

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.20.027

网络首发 http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20190916.1624.010.html(2019-09-16)

胆管上皮细胞在原发性胆汁性胆管炎中的免疫调节作用*

沈健豪¹,邵建国^{2△}综述,卞兆连²审校

(1.南京中医药大学,南京 210023;2.南通市第三人民医院/南通市肝病研究所,江苏南通 226006)

[摘要] 原发性胆汁性胆管炎(PBC)是以肝内小叶间胆管损伤为特征的自身免疫性肝病。目前认为,胆管上皮细胞为 PBC 中主要受累的靶细胞,但胆管上皮细胞作为 Toll 样受体配体、抗原提呈细胞及在细胞凋亡、自噬、衰老中存在的相关免疫调节作用,与 PBC 的发病机制有直接或间接的作用。现就胆管上皮细胞在 PBC 中的免疫调节作用进行综述。

[关键词] 原发性胆汁性胆管炎;胆管上皮细胞;Toll 样受体;抗原提呈细胞

[中图分类号] R657.4+5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2019)20-3537-04

Immune regulation effect of bile duct epithelial cells in primary biliary cholangitis*

SHEN Jianhao¹, SHAO Jianguo^{2△}, BIAN Zhaolian²

(1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu 210023, China;
2. Nantong Municipal Third People's Hospital/Nantong Municipal Institute of Liver Disease, Nantong, Jiangsu 226006, China)

[Abstract] Primary biliary cholangitis (PBC) is an autoimmune liver disease characterized by the intrahepatic interlobular bile duct injury. So far, the bile epithelial cells are thought to be the major involved target cells in PBC. However, the bile epithelial cells served as toll-like receptor ligands, antigen presenting cells or existing related immune regulating effect in the process of cellular apoptosis, autophagy, senescence, and play the direct or indirect effect in the pathogenesis of PBC. This article reviews the immune regulation effect of bile epithelial cells in PBC.

[Key words] primary biliary cholangitis; biliary epithelial cells; toll-like receptor; antigen presenting cells

原发性胆汁性胆管炎(primary biliary cholangitis, PBC)又称原发性胆汁性肝硬化,是一种以慢性进行性的胆汁淤积为特征的自身免疫性肝病^[1-4]。PBC 主要组织学特点是慢性非化脓性破坏性胆管炎,最终导致广泛的小胆管丢失^[1-2]。小叶间的胆管上皮细胞在 PBC 发展中被选择性的免疫破坏。抗线粒体抗体(anti-mitochondrial antibody, AMA)作为 PBC 主要的血清特异性表现,其中又以 AMA-M2 型最具特异性。而 PBC 患者 AMA-M2 抗体靶抗原为 2-氧酸脱氢酶复合体,其中主要成分为丙酮酸脱氢酶复合体 E2 亚单位(pyruvate dehydrogenase complex-E2 subunit, PDC-E2)^[3],通过 2-氧酸脱氢酶复合体特异的 CD4⁺辅助性 T 细胞和 CD8⁺细胞毒 T 细胞造成肝内胆管上皮细胞免疫反应,因为这些 T 细胞展示了人和细菌之间 PDC-E2 的分子拟态^[5]。胆管上皮细胞作为免疫攻击的靶细胞,产生获得性免疫相关的细胞因子和趋化因子作为对先天免疫反应的结果^[6-7]。胆管上皮细胞表达多种细胞因子受体,影响 Toll 样受体

(Toll-like receptor, TLR)表达,对机体的先天免疫及获得性免疫具有调控作用^[8]。目前研究显示,在 PBC 的发病过程中,胆管上皮细胞不仅仅是免疫破坏的靶细胞,其自身具有的免疫调节作用在 PBC 发病机制中亦起重要作用。

1 参与固有免疫

胆管上皮细胞通过分泌细胞因子和表达免疫受体介导炎性反应,除免疫活性细胞外,胆管上皮细胞通过一组受体来识别微生物和它们的成分——模式识别受体。TLR 是识别病原相关分子模式的主要上皮模式识别受体。细菌和病毒感染可以通过 TLR 进一步激活先天免疫系统来增强炎症反应^[9]。脂多糖、脂磷壁酸和细菌 DNA 片段等细菌成分或产物作为病原相关分子模式在正常和病理性胆汁中被检测到^[9-11]。脂多糖释放的内毒素和脂磷壁酸在 PBC 的肝内胆管异常堆积^[12-13],胆管上皮细胞通过特定的 TLR 识别病原相关分子模式产生能激活固有和适应性免疫的趋化因子,从而有助于防御机制的启动^[14]。

