

阿德福韦酯体外对慢性乙型肝炎患者树突状细胞功能的影响

陈月, 陈洪涛, 吴诗品, 岳化葵, 马云, 方爱萍

陈月, 陈洪涛, 吴诗品, 岳化葵, 马云, 方爱萍, 深圳市人民医院(暨南大学医学院附属二院)检验医学部 广东省深圳市 518020

陈月, 南方医科大学博士, 副主任技师, 主要从事临床免疫检验研究。

广东省自然科学基金博士科研启动基金资助项目, No. 07300964

作者贡献分布: 此课题由陈月设计; 研究过程由陈月、陈洪涛、吴诗品、岳化葵、马云及方爱萍操作完成; 数据分析由陈月与陈洪涛完成; 本论文写作由陈月完成。

通讯作者: 陈月, 518020, 广东省深圳市东门北路1017号, 深圳市人民医院检验医学部, chen Yue_dr@163.com

电话: 0755-25533018

收稿日期: 2008-08-11 修回日期: 2008-10-22

接受日期: 2008-11-03 在线出版日期: 2008-11-28

Effects of adefovir dipivoxil on the function of dendritic cells from chronic HBV-infected patients *in vitro*

Yue Chen, Hong-Tao Chen, Shi-Pin Wu, Hua-Kui Yue, Yun Ma, Ai-Ping Fang

Yue Chen, Hong-Tao Chen, Shi-Pin Wu, Hua-Kui Yue, Yun Ma, Ai-Ping Fang, Department of Medical Laboratory, Shenzhen People's Hospital (the 2nd Affiliated Hospital of Jinan University Medical College), Shenzhen 518020, Guangdong Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Guangdong Province, Doctorial Scientific Research Priming Foundation, No. 07300964

Correspondence to: Dr. Yue Chen, Department of Medical Laboratory, Shenzhen People's Hospital (the 2nd Affiliated Hospital of Jinan University Medical College), 1017 Dongmen North Road, Shenzhen 518020, Guangdong Province, China. chen Yue_dr@163.com

Received: 2008-08-11 Revised: 2008-10-22

Accepted: 2008-11-03 Pubilshed online: 2008-11-28

Abstract

AIM: To find out effects of adefovir dipivoxil (ADV) on the function of dendritic cells (DCs) from peripheral blood of chronic HBV-infected patients *in vitro*.

METHODS: Monocytes (Mo) were purified from peripheral blood of healthy volunteers and HBV-infected patients with incubation of granulocyte/macrophage colony stimulating factor (GM-CSF), interleukin-4 (IL-4) and ADV

at different concentrations (20, 100, 500 $\mu\text{g/L}$) added on day 6. DC's morphology was observed under inverted microscopy and the expressions of CD1a, CD83, CD86 and MHC-DR on DCs were analyzed using FACS. The ability to stimulate the proliferation of allogenic T cells by DCs was detected using methyl thiazolyl tetrazolium (MTT). The levels of IL-12 p40+p70 in culture supernatant of DCs were determined using ELISA.

RESULTS: Compared with HBV-infected patient group, a better differentiation of DCs, enhanced proliferation of allogenic T cells and increased secretion of IL-12 p40+p70 were observed in ADV treatment group. The DCs with 100 $\mu\text{g/L}$ ADV had the highest expression of CD1a, CD83, CD86 and MHC-DR, significantly higher than those of DCs without ADV treatment (43.5 ± 5.7 vs 20.6 ± 2.8 , 34.6 ± 1.9 vs 16.7 ± 3.4 , 40.9 ± 2.8 vs 25.8 ± 6.6 , 66.9 ± 5.4 vs 40.7 ± 4.2 , all $P < 0.05$), but all lower than the healthy controls. Differences among the three groups were statistically significant ($P < 0.05$).

CONCLUSION: ADV enhances the immune ability of DCs from peripheral blood of HBV-infected patients, suggesting that ADV possibly participates in the immune response through modulation of function of DCs and plays an indirect antiviral role.

