

慢性乙肝病毒感染不同免疫状态患者树突状细胞体外刺激后介导的 T 淋巴细胞功能影响的研究

胡珊珊 孙克伟 张茜茜 王若宇

摘要 **目的** 探讨通过补肾解毒和健脾解毒两种不同药物血浆体外作用慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者树突状细胞(dendritic cells, DCs)后对 DCs 功能的改善,比较哪种药物血浆更能促进 DCs 激活 T 淋巴细胞的功能提高。**方法** 选择门诊 CHB 患者 30 例,根据其免疫状态,分为免疫耐受期组 15 例,免疫清除期组 15 例,抽取每例患者外周血 60 mL,分离培养出成熟的 DCs,在培养第 7 天加入含补肾解毒(六味甘露饮)与健脾解毒(四君甘露饮)的复方中药血浆促进 DCs 成熟,另设无药物血浆作为对照。培养至第 9 天,将 DCs 负载 HBVcore18-27 核心肽后与自身的 T 淋巴细胞共培养 72 h,收集 T 淋巴细胞,应用流式细胞技术检测 T 细胞表面分子 CD3、CD28、CD4、CD8 及程序型坏死因子-1(programmed death-1, PD-1)的表达水平。**结果** 与无中药血浆的共培养比较,免疫耐受期组和免疫清除期组的患者经补肾解毒和健脾解毒药物血浆干预后的 DCs 与 T 细胞共培养,在一定程度上都能提高 CD3、CD4、CD28 的表达水平,降低 CD8、PD-1 的表达水平,差异均有统计学意义($P < 0.05$),且补肾解毒药物血浆对提高免疫耐受期患者 CD28 分子表达率、减低 T 细胞表面 PD-1 分子的表达率,效果均优于健脾解毒血浆的干预,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 通过补肾解毒、健脾解毒药物血浆对 DCs 体外干预,并与自身 T 淋巴细胞共培养的方法,能够促进 CHB 患者 DCs 激活 T 细胞的功能提高和 T 细胞表面分子的表达,且补肾解毒法对慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染免疫耐受期患者影响更为显著。

关键词 乙型肝炎病毒感染;树突状细胞;T 细胞;共培养;补肾解毒;健脾解毒

Functions of T lymphocytes Mediated by *in vitro* Dendritic Cells of Chronic HBV Infection Patients in Different Immune States: a Clinical Research HU Shan-shan, SUN Ke-wei, ZHANG Qian-qian, and WANG Ruo-yu Department of Hepatology, First Affiliated Hospital, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha (410007), China

ABSTRACT **Objective** To explore the improvement of dendritic cells' (DCs) functions in chronic hepatitis B (CHB) patients by two different drugs plasma, i.e., Shen supplementing and detoxification (SSD) and Pi invigorating and detoxification (PID), thus comparing which method was more effective to activate DCs to improve T lymphocyte functions. **Methods** Totally 30 CHB outpatients were recruited. They were assigned to the immune tolerant group and the immune clearance group, 15 in each group. Totally 60 mL peripheral blood was extracted to isolate and develop mature DCs. Chinese compound containing (Liuwei Ganlu Syrup for SSD) and (Sijun Ganlu Syrup for PID) plasma were added to promote the maturation of DCs on the 7th day. Besides, non-drug plasma was taken as the control. On the ninth day, HBVcore18-27 loaded core peptide and its own T lymphocyte were co-cultivated for 72 h. Then T lymphocytes were collected. The expression levels of CD3, CD28, CD4, and CD8, programmed death-1 (PD-1) were detected using flow cytometry. **Results** Compared with non-drug plasma, the expression levels of CD3, CD4, and CD28 could be improved, and the expression levels of CD8 and PD-1 could be reduced by the two methods, showing statistical difference ($P < 0.05$). Besides, SSD containing plasma showed

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81072779)

作者单位:湖南中医药大学第一附属医院肝病中心(长沙 410007)

通讯作者:孙克伟, Tel: 0731-85600777, E-mail: keweisun@yahoo.com

DOI: 10.7661/CJIM.2014.04.0418

better effect in improving the molecular CD28 expression rate, and reducing the molecular PD-1 expression rate on the T cell surface, showing statistical difference when compared with that of PID containing plasma ($P < 0.05$). Conclusions *In vitro* intervention of DCs by SSD and PID containing plasmas combined co-cultivation of its own T lymphocytes could promote the activation of DCs to improve the function of T cells and the expression of T cell surface molecules. Besides, SSD showed more significant effect on infection immune of HBV patients in the tolerance stage.

