

· 综述 ·

轮状病毒感染和细胞因子相关性研究进展

夏群 综述 陈兰举 审校

(蚌埠医学院第一附属医院儿科,安徽 蚌埠 233400)

[中图分类号] R512.5 [文献标识码] D [文章编号] 1008-8830(2009)01-0078-04

轮状病毒(rotavirus,RV)是世界范围内引起婴幼儿重症腹泻的最主要病原,每年造成全世界 60 多万人死亡。控制和预防 RV 感染有赖于对其发病机制的阐明,但目前仍不十分清楚。国内外研究多集中于环境、感染、免疫等因素,其中细胞免疫反应异常尤为受到重视。已经证实有许多细胞因子参与轮状病毒炎症免疫反应,与发病及转归密切相关。本文就轮状病毒感染过程中几种焦点细胞因子的作用机制综述如下。

1 细胞因子参与轮状病毒感染的免疫调节

细胞因子(cytokines)是由活化的免疫细胞和一些基质细胞分泌的,具有多种生物学活性,能介导和调节免疫及炎症反应的小分子蛋白质或多肽。主要包括白细胞介素(IL)、干扰素(IFN)、肿瘤坏死因子(TNF)、转化生长因子(TGF)等。细胞因子在调节肠道炎症免疫反应中起关键作用,各种因子的功能、数量异常或者各类因子之间的失衡,都可导致轮状病毒肠炎的发生。

1.1 白介素家族成员

IL-1 主要由单核巨噬细胞产生,可刺激 B 细胞分化和分泌抗体,并刺激 T 细胞分化及 IL-2 和 IFN- γ 的产生,刺激中性粒细胞,提高 NK 细胞杀伤活性,增强机体免疫功能,在炎症和免疫方面起关键递质的作用。根据等电点不同,IL-1 可分为 IL-1 α 和 IL-1 β ,人体内 IL-1 活性主要由后者介导。受病原刺激后,小肠 Peyer's 淋巴结及肠黏膜分泌 IL-1 β ,使血及肠道 IL-1 β 升高,IL-1 在 RV 感染中产生上调。李建军等^[1]采用 *t* 检验分析 RV 感染不同病变程度血清和大便中 IL-1 β 的表达,并与正常组比较,结果发现 IL-1 β 在 RV 感染组中升高且重度较轻度明显

升高,说明了 IL-1 β 参与了 RV 肠炎的发生、发展过程。IL-1 还有拮抗 RV 作用,能抑制 RV 进入小肠绒毛^[2],与 Bass^[3] 的研究 IL-1 等细胞因子通过改变肠上皮细胞表形的方式参与宿主抗轮状病毒的过程相一致。

IL-6 是一种广泛的促炎细胞因子,能直接刺激 B 细胞分泌 IgA,并可通过刺激补体成分引起抗体反应,间接增加 IgA 分泌^[4];同时还促进 CTL 分化,协同 IL-2 增强 CTL 穿孔素基因的表达并增加 T 细胞 IL-2 产生 IL-2R 的表达。对 IL-6 缺陷小鼠的研究发现,IL-6 缺陷小鼠和 IL-6 存在小鼠都能够清除 RV 感染伴随产生的病毒特异性 IgA,然而这个结果并不否定 IL-6 在刺激 IgA 产生中所起的作用。一种解释是除了 IL-6,还有其他的细胞因子可以导致 RV 特异性 B 细胞分泌 IgA^[4]。从感染 RV 的幼年恒河猴的外周血中获得的 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞亚类中均可检测到 IL-6 的分泌,提示 IL-6 与感染 RV 的儿童恢复有关^[5]。而 Azevedo 等^[6]发现人轮状病毒(HRV)毒力株感染猪时,血清中 IL-6 升高水平与腹泻严重性一致,提示 IL-6 与腹泻的严重程度密切相关。

