

自然杀伤细胞在乙型肝炎病毒感染中的作用

吴韶飞, 周振华, 孙学华, 朱晓骏, 李曼, 张鑫, 高月求

■背景资料

由于慢性乙型肝炎病程长, 既往多认为针对乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)的特异性免疫起到重要作用, 而固有免疫在慢性乙型肝炎中的研究尚不充分, 本文对近年来自然杀伤(natural killer, NK)细胞在慢性乙型肝炎中的最新研究成果进行综述, 以一个新的角度探讨慢性乙型肝炎的病理机制。

吴韶飞, 周振华, 孙学华, 朱晓骏, 李曼, 张鑫, 高月求, 上海中医药大学附属曙光医院肝病科 上海市中医临床重点实验室 上海市 201203
吴韶飞, 在读博士, 主要从事中西医结合防治慢性肝病的研究。国家十二五“艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治”科技重大专项基金资助项目, Nos. 2012ZX10005004-002, 2012ZX-10005010-002-003
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81102570, 81202662
国家中医药管理局中医肝胆病重点学科基金资助项目, No. 2010sh
教育部博士点专项基金资助项目, No. 20123107110003
上海市科委临床重点基金资助项目, No. 11411951600
上海市科委科技支撑基金资助项目, No. 13401902900
上海高校创新团队基金资助项目(第一期)
上海市中医药事业发展三年行动计划基金资助项目, No. ZYSNXD-CC-ZDYJ015/048
上海市科委扬帆计划基金资助项目, No. 14YF1411600
上海中医药大学预算内基金资助项目, No. 2013JW40
中国肝防治基金会王宝恩肝纤维化研究基金资助项目, Nos. CFHPC20131045, CFHPC20131046
上海市重中之重临床医学中心(中医肝病)基金资助项目
作者贡献分布: 本综述由吴韶飞与周振华共同完成; 孙学华与朱晓骏提供部分文献资料; 李曼与张鑫修改; 高月求审校。
通讯作者: 高月求, 教授, 主任医师, 201203, 上海市浦东新区张衡路528号, 上海中医药大学附属曙光医院肝病科。
gaoyueqiu@hotmail.com
电话: 021-20256188
收稿日期: 2014-08-26 修回日期: 2014-11-14
接受日期: 2014-11-19 在线出版日期: 2014-12-28

Role of natural kill cells in hepatitis B virus infection

Shao-Fei Wu, Zhen-Hua Zhou, Xue-Hua Sun, Xiao-Jun Zhu, Man Li, Xin Zhang, Yue-Qiu Gao

Shao-Fei Wu, Zhen-Hua Zhou, Xue-Hua Sun, Xiao-Jun Zhu, Man Li, Xin Zhang, Yue-Qiu Gao, Department of Hepatology, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Key Laboratory of Traditional Chinese Clinical Medicine, Shanghai 201203, China

Supported by: Science Research Project of Twelve Five-year Plan "AIDS and Viral Hepatitis Major Infectious Diseases Prevention and Control", Nos. 2012ZX10005004-002 and 2012ZX-10005010-002-003; National Natural Science Foundation of China, Nos. 81102570 and 81202662; Leading Academic Discipline of Hepatology of State Administration of TCM China, No. 2010sh; Doctoral Fund of Ministry of Education of China, No. 20123107110003; Clinical Key Project Fund of Shanghai Science and Technology Commission, No. 11411951600; Science and Technology Support Fund of Shanghai Science and Technology Commission, No. 13401902900; Shanghai College Innovation Team Project (phase one); Three-year Action Plan of Development of TCM in Shanghai, Nos. ZYSNXD-CC-ZDYJ015 and ZYSNXD-CC-ZDYJ048; Yangfan Project of Shanghai Science and Technology Commission, No. 14YF1411600; Budgetary Fund of Shanghai University of Traditional Chi-

nese Medicine, No. 2013JW40; Wang Bao-en Foundation of Hepatic Fibrosis of Chinese Foundation for Hepatitis Prevention and Control, Nos. CFHPC20131045 and CFHPC20131046; Shanghai Priority Among Priorities Clinical Medical Center (TCM hepatopathy) Fund
Correspondence to: Yue-Qiu Gao, Professor, Chief Physician, Department of Hepatology, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 528 Zhangheng Road, Pudong New District, Shanghai 201203, China. gaoyueqiu@hotmail.com
Received: 2014-08-26 Revised: 2014-11-14
Accepted: 2014-11-19 Published online: 2014-12-28

Abstract

Natural killer (NK) cells are a unique group of lymphocytes with cytotoxicity, playing an important role in anti-tumor and anti-infection activities. Recently, NK cells are increasingly recognized to play a role during hepatitis B virus (HBV) infection. Studies have confirmed that NK cells participate in anti-HBV responses by secreting cytokines, mediating apoptosis and killing target cells, indicating a potential strategy for controlling HBV infection *via* regulation of NK cell functions. This review discusses the contribution of NK cells to HBV elimination, liver injury, and other parts of immune system and the formulation of new therapeutic strategies.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatitis B; Natural killer cells; Innate immunity

Wu SF, Zhou ZH, Sun XH, Zhu XJ, Li M, Zhang X, Gao YQ. Role of natural kill cells in hepatitis B virus infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(36): 5636-5642
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5636.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i36.5636>

