

文章编号: 1000-7423(2009)-04-0357-04

【综述】

TGF- β 1 与 IL-13 在血吸虫病肝纤维化细胞信号转导中的作用

李静, 王维, 沈继龙*

【摘要】 肝纤维化是由于胶原纤维的产生和分解失衡, 肝组织细胞外基质 (ECM) 过度沉积的结果。研究表明, 转化生长因子 β 1 (TGF- β 1)、替代激活的巨噬细胞 (aaM) 和白细胞介素-13 (IL-13) 在纤维化过程中起关键作用。其中 TGF- β 1 和 IL-13 为近年来的研究热点, 前者通过肝星状细胞 (HSC) 的 TGF- β 1-Smads 细胞信号转导通路起促进作用, 而后者通过 JAK-STAT6 信号途径促纤维化, 作用似乎更加关键。此外, 替代激活的巨噬细胞为 TGF- β 1 的重要来源, 其本身又受 IL-13 刺激。因此, 本文就 IL-13、TGF- β 1 与血吸虫病肝纤维化细胞信号转导进行综述, 以探讨血吸虫病肝纤维化的新药作用靶点。

【关键词】 肝纤维化; IL-13; TGF- β 1; 信号转导

中图分类号: R532.21 文献标识码: A

The Role of TGF β 1 and IL-13 in Cellular Signal Transduction of Hepatic Fibrosis of Schistosomiasis

LI Jing, WANG Wei, SHEN Ji-long*

(Anhui Medical University, Hefei 230032, China)

【Abstract】 Liver fibrosis is characterized by an abnormal hepatic accumulation of extracellular matrix (ECM) that results from both increased deposition and reduced degradation of collagen fibres. Some studies show that transforming growth factor β 1 (TGF- β 1), alternatively activated macrophage (aaM) and interleukin 13 (IL-13) play a key role in the evolution of fibrosis, of which TGF- β 1 and IL-13 become research hotspots. TGF- β 1 mainly activates hepatic stellate cells (HSC) through TGF- β 1/Smad signal pathway, while IL-13 seems to play a rather crucial role through JAK-STAT6 signal pathway. aaM is an important source of TGF- β 1 and activated with IL-13. This paper reviews the role of those signaling molecules in cellular signal transduction of hepatic fibrosis of schistosomiasis japonica, and provides some targets for future drug development.

【Key words】 Hepatic fibrosis; IL-13; TGF- β 1; Signal transduction

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30571631)

* Corresponding author, E-mail: jlshen@ahmu.edu.cn

肝纤维化指肝脏胶原纤维过度沉积, 是胶原纤维产生和分解失衡的结果。反复或持续的慢性肝组织炎症、坏死, 可使细胞外基质 (ECM), 主要为胶原纤维的合成过多而降解相对不足, 从而形成肝纤维化, 这是肝硬化的必经阶段^[1]。肌纤维母细胞是主要的产胶原纤维细胞, 主要来源于局部间充质细胞、上皮细胞、内皮细胞以及循环血液当中的成纤维样细胞等。在肝组织中, 肝星状细胞 (hepatic stellate cell, HSC) 是肌纤维母细胞的主要来源。HSC 是肝组织中产 ECM 的主要细胞, 而该细胞的激活是肝纤维化形成初始的中心环节^[1,2]。HSC 的激活是一个级联反应过程:

当肝脏受到各种损伤时, 局部的肝细胞、巨噬细胞、窦内皮细胞、血小板、淋巴细胞和中性粒细胞等释放多种细胞因子, 其中最主要的是转化生长因子 β 1 (transforming growth factor β 1, TGF- β 1)^[3], 它作用于 HSC 信号转导通路使其激活。被激活的 HSC 向肌成纤维细胞 (myofibroblast, MFB) 转化, 同时表达大量的平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA)、多种细胞因子受体 (如 TGF- β 1 受体等)、以及 I、III 型胶原等 ECM 成分; 并且被激活的 HSC 自身又分泌 TGF- β 1 等细胞因子。此外, ECM 中的 I 型胶原等成分也可激活 HSC。因此, 一旦激活, 受细胞旁分泌、自分泌的直接作用, 及所处环境胶原的间接作用, HSC 活化将逐渐放大并持续存在, 即使

