

肝炎肝硬化患者 TNF- α 和 IL-6 水平的变化及其临床意义^①

何有成 谢俊强 黄仰苏 崇雨田 邓练贤 姚集鲁

(中山医科大学附属第三医院传染病科; 广州, 510630)

摘要 目的:探讨肝炎肝硬化(HC)患者体内肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素 6(IL-6)水平对细菌感染的诊断价值。**方法:**用双抗体夹心酶联免疫吸附法(ELISA)检测了 41 例 HC 患者血清和腹水 TNF- α 和 IL-6 的水平。**结果:**HC 合并感染组血清 TNF- α 和 IL-6 的水平均显著高于正常对照组和无合并感染组($P < 0.01$),死亡/恶化组患者血清 TNF- α 和 IL-6 水平显著高于好转组($P < 0.005$ 和 $P < 0.001$)。合并自发性细菌性腹膜炎(SBP)患者的腹水 IL-6 水平显著高于无合并 SBP 患者($P < 0.001$)。以腹水 IL-6 $\geq 1\ 200$ ng/L 作为阳性,则 SBP 和无 SBP 两组间的阳性率有极显著性差异($P = 0.000$)。这一检测方法的灵敏性为 87.5%(7/8),特异性为 92.8%(13/14)。**结论:**HC 患者血清和腹水 TNF- α 和 IL-6 的检测对判断感染的存在和预后有一定的临床实用价值。

关键词 肿瘤坏死因子- α ; 白细胞介素-6; 肝炎肝硬化; 自发性细菌性腹膜炎

中图分类号 R 512.6

THE CHANGE AND ITS SIGNIFICANCE OF LEVELS OF TUMOR NECROSIS FACTOR- α AND INTERLEUKIN 6 IN PATIENTS WITH HEPATITIS CIRRHOSIS

He Youcheng Xie Junqiang Huang Yangsu Chong Yutian Deng Lianxian Yao Jilu

(Department of Infectious Diseases, Third Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510630)

Abstract Objective: To research the diagnostic value of levels of tumor necrosis- α factor- α (TNF- α) and interleukin 6(IL-6) for bacterial infections in patients with hepatitis cirrhosis(HC). **Methods:** Serum and ascites levels of TNF- α and IL-6 in 41 patients with HC were investigated by double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results:** The serum levels of both TNF- α and IL-6 were significantly higher in HC patients complicated by bacterial infections than those in normal controls and noninfected HC patients($P < 0.001$), and in deceased/aggravated patients than in improved patients($P < 0.05$ and $P < 0.001$). It was also found that the ascites levels of IL-6 were markedly higher in HC patients complicated by spontaneous bacterial peritonitis (SBP) than those in patients without SBP ($P < 0.001$). The IL-6 levels $\geq 1\ 200$ ng/L were considered to be positive, the difference between the positive rate in SBP group and non-SBP group was highly significant ($P = 0.000$). The sensitivity and specificity of the assay was 87.5%(7/8) and 92.8%(13/14), respectively. **Conclusions:** These results indicate that determination of serum and ascites levels of TNF- α and IL-6 is valuable clinically in the judgement of the presence of infections and the prognosis in HC patients.

Subject headings tumor necrosis factor- α ; interleukin 6; hepatitis cirrhosis; spontaneous bacterial peritonitis

近年来国内外研究表明,肝脏 Kupffer 细胞和 血窦内皮细胞过量分泌的肿瘤坏死因子- α (TNF- α)

和白细胞介素 6(IL-6)等多种细胞因子是引起重症肝炎肝细胞严重坏死的重要介质。肝炎肝硬化(HC)患者,尤其是失代偿性 HC 患者易合并各种严重细菌感染而加重肝细胞损害和诱发多器官功能损害,病死率较高^[1]。目前国内在细胞因子水平上阐明严重感染与慢性肝病重症化之间关系的报道尚不多。为探讨 HC 患者体内 TNF- α 和 IL-6 水平与感染的关系及其对诊断和预后的判断价值,我们用双抗体夹心 ELISA 法检测了 41 例乙型 HC 患者血清和腹水 TNF- α 和 IL-6 水平的变化,报告如下。

