

# Progress and Treatment of Immunotherapy for Viral Hepatitis

Xuan Mu

Changhai Hospital, Shanghai, 200433, China

## Abstract

Viral hepatitis is an infectious disease that is extremely harmful to human health. China is also a high-risk area for viral hepatitis. The treatment of this disease is particularly important. Antiviral therapy is one of the important treatments for viral hepatitis. At present, drugs such as interferon and nucleoside analogues are mainly used in clinical treatment, but the effect is not satisfactory. Immunotherapy for viral hepatitis is being valued by people. It adjusts the immune status of the body to achieve the purpose of treatment. In particular, immune gene therapy has opened up a new world for the treatment of viral diseases. The paper studies the current progress and treatment of viral hepatitis immunotherapy.

## Keywords

viral hepatitis; infectious disease; immunotherapy

# 病毒性肝炎免疫治疗的进展以及治疗

穆玄

上海长海医院, 中国 · 上海 200433

## 摘要

病毒性肝炎是对人类健康危害极大的传染性疾病, 中国又是病毒性肝炎的高发区, 对该病的治疗显得尤为重要。抗病毒治疗是病毒性肝炎的重要治疗手段之一。目前临床主要使用干扰素和核苷类似物等药物进行治疗, 但效果不能令人满意。针对病毒性肝炎的免疫治疗正被人们所重视, 调节机体的免疫状态达到治疗的目的, 特别是免疫基因治疗为病毒性疾病的治理开辟了新天地。论文就目前病毒性肝炎免疫治疗的进展以及治疗进行研究。

## 关键词

病毒性肝炎; 传染性疾病; 免疫治疗

## 1 引言

病毒性疾病的免疫治疗是一个重要的应用研究方向。抗 HBV、HIV 等的免疫治疗是当前国际研究热点之一。现在抗 HBV、HIV 等的免疫治疗策略主要由以疫苗为基础的免疫治疗、以抗体为基础的免疫治疗、以免疫效应细胞为基础的免疫治疗、以抗原提呈为基础的免疫治疗和以细胞为基础的免疫治疗五部分组成。免疫治疗技术的出现, 为 HBV、HIV 等难治性病毒感染的治疗提供了新的途径。

## 2 免疫学治疗的重要性

在诸多的病毒性疾病中, 病毒性肝炎是危害中国广大人民健康的最大疾病之一, 积极防治病毒性肝炎是卫生保健领域的一项重大课题。中国肝炎病毒的感染和肝炎的发病率非常高, 尤其是乙型肝炎病毒 (HBV) 的感染, HBV 携带者有

1 亿 2 千万, 其中慢性乙肝患者约 3 千万, 对此类患者目前尚缺乏有效的根除治疗手段, 容易转为慢性, 而且部分慢性肝炎可出现肝纤维化, 进而发展为肝硬化。这些疾病的慢性病程常常给患者带来长期病痛, 少部分患者还可发生肝癌, 危害极大。由于慢性肝病治疗效果较差, 预后不良, 因而对其病理发生、诊断和治疗进行更为深入的研究, 探索更为有效的预防和诊治策略是摆在医务工作者面前的重大任务。20 世纪发现并猖獗流行的另一病毒感染性疾病, 即 AIDS, 是人体淋巴系统被人类免疫缺陷病毒 (HIV) 破坏所引起的一种获得性免疫缺陷综合征。HIV 由皮肤破口或粘膜进入人体血液, 主要破坏 T4 淋巴细胞, T4 淋巴细胞在免疫中起中心调节作用, 促进 B 淋巴细胞产生抗体, 调节 Ts 淋巴细胞、NK 细胞等作用。当 T4 淋巴细胞逐渐遭受 HIV 破坏, 则整个依赖 T4 淋巴细胞调节的各种免疫反应, 均处于抑制状态。患者机体丧失抵御各种微生物侵袭的能力, 极易遭受各种机会性感染及发生多

种罕见的恶性肿瘤,全球性广泛流行,由于这种后天获得性免疫功能严重障碍,临床病死率极高,一年病死率50%,在三年内为80%,五年内为90%一旦感染将永久成为携带病毒者成为传染源,至今尚无有效的治疗方法,故受世界各国的重视。一些病毒,如巨细胞病毒(CMV)EBR的潜伏感染,使接受骨髓或器官移植患者同长期使用免疫抑制剂导致严重致死性病毒感染,临床治疗束手无策。对病毒感染,至今尚无特效药物,人们早已发现,病毒感染可降低免疫功能。调整机体的免疫状态,有助于缓解或阻止病情发展,因此免疫学治疗显得尤为重要。

