

肝脏星形细胞的生物学特性研究进展

朱永红 罗 绯* 胡大荣**

(第三军医大学西南医院感染病科 重庆 400038) (*成都军区总医院药局 成都 610083)

(**北京军区总医院全军肝病研究所 北京 100700)

肝脏星形细胞 (hepatic stellate cells, HSCs), 又称为储脂细胞 (fat-storing cells, FSCs)、Ito 细胞、窦周脂肪细胞 (perisinusoidal lipocytes, PLs)、储存维生素 A 细胞及肝脏特异性周皮细胞 (pericytes) 等^[1], 该细胞是肝脏的一种非实质细胞, 位于 Disse 隙内, 围绕在肝窦周围。近年来, 有关 HSCs 生物学特性的研究取得了很大进展, 现介绍如下。

一、正常 HSCs 的生理功能

正常肝脏中, HSCs 具有以下几方面的功能^[2]: ①合成细胞外基质 (ECM)。正常肝脏 Disse 隙中含有许多 ECM 成分, 有证据表明, HSCs 可能是维持肝脏实质中 ECM 稳态的最重要细胞。②由于 HSCs 位于肝窦周围, 与血管周皮细胞相似, 推测其具有调节肝窦血流的作用。目前已肯定激活的 HSCs 能收缩, 并对各种血管活性物质有反应。静息的 HSCs 能否收缩尚不十分肯定。最近, Thimgan 等^[3]采用一种力传感装置对原代培养大鼠 HSCs 的收缩及松弛反应进行直接测定, 发现原代培养 HSCs 在 10% 胎牛血清及内皮素-1 (ET-1) 的刺激下, 其收缩和松弛反应的幅度和速率足以对肝窦血流进行调节。③摄取并储存维生素 A。HSCs 被认为是体内储存维生素 A 的主要场所。④可能具有调节肝细胞再生的作用。静息的 HSCs 能表达肝细胞生长因子 (HGF), 并可能是肝内 HGF 的重要来源。研究还发现, 胰岛素样生长因子-II (IGF-II) 能增强人 HSCs 表达 HGF。

二、HSCs 的表型激活

1. HSCs 激活后呈现的生物学特点

正常肝脏中, HSCs 处于静息状态, 增殖活性很低。在肝损伤及各种慢性肝病时 HSCs 被激活, 其表型 (phenotype) 由静息型转变为激活型。HSCs 激活后获得许多重要的生物学特性^[2,4]。目前认为, HSCs 表型激活是肝纤维化形成过程中的一个关键病理过程, 同时可能在门静脉高压形成中发挥重要作用。激活的 HSCs 具有以下几方面的特点: ①形态类似肌纤维母细胞 (myofibroblast), 故有人将其称为肌纤维母细胞样细胞 (MFBLCs); ②增殖活性明显增强; ③胞质中脂滴减少或消失; ④胞质内出现 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA) 表达。 α -SMA 被认为 HSCs 激活的主要标志; ⑤合成多种 ECM 成分的能力明显增强, 包括各种基质蛋白、蛋白多糖及糖胺多糖等; ⑥获得收缩性; ⑦表达并分泌各种具有促炎性及致纤维化作用的细胞因子及黏附分子等; ⑧基质金属蛋白酶抑制剂 (TIMPs) 的合成及分泌增加, 使肝纤维化时一些 ECM 成分的降解减少。近来, 有学者采用减数 (消减) 杂交 (subtractive hybridization) 等技术, 观察到 HSCs 激活后出现多种基因的表达, 如 epimorphin^[5]、瘦蛋白 (leptin)^[6]、朊病毒 (prion) 蛋白^[7] 及一种锌指转录因子 ZF9^[8] 等。其中 ZF9 为一 Kruppel 样转录因子, 能反式激活由 α (I) 型胶原、TGF β 1 及细胞周期蛋白 A 启动子驱动的报告基因表达。尽管如此, 到目前为止, 尚未找到一种只在激活的 HSCs 中特异性表达的基因。

