

细胞免疫在尖锐湿疣发病及治疗中的作用

刘永鑫 郑和义

(中国医学科学院、中国协和医科大学北京协和医院皮肤性病科)

【摘要】 尖锐湿疣是人类乳头瘤病毒感染引起的增生性疾病。尖锐湿疣患者 $CD4^+$ -T细胞和 $CD4^+/CD8^+$ 比例发生明显变化, 记忆性 T细胞的产生, 均提示其病程与细胞免疫有着重要关联。临床上联合应用细胞免疫治疗尖锐湿疣, 可有效降低复发率。

Effects of Cellular Immunity in the Pathogenesis and Treatment of Condyloma Acuminatum

Liu Yongxin, Zhang Heyi

(Department of Dermatology and Venereology, Peking Union Medical College Hospital

Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College)

【ABSTRACT】 Condyloma acuminatum is a kind of hyperplastic disease caused by human papilloma virus. Both the significant change of ratio of $CD4^+$ -T-cell to $CD8^+$ -T-cell and generation of the memory T cells in patients suggest that the course of disease has close relationships to cellular immunity. Combination of cellular immunity in the clinical treatment of condyloma acuminatum can reduce the recurrence rate efficiently.

尖锐湿疣是由人类乳头瘤病毒 (human papilloma virus HPV)引起的增生性疾病, 又称生殖器疣, 一般通过性接触传染, 亦有报道证实其可通过某些污染的衣物间接传染。外伤在 HPV 感染中也起重要作用。HPV 是一种小型双链 DNA 病毒, 呈正二十面体, 球形粒子直径约 50~55 nm。人是其唯一宿主, 宿主细胞是皮肤和黏膜上皮细胞, 病毒的成熟与细胞的角化程度有关, 完整的病毒只见于不全角化的上皮细胞中。近年来利用分子杂交技术, 证实 HPV 有上百种亚型, 存在较大的序列变异, 且不同类型的 HPV 与疣的临床表现有一定的关系。根据流行病学研究, 发现各种 HPV 相关疾病均有其特异的亚型。针对良性的生殖器疣, 即尖锐湿疣, 较为高发的为 HPV 16 18 6 11 型等。疣的病程与机体免疫有着重要的关系, 且细胞免疫对疣的防御机制起主要作用, 选择治疗时正确运用细胞免疫可以更好的治疗尖锐湿疣。

1 细胞免疫与尖锐湿疣

1.1 尖锐湿疣患者的细胞免疫变化

Wang 等^[1]研究 30 例尖锐湿疣患者, 组织活检后进行 HPV 相关序列测定, 运用 DNA 杂交方法, 根据限制性内切酶多型性分析标记。同时用抗 $CD3$ $CD4$ $CD8$ 单克隆抗体标记的绵羊红细胞进行直接红细胞

玫瑰花结试验, 测定该 30 例患者的外周血细胞 T 细胞亚群。结果提示: 19 例患者 (63.3%) HPV-DNA 阳性, 其中 HPV 6 型为 15.8%, HPV 11 型为 78.9%, HPV 16 型为 5.2%。尖锐湿疣患者的 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 百分比远远低于阴性对照者 ($P < 0.01$), 而 $CD8^+$ 细胞的百分比却显著高于阴性对照者 ($P < 0.01$), $CD4^+/CD8^+$ 显著性降低 ($P < 0.001$)。 $CD3^+$ 细胞的减少和 $CD4^+/CD8^+$ 比率的降低与 HPV-DNA 同源序列阳性相关 ($P = 0.008$, $P = 0.004$)。这些都提示在尖锐湿疣患者中, HPV-DNA 的存在会导致机体一系列细胞免疫功能的抑制反应, 这可能在尖锐湿疣的发病过程中也发挥了重要作用。临床中 HPV-DNA 测定的实用意义不大, 并不作为常规检测, 但结合临床和病理检查结果其仍有一定价值。

Martin 等^[2]研究 25 例无关的健康志愿者的 $CD4^+$ T 细胞系对 HPV 11 L1 病毒同类粒子的反应性。选择 6 例 $CD45RA^{low} RO^{high}$ 的记忆 T 细胞群进行细胞分选。测定反应中肽的一致性, 通过相对分子质量为 95 的 15 次跨越 HPV 11 L1 蛋白中心肽进行抗原表位选择。L1 无单一区域表现为免疫显性。应答细胞识别位于蛋白质各处的 1~10 个肽, 肽反应者为 HLA II 限制型清除。L1 对于皮肤和生殖器 HPV 的特异性嵌板被用于提示 L1 $CD4^+$ T 细胞反应具有交叉活性。通过离体的

CD45RO⁺ 外周血单核细胞引发对 HPV 11 L1 肽的反应。这提示, 对 HPV 11 的识别是一个特异性的记忆性反应, 而不决定于组织培养的离体筛选方法。

Coleman 等^[3] 随访 125 例尖锐湿疣患者, 发现 HPV 清除同时存在活化细胞介导的免疫应答。14 例疣体消失者相对于疣体未消失者, 原发皮损处存在更多的 T 淋巴细胞 ($P < 0.05$) 和巨噬细胞 ($P < 0.01$)。皮损消退者以 CD4⁺ T 淋巴细胞为主, 位于疣状物间质和表面上皮, 同时 CD4⁺ /CD8⁺ 发生显著变化。

