

国人慢性HBV携带者HBV复制水平与T细胞亚群变化的关系

游晶, 庄林, 陈红英, 台虹, 宋建新, 欧阳红梅, 唐宝璋, Hutha Sriplung, Virasakdi Chongsuvivatwong, Alan Geater, 张一凤, 杨海秋, 黄俊华

■背景资料

HBV感染是一个全球性的健康问题。人体感染HBV的转归主要依赖于机体的免疫状态。当免疫反应能够清除受病毒感染的细胞时, 感染便得以控制。否则, 病毒持续存在。成人感染HBV后多数表现为急性感染过程, 而垂直感染或婴幼儿期感染者常表现为慢性感染。长期以来, 人们普遍认为HBV感染的慢性化主要是机体细胞免疫功能低下所致, 但其机制并未完全阐明。近年来, 随着蛋白质多肽纯化技术的日臻完善, 单克隆抗体技术日趋完美, 分子生物学技术的迅速发展及其与免疫学的结合, 推动了细胞免疫功能和细胞因子研究的进程。

游晶, Hutha Sriplung, Virasakdi Chongsuvivatwong, Alan Geater, Epidemiology Unit, Faculty of Medicine, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkla 90110, Thailand
游晶, 陈红英, 唐宝璋, 张一凤, 杨海秋, 昆明医学院第一附属医院感染病科 云南省昆明市 650032

庄林, 昆明市第三人民医院肝病科 云南省昆明市 650041
台虹, 宋建新, 欧阳红梅, 云南省临床检验中心 云南省第一人民医院 云南省昆明市 650032

黄俊华, 中国人民武装警察部队云南总医院感染病科 云南省昆明市 650111

游晶, 博士, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师, 主要从事病毒性肝炎及感染性疾病的基础与临床研究。

通讯作者: 游晶, Epidemiology Unit, Faculty of Medicine, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkla 90110, Thailand; 云南省昆明市西昌路295号, 昆明医学院第一附属医院感染病科。jingyoukm@126.com
电话: 0871-5324888

收稿日期: 2007-06-26 修回日期: 2007-11-28

Relationship between variations in peripheral T-lymphocyte subsets and viral replication levels in Chinese chronic HBV carriers with normal liver function tests

Jing You, Lin Zhuang, Hong-Ying Chen, Hong Tai, Jian-Xin Song, Hong-Mei OuYang, Bao-Zhang Tang, Hutha Sriplung, Virasakdi Chongsuvivatwong, Alan Geater, Yi-Feng Zhang, Hai-Qiu Yang, Jun-Hua Huang

Jing You, Hutha Sriplung, Virasakdi Chongsuvivatwong, Alan Geater, Epidemiology Unit, Faculty of Medicine, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkla 90110, Thailand

Jing You, Hong-Ying Chen, Bao-Zhang Tang, Yi-Feng Zhang, Hai-Qiu Yang, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Lin Zhuang, Department of Hepatopathy, the Third Municipal People's Hospital of Kunming, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Hong Tai, Jian-Xin Song, Hong-Mei OuYang, the Provincial Clinical Lab Center, the First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650032, China

Jun-Hua Huang, Department of Infectious Diseases, Yunnan General Hospital of the Chinese People's Armed Police Forces, Kunming 650111, Yunnan Province, China

Correspondence to: Dr. Jing You, Epidemiology Unit, Faculty of Medicine, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkla 90110, Thailand; Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, 295 Xichang Road, Kunming 650032, Yunnan Province, China. jingyoukm@126.com

Received: 2007-06-26 Revised: 2007-11-28

Abstract

AIM: To investigate the correlations between the variations in peripheral T-cell subpopulations and HBV replication levels in Chinese chronic HBV carriers (HBVc) with normal liver function tests.

METHODS: The relative percentage of T-cell subpopulations in peripheral blood was measured by flow cytometry in 216 HBVc and 100 normal controls. HBV markers were detected by ELISA. Serum viral load was measured by real-time RT-PCR. The relationship between HBV replication level and variations in peripheral T-cell subpopulations was analyzed.