KEYWORDS chronic HBV infection; dendritic cell; T cell; cocultivation; Shen supplementing and detoxification; Pi invigorating and detoxification

乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 感染后形成机体对 HBV 特异性免疫耐受, 导致病毒持续复制不能被清除是 HBV 感染慢性化的主要原因^[1], 其中以树突状细胞 (DCs) — T 淋巴细胞轴功能低下为中心的细胞免疫功能障碍是导致病毒持续复制不能被清除的主要原因。因此, 恢复慢性乙型肝炎 (chronic hepatitis B, CHB) 患者的 DCs 功能, 增强其激活特异性抗 HBV 病毒免疫反应的能力, 则可能起到打破免疫耐受、彻底清除病毒的作用, 有助于 CHB 的治疗。目前, 中医治疗 CHB 是研究的热点之一, 中药治疗 CHB 的作用机理和途径与西药有所不同, 中药治疗重在免疫功能的恢复, 而不在于直接抑制病毒的复制^[2]。本研究通过运用血浆药理学原理, 在体外进行外周血单核细胞的 DCs 方向转化, 并辅以中药血浆刺激, 增强 DCs 的成熟和功能, 经 HBV 核心肽 18-27 (HBVcore18-27) 负载后与自身的 T 淋巴细胞共培养后, 对 T 淋巴细胞表面分子进行流式检测, 比较补肾解毒、健脾解毒哪种药物血浆能够更好地促进 HBV 感染后免疫细胞功能恢复, 为临床提高中医药治疗 CHB 的疗效提供客观依据和研究基础。

资料与方法

1 诊断标准 (1) CHB 的诊断参照《慢性乙型肝炎防治指南》^[3]: 乙肝病毒表面抗原 (hepatitis B surface antigen, HBsAg) 阳性时间超过 6 个月, 有 HBsAg 阳性家族集聚史; HBV-DNA 和 HBcAb 阳性。(2) CHB 免疫耐受期的诊断: 血清 HBsAg 和 HBV DNA 阳性, HBeAg 或抗-HBe 阳性, 但 1 年内连续随访 3 次以上, 血清 ALT 和 AST 均在正常范围, 或肝组织学检查一般无明显异常。(3) CHB 免疫清除期的诊断要点: ① HBeAg 阳性 CHB: 血清 HBsAg, HBV DNA 和 HBeAg 阳性, 抗-HBe 阴性, 血清 ALT 持续或反复升高, 或肝组织学检查有肝炎病变。② HBeAg 阴性 CHB: 血清 HBsAg 和 HBVDNA 阳性, HBeAg 阴性、抗-HBe 阳性或阴性, 血清 ALT 持

续或反复升高, 或肝组织学检查有肝炎病变。

2 纳入及排除标准 纳入标准: (1) 符合诊断标准者; (2) 年龄范围: 20 ~ 47 岁; (3) 均签署知情同意书。排除标准: (1) 合并 HCV、HDV、HAV、HEV、HGV 等嗜肝病毒感染、自身免疫性肝炎、酒精性肝炎、药物性肝炎、血吸虫性肝硬化、脂肪肝等其他肝脏疾病患者; (2) 肝炎肝硬化、重型肝炎或肝细胞癌者; (3) 采集标本前半个月内有细菌感染证据患者; (4) 妊娠、哺乳期妇女; (5) 血清免疫学检查证实有 EB 病毒、巨细胞病毒等病毒感染患者; (6) 静脉药瘾者、人免疫缺陷病毒阳性; (7) 合并心、脑、肾、肺等基础疾病或其他免疫功能紊乱性疾病患者; (8) 近三个月内使用过免疫抑制剂患者。

3 一般资料 收集 2011 年 12 月—2012 年 2 月期间在湖南中医药大学肝病中心门诊就诊的 30 例 CHB 患者, 按其免疫状态分为 2 组, 即免疫耐受期组和免疫清除期组。免疫耐受期组患者 15 例, 其中男 8 例, 女 7 例, 年龄 21 ~ 45 岁, 平均年龄 (26.00 ± 1.60) 岁; 免疫清除期组患者 15 例, 其中男 7 例, 女 8 例, 年龄 20 ~ 47 岁, 平均年龄 (26.12 ± 7.68) 岁, 两组性别、年龄等一般资料比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

