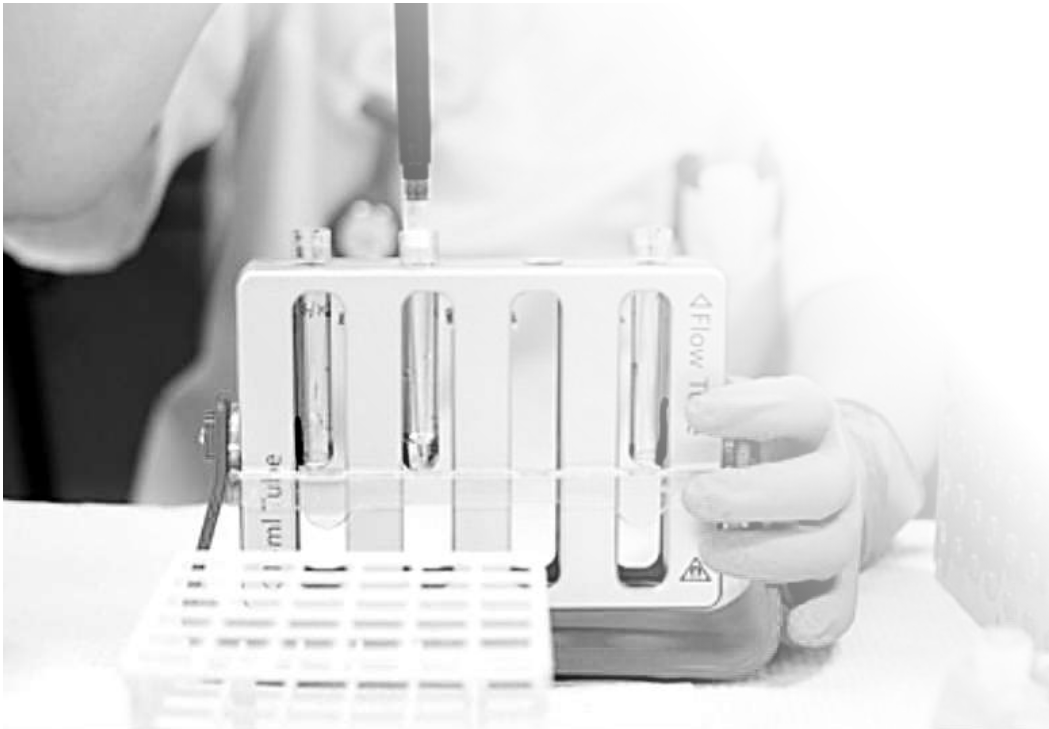


G 环球科技



灾难性的免疫风暴

撰文 岩崎明子(Akiko Iwasaki) 帕特里克·翁(Patrick Wong) 翻译 刘晓嘉

我们对21世纪的记忆将会被新冠肺炎疫情分为两部分:疫情之前和疫情之后。数十年来,全球公共卫生系统一直警告可能会有一场致命的全球性疫情,但这还是没能阻止新冠肺炎疫情的暴发。2020年初,许多美国人还认为病毒离自己很遥远,不会受到感染。盲目的自信让他们忽略了一些事实:此前出现的冠状病毒曾扩散到多个洲,包括严重急性呼吸综合征冠状病毒(SARS-CoV)和中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV),其中MERS-CoV直到现在还没有完全根除。美国公共卫生部门没有准备系统性的应对措施,而各地区采取的应对措施差异较大。一些城市和州政府要求民众居家隔离,出门时佩戴口罩;其他一些城市只是期望疫情快点结束,这是美国疫情出现失控的原因之一。

1 免疫与炎症

尽管美国国家层面应对这次疫情的措施很混乱,但医学专家和科研人员早在美国出现确诊病例之前,就启动了应对新冠病毒的措施。现在,全球科学家已对新冠病毒及其影响有了清晰的认识。我们开始理解为什么在不同患者身上,新冠病毒造成的症状严重程度不同:有些人根本没有任何症状,有些人会咳嗽或发烧,而最严重的患者还会出现危及生命的肺炎和急性呼吸窘迫综合征(ARDS)。

