

· 临床研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2018.24.011

# 阿德福韦酯联合干扰素 $\alpha-2b$ 对慢性乙型肝炎患者 细胞免疫与趋化因子水平的影响\*

贺旭<sup>1</sup>, 柴进<sup>2</sup>, 刘巍<sup>1△</sup>

(1. 中国人民解放军第九五八医院, 重庆 400020; 2. 陆军军医大学附属西南医院消化内科, 重庆 400038)

**摘要:**目的 探讨阿德福韦酯(ADV)联合干扰素  $\alpha-2b$  对慢性乙型肝炎(CHB)患者细胞免疫与趋化因子水平的影响。方法 选取医院2015年1月至12月收治的CHB患者96例,随机分为ADV组、干扰素组和联合组,各32例,分别给予单用ADV、单用干扰素  $\alpha-2b$ 、ADV联合干扰素  $\alpha-2b$  治疗,疗程均为48周,停药后继续随访24周。比较3组患者治疗前后的临床疗效、细胞免疫水平及趋化因子的表达情况。结果 治疗后24周、48周、72周,干扰素组的乙型肝炎病毒(HBV)DNA阴转率显著低于另两组,ADV组的HBeAb阳转率显著低于另两组( $P < 0.05$ );ADV组患者治疗后24周的HBeAg阴转率显著低于联合组,治疗后48周和72周的HBeAg阴转率均显著低于另两组( $P < 0.05$ );治疗后,3组患者的T淋巴细胞中CD<sub>3</sub><sup>+</sup>、CD<sub>4</sub><sup>+</sup>、CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup>的比例与核仁组织区嗜银蛋白(AgNORs)含量均有不同程度升高,而CD<sub>8</sub><sup>+</sup>比例逐渐降低( $P < 0.05$ );联合组治疗后48周和72周的CD<sub>3</sub><sup>+</sup>和CD<sub>4</sub><sup>+</sup>的比例显著高于ADV组( $P < 0.05$ ),联合组治疗后24周、48周、72周的CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup>显著高于ADV组,治疗后48周和72周的CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup>显著高于干扰素组( $P < 0.05$ ),联合组治疗后48周的AgNORs含量显著高于ADV组( $P < 0.05$ );治疗后,3组患者的血CXCL9、CXCL11、CCL20水平均显著降低( $P < 0.05$ );联合组治疗后24周、48周、72周的血CXCL9水平显著低于另两组,且干扰素组显著低于ADV组( $P < 0.05$ );联合组治疗后24周的血CXCL11水平显著低于ADV组( $P < 0.05$ ),联合组治疗后48周和72周的血CXCL11水平显著低于ADV组和干扰素组,且干扰素组显著低于ADV组( $P < 0.05$ ),联合组治疗后24周、48周、72周的血CCL20水平显著低于ADV组,且联合组治疗后48周的血CCL20水平显著低于干扰素组( $P < 0.05$ )。结论 与单用ADV或干扰素  $\alpha-2b$  相比,ADV联合干扰素  $\alpha-2b$  能显著提高CHB的临床疗效,增强细胞免疫活性,降低外周血CXCL9、CXCL11、CCL20水平。

**关键词:**慢性乙型肝炎;阿德福韦酯;干扰素  $\alpha-2b$ ;细胞免疫;趋化因子

中图分类号:R969.4;R978.7

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2018)24-0035-05

## Effect of Adefovir Dipivoxil Combined with Interferon $\alpha-2b$ on Cellular Immune Function and Expression of Chemokine in Patients with Chronic Hepatitis B

He Xu<sup>1</sup>, Chai Jin<sup>2</sup>, Liu Wei<sup>1</sup>

(1. 958 Hospital of PLA, Chongqing, China 400020; 2. Department of Gastroenterology, Southwest Hospital, Military Medical University, Chongqing, China 400038)

