

慢性乙型肝炎湿热内蕴和肝郁脾虚证细胞免疫功能研究

□ 孙克伟* 周小军

(湖南中医学院第一附属医院肝病中心 湖南 长沙 410007)

摘要 目的:观察慢性乙型肝炎湿热内蕴和肝郁脾虚证细胞免疫功能的变化。方法:对 28 例湿热内蕴证和 32 例肝郁脾虚证慢性乙型肝炎患者,进行 T 淋巴细胞亚群、 Th_1/Th_2 细胞因子检测。结果:肝郁脾虚型、湿热内蕴型 CD_4^+/CD_8^+ 均降低,肝郁脾虚型下降更明显;两型 Th_1 细胞因子无明显改变, Th_2 细胞因子明显升高,肝郁脾虚型升高更明显。结论:细胞免疫功能检测可为慢性乙型肝炎中医辨证的客观化提供依据。

关键词 慢性乙型肝炎 T 淋巴细胞亚群 Th_1/Th_2 细胞因子 中医证型

慢性乙型肝炎患者细胞免疫功能失衡或缺损,导致乙肝病毒不能清除,是慢性乙型肝炎难以治愈的主要原因。湿热内蕴和肝郁脾虚是慢性乙型肝炎患者最常见的证型,有关两证型与肝功能、病毒指标等关系的研究已有报道,但两证型慢性化的程度和对药物的

应答差异与细胞免疫功能变化的关系的研究,尚不多见。本研究通过检测慢性乙型肝炎患者外周血 T 淋巴细胞亚群、 Th_1/Th_2 细胞因子的变化以期为上述思路提供依据。

1 资料和方法

1.1 一般资料 所选病例来源于湖南中医学院第一附属医院传染科住院病人及肝病中心门诊病人,西医诊断标准参照 2000 年中华医学会传染病与寄生虫病

*** 作者简介** 孙克伟,男,教授、主任医师、研究生导师。湖南中医学院第一附属医院国家中医肝病医疗中心主任,国家中医药管理局重点中医专科学科带头人。

参考文献

- [1] 韦贵康主编. 中医筋伤学. 上海:上海科学技术出版社,1997:10-11.
- [2] 娄玉珍,林平,刘雅,等. 消伤痛擦剂治疗急性筋伤的初步临床总结. 中国中医骨伤科杂志,1986,2(4):31-32.

- [3] 韦贵康主编. 软组织损伤与脊柱相关疾病. 南宁:广西科学技术出版社,1994:99-106.
- [4] 中华人民共和国卫生部. 中药新药临床研究指导原则. 中国中医骨伤科杂志,1985,3(4):51.
- [5] 张军,孙树椿,丁建中,等. 通络止痛膏治疗腰椎骨性关节炎临床观察. 中医正骨,2001,13(3):5.

学分会、肝病学会联合修订的《病毒性肝炎防治法案》^[1]，辨证分型标准参照1992年中国中医药学会肝病专业委员会制定的《病毒性肝炎中医辨证标准（试行）》^[2]。共收集60例病例，辨证分为二组。肝郁脾虚组32例，其中，男27例，女5例；年龄16~60岁，平均33.84±11.77岁。湿热内蕴组28例，其中，男24例，女4例；年龄19~60岁，平均32.52±10.60岁。另设正常（健康人）对照组20例，其中，男12例，女8例；年龄21~50岁，平均28.55±6.67岁。上述一般临床资料经统计学处理，组间各项参数均衡性良好（ $P>0.05$ ），具有较好的可比性。

1.2 观察方法 对符合纳入标准的患者及正常对照进行T淋巴细胞亚群（ CD_3^+ 、 CD_4^+ 、 CD_8^+ ）、 Th_1/Th_2 细胞因子（IFN- γ 、IL-2、IL-10）检测。同时进行四诊检查，并详细记录在预先准备好的科研病历中。辨证分别由两人同时进行，结果不一致及两种证型互相兼夹的病例不纳入。T淋巴细胞亚群及 Th_1/Th_2 细胞因子的检测由专人负责。

