

高脂饮食促进病毒性肝炎小鼠肝内细胞因子表达^{*}

吴婷 海素平 胡军剑 王晓晶 王洪武 宁琴^{*}

华中科技大学同济医学院附属同济医院感染科,湖北武汉 430030

摘要 目的:研究高脂饮食对病毒性肝炎小鼠肝内细胞因子表达的影响。方法:选取 C3H/HeN 小鼠共 152 只,随机分为标准饮食组(32 只)、高脂饮食组(32 只)、标准饮食感染组(44 只)、高脂饮食感染组(44 只)。标准饮食组及标准饮食感染组持续予以标准饮食喂养,高脂饮食组及高脂饮食感染组持续予以高脂饮食喂养。喂养第 12 周末,标准饮食感染组及高脂饮食感染组予以腹腔注射 3 型鼠肝炎病毒(MHV-3)诱导病毒性肝炎。于感染后不同时间点,采用定量逆转录聚合酶链式反应(PCR)检测肝内肿瘤坏死因子(TNF- α)、白介素(IL)-1 β 、IL-6、IL-17A 表达。结果:高脂饮食喂养 12 周诱导小鼠出现代谢异常。感染后第 4 天,标准饮食感染组小鼠肝内仅 IL-6 表达上调,而高脂饮食感染组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-17A 表达上调(P 均 <0.05)。感染后第 8 天,标准饮食感染组及高脂饮食感染组小鼠肝内 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-17A 表达上调,且高脂饮食感染组表达水平显著高于标准饮食感染组(P 均 <0.05)。感染后第 12 天,标准饮食感染组小鼠肝内 TNF- α 、IL-17A 表达回落至未感染水平,高脂饮食感染组仅 IL-6 表达回落。感染后第 16 天,标准饮食感染组小鼠肝内炎症细胞因子表达均回落至未感染水平,高脂饮食感染组仅 IL-1 β 、IL-6 表达回落。结论:高脂饮食促使病毒性肝炎小鼠肝内炎症细胞因子表达上调出现更早、幅度更高、持续更久。

关键词 高脂饮食; 代谢异常; 病毒性肝炎; 细胞因子

中图分类号 R512.6 文献标识码 A DOI 10.11768/nkjwzzzz20230315

High-fat diet promotes intrahepatic cytokines expression in viral hepatitis mouse model WU Ting, HAI Su-ping, HU Jun-jian, WANG Xiao-jing, WANG Hong-wu, NING qin^{*}. Department of Infectious Diseases, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Hubei Wuhan 430030, China

Corresponding author: NING qin, E-mail: qning@vip.sina.com

Abstract Objective: To investigate the effect of high-fat diet on the expression of inflammatory cytokines in viral hepatitis mouse model. Methods: Totally, 152 C3H/HeN mice were allocated to standard diet group ($n=32$), high-fat diet group ($n=32$), standard diet with infection group ($n=44$), and high-fat diet with infection group ($n=44$). The standard diet group and standard diet with infection group were treated with standard diet throughout the study; the high-fat diet group and high-fat diet with infection group were treated with high-fat diet throughout the study. The standard diet with infection group and high-fat diet with infection group were infected with murine hepatitis virus 3 (MHV-3) after 12-week feeding. The expression of intrahepatic TNF- α , IL-1 β , IL-6 and IL-17A was detected using quantitative reverse transcription polymerase chain reaction at different time points post-infection. Results: The 12-week high-fat diet feeding induced metabolic abnormalities in mice. At day 4 post-infection, only the intrahepatic expression of IL-6 increased in standard diet with infection mice, while the expression of TNF- α , IL-1 β , IL-6 and IL-17A increased in high-fat diet with infection group ($P < 0.05$). At day 8 post-infection, the intrahepatic expression of TNF- α , IL-1 β , IL-6 and IL-17A was elevated in both two infected groups, and was significantly higher in high-fat diet with infection group ($P < 0.05$). At day 12 post-infection, the intrahepatic expression of TNF- α and IL-17A in standard diet with infection group and IL-6 in high-fat diet with infection group fell back to baseline. At day 16 post-infection, intrahepatic expression of these cytokines was not upregulated in standard diet with infection group, while the expression of IL-1 β and IL-6 in high-fat diet with infection group fell back to baseline. Conclusion: High-fat diet feeding promoted an early-onset, enhanced and prolonged hepatitis virus-induced upregulation of intrahepatic inflammatory cytokines expression.