IL-8 是一种强有力的中性粒细胞趋化和活化因子,在炎症反应中起更直接的介导作用。肠上皮分泌的 IL-8 可能参与入侵肠道引发肠道炎症反应的初始过程。体外试验证实 RV 肠炎的肠上皮细胞可分泌大量的 IL-8,提示 IL-8 参与了 RV 肠炎的免疫发病机制并与病情的程度相关。近年来对 RV 感染后肠上皮细胞中 IL-8 基因的表达,发现 IL-8 介导炎症反应,导致小肠上皮细胞的变性、坏死、脱落等广泛损害后,肠吸收面积减少,绒毛上皮分泌的双糖酶减少,糖吸收障碍,肠腔内渗透压升高,导致水样泻大便,进一步证实了 IL-8 在肠道黏膜中的免疫反应

[收稿日期]2008-04-07;[修回日期]2008-05-05
[基金项目]安徽省教育厅自然科学基金项目(NO.2006KJ107C)。
[作者简介]夏群,女,硕士研究生。主攻方向:小儿感染性疾病。

作用^[7]。RV感染后产生的RV特异性细胞毒性T细胞(CTL)主要是肠上皮内淋巴细胞,因而IL-8可能通过趋化CTL发挥其效应器功能,清除RV,同时也参与肠黏膜病理损伤形成。另外IL-8可以减弱干扰素对RNA病毒的抗病毒活性,在RV中是否可以对抗IFN而间接促进RV复制有待于进一步研究。

IL-10主要由Th2细胞产生,能抑制Th1细胞的增殖及分泌IFN- γ 等细胞因子,还可抑制IL-12的分泌,IL-10可以通过上述机制削弱IFN- γ 等细胞因子而抑制机体的抗病毒免疫。IL-10在RV感染中的作用存在分歧。Jiang等^[8]首次通过流式细胞仪对RV感染患儿急性期9种细胞因子进行检测,结果发现IL-10比对照组明显升高($P < 0.05$),参与RV免疫调节,但是IL-10并不起保护作用,且和腹泻、发热、呕吐等症状无相关性。但不同毒力HRV感染猪的实验发现^[6],在RV感染急性期,毒力株感染组IL-10及其分泌细胞较减毒株感染组明显升高,且与IgA的分泌一致。但毒力株组IL-10分泌细胞在感染后期较减毒株组降低,可能与IFN- γ 增高对其下调有关,提示IL-10和其他的致炎因子共同对RV再感染起保护作用。

IL-12是目前所发现的细胞因子中对体内免疫活性细胞诱导调节作用最强、范围最广的一种细胞因子,具有广泛的抗病毒活性。正常情况下,肠黏膜局部产生IL-12的量极少,但肠黏膜局部的炎症刺激可使肠道内IL-12水平升高。研究证明,固有层单个核细胞(LPMC)在脂多糖(LPS)等诱导剂刺激下产生IL-12的量显著增加,RV感染后黏膜固有层有大量单个核细胞浸润,因此LPMC可能是RV感染时急性期肠道IL-12的重要来源^[9]。RV肠炎患儿急性期IL-12升高,可能有助于机体早期最大限度地调动各类免疫细胞参与RV的感染免疫,为加速疾病快速自限提供了有利的免疫环境。僧靖静等^[10]报道婴幼儿RV感染时外周血和肠黏膜局部均产生IL-12,IL-12参与RV的清除且在感染早期起免疫保护作用,因此推测临床上应用IL-12可能有助于RV肠炎的痊愈。动物实验也表明IL-12参与Th1免疫反应的产生和发展,可能有助于病毒的清除^[6]。同时发现脾脏和血液中IL-12分泌细胞明显升高,提示RV可能刺激机体全身性产生IL-12,但IL-12与RV感染的具体关系如何,目前尚缺乏直接证据^[11]。

1.2 干扰素(IFN)

干扰素是抗病毒感染中最重要的淋巴因子之一,除可以直接的限制病毒的复制和扩散外还具有

强大的免疫调节作用。正常状态下肠黏膜局部淋巴细胞可表达IFN- γ 。适量IFN- γ 对于维持肠黏膜屏障功能具有重要作用,但高水平IFN- γ 必然导致细胞因子动态网络调节失衡,造成黏膜损伤。