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 30571631)

作者单位: 安徽医科大学, 合肥 230032

* 通讯作者, E-mail: jlshen@ahmu.edu.cn

除去诱因,活化也将继续下去^[3]。

1 血吸虫病肝纤维化

血吸虫病肝纤维化机制还不十分明了。目前认为日本血吸虫虫卵肉芽肿是由 Th2 型细胞诱导的免疫应答引起的。当虫卵沉积于肝组织后,成熟毛蚴分泌可溶性虫卵抗原(soluble egg antigen, SEA),下调 Th1 免疫应答,而逐步上调 Th2 免疫应答,并高表达和分泌 TGF- β 1 和白细胞介素-13(interleukin 13, IL-13)^[4]。

大量实验表明, TGF- β 1 和 IL-13 通过细胞信号转导通路在调节血吸虫病肉芽肿大小、促进血吸虫病肝纤维化形成中发挥关键作用^[5-11]。血吸虫病肝纤维化与 HSC 的 TGF- β 1-Smads 信号转导^[6,10,11]和 IL-13-STAT6 信号转导^[7]有关。实验表明,从 SEA 中提取的某些组分能促进 IL-13 的分泌^[8],后者可激活巨噬细胞,分泌 TGF- β 1。实验证明,SEA 可刺激巨噬细胞,使之分泌 TGF- β 1,后者可通过 HSC 内的 Smads 信号蛋白促进胶原纤维的表达和分泌,从而致小鼠日本血吸虫病肝纤维化。而中药单体成分芍药苷可以通过抑制巨噬细胞产生 TGF- β 1,以及抑制 HSC 内 Smad3 蛋白的表达而发挥其抗血吸虫病肝纤维化的作用^[9,10]。

2 巨噬细胞与纤维化

巨噬细胞与 Th1 和 Th2 CD⁴⁺ T 细胞相似,可通过经典激活途径和替代激活途径分化为两种不同的亚型。经典激活的巨噬细胞(classically activated macrophage, caM)可由 Th1 分泌的细胞因子,如 IFN- γ 、IL-12、IL-1 等激活;替代激活的巨噬细胞(alternatively activated macrophage, aaM)可由 Th2 分泌的细胞因子,如 IL-4、IL-13 等激活^[11]。血吸虫病患者肝组织中的虫卵诱发 Th2 型免疫反应,后者使 aaM 增多^[12]。aaM 具有以下作用:①抑制 caM 的形成和促炎因子的分泌;②分泌血管生成因子和成纤维细胞因子,如 TGF- β 、血小板源性生长因子(PDGF)等,从而使受损组织纤维化、大量新生血管形成,形成肉芽肿并促其纤维化,防止炎性损害进一步加重;③免疫抑制作用,如 aaM 可通过抑制 Th1 细胞的功能诱导对致敏原(如血吸虫卵)的耐受,从而阻止虫卵对组织造成进一步免疫损伤;caM 与 aaM 的作用相反。

总之,针对巨噬细胞不同激活途径给予药物干预可能是预防血吸虫病肝纤维化的一个有效作用靶点。实验结果表明,芍药苷可通过抑制巨噬细胞产生 TGF- β 1 来发挥抗血吸虫病肝纤维化的作用^[9,10]。

3 TGF- β 1 的信号转导通路

TGF- β 1 是通过作用于 HSC 而影响肝纤维化的一种多肽因子。具体细胞信号转导途径如下: TGF- β 1 先与细胞膜上的 TGF- β 1 III 型受体(TGF- β 1 R III)结合,后者将结合后的 TGF- β 1 传递给 TGF- β 1 II 型受体(TGF- β 1 R II),同时 TGF- β 1 也可直接与 TGF- β 1 R II 结合。结合有 TGF- β 1 的 TGF- β 1 R II 再与 TGF- β 1 R I 结合,两者形成异四聚体受体复合物,同时 TGF- β 1 R II 激酶磷酸化 TGF- β 1 R I。TGF- β 1 R I 被磷酸化后,其自身的磷酸化酶活性被激活并可进一步自磷酸化和磷酸化 Smad 2/3。接着,这些被磷酸化的 Smad 2/3 和 Smad 4 结合形成复合物并转位至细胞核,调节特异性靶基因,如胶原基因等的表达,并促进 Smad 6/7 的产生。Smad 6/7 与被激活的 TGF- β 1 R I 结合,抑制 Smad 2/3 的磷酸化。TGF- β 1 过度表达可导致严重的肝纤维化^[1,13]。