Key words High-fat diet; Metabolic abnormalities; Viral hepatitis; Cytokines

肥胖、2 型糖尿病、脂肪肝、高血压等代谢性疾病,已成为全球高发疾病。在新型冠状病毒肺炎(coronavirus disease 2019, COVID-19)全球大流行的

背景下,也成为了 COVID-19 最常见的合并症^[1]。有基础代谢性疾病的 COVID-19 患者,进展为重症及死亡的风险更高,同时也会消耗更多医疗资

^{*} 基金项目:湖北省自然科学基金面上项目(No:2020CFB767);同济医院优秀青年科学基金(No:2020YQ014)

^{*} 通信作者:宁琴, E-mail: qning@vip.sina.com, 湖北省武汉市硚口区解放大道 1095 号

源^[2-6]。这一现状再次引发了对代谢性疾病与病毒感染性疾病相关性的关注。免疫系统活化,炎性细胞因子释放,是病毒感染的重要致病机制^[7-10]。临床研究显示,有基础代谢性疾病的患者感染病毒后,外周血细胞因子水平升高更为显著,与病情加重密切相关^[6, 11]。然而,临床数据多来自于回顾性研究,难以动态观察基础代谢性疾病在病毒感染病程中对细胞因子水平的影响,且不能检测病变组织内细胞因子的变化。

本研究采用高脂饮食喂养 C3H/HeN 小鼠诱导代谢异常,继而采用 3 型鼠肝炎病毒(murine hepatitis virus 3, MHV-3)感染诱导病毒性肝炎。MHV-3 属于鼠冠状病毒,在 17~18 周龄 C3H 小鼠中可引起病毒持续感染,大部分小鼠症状轻微或症状明显但可恢复,仅部分小鼠进展为死亡^[12]。比较高脂饮食喂养小鼠与标准饮食喂养小鼠病毒感染后的死亡率、临床评分及感染后不同时间点肝内炎性细胞因子的表达水平,观察代谢异常对病毒感染的影响。

材料与方法

病毒 MHV-3 病毒株为本研究室保存病毒株,所用 MHV-3 滴度为 1.0×10^6 PFU/mL。

实验动物及建模分组 5~6 周龄 SPF 级雌性 C3H/HeN 小鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司,饲养 1 周后随机分为标准饮食组(32 只)、高脂饮食组(32 只)、标准饮食感染组(44 只)、高脂饮食感染组(44 只)。标准饮食组及标准饮食感染组持续予以标准饮食喂养,高脂饮食组及高脂饮食感染组持续予以高脂饮食喂养。标准饮食组及高脂饮食组各取 8 只小鼠,于基线及喂养 12 周时,在禁食 12 h 后称取体重,内眦静脉采血,检测血清丙氨酸转氨酶、天门冬氨酸转氨酶、甘油三酯、总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、空腹血糖、胰岛素。标准饮食感染组及高脂饮食感染组各取 20 只小鼠,于喂养第 12 周末,腹腔注射 100 μ L MHV-3(0.1 PFU/ μ L),注射后继续按原组别予以标准饮食或高脂饮食处理。观察 2 组小鼠感染后 30 d 内存活率及生存状态。4 组各取 24 只小鼠,于喂养第 12 周末,分别予以 100 μ L MHV-3(0.1 PFU/ μ L)或 100 μ L PBS 腹腔注射;注射后继续予以饮食干预,于感染后不同时间点取材 4 组小鼠肝脏,每组每次取 6 只小鼠。

小鼠生存状态观察 感染后 30 d 内,每天观察小鼠状态及死亡情况。对小鼠皮毛质地、呼吸及身体颤抖 3 项特征进行评分,评分标准见表 1^[13]。计算每组平均得分,若死亡记 0 分,死亡后不参与计分。

