

# 细胞因子 TGF- $\beta$ 与慢性肝病肝纤维化的关系

甘雪婷 综述 白宪光 审校

第四军医大学唐都医院感染科 (710038)

肝纤维化是多种慢性肝病共有的组织改变, 肝纤维化的发生与肝 Kupffer 细胞被激活后释放大量的细胞因子, 激活肝星状细胞 (HSC) 产生大量胶原, 导致细胞外基质 (ECM) 的形成与降解失衡, ECM 过度沉积等密切相关。细胞因子在肝纤维化中的作用是当前肝纤维化研究的活跃领域, TGF- $\beta$  是肝纤维化、肝硬化发生过程中起主要调节作用的细胞因子<sup>[1]</sup>。本文拟就近年来细胞因子 TGF- $\beta$  与慢性肝病肝纤维化的研究进展作一简要综述。

## 1 TGF- $\beta$ 的命名及来源

TGF- $\beta$  最初是七十年代末从血小板中分离出来的一种细胞因子, 因其能促进成纤维细胞的转化生长而得名。TGF- $\beta$  广泛存在于动物正常组织细胞及转化细胞中, 以骨组织和血小板中含量最丰富。人类 TGF- $\beta$  主要由血小板、活化的单核细胞及巨噬细胞等合成。在肝脏, TGF- $\beta$  合成主要由一些非实质细胞产生, 如 Kupffer 细胞、结蛋白阳性的 HSC、肌成纤维细胞及内质细胞等<sup>[2]</sup>。肝细胞能否合成 TGF- $\beta$  目前还有争议。免疫组化及原位杂交研究显示正常肝细胞无任何 TGF- $\beta$  染色, 但在再生肝脏和硬变肝脏的肝细胞及肝肿瘤细胞中均有不同程度的 TGF- $\beta$  及 TGF- $\beta$ mRNA 表达。

## 2 TGF- $\beta$ 的生物学特性

通过蛋白质分离及 cDNA 克隆, 目前已知脊椎动物中 TGF- $\beta$  有五种亚型 (TGF- $\beta_1$ ~ $\beta_5$ )。TGF- $\beta_1$  存在于鸟和两栖类动物体内。TGF- $\beta_{2,3}$  存在于人和哺乳动物中, 它们位于不同的染色体上, 其中 TGF- $\beta_1$  在体细胞中所占比例最高 (> 90%), 活性最强。这些 TGF- $\beta$  在氨基酸顺序上具有 64%~82% 的同源性<sup>[3]</sup>。TGF- $\beta$  在所有类型的细胞中都是以无活性的形式合成和分泌, 活化后才能和受体结合并表现出生物活性。几乎所有的细胞表面都有 TGF- $\beta$  的受体, TGF- $\beta$  的受体有三型: T $\beta$ R I 型、II 型和 III 型。TGF- $\beta$  对 ECM 合成和沉积的作用主要由其 I 型受体介导, 对细胞生长和增殖的影响主要由 II 型受体介导<sup>[4]</sup>。TGF- $\beta$  是由两个完全相同的含有 112 个氨基酸的亚单位通过二硫键连接而成的双聚体, 分子量为 25kDa, 其无活性的前体是由 390~414 个氨基酸组成的多肽蛋白。细胞因子 TGF- $\beta$  是一组具有多种生物学功能的蛋白多肽, 它可参与细胞周期的调节、细胞生长与分化, 参与血管及胚胎的形成, 具有使伤口愈合的功能, 还可参与免疫调节以及诱导细胞的凋亡等<sup>[5]</sup>。

## 3 TGF- $\beta$ 与肝纤维化的相关性

Gastilla A 等进行的一项对照研究发现<sup>[6]</sup>, 肝组织中 TGF- $\beta$ mRNA 水平与肝纤维化形成的两个活性指标有关联: 一个是 I 型前胶原 mRNA ( $r=0.90$ ), 另一个是 PIII

