

肺纤维化形成中的关键细胞及分子研究进展

陈 骋^{1,2}, 张 旋^{1*}, 洪志鹏^{3*}

(1. 昆明医科大学 药学院 云南省天然药物药理重点实验室, 云南 昆明 650500; 2. 昆明医科大学第一附属医院 泌尿外科, 云南 昆明 650032; 3. 昆明医科大学第一附属医院 胸外科, 云南 昆明 650032)

摘要:肺纤维化(PF)是多种原因引起的慢性间质性肺疾病,严重危害人类健康。多种细胞及分子被确认参与了PF形成的复杂过程,成为PF发病中较为重要的细胞和关键的致纤维化因子。这些关键细胞及分子可能成为抗PF药物作用的重要靶点,并为抗PF药物的研发提供一定的参考价值。

关键词:肺纤维化;细胞机制;分子靶点

中图分类号:R310 **文献标志码:**A

Research progress in key cells and molecules in pathogenesis of pulmonary fibrosis

CHEN Cheng^{1,2}, ZHANG Xuan^{1*}, HONG Zhi-peng^{3*}

(1. School of Pharmaceutical Science & Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical University, Kunming 650500; 2. Dept. of Urologic Surgery, the 1st Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032; 3. Dept. of Thoracic Surgery, the 1st Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, China)

Abstract: Pulmonary fibrosis (PF) is a chronic illness of the interstitial parenchyma that results in the disruption of lung architecture and is seriously harmful to human health. Various cells and molecules were found to participate in the complex process of PF formation, and identified as key factors to induce the incidence of PF. These cells and molecules may be important targets for anti-PF drugs. This article reviews the current research progress in roles of key cells and molecules in pathogenesis of PF, so as to provide a reference for the further research and development of anti-PF drugs.

Key words: pulmonary fibrosis; cellular mechanism; molecular target

肺纤维化(pulmonary fibrosis, PF)是多种原因引发的慢性间质性肺疾病,患者5年生存率仅20%^[1]。其主要病理学特点是早期弥漫性肺炎,后期则出现大量成纤维细胞增殖分化、细胞外基质(extracellular matrix, ECM)异常积聚并取代正常肺

组织结构^[2-3]。目前,虽然已确认多种细胞及分子参与了PF形成过程,但该类疾病仍缺乏有效药物治疗。探寻PF形成中的关键细胞、分子及其作用,将有助于相应药物的研发。因此,现将参与PF形成的关键细胞及分子的研究现状综述如下,为对应

收稿日期:2018-01-11 修回日期:2018-05-02

基金项目:国家自然科学基金(81460565);云南省中青年学术和技术带头人后备人才培养项目(2015HB042);云南省应用基础研究(2014FB152)

* 通信作者(corresponding author): snoopykm@126.com; hzp-doc@sina.cn

药物研发等研究提供参考。

1 肺纤维化发病机制概述

虽然,PF的发病机制仍未彻底明确,但大量研究表明,各种类型PF发病过程中存在以下共同的重要病理机制:肺泡上皮细胞(alveolar epithelial cells, AECs)损伤和凋亡,成纤维细胞/肌成纤维细胞增殖分化,胶原和其他ECM的过度沉积,以及后期肺组织异常修复等病变^[4]。此外,多种致纤维化细胞因子、生长因子和趋化因子在PF的发病机制中也作用巨大^[5]。因此,这些细胞及分子已成为抗PF治疗药物干预的关键靶点。

2 肺纤维化形成中的关键细胞

2.1 肺泡上皮细胞及上皮-间质细胞转化

作为肺组织的结构细胞,AECs能表达和释放多种细胞因子、生长因子、趋化因子和炎症反应介质,促进成纤维细胞增生和胶原合成,还可通过上皮-间质细胞转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)分化为成纤维细胞,并在转化生长因子- β 1(transforming growth factor beta, TGF- β 1)作用下转化为肌成纤维细胞^[6]。EMT是指上皮细胞失去其特有表型获得新的表型,并转化为间质细胞(成纤维细胞/肌成纤维细胞)的过程。该过程中,作为上皮细胞标志物的E-cadherin表达下调,而间充质细胞标志物 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)的表达上调。在PF形成过程中,约25%的成纤维细胞源于EMT作用AEC转化^[7]。此外,AECs凋亡作用也参与了PF的形成。AECs可受成纤维细胞和肌成纤维细胞的诱导而过表达TGF- β 1,进而激活Fas/FasL通路及caspase8,上调促凋亡基因表达,导致其发生凋亡或坏死。AECs凋亡过度可导致成纤维细胞/肌成纤维细胞增殖和肺组织异常修复,最终形成PF^[8]。因此,AECs是肺损伤的主要靶细胞及PF过程的重要参与者,该细胞的凋亡和EMT的发生是PF形成的关键过程。

