

TGF- β 家族在肝纤维化中的不同作用及对策

余姣, 徐可树

余姣, 徐可树, 华中科技大学同济医学院附属协和医院消化内科 湖北省武汉市 430022

通讯作者: 徐可树, 430022, 湖北省武汉市, 华中科技大学同济医学院附属协和医院消化内科. xuzou@medmail.com.cn
电话: 027-67119890

收稿日期: 2006-07-10 接受日期: 2006-07-31

摘要

转化生长因子 β (TGF- β)是一组多功能多肽生长因子, 参与细胞生长分化、免疫调节、伤口愈合、血管形成、胚胎形成和细胞凋亡等。迄今为止, 哺乳动物类发现有3种TGF- β , 即TGF- β 1, TGF- β 2和TGF- β 3。尽管在许多实验中3种TGF- β 生物行为相似, 但是在胚胎形成、组织纤维化及伤口愈合过程中他们的调控机制及表达各不相同, 尤其在肝纤维化形成过程中起着不同的作用, 本文就TGF- β 3种亚型与肝纤维化之间关系的最新研究进展作一综述。

关键词: 转化生长因子 β ; 肝纤维化

余姣, 徐可树. TGF- β 家族在肝纤维化中的不同作用及对策. 世界华人消化杂志 2006;14(28):2789-2792

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/2789.asp>

0 引言

肝纤维化形成过程包括一系列细胞因子和化学介质共同作用于肝星状细胞(HSC)使其激活, 产生大量的细胞外基质(ECM), 此外, 肝内金属蛋白酶(MMP)活性下降, 金属蛋白酶抑制剂(TIMPS)产生过多, 致使ECM降解减少, 从而ECM在肝内大量沉积^[1-4]。TGF- β 作为重要的细胞因子参与了肝纤维化的发生、发展。我们旨在阐述TGF- β 3种亚型在肝纤维化中的不同作用及相应的治疗对策。

1 转化生长因子 β 家族(TGF- β s)

TGF- β 最早由Delarco和Todoro从鼠肉瘤病毒转化的3T3细胞无血清培养液中分离得到, 是一组诱导非瘤细胞表达转化表型的多肽类物质, 其结构是由2个相同或相近的 M_r 1215000亚单位借二硫键连接的同源或异源二聚体碱性

蛋白组成。人类TGF- β 主要由血小板、活化的单核细胞及巨噬细胞等合成。自然界存在5种TGF- β , 在哺乳动物中发现3种类型的TGF- β , 即TGF- β 1, TGF- β 2和TGF- β 3。3者氨基酸序列有60%-80%相同, 且生物活性相似。人TGF- β 1基因位于染色体19q13.1-q13.3, TGF- β 2基因位于1q41, TGF- β 3基因位于染色体14q23-q24, 3者序列都高度保守。许多细胞表面都有转化生长因子 β 受体(TGF- β R)。TGF- β R存在着3种形式, M_r 为53000, 70000-85000和250000-350000。I, II, III型TGF- β R均为糖蛋白, TGF- β R I和TGF- β R II属于跨膜Ser/Thr激酶受体家族, 具有内在的激酶活性, 是介导TGF- β 信号转导所必需的。TGF- β R III胞内段缺乏激酶活性, 不直接参与信号转导, 主要调节TGF- β 同信号受体的结合。他与TGF- β 1, TGF- β 2和TGF- β 3 3者的亲和力相似^[5]。TGF- β 与TGF- β R II结合, 形成复合物, 此时, TGF- β 构象改变, 被TGF- β R I所识别并结合形成TGF- β R II/TGF- β /TGF- β R I 三聚体。复合物中的TGF- β R I被TGF- β R II磷酸化而活化, 活化的TGF- β R I发挥其激酶作用, 使位于细胞质的受体特异性Smad2和Smad3在靠近C2末端的SSXS序列处磷酸化, 磷酸化的Smad2和Smad3与Smad4形成复合物后进入细胞核, 与其他转录因子共同调节相应靶基因转录, 在细胞水平介导TGF- β 的生物学效应^[6-10]。此外, Smad分子作为细胞内TGF- β 信号转导的中介, 可与TGF- β 反应元件(T β RE)相结合, 并刺激CoL1A2 [α 2(I)胶原基因上游序列]转录。有研究显示, 在活化的HSC中, TGF- β /Smad信号的异常加快了胶原基因的转录。原代培养的成纤维细胞(FSC)予TGF- β 处理后, CoL1A2转录可增加10倍^[11]。Dooley *et al*^[12]在研究TGF- β 1诱导的Smad2磷酸化时发现, HSC和转分化成纤维细胞(MFB)对TGF- β 1会产生不同的反应。在HSC中TGF- β 1依赖的磷酸化Smad2明显升高, 而在MFB中, 磷酸化的Smad2数量较少。进一步研究发现, 导致此种现象不是由于磷酸化的Smad2快速降解, 而是TGF- β 信号转导下降所致。研究还显示, TGF- β 1可通过HSC上TGF- β

