

HBsAg疫苗冲击树突状细胞联合乙肝免疫球蛋白对慢性乙型肝炎及HBV携带者的疗效

郑鹏远, 白蓉, 娄海山, 唐芙爱, 白经修, 司方明, 琚新, 徐建强

郑鹏远, 唐芙爱, 白经修, 司方明, 郑州大学第二附属医院消化科 河南省郑州市 450014

白蓉, 郑州大学第五附属医院内科 河南省郑州市 450052
娄海山, 琚新, 徐建强, 许昌市人民医院感染科 河南省许昌市 461000

河南省卫生厅医学创新人才工程项目, No. 2004-45

河南省科技厅科技攻关项目, No. 0324410006

通讯作者: 郑鹏远, 450014, 河南省郑州市经八路2号, 郑州大学第二附属医院消化科. medp7123@yahoo.com

电话: 0371-65261035

收稿日期: 2006-01-10 接受日期: 2006-02-09

Efficacy of HBsAg vaccine-pulsed dendritic cells combined with hepatitis B immunoglobulin in treatment of chronic hepatitis B patients and hepatitis B virus carriers

Peng-Yuan Zheng, Rong Bai, Hai-Shan Lou, Fu-Ai Tang, Jing-Xiu Bai, Fang-Ming Si, Xin Ju, Jian-Qiang Xu

Peng-Yuan Zheng, Fu-Ai Tang, Jing-Xiu Bai, Fang-Ming Si, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450014, Henan Province, China

Rong Bai, Department of Internal Medicine, the Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Hai-Shan Lou, Xin Ju, Jian-Qiang Xu, Department of Infectious Diseases, Xuchang People's Hospital, Xuchang 461000, Henan Province, China

Supported by Medical Innovation Talent Program of Health Department, Henan Province, No. 2004-45, and the Key Item of Science and Technology Department of Henan Province, No. 0324410006

Correspondence to: Peng-Yuan Zheng, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 2 Jingba Road, Zhengzhou 450014, Henan Province, China. medp7123@yahoo.com

Received: 2006-01-10 Accepted: 2006-02-09

Abstract

AIM: To investigate the potential effect of HBsAg vaccine-pulsed dendritic cells (DC) combined with hepatitis B immunoglobulin (HBIG) on chronic hepatitis B (CHB) patients and hepatitis B virus (HBV) carriers.

METHODS: HBsAg vaccine-pulsed DC (10^6) and HBIG (200 U) were injected into 66 CHB patients once a month, respectively. Six months were considered as one course, and there were two courses in total. At the end of treatment, liver function, HBV DNA level and HBV markers in the patients were measured.

RESULTS: Of the 27 patients with HBeAg(+) CHB, 7 showed complete responses, and 14 showed partial responses. Of the 15 patients with HBeAg(-) CHB, complete responses were observed in 4 patients, and partial responses were observed in 8 cases. Of the 13 chronic HBV carriers, complete responses occurred in 5 cases, and partial responses occurred in 2 cases. Of the 11 inactive HBsAg carriers, 2 cases showed complete responses.

CONCLUSION: HBsAg vaccine-pulsed DC with HBIG is effective in the treatment of CHB patients and HBV carriers.

Key Words: Chronic hepatitis B; Dendritic cell; hepatitis B immunoglobulin

Zheng PY, Bai R, Lou HS, Tang FA, Bai JX, Si FM, Ju X, Xu JQ. Efficacy of HBsAg vaccine-pulsed dendritic cells combined with hepatitis B immunoglobulin in treatment of chronic hepatitis B patients and hepatitis B virus carriers. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(17):1735-1738

摘要

目的: 观察HBsAg疫苗冲击的树突状细胞与乙肝免疫球蛋白联合应用对慢性乙型肝炎的疗效。

方法: 慢乙肝患者66例每月1次注射HBsAg疫苗(10^6 /次)冲击的树突状细胞, 乙肝免疫球蛋白200 U/次, 6次为1疗程, 共2疗程, 治疗结束后检查肝功能, HBV DNA定量及乙肝标志。