TGF- β 1 在肝损伤的不同时期也有不同效应^[14]。急性肝损伤时, HSC 分泌 TGF- β 1 增加,促进 α 2(I)胶原基因转录, HSC 内 Smad 2 以自分泌方式活化,随后诱导 Smad 7 表达, Smad 7 与 Smad 2 结合并终止 TGF- β 1 的信号转导,是 TGF- β 1 信号的负反馈调节。但在慢性肝损伤中, HSC 转化为 MFB 后, Smad 2 被持续磷酸化, Smad 7 表达水平低下,不能有效抑制 TGF- β 1 的信号传递。Smad 2 持续活化及 Smad 7 水平低下可能是慢性肝损伤向肝纤维化发展的原因之一。研究显示,动物肝纤维化往往伴随血清和组织 TGF- β 1 增加、HSC 数量进行性增多、Smad 3 mRNA 表达显著增高、Smad 7 初期升高、中晚期进行性下降,提示肝纤维化的发生发展与 TGF- β 1-Smads 信号转导通路密切相关^[15]。最近的实验证明, TGF- β 1 通过上述细胞信号转导通路部分参与了日本血吸虫病肝纤维化的过程,在血吸虫病肝纤维化中有重要作用^[6,9,10]。但也有实验表明,血吸虫病肝纤维化无需 TGF- β 参与^[16],其中原因有待于进一步探索。

4 IL-13 的信号转导通路

IL-13 主要由活化的 Th2 细胞分泌产生,是一种具有免疫调节功能的细胞因子,参与哮喘、寄生虫免疫、肿瘤发生,在曼氏血吸虫感染引起的肝纤维化的所有阶段中都具有重要的促进作用,是纤维化的启动者和维持者^[17],但是国内外关于 IL-13 与日本血吸虫病纤维化关系的报道较少。2006 年 Bartley 等^[2]研究发现,在感染日本血吸虫的小鼠体内,随着感染时间的增加,8 周时 IL-13 基因表达达到最高峰,10 周时 IL-13 α 2 受体(IL-13R α 2)达到最高峰,随后两者逐

渐降低但仍高于正常水平。Monica 等^[18]发现, IL-13 的抑制剂可以阻止已建立的和进行性纤维化的发展。IL-13 可通过以下途径影响纤维化的形成: ① 激活巨噬细胞, 使其成为 aaM, 后者可分泌合成胶原纤维所必须的脯氨酸; ② 激活的 aaM 可分泌 TGF- β 1, 后者作用于 HSC, 使其产生胶原纤维; ③ 直接作用于 HSC, 使其产生胶原纤维^[17]。

IL-13 与 HSC 细胞膜上的 IL-13 α 1 受体 (IL-13 R α 1)、IL-4 α 受体 (IL-4 R α) 结合形成一个具有信号转导功能的复合体, 该复合体能激活受体胞浆段的 JAK 激酶, 后者使细胞内信号蛋白 STAT6 磷酸化。被磷酸化的 STAT6 相互结合成二聚体, 随后转入细胞核中与 DNA 结合并激活有关基因的启动子, 启动 DNA 转录, 合成胶原纤维^[19]。IL-13R α 2 是 IL-13 的另一受体, 该受体与 IL-13 结合后使 IL-13 不能再与 IL-13 R α 1 结合, 从而竞争性地抑制 IL-13 的细胞内信号转导, 阻止胶原纤维的产生, 故 IL-13R α 2 又被称为“诱饵受体 (decoy receptor)”。IL-13R α 2 的存在对感染血吸虫的宿主起到重要的保护作用, 可延长宿主寿命, 下调慢性炎症反应, 抑制纤维化的发展^[5]。实验表明, IL-13R α 2 缺陷的小鼠肝纤维化^[4]更加严重。但 IL-13R α 2 与 IL-13 结合后可介导博来霉素诱导的 TGF β 和 IL-13R α 2 依赖的肺纤维化^[20]。为何不同情况下 IL-13R α 2 对纤维化会出现如此截然不同的影响, 有待于进一步研究。

