

巨噬细胞在肝纤维化中的作用

肖海英^{1,2} 吴剑平¹ 汪安江¹ 郑雪莲^{3*}

(¹南昌大学第一附属医院消化科, 南昌 330006; ²南昌市第三医院消化科, 南昌 330009;

³南昌大学第一附属医院药剂部, 南昌 330006)

摘要 肝纤维化是一种以细胞外基质过度沉积为主要特征的病理表现, 是各种慢性肝病的共同结果, 最终进展为肝硬化、肝癌, 甚至导致死亡。不同亚型的巨噬细胞在肝纤维化过程中具有不同甚至相反的作用。该文拟对巨噬细胞的分型、在肝纤维化形成或降解过程中的作用以及它们在抗肝纤维化治疗中的现状进行综述。

关键词 肝纤维化; 巨噬细胞; 合成; 降解

The Role of Macrophage in the Liver Fibrosis

XIAO Haiying^{1,2}, WU Jianping¹, WANG Anjiang¹, ZHENG Xuelian^{3*}

(¹Department of Gastroenterology the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China;

²Department of Gastroenterology Nanchang Third Hospital, Nanchang 330009, China;

³Department of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China)

Abstract Liver fibrosis is a pathological manifestation characterized by excessive deposition of extracellular matrix. It is a common result of various chronic liver diseases, and eventually develops to be cirrhosis, liver cancer, and eventually death. Macrophages are involved in the development of liver fibrosis. Different subtypes of liver macrophages have different or even opposite effects on liver fibrosis. This article reviews the role of macrophage typing, the role of macrophages in the formation or degradation of liver fibrosis, and their current status in the treatment of liver fibrosis.

Keywords liver fibrosis; macrophages; formation; degradation

肝纤维化是各种慢性肝病(如酒精性肝炎、非酒精性脂肪性肝炎及病毒性肝炎等)后期的病理表现。肝脏慢性持续性损伤及持续性愈合修复可导致肝纤维化, 但进展期肝纤维化可导致肝硬化及门脉高压, 甚至死亡^[1]。肝纤维化的核心特征是包括胶原纤维在内的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的产生及沉积增加。活化的肝星状细胞是产生ECM的主要来源^[2], 而巨噬细胞在肝星状细胞的活化过

程中起到了关键作用。此外, 在肝纤维化过程中, 固有免疫反应是肝脏受到损伤刺激后首先发生的, 巨噬细胞是参与固有免疫反应最重要的细胞。

1 巨噬细胞的组成及来源

巨噬细胞主要由两类细胞组成: 组织定居的巨噬细胞及浸润性单核细胞源性巨噬细胞。组织定居的巨噬细胞包括肝枯否细胞、小胶质细胞以及腹膜、

收稿日期: 2019-05-23 接受日期: 2019-10-09

国家自然科学基金(批准号: 81460122)、江西省自然科学基金(批准号: 20171BAB215008)、江西省杰出青年人才资助计划(批准号: 20171BCB23085)、江西省卫生及计划生育委员会科技计划项目(批准号: 20171021)和南昌大学研究生创新基金(批准号: CX2017262)资助的课题

*通讯作者。Tel: 13317005840, E-mail: aliancpu@126.com

Received: May 23, 2019 Accepted: October 9, 2019

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81460122), Jiangxi Natural Science Fund (Grant No.20171BAB215008), Jiangxi Outstanding Young Talents Funding Scheme (Grant No.20171BCB23085), the Science and Technology Project of Health and Family Planning Commission of Jiangxi Province (Grant No.20171021) and Nanchang University Graduate Student Innovation Fund Project (Grant No.CX2017262)

*Corresponding author. Tel: +86-13317005840, E-mail: aliancpu@126.com

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5232>

肺、骨髓和心脏内皮巨噬细胞等^[3], 这些巨噬细胞长期定居在相关组织中发挥相关作用。浸润的单核细胞表达Ly6C、CC-趋化因子受体2(chemokine receptor 2, CCR2)和CX3C趋化因子受体1(CX3C-chemokine receptor 1, CX3CR1)。这些细胞分化成单核细胞衍生的巨噬细胞(monocyte derived macrophages, MoMFs)或髓样树突状细胞(dendritic cells, DCs)^[4]。浸润性单核细胞源性巨噬细胞一般在病理条件下被发现, 其中Ly6C^{hi}单核细胞是其主要来源。肝脏中的巨噬细胞包括枯否细胞和循环系统中进入肝脏的单核细胞源性巨噬细胞。研究人员通过脉冲标记实验显示, 枯否细胞来源于胚胎时期的卵黄囊前体和/或胎儿肝脏发育过程产生的祖细胞, 由自身增殖及髓源性单核细胞补充^[4-5]; 而单核细胞源性巨噬细胞(如Ly6C^{hi}单核细胞(鼠)、CD14⁺CD16⁻单核细胞(人)来源于骨髓中的造血祖细胞, 在肝组织损伤时被招募入肝脏^[4]。

