

# 阿德福韦治疗对慢性乙型肝炎患者 Th 细胞相关细胞因子水平及 HBV DNA 的影响

马 萍<sup>1</sup>, 宋诗铎<sup>1</sup>, 王 磊<sup>2</sup>

(1 天津医科大学第二医院, 天津 300211; 2 山东大学第二附属医院, 山东 济南 250012)

**[摘要]** **目的** 观察乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)阳性慢性乙型肝炎患者阿德福韦治疗前后不同时相血清干扰素(IFN)- $\gamma$ 和白细胞介素(IL)-4 的水平, 以及其与乙型肝炎病毒(HBV)DNA 定量的关系, 以探讨阿德福韦治疗对机体免疫状态的影响。**方法** 采集 30 例阿德福韦治疗前及治疗 16 周、52 周和 132 周患者的血清, 其中完全应答组 14 例, 部分应答组 16 例; 另设健康对照组 10 例。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 IFN- $\gamma$  和 IL-4 水平; HBV DNA 定量检测, 采用罗氏 COBAS AMPLICOR HBV MONITOR 检测, 下限为  $10^3$  拷贝/mL, 由美国 MDS 公司北京临床实验室给予检测。**结果** 完全应答组在治疗前及治疗 16 周, IFN- $\gamma$  水平均显著高于部分应答组( $P < 0.05$ )及对照组( $P < 0.05$ ), 部分应答组与对照组之差异无显著性( $P > 0.05$ ); 完全应答组 IL-4 水平在治疗后逐渐下降, 部分应答组变化不大。各组在治疗前, HBV DNA 水平与 IFN- $\gamma$  及 IL-4 水平均无明显相关性; 在治疗 16 周, HBV DNA 水平均明显下降, 此时完全应答组 IFN- $\gamma$  升高程度显著高于部分应答组( $P < 0.05$ ); 完全应答组 IL-4 水平逐渐下降, 部分应答组下降不明显。**结论** 经阿德福韦治疗后, 慢性乙型肝炎患者细胞免疫应答有一定程度恢复, 其恢复程度与治疗后 HBV DNA 定量下降幅度呈正相关。

**[关键词]** 肝炎, 乙型, 慢性; 乙型肝炎 e 抗原; 阿德福韦; 干扰素- $\gamma$ ; 白细胞介素-4; 乙型肝炎病毒; HBV DNA  
**[中图分类号]** R512.6<sup>+</sup>2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2011)01-0015-04

## The effect of adefovir dipivoxil therapy on T helper cell cytokines and HBV DNA loads in patients with hepatitis B

MA Ping<sup>1</sup>, SONG Shi-duo<sup>1</sup>, WANG Lei<sup>2</sup> (1 The Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China; 2 The Second Affiliated Hospital of Shandong University, Jinan 250012, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the influence of adefovir dipivoxil (ADV) therapy on the cellular immunity by observing the levels of interferon- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ ), interleukin-4 (IL-4) and their relationship with HBV DNA loads in patients with HBeAg-positive chronic hepatitis B at different time before and after treatment. **Methods** Sera of 30 patients before ADV therapy and 16 weeks, 52 weeks and 132 weeks after ADV therapy respectively were collected in this study. There were 14 complete response cases (group A), 16 incomplete response cases (group B). Sera of 10 healthy people were chosen as control group (group C). Levels of IFN- $\gamma$  and IL-4 were detected with enzyme-linked immunosorbent assay; HBV DNA loads were detected by ROCHE COBAS AMPLICOR HBV MONITOR, lower limit was  $10^3$  copy/mL. **Results** The average IFN- $\gamma$  level in group A was significantly higher than that of group B ( $P < 0.05$ ) and C ( $P < 0.05$ ), there was no significant difference between group B and C ( $P > 0.05$ ); The level of IL-4 of group A decreased after treatment while group B didn't. HBV DNA loads of all groups had no significant correlation with IFN- $\gamma$  and IL-4 levels before treatment, but dropped obviously at 16th week after treatment; and the increased level of IFN- $\gamma$  in group A was significantly higher than that of group B ( $P < 0.05$ ); IL-4 levels in group A decreased gradually, but didn't decreased obviously in group B. **Conclusion** Cellular immune response of patients with hepatitis B was resumed to some extent after ADV treatment. The resumption level was positively related with the decreased level of HBV DNA load.

