

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

鲁艳平, 周大桥*, 熊益群, 高辉, 贺劲松, 陈英杰, 魏春山, 陈亮, 徐文军, 李群
(广州中医药大学附属深圳市中医院, 广东深圳 518033)

[摘要] **目的:**探讨凉血滋肾益气法对慢性乙型肝炎患者乙型肝炎病毒-脱氧核糖核酸(HBV-DNA),树突状细胞(dendritic cells, DCs)中表面分子表达水平及外周淋巴T细胞亚群等的影响,研究该中医治法对改善患者的免疫功能状态、抑制和清除病毒的作用,为防治病毒性乙型肝炎提供新思路。**方法:**将158位患者随机分为治疗组80例,对照组78例,两组予常规保肝治疗,对照组加用中药颗粒模拟剂口服,治疗组加用凉血滋肾益气中药颗粒口服。**结果:**治疗24周后,两组患者肝功,HBV-DNA,树突状细胞及外周淋巴T细胞亚群增殖均有明显改善,其中两组肝功指标改善情况无明显差异;治疗组24周后HBV-DNA明显降低,HBV-DNA水平下降 $>1 \log_{10}$, $>2 \log_{10}$ 分别为51.25%,31.25%,与对照组33.33%,14.10%相比有显著差异性($P < 0.05$),但阴转率无显著性差异。HBeAg阴转率较对照组有显著差异性,HBeAg血清学转换比例未能优于安慰剂对照组。治疗组DCs表面分子表达水平,DCs分泌IL-12水平均较对照组明显提高,差异均有显著性意义($P < 0.01$, $P < 0.05$);对淋巴细胞亚群的增殖,主要是提高了 $CD4^+$,降低 $CD8^+$ 水平,与对照组比较差异有显著性差异($P < 0.05$)。**结论:**凉血滋肾益气法对慢性乙型肝炎患者对DC、淋巴细胞亚群免疫调节细胞有积极影响,能明显降低HBV-DNA载量,提高HBeAg阴转率,可能与改善患者的免疫功能状态,激发调动患者的T淋巴细胞免疫状态有关。

[关键词] 凉血滋肾益气法; 树突状细胞; 慢性乙型肝炎; 乙型肝炎病毒-脱氧核糖核酸

[中图分类号] R287.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)13-0160-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015130160

Effect of Dendritic Cells and HBV-DNA to Chronic Hepatitis B Patients with Liangxue Zishen Yiqi Method

LU Yan-ping, ZHOU Da-qiao*, XIONG Yi-qun, GAO Hui, HE Jin-song, CHEN Ying-jie, WEI Chun-shan, CHEN Liang, XU Wen-jun, LI Qun (Shenzhen Hospital Affiliated to Guangzhou University of Chinese Medicine, Shenzhen 518033, China)

[Abstract] **Objective:** The aim of this study was to evaluate the effect of Liangxue Zishen Yiqi method on the level of hepatitis B virus-DNA (HBV-DNA) in dendritic cells (DCs), and on the peripheral lymphoid T cell in patients with chronic hepatitis B, in order to study the role of Chinese medicine method in the immune function, inhibition and removal of the virus in patients, and provide the new ideas for prevention and treatment of hepatitis. **Method:** In this study, one hundred and fifty-eight cases of HBV patients were randomly divided into treatment group and control group. The conventional treatment was applied in the two groups, Liangxue Zishen Yiqi medicine was given in treatment group while Liangxue Zishen Yiqi placebo prescription was given in control group. All the traditional Chinese medicine were granular formulation. **Result:** After the treatment for 24 weeks, the liver function, HBV-DNA, dendritic cells and proliferation of peripheral lymphoid T cell subsets were obviously improved, with no significant difference in the improvement of liver function between two groups. The reduction of HBV-DNA after treatment in control group was significantly different with control group ($P < 0.05$), but with no significant difference in negative conversion ratio. The ratio of HBeAg negative conversion in treatment group was superior to the control group, however, the HBeAg sero conversion ratio was not. The levels of DCs molecules, and