2 巨噬细胞的分型及功能

巨噬细胞根据其释放的细胞因子、细胞表面标志物及转化因子的差异分为两种活化状态: 经典活化(M1)型巨噬细胞和替代活化(M2)型巨噬细胞。M1型巨噬细胞呈递抗原, 表达CD80、CD86、IL-1R(interleukin-1R)、Toll样受体2(Toll-like receptor 2, TLR2)、TLR4和诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS), 并分泌细胞因子肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-1 β 、IL-6、IL-12、IL-23, 产生促炎性趋化因子如趋化因子配体2(chemokine ligand 2, CCL2)~CCL5、CCL8~CCL11^[6]; 它主要由IL-12、干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)和脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)诱导活化, 参与Th1及Th17型免疫反应, 并分泌促炎细胞因子, 如TNF- α 、IL-6、IL-12、IL-15、iNOS和基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs), 从而发挥清除细菌病毒、促进炎症等效应。M2型巨噬细胞表面标志物包括甘露糖受体(mannose receptor, 即CD206、CD209)、组织相容性复合体II(histocompatibility complex II, MHCII)等, 功能标志物为精氨酸酶[在小鼠中则为类几丁质酶3样分子3(chitinase 3-like 3, YM1)]、炎症相关的缺氧诱导有丝分裂因子1(found in inflammatory zone 1, FIZZ1)等; 它主要由IL-4和IL-13诱导活化, 促进

Th2型免疫反应, 分泌抗炎因子如IL-10、TGF- β 、IL-4、IL-13等, 从而发挥防御寄生虫感染, 抑制炎症, 参与组织重塑和调节免疫等效应^[7]。M2型巨噬细胞分四种亚型: M2a、M2b、M2c、M2d。M2a型通过IL-4或IL-13诱导形成, 高表达CD206、CD16及CCL17、CCL22和CCL24等标志物; M2b型是通过暴露于免疫复合物或LPS或TLR激动剂或IL-1受体配体而诱导的, 产生抗炎和促炎细胞因子IL-10、IL-1 β 、IL-6和TNF- α ; M2c由IL-10、TGF- β 、糖皮质激素或IFN- β 诱导; M2d由TLR激动剂通过腺苷受体诱导^[6-7]。其中M2a、M2b型巨噬细胞的主要功能是促进Th2型细胞反应及免疫调控, M2c巨噬细胞的主要功能是抑制免疫反应和促进组织重塑^[8], M2d巨噬细胞的主要功能是促血管生成及促进肿瘤进展^[7]。人和鼠各自体内主要有两种循环单核细胞亚群。在小鼠体内, 基于Ly6C这种细胞表面蛋白相对表达高低将循环中单核细胞分为两类: Ly6C^{hi}和Ly6C^{low}。其中Ly6C^{hi}单核细胞具有促炎性功能, 高表达CCR1和CCR2; 而Ly6C^{low}单核细胞具有抗炎及促进纤维化降解作用, 高表达CCR5和CX3CR1^[9]。Ly6C^{hi}单核细胞起源于骨髓源性的单核源性巨噬细胞, 且Ly6C^{hi}单核细胞是Ly6C^{low}单核细胞的前体, 在骨髓和血液中分化为更成熟的Ly6C^{low}单核细胞亚群^[10]。在肝脏损伤期间, Ly6C^{hi}单核细胞具有促炎症作用, 与M1型细胞作用一致, 而Ly6C^{low}单核细胞也具有M2型巨噬细胞的作用, 即具有抗炎作用^[11]。近年来, 基于CD14和CD16在细胞表面相对表达高低将人循环中的单核细胞分为三类: 经典单核细胞即CD14⁺CD16⁻、中间型单核细胞即CD14⁺CD16⁺和非经典单核细胞即CD14⁺CD16⁺⁺^[8]。其中CD14⁺CD16⁻单核细胞占血液中单核细胞的90%, 而CD14⁺CD16⁺单核细胞及CD14⁺CD16⁺⁺单核细胞所占比例小(小于10%)^[12]。CD14⁺CD16⁻单核细胞具有促炎作用, 高表达CCR2及CD62L, 低表达CX3CR1, 与小鼠Ly6C^{hi}单核细胞功能相似; 而CD14⁺CD16⁺单核细胞具有促纤维化作用及较强的吞噬作用, 低表达CCR2及CD62L, 高表达CX3CR1, 与小鼠Ly6C^{low}单核细胞功能相似^[10,13]。