结果: HBeAg阳性慢乙肝27例治疗后有7例显示完全应答, 14例显示部分应答。HBeAg阴性

■背景资料

慢性乙型肝炎是我国常见的慢性传染病之一, 目前的治疗多以抗病毒药物应用。我们从提高患者的免疫功能入手, 利用HBsAg致敏树突状细胞, 联合乙肝免疫球蛋白对慢乙肝患者进行治疗, 也取得了较好效果。这是慢乙肝治疗的又一新途径。该方法简便易行, 适合我国国情, 是一种有良好前景的方法。

■同行评价

CHB免疫疗法亟待探索, 本文选题良好, 具有先进性, 分组设计科学, 结论符合逻辑, 有参考价值。

的慢乙肝15例中有4例出现完全应答, 8例显示部分应答。慢性HBV携带者13例中5例显示完全应答, 2例表现为部分应答。11例非活动性HBsAg携带者中2例出现完全应答。

结论: HBsAg疫苗冲击的树突状细胞与乙肝免疫球蛋白联合可试用于慢乙肝的治疗。

关键词: 乙肝免疫球蛋白; 树突状细胞; 慢性乙型肝炎

郑鹏远, 白蓉, 姜海山, 唐芙爱, 白经修, 司方明, 琚新, 徐建强. HBsAg疫苗冲击树突状细胞联合乙肝免疫球蛋白对慢性乙型肝炎及HBV携带者的疗效. 世界华人消化杂志 2006;14(17):1735-1738

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/1735.asp>

0 引言

慢性乙型肝炎(CHB)是我国常见的慢性传染病之一, 由于目前所用抗病毒药物如干扰素, 其疗效有限, 不良反应较大; 核苷类似物虽然抗病毒作用强而快, 但疗程难以确定, 长期治疗均可产生耐药突变, 在治疗过程中引起ALT和乙型肝炎病毒(HBV) DNA的突破(breakthrough), 致使病情恶化^[1]。以及长期用药费用较高, 皆严重影响了抗病毒药物的及时广泛合理应用。故探索新的治疗方法仍是必需的。已知机体对HBV形成免疫耐受是HBV持续感染的主要原因。CHB患者树突状细胞(DC)功能低下, 导致机体内T、B淋巴细胞呈耐受状态^[2]。故如何打破免疫耐受状态, 诱导有效的机体免疫, 抑制并清除HBV是CHB免疫治疗的关键^[3]。部分HBV患者接种含有HBsAg或其他HBV相关蛋白后可检测到特异性的细胞免疫反应, 并有一定的抗病毒作用^[4]。汪晓莺 *et al*^[5]以HBsAg疫苗冲击DC可使DC成熟度升高, MHC分子、共刺激分子表达增加, 免疫功能增强。我们利用HBsAg疫苗冲击DC, 联合乙肝免疫球蛋白应用于CHB患者及携带者的治疗, 如下。

1 材料和方法

1.1 材料 按CHB防治指南(2005-12-11中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会联合修订)和病毒性肝炎防治方案(中华医学会传染病与寄生虫学分会, 肝病学分会联合修订2000-09西安)为标准, 选择门诊患者66例, 年龄15-46岁, 男42例, 女24例, 病程2-41 a, 可能为母婴传播者21例。其中HBeAg阳性CHB 27例, 年

龄18-45岁, 男17例, 女10例, 血清皆为HBsAg, HBeAg, 抗HBc三项阳性, HBV DNA $>10^8$ - $<10^{13}$ 拷贝/L, ALT 117-10 002 nkat/L。HBeAg阴性CHB 15例, 年龄17-46岁, 男15例, 血清HBsAg, 抗HBe, 抗HBc三项阳性者13例, HBsAg, 抗HBc二项阳性者2例。HBV DNA $>10^8$ - $<10^{10}$ 拷贝/L, ALT 834-2000 nkat/L。慢性HBV携带者13例, 年龄15-37岁, 男6例, 女7例, 血清HBsAg, HBeAg, 抗HBc三项阳性者11例; HBsAg, 抗HBe, 抗HBc三项阳性者2例; HBV DNA $>10^6$ - $<10^{12}$ 拷贝/L, ALT正常1 a以上。非活动性HBsAg携带者11例, 年龄18-36岁, 男4例, 女7例, 血清HBsAg, 抗HBe, 抗HBc三项皆阳性。HBV DNA阴性, 肝功能持续正常1 a以上。

