

树突状细胞治疗HBeAg阴性慢性乙型肝炎患者的临床观察

司方明, 娄海山, 郑鹏远, 熊灵军, 范毅凯, 李俊红, 白经修

■背景资料

HBeAg阴性慢性乙型肝炎在慢性乙型肝炎中所占比例逐年上升, 而目前尚未有理想的治疗措施。

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

娄海山, 李俊红, 河南省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资助项目, No. 2004-45

河南省科技厅科技攻关资助项目, 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: 2007-08-06 修回日期: 2007-10-25

Clinical observation of chronic hepatitis B patients with negative HBeAg following dendritic cell vaccine treatment

Fang-Ming Si, Hai-Shan Lou, Peng-Yuan Zheng, Ling-Jun Xiong, Yi-Kai Fan, Jun-Hong Li, Jing-Xiu Bai

Fang-Ming Si, Peng-Yuan Zheng, Ling-Jun Xiong, Yi-Kai Fan, Jing-Xiu Bai, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450014, Henan Province, China

Hai-Shan Lou, Jun-Hong Li, Department of Infectious Diseases, Xuchang People's Hospital, Xuchang 461000, Henan Province, China

Supported by: the Medical Innovation Talent Program of Health Department of 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: 2007-08-06 Revised: 2007-10-25

Abstract

AIM: To investigate the efficacy of dendritic cell (DC) vaccines in chronic hepatitis B patients with negative HBeAg.

METHODS: HBV antigen-loaded dendritic cells (DCs) were injected into patients subcutaneously. After six times of treatment with an interval of one month, HBV antigen (86 µg) and HBV-Ig (200 iu) were injected. At the end of treatment, HBV-DNA level, HBV-markers and liver function were examined in the serum.

RESULTS: Of the 17 patients with negative HBeAg CHB, 5 cases initially positive for HBV-DNA became negative. In 2 initially positive cases, the HBV-DNA level was decreased, and in 4 initially positive patients, liver function tests revealed a return to normal.

CONCLUSION: HBsAg-pulsed DCs loaded with HBV-IgG are effective in the treatment of CHB patients with negative HBeAg.

Key Words: Hepatitis B virus; Chronic hepatitis B; Dendritic cell; Immunotherapy

Si FM, Lou HS, Zheng PY, Xiong LJ, Fan YK, Li JH, Bai JX. Clinical observation of chronic hepatitis B patients with negative HBeAg following dendritic cell vaccine treatment. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(35): 3746-3748

摘要

目的: 观察树突状细胞疫苗对HBeAg(-)慢性乙型肝炎的治疗效果。

方法: HBV抗原肽致敏的树突状细胞, 1次/mo sc至17例HBeAg阴性慢性乙型肝炎患者, 6次后改为HBV抗原肽和乙肝免疫球蛋白各注射1次/mo, 连用6 mo。每6月复查肝功能, 乙肝标志, HBV DNA定量及B超。

结果: HBV DNA转阴5例(29.4%), HBV DNA下降2例(11.8%), 肝功能复常4例(23.5%)。

结论: HBV抗原肽冲击的树突状细胞疫苗可应用于HBeAg阴性慢性乙型肝炎的治疗。

关键词: 乙型肝炎病毒; 慢性乙型肝炎; 树突状细胞; 免疫治疗

司方明, 娄海山, 郑鹏远, 熊灵军, 范毅凯, 李俊红, 白经修. 树突状细胞治疗HBeAg阴性慢性乙型肝炎患者的临床观察. *世界华人消化杂志* 2007; 15(35): 3746-3748

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/3746.asp>

0 引言

我国三分之一的慢性乙型肝炎(CHB)为HBeAg

表 1 树突状细胞疫苗治疗HBeAg阴性慢性乙型肝炎17例应答情况

诊断	n	单项应答		时间顺序应答			(治疗1年后)联合应答			(治疗2年后)联合应答		
		病毒学	生化学	治疗结束时	持久	复发	完全	部分	无	完全	部分	无
HBeAg(-)慢乙肝	17	7	4	11	10	1	5	6	6	4	6	7