3 巨噬细胞促肝纤维化作用及其机制

肝巨噬细胞在肝纤维化形成过程中发挥着重要的作用。巨噬细胞在慢性肝损伤中主要通过各种机制释放促炎症因子或趋化因子激活肝星状细胞,

产生促纤维化相关因子,同时使肝星状细胞转化为肌成纤维细胞,导致肝内细胞外基质沉积,导致肝纤维化形成(表1)。参与肝纤维化形成的巨噬细胞主要包括肝巨噬细胞、循环单核细胞两种。

3.1 肝巨噬细胞(kupffer细胞)

激活的巨噬细胞促进肝纤维化的可能机制如下。(1)巨噬细胞产生或激活促纤维化介质,如TGF- β 及血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)激活肝星状细胞活化、增殖,使肝脏细胞炎症反应或损伤加重,也可刺激肝星状细胞向肌成纤维细胞转化,促进肝纤维化形成^[14]。研究表明,巨噬细胞可通过TLR2促进炎症浸润,增强HSC活化,促进胶原沉积,并上调促纤维化因子(如TGF- β 、PDGF)及促炎因子(如IL-6),增加促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activate protein kinase, MAPK)及核因子活化B细胞 κ 轻链增强子(nuclear factor- κ B, NF- κ B)活化,促进肝纤维化进展^[15]。TGF- β 是一种有效的促纤维化细胞因子,在细胞增殖、分化、伤口愈合、血管生成及免疫功能等方面具有调节功能。TGF- β 可直接参与肝星状细胞的激活。TGF- β 直接参与ECM(ECM主要成分I型胶原)的合成,还可抑制ECM降解,刺激MMP合成减少和增加金属蛋白酶组织抑制因子-1(tissue inhibitor of metalloproteinases-1, TIMP-1)的产生,达到促纤维化作用^[16]。PDGF通过细胞外依赖性信号调节激酶(extracellular signal regulated kinase, ERK)和与ERK无关的机制,以及通

过细胞内pH的变化,促进肝星状细胞活化,诱导成纤维细胞增殖,从而加速肝纤维化的形成。(2)巨噬细胞产生IL-1 β 、TNF- γ ,诱导炎症细胞进入肝脏,促进肝细胞损伤和肝纤维化,也可通过IL-1 β 、TNF- γ 诱导NF- κ B途径激活,从而活化肝星状细胞,且促进活化的肝星状细胞存活,导致肝纤维化^[9]。(3)巨噬细胞表达并调节MMPs(如MMP-9),促进细胞外基质沉积,导致肝纤维化。研究发现,在腹腔注射CCL₄第3周的小鼠模型中,与空白对照组相比,CCL₄组的小鼠体内MMP-2、MMP-9及TIMP-1的mRNA的表达明显上调,肝纤维化明显^[17]。(4)巨噬细胞通过吞噬死亡的红细胞,使血红蛋白中的铁沉积在肝脏,诱发氧化应激、炎症及肝纤维化的生成。KOSHA等^[18]发现,在一项细胞研究中利用全铁转化蛋白(holo-transferrin, 铁的生理相关形式)干预人肝星状细胞(LX2细胞)后,发现肝星状细胞内波形蛋白、胶原蛋白水平、 α SMA、coll- α 1的mRNA水平明显上升,从而证实了铁可直接激活肝星状细胞,促进纤维化生成。(5)活化的巨噬细胞具有破坏肝血管构筑的能力,从而触发缺氧诱导的肝纤维化^[19]。(6)巨噬细胞(M2型)可分泌大量促纤维细胞因子,如IL-4、IL-13、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、半胱甘肽-3(galectin-3)等,促进成纤维细胞增殖和活化,导致ECM的沉积^[20]。IL-4、IL-13可直接使胶原沉积;VEGF具有促进成纤维细胞增殖的作用;galectin-3是一种巨噬细胞源性凝集素,已被证实

表1 不同巨噬细胞促肝纤维化作用

Table 1 Different macrophages promote liver fibrosis

巨噬细胞类型 Macrophage types	分泌或表达细胞因子、趋化因子及其他 Cytokines, chemokines, and other secreted mediators	促纤维化作用机制 Mechanisms of promoting fibrosis
Kuffer cells	PDGF, EGF, VEGF, TNF- α	Activate HSC through various receptors (such as toll receptors) and promote collagen formation ^[14]
	TGF- β	Promoting the activation of myofibroblasts and the synthesis of extracellular matrix via Smad protein ^[36]
	MMPs (MMP-9, MMP-2)	Promotes extracellular matrix deposition, leading to liver fibrosis
	LPS	Activate TLR4 signaling pathway, promote liver fibrosis ^[37]
Ly6C ^{hi} monocyte (mice)	PDGF, CCL2, TGF- β , IL-1 β	CCL2/CCR2 axis activates HSC and promotes liver fibrosis ^[21]
CD14 ⁺ CD16 ⁺ monocyte (human)	TNF- α , IL-6, CXCL8/IL-8, CXCL1, CCL2, CCL3, CCL5, IL-13	Activating HSC ^[27]

