

# 阿德福韦酯对慢性乙型肝炎肝硬化患者细胞免疫功能的影响<sup>\*</sup>

王汝刚, 浦春文, 周 伟

(大连市第六人民医院, 辽宁 大连 116031)

**[摘 要]** 目的: 探讨阿德福韦酯对慢性乙型肝炎肝硬化患者细胞免疫功能的影响。方法: 104例慢性乙型肝炎肝硬化患者, 分为代偿期组( $n=56$ )和失代偿期组( $n=48$ ), 两组患者在对症治疗同时均给予阿德福韦酯抗病毒治疗(10 mg/次, 1次/d, 24周), 分别于治疗前和治疗24周时检测两组患者血清HBV DNA水平、HBsAg、HBeAg、HBcAb、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、白蛋白(Abl)及T细胞免疫功能相关指标CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>水平和CD4<sup>+</sup>CXCR5<sup>+</sup>滤泡性辅助性T细胞(TFH)、白细胞介素(IL)-2和干扰素(IFN)- $\gamma$ 水平, 探讨阿德福韦酯对慢性乙型肝炎肝硬化患者细胞免疫功能的影响。结果: 治疗前两组患者的HBV DNA水平和HBsAg、HBeAg、HBcAb均阳性比例、T细胞免疫功能比较, 差异均无统计学意义( $P>0.05$ ); 治疗后两组HBV DNA定量水平和HBsAg、HBeAg、HBcAb均阳性比例均明显低于治疗前( $P<0.05$ ), 治疗后代偿期组ALT和Abl改善水平显著高于失代偿期组( $P<0.05$ ); 两组CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>水平均高于治疗前, CD8<sup>+</sup>水平较前降低( $P<0.05$ ); CD4<sup>+</sup>CXCR5<sup>+</sup>TFH、IL-2和IFN- $\gamma$ 水平均较前升高( $P<0.05$ ); 但治疗后两组同指标比较, 差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。结论: 阿德福韦酯可以提高代偿期和失代偿期慢性乙型肝炎肝硬化患者的T淋巴细胞免疫功能, 可能与病毒转阴和肝功能改善有关。

**[关键词]** 阿德福韦酯; 慢性乙型肝炎肝硬化; 病毒转阴率; 滤泡性辅助性T细胞

**[中图分类号]** R575 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2016)03-0322-04

## Influence of Adefovir Dipivoxil on T Cell Immune Function of CHB Liver Cirrhosis

WANG Rugang, PU Chunwen, ZHOU Wei

(Dalian Sixth People's Hospital, Dalian 116031, Liaoning, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the efficacy of adefovir dipivoxil on IL-2 and IFN- $\gamma$  level change of CHB liver cirrhosis. **Methods:** A total of 104 CHB patients were divided into 56 cases of compensated cirrhosis group and 48 cases of decompensation group. Both groups received adefovir dipivoxil 10 mg/per day for 24 weeks. Serum HBV DNA level, HBsAg, HBeAg, HBcAb, ALT, Abl, T cell immune function relevant index CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup>CXCR5<sup>+</sup>TFH, IL-2 and IFN- $\gamma$  level were tested before and after 24 weeks of treatment; observing HBeAG before and after treatment (HBsAg, HBeAg, HBcAb all converted from positive to negative). **Results:** HBV DNA Quantitative levels after operation and HBsAg, HBeAg, HBcAb presented as positive proportion, which was significantly lower than before treatment( $P<0.05$ ); the ALT and Abl level in compensated group was significantly higher than decompensation group( $P<0.05$ ); CD4<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> value in both groups were both higher and CD8<sup>+</sup> value was lower after treatment( $P<0.05$ ). CD4<sup>+</sup>CXCR5<sup>+</sup>TFH, IL-2 and IFN- $\gamma$  levels in both groups all increased after treatment( $P>0.05$ ). Comparing indexes of both groups, differences were not statistically significant( $P>0.05$ ). **Conclusion:** adefovir dipivoxil can improve the immune function of T lymphocytes in compensated and decompensated chronic hepatitis B liver cirrhosis patients, which may be related to virus conversion and improvement of liver function.

<sup>\*</sup>[基金项目] 辽宁省科技厅博士启动基金(20131024)

网络出版时间: 2016-03-17 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20160317.1035.030.html>

fovir dipivoxil can improve T cell immune function in patients in different stages of liver cirrhosis, which may be related to virus clearance and liver function improvement.

