

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671—9638. 20222980

· 论 著 ·

## 慢性乙型肝炎患者外周血 SOCS3 mRNA 的表达及其与 Th17 的关系

赵寅洲<sup>1</sup>, 张茹蕙<sup>2</sup>, 赵家洁<sup>1</sup>, 李敏玥<sup>1</sup>, 宋 瑞<sup>1</sup>, 游 晶<sup>1</sup>

(1. 昆明医科大学第一附属医院感染性疾病和肝病科 国家卫生健康委员会毒品依赖和戒治重点实验室, 云南 昆明 650032; 2. 云南省第一人民医院感染性疾病科与肝病科, 云南 昆明 650034)

**[摘要]** **目的** 研究慢性乙型肝炎(CHB)患者外周血辅助性 T 细胞 17(Th17)以及细胞因子信号转导抑制因子 3(SOCS3) mRNA 的表达状况,探索 CHB 患者 SOCS3 mRNA 表达与 Th17 的关系。**方法** 选取 2021 年 2—8 月于某院门诊就诊的 30 例 CHB 患者为研究对象,并选取同期正常体检者 15 例为对照组。采用流式细胞术(FCM)检测外周血 Th17 细胞频数,酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清细胞因子 IL-17A 和 IL-23 表达水平,实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)法测定外周血 SOCS3、维甲酸相关孤儿核受体  $\gamma$ t(ROR $\gamma$ t) mRNA 表达水平,并比较两组患者的检测结果。**结果** CHB 患者外周血 Th17 细胞频数及其效应分子 IL-17A、IL-23 表达水平高于对照组(均  $P < 0.05$ ),Th17 细胞频数、IL-17A 与 HBV DNA 水平之间存在正相关( $r$  值分别为 0.570、0.563,均  $P < 0.005$ )。CHB 患者外周血 SOCS3、ROR $\gamma$ t mRNA 表达水平高于对照组(均  $P < 0.05$ ),两者与 HBV DNA 水平正相关( $r$  值分别为 0.662、0.561,均  $P < 0.05$ )。CHB 患者 SOCS3 mRNA 与 ROR $\gamma$ t mRNA、Th17 细胞频数、IL-17A 之间存在正相关( $r$  值分别为 0.552、0.626、0.826,均  $P < 0.05$ )。**结论** CHB 患者外周血 SOCS3 mRNA 的异常高表达,可能通过调节 ROR $\gamma$ t mRNA 的表达来影响 Th17 的分化及其效应分子的分泌。

**[关键词]** 慢性乙型肝炎; Th17 细胞; 细胞因子信号转导抑制因子 3; SOCS3 mRNA**[中图分类号]** R512.6

## Expression of SOCS3 mRNA in peripheral blood of patients with chronic hepatitis B and its relationship with Th17

ZHAO Yin-zhou<sup>1</sup>, ZHANG Ru-yi<sup>2</sup>, ZHAO Jia-jie<sup>1</sup>, LI Min-yue<sup>1</sup>, SONG Rui<sup>1</sup>, YOU Jing<sup>1</sup>

(1. The NHC Key Laboratory of Drug Addiction Medicine, Department of Infectious Diseases and Hepatology, The First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, China; 2. Department of Infectious Diseases and Hepatology, The First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650034, China)

**[Abstract]** **Objective** To analyze the expression of T helper 17 cells (Th17) and suppressor of cytokine signaling 3 (SOCS3) mRNA in peripheral blood of patients with chronic hepatitis B (CHB), and explore the relationship between SOCS3 mRNA expression and Th17 in patients with CHB. **Methods** 30 CHB patients who were admitted to the outpatient department of a hospital from February to August 2021 were selected as the research objects, and 15 healthy subjects were selected as control during the same period. Frequency of Th17 cells in peripheral blood was conducted with flow cytometry (FCM), expression levels of serum cytokines interleukin-17A (IL-17A) and IL-23 were detected with enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); mRNA expression levels of SOCS3 and retinoid-related orphan receptor gamma t (ROR $\gamma$ t) in peripheral blood were determined by real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR), results of two groups of patients were compared. **Results** The frequency of Th17 cells and expression levels of its effector molecules IL-17A and IL-23 in peripheral blood of pa-

[收稿日期] 2022-06-06

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81760111,81760617)

