DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.11.034
第23卷第11期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 11
1324 2001年11月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Nov. 2001

论著

文章编号:1000-5404(2001)11-1324-03

乙型肝炎患者血清和PBMC培养上清IL-2与IL-10的检测及意义

李 玲,顾长海,王宇明,陈国致,谭朝霞 (第三军医大学附属西南医院全军感染病研究所,重庆 400038)

提 要:目的 探讨Th1/Th2细胞因子在乙型肝炎发病机制中的意义。方法 采集7例急性病毒性肝炎、12例慢性乙型肝炎、10例慢性重型乙型肝炎患者和10例健康献血员血清;分离15例慢性乙型肝炎、14例慢性重型乙型肝炎和10例健康献血员PBMC,在PHA-P刺激下培养72 h,收取培养上清。采用双抗体夹心ELISA法检测血清和PBMC培养上清IL-2与IL-10水平。结果 急性肝炎血清IL-2高于正常对照($P<0.01$)、高于慢性乙型肝炎($P<0.05$)、高于慢性重型乙型肝炎($P<0.05$)。慢性重型乙型肝炎血清IL-2高于正常对照($P<0.01$),慢性重型乙型肝炎PBMC培养上清IL-2高于正常对照($P<0.05$)。血清IL-2与ALT呈正相关($P<0.01$),PBMC培养上清IL-2与ALT呈正相关($P<0.05$)。血清IL-10与PBMC培养上清IL-10与ALT无相关性,血清IL-2与IL-10呈正相关($P<0.01$)。结论 Th1型细胞因子IL-2上调与乙型肝炎肝脏的炎症活动相关,IL-2的分泌低下可能造成细胞免疫力低下,与HBV的持续感染有关。IL-10可能作为IL-2的拮抗因子随IL-2分泌增加而升高。

关键词:乙型肝炎;白细胞介素-2;白细胞介素-10
中图法分类号:R446.1;R446.62;R512.62 文献标识码:A

Detection of IL-2 and IL-10 in serum and supernatant of PBMC culture of hepatitis B patient and its significance

LI Ling, GU Chang-hai, WANG Yu-ming, CHEN Guo-zhi, TAN Zhao-xia (Research Center for Infectious Disease of PLA, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To explore the significance of Th1/Th2 cytokines in the pathogenesis of hepatitis B. Methods Sera were collected from 7 patients with acute hepatitis, 12 chronic hepatitis B, 10 chronic severe hepatitis B and 10 healthy blood donors. PBMCs from 15 patients with chronic hepatitis B, 14 chronic severe hepatitis B and 10 healthy blood donors were cultured with PHA-P *in vitro*. The supernatant of PBMCs culture was collected 72 h after incubation. Then the level of IL-2 and IL-10 in sera and supernatant were measured by ELASA method respectively. Results The level of IL-2 was higher in sera of acute hepatitis than in healthy blood donors($P<0.01$), than in chronic hepatitis B($P<0.05$) and than in chronic severe hepatitis B($P<0.05$). The level of IL-2 was higher in sera of chronic severe hepatitis B than in healthy blood donors($P<0.01$). The level of IL-2 was higher in PBMC supernatant of chronic severe hepatitis B than in control group($P<0.05$). The level of IL-2 in sera positively correlated with ALT($P<0.01$). The level of IL-2 in PBMC supernatant positively correlated with ALT($P<0.05$). The level of IL-10 in sera and in PBMC supernatant did not correlate with ALT. The level of IL-10 in sera positively correlated with IL-2 in sera ($P<0.01$). Conclusion The increase of IL-2 (Th1 cytokine) relates to active inflammation in liver of hepatitis B. The decrease of IL-2 may induce the decrease of cellular immunity and HBV persistent infection. IL-10 may be as an antagonistic cytokine of IL-2 is increased with the increase of IL-2.

