

抗病毒治疗对 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎患者外周血 T 淋巴细胞亚群状态的影响

刘小琴(重庆市垫江县人民医院感染科 408300)

【摘要】 目的 探讨抗病毒治疗对乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)阴性慢性乙型肝炎(CHB)患者外周血 T 淋巴细胞亚群状态的影响。**方法** 选择重庆市垫江县人民医院就诊的 70 例 HBeAg 阴性 CHB 患者为试验组,采用流式细胞技术检测研究对象外周血 CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞的表达情况,并在抗病毒治疗 24 周后,再次检测 CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞、HBV-DNA 的表达及肝功能变化情况。并与同期门诊正常体检健康者 35 例(对照组)检测结果作对照研究。**结果** 实验组 CD4⁺ T 淋巴细胞较对照组降低,而 CD8⁺ 则相对较高,差异有统计学意义($P<0.05$);拉米夫定抗病毒治疗 24 周后,丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、HBV-DNA 等指标均有明显降低,临床症状改善,同时 CD4⁺ T 淋巴细胞表达较前明显提高($P<0.05$)。**结论** T 淋巴细胞亚群在 HBeAg 阴性 CHB 患者发病及转归中起重要作用,抗病毒治疗能够提高外周血 T 淋巴细胞亚群的水平,增强患者的抗病毒能力。

【关键词】 慢性乙型肝炎; T 淋巴细胞亚群; 拉米夫定

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.05.007 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)05-0595-02

The effects of anti-hepatitis B virus treatment on the variations of T-lymphocyte subsets in peripheral blood of HBeAg-negative chronic hepatitis B patients LIU Xiao-qin (Department of Infections, People's Hospital of Dianjiang, Chongqing 408300, China)

【Abstract】 Objective To investigate the variation of T lymphocyte subsets in peripheral blood of patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B after the treatment of Lamivudine. **Methods** Flow cytometry was used to detect the CD4⁺, CD8⁺ T cell, liver function and HBV-DNA in 70 patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. These indicators were detected again after 24 weeks therapy of Lamivudine. **Results** The percentage of CD4⁺ T cell was lower, but higher in CD8⁺ T cells, and both had statistical differences compared with controls ($P<0.05$). After the antiviral therapy by Lamivudine for 24 weeks, the expression of HBV-DNA, ALT and AST significantly degraded and the clinical symptoms also improved, furthermore the expression of CD4⁺ T cell obviously increased ($P<0.05$). **Conclusion** T-lymphocyte played extremely important role in the course of disease with HBeAg-negative chronic hepatitis B patients and anti-hepatitis B virus treatment could enhance cellular immunity of the patients, and improve the expression of T-lymphocyte subsets.

【Key words】 chronic hepatitis B; T-lymphocyte subsets; lamivudine

近年来乙型肝炎病毒(HBV)感染成为全球一个较为严重的公共卫生问题,由于 HBV 免疫疫苗的广泛使用及各种抗病毒药物的临床应用,导致 HBV 变异株的出现,HBV e 抗原(HBeAg)阴性的慢性乙型肝炎(CHB)患者比例逐渐增多^[1-2]。CHB 的发病机制相对复杂,越来越多的研究证实,机体免疫功能紊乱,尤其是 T 淋巴细胞亚群功能失调与慢性肝病的发生、发展密切相关。HBV 的发病与宿主免疫应答和调控紊乱有着十分密切的关系。各种免疫细胞特别是 T 淋巴细胞亚群之间的调节与病毒的清除、复制密切相关^[3]。因此 T 淋巴细胞在 HBV 感染中对病毒的清除、控制以及疾病的转归都有重要的影响。本文针对 HBeAg 阴性 CHB 患者中 T 淋巴细胞的这一特点,深入研究其在 CHB 抗病毒治疗中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2012 年 1 月至 2013 年 1 月本院门诊就诊或住院的 HBeAg 阴性的 CHB 患者 70 例为试验组,其中男 44 例,女 26 例,平均年龄(44.1±10.1)岁。根据 CHB 防治指

南(2010 年版)诊断标准,所选患者诊断均符合 HBeAg 阴性 HBV。将 HBeAg 阴性患者依据肝功能情况分为轻、中、重度三组。对照组为门诊正常体检健康者 35 例,其中男 20 例,女 15 例,平均年龄(43.5±11.4)岁。所有患者排除其他肝炎病毒的感染,未进行过抗病毒治疗,无心脑血管疾病、糖尿病及其他代谢性疾病。试验组与对照组的性别、年龄等一般情况比较,差异无统计学意义($P>0.05$),组间具有可比性。