■背景资料

TGF- β 家族与肝纤维化的发生、发展密切相关, 本文旨在总结TGF- β 1, TGF- β 2和TGF- β 3在肝纤维化中的不同作用及对策。目前关于TGF- β 3在肝纤维化发生、发展中的作用相关报道甚少, TGF- β 3是否具抗肝纤维化的作用以及其作用机制尚待进一步研究。

■同行评价

本文选题合理, 综述内容与题目相符, 基本上阐述了TGF- β 家族在肝纤维化中的不同作用, 在一定程度上反映了该领域学术界的研究现状, 内容详实, 条理清楚, 依据基本充分。

II型受体激活细胞外信号调节激酶(RAS/ERK), 而作用于转录因子SSP-1, NF-1, 增强前胶原 $\alpha 1(I)$ 基因转录, 从而刺激胶原及纤维结合蛋白的表达^[13]。TGF- $\beta 1$ 还能刺激HSC合成透明质酸及硫酸软骨素。

2 TGF- β 与肝纤维化

2.1 TGF- β s在肝脏中的定位和表达 在正常肝组织中, TGF- $\beta 1$ 主要表达于枯否细胞, TGF- $\beta 2$ 与TGF- $\beta 3$ 的表达则远弱于TGF- $\beta 1$, TGF- $\beta 3$ 仅在HSC表达。在肝纤维化组织中, TGF- $\beta 1$ mRNA大量表达于所有窦内皮细胞, 而TGF- $\beta 2$ 和TGF- $\beta 3$ 则不能被检测到。Demirci *et al*^[14]检测了具有排斥反应的肝移植患者的肝组织, 同样发现TGF- $\beta 1$ 主要表达于巨噬细胞, TGF- $\beta 3$ 也主要存在于HSC。且其分布与肌腱蛋白(一种与早期基质形成有关的ECM分子)一致, 说明TGF- $\beta 3$ 可能参与了纤维化形成的早期阶段。Wickert *et al*^[15]采用实时定量PCR检测HSC转化为肌成纤维细胞(FSC)过程中TGF- β 3种亚型mRNA表达, 结果表明, 在绝大多数样本中TGF- $\beta 1$ 为主要亚型, TGF- $\beta 3$ 次之, TGF- $\beta 2$ 含量极少。静止和活化的肝HSC中均可见TGF- $\beta 1$ 和TGF- $\beta 3$ mRNA的表达, 而TGF- $\beta 2$ mRNA仅检测到极低浓度。放射线照射肝脏的后期可导致肝纤维化, Seong *et al*^[16]研究了在肝纤维化发生之前是否存在TGF- β 表达的早期改变。以 γ 射线照射SD大鼠28 d, 并且依次处死照射0-28 d的大鼠。结果显示, 肝脏被照射28 d后虽没有发生纤维化, 但TGF- $\beta 1$ 和TGF- $\beta 3$ mRNA的表达各具不同: TGF- $\beta 1$ mRNA水平逐渐升高, 在28 d时达到最高水平, 而TGF- $\beta 3$ mRNA则由第7天的**高峰水平逐渐降低到28 d时的最低水平。免疫组化也证实了TGF- $\beta 1$ 和TGF- $\beta 3$ 蛋白的表达呈同样的变化趋势, 这些说明在射线照射后的早期就存在TGF- β 表达的改变, 而TGF- $\beta 1$ 和TGF- $\beta 3$ mRNA的表达模式的不同提示: 在放射性肝纤维化形成过程中, TGF- $\beta 1$ 具有促纤维化作用, 而TGF- $\beta 3$ 可能具有抗纤维化形成的作用。

2.2 TGF- β 在肝纤维化中的作用 已有文献报道, TGF- β 在肝纤维化发生、发展中的作用: (1)促进HSC转化为FSC, 并刺激FSC合成ECM^[17-18]; (2)抑制胶原酶及基质降解, 刺激TIMP产生, 抑制MMP的活性^[19-20]; (3)刺激枯否细胞的活化和迁移, 并分泌某些细胞因子如IL-2, 6等; (4)提高细胞黏附分子的作用, 引起炎症反应; (5)对FSC、

