

• 综述 •

转化生长因子 $\beta 1$ 在肝纤维化发病中的作用

过建春 陈群伟 包剑锋 石伟珍 施军平 荀运浩

摘要:转化生长因子(TGF) $\beta 1$ 在肝纤维化的启动、进展中发挥了关键作用,近年对其参与肝纤维化发生的机制有了新的认识,如 TGF- $\beta 1$ 与非肝星状细胞来源的肌成纤维细胞(MFB)的联系、与上皮-间质转化(EMT)过程的联系以及 TGF- $\beta 1$ 基因多态性与肝纤维化的可能联系等。

关键词:转化生长因子 $\beta 1$;肝纤维化;基因多态性

肝纤维化是多种因素导致的慢性肝脏疾病的共同病理学特征,系由肝脏慢性损伤引起细胞外基质(ECM)过度沉积所致。转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)通过对肝星状细胞(HSC)、肝实质细胞、肝窦内皮细胞等的直接作用以及对与纤维化有关的其他生长因子和各种酶类施加广泛影响而促进 ECM 合成并抑制其降解,在肝纤维化的启动、进展中发挥关键性作用。本文重点对近年有关进展作一综述。

1 TGF- $\beta 1$ 受体和 TGF- $\beta 1$ /Smad 信号转导途径

TGF- $\beta 1$ 的生物学作用由细胞膜上的特异性受体介导。目前发现有三种不同的膜整合受体(即 T β R I、T β R II、T β R III)可与 TGF- $\beta 1$ 特异结合,亲和力较高。III型受体是蛋白多聚糖,与信号转导无关。I、II型受体是糖蛋白,均为跨膜的丝氨酸/苏氨酸激酶,为信号转导所必需。

活化的 TGF- $\beta 1$ 通过 Smad 蛋白转导细胞内信号。TGF- $\beta 1$ 首先识别并结合 T β R II,后者自身磷酸化从而获得磷酸激酶活性,与 T β R I 结合形成 TGF- $\beta 1$ 与受体的复合物,再通过 I 型受体 GS 区(甘氨酸和丝氨酸富集区)磷酸化而激活;活性 T β RI 的激酶区直接使受体相关 Smad 蛋白 Smad2/Smad3 C 端 MH2 结构域的 SSXS 基序磷酸化,使其 N 端与 C 端展开,进一步与 Smad4 形成异源寡聚体复合物,该复合物随即转移到细胞核与其他转录因子共同调节 I 型胶原基因等靶基因转录。Smad6~7 能竞争性地与 T β R I 结合,阻断受体相关 Smad 蛋白磷酸化而阻断信号转导过程,在 TGF- $\beta 1$ 信号转导中构成负反馈调节环路^[1]。

2 TGF- $\beta 1$ 在肝纤维化发生发展中的作用

本文着重就 TGF- $\beta 1$ 在 HSC 活化和非 HSC 来源的肌成纤维细胞(MFB)中的作用作一介绍。

2.1 TGF- $\beta 1$ 在 HSC 活化中的作用

HSC 在正常肝脏处于静息状态,有储存维生素 A、调节肝窦血流、提呈抗原等多种功能。当肝脏受到损伤时,HSC 活化向 MFB 转型并增殖而成为能合成 I 型、III 型、IV 型胶原和纤维连接蛋白等 ECM 主要组成物质的细胞;活化的 HSC 可分泌大量炎症因子、细胞黏附分子促进自身活化、增殖、趋化并促进炎症细胞和骨髓细胞趋化,促进肝纤维化进展。