1 材料与方 法

1.1 研究对象

HC 患者 41 例,男 35 例,女 6 例,年龄 21~67 岁,其中失代偿性 HC 35 例,代偿性 HC 6 例,均符合 1995 年全国传染病与寄生虫病学术会议制定的诊断标准。全部患者均在入院后 1 周内清晨空腹抽取静脉血 4 mL。抽血时有明确的细菌学证据(血、尿或痰液等培养阳性)者,或细菌学培养阴性、但临床上有不明原因发热、外周血白细胞总数和(或)中性粒细胞升高以及具有可疑感染灶的相应症状和体征者,定为 HC 合并细菌感染,共 21 例(感染组),包括自发性细菌性腹膜炎(SBP)8 例,胆道感染 5 例,肺部感染 2 例,感染性休克 2 例,广泛皮下出血并感染 1 例,胆道+泌尿道感染 1 例,胆道+肺部感染 1 例,肺部+泌尿道感染+感染性休克 1 例;无上述任何感染证据者 20 例(非感染组)。另采集 15 例 HBsAg 阴性、肝功能正常、近期内无感染史的健康成人血清作为正常对照。

22 例有明显腹水的患者在抽血的同 1 d 抽取腹水 10 mL,按 1988 年全国腹水学术讨论会制定的诊断标准^[2],合并 SBP 者 8 例,无合并 SBP 者 14 例(其中合并其他部位细菌感染者 8 例)。全部血清和腹水标本置于一 70℃ 保存,同批测定。

1.2 试剂与方法

TNF- α 和 IL-6 检测采用单克隆双抗体夹心 ELISA 法,试剂盒由比利时 Medgenix diagnostics 公司提供。应用 Minireader II(美国 Dynatech 出品)酶标阅读器(波长 450 nm)测定各孔光密度,绘制标准曲线,用线性回归分析软件计算样本 TNF- α

和 IL-6 含量。

1.3 统计学处理

均数比较采用 *F* 检验或 *t* 检验。两种数据之间的关系采用直线相关分析。两组间率的比较用 4 格表确切概率法。统计学处理均采用美国 SPSS 6.0 for Windows 统计软件。

2 结 果

2.1 HC 患者感染组和非感染组血清 TNF- α 和 IL-6 水平的比较

见表 1。

表 1 HC 患者感染组和非感染组血清 TNF- α 和 IL-6 水平的比较

Table 1 Comparison of serum levels of TNF- α and IL-6 for 41 HC patients with or without infections ($\bar{x} \pm s$, ng/L)

Groups	<i>n</i>	TNF- α	IL-6
Normal controls	15	2.2 \pm 4.0	7.6 \pm 9.6
Noninfected HC	20	43.9 \pm 41.9 ¹⁾	10.3 \pm 9.9 ²⁾
Infected HC	21	114.7 \pm 66.7 ^{3),4)}	116.5 \pm 103.5 ^{3),4)}
<i>F</i>		24.78	17.42

Note: compared with normal controls: 1) $P < 0.05$, 2) $P > 0.05$, 3) $P < 0.01$; 4) compared with noninfected HC: $P < 0.01$

2.2 HC 患者 SBP 组和无 SBP 组血清和腹水 TNF- α 和 IL-6 水平的比较

HC 合并 SBP 患者腹水 IL-6 水平显著高于无 SBP 组($P < 0.001$),而血清 TNF- α 、IL-6 和腹水 TNF- α 水平与无 SBP 组比较,差异无显著性意义。无论有无 SBP 存在,腹水中的 IL-6 水平均显著高于血清的水平($P < 0.001$)(表 2)。

在 HC 合并 SBP 组(8 例)中,有 7 例腹水 IL-6 范围在 1 200~1 533.4 ng/L 之间,1 例为 1 082.6 ng/L;在无 SBP 组(14 例)中,有 13 例腹水 IL-6 范围在 296.6~1 162.9 ng/L 之间(其中 3 例 $> 1 000$,1 例为 1 211.9)。若以腹水 IL-6 $\geq 1 200$ 定为阳性, $< 1 200$ 定为阴性,则两组间的腹水 IL-6 阳性率有极显著性差异(确切概率法 $P = 0.000$)(表 3)。以腹水 IL-6 $\geq 1 200$ 为截止值,经计算,腹水 IL-6 检出 SBP 的灵敏性为 87.5%(7/8),特异性为 92.8%(13/14)。

表2 HC患者SBP组和无SBP组血清及腹水TNF- α 和IL-6水平的比较Table 2 Comparison of serum and ascites levels of TNF- α and IL-6 for 22 HC patients with or without SBP ($\bar{x} \pm s$, ng/L)

Groups	n	Serum		Ascites	
		TNF- α	IL-6	TNF- α	IL-6
SBP	8	126.8 \pm 89.9 ¹⁾	173.1 \pm 116.6 ³⁾	231.3 \pm 240.3 ¹⁾	1 248.8 \pm 131.8 ³⁾
Non-SBP	14	90.8 \pm 70.2 ²⁾	66.4 \pm 93.9 ⁴⁾	233.3 \pm 330.2 ²⁾	791.3 \pm 318.1 ⁴⁾
t		0.936	2.060	0.015	3.851
P		>0.2	>0.05	>0.5	<0.001