**Abstract: Objective** To investigate the effect of adefovir dipivoxil(ADV) combined with interferon  $\alpha-2b$  on cellular immune function and expression of chemokine in patients with chronic hepatitis B(CHB). **Methods** Totally 96 patients with CHB admitted to our hospital from January to December in 2015 were selected and randomly divided into the ADV group, interferon group and combined group, 32 cases in each group, and they were given ADV, interferon  $\alpha-2b$ , ADV combined with interferon  $\alpha-2b$  for 48 weeks, and then followed up for 24 weeks. The clinical effect, cellular immune function and expression of chemokine were compared among the three groups before and after treatment. **Results** 24, 48 and 72 weeks after treatment, the negative conversion rates of HBV DNA in the interferon group were significantly lower than those of the other two groups, and the positive conversion rates of HBeAg in the ADV group were significantly lower than those of the other two groups( $P < 0.05$ ). 24 weeks after treatment, the negative conversion rate of HBeAg in the ADV group was significantly lower than that in the combined group, 48 and 72 weeks after treatment, the negative conversion rates of HBeAg in the ADV group were significantly lower than those in the other two groups( $P < 0.05$ ). After treatment, the proportions of CD<sub>3</sub><sup>+</sup>, CD<sub>4</sub><sup>+</sup>, CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup> and AgNORs content of T lymphocytes in the three groups were gradually increased, while the proportion of CD<sub>8</sub><sup>+</sup> were gradually decreased( $P < 0.05$ ). 48 and 72 weeks after treatment, the proportions of CD<sub>3</sub><sup>+</sup> and CD<sub>4</sub><sup>+</sup> in the combined group were significantly higher than those in the ADV group( $P < 0.05$ ). 24, 48 and 72 weeks after treatment, the proportions of CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup> in the combined group were significantly higher than those in the ADV group, 48 and 72 weeks after treatment, those in the combined group were significantly higher than those in the interferon group( $P < 0.05$ ). 48 weeks after treatment, the content of AgNORs in the

\*基金项目:国家自然科学基金[81470880]。

第一作者:贺旭,男,硕士研究生,医师,研究方向为肝脏疾病的诊治,(电话)023-68762011(电子信箱)93769932@qq.com。

△通信作者:刘巍,男,硕士研究生,主治医师,研究方向为肝脏疾病的诊治,(电话)023-68762081(电子信箱)17994174@qq.com。

combined group was significantly higher than that in the ADV group ( $P < 0.05$ ). After treatment, the levels of blood CXCL9, CXCL11 and CCL20 in the three groups were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). 24, 48 and 72 weeks after treatment, the levels of blood CXCL9 in the combined group were significantly lower than those in the other two groups, and those in the interferon group were significantly lower than those in the ADV group ( $P < 0.05$ ). 24 weeks after treatment, the level of blood CXCL11 in the combined group was significantly lower than that in the ADV group ( $P < 0.05$ ), 48 and 72 weeks after treatment, the levels of blood CXCL11 in the combined group were significantly lower than those in the ADV group and the interferon group, and those in the interferon group were significantly lower than those in the ADV group ( $P < 0.05$ ). 24, 48 and 72 weeks after treatment, the levels of blood CCL20 in the combined group were significantly lower than those in the ADV group, 48 weeks after treatment, the level of blood CCL20 in the combined group was significantly lower than that in the interferon group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Compared with ADV or interferon  $\alpha-2b$  used alone, ADV combined with interferon  $\alpha-2b$  in the treatment of CHB can significantly improve the clinical efficacy and cellular immune activity, it also can reduce the levels of CXCL9, CXCL11 and CCL20 in peripheral blood.

**Key words:** chronic hepatitis B; adefovir dipivoxil; interferon  $\alpha-2b$ ; cellular immune; chemokine

慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)为我国常见传染病<sup>[1]</sup>,以肝细胞炎症性坏死为主要病理特征,患者常出现乏力、纳差、恶心、腹胀、肝区疼痛等症状,可进展为肝硬化、肝癌、肝功能衰竭,也能引起全身多个脏器受损<sup>[2-3]</sup>。治疗 CHB 的关键在于抑制乙型肝炎病毒(HBV)的复制和体内对 HBV 的免疫反应,从而控制病情进展。阿德福韦酯(ADV)和干扰素是常用治疗 CHB 的药物,两者各有优缺点,前者属核苷(酸)类似物,其对 HBV DNA 的阴转率较高,但 HBeAg 的转换率较低,而后者对 HBeAg 的转换率较高,HBV DNA 的阴转率较低,故临床常将两者联用。以往的研究<sup>[4-5]</sup>主要关注这 2 种药物的临床疗效,对其细胞免疫水平与趋化因子的表达水平影响研究较少。本研究中选取医院 2015 年收治的 CHB 患者 96 例,进行分组治疗,观察了治疗前后的细胞免疫水平与各种趋化因子的变化。现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

纳入标准:符合 2000 年西安会议修订的《病毒性肝炎防治方案》中 CHB 的诊断标准<sup>[6]</sup>;HBeAg 阳性至少 1 年,HBV DNA 载量  $> 1.0 \times 10^5$  copies/mL,血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)水平  $80 \sim 400$  U/L,血总胆红素(TBil)  $<$  正常值上限的 2 倍,血小板(PLT)计数  $> 80 \times 10^9$ /L,凝血功能正常;治疗前 6 个月未使用抗病毒药物与免疫调节剂;能完成至少 48 周的疗程,临床资料完整、可靠;本研究获得我院医学伦理委员会批准,患者自