目前,研究人员已了解到严重急性呼吸综合征冠状病毒(SARS-CoV)和中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV)等冠状病毒可以诱发免疫系统失调,引发的炎症会导致ARDS和一系列危险症状。临床测试表明,重症患者血液中免疫蛋白IL-6、TNF- α 和CRP的含量很高。在新冠肺炎流行的前几个月内,受欢迎的广谱免疫抑制药物(如皮质类固醇药物泼尼松、地塞米松)展现出的疗效有限,这证实了一些猜测,在症状严重的

患者体内,免疫系统已经处于过度炎症状态。在之前的冠状病毒暴发时,这些抗炎疗法通常被用来治疗重症感染者。

我们现在了解到,在一部分新冠肺炎患者体内,一场激烈的免疫反应正在损害人体,导致血栓、心脏损伤甚至是器官衰竭。而症状最严重的患者需要在重症监护室接受监护治疗。标准的类固醇疗法已经不足以治疗重症新冠肺炎患者,他们需要更具针对性的治疗方法。而我们急需检测组织样本中的生物标志物,以预测疾病的发展过程,例如评估一位轻症患者发展出重症的可能性。

2 先天免疫失控

为了开发生物标志物和药物,科学家需要深入理解新冠病毒如何与人体细胞相互作用,以及免疫系统如何应对病毒的人侵。去年春季,我们实验室与多个研究团队合作,开始研究新冠重症患者体内的免疫失调。我们知道为了应对病原体的入侵,人体免疫系统精心设计了一连串复杂的免疫反应。但如果这一过程中任何免疫反应在错误的时间出现,都会导致过度的炎症反应,从而损害人体自身组织。

在应对病毒、细菌、真菌和其他病原体入侵时,免疫系统既能产生快速的应急反应,也会开展响应较慢但持续时间长的适应性免疫反应。“先天”免疫系统扮演了第一个响应者。一些先天免疫细胞内部的受体能感知入侵的病原体,释放细胞因子(一种蛋白质)激活信号级联反应。这些细胞因子能提醒周围的细胞进行防御,促使被感染的细胞凋亡,以及促进其他细胞因子的产生以增强警报。它们还会召集一些白细胞,对病原体建立更持久的免疫力。在一两周的时间

内,适应性免疫系统会变得活跃,精确靶向病原体的治疗性抗体以及杀死病原体的T细胞数量都会明显增加。在大多数新冠肺炎患者体内,先天免疫系统会正常发挥作用,杀灭入侵的新冠病毒。但约有5%的患者的免疫系统并未按照预期反击病毒。当这一精心安排的级联信号传导出错时,先天性免疫细胞就会产生过量的细胞因子。这种现象类似于在其他医疗情况中出现的“细胞因子风暴”,这也是导致新冠肺炎重症的因素之一。最新研究表明,在大多数情况下,炎症反应并不会达到产生细胞因子风暴的程度,但它仍会对患者产生威胁。它可能引发ARDS,造成肺脏或其他组织的持久损伤。炎症反应能促进纤维蛋白(fibrin)产生,导致凝血,严重时还会导致血管渗透性增加,引发呼吸衰竭。病毒能利用人体细胞内的细胞器进行繁殖。一种先天性免疫策略能削弱病毒的繁殖能力,但它对新冠病毒似乎不起作用。最近几个月,研究人员潜

心研究了一类名为干扰素(Interferons)的细胞因子。干扰素作为第一道防线,可以阻止病毒在细胞内复制的各个步骤。免疫系统通过快速产生I型干扰素(IFN-1),可以控制病毒并抑制任何轻症以上的疾病进展。但一些研究显示,老年人或暴露于大量病毒下的患者的免疫反应可能会滞后,使得病毒继续繁殖。当干扰素最终到达现场时,它们可能会反应过度,刺激多种细胞因子大量产生,导致炎症和严重的症状。因此,监测干扰素的反应能提供关键的依据,用于判断新冠肺炎是否会发展为危及生命的疾病,同时也为治疗感染提供了线索。