PDGF: 血小板源性生长因子; EGF: 表皮生长因子; TGF: 转化生长因子; VEGF: 血管内皮生长因子; TNF- α : 肿瘤坏死因子- α ; MMPs: 基质金属蛋白酶; CCL: 趋化因子配体; CCR: 趋化因子受体; CXCL: CXC趋化配体; HSC: 肝星状细胞。

PDGF: platelet-derived growth factor; EGF: epidermal growth factor; TGF: transforming growth factor; VEGF: vascular endothelial growth factor; TNF- α : tumor necrosis factor- α ; MMPs: matrix metalloproteinases; CCL: chemokine ligand; CCR: C-C chemokine receptor; CXCL: CXC chemokine ligand; HSC: hepatic stellate cell.

参与肝纤维化形成。

3.2 循环单核细胞

除了kuffer细胞,循环单核细胞浸润是慢性肝病病变炎症和肝纤维化的主要致病因素。在小鼠模型中,促进肝纤维化的主要是循环单核细胞Ly6C^{hi}单核细胞。在肝组织损伤期间,循环中的单核细胞从血液募集至肝内,形成浸润性巨噬细胞。在肝损伤早期, Ly6C^{hi}单核细胞主要依赖于CCL2/CCR2轴募集到损伤的肝脏中,位于纤维间隔附近,紧邻HSCs,通过释放因子如TGF- β 、IL-1b、PDGF、CCL2等可激活HSCs,诱导肝脏炎症、血管生成及纤维化形成^[21]。在CCR2基因缺陷型小鼠中发现肝内特定的Ly6C^{hi}单核细胞数量有所减少,而Ly6C^{low}单核细胞数量相对增加^[22]。另有研究利用四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl₄)喂养8~12周龄的C57bl/6野生型小鼠,在建立慢性肝损伤模型后,给予CCL2特定的抑制剂mNOX-E36干预后,阻断CCL2/CCR2轴募集Ly6C^{hi}单核细胞至肝内的作用,使肝纤维化明显减轻,说明Ly6C^{hi}单核细胞具有促纤维化作用^[23]。此外,在肝脏慢性损伤早期, Ly6C^{hi}单核细胞分化为促炎性巨噬细胞,激活肝星状细胞,促进纤维化^[24]。既往研究表明,在CCR2缺陷小鼠中, Ly6C^{hi}单核细胞募集至肝脏的功能受损,导致肝星状细胞活化减少,从而达到缓解肝纤维化的效果。因此我们可以得知, Ly6C^{hi}单核细胞具有促炎和促肝纤维化作用。在人体中,循环单核细胞主要是CD14⁺⁺CD16⁻单核细胞、CD14⁺⁺CD16⁺单核细胞和CD14⁺CD16⁺⁺单核细胞。中间型CD14⁺⁺CD16⁺单核细胞是调节肝纤维化形成

的主要细胞。CD14⁺⁺CD16⁺单核细胞在受损的肝脏内聚集,通过释放炎症因子和促纤维化因子促进肝纤维化形成^[25]。又有研究表明, CD14⁺⁺CD16⁺单核细胞可释放一系列的炎症因子,体外实验表明该细胞可激活肝星状细胞^[26]。它主要通过分泌细胞因子和趋化因子(如TNF- α 、IL-6、CXCL8/IL-8、CXCL1、CCL2、CCL3、CCL5、IL-13)促进肝纤维化的形成^[27]。CCL2是一种促纤维化的趋化因子,在受损的肝脏中有表达上调的作用,它能促进与HSC活化和肝纤维化有关的单核细胞/巨噬细胞募集。此外,体外研究发现, CCL2缺乏的CCl₄喂养的小鼠模型肝纤维化减轻。在肝纤维化中, CCL3、CCL5表达明显上调,而其受体CCR1和CCR5的失活导致动物模型肝纤维化的减少。CXCL8、CXCL1、CCL3、CCL5在受损肝脏内促进促炎细胞招募,从而有利于肝纤维化生成微环境的形成。IL-6、IL-13促进成纤维细胞增殖、胶原生成和TIMP-1的合成。