[作者简介] 赵寅洲(1995-),男(汉族),云南省昭通市人,硕士研究生,主要从事肝病基础及临床研究。

[通信作者] 游晶 E-mail: jingyoukm@126.com

tients with CHB were higher than those in control group (all  $P < 0.05$ ), there were positive correlations between Th17 cell frequency, IL-17A and HBV DNA levels ( $r = 0.570$ ,  $r = 0.563$ , both  $P < 0.005$ ). The expression levels of SOCS3 and ROR $\gamma$ t mRNA in peripheral blood of CHB patients were both higher than those of healthy control (both  $P < 0.05$ ), they were also positively correlated with HBV DNA levels ( $r = 0.662$ ,  $r = 0.561$ , both  $P < 0.05$ ). In CHB patients, SOCS3 mRNA was positively correlated with ROR $\gamma$ t mRNA, Th17 cell frequency and IL-17A ( $r = 0.552$ ,  $r = 0.626$ ,  $r = 0.826$ , all  $P < 0.05$ ). **Conclusion** The abnormal expression of SOCS3 mRNA in peripheral blood of patients with CHB may affect the differentiation of Th17 and the secretion of its effector molecules by regulating the expression of ROR $\gamma$ t mRNA.

**[Key words]** chronic hepatitis B; Th17 cell; suppressor of cytokine signaling 3; SOCS3 mRNA

我国乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染人群数量庞大,为全球乙型肝炎病毒表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)阳性人数最多的国家,有慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者 2 000 万~3 000 万<sup>[1]</sup>。HBV 感染慢性化的发病机制至今仍未阐释清楚,其中 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞的分化和功能障碍可能是导致机体免疫对 HBV 清除障碍的主要原因之一<sup>[2]</sup>。辅助性 T 细胞 17(helper T cell 17, Th17)和调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)是 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞的两个亚群,大多数研究<sup>[3-4]</sup>显示在慢性 HBV 感染过程存在 Th17/Treg 失衡,并且主要以 Th17 升高为主,而 Th17 及其效应分子白细胞介素(interleukin, IL)-17A、IL-23 的高表达可能促进肝脏炎症的发生发展,并与肝纤维化进展密切相关。其中维甲酸相关孤儿核受体  $\gamma$ t (retinoid-related orphan nuclear receptor  $\gamma$ t, ROR $\gamma$ t)是 Th17 主要的转录因子,在 Th17 分化和发育过程中都起着关键的作用,而细胞因子信号转导抑制因子 3(suppressor of cytokine signaling 3, SOCS3)是 JAK/STAT 信号通路经典的负反馈抑制因子,JAK/STAT 信号通路在调节 ROR $\gamma$ t 的表达中发挥着重要的作用<sup>[5-6]</sup>。本文主要通过研究 CHB 患者 SOCS3 mRNA 表达情况,探索其与 Th17 的关系,从而寻找可能影响 CHB 患者 Th17 异常表达的因素。

## 1 对象与方法

**1.1 研究对象** 选取 2021 年 2—8 月于昆明医科大学第一附属医院门诊就诊的 CHB 患者 30 例及同期至该院门诊的 15 例正常体检人员为对照组。研究对象同意入组研究后,收集患者血标本和临床资料。本研究符合《赫尔辛基宣言》的伦理标准,并经昆明医科大学第一附属医院伦理委员会讨论通过,所有入组对象均知情同意。

**1.2 纳入与排除标准** 所有 CHB 患者均符合以下标准:(1)纳入标准(需满足以下所有条件):①符合《慢性乙型肝炎防治指南(2019 年版)》<sup>[2]</sup>对于 CHB 的诊断标准;②既往 HBsAg 阳性 > 6 个月,且既往或目前存在肝功能异常或肝影像学异常情况;③入组前至少半年以上未行核苷(酸)类似物、干扰素等抗病毒药物治疗。(2)排除标准(符合以下任一条件):①由药物、毒物及其他原因导致的慢性肝炎;②合并甲型、丙型、丁型、戊型等嗜肝病毒及其他非嗜肝病毒感染;③合并重度脂肪肝、酒精性脂肪肝、自生免疫性肝病及终末期肝病,如肝硬化、肝癌等其他肝病;④合并自身免疫性疾病、免疫缺陷性疾病及其他严重基础疾病所致的肝损伤;⑤不明原因的肝损伤;⑥妊娠期妇女。正常对照组符合以下条件:① HBsAg、乙型肝炎病毒 e 抗原(hepatitis Be antigen, HBeAg)阴性,乙型肝炎病毒表面抗体(hepatitis B surface antibody, HBsAb)阳性或阴性,肝功能正常;②无高血压、糖尿病、冠心病、脑梗死等基础病史;③无自身免疫性疾病、各种急慢性肝病及各种肿瘤性疾病史;④近期无各种急慢性感染性疾病史;⑤近期未使用过任何免疫相关药物。

