

## · 专题报道 ·

## 免疫调控与特异质型药物性肝损伤发生机制研究进展

柏兆方<sup>1\*</sup>, 高源<sup>1,2</sup>, 左晓彬<sup>1</sup>, 王伽伯<sup>1</sup>, 肖小河<sup>3\*</sup>

(1. 解放军 302 医院全军中医药研究所, 北京 100039; 2. 北京中医药大学中药学院, 北京 100029;  
3. 解放军 302 医院中西医结合诊疗与研究中心, 北京 100039)

**摘要:** 特异质型药物性肝损伤 (idiosyncratic drug-induced liver injury, IDILI) 是仅在少数人群发生的药物不良反应, 其发生往往与服药时间、剂量无明确对应关系, 具有不可预测性和发病率低等特点。研究表明, IDILI 是机体、环境和药物因素协同作用的结果, 而机体免疫是 IDILI 发生的主要诱因。目前, 化学药物诱导的 IDILI 研究较为广泛和深入, 形成了多种免疫学机制假说, 较好地阐释了其发病特点和机制。近年来, 中药特异质肝损伤也逐步被证实, 并且形成了中药特异质肝损伤免疫应激“三因致毒”机制假说, 较为全面地揭示了中药 IDILI 的发病特点和机制。本文就化学药物和中药诱导的 IDILI 免疫学机制假说进行综述, 以期对 IDILI 评价和临床风险防控对策建立提供科学依据。

**关键词:** 特异质型药物性肝损伤; 免疫调控; 化学药物; 中药; 机制假说

中图分类号: R969.3

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 07-1019-08

## Progress in research on the pathogenesis of immune regulation and idiosyncratic drug-induced liver injury

BAI Zhao-fang<sup>1\*</sup>, GAO Yuan<sup>1,2</sup>, ZUO Xiao-bin<sup>1</sup>, WANG Jia-bo<sup>1</sup>, XIAO Xiao-he<sup>3\*</sup>

(1. China Military Institute of Chinese Materia, 302 Military Hospital, Beijing 100039, China; 2. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 3. Integrative Medical Center, 302 Military Hospital, Beijing 100039, China)

**Abstract:** Idiosyncratic drug-induced liver injury (IDILI) is an adverse drug reaction that occurs only in a minority of the population. IDILI also has many characteristics such as unpredictable and low morbidity, its occurrence has often not been clearly correlated with the dose, route, or duration of drug administration. Several studies have shown that IDILI is a synergistic effect which was caused by body diathesis, environment and drugs. In addition, evidence also suggests that most IDILIs are mediated by immunity. Chemical medicines-related IDILIs have been extensively studied, and a variety of immunological mechanism hypotheses have also emerged to explain the pathogenesis and characteristics of chemical medicines-related IDILIs. However, the traditional Chinese medicine (TCM)-related IDILI has always been neglected due to the complexity and specificity of TCM. In recent years, TCM-related IDILI has been gradually confirmed by researchers, and formed a new hypothesis, a immunological stress-mediated tri-elements synergetic mechanism hypothesis, which can reveal the pathogenesis and clinical characteristics of TCM-related IDILI. This paper is prepared to summarize the immunological mechanism hypotheses of chemical medicine-related IDILI and TCM-related

收稿日期: 2017-04-05; 修回日期: 2017-05-24.

基金项目: 国家自然科学基金青年基金资助项目 (81503350); 国家自然科学基金重点资助项目 (81630100); 国家“重大新药创制”科技重大专项课题 (2015ZX09501-004-001-008); 国家公益性行业科研专项课题 (201507004-04).

\*通讯作者 Tel: 86-10-66933325, E-mail: baizf2008@126.com;

Tel: 86-10-66933322, E-mail: pharmacy302@126.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2017-0315

IDILI to provide a scientific basis for guiding IDILI research and establishing its clinical risk prevention and control measures.

**Key words:** idiosyncratic drug-induced liver injury; immune regulation; chemical medicine; traditional Chinese medicine; mechanism hypothesis

药物性肝损伤是指由药物或其代谢产物导致的肝脏损伤,是药物研发失败及撤市的重要原因之一。药物性肝损伤可分为固有型和特异质型,固有型由药物或其代谢产物的直接毒性所致,具有可预测性和药物剂量依赖性。而特异质型药物性肝损伤却没有明确定义,其发生具有不可预测性,与药物剂量、时间和服用方式无明确对应关系,但与性别、年龄、基础疾病、基因、免疫炎症及感染等机体状态存在某种或多种对应关系,同时其发生概率极低,仅为19/100 000<sup>[1, 2]</sup>,且存在再激发现象<sup>[3, 4]</sup>,另外常伴有皮疹、发热和嗜酸性粒细胞增多等特征,同时多数患者在长期服药情况下仅表现为轻度肝脏损伤,甚至自我恢复,发展为严重肝损伤的比例较低,表现为临床耐受的特点<sup>[5]</sup>。由于IDILI的偶发性且缺乏有效的评价手段,导致多数药物上市前难以发现IDILI,给药物研发和临床用药带来了潜在风险。

从IDILI发生类型来看,主要分为化学药物和中药诱导的IDILI,其中化学药物诱导的IDILI研究较为广泛和深入,形成了多种机制假说,由于中药的复杂性和特殊性,长期以来中药IDILI往往被忽视,但是近年来部分传统“无毒”中药特异质肝损伤问题也逐渐被证实。目前研究表明机体免疫是IDILI发生的主要诱因,形成了半抗原假说、基因多态性假说、危险因子假说、免疫药理效应假说、免疫稳态失衡假说、免疫炎症假说和中药免疫应激“三因致毒”假说等免疫学机制假说,较为全面地揭示了特异质肝损伤的发病特点和机制,为系统阐释机体免疫、药物与IDILI的关系,本文分别对化学药物和中药诱导的IDILI的免疫机制假说进行系统梳理,以期对IDILI的评价与风险防控对策建立提供科学依据。

