

Kupffer细胞在细菌感染性疾病中的作用

朱端权, 李培志

□背景资料

Kupffer cells (KCs)又叫肝脏固有巨噬细胞,是机体最大的单核巨噬细胞群。他们定居在肝血窦,组成肝脏的第一道防线,抵御来自肠道的细菌、细菌产物以及内毒素的攻击。激活以后的KCs通过表达模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs),如Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)、甘露糖受体,以及NOD样受体等,与微生物表面病原体相关分子模式相互作用,主要介导天然免疫应答。KCs在细菌感染性疾病中扮演重要角色,研究其激活的分子机制可为治疗相关炎症性疾病提供新的思路。

□同行评议者

张明辉, 教授, 主任医师, 河北省唐山市人民医院感染性疾病科

朱端权, 重庆市万州区第一人民医院外科 重庆市 404100
李培志, 重庆医科大学附属第二医院肝胆外科 重庆市 400010
朱端权, 副主任医师, 主要从事炎症信号转导的研究。
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81301656, 81401622
作者贡献分布: 本文综述由朱端权完成; 李培志审校。
通讯作者: 李培志, 住院医师, 400010, 重庆市临江路76号, 重庆医科大学附属第二医院肝胆外科, lipeizhi@163.com
电话: 023-63693521 传真: 023-63693532
收稿日期: 2015-02-10 修回日期: 2015-03-03
接受日期: 2015-03-12 在线出版日期: 2015-04-18

Role of Kupffer cells in bacterial infectious diseases

Duan-Quan Zhu, Pei-Zhi Li

Duan-Quan Zhu, Department of Surgery, the First People's Hospital of Wanzhou District, Chongqing City, Chongqing 404100, China
Pei-Zhi Li, Department of Hepatobiliary Surgery, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81301656 and 81401622
Correspondence to: Pei-Zhi Li, Resident Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, 76 Linjiang Road, Chongqing 400010, China. lipeizhi@163.com
Received: 2015-02-10 Revised: 2015-03-03
Accepted: 2015-03-12 Published online: 2015-04-18

Abstract

Kupffer cells (KCs) are also known as liver inherent macrophages, which account for the largest part of human tissue macrophages and participate in the pathogenesis of various liver diseases. *In vitro* study using primary culture is a valuable tool for the exploration of specific immunological functions of KCs. Obtaining KCs with high purity and activity is the basis for research. A large number of phagocytosable

particles and soluble substances can activate KCs by binding to specific receptors on the membrane. The most important molecule that activates KCs is lipopolysaccharide (LPS). A tiny quantity of LPS will drive a Toll-like receptor 4 (TLR4) -dependent proinflammatory response that alerts the host to the presence of infection. Higher quantities of LPS, which reach the cytoplasm, will trigger inflammasome activation, interleukin-1 beta (IL-1 β) production and, ultimately, cell death. KCs play an important role in sepsis, endotoxin tolerance and acute pancreatitis. In this review, we describe the role of KCs in these diseases and the underlying molecular mechanisms.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Primary culture; Infectious diseases; Kupffer cells

Zhu DQ, Li PZ. Role of Kupffer cells in bacterial infectious diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(11): 1776-1783 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1776.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i11.1776>

摘要

Kupffer细胞(Kupffer cells, KCs)是体内最大的巨噬细胞群,他们参与了肝脏多种疾病的发生发展。体外原代培养是研究KCs生物学功能的重要手段,获得较多数量、较高纯度和活性的KCs是研究其作用机制的首要条件。许多吞噬颗粒和可溶性物质都可以和KCs细胞膜上的受体结合进而激活KCs,其中最重要的是脂多糖(lipopolysaccharide,

LPS). LPS经过Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)信号途径直接激活KCs, 导致一系列炎症因子产生增多. 高浓度的LPS还可以直接进入细胞内, 导致Caspase11途径的激活, 促进白介素-1 β (interleukin 1 beta, IL-1 β)的成熟和释放. KCs在脓毒症、内毒素耐受以及急性胰腺炎中扮演了重要角色, 本文将对其在上述疾病中的作用及相关分子机制做一综述.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 原代培养; 感染性疾病; Kupffer细胞

核心提示: 在内毒素血症或脓毒症时脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)可以进入巨噬细胞胞质内的LPS并激活Caspase11非经典NLRP3炎症小体, 促进白介素(interleukin, IL)-1 α 、IL-1 β 以及IL-18的成熟和分泌, 导致细胞炎症性死亡(pyroptosis). 这种新发现的巨噬细胞激活机制还不完全清楚, 有待进一步研究.

朱端权, 李培志. Kupffer细胞在细菌感染性疾病中的作用. 世界华人消化杂志 2015; 23(11): 1776-1783 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1776.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i11.1776>

0 引言

Kupffer细胞(Kupffer cells, KCs)又叫肝脏固有巨噬细胞, 占肝脏所有非实质细胞数量的20%-35%, 占人体组织巨噬细胞的80%-90%, 是最大的单核巨噬细胞群. 他们定居在肝血窦, 组成肝脏的第一道防线, 抵御来自肠道的细菌、细菌产物以及内毒素的攻击^[1,2]. 激活以后的KCs通过表达模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs), 如Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)、甘露糖受体, 以及NOD样受体等, 与微生物表面病原体相关分子模式相互作用, 主要介导天然免疫应答. 体外原代培养是研究KCs生物学功能的重要手段; KCs在细菌感染性疾病中扮演重要角色, 本文将对KCS分离培养方法、KCs激活的分子机制、KCs在脓毒症、内毒素耐受以及急性胰腺炎中的作用做一综述.

