

## 肾综合征出血热相关细胞因子研究进展

孙水林 钟恢海 席文娜

肾综合征出血热(hemorrhagic fever with renal syndrome, HFRS)是汉坦病毒感染引起的以发热、休克、充血、出血和急性肾功能衰竭为主要表现的一种自然疫源性疾病,其基本病变为全身广泛性小血管损害,典型病例临床上有5期病程:发热期、低血压休克期、少尿期、多尿期和恢复期。汉坦病毒可感染多种重要的免疫细胞和免疫器官,并诱导产生各类细胞因子。这些细胞因子作为细胞间相互作用的信号分子,与细胞膜上相应的受体结合后发挥多种生物学效应,在免疫应答、免疫调节和炎症反应中发挥重要作用。在HFRS中,细胞因子不仅可以参与机体抗感染免疫,也可引起发热、血管通透性增加等急性期反应及休克,现在就近年来细胞因子在HFRS发病机制中的作用研究进展综述如下。

### 一、肿瘤坏死因子- $\alpha$

肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor, TNF- $\alpha$ )是一种重要的细胞因子,在HFRS中可引起寒战、发热、头痛、肌痛、血压下降等作用<sup>[1]</sup>。TNF- $\alpha$ 主要由单核/巨噬细胞产生,具有多种生物活性:抗感染、增强细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)对感染细胞的杀伤作用、引起炎症反应、作为内源性致热原引起发热。大剂量的TNF- $\alpha$ 引起严重的全身及局部炎症反应,增加血管通透性,引起多器官功能衰竭。越来越多的研究<sup>[2,3]</sup>表明TNF- $\alpha$ 是引起某些病毒性免疫病理损伤及促进感染的主要因素。HFRS基本的病理生理改变为全身微血管的损伤和通透性增加,TNF- $\alpha$ 可进一步增加血管的通透性。HFRS患者血清TNF- $\alpha$ 在发热期已开始升高,低血压和少尿期达高峰,多尿期明显下降,至恢复期维持于较低水平,说明TNF- $\alpha$ 水平与HFRS的病期有密切关系<sup>[4]</sup>。从临床病型看,随病情加重,TNF- $\alpha$ 的水平亦相应增高,特别是在危重型患者中TNF- $\alpha$ 呈持续高水平,可能在严重的低血压休克和肾功能衰竭等重要临床症候群方面起重要作用。HFRS患者血清TNF- $\alpha$ 水平与尿蛋白水平呈正相关,且各尿蛋白梯度之间TNF- $\alpha$ 水平差异有显著性,提示TNF- $\alpha$ 水平与肾脏损害的严重程度有关。因此,早期动态检测HFRS患者血清TNF- $\alpha$ 水平,对判断病情进展和疾病严重程度有一定意义,早期使用阻断TNF- $\alpha$ 发挥作用的药物,可能对HFRS的治疗具有积极作用<sup>[5]</sup>。

### 二、白细胞介素

1. 白细胞介素-15(interleukin-15, IL-15): IL-15的主要来源是单核细胞和上皮细胞,有研究证明在最适宜浓度下可迅速诱导CD8<sup>+</sup>T细胞增殖,增加抗原特异性CTL的杀伤活性。CTL在清除病毒的同时也破坏靶细胞造成免疫病理损伤。

作者单位:330006 南昌,南昌大学第二附属医院感染科

通讯作者:孙水林 Email: sunshuilin2280@126.com

IL-15 在 HFRS 发热期开始升高,在疾病的高峰期达到峰值,此期血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)水平亦达到高峰,至恢复期 IL-15 血清水平逐渐下降。IL-15 的消长趋势与病程的发展过程相一致,同时与反映肾损害程度的 BUN 水平变化相一致,提示 IL-15 在 HFRS 发病中具有重要作用,在发挥抗感染免疫的同时,造成机体免疫病理损伤<sup>[6]</sup>。

