

· 病毒性肝炎 ·

DOI: 10.12449/JCH251111

## 慢性HBV感染者CD8<sup>+</sup>T细胞中Mg<sup>2+</sup>转运蛋白1 mRNA的表达及其与HBV DNA的相关性分析

刘洋<sup>1a</sup>, 林晓娥<sup>1b</sup>, 孙如静<sup>1c</sup>, 李树义<sup>2</sup>, 杨福玲<sup>1b</sup>

1 唐山市工人医院 a. 肝胆外科, b. 核医学科, c. 检验科, 河北唐山 063000

2 唐山市第八医院检验科, 河北唐山 063000

通信作者: 林晓娥, linxiao\_e1980@163.com (ORCID: 0009-0003-0384-4882)

**摘要:** 目的 探讨外周血CD8<sup>+</sup>T细胞中Mg<sup>2+</sup>转运蛋白1(MagT1)在慢性HBV感染者中的表达变化,并分析血清Mg<sup>2+</sup>、MagT1 mRNA与HBV DNA载量之间的关系。方法 选取2022年1月—2023年12月唐山市工人医院收治的HBV感染者102例。采用病例对照设计,将受试对象依据疾病进展阶段划分为3组:慢性乙型肝炎患者40例、代偿期肝硬化患者32例、肝细胞癌患者30例;同时纳入年龄、性别匹配的健康志愿者32例作为正常对照。检测血清Mg<sup>2+</sup>浓度;使用实时荧光定量PCR检测CD8<sup>+</sup>T细胞中MagT1 mRNA表达水平及血清HBV DNA载量;采用流式细胞术定量分析CD8<sup>+</sup>T细胞表面程序性死亡受体1(PD-1)、T细胞免疫球蛋白黏蛋白-3(Tim-3)及自然杀伤细胞活化性受体2D(NKG2D)的表达水平。符合正态分布的计量资料多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用SNK-*q*检验;计数资料组间比较采用 $\chi^2$ 检验;MagT1 mRNA与各指标的相关性采用Pearson线性相关分析。结果 对照组、慢性乙型肝炎组、代偿期肝硬化组、肝细胞癌组血清Mg<sup>2+</sup>水平和MagT1 mRNA表达差异均有统计学意义(*F*值分别为29.014、145.578,*P*值均<0.001)。Pearson相关性分析显示,血清Mg<sup>2+</sup>浓度(*r*=0.335)和MagT1 mRNA(*r*=0.394)表达与HBV DNA载量呈正相关(*P*值均<0.05)。对照组、慢性乙型肝炎组、代偿期肝硬化组、肝细胞癌组PD-1、Tim-3水平依次升高,NKG2D水平依次降低(*P*值均<0.001)。Pearson相关性分析显示,MagT1 mRNA表达与PD-1(*r*=-0.643)、Tim-3(*r*=-0.640)呈负相关,与NKG2D(*r*=0.655)呈正相关(*P*值均<0.05)。结论 HBV感染者外周血CD8<sup>+</sup>T细胞MagT1 mRNA表达水平下降,且与血清HBV DNA载量呈正相关,MagT1表达降低可能通过阻碍Mg<sup>2+</sup>内流导致CD8<sup>+</sup>T细胞功能耗竭,表现为PD-1、Tim-3上调及NKG2D下调。

**关键词:** 乙型肝炎病毒; CD8阳性T淋巴细胞; 镁离子转运蛋白1**基金项目:** 河北省医学科学研究课题计划(20250218)

### The mRNA expression of magnesium transporter 1 in CD8<sup>+</sup> T cells and its correlation with HBV DNA in patients with chronic HBV infection

LIU Yang<sup>1a</sup>, LIN Xiaoe<sup>1b</sup>, SUN Rujing<sup>1c</sup>, LI Shuyi<sup>2</sup>, YANG Fuling<sup>1b</sup>

1. a. Department of Hepatobiliary Surgery, b. Department of Nuclear Medicine, c. Department of Laboratory Medicine, Tangshan Workers' Hospital, Tangshan, Hebei 063000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Tangshan Eighth Hospital, Tangshan, Hebei 063000, China

Corresponding author: LIN Xiaoe, linxiao\_e1980@163.com (ORCID: 0009-0003-0384-4882)

**Abstract: Objective** To investigate the change in the expression of magnesium transporter 1 (MagT1) in peripheral blood CD8<sup>+</sup> T cells in patients with chronic hepatitis B virus (HBV) infection, as well as the correlation of serum Mg<sup>2+</sup> and MagT1 with HBV DNA load. **Methods** A total of 102 patients with HBV infection who were admitted to Tangshan Workers' Hospital from January 2022 to December 2023 were enrolled, and a case-control study was conducted. According to the stage of disease progression, the subjects were divided into chronic hepatitis B group with 40 patients, compensated liver cirrhosis group with 32 patients, and