肝脏炎症损伤时肝细胞坏死、过氧化损伤等因素促使潜伏状态 TGF- $\beta 1$ 向活性 TGF- $\beta 1$ 转变,可直接通过 Smad 信号转导方式作用于静息状态的 HSC,影响其基因转录和活化及向 MFB 转型,也可通过诱导库普弗细胞等方式产生其他促肝纤维化细胞因子,同时诱导 HSC 表达这些细胞因子受体而刺激 HSC 活化和增殖。肝损伤时活性 TGF- $\beta 1$ 被认为可能是激活邻近 HSC 的初始信号;同时激活的 HSC、库普弗细胞、窦周内皮细胞等分泌大量 TGF- $\beta 1$,HSC 细胞表面 TGF- β R 表达增加,进一步激活毗邻 HSC 并维持其活化状态。不同状态 HSC 的 TGF- $\beta 1$ 信号转导中具体参与介质有所不同,静息 HSC 中 TGF- $\beta 1$ 促进 Smad2 的磷酸化和核转位,而活化后的 HSC 中 TGF- $\beta 1$ 则主要影响 Smad3,且 Smad2 和 Smad3 在 HSC 的活化中起着不同的作用^[2]。有研究显示,Smad3 的过度表达与纤维结合蛋白和 I 型胶原沉积的增加密切相关,Smad3 基因敲除小鼠不能形成肝纤维化,Smad2 过度表达时却没有这样的改变^[3]。因此,TGF- $\beta 1$ 信号转导下游介质 Smad3 在 MFB 形态和功能的成熟过程中可能起更重要的作用,抑制 TGF- $\beta 1$ /Smad3 信号通路是抗纤维化的重要策略之一。研究最多

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(Y205410);浙江省教育厅高校科研计划项目(20050860)

作者单位:3100145 杭州,浙江中医药大学附属杭州第六医院中西医结合病区

的抑制性 Smad 蛋白是 Smad7,在 TGF- β 1 刺激下 Smad7 负反馈表达增加,竞争性地与 TGF β R I 结合,阻断受体相关 Smad 蛋白磷酸化而阻断 TGF- β 1 信号转导,抑制 HSC 的活化。在大鼠肝纤维化模型中 Smad7 表达的增加抑制了 HSC 转分化和肝纤维化的形成^[4]。

2.2 TGF- β 1 与非 HSC 来源 MFB

近年有证据表明 MFB 存在异质性,HSC 并不是 MFB 的唯一来源,提示 HSC 与 MFB 的联系有很大的不确定性。目前关于上皮-间质转化(EMT)和骨髓来源 MFB 的研究较多且与 TGF- β 1 关系密切,外周血单核细胞也可能通过细胞转分化为成纤维细胞而参与肺、肾纤维化进程,但在肝纤维化中还需进一步证实。

2.2.1 TGF- β 1 在 EMT 中的作用

EMT 指上皮细胞向间质细胞表型的转化,获得迁移与侵袭能力同时伴随功能的改变。EMT 广泛存在于胚胎发育过程中,目前作为重要的纤维化病理机制之一而备受关注。有证据显示肝细胞有 EMT 的潜力,并在 EMT 状态时 I 型胶原合成增加^[5]。EMT 的另一个重要细胞来源是胆管上皮,已证实原发性胆汁性肝硬化时胆管上皮细胞表型转化而成为早期成纤维细胞的标志物^[6]。门脉区和门静脉周围间质细胞也可激活和增殖并成为胆囊周围 MFB^[7]。

EMT 的主要诱导分子有 TGF- β 1、表皮生长因子、胰岛素样生长因子 II 和成纤维细胞生长因子 2,其中 TGF- β 较为重要。Kaimori 等^[5]发现处于 EMT 状态的肝细胞 TGF- β 1/Smad 信号通路激活,Smad2/3 磷酸化,使用 siRNA 技术致 Smad4 静默而阻断 TGF- β 1/Smad 信号转导可抑制 EMT。EMT 重要的负调节分子是同属于 TGF- β 超家族的骨形态发生蛋白-7(BMP-7),它不但能抑制 EMT 的发生还能使间质细胞向上皮细胞转化,即间质-上皮转化(MET)^[8]。研究显示,BMP-7 通过影响 TGF- β 1 信号通路的下游蛋白——Smad 蛋白来阻断其信号转导,而一些捕获蛋白和结缔组织生长因子则通过调节 TGF- β 1 和 BMP-7 之间的平衡而影响纤维化进程^[9-10]。

2.2.2 TGF- β 1 与骨髓来源 MFB

如果肝内微环境允许,骨髓干细胞可分化为肝内各种细胞。尽管目前对其具体来源尚不清楚,但已有实验和临床研究显示间质干细胞或骨髓中的特异性细胞能分化为 HSC 和 MFB 而参与肝纤维化发病^[11-12]。Kisseleva 等^[13]进一步研究发现 TGF- β 1 与骨髓来

