

# 基于肝星状细胞分子机制的抗肝纤维化研究进展

韦燕飞, 彭岳, 谢海源, 赵铁建

韦燕飞, 彭岳, 谢海源, 赵铁建, 广西中医学院基础医学院生理学教研室 广西壮族自治区南宁市 530001  
国家自然科学基金资助项目, No. 30760321  
广西壮族自治区自然科学基金资助项目, No. 桂科自0542096  
广西研究生教育创新计划基金资助项目, No. 2008106001006M11  
作者贡献分布: 此课题由赵铁建设计主持; 由赵铁建与韦燕飞完成论文撰写; 由彭岳与谢海源完成资料的收集和整理。  
通讯作者: 赵铁建, 教授, 530001, 广西壮族自治区南宁市明秀东路179号, 广西中医学院基础医学院生理学教研室。  
ztj-nanning@163.com  
电话: 0771-2214279  
收稿日期: 2009-04-10 修回日期: 2009-05-28  
接受日期: 2009-06-08 在线出版日期: 2009-06-18

## Advances in anti-fibrosis at the molecular level based on hepatic stellate cells

Yan-Fei Wei, Yue Peng, Hai-Yuan Xie, Tie-Jian Zhao

Yan-Fei Wei, Yue Peng, Hai-Yuan Xie, Tie-Jian Zhao, Department of Physiology, Guangxi Traditional Chinese Medicine College, Nanning 530001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China  
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30760321; the Natural Science Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region of China, No. 0542096; and the Funds of Graduate Student Education Inaugurate Plan in Guangxi Zhuang Autonomous Region of China, No. 2008106001006M11  
Correspondence to: Professor Tie-Jian Zhao, Department of Physiology, Guangxi Traditional Chinese Medicine College, Nanning 530001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. ztj-nanning@163.com  
Received: 2009-04-10 Revised: 2009-05-28  
Accepted: 2009-06-08 Published online: 2009-06-18

## Abstract

Extra cellular matrix (ECM), which plays a key role in the formation of liver fibrosis, mainly comes from the hepatic stellate cells (HSCs). The major components of ECM, includes collagens, glycoproteins, polysaccharides, etc. HSCs can influence or accelerate the process of liver fibrosis through secretion of many cytokines. Recently, many scientists home and abroad focus on HSCs apoptosis and degradation of collagen as a target, in order to find a breakthrough for the prevention and treatment of liver fibrosis.

Key Words: Hepatic stellate cells; Extra cellular matrix; Cytokines; Molecular mechanisms

Wei YF, Peng Y, Xie HY, Zhao TJ. Advances in anti-fibrosis at the molecular level based on hepatic stellate cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(17): 1745-1748

## 摘要

肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)是细胞外基质(extra cellular matrix, ECM)的主要来源, 在肝纤维化形成中起关键性作用, ECM主要成分包括各型胶原、糖蛋白、蛋白多糖等。HSCs通过分泌多种细胞因子影响并加重肝纤维化的进程。近年国内外围绕以HSCs凋亡和促进胶原的降解为靶标的抗肝纤维化研究成为热点, 为肝纤维化的防治寻找突破口。

关键词: 肝星状细胞; 细胞外基质; 细胞因子; 分子机制

韦燕飞, 彭岳, 谢海源, 赵铁建. 基于肝星状细胞分子机制的抗肝纤维化研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17(17): 1745-1748  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1745.asp>

## 0 引言

肝纤维化(hepatic fibrosis)是指肝细胞发生坏死及炎症刺激时, 肝脏中胶原蛋白等细胞外基质(extra cellular matrix, ECM)的增生与降解失去平衡, 导致肝脏内纤维结缔组织异常沉积的病理过程。轻者称为纤维化, 重者伴有肝小叶结构改建、假小叶及结节形成, 称为肝硬化。流行病学调查显示, 在我国乙型肝炎, 尤其是慢性活动性肝炎中, 有10%-15%可能在5-10年内发展为肝炎后肝硬化<sup>[1]</sup>。因此, 如何控制慢性肝病的发展, 防止肝纤维化以致肝硬化的发生和抗肝纤维化治疗及逆转肝纤维化的进程, 受到国内外的高度重视<sup>[2]</sup>。研究寻找各种途径实现缓解和逆转肝纤维化及肝硬化, 都是迫切而具有十分重要意义的。