1.3 检测方法

1.3.1 T淋巴细胞亚群检测 采用碱性磷酸酶抗碱性磷酸酶法（APAAP法），试剂盒购自中国军事医学科学院邦定生物工程公司。用OLMPUS BX-40高倍显微镜观测，同时计算 CD_4^+/CD_8^+ 比值。

1.3.2 Th_1/Th_2 细胞因子检测 IFN- γ 、IL-2、IL-10采用双抗体夹心ELISA法，试剂盒由上海森雄科技实业有限公司提供。

1.4 统计方法 采用方差分析及两两比较 q 检验，用SPSS 10.0统计软件进行统计。

2 结 果

2.1 两证型T细胞亚群变化 肝郁脾虚组 CD_3^+ 下降，湿热内蕴组 CD_3^+ 升高，两组之间差异明显（ $P<$

表1 T淋巴细胞亚群比较（%， $\bar{x}\pm s$ ）

	n	CD_3^+	CD_4^+	CD_8^+	CD_4^+/CD_8^+
正常对照组	20	57.29±11.55	36.40±7.30	29.38±6.68	1.29±0.10
肝郁脾虚组	32	49.25±14.02	25.15±10.72*	37.30±8.90	0.72±0.27**
湿热内蕴组	28	59.57±13.02△	38.68±9.97△△	39.10±11.14	0.99±0.15*△

注：与正常对照组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ；与肝郁脾虚组比较，△ $P<0.05$ ，△△ $P<0.01$ 。

表2 细胞因子比较（pg/ml， $\bar{x}\pm s$ ）

	n	IL-2	IFN- γ	IL-10
正常对照组	20	58.58±32.66	106.05±10.70	220.68±116.85
肝郁脾虚组	32	62.21±23.58	112.84±10.58	289.89±88.11*
湿热内蕴组	28	57.26±21.77	110.98±11.23	232.41±94.49△

注：与正常对照组比较，* $P<0.05$ ；与肝郁脾虚组比较，△ $P<0.05$ 。

0.05），但两组与正常对照组比较均无明显差异（ $P>0.05$ ）。肝郁脾虚组 CD_4^+ 下降，湿热内蕴组 CD_4^+ 升高，两组之间差异明显（ $P<0.01$ ），肝郁脾虚组与正常对照组比较差异明显（ $P<0.05$ ），湿热内蕴组与正常对照组之间无明显差异（ $P>0.05$ ）。与正常对照组比较，肝郁脾虚组、湿热内蕴组 CD_8^+ 均升高，但三者之间无明显差异（ $P>0.05$ ）。肝郁脾虚组、湿热内蕴组 CD_4^+/CD_8^+ 均明显下降（ $P<0.01$ ， $P<0.05$ ），且两者之间有明显差异（ $P<0.05$ ）。结果见表1。

2.2 两证型 Th_1/Th_2 细胞因子变化 IL-2、IFN- γ 在肝郁脾虚组、湿热内蕴组及正常对照组之间无明显差异（ $P>0.05$ ）。与正常对照组比较，肝郁脾虚组、湿热内蕴组IL-10均升高，其中肝郁脾虚组与正常对照组之间差异显著（ $P<0.05$ ）；肝郁脾虚组较湿热内蕴组升高更明显，两者差异显著（ $P<0.05$ ）。结果见表2。

3 讨 论

一般认为，外周血T淋巴细胞亚群的变化，可反映患者全身免疫状态的变化。多数研究表明，各型乙型肝炎患者外周血T细胞亚群中， CD_4^+ 细胞显著降低， CD_8^+ 细胞显著增高， CD_4^+/CD_8^+ 比值下降。乙型肝炎慢性化主要是人体细胞免疫功能降低所致。本

文研究结果表明,与湿热内蕴型比较,肝郁脾虚型 CD_3^+ 、 CD_4^+ 、 CD_4^+/CD_8^+ 均下降,而 CD_8^+ 无明显变化。 CD_4^+/CD_8^+ 降低代表细胞免疫功能降低,两型 CD_4^+/CD_8^+ 均降低,尤以肝郁脾虚型降低更明显,提示两型细胞免疫功能均降低,肝郁脾虚型细胞免疫功能降低更明显。