## 2 以疫苗为基础的免疫治疗

亚单位疫苗、合成疫苗、基因工程疫苗及核酸疫苗的相继问世,在人类病毒性疾病的防治上做出了巨大贡献,将编码抗原的基因-DNA疫苗通过合适途径导入体内,通过机体内表达的抗原去诱导特异性免疫反应已经成为近年来病毒性疾病治疗的热门话题。业已证明,多种病毒表面相关蛋白抗原的重组质粒直接注入小鼠肌肉中,能诱导出保护性效果<sup>[1]</sup>。以肝细胞表面HBV外壳蛋白编码序列的转基因鼠作为HBV慢性携带者模型,采用HBV特异性DNA单一肌肉注射,可下调HBV、mRNA水平,抑制肝细胞HBsAg的表达,导致循环的HBsAg完全清除,而不引起肝细胞病理反应<sup>[2]</sup>。由于外壳的高度突变,使抗HCV疫苗研制复杂化,这使人们转向考虑病毒结构蛋白的细胞免疫反应在消除病毒感染时的重要作用,将表达HCV抗S蛋白的质粒载体注射到肌肉细胞中产生很强的CTL活性及细胞免疫反应,无论在体内或体外,都是有希望的抗病毒剂<sup>[3]</sup>。

治疗性疫苗是通过某种途径来弥补或激发机体的免疫反应,达到清除病毒的目的。核酸疫苗目前研制常用DNA,故又常称DNA疫苗,它不仅可诱导体液免疫应答,而且能诱导强烈的细胞免疫应答,有望用于病毒性肝炎的治疗。Mandni等<sup>[3]</sup>用DNA疫苗肌注于慢性携带HBV的转基因小鼠,可诱导免疫反应而不引起肝细胞病理反应,完全清除循环中的HBsAg和HBsAg在肝细胞中的表达,并使HBV mRNA下降。Major等<sup>[4]</sup>将HCV核心区基因和HBV膜蛋白区基因插入到同一载体中,形成嵌合真核表达载体将其免疫小鼠,可同时产生抗HCV和抗HBV的免疫应答。

## 3 以抗体为基础的免疫治疗

单克隆抗体为某些至今难以治疗的病毒性疾病提供了新的、高效的免疫制剂。EBV诱发难以控制的B淋巴细胞增生,在免疫缺陷患者,导致致死性淋巴瘤。实验研究发现,B淋巴细胞系(BLCL)强烈表达CD95/Apo-1/fas抗原及抗Apo-1/fas单抗刺激可诱发其程序性细胞死亡(PCD),用抗CD95/Apo-1/fas特异性抗体诱导PCD,被用于治疗EBV诱导的B细胞肿瘤。HSV感染非常常见,目前虽有药物能改善症状,但耐药株的不断出现极大地影响了疗效,用针对HSV特异性单抗,则能够解决这一难题。最近有文献报道用组合抗体文库制备的人源性抗HIV-1单抗IgG1b12和CD4-IgG2在体内、体外均能中和HIV病毒,降低患者血中病毒的效价,有望成为预防和治疗AIDS的有效药物<sup>[5]</sup>。

## 4 以免疫效应细胞为基础的免疫治疗

免疫效应细胞CTL(cytokine T lymphocyte)细胞免疫在机体抗病毒感染免疫反应中起重要作用。在慢性病毒性肝炎感染的机体内,特异性T细胞的杀伤活性非常低下,甚至产生耐受性。回输具有病毒特异性的CTL能清除体内病毒。普遍认为病毒清除是CTL在MHC(major histocompatibility complex) I类分子限制下对病毒感染细胞的细胞毒作用实现的,但在HBV转基因小鼠模型中发现,CTL在清除病毒过程中,通过分泌TNF- $\alpha$ 和TNF- $\beta$ 下调HBV mRNA的水平,抑制HBV复制,却不引起肝细胞的损伤<sup>[6]</sup>。Vitello等<sup>[7]</sup>用一种含脂质体、T辅助细胞(HTL)和CTL识别位点的HB疫苗免疫动物和人,可明显增强CTL位点抗原性作用,增强特异性CTL的产生,治疗HBV的感染。