单核细胞有趋化作用等^[21-22]。张立煌 *et al*^[23]研究发现, 各型肝炎患者TGF- $\beta 1$ 活性较正常对照组都明显增高, 随着病情的发展, TGF- $\beta 1$ 活性逐渐增高, III型前胶原(PC III)、透明质酸(HA)、层黏蛋白(LN)含量也明显增加。Wu *et al*^[24]研究发现, 随着肝纤维化进展, TGF- $\beta 1$ 的血浆水平, α -肌动蛋白(α -SMA), 尿激酶纤维蛋白溶酶原激活剂(uPA)和纤溶酶原活化因子抑制剂1(PAI-1)的蛋白表达增加。说明, TGF- $\beta 1$ 活性较好的反映肝纤维化进展状况, 是促进肝纤维化的重要因子。此外, 研究还显示, TGF- $\beta 1$ 可抑制谷氨酰半胱氨酸连接酶的表达, 促进肝细胞损害^[25], TGF- $\beta 1$ 还能抑制肝细胞DNA合成, 阻止肝细胞再生^[26-27]。

3 针对TGF- β 治疗肝纤维化的策略

应用反义TGF- β 拮抗TGF- β 的作用。有报道将TGF- $\beta 1$ 基因序列反向导入逆转录病毒载体构建反义TGF- $\beta 1$ 逆转录病毒载体, 将其整合HSC, 可在基因转录、翻译水平阻止HSC中TGF- $\beta 1$ 的表达, 同时降低I型胶原mRNA表达^[28]。可溶性新型缺陷型II型TGF- β 受体(由T β R II胞外区与IgFc段融合形成的嵌合分子)可拮抗TGF- β 的作用^[29-31]。Zheng *et al*^[32]隔日给予鼠可溶性新型缺陷型II型TGF- β 受体, 1 mg/d, 可明显改善其X线照射所致的纤维化。中和TGF- β 及抑制TGF- β 合成的药物。研究发现, 秋水仙碱药物血清能抑制HSC产生TGF- $\beta 1$, 阻止自分泌放大过程, 减少胶原等ECM的合成^[33]。肝细胞生长因子(HGF)能明显降低前胶原及TGF- β mRNA水平, 具有明显的阻止及改善肝纤维化的作用^[34-36]。IFN- α , β , γ 均能抑制3T3L细胞增殖并且下调TGF- β 及前胶原mRNA水平。地塞米松可在转录水平抑制胶原基因表达。TGF- β 可上调胶原基因的启动活性, 同时地塞米松可拮抗TGF- β 对胶原基因启动活性的上调作用。丹参可抑制TGF- $\beta 1$ 刺激的HSC胶原分泌量, 下调I型胶原基因表达; 此外, 丹参还可拮抗TGF- β 刺激的肝星状细胞内Smad2/3蛋白表达, 尤其是Smad2的磷酸化与核转化, 干扰TGF- β 在HSC内的信号转导^[37]。

肝纤维化形成是一个极其复杂的过程, TGF- β 家族与肝纤维化的发生、发展密切相关。目前关于TGF- $\beta 3$ 在肝纤维化发生、发展过程中的作用相关报道甚少。随着对TGF- β 在细胞分子水平的进一步研究, 肝纤维化的形成机制将进一步得到阐明, 针对TGF- β 的治疗将有助于肝纤维化防治水平的进一步提高。