4 试剂与仪器 白细胞介素 4 (IL-4)、重组人粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (rhGM-CSF)、白细胞介素 2 (IL-2) 均购自美国 Peprotech 公司; PBS 缓冲液购自天津津脉公司; 淋巴细胞分离液购自天津灏洋公司; 10% 胎牛血清 (fetal calf serum, FCS) 购自美国 Hyclone 公司; HBVcore18-27 由上海生物医学工程公司合成; 荧光标记鼠抗人 CD4-FITC (异硫氰酸荧光素)、CD8-PE (藻红蛋白荧光素)、CD28-FITC、CD4-FITC, PD-1-FITC 及同型对照 IgG2a-PE 和 IgG1-FITC 均购自美国 EbioScience 公司; 超净化工工作台 (苏净集团安泰公司); 倒置生物显微镜 XD-202 型 (南京江南永新光学有限公司); 水套式 CO₂ 培养箱 (力康发展有限公司); 微型高速离心机 (上海安亭科

学仪器设备厂);流式细胞仪(BD 亚洲有限公司)。

5 中药血浆的制备 根据葛金文等^[4]提出的血浆药理学的方法,把补肾解毒方即六味地黄丸加甘露消毒饮和健脾解毒方即四君子汤加甘露消毒饮的中药组成分别加 500 mL 水煎煮浓缩后冰箱保存。参照贺石林等^[5]提出的按动物和人的体表面积换算方法以中、小剂量的中药浓煎液给老鼠连续灌胃 4 天,动脉采血后离心保存血浆,通过预实验来测定使 DCs 生存率最高的药物血浆干预剂量作为实验研究的最佳干预剂量,即 20 μ L。

6 检查指标及方法

6.1 外周血单核细胞(PBMC)的分离 常规分离 PBMC,用含 10% FCS RPMI-1640 液调整外周血 PBMCs 2×10^6 个/mL 植入 6 孔培养板,每孔 2.5 mL,37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养箱孵育过夜。

6.2 成熟树突状细胞(mature dendritic cell, mDC)的培养 PBMC 贴壁后,向去除非贴壁细胞的 6 孔培养板孔内各加入 2.5 mL 10% FCS RPMI-1640 培养液,其中粒-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF) 1 000 U/mL,白细胞介素-4(IL-4) 500 U/mL,在 5% CO_2 37 $^{\circ}$ C 条件下培养,隔日换液。培养至第 7 天,用完全培养基重悬,分别加入补肾解毒中药和健脾解毒中药血浆各 20 μ L 到培养板,以不加中药血浆作为对照,继续反应 2 天。

6.3 T 细胞的准备 DCs 培养至第 8 天,无菌条件下第 2 次抽取同一个体的外周血 20 mL,采用密度梯度离心方法获取自体 T 淋巴细胞。

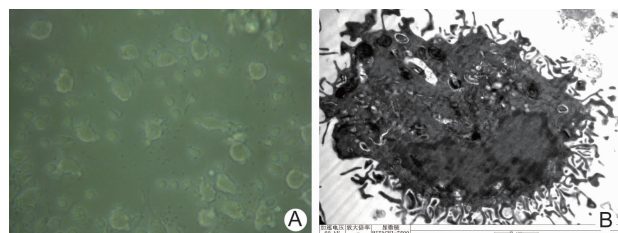
6.4 DCs 与自身 T 淋巴细胞共培养 参考文献[6]。DCs 在培养的第 9 天加入 HBVcore18-27 终浓度 20 μ g/mL,作用 120 min 后,加入含 50 μ g/mL 丝裂霉素 C(MMC) 37 $^{\circ}$ C 作用 45 min,用培养基充分清洗,以去除残留的 MMC,加入 6 孔培养板,细胞数为 1×10^4 /孔。以 1:10 的比例加入以尼龙毛柱法分离出的自体 T 细胞,24 h 后加入 IL-2 50 U/mL,隔天半量更换培养基,继续培养 48 h。

6.5 T 淋巴细胞表面分子的流式检测 培养至第 12 天,收集每例样本经药物血浆处理干预后的 DCs 共培养的 T 细胞及未经药物血浆干预的 DCs 共培养的 T 细胞;分 5 管,每管为 200 μ L,分别加入荧光标记鼠抗人 CD3-Percp、CD8-PE、CD28-FITC、CD4-FITC 和 PD-1-FITC 各 5 μ L,并用 PE(藻红蛋白荧光素)、FITC(异硫氰酸荧光素)或 Percp(多甲藻黄素-叶绿素)标记的鼠抗人 IgG1 和 Ig 2 α 作对照,用流式细胞仪检测上述分子的表达水平。

