

抗毒化浊方对 EB 病毒感染后衣壳抗原 IgA 抗体 和早期抗原-IgA 抗体的影响

温海涛, 刘灿君*

(齐齐哈尔医学院附属第三医院, 黑龙江 齐齐哈尔 161000)

[摘要] 目的:观察抗毒化浊方对 EB 病毒(EBV)感染患者,EB 病毒衣壳抗原 IgA 抗体(VCA-IgA)和早期抗原-IgA 抗体(EA-IgA)的作用及对机体免疫炎症因子的影响。方法:将 118 例 EBV 抗体阳性患者随机采用数字表法按 1:2 比例分为对照组 37 例和实验组 81 例。对照组采用抗毒化浊方安慰剂口服,实验组采用抗毒化浊方内服,两组疗程均为 12 周。检测治疗前后 VCA-IgA 和 EA-IgA 水平,检测治疗前后 T 淋巴细胞亚群和自然杀伤细胞(NK),肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素-2(IL-2)和白细胞介素(IL-6)水平。结果:治疗后实验组 VCA-IgA 和 EA-IgA 水平均低于对照组($P < 0.01$);治疗后实验组 VCA-IgA,EA-IgA 阴转率分别为 44.15%,41.33%,均高于对照组的 19.35%,16.66%($P < 0.05$);治疗后实验组 CD3⁺,CD4⁺,CD4⁺/CD8⁺ 和 NK 水平均比治疗前上升,并高于对照组($P < 0.01$);治疗后实验组 TNF- α 和 IL-6 水平低于对照组,IL-2 高于对照组($P < 0.01$)。结论:抗毒化浊方能降低 EBV 抗体阳性患者的 VCA-IgA,EA-IgA 水平,促使 VCA-IgA,EA-IgA 转阴,其机制可能是通过调节细胞因子,提高机体免疫功能来实现的。

[关键词] EB 病毒感染;抗毒化浊方;衣壳抗原 IgA 抗体;早期抗原-IgA 抗体;细胞免疫;炎症因子

[中图分类号] R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)11-0190-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015110190

Influence of Kangdu Huazhuo Decoction on Capsid Antigen IgA and Early Antigen-IgA Antibodies Infected by EB Virus WEN Hai-tao, LIU Can-jun* (The Third Affiliated Hospital of Qiqihar Medical School, Qiqihar 161000, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Kangdu Huazhuo decoction on capsid antigen IgA (VCA-IgA) and early antigen-IgA (EA-IgA) antibodies of patients infected by the EB virus (EBV), and to investigate its influence on inflammatory factor of body immunity. **Method:** One hundred and eighteen patients with positive EB virus (EBV) antibodies were randomly divided into the control group (37 cases) and the experimental group (81 cases) by a random number table. Patients in the control group received placebo of Kangdu Huazhuo decoction, and patients in the experimental group took Kangdu Huazhuo decoction orally. All patients in both two groups received 12 weeks of treatment. Before and after treatment, levels of VCA-IgA, EA-IgA, T lymphocyte subsets, natural killer cell (NK), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-2 (IL-2) and interleukin-6 (IL-6) were detected. **Result:** After treatment, levels of VCA-IgA and EA-IgA in the experimental group were lower than those in the control group ($P < 0.01$). Negative rates of VCA-IgA and EA-IgA in the experimental group were 44.15% and 41.33%, respectively, which were higher than those of 19.35% and 16.66% in the control group ($P < 0.05$). Compared with before, levels of CD3⁺, CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺ and NK increased after treatment, and the results were higher in the experimental group ($P < 0.01$). Levels of TNF- α and IL-6 were lower, level of IL-2 was higher in the experimental group than those in the control group after treatment ($P < 0.01$). **Conclusion:** Kangdu Huazhuo decoction could reduce the levels of VCA-IgA and EA-IgA of patients with positive EBV antibodies, and promote the negative rate of VCA-IgA and EA-IgA. Its mechanism of action may be related to ameliorating cytokines and improving levels of immune function.