1.2 方法 根据患者具体情况,予以拉米夫定 0.1 g/d 进行治疗,分别于治疗 12、24 周后测定 HBV-DNA,HBV 标志物五项和肝功能。流式细胞分析仪分析、检测外周血 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD16⁺、CD19⁺、CD56⁺ T 淋巴细胞;采用荧光定量 PCR 法检测 HBV 病毒载量;丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)等肝脏功能检测则由本院检验科完成,所有指标及操作均严格按照仪器操作规程和试剂盒说明书进行。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件,对所获取资料

进行数据处理,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组患者治疗 12 周后外周血淋巴细胞各亚群的比较
与对照组相比, HBeAg 阴性患者除 CD16⁺、CD56⁺ 细胞外,其他各指标差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

2.2 HBeAg 阴性组患者经抗病毒治疗 24 周后各项指标的变

化情况 经拉米夫定治疗 24 周后,患者 HBeAg 未有阳性转变;患者的 ALT、AST 等指标明显降低,且临床症状亦有明显好转;与之相对应的 CD4⁺ T 淋巴细胞的表达明显提高($P<0.05$),而 CD8⁺ T 淋巴细胞的表达略有降低趋势,但差异无统计学意义($P>0.05$),CD4⁺ / CD8⁺ 比例变化比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 1 两组患者治疗 12 周后外周血淋巴细胞各亚群间的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	CD3 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD8 ⁺ (%)	CD16 ⁺ CD56 ⁺ (%)	CD19 ⁺ (%)	CD4 ⁺ / CD8 ⁺
试验组	70	78.6±14.1	33.9±11.5	43.2±15.9	12.4±10.2	7.7±5.9	1.04±0.88
对照组	35	71.4±15.3	40.3±12.4	26.5±11.5	14.1±10.7	12.4±7.1	1.49±1.05
<i>t</i>		2.397	2.619	5.527	0.792	3.592	2.314
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05	<0.05

表 2 HBeAg 阴性组患者经拉米夫定治疗 24 周后相应检测指标的变化情况($\bar{x}\pm s$)

治疗时间	HBeAg(PEIU/mL)	ALT(U/L)	AST(U/L)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ / CD8 ⁺
治疗前	0.25±0.23	92.15±90.12	206.12±45.28	33.9±11.5	43.2±15.9	1.04±0.88
治疗 24 周	0.30±0.32	46.76±44.51	60.23±35.83	43.1±18.9	38.5±22.5	1.64±0.51
<i>t</i>	1.062	3.778	21.139	3.479	1.427	4.936
<i>P</i>	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05

3 讨 论

病毒性肝炎治疗的关键是病毒的清除与否,通常以 HBeAg、HBV-DNA 作为 HBV 复制的标志^[4]。CHB 的发病机制一直困扰广大医务工作者及科学研究人员,宿主免疫调控紊乱在慢性肝损伤中起到的作用在国内外学者中达成广泛共识^[5-6]。CHB 感染的外周血及肝组织内 T 淋巴细胞亚群组发生数量和质量上的改变,导致了细胞免疫功能损伤,感染慢性化。HBeAg 阴性 HBV 患者为病毒变异株感染所致,由于 HBeAg 阴性患者 HBV-DNA 水平低于 HBeAg 阳性患者,所以在抗病毒治疗的效果较 HBeAg 阳性患者好。因此,临床对于 HBeAg 阴性 HBV 患者多采用抗病毒治疗,其主要目的是为减慢或阻止乙型肝炎患者肝纤维化的进展^[7-8]。深入了解 HBeAg 阴性 CHB 患者外周血 T 淋巴细胞亚群的变化情况,为临床上 HBV 的治疗提供更好的参考依据。

