

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2013.06.026

· 综述 ·

## Th17 细胞及维甲酸相关核孤儿受体与 HBV 宫内感染的相关研究

### A review of related research on Th17 cells and ROR- $\gamma$ t in HBV intrauterine infection

褚晓丹(CHU Xiao-dan), 陈 萱(CHEN Xuan)

(哈尔滨医科大学第二附属医院, 黑龙江 哈尔滨 150086)

(The 2nd Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, China)

[关键词] 维甲酸相关核孤儿受体; Th17 细胞; 细胞因子; 肝炎病毒, 乙型; 宫内传播; 母婴传播

[中图分类号] R512.6+2 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9638(2013)06-0477-04

全世界约有 20 亿人曾感染过乙型肝炎(乙肝)病毒(HBV), 其中慢性携带者达 3.5 亿~4 亿<sup>[1]</sup>。我国 HBV 慢性携带者有近半数是由围产期母婴传播所致<sup>[2-3]</sup>, 而宫内感染是母婴传播的主要途径之一。HBV 宫内感染是最终发展成乙肝表面抗原(HBsAg)慢性携带的主要原因, 也是造成乙肝疫苗免疫失败的重要因素<sup>[4-5]</sup>。在 HBV 感染过程中, 病毒抗原如 HBsAg、乙肝核心抗原(HBcAg)、乙肝 e 抗原(HBeAg)均可诱导抗原特异性 T 细胞的免疫应答, 这对 HBV 感染的控制至关重要; 而慢性患者病毒感染的持续和慢性化发展, 是因其 HBV 特异性 T 细胞免疫反应受损所致。既往研究<sup>[1]</sup>表明, 发生 HBV 宫内感染的孕妇体内 Th1/Th2 细胞免疫失衡, 即 Th1 细胞免疫下调, Th2 细胞免疫反应增强, 这是导致 HBV 宫内感染的主要原因之一。随着以分泌白细胞介素(IL)-17 为特征的辅助 T 细胞——Th17 细胞的发现, Th17/Treg 细胞的平衡作用也越来越受到人们的关注。Th17/Treg 细胞间平衡的打破可能是多种疾病发生的关键因素, 这将弥补既往 Th1/Th2 免疫效应模式的不足。近几年, 维甲酸相关核孤儿受体(retinoid acid-related orphan receptor gamma t, ROR- $\gamma$ t)作为 Th17 细胞的特异性转录因子也成为研究热点。本文就近几年 Th17 细胞及其转录因子 ROR- $\gamma$ t 在 HBV 宫内感

染的相关研究进展作一综述。

#### 1 HBV 母婴传播

HBV 母婴传播的途径主要包括宫内感染、产时及产后传播。HBV 感染的孕妇胎儿宫内感染发生率可达 9.1%~36.7%<sup>[6]</sup>, 是 HBV 母婴传播的重要途径之一。HBV 宫内感染的发生机制主要包括以下几种因素。(1)母体因素: 宫内感染的发生与孕妇血清 HBV DNA 复制水平和 HBeAg 阳性密切相关。研究<sup>[7-8]</sup>发现, 宫内感染率与产妇分娩前血清 HBV DNA 的含量呈正相关, 母体血液中 HBV DNA  $\geq 10^5$  copies/mL 时, HBV 宫内感染的可能性增加。(2)胎盘因素: 目前胎盘感染学说和胎盘渗漏学说得到普遍认可。人胎盘滋养层细胞系 Bewo HBV 体外感染细胞模型的建立, 以及 HBV 在绒毛毛细血管内皮细胞胎盘滋养细胞中的发现<sup>[9-10]</sup>, 均为 HBV 胎盘感染学说提供了依据; 先兆早产时子宫收缩, 胎盘屏障受损或通透性改变, 导致 HBV 感染孕妇的外周血经胎盘渗漏直接感染胎儿造成宫内感染, 支持胎盘渗漏学说<sup>[11]</sup>。(3)外周血单个核细胞(PBMC)为载体的传播因素: 妊娠中可有少量母体白细胞作为病毒的载体, 通过胎盘屏障导致宫内感染<sup>[12]</sup>。研究<sup>[13]</sup>发现, HBV 感染者的 PBMC 中可