5 TGF- β 1 与 IL-13 的信号转导通路间的关系

TGF β 是目前研究最多的细胞外基质调节因子。组织纤维化主要由 TGF- β 1 引起, 而 TGF- β 1 主要来源于血液循环中的单核细胞和巨噬细胞。

在细胞内, TGF- β 1 以非共价键结合到无活性结合肽 (latent associated peptide, LAP) 上, 后者使得 TGF- β 1 处于非激活状态。当 TGF- β 1 被分泌并与其受体结合时, TGF- β 1 在组织蛋白酶、纤维蛋白酶、钙蛋白酶、血小板反应素酶、基质金属蛋白酶等作用下与 LAP 分离^[21], 从而被激活成为具有活性的 TGF- β 1, 后者导致组织纤维化。所以, 上述酶已经成为潜在的抗纤维化作用靶点^[14]。

IL-13 可刺激巨噬细胞产生 TGF- β 1, 后者直接激活组织固有的间质细胞 (如 HSC), 使其分化为肌纤维母细胞 (如 MFB), 促进纤维化的形成^[22]。实验表明, 在 IL-13 转基因小鼠肺部 TGF- β 1 活性受抑制时, 上皮下的纤维化显著减少^[22]。说明 IL-13 所致的纤维化依赖于 TGF- β 1 的存在。所以, 推测在血吸虫病肝纤维化时, 虫卵分泌的 SEA 诱导 CD4⁺ Th2 细胞分泌

IL-13, 后者通过替代激活途径使巨噬细胞成为 aaM。aaM 分泌 TGF- β 1, TGF- β 1 通过 TGF- β 1/Smads 信号转导通路激活 HSC 并导致胶原纤维沉积, 最后引起组织纤维化。事实上, 上述推测已被证实^[9,10]。IL-13 也可通过刺激金属蛋白酶和组织蛋白酶来激活 TGF- β 1^[23]。但是, 当 TGF- β 1/Smads 信号转导通路受抑制时, 肺组织纤维化增加^[24], 提示在某些情况下 TGF- β 1 抑制组织纤维化, 而不是诱导。还有实验提示, 血吸虫病肝纤维化时 IL-13 的致纤维化作用并不依赖于 TGF- β 1^[16]。此外, 来源于不同细胞的 TGF- β 1 对纤维化的影响也不同: 来源于巨噬细胞的 TGF- β 1 往往是促纤维化因子, 而来源于 T 细胞的 TGF- β 1 往往是抑制纤维化因子。

总之, 血吸虫病肝纤维化除了与 HSC 的 TGF- β 1-Smads 信号转导^[6,9-10]和 IL-13-STAT6 信号转导^[7]有关外, 还可能与 IL-13-aaM-TGF- β 1 信号途径有关。但是, 至今仍不清楚 IL-13 在多大程度上通过 TGF- β 1 来触发组织纤维化。

IL-13 主要由适应性免疫应答细胞 (主要为 CD4⁺TH2) 产生, 而 TGF- β 1 主要由造血细胞分泌, 提示 IL-13 可能是参与进行性、适应性免疫的重要起始因子, TGF- β 1 信号途径纤维化主要参与固有免疫伤口愈合机制^[25]。血吸虫病患者的 IL-13 水平显著高于 TGF- β 1。在感染后 TGF- β 1 表达数量级仅为 pg/ml, 而 IL-13 在培养的淋巴结中含量超过 10 ng/ml。IL-13 诱导巨噬细胞和成纤维细胞中精氨酸的表达^[26,27], 精氨酸刺激脯氨酸表达, 后者是胶原的主要成分^[28]。因此, 在某些情况下, IL-13 和 TGF- β 1 可能直接作用于关键靶细胞激活纤维化途径。不同组织中纤维化的机制可能存在细微差别。

