

УДК 616.36-008.64-036.72-002.12

Иммунный гомеостаз и иммунные заболевания печени

В.Т. Ивашкин

(Кафедра пропедевтики внутренних болезней Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова)

Immunological homeostasis and immune diseases of liver

V.T. Ivashkin

Цель обзора. Осветить механизмы регуляции иммунного гомеостаза печени и патологических реакций, обуславливающих развитие аутоиммунных заболеваний.

Основные положения. Предрасположенность к заболеванию аутоиммунным гепатитом определяется носительством аллелей HLA-DR B1*0301 или HLA-DR B1*0401. У пациентов с аутоиммунным гепатитом при отсутствии лечения и в периоде обострения обнаруживается дефицит или функциональная недостаточность CD4⁺ CD25⁺ регуляторных Т-клеток. Th1-клетки индуцируют экспрессию молекул HLA класса I на гепатоцитах, что способствует повышению восприимчивости гепатоцитов к атакам со стороны цитотоксических CD8⁺ Т-клеток. Th2-клетки индуцируют продукцию аутоантител В-лимфоцитами. Th17-клетки участвуют в развитии воспаления и аутоиммунной реактивности.

В патогенезе первичного билиарного цирроза и первичного склерозирующего холангита могут участвовать врожденные или приобретенные дефекты экспрессии генов MDR3/ABCB4, CFTR, AE2/SLC4A2, кодирующих белки различных транспортных систем эпителия желчных протоков и канальцев. Эти генные изменения сопровождаются нарушением гидратации, алкализации и коллоидизации желчи, желчным тромбозом желчных канальцев, воспалительной Т-клеточной инфильтрацией, развитием холангиогенного фиброза и цирроза.

Ядерный фактор NF-κB представляет молекулярное звено, соединяющее воспалительные, иммунные, защитные и метаболические реакции, протекающие в печени; служит одним из ключевых факторов патогенетических механизмов, приводящих к развитию неалкогольного стеатогепатита и гепатоцеллюлярной карциномы у человека.

Заключение. Знание механизмов аутоиммунной патологии печени расширяет диагностические и клинические горизонты современного врача и дает ему новые лечебные методологии.

Ключевые слова: аутоиммунный гепатит, первичный билиарный цирроз, цитотоксические Т-лимфоциты, ядерный фактор NF-κB.

The aim of review. To present mechanisms of regulation of liver immunological homeostasis and pathological reactions causing autoimmune diseases.

Original positions. Predisposition to autoimmune hepatitis is determined by carriage of HLA-DR B1*0301 or HLA-DR B1*0401 alleles. Patients with autoimmune hepatitis receiving no treatment and relapse phase of disease have deficiency or the functional failure of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T-cells. Th1-cells induce expression of HLA class I molecules on hepatocytes that increases sensibility of hepatocytes to attacks of cytotoxic CD8⁺ T-cells. Th2-cells induce autoantibodies production by B-lymphocytes. Th17-cells are involved in development of inflammation and autoimmune reactivity.

Congenital or acquired defects of expression of MDR3/ABCB4, CFTR, AE2/SLC4A2, genes that encode proteins of various transport systems of bile duct and tubule epithelium can take part in pathogenesis of primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis. These genetic changes are accompanied by disorders of hydration, alkalinisation and colloidalisation of bile, biliary thrombosis of tubules, inflammatory T-cellular infiltration, development of cholangiogenic fibrosis and cirrhosis.

Nuclear factor NF-κB represents the molecular bond bridging inflammatory, immune, protective and metabolic reactions in the liver. It is one of the key factors of pathogenic mechanisms, resulting in development of non-alcoholic steatohepatitis and hepatocellular carcinoma.

Conclusion. Understanding of mechanisms of autoimmune liver disease broadens diagnostic and clinical horizons of modern doctor and yields new medical methodology.

Key words: autoimmune hepatitis, primary biliary cirrhosis, cytotoxic T-lymphocytes, nuclear factor NF-κB.

Аутоиммунный процесс в печени захватывает преимущественно паренхиму (при аутоиммунном гепатите) или портальные тракты, содержащие желчные протоки, — *первичный билиарный цирроз (ПБЦ), аутоиммунный холангит (АХ) и первичный склерозирующий холангит (ПСХ)*.

Вопрос о связи вирусной инфекции и аутоиммунной реактивности постоянно обсуждается в научной среде. Распространена точка зрения, что вирусы обладают способностью запускать и усиливать аутоиммунные процессы, поскольку могут инициировать воспаление. Экспериментальные данные позволяют обсуждать два возможных сценария. В первом случае вирусная инфекция специализированных клеток демаскирует эти клетки для иммунного распознавания, что облегчает их разрушение аутореактивными клетками (например, при сахарном диабете I типа стимулируется экспозиция молекул МНС класса I на поверхности β -клеток). При втором варианте на фоне текущего воспаления перекрестная реактивность между вирусными антигенами и аутоантигенами (обозначаемая как «молекулярная мимикрия») усиливает аутоиммунные процессы в органе-мишени.

Вместе с тем ряд авторов считает, что вирусные инфекции в большинстве случаев оказывают обратный эффект в отношении аутоиммунитета, т. е. предупреждают развитие аутоиммунных реакций [12]. Согласно этому предположению (обозначаемому как «гигиеническая гипотеза»), вирусные инфекции предупреждают (или предотвращают) развитие диабета I типа путем повышения активности *регуляторных Т-клеток* (Treg) или посредством стимуляции продукции PD1L и TNF- α , которые усиливают апоптоз аутоагрессивных Т-клеток. Оба эти процесса зависят от каскада реакций, инициируемых *толл-подобным рецептором 2* (TLR2). По мнению исследователей, системные инфекции выступают в роли регуляторов иммунной системы в целом и скорее предупреждают нежели вызывают аутоиммунные реакции, при условии, что эти инфекции не оказывают непосредственное влияние на органы-мишени, делая их более чувствительными для последующего иммунопатологического разрушения.

