

IL-10抗肝纤维化的实验研究及临床现状

王小众, 张莉娟

王小众, 张莉娟, 福建医科大学附属协和医院消化内科 福建省福州市 350001

王小众, 北京大学医学博士, 纽约大学访问医师, 主任医师, 教授, 博士生导师. 国务院特殊津贴专家, 福建省百千万人才, 主要从事肝纤维化实验与临床和乙型肝炎病毒分子病毒学研究.

福建省科技计划开发项目, No. 2005D094

通讯作者: 王小众, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学协和医院消化内科. drwangxz@pub6.fz.fj.cn

电话: 0591-3357896-8482

收稿日期: 2007-05-18 修回日期: 2007-08-02

Status of experimental and clinical research into the anti-fibrotic effects of interleukin-10

Xiao-Zhong Wang, Li-Juan Zhang

Xiao-Zhong Wang, Li-Juan Zhang, Department of Gastroenterology, Union Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Supported by: Science and Technology Program of Fujian Province, No. 2005D094

Correspondence to: Xiao-Zhong Wang, Department of Gastroenterology, Union Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China. drwangxz @pub6.fz.fj.cn

Received: 2007-05-18 Revised: 2007-08-02

Abstract

Although liver fibrosis represents a process of healing and scarring in response to chronic liver injury, there is a lack of effective therapy that targets liver fibrosis. Interleukin-10 (IL-10) is a cytokine that down-regulates pro-inflammatory responses. *In vitro* and animal experiments have suggested that IL-10 plays an important role in hepatic fibrogenesis. Recombinant human IL-10 has been produced and is undergoing clinical trials. IL-10 therapy may be clinically effective against liver fibrosis.

Key Words: Liver fibrosis; Interleukin-10

Wang XZ, Zhang LJ. Status of experimental and clinical research into the anti-fibrotic effects of interleukin-10. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(23): 2469-2472

摘要

肝纤维化是慢性肝损伤时的修复和疤痕形成

过程, 目前尚缺乏有效的治疗方法. 白细胞介素-10(IL-10)为一种下调炎症反应的细胞因子, 体内外试验证实其在肝纤维化过程中有重要作用. 重组人IL-10已在临床试用. IL-10可能是治疗肝纤维化的一种有效方法, 具有潜在的临床应用价值.

关键词: 肝纤维化; 白介素-10

王小众, 张莉娟. IL-10抗肝纤维化的实验研究及临床现状. 世界华人消化杂志 2007;15(23):2469-2472

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2469.asp>

0 引言

肝纤维化不是一个独立的疾病, 而是许多慢性肝病共同病理过程. 肝纤维化是细胞外基质的合成与降解失衡导致细胞外基质在细胞间质的过度沉积^[1-4]. 有关肝纤维化的研究是目前肝病研究的热点. 抗肝纤维化治疗包括两个方面^[5-6]: 一是针对原发病的病因治疗; 二是针对肝纤维化本身的治疗, 如抑制肝星状细胞(HSC)的早期活化、增殖、收缩和胶原增生, 促进HSC凋亡及促进胶原降解等. 在目前情况下, 某些病因无法根本去除(如慢性肝炎病毒感染), 则抗肝纤维化治疗成为治疗慢性肝病、防止终末期肝病形成的重要途径. 深入了解肝纤维化的形成机制, 开发研制有效的抗肝纤维化药物是现代肝病研究者肩上的重任.

面对各种病因引起的慢性肝损伤及肝纤维化, 去除病因是根本性手段, 但是就目前医学发展水平而言, 许多病因无法彻底去除, 如乙型肝炎病毒、丙肝病毒等全世界面临的医学难题, 因此抗肝纤维化治疗的重要性日益突显. 著名肝脏病学家Hans Popper说过: “谁能阻止或减缓肝纤维化的发生, 谁就将会治愈大多数慢性肝病”^[7]. 随着细胞和分子生物学技术的进步, 对肝纤维化发生、发展的分子和细胞机制有了较深入了解. 研究的进展使肝纤维化的有效防治成为可能, 目前认为防治肝纤维化策略主要包括^[8-9]: (1)去除病因; (2)保护肝细胞; (3)抑制炎症

■背景资料

抗肝纤维化治疗是目前治疗慢性肝病、防止终末期肝病形成的重要途径. 深入了解肝纤维化的形成机制, 开发研制有效的抗肝纤维化药物是肝病研究的热点之一.

