

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.17.011

文章编号: 1005-8982 (2019) 17-0058-05

新进展研究·论著

## 乙型肝炎病毒感染伴焦虑患者体内免疫应答研究\*

尹家丽, 杨海清

(云南省第三人民医院 检验科, 云南 昆明 650000)

**摘要: 目的** 探究乙型肝炎病毒感染伴焦虑患者在治疗过程中机体免疫功能的变化, 为指导治疗提供理论依据。**方法** 选取2015年1月—2017年1月云南省第三人民医院慢性乙型肝炎患者90例。根据是否合并焦虑症分为焦虑组和对照组, 每组45例, 均给予阿德福韦酯联合胸腺肽治疗。另选取该院45例健康志愿者作为空白组, 比较3组治疗前后细胞免疫指标、红细胞免疫指标及炎症因子水平。**结果** 治疗前与治疗12周后3组白细胞介素-2 (IL-2)、白细胞介素-4 (IL-4)、白细胞介素-10 (IL-10)、干扰素 (IFN) 和肿瘤坏死因子 (TNF) 水平由高到低依次为空白组、对照组和焦虑组 ( $P < 0.05$ )。治疗前与治疗12周后3组  $CD3^+CD4^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD4/CD8$ 、协同肿瘤红细胞花环率 (ATERR)、自然肿瘤红细胞花环率 (NTERR) 及红细胞C3b受体花环率 (RBC-C3bRR) 水平由高到低依次为空白组、对照组和焦虑组,  $CD8^+$  和红细胞免疫复合物花环率 (RBC-ICR) 水平由高到低依次为焦虑组、对照组和空白组 ( $P < 0.05$ )。与治疗前比较, 治疗12周后焦虑组和对照组上述指标均有所改善, 组内比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。**结论** 阿德福韦酯联合胸腺肽治疗对慢性乙肝患者的免疫功能可进行重建, 上调 Th1 和 Th2 细胞的表达水平, 提高细胞免疫及红细胞免疫功能, 但焦虑状态对免疫功能的改善产生负性作用。

**关键词:** 肝炎, 乙型, 慢性; 焦虑; 免疫, 细胞

**中图分类号:** R512.62

**文献标识码:** A

## Effect of anxiety disorder on immune response in patients with chronic hepatitis B\*

Jia-li Yin, Hai-qing Yang

(Department of Laboratory Medicine, The Third People's Hospital of Yunnan Province, Yunnan, Kunming 650000, China)

**Abstract: Objective** To explore the effect of anxiety disorder on immune response in patients with chronic hepatitis B. **Methods** A total of 90 cases with chronic hepatitis B who were admitted in our hospital from Jan. 2015 to Jan. 2017 were selected. They were divided into anxiety group (45 cases) and control group (45 cases). Another 45 healthy volunteers were involved as blank group. All patients received standard treatment of Adefovir dipivoxil and Thymosin. The clinical data was compared among three groups. **Results** The levels of interleukin-2 (IL-2), interleukin-4 (IL-4), interleukin-10 (IL-10), interferon (IFN) and tumor necrosis factor (TNF) were the lowest in blank group, and the highest in anxiety group after 12 weeks after treatment ( $P < 0.05$ ). The levels of  $CD3^+CD4^+$ ,  $CD4^+$ ,  $CD4/CD8$ , associate tumor erythrocyte rosette rate (ATERR), natural tumor erythrocyte rosette rate (NTERR) and red blood cell-C3b receptor rate (RBC-C3bRR) were the highest in blank group, and the lowest in anxiety group after 12 weeks after treatment ( $P < 0.05$ ). The levels of  $CD8^+$  and red blood cell-immune complex rate (RBC-ICR) were the highest in anxiety group, and the lowest in blank group after 12 weeks after treatment ( $P < 0.05$ ).

收稿日期: 2019-03-08

\* 基金项目: 云南省应用基础研究 (青年项目) (No: 2017FD009)

[通信作者] 杨海清, E-mail: 546773281@qq.com

**Conclusions** Adefovir dipivoxil and Thymosin can rebuild the immunity in patients with chronic hepatitis B while Anxiety negatively affects immune function.

