

肝硬化失代偿期外周血细胞减少成因机制

党双锁

党双锁, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科 陕西省西安市 710004

党双锁, 副教授, 博士生导师, 1987年西安医科大学医学学士, 1994年及1998年在西安医科大学相继获得医学硕士及博士学位。负责国家自然科学基金3项, 发表学术论文50余篇。现任西安交通大学医学院第二附属医院感染科主任及感染病学系主任, 多个学术期刊编委。主要从事感染病学, 专于肝病的基础与临床研究。

国家自然科学基金项目, No. 30670961

通讯作者: 党双锁, 710004, 陕西省西安市西五路157号, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科。dang212@126.com

电话: 029-83036998

收稿日期: 2007-05-18 修回日期: 2007-09-01

Inducing peripheral blood cells for a decrease in decompensated cirrhosis

Shuang-Suo Dang

Shuang-Suo Dang, Department of Infectious Diseases, Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30670961

Correspondence to: Shuang-Suo Dang, Department of Infectious Diseases, Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, 157 Xiwu Road, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China. dang212@126.com
Received: 2007-05-18 Revised: 2007-09-01

Abstract

Decompensated cirrhosis complicated with hypersplenism and hypocytosis are related and influence each other, with the latter being an important aggravating cause of the disease. Peripheral blood cells of some patients with cirrhosis after splenectomy not only do not increase, but actually decrease gradually. These results indicate that declining peripheral blood cells in patients with cirrhosis may be the result of factors in addition to the spleen and viral factors. Current research shows that various immune cytokine changes and hematopoietic stem cells states are likely to be involved and regulate the process of decreasing the number of peripheral blood cells in decompensated cirrhosis. It is suggested that inducing peripheral blood cells to cause a decrease in decompensated cirrhosis is worthy of more in-depth study as a potential therapy.

Key Words: Hepatic cirrhosis; Hypersplenism; Hemopoietic stem cells; Immune reaction

Dang SS. Inducing peripheral blood cells for a decrease in decompensated cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(27): 2861-2864

摘要

肝硬化失代偿期并发的脾功能亢进和血细胞减少, 互为因素, 相互影响, 是造成病情进展的重要原因。部分患者脾脏切除后, 外周血细胞不仅无增加, 反而出现进行性下降的表现, 表明在肝硬化时外周血细胞减少, 除了脾脏及病毒因素外也存有其他因素参与这一病程。各种免疫细胞因子变化、造血干细胞的状态都可能参与和调节肝硬化失代偿期外周血细胞减少这一过程。阐释肝硬化失代偿期外周血细胞减少成因机制对治疗意义重大, 值得深入研究。

关键词: 肝硬化; 脾功能亢进; 造血干细胞; 免疫反应

党双锁. 肝硬化失代偿期外周血细胞减少成因机制. 世界华人消化杂志 2007;15(27):2861-2864

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2861.asp>

背景资料

肝硬化处于失代偿期时, 并发的脾功能亢进和血细胞减少互为因素, 相互影响, 是造成病情进展加快、加重的重要原因。已引起临床高度重视, 但目前对于外周血细胞减少的成因研究不多, 应予以重视。

0 引言

以病毒型肝炎为主的肝病在国内呈高发状态, 决定了目前肝病晚期肝硬化的发生率居高不下。长期以来, 肝病发展到了肝硬化失代偿期, 在临床上不论是内科综合治疗、还是外科手术治疗往往只能是保肝、对症支持、保守治疗, 疗效有限, 大多预后不良。与此同时, 在肝硬化失代偿期时, 并发的脾功能亢进(hypersplenism, 简称脾亢)和血细胞减少互为因素, 相互影响, 是造成病情进展加快、加重的重要原因。因此, 在病理情况下探讨影响肝硬化所致脾亢与外周血细胞减少之间的相关因子或因素, 对于揭示中晚期肝病外周血细胞减少的成因意义重大。其研究结果为肝硬化时并发症的防治、延缓或停止肝病发生病理进程提供科学依据。

相关报道

张伟辉 *et al* 对脾切除术后外周血细胞的变化进行观察发现肝炎相关性再障并不是肝炎后肝硬化患者骨髓增生不良的主要原因; 林果为 *et al* 发现乙型肝炎病毒对骨髓有一定抑制作用; Forbes *et al* 报道 91% 酒精性肝硬化患者出现外周血异常和骨髓造血组织高度分化。

