

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.20.046

Kupffer 细胞在急性胰腺炎发病中的作用*

胡 兰^{1,2}, 鄢 麟², 朱荣涛¹综述, 龚建平¹审校

(1. 重庆医科大学附属第二医院肝胆外科 400010; 2. 重庆市大足区人民医院普外科 402360)

关键词: 巨噬细胞; 急性胰腺炎; Kupffer 细胞; 细胞因子

中图分类号: R657.5

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)20-2666-03

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是一种严重的疾病,胰腺炎的总死亡率近 10%,重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)的死亡率更达 20%~30%。AP 的发病原因目前还不是十分清楚,目前被广泛接受的学说是胰腺腺泡细胞内的消化酶被激活后引起胰腺的自身消化,从而引起胰腺炎^[1]。现在更多的研究表明 AP 也是一种炎症反应,这种炎症反应通过免疫介导从而形成“瀑布”反应。免疫反应不仅影响 AP 的发病,也在疾病的发展中起重要作用^[2]。尽管胰腺腺泡内或间质内的胰酶激活最有可能是胰腺炎的始动因素,但近年来更强调白细胞在胰腺炎中的作用^[3]。另外,一系列炎症介质在从胰腺局部损伤到全身炎症反应的发展过程中发挥着重要的作用,包括肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素- 1β (IL- 1β)、白细胞介素-6(IL-6)、血小板活化因子。一些细胞因子最开始是胰腺腺泡细胞释放的,这些细胞因子又起到募集中性粒细胞、单核-巨噬细胞的作用。许多实验和临床数据表明包括细胞因子、花生四烯酸衍生物、活化的氧化物、蛋白酶在内的炎症介质在局部被过度激活的中性粒细胞和单核-巨噬细胞释放,这些炎症介质在局部释放后进入全身循环,在多器官衰竭的发展过程中起着关键的作用^[4]。

过去人们认为腺泡细胞和胰腺局部浸润的炎性细胞是造成胰腺炎炎症介质的主要来源。但最近研究发现,除以上细胞外,其他一些细胞也产生炎症介质,诱导胰腺炎,这些细胞主要包括单核-巨噬细胞、内皮细胞、活化的淋巴细胞等^[5]。胰腺释放的炎症介质可能通过肝脏门静脉系统到达全身循环,而肝脏可能也参与了启动多器官衰竭的一系列复杂的反应。Kupffer 细胞定居于肝窦内,是定居于人体组织中最大的巨噬细胞群,占体内巨噬细胞的 80%~90%,一旦炎症介质到达肝脏,这些炎症介质刺激活化 Kupffer 细胞,产生一系列细胞因子进入循环,引起 AP 的各种症状,所以 Kupffer 细胞起到了放大的作用^[6]。Kupffer 细胞在 AP 的发生、发展中的作用越来越受到关注,本文就 Kupffer 细胞在 AP 发展过程中的作用作一综述。

1 AP 中 Kupffer 细胞的激活

巨噬细胞能产生促炎因子和抗炎因子,这表明这些细胞因子在 AP 的发展过程中起着关键的作用。有文献报道 AP 时巨噬细胞能被受损胰腺释放的炎症介质激活,特别是胰蛋白酶、胰酞酶 E、羧肽酶 A、脂肪酶能诱导单核-巨噬细胞系细胞产生 TNF- α ,这种诱导作用是通过 I κ B、核转录因子(NF- κ B)活化后介导的,这表明胰酶是通过特异的膜结合受体激活巨噬细胞^[2]。有研究表明 TNF- α 反过来又直接诱导了胰蛋白酶的激活和胰腺腺泡细胞的坏死,因此形成了一个恶性循环^[7]。同时有研究发现 TNF- α 水平的高低也会影响 AP 的严重程

度^[8]。有研究用蛙皮素培养胰腺腺泡细胞,然后用培养皿中的上层清液处理巨噬细胞,结果发现巨噬细胞被激活;也有研究用诱导发生 AP 的小鼠体内的腹水在体外处理巨噬细胞,结果也发现巨噬细胞被激活^[2]。Kupffer 细胞是全身巨噬细胞的一部分,推测在 AP 中 Kupffer 细胞的激活应该与全身巨噬细胞的激活类似。另一方面,Kupffer 细胞的激活很大程度上依赖于被招募至肝脏的单核细胞,其分子趋化受体及配体 CCR2/CCL2 促进单核细胞的浸润及使其向促炎巨噬细胞分化,而 CX3CR1/CX3CL1 则是很重要的负向调节^[9]。

