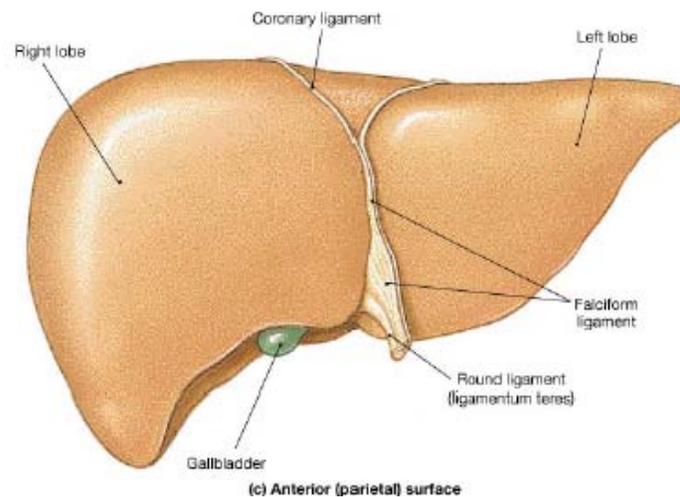
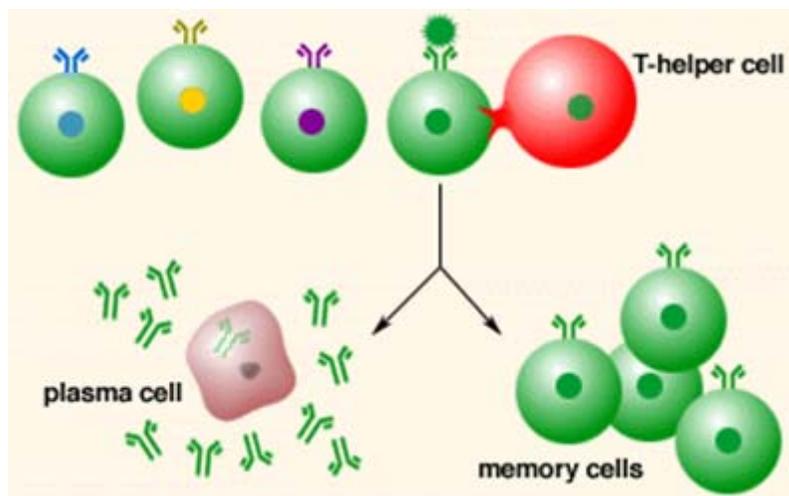
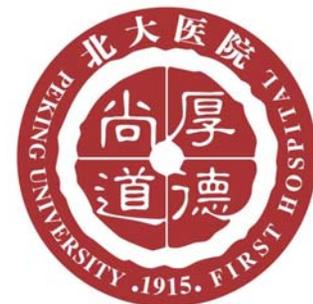


