

肝细胞生长因子的生物特性及其与眼部疾病相关关系*

张 强 (综述) 王 强 (审校)
滨州医学院眼科学教研室 滨州市 256603

【关键词】 肝细胞生长因子 (HGF); 角膜; 青光眼; 玻璃体视网膜病变
【中图分类号】 R77 【文献标识码】 A 【文章编号】 1001-9510(2008)06-0450-04



肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF), 1984年首次从肝脏部分切除的鼠血清中分离出来, 尔后又从鼠的血小板、肝脏及人的血清中分离出来。由于能刺激原代培养的肝细胞生长, 所以命名为肝细胞生长因子 (HGF), 在人体是由间质细胞产生, 作用于上皮细胞, 由于它能使细胞克隆生长集落扩散, 即又名离散因子 (scatter factor, SF), 其受体 c-2-met是原癌基因 c-2-met的产物。HGF通过与受体结合引起受体酪氨酸磷酸化, 转导 HGF的效应。HGF可促进细胞分裂、运动和分化等, 在血管生成、组织损伤修复及促进肿瘤细胞的发生及转移等方面起重要作用。

1 HGF的分子结构

HGF基因定位于人第 7号染色体的长臂上 (7q21, 11), 长约 70 kb, 由 18个外显子和 17个内含子组成。成熟的肝细胞生长因子是异二聚体双链结构, 由 728个氨基酸组成, 含有一个分子量为 69 kD 的 α 链和一个分子量为 34 kD 的 β 链, 链间以二硫键连结。 α 链由一个 N端发夹区和 4个连续的 kringle环区构成, 依次称为 K1、K2、K3、K4区, 每个 kringle结构由 80个 aa组成, K1区是与高亲和力的 HGF受体 c-2-met结合的关键部位。 β 链含有一个类丝氨酸蛋白酶区, 这种环状结构最初发现于与血液纤溶有关的丝氨酸蛋白酶, HGF有 38%的氨基酸与血浆纤维蛋白溶酶原同源, 血浆纤维蛋白溶酶原由一条含 5个 kringle环区的 α 链和一条含有丝氨酸蛋白酶催化亚基的 β 链组成, 但是 HGF没有血浆纤维蛋白溶酶的活性, 因为在催化中心, β 链的数个氨基酸已被取代^[1-3]。

2 HGF受体 c-2-met

HGF受体是由原癌基因 c-2-met编码的跨膜蛋白, c-2-met位于染色体 7q21q31。成熟 HGF受体是一个分子量为 190 kD 的跨膜蛋白, 由 2个以二硫

键相连的亚单位和 1个激酶区组成, 其间由双硫键连结成杂二聚体, 其中 α 链位于细胞外, 分子量 50 kD, β 链是一个跨膜的亚单位, 分为细胞外区、跨膜区和细胞内部分, 分子量 145 kD。HGF可与受体结合引起受体酪氨酸磷酸化, 诱发信息传导, c-2-met受体在多种组织和细胞中表达, 但在上皮细胞中表达浓度最高。HGF受体在组织中广泛存在, 表明 HGF为亲多组织蛋白。

3 HGF的生物学特性

HGF通过与其特异性受体 c-2-met结合激活的 MAPK途径是 HGF发挥其多种功能的主要信号转导途径, 引起一系列信号转导蛋白的酶促反应, 促发相应生物学效应^[4]。c-met受体磷酸化后其信号分子传递的特点是信号分子相互偶联形成多个复合体, 不同的复合体与 c-met受体不同的位点结合, 诱导相应的生物学效应。因 c-met受体存在广泛, 故 HGF在多种组织器官的发生、发展、损伤修复以及恶性肿瘤的发展、转移中起着不可忽视的作用。

