

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.06.016

文章编号: 1005-8982(2017)06-0078-05

## 自发性腹膜炎患者腹水中 IL-18 的表达水平及临床意义\*

姜玉华<sup>1</sup>, 陈颖<sup>1</sup>, 张波<sup>1</sup>, 李先鹏<sup>1</sup>, 辛娇娇<sup>2</sup>

(1. 浙江省宁波市鄞州人民医院 感染科, 浙江 宁波 315000; 2. 浙江大学医学院附属第一医院 感染科, 浙江 杭州 310003)

**摘要:目的** 探讨自发性腹膜炎患者腹水中白介素 18 (IL-18) 的表达水平及其影响因素。**方法** 前瞻性选取 2014 年 1 月 - 2016 年 1 月浙江省宁波市鄞州人民医院和浙江大学医学院附属第一医院收治的乙型肝炎肝硬化合并腹水患者 231 例, 根据患者是否发生自发性腹膜炎将患者分为观察组 (41 例) 和对照组 (190 例), 检测两组患者腹水中 IL-18 水平, 并分析 IL-18 的临床意义及影响因素。**结果** 与对照组比较, 观察组患者腹水中 IL-18 水平升高 ( $P < 0.05$ )。多因素 Logistic 回归分析显示, 腹水中 IL-18 水平升高是乙型肝炎肝硬化患者自发性腹膜炎的危险因素 [OR = 1.32, 95%CI: 1.14, 1.50] ( $P = 0.000$ )。多元线性回归分析显示, 腹水中白介素 6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), 以及血清 CD4<sup>+</sup> T 细胞、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-18 水平是影响腹水中 IL-18 水平的因素 ( $b = 0.362, 0.318, 0.253, 0.247, 0.262$  和  $0.427$ )。**结论** 腹水中 IL-18 水平升高是乙型肝炎肝硬化患者自发性腹膜炎的危险因素; 腹水中 IL-6、TNF- $\alpha$ , 以及血清 CD4<sup>+</sup> T 细胞、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-18 水平是腹水中 IL-18 水平的影响因素。

**关键词:** 自发性腹膜炎; 腹水; 白介素 18; 乙型肝炎肝硬化

**中图分类号:** R575.1

**文献标识码:** A

## Expression level of IL-18 in ascites of patients with spontaneous bacterial peritonitis and its influencing factors\*

Yu-hua Jiang<sup>1</sup>, Ying Chen<sup>1</sup>, Bo Zhang<sup>1</sup>, Xian-peng Li<sup>1</sup>, Jiao-jiao Xin<sup>2</sup>

(1. Department of Infectious Diseases, Yinzhou People's Hospital, Ningbo, Zhejiang 315000, China; 2. Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Medical College, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310003, China)

**Abstract: Objective** To investigate the level of interleukin-18 (IL-18) in ascites of patients with spontaneous bacterial peritonitis and its influencing factors. **Methods** From January 2014 to January 2016, 231 cases of hepatitis B cirrhosis with ascites were prospectively collected from Yinzhou People's Hospital and the First Affiliated Hospital of Medical College, Zhejiang University. According to whether the patients developed spontaneous bacterial peritonitis or not, the patients were assigned into the observational group ( $n = 41$ ) or the control group ( $n = 190$ ). The level of IL-18 of ascites was detected in both groups, and the clinical significance and influencing factors of IL-18 were analyzed. **Results** Compared with the control group, the IL-18 level of the patients in the observation group was significantly increased ( $P < 0.05$ ). Multivariate regression analysis showed that IL-18 was the risk factor for spontaneous bacterial peritonitis in the patients with hepatitis B cirrhosis [OR = 1.32 (95% CI: 1.14, 1.50),  $P = 0.000$ ]. Multiple linear regression analysis showed that interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) of the ascites and serum CD4<sup>+</sup> T cell, TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-18 were the factors influencing the IL-18 level in ascites ( $b = 0.362, 0.318, 0.253, 0.247, 0.262$  and

收稿日期: 2016-02-09

\* 基金项目: 2016 年浙江省医药卫生科技计划项目 (No. 2016KYA161)

0.427). **Conclusions** Increased level of IL-18 in ascites is the risk factor for spontaneous bacterial peritonitis in patients with hepatitis B cirrhosis. IL-6 and TNF- $\alpha$  in ascites and serum CD4<sup>+</sup>T cell, TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-18 are the factors influencing IL-18 level in ascites.