[收稿日期] 20141215(249)

[第一作者] 温海涛,主治医师,从事耳鼻咽喉科临床工作,Tel:13845283676,E-mail:36555069@qq.com

[通讯作者] *刘灿君,主治医师,从事心血管临床工作,Tel:13504613061,E-mail:lej_lucky@163.com

[Key words] EB virus infection; Kangdu Huazhuo decoction; capsid antigen IgA; early antigen-IgA; cell-mediated immunity; inflammatory factor

EB病毒(EBV)一种人类疱疹病毒,EBV感染可导致免疫功能紊乱,发生与免疫系统功能紊乱相关的多种疾病如鼻咽癌(NPC),淋巴瘤、何杰金病、传染性单核细胞增多症及类风湿关节炎等^[1]。大量研究认为EBV与鼻咽癌的发生发展密切相关,绝大多数鼻咽癌患者血清中有抗EBV各种抗原的抗体存在。EBV抗体水平随着病情的发展而变化,特别是EBV的血清阳性改变可以发生于NPC被确诊前6~46个月^[2]。EBV在人群中的感染非常普遍,以不典型感染为主。最近学者对重庆地区12岁以下儿童EBV感染的血清流行病学调查,显示新发感染率为9.7%,累计感染率51.2%^[3]。广州地区健康体检患者中VCA-IgA抗体的阳性率为3.6%^[2]。鼻咽癌高发区居民EBV感染流行病学调查显示VCA-IgA阳性率为5.84%,且男性阳性率随着年龄的增加呈上升趋势,抗体阳性率高峰年龄段与鼻咽癌发病高峰年龄段基本一致^[4]。可见对EB病毒采取有效的防治措施,对预防NPC等病的发生有着重要临床意义。

目前现代医学对EBV感染没有特异的干预措施。近年来中医药学者对中草药防治EBV的感染进行了初步的探索,显示中医药在抑制EBV的抗原表达,干预EBV的抗体产生,降解EBV的DNA,增强放疗敏感性,影响EBV感染B淋巴细胞等方面均显示出一定作用^[5]。

中医药治疗EB病毒感染具有较好的疗效,有促进EB病毒感染恢复的作用,减少EB病毒感染后发生恶性疾患的风险^[6]。抗毒化浊方是笔者根据EBV特点自拟的临床验方,具有益气养阴,解毒化浊之功。本研究探讨了其对EBV抗体的影响,对机体免疫炎症因子的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 除去脱落和失访者,本组共入选符合研究条件的EBV抗体阳性患者118例,均来源于2012年6月—2014年6月齐齐哈尔医学院附属第三医院耳鼻咽喉科和放疗科,其中鼻咽癌(NPC)患者56例,非鼻咽癌62例,随机采用数字表法按1:2比例分成口服安慰剂组(对照组)37和实验组81例。对照组男性20例,女性17例;NPC17例,非NPC20例;年龄18~65岁,平均(38.5±14.7)岁。实验组男性44例,女性37例;NPC39例,非NPC42

例;年龄18~65岁,平均(40.2±15.1)岁。两组一般资料比较差异无统计学意义,具有可比性。

1.2 诊断标准 ①EB病毒抗体阳性的诊断标准采用EB病毒抗体EBV(VCA)-IgA试剂盒和EBV(EA)-IgA试剂盒检测血清VCA-IgA和(或)EA-IgA的抗体阳性,即可诊断。②鼻咽癌均经病理学检查确诊为鼻咽癌。

1.3 纳入标准 ①血清VCA-IgA和(或)EA-IgA抗体阳性的鼻咽癌初诊患者,或非鼻咽癌患者;②年龄18~65岁;③取得患者知情同意。

1.4 排除标准 ①合并心、肺、肝、肾等重要脏器功能衰竭者;②鼻咽癌已经接受放疗者;③合并其他肿瘤和精神病患者;④严重过敏体质,妊娠、哺乳期妇女或近期有生育计划者。

1.5 治疗方法 基础治疗对鼻咽癌进行放疗。实验组内服抗毒化浊方,药物组成:黄芪20g,玄参15g,太子参20g,地黄20g,牛蒡子10g,黄芩12g,栀子12g,连翘12g,丹参15g,白花蛇舌草30g,甘草10g;若为鼻咽癌者加猫爪草、野菊花、莪术、石斛、白芷各10g,每日1剂,常规水煎煮,分早晚2次服用。对照组采用抗毒化浊方颗粒(安慰剂)(由医院制剂室提供,批号201204001),20g/次,2次/d。两组疗程均为12周。