**1.3 研究方法** 采集所有入组研究对象清晨、空腹时静脉血约 9 mL,其中采用 EDTA 抗凝管的血标本 2 支,1 支血标本立即用于流式细胞术检测外周血 Th17 和 Treg 细胞频数,1 支血标本送至实验室,备 4 只新的 1.5 mL EP 管,每支 EP 管中加入 200  $\mu$ L 新鲜血和 800  $\mu$ L 裂解液后立即吹打混匀,贮存于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱中,待收集完标本后全用于提取外周血 RNA;采用不含抗凝剂管的血标本 1 支,室温孵育 20 min,然后 4 $^{\circ}$ C 3 000 rpm 离心 15 min 后立即分装上清(血清),并于 -80 $^{\circ}$ C 条件下保存用于后续细胞因子表达水平检测。

**1.3.1 主要的试剂和仪器** (1)流式细胞术主要实验试剂:人外周血淋巴细胞分离液购自 TBD 公司, RPMI 1640 medium、胎牛血清(FCS)购自美国 Gib-

co 公司,佛波酯 PMA 50ng/mL 购自北京索莱宝科技有限公司,高尔基体阻断剂 2  $\mu$ mol/mL、Stain Buffer 缓冲液购自美国 BD 公司,Cytofix/Cytoperm 固定/破膜缓冲试剂盒(包括 Fixation/Permeabilization solution、BD Perm/Wash Buffer 10 $\times$ )、PE-Cy7 Mouse Anti-Human CD4 抗体、PE Mouse anti-Human IL-17A 抗体、同型对照抗体购自美国 Biolegend 公司。酶联免疫吸附试验(ELISA)主要实验试剂:人 IL-17/IL-17A ELISA 试剂盒(EHC170)、人 IL-23 ELISA 试剂盒(EHC171)购自深圳欣博盛生物科技有限公司。qRT-PCR 实验主要实验试剂:SureScript-First-strand-cDNA-synthesis-kit、BlazeTaq™ SYBR Green qPCR Mix 2.0 购自 GeneCopoeia,Nuclezol LS RNA Isolation Reagent 购自 ABP Biosciences Inc,引物购自擎科生物,无 RNase 水购自 Biteke Gorporation,DL2000 DNA Marker 购自 Takara,核酸染料购自北京百泰克生物技术有限公司。(2)主要实验仪器:Attune NxT 声波聚焦流式细胞仪,5% CO<sub>2</sub> 温箱购自 CRYSTAL 精骐,低温高速冷冻离心机购自安徽中科中佳科学仪器有限公司;酶标仪(ELX800)购自美国 BioTek,隔水式恒温培养箱(GHP-9050N)购自上海一恒科学仪器有限公司;紫外分光光度计(752)购自上海菁华科技仪器有限公司,核酸电泳装置、紫外观察箱购自北京市六一仪器厂,2720 Thermal Cycler 普通 PCR 仪购自 Applied Biosystems,CFX96 实时定量荧光 PCR 仪购自 Bio-Rad,96 孔定量 PCR 板购自 ABI(4346906),凝胶成像系统 QuickGel 6100 购自 Monad,冷冻高速离心机购自 Thermo 公司。

1.3.2 外周血 Th17 细胞频数的检测 采用密度梯度离心法分离获得外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC),将上述分离到的 PBMC 稀释为 1 $\times$ 10<sup>6</sup> 个/mL 的 PBMC 悬液。取 1 mL 上述 PBMC 悬液加入 3 mL RPMI 1640 完全培养基中,在 37 $^{\circ}$ C 5% CO<sub>2</sub> 孵箱培育过夜,时间不少于 12 h;向上述培育过夜的混合液体中加入 1 mL 细胞刺激剂孵育 5 h。加入 5  $\mu$ L 表面抗体 PE-Cy7 Mouse Anti-Human CD4 进行细胞外抗体标记染色;加入 300  $\mu$ L 1 $\times$ Cytofix/Cytoperm 固定破膜剂破膜后,加入 5  $\mu$ L 胞内抗体 PE Mouse anti-Human IL-17A 进行细胞内抗体标记染色(具体严格按照操作说明进行)。4 $^{\circ}$ C,1 300 rpm 离心 5 min,弃上清

后涡旋,加 350  $\mu$ L 预冷的 staining buffer 缓冲液上流式仪检测,用 Flowjo-v10 流式细胞分析软件进行分析。本试验结果描述的 Th17 细胞频数即 Th17 细胞绝对计数。

1.3.3 血清 IL-17A 和 IL-23 表达水平的检测 本试验采用 ELISA 双抗体夹心法测定细胞因子 IL-17A 和 IL-23 表达水平,具体操作均严格按照相应说明书进行。

