

代谢重编程在特发性肺纤维化发病中的作用

段 然^{1#}, 李青原^{1#}, 冯 同^{2*}

- 成都医学院第一附属医院, 四川 成都 610500;
- 南方医科大学 第二临床医学院, 广东 广州 510515

摘要:肺纤维化是由肺泡上皮反复受损,导致异常的上皮-成纤维细胞转化和肌成纤维细胞产生,进而导致细胞外基质大量积累和间质重塑引起的。与大多数肿瘤细胞类似,肺纤维化过程中也发生了代谢重编程,包括糖、脂、氨基酸代谢等改变,具体表现为糖酵解的上调、脂肪酸氧化减弱而合成增强、谷氨酰胺分解增加。糖酵解为纤维化形成过程中巨噬细胞、成纤维细胞等的大量增殖提供快速和高效的能量供应,满足其能量需求。活化后的成纤维细胞氨基酸代谢重编程不仅促进了胶原的合成,也在羟脯氨酸合成过程中通过形成 ROS 加剧了肌成纤维细胞活化进程。

关键词: 特发性肺纤维化; 代谢重编程; 糖酵解; 靶向治疗

中图分类号: R563 文献标志码: A

DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2024.06.0882

Metabolic reprogramming in idiopathic pulmonary fibrosis

DUAN Ran^{1#}, LI Qingyuan^{1#}, FENG Tong^{2*}

- the First Affiliated Hospital of Chengdu Medical College, Chengdu 610500;
- the Second Clinical Medical College, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

Abstract: Pulmonary fibrosis is caused by repeated damage to the pulmonary alveolar epithelium, leading to abnormal epithelial-mesenchymal transition and myofibroblast production, resulting in the accumulation of extra cellular matrix and remodeling of the interstitium. Analogous to many tumor cells, pulmonary fibrosis involves metabolic reprogramming, encompassing alterations in carbohydrate, lipid, and amino acid metabolism. Notably, this reprogramming is marked by enhanced glycolysis, diminished fatty acid oxidation paired with augmented synthesis, and increased degradation of glutamine. Glycolysis efficiently and rapidly fulfills the energy requirements for the proliferation of macrophages and fibroblasts during fibrotic development. Additionally, the reprogramming of amino acid metabolism in activated fibroblasts not only facilitates collagen synthesis but also intensifies myofibroblast activation by generating reactive oxygen species (ROS) during the production of hydroxyproline.

Key words: idiopathic pulmonary fibrosis; metabolic reprogramming; glycolysis; targeted therapy

收稿日期: 2023-11-09 修回日期: 2024-01-23

基金项目: 国家临床重点专科建设培育科室专项(CYFY2018GLPHX01)

* 通信作者 (corresponding author): 543051181@qq.com

对本文有相同贡献

特发性肺纤维化 (idiopathic pulmonary fibrosis, IPF) 是一种原因未知的慢性、进行性间质性肺炎, 其特点是不可逆的肺功能损害和不良预后。肺泡上皮损伤引发的异常修复反应会导致异常的成纤维细胞增殖和过度细胞外基质蛋白沉积, 从而促进肺纤维化的发展。美国食品药品监督管理局已批准两种药物, 即吡非尼酮和尼达尼布, 用于 IPF 治疗, 但只在减缓肺功能下降方面表现出适度的益处。近来有研究表明其他因素可能与 IPF 的发生有关, 尤其是代谢重编程在 IPF 中的作用, 近几年更是引起了广大学者的关注。