hepatocellular carcinoma group with 30 patients, and 32 healthy volunteers matched by age and sex were enrolled as normal control group. The serum concentration of  $Mg^{2+}$  was measured; RT-qPCR was used to measure the mRNA expression level of MagT1 in  $CD8^+$  T cells and serum HBV DNA load; flow cytometry was used to measure the expression levels of programmed death-1 (PD-1), T-cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3 (Tim-3), and natural killer cell group 2D (NKG2D) on the surface of  $CD8^+$  T cells. A one-way analysis of variance was used for comparison of normally distributed continuous data between multiple groups, and the SNK-*q* test was used for comparison between two groups; the chi-square test was used for comparison of categorical data between groups; a Pearson linear correlation analysis was used to investigate the correlation between the mRNA expression level of MagT1 and other related indicators. **Results** There were significant differences in the serum level of  $Mg^{2+}$  and the mRNA expression level of MagT1 between the normal control group, the chronic hepatitis B group, the compensated liver cirrhosis group, and the hepatocellular carcinoma group ( $F=29.014$  and  $145.578$ , both  $P<0.001$ ). The Pearson correlation analysis showed that the serum level of  $Mg^{2+}$  and the mRNA expression level of MagT1 were positively correlated with HBV DNA load ( $r=0.335$  and  $0.394$ , both  $P<0.05$ ). The hepatocellular carcinoma group had the highest levels of PD-1 and Tim-3, followed by the compensated liver cirrhosis group, the chronic hepatitis B group, and the normal control group; the normal control group had the highest level of NKG2D, followed by the chronic hepatitis B group, the compensated liver cirrhosis group, and the hepatocellular carcinoma group (all  $P<0.001$ ). The Pearson correlation analysis showed that the mRNA expression level of MagT1 was negatively correlated with PD-1 and Tim-3 ( $r=-0.643$  and  $-0.640$ , both  $P<0.05$ ) and was positively correlated with NKG2D ( $r=0.655$ ,  $P<0.05$ ). **Conclusion** There is a reduction in the mRNA expression level of MagT1 in peripheral blood  $CD8^+$  T cells in patients with HBV infection, which is positively correlated with serum HBV DNA load. The reduction in the expression of MagT1 may contribute to  $CD8^+$  T cell exhaustion by impairing  $Mg^{2+}$  influx, manifesting as the upregulation of PD-1 and Tim-3 and the downregulation of NKG2D.

**Key words:** Hepatitis B Virus;  $CD8^+$ -Positive T-Lymphocytes; Magnesium Transporter 1

**Research funding:** Hebei Medical Science Research Project Plan(20250218)

HBV感染导致的慢性乙型肝炎是最常见的慢性肝病,流行病学数据显示,全球约有2.96亿人口受累,该病毒是肝硬化和肝细胞癌的主要致病因素<sup>[1]</sup>。随着医学水平的进步及HBV疫苗的普及,全球乙型肝炎发病率有所降低,但在低收入国家,新生儿HBV疫苗首剂接种覆盖率依然较低,且全球范围内对HBV感染者的评估、管理和治疗仍存在显著不足<sup>[2-3]</sup>。我国人口基数大,HBV感染病例较多。一项疾病负担调查统计,与1990年相比,2016年我国慢性乙型肝炎及其他肝病的患病人数和死亡人数分别增长了79.6%和2.4%,患病率上升幅度达49.2%,整体呈上升趋势<sup>[4]</sup>,这提示HBV的防治工作仍面临严峻挑战。HBV感染者治疗的首要目标是持续抑制病毒复制以延缓疾病进展,而宿主免疫应答的缺陷被认为是HBV持续感染及抗病毒治疗后复发的重要机制。因此,深入探究HBV感染者的免疫调控机制,对于制定有效的免疫治疗方案及提高临床疗效具有重要意义。

镁离子( $Mg^{2+}$ )能通过调节线粒体的钙离子功能,发挥多重调控作用,包括抗氧化、抗炎、抗凋亡作用,促进抗体生成、激活补体系统、调控T细胞分化与功能活化,同时参与吞噬细胞的功能调节<sup>[5-6]</sup>。 $Mg^{2+}$ 转运蛋白1(magnesium transporter 1, MagT1)是一种具有高度选择

性的 $Mg^{2+}$ 转运体,能调节细胞内游离的 $Mg^{2+}$ 浓度的稳态,发挥重要的免疫调节作用。在HBV感染过程中, $CD8^+$ T细胞是抑制病毒复制、调控肝脏炎性损伤的主要免疫效应细胞。既往研究通过生物信息学分析和体外实时荧光定量逆转录聚合酶链式反应(RT-qPCR)实验证实, MagT1介导的 $Mg^{2+}$ 内流障碍能导致 $CD8^+$ T细胞功能耗竭<sup>[7-8]</sup>。研究提示, MagT1可能通过调控 $CD8^+$ T细胞功能参与HBV感染的疾病进程,为验证这一机制,本研究聚焦于HBV感染人群,检测其MagT1的表达变化,并分析与HBV DNA水平的关系。

## 1 资料与方法

1.1 研究对象 选取2022年1月—2023年12月唐山市工人医院收治的HBV感染者。采用病例对照设计,将研究对象依据疾病进展阶段划分为3组:慢性乙型肝炎组、代偿期肝硬化组、肝细胞癌组,同时纳入年龄、性别匹配的健康志愿者作为正常对照。

1.2 纳入与排除标准 纳入标准:(1)符合《慢性乙型肝炎病毒感染者肝细胞癌筛查和监测》《慢性乙型肝炎防治指南(2022年版)》《肝硬化诊治指南》《原发性肝癌诊疗指南(2022年版)》诊断标准<sup>[9-12]</sup>;(2)HBV DNA持续

阳性>6个月,且载量>1×10<sup>5</sup> IU/mL;(3)入组前6个月内未接受免疫调节、抗病毒及保肝等相关治疗;(4)无其他免疫系统疾病;(5)年龄>18岁。排除标准:(1)合并甲型肝炎病毒、丙型肝炎病毒或其他病毒感染;(2)合并非酒精性脂肪性肝病、心脑血管疾病、肾功能不全、内分泌疾病、血液系统疾病或外伤等可能干扰检测结果的合并症;(3)妊娠期或哺乳期女性患者。