## 1 肝星状细胞与肝纤维化的关系

现代医学对肝纤维化发病机制认为, 肝纤维化的形成是由于肝细胞的慢性损伤、炎症和不断

## ■背景资料

肝纤维化的形成及进展涉及的因素很多, 近年来国内外主要围绕以HSCs及分泌的细胞因子为靶标的抗肝纤维化作用开展研究。试图通过HSCs分子机制研究揭示肝纤维化发生和发展, 为寻找新的抗肝纤维化药物提供理论依据。

## ■同行评议者

高英堂, 研究员, 天津市第三中心医院, 天津市肝胆疾病研究所分子细胞室

## ■研发前沿

HSCs是肝纤维化形成和逆转的中心环节,研究药物对HSCs作用的分子机制是研究肝纤维化治疗机制的关键所在。能否阻止HSCs激活,减少相关纤维化因子分泌是衡量抗肝纤维化药物是否有效的重要依据。

的组织重建,造成大量的ECM沉积。尽管多种肝脏细胞均能合成ECM,但肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSCs)是慢性肝病中ECM的主要来源和肝纤维化过程起主要作用的细胞<sup>[3]</sup>。在肝损伤过程中, HSCs受各种细胞因子的调控发生表型转变,获得肌成纤维细胞(myofibroblast, MFb)特征,增加胶原合成和细胞收缩性。活化的HSCs在肝损伤部位移行、增殖并合成和分泌大量的ECM,在肝纤维化形成中起关键性作用,ECM主要成分包括<sup>[4]</sup>: I型、II型、III型及IV型胶原;糖蛋白;蛋白多糖等。肝纤维化时大量ECM在Disse间隙沉积以胶原为主,尤以I型胶原为主,这些间质成分的改变不但激活HSCs,也影响肝细胞的功能。(1)胶原: HSCs主要产生I、III和IV型胶原,肝纤维化早期,IV型胶原增多,发展至肝硬化时,I、III型胶原明显增加,以I型胶原为主。(2)糖蛋白: 包括纤维连接蛋白(fibronectin, FN)、层粘连蛋白(laminin, LN)、副层粘连蛋白、副纤维连接蛋白、粗纤维连接素。肝脏损伤早期,即可出现FN和LN的表达,损伤后的肝窦内皮细胞所沉积的FN加速正常HSCs向MFb的转化, LN沉积是肝窦毛细血管化的改变之一,血清中LN抗原水平与肝纤维化程度密切关系。(3)蛋白聚糖和糖胺多糖,包括透明质酸,硫酸软骨素,硫酸角质素等。肝纤维化时,这些成分不同程度增加,糖胺多糖主要来源于HSCs。

## 2 HSCs与相关细胞因子

肝纤维化的形成机制是一个有众多因素参与复杂的病理过程,包括外界刺激后,引起细胞因子的释放,细胞因子-细胞-细胞外基质相互作用,最终使大量纤维组织沉积于肝脏。而此过程中HSCs起着重要的作用。激活的HSCs通过自分泌和/或旁分泌形式释放多种细胞因子,后者又活化HSCs,使其产生大量的ECM,加重肝纤维化的进展<sup>[5]</sup>。这些细胞因子有转化生长因子(Transforming growth factor, TGF)、结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)、血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、内皮素(endothelin, ET)等。(1)TGF存在多种类型和亚型,其中TGF- $\beta$ 1是已知最强的致纤维化因子<sup>[6]</sup>,他既可促进ECM合成,又可抑制其降解。TGF- $\beta$ 1在HSCs激活过程<sup>[7]</sup>中亦起重要作用,通过刺激HSCs合成并分泌I、III型胶原及纤维结合素,促进ECM的形成。TGF- $\beta$ 1还可增