不过,免疫反应可能出现多种形式的失控。例如,新冠病毒可能会阻止人体制造干扰素。或者因为遗传因素,患者只能产生少量干扰素。另一种可能是,某些人的免疫反应特别不稳定,甚至会产生针对自身干扰素的抗体。我们和其他研究者正在调查,这些“自身抗体”是否为患者出现长期症状的原因。检测“自身抗体”可以作为一种有效的途径,预测患者病情是否会恶化。目前,相关临床试验已经开始,但结果还尚不明确。

3 异常的炎症反应

在此前的冠状病毒暴发时,细胞因子风暴是导致危重症的主要原因。因此当新冠病毒出现时,科学家很自然地怀疑类似的机制在发挥作用。在新冠大流行初期,医生确实检测到患者体内炎症因子升高,但这些蛋白的数量以及后续的炎症状态,与传统的细胞因子风暴并不相同。

这些患者体内活跃着高水平的细胞因子,作用于不同的受体细胞时,可能会导致一系列结果,其中一些对机体有害。一些细胞因子(如IL-6、TNF- α 、IL-1 β 和IL-12)会促进炎症反应和组织损伤。美国西奈山伊坎医学院的黛安娜·玛丽·德尔·瓦尔和同事报道,纽约市近1500名患者血液中某些细胞因子的水平显著升高。该团队的研究结果表明,细胞因子IL-6和TNF- α 是两种可靠的指标,能够预测疾病的严重程度以及是否危及生命。

我们在追踪的其他患者中也发现了相同的现象。此外,我们实验室和其他研究者对比了典型的细胞因子风暴,在患者的细胞因子谱中识别出一些含量异常高的蛋白质。我们观察到细胞因子IL-5和IL-17的水平很高,但它们并不参与常规的抗病毒免疫反应。相反,这些细胞因子会引发错误的免疫反应——该反应更适合应对寄生虫和真菌感染。我们尚未了解这些反应是仅仅转移人体用来对抗病毒的资源,还是会对组织造成损害。

在一些新冠肺炎患者体内,我们还发现了趋化因子水平升高的现象。趋化因子是一类细胞因子,可将免疫细胞引导至需要它们的地方。高浓度的趋化因

子CCL2、CCL7、CXCL9会集中在感染部位,吸引和集结免疫细胞。造成局部损伤的不仅有细胞因子和其他免疫信号分子,趋化因子还号召整个机体的免疫细胞加入战争。为了确定组织损伤的原因,一些研究小组决定检查血液和肺脏中的细胞。在免疫学领域,我们通常会使用流式细胞术中的荧光抗体,来标记血液中的某些细胞类型。与健康的捐献者相比,我们检测到患者体内循环的免疫细胞数量有一个巨大的变化:两种先天免疫细胞(单核细胞和中性粒细胞)异常丰富。在作为对照的健康组中,单核细胞在外周血单核细胞中的占比约为10%~20%,这是一类受到广泛研究的白细胞。但我们发现,很多新冠肺炎患者的单核细胞水平能增长到正常值的3倍以上。

作为先天免疫系统中不可或缺的一部分,单核细胞通常在血液中巡逻,并首先到达“现场”消灭或隔离病原体。当它们感受到来自病原体的威胁时,会分化为巨噬细胞和树突状细胞(一种特定类型的白细胞)。巨噬细胞能消化病原体和细胞碎片,而树突状细胞能识别和标记病原体,以便其他免疫细胞展开攻击。

