DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2022.05.005

IL-16 在 Con A 诱导小鼠自身免疫性肝损伤发生发展中的作用*

李春霞　李晨语　于文沛　马　群　熊化保△
(济宁医学院免疫学与分子医学研究所,济宁 272067)

摘　要　目的　探讨 IL-16 在 Con A 诱导的小鼠自身免疫性肝损伤发生发展中的作用及其机制。**方法**　将 C57BL/6 小鼠(WT)及 IL-16 敲除(IL-16$^{-/-}$)小鼠分别随机分为 WT-control 组、IL-16$^{-/-}$-control 组、WT-Con A 组和 IL-16$^{-/-}$-Con A 组。Con A 组给予尾静脉注射刀豆球蛋白 A(concanavalin A, Con A),建立自身免疫性肝损伤模型,control 组尾静脉注射相同体积的磷酸缓冲盐溶液(PBS)。ELISA、实时定量 PCR 及免疫组化检测各组血清及肝组织 IL-16 的表达;IL-16$^{-/-}$小鼠造模后,观察肝损伤小鼠的生存率,检测血清中转氨酶及炎性因子的水平,HE 染色及 TUNEL 分析肝组织病理,流式细胞术检测肝、脾组织中髓源性抑制细胞(MDSCs)的比例。取 WT 小鼠(WT 组)及 IL-16$^{-/-}$小鼠(IL-16$^{-/-}$组)股骨及胫骨,体外诱导 MDSCs,流式细胞术分析 MDSCs 比例,实时定量 PCR 检测 MDSCs 免疫抑制相关因子诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、精氨酸酶 1(Arg-1)的 mRNA 水平。**结果**　与 WT-control 组相比,WT-Con A 组小鼠血清及肝组织中 IL-16 表达明显增加(均 $P<0.001$)。与 WT-Con A 组相比,IL-16$^{-/-}$-Con A 组小鼠生存率明显提高($P<0.05$);血清中 ALT、AST 及 IL-6、IL-12、TNF-α 炎性因子的水平明显降低(均 $P<0.05$);肝组织损伤减轻,肝细胞凋亡减少;肝、脾组织中 MDSCs 的募集增加(均 $P<0.05$)。体外实验发现,与 WT 组相比,IL-16$^{-/-}$组来源诱导的 MDSCs 比例及 iNOS 的表达明显增加(均 $P<0.05$)。**结论**　IL-16 可通过下调 MDSCs 的募集加重 Con A 诱导的肝损伤。

关键词　白细胞介素 16;Con A;免疫性肝损伤;髓源性抑制细胞
中图分类号:R392　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1000-9760(2022)10-328-07

The role of IL-16 in the development of Con A-induced autoimmune liver injury in mice

LI Chunxia, LI Chenyu, YU Wenpei, MA Qun, XIONG Huabao△
(*Immunology and Molecular Medicine Institute, Jining Medical University, Jining* 272067, *China*

Abstract: ***Objective***　To investigate the effect of IL-16 in the development of Con A-induced autoimmune liver injury and explore its mechanism. ***Methods***　C57BL/6 mice(WT) and IL-16 knockout(IL-16$^{-/-}$) mice were randomly divided into four groups: WT-control, IL-16$^{-/-}$-control, WT-Con A, and IL-16$^{-/-}$-Con Arespectively. Con A groups were injected with Con Aby the tail vein, and the control groupswere injected with the same volume of PBS. ELISA, real-time quantitative PCR, and immunohistochemistry were used to detect the expression of IL-16. Afterliver injury mold created by IL-16$^{-/-}$mice, the survival rate of the mice was observed, the levels of transaminases and inflammatory factors in serum were tested, the pathology of liver tissue was analyzed by HE staining and TUNEL, and the proportion of MDSCs in liver and spleen was detected by flow cytometry. The femur and tibia of WT mice and IL-16-/-mice were taken to induce MDSCs in vitro. The proportion of MDSCs was analyzed by flow cytometry. The level mRNA ofiNOS and Arg-1was tested by qPCR. ***Results***　The expression of IL-16 was increased in serum and liver tissue of Con A-induced autoimmune liver in-

*[基金项目]山东省自然科学基金(ZR2020MH163);山东省医药卫生科技发展计划项目(2019WS356);济宁医学院大学生创新训练计划项目(cx2022071z)
△[通信作者]熊化保,医学博士,教授,博士研究生导师,山东省泰山学者特聘专家,E-mail:xionghbl@yahoo.com

jury mice. Knockdown of IL-16 can improve the survival rate of mice, reduce the levels of ALT, AST, IL-6, IL-12, and TNF-α in serum, improve liver tissue damage, reduce liver cell apoptosis, and increase the accumulation of MDSCs in liver and spleen. In vitro experiments shows, the ratio of MDSCs and the expression of iNOS fromIL-16$^{-/-}$-mice were increased. ***Conclusion*** IL-16 aggravates Con A-induced liver injury by downregulatingthe accumulation of MDSCs.

