

• 论 著 •

恩替卡韦对乙型肝炎患者干扰素诱导单核因子作用*

张利霞

(遵义医学院第五附属(珠海)医院感染科, 广东珠海 519100)

摘要:目的 探讨恩替卡韦抗病毒治疗过程中不同时期慢性乙型肝炎(HBV)患者外周血中干扰素诱导单核因子(Mig)的水平变化。方法 40 例应用恩替卡韦治疗的慢性乙型肝炎患者,采用 ELISA 法定量检测治疗前后的血清 Mig 水平,并同时检测乙型肝炎表面抗原(HBsAg)、乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)、HBV DNA 水平。结果 使用恩替卡韦抗病毒治疗后,血清 Mig 及 HBsAg、HBeAg、HBV DNA 明显下降,且治疗后 24 周比治疗后 12 周下降明显,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 恩替卡韦能下调 Mig,降低血清 HBsAg、HBeAg、HBV DNA 水平,有利于控制疾病进展。

关键词:慢性乙型肝炎; 干扰素诱导单核因子; 恩替卡韦

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.19.001

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)19-2661-03

The function of entecavir to Mig in patients with chronic hepatitis*

ZHANG Lixia

(Department of Hospital Infection, the Fifth Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zhuhai, Guangdong 519100, China)

Abstract: Objective To investigate the function of entecavir to γ -interferon induced monokine(Mig) for chronic hepatitis B patients. **Methods** The 40 cases of chronic hepatitis B patients were treated with entecavir tablet. The Mig level were detected by ELISA in 40 patients in the time before and after treatment of 12 weeks and 24 weeks; HBsAg, HBeAg level were analyzed by using electrochemiluminescence and HBV-DNA was tested by using real-time quantitative PCR (FQ-PCR). **Results** Mig and HBsAg, HBeAg, HBV DNA levels were significantly lower than before treatment in the 40 patients($P < 0.05$). Compared with those in the time of 12 weeks after treatment, those indexes after treatment 24 weeks were significantly decreased($P < 0.05$). **Conclusion** Entecavir treatment can reduce the level of Mig, HBsAg and HBeAg, HBV DNA, and help to control disease progression in chronic hepatitis B.

Key words: chronic hepatitis B; γ -interferon induced monokine; entecavir

乙型肝炎病毒(HBV)感染是严重危害人类健康的全球性公共卫生问题,每年约 100 万人病死于与 HBV 感染相关的疾病^[1-3]。既往研究表明细胞免疫异常可能是 HBV 发病的重要原因^[4]。虽然慢性病毒性肝炎的致病机制还未完全清楚,但已明确证实免疫病理损伤起重要作用,其中趋化因子的作用也日益受到重视。现监测服用恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎患者不同时期外周血中干扰素诱导单核因子(Mig)水平,探讨 Mig 在肝脏免疫损伤中的重要作用,并通过恩替卡韦治疗前后 Mig 水平的动态变化,了解抗病毒药物对患者免疫状态的影响,为临床治疗方案的选择、评价疗效和判断预后提供新的思路,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 该科 2014 年 1 月至 2015 年 12 月收治的慢性乙型肝炎患者 40 例,男 33 例,女 7 例,年龄 20~50 岁,平均年龄(30.5±2.5)岁。均符合《慢性乙型肝炎防治指南(2010 年版)》的诊断标准,纳入标准:血清乙型肝炎表面抗原(HBsAg)阳性(+),乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)阳性(+),抗-e 抗原(抗-HBe)阳性(+),HBV DNA(+),HBV DNA $\geq 1.0 \times 10^5$

copy/mL),丙氨酸氨基转移酶(ALT)升高,且下限高于正常值 2 倍,病程均超过 6 个月。排除其他病毒感染和引起肝功能损害的原因。3 个月内未曾用过抗病毒和免疫抑制剂治疗。

1.2 方法 (1)所有患者自愿接受恩替卡韦抗病毒治疗,并签署知情同意书。患者在一般保肝、降酶、退黄治疗基础上给予恩替卡韦(博路定)0.5 mg,口服 1 次/日,观察 24 周。(2)分别于用药前、用药 12、24 周晨起空腹采集外周静脉血 3 管,每管 5 mL,分离血清置-20℃冰箱保存备用,分别用于 Mig、HBsAg、HBeAg 水平及 HBV DNA 载量检测。(3)采用双抗体夹心酶联免疫(ELISA)法检测 Mig,试剂采用上海江莱生物科技有限公司提供的 Mig 试剂盒,严格按照说明书进行操作。使用免疫荧光定量,应用该院检验科提供的罗氏 E-170 及配套试剂检测 HBsAg 和 HBeAg 水平,运用荧光定量聚合酶链反应(PCR),采用该院检验科提供的伯乐 PCR 分析仪及配套试剂进行 HBV DNA 载量检测。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较使用 t 检验,应用 Spearman 进行相关性分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