### 1.3 方法

1.3.1 样本量计算 基于文献报道的CD8<sup>+</sup>T细胞MagT1 mRNA表达组间差异(均值差Δ=1.26,标准差σ=0.09)<sup>[13]</sup>,使用G\*Power 3.1软件进行单因素方差分析估算样本量。最终纳入慢性乙型肝炎患者40例、代偿期肝硬化患者32例、肝细胞癌患者30例,正常对照32例。

1.3.2 血清Mg<sup>2+</sup>浓度检测 HBV感染者于干预前(对照组于体检当日)抽取患者外周静脉血,分离血清后采用全自动生化分析仪检测血清Mg<sup>2+</sup>浓度。

1.3.3 采用RT-qPCR检测CD8<sup>+</sup>T细胞中MagT1 mRNA的表达 采用密度梯度离心法分离外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC),再根据免疫磁珠法试剂盒说明书提取CD8<sup>+</sup>T细胞。细胞提取后加入RPMI-1640培养基重悬,调整合适细胞密度,加入CD3和CD28激活抗体进行刺激,收集细胞用于后续实验。使用Trizol法提取CD8<sup>+</sup>T细胞总RNA,逆转录后以cDNA为模板进行PCR扩增,反应条件:95℃预变性15 min,95℃变性15 s,58℃退火20 s,72℃延伸20 s,共40个循环。引物序列:MagT1 F:5'-ACCTAGCCGGAGCAAAGTTTC-3',R:5'-CGTCGCAAACGATGAGCAC-3';β-actin F:5'-CATGGGAATCCCTGCATTACAG-3',R:5'-GTCCCTTAGGGACGTAAGTC-3';严格按照说明书设置反应条件和反应体系,以2<sup>-ΔΔCT</sup>法计算mRNA相对表达量。

1.3.4 CD8<sup>+</sup>T细胞表面分子表达检测 分离的CD8<sup>+</sup>T细胞经无血清RPMI-1640培养基重悬后,分别加入别藻青蛋白标记的自然杀伤细胞活化性受体2D(natural killer cell group 2D,NKG2D)抗体、异硫氰酸荧光素酯标记的程序性死亡受体1(programmed death-1,PD-1)抗体和PE/CF594标

记的T细胞免疫球蛋白黏蛋白-3(T cell immunoglobulin domain and mucindomain-3,Tim-3)抗体,混合后室温避光孵育30 min,离心(1 500 r/min,5 min,半径10 cm),收集细胞,经流式细胞术检测PD-1、Tim-3和NKG2D的表达。

1.3.5 HBV DNA检测 采用荧光定量PCR试剂盒检测HBV DNA载量,严格按照试剂盒和仪器说明书操作。

1.4 统计学方法 采用SPSS 26.0统计软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用SNK-*q*检验;计数资料组间比较采用 $\chi^2$ 检验;采用Pearson相关法分析符合正态分布的计量资料之间的相关性。*P*<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 基线资料比较 各组性别、年龄、身体质量指数(BMI)比较,差异均无统计学意义(*P*值均>0.05)(表1)。

表1 各组受试者一般资料比较  
Table 1 Comparison of general information of subjects in each group

组别	例数	性别 (男/女,例)	年龄 (岁)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )
对照组	32	18/14	40.50±8.10	23.22±2.10
慢性乙型肝炎组	40	20/20	38.52±7.52	22.45±2.55
代偿期肝硬化组	32	15/17	41.21±5.55	22.20±2.50
肝细胞癌组	30	15/15	43.20±8.33	21.89±2.55
统计值		$\chi^2=0.801$	<i>F</i> =2.328	<i>F</i> =1.704
<i>P</i> 值		0.301	0.078	0.169

2.2 各组血清Mg<sup>2+</sup>浓度及MagT1 mRNA、HBV DNA水平比较 各组间血清Mg<sup>2+</sup>浓度、MagT1 mRNA和HBV DNA水平比较,差异均有统计学意义(*P*值均<0.05)。与对照组比较,慢性乙型肝炎组、代偿期肝硬化组及肝细胞癌组的血清Mg<sup>2+</sup>浓度及MagT1 mRNA水平更低(*P*值均<0.05);与慢性乙型肝炎组比较,代偿期肝硬化组及肝细胞癌组的上述指标水平亦更低(*P*值均<0.05);肝细胞癌组血清Mg<sup>2+</sup>浓度、MagT1 mRNA及HBV DNA水平均显著低于代偿期肝硬化组(*P*值均<0.05)(表2)。

表2 各组血清Mg<sup>2+</sup>浓度、MagT1 mRNA和HBV DNA水平比较  
Table 2 Comparison of serum Mg<sup>2+</sup> concentration, MagT1 mRNA and HBV DNA levels in each group

组别	例数	Mg <sup>2+</sup> (mmol/L)	MagT1 mRNA	HBV DNA (log <sub>10</sub> IU/mL)
对照组	32	0.96±0.10	1.25±0.30	
慢性乙型肝炎组	40	0.90±0.06 <sup>1)</sup>	0.80±0.25 <sup>1)</sup>	6.89±2.01
代偿期肝硬化组	32	0.86±0.06 <sup>1)2)</sup>	0.50±0.10 <sup>1)2)</sup>	5.33±1.50 <sup>2)</sup>
肝细胞癌组	30	0.80±0.05 <sup>1)2)3)</sup>	0.20±0.05 <sup>1)2)3)</sup>	4.33±1.20 <sup>2)3)</sup>
<i>F</i> 值		29.014	145.578	21.533
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,1)*P*<0.05;与慢性乙型肝炎组比较,2)*P*<0.05;与代偿期肝硬化组比较,3)*P*<0.05。