Keywords: Interleukin-16; Con A; Immune liver injury; Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs)

肝脏是人体重要的免疫器官，含有多种天然免疫细胞及适应性免疫细胞。免疫介导的肝损伤因其免疫细胞失衡、炎性因子的过表达可导致肝细胞或肝组织受损，进而引发急性肝衰竭、慢性肝炎、肝纤维化的发生[1-2]。髓源性抑制细胞（myeloid-derived suppressor cells，MDSCs）是由骨髓祖细胞和不成熟的髓系细胞组成的异质性细胞群，可通过表达和分泌免疫抑制相关因子发挥强有力的免疫抑制作用，如诱导型一氧化氮合酶（inducible nitric oxide synthase，iNOS）、精氨酸酶-1（arginase 1，Arg-1）等[3-4]，MDSCs 在肝脏中的积累可减轻肝损伤[5-6]。白细胞介素 16（interleukin-16，IL-16）作为多种细胞分泌的炎性因子，广泛参与机体的炎症反应，并与哮喘、肠炎、系统性硬化症、心脏损伤等疾病密切相关[7-10]，而 IL-16 是否参与肝损伤未见报道。Con A 作为 T 细胞分裂原，能够引发免疫兴奋和炎症刺激，其引起的病理改变与肝细胞损伤的病理生理过程类似，故 Con A 诱导的小鼠肝损伤是较为理想的免疫肝损伤动物模型[11-12]。本课题借助于 IL-16 基因敲除（IL-16$^{-/-}$）小鼠，构建 Con A 诱导的肝损伤模型，观察 IL-16 对肝损伤及 MDSCs 的影响，进一步探讨 IL-16 是否通过调控 MDSCs 的募集而影响肝损伤。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　动物　7～8 周龄，体质量 18～22g，SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠，购自济南朋悦实验动物繁育有限公司，利用 CRISPER/Cas9 基因编辑技术获得 IL-16$^{-/-}$小鼠，所有小鼠均在 SPF 级动物房繁殖饲养，符合济宁医学院实验动物伦理委员会要求。

1.1.2　试剂及仪器　刀豆球蛋白 A（Con A，批号：C2010）购自美国 Sigma 公司；IL-16、IL-6、IL-12、TNF-α 及内参 GAPDH 的引物均委托上海生工生物工程技术服务有限公司合成；小鼠 IL-16 ELISA 试剂盒购自武汉华美生物工程有限公司；IL-6、IL-12、TNF-α ELISA 试剂盒及流式细胞术相关抗体均购自美国 BioLegend 公司；末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记法［terminal dexynucleotidyl transferase（Td T）-mediated d UTP nick end labeling，TUNEL］凋亡检测试剂盒购自 Roche 公司；定量逆转录聚合酶链反应（qPCR）试剂由南京诺唯赞生物科技股份有限公司提供，包括 AceQ qPCR SYBR Green Master Mix（货号：Q111）和 HiScript III RT Super Mix for qPCR（货号：R323）；兔抗 IL-16 多克隆抗体购自 Abcam 公司；粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子（granulocyte-macrophage colony-stimulating factor，GM-CSF）、IL-6 购自 Pepro Tech 公司；免疫组织化学染色试剂盒购自北京博奥森生物技术有限公司。Light cycler 480 PCR 仪购自 Roche 公司；酶联免疫检测仪购自 Bio-Tek 公司；流式细胞仪购自 BD 公司。

1.2　方法

1.2.1　Con A 诱导的肝损伤模型的建立及实验分组　根据实验设计将 C57BL/6 小鼠（WT）及 IL-16 敲除（IL-16$^{-/-}$）小鼠分别随机分为对照组（control 组，n=5）和模型组（Con A 组，n=7），Con A 组尾静脉注射 Con A（20mg/kg），建立肝损伤模型，control 组尾静脉注射相同体积的磷酸缓冲盐溶液（Phosphate Buffered Saline，PBS），6h 后取小鼠血清待测 IL-6、IL-12、TNF-α 的表达，12h 后取血清待测 IL-16、ALT、AST，取脾脏、肝脏备用。另外给予小鼠致死剂量的 Con A（25mg/kg）尾静脉注射，观察小鼠生存率。

