

原发性胆汁性肝硬化研究进展

李蕴铤(首都医科大学北京地坛医院 综合科, 北京 100015)

原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)是一种与自身免疫有关的慢性炎症性肝脏疾病,最终导致肝硬化甚至肝癌,该病以女性多见,男女比例为1:8~1:10,发病高峰在50岁左右,25岁以下少见。发病机制尚不明确,可能与遗传、环境、免疫等因素有关,常伴有其他自身免疫性疾病,如干燥综合征、自身免疫性甲状腺炎等。病理改变主要在肝脏,其次是唾液腺。以小叶间胆管的慢性非化脓性胆管炎、外周胆管出现上皮样肉芽肿结节以及血清中出现高滴度抗线粒体抗体(AMA)为主要特点。

1 流行病学

本病在世界各地均有分布,有区域性聚集现象,西方国家患病率较高,约为(1.9~15.1)/10万,年发病率约为(0.39~1.5)/10万,且呈逐年增长趋势。

2 发病机制

2.1 遗传因素 有家族史者发病率明显升高(患者第一后代发病率比一般人群高570倍)。1%~6%患者家庭里至少有1名以上的同种疾病成员,母亲和女儿、姐妹同时存在这种疾病的并非少见^[1]。单卵双胞胎同时发生PBC的几率为63%^[2],以上均证实PBC发病与遗传因素密不可分,但和其他自身免疫性疾病不同,至今尚未发现与MHC等位基因的关联性。

2.2 环境因素 现阶段认为分子模拟学说可解释PBC的发病机理,分子模拟是指微生物具有与自身抗原部分氨基酸序列或者某些局部构象相同

或相似的抗原表位,针对该表位的淋巴细胞由于微生物感染被激活后就有可能识别相应的自身抗原,引起自身免疫应答,从而引起组织、器官损伤。目前认为,与PBC发病相关的微生物中,大肠埃希菌是研究最多的细菌,实验显示抗人线粒体PDCE同样可以和大肠埃希菌的线粒体PDCE发生免疫反应,但其滴度相对较低。

其他化学物质在分子模拟中也可能起一定作用,从患者外周血分离的自身抗体可以和很多环境中的化合物发生反应,而且其结合力远大于患者抗原抗体的免疫结合力。这些化合物多为一些卤化物,主要存在于杀虫剂和除虫剂。动物实验显示,当这些化学物质和小牛血清蛋白结合后,可产生高滴度的抗线粒体抗体,但18个月后仍未发现肝脏的损害,所以这些化学物质是否可诱发PBC尚不确定^[3]。

2.3 抗线粒体抗体与抗原的免疫反应 抗线粒体抗体(anti-mitochondria antibody, AMA)的靶抗原是二氧戊酮脱氢酶的家族成员,包括四种脱氢酶:丙酮酸脱氢酶复合物E2亚单位(pyruvate dehydrogenase E2 complex, PDCE2)、侧链二氧戊酮脱氢酶、酮戊二酸脱氢酶和二氢硫辛酰胺脱氢酶,四种脱氢酶均参与氧化磷酸化过程,大部分患者AMA与PDCE2发生免疫反应,少部分患者AMA与其他三种脱氢酶发生反应^[4]。

PDCE2位于细胞线粒体基质的内侧,催化酮酸底物的氧化脱氢反应,它实际上是包括60多个亚单位的巨大复合物,PBC是目前发现的自身免疫B细胞和T细胞与PDCE2发生反应的惟一一种疾病,PBC患者体内增殖的B细胞克隆主要是针对PDCE2第212~226这段线性氨基酸残基序列,尤

其是其中的5或6个氨基酸残基直接与抗原抗体结合有关。但对于PDCE2第212~226氨基酸残基序列成为PBC特异性抗线粒体抗体免疫反应的机制仍然不太清楚。这段抗原决定簇位于N-端脂类区域内,人工合成的寡肽或蛋白质可和该段氨基酸序列发生免疫反应,应用人工合成的蛋白质可作为诊断试剂检测抗-AMA,如为阳性则支持PBC诊断,或预示5~10年内可能发生PBC。