2.3 HBV感染者血清 $Mg^{2+}$ 浓度和MagT1 mRNA与HBV DNA的相关性分析 Pearson相关性分析显示,血清 $Mg^{2+}$ 浓度与HBV DNA载量呈正相关( $r=0.335, 95\%CI: 0.151 \sim 0.497, P<0.05$ ), MagT1 mRNA表达与HBV DNA载量亦呈正相关( $r=0.394, 95\%CI: 0.217 \sim 0.547, P<0.05$ )(图1)。

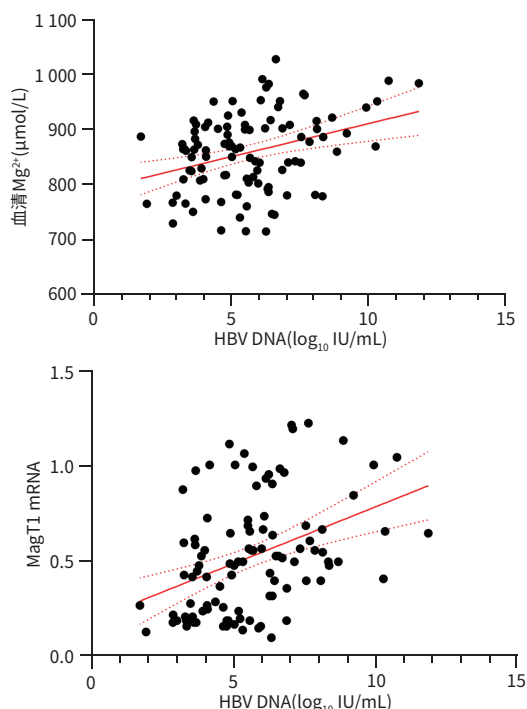


图1 HBV感染者 $Mg^{2+}$ 和MagT1 mRNA与HBV DNA的相关性

Figure 1 Correlation between  $Mg^{2+}$  and MagT1 mRNA and HBV DNA in HBV-infected individuals

2.4 各组受试者 $CD8^+$ T细胞表面分子表达比较 各组间 $CD8^+$ T细胞表面分子PD-1、Tim-3和NKG2D水平比较,差异均有统计学意义( $P$ 值均 $<0.05$ )。与对照组比较,其他3组的PD-1、Tim-3水平更高,NKG2D水平更低( $P$ 值均 $<0.05$ );与慢性乙型肝炎组比较,代偿期肝硬化组及肝细胞癌组的PD-1、Tim-3水平更高,NKG2D水平更低( $P$ 值均 $<0.05$ );与代偿期肝硬化组比较,肝细胞癌组PD-1、Tim-3水

平更高,NKG2D水平更低( $P$ 值均 $<0.05$ )(表3)。

2.5 MagT1 mRNA与 $CD8^+$ T细胞表面分子相关性分析 Pearson相关性分析显示, MagT1 mRNA与 $CD8^+$ T细胞表面分子PD-1( $r=-0.643, 95\%CI: -0.744 \sim -0.513, P<0.05$ )、Tim-3( $r=-0.640, 95\%CI: -0.742 \sim -0.509, P<0.05$ )均呈负相关,与NKG2D呈正相关( $r=0.655, 95\%CI: 0.528 \sim 0.754, P<0.05$ )(图2)。

### 3 讨论

当前临床针对HBV感染的治疗方案以核苷类似物和干扰素 $\alpha$ 为主,其作用机制为抑制HBV的复制,但无法完全清除肝细胞核内的闭合环状DNA (covalently closed circular DNA, cccDNA)。cccDNA在肝细胞核内以微染色体形式长期稳定存在,现有治疗手段难以有效靶向清除,已成为HBV难以根治的主要生物学障碍<sup>[14]</sup>。流行病学数据显示,约90%的急性HBV感染者可通过自身免疫清除实现临床康复,而10%的患者因病毒持续存在进展为慢性感染。HBV感染可诱导机体产生特异性免疫反应,其中细胞毒性T淋巴细胞通过识别感染肝细胞表面的人类白细胞抗原-I类(human leukocyte antigen class I, HLA-I)分子发挥双重作用:一方面清除病毒颗粒并抑制病毒复制;另一方面导致肝细胞损伤。这种免疫清除机制的双重作用(抗病毒效应与肝细胞损伤)直接决定了感染的临床结局<sup>[15]</sup>。

$Mg^{2+}$ 作为必需的二价阳离子,其生理功能涵盖遗传物质合成、能量代谢和免疫调控<sup>[16]</sup>。其中, MagT1作为 $Mg^{2+}$ 选择性转运通道(含5个跨膜结构域),除在多种组织细胞中广泛表达外,近年研究发现其在胸腺、脾脏等免疫器官中具有显著表达<sup>[17]</sup>。Matsuda-Lennikov等<sup>[18]</sup>研究发现,  $Mg^{2+}$ 和MagT1均是T细胞介导的免疫反应关键分子,与N-连接糖基化缺陷、EB病毒感染、瘤变等有关,这一结论在Gollosi等学者<sup>[19-21]</sup>的研究中均得到验证。Mo等<sup>[7]</sup>证实HBV感染者 $CD8^+$ T细胞中MagT1表达

表3 各组 $CD8^+$ T细胞表面分子表达水平比较

Table 3 Comparison of surface molecular expression levels of  $CD8^+$ T cells in each group