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81600449);江苏省自然科学基金项目(BK20160420);江苏省南通市科技局项目(MS22015105)。

作者简介:沈健豪(1993—),在读硕士,主要从事肝病的分子生物学研究。△ 通信作者,E-mail:shaojianguo4144@163.com。

在 PBC 中,胆管上皮细胞表达的趋化因子促进了单核细胞向肝内炎症浸润,从而产生过多的趋化因子,如 MIP-1 α /CCL3、MIP-1 β /CCL4、RANTES/CCL5 和 IP-10/CXCL10,增强 CD40 和人类白细胞抗 1 原 DR α 的表达,进一步的激活固有和适应性免疫^[15],形成瀑布效应,促进胆管周围炎的发生发展。

在 PBC 中,TLR2、3、4、5、9 的配体被证明可以显著提高促炎细胞因子白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)和肿瘤坏死因子(TNF- α)的水平^[16]。研究发现,在 PBC 的患者中 TLR3 在肝细胞中表达明显增高,而在胆管上皮细胞表面 TLR4 和 TLR9 表达水平明显增加,提示胆管上皮细胞参与 PBC 的发病过程可能通过其表面的 TLR-4/9 发挥作用^[17]。文献报道,在 PBC 患者中由于患者小肠黏膜通透性增加,导致血清中 LPS 水平明显增高,可能是诱导胆管上皮细胞表达 TLR4 增高的机制^[18]。非甲基化胞嘧啶-鸟嘌呤寡核苷酸作为公认的 TLR9 配体,通过免疫组化的研究发现,在 PBC 患者的胆管上皮细胞中,TLR9 的表达明显增加^[17]。更为重要的是,非甲基化胞嘧啶-鸟嘌呤能够诱导 PBC 患者外周中 AMA 的形成,并且能够调节 B 细胞表面的 TLR9 的变化,通过 B 细胞介导的自身免疫参与 PBC 的发病机制^[19]。

2 抗原提呈作用

健康人群胆管上皮细胞表达主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) I 类分子,而在病理状态下可以异常表达 MHC II 类分子,并增加细胞间黏附分子 1 和淋巴细胞功能相关抗原 3 表达,具有作为非专职 APC 的潜力^[20-21]。研究研究发现,在 PBC 患者中,在促炎细胞因子(IFN- γ 、TNF- α)等炎症因子的作用下,受损伤的胆管上皮细胞表达人类白细胞抗原 II 类分子明显上调,同时细胞间黏附分子 1、淋巴细胞功能相关抗原 3 及 CD40 表达也有所增加^[21-22]。另外有研究发现,PBC 患者的胆管上皮细胞能够表达共刺激信号分子 B7-1(CD80)和 B7-2(CD86),可以协同活化 T 细胞进而引起免疫反应^[22]。PBC 患者中的胆管上皮细胞在抗 CD28 抗体共同刺激下,可以作为 APC 具有提呈抗原的能力^[23]。

胆管上皮细胞表面表达 CD1d,它类似于 MHC I 类分子,能呈递脂类抗原给 NKT 细胞从而促进 NKT 细胞活化,能够杀伤靶细胞,同时活化的 NKT 细胞产生大量细胞因子(如 IL-4、IFN- γ 、IL-17)具有重要免疫调节作用^[24-25]。在 PBC 晚期患者肝脏组织中,CD1d 表达下调,是否与 CD1d 受限激活 NKT 细胞有关^[26],仍需进一步研究证明。

3 胆管上皮细胞凋亡、自噬和衰老

细胞凋亡、自噬和衰老是细胞对应激的不同反应,彼此相互关联。适当的细胞应激反应与维持组织

的完整性和功能息息相关;机体通过适应、修复来对应激细胞对出反应,不能通过适应、修复的细胞则被转移到不可逆转的过程,如细胞凋亡(程序性死亡)或细胞衰老来清除^[27]。自噬是指细胞通过降解细胞自身体内的蛋白质和细胞器来实现自身细胞器的更新及维持自身代谢过程,从而使得细胞内环境稳定^[27-28]。

3.1 细胞凋亡 细胞凋亡是程序性细胞死亡的主要机制,细胞凋亡可以通过清除死细胞及有害物质来维持组织生长和体内稳态^[29]。凋亡细胞被专职吞噬细胞(如巨噬细胞和未成熟的树突细胞)或邻近的非专职吞噬细胞移除,然后转移到溶酶体中,在那里它们的细胞成分被降解以供重复使用而不会释放潜在的有害炎症和免疫原性细胞内物质^[30]。在细胞凋亡过程中,凋亡小体的形成可以避免免疫系统与细胞内的自体抗原不受控制的接触^[31]。