外周成熟的 T 淋巴细胞无论在表型上还是在功能上都是异质性群体,按其表型不同分为 CD4⁺ T 淋巴细胞和 CD8⁺ T 淋巴细胞。目前认为,幼稚 CD4⁺ T 淋巴细胞可以分化为 Th1、Th2、Th17 和调节性 T 淋巴细胞 4 个主要的功能成熟亚群,分别通过不同的转录途径和特征性的细胞因子执行不同的生物学功能,同时各亚群之间并不是截然独立的,而是相互制约且在一定条件下可以相互转化^[9-10]。CD4⁺ T 淋巴细胞为辅助性 T 淋巴细胞,其主要功能为调节体液免疫和细胞免疫。CD8⁺ T 淋巴细胞按其功能分为抑制性 T 淋巴细胞(Ts)和杀伤性 T 淋巴细胞(Tc)。Tc 细胞与抗病毒免疫、抗肿瘤免疫和移植排斥反应有关。本研究结果显示 HBeAg 阴性患者的外周血 CD4⁺ T 淋巴细胞与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$),经拉米夫定抗病毒治疗后表达比例均有明显升高,且与治疗前比较差异亦有统计学意义($P<0.05$)。以上结果说明,

在 HBeAg 阴性的 CHB 患者发病和疾病转归过程中均有 CD4⁺ T 淋巴细胞的参与。由此可推测 CD4⁺ T 淋巴细胞的低表达或许与降低杀伤性 T 淋巴细胞和其他免疫细胞增殖及分化的能力有关,从而引起 HBV-DNA 的不断复制,引起疾病的慢性化发展和病原体的清除。

HBeAg 阴性 CHB 患者中 CD8⁺ T 淋巴细胞的表达相对较高,较对照组差异有统计学意义($P<0.05$)。患者经过拉米夫定抗病毒治疗 24 周后,肝功能检查等乙肝相应检测指标和临床症状均得到明显改善。本研究结果说明,CD8⁺ T 淋巴细胞或许参与了 HBV 的清除,同时在治疗过程中,拉米夫定起到了一定的协同作用,增强了患者 CD8⁺ T 淋巴细胞的清除作用,从而使 HBV-DNA 的复制控制在低载量状态中。有报道显示,T 淋巴细胞亚群的改善在抗病毒治疗 6 个月时,随着抗病毒时间的延长,对于 T 淋巴细胞的改善会更加显著^[11]。核苷酸类似物更能显著抑制 HBV 的复制,从而改善患者的细胞免疫功能^[12]。治疗 24 周后,CD4⁺ / CD8⁺ 的比值升高,显示抗病毒治疗 24 周对 T 淋巴细胞亚群影响较为明显,淋巴细胞亚群功能逐渐恢复。

综上所述,抗病毒治疗 CHB 方案目前已成为治疗的首选,但其作用机制尚待研究明确。应用拉米夫定抗病毒治疗 HBeAg 阴性患者后,其肝功能明显改善,抑制了病毒的复制,同时有研究发现抗病毒药物治疗时,机体对 HBV 的特异性免疫功能会显著增强,使患者的免疫功能恢复,有利于病毒的清除。本研究结果提示 T 淋巴细胞在 HBeAg 阴性的 CHB 的发病及转归中均起到非常重要的作用,能够提高患者机体免疫力,因此抗病毒治疗对 HBeAg 阴性患者外周血 T 淋巴细胞亚群的调节起到了重要的作用。

(下转第 600 页)

周密布控、层层把关,并结合其他费用低廉的辅助检查项目(如检眼镜观察眼底动脉)来筛查动脉粥样硬化等心血管疾病。同时按动脉粥样硬化等级、心肌梗死分型等诊断结果对实验结果进行二次划分,分析多组间差异及相关性;并运用配对样本 t 检验比较组内数据在各个时间点的差异。目前,利用 RDW 值和 PDW 值预测心血管疾病发生风险的深层探索尚处于起步阶段,更多的作用机制和影响因素还有待进一步阐释。

参考文献

[1] Felker GM, Allen LA, Pocock SJ, et al. Red cell distribution width as a novel prognostic marker in heart failure: data from the CHARM Program and the Duke Databank [J]. J Am Coll Cardiol, 2007, 50(1): 40-47.

[2] Dabbah S, Hammerman H, Markiewicz W, et al. Relation between red cell distribution width and clinical outcomes after acute myocardial infarction[J]. Am J Cardiol, 2010, 105(3): 312-317.

[3] Sangoi MB, Da Silva SH, da Silva JE, et al. Relation between red blood cell distribution width and mortality after acute myocardial infarction[J]. Int J Cardiol, 2011, 146(2): 278-282.

[4] Akin F, Köse N, Ayva B, et al. Relation between red cell distribution width and severity of coronary artery disease in patients with acute myocardial infarction[J]. Angiology, 2013, 64(8): 592-596.

[5] Ihara A, Kawamoto T, Matsumoto K, et al. Relationship between hemostatic factors and the platelet index in pa-

tients with ischemic heart disease[J]. Pathophysiol Haemost Thromb, 2006, 35(5): 388-391.

