

· 基础研究 ·

补肾解毒方与健脾解毒方含药血浆对慢性乙肝病毒感染不同免疫状态患者外周血树突状细胞功能的影响

欧 松¹ 孙克伟² 彭建平² 祁双林¹ 闻 杰¹ 胡 莉²

摘要 **目的** 比较补肾解毒方和健脾解毒方对慢性乙肝病毒(HBV)感染不同免疫状态患者外周血树突状细胞(DCs)功能的影响。**方法** 选择36例湖南中医药大学第一附属医院2010年4月—2011年1月门诊慢性HBV感染患者,根据患者免疫状态分为免疫耐受组(18例)、免疫清除组(18例),另选择10名健康人作健康组。分别采集抗凝外周静脉血,分离外周血单个核细胞(PBMCs),进一步分离提取培养DCs,采用大鼠补肾解毒方和健脾解毒方含药血浆进行干预。对DCs进行形态学鉴定,并检测DCs表型CD1 α 、CD80、CD86、HLA-DR表达,观察DCs培养上清液干扰素- α (interferon- α , IFN- α)的水平。**结果** 免疫清除组患者干预前CD80低于健康组($P < 0.05$);免疫耐受组患者干预前CD80、CD86、HLA-DR均低于健康组;免疫耐受组与免疫清除组干预前IFN- α 低于健康组($P < 0.05$),免疫耐受组患者干预前CD80、HLA-DR、IFN- α 低于免疫清除组($P < 0.05$)。与本组干预前比较,各给药组CD80表达均升高($P < 0.05$)。免疫耐受组患者干预后CD80、HLA-DR高于免疫清除组同期,补肾解毒方组CD86高于免疫清除组同期,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 补肾解毒方中剂量和健脾解毒方小剂量均能促进慢性HBV感染患者DCs功能的恢复,且补肾解毒方对慢性HBV感染免疫耐受期患者DCs功能的影响更为显著。

关键词 乙肝病毒感染;补肾解毒方;健脾解毒方;外周血;树突状细胞

Effects of Bushen Jiedu Recipe and Jianpi Jiedu Recipe Containing Plasma on Dendritic Cells of Chronic Hepatitis B Virus Infection Patients under Different Immune States OU Song¹, SUN Ke-wei², PENG Jian-ping², QI Shuang-lin¹, WEN Jie¹, and HU Li² 1 College of Integrative Medicine, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha (410007), China; 2 Infectious Department, The First Hospital of Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha (410007), China

ABSTRACT **Objective** To compare the effects of Bushen Jiedu Recipe (BJR) and Jianpi Jiedu Recipe (JJR) containing plasma on dendritic cells (DCs) of chronic hepatitis B virus (HBV) infection patients under different immune states. **Methods** Recruited were 36 chronic HBV infection outpatients from First Affiliated Hospital of Hunan University of Traditional Chinese Medicine from April 2010 to January 2011. They were assigned to the immune tolerance group (18 cases) and the immune clearance group (18 cases). Another 10 healthy subjects were recruited as the healthy control group. Their anticoagulated peripheral venous blood was respectively collected. The peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were isolated and further extracted for incubating DCs. The DCs were intervened by BJR and JJR containing plasma. The morphology of DCs was identified. The expressions of CD1 α , CD80, CD86, and HLA-DR were detected. The level of interferon- α (IFN- α) in the supernatant was observed by ELISA. **Results** The CD80 expression level was lower in the immune clear group than in the healthy control group before intervention ($P < 0.05$). The expression levels of CD80, CD86, and HLA-DR were lower in the immune tolerance group than in the healthy control group before intervention ($P < 0.05$). The IFN- α expression level was lower in the immune tolerance group and the immune clearance group than in the healthy control group before intervention ($P < 0.05$). The expression levels of CD80, HLA-DR, and IFN- α were lower in the immune tolerance group than in the immune clearance group before in-

intervention ($P < 0.05$). Compared with the same group before intervention, the CD80 expression significantly increased in each treatment group ($P < 0.05$). After intervention the expression levels of CD80 and HLA-DR were higher in the immune tolerance group than in the immune clearance group in the same time phase, and the CD86 expression level was higher in the BJR group than in the immune clearance group in the same time phase, showing statistical difference ($P < 0.05$). Conclusions The middle dose BJR and the small dose JJR both could promote the recovery of DCs in chronic HBV infection patients. Besides, BJR showed more prominent effects on the function of DCs in chronic HBV infection patients in the immune tolerance stage.