1.2 方法 DC制备方法见参考文献[6], 每例患者sc HBsAg疫苗(含pres₁) 86 μ g冲击致敏的DC 10^6 , 每月1次。乙肝免疫球蛋白200 IU, im, 每月1次。6次为1疗程, 共2疗程。开始治疗前1 mo内, 每个疗程结束后及治疗结束后6-12 mo内检查HBV标志, 肝功能及血清中HBV DNA定量(PCR法)。根据“慢性乙型肝炎防治指南”中的抗病毒治疗应答标准统计结果。

2 结果

在27例HBeAg阳性CHB中, 病毒学单项应答结果为13/27 (48.1%)HBV DNA转阴性, 6/27 (22.2%) HBV DNA降低, 其中1例女, 32岁, 于结束治疗1 a后转阴, 余8/27 (29.6%)未应答。在单项血清学应答中, 发生HBeAg/抗HBe血清学转换9/27 (33.3%), 3/27 (11.1%)为HBeAg消失, 即由HBsAg、HBeAg、抗HBc三项阳性转变为HBsAg、抗HBc二项阳性, 15/27 (55.6%)未应答。在单项生化学应答中10/27 (37.0%)肝功能恢复正常, 3/27 (11.1%)ALT降低, 余14/27 (51.9%)未应答(表1)。

在15例HBeAg阴性CHB中, 于治疗后单项病毒学应答为7/15 (46.7%)HBV DNA转阴性, 8/15 (53.3%)无应答。单项血清学反应中有1例男, 32岁, 抗HBe消失, 由HBsAg, 抗HBe, 抗HBc三项阳性转为HBsAg, 抗HBc二项阳性。单项生化学应答中有5/15 (33.3%)ALT恢复正常, 1/15 (0.067%)ALT降低, 余9/15 (60%)无应答(表1)。

慢性HBV携带者中, 经治疗后在单项病毒学应答中7/13 (53.8%) HBV DNA转阴性, 6/13 (46.2%)未应答。在单项血清学应答中, HBsAg, HBeAg, 抗HBc三项阳性的11例中有5/11

表 1 慢性乙型肝炎患者治疗后应答情况统计表 (n/n)

诊断	单项应答			时间顺序应答			联合应答(治疗结束1 a后)		
	病毒学	血清学	生化学	治疗结束时	持久	复发	完全	部分	无
HBeAg(+)慢性乙型肝炎	19/27	12/27	13/27	21/27	20/27	1/27	9/27 ¹	12/27	6/27
HBeAg(-)慢性乙型肝炎	7/15		6/15	10/15	10/15		4/15	8/15	3/15
慢性HBV携带者	7/13	5/11		6/13	6/13		5/13	2/13	6/13
非活动性HBsAg携带者					2/11 ²		2/11		9/11

¹其中1例女, 25岁, 乙肝标志全部呈阴性. 另1例女, 30岁, 治疗后经妊娠、分娩出现HBsAg/抗HBs血清学转换. ²其中1例女, 20岁, 血清乙肝标志全部呈阴性. 另1例女, 21岁, 血清乙肝标志物由HBsAg, 抗HBc二项阳性转变为抗HBs, 抗HBc二项阳性, 即发生HBsAg/抗HBs血清学转换.

(45.5%)发生HBeAg/抗HBe血清学转换, 余6/11 (54.5%)未应答. 单项生化学应答中有1例男, 24岁, ALT升高达8335 nkat/L, 治疗结束后1 a恢复正常(表1).

