

[文章编号] 1007-385X(2006)03-

肝脏树突状细胞与肝细胞癌

Hepatic dendritic cells and Hepatocellular carcinoma

居旻杰 综述; 邱双健, 黄晓武 审阅 (复旦大学附属中山医院 肝癌研究所, 上海 200032)

[摘要] 近年来随着对肝脏 DC 免疫生物学研究的不断深入, 人们更深入地了解了肝脏 DC 的免疫学特性及其与肝脏疾病尤其是肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的关系, 并据此设计有针对性的治疗策略。在肝脏微环境的作用下, 肝脏 DC 处于非成熟状态, 具有数量相对不足、显著的异质性、抗原摄取能力及 T 细胞活化能力低下等特点, 它可表达特殊的 CC 和 CCR。上述因素使肝脏 DC 在肝脏免疫调节中起重要作用, 主要体现在大量肝脏非成熟 DC 无法活化 T 细胞, 尤其在肝细胞癌的状态下, 非成熟肝脏 DC 进一步增加, 伴随着免疫活化因子 IL-12 分泌的减少, 不利于机体抗肿瘤免疫的产生, 而肝细胞癌自身可通过 AFP、IL-10、IL-8 及 HBV/HCV 的作用抑制肝脏 DC。但也有观点认为, 肝脏 DC 为成熟状态, 可通过调节 T 细胞活化的途径最终引起肝脏免疫耐受的产生。

[关键词] 肝脏树突状细胞; 肝细胞癌; 免疫调节

[中图分类号] R392.24 [文献标识码] A

肝脏作为免疫特惠器官具有独特的免疫系统, 参与机体的免疫调节。肝癌的局部免疫微环境在肝癌的转移复发中发挥了重要作用。DC 是目前已知最强的专职抗原提呈细胞, 其功能状态决定了免疫反应的最终走向, 因此肝脏 DC 的功能则决定了肝脏局部免疫反应走向。对于肝脏 DC 的认识仍较少。目前认为, 鼠肝脏 DC 散在于鼠肝脏的门脉周围及肝小叶实质中, 高表达 CD1a 抗原, 缺乏吞噬活性、胞质溶酶体和非特异性酯酶染色为阴性, 表面有 FeR 表达等^[1]。人肝脏 DC 则多数为 CD1a 阴性^[2], 表达 MHC II 类抗原强于库普弗细胞, 具有较强的体外增殖和向次级淋巴组织定向迁移能力, 但刺激初始型同种异体 T 细胞增殖和分化能力较弱^[1]。为了更好地研究肝脏 DC, 本文就肝脏微环境对肝脏 DC 的影响、肝脏 DC 的特性、肝脏 DC 与趋化因子、肝脏 DC 的免疫调节功能及肝脏 DC 与肝细胞癌的关系作一综述。

1 肝脏微环境对肝脏 DC 的影响

将肝脏 DC 置于肝脏来源的可溶性组织因子中培育, DC 的 T 细胞活化能力和成熟度都明显降低, 且这种现象与 DC 的凋亡无关。进一步的研究提示这与 DC 成熟度降低有关, 原因为新分离的肝脏 DC 主要是不成熟 DC^[3], 它们虽然表达 MHC 分子, 但几乎不表达共刺激分子(包括 CD40、CD80、CD86、MHC II 等), 由此说明肝脏局部微环境中存在抑制 DC 成熟和功能的诸多因素。研究证实^[3,4]库普弗细胞和肝窦内皮细胞能表达抗炎细胞因子 IL-10 和 TGF- β ; 肝细胞在自分泌和旁分泌的 TGF- β 作用下也分泌 IL-10; 肝脏的储脂细胞包括星形细胞在应激状态下也能分泌大量 TGF- β 。最近 Lee 等^[5]研究发现: 肝星形细胞也能通过分泌免疫抑制性细胞因子 IL-10 抑制骨髓 DC 表达共刺激分子和同种异体 T 细胞活化的能力。上述细胞因子所构成的微环境, 不仅使 DC 诱导 Th0 向 Th2 方向分化, 而且通过抑制肝 DC 和其它抗原提呈细胞的成熟及其 T 细胞刺激能力, 从而使它们具有致