Kaviratne 等^[16]研究发现, 尽管仍然有 TGF- β 1, 并且不断产生 TGF- β 1, 感染曼氏血吸虫的 IL-13^{-/-}小鼠体内纤维化几乎全部消失, 抑制 TGF- β 1 不能调节 IL-13 依赖的肝纤维化。最近的研究发现 IL-13 是 TGF- β 1 的潜在诱导剂和激活剂^[29]。进一步提示血吸虫病肝纤维化是伴随慢性 TH2 细胞因子极化的免疫炎症反应, 但是 IL-13 \rightarrow TGF- β 1 \rightarrow 纤维化这一途径尚未研究清楚。Kaviratne 等^[16]则认为 IL-13 介导的曼氏血吸虫病肝纤维化机制完全不依赖于 TGF- β 1。

IL-13 选择性地激活 TGF- β 1 诱导组织纤维化^[22]。一些研究表明, IL-13R α -、IL-4R α -、Stat6-信号途径在小鼠组织纤维化发展中起关键作用^[7]。因此在血吸虫病和其他 Th2 炎症疾病中, 单独抑制 IL-13 或联合抑制 TGF- β 1 和 IL-13 可能更有利于阻止纤维化的进展和组织重建。

6 展望

综上所述, TGF-β1、aaM 和 IL-13 在血吸虫病肝纤维化中起着重要作用, 可在它们的信号转导途径中寻找一个或数个药物作用靶点, 以期阻断血吸虫病纤维化的进展。

参 考 文 献

[1] Yao XX, Xu KC. The Basic Study and Clinical Research on Liver Fibrosis[M]. Shanghai: Shanghai Science and Education Publishing House, 2003: 1-102. (in Chinese)
(姚希贤, 徐克成. 肝纤维化的基础与临床[M]. 上海: 上海科技教育出版社, 2003: 1-102.)

[2] Bartley PB, Ramm GA, Jones MK, et al. A contributory role for activated hepatic stellate cells in the dynamics of *Schistosoma japonicum* egg-induced fibrosis[J]. Int J Parasitol, 2006, 36(9): 993-1001.

[3] Parsons CJ, Takashima M, Rippe RA. Molecular mechanisms of hepatic fibrogenesis[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2007, 22(Suppl 1): 79-84.

[4] Wilson MS, Mentink-Kane MM, Pesce JT, et al. The immunobiology of schistosomiasis[J]. Immunol Cell Biol, 2007, 85(2): 148-154.

[5] Mentink-Kane MM, Wynn TA. Opposing roles for IL-13 and IL-13 receptor alpha 2 in health and disease[J]. Immunol Rev, 2004, 202(12): 191-202.

[6] Xiong LJ, Zhu JF, Luo DD, et al. Effects of pentoxifylline on the hepatic content of TGF-β1 and collagen in schistosomiasis japonica mice with liver fibrosis[J]. World J Gastroenterol, 2003, 9(1): 152-154.

[7] Mentink-Kane MM, Cheever AW, Thompson RW, et al. IL-13 receptor alpha 2 down-modulates granulomatous inflammation and prolongs host survival in schistosomiasis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(2): 586-590.

[8] Noel W, Raes G, Hassanzadeh Ghassabeh G, et al. Alternatively activated macrophages during parasite infections[J]. Trends Parasitol, 2004, 20(3): 126-133.

[9] Chu DY, Li CL, Shen JL, et al. Effect of paeoniflorin on hepatic immunopathogenesis in mice with *Schistosoma japonicum* infection[J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2008, 26(1): 10-15. (in Chinese)
(储德勇, 李丛磊, 沈继龙, 等. 芍药苷对日本血吸虫感染小鼠肝组织免疫病理的影响[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2008, 26(1): 10-15.)

[10] Chu DY, Li CL, Shen JL, et al. Effect of paeoniflorin on secretion of TGF-β1 from macrophages in mice[J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2008, 26(2): 81-85. (in Chinese)
(储德勇, 李丛磊, 沈继龙, 等. 芍药苷对小鼠巨噬细胞分泌TGF-β1的影响[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2008, 26(2): 81-85.)