慢性乙型肝炎的免疫治疗



王贵强
北京大学第一医院



慢性乙型肝炎的难治性

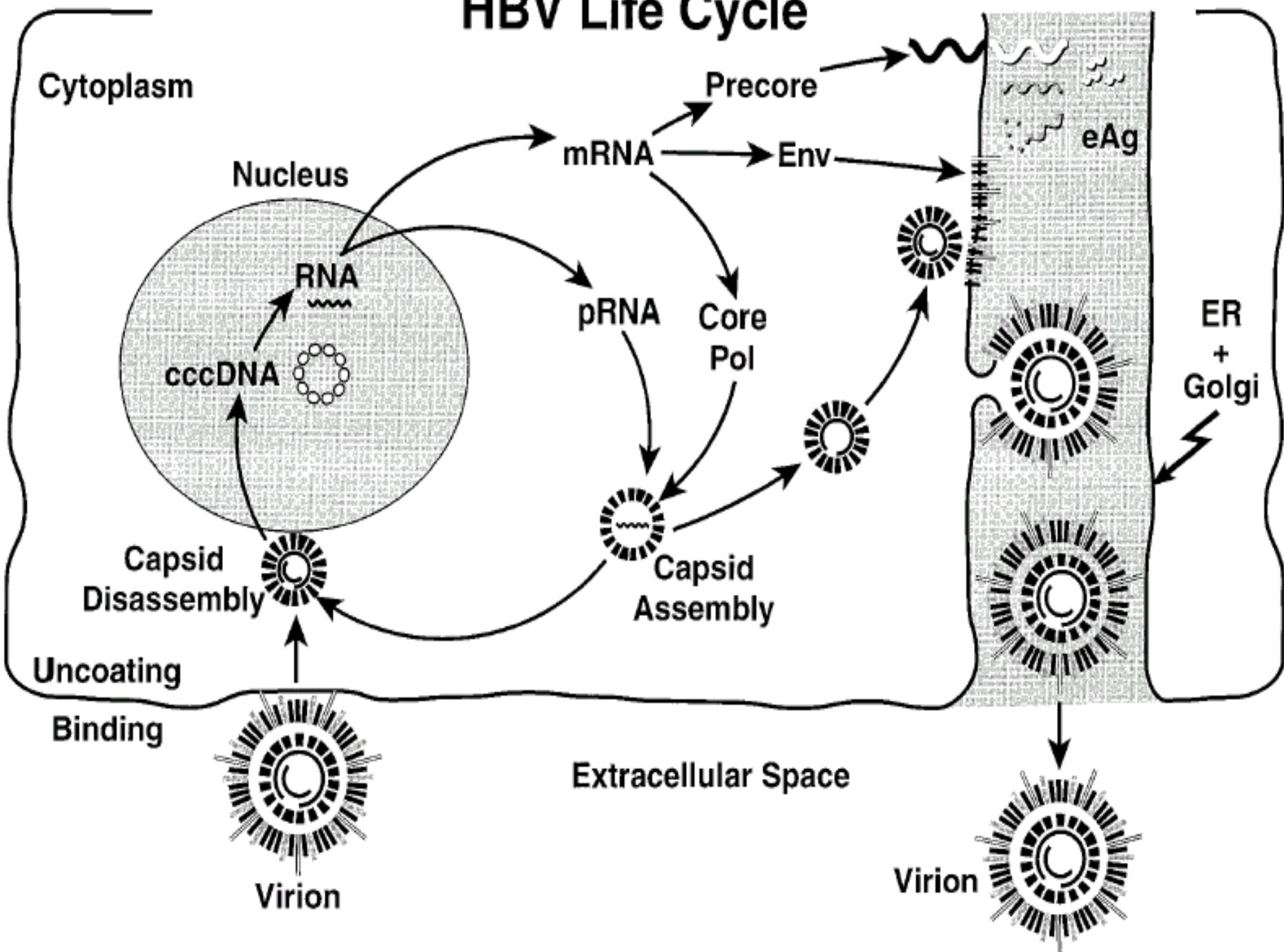
■ 病毒因素

- ❖ cccDNA
- ❖ 病毒变异：免疫逃逸
- ❖ 肝外器官复制

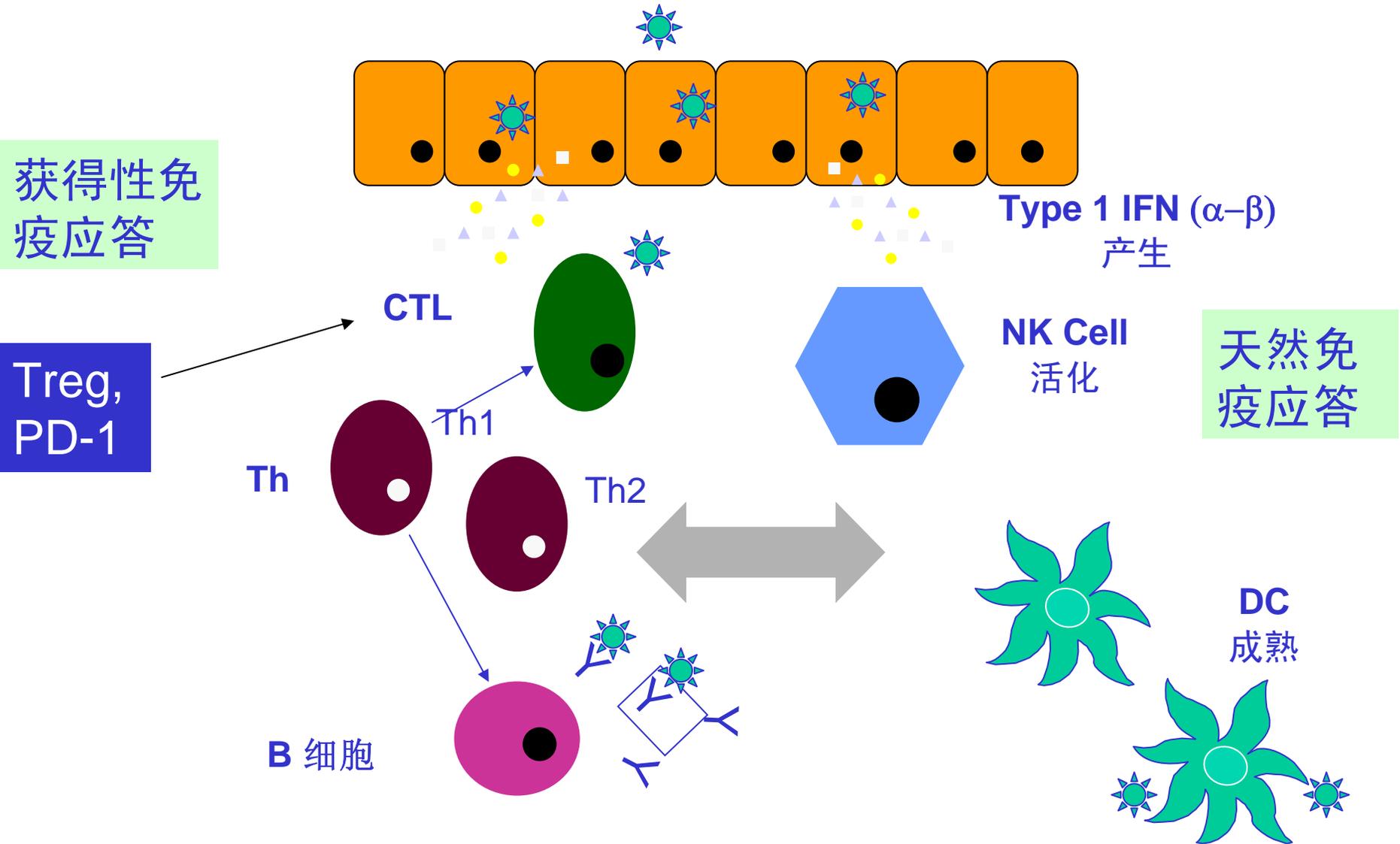
■ 机体因素

- ❖ 免疫耐受：抗原递呈细胞功能，调节T细胞，T细胞功能耗竭或凋亡
- ❖ 病毒特异性细胞毒T细胞

HBV Life Cycle



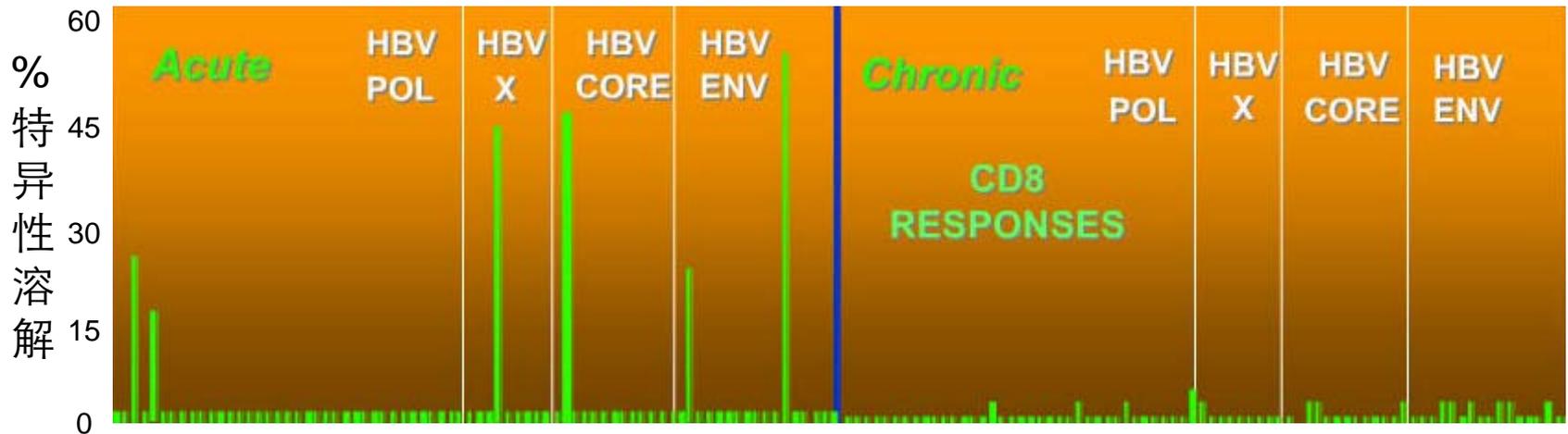
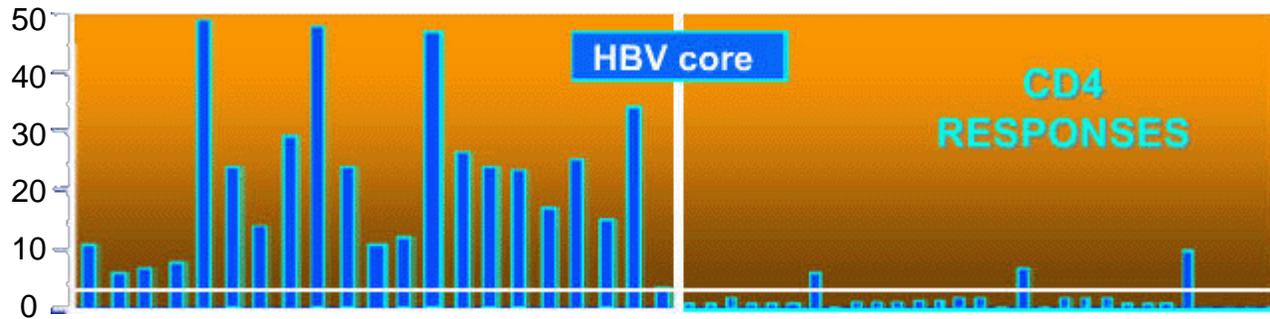
HBV感染的免疫反应



