

shedding and implies multiple steps in *Helicobacter pylori* pathogenicity[J]. *Exp Cell Res*, 2007, 313(16): 3459-3471.

[14] Oliveira MJ, Costa AM, Costa AC, et al. *cagA* associates with c-Met, E-cadherin, and p120-catenin in a multiprotein complex that suppresses *Helicobacter pylori*-induced cell-invasive phenotype [J]. *J Infect Dis*, 2009, 200(5): 745-755.

[15] 俞慧宏, 吴小翎. 上皮钙粘蛋白与胃癌[J]. *国际检验医学杂志*, 2006, 27(3): 232-234.

[16] Saadat I, Higashi H, Obuse C, et al. *Helicobacter pylori cagA* targets PAR1/MARK kinase to disrupt epithelial cell polarity[J]. *Nature*, 2007, 447(7142): 330-333.

[17] Basso D, Zamboni CF, Letley DP, Stranges A, et al. Clinical relevance of *Helicobacter pylori cagA* and *vacA* gene polymorphisms [J]. *Gastroenterology*, 2008, 135(1): 91-99.

[18] Argent RH, Thomas RJ, Letley DP, et al. Functional association between the *Helicobacter pylori* virulence factors *VacA* and *cagA* [J]. *J Med Microbiol*, 2008, 57(Pt 2): 145-150.

[19] Oldani A, Cormont M, Hofman V, et al. *Helicobacter pylori* counteracts the apoptotic action of its *VacA* toxin by injecting the *cagA* protein into gastric epithelial cells [J]. *PLoS Pathog*, 2009, 5(10): 1-13.

[20] 杨丽, 雷鸣, 胡黎娅, 等. 恶性肿瘤患者血清 P53 抗体检测及临床意义[J]. *国际检验医学杂志*, 2007, 28(6): 503-504, 506.

[21] André AR, Ferreira MV, Mota RM, et al. Gastric adenocarcinoma and *Helicobacter pylori*: Correlation with p53 mutation and p27 immunoexpression [J]. *Cancer Epidemiol*, 2010, 34(5): 618-625.

[22] Fantry GT, Zheng QX, Darwin PE, et al. Mixed Infection with *cagA*-Positive and *cagA*-Negative Strains of *Helicobacter pylori* [J]. *Helicobacter*, 2007, 2(22): 98-106.

[23] Mansour-Ghanaei F, Abbasi R, Joukar F, et al. Anti *cagA* antibody among patients with non-cardia gastric cancer in comparison with non-ulcer dyspepsia in an area with high incidence of gastric cancer [J]. *Saudi Med J*, 2008, 11(29): 1606-1610.

[24] Backert S, Tegtmeyer N, Selbach M. The versatility of *Helicobacter pylori cagA* effector protein functions: The master key hypothesis [J]. *Helicobacter*, 2010, 15(3): 163-176.

[25] Handa O, Naito Y, Yoshikawa T, et al. *cagA* protein of *Helicobacter pylori*: a hijacker of gastric epithelial cell signaling [J]. *Biochem Pharmacol*, 2007, 73(11): 1697-1702.

(收稿日期: 2010-05-12)

• 综 述 •

树突状细胞与慢性乙型肝炎

徐 菲, 董 林 综述, 张瑞生[△] 审校

(南京医科大学附属南京第一医院检验科 210000)

关键词: 树突状细胞; 肝炎病毒, 乙型; 肝炎, 乙型, 慢性; 疫苗

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 02. 045

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)02-0234-03

树突状细胞是机体免疫系统中的重要细胞成分, 在细胞免疫和体液免疫中均具有重要作用。本文将对树突状细胞与慢性乙型肝炎的关系相关研究进展进行综述。

1 树突状细胞(DC)

DC 起源于骨髓, 由美国学者 Steinman 和 Cohn 于 1973 年首先发现, 因其成熟时具有特殊的树突样突起而得名。它是目前所知的功能最强的专职抗原提呈细胞, 也是唯一能够激活初始 T 淋巴细胞的抗原提呈细胞。成熟的 DC 从细胞胞体的四周伸出约 10 μm 的突起, 并具有活跃的运动能力, 无或仅有微弱的吞噬功能, 对玻璃或塑料缺乏持久的粘附能力。

