

肝脏免疫系统在酒精性肝损伤中的作用启示*

李守超 袁 丁 王洪武[△]

(三峡大学医学院 湖北 宜昌 443002)

摘要 酒精性肝病的致病因素是单一,但其发病机制复杂,目前尚不完全清楚。肝脏免疫系统被认为是独特的免疫系统,其作用越来越引起重视。肝内既有参与外周循环的淋巴细胞,也有长期定居于此的免疫细胞。加上肝脏解剖结构和血液循环的特殊性决定了肝脏独特的免疫微环境。研究肝脏免疫系统在酒精性肝病发病机制的作用,将有助于进一步阐明酒精性肝病发病机制,为酒精性肝病的预防和治疗提供新的靶点。

关键词: 肝脏 免疫系统 酒精性肝病

中图分类号 R392.9 R575.1 **文献标识码**: A **文章编号**: 1673-6273(2012)04-748-03

The Role of Hepatic Immune System in Alcoholic Liver Injury*

LI Shou-chao, YUAN Ding, WANG Hong-wu[△]

(Medical College of China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

ABSTRACT: Alcoholic liver disease pathogenesis factor is single, but its pathogenesis complex, still, it is not entirely clear. Recently, the liver is considered a unique immune system which consist of peripheral circulation lymphocytes and hepatic resident immune cells. Moreover, liver anatomic structures and blood circulation form the liver unique immune microenvironment. Study the role of liver immune system in alcoholic liver disease pathogenesis, will help to further clarify alcoholic liver disease pathogenesis and provide new targets for the prevention and treatment of alcoholic liver disease.

Key words: Liver; Immune system; Alcoholic liver disease

Chinese Library Classification (CLC): R392.9 R575.1 **Document code**: A

Article ID: 1673-6273(2012)04-748-03

酒精性肝病 (alcoholic liver disease, ALD) 是由于长期大量饮酒导致的中毒性肝损伤,可表现为脂肪肝、酒精性肝炎、酒精性肝纤维化和酒精性肝硬化。在西方国家是导致肝硬化的最主要原因,也是十大常见致死病因之一^[1]。在我国,近年来随着国内生活水平的日益提高,人们的工作生活节奏的加快,酒精消耗量显著增长,由酒精所导致肝损伤的发病率呈逐年上升趋势。酒精已成为继病毒性肝炎之后导致肝损害的第二大病因^[2]。关于 ALD 的发病机制目前广为接受的理论是 Day 和 James 等提出的“二次打击”学说^[3],即酒精是肝细胞功能紊乱,对损伤性物质敏感度上升,并诱发“再次打击”物质——炎症因子氧化应激等加重了肝细胞的损伤,导致 ALD 产生。而近年来研究表明,肝脏作为特殊免疫系统,在 ALD 发病中发挥了重要作用,认识肝脏免疫系统的作用将有助于进一步解释 ALD 的发病机制。

1 肝脏免疫系统的独特性

肝脏是一个独特的器官,人体最大的代谢和解毒器官,它含有 600 多种酶进行着 500 多种生化反应,其功能多达 2500 种^[4]。但同时肝脏也作为一个免疫器官的观点尚有待接受。其独特性表现在三个方面:①双重血供:肝脏是人体内最大的实体脏器,其拥有双重血供系统。正常肝脏血供 70-75% 的来自门脉

系统,门静脉收集胃肠脾胰的血液,其中食物和细菌抗原丰富。余下 25% 的血供来自肝动脉系统^[5]。②复杂的免疫微环境:肝脏的免疫应答之所以复杂,还在于肝血窦不同于毛细血管,其内皮细胞的不连续连接,相互之间形成无基底膜的窗孔。窗孔大小受局部微环境药物、细胞因子等因素精细调控^[6]。每 100 克肝组织每分钟接受循环血液是 120ml,在肝血窦流速缓慢,抗原丰富,血液中免疫细胞都可以与之充分接触,并通过窗孔与肝实质细胞进行接触,从而进行多样化的相互作用,包括免疫清除和免疫耐受的发生^[7]。③固有的免疫细胞:肝脏血液循环丰富,不仅含有来自外周的源源不断循环的免疫细胞,还含有在进入肝脏分化成熟或长期定居的庞大的免疫细胞群,肝脏的自然杀伤细胞、自然杀伤 T 细胞、树突状细胞、T 淋巴细胞、调节性 T 细胞、B 淋巴细胞、枯否细胞、星状细胞等等,构成纷繁复杂的天然和获得性免疫应答网络^[8]。当富含抗原的血液进入肝脏,通过肝窦网络,被抗原提呈细胞和淋巴细胞所获取,随之展开一系列极其复杂的免疫应答过程,在调整免疫平衡,在调节肝脏损伤、纤维化和再生中发挥重要作用^[9-10]。

