

慢性乙型肝炎患者 HBcAg 特异性 Th 细胞克隆的建立及初步分析

姜荣龙¹ 冯筱榕¹ 郭亚兵¹ 卢桥生¹ 侯金林¹ 章 廉¹ 骆抗先¹ 富 宁² (第一军医大学¹ 南方医院感染内科免疫学教研室 广东 广州 510515)

摘要 目的 了解 Th 细胞极化群体在慢性乙型肝炎 HBV 感染外周血及肝组织中的分布情况。方法 采用有限稀释法建立 CHB 患者外周血及肝组织 HBcAg 特异性 Th 细胞克隆并对所获得细胞克隆进行分析。结果 发现自肝组织分离的 HBcAg 特异性 T 细胞克隆 2.5% 为 CD4⁺ 表型。以 Th1 为主。而来源于外周血的 T 细胞克隆主要以 Th0 为主。并与 HBcAg 是否阳性无关。仅 15% 的 T 细胞克隆呈现明显的 HBcAg 特异性淋巴细胞增殖反应。结论 在肝组织及外周血占主导地位的 Th 细胞极化群体的不同。较高比例的 Th1 细胞在肝组织炎症局部的聚集。提示在 HBV 的免疫发病机制中 Th1 细胞可能起重要作用。

关键词 慢性乙型肝炎; Th 细胞克隆; 免疫病理

中图分类号 R939.47;R373.2 文献标识码 A 文章编号 1000-2588(2001)09-0676-03

姜荣龙 冯筱榕 郭亚兵 卢桥生 侯金林 章 廉 骆抗先 富 宁
姜荣龙 冯筱榕 郭亚兵 卢桥生 侯金林 章 廉 骆抗先 富 宁

JIANG Rong-long¹, FENG Xiao-rong¹, GUO Ya-bing¹, LU Qiao-sheng¹, HOU Jin-lin¹, ZHANG Lian¹, LUO Kang-xian¹, FUNING²

(¹Department of Infectious Diseases, Nanfang Hospital; ²Department of Immunology, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China)

Abstract Objective To investigate the distribution of Thelper cell polarized populations in patients with chronic hepatitis B (CHB). Methods Freshly isolated mononuclear cells in the liver and peripheral blood of CHB patients were obtained, and HBcAg-specific Thelper cell clones were subsequently established by limiting dilution, and the analysis of these clones was conducted. Results The majority of liver-infiltrating T cells in CHB patients were Th1 cells capable of secreting IFN- γ but not IL-4. The clones derived from the peripheral blood were mostly Th0 cells, irrespective of the HBcAg status of the patient. Only a fraction of 15% of the T cell clones presented obvious HBcAg-specific proliferation response. Conclusion The varied predominance exercised by different polarized T cell populations in the liver and peripheral blood, and the aggregation of Th1 cells at a large proportion to other Thelper cell populations in the inflammation locality, indicate that Th1 cells may play an important role in the immunopathogenesis of CHB.

Key words chronic hepatitis B; Thelper cells; cell cloning; immunopathogenesis

近年来 Th 细胞的效应功能在免疫反应中的作用令人关注。为进一步阐明 Th 细胞在慢性 HBV 感染中的作用。我们采用有限稀释法建立了慢性乙型肝炎患者外周血及肝组织 HBcAg 特异性 Th 细胞克隆并对所获得细胞克隆进行分析。

1 病人与方法

1.1 病人

两位本科住院的患者。男女性各 1 例。年龄分别为 37 岁。组织学诊断分别为 CHB S2S2 和 CHB S2S2。其血清标志物检测 HBsAg 与抗 HBc 阳性。抗 HDV 阴性与抗 HCV 阴性。其中 1 例 HBeAg 阳

性。1 例 HBeAb 阳性。

1.2 自肝组织及 PBMCs 中分离 T 细胞克隆

肝活检组织长约 2.5cm。浸泡于 50 倍正常浓度的含双抗的 1640 培养液中。室温 1h。离心。型胶原酶 1g/L 及双脱氧核酸酶 1.5 伊⁰ g/L 37 益消化 1h。之后以滴管轻轻吹打。使其释放出浸润的淋巴单核细胞。以无血清 1640 培养液洗涤。常规 Ficoll-hypaque 液分离出单核淋巴细胞。采用有限稀释法将其重悬于 RPMI-1640 完全培养基中。含 10% 小牛血清。10⁶ mol/L 谷氨酰胺。10⁶ mol/L 丙酮酸钠。5 mmol/L HEPES。100 U/L 青霉素 G。100 μ g/L 链霉素。以 0.3 个细胞/孔接种 96 孔培养板。并加入 0.5 ml 植物血凝素 PHA。10⁶ U/ml 人重组 rIL-2 及丝裂霉素 -C 处理的自身性 PBMCs。10⁵ 孔。每隔 10 d 刺激一次。约 20 d 左右。筛选出对 PHA 即非特异性的 Th 细胞克隆。之后筛选其抗原特异性及表型。对 HBcAg 有特异性增

收稿日期 2000-06-01

基金项目 国家自然科学基金 9630280

作者简介 姜荣龙 1964 年。男。浙江江山人。1987 年毕业于第一军医大学。主治医师。电话 20-85141944