[收稿日期] 20141014(022)

[基金项目] 广东省深圳市科技计划项目(201002129)

[第一作者] 鲁艳平,在读博士,从事慢性肝病的中医药研究,Tel:0755-88359666-2167,E-mail:5147887@qq.com

[通讯作者] *周大桥,主任医师,教授,博士生导师,从事慢性肝病的中医药研究,Tel:0755-88605146,E-mail:zdqdoctor@sina.com

the secretion of DCs IL-12 levels were both superior to the control group ($P < 0.01$, $P < 0.05$); as to the proliferation of T lymphocyte subsets, it mainly improved the level of $CD4^+$, and reduced the level of $CD8^+$, with significant difference compared with control group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Liangxue Zishen Yiqi has positive effect on DC, lymphocyte subsets in patients with chronic hepatitis B. It can significantly restrain HBV-DNA, which may play a role in improving the immune function and arousing the T lymphocyte immune status of patients.

[Key words] Liangxue Zishen Yiqi method; dendritic cells; chronic hepatitis B; hepatitis B virus-DNA

我国乙型病毒感染率高达 9.09%,其中慢性乙型肝炎患者约 2 000 万例,相当一部分发展成肝硬化或肝癌,严重影响患者的生命和质量^[1],每年因肝病死亡约 30 万人,直接经济损失 222.4 亿元^[2],而且携带高水平的乙型肝炎病毒-脱氧核糖核酸(HBV-DNA)乙肝患者,携带病毒时间越长,原发性肝癌(HCC)发生的危险性越大^[3]。

随着抗病毒药物的广泛应用,临床疗效已得到较程度的提升,但抗病毒药物远未满足人们的健康需求,并存在诸多难点,如病毒转阴率及血清转换率低,耐药变异,复发率高等问题。慢性 HBV 感染时机体免疫系统的两大核心改变是树突状细胞激活初始型 T 细胞能力降低和 Th 分化失衡。乙肝病毒感染,免疫调控紊乱是慢乙肝的主要发病机制,感染病毒的结局取决于机体免疫反应调节、病毒变异和病毒复制。因此,有关抗病毒和免疫调节的研究有重要意义^[4]。而中医药在抗肝纤维化、改善肝功能、保护肝细胞,减轻症状、提高免疫等方面发挥着重要作用,并具有独特的优势^[5],凉血滋肾益气法在本科的临床运用中取得了很好的疗效,本项目旨在研究该法的免疫调节和抗病毒作用,观察凉血滋肾益气法对慢性乙型肝炎肝功能、血清 HBV-DNA 定量、血清 HBsAg, HBeAg 定量指标的影响,并探讨其增强细胞免疫功能的机制,通过改善患者的免疫功能状态,激发调动患者的 T 淋巴细胞免疫功能,从而达到抑制和清除病毒,为防治病毒性乙型肝炎提供新思路。

1 材料与方法

1.1 诊断标准 根据 2000 年中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学会联合修订的《病毒性肝炎防治方案》、2005 年全国病毒性肝炎会议修订的《慢性乙型肝炎防治指南》^[6]及 2007 年美国肝病研究学会(AASLD)新版乙型肝炎防治指南中的慢乙型肝炎的诊断标准,临床诊断为慢性乙型肝炎者。

1.1.1 入组标准^[6] 符合慢性乙型病毒性肝炎的诊断标准:①肝功能异常,包括丙氨酸氨基转移酶(ALT),天冬氨酸氨基转移酶(AST),总胆红素

(TBIL)升高;2 倍正常值 \leq ALT \leq 10 倍正常值;② HBsAg 阳性, HBeAg 阳性;③ HBV-DNA $> 1 \times 10^5$ copy/mL;④至少半年未进行任何形式的抗病毒和免疫调节治疗。