[ **Key words** ] adefovir dipivoxil; chronic hepatitis B cirrhosis; virus clearance rate; T follicular helper cells

核苷酸类似物阿德福韦酯治疗慢性乙型病毒性肝炎的疗效明确,除可直接干预病毒 DNA 转录外,还可能参与了调节机体免疫功能;同时,阿德福韦酯还可以提高慢性乙型病毒性肝炎患者机体 CD4<sup>+</sup> 和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 水平,降低 CD8<sup>+</sup> 水平,对抗病毒和逆转肝纤维化<sup>[1-2]</sup>。孙学华等<sup>[3]</sup>报道阿德福韦酯治疗慢性乙型肝炎患者后 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞亚群表达频率增加。白细胞介素-2 (interleukin-2, IL-2) 和干扰素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 是 T 细胞分泌的细胞因子,参与细胞免疫功能的调节<sup>[3]</sup>。本研究比较阿德福韦酯治疗 104 例慢性乙型肝炎肝硬化患者治疗前后血清 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 水平和 CD4<sup>+</sup> CXCR5<sup>+</sup> 滤泡性辅助性 T 细胞 (TFH)、IL-2 和 IFN- $\gamma$  水平变化,并分为代偿期和失代偿期进行比较,探讨阿德福韦酯对慢性乙型肝炎肝硬化患者 T 淋巴细胞免疫功能的影响。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

2013 年 10 月~2014 年 10 月入院治疗的 104 例慢性乙型肝炎肝硬化患者,诊断标准参照 2010 年中华医学会肝病学分会感染病学分会联合修订的《慢性乙型肝炎防治指南》<sup>[5]</sup>。纳入标准:(1)年龄 $\geq 18$ 岁, $< 75$ 岁;(2)符合肝硬化和分期标准;(3)首次进行抗病毒治疗。排除非乙型病毒性肝硬化,乙肝合并酒精性或自身免疫性肝病等,或进展为肝癌;合并严重心、肝、肾等脏器功能障碍,阿德福韦酯不耐受或耐药;依从性差、随访资料不完善及拒绝纳入研究患者。所有患者按照肝脏疾病的分期,分为代偿期组和失代偿期组。代偿期组 56 例,男性 30 例,女性 26 例,年龄 37~66 岁,平均  $(49.8 \pm 10.3)$  岁;乙肝病程 1 月~10 年,平均  $(3.2 \pm 0.6)$  年。失代偿期组 48 例,男性 25 例,女性 23 例,年龄 36~74 岁,平均  $(50.2 \pm 12.2)$  岁;乙肝病程 6 月~13 年,平均  $(3.9 \pm 1.2)$  年。两组患者的性别、年龄和乙肝病程比较,差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。所有患者均给予对症治疗,血红蛋白 (Hb)  $< 60$  g/L 时,采用输血治疗;严重低蛋白血症采用外源性白蛋白补充,同时给予保肝降酶、注意

休息和饮食等。两组患者同时给予阿德福韦酯 (正大天晴医药有限公司,10 mg/次,1 次/d,24 周) 抗病毒治疗。

### 1.2 方法

于治疗前和治疗后 24 周时分别采取患者外周静脉血 5 mL,3 000 r/min 离心 10 min,取上层血清置于  $-80$  °C 冰箱中保存集中送检。HBV DNA 水平检测采用荧光定量聚合酶链反应法,试剂盒系中山大学达安基因股份有限公司产品。乙肝表面抗原 (HBsAg)、乙肝 e 抗原 (HBeAg) 及乙肝 c 抗体 (HBcAb) 采用 ELISA 法进行检测,试剂盒购自厦门英科新创科技有限公司。丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 及白蛋白 (Abl) 采用 OLYMPUS 全自动生化分析仪进行检测。CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 水平和 CD4<sup>+</sup> CXCR5<sup>+</sup> TFH、IL-2 和 IFN- $\gamma$  采用美国 BECKMANCOULTER 公司 EPICS XL 型流式细胞分析仪和软件 SYSTEM II 检测。

### 1.3 统计学方法

数据采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析,计量数据采用均数 $\pm$ 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,组间比较采用  $t$  检验,计数资料采用例数或百分比 (%) 表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验; $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 HBV DNA、HBsAg、HBeAg 及 HBcAb 检测

