

核苷(酸)类似物抗病毒治疗对慢性乙型肝炎患者细胞免疫功能的影响

陈宇, 邱隆敏, 姚新生, 庄勤建, 吕红

陈宇, 邱隆敏, 庄勤建, 吕红, 遵义医学院附属医院感染科 贵州省遵义市 563003

姚新生, 遵义医学院免疫学教研室 贵州省遵义市 563003

作者贡献分布: 本综述由陈宇完成; 邱隆敏与姚新生负责审校; 庄勤建与吕红协助发表。

通讯作者: 邱隆敏, 主任医师, 563003, 贵州省遵义市大连路149号, 遵义医学院附属医院感染科. qiu128@163.com

收稿日期: 2012-07-29 修回日期: 2012-11-30

接受日期: 2012-12-16 在线出版日期: 2012-12-18

Effect of antiviral treatment with nucleoside and nucleotide analogues on cellular immune function in patients with chronic hepatitis B

Yu Chen, Long-Min Qiu, Xin-Sheng Yao,
Qin-Jian Zhuang, Hong Lv

Yu Chen, Long-Min Qiu, Qin-Jian Zhuang, Hong Lv,
Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of
Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province,
China

Xin-Sheng Yao, Department of Immunology, Zunyi Medical
College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Correspondence to: Long-Min Qiu, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 149 Dalian Road, Zunyi 563003, Guizhou Province, China. qiu128@163.com

Received: 2012-07-29 Revised: 2012-11-30

Accepted: 2012-12-16 Published online: 2012-12-18

Abstract

China is a country where hepatitis B virus (HBV) infection is highly endemic, and a large sample survey shows that chronic HBV infection affects as many as 120 million people in China. Since immune response dysregulation caused by persistent HBV infection and replication is the underlying cause of disease progression in patients with chronic hepatitis B (CHB), effective antiviral therapy should be given to halt the progression of the disease. Nucleoside and nucleotide analogues have been generally accepted as effective anti-HBV drugs and widely used in the clinical setting. They exert antiviral effects against HBV mainly by inhibition of DNA polymerase-mediated DNA replication. In addition, nucleoside and nucleotide analogues

also have an impact on the body's immune function. In this article we review recent progress in understanding the effect of antiviral treatment with nucleoside and nucleotide analogues on cellular immune function in CHB patients.

Key Words: Nucleoside and nucleotide analogues; Chronic hepatitis B; Cellular immunity

Chen Y, Qiu LM, Yao XS, Zhuang QJ, Lv H. Effect of antiviral treatment with nucleoside and nucleotide analogues on cellular immune function in patients with chronic hepatitis B. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(35): 3521-3528

摘要

我国是乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染的高流行区, 大样本的调查显示我国慢性HBV感染者高达1.2亿人。由于持续HBV感染及复制激发的免疫应答失调是慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者病情进展的根本原因, 要阻止疾病进展, 应进行有效的抗病毒治疗。核苷(酸)类似物是目前公认有效的抗HBV的药物之一, 被广泛应用于临床, 主要通过抑制DNA聚合酶的复制从而发挥抗HBV作用。其在有效抗病毒治疗的同时对机体细胞免疫功能有何影响。本文就近年来此方面的研究进展进行综述。

关键词: 核苷(酸)类似物; 慢性乙型肝炎; 细胞免疫

陈宇, 邱隆敏, 姚新生, 庄勤建, 吕红. 核苷(酸)类似物抗病毒治疗对慢性乙型肝炎患者细胞免疫功能的影响. *世界华人消化杂志* 2012; 20(35): 3521-3528

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/3521.asp>

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染人体后, 机体的免疫反应决定疾病的发生、发展与转归, 细胞免疫功能异常是造成HBV持续感染的主要原因之一。近年的研究发现核苷类似物在抑制病毒复制的同时, 可能会使慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者的细胞免疫功

■背景资料

我国是乙型肝炎病毒(HBV)感染的高发区。目前认为宿主免疫调控的异常是导致慢性肝损伤的主要原因, 而持续HBV感染及复制激发的免疫应答失调是慢性乙型肝炎(CHB)病情进展的根本原因, 抗病毒治疗是阻止疾病进展有效的治疗方法, 核苷(酸)类似物是目前公认有效的抗HBV的药物之一。核苷(酸)类似物在抑制病毒复制的同时对细胞免疫功能有何影响成为研究热点。