KEYWORDS hepatitis B virus infection; Bushen Jiedu Recipe; Jianpi Jiedu Recipe; peripheral blood; dendritic cell

乙型肝炎病毒(HBV)感染后慢性乙型肝炎患者外周血免疫细胞均存在着免疫功能缺陷或低下,以树突状细胞(dendritic cells, DCs)——T淋巴细胞轴功能低下为中心的细胞免疫功能障碍导致的免疫耐受是HBV持续感染、慢性乙型肝炎难以治愈的主要原因^[1]。既往研究表明中医药在改善机体免疫状态,恢复和提高免疫细胞功能,重建免疫应答具有较好的作用^[2-4]。针对HBV慢性感染其外因是湿热疫毒内侵,内因归属脾、肾二脏亏虚^[5],本研究拟运用HBV感染免疫耐受期与免疫清除期患者外周血DCs体外培养的细胞模型和中药血浆药理实验方法,比较补肾解毒方和健脾解毒方对HBV感染不同免疫状态患者的外周血DCs功能的影响,为临床提高中医药治疗慢性乙型肝炎的疗效提供指导思路和研究基础。

材料与方法

1 动物 SPF级SD大鼠30只,雌雄各半,39日龄, (158.0 ± 11.6) g,湖南中医药大学动物学部提供,使用许可证号:SCXK(湘)2009-0004。实验大鼠于2010年9月26日—10月8日在湖南中医药大学动物学部SPF级饲养房喂养。

2 药物 补肾解毒方:六味地黄丸(《小儿药证直诀·卷下》^[6])加甘露消毒丹(《温热经纬》^[7])化裁:熟地24 g 干山药12 g 山茱萸12 g 泽泻9 g 茯苓9 g 丹皮9 g 白蔻仁10 g 藿香10 g 茵陈15 g 滑石30 g 石菖蒲10 g 黄芩10 g 连翘10 g 川贝母10 g 射干10 g 薄荷6 g;健脾解毒方:四君子汤(《太平惠民和剂局方》^[8])加甘露消毒丹化裁:人参、白术、茯苓、炙甘草各9 g 白蔻仁10 g 藿香10 g 茵陈15 g 滑石30 g 石菖蒲10 g 黄芩10 g 连翘10 g 川贝母10 g 射干10 g 薄荷6 g。饮片均采用道地药材,由长沙九芝堂股份有限公司提供,由湖南中医药大学第一附属医院制备,补肾解毒小、中剂量组分别含生药1.94、9.71 g/mL;健脾解

毒小、中剂量组分别含生药1.58、7.92 g/mL。

3 试剂及仪器 BS缓冲液:天津津脉公司;淋巴细胞分离液:天津灏洋公司;10%胎牛血清(fetal calf serum, FCS):美国Hyclone公司;RPMI1640:吉诺生物医药技术有限公司;重组人粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(rhGM-CSF)、重组人白细胞介素4(rhIL-4):美国Peprotech公司;1%多聚甲醛:天津市化学试剂研究所;荧光标记鼠抗人HLA-DR-PE(藻红蛋白荧光素)、CD80-FITC(异硫氰酸荧光素)、CD86-PE、CD1 α -FITC及同型对照IgG2b-PE和IgG1-FITC:美国ebioscience公司;水套式CO₂培养箱(中国力康发展有限公司)、倒置生物显微镜XD-202型(南京江南永新光学有限公司)、FACS Calibur流式细胞仪(BD亚洲有限公司)。

