

## 尖锐湿疣的全身细胞免疫研究进展

吴焱 伦文辉 赵刚

尖锐湿疣(condyloma acuminatum, CA)是人类乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)感染生殖器、会阴或肛门等部位引起的一种临床常见的、易于复发的慢性性传播疾病。HPV在患者体内长期存在,不仅可以引起尖锐湿疣,还可以导致宫颈癌以及其它肿瘤的发生。对HPV在体内长期存在的机制还不太清楚,但研究表明患者体内存在对HPV免疫反应的损伤<sup>[1]</sup>,CA患者存在着全身和局部细胞免疫的异常,包括T细胞、NK细胞(自然杀伤细胞)的异常以及细胞因子失衡等。本文就CA患者的全身细胞免疫功能的研究进展综述如下:

### 一、T细胞和NK细胞的活化

体内T细胞识别抗原后能否活化是感染HPV后免疫应答发生与否的关键性环节。研究认为,测定CA患者外周血中CD69<sup>+</sup>、HLA-DR、CD38<sup>+</sup>的细胞百分比及其绝对计数可以反映T细胞或者NK细胞活化的情况。

CD69抗原又称早期激活抗原,是表达于丝裂原或受抗原刺激的各种激活T、B、NK细胞(自然杀伤细胞)的最早期标志之一<sup>[2]</sup>。在正常情况下外周血T细胞极少表达CD69,但当有HPV等特异性抗原刺激时,激活的淋巴细胞表面可以迅速表达CD69分子<sup>[3]</sup>,并引发淋巴细胞增殖、信号转导功能。CD69的表达呈动态变化<sup>[4]</sup>,随病期的延长,CD69会逐渐下降。

CD69在静息的NK细胞上几乎不表达,而在活化的NK细胞表面有丰富表达。同时CD69也是NK细胞杀伤活化性受体,它能传递活化信号,启动细胞杀伤功能或产生细胞因子,能反映NK细胞的活化状态和杀伤功能。研究发现CA患者NK细胞的CD69表达处于低水平状态,表明CA患者的NK细胞活化能力不足,杀伤HPV感染细胞的能力下降<sup>[5]</sup>。

人类主要组织相容性复合物(MHC)是人体细胞重要的表面抗原,而HLA-DR是MHC-II类分子的主要抗原之一。正常情况下,它仅分布于B细胞、活化的T细胞、巨噬细胞、树突状细胞和精子等表面,是免疫反应中重要的参与者。HLA-DR在静息的T细胞上表达很弱,当机体被病毒感染后,T细胞被激活晚期时,其表达显著升高<sup>[6]</sup>。与CD69抗原不同,HLA-DR激活标志在T细胞激活晚期表达且表达稳定。CA患者的T细胞表面HLA-DR抗原的表达水平降低,证明T细胞对病毒抗原的识别和应答能力下降,使病毒持续存在或复发。

CD38<sup>+</sup>分子是一种多功能的胞外酶,可通过对刺激信号的转导,促进T细胞的激活<sup>[7]</sup>。由于CD38<sup>+</sup>分子表达与T细胞协同刺激信号的转导及诱导特定细胞

作者单位: 100015 北京,首都医科大学北京地坛医院性病艾滋病中心(吴焱、伦文辉);暨南大学第一附属医院皮肤科(赵刚)

通讯作者: 吴焱, Email: wuyan1214@sina.com

产生细胞因子有关,CA患者测定外周血T细胞中的CD38<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>激活亚群,也可以为了解T细胞的激活状况提供参考。

