

- ypps, 2008; a joint guideline from the American Cancer Society, the US Multi – Society Task Force on Colorectal Cancer, and the American College of Radiology. CA Cancer J Clin, 2008, 58(3):130 – 160
- 6 Gondal G, Grotmol T, Hofstad B, *et al.* COLON CANCER: Grading of distal colorectal adenomas as predictors for proximal colonic neoplasia and choice of endoscope in population screening: experience from the Norwegian Colorectal Cancer Prevention study (NORCCAP). Gut, 2003, 52(3):398 – 403
 - 7 聂玉强, 李瑜元, 吴惠生, 等. 大肠远侧腺瘤者存在大肠近侧息肉的危险性. 内镜, 1995, 12(6):326 – 329
 - 8 Erarslan E, Turkey C, Isik A, *et al.* Prevalence of proximal neoplasms among asymptomatic patients according to distal colorectal findings. Dig Dis Sci, 2009, 54(6):1312 – 1316
 - 9 Rabeneck L, Lewis JD, Paszat LF, *et al.* Risk of proximal and distal colorectal cancer following flexible sigmoidoscopy: a population – based cohort study. Am J Gastroenterol, 2008, 103(8):2075 – 2082
 - 10 Senore C, Armaroli P, Silvani M, *et al.* Comparing different strategies for colorectal cancer screening in Italy: predictors of patients' participation. Am J Gastroenterol, 2010, 105(1):188 – 198
 - 11 Atkin WS, Edwards R, Kralj – Hans I, *et al.* Once – only flexible sigmoidoscopy screening in prevention of colorectal cancer: a multicentre randomised controlled trial. Lancet, 2010, 375(9726):1624 – 1633
 - 12 Chung YW, Han DS, Park YK, *et al.* Risk of advanced proximal adenoma and cancer according to rectosigmoid findings in the Korean population. Dig Dis Sci, 2006, 51(12):2206 – 2212
 - 13 Sousa Andrade C, Figueiredo P, Lopes S, *et al.* A thousand total colonoscopies: what is the relationship between distal and proximal findings? Acta Med Port, 2008, 21(5):461 – 466

(收稿:2010 – 11 – 10)

(修回:2011 – 04 – 20)

慢性乙型肝炎患者外周血 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞数量与肝脏疾病慢性化进展关系的研究

程 媛 金晓芝 叶 超 陈永平 章圣辉 洪炜龙 谷甸娜 张 磊 郑明华

摘 要 目的 探讨慢性乙型肝炎患者(chornic hepatitis B, CHB)外周血中 CD4⁺ CD 25⁺ 调节性 T 细胞(regulatory T cells, Treg)的数量与肝脏慢性疾病进展的关系。**方法** 流式细胞术检测抗病毒治疗后 45 例 CHB 患者(根据 B 超将其分为 3 组,其中 B 超提示肝脏无异常改变的单纯 CHB 组 15 例,提示慢性肝病改变的 CHB 慢性肝病组 15 例,提示肝硬化改变的 CHB 肝硬化组 15 例)与 B 超均提示肝脏无异常改变的 15 例慢性乙型肝炎病毒携带者(asymptomatic HBV carriers, ASCs)以及 15 例健康成年人(normal control, NC)对照外周血中 CD4⁺ CD25⁺ Treg 的变化,并分析 Treg 与患者年龄,HBsAg 定量,ALT、AST、TGF – β_1 水平的相关性。**结果** 外周血中 CD4⁺ CD25⁺ Treg 占 CD4⁺ 淋巴细胞的比例在抗病毒治疗后单纯 CHB 组为 $(4.03 \pm 1.36)\%$,与 NC 组 $(4.02 \pm 1.14)\%$ 相比差异无显著性 ($t = 0.0223, P > 0.05$),与 ASCs 组 $(5.26 \pm 1.25)\%$ 相比显著减少 ($t = -2.2872, P < 0.05$); CHB 慢性肝病组为 $(5.65 \pm 2.01)\%$, CHB 肝硬化组为 $(5.32 \pm 1.47)\%$,与 NC 组、单纯 CHB 组比显著增高 (t 值分别为 3.0351、3.0129、2.4269、2.4046,均 $P < 0.05$)与 ASCs 组相比差异无显著性 (t 值分别为 0.7257、0.1174,均 $P > 0.05$); CHB 慢性肝病、肝硬化组间相比差异无显著性 ($t = 0.6083, P > 0.05$)。Treg 的数量与年龄、AST、TGF – β_1 水平呈正相关 (r 分别为 0.327、0.324、0.306, P 分别为 0.004、0.005、0.008)。**结论** Treg 在低水平 AST 时 CHB 患者外周血中的数量的增高对抗病毒治疗后的 CHB 患者更能反映其肝脏慢性损伤程度, Treg 可能参与了慢性 HBV 感染后肝脏疾病慢性化进展的过程。

