

· 综 述 ·

结缔组织生长因子在致肺纤维化过程作用机制的进展研究*

贺凤群 综述, 秦光梅[△] 审校

(重庆医科大学附属永川医院呼吸内科, 重庆永川 402160)

关键词: 结缔组织生长因子; 细胞因子; 肺纤维化; 作用机制

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.20.036

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)20-2092-03

肺纤维化是肺间质疾病的最终结局, 主要累及肺间质、肺泡和细支气管, 其病理生理过程包括肺泡上皮细胞的再生失败、持续的成纤维细胞/肌成纤维细胞增殖、细胞外基质沉积、肺结构紊乱失调、有效换气面积减少, 最终导致低氧性呼吸衰竭^[1]。其发病机制尚不明确, 但近年大量研究提示纤维形成和纤维化不依赖于炎症而发生发展, 主张肺纤维化是一种间叶细胞疾病, 间叶细胞因子在纤维化疾病中发挥关键作用。

CTGF 是新近发现的一种富含半胱氨酸的即刻早期基因家族成员之一, 它涉及多种疾病的发生、发展, 如尿道狭窄、肺肉瘤、皮肤硬化症、心和肾纤维化、非小细胞肺癌、黑色素瘤、肉瘤、软骨肉瘤、胰癌、克罗恩病、肥胖及糖尿病并发症等^[2]。故 CTGF 成为当今医学研究的热点, 肺纤维化也不例外, 本文就 CTGF 在肺纤维化发病机制中的研究进展作一综述。

1 CTGF 的概述

1.1 CTGF 的结构、来源、特性、表达

CTGF 是一种富含半胱氨酸的多肽, 由 349 个氨基酸构成, 相对分子质量达 36~38 kD, 最先是在人脐静脉内皮细胞和鼠成纤维细胞中发现。其基因位于人 6 号染色体与 *cmyb* 相邻的长臂 23 区 1 带, 由 4 个内含子和 5 个外显子组成, 是即刻基因家族成员, 该家族还包括 *nov*、*cyr61* 等且具有高度序列结构的类似性和序列同源性^[3]。CTGF 是一种多功能的细胞行为调节蛋白, 参与调节多种生物过程, 如血管生成、细胞黏附、迁移、生存、扩散、分化和基质产生, 也参与一些病理生理过程如组织损伤、修复、发炎、纤维化疾病和癌症。有研究证实, CTGF 还能抑制脂肪细胞分化和某些肿瘤的发展, CTGF 不仅是发展和过程的积极调节器, 也是抑制调节器。这种相对作用可能是不同类型的组织参与癌症的结果^[4]。

研究表明, 在皮肤、肝脏、肾脏、肺、血管平滑肌细胞等均有 CTGF 的分泌。在正常组织中, CTGF 可有基础量分泌或不表达; 在创伤愈合中, CTGF 上调分泌表达由创伤激活启动, 一旦修复完成即停止分泌, 并在纤维化组织中, CTGF 的水平与疾病严重程度一致^[5]。

1.2 CTGF 的受体

低密度脂蛋白受体相关蛋白 (LRP) 是低密度脂蛋白家族成员, 作为多配体受体蛋白, 除了参与脂质代谢, 还表现出介导入胞, 信号转导及吞噬病毒及坏死细胞的作用。研究发现 LRP 与 CTGF 有高度结合能力, 提示 LRP 是 CTGF 的受体^[6]。CTGF 是第一个识别的与 LRP 直接相互作用的生长因子, Segarini 等^[7] 研究也证明 LRP 是 CTGF 的受体。

1.3 CTGF 受其他细胞因子的调节

各种生物过程的完成并不是由单个细胞因子介导的, 而是由多个细胞因子通过协同或拮抗的相互作用结果。有研究证实, 血管内皮因子、表皮生长

因子、成纤维细胞因子、等离体凝血因子、注射重组人凝血因子、凝血酶、溶血磷脂酸等正性调节 CTGF 细胞因子的表达; 肿瘤坏死因子 (TNF- α)、肾母细胞瘤抑制剂 (WT1) 与 CTGF 的表达呈负相关。