摘要

自然杀伤(natural killer, NK)细胞是一种具有杀伤活性的淋巴细胞, 在机体对抗肿瘤、感染等方面发挥重要作用。近年来, NK细胞在乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染中的作用日益受到重视, 研究证实, NK细胞可通过分泌细胞因子、介导凋亡和杀伤靶细胞等途径参与机体对HBV的免疫应答反应, 通过调节

■同行评议者

庄林, 主任医师, 昆明市第三人民医院肝病科

NK细胞功能控制HBV感染可能是今后治疗乙型病毒性肝炎的一个新策略. 本文从NK细胞对病毒的清除、参与肝脏损伤、对免疫系统的影响以及新的治疗策略的制订等方面进行综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 乙型肝炎; 自然杀伤细胞; 固有免疫

核心提示: 由于慢性乙型肝炎病程较长, 既往认为适应性免疫在其中起到主导作用. 近年研究发现, 特异性T细胞数量少且难以恢复, 适应性免疫功能紊乱长期存在, 因此, 对固有免疫的研究逐渐增多. 本文对近年来自然杀伤(natural killer)细胞的研究做一综述, 以期对科研、临床乃至新的免疫疗法的开发提供帮助.

吴韶飞, 周振华, 孙学华, 朱晓骏, 李曼, 张鑫, 高月求. 自然杀伤细胞在乙型肝炎病毒感染中的作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(36): 5636-5642 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5636.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i36.5636>

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)并不直接损伤肝细胞, 机体在感染HBV之后, 通过一系列途径激发免疫应答清除HBV, 但同时也会造成肝脏的损伤^[1]. 因此, 免疫反应在HBV应答中起到了极为关键的作用, 也是我们研究的重点和热点.

固有免疫在HBV感染中的作用一直存在广泛的争议. 众所周知, 适应性免疫在有效而持久的抗HBV免疫应答中起到了重要的作用^[2]. 因为HBV感染免疫耐受期的存在以及HBV可在入侵的最初几周内不引起任何肝脏内基因的异常表达^[3], 很多专家和学者认为固有免疫在对抗HBV感染中作用甚微. 随着技术手段的更新以及结合多种动物模型的应用, 越来越多的研究表明固有免疫系统参与了针对HBV的免疫应答, 自然杀伤(natural killer, NK)细胞作为固有免疫的重要组成部分, 在其中起到了重要作用.

1 NK细胞简介

NK细胞不表达T细胞受体, 一般认为其表面标志为CD3⁻CD56⁺, 占人体外周血淋巴细胞的15%左右, 但在肝组织中可达30%^[4]. NK细胞的抗病毒效应至少包括三个方面: (1)通过释放穿孔素等杀伤效应分子发挥自然细胞不良反应; (2)分泌干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)、肿瘤坏死因子

α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等细胞因子调节免疫反应; (3)通过表达配体或受体介导细胞凋亡、传递胞间信号等. 因此, NK细胞既可以影响固有免疫, 也可以调节适应性免疫, 对免疫系统间的通信起到桥梁作用. 根据CD56的表达情况, NK细胞可以分为两个亚群: 相对低表达CD56分子的CD56^{dim}亚群和相对高表达CD56分子的CD56^{bright}亚群. CD56^{dim}亚群占NK细胞的90%左右, 是穿孔素的主要分泌细胞; CD56^{bright}亚群占10%左右, 主要分泌IFN- γ 等细胞因子而表达极少量的穿孔素^[4]. 因此, 一般认为CD56^{dim}亚群主要介导细胞不良反应, 而CD56^{bright}亚群主要介导免疫调节作用. NK细胞表面表达的受体根据其功能不同可分为活化性受体和抑制性受体两类, NK的功能也主要通过这两类受体分别传递的抑制或活化性信号的平衡来调节. 生理状态下, 人体细胞表达一定量的自身主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) I类分子, 其与抑制性受体结合传导的抑制性信号占优势, NK细胞无法被激活而处于静息状态. 病理状态下, 一些自身细胞表达的MHC I类分子数量减少导致抑制性信号减少, 或者激活性受体的配体表达上调导致活化信号增强, 均可以使NK细胞活化, 这两种活化机制分别称为“丧失自我(missing self)”和“压力诱导(stress-induced self)”^[5]. 此外, NK细胞还能被某些白介素(interleukin, IL)如IL-12、IL-15、IL-18, 以及I型干扰素等细胞因子激活^[6].

2 NK细胞对HBV的清除作用

NK细胞作为固有免疫系统的重要组成部分, 在对细菌、病毒等外界抗原物质的清除反应中起到重要作用. 一系列针对病毒的研究证实, NK细胞参与了对人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)、丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)等RNA病毒和巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)等DNA病毒清除的免疫反应^[7-9]. 但是, HBV感染具有一定的隐匿性, 以无显著症状和肝损害为特征, 这种状态可持续长达数年甚至数十年. 正是由于这种特性, 导致在感染最初期的患者资料难以获得. 另一方面, 能够自然感染HBV的动物模型少, 这也大大限制了研究. 土拨鼠感染土拨鼠肝炎病毒(woodchuck hepatitis virus, WHV)模型以及HBV持续复制小鼠模型为我们提供了良好的体内试验对象^[10,11], 但其能否完全模拟人类感染HBV的病理过程仍需进一步

■ 研发前沿

近年来对慢性乙型肝炎中固有免疫的研究逐步增多, 取得了初步的成果, 但由于研究模型等的限制, 仍然没有对临床治疗有重大意义的突破进展. 科研的最终目的是服务临床, 因此, 通过研究慢性乙型肝炎中的免疫机制以开发新的免疫学治疗策略具有重要的意义.