在 PBC 中,胆管上皮细胞表达穿孔素和颗粒酶,并在胆管上皮细胞上出现上调的凋亡相关分子 Fas(CD95)表达,提示细胞凋亡在 PBC 的发病过程中可能发挥重要的作用,是胆管上皮细胞损害的重要机制之一^[32]。因为胆管上皮细胞缺乏谷胱甘肽化作用,在细胞凋亡过程中,PDC-E2 保持其免疫原性^[33]。所以在 PBC 中,胆管上皮细胞的凋亡过程中细胞内的完整的 PDC-E2 能够进入凋亡小体,脱落的凋亡小体能够形成新生抗原,刺激炎症细胞产生炎性细胞因子^[34],从而进一步促进胆管上皮细胞的凋亡。而这种恶性循环的持续存在打破了机体的免疫耐受,导致 PBC 的发生与发展^[35]。

3.2 细胞自噬与衰老 细胞自噬功能的改变伴随着细胞衰老的发生。研究发现在 PBC 患者肝内受损的胆管上皮中,细胞自噬标记物 LC3 与细胞衰老标记物 p21WAF1/Cip1 和 p16INK4a 共表达^[36-37];进一步的体外实验研究发现,抑制胆管上皮细胞自噬可以明显延缓胆管上皮细胞衰老的发生,揭示了在 PBC 过程胆管上皮细胞的衰老过程中自噬伴随其左右,调控了衰老的过程,参与 PBC 发病过程中肝内小胆管损伤^[38-39]。研究发现,PBC 患者,肝内 p62 蛋白的表达明显增加,而 P62 蛋白具有介导细胞选择性自噬的功能,提示 p62 蛋白可能在调控胆管上皮细胞自噬过程中发挥重要作用。在 PBC 中,胆管上皮细胞异常的自噬功能能够引起阴离子交换蛋白 2 表达的失调,从而破坏胆管上皮细胞表面保护胆道黏膜的碳酸盐保护层,致使毒性胆汁酸渗入胆管上皮,加重胆管上皮的损伤^[40-41]。在 PBC 的发病过程中,由于肝内炎症细胞因子的表达增加,诱发胆管上皮细胞的衰老^[42];而随着细胞衰老的发生,胆管上皮细胞不可逆转地失去了增殖能力^[43-44],加重了胆管上皮的损伤。同时研究还发现,衰老的胆管上皮细胞能够分泌许多促炎细胞

因子(IL-6、IL-1 等)、趋化因子(CXCL8/IL-8、CCL2/单核细胞趋化蛋白 1)、生长因子、基质重塑因子和蛋白酶^[45],招募单核巨噬细胞趋化至肝脏^[46],进一步加重肝细胞炎症。

综上所述,在 PBC 的发病过程中,胆管上皮细胞不仅仅是免疫损伤的靶细胞,还作为免疫调节环节中的重要环节,参与调节肝内免疫平衡的打破。其不但可以通过 TLR、CD1d 等分子参与肝内固有免疫的调控;同样可通过 MHC II 分子发挥抗原递呈作用,调节肝内适应性免疫。最后通过胆管上皮细胞的衰老、凋亡等生理病理过程进一步调节自身抗原的暴露以及炎症瀑布效应的放大作用。进一步研究 PBC 中胆管上皮的病理生理功能,有利于进一步阐述 PBC 的发病机制,并有望尽早为 PBC 的治疗寻找到新的潜在的免疫治疗靶点。