DC 细胞能表达与抗原递呈有关的分子, (1) MHC I 类 II 类分子, 如 HLA-DP、DQ、DR、HLA-A、B、C 等; (2) 多种共刺激分子: 如 CD80、CD86、CD58、CD54、CD50 及 CD40, 这些分子介导 DC 与 T 细胞的结合, 并具有共刺激的功能; (3) 表达 CD123、CD83、CD1a、CD11c, 不表达 CD14 分子, 缺乏或低表达 FC 受体, 缺乏髓过氧化物酶和溶菌酶, 而非特异酯酶阴性。因此上述特征表明 DC 在分化过程中丧失了许多吞噬细胞所具有的功能, 而且有高水平 MHC 分子和共刺激分子的表达, 成为一种能有效将抗原递呈给 T 细胞的独立的类型。

根据表型功能不同分为两类, 即髓样树突状细胞(myeloid DC, mDC)和淋巴样树突状细胞(lymphoid DC, pDC)。(1) mDC, 是体内主要的抗原递呈细胞。一般认为, mDC 其表面标

志为 Lin⁻ HLA-DR⁺ CD4⁺ CD11c⁺, 主要发挥抗原递呈作用, 并分泌 IL-12, 作用于 Th0 使之向 Th1 型细胞分化; (2) pDC, 也称干扰素产生细胞(IPDC3), 其表面标志为 Lin⁺ HLA-DR⁺ CD4⁺ CD123⁺, 具有较弱的抗原递呈功能, 并分泌 IL-4, 作用于 Th0 使之向 Th2 分化^[1]。在病毒感染时产生大量 I 型干扰素发挥以下作用: ①直接抗病毒; ②活化 NK、NKT、mDC 等免疫细胞、诱导特异性 T 细胞和 B 细胞的生成, 在慢性病毒感染时 pDC 能分化成熟为 APC, 直接诱导 T 细胞分化, 引导免疫反应。

DC 的功能: (1) 抗原摄取: 未成熟的 DC 在接触抗原后捕获抗原, 并将抗原输送到细胞内酸性液胞区; (2) 加工: 将抗原加工成短肽转运到细胞内 MHC I、II 类分子富集区与 MHC I、II 类分子形成 MHC 复合物, 并表达于细胞表面; (3) 递呈: DC 入血、迁徙到外周淋巴器官的 T 细胞聚集区, 将其表面丰富表达的 MHC 分子上的肽类抗原递呈给 T 细胞; (4) T 细胞识别后即启动 MHC I 类限制性细胞毒性 T 细胞, MHC II 类限制性 T 辅助细胞, 共同形成免疫应答, DC 还高水平的表达一系列共刺激分子如 CD80、CD86、CD40 等, 他们介导 DC 与 T 细胞的结合。

DC 除了免疫激活作用还能诱导免疫耐受^[2]。DC 是在胸腺内对发育中 T 细胞进行阴性选择的最重要细胞, 通过排除自身反应性 T 细胞克隆, 参与中枢免疫耐受的诱导。血循环

[△] 通讯作者, E-mail: 18951670326@189.com。

中的抗原在浓度很高的情况下,可以到达胸腺,由胸腺 DC 提呈。DC 亦可在外周参与诱导外周耐受作用。

2 慢性乙型肝炎患者 DC 状况

DC 作为最有效的抗原提呈细胞,在起始和维持特异性 T 细胞免疫中起重要作用。而 DC 功能缺陷是导致宿主特异性 T 细胞免疫耐受、病毒持续感染的主要因素^[3]。慢性 HBV 感染时 DC 存在以下表现:

DC 的数量明显减少,其表面共刺激分子 CD83、CD86 表达水平也明显低下,DC 成熟障碍^[4]。乙肝病毒颗粒和纯化的 HBsAg 都具有免疫调节能力,都可以直接使慢性乙肝患者的 mDC 功能障碍^[5]。慢性乙型肝炎患者外周血 DC 可被 HBV-DNA 感染^[6],使得 DC 功能障碍。

Toll 样受体 9 (TLR9) 是新近发现的一种模式识别受体。pDC 依靠 TLR9 识别各种病毒核酸 CpG 基序而被活化,继而分泌大量的 INF,产生抗病毒作用并且活化免疫细胞、诱导特异性 T 细胞和 B 细胞生成。因而 TLR9 在一些慢性病毒感染中起到保护型免疫作用^[7-8]。在慢性乙肝病毒感染患者的外周血单核细胞中可以检测到 TLR9 mRNA 的减少^[9]。而且慢性乙肝病毒感染患者 pDC 中表达的 TLR9 减少可能因为免疫逃避或者免疫耐受而引起病毒的持续感染^[10]。