RESULTS: HBVc had a decreased number of CD3⁺ and CD4⁺ cells, a decreased CD4⁺/CD8⁺ ratio, and an increased number of CD8⁺ cells compared with normal controls ($P < 0.01$). The levels of CD3⁺ and CD4⁺ cells and the CD4⁺/CD8⁺ ratio decreased 20.4%, 17.8% and 35.7%, respectively ($P < 0.01$), and there was a 21.9% increase in the level of CD8⁺ cells in HBV DNA (+) HBVc as compared with HBV DNA(-) HBVc ($P < 0.01$). The level of HBeAg(+) HBVc decreased 19.5%, 14.0% and 28.6% in CD3⁺ and CD4⁺ cells and CD4⁺/CD8⁺ ratio, respectively ($P < 0.01$), and over 19.6% in CD8⁺ cells, compared with HBeAg (-) HBVc ($P < 0.01$). There were negative correlations between the levels of CD3⁺ and CD4⁺ cells and the CD4⁺/CD8⁺ ratio and viral load ($r = -0.67, -0.54, -0.67, P < 0.01$), and a positive correlation between the level of CD8⁺ cells and viral load ($r = 0.61, P < 0.01$). Compared with the HBV DNA (+) and HBV DNA(-) groups, the number of CD3⁺ and CD4⁺ cells and the CD4⁺/CD8⁺ ratio were significant lower, and the number of CD8⁺ cells was significant higher in the HBV DNA (+)/HBeAg (+) group. A similar pattern was seen in HBVc with maternal HBV-infection (MH) status compared with non-MH HBVc ($P < 0.01$). The percentages of MH HBVc that were HBV DNA (+) and HBeAg (+), and the number with a viral load $> 1 \times 10^{10}$ copies/L, were significantly higher than those of non-MH HBVc fulfilling these criteria (82.2% vs 34.5%), OR = 8.65, 95% CI: [4.45, 17.33]; (75.2% vs 28.7%), OR

= 7.44, 95% CI: [3.91, 14.56]; (65.1% vs 10.3%), OR = 15.94, 95% CI: [7.13, 39.66]. Among the HBVc with MH, the number of CD3⁺ and CD4⁺ cells and the CD4⁺/CD8⁺ ratio were obviously lower, while the number of CD8⁺ cells was significant higher in HBV DNA(+) and HBeAg (+) patients than in HBV DNA(-) and HBeAg (-) patients, respectively ($P < 0.05$, $P < 0.01$). A similar pattern was also seen in non-MH HBVc.

CONCLUSION: Our results suggest that disorders of cellular immunity in Chinese HBVc with normal liver function tests could be caused by HBV infection, and are significantly associated with viral replication level, including viral load and HBeAg expression.

Key Words: Chronic hepatitis B virus carrier; Hepatitis B virus DNA; T lymphocyte subsets; Immune function; Real-time quantitative PCR

You J, Zhuang L, Chen HY, Tai H, Song JX, OuYang HM, Tang BZ, Sriplung H, Chongsuvivatwong V, Geater A, Zhang YF, Yang HQ, Huang JH. Relationship between variations in peripheral T-lymphocyte subsets and viral replication levels in Chinese chronic HBV carriers with normal liver function tests. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(35): 3722-3727

摘要

目的: 研究慢性HBV携带者(HBVc)HBV复制水平与T细胞亚群变化的关系。

方法: 应用流式细胞仪检测肝功能正常的HBVc 216例和正常人100例外周血T细胞亚群百分比, ELISA法检测血清乙肝标志物(HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb, Anti-HBcAb IgM), 实时荧光定量PCR法检测血清HBV DNA, 对T细胞亚群结果与血清HBV DNA载量和HBeAg表达的关系进行分析。

结果: HBVc外周血CD3⁺, CD4⁺及CD4⁺/CD8⁺较正常人显著降低($P < 0.01$), 而CD8⁺显著升高($P < 0.01$)。与HBV DNA(-)组比较, HBV DNA(+)组CD3⁺, CD4⁺及CD4⁺/CD8⁺分别降低20.4%, 17.8%和35.7%, CD8⁺升高21.9%($P < 0.01$)。与HBeAg(-)组比较, HBeAg(+)组CD3⁺, CD4⁺及CD4⁺/CD8⁺分别降低19.5%, 14.0%和28.6%, CD8⁺升高19.6%($P < 0.01$)。随着病毒载量的升高, CD3⁺, CD4⁺及CD4⁺/CD8⁺显著下降, 分别与病毒载量呈显著负相关($r = -0.67, -0.54, -0.67, P < 0.01$); CD8⁺显著升高, 与病毒载量呈显著正相关($r = 0.61, P < 0.01$)。HBV DNA(+)和HBeAg(+)组与HBV