参考文献

- [1] CAREY E J, ALI A H, LINDOR K D. Primary biliary cirrhosis[J]. *Lancet*, 2015, 386(10003):1565-1575.
- [2] BOWLUS C L, GERSHWIN M E. The diagnosis of primary biliary cirrhosis[J]. *Auto Rev*, 2014, 13(4/5):441-444.
- [3] GERSHWIN M E, MACKAY I R. The causes of primary biliary cirrhosis: convenient and inconvenient truths[J]. *Hepatology*, 2008, 47(2):737-745.
- [4] SHIMODA S, TANAKA A. It is time to change primary biliary cirrhosis (PBC): New nomenclature from "cirrhosis" to "cholangitis", and upcoming treatment based on unveiling pathology[J]. *Hepatol Res*, 2016, 46(5):407-415.
- [5] WANG L, WANG F S, CHANG C, et al. Breach of tolerance: primary biliary cirrhosis[J]. *Semin Liver Dis*, 2014, 34(3):297-317.
- [6] YANG C Y, MA X, TSUNNEYAMA K, et al. IL-12/Th1 and IL-23/Th17 biliary microenvironment in primary biliary cirrhosis: implications for therapy[J]. *Hepatology*, 2014, 59(5):1944-1953.
- [7] CHOI J, SELMI C, LEUNG P S, et al. Chemokine and chemokine receptors in autoimmunity: the case of primary biliary cholangitis[J]. *Expt Rev Clin Immunol*, 2016, 12(6):661.
- [8] STRAZZABOSCO M, FIOROTTO R, CADAMURO M, et al. Pathophysiologic implications of innate immunity and autoinflammation in the biliary epithelium[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2017, 1864(4 Pt B):1374-1379.
- [9] PATRA M C, CHOI S. Recent progress in the development of Toll-like receptor (TLR) antagonists[J]. *Expt Opin Thera Pat*, 2016, 26(6):719-730.
- [10] TRUSSONI C E, TABIBIAN J H, SPLINTER P L, et al. Lipopolysaccharide (LPS)-induced biliary epithelial cell NRas activation requires epidermal growth factor receptor (EGFR)[J]. *PLOS One*, 2015, 10(4):pe0125793.
- [11] GUPTA P K, JAISWAL A K, ASTHANA S, et al. Antigen presenting cells targeting and stimulation potential of lipoteichoic acid functionalized lipo-polymerosome: a chemo-immunotherapeutic approach against intracellular infectious disease[J]. *Biomacromolecules*, 2015, 16(4):1073.
- [12] MORITA S, JOSHITA S, UMEMURA T, et al. Association analysis of toll-like receptor 4 polymorphisms in Japanese primary biliary cirrhosis[J]. *Human Immunol*, 2013, 74(2):219-222.
- [13] HARUTA I, HASHIMOTO E, KATO Y, et al. Lipoteichoic acid may affect the pathogenesis of bile duct damage in primary biliary cirrhosis[J]. *Autoimmunity*, 2006, 39(2):129-135.
- [14] LUDWIG J M, ZHANG Y, CHAMULITRAT W, et al. Anti-inflammatory properties of ursodeoxycholy l lysophosphatidylethanolamide in endotoxin-mediated inflammatory liver injury[J]. *PLoS One*, 2018, 13(5):e0197836.
- [15] SHIMODA S, HARADA K, NIRO H, et al. Biliary epithelial cells and primary biliary cirrhosis: the role of liver-infiltrating mononuclear cells[J]. *Hepatology*, 2008, 47(3):958-965.
- [16] MAO T K, LIAN Z X, SELMI C, et al. Altered monocyte responses to defined TLR ligands in patients with primary biliary cirrhosis[J]. *Hepatology*, 2005, 42(4):802-808.
- [17] BENIAS P C, GOPAL K, BODENHEIMER H, et al. Hepatic expression of toll-like receptors 3, 4, and 9 in primary biliary cirrhosis and chronic hepatitis C[J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2012, 36(5):448-454.
- [18] ZHAO J, ZHAO S, ZHOU G, et al. Altered biliary epithelial cell and monocyte responses to lipopolysaccharide as a TLR ligand in patients with primary biliary cirrhosis[J]. *Scand J Gastroenterol*, 2011, 46(4):485-494.
- [19] MORITOKI Y, LIAN Z X, WULFF H, et al. AMA production in primary biliary cirrhosis is promoted by the TLR9 ligand CpG and suppressed by potassium channel blockers[J]. *Hepatology*, 2007, 45(2):314.
- [20] SHIMODA S, HISAMOTO S, HARADA K, et al. Natural killer cells regulate T cell immune responses in primary biliary cirrhosis[J]. *Hepatology*, 2016, 62(6):1817-1827.
- [21] KAMIHIRA T, SHIMODA S, NAKAMURA M, et al. Biliary epithelial cells regulate autoreactive T cells: implications for biliary-specific diseases[J]. *Hepatology*, 2010, 41(1):151-159.
- [22] ZHANG B, HU M, ZHANG P, et al. BAFF promotes regulatory T-cell apoptosis and blocks cytokine production by activating B cells in primary biliary cirrhosis[J]. *Brazilian J Med Biol Res*, 2013, 46(5):433-439.
- [23] WEBB G J, HIRSCHFIELD G M. Using GWAS to identify genetic predisposition in hepatic autoimmunity[J]. *J Auto*, 2016, 66:25-39.