肝内细胞因子表达水平检测 提取肝组织总 RNA,逆转录为 cDNA,定量逆转录聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)检测小鼠肝内肿瘤坏死因子(TNF- α)、白介素(IL)-1 β 、IL-6、IL-17A mRNA 表达。反应体系:Realtime PCR Master Mix-Plus 12.5 L, cDNA 1.0 μ L,上下游引物(10 μ mmol/L)各 1.0 μ L, ddH₂O 补足至 20 μ L。反应条件:95 $^{\circ}$ C 热启动 1 min,进入循环;95 $^{\circ}$ C 变性 15 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 15 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s, 循环 40 次。TNF- α 上游引物 5'-GGCAGGTCTACTTTGGAGTCATTGC-3', 下游引物 5'-ACATTCCAGAGCTCCAGTGAATTCGG-3'; IL-1 β 上游引物 5'-TGTAATGAAAGACGGCACACC-3', 下游引物 5'-TCTTCTTTGGGTATTGCTTGG-3'; IL-6 上游引物 5'-CCACGGCCTTCCCTACTTC-3', 下游引物 5'-CTCATTTCCACGATTTCCCAG-3'; IL-17A 上游引物 5'-AGAGCTGCCCCCTTCACTTTC-3', 下游引物 5'-GGGGTTTCTTAGGGGTCAGC-3'。以 β -actin 为内参,上游引物 5'-TCTTTTCCAGCCTTCCTTCTTG-3', 下游引物 5'-GAGGTCTTTACGGATGTCAACG-3'。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法比较小鼠肝内各细胞因子相对表达水平。

试剂与仪器 60% 高脂饲料(南通特洛菲饲料科技有限公司, TP23520); 小鼠胰岛素 ELISA 试剂盒(瑞典 Mercodia 10-1247-01); Trizol Reagent(美国 Invitrogen 15596-018); ReverTra Ace[®] qPCR RT Kit(日本 TOYOBO FSQ-101); DreamTaq Green PCR Master Mix(2x)(美国 ThermoFisher); 实时定量 PCR 仪(美国 Bio Rad CFX96); cobas[®] 8000 罗氏全自动生化分析仪。

统计学分析 采用 SigmaPlot 12.0 统计学软件, GraphPad Prism 5 软件绘图。计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示, 2 组间比较采用 t 检验; 临床症状评分采用重复测量数据双因素方差分析; 采用 Kaplan-Meier 法计算生存率, 采用 log-rank 检验比较 2 组间的生存曲线; 对同一时间点 4 个实验组采用 Two-way ANOVA 检验饮食与病毒感染的相互作用, 采用 Holm-Sidak 事后检验比较组间差异。细胞因子表达水平, 进行对数转换后再进行统计。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

高脂饮食喂养 12 周诱导小鼠出现代谢异常
高脂饮食及标准饮食组小鼠基线时体重、丙氨酸转氨酶、天门冬氨酸转氨酶、甘油三酯、总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、空腹血糖、胰岛素水平比较,差异无统计学意义(P 均 >0.05);饮食喂养 12 周,高脂饮食组小鼠体型肥胖,皮毛油腻,不喜活动,其体重、甘油三酯、总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、空腹血糖、胰岛素水平高于标准饮食组(P 均 <0.05),其余指标比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

高脂饮食感染组小鼠病毒感染后临床评分 小鼠于感染后出现精神萎靡,毛发失去光泽,呼吸加快,临床评分下降。高脂饮食感染组于感染后第 6 天(13.13 ± 0.22)、第 7 天(12.53 ± 0.22)、第 8 天(13.43 ± 0.24)、第 9 天(13.46 ± 0.24)、第 10 天(13.37 ± 0.24)、第 11 天(13.46 ± 0.24)、第 12 天(13.06 ± 0.24)及第 13 天(12.64 ± 0.24)临床评分显著低于基线水平(P 均 <0.01),而感染后第 14 天(13.69 ± 0.25)评分与基线比较,差异无统计学意义($P>0.05$),此后临床症状逐渐缓解。高脂饮食感染组于感染后第 2 天(14.90 ± 0.31 vs 13.70 ± 0.31 , $P=0.034$)、第 3 天(14.70 ± 0.31 vs 13.30 ± 0.31 , $P=0.014$)、第 4 天(14.40 ± 0.31 vs $13.08 \pm$

0.32 , $P=0.022$)及第 12 天(13.81 ± 0.34 vs 12.31 ± 0.35 , $P=0.018$)临床评分显著低于标准饮食感染组,见图 1A。

标准饮食感染组小鼠于感染后第 6 天(1 只)、第 7 天(2 只)、第 13 天(1 只)出现死亡,高脂饮食感染组小鼠更早出现死亡,于感染后第 3 天(1 只)、第 7 天(3 只)、第 13 天(1 只)出现死亡;感染后 14-30 d 未再出现死亡。2 组小鼠存活率分别为 80% 和 75%,差异无统计学意义($P=0.707$),见图 1B。