1 代谢重编程的简介

代谢重编程是指细胞在适应不同生理或病理条件下, 通过调节代谢途径和代谢产物的产生与利用, 来满足其特定功能和需求的调整过程。这种调整涉及到酶的表达和活性的改变, 以及代谢物的合成、分解和转运等过程的调节。代谢重编程是癌细胞的一个关键特征, 在肿瘤的发生和发展中发挥重要作用。然而, 代谢重编程不仅出现在肿瘤细胞中, 研究表明它在肝脏、肾脏和肺脏纤维化等多种疾病中存在。肝纤维化可由在肝细胞中过量沉积的三酰甘油引起, 这是由于脂肪酸代谢障碍导致过氧化物酶体增殖物激活受体- γ (peroxisome proliferators-activated receptor- γ , PPAR- γ) 的抑制作用^[1]。在肾小管上皮细胞中, 代谢重编程为脂肪酸氧化的肾小管上皮细胞可以预防肾脏纤维化的发生^[2]。肺脏作为代谢活跃的器官, 对各种致病因素的刺激极其敏感, 容易发生能量代谢方式的重编程。

2 糖代谢重编程调控 IPF 能量供应方式

2.1 糖代谢生物学意义

糖酵解重编程可以作为肺泡 II 型上皮细胞功能失调、成纤维细胞活化、肌成纤维细胞分化和巨噬细胞活化重要的能量驱动力, 以促进肺纤维化的发生与发展。尽管糖酵解的 ATP 生成效率较低 (1 个葡萄糖分子完全氧化后, 糖酵解生成 2 个 ATP 分子, 氧化磷酸化生成 36 个 ATP 分子), 但糖酵解实际上以更快的速率生成 ATP, 因此具有比氧化磷酸化更快的产生 ATP 的速率, 为纤维化形成过程中巨噬细胞、成纤维细胞等的大量增殖提供快速和高效的能

量供应, 满足其能量需求。除了满足细胞 ATP 需求外, 活化的肺成纤维细胞会将高水平的糖酵解中间产物转移到丝氨酸-甘氨酸生物合成途径, 有利于肌成纤维细胞核苷酸的胶原蛋白合成。

2.2 GLUT1 表达增加葡萄糖的摄入量

在糖代谢重编程过程中, 通过影响转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 的传导途径, 葡萄糖转运蛋白、相关酶以及细胞外环境的变化促进了肺纤维化的形成。葡萄糖的转运是糖酵解过程的第一步, 葡萄糖转运蛋白 (glucose transporters, GLUT) 是调控胞外葡萄糖进入细胞内的载体蛋白。在 IPF 肺的成纤维细胞灶中, GLUT1 的表达上调, 增加了葡萄糖的摄入量, 以满足糖酵解所需的能量, 从而促进了肺纤维化的形成^[3]。此外, TGF- β 通过 SMAD 和 PDGFR 信号通路诱导 GLUT1 的表达, 增加细胞对葡萄糖的摄取量, 进而促进细胞外基质的沉积。抑制 GLUT1 降低肺成纤维细胞中 α -SMA 表达, 表明糖酵解激活与肌成纤维细胞的促纤维化转化之间存在直接联系。

2.3 TGF- β 1 调控糖酵解限速酶表达增加

葡萄糖进入细胞后, 细胞内的代谢过程会产生一些关键酶, 这些酶对糖代谢起着重要作用。当受到 TGF- β 1 刺激时, 糖酵解的关键限速酶, 如己糖激酶 2 (hexokinase 2, HK2)、磷酸果糖激酶 1 (phosphofructokinase-1, PFK-1) 和丙酮酸激酶 M2 (pyruvate kinase M2) 的水平会增加。在 IPF 成纤维细胞中, 6-磷酸果糖激酶-2/果糖-2, 6-二磷酸酶 (phosphofructokinase-2/fructose-2, 6-bisphosphatase, PFKFB3) 作为 PFK1 和糖酵解的激活剂也会增加^[4]。此外, 在肺上皮细胞和巨噬细胞中, PFKFB3 的水平也会上升。来源于 IPF 的肺成纤维细胞中, HK2 蛋白的水平也会增加。通过药理上抑制 PFKFB3 和 HK2, 可以消除 TGF- β 1 诱导的肌成纤维细胞分化、胶原蛋白的产生和收缩^[5]。此外, 通过使用 siRNA 来沉默 HK2, 能够抑制 TGF- β 诱导的促纤维化转录调控因子 YAP 和 TAZ 的激活^[5]。因此, 糖酵解是 TGF- β 活性及信号传导的重要调节因素之一。