## 二、T细胞及其亚群的数量

T细胞是抗病毒的主要特异性免疫细胞。HPV引起的免疫反应包括抑制性T细胞(CD8<sup>+</sup>)介导的细胞毒反应和辅助性T细胞(CD4<sup>+</sup>)介导的迟发性过敏反应。它们的数量在一定程度上反映着它们的功能。目前对CA患者T亚群的变化尚存在争论。有的报告CD3<sup>+</sup>(总T细胞)降低,CD8<sup>+</sup>升高,且认为CD3<sup>+</sup>细胞数减少越明显,CA患者复发的可能性就越大。有的报告CD4<sup>+</sup>降低、CD8<sup>+</sup>升高。而Cauda等<sup>[8]</sup>发现患者外周血CD3<sup>+</sup>细胞及CD4<sup>+</sup>细胞百分数在正常范围内,CD8<sup>+</sup>细胞百分数增多,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>细胞比值明显低于正常人组。有学者认为治疗后无复发患者与其治疗前比较CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>细胞比值显著增高,而治疗后复发患者无明显改变。还有报道认为CA患者皮损数目增多与CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值下降有一致性。综合而言,由于受病毒抗原活化而增殖导致CD8<sup>+</sup>T细胞升高,这是已基本肯定的结论,但总T细胞、CD4<sup>+</sup>T细胞是否降低这各说不一,多数结果表明T细胞总数(CD3<sup>+</sup>)正常、CD4<sup>+</sup>降低、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>细胞比值下降,尤其对于反复发作的长病程CA患者更是如此。由此可见CA患者一般存在不同程度的免疫抑制,患者机体的免疫异常程度与病程、病变形态、大小、数量及部位有关。不同病期的患者其免疫功能处于不同的状态:早期病毒刺激机体的细胞免疫处于活跃状态,病期长及反复发作患者的免疫功能损害严重,表明患者细胞免疫功能由早期的活跃状态逐步发展到免疫抑制。在对艾滋病合并HPV的研究中发现,随着CD4<sup>+</sup>细胞数量的下降,肛门外生殖器以及口腔HPV感染的发病率也随之增加,从另外的角度证明T细胞与HPV感染密切相关<sup>[9]</sup>。

## 三、Th1/Th2克隆漂移

辅助性T细胞根据所分泌的细胞因子不同,被分成Th1和Th2。Th1/Th2比值维持着动态平衡,是保证正常免疫功能的重要因素,在清除病毒和肿瘤,诱导免疫耐受等方面起着重要作用<sup>[10]</sup>。若机体对外来抗原的免疫反应由以Th1应答为主向以Th2应答方向转移,将会造成免疫抑制状态,严重干扰机体的抗病毒免疫,Lilblau称之为"克隆漂移"(clonal diversion)。Th1细胞分泌的细胞因子IL-2、IFN- $\gamma$ 可下调HPV的表达,抑制HPV感染细胞的生长,启动和诱发浸润白细胞的抗病毒作用<sup>[11]</sup>,通过Fas-FasL途径调控Th2细胞<sup>[12]</sup>、抗原呈递细胞,在调节免疫应答稳定性方面起重要作用。有关研究发现,反复发作CA患者的免疫应答过程中存在着Th1/Th2类淋巴细胞分泌细胞因子交互作用失衡的现象,免疫状态存在向Th2克隆漂移。IL-10、IL-4等Th2型细胞因子增多,而IFN- $\gamma$ 、IL-2等Th1型细胞因子减少<sup>[13]</sup>,这一表现与病程呈正相关。从而引起一系列细胞免疫抑制效应,不能有效进行细胞免疫应答和清除HPV。Th1/Th2细胞因子优势的相互转换,对该病的转归起着决定性作用。CA患者体内Th2型反应模式处于优势状态,可能是病毒发生免疫逃逸引起免疫损伤的一种机制。