两组慢性乙型肝炎肝硬化患者血清 HBV DNA 水平和 HBsAg、HBeAg、HBcAb 均阳性比例,治疗前比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ );治疗后两组明显低于治疗前,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),而治疗后两组同指标比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 1。两组慢性乙型肝炎肝硬化患者治疗后 ALT 水平降低而 Abl 升高,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ );代偿期组 ALT 和 Abl 改善水平显著高于失代偿期组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

### 2.2 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> CXCR5<sup>+</sup> TFH、IL-2 和 IFN- $\gamma$ 水平

治疗前两组患者 T 细胞免疫功能差异均无统

计学意义 ( $P > 0.05$ ), 治疗后两组  $CD4^+$ 、 $CD4^+ / CD8^+$  水平均高于治疗前,  $CD8^+$  水平较前降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 两组治疗后  $CD4^+$

CXCR5 + TFH、IL-2 及 IFN- $\gamma$  水平较治疗前升高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 而治疗后两组同指标比较, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 1。

表 1 两组患者 HBsAg、HBeAg、HBcAb、HBV DNA、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 、 $CD4^+ / CD8^+$ 、 $CD4^+$  + CXCR5 + TFH、IL-2 和 IFN- $\gamma$  检测

Tab. 1 Test of both groups on HBsAg, HBeAg, HBcAb, HBV DNA,  $CD4^+$ ,  $CD8^+$ ,  $CD4^+ / CD8^+$ ,  $CD4^+$  + CXCR5 + TFH, IL-2 and IFN- $\gamma$

指标	代偿期组		失代偿期组	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
HBV DNA( $10^7/L$ )	23.4 $\pm$ 5.2	2.2 $\pm$ 0.3 <sup>(1)</sup>	23.6 $\pm$ 6.3	2.5 $\pm$ 0.4 <sup>(1)</sup>
HBsAg、HBeAg、HBcAb 均阳性( $n, \%$ )	49(87.5)	11(19.6) <sup>(1)</sup>	45(93.8)	12(25.0) <sup>(1)</sup>
ALT(U/L)	46.5 $\pm$ 4.7	36.5 $\pm$ 3.3 <sup>(1)</sup>	77.8 $\pm$ 6.9	69.2 $\pm$ 5.4 <sup>(1)</sup>
Abl(g/L)	43.7 $\pm$ 6.2	60.2 $\pm$ 5.2 <sup>(1)</sup>	22.5 $\pm$ 3.4	35.4 $\pm$ 3.9 <sup>(1)</sup>
$CD4^+$	32.4 $\pm$ 3.2	41.5 $\pm$ 4.3 <sup>(1)</sup>	30.5 $\pm$ 3.1	39.8 $\pm$ 3.8 <sup>(1)</sup>
$CD8^+$	26.8 $\pm$ 3.6	21.4 $\pm$ 2.5 <sup>(1)</sup>	27.7 $\pm$ 3.4	19.9 $\pm$ 2.4 <sup>(1)</sup>
$CD4^+ / CD8^+$	1.3 $\pm$ 0.3	2.4 $\pm$ 0.5 <sup>(1)</sup>	1.1 $\pm$ 0.2	2.2 $\pm$ 0.4 <sup>(1)</sup>
$CD4^+$ + CXCR5 + TFH( $\%$ )	21.6 $\pm$ 4.2	29.7 $\pm$ 3.6 <sup>(1)</sup>	18.8 $\pm$ 3.7	26.5 $\pm$ 3.2 <sup>(1)</sup>
IL-2( $\mu g/L$ )	45.7 $\pm$ 6.9	89.6 $\pm$ 10.2	43.2 $\pm$ 6.3	85.5 $\pm$ 11.3 <sup>(1)</sup>
IFN- $\gamma$ (ng/L)	67.8 $\pm$ 14.5	102.4 $\pm$ 22.5 <sup>(1)</sup>	63.4 $\pm$ 15.3	93.7 $\pm$ 20.3 <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> 与同组治疗前比较,  $P < 0.05$