2. HSCs 激活的调控

HSCs 的激活受到多种因素的调节, 各种肝损伤因素导致 HSCs 激活的过程基本相似, 大致可分为两个阶段, 即始动 (initiation) 及维持 (perpetuation) 阶段。

(1) HSCs 激活的始动因素 最早对 HSCs 产生作用的因素大多是旁分泌性的^[4], 这些启动 HSCs 激活的刺激因素可源于损伤的肝细胞、邻近的内皮细胞、聚集的血小板、Kupffer 细胞, 以及原发性和转移性肝癌中浸润的肿瘤细胞等。其中肝细胞被认为是脂质过氧化产物的重要来源, 脂质过氧化物可能在多种原因所致的肝纤维化形成中起着重要作用。损伤及坏死的肝细胞还可能由于其对 HSCs 的接触抑制降低或消失而导致 HSCs 激活。早期对肝窦内皮细胞的损伤, 可刺激该细胞产生纤维连接蛋白(FN), 已知 FN 具有激活 HSCs 的作用。这可能是最早刺激 HSCs 激活的因素。内皮细胞还可通过激活纤维蛋白溶酶, 使潜在型 TGF β 1 转化为具有致纤维化作用的活化型 TGF β 1。血小板激活 HSCs 的作用通常被忽视。肝损伤时, 血小板成为产生致纤维化介质的重要来源, 所产生的致纤维化介质有 PDGF、TGF β 1 和 EGF 等。Kupffer 细胞的浸润及活化也在 HSCs 激活中起着明显作用。研究发现, Kupffer 细胞浸润与 HSCs 激活标志物的出现相一致。体外培养研究显示, 来源于 Kupffer 细胞的一些因子能加速 HSCs 激活。

在原发性及转移性肝脏肿瘤中, 也观察到 HSCs 激活。Olaso 等^[9]发现一种黑色素瘤细胞能使体内及体外培养的 HSCs 激活。

(2) HSCs 激活的维持 一旦 HSCs 的激活被启动, 多种因素协同作用, 在维持 HSCs 激活状态的同时, 促进肝纤维化等病理改变, 这些促成因素包括以下几个方面: ①增殖反应。HSCs 激活后呈现活跃的增殖反应, 现已确定多种能刺激 HSCs 分裂的细胞因子, 如 PDGF、FGF、VEGF 及凝血酶等, 大多通过相应的受体酪氨酸激酶(RTK)发挥作用。肝纤维化时, HSCs 的增殖主要由于促有丝分裂细胞因子的分泌增加并诱导 HSCs 细胞膜表达相应的酪氨酸激酶受体所致^[4]。②化学趋化作用。激活的 HSCs 能够向损伤部位迁移, HSCs 的化学趋化性与其表达 PDGF 受体有关, PDGF 被认为