■同行评议者

王怡, 主任医师, 天津市传染病医院, 天津市肝病研究所

■相关报道

国内外大量研究发现CHB患者核苷(酸)类似物抗病毒治疗后对CD8⁺T淋巴细胞、树突状细胞(DC)、Tregs细胞及辅助T细胞在一定程度上有所影响。

能得到一定程度的恢复。

1 CHB患者核苷类似物抗病毒治疗后CD8⁺T淋巴细胞的变化

慢性HBV感染中, 机体清除HBV分为特异性和非特异性两种方式。目前认为: 机体内病毒特异性细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic lymphocyte, CTL)清除HBV主要是通过细胞毒途径和非溶胞途径^[1]。而非溶胞途径特异性T淋巴细胞只是清除了靶细胞内的病毒, 而对靶细胞本身并无损害。实验研究表明在CTL清除病毒过程中, 非溶胞途径可能扮演着更重要的作用^[2]。当机体HBV特异性CTL反应不足, 不能有效清除HBV时, 启动非特异性CTL产生肝脏炎症反应引起肝细胞损伤。Zhou等^[3]对70例HBV DNA阳性的CHB患者(其中45例HBeAg阳性)给予阿德福韦酯治疗, 10 mg口服, 1次/d。治疗12 mo后观察HBeAg的血清转换和HBV特异性CTL之间的关系; 结果表明阿德福韦酯治疗12 mo, HBV特异性CTL明显高于治疗前。在45例e抗原阳性病例中, e抗原转阴13例, HBeAg发生血清学转换8例, HBeAg血清学转换的患者HBV特异性CTL比未发生HBeAg血清学转换的患者高, 得出结论阿德福韦酯可提高CHB患者HBV特异性细胞免疫功能, 同时治疗后发生HBeAg血清转换与HBV特异性CTL水平增加有关。陈月等^[4]观察了15例阿德福韦酯抗病毒治疗有效的CHB患者动态T淋巴细胞数量的变化。治疗6 mo和1年时, CD4⁺T及CD4⁺/CD8⁺T比值显著提高。表明阿德福韦酯能在一定程度上改善CHB患者淋巴细胞亚群的功能活性。Boni等^[5]研究显示拉米夫定抗病毒治疗也可恢复CHB患者的CTL反应。

T细胞在HBV感染中作为主要的效应细胞, 与病毒的清除及由此造成的免疫病理损伤直接相关。程序性细胞死亡受体1(programmed death 1, PD-1)是新发现的免疫抑制性共刺激分子, 与其配体PD-L1和PD-L2结合, 可削弱、限制或终止T细胞的功能^[6,7]。近年研究^[8,9]表明, 长期的HBV抗原刺激可能诱导了CD8⁺ CTL上PD-1的表达, 且PD-1表达与血清HBV DNA载量呈正相关, 目前认为HBV特异性CD8⁺ CTL功能衰竭现象与PD-1/PD-L1抑制性信号通路密切相关, 阻断PD-1/PD-L1信号通路可部分恢复CD8⁺ CTL的增殖能力。夏娟等^[10]对20例HBeAg阳性 CHB患者予恩替卡韦抗病毒治疗并随访51 wk。根据是否发生e抗原血清学转换分为HBeAg未转换

组(14例)和HBeAg转换组(6例)。在治疗前及治疗后不同时间点检测外周血T淋巴细胞表面PD-1的表达水平、血清HBV DNA载量、丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)水平; 结果显示恩替卡韦抗病毒治疗后两组患者血清HBV DNA载量、ALT水平的下降与CD4⁺和CD8⁺T细胞表面PD-1表达的下调呈明显正相关。在相同随访时间段内HBeAg转换组血清HBV DNA载量、ALT水平的下降与CD4⁺和CD8⁺T细胞表面PD-1表达下降程度均高于HBeAg未转化组。研究证实HBeAg阳性CHB患者经恩替卡韦抗病毒治疗后外周血CD8⁺T细胞表面PD-1表达的快速下调可作为预测后期HBeAg血清学转换的指标之一。Evans等^[11]通过对18例HBeAg阳性CHB患者进行抗病毒治疗, 观察e抗原血清转换和病毒载量水平变化对T细胞表面PD-1表达的影响。研究发现治疗过程中, 在降低病毒载量和抗原数量的同时, 可以有效地降低T细胞表面PD-1的表达。上述研究发现有效抗病毒治疗可下调CHB患者CD8⁺T细胞上PD-1表达, 且与疗效相关。但目前的研究对CD8⁺CTL上PD-1/PD-L1通路与其他免疫细胞间的关系及其在抗HBV中的具体机制仍未阐明。

2 CHB患者核苷类抗病毒治疗后树突状细胞的变化

树突状细胞(dendritic cells, DC)是哺乳动物体内功能最强也是唯一能激活静止型T细胞的抗原递呈细胞(antigen-presenting cell, APC), 能诱导特异性的免疫应答。在激活T细胞, 介导的免疫应答中具有关键作用^[12,13]。造血干细胞产生两种DC亚群: 髓细胞样DC(myeloid DC, mDC)及浆细胞样DC(plasmacytoid DC, pDC)。mDC产生白介素(interleukin, IL)-12及IL-15。这两个细胞因子会刺激自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)分泌干扰素(interferon, IFN)- γ 。促进CD4⁺辅助T细胞(helper T cells, Th)分化为Th1细胞。还促进CD8⁺T细胞分化为细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL); 这些细胞通过释放细胞溶解介质如颗粒酶等直接杀伤受感染细胞, 或通过分泌Th1型细胞因子来间接杀伤受感染细胞, 最终达到清除病毒的作用^[14]。在循环中DC有两种前体: DC1和DC2, 慢性HBV感染者外周血DC功能缺陷或表型不成熟, 可能导致DC不能有效递呈HBV抗原而造成细胞免疫功能异常, 导致机体不能发挥免疫清除效应^[15,16]。研究也表明,

