

# 肝纤维化中转录因子的调控作用

龙云, 唐红

龙云, 唐红, 四川大学华西医院感染性疾病中心, 生物治疗国家重点实验室(四川大学)感染病分子生物学研究室 四川省成都市 610041

国家杰出青年基金资助项目, No.30325036

通讯作者: 唐红, 610041, 四川省成都市, 四川大学华西医院感染性疾病中心, 生物治疗国家重点实验室(四川大学)感染病分子生物学研究室. htang6198@hotmail.com

电话: 028-85422647

收稿日期: 2006-03-11 接受日期: 2006-03-25

## 摘要

肝纤维化是继发于各种形式的慢性肝损伤之后的组织修复过程中的代偿反应, 他也是慢性肝病发展为肝硬化的必经病理过程. 各种病因所引起的慢性肝病绝大多数都有肝纤维化, 其中25%-40%最终发展为肝硬化乃至肝癌. 因此, 肝纤维化的发生机制成为目前慢性肝病的研究热点之一. 肝纤维化的形成是一个多因素、多细胞参与的复杂过程, 涉及多种细胞因子和蛋白成分表达的改变, 而基因转录水平的调控可能在影响其表达中起到了关键作用. 现就几种重要的转录因子在肝纤维化发生、发展过程中的可能调控作用作一综述.

**关键词:** 肝纤维化; 转录; 调控

龙云, 唐红. 肝纤维化中转录因子的调控作用. 世界华人消化杂志 2006;14(10):969-972

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/969.asp>

## 0 引言

肝纤维化(hepatic fibrosis)是肝脏损伤持续存在、组织发生修复时细胞外基质(extra cellular matrix, ECM)合成与降解失衡而引起的病理改变. 肝星状细胞(hepatic satellite cell, HSC)的激活和增生是肝纤维化发生的核心环节. 正常时HSC呈静止状态, 不合成或仅合成少量基质; 但在肝组织损伤时HSC出现增生并转变为成肌纤维细胞, 此即为激活或转化的HSC. 激活的HSC的生物合成功能发生了很大的改变, 使ECM(尤其是纤维性胶原I和III)的合成大大增加, 最终引起肝纤维化的发生<sup>[1-3]</sup>. 肝脏内细胞—细胞、细胞—基质、基质—递质间的相互作用, 构成

了复杂的网络系统, 参与肝纤维化的发生及发展. 一些关键的转录因子表达和/或活性的长期改变, 对细胞中基因的表达具有重要的调控作用, 因此精确控制其活性显得尤为重要. 哺乳动物细胞的基因转录受转录因子和位于启动子或增强子的特定DNA序列之间的相互作用所调节. 转录因子与相应位点相结合, 通过与RNA聚合酶II和基本转录复合物相互作用, 对基因转录产生正性或负性影响. 细胞刺激物可以通过细胞内信号传导途径调控转录因子的活性, 从而改变细胞的基因表达. 在长期受损的肝脏, 多种转录因子参与了调控生成大量ECM蛋白以进行纤维性修复的过程, 而这种反应的持续存在导致了肝纤维化的致病状态<sup>[4]</sup>.

