

干扰素对肝星状细胞活化的影响

饶慧瑛, 魏 来

饶慧瑛, 魏来, 北京大学人民医院肝病研究所 北京市 100044
饶慧瑛, 女, 1978-02-24 生, 江西南城人, 汉族, 主要从事肝纤维化及丙型肝炎的研究。

项目负责人: 饶慧瑛, 100044, 北京市, 北京大学人民医院肝病研究所.
rao.huiying@163.com
电话: 010-68314422

收稿日期: 2004-12-31 接受日期: 2005-01-20

摘要

干扰素分为两大类:I 型和 II 型.I 型干扰素分为 IFN- α 、IFN- β 、IFN- ω , II 型干扰素 IFN- γ .IFN 结合细胞表面特殊的受体. IFN- α 、IFN- β 竞争结合细胞表面相同的受体, 而 IFN- γ 结合不同的受体, 干扰素的受体本身并无酪氨酸激酶活性, 但也可以激活酪氨酸激酶通路, 将信号有细胞表面而传导至核而影响特异的基因转录等一系列细胞内事件. IFN- α 已经显示在各种类型的间质细胞中有抗增生和抗纤维化作用. IFN- β 可能更容易诱导细胞凋亡, 另外可以减少 α -SMA 表达, 从而减轻肝纤维化. IFN- γ 是肝纤维化发展中一个关键的调节因子, 通过抑制肝星状细胞的活化, 拮抗 TGF- β 1, 诱导胶原酶产生而降低细胞外基质的沉积。

关键词: 干扰素; 肝星状细胞; 胶原纤维

饶慧瑛, 魏来. 干扰素对肝星状细胞活化的影响. 世界华人消化杂志 2005; 13(4):440-442

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/440.asp>

0 引言

肝硬化是严重威胁人类生命健康的疾病. 各种病因所致肝硬化的发生发展进程中均伴有明显的肝纤维化, 肝内胶原纤维生成增多, 分布异常. 因此抗肝纤维化的研究成为防治肝硬化、门静脉高压症发病的关键. 病理状态下肝脏过度纤维化的本质一直难以明确. 直到近10 a来, 随着肝内各种细胞成分分离培养技术的成熟, 终于证实肝间质中的肝星状细胞 (hepatic stellate cells, HSC) 是肝内胶原纤维的主要来源细胞^[1-3]. 现已明确, 激活的 HSC 是肝纤维化、门静脉高压症发生发展过程中的关键环节. 本文就干扰素对于肝星状细胞活化的影响进行了总结。

1 干扰素的生物学作用

1957年 Isaacs 和 Lindenmann 首先发现了病毒干扰现象, 即病毒感染的细胞能产生一种细胞因子, 他们作用于其他的细胞后可干扰病毒的复制, 因而得名为

干扰素 (Interferon, IFN). 研究表明干扰素不能直接杀伤病毒, 而是诱导宿主细胞产生数种酶, 干扰病毒的基因转录或病毒蛋白组分的翻译. 干扰素分为两大类: I 型和 II 型. I 型干扰素根据免疫学特性和氨基酸序列分为 IFN- α 、IFN- β 、IFN- ω , 均对酸稳定, IFN- α 、IFN- ω 由白细胞产生, 而 IFN- β 主要由成纤维细胞、白细胞等在细菌、病毒、多聚肌苷酸、多聚胞苷酸、核苷酸等刺激物诱导下产生^[1]. II 型干扰素 IFN- γ (也称为免疫干扰素) 为酸敏感型, 主要由活化的 T 细胞和 NK 细胞产生. I 型或 II 型干扰素的产生决定于刺激信号和被刺激的细胞性质. IFN- α 和 IFN- β 基因均位于人 9 号染色体和小鼠 4 号染色体, 并连锁在一起. IFN- α 基因至少有 20 个, 成串排列在一个区域, 无内含子, IFN- α 基因家族已知至少编码 12 种蛋白质, 同一种属 IFN- α 不同基因产物其氨基酸同源性 $\geq 80\%$. IFN- α 由 2 个亚族组成, 分别称为 IFN- α 1 和 IFN- α 2, 彼此间有 90% 左右的同源性. 人和小鼠 IFN- β 基因只有一个, 无内含子, 与 IFN- α 基因连锁在一起. 虽然 IFN- β 与 IFN- α 氨基酸组成仅有 26-30% 同源性, 但二者拥有相同的细胞受体和细胞内信号传导途径. IFN- α 的生物学作用有一定的种属特异性, IFN- β 的生物学作用有较强的种属特异性^[4-5]. 人和小鼠 IFN- γ 基因分别定位于 12 号和 10 号染色体, 在 DNA 水平上 IFN- γ 基因与 IFN- α/β 基因无同源性. 人和小鼠 IFN- γ 在 DNA 水平上有 65% 左右同源性, 在氨基酸水平的同源性只有 40% 左右. 人 IFN- γ 成熟分子由 143 个氨基酸组成, 糖蛋白, 以同源双体形式存在, 分子量为 40 kDa, 其生物学作用有严格的种属特异性。