3.1 HGF保护和调节内皮细胞功能 近年研究发现 HGF是一种特异的促内皮细胞生长因子。Busolino等在人或鼠的血管内皮细胞培养液中加入人的天然 HGF, 8 d后内皮细胞数量增加了 16倍, 用人的重组 HGF刺激也获得类似结果, 提示通过自分泌或旁分泌方式产生的 HGF能刺激内皮细胞分裂和增殖。比较研究发现, HGF刺激内皮细胞生长的作用比 bFGF、VEGF强。HGF在保护和调节内皮细胞功能方面起着重要的作用。Matsumori等也报道在急性心肌梗死早期血浆中 HGF的含量明显增高。随着分子生物学的发展, 转基因技术的日益成熟, 将 HGF基因转入内皮细胞内进行表达并以旁分泌方式促进内皮细胞生长和修复必将为心血管疾病的防治开辟新领域。

3.2 HGF在组织损伤再修复中的作用 正常情况

* 基金资助项目: 山东省医药卫生科技发展计划 (2005HZ004)

下,机体血浆中含有少量 HGF,当组织受到损伤后,由 L-21、L-26 及 TNF_2 等炎症因子刺激 HGF mRNA 表达升高,机体器官一方面通过自分泌形式,另一方面通过内分泌形式使血浆 HGF 的含量明显增高。这个过程上皮和间质之间存在着极为重要的信息交换从而在局部被激活而发挥促细胞运动、分裂及血管生成等作用,进而促进损伤组织的修复或重新构建。而如果抑制 HGF 的表达则不利于组织重建,这已经在低浓度 HGF 下的体外脂肪衍生干细胞削弱了缺血组织的再通这一实验中得到证实^[5]。又有研究表明,在实验性肝、肾、肺损伤的动物模型中 HGF 大量表达,应用外源性 HGF 能明显增强对损伤器官的再生作用。Conway 等^[6]在急性和慢性损伤组织中把 HGF 和其受体 c-met 及其抑制剂应用 RT-PCR 量化检测到,这些为将来靶向修复损伤位点提供了重大价值。

3.3 促进血管的形成 前已所述, HGF 相当于扩散因子,它由间充质细胞分泌后作用于上皮细胞及间质起源的细胞系,是一种可促进血管内皮细胞运动、生长、形态发生的糖蛋白。HGF 及其受体基因不仅在内皮组织中检测到,而且体内外的内皮细胞和血管平滑肌细胞均表达 HGF 及其受体蛋白^[7],它可使内皮细胞在细胞外基质间隙扩散,伸出胞浆芽并延长,使毛细血管样的导管形成。HGF 在有关新生血管形成的疾病病理过程中以旁分泌方式起作用,并因此可造成内皮细胞性新生血管生成,是血管生成的关键因子。鉴于此点认为在肿瘤血管研究方面渴望有新的突破。另外最近已有体外实验证实^[8],通过超声定向微泡爆裂技术输送 HGF 于心肌梗死处,一段时间后通过检测 CD34 表明该处诱发大量血管生成,这为将来治疗心肌梗死打开了新的前景。

3.4 HGF 与恶性肿瘤 前述 HGF 促血管生成,而血管生成对恶性肿瘤的进展有显著性作用。实验表明, HGF 还能破坏细胞之间的连接使细胞间粘附性减弱,刺激多种类型癌细胞迁移和侵袭。如 HGF/SF 能显著增强整合素介导的粘附,使淋巴瘤细胞体外浸润力增加了 6 倍,又如葡萄膜黑色素瘤的肝转移比皮肤黑素瘤转移快得多,正是由于眼部高 HGF/c-met 通过 PBK/Akt 信号途经下调了胞间黏附分子(上皮细胞钙粘蛋白和 连环蛋白)的表达,细胞间连接和粘附性减弱,从而促进瘤细胞的运动转移^[9]。另外,恶性肿瘤细胞的 HGF 受体 原癌基因 c-met 呈持续过度表达,导致对 HGF 敏感性增

