

· 综 述 ·

## PDGF 介导的信号通路在肝纤维化肝星状细胞活化增殖过程中的作用\*

曹 源<sup>1</sup>综述,胡晓松<sup>2△</sup>审校

(成都医学院:1. 2009 级本科;2. 形态学教研室,成都 610500)

**关键词:**肝硬化;血小板源性生长因子;肝星状细胞;细胞外基质

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.33.045

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)33-4086-03

肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)是指肝脏在不同致病因素作用下所引起的肝纤维结缔组织的过度沉积。肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)的活化、增殖为 HF 病理过程中的主要环节,而血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)是目前已知对 HSC 作用最强的多肽生长因子,在 HF 的发生、发展中起着重要作用。因此,本文就该因子在 HF HSC 活化增殖过程中的作用及基于该机制的 HF 治疗进展作一综述。

## 1 HF 发生机制

HF 的本质是细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的合成大于降解导致其在肝脏的过度沉积;另一方面 ECM 的降解减少导致其合成与降解的不平衡也促进了 HF 的形成。首先,肝细胞受损后释放转化生长因子- $\alpha$ (transforming growth factor, TGF- $\alpha$ )、类胰岛素生长因子-1(insulin-like growth factor, IGF-1)等有利于 HSC 活化、增殖的细胞因子;随着肝细胞坏死,被活化的邻近细胞以及血小板释放 PDGF、TGF- $\beta$ 1 等,对 HSC 活化、增殖起级联放大作用的多种细胞因子;最后 HSC 转化为 MFB 后分泌胶原物质,同时通过合成 PDGF、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 1 等细胞因子,促进自身分裂增殖,并合成分泌 ECM,导致 HF 不断发展<sup>[1]</sup>。

## 2 HSC 与 HF

HSC 是来源于肝脏间质的一种非实质细胞,位于肝内窦周 Disse 腔隙,形态不规则,呈卵圆形,约占肝内细胞总数的 5%~15%,具有合成、分泌 ECM 以及产生胶原酶的能力,是肝脏 ECM 的主要来源,是形成 HF 的细胞学基础。Firdman<sup>[2]</sup>研究证明了 HSC 的活化作为肝细胞外胶原物质的主要来源途径在 HF 进程中扮演着重要的角色。为此, HSC 的激活被认为是 HF 形成的核心环节<sup>[3]</sup>。

参与 HF 形成的细胞因子众多,其中 PDGF、TGF- $\beta$ 、IFN- $\alpha$  及白细胞介素-8(interleukin, IL-8)等形成细胞因子调节网络,在活化 HSC 的同时又可促进肝脏的炎症反应,但 HSC 活化主要受 PDGF 和 TGF- $\beta$  的干预<sup>[4]</sup>。

HSC 的激活可分为两个阶段:首先为启动阶段,此阶段 HSC 对某些细胞因子和刺激做出反应,相关基因得到表达,表型发生早期变化,细胞失去脂质,并发生形态学改变,激活并转化为肌成纤维样细胞(myofibroblast, MFB)。其次为持续激活阶段,由于刺激持续作用于激活的 HSC 表型,活化的 HSC 自分泌及旁分泌共同作用使 HSC 具有细胞增殖、释放细胞因子、纤维形成等能力<sup>[5-6]</sup>。其激活过程<sup>[7]</sup>见图 1。

