

· 临床 ·

温肾方对高 ALT 水平慢性乙型肝炎肾阳虚证患者 TLR4/IL-6 信号通路的影响

张扬^{1,2}, 扈晓宇^{1*}, 杨芳¹

(1. 成都中医药大学附属医院, 成都 610072; 2. 成都中医药大学, 成都 610072)

[摘要] 目的: 研究中药温肾方对高丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)水平慢性乙型肝炎肾阳虚证患者 Toll 样受体 4(toll-like receptor 4, TLR4)/白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)信号通路的影响。方法: 选取成都中医药大学附属医院 2013 年 7 月至 2014 年 5 月收治的 68 例高 ALT 慢性乙型肝炎患者, 采用前瞻性、平行对照方法设计, 将入组病例按 1:1 比例随机分组, 各 34 例。治疗组给予温肾方 + 替比夫定; 对照组予安慰剂 + 替比夫定。疗程均为 24 周。分别在 0, 12, 24 周检测外周血乙型肝炎病毒(HBV) DNA, HBV 标志物, IL-6; 采用实时荧光定量 PCR 检测外周血单个核细胞 TLR4 mRNA 的表达; 流式细胞学技术检测辅助性 T 细胞 17(T helper cells 17, Th17)/调节性 T 细胞(regulatory T cells, Treg)。结果: 两组基线资料具有可比性。随着治疗时间延长, 两组外周血 HBV DNA 阴转率, HBeAg 阴转率及血清转换率均依次递增。治疗结束后, 治疗组在外周血 HBV DNA 阴转率, HBeAg 阴转率及血清转换率方面均优于对照组($P < 0.05$)。治疗过程中, 治疗组外周血 IL-6 水平, TLR4 mRNA 水平及 Th17/Treg 均呈先升高后降低趋势, 在 12 周达到顶点, 明显高于本组治疗前($P < 0.05$)。治疗 12, 24 周后, 治疗组外周血 IL-6, TLR4 mRNA 水平及 Th17/Treg 均高于对照组($P < 0.05$)。结论: 温肾方可提高肾阳虚型高 ALT 水平慢性乙型肝炎患者的抗病毒疗效, 其机制可能是提高 TLR4 活性, 促进 IL-6/STAT3 信号转导通路表达而调控 Th17/Treg 平衡。

[关键词] 乙型肝炎; 丙氨酸氨基转移酶; 伏寒; 温肾; Toll 样受体 4; 白细胞介素-6; Th17/Treg 平衡

[中图分类号] R22; R24; R287; R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)11-0150-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20180925

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180214.1522.005.html>

[网络出版时间] 2018-02-15 14:39

Effect of Wenshen Prescription on TLR4/IL-6 Signaling Pathway in Chronic Hepatitis B Patients with High ALT Level and Kidney Yang Deficiency Syndrome

ZHANG Yang^{1,2}, HU Xiao-yu^{1*}, YANG Fang¹

(1. *Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu 610072, China;*

2. *Chengdu University of TCM, Chengdu 610072, China)*

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Wenshen prescription on toll-like receptor 4 (TLR4) / interleukin-6 (IL-6) signaling pathway in chronic hepatitis B (HBV) patients with high ALT level and kidney Yang deficiency syndrome. **Method:** A total of 68 CHB patients with high ALT level treated in our hospital from July 2013 to May 2014 were selected as research objectives, with 34 cases in each group. Eligible patients were given Wenshen prescription combined with telbivudine (treatment group) or placebo combined with telbivudine (control group) for 24 weeks. Peripheral blood hepatitis B virus DNA, HBV markers, IL-6 were measured at week 0, 12 and 24. The mRNA expression of TLR4 in peripheral blood mononuclear cell (PBMC) was measured by

[收稿日期] 20170921(019)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81273748); 四川省中医药管理局科研项目(2012-A-97)

[第一作者] 张扬, 博士, 主治医师, 从事中西医结合防治肝病的临床及实验研究, Tel: 028-87766041, E-mail: zhangyang198663@sina.com