Li 等^[4] 研究 36 例尖锐湿疣患者及 20 例健康对照者, 采用流式细胞仪记录外周血中单核细胞 CD40 和 CD40L 的表达。实验结果提示尖锐湿疣患者的 CD40 平均表达水平明显低于对照组 ($P < 0.05$), 相应的 CD40L 的平均表达水平也显著低于对照组, 从而提示 CD40 和 CD40L 相互协同刺激作用的减低可能是细胞免疫功能减低的重要因素之一。

1.2 细胞免疫在亚临床感染中发挥重要作用

尖锐湿疣是可以临床治愈的。另外有报道证明, 较多的人群存在 HPV 的亚临床感染, 肉眼可见疣状增生的尖锐湿疣只是 HPV 感染的一部分, 大多数男女 HPV 感染部位表现为弥漫性上皮增生灶, 只有用醋白试验才能证实。已报道的宫颈部位的尖锐湿疣并不常见, 大部分为亚临床感染, 由于近年来高危型 HPV 引发宫颈癌的研究, HPV 亚临床感染也越来越为人们重视。在亚临床感染和防止尖锐湿疣复发中, 细胞免疫发挥着重要作用, 特别是记忆性 T 细胞的存在。

生殖道的 HPV 感染较为常见, 较多感染个体可被成功治愈, 推测 HPV 的清除可能是 T 细胞介导的。Marij 等^[5] 通过应用干扰素- γ -酶联免疫吸附斑点分析 HPV 16 E6 特异性记忆 T 辅助细胞的反应, 提示在健康个体中其占有主要比例 (12/20)。尽管几乎所有的 E6 肽都被识别, 但大部分的效应靶肽序列位于 HPV 16 E6 的羧基端 (E681-158)。健康个体中 HPV 16 E6 特异性 T 细胞和 HPV 16 E2 特异性 T 细胞共同反应, 而 HPV 16 E7 在感染时相对反应欠佳。HPV 16 E6 特异性记忆 T 细胞存在于健康人, 提示感染时 HPV 感染导致的 T 细胞免疫抵御表达即刻早期蛋白。试验提示干扰素- γ 介导增生的 T 细胞在外周血中循环, 在持续性 HPV 感染和相关的恶性肿瘤进展中都发挥了重要的保护作用^[5]。

1.3 免疫抑制对尖锐湿疣的影响

在免疫缺陷状态或恶性肿瘤的患者, 如肾移植、

恶性淋巴瘤及红斑狼疮患者, 疣的发病率增高。

患有获得性 CD4⁺ T 细胞缺乏 (如免疫抑制) 或人免疫缺陷病毒感染的患者常形成鲜红的表皮或生殖器疣。提示 CD4⁺ T 细胞在 HPV 相关疾病的免疫监视中起重要作用。报道较多的是获得性免疫缺陷综合征的患者并发尖锐湿疣者较多。血清 HIV 阳性的个体, 发生尖锐湿疣的局部免疫应答反应下调。Araney 等^[6] 通过 16 例阴茎和肛周尖锐湿疣的活检, 检测局部的病毒基因表达 (HPV E7 和 L1), 通过反转录 PCR 测量 CD4、CD8 等在组织中的水平以评估局部免疫。结果显示患者存在较高的局部免疫缺陷, 即 CD4、CD16 水平及 CD1a (Langerhans 细胞) mRNA 显著减低, CD1a 水平和 HPV E7 水平呈负相关, 而 HPV E7 水平和 HIV-tat 水平呈正相关。研究证实肛周组织更多的 CD1a 受抑制, 而 tat 相关的 HPV 增生。结果提示 HIV 影响 HPV 基因的表达, 引起局部的免疫抑制, 导致对病毒感染的不适当的免疫监督。这也就导致了免疫抑制的患者疣的发病率增高。

2 尖锐湿疣治疗中细胞免疫的应用

有证据表明免疫反应能力在决定肛门和生殖器的 HPV 感染的结果上起主要作用, 而相对于体液免疫, 细胞免疫表现为控制和根治 HPV 介导的生殖器疣的关键^[7]。

HPV 早期病毒蛋白, 如与病毒复制相关的 E1、E2 和促进组织增生的 E6、E7, 都是抗原特异性 T 细胞的靶抗原。天然感染较慢, 不足以产生适宜的免疫应答, 这可能是由于 HPV 有效地预防病毒抗原提呈给宿主的免疫系统。HPV 感染是非溶解性的, 几乎没有抗原释放, 局部也没有促炎症反应细胞因子和炎症。Frazer^[7] 认为最佳的治疗是, 通过诱导局部炎症和必需的细胞因子, 诱导较强的病毒特异性免疫应答。

临床上, 主要通过局部外用药物、物理疗法和免疫疗法 3 种方法进行治疗。局部外用鬼臼毒素可有效去除疣体, 但刺激性较大, 患者依从性及耐受性有限。激光和冷冻治疗各有其特点, 但仅是单纯去除疣体, 对于亚临床皮损无特殊改善, 因此, 较多的病人反复发作, 耐受性和依从性也逐步降低。

