

· 综 述 ·

免疫应答——乙型肝炎病毒治疗中的双刃剑

李 杰, 蒋昶宇, 项 荣*

(中南大学 生物科学与技术学院 细胞生物学系, 中国湖南 长沙 410013)

摘 要: 人体对乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染的免疫应答是一个非常复杂的病理过程, 一方面免疫反应能有效清除 HBV 病毒和被病毒感染的肝细胞, 对 HBV 诱发的肝类疾病有较好的治疗作用; 另一方面, 免疫反应在清除被感染肝细胞的同时, 也引起局部炎症反应, 从而损伤正常的肝细胞和组织. 其中, 特异性免疫 T 细胞及其产生的细胞因子是这一免疫应答过程的重要参与者. 侧重总结了在 HBV 感染治疗中的关键细胞和分子及激活人体免疫应答治疗中的两面性, 为调节自身免疫应答治疗 HBV, 避免应答不当而引发的肝损伤提供理论基础.

关键词: 免疫应答; 乙型肝炎病毒(HBV); 肝损伤; 免疫治疗

中图分类号: R392.12

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2011)06-0556-04

Immune Response——The Double-edged Sword of the Treatment of Hepatitis B Virus Infection

LI Jie, JIANG Chang-yu, XIANG Rong*

(Department of Cell Biology, School of Biological Science and Technology, Central South University, Changsha 410013, Hunan, China)

Abstract: Human immune responses to HBV (Hepatitis B virus, HBV) infection are quite complex. During the pathological process, specific T-lymphocytes and cytokines are the main effectors. On the one hand, they can clear virus of HBV and the infected cells, which are helpful for the cure of the hepatic injury. On the other hand, the immune responses ignite local inflammation and the healthy cells of liver would be damaged. The two sides of immune responses and the key cells and molecules in the process are it reviewed, aimed to set basis for the elimination of hepatic injury in the treatment of HBV by the immunotherapy.

Key words: immune response; hepatitis B virus (HBV); hepatic injury; immune therapy

(Life Science Research, 2011, 15(6): 556~559)

人乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)作为嗜肝 DNA 病毒, 其感染是导致慢性肝炎、肝硬化、肝癌的主要病因之一, 对人类健康已构成严重威胁. 全球约有 20 亿人被证明感染乙肝, 约 3.5 亿人为慢性感染者; 根据世界卫生组织报道, 全球前 10 致死疾病中, 乙肝位居第九; 而我国更属于 HBV 感染高发区, 我国乙肝病毒携带者约 1.3 亿人, 而慢性肝炎患者约 2 300 万^[1]. 可见, 乙

型肝炎的预防和治疗对于世界各国都具有十分重要的意义.

研究表明, 乙型肝炎并不是由于病毒增殖直接引起的, 而主要是由于病毒感染所诱发的特异性免疫病理反应造成^[2]. 人体自身免疫系统在病毒特异性抗原的刺激下, 产生病毒特异性的细胞毒 T 细胞等, 激活细胞免疫, 并释放细胞因子等. 这一系列免疫过程, 在清除病毒及病毒感染肝细胞

收稿日期: 2011-06-01; 修回日期: 2011-12-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30800476; 31000179); 教育部博士点基金新教师项目(200805331129); 湖南省自然科学基金资助项目(11JJ3036)

作者简介: 李杰(1982-), 男, 湖南桃源人, 中南大学讲师, 博士, 主要从事细胞生物学研究; * 通讯作者: 项荣(1977-), 女, 湖南长沙人, 中南大学副教授, 博士, 主要从事病毒和细胞生物学研究, Tel: 0731-82650230, E-mail: shirlesmile@yahoo.com.cn.