动态观察发现IFN- γ 可能是RV感染早期最重要的免疫保护因子,可以阻止RV进入肠上皮,调节小肠的转运及渗透功能,减轻腹泻的程度^[2]。幼年恒河猴自然感染RV TUCH株后,其CD4⁺和CD8⁺T淋巴细胞中也产生了适量、稳定水平的IFN- γ ^[5]。病毒感染中,IFN- γ 还可通过IL-12,IL-18等炎症因子诱导产生,猪感染HRV毒力株后,IL-12较IFN- γ 先升高,并不能确定其在RV致病中起作用还是通过炎症因子诱导产生,但是在腹泻和病毒血症高峰期后IFN- γ 峰值短暂,推测IFN- γ 可能在减少病毒复制方面起积极作用。

但也有人认为,持续性腹泻和高水平的IFN- γ 有关,IFN- γ 并不阻止腹泻的迁延,可能还与严重的病理损伤有关^[12]。小鼠模型研究发现^[13],IFN在乳鼠RV感染病毒清除中并不起主要作用。与此相似,IFN- γ 缺陷的成年小鼠排毒持续时间与对照组差异无显著性,且IFN- γ 缺陷小鼠对RV仍能产生免疫应答并能消除感染,提示IFN- γ 免疫保护作用不是主要的^[14]。VanCott等^[15]研究发现恒河猴轮状病毒(RRV)的VP6抗原免疫鼠后,肠黏膜产生的IFN- γ 可能起免疫保护作用,但脾脏中分泌IFN- γ 的CD4⁺和CD8⁺T细胞数和高水平的保护没有相关性,所以IFN- γ 在RV感染中的作用还有待进一步研究^[16]。

1.3 肿瘤坏死因子(TNF)

TNF- α 主要由单核巨噬细胞产生,具有炎症介质引起组织损伤的功能,同时TNF- α 又可通过其免疫调节作用促进炎症发生时的免疫反应,并具有抗病毒作用。人体正常的小肠上皮细胞可以规则表达TNF- α mRNA并分泌少量TNF- α ,研究发现,RV肠炎患儿急性期血清大便中TNF- α 升高,且升高的程度与病情轻重存在着一定的关联,表明其可能通过诱导肠上皮细胞分泌Cl⁻,从而参与RV肠炎的发病,TNF- α 水平在一定程度上可以反映机体的免疫状态^[8,17]。

但TNF- α 对人RV的抑制作用尚未得到证实,Bass^[3]用TNF- α 等细胞因子处理体外培养的人肠上皮细胞,然后让其感染人RV,发现TNF- α 对RV无任何抑制作用。李丽萍等^[18]研究表明,肠黏膜损伤和TNF- α 水平具有相关性,在RV感染中主要起促炎作用而非抗病毒作用,含量的升高扩大了肠黏

膜的局部免疫反应,与黏膜病理损害形成有关,认为血清 TNF- α 反映了患儿疾病发病早晚及严重程度,对病情的判断及治疗有临床指导意义。

1.4 转化生长因子和表皮生长因子

转化生长因子(TGF- α)和表皮生长因子(EGF)同属表皮生长因子家族,具有促进上皮细胞增殖、分化和生长的作用。用 RV 接种人工饲养猪引起几乎全部小肠绒毛萎缩和水样泻,口服 TGF- α 4 d 绒毛表面积显著恢复,表明 TGF- α 能促进 RV 肠炎损伤肠上皮的恢复,但不能促进绒毛功能恢复和增加酶的活性。口服 EGF 能增加轮状病毒肠炎新生小猪小肠绒毛高度和乳糖酶活性,说明 EGF 对于刺激 RV 感染后小肠上皮的恢复可能起重要作用。国内有报道 RV 肠炎患儿大便上清中 EGF 水平低下,与正常组比较差异显著,可能是 HRV 导致肠黏膜受损的原因,但至于这是 HRV 腹泻特有的还是急性腹泻共有的现象尚有待于进一步探讨^[19]。