1.6 观察指标 ①检测血清VCA-IgA,EA-IgA,早晨空腹抽肘静脉血4mL,低温离心分离血清存于-20℃冰箱保存统一检测。德国IBL公司生产提供,批号20140372,采用酶联免疫吸附法,治疗前、治疗后各检测1次。其中VCA-IgA≥18U·mL为阳性界值,EA-IgA≥22U·mL为阳性界值(德国IBL公司生产提供,批号20140372)。②T淋巴细胞亚群和自然杀伤细胞(NK)水平采用流式细胞仪法检测外周血T淋巴细胞亚群(CD3⁺,CD4⁺,CD4⁺/CD8⁺)和自然杀伤细胞(NK)水平,治疗前后各检测1次。③炎症因子、肿瘤坏死因子α(TNF-α),白细胞介素-2(IL-2),白细胞介素-6(IL-6)水平采用酶联免疫吸附法检测,试剂盒由深圳晶美生物科技公司提供,批号1403615。

1.7 统计学处理 数据分析采用SPSS 17.0统计分析软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,计数资料比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组治疗前后血清 VCA-IgA, EA-IgA 水平比较 经 12 周的治疗, 两组血清 VCA-IgA 和 EA-IgA 水平均比治疗前下降 ($P < 0.05, P < 0.01$), 治疗后实验组 VCA-IgA 和 EA-IgA 平均水平低于对照组 ($P < 0.01$), 见表 1。

表 1 两组治疗前后 VCA-IgA, EA-IgA 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Comparison of levels of VCA-IgA and EA-IgA in two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$) U · mL⁻¹

组别	例数	时间	VCA-IgA	EA-IgA
对照	37	治疗前	40.4 ± 6.1	44.3 ± 6.7
		治疗后	37.2 ± 5.8 ¹⁾	40.8 ± 5.9 ¹⁾
实验	81	治疗前	39.2 ± 6.5	45.9 ± 6.3
		治疗后	26.9 ± 6.1 ^{2,3)}	28.7 ± 5.6 ^{2,3)}

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

2.2 治疗后两组血清 VCA-IgA, EA-IgA 转阴率情

表 3 两组治疗前后 T 淋巴细胞亚群和 NK 细胞水平比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 3 Comparison of levels of T lymphocyte subsets and NK cell in two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	CD3 ⁺ / %	CD4 ⁺ / %	CD4 ⁺ / CD8 ⁺	NK / %
对照	37	治疗前	51.6 ± 8.5	39.2 ± 5.5	1.28 ± 0.37	14.2 ± 2.4
		治疗后	48.7 ± 7.9	41.8 ± 5.3	1.32 ± 0.35	15.1 ± 2.6
实验	81	治疗前	52.1 ± 8.8	38.6 ± 5.1	1.26 ± 0.41	14.7 ± 2.2
		治疗后	59.2 ± 9.3 ^{1,2)}	46.7 ± 6.2 ^{1,2)}	1.52 ± 0.47 ^{1,2)}	17.6 ± 2.7 ^{1,2)}

注: 与本组治疗前比较¹⁾ $P < 0.01$; 与对照组治疗后比较²⁾ $P < 0.01$ (表 4 同)。

2.4 两组治疗前后 TNF- α , IL-2, IL-6 水平比较 治疗后对照组 TNF- α , IL-2, IL-6 水平变化无统计学意义, 实验组治疗后 TNF- α 和 IL-6 水平较治疗前下降, IL-2 水平较治疗前上升 ($P < 0.01$); 治疗后实验组 TNF- α 和 IL-6 水平低于对照组, IL-2 高于对照组 ($P < 0.01$), 见表 4。

表 4 两组治疗前后 TNF- α , IL-2, IL-6 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 4 Comparison of levels of TNF- α , IL-2 and IL-6 in two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$) ng · L⁻¹