DNA单阳性组和阴性组比较, CD3⁺, CD4⁺及CD4⁺/CD8⁺显著降低($P < 0.05, P < 0.01$), CD8⁺显著升高($P < 0.01$)。有母亲感染史者CD3⁺, CD4⁺及CD4⁺/CD8⁺较无母亲感染史者明显降低, CD8⁺则显著升高($P < 0.01$)。在有母亲感染史者中, 血清HBV DNA(+) 82.2%, HBeAg(+) 75.2%, HBV DNA水平 $> 1 \times 10^{10}$ copies/L者65.1%, 均分别显著高于无母亲感染史者的34.5%, OR = 8.65, 95% CI: [4.45, 17.33], 28.7%, OR = 7.44, 95% CI: [3.91, 14.56]和10.3%, OR = 15.94, 95% CI: 7.13, 39.66]。有母亲感染史和无母亲感染史者中, 与HBV DNA(-)组比较, HBV DNA(+)组CD3⁺, CD4⁺及CD4⁺/CD8⁺均显著降低($P < 0.05, P < 0.01$), CD8⁺均显著升高($P < 0.01$); 与HBeAg(-)组比较, HBeAg(+)组CD3⁺, CD4⁺及CD4⁺/CD8⁺均显著降低($P < 0.05, P < 0.01$)。

结论: 肝功能正常的HBVc T细胞免疫功能紊乱与病毒复制水平之间存在显著相关性, HBV活跃复制进一步加重紊乱。

关键词: 慢性HBV携带者; HBV DNA; T淋巴细胞; 免疫功能; 实时荧光定量PCR

游晶, 庄林, 陈红英, 台虹, 宋建新, 欧阳红梅, 唐宝璋, Hutcha Sriplung, Virasakdi Chongsuvivatwong, Alan Geater, 张一凤, 杨海秋, 黄俊华. 国人慢性HBV携带者HBV复制水平与T细胞亚群变化的关系. *世界华人消化杂志* 2007; 15(35): 3722-3727
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/3722.asp>

0 引言

目前HBV感染呈世界流行趋势, 感染后可逐渐发展成肝硬化(LC)甚至肝细胞肝癌(HCC), 严重威胁人类健康, 是一个全球性的健康问题^[1-4]。我国1.2亿人长期携带HBV, 其中的35%可发展为慢性肝炎, 65%可演变为LC, 80%的HCC与HBV感染有关^[5], 每年因此导致大约50万人死亡^[1]。我国40%-50%的感染者是因母婴传播感染的^[6-8]。HBV感染的扩散主要由无症状携带者的扩散, 可见携带者在乙肝感染中的地位。这些慢性HBV携带者中, 25%以上死于与之相关的肝脏疾病如重型肝炎, LC或HCC。

机体免疫功能状况与HBV长期携带有重要关系。各种免疫细胞特别是T细胞亚群之间的调节紊乱, 不论原因来自宿主还是源于病毒, 都是体内不能清除病原体及HBV在肝内持续复制的主要原因。目前持续携带者的病毒如何影响免疫效应而以高水平病毒血症持久感染还只是研究的初期。我们采用流式细胞术检测HBV携

■研究前沿

HBV感染及其结局与机体的免疫功能状况之间存在着密切的相关性。HBV感染的免疫发病机制及宿主病毒之间的相互作用是目前乙型肝炎国内外研究的热点。持续携带者的病毒如何影响免疫效应而以高水平病毒血症持久感染还只是研究的初期。

■创新盘点

本文采用流式细胞术对大样本的肝功能正常HBVc检测外周血T细胞亚群,用实时荧光定量PCR法检测血清HBV DNA载量水平,并对T细胞亚群结果与病毒复制水平之间的关系进行分析,同时以母亲感染史为分层变量进行二者之间的关系分析,探讨HBV复制水平与T细胞免疫功能变化的关系。

带者(HBVc)外周血T淋巴细胞亚群的变化,并通过分析不同病毒载量和不同HBeAg表达状况HBVc外周血T细胞各亚群变化的规律,探讨HBV复制水平对T细胞免疫功能的影响情况。

1 材料和方法

1.1 材料 HBVc 216例,男125例,女91例,平均年龄 31.5 ± 11.2 岁。诊断符合2005年中华医学会肝病学会中华医学会感染病学分会联合制订的《慢性乙型肝炎防治指南》诊断标准(HBsAg阳性,但无肝炎症状和体征,各项肝功能检查正常,经半年观察无变化者)^[9]。其中30岁以下124例(57.4%),30岁以上92例(42.6%),HBV DNA(+)136例(63.0%),HBV DNA(-)80例(37.0%),HBeAg(+)122例(56.5%),HBeAg(-)94例(43.5%)。全部患者排除甲、丙、丁、戊型肝炎和免疫缺陷性疾病,以及HCC、各种感染、风湿病和结核等,1年内无应用免疫制剂史。正常对照组HBsAg(-)100例,男61例(61.0%),女39例(39.0%),平均年龄 33.2 ± 10.3 岁,均为健康体检合格人员,无肝病病史及肝病证据。