2 细胞因子与轮状病毒感染肠道外症状的相关性

2.1 致胆道闭锁有关的细胞因子

近来发现 RV 感染可以导致胆道闭锁的发生,且细胞因子参与其发病^[20]。Shivakumar 等^[21]在轮状病毒感染的小鼠胆道闭锁模型中发现,由于基因缺陷造成的 IFN- γ 缺失明显抑制了 T 细胞对肝脏的攻击,并完全防止了肝外胆道的炎症和纤维梗阻。不仅如此,对轮状病毒感染的 IFN- γ 缺失小鼠给予重组 IFN- γ 可导致胆道梗阻的再出现,进一步提示 IFN- γ 有可能是驱动胆道闭锁的关键因素。与此相似,Tucker 等^[22]发现 TNF- α 在 RV 致胆道闭锁中高度表达,参与发病,但 TNF- α 抑制剂并不减少胆道闭锁的发生和严重程度,表明在胆道闭锁中,TNF- α 并不是专一的细胞因子。

对敲除 IL-12 的小鼠的研究发现,缺失 IL-12 仍导致肝门中性粒细胞的大量浸润和肝外胆管上皮的脱落、坏死,并不阻止肝外胆管闭锁的发生,也不抑制肝脏分泌 IFN- γ ,提示 IL-12 可能不是驱动胆道闭锁的关键因素,但缺失 IL-12 可以增加 TNF- α 和减少 IL-4,IL-5 等的表达,从而介导 Th1 优势的炎症反应^[23]。

2.2 致糖尿病有关的细胞因子

国外研究证明,RV 可以在胰腺细胞内生长,RV 的基因序列与人类胰岛某部分组织的抗原决定簇高度相似,感染可触发或加重遗传易感儿胰岛的自身

免疫,导致 I 型糖尿病的发生^[24]。IFN- γ 对发病极为重要,可抑制 IL-4,IL-10 的产生,上调 β 细胞的 MHC-I 类分子表达,增强抗原提呈作用,增加 β 细胞对胰岛浸润 T 细胞破坏的敏感性,并辅助 CD8⁺ T 细胞活化、增殖为细胞毒性 T 细胞,导致胰岛 β 细胞破坏。但 Makela 等^[25]通过 PCR 检测 1 型糖尿病儿童外周单核细胞中的 IFN- γ ,IL-4,IL-10 和 TGF- β mRNA 的表达发现,在人轮状病毒刺激后,IFN- γ ,IL-4 表达水平升高,和 T 细胞免疫反应一致,但是和其他抗原刺激比较没有差异性,并不支持 RV 和儿童糖尿病的相关性。

2.3 致惊厥有关的细胞因子

IL-6 是一种诱导急性期反应的内生性致热原,可协同 TNF、一氧化氮(NO)促进辅助性 T 细胞增殖与分化,减少抑制性 T 细胞的产生使相关抗体大量产生,形成免疫复合物沉积于毛细血管内皮,导致组织相应的病变。惊厥时海马 IL-6 mRNA 增加,IL-6 可能和惊厥的发生有关,且 IL-6 与其他神经毒性因子协同引起更严重急性神经功能损伤。Kawashima 等^[26]发现 RV 肠炎并发惊厥者血清和脑脊液中 NO 明显升高,参与病理发病,且血清中 IL-6 水平升高和 NO 具有相关性,推测 NO 可能通过诱导致炎因子 IL-6 参与发病。热性惊厥常发生于病毒感染,病情越重,血清 IL-6 水平越高,IL-6 与体温、惊厥发作次数呈正相关。血清和脑脊液中 IL-6 水平可作为反映脑实质损伤程度的重要指标。但 IL-6 与病毒感染关系的研究多数停留在现象的描述阶段,对其实质认识还不十分清楚。

