

## IL-34、M-CSF 与肝纤维化、肝癌的相关性研究进展

王殷秋,曹雯君 综述,郜玉峰 审核

**摘要** 白细胞介素-34(IL-34)与巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)是能够调节单核巨噬细胞系生存、增殖和分化的细胞因子,在各种炎症相关性疾病和自身免疫性疾病中发挥重要作用。二者在结构功能上有众多相似之处,但是仍有差别。IL-34和M-CSF均参与了肝纤维化及肝癌的发生发展,并且有能够预测肝脏疾病转归的潜力。进一步阐明IL-34和M-CSF在肝脏进展中的作用机制,有助于阐明肝纤维化、肝癌与炎症反应机制之间的联系,并为疾病的诊断及治疗方法提供新的思路。

**关键词** IL-34; M-CSF; 巨噬细胞; 肝纤维化; 肝癌

**中图分类号** R 512.6+2

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2018)03-0487-04

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.03.035

肝脏是人体物质代谢最为活跃的器官,在代谢、解毒、凝血及免疫等方面皆起着非常重要的作用。临床上常见引起肝脏损伤的因素包括:噬肝病原体感染、占位性病变、代谢障碍、长期酗酒、中毒、药物、自身免疫以及遗传。当以上各种致肝脏损伤的因素反复长期存在,会引发肝脏炎症反应持续,肝细胞变性坏死与再生,纤维结缔组织增生与修复,纤维化形成,最终导致肝硬化、肝癌。持续性的炎症反应被认为是这一病理过程中的必经过程<sup>[1]</sup>,而这一过程的主要效应细胞是巨噬细胞。巨噬细胞在肝脏炎症和组织修复中发挥着细胞吞噬、炎症细胞调节、肝星状细胞募集及激活的作用,参与肝脏纤维化和肝癌的发生发展<sup>[2]</sup>。

曾报道<sup>[3]</sup>血清巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony stimulating factor, M-CSF)的表达水平与肝脏疾病有着密切联系。后来,随着实验技术的进步,人们通过蛋白质谱方法发现了M-CSF受体的另外一个配体,一个白细胞介素家族新成员,即白细

胞介素34(interleukin, IL-34)<sup>[4]</sup>。通过进一步研究<sup>[5]</sup>,显示二者可以通过巨噬细胞介导的炎症和免疫反应参与调节肝脏疾病的发生发展,综述如下。

### 1 IL-34和M-CSF的命名、分布和功能

**1.1 命名、分布和功能** M-CSF是由纤维母细胞,活化的巨噬细胞,子宫内膜上皮分泌细胞,骨髓基质细胞,维生素D激活的成骨细胞和活化的血管内皮细胞分泌的细胞因子<sup>[6-8]</sup>。其能够通过与其受体的结合调节单核巨噬细胞系祖细胞的生存与增殖,亦在卵巢排卵,胎盘功能,乳腺发育,骨代谢等生理活动中担任重要角色<sup>[9]</sup>。

2008年, Lin et al<sup>[4]</sup>从人类的分泌蛋白中发现了IL-34,可以使人外周血单核细胞维持生长,并通过蛋白质谱扫描发现,其是M-CSF受体的另外一个配体。IL-34也可以有多种细胞分泌,例如脾窦内皮细胞<sup>[4]</sup>,成骨细胞<sup>[10]</sup>等。作为M-CSF受体的另外一个配体,IL-34具有与M-CSF相似的生物学功能。通过与M-CSF受体结合,IL-34能促进单核吞噬细胞谱系细胞如单核细胞、吞噬细胞和破骨细胞的分化、增殖和生存<sup>[4,10-11]</sup>。

研究<sup>[12]</sup>显示,肝癌细胞中大量表达M-CSF及其受体。由于IL-34是M-CSF受体的另外一个配体且具有相似的功能,法国学者Preisser et al<sup>[5]</sup>推测IL-34也可能来源于病变的肝细胞,并最终通过免疫组化实验分析证实了这个猜测,同时亦发现,活化的肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)及其转化而成的纤维母细胞也可以产生IL-34。

**1.2 二者之间的差异** 虽然M-CSF和IL-34可以和共同的受体结合,发挥相似的作用,但是二者的在基因序列上的同源性并不高,且二者的空间构象上亦具有一定的差异性<sup>[13]</sup>。成熟的人类M-CSF由192个氨基酸单体构成,其N端的150个氨基酸在与受体结合中起关键作用。而成熟的IL-34则是由222个氨基酸单体构成的二聚体糖蛋白,多肽链中大多数氨基酸构成了alpha螺旋结构,少数氨基酸构成beta片层结构,从而形成了IL-34稳定的空间