**Keywords:** spontaneous bacterial peritonitis; ascites; interleukin-18; hepatitis B cirrhosis

乙型肝炎是肝硬化最重要的危险因素之一,肝硬化可导致肝肾综合征、肝脑综合征、腹水、上消化道出血和自发性腹膜炎等<sup>[1-2]</sup>。自发性腹膜炎是重型肝炎合并肝硬化失代偿期患者常见的并发症,其3年内病死率可高达73.4%<sup>[3]</sup>。自发性腹膜炎的发生机制与肝硬化导致的腹水和免疫力下降有关<sup>[4-5]</sup>。白介素18(Interleukin-18, IL-18)是一种可以诱导 $\gamma$ 干扰素合成的介质,可以通过刺激T细胞增殖并增强自然杀伤细胞的活性,进而发挥对抗病原菌的作用。2012年我国学者彭洋等<sup>[6]</sup>研究显示,自发性腹膜炎患IL-18水平升高,经治疗后其水平可下降。目前,缺乏研究探讨自发性腹膜炎患者腹水中IL-18水平的临床意义,因此本文具有一定的创新性和临床意义,现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

前瞻性选取2014年1月-2016年1月浙江省宁波市鄞州人民医院和浙江大学医学院附属第一医院收治的乙型肝炎性肝硬化患者。纳入标准:①乙型肝炎;②肝硬化合并腹水;③年龄18~75岁;④同意参与并能配合完成本研究。排除标准:①合并肝癌等恶性肿瘤;②肾、心、肺、脑等原发性脏器功能不全;③免疫系统疾病;④血液系统疾病;⑤内分泌系统疾病;⑥甲状腺功能异常;⑦未行穿刺治疗,不能取得腹水标本。研究期间,共收治乙型肝炎性肝硬化合并腹水患者231例,其中41例患者发生自发性腹膜炎,将合并自发性腹膜炎的患者作为观察组,其余190例作为对照组。本研究中所有患者知情同意并签署知情同意书,本研究通过本院伦理委员会批准。

### 1.2 观察指标

**1.2.1 腹水** 腹水中IL-18、白介素6(Interleukin-6, IL-6)和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )。

**1.2.2 血清** 血清中CD4<sup>+</sup>T细胞、CD8<sup>+</sup>T细胞、IL-18、IL-6及TNF- $\alpha$ 。

**1.2.3 临床特征** 性别、年龄、肝肾综合征、肝脑综合征及上消化道出血。

**1.2.4 肝功能指标** 白蛋白、总胆红素、谷丙转氨酶、谷草转氨酶。

### 1.3 检测方法

**1.3.1 CD4<sup>+</sup>T、CD8<sup>+</sup>T细胞** 抽取患者静脉血5ml,留存在乙二胺四乙酸二钠试管中,加入单克隆抗体后室温下避光反应30min,进行流式细胞仪测定。Epics XL型流式细胞仪(美国Beckman Coulter公司)。

**1.3.2 血清中IL-18、IL-6及TNF- $\alpha$**  抽取静脉血5ml,3000r/min离心,取上层血清,置入-20℃冰箱冷冻保存,1个月内使用酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测血清中IL-18、IL-6及TNF- $\alpha$ 的水平,ELISA试剂盒购自江苏菲亚生物科技有限公司。

**1.3.3 腹水中IL-18、IL-6和TNF- $\alpha$**  无菌操作下,行腹腔穿刺,留取中段腹水5ml,3000r/min离心,取上层清液,置于-20℃冰箱冷冻保存,1个月内使用ELISA法检测腹水中IL-18、IL-6及TNF- $\alpha$ 水平。