组别	例数	PD-1(%)	Tim-3(%)	NKG2D(%)
对照组	32	5.30 ± 1.81	8.20 ± 2.10	30.00 ± 4.05
慢性乙型肝炎组	40	8.96 ± 2.33 <sup>1)</sup>	12.34 ± 3.40 <sup>1)</sup>	25.01 ± 5.50 <sup>1)</sup>
代偿期肝硬化组	32	15.55 ± 4.50 <sup>1)2)</sup>	20.32 ± 5.50 <sup>1)2)</sup>	16.32 ± 3.45 <sup>1)2)</sup>
肝细胞癌组	30	21.50 ± 5.55 <sup>1)2)3)</sup>	28.34 ± 5.85 <sup>1)2)3)</sup>	10.22 ± 2.80 <sup>1)2)3)</sup>
F值		120.815	130.010	140.699
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,1) $P<0.05$ ;与慢性乙型肝炎组比较,2) $P<0.05$ ;与代偿期肝硬化组比较,3) $P<0.05$ 。

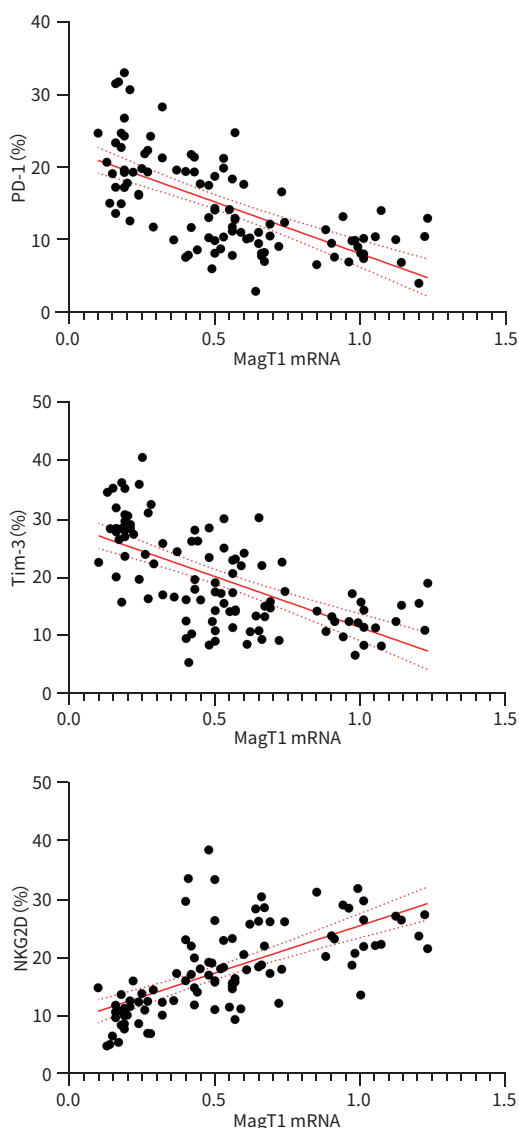


图2 HBV感染者MagT1 mRNA与CD8<sup>+</sup>T细胞表面分子的相关性

Figure 2 Correlation between MagT1 mRNA and the surface molecules of CD8<sup>+</sup>T cells in HBV-infected individuals

下调与细胞内Mg<sup>2+</sup>含量降低相关, MagT1靶向抑制导致HBV感染者CD8<sup>+</sup>T细胞免疫功能耗竭,提示MagT1可能作为慢性HBV感染的潜在生物标志物。本研究结果显示,随着疾病进展(从慢性乙型肝炎、代偿期肝硬化至肝细胞癌),患者HBV DNA载量逐渐下降,这是由于随着HBV感染时间的延长及病情的发展,机体特异性免疫应答(细胞免疫和体液免疫)被激活,导致肝细胞损伤加重,大量肝细胞坏死,依赖于肝细胞的HBV复制减少,使得HBV DNA载量降低。本研究还显示,与对照组比较,HBV感染者的血清Mg<sup>2+</sup>浓度及MagT1 mRNA降低,在慢性乙型肝炎、代偿期肝硬化及肝细胞癌组中依次降低,

Pearson相关性分析显示,血清Mg<sup>2+</sup>浓度、MagT1 mRNA与HBV DNA水平呈正相关。研究发现,X连锁免疫缺陷合并EBV感染者存在MagT1表达下调,进而抑制T细胞抗原受体(T cell receptor, TCR)依赖的Mg<sup>2+</sup>内流,削弱T细胞杀伤功能,外源补充Mg<sup>2+</sup>虽不能逆转内流缺陷,但能增强细胞毒性<sup>[22]</sup>,提示HBV感染者的低镁状态可能同样与MagT1转运功能受损相关。