Key words: hepatitis B; IL-2; IL-10

既往研究发现乙型病毒性肝炎的发生发展与机体免疫功能的失调关系密切,但乙型肝炎的发病机制至今仍未十分明了。近年发现Th1/Th2细胞因子在调节机体细胞和体液免疫状况方面起重要作用,故本研究设想通过检测比较各型乙型肝炎血清及PBMC培养上清Th1细胞因子(IL-2)和Th2细胞因子(IL-10)水平,探讨Th1/Th2细胞因子在乙型肝炎病毒致病机制中的作用。

1 材料与方法

1.1 血清

本院住院病毒性肝炎患者29例(男22例,女7例,年龄16~50岁)。其中急性肝炎患者7例(其中急性甲型肝炎3例,急性乙型肝炎2例,原因不明急性肝炎2例),慢性乙型肝炎患者12例,慢性重型乙型肝炎患者10例。诊断符合1995年第五次全国传染病与寄生虫病学术会议修定的病毒性肝炎诊断标准。正常对照取本院健康献血员10例(男8例,女2例,年龄31~46岁)。采集标本血清冻存于-70 ℃。

1.2 PBMC培养上清

本院住院乙型肝炎患者29例(男26例,女3例,年龄21~53岁),其中慢性乙型肝炎患者15例,慢性重型乙型肝炎患者14例。诊断符合1995年第五次全国传染病与寄生虫病学术会议修定的病毒性肝炎诊断标准。正常对照取本院健康献血员10例(男8例,女2例,年龄27~37岁)。抽取肝素抗凝血按常规分离外周血单个核细胞(PBMC),将PBMC调成1×10^6/ml浓度,每孔接种1 ml于12孔培养板上,加植物血凝素(PHA-P,美国SIGMA公司产品)10 μg/每孔,37 ℃ 5%CO_2培养箱孵育。培养液为含10%小牛血清RPMI1640(美国GIBCO公司产品)。细胞培养72 h后收取培养上清冻存于-70 ℃。

1.3 IL-2和IL-10的检测

从-70 ℃中取出标本,室温下融化后采用双抗体夹心

作者简介:李 玲(1963-),女,重庆市人,博士,主治医师,主要从事乙型肝炎发病机制的课题方面研究,发表论文10篇。电话:(023)68773068

收稿日期:2001-03-22;修回日期:2001-05-10

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

ELISA 法(晶美公司产品)。按试剂盒说明书检测血清及 PBMC 培养上清 IL-2 和 IL-10 水平。

1.4　统计学分析

采用 SPSS10.0 统计软件进行方差分析、秩和检验和相关分析。

2　结果

2.1　各型肝炎和正常对照血清 IL-2、IL-10 检测结果和比较

急性肝炎血清 IL-2 最高, 高于正常对照、慢性乙型肝炎和慢性重型乙型肝炎。慢性重型乙型肝炎血清 IL-2 高于正常对照。急性肝炎血清 IL-10 高于正常对照和慢性乙型肝炎, 慢性乙型肝炎血清 IL-10 高于正常对照, 慢性重型乙型肝炎血清 IL-10 高于正常对照和慢性乙型肝炎, 见表 1。

表 1　各型肝炎和正常对照组血清 IL-2、IL-10 检测结果和比较

Tab 1　Comparison of IL-2, IL-10 level in sera of various hepatitis group and normal control

Group	n	IL-2(pg/ml)	IL-10(pg/ml)
Normal control	10	6.79±5.87	16.65±7.19
Acute hepatitis	7	64.81±42.01 **	70.31±34.48 **
Chronic hepatitis B	12	17.99±21.19 #	43.48±24.56 **#
Chronic severe hepatitis B	10	22.60±14.74 **#	79.48±50.75 **@