细胞免疫应答和临床转归的关系

急性乙肝

慢性乙肝



Ferrari C et al. *J Immunol.* 1990; Penna A et al. *J Exp. Med.* 1991; Bertoletti A et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA,* 1991; Rehermann B et al. *J Exp. Med.* 1995; Jung C et al. *Virology* 1999; Maini et al. *J Exp. Med.* 2000

慢性乙肝患者的天然免疫和 特异性免疫功能低下

天然免疫
损伤

mDC成熟障碍，功能受损，
pDC减少、IFN- α 下降
NK/NKT损伤

特异性免
疫损伤

Th1/Th2失衡
CTL: CD4、CD8 T损伤、耗
竭
Treg增加、功能改变
PD-1表达增强

免疫治疗增
强抗病毒免
疫应答

慢性乙型肝炎的免疫治疗

- 基于细胞因子等生物因子的免疫治疗
- 基于治疗性疫苗的免疫治疗
- 基于免疫效应细胞的免疫治疗
- 基于DC的免疫治疗
- 针对免疫抑制因素的治疗

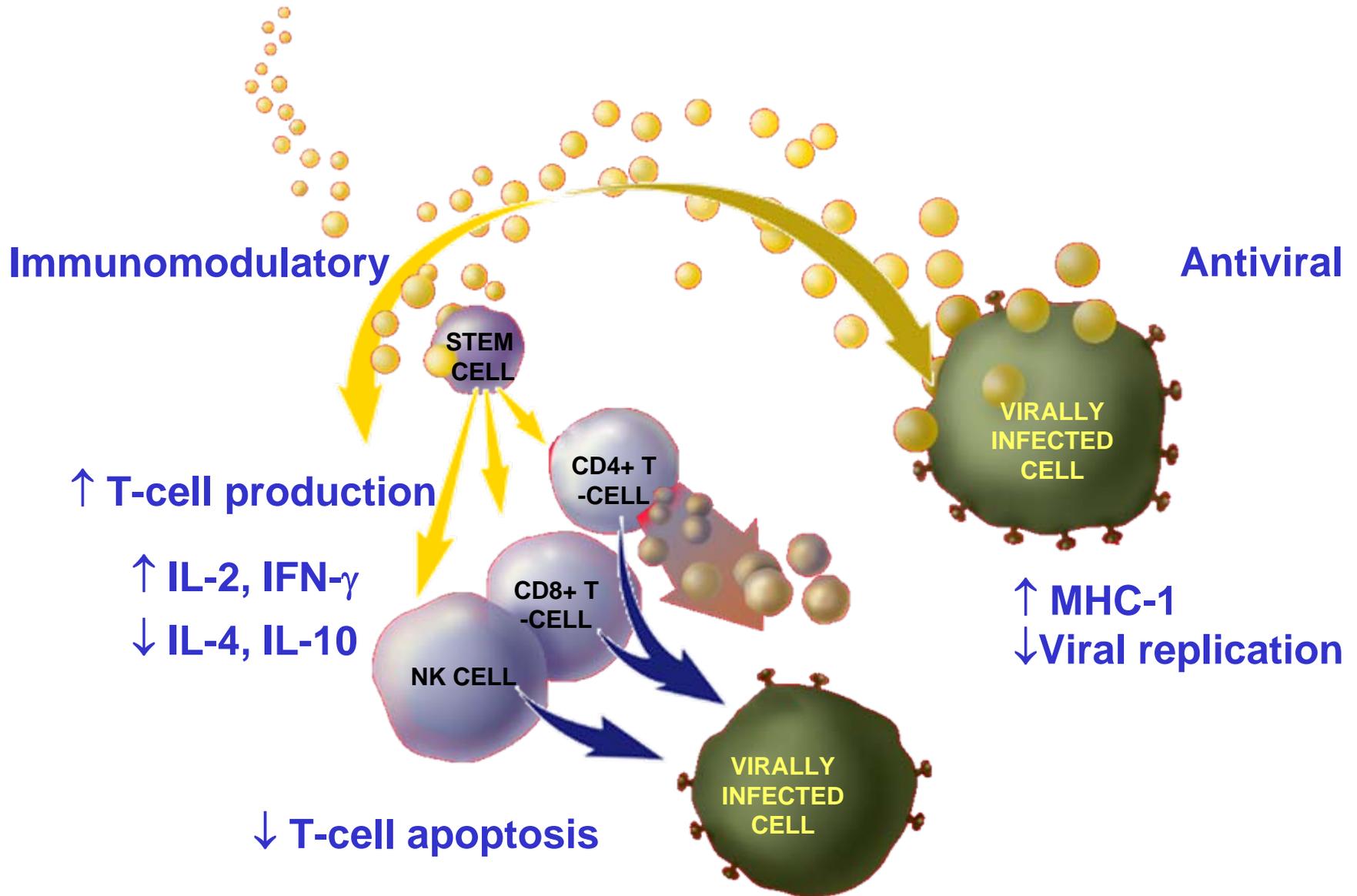
用于免疫治疗的生物分子

- 干扰素: IFN- α , IFN- β , IFN- γ
- 胸腺素: 胸腺素 α 1, 胸腺5肽, 胸腺肽
- IL-2, IL-12, IL-18, IL-15, IL-23
- CpG
- 聚肌胞 (PolyI:C)
- 左旋米唑
- 微生物抗原: 卡介苗, 绿脓杆菌肽

