

原发性胆汁性肝硬化发病机制的研究进展

黄颖秋

黄颖秋, 中国医科大学第五临床学院 本溪钢铁(集团)总医院
消化内科 辽宁省本溪市 117000

黄颖秋, 教授, 主任医师, 研究生导师, 主要从事胃肠动力疾病、
消化系统肿瘤及肝硬化的基础与临床研究。

通讯作者: 黄颖秋, 教授, 主任医师, 117000, 辽宁省本溪市平山区
人民路29号, 中国医科大学第五临床学院, 本溪钢铁(集团)总
医院消化内科. huangyingqiu_bx@126.com

电话: 0414-2215137

收稿日期: 2012-07-26 修回日期: 2012-08-19

接受日期: 2012-09-04 在线出版日期: 2012-10-18

Recent advances in understanding the pathogenesis of primary biliary cirrhosis

Ying-Qiu Huang

Ying-Qiu Huang, Department of Gastroenterology, General
Hospital of Benxi Steel & Iron(Group); the Fifth Clinical
College of China Medical University, Benxi 117000, Liaon-
ing Province, China

Correspondence to: Ying-Qiu Huang, Professor, Chief Physi-
cian, Department of Gastroenterology, General Hospital of Benxi
Steel & Iron (Group); the Fifth Clinical College of China Medical
University, 29 Renmin Road, Pingshan District, Benxi 117000,
Liaoning Province, China. Huangyingqiu_bx@126.com

Received: 2012-07-26 Revised: 2012-08-19

Accepted: 2012-09-04 Published online: 2012-10-18

Abstract

Primary biliary cirrhosis (PBC) is a chronic progressive cholestatic autoimmune liver disease characterized by the destruction of small intrahepatic bile ducts and the presence of highly specific serum antimitochondrial antibodies (AMAs). The human leukocyte antigen (HLA) gene has been proved to have strongest association with PBC susceptibility, and non-HLA genes, including IL12A, IL12RB2, STAT4, IRF5-TNPO3, ORMDL3/IKZF3, MMEL1, SPIB, CTLA-4, FCRL3 and A2BP1, are also closely associated with PBC susceptibility. Four AMAs including anti-M2, anti-M4, anti-M8 and anti-M9, and antinuclear antibodies (ANAs), such as antinuclear dot antibodies (SP100, PML, NDP52, SP140), antinuclear pore antibodies (gp210, p62), antinuclear envelope antibodies (Lamin and Lamin B receptor), and anti-centromere antibodies, may also be involved in the pathogenesis of PBC. The imbalance between

Th17 cells and regulatory T lymphocytes (Treg) may also play an important role in the pathogenesis of PBC. In addition, senescence, autophagy, apoptosis of biliary epithelial cells (BECs), and environmental factors, such as Epstein-Barr virus (EBV) infection and smoking, may also contribute to the pathogenesis of PBC. Understanding of the mechanisms responsible for the pathogenesis of PBC has important implications for the treatment of PBC.

Key Words: Primary biliary cirrhosis; Genetic susceptibility; Autoantibodies; Biliary epithelial cells; Pathogenesis

Huang YQ. Recent advances in understanding the pathogenesis of primary biliary cirrhosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2012; 20(29): 2761-2770

摘要

原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)是一种慢性进行性胆汁淤积性自身免疫性肝病,以肝内小胆管破坏及血清高特异性抗线粒体抗体(antimitochondrial antibodies, AMAs)增加为特征。人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)与PBC的易感性显著相关,非HLA基因,包括IL12A、IL12RB2、STAT4、IRF5-TNPO3、ORMDL3/IKZF3、MMEL1、SPIB、CTLA-4、FCRL3和A2BP1等也与PBC的易感性密切相关。4个AMAs(抗-M2、抗-M4、抗-M8、抗-M9)、抗核抗体(ANAs),包括抗多核点抗体(SP100、PML、NDP52和SP140)、抗核孔抗体(gp210和p62)、抗核膜抗体(核板层蛋白、核板层蛋白B受体)及抗着丝粒抗体可能也涉及PBC的发病机制。Th17细胞/调节性T细胞(Treg)的免疫失衡在PBC的发病机制中可能起重要作用。此外,胆管上皮细胞(biliary epithelial cells, BECs)的衰老、自噬、凋亡以及环境因素,如EB病毒(EBV)感染、吸烟等可能也参与PBC的发病。这些最新研究进展为PBC的治疗提供了新的思路。

关键词: 原发性胆汁性肝硬化; 遗传易感性; 自身抗体; 胆管上皮细胞; 发病机制

■背景资料

原发性胆汁性肝硬化(PBC)是一种慢性胆汁淤积性肝病,多见于中年女性,为自身免疫性肝病的一种类型,血清抗线粒体抗体(AMAs)滴度升高是诊断PBC的特异性指标。PBC的发病机制十分复杂,可能涉及遗传易感性、自身免疫、胆管上皮细胞的自噬、衰老、凋亡以及环境因素的影响。

■同行评议者

丁惠国,教授,首都医科大学附属北京佑安医院肝病消化科

■ 研发前沿

全基因组关联分析(GWA)技术的应用使原发性胆汁性肝硬化(PBC)相关易感基因的研究取得了巨大进展,新的易感基因和基因座不断被发现,对于研究其发病机制具有重要意义。

黄颖秋. 原发性胆汁性肝硬化发病机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20(29): 2761-2770
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2761.asp>

0 引言

原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)是一种免疫介导的,进展缓慢的胆汁淤积性肝病^[1],为自身免疫性肝病(autoimmune liver disease, AILD)的一种类型^[2],以慢性阻塞性黄疸、血清抗线粒体抗体(antimitochondrial antibodies, AMAs)增加、组织病理学示肝内小胆管慢性非化脓性破坏性胆管炎,最终广泛的胆管破坏及胆汁性肝硬化为主要特征^[3]。流行病学资料显示, PBC每年的发病率为38.3/100 000, 82%的患者为女性, 中位年龄为62岁, 其主要临床表现为乏力和皮肤瘙痒, 血清AMAs阳性为PBC的特异性诊断指标, PBC确诊后的平均生存期为15年^[4]。尽管女性和男性PBC患者在组织学、血清学及生物化学方面似乎无任何差别, 但在症状学上可能略有不同, 男性PBC罹患致命性并发症的风险较高, 如消化道出血和肝癌^[5]。PBC的早期诊断及熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)治疗方案的应用明显改善了PBC患者的预后, 但仍有1/3的PBC患者应用UDCA治疗无效, 需要肝移植治疗^[2]。PBC具有强烈的自身免疫特征, 包括对普遍存在的线粒体抗原耐受性的高度特异性缺失^[6]。此外, 环境和遗传因素也在其发病机制中起重要作用^[6]。本文就PBC发病机制的最新进展概述如下。

1 遗传易感性

PBC患者家族患病率高、单卵双生者患病的高度一致性^[7,8]以及女性患病率明显高于男性^[8], 均提示PBC的遗传易感性^[7,8]。女性易感PBC与X染色体的失活密切相关, 若自身免疫性T细胞不能耐受两个X染色体所编码的抗原即可导致PBC。Mitchell等^[8]研究显示, 影响PBC始发的表现遗传因素比X-连锁基因启动子的甲基化差异更为复杂, 可变X-连锁基因(X-linked genes)失活可能具有部分启动子的特征, 这或许是中年女性易感PBC的主要原因。此外, 全基因组关联分析(genome-wide association analysis, GWA)显示, 人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)与PBC的相关性最强^[6]。此外, 许多与HLA作用相当的非HLA风险基因也已被确认, 包括IL12A(3q25)^[9]、IL12RB2(1p31)^[9]、

STAT4^[9]、IRF5-TNPO3(7q32)^[10,11]、ORMDL3/IKZF3(17q12.21)^[10-12]、MMEL1(1p36)^[10]、SPIB(19q13)^[11]、CTLA-4^[13,14]、FCRL3^[15]和A2BP1^[16], 他们均支持先天性免疫和获得性免疫在PBC的发生、发展中起重要作用^[6]。