### 1 化学药物诱导IDILI的免疫学机制假说

目前,抗生素、非甾体抗炎药物和精神类药物等是导致IDILI的主要化学药物,其诱导的IDILI多与药物活性代谢产物和机体免疫相关<sup>[6, 7]</sup>。针对化学药物诱导的IDILI形成了多种机制假说,主要有半抗原假说、基因多态性假说、危险因子假说、免疫药理效应假说、免疫稳态失衡假说、免疫炎症假说、肝脏代谢和解毒功能缺损假说等。除肝脏代谢和解毒功能缺损假说之外,其他假说主要是从免疫角度阐释IDILI

的发生特点和机制。虽然上述假说尚未全面阐释IDILI的发生特点和机制,但免疫在IDILI中的关键作用已被广泛认可,本节就化学药物诱导的IDILI免疫学机制假说进行综述。

**1.1 半抗原假说** 半抗原假说是指药物或其代谢产物不能直接与受体结合产生免疫原性,必须共价不可逆地与机体内的蛋白结合形成药物/代谢产物-蛋白加合物(drug/metabolites-protein adducts),才能被抗原提呈细胞加工形成药物/代谢产物-多肽加合物,并被T细胞识别,诱发免疫反应<sup>[8, 9]</sup>。研究已发现多种药物诱导的IDILI与半抗原假说相关。三氟溴氯乙烷(halothane)在肝脏被代谢为三氟乙酰氯,并与肝脏蛋白共价结合形成加合物,从而诱发轻微肝脏损伤,而加合物抗体驱动的自身免疫反应则可能进一步诱发严重肝损伤<sup>[10]</sup>。尽管动物模型已检测到加合物抗体,但由于缺少有效的评价模型,仍难以证实抗体在IDILI中的作用。三氟溴氯乙烷可导致20%使用者发生轻微肝损伤,而导致严重肝损伤的比例仅为1/6 000~1/30 000<sup>[11]</sup>,因而三氟溴氯乙烷致肝损伤可能存在个体差异,加合物或其抗体单独难以诱发严重肝损伤,其他机制可能是导致严重肝损伤的另一重要诱因。除此之外,双氯芬酸IDILI患者肝脏中也检测到了双氯芬酸代谢物-蛋白加合物及其抗体,但其在IDILI中的作用有待研究<sup>[12]</sup>。除与肝脏蛋白相结合外,部分药物或其代谢产物可与血清白蛋白等结合,进而诱发T细胞免疫活性,导致肝脏损伤。氟氯西林IDILI患者血清中发现了氟氯西林及其代谢产物5-羟甲基氟氯西林与白蛋白的共价加合物,但药物与非肝脏蛋白加合物如何引起肝脏损伤还有待研究<sup>[13]</sup>。另外,研究发现磺胺甲恶唑(sulfamethoxazole)、哌拉西林(piperacillin)与血清蛋白结合形成加合物,经抗原提呈细胞加工形成新抗原,进而诱发获得性免疫反应<sup>[14, 15]</sup>。另有研究表明如不给予佐剂,注射加合物仅能致小鼠轻微免疫反应,提示其他因素可能也参与半抗原诱导的获得性免疫反应,从而协同诱发IDILI<sup>[4]</sup>。

**1.2 基因多态性假说** 基因多态性是指在一个生物群体中,存在两种或多种不连续的变异型或基因型或等位基因。人类基因多态性既来源于基因组中重

复序列拷贝数的不同,也来源于单拷贝序列的变异及等位基因的转换或替换。研究证实,单拷贝序列变异是 IDILI 发生的主要风险因素,人白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA) 基因多态性与 IDILI 发生密切相关。*HLA* 基因编码人增殖细胞核抗原受体(major histocompatibility complex, MHC) 又分为 MHC I (由 HLA-A、-B 和-C 编码) 和 MHC II (由 HLA-DP、-DQ 和-DR 编码) 两个亚型。有研究<sup>[16-18]</sup>表明阿巴卡韦(abacavir)、希美加群(ximelagatran) 和氟氯西林诱导的 IDILI 与 HLA-B\*5701 等位基因存在相关性;奈韦拉平诱导的 IDILI 则与 HLA-B\*35:05 等位基因存在相关性<sup>[19]</sup>;噻氯匹定诱导的 IDILI 与 HLA-A\*33:03 存在相关性<sup>[20]</sup>;拉帕替尼诱导的 IDILI 与 HLA-DQA1\*02:01 存在相关性<sup>[21]</sup>;阿莫西林、克拉维酸诱导的 IDILI 与 DRB1\*15:01-DRB5\*01:01-DQB1\*06:02 单倍体相关<sup>[22]</sup>;部分药物诱导的 IDILI 与 HLA 多个位点的多态性存在相关性。*HLA* 基因多态性与 IDILI 之间的关系表明,免疫在 IDILI 中发挥关键作用,但其诱导 IDILI 的机制还尚不清楚。一般认为点位突变导致 HLA 结构改变,使得识别抗原的敏感性和能力发生改变,从而诱发免疫反应,导致肝脏损伤。然而由于药物分子较少,不能单独作为抗原存在,目前仅发现氟氯西林可形成蛋白加合物,其他药物或其代谢产物是否也可形成共价加合物还有待研究。

