

[文章编号] 1000- 4718(2006)03- 0559- 04

乙型肝炎患者肠源性内毒素血症、高组胺血症与细胞免疫功能之间的关系

李红¹, 韩德五¹, 张素美², 赵龙凤²(山西医科大学¹病理生理教研室, ²第一医院感染病科, 山西太原 030001)

[摘要] 目的: 探讨慢性乙型肝炎患者肠源性内毒素血症(IETM)、组胺与细胞免疫功能之间的关系。方法: 慢性乙肝患者80例, 根据测定的血浆内毒素水平, 将其分为内毒素(ET)阳性组和阴性组, 分别检测血清白细胞介素10、IL-12(IL-10、IL-12)、干扰素 γ (IFN- γ)、白细胞介素2、IL-2、IL-4浓度, 组胺(HA)水平、类胰蛋白酶(TS)释放和AP50单位。结果: 各肝炎患者IL-4与IL-10水平明显高于健康人, 而IL-12和IFN- γ 水平明显低于健康人($P < 0.05$); 按照内毒素分组, 阳性组患者IL-4与IL-10水平明显高于阴性组($P < 0.05$), 而IL-12和IFN- γ 水平在两组之间无明显差别。AP50、HA、TS水平在肝炎患者均明显高于正常对照组($P < 0.05$), 且在内毒素阳性组均明显高于阴性组。乙肝患者内毒素分别与IL-4、IL-10、AP50及HA呈显著正相关, 而HA分别与IL-12、IFN- γ 呈明显负相关, 与AP50、TS呈明显正相关。内毒素阳性组患者, 内毒素水平分别与IL-4、IL-10、AP50及HA水平呈显著正相关, 而在阴性组则无此相关性。结论: AP50可以作为IETM存在的标志物, IETM通过激活补体而导致高组胺血症并且长期持续存在, 引起细胞免疫功能低下, 对肝病非常不利。

[关键词] 内毒素血症; 肝炎, 乙型; 组胺; 白细胞介素类

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Correlation of intestinal endotoxemia, histaminemia and cellular immune function in patients with hepatitis B

LI Hong¹, HAN De-wu¹, ZHANG Su-mei², ZHAO Long-feng²

(¹Department of Pathophysiology, ²Department of Infectious Diseases, First Hospital, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

[ABSTRACT] **AIM:** To investigate the correlation of intestinal endotoxemia (IETM), histaminemia and cellular immune function in the patients with hepatitis B. **METHODS:** Peripheral blood was collected from patients with chronic hepatitis B ($n = 80$) and healthy individuals ($n = 18$). According to plasma endotoxin concentration, total patients were divided into two groups: ET positive and ET negative. Serum IL-10, IL-12, IFN- γ , IL-2, IL-4 concentrations were detected. In addition, the serum histamine (HA), trypsin (TS) and AP50 levels were studied. **RESULTS:** Compared to control group, the concentrations of IL-4 and IL-10 were increased, but IL-12 and IFN- γ were decreased obviously in total patients ($P < 0.05$). The levels of IL-4 and IL-10 in ET positive group were higher than that in ET negative group ($P < 0.05$). The level of IL-12 and IFN- γ had no statistical difference between two groups. AP50, HA and TS levels were increased significantly in total patients compared with control group, and the levels of ET positive were higher than that in ET negative group ($P < 0.05$). Furthermore, in total patients, ET was correlated with IL-4, IL-10, AP50 and HA, respectively. HA was negatively correlated with IL-12 and IFN- γ , and correlated with AP50 and TS. In ET positive group, ET was correlated with IL-4, IL-10, AP50 and HA, respectively, which did not exist in ET negative group. **CONCLUSION:** AP50 may be a sign of IETM. IETM may be disbenefit to hepatitis B through activating complement, which leads to histaminemia and poor cellular immune function.

