DOI:10.13350/j.cjpb.230523

·综述·

华支睾吸虫致肝胆管纤维化的免疫学机制研究进展*

赵磊[1],彭小红[1,2,3**]

(1.桂林医学院寄生虫学教研室,广西桂林 541004;2.桂林医学院附属医院广西肝脏损伤与修复分子医学重点实验室;3.广西教育厅病原生物学重点实验室)

【摘要】 华支睾吸虫主要寄生于人的肝胆管内,虫体在胆管内的长期寄生会导致肝胆管慢性炎症,引起胆管上皮增生,进而导致胆管周围纤维化。本文通过从虫体的固有免疫、适应性免疫对华支睾吸虫感染所致纤维化在免疫学方面的研究进展进行阐述。

【关键词】 华支睾吸虫;肝吸虫;纤维化;免疫;综述

【中图分类号】 R383.22 【文献标识码】 A 【文章编号】 1673-5234(2023)05-0609-05

[*Journal of Pathogen Biology*. 2023 May;18(5):609-613.]

Advances in the immunologic mechanism of hepatobiliary fibrosis induced by *Clonorchis sinensis*

ZHAO Lei[1], PENG Xiaohong[1,2] (1. *Department of Parasitology, Guilin Medical College, Guilin* 541004, *China*; 2. *Guangxi Key Laboratory of Molecular Medicine in Liver Injury and Repair, the Affiliated Hospital of Guilin Medical University*; 3. *Guangxi University Key Laboratory of Pathogenic Biology*)

【Abstract】 *Clonorchis sinensis* mainly parasitizes in human hepatobiliary duct, long-term parasitism of *C. sinensis* in bile duct will lead to chronic inflammation of hepatobiliary duct, hyperplasia of bile duct epithelium and then fibrosis around bile duct. This paper reviews research on the immunology of fibrosis caused by *C. sinensis* infection from the aspects of innate immunity, adaptive immunity.

【Key words】 *Clonorchis sinensis*; liver fluke; fibrosis; immunology; review

***华支睾吸虫又称肝吸虫,是一种食源性寄生虫,主要流行于中国、韩国、越南北部和俄罗斯远东地区[1]。据估计全球约有1500万人感染华支睾吸虫,其中以我国感染者居多,约为1300万[2]。我国主要有2个流行区:位于东南地区的广东省、广西壮族自治区和东北地区的吉林省、黑龙江省[3]。在这些感染区中,以广西壮族自治区最为严重。第三次全国人体重点寄生虫的调查显示我国华支睾吸虫感染率为0.47%,而广西的感染率最高(9.62%)[4]。华支睾吸虫主要寄生于宿主肝胆管内,长期慢性感染可引起胆管周围慢性炎症,胆管上皮增生,胆管周围纤维化,甚至胆管癌[5-6]。华支睾吸虫所致的胆管周围纤维化主要导致虫体聚集引起肝胆管的机械性梗阻、虫体活动对肝胆管的机械性损伤和虫体排泄和分泌代谢产物所致的肝胆管免疫病理损害[7-9]。但华支睾吸虫虫体或其代谢产物直接诱导的炎症因子以及慢性炎症所致免疫细胞分泌的炎症因子在其所致肝胆管纤维化中发挥的机制尚未明确。本文就目前关于华支睾吸虫感染所致纤维化的免疫机制研究进行综述。

1 免疫细胞在肝纤维化中的作用

纤维化是纤维结缔组织的广泛沉积,其特征是胶原蛋白和其他细胞外基质(ECM)成分的积累,先天免疫和适应性免疫都参与了纤维化的发生。免疫细胞在肝损伤应答中起调节作用,并且参与肝纤维化的过程。机体在正常生理状态下,免疫细胞功能处于动态平衡状态,维持机体正常的细胞免疫和体液免疫。而当机体处于感染状态时,免疫细胞在不同感染时期发挥着不同的调节作用。在感染早期以巨噬细胞诱导的固有免疫为主。巨噬细胞是人体重要的炎症调控细胞,主要分为M1型和M2型。M1型称为经典激活型巨噬细胞,介导机体的炎症、防御反应以清除微生物;M2型又称为替代激活型巨噬细胞,参与抗炎和介导组织损伤修复的作用。巨噬细胞通过表面的模式识别受体(pattern recognition receptor,PRRs)与病原相关的分子模式(pathogen- associated molecular patterns,PAMPs)相结合而被激活,直接或间接地参与了纤维化的发生发展[10]。而在急性感染期,免疫抗原首先激活$CD4^+$ T细胞向Th1极化偏移,Th1可以分泌抗纤维化因子如IFN-γ阻止肝星状细胞(hepatic stellate cells,HSCs)合成胶原。随着感染进行,$CD4^+$ T细胞逐渐向Th2极化,Th2通过分泌IL-4和IL-13活化巨噬细胞,刺激HSC生成胶原,导致ECM增生,从而促进肝纤维化的发生[11]。研究发现,辅助性T淋巴细胞(Th9、Th17)和自然杀伤(NK)细胞、自然杀伤T淋巴细胞(NKT)细胞均参与了肝纤维化的发生[12](图1)。

