

非酒精性脂肪性肝病患者外周血 T 细胞亚群的变化及意义

王彦丽¹, 郝礼森², 张铁强¹, 赵立军¹, 柴丽丽¹, 李莉³

1. 秦皇岛市第四医院, 河北 秦皇岛 066000; 2. 华北理工大学附属医院; 3. 秦皇岛市第一医院

摘要: **目的** 探讨非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)患者外周血 T 细胞亚群的变化及其意义。**方法** 选取 NAFLD 患者 187 例为研究对象,按临床分型标准将入选病例分为非酒精性单纯性脂肪肝(non-alcoholic simple fatty live, NASFL)组(147 例)与非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)组(40 例),并根据电子计算机断层扫描(computer tomography, CT)标准将入选病例分为轻度 94 例、中度 58 例、重度 35 例三组,同时选取 45 例健康体检者作为对照组。采用流式细胞术检测入选病例及对照组外周血 CD4⁺、CD8⁺T 细胞。**结果** NAFLD 患者外周血 CD4⁺T 细胞(39.74±2.32)较对照组(30.94±2.65)明显升高($t=22.026, P<0.05$),而 CD8⁺T 细胞较对照组(23.01±2.56 vs 30.31±2.17)明显降低($t=17.656, P<0.05$)。NASH 组患者外周血 CD4⁺T 细胞明显高于 NASFL 组($t=13.899, P<0.05$),而 NASH 组患者 CD8⁺T 细胞明显低于 NASFL 组($t=12.084, P<0.05$)。重度组患者外周血 CD4⁺T 细胞较中、轻度组显著升高($P<0.05$),且中度组高于轻度组($P<0.05$);而重度组患者外周血 CD8⁺T 细胞明显低于中、轻度组($P<0.05$),且中度组显著低于轻度组($P<0.05$)。**结论** NAFLD 患者存在细胞免疫紊乱,且随着病情进展及脂肪肝程度的加重,细胞免疫紊乱逐渐加重,表现为外周血 CD4⁺T 细胞逐渐增加及 CD8⁺T 细胞的逐渐减少。

关键词: 非酒精性脂肪性肝病; 外周血 T 细胞亚群; 免疫调节; 细胞免疫

中图分类号:R575.5 **文献标识码:**B **文章编号:**1006-3110(2018)12-1473-03 **DOI:**10.3969/j.issn.1006-3110.2018.12.018

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种与胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)、遗传易感密切相关的代谢性应激性肝损伤,病理改变与酒精性肝病相似,但患者无过量饮酒史和其他明确的损肝因素,其包括非酒精性单纯性脂肪肝(non-alcoholic simple fatty liver, NASFL)、非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)及其相关肝硬化和肝细胞癌。就 NAFLD 发病机制来说,经典的“两次打击”学说认为 IR 是其形成的核心环节,贯穿 NAFLD 的全过程^[1];但“两次打击”学说并不能完全解释 NAFLD 的所有发病机制。而肝脏是重要的免疫器官,在机体的免疫中占重要的地位^[2]。有研究发现,T 细胞作为细胞免疫应答的效应细胞,其亚群 CD4⁺T 细胞及 CD8⁺T 细胞的比例在慢性乙型病毒性肝炎、慢性丙型病毒性肝炎、自身免疫性肝病等慢性肝病的发病过程中发生变化,其细胞的数量和功能异常可能是这些慢性肝病进展的重要原因^[3-10]。但对 NAFLD 患者外周血 T 细胞亚群变化及其在 NAFLD 的