#### 四、相关细胞因子

CA 患者免疫系统普遍受抑,免疫平衡失调,这与细胞因子这一免疫调节作用有关。研究发现,CA 患者外周血和感染局部均存在细胞因子紊乱现象。

1. 干扰素(IFN):Cauda 等<sup>[8]</sup>的研究表明 CA 患者外周血 IFN 产生明显降低。钱起丰对 36 例 CA 患者 IFN 水平检测结果也表明 CA 患者血清 IFN- $\gamma$  水平明显低于正常人对照组。病程 < 6 个月 CA 患者外周血中 NK 细胞内表达 IFN- $\gamma$  正常,而病程  $\geq 6$  个月 CA 患者外周血中 NK 细胞内表达 IFN- $\gamma$  显著降低,证明患者 NK 细胞功能严重障碍,病程可能迁延或恶化。IFN- $\gamma$  可以通过多种途径发挥抗 HPV 作用,例如通过在转录水平影响 HPV 基因表达发挥抗病毒效应、对某些细胞因子有诱导合成效应以及调高 MHC- I 类分子的表达,启动一般不表达 MHC- II 类分子的细胞(如内皮细胞、成纤维细胞、肠道上皮细胞、角质形成细胞)出现表达和诱导 LFA-1、ICAM-1 表达。因此,IFN- $\gamma$  水平明显低下,机体抗病毒、抗增殖及免疫调理作用不能正常发挥<sup>[14]</sup>。

2. 白细胞介素(interleukin, IL):IL-2:在各种白细胞介素因子中 IL-2 水平是 CA 患者血清中最为重要的变化,是反映机体细胞免疫功能的重要指标之一。IL-2 最重要的功能是通过自分泌或旁分泌作用刺激 T 细胞表达 IL-2 受体(IL-2R),并与 IL-2R 结合,使 T 细胞分化增殖成为效应 T 细胞<sup>[15]</sup>。T 细胞分化增殖是以 IL-2 与其受体的结合为启动信号的。研究资料表明,CA 患者外周血单个核细胞产生 IL-2 的能力明显下降,患者组血清中 IL-2 水平显著低于对照组,病程  $\geq 6$  个月者显著低于病程 < 6 个月者<sup>[16]</sup>。对可溶性 IL-2 受体(sIL-2R)研究的结果表明反复发作的长病程 CA 患者血清中 sIL-2R 水平明显升高,而短病程及治疗后无复发的 CA 患者与正常人比较无显著差异。研究还发现 CA 患者外周血淋巴细胞的膜 IL-2 受体(mIL-2R)表达水平明显下降,且 mIL-2R 表达与 CD8<sup>+</sup> 细胞百分比上升显著相关。IL-2 水平下降、sIL-2R 升高以及 mIL-2R 表达下降表明患者外周血细胞免疫功能受抑制,免疫应答能力低下。关于 IL-2 水平降低的原因,有人认为可能是由于外周血单个核细胞产生可溶性抑制因子抑制了 IL-2 的产生,还有人认为是由于抑制性 T 细胞的增殖而导致 CD4<sup>+</sup> 细胞活化程度不足或受抑制,使 CD4<sup>+</sup> 细胞合成细胞因子减少、外周血单个核细胞对 PHA 诱导的增殖反应显著降低所致。此外,CA 患者白细胞介素 10 水平升高可抑制 IL-2 的合成,继而导致由 IL-2 所介导的生物学效应降低,引起血清可溶性 IL-2 受体明显升高,与膜 IL-2 受体竞争结合 IL-2,中和活化 T 细胞周围的 IL-2,从而减弱机体的自分泌效应,抑制 T 细胞的增殖,最终导致 IL-2 水平下降。其它白细胞介素因子:Arany 等<sup>[17]</sup>研究发现 CA 患者 IL-1 水平降低。吕东等检测发现 CA 患者 IL-6 水平较正常对照组高但无显著统计学差异<sup>[18]</sup>,而王岚则认为 CA 患者 IL-6 水平显著低于正常人<sup>[19]</sup>。许冰等发现 CA 患者血清中 IL-8 水平明显高于正常人,但王岚等<sup>[19]</sup>研究的结果表明 CA 患者 IL-8 水平显著低于正常人。钱起丰做了较多关于白细胞介素因子的检测,发现 CA 患者 IL-10 水平比正常人显著增高而 IL-2 水平降低,二者呈负



相关性<sup>[20]</sup>。他还发现 CA 患者血清中 IL-12 水平明显低于对照组<sup>[21]</sup>; IL-15 水平虽有降低,但无显著性差异<sup>[21]</sup>; IL-18 水平明显低于正常人对照组<sup>[22]</sup>。在 CA 患者中白细胞介素水平异常的原因目前尚在进一步研究中,但在 HPV 感染后病毒所引起免疫细胞的变化以及免疫细胞间、细胞因子间相互作用也是造成白细胞介素水平异常的重要。