耐受性。

2 肝脏 DC 的特性

2.1 相对数量不足

就绝对数量而言, 肝脏的 DC 含量数倍于其他实质性脏器, 如脾脏; 但就 DC 密度而言, 肝脏则是实质性器官中最低的。就各型 DC 的比例而言, 髓系和淋巴系 DC 在肝脏 DC 中所占的比例较在其他器官中所占的比例低, 均只占肝脏非实质细胞的 1% 左右^[3]。因此, 虽然肝脏 DC 的绝对数量不低, 但其相对数量较少, 尤其髓系或淋巴系 DC 的数量更少, 这不利于免疫应答的产生。

2.2 膜受体缺陷

已知 TLRs[IL-1 receptor (IL-1R)/Toll-like receptor]-脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)是 DC 活化的重要传导通道, 但 De 等^[6]发现肝脏 DC 的 TLR4 mRNA 的表达较脾脏 DC 低, 因此即使肝脏 DC 能接触大量消化道来源的外源性 LPS, 仍不能被充分活化。在体内实验中, 由 LPS 激活的肝脏 DC 在功能上也不如脾脏 DC, 由其激活的 Th0 更易引起 Th2 反应。所以, TLR4 mRNA 的低表达和功能缺陷可能是限制肝脏 DC 功能的原因之一。

2.3 摄取抗原能力

一般而言, 外周 DC 的抗原摄取能力随其成熟度的提高而下降。但研究显示, 虽然脾脏 DC 较肝脏 DC 成熟, 但肝脏 DC 通过胞饮摄取抗原的能力仍较脾脏 DC 弱^[7]。缺少了足够的抗原刺激, DC 的 T 细胞活化功能将受到抑制。

2.4 T 细胞活化能力弱

进一步的研究提示^[7], 肝脏 DC 活化同种异体 T 细胞的

[作者简介] 居旻杰 (1980-), 男, 籍贯, 硕士生, 主要从事……
……的研究

[通讯作者] 邱双健, E-mail:

能力是脾脏 DC 的 1/3,且易于激活 Th2;而在混合淋巴细胞反应中,脾脏 DC 能产生更多的 IFN- α 和 IL-2,使更多的 T 细胞向 Th1 活化。

2.5 高度异质性

肝脏 DC 与外周血 DC 有不同的显著异质性。肝脏 DC 主要为 CD11c⁺,占肝脏 DC 的 95% 左右^[8],多表现为 CD1a⁻,而外周 DC 多为 CD1a⁺^[2]。近期研究表明^[7]肝脏 CD11c⁺ DC 可进一步分成 CD8 α ⁺ CD11b⁻(约 11%)、CD8 α ^{low/-} CD11b^{low/-}(约 28%)、CD8 α ⁻ CD11b⁺(约 11%)、CD8 α ⁻ CD11b⁻(约 35%) 4 种,而脾脏中存在两种主要的 DC 即 CD8 α ⁻ CD11b⁺(约 63%) 和 CD8 α ⁺ CD11b^{low/-}(约 20%);肝脏 CD8 α ⁺ CD11b⁻ 和 CD8 α ⁻ CD11b⁺ DC 激活 T 细胞的程度和脾脏 DC 相同,但其数量仅占 20% 左右;余下两种占主要地位的肝脏 DC 激活 T 细胞的能力则较弱,故总体上肝脏 DC 的 T 细胞活化能力较弱。肝脏 CD8 α ⁺ DC 能表达 FasL,诱导 T 细胞凋亡并抑制 CD8⁺ T 细胞分泌 IL-2。肝脏 DC 中,有大约 25% 是类浆细胞 DC(plasmacytoid DC, pDC),而脾脏 pDC 仅占 5% 左右,肝脏 pDC 多是非成熟 DC^[7-8],并能促进 CD4⁺ T 细胞无能^[7]。肝脏 pDC 的抗病毒免疫作用也弱于脾脏或外周 pDC,因为在相同 CpG 和 GM-CSF 作用下,肝脏 pDC 分泌的 IFN- α 明显少于脾脏 DC 分泌的 IFN- α ^[7]。另一种存在于肝脏特殊的 DC 是 DEC205⁺ B220⁺ CD19⁻ DC,它们具有 DC 的形态和标志(DEC205),也有 B 细胞标志 B220,但缺乏 B 细胞抗原 CD19;在活化 T 细胞的同时诱导 T 细胞凋亡;这些 DC 活化的 T 细胞倾向于 T_{reg} I 型细胞,高分泌 IL-10,不分泌 IL-4、IL-2,而已知 T_{reg} I 在免疫耐受的建立和维持中起一定作用。

