

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.21.038

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200725.1415.008.html\(2020-07-26\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200725.1415.008.html(2020-07-26))

# 基于单核/巨噬细胞功能调节的急性肝衰竭的免疫治疗策略\*

杨正弦<sup>1</sup>,潘乐涵<sup>2</sup>综述,龚建平<sup>2△</sup>审校

(1. 重庆市綦江区中医院普外科 401420; 2 重庆医科大学附属第二医院肝胆外科 400010)

**[摘要]** 急性肝衰竭(ALF)是一种病死率极高的临床综合征,其发生突然,病程发展迅速,病情复杂多变。尽管 ALF 是多种因素综合作用的结果,但其核心环节是大量的肝细胞死亡,且机体免疫介导的继发性肝损伤是 ALF 发生重要的机制之一。单核/巨噬细胞功能障碍是 ALF 疾病进展的关键,并且巨噬细胞还参与了驱动损伤和相关炎症的发生、传播和消退的过程。更好地理解 ALF 中单核/巨噬细胞发挥的作用及调节巨噬细胞可塑性的机制,将会为 ALF 的免疫治疗策略提供新的理论支持。

**[关键词]** 急性肝衰竭;单核细胞;巨噬细胞;可塑性;免疫治疗

**[中图法分类号]** R459.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2020)21-3672-04

## Immunotherapy strategies for acute liver failure based on monocyte/macrophage function regulation\*

YANG Zhengxian<sup>1</sup>, PAN Lehan<sup>2</sup>, GONG Jianping<sup>2△</sup>

(1. Department of General Surgery, Qijiang District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 401420, China; 2. Department of Hepatobiliary Surgery, Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

**[Abstract]** Acute liver failure (ALF) is a clinical syndrome with extremely high mortality. It occurs suddenly, develops rapidly and the disease condition is complex and changeable. ALF is the result of combination action of multiple factors, but its core link is massive hepatocytes necrosis, moreover the secondary immune-mediated liver injury is one of important mechanisms in the occurrence of ALF. The monocyte/macrophage dysfunction is the key to the development of ALF. Macrophages are also involved in the processes of occurrence, transmission and regression of driving injury and related inflammation. Better understanding of the role of monocytes / macrophages in ALF and the mechanisms of regulating macrophage plasticity will provide new theoretical support for the immunotherapy strategies of ALF.

**[Key words]** acute liver failure; monocyte; macrophage; plasticity; immunotherapy

急性肝衰竭(ALF),常被定义为由多种原因引起的急性大面积肝细胞坏死和(或)严重的肝功能障碍<sup>[1]</sup>,由于肝细胞坏死及肝功能严重障碍,导致氨基转移酶快速升高,精神状态改变和凝血功能紊乱,可严重危及患者生命<sup>[2]</sup>。当前,ALF的具体治疗方法包括支持治疗、病因治疗、原位肝移植等。尽管肝移植手术的开展明显改善了 ALF 患者的存活率,但目前肝脏资源稀缺,并且移植后患者需要长期服用抗排斥药物<sup>[3]</sup>,所以目前迫切地需要研究和开发针对 ALF 的新疗法。

免疫疗法为临床恢复肝功能提供了新的治疗策略。从肝损伤的观点来看可将 ALF 的机制归纳为两类。(1)病原体或有毒物质直接损伤细胞器或触发细胞级联途径,干扰细胞内稳态;(2)被感染(如病原体)或非感染因素(如乙醇、药物)所激活的免疫反应