■研发前沿

许多细胞因子或其抗体正成为治疗疾病的新药。细胞因子在肝纤维化的发生、发展过程中具有重要作用, IL-10正是其中之一, 现有越来越多的研究在探讨IL-10在肝纤维化治疗方面的应用。

反应; (4)拮抗促纤维化细胞因子的作用; (5)抑制肝星状细胞活化, 促进其凋亡; (6)抑制细胞外基质的合成, 促进其降解。

1 IL-10的细胞保护与抗纤维化作用

越来越多的证据表明, 肝纤维化是细胞因子网络作用的结果^[10]。因此利用细胞因子及其抗体的治疗逐渐成为临床抗肝纤维化的热点。目前研究较多并得到承认的有: γ -干扰素(γ -IFN), 转化生长因子- β 1(TGF- β 1)抗体, 转化生长因子- α (TGF- α 抗体), IL-10等, 有些已用于临床, 但效果还有待提升, 因为细胞因子是一个网络, 要期望有较好的逆转肝纤维化的疗效, 不能忽视细胞因子网络的作用。

IL-10是由Th2细胞产生的一种细胞因子合成抑制因子, 对Th1细胞具有抑制作用^[11]。机体内多种细胞可合成IL-10, 包括T细胞群(Th2, Tc2, Tr1等)、单核细胞、巨噬细胞等, 机体的许多其他器官也产生IL-10, 如肝脏^[12-13]。已发现在肝内肝细胞、窦内皮细胞、Kupffer细胞、肝星状细胞(HSC)和肝相关淋巴细胞均可产生IL-10^[14]。这些细胞在各种外源性或内源性因素的刺激下(如应激、内毒素等), 通过cAMP/蛋白激酶A/CREB-1/ATF-1/SP1等信号途径大量合成IL-10。在近年的肝纤维化研究中, IL-10作为一个多效性细胞因子, 正不断受到研究者的关注^[15]。IL-10主要通过具有高度亲和力的IL-10受体发挥作用, 其生物学作用广泛^[16-17], 主要作用为抑制炎症反应和抑制多种基因转录。基因敲除技术使IL-10的特性被更深入的理解。在病毒性肝炎、自身免疫性肝炎、酒精性肝病和动物实验中发现IL-10在细胞保护、抗纤维化等方面有重要作用^[18]。IL-10基因敲除小鼠在感染了毒性胞质刚地型虫后即死于严重肝坏死有关的致死性免疫反应, 显示内源性IL-10对肝细胞具有保护作用。在D-半乳糖胺/内毒素诱导的大鼠肝细胞损伤动物模型上给予外源性IL-10, 显示了明显的抗肝细胞损伤作用^[19]。目前认为, IL-10的肝细胞保护作用主要与以下因素有关^[20-21]: (1)抑制前炎性细胞因子的分泌是其主要作用; (2)抑制中性粒细胞的激活与其黏附分子的表达, 进而抑制其黏附; (3)抑制组织因子的表达, 从而抑制淋巴窦内播散性血管内凝血的发生; (4)抑制肝损伤时的急性期增殖反应, 并进一步抑制肝纤维化的发生。用电穿孔法将人IL-10基因导入肝纤维化小鼠^[22-23], 结果表明, IL-10基因治疗可以逆转小

鼠已经形成的肝纤维化, 以及抑制肝硬化引起的细胞凋亡。IL-10基因治疗可以降低肝纤维化小鼠TGF- β 1, TGF- α 和组织基质金属蛋白酶抑制剂(TIMPs)的表达, 也显著抑制 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)和环氧合酶2(COX-2)的活化。HSC是肝纤维化形成的关键, 体外研究表明HSC表达IL-10受体并产生IL-10^[24-25]。分离纯化的HSC培养120 d后能检测到IL-10 mRNA, 对于未激活的HSC进行长期培养, 用免疫印迹法和ELISA可以检测到有IL-10表达。对于才培养3 d的HSC则用免疫化学方法无法检测到IL-10表达, 培养7 d后IL-10阳性细胞增加到45%, 培养14 d后阳性率增加到100%并持续到120 d。这表明IL-10在肝纤维化过程中具有重要作用。在四氯化碳(CCl_4)诱导的大鼠肝纤维化过程中, 有关IL-10与肝星状细胞的作用系列研究发现^[26-27], 肝脏星形细胞表达IL-10水平下降, 可能是肝纤维化形成的重要原因。同时, IL-10可通过抑制HSC的功能及促进HSC发生凋亡而发挥抗纤维化作用^[28-29]。IL-10可直接减少胶原形成及增加胶原酶^[30-31], 在肝ECM重建中发挥重要作用, 另外, IL-10通过减少TGF- β 1分泌而间接限制纤维化形成。在基因调控方面的研究证实, IL-10可下调胶原基因启动子的活性, 从而抑制肝纤维化的形成。

