

• 临床检验研究论著 •

补肾清透方对慢性乙肝 HBeAg 阳性患者血清 IL-2、IL-4、IL-10、TNF- α 及 IFN- γ 的影响*

刘心亮,熊益群,周大桥,童光东,贺劲松,张晓晖 徐绍钢,穆桂萍,刘文赫

(广州中医药大学附属深圳医院中心实验室肝病科,广东深圳 518033)

摘要:目的 观察补肾清透方治疗慢性乙型肝炎(CHB)乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)阳性患者外周血中白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-10(IL-10)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和干扰素- γ (IFN- γ)的变化。方法 60 例 CHB HBeAg 阳性患者被随机分成治疗组和对照组,每组 30 例,CHB 治疗组接受补肾清透方治疗,疗程 48 周,CHB 对照组不接受药物治疗。分别在开始和第 48 周时两组患者抽血检测 HBV DNA、IL-2、IL-4、IL-10、TNF- α 和 IFN- γ 。结果 CHB 治疗组治疗后与治疗前比较,IL-2、TNF- α 、IFN- γ 明显升高,HBV DNA、IL-4、IL-10 明显下降($P < 0.01$);CHB 对照组治疗前、后各项指标比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 补肾清透方能抑制 CHB HBeAg 阳性患者 HBV DNA 复制,可提高机体的细胞免疫功能。

关键词:补肾清透方; 肝炎,乙型,慢性; 细胞因子类

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.05.024

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)05-0565-03

Influence of Bushenqingtou Decoction on serum IL-2, IL-4, IL-10, TNF- α and IFN- γ in chronic hepatitis B patients with positive HBeAg*

Liu Xinliang, Xiong Yiqun, Zhou Daqiao, Tong Guangdong, He Jingsong,

Zhang Xiaohui, Xu Shaogang, Mu Guiping, Liu Wenhe

(Department of Hepatology, Central Laboratory, Affiliated Shenzhen Hospital, Guangzhou

University of Chinese Medicine, Shenzhen, Guangdong 518033, China)

Abstract:Objective To observe the changes of peripheral blood interleukin-2 (IL-2), interleukin-4 (IL-4), interleukin-10 (IL-10), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interferon gamma (IFN- γ) in chronic hepatitis B (CHB) patients with positive e-antigen (HBeAg) treated by Bushenqingtou Decoction. **Methods** 60 cases of CHB with positive HBeAg were randomly divided into the treatment group and the control group, 30 cases in each group. The CHB treatment group received Bushenqingtou Decoction with the treatment course of 48 week, while the CHB control group did not received the medication therapy. In the beginning and at 48 weeks of treatment, the blood in the two CHB groups were collected for detecting HBV DNA, IL-2, IL-4, IL-10, TNF- α and IFN- γ .

Results Compared with before treatments, the levels of IL-2, TNF- α and IFN- γ after treatments in the CHB treatment group were obviously increased, while the levels of HBV DNA, IL-4 and IL-10 were remarkably decreased ($P < 0.01$); however, there were no statistical differences of the various indexes after the treatments in the CHB control group ($P > 0.05$). **Conclusion** Bushenqingtou Decoction could inhibit the replication of HBV DNA in the CHB patients with positive HBeAg and improve the body immune function.

Key words: Bushen Qingtou prescription; hepatitis B, chronic; cytokines

慢性乙型肝炎(CHB)是一种呈全球分布、严重危害人类健康的常见传染病,部分感染者甚至会演变为重症肝炎、肝硬化、肝癌。其发病机制尚未完全阐明,目前认为 CHB 的发生主要与乙型肝炎病毒感染及原发或继发免疫功能低下、免疫调节功能紊乱有关。近期研究发现中草药方对慢性乙肝病毒感染患者有一定的治疗效果^[1],因此,研究者用本院研制的补肾清透方治疗 CHB 乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)阳性患者 30 例,观察该方对 HBV 载量及与机体免疫调节功能有关的白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-10(IL-10)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和干扰素- γ (IFN- γ)的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 60 例 CHB HBeAg 阳性患者均来自 2010 年 5 月至 2010 年 10 月深圳市中医院肝病专科门诊及住院患者。