4 巨噬细胞降解肝纤维化作用及其机制

越来越多的研究发现,肝纤维化在一定条件下是可逆的。肝细胞、活化的肝星状细胞、内皮细胞和免疫细胞,特别是其中的巨噬细胞在肝纤维化降解过程中具有重要的作用。巨噬细胞对肝纤维化具有双重调节作用。目前,巨噬细胞/单核细胞在肝纤维化降解的作用中已得到广泛研究。不同环境下,巨噬细胞既可促进肝纤维化,也能减轻或逆转肝纤维化。肝纤维化的逆转有利于延缓或逆转慢性肝病病程(表2)。

表2 不同巨噬细胞缓解肝纤维化作用

Table 2 Different macrophages relieve liver fibrosis

巨噬细胞类型 Macrophage types	分泌或表达细胞因子、趋化因子及其他 Cytokines, chemokines, and other secreted mediators	促纤维化作用机制 The mechanism of reversing fibrosis
Kuffer cells	Macrophage migration inhibitory factor	Recruit scar-related macrophages and degrade extracellular matrix through MMP-13 ^[38]
	MMPs(such as MMP-1, MMP-13)	Directly induce monocytes or natural killer (NK) cells to promote apoptosis of hepatic stellate cells
	Autophagy gene: <i>Atg5</i>	Degradation of extracellular matrix or collagen, degradation of liver fibrosis ^[29]
Ly6C ^{low} monocyte (mice)	MMPs、phagocytosis-related genes (such as, <i>CD36</i>)、TRAIL	Engulf all kinds of cells, reduce inflammation, relieve liver fibrosis ^[30]
CD14 ⁺⁺ CD16 ⁻ monocyte (human)	Uncertain	HSC apoptosis, collagen degradation ^[28]

MMPs: 基质金属蛋白酶; TRAIL: TNF相关凋亡诱导配体。

MMPs: matrix metalloproteinases; TRAIL: TNF-related apoptosisinducing ligand.

4.1 肝巨噬细胞(kuffer细胞)

巨噬细胞逆转肝纤维化的主要机制可能如下。(1)巨噬细胞诱导/激活单核细胞或自然杀伤细胞(natural killer cell, NK), 促进肝星状细胞的凋亡。前文所述研究表明, M1型巨噬细胞可诱导Ly6C^{low}细胞募集及激活, 促进肝星状细胞的凋亡及促进胶原降解; 同时诱导NK细胞的募集及激活, 上调TNF相关凋亡诱导配体(related apoptosis inducing ligand, TRAIL)的表达, 进一步促进肝星状细胞凋亡, 最终减轻肝纤维化^[28]。(2)巨噬细胞通过吞噬不同类型的细胞抑制肝纤维化: 通过吞噬凋亡的肝细胞, 减少炎症反应, 从而缩短损伤过程, 抑制肝纤维化; 通过自噬作用缓解肝纤维化。LODDER等^[29]用CCl₄诱导小鼠肝纤维化后, 髓性自噬基因敲除(*Atg5*^{-/-})的小鼠肌成纤维细胞数量明显增多, ECM过度沉积, 纤维化更为明显, 可见肝巨噬细胞可通过自噬作用减缓肝纤维化。(3)巨噬细胞高表达降解基质的MMPs(如MMP-1、MMP-13), 促进细胞外基质或胶原降解, 降解肝纤维化。动物研究发现, 将野生小鼠及MMP-9基因敲除小鼠的巨噬细胞过继转移至巨噬细胞耗竭的肝纤维化小鼠中, 结果发现与MMP-9基因敲除小鼠的巨噬细胞相比, 野生型小鼠的巨噬细胞的过继转移在第9天(过继转移后6天)分别显著降低了I、III和IV型胶原的水平(34%、48%、23%)^[30]。(4)巨噬细胞通过调节MMPs与TIMPs的失衡, 缓解肝纤维化。DU等^[31]将MMP-1转染的骨髓间充质干细胞(MMP-1/bone marrow derived mesenchymal stem cells, MMP-1/BMSCs)通过尾静脉注射CCl₄诱导小鼠肝纤维化, 发现肝内 α SMA的蛋白水平及羟脯氨酸含量显著减少, 纤维化也明显缓解, 同时发现肝内MMP-1蛋白水平明显上升, 而肝内TIMP1蛋白水平明显下降, 由此证实了MMP-1的高表达与TIMP1低表达的失衡可缓解肝纤维化。MMPs与TIMPs在ECM合成和降解过程中具有重要作用。在慢性肝病过程中, 肝纤维化的形成与MMPs及TIMPs失衡直接相关, 因此MMPs与TIMPs可能会成为治疗肝纤维化的靶点。