1.4 CTGF 的信号通路

CTGF 的信号路径研究尚不明确。目前研究大多主张 CTGF 基因表达与多种信号途径相关, 如在人皮肤成纤维细胞、血管平滑肌细胞中表达的转化生长因子 β_1 (TGF- β_1) Smad 蛋白途径, TGF- β_1 被定义为迄今为止在许多细胞中 CTGF 的最好刺激器, 也是介导 CTGF 表达的最主要路径, TGF- β_1 在胞外激活后, 与其胞膜上特异性受体结合发出信号, 继而刺激细胞质 Smads 蛋白介导胞内信号传递, 调解目的基因的转录, 包括编码细胞外基质蛋白 (ECM) 如: I、III 型胶原蛋白。Smads 蛋白可以将 TGF- β_1 信号直接由细胞膜激酶受体转入细胞核内, 是目前已知唯一的 TGF- β_1 受体胞内激酶底物, 该转导途径主要依赖 Smad2、3、4 介导表达, ALK5/Smad3 途径是 TGF- β_1 介导 CTGF 的最主要路径, 但是激酶 1 受体的活化可阻碍该路径, 且受 Smad7 的完全抑制^[8]; 研究还指出 *rac-1* 的活化仅在成纤维细胞和软骨细胞等比较局限类型中调节 CTGF 的表达, 有研究指出血管紧张素 II 通过 *rac-1* 的活化激活 CTGF, 导致 CX43、神经钙黏着蛋白表达上调, 形成间质纤维化, 且证实口服 *rac-1* 抑制剂治疗可阻碍该过程^[9]; 另有文献提示 P13K-AKT 信号路径、活化磷脂酶 C、PKC 等也参与 CTGF 的表达调控。近年肺纤维化研究还认为 CTGF 是一种基质蛋白质而不是生长因子, 它利用其多域结构协同 ECM, 利用细胞表面的多种受体如整联蛋白、类肝素蛋白聚糖、低密度脂蛋白受体相关蛋白、神经因子酪氨酸激酶受体等, 黏附其他细胞调整分子如 TGF- β_1 、IGF 等共同发挥作用^[10]。

2 CTGF 与肺纤维化

CTGF 是新近发现的成纤维细胞分裂和胶原合成促进剂, 离体实验已证实在大鼠和人类肺成纤维细胞中有 CTGF 表达, CTGF 可刺激有丝分裂、黏附、细胞凋亡、细胞外基质的产生、多种类型细胞的迁移, 有证据提示 CTGF 不仅是一个调节器还是组织纤维化的标志。研究还表明 CTGF 表达在肺成纤维细胞和 II 型肺泡上皮细胞, 由二者通过自分泌或旁分泌方式产生, 在调节胶原表达中起重要的作用^[11]。过度纤维化的发生是以 I、III 型胶原纤维增加为特征的^[12], 胶原是肺的细胞外基质的主要成分, 对维持正常肺结构起着至关重要的作用, I、III 型胶原是肺中最丰富的胶原亚型。CTGF 在肺纤维化组织中过度表达, 与 TGF- β_1 、胰岛素样生长因子 (IGF)、血管紧张素 II (ANG II) 等的慢性纤维化直接相关, 一起联合介导成纤

* 基金项目: 重庆市卫生局资助项目 (2009-2-067)。 Δ 通讯作者, Tel: 158086670086; E-mail: qgm1962820@sina.com。

维细胞变成肌成纤维细胞使胶原沉积,最终导致器官瘢痕和功能障碍,最严重的还可能出现器官衰竭和死亡^[13]。

3 CTGF 与某些细胞因子在肺纤维化中的相互作用

3.1 CTGF 与 TGF- β_1 TGF- β_1 是缩氨酸家族成员,是一种多效性细胞生长因子,主要由嗜酸性粒细胞、巨噬细胞、成纤维细胞和肌成纤维细胞分泌,它增强 CTGF 诱导肌成纤维细胞生成效应,其促纤维化的信号通过 CTGF 向下转导。TGF- β_1 在肺纤维化形成中起着关键作用,参与 CTGF、ECM、成纤维细胞转化的诱导,促进 CTGF 表达,以 I 型胶原和纤维连接蛋白(FN)为代表的 ECM 的产生,促使成纤维细胞转化为以平滑肌肌动蛋白表达为特征的肌成纤维细胞,CTGF 通过 TGF- β_1 的诱导高表达促进肺纤维化的发展,转化的肌成纤维细胞比成纤维细胞产生更多的 ECM,最终导致进展性纤维化^[14]。在皮肤成纤维细胞中的整联蛋白 $\alpha V\beta_3$ 和凝血酶 1(TSP1)两种隔膜蛋白可促进微环境中潜在的 TGF- β_1 的激活,CTGF 基因在不同细胞中表达通过 TGF- β_1 Smad 蛋白途径起作用^[15],但 Sonnylal 等^[16]的研究证明在硬皮病患者纤维化区域中,在没有 TGF- β_1 水平高表达情况下,CTGF 出现独立的高表达水平,肺纤维化是否能得出相似的结论还有待进一步研究。

