

拉米夫定对慢性乙型肝炎患者 PBMC 分泌 IFN- γ 和 IL-10 的影响

胡章勇袁 廉袁 维群袁 燕军袁 明霞袁 毅袁 抗先渊 第一军医大学南方医院传染科袁 广东 广州 510515 冤

摘要目的 动态观察在拉米夫定治疗慢性乙型肝炎渊HBV)中对患者外周血单核细胞(PBMC)培养上清中 IFN- γ 和 IL-10 的影响遥 方法 选取接受拉米夫定治疗的 CHB 患者 26 例袁分别在治疗前尧治疗后 1尧3尧6尧9 个月分离外周血单核细胞袁在 rHBcAg 刺激下培养 72 h袁ELISA 法检测上清中 IFN- γ 和 IL-10 含量遥 结果 未经治疗的 CHB 患者 IL-10 水平明显高于正常对照组(孕0.01)袁IFN- γ 生成量无显著差异(孕0.05)遥拉米夫定治疗后各时间点袁IFN- γ 量较正常对照组和治疗前明显升高渊孕0.05)冤而 IL-10 量减少袁在治疗后第 1 尧3 尧6 尧9 月与正常对照组比较无明显差异渊孕0.05)冤完全应答组和部分应答组 IFN- γ 生成量均较治疗前高(孕0.05)袁而 IL-10 的生成量仅在完全应答组降低明显(孕0.05)遥 结论 对拉米夫定治疗发生完全应答的 CHB 患者袁其 Th1 细胞应答增强袁Th2 细胞应答减弱遥

关键词 慢性乙型肝炎;拉米夫定;干扰素- γ ;白介素-10

中图分类号 R392;R453 文献标识码 院 文章编号 院000-2588(2001)08-0613-02

袁章勇袁 廉袁 维群袁 燕军袁 明霞袁 毅袁 抗先渊 第一军医大学南方医院传染科袁 广东 广州 510515 冤

HUZhang-yong,ZHANGLian,WENWei-qun,WANGYan-jun,ZHANGMing-xia,QIANYi,LUOKang-xian (DepartmentofInfectiousDiseases,NanfngHospital,FirstMilitaryMedicalUniversity,Guangzhou510515,China)

粤要目的 动态观察在拉米夫定治疗慢性乙型肝炎渊HBV)中对患者外周血单核细胞(PBMCs)培养上清中 IFN- γ 和 IL-10 的影响遥 方法 选取接受拉米夫定治疗的 CHB 患者 26 例袁分别在治疗前尧治疗后 1尧3尧6尧9 个月分离外周血单核细胞袁在 rHBcAg 刺激下培养 72 h袁ELISA 法检测上清中 IFN- γ 和 IL-10 含量遥 结果 未经治疗的 CHB 患者 IL-10 水平明显高于正常对照组(孕0.01)袁IFN- γ 生成量无显著差异(孕0.05)遥拉米夫定治疗后各时间点袁IFN- γ 量较正常对照组和治疗前明显升高渊孕0.05)冤而 IL-10 量减少袁在治疗后第 1 尧3 尧6 尧9 月与正常对照组比较无明显差异渊孕0.05)冤完全应答组和部分应答组 IFN- γ 生成量均较治疗前高(孕0.05)袁而 IL-10 的生成量仅在完全应答组降低明显(孕0.05)遥 结论 对拉米夫定治疗发生完全应答的 CHB 患者袁其 Th1 细胞应答增强袁Th2 细胞应答减弱遥

运章勇袁 廉袁 维群袁 燕军袁 明霞袁 毅袁 抗先渊 第一军医大学南方医院传染科袁 广东 广州 510515 冤

HBV 持续感染的机制很复杂袁病毒量所致的外周免疫耐受可能为其原因之一遥拉米夫定是近年在国内上市的一种核苷类抗病毒药袁在体内或体外均能显著抑制 HBV 复制遥为了探讨拉米夫定治疗在快速降低 HBVDNA 量的同时是否会引起慢性乙型肝炎渊HBV)患者某些免疫指标的改变袁我们动态监测了 26 例接受拉米夫定治疗的 CHB 患者外周血单核细胞渊BMC)在体外经 rHBcAg 刺激诱导培养后其上清中 IFN- γ 和 IL-10 的含量遥