2017-11-27 接收

基金项目:安徽省自然科学基金(编号:1608085MH164)

作者单位:安徽医科大学第二附属医院肝病科,合肥 230601

作者简介:王殷秋,女,硕士研究生;

郜玉峰,男,副教授,硕士生导师,责任作者, E-mail: aygyf@126.com

构象。虽然二者都可以与 M-CSF 受体的 D1-D3 结构域结合,但是 IL-34 似乎能够更加紧密和受体结构域结合;且二者在与受体结合机制不同<sup>[14-15]</sup>。

尽管 M-CSF 和 IL-34 都能调节单核巨噬细胞系细胞的增殖分化,但是 M-CSF 的作用却更为重要<sup>[16]</sup>。单核细胞、吞噬细胞和破骨细胞数量的明显下降可能与 M-CSF 及其受体功能丧失相关<sup>[17-19]</sup>,然而 IL-34 的缺陷仅仅会选择性地减少小胶质细胞和朗格汉斯细胞的数量。而且在脾脏组织中,M-CSF 缺陷却没有明显减少单核细胞和巨噬细胞的数量,反而可见 IL-34 在脾脏中高表达,这样也许就弥补了 M-CSF 的缺陷。由此可见,M-CSF 与 IL-34 的生物活性具有差异<sup>[13]</sup>。随着研究的深入,显示 IL-34 与 M-CSF 相比在功能上具有一定差异,除了调节炎症反应,IL-34 还能调节胚胎发育,在人体生长发育过程中维持上皮组织中朗格汉斯细胞的数目和功能,还有可能和神经胶质细胞分布有关<sup>[13]</sup>。

## 2 M-CSF、IL-34 与肝脏疾病的关系

### 2.1 与肝纤维化的联系

各类不同的致病因素引起肝脏发生损伤-修复反应即为肝纤维化。持续存在的损伤因素,对肝脏组织细胞持续攻击损害,使炎症单核细胞在肝脏组织趋化聚集,并在某些细胞因子的作用下分化为促纤维化型的巨噬细胞,同时也激活了肝脏组织中的枯否氏细胞和 HSC,最终诱导细胞外基质的产生,并扰乱其在肝脏内降解与沉积平衡,最终使其大量的在肝内沉积。众多细胞因子及蛋白均参与了这一复杂的调节过程,并且其之间也存在一个复杂的网络,彼此之间相互影响与调节。

早在 1994 年,日本学者的研究<sup>[3]</sup>已经表明 M-CSF 的血清表达水平与急慢性肝病、肝硬化都有着密切关系,M-CSF 的血清高水平可能反应了急、慢性肝病中持续肝细胞坏死及肝脏组织的严重炎症。在众多细胞因子中,转化生长因子(transforming growth factor beta 1, TGF-β1)是公认最强的促纤维因子,但曾报道<sup>[13]</sup> 1/5 的肝纤维化患者 TGF-β1 的表达没有增加,而 IL-34 的表达却增强了,这似乎说明 IL-34 与肝脏纤维化进展关系匪浅。

2014 年法国昂热大学的 Preisser et al<sup>[5]</sup> 研究发现 IL-34 和 M-CSF 在高度纤维化的丙型肝炎病毒感染患者中表达增强,并通过多种途径促进肝纤维化的进展。机制阐述如下:IL-34 和 M-CSF 能够调节单核巨噬细胞趋化因子及受体表达,使病变区域单核细胞聚集,从而使肝脏的炎症反应持续存

在<sup>[20-21]</sup>;并诱导能够促进纤维化进展的巨噬细胞分化形成,使 TGF-β 及半乳糖凝集素-3 等 HSC 活化剂产生增加,从而促进 HSC 的增殖,也可以直接作用于 HSC,使其发生表型转换,合成大量的细胞外基质<sup>[5]</sup>;IL-34 和 M-CSF 还可以调节某些基质金属蛋白酶(matirx metalloproteases, MMP)的生成,加剧胶原纤维沉积,比如产生大量 MMP-9,通过基底膜的降解来增加炎症细胞在肝脏的浸润<sup>[5,22]</sup>;同时 IL-13 也可以协同 M-CSF 和 IL-34 来下调 MMP-1 的表达,促进纤维化过程;IL-34 和 M-CSF 还可以抑制 NK 细胞合成分泌一种抗纤维因子即 γ 干扰素,从而减少 HSC 的凋亡,间接促进肝脏纤维化的发生发展<sup>[5]</sup>。