在非活动性HBsAg携带者中, 有1例女, 23岁, 在治疗结束后单项血清学应答显示乙肝标志由HBsAg, 抗HBe, 抗HBc三项阳性转变为HBsAg, 抗HBc二项阳性. 治疗1 a后随访中有1例女, 20岁, 血清乙肝标志全部呈阴性, 未出现抗HBs, 肝功能正常, HBV DNA阴性. 另1例女, 21岁, 血清乙肝标志物由HBsAg, 抗HBc二项阳性转变抗HBs, 抗HBc二项阳性, 即发生HBsAg/抗HBs血清学转换, 肝功能正常, HBV DNA阴性(表1).

3 讨论

从本文结果可以看出本免疫疗法对CHB, 无论是HBeAg阳性或HBeAg阴性及慢性HBV携带者都有一定疗效, 治疗结束1 a后的完全应答中依次为33.3% (9/27), 26.7% (4/15), 38.5% (5/13). HBeAg阳性的CHB中有7/27例(25.9%), 慢性HBV携带者中有5/11例(45.5%)发生HBeAg/抗HBe血清学转换, 达到治疗终点^[7]. 证明特异性免疫疗法可用于CHB的治疗, 推测其机制可能是HBV特异性多肽负载的DC诱导出高频数、功能强的CTL^[8], 即是经HBsAg疫苗冲击后DC数量增多, DC表面分子如CD1a, CD₈₀, CD₈₃, HLA-DR等表达增加, DC成熟度增加, 提高了DC的抗原呈递功能^[9]. 此外CHB患者外周血DC在无刺激剂存在时分泌IL-12水平较正常人低, 示CHB患者DC功能存在缺陷^[2], 经HBsAg疫苗冲击后DC细胞因子分泌异常状态改变, IL-12分泌增加, IL-6分泌减少, 也促进DC成熟和功能恢复. 由于DC功能缺陷的纠正, 对HBsAg抗原呈递能力增强, 特异性激活CD₈⁺T细胞和CD₄⁺T细胞,

IFN、IL-2等水平升高, 机体免疫能力增强, 诱导HBsAg特异的CTL反应, 从而清除病毒及表达HBsAg抗原的感染了HBV的肝细胞^[10-11]. 治疗中联合应用的乙肝免疫球蛋白, 是针对HBV共同抗原a的特异性抗体, 可通过免疫沉淀反应, 形成免疫复合物, 以中和循环中的HBV, 通过抗原呈递细胞增加HBsAg内吞数量, 增强HBsAg特异性CTL克隆的增殖反应, 从而清除HBV^[12].

此外1例HBeAg阳性慢乙肝, 女, 25岁, 病程5 a余, 经1个疗程治疗后乙肝标志全部呈阴性, 已随访2 a余, 未见抗HBs出现. 另1例非活动性HBsAg携带者, 女, 20岁, 可能为母婴传播, 经2个疗程治疗后1 a乙肝标志全部呈阴性, 未见抗HBs出现. 这可能是HBsAg疫苗致敏DC后, IL-2, IL-12, IFN等细胞因子分泌增加, 免疫功能增强或由于乙肝免疫球蛋白的应用, 增加了Th1型细胞分化, 促进体内IFN, IL-12分泌, 有效清除HBV后使HBsAg阴性^[13-14]. 确切机制尚待进一步探讨. 另外有2例女性患者, 经治疗后发生HBsAg/抗HBs血清学转换1例, 21岁, 病程15 a以上, 为非活动性HBsAg携带者, 经2个疗程治疗后1 a发生HBsAg/抗HBs血清学转换. 另1例为HBeAg阳性慢乙肝, 女, 30岁, 病程10 a以上, 2个疗程后, 经妊娠分娩后出现HBsAg/抗HBs血清学转换.

