

温化方对慢性 HBV 携带者 Fibroscan 弹性值及血清 IL10、IL17 表达水平的影响*

陈 果, 骆建兴, 扈晓宇[△]

(成都中医药大学附属医院, 四川成都 610072)

摘要: **目的** 观察温化方对慢性乙型肝炎携带者 HBV-DNA、Fibroscan 弹性值及 IL10、IL17 表达水平的影响, 探讨温化方的保肝作用及部分机制。 **方法** 采取随机、单盲、空白对照的研究方法, 将 30 例慢性 HBV 携带者随机分为治疗组和对照组, 治疗组 16 例采用温化方, 对照组 14 例口服安慰剂, 治疗 12 周后, 观察慢性乙型肝炎携带者 HBV-DNA、Fibroscan 弹性值及血清 IL10、IL17 水平变化情况。 **结果** 治疗组患者治疗后 HBV-DNA、Fibroscan 弹性值明显降低、血清 IL10、IL17 水平明显升高, ($P < 0.05$); 对照组治疗前后无明显变化, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。 **结论** 温化方对脾肾阳虚型慢性乙型肝炎携带者具有明显的抗病毒作用, 同时对携带者的肝组织纤维化具有明显改善作用, 其作用可能与通过平衡提高慢性乙型肝炎携带者 IL10、IL17 水平有关。

关键词: 温化方; 慢性乙型肝炎携带者; Fibroscan 弹性值; 白介素-10; 白介素-17

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2014)03-0001-04

我国为乙肝病毒(HBV)感染高流行区,我国现有的慢性 HBV 感染者约 9 300 万人,约 20%~30% 的慢性 HBV 携带者最终可发展为慢性肝炎和肝硬化,5%可转化为原发性肝癌,严重危害人们的身体健康^[1]。目前国内几乎所有研究都表明慢性 HBV 携带者许多肝脏组织学已出现明显的炎症或纤维化,需要抗病毒治疗。我科工作人员在前期工作中^[2]对我院 184 例 HBV 携带者的肝组织学病理标本进行分析,发现慢性 HBV 携带者组均有不同程度的炎症、纤维化,≥G2 期 44.08%,≥S2 期 54.61%。但目前很多 ALT 持续正常的慢性 HBV 感染者因未出现临床症状,肝功正常等情况,不愿接受肝组织病理活检,拒绝抗病毒治疗,以至于延误病情。本研究拟对这部分病人通过中药干预,观察相关指标,探讨新的治疗途径。

1 资料与方法

1.1 资料

1.1.1 研究对象

研究对象为成都中医药大学附属医院感染科

就诊的 30 例患者,根据 2000 年 9 月中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学会西安会议联合修订的《病毒性肝炎防治方案》诊断为慢性乙型肝炎携带者,HBV DNA: >105IU/mL, <109IU/mL,按 Fibroscan 弹性值划分肝脏纤维化≥S2,符合中医辨证符合脾肾阳虚体质或证候;30 例患者随机分为治疗组和对照组,治疗组 16 例,男性 7 例,女性 9 例,年龄 18~35 岁,平均年龄 26.3 岁。对照组 14 例,男性 8 例,女性 6 例,年龄 20~32 岁,平均年龄 24.1 岁。

1.1.2 药物

温化方: 组成制附子 6g, 巴戟天 30g, 菟丝子 15g, 淫羊藿 15g, 黄芪 20g, 熟地黄 15g, 桑寄生 15g, 黄芩 30g, 炙甘草 5g, 丹参 30g。

安慰剂: 安慰剂药物生药成分为: 藿香、水淀粉、无水葡萄糖、食用巧克力棕色素、食用果绿色素、食用柠檬黄色素。

1.2 给药方法

药物及安慰剂均制成免煎颗粒剂,在常温阴凉

* 基金项目: 国家自然科学基金(81273748);四川省中医院重点项目(2012-D-YY-09)

