

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.20.007
文章编号: 1005-8982 (2019) 20-0039-04

综述

浅谈异分化在放射诱导肺纤维化中的作用*

肖子婷, 田健, 化改改, 朱琰琰, 张星南, 周建炜

[河南省人民医院(河南大学人民医院)肿瘤内科, 河南 郑州 450003]

摘要: 肺纤维化即损伤后的肺上皮细胞为胶原和细胞外基质所取代, 其过程不可逆, 5年生存率仅为20%~30%, 患者最终死于肺衰竭。在不同治疗阶段, 60%肺癌患者需接受放射治疗; 30%患者发生肺损伤, 最终可能会诱导纤维化发生。目前对放疗导致的纤维化确切机制缺乏了解, 该文主要对放射性肺纤维化的研究进展, 以及笔者正在从事的相关研究进行综述, 以期了解发生肺纤维化的可能机制。

关键词: 肺肿瘤; 成体干细胞; 转化生长因子 β ; 肺纤维化; 综述

中图分类号: R734.2

文献标识码: A

Role of heterogeneous differentiation in radiation-induced pulmonary fibrosis*

Zi-ting Xiao, Jian Tian, Gai-gai Hua, Yan-yan Zhu, Xing-nan Zhang, Jian-wei Zhou

[Department of Oncology, Henan Provincial People's Hospital (Henan University People's Hospital), Zhengzhou, Henan 450003, China]

Abstract: Pulmonary fibrosis is that lung epithelial cells after injury is replaced by collagen and extracellular matrix (ECM). This is an irreversible process with only 20% to 30% of 5-year survival rate. It has been reported in the literature that 60% of lung cancer patients need radiation therapy at different treatment stages, and 30% of them have lung injury, which may eventually induce fibrosis. At present, there is lack of understanding of the exact mechanism of fibrosis caused by radiotherapy. This review briefly introduces some advances in radioactive pulmonary fibrosis research and related research that we are doing to understand the possible mechanisms of pulmonary fibrosis.

Keywords: lung neoplasms; adult stem cells; transforming growth factor beta; pulmonary fibrosis; review

放射性肺纤维化成为胸部放射治疗后的严重并发症, 因其机制不明, 无早期诊断指南, 也无有效标准的治疗方法, 最终导致呼吸衰竭。基于国内外对放射性肺纤维化机制的多种假说, 本课题组提出II型肺泡干细胞在放射诱导下异分化为肌成纤维细胞, 通过复制放射性肺纤维化小鼠模型, 运用形态学和分子学方法进行验证, 以期进一步明确肺纤维化的可能机制,

为纤维化的诊疗奠定基础。

1 放射治疗的机制

放射治疗是指用离子射线治疗恶性肿瘤(有时也可治疗良性病变)的临床策略, 其射线种类有 α 射线(氦原子核)、 β (电子)、X/ γ 射线(光子)及质子。目前, 用于肿瘤治疗的离子射线主要是X射线

收稿日期: 2019-04-21

*基金项目: 国家自然科学基金(No: 81673097)

[通信作者]周建炜, E-mail: drzhoujw@163.com

或 γ 射线。质子治疗仪因价格昂贵和治疗费用高而较少在临床使用。这些射线可将能量直接作用于生物大分子上,引起生物大分子电离和激发;也可先作用于水,使水分子产生一系列辐射分解产物(OH、H、e⁻、H₂及H₂O₂等氧化物),再作用于生物大分子,这些都能导致机体的核酸、蛋白质及酶类分子结构改变和活性丧失,从而导致肿瘤细胞死亡,起到治疗作用^[1]。但射线同时也会对正常组织造成损伤,在肺组织中,不同类型细胞对射线的敏感性存在差异,以肺上皮细胞最为敏感。

2 肺上皮细胞修复

肺组织可分为实质和间质两部分:实质即肺内支气管各级分支及其终末的大量肺泡;间质包括肺内结缔组织及其中的血管、淋巴管及神经。肺泡是支气管树的终末部分,肺泡壁由单层肺泡上皮组成,肺泡上皮主要为I型和II型上皮细胞。I型细胞负责气体交换及调节肺泡中液体稳态,占肺泡表面积的95%;另外5%则是II型肺泡细胞,其作用是通过分泌表面活性物质来维持稳定肺泡大小与结构。因肺与外界相通,极易受到外部有害物质的损伤,如氧化应激和毒性损伤。而I型细胞是终末细胞,不具有分裂增殖能力,其损伤丢失可依赖II型上皮细胞的分化、分裂获得修复补充^[2]。因此,肺II型细胞被公认为肺上皮成体干细胞(adult stem cells, ASC)^[3]。此外,肺细支气管上皮层内也含有可分裂、分化为细支气管上皮的成体干细胞,即Clare细胞。