1 材料与方

1.1 病例选择

本研究 26 例乙型肝炎渊肝)标志物呈野三阳冶的 CHB 患者均为第一军医大学南方医院感染内科

2000 年 2~3 月间住院或门诊病例袁其中男 15 例袁女 11 例袁年龄 16~45 岁袁诊断符合 2000 年西安全国第 10 届病毒性肝炎会议所修订的 病毒性肝炎防治方案(试行)的标准袁并经肝脏穿刺活检证实遥受检之前均未行抗病毒治疗和免疫调节治疗袁并排除药物尧酒精中毒等引起的肝损害遥 12 例正常对照为健康志愿者袁年龄为 渊8 依 1) 岁遥所有受检者抗 -HCV 尧抗 -HD 尧抗 -HEV 尧抗 -HIV 阴性遥

1.2 疗效判断标准

完全应答 院 CR 法检测 HBVDNA 阴性尧肝功能 ALT 恢复正常袁HBsAg 阴转袁抗 -HBs 阳转尧部分应答 院部分指标达到完全应答标准尧无应答 院有一项指标达到上述标准遥

1.3 标本的收集

无菌采集肝素抗凝血 3ml袁常规分离 PBMC袁黏附法去除之袁用含 10% 小牛血清的 RPMI-1640 配成 1伊 10⁶/ml 培养袁唯虫蓝染色袁细胞活力 >95%遥接种于

收稿日期 院000-12-08

作者简介 院胡章勇渊971-袁男袁重庆人袁1994 年毕业于同济医科大学袁硕士袁医师袁电话 院20-85141945袁 e-mail:huzyyy@263.net

24 孔培养板加入终浓度为 5 滴/ml 的特异性刺激剂 rHBcAg (购于 R&D 公司) 置 37 益尧% CO₂ 培养箱 72 h 离心后收集上清 20 益保存待测

1.4 细胞因子检测

采用双抗体夹心法测 IFN-酌和 IL-10 试剂盒购自美国 Genzyme 公司严格按照试剂盒说明书操作标准品 D 做标准曲线再计算待测样品中细胞因子含量每份样本均设三复孔

1.5 统计学处理

实验资料用 SPSS8.0 统计软件进行统计分析采用方差分析及 SNK 检验

2 结果

2.1 慢性乙肝患者和对照 PBMC 培养上清中 IFN-酌

和 IL-10 含量比较

与正常对照比较 HB 患者 IL-10 水平高(孕0.01)而 IFN-酌水平差异不显著(孕0.05)接受拉米夫定治疗后 IFN-酌水平在各时间点均升高(孕0.05) IL-10 水平降低但仅第一月与治疗前比较有明显差异(孕0.05) 表 1

2.2 对拉米夫定治疗患者产生不同应答与 PBMC 培养上清中细胞因子水平关系

随访 26 例 CHB 患者其中对拉米夫定治疗完全应答 5 例部分应答 15 例无应答 6 例各组 PBMC 培养上清液中细胞因子水平见表 2 与治疗前比较完全应答和部分应答组 IFN-酌水平较治疗前升高(孕0.05)无应答组 IL-10 水平在治疗后 1 个月较治疗前低差异有显著意义(孕0.05) 表 2

表 1 接受拉米夫定治疗的 CHB 患者及正常对照组 PBMC 培养上清液中 IFN-酌和 IL-10 含量(pg/ml)

Group	灶	IFN-酌(pg/ml)	IL-10(pg/ml)
Control	12	522.7依8.6	329.4依3.6
Beforetherapy	26	513.9依23.5	436.0依10.0**
1monthaftertherapy	26	616.7依21.0*#	436.0依10.0#
3monthaftertherapy	26	638.81依37.6*#	384.2依4.3*
6monthaftertherapy	26	645.91依89.6*#	401.7依11.7*
9monthaftertherapy	26	613.91依36.9*#	386.6依8.5

