

重视并进一步探索结核病的免疫治疗

吴雪琼

结核病(TB)是全球感染性疾病的头号“杀手”。根据 WHO 2016 年报告,2015 年全球有 1040 万例 TB 患者、48 万例耐多药结核病(MDR-TB)患者和 10 万例单耐利福平的 TB 患者,合计 180 万例患者死于 TB^[1]。我国是全球 22 个 TB 高负担国家之一,也是 27 个 TB 耐药严重的国家之一, TB 疫情控制并不十分理想^[1]。单纯化疗对于难治、复治 TB 尤其是 MDR-TB、XDR-TB 效果并不理想,在治疗方案中免疫辅助治疗是否有必要?它将发挥什么作用?笔者概要地就 TB 患者存在的遗传免疫缺陷、免疫治疗的作用、免疫治疗制剂研发现状进行阐述,并对其存在的问题和发展前景进行分析与探讨。

TB 患者存在免疫缺陷

我们要充分认识到, TB 的发生、发展与 TB 患者的免疫功能密切相关。遗传差异导致 TB 患者免疫缺陷或免疫功能异常,影响机体抵抗结核分枝杆菌(MTB)感染的效力,因此, TB 不仅是一种细菌感染性疾病,也是一种免疫性疾病。

全球人口中约有 1/3 的 MTB 感染者,只有大约 10% 发病, 90% 终生不发病;而且 TB 具有家族聚集倾向,这些现象均说明人类在抗 MTB 感染方面存在遗传差异。近年来,已发现了一些结核感染和发病的易感基因,大多数与免疫系统和炎症反应相关,如 Toll 样受体(TLR)基因(*TLR8*、*TLR4*、*TLR9*、*TLR2* 等)差异导致机体不能很好地激活固有免疫应答以抵抗 MTB 入侵^[2-3];天然抵抗相关的巨噬细胞蛋白 1(*nrampl*)基因^[4]、维生素 D 受体(VDR)基因^[5]、巨噬细胞移动抑制因子(MIF)基因

差异^[6]导致单核-巨噬细胞功能异常,肺泡内巨噬细胞吞噬 MTB 后形成不成熟的吞噬小体,并抑制巨噬细胞活化,阻止吞噬小体与溶酶体融合,抑制吞噬溶酶体成熟,使 MTB 在巨噬细胞内长期潜伏不被杀灭,随时可能被激活而导致发病^[7];人类白细胞抗原(HLA)基因^[8](*HLA-B*、*HLA-DR* 和 *HLA-DQ* 等)的差异影响了机体免疫功能的调控;作为调理素促进吞噬作用和增强补体作用的甘露糖结合植物凝集素(MBL)基因遗传缺陷会导致 MBL 缺乏,而易使结核感染复发^[9];许多调节干扰素(IFN)- γ 的细胞因子编码基因[白细胞介素-12 β (IL-12 β)、IL-12p40、IL-18、IL-18R α 、IL-27、IFN- γ R、信号转导和转录激活因子 1(STAT1)、肿瘤坏死因子- β (TNF- β)、TNF- α 、TNFR2、IL-1、IL-10、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)等]的差异^[10-11],影响 IFN- γ 途径在抗结核免疫中发挥作用,如阻碍 IFN2 γ R 的产生及其与 IFN- γ 的结合,可能导致 MTB 播散^[12]。因此,在临床上 TB 患者表现为 Th1 和 Th2 免疫应答失衡。在疾病的早、中期,机体免疫功能亢进,Th1 型免疫增强,而后逐渐减弱;Th2 型免疫逐渐增强,可能存在高水平的 Th2 型免疫应答抑制 Th1 型免疫应答的现象,使 Th1 型免疫向 Th2 型免疫转移。此外,巨噬细胞、T 淋巴细胞对升高的 IFN- γ 呈现低应答或无应答。在 TB 患者中后期表现为免疫功能低下,尤其是难治、复治 TB 患者通常 CD3⁺、CD4⁺ T 淋巴细胞亚群明显降低,而 CD8⁺ T 淋巴细胞亚群明显升高,导致细胞免疫功能低下,机体产生各种抗病因子的功能下降,体液免疫功能增强, TB 病情恶化,单纯的抗结核化疗效果不佳^[13]。

先天不足后天“补”