HLA与PBC HLA是具有高度多态性的同种异体抗原, 位于6号染色体的短臂, 受控于主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)的基因簇, 按其分布和功能分为I类抗原和II类抗原, 前者的特异性取决于 α 重链, 包括经典HLA-A、B、C分子和非经典HLA-E、G、F分子, 后者受控于HLA-D区(包括5个亚区), 由其中的A基因和B基因分别为 α 重链和 β 轻链编码, 其基因多态性取决于 β 轻链^[17]。Hirschfield等^[9]应用GWA研究发现, PBC与HLA II类基因区的13个基因座显著相关, 其中与HLA-DQB1基因座(编码II类MHC, DQ β 链1)的相关性最强。Umemura等^[18]研究发现, PBC的易感性与HLA DRB1*08:03-DQB1*06:01和DRB1*04:05-DQB1*04:01单体型显著相关, 相反, 与DRB1*13:02-DQB1*06:04和DRB1*11:01-DQB1*03:01有显著的保护性相关。PBC原位肝移植术后患者的DRB1*09:01-DQB1*03:03单体型频率明显升高, 其DR β 链57位点的丝氨酸频率也与大多数PBC患者不同, 提示HLA单体型在PBC易感性上起重要作用, HLA区域的进一步重新排序有待于对PBC基因成分的精细定位分析。Invernizzi等^[19]证实, 特异性HLA-DRB1基因*08、*11、*14与PBC相关, 其中DRB1*08是最强的易感等位基因, DRB1*14和DPB1*03:01是易感风险等位基因, 而DRB1*11为保护性基因。因此, PBC与HLA II类基因座的遗传变异体之间有显著的相关性^[9]。

Hirschfield等^[9]发现, PBC与IL12A基因座(编码白介素-12 α)上的2个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)即rs6441286和rs574808, 以及IL12RB2基因座(编码白介素-12受体 β 2)的1个SNP即rs3790567有显著并可重复的相关性。精细定位分析(fine-mapping analysis)显示, IL12A 3'侧的5'-等位基因单体型与PBC显著相关。STAT4基因座(编码信号转导子和转录激活因子4)和CTLA4基因座(编码细胞毒T淋巴细胞相关蛋白4)以及10个其他基因座的SNPs与PBC风险有轻微全基因组相关性。此研究表明, PBC与IL12A和IL12RB2基因座的常见遗传变异体之间有显著的相关性, IL12免疫调节信号传导

轴与PBC的病理生理学有关. 为寻找更多的易感基因, Mells等^[20]应用GWA确认了12个新的风险基因座, 包括DENND1B(1q31)、STAT4(2q32)、CD80(3q13)、NFKB1(4q24)、IL7R(5p13)、7p14、CXCR5(11q23)、TNFRSF1A(12p13)、RAD51L1(14q24)、CLEC16A(16p13)、16q24和MAP3K7IP1(22q13). 此外, 他们还发现8个新的候选基因, 包括STAT4、DENND1B、CD80、IL7R、CXCR5、TNFRSF1A、CLEC16A和NFKB1. 另外, CTLA-4+49G>A多态性可能也是PBC的易感因素^[21]. Aiba等^[22]证实, CTLA4 rs231775、rs3087243、rs231725 SNPs与PBC的易感性显著相关, CTLA4 rs231725 SNP与PBC的终末期进展显著相关, CTLA-4单体型1(rs231775 G、rs231777 C、rs3087243 G、rs231725 A和GCGA)既是PBC易感性的危险因素, 也是PBC进展的保护性因素. 相反, CTLA-4单体型2(ACAG)则分别是PBC易感性保护性因素和PBC进展的危险因素. CTLA4 rs231777 SNP及单体型3(ATGG)与抗gp210抗体的生成显著相关, 而SLC4A2单体型4(rs2069443 A、rs2303933 G、rs2303937 A、rs2303941 T; AGAT)和单体型3(AAGC)分别与PBC的易感性及抗着丝粒抗体(anti-centromere antibody, ACA)的生成显著相关. Li等^[23]认为, CTLA4 rs231775 G等位基因是PBC的危险因素, 而rs3087243 AA基因型以及rs231725 GG、GA和G等位基因与PBC呈负相关. 此外, Inamine等^[24]发现, ITGAV 3个SNPs(rs3911238、rs10174098和rs1448427)与PBC进展的严重程度显著相关, 但与其易感性无关. 其中, rs1448427与PBC肝移植术后的严重肝衰竭显著相关. 此研究表明, ITGAV是PBC进展的遗传决定因素, ITGAV的基因多态性或许有助于确认PBC的风险, 包括初次诊断需肝移植者. 因此, 进一步识别PBC相关风险基因座和易感基因对未来理性控制PBC的进展和治疗有潜在的帮助^[6].

单卵(monozygotic, MZ)双生女性患病的高度一致^[8]以及90%的PBC患者为中年女性^[5]均提示PBC有强烈的遗传易感性. 鉴于女性PBC患病率的明显占优, X染色体的作用机制备受关注^[25,26]. Xp11、Xq13.1的基因突变分别导致IPEX、XSCID综合征, 表明X染色体与免疫之间存在紧密关系^[25]. 同时, X染色体缺陷在迟发型自身免疫性疾病的女性患者也更为常见^[26]. X染色体失活(X chromosome inactivation, XCI)是

雌性哺乳类动物体内的一个必要过程, XCI通过抑制两条X染色体中的一条基因的表达来弥补两条X染色体存在这一“缺陷”, X染色体上的X去活化中心(X inactivation center, XIC)序列含有两个非转译RNA基因, 分别为Xist与Tsix, 二者参与去活化作用来调控其沉默化. 此外, XIC上的一些结合位点还可与一些已知或未知的调控蛋白结合参与其调控. XCI调控的多样性或许反映了在演化进程中发育过程的可变性^[27]. XCI的表观遗传因素(epigenetic factors)可能也涉及PBC的进展以及双生子PBC和合率(concordance rate)的可变性^[5]. Mitchell等^[8]应用定量RT-PCR技术对MZ一致和不一致的外周血mRNA和DNA 125个可变XCI状态的转录物水平分析发现, CLIC2和PIN4基因在双生子PBC患者中始终下调, 而在健康双生子或对照组则无. CLIC2和PIN4基因不能预测转录物水平或XCI状态, 这2种基因在CpG位点呈现部分或可变的甲基化. 此研究表明, 影响PBC始发的表观遗传因素比X连锁基因(X-linked genes)启动子甲基化的差异更为复杂, 可变X连锁基因的失活可能具有部分启动子甲基化和等位基因转录的特征.

2 免疫机制

2.1 自身抗体

2.1.1 抗线粒体抗体: 绝大多数PBC患者很容易检测到AMAs, 而极少数PBC(<5%)即使应用重组诊断技术, AMAs仍为阴性^[28]. AMAs有9个亚型, 其中抗-M2、抗-M4、抗-M8及抗-M9涉及PBC, 这4个亚型对PBC的诊断具有相对特异性^[29]. 抗-M2识别的自身抗原位于线粒体内膜, 有5个抗原决定簇, 为线粒体呼吸链内2-酮酸脱氢酶复合体的家族成员, 包括丙酮酸脱氢酶复合体(pyruvate dehydrogenase complex, PDC)E2亚单位(PDC-E2)^[29]、支链2-氧酸脱氢酶复合体E2亚单位(BCOADC-E2)^[29]、2-氧化戊二酸脱氢酶复合体E2亚单位(OGDC-E2)^[29]、支链2-氧酸脱氢酶复合体E1 α 亚单位(BCOADC-E1 α)^[30]及二氢硫辛酰胺脱氢酶结合蛋白(E3BP)^[29]. PBC以AMAs与2-酮酸脱氢酶复合体(BCOADC、PDC)E2亚单位的硫辛酰基发生反应为特征, 含有主要抗原表位的E2硫辛酰基区域对免疫病理十分必要^[30]. 大约90%-95%的PBC患者的血清标本呈现PDC-E2抵抗反应, 形成PBC最重要的自身抗原, 抗-M2是PBC常规诊断试验中最重要

■相关报道

2005年, Harrington等和Park等分别发现了一类不同于Th1细胞和Th2细胞的独立T细胞亚群, 即Th17细胞, 使人们对PBC的自身免疫机制有了新的认识, 相关报道不断涌现, Th17细胞/调节性T细胞(Treg)平衡失调可能在PBC的自身免疫过程中起重要作用.