1 KCs的分离方法

KCs参与了肝脏多种疾病的发生发展, 包括非酒精性脂肪性肝病、酒精性肝病、肝脏纤维

化、肝移植免疫耐受、内毒性肝损伤等^[3]. 体外原代培养是研究KCs生物学功能的重要手段. 获得较多数量、较高纯度和活性的KCs是研究其作用机制的首要条件. 从肝脏中分离培养KCs的方法多种多样, 各有优缺点. 我们实验室采用肝脏在体PBS灌注, 离体胶原酶消化, 密度梯度离心以及选择性贴壁进行KCs分离、纯化和培养, 取得了良好的效果^[4]. 其具体操作步骤如下, 在无菌条件下暴露小鼠或者大鼠肝脏以及门静脉, 以2 mL/min的速度匀速灌注液PBS液5 mL, 直至肝脏各叶颜色逐渐变淡、变黄, 如果一次灌注5 mL PBS效果不理想, 可再次灌注. 取下肝脏, 加入终浓度为0.1%的IV型胶原酶消化约30-40 min后, 经200目金属滤网过滤后制备成单细胞悬液. 随后在4 °C进行离心, 第1次及第2次离心均为300 $g \times 5$ min、弃上清液留沉淀; 第3次离心50 $g \times 3$ min、弃沉淀留上清液; 第4次离心300 $g \times 5$ min、弃上清液留沉淀. 将沉淀中加入含10%胎牛血清和100 U/mL青霉素/链霉素的DMEM培养基, 在50 mL/L CO₂的细胞孵箱中培养2 h, 更换培养基后及得到纯化的KCs. 采用此方法1只25 g左右的小鼠可分离出KCs数量约 5×10^6 - 6×10^6 , 纯度>92%, 活性为98.5%, 1只200 g左右的大鼠可分离出KCs数量约 1×10^7 , KCs纯度为90%, 活性为95%^[5]. 该方法不需要繁琐的步骤, 复杂的技巧和特殊设备, 较为简单实用, 分离出的KCs纯度和数量均可满足后期实验的要求. 有其他学者采用在体肝脏胶原酶原位灌注、两步Peroll液密度梯度离心以及选择性贴壁法分离提纯SD大鼠KCs, 得到的KCs数量约 1.1×10^7 /肝脏 $\pm 0.2 \times 10^7$ /肝脏, 活性约 $93.5\% \pm 1.8\%$, 纯度>90%. 此方法由于采用胶原酶原位灌注, 消耗的胶原酶较多, 采用Peroll液离心增加了分离的时间和操作的难度, KCs的活性受到明显影响^[6]. 另外有一些学者采用四步法分离提纯KCs, 即酶消化处理肝脏, 密度梯度离心, 离心淘洗以及选择性贴壁^[7]. 离心淘洗技术是根据反向流动离心原理设计的, 用于离心淘洗的整套装置包括内有标准淘洗室的淘洗器钻头, 蠕动泵, 以及用于装样、收集细胞的附加装置. 采用此四步法每只大鼠肝脏可以获得KCs数量约 80×10^6 - 100×10^6 , 纯度>95%, 活性为98%, 虽然此方法在一定程度上提高了KCs的纯度, 但是离心淘洗设备昂贵, 步骤

研究前沿
 本文章研究领域中的研究热点、重点是KCs的激活机制, 其中最重要的是LPS激活KCs的分子机制. LPS主要通过3种方式激活KCs: (1)细胞外的LPS通过细胞膜或者内容体上的TLRs激活KCs; (2)直接通过补体系统激活KCs; (3)进入细胞内的LPS通过Caspase11激活KCs. 前面两种方式已经研究的比较清楚, 第3种方式的具体信号通路及调控方式还有待进一步研究.

□ 相关报道

Bilzer等对KCs的生理学特性、表面分子标记、激活机制、与白细胞的相互作用、在免疫耐受以及肝脏再生中的作用做了比较详细的阐述。

繁琐, 大大增加了实验成本, 降低了分离效率。Kitani等^[8]介绍了一种比较简单的方法分离提取大鼠KCs, 他们将含有肝脏实质细胞和间质细胞的细胞悬液接种在培养瓶中, 等待7-10 d后, 其中的肝细胞绝大部分死亡分解或者转化为成纤维细胞, 而KCs细胞则疯狂增殖, 将上述混合培养的细胞从培养瓶中分离下来后转移到塑料培养皿中, KCs细胞可以迅速贴壁, 而其他细胞仍然悬浮在培养液中, 通过换液和冲洗即可获得纯度较高的KCs(95%-99%), 但是此方法消耗的时间太长, 不利于后期试验的进行。有研究^[9]报道, 采用Percoll液密度梯度离心联合免疫磁珠法分离KCs, 取得了较好的效果。此方法将经过密度梯度离心后的肝间质细胞与PE标记的F4/80或者CD11b抗体在40 °C下共同孵育30 min, 随后再加入IgG Dynabeads免疫磁珠2 °C-8 °C孵育20 min, 弃去上清液, 经过洗涤4次后获得KCs。与传统密度梯度分选方法相比, 该方法稳定、可靠, 可获得高纯度(90%-99%)、高回收率的分选细胞群。微珠无毒性, 对细胞无损伤, 可以纯化有活力和功能活性的细胞而不影响其活性。操作简便、快速, 分选后细胞适用于后续实验, 如流式细胞术、显微镜分析和分子生物学研究等, 分选后细胞同样适用于体外细胞培养和体内实验后对KCs细胞功能检测。目前关于提取人肝脏中KCs的报道较少, Alabraba等^[10]介绍了一种方法取得了较好的效果, 但没有得到广泛应用。