IFN 结合细胞表面特殊的受体. IFN- α 、IFN- β 竞争结合细胞表面相同的受体, IFN- α/β R 基因定位于 21 号染色体, 受体胞膜外结构属细胞因子受体中干扰素受体家族. IFN- α/β 受体分布相当广泛, 包括单核细胞、巨噬细胞、多形核白细胞、B 细胞、T 细胞、血小板、上皮细胞、内皮细胞和肿瘤细胞等. IFN- α R 由两个独立的亚单位组成, 即 IFN- α R1、IFN- α R2. IFN- α R2c 多肽可能为受体的主要配体结合成分, 他与几种 IFN- α 亚型均有亲和力; 而 IFN- α R1 对于信号转导起重要作用. 而 IFN- γ 结合不同的受体, 人 IFN- γ R 基因定位于第 6 号染色体, 小鼠在第 10 号染色体. IFN- γ R 由两条跨

膜链组成, 即 IFN- γ R1、IFN- γ R2, 其中, IFN- γ R1 与 IFN- γ 配体结合, 而 IFN- γ R2 在 IFN- γ 的信号转导中起重要作用. IFN- γ 受体广泛表达于造血细胞来源的细胞表面, 包括外周血来源的和骨髓来源的造血祖细胞表面.

干扰素的受体本身并无酪氨酸激酶活性, 但也可以激活酪氨酸激酶通路, 将信号有细胞表面而传导至核而影响特异的基因转录等一系列细胞内事件. 这一类细胞因子受体是通过所谓的 Jak-STAT 途径. 即配基与受体结合后即激活一类酪氨酸激酶, 称为 Jannus 激酶 (Jak). 这类激酶的成员包括 JAK1、JAK2、JAK3 和 JYK2 等^[6]. 他们均具有相似的结构, 即在 N 端有 5 个保守区, 在 C 端有 2 个结构域: 类激酶结构域和激酶结构域. 研究表明不同的细胞因子受体的信号经由不同的 JAK 成员所介导. 两型干扰素的信号转导通路类似, 均使用一些共同的信号系统和效应子. I 型干扰素信号转导的主要通路包括 STAT 蛋白的活化并形成复合物转位至细胞核, 与特殊的 DNA 元件结合调节有关基因的转录. 此通路 (Jak-Stat pathway) 显然由 Jak 激酶家族成员调节, 他们与 I 型干扰素受体有结构上的联系. 另外, 许多其他的 Jak 激酶依赖的信号转导通路被激活, 如 IRS-PI 3' 激酶通路和 Crk 家族蛋白. 唯一的 II 型干扰素 IFN- γ 同样激活多种 Jak 激酶依赖的信号通路, 包括 Stat 和 Crk 通路^[4].