组别	时间	例数	IL-2	IL-6	TNF- α
对照	治疗前	37	15.1 ± 3.6	17.9 ± 3.2	41.7 ± 8.2
	治疗后		16.4 ± 4.3	15.7 ± 2.8	38.9 ± 7.9
实验	治疗前	81	14.7 ± 3.1	17.4 ± 3.5	42.5 ± 9.5
	治疗后		20.5 ± 4.8 ^{1,2)}	10.3 ± 2.4 ^{1,2)}	28.6 ± 7.5 ^{1,2)}

3 讨论

EB 病毒感染后可长期存在于口咽、鼻咽、腮腺的上皮细胞中, 也可存在于外周血 B 淋巴细胞中,

况比较 治疗后实验组血清 VCA-IgA, EA-IgA 转阴率分别为 44.15%, 41.33%, 均高于对照组转阴率的 19.35%, 16.66%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 2。

表 2 治疗后两组血清 VCA-IgA, EA-IgA 转阴率情况比较 例 (%)
Table 2 Comparison of negative rate of VCA-IgA and serum EA-IgA in two groups after treatment cases (%)

组别	VCA-IgA		EA-IgA	
	例数	转阴	例数	转阴
对照	31	6 (19.35)	30	5 (16.66)
实验	77	34 (44.15) ¹⁾	75	31 (41.33) ¹⁾

注: 与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

2.3 两组治疗前后 T 淋巴细胞亚群和 NK 细胞水平比较 与治疗前比较, 治疗后对照组 T 淋巴细胞亚群和 NK 细胞变化无统计学意义, 治疗后实验组 CD3⁺, CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺ 和 NK 水平均较治疗前上升, 并高于对照组 ($P < 0.01$), 见表 3。

多数是长期无明显临床症状。由于 EB 病毒不仅在鼻咽癌的发生中起着关键作用, 其潜伏膜蛋白 1 (LMP1) 的高表达及 VCA-IgA 的高滴度与鼻咽癌的疗效及局部复发、远处转移密切相关^[7]。我国抗癌协会已将 EB 病毒感染者作为鼻咽癌的高危人群, 在鼻咽癌高发地区 EB 病毒作为健康筛查项目之一^[8]。因此, 对于 NPC 和非 NPC 患者进行抗 EB 病毒治疗, 对 NPC 发生、发展有着重要的意义。

近来中医学者对 EB 病毒感染者的发病病因、证候特征及免疫功能特点进行分析, 提出 EB 病毒感染乃中医伏邪致病的理论观点, 乃因机体抗邪不力, EB 病毒未能及时清除而潜伏下来一旦机体受外界影响免疫功能下降, 抗邪无力致 EB 病毒活化时, 则表现为 EB 病毒感染, 若仍未能正确调理则逐步发展为鼻咽癌, 此即“虚则伏邪”、“气虚染毒”^[9]。中医学者通过实践研究显示 EB 病毒感染者体质多为气虚质和湿热偏热质, 因此临床多采用益气、解毒、清热化浊之法^[10]。

抗毒化浊方中以黄芪、玄参、太子参益气养阴,地黄清热生津,牛蒡子疏散风热、宣肺透疹,解毒利咽散结,黄芩清上焦实火,栀子解三焦实火烦热,连翘清热解毒、散结消肿,白花蛇舌草清热解毒,甘草解毒和诸药。全方共奏益气养阴,泻火解毒之功。若为 NPC 患者则加入猫爪草、莪术、野菊花解毒活血散结,石斛益胃生津,滋阴清热,猫爪草、野菊花、莪术、石斛、白芷祛风燥湿。方中黄芪能提高机体诱导干扰素的能力,增强 NK 细胞的活性,提高了巨噬细胞的吞噬率,提高机体免疫功能等。太子参多糖粗提物可明显增加小鼠胸腺、脾脏的质量,具有免疫增强作用,同时能不同程度地使 $CD3^+$, $CD4^+$, $CD4^+/CD8^+$ 升高,降低 $CD8^{+[11]}$ 。黄芩、牛蒡子在体外对 EB 病毒有一定的抑制作用^[5]。

本研究采用口服安慰剂作为对照组,以客观评价抗毒化浊方的效能,结果显示本方能降低血清 VCA-IgA, EA-IgA 水平,促使血清 VCA-IgA, EA-IgA 转阴,对 EBV 感染有一定的抑制作用。