2.4 T细胞介导的线粒体损伤 对PBC患者的肝组织活检标本进行免疫组织化学研究发现,PBC患者肝脏的浸润细胞包括NKT细胞、B细胞、CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞、单核细胞、树突状细胞、嗜酸性粒细胞等^[5]。浸润的自身侵袭性CD3⁺CD57⁺T细胞在受损胆管周围相对于其他疾病和正常肝脏呈显著增加,CD8⁺T细胞、嗜酸性粒细胞在疾病的起始阶段较多,嗜酸性粒细胞在胆管区的聚集和外周血嗜酸性粒细胞的增加是PBC患者早期突出表现,而在疾病进展期则出现CD4⁺T细胞明显增多。这些T细胞是针对PDCE2特异性的自身反应性细胞,然而这些细胞出现在外周血的频率极低。

浸润肝内的CD4⁺T细胞主要针对PDCE2第163~176氨基酸残基序列,PDCE2 1632176特异性T细胞克隆在PBC患者门淋巴结和肝脏中的频率是外周血中的100~150倍^[6]。也有研究表明,PBC患者体内存在针对PDCE2 159~167这一序列的细胞毒T淋巴细胞(CTLs)。尽管针对这一序列的CTLs功能尚不清楚,但发现PBC患者肝脏中针对PDCE2 159~167特异性CTLs为外周血的10倍,而且在PBC患者疾病早期的外周血中,这种CTLs前T细胞也明显增多。

PBC患者体内T细胞活化后,肝内Th1和Th2表达的细胞因子增多,血清IL-28水平在PBC进展期增加,产IL-24的CD4⁺细胞在外周血中的数量有所减少,而且CK27的表达也出现异常——正常肝脏CK27几乎只表达于胆管上皮细胞,而在PBC患者也同时表达于肝细胞。CK27的表达水平与血清胆红素有相关性,与肝脏酶学无相关性。

2.5 胆管上皮细胞的损伤 在PBC患者受损胆管区存在大量的凋亡细胞。研究发现,PBC患者凋亡的细胞主要是胆管上皮细胞,而在其他自身免疫性肝病患者中主要是肝细胞凋亡。进一步对PBC患者受损胆管区研究,发现受损区内Bcl22和Mcl21蛋白表达减少,而WAF1(野生型P53激活因子1)表达明显增多。Bcl22和Mcl21蛋白是细胞凋亡的抑制因子,其减少直接导致细胞凋亡阈值的下降,从而增加了胆管细胞的凋亡。而WAF1表达的上调可抑制可逆性细胞周期(G1、G2),使大量胆管细胞处于G1和G2期,分化的胆管细胞减少,凋亡的细胞明显增多,表现为胆管细胞破坏和消失^[7]。

令人不解的是线粒体的蛋白存在于所有细胞中,为何损伤仅仅针对PBC的胆管细胞呢?这是由于胆管细胞凋亡中PDCE2的代谢过程和其他细胞不同,细胞的氧化还原状态,特别是PDCE2的赖氨酸-酯酰部分是否能被谷胱甘肽所修饰,而胆管上皮细胞的线粒体PDCE2的赖氨酸-酯酰部分不被谷胱甘肽修饰,细胞凋亡过程中抗原决定簇不被降解,被作为抗原递呈给免疫细胞而发生自身免疫反应^[8]。

3 临床表现

50%~60%患者在诊断为PBC时无明显不适,但其中1/3患者2~4年后开始出现症状^[9]。乏力和皮肤瘙痒是多数患者的首发症状,也是最主要的症状。乏力与肝脏的严重程度无关,78%患者出现乏力^[10,11],20%~70%患者出现皮肤瘙痒。瘙痒常成为患者最痛苦的症状之一,可发生于局部,也可全身瘙痒,常于夜间和出汗时较重,确切机制不明。随着病情进展,黄疸常缓慢加深。其他症状包括高脂血症、骨质疏松、营养缺乏和脂溶性维生素缺乏等,还可合并其他自身免疫性疾病,如Sjögren's综合征、硬皮病等^[12]。重症患者可出现脂肪泻,发展至肝硬化时可出现腹水、上消化道出血及肝性脑病等。存在组织学病变长期进展的患者,发生原发性肝癌的几率增加。其他合并PBC的常见疾病有间质性肺炎、肾小管酸中毒

等。

大部分患者无阳性体征,持续进展的患者可出现脱皮、面色灰暗、色素沉着、肝掌、蜘蛛痣和黄色瘤等体征。肝脏肿大见于约70%的患者,脾脏肿大相对少见,持续加深的黄疸常预示病情已发展为较晚的阶段。