强,对组织具有侵袭性,美国 2004 年 ASCO 会议曾报道,在急性白血病患者血清中 HGF 浓度与肿瘤完全缓解率密切相关,高的 HGF 水平可能使患者生存期缩短。许多研究者还报道了 HGF 和 或 c-2-met 表达,参与了人胃癌、结肠癌、直肠癌、甲状腺癌、卵巢癌、肾癌、膀胱癌、前列腺癌及肝癌的发生和进展。研究证明,内源性抑制 HGF/SF 2-met 可以减弱肿瘤细胞生长、恶性程度和转移,抑制信号传导。HGF 及其受体的研究,可能会为抗肿瘤转移治疗提供一个极有希望的靶点,且已经有人提出血清 HGF 浓度和其中一些肿瘤的恶性程度成正比,因此血清 HGF 可作为一项肿瘤标志物,将来有望应用于临床。

4 HGF 与眼组织关系

在眼部, HGF 可由成纤维细胞、血管平滑肌细胞、周细胞、角膜上皮细胞、晶状体上皮细胞、虹膜及视网膜色素上皮细胞、小梁细胞产生,是一种重要的细胞生长和分化的调节剂,可刺激眼内多种细胞组织的生长和移行。

4.1 HGF 与角膜疾病 角膜组织主要由角膜上皮细胞、角膜纤维细胞和角膜内皮细胞三种细胞组成。研究表明,体外角膜组织及上述三种角膜细胞可表达 HGF mRNA 及 HGF mRNA,但在上皮细胞中的表达量很低。通过动物实验得出角膜内皮细胞和纤维细胞可产生 HGF 并表达 HGF 受体,而角膜上皮细胞仅表达 HGF 受体^[10]。当角膜上皮损伤后,角膜成纤维细胞的 HGF mRNA 及 HGF mRNA 的表达明显增强,通过旁分泌作用于角膜上皮细胞,促进角膜上皮损伤区边缘的细胞分裂迁移,在上皮损伤缺损的区域形成细胞层,进一步增殖形成一个正常的角膜上皮层,完成损伤后的修复。因此,经旁分泌途径介导基质-上皮之间的相互作用在角膜上皮损伤的修复中起关键作用。相反, TGF- 则抑制角膜基质纤维细胞 HGF 的表达,对上皮细胞的增生起负调控作用,这种正负调控对角膜细胞的生长和对创伤的反应形成一种网络调节,另外, Spix 等^[11]最近发现 HGF 先通过诱导上皮细胞上的表皮生长因子受体(EGFR)的转化,有了这个前提上皮组织的发生才会全面开始。

4.2 HGF 与晶状体疾病 成人晶体无血管及神经组织支配,其在眼前节的解剖位置表明晶体处于独特的调控环境中。晶体细胞的调控信号是通过房水为媒介进行传递的,即水分泌相互作用。角膜内皮细胞分泌的 HGF 经自分泌或旁分泌方式作用于自身或其它角膜细胞还可通过水分泌相互作用调节晶

体上皮细胞的功能,使晶体上皮细胞与角膜内皮细胞发生联系,且已有相关体外实验研究表明随着 HGF 诱导浓度的增加,人晶状体上皮细胞数量逐渐增多,尤其是 50 $\mu\text{g/L}$ 的 HGF 作用最明显,并证实了 HGF-c-met 在晶状体上皮细胞的 mRNA 及蛋白表达,及在浓度升高的环境下对晶状体上皮细胞的促增殖、抑制凋亡(凋亡抑制因子 bcl-2 增加)的作用^[12]。由此推测,在正常生理状况下,晶状体上皮细胞能够自分泌 HGF-c-met,当手术或外伤时房水中及晶状体上皮细胞分泌 HGF-c-met 增加,导致晶状体上皮细胞增殖、移行至晶状体后囊膜,并发生纤维化,导致后囊膜混浊(PCO),产生后发性白内障,而目前体外实验也已发现利用一种蛋白酶抑制剂来遏制 PCO 的发生,而这种 PCO 模型由高浓度 HGF 来诱导建立的^[13]。