### 3 讨论

慢性乙型肝炎合并肝硬化的发病机制较为复杂,除了病毒本身的致病作用外,机体免疫功能紊乱也发挥重要作用。免疫应答既可清除病毒,亦可导致肝细胞免疫损伤,甚至病毒变异。有研究显示 T 淋巴细胞亚群的平衡在机体清除 HBV 过程中起重要作用<sup>[5]</sup>。 $CD4^+$  T 淋巴细胞识别 MHC II 类分子所提呈的外源性抗原肽,活化后主要分化为 Th 细胞。 $CD8^+$  T 淋巴细胞识别 MHC I 类分子所提呈的内源性抗原肽,活化后主要分化为 CTL 细胞。机体感染乙肝病毒后,病毒在宿主细胞内复制,产生病毒蛋白,细胞内的 MHC I 类分子选择性地与之结合形成复合物,此复合物被 T 淋巴细胞特异性抗原识别,激活  $CD8^+$  T 淋巴细胞细胞,导致肝细胞破坏;同时  $CD4^+$  T 淋巴细胞通过其表面的 MHC II 类分子介导 B 淋巴细胞激活,促进 B 淋巴细胞产生抗-HBs,从而清除 HBV。这是 HBV 引起肝细胞损伤的主要原因,也是宿主清除细胞内病毒的主要机制。宿主外周血 T 淋巴细胞亚群  $CD4^+$ 、 $CD8^+$  细胞水平和  $CD4^+ / CD8^+$  的比值反映着机体的细胞免疫状态。慢性乙型肝炎患者外周血 T 细胞亚群的改变体现了患者细胞免疫的免疫病理学改变<sup>[6]</sup>。最近研究证明滤泡性辅助性 T 细胞是辅

助 B 细胞产生抗体的主要 T 细胞亚群,其定位于淋巴滤泡并与 B 细胞共定位和相互作用,通过持续表达 CXCR5/ICOS/PD-1 等膜表面分子和产生 IL-21 等细胞因子辅助 B 细胞参与体液免疫反应<sup>[7]</sup>。阿德福韦酯为嘌呤类衍生物,口服后在体内迅速被酯酶水解为游离阿德福韦,进入门静脉和全身循环,在细胞激酶的作用下被磷酸化为有活性的代谢产物即阿德福韦二磷酸盐,它与自然底物脱氧腺苷三磷酸竞争抑制 HBV DNA 多聚酶活性,且整合到病毒 DNA 链中,终止 DNA 链的合成抑制病毒复制。另外阿德福韦可诱导内生性干扰素,增加自然杀伤细胞活力和刺激机体免疫反应,具有较强的抗 HBV 作用,对失代偿期肝硬化患者是一种安全有效的药物<sup>[8-9]</sup>。本研究中转阴率定义为 HBsAg、HBeAg、HBcAb 均阳性转为均阴性,是因为 HBsAg、HBeAg、HBcAb 均阳性在病毒学转阴方面可能更有意义<sup>[4]</sup>。

辅助性 T 细胞(Th)的主要表面标志物为  $CD4^+$ ,在免疫反应中扮演中间角色,可通过增生、扩散等方式激活其他类型 T 细胞产生直接免疫反应。Th1 细胞主要介导细胞免疫反应,可分泌多种细胞因子如 IL-2、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\beta$  等,共同调节抗原提呈、活化巨噬细胞、移植器官排斥反应和诱导自身免疫性疾病中发挥重要作用。本研究结果显示两组的病毒转阴率比较,差异无统计学意义,代偿

期组 ALT 降低水平和 Alb 升高水平显著高于失代偿期组 ( $P < 0.05$ )。两组治疗后  $CD4^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$  水平均高于治疗前,  $CD8^+$  水平较治疗前降低 ( $P < 0.05$ )。两组治疗后  $CD4 + CXCR5 + TFH$  水平、IL-2 和 IFN- $\gamma$  水平较前升高 ( $P < 0.05$ )。说明阿德福韦酯可以提高代偿期和失代偿期慢性乙型肝炎肝硬化患者的 T 淋巴细胞免疫功能, 可能与病毒转阴和肝功能改善有关。