的同时,也诱发局部炎症反应,导致肝组织细胞损伤,现就免疫反应在乙型肝炎治疗中的两面性综述如下。

1 免疫应答参与的病毒清除及导致的肝损伤

1.1 多种免疫细胞参与 HBV 清除,并引起炎症反应肝损伤

1.1.1 辅助性 T 细胞

辅助性 T 细胞(helper T lymphocyte, Th/CD4⁺ 辅助性 T 细胞)简称 Th 细胞,是机体免疫应答中的重要细胞,其前体 Th0 细胞可分化为 Th1/Th2 两个优势亚型,分别产生不同的细胞因子,在免疫调节中发挥关键作用^[9]。Th0 细胞向 Th1 或 Th2 细胞的分化受局部细胞因子浓度、抗原剂量和来源、抗原递呈细胞类型及 T 细胞受体与主要组织相容性抗原(MHC)抗体复合物的亲和力强弱等诸多因素影响。正常情况下, Th1/Th2 处于较稳定的平衡中, Th1/Th2 的免疫失衡是导致 HBV 及其感染细胞不能被有效清除的重要机制之一。Th1 亚型主要产生干扰素(interferon, IFN)IFN- γ 、白细胞介素(interleukin, IL)IL-12 等,主要介导细胞免疫,促进细胞毒性 T 细胞(CTL)的活化和增殖。Th1 细胞亚群占优势时,将促进细胞免疫反应,增强 CD8⁺T 细胞的活性,支持 CTL 的激活和增殖,从而清除细胞内病毒,一般倾向于发生急性 HBV 感染。Th2 亚型主要产生 IL-4、IL-10 等,激活 B 细胞的增殖,其占优势时,将促进体液免疫,并抑制细胞免疫反应,CTL 细胞活性减弱,倾向于发生持续性 HBV 感染。因此,辅助性 T 细胞的前体 Th0 细胞,分化为 Th1 细胞和 Th2 细胞的比例是制约病毒清除的主要因素之一。近期研究发现, Th0 细胞还可分化为 Th17 型,其分泌的 IL-17 作为一种重要的促炎症反应因子,可激活多种免疫细胞释放炎性介质,在慢性 HBV 感染中引发持续炎症反应^[9]。

1.1.2 调节性 T 细胞

调节性 T 细胞(regulatory T cells, Tregs/CD4⁺CD25⁺Treg)主要分为胸腺来源的天然性 CD4⁺CD25⁺Tregs,以及外周诱导非调节型 CD4⁺T 细胞在胸腺外获得 CD25(IL-2R α)表达的获得性 Tregs 两类,其中 CD4⁺CD25⁺Tregs 对自身抗原和外来抗原均有较强的免疫抑制作用,但具体分子机制尚不十分清楚^[5-7]。CD4⁺CD25⁺Tregs 可使乙型肝炎病毒和机体的免疫效应细胞之间维持一种稳态。目

前的研究认为 CD4⁺CD25⁺Tregs 主要通过细胞与细胞的直接接触和抑制性细胞因子的分泌,如分泌 IL-4, IL-10 和 TGF- β 来发挥其免疫抑制功能^[9]。CD4⁺CD25⁺Tregs 能够抑制由 CD8⁺T 淋巴细胞介导的抗病毒反应,且这种调节是非抗原特异性的; CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞百分率越高,作用越强;清除小鼠体内 CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞能促进 CD8⁺T 细胞扩增,并促使其产生更多的 IFN γ ^[9]。因此,调节性 T 细胞通过与其它 T 细胞直接接触而抑制免疫细胞的活性,造成抗体生成减少、部分细胞因子水平下降等免疫功能障碍,在 HBV 患者外周血及肝脏内机体细胞免疫应答中起重要的作用,在一定程度上减少了炎症发生,对肝组织有一定保护作用。

1.1.3 树突状细胞

树突状细胞(dendritic cells, DC)可分为髓样 DC(myeloid DC, mDC)和浆细胞淋巴样 DC(lymphoid/plasmacytoid DC, pDC)两类,均源于多能造血干细胞。研究发现:HBV 感染患者可能存在 DC 细胞数量减少、功能障碍等^[10,11]。mDC 其表面标志为 Lin-HLA-DR⁺CD4⁺CD11c⁺,主要起着抗原递呈作用,其分泌的 IL-12,可作用于 Th0 向 Th1 型细胞分化过程,使感染 HBV 病毒时,产生剧烈的炎症反应,损伤肝组织细胞。pDC 其表面标志为 Lin-HLA-DR⁺CD4⁺CD123⁺,但是不表达 CD11c,其抗原递呈功能较弱,主要产生干扰素 α ,因此有较强的直接抗 HIV 病毒功能。pDC 分泌的 IL-4,作用于 Th0 向 Th2 的分化过程中,减弱炎症反应,一定程度地保护肝组织,并激活 Th 细胞和 CD8⁺细胞毒性 T 细胞等免疫细胞。