2 IL-10的实验研究与现状的差距

上述实验室的研究结果表明, IL-10在抗肝纤维化的治疗上具有良好的应用前景。在临床方面, 重组人IL-10已在健康志愿者、Crohn'S病、类风湿性关节炎、银屑病、慢性丙肝病毒感染和HIV感染等患者身上试用^[32-35]。在对健康志愿者的I期临床试验中已经获得了IL-10安全性、耐受性和药代动力学等方面的参数^[36], 以及静脉和皮下单剂量和多次给药时IL-10的免疫学和血液学效应。IL-10在25 $\mu\text{g/kg}$ 的剂量以内耐受性好, 没有严重的副反应, 分次给药总剂量在100 $\mu\text{g/kg}$ 时可有轻-中度流感样症状。iv IL-10半衰期约2-3 h。IL-10主要通过肾脏清除, 在中-重度肾功能不全者其T1/2和AUC会增加。但总体而言, 给予IL-10后引起的一系列免疫学变化均是机体可以耐受的。国外已有报道IL-10用于临床治疗慢性丙型肝炎患者的研究^[37-38], 并取得了令人鼓舞的成效, 但就我国现状而言, 乙肝病毒感染是最大的病因, IL-10对慢性乙肝病毒感染是否同样有着令人惊奇的疗效还不得而知, IL-10在我国用于临床治疗慢性乙肝患者还有一段不小

的距离。目前的模型制作和研究仅限于部分类型的肝纤维化, 大部分的研究也仅对肝纤维化已较明显形成后进行干预, 而在临床上需要的是如何抗肝纤维化的形成、抗肝纤维化的起始时间、需要的治疗疗程等。在实验动物模型中, CCl₄诱导的大鼠肝纤维化模型应用最广, CCl₄这种模型的最大缺点, 是发病机制和人类病毒性肝炎相差太大, 他是化学毒物引起的肝纤维化或肝硬化, 在停止给药后模型有一定的自愈倾向, 而肝炎病毒引起的慢性肝损伤则是病因的作用持续存在, 用这种模型来评价人类常见的病毒性肝纤维化的发病机制并不适合。为使抗肝纤维化的模型研究更接近人类疾病的特征, 须建立一个能反映人肝纤维化的动物模型, 应考虑以下几个方面: (1)人和动物种属差别; (2)肝纤维化形成过程中的病因和形成机制; (3)自然恢复能力。

3 展望

理想的肝纤维化治疗要有肝脏专一性, 长期给药要有相当好的耐受性, 有效减少肝纤维组织堆积而不干扰正常细胞外基质(ECM)的生成。IL-10在临床上的某些应用表明他具有较好的耐受性, 但他是一个多功能的细胞因子, 全身给药很难保证其肝脏作用的专一性, 如何避免其对正常ECM的干扰也将是IL-10用于临床治疗肝纤维化的一大障碍。有必要寻找合适的IL-10剂型及给药途径, 以最大程度发挥其抗纤维化作用, 同时减少其不良反应。将IL-10导入特定的组织以避免全身副作用, 如利用腺病毒载体将IL-10直接导入肝脏以治疗肝纤维化^[39], 通过这种更精确的方式, IL-10在治疗肝损伤和预防肝纤维化方面才会有更好的未来。

4 参考文献

- 1 Kumar M, Sarin SK. Is cirrhosis of the liver reversible? *Indian J Pediatr* 2007; 74: 393-399
- 2 Andrade ZA. Regression of hepatic fibrosis. *Rev Soc Bras Med Trop* 2005; 38: 514-520
- 3 Gressner OA, Weiskirchen R, Gressner AM. Evolving concepts of liver fibrogenesis provide new diagnostic and therapeutic options. *Comp Hepatol* 2007; 6: 7
- 4 Iredale JP. Models of liver fibrosis: exploring the dynamic nature of inflammation and repair in a solid organ. *J Clin Invest* 2007; 117: 539-548
- 5 Zhang L, Wang X, Zheng W, Shi M. The effects of interleukin-10 on the expression of Fas and FasL in rat hepatic stellate cells. *Med Chem* 2006; 2: 611-616
- 6 Hoteit MA, Anania FA. Treatment of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Gastroenterol*