愿参加本研究,且签署知情同意书。

排除标准:合并肝硬化、肝性脑病、肝癌;合并甲型、丙型、丁型等其他肝炎病毒或 EB 病毒、巨细胞病毒等感染;合并严重的心、肺、肾、内分泌、血液、神经精神等系统疾病或恶性肿瘤;妊娠期或哺乳期。

病例选择与分组:选取医院 2015 年 1 月至 12 月收治的 CHB 患者 96 例,其中男 87 例,女 9 例;年龄  $26 \sim 60$  岁,平均  $(37.4 \pm 5.3)$  岁。按随机数字表法将 96 例患者分为 ADV 组、干扰素组和联合组,各 32 例。3 组患者的一般资料比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),具有可比性。详见表 1。

### 1.2 治疗方法

全部患者均给予常规生活指导。ADV 组患者应用阿德福韦酯胶囊(正大天晴药业集团股份有限公司,国药准字 H20060666,规格为每粒 10 mg),口服,每日 1 次,每次 10 mg;干扰素组患者应用重组人干扰素  $\alpha-2b$  注射液(安徽安科生物工程(集团)股份有限公司,国药准字 S20040010,规格为每支 600 万 U),隔日皮下注射 1 次,每次 600 万 U;联合组患者同时应用 2 种药物,其用法、用量同其他两组。3 组患者疗程均为 48 周,治疗期间进行随访,停药后继续随访 24 周,共 72 周。治疗期间定期检测患者血常规、血生化与凝血功能等指标。

### 1.3 观察指标

临床疗效与安全性:分别于治疗后 24 周、48 周、72 周时评价临床疗效,包括血常规、肝肾功能、HBV

表 1 3 组患者一般资料比较 ( $n = 32$ )

| 组别           | 性别<br>(男/女,例) | 年龄<br>( $\bar{X} \pm s$ , 岁) | 病史[例(%)]  |           | HBV DNA 载量<br>( $\bar{X} \pm s$ , lg copies/mL) | ALT<br>( $\bar{X} \pm s$ , U/L) |
|--------------|---------------|------------------------------|-----------|-----------|-------------------------------------------------|---------------------------------|
|              |               |                              | 初治        | 复发        |                                                 |                                 |
| ADV 组        | 28/4          | $36.8 \pm 4.3$               | 10(31.25) | 22(68.75) | $7.52 \pm 0.81$                                 | $198.8 \pm 20.6$                |
| 干扰素组         | 30/2          | $37.3 \pm 3.9$               | 12(37.50) | 20(62.59) | $7.70 \pm 0.83$                                 | $205.3 \pm 18.7$                |
| 联合组          | 29/3          | $38.0 \pm 4.8$               | 11(34.38) | 21(65.63) | $7.63 \pm 0.89$                                 | $202.7 \pm 16.6$                |
| $\chi^2/F$ 值 | 0.73          | 1.01                         | 0.27      |           | 1.33                                            | 2.08                            |
| $P$ 值        | 0.69          | 0.37                         | 0.87      |           | 0.26                                            | 0.13                            |

DNA 载量、HBV 两对半等,记录各个时间点有无 HBV DNA 阴转 ( $<5 \times 10^2$  copies/mL)、HBeAg 阴转与 ALT 复常 ( $\leq 40$  U/L),以及治疗期间有无不良反应发生,包括发热、乏力、肌肉与关节酸痛、脱发、PLT 降低、肾功能损害等。

细胞免疫水平:分别于治疗前,治疗后 24 周、48 周、72 周时检测 T 淋巴细胞亚群,包括  $CD_3^+$ ,  $CD_4^+$ ,  $CD_8^+$  的表达情况,具体操作为在 0.1 mL 全血中加入 20  $\mu$ L 三色荧光抗体,室温静置 0.5 h 后采用流式细胞术检测。并检测 T 淋巴细胞组织中核仁组织区嗜银蛋白 (AgNORs) 含量,具体操作为采集外周静脉血 8 mL,全血分离出淋巴细胞,然后进行培养、繁殖与染色,检测并对图像进行分析<sup>[7]</sup>。

趋化因子水平:分别于治疗前,治疗后 24 周、48 周、72 周时采用酶联免疫吸附 (ELISA) 法检测外周血趋化因子 CXCL9, CXCL11, CCL20 水平,试剂盒由伊莱瑞特生物科技有限公司提供,严格按照说明书进行操作。

#### 1.4 统计学处理

采用 SPSS18.0 统计学软件分析。计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{X} \pm s$ ) 表示,行  $t$  检验,多组比较采用方差分析,然后进行两两比较;计数资料以率表示,行  $\chi^2$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