1 肝硬化时血象的异常变化引起临床医生及学者的高度关注

肝硬化门静脉高压患者由于门静脉压力增高引起脾静脉血液回流阻力增高, 因而都有不同程度的脾肿大进而发展成脾功亢进, 脾脏的破血功能增强, 患者出现外周血细胞减少的症状。肝硬化-脾功能亢进-外周血细胞减少, 这是我们的一般认识或共识。大部分肝硬化并脾功能亢进患者在脾脏切除后, 外周血细胞即可增加; 但部分患者脾脏切除后, 外周血细胞不仅无增加, 而且出现进行性下降的表现。这种现象在国外也有报道, 据国外资料, 91% 酒精性肝硬化患者出现外周血异常和骨髓造血组织高度分化^[1]。我们总结了124例肝硬化患者骨髓增生情况: 其中88例增生活跃(占70.96%); 增生一般者占19例(占15.32%); 17例增生低下, 其中红、粒、巨核三系均低下者8例(占6.45%), 粒、巨核二系低下者7例(占5.64%), 单纯粒系低下者2例(占1.61%)。结果与国外资料大体一致。国内张伟辉 *et al*^[2] 对脾切除术后外周血细胞的变化进行观察发现肝炎相关性再障并不是肝炎后肝硬化患者骨髓增生不良的主要原因, 提示在肝硬化时, 除了脾脏及病毒因素外也存有其他因素参与外周血细胞减少这一过程。由此推测在肝脏与骨髓之间存在某种紧密的关联, 是何种因素在牵手两脏器值得思考, 值得探讨。

2 肝、脾、骨髓与造血密不可分, 动态观察造血干细胞状态对于了解外周血象变化意义重大

肝、脾、骨髓在胚胎期就与造血密切相关。胚胎时, 造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)起源于胚胎时期卵黄囊壁上的间充质细胞。随着胚体内外血循环建立, 在人胚第6周开始造血, HSC被播散到肝, 继肝造血后, 脾也表现短暂的造血功能, 人脾在生后产生全血细胞的功能基本消失, 当机体严重缺血或某些病理状态下, 脾可以恢复造血功能。HSC最后主要定居在骨髓并维持机体终身造血。以上显示肝、脾、骨髓在胚胎期就与造血密切相关, 并由HSC传导发生。这一理论提示我们, 造血细胞尤其是HSC的某种动态变化可能会对肝脏发生病理损伤所引导的脾脏与骨髓的病理变化起到某种提示作用。

CD34抗原是临床上应用最多的HSC标志物, 了解CD34⁺在肝硬化时的动态变化, 对于阐释肝脏、脾及骨髓间相互影响应有意义, 同时为脾功能亢进手术者提供指导意见。CD34是一种属于I型跨膜蛋白的磷酸糖蛋白, 是细胞表

面的糖蛋白, 研究发现他首先见于骨髓(BM)的一小群细胞, 随后大量研究证实他是一个非常有价值的指标, 可用来标记造血干/祖细胞, 其主要选择性表达于造血干(祖)细胞(hematopoietic stem/progenitor cell, HSC/HPC)及血管内皮细胞(EC)表面。CD34可以协助骨髓的CD34⁺造血干/祖细胞黏附于骨髓基质, 还可抑制造血细胞分化, 促进造血祖细胞形成, 参与细胞内信号转导等^[3], CD34⁺细胞群是一个异质性细胞群, 含有阶段造血祖细胞, 随干细胞的分化成熟而逐渐丢失。因此测定CD34⁺细胞数可作为造血干/祖细胞数量检测的可靠指标。

近年来, 随着基础医学科学的发展及干细胞研究的深入, 尤其是证实了骨髓来源细胞能形成肝细胞, 现认为肝脏中存在干细胞, 而且初步认为肝脏干细胞位于胆管系统, 包括终末胆管、所有胆上皮细胞及所谓的胆管内的基底细胞^[4]。Crosby *et al*^[5] 在肝硬化患者肝脏内发现CD34⁺细胞, 经分离进行体外培养, 这些具有造血干细胞表面标志的细胞开始分化成胆管细胞, 表达胆管细胞的表面标记CK19, 而c-kit, CD34⁺逐渐消失, 说明胆管上皮前体细胞也可能来源于骨髓。由此推测, 如果肝损伤是广泛的和慢性的, 肝脏干细胞、造血干细胞都很可能参与肝损伤的病理生理过程。