加HSCs表达PDGF受体,使PDGF促HSCs增殖的作用增强,使肝纤维化进一步发展。TGF- $\beta$ 1阻断剂可能是有效的肝纤维化治疗手段<sup>[8]</sup>。(2)CTGF是一种新型细胞因子,正常肝组织少量表达,硬化的肝组织内CTGF表达水平与病理上肝硬化进展程度呈平行关系。研究提示,CTGF能诱导MFb增生和ECM分泌,参与调节细胞增生、分化等,而HSCs是CTGF的重要来源<sup>[9]</sup>。(3)在静息的HSCs几乎不表达PDGF及受体,肝脏受损时,激活的HSCs可分泌PDGF,他是已知最强的促HSCs增殖、分化的细胞因子;HSCs激活早期的重要标志就是PDGFR表达的增加。因此,能阻断PDGF的信号转导途径,就能有效抑制HSCs的增殖和胶原的产生,并促进其凋亡<sup>[10]</sup>。(4)肝纤维化时,EGF表达上调,刺激肝细胞增殖,并具有促进HSCs分裂增殖的能力<sup>[11]</sup>。HSCs在自分泌释放的EGF的驱使下向肝内各部位迁移,扩大疾病范围,从而加速了肝纤维化进程。EGF的过度表达还能促使肝细胞发生癌变。(5)正常肝脏ET主要来源于肝窦内皮细胞,肝损伤后ET主要来源于活化的HSCs,ET有强烈的血管收缩作用,在肝血流调节中发挥重要作用,甚至引起肝窦直接收缩<sup>[12]</sup>,还能引起肝糖原分解减少,肝脏缺血缺氧等。

## 3 围绕HSCs研究肝纤维化

近年来国内外主要围绕以HSCs凋亡和促进胶原的降解为靶标的抗肝纤维化作用开展研究。(1)促进HSCs凋亡: 通过抗氧化剂(维生素E、卵磷脂、S-腺苷甲硫氨酸)、细胞因子调节剂(TGF- $\beta$ 、肝细胞生长因子、干扰素- $\gamma$ )、血管活性物质调节剂等抑制HSCs的活化与增殖和促进HSCs的凋亡,以达到延缓和逆转肝纤维化作用的目的<sup>[13]</sup>。(2)促进胶原降解: 通过细胞外基质降解的关键酶-基质金属蛋白酶系(matrix metalloproteinases, MMPs)活性水平的调节,如: 干扰素- $\alpha$ 、干扰素- $\gamma$ 和视黄醇,促进MMPs产生和增加MMPs活性,加速ECM降解,促进肝纤维化的逆转<sup>[14]</sup>。HSCs的激活是肝纤维化的中心环节<sup>[15]</sup>,激活的HSCs转变为肌成纤维细胞,并表达多种细胞因子及受体,大量增殖和合成ECM,表达平滑肌 $\alpha$ -肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA),具有收缩功能。活化后的HSCs,一方面通过增殖细胞数和分泌ECM参与肝纤维化的形成和肝内结构的重建,另一方面通过细胞收缩使肝窦内压升高,最终导致肝

纤维化形成<sup>[16]</sup>。Saile *et al*<sup>[17]</sup>发现, HSCs活化后其表型很难逆转, 通过凋亡的方式使HSCs的数量减少, 是肝纤维化逆转的机制。