1.2 方法 取全血100 μ L(EDTA抗凝或肝素抗凝)加入三色mAb(CD3-PE-CY5/CD4-FITC/CD8-PE, Immunotech公司)20 μ L,混匀,室温避光放置20 min。放入Muti-Q-Prep处理仪处理(美国Coulter公司)后,用流式细胞仪(Epics-XL,美国Coulter公司)检测T细胞亚群。阴性对照取全血100 μ L加入小鼠IgG-PE-CY5/IgG-FITC/IgG-PE(Immunotech公司)20 μ L,其余步骤同上。血清乙肝标志物(HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb, Anti-HBcAb IgM)检测用ELISA法,血清HBV DNA检测用实时荧光定量PCR检测系统(FQD-33A型),最低检测值为 1×10^6 copies/L。操作严格按试剂盒使用说明进行。

统计学处理 结果以mean \pm SD和百分比表示。采用R 2.5.0统计软件进行分析,组间均数比较用ANOVA或t检验,样本率的比较采用 χ^2 检验或Fisher's exact test。各T细胞亚群与病毒载量之间的相关性采用相关分析。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

本组患者HBV DNA(+) 63.0%, HBeAg(+) 56.5%。有母亲HBV感染史的HBVc 129例,占59.7%。感染年龄在8岁以下者80例(37.0%),8-20岁者56例(25.9%),20岁以上者58例(26.9%),有22例(10.2%)未知感染年龄。有母亲感染史者中,

48.1%感染年龄在8岁以下,而无母亲感染史者中,42.5%感染年龄在20岁以上。在有母亲感染史者中,血清HBV DNA(+) 82.2%显著高于无母亲感染史者34.5%, $OR = 8.65$,95% CI: [4.45, 17.33], HBeAg(+) 75.2%显著高于无母亲感染史者28.7%, $OR = 7.44$,95% CI: [3.91, 14.56],而无母亲感染史者的HBeAb(+) 71.3%则显著高于有母亲感染史者24.8%, $OR = 7.44$,95% CI: [3.91, 14.56]。有母亲感染史者血清HBV DNA水平 $> 1.0 \times 10^{10}$ copies/L者65.1%显著高于无母亲感染史者10.3%, $OR = 15.94$,95% CI: [7.13, 39.66],而无母亲感染史者血清HBV DNA水平 $< 1.0 \times 10^6$ copies/L者65.5%显著高于有母亲感染史者17.8%, $OR = 8.65$,95% CI: [4.45, 17.33]。平均血清病毒载量水平前者(7.13 ± 2.36 lg copies/mL) vs (4.07 ± 1.74 lg copies/mL, $P < 0.01$)。有母亲感染史者,血清HBV DNA(+)和HBeAg(+) 72.1%显著高于无母亲感染史者21.8%, $OR = 9.13$,95% CI: [4.68, 18.5]。

2.1 HBVc外周血T细胞亚群变化 HBVc外周血CD3⁺, CD4⁺及CD4⁺/CD8⁺比正常对照组明显降低($P < 0.01$),CD8⁺高于正常对照组($P < 0.01$)。与HBV DNA(-)组比较,HBV DNA(+)组CD3⁺, CD4⁺分别降低20.4%和17.8%($P < 0.01$),CD8⁺升高21.9%($P < 0.01$),CD4⁺/CD8⁺显著下降35.7%($P < 0.01$)。与HBeAg(-)组比较,HBeAg(+)组CD3⁺, CD4⁺分别降低19.5%和14.0%($P < 0.01$),CD8⁺升高19.6%($P < 0.01$),CD4⁺/CD8⁺显著下降28.6%($P < 0.01$)。有母亲感染史者CD3⁺, CD4⁺及CD4⁺/CD8⁺比较无母亲感染史者明显降低($P < 0.01$),CD8⁺则显著升高($P < 0.01$,表1)。