2 固有免疫与肝胆管纤维化

2.1 肝吸虫感染致巨噬细胞 M2极化介导肝纤维化在参与固有免疫中以巨噬细胞和树突状细胞、NKT细胞为主。巨噬细胞的M1型和M2型的动态平衡是华支睾吸虫感染所致肝脏纤维化的关键,其激活通路以TLR4激活通路尤为重要。Toll样受体中,TLR4是第一个被发现的哺乳动物Toll样受体,主

* 【基金项目】 国家自然科学基金项目(No.82060376)。

** 【通讯作者】 彭小红,E-mail:pxh815@163.com

【作者简介】 赵 磊(1995-),男,贵州遵义人,在读硕士。主要研究方向:寄生虫与宿主免疫。E-mail:zll431@163.com

要表达于巨噬细胞和树突状细胞表面，识别来自细胞外病原体 PAMPs[13]。TLR4 诱导的信号通路参与了组织修复的内环境稳定，并在各种损伤修复中起着扮演不同角色。研究证实 TLR4 与华支睾吸虫感染导致的肝损伤密切相关，动物试验表明 TLR4 缺失促进华支睾吸虫感染小鼠 M2 巨噬细胞的活化[14-15]。而体外研究发现 TLR4 可调节骨髓源性树突状细胞的成熟，并在感染中诱导 Th2/Treg 偏移[16]，表明华支睾吸虫感染后巨噬细胞可以通过 TLR4 介导 M2 的极化。同时，Rojas 等[17]研究发现巨噬细胞利用 M1 表型使干扰素-γ(IFN-γ)与其细胞外异二聚体 IFNGR-1 和 IFNGR-2 结合，从而启动 JAK1 和 JAK2 介导的信号级联，最终激活 STAT1，进而激活 M1 谱的转录。而 Th2 淋巴细胞，嗜酸性粒细胞，嗜碱性粒细胞和巨噬细胞释放的 IL-4 是触发 M2 的主要信使。与其受体(IL-4R)结合后，这种细胞因子启动 JAK1 和 JAK3 介导的细胞内级联反应，最终激活 STAT6，然后驱动 M2 的分化[18]。表明 M1/M2 通过 TLR4 途径激活 STAT 信号通路。M1 具有强吞噬作用，可分泌大量炎症因子杀灭微生物。M2 通过参与免疫调节，抑制炎症清除寄生虫促进组织修复，但组织修复同时易导致瘢痕形成，最终导致肝纤维化的发生。

