

PD-1/PD-L1信号通路在乙型病毒性肝炎免疫调节作用的研究进展

周长彬, 李智伟

■背景资料

PD-1及其主要配体是近年来发现的负性共刺激信号之一, 其高表达与T细胞免疫缺陷相关, 一个功能完整的T淋巴细胞免疫对于抵抗HBV持续感染是必须的, PD-1在病毒性肝炎的发病过程中发挥着“双刃剑”作用。

周长彬, 李智伟, 中国医科大学附属盛京医院感染科 辽宁省沈阳市 110004

作者贡献分布: 综述写作由周长彬完成, 李智伟审校。

通讯作者: 李智伟, 教授, 主任医师, 110004, 辽宁省沈阳市三好街36号, 中国医科大学附属盛京医院感染科。

lizw@sj-hospital.org

电话: 024-96615-62311

收稿日期: 2011-04-27 修回日期: 2011-06-21

接受日期: 2011-06-28 在线出版日期: 2011-09-18

Progress in understanding the role of PD-1/PD-L1 signaling pathway in the immunoregulation of HBV infection

Chang-Bin Zhou, Zhi-Wei Li

Chang-Bin Zhou, Zhi-Wei Li, Department of Infectious Diseases, the Affiliated Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China
Correspondence to: Zhi-Wei Li, Professor, Department of Infectious Diseases, the Affiliated Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. lizw@sj-hospital.org

Received: 2011-04-27 Revised: 2011-06-21

Accepted: 2011-06-28 Published online: 2011-09-18

Abstract

Programmed cell death-1 (PD-1) is an inhibitory co-stimulatory molecule belonging to the CD28 family. It plays an important role in the maintenance of immune tolerance through binding to its ligands. Recent studies showed that the PD-1/PD-L1 ligand 1 (PD-L1) pathway played an essential role in the development of chronic viral infection, autoimmune diseases and tumor immunity. Manipulating this pathway may have possible clinical applications to HBV treatment. This article will review the recent progress in understanding the role of PD-1/PD-L1 signaling pathway in the immunoregulation of HBV infection.

Key Words: Programmed death-1; Programmed death-1 ligand; Hepatitis B virus

Zhou CB, Li ZW. Progress in understanding the role of

PD-1/PD-L1 signaling pathway in the immunoregulation of HBV infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(26): 2752-2759

摘要

程序性死亡分子1(programmed death-1, PD-1)是由pdcd1基因编码的一个抑制性共刺激分子, 在维持外周耐受中起着关键性的作用, 并在慢性病毒感染、肿瘤免疫及自身免疫性疫病的发生过程中发挥重要的生物学作用, 受到广泛的关注. 本文主要综述PD-1/PD-L1信号通路在乙型病毒性肝炎免疫调节作用的研究进展。

关键词: 程序性死亡分子-1; 程序性死亡分子1主要配体; 乙型病毒性肝炎

周长彬, 李智伟. PD-1/PD-L1信号通路在乙型病毒性肝炎免疫调节作用的研究进展. *世界华人消化杂志* 2011; 19(26): 2752-2759

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2752.asp>

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)能够引起肝脏自限性和慢性感染. 有研究证明T淋巴细胞免疫在控制HBV的重要性^[1-3]. 病毒特异性T淋巴细胞在HBV持续感染患者体内数量很少, 而且往往功能受损. 相反, 自限性HBV感染的患者在外周血中几乎总是存在可以检测到的病毒特异性T淋巴细胞. 因此, 一个功能完整的T淋巴细胞免疫对于抵抗HBV持续感染是必需的. 程序性死亡分子-1(programmed death-1, PD-1)及其主要配体PD-L1是近年来发现的负性共刺激信号之一, 其高表达与T淋巴细胞免疫缺陷密切相关, 是导致病毒持续感染及肿瘤免疫逃逸的重要机制之一. PD-1在病毒性肝炎的发病过程中发挥着“双刃剑”作用, 其高表达可抑制T细胞活性, 调节免疫应答, 以免持续活化的免疫应答造成机体组织免疫病理损伤, 但是, 此抑制作用又使得CD8⁺ T淋巴细胞耗竭, 不利于病毒的

■同行评议者

黄恒青, 主任医师, 福建省第二人民医院消化内科; 金瑞, 教授, 首都医科大学附属北京佑安医院消化科; 靳雪源, 副主任医师, 中国人民解放军第302医院消化内科

清除,造成持续的病毒感染.我们从不同角度的PD-1/PD-L1抑制性信号通路与HBV感染机体发生发展的相关机制进行综述.

1 PD-1/PD-L1信号通路在乙型肝炎患者肝组织免疫微环境的关键作用

PD-1/PD-L1信号通路对于抗病毒免疫效应具有重要性,并且能够影响病原体感染机体所致免疫病理损伤的严重程度.然而,PD-1/PD-L1信号通路在病原体感染人体特定组织的调节作用仍然知之甚少.

Dong等^[4]应用基因靶向治疗策略,敲除小鼠体内PD-L1蛋白编码基因,结果发现小鼠肝组织内富集大量特异性CD8⁺ T淋巴细胞,未见到CD4⁺ T淋巴细胞,相对于肺脏和肾脏,抗原激活的CD8⁺ T淋巴细胞更容易在肝脏中积累;PD-L1基因缺失小鼠容易发展为自身免疫性肝炎.此外,另有一些证据表明细胞表面高表达PD-L1能够诱导活化T细胞的凋亡,肝脏可能是活化T淋巴细胞凋亡的发生部位^[5].Iwai等^[6]利用腺病毒感染PD-1基因缺陷小鼠,对比研究野生型小鼠与PD-1基因缺陷小鼠的肝组织T细胞功能,结果证实PD-1基因缺陷小鼠能显著提高肝组织内抗原特异性T淋巴细胞的增值能力,并能快速清除病毒.Isogawa等^[7]也研究表明小鼠肝组织T淋巴细胞PD-1的表达与慢性HBV感染小鼠体内病毒的复制水平相关.这些研究提示,PD-1通路可能在肝脏的免疫微环境具有重要作用.