1.2 不同细胞因子与 HBV 的清除作用及炎症反应肝损伤

1.2.1 IFN- γ

IFN- γ 主要由活化的 T 细胞(包括 Th0、Th1 细胞和几乎所有的 CD8⁺T 细胞)和 NK 细胞等产生,是执行非细胞溶解机制的主要细胞因子。在 HBV 感染过程中,IFN- γ 具有免疫调节和直接抑制病毒复制的双重作用。IFN- γ 对过度表达 HBsAg 的肝细胞有直接杀伤作用,能抑制病毒复制;IFN- γ 可促使 Th0 细胞分化为 Th1 细胞,增强 IL-12 的产生,协同促进 Th1 型细胞增殖,并抑制 Th2 细胞的增生,IFN- γ 还可通过增加细胞表面的 MHC-I 类分子表达,增加感染细胞对免疫调节破坏的敏感性,对免疫应答起调节作用;IFN- γ 还能增强

NK 细胞杀伤活性, 加强 NK 细胞对 HBV 感染细胞的溶解作用^[12, 13]. 因此, 使用 IFN- γ 能快速杀灭 HBV 病毒, 但对肝组织细胞损伤也较大.

1.2.2 IL-12

IL-12 是由单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞等抗原提呈细胞分泌表达的一种细胞因子, 主要参与调节细胞免疫应答. IL-12 能促进 Th0 细胞向 Th1 细胞分化, 并使特异性 T 细胞增殖活化, 介导细胞免疫应答及机体自身抗病毒作用; 能够强烈刺激 CTL、NK、NK-T 细胞产生 IFN γ 等效应因子, 促进杀灭体内的 HBV 病毒. 用 IL-12 治疗慢性乙型肝炎, 可使以 Th2 型细胞反应为主转向为以 Th1 型细胞反应为主, 恢复 IFN γ 的产生, 有利于清除体内的 HBV 病毒; 干扰素治疗后出现 HBeAg 和(或)e 抗体(抗-HBe)转化者的血清中 IL-12 的水平, 在接受 IFN α 治疗前和治疗过程中所能达到的峰值均显著高于治疗后 HBeAg 持续阳性者, 随着患者免疫功能的增强, IL-12 的产生明显增加^[14]. 因此, IL-12 能加强机体自身的免疫反应, 对慢性 HBV 感染的病毒清除具有重要的作用.

1.2.3 IL-10

IL-10 主要由 Th2 型细胞表达, 也可由巨噬细胞、树突状细胞、Kupffer 细胞和 B 细胞产生, 是重要的抗炎性细胞因子. IL-10 能抑制 Th1 细胞增殖和 IL-12、IFN γ 等细胞因子的分泌, 抑制 Th1 细胞介导的免疫反应, 正常存在的 IL-10 可直接抗 IFN γ 等细胞因子的作用而抑制机体的抗病毒免疫, IL-10 合成增加将限制 IFN γ 的合成, 削弱 IFN γ 杀灭 HBV 的作用, 导致 HBV 在体内持续存在. 与急性乙型肝炎比较, 慢性乙型肝炎患者血清 IL-10 明显升高, 这可能与 HBV 慢性持续感染密切相关, HBeAg 阳性患者 IL-10 高于 HBeAg 阴性^[15, 16]. 因此, IL-10 的升高可抑制细胞免疫活性, 导致 HBV 在体内的持续复制和表达, 刺激产生的 IL-10 可以调节炎症反应强度.

1.2.4 IL-4

IL-4 主要由 Th2 细胞和早期 T 细胞产生, 是诱导 Th0 向 Th2 细胞分化的直接刺激因子, 也是 Th2 细胞应答强度的重要衡量指标. IL-4 作为 IFN γ 的重要调节因子, 其合成增加会抑制 IFN α 、IL-2 的合成, 削弱 IFN γ 、IL-2 对 HBV 的杀灭作用, 从而导致 HBV 在体内持续存在. 同时 IL-4 可抑制单核巨噬细胞产生 IL-6、TNF α 和氧自由基等炎症介质, 减轻肝组织炎症, 持续高水平的 IL-

4 不利于病毒的清除^[17]. 因此, 持续高水平的 IL-4 虽在一定程度上缓解肝组织的炎症反应, 但却不利于 HBV 病毒的清除.