各临床类型及不同病情程度患者中的变化缺乏系统研究。为此,本研究通过检测 NAFLD 患者外周血 T 细胞亚群(CD4⁺、CD8⁺T 细胞),分析不同临床类型、不同程度的 NAFLD 患者外周血 T 细胞亚群变化特点及意义,探讨 NAFLD 患者的细胞免疫变化,以期为临床上 NAFLD 的防治提供新途径和依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选取 2013 年 1 月-2014 年 12 月秦皇岛市第四医院门诊及住院 NAFLD 患者 187 例,诊断符合中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组修订的《非酒精性脂肪性肝病诊疗指南》(2010 年 1 月)诊断标准^[11],并排除其他因素所致的脂肪肝及近期内服用影响血清转氨酶药物的患者,其中男 114 例,女 73 例,平均年龄(39.57±1.98)岁。根据临床分型标准将所有入选病例分为 NASFL 组(肝功能检查显示 ALT 或 AST 正常、影像学表现符合弥漫性脂肪肝的诊断标准)147 例,男 90 例,女 57 例,年龄 21~75 岁,平均(39.18±11.67)岁;NASH 组(肝功能检查显示 ALT 或 AST 高于正常上限、影像学表现符合弥漫性脂肪肝的诊断标准)40 例,男 24 例,女 16 例,年龄 24~77 岁,平均(40.53±12.99)岁。另根据电子计算机断层扫描(computed tomography, CT)影像学诊断分度标准

基金项目:秦皇岛市科学技术局科技重点研发计划项目(编号 201602A249)

作者简介:王彦丽(1971-),女,河北南宫人,本科学历,副主任医师,研究方向:消化系统疾病。

通信作者:郝礼森, E-mail:haolisen125@163.com。

将入选病例分为轻、中、重度三组,轻度脂肪肝患者 94 例,男 57 例,女 37 例,年龄 21~76 岁,平均年龄(39.15±1.78)岁;中度脂肪肝患者 58 例,男 36 例,女 22 例,年龄 21~74 岁,平均年龄(39.08±2.11)岁;重度脂肪肝患者 35 例,男 21 例,女 14 例,年龄 24~77 岁,平均年龄(39.77±2.09)岁。同时选取对照组,为同期秦皇岛市第四医院门诊体检的健康者 45 例,其中男 25 例,女 20 例,平均年龄(38.13±2.11)岁。各组年龄、性别比较差异无统计学意义($P>0.05$),所有入选者均签署知情同意书。

1.2 方法 对所有受试者进行临床和肝脏超声影像学检查,对符合非酒精性脂肪肝病的病例进一步进行肝脏 CT 扫描,并按其诊断标准对脂肪肝进行程度判定。之后对所有入选病例及对照组均于清晨空腹采取静脉血 6 ml,装入两个无热源、无内毒素的清净试管各 3 ml,一管送生化检验室用免疫比浊法测定肝功,另一管选用 EDTAK2 管,抽血 2 h 内送流式细胞术检验室用三色直接免疫荧光法按操作说明书进行 T 细胞亚群(CD4⁺、CD8⁺T 细胞)检测。

1.3 统计学处理 采用 Excel 2003 建立数据库,应用 SPSS 11.5 软件包进行统计学分析。计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,总体有差异进一步用 LSD- t 检验进行两两比较。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 NAFLD 组与对照组外周血 T 细胞亚群测定结果比较 NAFLD 患者外周血 CD4⁺T 细胞较对照组明显升高($P<0.05$),而 CD8⁺T 细胞较对照组明显降低($P<0.05$),见表 1。

表 1 NAFLD 组和对照组外周血 T 细胞亚群测定结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	CD4 ⁺ T 细胞 百分比(%)	CD8 ⁺ T 细胞 百分比(%)
对照组	45	30.94±2.65	30.31±2.17
NAFLD 组	187	39.74±2.32	23.01±2.56
t 值		22.206	17.656
P 值		0.000	0.000

2.2 NASFL 组和 NASH 组外周血 T 细胞亚群测定结果比较 NASH 组患者 CD4⁺T 细胞高于 NASFL 组($P<0.05$);而 CD8⁺T 细胞百分率低于 NASFL 组($P<0.05$),见表 2。

表 2 NASFL 组和 NASH 组外周血 T 细胞亚群测定结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	CD4 ⁺ T 细胞 百分比(%)	CD8 ⁺ T 细胞 百分比(%)
NASFL 组	147	38.13±3.12	24.23±2.67
NASH 组	40	45.67±2.73	18.56±2.48
t 值		13.899	12.084
P 值		<0.001	<0.001