[收稿日期] 2010-09-24

[作者简介] 马萍(1970-), 女(汉族), 江苏省盐城市人, 主治医师, 主要从事病毒性肝炎临床研究。

[通讯作者] 宋诗铎 E-mail: shiduosong1@yahoo.com.cn

**[Key words]** chronic hepatitis B; HBeAg; adefovir dipivoxil; interferon- $\gamma$ ; interleukin-4; hepatitis B virus; HBV DNA

[Chin Infect Control, 2011, 10(1): 15-17, 38]

慢性乙型肝炎全球高发,也是我国的一个严重公共卫生问题,据 2006 年统计资料,目前乙型肝炎病毒(HBV)感染者达 7.18%<sup>[1]</sup>。HBV 并不直接损伤肝细胞,HBV 感染后所引发的宿主免疫系统对病毒的清除是导致疾病进展的关键因素,因此,慢性乙型肝炎的结局取决于宿主免疫应答的强弱。慢性乙型肝炎的主要治疗策略是抗病毒治疗,抗病毒治疗能够帮助宿主免疫系统控制病毒复制乃至清除病毒,以达到延缓疾病进展的目的。本研究通过观察乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)阳性慢性乙型肝炎患者阿德福韦治疗前后不同时相点血清干扰素(IFN)- $\gamma$ 、白细胞介素(IL)-4 的水平变化及其与 HBV DNA 载量的关系,以探讨阿德福韦治疗对机体免疫状态的影响。

## 1 对象与方法

**1.1 研究对象** 随机抽取 2002 年 12 月—2005 年 6 月 HBeAg 阳性、肝功能处于代偿期的慢性乙型肝炎患者 30 例,男性 26 例,女性 4 例;年龄 18~46 岁;临床诊断均符合 2000 年西安全国病毒性肝炎会议制定的诊断标准<sup>[2]</sup>,同时排除甲型肝炎病毒(HAV)、丙型肝炎病毒(HCV)、丁型肝炎病毒(HDV)、戊型肝炎病毒(HEV)的合并感染及肝硬化患者。所有患者均完成了阿德福韦 132 周的治疗。综合疗效评价参照《2004 年拉米夫定临床应用专家共识》<sup>[3]</sup>执行。

**1.2 方法** 阿德福韦酯,10 mg/片,由葛兰素史克公司提供。采集阿德福韦治疗前以及治疗 16 周、52 周和 132 周患者的血清,其中完全应答组 14 例,非完全应答组 16 例;同时采集 10 例健康对照者(对照组)血清, -70℃ 冻存。采用双抗体夹心酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测上清液中 IFN- $\gamma$  和 IL-4 的含量,ELISA 试剂盒购于美国 Genzyme 公司,以 pg/mL 为单位,操作按说明书进行。HBV DNA 定量,采用罗氏 COBAS AMPLICOR HBV MONITOR 检测,检测下限为 10<sup>3</sup> 拷贝/mL,由美国 MDS 公司北京临床实验室给予检测。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS 11.0 统计软件进行统计分析,组内比较采用单向方差分析,组间比较采用 *t* 检验(双侧检验),*P* < 0.05 为差异有显著性。

**1.4 疗效评价标准** (1)生化学应答:完全应答为血清丙氨酸转氨酶(ALT)复常,未达上述标准为无应答(以上评价标准应排除降酶药物的作用和其他引起 ALT 升高的原因)。(2)病毒学应答:完全应答为 HBV DNA 定量 < 10<sup>3</sup> 拷贝/mL;部分应答为未达完全应答标准,但 HBV DNA 定量下降  $\geq 2$  个对数级。(3)血清免疫学应答:完全应答为 HBeAg/抗 HBe 血清转换;部分应答为 HBeAg 未转阴或转阴但未出现抗 HBe。

综合疗效评价:完全应答为疗程结束时,生化学、病毒学和血清免疫学所有指标均达到完全应答者;部分应答为疗程结束时,取得生化学完全应答,病毒学指标定量下降  $\geq 2$  个对数级,但未发生 HBeAg 血清转换。