4 DCs细胞分离与培养 选择36例湖南中医药大学第一附属医院感染科2010年4月—2011年1月门诊HBV慢性感染患者,均符合《慢性乙型肝炎防治指南》^[9]诊断标准,均签署知情同意书。根据免疫状态分为免疫耐受组和免疫清除组,其中免疫耐受组18例,男11例,女7例,平均年龄 (29.2 ± 5.0) 岁,病程8~23年,平均病程 (12.6 ± 3.1) 年;免疫清除组18例,男12例,女6例,平均年龄 (30.1 ± 3.8) 岁,病程10~21年,平均病程 (11.8 ± 4.4) 年。另选择10名湖南中医药大学健康学生及湖南中医药大学第一附属医院健康职工作为健康组,其中男6例,女4例,平均年龄 (26.7 ± 2.5) 岁。各组一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。参考Okazaki T等^[10]分离培养DCs的方法。无菌条件下采集各组患者及健康人手臂静脉外周血20 mL,运用密度梯度离心法,肝素(50 IU/mL)抗凝,PBS 1:1稀释,用淋巴细胞分离液分离外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PB-MCs),PBS洗涤2次,RPMI-1640洗涤1次。用含10% FCS RPMI-1640液调整PBMCs浓度为 2×10^6 /mL,移入6孔培养板,每孔2.5 mL,37℃、5% CO₂培养箱孵育过夜。吸弃培养上清液,37℃预热

RPMI-1640 液轻轻洗涤培养板 2 次, 祛除非贴壁细胞, 获贴壁单核细胞。分别加入含有粒-巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF) 1 000 U/mL, IL-4 500 U/mL 完全培养基培养, 隔日半量换液和加细胞因子 (首次浓度的 1/2), 培养至第 7 天, 收集的悬浮细胞即为 DCs。

5 动物分组及干预方法 动物随机分为 5 组: 正常对照组 (10 只)、补肾解毒小剂量组 (5 只, 1.94 g/mL)、补肾解毒中剂量组 (5 只, 9.71 g/mL)、健脾解毒小剂量组 (5 只, 1.58 g/mL)、健脾解毒中剂量组 (5 只, 7.92 g/mL)。SD 大鼠灌胃量按体表面积法换算, 小剂量相当于成人临床用药量 6.562 倍^[11], 其 5 倍剂量为中剂量。具体灌胃干预措施及大鼠含药血浆制备均按文献[12, 13]方法进行。正常对照组采用等量生理盐水灌胃。每日上午 8:00、下午 5:00 灌胃, 每次灌胃量为 1 mL, 连续 3 天, 第 4 日上午灌胃后 1~2 h 内取血。采血前 12 h 禁食, 自由饮水, 1% 戊巴比妥腹腔注射麻醉 (45 mg/kg), 待麻醉满意后开腹, 分离腹主动脉, 持采血针刺入腹主动脉, 接负压肝素抗凝管取血, 每只大鼠采血约 10 mL, 2 500 r/min 离心 20 min, 取血浆, 0.22 μ m 滤膜过滤除菌, 将血浆分装至 1.5 mL EP 管中, 置于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱保存备用。

6 最佳血浆培养浓度的确定 采用 MTT 法收集分离培养成熟的 DCs 细胞, 用预热的 RPMI1640 培养液洗涤细胞 2 次, 用完全培养液配制成单个细胞悬液, 以 2×10^5 /mL 接种 96 孔培养板, 每孔 100 μ L, 分别加入含药血浆 5、10、20 μ L, 使终浓度分别为 5%、10%、20%, 每一浓度同时设 3 个复孔。正常对照组大鼠血浆为正常对照孔, 5% CO_2 、37 $^{\circ}$ C 饱和湿度孵育 48 h。每孔加入 20 μ L (5 g/L) MTT 溶液, 继续孵育 4 h, 弃上清液, 加入 200 μ L DMSO 振荡 10 min, 在酶标仪上选择 492 nm 波长, 以 630 nm 波长为参照波长, 测定各孔吸光度值 (OD 值)。选择 DCs 生存率最高的血浆浓度作为干预浓度。DCs 生存率 = 药物干预组/正常对照组 OD 值 $\times 100\%$ 。