1.2.2　免疫组织化学技术检测肝组织中 IL-16 蛋白的表达　各组小鼠肝组织石蜡切片脱蜡水化，柠檬酸缓冲液微波抗原修复后 PBS 洗 3 次，每次 5 min；H_2O_2作用 30min 阻断过氧化物酶；PBS 洗 3 次，每次 5min，血清封闭室温孵育 20min；弃去血清滴加 IL-16 多克隆抗体，37℃过夜；PBS 洗 3 次，每次 5min；滴加生物素标记的二抗，室温孵育 30min；辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素室温孵育

20min, PBS 洗 3 次, 每次 5min; DAB 显色、苏木素衬染, 脱水、透明后, 中性树胶封片, 镜下观察。

1.2.3　小鼠血清转氨酶检测及组织病理学分析　小鼠尾静脉注射 Con A, 12h 后摘眼球取血, 4000r/min, 离心 10min 后取血清, 罗氏 cobas8000 全自动生化分析仪检测血清中谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)和谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)水平。同时将部分肝组织于 4%多聚甲醛中固定, 行常规 HE 染色, 显微镜下观察肝组织病理变化。

1.2.4　TUNEL 试剂盒检测肝组织中凋亡细胞　肝组织石蜡切片常规脱蜡、水化; PBS 洗涤后滴加蛋白酶 K, 37℃ 孵育 30min; PBS 洗涤后滴加 TUNEL 反应液, 37℃ 孵育 30min; PBS 洗涤后滴加防荧光淬灭剂封片, 荧光显微镜下观察。

1.2.5　小鼠体外 MDSCs 的诱导　分别分离 WT 小鼠和 IL-16$^{-/-}$小鼠的股骨及胫骨, 剔除肌肉后, 用无菌 PBS 冲洗骨髓腔获取骨髓细胞。在含 100mL/L FBS、40ng/mL GM-CSF、40ng/mL IL-6 的 DMEM 培养基中培养, 4d 后收取细胞待测。

1.2.6　小鼠肝脏、脾脏单个核细胞的制备　小鼠麻醉后暴露心脏和肝脏, 在右心耳充分收集血液, 于心尖处注入 20ml PBS 冲洗肝脏至灰白色。取肝脏至 200 目铜网上研磨至单细胞悬液, 3000r/min, 离心 10min; 弃上清后用约 45ml 的 PBS 将细胞重悬, 400r/min, 离心 5min; 吸取上清至一新的 50ml 离心管中, 2500r/min, 离心 8min; 弃去上清, 用 3ml 40% percoll 重悬细胞, 将重悬后的细胞缓慢叠加至 2ml 70% 的 percoll 的上层。差速离心, 2500r/min, 离心 30min。吸取中间灰白层至 15ml 离心管中, PBS 洗涤 2 次后, 弃去上清, 用 PBS 调整细胞浓度后流式细胞术待测。

取小鼠脾脏充分研磨后获取单细胞悬液, 转移至 15ml 离心管中, 1500r/min, 离心 5min; 弃上清后悬浮细胞, 加入 1ml 红细胞裂解液, 混匀后室温静置 5min; 适量 PBS 终止裂解后离心, 弃上清后重悬细胞, PBS 调整细胞浓度后流式细胞术待测。

1.2.7　实时荧光定量 PCR(Quantitative Real-time PCR)　采用 RANiso Plus 试剂提取肝组织及体外诱导 MDSCs 的总 RNA, HiScript III RT Super Mix for qPCR 试剂盒扩增 cDNA。使用 Light Cycler 480 系统进行实时 PCR 反应。PCR 引物序列见表 1。

表 1　引物序列

引物名称	引物序列
GAPDH Forward	AACGACCCCTTCATTGAC
GAPDH Reverse	TCCACGACATACTCAGCAC
IL-16 Forward	AGTGAGAACCATAGCCATACA
IL-16 Reverse	ACCCAGGAGACCAGAAAA
IL-6 Forward	CCAGAAACCGCTATGAAGTTCCT
IL-6 Reverse	CACCAGCATCAGTCCCAAGA
IL-12 Forward	AGACATGGAGTCATAGGCTCTG
IL-12 Reverse	CCATTTTCCTTCTTGTGGAGCA
TNF-α Forward	GCCACCACGCTCTTCTGTCT
TNF-α Reverse	GGTCTGGGCCATAGAACTGATG
iNOS Forward	CTGCAGCACTTGGATCAGGAACCTG
iNOS Reverse	GGAGTAGCCTGTGTGCACCTGGAA
Arg-1 Forward	TGTCCCTAATGACAGCTCCTT
Arg-1 Reverse	GCATCCACCCAAATGACACAT

1.2.8　ELISA 法检测 IL-16、IL-6、IL-12、TNF-α 的表达水平　取各组小鼠血液, 4000r/min, 离心 10min 后取上层血清, 采用 ELISA 试剂盒检测血清中 IL-16、IL-6、IL-12、TNF-α 的水平, 实验操作严格按说明书进行。