(包括固有的和适应性的)最终导致肝细胞死亡(包括凋亡、自噬、坏死和程序性坏死)<sup>[4]</sup>。POSSAMAI 等<sup>[5]</sup>认为,尽管 ALF 的最初事件是肝细胞死亡,但 ALF 的临床综合征及其并发症(包括多器官功能障碍和败血症)主要是由对肝损伤的免疫反应产生的。单核/巨噬细胞是专职吞噬细胞,是构成固有免疫系统的关键部分,参与构成抵御病原体入侵的防御机制<sup>[6]</sup>。肝巨噬细胞在 ALF 中起着多种作用,其固有的可塑性意味着在疾病不同阶段的组织微环境中,同类型的巨噬细胞可能具有多种功能。更好地了解 ALF 期间调节巨噬细胞可塑性的机制将是实现潜在的免疫调节疗法的必要步骤,该疗法可以定向巨噬细胞,从而促进减轻肝脏损伤和促进肝修复/再生反应的功能<sup>[5]</sup>。本文将就 ALF 全身免疫功能障碍中单核/巨噬细胞发挥的作用及可使用哪些免疫治疗策

\* 基金项目:国家自然科学基金项目(81971880)。 作者简介:杨正弦(1973—),副主任医师,本科,主要从事肝胆疾病的基础及临床研究。

△ 通信作者,E-mail:gongjianping11@126.com。

略进行综述。

## 1 ALF 发生的免疫病理学机制

在 ALF 的过程中,固有免疫反应和适应性免疫均参与了免疫介导的肝损伤。肝脏既是一个消化器官,也是一个免疫器官,在固有免疫反应中起着关键作用。固有免疫系统是抵御病原体入侵和其他潜在威胁的第一道防线。多种固有免疫细胞的精细配合是有效杀灭和清除入侵病原体等分子威胁的关键。固有免疫系统可以通过识别独特的微生物分子基序,即病原体相关分子模式(PAMPs),对入侵的病原体作出反应<sup>[7-8]</sup>。肝组织中的多种固有免疫细胞,如库普弗细胞(KCs)、自然杀伤(NK)细胞、NKT 细胞和树突细胞(DCs)等可以杀死病原体,并进一步激活适应性免疫<sup>[9-10]</sup>。内源性损伤相关分子模式(DAMPs)是在组织受到损伤、缺氧、应激等因素刺激后释放的一类物质,可通过识别 Toll 样受体(TLR)、视黄醇诱导基因-1 样受体(RLR)或核苷酸结合寡聚化结构域样受体(NLR)等模式识别受体诱导自身免疫或免疫耐受<sup>[8,11]</sup>。DAMPs 与其受体的连接导致免疫细胞的活化,从而使免疫细胞转变为促炎表型,从而通过细胞因子和趋化因子的释放引发炎症信号,进而放大并维持炎症反应<sup>[12]</sup>。肝脏炎症可由多种 DAMPs 和 PAMPs 引发,并且是多种肝脏疾病(包括 ALF 在内)的免疫病理学机制的重要组成部分<sup>[9]</sup>。驻留肝脏的 KCs 高度表达各种 DAMPs 受体(如 P2X7 受体,TLR9 和晚期糖基化终产物等),从而介导对损伤的初始炎症反应<sup>[12]</sup>。如在对乙酰氨基酚过量后,肝细胞中会诱发氧化应激和直接损伤线粒体,从而释放出可被 KCs 识别的 DAMPs。反过来,活化的 KCs 会分泌促炎性细胞因子(如肿瘤坏死因子- $\alpha$ ),活性氧和趋化因子(如趋化因子 2),从而放大促炎性信号并增加骨髓来源的细胞募集入肝脏(主要是中性粒细胞和单核细胞),从而增强炎症过程<sup>[8,13]</sup>。

在 ALF 实验模型损伤后 12 h 内,固有免疫细胞的数量大量增加。其中肝巨噬细胞可能来源于常驻 KCs 细胞群的增殖和(或)来自单核细胞循环池的募集。来自对乙酰氨基酚毒性的人类模型和实验模型的证据表明,在肝损伤的早期阶段,趋化因子受体 2 依赖的循环源性单核细胞大量涌入可导致巨噬细胞数量增加<sup>[14]</sup>。早期的实验研究中,关于这些新募集的单核细胞所衍生的巨噬细胞在 ALF 中的功能,存在相互矛盾的地方。有研究表明,单核细胞/巨噬细胞的消耗是保护性的,在一定程度上减少了肝损伤<sup>[15]</sup>。但是最近的研究表明,常驻巨噬细胞和浸润性巨噬细胞的耗竭实际上损害了急性肝损伤的分辨反应<sup>[14]</sup>。这些不一致可能与巨噬细胞亚群对各种实验耗竭技术的敏感性不同及在炎症过程中巨噬细胞固有的功能可塑性有关。

