

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2026.05.012

✧ 临床医学研究 ✧

重组人干扰素 $\alpha 2b$ 治疗 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎患者外周血 T 细胞亚群变化与 HBsAg 清除相关性

罗静, 王小龙, 刘世军

(内江市第二人民医院检验科, 四川 内江 641110)

【摘要】目的: 探讨重组人干扰素 $\alpha 2b$ 治疗 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎(CHB)患者过程中, 外周血 T 淋巴细胞亚群的动态变化及其与 HBsAg 清除的相关性。**方法:** 采用前瞻性研究, 纳入 146 例 HBeAg 阳性 CHB 患者为研究对象, 分为观察组(重组人干扰素 $\alpha 2b$ 治疗, $n = 73$)和对照组[核苷(酸)类似物治疗, $n = 73$]。在治疗 0、12、24、48 周, 动态监测病毒学指标(HBV DNA、HBsAg、HBeAg)、肝纤维化参数及外周血免疫指标(T 细胞亚群、耗竭/活化分子、细胞因子及干扰素刺激基因)。**结果:** 治疗 48 周, 观察组 HBsAg 清除率及下降幅度均优于对照组($P < 0.05$)。免疫学数据显示, 观察组 $CD4^+ / CD8^+$ 比值与效应记忆 T 细胞比例上调($P < 0.05$)。多因素 Logistic 回归证实, 基线 HBsAg 水平、 $CD8^+ / PD-1^+$ 比例、Treg 及 ISG15 上调倍数是 HBsAg 清除的独立预测因素($OR = 2.11, 95\% CI: 1.26 \sim 3.55$)。**结论:** 重组人干扰素 $\alpha 2b$ 可通过重塑 T 细胞亚群、逆转 T 细胞耗竭及激活固有免疫信号, 协同促进 HBsAg 清除, 其诱导的特定免疫特征可为早期预测功能性治愈提供关键依据。

【关键词】 重组人干扰素 $\alpha 2b$; 慢性乙型肝炎; T 淋巴细胞亚群; HBsAg 清除; 免疫耗竭

【中图分类号】 R512.6+2 **【文献标志码】** A

Correlation between dynamic changes of peripheral blood T lymphocyte subsets and HBsAg clearance in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients treated with recombinant human interferon $\alpha 2b$

LUO Jing, WANG Xiao-long, LIU Shi-jun

(Department of Laboratory Medicine, the Second People's Hospital of Neijiang, Neijiang 641110, Sichuan, China)

【Abstract】Objective: To investigate the dynamic changes of peripheral blood T lymphocyte subsets and their correlation with HBsAg clearance in HBeAg-positive chronic hepatitis B (CHB) patients treated with recombinant human interferon $\alpha 2b$. **Methods:** A prospective study was conducted, enrolling 146 HBeAg-positive CHB patients. They were divided into an observation group (recombinant human interferon $\alpha 2b$ treatment, $n = 73$) and a control group [nucleos(t)ide analogue treatment, $n = 73$]. Virological markers (HBV DNA, HBsAg, HBeAg), liver fibrosis parameters, and peripheral blood immunological indicators (T cell subsets, exhaustion/activation molecules, cytokines, and interferon-stimulated genes) were dynamically monitored at weeks 0, 12, 24, and 48 of treatment. **Results:** At 48 weeks of treatment, both the HBsAg clearance rate and the decline magnitude were greater in the observation group compared to the control group ($P < 0.05$). Immunological data showed that the observation group had increased $CD4^+ / CD8^+$ ratio, proportion of effector memory T cells ($P < 0.05$). Multivariate Logistic regression confirmed that baseline HBsAg level, proportion of $CD8^+ / PD-1^+$ cells, Treg proportion, and ISG15 upregulation fold were independent predictors of HBsAg clearance ($OR = 2.11, 95\% CI: 1.26 \sim 3.55$). **Conclusion:** Recombinant human interferon $\alpha 2b$ can synergistically promote HBsAg clearance by remodeling T cell subsets, reversing T cell exhaustion, and activating innate immune signaling. The specific immune features induced by recombinant human interferon $\alpha 2b$ may provide a key basis for early prediction of functional cure.

【Key words】 Recombinant human interferon $\alpha 2b$; Chronic hepatitis B; T lymphocyte subsets; HBsAg clearance; Immune exhaustion

慢性乙型肝炎(Chronic Hepatitis B, CHB)仍是全球重大公共卫生挑战, 尽管核苷(酸)类似物

(nucleos(t)ide analogues, NAs)可有效抑制 HBV 复制, 但难以诱导 HBsAg 清除, 其“功能性治愈”率

基金项目: 四川省卫健委科技项目(24WSXT052)