■相关报道

Bertoletti与Ferrari于2012年发表在*Gut*杂志的综述详细阐述了慢性乙型肝炎中固有免疫和适应性免疫的作用,提出了目前研究中存在的问题并提示了今后研究的方向,但对NK细胞的作用阐述不详; Han等于2013年发表在*Seminars in Immunopathology*杂志的综述结合最近进展,进一步对慢性乙型肝炎中固有免疫的作用进行了阐释,但同样对NK细胞论述不多。

证实。这些因素使得我们至今对于免疫系统尤其是先天免疫在HBV感染中作用的认识仍十分有限。一些实验表明NK细胞甚至固有免疫在对抗HBV感染中作用甚微。针对黑猩猩和土拨鼠的研究显示,病毒在入侵的最初几周内不引起任何肝脏内基因表达的改变,也不能激发肝脏内细胞(包括肝细胞和免疫细胞)的免疫反应,直到数周后适应性免疫系统激活,才开始清除病毒^[3,12]。

另外一些研究结果与此相悖。体外研究^[13]表明, NK细胞可以以Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)依赖的形式直接被来源于HBV的DNA片段激活,并在IFN- α 的参与下分泌IFN- γ 和穿孔素。一项在HBV嵌合型小鼠体内进行的试验表明, NK细胞对诱导HBV特异性CD8⁺ T细胞的产生有重要作用, NK细胞缺失的小鼠不能有效诱导特异性的T细胞应答^[14]。土拨鼠感染高载量的WHV(1011)后8-12 h, 可以观察到NK细胞的活化^[15]。人类试验研究相对也较少, 在一项针对两个由血液HBV血清学阴性转变为乙型肝炎病毒表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)和HBV DNA阳性患者的NK细胞的表型、功能的研究显示, NK细胞已经处于激活状态, 提示在病毒感染的早期NK细胞即可发现HBV, 参与免疫应答, 并可能在激活特异性免疫中起到重要作用^[16]。这些研究提示NK细胞参与了感染早期对HBV的应答反应。

但是, 以上研究大多是动物模型中进行, 而人类感染HBV产生的免疫应答过程与动物模型不一定完全相同; 以人为研究对象的试验较少, 也缺乏足够的说服力。因此, NK细胞在病毒感染早期能否被激活以及他在病毒清除过程中起到怎样的作用, 仍需要进一步的研究来阐释。

3 NK细胞参与肝损伤

在HBV感染中, NK细胞往往起到“双刃剑”的作用, 即NK细胞在杀伤病毒感染细胞、抑制病毒复制的同时, 也是造成肝脏损伤的“元凶”。病毒感染的肝细胞表型发生改变, 被机体的免疫细胞识别并杀伤, 这是机体清除病毒、自我保护的一种形式, 是有益的。但在病毒持续复制的状态下, 免疫系统介导的肝细胞的持续损伤是肝脏发生纤维化乃至肝癌的前提。NK细胞可以通过释放杀伤效应分子以及介导凋亡的途径导致肝细胞的死亡。在慢性HBV感染的免疫清除期, 肝脏内活化的NK细胞比例增高, 细胞不

良反应增强而导致肝损伤^[17]; NK细胞表达的自然杀伤细胞2族成员D受体(natural-killer group 2, member D, NKG2D)与肝细胞表达的配体间的相互识别在介导肝细胞的死亡中起到重要作用^[18]。

除了通过杀伤效应分子介导的肝损伤外, 凋亡信号介导的肝脏损伤也不容忽视。正常肝细胞只表达极低水平的肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand, TRAIL)受体1和2, 但在病毒感染状态下, 此受体表达上调, 同时, NK细胞在肝脏中富集的IFN- α 和IL-8的作用下, 上调表达TRAIL介导肝细胞的凋亡^[19]。此外, NK细胞活化后, 也能以Fas/FasL途径诱导HBV感染肝细胞的凋亡^[20], 参与HBV相关的慢加急性肝衰竭的病理过程^[21]。肝脏中PD-1/PD-L1的水平与炎症程度相关, 炎症程度高的部位PD-1/PD-L1的表达量也高; 炎症消退后, PD-1/PD-L1的水平也下降, 这提示PD-1/PD-L1途径参与了肝损伤^[22,23]。

4 NK细胞在慢性HBV感染中的特征

前已述及, NK细胞在HBV感染急性期的作用争议较多。在慢性感染期, NK细胞存在不同程度的数量、表型改变或功能失调, 各研究间也存在较大差异。Li等^[24]发现在免疫清除期, NK细胞数量和比例与正常者无明显差别, 但表达抑制性受体自然杀伤细胞2族成员A受体(natural-killer group 2, member A, NKG2A)的NK细胞数量和比例升高, 而其他一些抑制性受体和激活性受体表达与正常对照无明显差别, 阻断NKG2A与其相应配体间作用可增强病毒清除; Tjwa等^[25]发现NK细胞数量、比例及杀伤活性未发生明显改变, 但分泌IFN- γ 和TNF- α 功能障碍, 这一功能缺陷主要表现在CD56^{dim}亚群。NK细胞激活性受体自然杀伤细胞相关蛋白p30(natural killer cell p30-related protein, NKp30)表达下调, 抑制性受体NKG2A表达上调, 给予恩替卡韦抗病毒治疗后, NKG2A表达趋于正常, IFN- γ 分泌功能也得到恢复; Zhang等^[17]的研究结果更倾向于NK细胞功能未发生缺陷甚或增强: 免疫清除期患者NK细胞在肝脏和外周血中比例下降, 杀伤活性升高, 但分泌IFN- γ 的能力并没有降低, 激活性受体NKp30、NKp44、NKp46在肝脏和外周血中均表达上调, NKG2D无明显改变, 抑制性受体NKG2A表达上调, 但CD158a和CD158b表达下调; Li等^[26]的研究显示外周血NK细胞的数量、细胞不良反应和细胞因子分泌功能都下调, 且激活性受体NKp30和