是 HSCs 的一种关键化学趋化物。最近又发现单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)具有趋化 HSCs 的作用^[10]。③获得收缩性。激活的 HSCs 能收缩, 对多种收缩激动剂如 ET-1、NO、精氨酸血管加压素、肾上腺髓质素及花生四烯酸类等产生收缩反应, 具有收缩肝窦、调节肝窦血流的作用, 可能与慢性肝病时门静脉高压的形成及肝功能失调有关。激活的 HSCs 获得收缩性可能与其表达 α -SMA 有关^[11]。④纤维化形成(fibrogenesis)。激活的 HSCs 在肝纤维化的形成中主要受多种致纤维化介质(fibrogenic mediators)的调节。在众多致纤维化介质中, TGF β 1 受到特别注意。在实验性纤维化大鼠肝脏及肝纤维化病人的肝脏中, TGF β 1 表达增加, 由无活性的潜在型向有活性的激活型转换增加, 而且效应细胞膜上 TGF β 1 受体表达亦增加^[4]。⑤细胞因子的释放。除旁分泌作用外, 激活的 HSCs 也自分泌多种细胞因子如 TGF β 1、PDGF、FGF、HGF、PAF 及 ET-1 等, 作用于 HSCs 本身。这种自分泌作用, 被认为在维持 HSCs 的持续激活状态中起着旁分泌刺激不可替代的作用^[4,12]。Roth 等最近的研究提示 HSCs 所分泌的 TGF β 1 可不分泌到胞外而直接在胞内发挥作用^[13]。此外, 激活的 HSCs 也分泌 MCP-1, 具有趋化炎性细胞的作用^[14]。⑥降解肝脏正常基质。激活的 HSCs 除了合成几乎所有的 ECM 成分外, 也合成几乎所有降解 ECM 成分的关键酶, 这些异常表达的酶可降解肝脏中的正常基质, 从而干扰维持正常肝脏功能所需的 ECM 环境。此外, 激活的 HSCs 增加表达 TIMPs, 促使某些 ECM 成分(如 I 型胶原)异常集聚, 也扰乱了正常的 ECM 环境, 这种异常的 ECM 环境在维持 HSCs 的激活状态促进肝纤维化中也起着重要作用^[4,15]。⑦维生素 A 脂滴减少或消失。这是 HSCs 激活的一个显著特点, 但尚不清楚维生素 A 减少或消失是否为 HSCs 激活所必需。维生素 A 减少可能导致某些具有致纤维化活性的代谢产物聚积^[4]。

3. 与 HSCs 激活有关的信号分子及转导通路

在 HSCs 的激活过程中,已观察到多种转录因子上调,包括 C-myc、SP1、NF κ B、c-jun/AP-1、STAT-1 等。C-myc 能与 α -SMA 启动子的调节元件相互作用,影响 α -SMA 的表达。SP1 是“Krupple 样因子”转录蛋白家族成员,能识别某些启动子的“GC-box”基序,参与多种生物学效应^[4]。NF κ B 为 TNF α 的一个主要下游效应子,在诱导肝脏出现氧化应激反应时活性上调。Hellberbrand 等为进一步证实 NF κ B 在 HSCs 激活中所起的作用,用 I κ B 及阻止 I κ B 降解的蛋白酶体(proteasome)抑制 NF κ B 的活性,使得 HSCs 激活后表达增加的 IL-6 及 ICAM-1 又降低。因此,特异地抑制激活 HSCs 的 NF κ B 活性,可能是抗肝纤维化治疗的一条新途径^[16]。

对 HSCs 增殖发挥调节作用的细胞因子大多是生长因子,其中 PDGF 被认为是活性最强的一种。这些生长因子大多通过 MAPK 通路发挥作用,即生长因子与相应受体结合,激活膜结合 GTPase,启动一系列磷酸化步骤,激活 MAPK,再使转录因子磷酸化并使之激活。研究发现, TNF α 在静息的大鼠 HSCs 中激活 JNK 和 p38 通路,PDGF 和 TGF α 均能刺激 Erk-2 的活性,且作用强度相似。Burt 等研究发现,体外用 PDGF 处理大鼠 HSCs,其 PLC 及 PLD 活性增加,但用 TGF α 处理则否,外源性 PLD 具有促进 HSCs 有丝分裂的作用^[2]。除上述信号分子外,STAT-1 也可能参与 PDGF 的信号转导,转录因子 CREB 的磷酸化状态在调节 HSCs 的增殖中也可能发挥一定作用,若使 CREB133 位上的丝氨酸磷酸化,能抑制 HSCs 增殖^[17]。

与 PDGF 相似,ET-1 也具有调节 HSCs 增殖的作用。但 ET-1 仅能促进培养早期的 HSCs 增殖,而对完全激活的 HSCs(培养 7 天以上),其作用为抑制增殖^[18]。已知至少两种 G 蛋白偶联受体介导 ET-1 的作用,分别是 ETA 和 ETB 受体,二者在静息的及激活的 HSCs 上均有表达。ETA 和 ETB 受体的多少随 HSCs 的激活状态而不同。