2.6 肝脏 DC 的转运

库普弗细胞可以通过细胞因子和 N-乙酰半乳糖胺介导肝脏 DC 的转运,这有利于 DC 快速转运及肝脏和全身免疫反应的建立。而在缺乏库普弗细胞的小鼠体内,DC 既不能在肝内富集,也不能黏附于肝血窦内皮,无法建立有效的免疫应答。肝脏 DC 也能依赖于骨髓微血管表达的血管细胞黏附分子 1 和内皮选择蛋白回巢入骨髓^[9],激活骨髓内记忆 T 细胞的回忆应答。故对于调节全身免疫反应,肝脏 DC 可能也有一定作用,尚待进一步研究。

3 肝脏 DC 与趋化因子

DC 表达的趋化因子及其受体对于 DC 的运输、定位、富集及移行,和建立良好免疫反应是不可缺少的。目前研究多集中于肝脏 DC 的 CC 细胞因子受体(CC chemokines receptor, CCR)和 CC 细胞因子。肝脏 DC 的 CC 和 CCR 有其特殊之处。首先,肝脏 DC 虽然表达 CCR2 和 CCR5 mRNA,但不炎症及次级淋巴组织相关的 CC 细胞因子(CCL3、CCL5、CCL20 及 CCL19、CCL21)产生应答,而骨髓 DC 能在 CCL5 作用下迁移^[10]。因此,在炎症等病理状态下肝脏 DC 向次级淋巴组织富集的能力较弱,不利于免疫防御反应的建立。其次,CCR7 mRNA 的表达在肝脏 DC 成熟过程中逐渐增加^[2,10],并对 CCL19/21 发生反应,CCR2 和 CCR5 mRNA 表

达则下降,因此成熟肝脏 DC 与外周或脾脏 DC 类似,其向次级淋巴组织的富集可能受 CCR7 - CCL19/21 相互作用的影响。再次,肝脏 DC 表达最多的趋化因子是 CCL5;而 CCL3 则在成熟肝脏 DC 表达增加,并引起成熟肝脏 DC 的趋向性运动。由于成熟肝脏 DC 数量较少,故 CCR7 和 CCL3 介导的肝脏 DC 的移行不能满足建立有效免疫防御的要求。最后,Shields 等^[11]发现 CCR5 能促进 T 细胞在正常或感染肝脏中的富集。这种作用可能是通过 T 细胞表面的 CCR5 与 DC 表面的 CCL3 介导的 DC - T 细胞的相互作用而产生的。肝脏 DC 与同系 T 细胞共同培育或在 LPS 刺激后,其 CCL3 表达增加,后在 CCL3 介导下迁移,且这种迁移作用是剂量依赖性的^[12]。因此,CCL3 和其他的趋化因子对于肝脏 DC 的功能调节和肝脏 DC-T 细胞的相互作用起调节作用。T 细胞使肝脏 DC 的 CCL3 表达增加,有利于肝脏 DC 的转运;另一方面,肝脏 DC 通过增加的 CCL3 和 T 细胞表面的 CCR5 的作用,促进 T 细胞向肝脏局部的聚集。CCL3 还能吸引外周血中的 DC 前体细胞进入肝血窦,在感染时形成肉芽肿,随后 DC 前体细胞在次级淋巴器官趋化因子(secondary lymphoid organ chemokine, SLC)作用下进入肝门相关淋巴组织(portal tract associated lymphoid tissue, PALT)中并与 T 细胞相互作用。