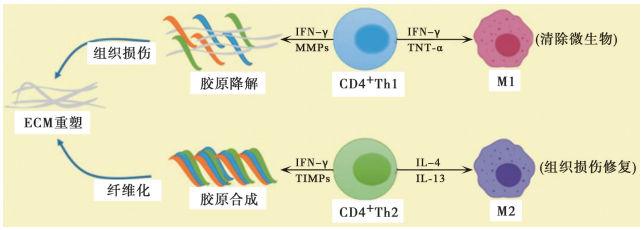

图 1 $CD4^+$ Th1/2 细胞的不同作用

Fig. 1 Different effects of $CD4^+$ Th1/2 cells

2.2 自由基的产生促进炎症因子上调 自由基是一种化学物质，于 1900 年由犹太裔美国化学家 Moses 发现并证实，起初人们对于自由基的研究主要基于一般的化学反应过程，但随着研究的深入发现自由基与抗氧化，抗衰老，寄生虫感染免疫相关[19-20]。van 等[20-21]发现华支睾吸虫产生的排泄和分泌代谢产物可诱导代谢性氧化应激，激活炎症介质，如一氧化氮合酶、NADPH 氧化酶、环氧合酶、脂氧合酶以及黄嘌呤氧化酶，以产生自由基，加剧 NF-κB 介导的炎症反应。其中，一氧化氮(NO)可通过抑制 DNA 修复和环氧合酶刺激导致宿主 DNA 损伤[22]。诱导型一氧化氮合酶(iNOS)由巨噬细胞活化产生，在还原辅酶Ⅱ或四氢生物喋呤存在下，可催化 L-精氨酸与氧分子反应，生成胍氨酸和 NO，有助于吞噬细胞有效杀伤微生物。Sripa 等[23]研究发现，华支睾吸虫排泄分泌产物(*C. sinensis* excretory/secretory products，Cs. ESPs)以 MyD88 依赖性方式上调 TLR4 mRNA 的表达促使 ikβ 降解，并诱导核因子-κB(NF-κB)核异位而激活。一旦 NF-κB 被激活后，将会刺激诱导型一氧化氮合酶(iNOS)和环氧合酶 2(COX-2)、NADPH 氧化酶(NOX)等产生[24-25]，随后这些酶类再反作用调节 NF-κB 产生自由基。自由基的增加显著促进了胞浆 IκB-α 的降解和核因子-κB 亚单位(RelA 和 p50)的核转位，促使炎症因子 IL-1β 和 IL-6 上调[26-27]。同时，研究还发现 Cs. ESPs 与 H69 细胞共培养可触发 NOX 介导的氧化损伤，增加Ⅰ型胶原蛋白和纤连蛋白表达[28]。表明华支睾吸虫感染期间自由基的产生使宿主氧化还原稳态的持续破坏致使炎症因子的生成，进而可能产生致病相关炎症致使肝胆纤维化的发生[25,29]。

2.3 TGF-β1 诱导肝星状细胞活化 转化生长因子-β1(TGF-β1)是 TGF-β 超家族的关键成员，在肝胆纤维化的发生发展中起着关键作用[30]。TGF-β 受体包括 TGF-βR1 和 TGF-βR2，其与 TGF-β 结合后，受体分子丝/苏氨酸激酶区使 Smad3 磷酸化，随后 Smad4 转入核内，结合启动子后调节其转录[31]。Smad 蛋白是 TGF-β1 的关键细胞内效应器，Smad3 的缺失抑制Ⅰ型胶原的表达并阻止上皮-间质转换减轻纤维化，Smad2 的破坏上调Ⅰ型胶原的表达[32]。在 TGF-β/Smad 信号通路介导下，华支睾吸虫感染感染的小鼠肝脏中 Smad3 蛋白的及其 mRNA 转录水平增加，同时小鼠中Ⅰ型胶原、TGF-β1 和 α-SMA mRNA 水平的升高与肝纤维化程度成正比[33-34]，提示 TGF-β/Smad 信号通路参与了华支睾吸虫感染引起的肝纤维化。TLR4 也与丝/苏氨酸激酶受体介导的信号转导途径密切相关，TLR4 缺乏可加重耐药系华支睾吸虫感染小鼠引起的胆管损伤和胆管周围纤维化[35]。Yan 等[34,36]发现，TLR4 被阻断时，P-Smad2/3 和 α-SMA 的表达降低，表明 TGF-β/Smad 信号通路与 TLR4 信号通路之间存在串扰，通过调节 TGF-β/Smads 信号通路可促使 Cs. ESPs 引起的 HSC 活化，使 HSC 被激活并转化为肌成纤维细胞致肝纤维化。Cs. ESPs 成分中的分泌型磷脂酶 A2 也能促使 HSCs 的增殖与活化激活 HSCs 使体内胶原蛋白积聚，导致细胞外基质(ECM)的大量沉积，从而参与肝纤维化的形成和发展[37]。

2.4 IL-10 在纤维化中的双重作用 IL-10 是重要的抗炎细胞因子，主要由活化的巨噬细胞和树突状细胞分泌，并能对两者具有抑制作用，属于典型的负调节因子。Choi 等[38]发现，在华支睾吸虫感染后小鼠血清细胞因子 IL-4、IL-5、IL-10 的水平增高，其中 IL-10 增高显著而 IFN-γ 和 IL-2 降低。Sziksz 等[39]发现 IL-10 可以下调 IFN-γ 的表达，表明抗炎细胞因子 IL-10 升高的同时可能使 Th1 免疫受到抑制。IL-10 在纤维化中的作用不一，研究发现 IL-10 基因治疗可以逆转硫代乙酰胺诱导的小鼠肝纤维化[40]。而 IL-10 可通过 JAK1 信号通路途径激活 STAT3，下调下游 IFN-γ、MMP-9、iNOS 的表达来调节免疫功能减轻炎症，但在促进组织修复的过程也促进的肝脏组织纤维化[39]。