4.2 循环单核细胞

在小鼠肝内主要包括单核细胞, 即Ly6C^{hi}单核细胞和Ly6C^{low}单核细胞。其中Ly6C^{low}单核细胞下调促炎因子(如TGF- β)并通过肝组织表达CX3C-趋化因子配体1(CX3 chemokine ligand 1, CX3CL1)等

抗炎信号高表达抗炎症因子, 抑制炎症, 诱导活化的HSC衰老; 增加MMPs(如MMP-9、MMP-12、MMP-13), 降解ECM, 发挥抗纤维化作用^[21]。MMP-13主要降解纤维蛋白的胶原及非纤维蛋白胶原, 将原纤维胶原蛋白的固有螺旋切分, 从而产生明胶, 被MMP-9和MMP-12进一步降解^[21]。在肝纤维化消退期, Ly-6C^{low}单核细胞明显增多, 该细胞吞噬细胞裂解物, 增加MMP-9、MMP-12、MMP-13的表达, 促进胶原降解, 达到抗纤维化作用; 也可通过上调TRAIL的表达, 诱导肝星状细胞凋亡, 从而缓解肝纤维化^[13]。研究表明, CCl₄诱导小鼠肝纤维化后, 给予输注M1型巨噬细胞诱导Ly6C^{low}细胞募集及激活, 上调MMPs、吞噬作用的相关基因(MARCO、TREM2、CD36、MerTK)及TRAIL的表达, 导致肝星状细胞的凋亡及促进胶原降解^[28]。在人体内循环单核细胞也可缓解或逆转肝纤维化。临床研究发现, CD14⁺CD16⁻单核细胞在肝纤维化患者中数量减少^[32]。但目前尚未确定该细胞亚型在肝脏内缓解肝纤维化的具体机制。

5 巨噬细胞治疗肝纤维化

近年来, 肝纤维化的治疗备受关注, 然而肝纤维化无特效治疗, 因此抗肝纤维化治疗是当前世界一大重要的问题。目前, 巨噬细胞治疗纤维化的研究成为近年来的一大热点, 且多项研究表明, 巨噬细胞治疗在小鼠慢性肝纤维化模型中取得了较好的疗效。JAMES等^[33]发现, 在给予雌性野生型小鼠持续腹腔内注射CCl₄ 6周建立进展性肝纤维化模型后, 将骨髓源性巨噬细胞经肝门静脉注射入小鼠体内1周内, 肝纤维化缓解。在研究中他们进一步发现, 骨源性巨噬细胞注射1周内, 主要通过上调肝内MMPs(MMP-9、MMP-13)及抗炎症因子(如IL-10)的表达, 或直接促进肝细胞增殖, 使肌成纤维细胞数量减少, 达到缓解肝纤维化效果。DE SOUZA等^[34]发现, 在给予雄性C57BL/6小鼠20% CCl₄和5%乙醇溶液6个月诱导肝脏慢性损伤后, 骨髓源性巨噬细胞/单核细胞经静脉输注小鼠体内3周, 肝内炎症因子(TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-13、IL-17)、TGF- β 明显减少, 肝内MMP-9、TIMP-1、IL-10水平升高, 肝纤维化有所减轻。研究还证实了骨髓源性单核细胞(CD11b⁺CD14⁺单核细胞)/巨噬细胞对肝脏病变具有抑制作用, 其主要通过调节肝修复过程中的重

要细胞因子,即降低骨桥蛋白和促炎症因子(如IL-13、TGF- β)的表达,减少氧化应激及炎症,增加抗纤维化因子,最终缓解肝纤维化。马鹏飞等^[28]对8周的健康雄性小鼠腹腔内持续注射CCl₄ 4周制成肝纤维化小鼠模型后,将骨髓源性M1、M2、M0型巨噬细胞和PBS液分别通过尾静脉输注至小鼠体内,发现M1型组及M0型组的小鼠肝纤维化明显减轻,其中M1型组最明显,其主要是通过上调MMPs及促进肝星状细胞凋亡达到肝纤维化的缓解效果。这些结果均表明,M1及M0型巨噬细胞对小鼠肝纤维化具有治疗效果,其中M1型巨噬细胞效果更为明显。进一步探讨机制发现,M1型巨噬细胞主要通过增加Ly6C^{low}单核细胞向肝脏内募集,增加MMPs(MMP-9、MMP-13)和肝生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)分别促进胶原蛋白降解和肝细胞增殖,同时还增加纤维化肝脏内NK细胞的数量,使NK细胞释放TRAIL,诱导HSC凋亡。HAIDERI等^[35]给予8~10周龄的129/SV(小鼠的一种类型)小鼠连续腹腔注射CCl₄ 4周,且在第2周开始通过尾静脉注射胚胎干源性巨噬细胞后,发现与对照组或低剂量(1 \times 10⁷个/mL)胚胎干源性巨噬细胞组小鼠相比,高剂量(2 \times 10⁷个/mL)胚胎干源性巨噬细胞组小鼠肝组织中肝纤维化明显缓解。注射的胚胎干源性巨噬细胞更倾向于抗炎性细胞表型分化及减少肌成纤维细胞数量的机制,起到缓解肝纤维化的作用。