目前临床上 TB 治疗以化疗杀灭 MTB 为主,而对宿主的免疫缺陷、免疫失衡、免疫低下重视不够。外因是通过内因起作用的,宿主抗 TB 免疫力的强弱决定了疾病的转归。因此,合理的抗结核化疗的同时,联合应用免疫调节剂,有助于调整患者机体的免疫状态,提高 TB 患者的抗 TB 免疫,增强患者自

doi: 10. 3969/j. issn. 1000-6621. 2017. 02. 002

基金项目:“十二五”国家科技重大专项(2012ZX-10003-008);北京市十病十药研发项目(Z141100002214002)

作者单位:100091 北京,解放军第三〇九医院全军结核病研究所 全军结核病防治重点实验室 结核病诊疗新技术北京市重点实验室

通信作者:吴雪琼,Email: xueqiongwu@139. com

身杀灭 MTB 的能力,从而加强化学药物对结核病的治疗效果,提高治愈率,降低复发率。

目前,进行免疫治疗、免疫干预主要通过下列机制发挥抗 TB 作用:(1)调节 T 淋巴细胞、调动自然杀伤细胞、激活感染的巨噬细胞,诱导吞噬小体成熟并与溶酶体融合,发挥巨噬细胞杀菌功能^[14];(2)诱导细胞免疫应答,激活 TB 患者血和肺中大量特异的 CD4⁺和 CD8⁺ T 淋巴细胞,产生 Th1 型细胞因子如 IFN- γ 、IL-2 等,这对于 CD4⁺ T 淋巴细胞减少、IFN- γ 降低的患者是非常有必要的^[13-14];(3)调动 MDR-TB 患者免疫功能,防止或消除 MTB 对化疗药物的耐受^[15];(4)诱导巨噬细胞自噬作用,促进 MTB 的清除^[16];(5)激活细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)、活化巨噬细胞清除胞内滞留 MTB,以期缩短疗程或预防复发^[13-14]。

免疫治疗制剂临床应用的现状

免疫治疗是指通过免疫系统直接或间接增强机体的抗结核作用,并取得良好疗效的治疗方法,主要包括免疫调节和免疫重建 2 个方面。目前,免疫治疗制剂在临床上应用辅助化疗均取得良好疗效,使 TB 患者体重增加,促进症状改善、病灶吸收、空洞缩小及闭合、痰菌阴转、减少复发,提高了治愈率,尤其对复治、难治性 TB 及 MDR-TB、XDR-TB 均有较好的辅助治疗作用^[17]。已在临床应用或在开展临床实验的免疫治疗制剂主要有以下 6 类:

1. 微生物制剂:目前已商品化的主要有灭活母牛分枝杆菌制备的微卡菌苗、灭活草分枝杆菌制备的乌体林斯、卡介苗多糖核酸制备的斯奇康注射液等^[17]。遗憾的是它们在临床应用后并未达到预期的效果,临床疗效存在争议。究其原因主要是临床应用不规范,有的患者每天注射 1 针,大多数每周 1~2 次;免疫治疗制剂不是化疗药物,应用不能太频繁,这不符合免疫规律,会诱导免疫耐受、治疗无效,甚至可能会诱发“郭霍现象”,导致病理损伤。因此建议:每 3~4 周注射 1 次,3~5 次为 1 个疗程,疗程间隔 3 个月。此外,也可能是灭活的细菌成分只能诱导短暂的 Th1 型细胞免疫应答,不能诱导特异的 CTL 应答,而不能像活疫苗那样刺激机体产生持久、有效的具有免疫保护力的细胞免疫反应。目前,有几个新的免疫治疗制剂在开展临床实验,如热灭活的非致病性 NTM 免疫治疗制剂 Mw [*M. indicus pranii* (MIP)]用于治疗包括 TB、癌症等多种疾病,目前已进入 III 期临床实验^[3];由减毒 MTB 的细胞

片段制备的治疗性疫苗——MTB 特异性片段疫苗(RUTI)目前也进入了 III 期临床实验^[18];由耻垢分枝杆菌经特殊工艺加工而成的无细胞溶菌制剂耻垢分枝杆菌菌苗正在开展 I 期临床实验。

2. 免疫系统产物:应用细胞因子(如 IL-2、IFN- γ 、IL-12 等)、小分子免疫肽(如胸腺肽或胸腺因子 D、转移因子等)、高剂量免疫球蛋白协同化疗进行非特异性免疫治疗^[14],取得良好疗效。但这些免疫调节剂半衰期短、费用高,贫穷的 TB 患者难以承担;部分免疫系统产物的直接应用可能会产生不良反应,如应用 IFN- γ 可能产生发热、寒战、疲劳、头痛等不良反应,大剂量 IL-12 治疗时的不良反应较大。