7 含药血浆干预 于培养第 7 天收集 DCs 细胞, 同以上操作配制 2×10^5 /mL 单个细胞悬液。取 1 mL DCs 细胞悬液, 用于干预前 DCs 细胞功能检测。其余 DCs 细胞悬液各取出 1/3, 分别以最佳血浆培养浓度的药物血浆进行干预, 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养箱继续培养 48 h 后进行 DCs 功能检测。剩余 1/3 DCs 细胞悬液加入等浓度的空白血浆作为正常对照组。选择 OD 值最高的空白血浆浓度, 即添加浓度为 20% 含

药血浆浓度作为计算生存率的正常对照组的 OD 值。经计算, 使 DCs 生存率最高的血浆浓度分别为 10% 补肾解毒中剂量组 (95.0%) 和 10% 健脾解毒小剂量组 (92.3%)。将以上两个浓度作为正式实验的干预浓度。依据目前国内学者报道的药物血浆最佳培养时间 48 h 作为进一步研究的培养时间^[14]。

8 检测指标及方法

8.1 DCs 体外培养形态学表现与鉴定

8.2 DCs 细胞表面分子表达检测 取制备好的 DCs 细胞悬液, 加入 2.5 mL Eppendorf 管中, 分 5 管, 每管 200 μ L, 分别加入 CD1 α -FITC、CD86-PE、CD80-FITC、HLA-DR-PE 单克隆抗体各 20 μ L, 轻轻混匀, 4 $^{\circ}$ C 温育 45 min, 用 PBS 洗涤细胞 2 次以祛除未结合的游离单抗, 以 1% 多聚甲醛 500 μ L 重悬固定细胞, 用 PE 或 FITC 标记的鼠抗人 IgG 作对照。用流式细胞仪检测 CD1 α 、CD80、CD86、HLA-DR 表达水平。

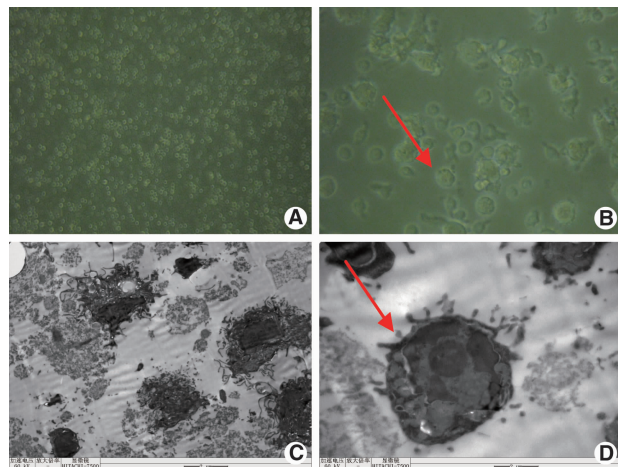
8.3 干扰素- α (interferon- α , IFN- α) 水平检测

采用 ELISA 法检测 DCs 培养上清液 IFN- α 水平, 按试剂盒说明书操作。

9 统计学方法 数据采用 SPSS 13.0 统计软件, 计量资料实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计量资料先进行正态性及方差齐性检验, 两组间比较满足正态性及方差齐性时用成组 t 检验, 方差不齐时用秩和检验; 多组间比较用方差分析; 两两比较用 q 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 免疫清除组 DCs 体外培养形态与鉴定 (图 1)



注: A 为光镜下培养第 1 天 DCs 形态 ($\times 100$); B 为光镜下培养第 7 天 DCs 形态 ($\times 400$); C、D 为电镜下 DCs 形态 (醋酸铀、柠檬酸铅, $\times 7 500$); 图中箭头所示分别为 DCs 光镜和电镜下典型的树突状毛刺

图 1 免疫清除组 DCs 体外培养形态

PBMCs 分离培养过夜后,可见圆形扁平贴壁细胞布满视野,培养第 3 天可见贴壁细胞逐渐减少,而悬浮细胞开始增多,并可见贴壁单核细胞聚集成大小不等葡萄串状,黏附于培养板底。培养至第 7 天可见大量悬浮的大个细胞或细胞团,大部分细胞表面向四周伸出毛刺样细胞质突起。电镜下进行细胞鉴定,为典型 DCs。