IL-35 是 2007 年发现的 IL-12 家族成员，近年来才被鉴定为一种抗炎细胞因子，主要由 Treg、Breg、DC 细胞产生。IL-35 可诱导 $CD4^+CD39^+CD25^+$ T 细胞产生 IL-10，Huang 等[41]发现 IL-10 可以通过直接作用于成纤维细胞降低胶原蛋白的沉积等方式减少纤维化的发生。体内体外试验表明，IL-35 可以抑制 Th17 受体的应答而减少 IL-17 的分泌[42]，而动物试验发现 IL-35 的缺失可以导致小鼠肝纤维化的发生，但 IL-35 抗纤维化的作用机制尚不清楚[43]。

3 适应性免疫与肝胆管纤维化

3.1 Th1/Th2 失衡诱导肝纤维化 Th1 和 Th2 免疫应答的相对平衡是调节华支睾吸虫诱导的肝脏炎症和肝纤维化病理过程的关键[44]，T-bet、GATA-3 分别是原始 T 细胞分化成 Th1 和 Th2 细胞的转录因子。Th1/Th2 对机体适应性免疫尤为重要，Th1 细胞产生 IL-2，IFN-γ，IL-12 等细胞因子，介导细胞内

病原体的免疫防御，在器官特异性自身免疫性疾病中发挥重要作用[45]。Th2细胞产生IL-4、IL-6、IL-10、IL-13等细胞因子，保护宿主免受细胞外寄生虫的感染，并参与适应性反应和过敏反应[45-46]。IFN-γ可促进Th0细胞分化为Th1细胞，抑制Th2细胞功能，而IL-4可促进Th0细胞分化为Th2细胞，同时抑制Th1细胞功能，所以正常情况下Th1/Th2互相拮抗，动态平衡。在华支睾吸虫感染病人中，T-bet和GATA-3表达显著增高，表明Cs. ESPs可诱导宿主产生Th1、Th2型免疫应答[26,47]，在感染早期以T-bet增高为主，随着病程的进展，GATA-3开始占据优势[48]，免疫反应倾向于Th2反应。Th2产生IL-4和IL-13促进粘膜分泌和肠蠕动，构成免疫屏障，并促进组织修复，但过度的Th2细胞反应在循环促进组织修复的过程中也促进纤维组织的重塑，胶原沉积，导致ECM增生，从而促进肝胆纤维化的发生发展[11,49]。

3.2 Treg/Th17失衡致肝纤维化 Th17和Treg近来备受关注。Th17是最早参与抗感染应答的效应T细胞，可刺激趋化因子和其他细胞因子产生，募集中性粒细胞，单核细胞至炎症部位[12]。Treg细胞是$CD4^+$ T细胞中的一个关键亚群，通过调节自身耐受，肿瘤免疫，抗微生物抵抗，过敏和移植排斥途径，具有维持免疫稳态的作用[50]。IL-17参与了包括肺、肾、肠、心脏和肝脏等不同器官的纤维化发展[39]，且Th17细胞与Treg细胞密切相关，因为它们来源于相同的原始$CD4^+$ T细胞前体[51]。在华支睾吸虫感染小鼠14 d时仅Treg表达被抑制，而在56 d时Treg、Th17表达显著增加，且Treg/Th17比值在感染期间一直在增加，提示在华支睾吸虫感染小鼠期间随着感染的进行Treg诱导的免疫逐渐变主导[52]。感染小鼠中Treg细胞可通过产生抗炎细胞因子IL-10和TGF-β抑制Th1免疫反应促进华支睾吸虫的生存并导致慢性感染[53]。同时，在华支睾吸虫感染FVB小鼠后Treg/Th17比值出现偏态[54]，且随着感染的进行，Treg/Th17比值的动态增高与肝纤维化的严重程度成正比[34]。Li等[55]发现，在华支睾吸虫感染早期时Th17和Treg之间有一个适当的平衡，此时炎症细胞在感染部位周围被募集。一旦Treg/Th17的平衡被破坏，炎症细胞的数量就会减少，并且随着感染的发展，胶原沉积急剧增加[34]。IL-25(IL-17E)是IL-17细胞因子家族的成员，被认为是Th2细胞衍生的细胞因子，研究发现华支睾吸虫感染小鼠中IL-25促进α-SMA和Ⅰ型胶原蛋白的表达，并导致了HSCs的活化，表明这两种影响可能导致过量的ECM蛋白的分泌和积累，并促进肝纤维化的发生[56](表1)。