6 总结与展望

综上所述,巨噬细胞对肝纤维化具有双调节作用。在肝脏受损过程中,巨噬细胞在不同环境下被激活并极化为不同表型巨噬细胞发生应答反应。活化的巨噬细胞在不同的条件下既要维持肝脏组织的完整性,同时还会释放各种促炎症因子或趋化因子来破坏组织。在肝损伤各个阶段中,发挥有利作用的巨噬细胞表型不一致。在未来,一方面我们可明确肝脏损伤处于何种阶段,在不同阶段抑制促炎或促肝纤维化的巨噬细胞活化及其作用,激活抗炎或缓解肝纤维化的巨噬细胞活化及其作用,达到治疗肝病的效果;另一个方面,我们可以通过诱导多功能干细胞或骨源性巨噬细胞分化为缓解肝纤维化的细胞进行细胞移植治疗肝纤维化。这些都将是未来治疗肝纤维化的一大热点。

参考文献 (References)

- [1] LEE Y A, WALLACE M C, FRIEDMAN S L. Pathobiology of liver fibrosis: a translational success story [J]. *Gut*, 2015, 64(5): 830-41.
- [2] ALEGRE F, PELEGRIN P, FELDSTEIN A E. Inflammasomes in liver fibrosis [J]. *Semin Liver Dis*, 2017, 37(2): 119-27.
- [3] GOMEZ P E, KLAPPROTH K, SCHULZ C, et al. Tissue-resident macrophages originate from yolk-sac-derived erythromyeloid progenitors [J]. *Nature*, 2015, 518(7540): 547-51.
- [4] KRENKEL O, TACKE F. Liver macrophages in tissue homeostasis and disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(5): 306-21.
- [5] PERDIGUERO E G, GEISSMANN F. The development and maintenance of resident macrophages [J]. *Nat Immunol*, 2016, 17(1): 2-8.
- [6] SHAPOURI-MOGHADDAM A, MOHAMMADIAN S, VAZINI H, et al. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(9): 6425-440.
- [7] BOWDISH D. Macrophage activation and polarization [J]. *Nat Immunol*, 2016, 21(2): 1-8.
- [8] WERMUTH P J, JIMENEZ S A. The significance of macrophage polarization subtypes for animal models of tissue fibrosis and human fibrotic diseases [J]. *Clin Transl Med*, 2015, 4: 2.
- [9] TSUCHIDA T, FRIEDMAN S L. Mechanisms of hepatic stellate cell activation [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017, 14(7): 397-411.
- [10] BREMPELIS K J, CRISPE I N. Infiltrating monocytes in liver injury and repair [J]. *Clin Transl Immunology*, 2016, 5(11): e113.
- [11] LIASKOU E, ZIMMERMANN H W, LI K K, et al. Monocyte subsets in human liver disease show distinct phenotypic and functional characteristics [J]. *Hepatology*, 2013, 57(1): 385-98.
- [12] ZIEGLER-HEITBROCK L, ANCUTA P, CROWE S, et al. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood [J]. *Blood*, 2010, 116(16): e74-80.
- [13] RAMACHANDRAN P, PELLICORO A, VERNON M A, et al. Differential Ly-6C expression identifies the recruited macrophage phenotype, which orchestrates the regression of murine liver fibrosis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(46): E3186-95.
- [14] PRADERE J P, KLUWE J, MINICIS S D, et al. Hepatic macrophages but not dendritic cells contribute to liver fibrosis by promoting the survival of activated hepatic stellate cells in mice [J]. *Hepatology* 2013, 58(4): 1461-73.
- [15] JI L, XUE R, TANG W, et al. Toll like receptor 2 knock-out attenuates carbon tetrachloride (CCl₄)-induced liver fibrosis by downregulating MAPK and NF-kappaB signaling pathways [J]. *FEBS Lett*, 2014, 588(12): 2095-100.
- [16] JIANG J X, TOROK N J. Liver injury and the activation of the hepatic myofibroblasts [J]. *Curr Pathobiol Rep*, 2013, 1(3): 215-23.
- [17] ROBERT S, GICQUEL T, VICTONI T, et al. Involvement of matrix metalloproteinases (MMPs) and inflammasome pathway in molecular mechanisms of fibrosis [J]. *Biosci Rep*, 2016, 36(4): pii: e00360.
- [18] MEHTA K J, COOMBES J D, BRIONES-ORTA M, et al. Iron enhances hepatic fibrogenesis and activates transforming growth factor-beta signaling in murine hepatic stellate cells [J]. *Am J Med Sci*, 2018, 355(2): 183-90.
- [19] SCHUPPAN D, KIM YO. Evolving therapies for liver fibrosis [J].