HBV感染者外周血DC在数量、特异性免疫应答功能以及表达共刺激分子上均呈现不同程度的低下^[17-19]。这也是造成HBV持续感染的主要原因之一。

Beckebaum等^[20]研究显示CHB患者与正常人相比, pDC总量无明显变化, 但pDC1与pDC2的比值明显降低; 经培养显示, DC1表面共刺激分子和主要组织相容性抗原系统(major histocompatibility system, MHC)分子表达下降, 经刺激混合淋巴细胞反应(mixed lymphocyte reaction, MLR)降低, 而非病毒性慢性肝损伤患者DC1及MLR正常, 表明CHB患者的DC1功能缺陷不是因为肝细胞炎症所致, 而是病毒感染的结果。何登明等^[21]通过对29例CHB患者给予拉米夫定抗病毒治疗, 检测拉米夫定治疗前后血清IL-12水平的变化, 探讨拉米夫定治疗对机体免疫功能的影响。结果证实完全应答组在治疗第3月血清IL-12水平达到高峰, 提示高水平的IL-12有助于机体发挥免疫清除HBV的作用, 促使HBeAg/HBeAb转换; 6例完全应答者在第3-6月均已经出现了HBeAg/HBeAb转换, 转换后血清IL-12仍保持一定水平, 以维持机体对HBV的免疫压力, 保证疗程结束后完全应答的实现。HBeAg阴性的CHB患者拉米夫定治疗后血清IL-12水平升高幅度较低, 有些时向点与治疗前比较并无差异, 以至于不能维持有效的抗HBV免疫, 可能是此类患者治疗效果差的原因之一。血清IL-12水平在拉米夫定疗程中的变化提示他可能在预测早期疗效方面有一定的指导意义。在治疗的第3-6月时评价机体Th1细胞恢复的程度, 可间接反映机体免疫功能的恢复情况。Akbar等^[22]通过对拉米夫定治疗前及治疗后1、3、12 mo. 从23例CHB患者的外周血中分离出DC细胞(DC细胞的非抗原特异性增殖是通过同种异体混合白细胞反应检测法进行评估的)。将HBsAg与DC细胞共培养, 以制备HBsAg冲击DC细胞。继而, 对HBsAg冲击DC细胞中IL-12和IFN- γ 的增殖能力和合成进行了评估。旨在考察抗原递呈DC在此类患者免疫恢复过程中所起的作用。得出结论: 拉米夫定治疗前与治疗1 mo后相比, 后者HBsAg冲击DC细胞在促进T细胞增殖的能力方面显著增高($P<0.05$)。同时, HBsAg冲击DC细胞产生的IL-12和IFN- γ 水平也显著升高($P<0.05$)。经拉米夫定治疗, 患者体内的HBsAg冲击DC细胞以抗原特异性的方式诱导了CHB患者体内的T细胞增殖($P<0.05$)。然而,

与拉米夫定治疗后1 mo相比, 治疗后3、12 mo的DC细胞对T细胞的刺激能力并无明显增高。拉米夫定治疗引起的机体免疫功能恢复可能部分是受活化的DC细胞调节的。然而, 随着治疗时间的延长, 患者体内DC活性并未见不断增强。这表明DC细胞在有效清除HBV方面还存在一定的局限性。

Li等^[23]对16例拉米夫定抗病毒治疗有效的CHB患者动态观察48 wk, 16例患者中, 11例治疗持续有效, 未发生YMDD变异, 5例发生病毒变异。观察发现: 拉米夫定治疗持续有效组, DC表面共刺激分子CD80、CD40的表达可随着HBV被长时间有效抑制而得到部分恢复, 同时伴随有外周血CD4⁺T细胞比例上升和NK细胞比例下降。而发生YMDD变异组, DC表面HLA-DR呈现持续性降低。淋巴细胞亚群均无明显变化。抗病毒48 wk时, 11例抗病毒有效患者DC1周围的树突明显增多, 簇聚现象明显, DC1的数量明显增加。促进Th1细胞分化。介导细胞免疫应答。有利于HBV DNA清除。而5例抗病毒后出现病毒变异患者DC1形态、数量变化不明显, 且Chen等^[24]研究证实: 在HBV持续感染期间, CHB患者DC的表型变化及表达下调与外周血HBV DNA载量间差异无统计学意义, 由此推测可能在抗病毒过程中由于变异株的出现使DC不能被活化, 对DC功能产生了影响。而变异株是通过什么免疫机制对DC功能进行影响, 目前这方面尚无报道。是否可通过上调DC表面某些共刺激分子, 在抗病毒过程中阻止病毒发生变异, 达到更好的疗效, 还有待进一步临床研究。

3 CHB患者核苷类似物抗病毒治疗后Tregs细胞的变化

Tregs细胞是近年发现的具有免疫抑制功能的细胞亚群。约占正常人外周血CD4⁺T细胞的5%-10%, 也是目前发现最重要的专职免疫抑制性T细胞, 他以免疫负向调节的方式来抑制自身免疫反应, 对多种刺激呈低反应状态^[25]。天然调节T细胞表达标志性叉头翼状螺旋转录因子Foxp3。对Tregs的产生、发育以及在控制T细胞活化、维护自身稳定方面发挥关键作用^[26-28]。

近年研究表明, CD4⁺CD25⁺T调节性细胞可以抑制HBV特异性CD4⁺与CD8⁺T细胞的活化与增殖。一方面导致病毒的持续感染^[29]; 另一方面有利于抑制过度的免疫病理损伤。Xu等^[30]通过对16例AHB患者、76例CHB患者和

■创新盘点

本文对核苷(酸)类似物抗病毒治疗对CHB患者细胞免疫功能影响的相关研究进行了总结, 并探讨核苷(酸)类似物抗病毒效果与CHB患者免疫状态的关系, 进一步为CHB患者核苷(酸)类似物与免疫调节的联合治疗奠定基础。

■创新盘点

从4个方面分析核苷(酸)类似物治疗CHB时,对患者细胞免疫功能的影响,进一步探讨核苷(酸)类似物抗病毒效果与CHB患者免疫状态的关系,并为CHB的抗病毒治疗提供理论基础和新的思路,并为个体化治疗提供新的策略。