1.2.9　流式细胞术检测小鼠脾脏、肝脏及体外诱导 MDSCs 的比例　将制备的小鼠脾细胞、肝细胞及体外诱导的 MDSCs 转移至流式管中, 每管加入相应荧光标记的流式抗体, 混匀后室温避光 30min; PBS 洗涤, 弃上清, 200μl PBS 悬浮细胞, 过滤后行流式细胞术检测。

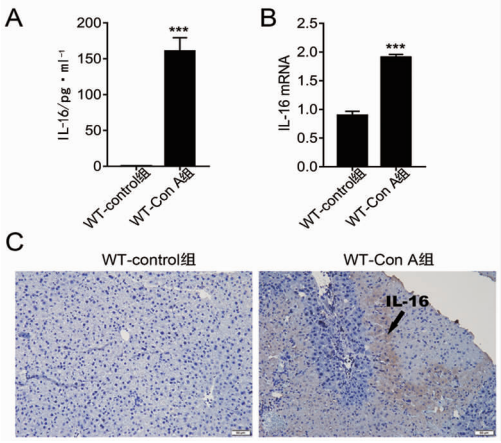
1.3　统计学方法

实验所有数据采用 GraphPad Prism 7 软件进行统计学分析, 正态分布的计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 描述, 多组间比较采用方差分析, 组间多重比较采用非配对 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　IL-16 在 Con A 诱导的肝损伤模型中表达增加

WT-Con A 组小鼠血清 IL-16 蛋白水平(160.5±18.93) pg/ml 较 WT-control 组(0.39±0.08) pg/ml 明显增加($t=7.457$, $P<0.001$, 图 1A); WT-con A 组肝组织 IL-16 mRNA 水平(1.91±0.05)较 WT-control 组(0.89±0.07)升高, 差异具有统计学意义($t=11.04$, $P<0.001$, 图 1B)。IL-16 在 WT-Con A 组小鼠肝组织中显著表达(图 1C)。以上结果均表明, IL-16 在 Con A 诱导的肝损伤中表达增加, 提示 IL-16 可能参与 Con A 诱导的肝损伤。



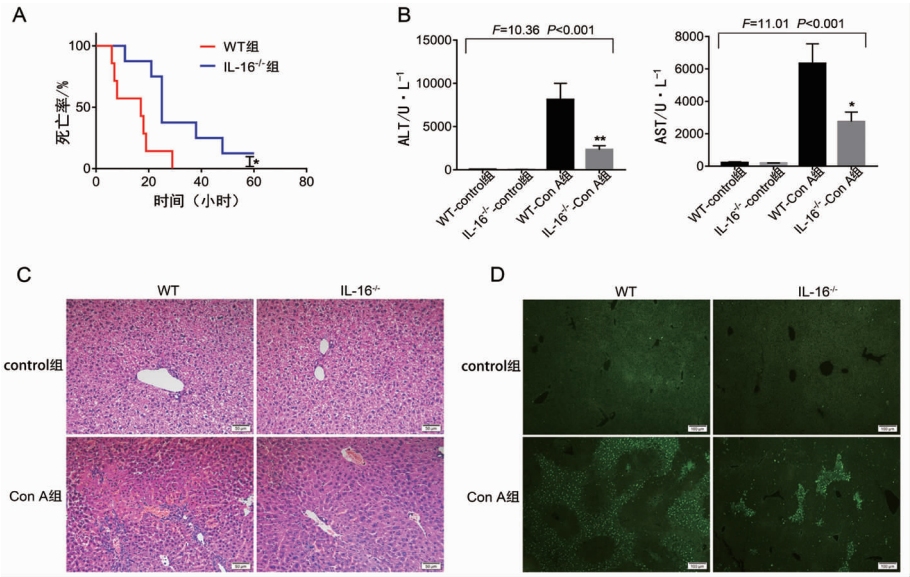
注：A. ELISA 检测小鼠血清中 IL-16 的含量；B. qPCR 检测小鼠肝组织中 IL-16 的 mRNA 水平；C. 免疫组织化学检测肝组织中 IL-16 的表达