2 Kupffer 细胞作用的分子机制

对 Kupffer 细胞如何产生细胞因子机制的研究发现,NF- κ B 的活化在其中起重要作用^[10]。NF- κ B 是有转录活性的异源二聚体,它能与多种基因的启动子或增强子的 κ B 位点发生特异性结合,并启动基因转录,在失活状态下,其抑制物 I κ B 特异性地与 NF- κ B 结合,与其 p50/p65 亚基结合形成三聚体,抑制 NF- κ B 的蛋白,使其以无活性的复合物的形式存在于细胞质中。当细胞受到刺激时,刺激信号通过多种信号转导途径进入细胞,激活一系列激酶,使 I κ B 降解,NF- κ B 与 I κ B 发生解离,并移位至细胞核,与靶基因的启动子或增强子特异序列结合,以调控相关基因的表达^[11]。研究发现,胰肽酶能通过活化 NF- κ B 上调 Kupffer 细胞中 TNF mRNA 的表达,而 NF- κ B 的抑制剂二硫代氨基甲酸吡咯烷可抑制 Kupffer 细胞中 TNF- α 的产生,说明 Kupffer 细胞产生细胞因子必不可少的重要环节是 NF- κ B 的活化。进一步研究胰酶诱导巨噬细胞产生细胞因子的机制发现,胰肽酶 E、羧肽酶和脂肪酶都能降解 NF- κ B 抑制物 I κ B β ,活化 NF- κ B,产生 TNF- α ,提示这些胰酶可以通过细胞膜表面特异性受体激活该第二信使。Kupffer 细胞是全身巨噬细胞重要的部分,此实验为临床上抑制胰酶分泌及活性来治疗急性胰腺炎提供了可靠的理论依据。Tran-Thi 用内毒素脂多糖(LPS)刺激鼠 Kupffer 细胞,研究 Kupffer 细胞转录因子活化机制时发现,在 LPS 刺激下,NF- κ B 和活化蛋白-1(AP-1)通过不同途径被同时激活,产生 TNF- α 。TNF- α 又反过来激活 Kupffer 细胞中的 NF- κ B。进一步研究发现,能够激活 NF- κ B 的细胞因子主要有 TNF- α 和巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)。在这种中反馈机制的作用下,即使始动因素被去除,仍然很难终止炎症反应的瀑布效应,这也是胰腺炎凶险且治疗困难的原因。

3 Kupffer 细胞与 AP 相关肝损害的关系

Kupffer 细胞具有强大的吞噬、分泌、免疫调节与监视作用,其可有效地帮助机体清理废物,抵抗外来病原体的侵害,但其过度激活对机体也会造成极大危害。AP 时,胰腺腺泡细胞

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81301618)。 作者简介:胡兰(1974-),副主任医师,硕士,主要从事普外科工作。

凋亡,释放胰酶,并促使大量炎症介质的释放入血,循环到达肝脏激活 Kupffer 细胞,通过级联反应,释放 TNF- α 、IL-1、IL-6 等大量细胞因子,参与全身炎症反应综合征(SIRS)病理过程。

在 SAP 初期,淋巴系统炎症反应导致胰弹性蛋白大量的产生,当其循环到肝脏组织时,在 Kupffer 细胞中通过 p38-MAPK 介导激活 NF- κ B,进一步诱导 TNF 产生,损害肝细胞,使血清谷草转氨酶、乳酸脱氢酶升高。NF- κ B 是一种与炎症及细胞凋亡密切相关的多极性细胞转录因子。外界刺激使 NF- κ B 通过磷酸化和泛酸化被激活后,进入细胞核调节 TNF- α 、IL-1、IL-6 等细胞因子表达,而这些炎症因子又可反过来激活 NF- κ B,放大炎症反应。TNF- α 是 SAP 病理机制中最重要的炎症因子之一,它可促进肝细胞凋亡和坏死,促进急性期反应蛋白的生成,增强中性粒细胞与血管内皮细胞的黏附作用,甚至影响血管活性物质的基因表达,增加血管通透性,从而对胰腺和肝脏组织造成严重损害^[12]。因此,抑制 Kupffer 细胞活性,减少 TNF- α 产生,对于预防和治疗 SAP,减轻相关器官损伤有重要意义。

