

慢性乙型肝炎抗病毒免疫治疗的新策略

周佩, 钟晓祝, 廖慧华

■背景资料

慢性乙型病毒性肝炎, 不仅严重危害人类健康, 同时也造成了严重的经济负担。目前已有的常规治疗方法存在一定的局限性, 因此亟需能持续有效治疗慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)的方法。

周佩, 钟晓祝, 廖慧华, 南方医科大学珠江医院感染科 广东省广州市 510280

作者贡献分布: 本文综述由周佩完成; 钟晓祝与廖慧华审校。

通讯作者: 钟晓祝, 教授, 主任医师, 510280, 广东省广州市工业大道中253号, 南方医科大学珠江医院感染科。
569418126@qq.com
电话: 020-61643599

收稿日期: 2016-03-06
修回日期: 2016-03-20
接受日期: 2016-03-29
在线出版日期: 2016-04-28

New immunotherapy strategies for antiviral treatment of chronic hepatitis B

Pei Zhou, Xiao-Zhu Zhong, Hui-Hua Liao

Pei Zhou, Xiao-Zhu Zhong, Hui-Hua Liao, Department of Infectious Diseases, Zhujiang Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510280, Guangdong Province, China

Correspondence to: Xiao-Zhu Zhong, Professor, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, Zhujiang Hospital of Southern Medical University, 253 Gongye Road, Guangzhou 510280, Guangdong Province, China. 569418126@qq.com

Received: 2016-03-06
Revised: 2016-03-20
Accepted: 2016-03-29
Published online: 2016-04-28

Abstract

At present, chronic hepatitis B (CHB) is treated with nucleoside analogues and interferon- α (IFN- α), which can achieve good clinical effects, but cannot completely cure CHB. Main

reasons are the immune tolerance or immune failure in the body's immune system, and the persistence of covalently closed circular DNA (cccDNA) in HBV infected hepatocytes. Therefore, the development of antiviral drugs which can completely eliminate cccDNA and of immunotherapy strategies to break the immune tolerance and reactivate the immune system is of clinical significance for curing CHB. This review focuses on recent progress in research of immune therapeutic strategies for CHB, such as lymphotoxin β receptor (LT- β R) agonists, therapeutic vaccines, Toll-like receptor (TLR) agonists, programmed death 1 (PD-1) blockade, genetically engineered T cells, interleukin (IL)-12 and so on.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Chronic hepatitis B; Covalently closed circular DNA; Immunotherapy

Zhou P, Zhong XZ, Liao HH. New immunotherapy strategies for antiviral treatment of chronic hepatitis B. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1832-1839
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1832.aspx>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i12.1832>

摘要

目前治疗慢性乙型肝炎的主要方法为核苷(酸)类似物和干扰素 α (interferon- α , IFN- α), 虽已获得良好的临床疗效, 却仍不能完全治愈慢性乙型肝炎, 主要原因在于: (1)机体的免疫系统发生免疫失能或者免疫耐受; (2)被感染肝细胞内稳定存在乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)共价闭合环状DNA(covalently closed circular DNA,

■同行评议者
伦永志, 副教授,
大连大学医学院

cccDNA)。因此研制出可彻底清除机体内cccDNA的药物, 以及通过免疫治疗策略的研究, 突破机体免疫耐受, 重新激活免疫系统, 对于控制HBV感染都具有非常重要的意义。本文将就目前最为热门的免疫治疗策略: 包括淋巴毒素 β 受体(lymphotoxin β receptor, LT- β R)激动剂、治疗性疫苗、Toll样受体(Toll-like receptors, TLR)激动剂、程序性死亡受体1(programmed death 1, PD-1)阻断剂、重定向T细胞以及白介素(interleukin, IL)-12等免疫治疗方法作一综述。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 慢性乙型肝炎; 共价闭合环状DNA; 免疫治疗

核心提示: 随着对慢性乙型肝炎感染免疫机制逐步深入, 通过免疫刺激和免疫调节策略, 可以促进或恢复因机体免疫应答缺陷, 打破免疫耐受, 重建机体免疫, 有望最终达到有效控制慢性乙型肝炎的目的。

周佩, 钟晓祝, 廖慧华. 慢性乙型肝炎抗病毒免疫治疗新策略. 世界华人消化杂志 2016; 24(12): 1832-1839 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1832.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i12.1832>

0 引言

乙型病毒性肝炎(hepatitis B)是由乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)引起的严重危害人类健康的传染性疾病之一。世界范围内约有接近1/3的国家暴露于HBV^[1], 其中90%-95%的HBV急性感染患者能够自愈, 仅5%-10%的患者进展为慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)。根据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)最新的数据表明, 全球约有2.4亿CHB患者, 其中15%-25%的患者由于未能得到治疗而发展成肝硬化和肝癌, 每年约有78万患者因为乙型肝炎相关性疾病而死亡^[2,3]。目前针对CHB的治疗方法主要包括两种: 核苷(酸)类似物和干扰素 α (interferon- α , IFN- α)。核苷(酸)类似物能有效恢复肝功能和降低HBV复制, 但长期使用却存在耐药的风险。IFN- α 由于不良反应多, 且常受患者年龄和HBV DNA载量等多种因素限制而临床使用受限。由于尚未研制出能彻底阻断共价闭合环状DNA(covalently closed circular DNA, cccDNA)复制转录的方法, 不

能彻底将HBV从机体清除, 不能达到真正治愈CHB的目标^[4]。因此亟需能够持续有效治疗CHB的方法。由于CHB患者体内免疫耐受以及免疫系统失能, 都与HBV持续感染关联密切, 近年来, 聚焦于CHB的免疫治疗策略也日益增多, 尽管多数仍处于临床前期研究和/或临床试验阶段, 但都将有望提高CHB的临床疗效并彻底治愈CHB。

