

## · 综述 ·

## 结核病的辅助免疫治疗研究进展

刘其会 孙峰 张文宏

结核病是由结核分枝杆菌感染引起的传染性疾病,是世界范围内第二大致死性传染病(仅次于艾滋病)。WHO《2014年全球结核病报告》指出,3.5%的初治结核病例和20.5%的复治结核病例为耐多药结核病(multidrug resistant tuberculosis, MDR-TB)<sup>[1]</sup>。MDR-TB因疗程长、二线抗结核药物价格昂贵、不良反应多见以及患者依从性差等问题,治疗疗效仍不能令人满意<sup>[1]</sup>。由于结核病的发生、发展与宿主针对病原体的免疫反应密切相关,干扰素 $\gamma$ (interferon  $\gamma$ , IFN $\gamma$ )、白细胞介素2(interleukin 2, IL-2)、白细胞介素12(interleukin 12, IL-12)等Th1细胞因子介导的巨噬细胞与CD8<sup>+</sup>细胞毒性T细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)联合免疫应答是清除结核分枝杆菌主要的免疫机制<sup>[2]</sup>,因此,辅助免疫治疗成为优化结核病治疗的新思路。

辅助免疫治疗主要通过促进Th1型免疫反应及其细胞因子的产生,刺激机体保护性免疫应答,以改善临床症状、缩短化疗疗程,减少机体组织的病理损伤。目前,辅助免疫治疗药物主要分为以下几类:疫苗类药物、细胞因子、抗体、免疫调节剂及其他药物(表1)。本文就近年来相关的研究成果进行综述。

## 一、疫苗类药物

1. 分枝杆菌相关制剂:母牛分枝杆菌是一种非致病性分枝杆菌,其部分抗原与结核分枝杆菌有交叉反应,引起的保护性免疫反应对结核分枝杆菌可能具有保护作用。其能够激活CD4<sup>+</sup>T和CD8<sup>+</sup>T细胞,并下调Th2细胞反应水平<sup>[3]</sup>。国内常用制剂简称微卡,国外常用制剂为SRL172,均为肌肉注射,其口服制剂(V7)正处于临床II期试验中<sup>[4]</sup>。2010年De更新了一篇关于微卡辅助免疫治疗结核病的综述<sup>[5]</sup>。该综述纳入了8项临床随机试验,分析结果显示,微卡治疗组与安慰剂组之间病死率无显著差异。而2011年Yang等<sup>[6]</sup>进行的一项荟萃分析结果表明,微卡辅助化疗方案可加快菌痰转阴,改善影像学表现。但该综述纳入的研究存在选择偏倚。因此,微卡辅助治疗结核病的疗效尚存在争议。

RUTI是西班牙一家公司研发的治疗性疫苗,由结核分枝杆菌片段经脱毒后制成,携带多种抗原,机体对其产生的免疫反应有助于对潜伏细菌的识别和清除<sup>[7]</sup>。RUTI已完成临床II期试验,该试验评估了在潜伏感染结核杆菌人群中三种不同剂量(5、25、50  $\mu$ g)的疗效,其结果与I期试验结果相一致,25  $\mu$ g的RUTI

表1 结核辅助免疫治疗的药物研发及临床应用现状

分类	药物/产品	研究结果	参考文献
疫苗类药物	母牛分枝杆菌(微卡、SRL172)	临床疗效存在争议: Cochrane 大样本研究分析,微卡不能使结核病患者获益;而另一 Meta 分析指出微卡在菌痰转阴和改善胸片结果方面具有一定的疗效	[3-6]
	草分枝杆菌(乌体林斯)	国内多个临床研究证实其疗效;国外鲜有报道	[9-10]
	腐生分枝杆菌(MIP)	动物试验阶段:减少结核分枝杆菌的数量、促进肉芽肿的形成	[11]
	RUTI	完成临床II期试验,有助于对潜伏细菌的识别和消除	[7-8]
细胞因子	卡介菌多糖核酸	国内临床研究证实其疗效;未在国外上市	[12-13]
	DNA疫苗(MTBHsp65、Ag85、ESAT-6)	动物实验阶段,研究结果之间差异较大	[14-17]
	干扰素 $\gamma$ (IFN $\gamma$ )	临床疗效不理想,持续时间短暂	[18-21]
	白细胞介素2(IL-2)	RCT结果阴性;临床应用前景不佳	[23]
	白细胞介素(IL-7、IL-12、IL-15、IL-24)	动物实验阶段	[24-26]
抗体	粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)	动物实验阶段	[27-28]
	针对结核分枝杆菌特定抗原的单克隆抗体、中和IL-4的多克隆抗体	动物实验阶段	[29-31]
免疫调节剂及其他	胸腺肽类	国内多个临床研究证实其疗效;国外鲜有报道	[32]
	转移因子	仅国内临床应用,循证依据不足	[33]
	Dzherelo	仅乌克兰临床应用,大样本研究证实其疗效	[34]
	维生素D	RCT试验结果阴性,循证依据不足	[35]
	抗微生物肽	动物实验阶段	[36]