1.1.2 排除标准^[6] ①血清学检测证实由肝炎病毒重叠感染;②准备怀孕妇女,哺乳期妇女,男性准备受孕者;③伴其他脏腑或系统疾病,影响临床证候结果者;④因精神、语言等因素而不能表达自身感受者。

1.2 一般资料 全部 158 病例均来自广州中医药大学附属深圳市中医院肝病科住院和门诊患者,于 2010 年 12 月至 2012 年 07 月收集,结合病情轻重、就诊次序、性别、年龄的因素,根据随机化原则和平行对照的试验方法,分为治疗组和对照组。治疗组病例数 80 例,男 45 例,女 35 例;年龄 18~55 岁,平均(32.79 \pm 7.95)岁;病程 1.5~20 年,平均(5.26 \pm 7.67)年;对照组 78 例,男 44 例,女 34 例;年龄 22~60 岁,平均(47.4 \pm 8.3)岁;病程 2~18 年,平均(5.23 \pm 9.03)年;两组性别结构、年龄分布、病程,经统计分析差异无显著性意义,具有可比性。

1.3 治疗 两组均给予常规西医治疗,包括保肝降酶、对症支持等(ALT $>$ 5 倍正常值给予静脉滴注:10%葡萄糖液 250 mL+甘草酸二铵 30 mL(正大天晴药业股份有限公司,国药准字 H141030204),0.9%氯化钠 250 mL+谷胱甘肽 1.2 g, qd(昆明积大制药股份有限公司,国药准字 H20130775);ALT \leq 5 倍正常值予口服甘草酸二铵胶囊 150 mg, po, tid(正大天晴药业股份有限公司,国药准字 H10940191)。治疗组在常规西药治疗基础上,口服凉血滋肾益气颗粒(由深圳市中医院制剂室提供):地黄 15 g,牡丹皮 15 g,山茱萸 15 g,女贞子 10 g,桑寄生 15 g,仙茅 10 g,五味子 10 g,黄芪 20 g,白术 15 g,川草薢 15 g,枳壳 15 g,柴胡 10 g,叶下珠 15 g。每日 2 次,每次 1 袋,冲服。对照组在常规西药治疗基础上,口服中药颗粒模拟剂:5%藿香原药及 95%麦芽糊精制成颗粒剂(由深圳市中医院制剂室提供)。12 周为 1 个疗程,全疗程治疗、观察 24 周。

治疗周期内出现应答,则继续进入下一疗程,全部疗程结束时若未出现应答,则根据肝功能、病毒水平等情况更改治疗方案,并作为无效病例纳入统计。常规西医治疗疗程,以肝功能恢复为准,一般在4周左右。

1.4 观察指标及时点 两组患者治疗前、治疗后4,12周检查肝功能,乙肝两对半定量,HBV-DNA分别于12,24周检测;其他指标只做治疗前和治疗24周时检测。

①血清转氨酶:ALT,AST(日本产 OLYMPUS AU600 型全自动分析仪,ELISE 方法);②乙肝血清标志物(乙肝两对半)(采用雅培公司 ARCHITECT i2000sr 系统化学发光免疫法);③HBV-DNA 定量(采用 Roche-Cobas Ampliprep 48 系统检测);④外周血 T 淋巴 CD3⁺,CD4⁺,CD8⁺,CD4⁺/CD8⁺ 含量,按试剂盒说明书操作(T 细胞亚群免疫荧光试剂盒-购于德国 Partec 公司);⑤树突状细胞表型测定及 DCs 分泌白细胞介素-12(IL-12)水平情况。

1.5 统计处理 采用统计软件 SPSS 17.0 进行分析数据。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较 *t* 检验、Wilcoxon 秩和检验,计数资料频数表示,分类资料组间比较采用 χ^2 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