1 CHB患者免疫状况

随着针对CHB发病机制和免疫机制研究的逐步深入, 研究者发现被感染肝细胞内稳定存在的cccDNA, 是CHB的形成的必备因素。当HBV的松弛环状双链DNA(relaxed circular DNA, rcDNA)分子进入宿主细胞核时, 在DNA聚合酶的作用下, 形成超螺旋的cccDNA^[5,6]。尽管cccDNA含量较少, 但由于其存在于宿主细胞核内, 能保护病毒避免受到机体固有免疫的攻击, 有利促进了HBV复制以及感染形成。因此清除cccDNA或者抑制其转录复制, 对治疗HBV感染非常重要。

虽然CHB形成的免疫机制尚未完全阐明, 但研究者已经发现HBV诱导的特异性T细胞免疫应答能够显著抑制CHB患者体内cccDNA转录^[7,8]。在HBV急性感染初期阶段, 正是机体T细胞免疫应答产生的多种细胞因子抑制cccDNA转录复制, 促使绝大多数患者清除HBV而自愈。随后有研究者^[9]发现, 在T细胞免疫应答过程中以细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic lymphocyte, CTL)起主要病毒清除作用, CTL不仅能直接诱导被感染肝细胞凋亡, 也可分泌IFN- γ 抑制细胞内HBV基因表达和转录^[8]。但在CHB患者体内, 在持续HBsAg刺激下, 机体对HBV发生免疫耐受, 导致HBV特异性T细胞免疫应答减弱, 主要表现为抗原呈递细胞数量减少和呈递功能下降, 特异性T细胞增殖分化减少、功能缺如, 甚至凋亡增加, 进而免疫细胞分泌细胞因子功能下降, 这都直接导致机体对cccDNA的抑制能力下降^[8-10]。

2 CHB免疫治疗的主要机制

随着对HBV慢性感染免疫机制逐步深入, 有研究者^[7]认为, 通过免疫刺激和免疫调节策略, 或许可以促进或恢复因HBV慢性感染引起的免疫失能, 打破免疫耐受, 重建机体免疫,

■ 研究前沿

CHB的常规治疗方法, 临床疗效不尽人意。本文聚焦于最新的免疫治疗策略, 不仅总结各种新的免疫治疗手段, 同时也可以从免疫治疗的角度寻找突破口, 希望提高CHB临床疗效并将其彻底治愈。

■ 相关报道

有研究者已提出CHB免疫机制以及相关免疫治疗方法, 主要包括过继性免疫治疗和细胞免疫治疗, 但目前的免疫治疗策略热点, 如淋巴毒素 β 受体(lymphotoxin β receptor, LT- β R)激动剂、Toll样受体(Toll-like receptors, TLR)激动剂、程序性死亡受体1(programmed death 1, PD-1)阻断剂以及重定向T细胞等尚未进行系统综述。

以期望达到有效控制cccDNA复制转录的目的; 而在运用免疫治疗策略前, 先降低病毒水平, 或许也会提高免疫治疗的疗效。而目前的免疫策略热点主要有以下三个机制: (1)直接抑制cccDNA, 降低其水平, 达到控制CHB的治疗效果, 例如淋巴毒素 β 受体(lymphotoxin β receptor, LT- β R)激动剂; (2)促进机体的固有免疫应答, 或减弱固有免疫与适应性免疫之间的抑制性信号联系, 避免适应性免疫应答失能以起到抗病毒效应, 主要包括Toll样受体(Toll-like receptors, TLR)-7/8激动剂、自然杀伤(nature killer, NK)T细胞等; (3)提高CHB患者的适应性免疫应答, 促进体液免疫和细胞免疫, 抑制HBV复制^[8,11], 主要有治疗性疫苗、重定向T细胞、程序性死亡受体1(programmed death 1, PD-1)阻断剂、白介素(interleukin, IL)-12等。

3 CHB免疫治疗新策略

3.1 LT- β R激动剂 LT- β R是肿瘤坏死因子受体超家族(tumour necrosis factor receptor, TNFR)的成员之一, 其研究现多见于肿瘤的免疫治疗。在CHB患者体内LT- β R及其配体LT- β 往往表达上调^[12]。有研究^[13]发现, IFN- α 的使用可以促进LT- β R的激活, 进而促进特定蛋白质APOBEC3(又称为CEM15蛋白)表达上调, 从而调节并直接抑制cccDNA转录。APOBEC3蛋白是一种胞嘧啶脱氨酶, 广泛存在于被感染肝细胞内, 能在DNA复制过程中将胞嘧啶脱氨基变成尿嘧啶, 阻断cccDNA转录复制, 从而显示出强大的抗病毒效应。随着LT- β R激动剂, 即抗LT- β R单克隆抗体的研制, 有研究者将LT- β R激动剂注射入HBV感染小鼠模型后发现, 小鼠肝细胞内cccDNA、转录RNA以及血清HBV DNA水平显著降低, 且不良反应小^[13]。可见LT- β R激动剂具有良好清除cccDNA的作用, 有望成为彻底治愈CHB的免疫治疗新方法, 但由于目前尚未进行人体试验, 在人体是否具有相同效果有待进一步研究。

3.2 NK T细胞 NK T细胞, 作为一种极其重要的固有免疫细胞, 其免疫活性较T细胞小, 但却具有极强的杀伤能力。多种研究已证实NK T细胞主要通过溶解细胞、分泌细胞因子等途径抑制肝内HBV复制^[14,15]。在抗病毒的同时, NK T细胞也会通过分泌细胞因子, 如IL-4诱导体