3. 肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF):生理含量的 TNF 可增强炎症部位单核巨噬细胞系统的活性,刺激 T 细胞发挥其作用,并有抗病毒作用。然而,过多的 TNF 则抑制某些克隆的 T 细胞分化,并有直接细胞毒样作用如对 CD4<sup>+</sup> 细胞的细胞毒作用,从而可导致免疫功能的抑制。CA 患者外周血中 TNF 水平及可溶性 TNF 受体(sTNF-R)水平有异常。国内学者研究认为 CA 患者血清 TNF- $\alpha$  水平明显高于正常人组<sup>[18]</sup>,但认为不同病程 CA 患者间 TNF- $\alpha$  无显著差异<sup>[23]</sup>,治愈后患者血清 TNF- $\alpha$  水平与正常对照组比较差异无显著性。但也有学者如钱起丰等认为 CA 患者血清 TNF- $\alpha$  水平无明显改变<sup>[19]</sup>。关于 TNF 受体, Malejczyk 等<sup>[24]</sup>发现在 HPV6/11 型感染的 CA 患者中血清可溶性 TNF 受体 I 型(sTNF-RI)明显增高,而可溶性 TNF 受体 II 型(sTNF-R II)水平在正常范围,而许冰等<sup>[23]</sup>研究发现 CA 患者血清 sTNF-RI 和 sTNF-R II 水平均明显高于正常人,病程长的 CA 患者的 sTNF-RI 水平增高得更加显著。CA 患者血清中 TNF- $\alpha$  水平增高的原因尚不清楚,有学者认为可能是 HPV 感染导致机体细胞因子网络失调以及 HPV 促使 CA 患者细胞生成和释放 TNF- $\alpha$  所致。sTNF-R 水平升高可能促进 HPV 引起的肛门生殖器疣的生长。

### 五、NK 细胞及活化 NK 细胞

NK 细胞约占淋巴细胞总数的 15%,通过发挥细胞毒作用和分泌细胞因子,在机体抗感染、抗肿瘤、免疫调节等方面发挥着重要的免疫功能。NK 细胞及活化 NK 细胞数量减少可导致体内清除肿瘤细胞和清除病毒感染的能力下降。对 CA 患者外周血清中 NK 细胞的研究结果不太一致,少数研究表明,CA 患者外周血 NK 细胞功能下降,通过正反馈调节代偿性地增多 NK 细胞数量,导致 NK 细胞计数百分率均较正常对照组显著增高。也有的报告认为 NK 细胞数量虽有增多但与对照组比较差异无显著性,活化的 NK 细胞数也与正常组相似。而较多的报告则认为 NK 细胞数量和活性下降。有研究认为 NK 细胞活性下降与 CA 患者病程长短有关,长病程组 NK 细胞活性下降较短病程组更为明显<sup>[25]</sup>。还有研究认为 NK 细胞活性下降与 CA 患者损害数量有关系,NK 细胞活性下降越明显则 CA 患者损害越多,但也有学者研究未发现 NK 细胞活性与 CA 患者损害数量有关。有学者认为 CA 患者长久不愈最终发生癌变除了与感染 HPV 的亚型、局部长期慢性刺激等因素有关外,NK 细胞活性降低可能起一定作用。Cauda 等<sup>[7]</sup>分析 CA 患者 NK 细胞活性降低的原因,认为可能与 HPV 持久感染及扩散有关。由于 IFN 和 IL-2 都是 NK 细胞的激活因子,能刺激 NK 细胞的杀伤功能,因此,CA 患者外周血单个核细胞产生 IFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  和 IL-2 的能力下降可导致 NK 细胞活