При рассмотрении более конкретных проблем гепатологии, в частности аутоиммунного гепатита, большинство исследователей сходится во мнении, что в образовании массивного воспалительного инфильтрата в печени, обнаруживаемого на момент установления диагноза, участвует мощный стимул неизвестной природы.

Аутоиммунный гепатит

Аутоиммунный гепатит (АИГ) представляет собой хроническое воспалительное заболевание

печени с распространенностью 1/10 000 в Европе и США; на его долю приходится 2–6% всех трансплантаций печени. АИГ диагностируется на основании повышенной активности *аланин-аминотрансферазы* (АлАТ), обнаружения в биоптате клеточного инфильтрата (лимфоциты и мононуклеары), наличия гипергаммаглобулинемии и аутоантител при отсутствии других заболеваний вирусной, токсической или метаболической природы. Внутривнутрипеченочный Т-клеточный инфильтрат представляет собой гистологический фундамент аутоиммунного гепатита и коррелирует с прогрессированием болезни [3]. Наиболее вероятно, что аутоантиген-специфические Т-клетки непосредственно участвуют в патогенезе заболевания. Каким бы ни был этот начальный стимул образования лимфоцитарного инфильтрата, в последующем большое число активированных клеток воспаления инициирует и поддерживает повреждение печени.

Аутоиммунная атака на гепатоциты может осуществляться различными способами. Полагают, что способностью запускать и управлять повреждением печени обладают CD4+ Т-лимфоциты, распознающие аутоиммунные пептиды на поверхности гепатоцитов. Для того чтобы инициировать иммунный ответ, пептид должен находиться в комплексе с молекулой HLA класса II на поверхности клетки и презентироваться некоммитированным (наивным) CD4+ Т-хелперным (Th0) клеткам профессиональными *антиген-презентирующими клетками* (APC) с ко-стимулирующими лиганд-лигандными CD28+ на Th0 и CD80+ на APC, усиливающими взаимодействие между этими двумя типами клеток [2]. Th0-клетки активируются и дифференцируются в функциональные фенотипы (Th1 и Th2) в зависимости от природы антигена и цитокинов, превалирующих в их микроокружении. Дальнейший каскад иммунных реакций определяется цитокинами, продуцируемыми Th1 и/или Th2-клетками (рис. 1).

Th1-клетки, обретающие свой фенотип под влиянием продуцируемого макрофагами *интерлейкина 12* (IL-12), секретируют преимущественно IL-2 и *интерферон-гамма* (IFN- γ). Указанные цитокины активируют макрофаги, увеличивают экспрессию молекул HLA класса I (это повышает чувствительность гепатоцитов по отношению к атакам со стороны CD8+ цитотоксических Т-клеток) и индуцируют экспрессию молекул HLA класса II на гепатоцитах. Th2-клетки, дифференцирующиеся из Th0 в микроокружении, содержащем IL-4, продуцируют преимущественно IL-4, IL-10 и IL-13, которые способствуют продукции аутоантител В-лимфоцитами.

В обычных физиологических условиях Th1 и Th2 выступают антагонистами по отношению друг к другу. Th17-клетки, недавно охарактеризованная популяция лимфоцитов [7, 19], обретают свой

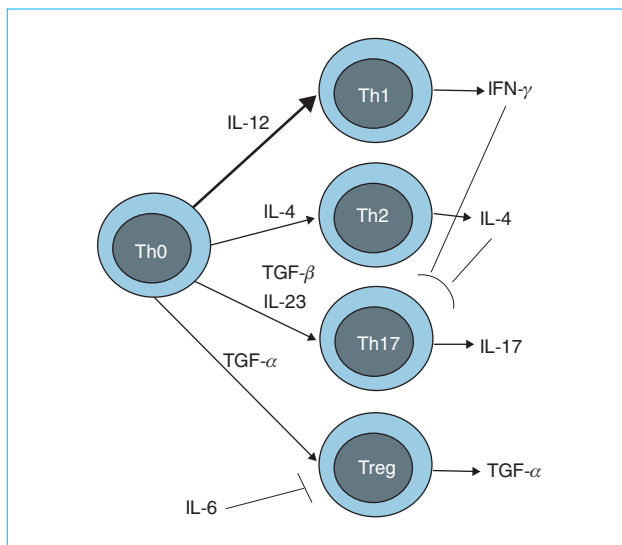


Рис. 1. Субпопуляции CD4+ Т-клеток

CD4 — антиген гликопротеиновой природы, который экспрессируется примерно на $\frac{2}{3}$ периферических Т-лимфоцитов. На этапе созревания клеток в тимусе CD4 экспрессируется всеми клетками, а в ходе их дифференцировки сохраняется только на субпопуляции, переставшей экспрессировать CD8-антиген.

Дифференцировка субпопуляций CD4+ Т-клеток — важный этап на пути формирования эффекторных функций. Тот или иной путь дифференцировки зависит от следующих факторов:

- место презентации антигена;
- ко-стимулирующие молекулы, участвующие в клеточном взаимодействии;
- APC и продуцируемые ими цитокины;
- цитокиновый профиль и баланс цитокинов при ответе на антиген;
- активность ко-стимулирующих молекул и гормонов, присутствующих в локальном микроокружении;
- генетические особенности организма

фенотип из Th0 при наличии в микроокружении *трансформирующего фактора бета* (TGF- β) и IL-6. Th17-клетки играют важную роль в развитии воспаления и аутоиммунной реактивности. Процесс распознавания аутоантигенов строго контролируется регуляторными механизмами, в частности CD4+ CD25+ регуляторными Т-клетками, которые, в свою очередь, дифференцируются из Th0 при наличии в микроокружении TGF- β , но обязательно в отсутствие IL-6. При развитии недостаточности регуляторных механизмов аутоиммунная атака приобретает длительное течение.