液免疫应答, 以及IFN- γ 和IL-12促进细胞免疫应答。同HBV特异性T细胞一样, 在CHB患者体内也存在NK T细胞免疫功能下降的情况^[16], 其分泌细胞因子能力降低, 同时抑制性分子Tim-3的表达上调, 都将导致T细胞免疫功能抑制^[17,18]。经研究^[19,20]发现, IL-10以及转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)能明显促进NK T细胞分泌细胞因子, 而NK T细胞抑制性分子表达上调则可以通过抑制性受体NKG2A来降低, 通过这些途径, 都能明显改善NK T细胞的免疫效应, 同时也提供了清除HBV的新免疫策略思路。

但新近的研究也提示, NK T细胞同HBV特异性T细胞信号联系时, NK T细胞通过肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体受体2(tumor necrosis factor related apoptosis ligand-receptor 2, TRAIL-R2)途径, 明显抑制了CD8⁺T细胞的活性^[21]。同时在另一项通过慢性淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒(lymphocytic choriomeningitis virus, LCMV)感染的小鼠模型研究试验中, 也有类似的结论, 即当小鼠体内NK T细胞数量较低时, 其体内CD8⁺细胞数量则会显著增加, 同时血清病毒水平也会相应降低^[22]。因此选择性地阻断NK T细胞同T细胞两者之间的抑制性信号联系, 或许可改善T细胞耗竭的状态。但由于具体机制尚未阐明, 同时缺乏可靠的人体试验来证实这种方法是有效的, 因此还暂不能应用于临床治疗。

3.3 TLR-7/8激动剂 TLR是一类主要参与固有免疫的重要蛋白质分子, 同时也是连接固有免疫与适应性免疫的桥梁。主要通过识别不同的病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMP)来活化机体的免疫应答。TLR被激活后, 主要通过细胞内途径产生IFN等细胞因子以达到抗病毒的目的^[23,24]。因此人工提取或制备TLR激动剂可能成为有效治疗CHB的免疫策略^[25]。

目前研究较为成熟的TLR激动剂主要有TLR-7/8激动剂。在一项HBV持续感染小鼠模型试验中, 研究者将由TLR激动剂ssRNA和Hbx表达抑制的shRNA组成的试剂注射入HBV感染小鼠模型, 发现能够显著改善被感染肝细胞对HBV的免疫耐受, 并清除病毒^[26]。另一类口服的TLR激动剂为小分子的GS-9620, 为一种蛋白质, 目前已有研究将其用于以土

拨鼠和黑猩猩为模型的动物试验, 观察其抗病毒疗效. 在以黑猩猩为模型的研究试验中, 研究者发现GS-9620不同口服剂量导致血清中IFN- α 增加含量不同, 但都可表现为血清以及肝内HBV DNA水平不同程度降低, 血清中HBsAg和HBeAg数量相应减少^[27]. 在以被感染土拨鼠肝炎病毒(woodchuck hepatitis virus, WHV)的土拨鼠动物模型试验中, 研究者也观察到慢性WHV感染动物口服GS-9620后, 其体内CD8⁺ T细胞、B细胞和NK细胞数量都增多, WHV DNA和WHsAg显著降低, 并产生WHs抗体^[28]. 在IB期临床试验中已经证实GS-9620具有安全、有效的抗病毒疗效^[29].

其他TLR激动剂, 例如TLR-8配体ssRNA40^[30]和TLR-3激动剂PolyI:C^[31], 不论在体内和体外试验中都能发挥抗病毒效应; 而TLR-4和TLR-9激动剂能够作为免疫佐剂并用于志愿者提高其免疫力^[32]. 可见多种TLR激动剂都可用于CHB治疗. 但目前最大的困难在于CHB患者固有免疫应答的损伤, 导致TLR减少和TLR信号分子途径减弱, 从而限制了TLR的临床应用前景. 因此还需要更进一步研究来解决这些问题.

3.4 治疗性疫苗 治疗性乙型肝炎疫苗主要包括DNA疫苗、蛋白疫苗、多肽疫苗以及树突状细胞(dendritic cells, DCs)疫苗. 其机制为治疗性乙型肝炎疫苗能有效促进适应性免疫应答功能, 通过突破机体免疫耐受并重建机体免疫应答, 促使CHB患者体内产生中和抗体并改善HBV特异性T细胞免疫应答. 治疗性乙型肝炎疫苗虽尚在研究之中, 还不能投入临床使用, 但通过长期大量的研究和临床试验观察, 有望成为治疗CHB的免疫治疗主力军.

3.4.1 DNA疫苗: DNA疫苗是基因治疗的一种, 又可称为基因疫苗. 主要通过克隆HBV相关基因, 重组制成疫苗, 可表达特定的HBV蛋白, 诱导促进机体免疫应答. 现阶段已研制出能够表达HBc抗体的DNA疫苗, 通过诱导促进CD8⁺ T细胞免疫应答, 发挥抗病毒效应. 在以土拨鼠为模型的试验中, 研究者将能表达WHV核心抗体的疫苗联合抗病毒药物治疗WHV慢性感染土拨鼠, 发现能有效控制病毒复制, 但不足以治愈慢性感染者. 同时, 也有研究者制备出融合Pre-S1/Pre-S2/S基因的动物源性DNA疫苗, 其表达的HBsAg体现出高免疫原性^[33]. 与

传统的重组酵母乙型肝炎疫苗相比较, 这种疫苗能够避开T细胞凋亡的免疫途径, 并消除机体对普通HBsAg的免疫耐受, 在注射小剂量的这类疫苗后, 能高效促进机体产生HBsAb. 通过对越南一项DNA疫苗治疗CHB患者的临床试验数据分析研究, 提示此类DNA疫苗除了具有预防HBV感染的作用, 更有可能应用于治疗CHB. 该项研究对CHB患者隔月重复注射此类DNA疫苗, 并联合拉米夫定抗病毒治疗, 在结束疗程后, 可发现患者体内不仅HBV水平显著降低, 而且约有50%的患者同时出现HBsAg血清学转换^[33]. 尽管DNA疫苗的临床前景极其可观, 但由于尚未进入临床应用, 仍需要大量实验研究和临床试验来证实其有效性.

