

综述

Cdc42作为功能性因子调控纤维化

张煜^{1,2} 魏然² 黄萍³ 贾茜雅² 熊丽霞^{1*}¹南昌大学医学部病理生理学教研室, 南昌 330006; ²南昌大学第一临床医学院, 南昌 330006;³南昌大学第一附属医院, 南昌 330006)

摘要 细胞分裂周期蛋白42(cell division control protein 42 homolog, Cdc42)是一种Rho蛋白家族的小GTPase, 可与GTP或GDP结合并在其活性型或失活型之间的转换充当“分子开关”, 参与了细胞黏附、迁移与极化的过程。纤维化是引起器官功能丧失的重要原因之一, 有许多不同的机制可以导致纤维化。以往的研究表明, Cdc42与癌症、心血管疾病、神经退行性病变等有密切的联系, 却未提及Cdc42与纤维化之间存在的直接联系。该文总结最新的研究成果, 讨论了Cdc42与肝、肾、肺以及心血管纤维化的关系。除此之外, 该文也阐述了Cdc42通过细胞黏附迁移、上皮-间质转化等途径导致纤维化的具体机制, 以及Cdc42介导的信号通路在纤维化过程中发挥的作用, 同时还致力于研究各类关键因子之间的联系及与Rho蛋白质家族的“交谈(crosstalk)”, 更进一步完善了纤维化发生机制, 并提出针对Cdc42的靶向治疗方式, 以拓宽纤维化的治疗方案。

关键词 Cdc42; 纤维化; 上皮-间质转化; 细胞迁移; 靶向治疗

Cdc42 as A Functional Mediation Factor in Fibrosis

Zhang Yu^{1,2}, Wei Ran², Huang Ping³, Jia Xiya², Xiong Lixia^{1*}¹Department of Pathophysiology, Basic Medical College, Nanchang University, Nanchang 330006, China;²First Clinical Medical College, Nanchang University, Nanchang 330006, China;³The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330036, China)

Abstract Cell division control protein 42 homolog (Cdc42) is a small G protein of Rho family, acting as a “molecular switch”, cycling between an active GTP-bound and an inactive GDP-bound, and involving in cell adhesion, migration and polarization process. Fibrosis is an important cause of the organ function losing. Previous studies indicated that Cdc42 has a close relationship with cancer, cardiovascular diseases, neurodegenerative diseases without mentioning the direct relationship between Cdc42 and fibrosis. This review combines the most advanced research results with previous investigation to discuss liver fibrosis, renal interstitial fibrosis, pulmonary fibrosis and cardiovascular fibrosis that mediated by Cdc42. It also describes the Cdc42-induced mechanism in

收稿日期: 2016-09-23 接收日期: 2016-12-13

国家自然科学基金(批准号: 81200069、31660287)、江西省自然科学基金(批准号: 20161BAB205204)、江西省教育厅科技计划(批准号: 14106、150217)、南昌大学研究生创新专项资金项目(批准号: cx2016356)、南昌大学校级“大学生创新创业训练计划”资助项目(批准号: 2016195、2016197、2016201)和南昌大学“科研训练项目”(批准号: 20161164、20161172、20161215)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0791-86360556, E-mail: xionglxia@ncu.edu.cn

Received: September 23, 2016 Accepted: December 13, 2016

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81200069, 31660287), the Natural Science Foundation of Jiangxi Province (Grant No.20161BAB205204), Science and Technology Plan of Education Department of Jiangxi Province (Grant No.14106, 150217), the Postgraduates Innovation Special Fund Project of Nanchang University (Grant No.cx2016356), the Undergraduates Training Programs of Innovation and Entrepreneurship of Nanchang University (Grant No.2016195, 2016197, 2016201) and the Training Program of Scientific Research of Nanchang University (Grant No.20161164, 20161172, 20161215)

*Corresponding author. Tel: +86-791-86360556, E-mail: xionglxia@ncu.edu.cn

网络出版时间: 2017-02-24 16:47:57 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20170224.1647.004.html>

fibrosis like cell adhesion and migration and epithelial-mesenchymal transition (EMT). Cdc42-mediated signaling pathways involving in the process of fibrosis, their association with various key factors and “crosstalk” with other Rho GTPases are also discussed. More importantly, the specific therapies for Cdc42 are discussed in order to complete the pathogenesis of fibrosis and broaden the treatment of fibrosis.

Keywords Cdc42; fibrosis; EMT; cell migration; targeted therapy

细胞分裂周期蛋白42(cell division control protein 42 homolog, Cdc42)是一种小G蛋白,是Rho蛋白质家族的重要成员之一。Rho家族包括了RhoA(Ras homolog gene family member A)、Rac1(Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1)、Cdc42等,它们均能与GTP和GDP结合,并在哺乳动物的信号转导系统中发挥着“分子开关”的作用,在活性型/GTP限制型和失活型/GDP限制型构象之间进行循环,控制着下游效应因子。Cdc42最早在酿酒酵母菌的肌动蛋白细胞骨架中被发现,并且被认为是一种关键的蛋白质,此后的研究发现,此种蛋白质在人体中呈高度保守存在,发挥着不可或缺的作用^[1]。Cdc42参与构成了机体许多复杂的信号通路,调节了下游众多的效应蛋白,例如p21活化激酶(p21 activated kinase, PAK)、混合谱系激酶(mixed-lineage kinase, MLK)和包括Par6(partitioning defective 6)、Wiskott-Aldrich综合征蛋白(Wiskott-Aldrich syndrome protein, WASp)以及含IQ模体GTP酶活化蛋白(IQ motif containing GTPase activating protein, IQGAP)等在内的支架蛋白^[2-4],也可以作用于下游的Cdc42作用蛋白4(Cdc42-interacting protein 4, CIP4)来发挥生物学效应。Cdc42与生物体内的多种进程有着极为密切的联系,主要作用于细胞迁移和极化,还参与了细胞骨架中的肌动蛋白重排,建立胞膜运输,调节细胞转录、增殖和黏附等一系列与维持正常细胞功能有关的机制^[5]。