应用免疫调节剂, 通过干扰素或咪喹莫特的应用, 刺激机体免疫系统对 HPV 产生应答, 相对于破坏性治疗, 有更高的治愈率和较低的复发率^[8]。局部外用或肌注干扰素, 通过干扰相关细胞因子和病毒蛋白

的合成,起到抗病毒、抗肿瘤增生的免疫调节作用,同时较低剂量的干扰素可以活化 HK 细胞、巨噬细胞和细胞毒性 T 细胞而刺激免疫系统。咪喹莫特作为一种新型的局部免疫调节剂,被越来越广泛的应用于临床^[9]。咪喹莫特可以抑制病毒复制,激活并联合局部的固有免疫应答^[10],诱导产生 5 种亚型的 α 干扰素^[11],通过刺激周围免疫细胞上的 Toll 样受体产生一些细胞因子,如肿瘤坏死因子等,而这些细胞因子可以同时增进固有免疫和获得性免疫功能,从而产生抗病毒作用^[8]。

近年来,越来越多的报道提示光动力疗法治疗尖锐湿疣是一种可行有效的方法,通过诱导特异性单线态氧而诱导疣体细胞的凋亡^[12]。光动力疗法也同样应用了免疫调节的属性,通过影响抗原提呈细胞的免疫应答能力而下调自身免疫进程^[13]。试验动物在进行光动力治疗后抗肿瘤免疫增强。在光动力治疗介导的肿瘤局部损伤的过程中,固有免疫应答启动并指导获得性免疫应答产生识别特异性靶组织的反应。光动力治疗诱导 T 细胞对靶组织的特异性免疫应答,产生免疫记忆细胞,游移到远处组织中。尽管这种肿瘤特异性的免疫反应并不能在初期发挥清除作用,但在随后的治疗中却可起重要作用^[14]。

人们越来越倾向于应用免疫方法治疗尖锐湿疣,因为临床上无论应用何种方法治疗都有复发的可能,所以应该采用多种方法联合治疗。局部外用药物治疗或物理治疗联合局部或系统的免疫治疗,或联合应用光动力疗法,都可以有效减低复发率。

3 参考文献

- [1] Wang Z, Li L, Li J et al Detection of HPV DNA and its relationship with peripheral T cell subsets in patients with condyloma acuminata [J]. Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi 2001, 15: 254-255.
- [2] Martin W O, Keith W H, Eddie C Y, et al Analysis of CD4⁺ T-Cell responses to human papilloma virus (HPV) type 11 L1 in healthy adults reveals a high degree of responsiveness and crossreactivity with other HPV types [J]. J Virol 2002, 76: 7428-7429.
- [3] Coleman N, Birley H D, Renton A M, et al Immunological events in regressing genital warts [J]. Am J Clin Pathol 1994, 102: 768-774.
- [4] Liu D, Jiang W, Chen X, et al Expression of CD40 and CD40L on peripheral blood mononuclear cells in patients with condyloma acuminatum [J]. J Huazhong Univ Sci Tech Med Sci 2006, 26: 378-379.
- [5] Marij J P W, Annemieke J, Susan J E, et al Frequent display of human papillomavirus type 16 E6-specific memory T Helper cells in the healthy population as witness of previous viral encounter [J]. Cancer Res 2003, 63: 636-641.
- [6] Arany I, Evans T, Tyring S K. Tissue specific HPV expression and downregulation of local immune responses in condylomas from HIV seropositive individuals [J]. Sex Transm Infect 1998, 74: 349-353.
- [7] Frazer I H. The role of the immune system in anogenital human papillomavirus [J]. Australas J Dermatol 1998, 39 (suppl 1): 5-7.
- [8] Rivera A, Tyring S K. Therapy of cutaneous human Papillomavirus infections [J]. Dermatol Ther 2004, 17: 441-448.
- [9] Moore R A, Edwards J E, Hopwood J et al Imiquimod for the treatment of genital warts: a quantitative systematic review [J]. BMC Infect Dis 2001, 1: 3.
- [10] Hober D, Ajjam L, Chehadeh W, et al Mechanisms of imiquimod indirect antiviral activity [J]. Ann Biol Clin (Paris), 2005, 63: 155-163.
- [11] Beutner K R, Spunace S L, Houghan A J et al Treatment of genital warts with an immune response modifier (imiquimod) [J]. J Am Acad Dermatol 1998, 38: 230-239.
- [12] Wang X L, Wang H W, Wang H S et al Topical 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy for the treatment of urethral condylomata acuminata [J]. Br J Dermatol 2004, 151: 880-885.
- [13] Hunt D W, Levy J G. Immunomodulatory aspects of photodynamic therapy [J]. Expert Opin Invest Drug 1998, 7: 57-64.
- [14] Canti G, De Simone A, Korbelik M. Photodynamic therapy and the immune system in experimental oncology [J]. Photochem Photobiol Sci 2002, 1: 79-80.

(收稿日期: 2006-09-26)