维普资讯 http://www.cqvip.com

乙型肝炎，慢性，病毒感染，

第22卷 第4期 重庆医科大学学报 Vol.22 No.4
1997 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1997

379-382

(36)

乙型肝炎病毒感染慢性化机理的研究进展

R512.62

病毒性肝炎研究所 古柏燕* 综述 任 红 审校

中图分类号 R512.62

乙型病毒性肝炎是一种世界性疾病，其中慢性感染者又占较大比例。据统计，我国现患乙肝病毒感染者有60%以上为慢性感染。乙型肝炎病毒的持续性慢性感染与肝硬化、原发性肝细胞癌密切相关，慢性乙肝患者罹患原发性肝细胞癌的相对危险度较正常至少增加100倍。目前对慢性乙型肝炎尚缺乏有效的抗病毒疗法，究其原因乃是由于其机理仍不太清楚。为此，本文综述有关乙型肝炎病毒感染慢性化机理的研究进展。

作为一种非直接损伤细胞性病毒，乙型肝炎病毒要在体内持续存在就必须具有一种逃避疫监视的能力：或是诱导一种无效的抗病毒免疫应答，或是逃避有效的免疫应答[1]。无论是从乙型肝炎病毒的分子生物学特性的角度或是从免疫损伤的角度看，乙型肝炎病毒都是通过以上两方面途径来逃避免疫监视，最终导致感染慢性化。

1 HBV分子特殊生物学性状与肝炎慢性化的关系。

1.1 基因突变与乙肝病毒感染慢性化的关系

乙肝病毒复制存在着逆转录过程，而逆转录酶缺乏校读功能，故HBV基因较易发生变异。HBV基因变异包括基因片段缺失、替代、插入、移位重排。目前认为，HBV基因变异可以改变抗原的免疫学性状，可以阻碍某些起免疫关键作用的病毒蛋白质的表达，还可能影响病毒自身的复制表达。变异株的免疫学性状的改变，既可以通过影响多肽抗原与TCR及MHC的结合而逃避免疫识别[10]，也可以充当TCR的拮抗剂以拮抗相应野毒株的CTL应答[4]。

基因突变可发生在HBV的任何一个阅读框架内。已经报道有十几种S基因突变型表达的突变体[23]，其中最常见的是位于HBsAg的"a"抗原决定簇的145位氨基酸突变体(甘氨酸为精氨酸所取代)。"a"抗原决定簇(HBsAg的124－147位氨基酸序列)是HBs抗原的最主要的抗原决定簇，145位氨基酸的替代变异影响了"a"抗原决定簇的结构，从而造成HBsAg的免疫原性改变。这种突变株不能被野型株诱导的抗HBS所中和，从而得以保持其感染性，持续存在于机体内。研究"a"抗原决定簇的变异与免疫逃逸的关系是乙肝疫苗是否需增添新决定簇的重要问题。最近在HBVDNA阳性但HBsAg阴性的患者血清中，发现在第122～123位氨基酸及123～124位氨基酸分别有6个及9个核苷酸的插入变异。在"a"决定簇以外的抗原变异是否也可影响抗原与抗HBs的结合力将值得进一步研究。

对前C区的变异的研究着重于1896位基因的突变，此点突变可形成终止密码，使HBcAg不能表达。目前认为，这种不分泌HBeAg的突变株与重症肝炎和慢性乙肝可能有关。对于1896位变异和乙肝感染慢性化之间的关系目前有两种假设：一是认为HBeAg中含有具免疫决定作用的位点(如CTL结合位点)，因而HBeAg的缺乏将使特异性免疫活性细胞失去了靶抗原，突变株从而得以逃避免疫监视；二是认为这种变异稳定了复制表达HBeAg的前基因组织的结构，因而可以增加这种突变株病毒的复制率，使其成为优势株[15]。C区的变异则集中于几个区域，目前最受人关注的是CTL位点的变异[7]。Pre－S基因变异在慢性HBV感染中较常见，但由于其突变频繁，故很难确定每个突变点的意义[9]。Pre－S基因变异可能与免疫逃避也有一定的关系。另外，X蛋白具有反式激活转录作用，因此其变异也可能与病毒基因