## 2 肝巨噬细胞的可塑性

巨噬细胞的特点是具有可塑性和广泛的多样性。由于其固有的可塑性,肝巨噬细胞可以灵活地应对不同的环境,并接收肝实质细胞和其他免疫细胞产生的

相应信号<sup>[16]</sup>。巨噬细胞具有促炎特性,在受到伤害或感染时可产生细胞因子和活性氧以消除病原和破坏组织;同时又具有抗炎特性,可解决急性炎症并触发组织重塑和修复<sup>[17-18]</sup>。在机体处于稳态的条件下,局部微环境可诱导巨噬细胞分化为与组织修复和重塑有关的表型<sup>[17]</sup>。根据巨噬细胞的分化状态,传统上将其分为促炎型(M1 型)或抗炎/伤口愈合型(M2 型)<sup>[19]</sup>。然而,对人类单核细胞来源巨噬细胞(MoMFs)进行广泛的转录组学分析发现,用不同的刺激物(如细胞因子,脂肪酸或脂多糖)对巨噬细胞进行培养,可出现用 M1/M2 二分法无法充分描述的一系列巨噬细胞激活状态<sup>[9,20]</sup>。(1)巨噬细胞在其局部微环境中接收到的信号是多样的,并且在时间和空间上是动态的<sup>[17]</sup>。(2)巨噬细胞不仅具有不同的表型,而且还可以从一种类型可逆地转换为另一种类型<sup>[8,20]</sup>。巨噬细胞在炎症过程中表现出相当大的可塑性,微环境是决定组织炎症过程中巨噬细胞功能的关键因素,因此,巨噬细胞能够响应微环境的变化并通过不同的激活状态进行可逆性的转变<sup>[21]</sup>。在早期炎症中,TLR 配体[如高迁移率族蛋白 B1(HMGB1),DNA 和促炎性细胞因子]的存在通过激活 NF- $\kappa$ B 和信号转导和转录活化因子 1(STAT1)信号通路将巨噬细胞极化驱动到经典的“M1 型”激活状态。这个过程进一步诱导了促炎性细胞因子的分泌和主要组织相容性复合体(MHC) II 的表达,促进了炎症的传播和持续。在炎症的后期,巨噬细胞会经历功能性的“转换”,即从促炎的“M1 型”向抗炎的“M2 型”转变,同时伴有越来越多的负责这种功能转换的微环境介质被识别<sup>[21-22]</sup>。未来基于对巨噬细胞可塑性的新研究进展有望助于开发治疗 ALF 及其他无菌性炎症的新疗法。

## 3 ALF 的免疫治疗策略

### 3.1 靶向肝巨噬细胞

肝巨噬细胞是 ALF 致病机制的核心,参与驱动损伤和相关炎症的发生、传播和消退过程。因此,肝巨噬细胞是开发用于治疗 ALF 的新疗法的重要靶标之一。在小鼠和人类中,调节巨噬细胞募集、对伤害性或传染性刺激做出反应及调节分化的主要途径高度保守,因此,可以将动物实验模型转化为人类疾病进行研究。并且使用一些与巨噬细胞相关的生物标志物可以使患者出现相应的阳性反应<sup>[9]</sup>。有研究认为,在 ALF 患者中检测到的可溶性清除剂受体 CD163(sCD163)和甘露糖受体(sMR)的循环水平升高,就可作为体现巨噬细胞活化水平并预测患者病死率的标志物<sup>[23]</sup>。然而,以巨噬细胞为导向的免疫疗法在肝病治疗的发展和临床应用方面同样面临许多挑战。(1)在不同的实验条件下,动物模型可能表现出与巨噬细胞亚群功能相反的结果<sup>[5]</sup>。因此,必须考虑到所有与疾病阶段相关的干预因素,包括对于最佳剂量、时间、子集特异性靶向等<sup>[8]</sup>。(2)动物模型只能反映人类发病机制的某些方面。(3)与近交系小鼠相比,从可能影响巨噬细胞的内在(遗传、性别、年龄等)或