## 1 转录因子在肝纤维化中的调控作用

**1.1 NF- $\kappa$ B** NF- $\kappa$ B(核因子- $\kappa$ B)由Rel蛋白家族(p65, p50, p52, c-Rel, 和RelB)的同型或异型二聚体组成. 经典的NF- $\kappa$ B复合体(p65:p50异二聚体)是由细胞因子、丝裂原等刺激哺乳动物细胞而产生的<sup>[5-6]</sup>. 近年来众多研究发现NF- $\kappa$ B有抗凋亡作用. 活化的NF- $\kappa$ B可能通过抑制下游的c-Jun氨基端激酶(JNK)和c-Jun/AP-1的激活而阻断TNF诱导的肝细胞凋亡<sup>[7]</sup>. 而在肝纤维化早期, 肝细胞坏死是由于毒素阻断了NF- $\kappa$ B依赖的保护基因上调, 从而增加了肝细胞对TNF毒性的敏感性所致<sup>[8]</sup>. 除了抑制肝细胞凋亡以外, NF- $\kappa$ B对HSC也有抗凋亡作用, 并且还可以促进其增生<sup>[9]</sup>. 实验发现静息状态下和新鲜分离的HSC核内缺乏NF- $\kappa$ B, 而激活的HSC中出现了NF- $\kappa$ B的核转位活性, 同时有诸如细胞间黏附分子(intercellular adhesion molecule, ICAM-1)、IL-6等基因的表达, 表明NF- $\kappa$ B可能参与了HSC激活的调节<sup>[10]</sup>. 激活的HSC如何调节NF- $\kappa$ B活性到达高水平, 这一作用机制目前仍不清楚, 有研究表明可能与IkB- $\alpha$ (NF- $\kappa$ B抑制剂)在胞浆和胞核表达的持久下降有关. 这是因为, 激活的HSC表达一种高度磷酸化形式的IkB- $\beta$ , 他和IkB- $\alpha$ 竞争与

## ■背景资料

肝纤维化是从慢性肝损伤到肝硬化的一个动态的可逆的病变, 其特点是由于细胞外基质生成和降解不平衡而导致ECM成分在肝内的过量沉积, 而肝星状细胞的增生和激活被认为是肝纤维化发生的中心环节. 肝纤维化的形成是一个多因素、多细胞参与的复杂过程, 涉及多种细胞因子和蛋白成分表达的改变, 而基因转录水平的调控可能在影响其表达中起到了关键作用.

## ■研发前沿

肝纤维化的发生机制是目前慢性肝病的研究热点之一. 此文重点就几种重要的转录因子对细胞外基质的生成或降解、肝星状细胞的激活以及各种致纤维介质的表达的可能调控作用作一总结.

### ■创新盘点

目前,人们对肝纤维化的研究和认识都取得了重大的进展,但是各种致纤维化因子的详细的细胞内信号传导过程及基因调控机制尚不十分清楚。此文综述了几种重要的转录因子在肝纤维化中的可能调控作用,为今后探索安全、有效及特异性高的肝纤维化防治方案提供了理论依据。

NF- $\kappa$ B的结合位点,使I $\kappa$ B- $\alpha$ 的抑制作用减弱,从而使NF- $\kappa$ B维持在转录激活状态。当处于启动阶段的HSC受到细胞因子、有丝分裂原和CD40配体的刺激后,NF- $\kappa$ B的活性还可以迅速增高,促使HSC中的NF- $\kappa$ B反应元件,如ICAM-1、环氧化酶2(COX2)、IL-6及IL-8等基因转录表达增强,其表达产物可以触发或加剧肝脏炎症反应,并通过单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、自由基、转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )等炎症介质进一步激活NF- $\kappa$ B,促进HSC增生并维持其活化,使ECM生成不断增多,最终形成肝纤维化。除此以外,NF- $\kappa$ B还可以促使枯否细胞(KC)分泌大量炎症介质,参与肝脏炎症反应<sup>[11-12]</sup>。

综上所述,NF- $\kappa$ B在肝纤维化过程中一方面形成“炎性瀑布”,造成肝脏损伤;另一方面促进HSC的增生、活化,并且抑制其凋亡,从而推进了肝纤维化的进程。