В последние три десятилетия были изучены различные аспекты изложенных патогенетических механизмов аутоиммунных процессов. Дефект иммунорегуляции вследствие недостаточности CD4+ CD25+ регуляторных Т-клеток продемонстрирован при аутоиммунном гепатите [16]. У нелеченных пациентов с АИГ (и при рецидиве заболевания) отмечаются функциональная недостаточность этих клеток или уменьшение их количества. По сравнению с другими заболеваниями наиболее изучены механизмы участия аутореак-

тивных клеток при АИГ 2-го типа. Знание того, что цитохром P4502D6 (CYP2D6) — главный аутоантиген при этом заболевании, позволило охарактеризовать как CD4, так и CD8 Т-клетки, для которых мишенью атаки служит CYP2D6. Показано, что у пациентов с АИГ 2-го типа CD4 Т-клетки, позитивные по предрасполагающему к заболеванию аллелю DRB1*0701, распознают семь областей CYP2D6, пять из которых, как обнаружилось позже, распознают и CD8 Т-клетки [9]. При аутоиммунном гепатите в биоптатах обнаруживается большое количество CD4 и CD8 Т-клеток, продуцирующих IFN- γ . Этот феномен сопряжен с биохимическими показателями повреждения печени — повышение активности *аспартатаминотрансферазы* (АсАТ), АлАТ и др., что указывает на комбинированную клеточно-опосредованную иммунную атаку. Недавно обнаружено наличие эпитопов Т-клеток на солубилизованном печеночном антигене, который служит мишенью для аутоиммунных реакций у части пациентов с АИГ.

Клональное ограничение популяции внутрипеченочных Т-клеток и факты, свидетельствующие, что аллели HLA DRB1*0301 и HLA DRB1*0401 предрасполагают к развитию АИГ и определяют тяжесть заболевания, способствовали возникновению гипотезы, в соответствии с которой внутрипеченочные CD4 Т-клетки распознают аутоантигены в неразрывной связи с HLA DRB1*0301 и HLA DRB1*0401. Однако, несмотря на значительные усилия, все еще остается неясным, какие иммунногенные белки распознаются при аутоиммунном гепатите CD4 Т-клетками, клонально обособленными посредством HLA DRB1*0301 и HLA DRB1*0401. В настоящее время этот вопрос изучается. Исследователи пытаются идентифицировать и охарактеризовать аутоантигенные белки в структуре человеческого АИГ — специализированного солубилизованного печеночного антигена/печеночно-панкреатического антигена, которые служат мишенями для CD4 Т-клеток и соседствуют с ограниченным геном предрасположенности к АИГ HLA DRB1*0301. Проводятся также исследования по созданию реагентов, которые позволили бы анализировать аутоантиген-специфические Т-клетки в крови у пациентов с АИГ [17].

Холестатические заболевания печени

Успехи в изучении этиопатогенеза первичного билиарного цирроза в значительной мере обусловлены получением строгих характеристик антимитохондриальных реакций, которые служат серологическим эквивалентом ПБЦ. Во-первых, достоверно установлено, что циркулирующие IgG и антимитохондриальные антитела (АМА)

распознают белки внутренней митохондриальной мембраны, которые представлены энзимами *пируват дегидрогеназного комплекса* (PDC) и 2-оксоглутарат дегидрогеназного комплекса. Главным антигеном при ПБЦ (найден у 90% пациентов) выступает дигидролипоамид ацетилтрансфераза, представляющая E2 компонент PDC. *Во-вторых*, аутореактивные CD4+ и CD8+ Т-клетки обнаруживаются в периферической крови пациентов с ПБЦ независимо от наличия или отсутствия АМА, а инфильтрация аутореактивными Т-клетками паренхимы печени и перидуктулярных пространств служит одной из главных характеристик аутоиммунного статуса. Аутореактивные Т-клетки обоих субтипов распознают последовательности PDC — E2, в том числе эпитопы для антимитохондриальных антител. Установлено увеличение числа предшественников цитотоксических Т-клеток на ранних стадиях болезни по сравнению с их числом в развернутых стадиях, а также десятикратное повышение специфических CD8+ Т-клеток в печени по сравнению с их содержанием в периферической крови. *В-третьих*, обнаружено уменьшение числа CD4+ CD25+ регуляторных Т-клеток при ПБЦ. *В-четвертых*, клетки желчных канальцев в ходе течения ПБЦ демонстрируют специфические особенности при апоптозе. В частности, клетки, находящиеся в апоптозе, фагоцитируются билиарными эпителиальными клетками и становятся источником аутоантигенов, представляемых холангиоцитами, наиболее вероятно посредством анти-CD16. Таким образом, становятся более понятными значение и связь апоптоза и аутофагии, осуществляемых холангиоцитами при ПБЦ. *В-пятых*, более детально охарактеризован иннатный (врожденный) иммунитет при ПБЦ; например, показано, что моноциты пациентов с ПБЦ продуцируют повышенные количества провоспалительных цитокинов в ответ на стимуляцию различными патогенами. Стало очевидным, что высокое содержание IgM, обычно обнаруживаемое при ПБЦ, служит отражением aberrантного ответа иннатной иммунной системы вследствие стимуляции TLR9 макрофагов бактериальным компонентом CpG-B [11].

Предрасположенность женщин к ПБЦ служит важным ключом к расшифровке этиологии заболевания. Х-сцепленные гены определяют половые характеристики на различных уровнях и одновременно регулируют иммунную функцию, в особенности поддержание толерантности. Большие дефекты Х-хромосомы, обуславливающие, например, развитие синдрома Тернера или раннюю недостаточность яичников, обычно сочетаются с аутоиммунными синдромами (наиболее часто с патологией щитовидной железы), реже с холестазом. Установлено, что у женщин с ПБЦ обнаруживается более высокая частота моносомии Х-хромосомы в лейкоцитах периферической

крови, особенно в клетках приобретенного (адаптивного) иммунитета, т. е. в Т- и В-лимфоцитах. Частота моносомии коррелирует с возрастом.