作者简介: 罗静(1988—), 女, 主管检验师。E-mail: 812130500@qq.com

长期维持在极低水平^[1-2]。重组人干扰素 $\alpha 2b$ 在 HBeAg 阳性 CHB 患者中显示出较高的 HBsAg 清除潜力,但其疗效差异巨大,响应者与非响应者之间免疫表型的决定因素仍不清晰^[3]。近年来,愈来愈多证据^[4]提示,HBV 感染的自然史及抗病毒反应均高度依赖宿主适应性免疫状态,尤其是外周及肝内 T 淋巴细胞亚群的功能是否被耗竭、抑制或成功重编程。T 细胞功能障碍(T cell exhaustion)、抑制性受体表达升高、效应记忆 T 细胞(Tem)比例下降被认为是导致免疫清除失败的核心因素^[5]。然而,现有研究多停留在横断面观察,缺乏对重组人干扰素 $\alpha 2b$ 治疗过程中 T 细胞亚群动态重塑轨迹的系统评估,尤其缺乏将其与 HBsAg 清除这一关键临床终点直接关联的纵向证据^[6-7]。重组人干扰素 $\alpha 2b$ 诱导的免疫重塑具有高度个体异质性,其是否通过恢复抗病毒 CD8⁺ T 细胞功能、促进 Th1/Th17 反应、或重建调节性 T 细胞(Treg)平衡而驱动 HBsAg 清除,仍未形成统一共识。国内外顶级研究^[8-9]均呼吁建立免疫特征—应答模型,以预测重组人干扰素 $\alpha 2b$ 的获益人群,从而超越传统依赖 HBsAg 定量下降的迟发性判断。本研究通过对 HBeAg 阳性 CHB 患者在重组人干扰素 $\alpha 2b$ 治疗全过程的外周血 T 细胞亚群进行动态监测,旨在阐明其免疫重塑模式与 HBsAg 清除之间的因果相关性,为构建可解释的免疫预测体系提供证据基础,并为实现 CHB 的功能性治愈策略提供关键免疫学支撑。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究为前瞻性研究,选取 2022 年 1 月至 2024 年 6 月在内江市第二人民医院收治的抗病毒治疗的 146 例 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎患者为研究对象。依据患者意愿及临床评估,将患者分为观察组(重组人干扰素 $\alpha 2b$ 治疗)73 例和对照组(常规 NAs 治疗)73 例。样本量估算参考既往类似研究,基于预期 HBsAg 清除率差异(观察组 vs. 对照组: 25% vs. 5%),设定 $\alpha = 0.05, \beta = 0.20$, 计算得出每组至少需纳入 65 例。为应对可能的脱落,最终每组纳入 73 例。纳入标准(需同时满足以下所有条件): (1)符合《慢性乙型肝炎防治指南(2022 版)》中 CHB 的诊断标准;(2)HBeAg 阳性且持续至少 6 个月;(3)HBV DNA $\geq 2 \times 10^4$ IU/mL;(4)ALT 水平为 1~10 倍 ULN;(5)年龄 18~65 岁;(6)治疗前未接受干扰素或免疫调节类药物 ≥ 12 个月;(7)肝脏

超声未提示肝硬化或仅为早期代偿期(Child-Pugh A 级)。排除标准(满足任意一项即排除):(1)合并其他肝炎病毒感染(HAV、HCV、HDV 或 HEV)或 HIV 阳性;(2)合并自身免疫性肝炎、酒精性肝病或药物性肝损伤;(3)基线肝功能明显受损(TBil $> 34 \mu\text{mol/L}$ 或 PTA $< 60\%$);(4)存在肝细胞癌、脾功能亢进或门静脉高压;(5)妊娠或哺乳期女性;(6)严重心、肾、造血系统疾病(如 Cr $> 133 \mu\text{mol/L}$ 、心功能 III 级以上);(7)无法配合随访或资料缺失者。所有患者均符合研究要求,资料完整,可用于后续机制与疗效分析。本研究经内江市第二人民医院伦理委员会批准(2025RP-1204-20),所有受试者均自愿参加并签署书面知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法 观察组患者接受重组人干扰素 $\alpha 2b$ (商品名:凯因益生,北京凯因,规格:0.3 mL:300 万 IU/支,0.5 mL:500 万 IU/支或者 0.6 mL:600 万 IU/支)治疗,皮下或者肌肉注射,300~600 万 IU/d,连用四周后改为 3 次/周。治疗期间按指南每 4 周复查一次肝功能、甲状腺功能及全血细胞计数,并每 12 周检测一次 HBV DNA、HBeAg 及 HBsAg 水平。HBV DNA 测定使用天隆 HBV 定量检测系统(Roche Diagnostics,型号:GENTIER 96E),最低检出限为 10 IU/mL;HBsAg 定量采用万泰 Caris200 化学发光分析仪(Abbott Laboratories)。治疗计划为 48 周,若治疗 24 周 HBsAg \geq baseline 的 70%,则按指南判断为无应答并停止治疗。对照组患者接受常规口服核苷(酸)类似物治疗,包括恩替卡韦(entecavir,苏州东瑞,0.5 mg/片)0.5 mg/d,口服 1 次,或富马酸替诺福韦二吡呋酯(TDF,齐鲁制药,300 mg/片)300 mg/d,口服 1 次。两种药物的选择依据患者肾功能情况,由主治医师决定。治疗过程中每 12 周监测 HBV DNA、肝功能、肾功能及血清学指标,检测方法与观察组一致。治疗疗程不少于 48 周。

1.2.2 患者一般资料收集 所有患者在入组时完成统一的一般资料采集,包括一般人口学特征(年龄、性别、体质量指数(BMI)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、总胆红素(total bilirubin, TBil)、白蛋白(albumin, ALB)、肌酐(creatinine, Cr)、凝血酶原活动度(prothrombin activity, PTA)、HBV 脱氧核糖核酸(HBV DNA)、乙肝表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)

定量、乙肝 e 抗原 (hepatitis B e antigen, HBeAg) 水平游离三碘甲状腺原氨酸 (free triiodothyronine, FT3)、游离甲状腺素 (free thyroxine, FT4)、促甲状腺激素 (thyroid stimulating hormone, TSH)。HBV DNA 使用天隆 GENTIER 96E 检测系统进行实时荧光定量; HBsAg、HBeAg 采用万泰 Caris200 化学发光法测定; 生化指标由安图 A2000Plus 全自动生化分析仪测定。所有检测均于清晨空腹采血完成, 确保一般资料的准确性与可比性。

1.2.3 检测方法 两组患者按统一采血流程 (清晨空腹静脉采血 10 mL; 5 mL 促凝管、5 mL EDTA-K₂) 处理; 采后 1 h 内以 3,000 r/min 离心 10 min (蜀科 TDL-5M), 血清分装后 -70 °C 保存, 抗凝血用于流式与功能试验。所有试验由同一实验室依标准操作完成并实施质控。(1) 病毒学与血清学: HBV DNA、HBsAg、HBeAg 同前述方法测定; HBsAg 动力学按每 12 周定量记录并计算下降速度 (log IU/mL/周)。同时测定抗-HBs 与 HBV 中和抗体滴度 (若需) 采用 ELISA 法。(2) 肝纤维化与影像: 使用 Echosens FibroScan pro. p 按厂商说明进行瞬时弹性成像 (LSM) 及 CAP 值测定, 三次取中位值; 血清纤维化标志物 (PIIINP、HA、TIMP-1) 用万泰 Caris200 化学发光。(3) 细胞免疫亚群与功能: 采用贝克曼 CytoFLEX LX 流式细胞仪进行检测。为聚焦于与 HBsAg 清除相关的核心免疫特征, 主要检测以下指标: (1) T 淋巴细胞 (T lymphocyte) 亚群及耗竭标志: 使用相应抗体检测 CD3⁺ (cluster of differentiation 3)、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞, 以及 CD8⁺ T 细胞上的程序性死亡受体-1 (Programmed Death-1, PD-1) 表达; (2) 调节性 T 细胞 (Regulatory T Cells, Treg): 使用 CD4、CD25、叉头状转录因子 P3 (Forkhead box P3, FoxP3) 抗体组合进行鉴定 (CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺); (3) 自然杀伤细胞 (Natural Killer Cells, NK 细胞) 及其活化功能: 使用 CD56 抗体鉴定 NK 细胞, 并通过 CD107a (溶酶体相关膜蛋白-1, Lysosomal-associated membrane protein-1) 抗体检测其脱颗粒功能活性。实验操作如下: 每管取 50 μL 抗凝全血, 加入推荐用量的荧光抗体, 避光孵育 20 min, 使用 1×FACS Lysing Solution 裂解红细胞, 洗涤后上机分析。NK 细胞功能 (CD107a 表达) 测定: 取全血或分离的外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cells, PBMC), 使用 50 ng/mL PMA (佛波醇 12-十四酸酯 13-乙酸酯, Phorbol 12-myristate 13-ace-