3 ASC及其微环境

干细胞的微环境对保留干细胞未分化状态具有重要意义。THOMSON等^[4]于1998年从囊胚阶段的小鼠胚胎中分离出胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC),在组织培养中无限增殖并不丧失多能性的潜能。然而在体外组织培养时,ESC释放潘多拉盒子的分化程序,形成丑陋的多细胞肿块,称为畸胎瘤。与此相反,MARTIN^[5]在70年代将ESC注射到小鼠胚胎中心,类似于天然生态位,ESC恢复正常使命,并有利于ESC产生正常的组织后代。因此,干细胞内在分化表型特征由其微环境决定。成体干细胞也同样依赖其微环境,卵巢生殖干细胞微环境是一种稳定结构,能诱导成体干细胞分化为卵泡细胞,使相对早期阶段的异位卵泡祖细胞去分化^[6]。最近的研究

表明,这些微环境提供其扩散、分化或保持休眠的信号^[7]。细胞的相互作用是通过粘附或间隙连接调节ASC保留和分布^[8];细胞外基质(extracellular matrix, ECM)组成三维细胞外网络,通过形成保护和营养生物物理过滤器,作为促进免疫反应、血管生成和组织再生的媒介^[9];可溶性蛋白因子通过改变其局部有效浓度、生物利用度和稳定性,从而调节对靶细胞的作用,如成纤维细胞生长因子-2、Wnt3、Notch及转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)等^[10-11]。

4 TGF- β 与肺纤维化

TGF- β 是一种多效能因子,1985年首次被ASSOIAN等^[12]从人血小板中分离出来,到目前已发现TGF- β 的6个亚型,而哺乳动物中仅发现TGF- β_1 、TGF- β_2 及TGF- β_3 。KHALIL等^[13]1991年发现,TGF- β 在肺纤维化发生过程中起重要作用。其中,TGF- β_1 作用更加显著。现有大量基础实验和临床研究表明,TGF- β_1 是重要的致纤维化细胞因子之一,发现该因子在肺纤维化组织中高表达^[14]。DAS等^[15]通过在体和离体实验发现,无论在人细胞株还是小鼠中,TGF- β_1 都有很强的促纤维化作用。P17是一种TGF- β 抑制剂,在IMR-90人胚肺成纤维细胞和小鼠肺纤维化模型中能抑制TGF- β 介导的肺纤维化^[16]。此外,通过对人类特发性肺纤维化的研究发现,抗纤维化药物干扰素- γ (interferon- γ IFN- γ)能降低肺组织中TGF- β 水平^[17]。有关TGF- β 诱导肺纤维化的机制复杂,但PANDIT等^[18]研究结果显示,TGF- β 可下调Let-7 miRNA。而Let-7 miRNA的下调可诱导小鼠肺II型上皮干细胞表达间质细胞标志物,肺泡间隔增厚,胶原合成增加,纤维化发生^[18],提示TGF- β 导致肺纤维化的机制可能是通过下调Let-7 miRNA实现。

5 Let-7 miRNA与肺纤维化

MicroRNA(miRNA)是长约22 nt非编码RNA,广泛存在于从病毒到人类的各种生物中。这些miRNA可通过3'非翻译区的互补位点与靶mRNA结合,通过mRNA降解抑制靶蛋白产生^[19]。因此,miRNA是基因表达的关键调控因子^[19],如miRNA-126通过调节Toll样受体2/4信号通路中的TOMI,参与囊性纤维化^[20]。miRNA-192以Smad3依赖的方式介导肾纤

纤维化^[21]。用博来霉素诱导的纤维化组织中有 161 种 miRNA 表达差异^[22]。直接照射或暴露于氧化应激的药物时, miRNA 微阵列分析表明组织中许多 miRNA 被上调或下调, 特别是 Let-7 家族的 miRNA 可能对氧化应激的反应更为显著^[23]。在 40 个特发性肺纤维化 (idiopathic pulmonary fibrosis, IPF) 组织和 20 个对照肺组织微阵列上进行原位杂交, 显示 IPF 中 Let-7 miRNA 降低^[24]。提示 Let-7 miRNA 为正常干细胞所必需, 因为上调 Let-7 miRNA 可完全恢复干细胞正常表型^[25]。进一步研究发现 let-7 miRNA 是 Wnt/ β -catenin 信号转导途径的靶分子, 其表达受 Wnt/ β -catenin 的抑制^[25]。