* * * $P<0.001$ vs. WT-control 组

图 1　IL-16 在 Con A 诱导的肝损伤模型中的表达

2.2　IL-16 加重 Con A 诱导的肝损伤

为进一步明确 IL-16 在 Con A 诱导的肝损伤中发挥的作用，利用 IL-16$^{-/-}$小鼠建立 Con A 诱导的肝损伤模型，观察小鼠生存率及肝损伤程度。结果显示，IL-16$^{-/-}$组小鼠的生存率明显高于 WT 组小鼠（$P<0.05$，图 2A）。IL-16$^{-/-}$-Con A 组小鼠血清 ALT（2331±460.6）U/L、AST（2753±589.8）U/L，含量较 WT-Con A 组 ALT（8122±1886）U/L、AST（6328±1222）U/L 降低，差异具有统计学意义（$t=3.26$，$P=0.0098$；$t=2.789$，$P=0.0211$，图 2B）。另外，小鼠肝脏病理切片 HE 染色结果显示，WT-control 组及 IL-16$^{-/-}$-control 组肝小叶结构完整，肝索整齐，肝窦清晰，肝细胞形态正常，细胞核大小均一，胞浆均匀红染；WT-Con A 组表现为肝细胞坏死呈片状分布，肝索消失，肝窦内大量红细胞淤积，可见不同程度的淋巴细胞、中性粒细胞浸润；而 IL-16$^{-/-}$-Con A 组肝小叶及肝索结构可见，肝窦内有不同程度的红细胞淤积，淋巴细胞及中性粒细胞稍有浸润。TUNEL 检测结果显示，IL-16$^{-/-}$-Con A 组肝组织凋亡细胞显著少于 WT-Con A 组。以上结果均表明 IL-16 可加重 Con A 引起的肝损伤。



注：A. 小鼠生存率；B. 小鼠血清中 ALT 和 AST 水平；C. 小鼠肝脏组织形态（HE 染色）；D. TUNEL 染色检测小鼠肝组织的细胞凋亡

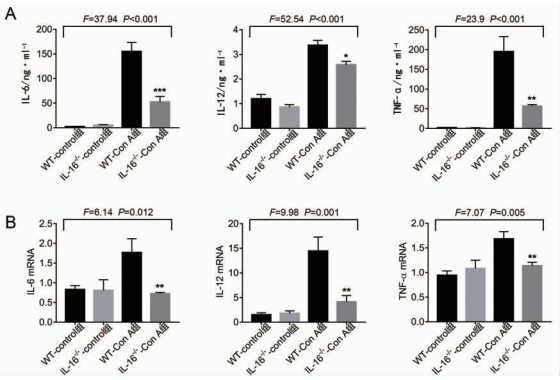
* $P<0.05$、* * $P<0.01$ vs. WT-Con A 组

图 2　IL-16 加重 Con A 诱导的肝损伤

2.3　IL-16 增加肝损伤小鼠炎症因子的表达

IL-16$^{-/-}$-Con A 组血清 IL-6（52.35±11.28）ng/ml、IL-12（2.58±0.14）ng/ml、TNF-α（56.51±0.14）pg/ml 蛋白水平较 WT-Con A 组血清 IL-6（155±18.16）ng/ml、IL-12（3.37±0.20）ng/ml、TNF-α（195.2±38.19）pg/ml 下降，差异具有显著性（$t=4.803$，$P<0.001$；$t=2.888$，$P=0.0202$；$t=3.986$，$P=0.0032$，图 3A）。IL-16$^{-/-}$-Con A 组肝组织 IL-6（0.72±0.03）、IL-12（4.14±1.29）、TNF-α（1.14±0.09）mRNA 水平低于 WT-Con A 组 IL-6（1.77±0.35）、IL-12（14.45±2.83）、TNF-α（1.68±0.15），差异具有统计学意义（$t=3.995$，$P=0.0072$；$t=3.525$，$P=0.0065$；$t=3.875$，$P=0.0061$，图3B）。WT-control 组及 IL-16$^{-/-}$-control 组小鼠体内炎症因