4 展望

目前，国内外对于华支睾吸虫的研究都主要集中在免疫学方面，通过构造华支睾吸虫感染小鼠、基因缺陷的华支睾吸虫感染小鼠模型，随后对感染小鼠血清细胞因子、肝脾脏相关免疫细胞等进行检测来确定相关细胞因子或细胞表面抗原、信号通路蛋白的表达高低来确定其相关影响。对于感染期的检测，华支睾吸虫虫卵检测是目前确诊华支睾吸虫感染的金标准，但虫卵在人感染后4周左右才出现，而目前的相关免疫学检测试验华支睾吸虫的辅助诊断且存在交叉反应和低特异性。华支睾吸虫疫苗和血清学诊断的研究一直是热门，其疫苗试验目前仅在啮齿动物中进行，主要是基于蛋白质或其排泄分泌产物进行研究，其中以口服华支睾吸虫半胱氨酸蛋白酶的枯草芽孢杆菌孢子疫苗有着良好的研究前景。

表1 免疫细胞在肝纤维化中的作用
Table 1 The effects of immune cells in liver fibrosis

适应性免疫细胞 Adaptive immune cells	分泌因子 Secretory factors	种属 Species	诱导因素 Induced factors	纤维作用 Effect of fibrosis	参考文献 References
Th1	IFN-γ、IL-12	Mice	schistosome	-	[57]
Th2	IL-4、IL-13	Mice	schistosome	+	[58]
Th9	IL-9	Mice	CCl4	+	[59]
Th17	IL-1、IL-17	Mice	CCl4	+	[60]
Th22	IL-22	Mice	CCl4	+	[61]
Treg	IL-10	Mice	CCl4	-	[62]
固有免疫细胞					
M1	MMP-1、-9、-13	Mice	CCl4	-	[63]
M2a	MMP-12	Mice	CCl4	+	[64]
NKT	IL-6、TNF-α	Mice	TAA	+	[65]
γδT	IL-17A	Mice	CCl4	+	[66]
Neutrophils	MMPs	Rat	BDL	-	[67]

注：TAA：硫代乙酰胺；CCl4：四氯化碳；BDL：胆管结扎；MMPs：基质金属蛋白酶；+：促进；-：抑制。

Notes: TAA: thioacetamide; CCl4: carbon tetrachloride; BDL: bile duct ligation; MMPs: matrix metalloproteinases; +: advance; -: inhibition.

【参考文献】

[1] Tang ZL, Huang Y, Yu XB. Current status and perspectives of *Clonorchis sinensis* and clonorchiasis: epidemiology, pathogenesis, omics, prevention and control [J]. Infect Dis Poverty, 2016, 5(1): 71.

[2] Na BK, Pak JH, Hong SJ. *Clonorchis sinensis* and clonorchiasis [J]. Acta tropica, 2020(203): 105309.

[3] Qian MB, Utzinger J, Keiser J, et al. Clonorchiasis [J]. Lancet, 2016, 387(10020): 800-810.

[4] 陈颖丹，周长海，朱慧慧，等. 2015年全国人体重点寄生虫病现状调查分析 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志，2020，38(1)：5-16.

[5] Pak JH, Lee JY, Jeon BY, et al. Cytokine production in cholangiocarcinoma cells in response to *Clonorchis sinensis* excretory-secretory products and their putative protein components [J]. Korean J Parasitol, 2019, 57(4): 379-387.

[6] Hatta MA, Mohamad HA, Chin SF, et al. Pathogens and carcinogenesis: a review [J]. Biology (Basel), 2021, 10(6): 533.

[7] Sripa B, Kaewkes S, Intapan PM, et al. Food-borne trematodiases in southeast Asia [M]. Important helminth infections in Southeast Asia: Diversity and potential for control and elimination, Part A. 2010: 305-350.

[8] Rim HJ. Clonorchiasis: an update [J]. J Helminthol, 2005, 79(3): 269-281.