高脂饮食感染组小鼠病毒感染后肝组织病理学观察 分别于感染后第 4、8、12 及 16 天,比较 2 个感染组小鼠肝组织病理改变。感染后第 4 天,标准饮食感染组可见局灶性肝细胞坏死,大部分肝细胞结构正常,未见明显肝细胞变性,见图 2A;高脂饮食感染组可见广泛的肝细胞气球样变及肝细胞脂肪变,见图 2B。感染后第 8 天,标准饮食感染组局灶性肝细胞坏死,较第 4 天显著,大部分肝细胞结构正常,肝细胞变性不明显,见图 2C;高脂饮食感染组可见广泛的肝细胞气球样变及肝细胞脂肪变,部分小泡样脂肪变和气球样变难以区分,见图 2D。感染后第 12 天,标准饮食感染组肝内已无明显肝细胞变性、坏死,见图 2E,高脂饮食感染组可见广泛脂肪变以及较多坏死灶和淋巴细胞浸润,见图 2F。感染后第 16 天,标准饮食感染组肝内无明显肝细胞变性、坏死,见图 2G,高脂饮食感染组仅见广泛的脂肪变,见图 2H。

表 1 小鼠感染 MHV-3 后临床评分

评分	皮毛质地	呼吸	身体颤抖
5	光泽柔顺	约 200 次/min	正常,无颤抖
4	无光泽,较柔顺	约 230 次/min	身体略有颤抖
3	无光泽,竖毛	230~260 次/min	较明显颤抖,拱背,静止懒动
2	竖毛,粘连	超过 260 次/min	较明显颤抖,拱背,爬行缓慢
1	竖毛,粘连,潮湿	超过 260 次/min,伴有胸腹部舒缩	明显颤抖,拱背,基本不能行动

表 2 饮食干预 12 周后小鼠代谢指标 ($\bar{x} \pm s$)

项目	基线		12 周	
	标准饮食组($n=8$)	高脂饮食组($n=8$)	标准饮食组($n=8$)	高脂饮食组($n=8$)
体重(g)	17.83 ± 0.39	17.78 ± 0.30	23.23 ± 1.10	$45.51 \pm 0.52^*$
丙氨酸转氨酶(U/L)	28.75 ± 5.99	25.75 ± 5.85	25.50 ± 4.78	28.00 ± 4.04
天门冬氨酸转氨酶(U/L)	59.13 ± 0.39	56.75 ± 3.11	57.13 ± 4.70	55.38 ± 4.90
甘油三酯(mmol/L)	0.87 ± 0.12	0.94 ± 0.14	1.10 ± 0.18	$1.75 \pm 0.15^*$
总胆固醇(mmol/L)	2.81 ± 0.16	2.92 ± 0.16	3.36 ± 0.50	$5.92 \pm 0.25^*$
高密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	1.45 ± 0.09	1.49 ± 0.09	1.53 ± 0.11	$2.43 \pm 0.11^*$
低密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	0.24 ± 0.04	0.25 ± 0.06	0.30 ± 0.05	$0.55 \pm 0.08^*$
空腹血糖(mmol/L)	3.04 ± 0.39	2.38 ± 0.86	4.21 ± 0.70	$8.40 \pm 0.81^*$
胰岛素($\mu\text{g/L}$)	0.34 ± 0.04	0.37 ± 0.06	0.47 ± 0.17	$1.44 \pm 0.28^*$