NKG2D表达下调. 另外, 一些功能抑制性分子如T细胞免疫球蛋白分子3(T cell immunoglobulin and mucin-domain-containing molecule-3, Tim-3)在NK细胞表达上调也造成NK细胞分泌细胞因子功能缺陷^[27]. 由此可见, 以上诸多研究结果在NK细胞数量、表型、功能的改变上存在较大争议, 但综合各研究结果, NK细胞的受体表达倾向于抑制性, 细胞不良反应不变甚至增强, 抗病毒细胞因子分泌功能下降. 造成研究结论差异的原因目前尚不明确, 可能和患者的种族、数量、病程以及刺激NK细胞的活化手段不同等因素相关.

5 导致NK细胞发生改变的因素

NK细胞表达所有已知TLR受体的mRNA(TLR1-10), 可以通过TLR途径直接活化^[28]. 在病毒持续感染期, NK细胞的功能发生缺陷, 且能随着病毒载量下降而部分恢复, 在此过程中必然也受到细胞周围环境改变的影响, 这些影响因素至少包括与NK细胞产生作用的细胞的变化和微环境细胞因子水平的变化等, 导致了NK细胞出现异常改变.

NK细胞与其他免疫细胞可通过受体-配体形式和/或细胞因子相互作用. 树突状细胞(dendritic cell, DC)是最重要的抗原提呈细胞, 分为髓样树突状细胞(myeloid dendritic cell, mDC)和浆细胞样树突状细胞(plasmacytoid dendritic cell, pDC), 是固有免疫和适应性免疫间的桥梁, 在清除外来病原体感染过程中起到重要作用. 在HBV感染中, mDC和pDC均存在功能缺陷^[29-31], 这些功能缺陷也导致DC细胞与NK细胞间的相互作用障碍, 使得NK细胞不能有效活化. 其中, mDC分泌IL-6、IL-12以及IL-18能力降低导致不能有效激活NK细胞, NK细胞产生IFN- γ 能力下降^[32]; pDC产生IFN- α 功能下调和高表达OX40L而使其激活NK细胞功能缺陷^[33,34].

除了DC以外, 肝脏内的巨噬细胞-Kupffer细胞也在HBV的持续感染中起到重要作用. Kupffer细胞是肝脏中抑制性细胞因子IL-10的重要来源, IL-10可维持病毒感染后的免疫耐受状态, 抑制NK细胞IFN- γ 的分泌, 并可能增强NK细胞的细胞不良反应^[35,36]. 通过阻断IL-10途径, 可恢复NK细胞分泌IFN- γ 的功能^[37]. 另外, 转化生长因子 β 1(transforming growth factor β 1, TGF- β 1)水平在HBV感染中也升高^[38], 其可通过下调NK细胞受体NKG2D和2B4的表达并使胞外-胞内信

号转导障碍而影响机体对HBV的清除^[39]. 以上因素均在NK细胞“上游”作用, 以直接或间接的形式介导了NK细胞的改变.

6 NK细胞功能异常对其他免疫细胞的影响

NK细胞自身功能的异常改变也可以对其他免疫细胞诸如效应T细胞的功能造成影响. 在感染早期, HBV特异性CD8⁺ T细胞在控制感染, 清除HBV的过程中起到重要作用, 但在慢性病程中, HBV特异性CD8⁺ T细胞数量锐减, 且对活化信号反应性降低^[40], 这也许是HBV感染慢性化的重要原因之一. CD8⁺效应T细胞的减少的原因部分归咎于NK细胞, 因NK细胞不仅可通过上调TRAIL表达, 从而介导HBV特异性CD8⁺ T凋亡^[41], 还可以以NKG2D参与的、穿孔素介导的途径杀伤CD8⁺ T细胞^[42]. NK细胞在沟通固有免疫与适应性免疫间的作用虽不如DC等细胞重要, 但其对适应性免疫的影响或许在HBV感染中起到独特的作用.

7 基于NK细胞的治疗

目前临床对慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)的治疗药物主要有两类: 以调节抗病毒免疫为主的干扰素和直接抑制病毒复制的核苷类似物. 但两种治疗方法并不完美: 干扰素只对约1/3的患者有应答, 且有大量的不良反应与禁忌证; 核苷类似物存在疗程不确定与病毒耐药等问题. 个体间对干扰素应答存在巨大差异的原因虽没有完全明确^[43], 但可能和NK细胞的改善存在一定的关联性, 包括数量、受体表达与功能的改变^[44,45]. 核苷类似物的治疗也存在类似的结论, 说明病毒的载量会影响NK细胞的功能, 同样, NK细胞的功能也会对HBV的复制具有重要作用. 因此, 调节NK细胞的功能可能是今后治疗CHB的一个潜在方向.