干扰素的免疫增强作用

- 提高MHC-I类分子的表达
- 促进T细胞的分化和成熟
- 增加IFN- γ 产生

胸腺素 $\alpha 1$ 的免疫调节作用



细胞因子

- IL-2
- IL-12
- IL-18
- GM-CSF
- IL-23

细胞因子治疗的局限性

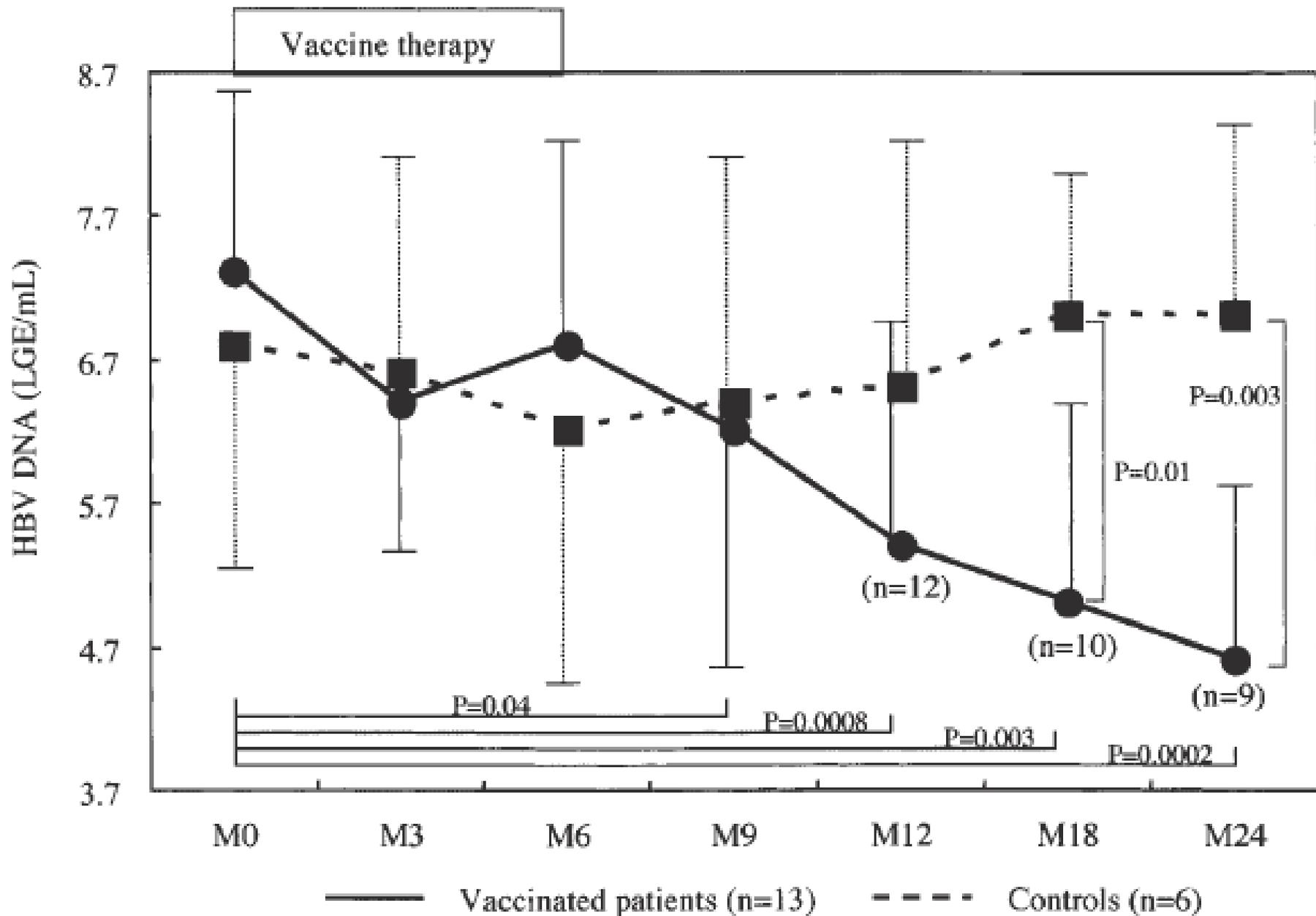
- 要想达到有效浓度，全身使用时需要的量较大
- 半衰期短，需要短期内重复给药（静注IL-2的半衰期只有7~10min）
- 多效性会产生较为严重的副作用

基于治疗性疫苗的治疗

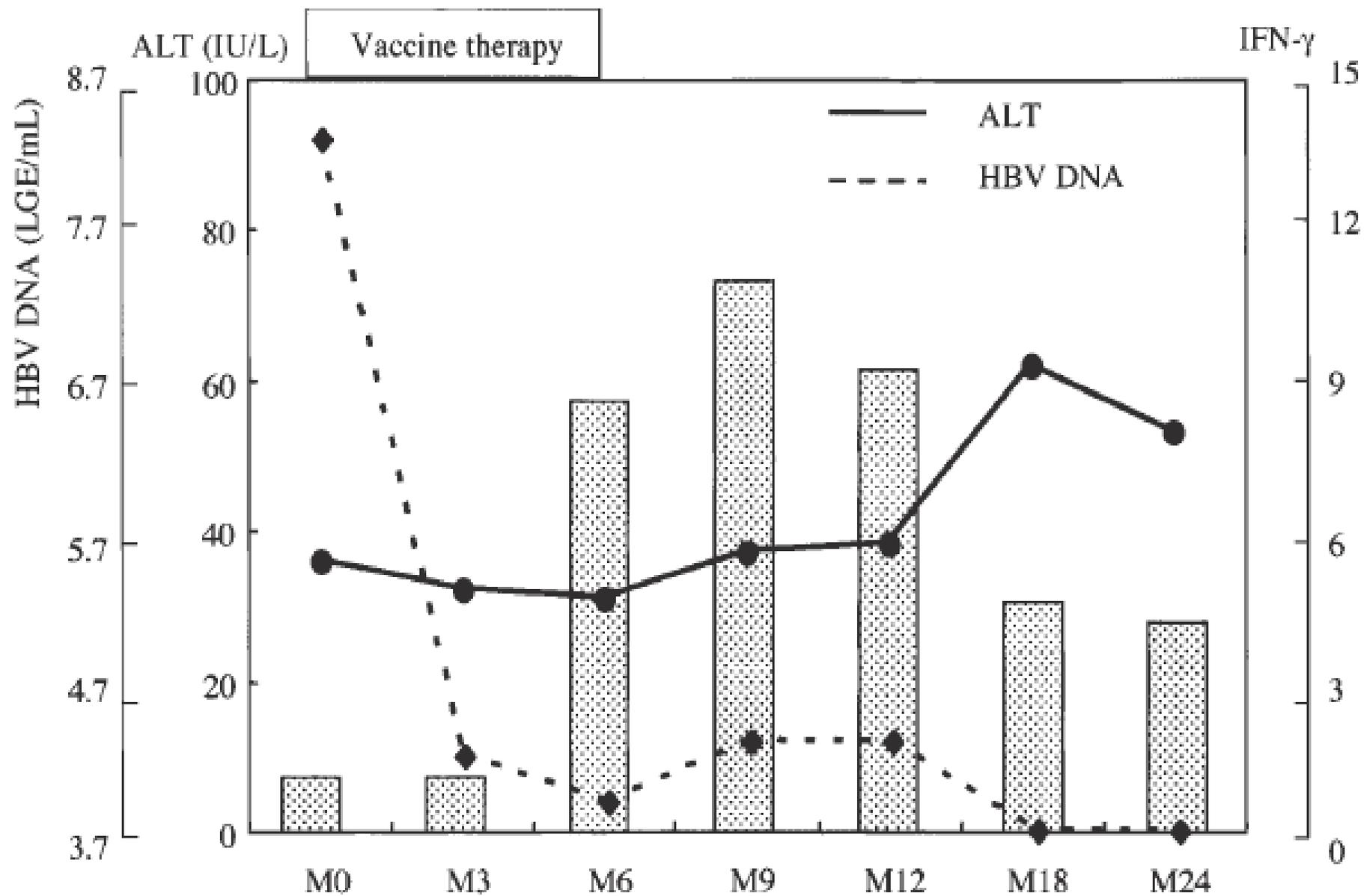
- 使用批准的疫苗 (HBsAg + 佐剂)
- HBV多肽
- DNA 疫苗
- 佐剂增强的疫苗: HSP70, HSP96