另外,药物代谢相关酶基因多态性也与部分 IDILI 存在相关性。肝脏是药物的主要代谢器官,因此药物代谢酶基因多态性,使得药物代谢速率或代谢产物发生改变,导致药物在特定人群诱发 IDILI。研究表明细胞色素 P450 2C9 和 P450 2C8 酶的基因多态性与双氯芬酸诱导的 IDILI 存在相关性<sup>[23]</sup>。尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 2B7 (*UGT2B7*) 基因多态性导致双氯芬酸酰基葡萄糖苷产生增加,从而诱发细胞损伤<sup>[24]</sup>。异烟肼诱导的 IDILI 不仅与 I 相代谢酶 *CYP2E1* 基因多态性相关,II 相代谢酶 *N*-乙酰转移酶 2 (*N*-acetyltransferase, *NAT2*) 基因多态性导致乙酰化能力下降,也增加了异烟肼肝损伤的风险<sup>[25, 26]</sup>。另外,曲格列酮诱导的 IDILI 与 II 相代谢酶谷胱甘肽转移酶基因多态性存在相关性<sup>[27]</sup>。目前没有 III 相代谢酶与 IDILI 相关性的报道。尽管药物代谢酶基因多态性与 IDILI 存在相关性,但是还没有利用药物代谢酶预测 IDILI 发生的成功案例。基因多态性假说难以解释为何仅有部分 IDILI 患者的相关基因呈现多态性,这也提示其他机制可能参与诱导 IDILI。

**1.3 危险因子假说** 免疫系统对抗原的识别主要通过信号传递来识别损伤细胞或免疫应激细胞释放的自身免疫原和非自身的病原体诱发免疫反应,这一过程中需要 T 细胞受体 (T cell receptor, TCR) 介导的 MHC-肽段抗原识别通路(第一信号通路) 和危险因子介导的抗原提呈细胞 (antigen presenting cell, APC) 活化信号通路(第二信号通路) 共同发挥作用。半抗原和基因多态性假说主要是基于抗原识别信号通路中抗原及其受体差异建立的,然而第一信号通路单独难以诱导有效的免疫反应,只有免疫系统进一步识别到危险信号(第二信号通路),才能诱发强烈免疫反应。危险信号主要是受损或者应激细胞释放的危险识别模式分子(danger-associated molecular pattern molecules, DAMPs) 介导的, DAMPs 作为刺激因子诱导 APC 表达 CD80、CD86 和 CD40 等共刺激因子,从而协同 TCR 通路诱发 T 细胞活性<sup>[28, 29]</sup>。因此,除了半抗原和 *HLA* 基因多态性在 IDILI 中发挥作用外,肝脏对药物的反应差异导致释放不同的 DAMPs,进而诱发程度不等的 APC 共刺激分子表达,可能是诱发 IDILI 的另一个重要原因。

危险因子假说是指药物或代谢产物及其加合物导致细胞损伤或者应激反应,从而诱发高泳动蛋白(high mobility group box protein 1, HMGB1)、ATP、热休克蛋白(heat shock proteins, HSPs) 和错误折叠蛋白等 DAMPs 释放, DAMPs 则激活抗原提呈细胞和免疫反应,诱导 IDILI 的发生<sup>[4]</sup>。危险因子假说是半抗原假说和基因多态性假说的有益补充,作者认为多种机制的协同作用可能是 IDILI 发生的主要形式,这也较好地解释了单一诱因或机制难以导致严重肝损伤。虽然已有多项研究证实危险因子在肝脏损伤中的作用,但没有直接证据证实其在 IDILI 发生中的作用,危险因子是 IDILI 发生的原动力还是仅为 IDILI 发生的伴随现象尚有待研究。

**1.4 免疫药理效应假说** Pichler 等<sup>[30]</sup>首次提出 IDILI 免疫药理效应机制假说,该假说基于部分药物或代谢产物可与 MHC 分子或 TCRs 受体非共价结合激活 T 细胞,或药物通过与肽段结合诱导 T 细胞活性,从而诱发 IDILI。有研究<sup>[31]</sup>报道,希美加群诱导的 IDILI 与 *HLA* 基因多态性相关,但在 IDILI 患者中并未检测到希美加群或代谢产物的加合物。体外研究也证实希美加群及其代谢产物不具有细胞毒性,但可以促进 T 细胞转化,这提示希美加群可能直接与 MHC 或者 TCR 等分子结合,从而诱发 T 细胞活性<sup>[32]</sup>。另外,异烟肼和异烟肼-蛋白加合物也可促进

IDILI 患者淋巴细胞转化, 表明异烟肼或其衍生物的免疫药理活性可能促进 IDILI 的发生<sup>[33]</sup>。

氟氯西林诱导的 IDILI 与 HLA-B\*5701 等位基因存在相关性, 采用 HLA-B\*5701 等位基因 T 细胞体外转化实验研究<sup>[34]</sup>表明, 氟氯西林不仅促进正常 T 细胞增殖, 对 HLA-B\*5701 等位基因 T 细胞的促增殖作用更为显著, 这表明 HLA-B\*5701 等位基因增加了氟氯西林对 T 细胞的亲和力或活性。另有研究证实, 在 IDILI 患者体内氟氯西林代谢产物可与机体蛋白形成加合物并诱导抗体产生, 这表明半抗原假说也是氟氯西林诱导 IDILI 的重要机制<sup>[35]</sup>。由此认为, 氟氯西林在不含 HLA-B\*5701 等位基因个体通过半抗原和药物的免疫药理活性协同诱发 IDILI, 而含有 HLA-B\*5701 等位基因的个体服用氟氯西林后, 产生更为强烈的免疫药理活性, 从而诱发严重的 IDILI。需要指出的是, 由于药理作用一般不具有器官靶向性, 因此以药理效应为主导的 IDILI 患者可能伴随其他全身性的病症, 如过敏、嗜酸性粒细胞增多及皮疹等。