■创新盘点

本文引用了近5年的大量英文文献,对遗传易感基因、自身抗体、Th17细胞/Treg的免疫调控、趋化因子、抗原呈递细胞、PPAR- γ 、胆管上皮细胞的自噬、衰老、凋亡以及环境因素在PBC发病机制中的最新进展进行了详尽阐述,提供了大量有价值的信息。

研究发现,亲电体修饰的硫辛酸PDC-E2衍生物也可激发AMAs反应。此外,抗-E1抗体总是于E2的抗原抗体结合时出现,E1的自身免疫机制虽不同于E2,但可能与之有关,含有E1亚单位的非硫辛酰基也常成为靶点^[30]。Mori等^[30]研究发现,BCOADC复合体的集群抗体反应与PDC复合体的抗体反应迥然不同,前者是以BCOADC复合体的集群抗体形式出现,许多抗原表位出现于BCOADC-E1 α 分子表面,主要抗原表位与活性中心重叠,抗BCOADC-E1 α 抗体强力抑制酶的活性。此研究表明,BCOADC复合体的E1 α 亚单位是一种免疫原,涉及AMAs生成的发病机制。抗-M4、抗-M8及抗-M9识别的自身抗原位于线粒体的外膜。其中,抗-M4抗体主要见于慢性活动性肝炎和PBC患者;抗-M8抗体见于进展期PBC活动者;抗-M9抗体主要见于无症状、早期及抗-M2阴性的PBC患者^[29]。胆管细胞破坏是PBC的重要特征,对PDC-E2自身抗原特异的辨识性T细胞介导此过程,PBC患者的外周血可反映辨识性CD4⁺和CD8⁺T细胞最显著的免疫学特征,而其相关的AMAs特异性CD8⁺T细胞、CD4⁺细胞在肝脏的含量则分别是外周血的近10倍和100倍以上,PBC患者的B细胞和T细胞可与同一抗原同时反应,二者均涉及PBC的发病机制^[29]。Jin等^[28]研究发现,AMAs阳性PBC患者的门管区胆管损伤程度显著低于AMAs阴性者,后者胆管区域的变异CD5⁺细胞浸润簇显著增加,胆管损伤早期的B细胞浸润水平也更为严重,门管区受损胆管的CD5⁺和CD20⁺细胞浸润频率及幅度是胆管上皮细胞(biliary epithelial cell, BEC)损害的首要证据,除CD5⁺细胞持续超过CD20⁺细胞外,胆管缺失阶段(ductopenia stage)时减轻。此研究表明,B细胞在PBC特征性的胆管损伤中具有自身免疫调节作用。AMAs包含IgA、IgG和IgM亚类。血清或唾液中AMAs IgA的出现可能与PBC的进展相关,胆汁中较高浓度的AMAs IgA致使外露的细胞更易凋亡而致胆管损坏。此外,AMAs IgA可转运至血管一侧的胆管细胞,通过与位于管腔表层细胞膜的PDC-E2样分子的免疫反应诱导细胞凋亡^[29]。不同的AMAs IgG亚类有其不同的临床意义。AMAs IgG3阳性的PBC患者较阴性者的组织学进展更严重,形成肝硬化的频率也更高^[29]。此外,AMAs IgG3滴度与Mayo风险评分呈正相关,其与不良预后的关联可能反映了AMAs IgG3充当免疫损伤介质的特殊功能^[29]。PBC患者AMAs IgM滴度升高可能

与细菌CpG诱导B细胞激活及NF- κ B信号通路有关^[32]。AMAs的生成机制可能涉及氧化应激(oxidative stress)^[3]、分子模拟(molecular mimicry)^[33]、BEC凋亡(apoptosis)^[34,35]、衰老(senescence)^[3,35]和自噬(autophagy)^[3,35]等。

2.1.2 抗核抗体(antinuclear antibodies, ANAs): 大约90%-95%的PBC患者血清AMAs滴度升高^[29], AMAs无疑是PBC重要的血清学特征^[36]。除此之外,应用间接免疫荧光法(indirect immunofluorescence, IIF)可在50%的PBC患者检测到特异性的ANAs,尤其在AMAs阴性的PBC患者更为常见^[36],提示ANAs可作为PBC的辅助血清学标志。PBC特异的ANAs包括多核点型(multiple nuclear dots, MND)和核膜型(nuclear rim-like/membranous)^[36]。前者的靶抗原被认定为Sp100和早幼粒白血病(promyelocytic leukemia, PML)蛋白,在PBC的小鼠模型^[37]以及PBC患者^[38]中均已被证实。而后者则包括多重蛋白(multiple proteins)gp210、核孔蛋白(nucleoporin)p62及核板层B受体(lamin B receptor)^[36]。而其他一些ANAs,尤其是一些风湿类疾病的已知抗体,如抗-着丝点抗体(anticentromere)、抗-SSA/Ro及抗-dsDNA抗体在PBC也时常出现,且常共存于同一患者^[36]。(1)抗多核点抗体(抗-MND抗体): 与MND相关的主要抗原包括Sp100、PML蛋白、Sp140和NDP52^[29]。Sp100、PML蛋白常同时出现,并联合参与PBC的自身免疫反应^[29]。因缺乏PML蛋白的免疫测定手段,Mytilinaiou等^[38]开发了一种新的线条免疫测定方法(line immunoassay, LIA)以此分析PBC同时出现的抗-PML和抗-Sp100特异性自身抗体。结果证实,LIA是检测PBC相关特异性MND抗体的精确测定方法。Sp100为转录激活蛋白(transcription-activating proteins)自身抗原,主要见于PBC,偶见于风湿类疾病患者。抗-Sp100抗体的阳性率大约占PBC的25%,若具有典型的临床表现,并能排除其他疾病,其对PBC的诊断似乎更具高度特异性,尤其对AMAs阴性者^[29]。但Milkiewicz等^[39]采用较先进的MIT3-ELISA(MIT3-based enzyme-linked immunosorbent assay)方法研究发现,57例经M2 ELISA方法认定为AMAs阴性的PBC患者,14例经MIT3-IgG方法被认定为AMAs阳性,由于采用的血清学检测方法更为敏感和特异,AMAs阳性的抗-Sp100抗体也似乎较AMAs阴性者更常见。此外,74%并发尿路感染的PBC患者,抗-Sp100抗