为了确保免疫系统不会过度反应,单核细胞的水平通常会受到严格的调控,但在新冠重症患者中,这种控制失灵了。最新的病理学结果是,单核细胞和巨噬细胞浸润了患者的整个肺部。深圳国家感染性疾病临床医学研究中心的廖明凤等人观察了新冠重症患者的肺部样本。他们通过支气管肺泡灌洗技术收集了患者下呼吸道液体中的细胞,发现了

大量的单核细胞和巨噬细胞。这两种细胞表达的细胞因子与严重炎症中出现的细胞因子一致。假设这些细胞产生的大量细胞因子与过度免疫导致的组织损害有关,那通过一些干扰措施阻止它们产生炎症反应,或许能够预防严重的感染。

如果细胞因子确实是导致重症新冠肺炎的主要原因,那么设法减少患者体内的细胞因子,将是一个合理的治疗方法。有一些药物可以做到这一点,例如托珠单抗(Tocilizumab),它是细胞因子IL-6的受体阻断药物。但遗憾的是,到目前为止几乎没有临床试验证实托珠单抗可以改善治疗效果。更多的科学家和临床医生不再仅仅关注细胞因子风暴,而是寻找一些更全面的解释来描述新冠肺炎中出现的破坏性炎症反应。

一种肽类或小分子蛋白(缓激肽,Bradykinin)的存在,或是新冠肺炎患者出现免疫异常的另一个原因。美国橡树岭国家实验室的迈克尔·R.加文重新分析了患者的下呼吸道样本并提出了一种假设,即缓激肽可能类似于细胞因子,能诱发炎症反应。实际上,炎症性细胞因子会加剧“缓激肽风暴”。过量的缓激肽可能会导致血管大幅扩张,这能解释新冠肺炎患者出现的多种非常规症状,例如心律不齐和心脏骤停。研究人员还发现,危重症患者体内的透明质酸会大量增加,这种分子聚集后会吸收大量水分。尸检结果表明,上述症状加上血管中渗出的液体,是导致他们死亡的原因。

缓激肽在新冠肺炎中的作用还有待进一步确认。虽然直接检测这种肽非常困难,但这是一项探索性研究成功证实,通过缓激肽受体抑制剂艾替班特(Icatibant)降低缓激肽水平,可以减轻新冠重症患者的症状,表明这种疗法具有一定的可靠性。

4 失控的“诱捕网”

患者血液中的缓激肽还会参与其他炎症反应通路。嗜中性粒细胞(Neutrophils,白细胞的一种)能吞噬病原体和刺激缓激肽的产生。包括我们在内的许多实验室都发现,一部分新冠肺炎患者的血液中存在大量的嗜中性粒细胞。新冠患者血液中高水平的细胞因子IL-8,会召集嗜中性粒细胞聚集到肺脏等感染位点,促进这些细胞的增殖。患者在住院当天血液中的嗜中性粒细胞升高,可作为后续转入ICU的可靠预测方式。

近期的一些研究揭示了嗜中性粒细胞为何是加重新冠肺炎症状的罪魁祸首之一。这些细胞会制造中性粒细胞胞外诱捕网(Neutrophil Extracellular Traps, NET),这一网状结构由抗菌蛋白、溶菌酶和DNA组成,能控制和杀灭病原体。但不幸的是,NET也会损坏人体正常组织。

德国埃尔朗根-纽伦堡大学的莫里茨·莱普克斯(Moritz Leppkes)和同事在检测肺部解剖样本时,发现聚集的NET堵住了肺部的小血管。在肾脏和肝脏样本的血管中,他们也发现了NET。除了造成血管堵塞,NET还会降解抑制血液凝血的蛋白物质,导致一些危重症患者出现严重的血栓。加拿大麦吉尔大学的科学家意识到这些聚合物可能导致了新冠肺炎中的一些症状。他们开展了一项先导性研究,证实一种囊性纤维化药物可以切开NET中的DNA。

这些多样化的研究表明,新冠病毒可以使用免疫系统攻击人体。在新冠病毒的影响下,先天免疫系统内的细胞因子、单核细胞和嗜中性粒细胞等会失控,而适应性免疫系统也会受到影响。与健康个体相比,一些新冠患者的血液有一个非常明显的变化——T细胞减少了,而T细胞是长期适应性免疫的关键组成部分。