总之, 利用乙肝疫苗与免疫佐剂如IL-2, 干扰素, 乙肝免疫球蛋白, GM-CSF等联合^[15]或联合DC制成特异性DC疫苗^[16], 在CHB治疗中已取得较好效果. 这说明从提高CHB患者免疫功能为出发点的CHB特异性免疫治疗途径, 增强CHB患者的T细胞应答是有效的、可行的. 无论对HBeAg阴性或阳性的CHB还是慢性HBV携带者皆可试用. 特别是慢性HBV携带者, 因其血液中有较高水平的HBV, 患者本人及其周围人的心理负担较重, 迫切要求治疗, 若以肝组织学检查决定治疗与否, 这在实践中难以实施. 采用特

异性免疫治疗,多数患者还是乐于接受的.对非活动性HBsAg携带者不必进行治疗,包括免疫治疗在内.这类患者只要长期追踪观察,嘱其注意保护肝脏,提高自身免疫能力,正确调整心理,还是可能自愈的(尽管本组病例中有3例出现完全应答).由于本方法使用简便,费用低廉,无明显毒副作用,只需每月皮下、肌肉注射1次,适合广大农村及城镇社区应用,是一种有前景的CHB的治疗方法.但还需要更大样本、更多时间、更深入地探索,特别是在病理学、分子生物学方面的研究更待深入.还应提醒的是对有条件者,仍尽量合理正规使用干扰素,以减少肝癌的发生.

4 参考文献

- 1 斯崇文.对当前慢性乙型肝炎抗病毒治疗的想法.中华传染病杂志 2005; 23: 73-74
- 2 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
- 3 俞海俐,施光峰.乙型肝炎的慢性化和慢性乙型肝炎的免疫学治疗.中华传染病杂志 2004; 22: 142-144
- 4 Dahmen A, Herzog-Hauff S, Bocher WO, Galle PR, Lohr HF. Clinical and immunological efficacy of intradermal vaccine plus lamivudine with or without interleukin-2 in patients with chronic hepatitis B. *J Med Virol* 2002; 66: 452-460
- 5 汪晓莺,孙晓雷,汤伟,孙伟红,苏丽,张学光. HBsAg体外冲击的慢性乙肝患者树突状细胞的生物学特性及其对HBV特异性CTL的诱导作用.中国免疫学杂志 2003; 19: 850-853
- 6 李明松,袁爱力,张万岱,刘思德,吕爱民,周殿元.树突状细胞体外诱导抗肝癌免疫.世界华人消化杂志 1999; 7: 161-163
- 7 任红.中国慢性乙型肝炎治疗策略——2004年全国乙型肝炎治疗策略专家峰会纪要.中华肝脏病杂志 2005; 13: 326-328
- 8 王贵强,魏来,翁心华,庄辉.中华医学会第十二次全国病毒性肝炎及肝病学术会议纪要.中华肝脏病杂志 2005; 13: 626-627
- 9 童华生,张一,袁铿,胡银英,袁芳. HBsAg负载慢性乙型肝炎患者外周血树突状细胞表型分子的变化.中华传染病杂志 2005; 23: 32-34
- 10 刘惠萍,郑曲波,祖萍,张宜俊,汪恩浩,曾滢.高剂量乙型肝炎疫苗对体内血树突状细胞的影响.上海免疫学杂志 2003; 23: 351-356
- 11 曲建慧,张玲霞,成军,辛绍杰.乙型肝炎治疗的新靶点与新方法.世界华人消化杂志 2004; 12: 1663-1666
- 12 Shouval D, Samuel D. Hepatitis B immune globulin to prevent hepatitis B virus graft reinfection following liver transplantation: a concise review. *Hepatology* 2000; 32: 1189-1195
- 13 Horiike N, Md Fazle Akbar S, Ninomiya T, Abe M, Michitaka K, Onji M. Activation and maturation of antigen-presenting dendritic cells during vaccine therapy in patients with chronic hepatitis due to hepatitis B virus. *Hepatol Res* 2002; 23: 38-47
- 14 Akbar SM, Furukawa S, Hasebe A, Horiike N, Michitaka K, Onji M. Production and efficacy of a dendritic cell-based therapeutic vaccine for murine chronic hepatitis B virus carrier. *Int J Mol Med* 2004; 14: 295-299
- 15 郑佳.乙型肝炎疫苗的应用进展.中国计划免疫 2005; 11: 155-158
- 16 Lipscomb MF, Masten BJ. Dendritic cells: immune regulators in health and disease. *Physiol Rev* 2002; 82: 97-130

电编 张敏 编辑 潘伯荣