性降低。

## 六、多因素之间的相互调节

机体感染 HPV 后的机制是复杂的, T 细胞、NK 细胞以及 IFN、IL-2 和 TNF 间除了各自起作用外, 也有相互调节的作用。IFN 和 IL-2 均是 NK 细胞激活因子, 对 NK 细胞的分化、活化和杀伤功能均有正调节作用; IFN 和 IL-2 水平降低可使外周血 Ts 细胞增多, 反过来 Ts 细胞增多可导致 IFN 和 IL-2 的产生能力降低; IL-2 可通过增强 CTL、NK 细胞活性以及诱导 IFN 产生而间接产生抗病毒活性; TNF 能增强 IL 依赖的 T 细胞增殖能力, 促进 IFN 等淋巴因子的产生; IFN 可促进巨噬细胞杀伤病原微生物, 促进 T 细胞和 IL-2 受体表达, 对 TNF 的生物学作用也有明显增强作用。IFN、IL-2 和 TNF 这三种细胞因子间有明显协同作用, 其中任何一种细胞因子的水平和功能异常, 都会降低机体抗 HPV 感染的能力。

综上所述, CA 患者全身性细胞免疫异常是相当明显的, 而且这些异常主要见于复发者、长病程者或病程发展较快、病情较严重者。全身性细胞免疫异常主要有:  $CD4^+$  细胞下降,  $CD8^+$  细胞增高,  $CD4^+/CD8^+$  比例倒置; 自然杀伤细胞活性降低; 干扰素、白细胞介素水平下降; TNF 水平升高等。这些免疫细胞、免疫分子之间的相互作用, 造成机体免疫功能受抑, 机体抗 HPV 病毒的能力下降, 引起 HPV 感染、CA 的发生、复发或者病情加重。在 HPV 感染和 CA 患者中, 免疫细胞、免疫分子水平异常究竟是 HPV 感染的原因还是 HPV 感染的结果目前尚不清楚, 学者们倾向于认为机体免疫功能在感染 HPV 之前就已受损, 因为有些人感染 HPV 后可以不发展为 CA 患者, 而且经过一定时期 HPV 可以自行消失。机体在感染 HPV 后, 其免疫功能可以进一步受损甚至造成免疫系统紊乱而发生 CA, CA 又反过来影响机体免疫系统, 形成恶性循环。另外, 在对宫颈癌以及与 HPV 有关的恶性肿瘤研究中发现, HPV 能够在体内长期存在并且导致恶性肿瘤的发生, 与其具有免疫逃避机制有关<sup>[26]</sup>, 但确切的机制尚不十分清楚。有关 HPV 感染的更详细的免疫机制还有待进一步研究和完善。

## 参 考 文 献

- 1 García-Pineros AJ, Hildesheim A, Herrero R, et al. Persistent human papillomavirus infection is associated with a generalized decrease in immune responsiveness in older women. *Cancer Res*, 2006, 66:11070-11076.
- 2 Rutella S, Rumi C, Lucia MB, et al. Induction of CD69 antigen on normal  $CD4^+$  and  $CD8^+$  lymphocyte subsets and its relationship with the phenotype of responding T-cells. *Cytometry*, 1999, 38:95-101.
- 3 Werfell T, Boeker M, Kapp A. Rapid expression of the CD69 antigen on T cells and natural killer cells upon antigenic stimulation of Peripheral blood mononuclear cell suspensions. *Allergy*, 1997, 52:465-468.
- 4 Fernandez-Gutierrez B, de Miguel S, Morado C, et al. Defective early T and T-dependent B cell activation in systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 1998, 7:314-322.
- 5 Zingoni A, Palmieri C, Morrone S, et al. CD69-triggered ERK activation and functions are negatively regulated by  $CD94/NKG2-A$  inhibitory receptor. *Eur J Immunol*, 2000, 30:644-651.
- 6 汪习成, 吴昊, 李太生, 等. HIV 感染者/AIDS 患者外周血 CD38、HLA-DR 分子在  $CD4^+CD8^+$  T 淋巴细胞上的表达. *中国艾滋病性病杂志*, 2003, 9:1-4.
- 7 Cooper MA, Fehniger TA, Calligiuri MA. The biology of human natural killer cell subsets. *Trends Immunol*, 2001, 22:633-640.