**Keywords:** hepatitis, type B, chronic; anxiety; immunity, cell

慢性乙型肝炎是临床常见的传染性疾病,除对肝脏造成损伤外,还可引起其他系统的疾病<sup>[1-2]</sup>。研究发现,慢性乙型肝炎病毒感染的患者发生心理疾病的概率较高,其中最突出的为焦虑症<sup>[3-4]</sup>。焦虑状态不仅直接影响患者配合治疗的态度,还可对机体免疫功能造成一定影响<sup>[5-6]</sup>。以往关于慢性乙型肝炎合并焦虑症患者机体免疫应答的研究较少,本研究旨在分析该类患者在抗病毒治疗过程中免疫功能的变化,现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

选取 2015 年 1 月—2017 年 1 月云南省第三人民医院收治的慢性乙型肝炎患者 90 例。其中,男性 48 例,女性 42 例;年龄 30 ~ 72 岁,平均 (55.8 ± 5.1) 岁;病程 7 ~ 40 年,平均 (22.3 ± 5.4) 年;有症状 52 例,无症状 38 例。根据焦虑自评量表 (self-rating anxiety

scale, SAS) 评分将其分为焦虑组 (SAS 评分 ≥ 50 分) 和对照组 (SAS 评分 < 50 分), 每组 45 例。另取同期参加体检的健康志愿者 45 例作为空白组。纳入标准: ①符合 2010 年版《慢性乙型肝炎防治指南》中关于慢性乙型肝炎的诊断标准<sup>[7]</sup>; ②乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) DNA 阳性 (HBV DNA ≥ 1 × 10<sup>3</sup> copy/ml), 乙型肝炎表面抗原阳性 ≥ 6 个月或既往有乙型肝炎表面抗原阳性史, 目前仍为阳性<sup>[8]</sup>; ③本研究前 3 个月内未使用抗病毒药物、糖皮质激素等影响免疫功能的药物。排除标准: ①合并其他病毒性肝炎、酒精性肝炎和药物性肝损伤患者; ②合并肝细胞癌者; ③合并自身免疫性疾病者; ④合并严重高血压、糖尿病或重要器官功能不全者。研究经本院医学伦理委员会审批通过, 所有研究患者知情并签署知情同意书。3 组一般资料比较, 差异无统计学意义 (P > 0.05), 具有可比性。见表 1。

表 1 3 组一般资料的比较 (n = 45)

组别	男/女/例	年龄/(岁, $\bar{x} \pm s$ )	病程/(年, $\bar{x} \pm s$ )	临床表现/例	
				有症状	无症状
焦虑组	23/22	55.1 ± 5.4	22.0 ± 5.3	25	20
对照组	25/20	56.2 ± 5.2	22.5 ± 5.1	27	18
空白组	24/21	55.6 ± 4.8	-	-	-
$\chi^2/F$ 值	0.179	0.984	0.456	0.182	
P 值	0.105	0.074	0.088	0.101	

### 1.2 仪器与试剂

TGL16MB 高速离心机 (长沙湘智离心机有限公司), HWS-20 恒温水浴箱 (太仓市实验设备厂), 艾森 D2060R 流式细胞仪、流式试管及配套设备 (艾森生物杭州有限公司), 帝肯 F50 型酶联免疫检测仪及白细胞介素 -2 (IL-2)、白细胞介素 -4 (IL-4)、白细胞介素 -10 (IL-10)、干扰素 (Interferon, IFN) 和肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 检测试剂 (瑞士 Tecan 公司), 淋巴细胞亚群试剂 (艾森生物杭州有限公司), 冷冻保存 S180 艾氏腹水癌细胞 (上海长征医院)。

### 1.3 方法

**1.3.1 治疗方法** 在一般保肝抗炎的基础上, 给予阿德福韦酯片 (福建广生堂药业股份有限公司, 国药准字 H20070198) 10 mg, 口服, 1 次/d, 胸腺肽注射液 (云南南诏药业有限公司, 国药准字 H53021765) 40 mg, 静脉滴注, 1 次/d, 疗程均为 1 年。