**1.5 免疫稳态失衡假说** 免疫稳态失衡假说是指在机体免疫紊乱导致肝脏对药物的肝损伤易感性增强, 从而诱发 IDILI。研究<sup>[36]</sup>发现阿莫地喹可导致 T 细胞抑制基因 *pd-1* (programmed death 1) 敲除的小鼠发生肝损伤, 但持续给药则肝损伤自动缓解, 表明 T 细胞抑制基因敲除后改变了小鼠体内的免疫稳态, 增加了阿莫地喹的易感性, 导致 IDILI 的发生, 而持续给药时, 其他通路的免疫代偿作用导致免疫系统恢复稳态, 从而抑制肝脏损伤。在此基础上, 该课题组给予 *pd-1* 基因敲除小鼠注射 CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4) 抗体, 从而同时抑制 *pd-1* 的表达和 CTLA4 蛋白活性, 再持续给予阿莫地喹, 则导致严重的肝损伤。另有研究<sup>[37]</sup>发现在 *pd-1* 和 *CTLA4* 双敲除模型中, 进一步剔除 CD8<sup>+</sup> T 细胞, 阿莫地喹则不能诱导肝损伤, 由此证实阿莫地喹诱导的 IDILI 是由 CD8<sup>+</sup> T 细胞介导的。

代谢物与机体蛋白的加合物是三氟溴氯乙烷诱发 IDILI 的重要原因, 但研究发现三氟溴氯乙烷诱导的 IDILI 常伴有皮疹或嗜酸性粒细胞增多, 这表明全身性的免疫活化也参与其中。有研究报道 Gr1 抗体剔除髓源性抑制细胞 (myeloid derived suppressor cells, MDSCs) 导致 T 细胞活性增强, 从而增加肝脏对三氟溴氯乙烷的易感性, 抗体中和实验研究发现三氟溴氯乙烷诱导的 IDILI 主要由 CD4<sup>+</sup> T 细胞介导, 由此表明 MDSCs 和 CD4<sup>+</sup> T 细胞维持的免疫平衡对于抑制三氟溴氯乙烷诱导的 IDILI 至关重要<sup>[38]</sup>。在该类

型药物特异质肝损伤中, 机体免疫活化状态是 IDILI 发生的重要诱因, 消除机体免疫活性, 使机体恢复免疫平衡, 则会降低 IDILI 的发生率。这也解释了为何仅有极少部分患者发展为严重的 IDILI, 而多数患者表现为耐受。

免疫调节药物单独或与 IDILI 药物联用也可能是 IDILI 发生的重要诱因, 有研究证实 TNF- $\alpha$  抑制剂英夫利昔单抗用于治疗肠炎或骨关节炎时可导致 IDILI<sup>[39]</sup>。IL-10 作为一种免疫抑制因子主要作用是抑制巨噬细胞和 T 细胞活性及炎症反应, 但有研究发现 *IL-10* 基因多态性与双氯芬酸诱导 IDILI 存在相关性, *IL-10* 基因多态性导致其表达下降, 低的 IL-10 活性增加了肝脏对双氯芬酸的易感性, 从而导致 IDILI 的发生<sup>[12]</sup>。

药物导致的免疫失衡也是 IDILI 发生的另一重要诱因。小分子一般不能直接作为抗原激活免疫系统, 但多项研究<sup>[40-42]</sup>发现小分子可以非共价与 MHC 蛋白的抗原肽结合区域结合, 导致 MHC 分子的空间结构改变, 进而识别自身抗原, 诱发自身免疫型 IDILI。阿巴卡韦诱导的 IDILI 与 HLA-B\*5701 相关, 并且约 50% 含有 HLA-B\*5701 基因的个体服用阿巴卡韦可导致 IDILI<sup>[43]</sup>, 研究发现阿巴卡韦与 HLA-B\*5701 非共价结合导致 HLA-B\*5701 的抗原提呈能力发生改变, 识别自身耐受性抗原肽, 从而诱发获得性免疫反应, 导致 IDILI<sup>[44]</sup>, 由此可见, 阿巴卡韦与 HLA-B\*5701 非共价结合导致的抗原识别紊乱也是诱发 IDILI 的重要诱因。

免疫失衡主要是患者基础疾病和体质等因素导致, 而免疫调节类药物也会影响机体免疫稳态, 从而增加 IDILI 的风险, 这提示在服用具有潜在诱发 IDILI 药物时, 要更加注重基础疾病或联合用药对 IDILI 的影响。因此, 从药物和人的角度分别构建药物特异质肝损伤临床风险识别指征, 是有效防范和预警 IDILI 发生的重要途径和策略。

**1.6 免疫炎症假说** 免疫炎症假说最早由 Roth 等<sup>[11]</sup>提出, 他认为当机体处于免疫炎症状态时, 可能会增加肝脏对部分药物的易感性, 从而导致 IDILI。免疫炎症在多数疾病中存在, 如骨关节炎、肠炎、肝炎和微生物感染等, 同时也是 IDILI 的主要特征之一。但早期多数研究认为免疫炎症仅为 IDILI 产生的结果。Luyendyk 等<sup>[45]</sup>首次利用非肝毒性剂量 LPS (lipopolysaccharide) 模型对雷尼替丁的研究发现, LPS 可以增加雷尼替丁的易感性, 从而导致肝损伤, 但是雷尼替丁单独和其同类药物则不能诱导肝损伤,