4 肝脏 DC 的免疫调节功能

肝脏 DC 既具有提呈抗原、激活 T 细胞的功能,又具有倾向于产生肝脏局部免疫耐受的特性。作为肝内主要的抗原提呈细胞,肝脏 DC 对于肝脏的免疫调节是十分重要的,具体表现在以下几个方面:(1)肝脏有较多不成熟的 DC。未成熟 DC 虽然表达 MHC II 分子,但由于缺乏 B7 等共刺激分子表达,不能活化 T 细胞,反而诱导 T 细胞无能^[3,7]。(2)肝脏 DC 存在所谓致耐受性 DC(tolerogetic DC, Tol-DC),肝脏 Tol-DC 通过自分泌 IL-10 等途径^[2,13],活化 T_{reg} 细胞,形成了 DC - T_{reg} 细胞反馈抑制环,下调 DC 表面的 MHC II 分子和共刺激分子。(3)研究提示^[14]肝脏淋巴结 MDC 的数量和成熟度与其他组织的淋巴结如腹股沟淋巴结的 MDC 无明显差异,因而认为肝脏 MDC 为成熟 DC。它们可能主要通过激活 Th2 反应而引起肝脏免疫耐受。(4)研究提示 DC 在 LPS 和 IL-10 的共同作用下,CCR7 表达降低,CCR1、CCR2、CCR5 表达增加,导致趋化因子无法介导其迁移。由于体内肝脏持续的暴露于 LPS,且局部 IL-10 含量较高,故这样的微环境不利于趋化因子介导的肝脏 DC 的迁移反应^[10]。

5 肝脏 DC 与肝细胞肝癌

肝细胞癌(HCC)的发生、发展及预后与肝脏 DC 有着密切关系。肝癌加剧了肝脏 DC 的功能缺陷,肝脏 DC 的功能缺陷又促进了肝癌的进展。

首先,肝脏 DC 对肝细胞癌(HCC)的影响:(1)正常肝组织中成熟 DC 量很少,在 HCC 癌旁组织中成熟 DC 数量更低,在 HCC 癌组织中则没有成熟 DC^[15]。而成熟和有活性的 DC 对于肿瘤特异淋巴细胞的募集是必须的,所以肝癌组织

无法募集足够的肿瘤特异淋巴细胞,不能产生有效的抗肿瘤反应。(2)HCC 患者肝脏及外周非成熟 DC 数量增加,尤其在癌组织中,共刺激分子和 HLA-I 的表达明显降低,且非成熟 DC 数量与肿瘤分化程度成负相关^[16]。但非成熟 DC 作为抗原提呈型 DC,其数量的增加是否可以更好的摄取处理肿瘤抗原是一个有待证实的课题。(3)肝癌患者 DC 的 IL-12 分泌减少。IL-12 可以通过 NK 或 NKT 细胞产生抗肿瘤作用。IL-12 的减少,将引起这些细胞功能缺陷。(4)肝癌结节中 DC 浸润多者记忆 T 细胞数目多,无瘤生存率高,提示 DC 是肝癌患者的一个重要预后指标^[17]。