[收稿日期] 2012-12-18

[基金项目] 黑龙江省教育厅海外学人基金(1153h14)

[作者简介] 褚晓丹(1987-), 女(汉族), 黑龙江省哈尔滨市人, 研究生, 主要从事围产医学、乙型肝炎病毒性肝炎合并妊娠研究。

[通讯作者] 陈萱 E-mail: chenxuan1021@126.com

检出 HBV DNA 和共价闭合环状 DNA, 证明 PB-MC 可作为 HBV 宫内传播的重要载体。

## 2 Th17 细胞的生物学特征

Th17 细胞作为一种新型 Th 细胞, 与 Th1、Th2 及 Treg 细胞构成了 CD4 + T 细胞的 4 个主要亚群, 涉及多种疾病的发病过程, 已引起学者们的广泛关注。Th17 细胞除特征性地分泌 IL-17 外, 还分泌 IL-10、IL-21、IL-22 等多种因子, 主要在自身免疫病、慢性炎症的调节、防御胞外菌感染、肿瘤以及移植排斥反应中发挥重要作用<sup>[14-15]</sup>。

Th17 细胞的主要效应因子 IL-17, 与多种免疫性疾病、病毒感染性疾病以及肿瘤等多种疾病的发生发展有关。IL-17 主要通过动员中性粒细胞细胞因子和诱导前炎症因子的释放而发挥生物学作用。它可诱导人成纤维细胞表达细胞间黏附分子 1 来促进 T 细胞的增殖, 促进炎症发生; 也可以刺激 IL-6、前列腺素 E2、基质金属蛋白酶等细胞因子的生成, 与其产生协同作用而放大炎症反应。IL-17 可以上调多种促血管生成因子, 促进血管的生成。Th17 细胞可以在感染的早期迅速招募中性粒细胞, 启动免疫反应; 过量的 Th17 反应或 IL-17 表达则容易导致慢性炎症和自身免疫疾病的发生。近来有人提出 IL-23/IL-17 轴学说<sup>[16]</sup>, 认为自身免疫炎症性细胞产生的 IL-23 和 IL-17 在免疫性疾病中起到关键作用。在真菌感染过程中, 因其促炎特性和感染途径不同, IL-17 发挥保护或破坏作用。如在白假丝酵母菌注射入静脉致病时, IL-17 可起到保护宿主的作用; 而在注射入肠道导致黏膜感染时, IL-17 反而加重了宿主炎症的发生。IL-17 也能参与病毒免疫反应, 对机体造成的影响可能有益或有害。如在某些病毒感染时, IL-17 通过促成细胞因子风暴起致病作用。此外, IL-17 在宿主防御及肿瘤的发生中促血管生成等作用也成为学者研究的热点。

Th17 细胞另一主要细胞因子 IL-22, 主要参与机体抗微生物防御、组织损伤的保护和修复以及急性期反应。Th17 细胞同时分泌 IL-22 与 IL-17, 但二者对机体的作用却不相同, IL-22 具有促炎和抗炎双重作用。

除分泌上述常见的细胞因子外, 有些 Th17 细胞亚型还可分泌其他 CD4 + T 细胞的细胞因子。转录因子 ROR- $\gamma$ t 的表达与其他细胞的转录因子的表达和细胞因子的分泌相互制约, 最终影响各细胞