由此验证了免疫炎症假说。当机体受到感染、肠道微生态或肠道通透性改变或者其他基础疾病影响时, LPS 在体内的含量增加, 过量 LPS 与其受体 (toll like receptors, TLR) TLR4 结合, 诱导免疫炎症因子表达和氧化自由基的产生, 这是机体抵抗外来病原体的有效防御手段, 但持续的免疫炎症导致机体稳态改变, 从而降低部分药物的肝损伤阈值, 诱发 IDILI<sup>[46]</sup>。另外药物或其代谢产物可能改变肝脏对 LPS 等炎症介质的易感性, 从而诱发 IDILI<sup>[11]</sup>。目前, 双氯芬酸<sup>[47]</sup>、雷尼替丁、氯丙嗪<sup>[48]</sup>、曲伐沙星<sup>[49]</sup>和三氟溴氯乙烷<sup>[50]</sup>等特异质肝损伤药物均可在 LPS 模型诱发 IDILI。同时研究发现药物的剂量、药物与 LPS 给药时间间隔及动物品系对肝损伤程度均有影响<sup>[45]</sup>, 因此作者认为 IDILI 与用药剂量缺乏明确的对应关系是相对的, 即在整个人类群体中 IDILI 发生与用药剂量缺乏对应关系, 但是在特异质人群中 IDILI 的发生与药物剂量存在相关性, 这也部分解释了为何 IDILI 仅发生在少数患者, 这可能是由患者服用药物剂量, 及患者的免疫炎症状态甚至基因差异所决定的。

此外, Shaw 等<sup>[51]</sup>研究发现曲伐沙星不仅在 LPS 模型可诱导肝损伤, 同时 TNF- $\alpha$  取代 LPS 后仍可以诱发肝损伤, 这表明炎症因子在 IDILI 中发挥重要作用。另有研究发现肽聚糖/胞磷酸壁 (TLR2 配体) 小鼠模型同样可以介导曲伐沙星产生肝损伤, 而 polyI:C (TLR9 配体) 小鼠模型则可介导三氟溴氯乙烷产生肝损伤<sup>[52]</sup>。尽管不同的 TLRs 激活剂的结合受体不同, 但是下游激活的免疫炎症通路和引起的免疫反应具有诸多共同点, 这提示 TLR 受体家族激活的共同靶标通路或为 IDILI 的重要机制。

机体的免疫炎症具有时效性, 不同个体的免疫炎症程度存在差异, 导致服用药物引起的反应不同, 这也解释了 IDILI 与服药时间和剂量不具有明确对应关系的原因。另外, 作者认为免疫炎症不是导致 IDILI 的唯一原因, 由于基因或机体状态差异导致机体对炎症介质的耐受能力不同也会影响 IDILI, 这也较好阐释了为何 IDILI 往往仅在少部分人群发生的原因。然而是否所有的免疫炎症相关疾病均为诱导 IDILI 的风险因素还有待研究。急性炎症和慢性炎症对 IDILI 的影响是否一致? 此外, 由于免疫炎症往往激活抗原提呈细胞, 那么免疫炎症是直接介导 IDILI, 还是通过激活抗原提呈细胞, 引起获得性免疫反应发挥作用也有待研究。

## 2 中药 IDILI 免疫应激“三因致毒”假说

随着中药的广泛应用和药物不良反应监控体系

的不断完善, 中药尤其是传统“无毒”中药肝毒性报道呈增多之势, 引起了人们对传统中药安全问题的担忧。早期对传统“无毒”中药肝毒性的客观性还存在争议, 部分观点认为传统“无毒”中药肝毒性主要由于药材质量和不合理用药等导致, 既往研究也多拘泥于从传统毒理学评价模式研究, 对中药 IDILI 关注较少。为此, 肖小河等<sup>[53, 54]</sup>通过建立的中药肝损伤客观诊断证据链对何首乌肝损伤临床病例进行了研究, 明确了何首乌肝损伤的客观真实性及免疫特异质属性<sup>[55, 56]</sup>。在此基础上, 进一步利用 LPS 模型对何首乌肝损伤进行研究, 结果表明临床 2~4 倍剂量何首乌即可在 LPS 模型诱导肝损伤, 而单独给予 LPS 或何首乌则不能诱发肝损伤<sup>[57]</sup>, 从而进一步证实了何首乌的免疫特异质型肝损伤属性, 该研究也首次从实验角度证实中草药诱导特异质肝损伤的客观性, 为中药肝损伤的客观辨识和研究提供了新的思路和方法。

Meng 等<sup>[58, 59]</sup>利用 LPS 模型对何首乌中疑似肝损伤成分进行研究, 发现顺式二苯乙烯苷 (*cis*-stilbene glucoside, *cis*-SG) 是导致何首乌肝损伤的主要易感成分, 但是 *cis*-SG 导致肝损伤的剂量大于药材中的含量, 表明何首乌中其他成分可能也参与诱导肝损伤。何首乌中二苯乙烯苷主要存在形式为反式二苯乙烯苷 (*trans*-stilbene glucoside, *trans*-SG), 具有免疫调节作用, 结合免疫炎症在何首乌肝损伤中的关键作用, He 等<sup>[60]</sup>利用 LPS 模型研究发现与单独 *trans*-SG 相比, 折合药材中等比剂量的 *cis*-SG 和 *trans*-SG 联合导致的肝损伤则更为严重, 而同等剂量的 *trans*-SG 仅表现为轻微免疫增强作用, 表明 *trans*-SG 在何首乌特异质肝损伤中也发挥作用。除此之外, 是否其他成分也参与何首乌特异质肝损伤还有待研究。

结合临床和基础研究, 本课题组发现何首乌诱导的特异质肝损伤是机体免疫功能异常、何首乌中免疫活性成分 (*trans*-SG)、潜在肝损伤易感成分 (*cis*-SG) 三者协同作用的结果, 从而提出了中药特异质肝损伤免疫应激“三因致毒”机制假说, 即当机体处于免疫功能亢进时, 何首乌中的免疫促进物质 (如 *trans*-SG) 进一步增强机体免疫, 使肝脏对何首乌中肝损伤易感成分 (如 *cis*-SG) 的敏感性增强, 从而诱发 IDILI。该假说系统揭示了中药 IDILI 的多成分、多靶点效应和机体免疫协同的特点, 形成了中草药特异质肝损伤评价的理论方法体系, 为中药 IDILI 的客观辨识与评价提供了理论依据, 为中药 IDILI 机制研究提供新的方法和策略, 发展和创新了