2 肝内 T 细胞免疫

T 淋巴细胞对肝细胞的直接影响主要是死亡受体途径介

* 基金项目:湖北省自然科学基金 (2010CDB10702)

作者简介:李守超 (1984),男,硕士研究生,主要从事药理学研究 电话:15997615235 E-mail: zuibanyue@126.com

[△] 通讯作者:王洪武 (1977-),男,博士,副教授,硕士生导师。主要从事中药药理学和肝脏免疫学

电话:13697275008, E-mail: hongwuwang@126.com

(收稿日期:2011-06-24 接受日期:2011-07-18)

导的凋亡效应。来自门静脉的血液携带大量抗原物质,进入肝血窦后血流变缓慢,抗原物质和淋巴细胞充分接触,刺激 T 淋巴细胞的活化。

TNF α 和 FaL 是 T 淋巴细胞活化后主要的效应因子。研究发现 CD8⁺ 和 CD4⁺T 淋巴细胞在慢性酒精性肝病患者体内坏死灶和小叶内炎症区大量聚集,其数量的异常增多与肝小叶的坏死和纤维化的进展相一致,而且这些淋巴细胞处于激活或记忆状态,其释放促炎因子的能力显著增强^[11-13]。酒精可以激活肝内 T 淋巴细胞从而大量产生 TNF- α , 后者是引起 ALD 的重要细胞因子,分为膜型及分泌型两种,其一方面通过死亡受体途径活化 Caspase-8,进而活化 Caspase-3,介导肝细胞凋亡,而且进一步激活肝内巨噬细胞,释放 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 等大量促炎因子,形成瀑布效应。另一方面,分泌型 TNF- α 可活化神经鞘磷脂酶,抑制线粒体呼吸链,使线粒体活性氧(ROS)升高,直接破坏肝细胞膜,而使用抗 TNF- α 抗体可以显著减轻酒精性肝损伤的程度。另外肝脏非特异性 CD8⁺T 细胞在肝血窦激活,高表达 FasL,通过 FasL-Fas 系统来攻击肝细胞,导致肝细胞凋亡^[14]。但是酒精性肝病的 T 细胞免疫中,颗粒酶和穿孔素是否发挥了作用尚未清楚。

3 Th1/Th2/Th17 平衡

目前对 Th1/Th2/Th17 平衡在 ALD 中的作用尚未完全清楚。一般认为在酒精性肝炎以 Th1 反应为主,在酒精性肝病静息期以 Th2 反应为主。研究发现患者肝脏微环境中,大量激活肝脏的 CD4⁺T 细胞,启动对肝脏脂质过氧化物源性抗原的免疫反应,肝脏 Th1/Th2 平衡体系迅速向 Th1 方向分化,分泌 TNF- α 和 IFN- γ ,进一步激活巨噬细胞,导致氧化应激、肝实质细胞损伤、肝脏炎症反应和胶原纤维沉积^[15]。国外研究表明^[16],实验性酒精性肝病大鼠模型在第 14 天后出现 Th1 细胞因子(TNF- α ,IL-12) mRNA 高表达,在 35 天后出现第二次高表达,并且 Th1 细胞因子第二次高表达时同步出现 Th1 调控基因 T-bet 和 Stat-4 的升高。与此同时,Th2 细胞因子 IL-4 和 Th2 上游调控 GATA3 基因表达受到抑制。脂质过氧化被证实是伴随 Th1 的第二次高表达和组织炎症浸润的发生而产生的,然而抗氧化剂能够减少氧化损伤和脂质过氧化抗体的产生以及肝脏炎症的发生。