研究人员观察到新冠肺炎轻症患者和重症患者中的T细胞行为并不相同。通常情况下,T细胞群能靶向特定的病原体或抗原,为了保护机体,它们的数量会增多,但重症患者体内并不存在这种情况。

T细胞具有两种类型,一种可直接清除被病原体感染的细胞,而另一种能接收来自细胞因子的信号,调节对病原体的免疫反应。在住院的新冠患者体内,两种类型的T细胞都减少了。虽然在其他呼吸道感染中也会出现这种现象,但在一些新冠肺炎患者体内,T细胞水平降低的现象会持续异常长的时间,甚至长达数周。通过研究其他呼吸道感染病毒,我们了解到T细胞可以从血液迁移到感染部位。当患者感染这些病毒时,体内的一些趋化因子水平会升高,例如诱导T细胞迁移到感染部位的CXCL9和CXCL10。尽管我们在新冠肺炎患者体内发现了大量趋化因子,但并没有发现与之对应数量的T细胞。

大量研究分析了新冠重症患者的肺部。研究人员利用单细胞基因测序方法(single-cell RNA-seq)鉴别了几种类型的免疫细胞,其中包括多种T细胞。但这一发现并没有给出完整的解释。无论是这些肺部感染实验,还是对多种器官的尸检,都不能解释为什么血液中T细胞总数会下降。这些失踪的T细胞很可能就是简单地死亡了。一些研究人员确实发现了支持这一结论的证据。

那T细胞是如何消失的呢?新冠肺炎患者体内有很多T细胞携带受体,这意味着它们容易在早期死亡。另一种可能性是,骨髓可能无法产生足够的前体细胞来发育成T细胞,从而使得成熟T细胞

的总数减少。一些关于衰老和其他疾病的研究已充分证实,细胞因子可调节骨髓生产T细胞。尽管在新冠肺炎中发现了相同的炎症性细胞因子,但无法证实这些细胞因子和T细胞之间存在相似的关系。此外,病毒也可能直接杀死T细胞。而测试这些病理假设,将可能为提升患者的T细胞数量提供思路。

许多在新冠肺炎中出现的严重临床症状,包括细胞因子、能渗透入肺部并产生NET的炎症细胞显著增加,以及白细胞数量减少等,也会出现在其他严重的病毒性呼吸道感染中。但新冠病毒的可怕之处在于,它在无症状或轻微症状阶段就极具传染性。

在2003年SARS-CoV流行时,在症状出现的10天后,病毒才会到达载量高峰。而MERS-CoV载量也是在症状出现的7-10天,才达到峰值。但新冠病毒的载量在症状出现3-5天后,就达到了最大值,甚至在感染者出现症状之前就处于极高的水平。(对于大多数患者而言,在感染病毒后4-5天就会出现很高的病毒水平。)这也意味着被感染的人在出现最微小的症状之前,可能就已传播了大量的病毒。

在呼吸道病毒中,新冠病毒导致的一系列症状也十分特别。新冠病毒可能会导致嗅觉丧失、脑雾(大脑难以形成清晰思维和记忆的现象)、血液凝集、胃肠道问题和心血管问题,甚至是特殊的脚趾症状。新冠病毒还可以感染大脑神经元。即使在新肺炎康复者体内,组织损伤也会持续数月。(这并不是全部的病理状况。构成血管的3种细胞(内皮细胞、周细胞和血管平滑肌细胞)会围绕所有组织,它们均含有ACE2受体,而这种受体是新冠病毒进入细胞的通道,能为病毒打开入侵的大门。细胞因子和缓激肽风暴会损害由这些细胞组成的所有组织,使情况变得更加糟糕。