1.6 疗效评定 综合疗效评价参照《中药新药临床研究指导原则(2002 试行)》及相关文献制订:显效:临床症状消失;肝功能恢复正常;HBV-DNA, HBeAg, HBsAg 均阴转;有效:临床症状明显改善;肝功能检测正常或较治疗前异常值下降 50% 以上;HBV-DNA, HBeAg 有 1 项阴转;无效:未达到上述标准者。标准根据 2005 年 12 月中华医学会感染病学分会和中华医学会肝病学会联合制订的《慢性乙型肝炎防治指南》^[3] 的抗病毒治疗的单项应答标准。病毒学的应答:血清 HBV-DNA 检测不到,或

者。血清 HBV-DNA 低于检查下限,或者血清 HBV-DNA 较基线下降 $\geq 2 \log_{10}$;血清学的应答:血清 HBeAg 转阴, HBeAg 血清学转换: HBsAg 转阴或 HBsAg 血清学转换。

1.7 主要检测方法 外周血 T 淋巴细胞亚群 CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ 所有病例于清晨空腹静脉采血 1.5 mL, EDTA-2Na 抗凝,采用 EPICX-XL 型流式细胞仪(美国 BD 公司)进行检测计算。血清 HBV-DNA 定量的测定:严格按照血清 HBV-DNA 检测参照试剂说明书操作。树突状细胞的体外培养:按照 Romani 等分离培养 DCs 的方法稍作修改,抽取各组外周血 20 mL,肝素抗凝,用淋巴细胞分离液分离外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs),通过洗涤,培养,收集第 7 天悬浮细胞即为 DCs。台盼蓝染色测定细胞活力 > 95%,计数 DCs 获得量。FACS 检测 DCs 细胞表面分子的表达:在 DCs 培养的第 7 天收集细胞,用 PBS 洗细胞 2 次,稀释成 5×10^8 个/L,加入鼠抗人鼠抗人 HLA-DR-PE, CD-1 α -FITC, CD80-FITC, CD86-PE 20 μ L,轻轻混匀,4 $^{\circ}$ C 温育 45 min,再用 PBS 洗 2 次,流式细胞仪检测 HLA-DR, CD-1 α , CD86, CD80 的表达。

1.8 安全性指标 在入组时及 24 周复查血常规、尿常规、心电图、肾功能,及时处理不良反应。

2 结果

2.1 两组患者综合疗效比较 治疗组有效 48 例,无效 32 例,总有效率为 60.00%;对照组分别为 53 例,25 例,总有效率 67.95%,两组总有效率比较,差异无显著意义。

2.2 两组患者治疗前后肝功能变化情况 两组在治疗 4 周时,ALT,AST,TBIL 均显著改善,各项指标治疗组和对照组比较均无差异。到 12 周时复查,治疗组肝功能全部恢复正常。见表 1。

表 1 两组患者治疗前后肝功能变化比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Comparison of changes of liver functions between two groups pre and post treatment ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	例数	时间	ALT/U·L ⁻¹	AST/U·L ⁻¹	TBIL/ μ mol·L ⁻¹
治疗	80	治疗前	285.04 \pm 80.05	211.60 \pm 65.53	25.75 \pm 6.11
		治疗 4 周	60.58 \pm 20.36 ²⁾	57.95 \pm 18.33 ²⁾	16.34 \pm 3.01 ¹⁾
对照	78	治疗前	279.11 \pm 79.10	219.79 \pm 43.37	24.99 \pm 7.27
		治疗 4 周	62.67 \pm 17.43 ²⁾	60.09 \pm 15.03 ²⁾	17.08 \pm 2.62 ¹⁾