注:与同一时间点标准饮食组比较,* $P<0.01$

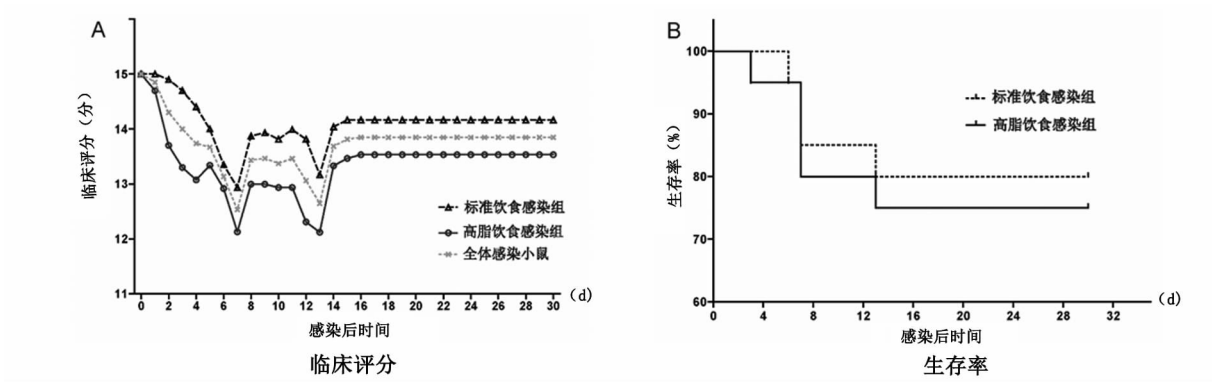
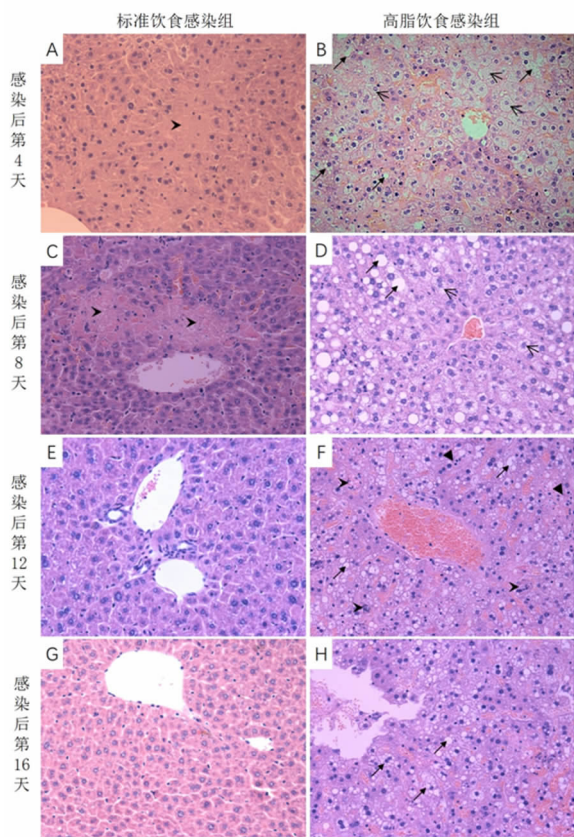


图1 MHV-3 感染后小鼠临床评分及生存率



注：▲ 为肝细胞坏死灶；↓ 为肝细胞玻璃样变；▲ 为淋巴细胞；↑ 为脂肪变

图2 感染后不同时间点肝组织 HE 染色 (×400)

高脂饮食感染组小鼠病毒感染后肝内细胞因子表达 感染后第4天,标准饮食感染组 IL-6 表达高于标准饮食组 ($P < 0.05$);高脂饮食感染组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-17A 表达高于高脂饮食组,且高脂饮食感染组 TNF- α 、IL-6、IL-17A 表达高于标准饮食感染组 (P 均 < 0.05),见表3。

感染后第8天,高脂饮食感染组及标准饮食感染组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-17A 表达分别高于高脂饮食组及标准饮食组,且高脂饮食感染组高于标准

饮食感染组 (P 均 < 0.05),见表4。

感染后第12天,标准饮食感染组 IL-1 β 和 IL-6 表达高于标准饮食组 ($P < 0.05$);高脂饮食感染组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-17A 表达高于高脂饮食组 (P 均 < 0.05);且高脂饮食组 TNF- α 表达高于标准饮食感染组 (P 均 < 0.05);高脂饮食感染组 IL-6 回落至基线水平,低于标准饮食感染组 ($P < 0.05$)见表5。

感染后第16天,标准饮食感染组与2个标准饮食组小鼠肝内炎性细胞因子比较,差异无统计学意义 (P 均 > 0.05);高脂饮食感染组 TNF- α 、IL-17A 表达高于高脂饮食组 ($P < 0.05$);高脂饮食感染组 TNF- α 表达高于标准饮食感染组 ($P < 0.05$),见表6。