29例慢性肝衰竭患者外周血循环和肝脏中浸润的CD4⁺CD25⁺调节性T细胞的频率、表型特征和对抗病毒应答的影响等进行研究发现,慢性肝衰竭患者外周血循环和肝脏中浸润的CD4⁺CD25⁺调节性T细胞的频率显著增加。AHB患者CD4⁺CD25⁺调节性T细胞的频率最初较低,随着时间推移,恢复期循环CD4⁺CD25⁺调节性T细胞数量增加,最终恢复到正常水平。CHB患者外周血中Treg细胞的水平明显升高,且随着外周血中病毒载量的下降,Treg细胞的含量也逐渐减少。Treg细胞水平与其病毒载量呈正相关,分离得到的Treg细胞具有诱导形成HBV抗原特异性Treg的能力,HBV抗原特异性Treg则促进HBV感染的慢性化。巫翠萍等^[31]采用流式细胞术检测50例CHB患者和20例健康对照组外周血中CD4⁺CD25^{high}、CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Tregs的表达。同时采用荧光定量PCR法检测血清HBV DNA含量。结果显示:CHB患者外周血中CD4⁺CD25^{high}Tregs明显高于健康对照组,且随着血清HBV DNA载量增加,患者外周血中CD4⁺CD25^{high}Tregs的水平也逐渐升高。CHB患者外周血中CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Tregs也相应增高,且与CD4⁺CD25^{high}Tregs的变化成正相关。多数研究表明外周血中Treg细胞的数量在CHB患者是明显增加的,这可能与抗原的反复刺激有关。但也有报道^[32]提示CD4⁺CD25⁺T调节性细胞的数量在CHB患者与正常人并无明显差异。

Treg细胞对DC共刺激分子表达及致炎细胞因子分泌具有阻遏作用,处于待激活状态的Treg细胞能明显抑制由Toll受体介导骨髓来源DC的成熟。DC的成熟障碍导致DC功能明显低下,抗原递呈能力不足,使得机体无法发挥正常的免疫功能是CHB产生免疫耐受的原因之一。研究表明,Treg细胞可在体外诱导DC共刺激分子CD80和CD86的下调,且下调幅度非常明显,其原因是Treg抑制了DC对T细胞增殖反应的诱导。进一步分析发现,Treg的下调作用可被细胞毒性T淋巴细胞关联基因4(cytotoxic T-lymphocyte associated gene-4, CTLA-4)快速阻断^[33],因此认为,Treg对DC的下调是通过CTLA-4依赖途径对DC共刺激分子进行下调实现的。尽管目前已经在人类肝脏中检出Treg细胞的存在。但对于Treg细胞在肝组织中募集和驻留的分子基础仍不清楚。有研究发现:与外周血Treg细胞相比,肝脏浸润的Treg细胞表达相似水平的Foxp3、CTLA-4

和CD127,但表达更高水平的CD27。Stoop等^[34]对CHB患者肝内Treg细胞的表型进行研究。结果发现患者肝内存在CD4⁺Foxp3⁺细胞,但是不表达CD25,而且低表达HLA-DR和CTLA-4。肝内Treg细胞的数量与HBV DNA呈正相关。

Stoop等^[35]对应用阿德福韦降低病毒载量对Treg细胞和HBV特异性T细胞的影响进行了观察。结果发现随着病毒载量的下降,Treg细胞的数量明显减少。同时伴随HBcAg特异性IFN- γ 的产生或增殖水平的升高,但IL-10的产生并没有减少。阿德福韦治疗使病毒载量下降,导致循环中Treg细胞数量减少,同时伴随免疫应答的部分恢复。张梦军等^[36]对替比夫定抗病毒治疗22例CHB患者,在治疗前及治疗后3、6 mo时,分别以流式细胞仪检测外周血CD4⁺CD25⁺CD127^{low}T细胞和CD8⁺CD25⁺T细胞比例,分析其与HBV DNA、HBeAg、ALT等指标之间的关系,结果显示CHB患者外周血中CD4⁺CD25⁺CD127^{low}T细胞和CD8⁺CD25⁺T细胞比例显著高于对照组,替比夫定治疗3 mo时,这两群细胞比例显著下降,Foxp3 mRNA的表达也显著下降。对于HBV DNA水平降至检测水平以下的CHB患者,其CD4⁺CD25⁺CD127^{low}T细胞也降至正常水平。治疗3、6 mo后,HBeAg转阴率分别为9.1%和18.2%,发生HBeAg血清学转换者CD4⁺CD25⁺CD127^{low}T细胞和CD8⁺CD25⁺T细胞比例均降至正常水平。因此替比夫定在快速抑制病毒复制的同时CD4⁺CD25⁺CD127^{low}T细胞和CD8⁺CD25⁺T细胞比例显著下调,可能降低了Treg对HBV特异性T淋巴细胞的抑制作用,增强了机体的免疫应答。Pan等^[37]研究也发现替比夫定抗病毒治疗过程中,能降低CHB患者外周血Tregs比例,治疗早期Tregs比例下降的患者HBeAg血清学转换率更高。有研究对CHB患者进行恩替卡韦或阿德福韦酯抗HBV病毒治疗^[38],观察治疗前及治疗后12、24、36、48 wk调节性T细胞变化。在治疗后24 wk观察到恩替卡韦组及阿德福韦酯组Tregs细胞均开始下降。通过上述研究发现CHB患者抗病毒治疗后可使Treg频率下降,免疫耐受现象得以逆转。但是Tregs在HBV感染过程中是怎样发挥免疫抑制作用,是通过影响患者体内的免疫状态从而影响Treg的频率,还是本身就具有抑制Treg的能力,现在仍不清楚。在CHB患者抗病毒治疗过程中是否可以通过降低Treg的频率从而达到更高的HBeAg血清学转换,尚有待于进一步研究。