表达水平的平衡。

## 3 转录因子 ROR- $\gamma$ t 与 Th17 细胞的分化

随着对 Th17 细胞分化的进一步研究, Th17 细胞特征性转录因子 ROR- $\gamma$ t 及其他调控 Th17 细胞分化的因子也先后被确定, 包括 STAT3、ROR $\alpha$ 、IRF-4、BATF、AHR、NLRP3 以及 microRNA326 等正调因子和 Ets-1、IBP、STAT5、Foxp3 等负调因子。

ROR- $\gamma$ t 表达于 Th17 等细胞表面, 其基因位于人类染色体 1q21.3 上, 覆盖碱基约 24 kb, 可作为染色体重塑因子开放 IL-17 的基因座位, 使其他调节因子直接结合到 IL-17 的启动子上, 诱导原始 Th 细胞的 IL-17 基因转录, 在低浓度的 TGF- $\beta$  与 IL-6 协同作用下, 促进 IL-23 受体的表达, 进而诱导 Th17 细胞的生成。IL-6、IL-23、IL-21 和 STAT3 是诱导 IL-22、IL-17 必需的细胞因子。人类和小鼠体内, 在促进 Th17 细胞炎症细胞因子的产生、激活 STAT3、诱导 Th17 细胞表达过程中, ROR- $\gamma$ t 和 ROR $\alpha$  作为主信号必不可少。ROR- $\gamma$ t 缺陷的动物 Th17 细胞缺失, 这也证明了 ROR- $\gamma$ t 在 Th17 细胞分化中的重要性。ROR- $\gamma$ t 必须与其他转录因子, 如 STAT3、IRF-4、ROR- $\alpha$  以及 RUNX1 共同作用, 才能使 IL-17 谱系前体完整分化。ROR- $\gamma$ t 可诱导 IL-17 的高水平分泌, 抑制以 Foxp3 + mRNA 表达为特征的 Treg 细胞分化并增强其活性, 对调节 Treg/Th17 细胞平衡并作为细胞因子的信号转导通路, 在炎症反应和免疫调节中起着重要作用。

Th17 细胞的分化、发育受多种因素调节, 其完整过程可概括为 3 个步骤: (1) 通过 TGF- $\beta$  和 IL-6 的共同作用诱导初始 CD4 + T 细胞, 经由 STAT3 通路活化 Th17 细胞的特异性转录因子 ROR- $\gamma$ t, 使 CD4 + T 细胞向 Th17 细胞分化; (2) 新分化的 Th17 细胞分泌 IL-21, 进而促进 Th17 细胞的扩增, 并诱导 IL-23 受体的表达; (3) Th17 细胞功能的稳定和维持是通过 IL-23 实现的<sup>[17]</sup>。

## 4 Th17 细胞、ROR- $\gamma$ t 与妊娠及相关疾病

近几年, Th17 细胞在免疫性疾病、肿瘤方面已成为学者们研究的热点, 而在妊娠及其并发症方面的研究甚少。妊娠过程本身就存在着母体对胎儿的免疫耐受调节, 故我们推测 Th17 细胞可能也在

发挥一定作用。在正常怀孕过程中, Th17 细胞的水平在孕妇外周血中的淋巴细胞中不增加<sup>[18]</sup>;而在妊娠期高血压患者中, 血清及胎盘中 Th17 细胞的转录因子 ROR- $\gamma$ t 及主要效应因子 IL-17 的表达均高于对照组。Th17 细胞可能与子痫前期的炎性病理基础有关, IL-17 可与多种细胞因子相协同, 放大胎盘小血管的炎性反应; 还可以募集中性粒细胞, 释放活性物质损害内皮细胞, 通过“呼吸爆发”产生大量的氧自由基和过氧化氢, 构成子痫前期, 以血管痉挛、血压升高、水肿及蛋白尿等为临床表现的病理基础<sup>[19]</sup>。另有实验证明<sup>[20]</sup>, ROR- $\gamma$ t 在不明原因的习惯性流产患者体内明显增高。弓形虫感染可以导致孕鼠脾脏及胎盘 Th17 细胞水平升高, Treg 细胞水平降低, 出现 Treg/Th17 失衡, 提示 Treg/Th17 失衡可能是孕期弓形虫感染致不良妊娠结局的重要免疫机制之一。还有学者提出<sup>[21]</sup>, Th17 细胞及 ROR- $\gamma$ t 表达上调参与了妊娠期哮喘的发展, 右美沙芬干预在改善哮喘症状的同时降低了 ROR- $\gamma$ t 的表达, 抑制了 Th17 细胞的分化。提示 ROR- $\gamma$ t 表达的增加, 与妊娠期哮喘的发生发展密切相关, 并影响着妊娠期哮喘发病的多个环节。

