

• 综述 •

病毒性肝炎免疫研究的进展

解放军三〇二医院 宋喜秀

目前认为乙型病毒性肝炎的肝组织损伤,不是乙型肝炎病毒(HBV)在肝细胞内繁殖所引起的直接后果,而是HBV感染后,在宿主细胞内复制,由于HBV的DNA掺入宿主基因组,使肝细胞膜表面表达出新抗原,而诱发自身免疫应答,如通过各种细胞毒的作用,而造成肝组织损伤及病情的持续发展。现就近年来肝炎的免疫研究进展概述如下。

免疫检测技术的进展

一、细胞免疫检测:常用的细胞免疫检测方法有体内法及体外法两种⁽¹⁾。体内法主要是皮肤试验。常用的有:(1)生物抗原:结核菌素、链激酶—链道酶(SK—SD)抗原;(2)化学物质:2、4-二硝基氯苯(DNCB);(3)植物血凝素(PHA);(4)纯化灭活乙型肝炎表面抗原。体外法常用玫瑰花结形成试验(RF)、淋巴细胞转化试验(LT)、细胞集落抑制或细胞毒试验、白细胞游走抑制试验(LMIT)及白细胞粘附抑制试验(LAI)等。通过测定细胞免疫可了解机体非特异性的和对某一特定抗原的细胞免疫反应,以判断机体的免疫状态。但上述方法的原理和意义尚需进一步阐明,操作过程亦需系统化和标准化。临床应用时宜选用简易、稳定和特异的方法,并应体内和体外法对比观察。

二、体液免疫的检测:常用的体液免疫检测如在HBV感染后,出现的循环免疫复合物(CIC)及免疫球蛋白增高,并有总补体及C₃下降等,临床上已广泛应用。近几年研究较多的有肝特异性膜脂蛋白(LSP)及肝细胞膜抗原(LMAg)⁽²⁾。

LSP及LMAg均是自肝细胞匀浆中提取的肝细胞膜抗原。已证实它们与病毒性肝炎的肝细胞膜损伤有关,并推测其可能为肝炎免疫反应的靶抗原。许多材料证明:急、慢性肝炎的肝细胞损伤,均与对LSP的淋巴细胞毒作用密切相关。而细胞毒作用的大小,在一定程度上反映了肝细胞损伤的严重程度;但急性肝炎细胞毒作用持续时间短,而慢性肝炎的细胞毒作用持续时间长。因而认为:对LSP的细胞免疫或体液免疫是造成各种慢性肝炎,特别是慢性活动性肝炎的肝细胞损伤的原因之一,并可能是病情持续发展,导

致肝硬化的主要原因。

LMAg与LSP不完全相同,主要见于HBsAg阴性的慢性肝炎,在HBsAg阴性慢活肝患者血清中可检出对LMAg的自身抗体(LMA)。LMA是针对肝细胞表面上非种属特异抗原的抗体;认为它主要参与自身免疫性肝病的发病,还与肝损伤的持续存在和活动有关。此外,LMA尚可介导抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)而导致肝细胞破坏。

总之,目前认为与肝细胞膜相关的抗原,至少有LSP及LMAg两种。它们在肝病或肝细胞损害的免疫反应中,可能都起靶抗原的作用,而抗LSP及LMA的出现,可做为自身免疫肝损伤的标志。

三、淋巴细胞杂交瘤技术及单克隆抗体在肝炎免疫研究上的应用⁽³⁾:自1975年英国的Kohler等成功地创建了淋巴细胞杂交瘤技术之后,获得了高特异性、高纯度的单克隆抗体,而此项技术在免疫学的研究上则应用得最多最早。许多研究室用于研究免疫细胞、免疫球蛋白、免疫遗传学及临床免疫学。现已证明:单克隆抗体是研究分子结构和功能的重要手段,它推动免疫学研究向分子水平发展,被称为免疫技术上的一次革命。此项技术具有现有同类技术无法比拟的优点。主要有:(1)用任何抗原(包括各种细胞、激素、酶类、异体蛋白、糖蛋白等)均可通过淋巴细胞杂交瘤技术获得相应的单克隆抗体,并且在使用不纯的抗原时可产生纯的抗体。(2)由于单克隆抗体具有特异性高、纯度高的优点,因而其敏感度及精确度均高。(3)来源充足。优质杂交瘤株一旦建立后,可提供大量单克隆抗体。(4)用途广,单克隆抗体不仅用于疾病的诊断和流行病学监测,还可用于治疗及疫苗的制备。