2 KCs的激活机制

许多吞噬颗粒和可溶性物质都可以和KCs细胞膜上的受体结合进而激活KCs。KCs最重要的激活物包括补体因子C3a和C5a、细菌和真菌的 β -葡聚糖、G⁻细菌细胞壁成分脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)。LPS可以经过TLR4信号途径直接激活KCs, 导致肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α), 白介素(interleukin, IL)-1b、IL-6、IL-12、IL-18、IL-10以及抗菌素干扰素(interferon, IFN)- γ 的产生增多^[11]。这个过程需要LPS黏附蛋白(LPS binding protein, LBP)以及CD14的参与。在血液中LPS与LBP结合在一起, LBP是一种主要由肝脏产生并分泌到外周血中的急性期蛋白, 它能够显著降低激活KCs所需的LPS浓度, 因

此LPS-LBP这种结合方式对于生理状态下低浓度的LPS激活KCs具有重要意义^[12]。由于KCs定居在肝血窦, 因此他们与循环系统中的单核细胞相比, 长期暴露在较高浓度的LPS环境之下。与其他单核巨噬细胞不同, KCs静息状态下表达CD14维持在较低的基线水平, 但是多种刺激因素包括LPS都可以使CD14表达上调。CD14表达量的改变可能决定了肝脏对于LPS毒性作用的敏感性。由于CD14是一种糖基磷脂酰肌醇锚定蛋白, 没有跨膜结构域, LPS要将信号传导致细胞内还需要有其他跨膜蛋白的参与, 其中TLR4是最著名和研究最为深入的跨膜蛋白^[13]。LPS-TLR4信号的传导同时需要MD2的参与, 他是一种与TLR4保外结构域非常相似的分泌蛋白。LPS/LBP/CD14复合物与TLR4结合后募集髓样分化因子88(MYD88)在细胞膜的胞质面形成由细胞凋亡抑制蛋白(cellular Inhibitor of apoptosis proteins, cIAP)、肿瘤坏死因子受体相关因子(tumour necrosis factor receptor-associated factors, TRAFs)、IL-1受体相关激酶(IL-1 receptor associated kinase, IRAKs)、转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- β 活化激酶1(TGF beta activated kinase 1, TAK1)组成的多蛋白复合体, 随后激活Jun氨基端激酶(Jun N-terminal kinase, JNK)、p38-MAPK和核因子- κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)信号途径^[14,15]。LPS还可以与内吞体上的TLR4结合, 通过TRIF募集下游信号分子TRAF3以及其他蛋白质组成TRIF相关复合物, 进而激活TANK连接激酶1(TANK-binding kinase 1, TBK1)和I- κ B激酶(I κ B kinase- ϵ , IKK ϵ), 上调IRF3以及I型干扰素 α (type I interferon α , IFN- α)的表达^[16,17]。LPS还可以与KCs细胞TLR2结合, 此过程同样需要LBP和CD14的参与。在内毒素血症的小鼠KCs内可以检测到TLR2表达的上调, 表明其在肝脏先天性免疫中起到一定作用^[12,18]。

此外, 门静脉或者循环系统中高浓度的LPS可以直接通过补体系统激活KCs。当补体系统激活以后, C3和C5裂解产生活性片段C3a和C5a, 随后激活他们特异性的受体C3aR和C5aR。激活后的C3aR和C5aR与G蛋白偶联受体磷脂酶C(phospholipase C, PLC)相连, 此酶是KCs信号转导关键因子之一。PLC酶活性增

强导致蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)活化, 内质网Ca²⁺外流以及细胞外Ca²⁺经过L型钙通道内流。有实验^[1]证据表明PKC参与到NADPH氧化酶的激活, 而Ca²⁺内流则引起磷脂酶的激活以及花生四烯酸的合成。