#### 4 肝纤维化逆转的分子机制

针对HSCs作用的分子机制主要通过下列4个方面解决肝纤维化的形成和逆转问题: (1)肝纤维化的形成主要取决于胶原的合成与降解之间的动态平衡, 当胶原合成大于降解时, 肝内胶原纤维增加, 纤维化逐渐形成。如果降解大于合成, 纤维化可逐渐回退。而肝内胶原主要由ECM构成, ECM又主要来源于HSCs。因此, 在肝纤维化形成过程中HSCs作用的分子机制十分关键, 抑制HSCs的活化和增生对肝纤维化防治具有重要意义<sup>[18-19]</sup>。(2)肝纤维化的形成还涉及众多的细胞因子, 这些细胞因子即可由激活的HSCs分泌, 又可通过旁分泌途径反过来促进HSCs的转化和增殖, 恶性循环加速纤维化形成<sup>[20]</sup>。其中TGF- $\beta$ 1是调节ECM合成和代谢最重要的细胞因子, 已被公认为肝纤维化的关键因子, 主要由HSCs分泌产生<sup>[21-22]</sup>, 在刺激HSCs活化、抑制MMPs活性、增强MMPs的抑制物-天然抑制物TIMPs的活性、增加ECM受体表达、促进ECM与细胞黏附等方面发挥重要作用。通过检测TGF- $\beta$ 1的表达和分布规律可以进一步明确肝纤维化病灶的形成特点, 结合 $\alpha$ -SMA实验结果可进一步探明肝纤维化发生、发展规律。另外, PDGF是体外最有效的诱导HSCs增殖的细胞因子, 在体内HSCs的激活与增殖中也发挥重要作用。激活的HSCs会表达更多的PDGF受体并释放PDGF<sup>[23]</sup>。而TNF- $\alpha$ 能明显抑制TGF- $\beta$ 1的产生, 减少HSCs的激活, 并诱导其凋亡, 从而阻断肝纤维化的发生与发展<sup>[24]</sup>。(3)肝纤维化的形成也涉及参与ECM降解代谢的MMPs<sup>[25-26]</sup>。研究表明<sup>[27]</sup>, 肝纤维化早期MMP13 mRNA轻度升高, 而后期表达明显降低, 若发生逆转时MMP13 mRNA水平又增高, 说明MMP13 mRNA水平的升高可加速ECM的分解, 抑制肝纤维化形成或逆转肝硬化。同时研究还表明<sup>[28]</sup>, HSCs激活, 分泌过多的TGF- $\beta$ 1时, 可抑制MMPs的表达及活性, 胶原降解减少而大量沉积。(4)肝纤维化的形成也涉及纤溶酶原激活物及抑制剂。因为参与ECM降解的MMPs的活力是受尿激酶型纤溶酶原激活物(urokinase plasminogen activator, uPA)及纤溶酶原激活物抑制剂(plasminogen activator inhibitor, PAI)的影响。有研究显示<sup>[29]</sup>, 血中的PAI-1含

量随肝纤维化的加重而升高, 并与TGF- $\beta$ 呈正相关。而使PAI-1失活的重要因素是uPA与PAI结合成了复合物而被细胞吞饮所致<sup>[30]</sup>。静止的HSCs表达uPA, 随着HSCs的激活, uPA表达减少, PAI-1表达持续增加, PAI-1抑制uPA, 继而抑制纤溶酶原的激活, 最终使MMPs的活力受抑, ECM降解减少, 在肝内沉积<sup>[31]</sup>。所以, 测定PAI-1和uPA的表达水平对研究肝纤维化的机制也十分重要<sup>[32]</sup>。总之, 对HSCs的I型和III型前胶原mRNA表达、TGF- $\beta$ 1 mRNA表达、PDGF和TNF- $\alpha$ 、PAI-1和uPA表达与MMPS表达水平的研究, 对防治和逆转肝纤维化有重要意义。

#### 5 针对HSCs进行的干预作用

对肝纤维化的治疗是针对肝纤维化形成机制中的各个环节进行干预而实现的。就目前的研究主要针对下列三方面而言: (1)如何截止肝纤维化形成的启动环节-即阻止HSCs的活化; (2)如何处理已经活化的HSCs-即通过药物促进HSCs的凋亡; (3)如何加速胶原降解-即增加MMPs的表达及活性, 或抑制TIMPs的活性。这是肝纤维化治疗的研究方向。