关键词 慢性乙型病毒性肝炎 肝硬化 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞

Association between CD4⁺ CD25⁺ Regulatory T Cells in Peripheral Blood of Patients with HBV DNA Resolved Chronic Hepatitis B and Different Chronic Liver Process After Treated with NAs. Cheng Yuan, Jin Xiaozhi, Ye Chao, *et al.* Department of Infectious Diseases, First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Zhejiang 325000, China

Abstract Objective To investigate the association between the frequency of circulating CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells (Treg) in

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(Y207464);浙江省科技厅新苗人才计划资助项目(2008R40G209002)

作者单位:325000 温州医学院附属第一医院感染内科(程媛、金晓芝、叶超、陈永平、谷甸娜、张磊、郑明华);内科实验室(章圣辉);外科实验室(洪炜龙)

通讯作者:陈永平,电子信箱:ypchen106@yahoo.com.cn

patients of HBV DNA resolved chronic hepatitis B and different chronic liver disease process after treated with NAs. **Methods** Tregs in peripheral blood from 45 HBV resolved CHB patients including 15 CHB patients with no anomaly liver changes in B - mode ultrasound, 15 patients with chronic liver disease changes in B - mode ultrasound and 15 patients with liver cirrhosis in B - mode ultrasound were assayed. We also used 15 asymptomatic HBV carriers (ASCs) with no anomaly liver changes in B - mode ultrasound and 15 healthy subjects as control. Tregs were quantitatively analyzed using flow cytometry. Clinical and laboratory data were collected for further analysis. **Results** CHB patients with chronic liver disease changes or liver cirrhosis presented a higher fraction of circulating Tregs ($5.65 \pm 2.01\%$ or $(5.32 \pm 1.47)\%$ than those of healthy controls ($4.02 \pm 1.14\%$) and CHB patients ($4.03 \pm 1.36\%$) ($P < 0.05$) and were similar to ASCs ($5.26 \pm 1.25\%$) ($P > 0.05$). There was correlation between the frequency of Treg and the quantity of age, AST and $\text{TGF}\beta_1$ ($r = 0.327, 0.324, 0.306, P < 0.01$). **Conclusion** The obviously heightened frequency of $\text{CD4}^+ \text{CD25}^+$ Treg in the patients with chronic liver disease changes or liver cirrhosis in CHB may could be a sign of chronic liver disease and may could indicate the damage degree in chronic liver disease after being infected HBV. The role of $\text{CD4}^+ \text{CD25}^+$ Treg in the liver chronic damage after chronic HBV being infected may need further investigations.

Key words Chronic hepatitis B; Liver cirrhosis; $\text{CD4}^+ \text{CD25}^+$ Treg

乙型肝炎病毒 (HBV) 感染呈世界性分布, 我国是慢性乙型病毒性肝炎 (CHB) 的高发区, 慢性 HBV 感染导致肝脏持续损伤、肝纤维化, 并可进一步发展成为肝硬化以及肝癌。CHB 的发病机制十分复杂, 其中宿主免疫调节的紊乱是导致机体不能有效清除病毒的重要原因之一^[1]。

$\text{CD4}^+ \text{CD25}^+$ 调节性 T 细胞 (Treg) 是一类具有调节功能的 T 细胞群体, 能够分泌细胞因子 $\text{TGF} - \beta_1$ 等, 通过调节外周免疫耐受来控制效应 T 细胞的免疫反应。有学者认为 Treg 在慢性 HBV 感染时宿主免疫反应缺陷的过程中起了重要作用^[2], 目前国内外关于 Treg 与 HBV 感染的研究中大多数研究结果发现 Treg 在慢性活动性乙型肝炎 (chronic active hepatitis) 及 ASCs 患者外周血中的数量较正常人升高, 研究中大都选择了未经抗病毒治疗的急慢性乙型病毒性肝炎患者来观察, 关于接受抗病毒治疗后的 CHB 患者外周血中 Treg 的数量和功能研究不多, 且关于 Treg 跟 HBV 感染者各临床参数之间的相关性的结果仍存在较大争议^[2-6]。此次, 我们收集了 45 例应用核苷类似物抗病毒药治疗后 HBV - DNA 低于检测水平的 CHB 患者外周血, 并按 B 超检查结果将患者分为 3 组, 其中单纯 CHB、CHB 慢性肝病、CHB 肝硬化患者各 15 例, 与 15 例 ASCs 者以及 15 例正常成年人对照, 观察 $\text{CD4}^+ \text{CD25}^+$ Treg 细胞在这部分患者外周血中的数量变化情况, 并分析 Treg 与患者年龄、HBeAg 定量、ALT、AST 以及血浆 $\text{TGF} - \beta_1$ 水平的相关性。

