

出國報告(出國類別：進修)

## 慢性 B 型肝炎中 NK 細胞以 NKG2D 路徑和 CD4 T 細胞的互動機轉

服務機關：國防醫學院三軍總醫院

姓名職稱：黃瑋琛、少校軍醫官

派赴國家：英國

出國期間：101 年 7 月 13 日至 105 年 7 月 8 日

報告日期：105 年 7 月 24 日

# 摘要

最新證據顯示在病毒感染疾病中 NK 細胞對於後天免疫系統有抑制能力。最近在 B 型肝炎的研究中發現 NK 細胞會壓抑 HBV 專一性 CD8 T 細胞。由於 CD4 T 細胞對於 B 型肝炎病毒 (HBV) 有不可或缺的角色，因此透過研究 NKG2D 路徑機轉我們嘗試更了解在慢性 B 型肝炎的患者中 NK 細胞和 CD4 T 細胞之間的相互作用。

在這項研究中，我們觀察到活化的 T 細胞和 HBV 專一性的 CD4 T 細胞，過度地表現 NKG2D 配體 (NKG2D-L)。慢性 B 型肝炎的患者中 NK 細胞的的激活和細胞毒性可以通過其他細胞上的 NKG2D-L 來驅動。我們發現在慢性 B 型肝炎的患者中 NKG2D+ NK 細胞的活化和 CD4 T 細胞之 NKG2D-L (MICA/B) 的表現上有正相關關係。

最後，我們的研究表示，人類 T 細胞，特別是那些肝臟組織中的專一 T 細胞，可藉由 NKG2D-L 而被其他免疫細胞抑制。另外我們發現，在肝炎發作的 B 型肝炎的患者中，T 細胞所表現的 NKG2D-L 可通過 NKG2D 來驅動 NK 細胞的活化和細胞毒性。因此，努力緩解 HBV 感染肝藏的發炎，以便減少 NK 細胞對 T 細胞的抑制進而改善並促進人體的病毒免疫，為重要的一環。

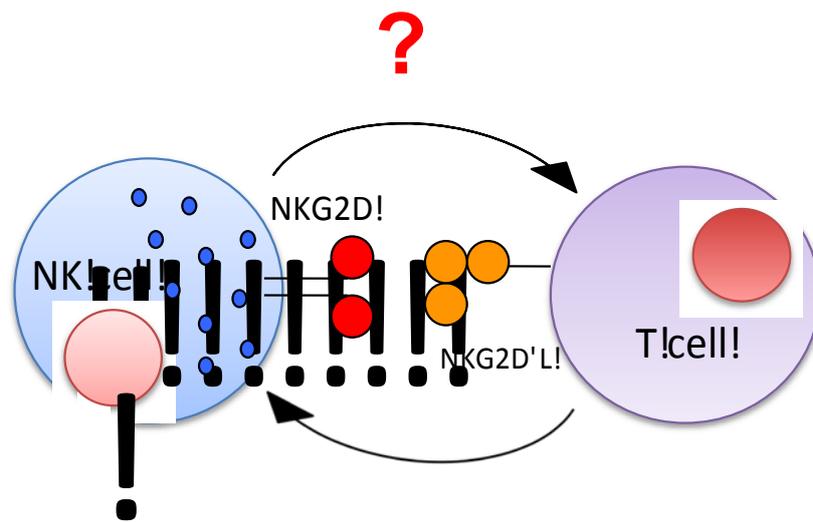
# 目次

摘要.....	2#
目次.....	3#
本文.....	4#
過程.....	5#
結果一：慢性B型肝炎患者的T細胞過度表現NKG2D-L。.....	5#
結果二：慢性B型肝炎的患者肝內T細胞過度富集了NKG2D-L的表現。.....	6#
結果三：慢性B型肝炎患者HBV專一性T細胞表達出極度豐富的NKG2D-L。.....	6#
結果四：藉由體外移除NK細胞和NKG2D阻斷技術可恢復慢性B型肝炎患者HBV專一性CD4T細胞。.....	7#
結果五：慢性B型肝炎中NKG2D陽性NK細胞有顯著的激活特徵。.....	7#
結果六：慢性B型肝炎中NKG2D+NK細胞的活化和CD4T細胞之NKG2D-L（MICA/B）的表現上有正相關關係。.....	8#
心得及建議.....	9#