2.2 HBVc病毒载量及状况与T细胞亚群 随着HBV病毒载量的升高,CD3⁺, CD4⁺及CD4⁺/CD8⁺显著下降,CD8⁺显著升高。HBV DNA(+)和HBeAg(+)组与HBV DNA单阳性组和阴性组比较,CD3⁺, CD4⁺及CD4⁺/CD8⁺比显著降低,CD8⁺显著升高(表2)。

2.3 HBVc有母亲感染史外周血T细胞亚群变化 与HBV DNA(-)组相比,有母亲感染史HBV DNA(+)组CD3⁺, CD4⁺及CD4⁺/CD8⁺的比显著降低,CD8⁺显著升高($P < 0.01$)。无母亲感染史HBV DNA(+)组CD3⁺, CD4⁺及CD4⁺/CD8⁺的比显著降低($P < 0.01$, 0.05和0.01),CD8⁺明显升高($P < 0.05$)。与HBeAg(-)组相比,有母亲感染史HBeAg(+)组CD3⁺, CD4⁺及CD4⁺/CD8⁺的比显著降低($P < 0.01$, 0.05和0.01),CD8⁺显著升高($P < 0.01$)。无母亲感

表 1 HBVc外周血T细胞亚群变化(mean ± SD)*

分组	n	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
HBV(-)	100	71.1 ± 4.8	38.9 ± 3.4	24.0 ± 4.4	1.7 ± 0.3
HBV(+) ^b	216	57.4 ± 13.8	33.9 ± 7.0	33.1 ± 8.0	1.1 ± 0.4
HBV DNA(-)	80	65.8 ± 9.4	37.1 ± 6.3	28.1 ± 5.7	1.4 ± 0.4
HBV DVA(+) ^b	136	52.4 ± 13.6	30.5 ± 6.2	36.0 ± 7.7	0.9 ± 0.3
HBeAg(-)	94	64.5 ± 10.4	35.8 ± 6.7	29.1 ± 6.4	1.3 ± 0.4
HBeAg(+) ^b	122	51.9 ± 13.6	30.8 ± 6.5	36.2 ± 7.7	0.9 ± 0.3
MH(-)	87	64.7 ± 10.7	35.8 ± 6.1	28.7 ± 5.6	1.3 ± 0.4
MH(+) ^b	129	52.4 ± 13.5	31.1 ± 7.0	36.0 ± 8.0	0.9 ± 0.4

MH: 母亲HBV感染史. ^bP < 0.01 vs (-).

表 2 HBVc血清病毒载量及状况与T细胞亚群(mean ± SD)

分组(HBV DNA)	n	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
1 (≤1 × 10 ⁶ /L)	80	65.8 ± 9.4	37.1 ± 6.3	28.1 ± 5.7	1.4 ± 0.4
2 (>1.0 × 10 ⁶ –1.0 × 10 ⁸ /L)	14	65.4 ± 5.2	34.7 ± 2.8	28.7 ± 6.2	1.3 ± 0.4
3 (>1.0 × 10 ⁸ –1.0 × 10 ¹⁰ /L)	29	66.2 ± 10.0 ^b	33.7 ± 6.4 ^b	32.4 ± 6.5 ^b	1.1 ± 0.2 ^{ab}
4 (>1.0 × 10 ¹⁰ /L)	93	46.1 ± 10.5	28.9 ± 6.0	38.2 ± 7.2	0.8 ± 0.2
A (HBV DNA(-) HBeAg(-))	70	66.1 ± 9.0	37.1 ± 6.6	28.1 ± 5.9	1.4 ± 0.4
B (HBV DNA(-) HBeAg(+))	10	64.3 ± 12.0	37.0 ± 4.1	28.5 ± 4.0	1.3 ± 0.2
C (HBV DNA(+) HBeAg(-))	24	59.8 ± 12.8 ^c	32.0 ± 5.6 ^d	31.9 ± 7.3 ^d	1.1 ± 0.3 ^d
D (HBV DNA(+) HBeAg(+))	112	50.8 ± 13.3	30.2 ± 6.4	36.9 ± 7.6	0.9 ± 0.3

^aP < 0.05 vs 2组; ^bP < 0.01 vs 1, 4组; ^cP < 0.05, ^dP < 0.01 vs A, D组.