其次,HCC 对肝脏 DC 也存在明显的抑制作用。正常时能诱导 DC 成熟的各种刺激也不能使肝癌患者肝脏 DC 成熟,且 DC 与肝癌细胞株共同培育后,其共刺激分子的表达、活化 T 细胞的能力都显著下降^[18]。这些说明肝癌患者体内存在影响肝脏 DC 的因素:(1)AFP: AFP 能下调 DC 表达 CD40/CD86,降低同种异体 T 细胞活化能力。同时能显著增加 DC 的凋亡,降低 DC 分泌 IL-12 和 TNF- α ,使 HCC 逃避免疫监视^[19]。AFP 对 DC 作用是浓度依赖性的,只有达到一定剂量才能影响 DC 的功能。(2)IL-8:HCC 肿瘤细胞能大量分泌 IL-8,IL-8 不仅与肿瘤血管新生和转移有关,还可以通过与其配体 CXCR1、CXCR2 的相互作用,使 DC 局限在肿瘤组织中,限制了 DC 向次级淋巴组织的迁移,造成免疫逃逸^[20]。(3)IL-10:IL-10 作为抑制性细胞因子,已经证实能抑制宿主的抗肿瘤免疫功能。HCC 患者全身及局部 IL-10 含量明显增加,且肝癌细胞主要通过分泌 IL-10 来抑制 DC 的成熟和 T 细胞活化功能^[18],更使被抑制的 DC 所活化的 T 细胞倾向于分泌 Th2 细胞因子 IL-10,而 Th1 细胞因子 IFN- γ 分泌则减少,最终破坏了宿主的抗肿瘤免疫机能。(4)HBV/HCV 背景:大多数 HCC 患者都有 HBV/HCV 感染背景,所以 HBV/HCV 感染患者中的抑制 DC 的机制在 HCC 患者中同样存在,而且可能随着病情的加重而加重。Wang 等^[21]发现乙肝患者 DC 的功能低下及表型不成熟,主要表现为分泌 IL-12 和抗原提呈能力下降、DC 数量明显减少和 HLA-DR、CD80、CD86 表达降低。Hasebe^[8]等发现 HBV 转基因小鼠肝脏 DC 无论在特异性 T 细胞活化能力还是在细胞因子 IL-12p70、TNF- α 、IFN- γ 、IL-6 分泌能力上都弱于正常肝脏 DC。活动性 HCV 患者外周 DC 数量也显著减少、功能低下。最近 Jinushi 等^[22]研究发现,在丙型肝炎感染时,NK 细胞活化 DC 的能力下降。这与 HCV - NK 高表达 CD94/NKG2A 有关,CD94/NKG2A 与其配体 HLA-E 相互作用后,使 NK 分泌大量 IL-10 和 TGF- β ,导致 DC 不能充分活化。

总之,肝脏 DC 有着不同于外周 DC 的众多特点,与肝脏微环境关系紧密,并通过各种途径影响肝癌的发生、发展和预后。针对肝脏 DC 的研究,为我们提供了治疗肝脏疾病尤其是肝癌的新思路。目前已有多种以 DC 为基础的肿瘤疫苗问世,通过药物增加内源性肝脏 DC 的数量,提高其活性的研究也在进行中。相信通过进一步的研究,以肝脏 DC 为基础的治疗方案一定能为攻克肝脏疾病尤其是肝癌提供帮助。

[参考文献]