纤维化可发生于机体多个器官,主要特征为纤维结缔组织增生和实质细胞减少。纤维化包括两个方面,损伤部位的成纤维细胞迁移和增殖以及细胞外基质(可包括胶原I、II、III、IV等)的积聚。创伤严重时趋化至损伤部位的成纤维细胞合成分泌大量细胞外基质,对器官的功能造成不可逆的损伤。

许多研究已经证实,Cdc42调节异常可导致很多疾病如癌症、心血管疾病、神经元退行性病变等^[6-7]。近年来一些研究表明,Cdc42与器官的纤维化有着密切的联系,使得人们重新审视这种发挥着“分子开

关”作用的蛋白质。

以下将从Cdc42的活化机制及表达分布和与肝、肾、肺以及心血管系统纤维化的联系两个方面阐述Cdc42在机体主要器官纤维化方面发挥的重要作用。

1 Cdc42的活化机制与表达分布

1.1 Cdc42的活化机制

被称为“分子开关”的Cdc42可以在活性型和失活型构象之间进行循环。首先,GTP酶活化蛋白(GTPase-activating protein, GAP)可以激发Cdc42内在的GTP水解作用,使其转变为失活型。再者,鸟嘌呤核苷酸交换因子(guanine-nucleotide-exchange factor, GEF)可以促进Cdc42中GTP对GDP的替换,使其转变为活性型^[8]。Cdc42不仅能接受上游信号分子的信号,还可以与同样为Rho蛋白的Rac1、RhoA或者其他小G蛋白之间进行“交谈(crosstalk)”,从而产生生物学效应^[9]。

1.2 Cdc42的表达分布

Cdc42作为人体不可或缺的蛋白质之一,广泛地表达在各个组织器官。在哺乳动物中,Cdc42被定位在高尔基体上^[10],同时质膜上与细胞内泡状结构中也存在着Cdc42^[11],此分布可能与其调节细胞极性与迁移从而致纤维化的功能有关。

2 Cdc42与机体器官纤维化的关系

2.1 Cdc42与肝纤维化

肝纤维化已经成为威胁人类健康的隐形杀手之一。肝纤维化的发生发展,与肝脏的实质细胞和非实质细胞的变化有关。实质细胞只有肝细胞,而非实质细胞包括肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)、窦内皮细胞(sinusoid endothelia cell, SEC)、库普弗细胞(Kupffer cell, KC)等^[12]。其中,HSC位于窦周隙,正常时可以产生少量细胞外基质。肝脏受损时,HSC被激活转化为成纤维细胞并合成分泌大量细胞外基质。活化的HSC还可以分泌肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、转化生长因

子- β 1(transforming growth factor-beta 1, TGF- β 1)、血小板源生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)等细胞因子,促进已被激活的HSC快速转化为肌成纤维细胞,同时激活静止的HSC^[13]。目前认为,HSC的活化和迁移在肝纤维化中起着至关重要的作用^[14]。

2.1.1 Cdc42通过诱导HSC的趋化迁移导致肝纤维化 Cdc42与GTP结合后激活的一系列下游靶蛋白可以调节HSC的细胞骨架,从而影响HSC的迁移。细胞迁移的过程主要分为四个步骤^[15]: (1)细胞前端伸出片状或丝状伪足; (2)伪足与细胞外基质建立新的细胞黏附; (3)肌动蛋白和肌球蛋白聚合来调节细胞体的收缩,使细胞向前运动; (4)细胞尾部与基质解开黏附。其中,细胞前端片状或丝状伪足的延伸是细胞迁移的驱动力,该过程与Cdc42调节肌动蛋白聚合(actin polymerization)的功能有关。在细胞迁移的过程中,活化的Cdc42直接活化WASp/N-WASp(neuronal Wiskott-Aldrich syndrome protein)并在磷脂酰肌醇4,5-二磷酸[phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, PI(4,5)P₂]、组装抑制蛋白(profilin)等的协助下与下游底物肌动蛋白相关蛋白2/3(actin-related protein 2/3, Arp2/3)结合加速肌动蛋白的聚合作用,TOCA-1(transducer of Cdc42-dependent actin assembly-1)可以促进Cdc42/N-WASp/Arp2/3通路的交互^[16]。Arp2/3同时也可以被Rac1的下游WASP家族Verprolin同源蛋白(WASP-family verprolin-homologous protein, WAVE)所激活,并且Rac1可以相对的活化Arpin(Arp inhibitor)以对抗WAVE与N-WASp激活Arp2/3的作用^[17],这一过程可以使HSC获得更灵活的迁移方向。Cdc42与Rac1还可作用于他们共同的下游靶分子PAK(Cdc42也可以活化Rac1,形成一个环状通路^[18]),PAK一方面可以在PAK相关转换因子 β (PAK-interacting exchange factor β , β PIX)和G蛋白偶联受体激酶相关蛋白1(G protein-coupled receptor kinase-interacting protein 1, GIT1)以及桩蛋白paxillin的帮助下调节黏着斑(focal adhesion)的更新^[19],另一方面可以磷酸化LIM激酶(LIM kinase, LIMK),使丝切蛋白(cofilin)磷酸化失活,阻止了丝切蛋白亚基从肌动蛋白丝的尖端解离,失活的丝切蛋白可以使肌动蛋白和肌球蛋白聚合来引起胞体收缩^[20]。可见,Cdc42通过其调节肌动蛋白聚合从而诱导细胞迁移的功能,将HSC运送到需修复区域。