* 女，1972－04出生，研究生

维普资讯 http://www.cqvip.com

复制表达有关。

目前认为，病毒基因突变是随机发生的免疫压力(无论是大剂量的抗野毒株抗体，还是强大而单一的CTL应答[1])都只是作为外部条件起着优势选择作用，使变异株代替野毒株成为感染中的优势株。从生物学角度讲，病毒的变异实质上是病毒在机体内的进化过程，是病毒逃避免疫监视得以在体内持续存在的有效策略。

1.2 基因整合与乙肝病毒感染慢性化的关系

HBV存在逆转录过程，故易发生基因整合。基因整合一方面打乱了病毒编码区，造成过度的基因重排，导致HBV编码蛋白表达紊乱，从而改变了细胞表面的识别分子，使感染细胞借以逃避免疫监视[1]。另一方面，病毒基因整合入肝细胞DNA，必将影响肝细胞DNA结构，从而干扰机体的抗病毒作用。研究发现，HBV基因组中的DR_2区的氨基酸序列与肝细胞干扰素应答基因的上游段基因序列具有同源性，因此HBV基因组易于和肝细胞DNA该段整合，并且封闭该段干扰素应答基因，从而影响肝细胞的抗病毒作用[6]。

2 机体免疫系统功能障碍与慢性乙肝的关系

乙肝病毒感染的结果还取决于不同感染个体的抗病毒免疫应答的性质和强度，只有当免疫应答的各个方面合作时才能终止其感染。研究发现[1]最终清除了病毒的急性乙肝患者体内能检测出多克隆，高强度的T细胞应答，而慢性乙肝患者中则是弱而单一的T细胞应答。

2.1 HLA－抗原多肽－TCR复合物的相互识别

免疫识别涉及到免疫细胞间及靶细胞的作用。目前认为，这种相互作用体现在MHC－Ag－TCR复合物的相互识别中。因此，这个模型中的任何一部分的变化都将影响免疫识别。

MHC－Ⅰ类分子在T细胞识别靶细胞中起着重要作用。研究发现[11]，HBsAg，HBcAg，HBeAg，DNA－p上都存在各种受HLA限制的CTL位点(尤以HLA－A_2限制点为多)。正常人肝细胞很少或不表达HLA－Ⅰ类分子。急性乙肝时HLA－Ⅰ分子表达大大增加，而慢性乙型肝炎时肝细胞膜上HLA－Ⅰ分子大大减少。目前对腺病毒等的研究发现HLA和其它辅助因子的表达可受到病毒自身的影响[5]，但还未证实HBV对HLA的表达有直接抑制作用。不过，最近发现HBcAg能抑制β－INF基因转录及DNA－p能抑制对IFN－2.γ细胞应答[9]，而IFN－2可诱发肝细胞膜上HLA的表达，因此IFN的含量减低及作用受影响有可能减少HLA的表达。没有足够的HLA－Ⅰ则感染的肝细胞就不能被TCR识别。也有研究认为HLA的某些型别和乙肝感染慢性化有关，如HLA－A_{11}与HBsAg携带者呈强相关[8]。

影响免疫识别的另一因素是病毒自身蛋白表达的紊乱。无论是病素基因突变还是基因整合都可能影响HBV编码抗原的正确表达。已经发现[10]在2个体内有针对HBV18－27单一而强大的CTL应答的慢性乙肝患者中，检测到可以减弱抗原与HLA及TCR相互识别力的HBcAg－18－27位变异株。但在另外20个HLA－A_2阳性的慢性乙肝患者中却未发现任何HBV编码抗原的HLA－A_2限制性CTL位点上存在类似的变异。这提示对于体内只有某种单一而强大的CTL应答的个体而言，某种多肽变异将会使感染细胞逃脱免疫监视，变异株也将被优势选择。目前认为，变异多肽可通过两种机制影响免疫识别。其一，HBeAg的变异可以影响多肽与HLA－Ⅰ分子及TCR的结合。其二，TCR相关位点变异后可形成TCR拮抗剂，即这种变异多肽仍能与TCR作用但却不能传递一个完整的增殖活化信息。Francis等的研究发现[4]，变异多肽对CTL识别的相应野毒株存在拮抗作用，并且认为这种作用只有当变异HBc18－27和相应野毒株共同表达在同一靶细胞上时才存在。其分子学基础还不清楚，有人认为复合物间的低亲和作用可能因无法形成局部的TCR变联而阻止了稳定有效的T细胞分裂增殖。通常一个感染肝细胞有多个拷贝的HBVDNA，