结果见表 2 至表 4。ADV 组未出现 1 例不良反应;

干扰素组共出现 28 例 (87.50%) 不良反应,包括 23 例发热、乏力与肌肉关节酸痛,5 例脱发;联合组共出现 26 例 (81.25%) 不良反应,包括 20 例发热、乏力与肌肉关节酸痛,5 例脱发,1 例 PLT 一过性减少。均未发生严重不良反应,未影响继续治疗,全部完成规定疗程。ADV 组的不良反应发生率显著低于另两组 ( $P < 0.05$ )。

表 2 3 组患者各时间点临床疗效比较 [例 (%),  $n = 32$ ]

| 时间       | 组别             | HBV DNA 阴转             | HBeAg 阴转               | HBeAb 阳转              | ALT 复常    |
|----------|----------------|------------------------|------------------------|-----------------------|-----------|
| 治疗后 24 周 | ADV 组          | 26(81.25) <sup>a</sup> | 5(15.63) <sup>b</sup>  | 1(3.13) <sup>ab</sup> | 29(90.63) |
|          | 干扰素组           | 6(18.75) <sup>b</sup>  | 11(34.38)              | 8(25.00)              | 28(87.50) |
|          | 联合组            | 28(87.50)              | 15(46.88)              | 13(40.63)             | 31(96.88) |
|          | $\chi^2 / F$ 值 | 39.46                  | 7.24                   | 12.85                 | 1.90      |
|          | $P$ 值          | $<0.01$                | 0.02                   | $<0.01$               | 0.38      |
| 治疗后 48 周 | ADV 组          | 30(93.75) <sup>a</sup> | 7(21.88) <sup>ab</sup> | 2(6.25) <sup>ab</sup> | 31(96.88) |
|          | 干扰素组           | 7(21.88) <sup>b</sup>  | 17(53.13)              | 12(37.50)             | 30(93.75) |
|          | 联合组            | 31(96.88)              | 21(65.63)              | 20(62.50)             | 31(96.88) |
|          | $\chi^2 / F$ 值 | 55.76                  | 13.05                  | 20.22                 | 0.52      |
|          | $P$ 值          | $<0.01$                | $<0.01$                | $<0.01$               | 0.77      |
| 治疗后 72 周 | ADV 组          | 28(87.50) <sup>a</sup> | 3(9.38) <sup>ab</sup>  | 2(6.25) <sup>ab</sup> | 29(90.63) |
|          | 干扰素组           | 5(15.62) <sup>b</sup>  | 15(46.88)              | 11(34.38)             | 26(81.25) |
|          | 联合组            | 30(93.75)              | 20(62.50)              | 17(53.13)             | 29(90.62) |
|          | $\chi^2 / F$ 值 | 53.47                  | 19.94                  | 16.58                 | 1.71      |
|          | $P$ 值          | $<0.01$                | $<0.01$                | $<0.01$               | 0.42      |

注:与干扰素组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与联合组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

表 3 3 组患者 T 淋巴细胞亚群分布与 AgNORs 含量比较 ( $\bar{X} \pm s$ ,  $n = 32$ )