此外,在肝纤维化中Cdc42也参与了TGF- β 与PDGF通过HSC致肝纤维化的过程。TGF- β 是激活HSC并促进其合成分泌细胞外基质的强烈因子^[21],PDGF是调控HSC增殖的最强的有丝分裂原^[22]。Li等^[23]通过检测不同浓度TGF- β 1及PDGF刺激后大鼠HSC内Cdc42总蛋白、活性蛋白质与mRNA的表达情况,发现TGF- β 1与PDGF可以通过Cdc42来调节大鼠HSC肌动蛋白骨架。Zhang等^[24]在阻断细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)与Rac1的基础上,使用Cdc42阻断剂Toxin B,发现其可有效抑制PDGF诱导的LX-2(人HSC细胞株)的迁移。此外,肝内其他非实质细胞如KC和SEC,分别可通过释放TGF- β 1和PDGF来加速纤维化的进程,Cdc42也参与了这一过程。

肝纤维化的过程中伴随有Rho信号通路的激活。RhoA通过Rho/Rho相关卷曲螺旋形成蛋白激酶(Rho associated coiledcoil forming protein kinase, ROCK)磷酸化肌球蛋白轻链磷酸酶(myosin light chain phosphatase, MYPT)并使其失活,失活的MYPT可以减少肌球蛋白轻链(myosin light chain, MLC)的去磷酸化^[25],使MLC表达上升,肌动蛋白和肌球蛋白的结合率上升,使得细胞伸出富含肌动蛋白的伪足并影响HSC的迁移与活化。Cdc42下游的MRCK(myotonic dystrophy-related Cdc42-binding kinases)发挥着与ROCK相似的作用^[26]。MRCK被激活后,同样磷酸化MYPT使磷酸化的MLC表达上升来促进肌动蛋白和肌球蛋白的结合。MRCK也能够激活LIMK,进而使丝切蛋白失活来导致HSC的趋化迁移^[27]。mDia(mammalian diaphanous)也参与了Rho与Cdc42的“交谈”,RhoF(Ras homolog gene family member F)激活的mDia1可以诱导丝状伪足的形成^[20]。以往的研究均表明,Cdc42与mDia2关系密切,干扰mDia2可以抑制Cdc42诱导的丝状伪足^[28]。但近些年来的研究发现,mDia1在胰岛素受体酪氨酸激酶底物p53(insulin receptor tyrosine kinase substrate p53, IRSp53)(Cdc42的下游蛋白)过表达的情况下被募集^[29],提示其也与Cdc42有关,即Cdc42与RhoF可能共同调控了mDia1来促进HSC的迁移。

2.1.2 EMT在Cdc42导致肝纤维化中的作用 传统观点认为,纤维化的过程伴随着上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT),而Cdc42可以通过调节紧密连接蛋白(如下调E-钙黏蛋白)来诱

导EMT的发生。在肝纤维化中, EMT的机制尚不明确^[30]。Zeisberg等^[31]的研究表明, 半数左右成纤维细胞特异性蛋白-1(fibroblast-specific protein-1, FSP-1)阳性的成纤维细胞来源于肝细胞的EMT, 即肝纤维化中存在EMT。然而其实验数据显示, 这些成纤维细胞基本不表达 α -平滑肌蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)(EMT的标志物之一)。Taura等^[32]的研究指出, 在TGF- β 或四氯化碳(CCl_4)的诱导下, 小鼠肝细胞中有表达I型胶原的成纤维样细胞, 但在该细胞中并没有来源于肝细胞EMT的间充质细胞。结果表明, 表达I型胶原的成纤维样细胞不是由肝细胞生成的。在体内的肝细胞没有获得间充质细胞标志物的表达也没有清晰地表现出与正常肝细胞不同的形态学的改变。同时, Scholten等^[33]的基因标签胶质细胞原纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP^{GFP})研究也没有发现肝损伤中会出现上皮细胞标志物。这些结果强烈挑战了肝细胞获得间充质表型是通过EMT生成细胞外基质来导致肝纤维化这一理论。Cdc42通过EMT导致肝纤维化的假说仍需进一步探究。

2.2 Cdc42与肾间质纤维化

肾间质纤维化被认为是很多慢性肾病发展到终末的最终通路。许多研究显示, 肾间质的纤维化与肾小管上皮细胞的EMT有着密切的关系。肌成纤维细胞(myofibroblast, MF)的出现被认为是肾间质纤维化的一个主要特征之一。MF可以产生大量的细胞外基质, 在单侧输尿管梗阻处理的肾间质纤维化模型中发现, 多于三分之一的间质MF来源于肾小管上皮细胞的EMT, 而Cdc42参与了EMT致肾间质纤维化的进程。