最近研究^[19-21]发现, 高浓度的LPS可以直接进入胞浆内, 通过TLR4非依赖性途径激活巨噬细胞。此途径主要由Caspase11介导, 能够引起非经典NLRP3炎症小体的激活, 促进IL-1 β 、IL-18的成熟和释放, 最重要的是诱发细胞的炎症性坏死, 这种坏死方式被称作“pyroptosis”。Caspase11信号途径的发现来源于对炎症小体激活机制的研究。炎症小体是位于胞质内的巨大多蛋白复合体, 它能够感知细胞内外多种危险信号, 引起相应的生物学反应^[22]。研究最多的是NLRP3炎症小体, 它包括能够感知微生物感染信号的NLRP3蛋白, 配体分子ASC, 以及随后被募集激活并产生酶效应的Caspase1。通过NLRP3/ASC激活Caspase1的方式通常被称为经典NLRP3炎症小体途径^[19]。虽然大多数激活物(如ATP、胆固醇、双链DNA)都是通过经典途径来激活Caspase1, 但是当细胞感染肠道病原体或者LPS时(如大肠埃希菌、霍乱弧菌等), Caspase11却提供了另外一种新的激活模式, 即非经典NLRP3炎症小体途径: 病原体或者LPS进入细胞后, 募集激活Caspase11, Caspase11作用于Caspase1, 引起IL-1 β 、IL-1 α 以及IL-18的释放, 导致细胞发生炎症性死亡^[23-25]。Caspase11依赖性的细胞死亡可能是引起小鼠发生致死性脓毒症休克的关键因素之一, 因为Caspase11^{-/-}小鼠对致死性脓毒症具有明显的抵抗能力, 其存活率显著高于Caspase1^{-/-}小鼠和野生型小鼠^[20]。研究^[19,26]表明, Caspase11激活的方式有可能两种。第一种是自身激活, 诱导产生足够量的proCaspase11对于这种激活方式是必须的。LPS与TLR4结合后形成内吞体, 并激活TRIF信号通路, 促进IFN α/β 的分泌, IFN α/β 作用于相应的受体, 激活JAK/STAT转录因子, 上调proCaspase11蛋白表达, proCaspase11蛋白表达量达到一定阈值后启动自身激活模式, 最终引起Caspase11的自身活化。另外一种蛋白/受体介导的激活方式。研究者推测胞质内存在某种未被人们发现的蛋白或者受体, 这种受体或者蛋白由LPS或G⁻菌诱导产生, 与

Caspase11识别并将其激活。研究显示, 少量的LPS会促进proCaspase11蛋白表达的上调, 但不会引起Caspase11的激活; 而大量LPS则主要通过进入细胞内激活Caspase11。提示第二种激活方式可能比第一种更加重要, 但此种激活方式的分子机制还不完全清楚^[24]。另外, 人的巨噬细胞是否同样存在Caspase11信号途径的激活也不得而知, 这也将成为未来研究的方向。

3 KCs在脓毒症中的作用

脓毒症是重症监护室患者最常见的死亡原因之一^[27]。临床上大约一半的脓毒症是由于细菌感染引起, 这些细菌大多数来自肠道和胆道, 比较常见的病原体包括大肠埃希菌、铜绿假单胞菌等^[28]。巨噬细胞是固有免疫中重要成员之一, 他们通过分泌细胞因子, 吞噬以及抗原提呈将固有免疫和适应性免疫紧密联系在一起。研究表明, 脓毒症的发生发展与巨噬细胞功能障碍密切相关^[29]。脓毒症时肠黏膜屏障受损, 来自肠道的大量细菌, 内毒素等通过门静脉进入肝脏。肝脏中的巨噬细胞KCs占有全身巨噬细胞总量的80%-90%, 他们定居在肝血窦间隙, 一方面构成清除肠源性病原微生物及细菌产物的第一道屏障; 另一方面KCs与细菌产物结合后被激活, 除了自身产生大量促炎因子(如TNF- α , IL-1, IL-6)引起全身系统性炎症综合征外, 他们还募集其他炎症细胞向肝脏聚集, 这些细胞包括中性粒细胞、淋巴细胞等。因此, KCs在脓毒症中的作用是双向的, 他们在清除病原体的同时引起炎症级联反应, 过度的炎症反应则导致组织器官发生损伤^[30]。研究^[31]发现, 在脓毒症时, KCs可以通过上调gp130的表达阻止肝窦内皮细胞(liver sinusoidal endothelial cell, LSEC)发生Fas依赖性细胞凋亡, 产生保护性效应; 敲除KCs细胞功能后, Fas表达上调, LSEC细胞凋亡增加, 因此研究者认为KCs对于维持LSEC的活性是必须的。在过去的几个世纪, 脓毒症的治疗一直建立在抑制促炎因子和细胞因子的分泌之上, 因为这种方法经过动物实验被证明是行之有效的。然而大量临床试验证明, 这种传统的抑制免疫系统的方法对于治疗脓毒症是不成功的^[32]。绝大多数脓毒症患者不是因为过度的炎症反应带来的并发

应用要点
KCs在脓毒症、内毒素耐受以及急性胰腺炎中扮演了重要角色, 本文将对治疗相关炎症性疾病提供新的作用靶点和思路。

同行评价

虽然大家对本文题目并不陌生,但作者综述的参考文献较全、较新,编排条理清晰,对感兴趣者有较好的参考意义。

症死亡,而是由于严重的免疫抑制引起的二次(机会)感染而死亡。目前,大多数研究者将脓毒症的发生发展分为两个阶段,第一个阶段为“过度炎症反应期”,此阶段主要表现为单核巨噬细胞系统激活,中性粒细胞聚集,促炎因子分泌迅速增加,导致器官发生炎症性损伤;第二个阶段为“免疫麻痹期”,此阶段中性粒细胞反应受损,单核巨噬细胞凋亡增加、表面抗原分子HLA-DR表达下调导致抗原提呈能力降低,淋巴细胞表达抑制性受体分子上调,导致机体发生机会性感染^[33,34]。目前,关于KCs在脓毒症“免疫麻痹期”时期的作用以及分子机制的研究还比较少,如何调节KCs的功能使其在此阶段发挥正常的免疫效应可能是治疗脓毒症的一种新思路。