[6] 张桂, 石庆新, 许成新. 急性心肌梗死检测 D-二聚体和超敏 C 反应蛋白临床意义的 Meta 分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(5): 1205-1206.

[7] Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, et al. Third Universal definition of myocardial infarction[J]. Eur Heart J, 2012, 33(20): 2551-2567.

[8] 颜俊青, 邢俊, 宋星宇. PLT、PCT、MPV、PDW 在冠心病诊断和治疗中的临床价值[J]. 海南医学, 2012, 23(17): 90-91.

[9] Nesbitt WS, Westein E, Tovar-Lopez FJ, et al. A shear gradient-dependent platelet aggregation mechanism drives thrombus formation[J]. Nat Med, 2009, 15(6): 665-673.

[10] Vagdatli E, Gounari E, Lazaridou E, et al. Platelet distribution width: a simple, practical and specific marker of activation of coagulation[J]. Hippokratia, 2010, 14(1): 28-32.

[11] Weiss G, Goodnough LT. Anemia of chronic disease[J]. N Engl J Med, 2005, 352(10): 1011-1023.

[12] Karnad A, Poskitt TR. The automated complete blood cell count. Use of the red blood cell volume distribution width and mean platelet volume in evaluating anemia and thrombocytopenia[J]. Arch Intern Med, 1985, 145(7): 1270-1272.

(收稿日期: 2013-08-22 修回日期: 2013-11-20)

(上接第 596 页)

参考文献

[1] 刘鸿生, 胡志刚, 俞蕾, 等. HBeAg 阴性乙型肝炎患者 HBV-LP 及 HBV-DNA 检测分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(13): 2743-2745.

[2] 郑颖, 刘素霞, 丁文杰, 等. 乙型肝炎病毒外膜大蛋白对 HBeAg 阴性和低水平 HBV-DNA 乙型肝炎患者的检测意义[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(8): 1069-1071.

[3] 顾锡炳, 杨小娟, 王栋, 等. 慢性乙型肝炎患者 HBV DNA 水平与细胞毒性 T 淋巴细胞及肝功能的关系[J]. 中华传染病杂志, 2010, 28(8): 497-499.

[4] 赵彩彦, 刘振中, 李静, 等. 慢性乙型肝炎患者应用拉米夫定前后 T 淋巴细胞亚群, CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 淋巴细胞及白细胞介素-10, 干扰素- γ 的变化[J]. 中华传染病杂志, 2011, 29(8): 480-485.

[5] Shi J, Hao JH, Ren WH, et al. Pathogenesis of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B[J]. Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi, 2009, 17(6): 443-445.

[6] Feitelson MA, Reis HM, Tufan NL, et al. Putative roles of hepatitis B x antigen in the pathogenesis of chronic liver disease[J]. Cancer Lett, 2009, 286(1): 69-79.

[7] Sheridan DA, Price DA, Schmid ML, et al. Apolipoprotein

B-associated cholesterol is a determinant of treatment outcome in patients with chronic hepatitis C virus infection receiving anti-viral agents interferon-alpha and ribavirin [J]. Aliment Pharmacol Ther, 2009, 29(12): 1282-1290.

[8] Vassilopoulos D, Apostolopoulou A, Hadziyannis E, et al. Long-term safety of anti-TNF treatment in patients with rheumatic diseases and chronic or resolved hepatitis B virus infection [J]. Ann Rheum Dis, 2010, 69(7): 1352-1355.

[9] 曾志勋, 吴健林, 吴继周. 乙型肝炎患者外周血 T 淋巴细胞亚群比例和 Th1/Th2 细胞因子水平检测及其临床意义[J]. 吉林大学学报: 医学版, 2012, 38(3): 555-558.

[10] 郑林华, 时永全, 韩英. T 淋巴细胞亚群与慢性乙型肝炎的关系[J]. 中华肝脏病杂志, 2012, 20(1): 75-77.

[11] Fiscaro P, Valdatta C, Massari M, et al. Antiviral intrahepatic T-cell responses can be restored by blocking programmed death-1 pathway in chronic hepatitis B[J]. Gastroenterology, 2010, 138(2): 682-693, 693. e1-4.

[12] 蒋阳昆, 涂燕云, 许剑, 等. 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[J]. 实用肝脏病杂志, 2010, 13(4): 263-264.

(收稿日期: 2013-10-08 修回日期: 2013-11-18)