肝细胞受损后可以参与激活肝Kupffer细胞(kupffer cell, KC), KC在各种病理因素共同作用下发生活化, KC活化后通过细胞因子的调控使HSCs活化后可直接转化为成纤维样细胞, 也可合成和分泌ECM, 最终导致胶原纤维过量沉积, 形成肝纤维化和肝硬化。HSCs是肝纤维化形成和逆转的中心环节<sup>[3]</sup>, 因此, 研究药物对HSCs作用的分子机制是研究肝纤维化形成和治疗肝纤维化机制的关键所在。药物能否阻止HSCs的激活, 减少ECM的沉积量是衡量抗肝纤维化药物是否有效的重要依据。通过对TGF- $\beta$ 1、PDGF、TNF- $\alpha$ 等细胞因子的调控、旁路刺激和自分泌作用的研究, 阻止HSCs的激活, 减少ECM的合成与分泌和通过增强MMPs mRNA表达水平和活性能加速ECM降解, 减少胶原纤维的沉积, 就能产生抗肝纤维化作用。

#### 6 结论

肝纤维化发病机制和抗纤维化机制研究取得明显进展, 但肝纤维化过程极为复杂, 影响因素很多, 不仅与局部细胞因子有关, 还与神经、体液、内分泌等因素相关, 而HSCs是这一过程的中心环节。我们可以利用HSCs和相关的纤维化

#### ■创新盘点

本文较全面的论述了HSCs与相关细胞因子、围绕HSCs的肝纤维化研究、针对HSCs干预肝纤维化, 强调通过HSCs分子的机制研究来解决肝纤维化形成和逆转的重要性和可能性。

## ■同行评价

本综述内容全面, 结构层次清晰, 具有一定的参考价值。

因子作为研究靶点, 建立基于HSCs模型的抗肝纤维化中草药筛选平台, 形成体外药物筛选评价体系。可寻找或筛选对HSCs和相关的纤维化因子起干预作用中草药及其部位或单体, 为寻找新的抗肝纤维化药物提供一种快速有效的方法; 为中医药防治肝纤维化提供新的思路。

## 7 参考文献

- 1 程明亮, 杨长春. 肝纤维化的基础研究及临床. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 9-10
- 2 Lai CL. Therapeutic advances in chronic hepatitis B. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19 Suppl: S5-S9
- 3 Gäbele E, Brenner DA, Rippe RA. Liver fibrosis: signals leading to the amplification of the fibrogenic hepatic stellate cell. *Front Biosci* 2003; 8: d69-d77
- 4 李莉娜, 贾心善. 肝脏星状细胞与细胞外基质、金属蛋白酶的研究进展. 日本医学介绍 2002; 23: 139-141
- 5 Kim WH, Matsumoto K, Bessho K, Nakamura T. Growth inhibition and apoptosis in liver myofibroblasts promoted by hepatocyte growth factor leads to resolution from liver cirrhosis. *Am J Pathol* 2005; 166: 1017-1028
- 6 Gressner AM, Weiskirchen R, Breitkopf K, Dooley S. Roles of TGF-beta in hepatic fibrosis. *Front Biosci* 2002; 7: d793-d807
- 7 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
- 8 Nakamura T, Ueno T, Sakamoto M, Sakata R, Torimura T, Hashimoto O, Ueno H, Sata M. Suppression of transforming growth factor-beta results in upregulation of transcription of regeneration factors after chronic liver injury. *J Hepatol* 2004; 41: 974-982
- 9 Paradis V, Dargere D, Bonvoust F, Vidaud M, Segarini P, Bedossa P. Effects and regulation of connective tissue growth factor on hepatic stellate cells. *Lab Invest* 2002; 82: 767-774
- 10 Chen YX, Lu CH, Xie WF, Zhang XR, Zhang ZB, Wei LX, Jin YX, Guo YJ. Effects of ribozyme targeting platelet-derived growth factor receptor beta subunit gene on the proliferation and apoptosis of hepatic stellate cells in vitro. *Chin Med J (Engl)* 2005; 118: 982-988
- 11 Yang C, Zeisberg M, Mosterman B, Sudhakar A, Yerramalla U, Holthaus K, Xu L, Eng F, Afdhal N, Kalluri R. Liver fibrosis: insights into migration of hepatic stellate cells in response to extracellular matrix and growth factors. *Gastroenterology* 2003; 124: 147-159
- 12 Shao R, Shi Z, Gotwals PJ, Koteliansky VE, George J, Rockey DC. Cell and molecular regulation of endothelin-1 production during hepatic wound healing. *Mol Biol Cell* 2003; 14: 2327-2341
- 13 张绪富, 吕志平. 以肝星状细胞为靶标的抗肝纤维化

