其受体 1 的表达与治疗的关系. 中华传染病杂志, 2006, 24(5): 346-348.
- [9] Yatsuhashi H, Fujino T, Matsumoto T, et al. Immunohistochemical analysis of hepatic interferon alpha-beta receptor level; relationship between receptor expression and response to interferon therapy in patients with chronic hepatitis C. J Hepatol, 1999, 30(6): 995-1003.

(收稿日期: 2008-11-16 修回日期: 2008-12-23) (本文编辑: 李银平)

• 科研新闻速递 •

腺苷脱氨酶抑制剂能降低肠道通透性并减轻脓毒症损伤

现阶段对脓毒症患者的治疗仍是医疗界的重大难题。已有研究表明,环核苷酸、腺苷及其受体在免疫应答调节和限制炎症组织破坏中起中枢作用。为了验证腺苷脱氨酶 1 和环鸟嘌呤磷酸刺激磷酸二酯酶被抑制可能对实验性内毒素感染有益,研究者采用内毒素感染和脓毒症动物模型: 24 只雄性 Wistar 大鼠静脉给予脂多糖(LPS),在 120 min 内注入红-9-(2-羟基-3-氨基)erythro-9)腺嘌呤或生理盐水治疗。84 只雌性 c57BL/6 小鼠用盲肠结扎穿孔术(CLP)诱导脓毒症,在 0、12、24 h 给动物注射治疗药物或在 4、12、24 h 延期注射治疗给药。结果发现:脓毒症组 120 min 后盲肠中次黄嘌呤和尿酸均明显升高。治疗组腺苷代谢产物没有提高,小肠通透性标志物乳糖/左旋鼠李糖比率较对照组升高,提示小肠通透性增加;应用 erythro-9 腺嘌呤后小肠通透性恢复。LPS 处理大鼠尿中排出鼠李糖/3-O-甲基-右旋葡萄糖比值减小;治疗后比值恢复。脓毒症大鼠黏膜损伤程度较正常组和治疗组均高。CLP 诱导脓毒症性休克大鼠 160 h 存活率为 25%,而直接用腺苷脱氨酶 1 抑制剂治疗后存活率为 75%;在延迟治疗 4 h 组同样起到保护作用。研究者同时还进行了腺苷脱氨酶 1 和环鸟嘌呤磷酸刺激的磷酸二酯酶抑制剂在内毒素中毒和脓毒症动物模型中的研究,并取得了很好的疗效。该研究为临床治疗脓毒症提供了更多的方法。

李响,周国勇,编译自《Crit Care》,2008-10-11(电子版);胡森,审校