综上所述,细胞因子与 RV 感染密切相关,在抗病毒免疫中发挥着重要的调控作用。一方面,RV 感染能诱导宿主细胞产生某些细胞因子,另一方面细胞因子又能刺激或抑制病毒在宿主中的增殖。众多细胞因子互相促进、互相调节,构成一个广泛、复杂的网络。任何一种细胞因子的平衡失调,必将导致 RV 肠炎的发生。随着对 RV 感染发病机制的进一步研究,必将推动轮状病毒肠炎诊断和治疗水平的提高^[27,28]。

[参 考 文 献]

- [1] 李建军,刘作义. 细胞因子与婴幼儿轮状病毒肠炎的关系[J]. 实用儿科临床杂志, 2003, 18(7):533-534.
- [2] 齐铁雄,谢立新,王永祥,王军民,陈惠兰,周立智. 轮状病毒肠炎患儿血清和大便 IL-2、IL-6、IFN- γ 动态变化与临床指标关系的研究[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2002, 16(3): 270-273.
- [3] Bass DM. Interferon gamma and interleukin 1, but not interferon

- alfa, inhibit rotavirus entry into human intestinal cell lines[J]. Gastroenterology, 1997, 113(1):81-89.
- [4] Vancott JL, Franco MA, Greenberg HB, Sabbaj S, Tang B, Murray R, et al. Protective immunity to rotavirus shedding in the absence of interleukin-6: Th1 cells and immunoglobulin a develop normally[J]. J Virol, 2000, 74(11):5250-5256.
- [5] Sestak K, McNeal MM, Choi A, Cole MJ, Ramesh G, Alvarez X, et al. Defining T-cell-mediated immune responses in rotavirus-Infected juvenile rhesus macaques[J]. J Virol, 2004, 78(19):10258-10264.
- [6] Azevedo M, Yuan L, Pouly S, Gonzales A, Jeong K, Nguyen T, et al. Cytokine responses in gnotobiotic pigs after infection with virulent or attenuated human rotavirus[J]. J Virol, 2006, 80(1):372-382.
- [7] Casola A, Garofalo RP, Crawford SE, Estes MK, Mercurio F, Crowe SE, et al. Interleukin-8 gene regulation in intestinal epithelial cells infected with rotavirus: role of viral-induced I κ B kinase activation[J]. Virology, 2002, 298(1):8-19.
- [8] Jiang B, Snipes-Magaldi L, Dennehy P, Keyserling H, Holman RC, Bresee J, et al. Cytokines as mediators for or effectors against rotavirus disease in children[J]. Clin Diagn Lab Immunol, 2003, 10(6):995-1001.
- [9] Monteleone G, Parrello T, Monteleone I, Tammaro S, Luzzza F, Pallone F. Interferon-gamma (IFN- γ) and prostaglandin E2 (PGE2) regulate differently IL-12 production in human intestinal lamina propria mononuclear cells (LPMC)[J]. Clin Exp Immunol, 1999, 117(3):469-475.
- [10] 僧靖静,周建华,刘长江,高铁铮. 轮状病毒肠炎 IL-12 的变化及意义[J]. 中国免疫学杂志, 2002, 22(12):868-870.
- [11] Narvaez CF, Angel J, Franco MA. Interaction of rotavirus with human myeloid dendritic cells[J]. J Virol, 2005, 79(23):14526-14535.
- [12] Azim T, Ahmad SM, Sefat-E-Khuda, Sarker MS, Unicomb LE, De S, et al. Immune response of children who develop persistent diarrhea following rotavirus infection[J]. Clin Diagn Lab Immunol, 1999, 6(5):690-695.
- [13] Vancott JL, McNeal MM, Choi AH, Ward RL. The role of interferons in rotavirus infections and protection [J]. Interferon Cytokine Res, 2003, 23(3):163-170.
- [14] Franco MA, Tin C, Rott LS, Vancott JL, McGhee JR, Greenberg HB. Evidence for CD8⁺ T-cell immunity to murine rotavirus in the absence of perforin, fas, and gammainterferon[J]. J Virol, 1997, 71(1):479-486.