源的 MFB 关系密切,用胆管结扎法诱导的小鼠肝纤维化模型中肝内成纤维细胞即部分来源于骨髓,且这部分细胞经由 TGF- β 1 的诱导分化而成。但目前对骨髓来源细胞在肝纤维化的具体调控机制还了解不多。

3 TGF- β 1 基因多态性

人 TGF- β 1 基因定位于 19q13,包含 7 个外显子和 6 个内含子,其启动子包含转录起始的两个主要位点和多个调节元件,但是缺少 TATA 盒和 CAAT 盒。目前发现 TGF- β 1 至少有 9 个基因多态性位点:若将其第 1 个转录子核苷酸定义为 +1 位,有 3 个多态性位点位于该基因的上游 5' 端,即启动子区域(C-988A、G-800A、C-509T);1 个位于非翻译区的 +72 位(单个 C 碱基的插入);2 个位于信号肽序列区第 1 外显子区,分别是编码密码子 10 的 +869 位点和密码子 25 的 +915 位点;1 个位于 TGF- β 前体编码区密码子 263(Thr/Ile);1 个位于第 4 内含子序列的单个碱基的缺失(713-8delC);另一个位于第 5 内含子内(C861-20T)。

TGF- β 1 基因多态性与器官纤维化的联系是目前纤维化机制的研究热点之一。多项研究为 TGF- β 1 基因多态性与肝纤维化的关系提供了依据,但结果并不一致。Powell 等^[14]报道 TGF- β 1 基因密码子 25 基因型为纯合子 Arg/Arg 时可能使慢性丙型肝炎肝硬化加重,而其他研究却认为促进纤维化进展的基因型为 Pro/Pro 或 Arg/Pro^[15-16]。在高加索人群中,密码子 10 等位基因以 Pro 为主时更易进展成肝硬化^[15],但在中国人和韩国人群中,其基因型为 Leu/Leu 时与乙型肝炎肝硬化的发生有关,提示 Leu 等位基因在亚洲人群肝硬化的发生中可能更重要^[17-18]。

国内多项研究提示,密码子 10 和-509 位点 C/T 多态性与肝硬化有关,但关于各基因型的分布结果很不一致。朱坚胜等^[19]发现密码子 10 Pro/Pro 基因型在慢性乙型肝炎、乙型肝炎肝硬化组中的分布频率较正常组高,其中密码子 25 基因型检测到 Arg/Pro 型 28 例(28/171)、Pro/Pro 型 14 例(14/171),但其他研究在亚洲人群中只检测到 Arg/Arg 基因型^[18,20]。杨再兴等^[17]发现 TGF- β 1 基因-509 位点 C/T 多态性与肝硬化的进展程度相关,而 codon 10 多态性与肝硬化的发生相关,但-509 基因型仅检测到 TT、CC 型,未检测到 CT 型,其他同类研究则以 CT 型为主。TGF- β 1 基因多态性研究结果不一致的可能原因有:实验技术问题,如分析单核苷酸多

态性的方法不统一;样本量偏小而无法避免抽样误差;研究设组没有依据病理诊断,慢性肝炎、代偿期肝硬化患者仅凭临床诊断较易误诊而造成统计结论的不可靠。

4 问题和展望

目前对 TGF- β 1 参与肝纤维化发生的机制已有较深入的研究,将来研究的热点主要集中在:(1)不同病因情况下 TGF- β 1 与非 HSC 来源 MFB 的关系;(2)TGF- β 1/Smad 信号通路与肝纤维化过程中同时启动的其他信号通路之间的交互对话及其意义;(3)不同地区不同种族人群中 TGF- β 1 基因多态性与肝纤维化的可能联系及进一步的基因修饰尝试。

