

· 论著 ·

慢性乙型肝炎血清OPN、IL-21的表达及其与HBV-DNA载量的相关性

董玉倩* 王亚南

新乡医学院第一附属医院检验科(河南 新乡 453000)

【摘要】目的 观察血清骨桥蛋白(OPN)、白细胞介素-21(IL-21)在慢性乙型肝炎(CHB)患者中的表达及其与乙型肝炎病毒-脱氧核糖核酸(HBV-DNA)载量的关系。**方法** 前瞻性选取医院确诊188例CHB患者,患者接受为期1年治疗,比较治疗6个月、1年时血清OPN、IL-21表达、HBV-DNA载量,分析血清OPN、IL-21表达与HBV-DNA载量的关系。**结果** 随着治疗的展开,患者血清OPN、HBV-DNA载量降低,IL-21升高($P<0.05$);经Pearson相关系数检验并建立广义估计方程模型,CHB患者HBV-DNA病毒载量与血清OPN呈正相关($r>0$, $P<0.001$),与IL-21表达呈负相关($r<0$, $P<0.001$)。**结论** CHB患者血清OPN、IL-21表达呈异常表达,且二者表达水平与CHB患者HBV-DNA载量有关。

【关键词】 慢性乙型肝炎;乙型肝炎病毒-脱氧核糖核酸;骨桥蛋白;白细胞介素-21

【中图分类号】 R512.6+2

【文献标识码】 A

DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2025.2.035

Expression of Serum OPN, IL-21 and Their Correlation with HBV-DNA Load in Patients with Chronic Hepatitis B

DONG Yu-qian*, WANG Ya-nan.

Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453000, Henan Province, China

Abstract: Objective To observe the expression of serum osteopontin (OPN) and interleukin-21 (IL-21) in patients with chronic hepatitis B (CHB), and to analyze the relationship between them and the load of hepatitis B virus-deoxyribonucleic acid (HBV-DNA). **Methods** A total of 188 patients with CHB diagnosed in the hospital were prospectively selected and treated for 1 year. The serum OPN, IL-21 expression and HBV-DNA load were compared at 6 months and 1 year after treatment, and the relationship between serum OPN, IL-21 expression and HBV-DNA load was analyzed. **Results** With the development of treatment, the serum OPN and HBV-DNA loads of patients decreased, and IL-21 increased ($P<0.05$). Pearson correlation coefficient test and the establishment of generalized estimation equation model showed that the HBV DNA viral load in CHB patients was positively correlated with serum OPN ($r>0$, $P<0.001$), and negatively correlated with the expression of IL-21 ($r<0$, $P<0.001$). **Conclusion** The expression of OPN and IL-21 in serum of CHB patients was abnormal, and the expression level was related to HBV-DNA load in CHB patients.

Keywords: Chronic Hepatitis B; Hepatitis B Virus-Deoxyribonucleic Acid; Osteopontin; Interleukin-21

HBV-脱氧核糖核酸(Deoxyribonucleic acid, DNA)载量是慢性乙型肝炎(CHB)患者病情评估的主要手段,能反映肝损伤程度^[1]。抗病毒是治疗CHB重要方法,但部分患者仍无法从中获益,或获益不达预期^[2]。对此,仍然需要继续寻找与之相关的标志物,或可为疾病的诊疗提供新方向。骨桥蛋白(osteopontin, OPN)是一种分泌性磷酸化糖蛋白,被证实参与了各种当脏疾病的病理过程^[3]。白细胞介素-21(interleukin-21, IL-21)是免疫调节指标,能反映CHB患者的病毒学应答情况,也参加了CHB发生、进展^[4]。推测OPN、IL-21参与了CHB病理过程,或许与患者的HBV-DNA载量相关。鉴于此,本研究就血清OPN、IL-21在CHB患者中的表达及二者与HBV-DNA载量的相关性做以下分析。

1 资料与方法

1.1 研究对象 前瞻性选取2019年2月至2021年2月医院确诊188例CHB患者作为研究对象。

纳入标准: CHB与《内科学(第9版)》^[5]中疾病的诊断标准符合;HBV基因型为B型或C型;经1年治疗后病情未进展;患者签署知情同意书。**排除标准:** 合并其他类型的病毒性肝炎;合并其他严重的传染性疾病,如艾滋病、肺结核等;合并其他类型肝脏疾病,如酒精性肝炎、脂肪肝等;肝脏疾病已经发展为严重的肝癌或肝硬化的患者;近1个月内有免疫调节治疗的患者;合并除肝脏外其他重要脏器相关疾病的患者,如肺癌、先天性心脏病、肾衰竭、肾炎等;合并恶性肿瘤疾病,如乳腺癌、膀胱癌、甲状腺癌等;合并自身免疫系统相关疾病;经调查发现患者有药物滥用史、酗酒史等不良生活习惯;正处于妊娠期或者哺乳期的女性患者。188例患者男167例,女21例;年龄24-46