[11] Gordon S. Alternative activation of macrophages[J]. Nat Rev Immunol, 2003, 3(1): 23-35.

[12] Hesse M, Cheever AW, Jankovic D, et al. NOS-2 mediates the protective anti-inflammatory and antifibrotic effects of the Th1-in-

ducing adjuvant, IL-12, in a Th2 model of granulomatous disease[J]. Am J Pathol, 2000, 157(3): 945-955.

[13] Derynck R, Zhang YE. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF-beta family signaling[J]. Nature, 2003, 425(9): 577-584.

[14] Wynn TA. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis[J]. J Pathol, 2008; 214(2): 199-210.

[15] Wu XL, Zeng WZ, Wang PL. TGF-β smad signaling pathways in hepatic fibrosis[J]. World Chin J Digestol, 2003, 11(10): 1601-1605. (in Chinese)
(吴晓玲, 曾维政, 王丕龙. TGF-β Smad 信号转导通路与肝纤维化[J]. 世界华人消化杂志, 2003, 11(10): 1601-1605.)

[16] Kaviratne M, Hesse M, Leusink M, et al. IL-13 activates a mechanism of tissue fibrosis that is completely TGFβ-independent [J]. J Immunol, 2004, 173(6): 4020-4029.

[17] Wynn TA. IL-13 effector functions[J]. Annu Rev Immunol, 2003, 21:425-456.

[18] Chiamonte MG, Cheever AW, Malley JD, et al. Studies of murine schistosomiasis reveal interleukin-13 blockade as a treatment for established and progressive liver fibrosis[J]. Hepatology, 2001, 34(2): 273-282.

[19] Takeda K, Akira S. STAT family of transcription factors in cytokine-mediated biological responses [J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2000, 11(3): 199-207.

[20] Thomas TM. Decoy receptor springs to life and eases fibrosis[J]. Nat Med, 2006, 12(1): 13-14.

[21] Gorelik L, Flavell RA. Transforming growth factor-β in T-cell biology[J]. Nat Rev Immunol, 2002, 2(1): 46-53.

[22] Lee CG, Homer RJ, Zhu Z, et al. Interleukin-13 induces tissue fibrosis by selectively stimulating and activating transforming growth factor β1[J]. J Exp Med, 2001, 194(6): 809-821.

[23] Vaillant B, Chiamonte MG, Cheever AW, et al. Regulation of hepatic fibrosis and extracellular matrix genes by the Th response: New insight into the role of tissue inhibitors of matrix metalloproteinases[J]. J Immunol, 2001, 167(12): 7017-7026.

[24] Nakao A, Miike S, Hatano M, et al. Blockade of transforming growth factor beta/Smad signaling in T cells by overexpression of Smad7 enhances antigen-induced airway inflammation and airway reactivity[J]. J Exp Med, 2000, 192(2): 151-158.

[25] Shinkai K, Mohrs M, Locksley RM. Helper T cells regulate type-2 innate immunity *in vivo*[J]. Nature, 2002, 420(6917): 825-829.

[26] Munder M, Eichmann K, Moran JM, et al. Th1/Th2-regulated expression of arginase isoforms in murine macrophages and dendritic cells[J]. J Immunol, 1999, 163(7): 3771-3777.

[27] Lindemann D, Racke K. Glucocorticoid inhibition of interleukin-4 (IL-4) and interleukin-13 (IL-13) induced up-regulation of arginase in rat airway fibroblasts[J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2003, 368(6): 546-550.

[28] Hesse M, Modolell M, La Flamme AC, et al. Differential regulation of nitric oxide synthase-2 and arginase-1 by type 1/type 2 cytokines *in vivo*; granulomatous pathology is shaped by the pattern of L-arginine metabolism[J]. J Immunol, 2001, 167(11): 6533-6544.

[29] Abbas AK, Murphy KM, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes[J]. Nature, 1996, 383(6603): 787-793.

(收稿日期: 2008-10-24 编辑: 高石)