4.3 HGF 与青光眼 HGF 已在房水、玻璃体和泪液中测出。Nishimura 等^[14]研究发现玻璃体中 HGF 浓度比正常血浆中 HGF 浓度高七倍,且高于房水中 HGF 浓度。房水 HGF 浓度低于玻璃体浓度,可能是由于眼部前后稳态梯度或 HGF 从前房更迅速被清除造成的结果。Hu 等^[15]研究亦发现房水 HGF 浓度明显高于血浆 HGF 浓度,并且与血浆 HGF 浓度无明显相关性,说明眼内合成是 HGF 浓度升高的主要原因。有研究表明,在青光眼的早期,前房水 HGF 含量即增高,但不随着病程的延长而更高,只是维持在一定稳定的水平,也支持 HGF 增高是对组织损伤的反应和与组织的修复有关。培养的人眼小梁细胞 HGF 和 c-met 的表达,证实培养的小梁细胞 S 期的细胞明显增多且能够通过自分泌或旁分泌途径分泌 HGF^[16],说明青光眼患者的房水 HGF 水平明显升高是反应性的,Wang 等的研究证明,HGF 能调节小梁细胞的增殖和代谢活动,能促进金属基质蛋白酶的生物学活性,能够改变小梁细胞合成细胞外基质,从而降低房水外引流的阻力,意味着 HGF 能够促进房水的引流并能够降低眼压,这对青光眼十分有益。另外激光小梁成形术中激光对小梁细胞和细胞外基质起作用,同时 HGF 使细胞外基质成分改变,也降低房水外引流阻力并增强小梁细胞外引流房水的功能。国内有研究将急性闭角型青光眼、慢性闭角型青光眼和开角型青光眼分组研究,得出急性闭角型青光眼和慢性闭角型青光眼、开角型青光眼在发病程度、组织损害程度不一样,对房水 HGF 浓度的影响也不一样。小梁网对多种生长因子产生反应已得到证实,但它们如何改变青光眼患

者眼内压尚需进一步阐明^[17]。另外 HGF 刺激内皮细胞生长的作用比 bFGF、VEGF 强,是一种特异的促内皮细胞生长因子,在保护和调节内皮细胞功能方面起着重要的作用,故推测 HGF 的浓度高低在一定程度上可以与眼内细胞损伤程度成正比,这在剥脱性青光眼房水 HGF 浓度最高这一结论中得到证实^[18],表皮剥脱是由非色素性睫状上皮、虹膜色素上皮和赤道前晶状体上皮产生,HGF 调节上皮细胞的功能且修复上皮细胞损伤,这种高水平的 HGF 可能反映剥脱综合征眼部细胞损伤较其他青光眼更严重,此外在早期虹膜血管管腔通常狭窄且可能闭塞,荧光血管造影显示低灌注放射状虹膜毛细血管阻塞,血管数量减少,新生血管形成及不均匀的荧光渗漏,提示剥脱性青光眼房水中 HGF 浓度升高可能反映较严重的细胞损伤和缺血。前述的 HGF 可促进血管内皮细胞增殖、迁移,毛细血管样小管形成,诱发血管生成,是直接作用于血管内皮细胞的强效血管生成因子。因此,明确 HGF 在小梁网微环境中的特殊作用,并且通过外部手段有效控制内源性 HGF,或许能为新生血管性青光眼的治疗提供新的思路与前景。

4.4 HGF 与视网膜疾病 糖尿病视网膜病变、视网膜静脉阻塞、早产儿视网膜病变共有的病理改变是视网膜新生血管形成。以增生性糖尿病性视网膜病变(proliferative diabetic retinopathy, PDR)为例说明一下这种微血管病变。Nishimura 等在 PDR 的研究中发现 PDR 患者血清 HGF 浓度升高,并与视网膜新生血管生成的严重程度相关。而且血清中 HGF 可作为视网膜血管损害及 PDR 出现和发展的重要指标。在 PDR 的病理过程中主要参与的细胞有血管内皮细胞、视网膜色素上皮细胞、神经胶质细胞、成纤维细胞样细胞等。由于这些细胞均可产生 HGF,当组织缺血时可上调 HGF 在组织中的表达,且已发现 RPE 细胞存在大量 HGF 受体 c-met^[19],HGF 通过与其受体结合发挥其促血管内皮细胞运动、生长、形态发生等生物学作用,使内皮细胞在细胞外间质间隙运动扩散,伸出胞浆芽形成毛细血管样导管,促进新生血管形成。另外除了眼组织产生的 HGF 外,PDR 发生时视网膜缺血、缺氧使血视网膜屏障破坏,血液中的 HGF 通过血眼屏障分布到视网膜间质中去。随着 PDR 病情的发展,使血视网膜屏障的破坏程度不断加重,HGF 较易渗入玻璃体内,也使单核细胞等炎性细胞更易直接侵入眼内,局部释放 HGF,使玻璃体内 HGF 浓度增高。因此,眼