子无明显变化。以上结果表明，IL-16可加重 Con A 引起的肝损伤炎症反应。

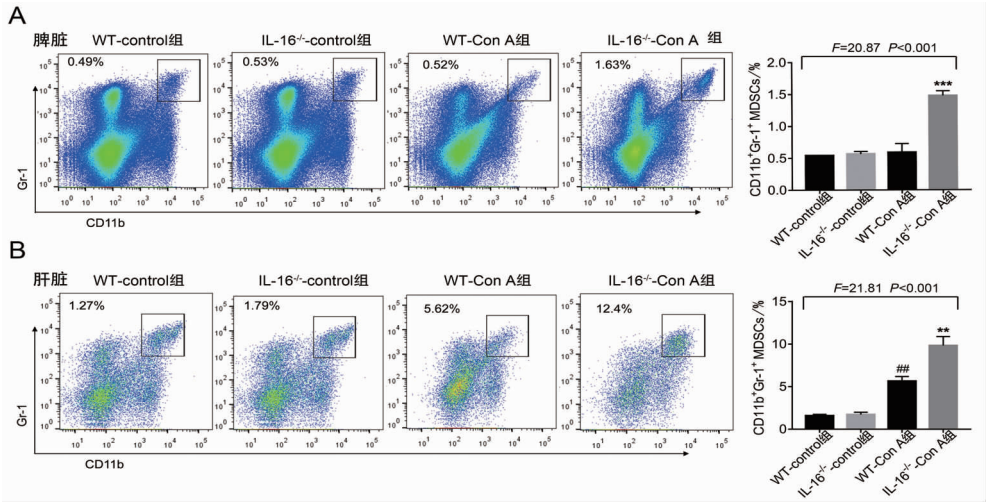


注：A. ELISA 检测血清中 IL-6、IL-12 和 TNF-α 的水平；B. qPCR 检测肝组织中 IL-6、IL-12 和 TNF-α mRNA 水平 ＊$P<0.05$、＊＊$P<0.01$，＊＊＊ $P<0.001$ vs. WT-Con A 组

图 3　IL-16 增加肝损伤小鼠炎症因子的表达

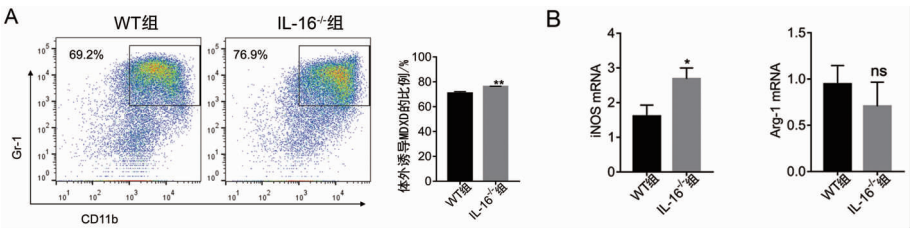
2.4　IL-16 调节 MDSCs 的募集及诱导

如图 4 所示，WT-Con A 组小鼠肝脏中 MDSCs 的比例（5.66±0.54）%较 WT-control 组（1.58±0.16）%增高，差异具有统计学意义（$t=5.106$，$P=0.0014$）；而 IL-16$^{-/-}$-Con A 组小鼠脾脏及肝脏中 MDSCs 比例（1.48±0.77）%、（9.84±1.06）%明显高于 WT-Con A 组（0.59±0.14）%、（5.66±0.54）%（$t=5.705$，$P=0.0002$；$t=3.516$，$P=0.0056$）。另外，我们在体外诱导了 MDSCs，IL-16$^{-/-}$小鼠来源诱导的 MDSCs 比例（76.14±0.31）%明显高于 WT 小鼠来源的 MDSCs（70.78±1.32）%（$t=3.968$，$P=0.0041$，图 5A）；qPCR 分析与 MDSCs 生成及发挥抑制作用的相关分子 iNOS、Arg-1 发现，与 WT 来源的 MDSCs（1.61±0.32）、（0.94±0.20）相比，IL-16$^{-/-}$小鼠来源 MDSCs 中 iNOS mRNA 表达水平（2.68±0.32）显著升高（$t=2.394$，$P=0.0436$），而 Arg-1 的 mRNA 表达水平（0.71±0.26）无明显变化（$t=0.7293$，$P=0.4933$，图 5B）。



注：A. 流式细胞术检测脾脏中 MDSCs 的比例；B. 流式细胞术检测肝脏中 MDSCs 的比例 ＊＊$P<0.01$，＊＊＊$P<0.001$ vs. WT-Con A 组；##$P<0.01$ vs. WT-control 组

图 4　IL-16 下调肝损伤小鼠 MDSCs 在脾脏和肝脏中的募集



注：A. 流式细胞术检测体外诱导的 MDSCs 的比例；B. qPCR 检测 iNOS 和 Arg-1 的 mRNA 水平 ＊$P<0.05$、＊＊$P<0.01$、nsP >0.05 vs. WT 组

图 5　IL-16 调节体外诱导的 MDSCs 的比例

3　讨论

免疫性肝损伤是指由于免疫刺激和炎症反应引起的肝细胞损伤或病变,其发病与多种因素有关,且机制复杂。细胞因子在肝损伤发生发展中发挥着至关重要的作用。IL-16 是由多种细胞(包括激活的 T 细胞、巨噬细胞等免疫细胞和肥大细胞、上皮细胞等非免疫细胞)分泌的一种重要的前炎症因子,参与肠炎、哮喘等多种疾病的病理过程[7]。目前,IL-16 是否参与肝损伤的发生发展尚未可知。

本研究发现 Con A 诱导小鼠肝损伤后,IL-16 在小鼠血清及肝组织中高表达,说明 IL-16 参与了 Con A 诱导的肝损伤的发生发展。前期研究表明,下调 IL-16 的表达有助于某些疾病病情的缓解。例如,中和 IL-16 可减轻阿霉素诱导的心脏损伤,改善心功能[8];抗 IL-16 单克隆抗体可减轻三硝基苯磺酸诱导的小鼠结肠损伤和炎症反应[13];IL-16 基因敲除后可减轻鸡卵白蛋白诱导的小鼠哮喘炎症[9]。而下调或敲除 IL-16 基因的表达是否有助于缓解 Con A 诱导的肝损伤?