在临床上诊断与治疗过程当中, 我们观察发现脾功能亢进时可导致三系细胞减少, 而同时骨髓往往有代偿性增生改变, 骨髓中CD34⁺细胞增多。然而, 某些肝硬化脾切除患者血细胞却不能回升, 骨穿证实骨髓中CD34⁺细胞大多是降低的。因此, 对于肝硬化患者行骨穿, 检测骨髓中CD34⁺细胞的变化, 对于外科脾切除手术治疗脾功能亢进可能会有重大的指导意义。如果骨髓CD34⁺表达明显增高, 则切脾后血象有望恢复正常, 反之, 如骨髓CD34⁺细胞没有代偿性增高, 则切脾后对改善血象可能意义不大。

3 免疫细胞因子在失代偿期肝硬化时对外周血细胞的影响

脾脏是人体内最大的免疫器官, 也是直接连接血液循环的较大淋巴器官。他既是连通血液的过滤器, 又是制造淋巴细胞、巨噬细胞的组织。脾脏的主要功能有: 产生免疫抗体, 吞噬作用及贮积血细胞的能力。骨髓也具有明显的免疫作用。其骨髓造血微环境包括骨髓的神经成分、微血管系统与纤维、细胞外基质与骨髓基

创新盘点

本文提出以造血干细胞为研究靶点, 观察在肝硬化失代偿期时肝脏、脾脏、骨髓三脏器造血干细胞的变化, 同时结合探讨细胞因子的调控, 试图为阐释肝硬化外周血减少的机制提供依据。

质细胞. 造血基质细胞是造血微环境的核心成分, 他是混合型的细胞群体, 包括成纤维细胞、巨噬细胞、内皮细胞、网状细胞和载脂细胞等, 他们不仅是造血细胞生长的支架, 还可通过细胞间通信、分泌多种造血调控因子、产生细胞外基质等多种途径调控血细胞的生成. 无论哪种原因引起骨髓的病理改变, 导致骨髓造血床明显减少, 均可导致骨髓有效造血量减低, 故骨髓的异常病变是肝硬化脾功能亢进患者全血细胞下降的重要原因之一. 肝脏在人体免疫应答系统中的作用日益引起人们的重视, 已有学者提出了“肝脏是一个免疫器官”的观点. 肝脏对各种物质能区别对待, 对适合人体需要的各种营养成分及人体代谢产物常形成免疫耐受, 偶尔形成免疫应答, 则表现为对食品的过敏反应; 而对各种感染性物质, 可通过先天性免疫或获得性免疫清除感染. 在某些条件下, 也可形成免疫耐受, 如乙型肝炎的慢性感染或无症状性病毒携带者. 由此可见, 在病理情况下, 由于三个不同特性的免疫器官的互相影响, 三个脏器免疫功能的变化难免会对造血调控产生一定的影响.

近年来研究发现, 不论是在肝脏的纤维化, 脾脏的淤血性硬化、脾纤维化进程中, 还是在骨髓造血细胞的生长, 复杂的免疫网络所参与的多个环节调控中, 细胞间通信、细胞因子网络调控对其产生和发展都起到核心与关键的作用. 例如GM-CSF, SCF, IL-11, IL-6, IL-18, IFN, TNF, LIF和TGF- β (转化生长因子 β)等细胞因子^[6]. 这些众多细胞因子中, 不少学者都给予关注与研究, 但都显得零乱不系统, 没有进行全面的分析和总结. 希望有更多的学者参与探讨.

新近发现致炎因子IL-18, 不仅参与免疫调控, 而且其过度表达可能引起免疫系统紊乱和组织器官的免疫炎性损害.