[通信作者] * 扈晓宇, 博士后, 主任医师, 从事中医药防治感染性疾病及中晚期恶性肿瘤的临床及实验研究, E-mail: xiaoyu@aliyun.com

Real-time PCR, and helper T cells (Th17) /regulatory T cells (Treg) ratio was measured by flow cytometry. **Result:** There was no significant difference at baseline between the two groups. With the increase of treatment time, HBV DNA negative conversion rate, HBeAg negative conversion rate and seroconversion rate of the two groups were gradually decreased. At week 24, treatment group was superior to control group in the rates of HBV DNA negative conversion, HBeAg negative conversion and seroconversion. During the treatment, the peripheral blood IL-6, TLR4 mRNA levels and Th17/Treg ratio first increased and later decreased in the treatment group. They reached the peak at week 12, which were significantly higher than the baseline ($P < 0.05$). At week 12 and 24, the peripheral blood IL-6, TLR4 mRNA and Th17/Treg in treatment group were superior to those in control group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Wenshen prescription has an increased antiviral effect on telbivudine-treated CHB patients with high ALT level and kidney Yang deficiency syndrome, and its mechanism may be related to the regulation of Th17/Treg balance by TLR4/IL-6/STAT3 signaling pathway.

[**Key words**] hepatitis B; high alanine aminotransferase (ALT); latent pathogenic cold; warming kidney; toll-like receptor 4; interleukin-6; Th17/Treg balance

慢性乙型肝炎 (chronic hepatitis B, CHB) 是一个全球性的严重公共问题。据统计,我国现有的慢性乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 感染者约 9 300 万人,其中 CHB 患者约 2 000 万例,每年因 HBV 导致的肝硬化、肝癌死亡约 30 万例^[1-2]。合理的抗病毒治疗可以改善肝功能,缓解肝组织炎症和纤维化,减少肝硬化和肝癌的发生。但现有的抗病毒药物 HBeAg 血清转换率均差,治疗 52 周时拉米夫定约 16%^[3],阿德福韦酯约 12%^[4],恩替卡韦约 21%^[5],替比夫定约 22.5%^[6]。

研究发现,宿主对 HBV 的免疫耐受制约抗病毒疗效的关键。丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 可作为 CHB 患者免疫反应的直观指标,其水平较高的患者免疫反应较强,经抗病毒治疗后持续应答率较高^[7]。有学者将基线时 ALT 水平进行分层分析,结果显示,5 倍正常值上限 (upper limit of normal, ULN) 患者的抗病毒疗效较为显著,部分 2~5 倍 ULN 患者有应答,而 ALT 水平在 2 倍 ULN 以下的患者应答较差^[8-9]。如能在治疗中进一步打破高 ALT 水平 CHB 患者的免疫耐受,则有望提高抗病毒疗效。

目前,中医药治疗高 ALT 水平 CHB 的研究文献甚少。课题组结合长期的临床实践和 CHB 发病机制的新近研究进展^[10-11],认为 CHB 的发生与中医“伏寒”理论关系密切,当以温肾透邪为主要治则,这有别于传统的清热利湿、疏肝健脾、活血化瘀、滋养肾阴等治法。温肾方是课题组参照右归丸(《景岳全书》卷五十一)和蒿芩清胆汤(《重订通俗伤寒论·六经方药》)的组方特点研制而成的。在前期工作中,已通过前瞻性随机对照研究,证实温肾方可提

高替比夫定治疗 HBeAg 阳性 CHB 的抗病毒疗效,而无导致肝功能失代偿的风险^[12]。

Toll 受体 (toll-like receptor, TLR) 是重要的天然免疫受体,其生物学作用主要包括引发炎症反应、促进抗原递呈细胞的成熟、调控获得性免疫反应等。TLR4 是 TLRs 家族中的重要成员^[9]。新近研究发现^[13-14],TLR4/白细胞介素 (IL)-6 信号通路在慢性 HBV 感染中有重要作用。本研究以该通路为切入点,探讨温肾方对高 ALT 水平 CHB 干预作用的机制。