体阳性, 而无尿路感染者, 阳性率仅为4.8%, 提示大肠杆菌(*Escherichia coli*)等感染因素可能涉及PBC特异性自身抗体的诱导^[29]. 免疫荧光显微镜显示, 大约19%的PBC患者血清抗-PML抗体与抗-Sp100共存于同一患者中, 而即使AMAs呈阴性时, 抗-PML抗体仍对PBC具有高度的特异性^[29]. PBC患者的血清中存在一种新的PML核体(nuclear body, NB)蛋白, 即Sp140^[40]. Granito等^[40]对135例PBC患者研究发现, 20例(15%)PBC患者出现抗-Sp140抗体, 而对照组则无, 且AMAs阴性PBC患者的抗-Sp140抗体频率显著升高(53% vs 9%, $P<0.0001$); 除1例外, 全部患者(19/20例, 90%)的抗-Sp140抗体与抗-Sp100抗体同时存在; 12例(60%)PBC患者含有抗-PML抗体. 此研究表明, Sp140是对PBC的一种高度特异性抗原, 特别有助于AMAs阴性PBC患者的诊断. MND相关抗原NDP52^[29]为一种转接蛋白(adaptor protein)^[41], 其与泛素(ubiquitin)及微管相关蛋白-3 β 轻链(microtubule-associated proteins-light chain 3 β , LC3, 自噬标志物)捆绑, 参与TBK1(tank-binding kinase, TBK1)信号通路的调节^[41], DP52通过促进细菌自噬(autophagy), 限制宿主细胞的细菌复制, 在免疫反应中可能起关键作用^[41]; (2)抗核孔复合体抗体(抗-NPC抗体), 除AMAs外, 一些核抗原已被作为PBC患者ANAs的靶抗原, 包括核孔复合体(nuclear pore complex, NPC)重要组成部分的核孔蛋白, 如gp210和Nup62蛋白^[29]. 大约1/4的PBC患者存在抗-NPC抗体^[42]. 跨膜糖蛋白(integral membrane glycoprotein)gp210是NPC中一种完整的膜蛋白, 分子量为210 kDa, 其抗原表位定位于核孔区的细胞质部分, 抗-gp210抗体大约见于25%的PBC患者^[29], 其对PBC的特异性接近100%, 并与PBC的进展程度密切相关^[42]. 核孔蛋白(nucleoporin)p62是一种55 kDa的膜蛋白, 其抗原表位定位于NPC的中心, 调节核定位信号蛋白的输入^[42]. 鉴于自噬参与PBC的发病机制, Sasaki等^[43]观察了p62在PBC患者胆管上皮细胞自噬及衰老过程中的作用. 结果表明, p62的聚集在PBC受损胆管的增加特别显著, 这或许反映了功能失调的自噬及随之而来的细胞衰老在PBC胆管损伤的作用机制. 换言之, p62介导的胆管上皮自噬可能先于其细胞衰老参与PBC的胆管损伤机制^[44]. 抗-gp210及抗-p62抗体对PBC具有高度特异性, 后者在PBC患者血清中的检出率似乎高于前者, 抗-M2抗体阴性的PBC患者中, 应用IIF检测常显示抗-p62抗体阳性, 这2种抗

-NPC抗体的自身免疫机制可能也与分子模拟有关^[42]; (3)抗-核内膜抗体(抗-lamin抗体、抗-LBR抗体), 核板层蛋白(lamin)为构成核板层结构的蛋白质, 包括A、B、C 3种, 均以二聚体形式存在, 以头-头、尾-尾相接的方式构成核板层^[36,45]. 应用IIF可检测出PBC患者血清中的抗-核板层蛋白抗体(抗-lamin抗体), 他包括3种亚型, 分别为抗-laminA抗体、抗-laminB抗体和抗-laminC抗体^[29]. Tsangaridou等^[45]对103例PBC患者的血清检测发现, 抗-laminA、抗-laminB及抗-laminC的阳性率分别为6.8%、1.0%和1.0%. 抗-laminA、抗-laminC常同时存在, 但几乎不与抗-laminB并存^[29]. 换言之, 抗-laminA、抗-laminB、抗-laminC很少共存于同一PBC患者^[29]. 核板层B受体(lamin B receptor, LBR)为核内膜多肽蛋白, 抗原表位定位于核内膜区多肽蛋白的氨基末端^[36], 抗-LBR抗体对PBC具有高度特异性^[29,36], 其阳性率为8.7%^[45]; (4)抗着丝粒抗体(anti-centromere antibodies, ACA), ACA是系统性硬化症(systemic sclerosis, SSc)的重要诊断标志物, 有多个亚型^[29], 与之对应的靶抗原包括^[46]CENPA、CENPB、CENPC、CENPH、CENPE、CENPF、INCENP和CENPI. 大约25%的SSc患者ACA阳性^[29]. ACA也可见于原发性干燥综合征(sjögren syndrome, SS)、系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)及PBC^[29]. ACA阳性的PBC患者并发门脉高压症的风险明显升高^[29]. Hamdouch等^[46]对硬皮病(scleroderma)患者研究发现, 25%的抗-CENPI抗体阳性者合并PBC, 提示与硬皮病相关的抗-CENPI抗体可作为合并PBC的标志. Imura-Kumada等^[47]通过对225例SSc患者的PBC相关抗体检测发现, 22例(9.8%)PBC位于其中. 他们认为, SSc患者群中的PBC发病率以及PBC相关抗体的阳性率较高, AMAs和ACA或可预示SSc群体中的PBC风险增加. 此外, ACA也与SS患者相关, 若其血清中同时出现AMAs可预示PBC的风险^[48].

2.1.3 其他自身抗体: PBC患者体内已发现60余种自身抗体, 包括抗-GW小体(anti-GW bodies)抗体^[49]、抗-p53抗体^[50]、抗-核染色质(anti-chromatin)抗体^[39]、抗-单纯疱疹病毒(anti-herpes simplex viral)抗体^[51]、抗-乙酰胆碱受体(anti-acetylcholine receptor)抗体^[52]、抗-平滑肌(anti-smooth muscle)抗体^[53]、抗-环瓜氨酸肽(anti-cyclic citrullinated peptides, CCP)抗体^[54]、抗-1, 4, 5三磷酸肌醇受体(anti-inositol 1, 4, 5-trisphos-

■应用要点

本文详尽阐述了遗传易感性、自身免疫、胆管上皮细胞的自噬、衰老、凋亡以及环境因素在PBC发病机制中的作用, 提供了大量有价值的信息, 对于PBC的基础和临床研究有重要的参考价值.

■名词解释

调节性T细胞(Treg): 不同于Th1、Th2和Th17细胞的T细胞亚群, 能抑制对自身或外源抗原有害的免疫反应, 在维持机体免疫自稳和诱导免疫耐受中起重要作用。

phate receptor 3, ITPR3)抗体^[55]及抗-p97/VCR抗体^[56]等。他们出现于PBC的频率不等, 特异性尚不清楚, 作用机制也有待于研究。

2.2 T细胞免疫异常 促纤维化细胞因子, 如转化生长因子(transforming growth factor beta, TGF- β)、白介素6(interleukin-6, IL-6)等, 不仅在PBC的炎症反应中起重要作用, 而且也涉及效应T淋巴细胞亚群(effector T lymphocyte subpopulation)Th17细胞(T helper 17 cells, Th17 cells)及调节性T细胞(regulatory T lymphocytes, Treg)的生成和功能, 过度生成的这些细胞因子所诱发的免疫失衡可能与PBC和系统性硬化症(systemic sclerosis, SSc)的纤维化机制有关^[57]。Th17细胞是一种分化途径与Th1细胞、Th2细胞截然不同的CD4+T细胞亚群, 因其分泌IL-17而得名^[57]。孤儿核受体(orphan nuclear receptor, ROR)的家族成员包括ROR α 、ROR β 和ROR γ 。ROR γ t作为ROR γ 的可变转录产物, 广泛表达于CD4+CD8+双阳性细胞, 并成为诱导Th17细胞产生的关键转录因子^[58]。IL-17家族含有6个成员。其中, IL-17A与IL-17F是同型二聚体蛋白, 同源率为50%, 并有2个基因位于同一染色体区域^[58]。Th17细胞通过分泌IL-17A、IL-17F、IL-21、IL-22、IL-6、TNF- α 等细胞因子发挥其特有的免疫功能^[58]。PBC的发病机制可能涉及对细菌成分的固有免疫反应^[59]。Harada等^[59]对PBC患者的胆管上皮细胞(biliary epithelial cells, BECs)培养研究发现, BECs的IL-6、IL-1 β 、IL-23p19以及IL-23/IL-12p40 mRNAs被病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)表达上调。而且, 含有IL-17受体的BECs被IL-17刺激诱导产生大量的IL-6、IL-1 β 、IL-23p19和趋化因子。PBC患者的受损胆管可见IL-17阳性细胞浸润及IL-6、IL-1 β 过度表达。因此, PBC的胆管慢性炎症与IL-17阳性细胞以及对PAMPs的固有免疫有关。Liu等^[60]研究证实, IL-7是维持Th17细胞存活与扩展的关键细胞因子。IL-7受体(IL-7 receptor, IL-7R)与多发性硬化症(multiple sclerosis, MS)的易感性相关。IL-7可直接使实验性自身免疫性脑脊髓膜炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)小鼠及MS患者的Th17细胞显著增多, 而不需Th17细胞活化。IL-7拮抗剂通过抑制JAK-STAT5信号转导通路、改变生存蛋白(prosurvival protein)Bcl-2及细胞凋亡蛋白(proapoptotic protein)Bax的表达, 使EAE及MS的Th17细胞很快进入凋亡程序, 提示抑制