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2015.03.002

基金项目:“十二五”传染病防治重大专项(No. 2013ZX10003001-002)

作者单位:200040 上海,复旦大学附属华山医院感染科

通讯作者:张文宏, Email: zhangwenhong@fudan.edu.cn

可以引起机体最佳的细胞免疫反应<sup>[8]</sup>。进一步评估RUTI疗效的临床试验有待开展。

灭活草分枝杆菌又称乌体林斯, 可通过激活T细胞、促进巨噬细胞增殖与活化等途径发挥抗结核作用<sup>[9]</sup>。该药尚未进入美国、英国、意大利和澳大利亚的市场。国内临床研究报道乌体林斯对辅助治疗肺结核病有效<sup>[9-10]</sup>, 但国外鲜有相关临床应用的报道。腐生分枝杆菌(*Mycobacterium indicus pranii*, MIP)是腐生的非致病性分枝杆菌, 起初用来治疗麻风, 后动物实验发现灭活的MIP可增强Th1细胞的免疫反应, 减少结核分枝杆菌数量, 促进肉芽肿的形成<sup>[11]</sup>。目前, 该药对结核病的治疗作用仍处于动物试验阶段。

卡介苗菌多糖核酸由卡介苗制成, 主要成分是多糖和核酸, 有类似结核分枝杆菌的抗原性。动物实验证实其可以减轻结核病小鼠体重下降, 减少小鼠肺和脾脏结核分枝杆菌数量<sup>[12]</sup>。卡介苗多糖核酸注射液是由我国研制而成, 尚未在国外临床应用。国内的临床研究显示, 该药对耐多药结核病患者具有辅助治疗作用<sup>[13]</sup>。和乌体林斯类似, 由于缺乏严格的多中心临床随机对照试验, 其临床应用价值还待商榷。

2. DNA疫苗: 治疗性DNA疫苗主要有编码MTBHsp65、Ag85和ESAT-6基因的疫苗。动物实验发现, DNAHsp65疫苗有辅助化疗的作用, 识别Hsp65的抗原呈递细胞可以被选择性激活<sup>[14]</sup>。Hsp65与IL-12、Hsp65与IL-2基因融合的DNA疫苗也在动物实验阶段, 治疗疗效可能会优于单用Hsp65<sup>[15-16]</sup>。用表达IL-2、IL-12质粒与DNA疫苗联合免疫, 使该DNA疫苗诱导产生的混合性T细胞应答向Th1型细胞应答转变, 可增加DNA疫苗的保护效应。此外, Ag85A疫苗和Ag85A-ESAT-6嵌合DNA疫苗也在动物模型中证明具有辅助治疗结核的疗效<sup>[17]</sup>。

## 二、细胞因子

1. IFN- $\gamma$ : IFN- $\gamma$ 是Th1细胞的主要产物, 能够使静止的CD4<sup>+</sup>T细胞分化为Th1细胞, 介导T细胞对巨噬细胞的激活, 增强巨噬细胞杀伤结核菌的能力, 同时促进CTL细胞成熟<sup>[18]</sup>。早在1997年, Condos等<sup>[19]</sup>首次报告临床应用IFN治疗结核病的结果, 5例接受IFN- $\gamma$ 治疗的结核患者, 其疗效维持短暂, 停用干扰素1~5个月后4例患者痰菌涂片转阳。2000年某项随机对照多中心临床试验探究了MDR-TB患者吸入方式给予IFN- $\gamma$ 辅助治疗的效果, 因疗效不佳, 试验中断<sup>[20]</sup>。Gao等<sup>[21]</sup>对相关的试验进行了系统评价, 结果表明, 雾化吸入INF- $\gamma$ 治疗结束时, 试验组菌痰转阴率与对照组的差异具有统计学意义。因此, IFN- $\gamma$ 辅助治疗结核病的疗效尚存在争议。