2.2 成纤维细胞/肌成纤维细胞

肺内大量成纤维细胞增殖和肌成纤维细胞的出现是PF的重要特征之一。通常,PF形成时肺内肌成纤维细胞主要源于:1)常驻肺内的成纤维

细胞发生增殖、分化;2)AECs发生EMT转化;3)骨髓衍生的循环纤维细胞(circulating fibrocytes, CFCs)^[9]。肌成纤维细胞可以表达 α -SMA和ECM(I型和III型胶原),更是PF过程中I型胶原蛋白来源的关键细胞^[10-11]。成纤维细胞/肌成纤维细胞迁移、增殖、分化以及ECM的合成与分解作用受各种生长因子、细胞因子和趋化因子的调控,特别是致纤维化细胞因子TGF- β 的诱导作用尤为重要。此外,肌成纤维细胞还可诱导AECs死亡,导致肺泡上皮不可逆性损伤。因此,成纤维细胞/肌成纤维细胞是PF形成过程中肺组织损伤修复和再生的关键参与者,也是导致ECM过度沉积的重要细胞。

2.3 循环纤维细胞及其分化

CFCs是成纤维细胞/肌成纤维细胞扩充的肺外潜在来源。研究发现,在PF的人和动物肺内CXCR4⁺循环纤维细胞数量和CXCL12水平增加。CXCL12为AECs合成的CXCR4的特异性配体,CXCR4/CXCL12可促进CFCs在肺组织聚集。在肺损伤时,CFCs迁移至肺内并分化为肌成纤维细胞,产生ECM、 α -SMA及多种致纤维化细胞因子、生长因子和其他介质,参与组织修复和再生^[12]。因此,CFCs的迁移和分化是PF时肺内肌成纤维细胞的另一个重要来源,在PF形成中发挥重要作用,故此成为抗PF药物干预作用的靶细胞。

2.4 肺泡巨噬细胞

肺泡巨噬细胞(alveolar macrophage, AM)是肺内常驻细胞,具有吞噬和抗原提呈功能、防御病原入侵,构建肺内天然免疫系统。同时,还能分泌多种补体、生长因子、TNF、IL和活性氧等,参与调节和启动免疫炎症反应。根据激活形式的不同,AM分为经典激活的M1细胞和选择性激活的M2细胞。M1巨噬细胞通过释放促炎细胞因子IL-1 β 、TNF- α 和趋化因子IL-8等参与炎症反应的启动和进展;而选择性激活的M2巨噬细胞则通过释放抗炎细胞因子IL-4、IL-10、IL-13和生长因子TGF- β ,参与炎症反应消退和组织重构^[13-14]。如果M1和M2之间的平衡向M2倾斜,M2则可通过释放促纤维化细胞因子,引起AM和成纤维细胞之间的恶性循环,进而加速PF的形成^[15]。因此,调节巨噬细胞的激活状态也成为抗PF药物研究的一个重要方向。

3 肺纤维化形成中的关键分子

3.1 转化生长因子- β 1 及其信号传导通路

TGF- β 1 是一个多功能的细胞因子,是 PF 形成中关键的致纤维化细胞因子,参与 PF 的诱导和启动并制约 PF 的发展方向^[16]。肺内许多细胞均可产生 TGF- β 1,而 AM 是其主要来源细胞。TGF- β 1 可刺激成纤维细胞和巨噬细胞合成促炎和致纤维化细胞因子 TNF- α 、PDGF、IL-13 和 IL-1 β ,参与 PF 形成。TGF- β 1 也是 ECM 产生的最强诱导剂,能抑制基质金属蛋白酶(MMPs)的活性,提高金属蛋白酶组织抑制剂(TIMPs)的作用,减轻胶原和其他基质蛋白的分解^[17]。此外,TGF- β 1 还能够诱导 AECs 发生 EMT 和促进其凋亡,引发氧化应激反应。TGF- β 信号传导通路包括 Smad 依赖和非 Smad 依赖通路(ERK、p38MAPK 和 PI3K-Akt),该信号传导通路的激活是 PF 过程中一个关键步骤^[17]。因此,TGF- β 1 及其信号传导通路是抗 PF 药物干预的靶点之一。