tate) 与 1 μg/mL 离子霉素 (Ionomycin) 刺激 4 h, 同时在刺激体系中加入 CD107a 抗体及蛋白转运抑制剂 GolgiStop, 刺激结束后洗涤并上机检测 CD107a 阳性细胞比例。

1.2.4 观察指标 (1) 病毒学与血清学: 检测 HBV DNA、HBsAg、HBeAg 定量, HBV DNA < 20 IU/mL 判定为病毒学应答; HBsAg 每 12 周检测并计算下降速度 (log IU/mL/周), HBsAg < 0.05 IU/mL 视为清除; 抗-HBs ≥ 10 IU/L 视为阳转。(2) 肝纤维化与影像学: FibroScan 测量 LSM 及 CAP 值, 三次取中位值; LSM < 7.4 kPa 视为无显著纤维化; 血清 PIIINP、HA、TIMP-1 水平采用 ELISA 或化学发光定量。(3) 免疫亚群与功能: 流式检测 CD3、CD4、CD8、CD4/CD8、CD19、CD56、Treg (CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺)、HLA-DR、PD-1、TIM-3、LAG-3、Ki-67, 并按 CCR7/CD45RA 分析 naïve、TCM、TEM、Temra 分型; NK 功能以 CD107a 阳性率 > 10% 判定活化增强。(4) 细胞因子与 ISG: IL-2、IL-6、IL-10、TNF-α、IFN-γ 的变化以 ≥ 20% 波动视为显著改变; RT-qPCR 测定 MX1、OAS1、ISG15, 相对表达上调 ≥ 1.5 倍视为 ISG 激活。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 26.0 统计软件进行分析。计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用独立样本 *t* 检验, 重复测量数据采用重复测量方差分析。计数资料以 [*n*(%)] 表示, 组间比较使用独立样本 χ^2 检验。HBsAg 动力学采用线性回归模型分析。免疫指标、HBsAg 与 HBV DNA 变化之间的关系采用 Spearman 相关性分析。HBsAg 清除的影响因素采用多因素 Logistic 回归计算 OR 值及 95% CI。进一步采用 Cox 比例风险模型评估不同免疫学指标对 HBsAg 清除时间的影响, 计算 HR 值及 95% CI。所有统计学检验均采用双侧检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者的一般资料情况比较

两组患者一般资料中年龄、性别、BMI、肝肾功能、凝血功能、HBV 相关指标及甲状腺功能等均无统计学差异 (*P* > 0.05)。见表 1。

2.2 两组患者病毒学与血清学情况比较

两组患者 HBV DNA、HBsAg 及 HBeAg 水平均随治疗时间下降, 观察组下降幅度大于对照组 (*P* < 0.05)。见表 2。

2.3 两组患者肝纤维化与影像学情况比较

两组患者 LSM、CAP、PIIINP、HA、TIMP-1 随治疗时间下降,观察组下降更明显($P < 0.05$),提示重组人干扰素 $\alpha 2b$ 更有助于改善肝纤维化。见表 3 及图 1。

表 1 两组患者一般资料情况 [$n(\%)$, $\bar{x} \pm s$]

指标	观察组($n=73$)	对照组($n=73$)	t/χ^2 值	P 值
年龄(岁)	38.52±10.34	37.89±9.87	0.347	0.728
男性	46(63.01)	44(60.27)	0.118	0.727
BMI(kg/m ²)	23.18±2.12	23.05±2.05	0.362	0.719
ALT(U/L)	88.34±24.56	85.92±23.87	0.562	0.578
AST(U/L)	72.45±20.34	71.12±21.05	0.418	0.678
TBil(μ mol/L)	16.87±4.52	16.34±4.67	0.717	0.473
ALB(g/L)	42.15±3.21	41.98±3.34	0.343	0.734
Cr(μ mol/L)	78.34±12.45	77.56±11.98	0.338	0.735
PTA(%)	92.45±5.12	91.87±5.34	0.623	0.537
HBV DNA(log IU/mL)	7.12±0.85	7.05±0.88	0.482	0.634
HBsAg(log IU/mL)	3.42±0.78	3.38±0.81	0.273	0.786
HBeAg(S/CO)	3.88±1.12	3.92±1.09	0.183	0.857
FT3(pmol/L)	5.12±0.78	5.08±0.81	0.228	0.818
FT4(pmol/L)	16.45±2.34	16.32±2.21	0.319	0.748
TSH(mIU/L)	2.12±0.78	2.15±0.81	0.172	0.867

表 2 两组患者病毒学与血清学情况比较($\bar{x} \pm s$)

指标	时间(周)	观察组($n=73$)	对照组($n=73$)	t 值	P 值
HBV DNA(log IU/mL)	0	7.12±0.85	7.05±0.88	—	—
	12	5.78±0.92	6.15±0.95	8.412	0.005
	24	4.35±0.85	5.02±0.91	16.327	<0.001
	48	2.88±0.72	4.12±0.88	42.561	<0.001
HBsAg(log IU/mL)	0	3.42±0.78	3.38±0.81	—	—
	12	3.10±0.71	3.25±0.74	3.627	0.059
	24	2.78±0.68	3.05±0.72	6.412	0.013
	48	1.92±0.65	2.78±0.71	19.284	<0.001
HBeAg(S/CO)	0	3.88±1.12	3.92±1.09	—	—
	12	3.45±1.01	3.72±1.05	4.218	0.043
	24	2.88±0.95	3.35±1.02	7.563	0.007
	48	1.92±0.87	2.78±0.95	14.372	<0.001