Muhlbauer等^[8]研究了肝组织内肝细胞、星状细胞和库普弗细胞表面抑制性受体PD-1的配体的表达水平,结果表明,肝组织内这些细胞借助病毒感染,活化的T细胞以及I型干扰素能够上调细胞表面PD-L1的表达水平.因此,PD-1/PD-L1信号通路在调控肝组织内免疫活性细胞、病原体与免疫应答相互作用方面发挥关键作用.

尽管体外实验已经证实干扰素- γ 能够上调淋巴细胞表面PD-L1以及巨噬细胞和树突状细胞表面PD-L2的表达水平^[9],然而这些抑制性配体在原代人体细胞,尤其是肝组织内的表达以及调控机制还没有完全阐明.Muhlbauer等^[8]从基因水平分析人原代肝细胞和肝实质细胞(如库普弗细胞,肝窦内皮细胞和肝星状细胞)PD-L1表达,揭示了PD-1信号通路在人体肝脏的潜在重要性.研究发现^[10]PD-L1在原代人肝细胞表面组成性低水平表达,经外源IFN- γ 和IFN α -2a刺

激,细胞表面PD-L1的表达上调.除此之外,活化的淋巴细胞和病毒的直接感染也可上调PD-L1 mRNA表达水平.为了进一步明确PD-L1升高是否影响T细胞的存活,Muhlbauer等^[8]研究了静息或干扰素激活的肝细胞体外诱导Jurkat细胞的凋亡水平.研究发现干扰素诱导的肝细胞增加了Jurkat细胞凋亡水平,应用PD-L1抗体能阻断Jurkat细胞凋亡.

这些研究结论可能有助于HBV感染的抗病毒免疫策略.因为HBV感染免疫学特点常常表现为肝组织内抗病毒CD8⁺ T淋巴细胞与持续性病毒复制共存.目前已有研究表明,这些抗病毒CD8⁺ T淋巴细胞缺乏细胞毒作用,不能够产生抗病毒细胞因子,处于一种“耗竭”状态^[11,12];嗜肝病毒感染可以增强PD-1/PD-L1共抑制信号通路^[8].因此,PD-L1的升高可能是HBV感染患者体内未能获得有效的T淋巴细胞免疫应答的原因.确切机制可能涉及通过PD-L1介导的T淋巴细胞功能失活或增强肝脏活化T细胞的凋亡.此外,IFN α -2a诱导的PD-L1上调可能对抗病毒药物的治疗方法包括聚乙二醇干扰素治疗慢性病毒性肝炎具有重要意义.上述研究为进一步确定肝组织PD-L1表达水平、抗病毒治疗、HBV感染结局三者相互作用的机制奠定了基础.

2 PD-1/PD-L1与乙型肝炎的临床分型

2.1 PD-1/PD-L1与急性乙型肝炎

HBV入侵机体后受到宿主免疫系统的防御反应,机体对病毒免疫应答的差异造成了HBV感染的不同转归.在急性HBV感染的患者和黑猩猩体内可以检测到强烈的、多表位特异性细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxicity T lymphocyte, CTL)反应;而慢性感染时,HBV病毒特异性CTL应答的数量和质量均大为降低,这可能是造成感染慢性化的重要原因.Zhang等^[13]研究发现,在急性HBV感染早期,HBV特异性CD8⁺ T细胞PD-1的表达明显增加,在病毒清除期,随着HBV DNA的下降,PD-1表达降低,提示HBV的清除与PD-1表达降低有关.

体外阻断PD-1转导途径可增强HBV特异性CD8⁺ T细胞的增殖和炎症因子的产生,同时减少IL-10的产生和T细胞凋亡的发生;相反,HBV特异性CD8⁺ T细胞PD-1的延迟表达则与急性肝功能衰竭密切相关.Zhang等^[14]研究证实HBV感染急性期外周血HBV特异性CD8⁺ T细胞高表达PD-1,然而当患者进展为急性肝衰竭时,抗原特异性CD8⁺ T细胞PD-1的表达相对于没有进展到

■研究前沿

T细胞功能恢复和乙型肝炎特异性T细胞免疫功能重建,干扰这个信号通路应是一个科学合理并且有前景的治疗策略,PD-1/PD-L1通路的精确调控可能为慢性乙型肝炎的治疗提供新的线索和思路.

■相关报道

Barber等研究证实阻断PD-1/PD-L1信号途径可以使体内耗竭的T细胞恢复增殖、分泌细胞因子及杀伤靶细胞的能力,并使病毒载量降低。

急性肝衰竭的患者相对降低。因此,PD-1的上调可有效地减弱有害的CD8⁺ T应答及肝脏损伤,与急性HBV感染密切相关。

Jin等^[15]采集16例急性HBV患者外周血,通过流式细胞仪分析病毒特异性CTL细胞的频率及其表面PD-1的表达特点,发现HBV特异性CTL表面PD-1明显上调,而来自同一个体的巨细胞病毒(CMV)和流感病毒特异性CTL上PD-1保持在低水平表达,说明PD-1在急性HBV感染者CTL表面的高表达具有特异性,而且这种特异性的上调与ALT呈明显正相关,提示PD-1上调水平可作为肝脏损伤程度的标志之一;同时结果也显示,PD-1上调水平与病毒载量无明显相关性,可能是由于患者发病早期体内病毒已经被大量清除。据此推测,PD-1分子表达上调可能与病毒抗原和炎症因子的刺激有关。为进一步验证PD-1/PD-L1免疫抑制性信号通路在病毒急性感染中的作用,通过体外阻断PD-1/PD-L1相互作用,发现HBV特异性CTL分泌细胞因子IFN- γ 的能力明显恢复,结合发病早期PD-1分子与ALT呈明显正相关,推测在HBV急性感染早期,PD-1/PD-L1的高水平表达抑制了过强的免疫反应,避免急性乙型肝炎患者肝脏遭受严重免疫损伤。