3.4.2 蛋白疫苗: 蛋白类疫苗是指将HBV相关蛋白制成治疗性疫苗, 并提高其免疫原性. 目前包括重组HBsAg疫苗, HBeAg与HBsAg联合疫苗等. 最初有研究者将现有的预防性HBsAg疫苗直接注射于患者体内, 发现可引发特异但短暂的抗病毒免疫效应^[34]. 此外尚有将HBsAg和HBeAg联合制备的疫苗(NASVAC), 经临床前小鼠试验表明, 能显著提高小鼠体内HBsAb和HBcAb含量, 并能诱导HBV特异性CTL的活化^[35]. 目前较为成熟的疫苗是HBsAg-HBsAb联合制成的疫苗(YIC), 除了能够促进T细胞免疫应答, 通过细胞因子的分泌增加, 使血清HBsAg水平降低^[36]; 同时还能促进DCs表面HLA-II、CD80、CD86以及CD40等表达上调, 并促进DCs对T细胞的激活^[37]. 在其II B期临床试验中, 分别设置了30 μ g YIC治疗组、60 μ g YIC治疗组以及安慰剂组, 共给予6次相对应剂型的YIC和安慰剂, 治疗24 wk后, 发现YIC可促使HBeAg阳性患者的HBeAg转阴, 并且有部分患者产生HBsAb, HBV DNA水平也有显著下降, 其中以60 μ g YIC效果为优^[38]. 在III期临床试验中, 治疗组共有HBeAg阳性患者335例, 共接受60 μ g YIC治疗12次, 对照组则为115例患者, 接受铝佐剂肌肉注射. 与II B期临床试验相比较, III期临床试验治疗24 wk结束疗程后, 统计得出治疗组的HBeAg血清学转换率为14%(II B期临床试验治疗组为21.8%), 对照组为21.9%(II B期临床试验对照组为9%)^[39]. 研究者通过对II B和III期临床试验分析后, 认为过度注射YIC会降低其疗效, 而铝佐剂因其激活炎症反应和固有免疫反应, 具有促进免疫

创新盘点

本文从CHB免疫现状以及免疫治疗机制出发, 从不同角度解说最新的免疫治疗策略热点, 并对其逐一进行简述, 以此引发大家对CHB免疫治疗策略的思考.

应用要点

本文较详细解说了目前针对CHB的免疫治疗策略热点, 希望能促进大家对免疫治疗的认识, 从免疫治疗的角度来寻求突破口, 为彻底治愈CHB积累经验。

应答的效果。

3.4.3 多肽疫苗: 多肽疫苗, 是指通过化学合成技术, 以病原体抗原基因中某段已知或预测的抗原表位的氨基酸序列为基础制备的疫苗。T细胞表位肽疫苗则是根据上述原理, 将破伤风类毒素Th表位(TT830-843)、HBV特异性CTL表位(HBcI8-27)以及N端2棕榈酸分子共价结合而研制成的一种肽类疫苗, 虽免疫原性不强, 却能根据特定表位诱导出特异性CTL。通过临床试验数据分析可发现, T细胞表位肽疫苗虽然能促使74%健康受试者产生特异性CTL, 却只能促使45%的CHB患者产生特异性CTL^[34]。原因在于T细胞表位具有高度多态性, 难以制备具有较强针对性的疫苗。因此多肽疫苗是否具有抗HBV疗效还需要更进一步考究。

3.4.4 DCs疫苗: 在CHB患者体内往往都存在DCs抗原呈递功能减弱, 而正是这种原因极易导致患者转变为HBV慢性携带状态。因此利用DCs强大的免疫功能进行主动免疫治疗很可能成为治疗CHB的免疫治疗手段之一。随着体外培养扩增技术的成熟, 在体外将DCs与HBsAg共孵育致敏, 负载HBV相关抗原, 回输患者体内后, 可显著提高患者体内免疫应答, 但较适合年轻和感染时间较短的患者^[40]。此外有研究证实, 将融合HBV HBcAg的病毒载体(LV-Ub-HBcAg)转导入DCs制备成DCs疫苗, 注射入转基因乙型肝炎小鼠后, 可促进小鼠体内细胞因子IL-2和IFN- γ 产生, 促进抗HBV抗体的产生, 最显著的是促进特异性CTL免疫应答^[41]。国内吴文治等^[42]也通过基因重组技术, 将负载pcDNA3.1-S-ecdCD40L的质粒转染小鼠, 经转染成功后, 发现能显著刺激小鼠体内DCs共刺激分子CD80和CD86、MHC II的表达, 其抗原呈递功能也明显增强, 诱导特异性T细胞增殖, 提高免疫应答。这些研究都为DCs疫苗的临床应用提供了科学依据。

3.5 重定向T细胞 重定向T细胞, 是指经HLA-A2限制性表位特异性T细胞抗原受体(T cell receptor, TCR)成功转导的T细胞, 在接受肽类表位信号刺激后, 能分泌多种细胞因子, 包括IFN- α 、IFN- γ 以及IL-12^[43]。有研究者根据此原理, 将编码抗HBV TCR的基因成功嵌入原代T细胞基因组, 制备抗HBV重定向T细胞, 该类T细胞能持续24 h表达目的TCR, 并促进细胞因子的分泌^[43], 目前这些技术多见于对肿瘤免疫