- [15] Vancott JL, Prada AE, McNeal MM, Stone SC, Basu M, Huffer B, et al. Mice Develop Effective but delayed protective immune responses when immunized as neonates either intranasally with nonliving VP6/LT(R192G) or orally with live rhesus rotavirus vaccine candidates[J]. J Virol, 2006, 80(10):4949-4961.
- [16] Smiley KL, McNeal MM, Basu M, Choi AHC, Clements JD, Ward RL. Association of Gamma Interferon and Interleukin-17 Production in Intestinal CD4⁺ T cells with protection against totavirus shedding in mice intranasally immunized with VP6 and the adjuvant LT(R192G)[J]. J Virol, 2007, 81(8):3740-3748.
- [17] Azim T, Zaki MH, Podder G, Sultana N, Salam MA, Rahman SM, et al. Rotavirus-specific subclass antibody and cytokine responses in Bangladeshi children with rotavirus diarrhoea[J]. J Med Virol, 2003, 69(2):286-295.
- [18] 李丽萍,袁明纯. 轮状病毒感染肠黏膜损伤与肿瘤坏死因子关系的研究[J]. 中华内科杂志, 2007, 19(2):148-150.
- [19] 吴建春,姚英明. 轮状病毒胃肠炎和表皮生长因子关系初步研究[J]. 世界华人消化杂志, 2003, 11(11):1793-1794.
- [20] Mack CL, Tucker RM, Sokol RJ, Kotzin BL. Armed CD⁺4 Th1 effector cells and activated macrophages participate in bile duct injury in murine biliary atresia[J]. Clin Immunol, 2005, 115(2):200-209.
- [21] Shivakumar P, Campbell KM, Sabla GE, Miethke A, Tiao G, McNeal MM, et al. Obstruction of extrahepatic bile ducts by lymphocytes is regulated by IFN-gamma in experimental biliary atresia [J]. J Clin Investigat, 2004, 114(3):322-329.
- [22] Tucker RM, Hendrickson RJ, Mukaida N, Gill RG, Mack CL. Progressive biliary destruction is independent of a functional tumor necrosis factor-alpha pathway in a murine model of biliary atresia [J]. Viral Immunol, 2007, 20(1):34-43.
- [23] Mohanty SK, Shivakumar P, Sabla G, Bezerra JA. Loss of interleukin-12 modifies the pro-inflammatory response but does not prevent duct obstruction in experimental biliary atresia [J]. BMC Gastroenterology, 2006, 6(14):1-10.
- [24] Blomqvist M, Juhela S, Erkkila S, Korhonen S, Simell T, Kupila A, et al. Rotavirus infections and development of diabetes-associated autoantibodies during the first 2 years of life[J]. Clin Exp Immunol, 2002, 128(3):511-515.
- [25] Makela M, Oling V, Marttila J, Waris M, Knip M, Simell O, et al. Rotavirus-specific T cell responses and cytokine mRNA expression in children with diabetes-associated autoantibodies and type 1 diabetes [J]. Clin Exp Immunol, 2006, 145(2):261-270.
- [26] Kawashima H, Inage Y, Ogihara M, Kashiwagi Y, Takekuma K, Hoshika A, et al. Serum and cerebrospinal fluid nitrite/nitrate levels in patients with rotavirus gastroenteritis induced convulsion [J]. Life Sci, 2004, 74(1):1397-1405.
- [27] 张春芳. 亚洲地区轮状病毒感染的流行病学概况[J]. 中国当代儿科杂志, 2006, 8(1):79-82.
- [28] 高有桂,金玉,柳颐龄,叶新华. 轮状病毒肠炎患儿血清及粪便白细胞介素-18 和干扰素- γ 含量的变化及意义[J]. 中国当代儿科杂志, 2006, 8(4):304-306.

(本文编辑:吉耕中)