

乙型肝炎病毒对患者免疫细胞功能的影响^{*}

姚曼红 综述,朱良苗,袁淑芬[△] 审校

(重庆市开县人民医院,重庆 405400)

关键词:乙型肝炎病毒; 树突状细胞; 细胞毒性 T 细胞; 自然杀伤细胞; 细胞免疫治疗

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.06.043

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)06-0818-02

乙型肝炎病毒(HBV)是一种非侵袭性嗜肝细胞病毒,感染人体后并不直接损害肝脏,而是引起细胞免疫和体液免疫应答,以细胞免疫反应损害肝细胞为主^[1]。在大多数情况下,急性自限性肝炎患者会获得保护性的 HBV 特异性 T 淋巴细胞和 B 细胞免疫应答,控制病毒的复制和传播。然而,在 HBV 感染者中有超过 400 万患者会表现出慢性化,其是 HBV 复制和免疫应答不足的共同结果^[2]。目前研究发现,慢性乙型肝炎(CHB)患者免疫调控紊乱,病情表现出慢性化,未被清除的病毒可以反复感染肝细胞并进行复制,出现长期免疫攻击的溶细胞炎症效应,导致慢性肝损伤^[3]。本文就 HBV 感染对各类免疫细胞的影响作一综述。

1 HBV 感染对患者免疫细胞的影响

在 HBV 感染过程中,免疫调节与病毒的致病和清除密切相关。体液免疫产生的抗体可以清除外周循环的病毒颗粒,从而阻止病毒在宿主体内的传播,细胞免疫主要清除被感染细胞中的病毒^[1]。多种免疫相关细胞如抗原提呈细胞树突状细胞(DC)、HBV 特异性的细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)、B 细胞及自然杀伤细胞(NK)等协调参与控制病毒复制和传播。研究发现,CHB 患者的免疫系统存在不同程度的损伤,各类免疫细胞表现出数量和功能的缺失,不能彻底清除侵入人体的病毒,肝细胞持续受到轻度损害,肝脏炎症活动迁延持续、丙氨酸氨基转移酶水平不断波动,导致乙型肝炎的慢性化,此时若病毒复制处于高水平,易发展成肝硬化等疾病^[2-3]。

1.1 HBV 感染 DC DC 在抗病毒免疫中起着抗原递呈作用,具有激活免疫系统的 T 细胞和 B 细胞,以及活化自然杀伤细胞的功能^[4]。健康人群外周循环和组织中未成熟样 DC 在捕获到外来抗原后,DC 激活成熟并迁移到淋巴组织发起免疫应答^[5]。DC 也能分泌白细胞介素(IL)-1、IL-6、肿瘤坏死因子(TNF-α)、α 干扰素(IFN-α)等细胞因子及多种趋化性细胞因子,参与机体特异性的免疫调节。

在 CHB 患者中,HBV 感染影响了 DC 的成熟,减弱了其摄取病毒颗粒及抗原递呈功能^[5]。有研究发现,与健康人相比 CHB 患者外周血前体 DC(pDC)总量无明显变化,但存在不同程度的 pDC1/pDC2 比例失调,比值明显降低,DC1 主要诱导细胞毒性 T 细胞,可裂解受染靶细胞,因此减弱了 DC 对 CTL 的激活作用^[6]。发现慢性乙肝患者髓样 DC 与健康对照组相比未成熟 DC 向成熟 DC 的转化能力降低,使得 DC 表面共刺激分子(B7-1、R7-2、CD1a)表达水平及产生促炎性细胞因子、活化 T 细胞的能力下降^[7-8]。促使不成熟的、功能受损的 DC 与

病毒间的多重相互作用阻碍了机体免疫应答,产生免疫系统耐受。

此外,DC 功能受损还表现在可能受到病毒的直接感染。Arima 等^[9]发现 CHB 患者外周血中 20%~40% 的 DC 含 HBV DNA,可能导致 DC 刺激 T 细胞的能力及分泌细胞因子 IL-12 的水平降低。目前研究证实 CHB 患者 DC 数量和功能受损,其免疫耐受反应强于免疫原性反应,可能是导致 T 淋巴细胞应答耐受和 HBV 感染慢性化,病毒持续感染的主要原因之一。

1.2 HBV 感染细胞毒性 T 细胞 细胞毒性 T 细胞(CTL)发挥的细胞特异性免疫应答在抗乙肝病毒感染中起着重要作用,HBV 特异性的 CTL 被认为是清除机体内病毒的主力军^[10-11]。CTL 通过溶胞途径借助其分泌的颗粒酶、穿孔素及其表面表达的 Fas 配体等导致感染病毒的靶细胞凋亡或分泌细胞因子 γ 干扰素(IFN-γ)及 TNF-α 来抑制受染肝细胞内 HBV 的复制,继而达到清除病毒的目的^[12]。