**1.3.2 血清细胞因子检测** 治疗前及治疗 12 周后取研究对象空腹静脉血 15 ml, 经抗凝、离心等处理后获得血清样本, 通过酶联免疫吸附试验检测 IL-2、IL-4、IL-10、IFN 及 TNF 含量。

**1.3.3 外周血淋巴细胞亚群检测** 治疗前及治疗 12 周

后分别取流式试管 3 支, 编号 1 ~ 3。向试管 1 加入 20  $\mu\text{l}$  CD4-PE, 向试管 2 加入 20  $\mu\text{l}$  CD3-PC, 向试管 3 加入 20  $\mu\text{l}$  CD3-PC5/CD4-PE 双色试剂, 后将抗凝全血加入上述试管, 避光孵育 25 min。取出试管, 依次在其中加入 400  $\mu\text{l}$  磷酸盐缓冲液 (PBS) 和红细胞裂解液 OptiLyse C, 震荡摇匀, 避光孵育 20 min。2 000 r/min 离心 10 min 后将液体倒出, 加入 400  $\mu\text{l}$  PBS 液震荡摇匀制备单细胞悬液。采用流式细胞仪检测单细胞悬液, 通过软件分析并计算淋巴细胞中各标记细胞的比例<sup>[9]</sup>。

**1.3.4 红细胞免疫指标检测** 治疗前及治疗 12 周后制备红细胞悬液和自身血浆各 50  $\mu\text{l}$ , 加入 100  $\mu\text{l}$  细胞悬液充分混匀, 在 37℃ 温度下水浴 20 min, 加入 0.25% 戊二醛和生理盐水各 100  $\mu\text{l}$ 。反应液均衡涂片, 甲醇固定, 烘干后加 20  $\mu\text{l}$  瑞吉氏染液染色, 采用郭峰法计算协同肿瘤红细胞花环率 (associate tumor erythrocyte rosette rate, ATERR)、自然肿瘤红细胞花环率 (natural tumor erythrocyte rosette rate, NTERR)、红细胞 C3b 受体花环率 (red blood cell-C3b receptor rate 及红细胞免疫复合物花环率 (red blood cell-immune complex rosette, RBC-ICR)<sup>[10]</sup>。

**1.4 统计学方法**

数据分析采用 SPSS18.0 统计软件。计量资料以

均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验, 治疗前后的比较采用配对 *t* 检验; 计数资料采用例表示, 比较用  $\chi^2$  检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 3 组血清细胞因子的比较**

治疗前 3 组 IL-2、IL-4、IL-10、IFN 及 TNF 水平比较, 差异有统计学意义 (P < 0.05), 各指标水平由高到低均依次为空白组、对照组和焦虑组。与治疗前比较, 治疗 12 周后焦虑组和对照组 IL-2、IL-4、IL-10、IFN 和 TNF 水平均有所增加 (P < 0.05)。治疗 12 周后对照组各指标高于焦虑组 (P < 0.05)。见表 2。

**2.2 3 组外周血淋巴细胞亚群比例的比较**

3 组治疗前 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 水平比较, 差异有统计学意义 (P < 0.05), CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> 和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 水平由高到低依次为空白组、对照组和焦虑组, CD8<sup>+</sup> 由高到低依次为焦虑组、对照组和空白组 (P < 0.05)。与治疗前比较, 治疗 12 周后焦虑组和对照组 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> 和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 有所升高, CD8<sup>+</sup> 下降 (P < 0.05)。治疗 12 周后对照组 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> 和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 高于焦虑组, CD8<sup>+</sup> 低于焦虑组见