治疗的研究。在一项CHB患者自体回输T细胞的试验中, 研究者在体外将能编码HBsAg特异性TCR基因片段嵌入原代T细胞, 充分扩增培育后, 回输致患者体内, 发现患者外周血T细胞趋化因子Rantes和IL-8含量增加, 均可调节T细胞的增殖分化, 促进其免疫应答, 并显著降低HBsAg水平^[44]。此外, 一些人工嵌合的TCR, 例如具有胞外HBsAg结合活性的TCR(S-CAR), 能促进T细胞识别HBsAg阳性肝细胞, 通过分泌IFN- γ 和IL-2, 溶解胞内HBV复制的肝细胞, 也可溶解胞内cccDNA阳性的肝细胞^[45]。重定向T细胞免疫治疗虽极具前景, 但仍需进一步研究以探究其疗效。

3.6 PD-1阻断剂 在CHB患者体内, 单核细胞表面的PD-1常表达上调, 通过PD-1/PD-L1抑制性途径, 不仅抑制HBV特异性CD8⁺ T细胞免疫功能, 甚至促使其凋亡^[46]。通过对HBV慢性感染免疫机制的深入研究发现, HBV特异性CD8⁺ T细胞的免疫功能缺失与HBV慢性感染密切相关。因此选择性阻断PD-1/PD-L1途径, 或许能恢复机体的免疫失能。目前研制的PD-1阻断剂为PD-1单克隆抗体, 对CHB的治疗尚处于动物实验阶段。通过将PD-1阻断剂注射入HBV感染小鼠模型阻断PD-1/PD-L1途径, 可发现小鼠肝脏内T细胞数量显著增加, 同时外周HBV水平显著下降^[47]。有研究团队将PD-1阻断剂联合恩替卡韦以及治疗性疫苗(DNA疫苗, 表达WHcAg和WHsAg)共同治疗经WHV感染的土拨鼠, 在治疗24 wk后也得出类似结论, 即受试动物体内特异性T细胞的数目显著增加, 病毒水平降低, 同时WHs抗体产生, 部分受试动物甚至可以彻底清除病毒^[48]。这都提示了PD-1阻断剂与其他免疫治疗方法联用或许能取得更好的临床疗效, 但尚未进行临床试验。

3.7 IL-12 抗原呈递细胞分泌的细胞因子IL-12, 是目前研究较成熟的具有治疗CHB前景的一种细胞因子。在CHB患者体内, IL-12不但能促进T细胞活化, 促进其分泌IFN- α 和IFN- γ , 还能下调PD-1表达, 具有良好的抗病毒效果^[49]。在一个小规模临床试验中, 将IL-12与拉米夫定联用治疗HBeAg阳性患者, 研究者^[50]发现IL-12不仅能促进HBV特异性T细胞免疫应答, 同时迅速降低患者HBV DNA水平。但单独运用IL-12治疗CHB患者时疗效并不佳, 不能有效降低病毒水平。此外, 有研究者将IL-12联合HBsAg疫

苗联合治疗HBV感染小鼠模型,发现不仅能促使小鼠消除对HBsAg的免疫耐受,还能促进HBs抗体的产生,其机制可能为IL-12促进CD4⁺T细胞免疫应答,而HBsAg疫苗却只能促进CD8⁺T细胞免疫应答,两者联合则可改变T细胞应答方向并增强免疫效应^[51]。

4 结论

随着我们对CHB发病机制和免疫耐受机制的深入认识,已有的和正在研究的临床抗病毒治疗策略也逐渐增多,其中CHB免疫治疗策略也得到急剧发展。但由于CHB的发生机制以及免疫机制极为复杂,尚未完全透彻,目前的临床疗效也不尽人意。正是因为如此,需要继续对CHB进行免疫基础和临床疗效进行双重研究,从免疫治疗的角度寻找突破口,发展更合适临床使用的CHB抗病毒免疫治疗新策略,以期最终能够彻底治愈CHB。

5 参考文献

- Ott JJ, Stevens GA, Groeger J, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. *Vaccine* 2012; 30: 2212-2219 [PMID: 22273662 DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.12.116]
- Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, Abraham J, Adair T, Aggarwal R, Ahn SY, Alvarado M, Anderson HR, Anderson LM, Andrews KG, Atkinson C, Baddour LM, Barker-Collo S, Bartels DH, Bell ML, Benjamin EJ, Bennett D, Bhalla K, Bikbov B, Bin Abdulhak A, Birbeck G, Blyth F, Bolliger I, Boufous S, Bucello C, Burch M, Burney P, Carapetis J, Chen H, Chou D, Chugh SG, Coffeng LE, Colan SD, Colquhoun S, Colson KE, Condon J, Connor MD, Cooper LT, Corriere M, Cortinovis M, de Vaccaro KC, Couser W, Cowie BC, Cripps MH, Cross M, Dabhadkar KC, Dahodwala N, De Leo D, Degenhardt L, Delossantos A, Denenberg J, Des Jarlais DC, Dharmaratne SD, Dorsey ER, Driscoll T, Duber H, Ebel B, Erwin PJ, Espindola P, Ezzati M, Feigin V, Flaxman AD, Forouzanfar MH, Fowkes FG, Franklin R, Fransen M, Freeman MK, Gabriel SE, Gakidou E, Gaspari F, Gillum RF, Gonzalez-Medina D, Halasa YA, Haring D, Harrison JE, Havmoeller R, Hay RJ, Hoen B, Hotez PJ, Hoy D, Jacobsen KH, James SL, Jasrasaria R, Jayaraman S, Johns N, Karthikeyan G, Kassebaum N, Keren A, Khoo JP, Knowlton LM, Kobusingye O, Koranteng A, Krishnamurthi R, Lipnick M, Lipshultz SE, Ohno SL, Mabweijano J, MacIntyre MF, Mallinger L, March L, Marks GB, Marks R, Matsumori A, Matzopoulos R, Mayosi BM, McAnulty JH, McDermott MM, McGrath J, Mensah GA, Merriman TR, Michaud C, Miller M, Miller TR, Mock C, Mocumbi AO, Mokdad AA, Moran A, Mulholland K, Nair MN, Naldi L, Narayan KM, Nasseri K, Norman P, O'Donnell M, Omer