Дальнейшее углубление наших представлений о патогенезе хронических холангиопатий (таких как ПСХ и ПБЦ), а также развитие новых диагностических, прогностических и терапевтических методологий зависит от наличия легко воспроизводимых экспериментальных моделей [10, 18]. Исследователи до настоящего времени не располагают экспериментальной моделью, которая в полном объеме воспроизводила бы ПСХ. Индукция у животных синдрома ПСХ компонентами бактериальных клеток или предшествующей инициацией колита помогает объяснить сильную связь между ПСХ и воспалительными заболеваниями кишечника. Другие модели базируются на прямом повреждающем воздействии на билиарный эпителий, перибилиарный сосудистый эндотелий или на эндотелий портальной венозной сети. Гистологические изменения, обнаруживаемые при этом у экспериментальных животных, указывают на определенное значение CD4 и CD8 Т-клеток с фенотипом Th1, которые инфильтрируют портальные тракты под влиянием цитокинов, секретируемых макрофагами печени. В ряде случаев процесс характеризуется появлением *антинейтрофильных цитоплазматических антител* (ANCA).

При направленном выключении у мышей гена *Mdr2*, кодирующего каналикулярную фосфолипидную флиппазу (транспортёр фосфолипидов), склерозирующий холангит развивается спонтанно; при этом обнаруживаются макроскопические и микроскопические изменения, которые идентичны таковым у человека при ПСХ [4]. Повреждение билиарных трактов в этой модели сцеплено с нарушением секреции фосфолипидов через апикальную мембрану канальцев. Далее регистрируется определенная последовательность изменений: повышение концентрации свободных, не включенных в мицеллы, желчных кислот в желчи и повреждение этими кислотами эпителия желчных протоков, затем развитие перихолангита, перидуктулярного фиброза и пролиферации желчных протоков и, наконец, склерозирующего холангита. Целесообразно отметить, что спектр генной экспрессии, регистрируемый на мышинной модели *Mdr2*^{-/-}, существенно близок генному спектру, экспрессируемому пациентами с ПСХ.

По аналогии с указанной *Mdr2*^{-/-} моделью склерозирующего холангита, дефекты в экспрессии генов *MDR3/ABCB4* (человеческий аналог мышинной модели *Mdr2/Abcb4*) могут иметь существенное значение в патогенезе различных холангиопатий у человека [4]. В частности, врожденные дефекты экспрессии *MDR3* (протеина, обеспечивающего транспорт фосфолипидов из гепатоцитов) сопровождаются повреждением

желчных протоков и развитием различных клинических синдромов начиная с прогрессирующего семейного холестаза 3-го субтипа (PFIC-3) у детей и билиарного фиброза/цирроза у взрослых. Более того, феномен снижения канальцевого транспорта фосфолипидов относительно канальцевой экспрессии желчных кислот обнаруживается в клинических условиях в печеночных трансплантатах при развитии признаков повреждения желчных протоков; в этих ситуациях генные мутации/полиморфизм MDR3 могут непосредственно определять патогенез различных холангиопатий, таких как ПСХ, ПБЦ и идиопатическая дуктопатия/фиброз взрослых. Можно заключить, что независимо от любой предполагаемой причины склерозирующего холангита мышинная *Mdr2*^{-/-} модель может служить ключевой экспериментальной моделью, поскольку дает возможность надежного воспроизведения общих конечных путей повреждения желчных протоков и развития перибилиарного фиброза, а также позволяет оценивать новые терапевтические подходы, в частности применение 24-норурсодезоксихолевой кислоты [5].

Другим примером транспортного дефекта, сопряженного со склерозирующим холангитом, служит кистозный фиброз (муковисцидоз). Такая ассоциация обусловлена мутациями гена — регулятора трансмембранной проводимости кистозного фиброза (CFTR/ABCC7), что сопровождается выключением транспорта Cl⁻, нарушением гидратации и алкализации желчи, желчным тромбозом желчных канальцев, их повреждением и развитием склерозирующего холангита у 7–18% взрослых пациентов, страдающих кистозным фиброзом. Мышинная модель *Cftr*^{-/-} позволяет воспроизводить прогрессирующее заболевание печени с признаками гепатостеатоза, очагового холангита, нарушенной желчной секреции, пролиферации желчных канальцев и трансформации до очагового билиарного цирроза в течение одного года. Индукция колита у *Cftr*^{-/-}-мышей углубляет повреждение желчных протоков. Воспалительная реакция в кишечнике может повреждать экспрессию гена *Cftr* посредством нарушения экспрессии гена *PPARα*, который также вовлечен в регуляцию транскрипции *Mdr2*. Эти данные позволяют предполагать, что пациенты с хроническими воспалительными заболеваниями кишечника (болезнь Крона, неспецифический язвенный колит), если они относятся к гетерозиготным носителям мутаций CFTR, несут повышенный риск развития ПСХ.

Ксенобиотики и лекарства также могут повреждать билиарные протоки и вызывать билиарный фиброз. Токсические лекарственные метаболиты, экскретируемые в желчь, приводят к развитию лекарственно-индуцированного синдрома исчезновения желчных протоков и последующе-

му билиарному циррозу печени. Скармливание животным 3,5-диэтоксикарбонил-1,4-дигидрохоллидина сопровождается повышением желчной секреции порфирина и индукцией экспрессии холангиоцитами молекул VCAM, остеопонтина и TNF-α. Этот феномен сопряжен с развитием массивного перихолангита и значительным увеличением числа CD11b-позитивных клеток, дуктальной клеточной инфильтрацией и активацией перидуктальных миофибробластов, развитием билиарного фиброза. Литохолевая кислота, будучи высокогидрофобной и токсичной сама по себе, вызывает повреждение билиарных трактов. Включение в рацион мышей литохолевой кислоты сопровождается сегментарной обструкцией желчных протоков, деструктивным холангитом и перидуктулярным фиброзом. На ультраструктурном уровне нередко обнаруживают обструкцию малых желчных протоков кристаллами желчи, что указывает на ведущую роль механического повреждения/обструкции малых протоков в развитии выраженных холестатических синдромов.