### 1.4 统计学方法

数据分析采用SPSS 22.0统计软件,计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,用t检验,计数资料以率(%)表示,用 $\chi^2$ 检验,影响因素的分析用多因素Logistic回归分析或多因素线性回归分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组患者腹水中IL-18、IL-6及TNF- $\alpha$ 水平比较

两组患者腹水中IL-18、IL-6及TNF- $\alpha$ 水平比较,经t检验,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),观察组患者腹水中IL-18、IL-6、TNF- $\alpha$ 水平升高。见表1。

表1 两组患者腹水中IL-18、IL-6及TNF- $\alpha$ 水平比较  
(pg/ml,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	IL-18	IL-6	TNF- $\alpha$
观察组(n=41)	78.74 $\pm$ 28.47	29.48 $\pm$ 9.47	13.28 $\pm$ 5.39
对照组(n=190)	23.48 $\pm$ 11.72	18.57 $\pm$ 8.82	8.49 $\pm$ 3.28
t值	20.098	7.089	7.446
P值	0.000	0.000	0.000

### 2.2 两组患者血清中 CD4<sup>+</sup> T 细胞、CD8<sup>+</sup> T 细胞、IL-18、IL-6 及 TNF- $\alpha$ 水平比较

两组患者血清中 CD4<sup>+</sup> T 细胞、CD8<sup>+</sup> T 细胞、IL-18、IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平比较,经 *t* 检验,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),观察组患者血清中 CD4<sup>+</sup> T 细胞比例、IL-18、IL-6、TNF- $\alpha$  水平升高,CD8<sup>+</sup> T 细胞比例降低。见表 2。

表 2 两组患者血清中 CD4<sup>+</sup> T 细胞、CD8<sup>+</sup> T 细胞、IL-18、IL-6 及 TNF- $\alpha$  水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	CD4 <sup>+</sup> T 细胞 / %	CD8 <sup>+</sup> T 细胞 / %	IL-18 ( pg/ml)	IL-6 ( pg/ml)	TNF- $\alpha$ ( pg/ml)
观察组 (n=41)	45.38 $\pm$ 6.62	20.57 $\pm$ 7.27	56.46 $\pm$ 12.57	25.37 $\pm$ 8.38	9.57 $\pm$ 3.57
对照组 (n=190)	39.57 $\pm$ 5.12	23.37 $\pm$ 8.12	21.57 $\pm$ 10.58	17.58 $\pm$ 7.62	6.48 $\pm$ 2.82
<i>t</i> 值	6.234	2.038	18.497	5.831	6.053
<i>P</i> 值	0.000	0.043	0.000	0.000	0.000

### 2.3 两组患者临床特征比较

两组患者的性别、年龄比较,经 *t* 检验,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。两组患者肝肾综合征、肝脑综合征及上消化道出血发生率比较,经 *t* 检验,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),观察组患者肝肾综合征、肝脑综合征及上消化道出血发生率较高。见表 3。

### 2.4 两组患者肝功能指标比较

表 3 两组患者临床特征比较

组别	例数	男 / 女 / 例	年龄 ( 岁, $\bar{x} \pm s$ )	肝肾综合征 例 (%)	肝脑综合征 例 (%)	上消化道出血 例 (%)
观察组	41	28/13	57.47 $\pm$ 10.47	12 (29.27)	3 (7.32)	5 (12.20)
对照组	190	112/78	57.28 $\pm$ 9.92	6 (3.16)	0 (0.00)	1 (0.53)
<i>t</i> / $\chi^2$ 值		1.234	0.110	31.998	14.085	13.830
<i>P</i> 值		0.267	0.912	0.000	0.000	0.000

两组患者白蛋白、总胆红素、谷丙转氨酶、谷草转氨酶水平比较,经 *t* 检验,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),观察组患者白蛋白降低,总胆红素、谷丙转氨酶及谷草转氨酶水平升高。见表 4。

