

• 专家述评 •

慢性肝病发病机制的基础研究有待深入

Basic research on mechanism of chronic hepatic diseases: further efforts needed

孔宪涛 (第二军医大学长征医院实验诊断科, 上海 200003)

[关键词] 肝疾病; 发病机制; 基础研究

[中图分类号] R 575 [文献标识码] A [文章编号] 0258-879X(2004)12-1277-02

随着科学的发展, 衡量一个学科的学术水平, 最直接的是学术论文, 尤其是有层次的、有梯度的、在某一领域的探索性的系列论著, 最能代表这个学科的发展水平, 也最能得到同行的承认。近几年来, 研究基金的申请以及重点学科的评审, 主要看学科水平, 其中最重要的是有无专科特色、有无研究基础、个人有无专长, 系列论文无疑是最直接的衡量条件。因此, 作为学科研究论文专题在本刊集中刊出, 既是一种对学术水平的检阅, 对该学科也将是一个很大的鞭策; 同时也促进了学科的发展, 对其他学科起到示范作用。

慢性肝炎对我国民众的影响决不亚于其他急性传染病, 为什么没有大张旗鼓地去研究去防治呢? 有许多历史和现实的原因, 这里不便细说。被称作“国难病”的乙型肝炎, 正蚕食着亿万人民机体, 除了求助于这个“方”那个“方”之外, 还能做些什么? 似乎无能为力。长征医院实验诊断科的研究人员二十余年如一日, 坚持慢性肝病的早期诊断和肝纤维化形成机制的研究, 发表论文近百篇, 取得了不小的成绩, 虽然没有重大突破, 但大量积累也蕴藏着美好的未来。本专题刊载了最新数篇研究论文, 有些新的发现, 现对其中几项研究工作作简要的述评。

一、慢性肝病诊断和肝纤维化形成机制的研究

在本期刊载的肝病研究论文中有几篇涉及 TGF- β , 这是个很热门的研究课题。已证明 TGF- β 在肝纤维化形成过程中起到重要作用, 阻止或减少 TGF- β 的表达, 无疑是肝纤维化形成的治疗手段。TGF- β 超家族的 TGF- β 亚家族中, 目前研究报道有 6 种 TGF- β 分子, 分别为 TGF- β 1~ β 6, 在哺乳动物中表达并已克隆的是 TGF- β 1~ β 3。诸多 TGF- β 分子中, TGF- β 1 是目前研究最多的与器官纤维化发生发展密切相关的细胞因子。TGF- β 通过促进成纤维细胞等间质产生细胞中的葡萄糖、氨基酸转运和

糖酵解等代谢过程, 导致胶原蛋白、非胶原糖蛋白、蛋白多糖等细胞外基质(ECM)产生增加, 这是形成器官、组织纤维化的物质基础。是什么机制促进了 TGF- β 基因的活化并表达? 本专题中《TGF- β 1 基因多态性与肝炎后肝纤维化的相关性研究》一文提示, TGF- β 1 基因多态性与高加索人群肝炎后肝纤维化的发生及亚洲人群肝炎后肝纤维化发生有某些相关性, 这说明肝纤维化形成有一定的基因调控机制。

在另一篇研究论文《TGF- β 1 启动子基因多态性与中国人自身免疫性肝病相关性的研究》中, 对 44 例自身免疫性肝炎和 95 例原发性胆汁性肝硬化(PBC)患者的 TGF- β 1 启动子基因多态性进行分析, 并与 220 例正常献血员相比较, 发现 PBC 组 C-988A 中 CC (88.4%) 低于对照组 (95.5%), CA (11.6%) 高于对照组 (4.0%); C-509T 与对照组比较, C (43.2%) 明显下降、T (56.8%) 明显升高, CT 降低、TT 升高。据报道: C-509T 多态性与血浆中的 TGF- β 1 浓度明显升高相关, 从而导致 HSCs 激活、促进肝纤维化形成。这些多态性位点是否通过影响 TGF- β 1 启动子启动活性发挥作用目前还不清楚。

总之, TGF- β 是一个具有广泛生物学效应的活性分子, 对细胞外间质基因表达、基质降解、细胞增殖分化、细胞凋亡及免疫功能具有明确作用, 因而对全身多种器官纤维化、肿瘤以及慢性炎症性疾病和自身免疫性疾病等多种疾病的发生发展具有重要作用, 外周血 TGF- β 的检测对肝纤维化的早期判定, 具有一定价值。目前有关 TGF- β 受体及其相关的主要信号转导途径和分子已基本清楚, 寻求 TGF- β 表达的阻断、拮抗, 为抗纤维化治疗提供了全新途径。

[基金项目] 国家自然科学基金(30080027); 上海市基础研究重大项目(02JC14005); 上海市卫生系统百人跨世纪优秀学科带头人培养基金(沪卫科 9713)。

