

· 综述 ·

乙型肝炎病毒感染外周血单个核细胞研究进展

辛永宁 季德春 宣世英

乙型肝炎(乙肝)病毒(HBV)虽主要侵犯肝脏,但自 Lie-Injo 首次从 HBsAg 阳性的肝癌患者外周血单个核细胞(PBMC)中检测出 HBV-DNA,近几年在慢性乙肝患者 PBMC 内已检出多种形式 HBV-DNA 及复制中间体 RNA 和抗原成分^[1,2]。由于 HBV 感染引起的肝脏病变主要与免疫系统功能紊乱有关,而 PBMC 是 T、B 淋巴细胞、巨噬细胞、NK 细胞等免疫活性细胞的集合体,对机体的免疫反应起至关重要的作用,故 PBMC 已成为 HBV 在肝外的重要复制场所,本文就有关 HBV 感染 PBMC 研究进展作简要综述。

1. HBV 感染 PBMC 的机制:许多研究表明乙肝病毒能够感染 PBMC,杨思齐等^[3]研究发现,42/71 的慢性乙肝患者 PBMC 内存在 HBV-DNA(游离型或整合型,有的还见到游离的复制中间体)。HBV 侵入 PBMC 的机制尚未完全阐明。既往有观点认为 PBMC 的 HBV 感染是由于骨髓造血干细胞的感染引起,携带 HBV 的骨髓细胞有可能在分裂过程中把 HBV 传给予子代细胞,从而使 PBMC“先天性”感染了 HBV。此外,单核巨噬细胞的吞噬作用可能是 HBV 感染 PBMC 的一条途径。现在一般认为,HBV 感染 PBMC 与感染肝细胞相似,也是由靶细胞上的 HBV 受体所介导。Pontisso 等^[4]用¹²⁵I 标记含有前 S、前 S₁ 及 S 蛋白的重组蛋白颗粒,和正常人的 PBMC 共同孵育,使它们吸附于 PBMC,再用胰蛋白酶消化,发现 B 细胞和大单核细胞比 T 细胞和粒细胞更容易与 HBV 结合,抗-前 S(27-49)抗体可以完全阻断 HBV 与 PBMC 的结合,而抗-前 S₂ 和抗-S 抗体无此作用,提示 PBMC 表面存在前 S₁ 受体,HBV 对 PBMC 的吸附是通过前 S₁ 参与完成的。

2. HBV 感染 PBMC 对免疫功能的影响:由于 HBV 可以直接感染 PBMC,HBV-DNA 可以在 PBMC 内复制与转录,HBV-DNA 还可以整合到宿主 PBMC 的基因组内,所以影响 PBMC 的功能,特别是免疫功能。T 淋巴细胞对 HBV 抗原的免疫应答,一方面产生对 HBcAg 和 HBeAg 的特异细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL),PBMC 内的 HBV 抗原成分能够使该细胞成为 CTL 攻击的靶细胞,从而导致 PBMC 的数量减少,影响机体的免疫功能。另一方面,T 细胞可以产生多种细胞因子,通过其与受体的相互作用,诱导其他细胞因子的产生或者受体的表达,直接或者间接发挥抗病毒作用。宣世英等^[5]应用聚合酶链反应(PCR)方法检测慢性乙肝患者

PBMC 内 HBV-DNA,同时检测 T 细胞亚群水平,发现 HBV 感染 PBMC 导致慢性乙肝患者细胞免疫功能紊乱。

3. PBMC 内的 HBV-DNA 在 HBV 传播中的作用:

(1)HBV 感染 PBMC 与 HBV 二次感染:HBV 在 PBMC 中的复制增殖,使得 PBMC 成为 HBV 传播的一个重要载体。张凯宇等^[1]研究发现,24 例血清 HBV-DNA 阴性患者中,PBMC 内 HBV-DNA 阳性 5 例,阳性率为 23.8%(5/24),其中有一例高达 1.6×10^8 拷贝/ml,经查该患者资料,患者为 HBeAg 阴性慢性乙肝,已服用拉米夫定 9 个月,这提示,在慢性乙肝患者中,当服用药物清除了血中和肝细胞中的 HBV 后,由于 HBV 感染 PBMC 并在胞内复制,使 PBMC 成为 HBV 再感染发生的重要来源。Cabrerizo 等^[6]研究曾感染过乙肝现已恢复者 PBMC 内 cccDNA 的阳性率为 50%,HBV-RNA 的阳性率为 100%。血清 HBeAg、HBV-DNA 及 PBMC 中 HBV-DNA 阴性的乙肝患者,其 PBMC 中 HBV-RNA 仍可能阳性,PBMC 可成为乙肝患者肝病复发和传播的来源。黄敦武等^[7]也认为 PBMC 内 HBV 可独立存在并作为体内 HBV 二次感染的来源。