长期以来 Th17 在酒精性肝病中的作用一直没有明确,最新研究发现 ALD 患者肝脏出现 Th17 的 T 细胞亚群,通过分泌 IL-17,募集大量中性粒细胞入肝,介导免疫炎症损伤^[17],亦证实 Th17 免疫失衡与酒精性肝病的发生密切相关。但 Th17 在 ALD 中的调控机制尚有待研究。

4 NK 细胞与 NKT 细胞

NK 细胞和 NKT 细胞是肝脏固有免疫系统的重要细胞,主要分布在肝血窦内。小鼠肝脏 NK 细胞约占肝内总淋巴细胞的 10%,大鼠和人肝脏 NK 细胞约占肝淋巴细胞的 30%-50%,在小鼠和人,NKT 细胞占肝内淋巴细胞的 10%和 30%^[18]。

目前研究证实,NK 细胞在 ALD 中可以阻止肝纤维化进程。最近研究发现 NK 细胞对肝脏的纤维化的进程有重要影响

并表现出两个重要特点。首先,对 HSC 的选择性杀伤。活化的 NK 细胞可以通过 NKG2D 和肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(TRAIL) 依赖途径直接杀死早期活化 HSC,而对静息期的 HSC 无反应。这是由于活化的 HSC 表达 NK 细胞活化配体维 A 酸早期诱导基因 1(RAE-1),下调 NK 细胞抑制受体 MHCI 分子^[19-21]。

其次,NK 细胞能够分泌 IFN- γ ,通过 STAT1 依赖途径阻滞 HSC 的细胞周期并诱导其凋亡。而 NKT 细胞被发现具有与 NK 细胞类似的作用^[22-23]。

另一方面,酒精性肝损伤的发病机制中 NKT 的作用尚有争论。NKT 细胞可同时分泌 Th1 和 Th2 两类细胞因子,既可以调控炎症也可以调控免疫耐受^[24-25]。在非酒精性肝病中 NKT 细胞数量减少以及其活性的改变与肝脏 Th1 细胞因子的分泌有关,如 TNF- α 、IL-12、IFN- γ ,还可能与 Th2 细胞因子 IL-4 的降低有关。亦有研究发现,NKT 活化分泌 Th1 类型细胞因子,加重了酒精性肝损伤^[26]。

值得关注的是 HSC 也具有对肝脏 NK 细胞的抑制能力,研究发现长期慢性饮酒导致肝脏 HSC 产生大量 TGF β ,直接抑制了 NK 细胞的活化^[27]。因此进一步研究肝脏天然免疫细胞和 HSC 的关系,将为酒精性肝病的治疗提供新的希望。

5 库普弗细胞

库普弗细胞是肝内定居的巨噬细胞,其细胞表面存在多种受体,可被多种配体和激活剂激活。库普弗细胞是酒精性肝脏炎症损伤和纤维化产生的关键细胞之一。其作用表现在两个方面:一是激活后释放大量炎症因子,二是对免疫细胞的调节。

库普弗细胞激活产生 TNF- α 是肝细胞进一步损伤的重要机制。TNF- α 在正常情况下体内含量很低,但当库普弗细胞长期处于酒精环境中时,会影响 LPS 介导的信号通路,并在 LPS 的作用下分泌大量 TNF- α 。库普弗细胞不能被酒精直接激活,但可以通过嗜酒者肠道内 LPS 来激活。研究证实乙醇使 Kupffer 细胞对 LPS 的刺激性增强,产生大量的炎症以及促炎症因子,尤其是 TNF- α 和活性氧(ROS)的比例大大增加,进一步导致肝脏脂肪病变、炎症以及肝纤维化,最终导致严重的肝脏损伤。CD14、TOLL 样受体 4 (TLR4) 以及髓样细胞分化蛋白-2(MD-2)的共同参与了其激活过程^[28]。研究表明,乙醇可以诱导肠道屏障功能受损而形成肠源性内毒素(LPS),并大量进入嗜酒者肝脏,与脂多糖结合蛋白(LBP)发生特异性结合,形成脂多糖-脂多糖结合蛋白复合物,复合物与库普弗细胞表面特异性受体 CD14 相结合^[29],进而激活核转录因子 NF- κ B,使内源性炎症因子 TNF- α 、IFN- γ 、IL-1、IL-6 大量释放,导致肝脏细胞坏死和凋亡,淋巴细胞浸润加重,致使肝脏细胞损伤^[30]。在动物 ALD 实验中,乙醇可以诱导大鼠肝脏组织中的 CD14mRNA 和 LBP 表达上调。另外,Takehiko 等人^[31]对酒精性肝损伤小鼠 LBP 基因敲除并与正常小鼠比较发现酒精对肝脏的损伤程度前者明显比后者轻,而且库普弗细胞是 TNF- α 主要来源之一,TNF- α mRNA 在 LBP 基因敲除小鼠中的表达明显下降。