[9] Qian MB, Li HM, Jiang ZH, et al. Severe hepatobiliary morbidity is associated with *Clonorchis sinensis* infection: The evidence from a cross-sectional community study [J]. PLoS Negl Trop Dis, 2021, 15(1): e0009116.

[10] Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation [J]. Nat Rev Immunol, 2008, 8(12): 958-969.

[11] Wynn TA. Fibrotic disease and the T(H)1/T(H)2 paradigm [J]. Nat Rev Immunol, 2004, 4(8): 583-594.

[12] Zhang MJ, Zhang S. T cells in fibrosis and fibrotic diseases [J].

Front Immunol, 2020, 11: 1142.

[13] Ciferska H, Honsova E, Lodererova A, et al. Does the renal expression of Toll-like receptors play a role in patients with IgA nephropathy? [J]. J Nephrol, 2020, 33(2): 307-316.

[14] Cengiz M, Ozenirler S, Elbeg S. Role of serum toll-like receptors 2 and 4 in non-alcoholic steatohepatitis and liver fibrosis [J]. J Gast Hepatol, 2015, 30(7): 1190-1196.

[15] Yan C, Wu J, Xu N, et al. TLR4 deficiency exacerbates biliary injuries and peribiliary fibrosis caused by *Clonorchis sinensis* in a resistant mouse strain [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2020, 10: 526997.

[16] Hua H, Du Y, Ma R, et al. The regulatory roles of Toll-like Receptor 4 in secretions of type 1/type 2 relative cytokines by splenocytes and dendritic cells exposed to *Clonorchis sinensis* excretory/secretory products [J]. Inflammation, 2018, 41(1): 213-220.

[17] Rojas J, Salazar J, Mart nez MS, et al. Macrophage heterogeneity and plasticity: impact of macrophage biomarkers on Atherosclerosis [J]. Scientifica (Cairo), 2015(2015): 851252.

[18] Martinez FO, Helming L, Milde R, et al. Genetic programs expressed in resting and IL-4 alternatively activated mouse and human macrophages: similarities and differences [J]. Blood, 2013, 121(9): e57-69.

[19] Forman HJ. Redox signaling: An evolution from free radicals to aging [J]. Free Radic Biol Med, 2016(97): 398-407.

[20] van TH, Brindley PJ, Meyer CG, et al. Parasite infection, carcinogenesis and human malignancy [J]. EBioMedicine, 2017 (15): 12-23.

[21] Nam JH, Moon JH, Kim IK, et al. Free radicals enzymatically triggered by *Clonorchis sinensis* excretory-secretory products cause NF-κB-mediated inflammation in human cholangiocarcinoma cells [J]. Int J Parasitol, 2012, 42(1): 103-113.

[22] Jaiswal M, LaRusso NF, Shapiro RA, et al. Nitric oxide-mediated inhibition of DNA repair potentiates oxidative DNA damage in cholangiocytes [J]. Gastroenterology, 2001, 120 (1): 190-199.

[23] Sripa B, Brindley PJ, Mulvenna J, et al. The tumorigenic liver fluke *Opisthorchis viverrini*—multiple pathways to cancer [J]. Trends Parasitol, 2012, 28(10): 395-407.

[24] Sripa B, Thinkhamrop B, Mairiang E, et al. Elevated plasma IL-6 associates with increased risk of advanced fibrosis and cholangiocarcinoma in individuals infected by *Opisthorchis viverrini* [J]. PLoS Negl Trop Dis, 2012, 6(5): e1654.

[25] Mao Q, Xie ZZ, Wang XY, et al. *Clonorchis sinensis* ferritin heavy chain triggers free radicals and mediates inflammation signaling in human hepatic stellate cells [J]. Parasitol Res, 2015, 114(2): 659-670.

[26] Won J, Cho Y, Lee D, et al. *Clonorchis sinensis* excretory-secretory products increase malignant characteristics of cholangiocarcinoma cells in three-dimensional co-culture with biliary ductal plates [J]. PLoS Pathog, 2019, 15(5): e1007818.

[27] Bahk YY, Pak JH. Toll-Like receptor-mediated free radical generation in excretory-secretory product-treated cholangiocarcinoma Cells [J]. Korean J Parasitol, 2016, 54 (5): 679-684.

[28] Jeong JH, Yi J, Hwang MK, et al. The overactivation of NADPH oxidase during infection and the exposure to -nitroso compounds promote periductal fibrosis [J]. Antioxidants (Basel), 2021, 10(6): 869.