IL-7受体活性有助于减少有害Th17细胞的产生, 从而缓解自身免疫性疾病的进程。Treg具有维持自身耐受和抑制过度免疫反应作用, 与Th17细胞同属CD4+T细胞亚群, Treg与Th17细胞在分化和功能上相互抑制, 以维持免疫内环境的稳定, 一旦动态平衡被打破, 即可导致全身或局部免疫应答异常, 出现自身免疫性疾病^[61]。除CD4+Treg外, 部分CD8+细胞亚群也为Treg^[57]。Fenoglio等^[57]研究显示, PBC患者存在CD8+Treg亚群缺陷, 而SSc患者则表现出CD4+CD25+及CD8+Treg亚群的异常。因此, CD8+Treg亚群缺陷似乎是导致纤维化性自身免疫性疾病始发和持续的重要因素。

2.3 趋化因子 PBC的自身免疫机制与Th1或Th17细胞产生的IFN- γ 或IL-17有关, 趋化因子(fractalkine)对受损胆管周围的T细胞、B细胞浸润起关键作用^[62]。CCL2和CX3CL1分别为趋化因子CC亚家族和CX3C亚家族的重要成员, 他们可能参与PBC的发病。Zhang等^[63]研究发现, PBC患者外周血及BECs可见趋化因子显著表达, 其门管区浸润的淋巴细胞及受损胆管上皮的T细胞可见CX3CR1表达。Sasaki等^[64]研究证实, PBC患者受损小胆管的衰老BECs也可见CCL2和CX3CL1过度表达^[64], 提示CCL2和CX3CL1可能与BECs的炎症衰老机制有关。Shimoda等^[65]研究认为, CX3CL1可作为PBC胆管炎症反应的标志。

2.4 抗原呈递细胞 抗原呈递细胞(antigen-presenting cell, APC)包括朗格汉斯细胞(Langerhans cells, LCs)和树突细胞(dendritic cells, DC), 已在PBC门管区和胆管上皮被发现^[66]。APC过度呈递抗原可致自身免疫性疾病。Graham等^[66]研究显示, 58%的PBC患者可确认LCs存在, 而原发性硬化性胆管炎(PSC)及自身免疫性肝炎(AIH)患者仅为14%和6%。说明LCs可能与PBC的发病机制有关。PBC患者的受损小胆管周围常出现上皮肉芽肿样改变^[3]。You等^[67]研究发现, 经典DC(classical dendritic cell)CD11c标志物在PBC肝肉芽肿患者呈高度表达, CD11c阳性的PBC肝肉芽肿患者血清IgM水平显著升高, CD11b(DC未成熟标志)使MHC II、IL-23、CCR7和CD83表达下调, 使C1q表达上调, PBC的肝肉芽肿周围可见大量B细胞、IgM阳性浆细胞及巨噬细胞浸润, 提示DC对肉芽肿的发病机制至关重要, PBC的肝肉芽肿可能由未成熟DC与IgM相互作用所致。

2.5 PPAR- γ 过氧化物酶体增殖物活化受体(peroxisome proliferator-activated receptor-gamma,

PPAR- γ)是调节脂肪细胞分化及抗炎作用的核受体, 由其配体激活后抑制炎症细胞因子TNF- α 的表达, 后者经NF- κ B诱导产生^[68]. PPAR- γ 通过减弱BECs对PAMPs的炎症信号以维持胆道内环境平衡及无炎症产生, PBC患者受损胆管的PPAR- γ 表达显著下调, 表明对PAMPs的易感性增加^[68]. 对PBC患者的BECs培养显示, Th2细胞因子IL-4使PPAR- γ 表达上调, 而Th1细胞因子IFN- γ 则使PPAR- γ 表达下调, 这种独特的细胞因子环境与PBC受损胆管的PPAR- γ 表达下调有关^[68].

3 胆管上皮细胞

PBC以慢性非化脓性破坏性胆管炎为其主要特征, 其受损小胆管的BECs常显示出SA- β -gal、p16^{INK4a}及p21^{WAF1/Cip1}表达增加的衰老(senescence)征象^[3]. 应用定量荧光原位杂交检查发现, PBC受损小胆管的BECs端粒长度显著减少^[3]. 此外, 在其受损小胆管的BECs还可检测到 γ H2AX DNA损伤位点^[3]. p16^{INK4a}、p21^{WAF1/Cip1}的表达增加与端粒缩短及 γ H2AX DNA损伤位点相一致, 反之亦然^[3]. 提示BECs衰老在PBC的胆管损伤乃至随后的缺失中发挥作用. PBC患者的BECs衰老还伴随其自噬(autophagy)增加^[3]. LC3通常作为自噬标志物, 其在PBC受损胆管的细胞质囊泡中显著表达, 自噬标志物LC3也常与衰老标志物p21^{WAF1/Cip1}、p16^{INK4a}在PBC受损胆管的BECs共表达(coexpressed)^[3]. BECs的自噬可能也介导其衰老的过程, 并涉及PBC胆管损伤的发病机制^[3]. BECs的凋亡(apoptosis)在PBC十分常见, 他可能在PBC的发病机制中发挥独特作用^[34]. 此外, PBC患者肝内皮细胞产生的内皮素(endothelins, ETs)显著增加, ETs可能起重要致病作用^[69]. Mantaka等^[69]研究发现, 肝内皮细胞相关基因eNOS、EDN-1的基因多态性也与PBC的发病有关.

4 环境因素

微生物感染、疫苗、吸烟、营养不良、紫外线和生物异源物质(xenobiotics)等环境因素可能与PBC的发病有关^[70]. 一些流行病学研究显示, 几种风险因素与PBC的进展相关, 包括PBC的家族史、复发性尿路感染以及吸烟^[71]. Smyk等^[71]认为, 吸烟可能加速疾病的纤维化和肝硬化进程, 故将其视为PBC的风险因素以及PBC患者纤维化进展的潜在因素. 此外, 病原体的分子模拟机制使感染因素与PBC的关系不容小视. 内脏利什曼病(visceral leishmaniasis, VL)是利什曼原虫引

发的致命性感染, 自身免疫现象在VL中常见, 这可能与寄生虫致组织破坏所释放的大量自身抗原有关, 也可能涉及寄生虫引起的宿主免疫应答改变, VL可致SLE、类风湿性关节炎及AIH等自身免疫性疾病^[72]. 最近, Tunccan等^[72]报道的1例VL患者, 其临床特征与SLE、AIH及AMAs-M2阳性的PBC重叠. EB病毒(epstein-barr virus, EBV)感染与PBC相关, PBC患者的外周血、唾液及肝组织中可见EBV-DNA显著增加, EBV作为PBC的触发因素介导免疫反应^[73]. Pender等^[74]认为, CD8+T细胞缺陷降低了对EBV的控制, 导致EBV侵入及抗-EBV抗体增加, EBV感染靶器官辨识性B细胞, EBV克隆式扩张(cloning expansion), 辨识性T细胞浸润靶器官形成异常淋巴结. 此外, 维生素D缺陷^[74]及其受体的多态性^[75]也与PBC的发病和进展有关.