前已述及, CHB中NK细胞的功能改变至少包括三个方面: 细胞因子分泌功能的下降和细胞不良反应与介导凋亡能力的上升. 因此, 我们对NK的调节的作用点在于增加其抗病毒因子的分泌和保护NK对其他细胞的杀伤, 潜在的作用靶点在于NK受体及其配体的相互作用以及微环境中的细胞因子等. 免疫系统是一个复杂的系统, 治疗策略的制订需要考虑到对各个环节的影响, 防止免疫系统出现过度的反应.

虽然在病毒载量下降后NK细胞功能恢复已经见于在体试验, 但基于对NK细胞的功能调节

■创新盘点

本文从不同角度客观总结了近年来对NK细胞在慢性乙型肝炎中的研究进展, 包括对病毒的清除、参与肝脏损伤, 对免疫系统的影响等, 既有正面又有负面, 既有上游又有下游, 围绕NK细胞进行较为全面的论述.

■应用要点

本文从固有免疫这样一个较新的角度总结了慢性乙型肝炎中NK细胞的作用特点,在现有治疗方案存在诸多弊端以及对适应性免疫的研究进展缓慢的大环境下,为新的治疗策略的制订提出了新的论点和依据。

来治疗HBV感染的治疗策略目前只在动物模型中进行。通过阻断NK细胞不同激活或抑制性受体与其配体的相互作用能提高NK细胞的抗病毒活性或减轻其对肝细胞的损伤^[24]。PD-1在肝脏中的高表达会导致肝脏内免疫功能的紊乱,不利于病毒的清除,阻断PD-1/PD-L1途径可以增加IFN- γ 的分泌,加速机体清除HBV^[46]。对NK细胞具有抑制作用的细胞因子有IL-10和TGF- β 1,阻断IL-10途径虽然不能改变NK细胞表面NKR的表达,但能增强其细胞因子的分泌功能^[37];阻断TGF- β 1可提高NK表面激活性受体NKG2D和2B4的表达,恢复NK细胞分泌IFN- γ 的功能^[39]。在急性感染期,IFN- γ 和TNF- α 等的水平升高可能对病毒清除具有重要作用,但在持续感染期,血清中升高的IFN- γ 和TNF- α 水平并不足以完全清除病毒^[47],因此,相对于定性改善NK细胞分泌细胞因子功能,调节NK细胞因子分泌量也是一个重要的问题。

8 讨论

NK细胞在HBV感染中扮演的角色存在很大争议。NK细胞有没有参与HBV感染早期的免疫反应,以及在持续感染期NK细胞的功能发生了怎样的改变,仍然没有定论。但不可否认的是,HBV的持续复制和肝脏的持续损伤应部分归咎于NK细胞自身的功能改变及其介导的免疫系统紊乱和肝脏细胞的死亡。由于对NK细胞在CHB中认识的局限性,基于NK细胞的免疫疗法也仅仅处于一个最初级的探索阶段。最近发现能够分泌IL-22的NK细胞一个新亚型-NK-22细胞^[48],而IL-22被证明能够保护肝细胞^[49,50],并能促进肝脏干细胞的增殖^[51],这或许为CHB疗法的开发提供了一个新的思路。总之,立足于现有结论的基础上,对NK细胞在HBV感染中的作用仍然需要更多的研究支持,而今后研究的方向应在于通过不同途径恢复并改善NK细胞的功能,抑制病毒复制,减轻肝脏损伤。

9 参考文献

- Guidotti LG, Chisari FV. Immunobiology and pathogenesis of viral hepatitis. *Annu Rev Pathol* 2006; 1: 23-61 [PMID: 18039107 DOI: 10.1146/annurev.pathol.1.110304.100230]
- Bertoletti A, Ferrari C. Innate and adaptive immune responses in chronic hepatitis B virus infections: towards restoration of immune control of viral infection. *Gut* 2012; 61: 1754-1764 [PMID: 22157327 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-301073]
- Wieland S, Thimme R, Purcell RH, Chisari FV.

Genomic analysis of the host response to hepatitis B virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 6669-6674 [PMID: 15100412 DOI: 10.1073/pnas.0401771101]