[KEY WORDS] Endotoxemia; Hepatitis B; Histamine; Interleukins

已有研究表明, 各种肝损伤时存在肠源性内毒素血症(IETM)和高组胺血症, 后者的发生机制不明, 且是否与IETM有关尚不得而知^[1]。组胺是一种经典的过敏介质, 肥大细胞和嗜碱性粒细胞释放组胺

一直只被认为是过敏反应的重要环节之一, 但其在各型肝炎的发病过程中的作用报道很少。因而, 本研究将肝病时普遍存在的IETM与高组胺血症结合起来, 从细胞免疫的角度探讨它们之间的关系。

[收稿日期] 2005- 04- 01

[修回日期] 2005- 07- 05

材 料 和 方 法

1 对象

80 例乙型肝炎病毒(HBV)感染者为 2003 年 10 月至 2004 年 6 月在山西医科大学第一医院感染病科住院治疗者,其中男 67 例,女 13 例,年龄为 17-64 岁,平均 40.1 岁。肝炎诊断标准依据 2000 年全国第 10 次肝炎肝病学术会议(西安)修订标准^[2]。所有患者排除 HAV HCV HEV 感染及其它原因引起的急慢性肝损害。18 例正常对照者为健康人,无肝炎病史、症状及体征,肝功能正常,乙型肝炎标志物阴性,HBV-DNA 阴性,抗-HCV 阴性。

2 方法

患者入院后抽取晨间空腹静脉血 5 mL,采用无热源试管收集血液,2 h 内分离血清,置于-70 °C 冻存成批测定。

2.1 内毒素检测 采用鲎试验 3 肽基质显色法,试剂购自上海伊华临床医学科技公司。根据测定的血浆内毒素水平,将患者分为内毒素阳性组和阴性组(内毒素阳性的标准为健康人内毒素水平 95% 可信区间的上限值 0.0044,大于此值的为 ET 阳性组,小于等于的为 ET 阴性组),肝炎患者组即未按内毒素分组的总肝炎患者(total patients = ET positive + ET negative)。

2.2 ELISA 法检测血清 IL-10 IL-12 和 IFN- γ 浓度 试剂购自上海森雄科技实业有限公司;用放射免疫分析法测定血清 IL-2 IL-4 浓度,试剂购自解放军东亚免疫研究所。

2.3 组胺检测 参照向军俭等^[3]的微量荧光测定法测定血中组胺含量。

2.4 类胰蛋白酶活力测定 采用专性底物(α -N-苯甲酰-DL-arginine-p-nitroanilide, BAPNA, 购自 Sigma 公司),在 405 nm 测吸光度值^[4]。

2.5 AP50 单位测定 旁路途径总补体活性的测定法^[5]。

2.6 病毒学检测 用 ELISA 法检测甲、乙、丙、丁、戊型肝炎病毒学,均为单纯 HBV 现症感染。

3 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验、方差分析及相关分析。

结 果

1 内毒素对 AP50 HA 及 TS 的影响(表 1)

肝炎患者的内毒素水平明显高于健康人($P < 0.05$)。在肝炎患者中,内毒素血症的发生率为 41/81(50.6%);AP50 HA TS 水平在肝炎患者中均明显高于正常对照组($P < 0.05$),且在内毒素阳性组均明显高于阴性组($P < 0.05$)。见表 1。

2 内毒素对 Th1/Th2 细胞因子的影响(表 2)

各肝炎患者 IL-4 与 IL-10 水平明显高于健康人,而 IL-12 和 IFN- γ 水平明显低于健康人($P < 0.05$);按照内毒素分组,阳性组患者 IL-4 与 IL-10 水平明显高于阴性组($P < 0.05$),而 IL-12 和 IFN- γ 水平在两组之间无明显差别,阴性组明显低于正常对照组($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 各组内毒素 AP50 HA TS 水平变化

Tab 1 Changes of endotoxin, AP50, HA and TS levels in every group ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	ET (ng/L)	AP50 (10 ³ U/L)	HA (μ g/L)	TS (g/L)
Normal	18	0.0025 \pm 0.0014	6.53 \pm 2.64	27.14 \pm 4.33	0.161 \pm 0.033
ET negative	39	0.0029 \pm 0.0009	8.44 \pm 4.34	36.87 \pm 11.93	0.183 \pm 0.094
ET positive	41	0.0245 \pm 0.0240* #	14.34 \pm 7.86* #	48.21 \pm 22.65* #	0.277 \pm 0.155* #
Total patients	80	0.0140 \pm 0.0050*	11.132 \pm 5.81*	43.09 \pm 19.32*	0.219 \pm 0.123*

* $P < 0.05$ vs control; # $P < 0.05$ vs ET negative.