- 7 Popper H, Kent G. Fibrosis in chronic liver disease. *Clin Gastroenterol* 1975; 4: 315-332
- 8 Tsukada S, Parsons CJ, Rippe RA. Mechanisms of liver fibrosis. *Clin Chim Acta* 2006; 364: 33-60
- 9 Huang YH, Shi MN, Zheng WD, Zhang LJ, Chen ZX, Wang XZ. Therapeutic effect of interleukin-10 on CCl₄-induced hepatic fibrosis in rats. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 1386-1391
- 10 Tilg H, Kaser A, Moschen AR. How to modulate inflammatory cytokines in liver diseases. *Liver Int* 2006; 26: 1029-1039
- 11 Fiorentino DF, Bond MW, Mosmann TR. Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J Exp Med* 1989; 170: 2081-2095
- 12 Platzer C, Docke W, Volk H, Prosch S. Catecholamines trigger IL-10 release in acute systemic stress reaction by direct stimulation of its promoter/enhancer activity in monocytic cells. *J Neuroimmunol* 2000; 105: 31-38
- 13 Riese U, Brenner S, Docke WD, Prosch S, Reinke P, Oppert M, Volk HD, Platzer C. Catecholamines induce IL-10 release in patients suffering from acute myocardial infarction by transactivating its promoter in monocytic but not in T-cells. *Mol Cell Biochem* 2000; 212: 45-50
- 14 Wan S, LeClerc JL, Schmartz D, Barvais L, Huynh CH, Deviere J, DeSmet JM, Vincent JL. Hepatic release of interleukin-10 during cardiopulmonary bypass in steroid-pretreated patients. *Am Heart J* 1997; 133: 335-339
- 15 Dumoutier L, Renauld JC. Viral and cellular interleukin-10 (IL-10)-related cytokines: from structures to functions. *Eur Cytokine Netw* 2002; 13: 5-15
- 16 Carson WE, Lindemann MJ, Baiocchi R, Linett M, Tan JC, Chou CC, Narula S, Caligiuri MA. The functional characterization of interleukin-10 receptor expression on human natural killer cells. *Blood* 1995; 85: 3577-3585
- 17 Jurlander J, Lai CF, Tan J, Chou CC, Geisler CH, Schriber J, Blumenson LE, Narula SK, Baumann H, Caligiuri MA. Characterization of interleukin-10 receptor expression on B-cell chronic lymphocytic leukemia cells. *Blood* 1997; 89: 4146-4152
- 18 Zhang LJ, Wang XZ. Interleukin-10 and chronic liver disease. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 1681-1685
- 19 Quattrocchi E, Dallman MJ, Dhillon AP, Quaglia A, Bagnato G, Feldmann M. Murine IL-10 gene transfer inhibits established collagen-induced arthritis and reduces adenovirus-mediated inflammatory responses in mouse liver. *J Immunol* 2001; 166: 5970-5978
- 20 Boniface K, Lecron JC, Bernard FX, Dagregorio G, Guillet G, Nau F, Morel F. Keratinocytes as targets for interleukin-10-related cytokines: a putative role in the pathogenesis of psoriasis. *Eur Cytokine Netw* 2005; 16: 309-319
- 21 Zhang LJ, Yu JP, Li D, Huang YH, Chen ZX, Wang XZ. Effects of cytokines on carbon tetrachloride-induced hepatic fibrogenesis in rats. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 77-81
- 22 Chou WY, Lu CN, Lee TH, Wu CL, Hung KS, Concejero AM, Jawan B, Wang CH. Electroporative interleukin-10 gene transfer ameliorates carbon tetrachloride-induced murine liver fibrosis by MMP