目前国外应用淋巴细胞杂交瘤技术对T细胞进行研究,已制备出抗T淋巴细胞表面分化抗原的单克隆抗体系统五种:即OKT、抗Leu、抗小白鼠的Thy、Ly和Tac系统,用以研究胸腺细胞的发育及区分T细胞及其亚群。另外T淋巴细胞杂交瘤株目前已有多种,它们能分别产生T淋巴细胞抑制因子、辅助因子、白细胞介素(1、2、3)、干扰素、T细胞替代因子、同种效应因子、淋巴细胞毒素、移动抑制因子和巨噬

细胞活化因子等, 这些因子对免疫学理论基础的研究, 如因子的分子结构、功能和基因控制, 以及T细胞通过因子识别抗原的机理, 及其在免疫细胞相互作用和免疫调控中的作用的研究均有重要意义, 对肝炎免疫研究将起到重大作用。另外, 某些因子还有希望用于免疫治疗。

用杂交瘤技术对其它免疫细胞, 如B细胞、NK细胞、单核细胞、巨噬细胞、粒细胞等在免疫学上的作用, 亦进行了较多的研究。

四、生物素(biotin)-亲和素(avidin)系统在免疫检测中的应用⁽⁴⁾: 生物素和对其有异常亲和力的卵蛋白中的碱性糖蛋白-亲和素称为生物素-亲和素系统(BAS)。生物素和亲和素间有强亲和作用及多价反应性, 既可偶联抗体等一系列大分子生物活性物质, 又可被酶等多种材料所标记, 而成为一种新的生物反应放大系统, 对检测和分类各类反应物提供了有效手段。现应用于: (1)检测定位细胞表面组分(抗原、受体和其它表面结构), 以及免疫组织化学染色。(2)在免疫新技术中如单克隆抗体的检测和筛选、免疫印染法分析中代替常规试剂。(3)用于酶、荧光和放射免疫测定。BAS试剂有以下优点: (1)高灵敏度及高特异性。(2)高稳定性。(3)应用面广, 可与酶、荧光、铁蛋白和放射物质标记材料联用。(4)方便、经济、快速。

病毒性肝炎免疫研究的进展

近几年来肝炎的免疫研究进展很大, 尤其关于肝炎免疫病理的研究比较深入。本文仅述及以下几个问题。

一、病毒性肝炎中T细胞及其亚群的研究^(5,6): T细胞中辅助性T细胞的功能是辅助B细胞产生抗体; 抑制性T细胞是调和阻止B细胞合成抗体; 细胞毒T细胞则具有破坏带有抗原的靶细胞又称杀伤T细胞。国外采用单克隆抗体进行T淋巴细胞分解, 发现OKT₄⁺为协助/诱导性T细胞, OKT₈⁺为抑制性/细胞毒性T细胞。近年发现OKT₄⁺并非单一功能亚群, 其中包括部分抑制性细胞, 而OKT₈⁺细胞中也无法进一步区分抑制性T细胞及细胞毒性T细胞, 故尚需进一步研究。Alexander及Lemn均发现在慢活肝中有抑制性T细胞低下, 用单克隆抗体测定发现OKT₈⁺细胞增加, 并认为增加者可能为细胞毒性T细胞。

应用单克隆抗体测定患者组织中及外周血淋巴细胞亚群的数量及其变化, 对研究机体免疫调节反应及阐明在某些疾病中出现异常免疫的机理有重要的作

用。在急、慢性乙型肝炎时均有抑制性T细胞功能低下, 在重型肝炎时减低尤明显。但乙型肝炎T细胞亚群的变化, 各学者报告不尽相同。国内余汉杰等⁽⁷⁾报告病毒性肝炎患者与正常人比较OKT₈⁺细胞增加(分别为28.70%及21.58%, $P < 0.001$), OKT₄⁺细胞减低(分别为31.84%及41.32%, P 值 < 0.001), OKT₈⁺亦减低(分别为60.13%及64.36%, $P < 0.01$), OKT₄⁺/OKT₈⁺亦降低(分别为1.13及1.87, $P < 0.001$)。

关于肝内浸润的淋巴细胞表现型, 多数报告认为: 急、慢性乙型肝炎肝实质内浸润的T细胞以OKT₈⁺为主, 和外周血T细胞表现型无关。并认为肝细胞的局灶性坏死和细胞毒性T细胞有关, 而碎屑样坏死则和抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)有关。最近国外用酶联免疫法发现碎屑样坏死区以Leu 4阳性细胞为主(淋巴细胞), 其中Leu 2a阳性细胞(杀伤/抑制性T细胞)较Leu 3a(协助/诱导T细胞)为多。而且发现Leu 2a细胞和肝细胞广泛接触, 一部分为点状接触, 因此认为乙型慢活肝的肝细胞碎屑样坏死的过程中杀伤性T细胞的作用是主要的。