ALP升高是PBC最常见的生化异常。血清胆红素升高以直接胆红素为主,而高胆红素血症升高为PBC的晚期表现,是判断PBC预后的良好指标。

4 病理改变

典型病理表现为非化脓性损伤性胆管炎或肉芽肿性胆管炎,以破坏小胆管为主,镜下主要为中间胆管的慢性非化脓性破坏性变化,小叶间胆管减少。根据汇管区病变的演变可分为4期,各期可相继出现或交叉重叠。I期(非化脓性破坏性胆管炎期):胆管炎症损伤及坏死,胆管细胞皱缩出现空泡样变,可出现肉芽肿样病变,后者主要由淋巴细胞、浆细胞、组织细胞、嗜酸性粒细胞及巨细胞组成。血清IgG、IgM升高,胆管损伤区周围有免疫复合物及C3沉积。II期(小胆管增生期):炎症由门脉小叶向四周播散,出现胆汁性碎片样坏死,表现为门脉周围肝细胞空泡样变以及泡沫巨噬细胞浸润,并出现成纤维细胞和胶原增加,以及增生的肝纤维组织。III期(瘢痕形成期):出现纤维化及瘢痕组织,相邻门脉以纤维隔相连。IV期(肝硬化期):汇管区间的纤维隔延伸、相互连接,纤维组织向小叶内伸展分割肝小叶,出现局部肝细胞坏死和结节,常表现为小结节性肝硬化^[13]。

5 免疫学特点

PBC患者免疫球蛋白的升高以IgM为主,血清AMA阳性是PBC诊断的特征性免疫标志。PBC患者AMA通常呈现为高滴度($> 1:40$),低滴度($< 1:40$)AMA阳性对PBC疾病诊断并无特异性,其中AMA-M2型抗体高滴度阳性为PBC的血清学诊断标志。PBC病例AMA阳性检测的特异性和敏感性均超过95%,常在出现临床症状前已呈阳性。约有50%的PBC病例ANA和SMA呈阳性,核

周型和核点型的ANA阳性对PBC诊断有重要意义^[14]。PBC患者的血清中还可发现许多自身抗体,包括抗-血小板、抗-甲状腺、抗-着丝点、抗-SSA(Ro)、抗-SSB(La)、抗- α 烯醇化酶和抗-淋巴细胞毒等。

6 治疗

6.1 熊去氧胆酸 熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)是目前治疗PBC最为有效的药物,推荐剂量为 $(13\sim 15)\text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$,分2~3次服用。目前认为UDCA治疗PBC机理主要有以下3个方面:促进胆汁分泌、抗肝细胞和胆管上皮细胞凋亡及免疫调节作用。一项大样本随机对照研究结果显示,UDCA可有效降低患者的生化指标,并推迟肝移植时间,降低死亡率,长期服用UDCA是安全的,仅少数患者发生体重上升、脱发、腹胀、腹泻等轻微不良反应。两项包括近两年来许多临床研究的荟萃分析显示,UDCA可延缓病情发展,25%~30%患者有效,服用UDCA的PBC患者20年内预期寿命与同年龄、性别的对照组相似^[15]。但有很多患者虽服用UDCA,病情仍持续进展,因此换用或合并应用其他药物同样很有必要。

6.2 免疫抑制剂 秋水仙碱在改善患者生化指标方面亦有效,但疗效低于UDCA,如服用UDCA一年效果欠佳,可加用秋水仙碱。最近一项临床荟萃分析显示,秋水仙碱可有效降低肝硬化并发症的发生,从而延缓肝移植的时间^[16]。甲氨蝶呤被作为免疫抑制剂来治疗PBC,但其疗效尚待进一步评估,仅用于上述两类药物治疗1年无效的患者,其本身疗程不要超过1年。Budesonide被证实可以改善PBC组织学和生化指标方面有效,但其加重骨质疏松的不良反应却限制了应用,水飞蓟素已被证实无效。

6.3 对症处理 皮肤瘙痒可应用消胆胺治疗, $(8\sim 24)\text{ g/d}$,对大部分患者有效,无效者可考虑应用利福平15 mg,每日2次。睡前服用组织胺抑制剂对于轻度瘙痒有效,鸦片受体拮抗剂如纳洛酮等适用于上述治疗无效者。所有药物治疗无效