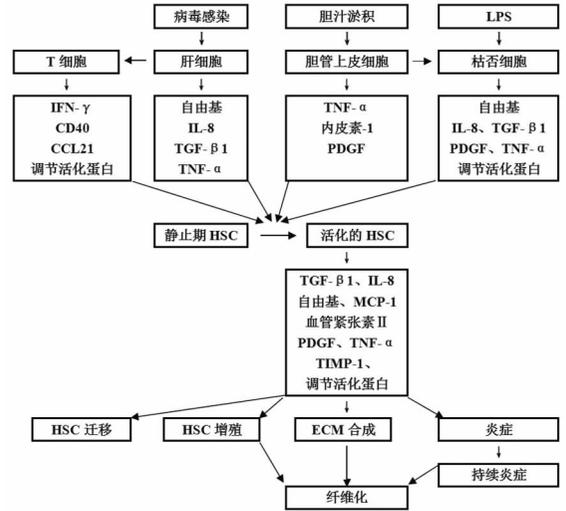


图 1 HSC 激活机制

## 3 PDGF 及其受体的结构和分类

PDGF 主要由 HSC 和枯否细胞分泌,能刺激特定细胞群分裂和增殖,在 HSC 活化、分裂以及增殖过程中有着明显的促进作用,能够强烈刺激 HSC 发生增殖和迁移,并能促使胶原的合成以及沉积,在 HF 的发生及进展中发挥着极其重要的作用,是目前已知多肽生长因子中对 HSC 增殖、分化作用最强的有丝分裂原<sup>[8]</sup>。现已研究证实 PDGF 是由 A 链和 B 链借二硫键形式相连的二聚体,有 PDGF-AA、PDGF-AB、PDGF-BB 3 种配体形式。PDGF 受体(platelet-derived growth factor receptor, PDGFR)为单链跨膜糖蛋白,具有酪氨酸蛋白激酶(tyrosine protein kinase, TPK)活性和较高的保守性;由  $\alpha$  和  $\beta$  两种亚单位构成,具有 PDGFR- $\alpha\alpha$ 、PDGFR- $\alpha\beta$ 、PDGFR- $\beta\beta$  3 种不同的二聚体亚型。

## 4 PDGF 介导的细胞信号传导对 HSC 增殖的作用调节机制

在 HSC 增殖过程中,PDGF 与 HSC 膜上相应的受体结合形成配体-受体复合物后,PDGFR 的两个亚单位在细胞膜上以二聚体的形式被激活,活化后的 PDGFR 进一步激活细胞内相应的信号分子,促进相关 DNA 序列的转录和表达,从而将 HSC 活化,使其增殖、迁移聚集以及转化为 MFB,在炎症受损区合成并分泌大量 ECM,促进 HF 的发生、发展<sup>[9]</sup>。由 PDGF 介导的细胞内信号传导主要有磷酸酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-Kinase, PI3-K)/Akt 通路、ERK 通路、JAK/STAT

\* 基金项目:成都医学院大学生开放实验项目基金资助项目(KF201106)。 作者简介:曹源(1989~),在读本科,主要从事大鼠肝纤维化模型制作及形态学观察研究。 △ 通讯作者, E-mail: woodwind@cmc.edu.cn。

通路、钠-氢( $\text{Na}^+/\text{H}^+$ )交换以及钙通道 5 种途径,其转导机制<sup>[10]</sup>见图 2。

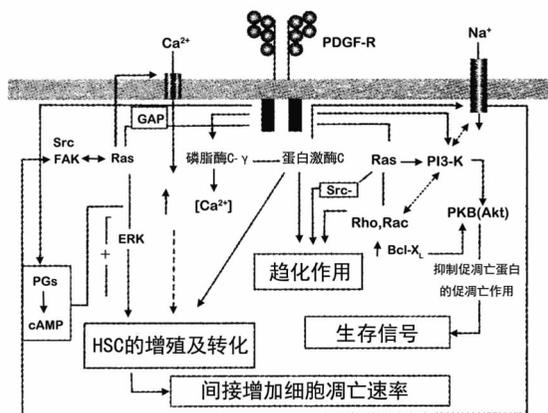


图 2 PDGF 介导的转导途径

**4.1 PI3-K/Akt 信号传导途径** PI3-K 由调节亚单位和催化亚单位构成,具有 Ser/Thr 激酶的活性和磷脂酰肌醇激酶的活性。研究显示,PDGF 呈时间依赖性增加 HSC 的 PI3-K,通过 PI3-K 信号通路促进 HSC 增殖和 I 型胶原合成,而 PI3-K 的特性抑制剂可阻断 PDGF 对 PI3-K 的诱导活化,提示 PDGF 诱导细胞增殖需要 PI3-K 的活化<sup>[11]</sup>。