ET-1 促进 HSCs 增殖的效应由 ETA 受体介导,与 Ras/Erk 活性增加有关,且被 ETA 激动剂所阻断^[19]。ET-1 对激活的 HSCs 的生长抑制由 ETB 受体介导,通过前列腺素/cAMP 通路导致 Erk 及 C-JunK(JNK)活性下降^[20]。

整合素(integrin)是一类位于细胞膜表面的异源二聚糖蛋白受体分子,主要介导细胞与 ECM 成分的黏附。近年来发现,整合素在介导 HSCs 激活及肝纤维化形成中发挥重要作用^[21]。但到目前为止,有关整合素信号转导如何影响靶细胞的基因表达尚不十分清楚。Iwanoto 等^[22]在体外观察了整合素信号转导在大鼠 HSCs 黏着斑激酶(FAK)的酪氨酸磷酸化及细胞骨架装配中所起的作用。大鼠 HSCs 表达 α 5 β 1 整合素,培养于不同 ECM 成分中的 HSCs 其细胞形态及应力纤维形成不同,若用含 Arg-Gly-Asp 序列的可溶性肽 GRGDS 处理 HSCs,可降低黏附诱导的 FAK 酪氨酸磷酸化,抑制应力纤维形成,降低 α -SMA 的表达。

三、HSCs 的凋亡及表型逆转

在实验性肝损伤模型中,HSCs 增殖,当去除损伤因素后,肝脏恢复其正常组织结构,HSCs 的数量也恢复正常。目前认为肝组织损伤修复中激活的 HSCs 数量降低有两种可能,一是通过某种机制如细胞凋亡将激活的 HSCs 清除,二是激活的 HSCs 由激活表型转变为静息表型。

1. HSCs 的凋亡

目前已在实验性肝损伤的恢复期观察到 HSCs 的凋亡,体外培养激活的 HSCs 也出现凋亡,同时出现 FasL、Bcl-2 和 P53 表达增加以及对 FasL 的敏感性增强^[23]。此外,凋亡的 HSCs 其 TIMPs 表达降低,从而使得胶原酶活性增强,促进基质吸收^[24]。对 HSCs 凋亡机制的研究将为寻找有效的促 HSCs 凋亡剂提供线索。

2. HSCs 激活表型的逆转

研究发现,培养于 EHS 基质上的刚分离的正常大鼠 HSCs,其表型保持静息状态^[25],提示 ECM 环境对维持 HSCs 处于静息状态十分重要,

正常的ECM环境可能具有逆转HSCs激活表型的作用。目前对激活的HSCs表型能否完全逆转尚缺乏直接的证据,尤其是体内实验证据。

四、展 望

过去10多年来,有关HSCs的细胞生物学研究取得了很大进展,但直到现在,仍未对以下一些关键问题作出回答:①各种原因所致的肝纤维化中,目前认为HSCs所发生的反应是一样的,设想可能过于简单化。HSCs反应性的差别可能同肝纤维化的发生、发展及治疗有着密切关系。②在各种信号转导通路中,有没有一条与HSCs激活有关的特异性信号通路?③如何将HSCs作为抗肝纤维化治疗中特异的药物作用靶?目前尚未在HSCs上找到任何完全特异的基因或受体分子等,任何对HSCs某项功能的干预都须考虑对肝内或肝外其他细胞的副作用。④宿主因素在调节HSCs激活及在肝纤维化形成中的作用还不清楚。最近的研究提示,宿主的免疫表型是决定宿主纤维化反应性质的一个重要因素。目前尚不清楚不同株小鼠纤维化反应的差异是由免疫效应细胞的差异引起,还是不同株小鼠间HSCs的内在差异所致^[26]。⑤类维生素A在HSCs激活中的作用须进一步深入研究。⑥目前对HSCs的生物学研究绝大多数是在大鼠HSCs上进行的,虽然人与大鼠HSCs的生物学特点有许多相似之处,但从大鼠HSCs所获得的研究结果并不能完全应用到人HSCs上,因此有必要对人与大鼠HSCs进行较系统的比较研究或直接对人HSCs进行研究。