5 结论

PBC的发病机制十分复杂, 涉及遗传易感性、免疫异常、胆管上皮细胞的自噬、衰老、凋亡以及诸多环境因素的影响. 尽管其发病机制的研究已取得不少进展, 但仍有很多机制尚未阐明. 目前尚无与人类PBC发病过程及临床特征酷似的动物模型, 这无疑制肘了对其发病机制和免疫治疗深层次的研究. Th17细胞/Treg的免疫调控、自身反应性T细胞克隆的分离和调控以及理想PBC动物模型的建立应是目前研究的重点和未来努力的方向.

6 参考文献

- 1 Hohenester S, Oude-Elferink RP, Beuers U. Primary biliary cirrhosis. *Semin Immunopathol* 2009; 31: 283-307
- 2 Kim KA, Jeong SH. The diagnosis and treatment of primary biliary cirrhosis. *Korean J Hepatol* 2011; 17: 173-179
- 3 Sasaki M, Nakanuma Y. Novel approach to bile duct damage in primary biliary cirrhosis: participation of cellular senescence and autophagy. *Int J Hepatol* 2012; 2012: 452143
- 4 Baldursdottir TR, Bergmann OM, Jonasson JG, Ludviksson BR, Axelsson TA, Björnsson ES. The epidemiology and natural history of primary biliary cirrhosis: a nationwide population-based study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012; 24: 824-830
- 5 Smyk DS, Rigopoulou EI, Pares A, Billinis C, Burroughs AK, Muratori L, Invernizzi P, Bogdanos DP. Sex differences associated with primary biliary cirrhosis. *Clin Dev Immunol* 2012; 2012: 610504
- 6 Hirschfield GM, Invernizzi P. Progress in the genetics of primary biliary cirrhosis. *Semin Liver Dis* 2011; 31: 147-156
- 7 Invernizzi P. Human leukocyte antigen in primary biliary cirrhosis: an old story now reviving. *Hepatol-*

■同行评价

本文较全面的综述了PBC的发病机制, 内容新颖, 论据充分, 推理正确.

- ogy 2011; 54: 714-723
- 8 Mitchell MM, Lleo A, Zammataro L, Mayo MJ, Invernizzi P, Bach N, Shimoda S, Gordon S, Podda M, Gershwin ME, Selmi C, LaSalle JM. Epigenetic investigation of variably X chromosome inactivated genes in monozygotic female twins discordant for primary biliary cirrhosis. *Epigenetics* 2011; 6: 95-102
- 9 Hirschfield GM, Liu X, Xu C, Lu Y, Xie G, Lu Y, Gu X, Walker EJ, Jing K, Juran BD, Mason AL, Myers RP, Peltekian KM, Ghent CN, Coltescu C, Atkinson EJ, Heathcote EJ, Lazaridis KN, Amos CI, Siminovitch KA. Primary biliary cirrhosis associated with HLA, IL12A, and IL12RB2 variants. *N Engl J Med* 2009; 360: 2544-2555
- 10 Hirschfield GM, Liu X, Han Y, Gorlov IP, Lu Y, Xu C, Lu Y, Chen W, Juran BD, Coltescu C, Mason AL, Milkiewicz P, Myers RP, Odin JA, Luketic VA, Speicene D, Vincent C, Levy C, Gregersen PK, Zhang J, Heathcote EJ, Lazaridis KN, Amos CI, Siminovitch KA. Variants at IRF5-TNPO3, 17q12-21 and MMEL1 are associated with primary biliary cirrhosis. *Nat Genet* 2010; 42: 655-657
- 11 Liu X, Invernizzi P, Lu Y, Kosoy R, Lu Y, Bianchi I, Podda M, Xu C, Xie G, Macciardi F, Selmi C, Lupoli S, Shigeta R, Ransom M, Lleo A, Lee AT, Mason AL, Myers RP, Peltekian KM, Ghent CN, Bernuzzi F, Zuin M, Rosina F, Borghesio E, Floreani A, Lazari R, Niro G, Andriulli A, Muratori L, Muratori P, Almasio PL, Andreone P, Margotti M, Brunetto M, Coco B, Alvaro D, Bragazzi MC, Marra F, Pisano A, Rigamonti C, Colombo M, Marzioni M, Benedetti A, Fabris L, Strazzabosco M, Portincasa P, Palmieri VO, Tiribelli C, Croce L, Bruno S, Rossi S, Vinci M, Prisco C, Mattalia A, Toniutto P, Picciotto A, Galli A, Ferrari C, Colombo S, Casella G, Morini L, Caporaso N, Colli A, Spinzi G, Montanari R, Gregersen PK, Heathcote EJ, Hirschfield GM, Siminovitch KA, Amos CI, Gershwin ME, Seldin MF. Genome-wide meta-analyses identify three loci associated with primary biliary cirrhosis. *Nat Genet* 2010; 42: 658-660
- 12 Tanaka A, Invernizzi P, Ohira H, Kikuchi K, Nezu S, Kosoy R, Seldin MF, Gershwin ME, Takikawa H. Replicated association of 17q12-21 with susceptibility of primary biliary cirrhosis in a Japanese cohort. *Tissue Antigens* 2011; 78: 65-68
- 13 Chen RR, Han ZY, Li JG, Shi YQ, Zhou XM, Wang JB, Cai XQ, Wang XC, Han Y, Fan DM. Cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 gene +49A/G polymorphism significantly associated with susceptibility to primary biliary cirrhosis: a meta-analysis. *J Dig Dis* 2011; 12: 428-435
- 14 Miyake Y, Ikeda F, Takaki A, Nouse K, Yamamoto K. +49A/G polymorphism of cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 gene in type 1 autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis: A meta-analysis. *Hepatol Res* 2011; 41: 151-159
- 15 Tanaka A, Ohira H, Kikuchi K, Nezu S, Shibuya A, Bianchi I, Podda M, Invernizzi P, Takikawa H. Genetic association of Fc receptor-like 3 polymorphisms with susceptibility to primary biliary cirrhosis: ethnic comparative study in Japanese and Italian patients. *Tissue Antigens* 2011; 77: 239-243
- 16 Joshita S, Umemura T, Yoshizawa K, Katsuyama Y, Tanaka E, Ota M. A2BP1 as a novel susceptible gene for primary biliary cirrhosis in Japanese patients. *Hum Immunol* 2010; 71: 520-524
- 17 Erlich H. HLA DNA typing: past, present, and future. *Tissue Antigens* 2012; 80: 1-11
- 18 Umemura T, Joshita S, Ichijo T, Yoshizawa K, Katsuyama Y, Tanaka E, Ota M. Human leukocyte antigen class II molecules confer both susceptibility and progression in Japanese patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2012; 55: 506-511
- 19 Invernizzi P, Ransom M, Raychaudhuri S, Kosoy R, Lleo A, Shigeta R, Franke A, Bossa F, Amos CI, Gregersen PK, Siminovitch KA, Cusi D, de Bakker PI, Podda M, Gershwin ME, Seldin MF; The Italian PBC Genetics Study Group. Classical HLA-DRB1 and DPB1 alleles account for HLA associations with primary biliary cirrhosis. *Genes Immun* 2012; 13: 461-468
- 20 Mells GF, Floyd JA, Morley KI, Cordell HJ, Franklin CS, Shin SY, Heneghan MA, Neuberger JM, Donaldson PT, Day DB, Ducker SJ, Muriithi AW, Wheeler EF, Hammond CJ, Dawwas MF, Jones DE, Peltonen L, Alexander GJ, Sandford RN, Anderson CA. Genome-wide association study identifies 12 new susceptibility loci for primary biliary cirrhosis. *Nat Genet* 2011; 43: 329-332
- 21 Huang Q, Shao F, Wang C, Qiu LJ, Hu YG, Yu JH. Association between CTLA-4 exon-1 +49A/G polymorphism and primary biliary cirrhosis risk: a meta-analysis. *Arch Med Res* 2011; 42: 235-238
- 22 Aiba Y, Nakamura M, Joshita S, Inamine T, Komori A, Yoshizawa K, Umemura T, Horie H, Migita K, Yatsuhashi H, Nakamura M, Fukushima N, Saoshiro T, Hayashi S, Kouno H, Ota H, Muro T, Watanabe Y, Nakamura Y, Komeda T, Shimada M, Masaki N, Komatsu T, Yagura M, Sugi K, Koga M, Tsukamoto K, Tanaka E, Ishibashi H. Genetic polymorphisms in CTLA4 and SLC4A2 are differentially associated with the pathogenesis of primary biliary cirrhosis in Japanese patients. *J Gastroenterol* 2011; 46: 1203-1212
- 23 Li M, Zheng H, Li T, Gao P, Zhang XL, Liu DW. Cytotoxic T-lymphocyte associated antigen-4 gene polymorphisms and primary biliary cirrhosis: a systematic review. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 1159-1166
- 24 Inamine T, Nakamura M, Kawauchi A, Shirakawa Y, Hashiguchi H, Aiba Y, Taketomi A, Shirabe K, Nakamura M, Hayashi S, Saoshiro T, Komori A, Yatsuhashi H, Kondo S, Omagari K, Maehara Y, Ishibashi H, Tsukamoto K. A polymorphism in the integrin αV subunit gene affects the progression of primary biliary cirrhosis in Japanese patients. *J Gastroenterol* 2011; 46: 676-686
- 25 Selmi C. The X in sex: how autoimmune diseases revolve around sex chromosomes. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2008; 22: 913-922
- 26 Bianchi I, Lleo A, Gershwin ME, Invernizzi P. The X chromosome and immune associated genes. *J Autoimmun* 2012; 38: J187-J192
- 27 Okamoto I, Patrat C, Thépot D, Peynot N, Fauque P, Daniel N, Diabangouaya P, Wolf JP, Renard JP, Duranthon V, Heard E. Eutherian mammals use diverse strategies to initiate X-chromosome inactivation during development. *Nature* 2011; 472: 370-374
- 28 Jin Q, Moritoki Y, Lleo A, Tsuneyama K, Invernizzi P, Moritoki H, Kikuchi K, Lian ZX, Hirschfield GM, Ansari AA, Coppel RL, Gershwin ME, Niu J. Comparative analysis of portal cell infiltrates in antimitochondrial autoantibody-positive versus antimitochondrial autoantibody-negative primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2012; 55: 1495-1506