材料与方法

1. 研究对象: CHB 患者 45 例, ASCs 者 15 例, 所有病例均为 2009 年 10 月 ~ 2010 年 7 月笔者医院门诊患者, 符合 2000 年西安会议修订的《病毒性肝炎防治方案》诊断分型标准, 所

有患者均除外其他病毒性肝炎、酒精性肝病、药物性肝炎、自身免疫性肝病、遗传性肝病等^[7]。根据 B 超检查结果我们将 45 例 CHB 患者分为 3 组, 其中单纯 CHB 15 例 (B 超提示肝胆脾胰无异常), CHB 慢性肝病 15 例 (B 超提示慢性肝病改变), CHB 肝硬化 15 例 (B 超提示肝硬化)。15 例单纯 CHB 患者, 男性 9 例, 女性 6 例, 年龄 25 ~ 65 岁, 平均 42.60 ± 10.02 岁, 15 例 CHB 慢性肝病患者, 男性 9 例, 女性 6 例, 年龄 25 ~ 65 岁, 平均 44.40 ± 11.19 岁; 15 例 CHB 肝硬化患者, 男性 10 例, 女性 5 例, 年龄 28 ~ 65 岁, 平均 46.00 ± 10.97 岁。15 例 ASCs 者, 男性 9 例, 女性 6 例, 年龄 25 ~ 65 岁, 平均 41.47 ± 11.09 岁。15 例正常对照者为笔者医院健康体检者, 男性 9 例, 女性 6 例; 年龄 25 ~ 65 岁, 平均 43.73 ± 11.24 岁, 均无肝炎病史, 除外病毒性肝炎、酒精性肝病、药物性肝炎、自身免疫性肝病、遗传性肝病等, 肝功能均正常。45 例应用核苷类似物抗病毒治疗病人的用药时间为 1 ~ 5 年, HBV - DNA 均低于检测值水平, 且血清 ALT、AST 均在正常范围内, 其中使用拉米夫定 13 例, 阿德福韦酯 11 例, 替比夫定 9 例, 恩替卡韦 7 例, 另有 5 例病人为拉米夫定加阿德福韦酯联合抗病毒。所有病人近 6 个月内均未接受免疫调节剂及保肝降酶或抗纤维化药物治疗。

2. 实验方法: (1) 主要试剂和仪器: 美国 BD FACS 流式细胞仪, 小鼠抗人 $\text{CD4} - \text{FITC}$ 、 $\text{CD25} - \text{PE}$ 、 $\text{CD127} - \text{Alexa Fluor}^{\text{®}}$ 647、mouse IgG1 - PE、mouse IgG1 - APC 均购自美国 BD Pharmingen 公司。SEMENS 公司全自动生化分析仪进行肝功能检测。HBV - DNA 采用荧光定量 - 聚合酶链反应技术检测, 按深圳匹基生物工程股份有限公司试剂盒说明书进行操作。ELISA 检测血浆 $\text{TGF} - \beta_1$ 水平, 人 $\text{TGF} - \beta_1$ ELISA 试剂盒购自上海依科赛生物制品有限公司, 按照说明书进行操作。(2) 流式细胞术检测外周血 $\text{CD4}^+ \text{CD25}^+ \text{CD127lo/-}$ Treg 的水平: 采集患者及健康体检者外周静脉血 2ml, EDTA 抗凝。同时取 2 个流式试管, 分别加入 $\text{CD4} - \text{FITC}$ /mouse IgG1 - PE/mouse IgG1 - APC 和 $\text{CD4} - \text{FITC}$ / $\text{CD25} - \text{PE}$ / $\text{CD127} - \text{Alexa Fluor}^{\text{®}}$ 647 各 5 μl , 每管再加 40 μl 抗凝全血, 混匀, 避光孵育

30min, 2ml 溶血素溶血, PBS 洗涤 2 次, 流式细胞仪检测, CellQuest v3.2 软件获取及分析, 计算外周血中 CD4⁺CD25⁺CD127lo/-Treg 占 CD4⁺淋巴细胞比例。