- SB, Ortblad K, Osborne R, Ozgediz D, Pahari B, Pandian JD, Rivero AP, Padilla RP, Perez-Ruiz F, Perico N, Phillips D, Pierce K, Pope CA, Porrini E, Pourmalek F, Raju M, Ranganathan D, Rehm JT, Rein DB, Remuzzi G, Rivara FP, Roberts T, De León FR, Rosenfeld LC, Rushton L, Sacco RL, Salomon JA, Sampson U, Sanman E, Schwebel DC, Segui-Gomez M, Shepard DS, Singh D, Singleton J, Sliwa K, Smith E, Steer A, Taylor JA, Thomas B, Tleyjeh IM, Towbin JA, Truelsen T, Undurraga EA, Venketasubramanian N, Vijayakumar L, Vos T, Wagner GR, Wang M, Wang W, Watt K, Weinstock MA, Weintraub R, Wilkinson JD, Woolf AD, Wulf S, Yeh PH, Yip P, Zabetian A, Zheng ZJ, Lopez AD, Murray CJ, AlMazroa MA, Memish ZA. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2012; 380: 2095-2128 [PMID: 23245604 DOI: 10.1016/S0140-6736(12)61728-0]
- World Health Organization. Hepatitis B. Updated July 2015. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/>
- Bloom K, Ely A, Arbuthnot P. Recent advances in use of gene therapy to treat hepatitis B virus infection. *Adv Exp Med Biol* 2015; 848: 31-49 [PMID: 25757614 DOI: 10.1007/978-1-4939-2432-5_2]
- Locarnini S, Zoulim F. Molecular genetics of HBV infection. *Antivir Ther* 2010; 15 Suppl 3: 3-14 [PMID: 21041899 DOI: 10.3851/IMP1619]
- Levrero M, Pollicino T, Petersen J, Belloni L, Raimondo G, Dandri M. Control of cccDNA function in hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2009; 51: 581-592 [PMID: 19616338 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.05.022]
- Zhang E, Kosinska A, Lu M, Yan H, Roggendorf M. Current status of immunomodulatory therapy in chronic hepatitis B, fifty years after discovery of the virus: Search for the "magic bullet" to kill cccDNA. *Antiviral Res* 2015; 123: 193-203 [PMID: 26476376 DOI: 10.1016/j.antiviral.2015.10.009]
- Bertoletti A, Ferrari C. Innate and adaptive immune responses in chronic hepatitis B virus infections: towards restoration of immune control of viral infection. *Postgrad Med J* 2013; 89: 294-304 [PMID: 23596257 DOI: 10.1136/postgradmedj-2011-301073rep]
- Isogawa M, Tanaka Y. Immunobiology of hepatitis B virus infection. *Hepatol Res* 2015; 45: 179-189 [PMID: 25331910 DOI: 10.1111/hepr.12439]
- Guo JT, Guo H. Metabolism and function of hepatitis B virus cccDNA: Implications for the development of cccDNA-targeting antiviral therapeutics. *Antiviral Res* 2015; 122: 91-100 [PMID: 26272257 DOI: 10.1016/j.antiviral.2015.08.005]
- 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 [PMID: 15731226]
- Haybaeck J, Zeller N, Wolf MJ, Weber A, Wagner U, Kurrer MO, Bremer J, Iezzi G, Graf R, Clavien PA, Thimme R, Blum H, Nedospasov SA, Zatloukal K, Ramzan M, Ciesek S, Pietschmann T, Marche PN, Karin M, Kopf M, Browning JL, Aguzzi A, Heikenwalder M. A lymphotoxin-driven

同行评价

本文对治疗HBV感染的免疫治疗策略:如LT-βR激动剂、治疗性疫苗、TLR激动剂、PD-1阻断剂以及重定向T细胞等多方面进行综述和讨论。较为全面的总结了近几年相关领域的研究进展,对HBV感染的免疫治疗有一定的参考意义。