4 参考文献

- 1 Prosser CC, Yen RD, Wu J. Molecular therapy for hepatic injury and fibrosis: where are we? *World J Gastroenterol* 2006; 12: 509-515
- 2 Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest* 2005; 115: 209-218
- 3 Shek FW, Benyon RC. How can transforming growth factor beta be targeted usefully to combat liver fibrosis? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004; 16: 123-126
- 4 Arthur MJ. Fibrogenesis II. Metalloproteinases and their inhibitors in liver fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279: G245-249
- 5 Blobel GC, Schiemann WP, Pepin MC, Beauchemin M, Moustakas A, Lodish HF, O'Connor-McCourt MD. Functional roles for the cytoplasmic domain of the type III transforming growth factor beta receptor in regulating transforming growth factor beta signaling. *J Biol Chem* 2001; 276: 24627-24637
- 6 Feng XH, Derynck R. Specificity and versatility in tgf-beta signaling through Smads. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2005; 21: 659-693
- 7 Shi Y, Massague J. Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus. *Cell* 2003; 113: 685-700
- 8 Chen W, Fu X, Sheng Z. Review of current progress in the structure and function of Smad proteins. *Chin Med J (Engl)* 2002; 115: 446-450
- 9 Fortuno ES 3rd, LeSueur JA, Graff JM. The amino terminus of Smads permits transcriptional specificity. *Dev Biol* 2001; 230: 110-124
- 10 Schnabl B, Kweon YO, Frederick JP, Wang XF, Rippe RA, Brenner DA. The role of Smad3 in mediating mouse hepatic stellate cell activation. *Hepatology* 2001; 34: 89-100
- 11 Inagaki Y, Mamura M, Kanamaru Y, Greenwel P, Nemoto T, Takehara K, Ten Dijke P, Nakao A. Constitutive phosphorylation and nuclear localization of Smad3 are correlated with increased collagen gene transcription in activated hepatic stellate cells. *J Cell Physiol* 2001; 187: 117-123
- 12 Dooley S, Delvoux B, Streckert M, Bonzel L, Stopa M, ten Dijke P, Gressner AM. Transforming growth factor beta signal transduction in hepatic stellate cells via Smad2/3 phosphorylation, a pathway that is abrogated during *in vitro* progression to myofibroblasts. TGFbeta signal transduction during transdifferentiation of hepatic stellate cells. *FEBS Lett* 2001; 502: 4-10
- 13 Alcolado R, Arthur MJ, Iredale JP. Pathogenesis of liver fibrosis. *Clin Sci (Lond)* 1997; 92: 103-112
- 14 Demirci G, Nashan B, Pichlmayr R. Fibrosis in chronic rejection of human liver allografts: expression patterns of transforming growth factor-TGFbeta1 and TGF-beta3. *Transplantation* 1996; 62: 1776-1783
- 15 Wickert L, Steinkruger S, Abiaka M, Bolkenius U, Purps O, Schnabel C, Gressner AM. Quantitative monitoring of the mRNA expression pattern of the TGF- β -isoforms(β 1, β 2, β 3) during transdifferentiation of hepatic stellate cells using a newly developed real-time SYBR Green PCR. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 295: 330-335
- 16 Seong J, Kim SH, Chung EJ, Lee WJ, Suh CO. Early alteration in TGF-beta mRNA expression in irradiated rat liver. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000; 46: 639-643
- 17 Zavadil J, Bottinger EP. TGF-beta and epithelial-to-mesenchymal transitions. *Oncogene* 2005; 24: 5764-5774
- 18 Dooley S, Delvoux B, Lahme B, Mangasser-Stephan K, Gressner AM. Modulation of transforming growth factor beta response and signaling during transdifferentiation of rat hepatic stellate cells to myofibroblasts. *Hepatology* 2000; 31: 1094-1106
- 19 Senties-Gomez MD, Galvez-Gastelum FJ, Meza-Garcia E, Armendariz-Borunda J. Hepatic fibrosis: role of matrix metalloproteases and TGFbeta. *Gac Med Mex* 2005; 141: 315-322
- 20 Knittel T, Mehde M, Kobold D, Saile B, Dinter C, Ramadori G. Expression patterns of matrix metalloproteinases and their inhibitors in parenchymal and non-parenchymal cells of rat liver: regulation by TNF-alpha and TGF-beta1. *J Hepatol* 1999; 30: 48-60
- 21 Gressner AM, Weiskirchen R. Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF-beta as major players and therapeutic targets. *J Cell Mol Med* 2006; 10: 76-99
- 22 Breitkopf K, Godoy P, Ciuculan L, Singer MV, Dooley S. TGF-beta/Smad signaling in the injured liver. *Z Gastroenterol* 2006; 44: 57-66
- 23 张立煌, 方海林, 裘云庆, 姚航平, 李敏伟, 刘克洲. 病毒性肝炎患者血清转化生长因子- β 1活性及其与肝纤维化的关系. *中华传染病学杂志* 1997; 15: 82-84
- 24 Wu XR, Lv MH, Wang Q, Shi SS, Guo WD. The plasma levels of transforming growth factor beta1 and the protein expressions of alpha-SMA, urokinase plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in liver of patients with different grades of hepatic fibrosis. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2004; 12: 400-402
- 25 Franklin CC, Rosenfeld-Franklin ME, White C, Kavanagh TJ, Fausto N. TGFbeta1-induced suppression of glutathione antioxidant defenses in hepatocytes: caspase-dependent post-translational and caspase-independent transcriptional regulatory mechanisms. *FASEB J* 2003; 17: 1535-1537
- 26 Zimmermann A. Regulation of liver regeneration. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19 Suppl 4: iv6-10
- 27 Nakamura T, Sakata R, Ueno T, Sata M, Ueno H. Inhibition of transforming growth factor beta prevents progression of liver fibrosis and enhances hepatocyte regeneration in dimethylnitrosamine-treated rats. *Hepatology* 2000; 32: 247-255
- 28 Arias M, Sauer-Lehnen S, Treptau J, Janoschek N, Theuerkauf I, Buettner R, Gressner AM, Weiskirchen R. Adenoviral expression of a transforming growth factor-beta1 antisense mRNA is effective in preventing liver fibrosis in bile-duct ligated rats. *BMC Gastroenterol* 2003; 3: 29
- 29 Breitkopf K, Haas S, Wiercinska E, Singer MV, Dooley S. Anti-TGF-beta strategies for the treatment of chronic liver disease. *Alcohol Clin Exp Res* 2005; 29: 121S-131S
- 30 Cui X, Shimizu I, Lu G, Itonaga M, Inoue H, Shono M, Tamaki K, Fukuno H, Ueno H, Ito S. Inhibitory effect of a soluble transforming growth factor beta type II receptor on the activation of rat hepatic stellate cells in primary culture. *J Hepatol* 2003; 39: 731-737
- 31 Yata Y, Gotwals P, Kotliansky V, Rockey DC. Dose-dependent inhibition of hepatic fibrosis in mice by a TGF-beta soluble receptor: implications for antifibrotic therapy. *Hepatology* 2002; 35: 1022-1030
- 32 Zheng H, Wang J, Kotliansky VE, Gotwals PJ,