Key Words: Chronic hepatitis B; Dendritic cell; Adefovir dipivoxil; Cell phenotype; Antigen presentation

Chen Y, Chen HT, Wu SP, Yue HK, Ma Y, Fang AP. Effects of adefovir dipivoxil on the function of dendritic cells from chronic HBV-infected patients *in vitro*. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(33): 3759-3764

摘要

目的: 探讨体外阿德福韦酯(adeфовir dipivoxil, ADV)对慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者外周血树突状细胞(dendritic cell, DC)功能的影响。

方法: 分离CHB患者及健康自愿者外周血单

■背景资料

CHB治疗的主要困难是患者存在不同程度的免疫耐受, 很难彻底清除HBV。如何调动机体免疫应答并配合抗病毒药物, 彻底清除或持续抑制HBV复制, 是亟待解决的问题。已证实, DC是唯一能活化初始型T细胞的专职APC, 在抗病毒的细胞免疫中举足轻重。ADV是新一代核苷类抗病毒药物, 通过抑制HBV DNA复制而发挥抗病毒作用, 具有广泛的临床应用前景。国外研究发现ADV在抗病毒同时对DC也有一定作用。国内尚未见相关报道。

■同行评议者

杨林, 副研究员, 中山大学附属第三医院感染病科; 唐晓鹏, 教授, 中南大学肝病研究所/中南大学湘雅二医院感染科

■ 研究前沿

CHB可发展成肝硬化和肝细胞癌,迄今尚无切实有效的治疗方法。HBV的彻底清除,依赖于有效的抗病毒治疗和充分调动机体的细胞免疫应答。对CHB的治疗,抗病毒是关键,免疫调节是重点。CHB治疗的主要困难是CHB患者存在不同程度的免疫耐受,很难彻底清除HBV。造成CHB免疫耐受的重要原因之一是患者DC功能低下。DC是目前发现的功能最强的APC,是启动、调控并维持免疫应答的中心环节,具有激发CD4⁺T辅助细胞和CD8⁺CTL的能力,在抗病毒的细胞免疫治疗中起重要的作用。因此,如何加强DC的抗原提呈能力,发挥其免疫功能已成为治疗CHB急需解决的问题之一。

核细胞(Mo),在含rhGM-CSF+rhIL-4及不同浓度ADV(20、100、500 μg/L)培养条件下制备单核细胞源DC(MoDC)。在倒置显微镜下观察DC的形态;FACS分析DC的表型;MTT法测定DC刺激同种异体T细胞增殖的能力;ELISA检测DC培养上清中IL-12 p40+p70的含量。

结果:与CHB未处理组比较,CHB ADV处理组DC形态分化明显,激发初始T细胞增殖的能力加强,上清液中分泌的IL-12 p40+p70增多;在CHB ADV处理组(100 μg/L),CD1a⁺、CD83⁺、CD86⁺和MHC-DR+DC的数量均最多,显著高于CHB未处理组(43.5 ± 5.7 vs 20.6 ± 2.8 , 34.6 ± 1.9 vs 16.7 ± 3.4 , 40.9 ± 2.8 vs 25.8 ± 6.6 , 66.9 ± 5.4 vs 40.7 ± 4.2 , 均 $P < 0.05$),但低于健康对照组,三组间差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

结论:ADV可以增强CHB患者外周血MoDC的免疫功能,提示其可能通过调节DC的功能而参与免疫应答,发挥间接抗病毒作用。

关键词:慢性乙型肝炎;树突状细胞;阿德福韦酯;细胞表型;抗原提呈

陈月, 陈洪涛, 吴诗品, 岳化葵, 马云, 方爱萍. 阿德福韦酯体外对慢性乙型肝炎患者树突状细胞功能的影响. 世界华人消化杂志 2008; 16(33): 3759-3764

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/3759.asp>

0 引言

慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)治疗的主要困难是CHB患者存在不同程度的免疫耐受,很难彻底清除HBV。造成CHB免疫耐受的重要原因之一是患者树突状细胞(dendritic cells, DC)功能低下^[1-3]。已证实,DC是唯一能活化初始型T细胞的专职抗原提呈细胞(antigen-presenting cell, APC),在抗病毒的细胞免疫中起重要作用^[4-5]。阿德福韦酯(adeфовир dipivoxil, ADV)是新一代核苷类抗病毒药物,通过抑制HBV DNA复制而发挥抗病毒作用,对野生HBV及拉米夫定、泛昔洛韦等耐药HBV变异株均有显著抑制作用,有望成为解决核苷类似物耐药问题的有效药物,具有广泛的临床应用前景^[6-9]。国外研究发现ADV在抗病毒同时对DC也有一定作用^[10]。国内尚未见相关报道,因此,本研究通过检测体外ADV对CHB患者外周血单核细胞(monocyte, Mo)源DC的作用,进一步探讨ADV治疗CHB的机制。