2.2.1 Cdc42可以通过下游CIP4调控肾小管上皮细胞EMT致肾间质纤维化

CIP4通过其肽重复序列1(heptad repeat 1, HR1)区域与Cdc42连接, 在5/6肾大部切除大鼠的慢性肾间质纤维化模型中表达上升。Xu等^[34]的研究表明, 在TGF- β 1诱导人肾小管上皮细胞系HK-2产生EMT后, CIP4表达上升; 同时, 单独高表达CIP4的HK-2细胞系中同样发生了EMT的现象, 表明Cdc42的下游效应分子CIP4导致肾间质纤维化的进程与EMT有关。

CIP4参与肾小管上皮EMT的机制与 β -联蛋白有关。E-钙黏蛋白/ β -联蛋白/ α -联蛋白复合体被称为上皮细胞的“黏附复合体核心”, 其中的E-钙黏蛋

白/ β -联蛋白复合体在EMT的过程中起到了关键的作用, 机制为 β -联蛋白第654位点酪氨酸残基磷酸化会导致E-钙黏蛋白/ β -联蛋白复合体解聚, 从而影响上皮细胞的黏附稳定性^[35]。E-钙黏蛋白介导了细胞间的连接, 是维持细胞黏附的一个重要因子, 在EMT的进程中其多表现为下调或缺失。在肾小管上皮细胞中, CIP4可以与 β -联蛋白相互作用, 促进 β -联蛋白从细胞膜向细胞核的转运^[34]。而 β -联蛋白的核转移可以调节E-钙黏蛋白的表达, 其具体机制为 β -联蛋白转位入核之后, 与T细胞因子形成复合体, 再与锌指转录因子Slug(又称Snail-2)结合, 抑制E-钙黏蛋白启动子的活性^[36]; 同时, β -联蛋白也可以作为转录因子共激活因子, 激活如Snail家族基因来调节E-钙黏蛋白的表达^[37]。

Rac1、RhoA与Cdc42的“交谈”在Cdc42通过Par6致肾间质纤维化的过程中显得尤为重要。活化的Cdc42或Rac1都有与Par6结合的能力^[38], 它们可以通过Cdc42/Par6/ α -PKC或Rac1/Par6/ α -PKC途径稳定 α -PKC, α -PKC的高表达可以导致E-钙黏蛋白表达降低和 β -联蛋白的核转移^[39]。而CIP4可以作为Cdc42/Par6/ α -PKC通路的分支, 与WASp结合参与E-钙黏蛋白内吞, 这些过程均可以导致肾小管上皮细胞EMT的发生^[40]。磷酸化的Par6还可以募集Smurf1(一种E3泛素连接酶)并使RhoA表达降低。而RhoA的表达降低可以促使紧密连接减少从而导致EMT^[41]。另外, CIP4也能与Par6相互作用, 下调occludin(EMT标志物之一)的表达。

2.2.2 Cdc42通过其他途径影响肾间质纤维化

Rac1/Cdc42/PAK信号通路同样参与了EMT致肾间质纤维化的过程。用搭载着Cdc42、RhoA、Rac1的腺病毒转染人HK-2细胞系后, 磷酸化PAK和连接蛋白额外蛋白结构域(fibronectin extra domain A, fibronectin-EDA)表达上升, E-钙黏蛋白和细胞角蛋白19(cytokeratin 19, K19)表达下降, 并且阻断RhoA/ROCK通路与Rac1/Cdc42/PAK通路可以阻止HK-2细胞的转分化, 而组成性激活突变的Cdc42、RhoA、Rac1也可以诱导HK-2细胞的EMT^[42-43]。

导致肾间质纤维化的一个重要因子是结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)。CTGF是一种富含半胱氨酸的分泌肽, 属于CCN多肽家族, 又称CCN2, 在肾脏表达尤为多。CTGF存在于TGF- β 1或溶血磷脂酸(lysophosphatidic acid,

LPA)的下游,介导人的系膜细胞产生胶原,导致细胞外基质沉积和EMT^[44]。CTGF的异常表达可以下调成纤维细胞产生的基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2),诱导其转化为MF从而产生大量细胞外基质导致纤维化^[45]。以往的研究显示,Rho对CTGF的表达至关重要。干扰RhoA、Rac1与Cdc42之后,LPA介导的CTGF的mRNA表达被完全抑制^[46]。以往的研究多集中于RhoA,显示CTGF可以经由RhoA/ROCK通路上调细胞外基质的表达,而Cdc42的作用研究甚少。近期,Kiwanuka等^[47]研究发现,CTGF通过影响细胞极性与高尔基体重定位来诱导细胞迁移的过程可以由Cdc42(不依赖Rac1)来调控,即Cdc42被ML141(Cdc42特异性抑制剂)抑制之后,CTGF的效应明显下降,提示Cdc42与CTGF的表达也有着密切的联系。此外,不仅是在肾,激活的肝HSC也同样会在TGF- β 1或PDGF的刺激下分泌CTGF,CTGF又可以促进HSC的增殖迁移,形成一个正反馈的过程。

此外,Kojima等^[48]的研究表明,Cdc42与Rac1可以通过它们下游的IQGAP1调节“黏附核心复合体”E-钙黏蛋白/ β -联蛋白/ α -联蛋白。作为分子开关,GTP结合下活化的Cdc42与Rac1可以阻止IQGAP1与 β -联蛋白结合来稳定E-钙黏蛋白/ β -联蛋白复合体,增强细胞间黏附;而在GDP结合Cdc42后则相反,IQGAP1可以结合 β -联蛋白,促使 α -联蛋白与E-钙黏蛋白/ β -联蛋白/ α -联蛋白复合体解离,使细胞间黏附作用减弱,这一机制也可能参与影响肾间质的纤维化。