## 2 结果

**2.1 对照组及不同应答组治疗前血清 IFN- $\gamma$ 、IL-4 检测结果** 完全应答组治疗前 IFN- $\gamma$  水平显著高于部分应答组(*t* = 2.16, *P* < 0.05)及对照组(*t* = 2.19, *P* < 0.05);部分应答组治疗前 IFN- $\gamma$  水平与对照组比较,差异无显著性(*t* = 1.32, *P* > 0.05)。完全应答组与部分应答组治疗前 IL-4 水平比较,差异无显著性(*t* = 0.99, *P* > 0.05),但均较对照组高(*t* 值分别为 3.19、2.98,均 *P* < 0.05),见表 1。

**表 1** 对照组及不同应答组治疗前血清 IFN- $\gamma$ 、IL-4 检测水平比较(pg/mL,  $\bar{x} \pm s$ )

**Table 1** Comparison in IFN- $\gamma$  and IL-4 levels among control and different response groups before treatment(pg/mL,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	IFN- $\gamma$	IL-4
完全应答组	37.40 $\pm$ 6.37	54.00 $\pm$ 13.02
部分应答组	20.61 $\pm$ 4.68	50.98 $\pm$ 10.32
对照组	16.68 $\pm$ 4.98	8.38 $\pm$ 2.24

**2.2 阿德福韦治疗后不同应答组血清 Th1、Th2 水平** 完全应答组治疗 16 周后,血清 IFN- $\gamma$  水平较治疗前显著升高(*t* = 2.34, *P* < 0.05),但在 52 周及 132 周时下降至低于治疗前水平;部分应答组治疗 16 周,较治疗前显著升高(*P* < 0.05),在 52 周及 132 周变化不大,见表 2。

表 2 阿德福韦治疗后不同应答组血清 Th1、Th2 水平( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 The levels of Th1 and Th2 in different response groups after treatment( $\bar{x} \pm s$ )

组别	指标	治疗前	治疗 16 周	治疗 52 周	治疗 132 周
完全应答组	IFN- $\gamma$	37.40 $\pm$ 6.37 <sup>e</sup>	68.65 $\pm$ 16.21 <sup>a f</sup>	23.61 $\pm$ 4.92	21.11 $\pm$ 4.23
	IL-4	54.00 $\pm$ 13.02	32.01 $\pm$ 10.51 <sup>b</sup>	11.43 $\pm$ 3.08 <sup>c</sup>	10.59 $\pm$ 3.28 <sup>d</sup>
部分应答组	IFN- $\gamma$	20.61 $\pm$ 4.68	30.80 $\pm$ 3.15	23.06 $\pm$ 2.29	23.70 $\pm$ 3.18
	IL-4	50.98 $\pm$ 10.32	49.82 $\pm$ 10.79	50.86 $\pm$ 10.92	53.48 $\pm$ 11.10

a,b,c,d 分别与治疗前比较, *t* 值分别为 2.34、2.47、3.17、3.20, 均  $P < 0.05$ ; e,f 分别与部分应答组比较, *t* 值分别为 2.16、3.02, 均  $P < 0.05$

2.3 阿德福韦治疗后不同应答组血清 HBV DNA 水平 完全应答组血清 HBV DNA 水平在治疗 16 周、52 周及 132 周时, 较治疗前分别平均下降了 (4.34  $\pm$  1.42)lg、(4.47  $\pm$  2.39)lg 和 (6.17  $\pm$  0.43)lg, 与治疗前比较, 差异均有显著性 (*t* 值分别为 2.48、2.64、3.71, 均  $P < 0.05$ ); 部分应答组血清 HBV DNA 水平在治疗 16 周、52 周及 132 周时, 较治疗前分别平均下降了 (3.44  $\pm$  1.60)lg、(3.94  $\pm$  0.91)lg 及 (4.76  $\pm$  0.38)lg, 与治疗前相比, 差异均有显著性 (*t* 值分别为 2.23、2.36、2.82, 均  $P < 0.05$ ), 见表 3。