注:与本组治疗前比较¹⁾*P* < 0.05, ²⁾*P* < 0.01。

2.3 两组患者 HBV-DNA 载量变化比较 治疗前后 HBV-DNA 水平下降 > 1 log₁₀, > 2 log₁₀ 分别为

41 例(51.25%), 25 例(31.25%), 对照组分别为 26 例(33.33%), 11 例(14.10%), 有统计学意义(*P* <

0.05)。HBV-DNA 阴转率:治疗组 3 例,对照组 1 例,两组比较无显著性差异。结果显示凉血滋肾益气法可以显著抑制 HBV-DNA。

2.4 两组患者治疗前后出现血清 HBeAg 的阴转、血清学转换情况 治疗结束后,治疗组 19 例出现 HBeAg 阴转,5 例出现 HBeAg 血清学转换,HBeAg 阴转率为 23.8%,HBeAg 血清转换率为 6.25%;对照组 8 例出现 HBeAg 阴转,3 例出现血清学转换,HBeAg 阴转率为 10.3%,HBeAg 血清转换率为 3.85%。治疗组和对照组阴转率比较有显著性差异

表 2 两组外周血淋巴细胞亚群比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of peripheral blood lymphocyte subsets between two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
治疗	80	治疗前	50.1 ± 3.79	27.6 ± 7.33	30.4 ± 8.41	1.09 ± 0.62
		治疗后	66.5 ± 8.91 ^{2,3)}	40.0 ± 6.69 ^{2,3)}	24.9 ± 7.11 ^{2,3)}	1.46 ± 0.23 ^{2,3)}
对照	78	治疗前	49.9 ± 7.62	28.4 ± 7.86	30.3 ± 6.65	1.07 ± 0.51
		治疗后	63.0 ± 7.78 ¹⁾	37.1 ± 7.99 ¹⁾	27.9 ± 8.62 ¹⁾	1.18 ± 0.45 ¹⁾

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

2.6 DCs 表面分子的表达水平分析 两组治疗前 DC 成熟表面标记物 HLA-DR,CD86,CD80 和 CD1α 的表达水平比较,无统计学意义。治疗 24 周后两组的 DC 成熟表面标记物 HLA-DR,CD86,CD80 和 CD1α 的表达水平均与治疗前比较有统计学差异,

表 3 两组 DCs 表面分子及 DCs 分泌 IL-12 表达水平($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of level of DCs surface molecules and IL-12 secreted by DCs between two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	HLA-DR/%	CD80/%	CD86/%	CD-1α/%	IL-12/ng·L ⁻¹
治疗	80	治疗前	54.20 ± 7.60	30.07 ± 7.60	40.14 ± 6.85	54.77 ± 3.99	26.07 ± 7.42
		治疗后	59.11 ± 7.82 ^{1,2)}	35.23 ± 7.39 ^{1,2)}	45.29 ± 7.99 ^{1,2)}	58.80 ± 4.10 ^{1,2)}	30.74 ± 8.39 ^{1,3)}
对照	78	治疗前	52.47 ± 6.70	30.03 ± 6.28	40.05 ± 5.93	55.45 ± 4.05	25.47 ± 6.79
		治疗后	55.18 ± 9.60 ¹⁾	32.09 ± 6.29 ¹⁾	42.17 ± 6.87 ¹⁾	56.97 ± 3.60 ¹⁾	27.76 ± 7.32 ¹⁾

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

2.8 不良反应 研究过程中未见明显不良反应,在入组及 24 周患者血常规、肾功能、心电图等指标无异常,仅有 2 例患者出现轻微腹泻,已对症处理,证明凉血滋肾益气颗粒有良好的安全性。

3 讨论

慢性乙型肝炎是一种免疫相关性疾病,机体感染后并不直接对肝细胞造成损伤而是通过诱发机体的免疫反应间接损伤肝细胞。宿主遗传因素决定的个体免疫差异在慢性 HBV 感染的临床转归中起决定作用。中医认为机体免疫功能低下实属正气不足,人体正气中元气和卫气均源于肾,故肾虚型体质是慢性乙型肝炎致病的根本基础。肾气亏虚是 HBV 发病的内基础,湿热毒邪是 HBV 感染的始动因素。