表 3 两组患者肝纤维化与影像学情况比较($\bar{x} \pm s$)

指标	时间(周)	观察组($n=73$)	对照组($n=73$)	t 值	P 值
LSM(kPa)	0	8.12±2.15	8.05±2.21	—	—
	24	6.85±1.92	7.45±2.05	7.312	0.008
	48	6.12±1.78	7.12±1.95	12.457	<0.001
CAP(dB/m)	0	268.52±35.12	265.88±34.77	—	—
	24	255.12±32.44	260.45±33.15	4.218	0.042
	48	248.34±30.12	258.12±31.29	9.584	0.003
PIIINP(ng/mL)	0	9.82±2.45	9.75±2.51	—	—
	24	8.12±2.18	8.95±2.26	6.327	0.013
	48	7.15±2.02	8.45±2.11	11.652	<0.001
HA(ng/mL)	0	56.12±14.28	55.65±14.72	—	—
	24	48.58±12.35	52.75±13.12	5.214	0.025
	48	42.45±11.85	50.12±12.98	14.372	<0.001
TIMP-1(ng/mL)	0	182.12±35.45	183.28±34.87	—	—
	24	160.28±32.12	172.45±33.58	7.945	0.006
	48	148.12±30.45	169.32±32.78	18.672	<0.001

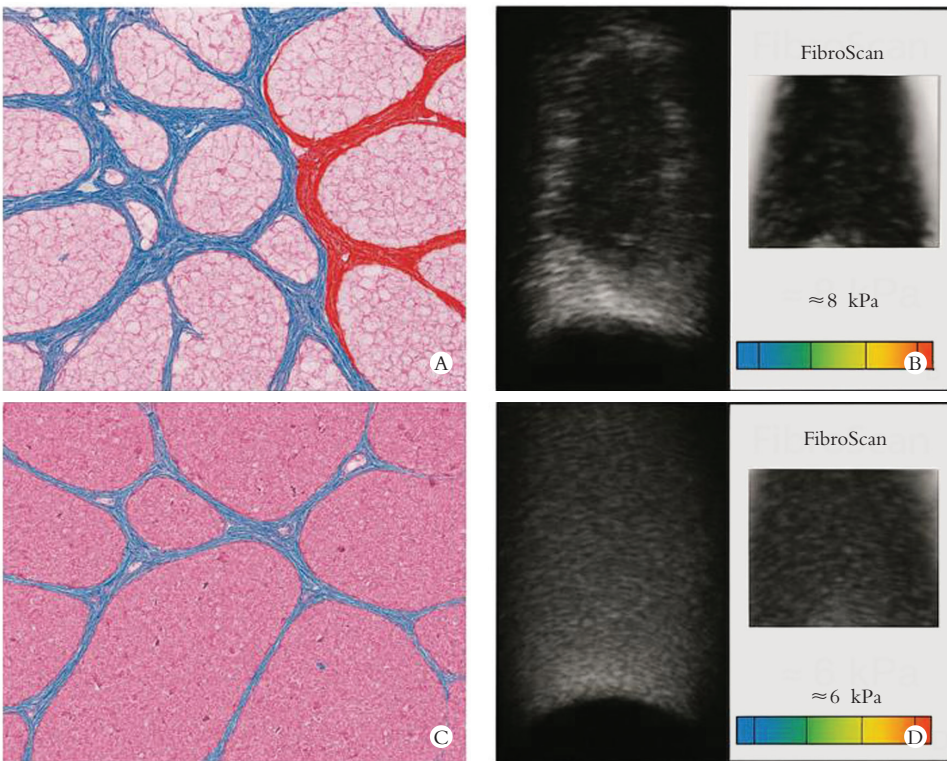


图 1 典型病例肝纤维化改善的病理影像学证据

对照组(A、B)肝组织可见明显的蓝色胶原纤维沉积(Masson 染色)或红色纤维间隔(天狼星红染色),形成不完整的纤维隔,汇管区扩大,符合显著纤维化(S2-S3 期)表现。对应的 FibroScan 图像显示较高的肝脏硬度值(LSM ≈ 8 kPa)。观察组(C、D)蓝色/红色胶原纤维沉积显著减少、变薄甚至断裂,肝小叶结构得到更好保留。对应的 FibroScan 图像显示肝脏硬度值显著降低(LSM ≈ 6 kPa),直观证实重组人干扰素 $\alpha 2b$ 在逆转肝纤维化方面的优势。

2.4 免疫亚群与功能情况

观察组在治疗期间表现出免疫重塑, CD4⁺/CD8⁺ 比值上升、CD8⁺、PD-1⁺ 比例下降及 Treg 比例适度增加 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 两组患者免疫亚群与功能情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	时间(周)	观察组(n=73)	对照组(n=73)	t 值	P 值
CD4 ⁺ (%)	0	32.45±6.12	32.12±6.25	—	—
	24	36.12±5.95	33.58±6.02	6.278	0.014
	48	38.55±5.65	34.45±5.92	11.452	<0.001
CD8 ⁺ (%)	0	29.12±5.75	29.45±5.68	—	—
	24	27.45±5.52	28.95±5.62	3.982	0.049
	48	25.12±5.18	28.22±5.44	8.622	0.004
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	0	1.11±0.25	1.10±0.26	—	—
	24	1.32±0.28	1.16±0.27	7.324	0.008
	48	1.54±0.30	1.21±0.29	14.612	<0.001
Treg(%)	0	4.12±1.15	4.08±1.12	—	—
	24	5.15±1.12	4.35±1.18	6.825	0.011
	48	6.12±1.05	4.82±1.12	12.542	<0.001
PD-1(%)	0	18.25±5.12	18.45±5.05	—	—
	24	15.12±4.85	17.88±5.02	5.625	0.021
	48	12.75±4.65	17.25±4.98	16.852	<0.001