3.2 CTGF 与 IGF- I IGF- I 也被称为肺泡巨噬细胞源生长因子(AMDGF),是巨噬细胞分泌的一种含 70 个氨基酸,76 kD 的单链多肽,是由 6 个外显子组成的 IGF- I 基因编码的,是一种与胰岛素有关的多效性细胞因子,并已证实在肺纤维化患者肺中呈高水平表达,在肺成纤维细胞中,它是一种促有丝分裂的分裂素,能解除这些细胞的自发细胞凋亡反应及诱导胶原合成,从而发挥促纤维化作用。而且在博莱霉素介导的肺纤维化动物模型研究中还证实 IGF- I 受体功能的缺失可促进纤维化的发生^[17]。CTGF 与 nov 和 cry61 一起被纳入 IGF- I 蛋白超家族成员,CTGF 和 IGFBP-1 已被指定为有待进一步调查研究的 IGFBP-rP(IGF- I 黏附蛋白-相关蛋白),CTGF 被命名为 IGFBP-rP2,成纤维细胞中 IGFBP-rP2 部分增强 TGF- β_1 的促分裂作用,研究发现 IGFBP 超家族以单独方式或与 IGF- I 配体相联合方式共同形成一个复杂的网络,调节肺部反应到疾病发生发展的整个过程。Kopinski 等^[18]研究提出细胞凋亡也可能是参与间质性肺疾病肺容量降低的病理过程的重要机制,在肺泡巨噬细胞(AM)和肺泡淋巴细胞(AL)中的存活和凋亡信号传导路径的不平衡在肺间质疾病的开始、进展和凋亡中发挥重要作用。但也有研究主张 IGF- I 可能是 AL 和 AM 的一种潜在的分裂素,目前尚无证据证实其在间质性肺疾病中的抗凋亡和促纤维化作用。

3.3 CTGF 与 ANG II ANG II 是纤维化疾病中的一个关键凋亡先兆因子,在大量纤维化疾病患者中发现有 ANG II 的合成并证实是由患者纤维化病灶组织的成纤维细胞在细胞水平经自分泌和旁分泌两种方式产生,ANG II 有 4 种信号转导途径,即蛋白质磷酸酶激活、NO-cGMP 激活、磷脂酶-A2 激活、蛋白激酶 C 激活^[19]。其功能是由 G 蛋白偶联受体 AT1R(ANG I 受体)和 AT2R(ANG II 受体)共同调节,AT1R 借助 NADH/NADPH 氧化酶依赖机制刺激活性氧(ROS)的产生来对调节多种生理功能起主要作用,其主要表达在肺泡 II 型上皮细胞、支气管细胞、内皮细胞、成纤维细胞中。以往研究发现 ANG II 有调控胶原蛋白合成和降解的作用,CTGF 的过度表达与 ANG II 所致高血压上升有密切关系,并证实 CTGF 借助血压和钙化磷酸酶依赖路径调节心脏、肾脏中 ANG II 介导的纤维化。研究还证实系膜细胞中,CTGF 是 ANG II 介导的