### 2.5 乙型肝炎肝硬化患者自发性腹膜炎的危险因素分析

单因素和多因素回归分析显示,腹水中 IL-18 水平是乙型肝炎肝硬化患者自发性腹膜炎的危险

因素 ( $P = 0.000$ ),见表 5。

表 4 两组患者肝功能指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	白蛋白 / ( g/L)	总胆红素 / ( $\mu$ mol/L)	谷丙转氨酶 ( u/L)	谷草转氨酶 ( u/L)
观察组 (n=41)	31.47 $\pm$ 3.58	65.58 $\pm$ 18.48	136.74 $\pm$ 21.47	98.38 $\pm$ 18.29
对照组 (n=190)	35.37 $\pm$ 4.15	47.38 $\pm$ 14.29	94.37 $\pm$ 18.88	79.47 $\pm$ 15.38
<i>t</i> 值	5.595	6.997	12.711	6.895
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000

表 5 乙型肝炎肝硬化患者自发性腹膜炎的危险因素分析

危险因素	单因素回归分析				多因素回归分析			
	OR	95%CI		<i>P</i> 值	OR	95%CI		<i>P</i> 值
		下限	上限			下限	上限	
腹水 IL-18	1.61	1.21	2.01	0.000	1.32	1.14	1.50	0.000
腹水 IL-6	1.34	1.05	1.63	0.000	1.21	1.01	1.41	0.012
腹水 TNF- $\alpha$	1.18	0.97	1.39	0.031	1.04	0.91	1.18	0.152
血清 CD4 <sup>+</sup> T 细胞	1.13	0.91	1.35	0.035	1.04	0.88	1.20	0.241
血清 CD8 <sup>+</sup> T 细胞	1.09	0.87	1.31	0.327	-	-	-	-
血清 TNF- $\alpha$	1.13	0.93	1.33	0.218	-	-	-	-
血清 IL-6	1.25	1.01	1.50	0.021	1.14	0.92	1.36	0.107
血清 IL-18	1.43	1.02	1.84	0.002	1.18	0.95	1.41	0.062

## 2.6 乙型肝炎肝硬化患者腹水中 IL-18 水平的影响因素分析

多元线性回归分析显示,腹水中 IL-6、TNF- $\alpha$  及

血清 CD4<sup>+</sup> T 细胞、TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-18 水平是影响腹水中 IL-18 的因素 ( $P < 0.05$ )。见表 6。

表 6 乙型肝炎肝硬化患者腹水中 IL-18 水平的影响因素分析

变量	偏回归系数	标准误	标准偏回归系数	t 值	P 值
常数项	5.584	2.728	-	3.128	0.000
腹水 IL-6	0.362	0.136	0.203	2.574	0.016
腹水 TNF- $\alpha$	0.318	0.122	0.189	2.361	0.041
血清 CD4 <sup>+</sup> T 细胞	0.253	0.089	0.157	2.058	0.047
血清 CD8 <sup>+</sup> T 细胞	0.213	0.088	0.162	1.583	0.126
血清 TNF- $\alpha$	0.247	0.108	0.173	2.021	0.042
血清 IL-6	0.262	0.127	0.174	2.175	0.039
血清 IL-18	0.427	0.204	0.216	2.895	0.000