- 8 Cauda R, Tying SK, Grossi CE, et al. Patients with condyloma acuminatum exhibit decreased interleukin-2 and interferon gamma production and depressed natural killer activity. *J Clin Immunol*, 1987, 7:304-309.
- 9 Palefsky J. Biology of HPV in HIV infection. *Adv Dent Res*, 2006, 19:99-105.
- 10 Delre G. The concept of type1 and type2 helper T cells and their cytokines in humans. *Int Rev Immunol*, 1998, 16:427-455.
- 11 Malejczyk J, Majewski S, Jablonska S. Cellular immunity in cutaneous and genital HPV infections. *Clin Dermatol*, 1997, 15:261-274.
- 12 Hahn S, Stalder T, Wemli M, et al. Down-modulation of CD4<sup>+</sup> T helper type 2 and type 0 cells by T helper type 1 cells via Fas/Fas-ligand interaction. *Eur J Immunol*, 1995, 25: 2679-2685.
- 13 Bonagura VR, Hatam L, Devoti J, et al. Recurrent respiratory papillomatosis: altered CD8<sup>+</sup> T-cell subsets and T(H)1/(H)2 cytokine imbalance. *Clin Immunol*, 1999, 93:302-311.
- 14 Arany I, Rady P, Tying SK. Effect of IFN therapy on HPV copy number in patients with condyloma acuminatum. *Am J Med Sci*, 1995, 310:14-18.
- 15 Wrenshall LE, Platt JL. Regulation of T cell homeostasis by heparansulfate bound IL-2. *J Immunol*, 1999, 163:3793-3800.
- 16 Cardamakis E, Kotoulas IG, Relakis K. Comparative study of systemic interferon alfa-2a plus isotretinoin versus isotretinoin in the treatment of recurrent condyloma acuminatum in men. *Urology*, 1995, 45:857-860.
- 17 Arany I, Goel A, Tying SK. Interferon response depends on viral transcription in HPV containing lesions. *Anticancer Res*, 1995, 15:2865-2869.
- 18 吕东, 郑健, 李洁华. 尖锐湿疣患者血清 IL-6 和肿瘤坏死因子水平的检测. *临床皮肤科杂志*, 1999, 28:171.
- 19 王岚. 尖锐湿疣患者肿瘤坏死因子  $\alpha$ , 白介素 6 和白介素 8 水平的研究. *中华皮肤科杂志*, 1998, 31:239.
- 20 钱起丰. 尖锐湿疣患者血清白介素 10 水平及其与白介素 2 关系的研究. *中华皮肤科杂志*, 1996, 29:172-173.
- 21 钱起丰, 莫衍石. 尖锐湿疣患者白介素 12、白介素 15 和肿瘤坏死因子  $\alpha$  水平的研究. *中华皮肤科杂志*, 1997, 30:172-174.
- 22 钱起丰. 尖锐湿疣患者血清白介素 18 与 C 干扰素水平的检测及其相关研究. *中华皮肤科杂志*, 2000, 33:155-156.
- 23 许冰, 瞿国伟, 俞远彪, 等. CA 患者血清肿瘤坏死因子和白介素 2 水平的研究. *中华皮肤科杂志*, 1996, 29:190-191.
- 24 Malejczyk J, Majewski S, Jablonska S. Cellular immunity in cutaneous and genital HPV infections. *Clin Dermatol*, 1997:261-274.
- 25 Galea LJ, Darling D, Gan SU, et al. Expression of a variant of CD28 on a subpopulation of human NK cells: implications for B7-mediated stimulation of NK cells. *J Immunol*, 1999, 163:62-70.
- 26 Kanodia S, Fahey LM, Kast WM. Mechanisms used by human papillomaviruses to escape the host immune response. *Curr Cancer Drug Targets*, 2007, 7:79-89.

(收稿日期 2007-11-04)

(本文编辑:王丹静)

吴焱, 伦文辉, 赵刚. 尖锐湿疣的全身细胞免疫研究进展[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志: 电子版*, 2009, 3(1):92-97.