- Doherty DG, Norris S, Madrigal-Esteban L, McEntee G, Traynor O, Hegarty JE, O'Farrelly C. The human liver contains multiple populations of NK cells, T cells, and CD3+CD56+ natural T cells with distinct cytotoxic activities and Th1, Th2, and Th0 cytokine secretion patterns. *J Immunol* 1999; 163: 2314-2321 [PMID: 10438977]
- Jost S, Altfeld M. Control of human viral infections by natural killer cells. *Annu Rev Immunol* 2013; 31: 163-194 [PMID: 23298212 DOI: 10.1146/annurev-immunol-032712-100001]
- Vivier E, Tomasello E, Baratin M, Walzer T, Ugolini S. Functions of natural killer cells. *Nat Immunol* 2008; 9: 503-510 [PMID: 18425107 DOI: 10.1038/ni1582]
- Martin MP, Gao X, Lee JH, Nelson GW, Detels R, Goedert JJ, Buchbinder S, Hoots K, Vlahov D, Trowsdale J, Wilson M, O'Brien SJ, Carrington M. Epistatic interaction between KIR3DS1 and HLA-B delays the progression to AIDS. *Nat Genet* 2002; 31: 429-434 [PMID: 12134147 DOI: 10.1038/ng934]
- Khakoo SI, Thio CL, Martin MP, Brooks CR, Gao X, Astemborski J, Cheng J, Goedert JJ, Vlahov D, Hilgartner M, Cox S, Little AM, Alexander GJ, Cramp ME, O'Brien SJ, Rosenberg WM, Thomas DL, Carrington M. HLA and NK cell inhibitory receptor genes in resolving hepatitis C virus infection. *Science* 2004; 305: 872-874 [PMID: 15297676 DOI: 10.1126/science.1097670]
- Orange JS, Fasset MS, Koopman LA, Boyson JE, Strominger JL. Viral evasion of natural killer cells. *Nat Immunol* 2002; 3: 1006-1012 [PMID: 12407408 DOI: 10.1038/ni1102-1006]
- Fletcher SP, Chin DJ, Ji Y, Iniguez AL, Taillon B, Swinney DC, Ravindran P, Cheng DT, Bitter H, Lopatin U, Ma H, Klumpp K, Menne S. Transcriptional analysis of the woodchuck model of chronic hepatitis B. *Hepatology* 2012; 56: 820-830 [PMID: 22431061 DOI: 10.1002/hep.25730]
- Yang D, Liu L, Zhu D, Peng H, Su L, Fu YX, Zhang L. A mouse model for HBV immunotolerance and immunotherapy. *Cell Mol Immunol* 2014; 11: 71-78 [PMID: 24076617 DOI: 10.1038/cmi.2013.43]
- Fletcher SP, Chin DJ, Cheng DT, Ravindran P, Bitter H, Gruenbaum L, Cote PJ, Ma H, Klumpp K, Menne S. Identification of an intrahepatic transcriptional signature associated with self-limiting infection in the woodchuck model of hepatitis B. *Hepatology* 2013; 57: 13-22 [PMID: 22806943 DOI: 10.1002/hep.25954]
- Zhu R, Mancini-Bourguine M, Zhang XM, Bayard F, Deng Q, Michel ML. Plasmid vector-linked maturation of natural killer (NK) cells is coupled to antigen-dependent NK cell activation during DNA-based immunization in mice. *J Virol* 2011; 85: 10201-10212 [PMID: 21775455 DOI: 10.1128/JVI.00062-11]
- Yang PL, Althage A, Chung J, Maier H, Wieland S, Isogawa M, Chisari FV. Immune effectors required for hepatitis B virus clearance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 798-802 [PMID: 20080755 DOI: 10.1073/pnas.0913498107]
- Guy CS, Mulrooney-Cousins PM, Churchill ND,