# 本文

## 目的

HBV 感染是一個全球性的沈重醫療負擔。宿主免疫功能失調是 HBV 慢性感染的主要原因。越來越多的證據表明 NK 細胞對後天免疫的抑制能力，並可能導致病變。在慢性 B 型肝炎的患者，NK 細胞導致的肝損傷 (JEM Dunn 2007) 和 HBV 專一性 CD8 T 細胞的抑制 (JEM Peppas 2013) 最近已被證實。這項研究是為了解 NK 細胞通過 NKG2D 路徑對 CD4 T 細胞之間的相互作用及免疫調節的機轉。



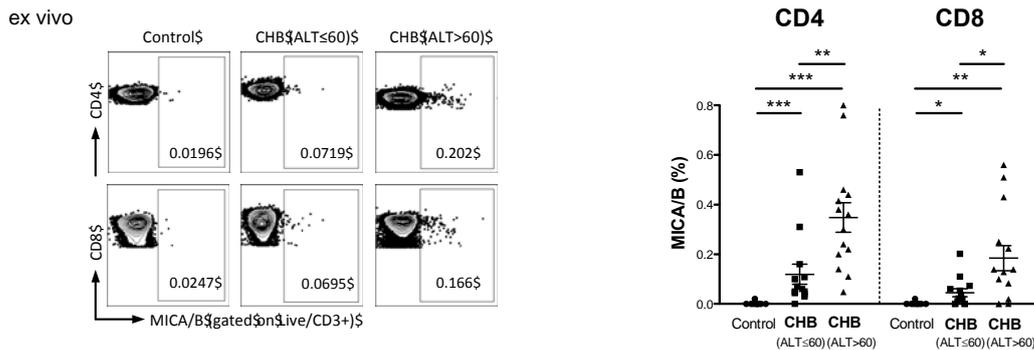
NK 細胞對 CD4 T 細胞之間的免疫調節

# 過程

我們評估了健康人和慢性 B 型肝炎的患者 (CHB) 的周邊血液。並從肝臟活組織檢查 (CHB 實驗組) 或肝切除/灌注液 (對照組) 獲得肝內淋巴細胞。MICA 轉染的 B 淋巴母細胞則被使用來評估 NK 細胞活化和細胞毒性。循環中和肝臟內的 T 細胞以 NKG2D-L 的專一性抗體進行染色。體外移除 NK 細胞和 NKG2D 阻斷技術則被用於功能性實驗。整體實驗我們一共獲得了六項重要的結果。

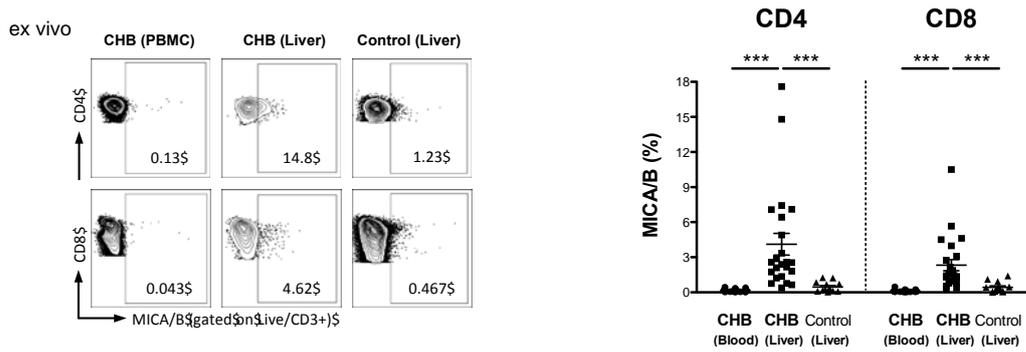
## 結果一：慢性 B 型肝炎患者的 T 細胞過度表現 NKG2D-L。

NK 細胞常態性地表現高度的活化性受體 NKG2D。我們發現從患者的周邊循環和肝臟 NK 細胞中這些受體保持在高度活化的狀態。利用流式細胞儀檢測結果 CD4 T 細胞和 CD8 T 細胞的細胞表面過度地呈現 NKG2D-L，尤其是急性肝炎發作的慢性 B 型肝炎的患者。