细胞免疫在机体抗病毒感染免疫反应中起重要作用,在慢性病毒感染体内,特异性T细胞的杀伤活性非常低下,甚至产生耐受性。在HBV、EBV和CMV感染动物模型已经证明,回输具有病毒特异性CTL能彻底清除体内病毒。如在体外反复用病毒抗原刺激T细胞,能够诱导长期抗病毒回忆反应的T细胞,防止病毒再次攻击。普遍认为病毒清除是CTL在MHC-I类分子限制下对病毒感染细胞的细胞毒作用实现的,但在HBV转基因小鼠模型中发现,CTL在清除病毒过程中,通过分泌TNF- $\alpha$ 和TNF- $\beta$ 下调HBV、mRNA水平,抑制HBV复制,却不引起肝细胞病理损伤。国际已

有报道用的患者,获得满意的效果,给受者输入体外扩增的CMV特异性CTL,可安全有效地恢复机体对CMV特异的T细胞反应,且不产生任何病理损伤和中毒反应,在回输1X10<sup>7</sup>/m<sup>2</sup>体表面细胞后,患者可检出的T细胞反应的数量与有免疫力的骨髓供者都相等甚至超出<sup>[8]</sup>。Monto等<sup>[9]</sup>给7例艾滋病患者回输在体外扩增的自身CTL,回输细胞量在1.5~3.5X10<sup>9</sup>,回输后6个月中患者病情稳定,输入1X10<sup>10</sup>的患者临床症状得以改善。这些结果表明,在体外将CTL克隆和扩增后回输将是病毒性疾病预防的一个重要和有希望的免疫疗法。

## 5 以细胞因子为基础的免疫治疗

许多细胞因子参与机体的抗病毒免疫机制。干扰素具有广泛的抗病毒、抗肿瘤、免疫调节等生物活性,仍是目前临床治疗乙型、丙型等慢性病毒性肝炎的主要药物。另外,IL-12对于HBV病毒的复制和表达有明显的抑制作用。Cavanaugh等<sup>[10]</sup>的研究结果表明,IL-12能抑制转基因小鼠肝脏与肾脏中HBV的复制水平,同时两组织中HBcAg的表达也完全消失。

许多细胞因子参与机体抗病毒免疫机制,其中最重要的是IL-2和IFN- $\alpha$ 在病毒特异性CTL的过继性回输治疗中发现,IL-2对输入体内的效应T细胞的持续存在和增殖起关键作用,在免疫缺陷鼠回输特异性CTL治疗CMV感染时,同时给予TL-2时更有效<sup>[11]</sup>。联合IL-2或IL-7和物异性CTL治疗HSV感染,疗效比单独用CTL治疗分别提高7倍和10倍。IFN- $\alpha$ 能直接抑制病毒复制,激活NK细胞,

增强CTL识别病毒感染细胞的能力及调节MHC分子表达。近年来,临床上用IFN- $\alpha$ 治疗乙型肝炎、生殖器疱疹、尖锐湿疣、乳头瘤以及AIDS患者的机会性感染均取得了良好的效果。各种高纯度重组细胞因子的研制成功,为它们在病毒性疾病预防中的应用奠定了基础。

病毒性疾病的免疫治疗临床应用方案多种多样,但在AIDS患者体内的效果尚难以肯定。IFN- $\alpha$ 是目前唯一证实有效的慢性乙肝免疫治疗药物,但长期使用机体产生高滴度抗体而产生耐受性,使2/3的患者临床治疗效果不甚满意。乙型病毒性肝炎慢性转化的根本原因是病毒的持续存在,如何以分子水平、基因水平清除体内病毒已成为根治本病的关键。基因治疗技术的出现,为HBV、HIV等难治病毒感染的