中医药毒性理论。

### 3 展望

除免疫因素之外, 环境和机体其他因素也是 IDILI 的重要诱因, 如肝脏代谢、解毒异常、线粒体损伤和氧化应激等<sup>[61]</sup>, 但这些因素很难解释 IDILI 发生的特点, 同时肝脏作为一个类免疫器官, 最终肝脏免疫系统会识别环境和机体因素诱导的肝损伤, 形成更为严重的 IDILI。IDILI 是个综合复杂的过程, 是药物或其代谢产物及机体和环境共同作用的结果, 在特异质肝损伤研究中应综合考虑多种因素的影响。目前多数机制假说仅从某一方面阐释了药物特异质肝损伤的特点和机制, 临床中特异质肝损伤可能更多的是两种或者多种因素协同所导致的。中药特异质肝损伤免疫应激“三因致毒”假说, 从机体免疫、免疫药理及肝损伤易感物质 3 个方面阐释了中药特异质肝损伤发生的机制和特点, 对于其他中药特异质肝损伤评价具有重要参考价值, 创新和发展了中医药毒性理论。

从临床角度构建特异质肝损伤客观诊断与辨识体系, 对于探索特异质肝损伤发病机制及制定临床风险防控对策具有重要的意义。美国胃肠病学会于 2014 首次基于不同质量的循证证据, 并结合相关专家的诊治经验和观点制定并发布了《ACG 临床指南: 特异质性药物诱导性肝损伤 (idiosyncratic DILI, IDILI) 的诊断和处理》, 该指南主要用于化学药物 IDILI 的临床诊断。由于中药的多成分、多靶点效应及组方用药的特点, 同时受药物质量因素和联合用药等因素的影响, 导致中药特异质肝损伤的客观诊断更为困难, 为此中华中医药学会于 2016 年制定和颁布《中草药相关肝损伤临床诊疗指南》。该指南可用于固有性和特异质型中草药肝损伤的客观辨识与诊断, 有效避免了中草药相关肝损伤的漏诊误诊, 提高了诊断的准确率<sup>[62]</sup>。中草药肝损伤的客观辨识与诊断, 为基于临床药物流行病学和代谢组学、基因组学、蛋白组学和转录组学等系统生物学手段筛查药物特异质肝损伤易感因素和标志物筛查提供了基础, 对建立药物特异质肝损伤临床客观辨识体系和临床风险识别指征具有重要意义。

尽管目前已形成了多种免疫相关 IDILI 评价模型, 如 TNF- $\alpha$  模型、LPS 模型、*pd-1* 敲除联合 CTLA4 抗体中和小鼠模型等, 为阐释 IDILI 的发病机制提供了有效评价模型, 但是单因素模型往往难以完全模拟临床特异质肝损伤的特点, 因此模型中可见特异质肝损伤现象, 也并不意味着临床患者发生特异质肝

损伤的免疫学诱因与模型一致, 因此基于临床的免疫易感因素或机制建立特异性模型是科学评价特异质肝损伤的关键。虽然多数特异质肝损伤药物还没有建立有效的体内外评价模型, 但随着人们对特异质肝损伤研究的深入, 必将有更多的评价模型用于药物特异质型肝损伤的研究。

### References

- [1] Hussaini SH, Farrington EA. Idiosyncratic drug-induced liver injury: an overview [J]. *Exp Opin Drug Safety*, 2007, 6: 673–684.
- [2] Medina-Caliz I, Robles-Diaz M, Garcia-Munoz B, et al. Definition and risk factors for chronicity following acute idiosyncratic drug-induced liver injury [J]. *J Hepatol*, 2016, 65: 532–542.
- [3] Fontana RJ. Pathogenesis of idiosyncratic drug-induced liver injury and clinical perspectives [J]. *Gastroenterology*, 2014, 146: 914–928.
- [4] Cho TE, Uetrecht J. How reactive metabolites induce an immune response that sometimes leads to an idiosyncratic drug reaction [J]. *Chem Res Toxicol*, 2017, 30: 295–314.
- [5] Dara L, Liu ZX, Kaplowitz N. Mechanisms of adaptation and progression in idiosyncratic drug induced liver injury, clinical implications [J]. *Liver Int*, 2016, 36: 158–165.
- [6] Thompson RA, Isin EM, Ogege MO, et al. Reactive metabolites: current and emerging risk and hazard assessments [J]. *Chem Res Toxicol*, 2016, 29: 505–533.
- [7] Uetrecht J, Naisbitt DJ. Idiosyncratic adverse drug reactions: current concepts [J]. *Pharmacol Rev*, 2013, 65: 779–808.
- [8] Chipinda I, Hettick JM, Siegel PD. Haptenation: chemical reactivity and protein binding [J]. *J Allergy (Cairo)*, 2011, 2011: 839682.
- [9] Uetrecht J. Idiosyncratic drug reactions: past, present, and future [J]. *Chem Res Toxicol*, 2008, 21: 84–92.
- [10] Satoh H, Martin BM, Schulick AH, et al. Human anti-endoplasmic reticulum antibodies in sera of patients with halothane-induced hepatitis are directed against a trifluoroacetylated carboxylesterase [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1989, 86: 322–326.
- [11] Roth RA, Ganey PE. Animal models of idiosyncratic drug-induced liver injury – current status [J]. *Crit Rev Toxicol*, 2011, 41: 723–739.
- [12] Aithal GP, Ramsay L, Daly AK, et al. Hepatic adducts, circulating antibodies, and cytokine polymorphisms in patients with diclofenac hepatotoxicity [J]. *Hepatology*, 2004, 39: 1430–1440.