另一方面,在慢性酒精性肝损伤阶段,Kupffer 细胞产生大量 TGF β 和 IL-12,直接抑制肝内 NK 细胞的激活,进而减少 NK 细胞对 HSC 的杀伤,促进 HSC 合成大量胶原纤维,促进了

肝纤维化的发展^[32]。

6 前景展望

酒精性肝病的致病因素是单一的,即长期大量饮酒。但其发病机制是复杂的,目前尚不完全清楚。肝脏免疫系统细胞种类繁多,既有参与外周循环的淋巴细胞,也有长期定居于此的免疫细胞。加上肝脏解剖结构和血液循环的特殊性决定了肝脏独特的免疫微环境。随着实验室及临床对肝脏免疫系统在酒精性肝病发病机制中的作用的不断深入研究,将有助于进一步阐明酒精性肝病发病机制,为酒精性肝病的预防和治疗提供新的靶点。

参考文献 (References)

- [1] 厉有名. 中国酒精性肝病的研究现状 [J]. 现代消化及介入诊疗, 2007,12(4):234-236
- [2] Matteucci E, Giampietro O. Closing the gap between literature and practice: evaluation of a teaching programme (in the absence of a structured treatment) on both type 1 and type 2 diabetes [J]. Diabetes Nutr Metab, 2003, 16(5):298
- [3] Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits" [J]. Gastroenterology, 1998, 114: 842-845
- [4] Law K, Brunt EM. Nonalcoholic fatty liver disease [J]. Clin Liver Dis, 2010, 14(4):591-604
- [5] Buob S, Johnston AN, Webster CR. Portal hypertension: pathophysiology, diagnosis, and treatment [J]. Vet Intern Med, 2011, 25 (2): 169-186
- [6] Cohen JI, Nagy LE. Pathogenesis of alcoholic liver disease: interactions between parenchymal and non-parenchymal cells [J]. Dig Dis, 2011, 12(1): 3-9
- [7] Eipel C, Abshagen K, Vollmar B. Regulation of hepatic blood flow: the hepatic arterial buffer response revisited [J]. World J Gastroenterol, 2010, 28;16(48):6046-6057
- [8] Kowalewska PM, Patrick AL, Fox-Robichaud AE. Innate immunity of the liver microcirculation [J]. Cell Tissue Res, 2011, 343(1):85-96
- [9] Suh YG, Jeong WI. Hepatic stellate cells and innate immunity in alcoholic liver disease [J]. World J Gastroenterol, 2011, 17(20):2543-51
- [10] Hua F, Wang J, Ishrat T, Wei W, Atif F, Sayeed I, Stein DG. Genomic profile of Toll-like receptor pathways in traumatically brain-injured mice: effect of exogenous progesterone [J]. J Neuroinflammation, 2011, 8;8:42
- [11] Zhan YT, An W. Roles of liver innate immune cells in nonalcoholic fatty liver disease [J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(37):4652-4660
- [12] Nagata K, Suzuki H, Sakaguchi S. Common pathogenic mechanism in development progression of liver injury caused by non-alcoholic or alcoholic steatohepatitis [J]. J Toxicol Sci, 2007, 32(5):453-468
- [13] Mandrekar P. Epigenetic regulation in alcoholic liver disease [J]. World J Gastroenterol, 2011, 28; 17(20):2456-2464
- [14] Holz LE, Warren A, Le Couteur DG, Bowen DG, Bertolino P. CD8+ T cell tolerance following antigen recognition on hepatocytes [J]. J Autoimmun, 2010, 34(1):15-22
- [15] Hua J, Qiu de K, Li JQ, Li EL, Chen XY, Peng YS. Expression of Toll-like receptor 4 in rat liver during the course of carbon tetrachloride-induced liver injury [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2007, 22(6):862-869
- [16] Albano E, Vidali M. Immune mechanisms in alcoholic liver disease [J]. Genes Nutr, 2009, September: 141-147
- [17] Anwar Jamal Khan, Amit Sharma, et al. (2010) Induction of blood lymphocyte cytochrome P450 2E1 in early stage alcoholic liver cirrhosis [J]. Alcohol, 2010, 08(007):1-7