除此之外,日本学者 Shoji et al<sup>[23]</sup> 最新研究表明,IL-34 的血清水平随着非酒精性脂肪肝患者的纤维化程度的进展而增加,并肯定了其作为一个新的纤维化标志物的临床可行性。以纤维化评分公式: $[0.0387 \times \text{IL-34} (\text{pg/ml}) + 0.3623 \times \text{IV 型胶原蛋白 7 s} (\text{ng/ml}) + 0.0184 \times \text{年龄} (\text{年}) - 1.1850]$ 为基础的 IL-34 是一个临床适用的预测肝脏纤维化的新指标。与其它肝纤维化标志物和常用评分方法相比,IL-34 的诊断价值具有一定的优越性。

### 2.2 与肝癌的联系

肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs)是指肿瘤微环境中的巨噬细胞,参与机体发生肿瘤时的免疫反应。巨噬细胞可以根据其功能及活化状态的不同分为两种类型:经典活化型,即 M1 型,具有杀灭肿瘤细胞及促进炎症反应的作用;替代活化型,即 M2 型,具有促进肿瘤生长、抑制炎症反应的作用<sup>[24]</sup>。巨噬细胞可以在肿瘤微环境中被 TGF-β、IL-4 及 M-CSF 等细胞因子诱导分化为 M2 型,从而刺激肿瘤发生转移,侵袭,生长;促进淋巴管、肿瘤血管生成;重塑组织;抑制肿瘤适应性免疫<sup>[25]</sup>。

M-CSF 是促使巨噬细胞趋化聚集分化主要调节因子。M-CSF 的抑制能够使巨噬细胞在肿瘤组织中的浸润显著减少,最终抑制肿瘤组织生长<sup>[26]</sup>。有研究<sup>[27]</sup>表明,在众多不同组织的各种类型肿瘤中,M-CSF 的过度表达都是一种很常见的现象,且皆与癌症患者的不良预后密切相关。

M-CSF 及其受体在肝脏肿瘤周围组织中也有大量表达,并且临床研究表明其高表达与肿瘤切除后的低生存率及肝内转移的发生率相关<sup>[12,28]</sup>。动物实验研究<sup>[29]</sup>表明,在用化学方法(DEN 处理)致肝癌的小鼠模型中,M-CSF 缺陷小鼠(M-CSF-op/op 表型)与同窝出生的小鼠(LM)比较,前者肝脏中肿

瘤数量更少且最大肿块体积明显更小;在化学方法(DEN处理)致肝癌发生28周后,小鼠M-CSF的血清水平明显增加。上述结果都表明,M-CSF在化学方法致癌作用中扮演着协同加速肿瘤组织生长的作用。

IL-34作为M-CSF受体的另外一个配体,毋庸置疑地与单核巨噬细胞的趋化聚集、肝细胞癌的生长及转移关系匪浅。通过miRNA测序,发现了22个参与肝细胞癌的生长及转移的miRNA;其中mir-28-5p,在肝癌组织中表达下调。后再次通过基因表达谱和生物信息学分析确定了mir-28-5p的直接下游靶点是IL-34。TAMs中的粘附斑激酶和ERK1/2信号通路被IL-34激活,使其增殖和趋化迁移能力增强,最终导致大量的TAMs在肝细胞癌组织中的浸润。mir-28-5p的缺陷使IL-34在肝癌组织中的表达上调,并通过TAMs的浸润促进肿瘤的生长与转移。此外,本研究显示mir-28-5p在肝癌细胞表达的下调是依赖于TAMs所分泌的TGF- $\beta$ 1,这就形成了mir-28-5p-IL-34-巨噬细胞正反馈环对肝细胞癌生长转移的调节。在对临床样本的研究<sup>[30]</sup>中显示,肝脏组织中mir-28-5p的低表达,IL-34的高表达以及大量的TAMs浸润的肝癌患者通常预后较差,总生存期较短并易短时间内发生复发及转移。综上所述,mir-28-5p、IL-34及TAMs三者综合一起可以作为预测肝癌预后的一个新的临床指标。

### 3 展望

M-CSF与IL-34作为促炎性细胞因子参与了肝纤维化以及肝癌的发生发展,但是其在疾病中具体作用机制尚未完全清楚。虽然二者具有相似的炎症调节功能,但是二者参与不同疾病的发生发展的具体细节仍有一定差别,故更应深入研究二者参与众多不同肝脏病变过程中具体作用机制。肝纤维化、肝癌的发生发展本身即为极为复杂的病理过程,且引起肝脏发生此类病变的原因众多,学者们对M-CSF与IL-34在不同原因导致的肝纤维化、肝癌中作用及其预测疾病转归的能力的研究尚未全面。这些都是有待于进一步发掘研究的领域,但是不可否认的是,M-CSF与IL-34都与肝脏疾病有着不可分割的关联。