2. IL-2:IL-2 是 T 细胞活化增殖中从 G 期转为 S 期的关键因子,能促进 T 细胞和 B 细胞增殖分化、活化巨噬细胞、增强自然杀伤细胞(NK 细胞)、单核细胞的杀伤活性<sup>[2]</sup>,它也能够增强淋巴因子激活的杀伤细胞(LAK 细胞)的活性,诱生杀伤细胞产生干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )、TNF- $\alpha$  等细胞因子,以及增强 CTL 细胞穿孔素基因的表达,在免疫防御反应中发挥着重要作用。IL-2 主要由活化的 T 细胞分泌,又为 T 细胞增殖所必需,有增强细胞毒作用和介导炎症反应的作用,IL-2 表达的失调与一些疾病的发生和发展密切相关。HFRS 患者的 IL-2 含量减少,分泌活性明显低于正常人,必定影响体内免疫细胞正常功能的发挥。因此,IL-2 分泌活性的变化可反映出患者免疫功能的状态,对 HFRS 患者考虑免疫功能调节治疗提供了依据<sup>[7]</sup>。

3. IL-18:IL-18 是一种多效性的细胞因子,具有多种生物学功能,它能刺激 Th1 细胞分泌 IFN- $\gamma$ 、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子、IL-8 等,并促进 Th1 细胞增殖,增强 Fas 介导的 Th1 细胞的细胞毒性及 NK 细胞的细胞毒作用,从而造成机体免疫病理损伤。HFRS 患者血清 IL-18 在病程的第 1~2 d 即明显升高,轻中型持续一周恢复正常,而危重型至病程第 2 周末,浓度仍高,至病程结束时才恢复正常。死亡患者 IL-18 持续升高,明显高于同期的存活者,提示 IL-18 可能调节机体过激的免疫反应程度。赵梅等<sup>[8]</sup>研究的实验数据显示,危重型 IL-18 在 10 d 后仍维持较高水平,提示 IL-18 维持较高水平达 10 d 以上,且血清 BUN、肌酐(creatinine, Cr)呈较高水平,病情较重,预后较差。

4. IL-6 和 IL-8:IL-6 和 IL-8 是典型的炎症介质,HFRS 患者发热期开始升高,少尿期达到高峰,多尿期开始下降<sup>[4]</sup>;有趋化作用和诱导中性粒细胞脱颗粒作用,引起发热及小血管内皮细胞的损伤,并能刺激白三烯的产生,从而使血管通透性增加,体液外渗,参与低血压的形成。因而患者血中 IL-6 和 IL-8 水平升高有助于杀灭汉坦病毒,但过量释放则加重病理损伤,引起病情的重症化<sup>[2]</sup>。

### 三、干扰素

干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ) 是 CD4<sup>+</sup>T 细胞的亚群 Th1 细胞产生的主要细胞因子,在细胞因子网络中居于中心地位,能促进淋巴细胞的增殖,参与自身抗体的分泌与类型转换,并抑制 Th2 细胞产生 IL-4 等细胞因子。受病毒刺激的 HFRS 患者血清 IFN- $\gamma$  水平明显升高,大大增强了巨噬细胞、杀伤性 T 细胞等效应细胞活化并杀伤靶细胞的功能,从而达到清除胞内感染的汉坦病毒的目的。然而,特异性 CTL 在抗汉坦病毒感染的同时也可能参与内皮细胞的损伤<sup>[9]</sup>。汉坦病毒在感染后期诱导内皮细胞产生 IFN- $\beta$ ,用 IFN- $\beta$  预处理的细胞能抑制汉坦病毒的复

制,在感染期间汉坦病毒能有选择性地指导不同的 IFN 应答。IFN- $\beta$  和 IFN- $\gamma$  增强 NK 细胞和 CTL 细胞活性,共同参与汉坦病毒的免疫应答过程<sup>[10,11]</sup>。

#### 四、内皮素

内皮素(endothelin, ET)是由 21 个氨基酸组成的、分子量为 2.5 kD 的多肽,是目前发现的最强的缩血管物质,可使肾血管阻力增大导致肾有效血浆流量下降,引起急性缺血性肾衰<sup>[12]</sup>。它由血管内皮细胞分泌,通过与血管平滑肌细胞上的受体结合,激活钙通道,增加钙离子的内流,促进血管平滑肌收缩。当内皮损伤时,其合成释放增加,调节血管的紧张度,同时还作为一种生长因子,刺激血管平滑肌的增生<sup>[13]</sup>。ET 水平在 HFRS 低血压休克期开始显著升高,少尿期达高峰,多尿期开始下降,并于恢复期降至基本正常,在 HFRS 少尿期 ET 与 BUN 呈正相关<sup>[14]</sup>。