表 3 HBVc有母亲感染史HBV DNA和HBeAg状况与T细胞亚群(mean ± SD)

分组		<i>n</i>	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
HBVc有母亲感染史	HBV DNA(−)	23	65.0 ± 7.3	36.2 ± 7.7	28.5 ± 6.3	1.4 ± 0.5
	HBV DVA(+)	106	49.7 ± 13.0 ^{bc}	30.0 ± 6.4 ^{bc}	37.7 ± 7.4 ^{bc}	0.8 ± 0.3 ^{bc}
	HBeAg(−)	32	60.6 ± 11.6	33.6 ± 7.9	30.4 ± 7.5	1.2 ± 0.5
	HBeAg(+)	97	49.7 ± 13.0 ^e	30.3 ± 6.5 ^d	37.9 ± 7.4 ^e	0.8 ± 0.3 ^e
HBVc无母亲感染史(non−MH)	HBV DNA(−)	57	66.2 ± 10.2	37.5 ± 5.7	28.0 ± 5.4	1.4 ± 0.4
	HBV DVA(+)	30	61.8 ± 11.4 ^a	32.5 ± 5.5 ^b	30.1 ± 5.7 ^a	1.1 ± 0.2 ^b
	HBeAg(−)	62	66.5 ± 9.3	37.0 ± 5.7	28.3 ± 5.8	1.4 ± 0.4
	HBeAg(+)	25	60.3 ± 12.9 ^d	32.7 ± 6.0 ^e	29.6 ± 4.9	1.1 ± 0.3 ^e

^aP < 0.05, ^bP < 0.01 vs HBV DNA(-); ^cP < 0.01 vs HBV DNA(+) non-MH; ^dP < 0.05, ^eP < 0.01 vs HBeAg(-).

染史HBeAg(+)组CD3⁺, CD4⁺显著降低(P < 0.05和0.01), CD4⁺/CD8⁺的比明显减低(P < 0.01)(表3).

2.4 HBVc病毒载量与T细胞亚群的相关性 HBVc外周血T细胞亚群CD3⁺, CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺的比与血清病毒载量呈显著负相关($r = -0.67, -0.54, -0.67, P < 0.01$); CD8⁺与HBV病毒载量呈显著正相关($r = 0.61, P < 0.01$).

3 讨论

长期以来, 人们普遍认为HBV感染的慢性化主

要是机体细胞免疫功能低下所致, 但其机制并未完全阐明. 对HBV呈完全免疫耐受则表现为慢性携带者, 对HBV免疫功能低下. 即对HBV抗原有一定识别和清除能力, 从而导致一定的肝细胞损害, 表现为慢性肝炎. 研究发现, 慢性乙肝患者及HBVc与健康对照比较CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺下降, CD8⁺升高^[10-15]. 而CD3⁺的检测结果各不相同, 如有研究发现CD3⁺较健康对照组降低^[12,16-17]、升高^[12], 或与正常组比较无显著差异^[14,18]. HBV诱导T淋巴细胞Fas表达增加, 通过

■应用要点

本文发现, 国人肝功能正常的HBVc T细胞免疫功能紊乱与病毒复制水平之间存在显著相关性, HBV活跃复制进一步加重紊乱. 病毒复制水平与细胞免疫功能紊乱之间的关系研究, 为相关研究和临床工作提供有价值的依据, 二者之间的因果关系值得深入研究. 改进和提高抗病毒治疗的效率应是结束持续感染的最重要措施. 在小儿中普遍实施包括乙肝疫苗接种计划在内的综合措施, 防止慢性HBV携带的发生, 是最根本的措施.

■同行评价

本文方法成熟,设计合理,论证有据,有重要的学术价值。

Fas/FasL的途径使表达Fas的淋巴细胞发生凋亡。我们发现,HBVc较健康对照组CD3⁺, CD4⁺显著下降, CD8⁺明显升高, CD4⁺/CD8⁺比值降低, 差异具有显著性。提示HBVc体内细胞免疫功能低下, 可能也是T淋巴细胞凋亡增加所致, 其中CD3⁺细胞数量的明显下降, 说明机体参加细胞免疫反应的免疫活性细胞不足。熊一力 *et al*^[19]在HBV转基因小鼠免疫耐受机制的实验中发现, HBsAg刺激后的Tg鼠淋巴细胞增生明显降低, 产生细胞因子也显著减少, 说明T细胞对HBV的免疫活化状态欠佳。