7 统计学方法 采用 SPSS 16.0 软件包进行统计学处理,计量资料数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。完全随机设计资料两个或多个样本均数比较,满足正态性及方差齐性时,用方差分析,多重比较的 LSD 法和 Dunnett 法。不同组间比较,先进行方差齐性分析,方差齐时用 t 检验,方差不齐时用 t' 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 倒置显微镜和透视电镜下观察 DCs 形态结构(图 1) PBMC 培养过夜后,在显微镜下观察可见视野细胞贴壁呈单层均匀分布,第 3~4 天时,胞体较前增大,细胞悬浮,呈簇状生长,至第 5 天,大部分细胞悬浮生长,细胞体积明显增大,形态不规则,细胞表面可见毛刺生长。第 7 天,DCs 发育成熟,大部分细胞脱落,成团状,在显微镜下可见细胞表面有许多毛刺,为典型 DCs(图 A);在电镜下观察可见细胞体积较大,呈梭形,表面毛刺样突起明显,胞浆内富含线粒体和溶酶体,但欠清晰,核膜边界清楚,但胞核模糊,染色质分布均匀(图 B)。



注:A 为倒置显微镜下培养第 7 天的 DCs 形态($\times 400$);B 为透射电镜下 DCs 的形态学特征($\times 7\ 500$)

图 1 倒置显微镜和透视电镜下观察 DCs 形态结构

2 T 细胞表面 CD3、CD4、CD28 的表达率比较(表 1) (1)免疫耐受期组:与无中药血浆干预的共培养比较,中药血浆干预后的共培养能更显著提高 T 细胞表面 CD3 分子的表达,且补肾解毒药物血浆的干预效果优于健脾解毒药物血浆,差异有统计学意义($P < 0.05$);免疫清除期组:两种中药血浆药物共培养对 CD3 分子的表达与无中药血浆干预的培养比较,差异无统计学意义意义($P > 0.05$),且两组中药血浆药物间比较差异无统计学意义($P > 0.05$);同一种药物血浆对 CD3 分子的干预不同组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。(2)免疫耐受期组:与无中药血浆干预的共培养比较,中药血浆干预更能显著提高 T 淋巴细胞表面 CD4 分子表达水平,但补肾解毒药物血浆和健脾解毒药物血浆间干预结果比较,差异无统计学

意义($P > 0.05$);免疫清除期组结论同免疫耐受组;同一种药物血浆对 CD4 分子的干预不同组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。(3)免疫耐受期组:与无中药血浆干预的共培养比较,中药血浆干预的共培养能显著提高 CD28 分子的表达水平($P < 0.05$),且补肾解毒药物血浆效果较健脾解毒药物血浆更明显($P < 0.05$);免疫清除期组结论同免疫耐受期组;同一种药物血浆的干预在不同组间比较,其中补肾解毒药物血浆对免疫耐受期组 T 细胞表面 CD28 表达率的提高较免疫清除期组更为显著($P < 0.05$)。

表 1 T 细胞表面 CD3、CD4、CD28 表达率比较 (%, $\bar{x} \pm s$)					
组别	例数	不同药物 血浆干预	CD3	CD4	CD28
免疫耐受期	15	补肾解毒	67.87 $\pm$ 3.37 * $\triangle$	40.28 $\pm$ 2.23 *	50.23 $\pm$ 3.17 * $\triangle \blacktriangle$
		健脾解毒	62.42 $\pm$ 3.29 *	39.37 $\pm$ 2.33 *	47.50 $\pm$ 2.96 *
		无中药血浆	60.82 $\pm$ 3.37	36.05 $\pm$ 2.48	43.41 $\pm$ 2.28
免疫清除期	15	补肾解毒	66.34 $\pm$ 2.83	44.73 $\pm$ 3.09 *	55.60 $\pm$ 3.84 * $\triangle$
		健脾解毒	65.79 $\pm$ 2.86	43.83 $\pm$ 3.05 *	50.12 $\pm$ 3.74 *
		无中药血浆	65.29 $\pm$ 3.24	40.35 $\pm$ 4.18	49.74 $\pm$ 3.82

注:与无中药血浆干预的共培养比较,* $P < 0.05$;与健脾解毒药物血浆干预的共培养比较, $\Delta P < 0.05$;与免疫清除期组比较, $\blacktriangle P < 0.05$