组织内产生的 HGF及来自血液中的 HGF使玻璃体中 HGF的含量随着 PDR 病程的发展而增高。Cai 等人也通过对牛视网膜血管内皮细胞内 HGF 信号转导机制的研究发现,在一定浓度及作用时间的条件下, HGF 可以非常有效地刺激视网膜血管内皮细胞的增殖和迁移,而最近 Colombo 等^[20]则又通过大鼠证实高尿酸酶浓度下的内皮细胞可被 HGF 有效刺激,从而模拟了早期视网膜血管发生,说明 HGF 确实能介导视网膜新生血管形成。关于增生性玻璃体视网膜病变 (proliferative vitreoretinopathy, PVR) 方面,这是穿通性眼外伤和视网膜脱离的严重并发症,是视网膜复位失败的主要原因,它的主要特点是视网膜色素上皮细胞 (retinal pigmental epithelial, RPE) 在视网膜表面和玻璃体腔内形成具有收缩能力的增殖膜,被认为是发生在眼内特殊组织的一种过度损伤愈合的过程,经过炎症期、细胞增生期和组织改建期 (瘢痕期),有许多生长因子参与了这一病理过程。在 PVR 患者中,当神经视网膜层从 RPE 层脱离时, RPE 细胞增生、迁移。这些细胞通常缺少色素颗粒并表现为巨噬细胞或成纤维细胞样形态。体外实验报道 RPE 细胞形态更多转变为成纤维细胞样改变,推测 HGF 和 c-met 在 PVR 早期发病机制中可能通过激活 RPE 细胞并促进 RPE 变形和运动。国内也有类似研究体外培养 RPE 细胞增生^[21],从观察结果看到, RPE 细胞在正常情况下就具有迁移、扩散、增生反应能力,不同浓度 HGF 刺激引起的细胞增生情况不同,低浓度时,细胞增生不明显,而在中等浓度时细胞增生最为明显,高浓度时细胞增生稳定,说明 HGF 对 RPE 细胞的增生作用不呈现剂量依赖型。进一步研究色素上皮细胞和胶质细胞可产生 HGF,并作为 RPE 细胞趋化和有丝分裂因子,通过刺激其色素上皮细胞上的受体使之磷酸化,从而调控 RPE 细胞的迁移和增殖。最近又发现在 PVR 疾病发展不同阶段眼内三种因子 (CTGF、PDGF-AA、HGF) 的不同浓度变化,其中 HGF 浓度在 PVR 发展中期达峰值,这就为不同 PVR 发展阶段下提供了相应靶向治疗^[22]。

参 考 文 献

- [1] Seki T, Hagiya M, Shimonish M, *et al* Organization of the human hepatocyte growth factor-encoding gene[J]. *Gene*, 1991, 102: 213-219.
- [2] Comoglio FM, Boccaccio C. The HGF receptor family: unconventional signal transducers for invasive cell growth[J]. *Cells*, 1996, 1(4): 347-354.
- [3] Comoglio P, Comoglio FM, Tamagnone L, *et al* Plasm inogen-relat-