**1.2 Kruppel样转录因子** Kruppel样转录因子家族的共同结构特征是包含三个Kruppel样锌指结构,他们具有DNA结合特性,GC富集序列和相关的GT或CACCC盒是其识别位点。这个转录因子超家族不但可以特异地调节包括管家基因在内的所有基因的表达,而且还可以调控组织特异性基因的转录<sup>[13]</sup>。激活的HSC至少表达Kruppel样转录因子家族的三个成员,即KLF6、SP-1和BTEB1,他们都有调节I型胶原基因转录的能力<sup>[14]</sup>,而刺激I型胶原表达的结果就是造成ECM的沉积,从而引起肝纤维化的发生。KLF6除了可以刺激I型胶原基因转录外,还是TGF- $\beta$ 1通路的关键成分的调节者,而TGF- $\beta$ 1是目前已知的最重要的致纤维化因子,因此KLF6在肝纤维化的发生过程中可能起到了重要作用<sup>[4]</sup>。实验表明,SP-1对I型胶原的转录调节作用可能与激活的HSC的I型胶原基因启动子上的两个GC富集区(FP1和FP2)相关。SP-1的过表达可以增强启动子的活性,从而促进I型胶原基因表达,而FP1和FP2的变异可导致启动子的活性降低<sup>[4]</sup>。此外,SP-1和SP-3的过表达还可以抑制基质金属蛋白酶-9(MMP-9)的转录,从而抑制了基质的降解<sup>[15]</sup>。BTEB1是经由不同于FP1和FP2的GC富集序列来调控乙醛诱导的 $\alpha_1$ (I)型胶原基因转录的,这个序列位于远离基因转录起始位点上游的一个区域(从-1484到-1476)。BTEB1是AP-1的靶基因,乙醛处理的HSC诱导BTEB1表达是通过激活JNK和增加AP-1的活性来实现的

<sup>[14,16]</sup>,因此,活化HSC的转录因子的表达也受其他转录因子调控。

**1.3 AP-1** AP-1(活化蛋白-1)至少由一个Jun蛋白家族(c-Jun、JunB和JunD)组成,与其他Jun蛋白或相关的Fos家族形成同二聚体或异二聚体<sup>[4]</sup>。AP-1二聚体与一回文DNA序列(TGAC/GTCA)结合可以刺激转录,而该序列主要存在于控制细胞生长、分裂、分化及命运的基因启动子区<sup>[17]</sup>。静止的HSC缺少AP-1活性,但在激活过程中产生了AP-1持久活性。有研究表明AP-1在调节胶原和胶原酶的基因表达中起重要的作用。JunD蛋白是AP-1二聚体的一个重要元素,他可以与激活的HSC中的其他转录因子共同作用,诱导TIMP-1(基质金属蛋白酶抑制物)和IL-6的基因表达。TIMP-1表达增强可以抑制ECM的降解,促进其沉积;IL-6可以通过促进肝脏炎症反应的方式加速肝纤维化的形成<sup>[2,4]</sup>。乙醛终产物、细胞因子和纤维连接蛋白等通过激活MAPK(丝裂原活化蛋白激酶)和JNK,刺激了激活的HSC中AP-1的活性,使c-Jun同二聚体和/或c-Jun: Fos异二聚体的表达增强,而后两者都是MMP3和MMP1/13的转录调节物,可以抑制其表达,进而抑制了基质的降解<sup>[14,20-21]</sup>。因此,AP-1的表达或活性的改变影响了肝脏中ECM的组成,从而参与了肝纤维化的发生过程。

**1.4 PPAR $\gamma$**  PPAR $\gamma$ (过氧化物酶体增生物激活的受体)是类固醇/甲状腺激素核受体家族的成员之一。他们可在体内和体外调节基因转录和细胞分化,激活的HSC表达PPAR $\gamma$ 减少,表明HSC激活和含有多个PPAR $\gamma$ 反应元件的启动子活性下降有关<sup>[22-23]</sup>。有实验表明,15-脱氧 $\Delta^{12,14}$ -前列腺素J<sub>2</sub>(15dPGJ<sub>2</sub>)是PPAR $\gamma$ 的一种激动剂,也是PPAR $\gamma$ 的天然配体,可以抑制HSC激活的一些表型特征,包括HSC的增生、迁移、 $\alpha$ -平滑肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)的表达等<sup>[4]</sup>,提示PPAR $\gamma$ 可能具有抑制HSC激活的作用。另有学者发现,PPAR $\gamma$ 的另一种配体——匹格列酮,可以在肝纤维化早期抑制肝脏炎症反应和HSC的激活、抑制TNF- $\alpha$ 水平的增加以及阻止 $\alpha$ -SMA和 $\alpha_1$ (I)型胶原的表达<sup>[22]</sup>,而姜黄可以通过诱导PPAR $\gamma$ 基因表达而抑制HSC的增生<sup>[23]</sup>。这些实验结果都提示了PPAR $\gamma$ 在维持HSC静止状态方面起重要作用,这为今后抗纤维化治疗提供了可能的新靶点。