在慢性HBV感染时,CD8<sup>+</sup>T细胞是主要效应细胞,对宿主的免疫发挥重要作用。HBV感染后,HLA-I分子限制性CD8<sup>+</sup>T细胞通过细胞溶解效应及细胞因子分泌实现双重抗病毒作用<sup>[23]</sup>。证据表明,TCR激活后需依赖MagT1通道介导的Mg<sup>2+</sup>内流,进而触发下游磷酸酯酶Cγ1(PLCγ1)/钙信号通路。当MagT1功能缺失时,该信号级联反应中断,可诱发特定类型的原发性免疫缺陷病<sup>[24-26]</sup>。因此,CD8<sup>+</sup>T细胞功能的正常对HBV感染的治疗结果有重要影响。CD8<sup>+</sup>T细胞功能耗竭的主要表现是其表面分子标志物NKG2D、PD-1及Tim-3水平的异常。PD-1及其配体程序性死亡配体-1(PD-L1)信号通路能抑制T细胞分泌细胞因子和细胞增殖,影响T细胞的正常免疫功能<sup>[27]</sup>。Tim-3作为一种I型跨膜蛋白,是免疫负调节因子,在耗竭的CD8<sup>+</sup>T细胞亚群中高表达,通过抑制T细胞功能参与调控T细胞耗竭。耗竭的CD8<sup>+</sup>T细胞上表达抑制受体Tim-3,而阻断Tim-3能恢复耗竭的CD8<sup>+</sup>T细胞功能<sup>[24]</sup>。NKG2D作为共刺激体,在CD8<sup>+</sup>T细胞中需协同TCR信号激活,使细胞毒性效应限制在适当的周围靶标<sup>[28]</sup>。因此,CD8<sup>+</sup>T细胞表面的NKG2D、PD-1及Tim-3水平变化能反映CD8<sup>+</sup>T细胞功能耗竭。本研究中,与对照组比较,各HBV感染组的PD-1、Tim-3水平更高,NKG2D水平更低,且与慢性乙型肝炎组比较,代偿期肝硬化组及肝细胞癌组的PD-1、Tim-3水平依次升高,NKG2D水平降低;Pearson相关性分析显示, MagT1 mRNA表达与CD8<sup>+</sup>T细胞表面分子PD-1、Tim-3呈负相关,与NKG2D呈正相关,说明HBV感染过程中出现了CD8<sup>+</sup>T细胞功能耗竭,这可能与MagT1下降介导的Mg<sup>2+</sup>内流障碍有关。近年研究表明, MagT1介导的Mg<sup>2+</sup>内流通过两条关键途径调控CD8<sup>+</sup>T细胞功能:(1)Mg<sup>2+</sup>作为TCR激活的共刺激信号,能增强70 kDa ζ链关联蛋白激酶磷酸化,促进下游PLCγ1活化,进而分别激活NF-κB和活化T细胞核因子(NFAT)两条信号通路,协同促进IL-2分泌;(2)Mg<sup>2+</sup>作为三磷酸腺苷酶的必需辅助因子,其内流障碍直接削弱线粒体氧化磷酸化效率<sup>[29-31]</sup>,导致CD8<sup>+</sup>T细胞的糖酵解产能不

足。这种代谢缺陷与PD-1上调共同加剧了T细胞耗竭。

综上所述,HBV感染者存在外周血CD8<sup>+</sup>T细胞中MagT1 mRNA水平下降情况,且其MagT1 mRNA水平与血清HBV DNA水平呈正相关;MagT1 mRNA水平的降低可能引起Mg<sup>2+</sup>内流障碍,造成CD8<sup>+</sup>T细胞的功能耗竭,最终导致病毒持续感染和疾病进展。基于本研究发现的MagT1-Mg<sup>2+</sup>轴调控机制与既往证据,靶向干预该通路可能为慢性HBV治疗提供新策略。具体研究方向包括:(1)开发MagT1特异性激动剂以恢复T细胞功能;(2)设计Mg<sup>2+</sup>纳米载体实现肝脏靶向递送;(3)建立基于MagT1表达水平的个体化免疫治疗方案。本研究的局限性在于单中心研究,肝细胞癌组的样本量受限可能影响次要指标(如NKG2D)的统计效力。未来需多中心合作扩大样本量,并开展纵向研究验证MagT1的动态变化。

**伦理学声明:**本研究于2024年5月27日由唐山市工人医院伦理委员会审批,批号:[2024]伦审研临第(048)号,患者均签署知情同意书。

**利益冲突声明:**本文不存在任何利益冲突。

**作者贡献声明:**刘洋负责拟定写作思路,设计论文框架,撰写文章并最后定稿;林晓娥负责实验操作,研究过程的实施;孙如静、杨福玲负责样本数据收集,统计学分析和绘制图表;李树义负责制定研究方案,收集资料,数据分析与整理。

## 参考文献:

- [1] JIA HY, LIU KZ. Antiviral therapy for patients in the immune-tolerant phase of chronic HBV infection is beneficial for preventing liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma[J]. J Clin Hepatol, 2021, 37(5): 1024-1025. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2021.05.007.  
贾红宇, 刘克洲. 慢性HBV感染免疫耐受期抗病毒治疗有益于预防肝硬化和肝癌的发生[J]. 临床肝胆病杂志, 2021, 37(5): 1024-1025. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2021.05.007.
- [2] HSU YC, HUANG DQ, NGUYEN MH. Global burden of hepatitis B virus: Current status, missed opportunities and a call for action[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2023, 20(8): 524-537. DOI: 10.1038/s41575-023-00760-9.
- [3] CUI FQ, BLACH S, MANZENGO MINGIEDI C, et al. Global reporting of progress towards elimination of hepatitis B and hepatitis C[J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2023, 8(4): 332-342. DOI: 10.1016/S2468-1253(22)00386-7.
- [4] ZHANG L, FAN ZF, LIU DW, et al. Trend analysis on the disease burden related to cirrhosis and other chronic liver diseases caused by hepatitis B, in China, from 1990 to 2016[J]. Chin J Epidemiol, 2020, 41(2): 173-177. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2020.02.007.  
张露, 范志芳, 刘殿武, 等. 1990—2016年中国乙型肝炎引起的肝硬化及其他慢性肝病疾病负担变化趋势分析[J]. 中华流行病学杂志, 2020, 41(2): 173-177. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2020.02.007.
- [5] SPONDER G, SVIDOVA S, SCHINDL R, et al. Lpe10p modulates the activity of the Mrs2p-based yeast mitochondrial Mg<sup>2+</sup> channel[J]. FEBS J,