岁,平均(34.86 ± 5.17)岁;体重指数 $19.21-25.17 \text{ kg/m}^2$,平均(21.67 ± 1.64) kg/m^2 ;132例患者有吸烟史;29例患者合并高血压;15例患者合并糖尿病;HBV基因型:B型51例,C型137例。

1.2 治疗方法 CHB患者接受治疗,根据《慢性乙型肝炎防治指南(2015年最新版)》^[6]中慢性乙型肝炎的治疗方法指导,为患者实施抗病毒治疗、护肝治疗,并使用干扰素- α 治疗,同时治疗期间做好随访与观察,治疗与随访持续时间为1年。

1.3 指标检测方法 治疗前、治疗6个月、治疗1年,采集患者空腹外周静脉血10mL,并以2管分装,其中1管用来检测HBV-DNA载量,检测方法为经荧光定量聚合酶链式反应(Polymerase chain reaction, PCR),仪器及配套的试剂盒均购于深圳匹基生物工程;另1管经离心处理(3500r/min, 10cm, 15min)获得待测样本,测定血清OPN、IL-21水平,方法为酶联免疫吸附法,试剂盒购于武汉华美生物工程。

1.4 统计学方法 数据处理软件为SPSS 25.0统计学软件,计量资料经S-W正态性检验后,符合正态分布的资料用“均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)”,组内多时点采用重复度量方差分析;HBV-DNA载量与血清学指标的相关性用Pearson双变量相关系数、广义估计方程分析;双侧检验 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 不同时点CHB患者血清OPN、IL-21表达、HBV载量 CHB患者治疗6个月、治疗1年,血清OPN表达及HBV-DNA载量与治疗前相比,逐渐降低;IL-21表达与治疗前相比,逐渐升高,各时点间比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.2 CHB患者治疗前血清OPN、IL-21表达与HBV-DAN载

【第一作者】董玉倩,女,主管技师,主要研究方向:临床检验诊断学。E-mail: 28868048@qq.com

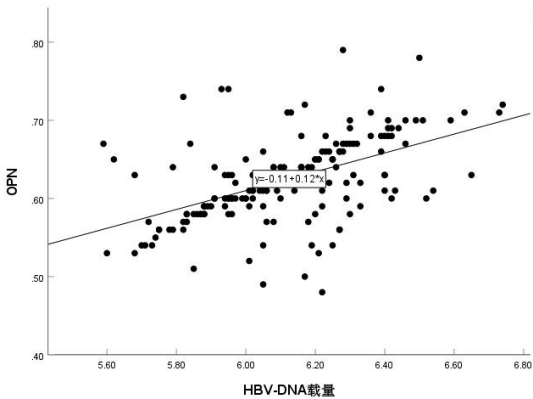
【通讯作者】董玉倩

量的相关性分析 经Pearson双变量相关系数检验,结果显示,CHB患者治疗前HBV-DNA病毒载量与血清OPN表达呈正相关($r=0.514$, $P<0.001$),与IL-21表达呈负相关($r=-0.320$, $P<0.001$)。散点图见图1、图2。

2.3 CHB患者HBV-DNA载量与OPN表达关系的广义估计方程以治疗前作为参照,以HBV-DNA载量作为协变量,建立广义估计

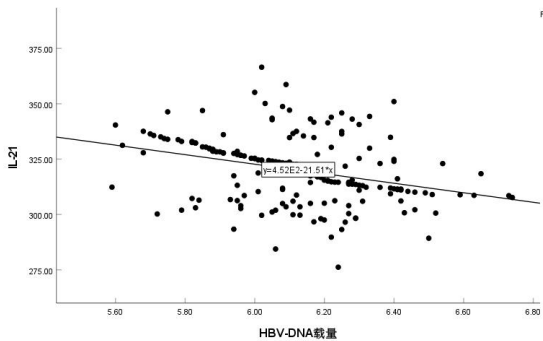
方程模型,结果显示,CHB患者血清OPN表达与HBV-DAN载量呈正相关(>0 , $P<0.05$)。见表2。

2.4 CHB患者HBV-DNA载量与IL-21表达关系的广义估计方程以治疗前作为参照,以HBV-DNA载量作为协变量,建立广义估计方程模型,结果显示,CHB患者血清IL-21表达与HBV-DAN载量呈负相关(<0 , $P<0.05$)。见表3。