4 CHB患者核苷类似物抗病毒治疗后辅助T细胞的变化

4.1 Th1/Th2细胞 Th1/Th2细胞失衡在乙型肝炎慢性化的发生机制中起着重要作用。既往研究对HBV慢性感染者外周血中Th1、Th2细胞的数量和Th1/Th2细胞的比值报道不一^[39-41]。Böcher等^[42]认为HBV的持续存在与HBsAg特异性的Th1细胞的缺陷密切相关。有学者对Th1类细胞清除HBV的机制作了进一步的研究。Gao等^[43]的研究结果表明, 在体外HBcAg特异性的HLA-DR13限制的Th1类细胞可以溶解携带HBcAg肽段的EB病毒转染的淋巴母细胞, 相同类型的Th1类细胞在体内能溶解HBcAg结合或特异性的B细胞, 从而起到清除HBV感染的作用。Zhang等^[44]对HBeAg阳性CHB患者进行替比夫定抗病毒治疗后血清T淋巴细胞亚群Th1/Th2细胞因子水平进行动态观察。于0、4、8、12、24、48 wk时检测IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IFN- γ 及TNF- α 水平。观察到完全应答组Th1细胞因子水平高于其他3组, 而Th2细胞因子则低于其他各组, 但各组之间差异无统计学意义。完全应答组IL-2、IFN- γ 、TNF- α 在替比夫定治疗12 wk起及其后各时间点较基线时明显升高, 差异有统计学意义。部分应答组IFN- γ 水平在替比夫定治疗24 wk起明显升高。无应答组于治疗48 wk时IL-6、IL-10水平较基线时明显升高。在病毒学突破组自服药24 wk起的IL-4水平及服药12 wk起的IL-6水平与基线相比, 逐渐升高, 且差异具有统计学意义。因此, Th1/Th2细胞因子水平对替比夫定治疗HBeAg阳性CHB患者的转归有一定相关性。这可能与替比夫定治疗后CHB患者免疫功能在一定程度上有所改善有关。Piao等^[45]研究22例CHB患者接受阿德福韦酯治疗, 每日口服10 mg。监测治疗前后血液中的IL-2、IFN- γ 、TNF- α 、IL-4、IL-6和IL-10细胞因子变化, 以10名健康志愿者作为对照组。观察到在CHB患者的6种细胞因子与健康对照组比较明显降低, 并在接受阿德福韦酯治疗后4、12和24 wk显著增加; 完全应答组的6种细胞因子的水平明显高于部分应答组。结果表明阿德福韦酯治疗可增加Th1/Th2细胞的功能。这同罗芳琼等^[46]研究结果一致。Th1、Th2型细胞因子在治疗后均上升, 分析可能是抗病毒治疗后Th1细胞因子的升高, 有利于HBV清除, 而Th2细胞因子升高, 抑制过强免疫反应, 减轻肝细胞炎症, 使HBV不能彻底清除。虽然阿德福韦酯具体通过何种途径调节免疫还不清楚,

但细胞因子网络是一个复杂、相互抑制、相互协调的网络系统, 因此出现了在Th1型细胞因子增加的过程中, Th2分泌的细胞因子亦增加, 而这与Zhang等^[44]的研究结果不一致, 推测可能与检测方法不同或选择病例的轻重不同有关。朱斌等^[47]研究结果显示: T细胞亚群Th1/Th2细胞因子与慢性乙肝替比夫定抗病毒治疗后血清ALT恢复正常, HBV DNA含量下降及HBeAg阴转及血清学转换相关, Th1/Th2亚群细胞因子平衡是促进肝功能ALT恢复、HBV DNA载量下降的重要因素之一, HBeAg阴转及血清学转换率可能与替比夫定能上调Th1细胞因子表达水平有关。宋春辉等^[48]对恩替卡韦抗病毒治疗与CHB患者外周血Th1及Th2细胞变化的研究发现ETV在有效抑制病毒复制的同时, 体内Th1类免疫反应下降而Th2类免疫反应不足, 提示体内炎症反应减轻, 但同时机体清除病毒的能力也被削弱。核苷酸类似物抗病毒治疗在抑制HBV复制、改善患者肝细胞功能的同时, 也改善了患者Th1/Th2细胞因子平衡。这种细胞因子的改善是病毒抑制的结果还是存在其他原因, 还有待于进一步研究。

4.2 Th17细胞 IL-17是Th17细胞分泌的免疫调节因子。而IL-23是维持Th17分化及功能的细胞因子。IL-23/IL-17信号通路是Th17细胞的活化和维持的关键通路。其在多种炎症性疾病中都起重要作用。有研究表明: IL-17也参与HBV在人体中的致病过程^[49]。Wang等^[50]通过对39例急性肝衰竭患者、71例CHB患者和32例健康对照。分析Foxp3表达模式和IL-23/IL-17通路在HBV感染中的作用。CHB患者外周血及肝组织内FOXP3 mRNA表达明显升高。肝内的FOXP3表达水平与患者血液中的HBV DNA水平及乙肝表面抗原(Hepatitis B surface antigen, HBsAg)浓度明显呈正相关。与健康对照组相比, CHB患者肝脏内的IL-23/IL-17信号通路相关的促炎因子也明显升高, 且与FOXP3的表达水平升高呈正相关。HBV感染的肝脏内IL-23/IL-17信号通路的活化并没有有效地被宿主的Treg细胞所抑制。因此, IL-23/IL-17信号通路可能是维持HBV病毒持续性感染的另一个机制。然而FOXP3⁺Treg细胞与Th17细胞(IL-23/IL-17信号通路)在HBV感染患者体内的关系至今尚未见报道。