### 参考文献

[1] Gershwin M E, Mackay I R. The causes of primary biliary cirrhosis: convenient and inconvenient truths [J]. Hepatology, 2008, 47

- (2): 737-45.
- [2] Stănculeț N, Grigoraș A, Avădanei R, et al. Relationship between Kupffer cells, inflammation, and fibrosis in chronic hepatitis B and C [J]. Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi, 2013, 117(4): 880-9.
- [3] Itoh Y, Okanoue T, Enjo F, et al. Serum levels of macrophage colony stimulating factor (M-CSF) in liver disease [J]. J Hepatol, 1994, 21(4): 527-35.
- [4] Lin H, Lee E, Hestir K, et al. Discovery of a cytokine and its receptor by functional screening of the extracellular proteome [J]. Science, 2008, 320(5877): 807-11.
- [5] Preisser L, Miot C, Le Guillou-Guillemette H, et al. IL-34 and macrophage colony-stimulating factor are over expressed in HCV fibrosis and induce pro-fibrotic macrophages which promote collagen synthesis by hepatic stellate cells [J]. Hepatology, 2014, 60(6): 879-90.
- [6] Budrys N M, Nair H B, Liu Y G, et al. Increased expression of macrophage colony-stimulating factor and its receptor in patients with endometriosis [J]. Fertil Steril, 2012, 97(5): 1129-35.
- [7] Würfel W. Treatment with granulocyte colony-stimulating factor in patients with repetitive implantation failures and/or recurrent spontaneous abortions [J]. J Reprod Immunol, 2015, 108: 123-35.
- [8] Hamilton J A. Colony-stimulating factors in inflammation and autoimmunity [J]. Nat Rev Immunol, 2008, 8(7): 533-44.
- [9] Mouchemore K A, Pixley F J. CSF-1 signaling in macrophages: pleiotrophy through phosphotyrosine-based signaling pathways [J]. Crit Rev Clin Lab Sci, 2012, 49(2): 49-61.
- [10] Chen Z, Buki K, Vaaranemi J, et al. The critical role of IL-34 in osteoclastogenesis [J]. PLoS One, 2011, 6(4): e18689.
- [11] 祝捷,董崇周,胡圆圆,等. RANKL联合M-CSF体外诱导人外周血单个核细胞成为破骨样细胞的研究 [J]. 安徽医科大学学报, 2010, 45(5): 618-20.
- [12] Jia J B, Wang W Q, Sun H C, et al. High expression of macrophage colony-stimulating factor-1 receptor in peritumoral liver tissue is associated with poor outcome in hepatocellular carcinoma after curative resection [J]. Oncologist, 2010, 15(7): 732-43.
- [13] Nakamichi Y, Udagawa N, Takahashi N. IL-34 and CSF-1: similarities and differences [J]. J Bone Miner Metab, 2013, 31(5): 486-95.
- [14] Liu H, Leo C, Chen X, et al. The mechanism of shared but distinct CSF-1R signaling by the non-homologous cytokines IL-34 and CSF-1 [J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1824(7): 938-45.
- [15] Ségaligny A I, Brion R, Brulin B, et al. IL-34 and M-CSF form a novel heteromeric cytokine and regulate the M-CSF receptor activation and localization [J]. Cytokine, 2015, 76(2): 170-81.
- [16] Dai X M, Ryan G R, Hapel A J, et al. Targeted disruption of the mouse colony-stimulating factor 1 receptor gene results in osteopenia, mononuclear phagocyte deficiency, increased primitive progenitor cell frequencies, and reproductive defects [J]. Blood, 2002, 99(1): 111-20.
- [17] Sakagami N, Amizuka N, Li M, et al. Reduced osteoblastic population and defective mineralization in osteopetrotic (op/op) mice