## 5 Th17 细胞、ROR- $\gamma$ t 与乙型病毒性肝炎

近年, 学者们发现慢性 HBV 感染患者外周血 IL-17 表达量和 Th17 细胞数量明显升高, 且与丙氨酸转氨酶的水平呈正相关, 这提示 Th17 细胞与 HBV 感染所引起的肝细胞损伤有关。IL-17 在肝硬化组患者的表达水平明显高于慢性乙肝组和慢性重肝组, 且 Child-Pugh C 级乙肝患者比 A、B 级高, 提示 IL-17 不仅参与肝纤维化的形成, 还参与肝细胞炎症损伤过程<sup>[22-23]</sup>。HBV 感染患者由于肝组织炎性反应, 被激活的肝脏间质细胞大量表达 TGF- $\beta$ , 可与 IL-6 共同启动 CD4+ 初始 T 细胞分泌 IL-17。IL-17 强大的免疫致病性, 可促进 T 细胞激活和刺激成纤维细胞、内皮细胞、巨噬细胞及上皮细胞产生多种致炎因素(如 IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 、金属蛋白酶和化学增殖素), 导致炎性反应发生。因此, 很多学者提出, IL-17 可作为反映急性肝损伤严重程度的无创性血清学标志<sup>[24]</sup>。

IL-22 对肝细胞炎性损伤具有一定的保护作用。小鼠急性肝损伤模型研究发现, IL-22 限制肝细胞损伤。这一保护作用机制体现在 IL-22 能够诱导组织修复途径, 限制组织损伤和过度炎症反应, 具

有促炎和抗炎的双重作用。70% 的患者在行肝切除术前注射外源性 IL-22, 不会增加肝细胞的增殖能力, 但是注射抗 IL-22 的抗体会明显降低肝细胞的增殖<sup>[25]</sup>, 这说明 IL-22 可通过增加肝细胞的增殖, 促进肝细胞再生。另有实验<sup>[26]</sup>表明, IL-22 mRNA 的表达上调了 HBV 的水平, 但急性或慢性 HBV 感染者血浆中 IL-22 水平与正常对照组差异无统计学意义。这些结果表明, 虽然 IL-17 与 IL-22 均由 Th17 细胞分泌, 但在 HBV 感染者体内的表达是不平衡的。

Wu 等<sup>[27]</sup>提出, Th17 细胞数目的增加, 较 HBV DNA 的复制更能够解释肝脏炎症发生的严重性。然而, 细胞免疫是一个复杂的过程, 各细胞及其分泌的细胞因子之间相互影响, 其具体机制还需进一步研究。ROR- $\gamma$ t 作为 Th17 细胞的转录因子, 将成为乙肝治疗的一个新靶点。尽管 ROR- $\gamma$ t 的特异性配体尚未确定, 但有学者曾在 X 线下观察到全反式维甲酸可以结合在 ROR- $\gamma$ t 上, 并抑制其介导的转录。全反式维甲酸是否是 ROR- $\gamma$ t 的特异性配体, 是否可以在乙型病毒性肝炎及其他 Th17 细胞参与的疾病中起到治疗作用, 也将成为研究的热点。