| 时间       | 组别             | $CD_3^+$ (%)                  | $CD_4^+$ (%)                  | $CD_8^+$ (%)                  | $CD_4^+ / CD_8^+$              | AgNORs 含量 (%)                 |
|----------|----------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| 治疗前      | ADV 组          | 64.30 $\pm$ 10.60             | 33.30 $\pm$ 7.80              | 32.50 $\pm$ 7.60              | 1.03 $\pm$ 0.22                | 4.08 $\pm$ 1.22               |
|          | 干扰素组           | 65.10 $\pm$ 9.80              | 34.00 $\pm$ 7.20              | 31.80 $\pm$ 7.80              | 1.07 $\pm$ 0.20                | 4.17 $\pm$ 1.36               |
|          | 联合组            | 66.00 $\pm$ 10.20             | 34.30 $\pm$ 7.60              | 31.30 $\pm$ 8.00              | 1.10 $\pm$ 0.19                | 3.98 $\pm$ 1.30               |
|          | $\chi^2 / F$ 值 | 0.55                          | 0.33                          | 0.20                          | 1.28                           | 0.29                          |
|          | $P$ 值          | 0.58                          | 0.71                          | 0.81                          | 0.28                           | 0.74                          |
| 治疗后 24 周 | ADV 组          | 66.80 $\pm$ 6.50              | 35.10 $\pm$ 7.90              | 30.30 $\pm$ 7.90              | 1.16 $\pm$ 0.26 <sup>b*</sup>  | 5.51 $\pm$ 1.28 <sup>*</sup>  |
|          | 干扰素组           | 68.00 $\pm$ 6.10              | 37.10 $\pm$ 8.50              | 29.30 $\pm$ 7.50              | 1.27 $\pm$ 0.26 <sup>*</sup>   | 5.78 $\pm$ 1.35 <sup>*</sup>  |
|          | 联合组            | 69.80 $\pm$ 5.80              | 38.30 $\pm$ 8.90              | 28.10 $\pm$ 8.20              | 1.36 $\pm$ 0.27 <sup>*</sup>   | 6.01 $\pm$ 1.43 <sup>*</sup>  |
|          | $\chi^2 / F$ 值 | 2.39                          | 1.68                          | 1.77                          | 4.22                           | 1.11                          |
|          | $P$ 值          | 0.09                          | 0.19                          | 0.17                          | 0.01                           | 0.33                          |
| 治疗后 48 周 | ADV 组          | 68.00 $\pm$ 5.90 <sup>b</sup> | 36.30 $\pm$ 8.60 <sup>b</sup> | 27.80 $\pm$ 8.50 <sup>*</sup> | 1.31 $\pm$ 0.36 <sup>*ab</sup> | 6.92 $\pm$ 1.35 <sup>b*</sup> |
|          | 干扰素组           | 70.70 $\pm$ 6.20 <sup>*</sup> | 39.20 $\pm$ 9.00 <sup>*</sup> | 25.50 $\pm$ 8.30 <sup>*</sup> | 1.54 $\pm$ 0.33 <sup>*b</sup>  | 7.33 $\pm$ 1.39 <sup>*</sup>  |
|          | 联合组            | 72.20 $\pm$ 5.50 <sup>*</sup> | 41.60 $\pm$ 9.20 <sup>*</sup> | 23.70 $\pm$ 8.60 <sup>*</sup> | 1.76 $\pm$ 0.35 <sup>*</sup>   | 7.72 $\pm$ 1.43 <sup>*</sup>  |
|          | $\chi^2 / F$ 值 | 4.00                          | 3.90                          | 2.78                          | 5.07                           | 3.39                          |
|          | $P$ 值          | 0.02                          | 0.02                          | 0.06                          | 0.00                           | 0.03                          |
| 治疗后 72 周 | ADV 组          | 67.30 $\pm$ 6.60 <sup>b</sup> | 35.80 $\pm$ 8.20 <sup>b</sup> | 28.30 $\pm$ 7.90 <sup>*</sup> | 1.27 $\pm$ 0.37 <sup>b*</sup>  | 6.49 $\pm$ 1.30 <sup>*</sup>  |
|          | 干扰素组           | 69.50 $\pm$ 6.00 <sup>*</sup> | 38.50 $\pm$ 8.30 <sup>*</sup> | 26.70 $\pm$ 7.80 <sup>*</sup> | 1.44 $\pm$ 0.35 <sup>b*</sup>  | 6.99 $\pm$ 1.33 <sup>*</sup>  |
|          | 联合组            | 71.30 $\pm$ 5.90 <sup>*</sup> | 41.10 $\pm$ 9.00 <sup>*</sup> | 24.30 $\pm$ 8.50 <sup>*</sup> | 1.69 $\pm$ 0.40 <sup>*</sup>   | 7.15 $\pm$ 1.38 <sup>*</sup>  |
|          | $\chi^2 / F$ 值 | 3.56                          | 3.52                          | 2.55                          | 4.81                           | 2.80                          |
|          | $P$ 值          | 0.03                          | 0.03                          | 0.08                          | 0.01                           | 0.06                          |

注:与本组治疗前相比,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ;与干扰素组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与联合组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。表 4 同。

表4 3组患者血清趋化因子水平比较( $\bar{X} \pm s$ , pg/mL,  $n = 32$ )