外在(微生物群、感染、药物等)因素来看,人类患者具有更大的异质性<sup>[8,24]</sup>。巨噬细胞在疾病的发生和发展中具有独特的功能,并具有维持体内平衡和保护作用。因此,在不妨碍恢复性或稳态巨噬细胞功能的情况下,治疗性地靶向巨噬细胞的致病表型非常重要<sup>[18]</sup>。

### 3.2 促进巨噬细胞极化和分化

上述研究表明,巨噬细胞具有可塑性,能够响应来自微环境的刺激而转换成一系列表型。POSSAMAI 等<sup>[5]</sup>研究认为,应该考虑利用关键介质促进巨噬细胞功能早期转换进行治疗,从而加速损伤的修复和肝细胞再生的过程。促进巨噬细胞从致病表型向恢复性表型转变的治疗方法可以加速疾病缓解和促进肝脏再生<sup>[8]</sup>,可以通过使用促进巨噬细胞极化的治疗剂和(或)使用可以选择性地将巨噬细胞重编程为恢复表型的纳米颗粒来实现<sup>[18]</sup>。类固醇(如地塞米松)、白细胞介素(IL)-4、IL-10、分泌型白细胞蛋白酶抑制剂(SLPI)、前列腺素 E2(PGE2)和集落刺激因子 1 受体(CSF-1R)激动剂是针对不同免疫调节途径的有前途的治疗药物,可以实现不同巨噬细胞表型的功能分析。因为极化的细胞群在表型上更加统一,所以极化的巨噬细胞可以提供更高的功效或改善的安全性<sup>[25-26]</sup>。巨噬细胞治疗存在的一个安全隐患是移植的巨噬细胞存在因为响应患病器官中的微环境刺激而分化成为潜在有害表型的风险。移植前使用高浓度重组细胞因子离体极化巨噬细胞可降低这种风险,因为有研究表明,极化巨噬细胞可以表观遗传地保留其表型<sup>[26]</sup>。

### 3.3 抑制 KCs 活化

KCs 占人体组织巨噬细胞的 80%~90%,位于肝窦腔内,因此,经常暴露于可激活巨噬细胞的肠道来源的细菌、微生物碎片和细菌内毒素。KCs 激活后,可释放出多种产物,包括细胞因子,前列腺素,一氧化氮和活性氧等。这些产物又可以调节 KCs 本身的表型,以及邻近细胞(如肝细胞、星状细胞、内皮细胞和其他通过肝脏运输的免疫细胞)的表型。因此,KCs 与肝脏对感染、毒素、局部缺血、切除和其他刺激反应密切相关<sup>[27]</sup>。

肝脏损伤的最初识别(主要由驻留的 KCs 介导)触发了炎症的级联反应,炎症的激活过程可以通过几种方法进行调节,包括模式识别受体(PRR)拮抗剂(如抗 TLR2、TLR3 或 TLR4)和 DAMPs 拮抗作用(如抗 HMGB-1 或抗组蛋白 mAb)等<sup>[19]</sup>。在 ALF 中与 KCs 相关的肝细胞损伤或死亡,是通过 DAMP/PAMP 与 PRR、NF- $\kappa$ B 信号传导及 NLRP3 炎性小体激活的相互作用来传递早期信号的,因此,这些都可以作为免疫治疗的明确目标<sup>[8]</sup>。一种策略是拮抗 PRR,在对乙酰氨基酚诱导的 ALF 小鼠模型中,抑制 TLR2、TLR3 和 TLR4 可以减轻肝脏损伤<sup>[28-29]</sup>。TLR4 主要表达在巨噬细胞上,可以介导巨噬细胞活化及和促炎性细胞因子分泌,同时促进大量的肝细胞坏死。TLR4 拮抗剂治疗 D-半乳糖胺和脂多糖诱导