1.3.4 外周血 SOCS3、ROR $\gamma$ t mRNA 表达水平的检测 (1)采用一步法提取外周血总 RNA,电泳检测完整性,分光光度仪检测 RNA 纯度和浓度。(2) RT-PCR:按照下列顺序依次加入各个试剂和溶液进行逆转录体系的配置,见表 1。配置完成后短暂离心,在普通 PCR 仪上按照如下条件逆转录:第一步:25 $^{\circ}$ C,5 min;第二步:42 $^{\circ}$ C,45 min;第三步:85 $^{\circ}$ C,5 min;第四步:4 $^{\circ}$ C,hold。(3)qRT-PCR 反应:使用广州 Genecopoeia 公司的 BlazeTaq™ SYBR Green qPCR Mix 2.0 试剂盒,每个样本设 3 个复孔,以 SOCS3、ROR $\gamma$ t mRNA 作为目的基因,GAPDH 作为内参基因进行 qRT-PCR 检测。引物的合成由擎科生物公司完成,引物序列见表 2。先将上述逆转录产物 cDNA 稀释 5 倍,所有样品必须按照同一倍数进行稀释,再进行下述 qPCR 反应。qPCR 扩增反应体系的配置见表 3。上述反应体系配置好后短暂离心,按 95 $^{\circ}$ C 预变性 30 s,95 $^{\circ}$ C 变性 10 s,60 $^{\circ}$ C 退火 20 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s 条件在 CFX96 实时定量荧光 PCR 仪进行 40 个循环的反应。扩增完成后,从起始温度 60 $^{\circ}$ C 开始缓慢加热到最终温度 95 $^{\circ}$ C 反应 10 s 得到 qPCR 反应产物的熔解曲线。反应结束后确认扩增曲线及熔解曲线,读取 Ct 值。(4)结果分析:用 2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup> 法计算基因的相对表达量, $\Delta$ Ct = Ct(目的基因) - Ct(内参基因); $\Delta\Delta$ Ct =  $\Delta$ Ct(试验组) -  $\Delta$ Ct(对照组);最后计算 2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup> 值。

表 1 逆转录体系配置

Table 1 Configuration of reverse transcription system

配置成分	体积
总 RNA	1 $\mu$ g (约 10 $\mu$ L)
SureScript RTase Mix (20 $\times$ )	1 $\mu$ L
SureScript RT Reaction Buffer (5 $\times$ )	4 $\mu$ L
dd H <sub>2</sub> O (RNase/DNase free)	至 20 $\mu$ L
总体积	20 $\mu$ L

**表 2** SOCS3、ROR $\gamma$ t 和 GAPDH 基因特异性引物序列(5'→3')

**Table 2** SOCS3, ROR $\gamma$ t and GAPDH genes-specific primer sequences(5'→3')

基因	上游引物	下游引物
SOCS3	GAGCCCCCTCCTTCCC	GATCTTCTCGCCCCG
ROR $\gamma$ t	GCACCCATATGCCTCCCTGAC	CACCACTTCCATTGCTCCTG
GAPDH	CGCTGAGTACGTCGTGGAGTC	GCTGATGATCTTGAGGCTGTTGTC

**表 3** qPCR 扩增反应体系

**Table 3** qPCR amplification reaction system

配置成分	体积( $\mu$ L)
BlazeTaq qPCR Mix (5 $\times$ )	2
PCR forward primer (2 $\mu$ M)	0.5
PCR reverse primer (2 $\mu$ M)	0.5
ddH <sub>2</sub> O (RNase/DNase free)	3
cDNA	4
合计	10

1.4 数据分析 试验所得数据的处理分析和图形绘制分别应用 SPSS 26.0 统计学软件及 GraphPad Prism 8.3.0 软件完成。其中计量资料,若数据符合正态分布,则以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间比较采用两独立样本 *t* 检验。若计量资料不符合正态分布则以中位数(四分位数间距)[*M*(*Q*)]表示,两组比较采用 *Mann-Whitney U* 检验。计数资料比较采用卡方检验。两变量之间的相关性分析采用 Spearman 秩相关分析。均以  $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 一般情况 两组患者组内男、女比例及年龄大小比较,差异无统计学意义(均  $P > 0.05$ )。CHB 患者肝功能指标丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)水平均较对照组高,差异有统计学意义(均  $P < 0.05$ )。CHB 患者病毒指标分析等见表 4。

2.2 Th17 细胞频数及其效应分子 IL-17A 和 IL-23 表达水平分析 试验结果显示 CHB 组患者 Th17 细胞频数、IL-17A 和 IL-23 表达水平均高于对照组,差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ )。见表 5。