治疗开辟了新的途径。

## 6 以抗原提呈为基础免疫治疗

所谓抗原提呈,是指抗原被抗原提呈细胞摄取,加工后以免疫性肽的形式呈现于提呈细胞表面,最终被免疫活性细胞识别的过程。显然,抗原提呈过程是免疫反应的起始阶段,它发动免疫应答过程。同时,我们知道,免疫系统的基本特性就是区分自身抗原和异己抗原。机体对自身抗原和异己抗原的识别在很大程度上是通过抗原提呈的差异来实现的。表达胸腺上皮的自身抗原或被送入胸腺中的外周自身抗原,由骨髓来源的M $\phi$ 或DC提呈给胸腺中处于分化过程中的T细胞,从而使那些自身反应性T细胞被消除或失活,机体因此建立自身抗原的耐受状态,而对于免疫系统发育过程中未被提呈的外来异己抗原而言,机体对它们则有正常免疫应答反应。可见,抗原提呈过程在免疫系统中发挥基本的、却也是核心的作用。慢性病毒性感染机体往往都存在不同程度的免疫功能低下,患者的抗原提呈细胞不能正确处理和提呈病毒原信号,是病毒感染得以发展的重要原因之一。采用病毒抗原多肽体外致敏APC如树突状细胞(DC)。体内免疫可大大提高病情抗原的提呈能力,激发机体产生特异性免疫反应<sup>[12]</sup>。将抗病毒性抗原和T细胞表面分子的单抗融合成的双功能抗体与自体APC和T细胞培养时,既能特异识别APC上病毒抗原,又能与T细胞表面共刺激分子结合,为效应T细胞活化提供第二信号。日本学者报道,应用T细胞受体(TCR)和抗HIV感染细胞表面抗原的双功能抗体(BFA)可介导的CD8<sup>+</sup>T细胞有效清除HIV感染细胞,用这种BFA与淋巴细胞反应可以赋予淋巴细胞结合感染细胞表面HIV抗原的能力,这种结合能力可以不受MHC的限制,因而可以用BFA致敏的淋巴细胞识别HIV等病毒抗原,从而排除HIV等感染细胞。同时,还可以用其他人的淋巴细胞制成BFA致敏淋巴细胞以排除HIV等感染细胞治疗病毒感染<sup>[13]</sup>。应用BFA和T细胞治疗HIV等难治性病毒具有广阔的前景。

## 7 结语

病毒性肝炎的免疫基因治疗目前虽取得了一定的进展,但要真正进入临床尚有待于进一步的完善和有关部门的批准。但是,病毒性肝炎的免疫基因治疗有其独有的特点,仍可能为将来人类疾病的治疗带来巨大潜力。总之,病毒性疾病的免

疫学治疗与人们健康息息相关，应受到足够的重视，使其能够飞速发展，以便为人类做出更大贡献。

## 参考文献

- [1] 曹雪涛. 免疫基因治疗的研究现状与发展趋势 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 1996 (04): 243–250.
- [2] Mancini M. DN A — mediated immunization in a transgenic mouse model of the hepatitis B surface antigen chronic carrier state [J]. Proc Natl Acad Sci LSA, 1996, 93( 22): 12496–12501.
- [3] Mancini M, Hadchouel M, Davis HL et al DN A —mediated immunization in a transgenic mouse model of the hepatitis B surface antigen chronic carrier state [J] . Proc Natl Acad Sci L SA, 1996 93(22):12496.
- [4] Major ME, Vitvitski L, Mink MA, et al. DNA—based immunization with chimeric vectors for the induction of immune responses against the hepatitis C virus nucleocapsid [J] . J Virol, 1995 (9):5798.
- [5] Monto Ho. Assessment of Response to Therapy of primary Breast Cancer by Mammography and physical Examination [J]. Cancer Res, 1995(81):2093.
- [6] Vitiello A, Ishioka G , Grey HM , et al. Development of a lipopeptide– based therapeutic vaccine to treat chronic HBV infection I. Induction of a primary cytotoxic T lymphocyte response in humans [J]. J Clin Invest , 1995 (1):341.
- [7] Bohjanen PR, Colvin RA, Puttaraju M , et al. A small circular TAR RNA decoy specifically inhibits Tat –activated HIV –1 transcription [J] . Nucleic Acids Res, 1996 (19):2733.
- [8] Reusser M. Cytotoxic T — lymphocyte Response to Cytomegalovirus After Human Allogeneic Bone Marrow Transplantation: Pattern of Recovery and Correlation with Cytomegalovirus Infection and Disease [J] . Blood, 1991(78): 1373.
- [9] Tokushige K. Expression and Immune Response to Hepatitis C virus core DN A —Based Vaccine Construct [J] . Hepatology, 1996 (01):14–20.
- [10] Cavanaugh VJ, Guidotti LG , Chisari FV, et al. Interleukin –12 inhibits hepatitis B virus replication in transgenic mice [J] . J Virol, 1997(4):3236.
- [11] 李晓敏. 细胞因子基因肌肉注射的基因疗法 [J]. 国外医学免疫分册, 1995(06):331.