3. 统计学处理: 采用 SPSS 19.0 统计软件, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两样本均数采用成组 *t* 检验和小样本量 *K-S* 检验, 多个样本均数采用单因素方差分析 *LSD-t* 检验, 相关性分析采用

Person 相关检验和 *Spearman* 秩相关检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 各组患者临床特点及血清生化各相关指标及血浆 TGF-β₁ 水平检测结果, 如表 1、表 2 所示。

表 1 各组患者临床特征及核苷类似物使用情况 (n)

组别	n	男性	女性	年龄 (岁)	核苷类似物用药情况				
					LAM (n = 13)	ADV (n = 11)	LdT (n = 9)	ETV (n = 7)	LAM + ADV (n = 5)
健康对照组	15	9	6	43.73 ± 11.24	-	-	-	-	-
ASCs 组	15	9	6	41.47 ± 11.09	-	-	-	-	-
单纯 CHB 组	15	9	6	42.60 ± 10.02	5	5	2	2	1
CHB 慢性肝病组	15	9	6	44.40 ± 11.19	4	3	4	2	2
CHB 肝硬化组	15	13	2	46.00 ± 10.97	4	3	3	3	2

表 2 各组患者临床特征、各项生化指标及 TGF-β₁ 检测结果

检测指标	健康对照组	ASCs 组	单纯 CHB 组	CHB 慢性肝病组	CHB 肝硬化组
B 超	无异常	无异常	无异常	慢性肝病	肝硬化
HBeAg (- / +)	15/0	3/12	9/6	11/4	12/3
DNA (copies/ml)	-	7.5E+7 ± 1.2E+8	-	-	-
ALT (U/L)	19.60 ± 12.18	38.47 ± 10.78	26.47 ± 9.91	28.91 ± 14.29	27.87 ± 8.81
AST (U/L)	22.20 ± 7.68	29.00 ± 7.66	22.53 ± 3.90	28.15 ± 8.24	27.20 ± 4.13
TGF-β ₁ (ng/ml)	2.38 ± 1.41	3.86 ± 1.66	2.69 ± 1.06	5.13 ± 1.24	5.60 ± 1.51

2. 多色荧光分析法检测外周血中 CD4⁺CD25⁺CD127lo/-Treg 的数量, 如图 1 所示。不同组患者

外周血中 CD4⁺CD25⁺CD127lo/-Treg 水平的数量检测结果, 如表 3 所示。

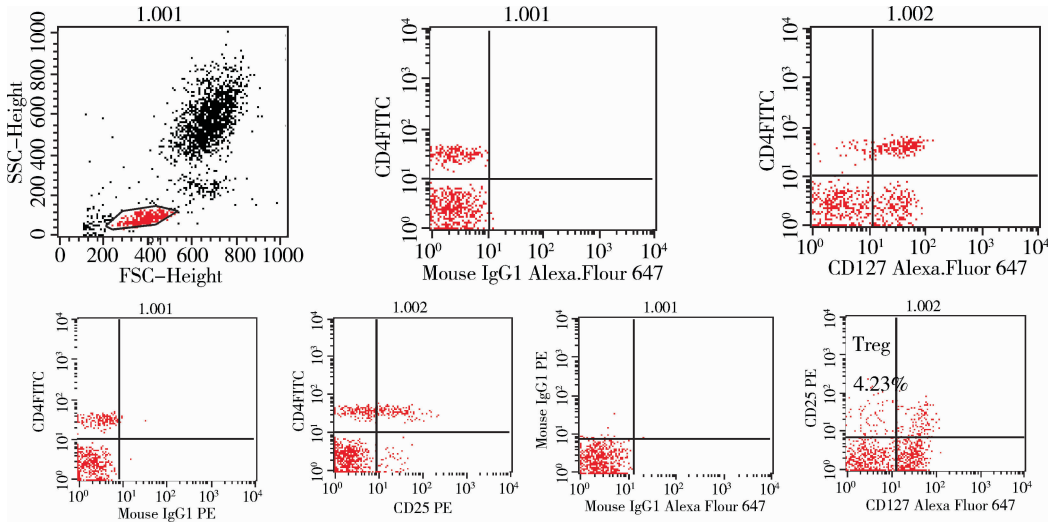


图 1 外周血 CD4⁺CD25⁺CD127lo/-Treg 数量

表 3 各组患者 CD4⁺CD25⁺CD127lo/-Treg 数量检测结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127lo/-Treg 比例 (%)	P			
健康对照组	15	4.02 ± 1.14				
慢性 HBV 携带组	15	5.26 ± 1.25 ^{a*}	0.024 ^a			
单纯 CHB 组	15	4.03 ± 1.36 ^{b*}	0.982 ^a	0.025 ^b		
CHB 肝纤维化组	15	5.65 ± 2.01 ^{***c**}	0.003 ^a	0.470 ^b	0.004 ^c	
CHB 肝硬化组	15	5.32 ± 1.47 ^{**c*}	0.018 ^a	0.907 ^b	0.019 ^c	0.545 ^d

