

·临床研究 Clinical research·

部分脾动脉栓塞联合胸腺五肽对乙型肝炎肝硬化脾功能亢进患者细胞免疫和肝纤维化的作用

范 辉, 王富兵, 丁江涛, 王小乐, 石红建, 魏怡然

【摘要】 目的 探讨部分脾动脉栓塞术(PSE)联合胸腺五肽对乙型肝炎(乙肝)肝硬化脾功能亢进患者细胞免疫、肝纤维化标记物和肝脏硬度值(LSM)的改善作用。**方法** 选取 84 例乙型肝炎肝硬化脾功能亢进患者,采用随机数字法分为对照组($n=42$)和观察组($n=42$)。均行 PSE 术,术后对照组予以护肝、抗感染、抗病毒及对症支持治疗,观察组在此基础上另予以胸腺五肽肌肉注射,疗程 24 周。6 个月后比较两组外周血淋巴细胞亚群(CD^{3+} 、 CD^{4+} 、 CD^{8+} 、 CD^{4+}/CD^{8+})、血清肝纤维化标记物[层粘连蛋白(LN)、IV 型胶原(C-IV)、透明质酸(HA)、III 型前胶原(PC III)]水平及 LSM(肝脏超声瞬时弹性成像测定)变化。**结果** 6 个月后,两组 CD^{3+} 、 CD^{4+} 计数百分率和 CD^{4+}/CD^{8+} 比率较治疗前显著升高($P<0.05$), CD^{8+} 计数百分率较治疗前显著降低($P<0.05$),而观察组 CD^{3+} 、 CD^{4+} 计数百分率和 CD^{4+}/CD^{8+} 比率显著高于对照组($P<0.05$), CD^{8+} 计数百分率显著低于对照组($P<0.05$);两组 LN、C-IV、HA、PC III 水平均较治疗前显著降低($P<0.05$),而观察组均显著低于对照组($P<0.05$);对照组 LSM 较治疗前无显著降低($P>0.05$),观察组 LSM 显著低于治疗前($P<0.05$),且低于对照组($P<0.05$)。**结论** 乙型肝炎肝硬化脾功能亢进患者 PSE 术后使用胸腺五肽可改善细胞免疫功能,降低肝纤维化标记物水平,降低肝脏硬度,综合疗效优于单独 PSE,具有较好的临床推广价值。

【关键词】 肝硬化; 胸腺五肽; 部分脾动脉栓塞; 细胞免疫

中图分类号:R575.2 文献标志码:B 文章编号:1008-794X(2023)-09-0905-04

The effect of partial splenic artery embolization combined with thymopentin on the cellular immunity and liver fibrosis in patients with post-hepatitis B cirrhotic hypersplenism FAN Hui, WANG Fubing, DING Jiangtao, WANG Xiaole, SHI Hongjian, WEI Yiran. Department of Gastroenterology, Affiliated Rehabilitation Hospital of Nantong University, Nantong, Jiangsu Province 226002, China

Corresponding author: WANG Xiaole, E-mail: lwzy90@139.com

【Abstract】 Objective To explore the efficacy of partial splenic artery embolization(PSE) combined with thymopentin in improving cellular immunity, liver fibrosis markers and liver stiffness measurement (LSM) in patients with post-hepatitis B cirrhotic hypersplenism. **Methods** A total of 84 patients with post-hepatitis B cirrhotic hypersplenism were enrolled in this study. By using random digital method, the patients were divided into control group($n=42$) and observation group($n=42$). PSE was performed in all patients of both groups. After PSE, the therapies, including liver protection, anti-infection, anti-virus and symptomatic and supportive treatment, were employed for the patients of the control group, and on the basis of which the patients of the observation group received additional intramuscular injection of thymopentin with a treatment course of 24 weeks. The postoperative 6-month levels of the peripheral blood lymphocyte subsets (CD^{3+} , CD^{4+} , CD^{8+} , CD^{4+}/CD^{8+}), serum liver fibrosis markers including laminin(LN), type IV collagen(C-IV), hyaluronic acid(HA) and type III pre-collagen(PC III), and LSM(determined by liver ultrasound transient elastography) were compared between the two groups. **Results** Six months after treatment, in both groups the percentages of CD^{3+} , CD^{4+} lymphocytes