*孕0.05, #孕0.01, 与controlgroup, **孕0.05 与beforetherapy

表 2 对拉米夫定治疗不同应答与细胞因子水平的关系

Group	灶	Time	IFN-	IL-10
Fullresponse	5	Beforetherapy	542.8依5.7	467.8依8.5
		1monthaftertherapy	693.0依8.0*	331.2依9.9*
		3monthaftertherapy	674.0依02.6*	348.6依5.9*
		6monthaftertherapy	675.8依9.7*	372.0依9.0
		9monthaftertherapy	680.6依88.4*	338.0依3.9*
Parialresponse	15	Beforetherapy	499.5依21.2	436.2依24.3
		1monthaftertherapy	618.9依1.7**	342.4依8.1*
		3monthaftertherapy	670.0依02.5#	375.8依6.1
		6monthaftertherapy	679.0依19.9**	412.4依22.8
		91monthaftertherapy	606.2依40.9*	400.6依18.1
Noresponse	6	Beforetherapy	525.8依70.0	425.5依03.5
		1monthaftertherapy	547.3依74.3	399.5依12.9
		3monthaftertherapy	531.5依78.8	435.5依7.3
		6monthaftertherapy	491.2依53.4	399.8依42.2
		9monthaftertherapy	578.0依91.6	392.0依4.4

*孕0.05, **孕0.01, #孕0.05 与beforetherapy

3 讨论

慢性 HBV 感染患者往往以 HBV 抗原特异性 Th2 细胞应答占优势 IL-10 是具有代表性的 Th2 类细胞因子之一可通过抑制 Th1 类细胞反应而利于 HBV 的持续感染 本实验表明未经治疗的 CHB 患者 PBMC 培养上清中 IL-10 含量明显高于正常对照组 与此观点一致

目前对慢性乙肝患者存在 T 细胞低反应的机制仍知之甚少 普遍认为病人体内的高病毒量和高抗原量与之有关 拉米夫定是逆转录酶的高效抑制剂 其快速抑制 HBV 复制改善肝功能和肝组织病理改变及副作用小等特征已为大量的临床实验证实 拉米夫定对免疫系统无直接作用 通过快速降低 HBV

- 响暂 Wang S, Ancersson R, Soltesz V, 藻藻藻utorigin sepsis, macrophage function, and oxygen extraction associated with acute pancreatitis in the rat 响暂 World J Surg, 1996, 20: 299-304.
- 响暂 Boros M, Takaichi S, Hatake K. Ischaemic time-dependent microvascular changes and reperfusion injury in the rat intestine 响暂 JSurg Res, 1995; 59: 11-20.
- 响暂 Wang XD, Deng XM, Haraldsen P, 藻藻藻Anti-oxidant and calcium channel blockers counteract endothelial barrier injury induced by acute pancreatitis in rats 响暂 Scand J Gastroenterol, 1995, 30: 1129-36.
- 响暂 Grisham MB, Hernandez LA, Granger DN. Xanthine oxidase and neutrophil infiltration in intestinal ischaemia 响暂 Am J Physiol, 1986, 251: G567-74.
- 响暂 Salzman AL. Nitric oxide in the gut 响暂 New Horiz, 1995, 3: 352-64.
- 响暂 Colgan SP, Resnick MB, Parks CA, 藻藻藻IL-4 directly modulates function of a model human intestinal epithelium 响暂 J Immunol, 1994, 153: 2122-9.
- 响暂 Wang W, Smaid N, Wang P, 藻藻藻Increased gut permeability after hemorrhage is associated with upregulation of local and systemic IL-6 响暂 Surg Res, 1998, 79(1): 39-46.
- 响暂 Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion-induced leukocyte infiltration: Role of elastase 响暂 Am J Physiol, 1990, 259: H390-4.
- 响暂 Boros M, Ordogh B, Kaszaki J, 藻藻藻Role of mast cell degranulation in ischaemia-reperfusion-induced mucosal injury in the small intestine 响暂 Ann Acad Med Singapore, 1999, 28(1): 79-84.
- 响暂 Kaszaki J, Boros M, Szabo A, 藻藻藻Role of histamine in the intestinal flow response following mesenteric ischaemia 响暂 Shock, 1994, 2: 413-20.
- 响暂 Wyble CW, Desai TR, Clark ET, 藻藻藻Physiologic concentration of TNF alpha and IL-1 beta released from reperfused human intestine upregulate E-selectin and ICAM-1 响暂 Surg Res, 1996, 63(1): 333-8.
- 响暂 刘金保, 冉丕鑫. 粘附分子在缺血再灌注损伤中的作用 响暂 国外医学 生理病理科学与临床分册, 1997, 17(3): 247-8.
- 响暂 Keda H, Suzuki Y, Suzuki M, 藻藻藻Apoptosis is a major mode of cell death caused by ischaemia/reperfusion injury to the rat intestinal epithelium 响暂 Gut, 1998, 42(4): 530-7
- 响暂 周德俊, 王鹏志, 朱理玮, 等. 藻藻藻基因在供体小肠缺血-再灌注损伤中作用的实验研究 响暂 中华普通外科杂志, 1999, 14(1): 76-7.
- 响暂 周德俊, 王鹏志, 朱理玮, 等. 藻藻藻基因在供体小肠缺血再灌注损伤中的作用 响暂 中华器官移植杂志, 1998, 19(3): 151-3.