基于疫苗的免疫治疗

方法	应答率
HBsAg/preS2疫苗, 3次	12/32 (38%)
HBsAg/抗HBs疫苗, 3次	9/15 (60%)
PreS2/S疫苗, 118例慢性乙型肝炎病人的多中心临床研究中, 20ug疫苗注射6次, 月0, 1, 2, 6, 9, 12	第六个月时疫苗组的病毒DNA阴性率(15%)高于无治疗组(2.7%) [p=0.038]
HBsAg, 12次	1年: 55%; 2年: 77%
PreS2疫苗, 3次	60%
S/preS2疫苗, 19(13例治疗, 6例对照), 10μg, 肌肉注射6次, 间隔一个月	治疗结束后第3个月, 治疗组HBV DNA水平明显下降
HBsAg/preS2疫苗, 3次	无应答(免疫耐受期患者)
PreS2疫苗, 20μg, 肌注3次, 间隔1个月, 随访12个月。	3/31出现HBsAg消失并产生抗HBs



Fenyu Ren, Keisuke Hino et al:
 Journal of Medical Virology 71:376–384 (2003)



疫苗联合抗病毒药物

Groups	Seronegative for HBV DNA	Seroconversion of HBeAg
LM monotherapy n=57	67%(39/57)	16%(9/57)
Combination vaccine-LM n=15	100%(15/15)[▲]	55%(8/15)[▲]

[▲]p<0.05

AASLD 54th Annual Meeting.Oct.28,2003.Boston

1. Horiike N, Onji M. J Clin Virol. 2005; 32(2):156-61.

针对乙肝免疫治疗的临床研究

- 国内免疫复合物治疗性疫苗（乙克）：III期临床试验
- 国内治疗性（合成肽）乙肝疫苗（三军大）：II期临床试验
- 口服病毒蛋白疫苗EHT899，美国Enzo Biochem, NY, II期临床，以色列。
- Hi-8 HBV, 治疗性疫苗，英国Oxxon公司，II期临床
- NUC B1000 (iRNA), 美国Nucleonics公司，I期临床
- 口服HBV核心抗原疫苗，英国Emergent公司，I期临床
- SpeciEx-HepB, 美国Chromos公司，I期临床

针对乙肝免疫治疗的临床研究

- 口服病毒蛋白疫苗EHT899，美国Enzo Biochem, NY, II期临床，以色列：42例慢乙肝口服EHT899每周3次，疗程20-30周，随访20周，初步显示安全性良好，46%患者HBV DNA下降，肝脏生化改善，33%肝组织炎症减轻。

针对乙肝免疫治疗的临床研究

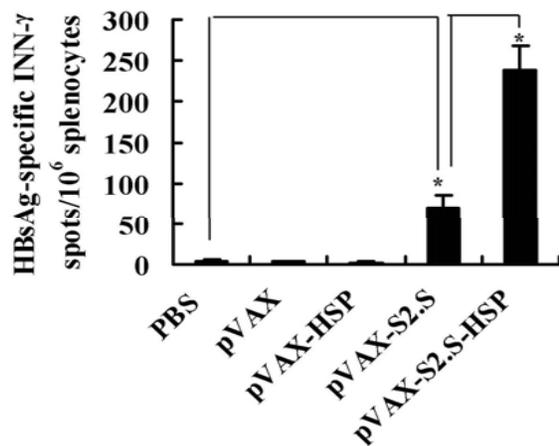
- **Hi-8 HBV, 治疗性疫苗, 英国Oxxon公司, II期临床: DNA疫苗联合痘苗病毒修饰的HBsAg, 皮下注射, 每3周一次, 共4次。54例患者分三组, 单独Hi-8, 联合拉米夫定和单用拉米夫定治疗。**

	疫苗	疫苗+LAM	LAM
HBeAg消失	23%(5/21)	14%	9%
HBeAg血清转换	19%(4/21)	0	0

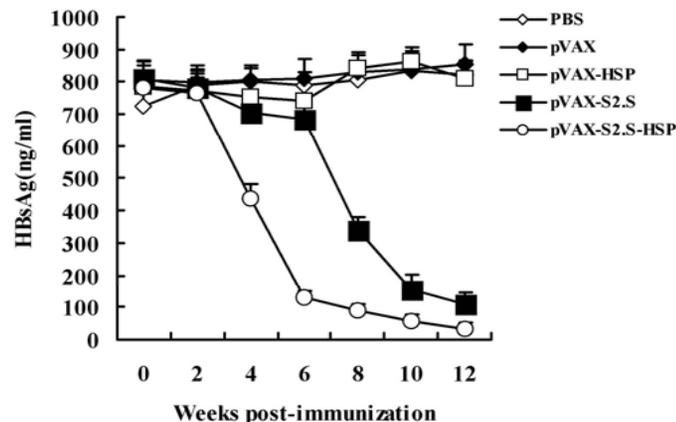
针对乙肝免疫治疗的临床研究

- **NUC B1000 (iRNA)**, 美国Nucleonics公司, I期临床
- **口服HBV核心抗原疫苗**, 英国Emergent公司, I期临床
- **SpecifEx-HepB**, 美国Chromos公司, I期临床