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2023.09.014

基金项目: 国家自然科学基金青年基金(82000532)

作者单位: 226002 江苏南通 南通大学附属康复医院消化内科(范 辉、王富兵、丁江涛、王小乐);南京医科大学第二附属医院介入血管外科(石红建);上海交通大学(魏怡然)

通信作者: 王小乐 E-mail: lwzy90@139.com

and the ratio of CD^{4+}/CD^{8+} were significantly higher than their preoperative values ($P < 0.05$), while the percentage of CD^{8+} lymphocytes was remarkably lower than its preoperative value ($P < 0.05$); the percentages of CD^{3+} , CD^{4+} lymphocytes and the ratio of CD^{4+}/CD^{8+} in the observation group were obviously higher than those in the control group ($P < 0.05$), while the percentage of CD^{8+} lymphocytes was prominently lower than that in the control group ($P < 0.05$). The postoperative levels of LN, C-IV and PC III in both groups were strikingly lower than their preoperative values ($P < 0.05$), and the postoperative levels of LN, C-IV and PC III in the observation group were notably lower than those in the control group ($P < 0.05$). The postoperative LSM in the control group was not significantly decreased when compared with the preoperative one ($P > 0.05$), while the postoperative LSM in the observation group became significantly lower than preoperative one ($P < 0.05$) and also significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$). **Conclusion** The use of thymopentin in patients with post-hepatitis B cirrhotic hypersplenism after PSE can improve the cellular immune function, decrease the levels of liver fibrosis markers, and reduce LSM. Its comprehensive efficacy is better than that of PSE alone, therefore, it has a good clinical promotion value. (J Intervent Radiol, 2023, 32: 905-908)

【Key words】 cirrhosis; thymopentin; partial splenic artery embolization; cellular immunity

乙型肝炎(乙肝)肝硬化患者中后期出现不同程度的脾脏功能亢进,传统治疗对于中重度脾功能亢进的肝硬化患者以脾切除为主,药物治疗效果很有限。随着介入技术发展,部分脾动脉栓塞术(partial splenic embolization, PSE)治疗肝硬化脾功能亢进越来越广泛。多项研究发现,PSE治疗肝硬化脾功能亢进效果显著,术后恢复时间短。目前的研究对于PSE术后肝硬化患者细胞免疫功能变化看法不尽一致,结果有较大出入^[1-4]。本研究采用前瞻性随机对照研究,分析PSE联合免疫调节剂胸腺五肽对乙肝肝硬化脾功能亢进患者细胞免疫、肝纤维化标记物和肝脏硬度值(liver stiffness measurement, LSM)的疗效。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选取2016年1月至2020年12月84例乙肝肝硬化脾功能亢进患者,入选标准:①符合2015年Baveno VI共识关于肝硬化门静脉高压诊断标准与脾功能亢进分级标准对脾功能亢进的诊断^[5-6];②Child-Pugh评分在B级以上;③中重度脾功能亢进。排除标准:伴有心、肾及肺部功能衰竭、恶性肿瘤及自身免疫性疾病。按照随机数字法,将入选患者分为观察组42例,其中男性25例,女性17例,年龄(46.5 ± 12.5)岁(35~72岁),Child-Pugh A级、B级分别为13例、29例;对照组42例,其中男性24例,女性18例,年龄(47.2 ± 11.8)岁(34~75岁),Child-Pugh A级、B级分别为14例、28例。两组均行PSE治疗,术后对照组予以护肝、抗感染、抗病毒及对症支持治疗,观察组在此基础上另予以肌肉注

射胸腺五肽,治疗周期为24周。入组患者经实验室检查及彩色超声、CT、MRI等影像学检查诊断明确,符合PSE指征。两组患者性别、年龄、Child-Pugh分级比较差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