将 CHB 患者随机分成治疗组和对照组两组,其中治疗组 30 例,男 18 例,女 12 例;年龄 20~58 岁,平均(32.8 $\pm$ 5.2)岁;病程 1.5~12.0 年,平均(6.5 $\pm$ 3.5)年。对照组 30 例,男 21 例,女 9 例;年龄 18~55 岁,平均(34.7 $\pm$ 9.1)岁;病程 2.0~15.0 年,平均(5.7 $\pm$ 3.3)年。两组患者的基本资料经统计学处理比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。入选标准参照 2005 年 12 月中华医学会肝病学分会、中华医学会感染病学分会联合制订的《慢性乙型肝炎防治指南》中的诊断标准^[2]。排除标准:(1)同时感染艾滋病病毒、丙型肝炎病毒、丁型肝炎病毒;(2)合并代谢性或自身免疫性肝病;(3)滥用乙醇或非法药品史,30 d 内参加其他肝炎药物的试验;(4)1 年内出现血清 ALT 或 AST 不正常;(5)肝硬化或血清甲胎蛋白升高者;(6)怀孕或哺乳期妇女;(7)精神病和其他严重脏器疾病者。病例

* 基金项目:2011 年深圳市科技计划资助项目(201103387)。 作者简介:刘心亮,男,副主任技师,主要从事中医肝病的研究。

剔除和脱落：(1)未能按规定服药，无法判断疗效或资料不全等影响疗效和安全性判断者；(2)观察中自然脱离，失访者；(3)受试者依从差、发生严重事件、并发症或对本药过敏者等，不宜继续接受试验，自行退出者，均视为脱落者。

1.2 仪器与试剂 HBV DNA 定量 PCR 仪器为美国 ABI 7300 型荧光定量 PCR 仪，试剂盒由深圳凯杰生物工程有限公司提供；IL-2、IL-4、IL-10、TNF-α 和 IFN-γ 试剂购自上海森雄科技实业有限公司，仪器为美国 BIO-TEK ELX-800 型酶标检测仪。

1.3 方法 补肾清透方由印度叶下珠、槲寄生、柴胡、白芍、枳实、桃仁和甘草组成，治疗组每日 1 剂，水煎，早晚分服，对照组不服药，疗程共 48 周。两组患者在治疗前和治疗 48 周时分别抽取静脉血 5 mL，检测 HBV DNA、IL-2、IL-4、IL-10、TNF-α 和 IFN-γ 指标。HBV DNA 采用荧光定量聚合酶链反应法，检测敏感度为大于 1.0×10^3 为阳性，检测单位以 log10 copies/mL 表示。IL-2、IL-4、IL-10、TNF-α 和 IFN-γ 采用双抗体夹心 ELISA 法，操作严格按照试剂说明书进行。

1.4 统计学处理 处理数据分析采用统计软件 SPSS15.0。计数资料用构成比(%)表示，计量资料呈正态分布，用 $\bar{x} \pm s$ 表

示，组间各指标差异值比较采用 t 检验(方差不齐采用 Wilcoxon 秩和检验)，自身前后比较采用自身配对 t 检验，分类资料组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组患者治疗前后血清 HBV DNA 阴转率及载量的变化 见表 1。

表 1 两组患者 HBV 阴转率及载量比较($\bar{x} \pm s$)			
组别		HBV DNA 阴转率 [$n(\%)$]	HBV DNA 载量 (copies/mL)
治疗组	治疗前	0(0.0)	7.45±0.80
	治疗后	7(23.3)	4.24±0.65
	P	<0.01	<0.01
对照组	治疗前	0(0.0)	7.38±0.78
	治疗后	0(0.0)	7.48±0.62
	P	>0.05	>0.05