2.4 乳酸生成维持高糖酵解速率

丙酮酸通过与乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 的作用, 在细胞外生成糖酵解的终产物乳酸。在 IPF 患者的成纤维细胞灶中, LDH 高度表

达^[6],导致患者肺组织中乳酸水平升高。同样,在接受博来霉素治疗的小鼠的纤维化肺中也观察到乳酸水平的上升^[6-7]。乳酸的产生能够补充细胞中烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺)水平, NAD⁺的再生进一步保持高糖酵解速率的持续进行。此外,乳酸的产生在细胞外也扮演着重要角色,包括通过降低细胞外 pH 来激活 TGF- β 并为邻近细胞提供能量^[8]。

由此可见,糖酵解代谢不仅仅是组织和细胞对缺氧条件的简单适应,而是具有多种重要的生物学功能作用,可能是肺纤维化形成过程中优先选择的能量代谢方式。

3 脂肪酸氧化减少促进糖酵解

脂质代谢在 IPF 中发挥重要作用,主要表现为脂肪酸氧化(fatty acid oxidation, FAO)减少和脂肪酸合成(fatty acid synthesis, FAS)增加。这些异常的脂质代谢过程促进了 IPF 的发生和发展。

通过激活脂肪酸氧化来降低脂质毒性是治疗肺纤维化的有效目标。最近的研究表明, TGF- β 可以降低成纤维细胞中的脂肪酸氧化,从而促进细胞外基质生成。通过激活 5'腺苷单磷酸激活蛋白激酶(5'-AMP activated protein kinase, AMPK)并激活乙酰辅酶 A 羧化酶(acetyl-CoA carboxylase α , ACC α),可以提高脂肪酸氧化活性。然而,在 IPF 的病理过程中, AMPK 的活性降低,导致脂肪酸氧化减少^[9]。因此, AMPK 的激活剂可以保护纤维化的肺损伤。然而,目前尚不清楚为什么脂肪酸氧化的下调会促进细胞外基质生成。可能的原因是脂肪酸氧化产生的大量能量可以在其他 ATP 产生途径受到限制时,抑制糖酵解。

同时,脂肪酸合成的增加也会促进肺纤维化,因为过量的脂肪酸会引起脂质毒性。脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FASN)是脂肪酸从头合成的必需合成代谢酶。尽管在 TGF- β 的作用下,脂肪酸氧化减少,但是 FASN 的表达却增加^[10]。在博来霉素诱导的纤维化肺中,大量积累的 FASN 抑制了 TGF- β 诱导的细胞外基质生成,并减少了体内博来霉素诱导的纤维化^[10]。此外,已经证明 ATP-柠檬酸裂解酶(ATP citratase, ACLY)也可以促进肾成纤维细胞中 TGF- β 诱导的胶原蛋白表达。然而, FASN 介

导其促纤维化作用的机制尚不清楚。进一步研究需要确定增加的长链脂肪酸是进入三羧酸循环产生能量,还是为脂质介导的信号通路提供前体物质。

4 氨基酸代谢参与胶原合成

胶原蛋白是存在于纤维化组织外基质中的重要结构蛋白。它的主要组成氨基酸包括甘氨酸、脯氨酸和赖氨酸。成纤维细胞在合成胶原蛋白的过程中需消耗大量甘氨酸及脯氨酸,因此显著增强的丝氨酸/甘氨酸从头合成途径以及旺盛的谷氨酰胺、精氨酸向脯氨酸的转化均是肌成纤维细胞的典型代谢特征。