1 资料和方法

1.1 一般资料 收集 2013 年 7 月至 2014 年 5 月成都中医药大学附属医院感染科住院部的符合入组条件患者。治疗组 34 例,男 25 例,女 9 例,平均 (41.26 ± 7.81) 岁,ALT (993.42 ± 151.61) U·L⁻¹,HBV DNA 载量对数 (7.18 ± 1.22) log₁₀ copies·mL⁻¹; 对照组 34 例,男 22 例,女 12 例,平均 (43.17 ± 8.20) 岁,ALT (985.67 ± 148.43) U·L⁻¹,HBV-DNA 载量对数值平均为 (7.16 ± 1.27) log₁₀ copies·mL⁻¹。两组基线资料对比差异均不显著,具有临床可比性。本研究患者依从性较好,无脱落病例出现。本研究经成都中医药大学附属医院医学伦理委员会审核批准,所有患者均对本研究知情同意,并签署知情同意书。

1.2 西医诊断标准 所有 HBeAg 阳性 CHB 诊断标准参照 2010 年修订的《慢性乙型肝炎防治指南 2010 年更新版》^[15] 的标准,①既往有乙型肝炎病史或 HBsAg 阳性超过 6 个月,现 HBsAg 和 (或) HBV DNA 仍为阳性者;②血清 HBsAg, HBeAg 阳性,抗-HBe 阴性,HBV DNA 阳性,ALT 持续或反复升高,或

肝组织学检查有肝炎病变。

1.3 中医诊断标准 肾阳虚证中医辨证标准参照《中药新药临床研究指导原则》^[16]。主证为畏寒肢冷,腰膝酸软,舌质暗淡,胖苔白。次证为面色不华或晦暗,腰膝少腹冷痛,脉沉细或沉迟。具备所有主证或主证2项及次证2项者,即属本证。

1.4 纳入标准 ①符合上述诊断标准及中医辨证标准的患者;② $20 \text{ ULN} \leq \text{ALT} \leq 30 \text{ ULN}$,总胆素(TBIL) $< 3 \text{ ULN}$, $1 \times 10^5 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1} \leq \text{HBV DNA} \leq 1 \times 10^9 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$;③年龄18~60岁;④所有患者知情并签订知情同意书。

1.5 排除标准 ①合并其他嗜肝病毒及艾滋病病毒感染肝炎者;②肝功能失代偿,或合并肝硬化、肝癌者;③近6个月接受抗病毒或免疫抑制治疗者;④伴有心、肾、肺、内分泌、血液、代谢及胃肠道严重原发病者,或精神病患者;⑤妊娠或准备妊娠妇女,哺乳期妇女;⑥患者不能合作者。

1.6 研究设计 采用前瞻性、平行对照方法设计,应用NCSS-PASS 11统计软件估计研究所需样本含量($n=68$),按1:1比例将患者随机分为治疗组、对照组。

1.7 给药方案及疗程 治疗组口服温肾方免煎颗粒(炮附片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,青蒿9g,炙甘草5g等药组成,由深圳三九制药公司统一提供,批号1302011,冲泡后饮用,每天2次)+替比夫定片(素比伏,北京诺华制药有限公司,国药准字H20070028,600mg/次,每日1次)。对照组,口服中药安慰剂(制作成外观、标签、颜色和主方一致的中药免煎剂,由深圳三九制药公司统一制作提供,批号1304006,冲泡后饮用,每天2次)+替比夫定片。两组疗程均为24周。

1.8 观察指标与检测方法 ①HBV标志物及定量检测,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测HBV标志物,HBsAg,抗-HBs,HBcAg,抗-HBe,抗-HBc试剂盒购自英科新创(厦门)科技有限公司,批号分别为2014055205,2014054802,2014054205,2014043306,2014053103;PCR法检测HBV DNA载量,检测灵敏度 $1000 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$ 操作均严格按照说明书进行。②外周血IL-6检测,采用ELISA检测(人IL-6试剂盒购自伊莱瑞特生物科技有限公司,批号E-EL-H0102c),操作严格按照说明书进行。③TLR4 mRNA基因检测,用抗凝管采集外周静脉血4mL,以Ficoll密度梯度离心法分离外周血单个核细胞