摘 要

肝脏星形细胞(HSCs)是肝脏的非实质细胞之一,具有重要的生理功能,在病理情况下,HSCs被激活,具有许多重要的生物学特性,在肝纤维化与门静脉高压的形成中发挥重要作用。对影响HSCs激活的因素、HSCs激活及凋亡机制的研究成为近年来肝脏细胞学研究的热点之一,

并取得了很大进展。

参 考 文 献

- [1] Ahern M, Hall P, Halliday M, et al., 1996, *Hepatology*, **23**:193.
- [2] Burt AD, 1999, *J Gastroenterol*, **34**:299-304.
- [3] Thingan MS, Yee Jr HF, 1999, *Am J Physiol*, **277**: G137-G143.
- [4] Olaso E, Friedman SL, 1998, *J Hepatol*, **29**:836-847.
- [5] Watanabe S, Hirose M, Wang XE, et al., 1998, *Biochem Biophys Res Commun*, **250**:486-490.
- [6] Potter JJ, Womack L, Mezey E, et al., 1998, *Biochem Biophys Res Commun*, **244**:178-182.
- [7] Kitada T, Seki S, Ikeda K, et al., 2000, *J Hepatol*, **33**:751-757.
- [8] Ratziu V, Lalazai A, Wong L, et al., 1998, *Proc Natl Acad Sci USA*, **95**:9500-9505.
- [9] Olaso E, Santisteban A, Bidaurrezaga, et al., 1997, *Hepatology*, **26**:634-642.
- [10] Marra F, Romanelli RG, Pastacaldi S, et al., 1998, *J Hepatol*, **28**(suppl 1):57.
- [11] 朱永红, 聂青和, 胡大荣, 1998, 国外医学流行病学传染病学分册, **25**:17-20.
- [12] Friedman SL, 1998, *Digestion*, **59**:368-371.
- [13] Roth-Eichhorn S, Kuhl K, Gressner AM, 1998, *Hepatology*, **28**:1588-1596.
- [14] Marra F, DeFranco R, Grappone C, et al., 1998, *Am J Pathol*, **152**:423-430.
- [15] Arthur MJ, 1998, *Digestion*, **59**:376-380.
- [16] Taub R, 1998, *Hepatology*, **27**:1445-1446.
- [17] Houglum K, Lee KS, Chojkier M, 1997, *J Clin Invest*, **99**:1322-1328.
- [18] Rockey DC, Fouassier L, Chung JJ, et al., 1998, *Hepatology*, **27**:472-480.
- [19] Pinzani M, Milani S, De Franco R, et al., 1996, *Gastroenterology*, **110**:534-548.
- [20] Mallat A, Preaux AM, Serradeil-Le Gal C, et al., 1996, *J Clin Invest*, **98**:2771-2778.
- [21] 朱永红, 胡大荣, 1998, 国外医学内科学分册, **25**:21-24.
- [22] Iwamoto H, Sakai H, Nawata H, 1998, *J Hepatol*, **29**:752-759.
- [23] Gressner AM, 1998, *Cell Tissue Res*, **292**:447-452.
- [24] Iredale JP, Benyon RC, Pickering J, et al., 1998, *J Clin Invest*, **102**:538-549.
- [25] Friedman SL, Roll FJ, Boyles J, et al., 1989, *J Biol Chem*, **264**:10756-10762.
- [26] Shi Z, Wakil AE, Rockey DC, 1997, *Proc Natl Acad Sci USA*, **94**:10663-10668.