2.5 两组患者细胞因子与 ISG 情况比较

观察组 IL-6、TNF- α 等促炎因子下降更明显, 而 IFN- γ 上升更显著 ($P < 0.05$); 同时 MX1、OAS1、ISG15 持续、幅度更大的上调, 提示其细胞因子恢复与 ISG 激活均优于对照组 ($P < 0.05$)。见表 5 及图 2。

表 5 两组患者细胞因子与 ISG 情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	时间(周)	观察组(n=73)	对照组(n=73)	t 值	P 值
IL-6(pg/mL)	0	18.25±4.12	18.18±4.05	—	—
	12	14.32±3.85	16.95±3.92	12.384	0.001
	24	12.05±3.42	15.48±3.75	21.573	<0.001
	48	10.14±3.05	14.92±3.44	36.284	<0.001
IL-10(pg/mL)	0	6.92±1.88	6.85±1.92	—	—
	12	5.85±1.65	6.42±1.71	6.218	0.014
	24	5.02±1.48	6.18±1.65	14.352	<0.001
	48	4.45±1.32	5.92±1.58	22.184	<0.001
TNF- α (pg/mL)	0	22.45±5.42	22.38±5.35	—	—
	12	18.92±4.88	21.15±5.12	8.352	0.005
	24	16.32±4.45	20.42±4.92	19.754	<0.001
	48	14.22±4.02	19.85±4.78	32.118	<0.001
IFN- γ (pg/mL)	0	12.88±3.22	12.81±3.18	—	—
	12	14.42±3.45	13.25±3.34	4.238	0.041
	24	15.85±3.62	13.92±3.48	10.325	0.002
	48	17.92±3.88	14.15±3.52	28.475	<0.001
MX1(倍数)	0	1.00±0.21	1.00±0.22	—	—
	12	1.45±0.32	1.22±0.28	10.852	0.002
	24	1.92±0.41	1.35±0.31	28.325	<0.001
	48	2.35±0.45	1.48±0.34	42.112	<0.001
OAS1(倍数)	0	1.00±0.25	1.00±0.24	—	—
	12	1.38±0.34	1.18±0.29	7.284	0.008
	24	1.82±0.42	1.32±0.31	23.452	<0.001
	48	2.12±0.48	1.45±0.35	35.985	<0.001
ISG15(倍数)	0	1.00±0.22	1.00±0.23	—	—
	12	1.42±0.31	1.20±0.28	9.382	0.003
	24	1.95±0.45	1.38±0.33	27.154	<0.001
	48	2.28±0.52	1.55±0.38	39.214	<0.001

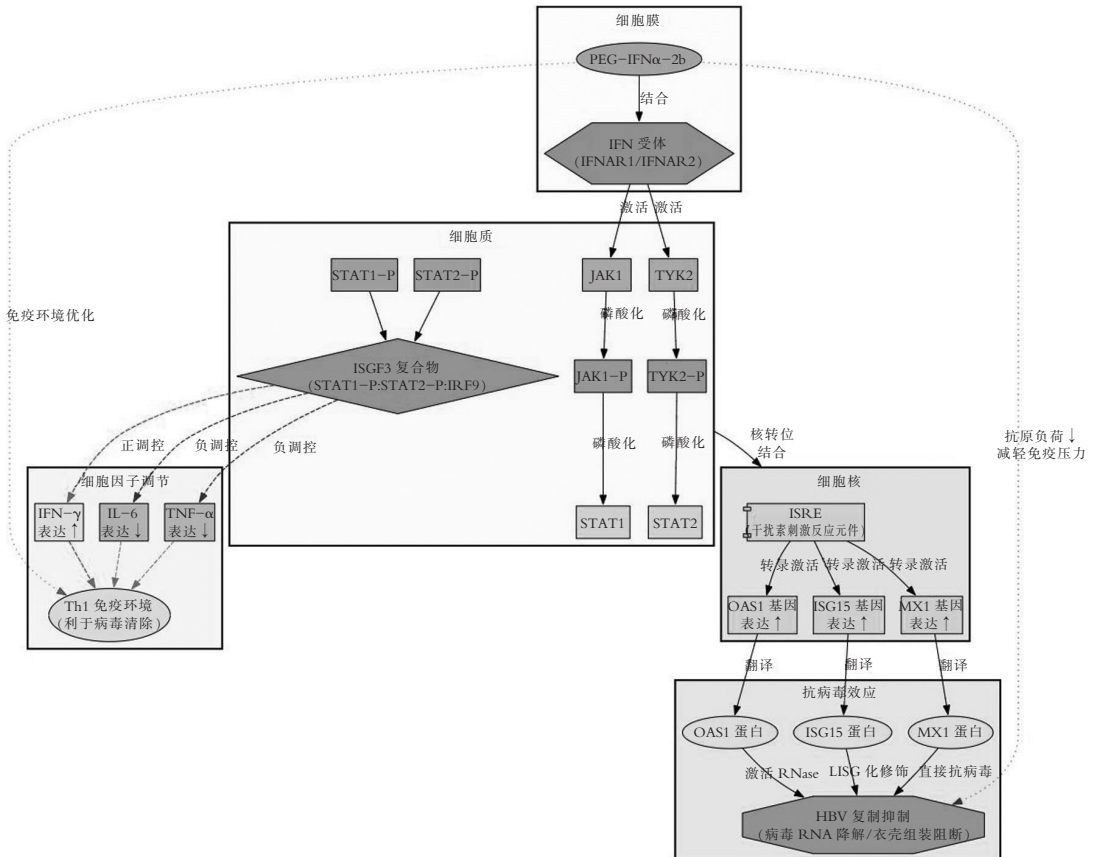


图 2 固有免疫与细胞因子信号通路激活网络

2.6 HBsAg 与 HBV DNA 变化间的相关性分析

HBsAg 与 $CD8^+T$ 细胞耗竭标志物、Treg 及炎症因子呈正相关关系 ($P < 0.05$), 与 NK 功能和

ISG 表达呈负相关关系 ($P < 0.05$); HBV DNA 与 $IFN-\gamma$ 、ISG 水平均呈负相关关系 ($P < 0.05$), 提示免疫恢复促进病毒下降。见图 3。