4 KCs与内毒素耐受

内毒素耐受(endotoxin tolerance, ET)是机体最重要的防御体制之一,他是指用小剂量的LPS预处理机体或者细胞后,机体或细胞对随后给予的更大剂量的LPS不产生反应或者低反应^[35-37]。Kupffer细胞中TLR4信号分子活性改变或者受到抑制是LPS耐受的机制之一,而此过程与负性调节因子的参与密切相关,迄今为止发现的调节因子有IRAK-M、细胞信号抑制剂1(suppressor of cytokine signaling 1, SCOS1)及SH2结构含磷酸肌醇[Src homology 2 (SH2) domain-containing inositol-5-phosphatase 1, SHIP1]等,他们通过不同的作用方式和作用位点对TLR4信号进行负性调控,减少促炎因子的表达,诱导LPS耐受。IRAK-M是IRAK1/IRAK4激酶的抑制剂,IRAK-M表达的上调可以阻断此复合物的活化,进而阻断其下游NF- κ B的激活,减少多种促炎因子的表达^[38-40]。SHIP1可以抑制LPS诱导的MAPKs的激活,从而阻断JNK、p38的磷酸化,减少IL-1、IL-6等多种细胞因子的释放^[41]。同样,SCOS1对于LPS耐受的机制也是必须的,它能够负性调节TLR4-MYD88依赖信号途径,SCOS1基因缺失的小鼠对LPS的敏感性明显增高^[42]。Twist-2是一种带有螺旋-环-螺旋结构的转录因子,它能够黏附到细胞因子启动子的E boxes,从而抑制NF- κ B结合到启动子邻近的 κ B位点,从而阻断促炎基因的转录^[43]。在内毒素耐受动物的肝组织中,炎症细胞浸润明显减少,而

Twist-2的表达量增高。在内毒素耐受的KCs中, Twist-2的基因和蛋白表达量明显上调,而TNF- α 基因转录以及NF- κ B活性明显受到抑制。利用shRNA沉默Twist-2的表达后, KCs对LPS的敏感性明显增加,内毒素耐受效应受损^[44]。然而内毒素耐受的机制是复杂的,探索发现是否存在其他类似的负性调节因子是值得研究的问题。比如, TRAF3能够负性调节TLR4依赖的MAPK信号的激活,同时能够上调IL-10的表达,但他是否参与了内毒素耐受的诱导还不清楚^[45-47]。

5 KCs与急性胰腺炎

急性胰腺炎是一种比较常见的高死亡率疾病, 20%的患者发展成为急性重症胰腺炎,其死亡率高达30%。在胰腺炎的早期,胰蛋白酶的过早激活引起炎症因子的大量释放。这些炎症因子通过门静脉进入肝脏激活炎症细胞,特别是KCs^[48]。激活后的KCs引起炎症级联反应,导致细胞因子大量产生,如TNF- α 、IL-1 β 、TGF- β 、IL-6、IFN- γ 等,最终引起系统并发症和器官衰竭。牛磺酸可以通过下调KCs细胞内p38 MAPK的磷酸化,阻断NF- κ B的激活,从而减轻大鼠重症急性胰腺炎导致的肝损伤^[49]。在出血性坏死性胰腺炎的小鼠模型中,利用GdCl₃封闭KCs的功能后,系统TNF- α 、IL-1、IL-6的水平显著降低,小鼠的生存率显著提高。研究者通过PCR检测肝组织中细胞因子的产生情况,并测定其在动脉以及静脉循环中的含量水平。他们发现,在胰腺炎时肝静脉血中细胞因子的含量远远高于门静脉血,提示肝脏释放了大量细胞因子进入外周血^[50]。为了证明KCs是TNF- α 的主要来源,有研究^[51]直接检测了培养的KCs分泌TNF- α 的情况。结果发现,在急性胰腺炎3 h以后分离出的KCs比对照组KCs产生的TNF- α 高出5倍以上。上述研究表明,肝脏特别是KCs在急性胰腺炎的发生发展中占有比较关键地位,因为他将胰腺的局部炎症过程与系统性器官功能紊乱联系在一起。

6 结论

KCs作为体内最大的巨噬细胞群,参与了脓毒症、内毒素耐受以及急性胰腺炎的发生发展。深入研究KCs的激活机制,在多层面、多途径

调控KCs的免疫功能, 将为治疗相关疾病提供新的思路.