2.2 两组患者外周血各指标比较 见表 2。

表 2 两组患者外周血各指标比较($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别		IL-2	IL-4	IL-10	TNF-α	IFN-γ
治疗组	治疗前	121.45±51.28	98.62±45.23	36.35±13.50	28.32±12.84	15.64±9.81
	治疗后	178.13±72.60	52.75±39.46	18.36±8.24	52.14±18.83	28.28±14.25
	P	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
对照组	治疗前	117.52±55.40	96.36±44.17	37.55±13.73	26.48±12.58	16.25±10.26
	治疗后	120.52±61.20	92.92±48.52	34.93±11.30	27.85±13.65	17.52±10.45
	P	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

3 讨 论

乙型肝炎的发病机制十分复杂，目前被认为是一种免疫介导性疾病^[3]，乙型肝炎病毒对肝细胞并没有直接的致细胞病变作用^[4]，仅在肝细胞膜表面上形成特异性的病毒抗原^[5]，肝细胞的损害是由于人体免疫系统被 HBV 致敏后，产生相应的体液和细胞免疫反应。其在清除病毒的同时也攻击表面有 HBV 抗原的肝细胞，致其损害和坏死。近年来发现 Th1、Th2 细胞对病毒的清除过程有着重要的调节作用^[6]，其平衡失调将导致乙型肝炎病毒感染慢性化的重要因素。Th1 细胞主要产生 IL-2、TNF-α 和 IFN-γ 等，调节细胞免疫；Th2 细胞主要产生 IL-4、IL-10 等，调节体液免疫。Th1 类细胞介导的细胞免疫主要针对细胞内的病原体，当 Th1 细胞占优势时，将促进细胞免疫反应有利于清除细胞内的病原体，并促进 HBeAg/HBeAb 转换，但易引起宿主损伤。而 Th2 类细胞介导的体液免疫应答主要与组织损伤及慢性化有关，当 Th2 细胞占优势时将促进体液免疫反应，并抑制细胞免疫，机体清除 HBV 抗原能力低下导致感染慢性化^[7]。慢性病毒性乙型肝炎的发病是一个多因素相互促进、相互制约的复杂过程，免疫细胞及其分泌的细胞因子积极参与了病毒性肝炎的发生、发展。随着对细胞因子在病毒性肝炎中作用机制的进一步研究和探讨，对了解该病的免疫状态、肝脏损伤、判断患者病情和预后都具有重要意义。

中医学认为，机体免疫功能低下实属正气不足，人体正气中元气和卫气均源于肾，故肾虚型体质是 CHB 致病的根本基础。近年来依据“伏气温病”理论^[8]，提出了“肾虚邪伏”是乙肝慢性携带者主要病机，采用温肾阳振奋低下的免疫力，用清热解毒，活血化瘀，补肾健脾，以槲寄生为君，固补肾精，肾藏精可鼓邪外出。药理研究证实，叶下珠是目前抗 HBV 活性较强的中药之一^[9]，具有清热解毒、软坚散结、细胞免疫调节，抗肝纤维化，抗癌变等作用，其有效成分叶下珠素和叶下珠次素对四氯化碳和氨基半乳糖诱发的肝细胞损伤有明显防护作用，其去氢诃子次酸甲脂和短叶苏木酚酸甲脂则已证实有明显的抗 HBV 的作用^[7]；柴胡有解热、抗脂肪肝、抗肝损伤、降血脂、抗肿瘤及增强免疫功能；白芍有镇痛、抗炎、扩张血管，提高免疫功能和抗肿瘤作用；甘草有抗菌、抗炎、抗病毒、保肝、抗肿瘤和调节免疫功能；桃仁有活血化瘀功能。柴胡、白芍、枳实、甘草源于四逆散，透邪外出，使内伏之邪循经外出，使补中有清，清中有透，合清、透、活、补为一体，提高了机体的细胞免疫功能。本方着眼于人体抗病能力与邪正斗争的关键，加以诱导调节，从而达到补虚抗邪作用，使低下的免疫力得以提高，使免疫耐受状态被打破，提高了机体驱邪能力，促使 CHB HBeAg 阳性患者治愈。