3.2 血小板源生长因子

血小板源生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)能刺激成纤维细胞产生胶原,调节 ECM 的合成和降解,参与 PF 形成^[18],主要来源于 AM。PDGF 对成纤维细胞具有强烈的致有丝分裂活性、趋化作用和诱导生长因子分泌作用^[19]。国外已将 PDGF 作为抗 PF 药物作用的靶点,研制出能阻断 TGF- β 和 PDGF 受体的 PDGF 受体拮抗剂(gleevec),并已进入Ⅲ期临床试验^[20]。

3.3 结缔组织生长因子

结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)是成纤维细胞基质产生和肌成纤维细胞分化的另一个强烈刺激因子,可诱导成纤维细胞增殖和分泌 ECM,促进 PF 形成^[21]。PF 形成时,增殖的Ⅱ型 AECs 和活化成纤维细胞表达 CTGF 增加,而 IFN- γ 能明显降低 PF 患者 CTGF 的表达。TGF- β 1

作为 CTGF 致 PF 途径的启动子,可通过Ⅰ型 TGF- β 受体(T β RI)/激活素受体样激酶 5(ALK-5)依赖 Smad2 信号途径上调 CTGF mRNA 表达^[22]。CTGF 拮抗剂(FG-3019)是一种直接拮抗 CTGF 的中和抗体,能减少胶原合成,在国外已被作为抗肺纤维化药物的干预靶点,进入了Ⅱ期临床试验。

3.4 趋化因子

趋化因子为白细胞趋化剂,能够促进肌成纤维细胞、巨噬细胞和其他效应细胞迁移到组织受损部位。巨噬细胞炎性反应蛋白 1 α (MIP-1 α)和单核细胞趋化蛋白 1(MCP-1)属 CC-趋化因子,被认为是重要的致 PF 趋化因子,能促进肌成纤维细胞在肺损伤部位聚集,参与 PF 形成^[23]。干预趋化因子的活化与产生能够减少成纤维细胞/肌成纤维细胞和 CFCs 在肺内的聚集,抑制 PF 的形成^[23-24]。因此,这些趋化因子可作为抗 PF 药物作用的重要靶点。

4 问题与展望

PF 的形成是一个极其复杂的过程,有多种细胞及分子的参与。其中,AECs 可发生 EMT 分化为纤维细胞,AM 激活并向 M2 分化可释放促纤维化细胞因子,CFCs 迁移分化、成纤维细胞/肌成纤维细胞产生 ECM,以及 TGF- β 1、PDGF 和 CTGF 等多种分子共同作用并促进 PF 的发生发展。笔者研究也发现,通过下调 TGF- β 1、CTGF 表达以及抑制 EMT 可能有助于减轻博莱霉素诱导的大鼠肺纤维化程度^[25]。

然而,目前对于 PF 形成过程中以上各种关键性细胞及分子的具体作用机制、关键作用靶点以及如何有效拮抗其作用等研究仍不透彻。随着更广泛的运用基因芯片、高通量测序和蛋白质组学等技术,参与 PF 形成的新分子及相应的信号通路将不断被发现,相应细胞与分子机制也将被探明。这些关键细胞及分子将可能成为潜在的治疗靶点,为 PF 的药物研发和基因治疗提供新的思路。

参考文献:

[1] PSpagnolo TM, Spagnolo P, Maher TM, *et al.* Idiopathic pulmonary fibrosis: recent advances on pharmacological therapy[J]. *Pharmacol Ther*, 2015, 152: 18-27.

[2] Wuyts WA, Agostini C, Antoniou KM, *et al.* The pathogenesis of pulmonary fibrosis: a moving target[J]. *Eur Respir J*, 2013, 41: 1207-1218.