**: $P<0.01$ *vs* normal control; #: $P<0.05$ *vs* acute hepatitis; @: $P<0.05$ *vs* chronic hepatitis

2.2　乙型肝炎 HBeAg(+)、HBeAg(-)和正常对照血清 IL-2、IL-10 检测结果和比较

乙型肝炎 HBeAg(+)与 HBeAg(-)组血清 IL-2、IL-10 皆高于正常对照, IL-2、IL-10 在乙型肝炎 HBeAg(+)与 HBeAg(-)组之间比较无统计学差异, 见表 2。

表 2　乙型肝炎 **HBeAg**(+)、**HBeAg**(-)和正常对照组血清 **IL-2, IL-10** 检测结果和比较

Tab 2　Comparison of IL-2, IL-10 level in sera of HBeAg(+) hepatitis B group, HBeAg(-) hepatitis B group and normal control

Group	n	IL-2(pg/ml)	IL-10(pg/ml)
Normal control	10	6.79±5.87	16.65±7.19
HBeAg(+) hepatitis B	12	19.97±20.96 *	58.77±39.45 **
HBeAg(-) hepatitis B	12	20.91±15.60 **	59.38±43.14 **

*: $P<0.05$ *vs* normal control, **: $P<0.01$ *vs* normal control

2.3　各型肝炎和正常对照 PBMC 培养 72 h 上清 IL-2、IL-10 检测结果和比较

在 PHA-P 刺激培养 72 h 后慢性重型乙型肝炎 PBMC 上清 IL-2 高于正常对照, IL-10 在 3 组间无统计学差异, 见表 3。

表 3　各型肝炎和正常对照组 **PBMC** 培养 **72 h** 上清 **IL-2, IL-10** 检测结果和比较

Tab 3　Comparision of IL-2, IL-10 level in PBMC culture supernatants of various hepatitis group and normal control

Group	n	IL-2(pg/ml)	IL-10(pg/ml)
Normal control	10	18.96±13.94	964.80±234.29
Chronic hepatitis B	15	32.49±31.01	741.92±375.34
Chronic severe hepatitis B	14	59.38±53.35 *	752.21±421.13

*: $P<0.05$ *vs* normal control

2.4　乙型肝炎 HBeAg(+)、HBeAg(-)和正常对照 PBMC 培养 72 h 上清 IL-2、IL-10 检测结果和比较

乙型肝炎 HBeAg(+)与 HBeAg(-)组体外培养 72 h PBMC 上清 IL-2 水平似高于正常对照, 但 3 组间无统计学差异。IL-10 在 3 组间无统计学差异, 见表 4。

表 4　乙型肝炎 **HBeAg**(+)、**HBeAg**(-)和正常对照组 **PBMC** 培养 **72 h** 上清 **IL-2, IL-10** 检测结果和比较

Tab 4　Comparison of IL-2, IL-10 level in PBMC culture supernatants of HBeAg(+) hepatitis B group, HBeAg(-) hepatitis B group and normal control

Group	n	IL-2(pg/ml)	IL-10(pg/ml)
Normal control	10	18.96±13.94	964.80±234.29
HBeAg(+) hepatitis B	13	46.38±48.43	765.51±362.88
HBeAg(-) hepatitis B	16	44.73±42.84	731.75±423.50

There were no statistic difference among various groups

2.5　血清与 PBMC 培养上清 IL-2、IL-10 与 ALT 相关分析结果

血清 IL-2 与 ALT 呈正相关($n=29$, $r=0.590$, $P<0.01$), 培养 PBMC 上清 IL-2 与 ALT 呈正相关($n=29$, $r=0.400$, $P<0.05$), 血清 IL-10 与 PBMC 培养上清 IL-10 与 ALT 无相关性。血清 IL-10 与 IL-2 呈正相关($n=39$, $r=0.423$, $P<0.01$), 而培养 PBMC 上清 IL-2 与 IL-10 无相关性。