## 6 Th17 细胞、ROR- $\gamma$ t 与 HBV 宫内感染关系的展望

尽管学者们对 HBV 宫内感染提出多种假说, 但其具体机制依旧不是十分明确, 这仍然是研究的热点。以往研究<sup>[1]</sup>表明, Th1/Th2 细胞及其细胞因子在 HBV 宫内感染中起着重要作用。胎儿及新生儿即使发生 HBV 的宫内感染, 也可能因其 Th 细胞免疫功能不足和细胞因子水平低下对 HBsAg 的免疫耐受, 不能及时有效地清除体内病毒。由此可见, 母体 Th 细胞及其细胞因子的失衡是宫内感染发生的关键因素之一。预防及降低胎儿 HBV 宫内感染的发生, 应重点放在孕妇这一环节。然而, 细胞免疫是一个复杂的免疫应答过程, 既往的 Th1/Th2 免疫效应模式具有明显局限性, Th17 细胞的发现与不断研究, 将弥补 Th1/Th2 模式的不足。

HBV 感染者体内 Th17 细胞明显上调, Th17 细胞与乙肝的慢性化有一定关系, 我们推测, ROR- $\gamma$ t、Th17 细胞及其细胞因子在 HBV 感染者的宫内感染具有一定关系, 这与既往的宫内感染的机制并不矛盾。可能是因为胎盘中 IL-17 的增加, 募集炎性细胞, 加重了作为病毒载体的单个核细胞的游走,

导致宫内感染;或 Th17 细胞的促炎作用加重了胎盘的感染,致使滋养层细胞受损或间隙增宽,基底膜通透性增大,导致 HBV 渗漏至胎儿血液循环,从而引起胎儿的感染。IL-17 对胎盘内细胞因子、产生激素水平及滋养细胞侵袭性的影响,也可能成为宫内感染的机制之一。此外,妊娠合并乙型病毒性肝炎患者并发早产、妊娠期高血压疾病的概率增加,也可能与 Th17 细胞及其细胞因子的作用有关。而这些假说是否成立,尚需研究验证。研究 Th17 细胞的转录因子及其细胞因子与妊娠调节免疫之间的关系,不仅有助于进一步揭示乙型病毒性肝炎宫内感染的发病机制,也为妊娠合并乙型病毒性肝炎的其他合并症的预测预防提供了新手段,为乙型病毒性肝炎宫内感染的阻断提供新的治疗靶点。