维普资讯 http://www.cqvip.com

因此单个感染肝细胞上可同时表达野毒株Ag和变异株Ag。含变异株的肝细胞就可因变异多肽对相应野毒株的CTL应答的拮抗作用而逃脱免疫监视，最终导致变异株的选择性扩增。

2.2 选择性免疫抑制

慢性乙肝患者多存在细胞免疫功能低下和抗体产生不足[8]，尤其T细胞应答特异性缺损是慢性乙肝的特点。T细胞对HBV的免疫应答一方面可产生特异性CTL，另一方面可分泌细胞因子以发挥抗病毒和免疫调节作用。CTL可经通过释放各种细胞因子发挥抗病毒作用，也可以诱发细胞凋亡。研究发现[1]，急性乙肝患者中可检测出多克隆，高强度的CTL应答。而慢性感染者中则很难或无法检测出有效的CTL应答。以往的资料表明[9]HBV感染者T细胞数目减少，CD_4^+/CD_8^+比值下降。Th的减少意味着Ab的减少及细胞因子的减少。

慢性乙肝感染者中各种细胞因子及相应受体的表达可受到影响，从而直接或间接地影响了抗病毒及免疫调节用途。

IL－2和IL－2R是细胞因子网络中关键的一对，慢性HBV感染者IL－2和IL－2R表达的减少可以影响抗病毒效应的发挥。研究发现[11]，慢性乙肝患者外周血单个核细胞(PBMC)诱生IL－2的活性降低，PBMC表达IL－2R的量也减少，且T细胞的MIL－2R的表达减少较B细胞更甚，这点可解释慢性乙肝患者中细胞免疫受损较体液免疫更重。另外慢性乙肝患者中SIL－2R(与MIL－2R竞争IL－2)呈持续性或波动性增加，这也可影响机体免疫应答。IFN是免疫系统中重要的抗病毒历子，在慢性乙肝患者中IFN减少，而且肝细胞对IFN的反应力也降低，这必然影响机体的抗病毒效应。

关于HBV感染中选择性抑制的原因，以前主要认为与免疫调节中T_s过度抑制等有关。近年来认为HBV可直接感染PBMC并使PBMC结构功能破坏，最终致选择性的免疫抑制[1]。目前已在慢肝患者体内检测到HBV－DNA。HBV感染PBMC可能与肝细胞受染类似，即通过膜上HBV受体感染。目前已证实了细胞上的转铁蛋白受体(TfR)能结合HBV，Franco等发现激活的CD_4^+、CD_8^+T必须通过TfR摄取HBV Ag并有效地处理递呈给CTL[12]。因此从理论上讲，T细胞通过TfR摄取HBvAg并处理表达在其膜上就可变成CTL的靶细胞，同样，B细胞通过Ig－R摄取HBvAg并处理表达于膜上也可成为CTL的靶细胞，从而被清除。虽然这还只是假设，但已有了一些间接的证据：已在慢性乙肝患者中检测到一种能特异性抑制HBvAg(+)CD_4^+T细胞增殖应答的HBcAg特异性CD_8^+细胞；研究发现B细胞通过其Ig－R摄取外源可溶性HBsAg并处理递呈给CTL后被CTL清除；另外还发现外源性HBsAg可以进入任何PBMC并被处理，这提示T细胞也因摄取它而变成CTL的靶细胞。最近的研究发现[11]，HBV还可通过胞膜上的IL－6及35KD的糖蛋白进入细胞。这种以细胞因子IL－6为受体进入细胞的现象，提示HBV可模仿细胞因子的作用，对细胞的生长，分化产生影响，造成T，B细胞功能紊乱。