## 4 参考文献

- [1] 黄燕. T 淋巴细胞亚群水平对阿德福韦酯治疗慢性乙型肝炎疗效的影响[D]. 广西: 广西医科大学硕士论文, 2011.
- [2] 李金明, 谢南, 吴兆文, 等. 阿德福韦酯联用拉米夫定对慢性乙肝的病毒复制和 T 细胞亚群的影响[J]. 实验与检验医学, 2011(6): 611 – 614.
- [3] 孙学华, 刘巧丽, 李曼, 等. 慢性乙型肝炎患者  $CD4 +$  和  $CD8 + T$  细胞亚群的研究[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2011(5): 545 – 547.
- [4] 程丹, 熊承良, 李洁, 等. 不同质量精液精浆中细胞因子 IL-2, IL-6, TNF- $\alpha$  水平和氧化应激的关系[J]. 中华腔镜泌尿外科杂志, 2013(2): 144 – 147.
- [5] 中华医学会肝病学会. 中华医学会感染病分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010 版)[J]. 中华内科杂志, 2011(2): 168 – 179.
- [6] 葛金华, 曾祥铨, 连豫苞. 阿德福韦酯治疗 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎患者外周血 T 细胞亚群的变化[J]. 实用肝脏病杂志, 2012(6): 566 – 567.
- [7] 刘君, 周容仲. 贞芪扶正胶囊联合阿德福韦对慢性乙肝患者细胞免疫功能及抑制 HBV 复制的影响[J]. 海南医学院学报, 2015(2): 181 – 187.
- [8] 冯俊燕. 滤泡性辅助性 T 细胞在慢性肝炎患者中的表达及其机制研究[D]. 吉林: 吉林大学硕士论文, 2012.
- [9] Monavari SH, Kewani H, Mollaie H, et al. Detection of N236T mutation associated with adefovirdipivoxil resistance in Hepatitis B infected patients with YMDD mutations in Tehran[J]. Iran J Microbiol, 2013(1): 76 – 80.
- [10] Moon W, Choi MS, Moon YM, et al. Efficacy and safety of adefovir dipivoxil in patients with decompensated liver cirrhosis with Lamivudine resistance compared to patients with compensated liver disease[J]. Korean J Hepatol, 2005(2): 125 – 134.
- [11] 许秀雯, 李莹, 童绍勇, 等. 宿主免疫系统 IL-2, TNF- $\alpha$  基因启动子多态性与丙型肝炎病毒慢性感染的相关性研究[J]. 贵阳医学院学报, 2015(6): 571 – 575, 587.
- [12] 张龙, 褚燕君, 林姝, 等. 不同血清 25 羟维生素 D 水平慢性乙型病毒性肝炎患者外周血 T 淋巴细胞亚群的比较[J]. 世界华人消化杂志, 2015(2): 35 – 37.
- [13] 朱银芳, 顾锡炳, 蒋亦明, 等. HBeAg 阴性的慢性乙型病毒性肝炎外周血 T 细胞亚群的变化[J]. 现代中西医结合杂志, 2011(21): 2625 – 2626.

(2015-12-05 收稿, 2016-02-23 修回)

中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 赵毅

### 关于医学符号的使用

统计学符号不论用哪种字母, 也不论大写或小写一律都用斜体。要注意区分拉丁字母和希腊字母。例如均数的符号是字母  $\bar{x}$ , 卡方的符号是希腊字母  $\chi^2$ , 自由度的符号是希腊文“ $\nu$ ”, 不是拉丁文“V”。样本的相关系数是英文“ $r$ ”, 不能误为希腊文“ $\gamma$ ”。

化学元素及核素在医学写作时一般多采用符号, 都是拉丁字母正体大写。离子态是在右上角用数字加“ $-$ ”或“ $+$ ”表示。例如  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $P^{3-}$  等等, 不采用  $Ca^{++}$ ,  $P^{---}$ ,  $Al^{+3}$ ,  $O^{-2}$  表示; 核素的核子素(质量数)应写在元素符号的左上角, 例如:  $^{131}I$ ,  $^{32}P$ ; 表示激发状态的  $m$  写在右上角, 例如:  $^{99}Tc^m$ ,  $^{133}In^m$ 。在科技论文和专著中不应写核素的中文名称, 即不能写成  $^{131}$  碘、 $^{133m}$  钨、 $^{32}P$ 、 $Tc^{99m}$ 。

近几年分子生物学发展很快, 并已渗透到许多学科, 大多数分子生物学名词术语的符号已有统一的确定形式, 要对符号的来源及其内涵有深刻的了解, 才能在使用时不致发生错误, 例如: RNA 有 rRNA(ribosomal RNA)、tRNA(transfer RNA)、mRNA(messenger RNA) 3 类。r、t、m 是表示类型的符号应小写, RNA 应大写。

《贵阳医学院学报》编辑部