表 2 Th1/Th2 细胞因子的变化

Tab 2 Changes of Th1/Th2 cytokines ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	IL-4 (μ g/L)	IL-10 (ng/L)	IL-12 (ng/L)	IFN- γ (ng/L)
Normal	18	0.67 \pm 0.33	15.47 \pm 5.82	47.00 \pm 21.39	19.32 \pm 9.24
ET negative	39	0.92 \pm 0.41	21.31 \pm 12.87	18.88 \pm 12.15*	10.94 \pm 5.20*
ET positive	41	1.19 \pm 0.52* #	34.00 \pm 11.46* #	21.03 \pm 9.40*	10.73 \pm 5.86*
Total patients	80	1.06 \pm 0.49*	27.65 \pm 14.68*	19.98 \pm 9.46*	10.84 \pm 5.49*

* $P < 0.05$ vs control; # $P < 0.05$ vs ET negative.

3 相关性分析(表 3.4)

由表 3 可见,慢性乙肝患者内毒素分别与 IL-4 IL-10 AP50 及 HA 呈显著正相关,而 HA 分别与

IL-12 IFN- γ 呈明显负相关,与 AP50 TS 呈明显正相关。由表 4 可见,在内毒素阳性组患者内部,内毒素分别与 IL-4 IL-10 AP50 及 HA 呈显著正相关,

而在阴性组则无此相关性。

表 3 乙肝患者 ET、HA 与各指标间的相关性

Tab 3 The correlation of ET, HA and other indexes in total patients (r, n=81)

Item	IL-4	IL-10	IL-12	IFN- γ	AP50	TS	HA
ET	0.453*	0.387*	-0.125	0.098	0.364*	0.135	0.607**
HA	0.265	0.211	-0.279*	-0.275*	0.405*	0.299*	1.0

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表 4 ET 阳性组与阴性组内 ET 与各指标间的相关性

Tab 4 The correlation of ET and other indexes in ET positive and ET negative (r)

Group	IL-4	IL-10	IL-12	IFN- γ	AP50	HA
ET negative	-0.227	0.292	-0.024	-0.043	-0.174	0.023
ET positive	0.515*	0.428*	-0.117	0.213	0.315*	0.616*

* $P < 0.05$.

讨 论

各种肝脏损伤均存在程度不等的肠源性内毒素血症 (IETM), 后者对肝病的发生发展产生重要影响^[6], 在临床上需要检测血浆内毒素水平来指导治疗。目前内毒素测定试剂盒不甚稳定, 而且容易污染, 故临床上急需找到一种能够间接反映血浆内毒素水平的指标。内毒素进入体循环后, 人体内的补体被激活, 患者血液补体活性可作为重要的预警指标。我们检测了乙肝患者血中 AP50 水平, 发现其明显高于健康人, 且在内毒素阳性组明显高于阴性组, 与内毒素呈显著正相关。由此可见, AP50 可以作为 IETM 存在的标志物。AP50 检测方法简单, 易于操作, 不需要特殊的仪器设备和条件, 适于在临床检验中推广应用。

我们研究发现, 肝病患者常有高组胺血症。山西医科大学肝病研究所用硫代乙酰胺 (TAA: $400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) 灌胃引起大鼠肝损伤, 其血与小肠组胺含量升高, 并发现肠壁肥大细胞脱颗粒^[1], 但具体机制不明。我们的实验证实, 在血浆内毒素水平增高的同时, 不仅存在高补体水平, 而且血浆组胺水平也明显升高, 在内毒素阳性组尤其明显, 且分别与 ET、AP50 呈明显正相关, 可见三者之间存在密切关联。众所周知, 肥大细胞是体内组胺的主要来源, 故我们可以推测, 内毒素通过旁途径激活补体, 形成以过敏毒素 C3a、C5a 为主的补体片段。C5a 和 C3a 作为过敏毒素可使肥大细胞和嗜碱性粒细胞脱颗粒, 释放组胺, 引起过敏反应。类胰蛋白酶是肥大细胞中含量最丰富的标记蛋白, 也是标记肥大细胞的特异性蛋白, 能引起补体 C3 (使其转变为 C3a) 的激活^[7], 它与组胺平行释放, 且半衰期长, 测定方法简单稳定, 可以反映肥大细胞脱颗粒水平。