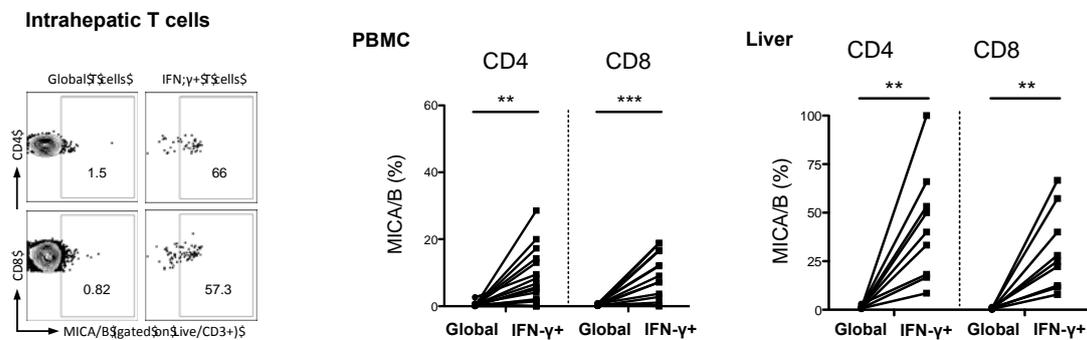
結果二：慢性 B 型肝炎的患者肝內 T 細胞過度富集了 NKG2D-L 的表現。

從肝活檢組織（CHB 實驗組）或從切除術（對照組）分離出的肝內淋巴細胞（IHL），並使用相對應的配對周邊血液淋巴細胞進行比較。結果發現慢性 B 型肝炎的患者 HBV 感染肝臟的肝內淋巴細胞 MICA/B 表達顯著增加。



結果三：慢性 B 型肝炎患者 HBV 專一性 T 細胞表達出極度豐富的 NKG2D-L。

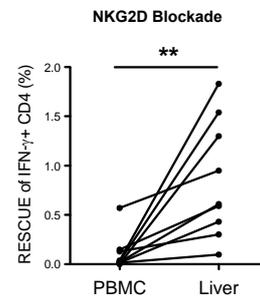
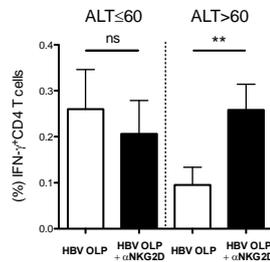
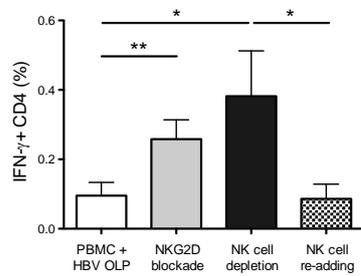
從慢性 B 型肝炎患者的周邊血液和肝臟得到的淋巴細胞中發現，當受到 HBV 核心蛋白抗原刺激後，IFN- $\gamma$  陽性的 HBV 專一性 T 細胞呈現高量的 MICA/B。而此高度富集的 NKG2D-L 尤其以肝臟內的 HBV 專一性 T 細胞更為明顯。



**結果四：藉由體外移除 NK 細胞和 NKG2D 阻斷技術可恢復慢性 B 型肝炎患者 HBV 專一性 CD4 T 細胞。**

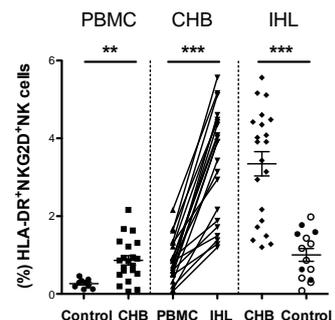
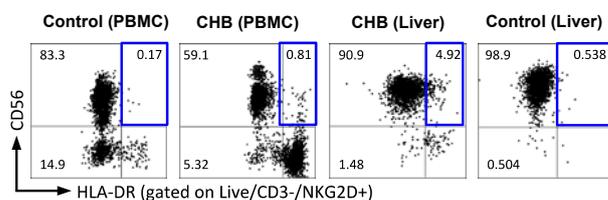
從慢性 B 型肝炎患者的周邊血液和肝臟得到的淋巴細胞中我們發現，藉由體外移除 NK 細胞和 NKG2D 阻斷技術，急性肝炎發作的慢性 B 型肝炎患者之 HBV 專一性 CD4 T 細胞可以有效地被恢復及增加。此項發現，與周邊血液的反應相比，肝臟 HBV 專一性 CD4 T 細胞所達到的恢復及增加成效更為明顯。