6 Wnt/ β -catenin 途径与肺纤维化

Wnt 信号传导途径可分为决定细胞命运的经典途径、控制细胞运动及组织极性的非经典途径。Wnt/ β -catenin 途径是通过 β -catenin 的核内移位, 从而激活靶基因的转录活性。Wnt/ β -catenin 途径启动信号级联反应, 在脑、肠、皮肤及肺等正常组织的发育起着关键性的作用^[26]。Wnt 途径在乳腺癌中可增强乳腺癌干细胞的扩增^[25]。IPF 组织中微阵列分析显示与 Wnt/ β -catenin 通路有关基因被上调^[27]。同时对 IPF 患者肺 II 型细胞更详细地分析发现, Wnt 信号通路中相关的靶蛋白都有增加^[28]。期间涉及的潜在分子途径尚未完全确定, 但通过使用 mRNA 微阵列筛选测定法, 已鉴定 Let-7 miRNA 作为 Wnt- β -连环蛋白途径的下游靶标^[25]。该过程通过激活 Lin28 蛋白, 使 Let-7 precursor miRNA 转化为 Let-7 mature miRNA 的过程受抑制实现^[25]。因而笔者提出, 在肺纤维化发生时, 可能存在 TGF- β -Wnt/ β -catenin-Lin28-let-7 miRNA 调控轴。

7 肌成纤维细胞与肺纤维化

IPF 患者中, ECM 含量是正常肺组织的 2 ~ 3 倍, 其主要由胶原纤维 (I、III、V、VI 及 VII)、纤连蛋白、弹性蛋白及蛋白多糖组成, 大量肺纤维化研究证实, 肌成纤维细胞是胶原和 ECM 的最主要来源^[29]。正常的伤口愈合后期, 成纤维细胞和肌成纤维细胞通过凋亡来减少。但在 IPF 患者中特别是纤维化病灶中, 成纤维细胞和肌成纤维细胞数量保持不变^[30]。有研究表明, 在 IPF 组织中成纤维细胞或肌成纤维细胞数量越多, 预后越差^[31]。近年来许多学者认为肌成纤维细胞

有 3 种来源^[32]: ①器官自身: 基质成纤维细胞; ②骨髓“纤维细胞”; ③上皮间质转化。以上 3 种假设未被证实, 然而目前不同原因导致的纤维化肌成纤维细胞确切来源还不清楚。

综上所述, 肺组织上皮在胸部放疗过程中会造成一定的损伤, 正常情况下通过 II 型肺泡上皮干细胞的增殖、分化进行修复。肺纤维化患者中, 上皮细胞没有得到补充修复, 而为胶原和 ECM 所取代。纤维化组织中 TGF- β 、Let-7 miRNA、Wnt/ β -catenin 途径中相关的靶蛋白、肌成纤维细胞都有改变。同时已证实 TGF- β 可下调 Let-7 miRNA, 而 Let-7 miRNA 又受到 Wnt/ β -catenin 途径抑制 (该过程通过激活 Lin28 蛋白实现)。笔者可假设放射导致 TGF- β 升高, 通过 Wnt/ β -catenin 途径激活 Lin28 蛋白, 抑制成熟 Let-7 miRNA 形成, 使肺泡 II 型干细胞在缺乏 Let-7 miRNA 的情况下没有正常分化, 而异分化为肌成纤维细胞。肌成纤维细胞又进一步产生 ECM, 从而导致肺纤维化的发生。然而假设需要被证实, 希望笔者接下来的课题能确认 TGF- β 、Wnt/ β -catenin 及 Let-7 miRNA 相关性, 同时阐明肺纤维化发生的确切机制。

参 考 文 献:

- [1] 王绿化, 朱广迎. 肿瘤放射治疗学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2016: 37-58.
- [2] ALMEIDA C, NAGARAJAN D, TIAN J, et al. The role of alveolar epithelium in radiation-induced lung injury[J]. PLoS one, 2013, 8(1): e53628.
- [3] GIANGRECO A, SHEN H, REYNOLDS S D, et al. Molecular phenotype of airway side population cells[J]. American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology, 2004, 286(4): L624-L630.
- [4] THOMSON J A, MARSHALL V S, TROJANOWSKI J Q. Neural differentiation of rhesus embryonic stem cells[J]. Apmis Acta Pathologica Microbiologica Et Immunologica Scandinavica, 1998, 106(1/6): 149-157.
- [5] MARTIN G R. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells[J]. Proc Natl Acad Sci U S A. 1981, 78(12): 7634-7638.
- [6] KAI T, SPRADLING A. An empty drosophila stem cell niche reactivates the proliferation of ectopic cells[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2003, 100(8): 4633-4638.
- [7] DONG L, HAO H J, HAN W D, et al. The role of the microenvironment on the fate of adult stem cells[J]. Science China Life Sciences, 2015, 58(7): 639-648.
- [8] ROGNONI E, WIDMAIER M, JAKOBSON M, et al. Kindlin-1 controls Wnt and TGF- β availability to regulate cutaneous stem cell proliferation[J]. Nature Medicine, 2014, 20(4): 350-359.