Okamura *et al*^[7]对感染疮疱棒状杆菌(Pacnes)小鼠肝脏提取物用脂多糖(LPS)加强刺激, 可诱导出使IFN- γ 高水平表达的因子, 最初把该因子称作IFN- γ 诱导因子(IGIF), 进一步研究发现这是一种新的细胞因子, 对多种组织有免疫活性, 最后命名为白介素18(IL-18). IL-18有亲多种组织的免疫活性, 分布全身多个脏器和组织. Ushio *et al*用Northern杂交技术, 对成年人不同组织的mRNA进行分析, 发现肝脏、脾、骨骼肌等均有IL-18 mRNA的高表达, 研究证实体外IL-18最大的生物学作用之一是诱导T细胞和NK细胞产生IFN- γ ; 在体内IL-18可增强NK

细胞和CTL的细胞毒素活性, 所以白细胞介素-18(IL-18)这个新近发现的细胞因子, 不仅是免疫细胞因子的一部分, 更重要的是其参与机体体液免疫与体液免疫反应的调控^[8], 为此近年来得到学者们高度关注. 初步研究发现, 在细菌、病毒、寄生虫和真菌感染时, 血清中可以检测到高浓度的IL-18, 说明IL-18能增强机体的抗感染能力, 但有证据表明其过度表达可能引起免疫系统紊乱和组织器官的免疫炎性损害^[9]. 提示在肝脏的长期炎症环境中, 脾功能亢进、骨髓造血功能逐步下降时, IL-18可能促进病情的进展. 动态检测IL-18水平, 对于了解病情的进展可能会有很重要的价值.

TGF- β 是一种生物活性很强的细胞因子, 主要是促进细胞外基质的再生, 调节炎症反应, 抑制免疫功能, 同时与造血也密不可分.

现已证实生理状态下脾脏能抑制TGF- β 的表达, 而肝硬化过程中却促进其表达, 脾功能亢进时, TGF- β 等多种物质呈过表达状态. 因此脾脏在肝硬化过程中对多个环节的调控很可能通过TGF- β 来实现^[10]. 此外, TGF- β 不仅具有抑制树突状细胞(dendritic cell, DC)成熟并且促进CD34⁺前体细胞向DC分化, 增加不成熟DC产量. DC广泛分布于血液、肝、脾、淋巴结及其他非免疫器官组织中, 是目前所知功能最强的专职抗原呈递细胞(antigen presenting cell, APC), 也是唯一能刺激童贞T细胞反应的APC, 在免疫反应中起着关键的引导和调节作用. 而1, 25-二羟维生素D3则抑制DC细胞分化和成熟, 下调CD1a和CD40、CD80和MHC II表达, 并具有抑制肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)诱导DC成熟, 导致T细胞耐受的作用. 同时, TGF- β 负调控因子可阻止细胞分化^[11], 推测TGF- β 与抑制早期血细胞生成有关. 因此, 了解TGF- β 在肝硬化时的动态变化, 对于揭示TGF- β 对肝硬化的发展进程, 脾功能亢进时对血象的影响及骨髓造血状况具有临床意义.

根据以上的分析, 从解决临床实际问题出发, 选用动物模型和以临床肝硬化脾功能亢进并血细胞减少患者血清或活检组织为材料, 动态观察CD34⁺及细胞因子TGF- β 和IL-18的水平变化, 通过分析, 试图从免疫学方面揭示肝硬化患者血象减少的成因, 初步了解在肝硬化失代偿期肝、脾及骨髓三个脏器相互影响的调控机制, 为终末期肝病的治疗和进展提供有效参考实验依据.

应用要点
本文关注肝硬化失代偿期外周血细胞变化的成因, 将为指导脾切除术提供参考依据, 同时为干预和治疗失代偿期肝硬化提供理论基础.

名词解释

- 1 造血干细胞(HSC): 又称多能造血干细胞. 他是从卵黄囊全能间叶细胞分化而来的最原始的造血细胞, 是体内所有血细胞的前体, 具有高度自我更新或自我复制并进一步分化为各系祖细胞的能力.
- 2 童贞T细胞: 在骨髓内产生还没有接触过任何抗原的T淋巴细胞.

同行评价
本文全面论述了肝硬化失代偿期外周血细胞减少成因机制, 立题新颖, 层次清楚, 论述全面, 有一定的参考价值 and 临床指导意义.

值得提出的是, 由于HBV引起骨髓再生障碍的问题虽然已经有较明确的认识^[12], 但其机制研究有待进一步深入.

4 结论

失代偿期肝硬化并外周血细胞减少, 在临床治疗中最有效的治疗还是脾切除术, 通过手术不仅可以解决脾亢对血细胞的破坏, 也可以降低门静脉的压力. 但事实上一切并不完全顺应人们的愿望, 不少患者术后恢复并不理想, 部分甚至病情进一步加重. 通过动态观察骨髓、脾脏、肝脏在肝病发生发展过程中血象的变化, 探讨外周血细胞减少的成因, 及相关调控因素对其的影响, 将为阐释肝硬化病情的进展, 可对肝硬化的防治提供重要理论依据.