3　讨论

辅助性 T 细胞(Th 细胞)是机体一类重要的调节性 T 细胞, 具有辅助细胞免疫及体液免疫的功能。据其产生细胞因子的不同, 可将其分为 Th1、Th2 细胞两类。Th1 细胞主要产生 IL-2、IFN-γ、TNF-β 等因子, 增强细胞免疫应答, 活化巨噬细胞, 促进迟发性超敏反应性炎症形成, 故亦称为促炎性 T 细胞。Th2 细胞主要产生 IL-4、IL-5、IL-6 及 IL-10 等因子, 辅助 B 细胞分化成为抗体产生细胞, 与体液免疫相关。Th1 和 Th2 细胞可通过所产生的细胞因子发挥相互调节和制约作用。近年发现, Th1/Th2 细胞平衡失调与肿瘤、自身免疫性疾病、病毒感染等的发生和病情的转归密切相关[1,2]。

乙型肝炎病人体内存在 Th1/Th2 型细胞因子失调[3]。由于 Th1/Th2 型细胞因子在乙型肝炎发病机制中的意义尚处于初步探索阶段, 各家报道也不尽一致[3~5]。本研究通过检测比较各型乙型肝炎血清及其 PBMC 在 PHA-P 刺激下培养上清 IL-2 和 IL-10 水平, 进一步探讨 Th1/Th2 细胞因子在乙型肝炎发病机制中的作用。

研究发现, 急性肝炎血清 IL-2 最高, 慢性重型乙型肝炎血清 IL-2、PBMC 培养上清 IL-2 皆较高, 血清 IL-2、PBMC 培养上清 IL-2 与 ALT 呈正相关。提示 IL-2 与肝脏的活动性炎症有关, Th1 型细胞因子的产生增多加强了细胞免疫, 有利于清除病毒, 但加重肝脏炎症。血清和 PBMC 培养上清 IL-2 在慢性乙型肝炎组较正常对照组无显著性差异, 显示在慢性乙型肝炎由 HBV 引起的 IL-2 刺激性分泌相对低下, IL-2 的分泌低

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

下可能造成细胞免疫力低下,与 HBV 持续感染的形成有关。急性肝炎与慢性重型乙型肝炎血清 IL-10 较高,血清 IL-10 和 PBMC 培养上清 IL-10 与 ALT 无相关性,血清 IL-10 与 IL-2 呈正相关。提示 IL-10 与肝脏的炎症活动可能无直接关系,可能是作为一种拮抗因子随着 Th1 型亲炎症因子 IL-2 等的增加而升高,体内 Th2 型细胞因子 IL-10 的分泌增加以拮抗 Th1 型细胞因子 IL-2 的分泌,这可能是机体的一种免疫平衡机制,同时由于 IL-10 对 IL-2 等 Th1 细胞因子的拮抗作用,又可能削弱机体对抗病毒的细胞免疫功能。

IL-2、IL-10 在 HBeAg(+)与 HBeAg(-)组之间比较无统计学差异,Th1/Th2 细胞因子对 HBV 复制状况的影响有待于进一步研究。

参考文献:

[1] Salgame P, Abrams J S, Clayber C, *et al*. Differing lymphokine profiles of function subsets of human CD4 and CD8 T cell clones[J]. Science, 1991, 254(5 029): 279-281.

[2] Abbas A K, Murphy K M, Sher A, *et al*. Functional diversity of helper T lymphocytes[J]. Nature, 1996, 383(6 603): 787-793.

[3] Fukuda R, Ishimura N, Nguyen T X, *et al*. The expression of IL-2, IL-4 and interferon-gamma (IFN-gamma) mRNA using liver biopsies at different phases of acute exacerbation of chronic hepatitis B[J]. Clin Exp Immunol, 1995, 100(3): 446-451.

[4] Marinos G, Rossol S, Carucci P, *et al*. Immunopathogenesis of hepatitis B virus recurrence after liver transplantation[J]. Transplantation, 2000, 69(4): 559-568.