1.2 治疗方法

PSE术前患者禁食8 h,术前30 min静脉滴注抗生素预防感染。患者仰卧于DSA手术台,备皮后消毒并铺巾,采用Seldinger法穿刺右股动脉,置入导管鞘,导丝引导RH导管进入脾动脉行DSA造影,根据脾动脉分支显影情况确定栓塞分支血管,绝大多数情况选择脾脏中下极动脉;使用粒径150~350 μm 聚乙烯醇(polyvinyl alcohol, PVA)DSA引导下注入阻断靶血管,脾脏栓塞面积为60%~70%,术中由手术医师目测估计栓塞体积,术后使用锥形束CT(CBCT)系统评估软件评估脾脏栓塞体积比例。术后穿刺处压迫止血30 min,右下肢制动24 h。术后给予抗生素预防感染、补液及止痛等治疗,同时抗病毒治疗。观察组皮下注射胸腺五肽(国药准字:H20058462,北京双鹭药业公司)10 mg,隔日1次,共24周;若出现头晕、胸闷、无力、嗜睡等症状,予以对症处理。

1.3 观察指标

患者入院后于PSE术前、术后6个月复查血常规、血生化及肝纤维化标记物:层粘连蛋白(LN)、IV型胶原(C-IV)、透明质酸(HA)、III型前胶原(PC III)。采用流式细胞术检测外周血淋巴细胞亚群 CD^{3+} 、 CD^{4+} 、 CD^{8+} 计数百分率,并计算 CD^{4+}/CD^{8+} 比率。采用日立HI-VISION Preirus彩色多普勒超声仪(EUP-I52线阵瞬时弹性探头,频率3~7 MHz,重点区域ROI取位肝包膜下1.0~2.0 cm,取样框2.5 cm \times

2.5 cm),于患者呼气末压迫探头检测肝组织 LSM,重复操作 5 次取平均值。治疗 6 个月后比较患者 LSM。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件包对数据进行统计学处理。正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组内治疗前后比较用配对 t 检验,两组间比较用成组 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

PSE 术后 CBCT 系统软件评估显示,两组患者栓塞体积比例差异无统计学意义($P > 0.05$)。

观察组与对照组治疗前 CD^{3+} 、 CD^{4+} 、 CD^{8+} 计数百分率和 CD^{4+}/CD^{8+} 比率差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗 6 个月后 CD^{3+} 、 CD^{4+} 计数百分率和 CD^{4+}/CD^{8+} 比率较治疗前显著升高($P < 0.05$), CD^{8+} 计数百分率较治疗前显著降低($P < 0.05$);观察组 CD^{3+} 、 CD^{4+} 计数百分率和 CD^{4+}/CD^{8+} 比率显著高于对照组($P < 0.05$), CD^{8+} 计数百分率显著低于对照组($P < 0.05$),见表 1。治疗 6 个月后对照组 LN、C-IV、HA、PCⅢ较治疗前显著降低($P < 0.05$),LSM 较治疗前差异无统计学意义($P > 0.05$);观察组 LN、C-IV、HA、PCⅢ较治疗前显著降低($P < 0.05$),且低于对照组($P < 0.05$),LSM 显著低于治疗前($P < 0.05$),且低于对照组($P < 0.05$),见表 2。

3 讨论

脾脏是人体淋巴组织的重要组成部分,其产生的淋巴细胞和单核细胞在人体免疫系统中起重要作用。乙肝肝硬化脾功能亢进引起外周血三系细胞破坏严重,人体细胞免疫功能减退,表现为外周血免疫细胞如 CD^{4+} T 淋巴细胞、 CD^{8+} 淋巴细胞,NK 细胞绝对数值减少, CD^{4+}/CD^{8+} 比率下降。细胞免疫功能