本研究显示，CHB 治疗组患者经过治疗(下转第 571 页)

最低(9.58%),3~<6岁患儿MP-DNA阳性检出率最高(24.41%)。1~<3岁、3~<6岁、大于或等于6岁患儿的MP-DNA阳性检出率与小于1岁患儿比较差异有统计学意义($P<0.05$)。这可能与小于1岁患儿与外界接触较少,接触病原体机会较少。学龄期及学龄前期MP-DNA阳性检出率较高,这与儿童与外界接触机会较多,接触病原体机会较多有关,这与国内文献[13-14]报道一致。

综上所述,2010~2012年深圳地区MP分子流行病学特征显示男性MP-DNA阳性检出率略高于女性。MP感染在不同年龄群体均有发生,学龄期及学龄前期有较高的MP发病率。深圳地区7~9月份有较高的MP-DNA阳性检出率,1~3月份MP-DNA阳性检出率较低。实验室常规检测及超敏C反应蛋白水平在MP感染诊断中无特异度。故MP感染临床诊断需结合患儿临床症状结合实验室检测以达到确诊。

参考文献

[1] Biscardi S, Lorrot M, Marc E, et al. Mycoplasma pneumoniae and asthma in children[J]. Clin Infect Dis, 2004, 8(10): 1341-1346.

[2] Fischer JE, Steiner F, Zucol F, et al. Use of simple heuristics to target macrolide prescription in children with community-acquired pneumonia[J]. Arch Pediatr Adolesc Med, 2002, 156(10): 1005-1008.

[3] Narita M. Pathogenesis of extrapulmonary manifestations of Mycoplasma pneumoniae infection with special reference to pneumonia[J]. J Infect Chemother, 2010, 16(3): 162-169.

[4] El Sayed Zaki M, Raafat D, El Metaal AA. Relevance of serology for Mycoplasma pneumoniae diagnosis compared with PCR and culture in acute exacerbation of bronchial asthma[J]. Am J Clin Pathol, 2009, 131(1): 74-80.

[5] Ginevra C, Barranger C, Ros A, et al. Development and evaluation of Chlamyge, a new commercial test allowing simultaneous detection and identification of Legionella, Chlamydophila pneumoniae, and Mycoplasma pneumoniae in clinical respiratory specimens

by multiplex PCR[J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(7): 3247-3254.

[6] Kamizono S, Ohya H, Higuchi S, et al. Three familial cases of drug-resistant Mycoplasma pneumoniae infection[J]. Eur J Pediatr, 2010, 169(6): 721-726.

[7] Principi N, Esposito S, Blasi F, et al. Role of mycoplasma pneumoniae and chlamydia pneumoniae in children with community-acquired lower respiratory tract infections[J]. Clin Infect Dis, 2001, 32(9): 1281-1289.

[8] He XY, Wang XB, Zhang R, et al. Investigation of mycoplasma pneumoniae infection in pediatric population from 12,025 cases with respiratory infection[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2013, 75(1): 22-27.

[9] Daxboeck F, Krause R, Wenisch C. Laboratory diagnosis of Mycoplasma pneumoniae infection[J]. Clin Microbiol Infect, 2003, 9(4): 263-273.

[10] Loens K, Beck T, Ursi D, et al. Development of real-time multiplex nucleic acid sequence-based amplification for detection of Mycoplasma pneumoniae, Chlamydophila pneumoniae, and Legionella spp. in respiratory specimens[J]. J Clin Microbiol, 2008, 46(1): 185-191.

