

固有免疫在新生儿感染中的作用

汪 健

新生儿和婴幼儿的感染,包括细菌性脓毒血症,是人类面临的非常重要的健康问题,全球每年超过一百万人死于此疾病^[1,2]。事实上,感染是婴儿出生后头几天内死亡的主要原因。感染的发生率随孕周和起病时间的不同而不同,极低出生体重早产儿在生后 3~7 d 内重症感染有着很高的发生率和死亡率^[3,4]。为了降低感染的危害并改善健康状态,联合国已经制定出《千年发展目标》系列共 8 项,希望在 2015 年之前将 5 岁以下儿童的死亡率降低 2/3^[5]。

一、新生儿固有免疫的临床意义

固有免疫(innate immunity)是机体在种系发育和进化过程中形成的天然免疫防御功能,即出生后就已具备的非特异性防御功能,也称为非特异性免疫(non-specific immunity)。固有免疫在人类发育的每一个阶段都很重要,这是因为它不仅调节人体对于自身组织的免疫耐受,还通过 T 细胞和 B 细胞的相互作用产生免疫保护或者记忆性免疫,并提供早期非抗原特异性防护,以阻止感染的发展。在大多数情况下,TLR 刺激后第二信使信号(对于有效的固有免疫功能非常关键)的缺陷如 IL-1 受体活化激酶(IRAK-4)或者髓系分化因子 88(MyD88)缺陷,在出生后短时间内(生后即刻或生后头几个月)就出现了^[6]。

固有免疫效应细胞决定了宿主将如何对感染做出反应。特别指出的一点是,有效的固有免疫反应对于以保护性抗体形式出现的适应性免疫反应是非常重要的。由于体液和(或)记忆 T 细胞反应低下甚至缺如,疫苗诱导的抗体反应在新生儿不管是数量还是质量都显示明显下降^[2,5]。举个例子,出生后 3 周接种百日咳疫苗能有效诱导体液免疫反应,但给新生儿接种却不能产生足够的记忆反应。尽管疫苗对大多数常见病原体包括肺炎链球菌和流感嗜

血杆菌引起的肺炎是有效的,但是目前结合性疫苗的保护性反应需要经过多次接种才能达到长时间记忆的效应。重要的是,这些疫苗都用于 2~12 个月的婴儿,很少有疫苗用于刚出生时。只有 3 种疫苗可以在新生儿期产生重要的免疫效应,即卡介苗(BCG,减毒活疫苗)、B 型肝炎和口服脊髓灰质炎疫苗。进一步说,对一些特定的细菌或病毒,如引起婴儿广泛感染的呼吸道合胞病毒(RSV)仍然没有有效的疫苗。新生儿不断变化的免疫系统特征也提示我们,发展与不同年龄免疫功能特点相适应的疫苗非常重要。

二、固有免疫和新生儿脓毒血症

尽管新生儿脓毒血症只是新生儿感染中的一个小分支,但是每年有超过 1 000 000 例新生儿死于脓毒血症^[1,4]。根据出生后起病时间,新生儿脓毒血症可以分为两类:出生后 24 h 内发生的脓毒血症常与大肠杆菌或 B 族链球菌感染相关;相反,出生后 72 h 发生的脓毒血症多发生于极低出生体重儿,常与院内感染、凝固酶阴性表皮葡萄球菌感染相关。虽然通过我们的努力,重症监护和抗微生物治疗方面已经取得显著进步,但不管是早发的还是晚发的新生儿脓毒血症仍然有着较高的发病率和死亡率。

新生儿免疫反应低下,并且只有少数疫苗可以用于预防感染和(或)增强免疫反应,因此,新生儿易发生脓毒血症。问题是当我们试图将基于成人反应的原则和参数运用于新生儿,特别是在早产儿和低出生体重儿时,这些概念未必正确,另外,我们对于新生儿免疫反应的认识明显落后于对于成人免疫反应的认识。新生儿固有免疫反应的很多方面与新生儿脓毒血症的发生息息相关,这一点似乎已经很明确了,大家也已达成共识:相对于成人,新生儿应对纯化的 PRR 激动剂的 T_H1 极化/促炎反应相对低下。事实上,很多鼠的实验和临床研究都证实了脓毒血症模型中 T_H1 极化/促炎反应(TNF- α , IFN- γ , IL-12p70, IFN- α , IFN- γ)低下,同时 T_H2 极化(如 IL-6)增强,抗炎细胞因子(IL-10)产生增加^[7,8]。同样的,相对于成人,固有免疫细胞的吞噬功能显著

低下。另外,新生儿中性粒细胞产生细胞外诱捕网(neutrophil extracellular trap)能力低下,这是通过吞噬作用定位并包含病原体的重要机制^[9]。此外,新生儿适应性免疫反应似乎在新生儿脓毒血症中起较小的作用,自然偏向于 T_H2 反应。尽管这些观察者可能更加关注生命早期诱导产生保护性免疫反应的能力,我们现在已开始逐渐了解固有免疫系统对新生儿感染的影响,并且探索新的免疫刺激物能够产生强烈的反应,也许可以抓住问题的关键而成为新的治疗手段。