* 基金项目:广东省珠海市卫生和计划生育委员会医学科研课题(2014087)。

作者简介:张利霞,女,主治医师,主要从事临床病毒性肝炎的诊治研究。

2 结 果

2.1 患者治疗前后各指标检测结果比较 40 例患者治疗 12、24 周后血清 Mig 与 HBsAg、HBeAg、HBV DNA 水平明显下降,与治疗前比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。治疗 24 周与治疗 12 周比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 患者治疗前后各指标检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

时间	Mig(pg/mL)	HBsAg(COΙ)	HBeAg(COΙ)	HBV DNA(IU/mL)
治疗前	261.45±33.70	4 290.1±10.3	220.3±10.2	24 376 864.5±5.94
治疗 12 周	183.78±11.08 [△]	4 138.05±8.3 [△]	188.7±2.8 [△]	8 692 447.14±4.3 [△]
治疗 24 周	104.39±15.16 ^{*△}	4 003.6±4.2 ^{*△}	110.3±4.1 ^{*△}	7 652 983.26±2.4 ^{*△}

注:与治疗前比较,[△] $P < 0.05$;与治疗 12 周比较,^{*} $P < 0.05$ 。

3 讨 论

HBV 感染引起肝脏炎性中 T 淋巴细胞介导细胞免疫参与其发生发展,而淋巴细胞迁移至肝细胞的过程受多种因子的影响,其中发现趋化因子与淋巴细胞受体的相互结合是重要因素之一。趋化因子是一类能使细胞发生趋化作用的细胞因子总称,在对外界抗原刺激产生免疫应答过程中可吸引活化的 T 淋巴细胞、单核细胞及自然杀伤细胞等,通过 G 蛋白偶联受体途径进入炎性损伤区域并发挥作用^[5]。干扰素诱导蛋白-10 (IP-10)和 Mig 是国内外新发现的 CXC 类的趋化因子,主要是由干扰素等诱导产生^[6]。研究表明在慢性 HBV 感染应答中,CXC 趋化因子 IP-10 和 Mig 的高表达可强烈吸引 T 细胞至肝脏,一方面协助机体清除感染肝细胞,另一方面通过分泌损害肝脏炎性递质导致肝病进展^[7]。Kakimi 等^[8]利用 HBV 转基因鼠模型,被动转导对 HBV 特异的 CTL,发现肝脏中 IP-10 和 Mig 迅速增高,如果阻断这些趋化因子就会减少宿主源性单核细胞在肝脏的浸润,从而降低肝组织损伤的严重性。有证据表明肝炎病毒感染可诱导感染肝细胞及血管内皮细胞高表达趋化因子 IP-10,表达 CXCR3 的 T 细胞可受 IP-10 的吸引,迁移至感染的组织,导致大量肝细胞损伤^[9-10]。由于炎性部位肝细胞大量坏死,损伤可能进一步导致被动脱落进入血液循环的 IP-10 明显增加,而血清 IP-10 水平与肝脏炎性损害程度有关,也就是说肝脏炎性损害程度越重,血清 IP-10 水平越高。临床上对 IP-10 的研究报道甚多,而对 Mig 的研究相对较少。本研究通过对 40 例运用恩替卡韦抗病毒治疗的患者不同时期 Mig 表达水平进行分析比较,证实治疗后 Mig 水平均低于治疗前,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

目前慢性乙型肝炎的治疗以抗病毒抑制病毒复制为主,无法彻底清除乙型肝炎病毒,而抗病毒治疗最理想的目标是能够达到 HBsAg 血清学转换,其次是达到 HBeAg 血清学转换和维持低水平的病毒载量。国内外研究表明血清 HBsAg 与 HBeAg、HBV DNA 载量之间有一定相关性,监测血清 HBsAg 水平能够较准确地反映 HBV DNA 在体内的复制情况^[11]。有学者研究表明,HBsAg 和 HBV DNA 水平之间有良好的相关性,定量检测血清 HBsAg 可反映宿主体内 HBV DNA 水平,对评价抗病毒治疗的疗效和判断预后具有重要意义^[12]。目前恩替卡韦(博路定)是临床常用的环戊基鸟嘌呤核苷类抗病毒药物,其三磷酸盐与 HBV 多聚酶的天然底物 dGTP 竞争,可