( $r=0.89$ ), 与肝脏组织病理指标 (包括碎屑样坏死, 门脉炎症, 纤维化等) 也呈正相关 ( $r=0.73$ )。那些 PIII $>11.9\mu\text{g/L}$  而被认为有明显肝纤维化活性的患者, 肝标本中 TGF- $\beta$ mRNA 水平是正常对照组的 2~14 倍, TGF- $\beta$ mRNA 水平越高, 肝纤维化越严重。在小鼠肝实质中注入 TGF- $\beta$  溶液, 可产生明显的肝纤维化<sup>[6]</sup>。有作者测定血清 TGF- $\beta$  水平, 发现在自身骨髓移植的患者中, 如果移植前血清 TGF- $\beta$  水平高于正常对照组的 2 倍, 那么移植后发生以肝纤维化为特征的肝静脉闭塞症的可能将达 90% 或更高<sup>[7]</sup>, 这又从另一侧面反映了 TGF- $\beta$  与肝纤维化的相关性。刘芳等研究发现<sup>[8]</sup>, 乙肝慢性轻中重度及肝硬变患者血清水平均高于对照组 ( $P<0.01$  或  $0.05$ ), 其水平按轻中重度及肝硬变顺序依次递增 ( $P<0.01$  或  $0.05$ ), 同时, 相关分析结果还表明, 血清 TGF- $\beta$  水平与 PC III, LN, HA 呈直线正相关 ( $P<0.01$  或  $0.05$ ), 且随着肝组织纤维化程度的加重而增长。TGF- $\beta$  的检测可用于慢性肝病肝纤维化程度和肝细胞受损程度的判断。在 CCl<sub>4</sub>、血吸虫、病毒及酒精等所致的肝纤维化模型中, 肝脏皆有明显的炎症反应及肝细胞损害, 肝标本中 TGF- $\beta$ mRNA 及 I 型前胶原明显升高; 而在免疫复合物引起的肝纤维化模型中, 则缺乏明显的肝细胞损伤, 炎症反映也轻微, TGF- $\beta$ mRNA 只有轻度升高<sup>[9]</sup>。TGF- $\beta$  首先出现于肝纤维化形成过程中的炎症期, 而在炎症后期, 当其他细胞因子水平下降时, 主要以 TGF- $\beta$  和血小板源生长因子 (PDGF) 的作用为主<sup>[10]</sup>, 参与肝纤维化机制的细胞因子主要有 TGF- $\beta$ 、PDGF、IFN $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、L-1 等, 仅 TGF- $\beta$  促进 HSC 合成胶原纤维, 而其他细胞因子则刺激 HSC 增殖。TGF- $\beta$  刺激人类 HSC 产生 PDGF, 增强 HSC 对 TGF- $\beta$  的表达<sup>[11]</sup>。

## 4 TGF- $\beta$ 致肝纤维化途径

近年来的研究发现, 肝星状细胞 HSC 是引起肝纤维化的重要细胞<sup>[12]</sup>, HSC 活化时 ECM 降解酶合成异常, 一方面不能正常的降解 ECM, 导致 ECM 增加; 另一方面, 基质的异常代谢可引起静止的 HSC 活化, 从而 HSC 合成 ECM 的能力明显增强。活化的 HSC 产生大量间质胶原和其他 ECM 成分, 首先沉积于 Disse 间隙, 最终导致肝纤维化。

TGF- $\beta$  是使 HSC 转化为肌纤维母细胞并分泌胶原纤维的因子。TGF- $\beta$  加速 HSC 内肌成纤维细胞转化的机理可能是 TGF- $\beta$  直接作用于 HSC 而使其转化, 或 TGF- $\beta$  诱导 Kupffer 细胞等产生 PDGF 等其他细胞因子, 同时诱导 HSC 表达这些细胞因子受体, 这些细胞因子刺激 HSC 增殖和转化<sup>[2]</sup>。肝脏损伤和炎症可导致肝脏 HSC、Kupffer 细胞产生大量 TGF- $\beta$ 。Kupffer 细胞分泌的 TGF- $\beta$  为非活性型, 贮藏在

ECM 中, ECM 释放的是 TGF- $\beta$  的生物活性型。TGF- $\beta$  一方面使 HSC 通过自分泌和旁分泌<sup>[13]</sup> 转化为肌纤维母细胞并分泌胶原, 另一方面 TGF- $\beta$  又和肝细胞膜上受体结合促使肝细胞凋亡, 而肝细胞凋亡及坏死又可促进肝纤维化。Demirci et al<sup>[14]</sup>, 应用免疫组化染色方法在慢性肝损害的组织中发现, 类纤维母细胞 (MFBIC) 和巨噬细胞原性 TGF- $\beta$  在门脉周围增多, 并且在同一部位的 ECM 中纤维连接素, V 型胶原蛋白的沉积增加, 证实了 TGF- $\beta$  对 HSC 的转化和促进 ECM 合成的作用。Knittel et al<sup>[15]</sup> 和 Weiner et al<sup>[16]</sup>, 在体外 HSC 培养中发现, TGF- $\beta$  能促进 HSC 合成 I, III, IV 型胶原蛋白和纤维连接蛋白。

TGF- $\beta$  除能增加 ECM 合成与沉积之外, 还能抑制 ECM 降解。肝纤维化时, 间质细胞对 TGF- $\beta$  的合成分泌增加, 促使窦状内皮细胞对纤溶酶原激活因子抑制剂的合成增多, 致使血浆纤溶酶含量下降, 从而降低对 ECM 的降解作用<sup>[17]</sup>。另外, TGF- $\beta$  还抑制 HSC 合成胶原蛋白酶, 促进 HSC 对基质金属蛋白酶抑制剂 (TMP) 的表达, 抑制 TMP 的活性, 从而 TGF- $\beta$  通过直接或间接的方式减少降解酶的含量, 最终抑制 ECM 的降解。总之, 在很大程度上, TGF- $\beta$  打破了 ECM 合成与降解的平衡, 使得 ECM 沉积增多, 加速了肝纤维化的发展。