- [9] GATTAZZO F, URCIUOLO A, BONALDO P. Extracellular matrix: a dynamic microenvironment for stem cell niche[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) General Subjects*, 2014, 1840(8): 2506-2519.
- [10] HARFOUCHE G, VAIGOT P, RACHIDI W, et al. Fibroblast growth factor type 2 signaling is critical for DNA repair in human keratinocyte stem cells[J]. *Stem Cells*, 2010, 28(9): 1639-1648.
- [11] FAIGLE R, SONG H. Signaling mechanisms regulating adult neural stem cells and neurogenesis[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) General Subjects*, 2013, 1830(2): 2435-2448.
- [12] ASSOIAN R K, ROBERTS A B, LARCO J E D, et al. Increased secretion of type β transforming growth factor accompanies viral transformation of cells[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 1985, 5(1): 242-247.
- [13] KHALIL N, GREENBERG A H. The role of TGF- β in pulmonary fibrosis[J]. *Ciba Found Symp*, 1991, 157(157): 194-207.
- [14] JOHN A E, LUCKETT J C, TATLER A L, et al. Preclinical SPECT/CT imaging of $\alpha v\beta 6$ integrins for molecular stratification of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2013, 54(12): 2146-2152.
- [15] DAS S, KUMAR M, NEGI V, et al. MicroRNA-326 regulates profibrotic functions of transforming growth factor- β in pulmonary fibrosis[J]. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 2014, 50(5): 882-892.
- [16] ARRIBILLAGA L, DOTOR J, BASAGOITI M, et al. Therapeutic effect of a peptide inhibitor of TGF- β on pulmonary fibrosis[J]. *Cytokine*, 2011, 53(3): 327-333.
- [17] BOUROS D. Interferon gamma for idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *The Lancet*, 2009, 374(9685): 180-182.
- [18] PANDIT K V, CORCORAN D, YOUSEF H, et al. Inhibition and role of let-7d in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2010, 182(2): 220-229.
- [19] HE L, HANNON G J. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2004, 5(7): 522-531.
- [20] OGLESBY I K, BRAY I M, CHOTIRMALL S H, et al. MiR-126 is downregulated in cystic fibrosis airway epithelial cells and regulates TOM1 expression[J]. *The Journal of Immunology*, 2010, 184(4): 1702-1709.
- [21] CHUNG A C K, HUANG X R, MENG X, et al. MiR-192 mediates TGF- β /Smad3-driven renal fibrosis[J]. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2010, 21(8): 1317-1325.
- [22] XIE T, LIANG J, GUO R, et al. Comprehensive microRNA analysis in bleomycin-induced pulmonary fibrosis identifies multiple sites of molecular regulation[J]. *Physiological Genomics*, 2011, 43(9): 479-487.
- [23] DICKEY J S, ZEMP F J, MARTIN O A, et al. The role of miRNA in the direct and indirect effects of ionizing radiation[J]. *Radiation Environmental Biophysics*, 2011, 50(4): 491-499.
- [24] PANDIT K V, CORCORAN D, YOUSEF H, et al. Inhibition and role of let-7d in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2010, 182(2): 220-229.
- [25] CAI W Y, WEI T Z, LUO Q C, et al. The Wnt- β -catenin pathway represses let-7 microRNA expression through transactivation of Lin28 to augment breast cancer stem cell expansion[J]. *Journal of Cell Science*, 2013, 126(13): 2877-2889.
- [26] MORRISEY E E. Wnt signaling and pulmonary fibrosis[J]. *American Journal of Pathology*, 2003, 162(5): 1393-1397.
- [27] SELMAN, MOISÉS, PARDÓ A, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis: aberrant recapitulation of developmental programs[J]. *PLoS Medicine*, 2008, DOI: 10.1371/journal.pmed.0050062.
- [28] KÖNIGSHOFF M, BALSARA N, PFAFF E M, et al. Functional Wnt signaling is increased in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *PLoS one*, 2008, DOI: 10.1371/journal.pone.0002142.
- [29] ANDERSSON-SJÖLAND A, NIHLBERG K, ERIKSSON L, et al. Fibrocytes and the tissue niche in lung repair[J]. *Respiratory Research*, 2011, 12(1): 76.
- [30] SELMAN M, RUIZ V, CABRERA S, et al. TIMP-1, -2, -3, and -4 in idiopathic pulmonary fibrosis. a prevailing nondegradative lung microenvironment[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2000, 279(3): L562-L574.
- [31] KING JR T E, SCHWARZ M I, BROWN K, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis: relationship between histopathologic features and mortality[J]. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2001, 164(6): 1025-1032.
- [32] WYNN T A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis[J]. *Journal of Pathology*, 2010, 214(2): 199-210.

(唐勇 编辑)