IV 型胶原产生的下游因子^[20]。

3.4 内皮素(ET-1) ET-1 是一种强力的血管收缩剂,能激活血管平滑肌细胞,促使扩散、肥大和细胞外基质蛋白(ECM)的合成如纤维连接蛋白(FN)和 I 型胶原蛋白,还能刺激细胞活性物质如肿瘤坏死因子(TNF- α)、生长因子和增强 TGF- β 和 PDGF 的作用。哺乳动物具有其两种受体即 ETA 和 ETB 受体,ET-1 借助表达在血管平滑肌细胞的 ETA 受体促进血管收缩、细胞生长、附着、纤维化和血栓形成。然而,表达在内皮细胞的 ETB 受体释放 NO 刺激血管舒张,防止细胞凋亡等来拮抗于 ETA 受体。拮抗 ETA 可减少 ET-1 介导的 CTGF 基因表达和产生,ET-1 通过 ETA 受体引出几个涉及 CTGF 表达调控的细胞内信号路径:RhoA/Rho 激酶的激活、胶原激活蛋白激酶及活化氧的产生。在血管平滑肌细胞中,ET-1 不能上调 TGF- β 蛋白或基因的表达,TGF- β 的中和抗体不能影响 ET-1 介导 CTGF 的产生,说明 ET-1 是独立不依赖于 TGF- β ,借助 ETA 受体激活细胞内信号调控 CTGF^[21]。ET-1 是已知在肺动脉高压中起关键作用的因子,而肺动脉高压是肺纤维化患者的死亡重要原因之一,在临床肺纤维化患者血浆中也发现 ET 水平升高,并证实 ET 增加了 CTGF 在成纤维细胞和血管平滑肌细胞中的基因表达^[22]。

4 展 望

肺纤维化是一种慢性致死性疾病,临床上的治疗方法大多以糖皮质激素、吸氧、抗纤维化治疗、肺移植等治疗为主,但这些治疗是治标不治本的,因为治疗方向并未指向肺纤维化形成机制,近年大量研究提示纤维形成和纤维化不依赖于炎症而发生、发展,主张间叶细胞因子在纤维化疾病中发挥关键作用。因此,治疗肺纤维化应从传统的治疗方法转变为从细胞因子入手,阻止成纤维细胞向肌成纤维细胞转化和胶原沉积,从而减少或防止肺纤维化形成。这也是肺纤维化在细胞因子方面的理论研究越来越多的重要原因,尽管这方面的成功理论和相关文献众多,但均尚未用于临床实践,需进一步临床检验证实,这些研究为从细胞因子角度治疗肺纤维化提供了正确的方向、依据和前景。

参考文献:

- [1] Lai TC, Pociask DA, Ferris M, et al. Small interfering RNAs(siRNAs) targeting TGF- β_1 mRNA suppress asbestos-induced expression of TGF- β_1 and CTGF in fibroblasts[J]. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2009, 28(2): 109-119.
- [2] Chien W, Yin D, Gui D, et al. Suppression of cell proliferation and signaling transduction by connective tissue growth factor in non-small cell lung cancer cells[J]. *Mol Cancer Res*, 2006, 4(8): 591-598.
- [3] Allen JT, Knight RA, Bloor CA, et al. Enhanced insulin-like growth factor binding protein-related protein 2(connective tissue growth factor) expression in patients with idiopathic pulmonary fibrosis and pulmonary sarcoidosis [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1999, 21(6): 693-700.
- [4] Mochizuki S, Tanaka R, Shimoda M, et al. Connective tissue growth factor is a substrate of ADAM28[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 402(4): 651-657.
- [5] Ruttensstock EM, Doi T, Dingemann J, et al. Prenatal administration of retinoic acid upregulates connective tissue