3 T 细胞表面 PD-1、CD8 表达率比较(表 2)

(1)免疫耐受期组:与无中药血浆干预的共培养比较,免疫耐受期组中药血浆的干预能更显著降低 PD-1 的表达率($P < 0.05$),且补肾解毒药物血浆较健脾解毒药物血浆效果更明显($P < 0.05$);免疫清除期组:中药血浆的干预能显著降低 PD-1 分子表达水平,但两种中药血浆间干预结果比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);同一种药物血浆干预不同组间比较,其中补肾解毒药物对降低免疫清除期组患者 T 细胞表面 PD-1 表达率作用显著优于免疫耐受期组($P < 0.05$)。

(2)免疫耐受期组:与无中药血浆干预的共培养比较,中药血浆干预能显著降低 CD8 分子表达水平,差异有统计学意义($P < 0.05$),但两种中药血浆间的干预作

表 2 共培养后的 T 细胞表面 PD-1、CD8 表达率比较 (%, $\bar{x} \pm s$)				
组别	例数	不同药物血浆干预	PD-1	CD8
免疫耐受期	15	补肾解毒	7.20 $\pm$ 0.42 * Δ $\blacktriangle$	26.87 $\pm$ 1.73 *
		健脾解毒	8.50 $\pm$ 0.43 *	27.61 $\pm$ 1.70 *
		无中药血浆	11.95 $\pm$ 0.70	30.07 $\pm$ 2.62
免疫清除期	15	补肾解毒	5.36 $\pm$ 0.92 *	25.01 $\pm$ 1.85 *
		健脾解毒	5.87 $\pm$ 2.14 *	25.83 $\pm$ 1.69 *
		无中药血浆	8.68 $\pm$ 1.50	27.05 $\pm$ 2.69

注:与无中药血浆干预的共培养比较,* $P < 0.05$;与健脾解毒药物血浆干预的共培养比较, $\Delta P < 0.05$;与免疫清除期组比较, $\blacktriangle P < 0.05$

用比较,差异无统计学意义;免疫清除期组结论同免疫耐受期组患者;同一种药物血浆干预在不同的组间差异也无统计学意义。

讨 论

DCs 作为功能最强的抗原递呈细胞(APC),在免疫应答反应中起着关键作用。其连接着非特异性先天免疫反应与特异性获得免疫,调节 T 细胞与 B 细胞应答。DCs 在体内含量甚微,仅占外周单个核细胞的 0.1%~0.5%,但其分布广泛,抗原递呈能力是巨噬细胞的 10~1 000 倍。DCs 的可塑性很强,大部分 DCs 处于未成熟状态,因此在体外大量培养扩增出有抗原递呈功能的成熟 DCs,同时采用 HBV 核心肽致敏 DCs,并与自身 T 细胞共培养,再回输体内,可以诱导抗原特异性免疫反应。

CHB 属于中医学黄疸、胁痛、腹胀、积聚等范畴,历代医家均认为本病与“湿”、“热”之邪有关,认为湿热毒邪是 CHB 的主要致病因素,湿热毒邪内侵,留滞不去,是本病的发病外因,内因则归属于脾肾两脏亏虚^[7]。中医治疗 CHB 大多数方法均是在补肾和(或)健脾基础上配伍解毒化湿或疏肝行气,或活血化瘀的药物。六味地黄丸、四君子汤是临床上治疗 CHB 肾虚、脾虚的基础中医处方,而甘露消毒丹是临床上清热利湿解毒的基本处方。根据 CHB 的病因病机,本实验进一步探讨补肾解毒法和健脾解毒法对 CHB 免疫功能的调节作用。

由既往实验研究得知:慢性 HBV 感染免疫清除期和免疫耐受期患者的 DCs 表型不成熟,存在抗原递呈功能缺陷,尤其以免疫耐受期患者更明显。存在缺陷的 DCs 不能有效地呈递抗原或刺激活化特异性 T 细胞,进而出现慢性 HBV 感染中特异性 T 细胞免疫反应低下^[8-9]。本研究运用慢性 HBV 感染不同免疫阶段患者的外周血 DCs 与 T 淋巴细胞体外共培养的方法,通过补肾解毒、健脾解毒药物血浆干预,利用流式细胞术检测 T 细胞表面分子的表达,笔者发现两种方法的干预都能提高慢乙肝免疫耐受期患者 T 淋巴细胞表面 CD3、CD4、CD28 的表达,降低其 PD-1、CD8 的表达率,且补肾解毒药物血浆的干预对提高免疫耐受期患者 CD3、CD28 的表达和降低 PD-1 的表达作用优于健脾解毒方法的干预。由此得知,通过共培养的方法和中药血浆体外的干预作用,在一定程度上能够促进 HBV 慢性感染患者 DCs 的成熟,使得 DCs 激活 T 细胞的功能明显提高,促进 T 细胞表面分子的表达,并且补肾解毒药物血浆对慢性 HBV 感染