В настоящее время исследователи изучают несколько спонтанных геномных вариантов, не требующих предварительного нарушения иммунотолерантности к E2-протеину (пируват дегидрогеназы) мышинных моделей ПБЦ: не тучной диабетической мыши (NODc3c4; non obese diabetic), IL-2Rα^{-/-}-мыши, доминантно негативной по рецептору II TGF-β мыши (dnTGFβRII) и Ae2a,b-мыши. Общей чертой всех «спонтанных» мышинных моделей ПБЦ служит относительное уменьшение числа циркулирующих Treg, что позволяет предполагать ключевую роль нарушения функции регуляторных Т-клеток в патогенезе аутоиммунных заболеваний, таких как ПБЦ, вследствие потери аутоотолерантности. Помимо этого NODc3c4-мыши воспроизводят аутоиммунный холестаз с высокими уровнями антимитохондриальных и *антинуклеарных антител* (ANA). При гистологическом исследовании обнаруживаются лимфоцитарная инфильтрация портальных трактов, хронический негнойный холангит и ПБЦ-подобные гранулемы.

АХ на модели dnTGFβRII-мыши манифестирует появлением антимитохондриальных антител в 100% случаев. Рецептор II TGF-β участвует в регуляции функциональной активности лимфоцитов. На модели аутоиммунного холангита IL-2Rα^{-/-}-мыши во всех случаях удается воспроизводить появление ANA и AMA, лимфоцитарную инфильтрацию портальных трактов и снижение числа желчных канальцев. Модель Ae2a,b-мыши позволяет воспроизводить иммунологические, биохимические и гепатобилиарные морфологические изменения, весьма близкие тем, которые наблюдаются у пациентов с ПБЦ [14]. Установлено, что вследствие гиперплазии CD8⁺ и снижения числа природных регуляторных Т-кле-

ток (Treg) у большинства животных спонтанно повышаются уровни IgG, IgM и АМА. Полагают, что дефицит молекул AE2 на клеточной мембране иммуноцитов и холангиоцитов сопровождается нарушением регуляции внутриклеточного pH соответственно в иммуноцитах и холангиоцитах и ведет к характерным иммунологическим и гепатобилиарным изменениям, которые наблюдаются также и у пациентов с ПБЦ. Следует отметить, что аллельные варианты AE2 (SLC4A2) — гена, кодирующего белок-переносчик анионов $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ (anion exchange, AE) на апикальной мембране гепатоцитов и холангиоцитов, могут у некоторой подгруппы пациентов с ПБЦ определять предрасположенность к заболеванию, его прогрессирование и ответ на проводимую терапию. В ряде работ найдено снижение экспрессии и функции AE2 ($\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ белок-переносчик) при ПБЦ, что может лежать в основе уменьшения скорости оттока желчи и развития холестаза. Более того, снижение экспрессии AE2 в эпителии слюнных и слезных желез может объяснить встречающуюся ассоциацию с «сухим» синдромом у этих пациентов и указывает на возможность генерализованной «гlandулярной недостаточности» при ПБЦ. *Урсодезоксихолевая кислота* (УДХК) восстанавливает нарушенную функцию AE2 у пациентов с ПБЦ, и недавно полученные данные подтверждают, что комбинированное применение УДХК и глюкoкортикоидов синергично активизирует промотор AE2.

В отличие от определенных успехов, достигнутых в понимании патогенеза ПБЦ, патогенез первичного склерозирующего холангита остается во многом загадкой. ПСХ часто относят к аутоиммунным процессам. Однако для него не характерны типичные критерии аутоиммунного заболевания, такие как женский пол и отчетливый положительный ответ на иммуносупрессивную терапию. Вместе с тем целый ряд фактов свидетельствует о том, что в патогенезе ПСХ заметную роль играют иммуноопосредованные реакции: лимфоцитарные инфильтраты портальных трактов, аутоантитела к эпителиальным билиарным клеткам, повышение уровня гамма-глобулинов, наличие атипичных p-ANCA у 80% пациентов и частые ассоциации с другими аутоиммунными болезнями [6]. Наиболее впечатляющей клинической особенностью патогенеза ПСХ служит ассоциация с воспалительными заболеваниями кишечника, главным образом с язвенным колитом (более чем у 70% пациентов). Полагают, что бактерии или бактериальные продукты через нарушенный кишечный эпителиальный барьер могут поступать в портальный кровоток и печень, тем самым инициируя портальное воспаление у предрасположенных лиц. Генетическая основа ПСХ представляется достаточно сложной. Найдено несколько ассоциаций с генами регионов

МНС и MHC. Следовательно, существенными звеньями патогенеза могут выступать измененные иммунные реакции против микробных продуктов, нарушенная иммунная защита против проникающих в печень бактерий.

При ПСХ печень и кишка могут экспрессировать одинаковые хемокины и адгезивные молекулы, что позволяет кишечным Т-клеткам мигрировать в печень и поступать в портальные тракты. Реактивация кишечных Т-клеток памяти может объяснять тот факт, что ПСХ может развиваться у пациентов через годы после удаления сегментов воспаленной кишки. На экспериментальных моделях животных показано, что в патогенез ПСХ могут быть вовлечены транспортеры апикальной мембраны эпителиоцитов печени, в частности MDR3/ABCB4. Между тем до настоящего времени отсутствуют сведения о цитокинах, участвующих в развитии перибилиарного фиброза, так же как и о потенциальных дефектах в иммунной регуляции, в том числе со стороны регуляторных Т-клеток. Нуждается в дальнейшей разработке и патогенез вариантных форм ПСХ, ПСХ малых протоков, IgG4 ассоциированного склерозирующего холангита, детского аутоиммунного склерозирующего холангита и синдрома перекреста ПСХ и аутоиммунного гепатита.