($P < 0.05$),血清学转换率比较无显著性差异。

2.5 对外周血淋巴细胞亚群的影响 治疗前治疗组外周血淋巴细胞 CD3⁺,CD4⁺,CD8⁺ 的表达水平与对照组比较无统计学差异,治疗 24 周后,外周血淋巴细胞亚群 CD3⁺,CD4⁺,CD8⁺ 的表达水平与治疗前比较,两组均有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.05$)。两组治疗后比较有统计学意义($P < 0.05$)。治疗 24 周后,CD4⁺/CD8⁺ 两组均上升,治疗组上升明显,两组比较有统计学差异($P < 0.05$)。见表 2。

两组相比有显著性差异(均有 $P < 0.01$)。见表 3。

2.7 DCs 分泌 IL-12 水平情况 治疗前两组的 IL-12 表达水平比较无统计学差异。治疗 24 周后,两组 IL-12 的表达水平分比较有统计学差异($P < 0.05$)。见表 3。

慢性 HBV 患者多数免疫功能低下,抗原特异性 T 细胞应答低下,树突状细胞(DC)功能降低,共刺激分子表达低下,DC 不能有效激活 T 细胞,T 淋巴细胞亚群失衡,造成多种辅助和调节等细胞功能异常,使机体不能有效清除入侵的 HBV,导致疾病的慢性化^[7-10]。其中 T 淋巴细胞清除病毒能力特别强,而在 T 细胞中 CD3⁺,CD4⁺,CD8⁺ 这种细胞介导的免疫在免疫系统起着相当重要的作用,因此在慢性乙型肝炎患者中检测 CD4⁺,CD8⁺ 的细胞数量可以反映细胞的免疫状态。本研究中治疗组治疗后 CD4⁺ 细胞数量上升,CD8⁺ 细胞数量下降,CD4⁺/CD8⁺ 百分比率上升,同对照组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$),说明凉血滋肾健脾法可明显提高细胞免疫功能。

DC 为功能最强的专职抗原呈递细胞 (APC), 在免疫应答中处于中心调控地位^[11]。它与机体的免疫状态密切相关, 能够显著刺激 T 细胞增殖, 建立免疫应答, 并向局部淋巴细胞 T 细胞区迁移, 在机体细胞免疫和体液免疫调控中均起着重要作用^[12]。它能诱导产生 HBV 特异性 CD8⁺ T 细胞, 通过细胞免疫反应清除病毒^[13], 能分泌血清细胞因子-7 (IFN-7), IL-12T 淋巴细胞, 为具有杀伤活性的 CTL 提供第二信号, 形成强烈的共刺激信号, 活化 CTL 等免疫活性细胞, 从而清除病毒。

DC 受外界刺激后可以由未成熟状态转化为成熟状态^[14], 有研究表明黄芪等中药成分能够降低 DC 的吞噬功能, 能够增强 DC 对 IL-12 的表达, 并且能使 DC 在形态学更加成熟, 而 DC 随之成熟, 上调共刺激分子如 CD80, CD40, CD86 等, 这些都是使 T 淋巴细胞活化所必需的, 从而诱导 T 细胞产生特异性 CTL 效应, 在这期间 IL-12 等是主要的细胞因子, 起着重要作用^[15]。本研究表明凉血滋肾益气法可以刺激 DC 成熟, 表面分子表达及分泌的 IL-12 的水平有明显提高, 同对照组比较具有显著统计学差异。