2. 白细胞介素类: IL-2在T细胞的活化、成熟等方面具有重要的作用, 是早期用于治疗结核分枝杆菌感染的细胞因子之一。1997年曾有临床试验在MDR-

TB患者中使用IL-2进行辅助治疗, 可以使痰菌量减少、影像学表现有所改善<sup>[22]</sup>。然而, 另一项临床II期试验对110例结核病患者注射IL-2, 随访时间为1年, 无法证实IL-2具有辅助治疗结核的疗效<sup>[23]</sup>。近年来, 关于IL-2的临床研究证据很少, 可能与IL-2治疗成本大有关。IL-12主要由抗原呈递细胞分泌, 通过作用于IL-12受体, 诱导IFN- $\gamma$ 大量产生, 促进Th1细胞分化; 同时Th1细胞也可刺激IL-12的分泌, 形成高效的正反馈回路, 增强Th1应答<sup>[24]</sup>。动物实验表明, 缺乏IL-12的小鼠对结核分枝杆菌高度易感<sup>[24]</sup>。目前, 尚无IL-12辅助治疗结核病的临床试验开展。IL-7和IL-15主要由单核巨噬细胞分泌, 在感染结核分枝杆菌后大量的释放; IL-24通过T细胞上的受体直接活化CD8<sup>+</sup>T细胞, 促进IFN- $\gamma$ 的释放; 也可刺激中性粒细胞产生IL-12。这3种白细胞介素在动物模型上证明其有免疫保护作用<sup>[25-26]</sup>。

3. 人粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子: 人粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)通过调节抗原呈递细胞的数量, 增强机体的免疫应答水平, 也可激活巨噬细胞, 促进其分泌IL-2和IFN- $\gamma$ 等细胞因子<sup>[27]</sup>。某项动物实验表明, 无论是单用GM-CSF, 还是联合使用GM-CSF和IL-2, 均有辅助治疗结核的作用, 对MDR-TB的疗效更显著<sup>[28]</sup>。GM-CSF相关的研究并不多, 其辅助治疗结核的疗效还待更多的实验验证。

## 三、抗体

过去抗体被认为不参与结核的免疫保护过程, 近年来有研究显示, 针对结核分枝杆菌特定成分的抗体有控制结核分枝杆菌的作用, 抗体可能在感染初期或者感染细胞死亡或凋亡后参与免疫清除过程<sup>[29]</sup>。如结核分枝杆菌细胞壁组分脂阿拉伯甘露聚糖(lipoarabinomannan, LAM)与结核分枝杆菌毒力密切相关, 针对LAM和16 kDa蛋白的单克隆抗体可以有效抑制小鼠体内结核菌的扩散<sup>[30]</sup>; 抗结核分枝杆菌 $\alpha$ -晶体蛋白单克隆抗体IgA、中和IL-4的多克隆抗体和重组IFN- $\gamma$ 联合用于小鼠模型, 一周后小鼠肺内菌量显著减少, 肉芽肿的形成明显增多<sup>[31]</sup>。此外, 还有针对结核分枝杆菌肝素结合血凝素抗原(heparin-binding hemagglutinin adhesion, HBHA)、MPB83等抗原的单克隆抗体, 在降低荷菌量、减少病理性抗原和提高生存率上有一定效果<sup>[29]</sup>。特定抗体对结核病的保护作用目前尚处于动物模型阶段。

## 四、免疫调节剂及其他药物

1. 胸腺肽与转移因子: 胸腺肽类包括胸腺肽、胸腺五肽、胸腺肽- $\alpha_1$ , 能刺激T淋巴细胞亚群的增殖并增强其活性, 同时有调节B淋巴细胞的功能。转移因子是来自于淋巴细胞的小分子多肽, 动物实验表明结核特异性的转移因子能够增强巨噬细胞呈递抗原的作



用,促进Th1型免疫反应的生成<sup>[32]</sup>。国内有文献报道这两类药物辅助治疗结核的疗效<sup>[32-33]</sup>,但国外尚无相关的研究报道。

2. 其他药物: Dzherelo 是从多种植物中提取出来的一种免疫调节剂,已在约1 200例的结核病和艾滋病患者中进行临床试验,证实了其辅助治疗结核的疗效<sup>[34]</sup>。该药目前只在乌克兰国家使用。过去普遍认为维生素D水平低的人群患结核的风险较高,维生素D常用于结核病的治疗,然而2011年Martineau等<sup>[35]</sup>的一项临床试验结果表明,补充维生素D并不能改善结核病患者的临床症状、菌痰转阴率及病死率。此外,动物实验发现抗微生物肽可以减少动物肺内的结核分枝杆菌的数量<sup>[36]</sup>,鉴于其作用机制与抗结核药有本质的区别,抗微生物肽也许具有辅助治疗结核的作用,待进一步研究。