(PBMC)。按RNA提取试剂盒说明书提取细胞总RNA,参照Promega公司的ImRrom-II™说明书逆转录合成cDNA行PCR扩增。依据Gene Bank中TLR4和管家基因 β -肌动蛋白(β -actin)的mRNA序列设计引物,采用Primer Express Software v 2.0软件设计,由上海桑尼公司合成。TLR4(185 bp):上游5'-CCAGGAAGGCTTCCACAAGA-3';下游5'-AATCGACCTGCTGCCTCAG3-3'; β -actin(203 bp):上游5'-AAGGAGGCAAAGGACACCAA-3';下游5'-AATGGCCCCCTTCACAGTTA-3'。PCR反应条件:50℃ 2 min 逆转录,95℃ 2 min 逆转录酶灭活及预变性,94℃ 10 s,60℃ 10 s,72℃ 40 s,循环40次。根据各基因的实时扩增曲线和熔解曲线进行分析,取 ΔC_t ,按 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法^[17]计算待测目的基因相对表达量(前提是目的基因和 β -actin扩增效率相似且均接近于100%)。④外周血Th17/Treg检测,分离后的PBMC用1640培养液重悬后,加入 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 刺激剂(佛波酯、离子霉素、莫能霉素等)500 μL 。放于37℃ 5% CO₂ 孵育箱内培养5 h。加入PBS 2 mL,振荡混匀,1 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心5 min,弃上清。检测管加入PE标记的鼠抗人IL-17抗体50 μL (对照管加入相应同型),室温避光孵育20 min。加入PBS 2 mL,振荡混匀,1 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心5 min,弃上清。加入PBS 300 μL 重悬,上流式细胞仪对Th17细胞进行检测。另取新鲜肝素钠抗凝全血100 μL ,加入CD4 FITC抗体及CD25 FITC抗体(美国BD公司,批号均为38643)各10 μL ,室温避光孵育30 min。加入红细胞溶血素1 mL,室温避光孵育15 min,1 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心5 min,弃上清。加入PE标记的鼠抗人FoxP3抗体10 μL (对照管加入相应同型),室温避光孵育20 min。加入PBS 1 mL,振荡混匀,2 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心5 min,弃上清。上流式细胞仪对Treg细胞进行检测。

1.9 统计学方法 用SPSS 17.0软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验。计数资料采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者治疗前后HBV DNA阴转率比较 治疗12,24周后,两组HBV DNA阴转率明显高于本组治疗前($P < 0.05$);治疗24周后,治疗组HBV DNA阴转率优于对照组($P < 0.05$)。见表1。

2.2 两组患者治疗前后HBeAg阴转率及血清转换率比较 治疗24周后,治疗组HBeAg阴转率及血清转换率明显高于本组治疗前($P < 0.05$, $P < 0.01$)。对照组

治疗前后 HBeAg 阴转率及血清转换率变化不明显,差异无统计学意义。治疗 24 周后,治疗组 HBeAg 阴转率及血清转换率优于对照组 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组患者治疗前后 HBV DNA 阴转率, HBeAg 阴转率及血清转换率比较

Table 1 Comparison of HBV DNA negative conversion rate, HBeAg negative conversion rate and seroconversion rate between two groups before and after treatment 例 (%)

组别	时间/周	HBV-DNA 阴转	HBeAg 阴转	HBeAg 血清转换
治疗	12	16(47.06)	3(8.82)	0(0.00)
	24	25(73.53) ^{2,3)}	11(32.35) ^{2,3)}	7(20.59) ^{1,3)}
对照	12	10(29.41)	1(2.94)	0(0.00)
	24	16(47.06) ¹⁾	4(11.76)	1(2.94)

注:与本组治疗 12 周比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与对照组治疗后比较³⁾ $P < 0.05$ 。

2.3 两组患者治疗前后外周血 IL-6 水平比较 随治疗时间的延长,治疗组 IL-6 水平呈先升高后下降趋势,12 周达到顶点,明显高于本组治疗前 ($P < 0.05$)。对照组治疗前后 IL-6 水平变化不明显。治疗 12,24 周后,治疗组 IL-6 水平明显高于对照组 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组患者治疗前后外周血 IL-6 水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 34$)