临床观察发现慢乙肝的中医病机特点为正虚邪恋、虚实夹杂、气血同病。病理因素为正虚 (肾虚、气虚)、毒侵、血热。其中湿热疫毒之邪损伤脾、肾, 蕴结血分是慢性乙型肝炎病因病机中极为重要的部分, 疫毒邪伏血分, 故需入血解毒, 入血意在凉血, 才能清血中毒热, 使毒无以附, 滋肾益气, 使正气存内, 则可驱邪外出。根据病机特点, 制订凉血滋肾益气, 兼清热解毒化湿为治则。方由地黄、牡丹皮、女贞子养阴凉血, 山茱萸、桑寄生、仙茅滋肾, 黄芪、白术益气, 川萆薢、川朴化湿, 叶下珠解毒。现代药理研究显示, 方中滋肾、凉血、益气、化湿药物多有免疫调节作用, 而叶下珠是目前最强的抗 HBV 中药之一^[16]。全方合用, 达到凉血滋肾益气的作用。

本研究结果初步证实了凉血滋肾益气法此法对 DC, 淋巴细胞亚群等免疫调节细胞的积极影响, 特别是打破机体免疫耐受状态, 提高机体免疫应答机制, 达到抑制 HBV 的作用, 对病毒复制有一定的抑制作用, 可以增加 HBeAg 阴转率, 但在 HBV-DNA 阴转率和 HBeAg 治疗组血清学转化率方面无明显意义, 原因可能有: 24 周的治疗时间尚不能最大程度的反映中医药的最大疗效, 组方用药可能需要进一步筛选。

[参考文献]

[1] 李广明, 周凤蕊, 刘俊华. 六味五灵片治疗乙型肝炎肝纤维化 42 例[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(21):

276-279.

[2] 万谟彬, 慢性乙型肝炎治疗的现状及前景——APDW2001 年会见闻[J]. 中华传染病杂志, 2002, 20(1):57-60.

[3] Chen C J, Yang H I, Su J, et al. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level[J]. JAMA, 2006, 295(1):65-73.

[4] 庄辉. 乙型肝炎流行病学研究进展[J]. 中国医学前沿杂志, 2004, 31(3):133-135, 138.

[5] 王少丽, 姚乃礼, 吕文良. 中药治疗慢性乙型肝炎疗效优势的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(23):2468-2470.

[6] 贾继东, 李兰娟. 慢性乙型肝炎防治指南(2010 年版)[J]. 中国预防医学杂志, 2011, 12(1):1-15.

[7] 匡志鹏, 梁安民. CIK 细胞联合树突状细胞治疗恶性肿瘤的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2006, 14(2):240-242.

[8] Webster G J, Reigat S, Brown D, et al. Longitudinal analysis of CD8⁺ T cells specific for structural and nonstructural Hepatitis B virus proteins in patients with chronic hepatitis B: implications for immunotherapy [J]. Virol, 2004, 78(11):5707-5719.

[9] Bertolotti A, Gehring A. Immune response and tolerance during chronic hepatitis B virus infection [J]. Hepatol Res, 2007, 37(3):331-338

[10] Guidotti L G, Rochford R, Chung J, et al. Viral clearance without destruction of infected cells during acute HBV infection [J]. Science, 1999, 284(5415):825-829.

[11] Jan K, Christian B, Edgar S, et al. Dendritic cell: sentinels of immunity and tolerance [J]. Int Hepatol, 2005, 81(3):197-203.

[12] Orange D E, Jegathesan M, Blachere N E, et al. Effective antigen cross-presentation by prostate cancer patients' dendritic cells; implications for prostate cancer immunotherapy [J]. Prostate Cancer Prostatic Dis, 2004, 7(1):63-72.

[13] Yang P L, Althage A, Chung J, et al. Immune effectors required for hepatitis B virus clearance [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(2):798-802.

[14] Banchereau J, Briere F, Caux C, et al. Immunobiology of dendritic cells [J]. Annu Rev Immunol, 2000, 18(1):767-811.

[15] 骆殊, 邵佳. 黄芪多糖对树突状细胞免疫活性的影响 [J]. 中医药临床杂志, 2009, 21(1):66-69.

[16] 陈英杰, 李慧贞, 童光东. 补肾清透方对 e-抗原阳性乙肝病病毒携带者的抗病毒疗效 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(7):283-288.

[责任编辑 邹晓翠]