[29] Maeng S, Lee HW, Bashir Q, et al. Oxidative stress-mediated mouse liver lesions caused by *Clonorchis sinensis* infection [J]. Int J Parasitol, 2016, 46(3): 195-204.

[30] Kim KK., Sheppard D, Chapman HA. TGF-β1 signaling and tissue fibrosis[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2018, 10 (4): a022293.

[31] Derynck R, Muthusamy BP, Saeteurn KY. Signaling pathway cooperation in TGF-β-induced epithelial-mesenchymal transition [J]. Curr Opin Cell Biol, 2014(31): 56-66.

[32] Xu FY, Liu CW, Zhou DD, et al. TGF-β/SMAD pathway and its regulation in hepatic fibrosis [J]. J Histochem Cytochem, 2016, 64(3): 157-167.

[33] Jin Y, Wi HJ, Choi MH, et al. Regulation of anti-inflammatory cytokines IL-10 and TGF-β in mouse dendritic cells through treatment with *Clonorchis sinensis* crude antigen [J]. Exp Mol Med, 2014, 46: e74.

[34] Yan C, Wang L, Li B, et al. The expression dynamics of transforming growth factor-β/Smad signaling in the liver fibrosis experimentally caused by *Clonorchis sinensis* [J]. Parasit Vectors, 2015(8): 70.

[35] Yan C, Wu Ji, Xu N, et al. TLR4 deficiency exacerbates biliary injuries and peribiliary fibrosis caused by in a resistant mouse strain [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2020(10): 526997.

[36] Bai X, Wang N, Zhou J, et al. DX5(+) NKT cells' increase was correlated with liver damage in FVB mice not in BALB/c mice infected by *Clonorchis sinensis* [J]. Parasite Immunol, 2021, 43(1): e12796.

[37] Wu YJ, Li Y, SM, et al. Secreted phospholipase A2 of *Clonorchis sinensis* activates hepatic stellate cells through a pathway involving JNK signalling [J]. Parasit Vectors, 2017, 10(1): 147.

[38] Choi YK, Yoon BII, Won YS, et al. Cytokine responses in mice infected with *Clonorchis sinensis* [J]. Para Res, 2003, 91(2): 87-93.

[39] Sziksz E, Pap D, Lippai R, et al. Fibrosis related inflammatory mediators: Role of the IL-10 cytokine family [J]. Mediators Inflamm, 2015(2015): 764641.

[40] Hung KS, Lee TH, Chou WY, et al. Interleukin-10 gene therapy reverses thioacetamide-induced liver fibrosis in mice [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 336(1): 324-331.

[41] Huang YH, Chen MH, Guo QL, et al. Interleukin-10 induces senescence of activated hepatic stellate cells via STAT3-p53 pathway to attenuate liver fibrosis [J]. Cell Signal, 2020(66): 109445.

[42] Hu S, Lian PP, Hu Y, et al. The role of IL-35 in the pathophysiological processes of liver disease [J]. Front Pharmacol, 2020(11): 569575.

[43] Maddaloni M, Kochetkova I, Hoffman C, et al. Delivery of IL-35 by ameliorates collagen-induced arthritis in mice [J]. Front Immunol, 2018(9): 2691.

[44] Zhao L, Shi M, Zhou L, et al. *Clonorchis sinensis* adult-derived proteins elicit Th2 immune responses by regulating dendritic cells via mannose receptor [J]. PLoS Negl Trop Dis, 2018, 12(3): e0006251.

[45] Glimcher LH, Murphy KM. Lineage commitment in the immune system: the T helper lymphocyte grows up [J]. Genes Dev, 2000, 14(14): 1693-1711.

[46] Elson CO, Cong Y, Brandwein S, et al. Experimental models to study molecular mechanisms underlying intestinal inflammation [J]. Ann N Y Acad Sci, 1998(859): 85-95.

[47] Babu S, Kumaraswami V, Nutman TB. Transcriptional control of impaired Th1 responses in patent lymphatic filariasis by T-box expressed in T cells and suppressor of cytokine signaling genes [J]. Infect Immun, 2005, 73(6): 3394-3401.

[48] Chakir H, Wang HP, Lefebvre DE, et al. T-bet/GATA-3 ratio as a measure of the Th1/Th2 cytokine profile in mixed cell populations: predominant role of GATA-3 [J]. J Immunol Methods, 2003, 278(1-2): 157-169.