二、T细胞抗原特异受体(TCR)的发现⁽⁸⁾: T淋巴细胞在免疫应答中起着关键作用, 它不仅有效应功能, 杀伤病毒或真菌感染的靶细胞及肿瘤细胞, 且调节其它免疫细胞的体液及细胞免疫应答。T细胞对抗原的识别具有精确的特异性, 对此, 由于单克隆特异T细胞的建立而分离出TCR, 并确定TCR为不均质的二肽链分子, 每一链内由二硫键结合, 形成可变的(V)及恒定的(C)功能区。明确了TCR基因是由V、D、J、C四节段组成。TCR的发现为免疫学上的新突破, 提供了深入认识免疫应答机理的知识, 对进一步研究T细胞及其亚群的功能, 有了新的认识。但TCR的知识在临床应用上仅是开端, 有人设想用抗TCR的mAb可能消除自身免疫应答细胞, 这样可能对自身免疫疾病的治疗是有益的。

三、T细胞作用的靶抗原问题⁽⁹⁾: 淋巴细胞受到各种刺激发生活化, 成为致敏性淋巴细胞后, 在与靶细胞接触时, 能放出有杀伤作用的物质, 破坏靶细胞, 此称为淋巴细胞细胞毒作用。有T细胞介导的细胞毒、抗体依赖性细胞介导的细胞毒、抗体介导而依赖补体的细胞毒及巨噬细胞介导的细胞毒等。在T细胞的细胞毒效应中的靶抗原, 曾认为是膜HBsAg或肝细胞自身抗原, 但目前倾向于HBV肝炎的靶抗原可能是肝细胞膜上的HBcAg。应用免疫荧光技术在肝细胞膜上可测出HBcAg, 而其HBcAg的表达与T细胞对肝细胞的细胞毒作用有关。应用单克隆抗体可抑制

细胞毒作用，并认为是抗 HBe 和特异性细胞毒 T 细胞竞争结合肝细胞膜上的 HBcAg，从而阻断了 T 细胞的攻击作用。此外，抗 HBe 尚可抑制肝细胞核内 HBcAg 的复制。也有报告 HBcAg 的免疫应答对 HBV 感染有保护作用。然而对 HBeAg 作为 T 细胞的靶抗原，目前尚有不同看法。有人用酶联免疫法进行电镜观察，发现肝细胞坏死区浸润的淋巴细胞和肝细胞膜面上联接，但肝细胞上仅有 HBsAg 表达，而未发现 HBcAg 或 HBeAg，因而认为 HBsAg 至少为引起肝细胞坏死的细胞毒试验的靶抗原之一。究竟 T 细胞作用的靶抗原是否是 HBsAg 还是 HBeAg，抑或两者均是，尚需继续研究。

四、白细胞介素⁽⁹⁾：近来新发现的淋巴因子中的白细胞介素 (Interleukin, IL) 较为引人注目。它对有丝分裂原、免疫调节剂的作用机制，对免疫细胞间的联系，以及免疫系统与神经内分泌系统之间的联系，都提出了一些新概念。目前进行研究的有白细胞介素 1, 2, 3 (IL₁, IL₂, IL₃)。

人的巨噬细胞能自然产生少量 IL₁，而脂多糖、纯蛋白衍生物等许多物质可直接作用于巨噬细胞产生 IL₁，转移因子能刺激单核细胞产生 IL₁。IL₁ 的生物学效应是多方面的，作用是非特异性的。能促进胸腺细胞和 T 细胞的增殖分化；可诱导 T 细胞产生 IL₂；可诱导及稳定 E 玫瑰花结的形成等。许多报告述及无症状抗原携带者及乙型慢活肝产生 IL₁ 低下，这提示巨噬细胞功能缺陷，尤以 HBeAg 阳性者显著。

IL₂ 是研究较多的淋巴因子，已可提纯及用杂交瘤细胞系产生。IL₂ 有广谱的免疫增强活性。能维持细胞毒性 T 细胞和辅助 T 细胞等在体外培养持续增殖；促进细胞毒 T 前体细胞分化为细胞毒 T 细胞，并增强其杀伤效应；能显著提高正常小鼠和裸鼠的 NK 细胞活性和 T 细胞功能，并可破坏免疫耐受。在乙型肝炎中除急性肝炎外均可见 IL₂ 低下。国内检测正常人 IL₂ 水平为 34.2 ± 8.3 U/ml，急性肝炎为 21.79~29.20 U/ml，慢活肝为 16.48 U/ml，慢迁肝为 3.42 U/ml，肝硬化为 4.1 U/ml，HBsAg 携带者为 20.1 U/ml。有报告因巨噬细胞机能低下及 T 细胞释放 IL₂ 机能异常，在 HBeAg 阳性的慢活肝，可导致 T 细胞功能不全。已证实免疫增强剂可增强 IL₁ 及 IL₂ 的活性。有人认为 IL₂ 治疗乙型慢活肝时有希望获得效果。