讨 论

本研究中,高脂饮食喂养12周可成功诱导C3H小鼠出现体重增加、高脂血症、高血糖以及高胰岛素血症等代谢综合征表现,但并未引起肝内炎性细胞因子表达上调,亦未出现转氨酶升高。然而在感染早期,即感染后第1~5天,此时总体临床评分与基线无显著差异,但高脂饮食感染组临床评分(第2~3天)已显著低于标准饮食感染组,病理可见广泛的肝细胞气球样变性,提示患有基础代谢性疾病的小鼠,即使感染前没有明显的肝细胞炎性损伤,在感染早期仍会出现更为严重的病理改变及临床症状。在感染早期,选取感染后第4天为时间点检测肝内炎性细胞因子表达,标准饮食感染组仅见 IL-6 出现上调,而高脂饮食感染组小鼠肝内 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-17A 表达均已上调,统计显示感染诱导的 TNF- α 、IL-6 表达上调依赖于饮食干预。这一结果提示代谢异常使病毒感染诱导的炎性细胞因子上调出现更早,导致病理改变及临床症状出现得更早、更严

表 3 感染后第 4 天肝内 TNF-α、IL-1β、IL-6、IL-17A 的相对表达($\bar{x} \pm s$)				
组别	TNF-α	IL-1β	IL-6	IL-17A
标准饮食组	1.06 ± 0.22	1.00 ± 0.14	1.06 ± 0.21	1.29 ± 0.31
高脂饮食组	1.23 ± 0.24	0.97 ± 0.07	1.03 ± 0.07	1.21 ± 0.23
标准饮食感染组	1.63 ± 0.34	1.35 ± 0.38	2.16 ± 0.55 [▲]	1.81 ± 1.18
高脂饮食感染组	5.30 ± 3.96 ^{*#}	1.78 ± 0.66 [*]	8.64 ± 7.09 ^{*#}	8.27 ± 1.19 ^{*#}
饮食与感染的交互 P 值	0.034	0.265	0.016	0.085

注:与标准饮食组比较,▲ $P < 0.05$;与高脂饮食组比较, $^*P < 0.05$;与标准饮食感染组比较, $^{\#}P < 0.05$

表 4 感染后第 8 天肝内 TNF-α、IL-1β、IL-6、IL-17A 的相对表达($\bar{x} \pm s$)				
组别	TNF-α	IL-1β	IL-6	IL-17A
标准饮食组	0.77 ± 0.37	1.56 ± 0.59	1.72 ± 0.57	1.36 ± 0.96
高脂饮食组	1.67 ± 0.68	1.67 ± 0.57	1.89 ± 0.52	1.79 ± 0.90
标准饮食感染组	2.95 ± 1.37 [▲]	3.03 ± 0.94 [▲]	6.78 ± 2.33 [▲]	4.79 ± 2.19 [▲]
高脂饮食感染组	36.69 ± 23.02 ^{*#}	13.66 ± 4.66 ^{*#}	65.79 ± 69.54 ^{*#}	49.80 ± 52.29 ^{*#}
饮食与感染的交互 P 值	0.006	0.001	0.028	0.047

注:与标准饮食组比较,▲ $P < 0.05$;与高脂饮食组比较, $^*P < 0.05$;与标准饮食感染组比较, $^{\#}P < 0.05$

表 5 感染后第 12 天肝内 TNF-α、IL-1β、IL-6、IL-17A 的相对表达($\bar{x} \pm s$)				
组别	TNF-α	IL-1β	IL-6	IL-17A
标准饮食组	1.18 ± 0.34	0.92 ± 0.28	1.29 ± 0.29	1.47 ± 0.25
高脂饮食组	1.07 ± 0.35	1.05 ± 0.22	1.55 ± 0.28	0.95 ± 0.56
标准饮食感染组	1.06 ± 0.26	2.09 ± 0.63 [▲]	2.34 ± 0.67 [▲]	1.20 ± 0.45
高脂饮食感染组	3.06 ± 0.95 ^{*#}	2.64 ± 1.42 [*]	1.52 ± 0.44 [#]	1.71 ± 0.22 [*]
饮食与感染的交互 P 值	0.001	0.419	0.041	0.020