参 考 文 献

- ten Dijke P, Hill CS. New insights into TGF- β -Smad signaling. *Trend Biochem Sci*, 2004, 29: 265-273.
- Liu C, Gaca MD, Swenson ES, et al. Smads 2 and 3 are differentially activated by transforming growth factor- β (TGF- β) in quiescent and activated hepatic stellate cells. Constitutive nuclear localization of Smads in activated cells is TGF- β -independent. *J Biol Chem*, 2003, 278: 11721-11728.
- Uemura M, Swenson ES, Gaca MD, et al. Smad2 and Smad3 play different roles in rat hepatic stellate cell function and smooth muscle actin organization. *Mol Biol Cell*, 2005, 16: 4214-4224.
- Dooley S, Hamzavi J, Breitkopf K, et al. Smad7 prevents activation of hepatic stellate cells and liver fibrosis in rats. *Gastroenterology*, 2003, 125: 178-191.
- Kaimori A, Potter J, Kaimori J, et al. Transforming growth factor- β 1 induces an epithelial-to-mesenchymal transition state in mouse hepatocytes in vitro. *J Biol Chem*, 2007, 282: 22089-22101.
- Robertson H, Kirby JA, Yip WW, et al. Biliary epithelial-mesenchymal transition in posttransplantation recurrence of primary biliary cirrhosis. *Hepatology*, 2007, 45: 977-981.
- Rygiel KA, Robertson H, Marshall HL, et al. Epithelial-mesenchymal transition contributes to portal tract fibrogenesis during human chronic liver disease. *Lab Invest*, 2008, 88: 112-123.
- Zeisberg M, Hanai J, Sugimoto H, et al. BMP-7 counteracts TGF- β 1-induced epithelial-to-mesenchymal transition and reverses chronic renal injury. *Nat Med*, 2003, 9: 964-968.
- Wang S, Hirschberg R. Bone morphogenetic protein-7 signals opposing transforming growth factor β in mesangial cells. *J Biol Chem*, 2004, 279: 23200-23206.
- Zeisberg M. Bone morphogenetic protein-7 and the kidney: current concepts and open questions. *Nephrol Dial Transplant*, 2006, 21: 568-573.
- Baba S, Fujii H, Hirose T, et al. Commitment of bone marrow cells to hepatic stellate cells in mouse. *J Hepatol*, 2004, 40: 255-260.
- Forbes SJ, Russo FP, Rey V, et al. A significant proportion of myofibroblasts are of bone marrow origin in human liver fibrosis. *Gastroenterology*, 2004, 126: 955-963.
- Kisseleva T, Uchinami H, Feirt N, et al. Bone marrow-derived fibrocytes participate in pathogenesis of liver fibrosis. *J Hepatol*, 2006, 45: 429-438.
- Powell EE, Edwards-Smith CJ, Hay JL, et al. Host genetic factors influence disease progression in chronic hepatitis C. *Hepatology*, 2000, 31: 828-833.
- Gewaltig J, Mangasser-Stephan K, Gartung C, et al. Association of polymorphisms of the transforming growth factor- β 1 gene with the rate of progression of HCV-induced liver fibrosis. *Clin Chim Acta*, 2002, 316: 83-94.
- Tag CG, Mengsteab S, Hellerbrand C, et al. Analysis of the transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) codon 25 gene polymorphism by LightCycler-analysis in patients with chronic hepatitis C infection. *Cytokine*, 2003, 24: 173-181.
- 杨再兴, 王皓, 高春芳, 等. 转化生长因子- β 1 基因多态性对乙型肝炎肝硬化的影响. *中华医学杂志*, 2005, 85: 1021-1026.
- Kwon OS, Song SH, Ju KT, et al. Polymorphism in codons 10 and 25 of the transforming growth factor- β 1 gene in Korean population and in patients with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Korean J Gastroenterol*, 2003, 42: 212-219.
- 朱坚胜, 何泽宝, 陈智, 等. 转化生长因子 β 1 基因多态性与乙型肝炎肝纤维化的关系研究. *中华传染病杂志*, 2006, 24: 410-413.
- 王皓, 杨再兴, 高春芳, 等. TGF- β 1 基因多态性与肝炎后肝纤维化的相关性研究. *第二军医大学学报*, 2004, 25: 1284-1287.

(收稿日期:2008-09-08)

(本文编辑:周骏)