IL₃ 是 1982 年新发现的一种淋巴因子。最近证明同种抗原刺激 T 细胞系可产生 IL₃，其确切效应尚不清楚。已知能诱导幼年裸鼠脾细胞产生 20- α -羟基固醇脱氢酶；在体外能促进脾细胞生长参与巨噬细胞释放 IL₁。

中西医结合对肝炎免疫的研究

中西医结合对肝炎免疫的研究，目前集中在中医辨证分型和免疫的关系，以及中药对免疫的影响两方面。这些都是宏观的初步研究，并且宏观的证和微观的免疫指标之间也不一定是平行的相关关系，加之，许多细胞免疫指标多为非特异的，影响因素较多，而如 IgM、IgG 等结果各家报告不尽一致，故尚待进一步深入研究。然而，应用现代免疫学的理论和方法，研究中医中药，以发挥中医中药之所长，与西医西药相辅相成，相互促进方面已取得不少成就，并在不断深化，中西医结合对免疫的研究，将在免疫学的研究上开辟新的领域。

一、中医辨证分型与免疫的关系：中医认为实证主要取决于邪盛，而虚证则主要取决于正虚。虚证与实证患者在细胞免疫、体液免疫方面均表现不同。李兴春等⁽¹⁰⁾通过 E 玫瑰花结形成试验证明病毒性肝炎患者 T 细胞功能较正常人明显低下 ($P < 0.01$)；血清 IgG、IgA 均较正常为高，而 IgM 实证患者较正常增高明显，循环免疫复合物则虚证患者明显高于实证。夏德馨等⁽¹¹⁾发现正虚为主兼有邪实的慢性肝炎活性玫瑰花结 $< 25\%$ 者较多。而 IgG 升高者则以肝经湿热型为多。认为正虚患者的非特异性细胞免疫功能普遍低下，故中医虚证与非特异性细胞免疫机能存在着联系。陈增潭等⁽¹²⁾发现肝炎血热证者，CIC 阳性者多，认为系 CIC 引起 III 型变态反应对肝脏及肝外组织损伤之故，因此应消除 CIC 改变机体免疫状态。临床实践中根据中医辨证属血分蕴热而采用白茅根、丹皮、丹参等凉血药物为主方进行辨证论治，已证实对消除 CIC 有较好效果。

二、对免疫作用有影响的中药及治则的研究^(13,14)，在中草药及治则（如扶正培本、活血化瘀、清热解毒等）对免疫的影响，国内做了大量的工作，从实验室到临床均进行了许多研究。证明中草药对机体免疫反应的作用是多方面的，有的可激发免疫反应，而有的可抑制异常免疫反应。

1. 增强免疫反应。一般认为提高免疫功能主要采取扶正培本的治法，如益气健脾、滋阴补肾、补益气血等治则。可通过调理脏腑、补益气血、助阳滋肾而改善免疫功能，并可作用于核酸和 cAMP，从而调节全身免疫功能。近来研究许多补气药、滋阴药及活血化瘀药如黄芪、党参、人参、五味子、沙参、首乌、生地、枸杞子、女贞子等可增强网状内皮系统的吞噬作用。而以灵芝、黄芪及党参配成合剂功效较佳。许

多醣类植物如香菇、蘑菇等菌类多醣亦有此作用。增强细胞免疫功能的药物多用益气健脾药。实验证明：党参、黄芪、人参、黄精、鹿茸、灵芝等药有增强T细胞比值的作用。桑寄生、地丁、云芝、猪苓、淫羊藿、当归、首乌、阿胶等能促进淋巴细胞转化，可用于慢性肝炎正气虚损及T细胞水平低下者。另外，益气健脾和补肾助阳药如肉桂、仙茅、菟丝子、黄精、黄芪均可促进抗体生成。人参中的蛋白合成促进因子可改善患者的免疫状态，使IgM升高。参三七有提高细胞免疫功能抑制体液免疫反应的作用。上述药物在临床上可采取辨病与辨证结合，应用于慢性肝炎脾肾阴虚及细胞功能低下的患者。