(2)HBV 感染 PBMC 与肝移植后乙肝复发:由于 PBMC 内 HBV-DNA 阳性时血清 HBV-DNA 可以为阴性,虽然以血 HBV 作为主要来源的受染肝脏已经被健康肝脏取代,但是如果 PBMC 内仍存在 HBV,则移植后的肝脏仍然可以受到感染。有研究发现,尽管应用乙肝高效价免疫球蛋白被动免疫,PBMC 内 HBV-DNA 阳性仍是肝移植后乙肝复发的高度危险因素^[8],故对今后肝移植后肝炎复发问题及献血员的筛选、乙肝疗效的评价都提出了新的课题。

(3)HBV 感染 PBMC 与围产期母婴传播:有学者通过对 52 例 HBsAg 阳性孕妇分娩的新生儿进行 HBIG 和 HBVac 联合免疫接种^[9],7 个月时进行随访,用巢式 PCR 技术检测新生儿血清和 PBMC 中 HBV-DNA,结果发现 52 例新生儿 PBMC 中 HBV-DNA 阳性 15 例。Bauer 等^[10]用荧光 PCR 扩增具有多态性的短串联重复序列可在脐血中检测到母亲的 DNA 序列。因此,HBV 感染的 PBMC 很可能通过完整的胎盘感染胎儿。由于 HBV 感染 PBMC 与围产期母婴传播有关,因此,对 HBsAg 阳性孕妇所分娩的新生儿,不仅要常规检测 HBsAg 及血清 HBV-DNA,而且应该检测 PBMC 中 HBV-DNA,并积极寻找有效预防措施,以防慢性 HBV 携带状态的发生。

(4)HBV 感染 PBMC 与隐性 HBV 感染:隐性 HBV 感染的特征是 HBV 感染而 HBsAg 阴性,肝组织、PBMC 中 HBV-

DNA 阳性,血清 HBV-DNA 通常 $< 10^4$ 拷贝/ml。由于隐性 HBV 感染有通过血液、透析、组织移植传播病毒的潜在危险性,所以近年来受到人们的关注。有文献报道,隐性 HBV 感染可能与 HBV 感染 PBMC 有关^[11]。Cabrerizo 等^[12]将健康志愿者的 PBMC 与 2 例隐性 HBV 感染者的血清共同孵育,一周后检测 PBMC 内 HBV-DNA,用脱氧核糖核酸及胰岛素对细胞内 HBV-DNA 进行定位,结果发现 2 例 PBMC 中 HBV-DNA 均阳性,证明隐性患者血清 HBV 可感染 PBMC。Mason 等发现隐性 HBV 感染在 HBsAg 清除后, PBMC 中 HBV-DNA 可存在长达 4 年。尚有研究表明,在 HBsAg 阴转后, PBMC 内仍可发现 HBV-DNA 阳性,这是乙肝进一步复发和传播的证据^[13]。

4. HBV 感染 PBMC 与病情的关系:光丽霞,顾长海^[14]研究发现,CHB 患者 PBMC 内 HBV-DNA 的检出率在临床病情不同的各组患者中有显著差别,病情越重,检出率越高,说明 HBV 感染 PBMC 与肝炎的病情轻重程度相关。郭海波等^[15]研究表明,在 24 例血清 HBV-DNA 阴性患者中,有 5 例其 PBMC HBV-DNA 阳性,阳性率为 23.8%,说明在乙肝患者中,特别是在血清 HBV-DNA 阴性或治疗后转阴的患者中,不可单纯以血清 HBV-DNA 阳性作为病毒复制的指标,还需考虑 PBMC 中 HBV-DNA 是否阳性,联合检测血清和 PBMC 内 HBV-DNA 含量更有助于正确判断慢性乙肝患者的病情。

5. HBV 感染 PBMC 在乙肝抗病毒治疗中的意义:在判断抗病毒治疗的效果时, PBMC 中 HBV-DNA 的水平、存在状态应作为判定标准之一。汲振余等^[16]研究发现, PBMC 清除 HBV-DNA 较血液缓慢,在病毒持续感染及造成肝细胞损伤过程中起一定作用。Bartolome 等^[17]发现肝细胞内 HBV 与 PBMC 内 HBV 的存在之间有直接关系,无论患者是否经抗病毒治疗,当肝 HBV-DNA 消失时,带有 HBV-DNA 的 PBMC 数量减少,由此可以将 PBMC 内 HBV-DNA 水平作为抗病毒治疗显效的重要标准。