^a 与健康对照组比较, 其中^{a*} *P* < 0.05, ^{***} *P* < 0.01; ^b 与慢性 HBV 携带组比较; ^c 与慢乙肝组比较, 其中^{c*} *P* < 0.05; ^d 与慢乙肝肝纤维化组比较

3. 不同组患者外周血 CD4⁺CD25⁺CD127lo/-Treg 数量与各指标的关系: 相关系数及显著性见表 4。Treg 数量与各项指标进行相关性分析显示, 在全部受检者中 Treg 数量与年龄之间正相关($r=0.327$, $P=0.004$), 与血清 AST 水平之间正相关($r=0.324$, $P=0.005$), 与血浆 TGF- β_1 水平正相关($r=0.306$, $P=0.008$), 相关性散点图见图 2。而与 HBeAg 定量, 血清 ALT 水平之间无显著相关性(r 分别为 0.177、0.129, P 分别为 0.130、0.270)。

表 4 Treg 与不同组患者各项生化指标相关性分析			
项目	Person 相关系数	Sperman 相关系数	P
年龄	0.327***	0.004 ^a	
ALT		0.129 ^a	0.270 ^a
AST		0.324***	0.005 ^a
HBeAg		0.177 ^a	0.130 ^a
TGF- β_1	0.306***		0.008 ^a

^a 与全部受试者比较, 其中** $P<0.05$, *** $P<0.01$

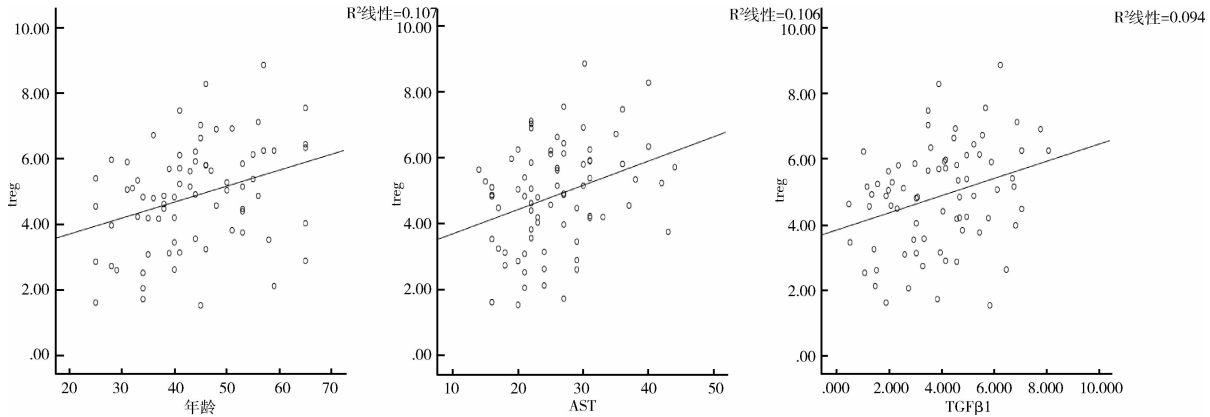


图 2 Treg 与年龄、AST、TGF- β_1 相关性散点图

4. 各组 Treg、年龄、AST、TGF- β_1 水平比较: 结果见图 3。

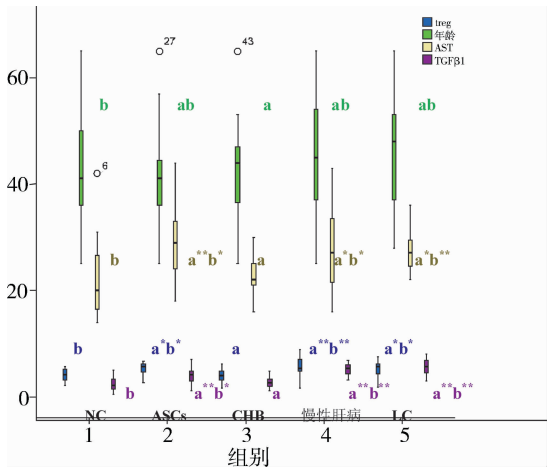


图 3 不同组 Treg、年龄、AST、TGF- β_1 比较情况

^a 与正常对照(NC)组比较, 其中** $P<0.05$, *** $P<0.01$;
^b 与单纯慢乙肝(CHB)组比较, 其中^b $P<0.05$, ^b*** $P<0.01$