2 各组各时间点 CD1 α 、CD80、CD86、HLA-DR 表达比较(表 1,图 2) 免疫清除组患者干预前 CD80 低于健康组($P < 0.05$);免疫耐受组患者干预前 CD80、CD86、HLA-DR 均低于健康组($P < 0.05$);免疫耐受组患者干预前 CD80、HLA-DR 低于免疫清除组($P < 0.05$)。与本组干预前比较,各给药组 CD80 表达均升高($P < 0.05$)。免疫耐受患者各给药组干预后 CD80、HLA-DR 低于免疫清除组同期($P <$

0.05),补肾解毒方组 CD86 高于免疫清除组同期,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

3 各组干预前后 IFN- α 水平比较(表 2) 免疫耐受组与免疫清除组干预前 IFN- α 低于健康组,且免疫耐受组 IFN- α 低于免疫清除组($P < 0.05$)。干预后各组 DCs 分泌 IFN- α 水平有所提高,但与干预前比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 2 各组干预前后 IFN- α 水平比较 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	IFN- α		
		干预前	干预后	
			补肾解毒	健脾解毒
免疫耐受	18	16.84 $\pm$ 4.56 * Δ	17.45 $\pm$ 3.38	17.39 $\pm$ 3.53
免疫清除	18	22.36 $\pm$ 3.64 *	22.53 $\pm$ 4.34	23.16 $\pm$ 3.55
健康	10	30.85 $\pm$ 5.56	30.46 $\pm$ 4.83	31.24 $\pm$ 5.13

注:与健康组比较,* $P < 0.05$;与免疫清除组比较, $\Delta P < 0.05$

表 1 各组各时间点 CD1 α 、CD80、CD86、HLA-DR 表达比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 (g/mL)	时间	CD1 α	CD80	CD86	HLA-DR
免疫耐受	18	—	干预前	35.56 $\pm$ 3.73	15.40 $\pm$ 4.12 Δ	64.80 $\pm$ 5.67 Δ	77.30 $\pm$ 3.59 Δ
正常对照	18	—	干预后	35.42 $\pm$ 2.87	15.67 $\pm$ 3.53	65.34 $\pm$ 4.16	78.53 $\pm$ 3.43
补肾解毒	18	9.71	干预后	36.62 $\pm$ 3.36	26.56 $\pm$ 3.27 * Δ	69.56 $\pm$ 4.36 Δ	82.43 $\pm$ 3.36 Δ
健脾解毒	18	1.58	干预后	37.34 $\pm$ 3.47	22.46 $\pm$ 4.51 * Δ	68.33 $\pm$ 3.68	81.63 $\pm$ 4.24 Δ
免疫清除	18	—	干预前	36.10 $\pm$ 2.81	21.80 $\pm$ 4.32 Δ	65.40 $\pm$ 5.21	89.60 $\pm$ 3.21
正常对照	18	—	干预后	34.66 $\pm$ 2.73	22.03 $\pm$ 3.46	64.53 $\pm$ 4.36	88.78 $\pm$ 3.63
补肾解毒	18	9.71	干预后	37.52 $\pm$ 3.83	27.63 $\pm$ 4.33 *	67.63 $\pm$ 4.43	92.53 $\pm$ 3.65
健脾解毒	18	1.58	干预后	35.68 $\pm$ 2.66	26.74 $\pm$ 3.73 *	68.46 $\pm$ 3.67	90.63 $\pm$ 2.77
健康	10	—	干预前	37.90 $\pm$ 2.03	36.87 $\pm$ 3.42	78.77 $\pm$ 3.14	93.53 $\pm$ 2.34

注:与本组干预前比较,* $P < 0.05$;与相同免疫状态健脾解毒组比较, $\Delta P < 0.05$;与免疫清除组同期比较, $\Delta P < 0.05$;与健康组比较, $\Delta P < 0.05$