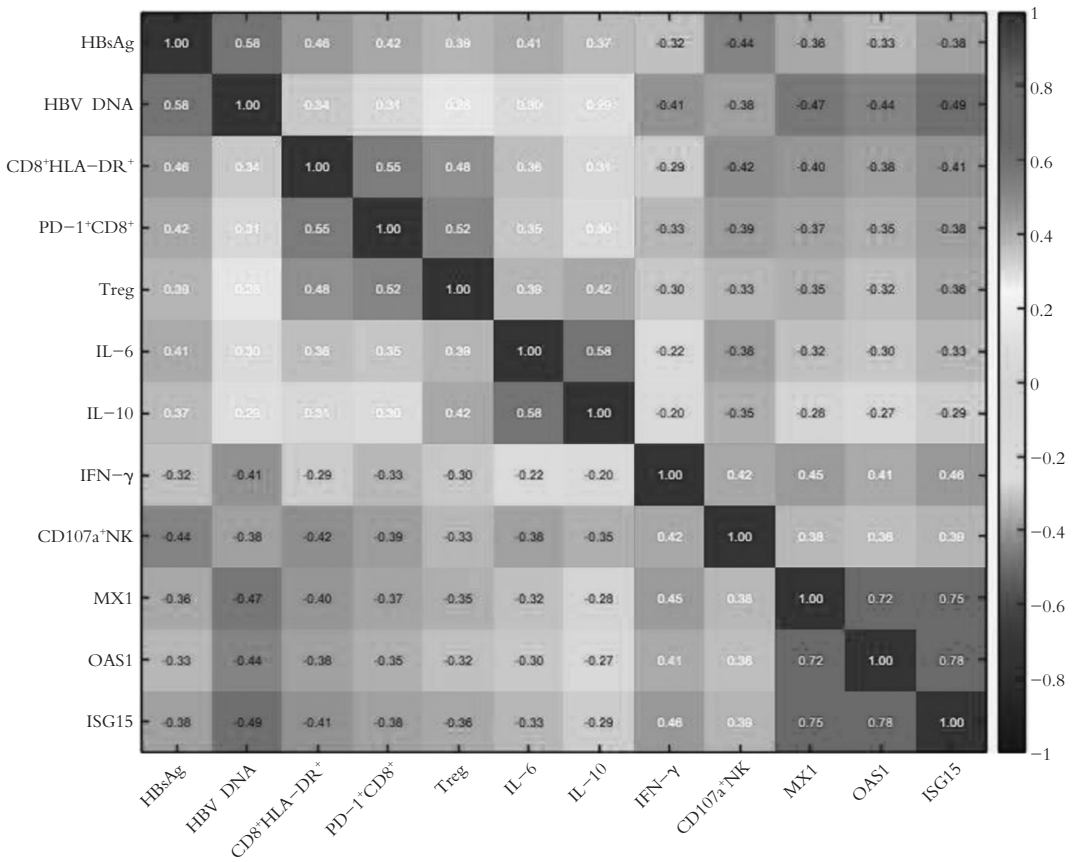


图 3 HBsAg 与 HBV DNA 变化间的相关性矩阵

2.7 影响 HBsAg 清除因素的 Logistics 回归分析

多因素 Logistic 回归分析显示, 基线 HBsAg 水平、 $CD8^+PD-1^+$ 比例、Treg 比例、NK 细胞活性及 ISG15 上调倍数是 HBsAg 清除的独立预测因素 ($P < 0.05$)。见表 6。为进一步构建 HBsAg 清除的免疫预测模型, 基于多因素 Logistic 回归中具有独立预测价值的指标(基线 HBsAg、 $CD8^+PD-1^+$ 、Treg、NK 活性、ISG15), 建立了评分系统。各指标根据 OR 值赋予权重(分值范围 0~5 分), 总分 ≥ 8 分者预测为“可能清除”, 其敏感度为 82.4%, 特异度为 76.9%, AUC 为 0.84(95%CI: 0.76~0.91)。

表 6 影响 HBsAg 清除因素的 Logistics 回归分析

变量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
常数项	-4.215	1.128	13.942	<0.001	-	-
基线 HBsAg(log IU/mL)	-0.842	0.271	9.647	0.002	0.431	0.252~0.733
$CD8^+PD-1^+$ (%)	-0.058	0.021	7.823	0.005	0.944	0.901~0.977
Treg(%)	-0.143	0.055	6.792	0.009	0.867	0.780~0.972
ISG15 上调倍数(fold)	0.745	0.263	8.019	0.005	2.106	1.261~3.550

以“HBsAg 清除(0=否, 1=是)”为因变量, 将免疫学与病毒学单因素分析 $P < 0.10$ 的变量纳入多因素 Logistic 回归模型。模型总体拟合良好(Hosmer-Lemeshow $P = 0.462$)。

2.8 影响 HBsAg 清除时间相关因素的 COX 分析

年龄、IL-6、TNF- α 及 HBV-DNA 水平均与 HBsAg 清除时间相关, 其中炎症因子和病毒载量升高延迟清除进程($HR < 1, P < 0.05$)。见表 7。

表 7 影响 HBsAg 清除时间相关因素的 COX 分析

因素	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	HR 值	95% CI
年龄(≥ 40 岁)	-0.412	0.198	4.34	0.037	0.66	0.45 - 0.98
IL-6(pg/mL)	-0.027	0.011	6.01	0.014	0.97	0.95 - 0.99
TNF- α (pg/mL)	-0.034	0.015	5.21	0.022	0.97	0.94 - 0.99
ALT(U/L)	0.006	0.003	3.86	0.049	1.01	1.00 - 1.02
HBV-DNA(log ₁₀ IU/mL)	-0.281	0.112	6.27	0.012	0.76	0.61 - 0.95
常数项	0.963	0.514	3.51	0.061	-	-

HBsAg 清除(0=未清除, 1=已清除); IL-6、TNF- α 、ALT、HBV-DNA 均按连续变量进入模型; 基线年龄按 ≥ 40 岁(1)和 < 40 岁(0)赋值。

3 讨论

本研究通过前瞻性动态监测, 系统揭示了重组人干扰素 $\alpha 2b$ 治疗过程中外周血 T 淋巴细胞亚群、固有免疫功能及干扰素信号通路的时序性变化, 并将其与 HBsAg 清除这一临床终点进行纵向关联分