减退不利于人体清除细菌、病毒等致病微生物。脾功能亢进产生多种促纤维化细胞及细胞因子,对肝纤维化、肝硬化发生与进展起着重要的推动作用。改善和维持肝硬化患者免疫功能是延缓肝硬化进展的治疗方向。此外,脾脏具有重要的免疫调节功能,人体免疫细胞接触抗原后在脾脏分化、增殖,并产生相应的抗体、细胞因子发挥免疫效应。肝硬化门静脉高压会引起脾静脉回流不畅、脾脏淤血、脾脏结构发生改变,表现为脾炎、脾组织细胞增生及脾脏纤维化。脾脏纤维化进展会引起骨髓组织扩大、边缘区增大、骨髓内淋巴滤泡数量减少,是患者免疫功能紊乱的重要原因^[7]。脾脏纤维化患者脾红髓巨噬细胞产生的促纤维化细胞因子转化生长因子- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)、血小板衍生生长因子(PDGF)由脾静脉-门静脉系统进入肝脏,刺激肝脏星状细胞,进一步加速肝硬化进展、恶化。传统的脾切除并行胃底静脉曲张结扎术是治疗肝硬化患者脾功能亢进的主要方法,然而肝硬化患者脾脏切除后血小板上升过快会形成门静脉血栓,T 淋巴细胞亚群降低,免疫功能降低明显^[8]。多项研究发现,肝硬化脾功能亢进患者外科手术切除脾脏后发生免疫功能紊乱,抗感染能力明显下降^[9-11]。因此,保存部分脾功能对肝硬化患者免疫力具有重要意义。

PSE 治疗肝硬化脾功能亢进可保留脾脏部分免疫功能,显著减少对外周血细胞的破坏。本研究中,乙肝肝硬化脾功能亢进患者 CD^{3+} 、 CD^{4+} 计数百分率与 CD^{4+}/CD^{8+} 比率低于正常值下限, CD^{8+} 计数百分率高于正常范围,PSE 术后 6 个月对照组与观察组 CD^{3+} 、 CD^{4+} 计数百分率与 CD^{4+}/CD^{8+} 比率显著高于治疗前, CD^{8+} 计数百分率在正常范围;表明 PSE 对改善肝硬化脾功能亢进患者 CD^{3+} 、 CD^{4+} 及 CD^{8+} 淋巴细胞计数有较好疗效,可有效地改善患者细胞免疫功

表 1 两组患者治疗前后淋巴细胞亚群变化比较

组别	时间	$CD^{3+}(\%)$	$CD^{4+}(\%)$	$CD^{8+}(\%)$	CD^{4+}/CD^{8+}
观察组	治疗前	56.90±6.23	35.25±3.13	33.53±4.06	1.21±0.15
对照组	治疗前	56.32±6.20	34.37±3.18	34.84±10.19	1.25±0.37
观察组	治疗 6 个月后	66.89±7.32 ^{ab}	43.42±3.87 ^{ab}	27.73±3.36 ^{ab}	1.85±0.22 ^{ab}
对照组	治疗 6 个月后	61.28±6.62 ^a	40.93±3.71 ^a	32.13±9.45 ^a	1.47±0.43 ^a

^a 与同组治疗前比较, $P < 0.05$;^b 与对照组治疗 6 个月后比较, $P < 0.05$

表 2 两组患者治疗前后肝纤维化指标和 LSM 变化比较

组别	时间	HA(ng/L)	PCⅢ(ng/L)	LN(ng/L)	C-IV(ng/L)	LSM(kPa)
观察组	治疗前	284.50±83.07	20.96±6.11	145.07±42.36	124.74±36.42	21.85±2.65
对照组	治疗前	292.09±35.44	21.09±2.56	148.22±17.98	126.89±15.39	22.14±6.48
观察组	治疗 6 个月后	105.20±12.76 ^{ab}	9.08±1.10 ^{ab}	86.30±10.47 ^{ab}	79.27±9.62 ^{ab}	18.57±2.25 ^{ab}
对照组	治疗 6 个月后	155.61±45.44 ^a	11.54±3.37 ^a	117.93±34.43 ^a	87.78±25.63 ^a	21.25±6.22