2.3 Cdc42与心血管系统纤维化

动脉粥样硬化是心血管系统最常见的疾病,内膜纤维化为其基本病变,在其发展的纤维斑块期,光镜下可以看到病灶表层大量的胶原纤维,同时也可见细胞外基质大量增生。Ito等^[49]的研究显示,敲除Cdc42可以有效改善AS(atherosclerosis)小鼠模型的斑块形成。

在动脉粥样硬化中,平滑肌细胞合成分泌细胞外基质形成了“纤维帽”样结构。Guo等^[50]的研究表明,FGF信号调节器2(canopy FGF signaling regulator 2, CNPY2)(一种由人平滑肌细胞低氧诱导的分泌蛋白质)的刺激可以激活Cdc42,而Cdc42通过其下游的PAK与黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)可以诱导平滑肌细胞的增殖和迁移。还有研究表明,酰胺磷酸核糖转移酶可通过激活Cdc42来调控平滑肌细胞的

内在迁移^[51]。因此我们可以认为Cdc42可以诱导平滑肌细胞的增殖与迁移,进而使其形成“纤维帽”。

巨噬细胞可以分泌生长调节因子和炎症前细胞因子,强烈刺激平滑肌细胞的迁移与增生。血小板活化因子(platelet activating factor, PAF)可迅速地诱导细胞的伸长,并伴随着丝状伪足的生成,在动脉粥样硬化过程中,其可以通过调整炎症细胞的骨架来促进炎症细胞向粥样斑块的浸润。Sumitu等^[52]的研究显示,Cdc42或RhoA在PAF诱导的THP-1巨噬细胞骨架的重构中起到重要的作用,高表达的Rho-GDI可抑制Cdc42或RhoA在PAF介导的此种细胞的形态改变中的作用,但并未发现Rac1有此作用。总之,PAF可通过Cdc42或RhoA也可通过调控巨噬细胞的细胞骨架,促进其向粥样斑块的浸润,并刺激平滑肌细胞的增殖迁移引起纤维化。

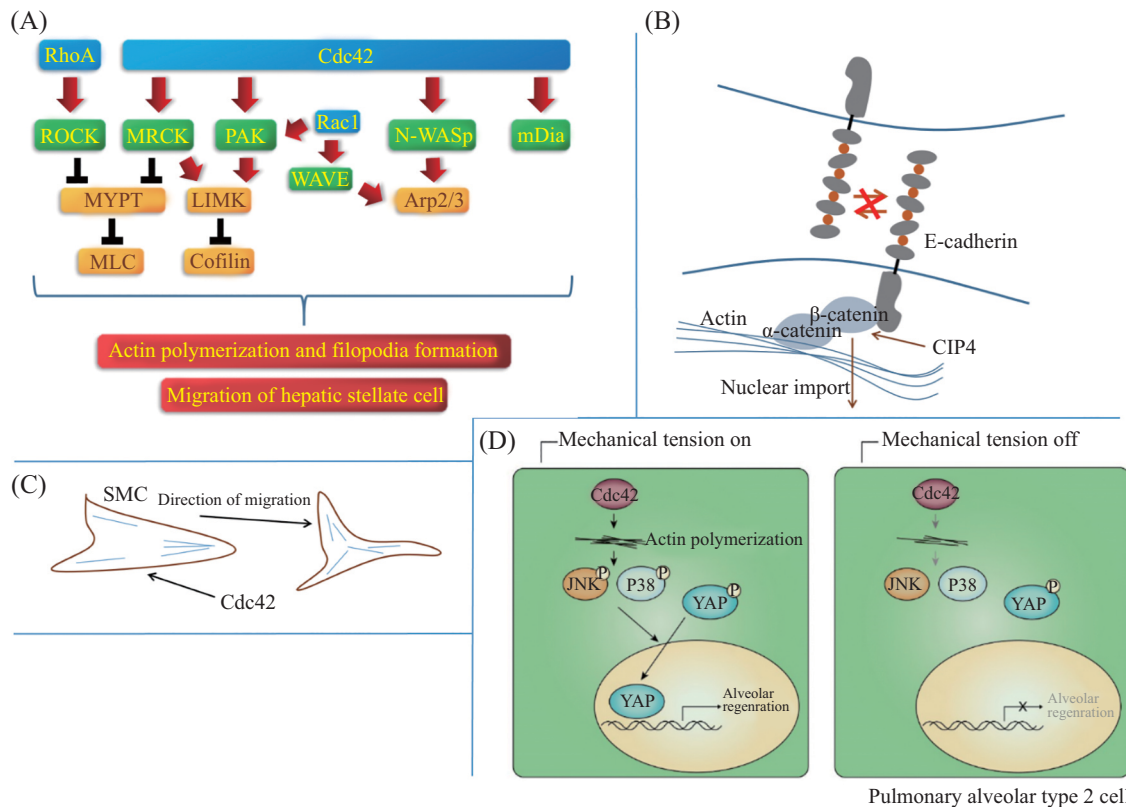
2.4 Cdc42与肺纤维化

目前研究认为,肺纤维化的主要机制是1型肺泡上皮细胞(alveolar type 1 epithelial cell, AT1)受损,2型肺泡上皮细胞(alveolar type 2 epithelial cell, AT2)增殖分化以补充AT1,因此AT2也被称为肺泡干细胞^[53]。在AT2增殖分化的过程中,会产生大量的细胞因子(如TGF- β 与PDGF)刺激成纤维细胞的增殖和胶原合成。以往对AT2增殖分化的机制一直不明确,而Liu等^[54]的最新研究证实了Cdc42可以依靠Cdc42/有丝分裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)/Yes相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)通路促进AT2细胞的增殖分化,填补了Cdc42与肺纤维化关系的研究空白。此外,肺泡巨噬细胞(alveolar macrophage, AM)在肺受到损伤时也会分泌大量细胞因子,AT2与AM分泌的TGF- β 和PDGF也可以通过活化Cdc42、RhoA或Rac1来促使成纤维细胞迁移至损伤部分合成细胞外基质^[55-56]。