- [13] Jenkins RE, Meng X, Elliott VL, et al. Characterisation of flucloxacillin and 5-hydroxymethyl flucloxacillin haptenated HAS *in vitro* and *in vivo* [J]. *Proteomics Clin Appl*, 2009, 3: 720–729.
- [14] Callan HE, Jenkins RE, Maggs JL, et al. Multiple adduction reactions of nitroso sulfamethoxazole with cysteinyl residues of peptides and proteins: implications for hapten formation [J]. *Chem Res Toxicol*, 2009, 22: 937–948.
- [15] Elghaiesh S, Monshi MM, Whitaker P, et al. Characterization of the antigen specificity of T-cell clones from piperacillin-hypersensitive patients with cystic fibrosis [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2012, 341: 597–610.
- [16] Monshi MM, Faulkner L, Gibson A, et al. Human leukocyte antigen (HLA)-B\*57:01-restricted activation of drug-specific T cells provides the immunological basis for flucloxacillin-induced liver injury [J]. *Hepatology*, 2013, 57: 727–739.
- [17] Mallal S, Nolan D, Witt C, et al. Association between presence of HLA-B\*5701, HLA-DR7, and HLA-DQ3 and hypersensitivity to HIV-1 reverse-transcriptase inhibitor abacavir [J]. *Lancet*, 2002, 359: 727–732.
- [18] Daly AK, Donaldson PT, Bhatnagar P, et al. HLA-B\*5701 genotype is a major determinant of drug-induced liver injury due to flucloxacillin [J]. *Nat Genet*, 2009, 41: 816–819.
- [19] Kaniwa N, Saito Y. Pharmacogenomics of severe cutaneous adverse reactions and drug-induced liver injury [J]. *Pharmacogenomics*, 2013, 14: 595–598.
- [20] Hirata K, Takagi H, Yamamoto M, et al. Ticlopidine-induced hepatotoxicity is associated with specific human leukocyte antigen genomic subtypes in Japanese patients: a preliminary case-control study [J]. *Pharmacogenomics J*, 2008, 8: 29–33.
- [21] Spraggs CF, Budde LR, Briley LP, et al. HLA-DQA1\*02:01 is a major risk factor for lapatinib-induced hepatotoxicity in women with advanced breast cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29: 667–673.
- [22] Hautekeete ML, Horsmans Y, Waeyenberge CV, et al. HLA association of amoxicillin-clavulanate-induced hepatitis [J]. *Gastroenterology*, 1999, 117: 1181–1186.
- [23] Daly AK, Aithal GP, Leathart JB, et al. Genetic susceptibility to diclofenac-induced hepatotoxicity: contribution of UGT2B7, CYP2C8, and ABCG2 genotypes [J]. *Gastroenterology*, 2007, 132: 272–281.
- [24] Aithal GP, Day CP, Leathart JB, et al. Relationship of polymorphism in CYP2C9 to genetic susceptibility to diclofenac-induced hepatitis [J]. *Pharmacogenetics*, 2000, 10: 511–518.
- [25] Vuilleumier N, Rossier MF, Chiappe A, et al. CYP2E1 genotype and isoniazid-induced hepatotoxicity in patients treated for latent tuberculosis [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2006, 62: 423–429.
- [26] Huang YS, Su WJ, Huang YH, et al. Genetic polymorphisms of manganese superoxide dismutase, NAD(P)H:quinine oxidoreductase, glutathione S-transferase M1 and T1, and the susceptibility to drug-induced liver injury [J]. *J Hepatol*, 2007, 47: 128–134.
- [27] Watanabe I, Tomita A, Shimizu M, et al. A study to survey susceptible genetic factors responsible for troglitazone-associated hepatotoxicity in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2003, 73: 435–455.
- [28] Matzinger P. Tolerance, danger, and the extended family [J]. *Immunology*, 1994, 12: 991–1045.
- [29] Janeway CA. Presidential Address to The American Association of Immunologists. The road less traveled by: the role of innate immunity in the adaptive immune response [J]. *J Immunol*, 1998, 161: 4629–4636.
- [30] Pichler WJ. The p-i concept: pharmacological interaction of drugs with immune receptors [J]. *World Allergy Organ J*, 2008, 1: 96–102.
- [31] Kindmark A, Jawaid A, Harbron CG, et al. Genome-wide pharmacogenetics investigation of a hepatic adverse event without clinical signs of immunopathology suggests an underlying immune pathogenesis [J]. *Pharmacogenomics J*, 2008, 8: 186–195.
- [32] Maria VA, Victorino RM. Diagnostic value of specific T cell reactivity to drugs in 95 cases of drug induced liver injury [J]. *Gut*, 1997, 41: 534–540.
- [33] Metushi IG, Uetrecht J, Phillips E. Mechanism of isoniazid-induced hepatotoxicity: then and now [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2016, 81: 1030–1036.
- [34] Wuillemin N, Adam J, Fontana S, et al. HLA haplotype determines hapten or p-i T cell reactivity to flucloxacillin [J]. *J Immunol*, 2013, 190: 4956–4964.
- [35] Yaseen FS, Saide K, Kim SH, et al. Promiscuous T-cell responses to drugs and drug-haptens [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2015, 136: 474–6.e8.
- [36] Metushi IG, Hayes MA, Uetrecht J. Treatment of *PD-I<sup>-/-</sup>* mice with amodiaquine and anti-CTLA4 leads to liver injury similar to idiosyncratic liver injury in patients [J]. *Hepatology*, 2015, 61: 1332–1342.
- [37] Mak A, Uetrecht J. The role of CD8 T cells in amodiaquine-induced liver injury in *PDI<sup>-/-</sup>* mice cotreated with anti-CTLA-4 [J]. *Chem Res Toxicol*, 2015, 28: 1567–1573.
- [38] Chakraborty M, Fullerton AM, Semple K, et al. Drug-induced allergic hepatitis develops in mice when myeloid-derived suppressor cells are depleted prior to halothane treatment [J]. *Hepatology*, 2015, 62: 546–557.