1 材料和方法

1.1 材料 选择我院门诊及住院的CHB患者15例为实验组,临床诊断标准均符合2000-09西安中华医学会传染病与寄生虫学分会、肝病学会联合修订的《病毒性肝炎防治方案》慢性乙型肝炎诊断标准,并符合以下条件:(1)年龄18-55岁;(2)HBsAg(+), HBeAg(+), HBeAb(+)及HBV-DNA(+);(3)ALT升高达正常值上限2-10倍;(4)全部研究对象均排除HAV、HCV、HEV、HIV感染,均无心脑肾及其他器官合并症。另以健康自愿者10例为对照组。FITC标记的鼠抗人CD1a、抗MHC-DR mAb, PE标记的鼠抗人CD83、抗CD86 mAb, 同型FITC-IgG1、PE-IgG1阴性参照抗体均为eBioscience公司产品。rhGM-CSF和rhIL-4, Pepro-Tech公司。RPMI 1640, Gibco公司。丝裂霉素C和MTT(四氮唑盐)分别为Sigma和MDBio, Inc.产品。阿德福韦酯, 天津葛兰素史克公司。IL-12 p40+p70 ELISA试剂盒为U-CyTch biosciences产品。淋巴细胞分离液(Ficoll, 密度1.077), 上海恒信化学试剂有限公司。新生牛血清(newborn calf serum, NCS), 杭州四季青生物工程材料研究所。美国BD公司FACSCalibur流式细胞仪。

1.2 方法

1.2.1 DC的分离与纯化:取研究对象(CHB患者或健康自愿者)的外周血,肝素抗凝后,与等量的RPMI 1640液混匀, Ficoll密度梯度离心法分离单个核细胞(PBMC);用含100 mL/L小牛血清(NCS)的RPMI 1640液悬浮PBMC,置于玻璃平皿内,在37℃、50 mL/L CO₂孵箱内静置3 h,单核细胞(Mo)即黏附于平皿表面;吸取悬浮的非黏附细胞,并以RPMI 1640液轻轻吹打,再次吸取悬浮细胞,然后用细胞刮轻轻刮离黏附的Mo,收集Mo。

1.2.2 DC的扩增:用含100 mL/L NCS的RPMI 1640调整Mo密度为 1×10^9 个/L,加入12孔板,0.002 L/孔,加入rhGM-CSF(100 μg/L)和rhIL-4(100 μg/L),于37℃、50 mL/L CO₂条件下培养,共培养9 d。在诱导DC的过程中,每3 d半量换液并同时补充相应的细胞因子,于培养第6 d进行分组培养。CHB未处理组;CHB ADV处理组:CHB患者DC+ADV(20、100、500 μg/L);健康对照组。倒置相差显微镜下动态观察DC形态变化,培养9 d后收集悬浮细胞和轻微贴壁细胞检测,并收集培养上清,于-70℃冻存待测细胞因子。

1.2.3 DC的表型分析:用预冷PBS洗涤细胞并调

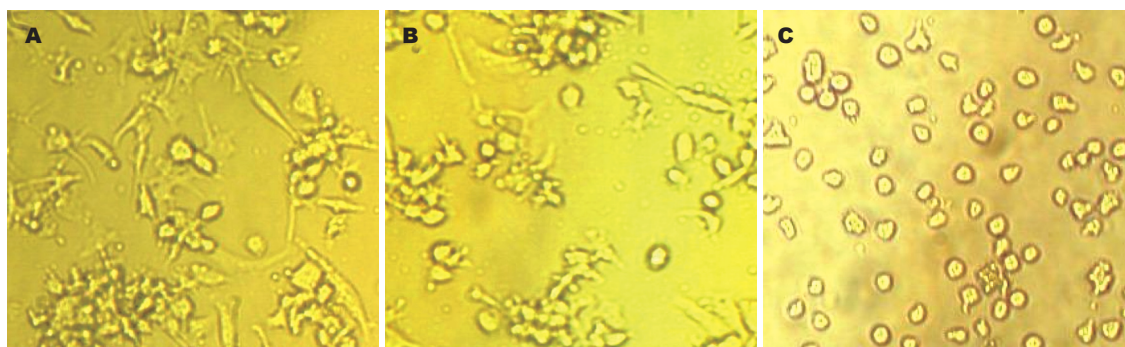


图1 倒置显微镜下培养9 d的DC形态($\times 400$). A: 健康对照组; B: CHB ADV处理组($100\ \mu\text{g/L}$); C: CHB未处理组.