2 IFN- α 对肝星状细胞活化的影响

IFN- α 已经显示在各种类型的间质细胞中有抗增生和抗纤维化作用, 包括 HSC. IFN- α 不仅有预防肝纤维化形成的作用, 而且对业已形成的肝纤维化组织有降解作用, 其作用机制可能如下: (1) 抑制 HSC 活化. Inagaki *et al*^[7] 的研究发现 IFN- α 用于治疗慢性丙型肝炎, 无论患者对于治疗是否有病毒学应答, 患者的血清纤维化指标均得到改善, 说明 IFN- α 除了抗病毒的作用外, 还有直接的抗纤维化作用. 他们把 IFN- α 注射入转有 α 1(I) collagen gene (COL1A2) 的转基因小鼠, 发现能明显抑制 CCL₄ 引起的肝纤维化. 进一步分析发现 IFN- α 能抑制 TGF- β /Smad3 引起的 COL1A2 复制, 抑制 COL1A2 启动子的活化, 从而抑制肝星状细胞的活化. IFN- α 可作为一个 HSC 早期激活阶段的抑制剂而预防肝纤维化形成. 脂质过氧化是肝纤维化研究的热点, 体内研究中证实: 给予抗氧化剂后, 可以降低人类丙型肝炎患者肝中 HSC 的活化, 可以抑制实验性铁超载动物模型中肝纤维的发生和发展. Lu *et al*^[8] 研究发现 IFN- α 降低氧应激, 保护肝星状细胞免于脂质过氧化, 从而抑制 HSC 的活化. Vendemiale *et al*^[9] 有同样的发现, 他们发现 IFN- α 能起到与抗氧化剂 N-乙酰半胱氨酸 (N-acetylcysteine, NAC) 同样的作用,

通过降低氧应激, 来减少肝纤维化, 而不是通过抗病毒效应实现的. (2) 诱导激活的 HSC 凋亡. 肝纤维化恢复期激活状态的 HSC 减少主要通过凋亡机制, 而不是表型的转化. 凋亡不引起溶酶体等细胞器的破坏, 凋亡细胞在数小时内被周围的细胞所吞噬, 很少引起微环境的炎症反应, 是一种理想的清除活化 HSC 的方式. HSC 的凋亡具有重要意义, 一方面 HSC 数量的减少使 ECM 分泌减少, 更重要的是由活化 HSC 分泌的金属蛋白酶抑制物减少, 促进 ECM 的降解. IFN- α 可通过诱导活化的 HSC 凋亡阻断肝纤维化的瀑布式效应, 其作用机制是通过影响凋亡相关基因的表达 (下调 bcl-xL 的表达, 上调 Fas 的表达) 或肝细胞的作用间接促进 HSC 的凋亡, 尚有待进一步研究. 但是 Saile *et al*^[10] 研究却有不同发现, IFN- α 能明显抑制 HSC 的凋亡, 主要是通过活化 Janus kinase 2 (JAK2), 从而抑制 caspase-8 凋亡通路. (3) 增加胶原酶活性, 促进 ECM 降解. 肝内纤维组织的沉积与降解是一个动态平衡过程, 其降解依赖于胶原酶活性, Watanabe *et al*^[11] 报道 IFN- α 可提高基质金属蛋白酶活性, 促进 ECM 降解.

3 IFN- β 对肝星状细胞活化的影响

Sakaida *et al*^[12] 发现 α -SMA 在星状细胞的表达与肝纤维化有关, 而 IFN- β 可以减少这种表达, 从而减轻肝纤维化. Sakaida 观察了 51 个使用 IFN- β 、IFN- α 治疗的患者, 完全应答 18 人, 部分应答 17 人, 无应答 16 人. IFN 治疗前, 患者肝脏活体组织显示大量的星状细胞表达 α -SMA. 治疗前后, 肝脏纤维化的程度与平滑肌肌动蛋白的表达有明确的相关 ($r = 0.699$, $P < 0.05$). 治疗完全应答组平滑肌肌动蛋白表达明显减少, 血清谷丙转氨酶正常. 有临床报道, 小剂量应用 IFN 副作用轻微, 治疗肝纤维化有一定效果. HCV 所致早期或轻度失代偿肝硬化患者使用 IFN 是有益的, 但在晚期使用效果不佳, 且易加重病情.