### 5 TGF- $\beta$ 致肝纤维化的分子作用机制

细胞因子参与肝纤维化的机制可用下列模式概括: 在生物、理化和损伤因素刺激后, 体内细胞因子合成与分泌发生变化, 通过细胞因子网络, 分别表达出致纤维化作用或抗纤维化作用, 当前者作用加强或后者作用减弱, 即导致肝纤维化发生发展<sup>[11]</sup>。目前研究表明, TGF- $\beta$  的作用是通过细胞表面的受体结合诱导受体活化, 在胞内与活化受体级联的信号传导分子激活而起作用的。T $\beta$ R I、II 型在信号传导中起主要作用。至于 TGF- $\beta$  致肝纤维化的具体作用机制, 目前还不十分清楚, 一般认为与核因子 (NF-1) 及启动基因有关。

### 6 针对 TGF- $\beta$ 环节的抗肝纤维化治疗

TGF- $\beta$  在慢性肝病肝纤维化的形成过程中起着重要的调节作用, 阻断 TGF- $\beta$  的产生或抑制 TGF- $\beta$  的活化来防治肝纤维化是目前面临的重要课题。研究发现, 抗纤复方药物血清和秋水碱药物血清都能抑制 HSC 产生 TGF- $\beta$ , 阻止自分泌放大过程, 减少胶原等 ECM 的合成<sup>[18]</sup>。dHGF (肝细胞生长因子的衍生物) 能明显降低前胶原及 TGF- $\beta$ mRNA 水平, 具有明显的阻止及改善肝纤维化的作用<sup>[19]</sup>。Numaguchi 等<sup>[20]</sup> 研究发现 TNF- $\alpha$   $\beta$   $\gamma$  均能抑制 3T3L 细胞增殖并显著下调 TGF- $\beta$  及前胶原 mRNA 水平。在 CCl<sub>4</sub> 所诱导的小鼠肝硬化模型中, VitE 能显著抑制 TGF- $\beta$  及前胶原  $\alpha$ mRNA 在肝脏的表达。有报道, 在胆管结扎所诱导的肝纤维化模型中, 应用 TGF- $\beta$  抗体可以减轻肝纤维化的形成。应用 TGF- $\beta$  受体拮抗或无活性的 TGF- $\beta$  拟似物封闭 TGF- $\beta$  受体, 抑制

TGF- $\beta$  发挥其生物学作用, 以及应用封闭基因或转入抑制基因技术阻止 TGF- $\beta$  编码 DNA 转录或 mRNA 翻译, 从而下调 TGF- $\beta$  达到阻止肝纤维化的目的, 目前均未见报道。

### 7 结语

细胞因子 TGF- $\beta$  在慢性肝病肝纤维化的形成过程中起着重要的作用, 它具有促进肝脏间质细胞分化和增殖, 增加 ECM 沉积以及抑制其降解等作用。目前 TGF- $\beta$  在肝纤维化形成中的具体作用机制还不是很清楚, TGF- $\beta$  的分子生物学水平以及肝纤维化的防治还有待进一步的研究和提高。

### 参考文献

- Marra F, Gentilin A, Pinzani M, et al Gastroenterology, 1997, 112: 1297
- Border P, Paradis V. J Hepatol, 1995, 22 (suppl 2): 37
- Michael L, Surrenti C, Geer D, et al J Bone Joint Surg, 1999, 73A: 1418
- Ebner R, Chen R H, Lawler S, et al Science, 1993, 262 (3): 900
- Castilla A, et al New Engl J Med, 1991, 324 (14): 933 ~ 939
- Anschers M S, et al Radiat Res, 1990, 122 (1): 77~85
- Anschers M S, et al New Engl J Med, 1993, 328 (18): 1592~ 1599
- 刘芳, 刘金星等. 慢性肝病患者血清 TGF- $\beta$  与肝纤维化指标和肝组织病理的关系. 世界华人消化杂志, 1999, 7 (6): 519
- Sun M, et al Lab Invest, 1990, 63 (4): 467~ 475
- Napoli J, Bishop GA, Mc Caughan GW, et al Gastroenterology, 1994, 107: 789
- 姜素椿, 吕占秀等. 传染病基础于临床. 北京: 军事医学科学出版社, 1999, 128
- Bohmhoff R. Hepatology, 1997, 26: 1067
- Gasini A, Pinzani M, Milani S, et al Gastroenterology, 1993, 105 (2): 205
- Demirci G, Nashed B, Pichlmayr R. Transplantation, 1996, 62: 1776~ 1783
- Knittel T, Janneck T, Muller T. Hepatology, 1996, 24: 352~ 360
- Weiner FR, Shah A, Biempica L. Matrix, 1992, 12: 36~ 43
- Rieder H, Ambrust T, Meyer Zum Buschenfelde KH. Hepatology, 1993, 18: 937~ 944
- 张斌, 王灵台. 抗纤复方对大鼠肝贮脂细胞产生转化生长因子  $\beta$  的影响. 胃肠病学和肝病杂志, 1999, 8 (1): 16
- Yasuda H, Inai E, Shioita A, et al Hepatology, 1996, 24 (3): 636
- Numaguchi S, Okuno M, Moriwaki H, et al Intem Med, 1994, 33 (6): 309

编辑 任鸿兰