本研究结果进一步证实了HBV的影响, 提示HBVc各T细胞亚群改变不仅与HBV感染有关, 也与HBV DNA复制有关。随着HBV DNA复制增加, 可进一步加重HBVc细胞免疫功能的紊乱, 提示HBeAg在导致HBVc T细胞亚群改变中起重要作用。首先, 在HBV感染的垂直传播中可起耐受原作用, 导致病毒不能被机体清除, 形成出生后的慢性感染^[20]。在HBeAg转基因小鼠, Th1对HBeAg的应答低于Th2样细胞。其次, 起诱导原的作用, 诱导Ts细胞增值, 加重免疫抑制^[21-23]。所以HBVc T细胞亚群发生改变, 即CD4⁺减少, CD8⁺增高, CD4⁺/CD8⁺比值下降, 提示免疫功能下降。体外实验发现, 病毒载量低的慢性HBV特异性T细胞水平往往高于高病毒载量患者。高病毒负荷可抑制HBV特异性T细胞功能。慢性肝炎自发清除病毒并出现HBeAg抗体血清转换时, 其外周血特异性T细胞反应增加。在临床实验中运用拉米夫定治疗1 mo后, 乙肝患者血中可检测到HBV特异性的CD4⁺和CD8⁺ T细胞, 且与治疗前比较呈上升趋势^[10]。国外临床试验中亦发现拉米夫定迅速抑制病毒血症, 与对照组比较显著增强HBe转换^[24]。这些发现提示, 通过抗病毒抑制HBV的复制在一些患者中可能恢复HBV特异性的免疫反应, 从反面支持我们的实验结果。我们按高、中、低病毒载量分为3组, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺均有统计学差异。CD8⁺随病毒载量升高而增加, CD3⁺、CD4⁺及CD4⁺/CD8⁺的比值随其增加而降低。相关分析结果也提示外周血T细胞亚群CD3⁺, CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺比与血清病毒载量呈显著负相关, CD8⁺与HBV病毒载量呈显著正相关。此结果进一步提示, HBV复制增加可进一步加重细胞免疫功能的紊乱。

我国是乙型肝炎的高流行区, 感染时年龄越小, 成为慢性携带者的机率越高^[25]。宫内感染

者几乎100%发展为HBVc, 新生儿期感染为90%, <2岁时感染为75%-80%, 3-5岁时为35%-45%, 6-14岁时为25%, 免疫力低下的成人为3%-5%^[8]。本研究结果表明, 59.7%的患者有母亲感染史, 且其中大多数(48.1%)感染年龄在8岁以下。有母亲感染史组血清HBV DNA和HBeAg阳性率及高病毒载量患者数均显著高于无母亲感染史组。与无母亲感染史组比较, 有母亲感染史组CD3⁺, CD4⁺细胞减低, CD8⁺细胞增高, CD4⁺/CD8⁺比值下降均具显著性差异($P<0.01$)。进一步在HBV DNA(+/-)组间和HBeAg(+/-)组间进行比较, HBV DNA(+)组和HBeAg(+)组CD3⁺, CD4⁺显著下降, CD8⁺明显升高, CD4⁺/CD8⁺比值降低, 差异具有显著性。此结果进一步提示, HBV复制增加和HBeAg表达增强可进一步加重细胞免疫功能的紊乱。

总之, 肝功能正常的HBVc T细胞免疫功能紊乱与病毒复制水平之间存在显著相关性, HBV活跃复制进一步加重紊乱。HBV在建立和维持持续性感染的过程中, 可能通过多种机制特异性抑制清除病毒的免疫应答, 造成免疫功能紊乱。而HBeAg在HBV感染的垂直传播中起耐受原作用, 造成免疫耐受。在我国, 绝大多数HBVc来自小儿期感染, 免疫耐受是其发生的基础, 而HBV的复制又起了进一步诱导耐受的作用。病毒复制水平与细胞免疫功能紊乱之间的因果关系值得深入研究。改进和提高抗病毒治疗的效率应是结束持续感染的最重要措施。在小儿中普遍实施包括乙肝疫苗接种计划在内的综合措施, 可防止慢性HBV携带的发生。

4 参考文献

- 1 WHO Fact Sheets, available at www.sho.int. Accessed: September 24, 2004
- 2 Pol S. Natural history of hepatitis B infection. *Presse Med* 2006; 35: 308-316
- 3 Hu KQ. A Practical Approach to Management of Chronic Hepatitis B. *Int J Med Sci* 2005; 2: 17-23
- 4 Chen CJ, Yang HI, Su J, Jen CL, You SL, Lu SN, Huang GT, Iloeje UH. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *JAMA* 2006; 295: 65-73
- 5 Lin CL, Liao LY, Liu CJ, Yu MW, Chen PJ, Lai MY, Chen DS, Kao JH. Hepatitis B viral factors in HBeAg-negative carriers with persistently normal serum alanine aminotransferase levels. *Hepatology* 2007; 45: 1193-11938
- 6 朱启镛. 重视乙型肝炎病毒母婴传播的阻断. *中华肝脏病杂志* 2003; 11: 199-200
- 7 许红梅, 刘作义. 乙型肝炎病毒母婴传播及其阻断. *实用儿科临床杂志* 2005; 20: 835-837
- 8 谢新宝, 朱启镛. 乙型肝炎病毒母婴传播和预防研究进展. *国外医学儿科学分册* 2004; 31: 225-227
- 9 中华医学会肝病学分会、感染病学分会. 慢性乙型肝炎