有研究指出,RhoA/ROCK通路在肺纤维化中有表达,阻断ROCK可以减轻肺纤维化^[57]。我们推测,类似RhoA/ROCK通路的Cdc42/MRCK通路可能也参与了肺纤维化的过程,但此方面尚未见报道,需要进一步探究验证。

3 总结与展望

Cdc42参与了机体多种组织器官的纤维化进程。在肝中Cdc42主要通过各种不同途径诱导HSC的趋化迁移导致肝的纤维化;肾中Cdc42主要调



A: Cdc42调节HSC的迁移; B: CIP4调节肾中 β -catenin; C: Cdc42调节平滑肌细胞的迁移; D: II型肺泡上皮细胞中的Cdc42/MAPK/YAP通路^[54]。
A: migration of HSC in liver; B: CIP4 regulates β -catenin in kidney; C: Cdc42 regulates migration of SMC; D: Cdc42/MAPK/YAP pathway in AT2^[54]。

图1 Cdc42与各类纤维化的联系

Fig.1 Connection of Cdc42 and fibrosis

控EMT的过程来调控纤维化;在动脉粥样硬化中,Cdc42参与了平滑肌细胞的增殖迁移;在肺纤维化中Cdc42能诱导AT2的增殖分化等(图1)。将Cdc42作为治疗靶点将是治疗纤维化疾病的新策略。Cdc42参与的通路有很多交叉成网,机制十分复杂,许多方面尚未研究清楚,如TGF- β 诱导CTGF,CTGF可以由FAK与Cdc42激活,而Cdc42的信号通路中存在Cdc42/PAK/FAK通路,且TGF- β 诱导细胞增殖与转分化也与Cdc42参与的MAPK途径有直接联系^[58]。此外还发现,Cdc42-mDia2的通路不依赖IRSp53,甚至有研究发现,IRSp53与mDia2的共表达会抑制他们促丝状伪足形成的功能,而IRSp53又是Cdc42与mDia1作用所必需的。这些纤维化过程中的网状通路仍需进一步探究。总而言之,对Cdc42与纤维化机制的深入研究有利于更进一步地认识纤维化,为纤维化的治疗提供更广阔的前景。

参考文献 (References)

- Melendez J, Grogg M, Zheng Y. Signaling role of Cdc42 in regulating mammalian physiology. *J Biol Chem* 2011; 286(4): 2375-81.
- Tang Y, Olufemi L, Wang MT, Nie D. Role of Rho GTPases in breast cancer. *Front Biosc* 2008; 13(2): 759-76.
- Cerione RA. Cdc42: New roads to travel. *Trends Cell Biol* 2004; 14(3): 127-32.
- Stengel K, Zheng Y. Cdc42 in oncogenic transformation, invasion, and tumorigenesis. *Cell Signal* 2011; 23(9): 1415-23.
- Hanna S, Miskolci V, Cox D, Hodgson L. A new genetically encoded single-chain biosensor for Cdc42 based on FRET, useful for live-cell imaging. *PLoS One* 2014; 9(5): e96469.
- Rossman KL, Der CJ, Sondek J. GEF means go: Turning on Rho GTPases with guanine nucleotide-exchange factors. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005; 6(2): 167-80.
- Schmidt A, Hall A. Guanine nucleotide exchange factors for Rho GTPases: Turning on the switch. *Genes Dev* 2002; 16(13): 1587-609.
- Zhang Y, Sawada T, Jing X, Yokote H, Yan X, Sakaguchi K. Regulation of ephexin1, a guanine nucleotide exchange factor of Rho family GTPases, by fibroblast growth factor receptor-mediated tyrosine phosphorylation. *J Biol Chem* 2007; 282(42): 31103-12.
- Takai Y, Sasaki T, Matozaki T. Small GTP-binding proteins. *Physiol Rev* 2001; 81(1): 153-208.
- Erickson JW, Zhang C, Kahn RA, Evans T, Cerione RA. Mammalian Cdc42 is a brefeldin A-sensitive component of the Golgi apparatus. *J Biol Chem* 1996; 271(271): 26850-4.