7 参考文献

- Bilzer M, Roggel F, Gerbes AL. Role of Kupffer cells in host defense and liver disease. *Liver Int* 2006; 26: 1175-1186 [PMID: 17105582 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2006.01342.x]
- Park SW, Kang JW, Lee SM. Role of Kupffer cells in ischemic injury in alcoholic fatty liver. *J Surg Res* 2015; 194: 91-100 [PMID: 25438955 DOI: 10.1016/j.jss.2014.09.021]
- Wynn TA, Chawla A, Pollard JW. Macrophage biology in development, homeostasis and disease. *Nature* 2013; 496: 445-455 [PMID: 23619691 DOI: 10.1038/nature12034]
- Li PZ, Li JZ, Li M, Gong JP, He K. An efficient method to isolate and culture mouse Kupffer cells. *Immunol Lett* 2014; 158: 52-56 [PMID: 24333337 DOI: 10.1016/j.imlet.2013.12.002]
- Zeng WQ, Zhang JQ, Li Y, Yang K, Chen YP, Liu ZJ. A new method to isolate and culture rat kupffer cells. *PLoS One* 2013; 8: e70832 [PMID: 23967115 DOI: 10.1371/journal.pone.0070832]
- Liu H, Cao H, Wu ZY. Isolation of Kupffer cells and their suppressive effects on T lymphocyte growth in rat orthotopic liver transplantation. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 3133-3136 [PMID: 17589933]
- Valatas V, Xidakis C, Roumpaki H, Kolios G, Kouroumalis EA. Isolation of rat Kupffer cells: a combined methodology for highly purified primary cultures. *Cell Biol Int* 2003; 27: 67-73 [PMID: 12713802]
- Kitani H, Takenouchi T, Sato M, Yoshioka M, Yamanaka N. A novel isolation method for macrophage-like cells from mixed primary cultures of adult rat liver cells. *J Immunol Methods* 2010; 360: 47-55 [PMID: 20600081 DOI: 10.1016/j.jim.2010.06.004]
- Chang C, Xu C. Transcriptome atlas of glutamine family amino acid metabolism-related genes in eight regenerating liver cell types. *Cell Biol Int* 2010; 34: 1189-1198 [PMID: 20716061 DOI: 10.1042/cbi20090352]
- Alabraba EB, Curbishley SM, Lai WK, Wigmore SJ, Adams DH, Afford SC. A new approach to isolation and culture of human Kupffer cells. *J Immunol Methods* 2007; 326: 139-144 [PMID: 17692868 DOI: 10.1016/j.jim.2007.06.014]
- Xu FL, You HB, Li XH, Chen XF, Liu ZJ, Gong JP. Glycine attenuates endotoxin-induced liver injury by downregulating TLR4 signaling in Kupffer cells. *Am J Surg* 2008; 196: 139-148 [PMID: 18565339 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2007.09.045]
- Dixon LJ, Barnes M, Tang H, Pritchard MT, Nagy LE. Kupffer cells in the liver. *Compr Physiol* 2013; 3: 785-797 [PMID: 23720329 DOI: 10.1002/cphy.c120026]
- Luan X, Liu Y, Li M. The role of CD14 and Toll-like receptor 4 of Kupffer cells in hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. *Transplant Proc* 2012; 44: 937-941 [PMID: 22564590 DOI: 10.1016/j.transproc.2011.11.001]
- Klein DC, Skjesol A, Kers-Rebel E, Sherstova T, Sporsheim B, Egeberg KW, Stokke BT, Espevik T, Husebye H. CD14, TLR4 and TRAM show different trafficking dynamics during LPS stimulation. *Traffic* 2015 Feb 24. [Epub ahead of print] [PMID: 25707286 DOI: 10.1111/tra.12274]
- Byun EB, Sung NY, Park JN, Yang MS, Park SH, Byun EH. Gamma-irradiated resveratrol negatively regulates LPS-induced MAPK and NF- κ B signaling through TLR4 in macrophages. *Int Immunopharmacol* 2015; 25: 249-259 [PMID: 25701505 DOI: 10.1016/j.intimp.2015.02.015]
- O'Neill LA, Golenbock D, Bowie AG. The history of Toll-like receptors - redefining innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2013; 13: 453-460 [PMID: 23681101 DOI: 10.1038/nri3446]
- Chuffa L, Fioruci-Fontanelli BA, Mendes LO, Ferreira Seiva FR, Martinez M, Fávoro WJ, Domeniconi RF, Pinheiro P, Delazari Dos Santos L, Martinez F. Melatonin attenuates the TLR4-mediated inflammatory response through MyD88- and TRIF-dependent signaling pathways in an in vivo model of ovarian cancer. *BMC Cancer* 2015; 15: 34 [PMID: 25655081 DOI: 10.1186/s12885-015-1032-4]
- Tsutsui H, Nishiguchi S. Importance of Kupffer cells in the development of acute liver injuries in mice. *Int J Mol Sci* 2014; 15: 7711-7730 [PMID: 24802875 DOI: 10.3390/ijms15057711]
- Viganò E, Mortellaro A. Caspase-11: the driving factor for noncanonical inflammasomes. *Eur J Immunol* 2013; 43: 2240-2245 [PMID: 24037676 DOI: 10.1002/eji.201343800]
- Kayagaki N, Wong MT, Stowe IB, Ramani SR, Gonzalez LC, Akashi-Takamura S, Miyake K, Zhang J, Lee WP, Muszyński A, Forsberg LS, Carlson RW, Dixit VM. Noncanonical inflammasome activation by intracellular LPS independent of TLR4. *Science* 2013; 341: 1246-1249 [PMID: 23887873 DOI: 10.1126/science.1240248]
- Hagar JA, Powell DA, Aachoui Y, Ernst RK, Miao EA. Cytoplasmic LPS activates caspase-11: implications in TLR4-independent endotoxic shock. *Science* 2013; 341: 1250-1253 [PMID: 24031018 DOI: 10.1126/science.1240988]
- Latz E, Xiao TS, Stutz A. Activation and regulation of the inflammasomes. *Nat Rev Immunol* 2013; 13: 397-411 [PMID: 23702978 DOI: 10.1038/nri3452]
- Kayagaki N, Warming S, Lamkanfi M, Vande Walle L, Louie S, Dong J, Newton K, Qu Y, Liu J, Heldens S, Zhang J, Lee WP, Roose-Girma M, Dixit VM. Non-canonical inflammasome activation targets caspase-11. *Nature* 2011; 479: 117-121 [PMID: 22002608 DOI: 10.1038/nature10558]
- Broz P, Monack DM. Noncanonical inflammasomes: caspase-11 activation and effector mechanisms. *PLoS Pathog* 2013; 9: e1003144 [PMID: 23468620 DOI: 10.1371/journal.ppat.1003144]
- Broz P, Ruby T, Belhocine K, Bouley DM, Kayagaki N, Dixit VM, Monack DM. Caspase-11 increases susceptibility to Salmonella infection in the absence of caspase-1. *Nature* 2012; 490: 288-291 [PMID: 22895188 DOI: 10.1038/nature11419]
- Rathinam VA, Fitzgerald KA. Immunology:

- Lipopolysaccharide sensing on the inside. *Nature* 2013; 501: 173-175 [PMID: 24005321 DOI: 10.1038/nature12556]
- 27 Cawcutt KA, Peters SG. Severe sepsis and septic shock: clinical overview and update on management. *Mayo Clin Proc* 2014; 89: 1572-1578 [PMID: 25444488 DOI: 10.1016/j.mayocp.2014.07.009]
- 28 Angus DC, van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2013; 369: 840-851 [PMID: 23984731 DOI: 10.1056/NEJMra1208623]
- 29 Huang X, Venet F, Wang YL, Lepape A, Yuan Z, Chen Y, Swan R, Kherouf H, Monneret G, Chung CS, Ayala A. PD-1 expression by macrophages plays a pathologic role in altering microbial clearance and the innate inflammatory response to sepsis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 6303-6308 [PMID: 19332785 DOI: 10.1073/pnas.0809422106]
- 30 Wei SD, Li JZ, Liu ZJ, Chen Q, Chen Y, Chen M, Gong JP. Dexamethasone attenuates lipopolysaccharide-induced liver injury by downregulating glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor ligand in Kupffer cells. *Hepatol Res* 2011; 41: 989-999 [PMID: 21951872 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2011.00852.x]
- 31 Hutchins NA, Chung CS, Borgerding JN, Ayala CA, Ayala A. Kupffer cells protect liver sinusoidal endothelial cells from Fas-dependent apoptosis in sepsis by down-regulating gp130. *Am J Pathol* 2013; 182: 742-754 [PMID: 23306157 DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.11.023]
- 32 Opal SM, Laterre PF, Francois B, LaRosa SP, Angus DC, Mira JP, Wittebole X, Dugernier T, Perrotin D, Tidswell M, Jauregui L, Krell K, Pachel J, Takahashi T, Peckelsen C, Cordasco E, Chang CS, Oeyen S, Aikawa N, Maruyama T, Schein R, Kalil AC, Van Nuffelen M, Lynn M, Rossignol DP, Gogate J, Roberts MB, Wheeler JL, Vincent JL. Effect of eritoran, an antagonist of MD2-TLR4, on mortality in patients with severe sepsis: the ACCESS randomized trial. *JAMA* 2013; 309: 1154-1162 [PMID: 23512062 DOI: 10.1001/jama.2013.2194]
- 33 Leentjens J, Kox M, van der Hoeven JG, Netea MG, Pickkers P. Immunotherapy for the adjunctive treatment of sepsis: from immunosuppression to immunostimulation. Time for a paradigm change? *Am J Respir Crit Care Med* 2013; 187: 1287-1293 [PMID: 23590272 DOI: 10.1164/rccm.201301-0036CP]
- 34 Maddux AB, Douglas IS. Is the developmentally immature immune response in pediatric sepsis a recapitulation of immune tolerance? *Immunology* 2015 Feb 18. [Epub ahead of print] [PMID: 25691226 DOI: 10.1111/imm.12454]
- 35 Ariga SK, Abatepaulo FB, Melo ES, Velasco IT, Pinheiro da Silva F, de Lima TM, Soriano FG. Endotoxin tolerance drives neutrophil to infectious site. *Shock* 2014; 42: 168-173 [PMID: 24667625 DOI: 10.1097/shk.0000000000000175]
- 36 Cubillos-Zapata C, Hernández-Jiménez E, Toledano V, Esteban-Burgos L, Fernández-Ruiz I, Gómez-Piña V, Del Fresno C, Siliceo M, Prieto-Chinchina P, Pérez de Diego R, Boscá L, Fresno M, Arnalich F, López-Collazo E. NFκB2/p100 is a key factor for endotoxin tolerance in human monocytes: a demonstration using primary human monocytes from patients with sepsis. *J Immunol* 2014; 193: 4195-4202 [PMID: 25225662 DOI: 10.4049/jimmunol.1400721]
- 37 Fallarino F, Pallotta MT, Martino D, Gargaro M, Orabona C, Vacca C, Mondanelli G, Allegrucci M, Boon L, Romani R, Talesa VN, Puccetti P, Grohmann U. LPS-conditioned dendritic cells confer endotoxin tolerance contingent on tryptophan catabolism. *Immunobiology* 2015; 220: 315-321 [PMID: 25278421 DOI: 10.1016/j.imbio.2014.09.017]
- 38 Liu ZJ, Yan LN, Li XH, Xu FL, Chen XF, You HB, Gong JP. Up-regulation of IRAK-M is essential for endotoxin tolerance induced by a low dose of lipopolysaccharide in Kupffer cells. *J Surg Res* 2008; 150: 34-39 [PMID: 18533191 DOI: 10.1016/j.jss.2007.12.759]
- 39 Peng Q, O'Loughlin JL, Humphrey MB. DOK3 negatively regulates LPS responses and endotoxin tolerance. *PLoS One* 2012; 7: e39967 [PMID: 22761938 DOI: 10.1371/journal.pone.0039967]
- 40 Ho PC, Tsui YC, Feng X, Greaves DR, Wei LN. NF-κB-mediated degradation of the coactivator RIP140 regulates inflammatory responses and contributes to endotoxin tolerance. *Nat Immunol* 2012; 13: 379-386 [PMID: 22388040 DOI: 10.1038/ni.2238]
- 41 Xiong Y, Medvedev AE. Induction of endotoxin tolerance in vivo inhibits activation of IRAK4 and increases negative regulators IRAK-M, SHIP-1, and A20. *J Leukoc Biol* 2011; 90: 1141-1148 [PMID: 21934070 DOI: 10.1189/jlb.0611273]
- 42 Liu ZJ, Liu XL, Zhao J, Shi YJ, Yan LN, Chen XF, Li XH, You HB, Xu FL, Gong JP. The effects of SOCS-1 on liver endotoxin tolerance development induced by a low dose of lipopolysaccharide are related to dampen NF-kappaB-mediated pathway. *Dig Liver Dis* 2008; 40: 568-577 [PMID: 18378198 DOI: 10.1016/j.dld.2007.12.019]
- 43 Sharabi AB, Lee SH, Goodell MA, Huang XF, Chen SY. Enhanced generation of myeloid lineages in hematopoietic differentiation from embryonic stem cells by silencing transcriptional repressor Twist-2. *Cloning Stem Cells* 2009; 11: 523-533 [PMID: 20025523 DOI: 10.1089/clo.2009.0020]
- 44 Li P, Li M, He K, Zhong K, Gong J, You H. The effects of Twist-2 on liver endotoxin tolerance induced by a low dose of lipopolysaccharide. *Inflammation* 2014; 37: 55-64 [PMID: 24005898 DOI: 10.1007/s10753-013-9711-2]
- 45 Tseng PH, Matsuzawa A, Zhang W, Mino T, Vignali DA, Karin M. Different modes of ubiquitination of the adaptor TRAF3 selectively activate the expression of type I interferons and proinflammatory cytokines. *Nat Immunol* 2010; 11: 70-75 [PMID: 19898473 DOI: 10.1038/ni.1819]
- 46 Lalani AI, Moore CR, Luo C, Kreider BZ, Liu Y, Morse HC, Xie P. Myeloid cell TRAF3 regulates immune responses and inhibits inflammation and tumor development in mice. *J Immunol* 2015; 194: 334-348 [PMID: 25422508 DOI: 10.4049/jimmunol.1401548]
- 47 Häcker H, Tseng PH, Karin M. Expanding TRAF