收稿日期: 2014-05-14

作者简介: 陈果(1978-),男,四川成都人,主治医师,从事中医药防治感染性疾病的临床及实验研究。

[△]通信作者: 扈晓宇, E-mail: xiaoyuhu@aliyun.com

处保存,避免日光照射和潮湿。温化方及安慰剂外包装上标签均标明“温化颗粒”、药物成分及功能、主治、用法、有效期等,采用不透明铝箔包装,重量相同。药物分早、中、晚 3 次服用。疗程共 12 周。

1.3 检测

1.3.1 肝功能

2 组患者治疗第 0,6,12 周第 2 天采静脉血检测,使用全自动生化仪(日本日立 7170A 型)检测血清 ALT、TBIL。

1.3.2 HBV-DNA

2 组患者治疗第 0,6,12 周第 2 天采静脉血,使用美国罗氏公司的 light cycle 荧光 PCR 定量仪进行血清 HBV-DNA 定量。

1.3.3 血清 IL10、IL17

2 组患者治疗第 0,12 周第 2 天采静脉血,采用 ELISA 检测,试剂购自 Sigma 公司,操作严格按试剂盒说明书进行。

1.3.4 Fibroscan 弹性值

患者分别于 0,12 周于我院 Fibroscan 检查室行 Fibroscan 检查。

1.4 统计学方法

所有数据采用 SPSS17.0 软件进行,结果以计量资料采用 t 检验,计数资料采用 χ^2 进行分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 ALT、TBIL 水平

从表 1 得出,治疗前后,治疗组与对照组患者血清 ALT 和 TBil 均无明显变化($P>0.05$);无统计学意义。

表 1 血清 ALT、TBIL 水平

治疗时间	分组	<i>n</i>	ALT(u/L)	TBil(μ mol/L)
0 周	治疗组	16	25.12 $\pm$ 12.24	17.53 $\pm$ 12.56
	对照组	14	27.32 $\pm$ 10.12	20.18 $\pm$ 9.13
6 周	治疗组	16	23.32 $\pm$ 8.94	19.73 $\pm$ 8.54
	对照组	14	24.43 $\pm$ 11.23	18.32 $\pm$ 9.17
12 周	治疗组	16	23.78 $\pm$ 14.25*	14.62 $\pm$ 5.76*
	对照组	14	22.57 $\pm$ 11.35*	19.81 $\pm$ 6.69*

注:与 0 周比较,* $P>0.05$

2.2 血清 HBV-DNA 水平

从表 2 得出,治疗组患者中血清 HBV-DNA 治疗 6 周后较治疗前开始出现较明显降低,其中,

HBV DNA 水平下降大于 21gIU/mL 为 13 例,HBV DNA 水平 $\leq 10^3$ IU/mL 为 4 例;治疗 12 周结束后 HBV DNA 水平下降大于 21gIU/mL 为 14 例,HBV DNA 水平 $\leq 10^3$ IU/mL 为 10 例($P<0.05$)。而对照组在治疗的过程中无明显变化,14 例 HBV DNA 水平下降皆小于 21gIU/mL。提示温化方可以明显降低慢性乙型肝炎携带者血清 HBV-DNA 水平。

表 2 血清 HBV-DNA 水平

治疗时间	分组	<i>n</i>	HBV-DNA(IU/mL)
0 周	治疗组	16	6.3 $\times 10^6 \pm 2.1 \times 10^2$
	对照组	14	7.9 $\times 10^6 \pm 3.2 \times 10^3$
6 周	治疗组	16	2.4 $\times 10^6 \pm 4.6 \times 10^2$
	对照组	14	6.8 $\times 10^6 \pm 6.9 \times 10^2$
12 周	治疗组	16	1.0 $\times 10^6 \pm 6.9 \times 10^{2*}$
	对照组	14	6.3 $\times 10^6 \pm 6.3 \times 10^{2\Delta}$