3. 中药治疗:许多中草药(如黄芪、灵芝、大蒜、夏枯草、穿心莲、白头翁、猫爪草、牛蒡子等)具有明显的非特异性免疫调节作用,可提高机体免疫力而发挥抗结核作用;临床上已联合应用一些中成药制剂(如芪贝胶囊、黄芪胶囊、百令胶囊等)以“扶正固本”^[19]。但中医药的挖掘、普及还有待加强。

4. 干细胞治疗:间充质干细胞具有很强的再生和修复能力,应用间充质干细胞联合治疗难治性 TB、MDR-TB、XDR-TB、免疫缺陷并发播散性 TB 的成功,开创了 TB 治疗的新模式^[20],但大量干细胞输注、给药途径及时机等复杂问题尚需深入研究。

5. 重组蛋白疫苗(包括佐剂):通过基因工程技术表达的蛋白抗原纯化后制成的疫苗,其优点是产量大、纯度高、安全性好、无组织损伤,可反复应用、增强注射以维持效应 T 细胞记忆,但其免疫效果较差,需添加佐剂以增强其免疫原性^[21]。MTB 72f/AS02A 嵌合蛋白疫苗作为 TB 治疗性疫苗已在国外完成了 II 期临床实验。

6. 化学制剂:合成的 HE2000[16 α -溴-异雄酮(16 alpha-bromo-epiandrosterone, EpiBr)]可抑制炎症细胞因子(IL-1 β 、TNF- α 、IL-4、IL-6、IL-8 等)产生,增加淋巴细胞、抗原递呈细胞、循环树突状细胞、CD8⁺ T 细胞和 T 自然杀伤细胞的数量,使 Th1 免疫向 Th2 转化,HE2000 用于 AIDS 治疗可使结核共感染的发生率减少 42.2%^[22]。目前正在进行 II 期临床实验。

问题及展望

免疫治疗应用于临床已有一个多世纪,免疫调节剂的研发已形成一个大規模的生物技术产业,在 TB 辅助治疗制剂的研究与应用方面已取得了显著进展,但在临床治疗上并未达到显著效果,也未实

现“超短程化疗”的目标,仍存在诸多问题有待解决:

(1)免疫治疗的认识有待提高。临床医生和 TB 患者需充分认识到,免疫治疗制剂不像化疗制剂那样能够快速杀灭病原菌,立杆见影,但能够增强宿主体质,固本培元,是其他治疗手段发挥作用的基础;结核特异性免疫调节剂如果临床应用不规范,不仅不能达到预期的临床效果,还可能出现“郭霍现象”或免疫耐受。(2)许多临床应用问题有待解决。免疫制剂的用量、应用时机、疗程、应用对象的免疫状况,以及对其免疫功能的影响等问题尚需深入研究;此外,尚需建立相应的免疫技术、免疫指标进行合理检测与评价,才能正确地进行免疫诊断,指导临床开展合适的免疫治疗。(3)清除潜伏感染 MTB 的能力需进一步验证。进一步研究、筛选、比较免疫调节剂调动机体免疫功能、尤其是调节巨噬细胞、清除潜伏 MTB 的能力,以期能够代替化疗药物开展结核潜伏感染人群的预防性治疗,避免化疗药物的不良反应,降低 TB 发病率。(4)有效的免疫调节机制尚需阐明。结核免疫反应是一把双刃剑,目前并不十分清楚从 MTB 侵入到机体后免疫应答的各个环节如何进行免疫调控、免疫调节和免疫干预,才能促进其抗结核反应而抑制其病理损伤(如抑制中性粒细胞过多地浸润病灶),趋利避害;要系统性地解析现有免疫调节剂的作用靶标和调控通路,为其合理应用奠定基础。(5)不同类型的免疫调节新制剂的研发还需推进。尤其是针对机体面临 MTB 侵害而存在的免疫缺陷环节,开发新型特异性免疫调节剂^[23],弥补机体先天免疫缺陷的不足。

随着免疫学和分子生物学的发展,免疫治疗手段的逐渐增多,将能够从分子和细胞水平上深入揭示人类 TB 的免疫应答机制,解决临床应用的实际问题。免疫治疗学的进一步发展,必将对 TB 的防治产生深远的影响。