**1.5 C/EBP** C/EBP(CCAAT/增强子结合蛋白)家族成员由保守的DNA结合区和亮氨酸锌指组

成, N末端有激活或抑制转录的不同区域. C/EBP家族的某些成员参与了 $\alpha_1(I)$ 型胶原基因表达的调节. 一方面, 实验发现细胞内过氧化物(如 $H_2O_2$ )可以刺激C/EBP亚型P35的表达, 促使其与位于I型胶原基因启动子的-378到-345区结合, 从而促进I型胶原基因表达. 另一方面, 有研究显示, TNF- $\alpha$ 诱导的 $\alpha_1(I)$ 型胶原基因转录水平的下调也涉及C/EBP因子与启动子-378到-345区的作用. TNF- $\alpha$ 刺激C/EBP亚型P20与C/EBP-6的结合, 而二者都是 $\alpha_1(I)$ 型胶原基因转录的抑制物, 进而抑制了I型胶原基因的表达. 因此, C/EBP家族对于 $\alpha_1(I)$ 型胶原基因表达可能具有双重调节作用<sup>[4]</sup>.

1.6 E-box转录因子和c-myb E-box因子包括一个CANNTG序列和bHLH转录因子家族的结合单位. bHLH蛋白分为两类: 普遍存在的A型和特异表达于某种组织的B型, 他们均对细胞的生长和分化具有调节作用. 肌蛋白转录因子(MyoD)就是一类B型bHLH蛋白, 近来研究发现人和小鼠的激活的HSC中表达MyoD, 表明他可能参与了HSC的某些特性. E-box因子是甘露糖-6-磷酸盐/LGF II (M6P/IGF II R)基因的调节者, 后者可以在细胞表面与致纤维化因子TGF- $\beta$ 结合继而激活TGF- $\beta$ . 这也表明, E-box因子在肝纤维化进程中可能起到了重要作用. c-myb是myb蛋白相关家族的原型, 他是多个基因的转录调节者. 有研究表明c-myb不仅可以刺激 $\alpha$ -SMA启动子的活性, 并且对内源性 $\alpha$ -SMA的基因表达也有促进作用<sup>[4]</sup>, 而 $\alpha$ -SMA的表达正是激活的HSC的形态学特征之一, 提示c-myb可能参与HSC的激活过程.

1.7 Smad 哺乳动物的Smad蛋白分为3类: R-Smads(receptor-regulated Smads), 包括介导BMP信号的Smad 1, 5, 8和介导TGF- $\beta$ s/activins信号的Smad 2, 3; Co-Smads(common-mediator Smads)为Smad 4; I-Smads(inhibitory Smads), 包括Smad 6, 7. Smad通路(smud pathway)是目前公认的介导TGF- $\beta$ 致纤维化作用的主要通路之一, 他将TGF- $\beta$ 超家族胞外信号, 经跨膜受体传递到核内. Smad通路分几个步骤进行: 活化的I型受体磷酸化胞内R-Smads C-末端丝氨酸残基, 磷酸化的R-Smads从受体上解离, 与Co-Smads结合形成异二聚体, 该复合物移入核内, 与致纤维化因子TGF- $\beta$ 的基因特定DNA序列结合, 启动或调控其基因转录<sup>[24]</sup>, 从而参与肝纤维化的进程.