我们借助 IL-16$^{-/-}$小鼠进行了进一步研究。结果表明,小鼠 IL-16 基因的缺失可明显提高 Con A 致死剂量诱导的肝损伤小鼠生存率。肝损伤后肝细胞破坏,肝细胞内 ALT 和 AST 迅速释放入血,可引起血清中水平增高,故血清中 ALT 及 AST 的活性水平是反映肝损伤程度、评价肝功能的重要指标。在本实验中,IL-16 基因的敲除可显著降低肝损伤小鼠血清中 ALT 和 AST 水平,改善肝组织病理性损伤,减少肝细胞凋亡,说明 IL-16 的缺失在一定程度上可减轻 Con A 诱导的肝损伤。另外,肝损伤发生过程中中性粒细胞、巨噬细胞、T 淋巴细胞等炎症细胞在肝脏中浸润,产生大量细胞因子加重肝脏损伤。本研究 IL-16 基因的缺失可显著降低 Con A 引起的血清中炎症因子 IL-6、IL-12 和 TNF-α 的蛋白水平及肝组织中 IL-6、IL-12 和 TNF-α mRNA 水平。以上结果均表明,IL-16 的缺失有助于缓解 Con A 诱导的肝损伤病情,也就是说,IL-16 可加重 Con A 诱导的小鼠肝损伤。

为进一步探讨 IL-16 加重 Con A 诱导肝损伤的机制,我们对 WT 小鼠及 IL-16$^{-/-}$小鼠肝损伤后肝脏内浸润的免疫细胞进行了分析。结果发现,对于 WT 小鼠,Con A 组肝脏中 Gr-1^{+}CD11b^{+}双阳性细胞即 MDSCs 比例明显高于 control 组。这与其他报道结果相似[5-6,14]。当 IL-16 基因缺失后,Con A 并不影响小鼠肝脏内浸润的细胞类型,但肝脏内 MDSCs 的比例明显升高。在体外诱导 MDSCs 实验中,IL-16 缺失后诱导的 MDSCs 比例及其相关抑制因子 iNOS 的表达均有不同程度的增加。在炎症发生时,机体为抑制免疫细胞激活,可诱导 MDSCs 募集至炎症局部发挥免疫抑制作用,从而减轻炎症反应[15]。实验结果说明 IL-16 在一定程度上是通过下调 MDSCs 在肝脏中的募集而加重肝损伤。而 MDSCs 的募集是一个复杂而渐进的过程,由多种因素控制。一方面,未成熟骨髓细胞扩增为 MDSCs 可由基底膜基质或肿瘤产生的因子驱动,参与慢性感染和炎症[16-18];另一方面,MDSCs 的激活可由炎性因子和损伤相关分子模式介导,包括 IFN-γ、IL-1β、IL-4 等,这些因素主要通过 NF-κB、STAT1 和 STAT6 信号途径而实现[19-20]。而 IL-16 作为炎性因子,通过何种途径对 MDSCs 的驱动或激活发挥了负调节作用有待进一步研究。

综上所述,IL-16 参与 Con A 诱导的肝损伤的发生发展,并且通过下调 MDSCs 在肝组织中的募集而加重肝损伤。本课题不仅为研究 IL-16 与 MDSCs 的相互作用提供了新思路,也为研究肝损伤发展的分子机制提出了新见解,因此,IL-16 可能成为治疗肝损伤的一个新的研究靶点。

利益冲突:所有作者均申明不存在利益冲突。

参考文献:

[1]　Yan F, Cheng D, Wang H, et al. Corilagin ameliorates Con A-induced hepatic injury by restricting M1 macrophage polarization [J]. Fronti Immunol, 2021, 12: 807509. DOI: 10.3389/fimmu.2021.807509.

[2]　Hao J, Sun W, Xu H. Pathogenesis of concanavalin A induced autoimmune hepatitis in mice [J]. Int Immunopharmacol, 2022, 102: 108411. DOI: 10.1016/j.intimp.2021.108411.

[3]　Hegde S, Leader AM, Merad M. MDSC: Markers, development, states, and unaddressed complexity [J]. Immunity, 2021, 54 (5): 875-884. DOI: 10.1016/j.immuni.2021.04.004.