■应用要点

对IL-10在实验性肝纤维化方面的研究及临床应用现状进行较系统阐述, 分析IL-10用于治疗肝纤维化的可行性及存在的问题, 指出将来的可能研究方向。

■同行评价

本文将近几年的IL-10抗肝纤维化的实验研究及临床现状进行了综述,描述逻辑性较强,科学性较好,具有一定的理论和学术价值。

- and TIMP modulation. *Acta Pharmacol Sin* 2006; 27: 469-476
- 23 Hung KS, Lee TH, Chou WY, Wu CL, Cho CL, Lu CN, Jawan B, Wang CH. Interleukin-10 gene therapy reverses thioacetamide-induced liver fibrosis in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 336: 324-331
- 24 Wang SC, Ohata M, Schrum L, Rippe RA, Tsukamoto H. Expression of interleukin-10 by in vitro and in vivo activated hepatic stellate cells. *J Biol Chem* 1998; 273: 302-308
- 25 Popper H. General pathology of the liver: light microscopic aspects serving diagnosis and interpretation. *Semin Liver Dis* 1986; 6: 175-184
- 26 Mathurin P, Xiong S, Kharbanda KK, Veal N, Miyahara T, Motomura K, Rippe RA, Bachem MG, Tsukamoto H. IL-10 receptor and coreceptor expression in quiescent and activated hepatic stellate cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 282: G981-990
- 27 Louis H, Van Laethem JL, Wu W, Quertinmont E, Degraef C, Van den Berg K, Demols A, Goldman M, Le Moine O, Geerts A, Deviere J. Interleukin-10 controls neutrophilic infiltration, hepatocyte proliferation, and liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in mice. *Hepatology* 1998; 28: 1607-1615
- 28 Thompson K, Maltby J, Fallowfield J, McAulay M, Millward-Sadler H, Sheron N. Interleukin-10 expression and function in experimental murine liver inflammation and fibrosis. *Hepatology* 1998; 28: 1597-1606
- 29 Thompson KC, Trowern A, Fowell A, Marathe M, Haycock C, Arthur MJ, Sheron N. Primary rat and mouse hepatic stellate cells express the macrophage inhibitor cytokine interleukin-10 during the course of activation In vitro. *Hepatology* 1998; 28: 1518-1524
- 30 Wang XZ, Zhang SJ, Chen YX, Chen ZX, Huang YH, Zhang LJ. Effects of platelet-derived growth factor and interleukin-10 on Fas/Fas-ligand and Bcl-2/Bax mRNA expression in rat hepatic stellate cells in vitro. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 2706-2710
- 31 Reitamo S, Remitz A, Tamai K, Uitto J. Interleukin-10 modulates type I collagen and matrix metalloprotease gene expression in cultured human skin fibroblasts. *J Clin Invest* 1994; 94: 2489-2492
- 32 Louis H, Le Moine O, Goldman M, Deviere J. Modulation of liver injury by interleukin-10. *Acta Gastroenterol Belg* 2003; 66: 7-14
- 33 Bidwell J, Keen L, Gallagher G, Kimberly R, Huizinga T, McDermott MF, Oksenberg J, McNicholl J, Pociot F, Hardt C, D'Alfonso S. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases. *Genes Immun* 1999; 1: 3-19
- 34 Kingo K, Koks S, Silm H, Vasar E. IL-10 promoter polymorphisms influence disease severity and course in psoriasis. *Genes Immun* 2003; 4: 455-457
- 35 Eskdale J, Keijsers V, Huizinga T, Gallagher G. Microsatellite alleles and single nucleotide polymorphisms (SNP) combine to form four major haplotype families at the human interleukin-10 (IL-10) locus. *Genes Immun* 1999; 1: 151-155
- 36 Huhn RD, Radwanski E, Gallo J, Affrime MB, Sabo R, Gonyo G, Monge A, Cutler DL. Pharmacodynamics of subcutaneous recombinant human interleukin-10 in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther* 1997; 62: 171-180
- 37 Nelson DR, Lauwers GY, Lau JY, Davis GL. Interleukin 10 treatment reduces fibrosis in patients with chronic hepatitis C: a pilot trial of interferon nonresponders. *Gastroenterology* 2000; 118: 655-660
- 38 Boyer N, Marcellin P. Pathogenesis, diagnosis and management of hepatitis C. *J Hepatol* 2000; 32: 98-112
- 39 Vidigal PG, Germer JJ, Zein NN. Polymorphisms in the interleukin-10, tumor necrosis factor-alpha, and transforming growth factor-beta1 genes in chronic hepatitis C patients treated with interferon and ribavirin. *J Hepatol* 2002; 36: 271-277

编辑 何燕 电编 张敏

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

关于2006年度山西省期刊质量评估结果的通报

本刊讯 为推动期刊出版事业的繁荣和发展,中共山西省委宣传部、山西省新闻出版局、山西省科学技术厅共同组织了2006年度期刊质量评估工作。此次参评的为2005年度山西省出版的196种期刊,其中,社科期刊110种、科技期刊86种。评估结果如下:一级(优秀)期刊共88种,其中社科期刊42种,科技期刊46种,包括世界胃肠病学杂志和世界华人消化杂志;二级期刊共103种,其中社科期刊64种,科技期刊39种;三级期刊共5种,其中社科期刊4种,科技期刊1种。(中共山西省委宣传部、山西省新闻出版局、山西省科学技术厅)