整浓度为 1×10^9 个/L. 于 $100\ \mu\text{L}$ 细胞悬液中, 分别加入两两组合的标记抗体, 即FITC-抗CD1a和PE-抗CD83、FITC-抗MHC-DR mAb和PE-抗CD86 mAb, 同时设PE和FITC标记的小鼠IgG1抗体作为对照, 于 4°C 避光标记30 min后, 用预冷的PBS洗涤2次. 最后用 $400\ \mu\text{L}$ 的PBS悬浮细胞, 流式细胞仪分析DC的表型.

1.2.4 同种异体混合淋巴细胞反应: 取健康人外周血, 用Ficoll密度梯度离心法分离PBMC, PBS洗去血小板, 于 37°C 贴壁3 h. 收集非贴壁的细胞, 以含 $100\ \text{mL/L}$ NCS的RPMI 1640悬浮, 注入尼龙毛柱中, 于 37°C 反应1 h后, 洗出非黏附的细胞即为T细胞. 用含 $100\ \text{mL/L}$ NCS的RPMI 1640悬浮培养9 d的DC并调整其密度为 1×10^9 个/L, 加入丝裂霉素C $25\ \text{mg/L}$, 于 37°C 反应30 min, 以RPMI 1640洗3次, 再用完全培养液悬浮. 按1:10、1:20、1:50及1:100的DC与T细胞比例加入96孔圆底培养板中, 终体积 $200\ \mu\text{L}$, 每组3复孔. 于 37°C 、 $50\ \text{mL/L}$ CO_2 条件下培养4 d, $1000\ \text{r/min}$ 离心5 min, 弃去 $100\ \mu\text{L}$ 上清, 每孔加入MTT $10\ \mu\text{L}$ ($5\ \text{g/L}$), 继续培养4 h后, $1000\ \text{r/min}$ 离心5 min, 弃上清, 每孔加入DMSO $100\ \mu\text{L}$, 测 $A_{570\text{nm}}$ 值, 结果以3孔均值表示.

1.2.5 DC培养上清中细胞因子的检测: 按检测试剂盒中的说明书, 用ELISA法测定各实验组DC培养上清中IL-12 p40+p70的含量, 每组设3个复孔.

统计学处理 应用SPSS11.0软件包进行统计处理, 结果以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 采用单因素方差分析方法, 组间进行 q 检验比较, $P < 0.05$ 时具有显著性差异.

2 结果

2.1 DC的诱导 倒置显微镜下观察, 培养3 d后, 细胞的形态出现不规则, 随着时间的延长, 悬浮细

胞逐渐增多, 异形突起明显. 培养诱导9 d, 健康对照组和CHB ADV处理组($100\ \mu\text{g/L}$)中绝大部分细胞呈半悬浮生长, 胞体较大, 可见胞膜向外延伸出异样突起. CHB ADV处理组($20\ \mu\text{g/L}$ 和 $500\ \mu\text{g/L}$)和CHB未处理组变形细胞较少(图1). 在DC诱导过程中, ADV $100\ \mu\text{g/L}$ 的效果优于 $500\ \mu\text{g/L}$, 可能是药物毒性作用所致, 镜下观察CHB ADV处理组($500\ \mu\text{g/L}$)可发现培养液中细胞数量减少, 有细胞碎片样物质.

2.2 ADV对DC表型的影响 流式细胞仪分析发现, 在CHB ADV处理组($100\ \mu\text{g/L}$), CD1a^+ 、 CD83^+ 、 CD86^+ 和 MHC-DR^+ DC的数量均最多, 显著高于CHB未处理组, 但低于健康对照组, 三组间差异具有统计学意义($P < 0.05$); 而CHB ADV处理组($20\ \mu\text{g/L}$ 和 $500\ \mu\text{g/L}$)与CHB未处理组相比, 虽有差异但无统计学意义($P > 0.05$). 说明CHB的DC体外与适宜浓度ADV($100\ \mu\text{g/L}$)共孵育后, 其提呈抗原及刺激T细胞增殖能力相对增强(表1).