[49] Xu YQ, Liang P, Bian M, et al. Interleukin-13 is involved in the formation of liver fibrosis in *Clonorchis sinensis*-infected mice [J]. Parasitol Res, 2016, 115(7): 2653-2660.

[50] Mikami N, Kawakami R, Sakaguchi S. New Treg cell-based therapies of autoimmune diseases: towards antigen-specific immune suppression [J]. Curr Opin Immunol, 2020(67): 36-41.

[51] Keswani T, Bhattacharyya A. Differential role of T regulatory and Th17 in swiss mice infected with plasmodium berghei ANKA and plasmodium yoelii [J]. Exp Parasitol, 2014(141): 82-92.

[52] Yan C, Zhang BB, Hua H, et al. The Dynamics of Treg/Th17 and the Imbalance of Treg/Th17 in *Clonorchis sinensis*-infected mice [J]. PloS One, 2015, 10(11): e0143217.

[53] Zhang BB, Yan C, Fang F, et al. Increased hepatic Th2 and Treg subsets are associated with biliary fibrosis in different strains of mice caused by *Clonorchis sinensis* [J]. PloS One, 2017, 12(2): e0171005.

[54] Kong DL, Li XY, Zhang BB, et al. The characteristics of CD4T-helper cell subset differentiation in experimental -infected FVB mice [J]. Iran J Basic Med Sci, 2020, 23(12): 1538-1543.

[55] Li XY, Yang Yi, Qin S, et al. The impact of *Clonorchis sinensis* infection on immune response in mice with type II collagen-induced arthritis [J]. BMC immunology, 2020, 21(1): 7.

[56] Zhou LL, Shi MC, Zhao L, et al. *Clonorchis sinensis* lysophospholipase A upregulates IL-25 expression in macrophages as a potential pathway to liver fibrosis [J]. Parasit Vectors, 2017, 10(1): 295.

[57] Wynn TA, Cheever AW, Jankovic D, et al. An IL-12-based vaccination method for preventing fibrosis induced by schistosome infection [J]. Nature, 1995, 376(6541): 594-596.

[58] Gieseck RL, Wilson MS, Wynn TA. Type 2 immunity in tissue repair and fibrosis [J]. Nat Rev Immunol, 2018, 18(1): 62-76.

[59] Guo XY, Cen Y, Wang JX, et al. CXCL10-induced IL-9 promotes liver fibrosis via Raf/MEK/ERK signaling pathway [J]. Biomed Pharmacother, 2018(105): 282-289.

[60] Meng FL, Wang K, Aoyama T, et al. Interleukin-17 signaling in inflammatory, kupffer cells, and hepatic stellate cells exacerbates liver fibrosis in mice [J]. Gastroenterology, 2012, 143(3) 765-776.

[61] Lu DH, Guo XY, Qin SY, et al. Interleukin-22 ameliorates liver fibrogenesis by attenuating hepatic stellate cell activation and downregulating the levels of inflammatory cytokines [J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(5): 1531-1545.

[62] Hammerich LD, Tacke F. Interleukins in chronic liver disease: lessons learned from experimental mouse models [J]. Clin Exp Gastroenterol, 2014(7): 297-306.

[63] Ma PF, Gao CC, Yi J, et al. Cytotherapy with M1-polarized macrophages ameliorates liver fibrosis by modulating immune microenvironment in mice [J]. J Hepatol, 2017, 67(4): 770-779.

[64] Tacke F, Zimmermann HW. Macrophage heterogeneity in liver injury and fibrosis [J]. J Hepatol, 2014, 60(5): 1090-1096.

[65] Ishikawa S, Ikejima K, Yamagata H, et al. CD1d-restricted natural killer T cells contribute to hepatic inflammation and fibrogenesis in mice [J]. J Hepatol, 2011, 54(6): 1195-1204.

[66] Seo W, Eun HS, Kim SY, et al. Exosome-mediated activation of toll-like receptor 3 in stellate cells stimulates interleukin-17 production by γδ T cells in liver fibrosis [J]. Hepatology, 2016, 64(2): 616-631.

[67] Saito JM, Bostick MK, Campe CB, et al. Infiltrating neutrophils in bile duct-ligated livers do not promote hepatic fibrosis [J]. Hepatol Res, 2003, 25(2): 180-191.

【收稿日期】 2022-12-03 **【修回日期】** 2023-02-15