2.3 免疫耐受

免疫耐受分为天然性和获得性的。前者指免疫系统在胚胎期接触抗原而致对该抗原无应答，后者通常因不适当的抗原刺激引起。

目前认为，经胎盘感染或经胎盘传代亚病毒抗原给正在发育的胎儿所致的HBV特异性克隆缺失，在感染母亲新生儿发展成的慢性感染中起着重要作用。在转基因小鼠模型的研究中发现[13]，HBcAg阳性转基因母代所生非转基因子代对HBeAg、HBcAg都发生T细胞水平耐受。HBeAg作为一种分泌性小分子，可通过胎盘暴露于胎儿免疫系统，未发育成熟的T细胞不能接受传递完整的信息，故而诱发自身发生细胞凋亡，造成胸腺内针对HBeAg的MHC－II类限制性TH克隆排除。有关胎肝的HBV宫内感染的报道也揭示HBV抗原可以接触胎儿免疫系统。但HBsAg特异的耐

维普资讯 http://www.cqvip.com

受机制并不能为以上机理所解释，因为发现[1]HBc(+)母亲的新生儿用HBsAg免疫后能有效地防止HBV再感染。

成人开始感染HBV者的免疫耐受以前主要认为与PAC受损引起的免疫无应答性有关。目前认为不适当的抗原刺激所致的克隆清除也是其原因。过量的HBV迅速进入机体引起的超强度的免疫应答后CTL可能被耗尽。另一方面，过量的抗原刺激引起的强大增殖反应，也可能诱发T细胞凋亡(14)，最终导致TBV特异性T克隆清除。也有报道，T细胞消耗在弱增殖反应后和低量HBV下产生，这提示导致这种耐受的因素除此之外，可能还与特异的病毒株以及HLA背景有关。

2.4 免疫应答抑制病毒基因复制的能力的变化

IFNγ通过诱导抗病毒分子的合成可抑制病基因的复制表达，细胞免疫可以通过此途径发挥抗病毒作用。在一定情况下，这种抑制病毒复制的能力也能对抗宿主造成持续感染[1]。因为一个弱的免疫应答可减少HBV抗原在大多数感染细胞上的表达而逃脱免疫监视同时识别少数表达了足够抗原的感染细胞并破坏其又足以维持整个疾病状态。其次，不同的HBV株可能对这些炎症因子的调节作用有不同敏感性。目前认为对调节信号反应的病毒对应结构的变异可能影响免疫应答抑制病毒复制的能力，而且这种变异可能比一个表位的突变更有深远意义，因为后者仅影响对应的一个特异性克隆的作用，而前者则影响整个免疫应答的发挥。最近发现在急性ICMV感染患者被转入ICMV－特异性CTL克隆后出现干扰素抵抗株。[15]。而且，这种干扰素逃逸株不能被多克隆ICMV－CTL应答所选择。

上述机制不能启动HBV的慢性感染，但却能加重HBV感染。因为它可以诱导表位失活的病毒变异株的出现。

综上所述，HBV感染慢性化主要与病毒变异和弱而单一的免疫应答有关。对不同的个体，这些因素起着不同程度的作用，其最终结局使HBV能逃脱免疫监视而在体内持续存在。对这些因素与慢性感染的关系的研究，将有助于发现预防和治疗慢性乙型肝炎病毒感染的有效措施。

参 考 文 献

1.Chisari F, et al. Annu. Rev. Immunol 1995;13:29
2.任 红，等.肝脏病杂志 1995;75:396
3.张定凤主编.乙型肝炎的发病机理及临床，重庆出版社 1992年
4.Bertolett A, et al. Nature 1994;396:410
5.戴志浩，等.中华实验与临床病毒学杂志 1992;6:399
6.闻玉梅.国外医学.微生物学分册 1995;6:36
7.Blum HE.Intervirology 1993;35:40
8.Carman W, et al. The Lancet 1993;341－349－352
9.陈永良，等.国外医学免疫学分册 1995;5:177
10.Jones JE, Cell 1989;56:517
11.Bertoletti A, et al. J.Exp. Med 1994;180:933
12.Foster GR, et al. RNA. Proc. Natl. Acad. Sci 1991;88:2888
13.张 瑞.等.肝脏病杂志 1994;2:88
14.Mattoubian M, et al. Proc. Ixth. Lnt. Congr. Virol 1993
15.Wang GH, et al. J.Viral 1993;67:6606

(收稿日期 1996－12－13)