但研究发现,HBV 高载量可以直接导致 HBV 特异性 CTL 的免疫耐受或丢失,或 DC 功能缺陷,降低对特异性 CTL 的激活作用,促使 CTL 失去清除 HBV 能力。Maini 等^[13]研究了 CHB 患者肝脏中 CTL 数量、病毒复制水平和肝组织病变程度三者之间的关系,发现在 HBV 载量低、血清丙氨酸氨基转移酶正常的慢性乙肝患者中,HBV 特异性 CTL 占循环中 CTL 频度高,表现为静止型,但在体外抗原刺激下,体外增殖能力迅速增加、IFN-γ 产生及细胞毒性增强;而在 HBV 载量高、转氨酶高的慢性乙肝患者中 HBV 特异性 CTL 占循环中 CTL 频度较低,表面分子为 CD8⁺ 的 HBV 特异性 T 细胞,在体外抗原刺激下,增殖能力低,机体不能通过 CTL 溶胞途径裂解靶细胞或分泌细胞因子 IFN-γ 来抑制受染肝细胞内 HBV 的复制,继而不能清除病毒,是导致 HBV 持续感染的重要原因。

研究还发现,慢性乙肝患者 CTL 功能与机体调节性 T 细胞(Treg)也密切相关。Treg 细胞是有一定的免疫抑制功能的 T 细胞亚群,Treg 细胞可独立抑制 HBV 特异性 CTL 的激活,但 Treg 与黏附细胞(AC)共同作用时,会加强其抑制作用。目前认为免疫抑制功能可减轻过度的免疫病理损伤,但也可能是导致病毒持续感染,发生感染慢性化的原因之一^[14]。

1.3 HBV 感染 B1 细胞 近年来研究表明,乙肝病毒感染除了引起 T 细胞介导的细胞免疫应答以外,B1 细胞参与的体液免疫应答也在病毒感染进程中发挥了重要作用^[15]。B1 细胞

^{*} 基金项目:重庆市卫生局项目(2013-2-285)。 作者简介:姚曼红,女,检验技师,主要从事分子生物研究。 [△] 通讯作者,E-mail: 345517251@qq.com。

是一类表达跨膜糖蛋白 CD5 的 B 淋巴细胞亚群,是机体抵抗外来病原微生物入侵的天然免疫细胞。报道认为,随着乙型肝炎病情由急性转变为慢性甚至肝硬化,CD5 B 细胞百分率以及 CD5 mRNA 有逐步上调的趋势^[16]。通过流式细胞术可检测到 CHB 患者外周血 CD5 B 细胞水平明显高于健康人,且 HBV DNA 水平与 CD5 B 细胞间存在明显正相关^[17]。目前认为 CD5 B 细胞可能引发自身免疫耐受,其与乙型肝炎的发病及慢性化进程密切相关。

1.4 HBV 感染自然杀伤细胞 研究显示,除特异性免疫反应之外,非特异性免疫损伤也在 HBV 感染进程中起着重要作用。在 HBV 感染早期,主要由 NK/自然杀伤 T 淋巴细胞(NKT)产生 IFN- γ 控制病毒的早期复制,并促使病毒特异性和非特异性淋巴细胞聚集到肝内,产生免疫应答^[18]。NKT 细胞既具有 T 细胞特征,又有 NK 细胞的特征,可活化 NK 细胞。HBV 感染转基因鼠模型中发现 NKT 细胞的活化可产生 IFN- γ ,从而抑制病毒的复制。在急性乙型肝炎患者中外周血内 NKT 细胞数量明显低于正常组,但仍高于 CHB 组,其动态变化基本与 NK 细胞一致^[19]。因此,研究者认为 NK、NKT 细胞在肝组织中聚集,对早期病毒的清除起到了一定作用,但在 CHB 中的作用机制仍需要探讨。

2 免疫细胞在 CHB 患者治疗中的应用

有研究显示,经乙肝表面抗原(HBsAg)疫苗免疫后,CHB 患者 DC 培养上清中 IL-12 水平、DC 的激活能力以及 CD83+和 CD86+DC 都明显增加^[14]。HBsAg 阴转并出现表面抗体转阳,提示 HBsAg 致敏的 DC 数量可能是对慢性 HBV 感染治疗很有潜力的治疗性疫苗。文献[20]用 HBsAg 致敏的 DC 治疗 19 例 CHB 患者,其中 10 例患者 HBeAg 转为阴性,2 例联合拉米夫定治疗的患者获得完全应答,发现体外诱导的自体 DC 疫苗能有效地抑制 HBV 的复制,降低血清中病毒载量。这说明 CHB 患者特异性的细胞免疫功能障碍一旦获得正常的细胞免疫功能就能及时清除病毒,为对乙肝患者进行特异性的免疫治疗提供了重要理论依据。