析。结果显示,相较于单纯核苷(酸)类似物治疗,干扰素治疗组在诱导更高 HBsAg 清除率的同时,伴随独特的免疫重塑特征:即 CD8⁺T 细胞耗竭标志物(PD-1、TIM-3)的持续下调、效应记忆 T 细胞细胞功能增强、以及 ISG(MX1、OAS1、ISG15)的持续激活^[10-11]。多因素分析进一步证实,基线 HBsAg 水平、CD8⁺PD-1⁺ 细胞比例、Treg 比例及 ISG15 上调程度是 HBsAg 清除的独立预测因素。

本研究最重要的发现在于勾勒了免疫重塑与病毒清除之间的动态轨迹。与既往横断面研究相比,本研究纵向数据表明,HBsAg 的下降并非孤立事件,而是与 CD4/CD8 比值回升、T 细胞耗竭逆转同步发生^[12-13]。这提示,重组人干扰素 α2b 的疗效不仅源于其直接抗病毒作用,更依赖于对宿主免疫系统的成功“重编程”。特别是 CD8⁺T 细胞耗竭状态的逆转,与 HBsAg 清除密切相关,这为理解干扰素促成“功能性治愈”提供了关键机制依据^[14]。在诸多免疫指标中,CD8⁺PD-1⁺ 比例及 ISG15 表达显示出明确的预测价值与临床转化潜力。它们分别代表了适应性免疫耗竭状态、固有免疫细胞毒性及干扰素通路激活强度,三者共同构成了一个多维度的免疫应答评估体系^[15-16]。基于此构建的简易预测模型,有望在治疗早期识别出更可能从干扰素治疗中获益的优势人群,以实现治疗策略的优化与个体化^[17]。

本研究观察到 Treg 比例的适度增加与 HBsAg 清除正相关,这与传统认为 Treg 单纯抑制免疫清除的观点有所不同^[18-19]。基于此本研究推测,在干扰素调控的免疫微环境中,Treg 可能发挥了一种“精细化”的免疫调节功能,在控制过度炎症的同时,并不完全遏制有效的抗病毒免疫,从而有助于重建免疫平衡^[20]。这一发现值得在未来通过功能实验进一步验证。本研究存在一定的局限性,如单中心设计、样本量有限以及检测集中于外周血。肝脏局部的免疫环境变化仍需通过肝穿刺或影像学-免疫学关联研究加以探索^[21]。未来,可基于本研究所筛选的核心免疫标志物,开展更大规模的多中心验证研究,并探索其与新型免疫疗法(如检查点抑制剂、治疗性疫苗)联合应用的潜力^[22]。

综上,本研究确立了重组人干扰素 α2b 诱导的特定免疫重塑模式是驱动 HBsAg 清除的关键机制。所构建的以“逆转耗竭—增强杀伤—激活信号”

为核心的免疫预测模型,为早期识别应答者、实现慢性乙型肝炎的精准免疫治疗提供了新的思路。

参考文献

- [1] 张丹,江建新. 重组细胞因子基因衍生蛋白与干扰素 α-2b 分别联合恩替卡韦治疗 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎患者疗效研究[J]. 实用肝脏病杂志, 2023, 26(1): 27-30.
- [2] 彭麟,杨春,李兴泉. 聚乙二醇干扰素 α-2b 联合恩替卡韦治疗 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎患者疗效研究[J]. 实用肝脏病杂志, 2024, 27(5): 677-680.
- [3] 陈文哲,王清园,陈天,等. ApoB 基因多态性对接受聚乙二醇干扰素 α 治疗的 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎患者疗效的影响[J]. 实用肝脏病杂志, 2025, 28(5): 659-662.
- [4] 徐慧丽,吴志国,孙水林. IFNα-2b 治疗 323 例 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎的效果[J]. 南昌大学学报(医学版), 2024, 64(3): 1-5.
- [5] 郝坤艳,陈宇星,汪文洋,等. 聚乙二醇干扰素对核苷(酸)类似物经治与未治的 HBsAg 低水平慢性乙型肝炎患者 48 周疗效比较[J]. 肝脏, 2024, 29(6): 635-640.
- [6] 陈继良,周婉月,徐铭晨. HBeAg 阳性慢性乙型肝炎患者 CD55 单核苷酸多态性对聚乙二醇化干扰素 α-2b 疗效的影响[J]. 肝脏, 2024, 29(11): 1374-1377, 1381.
- [7] 张培源,雷雪,王美玉. 恩替卡韦或替诺福韦联合 PEG-IFNα-2b 对经治慢性乙型肝炎低病毒血症患者的疗效[J]. 肝脏, 2023, 28(8): 947-949.
- [8] Jiang P, Jia H, Qian X, et al. Single-cell RNA sequencing reveals the immunoregulatory roles of PegIFN-α in patients with chronic hepatitis B[J]. Hepatology, 2024, 79(1): 167-182.
- [9] Tovo CV, Ahlert M, Panke C, et al. Treatment of hepatitis B virus infection in chronic infection with HBeAg-positive adult patients (immunotolerant patients): a systematic review[J]. European Journal of Gastroenterology & Hepatology, 2021, 33(5): 605-609.
- [10] Ghany MG, Buti M, Lampertico P, et al. Guidance on treatment endpoints and study design for clinical trials aiming to achieve cure in chronic hepatitis B and D; Report from the 2022 AASLD-EASL HBV-HDV Treatment Endpoints Conference [J]. Journal of Hepatology, 2023, 79(5): 1254-1269.
- [11] Ji D, Chen Y, Bi J, et al. Entecavir plus Biejia-Ruangan compound reduces the risk of hepatocellular carcinoma in Chinese patients with chronic hepatitis B[J]. Journal of Hepatology, 2022, 77(6): 1515-1524.
- [12] Chan HLY, Buti M, Lim YS, et al. Long-term treatment with tenofovir alafenamide for chronic hepatitis B results in high rates of viral suppression and favorable renal and bone safety [J]. American Journal of Gastroenterology, 2024, 119(3): 486-496.