表 2 3 组血清细胞因子的比较 (n = 45, ng/L,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	IL-2		IL-4		IL-10		IFN		TNF	
	治疗前	治疗 12 周	治疗前	治疗 12 周	治疗前	治疗 12 周	治疗前	治疗 12 周	治疗前	治疗 12 周
焦虑组	0.9 $\pm$ 0.2	7.7 $\pm$ 1.6 <sup>①②</sup>	1.2 $\pm$ 0.3	2.8 $\pm$ 0.6 <sup>①②</sup>	4.1 $\pm$ 0.8	8.2 $\pm$ 1.9 <sup>①②</sup>	1.2 $\pm$ 0.3	3.0 $\pm$ 1.1 <sup>①②</sup>	5.6 $\pm$ 0.9	9.6 $\pm$ 1.9 <sup>①②</sup>
对照组	2.4 $\pm$ 0.5	9.2 $\pm$ 1.8 <sup>②</sup>	3.4 $\pm$ 1.0	4.1 $\pm$ 1.5 <sup>②</sup>	6.6 $\pm$ 1.3	11.5 $\pm$ 2.0 <sup>②</sup>	1.7 $\pm$ 0.4	4.6 $\pm$ 0.9 <sup>②</sup>	8.2 $\pm$ 1.7	13.2 $\pm$ 2.5 <sup>②</sup>
空白组	13.0 $\pm$ 2.4	-	5.8 $\pm$ 1.1	-	15.9 $\pm$ 2.7	-	5.8 $\pm$ 1.0	-	18.3 $\pm$ 2.7	-
F/t 值	33.704	12.326	27.064	16.061	28.109	15.645	29.556	7.552	29.934	17.677
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.000

注: ①与对照组比较, P < 0.05; ②与治疗前比较, P < 0.05。

表 3 3 组外周血淋巴细胞亚群比例的比较 (n = 45,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> %		CD8 <sup>+</sup> %		CD4 <sup>+</sup> %		CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	
	治疗前	治疗 12 周	治疗前	治疗 12 周	治疗前	治疗 12 周	治疗前	治疗 12 周
焦虑组	23.1 $\pm$ 2.2	26.0 $\pm$ 2.1 <sup>①②</sup>	34.6 $\pm$ 3.5	31.3 $\pm$ 2.4 <sup>①②</sup>	28.6 $\pm$ 2.9	32.8 $\pm$ 2.5 <sup>①②</sup>	1.0 $\pm$ 0.2	1.2 $\pm$ 0.1 <sup>①②</sup>
对照组	26.3 $\pm$ 2.5	28.9 $\pm$ 2.3 <sup>③</sup>	30.8 $\pm$ 2.9	27.2 $\pm$ 1.9 <sup>③</sup>	32.5 $\pm$ 3.3	36.5 $\pm$ 2.9 <sup>②</sup>	1.2 $\pm$ 0.1	1.4 $\pm$ 0.1 <sup>②</sup>
空白组	32.2 $\pm$ 3.4	-	24.3 $\pm$ 2.8	-	40.3 $\pm$ 3.7	-	1.6 $\pm$ 0.2	-
F/t 值	15.074	10.407	15.415	12.733	16.695	11.267	14.230	12.002
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注: ①与对照组比较, P < 0.05; ②与治疗前比较, P < 0.05。

表 3。细胞因子流式细胞结果分析见图 1。

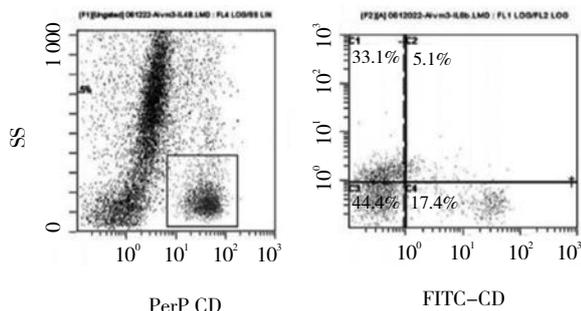


图 1 细胞因子流式细胞图

### 2.3 3 组红细胞免疫指标比较

3 组治疗前 ATERR、NTERR、RBC-C3bRR、RBC-ICR 水平比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), ATERR、NTERR 和 RBC-C3bRR 水平由高到低依次为空白组、对照组和焦虑组, RBC-ICR 由高到低依次为焦虑组、对照组和空白组。与治疗前比较, 治疗 12 周后焦虑组和对照组 ATERR、NTERR 和 RBC-C3bRR 有所升高, RBC-ICR 下降 ( $P < 0.05$ )。治疗 12 周后对照组 ATERR、NTERR 和 RBC-C3bRR 高于焦虑组, RBC-ICR 低于焦虑组 ( $P < 0.05$ )。见表 4。