注:与标准饮食组比较,▲ $P < 0.05$;与高脂饮食组比较, $^*P < 0.05$;与标准饮食感染组比较, $^{\#}P < 0.05$

表 6 感染后第 16 天肝内 TNF-α、IL-1β、IL-6、IL-17A 的相对表达($\bar{x} \pm s$)				
组别	TNF-α	IL-1β	IL-6	IL-17A
标准饮食组	0.49 ± 0.06	0.65 ± 0.07	0.84 ± 0.49	1.20 ± 0.35
高脂饮食组	0.90 ± 0.20	0.94 ± 0.21	1.02 ± 0.41	1.27 ± 0.54
标准饮食感染组	0.80 ± 0.22	1.01 ± 0.38	1.04 ± 0.45	2.06 ± 0.90
高脂饮食感染组	1.58 ± 0.69 ^{*#}	1.54 ± 0.67	1.21 ± 0.67	2.89 ± 1.50 [*]
饮食与感染的交互 P 值	0.386	0.894	0.998	0.523

注:与标准饮食组比较,▲ $P < 0.05$;与高脂饮食组比较, $^*P < 0.05$;与标准饮食感染组比较, $^{\#}P < 0.05$

重。在感染极期,即感染后第 6~13 天,小鼠总体临床评分显著低于基线,死亡也集中出现在这一时期。在感染极期选取感染后第 8 天和第 12 天检测肝内细胞因子表达。感染后第 8 天,标准饮食感染组肝内 TNF-α、IL-1β、IL-6、IL-17A 表达均上调,但显著低于高脂饮食感染组炎性细胞因子表达水平,统计学显示细胞因子表达均受到感染和代谢异常的交互作用,提示代谢异常使病毒感染诱导的炎性细胞因子上调幅度更高。这与肝组织病理改变一致,标准饮食感染组小鼠肝细胞坏死在感染后第 8 天最为显著,但大部分肝细胞未见明显改变;而高脂饮食感染组仍可见广泛的肝细胞变性,病理损伤较标准饮食感染组更为严重。而在感染后第 12 天,标准饮食感染组小鼠肝内 TNF-α、IL-17A 表达水平回落至未感

染水平,肝脏组织学未见明显肝细胞炎性坏死;而高脂饮食感染组只有 IL-6 表达水平回落至未感染水平,肝脏组织学仍可见肝细胞局灶性坏死和淋巴细胞浸润等炎性坏死改变;统计学显示感染后 TNF-α、IL-6、IL-17A 的表达上调仍受饮食影响,提示代谢异常使感染诱导的炎性细胞因子表达上调持续更久。在感染后期,即感染后第 14 天以后,小鼠总体临床评分恢复至基线水平。此时,标准饮食感染组小鼠肝内炎性细胞因子表达无上调,高脂饮食感染组 TNF-α、IL-17A 表达仍有轻度升高,2 组小鼠肝脏组织学均未见明显炎性坏死改变。统计学显示病毒感染引起的炎性细胞因子上调已不受饮食影响,提示代谢异常主要在感染早期及感染极期促进感染诱导的细胞因子上调。

在代谢性疾病中可以观察到 Toll 样受体和 NOD 样受体通路的激活、巨噬细胞向 M1 表型的极化、免疫相关通路基因表达上调,引起下游 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-17A 水平升高^[14~18]。而这些天然免疫通路、天然免疫细胞也参与了抗病毒免疫^[9, 19, 20]。炎性通路的活化具有阈值依赖性,高糖高脂等代谢物作为内源性配体使炎性通路更易被激活,因此在病毒感染后,炎性通路被迅速、强烈、持久地激活,表现为炎性细胞因子表达上调出现更早、幅度更高、持续更久^[5, 21, 22]。而 IL-6 在病毒感染后迅速升高,其升高往往早于其他细胞因子,并发挥一系列抗感染效应,因此是标准饮食感染组最先表达上调、高脂饮食感染组最先表达回落的炎性细胞因子^[23, 24]。

本研究通过动物模型动态观察了代谢性疾病对病毒感染后靶器官内炎性细胞因子表达的影响;表明代谢异常主要在感染早期及极期使感染诱导的炎性细胞因子表达上调出现更早、幅度更高、持续更久。因此应对未来新发传染病的爆发,必须降低代谢性疾病的发病率,维持正常免疫应答;对于已有基础代谢性疾病的感染者,应在早期进行干预,避免疾病进展;在极期积极治疗,降低死亡风险。