| 时间         | 组别           | CXCL9                          | CXCL11                      | CCL20                      |
|------------|--------------|--------------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| 治疗前        | ADV组         | 2 355.8 ± 92.6                 | 218.9 ± 43.3                | 139.9 ± 35.7               |
|            | 干扰素组         | 2 365.8 ± 88.8                 | 222.2 ± 45.6                | 145.1 ± 38.2               |
|            | 联合组          | 2 379.7 ± 95.6                 | 232.6 ± 39.8                | 142.0 ± 40.1               |
|            | <i>t/F</i> 值 | 1.01                           | 1.25                        | 0.66                       |
|            | <i>P</i> 值   | 0.36                           | 0.29                        | 0.51                       |
| 治疗后<br>24周 | ADV组         | 1 619.0 ± 166.6 <sup>*ab</sup> | 181.6 ± 33.9 <sup>*b</sup>  | 111.8 ± 36.7 <sup>*b</sup> |
|            | 干扰素组         | 1 516.8 ± 170.1 <sup>*b</sup>  | 170.3 ± 36.1 <sup>*</sup>   | 99.7 ± 35.6 <sup>*</sup>   |
|            | 联合组          | 1 413.6 ± 155.8 <sup>*</sup>   | 155.5 ± 32.3 <sup>*</sup>   | 88.9 ± 32.1 <sup>*</sup>   |
|            | <i>t/F</i> 值 | 6.81                           | 3.65                        | 3.53                       |
|            | <i>P</i> 值   | 0.00                           | 0.03                        | 0.03                       |
| 治疗后<br>48周 | ADV组         | 1 173.3 ± 125.8 <sup>*ab</sup> | 155.0 ± 31.1 <sup>*ab</sup> | 98.2 ± 27.3 <sup>*b</sup>  |
|            | 干扰素组         | 1 086.8 ± 118.2 <sup>*b</sup>  | 136.9 ± 29.1 <sup>*b</sup>  | 88.5 ± 28.1 <sup>*b</sup>  |
|            | 联合组          | 1 001.8 ± 109.7 <sup>*</sup>   | 120.7 ± 25.5 <sup>*</sup>   | 72.9 ± 26.7 <sup>*</sup>   |
|            | <i>t/F</i> 值 | 9.55                           | 7.00                        | 4.33                       |
|            | <i>P</i> 值   | <0.01                          | <0.01                       | 0.01                       |
| 治疗后<br>72周 | ADV组         | 1 323.6 ± 131.8 <sup>*ab</sup> | 168.6 ± 33.9 <sup>*ab</sup> | 101.6 ± 32.1 <sup>*b</sup> |
|            | 干扰素组         | 1 243.0 ± 120.8 <sup>*b</sup>  | 148.8 ± 30.6 <sup>*b</sup>  | 91.8 ± 29.0 <sup>*</sup>   |
|            | 联合组          | 1 166.9 ± 115.6 <sup>*</sup>   | 131.3 ± 28.8 <sup>*</sup>   | 78.9 ± 27.8 <sup>*</sup>   |
|            | <i>t/F</i> 值 | 8.23                           | 5.55                        | 3.99                       |
|            | <i>P</i> 值   | <0.01                          | <0.01                       | 0.02                       |

### 3 讨论

ADV联合干扰素 $\alpha-2b$ 治疗CHB是临床常用治疗方案,2种药物各有优缺点,有互补作用,疗效显著。本研究结果表明,经过48周完整的治疗后,3组患者的整体疗效较理想,ADV与干扰素 $\alpha-2b$ 2种药物对CHB患者的生化学应答效果均非常明显,ALT复常率与两者联用后无明显差异。ADV治疗后患者的病毒学应答效果显著,但血清学应答效果很差。与ADV相反,干扰素 $\alpha-2b$ 对CHB患者的血清学应答效果较明显,但病毒学应答效果很差。两者联用后同时提高了病毒学与血清学应答效果,HBV DNA阴转率、HBeAg阴转率、HBeAb阳转率均优于单用药物组患者,且停药后能维持半年,三者的比例分别为93.8%、62.5%和53.1%,较停药时无明显降低,提示疗效能在短期内维持,不需要终身服药,与以往研究结果<sup>[5]</sup>类似。但以往的研究并未观察3个治疗方案对CHB患者细胞免疫水平与趋化因子的表达差异。

人体内T细胞主要由CD<sub>3</sub><sup>+</sup>、CD<sub>4</sub><sup>+</sup>、CD<sub>8</sub><sup>+</sup>3个亚群组成,其亚群数量与比例是维护体内细胞免疫稳定的关键。目前认为,乙型肝炎的发生、发展与机体的细胞免疫功能状态息息相关,其中T淋巴细胞起关键作用,具体表现为T淋巴细胞数量及亚群比例失调,是HBV在体内持续进行复制的重要原因之一,在乙型肝炎慢性化过程中发挥重要作用。当机体感染HBV后,体内会出现特