2.2 PD-1/PD-L1与慢性乙型肝炎 PD-1在HBV感染慢性化的过程中有重要作用。慢性HBV感染时,仅低水平病毒血症的患者中可以检测到病毒特异性T细胞,而病毒载量高的患者体内CD8⁺ T淋巴细胞的含量极少,并且PD-1表达水平很高;阻断PD-1/PD-L1通路后,HBV特异性CD8⁺ T细胞的功能得到改善^[16]。将HBV特异性CTL移植入HBV转基因小鼠后,这些细胞迅速被诱导分泌IFN- γ ,但其分泌功能很快就被抑制,并伴随PD-1表达上调。利用mAb阻断PD-L1后,肝内特异性CTL数量增加,分泌IFN- γ 的时间延长^[17]。而对HBV急性感染的研究表明,感染清除的患者体内病毒特异性的CD8⁺记忆性T淋巴细胞PD-1和CD38的表达下调,开始表达CD127,同时血清转氨酶浓度降低,病毒被机体清除。因此,PD-1/PD-L1通路抑制了有效的免疫应答,导致病毒在体内持续存在。

目前认为,HBV慢性感染时病毒特异性细胞毒T淋巴细胞(CTL)处于功能耗竭状态,表现为细胞增殖能力下降、分泌细胞因子减少。PD-1在活化的T细胞中表达上调,并抑制活化T细胞的功能。Xie等^[18]检测了39例慢性乙型肝炎患者外周血HBV特异性CTL细胞PD-1的表达,

发现外周血HBV核心抗原18227特异性CTL绝大部分为PD-1阳性,且PD-1仅高表达于HBV特异性的CTL。因此我们认为,HBV特异性CTL高表达PD-1分子很可能是HBV慢性感染病程中持续高水平的HBV抗原刺激所致。长期暴露于高载量病毒抗原使T细胞PD-1表达上调是机体的一种保护性调节作用,其目的是下调免疫应答,以免持续活化的免疫应答造成机体组织免疫病理损伤,但反过来PD-1/PD-L1通路的抑制作用又使得T细胞功能低下,不利于病毒的清除,从而造成慢性持续的病毒感染。阻断PD-1/PD-L1通路,打破这种平衡,有利于病毒的清除,这就为慢性病毒性感染的治疗开辟了一条新途径。

慢性乙型肝炎患者体内存在针对HBV的免疫耐受,CTL处于耗竭状态,功能低下,难以彻底清除病毒。研究提示^[18],在慢性肝炎时,PD-L1与PD-1相互作用,诱导肝内的活化CD8⁺ T细胞耗竭,抑制CTL的抗病毒作用,这可能是慢性乙型肝炎发生免疫耐受的机制之一,同时也是HBV逃避免疫攻击的又一条途径,对此进行干预可能成为新的免疫治疗手段。Chen等^[19]研究了46例慢性乙型肝炎患者,发现慢性乙型肝炎患者免疫耐受和免疫活化患者外周血DCs上PD-L1阳性表达率明显高于健康对照组;DCs刺激异体T淋巴细胞增殖及产生细胞因子的能力明显降低,阻断PD-L1共刺激信号途径能够增强患者DCs对T细胞的协同刺激能力。因此,慢性乙型肝炎患者外周血DCs上PD-L1表达水平的升高,是导致DCs刺激T淋巴细胞能力下降的一个重要原因。

3 PD-1/PD-L1与HBV T细胞耗竭

在抗病毒免疫中,有效而强大的T细胞免疫应答是清除病毒的关键,病毒感染的持续和慢性化均是由于效应和记忆性T细胞的功能缺陷所致,而已有的研究^[20-21]显示PD-1/PD-L1信号与T效应细胞的功能密切相关。

Maier等^[17]首次研究证实PD-1/PD-L1信号通路对表达完整HBV病毒复制子的HBV转基因小鼠体内HBV特异性T细胞功能有抑制作用。在此模型中,过继转移乙肝病毒特异性T细胞识别肝脏组织内的病毒抗原后分泌IFN- γ 。进一步研究发现^[22],尽管病毒抗原持续存在,抗原特异性T细胞分泌IFN- γ 的水平能被迅速抑制,这种功能的丧失与细胞表面的PD-1的表达水平相一致。通过阻断PD-1/PD-L1途径,过继转移的HBV特异性T细胞功能抑制可能会延迟发生。更为重要

的是, 这种相关性在慢性HBV感染的患者也得到实验证实^[16]. 慢性HBV感染患者外周血中乙肝病毒特异性T细胞功能受损, 并且表达高水平PD-1, 而在患者感染控制后的特异性T细胞具有完好的功能活性, 大幅度降低了PD-1的表达. 类似于其他慢性感染[LCMV和人类免疫缺陷病毒(HIV)], 通过阻断PD-1/PD-L1途径能够部分恢复T细胞的耗竭状态. 然而直到最近, 关于PD-1/PD-L1信号通路在T细胞耗竭的相关性研究^[23,24]才从病理学角度转向肝脏及其周围区室. Fisticaro等^[25]就慢性HBV感染患者肝脏内HBV特异性T细胞进行了研究, 分析显示T细胞功能障碍与高水平表达PD-1存在相关性, 阻断PD-1/PD-L1通路能够改善HBV特异性T细胞的功能. 然而与CMV相比, 这种病毒特异性T细胞功能的改善缺乏特异性. 此外, PD-1的抑制效果也表现在急性自限性乙肝病毒感染患者, 在HBV感染急性期, PD-1高水平表达与T细胞功能降低密切相关^[26]. 因此, 这一系列研究表明PD-1与HBV感染T细胞功能障碍有关.