(下转第 591 页)

- betic retinopathy[J]. *Disease-a-month*,2021,67(5):101139.
- [3] Shen L,Zheng Y,Gao Z,*et al.* Efficacy and safety of intravitreal injection of conbercept for moderate to severe nonproliferative diabetic retinopathy[J]. *Frontiers in Medicine*,2024,11:1394358.
- [4] Moshfeghi AA,Khurana RN,Moini H,*et al.* Impact of anti-VEGF treatment on development of proliferative diabetic retinopathy in routine clinical practice[J]. *BMC Ophthalmology*,2024,24(1):229.
- [5] 田筱婵,魏军平,张旭明,等. 复方血栓通胶囊、复方丹参滴丸、芪明颗粒、和血明目片、明目地黄丸和双丹明目胶囊联合苯磺酸钙改善非增殖期糖尿病视网膜病变疗效差异的网状 Meta 分析[J]. *中药药理与临床*,2024,40(12):91-99.
- [6] 唐会超,李满,王冬梅,等. 血栓通胶囊联合康柏西普治疗在视网膜中央静脉阻塞合并黄斑水肿患者中的应用研究[J]. *河北医学*,2023,29(9):1569-1574.
- [7] 中华医学会眼科学会眼底病学组. 我国糖尿病视网膜病变临床诊疗指南(2014年)[J]. *中华眼科杂志*,2014,50(11):851-865.
- [8] 段俊国,金明,接传红. 糖尿病视网膜病变中医防治指南[J]. *中国中医药现代远程教育*,2011,9(4):154-155.
- [9] Ip MS,Zhang J,Ehrlich JS. The clinical importance of changes in diabetic retinopathy severity score [J]. *Ophthalmology*,2017,124(5):596-603.
- [10] Azhan A,Zunaina E,Mahaneem M,*et al.* Comparison of VEGF level in tears post phacoemulsification between non-proliferative diabetic retinopathy and non-diabetic patients [J]. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*,2021,20(2):2073-2079.
- [11] Liu X,Shen W,Xia W,*et al.* Early effects of intravitreal anti-VEGF agents on Cornea and visual acuity in patients with diabetic retinopathy[J]. *Cutaneous and Ocular Toxicology*,2023,42(4):213-218.
- [12] 张富文,段俊国,夏文,等. 糖宁通络片治疗非增殖期糖尿病视网膜病变的临床疗效[J]. *中国实验方剂学杂志*,2025,31(3):132-139.
- [13] 陶雨凡,董凡,兀琦,等.《中国药典》2020年版含黄芪芪成方制剂分析及其现代研究进展[J]. *中国现代中药*,2023,25(1):202-209.
- [14] 侯小玉,接传红,王建伟,等. 益肾活血法治疗非增殖期糖尿病视网膜病变的 Meta 分析及用药规律总结[J]. *海南医学院学报*,2023,29(20):1578-1588.
- [15] Zhou C,Zhou Z,Feng X,*et al.* The retinal oxygen metabolism and hemodynamics as a substitute for biochemical tests to predict nonproliferative diabetic retinopathy[J]. *Journal of Biophotonics*,2024,17(7):e202300567.
- [16] Majidova SR. Evaluation of hypoxia and microcirculation factors in the progression of diabetic retinopathy[J]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*,2024,65(1):35.
- [17] Liu M. Effect of crosstalk between Th17 and Th9 cells on the activation of dermal vascular smooth muscle cells in systemic Scleroderma and regulation of tanshinone IIA[J]. *Anais Brasileiros de Dermatologia*,2022,97(6):716-728.
- [18] 蔡双洁,方居正. 川芎及其药对研究进展[J]. *中华中医药学刊*,2024,42(8):244-248.
- [19] 赵雪莹,何世宇. 赤芍总苷药理作用研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*,2024,26(7):4-9.
- (收稿日期:2025-12-13 修回日期:2026-03-02)
- (上接第 586 页)
- [13] Yuen MF,Asselah T,Jacobson IM,*et al.* Efficacy and safety of the siRNA JNJ-73763989 and the capsid assembly modulator JNJ-56136379 (bersacapavir) with nucleos(t)ide analogues for the treatment of chronic hepatitis B virus infection (REEF-1): a multicentre, double-blind, active-controlled, randomised, phase 2b trial[J]. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*,2023,8(9):790-802.
- [14] Ghany MG,Buti M,Lampertico P,*et al.* Guidance on treatment endpoints and study design for clinical trials aiming to achieve cure in chronic hepatitis B and D:Report from the 2022 AASLD-EASL HBV-HDV Treatment Endpoints Conference [J]. *Journal of Hepatology*,2023,79(5):1254-1269.
- [15] Buti M, Lim YS, Chan HLY,*et al.* Eight-year efficacy and safety of tenofovir alafenamide for treatment of chronic hepatitis B virus infection:Final results from two randomised phase 3 trials[J]. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*,2024,60(11-12):1573-1586.
- [16] Luo M,Liang X,Zhou B,*et al.* CXCR7 genetic variant predicts treatment response of pegylated-interferon α in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients[J]. *Antiviral Research*,2024,231:106005.
- [17] Hou J,Dong C,Chen J,*et al.* An intronic genetic variant of ZHX2 predicts response to pegylated interferon α therapy in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients [J]. *Antiviral Research*,2023,220:105741.
- [18] Yuen MF, Lim YS, Yoon KT,*et al.* VIR-2218 (elebsiran) plus pegylated interferon- α 2a in participants with chronic hepatitis B virus infection: a phase 2 study [J]. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*,2024,9(12):1121-1132.
- [19] Choi W-M, Yip TC, Kim WR,*et al.* Chronic hepatitis B baseline viral load and on-treatment liver cancer risk: a multinational cohort study of HBeAg-positive patients [J]. *Hepatology*,2024,80(2):428-439.
- [20] Chen Y, Wang G, Li M,*et al.* Virological and immunological characteristics of HBeAg-positive chronic hepatitis B patients with low HBsAg levels[J]. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*,2025,61(5):814-823.
- [21] Chun HS,Papatheodoridis GV, Lee M,*et al.* PAGE-B incorporating moderate HBV DNA levels predicts risk of HCC among patients entering into HBeAg-positive chronic hepatitis B[J]. *Journal of Hepatology*,2024,80(1):20-30.
- [22] Luo M,Zhang L, Yang C,*et al.* CXCL13 variant predicts pegylated-interferon α treatment response in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients[J]. *Journal of Medical Virology*,2023,95(7):e28963.
- (收稿日期:2025-12-05 修回日期:2026-02-01)