- function: TRAF3 as a tri-faced immune regulator. *Nat Rev Immunol* 2011; 11: 457-468 [PMID: 21660053 DOI: 10.1038/nri2998]
- 48 Liu HB, Cui NQ, Li DH, Chen C. Role of Kupffer cells in acute hemorrhagic necrotizing pancreatitis-associated lung injury of rats. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 403-407 [PMID: 16489639]
- 49 Wei S, Huang Q, Li J, Liu Z, You H, Chen Y, Gong J. Taurine attenuates liver injury by downregulating phosphorylated p38 MAPK of Kupffer cells in rats with severe acute pancreatitis. *Inflammation* 2012; 35: 690-701 [PMID: 21833764 DOI: 10.1007/s10753-011-9362-0]
- 50 Gloor B, Blinman TA, Rigberg DA, Todd KE, Lane JS, Hines OJ, Reber HA. Kupffer cell blockade reduces hepatic and systemic cytokine levels and lung injury in hemorrhagic pancreatitis in rats. *Pancreas* 2000; 21: 414-420 [PMID: 11075997]
- 51 Folch E, Prats N, Hotter G, López S, Gelpi E, Roselló-Catafau J, Closa D. P-selectin expression and Kupffer cell activation in rat acute pancreatitis. *Dig Dis Sci* 2000; 45: 1535-1544 [PMID: 11007102]

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有

•消息•

《世界华人消化杂志》参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注码号。如马连生^[1]报告……,潘伯荣等^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和 *World Journal of Gastroenterology* (<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>)。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。