#### 五、细胞间黏附分子-1

细胞间黏附分子-1 (intercellular adhesion molecule, ICAM-1) 广泛分布于造血和非造血细胞,其主要生理作用是与淋巴细胞功能相关抗原-1 (LFA-1) 结合,介导细胞-细胞间及细胞与细胞外基质间的黏附。正常情况下,细胞只表达极低水平 ICAM-1,但在感染、肿瘤等过程中,ICAM-1 表达明显上升,细胞表面的 ICAM-1 表达量的增加可以认为是早期免疫反应的一个可靠指标。汉坦病毒也可诱导 ICAM-1 产生,在白细胞黏附和炎症反应过程中起重要作用<sup>[15]</sup>,在 HFRS 时,肾脏已有炎症细胞浸润,而增加表达的 ICAM-1 可进一步促进循环中的炎症细胞向肾小球浸润,加重肾脏损伤。CTL 在发挥其细胞毒功能时,其细胞膜上的 LFA-1 与靶细胞膜上的配体 ICAM-1 的结合是不可缺少的过程。由于受损伤的细胞破坏和裂解,导致可溶性 ICAM-1 水平升高,其变化在发病早期开始升高,极期达到最高值,恢复期逐渐下降,其消长趋势与病程的发展过程基本一致,与 BUN 水平呈正相关,在 HFRS 发病中起重要作用<sup>[6]</sup>。

#### 六、降钙基因相关肽

降钙基因相关肽 (calcitonin gene-related peptide, CGRP) 是从甲状腺髓样癌中克隆和发现的一种生物活性多肽,由 37 个氨基酸组成,参与机体许多功能的调节,是调节血管活动的一类重要物质,具有强大的舒张血管作用。它不受肾上腺素能、组胺能和胆碱能受体阻断剂的影响,也不为前列腺合成抑制剂所阻断,舒张血管的作用不依赖血管内皮细胞的完整性。CGRP 具有拮抗 ET 的生物学作用,有学者研究发现 CGRP 可使血浆 ET 水平明显降低。HFRS 的基本病理变化是广泛的血管内皮损伤和功能改变,引起多种血管活性因子的变化,如血栓素、前列环素、内皮素等,CGRP 可以逆转 ET 缩血管效应;可以推测 CGRP 与 ET 的动态平衡的破坏可能是引起血管张力的改变并导致各脏器供血异常的重要因素之一。在 HFRS 的患者中 CGRP 从发热期开始增高,少尿期达峰值,在轻、中、重三型随病情发展增高显著,但从 CGRP 与 ET 比值的动态变化中可以看出,两者的比值随病情加重有所降低;另外在 CGRP 与 BUN 的相关性分析中可见,轻型和重型患者

低血压期及少尿期二者呈负相关。重型患者的发热期和低血压期呈负相关,可以推测 CGRP 分泌不足在 HFRS 肾功改变的发生、发展中起重要作用,在重型患者中少尿期及多尿期无显著相关性,可能与重型患者多进行透析治疗有关。因此,是否可考虑在治疗中的适当时期应用 CGRP 来增加肾血流量,减少肾衰的发生或发展,从而改善预后,值得进一步研究<sup>[16]</sup>。

### 七、穿孔素和粒酶 B

抗原特异性 CD8<sup>+</sup> T 细胞通过释放含穿孔素和粒酶 B 的溶细胞颗粒来诱导靶细胞凋亡,并且将感染病毒的细胞通过颗粒胞吐的途径清除;在这个过程中,穿孔素和粒酶 B 进入血循环,粒酶 B 的升高,表明 CD8<sup>+</sup> T 细胞及 NK 细胞激活。HFRS 患者血清中穿孔素和粒酶 B 的浓度在急性期明显高于恢复期,且两者之间存在明显的相关性;乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)是细胞损伤的指标,穿孔素与 LDH 也存在明显的相关性,表明汉坦病毒特异性 CD8<sup>+</sup> T 细胞和/或 NK 细胞参与细胞损伤的过程,但粒酶 B 与 LDH 没有相关性,粒酶 B 诱导细胞凋亡,穿孔素则为粒酶 B 所必须。Klingström 等<sup>[17]</sup>发现 HFRS 发病初期,穿孔素升高,粒酶 B 也升高;上皮细胞即开始凋亡;而血管通透性增加,正是由于上皮细胞的凋亡及强烈的汉坦病毒特异性 CD8<sup>+</sup> T 细胞免疫应答,造成机体损伤。