三、新生儿固有免疫信号通路

近年来,随着果蝇 Toll 蛋白的发现,人们发现在哺乳动物和人类也存在着一类与果蝇 Toll 蛋白相似的跨膜蛋白,即 Toll 样受体(toll-like receptor, TLRs),在免疫及炎症反应的信号传导中扮演重要的角色。人类 TLRs 家族至少有 11 个成员,各自识别特异的病原体相关模式分子,拥有特殊的细胞内信号通路,参与机体应对不同病原微生物入侵的免疫反应^[10]。在应对外来病原微生物分子的过程中,TLRs 介导的细胞内信号传递会导致促炎细胞因子基因的表达。各个 TLRs 在微生物之间分辨能力似乎是宿主对各种病原体防御特异性的决定因素,这种特异性可借助 TLRs 的相互作用来达到。由于 TLRs 是识别外来入侵病原微生物和活化宿主固有免疫系统的主要成份,TLRs 表达和信号传递的变化在脓毒血症中也发挥着重要的作用^[11]。

吞噬作用是宿主固有免疫抵御外来入侵病原微生物的另一个关键因素^[12]。由巨噬细胞引起的吞噬作用和随后的病原体降解在宿主应对微生物感染的固有免疫中发挥了枢纽的作用。巨噬细胞通过多种吞噬受体,如 $Fc\gamma$ 受体($Fc\gamma Rs$)、补体受体 3(CR3)检测到入侵病原体^[13]。上述受体与病原菌的结合激活了一系列细胞内信号通路,导致肌动蛋白细胞骨架动态和快速的再聚合(重组),这对吞噬细胞摄取病原微生物是非常必要的。吞噬过程是复杂的,包括吞噬体的形成和成熟,并受多种参与者如受体、受体蛋白激酶、效应蛋白、细胞支架的重排和 Rab GTP 酶类(Rab GTPases)的调节。吞噬体是一种在吞噬过程中在胞浆膜上新形成的细胞器,吞噬体的成熟被看作是吞噬过程的结束,内化的凋亡细胞或细菌被有效降解。一个颗粒(包括凋亡细胞和/或病原微生物)被宿主吞噬细胞如巨噬细胞或中性白细胞内化后,通过被称为吞噬体的膜结合结构酸化增加而成熟^[14]。这些吞噬体在成熟以及最

终与酸性的溶酶体结构相溶合的过程中需要不同的蛋白如 Rab GTPases 来参与。吞噬体的成熟化在免疫系统的稳定、应对外来入侵细菌病原体和维持正常肠道菌丛的免疫反应中发挥着重要的作用。

最近的研究表明,TLRs 在通过上调巨噬细胞的吞噬活力和促进细菌的清除中发挥重要的作用^[15]。在微生物病原体的吞噬过程中,表面的 TLRs 包括 TLR4 和 TLR2 被募集到吞噬体,并被微生物细胞壁成分活化^[16,17]。即使 TLR4 和 TLR2 的刺激是否调节吞噬体的成熟仍然是一个尚有争论的问题,TLRs 的结合被证明可通过 IRAK-4 和 P38 激活 MyD88 依赖的信号,导致许多吞噬基因表达程序的上调^[18-20]。更近的研究发现,TLR2 参与小胶质细胞(一种明确位于大脑的吞噬细胞)对淀粉样蛋白 β 的吞噬过程和巨噬细胞对真菌的吞噬过程^[21,22]。Neal 等研究发现,野生型小鼠革兰氏阴性细菌的内吞以及细菌移位通过肠上皮到达肠系膜淋巴结远高于 TLR4 突变型的小鼠^[23]。这些结果提示 TLRs 不仅参与宿主炎症反应的调节,同时也参与调控细胞介导的吞噬作用。

我们针对婴幼小鼠和成年小鼠吞噬细胞吞噬体成熟是否存在差异开展实验研究,结果发现:应对细菌感染,婴幼小鼠固有的与吞噬相关的抗菌功能存在缺陷,表现为中性粒细胞趋化和募集至感染部位的能力下降,吞噬体的成熟和杀菌能力下降^[24]。

总之,新生儿固有免疫仍然没有被完全了解清楚,这领域的转化研究集中在两个方面:新生儿固有免疫调节使其改善免疫不成熟状态;开发出生后数月内使用的安全有效的佐剂疫苗以保护新生儿/婴儿。关于固有免疫的特性和评估,TLR 激动剂或减毒活疫苗(如卡介苗 BCG)益处的研究正在进行中,这些研究致力于将免疫反应调节剂和佐剂疫苗进一步用于易感人群。

参考文献

- 1 Lawn JE, Cousens S, Zupan J, et al. 4 million neonatal deaths: when? Where? Why? [J]. Lancet, 2005, 365 (9462):891-900.
- 2 Sanchez-Schmitz G, Levy O. Development of newborn and infant vaccines[J]. Sci Transl Med, 2011;3:90ps27.
- 3 Lukacs SL, Schoendorf KC, Schuchat A. Trends in sepsis-related neonatal mortality in the United States[J]. 1985 - 1998. Pediatr Infect Dis J, 2004, 23(7):599-603.
- 4 Wynn JL, Wong HR. Pathophysiology and treatment of septic