Table 2 Comparison of peripheral blood IL-6 level between two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s, n = 34$) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$

组别	治疗前	12 周	24 周
治疗	156 ± 43	184 ± 65 ^{1,2)}	171 ± 49 ²⁾
对照	142 ± 57	153 ± 54	148 ± 42

注:与本组治疗前比较¹⁾ $P < 0.05$;与对照组治疗后比较²⁾ $P < 0.05$ (表 3,4 同)。

2.4 两组患者治疗前后外周血 TLR4 mRNA 表达比较 随治疗时间的延长,治疗组 TLR4 mRNA 表达呈先升高后下降趋势,12 周达到顶点,明显高于治疗前 ($P < 0.05$)。对照组治疗前后 TLR4 mRNA 变化不明显。治疗 12,24 周后,治疗组 TLR4 mRNA 明显高于对照组 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 两组患者治疗前后外周血 TLR4 mRNA 相对表达比较 ($\bar{x} \pm s, n = 34$)

Table 3 Comparison of peripheral blood TLR4 mRNA expression between two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s, n = 34$)

组别	治疗前	12 周	24 周
治疗	1.10 ± 0.34	1.29 ± 0.41 ^{1,2)}	1.25 ± 0.39 ²⁾
对照	1.06 ± 0.37	1.09 ± 0.40	1.07 ± 0.30

2.5 两组患者治疗前后外周血 Th17/Treg 比较 治疗 12,24 周后,治疗组 Th17/Treg 明显高于本组治疗前 ($P < 0.05$)。对照组治疗前后 Th17/Treg 变化不明显。治疗 12,24 周后,治疗组 Th17/Treg 明显高于对照组 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 两组患者治疗前后外周血 Th17/Treg 比较 ($\bar{x} \pm s, n = 34$)

Table 4 Comparison of peripheral blood Th17/Treg ratio between two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s, n = 34$)

组别	治疗前	12 周	24 周
治疗	0.46 ± 0.14	0.63 ± 0.30 ^{1,2)}	0.57 ± 0.26 ^{1,2)}
对照	0.43 ± 0.12	0.49 ± 0.20	0.45 ± 0.19

2.6 不良反应 治疗过程中未发生严重不良事故,常见不良反应为疲乏,腹泻,肌酸激酶(CK)升高等,均未用相关药物干预而自行缓解。

3 讨论

本研究结果表明,经过温肾方治疗后,治疗组在 HBV DNA 阴转率, HBeAg 阴转率及 HBeAg 血清转换率方面均优于对照组。提示温肾方可提高肾虚型高 ALT 水平 CHB 患者的抗病毒疗效。

既往研究表明,CD4⁺T 细胞与病毒清除和肝细胞损伤密切相关。Th17 细胞和 Treg 细胞是 CD4⁺T 的两个新亚型^[18],是近年来的研究热点。Th17 细胞和 Treg 细胞是由同一个前提细胞分化而来,在细胞分化及功能上相互拮抗,两者的平衡对维持机体免疫的相对稳定状态十分重要。有学者认为, Th17/Treg 可以提示 CHB 患者体内免疫功能的变化,反应机体免疫失衡的状态^[19]。当机体处于免疫耐受状态,免疫系统未被激活,细胞因子转化生长因子(TGF)- β 通过促进 Treg 细胞的产生来抑制炎症反应;而在免疫清除期, TGF- β 与 IL-6 或者 IL-21 协同促进 Th17 效应细胞的分化,促进肝脏炎症反应,从而打破免疫耐受^[20]。当 IL-6 的水平降低时, TGF- β 又可促进 Treg 细胞扩增,发挥 Treg 细胞的抑制免疫反应功能,将 Th17 细胞的促炎作用控制在一定的强度。在本研究中, Th17/Treg 先升高后逐渐下降,与对照组比较, Th17/Treg 在 12,24 周均高于对照组。提示温肾方可使机体免疫状态进一步激活,并随病情稳定而促使 CHB 患者进入免疫控制状态。有研究显示,这种 Th17/Treg 的变化与 HBeAg 血清学转换具有相关性,认为 Th17/Treg 可成为 HBeAg 血清学转换的预测指标^[21]。