1.2.5 IL-18

IL-18 是由活化的单核细胞、巨噬细胞和树突状细胞产生的一种细胞因子. 它能诱导 IFN γ 生成而保护机体, 在非特异性反应中它作为免疫刺激因子, 协助特异性 T 细胞和 B 细胞介导的免疫反应. 增强吞噬细胞和 NK 细胞介导的非特异性免疫和 Th 细胞、CTL 介导的特异性免疫, IL-18 可以作为 Th1 家族的诱导因子, 通过免疫网络抑制 Th2 细胞活性^[18]. 所以, IL-18 的含量上升能促进宿主对 HBV 免疫效应.

1.2.6 IL-17

IL-17 是由成熟的 Th17 细胞分泌产生. 在慢性乙型肝炎中, 由于肝组织本身会清除病毒产生炎症反应, 导致肝间质细胞大量表达 TGF- β , 而促使 Th 细胞向 Th17 型细胞的分化, 从而产生 IL-17 等炎症介质, 导致慢性炎症反应的加剧^[19, 20]. 相反, 在急性乙型肝炎中, 由于 IFN- γ 的表达极度增加, 可能对 IL-17 等炎症因子的产生有抑制作用, 因而在急性乙型肝炎中不会发生慢性炎症反应.

2 HBV 的免疫治疗

2.1 干扰素

人干扰素有 α 、 β 、 γ 3 种. 常用于治疗慢性乙肝的是 α 干扰素, 它具有抗病毒、抗肿瘤和免疫调节作用. 干扰素的免疫调节作用很强, 可使细胞膜上人类白细胞表面抗原(HLA)表达增强, 使 Tc 淋巴细胞的识别能力增强, 进一步发挥其细胞毒的功能. 干扰素还有增强 Tc 细胞和 NK 细胞等对已感染病毒的肝细胞的免疫杀灭作用的功效. 目前公认干扰素是治疗慢性乙肝的有效药物, 但实际上其只能抑制 HBV 复制而不能完全清除病毒, 且损伤较大^[21].

2.2 潘生丁合用卡介苗

卡介苗是有效的免疫增强剂, 可提高巨噬细胞和细胞免疫功能, 还可以在人体内诱生干扰素, 发挥抗病毒及免疫调节作用. 本疗法对慢性乙肝有一定疗效, 但产生效果的时间较长, 对急性乙肝患者治疗效果欠佳^[22].

2.3 转移因子

转移因子是从健康人白细胞中提取的一种小

分子多肽,可向治疗者转移特异性细胞免疫活性,这种多肽类物质称为“特异性转移因子”^[23]。如从乙型肝炎病毒感染恢复者的白细胞中提取的转移因子被称为“乙肝特异性转移因子”,可以转移特异性细胞免疫功能给慢性乙肝治疗者。其对抑制乙肝病毒复制及改善肝功能有一定疗效,但副作用较多。

2.4 左旋咪唑

这是一种有效的免疫调节剂,能提高T淋巴细胞的免疫功能,调节B淋巴细胞产生抗体和增强巨噬细胞的吞噬功能。其与抗病毒药物如 α 干扰素、拉米夫定等合用,能提高抗病毒疗效,无明显不良反应,但其使用方法复杂,效果却不十分明显^[24]。

鉴于现行的几种常用免疫制剂,其或是存在着治疗上的缺陷,或是单纯增强了细胞免疫的活性,有些并不利于保护正常的肝组织。综合保护肝组织和清除HBV病毒两方面的功效,使两者平衡达到一个适合的水平,这是乙型肝炎治疗药物的发展方向。而患者的免疫状况如抗原递呈细胞功能状态、CTL功能及数量等也决定了药物的疗效,因此,寻求一种合适的免疫治疗方案,在HBV感染的不同时期,运用不同的免疫制剂进行联合治疗,或将为HBV治疗的破冰之旅提供帮助。

3 结 语

HBV病毒的感染引发的免疫应答是一个由多种免疫细胞和免疫因子参与的复杂过程,各种免疫细胞与细胞因子间相互影响、相互调节、相互制约。当Th1细胞、mDC细胞、IFN γ 、IL-12、IL-18增多时,就会加强免疫反应的强度,能快速清除HBV病毒,但与此同时也加强了炎症反应,对肝组织造成损伤;当Th2细胞、调节性T细胞、pDC细胞、IL-10、IL-4增多时,会削弱自身免疫反应的强度,使HBV病毒长期滞留体内,同时也降低了炎症反应的强度,却对肝组织有一定的保护作用。通过对这些免疫细胞和细胞因子的深入了解,有望找到平衡免疫反应、有效杀灭HBV病毒、尽可能避免肝组织炎症损伤的药物,为乙肝的免疫治疗提供良好的理论基础。