- [24] SALIO M, SILK J D, JONES E Y, et al. Biology of CD1- and MR1-restricted T cells[J]. *Annu Rev Immunol*, 2014 (32):323-366.
- [25] CHANG C H, CHEN Y C, ZHANG W, et al. Innate immunity drives the initiation of a murine model of primary biliary cirrhosis[J]. *PLOS One*, 2015, 10(3):e0121320.
- [26] SCHRUMPF E, TAN C, KARLSEN T H, et al. The biliary epithelium presents antigens to and activates natural killer T cells[J]. *Hepatology*, 2015, 62(4):1249-1259.
- [27] NAKANUMA Y, SASAKI M, HARADA K. Autophagy and senescence in fibrosing cholangiopathies[J]. *J Hepatol*, 2015, 62(4):934-945.
- [28] BOOTH L A, TAVALLAI S, HAMED H A, et al. The role of cell signalling in the crosstalk between autophagy and apoptosis[J]. *Cell Sig*, 2014, 26(3):549-555.
- [29] HUBEL E, SAROHA A, PARK W J, et al. Sortilin deficiency reduces ductular reaction, hepatocyte apoptosis, and liver fibrosis in cholestatic-induced liver injury[J]. *Am J Pathol*, 2016, 187(1):122-133.
- [30] HENSON P M, BRATTON D L. Antiinflammatory effects of apoptotic cells[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(7):2773-2774.
- [31] POON I K, LUCAS C D, ROSSI A G, et al. Apoptotic cell clearance: basic biology and therapeutic potential[J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14(3):166.
- [32] ZWOLAK A, SURDACKA A, DANILUK J. Bcl-2 and Fas expression in peripheral blood leukocytes of patients with alcoholic and autoimmune liver disorders[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2015, 35(8):799-807.
- [33] HARADA K, YUKO K, SATO Y, et al. Significance of oestrogen-related receptor $\{\gamma\}$ on biliary epithelial cells in the pathogenesis of primary biliary cirrhosis[J]. *J Clin Pathol*, 2014, 67(7):566.
- [34] LLEO A, INVERNIZZI P. Apoptosis and innate immune system: novel players in the primary biliary cirrhosis scenario[J]. *Dig Liver Dis*, 2013, 45(8):630-636.
- [35] GAO J, QIAO L, WANG B. Primary biliary cirrhosis is a generalized autoimmune epithelitis[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(3):6432-6446.
- [36] SASAKI M, MIYAKOSHI M, SATO Y, et al. Increased expression of mitochondrial proteins associated with autophagy in biliary epithelial lesions in primary biliary cirrhosis[J]. *Liver Int*, 2013, 33(2):312-320.
- [37] SASAKI M, HSU M, YEH M M, et al. In recurrent primary biliary cirrhosis after liver transplantation, biliary epithelial cells show increased expression of mitochondrial proteins[J]. *Virchows Archiv*, 2015, 467(4):1-9.
- [38] SASAKI M, YOSHIMURA-MIYAKOSHI M, SATO Y, et al. A possible involvement of endoplasmic reticulum stress in biliary epithelial autophagy and senescence in primary biliary cirrhosis[J]. *J Gastroenterol*, 2015, 50(9):1-12.
- [39] SASAKI M, NAKANUMA Y. Stress-induced cellular responses and cell death mechanisms during inflammatory cholangiopathies[J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2017, 41(2):129-138.
- [40] SASAKI M, SATO Y, NAKANUMA Y. An impaired biliary bicarbonate umbrella may be involved in dysregulated autophagy in primary biliary cholangitis[J]. *Lab Invest*, 2018, 98(6):1.
- [41] VAN NIEKERK J, KERSTEN R, BEUERS U. Role of bile acids and the biliary HCO₃⁽⁻⁾ umbrella in the pathogenesis of primary biliary cholangitis[J]. *Clin Liver Dis*, 2018, 22(3):457-479.
- [42] GRIFFITHS L, JONES D E. Pathogenesis of primary biliary cirrhosis and its fatigue[J]. *Dig Dis*, 2014, 32(5):615-625.
- [43] SALAMA R, SADAIE M, HOARE M, et al. Cellular senescence and its effector programs[J]. *Genes Dev*, 2014, 28(2):99-114.
- [44] KANG C, XU Q, MARTIN T D, et al. The DNA damage response induces inflammation and senescence by inhibiting autophagy of GATA4[J]. *Science*, 2015, 349(6255):5612.
- [45] TCHKONIA T, ZHU Y, VAN DEURSEN J, et al. Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(3):966-972.
- [46] RONG G H, YANG G X, ANDO Y, et al. Human intrahepatic biliary epithelial cells engulf blebs from their apoptotic peers[J]. *Clin Exp Immunol*, 2013, 172(1):95-103.

(收稿日期:2019-02-14 修回日期:2019-06-06)