新近发现, TLR4/IL-6 信号通路在 Th17/Treg 平衡调节中有重要作用^[14]。TLR4 是 Toll 受体家族中

的重要成员,可识别病原分子相关模式。它的配体之一是 HMGB1,可由抗原呈递细胞和坏死细胞释放。HMGB1 能通过 TLR4 调节树突状细胞细胞分化和功能,促进树突状细胞分泌 IL-6 和 IL-23 等 Th17 分化所需因子。这些细胞因子可通过 STAT3 信号通路激活 ROR γ t 的表达,促使初始 CD4⁺ 细胞向 Th17 细胞分化并诱导 Treg 向分泌 IL-17 的表型转化。此外,IL-6/TGF- β 依赖 STAT3 信号通路的表达和磷酸化对 FOXP3 进行降解,削弱 FoxP3 对 ROR γ t 的抑制作用,从而调节 Th17/Treg 平衡^[22,14]。本研究结果显示,温肾方可提高 TLR4/IL-6 信号通路的表达,可以推测其调控 Th17/Treg 平衡的作用是通过 STAT3 信号通路实现的。

本课题组认为,慢性乙型肝炎的发生与“伏寒”理论关系密切。在先后天各种因素影响下,寒邪内伏少阴,徒伤肾阳,这是本病的内因。柳宝诒言:“寒邪潜伏少阴,寒必伤阳,肾阳既弱,则不能蒸化而鼓动之”。加之,疫湿之邪(HBV)蛰伏体内,必将进一步损伤肾阳,产生气滞、伏痰、伏湿、伏瘀等病理产物,每致正虚邪恋、病情胶着的局面。处于免疫耐受的 CHB 患者病机特点系“正愈虚而邪愈深”,肾阳亏虚,元阳无力鼓舞,邪机不能外达;而伴高 ALT 水平时属“正愈虚而邪愈实”,以肾虚正弱,伏邪鼓动,邪正持续性地激烈交争为特点。根据本病特点创制的温肾方,以补为主、补透兼施、标本兼顾^[23-24]。方中炮附片、巴戟天合用刚柔相济、温肾助阳,共为君药。菟丝子、淫羊藿助君药温补肾阳,共为臣药。熟地黄、桑寄生补肝肾、养精血,寓“阴中求阳”之意;青蒿味苦辛、性寒,主归肝胆经,《医林纂要》言其能“清血中湿热,治黄疸及郁火不舒之证”;黄芪益气健脾、拖毒外出;黄芩利湿解毒,共为佐药。甘草调和为使。诸药合用,共奏温补肾阳之功。

综上,温肾方可进一步打破肾阳虚型高 ALT 水平慢性乙型肝炎患者对 HBV 的免疫耐受、提高抗病毒疗效,其作用机制可能与本方调控 Th17/Treg 平衡有关。利用中药免疫调节优势,有望成为抗 HBV 研究的新思路。

[参考文献]

[1] LU F M, ZHUANG H. Management of hepatitis B in China[J]. Chin Med J(Engl), 2009, 122(1): 3-4.
[2] 庄辉. 乙型肝炎流行病学研究进展[J]. 中国医学前沿杂志:电子版, 2009, 1(2): 133-135.