表 3 治疗后各组 HBV DNA 定量变化情况(lg 拷贝/mL,  $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 The variance of HBV DNA load among all groups after treatment(lg copies/mL,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	治疗前	治疗 16 周	治疗 52 周	治疗 132 周
完全应答组	8.60 $\pm$ 0.42	4.27 $\pm$ 1.49	4.14 $\pm$ 2.28	2.43 $\pm$ 0.11
部分应答组	8.86 $\pm$ 0.40	5.41 $\pm$ 1.87	5.58 $\pm$ 2.27	4.97 $\pm$ 1.52

2.4 阿德福韦治疗后 HBV DNA 水平与 IFN- $\gamma$  及 IL-4 水平的相关性 各组在治疗前, HBV DNA 水平与 IFN- $\gamma$  及 IL-4 水平均无明显相关性。在治疗 16 周, HBV DNA 水平均明显下降, 此时完全应答组 IFN- $\gamma$  升高程度与部分应答组相比, 差异有显著性; 完全应答组 IL-4 水平逐渐下降, 部分应答组下降不明显, 见图 1、2。

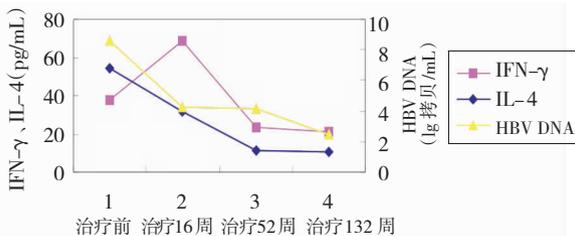


图 1 完全应答组 HBV DNA 与 IFN- $\gamma$  及 IL-4 的关系

Figure 1 The relationship between HBV DNA and IFN- $\gamma$  and IL-4 in complete response group

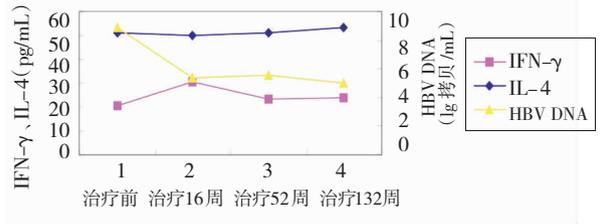


图 2 不完全应答组 HBV DNA 与 IFN- $\gamma$  及 IL-4 的关系  
Figure 2 The relationship between HBV DNA and IFN- $\gamma$  and IL-4 in incomplete response group

### 3 讨论

T 细胞亚群可以反映机体基本细胞免疫状态, Th1 和 Th2 细胞的平衡在机体免疫和多种感染的发病中发挥重要作用, 其平衡能直接影响 HBV 感染的转归。如果 Th1 细胞亚群占优势, 将促进细胞免疫反应, 增强 CD8 + T 细胞的活性, 从而清除细胞内病毒, 同时加重肝细胞损伤; 而 Th2 型细胞因子则起相反作用, 如果 Th2 细胞占优势, 将促进体液免疫反应, 并抑制细胞免疫反应, 细胞毒 T 淋巴细胞(CTL)活性减弱, 肝细胞损伤减轻<sup>[4]</sup>。Th1/Th2 失衡被认为是 HBV 慢性感染发生和持续的原因<sup>[5]</sup>。

抗病毒治疗是目前慢性乙型肝炎的主要治疗策略。核苷(酸)类似物是目前广泛使用的口服抗 HBV 药物, 具有抑制病毒作用强, 不良反应少而轻微等特点。阿德福韦是核苷酸类似物, 通过抑制 HBV DNA 多聚酶(逆转录酶)的活性, 达到抑制 HBV 复制的目的。本研究中, 完全应答组在应用阿德福韦治疗 16 周后, 血清 IFN- $\gamma$  水平较治疗前显著升高, 但在 52 周及 132 周时下降至低于治疗前水平; 部分应答组治疗 16 周时较治疗前升高 ( $P < 0.05$ ), 在 52 周及 132 周变化不大。完全应答组血清 IL-4 水平在治疗 16 周时较治疗前明显下降, 治疗 52 周及 132 周时, IL-4 水平进一步下降。部分应答组血清 IL-4 水平治疗前后差异无显著性 ( $P > 0.05$ )。

(下转第 38 页)