2.3 培养细胞同种异体混合淋巴细胞反应 以培养9 d的DC为刺激细胞, 按不同比例与同种异体淋巴细胞混合, CHB ADV处理组($100\ \mu\text{g/L}$)DC刺激同种异体淋巴细胞增殖的能力较高, 且随效靶细胞比例的增加而增强, 优于CHB未处理组, 低于健康对照组($P < 0.05$), 而CHB ADV处理组(20 、 $500\ \mu\text{g/L}$)与CHB未处理组相比较无显著性差异($P > 0.05$, 图2).

2.4 DC培养上清中IL-12 p40+p70的表达水平 ELISA分析结果表明, DC培养上清液IL-12 p40+p70水平在CHB ADV处理组($100\ \mu\text{g/L}$)较高, 与CHB未处理组和健康对照组相比均有差异($P < 0.05$), 明显高于CHB未处理组; 而CHB ADV处理组($20\ \mu\text{g/L}$ 、 $500\ \mu\text{g/L}$) IL-12 p40+p70含量较低, 与CHB未处理组相比较无显著性差异($P > 0.05$, 图3).

■ 相关报道

张冬云 *et al* 通过实验发现LAM具有促进CHB患者外周血DC分化成熟的功能; 卢高峰 *et al* 研究表明ETV亦能够增强CHB患者外周血DC的功能. 近年来国外有研究发现, ADV治疗后, CHB患者循环调节性T细胞减少, 病毒特异性 CD4^+ T细胞活性提高, 髓样DC的数量增多且功能增强. 这提示, ADV可能在对HBV免疫应答和免疫耐受的调节中起重要作用.

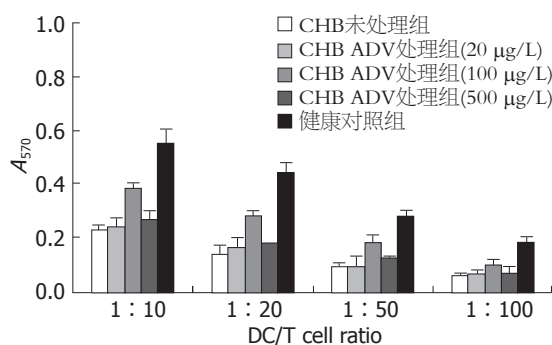
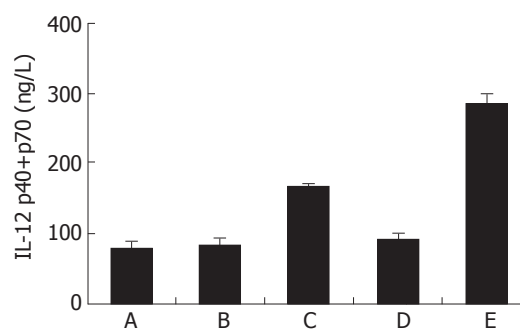
■ 创新盘点

本实验首次以不同浓度ADV与CHB的DC共同培养,通过一系列指标检测来观察ADV对CHB的DC功能的影响,为从免疫调节的角度合理应用ADV和提出新的免疫治疗策略提供科学依据。

表 1 培养9 d的DC表面标志表达水平 (mean \pm SD, %)

分组	CD1a	CD83	CD86	MHC-DR
CHB未处理组	20.6 \pm 2.8	16.7 \pm 3.4	25.8 \pm 6.6	40.7 \pm 4.2
CHB ADV处理组				
20 μ g/L	23.5 \pm 3.1	19.9 \pm 2.5	28.2 \pm 5.1	45.4 \pm 6.0
100 μ g/L	43.5 \pm 5.7 ^{ae}	34.6 \pm 1.9 ^{ae}	40.9 \pm 2.8 ^{ae}	66.9 \pm 5.4 ^{ae}
500 μ g/L	25.8 \pm 1.2	22.1 \pm 0.7	29.3 \pm 4.4	50.1 \pm 2.6
健康对照组	61.3 \pm 5.1 ^c	48.2 \pm 3.3 ^c	57.5 \pm 7.2 ^c	85.2 \pm 1.5 ^c