的 ALF 大鼠,不仅明显降低了肝损伤,还提高了这些大鼠的整体存活率<sup>[30]</sup>。另一种策略是针对已释放的 DAMP,如 HMGB1 和组蛋白<sup>[31]</sup>。HMGB1 是从受损肝细胞释放的典型肝危象,可以结合 TLR2、TLR4 等。实验证据表明,坏死肝细胞的 HMGB1 释放似乎对嗜中性粒细胞募集、损伤放大具有重要作用,并可影响对乙酰氨基酚介导的肝损伤的致死性<sup>[31-32]</sup>。在 ALF 小鼠模型中,HMGB-1 中和抗体可改善肝脏损伤并减少细菌易位<sup>[32]</sup>。因此,在 ALF 早期进行药物阻断 HMGB-1 可能会对器官衰竭有一定的预防作用<sup>[33]</sup>。就组蛋白而言,可以通过 TLR2/TLR4 引发炎症并激活炎性小体。炎性小体是可感知细胞内危险信号的细胞内多蛋白复合物,而炎性小体过度活化可能导致肝细胞凋亡。有研究表明,有针对性的抗组蛋白治疗可减少单核细胞促炎性细胞因子的产生,并降低 ALF 的病情严重程度<sup>[34]</sup>。

### 参考文献

- [1] ROVEGNO M, VERA M, RUIZ A, et al. Current concepts in acute liver failure [J]. *Ann Hepatol*, 2019, 18(4): 543-552.
- [2] STRAVITZ R T, LEE W M. Acute liver failure [J]. *Lancet*, 2019, 394(10201): 869-881.
- [3] TAVABIE O D, BERNAL W. How to manage: acute liver failure [J]. *Frontline Gastroenterol*, 2020, 11(1): 70-74.
- [4] WU Z G, HAN M F, CHEN T, et al. Acute liver failure: mechanisms of immune-mediated liver injury [J]. *Liver Int*, 2010, 30(6): 782-794.
- [5] POSSAMAI L A, THURSZ M R, WENDON J A, et al. Modulation of monocyte/macrophage function: A therapeutic strategy in the treatment of acute liver failure [J]. *J Hepatol*, 2014, 61(2): 439-445.
- [6] STARKEY L P J, MORONI F, FORBES S J. Macrophages as a cell-based therapy for liver disease [J]. *Semin Liver Dis*, 2019, 39(4): 442-451.
- [7] HOSSAIN M, KUBES P. Innate immune cells orchestrate the repair of sterile injury in the liver and beyond [J]. *Eur J Immunol*, 2019, 49(6): 831-841.
- [8] TRIANTAFYLLOU E, WOOLLARD K J, MC PHAIL M J W, et al. The Role of Monocytes and Macrophages in Acute and Acute-on-Chronic Liver Failure [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2948.
- [9] HEYMAN F, TACKE F. Immunology in the liver—from homeostasis to disease [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2016, 13(2): 88-110.