- [39] Tobon GJ, Canas C, Jaller JJ, et al. Serious liver disease induced by infliximab [J]. *Clin Rheumatol*, 2007, 26: 578–581.
- [40] Yun J, Cai F, Lee FJ, et al. T-cell-mediated drug hypersensitivity: immune mechanisms and their clinical relevance [J]. *Asia Pac Allergy*, 2016, 6: 77–89.
- [41] Chessman D, Kostenko L, Lethborg T, et al. Human leukocyte antigen class I-restricted activation of CD8<sup>+</sup> T cells provides the immunogenetic basis of a systemic drug hypersensitivity [J]. *Immunity*, 2008, 28: 822–832.
- [42] Wu Y, Sanderson JP, Farrell J, et al. Activation of T cells by carbamazepine and carbamazepine metabolites [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2006, 118: 233–241.
- [43] Mallal S, Phillips E, Carosi G, et al. HLA-B\*5701 screening for hypersensitivity to abacavir [J]. *N Engl J Med*, 2008, 358: 568–579.
- [44] Ostrov DA. Drug hypersensitivity caused by alteration of the MHC-presented self-peptide repertoire [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109: 9959–9964.
- [45] Luyendyk JP, Maddox JF, Cosma GN, et al. Ranitidine treatment during a modest inflammatory response precipitates idiosyncrasy-like liver injury in rats [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, 307: 9–16.
- [46] Roth RA, Ganey PE. Intrinsic *versus* idiosyncratic drug-induced hepatotoxicity--two villains or one? [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2010, 332: 692–697.
- [47] Deng X, Stachlewitz RF, Liguori MJ, et al. Modest inflammation enhances diclofenac hepatotoxicity in rats: role of neutrophils and bacterial translocation [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2007, 319: 1191–1199.
- [48] Buchweitz JP, Ganey PE, Bursian SJ, et al. Underlying endotoxemia augments toxic responses to chlorpromazine: is there a relationship to drug idiosyncrasy? [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2002, 300: 460–467.
- [49] Shaw PJ, Hopfensperger MJ, Ganey PE, et al. Lipopolysaccharide and trovafloxacin coexposure in mice causes idiosyncrasy-like liver injury dependent on tumor necrosis factor- $\alpha$  [J]. *Toxicol Sci*, 2007, 100: 259–266.
- [50] Dugan CM, Macdonald AE, Roth RA, et al. A mouse model of severe halothane hepatitis based on human risk factors [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2010, 333: 364–372.
- [51] Shaw PJ, Fullerton AM, Scott MA, et al. The role of the hemostatic system in murine liver injury induced by coexposure to lipopolysaccharide and trovafloxacin, a drug with idiosyncratic liability [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2009, 236: 293–300.
- [52] Cheng L, You Q, Yin H, et al. Effect of polyI:C cotreatment on halothane-induced liver injury in mice [J]. *Hepatology*, 2009, 49: 215–226.
- [53] Wang JB, Ma Z, Niu M, et al. Evidence chain-based causality identification in herb-induced liver injury: exemplification of a well-known liver-restorative herb *Polygonum multiflorum* [J]. *Front Med*, 2015, 9: 457–467.
- [54] Wang JB, Chunyu LI, Zhu Y, et al. Integrated evidence chain-based identification of Chinese herbal medicine-induced hepatotoxicity and rational usage: exemplification by *Polygonum multiflorum* (He shou wu) [J]. *Chin Sci Bull (科学通报)*, 2016, 61: 971–980.
- [55] Zhu Y, Niu M, Chen J, et al. Comparison between Chinese herbal medicine and Western medicine-induced liver injury of 1985 patients [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2016, 31: 1476–1482.
- [56] Zhu Y, Liu SH, Wang JB, et al. Clinical analysis of drug-induced liver injury caused by *Polygonum multiflorum* and its preparations [J]. *Chin J Integr Tradit Chin West Med (中国中西医结合杂志)*, 2015, 35: 1442–1447.
- [57] Li CY, Li XF, Tu C, et al. The idiosyncratic hepatotoxicity of *Polygonum multiflorum* based on endotoxin model [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2015, 50: 28–33.
- [58] Meng YK, Li CY, Li RY, et al. Mechanism of *Polygonum multiflorum*-induced liver injury: *cis*-stilbene glucoside induces immunological idiosyncratic hepatotoxicity by suppressing PPAR- $\gamma$  in a lipopolysaccharide model [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2017. DOI: 10.1038/aps.2017.32.
- [59] Li CY, Niu M, Bai ZF, et al. Screening for main components associated with the idiosyncratic hepatotoxicity of a tonic herb, *Polygonum multiflorum* [J]. *Front Med*, 2017. DOI: 10.1007/s11684-017-0508-9.
- [60] He LZ, Yin P, Meng YK, et al. Immunological synergistic mechanisms of *trans*-/*cis*-stilbene glycosides in Heshouwu-related idiosyncratic liver injury [J]. *Sci Bull*, 2017. DOI: 10.1016/j.scib.2017.04.020.
- [61] Goda K, Takahashi T, Kobayashi A, et al. Usefulness of *in vitro* combination assays of mitochondrial dysfunction and apoptosis for the estimation of potential risk of idiosyncratic drug induced liver injury [J]. *J Toxicol Sci*, 2016, 41: 605–615.
- [62] He TT, Gong M, Bai YF, et al. Clinical analysis of two diagnosis methods for herb-induced liver injury [J]. *China J Chin Mater Med (中国中药杂志)*, 2016, 41: 3096–3099.