EB 病毒感染机体可造成的免疫紊乱,导致机体免疫功能低下,如 $CD3^+$, $CD4^+$, $CD4^+/CD8^+$ 下降,而自身免疫功能的强弱对于本病的发生发展起着至关重要的作用^[6]。本研究显示抗毒化浊方提高患者 $CD3^+$, $CD4^+$, $CD4^+/CD8^+$ 和 NK 水平,增强机体对病毒的清除能力。

TNF- α 是一种重要炎症介质,对肿瘤细胞具有抑制生长和细胞毒作用,并参与多种机体炎症反应。IL-6 是介导天然免疫的细胞因子,是体内的重要炎症介质,能可激活 T 细胞、活化 B 细胞,促进炎症反应。而 IL-2 主要由活化的 Th1 细胞产生,能增强细胞毒 T 淋巴细胞(CTL),自然杀伤细胞(NK)及淋巴因子激活杀伤细胞(LAK)的杀伤活性,发挥宿主抗肿瘤免疫作用。EB 病毒感染机体表现为高 IL-6, TNF- α , 低 IL-2 水平特征^[12-13]。本研究显示抗毒化浊方能降低 IL-6 和 TNF- α , 升高 IL-2 水平,起到调节细胞因子,增强细胞免疫的功能。

综上,抗毒化浊方能降低 EBV 抗体阳性患者(NPC 和非 NPC)的血清 VCA-IgA, EA-IgA 水平,促使血清 VCA-IgA, EA-IgA 转阴,降低了 NPC 的危险

因素,其机制可能是通过调节细胞因子,提高机体免疫功能来实现的。

[参考文献]

- [1] 段巧艳. EB 病毒感染临床应用研究进展[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(10): 1232-1233.
- [2] 梁惠陶, 叶子怡, 陈林, 等. 广州健康体检人员 EB 病毒感染状况调查分析[J]. 临床医学工程, 2010, 17(6): 131-132.
- [3] 汪洋, 许红梅. 12 岁以下儿童 EB 病毒感染的血清流行病学调查[J]. 重庆医科大学学报, 2011, 36(12): 1510-1512.
- [4] 俞霞, 季明芳, 余元龙, 等. 鼻咽癌高发区居民 EB 病毒感染流行病学研究[J]. 中国肿瘤临床, 2011, 38(24): 1551-1554.
- [5] 孙雪颖, 梅全喜, 周小军, 等. 中药的抗 EB 病毒作用研究进展[J]. 中药材, 2008, 31(2): 320-322.
- [6] 甄小芳, 么远, 秦丽娜, 等. 中药治疗小儿 EB 病毒感染疗效评价及免疫干预的研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2014, 34(2): 167-173.
- [7] 欧小波, 陈小毅, 吴民华, 等. EB 病毒 LMP1 对人鼻咽癌细胞转移能力的影响[J]. 癌症, 2008, 27(8): 803-808.
- [8] 俞霞, 季明芳, 程伟民, 等. 鼻咽癌高危人群血浆 EBV-DNA 定量分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2014, 22(17): 1309-1312.
- [9] 周小军, 田道法, 王士贞, 等. EB 病毒感染与中医“伏邪”[J]. 浙江中医药大学学报, 2008, 32(1): 17-18.
- [10] 徐庆文, 周小军, 邱宝珊, 等. 益气养阴清热解毒法对 EB 病毒感染患者中医体质证候的影响[J]. 中医学刊, 2006, 24(10): 1864-1866.
- [11] 蔡晶, 李孝栋, 陈旭征, 等. 太子参多糖粗提物对小鼠免疫功能的影响[J]. 福建中医学院学报, 2005, 15(3): 33-35.
- [12] 叶中绿, 庞伟君, 黄秀兰, 等. EB 病毒感染患儿细胞因子水平与 T 细胞亚群检测的临床意义[J]. 现代预防医学, 2008, 35(12): 2306-2308.
- [13] 周小军, 杜国有, 孙一帆, 等. 鼻咽解毒颗粒对 EB 病毒感染患者 TNF- α 及 IL-2 水平的影响[J]. 世界中西医结合杂志, 2009, 4(10): 721-723.

[责任编辑 何希荣]