- 29 Hu CJ, Zhang FC, Li YZ, Zhang X. Primary biliary cirrhosis: what do autoantibodies tell us? *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3616-3629
- 30 Mori T, Ohira H, Kuroda M, Kato M, Yamaguchi Y, Kochi H. Characterization of Autoantibodies against the E1 α Subunit of Branched-Chain 2-Oxo-acid Dehydrogenase in Patients with Primary Biliary Cirrhosis. *Int J Hepatol* 2012; 2012: 369740
- 31 Naiyanetr P, Butler JD, Meng L, Pfeiff J, Kenny TP, Guggenheim KG, Reiger R, Lam K, Kurth MJ, Ansari AA, Coppel RL, López-Hoyos M, Gershwin ME, Leung PS. Electrophile-modified lipoic derivatives of PDC-E2 elicits anti-mitochondrial antibody reactivity. *J Autoimmun* 2011; 37: 209-216
- 32 Kikuchi K, Hsu W, Hosoya N, Moritoki Y, Kajiyama Y, Kawai T, Takai A, Hayami E, Selmi C, Gershwin ME, Miyakawa H. Ursodeoxycholic acid reduces CpG-induced IgM production in patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatol Res* 2009; 39: 448-454
- 33 Wasilenko ST, Mason GE, Mason AL. Primary biliary cirrhosis, bacteria and molecular mimicry: what's the molecule and where's the mimic? *Liver Int* 2009; 29: 779-782
- 34 Kawata K, Kobayashi Y, Gershwin ME, Bowls CL. The Immunophysiology and Apoptosis of Biliary Epithelial Cells: Primary Biliary Cirrhosis and Primary Sclerosing Cholangitis. *Clin Rev Allergy Immunol* 2012 Jun 12. [Epub ahead of print]
- 35 Sasaki M, Nakanuma Y. Biliary epithelial apoptosis, autophagy, and senescence in primary biliary cirrhosis. *Hepat Res Treat* 2010; 2010: 205128
- 36 Granito A, Muratori P, Quarneri C, Pappas G, Cicola R, Muratori L. Antinuclear antibodies as ancillary markers in primary biliary cirrhosis. *Expert Rev Mol Diagn* 2012; 12: 65-74
- 37 Yang CY, Leung PS, Yang GX, Kenny TP, Zhang W, Coppel R, Norman GL, Ansari AA, Mackay IR, Worman HJ, Gershwin ME. Epitope-specific antinuclear antibodies are expressed in a mouse model of primary biliary cirrhosis and are cytokine-dependent. *Clin Exp Immunol* 2012; 168: 261-267
- 38 Mytilinaïou MG, Meyer W, Scheper T, Rigopoulou EI, Probst C, Koutsoumpas AL, Abeles D, Burroughs AK, Komorowski L, Vergani D, Bogdanos DP. Diagnostic and clinical utility of antibodies against the nuclear body promyelocytic leukaemia and Sp100 antigens in patients with primary biliary cirrhosis. *Clin Chim Acta* 2012; 413: 1211-1216
- 39 Milkiewicz P, Buwaneswaran H, Coltescu C, Shums Z, Norman GL, Heathcote EJ. Value of autoantibody analysis in the differential diagnosis of chronic cholestatic liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 1355-1360
- 40 Granito A, Yang WH, Muratori L, Lim MJ, Nakajima A, Ferri S, Pappas G, Quarneri C, Bianchi FB, Bloch DB, Muratori P. PML nuclear body component Sp140 is a novel autoantigen in primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 125-131
- 41 Cemina M, Kim PK, Brumell JH. The ubiquitin-binding adaptor proteins p62/SQSTM1 and NDP52 are recruited independently to bacteria-associated microdomains to target Salmonella to the autophagy pathway. *Autophagy* 2011; 7: 341-345
- 42 Duarte-Rey C, Bogdanos D, Yang CY, Roberts K, Leung PS, Anaya JM, Worman HJ, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis and the nuclear pore complex. *Autoimmun Rev* 2012; 11: 898-902
- 43 Sasaki M, Miyakoshi M, Sato Y, Nakanuma Y. A possible involvement of p62/sequestosome-1 in the process of biliary epithelial autophagy and senescence in primary biliary cirrhosis. *Liver Int* 2012; 32: 487-499
- 44 Sasaki M, Miyakoshi M, Sato Y, Nakanuma Y. Autophagy may precede cellular senescence of bile ductular cells in ductular reaction in primary biliary cirrhosis. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 660-666
- 45 Tsangaridou E, Polioudaki H, Sfakianaki R, Samiotaki M, Tzardi M, Koulentaki M, Panayotou G, Kouroumalis E, Castanas E, Theodoropoulos PA. Differential detection of nuclear envelope autoantibodies in primary biliary cirrhosis using routine and alternative methods. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 28
- 46 Hamdouch K, Rodríguez C, Pérez-Venegas J, Rodríguez I, Astola A, Ortiz M, Yen TJ, Bennani M, Valdivia MM. Anti-CENPI autoantibodies in scleroderma patients with features of autoimmune liver diseases. *Clin Chim Acta* 2011; 412: 2267-2271
- 47 Imura-Kumada S, Hasegawa M, Matsushita T, Hamaguchi Y, Encabo S, Shums Z, Norman GL, Takehara K, Fujimoto M. High prevalence of primary biliary cirrhosis and disease-associated autoantibodies in Japanese patients with systemic sclerosis. *Mod Rheumatol* 2012 Feb 12. [Epub ahead of print]
- 48 Bournia VK, Vlachoyiannopoulos PG. Subgroups of Sjögren syndrome patients according to serological profiles. *J Autoimmun* 2012; 39: 15-26
- 49 Stinton LM, Swain M, Myers RP, Shaheen AA, Fritzler MJ. Autoantibodies to GW bodies and other autoantigens in primary biliary cirrhosis. *Clin Exp Immunol* 2011; 163: 147-156
- 50 Himoto T, Yoneyama H, Kurokohchi K, Inukai M, Masugata H, Goda F, Haba R, Watanabe S, Senda S, Masaki T. Clinical significance of autoantibodies to p53 protein in patients with autoimmune liver diseases. *Can J Gastroenterol* 2012; 26: 125-129
- 51 Fujiwara K, Yokosuka O. Frequent detection of immunoglobulin M anti-herpes simplex viral antibody in patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2012; 56: 395
- 52 Taddy H, Yoshida EM, Gibson G, Chatur N. Acetylcholine receptor antibody positive generalized myasthenia gravis in association with primary biliary cirrhosis. *Ann Hepatol* 2010; 9: 471-472
- 53 Zhao P, Han Y. Low incidence of positive smooth muscle antibody and high incidence of isolated IgM elevation in Chinese patients with autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis overlap syndrome: a retrospective study. *BMC Gastroenterol* 2012; 12: 1
- 54 Santiago M, Baron M, Miyachi K, Fritzler MJ, Abuhakima M, Leclercq S, Bell M, Hudson M, Mathieu JP, Taillefer S, Jones N, Docherty P, Khraishi M, Markland J, Pope J, Robinson D, Smith D, Sutton E. A comparison of the frequency of antibodies to cyclic citrullinated peptides using a third generation anti-CCP assay (CCP3) in systemic sclerosis, primary biliary cirrhosis and rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2008; 27: 77-83
- 55 Miyachi K, Hankins R, Ihara M, Miyamoto A, Okano T, Iwai M, Mikoshiba K, Fritzler MJ. A case of limited cutaneous systemic sclerosis developing anti-mitochondria antibody positive primary biliary cirrhosis after acute myocardial infarction. *Clin Rheumatol* 2007; 26: 1571-1574
- 56 Miyachi K, Hosaka H, Nakamura N, Miyakawa H,