参考文献(References):

[1] 庄辉. 乙型肝炎流行病学研究进展[J]. 中国医学前沿杂志(电子版)(ZHUANG Hui. Progress in epidemiology of hepatitis

- [2] REHERMANN B, NASCIBENI M. Immunology of hepatitis B virus and hepatitis C virus infection[J]. Nature Reviews Immunology, 2005, 5(3): 215-229.
- [3] MOSMANN T R, COFFMAN R L. Th1 and Th2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties[J]. Annual Review of Immunology, 1989, 7: 145-173.
- [4] 邢直直, 杜文军, 陈士俊. 辅助性T淋巴细胞1、2、17在慢性乙型肝炎病毒感染状态中的变化[J]. 中华传染病杂志(XING Zhi-zhi, DU Wen-jun, CHEN Shi-jun. The change of the cytokine related to helper T lymphocyte 1, 2, 17 in the patients with hepatitis B virus infection[J]. Chinese Journal of Infectious Diseases), 2008, 26(3): 158-162.
- [5] SUGIMOTO K, IKEDA F, STADANLICK J, *et al.* Suppression of HCV-specific T cells without differential hierarchy demonstrated ex vivo in persistent HCV infection[J]. Hepatology, 2003, 38(6): 1437-1448.
- [6] AANDAHL E M, MICHAELSSON J, MORETTO W J, *et al.* Human CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells control T-cell responses to human immunodeficiency virus and cytomegalovirus antigens[J]. Virology, 2004, 78(5): 2454-2459.
- [7] HISAEDA H, MAEKAWA Y, IWAKAWA D, *et al.* Escape of malaria parasites from host immunity requires CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells[J]. Nature Medicine, 2004, 10: 29-30.
- [8] NAKAMURA K, KITANI A, STROBER W. Cell contact-dependent immunosuppression by CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells is mediated by cell surface-bound transforming growth factor beta[J]. Journal of Experimental Medicine, 2001, 194(5): 629-644.
- [9] FURUICHI Y, TOKUYAMA H, UEHA S, *et al.* Depletion of CD4⁺CD25⁺ T cells (Tregs) enhances the HBV-specific CD8⁺ T cell response primed by DNA immunization[J]. World Journal of Gastroenterol, 2005, 11(24): 3772-3777.
- [10] op den BROUW M L, BINDA R S, van ROOSMALEN M H, *et al.* Hepatitis B virus surface antigen impairs myeloid dendritic cell function: a possible immune escape mechanism of hepatitis B virus[J]. Immunology, 2009, 126(2): 280-289.
- [11] XIE Q, SHEN H C, JIA N N, *et al.* Patients with chronic hepatitis B infection display deficiency of plasmacytoid dendritic cells with reduced expression of TLR9[J]. Microbes Infect, 2009, 11(4): 515-523.
- [12] MARTIN F A, THOMSEN L L, BRETT S, *et al.* Induced recruitment of NK cells to lymph nodes provides IFN-gamma for T(H)1 priming[J]. Nature Immunology, 2004, 5(12): 1260-1265.
- [13] MORANDI B, BOUGRAS G, MULLER W A, *et al.* NK cells of human secondary lymphoid tissues enhance T cell polarization via IFN-gamma secretion[J]. European Journal of Immunology, 2006, 36(9): 2394-2400.
- [14] 刘崇富, 万谟彬. 慢性乙型肝炎患者血清中白细胞介素10/白细胞介素12的检测及意义[J]. 临床荟萃(LIU Chong-fu, WAN Mo-bin. The clinical significance of detection of IL-10, IL-12 levels in patients with hepatitis B virus infection [J]. Clinical Focus), 2004, 19(6): 340-342.
- [15] 张武英, 龙列明, 龙尧, 等. 乙型肝炎患者血清白细胞介素-10的检测及临床意义[J]. 中国实用内科杂志(ZHANG Wu-yin, LONG Lie-ming, LONG Yao, *et al.* The clinical significance of detection of IL-10 in patients with hepatitis B virus