[11] Ginevra C, Barranger C, Ros A, et al. Development and evaluation of Chlamyge, a new commercial test allowing simultaneous detection and identification of Legionella, Chlamydophila pneumoniae, and Mycoplasma pneumoniae in clinical respiratory specimens by multiplex PCR[J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(7): 3247-3254.

[12] Honda J, Yano T, Kusaba M, et al. Clinical use of capillary PCR to diagnose Mycoplasma pneumoniae[J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(4): 1382-1384.

[13] 王素梅, 刘欣. 肺炎支原体感染的流行病学研究[J]. 蚌埠医学院学报, 2006, 31(2): 132-133.

[14] 韩丽婷. 276例肺炎支原体感染患儿临床资料分析[J]. 海南医学, 2008, 19(9): 72-73.

(收稿日期: 2013-10-23)

(上接第 566 页)

48周后,IL-2、TNF- α 和IFN- γ 明显升高,而HBV DNA、IL-4和IL-10明显下降,与治疗前比较差异有统计学意义($P<0.01$),CHB对照组治疗前后各项指标比较差异无统计学意义($P>0.05$),表明补肾清透方既能抑制HBV DNA复制又能调节Th1和Th2细胞因子,其作用机制可能是补肾清透方可以促进Th1细胞发育,抑制Th2细胞发育,进而促进IL-2、TNF- α 和IFN- γ 等Th1型细胞因子的分泌,抑制IL-4和IL-10等Th2型细胞因子的分泌,提高细胞免疫反应,抑制体液免疫反应,清除细胞内病毒,降低血清HBV DNA水平。

综上所述,补肾清透方对CHB HBeAg阳性患者具有明显的临床疗效,其抗病毒的作用可能是通过改善患者机体的细胞免疫功能间接抑制病毒,本研究结果证实了中药补肾清透方对CHB HBeAg阳性患者的治疗作用,为乙型肝炎的治疗多提供一种选择。与拉米夫定、干扰素等抗病毒药物相比,其不存在病毒耐药的问题,且具有多角度、多方位治疗的特色,适应症较广,副作用较少,医疗成本低,是一种很有发展前景的抗HBV药物。

参考文献

[1] 贺劲松, 周大桥, 童光东, 等. 补肾健脾胶囊治疗慢性乙肝病毒携

带者的随机双盲实验[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(6): 246-249.

[2] 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南[J]. 临床肝胆病杂志, 2006, 22(1): 3.

[3] 潘喜峰. 细胞因子在乙型肝炎病程中作用的研究进展[J]. 中国医药导报, 2009, 6(18): 5-6.

[4] 何登明, 王宇明, 毛青. 拉米夫定对慢性乙型肝炎血清IFN- γ 和IL-10水平的影响[J]. 实用医药杂志, 2004, 21(10): 881-883.

[5] 石虹. 干扰素- γ 和肿瘤坏死因子- α 对表达乙肝病毒的HepG2. 2. 15细胞的协同致凋亡作用[J]. 复旦学报: 医学, 2007, 34(4): 576-579.

[6] 郑贤干, 罗利飞. 苦参素对慢性乙型肝炎患者外周血Th1/Th2平衡的调控作用[J]. 医药导报, 2009, 28(1): 70-71.

[7] 赖志伟, 田东波, 钟国权, 等. 拉米夫定对慢性乙型肝炎患者血清IFN- γ 、IL-4的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2007, 6(3): 18-19.

[8] 童光东, 彭胜权. 从“肾虚伏气”论慢性乙型肝炎的治疗[J]. 中医杂志, 2004, 45(10): 726-728.

[9] 朱宇同, 方宏勋. 叶下珠治疗乙型病毒性肝炎研究的简况及其发展策略[J]. 广州中医药大学学报, 1998, 15(A12): 63-66.

(收稿日期: 2013-10-12)