利用 HMC 细胞株研究发现^[8], HA 抑制 IL-12 表达, 也抑制 LPS 诱导的人单核细胞产生 IFN- γ , 但增加 IL-10 生成。HA 与多种细胞因子之间的互动调节, 具有抑制 Th1 型细胞因子分泌及 Th2 型转换的特点^[9,10]。本实验也证明了这一点, 我们检测乙肝患者血中 HA 与细胞因子水平, 发现各肝炎患者 IL-4 与 IL-10 水平明显高于健康人, 而 IL-12 和 IFN- γ 水平明显低于健康人; 内毒素阳性组患者 IL-4 与 IL-10 水平明显高于阴性组, 可见内毒素可以引起 Th2 水平升高。乙肝患者内毒素水平分别与 IL-4、IL-10 及 HA 水平呈显著正相关, 而在内毒素阴性组则无此相关性; HA 分别与 IL-12、IFN- γ 呈明显负相关。实验结果表明慢性乙肝患者体内所存在的 Th1/Th2 失衡与 IETM、HA 有密切联系 (表 3), HA 与 IETM 均可以降低细胞免疫功能, 但又有所区别, HA 主要影响 IL-12 和 IFN- γ , 而 IETM 主要影响 IL-4 和 IL-10, 进一步说明组胺通过降低细胞免疫功能, 使得炎症反复以至发生纤维化^[11]; 肝硬化晚期组胺还可以诱发肝性脑病的发生^[12,13]; 另一方面, 组胺可以引起肠粘膜屏障功能下降^[14] 而加重 IETM。由此可见, 慢性肝炎伴有 IETM, 通过激活补体而导致高组胺血症, 并且长期持续存在, 引起细胞免疫功能低下, 不利于肝炎病毒的清除而慢性化。今后我们将进一步观察抗组胺药物对乙型肝炎患者的影响, 为慢性乙型肝炎的治疗提供一条新的思路。

[参 考 文 献]

- [1] 韩德五 著. 肠源性内毒素血症与肝病[M]. 第 1 版. 北京: 中国科技出版社, 2004. 868-879.
- [2] 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华传染病杂志, 2001, 19(1): 56-62.
- [3] 向军俭, 陈华粹. 组胺的荧光测定法的研究[J]. 中国医学科学院学报, 1981, 3(3): 183-186.
- [4] Lavens SE, Proud D, Warner JA. A sensitive colorimetric assay for the release of tryptase from human lung mast cells[J]. J Immunol Methods, 1993, 166(1): 93-102.
- [5] 汪 谦 主编. 现代医学实验方法[M]. 人民卫生出版社, 1997. 747-748.
- [6] 韩德五. 肝功能衰竭发病机制的研究进展[J]. 中国病理生理杂志, 1993, 9(6): 770-772.
- [7] Edson E, Vandage HM. Beta-tryptase measurements post-mortem in anaphylactic death and in controls[J]. Forensic Sci Int, 1998, 93(2-3): 135-142.
- [8] Andras F, Hargita H, Eszter LM, et al. Paracrine and autocrine interactions in melanoma: histamine is a relevant player in local regulation[J]. Trends Immunol, 2001, 22(12): 648-652.
- [9] Alessandra M, Howard AY, Jessica HS, et al. Histamine regulates cytokine production in maturing dendritic cells, re-

sulting in altered T cell polarization[J]. J Clin Invest, 2001, 108(12): 1865- 1873.

[10] Jutel M, Watanabe T, Klunker S, et al. Histamine regulates T- cell and antibody responses by differential expression of H1 and H2 receptors[J]. Nature, 2001, 413(6854): 420- 425.

[11] 贾晋斌, 韩德五, 崔慧林, 等. 肥大细胞在肝纤维化发生发展中的作用及其与 TNF α 的关系[J]. 中华肝脏病杂志, 1998, 6(4): 235- 237.

[12] Lozeva V, Valjakka A, Anttila E, et al. Brain histamine lev- els and neocortical slow- wave activity in rats with portacaval anastomosis[J]. Hepatology, 1999, 29(2): 340- 346.

[13] 刘近春, 李艳娇, 韩德五, 等. NO 在 LPS 诱发肝硬化发生肝性脑病中的作用[J]. 中国病理生理杂志, 2002, 18(10): 1248- 1250.

[14] 段美丽, 王彦军, 韩德五. 急性肝衰竭时肠粘膜屏障损伤的研究[J]. 中国病理生理杂志, 1999, 15(10): 906- 908.