Zhang等^[51]通过对9例HBeAg阳性CHB患者采用恩替卡韦治疗12 mo, 对Treg细胞和Th17细胞比率进行研究, 发现在恩替卡韦抑制病毒复

同行评价

本文讨论了核苷(酸)类似物抗病毒治疗对CHB患者细胞免疫功能的影响, 具有一定新意, 条理清晰, 有较好的临床指导意义。

制的同时Th17细胞于1、9 mo时均高于基线水平, 12 mo时下降到基线水平。Treg细胞减少, 导致Treg/Th17比率显著下降。Th17细胞升高可能意味着患者体内免疫平衡被打破, 出现了强烈的炎症反应有助于HBV清除, 但也可能由于促进炎症发展而引起肝细胞的损害, 而在后期出现的下降则可能是由于恩替卡韦对病毒复制的持续抑制, 使体内清除病毒的免疫反应消失, 从而降低体内的炎症反应, 延缓疾病的进程。这可能是恩替卡韦抗病毒治疗过程中, HBV持续存在的原因。核苷类似物抗病毒治疗, 并不能彻底清除病毒, 当停止用药或出现耐药时随着病毒载量的升高, Th17细胞就有可能再次升高, 加重肝脏炎症反应。因此, 核苷类似物抗病毒治疗能够有效抑制HBV的复制, 同时抑制体内过强的免疫反应, 避免肝细胞进一步损害, 但同时削弱机体清除病毒的能力, 需要和其他免疫治疗联合应用以达到清除病毒、保护肝脏的目的。

5 结论

核苷类似物抗HBV治疗主要是通过抑制DNA聚合酶的复制, 从而抑制HBV DNA的合成, 理论上他并不会改善机体的免疫功能。目前的研究表明, 随着HBV被长期的抑制, CHB患者的细胞免疫功能会得到一定程度的提高, 免疫耐受被打破^[52]。但是对于CHB患者免疫功能的增强在核苷类似物抗病毒治疗过程中到底扮演了什么样的角色, 对疾病的恢复及疗效的判断有无临床指导意义, 能否作为长期治疗患者停药的一个参考指标, 是否能作为预测病毒耐药的指标, 都有待于更深入的研究。

全面地认识免疫细胞在抗病毒感染方面的重要作用, 有助于更深刻地理解HBV持续感染的免疫学机制, 并为CHB的抗病毒治疗提供理论基础和新的思路, 并为个体化治疗提供新的策略。临床上不同的CHB患者对核苷(酸)类似物抗病毒治疗的反应差别很大, 了解免疫效应细胞与免疫抑制细胞间关系对维持正常免疫应答清除HBV的作用, 更好地评价CHB患者的免疫状态, 能够为核苷(酸)类似物抗病毒治疗与免疫调节的联合治疗奠定基础。

6 参考文献

- Rehermann B. Intrahepatic T cells in hepatitis B: viral control versus liver cell injury. *J Exp Med* 2000; 191: 1263-1268
- Bertoletti A, Ferrari C. Kinetics of the immune response during HBV and HCV infection. *Hepatology* 2003; 38: 4-13
- Zhou YL, Wang XC, Wu YT, Tan YF, Zhao YP, Tang JM, Pan JQ, Yang ZX, Gu XB. [Relationship between HBeAg seroconversion with genotypes and HBV specific CTL in patients with chronic hepatitis B treated with Adefovir dipivoxil]. *Zhonghua Shiyian He Linchuang Bingduxue Zazhi* 2011; 25: 220-223
- 陈月, 陈洪涛, 吴诗品, 周雅莹, 方爱萍. 阿德福韦酯对慢性乙型肝炎患者外周血树突状细胞和淋巴细胞亚群的影响. *广东医学* 2010; 31: 72-74
- Boni C, Penna A, Ogg GS, Bertoletti A, Pilli M, Cavallo C, Cavalli A, Urbani S, Boehme R, Panbianco R, Fiaccadori F, Ferrari C. Lamivudine treatment can overcome cytotoxic T-cell hyporesponsiveness in chronic hepatitis B: new perspectives for immune therapy. *Hepatology* 2001; 33: 963-971
- Greenwald RJ, Freeman GJ, Sharpe AH. The B7 family revisited. *Annu Rev Immunol* 2005; 23: 515-548
- 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
- 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
- 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
- 夏娟, 许林, 刘勇. 恩替卡韦治疗后慢性乙型肝炎患者外周血T淋巴细胞表面程序性死亡受体1表达与HBeAg血清学转换的关系. *中华肝脏病杂志* 2011; 19: 93-97
- 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
- Nair S, Babu JS, Dunham RG, Kanda P, Burke RL, Rouse BT. Induction of primary, antiviral cytotoxic, and proliferative responses with antigens administered via dendritic cells. *J Virol* 1993; 67: 4062-4069
- Akbar SM, Onji M, Inaba K, Yamamura K, Ohta Y. Low responsiveness of hepatitis B virus-transgenic mice in antibody response to T-cell-dependent antigen: defect in antigen-presenting activity of dendritic cells. *Immunology* 1993; 78: 468-475
- 王文博, 张绪清, 陈晓玲, 张梦军, 尚小云, 牛薇, 刘东, 舒驰, 王莉, 吴玉章. 重庆地区慢性HBV感染与HLA-A超型相关性研究. *免疫学杂志* 2010; 26: 1048-1051
- Arima S, Akbar SM, Michitaka K, Horiike N, Nuriya H, Kohara M, Onji M. 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. *Int J Mol Med* 2003; 11: 169-174
- van der Molen RG, Sprengers D, Binda RS, de Jong EC, Niesters HG, Kusters JG, Kwekkeboom J, Janssen HL. Functional impairment of myeloid and plasmacytoid dendritic cells of patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 2004; 40: 738-746
- 刘树人, 彭齐荣, 李灼亮. 慢性乙型肝炎患者树突状细胞表型和抗原提呈能力的测定. *中国现代医学杂志* 2003;