Note: comparison between serum and ascites; 1) $t=1.005$, $P>0.2$; 2) $t=1.463$, $P>0.1$; 3) $t=15.849$, $P<0.001$; 4) $t=7.282$, $P<0.001$

表3 HC患者SBP组和无SBP组腹水IL-6阳性率的比较

Table 3 Comparison of positive rates of IL-6 in ascites of 22 HC patients with or without SBP¹⁾

Groups	Case number of IL-6	
	+	-
SBP	7	1
Non-SBP	1	13
$P=0.000$		

Note: 1) IL-6 levels $\geq 1 200$ ng/L were considered positive

2.3 腹水IL-6水平与腹水白细胞数的关系

22例HC患者腹水IL-6水平与腹水白细胞数呈正相关($r=0.4794$, $P<0.05$, 图1)

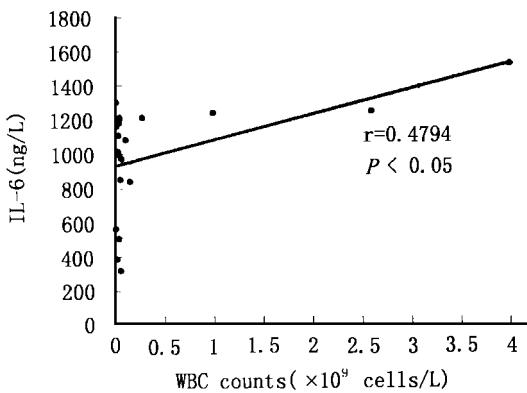


图1 腹水IL-6水平与腹水白细胞数的关系

Fig.1 Relationship between ascites levels of IL-6 and WBC counts in ascites

2.4 HC患者血清TNF- α 和IL-6水平与预后的关系

本研究中死亡或病情恶化而自动出院的16例患者,入院时血清TNF- α 和IL-6水平分别为(120.7 \pm 72.2) ng/L和(127.2 \pm 112.8) ng/L;病情明显好转的25例患者入院时血清TNF- α 和IL-6水平分别为(55.7 \pm 48.5) ng/L和(27.3 \pm 47.5)

ng/L;死亡或恶化组血清TNF- α 和IL-6水平与好转组比较,差异有显著性意义(t 分别为3.280和3.730, $P<0.005$ 和 $P<0.001$)。

3 讨论

本研究表明,HC合并细菌感染患者血清TNF- α 和IL-6水平显著高于无合并感染的患者,其平均值分别为后者的2.6倍和11.3倍,而无合并感染患者的血清IL-6水平与正常对照比较无显著性差异($P>0.05$),提示了血清TNF- α 和IL-6、尤其是IL-6水平的大幅度升高是反映HC患者合并细菌性感染的灵敏指标^[1]。临床上一些HC合并感染的患者由于机体反应低下,常无发热、腹部压痛和反跳痛、外周血白细胞升高等感染证据^[3],仅凭1次细菌培养阴性结果也不能完全排除感染的存在。通过监测血清INF- α 和IL-6水平的变化,可提示体内的一些潜在感染,从而采取积极的抗菌治疗而降低病死率,因而有一定的临床实用价值。

至于HC合并感染患者血清TNF- α 和IL-6水平显著升高的原因,目前认为与内毒素血症和肠源性细菌脂多糖(LPS)激活肝脏kupffer细胞,致分泌增多以及受损害的肝脏对细胞因子的清除能力下降有关^[1,4]。过量的TNF- α 、IL-6等促炎症性细胞因子与脂类介质(PAF等)、氧自由基等炎症介质的共同作用,可加重肝细胞损害及全身多器官功能损害,诱发肝功能衰竭和各种致死性并发症(如SBP、肝肾综合征、肝性脑病等)^[5],因而影响患者的预后。

SBP确诊的最可靠依据是腹水细菌培养阳性。但国内报告严重肝病合并SBP时腹水培养的阳性率极低^[6],不利于早期诊断;单凭腹水白细胞数作为诊断标准也可导致64%的病例漏诊^[7]。本研究

(下转第226页)

他作者报道的数字更高,显示隐性感染相当常见。临床上易见的是显性感染,而要提高防癌效果不能遗漏对隐性感染者的追踪,因此对高危人群进行宫颈 HPV 感染的筛查对防癌意义重大。

参 考 文 献

- 1 Zur Hausen H. Human papilloma virus: A possible role insquamous cell carcinoma. *Current Topics Microbiology and Immunology*, 1976, 78:1~30
- 2 郑鹏生,宋杰,李守柔,等. 应用聚合酶链反应技术测定正常子宫颈组织人乳头瘤病毒 DNA 的研究. *中华妇产科杂志*, 1994, 29(6):343
- 3 Meisels A, Fortin R, Roy M. Condylomatous lesions of the cervix II. cytologic, colposcopic and histopathologic study. *Acta Cytol*, 1977, 21:379
- 4 Schiffman M H, Bauer H M, Lorincz A T, *et al*.