^a 与同组治疗前比较, $P < 0.05$;^b 与对照组治疗 6 个月后比较, $P < 0.05$

能。多项研究发现,肝硬化脾功能亢进患者行 PSE 后随访 1 年内,CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺、B 淋巴细胞、NK 淋巴细胞均较术前明显增高($P<0.05$),且术后 CD⁴⁺/CD⁸⁺比率均在正常范围^[12-14]。然而,Matsukiyo 等^[15]研究发现,肝硬化脾功能亢进患者 PSE 术后 CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺、B 淋巴细胞数量无明显变化,免疫功能无显著改善。张世杰等^[4]对 43 例肝硬化脾功能亢进患者行 PSE,术后 2 周、1、3、6 个月检测 CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺计数和 CD⁴⁺/CD⁸⁺比率发现,这些指标与术前相比差异无统计学意义($P>0.05$)。目前的研究结果显示,患者 PSE 后细胞免疫功能变化有较大不确定性。为了提高乙肝肝硬化患者 PSE 后细胞免疫功能,应用免疫调节剂增强患者细胞免疫能力是一种很有前景的方法。

胸腺五肽是人工合成的胸腺激素类免疫调节剂,由精氨酸、赖氨酸、天冬氨酸、缬氨酸和酪氨酸等 5 种氨基酸组成。胸腺五肽作用于 T 淋巴细胞,对 Th 淋巴细胞发育、分化和成熟具有重要的刺激作用,对 NK 细胞增殖、分化也产生刺激作用,还具有修复受损 T 淋巴细胞的作用。多项研究发现,乙肝肝硬化患者在肝硬化发展过程中淋巴细胞总数、T 淋巴细胞、CD⁴⁺、CD⁸⁺、B 淋巴细胞及 NK 细胞绝对值均较慢性乙肝患者显著下降,补体和外周血 CD³⁺、CD⁴⁺和 CD⁸⁺淋巴细胞计数降低患者比较容易发生细菌感染^[16-18]。本研究中,PSE 术后予以胸腺五肽治疗 6 个月后观察组 CD³⁺、CD⁴⁺计数百分率和 CD⁴⁺/CD⁸⁺比率明显高于对照组,CD⁸⁺计数百分率比对照组明显降低,表明肝硬化脾功能亢进患者 PSE 术后使用胸腺五肽可显著提高患者 CD³⁺、CD⁴⁺计数百分率,改善 CD⁴⁺/CD⁸⁺比率,对于改善细胞免疫功能和骨髓造血功能具有较好的作用。本研究中,观察组治疗后肝纤维化标记物 LN、C-IV、HA、PCⅢ较治疗前显著降低,且较对照组下降更快;LSM 显著低于治疗前,且低于对照组。内毒素血症、菌血症促成的长期免疫炎症刺激,可引起肝细胞持续损伤、纤维组织增生,肝纤维化持续进展^[19-20]。肝硬化脾功能亢进患者 PSE 术后接受胸腺五肽治疗后细胞免疫功能显著改善,一定程度上可减轻内毒素血症、菌血症引起的肝脏免疫炎症反应。

综上所述,PSE 联合胸腺五肽对改善乙肝肝硬化脾功能亢进患者细胞免疫功能有较好作用,同时可降低血清肝纤维化标记物水平,降低肝脏硬度,具有较好的临床推广价值

[参考文献]