注:  $R^2=0.701$ ,  $F=9.278$ ,  $P=0.000$

## 3 讨论

自发性腹膜炎是乙型肝炎肝硬化患者死亡的一个高危事件<sup>[7]</sup>。本究结果显示,合并自发性腹膜炎的乙型肝炎肝肾综合征、肝脑综合征及上消化道出血发生率升高。因此,识别乙型肝炎肝硬化患者自发性腹膜炎的高危因素,具有重要意义。本研究结果显示,血清中 IL-18 水平与自发性腹膜炎的发生有关。然而,尚未有研究探讨腹水中 IL-18 在乙型肝炎肝硬化患者自发性腹膜炎的临床意义和影响因素,因此本研究具有一定的临床意义和创新性。IL-18 主要由巨噬细胞等单核细胞产生<sup>[8-9]</sup>。巨噬细胞固定于窦壁,被称为 Kupffer 细胞。有研究显示,患者 IL-18 水平与 Kupffer 细胞息息相关<sup>[10]</sup>。而 IL-18 可以促进 Th1 细胞的功能、增加干扰素- $\gamma$  水平。因此 IL-18 水平可以较好地反映乙型肝炎患者肝内免疫情况。2015 年 KARRA 等<sup>[11]</sup>研究显示,IL-18 的基因多态性与乙型肝炎相关。2015 年 FERREIRA 等<sup>[12]</sup>研究显示,IL-18 基因型与慢性乙型肝炎的易感性相关。2014 年 ZHEN 等<sup>[13]</sup>研究显示,IL-18 介导的炎症反应与乙型肝炎病毒感染的患者肾功能损伤有关。IKEDA 等<sup>[14]</sup>研究显示,IL-18 诱导的树突状细胞等参与自身免疫性肝炎。2014 年我国学者汤磊等<sup>[15]</sup>研究显示,慢性乙型肝炎患者肝脏组织中表达水平升高,与肝硬化、谷丙转氨酶、肝癌、炎症水平和肝脏纤维化程度相关,肯定了 IL-18 在乙型肝炎肝硬化患者中的价值。然而,肝实质的样本取材风险较大,限制 IL-18 在乙型肝炎肝硬化患者中的应用

价值。2010 年我国学者陈银芸等<sup>[16]</sup>研究同样显示,乙型肝炎肝硬化合并自发性腹膜炎患者血清和腹水中 IL-18 水平均升高。然而该研究未进行深入探讨,本研究深入探讨自发性腹膜炎的危险因素、腹水中 IL-18 的影响因素等,另外还系统性地观察乙型肝炎肝硬化合并自发性腹膜炎患者的临床特征,临床观察指标相对较多,分析相对更深入,具有一定的临床意义和创新性。本研究显示,腹水中 IL-18 水平升高是乙型肝炎肝硬化患者自发性腹膜炎的危险因素,腹水中 IL-6、TNF- $\alpha$ ,以及血清 CD4<sup>+</sup> T 细胞、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-18 水平是腹水中 IL-18 水平的影响因素。

乙型肝炎肝硬化合并自发性腹膜炎患者 IL-18 水平升高的机制可能与 Kupffer 细胞激活有关。乙型肝炎肝硬化时,病毒感染可形成免疫复合物。同时,肝硬化时导致的大量腹水和免疫功能下降,为肠道内细菌感染提供良好的基础,进而容易诱发肠道细菌感染和内毒素血症,可进一步激活 Kupffer 细胞,促进 IL-18 的产生,导致合并自发性腹膜炎的乙型肝炎患者腹腔积液中 IL-18 水平升高<sup>[17-18]</sup>。综上所述,腹水中 IL-18 水平与乙型肝炎肝硬化患者临床预后相关,其他炎症因子水平可对 IL-18 水平产生影响,具有重要的临床应用价值,值得进一步推广。

## 参 考 文 献:

- [1] NELSON N P, EASTERBROOK P J, MCMAHON B J. Epidemiology of hepatitis B virus infection and impact of vaccination on