- 炎防治指南. 中华肝病杂志 2005; 13: 881-891
- 10 辛永宁, 孙樱, 张健, 吕维红, 张梅, 初蕾蕾, 李宁, 孙珍娟. 拉米夫定对慢性乙肝患者T细胞亚群影响的研究. 临床肝胆病杂志 2002; 18: 192-193
- 11 王九平, 连建奇, 王爱莲, 朱勇, 贾战生, 谢玉梅. 慢性乙型肝炎患者T细胞亚群、sIL-2R, TNF- α , IL-6变化及意义. 第四军医大学学报 2000; 21: 814-816
- 12 李鸣, 林蔚. 慢性乙型肝炎患者外周血T淋巴细胞亚群的变化. 现代临床医学生物工程杂志 2002; 8: 36
- 13 蔡莉静, 薛容, 姜长林. 乙型肝炎儿童T细胞亚群的改变. 东南大学学报(医学版) 2003; 22: 49-50
- 14 李乐, 蔡鹏威, 伍严安, 陈旭征. 慢性乙肝病毒携带者的细胞免疫功能变化及其与血清HBV DNA的关系. 福建医药杂志 2003; 25: 18-20
- 15 殷樱, 张盈华, 张利朝. 乙肝病程发展中CD4/CD8、TNF- α 及sIL-2R水平变化及意义. 免疫学杂志 2002; 18: 74
- 16 王克霞, 朱玉霞, 许礼发, 杨庆贵. 乙肝病人外周血T细胞亚群和mIL-2R表达水平的研究. 中国基层医药 2002; 9: 589-591
- 17 刘映霞, 胡国龄, 何淑雅, 李红梅. 慢性乙肝患者PBMC中HBV感染及其对T细胞亚群的影响. 中国现代医学杂志 2002; 12: 70-72
- 18 蔡莉静, 薛容, 姜长林. 乙型肝炎儿童T细胞亚群的改变. 东南大学学报(医学版) 2003; 22: 49-50
- 19 熊一力, 刘光泽, 贾彦征. HBV转基因小鼠免疫耐受机制的实验研究. 世界华人消化杂志 2002; 10: 642-645
- 20 Milich DR. Influence of T-helper cell subsets and crossregulation in hepatitis B virus infection. *J Viral Hepat* 1997; 4 Suppl 2: 48-59
- 21 朱传武, 罗端德, 曾令兰, 李淑莉, 李伟. 慢性重型乙型肝炎患者T细胞免疫状态与HBV前C区基因变异的关系. 中华传染病杂志 2003; 21: 135-137
- 22 高金华, 李丽君. IL-6和T细胞亚群与慢性乙型肝炎的关系. 交通医学 2001; 15: 387-388
- 23 宣世英, 孙樱, 张健, 李清华, 吕维红, 姜岭梅, 吴树华, 邹波. 慢性乙型肝炎病人外周血单个核细胞HBV感染后对其细胞免疫功能影响的研究. 中华流行病学杂志 1997; 18: 80-82
- 24 Leung N. Liver disease-significant improvement with lamivudine. *J Med Virol* 2000; 61: 380-385
- 25 郑鹏远, 唐芙爱, 卢高峰, 白经修. 慢乙肝母婴传播阻断和治疗策略的建议. 世界华人消化杂志 2007; 15: 1-6

编辑 潘伯荣 电编 郭海丽

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志的同行评价

本刊讯 《世界华人消化杂志》对所有文章进行在线同行评价, 采用匿名方式. 通常每篇文章邀请2-3位专家审阅, 至少2人通过方可录用, 否则退稿. 每期最后一页致谢本期所有审稿人(含退稿). 文章等级评定: ○A级 ○B级 ○C级 ○D级 ○E级 ○不清楚. 其中A和B属于很好, C和D不算太好, E是很差, 还有一部分是不清楚.