Akt 信号传导途径主要依赖于 PI3-K-磷酸肌醇依赖性激酶(PDK)信号途径。首先 PDGF 诱导并激活黏附斑激酶(focal adhesion kinase,FAK),活化后的 FAK 进一步激活 PI3-K,将 PDK 变构激活,最后通过 PDK-1 将 Akt 磷酸化。Akt 首先在 PIP2 的作用下达到部分激活的状态,进而转位到细胞膜,使自身获得催化活性,并使自身的 Ser124 和 Thr450 发生磷酸化,同时 Akt 与 PDK-1 结合锚定在细胞膜上,这样 PDK-1 就就能催化 Akt 磷酸化,使 Akt 完全被活化,随后由细胞膜将 Akt 释放入胞,从而引起信号转导通路的级联反应<sup>[12-13]</sup>。

**4.2 ERK/Ras 信号通路** 细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase,ERK)是 MAPKs 家族一个重要亚族,PDGF 可以使 ERK 磷酸化并增加其活性,从而调节 HSC 的活化、增殖、迁移。ERK/Ras 途径主要途径遵循 MAPKs 三级酶促级联反应:首先激活体内羧基端蛋白酪氨酸激酶,并依次激活 Ras(上游激活蛋白)→Raf-1(MAPK 激酶的激酶)→MEK-MAPK/ERK 激酶(MAPK 激酶)→ERK(MAPK),作用于 ERK,MEK,SAP 和 E1K-1 等转录因子促使 HSC 增殖。

**4.2.1 Ras 的活化** Ras/Raf/MEK/ERK 细胞信号传导通路活化的中心是使 Ras 变成活化形式的 Ras-GTP。当生长因子 PDGF、EGF、FGF 等与 TPK 受体特异性结合后,TPK 受体发生自身磷酸化,使生长因子受体结合蛋白 2(growth factor receptor-bound protein2,Grb2)和鸟苷酸交换因子(son of sevenless,SOS)形成二聚体,并通过形成受体-Grb2-SOS 复合物,将 Ras-GDP 转化为激活型的 Ras-GTP,从而活化 Ras<sup>[14]</sup>。

**4.2.2 Ras/Raf/MEK/ERK 的级联反应** Ras 是 Raf 的上游激活蛋白,通过其高亲和力与 c-Raf-1 结合后,将 Raf 从胞浆转位到细胞膜上并将其激活。激活后的 Raf 能与 MEK 发生结合,并能将 MEK 催化区中两个 Ser 磷酸化,从而使 MEK 激活。ERK 是 Ras 丝裂原信号转导下游的核心元件,MEK 为双特异性磷酸化激酶,可高度选择性地激活 ERK1 和 ERK2。激

活的 ERK 可调节其他蛋白激酶的活性或促进细胞质靶蛋白磷酸化,更重要的是活化后的 ERK 主要转移到细胞核内,可促进一系列核蛋白以及转录因子磷酸化,使之与相应反应元件靶基因的启动子结合,并增强转录因子的转录活性,影响其转录和表达,与细胞的分化、增殖、转化以及凋亡等密切相关<sup>[15]</sup>。

**4.3 JAK/STAT 信号转导途径** Janus 激酶(janus-activated kinase,JAK)是一种酪氨酸蛋白激酶,其底物为信号转导子和转录激活子(signal transducer and activator of transcription,STAT)能与酪氨酸磷酸化信号通路偶联,构成的 JAK/STAT 通路,发挥转录调控作用。

PDGF 与其受体结合后使 JAK 相互磷酸化而被激活,活化后的 JAKs 可使 STAT 蛋白分子磷酸化,继而激活 STAT。活化后的 STAT 从受体上解离下来,形成 STATs 同源或异源二聚体,然后转位到细胞核内,与 DNA 上的特定靶序列相结合,调节相应基因的转录和表达,同时研究发现聚对苯二甲酸酯可使活化的 JAK 激酶脱磷酸化并使 STAT 蛋白失活<sup>[16-17]</sup>。

**4.4 Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> 交换途径** 在 HSC 激活的同时依赖于钙离子-钙调蛋白及蛋白激酶 C 途径,Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> 交换也随着被激活。研究证实 PDGF 可增强 HSC 细胞膜上的 Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> 泵的活性,可促进 Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> 交换,使细胞内的 pH 值升高,而促进 HSC 分裂、增殖。涉及 PDGF 诱导的 Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> 交换激活的细胞内途径抑制也关系 PDGF 诱导的 HSC 增殖抑制。因此,Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> 交换可能扮演着“对接”作用的角色,促进 S 期的细胞对不同刺激物如细胞因子、生长因子等刺激做出响应,其阻断可抑制 Raf-1 和 ERK 的激活,提示 Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> 泵可能是存在于 ERK 上游的调控因子<sup>[18-19]</sup>。