- pathway to hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell* 2009; 16: 295-308 [PMID: 19800575 DOI: 10.1016/j.ccr.2009.08.021]
- 13 Lucifora J, Xia Y, Reisinger F, Zhang K, Stadler D, Cheng X, Sprinzl MF, Koppensteiner H, Makowska Z, Volz T, Remouchamps C, Chou WM, Thasler WE, Hüser N, Durantel D, Liang TJ, Münk C, Heim MH, Browning JL, Dejardin E, Dandri M, Schindler M, Heikenwalder M, Protzer U. Specific and nonhepatotoxic degradation of nuclear hepatitis B virus cccDNA. *Science* 2014; 343: 1221-1228 [PMID: 24557838 DOI: 10.1126/science.1243462]
 - 14 Wu SF, Wang WJ, Gao YQ. Natural killer cells in hepatitis B virus infection. *Braz J Infect Dis* 2015; 19: 417-425 [PMID: 26119852 DOI: 10.1016/j.bjid.2015.05.006]
 - 15 Rehmann B. Pathogenesis of chronic viral hepatitis: differential roles of T cells and NK cells. *Nat Med* 2013; 19: 859-868 [PMID: 23836236 DOI: 10.1038/nm.3251]
 - 16 Sun C, Sun H, Zhang C, Tian Z. NK cell receptor imbalance and NK cell dysfunction in HBV infection and hepatocellular carcinoma. *Cell Mol Immunol* 2015; 12: 292-302 [PMID: 25308752 DOI: 10.1038/cmi.2014.91]
 - 17 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]
 - 18 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]
 - 19 Peppas D, Micco L, Javaid A, Kennedy PT, Schurich 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]
 - 20 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]
 - 21 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]
 - 22 Cook KD, Whitmire JK. The depletion of NK cells prevents T cell exhaustion to efficiently control disseminating virus infection. *J Immunol* 2013; 190: 641-649 [PMID: 23241878 DOI: 10.4049/jimmunol.1202448]
 - 23 Seki E, Brenner DA. Toll-like receptors and adaptor molecules in liver disease: update. *Hepatology* 2008; 48: 322-335 [PMID: 18506843 DOI: 10.1002/hep.22306]
 - 24 Schwabe RF, Seki E, Brenner DA. Toll-like receptor signaling in the liver. *Gastroenterology* 2006; 130: 1886-1900 [PMID: 16697751]
 - 25 Ma Z, Zhang E, Yang D, Lu M. Contribution of Toll-like receptors to the control of hepatitis B virus infection by initiating antiviral innate responses and promoting specific adaptive immune responses. *Cell Mol Immunol* 2015; 12: 273-282 [PMID: 25418467 DOI: 10.1038/cmi.2014.112]
 - 26 Lan P, Zhang C, Han Q, Zhang J, Tian Z. Therapeutic recovery of hepatitis B virus (HBV)-induced hepatocyte-intrinsic immune defect reverses systemic adaptive immune tolerance. *Hepatology* 2013; 58: 73-85 [PMID: 23447417 DOI: 10.1002/hep.26339]
 - 27 Lanford RE, Guerra B, Chavez D, Giavedoni L, Hodara VL, Brasky KM, Fosdick A, Frey CR, Zheng J, Wolfgang G, Halcomb RL, Tumas DB. GS-9620, an oral agonist of Toll-like receptor-7, induces prolonged suppression of hepatitis B virus in chronically infected chimpanzees. *Gastroenterology* 2013; 144: 1508-1517, 1517.e1-e10 [PMID: 23415804 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.02.003]
 - 28 Menne S, Tumas DB, Liu KH, Thampi L, AlDeghaither D, Baldwin BH, Bellezza CA, Cote PJ, Zheng J, Halcomb R, Fosdick A, Fletcher SP, Daffis S, Li L, Yue P, Wolfgang GH, Tennant BC. Sustained efficacy and seroconversion with the Toll-like receptor 7 agonist GS-9620 in the Woodchuck model of chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2015; 62: 1237-1245 [PMID: 25559326 DOI: 10.1016/j.jhep.2014.12.026]
 - 29 Gane EJ, Lim YS, Gordon SC, Visvanathan K, Sicard E, Fedorak RN, Roberts S, Massetto B, Ye Z, Pflanz S, Garrison KL, Gaggar A, Mani Subramanian G, McHutchison JG, Kottlil S, Freilich B, Coffin CS, Cheng W, Kim YJ. The oral toll-like receptor-7 agonist GS-9620 in patients with chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2015; 63: 320-328 [PMID: 25733157 DOI: 10.1016/j.jhep.2015.02.037]
 - 30 Jo J, Tan AT, Ussher JE, Sandalova E, Tang XZ, Tan-Garcia A, To N, Hong M, Chia A, Gill US, Kennedy PT, Tan KC, Lee KH, De Libero G, Gehring AJ, Willberg CB, Klenerman P, Bertoletti A. Toll-like receptor 8 agonist and bacteria trigger potent activation of innate immune cells in human liver. *PLoS Pathog* 2014; 10: e1004210 [PMID: 24967632 DOI: 10.1371/journal.ppat.1004210]
 - 31 Wu J, Huang S, Zhao X, Chen M, Lin Y, Xia Y, Sun C, Yang X, Wang J, Guo Y, Song J, Zhang E, Wang B, Zheng X, Schlaak JF, Lu M, Yang D. Poly(I: C) treatment leads to interferon-dependent clearance of hepatitis B virus in a hydrodynamic injection mouse model. *J Virol* 2014; 88: 10421-10431 [PMID: 24920792 DOI: 10.1128/JVI.00996-14]
 - 32 Cooper C, Mackie D. Hepatitis B surface antigen-1018 ISS adjuvant-containing vaccine: a review of HEPLISAV™ safety and efficacy. *Expert Rev Vaccines* 2011; 10: 417-427 [PMID: 21506639 DOI: 10.1586/erv.10.162]
 - 33 Shouval D, Roggendorf H, Roggendorf M. Enhanced immune response to hepatitis B