- shock in neonates [J]. Clin Perinatol, 2010; 37 (2): 439–479.
- 5 PrabhuDas M, Adkins B, Gans H, et al. Challenges in infant immunity: implications for responses to infection and vaccines [J]. Nat Immunol, 2011, 12 (3): 189–194.
- 6 Picard C, von Bernuth H, Ghandil P, et al. Clinical features and outcome of patients with IRAK-4 and MyD88 deficiency [J]. Medicine (Baltimore), 2010, 89 (6): 403–425.
- 7 Sadeghi K, Berger A, Langgartner M, et al. Immaturity of infection control in preterm and term newborns is associated with impaired toll-like receptor signaling [J]. J Infect Dis, 2007, 195 (2): 296–302.
- 8 Yan SR, Qing G, Byers DM, et al. Role of MyD88 in diminished tumor necrosis factor alpha production by newborn mononuclear cells in response to lipopolysaccharide [J]. Infect Immun, 2004, 72 (3): 1223–1229.
- 9 Yost CC, Cody MJ, Harris ES, et al. Impaired neutrophil extracellular trap (NET) formation: a novel innate immune deficiency of human neonates [J]. Blood, 2009, 113 (25): 6419–6427.
- 10 Salomo R, Martins PS, Brunialti MK, et al. TLR signaling pathway in patients with sepsis [J]. Shock, 2008, 1: 73–77.
- 11 Tsujimoto H, Ono S, Majima T, et al. Differential toll-like receptor expression after ex vivo lipopolysaccharide exposure in patients with sepsis and following surgical stress [J]. Clin Immunol, 2006, 119 (2): 180–187.
- 12 Scott CC, Botelho RJ, Grinstein S. Phagosome maturation: a few bugs in the system [J]. J, 2003, 193 (3): 137–152.
- 13 Stuart LM, Ezekowitz RA. Phagocytosis: elegant complexity [J]. Immunity, 2005, 22 (5): 539–550.
- 14 Kinchen JM, Ravichandran KS. Phagosome maturation: going through the acid test [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2008; 9 (10): 781–795.
- 15 McCoy CE, O'Neill LA. The role of toll-like receptors in macrophages [J]. Front Biosci, 2008, 13: 62–70.
- 16 Ozinsky A, Underhill DM, Fontenot JD, et al. The repertoire for pattern recognition of pathogens by the innate immune system is defined by cooperation between toll-like receptors [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97 (25): 13766–13771.
- 17 Underhill DM, Ozinsky A, Hajjar AM, et al. The toll-like receptor 2 is recruited to macrophage phagosomes and discriminates between pathogens [J]. Nature, 1999, 401 (6755): 811–815.
- 18 Doyle SE, O'Connell RM, Miranda GA, et al. Toll-like receptors induce a phagocytic gene program through p38 [J]. J Exp Med, 2004, 199 (1): 81–90.
- 19 Blander JM, Medzhitov R. Regulation of phagosome maturation by signals from toll-like receptors [J]. Science, 2004; 304 (5673): 1014–1018.
- 20 Yates RM, Russell DG. Phagosome maturation proceeds independently of stimulation of toll-like receptors 2 and 4 [J]. Immunity, 2005; 23 (4): 409–417.
- 21 Chen K, Iribarren P, Hu J, et al. Activation of Toll-like receptor 2 on microglia promotes cell uptake of Alzheimer disease-associated amyloid beta peptide [J]. J Biol Chem, 2006, 281 (6): 3651–3659.
- 22 Ther K, Torosantucci A, Brakhage AA, et al. Phagocytosis of Aspergillus fumigatus conidia by murine macrophages involves recognition by the dectin-1 beta-glucan receptor and Toll-like receptor 2 [J]. Cell Microbiol, 2007, 9 (2): 368–381.
- 23 Neal MD, Leaphart C, Levy R, et al. Enterocyte TLR4 mediates phagocytosis and translocation of bacteria across the intestinal barrier [J]. J Immunol, 2006, 176 (5): 3070–3079.
- 24 Zhang Q, Coveney AP, Yu S, et al. Inefficient antimicrobial functions of innate phagocytes render infant mice more susceptible to bacterial infection [J]. Eur J Immunol, 2013, 43 (5): 1322–1332.

• 消息 •

关于对来稿推荐信及更改作者的要求

1. 来稿必须附上第一作者单位的推荐信,并加盖公章,可扫描后电子邮件发来,也可打在印件上盖章后邮寄至编辑部。

2. 介绍信的内容必须包括该稿作者姓名及文章全称,要求稿件内容真实;不涉及保密;无一稿两投;作者署名及顺序无争议。

3. 在稿件处理期间,因故增减作者或必须更改作者署名顺序者,需由第一作者出具书面说明,变更前后所有作者签名,由原出具投稿推荐信的单位证明,并加盖公章。

另外,论文若属国家自然科学基金项目或军队、部、省级以上重点课题,请写出课题号,并附由推荐单位加盖公章的基金证书复印件。