- 2010, 277(17): 3514-3525. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2010.07761.x.
- [6] GOYTAIN A, HINES RM, QUAMME GA. Huntingtin-interacting proteins, HIP14 and HIP14L, mediate dual functions, palmitoyl acyl-transferase and Mg<sup>2+</sup> transport[J]. J Biol Chem, 2008, 283(48): 33365-33374. DOI: 10.1074/jbc.M801469200.
- [7] MO Q, YUAN Z, NING L, et al. miR-199a-5p targeted regulation of MAGT1 expression in the functional depletion of CD8<sup>+</sup>T cells in HBV infection[J]. Magnes Res, 2020, 33(3): 58-67. DOI: 10.1684/mrh.2020.0469.
- [8] YUAN ZL, HOU W. Study on the molecular mechanism of MagT1 regulating activated T cell in chronic hepatitis virus infection[J]. Mil Med J South China, 2019, 33(4): 238-242. DOI: 10.13730/j.issn.1009-2595.2019.04.004.  
袁紫林, 侯炜. 慢性HBV感染中MagT1调节活化T细胞功能的分子机制研究[J]. 华南国防医学杂志, 2019, 33(4): 238-242. DOI: 10.13730/j.issn.1009-2595.2019.04.004.
- [9] Expert Group for Project of Hepatocellular Carcinoma Screening and Surveillance, Chinese Foundation for Hepatitis Prevention and Control. Screening and surveillance for hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B virus infection[J]. J Pract Hepatol, 2021, 24(6): 776-785. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5069.2021.06.004.  
中国肝炎防治基金会肝细胞癌筛查和监测项目专家组. 慢性乙型肝炎病毒感染患者肝细胞癌筛查和监测[J]. 实用肝脏病杂志, 2021, 24(6): 776-785. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5069.2021.06.004.
- [10] XIE YD, FENG B, RAO HY. Interpretation of guidelines for the prevention and treatment of chronic hepatitis B (2022 edition) [J]. J Clin Hepatol, 2023, 39(7): 1553-1559. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2023.07.007.  
谢艳迪, 封波, 饶慧瑛. 《慢性乙型肝炎防治指南(2022年版)》解读[J]. 临床肝胆病杂志, 2023, 39(7): 1553-1559. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2023.07.007.
- [11] Chinese Society of Hepatology, Chinese Medical Association. Chinese guidelines on the management of liver cirrhosis[J]. J Clin Hepatol, 2019, 35(11): 2408-2425. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2019.11.006.  
中华医学会肝病学分会. 肝硬化诊治指南[J]. 临床肝胆病杂志, 2019, 35(11): 2408-2425. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2019.11.006.
- [12] General Office of National Health Commission. Standard for diagnosis and treatment of primary liver cancer (2022 edition) [J]. J Clin Hepatol, 2022, 38(2): 288-303. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2022.02.009.  
国家卫生健康委办公厅. 原发性肝癌诊疗指南(2022年版)[J]. 临床肝胆病杂志, 2022, 38(2): 288-303. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2022.02.009.
- [13] LIN XE, WU JH, WANG N, et al. The effect of Mg<sup>2+</sup> transporter 1 expression level on CD8<sup>+</sup>T cell exhaustion in patients with chronic hepatitis B virus infection[J]. J Prac Med, 2019, 35(13): 2070-2073, 2077. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2019.13.009.  
林晓娥, 吴景华, 王宁, 等. 慢性乙型肝炎病毒感染者Mg<sup>2+</sup>转运蛋白1表达水平对CD8<sup>+</sup>T细胞耗竭的影响[J]. 实用医学杂志, 2019, 35(13): 2070-2073, 2077. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2019.13.009.
- [14] TSAI KN, KUO CF, OU JJ. Mechanisms of hepatitis B virus persistence[J]. Trends Microbiol, 2018, 26(1): 33-42. DOI: 10.1016/j.tim.2017.07.006.
- [15] LIN HY, WANG LH, LIN HX, et al. Relationship between polymorphisms of p53 pathway genes and postoperative virus activation in patients with HBV infection related hepatocellular carcinoma[J]. Chin J Nosocomiology, 2022, 32(10): 1473-1477. DOI: 10.11816/cn.ni.2022-211372.  
林海燕, 王丽华, 林红霞, 等. p53通路基因多态性与HBV感染相关肝细胞癌患者术后病毒激活的关联[J]. 中华医院感染学杂志, 2022, 32(10): 1473-1477. DOI: 10.11816/cn.ni.2022-211372.
- [16] WU Y, LIU Z, ZHANG R, et al. Relationship of refeeding syndrome with cellular immune function and nosocomial death in severe emergency patients[J]. Zhejiang Med J, 2022, 44(22): 2394-2399, 2423. DOI: 10.12056/j.issn.1006-2785.2022.44.22.2022-531.  
邬媛, 刘仲, 张茹, 等. 再喂养综合征与急诊重症患者细胞免疫功能以及