- 13: 30-32
- 18 Hilleman MR. Critical overview and outlook: pathogenesis, prevention, and treatment of hepatitis and hepatocarcinoma caused by hepatitis B virus. *Vaccine* 2003; 21: 4626-4649
- 19 Bertoletti A, Gehring AJ. The immune response during hepatitis B virus infection. *J Gen Virol* 2006; 87: 1439-1449
- 20 Beckebaum S, Cicinnati VR, Dworacki G, Müller-Berghaus J, Stolz D, Harnaha J, Whiteside TL, Thomson AW, Lu L, Fung JJ, Bonham CA. Reduction in the circulating pDC1/pDC2 ratio and impaired function of ex vivo-generated DC1 in chronic hepatitis B infection. *Clin Immunol* 2002; 104: 138-150
- 21 何登明, 毛青, 王宇明. 慢性乙型肝炎患者拉米夫定治疗前后血清白细胞介素-12水平变化. *中华肝病杂志* 2003; 10: 619
- 22 Akbar SM, Horiike N, Chen S, Michitaka K, Abe M, Hiasa Y, Matsuura B, Onji M. Mechanism of restoration of immune responses of patients with chronic hepatitis B during lamivudine therapy: increased antigen processing and presentation by dendritic cells. *J Viral Hepat* 2011; 18: 200-205
- 23 Li HW, Wang HF, Wang FS, Jin B, Duan XZ. [Clinical profiles of circulating dendritic cell phenotype and lymphocyte subsets in patients chronically infected with HBV during lamivudine treatment]. *Zhonghua Shiyan He Linchuang Bingduxue Zazhi* 2006; 20: 43-46
- 24 Chen MQ, Shi GF, Lu Q, Li Q, Zhang QH, Qin Q, Weng XH. [Phenotypes and functions of dendritic cells derived from peripheral blood monocytes of chronic hepatitis B patients with different HBV DNA loads]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2007; 15: 19-23
- 25 Komiyama Y, Nakae S, Matsuki T, Nambu A, Ishigame H, Kakuta S, Sudo K, Iwakura Y. IL-17 plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* 2006; 177: 566-573
- 26 Campbell DJ, Ziegler SF. FOXP3 modifies the phenotypic and functional properties of regulatory T cells. *Nat Rev Immunol* 2007; 7: 305-310
- 27 Haiqi H, Yong Z, Yi L. Transcriptional regulation of Foxp3 in regulatory T cells. *Immunobiology* 2011; 216: 678-685
- 28 Beres A, Komorowski R, Mihara M, Drobyski WR. Instability of Foxp3 expression limits the ability of induced regulatory T cells to mitigate graft versus host disease. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 3969-3983
- 29 Stoop JN, Woltman AM, Biesta PJ, Kusters JG, Kuipers EJ, Janssen HL, van der Molen RG. Tumor necrosis factor alpha inhibits the suppressive effect of regulatory T cells on the hepatitis B virus-specific immune response. *Hepatology* 2007; 46: 699-705
- 30 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
- 31 巫翠萍, 覃西, 王华民, 巫翠云, 李文广, 林丹, 朱洪, 李一. 乙型肝炎患者外周血CD4⁺CD25⁺Treg与CD4⁺和CD8⁺T淋巴细胞亚群的相关研究. *中国免疫学杂志* 2010; 26: 273-277
- 32 Franzese O, Kennedy PT, Gehring AJ, Gotto J, Williams R, Maini MK, Bertoletti A. Modulation of the CD8+-T-cell response by CD4+ CD25+ regulatory T cells in patients with hepatitis B virus infection. *J Virol* 2005; 79: 3322-3328
- 33 Oderup C, Cederbom L, Makowska A, Cilio CM, Ivars F. Cytotoxic T lymphocyte antigen-4-dependent down-modulation of costimulatory molecules on dendritic cells in CD4+ CD25+ regulatory T-cell-mediated suppression. *Immunology* 2006; 118: 240-249
- 34 Stoop JN, Claassen MA, Woltman AM, Binda RS, Kuipers EJ, Janssen HL, van der Molen RG, Boonstra A. Intrahepatic regulatory T cells are phenotypically distinct from their peripheral counterparts in chronic HBV patients. *Clin Immunol* 2008; 129: 419-427
- 35 Stoop JN, van der Molen RG, Kuipers EJ, Kusters JG, Janssen HL. Inhibition of viral replication reduces regulatory T cells and enhances the antiviral immune response in chronic hepatitis B. *Virology* 2007; 361: 141-148
- 36 张梦军, 周吉军, 傅晓岚, 王莉, 李杰, 牛微, 张小敏, 吴玉章. 替比夫定对慢性乙型肝炎患者外周血CD4⁺CD25⁺CD127^(low)T和CD8⁺CD25⁺细胞频率的影响及临床意义. *免疫学杂志* 2010; 26: 594-597
- 37 Pan XC, Yang F, Chen M. [The effect of telbivudine on peripheral blood CD4+CD25+ regulatory T cells and its significance in patients with chronic hepatitis B]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2008; 16: 885-888
- 38 Jiang Y, Li W, Yu L, Liu J, Xin G, Yan H, Sun P, Zhang H, Xu D, Niu J. Enhancing the anti-hepatitis B virus immune response by adefovir dipivoxil and entecavir therapies. *Cell Mol Immunol* 2011; 8: 75-82
- 39 辛永宁, 宣世英, 孙霞. 慢性乙型肝炎Th1/Th2细胞的免疫功能研究进展. *临床肝胆病杂志* 2005; 21: 182-184
- 40 Falasca K, Ucciferri C, Dalessandro M, Zingariello P, Mancino P, Petrarca C, Pizzigallo E, Conti P, Vecchiet J. Cytokine patterns correlate with liver damage in patients with chronic hepatitis B and C. *Ann Clin Lab Sci* 2006; 36: 144-150
- 41 Ariyasu T, Tanaka T, Fujioka N, Yanai Y, Yamamoto S, Yamauchi H, Ikegami H, Ikeda M, Kurimoto M. Effects of interferon-alpha subtypes on the TH1/TH2 balance in peripheral blood mononuclear cells from patients with hepatitis virus infection-associated liver disorders. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2005; 41: 50-56
- 42 Böcher WO, Galun E, Marcus H, Daudi N, Terkieltaub D, Shouval D, Löhr HF, Reisner Y. Reduced hepatitis B virus surface antigen-specific Th1 helper cell frequency of chronic HBV carriers is associated with a failure to produce antigen-specific antibodies in the trimera mouse. *Hepatology* 2000; 31: 480-487
- 43 Cao T, Meuleman P, Desombere I, Sällberg M, Le-rox-Roels G. In vivo inhibition of anti-hepatitis B virus core antigen (HBcAg) immunoglobulin G production by HBcAg-specific CD4(+) Th1-type T-cell clones in a hu-PBL-NOD/SCID mouse model. *J Virol* 2001; 75: 11449-11456
- 44 Zhang L, Zhang DZ, Chen M, He H, Guo SH. [Dynamic changes of Th1/Th2 type cytokines in peripheral blood of patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B treated with telbivudine]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2009; 17: 175-179
- 45 Piao RL, Liu YY, Tian D, Ma ZH, Zhang M, Zhao C, Niu JQ. Adefovir dipivoxil modulates cytokine