2. 抑制免疫反应的中草药。活血化瘀药及部分清热解毒药具有抑制机体免疫反应的作用。黄芩有抗过敏及抑制主动及被动过敏反应的作用。丹皮、桂皮、麻黄提取物能抑制补体的活性。桃仁、当归提取物可抑制抗体的产生。山豆根、白花蛇舌草、大青叶可抑制体液免疫反应。鸡血藤、红花、丹参对已沉淀的抗原—抗体复合物有促进吸收或消除作用。丹参、三七、郁金可清除血中过剩抗原防止免疫复合物的产生。益母草、穿山甲、水蛭、虻虫等实验证明有抑制抗原—抗体复合物所致的病理损害。上述药物对体液免疫反应亢进引起的慢性肝损害及肝外损害均可能有一定的治疗作用。

参 考 文 献

1. 买 凯，等。病毒性肝炎。第1版。河南：河南科技出版社，1982：504—562。
2. 贺永文。肝脏特异性抗原与肝炎免疫。国外医学免疫学分册1983；6(5)：238。
3. 戴顺志。T淋巴细胞杂交瘤及产生的淋巴因子。国外医学免疫学分册1983；6(4)：169。
4. 章谷生，等。生物素—亲和素系统在免疫检测中的应用。上海免疫学杂志1985；5(2)：112。
5. 张定风。病毒性乙型肝炎的免疫发病原理的研究。中华内科杂志1985；24(7)：425。
6. 长岛秀夫，等。肝と免疫。第一版。日本东京：医齿药出版株式会社，1984：10—27。
7. 余汉杰，等。用单克隆抗体法及E-玫瑰花环法对比研究T淋巴细胞亚群。第四届全国肝炎会议材料，1985。
8. 陈慰峰。免疫学上的新突破——T细胞抗原特异受体的发现。北京医科大学学报1985；17(4)：303。
9. 高泰庸。白细胞间介素。国外医学免疫学分册1984；7(3)：116。
10. 李兴春，等。病毒性肝炎患者细胞免疫与中医辨证分型的初步研究。白求恩医科大学学报1984；10(3)：271。
11. 夏德馨，等。慢性乙型肝炎中医辨证分型与某些实验室指标的关系。上海中医药杂志1985；1：11。
12. 陈增潭，等。循环免疫复合物阳性慢性肝炎115例中医治疗临床分析。中西医结合杂志1985；5(6)：332。
13. 周良楣。国内中草药防治肝病概况。临床肝胆病杂志1985；1(1)：53。
14. 喻森山。中医中药在治疗病毒性肝炎中的免疫调控作用。中医杂志1985；26(2)：72。

导赤散治疗疱疹性口炎疗效观察

解放军169医院儿科 任迅平

我科近年来应用中药导赤散治疗30例疱疹性口炎患儿，疗效显著，病程明显缩短，现总结如下。

一般资料 疱疹性口炎患儿共60例，均系住院患者，男32例，女28例。年龄5个月~10岁，<2岁33例，2~6岁20例，6~10岁7例。患儿主要表现为有发热，口腔粘膜疱疹性损害，烦躁，流涎，拒食等。

治疗方法 60例患儿随机分成以下两组进行治疗，每组30例。

一、中药组：中药基本方剂：生地18g，淡竹叶6g，木通6g，甘草梢6g。水煎服。烦躁、口渴、舌尖边红加黄连、麦冬。大便秘结加大黄、黄芩等。疗程2~4天。

二、抗生素组：以青霉素为主，少数选用庆大霉素或链霉素。

两组其他全身治疗和局部对症治疗基本相同。

疗效判定标准 (1)显效：用药后2天内体温退至正常，口腔溃疡明显缩小或愈合。(2)有效：用药后3天内体温退至38℃以下，口腔溃疡缩小。(3)无效：用药后4天以上仍发热，口腔溃疡无明显缩小。

治疗结果 中药导赤散组显效20例，有效8例，无效2例，有效率93.3%；抗生素组显效6例，有效6例，无效18例，有效率40%。导赤散组疗效明显优于抗生素组($P<0.001$)。

体会 疱疹性口炎在儿科常见，目前尚无特效治疗，以往我们采用输液、抗生素以及局部对症治疗，临床见效慢，病程仍在一周以上。近年我们根据中药导赤散主治心经热盛，口舌生疮的机理，用于治疗疱疹性口炎，降温效果好，口腔溃疡愈合快，使病程明显缩短，一般只需服用2~3剂即可。本方配方简单，多数患儿均能接受。服用2剂以上者，可去木通。