#### [参考文献]

- [1] 刘海英,单瑞芹,李晓梅,等. 乙型肝炎病毒母婴垂直传播与 Th1/Th2 型细胞因子相关性研究[J]. 实用妇产科杂志,2003,19(4):230-232.
- [2] 郑鹏远,唐美爱,卢高峰,等. 慢乙肝母婴传播阻断和治疗策略的建议[J]. 世界华人消化杂志,2007,15(1):1-6.
- [3] 陈萍,王芬娟,龚巧丽,等. 不同型白细胞介素细胞因子与乙型肝炎病毒宫内感染相关性研究[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(20):4541-4542,4632.
- [4] 崔春霞,解希帝,郑瑞芬. 乙型肝炎病毒的研究进展[J]. 疾病监测与控制杂志,2013,7(4):228-231.
- [5] 郑玉莲. HBsAg 孕妇外周血中 HBV 含量和宫内感染的关系探讨[J]. 中外医疗,2013,(9):30-32.
- [6] 乐杰. 妇产科学[M]. 第 6 版. 北京:人民卫生出版社,2005:154.
- [7] 蒋素玲. 胎盘、血清 HBV-DNA 水平与胎儿宫内感染的相关性研究[J]. 当代医学,2012,18(7):124-125.
- [8] 廖滔,梅燕,邓新琼,等. 孕妇 HBV-DNA 载量与胎儿宫内感染的关系[J]. 中国优生与遗传杂志,2010,18(10):12-30.
- [9] Bai H, Zhang L, Ma L, *et al.* Relationship of hepatitis B virus infection of placental barrier and hepatitis B virus intrauterine transmission mechanism[J]. World J Gastroenterol, 2007, 13(26):3625-3630.
- [10] 丁洋,白菡,盛秋菊,等. 乙型肝炎病毒感染人胎盘绒毛膜癌 BeWo 细胞体外培养模型的建立[J]. 中国感染控制杂志,2012,11(1):12-16.
- [11] Zhang S L, Yue Y F, Bai G Q, *et al.* Mechanism of intrauterine infection of hepatitis B virus[J]. World J Gastroenterol, 2004, 10(3):437-438.
- [12] Torii N, Hasegawa K, Joh R, *et al.* Configuration and replication competence of hepatitis B virus DNA in peripheral blood mononuclear cells from chronic hepatitis B patients and patients who have recovered from acute self-limited hepatitis[J]. Hepatol Res, 2003, 25(3):234-243.
- [13] 陈延平,孟存英,徐光华,等. 应用巢式-实时定量 PCR 方法检测慢性乙型肝炎患者 PBMC 中 HBV cccDNA[J]. 肝脏,2011,16(5):401-403.
- [14] Park H, Li Z, Yang X O, *et al.* A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17[J]. Nat Immunol, 2005, 6(11):1133-1141.
- [15] Hirahara K, Ghoreschi K, Laurence A, *et al.* Signal transduction pathways and transcriptional regulation in Th17 cell differentiation[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2010, 21(6):425-434.
- [16] Iwakura Y, Ishigame H. The IL-23/IL-17 axis in inflammation [J]. J Clin Invest, 2006, 116(5):1218-1222.
- [17] Zhou L, Littman D R. Transcriptional regulatory networks in Th17 cell differentiation[J]. Curr Opin Immunol, 2009, 21(2):146-152.
- [18] Nakashima A, Ito M, Yoneda S, *et al.* Circulating and decidual Th17 cell levels in healthy pregnancy[J]. Am J Reprod Immunol, 2010, 63(2):104-109.
- [19] 田美荣,马玉燕,王磊一,等. IL-17 在子痫前期患者胎盘组织和外周血中的表达[J]. 山东大学学报(医学版),2010,48(5):105-112.
- [20] Sallusto F, Lanzavecchia A. Human Th17 cells in infection and autoimmunity [J]. Microbes Infect, 2009, 11(5):620-624.
- [21] 马佳佳, Nick Lu, 陈必良. 转录因子 ROR- $\gamma$ t 对妊娠期哮喘模型小鼠 Th17/Treg 平衡的调节作用[J]. 解放军医学杂志, 2012, 37(6):460-467.
- [22] 陈士俊,杜文军,刑直直,等. Th 细胞相关因子在慢性 HBV 感染患者中的表达及 Th17 与肝炎肝纤维化关系的研究[J]. 山东医药,2008,48(20):21-23.
- [23] Ye Y, Xie Y, Yu J, *et al.* Involvement of Th17 and Th1 effector responses in patients with hepatitis B [J]. J Clin Immunol, 2010, 30(4):546-555.
- [24] Yasumi Y, Takikawa Y, Endo R, *et al.* Interleukin-17 as a new marker of severity of acute hepatic injury [J]. Hepatol Res, 2007, 37(4):248-254.
- [25] Ren X, Hu B, Colletti L M. IL-22 is involved in liver regeneration after hepatectomy [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2010, 298(1):G74-80.
- [26] Tanaka J, Watanabe N, Kido M, *et al.* Human TSLP and TLR3 ligands promote differentiation of Th17 cells with a central memory phenotype under Th2-polarizing conditions [J]. Clin Exp Allergy, 2009, 39(1):89-100.
- [27] Wu W, Li J, Chen F, *et al.* Circulating Th17 cells frequency is associated with the disease progression in HBV infected patients [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2010, 25(4):750-757.