即使之前流行的冠状病毒(如SARS-CoV)能利用相同的受体感染机体,引起细胞因子风暴和ARDS,但很少有像新冠病毒这样导致严重肺外损伤的报道。这些病毒之间具有80%的遗传相似性,因此可以合理地推测另外20%的基因组造成了这些冠状病毒的差异。

过去几个月的发现和创新性研究,证明了科学家和医学专业人士的奉献精神。科学界和医学界也从未像现在这样团结一致,而且治疗方法和措施从实验室到临床的转变,也从未有过像现在一样的速度。无论数百项与新冠肺炎相关的治疗试验成功与否,这些结果将继续发挥作用。而创新性研究也将会继续下去,以应对未来的流行病。

(岩崎明子是耶鲁大学免疫学系的教授,也是分子细胞与发育生物学教授和霍华德·休斯医学院的研究员。帕特里克·翁是耶鲁大学岩崎实验室的研究生)

疫情下的学术研究

2020年3月1日,纽约市确诊了第一例新冠肺炎病例,这最终演变成一系列毁灭性的社区感染。3月18日,我们在仅128千米外的康涅狄格州纽黑文市等待着耶鲁大学确认封锁。在很大程度上,我们的初期经历能反映封锁后其他美国人的经历。大学生立刻停课回家,研究生和博士后也被禁止进入实验室。学术界各个级别的科学家几乎同时开始自嘲并哀叹,研究生活与个人生活被无形的界限分隔开了。而那些选择将研究方向转为新冠病毒的科学家们消除了这一界限。患者人数的急剧上升和病毒的高度传染性,不再允许科研工作者有丝毫迟疑,悠闲地查阅文献和设计实验都变得十分奢侈。我们也迅速调整研究方向,从对癌症、疤疹和流感的免疫反应转为揭示免疫反应在新冠肺炎中的作用。

作为专门研究抗病毒免疫反应的实验室,我们也准备好提供自己的见解,或者至少可以提供我们对免疫系统的了解。我们实验室开始与耶鲁纽黑文医院的多位医生、护士和管理人员合作。当第一批患者开始接受治疗时,我们得以研究新冠病毒致病的原因。

我们新成立了一个研究团队——针对冠状病毒的医疗和公共卫生行动检查小组(IMPACT)。我们每天进行大量的PCR实验(多聚酶链反应),以增强对所在地区疑似病例的检测能力。样品在下午早些时间送到,不到12小时,我们就能够获得结果。尽管当时我们还没有意识到,这一检测速度将会成为实验室研究的新标准,而这只是我们研究新冠病毒的第一步。

因为需要经过慎重的考虑,学术研究通常较为缓慢。但在新冠肺炎期间,我们进行研究的时间很短,但却需要同样的谨慎。我们在PCR测试方面的工作,逐渐发展成了理解新冠肺炎患者体内免疫细胞变化的综合实验。我们每天接收大量患者的血液,然后在数小时内将这些样本转换成数据。大约每4天,我们就会从每位患者那里取一次样,并在数个小时的时间内,将这些每日汇总的数据汇集成为免疫系统抵抗新冠病毒的全面记录。最重要的是,我们正在研究严重感染演变成致命性感染的具体原因。

与此同时,世界各地的实验室都在进行类似的实验。正如人们所预期的,这些实验可以生成可相互比较的数据,在更多情况下,这些数据是相互冲突的。但在治疗病人时,通过一个实验室的研究验证另一个实验室的发现,以及其他实验室在此基础上进行后续研究,这一过程是极其重要的。全世界的科研工作者都认为,此次疫情对蓬勃发展的科学事业是一次考验。

此次疫情暴发还改变了我们分享研究成果的方式。科学家们无须等待数月才能在同行评审期刊上发表成果,通过诸如BioRxiv和MedRxiv之类的预印本平台,他们就可以迅速分享自己的发现。科学家能实时进行实验信息和思路的快速交换,而这一夜之间改变了学术出版的惯例。新冠肺炎疫情给基础的科学研究带来了根本性转变。