- [18] George Notas, Tatiana Kisseleva, David Brenner. NK and NKT cells in liver injury and fibrosis [J]. Clin Immunol, 2009 Jan; 130(1):16-26
- [19] Radaeva S, Wang L, Radaev S, Jeong WI, Park O, Gao B. Retinoic acid signaling sensitizes hepatic stellate cells to NK cell killing via upregulation of NK cell activating ligand RAE1 [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2007, 393:G809-G816
- [20] Jeong WI, Park O, Radaeva S, Gao B. STAT1 inhibits liver fibrosis in mice by inhibiting stellate cell proliferation and stimulating NK cell cytotoxicity [J]. Hepatology, 2006, 44:1441-1451
- [21] Radaeva S, Sun R, Jaruga B, Nguyen VT, Tian Z, Gao B. Natural killer cells ameliorate liver fibrosis by killing activated stellate cells in NKG2D-dependent and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-dependent manners [J]. Gastroenterology, 2006, 130: 435-452
- [22] Baroni GS, D'Ambrosio L, Curto P, Casini A, Mancini R, Jezequel AM, and Benedetti A. Interferon gamma decreases hepatic stellate cell activation and extra cellular matrix deposition in rat liver fibrosis [J]. Hepatology, 1996, 23:1189-1199
- [23] Park O, Jeong WI, Wang L, Wang H, Lian ZX, Gershwin ME, Gao B. Diverse roles of invariant natural killer T cells in liver injury and fibrosis induced by carbon tetrachloride [J]. Hepatology, 2009, 49: 1683-1694
- [24] Notas G, Kisseleva T, Brenner D. NK and NKT cells in liver injury and fibrosis [J]. Clin Immunol, 2009 Jan; 130(1): 16-26
- [25] Werner JM, Lang C, Scherer MN. Distribution of intrahepatic T, NK and CD3+CD56+NKT cells alters after liver transplantation: Shift from innate to adaptive immunity? Transpl Immunol, 2011 May; 24 (15):186-190
- [26] Ian Nicholas Crispe. The Liver as a Lymphoid Organ [J]. Annual Review of Immunology, 2009, 27:147-163
- [27] Jeong WI, Park O, Gao B. Abrogation of the antifibrotic effects of natural killer cells/interferon-gamma contributes to alcohol acceleration of liver fibrosis [J]. Gastroenterology, 2008, 134: 248-258
- [28] Shi QZ, Wang LW, Zhang W, Gong ZJ. Betaine inhibits toll-like receptor 4 expressions in rats with ethanol-induced liver injury [J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(7): 897-903
- [29] Hua F, Wang J, Ishrat T, Wei W, Atif F, Sayeed I, Stein DG. Genomic profile of Toll-like receptor pathways in traumatically brain-injured mice: effect of exogenous progesterone [J]. J Neuroinflammation, 2011, 8;8:42
- [30] Zhan YT, An W. Roles of liver innate immune cells in nonalcoholic fatty liver disease [J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(37):4652-4660
- [31] Kehiko U, Matthias F, Gavin EA, et al. Role of lipopolysaccharide-binding protein in early alcohol-induced liver injury in mice [J]. The Journal of Immunology, 2002, 168(6): 2963-2969
- [32] Jeong WI, Park O, and Gao B. Abrogation of the antifibrotic effects of natural killer cells/interferon-gamma contributes to alcohol acceleration of liver fibrosis [J]. Gastroenterology, 2008, 134: 248-258