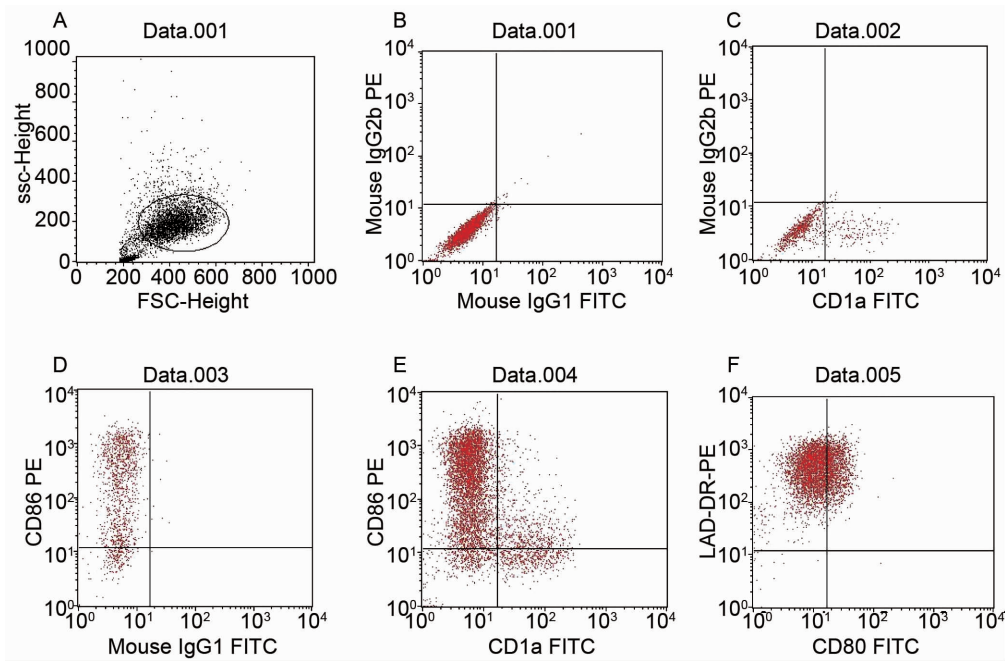


图 2 健康组 DCs 表面分子流式细胞仪部分检测结果

讨 论

DCs 是体内最强的专职性抗原提呈细胞 (antigen presenting cell, APC), 在免疫应答的首要环节——抗原提呈中扮演着十分重要的角色, 其抗原递呈功能较其他专职抗原递呈细胞强 10 ~ 100 倍^[15]。研究表明, 慢性 HBV 感染患者的 T 淋巴细胞本身并不存在明显损害, 其功能缺陷和紊乱的原因主要在于其上游的 DCs 抗原提呈功能和免疫调节功能受损, 导致 T 淋巴细胞免疫功能低下^[16]。因此, 恢复慢性 HBV 感染者 DCs 的功能, 提高 T 淋巴细胞的抗原提呈能力, 对启动机体免疫应答, 纠正 HBV 感染中的免疫功能缺陷或低下十分有利, 有助于体内 HBV 的清除。

慢性 HBV 感染属中医学“黄疸”、“胁痛”、“臌胀”、“积聚”等范畴, 其外因是湿热疫毒内侵, 内因归属脾肾二脏亏虚^[5]。病理基础属于本虚标实, 在正邪斗争的过程中, 机体的免疫功能处于紊乱状态, 正气亏虚不能完全行使清除邪气 (HBV) 的功能, 病理状态得不到修复, 致使疾病缠绵难愈^[17]。标本兼治符合慢性 HBV 感染病因病机, 本实验采用补肾解毒方和健脾解毒方干预 HBV 慢性感染患者外周血 DCs, 探讨两种治法对 HBV 慢性感染不同状态 DCs 功能的影响, 不仅有利于进一步明确慢性 HBV 感染患者发病的中医脏腑病机, 而且为临床治疗慢性 HBV 感染患者提供科学可靠的治疗思路 and 实验基础。

既往研究发现, DCs 表面有多种表面标志, 包括 CD1 α 、CD34、CD14、CD83、CD54、CD40、CD86、CD11c、MHC II、HLA-DR、CLA、E-钙黏着蛋白 (E-cadherin)、CD58、CD80 等, 并且随着 DCs 的不同分化阶段而变化。目前国内外公认的鉴定 DCs 的相对特异性标志为 CD1 α 。CD1 α 主要表达于人 T 细胞和 DCs, 是人表皮朗格汉斯细胞的特异性标志。而 CD80 和 CD86 是 DCs 膜表面表达的两类重要的共刺激分子, 随着 DCs 成熟程度的增加而逐渐升高, 可作为成熟 DCs 的标志。另外, HLA-DR 是 MHC-II 类分子的一种, 是成熟 DCs 的标志性抗原, 其表达的高低代表 MHC-II 类分子的水平^[18-21]。