**4.5 钙通道** 许多研究结果显示 Ca<sup>2+</sup> 参与了 PDGF 的信号通路,PDGF 对 HSC 的促增殖作用受其细胞内 Ca<sup>2+</sup> 浓度的影响<sup>[20]</sup>。当 PDGF 与其受体结合后,TPK 自动磷酸化,并诱导磷酸肌醇(IP)循环,一方面通过 IP3 作用于内质网使细胞内储存的 Ca<sup>2+</sup> 释放,另一方面 IP3 进一步转化为 IP4,通过激活 HSC 细胞膜上的 T 型钙通道,促使胞外的 Ca<sup>2+</sup> 内流,最终使胞内 Ca<sup>2+</sup> 浓度升高而达到促进 HSC 的分裂、增殖的目的<sup>[21]</sup>。有研究证明 Ca<sup>2+</sup>/CaMK II 在 PDGF 介导的 HSC 增殖过程中起着关键作用<sup>[22]</sup>,且 PDGF 介导的 ERK1/2 的活化、扩散很大程度上依赖于 Ca<sup>2+</sup>/CaMK II 的调节,且由腺苷抑制增多的 Ca<sup>2+</sup> 可明显抑制 PDGF 活化的 HSC 的趋化性。

**5 PDGF 在 HF 诊断及治疗中的意义**

目前,我国临床上对 HF 的确诊仍以肝穿刺等病理组织学检查为主,但却不易被患者接受,因此,探索 HF 的血清学诊断指标,有着重要的临床意义。有实验发现血清 PDGF 水平与肝功能、血清 HF 指标均呈正相关<sup>[23]</sup>,可作为 HF 的血清学检测指标,同时配合其他检测指标对 HF 进行更为全面、更为准确的检查。同时基于 PDGF 在 HF 病理过程中的关键性作用,研究发现通过抑制 PDGF 的信号转导途径可抑制 HSC 的活化、增殖以及 PDGF 的分泌<sup>[24]</sup>,可抑制 I 型胶原蛋白产生和 mRNA 的表达。提示可通过干预 PDGF 的相关作用环节来治疗 HF。

**6 展 望**

综上所述,HSC 的活化和增殖是 HF 形成的核心环节,受多种细胞因子的干预,PDGF 信号介导的信号转导通路在其病理过程中起着重要作用。HF 的形成是一个长期而复杂的过

程,涉及多条信号转导通路,多种细胞因子,但各条信号通路间的相互作用,细胞因子网络的调制机制以及 PDGF 介导的信号通路所起的作用大小尚不明确。因此,对 PDGF 信号通路及作用机制的进一步研究和探讨,必将对 HF 的发病机制及其临床诊断、治疗产生深远的影响,并有助于设计出针对 PDGF 表达的靶向性治疗,为延缓或阻断 HF 进程提供新的方法和途径,具有重要意义。