- 11 Osmani N, Vitale N, Borg JP, Etienne-Manneville S. Scrib controls Cdc42 localization and activity to promote cell polarization during astrocyte migration. *Curr Biol* 2006; 16(24): 2395-405.
- 12 Chen Y, Sun R. Toll-like receptors in acute liver injury and regeneration. *Int Immunopharmacol* 2011; 11(10): 1433-41.
- 13 Patil PB, Joshi M, Kuna VK, Xu B, Johannesson L, Olausson M, *et al.* CD271 identifies functional human hepatic stellate cells, which localize in peri-sinusoidal and portal areas in liver after partial hepatectomy. *Cytotherapy* 2014; 16(7): 990-9.
- 14 Chen C, Wu CQ, Zhang ZQ, Yao DK, Zhu L. Loss of expression of miR-335 is implicated in hepatic stellate cell migration and activation. *Exp Cell Res* 2011; 317(12): 1714-25.
- 15 Lauffenburger DA, Horwitz AF. Cell migration: A physically integrated molecular process. *Cell* 1996; 84(3): 359-69.
- 16 Pichot CS, Arvanitis C, Hartig SM, Jensen SA, Bechill J, Marzouk S, *et al.* Cdc42 interacting protein 4 promotes breast cancer cell invasion and formation of invadopodia through activation of N-WASp. *Cancer Res* 2010; 70(21): 8347-56.
- 17 Gorelik R, Gautreau A. The Arp2/3 inhibitory protein arpin induces cell turning by pausing cell migration. *Cytoskeleton* 2015; 72(7): 362-71.
- 18 Sadok A, Marshall CJ. Rho GTPases: Masters of cell migration. *Small GTPases* 2014; 5(4): e29710.
- 19 Zhang W, Huang Y, Gunst S J. p21-Activated kinase (Pak) regulates airway smooth muscle contraction by regulating paxillin complexes that mediate actin polymerization. *J Physiol* 2016; 594(17): 4879-900.
- 20 Raftopoulou M, Hall A. Cell migration: Rho GTPases lead the way. *Dev Biol* 2004; 265(1): 23-32.
- 21 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- α and TGF- β 1. *J Hepatol* 1999; 30(1): 48-60.
- 22 Fibbi G, Pucci M, Grappone C, Pellegrini G, Salzano R, Casini A, *et al.* Functions of the fibrinolytic system in human ito cells and its control by basic fibroblast and platelet-derived growth factor. *Hepatology* 1999; 29(3): 868-78.
- 23 Li L, Wang JY, Yang CQ, Jiang W. Effect of RhoA on transforming growth factor β 1-induced rat hepatic stellate cell migration. *Liver Int* 2012; 32(7): 1093-102.
- 24 Zhang Z, Ping J, Xu LM. Screening Chinese medicine components for inhibition of human hepatic stellate cell migration. *J Hepatol* 2012; 28(3): 183-91.
- 25 Gally C, Wissler F, Zahreddine H, Quintin S, Landmann F, Labouesse M. Myosin II regulation during *C. elegans* embryonic elongation: LET-502/ROCK, MRCK-1 and PAK-1, three kinases with different roles. *Development* 2009; 136(18): 3109-19.
- 26 Zhao Z, Manser E. Myotonic dystrophy kinase-related Cdc42-binding kinases (MRCK), the ROCK-like effectors of Cdc42 and Rac1. *Small GTPases* 2015; 6(2): 1-8.
- 27 Unbekandt M, Olson MF. The actin-myosin regulatory MRCK kinases: Regulation, biological functions and associations with human cancer. *J Mol Med* 2014; 92(3): 217-25.
- 28 Peng J, Wallar BJ, Flanders A, Swiatek PJ, Alberts AS. Disruption of the diaphanous-related formin Drf1, gene encoding mDia1 reveals a role for Drf3 as an effector for Cdc42. *Curr Biol* 2003; 13(7): 534-45.
- 29 Goh WI, Ahmed S. mDia1-3 in mammalian filopodia. *Commun Integr Biol* 2012; 5(4): 340-4.
- 30 Sterzer V, Alsamman M, Bretag T, Scholten D. EMT in liver fibrosis. *Curr Pathobiol Rep* 2014; 2(4): 201-7.
- 31 Zeisberg M, Yang C, Martino M, Duncan MB, Rieder F, Tanjore H, *et al.* Fibroblasts derive from hepatocytes in liver fibrosis via epithelial to mesenchymal transition. *J Biol Chem* 2007; 282(32): 23337-47.
- 32 Taura K, Miura K, Iwaisako K, Osterreicher CH, Kodama Y, Penz-Osterreicher M, *et al.* Hepatocytes do not undergo epithelial-mesenchymal transition in liver fibrosis in mice. *Hepatology* 2010; 51(3): 1027-36.
- 33 Scholten D, Österreicher CH, Scholten A, Iwaisako K, Gu G, Brenner DA, *et al.* Genetic labeling does not detect epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) of cholangiocytes in liver fibrosis in mice. *Gastroenterology* 2010; 139(3): 987-98.
- 34 Xu C, Zhou Q, Liu L, Liu P, Pei G, Zeng R, *et al.* Cdc42-interacting protein 4 represses E-cadherin expression by promoting β -catenin translocation to the nucleus in murine renal tubular epithelial cells. *Int J Mol Sci* 2015; 16(8): 19170-83.
- 35 Lilien J, Balsamo J. The regulation of cadherin-mediated adhesion by tyrosine phosphorylation/dephosphorylation of β -catenin. *Curr Opin Cell Biol* 2005; 17(5): 459-65.
- 36 Nelson WJ, Nusse R. Convergence of Wnt, beta-catenin, and cadherin pathways. *Science* 2004; 303(5663): 1483-7.
- 37 Medici D, Hay ED, Olsen BR. Snail and slug promote epithelial-mesenchymal transition through β -catenin-T-cell factor-4-dependent expression of transforming growth factor- β 3. *Mol Biol Cell* 2008; 19(11): 4875-87.
- 38 Narayanan AS, Reyes SB, Um K, McCarty JH, Tolias KF. The Rac-GAP Bcr is a novel regulator of the Par complex that controls cell polarity. *Mol Biol Cell* 2013; 24(24): 3857-68.
- 39 Du GS, Wang JM, Lu JX, Li Q, Ma CQ, Du JT, *et al.* Expression of P-aPKC-iota, E-cadherin, and beta-catenin related to invasion and metastasis in hepatocellular carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2009; 16(6): 1578-86.
- 40 Leibfried A, Fricke R, Morgan MJ, Bogdan S, Bellaiche Y. *Drosophila*, Cip4 and WASp define a branch of the Cdc42-Par6-aPKC pathway regulating E-cadherin endocytosis. *Curr Biol* 2008; 18(21): 1639-48.
- 41 Averycooper G, Doerr M, Gilbert RW, Youssef M, Richard A, Huether P, *et al.* Par6 is an essential mediator of apoptotic response to transforming growth factor beta in NMuMG immortalized mammary cells. *Cancer Cell Int* 2014; 14(1): 85-94.
- 42 Patel S, Takagi KI, Suzuki J, Imaizumi A, Kimura T, Mason RM, *et al.* RhoGTPase activation is a key step in renal epithelial mesenchymal transdifferentiation. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16(7): 1977-84.
- 43 Zhang K, Zhang H, Xiang H, Liu J, Liu Y, Zhang X, *et al.* TGF- β 1 induces the dissolution of tight junctions in human renal proximal tubular cells: Role of the RhoA/ROCK signaling pathway. *Int J Mol Med* 2013; 32(2): 464-8.
- 44 Haydont V, Riser BL, Aigueperse J, Vozenin-Brotans MC. Specific signals involved in the long-term maintenance of radiation-induced fibrogenic differentiation: A role for CCN2