Сигнальные пути и патология печени

Современное состояние гепатологии требует от клинициста понимания ряда ключевых путей регуляции прохождения внутриклеточных сигналов. В их число входит и NF- κ B (Nuclear Factor), участвующий в регуляции транскрипции большого числа генов, вовлеченных в контроль над иммунными и воспалительными реакциями, в гибели и пролиферации клеток. Именно вследствие фундаментальной роли NF- κ B в клеточных реакциях на инфекцию, повреждение и другие патогенные воздействия активация данного фактора представляется ключевой составляющей в патогенезе значительного числа заболеваний, включая воспалительные, дегенеративные и рак. Активированный NF- κ B инициирует воспаление и тканевые повреждения посредством индукции экспрессии провоспалительных медиаторов и эффекторных молекул, однако этот же фактор защищает клетки от цитокин-индуцированной смерти посредством регуляции генов, обеспечивающих антиапоптотическую и антиоксидантную функции. Суммарный эффект активации NF- κ B в патогенезе заболевания, вероятно, определяется соотношением обоих видов активности и может иметь разное значение в разных типах клеток и тканей (рис. 2).

Активацию NF- κ B осуществляет I κ B-киназа (IKK), которая состоит из двух каталитических

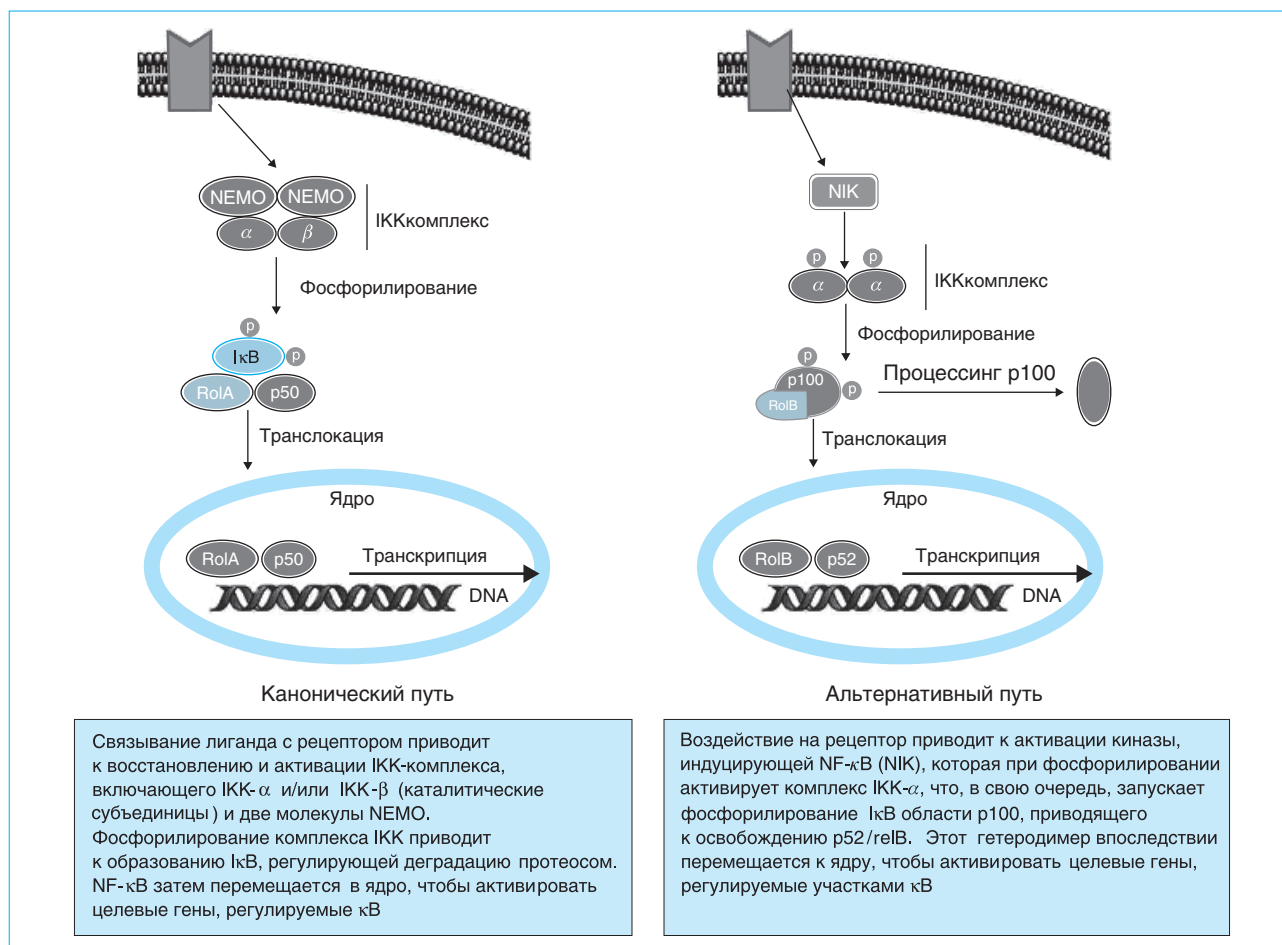


Рис. 2. Активация NF- κ B

субъединиц — IKK1 (IKK- α) и IKK2 (IKK- β) и регуляторной субъединицы IKK- γ , или NEMO (NF- κ B Essential Modulator). Большая часть индуцирующих стимулов, вызываемых NF- κ B, активирует «каноническую» регуляторную последовательность, которая зависит от IKK2 и NEMO и способствует деградации I κ B- α и активации транскрипции димеров NF- κ B, содержащих p50, p65 и c-rel. IKK1 требуется для активации NF- κ B на «альтернативном» пути, который включает процессинг p100 рецепторов LT β -R и BAFF-R, и далее для генной экспрессии посредством p52/relB. Отмечено, что IKK1 и IKK2 обычно демонстрируют определенную функциональную избыточность при активации NF- κ B-зависимых ответов на провоспалительные сигналы, и это может определяться типом исследуемых клеток и характером стимулов.