#### 参考文献:

- [1] Gressner AM. Transdifferentiation of hepatic stellate cells to myofibroblasts: a key event in hepatic fibrogenesis[J]. *Kidney Int*, 1996, 54(Suppl 1): S39-S45.
- [2] Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver[J]. *Physiol*, 2008, 88(2): 125-172.
- [3] Wang Y, Gao JC, Zhang D, et al. New insights into the antifibrotic effects of sorafenib on hepatic stellate cells and liver fibrosis[J]. *J Hepatol*, 2010, 53(1): 132-144.
- [4] Lotersztajn S, Julien B, Teixeira-Clerc F, et al. Hepatic fibrosis: molecular mechanisms and drug targets[J]. *Pharmacol Toxicol*, 2005, 45(6): 605-628.
- [5] 张照杰, 杨长青. 肝星状细胞移行及肝细胞间质变[J]. *中华肝脏病杂志*, 2010, 18(7): 559-560.
- [6] Gutierrez R, Gomez-quitoz LE. Liver fibrosis searching for cell model answers[J]. *Liver Int*, 2007, 27(4): 434-439.
- [7] Affo S, Bataller R. Rantes antagonism: a promising approach to treat chronic liver diseases[J]. *J Hepatol*, 2011, 55(10): 936-938.
- [8] Yoshiji H, Noguchi R, Kuriyama S, et al. Imatinib mesylate (STI-571) attenuates liver fibrosis development in rats[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2005, 288(5): 907-913.
- [9] Amakawa M, Endo Y. The motility of hepatic Ito cells can be acquired by their myo-fibroblastic transformation[J]. *Arch Histol Cytol*, 2002, 65(2): 169-178.
- [10] Pinzani M, Marra F. Cytokine receptors and signaling in hepatic stellate cells[J]. *Sem Liver Dis*, 2001, (21): 397-416.
- [11] 管洪庚, 徐永峰, 兰晶. 血小板源生长因子通过 PDK/AKT 途径促肝星状细胞增殖与 I 型胶原合成[J]. *中华实验外科杂志*, 2007, 24(11): 1332-1334.
- [12] Fresno Vara JA, Casado E, De Castro J, et al. PI3K/Akt signalling pathway and cancer[J]. *Cancer Treatment Reviews*, 2004, 30(2): 193-204.
- [13] 胡海峰, 殷明, 马恒. 蛋白磷酸酶 PHLPP 与 PI3K/Akt 信号通路的研究进展[J]. *中国医学创新*, 2012, 9(2): 153-156.
- [14] Shaul YD, Seger R. The MEK/ERK cascade: from signaling specificity to diverse functions[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 17(8): 1213-1226.
- [15] Kim EK, Choi EJ. Pathological roles of MAPK signaling pathways in human diseases[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2010, 18(4): 396-405.
- [16] Grote K, Luchtefeld M, Schiefer B. Janus under stress- Role of JAK/STAT signaling pathway in vascular diseases[J]. *Vas Pharmacol*, 2005, 43(5): 357-363.
- [17] Rasonla A, Sciacovelli M, Pantic B, et al. Signal transduction to the permeability transition pore[J]. *FEBS Lett*, 2010, 584(10): 1989-1996.
- [18] Benedetti DS, Alessandro C. Inhibition of the Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger reduces rat hepatic stellate cell activity and liver fibrosis: an in vitro and in vivo study[J]. *Gastroenterology*, 2001, 120(5): 545-556.
- [19] Pedersen SF, Darborg BV, Rentsch ML, et al. Regulation of mitogen-activated protein kinase pathways by the plasma membrane Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger, NHE1[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2007, 462(2): 195-201.
- [20] Hashmi AZ, Hakim W, Kruglov EA, et al. Adenosine inhibits cytosolic calcium signals and chemotaxis in hepatic stellate cells[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2007, 292(4): 395-401.
- [21] Egan CG, Wainwright CL, Wadsworth RM, et al. PDGF-induced signaling in proliferating and differentiated vascular smooth muscle: effects of altered intracellular regulation[J]. *Cardiovasc Res*, 2005, 67(2): 308-311.
- [22] An P, Tian YH, Dai JX, et al. Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II mediates platelet-derived growth factor-induced human hepatic stellate cell proliferation[J]. *Dig Dis Sci*, 2012, 57(4): 935-942.
- [23] 王俊生, 毛志平, 杨莉, 等. 慢性乙型肝炎患者血清中 PDGF 和 TGF-β1 的水平及临床意义[J]. *河北医药*, 2011, 33(2): 165-167.
- [24] Paik YH, Kim JK, Lee JI, et al. Celecoxib induces hepatic stellate cell apoptosis through inhibition of Akt activation and suppresses hepatic fibrosis in rats[J]. *Hepatology*, 2009, 58(11): 1517-1527.

(收稿日期: 2013-06-27 修回日期: 2013-07-29)

## 不同类型资料的相互转化

如检测 4 名成年人的红细胞平均体积(MCV), 检测结果分别为 73、90、95、112 fl, 即为计量资料; 如按参考范围(80~100 fl)对受试对象进行分类, 可分为降低组(1 例)、正常组(2 例)、升高组(1 例), 即为等级资料; 如具体分类为正常组 2 例, 异常组 2 例, 即为二分类资料, 即计数资料。