- and low concentration of TGF-beta1. *Am J Physiol Cell Physiol* 2008; 294(6): 1332-41.
- 45 Mizuno S, Matsumoto K, Li MY, Nakamura T. HGF reduces advancing lung fibrosis in mice: A potential role for MMP-dependent myofibroblast apoptosis. *FASEB J* 2005; 19(6): 580-2.
- 46 Heusinger-Ribeiro J, Eberlein M, Wahab NA, Goppelt-Strube M. Expression of connective tissue growth factor in human renal fibroblasts: Regulatory roles of RhoA and cAMP. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12(9): 1853-61.
- 47 Kiwanuka E, Lee CC, Hackl F, Caterson EJ, Junker JP, Gerdin B, *et al.* Cdc42 and p190 RhoGAP activation by CCN2 regulates cell spreading and polarity and induces actin disassembly in migrating keratinocytes. *Int Wound J* 2016; 13(3): 372-81.
- 48 Kuroda S, Fukata M, Nakagawa M, Fujii K, Nakamura T, Ookubo T, *et al.* Role of IQGAP1, a target of the small GTPases Cdc42 and Rac1, in regulation of E-cadherin-mediated cell-cell adhesion. *Science* 1998; 281(5378): 832-5.
- 49 Ito TK, Yokoyama M, Yoshida Y, Nojima A, Kassai H, Oishi K, *et al.* A crucial role for CDC42 in senescence-associated inflammation and atherosclerosis. *PLoS One* 2014; 9(7): e102186.
- 50 Guo J, Zhang Y, Mihic A, Li SH, Sun Z, Shao Z, *et al.* A secreted protein (Canopy 2, CNPY2) enhances angiogenesis and promotes smooth muscle cell migration and proliferation. *Cardiovasc Res* 2015; 105(3): 383-93.
- 51 Yin H1, van der Veer E, Frontini MJ, Thibert V, O'Neil C, Watson A, *et al.* Intrinsic directionality of migrating vascular smooth muscle cells is regulated by NAD⁺ biosynthesis. *J Cell Sci* 2012; 125(23): 5770-80.
- 52 Sumita C, Yamane M, Matsuda T, Maeda M, Nariai T, Fujio Y, *et al.* Platelet activating factor induces cytoskeletal reorganization through Rho family pathway in THP-1 macrophages. *FEBS Lett* 2005; 579(18): 4038-42.
- 53 Sisson TH, Mendez M, Choi K, Subbotina N, Courey A, Cunningham A, *et al.* Targeted injury of type II alveolar epithelial cells induces pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 181(3): 254-63.
- 54 Liu Z, Wu H, Jiang K, Wang Y, Zhang W, Chu Q, *et al.* MAPK-Mediated YAP activation controls mechanical-tension-induced pulmonary alveolar regeneration. *Cell Rep* 2016; 6(7): 1810-9.
- 55 Edlund S, Landström M, Heldin CH, Aspenström P. Transforming growth factor-beta-induced mobilization of actin cytoskeleton requires signaling by small GTPases Cdc42 and RhoA. *Mol Biol Cell* 2002; 13(3): 902-14.
- 56 Huang M, Satchell L, Duhadaway JB, Prendergast GC, Laury-Kleintop LD. RhoB links PDGF signaling to cell migration by coordinating activation and localization of Cdc42 and Rac. *J Cell Biochem* 2011; 112(6): 1572-84.
- 57 Park JS, Park HJ, Park YS, Lee SM, Yim JJ, Yoo CG, *et al.* Clinical significance of mTOR, ZEB1, ROCK1 expression in lung tissues of pulmonary fibrosis patients. *BMC Pulm Med* 2014; 14(1): 1-9.
- 58 Edlund S, Landström M, Heldin CH, Aspenström P. TGF-beta-induced mobilisation of the actin cytoskeleton requires signalling by the small GTPases Cdc42 and RhoA. *Mol Biol Cell* 2002; 13(3): 902-14.