4.1 丝氨酸-甘氨酸代谢

从头合成丝氨酸-甘氨酸途径在肌成纤维细胞产生胶原蛋白中起关键作用。因为甘氨酸是胶原蛋白中含量最丰富的氨基酸,占其氨基酸含量的三分之一^[11]。TGF- β 与其受体结合,可导致激活转录因子 4(activating transcription factor 4, ATF4)激活,增加丝氨酸和甘氨酸从头合成关键酶的表达^[12]。同时, ATF4 刺激 GLUT1 的表达,促进糖酵解合成葡萄糖衍生的甘氨酸生物合成,及随后的胶原蛋白合成。这些证据表明,丝氨酸和甘氨酸的从头合成是 TGF- β 活化成纤维细胞的关键环节之一。

4.2 谷氨酰胺分解

除丝氨酸/甘氨酸代谢外,谷氨酰胺代谢同样参与调控了成纤维细胞促纤维化表型。这个过程被称为“谷氨酰胺分解”。TGF- β 1 刺激的小鼠肺成纤维细胞和特发性肺纤维化患者的成纤维细胞中的谷氨酰胺酶(glutaminolysis, GLS)水平显著增加。谷氨酰胺分解通过谷氨酰胺酶和谷氨酸脱氢酶将谷氨酰胺分别转化为 α -酮戊二酸和谷氨酸。 α -酮戊二酸活化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路,促进脯氨酸的转录^[13]。另一产物谷氨酸也是脯氨酸合成的重要前体。TGF- β 诱导谷氨酸转化为脯氨酸所需的所有酶的表达,包括吡咯啉-5-羧酸合成酶(Δ 1-pyrroline-5-carboxylate synthase, P5CS)以及吡咯啉-5-羧酸还原酶(pyrroline-5-carboxylate reductase, P5CR),使细胞中脯氨酸总水平升高。而 P5CS 的敲除抑制了 TGF- β 诱导的胶原蛋白的产生^[14]。综上所述,谷氨酰胺分解在脯氨酸的生成中起着重要作用。

5 代谢重编程调控的关键转录因子

代谢重编程是通过转录水平上的动态调节实现的。下面将主要介绍 IPF 糖、脂、氨基酸代谢的关键转录因子。

低氧诱导因子-1 (hypoxia inducible factor-1, HIF-1) 可以调节许多与低氧有关的基因的表达,其中包括编码糖酵解酶的基因,从而调节糖代谢^[15]。局部低氧是纤维化组织的一个特征。细胞实验表明,低氧可以增加 TGF- β 诱导的 α -SMA 表达,从而促进肺纤维化的发生。在 IPF 患者以及博来霉素暴露小鼠的肺组织中,HIF-1 α 活性明显增加^[16]。

细胞代谢调节因子 AMPK 除了促进脂肪酸氧化外,还通过磷酸化转录因子胆固醇调节元件结合蛋白 (sterol-regulatory element binding proteins, SREBP) 来抑制脂肪酸的合成。PPAR- γ 是脂肪酸氧化的主要调控因子^[17]。在 IPF 患者的肺中,PPAR- γ 及其靶基因的表达下调,从而导致脂肪酸氧化减少。PPAR- γ 激动剂可以抑制 α -SMA 的产生和 TGF- β 诱导的胶原蛋白合成^[18]。SREBP1 主要在脂肪酸合成途径中调节关键酶的水平。在肺纤维化中,肺泡上皮细胞中的 SREBP 激活可以增加脂肪生成,导致肺脂毒性的发生,从而促进肺纤维化。

细胞应激反应,如内质网应激,可以导致 ATF4 的增加,从而促进氨基酸转运蛋白和生物合成酶的表达,包括丝氨酸-甘氨酸合成途径的表达。TGF- β 可以诱导肺成纤维细胞中的 ATF4 活化^[12]。ATF4 敲除会减少 TGF- β 诱导的丝氨酸-甘氨酸合成途径酶的表达,从而阻止肺成纤维细胞产生胶原蛋白。