3 结 语

目前 HBV 对 DC、CTL、B1、NK 及 NKT 细胞损伤已较明确,引发的免疫系统功能紊乱或免疫耐受是其主要致病机制,但 HBV 对各类细胞及其免疫系统的损伤具体机制仍不清晰。而目前 HBV 的细胞免疫疗法就是建立在恢复各类免疫细胞数量和功能的机制之上,因此进一步探索 HBV 对免疫系统的损伤机制,有助于 CHB 发病机制的研究,为其细胞免疫疗法奠定理论基础,为探索高效、可靠细胞免疫疗法提供基本依据。

参考文献

- [1] Pollicino T, Saitta C, Raimondo G. Hepatocellular carcinoma: the point of view of the hepatitis B virus[J]. *Carcinogenesis*, 2011, 32(8):1122-1132.
- [2] Simonetti J, Bulkow L, McMahon BJ, et al. Clearance of hepatitis B surface antigen and risk of hepatocellular carcinoma in a cohort chronically infected with hepatitis B virus[J]. *Hepatology*, 2010, 51(5):1531-1537.
- [3] Gu XB, Yang XJ, Wang D, et al. Comparison and significance of specific and non-specific cellular immunity in patients with chronic hepatitis B caused by infection with genotypes B or C of hepatitis B virus[J]. *Sci China C Life Sci*, 2009, 52(8):719-723.

- [4] Mirian M, Markus G. Dendritic cell homeostasis[J]. *Blood*, 2009, 1(3):3418-3427.
- [5] Tavakoli S, Mederacke I, Herzog-Hauff S, et al. Peripheral blood dendritic cells are phenotypically and functionally intact in chronic hepatitis B virus (HBV) infection[J]. *Clin Exp Immunol*, 2008, 151(1):61-70.
- [6] Op den Brouw ML, Binda RS, Van Roosmalen MH, 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.
- [7] Zammit DJ, Lefrancois L. Dendritic cell-T cell interactions in the generation and maintenance of CD8 T cell memory[J]. *Microbes Infect*, 2006, 8(4):1108-1115.
- [8] Michel ML, Deng Q, Mancini-Bourguin M. Therapeutic vaccines and immune-based therapies for the treatment of chronic hepatitis B: Perspectives and challenges[J]. *J Hepatol*, 2011, 54(6):1286-1296.
- [9] Arima S, Akbar SM, Michitaka K, et al. Impaired function of antigen-presenting dendritic cells in patients with chronic hepatitis B: localization of HBV DNA and HBV RNA in blood DC by in situ hybridization[J]. *J Mol Med*, 2003, 11(2):169-174.
- [10] Boonstra A, Woltman AM, Janssen HL. Immunology of hepatitis B and hepatitis C virus infections[J]. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2008, 22(6):1049-1061.
- [11] Boni C, Fiscaro P, Valdatta C, et al. Characterization of hepatitis B virus (HBV)-specific T-cell dysfunction in chronic HBV infection[J]. *J Virol*, 2007, 81(8):4215-4225.
- [12] Gu XB, Yang XJ, Wang D, et al. Relationship between serum HBV DNA level and HBV-specific, nonspecific cytotoxic T lymphocytes and natural killer cells in patients with chronic hepatitis B[J]. *Chin Med J*, 2009, 122(18):2129-2132.
- [13] Maini MK, Boni C, Lee CK, et al. The role of virus-specific CD8 (+) cells in liver damage and viral control during persistent hepatitis B virus infection[J]. *J Exp Med*, 2000, 191(8):1269-1280.
- [14] Koay LB, Feng IC, Sheu MJ, et al. Hepatitis B virus (HBV) core antigen-specific regulatory T cells confer sustained remission to anti-HBV therapy in chronic hepatitis B with acute exacerbation [J]. *Human Immunology*, 2011, 72(9):687-698.
- [15] Hardy RR. B-1 B cell development[J]. *J Immunol*, 2006, 177(5):2749-2754.
- [16] Youinou P, Renaudineau Y. The paradox of CD5-expressing B cells in systemic lupus erythematosus[J]. *Autoimmun Rev*, 2007, 7(2):149-154.
- [17] 杨清, 张玲, 郭平. 慢性乙型肝炎患者外周血 CD5 B 细胞的变化及其与 HBV-DNA 的关系分析[J]. *川北医学院学报*, 2005, 20(2):199-201.
- [18] Vivier E, Tomasello E, Baratin M, et al. Functions of natural killer cells[J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(5):503-510.
- [19] Oliviero B, Varchetta S, Paudice E, et al. Natural killer cell functional dichotomy in chronic hepatitis B and chronic hepatitis C virus infections[J]. *Gastroenterology*, 2009, 137(3):1151-1160.
- [20] Chen L, Wang Y, Wu XJ, et al. Pegylated interferon α -2b upregulates specific CD8⁺ T cells in patients with chronic hepatitis B[J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(48):6145-6150.