- disease[J]. *Clin Liver Dis*, 2016, 20(4): 607-628.
- [2] FONTES A M, ARDISSON J S, SOUZA M A, et al. Epidemiology of hepatitis B virus in the cities of the northern region of espirito santo, brazil[J]. *An Acad Bras Cienc*, 2016, 88(3): 1549-1555.
- [3] HUNG T H, TSAI C C, HSIEH Y H, et al. The effect of the first spontaneous bacterial peritonitis event on the mortality of cirrhotic patients with ascites: a nationwide population-based study in Taiwan[J]. *Gut Liver*, 2016, 10(5): 803-807.
- [4] KIM S U, CHON Y E, LEE C K, et al. Spontaneous bacterial peritonitis in patients with hepatitis B virus-related liver cirrhosis: community-acquired versus nosocomial [J]. *Yonsei Med J*, 2012, 53(2): 328-336.
- [5] YUAN L Y, KE Z Q, WANG M, et al. Procalcitonin and C-reactive protein in the diagnosis and prediction of spontaneous bacterial peritonitis associated with chronic severe hepatitis B[J]. *Ann Lab Med*, 2013, 33(6): 449-454.
- [6] 彭洋, 卢月月, 敖少军, 等. IL-10、IL-18 和内毒素在肝硬化患者自发性细菌性腹膜炎中的作用[J]. *现代生物医学进展*, 2012, 12(30): 5896-5898.
- [7] HUNG T H, TSAI C C, HSIEH Y H, et al. The long-term mortality of spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic patients: a 3-year nationwide cohort study[J]. *Turk J Gastroenterol*, 2015, 26(2): 159-162.
- [8] SAKAI T, HATANO Y, ZHANG W, et al. Knockdown of either filaggrin or loricrin increases the productions of interleukin (IL)-1 alpha, IL-8, IL-18 and granulocyte macrophage colony-stimulating factor in stratified human keratinocytes[J]. *J Dermatol Sci*, 2015, 80(2): 158-160.
- [9] SOUSA L M, CARNEIRO M B, DOS SANTOS L M, et al. IL-18 contributes to susceptibility to *Leishmania amazonensis* infection by macrophage-independent mechanisms[J]. *Cytokine*, 2015, 74(2): 327-330.
- [10] MIYAZAKI H, KINOSHITA M, ONO S, et al. Augmented bacterial elimination by kupffer cells after IL-18 pretreatment via IFN-gamma produced from NK cells in burn-injured mice[J]. *Burns*, 2011, 37(7): 1208-1215.
- [11] KARRA V K, GUMMA P K, CHOWDHURY S J, et al. IL-18 polymorphisms in hepatitis B virus related liver disease[J]. *Cytokine*, 2015, 73(2): 277-282.
- [12] FERREIRA S D A C, CHACHA S G, SOUZA F F, et al. IL-18, TNF, and IFN-gamma alleles and genotypes are associated with susceptibility to chronic hepatitis B infection and severity of liver injury[J]. *J Med Virol*, 2015, 87(10): 1689-1696.
- [13] ZHEN J, ZHANG L, PAN J, et al. AIM2 mediates inflammation-associated renal damage in hepatitis B virus-associated glomerulonephritis by regulating caspase-1, IL-1 beta, and IL-18[J]. *Mediators Inflamm*, 2014, 21(5): 991-999.
- [14] IKEDA A, AOKI N, KIDO M, et al. Progression of autoimmune hepatitis is mediated by IL-18-producing dendritic cells and hepatic CXCL9 expression in mice[J]. *Hepatology*, 2014, 60(1): 224-236.
- [15] 汤磊. 慢性乙型肝炎病毒感染患者肝脏组织 IL-18 的表达及意义[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2014.
- [16] 陈银芸, 霍继荣. 乙型肝炎肝硬化并发腹膜炎患者血清及腹腔积液 TNF- $\alpha$ 、IL-8、IL-18 水平临床意义的探讨[J]. *中国当代医药*, 2010, 17(14): 32-34.
- [17] SHRIVASTAVA S, MUKHERJEE A, RAY R, et al. Hepatitis C virus induces interleukin-1beta (IL-1 beta)/IL-18 in circulatory and resident liver macrophages[J]. *J Virol*, 2013, 87(22): 12284-12290.
- [18] TRIPODI D, MACCAURO G, ANOGEIANAKI A, et al. Impact of IL-18 on inflammation[J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2011, 25(1): 7-11.

(童颖丹 编辑)