异性的T淋巴细胞,以此清除细胞内病毒,当发生急性自限性的HBV感染时,体内有较强的特异性T淋巴细胞反应。但对于CHB患者,其T淋巴细胞的反应较弱,甚至难以检测到,故促进体内细胞免疫水平有助于控制疾病进展,这也是当前抗病毒药物的药理作用机制之一。ADV是核酸类似物,其通过抑制HBV DNA的多聚酶来抑制病毒繁殖,且能诱导体内干扰素的合成,增加NK细胞活力,刺激体内免疫反应,从而起到较强的抗病毒作用。体外注射干扰素不仅能抑制病毒的复制及病毒相关蛋白的表达,还能诱导体内多种抗病毒蛋白的细胞因子合成,在抗病毒的同时还能起到调节免疫的作用<sup>[18]</sup>。本研究结果表明,3组患者治疗后CD<sub>3</sub><sup>+</sup>、CD<sub>4</sub><sup>+</sup>、CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup>的比例逐渐升高,而CD<sub>8</sub><sup>+</sup>的比例逐渐降低。CD<sub>3</sub><sup>+</sup>T淋巴细胞代表总T淋巴细胞水平,CD<sub>4</sub><sup>+</sup>与CD<sub>8</sub><sup>+</sup>T淋巴细胞代表了主要的T细胞亚群<sup>[9]</sup>,两者直接参与了肝细胞的损伤,在乙型肝炎慢性化的过程中起到重要作用<sup>[10]</sup>。CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup>比例也反映了机体的细胞免疫功能,本研究中经过ADV、干扰素 $\alpha-2b$ 或两者联用治疗后,该比值显著升高,且联用的效果显著优于单用。T细胞是一种免疫活性细胞,其细胞核的核仁由组成区构成,早期研究已发现细胞核中存在能被硝酸银染色的物质,不是RNA或DNA,而是一组酸性的嗜银蛋白(AgNORs),其作用是帮助DNA的转录,故其含量的高低能间接反映细胞内核酸的活性,从而反映部分细胞的整体活性变化<sup>[11]</sup>。目前,临床常通过检测外周血的T淋巴细胞内AgNORs的含量来判断机体的免疫状态。本研究结果发现,联合组治疗后外周血T淋巴细胞的AgNORs含量逐渐升高,且联合组治疗后48周的AgNORs含量显著高于ADV组,而联合组与干扰素组间无显著差异。提示ADV与干扰素 $\alpha-2b$ 均能显著提高CHB患者的细胞免疫水平,且干扰素 $\alpha-2b$ 的效果更强,两者联用效果最佳。

趋化因子是指一组能吸引免疫细胞移行到感染部位的小分子蛋白质,其相对分子质量多较低(8~10 kD),因其具有定向细胞趋化作用而得名,其在炎症反应中具有重要作用。外周血的炎症细胞募集到炎症部位的过程主要包括2个步骤,首先由选择素与整合素介导炎症细胞黏附在血管内皮,然后由趋化因子结合炎症细胞表面的受体,从而介导该细胞定向迁移到炎症部位。HBV感染能通过上调外周血清中趋化因子的表达水平来促进T细胞活化,活化后的T细胞经特异受体识别迁移至肝脏,实现减轻肝脏组织因对抗HBV而引起的炎症反应,同时清除进入人体的HBV病毒。在急性病毒性肝炎中,淋巴细胞被趋化因子募集至肝脏,从而能辅助病毒的清除。但CHB患者淋巴细胞的募集却是致病因素之一,因为持续的慢性肝炎可导致肝纤维化、肝硬化。已有研究

显示,机体对 HBV 的免疫耐受与免疫应答低下是导致 CHB 的重要机制之一<sup>[12]</sup>,如趋化因子及其受体直接参与了淋巴细胞在肝组织内募集,并使其在其靶区域内实现增殖和活化,HBV 感染细胞后,能通过调节细胞表面相关的趋化因子受体表达使淋巴细胞无法对其识别与清除<sup>[13]</sup>。本研究检测了所有患者治疗前后外周血 CXCL9, CXCL11, CCL20 3 种趋化因子的表达水平,发现其均参与了 HBV 慢性感染患者的炎症反应<sup>[14-16]</sup>,其中 CXCL9 被认为是 CHB 患者干扰素治疗效果的重要影响因素。国内已有研究表明,血 CXCL9 的基线水平可作为干扰素治疗效果的预测指标,其表达水平较高者经过聚乙二醇干扰素治疗后病毒学应答率较高,可能有利于指导慢性乙型肝炎患者的个体化用药<sup>[17-18]</sup>。孟凡凡等<sup>[19]</sup>的研究表明,CHB 患者血清 CCL20 水平显著升高,是独立于血清其他生化指标之外的病情评估指标。Xin 等<sup>[20]</sup>也发现,慢性重型肝炎引起的肝功能衰竭患者的血 CCL20 水平显著高于 CHB 患者。故认为血 CCL20 水平与 CHB 的病情严重程度有关。本研究中 3 组患者治疗后外周血 CXCL9, CXCL11, CCL20 水平均逐渐降低,且干扰素  $\alpha-2b$  的效果优于 ADV,两者联用的效果最明显,并能持续到停药后半年,尤其是血 CXCL9 水平,干扰素  $\alpha-2b$  的抑制效果最明显。