参 考 文 献

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2016. Geneva: World Health Organization, 2016.
- [2] Schurz H, Daya M, Möller M, et al. TLR1, 2, 4, 6 and 9 variants associated with tuberculosis susceptibility: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, 2015, 10 (10): e0139711.
- [3] Das S, Chowdhury BP, Goswami A, et al. *Mycobacterium indicus pranii* (MIP) mediated host protective intracellular mechanisms against tuberculosis infection; Involvement of TLR-4 mediated signaling. *Tuberculosis (Edinb)*, 2016, 101:201-209.
- [4] Li X, Yang Y, Zhou F, et al. SLC11A1 (NRAMP1) polymorphisms and tuberculosis susceptibility: updated systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, 2011, 6(1):e15831.
- [5] Cao S, Luo PF, Li W, et al. Vitamin D receptor genetic polymorphisms and tuberculosis among Chinese Han ethnic group. *Chin Med J (Engl)*, 2012, 125(5):920-925.
- [6] Sadki K, Lamsyah H, Rueda B, et al. Analysis of *MIF*, *FCGR2A* and *FCGR3A* gene polymorphisms with susceptibility to pulmonary tuberculosis in Moroccan population. *J Genet Genomics*, 2010, 37(4):257-264.
- [7] Pieters J. *Mycobacterium tuberculosis* and the macrophage: maintaining a balance. *Cell Host Microbe*, 2008, 3(6):399-407.
- [8] Chen BF, Wang R, Chen YJ, et al. Association between HLA-DRB1 alleles and tuberculosis: a meta-analysis. *Genet Mol Res*, 2015, 14 (4):15859-15868.
- [9] Liu C, He T, Rong Y, et al. Association of mannose-binding lectin polymorphisms with tuberculosis susceptibility among Chinese. *Sci Rep*, 2016, 6:36488.
- [10] Ghamari E, Farnia P, Saif S, et al. Susceptibility to pulmonary tuberculosis: host genetic deficiency in tumor necrosis factor alpha (TNF- α) gene and tumor necrosis factor receptor 2 (TNFR2). *Int J Mycobacteriol*, 2016, 5 Suppl 1:S136-S137.
- [11] Butov DO, Kuzhko MM, Makeeva NI, et al. Association of interleukins genes polymorphisms with multi-drug resistant tuberculosis in Ukrainian population. *Pneumonol Alergol Pol*, 2016, 84(3):168-173.
- [12] Shamsi M, Zolfaghari MR, Farnia P. Association of IFN- γ and P2X7 receptor gene polymorphisms in susceptibility to tuberculosis among Iranian patients. *Acta Microbiol Immunol Hung*, 2016, 63(1):93-101.
- [13] 吴雪琼, 吴长有. 结核病免疫学. 北京: 人民卫生出版社出版, 2016.
- [14] Khan TA, Mazhar H, Saleha S, et al. Interferon-gamma improves macrophages function against *M. tuberculosis* in multi-drug-resistant tuberculosis patients. *Chemother Res Pract*, 2016, 2016:7295390.
- [15] 刘晓, 吴雪琼. 中药治疗耐多药肺结核的研究进展. *中国防痨杂志*, 2016, 38(1):53-56.
- [16] Deretic V, Delgado M, Vergne I, et al. Autophagy in immunity against *Mycobacterium tuberculosis*: a model system to dissect immunological roles of autophagy. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2009, 335(1):169-188.
- [17] 周敏. 母牛分枝杆菌菌苗辅助治疗耐多药结核病疗效观察. *重庆医学*, 2011, 40(4):341-342.
- [18] Nell AS, D'Im 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. *PLoS One*, 2014, 9(2):e89612.
- [19] 吴雪琼, 梁秋. 积极探索和发展中西医结合治疗结核病——难治性结核病患者的新希望. *中国防痨杂志*, 2016, 38(1):9-13.
- [20] Joshi L, Chelluri LK, Gaddam S, et al. Mesenchymal stromal cell therapy in MDR/XDR tuberculosis: a concise review. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2015, 63(6):427-433.
- [21] 卢锦标, 沈小兵, 苏城, 等. 异烟肼联合重组结核疫苗 AEC/BC02 对结核分枝杆菌感染豚鼠的治疗效果评价. *中国防痨杂志*, 2017, 39(2):123-128.
- [22] Stickney DR, Noveljic Z, Garsd A, et al. Safety and activity of the immune modulator HE2000 on the incidence of tuberculosis and other opportunistic infections in AIDS patients. *Anti-microb Agents Chemother*, 2007, 51(7):2639-2641.
- [23] 梁艳, 张晓燕, 王小美, 等. 四种结核分枝杆菌增殖期抗原基因抗小鼠结核感染的比较研究. *中国防痨杂志*, 2017, 39(2):129-133.

(收稿日期:2017-01-06)

(本文编辑:薛爱华)