### 八、前景与问题

总之,大部分细胞因子在 HFRS 发热期已开始变化,其中 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-15、IL-18、ET、ICAM-1 等均升高,其消长趋势与病程的发展过程基本一致,与 BUN 水平变化相一致;但 IL-2、CGRP 分泌下降,CGRP 分泌不足在 HFRS 肾功改变的发生、发展中起重要作用。因此,早期测定这些细胞因子,对判断病情进展和疾病严重程度有一定帮助。然而目前阻断细胞因子发挥作用的药物较少,也很少有学者对这方面进行深入研究,将来应加强这方面的研究,或者研制细胞因子抗体中和这些细胞因子,可能对治疗 HFRS、减少 HFRS 的合并症和并发症具有重要意义。

### 参 考 文 献

- 1 Klingström J, Plyusnin A, Vaheri A, et al. Wild-type Puumala Hantavirus infection induces cytokines, C-reactive protein, creatinine, and nitric oxide in cynomolgus macaques. *J Virol*, 2002, 76:444-449.
- 2 熊丽娟,罗端德,李淑莉,等. 肾综合征出血热急性期外周血细胞因子的检测及其临床意义. *临床内科杂志*, 2002, 19:345-356.
- 3 曾昭琳,黄建生,周少波. 流行性出血热患者各期血清肿瘤坏死因子检测及临床意义. *江西医学院学报*, 2001, 41:135-135.
- 4 Fan WH, Chen RL, Yue JS, et al. Determination of urine tumor necrosis factor, IL-6, IL-8 and serum IL-6 in patients with hemorrhagic fevers with renal syndrome. *Academic J Xian Jiaotong University*, 2006, 18:179-182.
- 5 王平忠,杨建军,张颖,等. 肾综合征出血热患者血清  $\alpha$ -肿瘤坏死因子的检测及其意义. *西南国防医药*, 2005, 15:363-366.
- 6 陈国林,朱思和,马英骥,等. 肾综合征出血热患者 IL-15 和 sICAM-1 的动态变化. *中华传染病杂志*, 2003, 21:348-349.
- 7 李柏林,赫北湘,王睿,等. 白细胞介素 2 活性在肾综合征出血热患者血清中变化的研究. *中国血液流变学杂志*, 2006, 16:67-68.
- 8 赵梅,曹广平,张厚毅. 流行性出血热患者血清 IL-18 检测及其临床意义. *标记免疫分析与临床*, 2005, 12:214-216.
- 9 张斌国,梁清欣,郭明秋. 肾综合征出血热患者 IFN- $\gamma$ 、IL-4 水平变化及意义. *检验医学*, 2005, 20:277-278.

- 10 Alff PJ, Gavrilovskaya IN, Gorbunova E, et al. The pathogenic NY-1 Hantavirus G1 cytoplasmic tail inhibits RIG-I and TBK-1-directed interferon responses. *J Virol*, 2006, 80: 9676-9686.
- 11 Samuel CE. Antiviral actions of interferons. *Clin Microbiol Rev*, 2001, 14: 778-809.
- 12 蒋红利, 薛武军, 尹爱萍, 等. 血液净化对肾综合征出血热炎症介质的清除作用. *西安交通大学学报(医学版)*, 2004, 25: 385-387.
- 13 郑曲波, 李灼亮, 罗端德. 肾综合征出血热患者血浆一氧化氮及内皮素水平的动态观察. *中华传染病杂志*, 2000, 18: 44-45.
- 14 魏芳, 何文革, 白雪帆. 前列腺素 E1 对肾综合征出血热少尿期患者肾血流和血浆内皮素的影响及临床疗效. *临床内科杂志*, 2003, 20: 251-253.
- 15 Geimonen E, Neff S, Raymond T, et al. Pathogenic and nonpathogenic hantaviruses differentially regulate endothelial cell responses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 13837-13842.
- 16 张林华, 任延录, 邱守义, 等. 肾综合征出血热患者降钙基因相关肽的动态检测及意义. *中华传染病杂志*, 2000, 18: 123-125.
- 17 Klingström J, Hardestam J, Stoltz M, et al. Loss of cell membrane integrity in Puumala Hantavirus-infected patients correlates with levels of epithelial cell apoptosis and perforin. *J Virol*, 2006, 80: 8279-8282.

(收稿日期: 2007-07-15)

(本文编辑: 吴淑玲)