- Hauer-Jensen M. Recombinant soluble transforming growth factor beta type II receptor ameliorates radiation enteropathy in mice. *Gastroenterology* 2000; 119: 1286-1296
- 33 Lee SJ, Kim YG, Kang KW, Kim CW, Kim SG. Effects of colchicine on liver functions of cirrhotic rats: beneficial effects result from stellate cell inactivation and inhibition of TGF beta1 expression. *Chem Biol Interact* 2004; 147: 9-21
- 34 Xia JL, Dai C, Michalopoulos GK, Liu Y. Hepatocyte growth factor attenuates liver fibrosis induced by bile duct ligation. *Am J Pathol* 2006; 168: 1500-1512
- 35 Sato M, Kakubari M, Kawamura M, Sugimoto J, Matsumoto K, Ishii T. The decrease in total collagen fibers in the liver by hepatocyte growth factor after formation of cirrhosis induced by thioacetamide. *Biochem Pharmacol* 2000; 59: 681-690
- 36 Yasuda H, Imai E, Shiota A, Fujise N, Morinaga T, Higashio K. Antifibrogenic effect of a deletion variant of hepatocyte growth factor on liver fibrosis in rats. *Hepatology* 1996; 24: 636-642
- 37 刘成海, 刘平, 胡义扬, 朱大元. 丹酚酸B盐对转化生长因子- β 1刺激肝星状细胞活化与胞内信号转导的作用. *中华医学杂志* 2002; 82: 1267-1272

电编 张敏 编辑 王晓瑜

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

第三届亚洲大洋洲光生物学大会

本刊讯 由亚洲大洋洲光生物学学会发起, 中国生物物理学会光生物学专业委员会负责承办的第三届亚洲大洋洲光生物学大会(<http://www.aosp2006.org.cn/>)定于2006-11-17/20在北京举行. 会议将讨论和交流包括光化学、光物理、光技术、光感应、时间/节律生物学、光合作用、生物与化学发光、光医学、环境光生物学和紫外辐射效应在内的光生物学领域的所有重要进展, 会议还将为与会的光生物学、光医学各个领域的物理学家、化学家、生物学家和临床医生提供相互交流的极好机会. 会议可以办理国家 I 类继续教育学分10学分.

1 会议安排

会议时间: 2006-11-17报到, 18-20日会议; 会议地点: 北京西郊宾馆(五星级), 有关大会报告及15个分会邀请报告的内容请见会议网页<http://www.aosp2006.org.cn/>; 会议工作语言: 英语; 截止日期: (1)论文摘要: 2006-09-15; (2)会前注册: 2006-09-15.

2 会议联系人

投稿摘要: 魏舜仪, 100101, 北京朝阳区大屯路15号中国生物物理学会(电话: 010-64889894; 传真: 010-64889892; E-mail: wsy@moon.ibp.ac.cn). 注册: 王悦, 100101, 北京朝阳区大屯路15号中国生物物理学会(电话: 010-64889894; 传真: 010-64889892; E-mail: wangyue@sun5.ibp.ac.cn).