^a $P < 0.05$, ^e $P < 0.05$ vs CHB未处理组; ^c $P < 0.05$ vs 健康对照组。

图 2 DC刺激同种异体T细胞增殖能力 ($n = 3$).图 3 DC培养上清中IL-12 p40+p70的表达水平 ($n = 3$). A: CHB未处理组; B: CHB ADV处理组(20 μ g/L); C: CHB ADV处理组(100 μ g/L); D: CHB ADV处理组(500 μ g/L); E: 健康对照组。

3 讨论

乙型肝炎是一种世界范围的传染病,我国的流行情况尤甚,而CHB可发展成肝硬化和肝细胞癌,其后果特别严重^[11],但迄今尚无切实有效的治疗方法。HBV的彻底清除,依赖于有效的抗病毒治疗和充分调动机体的细胞免疫应答。对CHB的治疗,抗病毒治疗是关键,免疫调节是重点。因此,如何调动机体免疫应答并配合抗病毒药物,彻底清除或持续抑制HBV复制,是亟待解决的问题^[12]。

DC是目前发现的功能最强的APC,是启动、调控并维持免疫应答的中心环节,具有激发CD4⁺T辅助细胞和CD8⁺CTL的能力,在抗病毒的细胞免疫治疗中起重要的作用^[13-14]。因此,如何加强DC的抗原提呈能力,发挥其免疫功能已成为治疗CHB急需解决的问题之一。CHB的发病机制十分复杂,其发展和后果主要取决于宿主的免疫应答。ADV、拉米夫定(LAM)和恩替卡韦(ETV)都是核苷类药物,均可明显抑制HBV DNA的复制,降低血清中HBV DNA水平,增加HBeAg血清转换率和HBeAg清除率。张冬云 *et al*^[15]通过实验发现LAM具有促进CHB患者外周血DC分化成熟的功能;卢高峰 *et al*^[16]研究表明ETV亦能够增强CHB患者外周血DC的

功能。ADV是新一代核苷类抗病毒药物,对其耐药的患者少见,目前他对CHB患者机体免疫功能的影响尚不太清楚。近年来国外有研究发现,ADV治疗后,CHB患者循环调节性T细胞减少,病毒特异性CD4⁺T细胞活性提高,髓样DC的数量增多且功能增强^[10,17-18]。这提示,ADV可能在HBV免疫应答和免疫耐受的调节中起重要作用。我们依据ADV的临床用量,以不同浓度的ADV与培养第6天的外周血MoDC共孵育,第9天收获各组细胞进行检测,观察ADV对CHB患者DC功能的影响。

DC独特的免疫学功能取决于其免疫状态,尤其是表面CD1a、CD83、CD86、MHC-DR等免疫分子的表达水平,这些免疫分子表达低下或缺失将导致DC免疫功能低下或无免疫作用,因此是体外检测DC的重要标准^[19]。其中CD1a反映DC的数量,CD83为DC的成熟标志,CD86是DC表面重要的共刺激分子,MHC-DR主要参与抗原提呈,DC通过MHC-II类分子与抗原肽片段结合后必须在共刺激分子的协同作用下才能将抗原递呈给淋巴细胞,启动免疫应答^[20]。本研究表明,经ADV(100 μ g/L)孵育的CHB患者DC表面CD1a、CD83、CD86、HLA-DR表达

水平提高, 虽低于健康对照组, 但明显优于CHB患者未处理组($P<0.05$)。T细胞在机体免疫系统中占有极其重要的地位, 不仅有效应功能, 而且是免疫调节的主要介导者。在清除HBV中, Th和CTL都起着至关重要的作用。T细胞的活化需要两个信号: 第一信号来自T细胞受体(TCR)识别APC表面的MHC-肽复合物; 第二信号是由协同刺激分子相互作用提供的, 包括CD28/B7等, 这两组信号均需DC参与作用^[21-22]。本实验表明ADV(100 $\mu\text{g/L}$)孵育的DC淋巴细胞增殖能力增强。IL-12为成熟DC所分泌, 活化NK细胞, 促进Th1型细胞因子IL-2、IFN- γ 的分泌, 刺激T细胞活化增殖, 介导细胞免疫应答^[23-24]。本研究发现ADV可影响DC分泌IL-12水平, 在CHB ADV处理组(100 $\mu\text{g/L}$)细胞培养上清液中IL-12分泌水平较高。因此, 选择合适浓度ADV处理DC可促使T淋巴细胞增殖能力增强并向Th1分化, 增强其细胞免疫活性。表明ADV除了直接抑制HBV DNA合成外, 还可作为免疫调节剂, 一定程度上改善CHB的DC功能活性, 诱导DC分化成熟, 可能通过调节DC的功能而参与获得性免疫应答。这为从免疫调节的角度合理应用ADV和提出新的免疫治疗策略提供科学依据。