渊上接 614 页冤

DNA 量是否能恢复 CHB 患者的细胞免疫功能尚见不同的报道遥 Marinos 等 藻藻藻比较干扰素单一治疗和拉米夫定 藻藻藻FN-琢联合治疗的 CHB 患者 HLA 限制性 Th1 细胞对 HBcAg 的增生反应表明袁无论是 IFN-琢单一治疗还是联合治疗袁 CD4⁺ 细胞的增生反应并无明显差异遥但因为他们所选的实验对象均为 IFN-琢治疗无效的病例袁应谨慎分析其实验意义遥 Boni 等 藻藻藻动态检测拉米夫定治疗前后 CHB 患者 PBMC 在 rHBcAg 或非特异性刺激剂如 PHA 藻藻藻破伤风毒素蛋白刺激下增生反应情况袁结果显示袁拉米夫定单一治疗能恢复 CHB 患者 T 细胞反应遥本研究结果显示袁拉米夫定治疗后 PBMC 培养上清 IFN-酌 藻藻藻粗略代表 Th1 类细胞因子袁量较正常对照组明显升高袁而 IL-10 藻藻藻粗略代表 Th2 类细胞因子袁量降低袁提示拉米夫定治疗似能增强 CHB 患者 Th1 类细胞因子反应遥但进一步分析表明袁在拉米夫定治疗无应答组袁 IFN-酌和 IL-10 含量在治疗前后并无明显变化袁说明仅部分接受拉米夫定治疗的 CHB 患者 Th1 类细胞因子反应增强遥

拉米夫定不能作用于已与人体染色体整合的 HBV DNA 和游离基因模板, 故停药后会出现肝炎症状复发遥拉米夫定与其他类型的药物联合应用治疗 CHB 已成为目前研究的热点之一遥 IFN-琢治疗 CHB 患者无效的原因是多方面的袁其中袁患者血清存在的

大量病毒和高水平 IL-10 的抑制作用为其主要原因之一遥从理论上讲袁通过拉米夫定治疗降低 HBV DNA 量和 IL-10 水平有可能增强效应遥 Schalm 等 藻藻藻报道袁拉米夫定同 IFN-琢联合应用治疗 CHB 袁可提高 HBeAg 的阴转率袁尤其对存在中等程度谷丙转氨酶水平增高的患者袁其效果更为明显遥但也有与此相反的报道遥袁袁袁拉米夫定的联合治疗问题仍需进一步探讨遥

参考文献:

- 响暂 Marinos G, Noumov NV, Williams R. Impact of inhibition of viral replication on the cellular immune response in chronic hepatitis B virus infection 响暂 Hepatology, 1996, 24(5): 1991-5.
- 响暂 Boni C, Bertoletti A, Penna A, 藻藻藻Lamivudine treatment can restore T cell responsiveness in chronic hepatitis B 响暂 Clin Invest, 1998, 102(5): 968-5.
- 响暂 Schlaak JF, Tully G, Lohf HF, 藻藻藻The presence of HBV-DNA in serum is associated with suppressed costimulatory effects of interleukin 12 on HBV-induced immune response 响暂 Hepat, 1999, 30(3): 353-8.
- 响暂 Schalm SW, Heathcote J, Farrell G, 藻藻藻Lamivudine and alpha-interferon combination treatment of patients with chronic hepatitis B infection: a randomized trial 响暂 Gut, 2000, 46(4): 562-8.
- 响暂 Mutimer D, Naoumov N, Honkoop P, 藻藻藻Combination alpha-interferon and lamivudine therapy for alpha-interferon-resistant chronic hepatitis B infection: results of a pilot study 响暂 Hepatol, 1998, 28(6): 923-9.