关于PD-1/PD-L1通路在T细胞耗竭机制中的重要性目前说法不一. 研究表明^[27], 肝组织内乙肝病毒特异性T细胞耗竭除了增加细胞表面PD-1的表达, 还表达低水平的CD127, 这使得病毒特异性T细胞耗竭更加严重, 究其原因可能与高负载肝脏组织中病毒抗原有关. 另一方面, 外周T细胞功能衰竭程度较轻, 细胞表面CD127表达水平较高^[28]. 进一步研究表明^[29], 尽管肝脏原位HBV和HCV特异性T细胞功能衰竭程度相似, 然而两者对PD-1/PD-L1途径阻断的反应截然不同. 相对于外周T细胞, 阻断PD-1/PD-L1信号通路对于肝原位乙肝病毒特异性T细胞功能恢复似乎更明显^[25]. 相反, 在慢性HCV感染患者体内, 阻断PD-1/PD-L1信号通路未能使浸润肝脏的HCV特异性T细胞功能恢复^[30]. 将这些不同观点仅仅归结于病毒之间的差异似乎是一个虽然可能但很简单的结论, Franceschini等^[31]研究显示慢性丙型肝炎患者肝组织中汇聚大量PD-1阳性调节性T细胞, 该类细胞功能被增强. 此外, 结果也表明, 疾病的不同感染阶段是影响病毒特异性T细胞功能的关键因素. Gehring等^[32]研究证实, HBV相关性肝癌患者体内病毒特异性T细胞出现全面和彻底的功能耗竭, 而在HBV感染较早阶段, 病毒特异性T细胞功能比较完整. 以上研究结果提示PD-1/PD-L1信号通路并非是T细胞功能衰竭的唯一机制, 其机制仍有待深入研究.

到目前为止, 尽管所有的研究证实慢性乙肝病毒感染伴有PD-1高水平的表达, 表达PD-1的病毒特异性T细胞表现为功能衰竭, 然而越来越多的证据已经质疑PD-1是否为T细胞功能耗竭的决定因素. 既往研究^[33]表明, 急性自限性乙型肝炎急性期患者PD-1表达水平升高, 在这一阶段利用抗PD-1抗体阻断此途径导致乙肝病毒特异性T细胞功能的改善. 然而, 随着病情趋于好转, 即便PD-1的表达水平仍然升高, 阻断PD-1途径恢复HBV特异性T细胞增殖效应逐渐下降^[13]. 另一方面, 随着疾病的进展, 尽管高表达PD-1, 病毒特异性T细胞能恢复分泌IFN- γ 的能力^[13]. 由此看来, HBV感染T细胞表面PD-1的表达与T细胞功能障碍没有相关性, 将T细胞衰竭的原因归咎于PD-1/PD-L1途径是不准确的. Kassel等^[32]研究表明, 原代培养肝细胞的免疫组织化学染色显示慢性HBV感染者表达PD-L1的肝细胞百分比高于健康对照组; 该项研究同时发现, 非病毒性肝炎肝组织内表达PD-L1的细胞百分比也升高. 因此, 很难确定肝细胞PD-L1的表达是否真正有助于T细胞耗竭的发展, 或许他仅仅是减轻炎症反应而维持体内平衡的一种保护机制. 然而, Rutebemberwa等^[35]的研究结果与上述相反, 该项研究证实丙型肝炎病毒感染早期PD-1的表达水平与丙型肝炎病毒感染慢性进展直接相关. 因此, PD-1作为反应T细胞衰竭的可靠性和重要性仍有待于深入研究.

4 PD-1/PD-L1与乙型肝炎的治疗

4.1 阻断PD-1/PD-L1途径的潜在治疗作用 体外研究^[36]表明阻断PD-1/PD-L1途径能恢复外周血和肝脏HBV特异性T细胞的功能, 提示该方法对慢性HBV感染是一种潜在的治疗手段. 最近的研究^[37]进展进一步肯定了这种方法的治疗潜力, 阻断PD-1/PD-L1途径已经作为与T细胞衰竭相关的慢性病毒感染治疗的一种选择方式. Velu等^[38,39]将抗PD-1抗体导入猿猴免疫缺陷病毒(SIV)慢性感染的巨噬细胞, 研究证实该方法耐受性良好, 没有任何自身免疫反应发生, 能导致功能主导的病毒特异性T细胞在SIV储存池血液和肠道大量扩增. 此外, 封闭PD-1途径也诱导记忆性B细胞增殖以及SIV包膜特异性抗体水平的升高, 最终导致血浆病毒载量下降以及慢性SIV感染猕猴的生存率改善. 目前, 抗病毒治疗在慢性乙型病毒性肝炎的治疗中占重要地位. Evans等^[40]研究了替比呋啉或拉米夫定抗病毒治疗

■创新盘点

本文详述PD-1/PD-L1抑制性信号通路与乙型肝炎病毒感染机体发生发展的相关机制, PD-1/PD-L1抑制通路可能与慢性乙型肝炎病毒感染T细胞功能障碍有关, 阻断PD-1/PD-L1途径的具有潜在治疗作用, 为免疫治疗病毒性肝炎提供新的思路.