- vaccination through immunization with a Pre-S1/Pre-S2/S vaccine. *Med Microbiol Immunol* 2015; 204: 57-68 [PMID: 25557605 DOI: 10.1007/s00430-014-0374-x]
- 34 Inchauspé G, Michel ML. Vaccines and immunotherapies against hepatitis B and hepatitis C viruses. *J Viral Hepat* 2007; 14 Suppl 1: 97-103 [PMID: 17958650]
 - 35 Aguilar JC, Lobaina Y, Muzio V, García D, Pentón E, Iglesias E, Pichardo D, Urquiza D, Rodríguez D, Silva D, Petrovsky N, Guillén G. Development of a nasal vaccine for chronic hepatitis B infection that uses the ability of hepatitis B core antigen to stimulate a strong Th1 response against hepatitis B surface antigen. *Immunol Cell Biol* 2004; 82: 539-546 [PMID: 15479440]
 - 36 Zheng BJ, Ng MH, He LF, Yao X, Chan KW, Yuen KY, Wen YM. Therapeutic efficacy of hepatitis B surface antigen-antibodies-recombinant DNA composite in HBsAg transgenic mice. *Vaccine* 2001; 19: 4219-4225 [PMID: 11457548]
 - 37 Zheng BJ, Zhou J, Qu D, Siu KL, Lam TW, Lo HY, Lee SS, Wen YM. Selective functional deficit in dendritic cell-T cell interaction is a crucial mechanism in chronic hepatitis B virus infection. *J Viral Hepat* 2004; 11: 217-224 [PMID: 15117323]
 - 38 Xu DZ, Zhao K, Guo LM, Li LJ, Xie Q, Ren H, Zhang JM, Xu M, Wang HF, Huang WX, Bai XF, Niu JQ, Liu P, Chen XY, Shen XL, Yuan ZH, Wang XY, Wen YM. A randomized controlled phase IIb trial of antigen-antibody immunogenic complex therapeutic vaccine in chronic hepatitis B patients. *PLoS One* 2008; 3: e2565 [PMID: 18596958 DOI: 10.1371/journal.pone.0002565]
 - 39 Xu DZ, Wang XY, Shen XL, Gong GZ, Ren H, Guo LM, Sun AM, Xu M, Li LJ, Guo XH, Zhen Z, Wang HF, Gong HY, Xu C, Jiang N, Pan C, Gong ZJ, Zhang JM, Shang J, Xu J, Xie Q, Wu TF, Huang WX, Li YG, Xu J, Yuan ZH, Wang B, Zhao K, Wen YM. Results of a phase III clinical trial with an HBsAg-HBIG immunogenic complex therapeutic vaccine for chronic hepatitis B patients: experiences and findings. *J Hepatol* 2013; 59: 450-456 [PMID: 23669281 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.05.003]
 - 40 Carotenuto P, Artsen A, Niesters HG, Osterhaus AD, Pontesilli O. In vitro use of autologous dendritic cells improves detection of T cell responses to hepatitis B virus (HBV) antigens. *J Med Virol* 2009; 81: 332-339 [PMID: 19107973 DOI: 10.1002/jmv.21333]
 - 41 Dai S, Zhuo M, Song L, Chen X, Yu Y, Tang Z, Zang G. Dendritic cell-based vaccination with lentiviral vectors encoding ubiquitinated hepatitis B core antigen enhances hepatitis B virus-specific immune responses in vivo. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2015; 47: 870-879 [PMID: 26373843 DOI: 10.1093/abbs/gmv093]
 - 42 吴文治, 徐英, 吴金明, 张欢. HBV S-ecdCD40L治疗性疫苗对乙肝转基因小鼠肝脏中树突状细胞表型和功能的影响. *温州医科大学学报* 2014; 44: 248-251
 - 43 Gehring AJ, Xue SA, Ho ZZ, Teoh D, Ruedl C, Chia A, Koh S, Lim SG, Maini MK, Stauss H, Bertoletti A. Engineering virus-specific T cells that target HBV infected hepatocytes and hepatocellular carcinoma cell lines. *J Hepatol* 2011; 55: 103-110 [PMID: 21145860 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.10.025]
 - 44 Qasim W, Brunetto M, Gehring AJ, Xue SA, Schurich A, Khakpoor A, Zhan H, Ciccorossi P, Gilmour K, Cavallone D, Moriconi F, Farzhenah F, Mazzoni A, Chan L, Morris E, Thrasher A, Maini MK, Bonino F, Stauss H, Bertoletti A. Immunotherapy of HCC metastases with autologous T cell receptor redirected T cells, targeting HBsAg in a liver transplant patient. *J Hepatol* 2015; 62: 486-491 [PMID: 25308176 DOI: 10.1016/j.jhep.2014.10.001]
 - 45 Bohne F, Chmielewski M, Ebert G, Wiegmann K, Kürschner T, Schulze A, Urban S, Krönke M, Abken H, Protzer U. T cells redirected against hepatitis B virus surface proteins eliminate infected hepatocytes. *Gastroenterology* 2008; 134: 239-247 [PMID: 18166356 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.11.002]
 - 46 Zhang WJ, Peng CH, Zheng SS. Programmed death 1 and programmed death ligand 1 expressions in patients with chronic hepatitis B. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2013; 12: 394-399 [PMID: 23924497]
 - 47 Tzeng HT, Tsai HF, Liao HJ, Lin YJ, Chen L, Chen PJ, Hsu PN. PD-1 blockade 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]
 - 48 Liu J, Zhang E, Ma Z, Wu W, Kosinska A, Zhang X, Möller I, Seiz P, Glebe D, Wang B, Yang D, Lu M, Roggendorf M. Enhancing virus-specific immunity in vivo by combining therapeutic vaccination and PD-L1 blockade in chronic hepadnaviral infection. *PLoS Pathog* 2014; 10: e1003856 [PMID: 24391505 DOI: 10.1371/journal.ppat.1003856]
 - 49 Xiong SQ, Lin BL, Gao X, Tang H, Wu CY. IL-12 promotes HBV-specific central memory CD8+ T cell responses by PBMCs from chronic hepatitis B virus carriers. *Int Immunopharmacol* 2007; 7: 578-587 [PMID: 17386405]
 - 50 Rigopoulou EI, Suri D, Chokshi S, Mullerova I, Rice S, Tedder RS, Williams R, Naoumov NV. Lamivudine plus interleukin-12 combination therapy in chronic hepatitis B: antiviral and immunological activity. *Hepatology* 2005; 42: 1028-1036 [PMID: 16250037]
 - 51 Loirat D, Mancini-Bourguine M, Abastado JP, Michel ML. HBsAg/HLA-A2 transgenic mice: a model for T cell tolerance to hepatitis B surface antigen in chronic hepatitis B virus infection. *Int Immunol* 2003; 15: 1125-1136 [PMID: 13679383]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
8226 Regency Drive, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