6 基于代谢重编程治疗 IPF 的药物

基于糖酵解途径的治疗靶点,PFKFB3 抑制剂 [3-(3-吡啶基)-1-(4-吡啶基)-2-丙烯-1-酮 (3-(3-pyridinyl)-1-(4-pyridinyl)-2-propen-1-one, 3PO)] 能够阻断有氧糖酵解途径,抑制肺成纤维细胞向肌成纤维细胞的分化,并延缓肺纤维化的进程^[5]。针对

脂肪酸合成途径的调节剂是一种新的治疗方向。抑制 FASN 不仅降低了促纤维蛋白的表达,还改善了肺功能^[19]。作为能量传感器 AMPK 的药物,二甲双胍可以恢复 IPF 肌成纤维细胞中的 AMPK 活性,降低纤维化表型,并促进博来霉素损伤小鼠的纤维化消退^[9]。IPF 肌成纤维细胞表现出受 GIS 调节的谷氨酰胺分解显著增强,而谷氨酰胺分解是肺纤维化发生过程的标志。通过特定的 GIS 抑制剂 CB-839 和 BPTES 以及 GIS siRNA 抑制谷氨酰胺代谢,可以减少胶原蛋白的表达^[20]。新型化合物 NCT-503 抑制 3-磷酸甘油酸脱氢酶 (phosphoglycerate dehydrogenase, PHGDH),从而降低博来霉素诱导的小鼠肺纤维化^[21]。

7 问题与展望

代谢重编程是指重新调整不同代谢途径(如葡萄糖、脂质和蛋白质代谢)的过程。这种调整涉及到酶的表达和活性的变化,对于研究代谢重编程是具有挑战性的。在肺纤维化的成纤维细胞中,许多关键的糖酵解酶被上调,以增加糖酵解的活性。这种代谢重编程对于驱动纤维化行为至关重要,并且加速肺纤维化的进一步失调。然而,目前对代谢重编程的研究主要集中在成纤维细胞上。由于使用治疗药物来改变代谢会影响体内所有细胞类型,因此如何避免干扰其他肺细胞群的代谢过程成为细胞代谢疗法的下一步挑战。对任何代谢途径进行不加选择的干预,即使是微小的调整,都可能对这些细胞产生重大影响,从而导致意想不到的不良反应。同时,其他类型的肺细胞,如肺泡上皮细胞和巨噬细胞,其代谢变化也值得深入研究。虽然我们已经对肿瘤疾病中代谢途径的调控有了一些深入的了解,但在 IPF 相关代谢的研究进展与预期相距甚远,仍需深入探索其功能和机制。总之,深入全面研究 IPF 细胞的代谢重编程将为 IPF 的发生和发展提供新的理论基础,并为 IPF 的治疗提供新的靶点。

参考文献:

[1] Francque S, Szabo G, Abdelmalek MF, *et al.* Nonalcoholic steatohepatitis: the role of peroxisome proliferator-activ-

ated receptors[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 18: 24-39.