2.3 轻、中、重度三组不同程度 NAFLD 患者外周血 T 细胞亚群检测结果比较 重度组患者外周血 CD4⁺T 细胞较中、轻度组显著升高($P<0.05$),且中度组高于轻度组($P<0.05$);而重度组患者外周血 CD8⁺T 细胞明显低于中、轻度组($P<0.05$),且中度组显著低于轻度组($P<0.05$),见表 3。

表 3 轻、中、重度三组不同程度 NAFLD 患者外周血 T 细胞亚群测定结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	CD4 ⁺ T 细胞 百分比(%)	CD8 ⁺ T 细胞 百分比(%)
轻度组	94	36.78±2.18	25.36±2.18
中度组	58	40.37±2.71*	22.08±2.46*
重度组	35	46.67±2.53*▲	18.26±2.63*▲
F 值		215.659	122.323
P 值		0.000	0.000

注: * 与轻度组比较, $P<0.05$; ▲与中度组比较, $P<0.05$ 。

3 讨 论

NAFLD 为代谢应激性肝损伤,其发病机制目前尚不完全清楚,经典的“两次打击”学说并不能解释其全部发病机制,而肝脏作为机体的免疫器官,在免疫调节中发挥重要作用。机体免疫包括非特异性免疫和特异性免疫,后者又分为体液免疫和细胞免疫,而 T 细胞为执行细胞免疫应答的效应细胞,在体液免疫的应答反应中发挥重要作用。T 细胞按其表面所表达分子的不同分为 CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞二个亚群,CD8⁺T 细胞不仅对靶细胞产生细胞介导的细胞毒作用,并且对免疫应答中主要反应细胞 CD4⁺T 细胞产生调节性免疫抑制作用,二者相互影响,维持着机体细胞免疫反应的平衡。近年来的研究表明^[2,12],NAFLD 患者存在免疫调节紊乱,免疫调节紊乱在 NAFLD 发病中起到一定的作用,提示 NAFLD 患者外周血 T 细胞亚群的变化可能是 NAFLD 肝脏慢性损伤的重要环节^[8-10]。刘一

新等^[13]曾采用流式细胞术检测了 70 例轻、中、重度 NAFLD 患者及 40 例健康者的外周血 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞,发现 CD8⁺T 细胞随着脂肪肝程度加重,呈逐渐下降趋势。为探讨 NAFLD 患者外周血 T 细胞亚群的变化,本研究应用流式细胞术检测了 NAFLD 患者与对照组外周血 CD4⁺、CD8⁺T 细胞。结果显示 NAFLD 组患者外周血 CD4⁺T 细胞百分率较对照组增高,而 CD8⁺T 细胞百分率较对照组明显降低;NASH 组患者外周血 CD4⁺T 细胞百分率较 NASFL 组增高,而 CD8⁺T 细胞百分率降低;重度组患者外周血 CD4⁺T 细胞百分率较中、轻度组升高,且中度组较轻度组升高,而 CD8⁺T 细胞百分率重度组较中、轻度组明显降低,且中度组较轻度组降低。这与上述研究结果相一致,表明 NAFLD 患者存在细胞免疫紊乱,T 细胞亚群变化可能参与了 NAFLD 的发病过程。

NAFLD 患者 T 细胞亚群变化导致细胞免疫紊乱的可能原因:①NAFLD 患者“二次打击”导致反应性氧化代谢产物增多^[14],引起脂质过氧化、细胞因子产生增多,在细胞因子等因素的影响下,Th0T 细胞可向 Th1T 细胞分化;Th1 细胞可分泌白介素-2(interleukin-2 IL-2)、干扰素- γ (interferon IFN- γ)等,此与 T_{DTH} 细胞和 Tc 细胞的增殖、分化、成熟有关,从而促进细胞介导的免疫应答,CD4⁺T 细胞是免疫应答中主要的反应细胞,因此 NAFLD 患者表现为 CD4⁺T 细胞增多,且 CD4⁺T 细胞活化后产生更多的促炎症细胞因子,后者发挥更强的促炎症作用,导致机体促炎症与抗炎症细胞因子失衡,致使机体的肝细胞发生炎症、甚至坏死等,促使脂肪肝发病及病情进展。②CD8⁺T 细胞对靶细胞具有产生细胞介导的细胞毒作用,还对 CD4⁺T 细胞产生调节性免疫抑制作用。NAFLD 患者外周血 CD4⁺T 细胞增多,在一定程度上机体 CD8⁺T 细胞发挥对 CD4⁺T 细胞的调节性免疫抑制作用,使机体处于免疫平衡状态,表现为机体不发病或病情稳定,但一旦平衡被打破,则表现为 CD4⁺T 细胞增多、CD8⁺T 细胞减少。