■应用要点

目前HBV感染后慢性化的确切机制尚不清楚, D-1/PD-L1抑制通路可能与慢性乙型肝炎病毒感染T细胞功能障碍有关, 这对于认识HBV感染的慢性化机制有着重要意义。

的HBeAg(+)的18例患者, 应用流式细胞术和RT-PCR方法, 结果发现PD-1的表达与病毒血症的水平密切相关, 抗病毒治疗后, PD-1表达明显降低, HBeAg血清学转换的患者较未达到HBeAg血清学转换的患者PD-1的表达明显降低。因此, HBV感染病毒血症水平和HBeAg促进PD-1的表达, 并导致T细胞功能的损伤, 经抗病毒治疗后, HBV复制被抑制, 从而使PD-1表达减少。尽管阻断PD-1通路在各种慢性病毒感染体内和体外实验证明行之有效, 但是病毒特异性T细胞功能恢复程度通常很小。Fisicaro等^[25]借助重叠肽库应用抗PD-1抗体对HBV特异性T细胞进行体外扩增, 结果大幅度增加IFN- γ 阳性T细胞百分比。然而对于实际诱导产生的IFN- γ 阳性T细胞数量, 应用抗PD-1抗体组与对照组没有明显差异。Nakamoto等^[30]在对慢性丙型肝炎患者的研究也证实了这点。因此, 虽然阻断PD-1通路无疑能改善耗竭性T细胞的功能活性, 但是这种恢复部分生理功能的T细胞的免疫学效应仍值得商榷。深入了解PD-1通路与T细胞功能的相关性应是阻断PD-1信号通路可以成为一个可行治疗的先决条件。

4.2 如何增强阻断PD-1/PD-L1途径的效应 体外封闭PD-1通路不能完全恢复病毒特异性T细胞功能的可能原因之一是T细胞表面存在多重抑制性受体的协同作用。Blackburn等^[41]分析了慢性LCMV感染小鼠模型与PD-1表达最密切相关的基因, 研究表明好几个细胞表面抑制性受体编码基因(例如Lag-3, CD244, CD160, CTLA-4)与PD-1表达高度相关。流式细胞仪多参数分析在蛋白质水平进一步证实了上述研究发现, 并揭示T细胞衰竭的严重程度与各种抑制性受体的数量和多样性有关。此外, 研究者发现PD-1和Lag-3联合阻断协同增加了T细胞功能活性。这项研究表明, T细胞衰竭现象是由多种抑制受体共表达、协同作用组成的一个复杂的网络。最近一项关于HIV抑制性受体的研究也支持这个观点, 研究结果表明耗竭性T细胞表面表达抑制性受体Tim-3, 没有PD-1的表达, 再次显示了抑制受体的多样性^[42]。Golden-Mason等^[43]也研究发现丙型肝炎病毒特异性T细胞过度表达Tim-3, 提示Tim-3也参与了肝炎病毒感染。Nakamoto等^[44]将PD-1和CTLA-4信号通路同时阻断, 观察HCV特异性CD8 T细胞耗竭程度的变化, 研究发现, 同时阻断PD-1和CTLA-4途径能协同作用于肝内HCV特异性CD8 T细胞而使T细胞耗竭程度

减轻。据此推断, 单一阻断抑制性受体PD-1对于改善慢性HBV感染T细胞耗竭程度并不能获得理想的结果。相反, 针对多个已知的抑制性受体采用组合方式进行阻断将更为可取。

众多研究^[45]表明, 共刺激信号缺乏能影响PD-1的阻断效应。通过共刺激途径提供正性刺激信号, 可以增加细胞内肿瘤坏死因子受体(TNFR)相关因子(TRAF)的水平, 减少Bim介导的病毒特异性CD8 T细胞消除, 提高耗竭细胞的功能^[46-48]。众所周知, PD-1是属于共刺激分子B7家族的一种免疫抑制分子, T细胞表面CD28分子与配体B7连接能够招募PI3K, 后通过Akt激活下游信号, 然而PD-1分子能够抑制PI3K通路。这说明PD-1和CD28分子共同使用PI3K进行信号传导, 这就为CD28分子信号增强PD-1的阻断效应提供了可能。体外实验已经证实了这种观点, Freeman等^[49-51]将人T细胞与包被有抗CD3激活抗体的磁珠以及PD-L1 Ig融合蛋白共同培养, 结果导致T细胞功能减低, 进一步研究发现这种抑制效果可以通过激活CD28的单克隆抗体克服。因此, 共刺激受体CD28不仅是CD8 T细胞功能恢复的标志, 而且代表了增强PD-1阻断效应的一种可行的手段。更为值得注意的是, 当通过CD3信号传导不是最佳状态时, CD28的共刺激效应更加明显, 这对于病原体持续感染具有重要意义^[49]。在慢性HBV感染者体内, 持续高病毒载量提供一种选择压力, 这种压力只选择对病毒表位具有较低亲和力的T细胞, 而那些对病毒表位具有高亲和力的T细胞慢慢被剔除。这种选择压力最终导致病毒特异性T细胞不能获得最佳TCR信号, T细胞功能活性需要通过增强CD28信号传导效应来完成。

HBV特异性T细胞耗竭涉及PD-1在内的多个抑制性受体以及共刺激分子, 阻断这些抑制性受体途径或增强共刺激信号通路能大大恢复病毒特异性T细胞功能。

5 结论

目前HBV感染后慢性化的确切机制尚不清楚, 尚缺乏一种行之有效的抗病毒治疗方案。HBV作为嗜肝性DNA病毒, 本身对肝细胞并没有损害, 在清除病毒和造成肝细胞损伤中起关键作用的是细胞毒性T淋巴细胞。PD-1/PD-L1抑制通路可能与慢性HBV感染T细胞功能障碍有关, 这对于认识HBV感染的慢性化机制有着重要意义。对于T细胞功能恢复和乙肝病毒特异性T细胞免

免疫功能重建, 干扰这个信号通路应是一个科学合理并且有前景的治疗策略, PD-1/PD-L1通路的精确调控可能为慢性乙型肝炎的治疗提供新的线索和思路. 然而, T细胞功能耗竭现象是一个复杂网络, 其中涉及多个抑制受体参与, 共同刺激受体表达下调, 甚至可能包括许多尚未被发现的其他机制. 因此, 结合目前关于T细胞耗竭的认识, 同时调节抑制性受体和共刺激途径可能是增强阻断PD-1疗效的最佳策略.