5 参考文献

- 1 Forbes SJ, Russo FP, Rey V, Burra P, Rugge M, Wright NA, Alison MR. A significant proportion of myofibroblasts are of bone marrow origin in human liver fibrosis. *Gastroenterology* 2004; 126: 955-963
- 2 张伟辉, 赵松, 付英梅, 刘连新, 王晓春, 武林枫. 肝硬化门静脉高压症患者脾切除术后血细胞数减少的病因分析. *中华医学杂志* 2005; 85: 1285-1286
- 3 柏树令, 赵丹. CD34抗原的生物学特性及其临床应用. *解剖科学进展* 2005; 11: 54-56, 60
- 4 Alison MR, Golding MH, Sarraf CE. Pluripotential liver stem cells: facultative stem cells located in the

- biliary tree. *Cell Prolif* 1996; 29: 373-402
- 5 Crosby HA, Kelly DA, Strain AJ. Human hepatic stem-like cells isolated using c-kit or CD34 can differentiate into biliary epithelium. *Gastroenterology* 2001; 120: 534-544
- 6 冯凯, 马宽生. 继发性脾功能亢进症的治疗现状及展望. *国外医学外科学分册* 2005; 32: 183-186
- 7 Okamura H, Tsutsi H, Komatsu T, Yutsudo M, Hakura A, Tanimoto T, Torigoe K, Okura T, Nukada Y, Hattori K. Cloning of a new cytokine that induces IFN-gamma production by T cells. *Nature* 1995; 378: 88-91
- 8 Lin SD, Kawakami T, Ushio A, Sato A, Sato S, Iwai M, Endo R, Takikawa Y, Suzuki K. Ratio of circulating follistatin and activin A reflects the severity of acute liver injury and prognosis in patients with acute liver failure. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 374-380
- 9 Manigold T, Bocker U, Chen J, Gundt J, Traber P, Singer MV, Rossol S. Hepatitis B core antigen is a potent inducer of interleukin-18 in peripheral blood mononuclear cells of healthy controls and patients with hepatitis B infection. *J Med Virol* 2003; 71: 31-40
- 10 Brugger W, Mocklin W, Heimfeld S, Berenson RJ, Mertelsmann R, Kanz L. Ex vivo expansion of enriched peripheral blood CD34+ progenitor cells by stem cell factor, interleukin-1 beta (IL-1 beta), IL-6, IL-3, interferon-gamma, and erythropoietin. *Blood* 1993; 81: 2579-2584
- 11 Shehata M, Schwarzmeier JD, Hilgarth M, Hubmann R, Duechler M, Gisslinger H. TGF-beta1 induces bone marrow reticulin fibrosis in hairy cell leukemia. *J Clin Invest* 2004; 113: 676-685
- 12 林果为, 林佩娣, 杨子文, 王倩, 方德顺. 病毒性肝炎和再生障碍性贫血发病关系的临床病学研究. *中华血液病杂志* 1994; 15: 171

编辑 程剑侠 电编 何基才

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

• 审读反馈 •

2007年15卷26期和27期中存在的问题

世界华人消化杂志是一本办得很有特色的杂志. 为提高其质量, 该杂志坚持吸收国外优秀杂志的优点, 不断创新, 和国内中文版科技杂志相比, 其文字编辑质量比较好, 图表的安排更趋合理, 尤其是其英文摘要的文字水平在国内科技杂志中堪称一流, 尚无一能及.

当然, 这并不是说该刊已十全十美, 他还有许多需要完善和改进的地方, 如在2007年15卷26期和27期中, 还存在以下问题: 汉语表达不确切, 不符合汉语的语法规则, 特别是在引用国外文献中的观点时, 表达得不中不洋; 错字和漏字也时而可见, 如将机制写成机理, 将进食写成尽食, 将分布写成分不等; 漏字也不少, 如病理显示漏掉显, 肿瘤治疗漏掉治疗等等; 至于中文表述不规范, 则是本刊编辑中的一个通病, 如也是最重要的判断预后因素之一(应为也是判断预后的最重要因素之一); 可能通过adiponectin缓解从而改善NAFLD有关(应为与adiponectin缓解和NAFLD改善有关). (审读: 王先林教授 2007-09-25).