诱导细胞凋亡是干扰素发挥作用的主要机制, HIF-1 α 是调节凋亡非常重要的因子, 该因子只受 IFN- β 调控, 所以 IFN- β 可能更容易诱导细胞凋亡. Jak1 酪氨酸激酶更易在 IFN- β 作用下产生, IFN- β 比 IFN- α 更易刺激 Stat1 和 Stat2 酪氨酸磷酸化以及 IFN-刺激基因因子 3 (ISGF3) 复合体的产生, 不同的 I 型 IFN 是激活 Jak-Stat 通路的不同物质. IFN- β 调控更多范围的 ISGs^[13].

Shen *et al*^[14] 研究了 IFN- α 、IFN- β 和 IFN- γ 对于大鼠肝脏星状细胞活化的影响, 他们发现 IFN- α 对于培养的星状细胞的增生、BrdU (Bromo-2'-deoxyuridine) 融合以及 SMA 的表达无影响, 但是 IFN- β 能抑制培养的星状细胞的增生以及 BrdU 融合, 能减少

SMA 的表达, 能减少星状细胞的数量, IFN- α 和 IFN- β 对肝脏星状细胞有不同的生物效应, 考虑可能是 IFN- α 和 IFN- β 通过不同的信号转导通路对星状细胞起作用。

4 IFN- γ 对肝星状细胞活化的影响

IFN- γ 是肝纤维化发展中一个关键的调节因子, 通过抑制肝星状细胞的活化, 拮抗 TGF- β 1, 诱导胶原酶产生而降低细胞外基质的沉积. Baroni *et al*^[15] 动态观察了大鼠在用 DMN、IFN- γ 、DMN+IFN- γ 、生理盐水处理后肝星状细胞的增生、活化以及各种细胞外基质成分的表达情况, 认为每日给予 IFN- γ 可以抑制 DMN 诱导的肝纤维化的发展, 其机制是 IFN- γ 抑制了肝星状细胞在肝损伤发生后的全过程, 包括肝星状细胞在局部的增生、活化和对细胞外基质的合成, 而且持续作用到肝纤维化的后阶段. IFN- γ 不仅能够抑制胶原纤维进一步形成, 更能有力地促进胶原降解, 这种特性也许是其他细胞因子所不具有的. IFN- γ 在肝损伤发生后, 不但通过抑制胶原基因的转录、纤维连接蛋白的表达及促进 PGE2 的生成等途径抑制胶原纤维的进一步产生; 而且直接调节和促进胶原酶的表达, 降解过多的细胞外基质, 从而达到缓解肝纤维化的作用. Shibata *et al*^[16] 发现 IFN- γ 能明显减少体外培养的肝星状细胞分泌 TGF- β 1, 以及减少 I 型胶原、PDGF- β R 和 α -SMA 的表达。

IFN- γ 能诱导星状细胞的凋亡. Saile *et al*^[17] 研究发现 IFN- γ 作用于肝星状细胞能下调 HSP70 M 的表达, 诱导星状细胞凋亡. 而 IFN- α 能上调 HSP70 M 的表达, IFN- γ 与 IFN- α 一起作用于星状细胞则对其诱导凋亡的作用消失, 对于 CD95、CD95L、bcl-2、bax、bcl-xL、p53、p21WAF1、p27、NFkappaB 等细胞凋亡调节因子的表达没有影响. 当活化的星状细胞转染了 pCMV-HSP70 M, 则 IFN- γ 的诱导凋亡作用消失。