者,可考虑应用血浆滤过疗法。骨质疏松在PBC中较为常见,目前尚无特效治疗措施,对于绝经期妇女,雌激素替代治疗可改善骨质疏松。关于PBC患者的妊娠问题少有报道。在多数情况下,妊娠可导致患者出现瘙痒症状或瘙痒加重,这主要是高雌激素水平导致胆汁淤积的作用,尚无较好的治疗方法。针对PBC的所有治疗措施在妊娠期前3个月的安全性尚不明,因此该期间应停用所有的治疗措施。UDCA在妊娠期后3个月是安全的,对改善孕妇的胆汁淤积症状亦有效。

6.4 肝移植 肝移植是PBC后期肝衰竭惟一有效的治疗选择,移植后1年和5年的生存率为92%和85%。移植后PBC症状完全消失,但AMA仍呈阳性,PBC在移植后3年和10年的复发率为15%和30%^[17,18]。

参考文献

- [1] Bittencourt PL, Farias AQ, Abrantes-Lemos CP, et al. Prevalence of immune disturbances and chronic liver disease in family members of patients with primary biliary cirrhosis[J]. J Gastroenterol Hepatol,2004,19:873-878.
- [2] Selmi C, Mayo MJ, Bach N, et al. Primary biliary cirrhosis in monozygotic and dizygotic twins: genetics, epigenetics, and environment[J]. Gastroenterology,2004,127:485-492.
- [3] Leung PS, Quan C, Park O, et al. Immunization with a xenobiotic 6-bromohexane bovine serum albumin conjugate induces antimitochondrial antibodies[J]. J Immunol,2003,170:5326-5332.
- [4] Kita H, Matsumura S, He XS, et al. Quantitative and functional analysis of PDC-E2 specific autoreactive cytotoxic T lymphocytes in primary biliary cirrhosis[J]. J Clin Invest,2002,109:1231-1240.
- [5] Kita H, Naidenko OV, Kronenberg M, et al. Quantitation and phenotypic analysis of natural killer T cells in primary biliary cirrhosis using a human CD1d tetramer[J]. Gastroenterology,2002,123:1031-1043.
- [6] Kamihira T, Shimoda S, Harada K, et al. Distinct costimulation dependent and independent autoreactive T-cell clones in primary biliary cirrhosis[J]. Gastroenterology,2003,125:1379-1387.
- [7] Macdonald P, Palmer J, Kirby JA, et al. Apoptosis as a mechanism for cell surface expression of the autoantigen pyruvate dehydrogenase complex[J]. Clin Exp Immunol,2004,136:559-567.
- [8] Odin JA, Huebert RC, Casciola RL, et al. Bcl-2-dependent oxidation of pyruvate dehydrogenase-E2, a primary biliary cirrhosis autoantigen, during apoptosis[J]. J Clin Invest,2001,108:223-232.
- [9] Pares A, Rodes J. Natural history of primary biliary cirrhosis[J]. Clin Liver Dis,2003,7:779-794.
- [10] Forton DM, Patel N, Prince M, et al. Fatigue and primary biliary cirrhosis: association of globus pallidus magnetisation transfer ratio measurements with fatigue severity and blood manganese levels[J]. Gut,2004,53:587-592.
- [11] Poupon RE, Chrétien Y, Chazouillères O, et al. Quality of life in patients with primary biliary cirrhosis[J]. Hepatology,2004,40:489-494.
- [12] Watt FE, James OF, Jones DE. Patterns of autoimmunity in primary biliary cirrhosis patients and their families: a population-based cohort study[J]. QJM,2004,97:397-406.
- [13] Kaplan MM, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis[J]. N Engl J Med,2005,353:1261-1273.
- [14] Worman HJ, Courvalin JC. Antinuclear antibodies specific for primary biliary cirrhosis[J]. Autoimmun Rev,2003,2:211-217.
- [15] Glud C, Christensen E. Ursodeoxycholic acid for primary biliary cirrhosis[J]. Cochrane Database Syst Rev,2002;CD000551.
- [16] Kaplan MM, Cheng S, Price LL, et al. A randomized controlled trial of colchicine plus ursodiol versus methotrexate plus ursodiol in primary biliary cirrhosis: ten-year results[J]. Hepatology,2004,39:915-923.
- [17] MacQuillan GC, Neuberger J. Liver transplantation for primary biliary cirrhosis[J]. Clin Liver Dis,2003,7:941-956.
- [18] Neuberger J. Liver transplantation for primary biliary cirrhosis: indications and risk of recurrence[J]. J Hepatol,2003,39:142-148.

收稿日期: 2008-02-20