6 参考文献

- Asabe S, Wieland SF, Chattopadhyay PK, Roederer M, Engle RE, Purcell RH, Chisari FV. The size of the viral inoculum contributes to the outcome of hepatitis B virus infection. *J Virol* 2009; 83: 9652-9662
- Bertoletti A, Gehring AJ. The immune response during hepatitis B virus infection. *J Gen Virol* 2006; 87: 1439-1449
- Tan AT, Loggi E, Boni C, Chia A, Gehring AJ, Sastry KS, Goh V, Fiscaro P, Andreone P, Brander C, Lim SG, Ferrari C, Bihl F, Bertoletti A. Host ethnicity and virus genotype shape the hepatitis B virus-specific T-cell repertoire. *J Virol* 2008; 82: 10986-10997
- Dong H, Zhu G, Tamada K, Flies DB, van Deursen JM, Chen L. B7-H1 determines accumulation and deletion of intrahepatic CD8(+) T lymphocytes. *Immunity* 2004; 20: 327-336
- Crispe IN. Hepatic T cells and liver tolerance. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 51-62
- Iwai Y, Terawaki S, Ikegawa M, Okazaki T, Honjo T. PD-1 inhibits antiviral immunity at the effector phase in the liver. *J Exp Med* 2003; 198: 39-50
- Isogawa M, Furuichi Y, Chisari FV. Oscillating CD8(+) T cell effector functions after antigen recognition in the liver. *Immunity* 2005; 23: 53-63
- Mühlbauer M, Fleck M, Schütz C, Weiss T, Froh M, Blank C, Schölmerich J, Hellerbrand C. PD-L1 is induced in hepatocytes by viral infection and by interferon-alpha and -gamma and mediates T cell apoptosis. *J Hepatol* 2006; 45: 520-528
- Yamazaki T, Akiba H, Iwai H, Matsuda H, Aoki M, Tanno Y, Shin T, Tsuchiya H, Pardoll DM, Okumura K, Azuma M, Yagita H. Expression of programmed death 1 ligands by murine T cells and APC. *J Immunol* 2002; 169: 5538-5545
- Brooks DG, Lee AM, Elsaesser H, McGavern DB, Oldstone MB. IL-10 blockade facilitates DNA vaccine-induced T cell responses and enhances clearance of persistent virus infection. *J Exp Med* 2008; 205: 533-541
- Rehermann B, Nascimbeni M. Immunology of hepatitis B virus and hepatitis C virus infection. *Nat Rev Immunol* 2005; 5: 215-229
- Boni C, Fiscaro P, Valdatta C, Amadei B, Di Vincenzo P, Giuberti T, Laccabue D, Zerbini A, Cavalli A, Missale G, Bertoletti A, Ferrari C. Characterization of hepatitis B virus (HBV)-specific T-cell dysfunction in chronic HBV infection. *J Virol* 2007; 81: 4215-4225
- Zhang Z, Jin B, Zhang JY, Xu B, Wang H, Shi M, Wherry EJ, Lau GK, Wang FS. Dynamic decrease in PD-1 expression correlates with HBV-specific memory CD8 T-cell development in acute self-limited hepatitis B patients. *J Hepatol* 2009; 50: 1163-1173
- Zhang Z, Zhang JY, Wherry EJ, Jin B, Xu B, Zou ZS, Zhang SY, Li BS, Wang HF, Wu H, Lau GK, Fu YX, Wang FS. Dynamic programmed death 1 expression by virus-specific CD8 T cells correlates with the outcome of acute hepatitis B. *Gastroenterology* 2008; 134: 1938-1949, 1949.e1-e3
- 金波, 张纪元, 张政, 王慧芬, 王福生. PD-1表达对急性乙型肝炎患者HBV特异性CD8+T细胞功能的影响. *肝脏* 2008; 13: 310-314
- Bowen DG, Walker CM. Adaptive immune responses in acute and chronic hepatitis C virus infection. *Nature* 2005; 436: 946-952
- Maier H, Isogawa M, Freeman GJ, Chisari FV. PD-1: PD-L1 interactions contribute to the functional suppression of virus-specific CD8+ T lymphocytes in the liver. *J Immunol* 2007; 178: 2714-2720
- Peng G, Li S, Wu W, Tan X, Chen Y, Chen Z. PD-1 upregulation is associated with HBV-specific T cell dysfunction in chronic hepatitis B patients. *Mol Immunol* 2008; 45: 963-970
- Chen J, Wang XM, Wu XJ, Wang Y, Zhao H, Shen B, Wang GQ. Intrahepatic levels of PD-1/PD-L correlate with liver inflammation in chronic hepatitis B. *Inflamm Res* 2011; 60: 47-53
- Xu D, Fu J, Jin L, Zhang H, Zhou C, Zou Z, Zhao JM, Zhang B, Shi M, Ding X, Tang Z, Fu YX, Wang FS. Circulating and liver resident CD4+CD25+ regulatory T cells actively influence the antiviral immune response and disease progression in patients with hepatitis B. *J Immunol* 2006; 177: 739-747
- Shevach EM. CD4+ CD25+ suppressor T cells: more questions than answers. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 389-400
- Kassel R, Cruise MW, Iezzoni JC, Taylor NA, Pruett TL, Hahn YS. Chronically inflamed livers up-regulate expression of inhibitory B7 family members. *Hepatology* 2009; 50: 1625-1637
- Mataki N, Kikuchi K, Kawai T, Higashiyama M, Okada Y, Kurihara C, Hokari R, Kawaguchi A, Nagao S, Kondo T, Itoh K, Miyakawa H, Miura S. Expression of PD-1, PD-L1, and PD-L2 in the liver in autoimmune liver diseases. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 302-312
- Wherry EJ, Ha SJ, Kaech SM, Haining WN, Sarkar S, Kalia V, Subramaniam S, Blattman JN, Barber DL, Ahmed R. Molecular signature of CD8+ T cell exhaustion during chronic viral infection. *Immunity* 2007; 27: 670-684
- Fiscaro P, Valdatta C, Massari M, Loggi E, Biasini E, Sacchelli L, Cavallo MC, Silini EM, Andreone P, Missale G, Ferrari C. Antiviral intrahepatic T-cell responses can be restored by blocking programmed death-1 pathway in chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2010; 138: 682-93, 693.e1-e4
- Boettler T, Panther E, Bengsch B, Nazarova N, Spangenberg HC, Blum HE, Thimme R. Expression of the interleukin-7 receptor alpha chain (CD127) on virus-specific CD8+ T cells identifies functionally and phenotypically defined memory T cells during acute resolving hepatitis B virus infection. *J Virol* 2006; 80: 3532-3540
- Schott E, Witt H, Pascu M, van Boemmel F, Weich V, Bergk A, Halangk J, Müller T, Puhl G, Wiedenmann B, Berg T. Association of CTLA4 single nucleotide polymorphisms with viral but not autoimmune