5 参考文献

- 1 Iredale JP. Hepatic stellate cell behavior during resolution of liver injury. *Semin Liver Dis* 2001;21:427-436
- 2 Pinzani M, Gentilini P. Biology of hepatic stellate cells and their possible relevance in the pathogenesis of portal hypertension in cirrhosis. *Semin Liver Dis* 1999;19:397-410
- 3 Li D, Friedman SL. Liver fibrogenesis and the role of hepatic stellate cells: new insights and prospects for therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 1999;14:618-633
- 4 Darnell JE, Kerr IM, Stark GR. Jack-STAT pathways and transcriptional activation in responses to IFNs and other extracellular signaling proteins. *Science* 1994;264:1415-1421
- 5 Uze G, Lutfalla G, Morgensen KE. Alpha and beta interferon and their receptor and their friends and relations. *J Interferon Cytokine Res* 1995;15:3-26
- 6 Dearolf CR. JAKs and STATs in invertebrate model organisms. *Cell Mol Life Sci* 1999;55:1578-1584
- 7 Inagaki Y, Nemoto T, Kushida M, Sheng Y, Higashi K, Ikeda K, Kawada N, Shirasaki F, Takehara K, Sugiyama K, Fujii M, Yamauchi H, Nakao A, de Crombrughe B, Watanabe T, Okazaki I. Interferon alpha down-regulates collagen gene transcription and suppresses experimental hepatic fibrosis in mice. *Hepatology* 2003;38:890-899
- 8 Lu G, Shimizu I, Cui X, Itonaga M, Tamaki K, Fukuno H, Inoue H, Honda H, Ito S. Interferon-alpha enhances biological defense activities against oxidative stress in cultured rat hepatocytes and hepatic stellate cells. *J Med Invest* 2002;49:172-181
- 9 Vendemiale G, Grattagliano I, Caruso ML, Serviddio G, Valentini AM, Pirrelli M, Altomare E. Increased oxidative stress in dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in the rat: effect of N-acetylcysteine and interferon-alpha. *Toxicol Appl Pharmacol* 2001;175:130-139
- 10 Saile B, Eisenbach C, El-Armouche H, Neubauer K, Ramadori G. Antiapoptotic effect of interferon-alpha on hepatic stellate cells(HSC): a novel pathway of IFN-alpha signal transduction via Janus kinase 2(JAK2)and caspase-8. *Eur J Cell Biol* 2003;82:31-41
- 11 Watanabe T, Niioka A, Ishikawa A, Hozawa S, Arai M, Maruyama K, Okada A, Okazaki I. Dynamic of cells expressing MMP-2 mRNA and MT1-MMP mRNA in the recovery from liver fibrosis in the rat. *J Hepatol* 2001;35:465-473
- 12 Sakaida I, Nagatomi A, Hironaka K, Uchida K, Okita K. Quantitative analysis of liver fibrosis and stellate cell changes in patients with chronic hepatitis C after interferon therapy. *Am J Gastroenterol* 1999;94:489-496
- 13 Platanias LC, Uddin S, Domanski P, Colamonici OR. Differences in interferon alpha and beta signaling. Interferon beta selectively induces the interaction of the alpha and betaL subunits of the type 1 interferon receptor. *J Biol Chem* 1996;271:23630-23633
- 14 Shen H, Zhang M, Minuk GY, Gong Y. Different effects of rat interferon alpha, beta and gamma on rat hepatic stellate cell. *BMC Cell Biol* 2002;3:9-13
- 15 Baroni GS, D'Ambrosio L, Curto P, Casini A, Mancini R, Jezequel AM, Benedetti A. Interferon gamma decreases hepatic stellate cell activation and extracellular matrix deposition in rat liver fibrosis. *Hepatology* 1996;23:1189-1199
- 16 Shibata N, Watanabe T, Okitsu T, Sakaguchi M, Takesue M, Kunieda T, Omoto K, Yamamoto S, Tanaka N, Kobayashi N. Establishment of an immortalized human hepatic stellate cell line to develop antifibrotic therapies. *Cell Transplant* 2003;12:499-507
- 17 Saile B, Eisenbach C, Dudas J, El-Armouche H, Ramadori G. Interferon-gamma acts proapoptotic on hepatic stellate cells (HSC)and abrogates the antiapoptotic effect of interferon-alpha by an HSP70-dependant pathway. *Eur J Cell Biol* 2004;83:469-476