- Mimori T, Shibata M, Matsushima S, Chinoh H, Horigome T, Hankins RW, Zhang M, Fritzler MJ. Anti-p97/VCP antibodies: an autoantibody marker for a subset of primary biliary cirrhosis patients with milder disease? *Scand J Immunol* 2006; 63: 376-382
- 57 Fenoglio D, Bernuzzi F, Battaglia F, Parodi A, Kalli F, Negrini S, De Palma R, Invernizzi P, Filaci G. Th17 and regulatory T lymphocytes in primary biliary cirrhosis and systemic sclerosis as models of autoimmune fibrotic diseases. *Autoimmun Rev* 2012 May 23. [Epub ahead of print]
- 58 Black A, Bhaumik S, Kirkman RL, Weaver CT, Randolph DA. Developmental regulation of Th17-cell capacity in human neonates. *Eur J Immunol* 2012; 42: 311-319
- 59 Harada K, Shimoda S, Sato Y, Isse K, Ikeda H, Nakanuma Y. Periductal interleukin-17 production in association with biliary innate immunity contributes to the pathogenesis of cholangiopathy in primary biliary cirrhosis. *Clin Exp Immunol* 2009; 157: 261-270
- 60 Liu X, Leung S, Wang C, Tan Z, Wang J, Guo TB, Fang L, Zhao Y, Wan B, Qin X, Lu L, Li R, Pan H, Song M, Liu A, Hong J, Lu H, Zhang JZ. Crucial role of interleukin-7 in T helper type 17 survival and expansion in autoimmune disease. *Nat Med* 2010; 16: 191-197
- 61 Bernuzzi F, Fenoglio D, Battaglia F, Fravega M, Gershwin ME, Indiveri F, Ansari AA, Podda M, Invernizzi P, Filaci G. Phenotypical and functional alterations of CD8 regulatory T cells in primary biliary cirrhosis. *J Autoimmun* 2010; 35: 176-180
- 62 Shimoda S, Selmi C, Gershwin ME. Fractalkine and other chemokines in primary biliary cirrhosis. *Int J Hepatol* 2012; 2012: 102839
- 63 Zhang W, Ono Y, Miyamura Y, Bowlus CL, Gershwin ME, Mavarakis E. T cell clonal expansions detected in patients with primary biliary cirrhosis express CX3CR1. *J Autoimmun* 2011; 37: 71-78
- 64 Sasaki M, Miyakoshi M, Sato Y, Nakanuma Y. Modulation of the microenvironment by senescent biliary epithelial cells may be involved in the pathogenesis of primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 2010; 53: 318-325
- 65 Shimoda S, Harada K, Niino H, Taketomi A, Maebara Y, Tsuneyama K, Kikuchi K, Nakanuma Y, Mackay IR, Gershwin ME, Akashi K. CX3CL1 (fractalkine): a signpost for biliary inflammation in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2010; 51: 567-575
- 66 Graham RP, Smyrk TC, Zhang L. Evaluation of langerhans cell infiltrate by CD1a immunostain in liver biopsy for the diagnosis of primary biliary cirrhosis. *Am J Surg Pathol* 2012; 36: 732-736
- 67 You Z, Wang Q, Bian Z, Liu Y, Han X, Peng Y, Shen L, Chen X, Qiu D, Selmi C, Gershwin ME, Ma X. The immunopathology of liver granulomas in primary biliary cirrhosis. *J Autoimmun* 2012; 39: 216-221
- 68 Harada K, Nakanuma Y. Biliary innate immunity: function and modulation. *Mediators Inflamm* 2010; 2010
- 69 Mantaka A, Goulielmos GN, Koulentaki M, Tsagournis O, Voumvouraki A, Kouroumalis EA. Polymorphisms of genes related to endothelial cells are associated with primary biliary cirrhosis patients of Cretan origin. *Hum Immunol* 2012; 73: 829-835
- 70 Selmi C, Maria Papini A, Pugliese P, Claudia Alcaro M, Gershwin ME. Environmental pathways to autoimmune diseases: the cases of primary biliary cirrhosis and multiple sclerosis. *Arch Med Sci* 2011; 7: 368-380
- 71 Smyk DS, Rigopoulou EI, Muratori L, Burroughs AK, Bogdanos DP. Smoking as a risk factor for autoimmune liver disease: what we can learn from primary biliary cirrhosis. *Ann Hepatol* 2012; 11: 7-14
- 72 Tunccan OG, Tufan A, Telli G, Akyürek N, Pamukçuoğlu M, Yılmaz G, Hızal K. Visceral leishmaniasis mimicking autoimmune hepatitis, primary biliary cirrhosis, and systemic lupus erythematosus overlap. *Korean J Parasitol* 2012; 50: 133-136
- 73 Rigopoulou EI, Smyk DS, Matthews CE, Billinis C, Burroughs AK, Lenzi M, Bogdanos DP. Epstein-barr virus as a trigger of autoimmune liver diseases. *Adv Virol* 2012; 2012: 987471
- 74 Pender MP. CD8+ T-Cell Deficiency, Epstein-Barr Virus Infection, Vitamin D Deficiency, and Steps to Autoimmunity: A Unifying Hypothesis. *Autoimmune Dis* 2012; 2012: 189096
- 75 Kempieńska-Podhorecka A, Wunsch E, Jarowicz T, Raszeja-Wyszomirska J, Loniewska B, Kaczmarczyk M, Milkiewicz M, Milkiewicz P. Vitamin d receptor polymorphisms predispose to primary biliary cirrhosis and severity of the disease in polish population. *Gastroenterol Res Pract* 2012; 2012: 408723

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (编辑部主任: 李军亮 2011-01-01)