- [3] Loomis-King H, Flaherty KR, Moore BB. Pathogenesis, current treatments and future directions for idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2013, 13: 377-385.
- [4] Amarpreet Kaur, Susan KM, David AS. Genetics in idiopathic pulmonary fibrosis pathogenesis, prognosis, and treatment[J]. *Front Med*, 2017, 4: 154. doi:10.3389/fmed.2017.00154.ecollection.
- [5] Barkauskas CE, Noble PW. Cellular mechanisms of tissue fibrosis. 7. New insights into the cellular mechanisms of pulmonary fibrosis[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2014, 306:987-996.
- [6] Nowrin K, Sohal SS, Peterson G, *et al.* Epithelial-mesenchymal transition as a fundamental underlying pathogenic process in COPD airways: fibrosis, remodeling and cancer [J]. *Expert Rev Respir Med*, 2014, 8:547-559.
- [7] Chang CC, Tsai ML, Huang HC, *et al.* Epithelial-mesenchymal transition contributes to SWCNT-induced pulmonary fibrosis[J]. *Nanotoxicology*, 2012, 6: 600-610.
- [8] Kim SJ, Cheres P, Jablonski RP, *et al.* The role of mitochondrial DNA in mediating alveolar epithelial cell apoptosis and pulmonary fibrosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16:21486-21519.
- [9] Maharaj S, Shimbori C, Kolb M. Fibrocytes in pulmonary fibrosis: a brief synopsis[J]. *Eur Respir Rev*, 2013, 22: 552-557.
- [10] Habel DM, Hogaboam C. Heterogeneity in fibroblast proliferation and survival in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Front Pharmacol*, 2014, 5: 2. doi:10.3389/fphar.2014.00002.ecollection.
- [11] Kendall RT, Feghali-Bostwick CA. Fibroblasts in fibrosis: novel roles and mediators[J]. *Front Pharmacol*, 2014, 5: 123. doi:10.3389/fphar.2014.00123.ecollection.
- [12] Chiang HY, Chu PH, Lee TH. R1R2 peptide ameliorates pulmonary fibrosis in mice through fibrocyte migration and differentiation[J]. *PLoS One*, 2017, 12:e0185811. doi:10.1371/journal.pone.0185811. eCollection 2017.
- [13] Venosa A, Gow JG, Hall L, *et al.* Regulation of nitrogen mustard-induced lung macrophage activation by valproic acid, a histone deacetylase inhibitor [J]. *Toxicol Sci*, 2017, 157: 222-234.
- [14] Lechner AJ, Driver IH, Lee J, *et al.* Recruited monocytes and type 2 immunity promote lung regeneration following pneumonectomy[J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 21: 120-134.
- [15] Gharib SA, Johnston LK, Huizar I, *et al.* MMP28 promotes macrophage polarization toward M2 cells and augments pulmonary fibrosis[J]. *J Leukoc Biol*, 2014, 95: 9-18.
- [16] Gu H, Mickler EA, Cummings OW, *et al.* Crosstalk between TGF- β 1 and complement activation augments epithelial injury in pulmonary fibrosis[J]. *FASEB J*, 2014, 28:4223-4234.
- [17] Warburton D, Shi W, Xu B. TGF- β -Smad3 signaling in emphysema and pulmonary fibrosis: an epigenetic aberration of normal development? [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2013, 304: 83-85.
- [18] Dadrich M, Nicolay NH, Flechsig P, *et al.* Combined inhibition of TGF β and PDGF signaling attenuates radiation-induced pulmonary fibrosis[J]. *Oncoimmunology*, 2015, 5:e1123366. doi:10.1080/2162402x.2015.1123366.ecollection.
- [19] Kanaan R, Strange C. Use of multitarget tyrosine kinase inhibitors to attenuate platelet-derived growth factor signaling in lung disease [J]. *Eur Respir Rev*, 2017, 26: 170061. doi:10.1183/16000617.0061-2017.
- [20] Behr J, Günther A, Bonella F, *et al.* German guideline for idiopathic pulmonary fibrosis-update on pharmacological therapies 2017 [J]. *Pneumologie*, 2017, 71: 460-474.
- [21] Raghu G, Scholand MB, de Andrade J, *et al.* FG-3019 anti-connective tissue growth factor monoclonal antibody: results of an open-label clinical trial in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Eur Respir J*, 2016, 47:1481-1491.
- [22] Zhu B, Ma AQ, Yang L, *et al.* Atorvastatin attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis via suppressing iNOS expression and the CTGF (CCN2)/ERK signaling pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14: 24476-24491.
- [23] Egger C, Cannet C, Gérard C, *et al.* Effects of the fibroblast activation protein inhibitor, PT100, in a murine model of pulmonary fibrosis[J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 809:64-72.
- [24] Vuga LJ, Tedrow JR, Pandit KV, *et al.* C-X-C motif chemokine 13 (CXCL13) is a prognostic biomarker of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2014, 189:966-974.
- [25] Chen C, Wang YY, Wang YX, *et al.* Gentiopicroside ameliorates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice via inhibiting inflammatory and fibrotic process[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495: 2396-2403.