可以看出, PBMC 已成为 HBV 的仅次于肝细胞的一个重要靶细胞,乙肝病毒感染 PBMC 及其免疫功能的研究已成为乙肝研究的新课题,对其研究的进一步深入将有助于阐明乙肝的发病机理,并为乙肝的防治提供理论依据。

参 考 文 献

- 1 张凯宇,蔡艳俊,王峰,等. 乙肝患者外周血单个核细胞中乙肝病毒复制中间体 RNA 与乙肝病毒 DNA 相关性的研究. 临床肝胆病杂志,2001,17:149-151.
- 2 宋闽宁,骆梅兰,黄文琪. 乙肝病毒携带者外周血单个核细胞培养上清液 HBV-DNA 定量检测意义. 中国医师杂志,2003,5:484-485.

- 3 杨思齐,余炳雯,张学锋,等. 慢性乙肝病毒感染者外周血单个核细胞染色体遭受病毒损害的见证. 暨南大学学报(自然科学与医学版),1995,16:6-11.
- 4 Pontisso P, Morsica G, Ruvoletto MG, et al. Hepatitis B virus binds to peripheral blood mononuclear cells via the pre S₁ protein. J Hepatol, 1991, 12:203-206.
- 5 宣世英,孙樱,张健,等. 慢性乙型肝炎病人外周血单个核细胞 HBV 感染后对其细胞免疫功能影响的研究. 中华流行病学杂志, 1997, 18:80-82.
- 6 Cabrerizo M, Bartolome J, Caramelo C, et al. Molecular analysis of hepatitis virus DNA in serum and peripheral blood mononuclear cells from hepatitis B surface antigen-negative cases. Hepatology, 2000, 32:116-123.
- 7 黄敦武,武英,刘碧坚. PCR 法检测慢性乙肝患者外周血单个核细胞中 HBV-DNA. 西南国防医药,2002,12:111-112.
- 8 Roche B, Feray C, Gigou M, et al. HBV DNA persistence 10 years after liver transplantation despite successful anti-HBs passive immunoprophylaxis. Hepatology, 2003, 38:86-95.
- 9 Yue Y, Meng J, Zhang S. Mechanism of peripheral blood mononuclear cell invasion by HBV on artificial immunization in newborns. Chin Med J, 2002, 115:1380-1382.
- 10 Bauer M, Orescovic I, Schoell WM, et al. Detection of maternal deoxyribonucleic acid in umbilical cord plasma by using fluorescent polymerase chain reaction amplification of short tandem repeat sequences. Am J Obstet Gynecol, 2002, 186:117-120.
- 11 Hu KQ. Occult hepatitis B virus infection and its clinical implications. J Viral Hepat, 2002, 9:243-257.
- 12 Cabrerizo M, Bartolome J, Carreno V. In vitro infection of human peripheral blood mononuclear cells by a defective hepatitis B virus with a deletion in the PreS₁ region of the viral genome. J Viral Hepat, 2002, 9:265-271.
- 13 Murakami Y, Minami M, Daimon Y, et al. Hepatitis B virus DNA in liver, serum, and peripheral blood mononuclear cells after the clearance of serum hepatitis B virus surface antigen. J Med Virol, 2004, 72:203-214.
- 14 光丽霞,顾长海. HBV 感染的单核细胞分泌 TNF α 和 PGE-2 的改变及其意义探讨. 中华传染病杂志,1995,11:204-207.
- 15 郭海波,吴晓蔓,郭锐. 荧光定量 PCR 检测慢性乙肝患者外周血单个核细胞乙肝病毒 DNA. 中国医师杂志,2004,6:925-926.
- 16 汲振余,孙爱民,陈茜,等. 慢性乙型肝炎患者外周血单个核细胞内 HBV DNA 存在的意义. 世界华人消化杂志,1998,6:176-178.
- 17 Bartolome J, Moraleda G, Molina J, et al. Hepatitis B virus DNA in liver and peripheral blood mononuclear cells during reduction in virus replication. Gastroenterology, 1990, 99:1745-1750.

(收稿日期:2005-10-14)

(本文编辑:尹廉)