CD_4^+ T 细胞按产生的细胞因子类型和生物功能,可分为 Th_1 、 Th_2 、 Th_0 三类。 Th_1 : 主要产生 IL-2、IFN- γ 、TNF- β 等,增强细胞免疫应答,促进迟发性超敏反应性炎症形成,故亦称为促炎性 T 细胞。 Th_2 : 主要产生 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10 等,辅助 B 细胞分化成为抗体产生细胞,与体液免疫有关。 Th_0 : 既能产生 Th_1 也能产生 Th_2 细胞因子,它可在不同的信号刺激下分化成为 Th_1 或 Th_2 细胞。 Th_1 和 Th_2 细胞可通过所产生的细胞因子发挥相互调节和制约作用, Th_1 细胞产生的 IFN- γ 可抑制 Th_2 细胞的增殖分化,并促进 Th_1 的自身分化和成熟。反之, Th_2 细胞产生的 IL-4、IL-10 则抑制 Th_1 的增殖分化,促进 Th_2 细胞的自身分化。 Th_1/Th_2 细胞的调节对维持机体正常的免疫功能至关重要^[3]。

Th_1/Th_2 细胞失衡在慢性 HBV 感染中日益受到人们的关注。本研究结果表明,肝郁脾虚型和湿热内蕴型 Th_1 类细胞因子 IL-2、IFN- γ 变化不明显,两型之间亦无统计学意义。与他人^[4,5]报道一致。显示在慢性乙型肝炎患者中由 HBV 引起的 IL-2、IFN- γ 刺激性分泌相对低下,IL-2、IFN- γ 的分泌低下可能造成细胞免疫功能低下,从而难于清除 HBV。两型 Th_2 类细胞因子 IL-10 升高,与他人^[4,5]报道的慢性乙型肝炎患者 IL-10 明显升高相符。其中肝郁脾虚型升高更明显,且两型之间差异显著。IL-10 的升高可能作为一种拮抗因子下调 IL-2、IFN- γ 的表达,从而削弱机体的细胞免疫功能,不利于清除病毒,使 HBV 持续感染,同时又可抑制肝脏炎症反应,减轻肝损伤。肝郁脾虚型较湿热内蕴型 IL-10 升高更明显,提示肝郁脾虚型患者更难于清除乙肝病毒,HBV 的感染更易慢性化,而肝损伤程度则相对较轻。

本文结果显示:慢性乙型肝炎中医辨证是有其客

观物质基础的,各证的免疫学改变既可作为慢性乙型肝炎辨证客观指标的参考依据,又可用于判断预后,指导临床治疗。

参考文献

[1] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会. 病毒性肝炎防治法案. 中华肝脏病杂志, 2000, 8 (6): 324 - 329.
[2] 中国中医药学会内科肝病专业委员会. 病毒性肝炎中医辨证标准(试行). 中医杂志, 1992, (5): 39 - 40.
[3] 李 玲, 顾长海. Th_1/Th_2 细胞平衡与病毒性肝炎. 免疫学杂志, 2001, 17 (3): 235 - 237.
[4] 李 玲, 顾长海, 王宇明, 等. 乙型肝炎患者血清和 PBMC 培养上清 IL-2 与 IL-10 的检测及意义. 第三军医大学学报, 2001, 23 (11): 1324 - 1326.
[5] 胡章勇, 章 廉, 文维群, 等. 慢性乙型肝炎患者 Th_1/Th_2 细胞因子应答状况. 中华微生物和免疫学杂志, 2001, 21 (2): 120.

【科研成果】

解毒祛瘀法可促进肺癌细胞
凋亡、抑制肺癌血管生成

天津中医学院第一附属医院肿瘤科在贾英杰主任医师、田菲副主任医师的带领下,经过近 5 年的临床研究,应用中医药解毒祛瘀法对肺癌细胞凋亡和抑制肺癌血管生成两个方面的治疗研究取得可喜的突破。2002 年 10 月 16 日,两项课题均通过了天津市卫生局组织的专家鉴定,专家一致认为此两项研究对应用中医药有效降低肺癌的临床病死率具有临床指导意义。该研究提出了肺癌积损正虚、正虚邪聚、邪聚成毒的“毒瘀并存”致瘤观念和“软坚散结、解毒祛瘀”的新理论,结合近千例临床病例,通过减毒增效,抑制癌细胞生长,抑制肺癌血管生成,使肺癌患者 3 年生存率达到 16.8 %。

该研究证实了解毒祛瘀法能够促进肺癌细胞凋亡,抑制肺癌血管生成,提高肺癌患者生存质量,延长患者生命的机理,对中医药治疗肺癌的临床研究和机理研究具有重要指导意义,其研究水平处于国内领先。 (苏晓华 刘金芝)