[4]　Bruger AM, Dorhoi A, Esendagli G, et al. How to measure the immunosuppressive activity of MDSC: assays,

problems and potential solutions[J]. Cancer Immunol Immunother, 2019, 68 (4): 631-644. DOI: 10. 1007/s00262-018-2170-8.

[5] Sarra M, Cupi ML, Bernardini R, et al. IL-25 prevents and cures fulminant hepatitis in mice through a myeloid-derived suppressor cell-dependent mechanism[J]. Hepatology, 2013, 58 (4): 1436-1450. DOI: 10. 1002/hep. 26446.

[6] Wang H, Li X, Dong G, et al. Toll-like receptor 4 inhibitor TAK-242 improves fulminant hepatitis by regulating accumulation of myeloid-derived suppressor Cell[J]. Inflammation, 2021, 44 (2): 671-681. DOI: 10. 1007/s10753-020-01366-y.

[7] Kawabata K, Makino T, Makino K, et al expression is increased in the skin and sera of patients with systemic sclerosis[J]. Rheumatology (Oxford), 2020, 59 (3): 519-523. DOI: 10. 1093/rheumatology/kez318.

[8] Zhang J, Yang Z, Liang Z, et al. Anti-interleukin-16-neutralizing antibody attenuates cardiac inflammation and protects against cardiac injury in doxorubicin-treated mice[J]. Mediators Inflamm, 2021, 2021: 6611085. DOI: 10. 1155/2021/6611085.

[9] Li C, Dai J, Dong G, et al. Interleukin-16 aggravates ovalbumin-induced allergic inflammation by enhancing Th2 and Th17 cytokine production in a mouse model [J]. Immunology, 2019, 157 (3): 257-267. DOI: 10. 1111/imm. 13068.

[10] Mostafa S, Nasef SI, Hassan AM, et al. Interleukin 16 polymorphism and susceptibility of rheumatoid arthritis disease in Egyptian population[J]. Egypt J Immunol, 2021, 28(4): 282-289.

[11] Heymann F, Hamesch K, Weiskirchen R, et al. The concanavalin A model of acute hepatitis in mice[J]. Lab Anim, 2015, 49 (1 Suppl): 12-20. DOI: 10. 1177/0023677215572841.

[12] Chen A, Wang Y, Wu J, et al. Identification and characterization of dynamically regulated hepatitis-related genes in a concanavalin A-induced liver injury model [J]. Aging (Albany NY), 2020, 12 (22): 23187-23199. DOI: 10. 18632/aging. 104089.

[13] Keates AC, Castagliuolo I, Cruickshank WW, et al. Interleukin 16 is up-regulated in Crohn's disease and participates in TNBS colitis in mice[J]. Gastroenterology, 2000, 119 (4): 972-982. DOI: 10. 1053/gast. 2000. 18164.

[14] Suh YG, Kim JK, Byun JS, et al. CD11b(+) Gr1(+) bone marrow cells ameliorate liver fibrosis by producing interleukin-10 in mice[J]. Hepatology, 2012, 56(5): 1902-1912. DOI: 10. 1002/hep. 25817.

[15] Veglia F, Perego M, Gabrilovich D. Myeloid-derived suppressor cells coming of age[J]. Nature Immunol, 2018, 19(2): 108-119. DOI: 10. 1038/s41590-017-0022-x.

[16] Dolcetti L, Peranzoni E, Ugel S, et al. Hierarchy of immunosuppressive strength among myeloid-derived suppressor cell subsets is determined by GM-CSF[J]. Eur J Immunol, 2010, 40 (1): 22-35. DOI: 10. 1002/eji. 200939903.

[17] Umansky V, Sevko A. Tumor microenvironment and myeloid-derived suppressor cells[J]. Cancer Microenviron, 2013, 6(2): 169-177. DOI: 10. 1007/s12307-012-0126-7.

[18] Yan D, Yang Q, Shi M, et al. Polyunsaturated fatty acids promote the expansion of myeloid-derived suppressor cells by activating the JAK/STAT3 pathway[J]. Eur J Immunol, 2013, 43(11): 2943-2955. DOI: 10. 1002/eji. 201343472.

[19] Condamine T, Mastio J, Gabrilovich DI. Transcriptional regulation of myeloid-derived suppressor cells[J]. J Leukoc Biol, 2015, 98(6): 913-922. DOI: 10. 1189/jlb. 4RI0515-204R.

[20] Ribechini E, Hutchinson JA, Hergovits S, et al. Novel GM-CSF signals via IFN-gammaR/IRF-1 and AKT/mTOR license monocytes for suppressor function[J]. Blood Adv, 2017, 1 (14): 947-960. DOI: 10. 1182/bloodadvances. 2017006858.

(收稿日期 2022-09-13)

(本文编辑:石俊强)