讨 论

HBV 感染慢性化的机制比较复杂, 其中机体免疫清除病毒的能力发挥极为重要的作用, 它既能够控制病毒的复制和清除、促临床恢复和使机体产生保护

性的免疫应答, 也会导致炎症损伤迁延不愈, 肝纤维化发生, 甚至发展为肝硬化、肝癌等。Treg 的发现使人们对免疫调节及免疫耐受有了新的认识, 机体可能更主要是通过 Treg 以“主动”的方式维持自身免疫耐受, 在机体发生一些病原微生物感染时, 体内的 CD4⁺CD25⁺Treg 的数量可以增多, 且可抑制 CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞的活化和增殖及 Th1/Th2 细胞因子的分泌, 从而影响机体抗感染免疫应答的发生, 导致感染的持续^[8]。CD4⁺CD25⁺Treg 最基本的分子表达特征为持续稳定表达 CD25, Foxp3 是 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞分化发育和功能维持的重要调控基因, 可作为人 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞的特异性标志。但 Foxp3 属胞内蛋白, 标记后的细胞已被破坏不能用于进一步的培养和研究。Liu 等发现 CD127 可以帮助识别 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞与活化的 T 细胞, CD127 的低表达与 Foxp3 表达极其一致且与 CD25 中等到强表达有良好的相关性, 即真正的调节性 T 细胞仅表达较低的 CD127, 因此在 CD4⁺CD25⁺基础上联合 CD127 lo/- 可以更好地识别人 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞^[9,10]。

我们使用 CD4⁺CD25⁺CD127lo/- 来标记 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞, 检测应用核苷类似物抗病毒治疗

后 HBV - DNA 低于检测值水平,肝功能 ALT、AST 在正常范围内的 CHB 患者,根据其 B 超检测结果将其分为单纯 CHB、CHB 慢性肝病及 CHB 肝硬化 3 组,并选择同样 ALT、AST 正常的 ASCs 患者和正常成年人一起作为对照来观察这一部分患者外周血中 $CD4^+CD25^+$ Treg 水平并分析其与患者年龄、HBeAg 定量、ALT、AST、TGF - β_1 水平的相关性。

结果发现,在抗病毒治疗后单纯 CHB 患者外周血中 $CD4^+CD25^+$ Treg 细胞数量较 ASCs 组显著降低,与正常组没有显著差异,提示在 HBV 慢性感染的免疫调节中,Treg 可能发挥了维持机体效应细胞免疫清除 HBV 的稳态的作用,在 ASCs 患者中 Treg 的数量增加使得机体维持保护性免疫,避免激发过度的免疫反应所致的肝脏病理损伤的同时也造成病毒在机体的持续存在。而在抗病毒治疗后随着 HBV DNA 的清除,Treg 数量也随着致病因素的去除而相应下降,也表明当 CHB 患者自身免疫耐受打破后,Treg 的数量或许可以一定程度上反映 CHB 患者体内 HBV DNA 的清除情况。

同样抗病毒治疗后的 CHB 慢性肝病患者及 CHB 肝硬化患者外周血中 Treg 数量较之健康对照者和抗病毒治疗后 CHB 组显著增高。且在所有受检者中 Treg 的数量与年龄、血清 AST 水平、血浆 TGF β_1 水平正相关。我们比较了各组年龄、血清 AST 水平、血浆 TGF - β_1 水平,发现各组年龄之间无显著差异,单纯 CHB 患者组的 AST 水平及 TGF - β_1 水平则明显低于 CHB 慢性肝病组和肝硬化组。

AST 主要分布在肝细胞质和肝细胞的线粒体中,当肝脏发生严重坏死或破坏时,肝细胞的线粒体也遭到了严重的破坏,AST 从线粒体和胞质内释出,可以一定程度上反映肝脏损伤坏死情况。Treg 在血清 ALT、AST 维持在正常范围内的受试者中仍与 AST 存在显著正相关,也提示 Treg 可能更能敏感的反应肝脏的损伤程度,当肝细胞出现严重损伤和坏死的时数量会增加,以阻止机体过度的免疫损伤引起的炎症。慢性肝病进展过程中肝脏发生纤维化时中心环节是 HSC 的活化,最关键的细胞因子是 TGF - β_1 。TGF - β_1 对 HSC 的增生活化具有极其重要的作用,是最强的促纤维化生成因子。早期肝损伤时,体内的炎性细胞如活化的巨噬细胞等能分泌大量细胞因子如 TGF - β_1 、TNF - α 、EGF、PDGF 等,刺激 HSC 活化转化为肌成纤维细胞;同时活化后的 HSC 可以自分泌 TGF - β_1 、TNF - α 等因子,促进自身进一步活化。