[5] Bozkaya H, Bozdayi M, Turkyilmaz R, *et al*. Circulating IL-2, IL-10 and TNF-α in chronic hepatitis B: Their relations to HBeAg status and the activity of liver disease[J]. Hepatogastroenterology, 2000, 47(36): 1 675-1 679.

[6] Lee M, Lee M, Lee S K, *et al*. Expression of Th1 and Th2 type cytokines responding to HBsAg and HBsAg in chronic hepatitis B patients[J]. J Korean Med Sci, 1999, 14(2): 175-178.

(编辑　陈聪连)

个案与短篇

文章编号: 1000-5404(2001)11-1326-01

硅胶丝挂线术治疗慢性泪囊炎的体会

Experiences on treating chronic dacryocyotitis with silica gel thread drawing method

曹建琴, 吴又凯　(无锡市第二人民医院眼科, 无锡 214002)

我院自 1998 年以来采用硅胶丝挂线术治疗泪道阻塞 30 例,慢性泪囊炎 8 例,经 2 年多来临床观察,效果满意,现报告如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料

本组慢性泪囊炎 8 例。年龄最小 7 岁,最大 54 岁,平均 27 岁;其中男孩 2 例,女 6 例。

1.2　材料与方法

1.2.1　空心硅胶丝　直径 0.5 mm 长约 50 mm,使用前浸泡消毒折成双根。带丝线的泪道探针(7、8、9 号)任选一根,鼻腔钩线小钩,窥鼻器,电额,枪状镊。

1.2.2　手术方法　患者取平卧位,1% 麻黄素棉片收敛,泪道表面麻醉后,用卡那霉素眼液冲洗泪道,带线探针由下泪点穿入,过骨壁后转 90 度,轻轻探通阻塞区后插入下鼻道,插入前涂石蜡油。在电额镜照明下用窥鼻器看到下鼻道内探针的头部及其两侧的丝线,用小钩钩出线环。另一手将探针慢慢拉出,把硅胶丝穿入线环,慢慢抽出线环出下泪点时,硅胶丝双折端随线环逆向拉出下泪点,与鼻腔内一端打结,再用丝线结扎,防止松解,用胶布固定在鼻侧皮肤,保留 3 个月。

1.2.3　术后处理　用庆大霉素液冲洗泪道,每周 1 次,加用 1% 呋麻液滴鼻,0.3% 氧氟沙星滴眼,无分泌物者每 2 周冲洗 1 次,将硅环上下拉动,硅胶丝两端结扎处位于鼻翼内。

2　结果

泪囊炎患者 6 例冲洗畅通无分泌物。1 例加压冲洗有阻力但无分泌物,1 例 3 个月后复发,2 例为失败,1 例改作泪囊鼻腔吻合术。

3　讨论

8 例中成功 6 例,与有关文献报道的成功率基本相符[1],泪道探通后需选择适当的支撑体持续扩张,为防止粘连再次阻塞。采用硬脊膜外麻醉导管作泪道支撑义管是较理想的方法[2]。采用硅胶丝材料刺激性小,对组织损伤小,反应轻,柔软富有弹性不易切割泪小点。本手术方法操作简单易行,不需要特别器械,安全可靠,并可避免因手术留下的瘢痕和术中造成痛苦,利于基层医院开展,有一定推广价值。

关键词: 泪囊炎; 硅胶丝挂线术
中图法分类号: R777.230.5　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 王永龄, 李明松, 张月娣, 等. 硅环条扩张鼻泪管治疗慢性泪囊炎[J]. 中华眼科杂志, 1993, 29(2): 122.

[2] 王丽娟, 朱淑琴. 用硬脊膜麻醉导管作泪道插管治疗慢性泪囊炎[J]. 眼外伤职业眼病杂志, 1993, 15(3): 297.

作者简介: 曹建琴(1955-), 女, 江苏省无锡市人, 主治医师, 主要从事角膜移植方面的研究。电话: (0510) 2727501-3029

收稿日期: 2001-07-10; 修回日期: 2001-09-15

(编辑　张大春)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net