**表 4** 两组患者一般资料、肝功能指标及病毒指标比较

**Table 4** Comparison of general data, liver function indicators and virus indicators of two groups of patients

指标	CHB 组 ( <i>n</i> = 30)	对照组 ( <i>n</i> = 15)	$\chi^2/t/Z$	<i>P</i>
性别(男/女,例)	11/19	9/6	0.004	0.951
年龄( $\bar{x} \pm s$ ,岁)	39.2 $\pm$ 10.6	33.8 $\pm$ 9.4	-1.658	0.104
ALT[ <i>M</i> ( <i>Q</i> ),IU/L]	29.20(30.75)	14.44(11.50)	-3.178	0.001
AST[ <i>M</i> ( <i>Q</i> ),IU/L]	25.50(15.38)	20.00(6.20)	-3.324	0.001
病程( $\bar{x} \pm s$ ,年)	13.3 $\pm$ 8.2	-	-	-
HBV DNA(例)				
低于检测下限*	1	-	-	-
高于检测上限#	7	-	-	-
HBeAg(阳性/阴性,例)	14/16	-	-	-
HBsAg[ <i>M</i> ( <i>Q</i> ), log <sub>10</sub> IU/mL]	3.35(2.01)	-	-	-

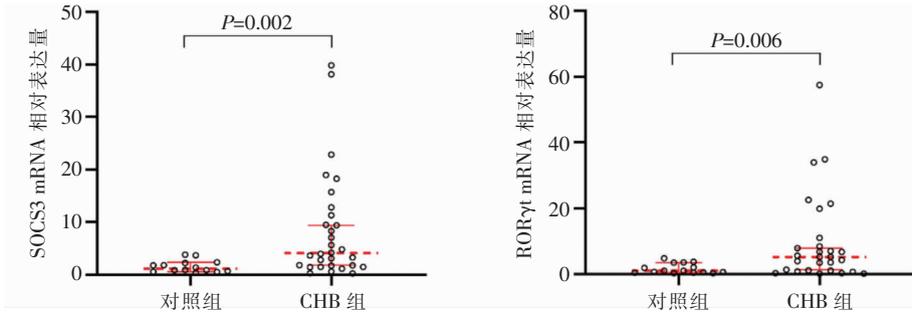
注:HBV DNA 为乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸;\*表示 HBV DNA 定量  $< 1 \times 10^1$  IU/mL;#表示 HBV DNA 定量  $> 1 \times 10^8$  IU/mL;-表示无此项。

**表 5** 两组 Th17 细胞频数及其效应分子表达水平比较

**Table 5** Comparison of Th17 cell frequency and its effector molecules between two groups of patients

指标	CHB 组 ( <i>n</i> = 30)	对照组 ( <i>n</i> = 15)	<i>Z/t</i>	<i>P</i>
Th17 细胞频数 [ <i>M</i> ( <i>Q</i> )]	201.50 (208.50)	109.00 (51.00)	-2.962	0.003
IL-17A ( $\bar{x} \pm s$ ,pg/mL)	286.88 $\pm$ 145.81	36.66 $\pm$ 86.01	-6.114	$< 0.001$
IL-23 [ <i>M</i> ( <i>Q</i> ),pg/mL]	348.69 (130.50)	167.79 (127.14)	-4.214	$< 0.001$

2.3 外周血 SOCS3、ROR $\gamma$ t mRNA 表达水平分析 试验结果显示,CHB 患者外周血 SOCS3、ROR $\gamma$ t mRNA 表达水平高于对照组,差异均有统计学意义(*Z* 值分别为 -3.074、-2.765,均  $P < 0.05$ )。见图 1。



注:红线代表中位数和 95%置信区间[M(95%CI)]。

图 1 两组患者外周血 SOCS3、RORγt mRNA 表达水平比较

Figure 1 Comparison in peripheral blood SOCS3 and RORγt mRNA expression levels between two groups of patients

2.4 相关性分析 与 HBV DNA 水平(用 HBV DNA 定量数据表示)进行 Spearman 秩相关性分析,均选取在检测仪器检测范围内的患者,即 HBV DNA 定量为(1×10<sup>1</sup>~1×10<sup>8</sup>) IU/mL。

2.4.1 CHB 患者 HBV DNA 水平与患者其他指标相关性分析 相关性分析结果显示,CHB 患者

HBV DNA 水平与 Th17 细胞频数、IL-17A 表达水平以及 SOCS3、RORγt mRNA 表达水平之间存在正相关(*r* 值分别为 0.570、0.563、0.662、0.561,均 *P*<0.05),而与 IL-23 表达水平、ALT 和 AST 水平无相关关系(均 *P*>0.05)。见图 2。