- [J]. *Micron*, 2005, 36(7-8): 688-95.
- [18] Wiktor-Jedrzejcak W, Bartocci A, Ferrante A W Jr, et al. Total absence of colony-stimulating factor 1 in the macrophage-deficient osteopetrotic (op/op) mouse [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1990, 87(12): 4828-32.
- [19] Wang Y, Colonna M. Interleukin-34, a cytokine crucial for the differentiation and maintenance of tissue resident macrophages and Langerhans cells [J]. *Eur J Immunol*, 2014, 44(6): 1575-81.
- [20] Tacke F. Functional role of intra hepatic monocyte subsets for the progression of liver inflammation and liver fibrosis *in vivo* [J]. *Fibrogenesis Tissue Repair*, 2012, 5(suppl 1): S27.
- [21] Ehling J, Bartneck M, Wei X, et al. CCL2-dependent infiltrating macrophages promote angiogenesis in progressive liver fibrosis [J]. *Gut*, 2014, 63(12): 1970-71.
- [22] Bataller R, Brenner D A. Liver fibrosis [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(2): 209-18.
- [23] Shoji H, Yoshio S, Mano Y, et al. Interleukin-34 as a fibroblast derived marker of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 28814.
- [24] 缪俊俊, 李国利, 贾筱琴. 肿瘤相关巨噬细胞在肝癌中的研究进展 [J]. *肿瘤预防与治疗*, 2014, 21(4): 204-8.
- [25] 陶斌胜, 熊茂明, 立宇. 肝癌组织中 MIF, TNF- $\alpha$  的表达及临床意义 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2011, 27(11): 1177-80.
- [26] Ao J Y, Zhu X D, Chai Z T, et al. Colony-stimulating factor 1 receptor blockade inhibits tumor growth by altering the polarization of tumor-associated macrophages in hepatocellular carcinoma [J]. *Mol Cancer Ther*, 2017, 16(8): 1544-54.
- [27] 李颜君, 杨黎, 王丽萍, 等. 巨噬细胞集落刺激因子极化巨噬细胞及促进非小细胞肺癌的侵袭和转移 [J]. *中华肿瘤杂志*, 2017, 39(6): 412-8.
- [28] Kono H, Fujii H, Furuya S, et al. Macrophage colony-stimulating factor expressed in non-cancer tissues provides predictive powers for recurrence in hepatocellular carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(39): 8779-89.
- [29] Hara M, Kono H, Furuya S, et al. Macrophage colony-stimulating factor plays a pivotal role in chemically induced hepatocellular carcinoma in mice [J]. *Hepatol Res*, 2014, 44(7): 798-811.
- [30] Zhou S L, Hu Z Q, Zhou Z J, et al. miR-28-5p-IL-34-macrophage feedback loop modulates hepatocellular carcinoma metastasis [J]. *Hepatology*, 2016, 63(5): 1560-75.

(上接第 483 页)

微生物学清除率与治疗效果的分析 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2017, 27(11): 2420-3.

- [13] Chen Z, Wu J, Zhang Y, et al. Efficacy and safety of tigecycline monotherapy vs. imipenem/ cilastatin in Chinese patients with complicated intra-abdominal infections: a randomized controlled trial [J]. *BMC Infect Dis*, 2010, 10: 217.
- [14] Towfigh S, Pasternak J, Poirier A, et al. A multicentre, open-label, randomized comparative study of tigecycline versus ceftriaxone sodium plus metronidazole for the treatment of hospitalized subjects with complicated intra-abdominal infections [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2010, 16(8): 1274-81.
- [15] Bedoui S, Heath W R, Mueller S N. CD4(+) T-cell help amplifies innate signals for primary CD8(+) T-cell immunity [J]. *Immunol Rev*, 2016, 272(1): 52-64.

## Effects of tigecycline on immune function in patients with complicated abdominal infection

Guo Maosong<sup>1,2</sup>, Yu Weili<sup>1</sup>, Sun Yun<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Dept of Critical Care Medicine, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601;

<sup>2</sup>Dept of Critical Care Medicine, The Xinrui Hospital of Wuxi, Wuxi 214000)

**Abstract Objective** To study the effects of tigecycline on immune function in patients with complicated intra-abdominal infections (cIAI). **Methods** A total of 24 cIAI patients received treatment of tigecycline, and then the effects of tigecycline on level of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) proliferation, concentration of inflammatory cytokines, and expression of CD3, CD4 and CD8 were investigated. **Results** The total effective rates of tigecycline were 70.8%. Tigecycline treatment significantly reduced proliferative level of PBMC, decreased the levels of interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-6 and IL-8 in supernatants of PBMC cultures as well as serum. Moreover, tigecycline therapy significantly up-regulated the percentage of CD3<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup>, increased the ratio of CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, and down-regulated percentage of CD8<sup>+</sup> in peripheral blood. **Conclusion** Tigecycline could regulate immune function in cIAI patients.

**Key words** tigecycline; complicated intra-abdominal infections; inflammation; peripheral blood mononuclear cells; cytokines