- J Clin Invest, 2013, 123(5): 1887-901.
- [20] SUN Y Y, LI X F, MENG X M, et al. Macrophage phenotype in liver injury and repair [J]. Scand J Immunol, 2017, 85(3): 166-74.
- [21] CAMPANA L, IREDALE J P. Regression of liver fibrosis [J]. Semin Liver Dis, 2017, 37(1): 1-10.
- [22] NOLL J, HELK E, FEHLING H, et al. IL-23 prevents IL-13-dependent tissue repair associated with Ly6C^{lo} monocytes in Entamoeba histolytica-induced liver damage [J]. J Hepatol, 2016, 64(5): 1147-57.
- [23] EHLING J, BARTNECK M, WEI X, et al. CCL2-dependent infiltrating macrophages promote angiogenesis in progressive liver fibrosis [J]. Gut, 2014, 63(12): 1960-71.
- [24] JU C, TACKE F. Hepatic macrophages in homeostasis and liver diseases: from pathogenesis to novel therapeutic strategies [J]. Cell Mol Immunol, 2016, 13(3): 316-27.
- [25] TACKE F, ZIMMERMANN H W. Macrophage heterogeneity in liver injury and fibrosis [J]. J Hepatol, 2014, 60(5): 1090-6.
- [26] TACKE F. Targeting hepatic macrophages to treat liver diseases [J]. J Hepatol, 2017, 66(6): 1300-12.
- [27] LIASKOU E, ZIMMERMANN H W, LI K K, et al. Monocyte subsets in human liver disease show distinct phenotypic and functional characteristics [J]. Hepatology, 2013, 57(1): 385-98.
- [28] MA P F, GAO C C, YI J, et al. Cytotherapy with M1-polarized macrophages ameliorates liver fibrosis by modulating immune microenvironment in mice [J]. J Hepatol, 2017, 67(4): 770-9.
- [29] LODDER J, DENAËS T, CHOBERT M N, et al. Macrophage autophagy protects against liver fibrosis in mice [J]. Autophagy, 2015, 11(8): 1280-92.
- [30] FENG M, DING J, WANG M, et al. Kupffer-derived matrix metalloproteinase-9 contributes to liver fibrosis resolution [J]. Int J Biol Sci, 2018, 14(9): 1033-40.
- [31] Du C, JIANG M, WEI X, et al. Transplantation of human matrix metalloproteinase-1 gene-modified bone marrow-derived mesenchymal stem cell attenuates CCL4-induced liver fibrosis in rats [J]. Int J Mol Med, 2018, 41(6): 3175-84.
- [32] EL-BASSI OUDNI N E, AMIN N A, EL A A, et al. Down regulation of classical monocytes subset in patients with hev related liver fibrosis [J]. J Egypt Soc Parasitol, 2017, 47(1): 207-10.
- [33] THOMAS J A, POPE C, WOJTACHA D, et al. Macrophage therapy for murine liver fibrosis recruits host effector cells improving fibrosis, regeneration, and function [J]. Hepatology, 2011, 53(6): 2003-15.
- [34] DE SOUZA V, PEREIRA T A, TEIXEIRA V W, et al. Bone marrow-derived monocyte infusion improves hepatic fibrosis by decreasing osteopontin, TGF-beta1, IL-13 and oxidative stress [J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(28): 5146-57.
- [35] HAIDERI S S, MCKINNON A C, TAYLOR A H, et al. Injection of embryonic stem cell derived macrophages ameliorates fibrosis in a murine model of liver injury [J]. NPJ Regen Med 2017, 2: 14.
- [36] BREITKOPF K, GODOY P, CIUCLAN L, et al. TGF-beta/Smad signaling in the injured liver [J]. Z Gastroenterol, 2006, 44(1): 57-66.
- [37] PRADERE J P, TROEGER J S, DAPITO D H, et al. Toll-like receptor 4 and hepatic fibrogenesis [J]. Semin Liver Dis, 2010, 30(3): 232-44.
- [38] BARNES M A, MCMULLEN M R, ROYCHOWDHURY S, et al. Macrophage migration inhibitory factor is required for recruitment of scar-associated macrophages during liver fibrosis [J]. J Leukoc Biol, 2015, 97(1): 161-9.