而细胞因子之间通过各种细胞间的数种信号传导通路可互相作用,一旦启动,会产生级联瀑布式的效应,在炎症后阶段即使去除原来的肝损因素,也会导致肝纤维化形成的持续^[11,12]。而 Treg 能够分泌细胞因子 TGF - β_1 ,同时体外实验研究也表明 TGF - β_1 能够诱导 $CD4^+CD25^-$ T 向 $CD4^+CD25^+$ T 细胞转化以及促进 Foxp3 表达^[13]。因此,我们推测存在在 CHB 组与 CHB 慢性肝病、肝硬化组之间血清 AST 和血浆 TGF - β_1 水平的显著差异,可能也是 Treg 在这 3 组存在显著差异的原因。也表明低水平 AST 时 Treg 的增加更能提示肝脏慢性损伤程度。

对于 Treg 在抗病毒治疗后的 CHB 慢性肝病、肝硬化患者外周血中仍增高的原因,我们推测,Treg 可以敏感地反映存在于慢性肝病、肝硬化患者体内肝脏的炎症损伤情况,保护肝脏避免过度免疫激发所致的病理损伤,同时 Treg 分泌的 TGF - β_1 等可能促进了 HSC 的活化;或者通过细胞直接接触与作为 APC 的 HSC 发生作用,促进肝纤维化发生;而在肝纤维化肝硬化时患者体内及 HSC 活化后肝脏局部的纤维化微环境中各种细胞因子,包括由活化后的 HSC 自分泌的 TGF - β_1 等可能也促进了 Treg 的进一步增殖分化和发挥功能作用^[11-15];或者以上几种作用方式同时存在,并相互关联,互为反馈,与其他致纤维化因素一起促进慢性肝病、肝硬化的形成。因此,Treg 可能参与了慢性 HBV 感染后肝脏疾病慢性化进展的过程。我们将进一步配合肝活检检测慢性乙型肝炎肝纤维化、肝硬化患者肝组织中 Treg 的表达情况及动态观测抗病毒治疗过程中患者自身对照其外周血 Treg 数量的变化,并进行体外实验来研究 Treg 在慢性 HBV 感染后对肝脏疾病慢性化进展中的具体作用和机制。

参考文献

- 1 Chisari FV, Ferrari C. Hepatitis B virus immunopathogenesis. *Annu Rev Immunol*, 1995, 13: 29 - 60
- 2 Franzese O, Kennedy PT, Gehring AJ, *et al.* Modulation of the $CD8^+$ - T - cell response by $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells in patients with hepatitis B virus infection. *J Virol*, 2005, 79 (6): 3322 - 3328
- 3 Stoop JN, Van der Molen RG, Baan CC, *et al.* Regulatory T cells contribute to the impaired immune response in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology*, 2005, 41 (4): 771 - 778
- 4 Xu D, Fu J, Jin L, *et al.* Circulating and liver resident $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells actively influence the antiviral immune response and disease progression in patients with hepatitis B. *J Immunol*, 2006, 177 (1): 739 - 747
- 5 Zheng MH, Gu DN, Martin Braddock, *et al.* $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells: a therapeutic target for liver diseases. *Expert Opin Ther Tar*