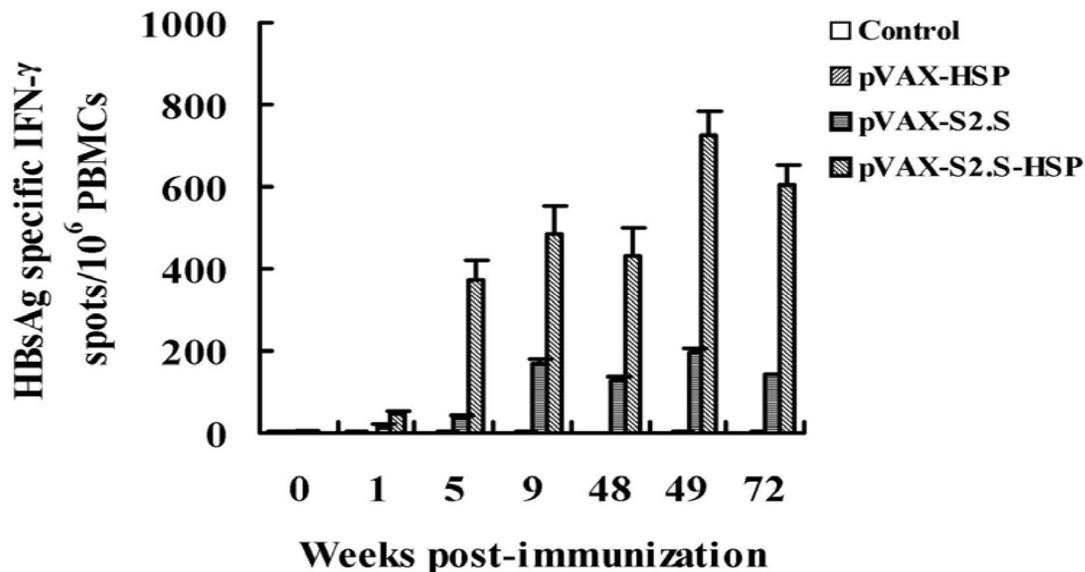
HBV-HSP70疫苗可强力提高Th1细胞免疫应答



对正常小鼠IFN- γ 分泌的影响



对HBV转基因小鼠血中HBsAg滴度的影响



恒河猴的免疫效果观察

基于免疫效应细胞的治疗

- NK, NKT
- LAK
- CIK
- 特异性CTL

过继免疫治疗HBV感染

骨髓移植将针对HBV特异性免疫过继给HBV携带者

8例HBsAg阳性病人接受了骨髓移植
骨髓供者：HLA 配对，对HBV有天然免疫力的同种移植
(HBsAg-/anti-HBs+)

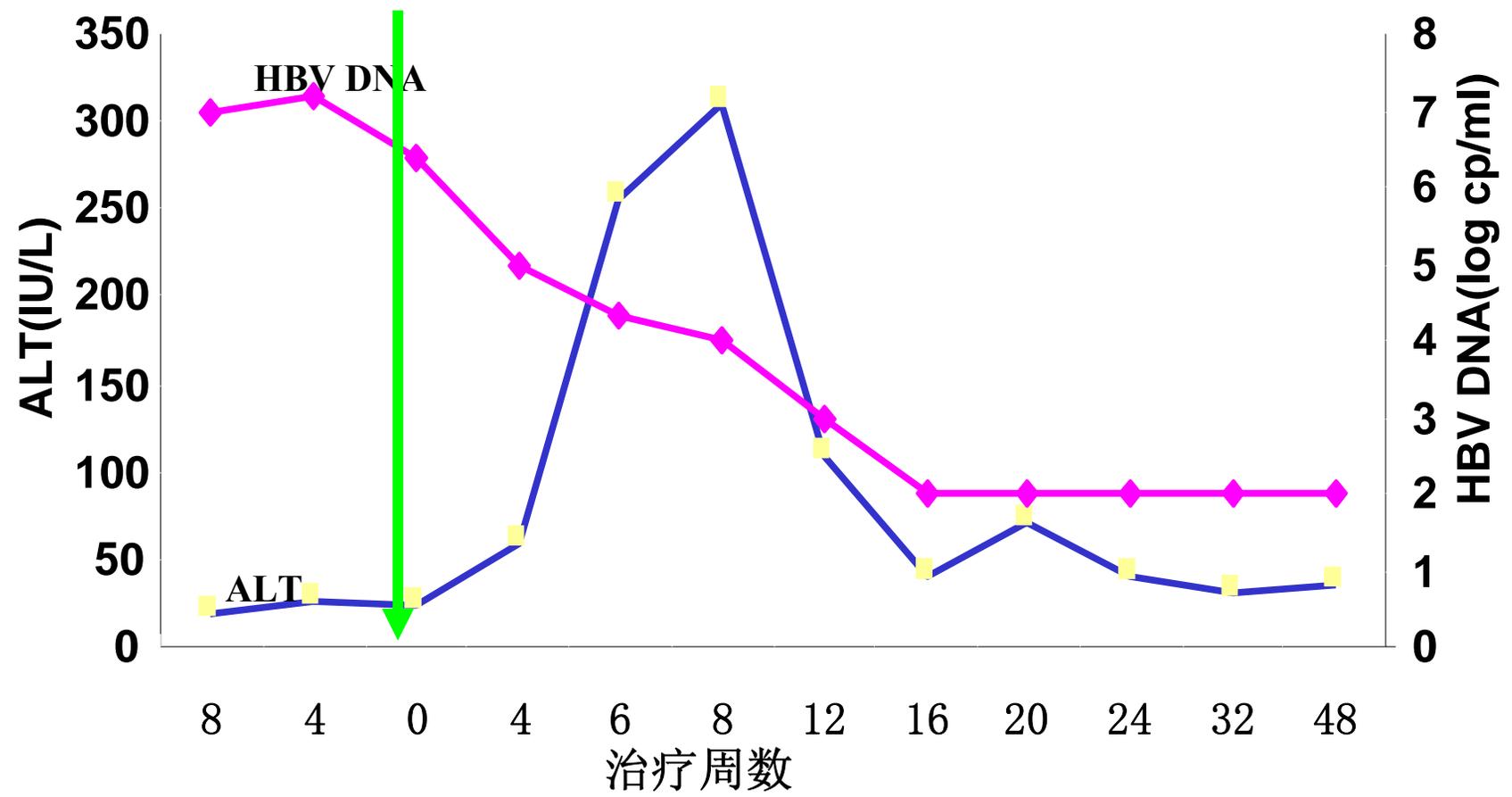
移植6个月后停用免疫抑制剂

骨髓移植后1.7-13.3 月后，肝炎发作
(最高ALT在 145-1530 IU/L)