综上所述,与单用 ADV 和单用干扰素  $\alpha-2b$  相比,ADV 联合干扰素  $\alpha-2b$  能显著提高 CHB 的临床疗效,增强细胞免疫活性,抑制外周血 CXCL9, CXCL11, CCL20 的水平。

#### 参考文献:

- [1] 吴仁利,马 骏,谈清明,等. 乙型肝炎患者 5 项结果及心理状态分析[J]. 转化医学电子杂志,2016,3(7):84-85.
- [2] Il'inskaia ON, Shakh Makhmud R. Ribonucleases as antiviral agents[J]. Mol Biol (Mosk), 2014,48(5):707-717.
- [3] Huang L, Li J, Yan J, et al. Antiviral therapy decreases viral reactivation in patients with hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma undergoing hepatectomy: a randomized controlled trial[J]. Journal of Viral Hepatitis, 2013,20(5):336-342.
- [4] 刘三捷,金 辉,丁玉柱,等. 干扰素  $\alpha-2b$  联合阿德福韦酯在慢性乙型肝炎患者中的疗效[J]. 检验医学与临床,2017,14(20):3097-3099.
- [5] 钱 林,胡小宣,刘洪娟,等. 阿德福韦酯联合国产重组人干扰素  $\alpha-2b$  对慢性乙肝患者抗病毒疗效的对比分析[J]. 中国医师杂志,2016,18(3):366-369.
- [6] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学会. 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华传染病杂志,2001,19(1):56-62.
- [7] Juganariu G, Teodor A, Petrovici C, et al. Characteristics of hepatitis B virus coinfection among HIV-infected Pregnant women[J]. Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi, 2015,119(4):1010-1017.
- [8] 李远勤,刘全艳,于 毅,等. 利巴韦林联合聚乙二醇干扰素  $\alpha-2a$  治疗慢性丙型肝炎临床效果分析[J]. 中国医学前沿杂志(电子版),2016,8(3):89-92.
- [9] Wang L, Zhao C, Peng Q, et al. Expression levels of CD28, CTLA-4, PD-1 and Tim-3 as novel indicators of T-cell immune function in patients with chronic hepatitis B virus infection[J]. Biomed Rep, 2014,2(2):270-274.
- [10] Orságová I, Rožnovský L, Petroušová L, et al. Thyroid dysfunction during interferon alpha therapy for chronic hepatitis B and C - twenty years of experience[J]. Klin Mikrobiol Infekc Lek, 2014,20(3):92-97.
- [11] 常青山. 乙肝后肝硬化患者拉米夫定治疗前后肝功能及机体免疫功能变化[D]. 大连:大连医科大学,2010.
- [12] Wu XY, Li X, Chen ZH, et al. An optimized antiviral modification strategy for prevention of hepatitis B reactivation in patients undergoing prophylactic lamivudine and chemotherapy: a pilot study[J]. Tumor Biology, 2013,34(2):909-918.
- [13] Chu C, Lee S. Assessment of intensive vaccination and antiviral treatment in 2009 influenza pandemic in Korea[J]. Osong Public Health & Research Perspectives, 2015,6(1):47-51.
- [14] Lan XQ, Xiao F, Ding Q, et al. The effect of CXCL9 on the invasion ability of hepatocellular carcinoma through up-regulation of PREX2[J]. Journal of Molecular Histology, 2014,45(6):689-696.
- [15] Lian JQ, Yang XF, Zhao RR, et al. Expression profiles of circulating cytokines, chemokines and immune cells in patients with hepatitis B virus infection[J]. Hepatitis Monthly, 2014,14(6):e18892.
- [16] Wu HL, Kao JH, Chen TC, et al. Serum cytokine/chemokine profiles in acute exacerbation of chronic hepatitis B: clinical and mechanistic implications[J]. Journal of Gastroenterology & Hepatology, 2014,29(8):1629-1636.
- [17] 田小利,秦 波. 趋化因子与干扰素治疗慢性乙肝病毒学应答的相关性[J]. 第三军医大学学报,2012,34(16):1668-1671.
- [18] Lee IC, Huang YH, Su CW, et al. CXCL9 associated with sustained virological response in chronic hepatitis B patients receiving peginterferon alfa-2a therapy: a pilot study[J]. PLoS One, 2013,8(10):108-110.
- [19] 孟凡凡,谷 旻,赵 阳,等. 慢性乙肝患者血清趋化因子 CCL20 浓度与其他生化指标的相关性研究[J]. 现代检验医学杂志,2009,24(4):45-47.
- [20] Xin JJ, Ding WC, Hao SR, et al. Serum macrophage inflammatory protein 3 alpha levels predict the severity of HBV-related acute-on-chronic liver failure[J]. Gut, 2016,65(2):355-361.

(收稿日期:2018-07-26)