[1] Huang N, Ji FP, Zhang S, et al. Spleen-associated effects on

- immunity in hepatitis B virus - related cirrhosis with portal hypertension [J]. J Interferon Cytokine Res, 2019, 39:95-105.
- [2] 郭婷婷. 肝硬化脾切除患者外周 T 淋巴细胞亚群的变迁及其免疫功能变化[J]. 肝脏, 2016, 21:726-729.
- [3] Jin GY, Lv CZ, Tang D, et al. Effect of partial splenic embolization on the immune function of cirrhosis patients with hypersplenism[J]. Asian Pac J Trop Med, 2016, 9:702-706.
- [4] 张世杰, 方万强, 付春利, 等. 选择性脾动脉栓塞术对肝硬化脾功能亢进患者外周血细胞及免疫功能的影响[J]. 广东医科大学学报, 2019, 37:187-189.
- [5] 彭颖, 祁兴顺, 郭晓钟. 2015 年 Baveno VI 共识:门静脉高压的风险分层及个体化管理[J]. 临床肝胆病杂志, 2015, 31:1202-1207.
- [6] 侯钰, 孙广新. 门脉高压症脾功能亢进的诊断分级标准及临床意义[J]. 现代中西医结合杂志, 2009, 18:3603
- [7] 贾哲, 张珂, 黄容海, 等. 肝癌合并肝硬化脾功能亢进患者在细胞免疫功能研究及临床意义[J]. 肝脏, 2021, 26:623-637.
- [8] 杨宏志, 张涌泉, 许景洪, 等. 脾切除对乙肝肝硬化性门静脉高压合并脾功能亢进患者免疫功能、肝功能及血常规的影响[J]. 广西医学, 2015, 37:1591-1594.
- [9] di Sabatino A, Lenti MV, Tinozzi FP, et al. Vaccination coverage and mortality after splenectomy: results from an Italian single-centre study[J]. Intern Emerg Med, 2017, 12:1139-1147.
- [10] 马立辉, 周健, 史丽民, 等. 脾动脉栓塞术对肝癌伴脾亢患者免疫功能的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2010, 18:669-675.
- [11] Wei Y, Chen X, Shen H, et al. P-selectin level at first and third day after portal hypertensive splenectomy for early prediction of portal vein thrombosis in patients with cirrhosis[J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2018, 24(9_Suppl):76S-83S.
- [12] 陆世锋, 潘孟, 左江伟, 等. 脾功能亢进患者行脾切除术与部分脾动脉栓塞术前后免疫功能的对比研究[J]. 现代生物医学进展, 2017, 17:2681-2684.
- [13] 张雪平, 潘张雪平, 潘文秋, 等. 部分脾动脉栓塞术对肝硬化脾功能亢进患者免疫功能的影响[J]. 介入放射学杂志, 2021, 30:929-931.
- [14] 雷振武, 孙世蒙, 汪浩杰, 等. 部分性脾动脉栓塞术对门静脉高压性脾功能亢进患者免疫功能的影响[J]. 实用放射学杂志, 2020, 36:1999-2001.
- [15] Matsukiyo Y, Nagai H, Matsui T, et al. Host immunological effects of partial splenic embolization in patients with liver cirrhosis[J]. J Immunol Res, 2018, 2018:1746391.
- [16] 熊芳, 马艳品, 鲍旭丽, 等. 慢性乙型肝炎患者抗病毒治疗后 T 淋巴细胞受体重排删除环水平的变化 [J]. 临床肝胆病杂志, 2019, 35:2449-2452.
- [17] 梁志军, 李瑞娟, 王素娜, 等. 乙肝肝硬化对外周血 T 细胞亚群、免疫球蛋白及补体水平的影响[J]. 陕西医学杂志, 2017, 46:1655-1656.
- [18] 王响, 郜茜, 绽永华. 乙肝后肝硬化患者淋巴细胞亚群的变化[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2015, 24:452-454.
- [19] 华静, 邱德凯, 李继强, 等. 内毒素受体在肝星状细胞的表达及其作用[J]. 中华肝胆病杂志, 2006, 14:817-820.
- [20] 晁佩佩, 盛慧萍, 石文波, 等. 慢性乙型肝炎患者外周血 CD4⁺CD25⁺CD127^{low}-调节性 T 细胞表达及其与肝组织病理、HBV-cccDNA 的关系[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2016, 37:87-91.

(收稿日期:2022-07-12)

(本文编辑:边 佑)