## 五、结语

结核病的辅助免疫治疗研究近年来取得了一定的进展,为治疗耐药结核病提供新的思路 and 希望,但还有很多问题亟待解决:给药剂量给药时间不统一、疗效评价指标过于单一、治疗费用高、部分药物缺乏严格科学的多中心随机对照试验等,且很多药物尚处于动物实验阶段。因此,一方面可以在抗结核治疗的基础上探究结合辅助免疫治疗,优化结核病治疗方案,另一方面,由于辅助免疫治疗大多价格不菲,也需以科学、审慎的态度去公正、客观地评价结核病辅助免疫治疗的临床疗效。

## 参 考 文 献

- 1 World Health Organization. Global tuberculosis report: WHO report,2014[EB/OL]. [http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/en/](http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/)
- 2 Cooper AM. Cell-mediated immune responses in tuberculosis[J]. Annu Rev Immunol,2009,27:393-422.
- 3 Stanford J, Stanford C, Grange J. Immunotherapy with *Mycobacterium vaccae* in the treatment of tuberculosis[J]. Front Biosci,2004,1(9):1701-1719.
- 4 Butov DA, Efremenko YV, Prihoda ND, et al. Randomized, placebo-controlled phase II trial of heat-killed *Mycobacterium vaccae* (immodulon batch) formulated as an oral pill (V7)[J]. Immunotherapy,2013,5(10):1047-1054.
- 5 De BG, Garner P. *Mycobacterium vaccae* immunotherapy for treating tuberculosis[J]. Cochrane Library,2010 (Issue 1). <http://www.cochranelibrary.com/>
- 6 Yang XY, Chen QF, Li YP, et al. *Mycobacterium vaccae* as adjuvant therapy to anti-tuberculosis chemotherapy in never-treated tuberculosis patients: a Meta-analysis[J]. PLoS One,2011,6(9):e23826.
- 7 Cardona PJ, Amat I. Origin and development of RUTI, a new therapeutic vaccine against *Mycobacterium tuberculosis* infection[J]. Arch Bronconeumol,2006,42(1):25-32.
- 8 Nell AS, D'Iom E, Bouic P, et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of the novel antituberculous vaccine RUTI: randomized, placebo-controlled phase II clinical trial in patients with latent tuberculosis infection[J]. PLoS One,2014,9(2):e89612.
- 9 刘晓燕,张正斌,王坚杰,等. 乌体林斯联合正规抗结核治疗初治菌阳肺结核的疗效及对免疫功能的影响[J]. 中国医药导报,2013,10(21):106-108.
- 10 高赢. 乌体林斯辅助抗结核药物治疗肺结核患者的疗效分析[J]. 四川医学,2013,34(6):890-891.
- 11 Gupta A, Ahmad FJ, Ahmad F, et al. Efficacy of *Mycobacterium indicus pranii* immunotherapy as an adjunct to chemotherapy for tuberculosis and underlying immune responses in the lung[J]. PLoS One,2012,7(7):e39215.
- 12 任涛,蔡映云,金美玲. 卡介菌多糖核酸免疫治疗结核病小鼠的实验研究[J]. 复旦学报(医学版),2005,32(5):513-516.
- 13 肖钦,林宪和. 卡介菌多糖核酸联合抗结核药治疗耐药多药肺结核的疗效观察[J]. 实用预防医学,2013,20(5):602-604.
- 14 Silva CL, Bonato VL, Coelho-Castelo AA, et al. Immunotherapy with plasmid DNA encoding mycobacterial hsp65 in association with chemotherapy is a more rapid and efficient form of treatment for tuberculosis in mice[J]. Gene Ther,2005,12(3):281-287.
- 15 Okada M, Kita Y, Nakajima T, et al. Novel prophylactic and therapeutic vaccine against tuberculosis[J]. Vaccine,2009,27(25-26):3267-3270.
- 16 Wang LM, Bai YL, Shi CH, et al. Immunogenicity and protective efficacy of a DNA vaccine encoding the fusion protein of mycobacterium heat shock protein 65 (Hsp65) with human interleukin-2 against *Mycobacterium tuberculosis* in BALB/c mice[J]. Apmis,2008,116(12):1071-1081.
- 17 Dietrich J, Aagaard C, Leah R, et al. Exchanging ESAT6 with TB10.4 in an Ag85B fusion molecule-based tuberculosis subunit vaccine: efficient protection and ESAT6-based sensitive monitoring of vaccine efficacy[J]. J Immunol,2005,174(10):6332-6339.
- 18 Doherty TM. Immunotherapy for TB[J]. Immunotherapy,2012,4(6):629-647.
- 19 Condos R, Rom WN, Schluger NW. Treatment of multidrug-resistant pulmonary tuberculosis with interferon-gamma via aerosol[J]. Lancet,1997,349(9064):1513-1515.
- 20 Intermune Investor Relations Press Release. InterMune enrolls first patient in phase III trial in multidrug-resistant tuberculosis. business wire[EB/OL]. <http://www.thefreelibrary.com/InterMune+Enrolls+First+Patient+in+Phase+III+Trial+in+...+a063778269>
- 21 Gao XF, Yang ZW, Li J. Adjunctive therapy with interferon-gamma for the treatment of pulmonary tuberculosis: a systematic review[J]. Int J Infect Dis,2011,15(9):e594-e600.
- 22 Johnson BJ, Bekker LG, Rickman R, et al. rhuIL-2 adjunctive therapy in multidrug resistant tuberculosis: a comparison of two treatment regimens and placebo[J]. Tuber Lung Dis,1997,78(3-4):195-203.
- 23 Johnson JL, Ssekasanvu E, Okwera A, et al. Randomized trial of adjunctive interleukin-2 in adults with pulmonary tuberculosis[J]. Am J Respir Crit Care Med,2003,168(2):185-191.
- 24 Rottinghaus EK, Vesosky B, Turner J. Interleukin-12 is sufficient to promote antigen-independent interferon-gamma production by CD8 T cells in old mice[J]. Immunology,2009,128(1):e679-e690.
- 25 Singh V, Gowthaman U, Jain S, et al. Coadministration of interleukins 7 and 15 with bacille calmette-guerin mounts enduring T cell memory response against *Mycobacterium tuberculosis*[J]. J Infect Dis,2010,202(3):480-489.
- 26 Ma YF, Chen HD, Wang YB, et al. Interleukin 24 as a novel potential cytokine immunotherapy for the treatment of *Mycobacterium tuberculosis* infection[J]. Microbes Infect,2011,13(12-13):1099-1110.
- 27 Francisco-Cruz A, Mata-Espinosa D, Estrada-Parra S, et al. Immunotherapeutic effects of recombinant adenovirus encoding granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in experimental pulmonary tuberculosis[J]. Clin Exp Immunol,2013,171(3):283-297.
- 28 Zhang Y, Liu J, Wang Y, et al. Immunotherapy using IL-2 and GM-CSF is a potential treatment for multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Sci China Life Sci,2012,55(9):800-806.