3 恢复和增强 DC 功能的研究

近年来,直接或间接恢复和增强 DC 的抗原提呈功能的方法:(1)细胞因子(IL-12、INF- γ 、INF- α 等)体内外的作用;(2)HBsAg 疫苗体内刺激;(3)优化的增强 DC 摄取功能的 DNA 疫苗;(4)DC 体外诱导和抗原冲击或基因修饰后回输(DC 疫苗)^[11]。

目前研究最多的是应用抗原或抗原多肽体外冲击致敏 DC,然后将其回输或免疫接种到带病毒特异性的宿主进行免疫治疗,致敏的 DC 回输体内,诱导出病毒抗原特异性 CTL,打破免疫耐受、恢复细胞免疫应答^[12]。常用的致敏 DC 的办法有:以病毒抗原肽或蛋白直接冲击 DC,用灭活的病毒疫苗共同温育;用阳离子脂质体携带病毒 gag、poc 及 env 全部蛋白质或合成的双链 RNA 冲击。

有学者利用两种外源蛋白如 HBsAg 和 HBcAg 含有的丰富体液与细胞免疫抗原表位将两者重组混合抗原,以期导出更强的机体免疫。试验证明在小鼠中可以产生以 IFN- γ 反应为主的 Th1 细胞免疫,增强针对 HBV 的特异性体液免疫和细胞免疫,为研制新的治疗性乙型肝炎疫苗提供了新的思路和理论依据^[13]。

细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer, CIK)是体外培养的单核细胞经多种细胞因子如 IFN- γ 、IL-2、IL-1 α 共同诱导产生的一类 MHC 非限制性高效毒细胞。与 DC 共同培养时,前者能直接促进 DC 高表达特异性共刺激分子、MHC II 类分子、黏附分子,加强抗原提呈作用,分泌大量 IL-12 参与机体免疫调节,同时也增强了 CIK 细胞毒活性。CIK 细胞过继免疫治疗 CHB,除可以有效抑制 HBV 复制也能改善受损的 DC。Shi 等应用 CIK 回输治疗 24 周后,病毒载量下降大于或等于 2 个 log 或转阴的患者外周血 mDC、pDC 功能明显提高,病毒应答者 mDC 产生的 IL-12, pDC 产生的 IFN- γ 也明显增多^[14]。

另外,许多研究表明, B7 家族提供的共刺激信号对促进和抑制 T 细胞活化具有至关重要的作用。B7-DC 是 B7 家族的第五个成员,被认为是 PD-1 的第二个配体,可以负向调节 T

细胞的活化。B7-DC 选择性表达于树突状细胞上,因此,如果阻断树突状细胞与 T 细胞 B7-DC/PD-1 间的相互作用,就有可能使树突状细胞诱导更强的 T 细胞反应。混合淋巴细胞反应中 B7-DC 基因沉默的树突状细胞可显著刺激同种异体 T 淋巴细胞增殖,树突状细胞中 B7-DC 基因沉默后诱导更强的 CTL 杀伤活性,显著降低了血清中乙肝表面抗原和 HBV-DNA 的浓度,提示了 B7-DC 基因沉默在树突状细胞疫苗治疗乙肝上的潜在应用价值^[15]。

4 结 论

研究 DC 与慢性乙型肝炎具有重要意义,能更清楚地阐明乙肝病毒侵袭机体的作用机制,有助于清除体内的乙肝病毒。

初步临床实验表明,树突状细胞疫苗应用于人体是安全有效的。但是,由于在组织和外周血中树突状细胞含量极微,而且多以树突状细胞前体的形式存在,因此,体外分离培养技术的优化改良成为树突状细胞研究领域的热点,尤其是对其来源、分离方法、细胞因子的选择配伍及优化。目前,有学者认为骨髓来源的树突状细胞具有多向分化潜能和强大的增殖及持续加工抗原的能力,而且人的树突状细胞本身在体内就起源于骨髓,因此设想以人骨髓细胞为来源,建立体外诱导扩增树突状细胞的方法具有广阔的前景;同时还可利用骨髓干细胞具有横向分化的能力,在肝脏微环境中能分化为肝细胞样细胞以改善肝脏功能。