6/8例HBsAg清除

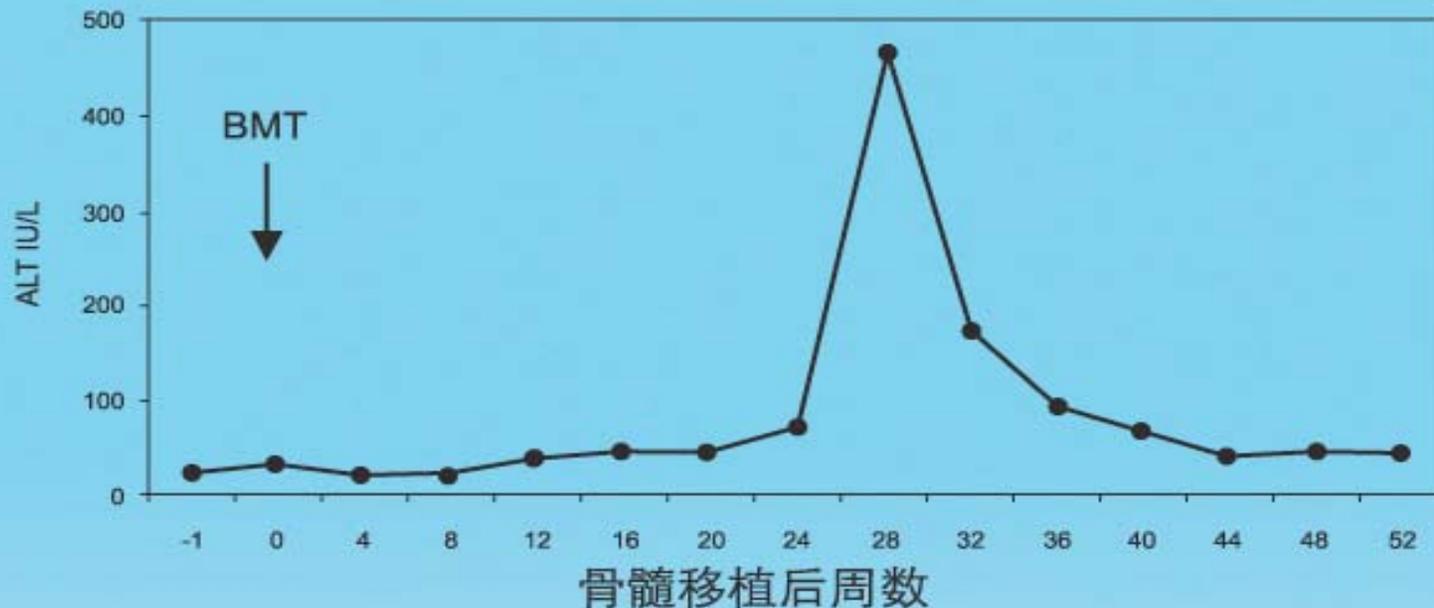
骨髓移植后受体 病毒学及生化指标的动态变化

HBsAg/抗HBs	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+
HBeAg/抗HBe	+/-	+/-	+/-	+/-	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+ (Abbott)

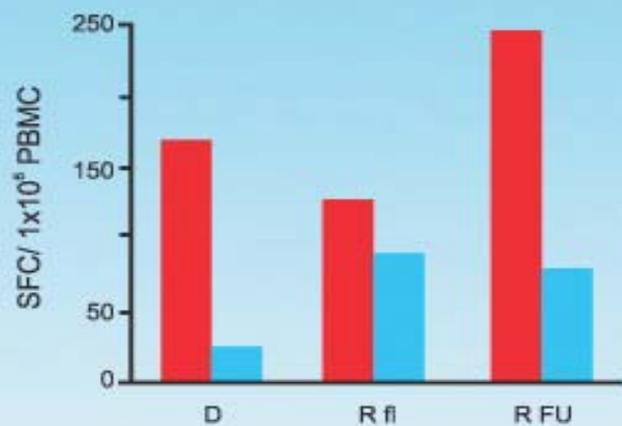


HBsAg/sAb	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+
HBeAg/sAb	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+