- 29 Glatman-Freedman A. The role of antibody-mediated immunity in defense against *Mycobacterium tuberculosis*: advances toward a novel vaccine strategy[J]. Tuberculosis (Edinb), 2006, 86(3-4):191-197.
- 30 Lopen Y, Yero D, Falero-Aiaz G, et al. Induction of a protective response with an IgA monoclonal antibody against *Mycobacterium tuberculosis* 16 kDa protein in a model of progressive pulmonary infection[J]. Int J Med Microbiol, 2009, 299(6):447-452.
- 31 Buccheri S, Reljic R, Caccamo N, et al. Prevention of the post-chemotherapy relapse of tuberculous infection by combined immunotherapy[J]. Tuberculosis, 2009, 89(1):91-94.
- 32 舒雪保. 胸腺肽联合抗结核药治疗复治涂阳肺结核的效果研究[J]. 中国当代医药, 2014, 21(2):72-74.
- 33 李史来, 郑梓坤, 陈为凯. 转移因子联合抗结核药治疗初治菌阳肺结核疗效观察[J]. 中国实用医药, 2013, 8(26):36-37.
- 34 Nnoaham KE, Clarke A. Low serum vitamin D levels and tuberculosis: a systematic review and meta-analysis[J]. Int J Epidemiol, 2008, 37(1):113-119.
- 35 Martineau AR, Timms PM, Bothamley GH, et al. High-dose vitamin D-3 during intensive-phase antimicrobial treatment of pulmonary tuberculosis: a double-blind randomised controlled trial[J]. Lancet, 2011, 377(9761):242-250.
- 36 Rivas-Santiago B, Rivas Santiago CE, Castañeda-Delgado JE, et al. Activity of LL-37, CRAMP and antimicrobial peptide-derived compounds E2, E6 and CP26 against *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Int J Antimicrob Agents, 2013, 41(2):143-148.

(收稿日期: 2014-08-13)

(本文编辑: 孙荣华)

刘其会, 孙峰, 张文宏. 结核病的辅助免疫治疗研究进展[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2015, 9(3): 305-308.