- 院内死亡的关系分析[J]. 浙江医学, 2022, 44(22): 2394-2399, 2423. DOI: 10.12056/j.issn.1006-2785.2022.44.22.2022-531.
- [17] FRITZEN R, DAVIES A, VEENHUIZEN M, et al. Magnesium deficiency and cardiometabolic disease[J]. *Nutrients*, 2023, 15(10): 2355. DOI: 10.3390/nu15102355.
- [18] MATSUDA-LENNIKOV M, BIANCALANA M, ZOU J, et al. Magnesium transporter 1 (MAGT1) deficiency causes selective defects in N-linked glycosylation and expression of immune-response genes[J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(37): 13638-13656. DOI: 10.1074/jbc.RA119.008903.
- [19] GOLLOSHI K, MITCHELL W, KUMAR D, et al. HLH and recurrent EBV lymphoma as the presenting manifestation of MAGT1 deficiency: A systematic review of the expanding disease spectrum[J]. *J Clin Immunol*, 2024, 44(7): 153. DOI: 10.1007/s10875-024-01749-y.
- [20] WANG JC, ZHOU M, ZHOU JF, et al. Monozygotic twins with MAGT1 deficiency and Epstein-Barr virus-positive classic Hodgkin lymphoma receiving anti-CD30 CAR T-cell immunotherapy: A case report[J]. *J Clin Immunol*, 2024, 44(4): 91. DOI: 10.1007/s10875-024-01690-0.
- [21] KAUSKOT A, MALLEBRANCHE C, BRUNEEL A, et al. MAGT1 deficiency in XMEN disease is associated with severe platelet dysfunction and impaired platelet glycoprotein N-glycosylation[J]. *J Thromb Haemost*, 2023, 21(11): 3268-3278. DOI: 10.1016/j.jtha.2023.05.007.
- [22] LI FY, LENARDO MJ, CHAIGNE-DELALANDE B. Loss of MAGT1 abrogates the Mg<sup>2+</sup> flux required for T cell signaling and leads to a novel human primary immunodeficiency[J]. *Magn Res*, 2011, 24(3): 109-114. DOI: 10.1684/mrh.2011.0286.
- [23] XU DQ, FU HH, OBAR JJ, et al. A potential new pathway for PD-L1 co-stimulation of the CD8-T cell response to *Listeria monocytogenes* infection[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e56539. DOI: 10.1371/journal.pone.0056539.
- [24] DUCKER CE, STETTLER EM, FRENCH KJ, et al. Huntingtin interacting protein 14 is an oncogenic human protein: Palmitoyl acyltransferase[J]. *Oncogene*, 2004, 23(57): 9230-9237. DOI: 10.1038/sj.onc.1208171.
- [25] SCHINDL R, WEGHUBER J, ROMANIN C, et al. Mrs2p forms a high conductance Mg<sup>2+</sup> selective channel in mitochondria[J]. *Biophys J*, 2007, 93(11): 3872-3883. DOI: 10.1529/biophysj.107.112318.
- [26] HUANG QZ, WU X, WANG ZM, et al. The primordial differentiation of tumor-specific memory CD8<sup>+</sup> T cells as bona fide responders to PD-1/PD-L1 blockade in draining lymph nodes[J]. *Cell*, 2022, 185(22): 4049-4066. e25. DOI: 10.1016/j.cell.2022.09.020.
- [27] DIXON KO, LAHORE GF, KUCHROO VK. Beyond T cell exhaustion: TIM-3 regulation of myeloid cells[J]. *Sci Immunol*, 2024, 9(93): eadf2223. DOI: 10.1126/sciimmunol.adf2223.
- [28] MOJIC M, SHITAOKA K, OHSHIMA C, et al. NKG2D defines tumor-reacting effector CD8<sup>+</sup> T cells within tumor microenvironment[J]. *Cancer Sci*, 2021, 112(9): 3484-3490. DOI: 10.1111/cas.15050.
- [29] KANELLOPOULOU C, GEORGE AB, MASUTANI E, et al. Mg<sup>2+</sup> regulation of kinase signaling and immune function[J]. *J Exp Med*, 2019, 216(8): 1828-1842. DOI: 10.1084/jem.20181970.
- [30] LÖTSCHER J, MARTÍ I LÍNDEZ AA, KIRCHHAMMER N, et al. Magnesium sensing via LFA-1 regulates CD8<sup>+</sup> T cell effector function[J]. *Cell*, 2022, 185(4): 585-602. e29. DOI: 10.1016/j.cell.2021.12.039.
- [31] TOMITA A, ZHANG MF, JIN F, et al. ATP-dependent modulation of MgtE in Mg<sup>2+</sup> homeostasis[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 148. DOI: 10.1038/s41467-017-00082-w.

收稿日期: 2025-06-22; 录用日期: 2025-08-05

本文编辑: 刘晓红

引证本文: LIU Y, LIN XE, SUN RJ, et al. The mRNA expression of magnesium transporter 1 in CD8<sup>+</sup> T cells and its correlation with HBV DNA in patients with chronic HBV infection[J]. *J Clin Hepatol*, 2025, 41(11): 2265-2271. 刘洋, 林晓娥, 孙如静, 等. 慢性HBV感染者CD8<sup>+</sup>T细胞中Mg<sup>2+</sup>转运蛋白1 mRNA的表达及其与HBV DNA的相关性分析[J]. *临床肝胆病杂志*, 2025, 41(11): 2265-2271.

·消息·

## 《临床肝胆病杂志》在2025年度中国高校科技期刊评选中斩获多项荣誉

2025年11月6—9日,中国高校科技期刊研究会第29次年会于陕西省西安市召开,会上公布多项案例评选和基金立项结果,《临床肝胆病杂志》编辑部获评“2025年度中国高校科技期刊建设示范案例库·优秀团队”,邢翔宇获评“2025年度中国高校科技期刊建设示范案例库·优秀编辑”。

“2025年度中国高校科技期刊建设示范案例库”遴选工作由中国高校科技期刊研究会启动,旨在进一步强化示范引领作用,助力高校科技期刊实现高质量发展。此项评选程序严谨,经单位推荐、专家评分、第三方数据加权分析等多轮审核及公示后,最终确定示范案例入选名单。

《临床肝胆病杂志》编辑部

2025年11月25日