参考文献

- [1] Liu B, Woltman AM, Janssen HL, et al. Modulation of dendritic cell function by persistent viruses[J]. *J Leukoc Biol*, 2009, 85(2): 205-214.
- [2] Li M, Zhang X, Zheng X, et al. Immune modulation and tolerance induction by RelB-silenced dendritic cells through RNA interference[J]. *J Immunol*, 2007, 178(9): 5480-5487.
- [3] Chen L, Zhang Z, Chen W, et al. B7-H1 up-regulation on myeloid dendritic cells significantly suppresses T cell immune function in patients with chronic hepatitis B[J]. *J Immunol*, 2007, 178(10): 6634-6641.
- [4] 陈龙岩, 王凯, 范晓鹏. α 干扰素对慢性乙型肝炎患者树突状细胞表型的影响[J]. *实用医药杂志*, 2006, 23(4): 385-387.
- [5] Op den Brouw ML, Binda RS, van Roosmalen MH, et al. Hepatitis B virus surface antigen impairs myeloid dendritic cell function: a possible immune escape mechanism of hepatitis B virus[J]. *Immunology*, 2009, 126(2): 280-289.
- [6] 彭建平, 孙克伟, 伍玉南, 等. 慢性乙型肝炎患者外周血树突状细胞 HBV-DNA 载量与其功能的关系[J]. *世界华人消化杂志* 2008, 16(31): 3556-3560.
- [7] Huang XX, McCaughan GW, Shackel NA, et al. Up-regulation of proliferative genes and the ligand/receptor pair placental growth factor and vascular endothelial growth factor receptor 1 in hepatitis C cirrhosis[J]. *Liver Int*, 2007, 27(7): 960-968.
- [8] Bochud PY, Hersberger M, Taffé P, et al. Polymorphisms in Toll-like receptor 9 influence the clinical course of HIV-1 infection[J]. *AIDS*, 2007, 21(4): 441-446.
- [9] Xu N, Yao HP, Sun Z, et al. Toll-like receptor 7 and 9 expression in peripheral blood mononuclear cells from patients with chronic hepatitis B and related hepatocellular carcinoma[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2008, 29(2): 239-244.
- [10] Xie Q, Shen HC, Jia NN, et al. Patients with chronic hepatitis B infection display deficiency of plasmacytoid dendritic cells with re-

duced expression of TLR9[J]. *Microbes Infect*, 2009, 11(4): 515-523.

[11] Sprengers D, van der Molen RG, Kusters JG, et al. Different composition of intrahepatic lymphocytes in the immune-tolerance and immune-clearance phase of chronic hepatitis B[J]. *J Med Virol*, 2006, 78(5): 561-568.

[12] 谢秋, 王建华, 牛勃. 树突状细胞与慢性乙型肝炎[J]. *世界华人消化杂志*, 2009, 17(11): 1112-1116.

[13] 姚伟, 刘广洋, 任雅平, 等. 重组 HBcAg 与 HBsAg 混合抗原的免疫效果[J]. *中国生物制品学杂志*, 2007, 20(3): 198-200.

[14] Shi M, Fu J, Shi F, et al. Viral suppression correlates with dendritic cell restoration in chronic hepatitis B patients with autologous cytokine-induced killer cell transfusion[J]. *Liver Int*, 2009, 29(3): 466-474.

[15] Fan Y, Jiang WZ, Wen JJ, et al. B7-DC-silenced dendritic cells induce stronger anti-HBV immunity in transgenic mice[J]. *Arch Virol*, 2009, 154(11): 1813-1821.

(收稿日期: 2010-05-04)

• 综 述 •

儿童迁延性慢性腹泻的病因分析

王 珺 综述, 刘泉波, 许红梅 审校

(重庆医科大学附属儿童医院感染消化科 400014)

关键词: 儿童; 腹泻; 病因辨证

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.02.046

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)02-0236-03

腹泻病程在 2 周至 2 月者称为迁延性腹泻, 超过 2 月者称为慢性腹泻, 两者统称迁延性慢性腹泻(迁慢性腹泻)。迁慢性腹泻是一组多病因、多因素共同作用所致并引起营养不良、免疫低下、继发感染、生长发育受影响的临床综合征, 对儿童尤其是婴幼儿危害严重, 需明确病因后给予针对性治疗。本文现对迁慢性腹泻常见病因进行综述, 力求为临床针对性治疗奠定基础。

1 感 染

1.1 肠道感染性腹泻 轮状病毒和星状病毒感染所致腹泻在 T 细胞功能缺陷儿童可持续数月; 沙门氏菌感染及致病性大肠埃希菌、侵袭性大肠埃希菌感染是致迁慢性腹泻的主要病原菌; 寄生虫感染在发展中国家高达 20%~30%, 病原主要是圆孢子虫、隐孢子虫及蓝氏贾第鞭毛虫^[1-2]。