本研究发现, 免疫耐受组与免疫清除组 DCs 部分表面分子表达率较健康组降低, 其中免疫耐受组患者 CD80、HLA-DR 又低于免疫清除组。经含药血浆干预后, CD80 在免疫耐受组与免疫清除组中的表达较干预前升高, 说明两种含药血浆在一定程度上能够促进慢性 HBV 感染患者外周血 DCs 的成熟; 其中免疫耐受组 CD80、HLA-DR 高于免疫清除组, 说明补肾解毒方与

健脾解毒方含药血浆对促进 HBV 感染免疫耐受状态下 DCs 的成熟更加有效。而且, 补肾解毒组 CD86 高于健脾解毒组, 说明补肾解毒方更能促进 HBV 感染免疫耐受状态患者 DCs 的成熟。补肾解毒方由六味地黄丸加甘露消毒丹化裁而成, 其中六味地黄丸为滋补肾阴、填精益髓之要方, 方中熟地黄滋肾阴、益精髓, 为君药; 山茱萸酸温滋肾益肝, 山药滋肾补脾, 共成三阴并补以收补肾治本之要功。此外, 甘露消毒丹具有清热解毒、利湿化浊之功效, 为治疗湿温时疫之主方。健脾解毒方由四君子汤加甘露消毒丹化裁而成, 其中四君子汤具有益气健脾之功效, 为治疗脾胃虚弱之基础方, 方中人参为君, 甘温大补元气, 健脾养胃; 白术为臣, 苦温健脾燥湿; 佐以茯苓, 甘淡渗湿健脾; 使以甘草, 甘温调中, 共凑益气健脾之功。中医学认为免疫功能低下系属机体正气不足, 充实机体正气可能是提高机体免疫功能, 清除和 (或) 抑制肝炎病毒, 从而促使病情改善和恢复的有效途径^[3]。国内外相关文献已证实, 宿主特异性细胞免疫调控紊乱是引起乙肝慢性化的主要原因, 慢性 HBV 感染患者普遍存在外周血 T 淋巴细胞亚群分布的差异及 DCs 活性的下降^[22-24], 符合“邪之所凑, 其气必虚”的中医学思想。而中医学理论认为, 肾为先天之本, 肾精肾气的亏虚将严重影响机体脏腑功能的发挥, 扶正必先固本, 通过补益先天, 充实机体的肾精肾气, 在很大程度上可促进和提高机体脏腑功能运作, 从而起到更好的抗击外邪的作用。

综上所述, 相关实验结果为通过补肾解毒、健脾解毒法恢复或提高机体免疫功能, 激发机体细胞免疫应答, 突破免疫耐受, 清除乙肝病毒提供了一定的理论依据和实验基础。然而, 本实验补肾解毒方与健脾解毒方含药血浆在干预 DCs 后, 其 DCs 分泌的 IFN- α 水平前后差异无统计学意义, 但这并不能完全否定 DCs 功能无变化, 其部分表面分子的表达在一定程度上升高, 而相关分泌因子无明显升高可能与缺乏相应的抗原物质刺激有关, 有待于加入 HBsAg 或者 HbcAg 进行实验, 并同时选择其他相关分泌因子进行综合分析评价。本实验只选取了一些指标进行观察, 不能全面反映 HBV 慢性感染患者机体免疫功能状态, 且未做临床多中心研究, 有待在今后的实验中进一步完善。

参 考 文 献

- [1] Wilson WR, Sande MA. Current diagnosis and treatment in infectious diseases [J]. Hepatology, 2005, 46(5): 439-440, 442-447.