- [2] Mitrofanova A, Merscher S, Feroni A. Kidney lipid dysmetabolism and lipid droplet accumulation in chronic kidney disease[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2023, 19: 629-465.
- [3] Li Z, Geng J, Xie B, *et al.* Dihydromyricetin alleviates pulmonary fibrosis by regulating abnormal fibroblasts through the STAT3/p-STAT3/GLUT1 signaling pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 834604. doi:10.3389/fphar.2022.834604.
- [4] Xu Q, Mei S, Nie F, *et al.* The role of macrophage-fibroblast interaction in lipopolysaccharide-induced pulmonary fibrosis: an acceleration in lung fibroblast aerobic glycolysis[J]. *Lab Invest*, 2022, 102: 432-439.
- [5] Yin X, Choudhury M, Kang JH, *et al.* Hexokinase 2 couples glycolysis with the profibrotic actions of TGF- β [J]. *Sci Signal*, 2019, 12: eaax406. doi:10.1126/scisignal.aax4067.
- [6] Weckerle J, Picart-Armada S, Klee S, *et al.* Mapping the metabolomic and lipidomic changes in the bleomycin model of pulmonary fibrosis in young and aged mice[J]. *Dis Model Mech*, 2022, 15: dmm049105. doi:10.1242/dmm.049105.
- [7] Kottmann RM, Kulkarni AA, Smolnycki KA, *et al.* Lactic acid is elevated in idiopathic pulmonary fibrosis and induces myofibroblast differentiation via pH-dependent activation of transforming growth factor- β [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2012, 186: 740-751.
- [8] Wu A, Lee D, Xiong WC. Lactate metabolism, signaling, and function in brain development, synaptic plasticity, angiogenesis, and neurodegenerative diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24: 13398. doi:10.3390/ijms241713398.
- [9] Kheirollahi V, Wasnick RM, Biasin V, *et al.* Metformin induces lipogenic differentiation in myofibroblasts to reverse lung fibrosis[J]. *Nat Commun*, 2019, 10: 2987. doi:10.1038/s41467-019-10839-0
- [10] Qian W, Xia S, Yang X, *et al.* Complex involvement of the extracellular matrix, immune effect, and lipid metabolism in the development of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Front Mol Biosci*, 2021, 8: 800747. doi:10.3389/fmolb.2021.800747.
- [11] Hamanaka RB, Mutlu GM. The role of metabolic reprogramming and de novo amino acid synthesis in collagen protein production by myofibroblasts: implications for organ fibrosis and cancer [J]. *Amino Acids*, 2021, 53: 1851-1862.
- [12] O'Leary EM, Tian Y, Nigdelioglu R, *et al.* TGF- β promotes metabolic reprogramming in lung fibroblasts via mTORC1-dependent ATF4 activation [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2020, 63: 601-612.
- [13] Miao Y, Geng Y, Yang L, *et al.* Morin inhibits the transformation of fibroblasts towards myofibroblasts through regulating "PPAR- γ -glutaminolysis-DEPTOR" pathway in pulmonary fibrosis [J]. *J Nutr Biochem*, 2022, 101: 108923. doi:10.1016/j.jnutbio.2021.108923.
- [14] Schwörer S, Berisa M, Violante S, *et al.* Proline biosynthesis is a vent for TGF β -induced mitochondrial redox stress [J]. *EMBO J*, 2020, 39: e103334. doi:10.15252/embj.2019103334.
- [15] Elzakra N, Kim Y. HIF-1 α metabolic pathways in human cancer [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 1280: 243-260.
- [16] Yang L, Gilbertsen A, Xia H, *et al.* Hypoxia enhances IPF mesenchymal progenitor cell fibrogenicity via the lactate/GPR81/HIF1 α pathway [J]. *JCI Insight*, 2023, 8: e163820. doi:10.1172/jci.insight.163820.
- [17] Hernandez-Quiles M, Broekema MF. PPARgamma in metabolism, immunity, and cancer: unified and diverse mechanisms of action [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, 12: 624112. doi:10.3389/fendo.2021.624112.
- [18] Ligresti G, Raslan AA, Hong J, *et al.* Mesenchymal cells in the lung: evolving concepts and their role in fibrosis [J]. *Gene*, 2023, 859: 147142. doi:10.1016/j.gene.2022.147142.
- [19] Tseng KY, Liu KH, Wu HM, *et al.* The fatty acid synthase inhibitor C75 differentially affects the adipogenic differentiation of multipotent cells and preadipocytes [J]. *FEBS Lett*, 2022, 596: 3191-3202.
- [20] Ge J, Cui H, Xie N, *et al.* Glutaminolysis promotes collagen translation and stability via α -ketoglutarate-mediated mtor activation and proline hydroxylation [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2018, 58: 378-390.
- [21] Arlt B, Mastrobuoni G, Wuenschel J, *et al.* Inhibiting PHGDH with NCT-503 reroutes glucose-derived carbons into the TCA cycle, independently of its on-target effect [J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2021, 36: 1282-1289.