- growth factor in the nitrofen CDH model[J]. *Pediatr Surg Int*, 2011, 27(6):573-577.
- [6] Wang Y, Liu XM. Expression of connective tissue growth factor and low density lipoprotein related protein induced by transforming growth factor beta-1 in human pulmonary fibroblasts-1 [J]. *Beijing Da Xue Xue Bao*, 2006, 38(5):506-509.
- [7] Segarini RP, Nesbitt JE, Li D, et al. The Low density lipoprotein receptor-related protein macroglobulin receptor is a receptor for connective tissue growth factor [J]. *J Bio Chem*, 2001, 276(4):40659-40667.
- [8] Weng HL, Ciuclan L, Liu Y, et al. Profibrogenic transforming growth factor- β /activin receptor-like kinase 5 signaling via connective tissue growth factor expression in hepatocytes [J]. *Hepatology*, 2007, 46(4):1257-1270.
- [9] Adam O, Lavall D, Theobald K, et al. Rac1-induced connective tissue growth factor regulates connexin 43 and N-cadherin expression in atrial fibrillation [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2010, 55(5):469-480.
- [10] Brigstock DR. Connective tissue growth factor (CCN2, CTGF) and organ fibrosis: lessons from transgenic animals [J]. *J Cell Commun Signal*, 2010, 4(1):1-4.
- [11] Pan LH, Yamauchi K, Uzuk M, et al. Type II alveolar epithelial cells and interstitial fibroblasts express connective tissue growth factor in IPF [J]. *Eur Respir J*, 2001, 17(6):1220-1227.
- [12] Zhang P, Shi M, Wei Q, et al. Increased expression of connective tissue growth factor in patients with urethral stricture [J]. *Tohoku J Exp Med*, 2008, 251(3):199-206.
- [13] Arribillaga L, Dotor J, Basagoiti M, et al. Therapeutic effect of a peptide inhibitor of TGF- β on pulmonary fibrosis [J]. *Cytokine*, 2011, 53(3):327-333.
- [14] Ono A, Utsugi M, Masubuchi K, et al. Glutathione redox regulates TGF- β -induced fibrogenic effects through Smad3 activation [J]. *FEBS Lett*, 2009, 583(2):357-362.
- [15] Samarin J, Cicha I, Goppelt-Strube M. Cell type-specific regulation of CCN2 protein expression by PI3K-AKT-FoxO signaling [J]. *J Cell Commun Signal*, 2009, 3(1):79-84.
- [16] Sonnylal S, Shi-wen X, Leoni P, et al. Selective expression of connective tissue growth factor in fibroblasts in vivo promotes systemic tissue fibrosis [J]. *Arthritis Rheumatism*, 2010, 62(5):1523-1532.
- [17] Léger C, Ni A, Andonegui G, et al. Adenovirus-mediated gene transfer of hIGF- I B in mouse lungs induced prolonged inflammation but no fibroproliferation [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2010, 298(4):L492-500.
- [18] Kopinski P, Sadek K, Szczeklik J, et al. Expression of insulin-like growth factor-I (IGF- I) in alveolar macrophages and lymphocytes obtained by bronchoalveolar lavage (BAL) in interstitial lung diseases (ILD). Assessment of IGF- I as a potential local mitogen and antiapoptotic cytokine [J]. *Folia Histochem Cytobiol*, 2006, 44(4):249-258.
- [19] Lee YH, Mungunsukh O, Tutino RL, et al. Angiotensin-II-induced apoptosis requires regulation of nucleolin and Bcl-xL by SHP-2 in primary lung endothelial cells [J]. *J Cell Sci*, 2010, 123(10):1634-1643.
- [20] Finckenberg P, Inkinen K, Ahonen J, et al. Angiotensin II induces connective tissue growth factor gene expression via calcineurin-dependent pathways [J]. *Am J Pathol*, 2003, 163(1):355-366.
- [21] Rodriguez-Vita J, Ruiz-Ortega M, Ruperez M, et al. Endothelin-1, via ETA receptor and independently of transforming growth factor- β , increases the connective tissue growth factor in vascular smooth muscle cells [J]. *Circ Res*, 2005, 97(2):125-134.
- [22] Schroll S, Arzt M, Sebah D, et al. Improvement of bleomycin-induced pulmonary hypertension and pulmonary fibrosis by the endothelin receptor antagonist Bosentan [J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2010, 170(1):32-36.

(收稿日期:2011-12-09 修回日期:2012-02-19)

• 综 述 •

MKK4 在肿瘤发生发展中的作用*

罗洪亮 综述, 朱培谦[△] 审校

(南昌大学第二附属医院胃肠外科, 南昌 330006)

关键词: MKK4 基因; 机制; 丝裂原活化蛋白激酶; 综述

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.20.037

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)20-2094-04

丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPK) 是真核生物信号传递网络中的重要途径之一, 在调控细胞凋亡、生长以及一些重要基因的表达中发挥重要作用^[1]。现在已经确认在哺乳动物中存在 4 条不同的 MAPK 通路: extra-

cellular signal-regulated kinase (ERK)、ERK5、c-Jun N-terminal kinase (JNK)、p38, 其中 JNK 和 P38 被称为应激活化 MAPK 通路^[2]。一系列的 MKKs 可以激活 JNK 和 P38, 如 MKK3、MKK6 可以激活 P38, MKK7 可以激活 JNK, 只有 MKK4 能同