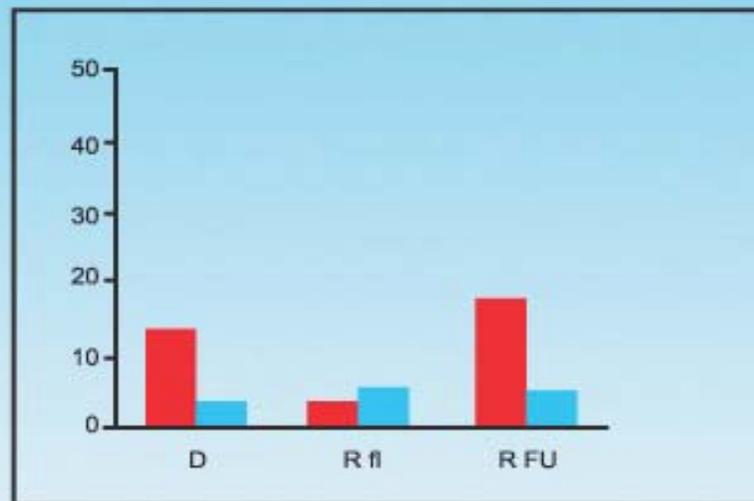
A



B



CD4+T cells



CD8+T cells

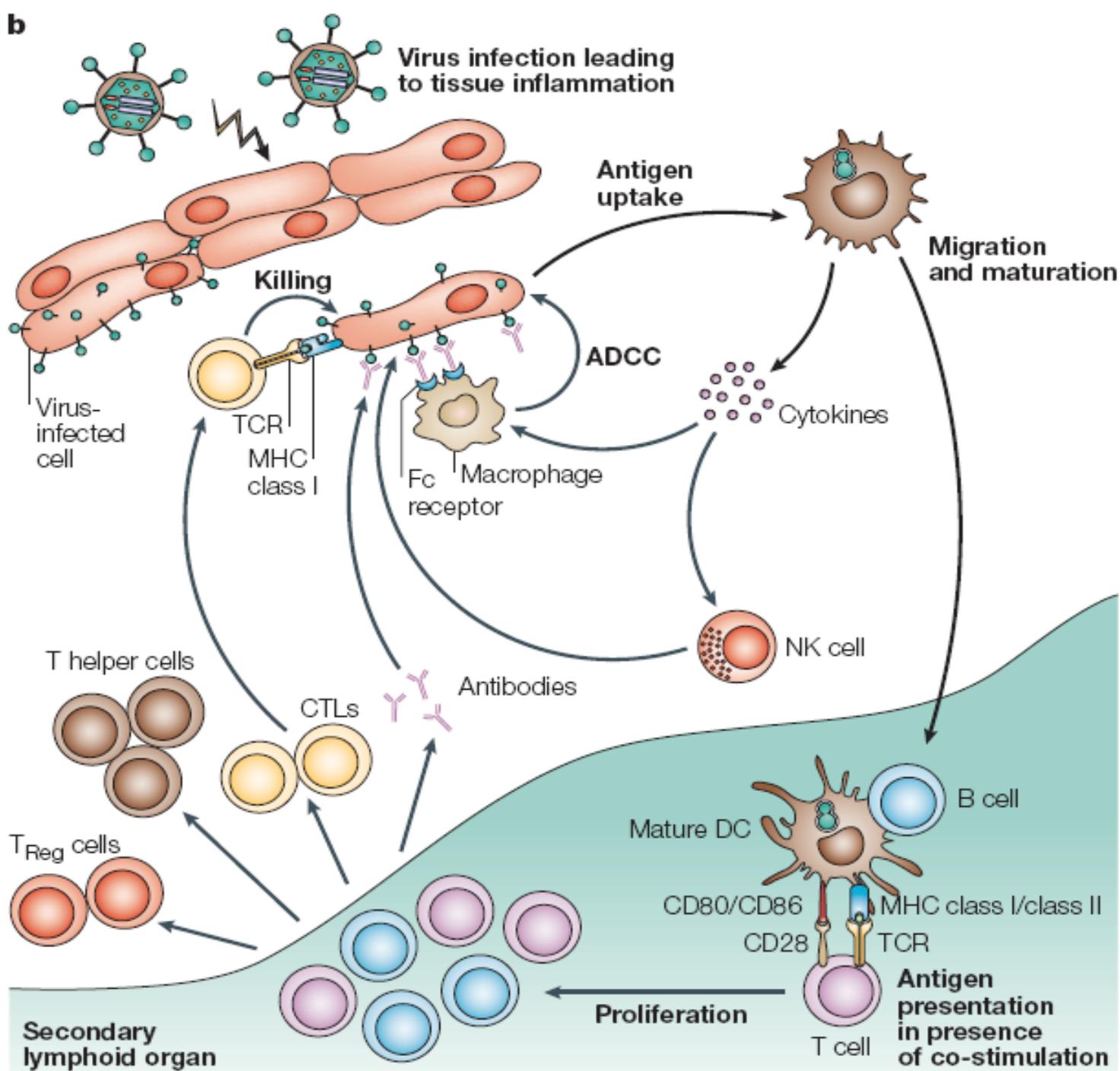
基于DC的免疫治疗

■ 上调DC功能的细胞因子和佐剂:

❖ CpG、CD40L、LPS、金黄色葡萄球菌A(SEA)、IL-12、IL-18、聚肌胞(PolyI:C)、肿瘤坏死因子相关激活诱导因子(TRANCE)、IFN- α 等。

■ DC疫苗

DC介导免疫治疗的机制



DC疫苗治疗慢性病毒性肝炎的研究

- 以含有HBV表面抗原大蛋白pCAGGS(S+S₁+S₂)质粒和中蛋白的质粒pCAGGS(S + preS2)免疫正常的C57BL/6小鼠，能产生HBsAg特异性的细胞和体液免疫。
- 将HBV的HBeAg和IgG的Fc段构建成融合蛋白表达载体，通过缺陷病毒转染进入DC，表达的融合蛋白又作为一种外源抗原通过受体介导进入DC，完成抗原在细胞内的降解、加工和呈递，极大提高了DC的呈递能力，激发了强烈的CD4⁺、CD8⁺及B细胞反应,在DNA疫苗研究中发现能明显提高DC对DNA免疫抗原摄取和呈递效率

Oka Y. Immunology 2001 103(1):90-7.

You Z. J Immunol 2000 , 165(8): 4581-91

Cancer Res 2001, 61(9):3704-11

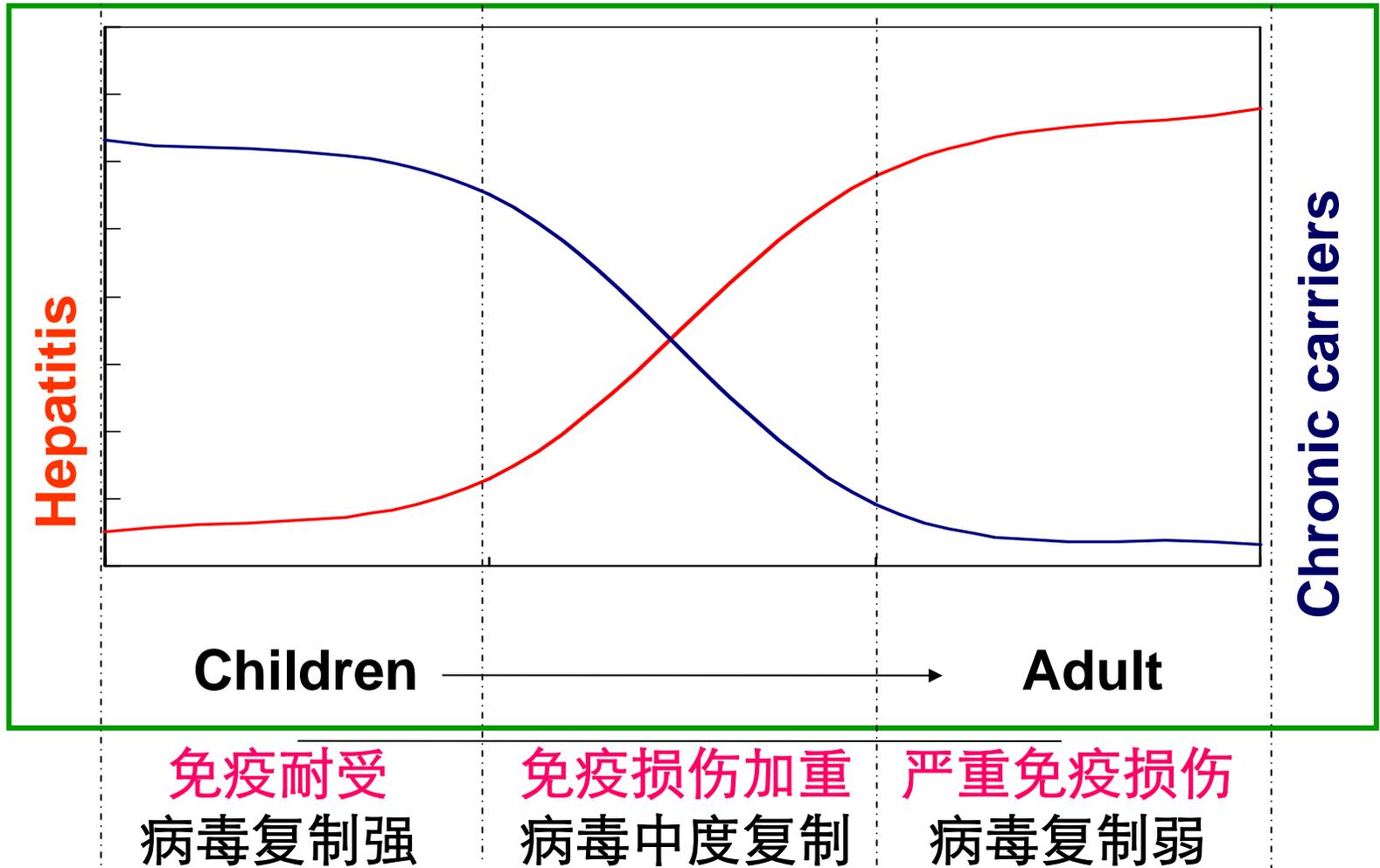
影响DC疫苗效果的因素

- DCs制备
 - ❖ 来源
 - ❖ 时机
- 抗原选择
 - ❖ 病毒蛋白
 - ❖ 多肽
- 应用方式
 - ❖ 途径
 - ❖ 剂量
- DC功能的恢复
- 免疫应答的监测

针对免疫抑制因素的治疗

- 抗CTLA-4单克隆抗体
- 抗PD-1抗体
- 针对Treg的iRNA

免疫治疗策略展望





Thank you!

Gui-Qiang Wang

wangggq@hotmail.com