- Michalak TI. Intrahepatic expression of genes affiliated with innate and adaptive immune responses immediately after invasion and during acute infection with woodchuck hepadnavirus. *J Virol* 2008; 82: 8579-8591 [PMID: 18596101 DOI: 10.1128/JVI.01022-08]
- 16 Fisicaro P, Valdatta C, Boni C, Massari M, Mori C, Zerbini A, Orlandini A, Sacchelli L, Missale G, Ferrari C. Early kinetics of innate and adaptive immune responses during hepatitis B virus infection. *Gut* 2009; 58: 974-982 [PMID: 19201769 DOI: 10.1136/gut.2008.163600]
 - 17 Zhang Z, Zhang S, Zou Z, Shi J, Zhao J, Fan R, Qin E, Li B, Li Z, Xu X, Fu J, Zhang J, Gao B, Tian Z, Wang FS. Hypercytolytic activity of hepatic natural killer cells correlates with liver injury in chronic hepatitis B patients. *Hepatology* 2011; 53: 73-85 [PMID: 21254163 DOI: 10.1002/hep.23977]
 - 18 Chen Y, Wei H, Sun R, Dong Z, Zhang J, Tian Z. Increased susceptibility to liver injury in hepatitis B virus transgenic mice involves NKG2D-ligand interaction and natural killer cells. *Hepatology* 2007; 46: 706-715 [PMID: 17626270 DOI: 10.1002/hep.21872]
 - 19 Dunn C, Brunetto M, Reynolds G, Christophides T, Kennedy PT, Lampertico P, Das A, Lopes AR, Borrow P, Williams K, Humphreys E, Afford S, Adams DH, Bertolotti A, Maini MK. Cytokines induced during chronic hepatitis B virus infection promote a pathway for NK cell-mediated liver damage. *J Exp Med* 2007; 204: 667-680 [PMID: 17353365 DOI: 10.1084/jem.20061287]
 - 20 Okazaki A, Hiraga N, Imamura M, Hayes CN, Tsuge M, Takahashi S, Aikata H, Abe H, Miki D, Ochi H, Tateno C, Yoshizato K, Ohdan H, Chayama K. Severe necroinflammatory reaction caused by natural killer cell-mediated Fas/Fas ligand interaction and dendritic cells in human hepatocyte chimeric mouse. *Hepatology* 2012; 56: 555-566 [PMID: 22331638 DOI: 10.1002/hep.25651]
 - 21 Zou Y, Chen T, Han M, Wang H, Yan W, Song G, Wu Z, Wang X, Zhu C, Luo X, Ning Q. Increased killing of liver NK cells by Fas/Fas ligand and NKG2D/NKG2D ligand contributes to hepatocyte necrosis in virus-induced liver failure. *J Immunol* 2010; 184: 466-475 [PMID: 19949088 DOI: 10.4049/jimmunol.0900687]
 - 22 Xie Z, Chen Y, Zhao S, Yang Z, Yao X, Guo S, Yang C, Fei L, Zeng X, Ni B, Wu Y. Intrahepatic PD-1/PD-L1 up-regulation closely correlates with inflammation and virus replication in patients with chronic HBV infection. *Immunol Invest* 2009; 38: 624-638 [PMID: 19811426 DOI: 10.1080/08820130903062210]
 - 23 Germanidis G, Argentiou N, Hytiroglou P, Vassiliadis T, Patsiaoura K, Germentis AE, Speletas M. Liver FOXP3 and PD1/PDL1 Expression is Down-Regulated in Chronic HBV Hepatitis on Maintained Remission Related to the Degree of Inflammation. *Front Immunol* 2013; 4: 207 [PMID: 23898331 DOI: 10.3389/fimmu.2013.00207]
 - 24 Li F, Wei H, Wei H, Gao Y, Xu L, Yin W, Sun R, Tian Z. Blocking the natural killer cell inhibitory receptor NKG2A increases activity of human natural killer cells and clears hepatitis B virus infection in mice. *Gastroenterology* 2013; 144: 392-401 [PMID: 23103614 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.10.039]
 - 25 Tjwa ET, van Oord GW, Hegmans JP, Janssen HL, Woltman AM. Viral load reduction improves activation and function of natural killer cells in patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2011; 54: 209-218 [PMID: 21095036 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.07.009]
 - 26 Li Y, Wang JJ, Gao S, Liu Q, Bai J, Zhao XQ, Hao YH, Ding HH, Zhu F, Yang DL, Zhao XP. Decreased peripheral natural killer cells activity in the immune activated stage of chronic hepatitis B. *PLoS One* 2014; 9: e86927 [PMID: 24520324 DOI: 10.1371/journal.pone.0086927]
 - 27 Ju Y, Hou N, Meng J, Wang X, Zhang X, Zhao D, Liu Y, Zhu F, Zhang L, Sun W, Liang X, Gao L, Ma C. T cell immunoglobulin- and mucin-domain-containing molecule-3 (Tim-3) mediates natural killer cell suppression in chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2010; 52: 322-329 [PMID: 20133006 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.12.005]
 - 28 Lauzon NM, Mian F, MacKenzie R, Ashkar AA. The direct effects of Toll-like receptor ligands on human NK cell cytokine production and cytotoxicity. *Cell Immunol* 2006; 241: 102-112 [PMID: 17049504 DOI: 10.1016/j.cellimm.2006.08.004]
 - 29 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 [PMID: 15349914 DOI: 10.1002/hep.20366]
 - 30 Woltman AM, Boonstra A, Janssen HL. Dendritic cells in chronic viral hepatitis B and C: victims or guardian angels? *Gut* 2010; 59: 115-125 [PMID: 20007959 DOI: 10.1136/gut.2009.181040]
 - 31 Vincent IE, Zannetti C, Lucifora J, Norder H, Protzer U, Hainaut P, Zoulim F, Tommasino M, Trépo C, Hasan U, Chemin I. Hepatitis B virus impairs TLR9 expression and function in plasmacytoid dendritic cells. *PLoS One* 2011; 6: e26315 [PMID: 22046272 DOI: 10.1371/journal.pone.0026315]
 - 32 Tjwa ET, van Oord GW, Biesta PJ, Boonstra A, Janssen HL, Woltman AM. Restoration of TLR3-activated myeloid dendritic cell activity leads to improved natural killer cell function in chronic hepatitis B virus infection. *J Virol* 2012; 86: 4102-4109 [PMID: 22318141 DOI: 10.1128/JVI.07000-11]
 - 33 Shi CC, Tjwa ET, Biesta PJ, Boonstra A, Xie Q, Janssen HL, Woltman AM. Hepatitis B virus suppresses the functional interaction between natural killer cells and plasmacytoid dendritic cells. *J Viral Hepat* 2012; 19: e26-e33 [PMID: 22239523 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2011.01496.x]
 - 34 Martinet J, Dufeu-Duchesne T, Bruder Costa J, Larat S, Marlu A, Leroy V, Plumas J, Aspor C. Altered functions of plasmacytoid dendritic cells and reduced cytolytic activity of natural killer cells in patients with chronic HBV infection. *Gastroenterology* 2012; 143: 1586-1596.e8 [PMID: 22960656 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.08.046]
 - 35 Xu L, Yin W, Sun R, Wei H, Tian Z. Kupffer cell-derived IL-10 plays a key role in maintaining humoral immune tolerance in hepatitis B virus-persistent mice. *Hepatology* 2014; 59: 443-452 [PMID: 23929689 DOI: 10.1002/hep.26668]
 - 36 Park JY, Lee SH, Yoon SR, Park YJ, Jung H, Kim TD, Choi I. IL-15-induced IL-10 increases the cytolytic activity of human natural killer cells. *Mol Cells* 2011; 32: 265-272 [PMID: 21809216 DOI: 10.1007/s10059-011-1057-8]
 - 37 Peppas D, Micco L, Javaid A, Kennedy PT, Schurich

同行评价

本文将NK细胞在HBV感染中的作用方面的各种研究综述到了一起, 有较好的科学性、创新性和可读性, 可以较好地反映国际胃肠病学在该领域基础研究方面的先进水平, 对基础以及临床研究有良好的借鉴意义。