参考文献

- 1 Zhou F, Yu T, Du R, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study[J]. Lancet, 2020, 395 (10229) :1054-1062.
- 2 Petrakis D, Margin D, Tsarouhas K, et al. Obesity a risk factor for increased COVID - 19 prevalence, severity and lethality (Review) [J]. Mol Med Rep, 2020, 22 (1) :9-19.
- 3 Simonnet A, Chetboun M, Poissy J, et al. High Prevalence of obesity in severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) requiring invasive mechanical ventilation[J]. Obesity (Silver Spring), 2020, 28 (7) :1195-1199.
- 4 Onder G, Rezza G, Brusaferro S. Case-fatality rate and characteristics of patients dying in relation to COVID-19 in Italy [J]. JAMA, 2020, 323 (18) :1775-1776.
- 5 Sachdeva S, Khandait H, Kopel J, et al. NAFLD and COVID-19: a pooled analysis [J]. SN Compr Clin Med, 2020, 2 (12) :2726-2729.
- 6 Guo W, Li M, Dong Y, et al. Diabetes is a risk factor for the progression and prognosis of COVID-19 [J]. Diabetes Metab Res Rev, 2020, 36 (7) :e3319.
- 7 马利亚,董晶晶,高智星,等. 白花蛇舌草对病毒肺炎小鼠免疫细胞因子表达的影响[J]. 内科急危重症杂志, 2021, 27 (1) 50-53.

- 8 Cao X. COVID-19: immunopathology and its implications for therapy [J]. Nat Rev Immunol, 2020, 20 (5) :269-270.
- 9 Guidotti LG, Chisari FV. Immunobiology and pathogenesis of viral hepatitis [J]. Annu Rev Pathol, 2006, 1 :23-61.
- 10 刘薇,张梦,徐欣,等. 细胞因子对继发性噬血细胞综合征和重型肝炎合并感染具有早期鉴别意义[J]. 内科急危重症杂志, 2022, 28 (1) :24-27.
- 11 Han M, Ma K, Wang X, et al. Immunological characteristics in type 2 diabetes mellitus among COVID-19 patients [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2021, 12 :596518.
- 12 Prévost CL, Virelizier JL, Dupuy JM. Immunopathology of mouse hepatitis virus type 3 infection. III. Clinical and virologic observation of a persistent viral infection [J]. J Immunol, 1975, 115 (3) :640-643.
- 13 Wu ZG, Yan WM, Guo W, et al. Telbivudine preserves T-helper 1 cytokine production and downregulates programmed death ligand 1 in a mouse model of viral hepatitis [J]. J Viral Hepat, 2010, 17 (Suppl 1) :24-33.
- 14 Bai L, Li H. Innate immune regulatory networks in hepatic lipid metabolism [J]. J Mol Med (Berl), 2019, 97 (5) :593-604.
- 15 Edgar L, Akbar N, Braithwaite AT, et al. Hyperglycemia induces trained immunity in macrophages and their precursors and promotes atherosclerosis [J]. Circulation, 2021, 144 (12) :961-982.
- 16 Christ A, Günther P, Lauterbach MAR, et al. Western diet triggers NLRP3-dependent innate immune reprogramming [J]. Cell, 2018, 172 (1-2) :162-175. e14.
- 17 Port JR, Adney DR, Schwarz B, et al. High-Fat high-sugar diet-induced changes in the lipid metabolism are associated with mildly increased COVID-19 severity and delayed recovery in the syrian hamster [J]. Viruses, 2021, 13 (12) :2506.
- 18 Ma M, Duan R, Zhong H, et al. The crosstalk between fat homeostasis and liver regional immunity in NAFLD [J]. J Immunol Res, 2019, 2019 :3954890.
- 19 Shayakhmetov DM. Virus infection recognition and early innate responses to non-enveloped viral vectors [J]. Viruses, 2010, 2 (1) :244-261.
- 20 Iwasaki A, Pillai PS. Innate immunity to influenza virus infection [J]. Nat Rev Immunol, 2014, 14 (5) :315-328.
- 21 Portincasa P, Krawczyk M, Smyk W, et al. COVID-19 and non-alcoholic fatty liver disease: two intersecting pandemics [J]. Eur J Clin Invest, 2020, 50 (10) :e13338.
- 22 Heymann F, Tacke F. Immunology in the liver--from homeostasis to disease [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2016, 13 (2) :88-110.
- 23 Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease [J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2014, 6 (10) :a016295.
- 24 Hunter CA, Jones SA. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease [J]. Nat Immunol, 2015, 16 (5) :448-457.

(2022-03-17 收稿 2023-04-20 修回)