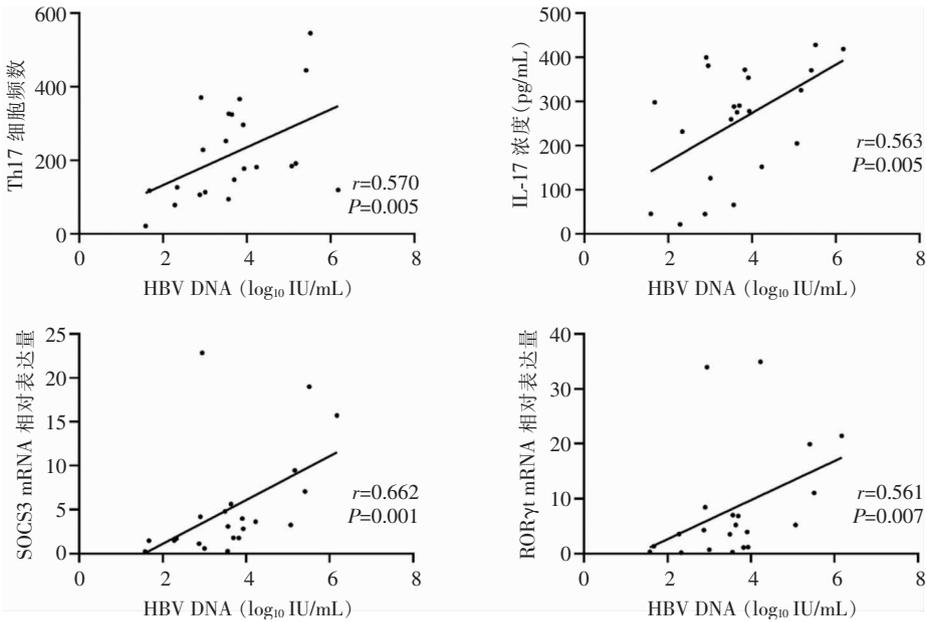


图 2 CHB 患者 HBV DNA 水平与其他指标散点图(*n* = 22)

Figure 2 Scatter plot of HBV DNA level and other indicators in patients with CHB (*n* = 22)

2.4.2 CHB 患者 SOCS3 mRNA 表达水平与其他指标相关性分析 分析结果显示,CHB 患者 SOCS3 mRNA 表达水平与 Th17 细胞频数、IL-17A、RORγt

mRNA 表达水平存在正相关(*r* 值分别为 0.626、0.826、0.552,均 *P*<0.05),而与 IL-23、肝功能指标无相关关系(均 *P*>0.05)。见图 3。

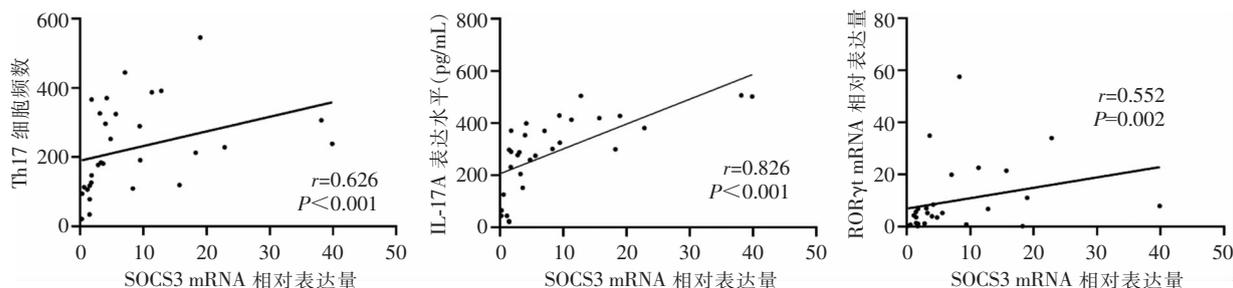


图3 CHB患者SOCS3 mRNA表达水平与Th17细胞频数、IL-17A、ROR $\gamma$ t mRNA表达水平散点图( $n=30$ )

Figure 3 Scatter plot of SOCS3 mRNA expression level and Th17 cell frequency, IL-17A and ROR $\gamma$ t mRNA expression levels in patients with CHB ( $n=30$ )

### 3 讨论

目前,国内外大量研究<sup>[7-8]</sup>证实,CHB患者存在Th17/Treg失衡,而且该平衡主要以Th17升高为主,Th17/Treg失衡还可预示肝纤维化进程。本研究主要通过细胞水平、转录水平寻找可能影响CHB患者Th17升高的因素,结果发现CHB患者外周血Th17细胞频数、IL-17A和IL-23表达水平均明显升高,并且Th17及其效应分子IL-17A与HBV病毒载量之间均存在正相关。