- ed growth factor and semaphorin receptors: a gene superfamily controlling invasive growth[J]. *Exp Cell Res*, 1999, 253 (1): 88-99.
- [4] Jiang WG, Martin TA, Parr C, *et al* Hepatocyte growth factor, its receptor, and their potential value in cancer therapies[J]. *Hematology*, 2005, 53: 35-61.
- [5] Cai L, Johnstone BH, Cook TG, *et al* Suppression of hepatocyte growth factor production impairs the ability of adipose-derived stem cells to promote ischemic tissue revascularization [J]. *Stem Cells*, 2007, 25 (12): 3234-43.
- [6] Conway K, Ruge F, Price P, *et al* Hepatocyte growth factor regulation: an integral part of why wounds become chronic [J]. *Wound Repair Regen*, 2007, 15 (5): 683-92.
- [7] 董薇,蔡美英. 肝细胞生长因子及其临床应用研究进展 [J]. *微生物免疫学进展*, 2001, 29 (3): 87-90.
- [8] Wang ZG, Li XS, Li XL, *et al* Therapeutic angiogenesis induced by hepatocyte growth factor directed by ultrasound-targeted microbubble destruction [J]. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao*, 2008, 30 (1): 5-9.
- [9] Ye M, Hu D, Tu L, *et al* Involvement of PBK/Akt signaling pathway in hepatocyte growth factor-induced migration of uveal melanoma cells [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49 (2): 497-504.
- [10] Li Q, Weng J, Mohan RR, *et al* Hepatocyte growth factor and hepatocyte growth factor receptor in the lacrimal gland, tears, and cornea [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1996, 37 (5): 727.
- [11] Spix JK, Chay EY, Block ER. Hepatocyte growth factor induces epithelial cell motility through transactivation of the epidermal growth factor receptor [J]. *Exp Cell Res*, 2007, 10; 313 (15): 3319-3325.
- [12] 安小玲,张劲松,韩清,等. 人晶状体上皮细胞 HGF 与 c-met 的表达对增殖和凋亡的影响 [J]. *国际眼科杂志*, 2005, 5 (3): 445-448.
- [13] Awasthi N, Wagner BJ. Suppression of human lens epithelial cell proliferation by proteasome inhibition, a potential defense against posterior capsular opacification [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006, 47 (10): 4482-4489.
- [14] Nishimura M, Ikeda T, Ushiyama M, *et al* Increased vitreous concentrations of human hepatocyte growth factor in proliferative diabetic retinopathy [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999, 84: 659-662.
- [15] Hu DN, Robert R. Hepatocyte growth factor is increased in the aqueous humor of glaucomatous eyes [J]. *J Glaucoma*, 2001, 10: 152-157.
- [16] 富名水,张哲,曹美凤. 培养的人眼小梁细胞 HGF 和 c-met 的表达 [J]. *临床眼科杂志*, 2002, 10 (5): 390-392.
- [17] Ando A, Kaneko S, Matsumura M. The effect of growth factors on the proliferation of cultured porcine trabecular meshwork cells [J]. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi*, 2004, 108 (9): 549-53.
- [18] Rich R, Schlotzer-Schrehardt U. Exfoliation syndrome [J]. *Surv Ophthalmol*, 2001, 45: 265-315.
- [19] Hai-Lan Liao, Jian-Chu Wei. Expression of subretinal fluid hepatocyte growth factor and proliferative vitreoretinopathy [J]. *Intern J Ophthalmol*, 2005, 4 (5): 221-223.
- [20] Colombo ES, Menicucci G, McGuire PG. Hepatocyte growth factor/scatter factor promotes retinal angiogenesis through increased urokinase expression [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2007, 48 (4): 1793-1800.
- [21] 张喜梅,张哲. 肝细胞生长因子对视网膜色素上皮细胞增生及损伤愈合的影响 [J]. *临床眼科杂志*, 2004, 4 (12): 290-292.
- [22] Cui JZ, Chiu A, Maberley D. *et al* Stage specificity of novel growth factor expression during development of proliferative vitreoretinopathy [J]. *Eye*, 2007, 21 (2): 200-208.

(收稿日期: 2008-05-13)