4 参考文献

- 1 Beckebaum S, Cicinnati VR, Zhang X, Ferencik S, Frilling A, Grosse-Wilde H, Broelsch CE, Gerken G. Hepatitis B virus-induced defect of monocyte-derived dendritic cells leads to impaired T helper type 1 response in vitro: mechanisms for viral immune escape. *Immunology* 2003; 109: 487-495
- 2 Hilleman MR. Critical overview and outlook: pathogenesis, prevention, and treatment of hepatitis and hepatocarcinoma caused by hepatitis B virus. *Vaccine* 2003; 21: 4626-4649
- 3 Bertoletti A, Gehring AJ. The immune response during hepatitis B virus infection. *J Gen Virol* 2006; 87: 1439-1449
- 4 Liu SR, Zhang Y, Xie Q, Li ZL, Yu ZY, Kong XP. [Effect of HBsAg pulsed dendritic cells on the functions of cytokine-induced killer cells] *Xibao Yu Fenzi Mianyixue Zazhi* 2005; 21: 634-636
- 5 Huang Y, Chen Z, Jia H, Wu W, Zhong S, Zhou C. Induction of Tc1 response and enhanced cytotoxic T lymphocyte activity in mice by dendritic cells transduced with adenovirus expressing HBsAg. *Clin Immunol* 2006; 119: 280-290
- 6 Peters MG, Hann HW, Martin P, Heathcote EJ, Buggisch P, Rubin R, Bourliere M, Kowdley K, Trepo C, Gray DF, Sullivan M, Kleber K, Ebrahimi R, Xiong S, Brosgart CL. Adefovir dipivoxil alone or in combination with lamivudine in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2004; 126: 91-101
- 7 van der Poorten D, Prakoso E, Khoo TL, Ngu MC, McCaughan GW, Strasser SI, Lee AU. Combination adefovir-lamivudine prevents emergence of adefovir resistance in lamivudine-resistant hepatitis B. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1500-1505
- 8 Akyildiz M, Gunsar F, Ersoz G, Karasu S, Ilter T, Batur Y, Akarca U. Adefovir dipivoxil alone or in combination with lamivudine for three months in patients with lamivudine resistant compensated chronic hepatitis B. *Dig Dis Sci* 2007; 52: 3444-3447
- 9 Yatsuji H, Suzuki F, Sezaki H, Akuta N, Suzuki Y, Kawamura Y, Hosaka T, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Watahiki S, Iwasaki S, Kobayashi M, Kumada H. Low risk of adefovir resistance in lamivudine-resistant chronic hepatitis B patients treated with adefovir plus lamivudine combination therapy: two-year follow-up. *J Hepatol* 2008; 48: 923-931
- 10 van der Molen RG, Sprengers D, Biesta PJ, Kusters JG, Janssen HL. Favorable effect of adefovir on the number and functionality of myeloid dendritic cells of patients with chronic HBV. *Hepatology* 2006; 44: 907-914
- 11 Lok AS. Chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2002; 346: 1682-1683
- 12 Long EO. Ready for prime time: NK cell priming by dendritic cells. *Immunity* 2007; 26: 385-387
- 13 Untergasser A, Zedler U, Langenkamp A, Hösel M, Quasdorff M, Esser K, Dienes HP, Tappertzhofen B, Kolanus W, Protzer U. Dendritic cells take up viral antigens but do not support the early steps of hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2006; 43: 539-547
- 14 Akbar SM, Horiike N, Onji M. Immune therapy including dendritic cell based therapy in chronic hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2876-2883
- 15 张冬云, 郑鹏远, 张晓琴, 刘光辉, 姜惠萍, 唐芙爱, 白经修, 祁元明. 拉米夫定体外对慢性乙型肝炎患者树突状细胞功能的影响. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 1693-1698
- 16 卢高峰, 唐芙爱, 郑鹏远, 马军, 白经修. 恩替卡韦对慢性乙型肝炎患者树突状细胞功能的体外影响. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 1292-1296
- 17 Stoop JN, van der Molen RG, Kuipers EJ, Kusters JG, Janssen HL. Inhibition of viral replication reduces regulatory T cells and enhances the antiviral immune response in chronic hepatitis B. *Virology* 2007; 361: 141-148
- 18 Cooksley H, Chokshi S, Maayan Y, Wedemeyer H, Andreone P, Gilson R, Warnes T, Paganin S, Zoulum F, Frederick D, Neumann AU, Brosgart CL, Naoumov NV. Hepatitis B virus e antigen loss during adefovir dipivoxil therapy is associated with enhanced virus-specific CD4+ T-cell reactivity. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 312-320
- 19 Peters JH, Gieseler R, Thiele B, Steinbach F. Dendritic cells: from ontogenetic orphans to myelomonocytic descendants. *Immunol Today* 1996; 17: 273-278
- 20 Rouard H, Léon A, Klonjowski B, Marquet J, Tennezé L, Plonquet A, Agrawal SG, Abastado JP, Eloit M, Farcet JP, Delfau-Larue MH. Adenoviral transduction of human 'clinical grade' immature dendritic cells enhances costimulatory molecule expression and T-cell stimulatory capacity. *J Immunol Methods* 2000; 241: 69-81
- 21 Seager Danciger J, Lutz M, Hama S, Cruz D, Castrillo A, Lazaro J, Phillips R, Premack B, Berliner J. Method for large scale isolation, culture and