国内研究<sup>[9-11]</sup>显示,在CHB患者外周血单个核细胞中Th17及其效应分子IL-17A表达水平升高,其升高可能促进了HSCs的活化,进一步加重肝纤维化程度。肝脏中Th17多集中在肝纤维化较严重的区域,Th17数量与反映肝纤维化程度的血清学标志物呈正相关<sup>[12]</sup>。因此,推测IL-17A、IL-23可能是Th17在慢性HBV感染过程中发挥免疫功能的主要效应分子之一。研究<sup>[13-14]</sup>证实,IL-17A能通过诱导中性粒细胞的募集来促进肝脏炎症的发生发展,而HSCs细胞膜表面可高表达IL-17受体(IL-17 receptor, IL-17R),IL-17A也可刺激肝脏库普弗细胞(Kupffer cells, KCs)分泌细胞因子IL-6、IL-1 $\beta$ 、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )和TGF- $\beta$ 1,进一步激活HSCs,加重肝细胞炎症及纤维化程度。

本研究进一步分析了CHB患者外周血SOCS3 mRNA表达水平与病毒载量、Th17及其效应分子和特征性转录因子的关系,结果显示CHB患者外周血SOCS3、ROR $\gamma$ t mRNA高表达,SOCS3 mRNA表达水平与Th17细胞频数、IL-17A和ROR $\gamma$ t mRNA表达水平均呈正相关。研究<sup>[6]</sup>发现,SOCS3在胸腺T细胞的正常分化及T辅助细

胞的极化过程中起着重要的调节作用,SOCS3主要通过调节IL-23/STAT3信号通路影响Th17的分化和成熟。在动物试验中发现<sup>[15]</sup>,M1巨噬细胞相关的SOCS3在炎症反应中起到了正性调节的作用,对于某些促炎因子的产生发挥积极的作用,推测SOCS3可能通过基因特异性方式调节促炎介质的表达;并且该研究还发现选择性沉默SOCS3基因的巨噬细胞驱动T效应细胞分化的潜力下降,尤其对Th17分化影响更大。而国内有关干扰素抗病毒治疗效果的研究<sup>[16-17]</sup>显示,CHB患者接受干扰素抗病毒治疗后无应答组患者外周血PBMC及肝组织中SOCS3 mRNA表达量明显升高,而在应答组SOCS3 mRNA表达量则明显下降,推测SOCS3 mRNA可能会影响干扰素抗病毒效果。因此,推测在慢性HBV感染过程中HBV DNA水平的升高可能通过某些机制促进了SOCS3 mRNA的表达,SOCS3 mRNA的异常升高可能通过调节ROR $\gamma$ t mRNA的表达从而影响Th17的分化和功能,并进一步影响慢性HBV感染过程中Th17/Treg的平衡状态。

综上所述,目前慢性HBV感染的免疫机制仍有待进一步阐述,而大多数研究发现CHB患者中存在Th17高表达的状况。本研究通过探索CHB患者外周血SOCS3 mRNA的表达与Th17的关系,发现SOCS3 mRNA在CHB患者外周血中异常高表达,并与Th17细胞频数存在正相关关系,推测SOCS3 mRNA异常表达可能通过调节ROR $\gamma$ t mRNA的表达来影响CHB患者Th17的分化及其效应分子的分泌,也为进一步研究CHB患者中Th17异常高表达的机制提供了新的思路,并为寻找恢复慢性HBV感染中Th17/Treg平衡的治疗手段提供一定的思路,也是后续进一步研究的方向。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