①

图1 CHB患者血清OPN表达与HBV-DNA载量相关性散点图。



②

表1 不同时点CHB患者血清OPN、IL-21表达、HBV载量

时间	OPN(pg/mL)	IL-21(pg/mL)	HBV载量(IgIU/mL)
治疗前	0.62±0.05	320.17±15.11	6.12±0.22
治疗6个月	0.49±0.03	351.24±14.21	3.96±0.19
治疗1年	0.39±0.03	372.74±14.47	2.51±0.22
F	1665.351	630.092	13312.844
P	<0.001	<0.001	<0.001

表2 CHB患者HBV-DNA载量与OPN表达关系的广义估计方程分析结果

变量		S.E.	95%CI	Wald $\times^2$	df	P
截距	-0.113	0.0962	-0.302-0.075	1.389	1	0.239
治疗1年	0.538	0.0978	0.346--0.730	30.263	1	<0.001
治疗6个月	0.630	0.1038	0.427-0.833	36.837	1	<0.001
治疗前	0	-	-	-	-	-
HBV-DNA载量	0.121	0.0157	0.090-0.151	58.951	1	<0.001
治疗1年*HBV-DNA载量	-0.136	0.0184	-0.172--0.100	54.212	1	<0.001
治疗6个月*HBV-DNA载量	-0.126	0.0189	-0.163--0.089	44.664	1	<0.001
治疗前*HBV-DNA载量	0	-	-	-	-	-

表3 CHB患者HBV-DNA载量与IL-21表达关系的广义估计方程分析结果

变量		S.E.	95%CI	Wald $\times^2$	df	P
截距	451.817	23.5227	405.714-497.921	368.937	1	<0.001
治疗1年	-87.981	25.8462	-138.638--37.323	11.587	1	<0.001
治疗6个月	-85.809	31.2467	-147.052--24.567	7.542	1	0.006
治疗前	0	-	-	-	-	-
HBV-DNA载量	-21.514	3.8351	-29.031--13.997	31.469	1	<0.001
治疗1年*HBV-DNA载量	25.052	5.8511	13.584-36.520	18.332	1	<0.001
治疗6个月*HBV-DNA载量	17.779	6.5015	5.036-30.522	7.478	1	0.006
治疗前*HBV-DNA载量	0	-	-	-	-	-

3 讨 论

HBV是嗜肝DNA病毒科，组成成分主要有核心颗粒及蛋白膜外壳，传播途径主要为血液和体液，病毒入侵后将直接侵袭肝脏并于肝脏内不断复制，最终损伤肝功能^[7]。HBV持续感染导致CHB的发生，且HBV持续感染又与B细胞、T细胞、自然杀伤细胞等介导的免疫应答有关^[8]。

CHB患者体内的HBV持续地复制，将直接通过宿主固有免疫间接损伤肝脏功能，引起肝细胞毛玻璃样改变，并通过蛋白降解、信号传导、调节转录等多种途径造成肝细胞凋亡，引起肝功能损害^[9]。活动性病毒感染的评估主要依靠检测HBV-DNA载量，二者间呈比较强的正相关关系，即随着病毒载量的提高，HBV复制能力不断增强，且随着病毒载量的提高，患者共价闭合环状DNA转录活性也随之升高，有更高的风险从携带HBV进展为CHB，此时疾病治疗难度增加，患者已经发生肝功能损伤，应引起重视^[10]。抗病毒治疗是CHB重要治疗方法，可阻断HBV复制，降低CHB患者体内HBV-DNA载量，达到治疗效果。但部分患者疗效并不理想。

OPN又称早期T淋巴细胞活化因子1，是存在于骨组织中的一种磷酸蛋白，与免疫、炎症反应有关，在肝脏疾病的发生发展直接相关^[11]。IL-21是一种具有免疫调节作用的细胞因子，具有多种生物功能，已被证实病毒性肝炎、肝硬化等多种肝脏疾病的转归中发挥重要作用^[12]。本研究结果显示，CHB患者HBV-DAN载量与OPN、IL-21水平有关，与前者呈正相关，与后者呈负相关。分析原因，随着OPN表达的升高将与整合素受体结合，介导IL-12高表达，并与CD44结合，抑制IL-10表达，使Th1反应启动，对CHB患者的Th1/Th2细胞免疫平衡产生影响，最终使患者免疫力受影响，导致免疫功能下降^[13]。随着患者免疫下降，将加重期肝功能损伤，同时机体的抗病毒能力也逐渐被削弱，这为HBV病毒复制创造了条件，使得病毒不断复制，最终导致HBV-DNA载量显著升高。此外，随着OPN表达的升高，还将间接导致IL-12表达升高，二者之间的相互促进会介导细胞毒性T淋巴细胞的成熟，使细胞毒作用增强，对多种Th2细胞的活性产生抑制，使得多种炎症因子功能显著增强，最终使肝组织炎症反应程度加重，从而导致肝功能损伤程度加重^[14]。而IL-21表达的升高会介导外周血T细胞与胸腺细胞大量增殖，抑制CD3抗体活化，并增强CD8+T细胞增殖能力，调节细胞毒性T淋巴细胞的分化，进而增强机体的免疫功能，有助于抑制CHB患者体内HBV复制，使HBV-DNA载量减少^[15]。而随着IL-21表达升高，还会刺激促进CD8+T细胞产生干扰素 γ ，增强CD8+T细胞的抗病毒能力，抑制HBV增殖；同时IL-21对IL-10的分泌还有抑制作用，能抑制并减少IL-10的分泌，而IL-10能介导巨噬细胞功能的失活，参与了病毒感染及T细胞凋亡的过程^[16]。因此，IL-21表达升高可通过抑制IL-10恢复T细胞功能，进而增强T细胞病毒清除能力，减少CHB患者HBV-DAN载量。