表 4 3 组红细胞免疫指标的比较 ( $n=45$ , %,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	ATERR		NTERR		RBC-C3bRR		RBC-ICR	
	治疗前	治疗 12 周	治疗前	治疗 12 周	治疗前	治疗 12 周	治疗前	治疗 12 周
焦虑组	42.3 ± 3.5	47.3 ± 3.0 <sup>①②</sup>	1.0 ± 0.2	1.2 ± 0.2 <sup>①②</sup>	11.2 ± 1.8	13.8 ± 0.9 <sup>①②</sup>	20.3 ± 2.6	16.2 ± 1.8 <sup>①②</sup>
对照组	48.6 ± 3.4	51.5 ± 2.4 <sup>②</sup>	1.2 ± 0.2	1.5 ± 0.2 <sup>②</sup>	14.5 ± 1.6	16.2 ± 1.2 <sup>②</sup>	17.6 ± 1.9	14.0 ± 1.5 <sup>②</sup>
空白组	56.3 ± 5.6	-	1.8 ± 0.2	-	18.6 ± 1.7	-	11.3 ± 1.2	-
<i>F/t</i> 值	14.221	7.334	18.974	14.230	20.050	16.740	21.083	15.194
<i>P</i> 值	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注: ①与对照组比较,  $P < 0.05$ ; ②与治疗前比较,  $P < 0.05$ 。

## 3 讨论

慢性乙型肝炎是我国常见的传染性疾病, 不仅对肝细胞造成直接损伤, 还会对多系统造成影响, 尤其是免疫功能的下降, 目前最具有代表性的为细胞免疫和红细胞免疫指标<sup>[11-12]</sup>。慢性乙型肝炎患者往往病程较长, 在疾病状态、家庭和社会压力下容易出现焦虑的状态, 随着社会的发展, 慢性乙型肝炎合并焦虑症患者的比例呈逐年递增的趋势, 该类患者对治疗的配合程度直接影响疗效, 但同时焦虑产生的应激对免疫功能产生负性作用, 因此在治疗过程中辅以心理疏导对提高疗效、改善患者生活质量具有重要意义<sup>[13-14]</sup>。

本研究结果显示, 与治疗前比较, 治疗 12 周后焦虑组和对照组 IL-2、IL-4、IL-10、IFN 和 TNF 水平均有所增加, 说明随着治疗时间的延长, 细胞因子分泌水平逐渐增加, 阿德福韦酯联合胸腺肽可打破机体的免疫耐受, 重建患者的免疫功能, 效果肯定。治疗前 3 组各指标水平由高到低均依次为空白组、对照组和焦虑组, 与胥德广等<sup>[15]</sup>的结果一致, 验证了焦虑状态对患者的免疫功能产生的负性作用。与治疗前

比较, 治疗 12 周后焦虑组和对照组 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>和 CD4/CD8 有所升高, CD8<sup>+</sup>下降, 佐证了上述细胞因子所得的结果。治疗前 3 组 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>和 CD4/CD8 水平由高到低依次为空白组、对照组和焦虑组, CD8<sup>+</sup>由高到低依次为焦虑组、对照组和空白组。ATERR、NTERR、RBC-C3bRR 和 RBC-ICR 是红细胞免疫的主要指标, 对机体免疫过程中的促进与抑制作用敏感性较高, 与治疗前比较, 治疗 12 周后焦虑组和对照组 ATERR、NTERR 和 RBC-C3bRR 有所升高, RBC-ICR 下降, 说明治疗一方面提高红细胞运输及清除免疫复合物的能力, 另一方面降低 RBC-ICR 的免疫抑制作用。治疗前 3 组 ATERR、NTERR 和 RBC-C3bRR 水平由高到低依次为空白组、对照组和焦虑组, RBC-ICR 由高到低依次为焦虑组、对照组和空白组, 说明焦虑状态同样对红细胞免疫功能产生负性影响。以上结果表明, 在治疗慢性乙型肝炎患者前应充分了解患者的心理状态, 对 SAS 评分较高的患者开展针对性的心理护理, 减轻焦虑状态, 提高患者对治疗的信心及依从性。