- expression in Th1/Th2 cells in patients with chronic hepatitis B. *Mol Med Report* 2012; 5: 184-189
- 46 罗芳琼, 潘煜, 刘晶晶, 张鹏, 牛俊奇, 姜艳芳. 阿德福韦酯对慢性乙型肝炎患者Th1/Th2型细胞因子的影响. *临床肝胆病杂志* 2010; 26: 19-21
- 47 朱斌, 张平, 王天宝, 禹萌. 替比夫定治疗慢性乙肝血清Th1/Th2亚群细胞因子的水平变化. *临床肝胆病杂志* 2009; 25: 415-417
- 48 宋春辉, 杨斌, 陈黎明, 张纪元, 王福生. 恩替卡韦抗病毒治疗与慢性乙型肝炎患者外周血Th1及Th2细胞变化的研究. *解放军医学杂志* 2010; 35: 1465-1467
- 49 Zhang JY, Zhang Z, Lin F, Zou ZS, Xu RN, Jin L, Fu JL, Shi F, Shi M, Wang HF, Wang FS. Interleukin-17-producing CD4(+) T cells increase with severity of liver damage in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 2010; 51: 81-91
- 50 Wang Q, Zheng Y, Huang Z, Tian Y, Zhou J, Mao Q, Wu Y, Ni B. Activated IL-23/IL-17 pathway closely correlates with increased Foxp3 expression in livers of chronic hepatitis B patients. *BMC Immunol* 2011; 12: 25
- 51 Zhang JY, Song CH, Shi F, Zhang Z, Fu JL, Wang FS. Decreased ratio of Treg cells to Th17 cells correlates with HBV DNA suppression in chronic hepatitis B patients undergoing entecavir treatment. *PLoS One* 2010; 5: e13869
- 52 缪晓辉. 对2010年第二版中国《慢性乙型肝炎防治指南》和修订指南的几点个人看法. *中国实用内科杂志* 2011; 31: 430-432

编辑 田滢 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

WJG 成功通过评审被 PMC 收录

本刊讯 PubMed Central(PMC)是由美国国家医学图书馆(NLM)下属国家生物技术信息中心(NCBI)创立的开放存取(Open Access)的生物医学和生命科学全文数据库. 此数据库只收录采取国际同行评审制度评议的期刊, 并对收录期刊有较高的科学、编辑及数据文件质量要求.

截至目前, 我国只有两本期刊被PMC收录. 《浙江大学学报B》(英文版)(*Journal of Zhejiang University Science B*)是我国第一本通过PMC评审并于2006-03-15被收录的期刊. 《世界胃肠病学杂志》(英文版)(*World Journal of Gastroenterology*, WJG)第二本通过PMC评审并于2009-03-26被收录, 全文免费向公众开放, 见: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/tocrender.fcgi?journal=818&action=archive> (WJG编辑部主任: 程剑侠 2009-03-26)