- A, Dunn C, Pallant C, Ellis G, Khanna P, Dusheiko G, Gilson RJ, Maini MK. Blockade of immunosuppressive cytokines restores NK cell antiviral function in chronic hepatitis B virus infection. *PLoS Pathog* 2010; 6: e1001227 [PMID: 21187913 DOI: 10.1371/journal.ppat.1001227]
- 38 Murawaki Y, Nishimura Y, Ikuta Y, Idobe Y, Kitamura Y, Kawasaki H. Plasma transforming growth factor-beta 1 concentrations in patients with chronic viral hepatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 1998; 13: 680-684 [PMID: 9715417 DOI: 10.1111/j.1440-1746.1998.tb00713.x]
- 39 Sun C, Fu B, Gao Y, Liao X, Sun R, Tian Z, Wei H. TGF- β 1 down-regulation of NKG2D/DAP10 and 2B4/SAP expression on human NK cells contributes to HBV persistence. *PLoS Pathog* 2012; 8: e1002594 [PMID: 22438812 DOI: 10.1371/journal.ppat.1002594]
- 40 Boni C, Fiscaro P, Valdatta C, Amadei B, Di Vincenzo P, Giuberti T, Laccabue D, Zerbini A, Cavalli A, Missale G, Bertolotti A, Ferrari C. Characterization of hepatitis B virus (HBV)-specific T-cell dysfunction in chronic HBV infection. *J Virol* 2007; 81: 4215-4225 [PMID: 17287266 DOI: 10.1128/JVI.02844-06]
- 41 Peppas D, Gill US, Reynolds G, Easom NJ, Pallett LJ, Schurich A, Micco L, Nebbia G, Singh HD, Adams DH, Kennedy PT, Maini MK. Up-regulation of a death receptor renders antiviral T cells susceptible to NK cell-mediated deletion. *J Exp Med* 2013; 210: 99-114 [PMID: 23254287 DOI: 10.1084/jem.20121172]
- 42 Lang PA, Lang KS, Xu HC, Grusdat M, Parish IA, Recher M, Elford AR, Dhanji S, Shaabani N, Tran CW, Dissanayake D, Rahbar R, Ghazarian M, Brüstle A, Fine J, Chen P, Weaver CT, Klose C, Diefenbach A, Häussinger D, Carlyle JR, Kaech SM, Mak TW, Ohashi PS. Natural killer cell activation enhances immune pathology and promotes chronic infection by limiting CD8⁺ T-cell immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109: 1210-1215 [PMID: 22167808 DOI: 10.1073/pnas.1118834109]
- 43 Buster EH, Hansen BE, Lau GK, Piratvisuth T, Zeuzem S, Steyerberg EW, Janssen HL. Factors that predict response of patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B to peginterferon- α . *Gastroenterology* 2009; 137: 2002-2009 [PMID: 19737568 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.08.061]
- 44 Micco L, Peppas D, Loggi E, Schurich A, Jefferson L, Cursaro C, Panno AM, Bernardi M, Brander C, Bihl F, Andreone P, Maini MK. Differential boosting of innate and adaptive antiviral responses during pegylated-interferon- α therapy of chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2013; 58: 225-233 [PMID: 23046671 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.09.029]
- 45 Mahdavi M, Amirrasouli H, Alavian SM, Behnavab, Kazerouni F, Keshvari M, Namaki S, Gholami Fesharaki M, Rahimpour H, Mohammadzade J, Zohrehbandian F, Mahdavi F. Impact of Pegylated Interferon- α 2a on Perforin Level in Patients With Chronic Hepatitis B: Preliminary Study. *Hepat Mon* 2013; 13: e11903 [PMID: 24348645 DOI: 10.5812/hepatmon.11903]
- 46 Tzeng HT, Tsai HF, Liao HJ, Lin YJ, Chen L, Chen PJ, Hsu PN. PD-1 blockage reverses immune dysfunction and hepatitis B viral persistence in a mouse animal model. *PLoS One* 2012; 7: e39179 [PMID: 22761734 DOI: 10.1371/journal.pone.0039179]
- 47 Sukriti S, Pati NT, Bose S, Hissar SS, Sarin SK. Impaired antigen processing and presentation machinery is associated with immunotolerant state in chronic hepatitis B virus infection. *J Clin Immunol* 2010; 30: 419-425 [PMID: 20300807 DOI: 10.1007/s10875-010-9379-4]
- 48 Cella M, Fuchs A, Vermi W, Facchetti F, Otero K, Lennerz JK, Doherty JM, Mills JC, Colonna M. A human natural killer cell subset provides an innate source of IL-22 for mucosal immunity. *Nature* 2009; 457: 722-725 [PMID: 18978771 DOI: 10.1038/nature07537]
- 49 Zenewicz LA, Yancopoulos GD, Valenzuela DM, Murphy AJ, Karow M, Flavell RA. Interleukin-22 but not interleukin-17 provides protection to hepatocytes during acute liver inflammation. *Immunity* 2007; 27: 647-659 [PMID: 17919941 DOI: 10.1016/j.immuni.2007.07.023]
- 50 Zhang Y, Cobleigh MA, Lian JQ, Huang CX, Booth CJ, Bai XF, Robek MD. A proinflammatory role for interleukin-22 in the immune response to hepatitis B virus. *Gastroenterology* 2011; 141: 1897-1906 [PMID: 21708106 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.06.051]
- 51 Feng D, Kong X, Weng H, Park O, Wang H, Dooley S, Gershwin ME, Gao B. Interleukin-22 promotes proliferation of liver stem/progenitor cells in mice and patients with chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 2012; 143: 188-198.e7 [PMID: 22484119 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.03.044]

编辑 韦元涛 电编 闫晋利