胰弹性蛋白酶可激活 NF- κ B,诱导 Kupffer 细胞产生大量 TNF,导致严重的肝损伤。用胰弹性蛋白酶和氯化钆处理肝脏,发现钆可抑制 NF- κ B 活性,减少胰弹性蛋白酶诱导的 TNF- α 的产生,同时降低血清 AST,ALT,LDH 的浓度以及细胞死亡率。这说明,SAP 时胰弹性蛋白酶可能通过激活 NF- κ B 作用于 Kupffer 细胞,从而刺激各种细胞因子产生,最终导致肝损伤。Wei 等^[13]用牛磺酸处理胰腺炎小鼠,发现可抑制 p38-MAPK 的表达水平以及 Kupffer 细胞中 NF- κ B 的激活,这表明 p38-MAPK 的表达水平以及 Kupffer 细胞中 NF- κ B 的激活在 AP 相关肝损伤中起着重要的作用。另外有研究发现阻断 TLR4 后,减少了 AP 肝损伤。该研究发现 TLR4 被激活的小鼠除了 TLR4 mRNA 增加以外,蛋白激酶 C(PKC)也有所增加,而蛋白激酶 C 增加后,激活 NF- κ B,从而激活 Kupffer 细胞产生细胞因子。因此通过阻断 TLR4,下调 PKC 的表达,减少炎症因子的产生和肝细胞凋亡,减轻了 AP 肝损伤^[14]。

Fas 是一种 I 型跨膜蛋白,属 TNF 神经生长因子受体超家族。FasL 为 TNF 家族成员,对诱导肝细胞凋亡有重要作用。其通过激活 Fas 相关死亡域,暴露死亡效应结构域,活化 p38-MAPK 以及下游相关效应,最终导致 DNA 裂解和肝细胞凋亡。Fas/FasL 基因缺失的 SAP 小鼠,其 p38-MAPK 磷酸化水平明显下调,DNA 裂解水平也下降了 60%,说明 Fas/FasL 可以诱导 SAP 中 p38-MAPK 介导的肝细胞凋亡。用 FasL 作用于弹性蛋白酶处理过的 Kupffer 细胞,其肝细胞活性显著降低,凋亡显著增加,而用 FasL 特异性抗体处理后,肝细胞凋亡减弱,这说明 FasL 来源于 Kupffer 细胞。胰弹性蛋白酶并不能直接导致肝细胞损伤,而是通过 Kupffer 细胞衍生的 FasL 基因表达上调,导致 Kupffer 细胞及血清中 FasL 水平明显增加,而诱导肝细胞凋亡,最终导致肝脏损害的。

4 Kupffer 细胞与 AP 相关肺损伤的关系

约 20% 的 AP 患者在入院前就已经死亡。这部分患者中,急性肺损伤似乎是最重要的死因。临床上,50%~75% 的 SAP 患者伴有肺部感染,其中约 20% 发生 ARDS。急性肺损伤的机制主要由内环境紊乱引起,包括肺泡内皮细胞的损害、肺泡血管屏障的破坏等。另外,中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞在趋化因子如 IL-8、单核细胞趋化蛋白-1 的作用下趋化、募集、活化,在急性肺损伤的发生发展过程中起重要的作用^[15]。受损胰腺释放的炎症介质或者腹水中的炎症介质在进入循环

之前在肝脏与 Kupffer 细胞相互作用、相互影响。炎症介质一到达肝脏,与 Kupffer 细胞接触后引起 Kupffer 细胞的激活,Kupffer 细胞激活后又释放出大量的炎症介质进入血液循环中。活化的 Kupffer 细胞释放出如免疫调节因子、炎症因子,反应性氮中间物、反应性氧中间物、过氧化氢等一系列物质,这些物质在胰腺局部炎症发展成为全身并发症的过程中起着关键的作用^[16-17]。在诱导急性出血坏死性胰腺炎之前,给实验鼠施行门腔静脉分流术,这样炎症介质将不通过肝脏,结果使胰腺炎相关的肺损害明显减轻。这表明肺部损伤与胰腺释放炎症介质通过肝脏有关,说明肝脏在急性胰腺炎肺部损伤中起重要的作用。用氯化钆处理小鼠后,分别测定肝静脉、门静脉和髂动脉中细胞因子的浓度,观察胰、肝、肺的组织损害程度。结果发现,对照组细胞因子浓度在门静脉最低,肝静脉稍高,而系统循环最高;而氯化钆处理组,细胞因子水平在肝静脉和系统循环中均有明显下降,肺组织损害程度也明显减轻。这说明来源于 Kupffer 细胞的细胞因子对全身细胞因子水平的升高及相关的肺损伤有重要的作用。