治疗进展. 中国药理学通报 2003; 19: 622

- 14 Jia JD, Bauer M, Cho JJ, Ruehl M, Milani S, Boigk G, Riecken EO, Schuppan D. Antifibrotic effect of silymarin in rat secondary biliary fibrosis is mediated by downregulation of procollagen alpha1(I) and TIMP-1. *J Hepatol* 2001; 35: 392-398
- 15 Friedman SL. Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. The cellular basis of hepatic fibrosis. Mechanisms and treatment strategies. *N Engl J Med* 1993; 328: 1828-1835
- 16 周斌, 姚乃礼. 肝星状细胞中药血清药理学实验研究概况. 中国中西医结合杂志 2004; 24: 376-377
- 17 Saile B, Matthes N, Knittel T, Ramadori G. Transforming growth factor beta and tumor necrosis factor alpha inhibit both apoptosis and proliferation of activated rat hepatic stellate cells. *Hepatology* 1999; 30: 196-202
- 18 Zhang LJ, Yu JP, Li D, Huang YH, Chen ZX, Wang XZ. Effects of cytokines on carbon tetrachloride-induced hepatic fibrogenesis in rats. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 77-81
- 19 王勇, 席军生, 谢世平. 肝纤维化相关细胞因子研究集析. 中医药学刊 2003; 27: 725-728
- 20 孙妩弋, 魏伟. 中药和天然药物治疗肝纤维化的研究. 中国药理学通报 2004; 20: 741-746
- 21 廖丹, 罗光汉, 吴继周. TGF-β1和smad4mRNA在慢性肝炎、肝硬化、肝癌旁组织的表达及意义. 世界华人消化杂志 2004; 11: 2091-2094
- 22 陈晓红. 细胞因子对肝纤维化形成的影响. 国外医学·内科学分册 2001; 28: 21-24
- 23 叶国荣, 舒建昌. 肝星状细胞在肝纤维化中的作用. 国外医学·内科学分册 2006; 12: 522-525
- 24 Chang XM, Chang Y, Jia A. Effects of interferon-alpha on expression of hepatic stellate cell and transforming growth factor-beta1 and alpha-smooth muscle actin in rats with hepatic fibrosis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 2634-2636
- 25 Albanis E, Friedman SL. Hepatic fibrosis. Pathogenesis and principles of therapy. *Clin Liver Dis* 2001; 5: 315-334, v-vi
- 26 Safadi R, Friedman SL. Hepatic fibrosis--role of hepatic stellate cell activation. *MedGenMed* 2002; 4: 27
- 27 梁志清, 徐新宝, 何振平. 反义Smad4对大鼠纤维化肝脏金属蛋白酶及其抑制剂的调节. 重庆医学 2004; 33: 716-717
- 28 崔红燕, 刘成, 刘成海. 基质金属蛋白酶与肝纤维化的研究进展. 国外医学·消化系疾病分册 2003; 23: 37-40
- 29 Inuzuka S, Ueno T, Torimura T, Tamaki S, Sugawara H, Sakata R, Kusaba N, Sata M, Tanikawa K. The significance of colocalization of plasminogen activator inhibitor-1 and vitronectin in hepatic fibrosis. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32: 1052-1060
- 30 汪晓军, 张奉学, 郭兴伯. 肝星状细胞、机体血浆纤溶系统与活血化瘀法. 中西医结合肝病杂志 2002; 12: 383-385
- 31 Leyland H, Gentry J, Arthur MJ, Benyon RC. The plasminogen-activating system in hepatic stellate cells. *Hepatology* 1996; 24: 1172-1178
- 32 王继, 陈俊红, 李兵顺. 活血、益气、软坚不同中医治则逆转大鼠肝纤维化的实验观察. 中国中医基础医学杂志 2006; 21: 420-422

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