В печени NF- κ B участвует в регуляции воспалительных и метаболических реакций, а также в канцерогенезе. Показано [13], что выключение IKK1 или IKK2 в печеночных паренхиматозных клетках сопровождается частичным ингибированием канонической NF- κ B-зависимой сигнальной последовательности и не повышает готовность печеночных клеток к TNF-опосредуемому апо-

птозу. Однако выключение NEMO или комбинированное выключение как IKK1, так и IKK2 сопровождается полной блокадой канонической NF- κ B-зависимой внутриклеточной сигнальной системы и повышением готовности гепатоцитов к эндотоксин/TNF-индуцируемому апоптозу. Далее выключение в гепатоцитах p65/relA также повышает восприимчивость печени по отношению к эндотоксин/TNF-индуцируемому апоптозу. Эти данные указывают на то, что ингибирование канонической NF- κ B-зависимой внутриклеточной сигнализации ниже определенного порога повышает чувствительность печени к LPS/TNF-индуцируемому апоптозу. При этом становится очевидным, что IKK1 и IKK2 с избытком перекрывают друг друга в опосредовании канонической активации NF- κ B и защите гепатоцитов от TNF-индуцируемого повреждения.

Изолированное выключение IKK1, IKK2 или p65/relA в паренхиме не сопровождается спонтанным развитием патологии печени. Однако комбинированное выключение IKK1 и IKK2 в печеночной паренхиме сочетается со спонтанным развитием тяжелой холестатической болезни печени, обусловленной воспалительной деструкцией малых портальных желчных протоков. Мыши с

комбинированным выключением NEMO и IKK1 в печеночных паренхиматозных клетках также спонтанно заболевают тяжелой холестатической болезнью печени, сходной по своим проявлениям с таковой при комбинированном печеночно-специфическом выключении IKK1/IKK2. В целом указанные данные позволяют считать, что комбинированное ингибирование канонического NF- κ B-сигнального пути и IKK1-специфических функций повышает готовность печени к спонтанной воспалительной деструкции внутрипеченочных желчных протоков и развитию холестатической болезни [13].

Вместе с тем выключение NEMO в печеночных паренхиматозных клетках вызывает у мышей спонтанное развитие *гепатоцеллюлярной карциномы* (ГЦК). Появлению опухоли предшествует развитие хронического заболевания печени, напоминающего неалкогольный стеатогепатит человека. Результаты терапии антиоксидантами и генетического выключения FADD у мышей этой модели указывают на то, что патогенез ГЦК включает повреждение дефицитных по NEMO гепатоцитов, которое обусловлено активацией рецепторов гибели и оксидативным стрессом. Отсюда следует, что NEMO-опосредуемая активация NF- κ B в гепатоцитах выполняет существенную физиологическую функцию по предупреждению спонтанного развития стеатогепатита и ГЦК. Дополнительно эти факты позволяют предположить, что NF- κ B может представлять молекулярное звено, соединяющее воспалительные, защитные и метаболические реакции в печени, а также служить одним из клеточных факторов патогенетических механизмов, сопрягающих неалкогольный стеатогепатит и гепатоцеллюлярную карциному у человека.

Заключение

При аутоиммунном гепатите повреждение печени инициируют CD4⁺ Т-клетки, распознающие аутоантигенные пептиды на поверхности гепатоцитов. Первоначально аутоантигенные пептиды интернализуются профессиональными антигенпрезентирующими клетками (макрофаги, дендритные клетки) по механизму рецепторопосредуемого эндоцитоза и проходят стадию процессинга. Затем аутоантигенный эпитоп в комплексе с молекулами МНС класса II презентруется некоммитированным (наивным) CD4⁺ Т-хелперным (Th0) клеткам. Активированные Th0-клетки дифференцируются в функциональные фенотипы Th1 и Th2 при наличии в микроокружении IL-12 и IL-18 для Th1 и IL-4 для Th2-клеток. Th1-клетки секретируют преимущественно IL-2 и IFN- γ и тем самым повышают экспрессию молекул HLA класса I на гепатоцитах (это увеличивает чувствительность гепатоцитов по отношению к атакам

со стороны CD8⁺ цитотоксических Т-клеток) и экспрессию молекул HLA класса II на антигенпрезентирующих клетках и на гепатоцитах, что расширяет масштаб активации Th0-клеток. Th-2-клетки продуцируют преимущественно IL-4, IL-10 и IL-13, которые благоприятствуют продукции аутоантител В-лимфоцитами. Th-17-клетки играют важную роль в развитии воспаления и аутоиммунной реактивности. Процесс распознавания аутоантигенов строго контролируется регуляторными механизмами, в частности CD4⁺ CD25⁺ регуляторными Т-клетками, которые дифференцируются из Th0-клеток при наличии в микроокружении TGF- β . Дефект иммунорегуляции вследствие дефицита или функциональной недостаточности CD4⁺ CD25⁺ регуляторных Т-клеток обнаружен у нелеченных больных аутоиммунным гепатитом и в период обострения заболевания. Обладатели аллелей HLA-DRB1*0301 и HLA-DRB1*0401 предрасположены к развитию аутоиммунного гепатита.

При первичном билиарном циррозе эпитопами для антимитохондриальных антител класса IgG служат протеины внутренней митохондриальной мембраны, которые представлены энзимами пируват дегидрогеназного комплекса. Основным антигеном при ПБЦ (обнаруживается у 90% пациентов) выступает дигидролипамид ацилтрансфераза (Е2-компонент пируват дегидрогеназного комплекса). Аутореактивные CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетки обнаруживаются у пациентов с ПБЦ независимо от наличия или отсутствия антимитохондриальных антител, а инфильтрация аутореактивными Т-клетками паренхимы и перидуктулярных пространств печени является важнейшей характеристикой аутоиммунного статуса у больных ПБЦ. Одним из ключевых факторов патогенеза ПБЦ служит снижение популяции CD4⁺ CD25⁺ природных регуляторных Т-клеток. Холангиоциты, подвергающиеся апоптозу, фагоцитируются не только макрофагами, но и соседними холангиоцитами и становятся источником аутоантигенов, представляемых аутофагами на своей мембране в комплексе с молекулами HLA клеток класса I, что превращает их в объект атаки аутореактивными цитотоксическими CD8⁺ Т-клетками.