■同行评价

本文具有较好的科学性, 创新性和可读性, 较好地反映了该领域的最新研究进展.

- liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007; 19: 947-951
- 28 Radziewicz H, Ibegbu CC, Fernandez ML, Workowski KA, Obideen K, Wehbi M, Hanson HL, Steinberg JP, Masopust D, Wherry EJ, Altman JD, Rouse BT, Freeman GJ, Ahmed R, Grakoui A. Liver-infiltrating lymphocytes in chronic human hepatitis C virus infection display an exhausted phenotype with high levels of PD-1 and low levels of CD127 expression. *J Virol* 2007; 81: 2545-2553
 - 29 Das A, Hoare M, Davies N, Lopes AR, Dunn C, Kennedy PT, Alexander G, Finney H, Lawson A, Plunkett FJ, Bertolotti A, Akbar AN, Maini MK. Functional skewing of the global CD8 T cell population in chronic hepatitis B virus infection. *J Exp Med* 2008; 205: 2111-2124
 - 30 Nakamoto N, Kaplan DE, Coleclough J, Li Y, Valiga ME, Kaminski M, Shaked A, Olthoff K, Gostick E, Price DA, Freeman GJ, Wherry EJ, Chang KM. Functional restoration of HCV-specific CD8 T cells by PD-1 blockade is defined by PD-1 expression and compartmentalization. *Gastroenterology* 2008; 134: 1927-1937, 1937.e1-e2
 - 31 Franceschini D, Paroli M, Francavilla V, Videtta M, Morrone S, Labbadia G, Cerino A, Mondelli MU, Barnaba V. PD-L1 negatively regulates CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Tregs by limiting STAT-5 phosphorylation in patients chronically infected with HCV. *J Clin Invest* 2009; 119: 551-564
 - 32 Gehring AJ, Ho ZZ, Tan AT, Aung MO, Lee KH, Tan KC, Lim SG, Bertolotti A. Profile of tumor antigen-specific CD8 T cells in patients with hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2009; 137: 682-690
 - 33 Kim HK, Guan H, Zu G, Li H, Wu L, Feng X, Elmetts C, Fu Y, Xu H. High-level expression of B7-H1 molecules by dendritic cells suppresses the function of activated T cells and desensitizes allergen-primed animals. *J Leukoc Biol* 2006; 79: 686-695
 - 34 Kassel R, Cruise MW, Iezzoni JC, Taylor NA, Pruett TL, Hahn YS. Chronically inflamed livers up-regulate expression of inhibitory B7 family members. *Hepatology* 2009; 50: 1625-1637
 - 35 Rutebemberwa A, Ray SC, Astemborski J, Levine J, Liu L, Dowd KA, Clute S, Wang C, Korman A, Sette A, Sidney J, Pardoll DM, Cox AL. High-programmed death-1 levels on hepatitis C virus-specific T cells during acute infection are associated with viral persistence and require preservation of cognate antigen during chronic infection. *J Immunol* 2008; 181: 8215-8225
 - 36 Golden-Mason L, Palmer B, Klarquist J, Mengshol JA, Castelblanco N, Rosen HR. Upregulation of PD-1 expression on circulating and intrahepatic hepatitis C virus-specific CD8⁺ T cells associated with reversible immune dysfunction. *J Virol* 2007; 81: 9249-9258
 - 37 Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology* 2007; 45: 507-539
 - 38 Velu V, Titanji K, Zhu B, Husain S, Pladevega A, Lai L, Vanderford TH, Chennareddi L, Silvestri G, Freeman GJ, Ahmed R, Amara RR. Enhancing SIV-specific immunity in vivo by PD-1 blockade. *Nature* 2009; 458: 206-210
 - 39 Limmer A, Ohl J, Kurts C, Ljunggren HG, Reiss Y, Groettrup M, Momburg F, Arnold B, Knolle PA. Efficient presentation of exogenous antigen by liver endothelial cells to CD8⁺ T cells results in antigen-specific T-cell tolerance. *Nat Med* 2000; 6: 1348-1354
 - 40 Evans A, Riva A, Cooksley H, Phillips S, Puranik S, Nathwani A, Brett S, Chokshi S, Naoumov NV. Programmed death 1 expression during antiviral treatment of chronic hepatitis B: Impact of hepatitis B e-antigen seroconversion. *Hepatology* 2008; 48: 759-769
 - 41 Blackburn SD, Shin H, Haining WN, Zou T, Workman CJ, Polley A, Betts MR, Freeman GJ, Vignali DA, Wherry EJ. Coregulation of CD8⁺ T cell exhaustion by multiple inhibitory receptors during chronic viral infection. *Nat Immunol* 2009; 10: 29-37
 - 42 Jones RB, Ndhlovu LC, Barbour JD, Sheth PM, Jha AR, Long BR, Wong JC, Satkunarajah M, Schwenker M, Chapman JM, Gyenes G, Vali B, Hyrcza MD, Yue FY, Kovacs C, Sassi A, Loutfy M, Halpenny R, Persad D, Spotts G, Hecht FM, Chun TW, McCune JM, Kaul R, Rini JM, Nixon DF, Ostrowski MA. Tim-3 expression defines a novel population of dysfunctional T cells with highly elevated frequencies in progressive HIV-1 infection. *J Exp Med* 2008; 205: 2763-2779
 - 43 Golden-Mason L, Palmer BE, Kassam N, Townshend-Bulson L, Livingston S, McMahon BJ, Castelblanco N, Kuchroo V, Gretch DR, Rosen HR. Negative immune regulator Tim-3 is overexpressed on T cells in hepatitis C virus infection and its blockade rescues dysfunctional CD4⁺ and CD8⁺ T cells. *J Virol* 2009; 83: 9122-9130
 - 44 Nakamoto N, Cho H, Shaked A, Olthoff K, Valiga ME, Kaminski M, Gostick E, Price DA, Freeman GJ, Wherry EJ, Chang KM. Synergistic reversal of intrahepatic HCV-specific CD8 T cell exhaustion by combined PD-1/CTLA-4 blockade. *PLoS Pathog* 2009; 5: e1000313
 - 45 Barber DL, Wherry EJ, Masopust D, Zhu B, Allison JP, Sharpe AH, Freeman GJ, Ahmed R. Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection. *Nature* 2006; 439: 682-687
 - 46 Sabbagh L, Srokowski CC, Pulle G, Snell LM, Sedgmen BJ, Liu Y, Tsitsikov EN, Watts TH. A critical role for TNF receptor-associated factor 1 and Bim down-regulation in CD8 memory T cell survival. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 18703-18708
 - 47 Wang C, Wen T, Routy JP, Bernard NF, Sekaly RP, Watts TH. 4-1BBL induces TNF receptor-associated factor 1-dependent Bim modulation in human T cells and is a critical component in the costimulation-dependent rescue of functionally impaired HIV-specific CD8 T cells. *J Immunol* 2007; 179: 8252-8263
 - 48 Penna A, Pilli M, Zerbini A, Orlandini A, Mezzadri S, Sacchelli L, Missale G, Ferrari C. Dysfunction and functional restoration of HCV-specific CD8 responses in chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2007; 45: 588-601
 - 49 Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, Bourque K, Chernova T, Nishimura H, Fitz LJ, Malenkovich N, Okazaki T, Byrne MC, Horton HF, Fouser L, Carter L, Ling V, Bowman MR, Carreno BM, Collins M, Wood CR, Honjo T. Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J Exp Med* 2000; 192: 1027-1034
 - 50 Kaplan DE, Sugimoto K, Newton K, Valiga ME, Ikeda F, Aytaman A, Nunes FA, Lucey MR, Vance