综上所述, 阿德福韦酯联合胸腺肽治疗可对慢性

乙肝患者的免疫功能进行重建,上调 Th1 和 Th2 细胞的表达水平,提高细胞免疫及红细胞免疫功能,然而焦虑状态对免疫功能的改善产生负性作用,在抗病毒治疗的基础上可结合心理疏导,从而提高疗效。

#### 参 考 文 献:

- [1] 来燕红,黄晓玉,李彦博,等.慢性乙型肝炎合并焦虑症患者生存质量及免疫指标的变化研究[J].中华医院感染学杂志,2017,27(4): 788-791.
- [2] 廖崇伦,陈萍.乙型肝炎病毒感染人群 T 细胞对其抗原蛋白免疫应答的特征分析[J].中华医院感染学杂志,2013,23(12): 2791-2792.
- [3] 陈竹,曾义岚,王丽,等.乙型肝炎患者免疫状态与病情进展及严重程度的关系研究[J].华西医学,2017,32(1): 31-36.
- [4] HAJARIZADEH B, WALLACE J, RICHMOND J, et al. Hepatitis B knowledge and associated factors among people with chronic hepatitis B[J]. *ust N Z J Public Health*, 2015, 39(6): 563-568.
- [5] 孙天浩.慢性乙型肝炎患者焦虑抑郁情绪的社会支持相关性和护理[J].中国医药指南,2017,15(2): 240-241.
- [6] AKTUG D N, CELIK M, KOLGELIER S, et al. Comparison of the level of depression and anxiety in inactive hepatitis B carriers and chronic hepatitis B patients[J]. *Turk Psikiyatri Derg*, 2013, 24(4): 248-252.
- [7] 葛丹红,徐翀,姚玉峰.慢性乙型肝炎患者外周血细胞毒 T 细胞表面 NK 相关受体的表达[J].检验医学,2017,32(2): 108-113.
- [8] 张俭.综合护理干预对慢性乙型肝炎患者抗病毒治疗效果及焦虑状态的影响[J].中国实用医药,2016,11(34): 154-156.
- [9] 薛洁华,李君兰,龚艳会,等.肝素定西市乙肝患者精神心理因素与病情关系的调查[J].中国卫生标准管理,2014,5(7): 8-9.
- [10] COPLAN J, SINGH D, GOPINATH S, et al. A novel anxiety and affective spectrum disorder of mind and body the ALPIM (Anxiety-Laxity-Pain-Immune-Mood) syndrome: a preliminary report[J]. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 2015, 27(2): 93-103.
- [11] 汤月玲.慢性乙型肝炎住院患者抑郁焦虑的观察及护理对策[J].实用临床护理学杂志,2018,3(10): 32, 37.
- [12] 谢华,何良梅,刘瑶,等.慢性乙型肝炎治疗的研究进展[J].赣南医学院学报,2018,38(1): 94-98.
- [13] 张振宇,黄衍松,李伟冰,等.慢性乙型肝炎中医证型与患者细胞免疫功能关系研究[J].中西医结合肝病杂志,2018,28(1): 8-10.
- [14] 苏少慧,刘洪娜,胡义亭,等.舒肝解郁胶囊治疗慢性乙型肝炎伴轻中度抑郁的临床效果及其对外周血淋巴细胞亚群的影响研究[J].中国全科医学,2018,21(3): 330-333.
- [15] 胥德广,张佳展,王峰,等.慢性乙肝住院患者焦虑及抑郁情绪发生情况及干预措施[J].中国实用神经疾病杂志,2015,18(4): 31-34.

(张西倩 编辑)