■应用要点

本实验表明ADV除了直接抑制HBV DNA合成外, 还可作为免疫调节剂, 一定程度上改善CHB的DC功能活性, 诱导DC分化成熟, 可能通过调节DC的功能而参与获得性免疫应答。这为从免疫调节的角度合理应用ADV提供依据, 并可据之提出新的CHB免疫治疗策略, 如DC疫苗治疗或ADV与DC疫苗联合治疗。

■同行评价

本研究设计基本合理,选题有一定新颖性,符合医学伦理学要求,表述正确、文笔尚流畅,具有较好的学术价值。

- cryopreservation of human monocytes suitable for chemotaxis, cellular adhesion assays, macrophage and dendritic cell differentiation. *J Immunol Methods* 2004; 288: 123-134
- 22 Neijssen J, Herberts C, Drijfhout JW, Reits E, Janssen L, Neefjes J. Cross-presentation by intercellular peptide transfer through gap junctions. *Nature* 2005; 434: 83-88
- 23 Miro F, Nobile C, Blanchard N, Lind M, Filipe-Santos O, Fieschi C, Chapgier A, Vogt G, de Beaucoudrey L, Kumararatne DS, Le Deist F, Casanova JL, Amigorena S, Hivroz C. T cell-dependent activation of dendritic cells requires IL-12 and IFN-gamma signaling in T cells. *J Immunol* 2006; 177: 3625-3634
- 24 Zobywalski A, Javorovic M, Frankenberger B, Pohla H, Kremmer E, Bigalke I, Schendel DJ. Generation of clinical grade dendritic cells with capacity to produce biologically active IL-12p70. *J Transl Med* 2007; 5: 18

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志计量单位标准

本刊讯 本刊计量单位采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为 M_r 30 000或30 kDa(M 大写斜体, r 小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 A_r (A 大写斜体, r 小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是 u (小写正体)。计量单位在+、-、 \pm 及-后列出。如 $37.6 \pm 1.2^\circ\text{C}$, 45.6 ± 24 岁, 56.4 ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/ml应为 3.56 ± 0.27 ng/L, 131.6 ± 0.4 mmol/L, $t = 28.4 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 。BP用kPa(mmHg), RBC数用 $\times 10^{12}/\text{L}$, WBC数用 $\times 10^9/\text{L}$, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。 M_r 明确的体内物质以mmol/L, nmol/L或 $\mu\text{mol/L}$ 表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm \times 6 cm \times 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、 CO_2 结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B₁、维生素B₂、维生素B₆、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B₁₂用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 1×10^{-3} g与 5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 μg , hr改成h, 重量 γ 改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg \cdot d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L酒精; 5% CO_2 , 50 mL/L CO_2 ; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6} ; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。(常务副总编辑: 张海宁 2008-11-28)