化,因此了解常见病原及其耐药性,尽早选择有效的抗菌药物,能增加抢救成功率。

新生儿败血症症状没有特异性,故很容易将感染性休克的早期症状忽略,更难判断是否为耐药菌株感染,致延误最佳治疗时机。本资料 31 例病例多为 G<sup>-</sup> 耐药菌株感染,亚胺培南等敏感药物可作为首选药。早产儿发生医院感染,应首先考虑到条件致病菌与耐药菌株感染的可能。

本资料中病例均为中度以上的感染性休克,病情进展快,24 h 即可发展至休克,甚至死亡。新生儿一旦发生休克,常是不可逆转的<sup>[4]</sup>。本组病例中几乎所有病例在出现重症感染症状前,都有非特异性表现。早年发病者,由于缺乏经验,很少在出现早期不典型的症状时即更换敏感抗菌药物,病死率高。随着救治经验的增加,对突然出现拒乳、吸乳量减少、烦躁或精神差,或者原本呼吸规则,忽然反复青紫的新生儿,特别是监护室的早产儿,立即做相应检查,一旦确诊为重症感染,及时更换有效的抗菌药物,治疗效果好。因此,应高度重视新生儿感染的早期不典型症状,及时治疗,可避免病情的急剧恶化,

挽救新生儿的生命。特别应警惕那些烦躁、哭闹,乳量增加而有呕吐、腹胀的新生儿。

表 3 显示,大多数新生儿有 CRP 的升高及白细胞降低,而且变化快,相当一部分新生儿同时伴血小板降低。通过血常规、CRP 检查,可以协助诊断,判断病情的变化。白细胞计数在短时间内进行性降低,预示着病情正在进展中,降低的程度越低,速度越快,提示病情越重,需要应用高级别的抗菌药物。

#### [参 考 文 献]

- [1] 中华医学会儿科学分会新生儿学组,中华医学会中华儿科杂志编辑委员会. 新生儿败血症诊断标准[J]. 中华儿科杂志, 2003,23(12):897-899.
- [2] 金汉珍,黄德珉,官希吉,等. 实用新生儿学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2006:612-617.
- [3] 杨玉霞,乔俊英,程秀永,等. 2000—2006 年郑州地区 PICU 下呼吸道感染病原菌及其耐药性的变迁[J]. 中国实用儿科杂志, 2008,23(8):612-614.
- [4] 韩玉昆,傅文芳,许植之,等. 实用新生儿急救指南[M]. 沈阳:沈阳出版社,1997:357.

(上接第 17 页)

提示阿德福韦治疗可以促进机体生成更多的 Th1 型细胞因子,以促进机体抗 HBV 免疫的增强或恢复,为清除病毒创造有利条件。故可以认为阿德福韦抗病毒治疗可以克服慢性 HBV 感染状态时 CTL 的低应答状态。这种免疫增强作用是随着 CD4 + T 细胞活性的重建和由于治疗引起的病毒负载下降而出现的。本研究发现,各组在治疗前 HBV DNA 水平与 IFN- $\gamma$  及 IL-4 水平均无明显相关性;在治疗 16 周时,HBV DNA 水平均明显下降,此时完全应答组 IFN- $\gamma$  升高程度显著高于部分应答组;完全应答组 IL-4 水平逐渐下降,部分应答组下降不明显,提示其恢复程度与治疗后 HBV DNA 定量下降幅度呈正相关。

#### [参 考 文 献]

- [1] 中华医学会肝病学会、中华医学会感染病学会. 慢性乙型肝炎防治指南[J]. 中华肝脏病杂志,2005,13(12):881-891.
- [2] 中华医学会传染病与寄生虫病学会、肝病学会. 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华肝脏病杂志,2000,8(6):324-329.
- [3] 拉米夫定临床应用专家组. 2004 年拉米夫定临床应用专家共识[J]. 中华肝脏病杂志,2004,12(7):425-428.
- [4] 顾长海. 肝功能衰竭[M]. 北京:人民卫生出版社,2002:84-89.
- [5] Milich DR, Schodel F, Hughes J L, *et al.* The hepatitis B virus core and e antigens elicit different Th cell subsets; antigen structure can affect Th cell phenotype[J]. J Virol, 1997, 71(3):2192-2201.