《中国病理生理杂志》第四届编辑委员会

THE FOURTH EDITORIAL BOARD OF "CHINESE JOURNAL OF PATHOPHYSIOLOGY"

主编 EDITOR- IN- CHIEF 李楚杰 LI Chu- jie(Tel: 020- 85226853)

副主编 ASSOCIATE EDITORS- IN- CHIEF

薛全福 XUE- Quan- fu, 金惠铭 JIN Hui- ming, 黄启福 HUANG Qi- fu,
韩启德 HAN Qi- de, 陆大祥 LU Da- xiang, 颜亮 YAN Liang, 蔡群 CAI Qun

蔡海江* CAI Hai- jiang	金丽娟 JIN Li- juan	唐佩弦* TANG Pei- xian	邢凤友 XING Feng- you
蔡群* CAI Qun	金咸琰 JIN Xian- rong	田牛 TIAN Niu	徐柯 XU Ke
陈南岳 CHEN Nan- yue	李楚杰* LI Chu- jie	汪明春 WANG Ming- chun	徐仁宝 XU Ren- bao
陈琪* CHEN Qi	李弘 LI Hong	王秉仪 WANG Bing- yi	薛全福* XUE Quan- fu
陈少如 CHEN Shao- ru	李和泉 LI He- quan	王伯生 WANG Bo- sheng	颜亮* YAN Liang
陈运贤 CHEN Yun- xian	李树浓 LI Shu- nong	王伯瑶 WANG Bo- yao	姚开泰* YAO Kai- tai
程立* CHENG Li	李树清 LI Shu- qing	王迪浔* WANG Di- xun	尤家喆 YOU Jia- lu
戴保民* DAI Bao- min	凌亦凌 LING Yi- ling	王华东* WANG Hua- dong	余应年* YU Ying- nian
董传仁 DONG Chuan- ren	刘树铮* LIU Shu- zheng	王建枝 WANG Jian- zhi	于占久 YU Zhan- jiu
杜传书* DU Chuan- shu	刘忠贵* LIU Zhong- gui	王树人 WANG Shu- ren	曾耀英 ZENG Yao- ying
范维珂* FAN Wei- ke	陆大祥* LU Da- xiang	王水琴 WANG Shui- qin	张海鹏 ZHANG Hai- peng
冯新为* FENG Xin- wei	卢建* LU Jian	王孝铭* WANG Xiao- ming	张建龙 ZHANG Jian- long
高广道 GAO Guang- dao	卢景良 LU Jing- liang	王荫棠 WANG Yin- tang	张立克 ZHANG Li- ke
高钰琪 GAO Yu- qi	卢兴* LU Xing	王子灿 WANG Zi- can	张书霞 ZHANG Shu- xia
葛宝林 GE Bao- lin	吕永达 LÜ Yong- da	王子栋 WANG Zi- dong	张万年 ZHANG Wan- nian
龚非力 GONG Fei- li	罗正曜* LUO Zheng- yao	卫洪昌 WEI Hong- chang	张希贤* ZHANG Xi- xian
郭恒怡 GUO Heng- yi	茅子均 MAO Zi- jun	温淦昇 WEN Gan- sheng	张载福 ZHANG Zai- fu
郭鹞 GUO Yao	钱振超 QIAN Zhen- chao	温光楠 WEN Guang- nan	张中庸 ZHANG Zhong- yong
韩德五* HAN De- wu	苏静怡* SU Jing- yi	吴立玲 WU Li- ling	赵克森 ZHAO Ke- sen
韩启德* HAN Qi- de	孙秉庸* SUN Bing- yong	吴其夏* WU Qi- xia	赵修竹* ZHAO Xiu- zhu
胡巢凤 HU Chao- feng	孙仁宇 SUN Ren- yu	吴伟康 WU Wei- kang	赵雪俭* ZHAO Xue- jian
胡景新 HU Jing- xin	谭敦勇 TAN Dun- yong	伍始经* WU Yi- jing	郑世民 ZHENG Shi- min
黄启福* HUANG Qi- fu	汤健 TANG Jian	吴中立 WU Zhong- li	祝世功 ZHU Shi- gong
黄秀榕 HUANG Xiu- rong	汤特* TANG Te	吴祖泽* WU Zu- ze	朱广瑾 ZHU Guang- jin
金惠铭* JIN Hui- ming	唐朝枢* TANG Chao- shu	夏辉明 XIA Hui- ming	庄宗杰 ZHUANG Zong- jie

编辑部(Tel 020- 85220269): 王华东(主任), 蔡群, 曹艺, 陈妙玲, 林白霜, 卢萍

台湾编委名额保留待定 Membership Reserved for Taiwan

* 为常务编委 * Members of Standing Committee 以上排名按拼音字母顺序排列