免疫耐受期患者细胞免疫学功能的影响更为显著。这一结果为临床提高中医治疗 CHB 的疗效提供了思路和研究基础。

因受实验时间的限制,每组的样本量偏少,本研究还存在许多不足之处,今后还应扩大标本量进一步深入研究,以提高实验的严谨度和科学性。

参 考 文 献

- [1] Koido S, Tanaka Y, Tajiri H, et al. Generation and functional assessment of antigen-specific T cells and allogeneic breast cancer cells [J]. Vaccine, 2008, 25(14): 2610-2619.
- [2] Reid SD, Penna G, Adorini L, et al. The control of T cell responses by dendritic cell subsets [J]. Curr Opin Immunol, 2008, 12(1): 114-121.
- [3] 中华医学会肝病学分会, 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.
- [4] 葛金文, 贺蓉. 关于中药血清药理学方法的再思考 [J]. 世界科学技术-中医药现代化思路与方法, 2008, 10

(6): 16-21.

- [5] 贺石林, 王健, 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.
- [6] Carotenuto P, Artsen A, Niesters HG, et al. In vitro use of autologous dendritic cells improves detection of T cell responses to hepatitis B virus (HBV) antigens [J]. J Med Virol, 2009, 81(2): 332-339.
- [7] 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.
- [8] Iwashita Y, Tahara K, Goto S, et al. A phase I study of autologous dendritic cell based immunotherapy for patients with unresectable primary liver cancer [J]. Cancer Immunol Immunother, 2007, 52(3): 155-161.
- [9] Lee WC, Wang HC, Hung CF, et al. Vaccination of advanced hepatocellular carcinoma patients with tumor lysate pulsed dendritic cells: a clinical trial [J]. J Immunother, 2008, 28(5): 496-504.

(收稿: 2013-01-14 修回: 2014-01-26)

《中国中西医结合杂志》第八届编委会名单

总 编 辑 陈可冀

副总编辑 沈自尹 肖培根 雷 燕

顾 问 吴咸中 辛育龄 陈凯先 陈维养 邓铁涛 王永炎 侯 灿 曹洪欣

编辑委员 (以姓氏笔画字母为序)

于德泉	马必生	王一涛	王卫霞	王文健	王宁生	王 伟	王 阶	王拥军	王昌恩
王学美	王宝恩	王硕仁	王 舒	车镇涛	尹光耀	叶文才	史大卓	史载祥	白彦萍
吕志平	吕爱平	吕维柏	朱 兵	朱明军	危北海	庄曾渊	刘干中	刘 平	刘 良
刘建平	刘建勋	刘猷枋	齐清会	阮新民	孙汉董	孙 燕	杨任民	杨宇飞	杨秀伟
李乃卿	李大金	李玉光	李廷谦	李军祥	李连达	李国栋	李国勤	李顺成	李 恩
李 涛	李焕荣	连 方	吴伟康	吴泰相	吴根诚	时毓民	邱 峰	张大钊	张永贤
张永祥	张伯礼	张荣华	张亭栋	张家庆	张敏州	陆付耳	陈士奎	陈小野	陈冬燕
陈香美	范维琥	林志彬	林求诚	林瑞超	郁仁存	果德安	周文泉	周 俊	周霁祥
赵一鸣	赵伟康	赵健雄	胡义扬	胡镜清	饶向荣	洪传岳	栗原 博 (日本)	顾振纶	
徐治鸿	徐 浩	殷惠军	郭 军	郭赛珊	唐由之	唐旭东	凌昌全	黄光英	黄怡超
黄晓愚	黄 熙	曹小定	崔 红	麻 柔	梁晓春	葛秦生	董竞成	董福慧	韩济生
谢竹藩	谢明村	谢 恬	蔡定芳	裴正学	廖家桢	廖福龙	衡先培	戴瑞鸿	

Yung-chi CHENG (美国) Sheng-xing MA (美国) Qun-hao ZHANG (美国)