- [1] 卿德科,杨永胜,李亚兰. 肝脏树突状细胞的研究近况[J]. 免疫学杂志,2001,17(3): 122-124.
- [2] Goddard S, Youster J, Morgan E, *et al.* Interleukin-10 secretion differentiates dendritic cells from human liver and skin[J]. *Am J Pathol*, 2004, 164(2): 511-519.
- [3] OConnell PJ, Morelli AE, Logar AJ, *et al.* Phenotypic and functional characterization of mouse hepatic CD8 alpha⁺ lymphoid-related dendritic cells[J]. *J Immunol*, 2000, 165(2): 795-803.
- [4] Thomson A W, Lu L. Are dendritic cells the key to liver transplant tolerance[J]? *Immunol Today*, 1999, 20(1): 27-32.
- [5] Lee WC, Yu MC, Chiang YJ, *et al.* Liver stellate cells suppress dendritic cells through IL-10[J]. *Transplant Proc*, 2005, 37(1): 10-11.
- [6] De Creus A, Abe M, Lau AH, *et al.* Low TLR4 expression by liver dendritic cells correlates with reduced capacity to activate allogeneic T cells in response to endotoxin[J]. *J Immunol*, 2005, 174(4): 2037-2045.
- [7] Pillarisetty VG, Shah AB, Miller G, *et al.* Liver dendritic cells are less immunogenic than spleen dendritic cells because of differences in subtype composition [J]. *J Immunol*, 2004, 172(2): 1009-1017.
- [8] Hasebe A, Akbar SM, Furukwa S, *et al.* Impaired functional capacities of liver dendritic cells from murine hepatitis B virus (HBV) carriers: Relevance to low HBV-specific immune responses[J]. *Clin Exp Immunol*, 2005, 139(1): 35-42.
- [9] Cavanagh LL, Bonasio R, Mazo IB, *et al.* Activation of bone marrow-resident memory T cells by circulating, antigen-bearing dendritic cells[J]. *Nature Immunol*, 2005, 6(10): 1029-1037.
- [10] Abe M, Zahorchak AF, Colvin BL, *et al.* Migratory responses of murine hepatic myeloid, lymphoid-related, and plasmacytoid dendritic cells to CC chemokines[J]. *Transplantation*, 2004, 78(5): 762-765.
- [11] Shields PL, Morland CM, Salmon M, *et al.* Chemokine and chemokine receptor interactions provide a mechanism for selective T cell recruitment to specific liver compartments within hepatitis C-infected liver [J]. *J Immunol*, 1999, 163(11): 6236-6243.
- [12] Drakes ML, Zahorchak AF, Takayama T, *et al.* Chemokine and chemokine receptor expression by liver-derived dendritic cells: MIP-1alpha production is induced by bacterial lipopolysaccharide and interaction with allogeneic T cells[J]. *Transplant immunol*, 2000, 8(1): 17-29.
- [13] Min WP, Zhou D, Ichim TE, *et al.* Inhibitory feedback loop between tolerogenic dendritic cells and regulatory T cells in transplant tolerance [J]. *J Immunol*, 2003, 170(3): 1304-1312.
- [14] Kwekkeboom J, Boor PP, Sen E, *et al.* Human liver myeloid dendritic cells mature *in vivo* into effector DC with a poor allogeneic T-cell stimulatory capacity[J]. *Transplant Proc*, 2005, 37(1): 15-16.
- [15] Chen S, Akbar SM, Tanimoto K, *et al.* Absence of CD83-positive mature and activated dendritic cells at cancer nodules from patients

- with hepatocellular carcinoma: Relevance to hepatocarcinogenesis [J]. *Cancer Lett*, 2000, 148(1): 49-57.
- [16] Fujiwara K, Higashi T, Nouse K, *et al.* Decreased expression of B7 costimulatory molecules and major histocompatibility complex class-I in human hepatocellular carcinoma[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2004, 19(10): 1121-1127.
- [17] Yin XY, Lu MD, Liang LJ, *et al.* Prognostic significances of tumor-infiltrating S-100 positive dendritic cells and lymphocytes in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Hepato gastroenterol*, 2003, 50 (53) : 1281-1284.
- [18] Lee WC, Chiang YJ, Wang HC, *et al.* Functional impairment of dendritic cells caused by murine hepatocellular carcinoma[J]. *J Clin Immunol*, 2004, 24(2): 145-154.
- [19] Um SH, Mulhall C, Alisa A, *et al.* Alpha-fetoprotein impairs APC function and induces their apoptosis[J]. *J Immunol*, 2004, 173 (3): 1772-1778.
- [20] Feijoo E, Alfaro C, Mazzolini G, *et al.* Dendritic cells delivered inside human carcinomas are sequestered by interleukin-8[J]. *Int J Cancer*, 2005, 116(2): 275-281.
- [21] Wang FS, Xing LH, Liu MX, *et al.* Dysfunction of peripheral blood dendritic cells from patients with chronic hepatitis B virus infection [J]. *World J Gastroenterol*, 2001, 7(4): 537-541
- [22] Jinushi M, Takehara T, Tatsumi T, *et al.* Negative regulation of NK cell activities by inhibitory receptor CD94/NKG2A leads to altered NK cell-induced modulation of dendritic cell functions in chronic hepatitis C virus infection[J]. *J Immunol*, 2004, 173 (10): 6072-6081
- [收稿日期] 2006 - 03 - 10 [修回日期] 2006 - 06 - 10
- [本文编辑] 王莹