## [参考文献]

- [1] Liu J, Liang WN, Jing WZ, et al. Countdown to 2030: eliminating hepatitis B disease, China[J]. Bull World Health Organ, 2019, 97(3): 230 - 238.
- [2] 中华医学会感染病学分会, 中华医学会肝病学会. 慢性乙型肝炎防治指南(2019年版)[J]. 临床肝胆病杂志, 2019, 35(12): 2648 - 2669.
- Society of Infectious Diseases, Chinese Medical Association, Hepatology Branch of Chinese Medical Association. Guidelines for the prevention and treatment of chronic hepatitis B (version 2019)[J]. Journal of Clinical Hepatology, 2019, 35(12): 2648 - 2669.
- [3] 赵寅洲, 游晶, 李静, 等. IL-23/Th17 通路在 HBV 相关肝脏疾病发生发展中的作用[J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(11): 1056 - 1061.
- Zhao YZ, You J, Li J, et al. The role of IL-23/Th17 pathway in the development of HBV-related liver diseases[J]. Chinese Journal of Infection Control, 2021, 20(11): 1056 - 1061.
- [4] Zhu XL, Zhu JF. CD4 T helper cell subsets and related human immunological disorders[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(21): 8011.
- [5] Loo TT, Gao YY, Lazarevic V. Transcriptional regulation of CD4<sup>+</sup> T<sub>H</sub> cells that mediate tissue inflammation[J]. J Leukoc Biol, 2018, 104(6): 1069 - 1085.
- [6] Sobah ML, Liongue C, Ward AC. SOCS proteins in immunity, inflammatory diseases, and immune-related cancer [J]. Front Med (Lausanne), 2021, 8: 727987.
- [7] Li K, Liu HE, Guo T. Th17/Treg imbalance is an indicator of liver cirrhosis process and a risk factor for HCC occurrence in HBV patients[J]. Clin Res Hepatol Gastroenterol, 2017, 41(4): 399 - 407.
- [8] Tan NH, Chen B, Peng J, et al. Treg/Th17 cell balance in patients with hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure at different disease stages[J]. Biomed Res Int, 2021, 2021: 9140602.
- [9] Lan YT, Wang ZL, Tian P, et al. Treg/Th17 imbalance and its clinical significance in patients with hepatitis B-associated liver cirrhosis[J]. Diagn Pathol, 2019, 14(1): 114.
- [10] Ribeiro CRDA, Martinelli KG, de Mello VDM, et al. Cytokine, genotype, and viral load profile in the acute and chronic hepatitis B[J]. Viral Immunol, 2020, 33(10): 620 - 627.
- [11] Bao SX, Zheng JM, Shi GF. The role of T helper 17 cells in the pathogenesis of hepatitis B virus-related liver cirrhosis (review)[J]. Mol Med Rep, 2017, 16(4): 3713 - 3719.
- [12] Sun HQ, Zhang JY, Zhang H, et al. Increased Th17 cells contribute to disease progression in patients with HBV-associated liver cirrhosis[J]. J Viral Hepat, 2012, 19(6): 396 - 403.
- [13] Gu YR, Lian YF, Gu L, et al. Correlations between cytokines produced by T cells and clinical-virological characteristics in untreated chronic hepatitis B patients[J]. BMC Infect Dis, 2019, 19(1): 216.
- [14] Beringer A, Thiam N, Molle J, et al. Synergistic effect of interleukin-17 and tumour necrosis factor- $\alpha$  on inflammatory response in hepatocytes through interleukin-6-dependent and independent pathways[J]. Clin Exp Immunol, 2018, 193(2): 221 - 233.
- [15] Arnold CE, Whyte CS, Gordon P, et al. A critical role for suppressor of cytokine signalling 3 in promoting M1 macrophage activation and function in vitro and in vivo[J]. Immunology, 2014, 141(1): 96 - 110.
- [16] 沈桂堂, 张丽丽, 窦宇明, 等. 慢性乙型肝炎患者外周血单个核细胞中辅助性 T 细胞及巨噬细胞分化相关基因表达与干扰素治疗敏感性的相关性探讨[J]. 中西医结合肝病杂志, 2015, 25(5): 271 - 273.
- Shen GT, Zhang LL, Dou YM, et al. Study on the relationship between Th lymphocyte and macrophage differentiation related genes expression within human peripheral blood mononuclear cells and sensitivity of interferon treatment in chronic hepatitis B patients[J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine on Liver Diseases, 2015, 25(5): 271 - 273.
- [17] 王永力, 吴文煜, 尤洁, 等. 核昔(酸)类似物经治慢性乙型肝炎患者干扰素  $\alpha$  治疗过程中细胞因子信号抑制因子 3 的表达与抗病毒疗效的关系[J]. 中华肝脏病杂志, 2019, 27(1): 27 - 32.
- Wang YL, Wu WY, You J, et al. Relationship between the suppressor of cytokine signaling 3 expression and antiviral efficacy of nucleos(t)ide and interferon alpha therapy for chronic hepatitis B[J]. Chinese Journal of Hepatology, 2019, 27(1): 27 - 32.

(本文编辑:陈玉华)

**本文引用格式:**赵寅洲,张茹蕙,赵家洁,等.慢性乙型肝炎患者外周血 SOCS3 mRNA 的表达及其与 Th17 的关系[J].中国感染控制杂志,2022,21(9):870-876. DOI:10.12138/j.issn.1671-9638.20222980.

**Cite this article as:** ZHAO Yin-zhou, ZHANG Ru-yi, ZHAO Jia-jie, et al. Expression of SOCS3 mRNA in peripheral blood of patients with chronic hepatitis B and its relationship with Th17[J]. Chin J Infect Control, 2022, 21(9): 870 - 876. DOI: 10.12138/j.issn.1671 - 9638.20222980.