- [2] 刘建平,秦献魁,Heather McIntosh. 中草药治疗慢性乙型肝炎随机对照试验的系统评价[J]. 中国中西医结合杂志, 2002, 22(1): 58-61.
- [3] 赵钢,陈建杰. 王灵台教授论补肾法为主治疗慢性乙型肝炎的机制[J]. 中国中西医结合杂志, 2005, 25(1): 78-79.
- [4] 李曼,姚嫣,高月求. 补肾方对慢性乙型肝炎 T 淋巴细胞免疫效应分子表达的影响[J]. 中西医结合肝病杂志, 2009, 19(5): 266-268.
- [5] 蒋森. 对乙型肝炎“正复胜邪现象”的临床分析[J]. 中医杂志, 2000, 41(12): 730-732.
- [6] 钱乙. 小儿药证直诀·卷下[M]. 北京:人民卫生出版社, 2006:6.
- [7] 王孟英. 温热经纬[M]. 北京:人民卫生出版社, 2005:8.
- [8] 宋·太平惠民各剂局. 太平惠民和剂局方[M]. 北京:人民卫生出版社, 2007:7.
- [9] 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[M]. 北京:人民卫生出版社, 2005:3-7.
- [10] Okazaki T, Honjo T. Rejuvenating exhausted T cells during chronic viral infection[J]. Cell, 2006, 124(3): 459-461.
- [11] 贺石林,王键,王净净主编. 中医科研设计与统计学[M]. 长沙:湖南科学技术出版社, 2003:36.
- [12] 李仪奎,吴健宇. 血清药理实验中采血时间的通法方案[J]. 中国药理学通报, 1999, 15(6): 569-570.
- [13] 刘武,夏雄智,胡敏,等. 制作六味地黄丸含药血清有关问题的思考[J]. 中国中医急症, 2007, 16(7): 854-855.
- [14] 李萍,胡国龄,刘洪波,等. 抗纤二号药物血清对活化型肝星状细胞的影响[J]. 中华肝脏病杂志, 2005, 10(2): 137-140.
- [15] Op den Brouw ML, Van Roosmalen MH, Kusters JG, et al. Functional impairment of mDC in chronic HBV patients: the role of HBV proteins[J]. Hepatology, 2005, 42(Suppl 1): 712A.
- [16] Chang JJ, Thompson AJ, Visvanathan K, et al. The phenotype of hepatitis B virus-specific T cells differ in the liver and blood in chronic hepatitis B virus infection[J]. Hepatology, 2007, 46(5): 1332-1340.
- [17] 刘晓光,方国安,金秀国,等. 慢性乙型肝炎患者 T 细胞亚群及 NK 细胞检测的临床意义[J]. 浙江临床医学, 2003, 5(7): 493-494.
- [18] 李用国,陈敏,梁增伟,等. 健康人外周血树突状细胞的体外培养扩增及其 CD1 α 等表面分子的表达分析[J]. 重庆医科大学学报, 2003, 28(1): 90-91.
- [19] 马国强,王佳烈. 人外周血树突状细胞的体外培养及鉴定[J]. 中国现代医生, 2007, 45(24): 4-6.
- [20] 吴雨岗,汪良,张雁云. 人外周血树突状细胞的体外扩增、鉴定及内吞能力的测定[J]. 中国血液流变学杂志, 2004, 14(4): 444-447.
- [21] 黄振宇,范学工,颜雪梅. 慢性乙型肝炎患者树突状细胞分离培养及其功能测定[J]. 中国感染控制杂志, 2007, 6(6): 368-372.
- [22] 刘成海,胡义扬. 第十五届全国中西医结合肝病学术会议纪要[J]. 中国中西医结合杂志, 2006, 26(11): 1051.
- [23] 苏杭,吴晓蔓. 乙型病毒性肝炎患者外周血 T 淋巴细胞亚群检测[J]. 现代实用医学, 2004, 16(5): 288-289.
- [24] Fei GZ, Sylvan SP, Yao GB, et al. Quantitative monitoring of serum hepatitis B virus DNA and blood lymphocyte subsets during combined prednisolone and interferon-alpha therapy in patients with chronic hepatitis B[J]. J Viral Hepatol, 1999, 6(3): 219-227.

(收稿:2011-08-10 修回:2012-05-30)



欢 迎 投 稿 欢 迎 订 阅