综上,NAFLD 患者存在细胞免疫紊乱,表现为随着病情进展及脂肪肝程度加重,外周血 CD4⁺T 细胞逐渐增加及 CD8⁺T 细胞逐渐减少。由此提示检测 NAFLD 患者外周血 T 细胞亚群变化,对判断非酒精性

脂肪性肝病的临床类型、病变程度具有一定的临床价值。同时希望通过纠正免疫紊乱阻止 NAFLD 病情进展,为其治疗提供新的思路。但对于 NAFLD 患者发生上述免疫异常的确切机制还有待进一步系统研究。

参考文献

- [1] Qureshi K, Abrams GA. Metabolic liver disease of obesity and role of adipose tissue in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease [J]. World Gastroenterol, 2007, 13(26):3540-3553.
- [2] Gao B, Jeong WI, Tian Z. Liver: an organ with predominant innate immunity [J]. Hepatology, 2008, 47(2):729-736.
- [3] 楚玉兰,顾洪立,兰继,等. 慢性乙型肝炎及后期肝病患者外周血 T 淋巴细胞亚群标志的研究 [J]. 实用预防医学, 2016, 23(7):873-875.
- [4] Zhou Y, Callendret B, Dan Xu, et al. Dominance of the CD4⁺T helper cell response during acute resolving hepatitis A virus infection [J]. J Exp Med, 2012, 209(8):1481-1492.
- [5] 李元元,王立峰,耿华,等. 自身免疫性肝病患者外周血淋巴细胞亚群的频率变化及临床意义 [J]. 临床肝胆病杂志, 2014, 30(5):409-412.
- [6] 张红梅,张明,郜志美. 自身免疫性肝炎患者外周血淋巴细胞亚群的变化 [J]. 实用肝脏病杂志, 2015, 18(1):76-77.
- [7] Liberal R, Grant CR, Mieli-Vergani G, et al. Autoimmune hepatitis: a comprehensive review [J]. J Autoimmun, 2013, 41:126-139.
- [8] Wang Q, Zheng Y, Huang Z, et al. Activated IL-23/IL-17 pathway closely correlates with increased FoxP3 expression in livers of chronic hepatitis B patients [J]. BMC Immunol, 2011, 12(2):25-28.
- [9] 邓敏,李明慧,刘顺爱,等. 慢性 HBV 感染者调节性 T 细胞水平及 FoxP3 与 CD127 表达关系的研究 [J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2010, 24(1):21-23.
- [10] Nan XP, Zhang Y, Yu HT, et al. Circulating CD4⁺CD25 high regulatory T cells and expression of PD-1 and BTLA on CD4⁺T cells in patients with chronic hepatitis B virus infection [J]. Viral Immunol, 2010, 23(1):63-70.
- [11] 中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(2010 年修订版) [J]. 中华肝脏病杂志, 2010, 34(18):163-166.
- [12] Dong Z, Wei H, Sun R, et al. The roles of innate immune cells in liver injury and regeneration [J]. Cell Immunol, 2007, 49(4):241-252.
- [13] 刘一新,黄玉政,全德胜,等. 非酒精性脂肪性肝病患者外周血淋巴细胞亚群的变化及意义 [J]. 中国现代医药杂志, 2011, 13(1):32-34.
- [14] 杨丽丽,柳涛,王森,等. 氧化应激与非酒精性脂肪性肝病研究进展 [J]. 世界华人消化杂志, 2009, 17(9):896-900.

收稿日期:2017-12-28