胰腺炎是一种非常复杂危险的疾病,在胰腺炎相关性肺损伤中,肝脏虽然起着非常重要的作用,但也不能忽略那些非 Kupffer 细胞依赖性细胞因子,他们可以直接引起肺的损伤。除胰腺本身产生的细胞因子外,还有如补体系统,蛋白水解酶,活性氧自由基等的产生和激活,对胰腺炎所致的全身损害都有重要作用。最近研究显示,一些抗炎症因子,如 IL-10、胰腺相关蛋白、肝细胞生长因子等,在胰腺炎病理过程中同样起重要作用^[18]。

5 Kupffer 细胞与 AP 全身感染的关系

AP 时肠管通透性增加,肠黏膜屏障功能减退,肠内细菌移位,内毒素入血,导致细菌感染和内毒素血症,进一步发展为 SIRS 和多脏器功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome,MODS),这是 AP 患者死亡重要原因^[19]。Kupffer 细胞发挥正常功能时,可以防止肠内细菌移位,并阻止其向全身扩散。而当 Kupffer 细胞功能被完全阻断时,肠内细菌移位至肝、脾、肺的情况变得非常严重,这说明 Kupffer 细胞是防止肠道细菌移位的重要屏障作用。Noelle 等在研究肝窦内皮细胞与肝脏损伤的关系时发现在发生全身脓毒血症时 Kupffer 细胞对肝窦内皮细胞保护作用减弱,这一作用是通过下调 gp-130 从而减少 Fas 介导的肝窦内皮细胞凋亡完成的。肝窦内皮细胞与血管内皮细胞一样在全身脓毒血症引起的损害中起着重要的作用,尤其是在肝脏损伤中起关键性的作用,因为肝窦内皮细胞是肝脏的第一道防线,一旦肝窦内皮细胞受损,肝脏实质细胞随后也会受损。Kupffer 细胞与肝窦内皮细胞一起对肝脏起着重要的保护作用^[20]。从该项研究中可以推测在 AP 相关的全身感染中,Kupffer 细胞对肝脏起着保护作用。

但在 SIRS 中,胃肠道释放的微量 LPS 可以通过 TLR4 持续地激活 Kupffer 细胞,如果 Kupffer 细胞被过渡激活,则可加重炎症反应^[21-22]。胃肠道还释放的一些交感神经递质,如去甲肾上腺素等,可以通过 Kupffer 细胞表面的 α 2-肾上腺素受体上调 TNF- α 的表达,促进炎症反应。 α 2-肾上腺素受体拮抗剂则可缓解炎症,减轻组织损伤,将成为治疗脓毒血症的新方法^[23]。很多信号通路在 SIRS 中被激活,如 TLR4,TNF 信号通路,细胞凋亡蛋白 Caspase 依赖途径和非依赖途径,而目前对损伤关联分子模式(damage-associated molecular patterns,DAMPs)和模式识别受体(pattern recognition receptors,PRRs)的研究,使其成为治疗急性炎症的热点^[24-25]。

6 展 望

Kupffer 细胞作为细胞因子的重要来源,对 AP 以及所致的相关全身损伤起了重要作用。目前有关 Kupffer 细胞与 AP 关系的研究都是基于动物模型,它们在人类机体的相互作用尚不完全清楚,还需进一步在其他动物模型中大量试验。另外,Kupffer 细胞与其他脏器功能损害的相关性研究也不足,这些都急待于进一步深入探讨。尽管目前很多研究表明氯化钆能阻断 Kupffer 细胞作用,从而使 AP 有所缓解,但鉴于氯化钆的毒性作用,现在尚不能应用于临床。现在有待发现新的无毒性或毒性小的作用于 Kupffer 细胞的药物,从而减缓胰腺炎的发展^[26]。相信有关 Kupffer 细胞的进一步研究将为胰腺炎治疗带来新的途径。

参考文献:

- [1] Shah AU, Sarwar A, Orabi AI, et al. Protease activation during in vivo pancreatitis is dependent on calcineurin activation[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2009, 297(5):G967-973.
- [2] Gea-Sorli S, Closa D. Role of macrophages in the progression of acute pancreatitis[J]. *World J Gastrointest Pharmacol Ther*, 2010, 1(5):107-111.
- [3] Abdulla A, Awla D, Thorlacius H, et al. Role of neutrophils in the activation of trypsinogen in severe acute pancreatitis[J]. *J Leukoc Biol*, 2011, 90(5):975-982.
- [4] Shanmugam MK, Bhatia M. The role of pro-inflammatory molecules and pharmacological agents in acute pancreatitis and sepsis [J]. *Inflamm Allergy Drug Targets*, 2010, 9(1):20-31.
- [5] Mayerle J, Dummer A, Sendler M, et al. Differential roles of inflammatory cells in pancreatitis[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2012, 27(2):47-51.
- [6] Folch-Puy E. Importance of the liver in systemic complications associated with acute pancreatitis: the role of Kupffer cells[J]. *J Pathol*, 2007, 211(4):383-388.
- [7] Sendler M, Dummer A, Weiss FU, et al. Tumour necrosis factor α secretion induces protease activation and acinar cell necrosis in acute experimental pancreatitis in mice [J]. *Gut*, 2013, 62(3):430-439.
- [8] Perides G, Weiss ER, Michael ES. TNF- α -dependent regulation of acute pancreatitis severity by Ly-6C (hi) monocytes in mice [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(15):13327-13335.
- [9] Zimmermann HW, Trautwein C, Tacke F. Functional role of monocytes and macrophages for the inflammatory response in acute liver injury[J]. *Front Physiol*, 2012, 3:56.
- [10] Shrivastava P, Bhatia M. Essential role of monocytes and macrophages in the progression of acute pancreatitis[J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(32):3995-4002.
- [11] Sailai Y, Yu X, Baiheti P, et al. Influence of nuclear factor kappaB activation on inflammatory mediators of alveolar macrophages in rats with acute necrotizing pancreatitis [J]. *J Investig Med*, 2010, 58(1):38-42.
- [12] Lee SH, Clemens MG, Lee SM. Role of Kupffer cells in vascular stress genes during trauma and sepsis[J]. *J Surg Res*, 2010, 158(1):104-111.
- [13] Wei S, Huang Q, Li J, et al. Taurine attenuates liver injury by downregulating phosphorylated p38 MAPK of Kupffer cells in rats with severe acute pancreatitis[J]. *Inflammation*, 2012, 35(2):690-701.
- [14] Vaz J, Akbarshahi H, Andersson R. Controversial role of toll-like receptors in acute pancreatitis[J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(5):616-630.
- [15] Gea-Sorli S, Guillamat R, Serrano-Mollar A, et al. Activation of lung macrophage subpopulations in experimental acute pancreatitis[J]. *J Pathol*, 2011, 223(3):417-424.
- [16] Akbarshahi H, Rosendahl AH, Westergren-Thorsson G, et al. Acute lung injury in acute pancreatitis--awaiting the big leap[J]. *Respir Med*, 2012, 106(9):1199-1210.
- [17] Zhou MT, Chen CS, Chen BC, et al. Acute lung injury and ARDS in acute pancreatitis: mechanisms and potential intervention[J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(17):2094-2099.
- [18] Elder AS, Saccone GT, Dixon DL. Lung injury in acute pancreatitis: mechanisms underlying augmented secondary injury[J]. *Pancreatol*, 2012, 12(1):49-56.
- [19] Schneider L, Büchler MW, Werner J. Acute pancreatitis with an emphasis on infection[J]. *Infect Dis Clin North Am*, 2010, 24(4):921-941.
- [20] Hutchins NA, Chung CS, Borgerding JN, et al. Kupffer cells protect liver sinusoidal endothelial cells from fas-dependent apoptosis in sepsis by down-regulating gp130 [J]. *Am J Pathol*, 2013, 182(3):742-754.
- [21] Seki S, Nakashima H, Nakashima M, et al. Antitumor immunity produced by the liver Kupffer cells, NK cells, NKT cells, and CD8 CD122 T cells[J]. *Clin Dev Immunol*, 2011, 20(11):868345.
- [22] Seki E, Schnabl B. Role of innate immunity and the microbiota in liver fibrosis: crosstalk between the liver and gut [J]. *J Physiol*, 2012, 590(Pt 3):447-458.
- [23] Zhang F, Wu R, Qiang X, et al. Antagonism of alpha2A-adrenoceptor: novel approach to inhibit inflammatory responses in sepsis[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2010, 88(3):289-296.
- [24] Fisher JE, McKenzie TJ, Lillegard JB, et al. Role of Kupffer cells and toll-like receptor 4 in acetaminophen-induced acute liver failure[J]. *J Surg Res*, 2013, 180(1):147-155.
- [25] Brenner C, Galluzzi L, et al. Decoding cell death signals in liver inflammation[J]. *J Hepatol*, 2013, 59(3):583-594.
- [26] Schneider L, Hackert T, Longerich T, et al. Effects of gadolinium chloride and glycine on hepatic and pancreatic tissue damage in alcoholic pancreatitis [J]. *Pancreas*, 2010, 39(4):502-509.