阴性, 且HBeAg(-)CHB患者在CHB中所占比例逐年上升. 其临床表现为HBsAg(+), HBV DNA(PCR法)为(+), 部分患者抗HBe(+), ALT异常或反复活动. HBeAg(-)CHB具有较高的向肝硬化、肝癌发展的倾向^[1]. 对HBeAg(-)CHB的治疗以IFN、Peg IFN α_{2a} 、核苷类似物等药物为主, 但IFN不良反应较大, 疗效有限, 核苷类药物应用疗程难以确定, 长期应用均可诱发HBV耐药突变^[2], 且长期用药费用较高. 以上这些因素皆影响抗病毒药物的广泛、合理应用. 故从CHB发病机制入手, 进一步探索以提高机体免疫功能为主的免疫治疗, 对CHB患者的治疗具有重要的临床价值^[3]. 本文利用HBV抗原肽冲击致敏的树突状细胞(dendritic cell, DC)制成疫苗, 应用于HBeAg(-)CHB患者的治疗, 现将结果报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 健康人外周血分离单个核细胞, 体外培养、扩增, 于第5天收获DC^[4]. 根据中华医学会传染病与寄生虫学分会、肝病学会联合修订的“病毒性肝炎防治方案”(2000-09西安)和中华医学会肝病学会与感染病学分会联合制订的“慢性乙型肝炎防治指南”(2005-12-11)^[5], 选门诊轻型HBeAg(-)CHB患者17例(男13例, 女4例), 年龄20-45岁, 病程3-25年, HBV DNA(PCR法)定量 $<5 \times 10^9$ 拷贝/L. 其中2例感乏力、纳差、腹胀等不适, 余皆无自觉症状. 排除肝硬化及其他类型的肝炎病毒感染.

1.2 方法 每位患者每次sc HBV抗原肽86 μ g致敏DC, 10^6 /次, 1次/mo, 共6次为第1疗程. 第2疗程为HBV抗原肽86 μ g sc, 乙肝免疫球蛋白200 U, im, 1次/mo, 共6 mo. 每疗程结束后, 每6个月复查乙肝标志、肝功、B超及HBV DNA(PCR法).

2 结果

治疗1年结束后单项病毒学应答为7例(41.2%), 其中HBV DNA转阴5例, HBV DNA下降2例, 10例(58.8%)无应答. 单项生化学应答中4例(23.5%)ALT恢复正常, 13例(76.5%)无应答. 但有

2例出现总胆红素略升高, B超仍提示弥漫性肝损伤. 虽然ALT复常, 仍按无应答统计. 发生应答的时间一般出现在治疗结束后, 但也有延迟至治疗1年后才出现应答, 故本文统计时间持续至治疗结束1-2年后的资料. 治疗后应答反应大多可维持1年以上或更久, 但有1例因经常难以控制饮酒致ALT反复异常, HBV DNA定量不稳定而复发(表1).

3 讨论

CHB患者体内HBV持续存在不易清除的原因可能是机体免疫功能低下, 对感染的HBV形成免疫耐受所致^[6]. 患者免疫功能缺陷的重要原因之一是其外周血中DC数量下降, 表型不成熟, 功能降低, 无法有效呈递HBV抗原肽, 不能诱发有效的特异的体液免疫和细胞免疫应答^[7]. 利用HBsAg冲击致敏DC可使其成熟度提高, MHC、共刺激分子表达增加, 从而激活DC的抗原呈递功能及IL-12、IFN γ 等Th1型细胞因子的分泌, 纠正CHB患者Th1/Th2细胞间的失衡, 诱发出HBV特异的CTL反应. 由于T细胞活化增殖, 也有利于其辅助B细胞增殖分化, 致特异性体液免疫增强, 有利于清除HBV^[8-9]. 这为DC疫苗用于抗CHB治疗带来了希望.