- [10] KUBES P, JENNE C. Immune responses in the liver[J]. *Annu Rev Immunol*, 2018, 36(1):247-277
- [11] YANG R, TONNESSEEN T I. DAMPs and sterile inflammation in drug hepatotoxicity [J]. *Hepatol Int*, 2019, 13(1):42-50.
- [12] WOOLBRIGHT B L, JAESCHKE H. The impact of sterile inflammation in acute liver injury [J]. *J Clin Transl Res*, 2017, 3(Suppl 1):S170-188.
- [13] JAESCHKE H, RAMACHANDRAN A. Mechanisms and pathophysiological significance of sterile inflammation during acetaminophen hepatotoxicity[J]. *Food Chem Toxicol*, 2020, 138:111240.
- [14] DOU L, SHI X M, HE X S, et al. Macrophage phenotype and function in liver disorder [J]. *Front Immunol*, 2019, 10:3112.
- [15] DAMBACH D M, WATSON L M, GRAY K R, et al. Role of CCR2 in macrophage migration into the liver during acetaminophen-induced hepatotoxicity in the mouse[J]. *Hepatology*, 2002, 35(5):1093-103.
- [16] LAVIN Y, WINTER D, BLENCHER-GONEN R, et al. Tissue-resident macrophage enhancer landscapes are shaped by the local microenvironment[J]. *Cell*, 2014, 159(6):1312-1326.
- [17] GINHOUX F, SCHULTZE J L, MURRAY P J, et al. New insights into the multidimensional concept of macrophage ontogeny, activation and function[J]. *Nat Immunol*, 2015, 17(1):34-40.
- [18] ELCHANINOV A V, FATKHUDDINOV T K, VISHNYAKOVA P A, et al. Phenotypical and functional polymorphism of liver resident macrophages[J]. *Cells*, 2019, 8(9):1032.
- [19] VAN DER HEID D, WEISKIRCHEN R, BAN-SAL R. Therapeutic targeting of hepatic macrophages for the treatment of liver diseases[J]. *Front Immunol*, 2019, 10:2852.
- [20] MURRAY P J. Macrophage polarization [J]. *Annu Rev Physiol*, 2017, 79(1):541-566.
- [21] SICA A, MANTOVANI A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas [J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(3):787-795.
- [22] CHAN M W Y, VISWANATHAN S. Recent progress on developing exogenous monocyte/macrophage-based therapies for inflammatory and degenerative diseases [J]. *Cytotherapy*, 2019, 21(4):393-415.
- [23] GRØNBÆK H, RØDGAARD-HANSEN S, AA GAARD N K, et al. Macrophage activation markers predict mortality in patients with liver cirrhosis without or with acute-on-chronic liver failure (ACLF) [J]. *Hepatol*, 2016, 64(4):813-822.
- [24] KRENKEL O, TACKE F. Liver macrophages in tissue homeostasis and disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(5):306-321.
- [25] CHIRAZ A, FATMA G, DHAFER L. Role of human macrophage polarization in inflammation during infectious diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(6):1801.
- [26] WATANABE S, ALEXANDER M, MISHARIN A V, et al. The role of macrophages in the resolution of inflammation [J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(7):2619-2628.
- [27] TACKE F. Targeting hepatic macrophages to treat liver diseases [J]. *J Hepatol*, 2017, 66(6):1300-1312.
- [28] WANG X, SUN R, WEI H, et al. High-mobility group box 1 (HMGB1)-toll-like receptor (TLR)4-interleukin (IL)-23-IL-17A axis in drug-induced damage-associated lethal hepatitis: Interaction of  $\gamma\delta$  T cells with macrophages [J]. *Hepatology*, 2013, 57(1):373-384.
- [29] MOLES A, MURPHY L, WILSON C L, et al. A TLR2/S100A9/CXCL-2 signaling network is necessary for neutrophil recruitment in acute and chronic liver injury in the mouse [J]. *J Hepatol*, 2014, 60(4):782-791.
- [30] YANG S, KUANG G, ZHANG L K, et al. Mangiferin attenuates LPS/D-GalN-induced acute liver injury by promoting HO-1 in kupffer cells [J]. *Front Immunol*, 2020, 11:285.
- [31] YANG R, TONNESSEEN T I. DAMPs and sterile inflammation in drug hepatotoxicity [J]. *Hepatol Int*, 2019, 13(1):42-50.
- [32] LUNDBÄCK P, LEA J D, SOWINSKA A, et al. A novel high mobility group box 1 neutralizing chimeric antibody attenuates drug-induced liver injury and postinjury inflammation in mice [J]. *Hepatology*, 2016, 64(5):1699-1710.
- [33] KHAMBU B, YAN S M, HUDA N, et al. Role of high-mobility group Box-1 in liver pathogenesis [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(21):5314.
- [34] LI X, GOU C, YAO L, et al. Patients with HBV-related acute-on-chronic liver failure have increased concentrations of extracellular histones aggravating cellular damage and systemic inflammation [J]. *J Viral Hepat*, 2017, 24(1):59-67.