**PBMC NKG2D blockade and NK cell depletion**



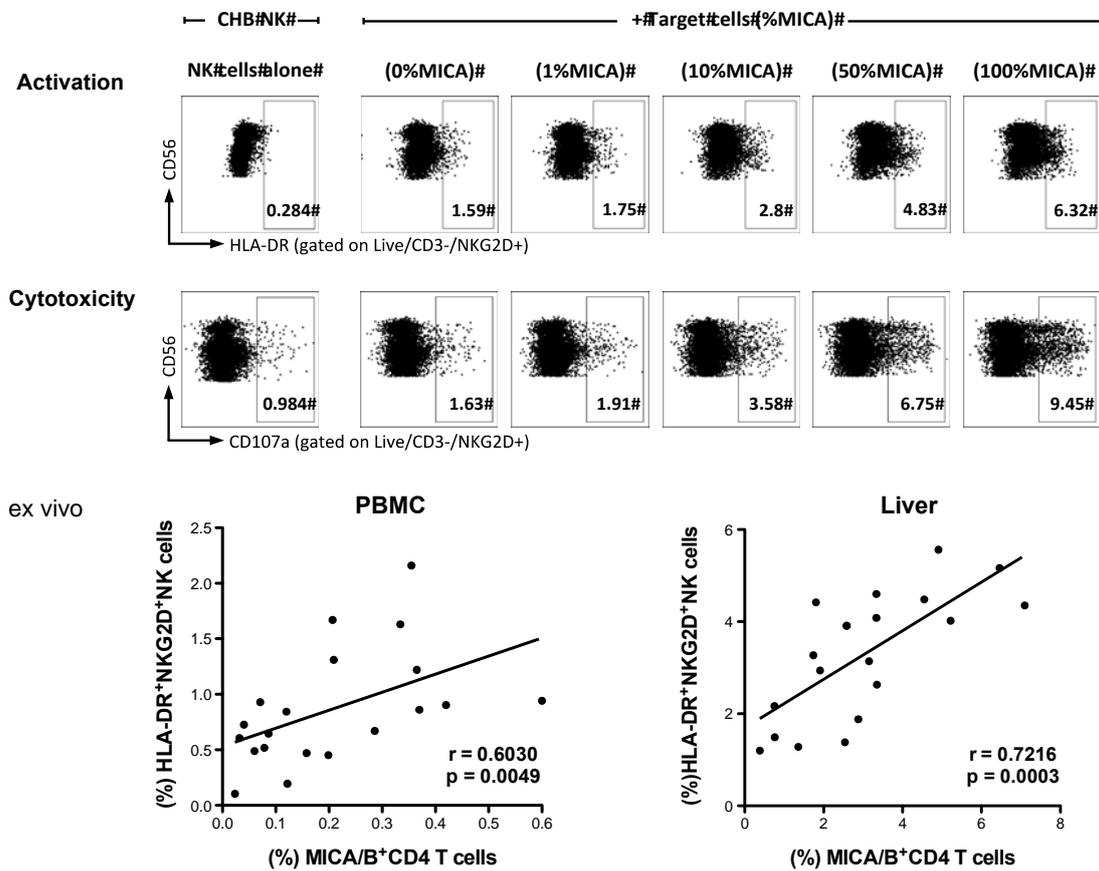
**結果五：慢性 B 型肝炎中 NKG2D 陽性 NK 細胞有顯著的激活特徵。**

慢性 B 型肝炎患者中，感染和發炎的肝臟環境會改變 NK 細胞表型和功能。為了評估 NK 細胞在慢性 B 型肝炎的激活狀態，我們比較周邊血液和肝臟得到的淋巴細胞中的 NK 細胞活化標記物(HLA-DR)。結果發現，HBV 感染肝臟內的 NKG2D 陽性 NK 細胞有顯著的激活特徵。



結果六：慢性 B 型肝炎中 NKG2D+ NK 細胞的活化和 CD4 T 細胞之 NKG2D-L (MICA/B) 的表現上有正相關關係。

肝臟內 NK 細胞被公認具有較顯著的激活反應及細胞毒性，但此機制尚未明確。為了確定 NKG2D-L 表現的細胞是否能夠帶動 NK 細胞激活及細胞毒性，在這裡我們以 MICA 轉染的 B 淋巴母細胞 (MICA C1R) 來證實此機轉。而在人體體外實驗中我們亦確認 NKG2D+ NK 細胞的活化和 CD4 T 細胞之 NKG2D-L (MICA/B) 的表現上有正相關關係。



## 心得及建議

在急性肝炎發作的慢性B型肝炎的患者中，T細胞上的 NKG2D-L 會驅動 NK 細胞的活化和細胞毒性，並進一步導致 HBV 專一性 T 細胞的抑制及功能缺失。這樣的交互作用可以視為體內病毒免疫制及肝組織損害的平衡反應。因此，設法緩解 HBV 感染肝臟的發炎，以減少 NK 細胞對 T 細胞的抑制進而改善並促進患者的病毒免疫，為控制此疾病重要的一環。