1.2 肠道感染后腹泻 急性肠道感染已得到控制, 但小肠黏膜受损持续存在或修复不良导致纹状缘肽酶、双糖酶活性下降或继发双糖酶缺乏, 对食物中蛋白及双糖类成分消化吸收不良, 对食物和微生物抗原通透性增加均可导致病程迁延。纹状缘肽酶及双糖酶活性下降主要发生在十二指肠和空肠^[3], 患儿行大便还原糖检测可明确有无继发性双糖酶缺乏。

2 过 敏

免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig)G 介导的迟发型食物过敏反应是儿童迁慢性腹泻的重要病因, 常由多种食物引发, 进食数天甚至数月后发病, 患儿血清中食物特异性 IgG 抗体检测特异性和敏感性都较高^[4], 有利于明确诊断。

2.1 牛奶过敏 患儿除有皮肤症状外主要是胃肠道黏膜受累, 表现为胃食管反流, 导致嗜酸粒细胞性食管炎、胃肠炎及直肠结肠炎。嗜酸粒细胞性胃肠炎最常见症状是慢性腹泻, 50% 患儿是过敏体质, 胃肠道有弥漫性或局限性嗜酸性粒细胞浸润, 部分可能发展成蛋白丢失性肠病^[5]。

2.2 食物蛋白诱发肠炎综合征(food protein-induced enterocolitis syndrome, FPIES) 食物蛋白活化肠道淋巴细胞造成转化生长因子(transforming growth factor, TGF)-β 释放减少和 TGF-α 释放增加, 肠道通透性增加, 造成吸收不良、呕吐及慢性腹泻^[6]。大米是导致严重 FPIES 最常见的固体食物, 其他

如燕麦、大麦、鱼、家禽、蔬菜也会导致 FPIES, 多数患儿 2~3 岁后症状可消退。

3 免疫缺陷及自身免疫性疾病

原发性、继发性免疫缺陷患儿易发生迁慢性感染性腹泻; 自身免疫性肠病因肠道免疫系统功能紊乱导致迁慢性腹泻。

3.1 原发性免疫缺陷 患儿发生反复消化道感染者以 X 连锁无丙种球蛋白血症及重症联合免疫缺陷最多见^[7], 存在细胞免疫紊乱是导致腹泻迁延不愈的重要因素^[8], 患儿外周血 CD3⁺、CD4⁺ T 淋巴细胞及 CD4/CD8 比值明显降低, CD8⁺ T 淋巴细胞明显升高。获得性免疫缺陷病患儿常因继发感染性疾病导致慢性腹泻, 常见感染性病原是隐孢子虫和微孢子虫, 与感染致肠黏膜萎缩、吸收不良, 血管活性肽的释放, 免疫力下降致肠道菌群紊乱及锌、维生素 A、烟酸等缺乏有关^[9]。

3.2 炎性肠病(inflammatory bowel disease, IBD) 是具有遗传易感性的个体由多因素诱发异常免疫反应所致疾病, 白介素(interleukin, IL)-27 或 DcR3 基因可能是儿童 IBD 的易感基因^[10]。临床表现为慢性腹泻、黏液血便, 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)、克罗恩病(Crohn's disease, CD)和无法归为以上两类的未定型结肠炎(indeterminate colitis, IC)。核周型抗中性粒细胞胞浆抗体和抗酿酒酵母抗体分别是对 UC 和 CD 诊断特异性较高的血清学标志物, 血清抗合成甘露糖苷抗体对预测 IC 发展为 CD 的准确率为 100%, 3 种标志物联合应用则可进一步提高诊断率^[10-11]。

3.3 乳糜泻 是一种针对麸质(麦胶蛋白)的自身免疫性疾病, 患儿表现为慢性或间歇性腹泻、缺铁性贫血、生长发育迟缓, 但部分患儿没有消化道症状甚至没有任何临床表现^[12]。HLA DQ2/DQ8 基因阳性被证实是导致发病的高危因素, 发病率在自身免疫性甲状腺疾病、IBD 及 1 型糖尿病患者中较高。乳糜泻的诊断首选血清抗组织谷氨酰胺转移酶抗体 IgA 检测, IgA 缺陷患儿应检测 IgG 抗体和/或抗肌内膜抗体 IgG, 对检测阴性者或阴性但临床高度怀疑乳糜泻者需进一步行小肠活检^[13]。

4 先天性小肠组织异常及吸收机制障碍

先天性小肠组织异常导致吸收面积减少, 先天性吸收机制