[3] Lok A S, Lai C L, Leung N, et al. Long-term safety of lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B [J]. Gastroenterology, 2003, 125(6): 1714-1722.
[4] Marcellin P, Chang T T, Lim S G, et al. Long-term efficacy and safety of adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B [J]. Hepatology, 2008, 48(3): 750-758.
[5] Chang T T, Gish R G, de Man R, et al. A comparison of entecavir and lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B [J]. N Engl J Med, 2006, 354(10): 1001-1010.
[6] Liaw Y F, Gane E, Leung N, et al. 2-Year GLOBE trial results: telbivudine is superior to lamivudine in patients with chronic hepatitis B [J]. Gastroenterology, 2009, 136(2): 486-495.
[7] 万谟彬, 翁心华. 干扰素治疗慢性乙型肝炎专家建议(2010年更新)[J]. 中华传染病杂志, 2010, 28(4): 193-200.
[8] Nair S, Perrillo R P. Serum alanine aminotransferase flares during interferon treatment of chronic hepatitis B: is sustained clearance of HBV DNA dependent on levels of pretreatment viremia? [J]. Hepatology, 2001, 34(5): 1021-1026.
[9] Krogsgaard K, Marcellin P, Trepo C, et al. Prednisone withdrawal therapy enhances the effect of human lymphoblastoid interferon in chronic hepatitis B INTEPREP Trial Group [J]. J Hepatol, 1996, 25(6): 803-813.
[10] 鲁艳平, 周大桥, 熊益群, 等. 凉血滋肾益气法对慢性乙肝患者树突状细胞和 HBV-DNA 的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(13): 160-164.
[11] 中医药学会内科肝胆病学组. 慢性乙型肝炎中医诊疗专家共识(2012年1月)[J]. 临床肝胆病杂志, 2012, 28(3): 164-168.
[12] 扈晓宇, 张扬, 刘光伟, 等. 温肾方对替比夫定治疗 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎疗效及肌酸激酶的影响 [J]. 中华肝脏病杂志, 2012, 20(2): 93-97.
[13] Iwasaki A, Medzhitov R. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses [J]. Nature Immunol, 2004, 5(10): 987-995.
[14] LI J, WANG F P, SHE W M, et al. Enhanced high-mobility group box 1 (HMGB1) modulates regulatory T cells (Treg)/T helper 17 (Th17) balance via toll-like receptor (TLR)-4-interleukin (IL)-6 pathway in patients with chronic hepatitis B [J]. J Viral Hepatitis, 2014, 21(2): 129-140.
[15] 中华医学会肝病学会. 慢性乙型肝炎防治指南 2010年更新版 [J]. 中华实验和临床感染病杂志: 电

- 子版,2011,5(1):50-60.
- [16] 中华人民共和国卫生部. 中药新药临床研究指导原则 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 147, 150-151.
- [17] Luca G, Girolamo P, Bruno D, et al. Endothelin-1 induces proliferation of human lung fibroblasts and IL-11 secretion through an ET (A) receptor-dependent activation of MAP kinases[J]. *J Cell Biochem*, 2005, 96(4):858-868.
- [18] Maini M K, Bertolotti A. How can the cellular immune response control hepatitis B virus replication? [J]. *J Viral Hepat*, 2000, 7(5):321-326.
- [19] 王萍, 胥冰, 张丽君. 不同类型 HBV 感染者外周血 Treg/Th17 细胞的变化及意义 [J]. *陕西医学杂志*, 2013(11):1456-1459.
- [20] CHEN X, Vodanovic-Jankovic S, Johnson B, et al. Absence of regulatory T-cell control of TH1 and TH17 cells is responsible for the autoimmune-mediated pathology in chronic graft-versus-host disease [J]. *Blood*, 2007, 110(10):3804-3813.
- [21] 李成伟, 那妍, 陈佳佳, 等. 替比夫定治疗 e 抗原阳性慢性乙型肝炎患者 Treg/Th17 比率变化及与抗原血清学转换的关系研究 [J]. *中国实用内科杂志*, 2015, 35(6):525-527.
- [22] Farhad J N, Abbas M. The deviated balance between regulatory T cell and Th17 in autoimmunity [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2012, 34(5):727-739.
- [23] 张扬, 扈晓宇, 杨芳, 等. 浅析透法的历史源流及运用特点 [J]. *中医杂志*, 2012, 53(7):558-559.
- [24] 骆建兴, 张扬, 扈晓宇, 等. 扈晓宇教授不联合抗病毒西药而治疗高 ALT 水平慢性乙型肝炎的临床经验 [J]. *时珍国医国药*, 2014, 21(2):456-457.

[责任编辑 张丰丰]