注:与 0 周比较,* $P<0.05$, $\Delta P>0.05$ 。

2.3 血清 IL10、IL17 水平

从表 3 得出,治疗组患者血清 IL10、IL17 治疗 12 周后皆较治疗前较明显升高($P<0.05$)。对照组前后无明显变化($P>0.05$)。提示温阳方可以降低慢性乙型肝炎携带者血清 IL10、IL17 水平。

表 3 血清 IL10、IL17 水平

治疗时间	分组	<i>n</i>	IL10(μ g/L)	IL17(μ g/L)
0 周	治疗组	16	38.08 $\pm$ 9.36	74.79 $\pm$ 11.32
	对照组	14	34.13 $\pm$ 7.26	69.44 $\pm$ 10.78
12 周	治疗组	16	59.61 $\pm$ 10.73*	42.58 $\pm$ 8.59*
	对照组	14	33.52 $\pm$ 5.23 Δ	67.49 $\pm$ 7.91 Δ

注:与 0 周比较,* $P<0.05$, $\Delta P>0.05$ 。

2.4 Fibroscan 弹性值

从表 4 得出,治疗组治疗后患者 FS 值较前有明显降低($P<0.05$),提示温阳方有较明显的改善肝脏纤维化的作用,对照组治疗前后无明显变化($P>0.05$)。

表 4 Fibroscan 弹性值

治疗时间	组别	<i>n</i>	FS 值
0 周	治疗组	16	12.32 $\pm$ 3.17
	对照组	14	11.18 $\pm$ 4.16
12 周	治疗组	16	6.43 $\pm$ 2.89*
	对照组	14	12.72 $\pm$ 3.39 Δ

注:与 0 周比较,* $P<0.05$, $\Delta P>0.05$ 。

3 讨论

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是世界性难治性疾病。据统计,当前全球范围有3亿多的慢性HBV携带者,其中我国就有近1亿患者。慢性乙肝(chronic hepatitis B, CHB)的发病机制目前尚不能完全解释,多数学者认为HBV本身并不直接引起肝损伤,而是与其本身介导的免疫损伤有关,HBV持续性感染、病情的进展更重要的是与宿主的免疫功能状态有关^[3]。促进免疫活化的炎症因子和诱导免疫耐受的抗炎因子,这两种力量共同作用,参与乙型肝炎病毒感染的免疫机制。而在众多的细胞因子中,IL10、IL17为其中非常重要的抗炎因子和炎症因子,它们在慢性乙型肝炎的进行性发展中起着非常重要作用。IL-10通过抑制DC的分化成熟,使免疫反应信号传导通路中断,从而介导机体的免疫耐受,导致HBV感染慢性化;与此同时,IL-10通过直接抑制多种免疫细胞的活性,减少炎症因子的分泌,从而降低肝脏本身的炎症反应,减轻肝脏损伤。该抗炎作用一直贯穿于乙型肝炎的整个病程中,可是却不利于机体对病毒的清除;而IL-17介导机体感染HBV后的抗病毒反应,对HBV有强大的杀灭作用,但是会造成肝细胞坏死,肝功能进一步下降,病情进一步加重^[4-8]。IL17主要有Th17产生,介导细胞免疫应答;IL-10主要由Th2产生,介导体液免疫应答,清除HBV主要依赖细胞免疫。如果IL17占优势,将促进细胞免疫反应,从而清除细胞内病毒,但同时增强了肝脏的炎症反应,从而加重肝细胞的损伤;如果IL-10占优势,将促进体液免疫反应,并抑制细胞免疫反应,肝细胞损伤减轻,但抗病毒反应减弱。只有适宜的IL-10/IL-17应答才能最终清除病毒。杜文军等^[9]发现,IL-17血清水平在肝硬化组较慢性乙型肝炎组显著升高,差异有统计学意义,认为IL-17在肝纤维化的发生发展中具有重要作用。Sparna等和Qin等^[10-11]发现,在肝硬化患者外周血IL-17水平与透明质酸、层黏连蛋白、Ⅲ型胶原等肝纤维化指标呈正相关,提示IL-17可能参与了肝纤维化的发病机制。陈捷等^[12]通过检测慢性乙型肝炎患者外周血IL-17、IL-10的水平,分析其与相应肝功能指标及HBV DNA的关系。但IL-10/IL-17的平衡性在病