BA, Vonderheide RH, Reddy KR, McKeating JA, Chang KM. Discordant role of CD4 T-cell response relative to neutralizing antibody and CD8 T-cell responses in acute hepatitis C. *Gastroenterology* 2007; 132: 654-666

51 Urbani S, Amadei B, Fisicaro P, Tola D, Orlandini A, Sacchelli L, Mori C, Missale G, Ferrari C. Outcome of acute hepatitis C is related to virus-specific CD4 function and maturation of antiviral memory CD8 responses. *Hepatology* 2006; 44: 126-139

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

百世登出版集团推出 12 种开放获取生物医学期刊全部被 PubMed 和 PMC 收录

本刊讯 由美国国立医学图书馆(U.S. National Library of Medicine, 简称NLM), 美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, 简称NCBI)和美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, 简称NIH), 共同于2010-2011年, 收录了百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group Co., Limited, 简称BPG)出版的12种开放获取生物医学期刊. 12种期刊被NLM, NCBI和NIH共同主办的PubMed Central和PubMed平台, 公开面向全球发布, 读者免费阅读和下载全文. 12种期刊被收录的名称及网址如下:

- 1 World Journal of Biological Chemistry (世界生物化学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1495/>
- 2 World Journal of Cardiology (世界心脏病学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1320/>
- 3 World Journal of Clinical Oncology (世界临床肿瘤学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1494/>
- 4 World Journal of Diabetes (世界糖尿病杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1498/>
- 5 World Journal of Gastrointestinal Endoscopy (世界胃肠内镜杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1323/>
- 6 World Journal of Gastrointestinal Oncology (世界胃肠肿瘤学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1324/>
- 7 World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology (世界胃肠病理生理学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1496/>
- 8 World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics (世界胃肠药理学与治疗杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1497/>
- 9 World Journal of Gastrointestinal Surgery (世界胃肠外科杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1325/>
- 10 World Journal of Hepatology (世界肝病学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1321/>
- 11 World Journal of Radiology (世界放射学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1322/>
- 12 World Journal of Stem Cells (世界干细胞杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1470/>

(总编辑: 马连生2011-05-30)