2.2 采用 Spearman 相关性分析 不同时期 Mig 与 HBsAg、HBeAg、HBV DNA 水平变化的相关性显示,患者治疗前 Mig 水平与 HBsAg、HBeAg、HBV DNA 水平呈负相关($r = -0.462, P < 0.05$)。治疗 12、24 周 Mig 水平与 HBsAg、HBeAg、HBV DNA 水平呈正相关($r = 0.153, P < 0.05$)。

抑制 HBV 复制过程中的 DNA 多聚酶启动、反转录及 HBV DNA 正链合成过程,阻断病毒复制^[13]。本研究结果表明,患者治疗 12、24 周后 HBsAg、HBeAg、HBV DNA 水平均低于治疗前,差异有统计学意义($P < 0.05$)。治疗 24 周 HBsAg、HBeAg、HBV DNA 水平均低于治疗 12 周,差异有统计学意义($P < 0.05$)。提示恩替卡韦能有效降低乙型肝炎病毒载量,但慢性乙型肝炎不仅是病毒性疾病,也是免疫性疾病,目标是通过抗病毒治疗实现持久免疫控制,恩替卡韦是否具有免疫调控作用尚不清楚,有待进一步研究证实。

综上所述,趋化因子 Mig 参与了慢性乙型肝炎的炎性反应,同时也发挥重要的免疫调节作用。Mig 可作为疗效监测指标之一,且与 HBsAg、HBeAg、HBV DNA 有密切联系。应用恩替卡韦抗病毒治疗的过程中检测外周血趋化因子 Mig 水平变化,有助于观察机体的免疫状态,为临床合理用药提供依据,同时对 Mig 机制的深入研究,将有利于进一步了解慢性乙型肝炎患者炎性发生、发展的机制。

参 考 文 献

- [1] Lai CL, Ratziu V, Yuen MF, et al. Viral hepatitis B[J]. Lancet, 2003, 362: 2089-2094.
- [2] Tan C, Xuan B, Hong J, et al. RNA interference against hepatitis B virus with endoribonuclease-prepared siRNA despite of the target sequence variations[J]. Virus Res, 2007, 126: 172-178.
- [3] Snyder LL, Esser JM, Pachuk CJ, et al. Vector design for liver-specific expression of multiple interfering RNAs that target hepatitis B virus transcripts [J]. Antiviral Res, 2008, 80: 36-44.
- [4] 罗亚文, 林世德, 罗军敏, 等. 重型乙型肝炎患者血清干扰素诱导蛋白-10、干扰素的检测及临床意义[J]. 中华传染病杂志, 2008, 26(4): 244-247.
- [5] Wang J, Zhao JH, Wang PP, et al. Expression of CXC chemokine IP-10 in patients with chronic hepatitis B[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2008, 7(1): 45-50.
- [6] Liu MT, Chen BP, Oertel P, et al. The T cell chemoattractant IFN-inducible protein 10 is essential in host defense against viral-induced neurologic disease [J]. J Immunol, 2000, 165: 2327-2330.

黏膜上皮细胞,引起细胞变性、坏死乃至脱落,造成黏膜充血、水肿和分泌物增加,从而产生鼻塞、流涕、咽喉疼痛、干咳,以及其他上呼吸道感染症状,当病毒蔓延至下呼吸道,则可能引起毛细支气管炎和间质性肺炎^[13]。该地区 LP 在夏、秋季的感染率较其余 2 个季节高,推测天津夏季很热,秋季未供暖之前天气较冷,这段时间空调军团菌的孳生地的高频率使用造成其阳性率增高,加之儿童的免疫功能低下极易被感染。LP 是一种兼性细胞内致病菌,广泛分布于天然淡水环境或人工水域中,在自然界长期存活,可感染人巨噬细胞,是引起社区获得性肺炎和院内感染性肺炎的重要病原体,国内外常暴发流行。

该院为儿童专科医院,本组对各个病种分析显示,与门诊、呼吸科、感染科、心脏内科、内分泌科、肾脏科、消化内科、风湿免疫科、新生儿科、急救中心、烧伤科、血液科、神经科、普通外科比较,耳鼻喉科患儿呼吸道病原体总检出率最高,为 45.6%。原因可能为儿童期呼吸道感染疾患多伴有鼻窦炎、中耳炎、支气管炎、肺炎等发生^[14-15]。本研究结果说明,重点提示相应临床进行有针对性的呼吸道 9 项病原体检测,有助于患儿得到及时、有效的诊治,避免病情延误。

综上所述,本研究利用一种目前高效、实用的病原体检测技术,为该院呼吸道感染病原体在不同性别、不同年龄段、不同季节和不同疾病间的差异进行统计分析,为该地区呼吸道感染的病原学和流行病学研究提供大量的实验数据,也为不同季节进行有效的病原体预防、控制提供理论依据,更为临床诊断及抗感染治疗提供重要的参考依据。

参考文献

[1] 王梅. 小儿急性呼吸道感染的病原学研究[J]. 中国儿童保健杂志, 2003, 11(2): 117-118.