Антигенпрезентирующие клетки иннатной (врожденной) иммунной системы при ПБЦ продуцируют повышенные количества провоспалительных цитокинов. Повышенное содержание IgM при ПБЦ отражает чрезмерную активацию макрофагов/дендритных клеток консервативным бактериальным компонентом CpG-B, который служит лигандом толл-подобного рецептора 9. Врожденные или приобретенные дефекты экспрессии MDR3/ABCB4 (кодирующего транспортер фосфолипидов на каналикулярной мембране гепатоцитов), гена CFTR (кодирующего Cl⁻-транспортер эпителиальных клеток печени,

поджелудочной железы, слюнных и бронхиальных желез), гена AE2/SLC4A2 (кодирующего $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ -обменник на каналикулярной мембране холангиоцитов) и ряда других генов способствуют застою желчи, повреждению желчных канальцев, развитию воспалительной клеточной инфильтрации и запуску аутоиммунных механизмов повреждения.

Ядерный фактор NF- κ B участвует в печени в регуляции воспалительных и метаболических реакций, а также в патогенезе гепатоцеллюлярной карциномы. Ингибирование канонической NF- κ B-зависимой внутриклеточной сигнализации ниже определенного порога повышает чувстви-

тельность печени к LPS/TNF-индуцируемому апоптозу. Комбинированное выключение в эксперименте регуляторных субъединиц IKK1 и IKK2 в печеночной паренхиме сопровождается спонтанным развитием тяжелой холестатической болезни, обусловленной воспалительной деструкцией малых портальных желчных протоков. NF- κ B может представлять молекулярное звено, соединяющее воспалительные, защитные и метаболические реакции в печени, а также служить одним из ключевых факторов патогенетических механизмов, сопрягающих неалкогольный стеатогепатит и гепатоцеллюлярную карциному у человека.

Список литературы

1. Ивашкин В.Т. Механизмы иммунной толерантности и патологии печени // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. — 2009. — Т. 19, № 2. — С. 8–13.
2. Ивашкин В.Т. Основные понятия и положения фундаментальной иммунологии // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. — 2008. — Т. 18, № 4. — С. 4–13.
3. Ивашкин В.Т., Буверов А.О. Аутоиммунные заболевания печени в практике клинициста. — М.: Изд. дом «М-Вести», 2001. — 102 с.
4. Chuang Y.H., Ridgway W.M., Ueno Y., Gershwin M.E. Animal models of primary biliary cirrhosis // Clin. Liver Dis. — 2008. — Vol. 12, N 2. — P. 333–347.
5. Fickert P., Wagner M., Marschall H.U. et al. 24-norUrsodeoxycholic acid is superior to ursodeoxycholic acid in the treatment of sclerosing cholangitis in Mdr2(Abcb4) Knockout mice // Gastroenterology. — 2006. — Vol. 130, N 2. — P. 465–481.
6. Gershwin M. The etiopathogenesis of primary biliary cirrhosis. Abstracts: Monothematic Conference: Immune Mediated Liver Injury. — Hamburg, Germany, December 4–6, 2008. — P. 47.
7. von Herrath M., Filippi C., Christen U. Viral infections and autoimmunity. Abstracts: Monothematic Conference: Immune Mediated Liver Injury. — Hamburg, Germany, December 4–6, 2008. — P. 42.
8. Longhi M.S., Hussain M.J., Bogdanos D.P. et al. Cytochrome P450IID6 — specific effector CD8 T-cell immune responses mirror disease activity in autoimmune hepatitis type 2 // Hepatology. — 2007. — Vol. 46. — P. 472–484.
9. Longhi M.S., Hussain M.J., Mitry R.R. et al. Functional study of CD4+CD25+ regulatory T cells in health and autoimmune hepatitis // J. Immunol. — 2006. — Vol. 176. — P. 4484–4491.
10. Ma Y., Bogdanos D.P., Hussain M.J. et al. Polyclonal T cell responses to cytochrome P450IID6 are associated with disease activity in autoimmune hepatitis type 2 // Gastroenterology. — 2006. — Vol. 130. — P. 868–882.
11. Mix H., Weiler-Norman C., Thimme R. et al. Antigen-specific T cells in autoimmune hepatitis. Abstracts: Monothematic Conference: Immune Mediated Liver Injury. — Hamburg, Germany, December 4–6, 2008. — P. 45.
12. Monothematic Conference: Immune Mediated Liver Injury. — Hamburg, Germany, December 4–6. — 2008.
13. Pasparakis M. NF- κ B: liver injury and cancer. Abstracts: Monothematic Conference: Immune Mediated Liver Injury. — Hamburg, Germany, December 4–6, 2008. — P. 51.
14. Salas J.T., Banales J.M., Sarvide S. et al. Ae2a,b — deficient mice develop antimitochondrial antibodies and other features resembling primary biliary cirrhosis // Gastroenterology. — 2008. — Vol. 134, N 5. — P. 1482–1493.
15. Schramm C. PSC pathogenesis. Abstracts: Monothematic Conference: Immune Mediated Liver Injury. — Hamburg, Germany, December 4–6, 2008. — P. 50.
16. Steinman L. A brief history of T(H)17, the first major revision in the T(H)1/T(H)2 hypothesis of T cell — mediated tissue damage // Nat. Med. — 2007. — Vol. 13. — P. 139–145.
17. Trauner M., Fickert P., Wagner M. MDR3 (ABCB4) defects: a paradigm for the genetics of adult cholestatic syndromes // Semin. Liver Dis. — 2007. — Vol. 27, N 1. — P. 77–98.
18. Ueno Y., Moritoki Y., Shimosegawa T., Gershwin M.E. Primary biliary cirrhosis: what we know and we want to know about human PBC and spontaneous PBC mouse model // J. Gastroenterol. — 2007. — Vol. 42, N 3. — P. 189–195.
19. Weaver C.T., Harrington L.E., Morgan R.P. et al. Th17: an effector CD4 T cells lineage with regulatory T cells ties // Immunity. — 2006. — Vol. 24. — P. 677–678.