毒感染中的相关性及其干预性研究目前国内很少。同时,由于目前肝穿刺活检未被患者普遍接受,对于ALT持续正常的慢性HBV感染者临床多采用定期复查相关指标,等待治疗时机,予以相关治疗。但我们在临床工作中发现,有些携带者仍进展为肝硬化、肝癌,提示很多患者在等待中丧失或延误了治疗时机。目前Fibroscan检查已能在很大程度上代替肝组织病理检查,且具有无创性,在临床上已大范围开展。

慢性HBV携带及慢性乙型肝炎多属祖国医学“胁痛”、“肝着”等疾病范畴。历代文献虽无该病名,但是关于此病表现的治法记载较为丰富。《金匱要略》云:“夫治未病者,见肝之病,知肝传脾,当先实脾。”提出重视“健脾”、“实脾”的治法。《张氏医通》说:“诸黄虽多湿热,然经脉久病,不无瘀血阻滞也。”故慢性肝炎、肝硬化患者几乎都有不同程度的血瘀见症,血瘀又可加重病情,甚至是黄疸加深的主要病机。《证治汇补》提出:“瘀血发黄”的病机,治黄疸注重活血化瘀而退黄。叶永安、江锋等指出,肝郁脾虚和湿热内阻是慢性乙型肝炎最主要的证型^[13]。高月求研究指出,温肾法可明显降低部分免疫耐受期CHB患者外周血中CD4⁺CD25⁺Tregs/CD4⁺T细胞的比例和FoxP3的基因表达水平,明显改善患者外周血DC共刺激分子CD86、CD80、CD40、CD11c表达,从而有助于HBV的清除、提高核苷类药物的抗病毒疗效^[14]。基于相关中医理论支持及大量的临床实践,针对脾肾阳虚型慢性HBV携带者,笔者总结、形成温化方。相关药理学研究证明^[15-17],方中巴戟天、桑寄生、黄芪、黄芩等均有较好的免疫调节、保护肝细胞、抑制HBV病毒的功能。

本研究发现,在对慢性HBV携带者的干预中,温化方具有明显的抗病毒、改善肝脏纤维化的作用,能明显升高血清中IL10、IL17值。考虑可能与该方药对血清中IL10、IL17的动态平衡起到了较好的调节,机体的体液及细胞免疫处于一个较佳的平衡状态。对于肝功能持续处于正常范围,G、S分期分级符合抗病毒指征,但拒绝接受抗病毒药物的慢性HBV感染者,温化方有可能为这类人群提供了一条新的治疗途径。

参考文献:

- [1] 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病分会. 慢性乙型肝炎防治指南[J]. 中国临床医生, 2012, 40: 66-78.
- [2] 曲俊彦, 扈晓宇. ALT 持续正常的慢性 HBV 感染者肝组织学特点分析[J]. 西部医学, 2011, 23(12): 2317-2320.
- [3] 严艳, 李卓, 李洪权, 等. 白细胞介素-10 基因多态性与乙型肝炎病毒感染的关系 [J]. 世界华人消化杂志, 2006, 14(36): 3529-3533.
- [4] 何文敏, 苏毅. IL-10 和 IL-17 在慢性乙型肝炎、乙型肝炎肝硬化以及肝硬化合并腹腔感染中的研究进展 [J]. 世界华人消化杂志, 2014, 22(3): 333-339.
- [5] 黄英, 文剑, 王清波, 等. 肝细胞肝癌患者血清 IL-18、IL-10 变化的分析[J]. 江苏医药, 2012, 38(13): 1516-1518.
- [6] Zeng L, O'Connor C, Zhang J, et al. IL-10 promotes resistance to apoptosis and metastatic potential in lung tumor cell lines[J]. Cytokine, 2010, 49: 294-302.
- [7] Komiyama Y, Nakae S, Matsuki T, et al. IL-17 plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. J Immunol, 2006, 177: 566-573.
- [8] Miossec P, Korn T, Kuchroo VK. Interleukin-17 and type 17 helper T cells[J]. N Engl J Med, 2009, 361: 888-898.
- [9] 杜文军, 陈士俊, 邢直直, 等. IL-17 在慢性乙型肝炎患者血清中的表达及其与肝炎肝硬化的相关性研究[J]. 中国肝脏病杂志, 2008(1): 28-30.
- [10] Sparna T, Rétey J, Schmich K, et al. Genome-wide comparison between IL-17 and combined TNF- α /IL-17 induced genes in primary murine hepatocytes[J]. BMC Genomics, 2010, 11: 226.
- [11] Qin LY, DU WJ, Liu KH, et al. Research on the relationship of intrahepatic expression of IL-17 and liver cirrhosis in chronic hepatitis B patients [J]. Zhonghua Ganzangbing Zazhi, 2009, 17: 221-222.
- [12] 陈捷, 王兰兰, 付阳, 等. IL-17、IL-23、TGF- β 和 IL-10 在乙型肝炎病毒感染中的表达分析 [J]. 免疫学杂志, 2012, 28: 231-236.
- [13] 叶永安, 江锋, 赵志敏, 等. 慢性乙型肝炎中医证型分布规律研究[J]. 中医杂志, 2007, 48(3): 256-258.
- [14] 高月求. 中医药调控免疫是治疗慢性乙型肝炎优势环节[J]. 中西医结合肝病杂志, 2010, 20: 129-130.
- [15] Josephs MD, Bahjat FR, Fukuzuka K, et al. Lipopolysaccharide and D-galactosamine-induced hepatic injury is mediated by TNF- α and not by Fas ligand [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2000, 278: 1196-1201.
- [16] 徐超斗, 张永祥, 杨明, 等. 巴戟天寡糖的促免疫活性作用[J]. 解放军药学报, 2003, 19(6): 466-468.
- [17] 李筠, 杨慧银. 复方黄芪颗粒治疗慢性乙型肝炎疗效与疗程的相关性[J]. 中医杂志, 2006, 47: 763.

(编辑: 徐建平)

Effects of Wenhua Fang on Chronic HBV Carriers Fibroscan Elasticity and Serum IL10、IL17 Expression Level

CHEN Guo, LUO Jian-xing, HU Xiao-yu

(Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, China)

ABSTRACT: **Objective** To observe the effect of Wenhua Fang on chronic HBV carriers HBV-DNA copies, Fibroscan elasticity and IL10, IL17 expression level. and to explore the hepatoprotective mechanism of Wenhua fang. **Methods** This paper chose a randomized, single-blind, blank control way of study. 30 chronic HBV carriers were randomly divided into treatment group and control group, Treatment group use Wenhua Fang and control group use placebo for 12 weeks. Observing all cases' HBV-DNA copies, Fibroscan elasticity and IL10, IL17 expression level. **Results** The HBV-DNA copies, Fibroscan elasticity and serum IL10, IL17 expression levels are significantly increased in treatment group, ($P < 0.05$); and manifest no statistical significance ($P > 0.05$) in control group. **Conclusion** Wenhua fang shows significant antiviral effect on chronic HBV carriers with asdthenic splenonephro-yang. It can also alleviate liver fibrosis of chronic HBV carriers evidently. These effects may be associated with an even improving of serum IL10, IL17 expression levels in chronic HBV carries.

KEY WORDS: Wenhua fang; chronic HBV carriers; Fibroscan elasticity; IL10; IL17