从本文结果可以看出, HBsAg冲击的DC可用于HBeAg(-)CHB患者的治疗, 可使部分患者肝功能复常, HBV DNA下降或转阴. 这说明经治疗后患者免疫功能有所增强, 因为HBV复制的直接指标为HBV DNA水平, HBV DNA水平高低与机体免疫功能相关^[10], HBV DNA水平下降示机体免疫功能提高. 推测其机制可能是HBsAg抗原肽冲击后DC成熟度增加, CD80、CD86、HLA-DR表达增强, IL-12分泌增加, 诱导Th1细胞分化, 增强CD8⁺ T细胞和NK细胞活性. IFN γ 分泌增加也可使CD4⁺ T细胞向Th1分化, 抑制Th2形成, 从而激活HBV特异的CTL克隆增殖, 杀伤HBV^[11]. 治疗中联合应用乙肝免疫球蛋白是因为乙肝免疫球蛋白为HBV中和抗体, 其与HBV相应抗原结合形成复合物, 有利于抗原提呈细胞摄取, 增加HBsAg内吞数量, 增强HBsAg特异

■应用要点

利用HBsAg抗原肽冲击致敏树突状细胞并联合乙肝免疫球蛋白对HBeAg(-)慢性乙型肝炎有一定疗效. 此方法采用皮下、肌肉注射, 较静脉注射法使用更方便, 材料更节省, 费用更低廉, 利于患者使用.

■同行评价

本文立意新颖, 病例选择合理, 治疗方法可参考, 结论明确, 具有一定的可读性.

性克隆的增生, 便于HBV清除^[12].

总之, HBsAg冲击致敏的DC疫苗可用于HBeAg阴性CHB患者的治疗, 但疗效尚不理想. 今后应加强DC功能恢复的再研究, 还可利用CpG基序的寡聚脱氧核苷酸(CPGODN)等一系列新型佐剂增强HBsAg抗原性, 或利用HBV抗原肽基因转染DC等, 以求取得更佳疗效.

4 参考文献

- 1 成军. 应充分重视HBeAg阴性慢性乙型肝炎患者的诊断与治疗. 中华传染病杂志 2006; 24: 1-2
- 2 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
- 3 张定凤. 乙型肝炎抗病毒治疗的前瞻. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 483-488
- 4 李纪明, 祁元明, 郑惠良, 阮翹, 王柏生, 李永欣. 负载食管癌抗原肽树突状细胞诱导的细胞毒性T淋巴细胞的杀伤效应. 郑州大学学报(医学版) 2005; 46: 259-262
- 5 中华医学会肝病学会、感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南. 中华肝脏病杂志 2005; 13: 881-891
- 6 Tavakoli S, Schwerin W, Rohwer A, Hoffmann S, Weyer S, Weth R, Meisel H, Diepolder H, Geissler

M, Galle PR, Lohr HF, Bocher WO. Phenotype and function of monocyte derived dendritic cells in chronic hepatitis B virus infection. *J Gen Virol* 2004; 85: 2829-2836

- 7 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
- 8 Duan XZ, He HX, Zhuang H. Restoration in vitro of impaired T-cell responses in patients with chronic hepatitis B by autologous dendritic cells loaded with hepatitis B virus proteins (R2). *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 970-976
- 9 梁雪松, 万漠彬. 慢性HBV感染免疫治疗新进展. 世界华人消化杂志 2006; 14: 3294-3298
- 10 陈明泉, 施光峰, 卢清, 李谦, 张琼华, 秦刚, 翁心华. 不同病毒载量的慢性乙型肝炎患者外周血树突状细胞的表型和功能. 中华肝脏病杂志 2007; 15: 19-23
- 11 蔡大川, 李静, 曾彦, 李用国, 任红. 人脐血来源树突状细胞抗乙型肝炎病毒细胞免疫的体外实验研究. 中华肝脏病学杂志 2007; 15: 88-91
- 12 刘崇柏, 苏崇鳌. 对乙型肝炎免疫球蛋白阻断母婴围产期传播的浅见. 中国计划免疫 2006; 12: 148-150

编辑 何燕 电编 何基才

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

• 消息 •

世界华人消化杂志关于作者署名的声明

本刊讯 世界华人消化杂志要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 第一方面是直接参与, 包括: (1)酝酿和设计实验; (2)采集数据; (3)分析/解释数据. 第二方面是文章撰写, 包括: (1)起草文章; (2)对文章的知识性内容作批评性审阅. 第三方面是工作支持, 包括: (1)统计分析; (2)获取研究经费; (3)行政、技术或材料支持; (4)指导; (5)支持性贡献. 每个人必须在第一至第三方面至少具备一条, 才能成为文章的署名作者. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.