[作者简介] 孔宪涛(1932), 男(汉族), 教授, 博士生导师。

二、PBC 的形成机制与早期诊断的研究

PBC 之所以知之甚少,主要因为它是一种发病原因不明、无特殊诊断方法、无有效治疗手段的慢性肝病。PBC 在我国较少报道,但西方较多。随着诊断技术的提高,近年发现此病我国并不少见。PBC 是一类由自身免疫机制介导的、以肝内小胆管进行性非化脓性破坏性炎症为特征的慢性胆汁淤积性疾病,进一步可发展至肝纤维化与肝硬化。好发于中年女性,临床表现主要为皮肤瘙痒、乏力、纳差、黄疸、肝大、脾大,并伴有高球蛋白血症、碱性磷酸酶(ALP)和谷氨酸转氨酶(GGT)显著升高,且存在多种自身抗体,如抗线粒体抗体(AMA)、AMA-M2、抗核抗体(ANA)等。该病中的自身免疫反应所识别的自身靶抗原是位于线粒体内膜上的丙酮酸脱氢酶复合体(PDC)、侧链二氧酸脱氢酶复合体(BCOADC)和 2-氧戊二酸脱氢酶复合体(OGDC)的 E2 亚基,但为什么出现这些自身抗原,确切的发病机制尚未清楚。研究显示,PBC 与人类白细胞抗原(HLA)、细胞因子及与免疫调节相关的基因多态性存在一定的关联性,在不同的国家或地区其基因易感性又不一样。目前研究 PBC 基因易感性主要集中在 HLA-DRB1 等位基因,某些基因与病情进展也密切相关。

HLA 抗原在自身免疫发生过程中起着重要作用,探讨 HLA 与 PBC 的关联性,对于确定致病基因、明确发病机制和促进 PBC 的免疫治疗都是至关重要的。本专题的《原发性胆汁性肝硬化与 HLA-DRB1 等位基因的相关分析》发现中国人群 PBC 患者与 HLA-DRB1 * 07 等位基因相关。DRB1 * 07 是中国人中较为常见的一个等位基因,本研究中 7 例男性患者有 4 例携带 DRB1 * 07,提示可能存在着性别差异,这一结果可能为研究 PBC 的发病机制提供新的线索。鉴于此,有必要扩大样本量和开展更大范围内的多中心合作来继续研究 PBC 遗传易感性与 HLA 的关系,也为下一步鉴定抗原特异性 T 细胞的抗原表位以及将来研究以 TCR-抗原肽/HLA 为基础的特异性免疫治疗方法打下基础。

三、治疗性抗体的临床实验研究

抗体作为诊断和预防手段是大家所熟知的,但作为一种治疗工具临床应用较少。免疫治疗的独特优势是它的高度特异性,利用抗体的靶组织特异性

和介导的复合作用,将会大大提高治疗效果。长期以来,治疗用抗体之所以应用较少,主要原因在于它的异源性,亦即输入动物源性抗体会导致变态反应。近来,人源化生物工程抗体的出现并用作介导治疗,再度成为肿瘤、病毒感染、自身免疫病等领域的热点且已获某些肯定效果。另外,利用生物工程手段,制备成功了单链抗体、双特异融合抗体、嵌合抗体等,使得所谓“导弹疗法”(导向治疗)成为现实。同时,直接从分子水平构建载体,或表达融合蛋白,已是临床生物治疗学一项迫切需要又具实际意义的工作。

长征医院研究人员长期从事抗-HBs 的人源化抗体制备并作了系列研究,目前在抗-HBs 小分子抗体(人源抗-HBs Fab)的克隆表达已取得了可喜的成绩。小分子抗体的应用不在于其抗病毒杀伤作用,因为在这方面的作用实在太小,但作为一个有靶向作用的载体,其作用是令人振奋的。 α 干扰素(IFN- α)的作用靶位点是 HBV DNA,它不仅抑制 HBV DNA 的复制,还可抑制病毒蛋白的表达。特别是 20 世纪 80 年代初生产重组 IFN- α 以来,其用于患者的治疗经验已渐趋成熟,是目前国内外公认的治疗慢性乙肝的有效药物。人源单克隆抗体具有较高的抗原亲和力和特异性,与 IFN- α 在分子水平重组构建融合蛋白表达质粒,表达 IFN- α 与抗体融合蛋白,可利用抗体为 IFN- α 起导向作用,降低其应用剂量及不良反应。该实验室利用重组抗-HBs Fab 抗体基因及 IFN- α 基因的 pBAD/g III A 的原核表达系统,成功表达了双重生物活性的抗-HBs/IFN- α 融合蛋白,实验证明其抗原结合性与抗-HBs Fab 片段相近,并具有 IFN- α 的生物活性,为特异抗体及其介导融合蛋白的制备和临床应用提供了实验依据。目前,他们正研究利用噬菌体抗体库筛选技术构建了含重组质粒 pBAD/HSs-Fab 的 Top10 大肠杆菌及含重组质粒 pBAD/IFN- α / λ 的 Top10 大肠杆菌,pBAD/g III A top 表达系统,可望在不久的将来取得良好的成果。

慢性肝病的发病机制极为复杂,临床对病毒感染还是无能为力,该病的持续慢性进程是病毒因素还是免疫因素所致,目前还知之甚少。肝纤维化是慢性炎症的修复病理过程,如若任其发展,最后的结局则是不可逆转的肝硬化。因此,必须加大研究力度,以求早日找到诊断和治疗的有效方法。

[收稿日期] 2004-09-30

[修回日期] 2004-11-12

[本文编辑] 邓晓群