- gets, 2008, 12(3): 313 - 326
- 6 Alatrakchi N, Kzie M. Regulatory T cells and viral liver disease. *Journal of Viral Hepatitis*, 2009, 16: 223 - 229
- 7 传染病与寄生虫学会. 病毒性肝炎防治方案, 中华传染病杂志. 2001, 19: 52 - 62
- 8 Maloy KJ, Salaun L, Cahill R. CD4⁺ CD25⁺ T(R) cells suppress innate immune pathology through cytokine - dependent mechanisms. *J Exp Med*, 2003, 197(1): 111 - 119
- 9 Seddiki N, Santner - Nanan B, Martinson J, *et al.* Expression of interleukin (IL) - 2 and IL - 7 receptors discriminates between human regulatory and activated T cells. *J Exp Med*, 2006, 203 (7): 1693 - 1700
- 10 Liu W, Putnam AL, Xu - Yu Z, *et al.* CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4⁺ Treg cells. *J Exp Med*, 2006, 203 (7): 1701 - 1711
- 11 Wells RG, Kruglov E, Dranoff JA, *et al.* Autocrine release of TGF - beta by portal fibroblasts regulates cell growth. *FEBS Lett*, 2004, 559: 107 - 110
- 12 Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology*, 2008, 134: 1655 - 1669
- 13 Chen W, Jin W, Hardegen N, *et al.* Conversion of peripheral CD4⁺ CD25⁻ naive T cells to CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells by TGF - beta induction of transcription factor Foxp3. *J Exp Med*, 2003, 198: 1875 - 1886
- 14 Von Borhmer H. Mechanisms of suppression by suppressor T cells. *Nat Immunol*, 2005, 6: 338 - 344
- 15 Winau F, Hegasy G, Weiskirchen R, *et al.* Ito cells are liver - resident antigen - presenting cells for activating T cell responses. *Immunity*, 2007, 26: 117 - 129
- (收稿: 2010 - 12 - 09)
- (收稿: 2011 - 07 - 05)

miR - 199a 在宫颈癌及宫颈上皮内瘤样病变中的表达及意义

邹阮敏 胡 芝 陈 昊 张丽芳 张文森 薛向阳 黄引平

摘 要 目的 探讨 miR - 199a 在宫颈癌及宫颈上皮内瘤样病变 (CIN) 中的表达情况及与宫颈癌各种临床病理特征的关系。**方法** 采用茎环 Realtime RT - PCR 方法检测 48 例宫颈癌、12 例 CIN 及正常宫颈组织中 miR - 199a - 3p 和 miR - 199a - 5p 的表达, 分析 miR - 199a - 3p 和 miR - 199a - 5p 表达与宫颈癌常见的临床病理特征的关系。**结果** 用茎环 Realtime RT - PCR 方法检测 miR - 199a - 3p 和 miR - 199a - 5p 表达的敏感性和特异性良好; miR - 199a - 3p 和 miR - 199a - 5p 在宫颈癌及 CIN 组织中的表达低于非肿瘤组织, 差异性显著 ($P < 0.05$), miR - 199a - 5p/miR - 199a - 3p 表达比值未见明显差异 ($P = 0.219$)。其中 miR - 199a - 5p 的表达与宫颈癌的组织分化程度存在一定相关性。小细胞型 (Ⅲ级) 宫颈癌的 miR - 199a - 5p 表达低于其他组织分化类型的标本 ($P = 0.054$)。miR - 199a - 3p 和 miR - 199a - 5p 的表达与年龄、肿块大小、大体类型、病理类型及 FIGO 分期未见显著相关性 ($P > 0.05$)。**结论** miR - 199a - 3p 和 miR - 199a - 5p 在宫颈癌及 CIN 组织中的表达显著低于正常宫颈组织。miR - 199a - 5p 的表达与肿瘤的分化程度存在一定相关性。miR - 199a 在宫颈癌组织中的异常表达, 可能在宫颈癌的发生和发展过程中发挥重要作用, 有望成为宫颈癌新的治疗靶点。

关键词 miRNA miR - 199a 宫颈癌 宫颈上皮内瘤样病变 (CIN)

Clinical Significance of miR - 199a Expression in Cervical Cancer and Cervical Intraepithelial Neoplasia. Zou Ruanmin, Hu Zhi, Chen Hao, Zhang Lifang, Zhang Wenmiao, Xue Xiangyang, Huang Yinping. The First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Zhejiang 325000, China

Abstract Objective To explore the expression of miR - 199a in cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and study its association with clinicopathologic features of cervical cancer. **Methods** The expression levels of miR - 199a - 3p and miR - 199a - 5p in 48 cervical cancer, 12 CIN and 20 non - tumor tissue specimens were examined by stem - loop real - time RT - PCR. The correlations between the expression levels of miR - 199a - 3p and miR - 199a - 5p and related clinicopathologic features of cervical cancer

基金项目: 温州市科技局资助项目 (Y20090103); 浙江省教育厅基金资助项目 (Y200907403)

作者单位: 325000 温州医学院附属第一医院妇产科 (邹阮敏、张文森、黄引平); 325000 温州医学院定理临床学院妇瘤科 (胡芝); 325035 温州医学院微生物学与免疫学教研室 (陈昊、张丽芳、薛向阳)

通讯作者: 薛向阳, 电子信箱: wzxy@yahoo.cn; 黄引平, 电子信箱: yphuangp@126.com