1.8 MEF2 MEF2(肌细胞增强子2)是一种主要存在于肌细胞的转录因子, 近来研究发现他也存在于肝脏, 并且其表达及活性增加可能激活HSC, 而激活的逆转与MEF2蛋白水平的下降相平行, 这主要依赖P38MAPK途径而非细胞外信号调节激酶途径. 从功能上讲, MEF2可以大大增加 $\alpha$ -SMA的表达, 提高I型胶原启动子的活性及刺激HSC的增生. 因此, MEF2可能在肝纤维化的发生, 发展中发挥着重要作用<sup>[25]</sup>.

1.9 其他转录因子 除了上述几种重要的转录因子以外, 还有人发现ZNF267(锌指蛋白267)和NF-Y(核因子-Y)可以抑制MMP-10的基因表达和启动子活性, 进而通过抑制基质降解而致纤维化<sup>[26]</sup>. 另外, Ets-1(Ets转录因子家族成员之一)可以抑制包括TIMP-1基因表达在内的多个基因表达, 在HSC激活过程中其水平是下降的<sup>[4]</sup>. 这些已有的实验结果表明许多转录因子都可能参与了肝纤维化的基因水平调控.

总之, 肝纤维化中的基因转录调控是复杂的. 然而, 一些转录因子(如JunD、KLF6、PPAR $\alpha$ 等)能单独有助于转录调节HSC的激活、基质蛋白的合成及降解等, 最终可能绘制出启动肝纤维化的主要转录途径. 因此, 开展作用于转录因子、细胞因子等小分子物质治疗和针对有关基因的基因治疗将可能成为今后抗纤维化治疗的主要方向.

## ■应用要点

本文通过阐释转录因子对肝纤维化中各成分的可能调控作用, 为开展作用于细胞因子受体、信号分子、转录因子等小分子物质治疗和针对有关基因的基因治疗研究提供理论依据以及可能靶点.

## 2 参考文献

- 1 Kato J, Sato Y, Inui N, Nakano Y, Takimoto R, Takada K, Kobune M, Kuroiwa G, Miyake S, Kohgo Y, Niitsu Y. Ethanol induces transforming growth factor- $\alpha$  expression in hepatocytes, leading to stimulation of collagen synthesis by hepatic stellate cells. *Alcohol Clin Exp Res* 2003; 27: 58S-63S
- 2 Li J, Hu W, Baldassare JJ, Bora PS, Chen S, Poulos JE, O'Neill R, Britton RS, Bacon BR. The ethanol metabolite, linolenic acid ethyl ester, stimulates mitogen-activated protein kinase and cyclin signaling in hepatic stellate cells. *Life Sci* 2003; 73: 1083-1096
- 3 Proell V, Mikula M, Fuchs E, Mikulits W. The plasticity of p19 ARF null hepatic stellate cells and the dynamics of activation. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1744: 76-87
- 4 Mann DA, Smart DE. Transcriptional regulation of hepatic stellate cell activation. *Gut* 2002; 50: 891-896
- 5 Baldwin AS Jr. The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights. *Annu Rev Immunol* 1996; 14: 649-683
- 6 Ghosh S, May MJ, Kopp EB. NF-kappa B and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu Rev Immunol* 1998; 16:

## ■同行评价

本文作者就一些调节HSC介导肝纤维化发生学的转录因子作了介绍。内容新颖,具有实际意义。

- 225-260
- 7 Liu H, Lo CR, Czaja MJ. NF-kappaB inhibition sensitizes hepatocytes to TNF-induced apoptosis through a sustained activation of JNK and c-Jun. *Hepatology* 2002; 35: 772-778
- 8 Xu Y, Bialik S, Jones BE, Iimuro Y, Kitsis RN, Srinivasan A, Brenner DA, Czaja MJ. NF-kappaB inactivation converts a hepatocyte cell line TNF-alpha response from proliferation to apoptosis. *Am J Physiol* 1998; 275: C1058-C1066
- 9 Schwabe RF, Schnabl B, Kweon YO, Brenner DA. CD40 activates NF-kappa B and c-Jun N-terminal kinase and enhances chemokine secretion on activated human hepatic stellate cells. *J Immunol* 2001; 166: 6812-6819
- 10 Hellerbrand C, Jobin C, Iimuro Y, Licato L, Sartor RB, Brenner DA. Inhibition of NFkappaB in activated rat hepatic stellate cells by proteasome inhibitors and an IkappaB super-repressor. *Hepatology* 1998; 27: 1285-1295
- 11 Purohit V, Russo D, Salin M. Role of iron in alcoholic liver disease: introduction and summary of the symposium. *Alcohol* 2003; 30: 93-97
- 12 Okada K, Marubayashi S, Fukuma K, Yamada K, Dohi K. Effect of the 21-aminosteroid on nuclear factor-kappa B activation of Kupffer cells in endotoxin shock. *Surgery* 2000; 127: 79-86
- 13 Turner J, Crossley M. Mammalian Kruppel-like transcription factors: more than just a pretty finger. *Trends Biochem Sci* 1999; 24: 236-240
- 14 Chen A, Davis BH. The DNA binding protein BTEB mediates acetaldehyde-induced, jun N-terminal kinase-dependent alpha1(I)collagen gene expression in rat hepatic stellate cells. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 2818-2826
- 15 Takahra T, Smart DE, Oakley F, Mann DA. Induction of myofibroblast MMP-9 transcription in three-dimensional collagen I gel cultures: regulation by NF-kappaB, AP-1 and Sp1. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36: 353-363
- 16 Chen A, Davis BH. UV irradiation activates JNK and increases alpha1(I)collagen gene expression in rat hepatic stellate cells. *J Biol Chem* 1999; 274: 158-164
- 17 Shaulian E, Karin M. AP-1 in cell proliferation and survival. *Oncogene* 2001; 20: 2390-2400
- 18 Newberry EP, Willis D, Latifi T, Boudreaux JM, Towler DA. Fibroblast growth factor receptor signaling activates the human interstitial collagenase promoter via the bipartite Ets-AP1 element. *Mol Endocrinol* 1997; 11: 1129-1144
- 19 Solis-Herruzo JA, Rippe RA, Schrum LW, de La Torre P, Garcia I, Jeffrey JJ, Munoz-Yague T, Brenner DA. Interleukin-6 increases rat metalloproteinase-13 gene expression through stimulation of activator protein 1 transcription factor in cultured fibroblasts. *J Biol Chem* 1999; 274: 30919-30926
- 20 Chinetti G, Fruchart JC, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): nuclear receptors at the crossroads between lipid metabolism and inflammation. *Inflamm Res* 2000; 49: 497-505
- 21 Miyahara T, Schrum L, Rippe R, Xiong S, Yee HF Jr, Motomura K, Anania FA, Willson TM, Tsukamoto H. Peroxisome proliferator-activated receptors and hepatic stellate cell activation. *J Biol Chem* 2000; 275: 35715-35722
- 22 Kon K, Ikejima K, Hirose M, Yoshikawa M, Enomoto N, Kitamura T, Takei Y, Sato N. Pioglitazone prevents early-phase hepatic fibrogenesis caused by carbon tetrachloride. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 291: 55-61
- 23 Xu J, Fu Y, Chen A. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma contributes to the inhibitory effects of curcumin on rat hepatic stellate cell growth. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 285: G20-G30
- 24 Massague J, Wotton D. Transcriptional control by the TGF-beta/Smad signaling system. *EMBO J* 2000; 19: 1745-1754
- 25 Wang X, Tang X, Gong X, Albanis E, Friedman SL, Mao Z. Regulation of hepatic stellate cell activation and growth by transcription factor myocyte enhancer factor 2. *Gastroenterology* 2004; 127: 1174-1188
- 26 Hu K, Fink M, Froh M, Gabele E, Hellerbrand C, Muhlbauer M, Wiest R, Scholmerich J, Schnabl B. Characterization of the human zinc finger protein 267 promoter: essential role of nuclear factor Y. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1729: 14-23

电编 韩江燕 编辑 潘伯荣