综上所述，CHB患者血清OPN、IL-21表达呈异常表达，且二者表达水平与CHB患者HBV-DNA载量有关。

参考文献

- [1]Huang C,Li Q,Xu W,et al.Serum HBV RNA levels predict significant liver fibrosis in patients with chronic HBV infection[J].Discov Med,2020,29(157):119-128.
- [2]李贵,程丹颖,纪世博,等.慢性乙型肝炎抗病毒治疗10年预后及其影响因素[J].胃肠病学和肝病杂志,2020,29(4):438-441.
- [3]Phillips S,Mistry S,Doornebal E,et al.FRI-148-Downregulation of innate and adaptive gene expression alleviated by host protein osteopontin in an immunocompetent model of hepatitis B infection[J].J Hepatol,2019,70(1):e453.
- [4]Liu T,Song J,Zhang M,et al.Interleukin-21 receptor gene polymorphism is associated with hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma in Chinese patients[J].J Clin Lab Anal,2019,33(5):e22860.
- [5]葛均波,徐永健,王辰.内科学[M].第9版.北京:人民卫生出版社,2018:388-390.
- [6]中华医学会肝病学分会,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].中华肝脏病杂志,2015,23(12):888-905.
- [7]游义婷,饶章永.慢性乙型肝炎患者肝功能、凝血功能、血小板参数和血清炎症指标的相关性研究[J].中国实验诊断学,2020,24(3):466-468.
- [8]周震宇,霍佳慧,龚镭,等.CD5⁺CD19⁺B细胞在乙型肝炎病毒慢性感染中对CD8⁺细胞的作用和机制[J].中华消化杂志,2020,40(9):617-623.
- [9]Ahodantin J,Bou-Nader M,Cordier C,et al.Hepatitis B virus X protein promotes DNA damage propagation through disruption of liver polyploidization and enhances hepatocellular carcinoma initiation[J].Oncogene,2019,38(14):2645-2657.
- [10]Lee S A, Lee S Y, Choi Y M, et al. Sex disparity in viral load, inflammation and liver damage in transgenic mice carrying full hepatitis B virus genome with the W4P mutation in the preS1 region[J].World J Gastroenterol, 2018, 24(10): 1084-1092.
- [11]Phillips S,Mistry S,Coombes J,et al.Osteopontin drives HBV replication and HBV-driven fibrogenesis and represents a novel therapeutic target to achieve functional cure in chronic hepatitis B[J].J Hepatol,2020,73(1):845.
- [12]胡璇,叶俊钊,廖献花,等.IL-21和IFN基因多态性与慢性乙型肝炎疗效血清学应答的关系[J].实用医学杂志,2018,34(18):2985-2989.
- [13]Iqbal J,Sarkar-Dutta M,Mcrae S,et al.Osteopontin regulates hepatitis C virus (HCV) replication and assembly by interacting with HCV proteins and lipid droplets and by binding to receptors alpha V beta 3 and CD44[J].J Virol,2018,92(13):e2116-e2117.
- [14]耿爱文,肖丽,咸建春,等.慢性乙型肝炎核苷酸类似物耐药患者外周血IL-21、 γ -IFN、IL-10及 β -TGF变化的临床研究[J].解放军医药杂志,2016,28(9):69-71.
- [15]Tang L,Chen C,Gao X,et al.Interleukin-21 reinvigorates the antiviral activity of hepatitis B virus (HBV)-specific CD8⁺ T cells in chronic HBV infection[J].J Infect Dis,2019,219(5):750-759.
- [16]Abe K,Takahashi A,Imaizumi H,et al.Interleukin-21 plays a critical role in the pathogenesis and severity of type I autoimmune hepatitis[J].Springerplus,2016,5(1):777.

(收稿日期:2023-06-25)

(校对编辑:翁佳鸿)