[2] 田爱丽, 周力音. 儿童呼吸道感染病毒的流行病研究[J]. 医学检验与临床, 2011, 22(6): 66-67.

[3] 马红玲, 王和平, 郑跃杰, 等. 门诊和住院患儿呼吸道感染比较研究[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(12): 1509-1510.

[4] 周一平, 陆学东, 陈小可, 等. 急性下呼吸道感染患者支气管肺泡灌洗液非典型病原体与病毒检测[J]. 中华医院感

染学杂志, 2007, 17(8): 901-904.

[5] 耿素珍. 间接免疫荧光法对多种呼吸道病毒快速检测方法[J]. 包头医学院学报, 2008, 24(5): 477-478.

[6] 陆学东, 陆长东, 周一平, 等. 呼吸道病毒感染多重、快速检测技术[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2006, 26(8): 760-761.

[7] 周新华, 宋新民. 呼吸道感染患儿病原学及血常规检测的价值意义[J]. 中国医学工程, 2012, 20(1): 120-121.

[8] 莫伟平, 张泳仪. 13 240 例呼吸道感染患者 9 种呼吸道感染病原体 IgM 抗体检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(17): 2577-2579.

[9] 李长振, 饶菁菁, 黄永国, 等. 武汉地区 12 125 例呼吸道感染患儿非细菌病原体 IgM 抗体检测结果分析[J]. 临床儿科杂志, 2012, 30(8): 749-752.

[10] 邓楠, 李娅. 1 821 例呼吸道病原体感染种类及特点[J]. 中国民族民间医药, 2015, 10(7): 127-129.

[11] 孙彬, 吴纯, 韩冰, 等. 9 种呼吸道感染病原体的 IgM 抗体检测结果分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2015, 22(7): 604-607.

[12] 孔丽梅, 周立萍, 李超, 等. 章丘地区下呼吸道感染儿童病原学检测及 CRP、hs-CRP、白细胞联合测定的临床意义[J]. 当代医学, 2011, 17(4): 30-32.

[13] 吴茜, 温柏平, 杨跃煌, 等. 住院儿童下呼吸道非典型病原体感染 5 年流行病学分析[J]. 中国儿童保健杂志, 2011, 19(2): 131-133.

[14] Mizuta K, Abiko C, Aoki Y, et al. Analysis of monthly isolation of respiratory viruses from children by cell culture using a microplate method: a two-year study from 2004 to 2005 in yamagata, Japan[J]. Jpn J Infect Dis, 2008, 61(3): 196-201.

[15] 曾攻, 王晓红, 俞惠, 等. 上海地区儿童急性呼吸道感染流行特征[J]. 中华传染病杂志, 2008, 26(9): 527-532.

(收稿日期: 2016-02-11 修回日期: 2016-04-11)

(上接第 2662 页)

[7] 赵金红, 钱丽丽. 趋化因子及其受体在肝脏疾病中的作用[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2006, 27(4): 42.

[8] Kakimi K, Lane TE, Wieland S, et al. Blocking chemokine responsive to gamma-2/interferon IFN-gamma inducible protein and monokine induced by IFN-gamma activity in vivo reduces the pathogenetic but not the antiviral potential of hepatitis B virus-specific cytotoxic T lymphocytes[J]. J Exp Med, 2001, 194(12): 1755.

[9] Vadan R, Gheorghe L, Becheanu G, et al. Predictive factors for the severity of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C and moderate alcohol consumption[J]. Rom J Gastroenterol, 2003, 12(3): 183-187.

[10] Boisvert JJ, Sarobe P, Boya PH, et al. A recombinant adenovirus encoding hepatitis C virus core and E1 proteins protects mice against cytokine-induced liver damage[J]. Hepatology, 2003, 37(2): 461-470.

[11] 江宇泳, 李红梅, 王融冰. 慢性乙型肝炎病毒感染与 T 淋巴细胞亚群的变化[J]. 中国医刊, 2008, 43(3): 204.

[12] 卢峰, 廖雪雁, 石爽, 等. 乙型肝炎病毒表面抗原定量检测的临床意义[J]. 肝脏, 2009, 14(2): 65.

[13] Inada M, Yokosuka O. Current antiviral therapies for chronic hepatitis B[J]. Hepatol Res, 2008, 38(6): 535-542.

(收稿日期: 2016-04-20 修回日期: 2016-06-15)