- Comparison of southern blot hybridization and polymerase chain reaction methods for the detection of human papilloma virus DNA *J Clin Microbiol*, Mar. 1991, 573
- 5 Smotkin D, Berek J, Fu Y, *et al*. Human papilloma virus deoxyribonucleic acid in adenocarcinoma and adenosquamous carcinoma of the uterine cervix. *Obstet Gynecol*, 1986, 68:241
 - 6 Fife K H, Rogers R E, Zwickl B W, *et al*. Symptomatic and asymptomatic cervical infections with human papilloma virus during pregnancy. *J Infect Dis*, 1987, 156(6):904
 - 7 Zur Hausen H. Papilloma viruses in anogenital cancer as a model to understand the role of viruses in human cancers. *Cancer Res*, 1989, 49:4677~4681
 - 8 郎景和. 癌前病变和交界性肿瘤的几个问题. *中华妇产科杂志*, 1994, 4:194

(1997 - 12 - 04 收稿 1998 - 06 - 06 修回)

(上接第 216 页)

22 例临床上疑有 SBP 的患者腹水培养均阴性,其中 8 例患者的腹水白细胞数 $\geq 0.3 \times 10^9/L$ 而诊断为 SBP,其腹水 IL-6 平均值显著高于无 SBP 患者 ($P < 0.001$),提示了在腹水培养阴性的情况下,腹水 IL-6 水平也是诊断 SBP 的一个较为敏感而特异的指标^[8]。根据作者的观察,若以 $\geq 1200 \text{ ng/L}$ 为界,腹水 IL-6 检出 SBP 的灵敏性为 87.5%,特异性为 92.8%。本研究发现,无论有无 SBP 存在,腹水中的 IL-6 水平均显著高于血清的水平,提示腹腔巨噬细胞是腹水 IL-6 的主要来源,SBP 患者腹水 IL-6 水平的显著升高可能与内毒素刺激腹腔巨噬细胞过量分泌 IL-6 有密切关系^[8]。但作者也发现,腹水 IL-6 水平与腹水白细胞数仅有微弱的正相关,因而对于腹水白细胞数 $< 0.3 \times 10^9/L$ 、但腹水 IL-6 $> 1000 \text{ ng/L}$ 者,结合临床表现,也应高度疑及 SBP。动态观察 HC 患者腹水 IL-6 的水平是否有助于提高诊断 SBP 的阳性率,尚有待进一步研究。

综上所述,应用 ELISA 法定量检测血清和腹水 TNF- α 和 IL-6 具有灵敏性较高、特异性较强、快速简便等优点,可作为诊断 HC 合并感染和预后判断的一项筛选指标。

参 考 文 献

- 1 Byl B, Roucloux I, Crusiaux A, *et al*. Tumor necrosis factor α and interleukin 6 plasma levels in infected cirrhotic patients. *Gastroenterology*, 1993, 104(5):1492
- 2 全国腹水学术讨论会. 肝硬化腹水并发自发性细菌性腹膜炎的诊断标准. *中华消化杂志*, 1989, 9(6):359
- 3 Wyke R J. Problems of bacterial infection in patients with liver disease. *Gut*, 1987, 28:623
- 4 Tilg H, Wilmer A, Vogel W, *et al*. Serum levels of cytokin in chronic liver diseases. *Gastroenterology*, 1992, 103(1):264
- 5 黄自平. 肠源性内毒素血症在肝硬化失代偿中的作用及其处理. *胃肠病学和肝病杂志*, 1997, 6(1):9
- 6 阎辉,欧孝凤,苏令威. 病毒性肝炎并发原发性腹膜炎 92 例临床分析. *中华传染病杂志*, 1989, 7(2):115
- 7 刘敏川,宋元铭. 肝炎后肝硬化腹水并发自发性细菌性腹膜炎的早期诊断探讨. *实用内科杂志*, 1991, 11(6):311
- 8 Propst T, Propst A, Herold M, *et al*. High levels of interleukin 6 and its secondary mediators in spontaneous bacterial peritonitis. *Gastroenterology*, 1993, 105(1):310

(1998 - 02 - 06 收稿 1998 - 04 - 22 修回)